

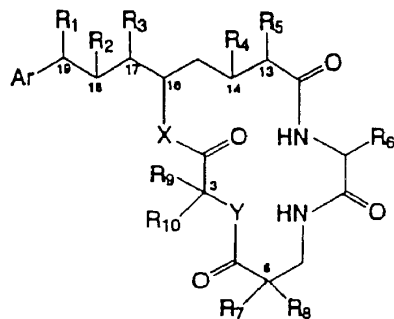
**Описание изобретения**
К ПАТЕНТУ

1

2

- (21) 97000493
(22) 07.03.96
(31) 08/400.057, 08/482.141
(32) 07.03.1995, 07.06.1995
(33) US, US
(46) 06.10.2002, Бюл. №3 (27)
(86) РСТ/US 96/03246, 07.03.1996
(72) МУР, Ричард Э. (US), ТАЙУС, Маркус А. (US), БЭРРОУ, Рассел А. (AU), ЛИАНГ, Джан (CN), КОРБЕТТ, Томас Х. (US), ВАЛЕРИОТ, Фредерик А. (CA), ХЕМШАЙДТ Томас К. (DE)
(71)(73) ЮНИВЕРСИТИ ОФ ХАВАЙИ (US), УЭЙН СТЕЙТ ЮНИВЕРСИТИ (US)
(56) EP 0358418 A1, 05.09.1988
WO 91/10655 A1, 25.07.1991
SU 1726475 A1, 15.04.1992
(54) КРИПТОФИЦИНОВОЕ СОЕДИНЕНИЕ, ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ, СПОСОБ ИНГИБИРОВАНИЯ ПРОЛИФЕРАЦИИ КЛЕТОК И СПОСОБ СМЯГЧЕНИЯ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ
(57) Изобретение относится к новым криптофицинам, полученным синтетическим путем.

Криптофициновое соединение представлено формулой:



где

Ar представляет метил, или фенил, или любую простую незамещенную или замещенную ароматическую или гетероароматическую группу;
R₁ представляет галоид, SH, amino, моноалкиламино, диалкиламино, триалкиламмоний, алкилтио, диалкилсульфоний, сульфат или фосфат;
R₂ представляет OH или SH; или
R₁ и R₂ могут объединяться вместе с образованием эпоксидного кольца, азиридинового кольца, эписульфидного кольца, сульфатного кольца или моноалкилфосфатного кольца; или
R₁ и R₂ могут объединяться вместе с образованием двойной связи между C₁₈ и C₁₉;
R₃ представляет низшую алкильную группу;
R₄ и R₅ представляют H; или
R₄ и R₅ могут объединяться вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄;
R₆ представляет бензильную, оксibenзильную, алкоксибензильную, галоидоксибензильную, дигалоидоксибензильную, галоидалкоксибензильную или дигалоидалкоксибензильную группу;
R₇, R₈, R₉ и R₁₀ каждый независимо представляют H или низшую алкильную группу; и
X и Y каждый независимо представляют O, NH или алкиламино.

Это изобретение было осуществлено при частичной поддержке правительства США грантами № CA 12623 и CA53001 из The National Cancer Institute, Department of Health and Human Services. Таким образом, правительство США может иметь определенные права на это изобретение.

Неопластические заболевания, характеризующиеся пролиферацией клеток, не подвергаются нормальному контролю клеточного роста, в большинстве своем вызывают смерть у людей. Клиническое испытание по химиотерапии продемонстрировало, что для лечения этих заболеваний желательными являются новые и более эффективные лекарства. Такой эксперимент продемонстрировал также, что лекарства, которые разрушают систему микротрубочек цитоскелета, могут быть эффективными в ингибировании пролиферации опухолевых клеток.

Система микротрубочек эукариотических клеток составляет основной компонент цитоскелета и находится в динамическом состоянии — упорядоченная структура и разупорядоченная структура; таким образом, что гетеродимеры тубулина полимеризуются с образованием микротрубочек, а микротрубочки деполимеризуются до составляющих их компонентов. Микротрубочки играют ключевую роль в регулировании клеточной архитектуры, метаболизма и деления. Динамическое состояние микротрубочек является критическим для их нормальных функций. Что касается клеточного деления, тубулин полимеризуется в микротрубочки, которые образуют митотическое веретено. Затем микротрубочки деполимеризуются, когда используемое митотическое веретено заполняется. Таким образом, агенты, которые нарушают полимеризацию или деполимеризацию микротрубочек, и тем самым ингибируют митоз, включают некоторые наиболее эффективные химиотерапевтические агенты для клинического применения.

Такие анти-митотические агенты или яды могут быть классифицированы на три группы на основании их молекулярного механизма действия. Первая группа состоит из агентов, включающих колхицин и колцемид, которые ингибируют образование микротрубочек за счет разрушения тубулина. Вторая группа состоит из агентов, включающих винбластин и винкристин, которые индуцируют образование паракристаллических агрегатов тубулина. Винбластин и винкристин являются хорошо известными противораковыми лекарствами. Их действие разрушения микротрубочек митотического веретена, преимущественно ингибирует гиперпролиферативные клетки. Третья группа состоит из агентов, включающих таксол, который ускоряет полимеризацию тубулина и таким образом стабилизирует структуру микротрубочек.

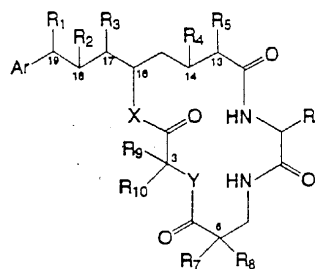
Однако, большинство из них, обладающих активностью в качестве противоопухолевого агента, не гарантирует эффективность против опухолевой

клетки и, конечно, не против опухолевой клетки, которая проявляет фенотип сопротивления лекарству. Алкалоиды Винка, такие как винбластин и винкристин, являются эффективными против опухолевых клеток и опухолей, однако, у них отсутствует активность против некоторых опухолей и клеток с сопротивлением лекарству. Одной из основ опухолевой клетки, проявляющей сопротивление лекарству (DR) или множественное сопротивление лекарству (MDR), является сплошная сверхэкспрессия Р-гликопротеина. Соединения, которые являются плохими субстратами для транспорта Р-гликопротеина, должны быть пригодными для разрушения таких DR или MDR фенотипов.

Таким образом, проявление DR или MDR фенотипа многими опухолевыми клетками и клинически доказанная форма действия противомикротрубочковых агентов против опухолевых клеток делает необходимым развитие анти-микротрубочковых агентов цитотоксических в отношении опухолевых клеток с отсутствием сопротивления лекарству, а также цитотоксических в отношении к опухолевым клеткам с фенотипом сопротивления лекарству. Агенты, которые являются обещающими в этом отношении, включают класс соединений, известных как криптофицины.

Что касается способов получения криптофицинов, в настоящее время не известен способ полного синтеза криптофицинов. Криптофициновые соединения в настоящее время получают путем выделения из зелено-голубых водорослей или путем полу-синтетических вариантов способа таких естественно полученных соединений. Отсутствие полного синтетического способа неизбежно делает трудным получение стереоспецифических криптофицинов, способа, который может привести к максимальной активности и увеличению стабильности соединения. Например, исследование показало, что криптофицины с неактивным макроциклическим кольцом являются более активными. Таким образом, полный синтетический способ, который может давать криптофицины с макроциклическим кольцом, которое является более стабильным, чем в естественно полученных криптофицинах, будет желательным. Настоящее изобретение решает эти проблемы.

Настоящее изобретение обеспечивает новые криптофициновые соединения, имеющие следующую структуру:



где

Ar представляет метил или фенил, или любую простую незамещенную, или замещенную ароматическую, или гетероароматическую группу;

R₁ представляет галоид, SH, amino, моноалкиламино, диалкиламино, триалкиламмоний, алкилтио, диалкилсульфоний, сульфат или фосфат;

R₂ представляет OH или SH; или

R₁ и R₂ могут объединяться вместе с образованием эпоксидного кольца, азиридинового кольца, эписульфидного кольца, сульфатного кольца или моноалкилфосфатного кольца; или

R₁ и R₂ могут объединяться вместе с образованием двойной связи между C₁₈ и C₁₉;

R₃ представляет низшую алкильную группу;

R₄ и R₅ представляют H; или

R₄ и R₅ могут объединяться вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄;

R₆ представляет бензильную, оксibenзильную, алкоксибензильную, галоидоксибензильную, дигалоидоксибензильную, галоидалкоксибензильную или дигалоидалкоксибензильную группу;

R₇, R₈, R₉ и R₁₀ каждый независимо представляют H или низшую алкильную группу; и

X и Y каждый независимо представляют O, NH или алкиламино.

Настоящее изобретение далее обеспечивает общие синтетические способы получения криптофицинов. Настоящее изобретение также обеспечивает применение криптофицинов в фармацевтических препаратах для ингибирования пролиферации клеток млекопитающего и для лечения опухоли.

Фигура 1 представляет общую структуру выбранных криптофициновых соединений настоящего изобретения и систему чисел для оксикислотных элементов A и D и аминокислотных элементов B и C в выбранных вариантах;

Фигуры 2A и 2B графически изображают влияние криптофициновых соединений и винбластина на клеточную пролиферацию Jurkat и прогрессию клеточного цикла. Клетки Jurkat проинкубированы с указанными концентрациями криптофициновых соединений (A) или винбластина (B) в течение 24 часов. Для каждого образца были определены число жизнеспособных клеток ($\square$) и митотический индекс (h), как описано в Экспериментальной части. Величины представляют значение +/- стандартное отклонение (sd) для трех образцов в одном из трех подобных экспериментов;

Фигура 3 графически изображает обратимость влияния винбластина, криптофицинов и таксола на клеточный рост. SKOV3 клетки были обработаны 0.1 nM винбластина (h), 0.1 nM криптофицинов ($\square$) или 1 nM таксола (x) в момент времени =0. Эти концентрации ингибировали клеточный рост на 50% для каждого соединения. Через 24 часа клетки промывали и инкубировали в среде, свободной от лекарства, в течение указанного времени.

Плотность клеток определяли с помощью окрашивания сульфородамино В (SRB), как описано в Экспериментальной части, и экспрессировали в виде +/- sd поглощения при 560 нм для тройных образцов в одном из трех экспериментов;

Фигура 4 изображает изоболограммы для комбинационных эффектов винбластина и криптофицинов на клеточную пролиферацию. SKOV3 клетки были обработаны винбластином (0-600 пкМ) и/или криптофицинами (1-100 пкМ) в течение 48 часов. Затем количество клеток было определено с помощью окрашивания SRB, как описано в Экспериментальной части, и были определены величина IC_{50s} ($\square$) и линия аддитивности (---) для комбинаций винбластина и криптофициновых соединений. Величины представляют значения для двух экспериментов каждый содержащий тройные образцы.

Фигура 5 представляет первую схему синтеза криптофицинов в соответствии с настоящим изобретением;

Фигура 6 представляет схему для получения оксикислотного элемента A;

Фигура 7 представляет схему для получения субъединицы криптофицина, включающей оксикислотный элемент A и аминокислоту B;

Фигура 8 представляет схему для получения субъединицы криптофицина, включающей аминокислотный элемент C и оксикислоту D;

Фигура 9 представляет первую схему для синтеза выбранных криптофицинов в соответствии с настоящим изобретением;

Фигура 10 представляет вторую схему для синтеза выбранных криптофицинов в соответствии с настоящим изобретением;

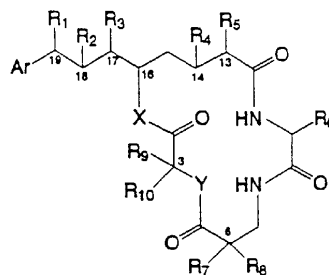
Фигура 11 представляет схему для синтеза субъединицы криптофицина, включающей оксикислоту D;

Фигура 12 представляет третью схему для синтеза выбранных криптофицинов в соответствии с настоящим изобретением;

Фигура 13 представляет четвертую схему для синтеза выбранных криптофицинов в соответствии с настоящим изобретением; и

Фигура 14 представляет пятую схему для синтеза выбранных криптофицинов в соответствии с настоящим изобретением.

Настоящее изобретение обеспечивает новые криптофициновые соединения, имеющие следующую структуру:



где

Ag представляет метил, или фенил, или любую простую незамещенную или замещенную ароматическую или гетероароматическую группу;

R₁ представляет галоид, SH, amino, моноалкилами-но, диалкилами-но, триалкиламмоний, алкилтио, диалкилсульфоний, сульфат или фосфат;

R₂ представляет OH или SH; или

R₁ и R₂ могут объединяться вместе с образованием эпоксидного кольца, азиридинового кольца, эпи-сульфидного кольца, сульфатного кольца или мо-ноалкилфосфатного кольца; или

R₁ и R₂ могут объединяться вместе с образованием двойной связи между C₁₈ и C₁₈

R₃-представляет низшую алкильную группу;

R₄ и R₅ представляют H; или

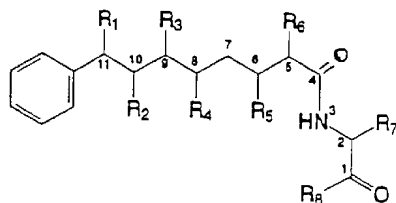
R₄ и R₅ могут объединяться вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄;

R₆ представляет бензильную, оксibenзильную, алкоксибензильную, галоидоксибензильную, дига-лоидоксибензильную, галоидалкоксибензильную или дигалоидалкоксибензильную группу;

R₇, R₈, R₉ и R₁₀ каждый независимо представляют H или низшую алкильную группу; и

X и Y каждый независимо представляют O, NH или алкилами-но.

В одном из аспектов настоящего изобретения обеспечиваются новые криптофициновые соедине-ния, имеющие следующую структуру:



где

R₁ представляет H, OH, галоид, O кетогруппы, NH₂, SH, низшую алкокси группу или низшую алкиль-ную группу;

R₂ представляет H, OH, O кетогруппы, NH₂, SH, низшую алкокси группу или низшую алкильную группу; или

R₁ и R₂ могут объединяться вместе с образованием эпоксидного кольца азиридинового кольца, эпи-сульфидного кольца, или двойной связи между C₁₀ и C₁₁; или

R₁ и R₂ могут объединяться вместе с образованием тетрагидрофуранового кольца;

R₃ представляет H или низшую алкильную группу;

R₄ представляет OH, низшую алканоильную группу или низшую α- оксиалканоилокси группу;

R₅ представляют H или OH группу;

R₆ представляет H; или

R₅ и R₆ могут объединяться вместе с образованием двойной связи между C₅ и C₆;

R₇ представляет бензильную, оксibenзильную, метоксibenзильную, галоидоксибензильную, дигалоидоксибензильную, галоидметоксibenзиль-ную или дигалоидметоксibenзильную группу;

R₈ представляет OH, низшую β-аминокислоту, C₁ связывается с N β- аминокислоты, или этерифици-рованной низшей β-аминокислоты, где C₁ связыва-ется с N этерифицированной низшей β-аминокислотной группы;

R₄ и R₈ могут объединяться вместе с образованием дидепсипептидной группы, состоящей из низшей β-аминокислоты, связанной с низшей α-оксиалкановой кислотой; и

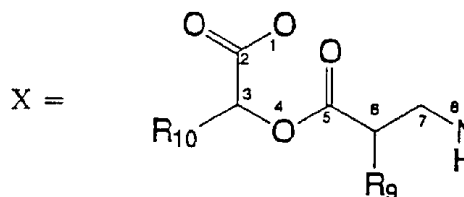
R₅ и R₈ могут объединяться вместе с образованием дидепсипептидной группы, состоящей из низшей β-аминокислоты, связанной с низшей α-оксиалкановой кислотой; и

со следующими условиями:

R₁ представляет H, низшую алкильную группу или низшую алкокси группу только, если R₂ представ-ляет OH, O кетогруппы, NH₂, SH;

R₂ представляет H, низшую алкильную группу или низшую алкокси группу только, если R₁ - представляет OH, O кетогруппы, NH₂, SH;

если R₁ представляет OH, R₂ представляет OH, R₃ представляет метил, R₅ и R₆ могут объединяться вместе с образованием двойной связи между C₅ и C₆, R₄ и R₈ объединяются вместе с образованием дидепсипептидной группы со структурой X:



где O₁ указанного X соответствует R₄, N₈ указанно-го X соответствует R₈, R₉ представляет метил и R₁₀ представляет изобутил, R₇ не является 3-хлор-4-метоксibenзилом;

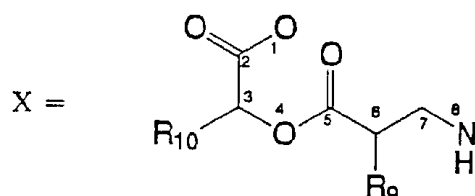
если R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием эпоксидного кольца, R₉ представляет метил, R₅ и R₆ объединяются вместе с образованием двойной свя-зи между C₅ и C₆, R₄ и R₈ объединяются вместе с образованием дидепсипептида со структурой X, R₉ представляет метил и R₁₀ представляет изобутил, R₇ не является 3-хлор-4-метоксibenзилом;

если R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₀ и C₁₁, R₃ представляет метил, R₅ и R₆ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₅ и C₆, R₄ и R₈ объединя-ются вместе с образованием дидепсипептида со структурой X, R₉ представляет метил и R₁₀ пред-ставляет изобутил, R₇ не является 3-хлор-4-метоксibenзилом; и

если R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием эпоксидной группы, R₉ представляет метил, R₅ и R₉ объединяются вместе с образованием двойной свя-зи между C₅ и C₆, R₄ связывается с концевой кар-боксильной группой лейциновой кислоты и R₈ присоединяется к азоту концевой группы либо 3-амино-2-метилпропионовой кислоты, либо метило-вого эфира 3-амино-2- метилпропионовой кислоты, R₇ не является 3-хлор-4-метоксibenзилом.

Изобретение далее обеспечивает криптофициновые соединения, где, по крайней мере, одна из групп, присоединенных в C₂, C₈, C₉, C₁₀ и C₁₁, обладает R стереохимией. В дальнейшем варианте изобретения, по крайней мере, одна из групп, присоединенных в C₂, C₈, C₉, C₁₀ и C₁₁, обладает S стереохимией.

Изобретение далее обеспечивает криптофициновые соединения в соответствии с приведенной выше структурой, где структура дидепсипептида, который образуется, если R₄ или R₅ объединяется вместе с R₈, имеет следующую структуру X:



где O₁ указанного X соответствует R₄ или R₅, N₈ указанного X соответствует R₈, R₉ представляет H или низшую алкильную группу и R₁₀ представляет H или низшую алкильную группу.

Следующие термины, как они использованы здесь, имеют указанные значения, если не оговорено противоположное значение, четко имеются в виду из использования в контексте:

“низшая β-аминокислота” подразумевает β-аминокислоту, имеющую от трех до восьми атомов углерода, и включает линейные и не-линейные углеводородные цепи; например, 3-амино-2-метилпропионовую кислоту.

“Этерифицированная низшая β-аминокислота” подразумевает β-аминокислоту, имеющую от трех до восьми атомов углерода, где водород карбоксильной группы замещается метильной группой; например метиловый эфир 3-амино-2-метилпропионовой кислоты.

“Низшая алканоиокси группа” подразумевает алканоиокси группу с одним- семью атомами углерода и включает линейные и не-линейные углеводородные цепи.

“Низшая α-оксиалканоиокси группа” подразумевает α-оксиалканоиокси группу с двумя- семью атомами углерода и включает линейные и не-линейные углеводородные цепи, например, 2-окси-4-метилвалерьяновую кислоту.

“Низшая алкоксильная группа” подразумевает любую алкильную группу с одним- пятью атомами углерода, связанными с атомом кислорода.

“Низшая алкильная группа” подразумевает ал-

11

кильную группу с одним- пятью атомами углерода и включает линейные и не-линейные углеводородные цепи, включающие, например, метильные, этильные, пропильные, изопропильные, бутильные, изобутильные, трет-бутильные, сескви-бутильные, метилированные бутильные группы, пентильные и трет-пентильные группы.

“Аллильно замещенный алкен” подразумевает алкен, который содержит алкильный заместитель.

“Эпоксидное кольцо” подразумевает трех-членное кольцо, чей скелет состоит из двух атомов углерода и атома кислорода.

“Азиридиновое кольцо” подразумевает трех-членное кольцо, чей скелет состоит из двух атомов углерода и атома азота.

“Эписульфидное кольцо” подразумевает трех-членное кольцо, чей скелет состоит из двух атомов углерода и атома серы.

“Сульфатное кольцо” подразумевает пяти-членное кольцо, состоящее из углерод-углерод-кислород-сера-кислородного скелета с двумя дополнительными атомами кислорода, связанными с атомом серы.

“Мономалкилфосфатное кольцо” подразумевает пятичленное кольцо, состоящее из углерод-углерод-кислород-фосфор-кислородного скелета с двумя дополнительными атомами кислорода, один из которых содержит низшую алкильную группу, соединенную с атомом фосфора.

“Простая незамещенная ароматическая группа” относится к обычным ароматическим кольцам, содержащим 4n+2 p-электронов в моноциклической сопряженной системе (например, фурил, пирролил, тиснил, пиридил) или бициклической сопряженной системе (например, индолил или нафтил).

“Простая замещенная ароматическая группа” относится к фенильной группе, замещенной единичной группой (например, низшей алкильной группой или галоидом).

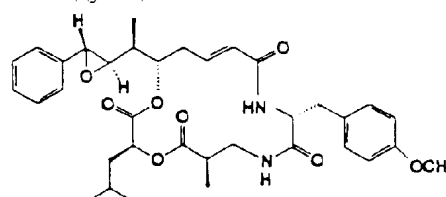
“Гетероароматическая группа” относится к ароматическим кольцам, которые содержат один или больше неуглеродных заместителей, таких как кислород, азот или сера.

“Галоид” относится к тем членам группы в периодической таблице элементов, которые известны как галоиды. Способы галоидирования включают, но не ограничиваются ими, присоединение галоидоводородов, замещение при повышенной температуре, фотогалоидирование и т.д. и такие способы известны специалистам в этой области.^{1,2}

Один из вариантов криптофицинового соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием эпоксидной группы, R₃ представляет метил, R₅ и R₆ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₅ и C₆, R₇ представляет 4-метоксибензил и R₄ и R₈ объединяются вместе с образованием дидепсипептида со структурой X, где R₉ представляет метил и R₁₀ представляет изобутил.

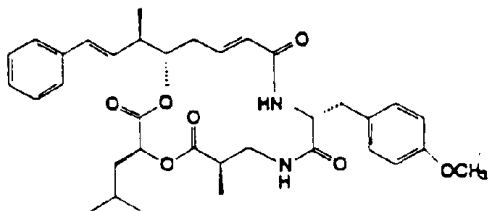
12

Структура этого соединения, Криптофицина 2, является следующей:



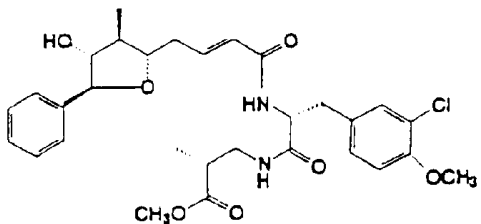
Криптофицин 2

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₀ и C₁₁ атомами углерода, R₃ представляет метил, R₅ и R₆ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₅ и C₆, R₇ представляет 4-метоксибензил и R₄ и R₈ объединяются вместе с образованием дидепсипептида со структурой X, где R₉ представляет метил и R₁₀ представляет изобутил. Структура этого криптофицинового соединения, Криптофицина 4, является следующей:



Криптофицин 4

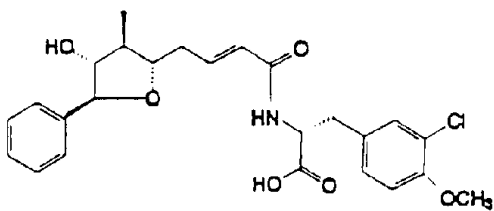
Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ и R₄ объединяются вместе с образованием тетрагидрофуранового кольца, R₂ представляет ОН группу, R₃ представляет метил, R₅ и R₆ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₅ и C₆, R₇ представляет 3-хлор-4-метоксибензил и R₈ представляет (2- карбометоксипропил)амино группу. Структура этого соединения, Кристофицина 6, является следующей:



Криптофицин 6

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ и R₄ объ-

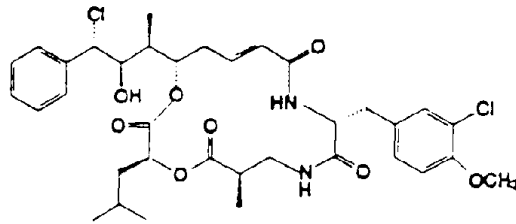
единяются вместе с образованием тетрагидрофуранового кольца, R₂ и R₈ являются ОН группами, R₃ представляет метил, R₅ и R₆ объединяются вместе с образованием двойной связи между С₅ и С₆ таким образом, что представляют двойную связь, R₇ представляет 3-хлор-4-метоксибензил. Структура этого соединения, Криптофицина 7, является следующей:



Криптофицин 7

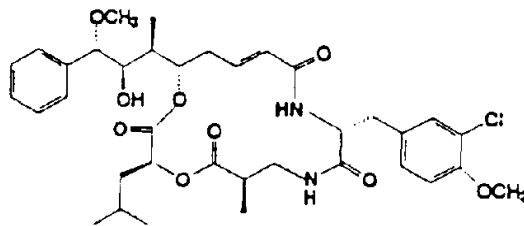
Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ представляет хлор, R₂ представляет ОН группу, R₃ пред-

ставляет метил, R₅ и R₆ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₅ и C₆, R₇ представляет 3-хлор-4-метоксибензил и R₄ и R₈ объединяются вместе с образованием дидепсипептида со структурой X, где R₉ представляет метил и R₁₀ представляет изобутил. Структура этого соединения, Кристофицина 8, является следующей:



Криптофицин 8

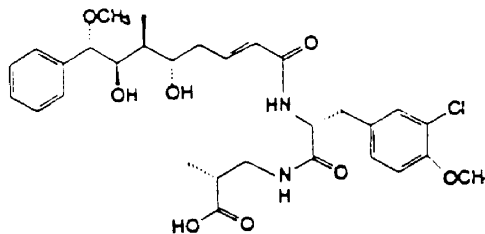
Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ представляет метокси группу, R₂ представляет ОН группу, R₃ представляет метил, R₅ и R₆ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₅ и C₆, R₇ представляет 3-хлор-4-метоксибензил и R₄ и R₈ объединяются вместе с образованием дидепсипептида со структурой X, где R₉ представляет метил и R₁₀ представляет изобутил. Структура этого соединения, Криптофицина 9, является следующей:



Криптофицин 9

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ представляет метокси группу, R₂ и R₄ являются ОН группами, R₃ представляет метил, R₅ и R₆ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₅ и C₆, R₇ представляет 3-хлор-4-метоксибензил и R₈

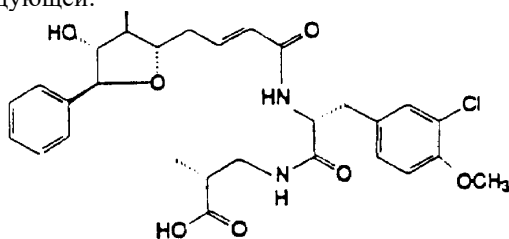
представляет (2-карбоксипропил)амино группу. Структура этого соединения, Кристофицина 10, является следующей:



Криптофицин 10

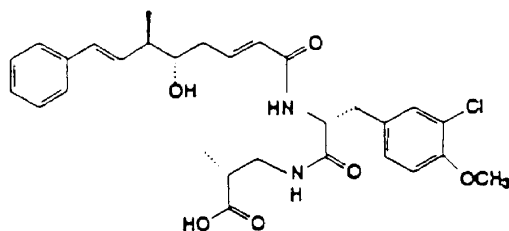
Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ и R₄ объединяются вместе с образованием тетрагидрофуранового кольца, R₂ представляет ОН группу, R₃ представляет метил, R₅ и R₆ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₅ и C₆, R₇

представляет 3-хлор-4-метоксибензил и R₈ представляет (2- карбоксипропил)амино группу. Структура этого соединения, Кристофицина 12, является следующей:



Кристофицин 12

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₀ и C₁₁ атомами углерода, R₃ представляет метил, R₄ представляет OH группу, R₅ и R₆ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₅ и C₆, R₇ представляет 3-хлор-4-метоксибензил и R₈ представляет (2- карбоксипропил)амино группу. Структура этого соединения, Кристофицина 14, является следующей:

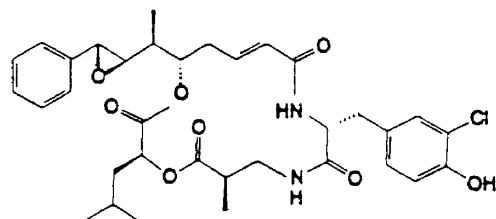


Кристофицин 14

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием эпоксидной группы, R₃ представляет метил, R₅ и R₆ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₅ и C₆, R₇ представляет 3-хлор-4-гидроксибензил и R₄ и R₈ объединяются вместе с образованием ди-

15

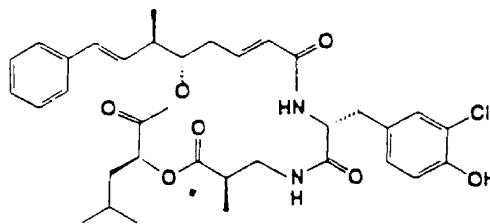
депсипептида со структурой X, где R₉ представляет метил и R₁₀ представляет изобутил. Структура этого соединения, Кристофицина 16, является следующей:



Кристофицин 16

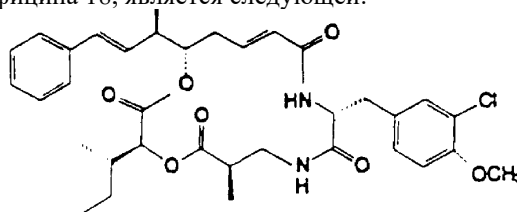
Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₀ и C₁₁ атомами углерода, R₃ представляет метил, R₅ и R₆ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₅ и C₆, R₇ представляет 3-хлор-4-гидроксибензил и R₄ и R₈ объединяются вместе с образованием дидепсипептида со структу-

рой X, где R₉ представляет метил и R₁₀ представляет изобутил. Структура этого соединения, Кристофицина 17, является следующей:



Кристофицин 17

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₀ и C₁₁ атомами углерода, R₃ представляет метил, R₅ и R₆ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₅ и C₆, R₇ представляет 3-хлор-4-метоксибензил и R₄ и R₈ объединяются вместе с образованием дидепсипептида со структурой X, где R₉ представляет метил и R₁₀ представляет втор-бутил. Структура этого соединения, Кристофицина 18, является следующей:

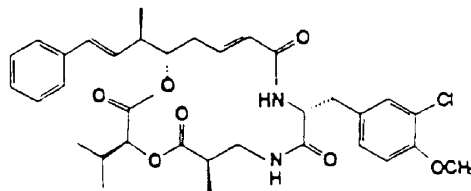


Кристофицин 18

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₀ и C₁₁ атомами углерода, R₃ представляет метил, R₅ и R₆ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₅ и C₆, R₇ представляет 3-хлор-4-метоксибензил и R₄ и R₈ объединяются вместе с образованием дидепсипептида со структу-

16

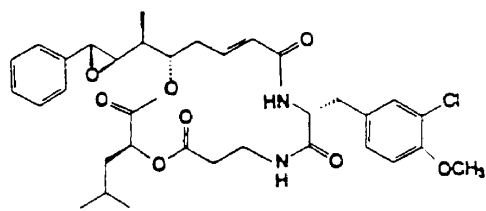
рой X, где R₉ представляет метил и R₁₀ представляет изопропил. Структура этого соединения, Кристофицина 19, является следующей:



Кристофицин 19

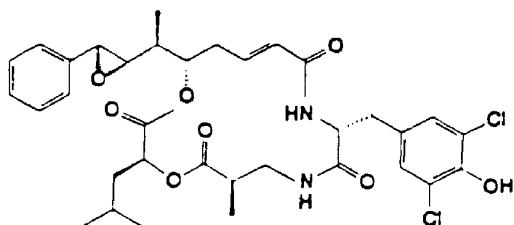
Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием эпоксидного кольца, R₃ представляет метил, R₅ и R₆ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₅ и C₆, R₇ представляет 3-хлор-4-метоксибензил и R₄ и R₈ объединяются вместе с образованием дидепсипептида со структурой X, где R₉ представляет водород и R₁₀ представляет изобутил. Структура

этого соединения, Кристофицина 21, является следующей:



Кристофицин 21

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием эпоксидного кольца, R₃ представляет метил, R₅ и R₆ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₅ и C₆, R₇ представляет 3,5-дихлор-4-гидроксibenзил и R₄ и R₈ объединяются вместе с образованием дидепсипептида со структурой X, где R₉ представляет метил и R₁₀ представляет изобутил. Структура этого соединения, Кристофицина 23, является следующей:

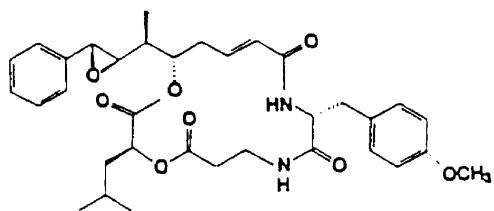


Кристофицин 23

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием эпоксидного кольца, R₃ представляет метил, R₅ и R₆ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₅ и C₆, R₇ представляет 4-метоксибензил и R₄ и R₈ объединяются вместе с образованием дидепсипеп-

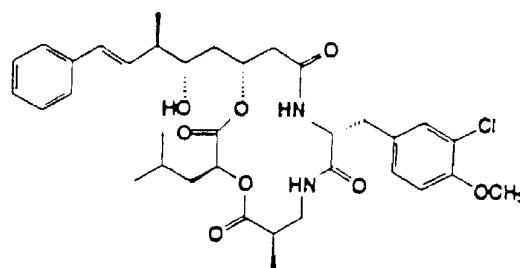
17

тида со структурой X, где R₉ представляет водород и R₁₀ представляет изобутил. Структура этого соединения, Кристофицина 24, является следующей:



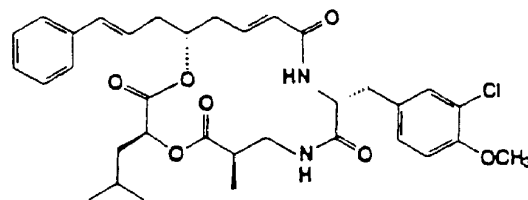
Кристофицин 24

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₀ и C₁₁ атомами углерода, R₃ представляет метил, R₄ представляет гидрокси, R₆ представляет водород, R₇ представляет 3-хлор-4-метоксибензил и R₅ и R₈ объединяются вместе с образованием дидепсипептида со структурой X, где R₉ представляет метил и R₁₀ представляет изобутил. Структура этого соединения, Кристофицина 26, является следующей:



Кристофицин 26

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₀ и C₁₁ атомами углерода, R₃ представляет водород, R₅ и R₈ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₅ и C₆, R₇ представляет 3-хлор-4-метоксибензил и R₄ и R₈ объединяются вместе с образованием дидепсипептида со структурой X, где R₉ представляет метил и R₁₀ представляет изобутил. Структура этого соединения, Кристофицина 28, является следующей:

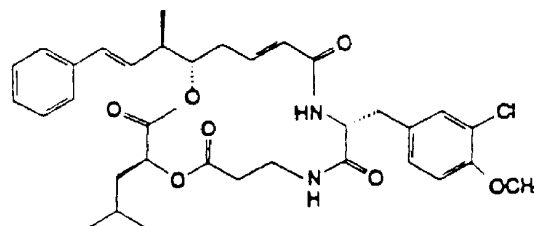


Кристофицин 28

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₀ и C₁₁ атомами углерода, R₃ представляет водород, R₅ и R₈ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₅ и C₆, R₇ представляет 3-хлор-4-метоксибензил и R₄ и R₈ объединяются

18

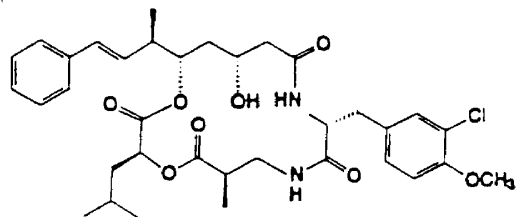
вместе с образованием дидепсипептида со структурой X, где R₉ представляет водород и R₁₀ представляет изобутил. Структура этого соединения, Кристофицина 29, является следующей:



Кристофицин 29

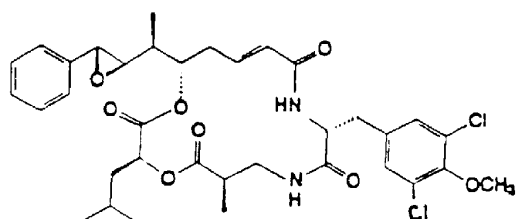
Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₀ и C₁₁ атомами углерода, R₃ представляет метил, R₅ представляет гидрокси, R₆ представляет водород, R₇ представляет 3-хлор-4-метоксибензил и R₄ и R₈ объединяются вместе с образованием дидепсипептида со структурой X, где R₉ представляет метил и R₁₀ представляет изобутил. Структура это-

го соединения, Кристофицина 30, является следующей:



Кристофицин 30

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием эпоксидной группы, R₃ представляет метил, R₅ и R₆ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₅ и C₆, R₇ представляет 3,5-дихлор-4-метоксибензил и R₄ и R₈ объединяются вместе с образованием дидепсипептида со структурой X, где R₉ представляет метил и R₁₀ представляет изобутил. Структура этого соединения, Кристофицина 31, является следующей:

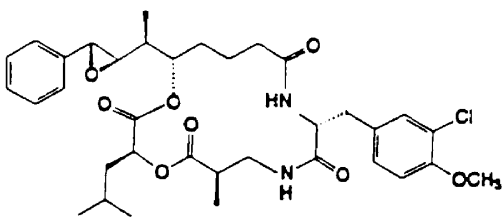


Кристофицин 31

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием эпоксидной группы, R₃ представляет метил, R₅ представляет

19

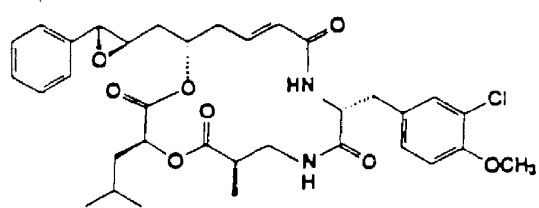
гидрокси, R₆ представляет водород, R₇ представляет 3-хлор-4-метоксибензил и R₄ и R₈ объединяются вместе с образованием дидепсипептида со структурой X, где R₉ представляет метил и R₁₀ представляет изобутил. Структура этого соединения, Кристофицина 35, является следующей:



Кристофицин 35

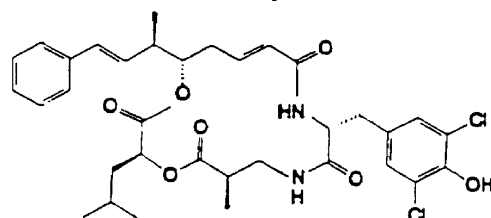
Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием эпоксидной группы, R₃ представляет водород, R₅ и R₆ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₅ и C₆, R₇ представляет 3-хлор-метоксибензил, и R₄ и R₈ объединяются вместе с образованием дидепсипептида со структурой X, где R₉ представляет метил и R₁₀ представляет изобутил. Структура

этого соединения, Кристофицина 40, является следующей:



Кристофицин 40

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₀ и C₁₁ атомами углерода, R₃ представляет водород, R₅ и R₆ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₅ и C₆, R₇ представляет 3,5-дихлор-гидроксибензил, и R₄ и R₈ объединяются вместе с образованием дидепсипептида со структурой X, где R₉ представляет метил и R₁₀ представляет изобутил. Структура этого соединения, Кристофицина 45, является следующей:

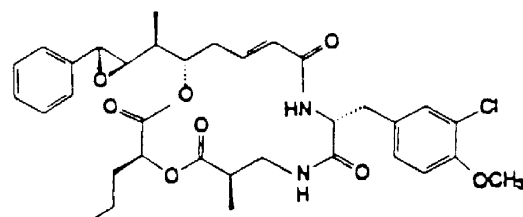


Кристофицин 45

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием эпоксидной группы, R₃ представляет метил, R₅ и R₆ объединяются вместе с образованием двойной связи между

20

C₅ и C₆, R₇ представляет 3-хлор-метоксибензил, и R₄ и R₈ объединяются вместе с образованием дидепсипептида со структурой X, где R₉ представляет метил и R₁₀ представляет пропил. Структура этого соединения, Кристофицина 49, является следующей:

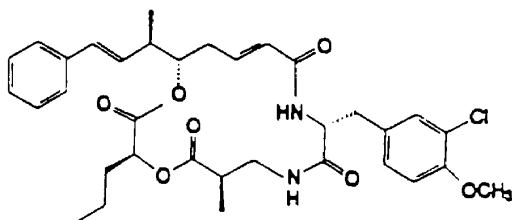


Кристофицин 49

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₀ и C₁₁ атомами углерода, R₃ представляет водород, R₅ и R₆ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₅ и C₆, R₇ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, и R₄ и R₈ объединяются вместе с образованием дидепсипептида со структурой X, где R₉ представляет метил и R₁₀ представля-

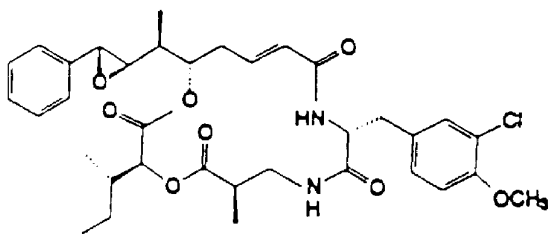
347

ет пропил. Структура этого соединения, Кристофицина 50, является следующей:



Кристофицин 50

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, где R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием эпоксидной группы, R₃ представляет метил, R₅ и R₆ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₅ и C₆, R₇ представляет 3-хлор-метоксибензил, и R₄ и R₈ объединяются вместе с образованием дидепсипептида со структурой X, где R₉ представляет метил и R₁₀ представляет втор-бутил. Структура этого соединения, Кристофицина 54, является следующей:



Кристофицин 54

Из вышеприведенных соединений, Кристофицины 2, 4, 16-19, 21, 23, 24, 26, 28-31, 40, 43, 45, 49, 50 и 54 являются метаболитами, продуцированными штаммом *Nostoc* sp. зелено-голубых водорослей

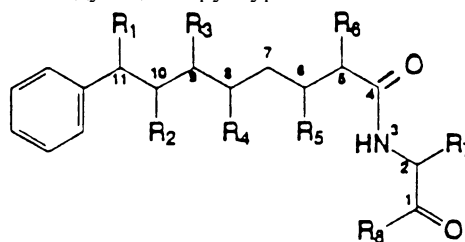
21

(цианобактерий), которые были культивированы этими соединениями, впоследствии выделенными из этой культуры. Кристофицины 6 и 7 являются артефактами, которые продуцируются, если процедура выделения использует растворители, содержащие метанол. Кристофицины 8, 9, 10-12, 14 и 35 являются производными этих естественно продуцированных метаболитов, которые были химически модифицированы способами, описанными в Экспериментальной части этой заявки, с альтернативными способами для создания приведенных в качестве примеров соединений, а также не приведенных в качестве примеров соединений, доступных для специалистов в этой области.

Настоящее изобретение обеспечивает способы продуцирования вышеприведенных кристофициновых соединений за счет культивирования штамма *Nostoc* sp.. Морфологические характеристики *Nostoc* sp. зелено-голубых водорослей (цианобактерий), как они раскрыты в патенте США 4946835, являются такими, что они являются нитевидными и состоят из растительных клеток. В более длинных волокнах гетероцисты периодически наблюдаются в интеркалярном положении; акинеты не наблюдаются. Репродуцирование происходит за счет гормо-

гоний дополнительно к статистическим трихомным разрывам. Основа для идентификации *Nostoc* sp. может быть найдена в J.Gen.Micro., 111:1-61 (1979).

Изобретение далее обеспечивает тот вариант, в котором *Nostoc* sp. могут быть культивированными и новые кристофициновые метаболиты, а также и предварительно описанные кристофициновые метаболиты, могут быть выделены из этой культуры. В предпочтительном варианте настоящего изобретения штамм *Nostoc* sp., обозначенный GSV 224, представляет штамм, который культивируется и из которого выделяются соединения, представленные следующей структурой:



где

R₁ представляет Н, ОН, галоид, О кетонной группы, NH₂, SH, низшую алкоксильную группу или низшую алкильную группу;

R₂ представляет Н, ОН, О кетонной группы, NH₂, SH, низшую алкоксильную группу или низшую алкильную группу; или

R₁ и R₂ могут объединяться вместе с образованием эпоксидного кольца, азиридинового кольца, эписульфидного кольца или двойной связи между C₁₀ и C₁₁; или

R₁ и R₂ могут объединяться вместе с образованием тетрагидрофуранового кольца;

R₃ представляет Н или низшую алкильную группу;

22

R₄ представляют ОН, низшую алканоилокси группу или низшую α-оксиалканоилокси группу;

R₅ представляют Н или ОН группу;

R₆ представляет Н; или

R₅ и R₆ могут объединяться вместе с образованием двойной связи между C₅ и C₆;

R₇ представляет бензильную, оксibenзильную, метоксибензильную, галоидоксибензильную, дигалоидоксибензильную, галоидметоксибензильную или дигалоидметоксибензильную группу;

R₈ представляют ОН, низшую β-аминокислоту, где C₁ связывается с N β-аминокислоты, или этерифицированную низшую β-аминокислоту, где C₁ связывается с N этерифицированной β-аминокислотной группы;

R₄ и R₈ могут объединяться вместе с образованием дидепсипептидной группы, состоящей из низшей β-аминокислоты, связанной с низшей α-оксиалканоильной кислотой; или

R₅ и R₈ могут объединяться вместе с образованием дидепсипептидной группы, состоящей из низшей β-аминокислоты, связанной с низшей α-оксиалканоильной кислотой;

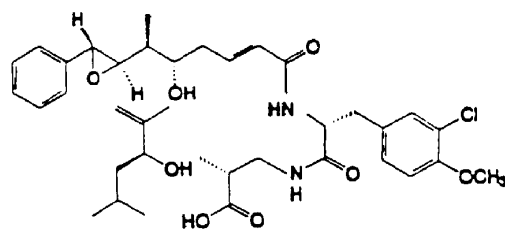
при следующих условиях:

347

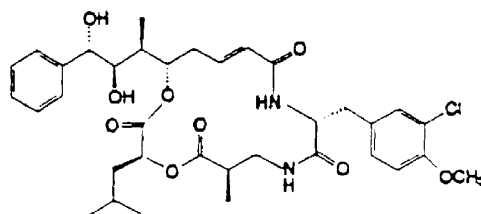
R₁ представляет H, низшую алкильную группу или низшую алкоксильную группу только, если R₂ представляет OH, O кетонной группы, NH₂, SH.

В предпочтительном варианте изобретения химически модифицированный криптофициновый метаболит, выделенный вышеописанным способом, точно обеспечивает соединение, также имеющее эту структуру. Способы химической модификации криптофициновых соединений с получением дополнительных соединений в пределах объема настоящего изобретения являются доступными специалистам в этой области. Однако, дополнительные способы описываются более детально в Экспериментальной части этой заявки.

Дополнительно к новым криптофициновым соединениям настоящего изобретения, настоящее изобретение обеспечивает новые способы получения, а также применения вышеприведенных соединений, которые включают следующие ранее раскрытые криптофициновые соединения, Криптофицины 1, 3, 5, 13 и 15. Структуры этих соединений являются следующими:

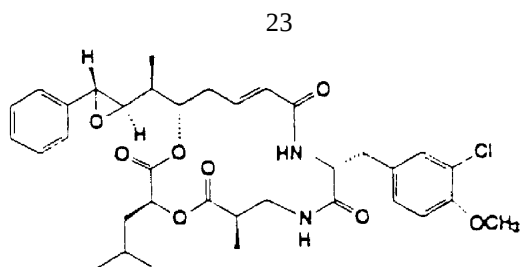


Криптофицин 13

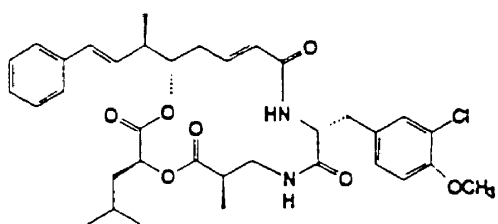


Криптофицин 15

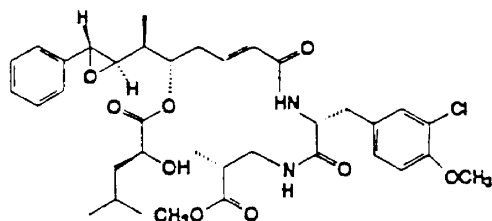
Изобретение при этом направляется на обеспечение любого штамма *Nostoc* sp. и, предпочтительно на обеспечение штамма *Nostoc* sp., GSV 224, для продуцирования криптофициновых соединений. С этой целью GSV 224, штамм *Nostoc* sp., был помещен в банк данных 7 октября 1993 согласно Budapest Treaty Международного банка данных микроорганизмов с целью процедуры патентования с патентной культурой, помещенной в банк данных



Криптофицин 1



Криптофицин 3



Криптофицин 5

347

24

коллекции American Type Culture, 12301 Parklawn Drive, Rockville, Maryland 20852 U.S.A. под номером ATCC Acession № 55483. Другие штаммы *Nostoc* sp., в частности, штамм МБ 5357, ранее помещенные в банк данных Merck and Co, под номером ATCC №53789, представляют штаммы, которые могут быть рассмотрены для использования в практике настоящего изобретения.

Как это имеет место с другими организмами, характеристики *Nostoc* sp., подвергаются изменениям. Например, могут быть получены рекомбинанты, варианты или мутанты специфических штаммов путем обработки различными известными физическими или химическими мутагенами, такими как ультрафиолетовое излучение, радиационное излучение, гамма-излучение или путем обработки N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидином. Все естественные и индуцированные варианты, мутанты и рекомбинанты специфических штаммов, которые сохраняют характеристики продуцирования криптофицинового соединения, включаются в пределы объема заявленного изобретения.

Криптофициновые соединения настоящего изобретения могут быть получены культивированием штамма *Nostoc* sp. в аэробных условиях, погруженных в соответствующую культурную среду до продуцирования, в основном, антибиотиковой активности. Другие приемы использования культуры, такие как рост на поверхности на отвержденной среде также могут быть использованы для продуцирования этих соединений. Культурные среды, использованные для роста специфических штам-

мов, могут включать любую среду из многих азотных и углеродных источников и неорганических солей, которые известны специалистам в этой области. Экономия в процессе продуцирования, оптимальные выходы и легкость выделения продукта являются теми факторами, которые принимаются в расчет при выборе углеродных источников и источников азота, которые используются. Среди питательных неорганических солей, которые могут быть введены в культурные среды, используются обычные растворимые соли, способные давать ионы железа, калия, натрия, магния, кальция, аммония, хлорида, карбоната, фосфата, сульфата, нитрата и им подобные ионы.

Следы ценных элементов, которые являются необходимыми для роста и развития организмов, должны быть также включены в культурную среду. Такие следы ценных элементов обычно присутствуют в виде примесей в других составляющих среды в количествах, достаточных для того, чтобы удовлетворять требованиям роста организмов. Может быть желательным добавление небольших количеств (т.е. 0.2 мл/л) антивспенивающего агента, такого как полипропиленгликоль (с мол. весом около 2000) для крупномасштабного культивирования среды, если вспенивание становится проблемой.

Для получения значительных количеств криптофициновых соединений может быть использовано аэробное культивирование с погружением в танки. Небольшие количества могут быть получены с использованием культуры во встряхиваемой кол-

25

бе. Так как время задержки в проявлении продуцирования метаболита обычно связывается с инокуляцией больших танков организмами, предпочтительным является использование вегетативного инокулюма. Вегетативный инокулюм готовится путем инокуляции культурной среды малого объема фрагментами вегетативной трихомы или формой организма, содержащей гетероцисты для получения свежей, активно растущей культуры организма. Вегетативный инокулюм затем переносится в большой танк. Среда, использованная для вегетативного инокулюма, может быть такой же как та, которая использовалась для крупномасштабных культиваций или ферментаций, но может быть использована и другая среда.

Организмы могут быть выращены при температурах между 20°C и 30°C и интенсивности падающего излучения от около 100 до 200 мкмоль фотонов м⁻² сек⁻¹ (фотосинтетически активного излучения).

Как это является обычным в процессах аэробно погруженной культуры этого типа, газообразная двуокись углерода вводится в культуру путем добавления в стерильный воздушный поток пробулькиваемый через культурную среду. Для эффективного получения криптофициновых соединений, количество двуокиси углерода должно составлять около 1% (при 24°C и давлении одна атмосфера).

Ранее известные приемы, в частности, патент США 4946835, обеспечивает способы культивирования *Nostoc sp.*, содержание которого вводится здесь ссылкой.

Производство криптофицинового соединения может протекать в процессе культивирования испытываемыми образцами бульона по отношению к организмам, которые, как известно, являются чувствительными к этим антибиотикам. Одним из пригодных проверенных организмов является *Candida albicans*.

После их получения в аэробных условиях погруженной культуры, криптофициновые соединения изобретения могут быть выделены из культуры и из культурной среды способами, известными специалистам в этой области. Выделение обычно сопровождается первоначально фильтрованием культурной среды для отделения клеток водоросли и затем лиофильной сушкой выделенных клеток. Лиофильно высушенные водоросли могут быть подвергнуты экстрагированию подходящим растворителем, таким как этанол, метанол, изопропанол или дихлорметан. Криптофицины могут быть выделены за счет того, что этот экстракт, а также культурная среда подвергаются быстрому хроматографированию на колонке с обращенной фазой. Криптофицины могут быть очищены с помощью жидкостной гель проникающей хроматографии с обращенной фазой (HPLC).

Как будет очевидно из структур криптофицинов, криптофициновые соединения содержат группы, которые являются способными к химической

347

модификации. Исходное соединение настоящего изобретения рассматривает те криптофицины, которые обладают противо-опухолевой активностью. Например, производные, приведенные в качестве примера в настоящем изобретении, включают соединения, содержащие эпоксидный кислород или гидроксильные группы на С-7 и С-8 звене А или группу лейциновой кислоты звена В Фигуры 1. Такие производные новых и ранее описанных соединений, которые обладают желаемой противо-опухолевой активностью, включаются в заявляемое изобретение. Кроме того, связь между структурой криптофициновых соединений и противо-опухолевой активностью обеспечивается в Экспериментальной части, приведенной ниже.

В то время как выбранные криптофициновые соединения, которые, как известно, являются метаболитами, продуцируемыми водорослями настоящего изобретения, другие криптофициновые соединения, например Криптофицины 8-15, могут быть получены из метаболитов с использованием опубликованных приемов, которые являются известными специалистам в этой области; например, синтезом, описанным в патентах США 4868208, 4845086 и 4845085, содержание которых вводится здесь ссылкой, или за счет использования других способов, известных специалистам в этой области. Кроме того, настоящее изобретение в Эксперимен-

26

тальной части обеспечивает способы получения производных.

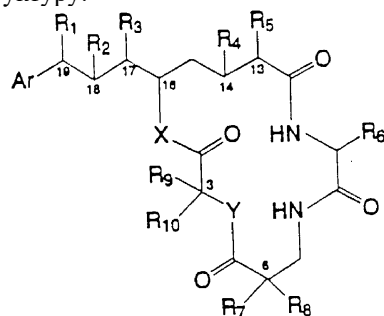
Криптофицины являются мощными противоопухолевыми и противогрибковыми депептидами из зелено-голубых водорослей (цианобактерий), принадлежащих к *Nostocaceae*. Первое криптофициновое соединение, Криптофицин 1, было выделено из живущего на земле *Nostoc* sp., ATCC 53789, и было найдено, что он является очень активным против грибов, особенно штамм *Cryptococcus* (R.E. Schwarz et.al., *J.Ind.Microbiol.* 1990, 5:113-124). Криптофицин 1 был также выделен из живущего на земле *Nostoc* sp. GSV 224, вместе с 24 дополнительными аналогами криптофицина в виде минимальных составляющих водоросли и было найдено, что оно является очень активным против подкожно трансплантированных твердых опухолей у мышей (G.Trimurtulu et.al., *J.Am.Chem.Soc.* 1994, 16:4729-4737; R.Borrow et.al., *J.Am.Chem.Soc.* 1995, 117: 2479-2490). Два аналога из *Nostoc* sp., GSV 224, Криптофицины 3 и 5, были описаны ранее в виде полу-синтетических аналогов Криптофицина 1 (D.F.Sesin, патент США 4845085, опубликованный 4 июля 1989; D.F.Sesin et.al., патент США 4868208, опубликованный 19 сентября 1989). Криптофицины проявляли значительную селективную цитотоксичность к опухоли в анализе Corbett и были в равной степени цитотоксичными по отношению к опухолевым клеткам, чувствительным к лекарству, и к опухолевым клеткам с сопротивлением лекарству. Криптофицин 1 проявляет такую же форму действия как винбластин, но отличается от последнего лекарства в необратимости

27

ингибирования микротрубочкового ансамбля (C.D.Smith et.al., *Cancer Res.* 1994, 54:3779-3784). Один из криптофицинов из *Nostoc* sp., GSV 224, Криптофицин 24, был выделен из морской губки и назван ареностатином А (M.Kobayashi et.al., *Tetrahedron Lett.* 1994, 35:7969-72; M.Kobayashi et.al., *Tennen Yuki Kagobutsu Toronkai KoenYoshishu* 1994, 36st, 104-110).

Двадцать два дополнительных криптофициновых соединения, обозначенных здесь Криптофицинами 2, 4, 6, 7, 16-19, 21, 23, 24, 26, 28-31, 40, 43, 45, 49, 50 и 54, раскрываются в патентной заявке № 08/172632, поданной 21 декабря 1993, и 08/249955, поданной 27 мая 1994, и Международной заявке № PCT/US94/14740, поданной 21 декабря 1994, такие соединения являются либо метаболитами, выделенными из штамма *Nostoc* sp., либо полученными полу-синтетическим путем из таких метаболитов. Кроме того, раскрытое в этих патентных заявках является характеристикой выбранных криптофициновых соединений в качестве анти-микротрубоччатых агентов с активностью клинического типа, проявляемой в отношении широкого спектра опухолей, имплантированных мышам, включая DR и MDR опухоли.

Настоящее изобретение обеспечивает новые криптофициновые соединения, имеющие следующую структуру:



где

Ar представляет метил, или фенил, или любую простую незамещенную, или замещенную ароматическую или гетероароматическую группу;
R₁ -представляет галоид, SH, amino, моноалкиламино, диалкиламино, триалкиламмоний, алкилтио, диалкилсульфоний, сульфат или фосфат;
R₂ представляет OH или SH; или
R₁ и R₂ могут объединяться вместе с образованием эпоксидного кольца, азиридинового кольца, эписульфидного кольца, сульфатного кольца или моноалкилфосфатного кольца; или
R₁ и R₂ могут объединяться вместе с образованием двойной связи между C₁₈ и C₁₉;
R₃ представляет низшую алкильную группу;
R₄ и R₅ представляют H; или
R₄ и R₅ могут объединяться вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄;
R₆ представляет бензильную, оксибензильную,

347

28

алкоксибензильную, галоидоксибензильную, дигалоидоксибензильную, галоидалкоксибензильную или дигалоидалкоксибензильную группу;
R₇, R₈, R₉ и R₁₀ каждый независимо представляют H или низшую алкильную группу; и
X и Y каждый независимо представляют O, NH или алкиламино.

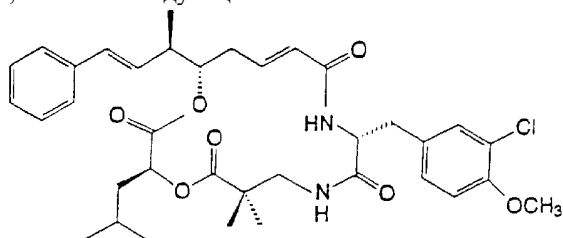
В предпочтительном варианте этого криптофицинового соединения, R₈ криптофицина представляет этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, пентил или изопентил. В другом предпочтительном варианте этого криптофицинового соединения R₇ представляет этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, пентил или изопентил. В дополнительном предпочтительном варианте этого криптофицинового соединения R₇ представляет H, R₈ представляет метил, R₃ представляет метил; X и Y не являются оба O.

Настоящее изобретение обеспечивает дополнительный предпочтительный вариант этого криптофицинового соединения, где R₃ представляет этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, пентил или изопентил. В другом предпочтительном варианте этого криптофицинового соединения R₉ представляет метил, этил, пропил, бутил, изобутил, пентил или изопентил. В другом предпочтительном варианте этого криптофицинового соединения R₁₀

представляет метил, этил, пропил, бутил, изобутил, пентил или изопентил.

Изобретение далее обеспечивает криптофициновые соединения, где, по крайней мере, одна из групп, присоединенных к C₃, C₆, C₁₀, C₁₆, C₁₇, и C₁₈ обладает R стереохимией. В другом варианте изобретения, по крайней мере, одна из групп, присоединенных к C₃, C₆, C₁₀, C₁₆, C₁₇ и C₁₈, обладает S стереохимией.

Один вариант криптофицинового соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ag представляет фенил, R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₈ и C₁₉, R₃, R₇ и R₈ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₁₀ представляет водород, и X и Y являются кислородом. Структура этого соединения, Криптофицина 51, является следующей:

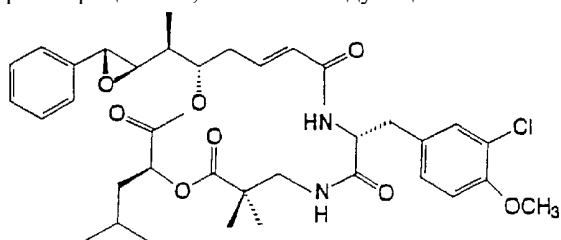


Криптофицин-51

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ag представляет фенил, R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием R,R'-эпоксидного кольца, R₃, R₇ и R₈ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆

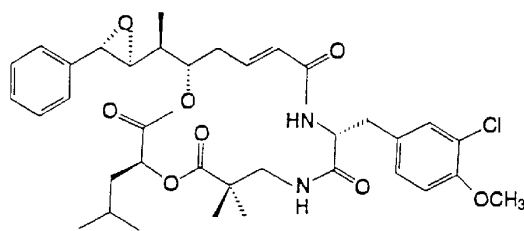
29

представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₁₀ представляет водород, и X и Y являются кислородом. Структура этого соединения, Криптофицина 52, является следующей:



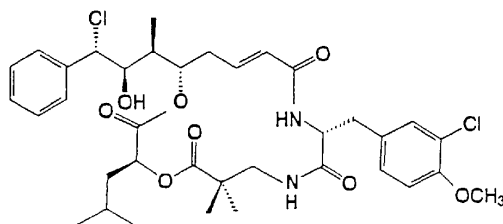
Криптофицин-52

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ag представляет фенил, R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием S,S'-эпоксидного кольца, R₃, R₇ и R₈ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₁₀ представляет водород, и X и Y являются кислородом. Структура этого соединения, Криптофицина 53, является следующей:



Криптофицин-53

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ag представляет фенил, R₁ представляет S-хлор, R₂ представляет R гидроксильную группу, R₃, R₇ и R₈ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₁₀ представляет водород, и X и Y являются кислородом. Структура этого соединения, Криптофицина 55, является следующей:



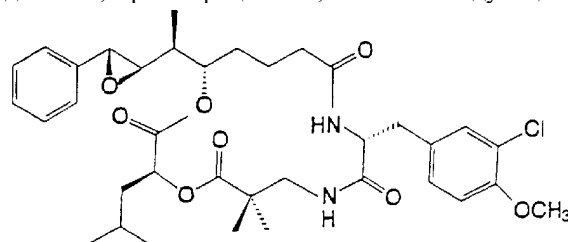
Криптофицин-55

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ag представляет фенил, R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием R,R'-эпоксидного кольца, R₃, R₇ и R₈ представляют метил, R₄ и R₅ представляют водород, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₁₀ представляет водород, и

347

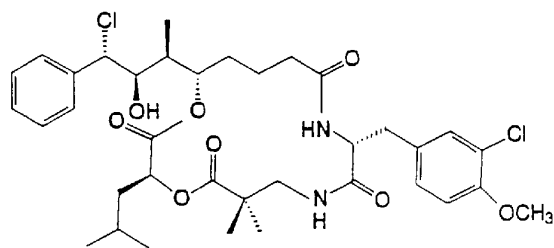
30

X и Y являются кислородом. Структура этого соединения, Криптофицина 57, является следующей:



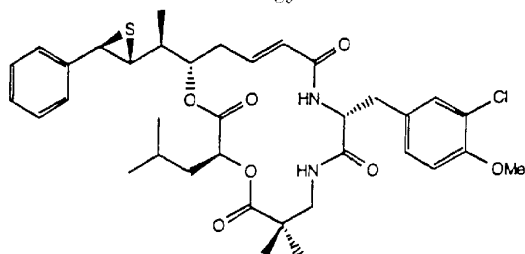
Криптофицин-57

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ag представляет фенил, R₁ представляет S-хлор, R₂ представляет R-гидроксильную группу, R₃, R₇ и R₈ представляют метил, R₄ и R₅ представляют водород, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₁₀ представляет водород, и X и Y являются кислородом. Структура этого соединения, Криптофицина 58, является следующей:



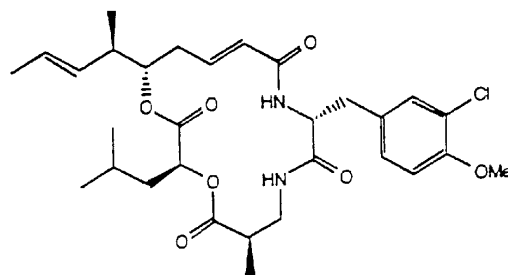
Криптофицин-58

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ar представляет фенил, R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием R,R-эписульфидного кольца, R₃, R₇ и R₈ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₁₀ представляет водород, и X и Y являются кислородом. Структура этого соединения, Криптофицина 61, является следующей:



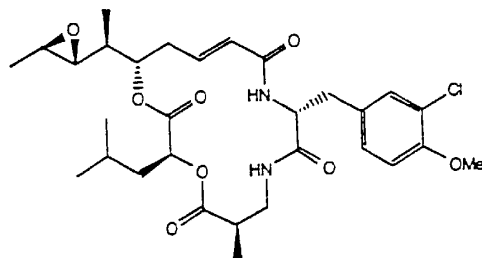
Криптофицин-61

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ar представляет п-метоксифенил, R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₈ и C₁₉, R₃ и R₇ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₁₀ представляет водород, и X и Y являются кислородом. Структура этого соединения, Криптофицина



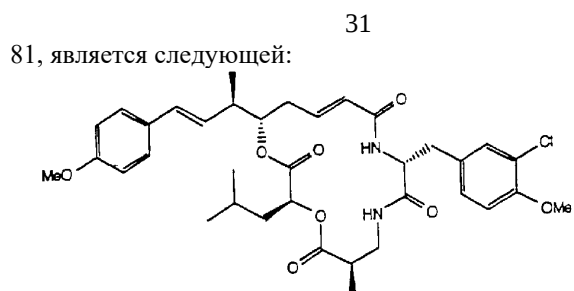
Криптофицин-82

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ar представляет метил, R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием R,R-эпоксидного кольца, R₃ и R₇ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₁₀ представляют водород, и X и Y являются кислородом. Структура этого соединения, Криптофицина 90, является следующей:



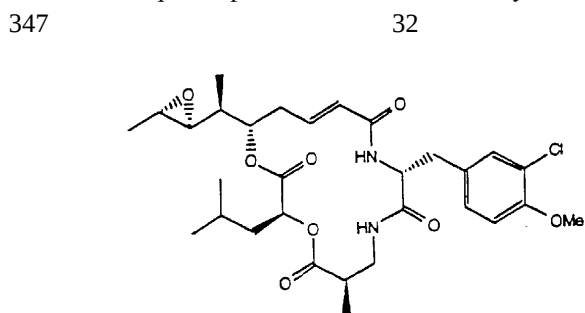
Криптофицин-90

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ar представляет метил, R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием S,S-эпоксидного кольца, R₃ и R₇ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₈ и R₁₀ представляют водород, и X и Y являются кислородом. Структура этого соединения, Криптофицина 91, является следующей:



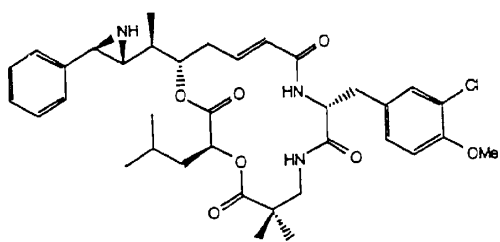
Криптофицин-81

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ar представляет метил, R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₈ и C₁₉, R₃ и R₇ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₁₀ представляет водород, и X и Y являются кислородом. Структура этого соединения, Криптофицина 82, является следующей:



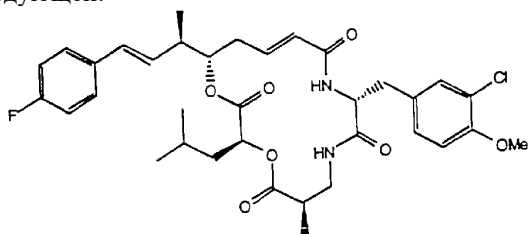
Криптофицин-91

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ar представляет фенил, R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием R,R-азиридинового кольца, R₃, R₇ и R₈ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₁₀ представляют водород, и X и Y являются кислородом. Структура этого соединения, Криптофицина 97, является следующей:



Криптофицин-97

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ag представляет п-фторфенил, R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₈ и C₁₉, R₃ и R₇ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₈ и R₁₀ представляют водород, и X и Y являются кислородом. Структура этого соединения, Криптофицина 110, является следующей:

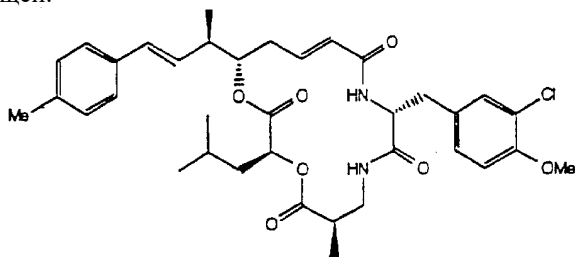


Криптофицин-110

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ag представляет п-толил, R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₈ и C₁₉, R₃ и R₇ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄,

33

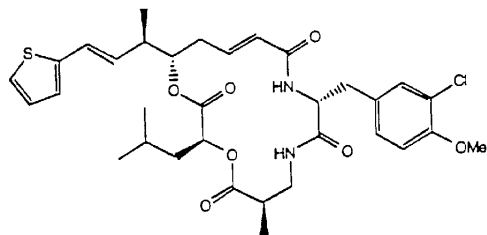
R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₈ и R₁₀ представляют водород, и X и Y являются кислородом. Структура этого соединения, Криптофицина 111, является следующей:



Криптофицин-111

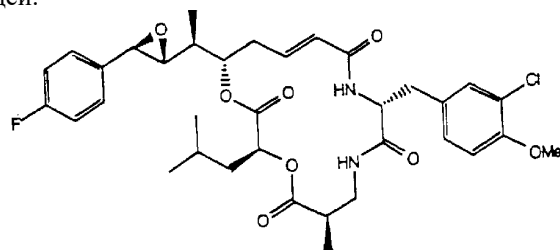
Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ag представляет 2-тиенил, R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₈ и C₁₉, R₃ и R₇ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₈ и R₁₀ представляют водород, и X и Y являются кислородом. Структура этого

соединения, Криптофицина 112, является следующей:



Криптофицин-112

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ag представляет п-фторфенил, R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием R,R-эпоксидного кольца, R₃ и R₇ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₈ и R₁₀ представляют водород, и X и Y являются кислородом. Структура этого соединения, Криптофицина 115, является следующей:



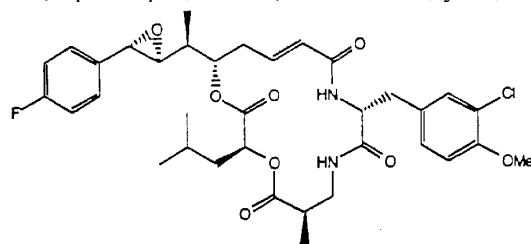
Криптофицин-115

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ag представляет п-фторфенил, R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием S,S-эпоксидного кольца, R₃ и R₇

347

34

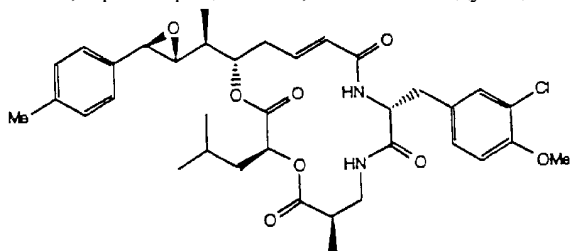
представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₈ и R₁₀ представляют водород, и X и Y являются кислородом. Структура этого соединения, Криптофицина 116, является следующей:



Криптофицин-116

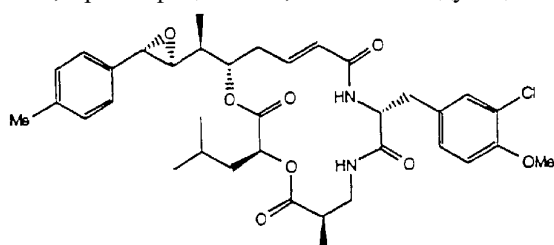
Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ag представляет п-толил, R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием R,R-эпоксидного кольца, R₃ и R₇ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₈ и R₁₀ представляют водород, и X

и Y являются кислородом. Структура этого соединения, Кристофицина 117, является следующей:



Кристофицин-117

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ar представляет п-толил, R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием S,S-эпоксидного кольца, R₃ и R₇ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₈ и R₁₀ представляют водород, и X и Y являются кислородом. Структура этого соединения, Кристофицина 118, является следующей:

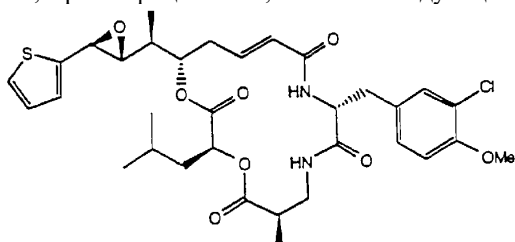


Кристофицин-118

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ar представляет 2-тиенил, R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием R,R-эпоксидного кольца, R₃ и R₇ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆

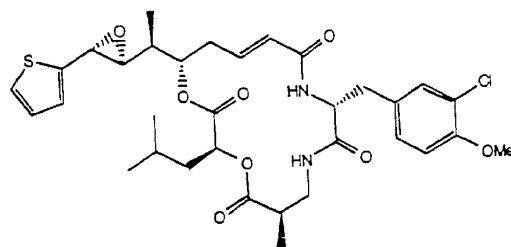
35

представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₈ и R₁₀ представляют водород, и X и Y являются кислородом. Структура этого соединения, Кристофицина 119, является следующей:



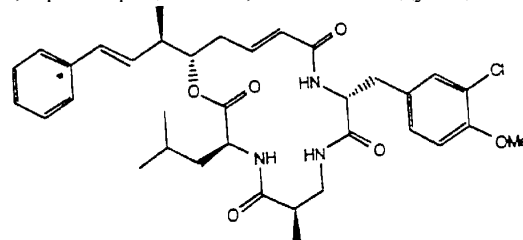
Кристофицин-119

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ar представляет 2-тиенил, R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием S,S-эпоксидного кольца, R₃ и R₇ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₈ и R₁₀ представляют водород, и X и Y являются кислородом. Структура этого соединения, Кристофицина 120, является следующей:



Кристофицин-120

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ar представляет фенил, R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₈ и C₁₉, R₃ и R₇ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₈ и R₁₀ представляют водород, X представляет кислород и Y представляет азот, несущий один водород. Структура этого соединения, Кристофицина 121, является следующей:



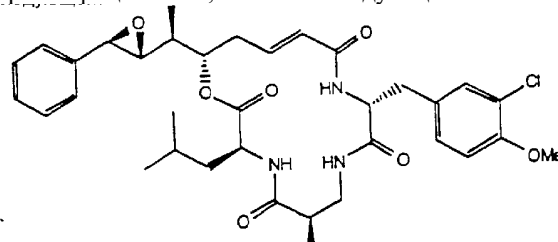
Кристофицин-121

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ar представляет фенил, R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием R,R-эпоксидного кольца, R₃ и R₇ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представ-

347

36

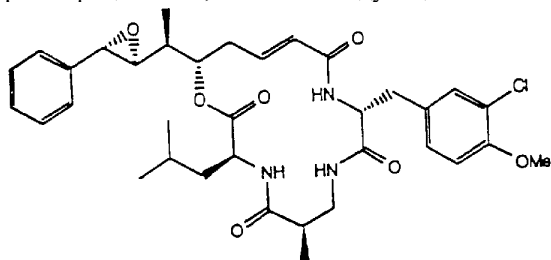
ляет изобутил, R₈ и R₁₀ представляют водород, X представляет кислород и Y представляет азот, несущий один водород. Структура этого соединения, Кристофицина 122, является следующей:



Кристофицин-122

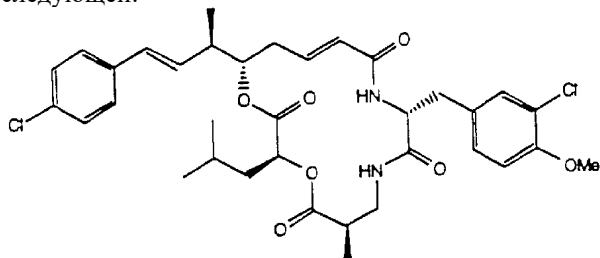
Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ar представляет фенил, R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием S,S-эпоксидного кольца, R₃ и R₇ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₈ и R₁₀ представляют водород, X представляет кислород и Y представляет азот, не-

сущий один водород. Структура этого соединения, Кристофицина 123, является следующей:



Кристофицин-123

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ar представляет п-хлорфенил, R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₈ и C₁₉, R₃ и R₇ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₈ и R₁₀ представляют водород, и X и Y представляют кислород. Структура этого соединения, Кристофицина 124, является следующей:

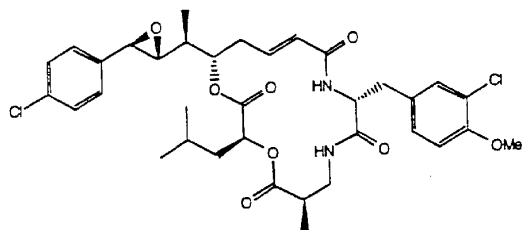


Кристофицин-124

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ar представляет п-хлорфенил, R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием R,R-эпоксидного кольца, R₃ и

37

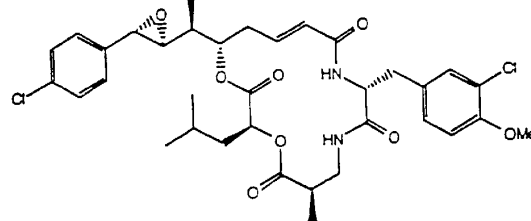
R₇ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₈ и R₁₀ представляют водород, и X и Y представляют кислород. Структура этого соединения, Кристофицина 125, является следующей:



Кристофицин-125

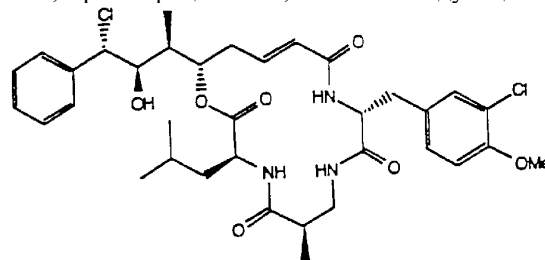
Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ar представляет п-хлорфенил, R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием S,S-эпоксидного кольца, R₃ и R₇ представляют метил, R₄ и R₅ образуют S,S-эпоксидного кольца, R₃ и R₇ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-

4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₈ и R₁₀ представляют водород, и X и Y представляют кислород. Структура этого соединения, Кристофицина 126, является следующей:



Кристофицин-126

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ar представляет фенил, R₁ представляет S-хлор, R₂ представляет R-гидроксильную группу, R₃ и R₇ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₈ и R₁₀ представляют водород, X представляет кислород и Y представляет азот несущий единичный водород. Структура этого соединения, Кристофицина 127, является следующей:

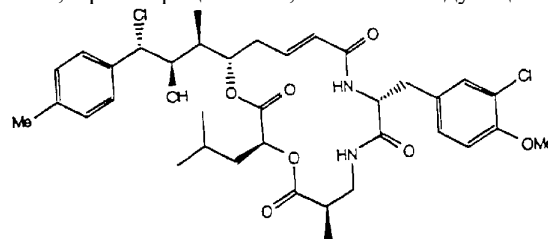


Кристофицин-127

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ar представляет фенил, R₁ представляет S-хлор, R₂ пред-

347

ставляет R-гидроксильную группу, R₃ и R₇ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₈ и R₁₀ представляют водород, X представляет кислород и Y представляет азот несущий единичный водород. Структура этого соединения, Кристофицина 127, является следующей:

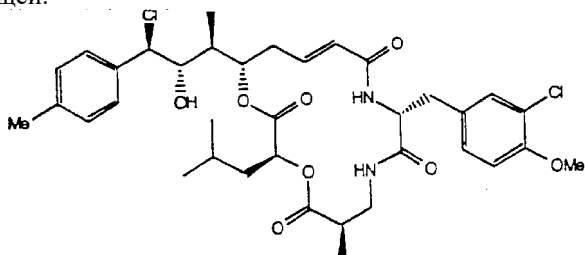


Кристофицин 128

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ar представляет п-толил, R₁ представляет S-хлор, R₂ представляет S-гидроксильную группу, R₃ и R₇ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ пред-

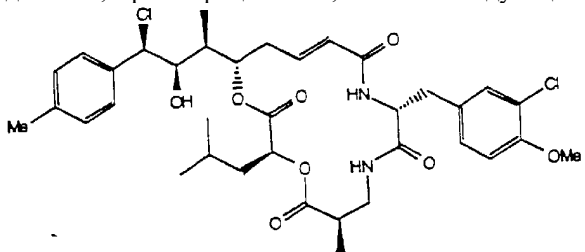
38

ставляет изобутил, R_8 и R_{10} представляют водород, и X и Y представляют кислород. Структура этого соединения, Кристофицина 130, является следующей:



Кристофицин-130

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ag представляет p -толил, R_1 представляет R -хлор, R_2 представляет R -гидроксильную группу, R_3 и R_7 представляют метил, R_4 и R_5 объединяются вместе с образованием двойной связи между C_{13} и C_{14} , R_6 представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R_9 представляет изобутил, R_8 и R_{10} представляют водород, и X и Y представляют кислород. Структура этого соединения, Кристофицина 131, является следующей:

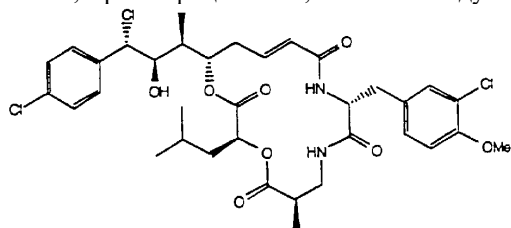


Кристофицин-131

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ag представляет p -хлорфенил, R_1 представляет S -хлор, R_2 представляет R -гидроксильную группу, R_3 и R_7

39

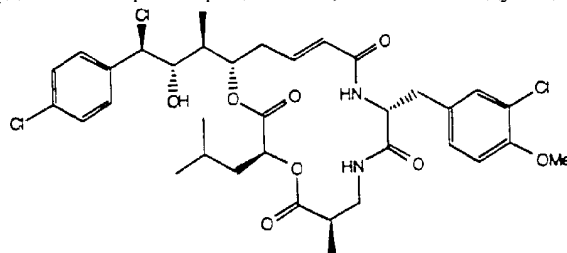
представляют метил, R_4 и R_5 объединяются вместе с образованием двойной связи между C_{13} и C_{14} , R_6 представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R_9 представляет изобутил, R_8 и R_{10} представляют водород, и X и Y представляют кислород. Структура этого соединения, Кристофицина 132, является следующей:



Кристофицин-132

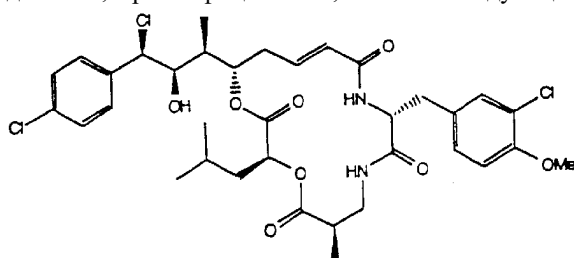
Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ag представляет p -хлорфенил, R_1 представляет R -хлор, R_2 представляет S -гидроксильную группу, R_3 и R_7 представляют метил, R_4 и R_5 объединяются вместе с образованием двойной связи между C_{13} и C_{14} , R_6 представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R_9 представляет изобутил, R_8 и R_{10} представляют водород, и X

и Y представляют кислород. Структура этого соединения, Кристофицина 133, является следующей:



Кристофицин-133

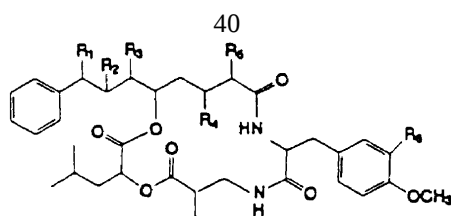
Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда Ag представляет p -хлорфенил, R_1 представляет R -хлор, R_2 представляет R -гидроксильную группу, R_3 и R_7 представляют метил, R_4 и R_5 объединяются вместе с образованием двойной связи между C_{13} и C_{14} , R_6 представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R_9 представляет изобутил, R_8 и R_{10} представляют водород, и X и Y представляют кислород. Структура этого соединения, Кристофицина 134, является следующей:



Кристофицин-134

Впредь набор, приведенный ниже представляет криптофициновые соединения, чьи замещающие группы основаны на следующей структуре:

347



Где

R_1 представляет H или галоид;

R_2 представляет H или кислород кетонной группы; или

R_1 и R_2 могут объединяться вместе с образованием эпоксидного кольца, или R_1 и R_2 могут объединяться вместе с образованием эписульфидного кольца;

R_3 представляет H или низшую алкильную группу;

R_4 и R_5 представляют H ; или

R_4 представляет H или OH ;

R_5 представляет H или OH ; или

R_4 и R_5 могут объединяться вместе с образованием двойной связи;

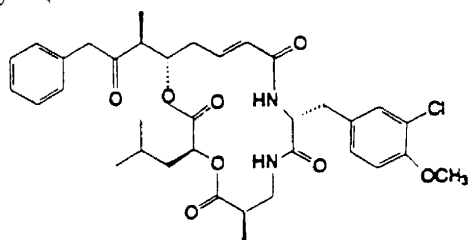
R_6 представляет H или галоид;

При следующем условии,

если R_1 и R_2 объединяются вместе с образованием эпоксидного кольца, R_4 и R_5 объединяются вместе с образованием двойной связи и R_6 представляет хлор, R_3 не является метилом.

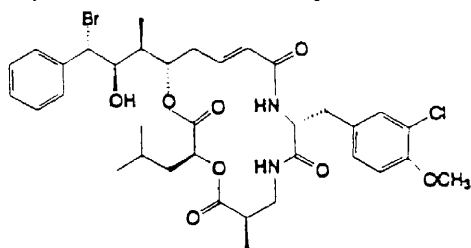
R₇, R₈, R₉ и R₁₀ каждый независимо представляют Н или низшую алкильную группу; и
Х и У каждый независимо представляют О, NH или алкиламино.

Вариант криптофицинового соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда R₁ представляет водород, R₂ представляет кислород кетонной группы, R₃ представляет S-метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи и R₆ представляет хлор. Структура этого соединения, Криптофицина 20, является следующей:



Криптофицин 20

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда R₁ представляет S-бром, R₂ представляет R-гидроксильную группу, R₃ представляет S-метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи и R₆ представляет хлор. Структура этого соединения, Криптофицина 25, является следующей:

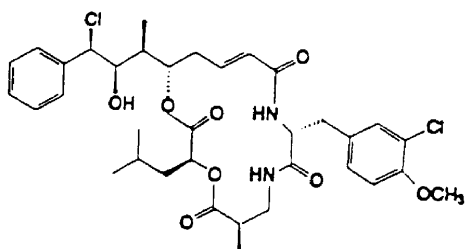


Криптофицин 25

Другой вариант соединения настоящего изобретения

41

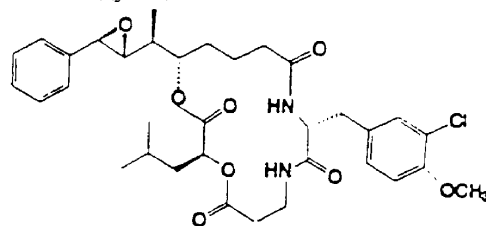
представляет соединение, когда R₁ представляет R-бром, R₂ представляет R-гидроксильную группу, R₃ представляет S-метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи и R₆ представляет хлор. Структура этого соединения, Криптофицина 27, является следующей:



Криптофицин 27

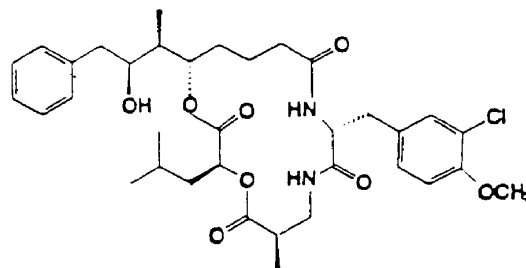
Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда R₁ и R₂ объединяются вместе с образованием R₁R₂-эпоксидного кольца, R₃ представляет S-метил, R₄ и R₅ являются водородом и R₆ представляет хлор.

Структура этого соединения, Криптофицина 32, является следующей:



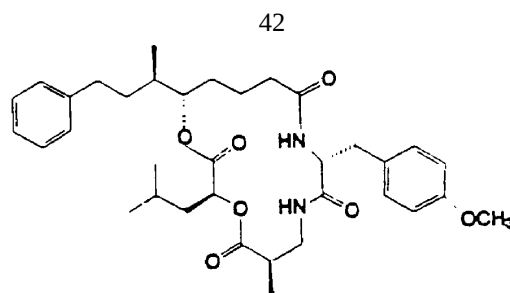
Криптофицин 32

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда R₁, R₄ и R₅ являются водородом, R₂ представляет S-гидроксильную группу, R₃ представляет R-метил, и R₆ представляет хлор. Структура этого соединения, Криптофицина 33, является следующей:



Криптофицин 33

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда R₁, R₂, R₄ и R₅ являются водородом, R₃ представляет R-метил, и R₆ представляет водород. Структура этого соединения, Криптофицина 34, является следующей:

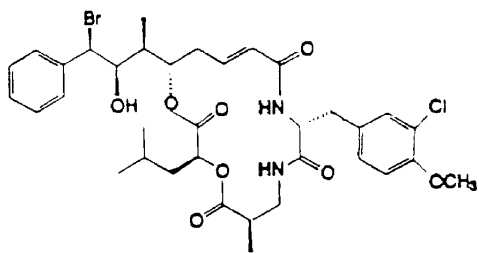


Криптофицин 34

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда R₁ представляет R-бром, R₂ представляет R-гидроксильную группу, R₃ представляет S-метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи, и R₆ представляет хлор. Структура этого соединения, Криптофицина 37, является следующей:

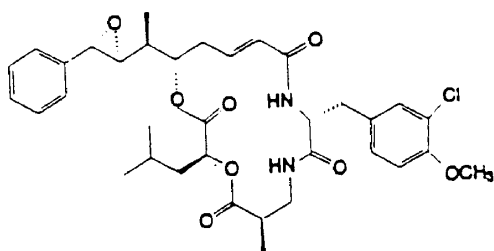
347

42



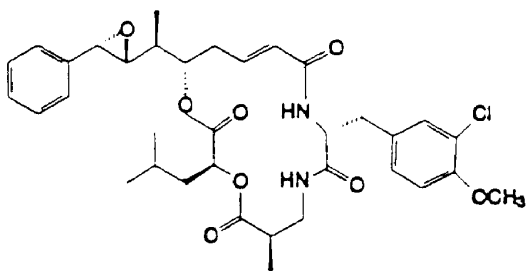
Криптофицин 37

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда R_1 и R_2 объединяются вместе с образованием S,S-эпоксидного кольца, R_3 представляет S-метил, R_4 и R_5 объединяются вместе с образованием двойной связи, и R_6 представляет хлор. Структура этого соединения, Криптофицина 38, является следующей:



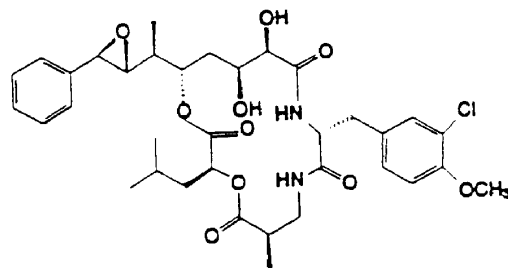
Криптофицин 38

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда R_1 и R_2 объединяются вместе с образованием S,R-эпоксидного кольца, R_3 представляет S-метил, R_4 и R_5 объединяются вместе с образованием двойной связи, и R_6 представляет хлор. Структура этого соединения, Криптофицина 39, является следующей:



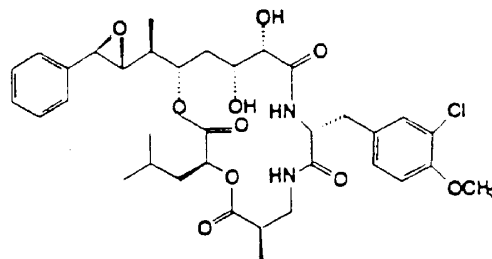
Криптофицин 39

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда R_1 и R_2 объединяются вместе с образованием R,R-эпоксидного кольца, R_3 представляет S-метил, R_4 представляет S-гидроксильную группу и R_5 представляет R-гидроксильную группу и R_6 представляет хлор. Структура этого соединения, Криптофицина 41, является следующей:



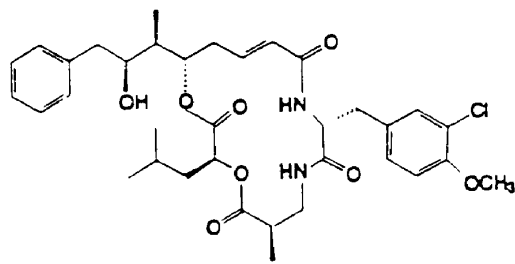
Криптофицин 41

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда R_1 и R_2 объединяются вместе с образованием R,R-эпоксидного кольца, R_3 представляет S-метил, R_4 представляет R-гидроксильную группу и R_5 представляет S-гидроксильную группу и R_6 представляет хлор. Структура этого соединения, Криптофицина 42, является следующей:



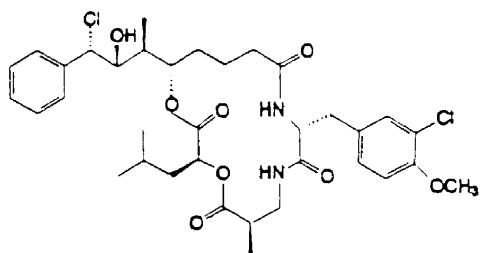
Криптофицин 42

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда R_1 представляет водород, R_2 представляет S-гидроксильную группу, R_3 представляет R-метил, R_4 и R_5 объединяются вместе с образованием двойной связи и R_6 представляет хлор. Структура этого соединения, Криптофицина 48, является следующей:



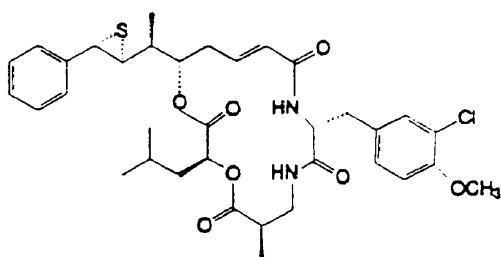
Криптофицин 48

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда R_1 представляет S-хлор, R_2 представляет R-гидроксильную группу, R_3 представляет S-метил, R_4 и R_5 представляют водород и R_6 представляет хлор. Структура этого соединения, Криптофицина 59, является следующей:



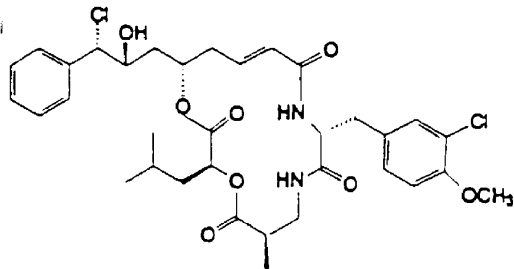
Криптофицин 59

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда R_1 и R_2 объединяются вместе с образованием S,S-эписульфидного кольца, R_3 представляет S-метил, R_4 и R_5 объединяются вместе с образованием двойной связи и R_6 представляет хлор. Структура этого соединения, Криптофицина 60, является следующей:



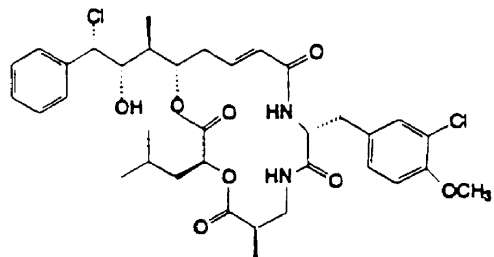
Криптофицин 60

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда R_1 представляет S-хлор, R_2 представляет R-гидроксильную группу, R_3 представляет водород, R_4 и R_5 объединяются вместе с образованием двойной связи и R_6 представляет хлор. Структура этого соединения, Криптофицина 63, является следующей:



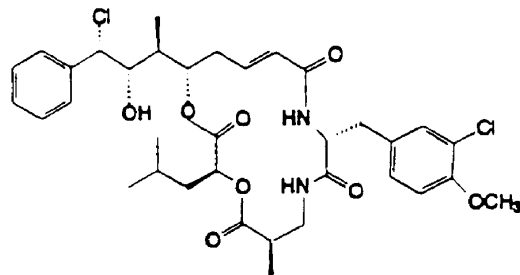
Криптофицин 63

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда R_1 представляет R-хлор, R_2 представляет R-гидроксильную группу, R_3 представляет S-метил, R_4 и R_5 представляют водород и R_6 представляет хлор. Структура этого соединения, Криптофицина 64, является следующей:



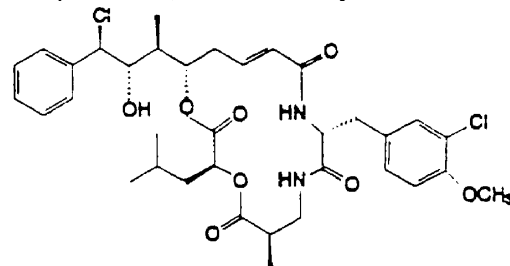
Криптофицин 64

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда R_1 представляет R-хлор, R_2 представляет S-гидроксильную группу, R_3 представляет S-метил, R_4 и R_5 объединяются вместе с образованием двойной связи и R_6 представляет хлор. Структура этого соединения, Криптофицина 69, является следующей:



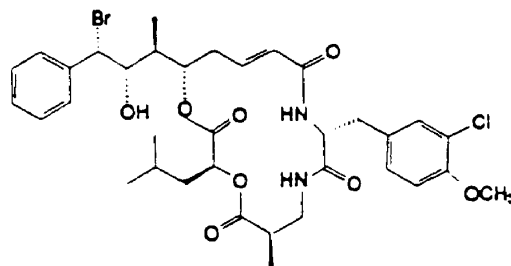
Криптофицин 69

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда R_1 представляет S-хлор, R_2 представляет S-гидроксильную группу, R_3 представляет S-метил, R_4 и R_5 объединяются вместе с образованием двойной связи и R_6 представляет хлор. Структура этого соединения, Криптофицина 70, является следующей:



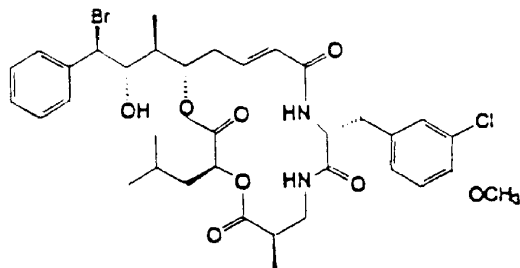
Криптофицин 70

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда R_1 представляет R-бром, R_2 представляет S-гидроксильную группу, R_3 представляет S-метил, R_4 и R_5 объединяются вместе с образованием двойной связи и R_6 представляет хлор. Структура этого соединения, Криптофицина 71, является следующей:



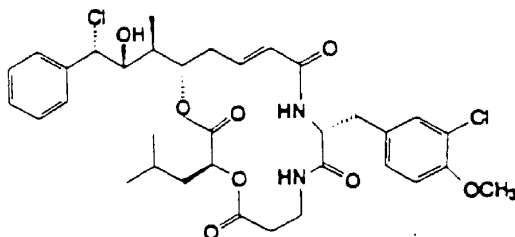
Криптофицин 71

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда R₁ представляет S-бром, R₂ представляет S-гидроксильную группу, R₃ представляет S-метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи и R₆ представляет хлор. Структура этого соединения, Криптофицина 72, является следующей:



Криптофицин 72

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда R₁ представляет S-хлор, R₂ представляет S-гидроксильную группу, R₃ представляет S-метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи и R₆ представляет хлор. Структура этого соединения, Криптофицина 73, является следующей:

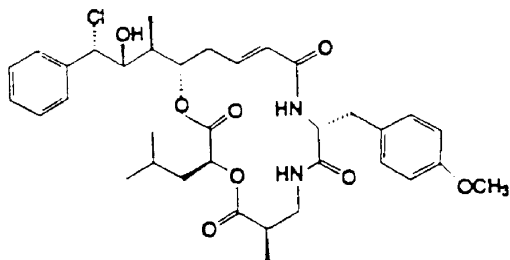


Криптофицин 73

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда R₁ представляет S-хлор, R₂ представляет R-гидроксильную группу, R₃ представляет S-метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи и R₆ представляет водород. Структура этого соединения, Криптофицина 74, является следующей:

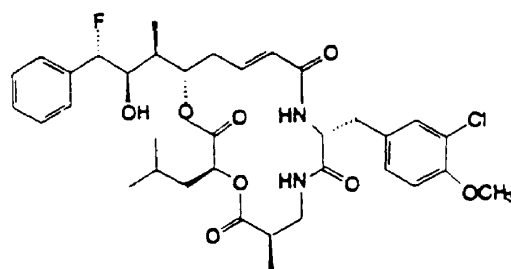
47

Криптофицина 74, является следующей:



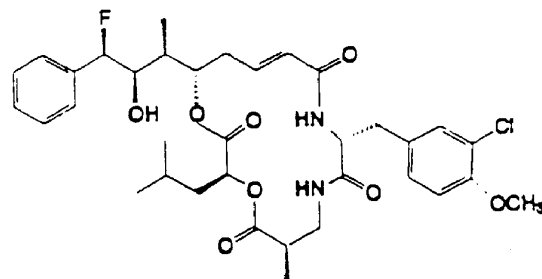
Криптофицин 74

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда R₁ представляет S-фтор, R₂ представляет R-гидроксильную группу, R₃ представляет S-метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи и R₆ представляет хлор. Структура этого соединения, Криптофицина 75, является следующей:



Криптофицин 75

Другой вариант соединения настоящего изобретения представляет соединение, когда R₁ представляет R-фтор, R₂ представляет R-гидроксильную группу, R₃ представляет S-метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи и R₆ представляет хлор. Структура этого соединения, Криптофицина 76, является следующей:



Криптофицин 76

Настоящее изобретение обеспечивает способы получения приведенных выше криптофициновых соединений, а также ранее известных криптофицинов посредством полного синтеза.

Изобретение далее обеспечивает то обстоятельство, что новые криптофициновые метаболиты, а также ранее описанные криптофициновые метаболиты могут быть синтезированы с использованием способов, обеспеченных в этом изобретении.

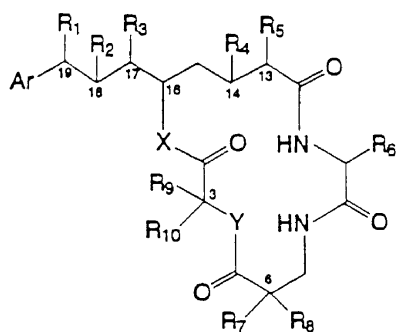
Настоящее изобретение обеспечивает способ получения криптофицинового соединения, включающего селективный аллильнозамещенный Е алкен; перегруппировку аллильно замещенного Е

347

48

алкена через стереоспецифическую перегруппировку Виттига; превращение этого соединения в первую δ-аминокислоту или δ-оксикислоту, сочетание первой кислоты со второй α-аминокислотой с образованием первой субъединицы; сочетание третьей β-аминокислоты с четвертой α-оксикислотой или α-аминокислотой с образованием второй субъединицы; и сочетание первой субъединицы со второй субъединицей с образованием криптофицина.

Настоящее изобретение далее обеспечивает предпочтительный вариант способа, где полученное криптофициновое соединение имеет следующую структуру:



где

Ar представляет метил или фенил или любую простую незамещенную или замещенную ароматическую или гетероароматическую группу;

R₁ -представляет галоид, SH, amino, моноалкиламино, диалкиламино, триалкиламмоний, алкилтио, диалкилсульфоний, сульфат или фосфат;

R₂ представляет OH или SH; или

R₁ и R₂ могут объединяться вместе с образованием эпоксидного кольца, азиридинового кольца, эписульфидного кольца, сульфатного кольца или моноалкилфосфатного кольца; или

R₁ и R₂ могут объединяться вместе с образованием двойной связи между C₁₈ и C₁₉;

R₃ представляет низшую алкильную группу;

R₄ и R₅ представляют H; или

R₄ и R₅ могут объединяться вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄;

R₆ представляет бензильную, оксibenзильную, алкоксибензильную, галоидоксibenзильную, дигалоидоксibenзильную, галоидалкоксибензильную или дигалоидалкоксибензильную группу;

R₇, R₈, R₉ и R₁₀ каждый независимо представляют H или низшую алкильную группу; и

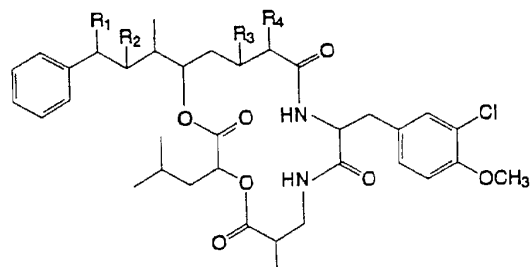
X и Y каждый независимо представляют O, NH или алкиламино.

В предпочтительном варианте настоящего изобретения, способ дает криптофициновое соединение, где Ar представляет фенил, R₃ представляет метил и R₆ представляет галоидметоксibenзил, R₇ представляет H; R₈ представляет метил; R₉ представляет изобутил; R₁₀ представляет H; X представляет O; и Y представляет O.

Кроме того, что настоящее изобретение обеспечивает криптофициновые соединения с приведенной выше структурой, настоящее изобретение обеспечивает способы получения ранее раскрытых

49

криптофициновых соединений и известных в литературе криптофициновых соединений. Криптофициновые соединения 1, 8 и 35 были получены с помощью полного синтеза. Приведенное здесь ниже соединение является примером ранее раскрытых и известных ранее в литературе криптофициновых соединений, полученных путем полного синтеза:



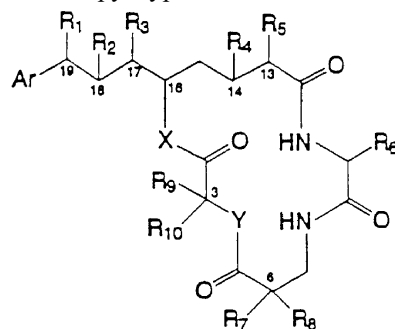
где

R₁ представляет галоид; R₂-представляет OH; или R₁ и R₂ могут объединяться вместе с образованием эпоксидного кольца;

R₃ представляет H; и R₄ представляют H; или

R₃ и R₄ могут объединяться вместе с образованием двойной связи.

Настоящее изобретение обеспечивает также фармацевтическую композицию, полезную для ингибирования пролиферации гиперпролиферативной клетки млекопитающего, включающую эффективное количество криптофицинового соединения со следующей структурой:



где

Ar представляет метил или фенил или любую простую незамещенную или замещенную ароматическую или гетероароматическую группу;

R₁ представляет галоид, SH, amino, моноалкиламино, диалкиламино, триалкиламмоний, алкилтио, диалкилсульфоний, сульфат или фосфат;

R₂ представляет OH или SH; или

R₁ и R₂ могут объединяться вместе с образованием эпоксидного кольца, азиридинового кольца, эписульфидного кольца, сульфатного кольца или моноалкилфосфатного кольца;

или R₁ и R₂ могут объединяться вместе с образованием двойной связи между C₁₈ и C₁₉;

R₃ представляет низшую алкильную группу;

50

R₄ и R₅ представляют H; или

R₄ и R₅ могут объединяться вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄;

R₆ представляет бензильную, оксibenзильную, алкоксибензильную, галоидоксibenзильную, дигалоидоксibenзильную, галоидалкоксибензильную или дигалоидалкоксибензильную группу;

R₇, R₈, R₉ и R₁₀ каждый независимо представляют H или низшую алкильную группу; и

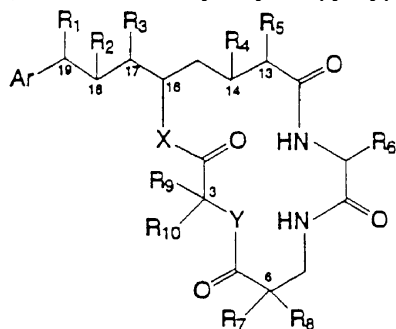
X и Y каждый независимо представляют O, NH или алкиламино;

вместе с фармацевтически приемлемым носителем.

347

В предпочтительном варианте настоящего изобретения фармацевтическая композиция далее включает, по крайней мере, один дополнительный противо-опухолевый агент.

Настоящее изобретение обеспечивает также способ ингибирования пролиферации клетки млекопитающего, включающий контактирование клетки млекопитающего с криптофициновым соединением в количестве, достаточном для ингибирования пролиферации клетки, криптофицинового соединения, имеющего следующую структуру:



где

Ar представляет метил, или фенил, или любую простую незамещенную или замещенную ароматическую или гетероароматическую группу;

R₁ представляет галоид, SH, amino, моноалкиламино, диалкиламино, триалкиламмоний, алкилтио, диалкилсульфоний, сульфат или фосфат;

R₂ представляет OH или SH; или

R₁ и R₂ могут объединяться вместе с образованием эпоксидного кольца, азиридинового кольца, эписульфидного кольца, сульфатного кольца или моноалкилфосфатного кольца; или

R₁ и R₂ могут объединяться вместе с образованием двойной связи между C₁₈ и C₁₉;

R₃ представляет низшую алкильную группу;

R₄ и R₅ представляют H; или

R₄ и R₅ могут объединяться вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄;

R₆ представляет бензильную, оксibenзильную, алкоксибензильную, галоидоксибензильную, дигалоидоксибензильную, галоидалкоксибензильную или дигалоидалкоксибензильную группу;

R₇, R₈, R₉ и R₁₀ каждый независимо представляют H или низшую алкильную группу; и

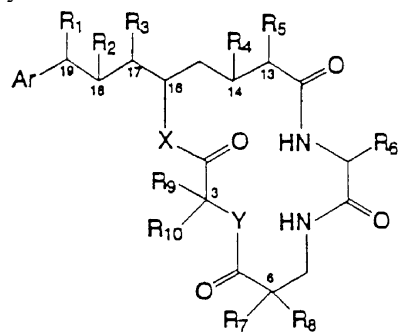
51

X и Y каждый независимо представляют O, NH или алкиламино.

В предпочтительном варианте настоящего изобретения этот способ далее включает контактирование клетки с, по крайней мере, одним дополнительным противо-опухолевым агентом. В предпочтительном варианте настоящего изобретения клетка млекопитающего, которая подвергается контактированию, является гиперпролиферативной. В другом предпочтительном варианте настоящего изобретения гиперпролиферативная клетка является человеческой.

Настоящее изобретение обеспечивает также способ ингибирования пролиферации гиперпроли-

феративной клетки млекопитающего, имеющей множество фенотипов сопротивления лекарству, способ, включающий контактирование клетки с количеством криптофицинового соединения, эффективным для нарушения динамического состояния микротрубочковой полимеризации и деполимеризации, для задержки клеточного митоза, тем самым ингибируя пролиферацию клетки, криптофицинового соединения, имеющего следующую структуру:



где

Ar представляет метил, или фенил, или любую простую незамещенную или замещенную ароматическую или гетероароматическую группу;

R₁ представляет галоид, SH, amino, моноалкиламино, диалкиламино, триалкиламмоний, алкилтио, диалкилсульфоний, сульфат или фосфат;

R₂ представляет OH или SH; или

R₁ и R₂ могут объединяться вместе с образованием эпоксидного кольца, азиридинового кольца, эписульфидного кольца, сульфатного кольца или моноалкилфосфатного кольца; или

R₁ и R₂ могут объединяться вместе с образованием двойной связи между C₁₈ и C₁₉;

R₃ представляет низшую алкильную группу;

R₄ и R₅ представляют H; или

R₄ и R₅ могут объединяться вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄;

R₆-представляет бензильную, оксibenзильную, алкоксибензильную, галоидоксибензильную, дигалоидоксибензильную, галоидалкоксибензильную или дигалоидалкоксибензильную группу;

R₇, R₈, R₉ и R₁₀ каждый независимо представляют H или низшую алкильную группу; и

X и Y каждый независимо представляют O, NH или

347

алкиламино.

В предпочтительном варианте настоящего изобретения способ далее включает контактирование клетки с, по крайней мере, одним дополнительным противо-опухолевым агентом. В другом предпочтительном варианте настоящего изобретения клетка млекопитающего является человеческой.

Настоящее изобретение обеспечивает также способ смягчения патологического состояния, вызванного гиперпролиферирующими клетками млекопитающего, способ, включающий введение субъекту эффективного количества фармацевтической композиции, раскрытой здесь, для ингибирования пролиферации клеток. В предпочтительном вари-

52

анте настоящего изобретения клетки млекопитающего являются человеческими.

В предпочтительном варианте настоящего изобретения, способ далее включает проведение субъекту, по крайней мере, одной дополнительной терапии, направленной на смягчение патологического состояния. В предпочтительном варианте настоящего изобретения патологическое состояние характеризуется образованием опухолей. В другом предпочтительном варианте настоящего изобретения опухоли выбираются из группы, состоящей из молочной железы, мало-камерного легкого, немало-камерного легкого, калоректальной лейкемии, меланомы, панкреатической аденокарциномы, центральной нервной системы (CNS), яичниковой простаты, саркомы мягкой ткани или кости, головы и шеи, гастрита, который включает панкреатический гастрит и желудочный гастрит, желудка, миеломы, мочевого пузыря, ренальной нейроэндокринии, которая включает щитовидную железу и опухоли, не связанные с заболеванием Ходжкина, и опухоли, связанные с заболеванием Ходжкина.

Способ приготовления криптофициновых соединений суммируется в Схеме 1, как отражено на Фигуре 5. Исходное вещество представляет 3Е - алкен (а)замещенный в С-2 положение ХН группой в S- конфигурации, где Х представляет кислород или NH. L-аланин и L-молочная кислота служат в качестве недорогого источника исходного вещества а. Ключевой стадией в синтезе является стереоселективная [2,3] перегруппировка Виттига (D.J.-S.Tsai et.al., J.Org.Chem., 1984, 49:1842-1843; K.Mikami et.al., Tetrahedron 1984, 25: 2303-2308; N.Sayo et.al., Chem. Lett., 1984, 259-262) пропаргильного эфира а (б) в (3R, 4R)-3-(ХН-замещенный)-4-алкилгепт-5(Е)-ен-1-ин (с), где Х представляет кислород или защищенный азот (например, трет-бутилдиметилсилиламино). Соединение с может быть затем превращено в δ-окси или аминокислотное звено А предшественника криптофицинового соединения, метил(5S,6R)-5-(ХР-замещенный)-6-алкил-8-арил-окта-2Е,7Е-диеноат (d), где Р является пригодной защищающей группой, используя способы, известные специалистам в этой области.

53

Одной из стратегий синтеза криптофицинового соединения, которое составляется из δ-окси или аминокислотного звена А, α-аминокислотного звена В, β-аминокислотного звена С и α-окси или аминокислотного звена D, является создание узла макроцикла из двух предшественников, представляющих остатки криптофициновой молекулы, например, А-В предшественника (е), содержащего δ-окси или аминокислотное звено А и α-аминокислотное звено В и С-D предшественника (f), содержащего β-аминокислотное звено С и α-окси или аминокислотное звено D.

В способе, описанном здесь, криптофициновое соединение составляется из А-В и С-D предшественников в две стадии путем (1) соединения кон-

цевых звеньев А и D в А-В и С-D предшественниках с образованием циклического продукта.

В синтезе Криптофицина 51, описанном в Экспериментальной части, эфирная связь образуется между δ-окси группой звена А в А-В остатке и группой карбоновой кислоты звена D в С-D фрагменте с образованием ациклического С-D-А-В интермедиата и затем амидная связь образуется между группой карбоновой кислоты звена В в А-В остатке и β-амино группой звена С в С-D остатке. Соединение К является предшественником А-В остатка, соединение Р является предшественником С-D остатка, и соединение R является ациклическим предшественником С-D-А-В Криптофицина 51. Соединения К и Р содержат защищающие группы на группе карбоновой кислоты звена В и β-амино группу звена С для ограничения сочетания с образованием эфира между звеньями А и D в стадии 1. Эти защищающие группы удаляются из С-D-А-В интермедиата таким образом, чтобы могло иметь место образование амида между звеньями В и С в стадии 2.

Синтез

метил(5S,6B)-5-трет-

бутилдиметилсилилокси-6-метил-8-фенил-окта-2Е,7Е-диеноата (G), звена А предшественника Криптофицина 51 суммируется на Схеме 2 (Фигура 6). (S)транс-3-пентен-2-ол (А), исходное вещество было приготовлено с помощью ферментативного расщепления рацемического соединения. Реакция А с пропаргилхлоридом и основанием в условиях фазового переноса дает пропаргильный эфир В с 86% выходом. Обработка В бутиллитием при -90°C приводит к спирту С с 71% выходом. Желаемое 3R,4R анти соединение С было продуктом, полученным только при перегруппировке Виттига. После защиты гидроксильной группы С в виде трет-бутилдиметилсилилового эфира (или трет-бутилдиметилсилилового эфира), гидроборирование тройной связи (H.C.Brown, Organic Synthesis Via Boranes, Wiley, 1975) приводит к альдегиду D с 73% выходом от С. Затем D было превращено в транс α,β-ненасыщенный эфир Е реакцией Хорнера-Эммонса с 90% выходом. Селективный озонлиз двойной связи С6-С7 в D дает альдегид F с 83%

347

выходом. Наконец, реакция Виттига F с бензилтрифенилфосфонийхлоридом в присутствии бутиллития дает G с 80% выходом. Выход G от А составлял 26%.

Реакция сочетания звена А предшественника G с D-3-(3-хлор-4-метоксифенил)аланином звена В с образованием А-В предшественника (K) суммируется на схеме 3 (Фигура 7). Гидролиз группы метилового эфира в G гидроокисью лития в ацетоне дает карбоновую кислоту H с 95% выходом. Сочетание H с трихлорэтиловым эфиром I с образованием J может быть выполнено с 65% выходом за счет обработки раствора H в N,N-диметилформамиде (ДМФА) небольшим избытком пентафторфенилдибензилфосфината (FDPP), эквивалентным количеством трифторацетатной соли I, с последу-

54

ющей обработкой 3 эквивалентами диизопропил-этиламина (DIEA) при 25°C (S.Chen et.al., Tetrahedron Lett. 1991, 32: 6711-6714). Фтордесилирование J затем приводит к K с 95% выходом.

Защищенная аминокислота I была приготовлена из D-тирозина в пять стадий. Сначала, D-тирозин был прохлорирован сульфурилхлоридом в ледяной уксусной кислоте (R.Zeynek, Hoppe-Seyler's Z.f.Physiol.Chemie 1926, 144:247-254). Затем

N-(трет-бутоксикарбонил)-3-(3-хлор-4-гидроксифенил)-D-аланин был получен с 94% выходом за счет обработки суспензии аминокислоты в 50% водном растворе диоксана дитрет-бутидикарбонатом в присутствии триэтиламина. Полученный продукт был деметилирован диметилсульфатом в присутствии карбоната калия кипячением с обратным холодильником в ацетоне с 84% выходом. Затем метиловый эфир был смыт гидроокисью натрия в водном растворе диоксана с образованием N-(трет-бутоксикарбонил)-3-(3-хлор-4-метоксифенил)-D-аланина с 86% выходом. Выдерживание ВОС-защищенной аминокислоты с трихлорэтанолом, пиридином и DDC в дихлорметане приводит к трихлорэтиловому эфиру I с 65% выходом. Обработка этого вещества трифторуксусной кислотой (ТФУК) приводит к количественному выходу трифторацетатной соли 1.

Синтез (2S)-2-[3'(трет-бутоксикарбонил)амино-2',2'-диметилпропаноилокси]-4-метилпентановой кислоты (P), C-D предшественника, суммируется на схеме 4 (Фигура 8). Исходной точкой для звена C части P был аминокислотный спирт L. Защита амино группы в L за счет обработки ди-трет-бутидикарбонатом в присутствии триэтиламина (с 93% выходом), с последующим окислением первичного спирта четырехокисью рения (P.H.J. Cerslens et.al., J.Org.Chem. 1981, 46: 3936-3938) дает карбоновую кислоту M (с 66% выходом). L-лейциновая кислота была превращена в аллиловый эфир N с 93% выходом, в условиях фазового переноса, за счет выдерживания ее в смеси аллилбромид в дихлорметане и водном растворе бикарбоната натрия, содержащем тетра-н-бутиламмонийхлорид (S.Friedrich-Bochnitschek et.al., J.Org.Chem., 1989, 54: 751-756). Реакция сочетания M с N была проведена с 4-диметиламинопиридином (DMAP) и дихлорциклокарбодимидом (DCC) в дихлорметане с образованием O с 75% выходом. Расщепление аллилового эфира O было проведено в ТГФ, содержащем морфолин и катализатор тетракис(трифенилфосфин)-палладий с образованием P с 95% выходом (P.D.Jeffrey et.al., J.Org.Chem. 1982, 47:587-590).

Сочетание A-B предшественника (K) и C-D предшественника (P) было выполнено как показано на схеме 5 (Фигура 9). Обработка K и P смесью DCC/DMAP в дихлорметане приводит к полностью защищенному C-D-A-B интермедиату (Q) с 84% выходом. Восстановительное расщепление группы трихлорэтилового эфира в Q было достигнуто с использованием активированной цинковой пыли в

уксусной кислоте. ВОС-защищенная группа была затем удалена трифторуксусной кислотой с образованием R в виде трифторацетатной соли с 91% общим выходом от Q.

Макролактамизация R с помощью FDPP приводит к Кристофицину 51 с 61% выходом (J.Dudash, Jr.et.al., Synth.Comm. 1993, 23:349-356). Общий выход из S-транс-3-пентен-2-ола (A) составлял 7%.

Кристофицин 51 служил в качестве предшественника Кристофицина 52, R,R-эпоксида, и Кристофицина 53 S,S-эпоксида. В свою очередь, Кристофицин 52 служил в качестве предшественника Кристофицина 55, 18R, 19S-хлоргидрина и Кристофицина 57, 13,14-дигидроаналога. Кристофицин 57 служил в качестве предшественника Кристофицина 58. Кристофицин 53 служил в качестве предшественника Кристофицина 61 с использованием способа, описанного T.H.Chan and J.F.Finkenbine, J.Am.Chem.Soc., 1972, 94:2880-2882, и Кристофицина 97 с использованием способа, описанного Y.Ittah et.al., J.Org.Chem., 1978, 43: 4271-4273.

Для синтеза кристофицинов, которые содержат Ag группы, которые отличаются от фенила, звено A предшественников общей формулы d (Схема 1, R₃=Me) может быть приготовлено реакцией Виттига альдегида F (Схема 2; TBS-защитающая группа) или S (Схема 6; TBPS-защитающая группа) с соответствующим арилтрифенилфосфонийхлоридом в присутствии бутиллития. Кристофицин 81 был приготовлен из предшественника d (Ar=p-метоксифенил, R₃=Me) как показано на схемах 6 и 7 (Фигуры 10 и 11).

Ag группа может быть также введена в новый кристофицин на более поздней стадии синтеза. Сначала предшественник d (Ar=R₃=Me) был превращен в Кристофицин 82 реакцией сочетания соответствующих A-B (e) и C-D(f) предшественников, как показано на Схеме 8 (Фигура 12). Селективный озонолиз Кристофицина 82 или окисление периодной кислотой соответствующих эпоксидов Кристофицинов 90 и 91 приводит к альдегиду Кристофицина 108. Реакция Виттига Кристофицина 108 с соответствующим арилтрифенилфосфонийхлоридом в присутствии бутиллития дает новый кристофицин (Схема 9; Фигура 13). Используя эту процедуру, были получены Кристофицин 110 (Ar=p-фторфенил), Кристофицин 111 (Ar=p-толил), Кристофицин 112 (Ar=2-тиенил) и Кристофицин 124 (Ar=p-хлорфенил). Кристофицин 110 служил в качестве предшественника эпоксидов Кристофицинов 115 и 116. Кристофицин 111 служил в качестве предшественника эпоксидов Кристофицинов 117 и 118 и хлоргидринов Кристофицинов 128, 130 и 131. Кристофицин 112 служил в качестве предшественника эпоксидов Кристофицинов 119 и 120. Кристофицин 124 служил в качестве предшественника эпоксидов Кристофицинов 125, 126 и хлоргидринов Кристофицинов 132, 133 и 134.

Другой стратегией при синтезе криптофицина является создание узла макроцикла из трех предшественников, например, А-В предшественника (е), содержащего δ -окси или аминокислотное звено А, предшественника, содержащего δ -окси или аминокислотное звено D, и предшественника, содержащего α -аминокислотное звено С. В способе, описанном здесь, криптофицин составляет узел из А-В, С и D предшественников в три стадии за счет (1) соединения концевых А и D в А-В и D предшественниках с образованием ациклического D-A-B интермедиата, (2) соединения концевых звеньев D и С в D-A-B и С предшественниках с образованием ациклического C-D-A-B интермедиата и (3) соединения концевых звеньев В и С с образованием циклического продукта.

В синтезе Криптофицина 121, описанном в Экспериментальной части, эфирная связь образуется между δ -окси группой звена А в А-В остатке и группой карбоновой кислоты звена D в D фрагменте с образованием ациклического D-A-B интермедиата. Затем образуется амидная связь между группой карбоновой кислоты звена С и α -аминогруппой звена D в D-A-B фрагменте. Наконец, амидная связь образуется между группой карбоновой кислоты звена В в А-В остатке и β -амино группой звена С в C-D остатке. Соединение К является предшественником с А-В остатком, ВОС-L-лейцинальдегид является предшественником звена D и соединение AL является предшественником звена С. Соединение АК является ациклическим C-D-A-B предшественником Криптофицина 121 (Схема 10; Фигура 14). Соединения К и ВОС-L-лейцинальдегида содержат защищающие группы на группе карбоновой кислоты звена В и α -аминогруппе звена D для ограничения реакции сочетания с образованием эфира между звеньями А и D в стадии 1. Защищающая группа удаляется из δ -амино группы звена D в D-A-B интермедиате, таким образом, что может происходить образование амида между амино группой звена С и карбоновой кислотой С в стадии 2. Эти защищающие группы удаляются из C-D-A-B интермедиата таким образом, что может происходить образование амида между звеньями В и С в стадии 2.

Новые криптофициновые соединения настоящего изобретения содержат эпоксидные кольца, которые раскрываются с помощью нуклеофилов с другими скоростями, чем эпоксидное кольцо Криптофицина 1, или содержат хлоргидриновые функциональные группы, которые образуют эпоксидные кольца с другими скоростями, чем хлоргидриновые функциональные группы Криптофицина 8, превращаясь в эпоксидное кольцо Криптофицина 1. Эпоксидное кольцо Криптофицина 1 или хлоргидриновая функциональная группа (замаскированное эпоксидное кольцо) Криптофицина 8 является существенной для оптимальной активности *in vivo*. Если эпоксидный кислород удаляется (так как найдено в Криптофицине 3) или эпоксидное кольцо гидролизует до диола (так как найдено в Крип-

тофицине 15), антиопухолевая активность сильно снижается. Криптофицин 1 обнаруживает заметную токсичность у животных, по сравнению с Криптофицином 8. Это отражается в отношении Т/С (в большей части выше 0%) и суммарных величинах Log уничтожения (в большей части ниже 2.0) для Криптофицина 1, по сравнению с этими величинами для Криптофицина 8 (в большей части Т/С величин 0% и суммарных величин Log уничтожения выше 2.8). Криптофицин 25, соответствующий бромгидриновому аналогу, показывает отношение Т/С и суммарные величины Log уничтожения, которые являются сравнимыми с этими величинами для Криптофицина 1. Это поразительное различие в активности *in vivo* подтверждает, что бромгидрин Криптофицина 25 превращается более быстро в Криптофицин 1 *in vivo*, чем Криптофицин 8. Это дальнейшее подтверждение того, что менее токсичный Криптофицин 8 может иметь больше времени для аккумуляции в участке опухоли до превращения в активное соединение Криптофицина 1. Эпоксидная группа Криптофицина 1, вероятно, связывается ковалентно с его рецептором мишенью в опухолевой клетке. Новые криптофицины в настоящем изобретении могут потенциально обладать лучшей активностью *in vivo*, чем Криптофицин 1 и Криптофицин 8 за счет проявления более благоприятных скоростей образования эпоксида *in vivo* из соответствующих хлоргидриновых пролекарств и ковалентного связывания с рецептором-мишенью в опухолевой клетке.

Соединения настоящего изобретения являются более устойчивыми по отношению к гидролизу и сольволизу, чем Криптофицины 1 и 21. Эфирная связь, соединяющая звенья С и D в Криптофицине 1, является относительно чувствительной к мягкому основному гидролизу, расщепляясь при pH 11 до гидроксидной кислоты с периодом полужизнеспособности 0.83 часа. C-D эфирная связь в Криптофицине 21, в котором недостает метильной группы C-2 на атоме звена С, раскрывается с большей скоростью с периодом полужизнеспособности 0.25 часа. C-D эфирная связь является также чувствительной к сольволизу. Если в схеме выделения используют метанол, имеет место значительный метанолиз Криптофицинов 1 и 21. Криптофицин 21 является гораздо более восприимчивым к метанолизу, чем Криптофицин 1. Криптофицин 1 проявляет противоопухолевую активность, тогда как Криптофицин 21 является неактивным, вероятно, потому, что C-D эфирная связь Криптофицина 21 гидролизует быстрее, чем C-D эфирная связь Криптофицина 1 *in vivo*. Гидролизом C-D эфирной связи можно также объяснить частичное снижение активности *in vivo* Криптофицина 1 при внутривенном и подкожном путях введения лекарства. C-D эфирная связь криптофицинов, содержащих две метильные группы на C-2 атоме звена С, такая как найдена в Криптофицине 52, является устойчивой при pH 11.

Соединения настоящего изобретения и ранее открытые криптофициновые соединения могут быть применены терапевтически в качестве противоопухолевых агентов и тем самым использоваться в способах лечения опухолевых заболеваний. Термин “неопластический”, как он использован здесь, относится к опухоли, которая подвергается аномальному росту, такому росту, который имеет место из-за пролиферации клеток, которые не подвергаются обычным ограничениям роста. Термин “анти-неопластический агент” (противоопухолевый агент), как он использован здесь, относится к любому соединению, композиции, смеси, совместной смеси или комбинации, которые ингибируют, удаляют, замедляют или меняют неопластический фенотип клетки.

Химиотерапия, хирургия, радиационная терапия, терапия с биологическими модификаторами ответа и иммунотерапия используются в настоящее время при лечении рака. Каждый вид терапии имеет специфические указания, которые известны специалистам в этой области, и один из видов терапии или все могут быть применены для достижения полного разрушения неопластических клеток. Химиотерапия, использующая один или больше криптофицинов, обеспечивается настоящим изобретением. Кроме того, комбинация процессов химиотерапии, химиотерапии, использующей криптофицины в комбинации с другими неопластическими агентами, также обеспечивается объектом изобретения в виде комбинированной терапии, которая является обычно более эффективной, чем использование единственных неопластических агентов. Таким образом, дальнейший аспект настоящего изобретения обеспечивает композиции, содержа-

соединения, которые могут быть использованы в комбинации с криптофицином, включают такие соединения, которые обеспечены в The Merck Index, 11th ed. Merck and Co., Inc. (1989) pp. Ther 16-17, содержание которой вводится здесь ссылкой. В другом варианте изобретения, противоопухолевые агенты могут быть антиметаболитами, которые могут включать, но не ограничиваются ими, метотрексат, 5-фторурацил, 6-меркаптопурин, цитозин арабинозид, гидроксимочевину и 2-хлордеоксиаденозин. В другом варианте настоящего изобретения, противоопухолевые агенты рассматривают алкилирующие агенты, которые могут включать, но не ограничиваются ими, циклофосфамид, мелфалан, бусульфан, параплатин, хлорамбуцил и азотную горчицу (nitrogen mustard). В другом варианте объекта изобретения, противоопухолевые агенты представляют растительные алкалоиды, которые могут включать, но не ограничиваются ими, винкристин, винбластин, таксол и этопосид. В другом варианте настоящего изобретения, рассмотренные противоопухолевые агенты представляют антибиотики, которые могут включать, но не ограничиваются ими, доксорубин (адриамицин), даунорубин, митомицин C и блеомицин. В другом варианте объекта изобретения, рассмотренные противоопухолевые агенты представляют гормоны, которые могут включать, но не ограничиваются ими, калустерон, диомоставолон, прогестерон, эпитиостанол, мепитиостан, тестостерон, тамоксифен, полиэстрадиол фосфат, мегестерон ацетат, флутамид, нилутамид и трилотан. В другом варианте объекта изобретения, рассмотренные противоопухолевые агенты включают ферменты, которые могут включать, но не ограничи-

щие терапевтически эффективное количество, по крайней мере, одного нового криптофицинового соединения настоящего изобретения, включающего их нетоксичные соли присоединения, которые служат для обеспечения вышеперечисленного терапевтического благотворного влияния. Такие композиции могут быть также обеспечены вместе с физиологически подходящей жидкостью, гелем или твердыми носителями, разбавителями, адъювантами и наполнителями. Такие носители, разбавители, адъюванты и наполнители могут быть найдены в United States Pharmacopeia Vol. XXII and National Formulary Vol. XVII, U.S. Pharmacopeia Convention, Inc., Rockville, MD (1989), содержание которой вводится здесь ссылкой. Дополнительные формы обработки обеспечиваются в AHFS Drug Information, 1993 ed. by American Hospital Formulary Service, pp.522-660, содержание которой вводится здесь ссылкой.

Настоящее изобретение далее обеспечивает то, что фармацевтическая композиция, использованная для лечения неопластического заболевания, содержит, по крайней мере, одно криптофициновое соединение и, по крайней мере, один дополнительный противоопухолевый агент. Противоопухолевые

агенты включают, но не ограничиваются ими, L-Аспарагиназу или аминокридиновые производные, которые могут включать, но не ограничиваются ими, амсакрин. Дополнительные противоопухолевые агенты включают те агенты, которые обеспечены в Skeel, Roland T., “Противоопухолевые лекарства и модификатор биологического ответа: классификация, применение и токсичность клинически полезных агентов”, Handbook of Cancer Chemotherapy (3rd ed.), Little Brown and Co. (1991), содержание которой вводится здесь ссылкой.

Криптофициновые соединения настоящего изобретения и композиции могут быть введены млекопитающим для ветеринарного использования, таким как домашние животные, и клинического использования для человека, способом аналогичным другим терапевтическим агентам. В основном, доза, требуемая для терапевтической эффективности будет меняться в соответствии с типом использования и формой введения, а также конкретными требованиями индивидуальных хозяев. Обычно дозы будут находиться в области от около 0.001 до 1000 мг/кг, более обычно от 0.01 до 10 мг/кг веса тела хозяина. Или же дозы в пределах этих областей могут быть введены путем постоянного влива-

ния в течение более протяженного периода времени, обычно превышающего 24 часа, до того момента, когда будет достигнуто желаемое терапевтическое воздействие. Действительно, лекарственная доза, а также путь введения должны быть выбраны на основании относительной эффективности, относительной токсичности, характеристик роста опухоли и влияния криптофицинов на клеточный цикл, лекарственные фармакокинетические характеристики, возраст, пол, физическое состояние пациента и прежнее лечение.

Криптофициновые соединения с или без дополнительных противоопухолевых агентов, могут быть составлены в терапевтические композиции в натуральном виде или в солевой форме. Фармацевтически приемлемые, нетоксичные соли включают основные соли присоединения (полученные со свободными карбоксильными или другими анионными группами), которые могут быть получены из неорганических оснований таких как, например, гидроксида натрия, калия, аммония, кальция или железа, и таких органических оснований, как изопропиламин, триметиламин, 2-этиламиноэтанол, гистидин, прокаин и им подобных. Такие соли могут быть также получены в виде кислых солей присоединения с любыми свободными катионными группами и будут обычно образовываться с неорганическими кислотами, такими как, например, соляная или фосфорная кислоты, или органическими кислотами, такими как уксусная, щавелевая, винная, миндальная кислота и им подобными. Дополнительные наполнители, которые далее обеспечивает изобретение, представляют те наполнители, которые доступны специалистам в этой области,

61

например, те, которые найдены в United States Pharmacopeia Vol. XXII and National Formulary Vol. XVII. U.S. Pharmacopeia Convention, Inc., Rockville, MD (1989), содержание которой вводится здесь ссылкой.

Пригодность конкретного носителя для включения в данную терапевтическую композицию зависит от предпочтительного пути введения. Например, противоопухолевые композиции могут быть составлены для орального введения. Такие композиции обычно готовятся либо в виде жидкого раствора, либо в виде суспензий или в виде твердых форм. Оральные композиции, обычно, включают такие обычно применяемые добавки, как связующие, наполнители, носители, консерванты, стабилизирующие агенты, эмульгаторы, буферы и наполнители, такие как, например, фармацевтической марки маннитол, лактоза, крахмал, стеарат магния, натрий сахарин, целлюлоза, карбонат магния и им подобные. Эти композиции готовятся в форме растворов, суспензий, таблеток, пилюль, капсул, подвергающихся высвобождению композиций, или порошков, и обычно содержат 1-95% активного ингредиента, предпочтительно, 2-70%.

Композиции настоящего изобретения могут быть также приготовлены в виде инъектируемых,

либо в виде жидких растворов, суспензий, или эмульсий; твердых форм, пригодных для растворения в, суспендирования в, или могут быть приготовлены жидкими до инъектирования. Такие инъекции могут быть введены подкожно, внутривенно, внутривентриально, внутримышечно, интратрахеально или интраплеврально. Активный ингредиент или ингредиенты часто смешиваются с разбавителями или наполнителями, которые являются физиологически толерантными или совместимыми с активным ингредиентом(ами). Пригодные разбавители и наполнители являются, например, водой, солевым раствором, декстрозой, глицерином или им подобными и их комбинациями. Кроме того, если желательно, композиции могут содержать минимальные количества вспомогательных веществ, таких как смачивающие или эмульгирующие агенты, стабилизирующие или pH буферные агенты.

Изобретение далее обеспечивает способы для использования криптофициновых соединений, объединенных общим типом структуры, для ингибирования пролиферации клеток млекопитающего за счет контактирования этих клеток с криптофициновым соединением в количестве, достаточном для ингибирования пролиферации клетки млекопитающего. Предпочтительный вариант представляет способ ингибирования пролиферации гиперпролиферативных клеток млекопитающего. Для целей этого изобретения, "гиперпролиферативные клетки млекопитающего" представляют клетки млекопитающего, которые не подвергаются характерным ограничениям роста, например, запрограммированной клеточной смерти (апоптозу). Другой предпо-

347

62

читательный вариант представляет вариант, когда клетка млекопитающего является человеческой. Изобретение далее обеспечивает контактирование клетки млекопитающего с, по крайней мере, одним криптофициновым соединением и, по крайней мере, с одним дополнительным противоопухолевым агентом. Типы рассмотренных противоопухолевых агентов являются такими же как те, которые раскрыты здесь выше.

Изобретение далее обеспечивает способы использования криптофициновых соединений, объединенных общим типом структуры, для ингибирования пролиферации гиперпролиферативных клеток с фенотипами сопротивления лекарству, включающему соединения с множеством фенотипов сопротивления лекарству, за счет контактирования указанной клетки с криптофициновым соединением в количестве, достаточном для ингибирования пролиферации гиперпролиферативных клеток млекопитающего. Предпочтительный вариант представляет вариант, когда клетка млекопитающего является человеческой. Изобретение далее обеспечивает контактирование клетки млекопитающего с криптофициновым соединением и, по крайней мере, одним дополнительным противоопухолевым агентом. Типы рассмотренных противоопухолевых

агентов представляют такие как те, которые раскрыты здесь выше.

Изобретение далее обеспечивает способ облегчения патологических состояний, вызванных гиперпролиферирующими клетками млекопитающего, например, неоплазии, путем введения субъекту эффективного количества фармацевтической композиции, обеспеченной здесь выше, для ингибирования пролиферации гиперпролиферирующих клеток. Термин “патологическое состояние”, как он использован здесь, относится к любой патологии, возникающей при пролиферации клеток млекопитающего, которые не подвергаются нормальным ограничениям клеточного роста. Такая пролиферация клеток может быть обусловлена опухолями, включающими, но не ограничивающимися ими, следующие опухоли: молочной железы, мало-камерного легкого, не-мало-камерного легкого, калоректальной лейкемии, меланомы, панкреатической аденокарциномы, центральной нервной системы (CNS), яичниковой простаты, саркомы мягкой ткани или кости, головы и шеи, гастрита, который включает панкреатический гастрит и желудочный гастрит, желудка, миеломы, мочевого пузыря, ренальной нейроэндокринии, которая включает щитовидную железу и неоплазмы, не связанные с заболеванием Ходкина, и неоплазмы, связанные с заболеванием Ходкина. В другом варианте изобретения, опухолевые клетки являются человеческими. Настоящее изобретение обеспечивает далее способы облегчения таких патологических состоя-

63

ний, используя криптофицин в комбинации с другой терапией, а также с другими противоопухолевыми агентами. Такие терапии и их соответствие различным опухолям могут быть найдены в Cancer Principles and Practice of Oncology, 4th.ed/, Editors De Vita, V., Hellmann, S. and Rosenberg, S., Lippincott Co. (1993), содержание которой вводится здесь ссылкой.

В настоящем изобретении криптофициновые соединения проявляются в сильно нарушенной микротрубочковой структуре в культивированных клетках. Кроме того, в противоположность алкалоидам Vinca криптофициновые соединения являются очевидно, плохими субстратами для оттока лекарства из Р-гликопротеина. Криптофицин 1 является наиболее цитотоксичным для штамма зелено-голубых водорослей (цианобактерий) *Nostoc* sp., обозначенного как GSV 224 и проявляет превосходную активность по отношению к опухолям, имплантированным мышам. Этот циклический дидепсипептид был ранее выделен из *Nostoc* sp. ATCC №.53789 в качестве противогрибкового агента и его полная структура была определена ранее. Относительная и абсолютная стереохимия этого потенциально важного лекарства была установлена с использованием комбинации химических и спектральных методов. Двадцать четыре дополнительных криптофициновых соединения, Криптофицины 2-7, 16-19, 21, 23, 24, 26, 28-31, 40, 43, 45,

49, 50 и 54, также были выделены из GSV 224 и определены их полные структуры и цитотоксичность. Некоторые производные и продукты деградации описываются с химической и фармацевтической точки зрения.

Следующие примеры служат для иллюстрации определенных предпочтительных вариантов и аспектов настоящего изобретения и не рассматриваются, как ограничивающие объем изобретения.

Экспериментальная часть.

В описании экспериментальной части, которая следует далее, все веса даются в граммах (г), миллиграммах (мг), микрограммах (мкг), нанограммах (нг), пикограммах (пкг), молях (моль) или миллимолях (ммоль), все концентрации даются в виде объемных процентов (%), молярных (М), миллимолярных (мМ), микромолярных (мкМ), наномолярных (нМ), пикомолярных (пкМ) или нормальных (н), все объемы даются в литрах (л), миллилитрах (мл) или микролитрах (мкл) и линейные измерения в миллиметрах (мм), если не оговорено особо.

Следующие примеры иллюстрируют выделение и синтез криптофициновых соединений, а также их применение в качестве терапевтических агентов в соответствии с изобретением.

В экстрактах около 1000 зелено-голубых водорослей (цианобактерий), подвергнутых испытанию на противоопухолевую активность, было найдено, что липофильный экстракт *Nostoc* sp. GSV 224 обладает наиболее сильной цитотоксичностью³, проявляя минимальные ингибирующие concentra-

64

ции (MICs) 0.24 нг/мл против KB, против человеческой линии клеток назофарингиальной карциномы, и 6 нг/мл против LoVo, человеческой линии клеток калоректальной аденокарциномы. Более важно, что этот экстракт проявляет значительную селективную цитотоксичность к опухоли в анализе Corbett. Биоанализ, регистрируемый с помощью хроматографии с обращенной фазой, водорослевого экстракта приводил к фракции, которая преимущественно представляла Криптофицин 1, мощный фунгицид, который был выделен ранее из *Nostoc* sp. ATCC 53789 исследователями фирмы Merck и было найдено, что он является очень активным против штаммов *Cryptococcus*.

Криптофицин 1 являлся ответственным за большую часть цитотоксичной активности неочищенного водорослевого экстракта *Nostoc* sp. GSV 224 и чистого соединения, показывая величины IC₅₀ 3 и 5 пкг/мл против KB и LoVo, соответственно. В анализе Corbett было найдено, что Криптофицин 1 являлся высоко селективным к опухоли и в равной степени цитотоксичным против чувствительности к лекарству и против сопротивления лекарству опухолевых клеток. Иммуофлуоресцентный анализ показывает, что Криптофицин 1 взаимодействует с клеточной мишенью подобно тому, как это имеет место с винбластином, но отличается от последнего лекарства тем, что обладает более продолжительным временем действия и не образует паракристал-

347

лических тел. В предварительных экспериментах *in vivo* Кристофицин 1 проявляет очень обещающую активность против опухолей, имплантированных мышам.

Минимальные количества некоторых других кристофициновых соединений присутствовали в *Nostoc sp. GSV 224*. Двадцать одно из этих соединений может быть выделено в достаточных количествах для определения структуры и противоопухолевой оценки *in vitro* путем экстракции водорослей смесью 1:5 дихлорметана/ацетонитрила и жидкостной гелей проникающей хроматографии с обращенной фазой экстракта. Кристофицины 2, 3, 4, 16, 17, 18, 19, 21, 23, 24, 26, 28, 29, 30, 31, 40, 43, 45, 49, 50 и 54, сопровождающие Кристофицин 1, в фракции, элюированной из флеш колонки с обращенной фазой смесью 65:35 ацетонитрил/вода. Кристофицины 2, 3, 4, 5, 6 и 7 были найдены только, если водоросли экстрагировали метанолом и хроматографию с обращенной фазой проводили в смеси метанол/вода. Кристофицины 2, 3, 4, 5 и 6 были элюированы смесью 3:1 метанол/вода и Кристофицин 7, найденный в более ранней, менее токсичной фракции, элюировали смесью 1:3 метанол/вода. Ациклические Кристофицины 5, 6 и 7 являлись случайными продуктами, генерированными за счет разложения Кристофицина 1 в процессе процедуры выделения.

Кристофицины 3 и 5 были идентичными с

65

фунгицидными полу- синтетическими соединениями, приготовленными из Кристофицина 1, исследователями фирмы Merck^{8,9}. Кристофицин 3 был приготовлен обработкой Кристофицина 1 цинк-медной парой или дифосфортетраиодидом⁸. Кристофицин 5 был приготовлен метанолизом Кристофицина 1⁹.

Пример 1 Определение структуры

Определение структур новых соединений, а именно Кристофицинов 2, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 17, 18, 19, 21, 23, 24, 26, 28, 29, 30, 31, 40, 43, 45, 49, 50 и 54, а также тех, которые были раскрыты ранее, было проведено прямым способом с использованием методологии, которая является хорошо известной специалистам в этой области. Масс спектральные данные согласовывались с молекулярными составами. Данные протонного магнитного резонанса и углеродного ядерного магнитного резонанса, полученные из COSY, HMQC, HMBC и NOESY спектров позволяют собрать все основные структуры этих депептидного типа соединений. Присутствие различных гидроксильных и аминокислотных звеньев в каждом соединении были подтверждены с помощью газохроматографического масс спектрального анализа. Полные структуры, включающие абсолютную стереохимию, были определены с использованием комбинации методов химической деструкции и спектрально аналитических методов соответствующих производных кристофициновых соединений.

Пример 2 Зависимости структура-активность (SAR)

Для изучения структурных характеристик Кристофицина 1, необходимых для оптимальной активности, все соединения, описанные здесь, были оценены на цитотоксичность по отношению к линии клеток KB (человеческой назофарингиальной карциномы), по отношению к LoVo, (человеческой карциномы ободочной (толстой) кишки) и SKOV3 (яичниковой человеческой карциномы). Величины IC₅₀ приведены в Таблицах 1 и 2. Сравнение цитотоксичности показывает, что интактное (неактивное) макролидное кольцо, эпокси и метильные группы и двойная связь в 7,8-эпокси-5-гидрокси-6-метил-8-фенил-2-октеновом кислотном звене (смотри звено А на Фигуре 1), хлор и О-метильных группах в 3- (3-хлор-4-метоксифенил)аланиновом звене (звено В), метильной группе в звене 3-амино-2-метилпропионовой кислоты (звено С), и изобутильной группе в звене лейциновой кислоты (звено D) Кристофицина 1, являются необходимыми для оптимальной цитотоксичности. Сильная цитотоксичность Кристофицина 8, наиболее вероятно, обусловлена хлоргидриновой функциональностью, которая выступает в качестве маскирующего агента эпоксида.

Наиболее активные соединения были также оценены на селективную цитотоксичность против четырех различных типов клеток, а именно, мыши-

66

ной лейкемии (L1210 или P388), мышинной твердой опухоли (аденокарциномы толстой кишки 38, панкреатической аденокарциномы протоки 03, аденокарциномы молочной железы M16/M17), человеческой твердой опухоли (толстой кишки CX-1, HCT8, H116; легкого P125; молочной железы MX-1, MCF-7) и фибробласта (LML) со слабым злокачественным развитием с использованием анализа Corbett⁴, диффузного дискового анализа, смоделированного после анализа, обычно используемого в противогрибковом и противобактериальном испытании.

Результаты, показанные в Таблице 1, свидетельствуют о том, что Кристофицины 1-5 и 8 не являются селективными ни по отношению к твердой опухоли, ни по отношению к лейкемии, но гораздо более активны против линий клеток опухоли, включая те линии клеток опухоли, которые оказывают сопротивление лекарству. такие как M17. Ни одно из соединений не проявляет зоны ингибирования для любых линий клеток твердой опухоли, такой зоны, которая составляла бы зону из 250 единиц, т.е. 7.5 мм, больше чем зона ингибирования для линии клеток лейкемии. Кристофицины 1-5 и 8, однако, проявляют заметно большие зоны ингибирования (зону из 400 единиц) для всех линий клеток опухоли, по сравнению с зоной ингибирования для фибробласта LML.

Диагностически было найдено, что LML ведет себя в большей степени как нормальная клетка, а не как опухолевая клетка по отношению к клинически полезным цитотоксичным агентам (смотри данные

347

анализа Corbett для 5-фторурацила, этопсида и таксола в Таблице 1). Так как различные цитотоксичности были для зоны больше 250 единиц, Кристофицины 1-5 и 8 были селективны к опухоли. Поэтому эти соединения стали кандидатами для испытания *in vivo*.

Кристофицин 1 является активным против широкого спектра мышинных и человеческих опухолей, имплантированных мышам, включая опухоли сопротивления лекарству (Таблица 3). Кристофицин 1 проявляет превосходную активность против пяти ранних стадий мышинных опухолей, а именно, аденокарцином слепой кишки #38 и #51, опухоли молочной железы, чувствительной к таксолу и оказывающей сопротивление таксолу #16/C/RP, и панкреатической двойной аденокарциномы #03 и двух ранних стадий человеческих опухолей, испытанных у мышей с (SCID)-тяжелым комбинированным иммунодефицитом, а именно MX-1 груди и H125 аденосаркомы легкого, проявляющих величины опухолевого предрасположения Т/С (среднее опухолевое предрасположение у обработанных животных/среднее опухолевое предрасположение у необработанных животных), которые составляют меньше чем 10%.

Величины Т/С, которые составляют меньше, чем 42% считаются активными согласно NCI стандартам; величины Т/С, которые составляют меньше, чем 10% считаются что имеют превосходную активность и потенциальную клиническую активность согласно NCI стандартам⁴. Два из трех испытаний показывают суммарные величины Log уничтожения (опухолевой клетки) 2.0. Суммарную величину Log уничтожения определяют в виде $T-C/3,2 T_d$, где Т представляет среднее время в сутках для опухолей обработанной группы для достижения опухоли в 750 мг, С представляет среднее время в сутках для опухолей контрольной группы для достижения опухоли в 750 мг, и T_d представляет время удвоения объема опухоли. Суммарные величины Log уничтожения выше 2.8, 2.0-2.8, 1.3-1.9, 0.5-0.8 и ниже 0.5 с продолжительностью обработки лекарством 5-20 суток считает +++, ++, + и - (неактивный), соответственно. Характеристика активности от +++ до +++, которая является указанием клинической активности, является необходимой для частичного влияния или полной регрессии масс размером 100-300 мг большинства трансплантированных твердых опухолей мышей.

Кристофицин 8 также является активным против широкого спектра опухолей, трансплантированных мышам (Таблица 4). Он проявляет превосходную активность против всех испытанных на сегодняшний день опухолей, показывая величины опухолевого предрасположения Т/С меньше 10%, но более важно, суммарные характеристики активности Log уничтожения от +++ до ++++ и в некоторых случаях выживание.

Хорошая активность *in vivo* была также обнаружена с Кристофицином 35 в одном испытании, которое было проведено на сегодняшний день.

Летальная токсичность, наблюдавшаяся в процессе испытаний Кристофицинов 1 и 8, была приписана лейкопении, которая является обычной для всех клинически используемых противоопухолевых лекарств.

Пример 3 Состояния культуры

Nostoc sp. GSV 224 был получен от профессора C.P.Wolk, MSU-DOE Plant Research Laboratory, Michigan State University. Nostoc sp. ATCC 53789 был куплен у American Type Culture Collection. Была использована 1 л склянка культуры водорослей для инокулирования автоклавированной 20 л стеклянной емкости, содержащей неорганическую среду, обозначенную BG-11³, рН которой была доведена до 7.0 NaOH. Культуры непрерывно облучали светом с интенсивностью падающего света 200 мкмоль фотонов $m^{-2} sec^{-1}$ (фотосинтетически активного излучения) от скамьи флуоресцентных трубок холодного белого свечения и аэрировали со скоростью 1 л/мин смесью CO_2 и воздуха при температуре 24° +/- 1°C. Обычно культуру собирали фильтрованием через 21 день. Выходы лиофилизованного Nostoc sp. GSV 224 и ATCC 53789 в среднем составляли 0.61 и 0.3 г/л культуры, соответственно.

Пример 4 Выделение

Способ А: Лиофилизированный Nostoc sp. GSV 224 экстрагировали 2 л смеси 1:5 CH_2Cl_2/CH_3CN в течение 48 часов и экстракт концентрировали в вакууме, получая темно-зеленое твердое вещество. Остаток (1 г; КВ МПС 0.24 нг/мл) был помещен в кремниевую колонку, покрытую ODS (55 г, 7x5 см) и подвергнут флеш хроматографии смесью 1:3 CH_3CN/H_2O (0.8 л), 1:1 CH_3CN/H_2O (0.8 л), 65:35 CH_3CN/H_2O (1.0 л), MeOH (0.8 л) и CH_2Cl_2 (0.5 л). Фракция, которая была элюирована 65:35 CH_3CN/H_2O (420 мг КВ МПС 14 пкг/мл) была подвергнута обработке с помощью жидкостной гель проникающей хроматографии с обращенной фазой (Econosil C18, 10 мк, 25 см x 21.5 мм, УФ детектирование при 250 нм, 65:35 CH_3CN/H_2O , скорость потока 6 мл/мин) с получением Кристофицина 1 (t_R 49.3 мин, 220 мг) и ряда примесных фракций. Фракция, элюированная из Econosil C18 колонки при t_R 28.8 мин, была далее очищена с помощью жидкостной гель проникающей хроматографии с нормальной фазой (силикагель Econosil 5 мк картридж, 250 x 4.6 мм, 6:4 этилацетат/гексан, 3 мл/мин) с получением Кристофицина 16 (3.0 мг). Фракция, элюированная из Econosil C18 колонки при t_R 32.5 мин, была подвергнута обработке с помощью жидкостной гель проникающей хроматографии на колонке силикагель Econosil с использованием смеси 55:45 этилацетат/гексан при скорости 3 мл/мин с получением Кристофицина 24 (0.8 мг). Фракция, элюированная из Econosil C18 колонки при t_R 35.5 мин, была дважды подвергнута обработке с помощью жидкостной гель проникающей хроматографии на колонке силикагель Econosil сначала с использованием 1:1 смеси этилацетат/гексан при скорости 3 мл/мин и затем с использованием смеси 4:6 этилацетат/метилхлорид при скорости 2.5

мл/мин с получением Кристофицина 23 (1.2 мг) и Кристофицина 43 (0.1 мг). Фракция, элюированная из Econosil C18 колонки при t_R 39.5 мин, была подвергнута обработке с помощью жидкостной гель проникающей хроматографии на колонке силикагель Econosil с использованием 1:1 смеси этилацетат/гексан при скорости 3 мл/мин с получением Кристофицина 2 (6 мг) и Кристофицина 21 (14 мг) и комплексной смеси кристофицинов, элюированных при t_R 32.5 мин. Эта последняя фракция, собранная из 400 г сухих водорослей, была подвергнута хроматографированию на селективной полупрепаративной колонке (partisil C18, 250 x 9.4 мм, 10 мк) смесью 65:35 вода/ацетонитрил и аналитической колонке с обращенной фазой (Econosil, 150 x 4.6 мм, 5 мк) смесью 5:4:1 вода/ацетонитрил/метанол при скорости 1.3 мл/мин с получением Кристофицина 50 (t_R 34.8, 0.4 мг) и Кристофицина 40 (t_R 38.8 мин, 0.3 мг). Фракция, элюированная из Econosil C18 колонки при t_R 44.5 мин, была дважды подвергнута обработке с помощью жидкостной гель проникающей хроматографии на колонке силикагель Econosil 1:1 смесью этилацетат/гексан при скорости 3 мл/мин с получе-

67

69

нием Кристофицина 17 (0.3 мг). Очистка с помощью жидкостной гель проникающей хроматографии с нормальной фазой, фракции, элюированной из Econosil C18 колонки при t_R 54.5 мин, в виде плеча к Кристофицину 1, давала Кристофицин 45 (t_R 6.7 мин, 0.1 мг), Кристофицин 26 (t_R 8.9 мин, 0.5 мг) и Кристофицин 54 (t_R 19.8 мин, меньше 0.1 мг) с элюированием смесью 1:1 этилацетат/гексан. Фракцию, элюированную из Econosil C18 колонки в виде широкого пика (t_R 58 до 70 минут) подвергла анализу с помощью жидкостной гель проникающей хроматографии на Econosil силикагелевой колонке с 43:57 этилацетат/гексан при 2,5 мл/мин, с получением Кристофицина 4 (t_R 19.6 мин., 1,5 мг), Кристофицина 31 (t_R 9.4 мин., 0.8 мг), Кристофицина 19 (t_R 25/8 мин., 1,5 мг), Кристофицина 40 (t_R 28 мин., 0,1 мг), Кристофицина 28 (t_R 29.0 мин., 0,5 мг) и примеси Кристофицина 29 (t_R 52.5 мин., 2,0 мг) и Кристофицина 30 (t_R 49 мин., 3.0 мг). Чистые Кристофицины 29 и 30 получали после обработки с помощью гель проникающей хроматографии с обращенной фазой (Econosil C18, 10 мк, 250 x 10 мм, 3:1 метанол/ вода). Фракция, элюированная из Econosil C18 колонки при t_R 78.9 мин., была подвергнута обработке с помощью гель проникающей хроматографии на Econosil силикагелевой колонке с получением Кристофицина 3 (t_R 16.4 мин., 3.0 мг). Фракция, элюированная из Econosil C18 колонки при t_R 82.8 мин, была подвергнута обработке с помощью гель проникающей хроматографии на Econosil силикагелевой колонке с 45:55 этилацетат/гексан при скорости 3 мл/мин, и давала Кристофицин 18 (t_R 19.2, 0.8 мг).

Способ Б:

Лиофилизированный *Nostoc* sp. GS V 224 (12.23 г) был дважды проэкстрагирован 700 мл и 400 мл порциями MeOH в течение 12 и 5 часов (h), соответственно. Экстракты объединяли и концентрировали в вакууме с получением 1,84 г темнозеленого твердого вещества, которое было распределено между водой и CH_2Cl_2 . Липофильную часть (0,65 г, KB MIC 0,24 нг/мл) загружали в ODS - покрытую силикагелевую колонку (55 г, 7 x 5 см) и подвергали флеш хроматографированию с 1:3 MeOH/H₂O, 1:1 MeOH/H₂O (0,8 л), 3:1 MeOH/H₂O (0,8 л), MeOH (0,8 л) и CH_2Cl_2 (0,5 л). Фракция, которая была элюирована 3:1 MeOH/H₂O (22 мг, KB MIC 14 пкг/мл), которая считалась, по существу, вся обладающая цитотоксической активностью, была подвергнута обработке с помощью жидкостной гель проникающей хроматографии с обращенной фазой (Econosil C18, 10 мк, 250x10 мм, обнаружение с помощью УФ при 250 нм, скорость потока 3 мл/мин) с использованием 1:5 MeOH/H₂O в качестве элюэнта, давала Кристофицины 7 (t_R 7.6 мин., 0,2 мг), 5 (t_R 15.4 мин., 2,3 мг), 2 (t_R 16.0 мин., 1,0 мг), 1 (t_R 19.0 мин., 12.0 мг), 4 (t_R 26.5 мин., 1,2 мг) и 3 (t_R 30.2 мин., 1,4 мг). Фракция (8.1 мг), которая

347

347

элюировалась из флеш колонки с помощью 1:3 MeOH/H₂O, из одной из культур, проявляла среднюю цитотоксичность (KB MIC 2 мкг/мл). Очистка с помощью жидкостной гель проникающей хроматографии с использованием 2:3 MeOH/H₂O в качестве элюэнта давала Кристофицин G (7., t_R 6.0 мин., 2.4 мг).

Пример 5.

Spectral data for Cryptophycins 1-7

The bold italicized letters in the spectral data refer to the units A-D in Figure 1.

Кристофицин 1

$[\alpha]_D + 33,8^\circ$ (MeOH, c 1.83); УФ λ_{max} (ϵ) 208 (42,400), 218 (33,700), 228 (23,800), 280 (2,210); CD $[\theta]_{202} + 15,900$, $[\theta]_{206} + 64,900 + 64,900 [\theta]_{214} + 26,900$, $[\theta]_{224} + 46,300$, $[\theta]_{237} + 10,500$, ИК ($CHCl_3$) ν_{max} 3425, 2963, 1751, 1719, 1677, 1502, 1259 cm^{-1} . EIMS m/z (относит. интенсивность) 654/656 (20/9), 412/414 (33/12), 280/282 (31/12), 227 (80), 195/197 (92/44), 91 (100), высокого разрешения EIMS m/z 654,2665 (рассчитано для C₃₅H₄₃ClN₂O₃, 4.3 mmu ошибки). ¹H NMR (CDCl₃): amino или окси кислотное звено δ (положение углерода, мультиплетность 7,8-эпокси-5-окси-6-метил-8-фенил-2-октеновая кислота (A) 5,74 (2, dt; 15,5 и 0,9), 6,68 (3, ddd; 15,5, 9,6 и 5,2), 2,45 (4, ddd; 14,2, 11,1 и 9,6), 2,55 (4, brdd; 14,2 и 5,2), 5,16 (5 ddd; 11,1, 4,9 и 1,9), 1,80 (6, m), 1,14 (6-Me, d; 7,1), 2,92 (7, dd, 7,5 и 2,0), 3,69 (8, d; 2,0), 7,25 (10/14, m), 7,34-7,39 (11/12/13, m); лейциновая кислота (D) 4,83 (2, dd: 6,8 и 3,3), 1,70 (3, m), 1,36 (3, m), 1,70 (4, m), 0,86 (5, d; 6,6), 0,85 (4-Me, d; 6,6); 3-амино-2-метилпропиленовая кислота (C)

2.71 (2, m), 1.22 (2-Me, d; 7.1), 3.30 (3, ddd; 13.4, 5.8 и 3.8), 3.48 (3, ddd; 13.4, 6.3 и 5.8), 6.93 (3-NH, brt; 5.8); 3-хлор-4-метоксифенилаланин (В) 4.80 (2, ddd; 8.7, 7.3 и 5.4), 5.61 (2-NH, d; 8.7), 3.03 (3, dd; 14.4 и 7.3), 3.13 (3, dd; 14.4 и 5.4), 7.21 (5, d; 2.1), 3.87 (7-OCH₃, s), 6.83 (8, d; 8.5), 7.07 (9, dd; 8.5 и 2/1). ¹³C NMR (CDCl₃): звено δ (положение углерода) А 165.3 (1), 125.3 (2), 141.0 (3), 36.7 (4), 76.2 (5), 40.6 (6), 13.5 (6-Me), 63.0 (7), 59.0 (8), 136.7 (9), 125.6 (10/14), 128.7 (11/13), 128.5 (12); D 170.7 (1), 71.3 (2), 39.4 (3), 24.5 (4), 22.9 (5), 21.3 (4-Me); С 175.6 (1), 38.2 (2), 14.1 (2-Me), 41.1 (3); В 170.9 (1), 53.6 (2), 35.0 (3), 129.7 (4), 131.0 (5), 122.4 (6), 154.0 (7), 56.1 (7-OCH₃), 112.2 (8), 128.4 (9).

Криптофицин 2

[α]_D + 20,4° (MeOH, c 0,54); УФ λ_{max} (ε) 206 (43,800), 218 (37,500), 232 (22,900), 278 (2,410); CD [θ]₂₀₃ +54,100, [θ]₂₁₂ + 16,500, [θ]₂₂₅ + 53,600, [θ]₂₃₆ - 14,000, ИК (CHCl₃) ν_{max} 3423, 3029, 2961, 1742, 1724, 1678, 1512, 1258 см⁻¹, EIMS m/z (относит.интенсивность) 620 (11, M⁺), 431 (3), 378 (8), 377 (6), 311 (11), 246 (10), 244 (8), 227 (14), 195 (17), 161 (84, CH₃O-C₆H₄-CH=CH-CO⁺), 121 (79, CH₃O - C₆H₄-CH₂⁺), 91 (100); высокое разрешение EIMS

71

m/z 620.3094 (рассчитано для C₅₅H₄₄N₂O₈, 0,3 мму ошибки); 161,0605 (рассчитано для C₁₀H₉O₂, - 0,2мму ошибки); 121,0658 (рассчитано для C₈H₉O, - 0,4 мму ошибка). ¹H NMR (CDCl₃): аминокислотное звено δ (положение углерода, мультиплетность; J in Hz) 7,8-эпокси-5-окси-6-метил-8-фенил-2-октеновая кислота (А) 5.71 (2, dd; 15.4 и 1.3), 6.70 (3, ddd; 15.4, 10.2 и 5.0), 2.45 (4, m), 2.55 (4, m), 5.18 (5, ddd; 11.3, 4.8 и 2.0), 1.79 (6, m), 1.14 (6-Me, d; 7.0), 2.92 (7, dd; 7.7 и 2.0), 3.68 (8, d; 2.0), 7.24 (10/14, m), 7.34-7.39 (11/12/13, m); лейциновая кислота (D) 4.82 (2, dd; 10.1 и 3.7), 1.70 (3, m), 1.33 (3, m), 1.70 (4, m), 0.86 (5, d; 6.4), 0.84 (4-Me, d; 6.4); 3-амино-2-метилпропионовая кислота (С) 2.68 (2, m), 1.23 (2-Me, d; 7.3), 3.39 (3-H₂, m), 7.02 (3-NH, brt; 6.0); О-метилтирозин (В) 4.79 (2, ddd; 8.1 7.0 и 5.7), 5.55 (2-NH, d; 8.1), 3.07 (3, dd; 14.5 и 7.0), 3.13 (3, dd; 14.5 и 5.7), 7.10 (5/9, d; 8.6), 6.81 (6/8, d; 8.6), 3.78 (7-OCH₃, s). ¹³C NMR (CDCl₃): звено δ (положение углерода) А 165.1 (1), 125.1 (2), 141.1 (3), 36.7 (4), 76.0 (5), 40.7 (6), 13.6 (6-Me), 63.0 (7), 59.0 (8), 136.7 (9), 125.6 (10/14), 128.7 (11/13), 128.5 (12); D 170.6 (1), 71.3 (2), 39.4 (3), 24.5 (4), 21.3 (5), 22.9 (4-Me); С 176.0 (1), 38.1 (2), 14.2 (2-Me), 40.7 (3); В 171.1 (1), 53.9 (2), 35.3 (3), 131.0 (4), 130.2 (5/9), 114.1 (6,8), 158.6 (7), 55.2 (7-OCH₃).

Криптофицин 3

[α]_D + 20,3° (MeOH, c 1,13); УФ λ_{max} (ε) 206 (51,700), 218 (31,200), 230 (22,900), 246 (18,800), 280 (3,230); CD [θ]₂₀₅ +50,000, [θ]₂₁₂ -390, [θ]₂₁₈ -47,200, [θ]₂₃₃-100, [θ]₂₅₁ +33,400, [θ]₂₇₁ +4,310. ИК (CHCl₃) ν_{max} 3417, 2926, 1742, 1721, 1676, 1499, 1336 см⁻¹. EIMS m/z (относит.интенсивность) 638/640 (2/0.7, M⁺), 412/414

(63/19), 280/282 (15/5), 227 (100), 195 (63), 91 (98), высокое разрешение EIMS m/z 638.2764 (рассчитано для C₃₅H₄₃ClN₂O₇, -0.5мму ошибка), 412.1516 (рассчитано для C₂₀H₂₇ClNO₆, 1.1 мму ошибка), 227.1293 (рассчитано для C₁₅H₁₇NO, 1.0 мму ошибка). ¹H NMR (CDCl₃): аминокислотное звено δ (положение углерода, мультиплетность, J in Hz) 5-окси-6-метил-8-фенил-2,7-октадиеновая кислота (А) 5.77 (2, d, 15.5), 6.68 (3, ddd; 15.5, 9.5 и 5.3), 2.37 (4, m), 2.54 (4, m), 5.01 (5, ddd; 11.4, 6 и 1.5), 2.56 (6, m), 1.14 (6-Me, d; 7.0), 6.01 (7, dd, 15.8 и 8.8), 6.41 (8, d; 15.8), 7.28-7.34 (10/11/13/14, m), 7.23 (12, m); лейциновая кислота (D) 4.84 (2, dd; 10.1 и 3.6), 1.62 (3, m), 1.36 (3, m), 1.62 (4, m), 0.77 (5, d; 6.5), 0.73 (4-Me, d; 6.3), 3-амино-2-метилпропионовая кислота (С) 2.71(2, m), 1.22 (2-Me, d; 7.3), 3.28 (3, dt; 13.5 и 7.0), 3.50 (3, ddd; 13.5, 4.9 и 4), 6.93 (3-NH, brt; 6.3); 3-хлор-4-метоксифенилаланин (В) 4.82 (2, m), 5.64 (2-NH, d; 8.8), 3.05 (3, dd; 14.5 и 7.0), 3.13 (3, dd; 14.5 и 5.5), 7.22 (5, d; 2.2), 3.87 (7-OCH₃, s), 6.84 (8, d; 8.5), 7.08 (9, dd; 8.5 и 2.2). ¹³C NMR (CDCl₃): звено δ (положение углерода) А 165.4 (1), 125.2 (2), 141.4 (3), 36.5 (4), 77.1 (5), 42.3 (6), 17.3 (6-Me), 130.0 (7), 130.0 (8), 136,7 (9), 126.1 (10/14), 128.6 (11/13),

347

72

128.4 (12), D 170.1 (1), 71.6 (2), 39.5 (3), 24.5 (4), 21.2 (5), 22.7 (4-Me); С 175.6 (1), 38.3 (2), 14.0 (2-Me), 41.2 (3); В 170.9 (1), 53.5 (2), 35.1 (3), 129.8 (4), 131.0 (5), 122.4 (6), 154.0 (7), 56.1 (7-OCH₃), 112.2 (8), 127.6 (9).

Криптофицин 4

[α]_D + 36,7° (MeOH, c 1.93); УФ λ_{max} (ε) 206 (41,800), 228 (25,000), 240 (21,200), 248 (22,500), 280 (3,000), 290 (1,230); CD [θ]₂₀₅ + 63,900, [θ]₇₁₁ +3,040, [θ]₂₁₈ -71,900, [θ]₂₂₉ -11,700, [θ]₂₃₄ -130, [θ]₂₅₂ + 47,500, [θ]₂₇₀ + 5,400. ИК (CHCl₃) ν_{max} 3410, 2962, 2917, 1741, 1718, 1678, 1511, 1251 см⁻¹. EIMS m/z (относит.интенсивность) 604 (2, M⁺), 378 (74), 246 (11), 227 (46), 161 (100), 91 (96), высокое разрешение EIMS m/z 604.3127 (рассчитано для C₃₅H₄₄N₂O₇, 2,2 мму ошибка), 378.1910 (рассчитано для C₂₀H₂₈NO₆, 0,7мму ошибка), 227.1293 (рассчитано для C₁₅H₁₇NO, 1,7мму ошибка), 161.0605 (рассчитано для C₁₀H₉O₂, - 0.2мму ошибка). ¹H NMR (CDCl₃): аминокислотное звено (положение углерода мультиплетность, J in Hz) 5-окси-6-метил-8-фенил-2,7-октадиеновая кислота (А) 5.74 (2, dd; 15.3 и 1.2), 6.71 (3, ddd; 15.3, 10.3 и 5.0), 2.37 (4, m), 2.53 (4, m), 5.03 (5, ddd; 11.2, 6.4 и 2.0), 2.55 (6, m), 1.13 (6-Me, d; 6.8), 6.01 (7, dd; 15.8 и 8.8), 6.40 (8, d; 15.8), 7.28-7.37 (10/11/13/14, m), 7.22 (12, m); лейциновая кислота (D) 4.84 (2, dd; 10.1 и 3.6), 1.65 (3, m), 1.34 (3, m), 1.65 (4, m), 0.75 (5, d; 6.5), 0.72 (4-Me, d; 6.3); 3-амино-2-метилпропионовая кислота (С) 2.69 (2, m), 1.22 (2-Me, d; 7.5), 3.39 (3-H₂, m), 7.03 (3-NH, brt; 6.0); О-метилтирозин (В) 4.79 (2, m), 5.61 (2-NH, d; 7.8), 3.08 (3, dd; 14.5 и 7.0), 3.13 (3, dd; 14.5 и 5.3), 7.11 (5/9, d; 8.8), 6.81 (6/8, d; 8.8), 3.78 (7-OCH₃, s). ¹³C NMR (CDCl₃):

звено δ (положение углерода) А 165.3 (1), 125.1 (2), 141.5 (3), 36.5 (4), 77.1 (5), 42.3 (6), 17.3 (6-Me), 130.1 (7), 131.8 (8), 136.7 (9), 126.2 (10/14), 128.7 (11/13), 127.6 (12), D 170.8 (1), 71.6 (2), 39.5 (3), 24.5 (4), 21.2 (5), 22.7 (4-Me); С 175.9 (1), 38.2 (2), 14.2 (2-Me), 40.9 (3), В 171.2 (1), 53.8 (2), 35.3 (3), 131.0 (4), 130.2 (5/9), 114.1 (6/8), 158.6 (7), 55.2 (7-OCH₃).

Криптофицин 5

$[\alpha]_D + 36,0^\circ$ (MeOH, с 0,55); УФ $\lambda_{\max}$ (ϵ) 206 (45,600), 218 (37,700), 280 (3,790), 286 (3,480), 325 (2,080), CD $[\theta]_{203} +7,710$, $[\theta]_{206} +29,000$, $[\theta]_{210} +21,400$, $[\theta]_{222} +59,800$, $[\theta]_{234} +12,800$, $[\theta]_{241} +13,700$. ИК (CHCl₃) $\nu_{\max}$ 3426, 2958, 1728, 1672, 1502, 1259 см⁻¹. EIMS m/z (относит.интенсивность) 686/688 (0.15 10.05), 655/657 (1/0,3), 654/656 (1,5/0,5), 311/313 (75/27), 195 (66), 155 (54), 121 (51), 91 (100); высокое разрешение EIMS m/z 686.2983 (рассчитано для C₃₆H₄₇ClN₂O₉, - 1,3 mmu ошибка). ¹H NMR (CDCl₃) амино или оксикислотное звено δ (положе-

73

ние углерода; мультиплетность J in Hz) 7,8-эпокси-5-окси-6-метил-8-фенил-2-октеновая кислота (А) 5.87 (2, d; 15.3), 6.72 (3, dt; 15.3 и 6.8), 2.60 (4, m), 2.52 (4, ddd; 15.2, 7.8, и 6.8), 5.11 (5, ddd; 12.3, 7.8, и 7.1), 1.87 (6, m), 1.12 (6-Me, d; 7.1), 2.91 (7, dd; 7.3 и 2.1), 3.70 (8, d; 2.1), 7.24 (10/14, brd; 7.4), 7.29-7.36 (11/12/13, m); лейциновая кислота (D) 4.09 (2, m), 2.86 (2-OH, brd, 6.1), 1.83 (3, m), 1.42 (3, m), 1.86 (4, m), 0.90 (5, d; 6.6), 0.87 (4-Me, d; 6.8); 3-амино-2-метилпропионовая кислота (С) 3.64 (1-OCH₃, s), 2.60 (2, m), 1.07 (2-Me, d; 7.3), 3.27 (3, ddd; 13.5, 8.0 и 5.5), 3.39 (3, m), 6.32 (3-NH, t; 5.4); 3-хлор-4-метоксифенилаланин (В) 4.59 (2, dt; 6 и 7.5) 6.30 (2-NH, d; 7.5), 2.95 (3, dd; 13.6 и 7.5), 3.0 (3, dd; 13.6 и 6.0), 7.2 (5, d; 2.1), 3.86 (7-OCH₃, s), 6.84 (8, d; 8.5), 7.05 (9, dd; 8.5; 2.1). ¹³C NMR (CDCl₃): звено δ (положение углерода) А 164.8 (1), 126.5 (2), 139.2 (3), 34.4 (4), 75.5 (5), 39.2 (6), 12.9 (6-Me), 63.3 (7), 58.7 (8), 136.8 (9), 125.7 (10/14), 128.6 (11/13), 128.4 (12); D 175.1 (1), 69.2 (2), 43.2 (3), 24.3 (4), 21.2 (5), 23.2 (4-Me); С 175.4 (1), 51.9 (1-OMe), 39.1 (2), 14.7 (2-Me), 41.6 (3); В 170.6 (1), 54.6 (2), 37.4 (3), 129.5 (4), 131.0 (5), 122.4 (6), 154.1 (7), 56.1 (7-OMe), 112.2 (8), 128.4 (9).

Криптофицин 6

$[\alpha]_D + 17,1^\circ$ (MeOH, с 1,1); УФ $\lambda_{\max}$ (ϵ) 206 (40,000), 218 (30,100), 228 (21,400), 282 (2,430); CD $[\theta]_{203} +37,700$, $[\theta]_{210} - 5,430$, $[\theta]_{213} -1,260$, $[\theta]_{221} +24,100$, $[\theta]_{232} +8,480$, $[\theta]_{240} +13,400$, $[\theta]_{254} +790$, ИК (CHCl₃) $\nu_{\max}$ 3425, 3006, 2956, 1726, 1672, 1641, 1502, 1462, 1259 см⁻¹, FABMS (тиоглицерин) m/z, (относит.интенсивность) 573/575 (13/6) [M-H₂O]⁺, 217 (26), 91 (100). ¹H NMR (CDCl₃): амино или оксикислотное звено δ (положение углерода, мультиплетность; J in Hz) 5, 7,8-триокси-6-метил-8-фенил-2-октеновая кислота (А) 5.92 (2, dt, 15.0 и 1.5), 6.94 (3, dt; 15 и 7.5), 2.51 (4, m), 2.64 (4, m), 3.97 (5, ddd; 9.3, 6.5 и 4.5), 2.03 (6, m), 1.10 (6-

Me, d; 6.5), 3.70 (7, dd; 9.0 и 7.5), 4.64 (8, d; 7.5), 7.33-7.39 (10/11/13/14, m), 7.28 (12, tt; 6.5 и 2.0); 3-хлор-4-метоксифенилаланин (В) 4.60 (2, td; 8.0 и 6.0), 6.09 (2-NH, brd; 8.0), 2.96 (3, dd; 13.8 и 8.0), 3.02 (3, dd; 13.8 и 6.0), 7.22 (5, d; 2.0), 3.86 (7-OCH₃ s), 6.84 (8, d; 8.5), 7.07 (9, dd; 8.5 и 2.0) 3-амино-2-метилпропионовая кислота (С) 3.63 (1-OCH₃, s), 2,58 (2, m), 1,07 (2-Me, d; 7,0), 3,24 (3, ddd; 13.8, 8 и 6.5), 3,41 (3, ddd; 13.8, 6.5 и 4.8), 6,21 (3-NH, brt; 6,5). ¹³C NMR (CDCl₃): звено δ (положение углерода) А 165.2 (1), 125.6 (2), 141.3 (3), 36.9 (4), 82.5 (5). 46.3 (6), 14.3 (6-Me), 85.1 (7), 84.8 (8), 140.9 (9), 125.8 (10/14), 128.6 (11/13), 127.8 (12); В 170.6 (1), 54.5 (2), 37.3 (3), 129.6 (4), 131.0 (5), 122.5 (6), 154.1 (7), 56.1 (7-OCH₃), 112.2 (8), 128.5 (9) С 52.0 (1-OCH₃), 175.4 (1), 39.2 (2), 14.7 (2-Me), 41.6 (3).

Криптофицин 7

$[\alpha]_D + 51,9^\circ$ (MeOH, с 0,89); УФ $\lambda_{\max}$ (ϵ) 206 (23,400), 220 (14,900), 282 (1,670), CD $[\theta]_{202} +35,400$, $[\theta]_{206} -1,730$, $[\theta]_{211} -19,200$, $[\theta]_{220} -15,800$,

347

74

$[\theta]_{232} +29,000$, $[\theta]_{263} +2,040$. ИК (CHCl₃) $\nu_{\max}$ 3426, 2946, 1732, 1675, 1501, 1258 см⁻¹. EIMS m/z (относит.интенсивность) 455/457 (1/0.3, [M-2H₂O]⁺), 105 (100), 77 (98); FABMS m/z (magic bullet matrix) 496/498 [M-H₂O+Na]⁺, (тиоглицериновая матрица) 474/476 [M-H₂O1+H]⁺. ¹H NMR (CD₃OD): амино или оксикислотное звено α (положение углерода, мультиплетность; J in Hz) 5,7,8-триокси-6-метил-8-фенил-2-октеновая кислота (А) 6.06 (2, ddd; 15.5, 1.3 и 1.0), 6.80 (3, dt, 15.5 и 7.5), 2.49 (4, m), 2.59 (4, m), 3.92 (5, ddd; 9,5, 6.3 и 4.7), 1.95 (6, m), 1.08 (6-Me, d; 6.7), 3.59 (7, dd; 9.0 и 7.8), 4.56 (8, d; 7.8), 7.37 (10/14, brd; 7.3), 7.31 (11/13, brt; 7.3), 7.24 (12, tt, 7.3 и 1.5), 3-хлор-4-метоксифенилаланин (В) 4.52 (2, dd; 6.9 и 5.0), 2.93 (3, dd; 13.8 и 6.9), 3.15 (3, dd; 13.8 и 5.0), 7.20 (5, d; 2.2), 3.78 (7-OCH₃, s), 6.88 (8, d; 8.4), 7.08 (9, dd; 8.4 и 2.2). ¹³C NMR (CD₃OD): звено δ (положение углерода) А 167.4 (1), 127.6 (2), 140.9 (3), 37.9 (4), 84.0 (5), 47.6 (6), 14.4 (6-Me), 86.0 (7), 85.8 (8), 142.9 (9), 127.1 (10/14), 129.3 (11/13), 128.5 (12), В 177.6 (1), 57.3 (2), 38.2 (3), 132.8 (4), 132.1 (5), 122.9 (6), 155.0 (7), 56.5 (7-OCH₃), 113.2 (8), 130.1 (9).

Криптофицин 16

$[\alpha]_D + 41,3^\circ$ (MeOH, с 5,2); УФ $\lambda_{\max}$ (ϵ) 242 (4963), 280 (2430), 286 (2212), ИК (neat) $\nu_{\max}$ 3402, 3270, 2960, 1748, 1724, 1676, 1514, 1466, 1343, 1239, 1177 см⁻¹; EIMS m/z (относит.интенсивность) 640/642 (66/27), 398/400 (47/16), 265 (55), 227 (93), 181 (100); высокое разрешение EIMS m/z 640.25676 (рассчитано для C₃₄H₄₁ClN₂O₈, -1.6 mmu ошибка). ¹H NMR (CDCl₃): амино или оксикислотное звено δ (положение углерода, мультиплетность, J in Hz) 7,8-эпокси-5-окси-6-метил-8-фенил-2-октеновая кислота (А) 5.74 (2, d; 16), 6.67 (3, ddd; 15.3, 9.7 и 5.5), 2.45 (4, dt; 14.3 и 10.4), 2.55 (4, brdd; 14.3 и 5.3), 5.15 (5, ddd; 11.2, 4.8 и 1.8), 1.8 (6, m), 1.14 (6-Me, d; 7.0), 2.92 (7, dd; 7.5 и 2.0), 3.69 (8, d; 2.0).

7.24-7.26 (10/14, m), 7.33-7.39 (11/12/13, m), 3-хлор-4-оксифенилаланин (B) 4.8 (2, m), 5.64 (2-NH, d; 8.8), 3.03 (3, dd, 14.5 and 7.0), 3.11 (3, dd; 14.4 и 5.6). 7.17 (5, d; 2.2), 5.61 (7-OH, s), 6.91 (8, d; 8.3), 7.0 (9, dd; 8.3 и 2.2); 3-амино-2-метилпропионовая кислота (C) 2.71 (2, m), 1.22 (2-Me, d; 7.3), 3.28 (3, dt; 13.6 и 6.8), 3.49 (3, ddd; 13.6, 5 и 4.1), 6.92 (3-NH, br t; 6.1) лейциновая кислота (D) 4.83 (2, dd; 10.1 и 3.3), 1.36 (3, m), 1.67-1.75 (3, m), 1.67-1.75 (4, m), 0.85 (5, d; 7.5), 0.86 (4-Me, d; 6.8). ^{13}C NMR (CDCl_3) звено δ (положение углерода) A 165.3 (1), 125.3 (2), 141.0 (3), 36.7 (4), 76.2 (5), 40.6 (6), 13.5 (6-Me), 63.0 (7). 59.0 (8), 136.8 (9), 125.6 (10/14), 128.7 (11/13), 128.6 (12); B 170.9 (1), 53.6 (2), 35.1 (3), 129.9 (4), 129.6 (5), 120.0 (6), 150.4 (7), 116.4 (8), 129.2 (9); C 175.6 (1), 38.3 (2), 14.1 (2-Me), 41.1 (3), D 170.8 (1), 71.3 (2), 39.4 (3), 24.6 (4), 21.3 (5), 22.9 (4-Me).

75

Криптофицин 17

$[\alpha]_D + 27.8^\circ$ (CHCl_3 , c. 0,37); УФ λ_{max} (ϵ) 248 (14740), 268 (8100), 278 (3400), 284 (2840), ИК (neat) ν_{max} 3412, 2958, 1750, 1723, 1668, 1504, 1463, 1290, 1177, 751 cm^{-1} , EIMS m/z (относительная интенсивность) 624/626 (10/3), 398/400 (95/35), 284 (100), 149 (95); высокое разрешение EIMS m/z 624.26161 (рассчитано для $\text{C}_{34}\text{H}_{41}\text{ClN}_2\text{O}_7$ -1.4 mmu ошибка). ^1H NMR (CDCl_3): амино или оксикислотное звено δ (положение углерода; мультиплетность J in Hz) 5-окси-6-метил-8-фенил-2,7-октадиеновая кислота (A) 5.77 (2, d; 15.4), 6.67 (3, ddd; 15.4, 9.5, и 5.3), 2.37 (4, m), 4.99 (5, ddd; 11.2, 6.3, и 1.6), 2.54 (6, m), 1.14 (6-Me, d; 6.7), 6.01 (7, dd; 15.7, и 8.7), 6.41 (8, d; 15.9), 7.28-7.34 (10/11/13/14, m), 7.23 (12, m), 3-хлор-4-оксифенилаланин (B) 4.82 (2, m), 5.63 (2-NH, d; 8.7), 3.12 (3, dd; 14.7, и 5.6), 3.03 (3', dd, 14.7, и 7.1), 7.18 (5, d; 2.0), 5.47 (7-OH, br s), 6.91 (8, d; 8.3), 7.02 (9, dd; 8.3, и 2.0); 3-амино-2-метилпропионовая кислота (C) 2.71 (2, m), 1.21 (2-Me, d' 6.9), 3.25 (3, m), 3.52 (3', m), 6.89 (3-NH, br t; 6.1), дейциновая кислота (D) 4.84 (2, dd; 9.6, и 3.1), 1.62 (3, m), 1.36 (3', m), 1.62 (4, m), 0.77 (5, d' 6.5), 0.73 (4-Me, d; 6.5); ^{13}C NMR (CDCl_3) звено δ (положение углерода) A 165.4 (1), 125.3 (2), 141.3 (3), 36.5 (4), 77.1 (5), 42.3 (6), 17.3 (6-Me), 130.0 (7), 129.9 (8), 136.7 (9), 126.2 (10/14), 128.6 (11/13), 127.6 (12), B 170.9 (1), 53.5 (2), 35.1(3), 129.6 (4), 131.9 (5), 126.2 (6), 150.3 (7), 116.3 (8), 127.6 (9), C 175.9 (1), 38.4 (2), 13.9 (2-Me), 41.3 (3), D 170.9 (1), 71.6 (2), 39.5 (3), 24.5 (4), 21.2 (5), 22.7 (4-Me).

Криптофицин 18

$[\alpha]_D + 54.9^\circ$ (MeOH, c 0,93); УФ λ_{max} (ϵ) 250 (20518), 284 (3857). ИК (neat) ν_{max} 3411, 3271, 2966, 1746, 1728, 1668, 1505, 1463, 1258, 1178 cm^{-1} ; EIMS m/z (относительная интенсивность) 638/640 (4.5/1.1), 412/414 (59/17), 227 (100); высокое разрешение EIMS m/z 638.272934 (рассчитано для $\text{C}_{35}\text{H}_{43}\text{ClN}_2\text{O}_7$, 2.9 mmu ошибка). ^1H NMR (CDCl_3): амино или оксикислотное звено δ (положение угле-

рода, мультиплетность; J in Hz) 5-окси-6-метил-8-фенил-2,7-октадиеновая кислота (A) 5.76 (2, d; 15.5), 6.65 (3, ddd; 15.4, 9.2 и 6.2), 2.38-2.47 (4, m), 5.08 (5, ddd; 10.6, 4.9 и 2.2), 2.58 (6, m), 1.15 (6-Me, d; 6.8), 6.07 (7, dd; 15.9 и 8.5), 6.43 (8, d; 15.9), 7.21-7.35 (10/11/12/13/14, m); 3-хлор-4-метоксифенилаланин (B) 4.83 (2, m), 3.05 (3, dd; 14.5 и 7.1), 5.65 (2-NH, d; 8.7), 3.14 (3, dd; 14.4 и 5.5), 7.21 (5, d; 2.4), 3.86 (7-OCH₃, s), 6.83 (8, d; 8.3), 7.08 (9, dd; 8.3 и 2.2), 3-амино-2-метилпропионовая кислота (C) 2.73 (2, m), 1.23 (2-Me, d; 7.2), 3.23 (3, dt; 13.5 и 6.8), 3.56 (3, ddd; 13.5, 5.7 и 4.0), 6.85 (3-NH, dd; 7.1 и 6.2); лейциновая кислота (D) 4.8 (2, d; 4.6), 1.86-1.89 (3, m), 0.94 (3-Me, d; 7.0), 1.20-1.26 (4, m), 1.39-1.44 (4, m), 0.77 (5, d; 7.4). ^{13}C NMR (CDCl_3) звено δ (положение углерода) A 165.5 (1), 125.2 (2), 141.5 (3), 36.4 (4), 77.7 (5), 41.9 (6), 17.1

347

76

(6-Me), 129.8 (7), 131.9 (8), 136.8 (9), 128.6 (10/14), 126.2 (11/13), 127.6 (12); B 170.0 (1), 53.5 (2), 35.1(3), 129.9 (4), 131.1(5), 122.4 (6), 153.9 (7), 56.1(7-OCH₃), 112.2 (8), 128.5 (9); C 175.3 (1), 38.6 (2), 14.0 (2-Me), 41.4 (3), D 169.5 (1), 76.6 (2), 36.2 (3), 15.5 (3-Me), 24.2 (4), 14.0 (5).

Криптофицин 19

$[\alpha]_D + 62.6^\circ$ (MeOH, c 0,67); УФ λ_{max} (ϵ) 204 (44900), 230 (17000), 248 (15600), 280 (2500); ИК (neat) ν_{max} 3413, 3272, 2966, 1745, 1726, 1672, 1504, 1258, 1199, 1178, 1066, 692 cm^{-1} ; EIMS m/z (относительная интенсивность) 624/626 (3.0/1.4), 398/400 (58/21), 280/282 (15/5), 227 (100), 195/197 (57/22); высокое разрешение EIMS m/z 624.2585 (рассчитано для $\text{C}_{34}\text{H}_{41}\text{ClN}_2\text{O}_7$, 1.8 mmu ошибка). ^1H -NMR (CDCl_3): амино или оксикислотное звено δ (положение углерода, мультиплетность; J in Hz) 5-окси-6-метил-8-фенил-2,7-октадиеновая кислота (A) 5.76 (2, d; 15.2), 6.64 (3, ddd; 15.4, 9.1 и 6.2), 2.38 (4, m), 2.47 (4, m), 5.04 (5, ddd; 7.1, 5.1 и 1.8), 2.57 (6, m), 1.15 (6-Me, d, 6.9), 6.05 (7, dd; 15.8 и 8.5), 6.43 (8, d; 15.8), 7.29-7.35 (10/11/13/14, m), 7.23 (12, m), 3-хлор-4-метоксифенилаланин (B) 4.84 (2, m), 5.67 (2-NH, d; 8.9), 3.04 (3, dd; 14.3 и 7.1), 3.14 (3, dd; 14.3 и 5.3), 7.22 (5, d; 2.0), 3.86 (7-OCH₃, s), 6.83 (8, d; 8.2), 7.08 (9, dd; 8.2 и 2.0), 3-амино-2-метилпропионовая кислота (C) 2.75 (2, m), 1.23 (2-Me, d; 7.1), 3.19 (3, m), 3.59 (3, m), 6.80 (3-NH, brt; 6.7); 2-оксиизовалерьяновая кислота (D) 4.73 (2, d; 4.2), 2.09 (3, m), 0.84 (4, d; 6.9), 0.95 (3-Me, d; 6.9). ^{13}C NMR (CDCl_3) звено δ (положение углерода) A 165.5 (1), 125.3 (2), 141.3 (3), 36.3 (4), 77.7 (5), 42.0 (6), 17.1 (6-Me), 129.9 (7), 131.9 (8), 136.8 (9), 126.1 (10/14), 128.6 (11/13), 127.6 (12), B 171.0 (1), 53.4 (2), 35.1(3), 130.0 (4), 131.1(5), 122.4 (6), 153.9 (7), 56.1 (7-OMe), 112.2 (8), 128.5 (9); C 175.1(1), 38.7 (2), 13.9 (2-Me), 41.5 (3), D 169.6 (1), 76.9 (2), 29.8 (3), 19.0 (4), 16.7 (3-Me).

Криптофицин 21

$[\alpha]_D + 40.2^\circ$ (CHCl_3 , c 0,72); УФ λ_{max} (ϵ) 240 (6700), 280 (2400), 288 (2100), ИК (neat) ν_{max} 3403,

3279, 2957, 1731, 1673, 1503, 1464, 1409, 1372, 1258, 1174, 1065, 1023, 889 cm^{-1} ; EIMS m/z (относит. интенсивность) 640/642 (10/4), 612 (5), 478 (15), 398 (40), 266 (33), 227 (76), 195 (95), 155 (100), 127 (90), высокое разрешение EIMS m/z 640.2550 рассчитано для $\text{C}_{34}\text{H}_{41}\text{ClN}_2\text{O}_8$, 0.2mmи ошибка); ^1H NMR (CDCl_3) амино или окси-кислотное звено δ (положение углерода, мультиплетность, J in Hz) 7,8-эпокси-5-окси-6-метил-8-фенилоктановая кислота (A) 5.73 (2, d; 15.4), 6.68 (3, ddd; 15.0, 9.9 и 4.9), 2.45 (4, m), 2.56 (4, m), 5.19 (5, ddd; 11.2, 5.1 и 1.5), 1.80 (6, m), 1.14 (6-Me, d, 7.1), 2.92 (7, dd; 7.5 и 2.0), 3.68 (8, d; 1.8), 7.25 (10/14, m), 7.33-7.38 (11/12/13, m), 3-хлор-4-метоксифенилаланин (B) 4.74 (2, ddd; 8.2, 6.8 и 6.2), 5.68 (2-NH, d; 8.6), 2.98 (3, dd; 14.3 и 7.7),

77

3.14 (3, dd; 14.3 и 5.6), 7.21 (5, d; 2.0), 3.86 (7-OMe, s), 6.83 (8, d; 8.4), 7.07 (9, dd; 8.4 и 2.0), 3-аминопропионовая кислота (C) 2.56 (2, m), 3.51 (3, m), 3.45 (3, m), 6.90 (3-NH, br t; 5.8), лейциновая кислота (D) 4.89 (2, dd; 10.0 и 3.3), 1.67 (3, m), 1.31 (3, m), 1.67 (4, m), 0.84 (5, d; 6.4), 0.83 (4-Me, d; 6.4); ^{13}C NMR (CDCl_3) звено δ (положение углерода) A 165.5 (1), 125.3 (2), 141.0 (3), 36.7 (4), 75.9 (5), 40.6 (6), 13.5 (6-Me), 63.0 (7), 59.0 (8), 136.7 (9), 125.6 (10/14), 128.7 (11/13), 128.5 (12); B 170.7 (1), 53.9 (2), 35.0 (3), 129.8 (4), 130.9 (5), 122.4 (6), 153.9 (7), 56.1 (7-OMe), 112.2 (8), 128.3 (9), C 172.6 (1), 32.4 (2), 34.4 (3), D 170.5 (1), 71.2 (2), 39.5 (3), 24.4 (4), 22.8 (5), 21.2 (4-Me).

Криптофицин 23

$[\alpha]_D + 47^\circ$ (MeOH, c 1.55); УФ λ_{max} (ϵ) 240 (4571), 282 (2174), 290 (2177); ИК (neat) ν_{max} 3284, 2960, 1747, 1724, 1653, 1540, 1490, 1339, 1272, 1174 cm^{-1} , EIMS m/z (относит.интенсивность) 674/675/678 (47/35/8), 432/434/436 (11/5/2), 299/301/303 (39/30/7), 227 (64), 215/217/219 (31/20/8), 141 (100), высокое разрешение EIMS m/z 674.21643 (рассчитано для $\text{C}_{34}\text{H}_4\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_8$, -0.3mmи ошибка); ^1H NMR (CDCl_3) амино или оксикислотное звено δ (положение углерода, мультиплетность; J in Hz) 7,8-эпокси-5-окси-6-метил-8-фенил-2-октенная кислота (A) 5.77 (2, d; 15.4), 6.65 (3, ddd; 15.4, 9.3 и 6.0), 2.47 (4, dt; 14.2 и 10.2), 2.55 (4, br dd; 14.2 и 5.6), 5.13 (5, ddd; 11.0, 4.6 и 1.6), 1.81 (6, m), 1.15 (6-Me, d; 6.9), 2.93 (7, dd; 7.6 и 2.0), 3.7 (8 d; 2.0), 7.22-7.26 (10/14, m), 7.32-7.39 (11/12/13, m), 3,5-дихлор-4-оксифенилаланин (B) 4.81 (2, m), 5.69 (2-NH, d; 8.6), 3.11 (3, dd; 14.5 и 5.6), 3.50 (3, dd; 14.3 и 7.0), 7.13 (5/9, s), 5.78 (7-OH, s) 3-амино-2-метилпропионовая кислота (C), 2.73 (2, m), 1.22 (2-Me, d; 7.1), 3.19 (3, dt; 13.4 и 6.9), 3.58 (3, ddd; 13.6, 5.8 и 4.1), 6.82 (3-NH, br t; 5.9); лейциновая кислота (D) 4.84 (2, dd; 9.9 и 3.2), 1.38 (3, m), 1.68-1.75 (3, m), 1.68-1.75 (4, m), 0.86 (4-Me, d; 6.7), 0.87 (5, d, 6.7). ^{13}C NMR (CDCl_3) звено δ (положение углерода) A 165.4 (1), 125.4 (2), 140.9 (3), 36.7 (4), 76.3 (5), 40.6 (6), 13.5 (6-Me), 63.0 (7), 58.9 (8), 136.7 (9), 125.6 (10/14), 128.7 (11/13), 128.6 (12); B 170.7 (1), 53.3 (2), 35.0 (3), 130.3 (4), 129.0 (5/9), 121.0 (6/8),

146.7 (7); C 175.3 (1), 38.4 (2), 13.9 (2-Me), 41.5 (3), D 170.8 (1), 71.3 (2), 39.4 (3), 24.6 (4), 21.3 (4-Me), 22.9 (5).

Криптофицин 24

$[\alpha]_D + 48,8^\circ$ (CHCl_3 , c 0.63); УФ λ_{max} (ϵ) 228 (19006), 242 (8249), 274 (2351), ИК (neat) ν_{max} 3400, 3284, 2959, 1732, 1678, 1652, 1514, 1248, 1178 cm^{-1} ; EIMS m/z (относит. интенсивность) 606 (2, M^+), 364 (7), 161(55, $\text{CH}_3\text{O}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}^+$), 121 (100, $\text{CH}_3\text{O}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2^+$), 91(68); высокое разрешение EIMS m/z 606.2954 (рассчитано для $\text{C}_{34}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_8$, -1.3 mми ошибка); ^1H NMR (CDCl_3) амино или окси-кислотное звено δ (положение углерода, мультиплетность, J in Hz) 7,8-эпокси-5-окси-6-метил-8-

78

фенил-2-октенная кислота (A) 5.70 (2, dd; 15.2 и 1.3), 6.70 (3, ddd; 15.2, 10.3 и 4.7), 2.43 (4, dt; 14.3 и 10.9), 2.56 (4, m), 5.20 (5, ddd; 11.3, 5.1 и 2.0), 1.79 (6, m), 1.14 (6-Me, d; 7.0), 2.92 (7, dd; 7.5 и 2.0), 3.68 (8, d; 2.0), 7.23 -7.38 (10/11/12/13/14, m); О-метилтирозин (B) 4.73 (2, m), 5.58 (2-NH, d; 8.3), 3.03 (3, dd; 14.5 и 7.5), 3.14 (3, dd; 14.5 и 5.7), 7.11 (5/9, d; 8.6), 6.81 (6/8, d; 8.6), 3.78 (7-OMe, s), 3-аминопропионовая кислота (C) 2.55 (2- H_2 , m), 3.42 (3, m), 3.53 (3, m), 6.97 (3-NH, br t; 5.7), лейциновая кислота (D) 4.89 (2, dd; 9.9 и 3.5), 1.29 (3, m), 1.62 - 1.70 (3/4, m), 0.83 (5, d; 5.9), 0.84 (4-Me, d; 6.1); ^{13}C NMR (CDCl_3); звено δ (положение углерода) A 165.4 (1), 125.3 (2), 141.0 (3), 36.7 (4), 75.9 (5), 40.6 (6), 13.4 (6-Me), 63.0 (7), 59.0 (8), 136.7 (9), 125.6 (10/14), 128.7 (11/13), 128.5 (12); B 170.7 или 170.6 (1), 54.1 (2), 35.2 (3), 128.5 (4), 130.2 (5/9), 114.1 (6/8), 158.6 (7), 55.2 (7-OMe); C 172.8 (1), 32.5 (2), 34.2 (3); D 170.6 или 170.7 (1), 71.2 (2), 39.5 (3), 24.4 (4), 21.3 (5), 22.8 (4-Me).

Криптофицин 26

$[\alpha]_D + 28,2^\circ$ (CHCl_3 , c 1.31); УФ λ_{max} (ϵ) 254 (14615), 284 (2949), ИК (neat) ν_{max} 3299, 2960, 1732, 1644, 1504, 1258, 1209 cm^{-1} ; EIMS m/z (относит.интенсивность) 656/658 (0.5/0.1, M^+), 638/640 (1.7/1.0), 525/527 (3.7/1.8), 412/414 (10/4), 280/282 (12/11), 227 (20), 195 (48), 131 (68); высокое разрешение EIMS m/z 656.2836 (рассчитано для $\text{C}_{35}\text{H}_{45}\text{ClN}_2\text{O}_8$, 2,8 mми ошибка), 638.2712 (рассчитано для $\text{C}_{35}\text{H}_{43}\text{ClN}_2\text{O}_7$, 4.7mmи ошибка); ^1H NMR (CDCl_3), амино или оксикислотное звено δ (положение углерода; мультиплетность, J in Hz) 3,5-диокси-6-метил-8-фенил-7-октенная кислота (A) 2.46 (2, dd; 14.8 и 7.8), 2.58 (2, dd; 14.8 и 3.0), 5.46 (3, m), 1.86 - 1.90 (4- H_2 , m), 3.61 (5, m), 2.37 (6, m), 1.14 (6-Me, d; 6.8), 6.06 (7, dd; 16 и 8.7), 6.47 (8, d; 16), 7.37 (10/14, br d; 7.9), 7.32 (11/13, br t; 7.6), 7.22 - 7.28 (12, m), 3-хлор-4-метилоксифенилаланин (B) 4.73 (2, br dt; 6.4 и 8.1), 6.14 (2-NH, d; 8.6), 2.84 (3, dd; 14.4 и 8), 3.18 (3, dd; 14.4 и 6.3), 7.21 (5, d; 2.2), 3.85 (7-OMe, s), 6.82 (8, d; 8.6), 7.08 (9, dd; 8.6 и 2.2), 3-амино-2-метилпропионовая кислота (C) 2.87 (2, m), 1.19 (2-Me, d; 7.0), 3.01 (3, ddd; 13.4, 10.6 и 4.9), 3.73 (3, ddd; 13.4, 8.2 и 4.7), 6.72 (3-NH, br dd;

7.3 и 5.2); лейциновая кислота (D) 4.95 (2, dd; 9.7 и 4.2), 1.62 - 1.72 (3, m), 1.79 - 1.84 (3, m), 1.62 - 1.72 (4, m), 0.90 (4-Me, d; 6.4), 0.95 (5, d; 6.4). ^{13}C NMR (CDCl_3): звено δ (положение углерода) A 170.0 (1), 41.5 (2), 71.4 (3), 37.3 (4), 71.9 или 71.8 (5), 43.6 (6), 16.6 (6-Me), 130.8 (7), 132.5 (8), 136.8 (9), 126.2 (10/14), 128.6 (11/13), 127.6 (12), B 170.9 (1), 53.2 (2), 34.7 (3), 130.3 (4), 131.1(5), 122.2 (6), 153.8 (7), 56.1 (7-OMe), 112.2 (8), 128.5 (9), C 174.3 (1), 40.1(2), 14.4 (2-Me), 42.5 (3); D 170.7 (1), 71.8 или 71.9 (2), 38.9 (3), 24.6 (4), 21.6 (4-Me), 22.9 (5).

79

Криптофицин 28

$[\alpha]_D + 65.6^\circ$ (MeOH, c 0,93); УФ λ_{max} (MeOH) 204 (48000), 230 (19300), 248 (18700), 280 (3400), ИК (neat) ν_{max} 3413, 3270, 2958, 1745, 1726, 1665, 1504, 1258, 1197, 1175, 1066, 694 cm^{-1} , EIMS m/z (относит.интенсивность) 624/626 (3.0/1.3), 412/414 (70/24), 280/282(13/6), 213 (100), 195/197 (86/40); высокое разрешение EIMS m/z 624.2626 (рассчитано для $\text{C}_{34}\text{H}_{41}\text{ClN}_2\text{O}_7$, - 2.4 mmu ошибка); ^1H NMR (CDCl_3) amino или оксикислотное звено δ (положение углерода, мультиплетность, J in Hz) 5-окси-8-фенил-2,7-октадиеновая кислота (A) 5.78 (2, d; 15,6), 6.71 (3, ddd; 15.6, 9.9 и 5.4), 2.40 (4, m), 2.53 (4, m), 5.17 (5, m), 2.53 (6- H_2 , br t; 6.7), 6.07 (7, dt; 15,8 и 7.4), 6.44 (8, d; 15.8), 7.27-7.38 (10/11/13/14, m), 7.22 (12, m), 3-хлор-4-метоксифенилаланин (B) 4.82 (2, m), 5.72 (2-NH, d; 8.5), 3.04 (3, dd; 14.5 и 7.2), 3.14 (3, dd; 14.5 и 5.4), 7.22 (5, d; 2.0), 3.87 (7-OMe, s), 6.84 (8, d; 8.5), 7.08 (9, dd; 8.5 и 2.0); 3-амино-2-метилпропионовая кислота (C) 2.72 (2, m), 1.21 (2-Me, d; 7.2), 3.29 (3, dt; 13.5 и 7.0), 3.49 (3, ddd; 13.5, 4.9 и 3.8), 6.97 (3-NH, br t; 5.6), лейциновая кислота (D) 4.82 (2, m), 1.40 (3, m), 1.62 (3, m), 1.62 (4, m), 0.76 (4-Me, d; 6.3), 0.74 (5, d; 6.3); ^{13}C NMR (CDCl_3) звено δ (положение углерода) A 165.4 (1), 125.2 (2), 141.2 (3), 38.5 (4), 73.5 (5), 38.6 (6), 124.1(7), 133.8 (8), 136.7 (9), 126.1(10/14), 128.6 (11/13), 127.6 (12); B 170.9 (1), 53.6 (2), 35.1 (3), 129.8 (4), 131.0 (5), 122.4 (6), 154.0 (7), 56.1(7-OMe), 112.3 (8), 128.4 (9), C 175.6 (1), 38.3 (2), 14.0 (2-Me), 41.2 (3), D 170.9 (1), 71.6 (2), 39.6 (3), 24.5 (4), 21.5 (4-Me), 22.6 (5).

Криптофицин 29

$[\alpha]_D + 22.2^\circ$ (CHCl_3 , c 1,13); УФ λ_{max} (ϵ) 250 (17000), 284 (3300), ИК (neat) ν_{max} 3415, 3272, 2960, 1744, 1734, 1674, 1504, 1259, 1197, 1174, 1067, 694 cm^{-1} ; EIMS m/z (относит.интенсивность) 624/626 (2.6/1.1), 398/400 (44/15), 227 (100), 195/197 (50/16), 155/157 (59/20), 131 (63), 91(95); высокое разрешение EIMS m/z 624.2607 (рассчитано для $\text{C}_{34}\text{H}_{41}\text{ClN}_2\text{O}_7$, Δ -0.5 mmu ошибка); ^1H NMR (CDCl_3) amino или оксикислотное звено δ (положение углерода; мультиплетность, J in Hz) 5-окси-6-метил-8-фенил-2,7-октадиеновая кислота (A) 5.75 (2, dd; 15.3 и 1.1), 6.69 (3, ddd; 15.3, 10.1 и 5.3), 2.36 (4, m), 2.54 (4, m), 5.03 (5, ddd; 11.0, 6.4 и 1.8), 2.56 (6, m),

1.14 (6-Me, d; 6.8), 6.01 (7, dd; 15.8 и 8.8), 6.41(8, d; 15.8), 7.28-7.33 (10/11/13/14, m), 7.22 (12, m), 3-хлор-4-метоксифенилаланин (B) 4.76 (2, m), 5.67 (2-NH, d; 8.6), 3.0 (3, dd; 14.4 и 10.2), 3.14 (3, dd; 14.4 и 5.9), 7.22 (5, d; 2.2), 3.87 (7-OMe, s), 6.83 (8, d; 8.4), 7.08 (9, dd; 8.4 и 2.2) 3-аминопропионовая кислота (C) 2.55 (2- H_2 , m), 3.44 (3, m), 3.55 (3, m), 6.89 (3-NH, br t; 5.7), лейциновая кислота (D) 4.90 (2, dd; 9.9 и 3.5), 1.34 (3, ddd; 15.4, 10.3 и 3.5), 1.63 (3, m), 1.63 (4, m), 0.76 (4-Me, d; 6.4), 0.72 (5, d; 6.4), ^{13}C NMR (CDCl_3) звено δ (положение углерода) A 165.6 (1), 125.2 (2), 141.5 (3), 36.4 (4), 77.1(5), 42.3 (6),

347

80

17.3 (6-Me), 130.1 (7), 131.8 (8), 136.7 (9), 126.2 (10/14), 128.6 (11/13), 127.6 (12), B 170.9 (1), 53.8 (2), 34.9 (3), 129.9 (4), 131.0 (5), 122.4 (6), 153.9 (7), 56.1 (7-OMe), 112.2 (8), 128.4 (9); C 172.6 (1), 32.4 (2), 34.5 (3); D 170.4 (1), 71.5 (2), 39.7 (3), 24.4 (4), 21.2 (4-Me), 22.6 (5).

Криптофицин 30

$[\alpha]_D + 12.3^\circ$ (CHCl_3 , c 1,53); УФ λ_{max} (ϵ) 254 (17200), 284 (3600); ИК (neat) ν_{max} 3414, 3306, 2961, 1738,1729, 1660, 1504, 1258, 1205, 1183, 1066, 695 cm^{-1} ; EIMS m/z (относит.интенсивность) 656/658 (1.0/0.3), 638/640 (3.0/1.0), 525/527 (3.8/1.3), 412/414 (10.5/3.6), 280/282 (10.3/3.8), 227 (29), 195/197 (48/17), 155/157 (74/21), 131 (100); высокое разрешение EIMS m/z 656.2852 (рассчитано для $\text{C}_{35}\text{H}_{45}\text{ClN}_2\text{O}_8$, 1.3 mmu ошибка); ^1H -NMR (CDCl_3) amino или оксикислотное звено δ (положение углерода мультиплетность; J in Hz) 3,5-диокси-6-метил-8-фенил-7-октеновая кислота (A) 2.25 (2, dd; 16.0 и 9.6), 2.64 (2, brd; 16.0), 3.89 (3, m), 2.51 (3-OH, d; 6.4), 1.77 (4, ddd; 14.3, 9.8 и 2.1), 1.88 (4, ddd; 14.3, 11.3 и 3.8), 4.88 (5, ddd; 11.3, 6.2 и 2.1), 2.53 (6, m), 1.10 (6-Me, d; 6.8), 5.99 (7, dd; 15.9 и 9.0), 6.40 (8, d; 15.9), 7.28-7.33 (10/11/13/14, m), 7.23 (12, m), 3-хлор-метоксифенилаланин (B) 4.60 (2, m), 6.61 (2-NH, d; 8.1), 3.09 (3, dd; 14.2 и 5.6), 3.15 (3, dd; 14.2 и 7.3), 7.22 (5, d; 2.1), 3.86 (7-OMe, s), 6.83 (8, d, 8.3), 7.07 (9, dd; 8.3 и 2.1), 3-амино-2-метилпропионовая кислота (C) 2.67 (2, m), 1.21 (2-Me, d; 7.3), 3.26 (3, ddd; 13.6, 7.3 и 6.4), 3.63 (3, ddd; 13.6, 6.2 и 3.9), 6.75 (3-NH, br t; 6.3); лейциновая кислота (D) 4.83 (2, dd; 9.6, 4.1), 1.42 (3, m), 1.64 (3, m), 1.64 (4, m), 0.79 (4-Me, d; 6.4), 0.76 (5, d; 6.4), ^{13}C NMR (CDCl_3) звено δ (положение углерода) A 171.6 (1), 42.4 (2), 66.0 (3), 41.3 (4), 76.0 (5), 42.0 (6), 17.3 (6-Me), 130.0 (7), 131.9 (8), 136.7 (9), 126.1(10/14), 128.6 (11/13), 127.6 (12), B 170.8 (1), 54.3 (2), 35.1 (3), 130.1(4), 131.1(5), 122.2 (6), 153.8 (7), 56.1 (7-OMe), 112.1(8), 128.7 (9), C 175.6 (1), 39.7 (2), 13.8 (2-Me), 41.5 (3), D 171.9 (1), 72.1(2), 39.1 (3), 24.6 (4), 21.4 (4-Me), 22.7 (5).

Криптофцинн 31

$[\alpha]_D + 50.6^\circ$ (MeOH, c 1,13); УФ λ_{max} (ϵ) 242 (3800), 284 (700); ИК (neat) ν_{max} 3412, 3272, 2961, 1745, 1725, 1678, 1537, 1481, 1270, 1196, 1176, 1000, 698 cm^{-1} ; EIMS m/z (относит.интенсивность)

688/690/692 (1.2/1.0/0.4), 446/448/450 (7.9/6.7/3.1), 314/316/318 (17/11/3), 91 (100), высокое разрешение EIMS m/z 688.2336 (рассчитано для $C_{35}H_{42}Cl_2N_2O_8$, - 1.8 мму ошибка) 1H -NMR ($CDCl_3$) амино или оксикислотное звено δ (положение углерода, мультиплетность; J in Hz) 7,8-эпокси-5-окси-6-метил-8-фенил-2-октеновая кислота (A) 5.78 (2, d; 15.5), 6.66 (3, ddd; 15.5, 9.4 и 6.0), 2.47 (4, ddd; 14.1, 10.8 и 9.4), 2.56 (4, m), 5.14 (5, ddd; 10.8, 4.7 и 1.7), 1.82 (6, m), 1.15 (6-Me, d; 7.1), 2.93 (7, dd, 7.5 и 1.9), 3.70 (8, d; 1.9), 7.24-7.26 (10/14, m), 7.34-7.39 (11/12/13, m);

81

3,5-дихлор-4-метоксифенилаланин (B) 4.83 (2, m), 5.68 (2-NH, d; 9.0), 3.0 (3, dd; 14.4 и 7.3), 3.14 (3, dd; 14.4 и 5.6), 7.16 (5/9, s), 3.87 (7-OMe, s), 3-амино-2-метил-пропионовая кислота (C) 2.74 (2, m), 1.22 (2-Me, d; 7.1), 3.20 (3, m), 3.58 (3, ddd; 13.5, 5.6 и 4.1), 6.82 (3-NH, br t; 5.6) лейциновая кислота (D) 4.83 (2, m), 1.38 (3, m), 1.72 (3, m), 1.72 (4, m), 0.87 (4-Me, d; 6.8), 0.86 (5, d; 6.8), ^{13}C NMR ($CDCl_3$) звено δ (положение углерода) A 165.4 (1), 125.4 (2), 141.0 (3), 36.7 (4), 76.3 (5), 40.6 (6), 13.5 (6-Me), 63.0 (7), 58.9 (8), 136.7 (9), 125.6 (10/14), 128.7 (11/13), 128.6 (12); B 170.8 (1), 53.3 (2), 35.2 (3), 129.3 (4), 129.6 (5/9), 134.5 (6/8), 151.2 (7), 60.6 (7-OMe); C 175.3 (1), 38.3 (2), 13.9 (2-CH₃), 41.5 (3), D 170.6 (1), 71.3 (2), 39.4 (3), 24.6 (4), 22.9 (4-Me), 21.3 (5).

Криптофицин 40

$[\alpha]_D + 41.6^\circ$ ($CHCl_3$, с 0,31); УФ λ_{max} (ϵ) 242 (4974), 266 (3911), 274 (3666), 286 (2359), 328 (511); ИК (neat) ν_{max} 3415, 2959, 1748, 1723, 1667, 1505, 1463, 1289, 1176 cm^{-1} ; EIMS m/z (относит.интенсивность) 640/642 (5/2), 280/282 (7/3), 213 (13), 195/197 (51/17), 155 (29), 141(32), 121(28), 91 (100), 69 (47); высокое разрешение EIMS m/z 640.2570 (рассчитано для $C_{34}H_{41}ClN_2O_8$, - 1.8 мму ошибка); 1H NMR ($CDCl_3$) амино или оксикислотное звено δ (положение углерода, мультиплетность; J in Hz) 7,8-эпокси-5-окси-8-фенил-2-октеновая кислота (A) 5.77 (2, d; 15.1), 6.72 (3, ddd; 15.1, 9.7 и 4.9), 2.42 (4, m), 2.58 (4, m), 5.33 (5, m), 1.89 (6, ddd; 12.9, 8.1 и 5.0), 2.13 (6, ddd; 12.9, 9.3 и 5.0), 2.98 (7, ddd; 6.7, 4.5 и 1.9), 3.64 (8, d; 1.9), 7.31-7.39 (10/11/13/14, m); 7.22 (12, 3-хлор-метоксифенилаланин (B) 4.83 (2, m), 5.64 (2-NH, d, 8.6), 3.03 (3, dd; 14.3 и 7.5), 3.14 (3, dd; 14.3 и 5.4), 7.21(5, d; 2.0), 3.87 (7-OMe, s), 6.84 (8, d 8.3), 7.08 (9, dd; 8.3 и 2.0); 3-амино-2-метилпропионовая кислота (C) 2.72 (2, m), 1.23 (2-Me, d; 7.3), 3.31 (3, dt; 13.8 и 6.9), 3.50 (3, ddd; 13.6, 5.7 и 3.9), 6.96 (3-NH, br t; 6.0); лейциновая кислота (D) 4.85 (2, dd; 6.7, 3.4), 1.42 (3, m), 1.72 (3, m), 1.72 (4, m), 0.86 (4-Me, d, 3.7), 0.87 (5, d, 3.7); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) звено δ (положение углерода) A 165.3 (1), 125.2 (2), 140.9 (3), 39.0 (4), 72.0 (5), 37.3 (6), 59.0 (7), 58.7 (8), 140.9 (9), 125.6 (10/14), 128.7 (11/13), 128.5 (12); B 170.9 (1), 53.6 (2), 35.1 (3), 129.8 (4), 131.0 (5), 122.5 (6), 157.0 (7), 56.1(7-OMe), 112.3 (8), 128.4 (9); C 175.6 (1), 38.3 (2), 14.1 (2-Me), 41.1 (3), D 170.9 (1), 71.4 (2), 39.4 (3), 24.5 (4), 21.5 (4-Me), 22.8 (5).

Криптофицин 43

$[\alpha]_D + 20^\circ$ ($CHCl_3$, с 0,2); УФ λ_{max} (ϵ) 250 (20512), 282 (4083), 294 (1734); ИК (neat) ν_{max} 3400, 3272, 2927, 1727, 1660, 1516, 1455, 1242, 1175 cm^{-1} EIMS m/z (относит.интенсивность) 533 (24), 484 (3), 445 (14), 398 (9), 364 (29), 227 (59), 149 (67), 91 (100); высокое разрешение EIMS m/z 590.3044 (рассчитано для $C_{34}H_{41}N_2O_7$, -5.2 мму ошибка), 1H NMR ($CDCl_3$) амино или оксикислотное звено δ (положение углерода, мультиплетность; J in Hz.) 5-окси-6-

347

82

метил-8-фенил-2,7-октадиеновая кислота (A) 5.75 (2, d; 15.3), 6.69 (3, ddd; 15.3, 9.9 и 5.3), 2.37 (4, dt; 14.2 и 10.4), 2.52 (4, m), 5.01 (5, ddd; 11.2, 6.4 и 1.8), 2.55 (6, m), 1.13 (6-Me, d; 6.9), 6.01 (7, dd; 15.8 и 8.9), 6.41 (8, d; 15.8), 7.21-7.34 (10/11/12/13/14, m); 4-метоксифенилаланин (B) 4.80 (2, m), 5.64 (2-NH, d; 8.4), 3.06 (3, dd; 14.5 и 7.2), 3.13 (3, dd; 14.4 и 5.3), 7.06 (5/9, d; 8.4), 6.74 (6/8, d; 6.74 (6/8, d; 8.4); 3-амино-2-метилпропионовая кислота с 2.69 (2, m), 1.22 (2-Me, d; 7.3), 3.33 (3, m), 3.44 (3, dt; 14.0 и 4.7), 7.0 (3-NH, m); лейциновая кислота (D) 4.84 (2, dd; 10.0 и 3.6), 1.60-1.67 (3, m), 1.35 (3, m), 1.60-1.67 (4, m), 0.76 (5, d; 6.4), 0.73 (4-Me, d; 6.7); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) звено δ (положение углерода) A 125.2 (2), 141.5 (3), 36.5 (4), 77.5 (5), 42.3 (6), 17.3 (6-Me), 130.1 (7), 131.8 (8), 136.8 (9), 126.2 (10/14), 128.6 (11/13), 127.6 (12), B 53.8 (2), 35.3 (3), 129.8 (4), 130.5 (5/9), 115.6 (6/8), 154.6 (7), C 38.3 (2), 14.1 (2-Me), 41.0 (3), D 71.6 (2), 39.6 (3), 24.5 (4), 21.2 (5), 22.9 (4-Me). Из-за небольшого размера образца, сигналы карбонильного углерода не могут быть видны.

Криптофицин 45

$[\alpha]_D + 72.0^\circ$ (MeOH, с 0,12); УФ λ_{max} (ϵ) 250 (25500), 284 (5300), ИК (neat) ν_{max} 3407, 3239, 2958, 1743, 1727, 1667, 1538, 1469, 1242, 1196, 1177, 694 cm^{-1} ; EIMS m/z (относит.интенсивность) 658/660/662 (2.1/1.4/0.3), 483 (7.6) 432/434/436 (9.5/6.4/1.8), 300/302/304 (8.0/5.5/1.2), 227 (100) 91 (87), высокое разрешение EIMS m/z 658.2207 (рассчитано для $C_{34}H_{40}Cl_2N_2O_7$, 0.6 мму ошибка); 1H NMR ($CDCl_3$) амино или оксикислотное звено δ (положение углерода, мультиплетность; J in Hz) 5-окси-6-метил-8-фенил-2,7-октадиеновая кислота (A) 5.80 (2, d; 14.7), 6.66 (3, ddd; 14.7, 8.5 и 5.5), 2.38 (4, m), 2.53 (4, m), 4.97 (5, br dd; 10.4 и 6.2), 2.57 (6, m), 1.14 (6-Me, d; 6.7), 6.01 (7, dd; 15.9 и 8.7), 6.42 (8, d; 15.9), 7.28-7.34 (10/11/13/14, m), 7.22 (12, m), 3,5-дихлор-4-оксифенилаланин (B) 4.82 (2, m), 5.73 (2-NH, br d; 8.7), 3.02 (3, dd; 14.3 и 6.2), 3.10 (3, dd; 14.3 и 5.2), 7.14 (5/9, s), 5.79 (7-OH, s), 3-амино-2-метилпропионовая кислота (C) 2.73 (2, m), 1.21 (2-Me, d; 7.0), 3.17 (3, m), 3.60 (3, m), 6.81 (3-NH, br t; 6.7), лейциновая кислота (D) 4.84 (2, dd; 10.0 и 3.2), 1.38 (3, ddd; 14.9, 10.2 и 3.2), 1.65 (3, m), 1.65 (4, m), 0.78 (4-Me, d; 6.5), 0.73 (5, d; 6.5), ^{13}C NMR ($CDCl_3$) звено δ (положение углерода) A 165.5 (1), 125.4 (2), 141.2 (3), 36.4 (4), 77.6 (5), 42.3 (6), 17.3 (6-Me),

130.0 (7), 131.9 (8), 136.7 (9), 126.2 (10/14), 128.6 (11/13), 127.6 (12); В 171.0 (1), 53.2 (2), 35.0 (3), 130.4 (4), 129.1 (5/9), 121.0 (6/8), 146.7 (7); С 175.2 (1), 38.5 (2), 13.9 (2-Me), 41.6 (3), D 170.7 (1), 71.5 (2), 39.5 (3), 24.6 (4), 22.7 (4-Me), 21.2 (5).

Криптофицин 49

$[\alpha]_D + 68.1^\circ$ (MeOH, с 0,075); УФ $\lambda_{\max}$ (ε) 246 (25500), 284 (5200); ИК (neat) $\nu_{\max}$ 3401, 3282, 2962,

83

1744, 1728. 1668, 1540, 1505, 1464, 1258, 1198, 1177, 1066, 694 cm^{-1} EIMS m/z (относит.интенсивность) 624/626 (0.8/0.3) 398/400 (43/14), 227(78), 195/197 (58/26) 91 (100); высокое разрешение EIMS m/z 624.2650 (рассчитано для $\text{C}_{34}\text{H}_{41}\text{ClN}_2\text{O}_7$, -4.8mmu ошибка), ^1H NMR(CDCl_3) амино или оксикислотное звено δ (положение углерода мультиплетность; J in Hz) 5-окси-6-метил-8-фенил-2,7-октадиеновая кислота (А) 5.77 (2, d; 14.1), 6.67 (3, m), 2.38 (4, m), 2.50 (4, m), 5.01 (5, m), 2.56 (6, m), 1.13 (6-Me, d; 6.5), 6.03 (7, dd; 15.8 и 8.6), 6.42 (8, d; 15.8), 7.29-7.35 (10/11/13/14, m), 7.23 (12; m), 3-хлор-4-метоксифенилаланин (В) 4.82 (2, m), 5.64 (2-NH, m), 3.06 (3, m), 3.13 (3, m), 7.22 (5, m), 3.87 (7-OMe, s), 6.83 (8, m), 7.08 (9, m); 3-амино-2-метилпропионовая кислота (С) 2.72 (2, m), 1.22 (2-Me, d; 6.7), 3.26 (3, m), 3.53 (3, m), 6.90 (3-NH, m); 2-оксивалерьяновая кислота (D) 4.81 (2, dd; 8.8 и 3.9), 1.63 (3, m), 1.68 (3, m), 1.33 (4-H₂, m). 0.74 (5, t; 7.3).

Криптофицин 50

$[\alpha]_D + 32.0^\circ$ (CHCl_3 , с 0.44); УФ $\lambda_{\max}$ (ε) 242 (4933), 262 (3996), 274 (3719), 286 (2430), 332 (359); ИК (neat) $\nu_{\max}$ 3412, 3274, 2958, 1752, 1724, 1676, 1648, 1503, 1465, 1258, 1177, 1066, 753; EIMS m/z (относит.интенсивность) 640/642 (4/2), 398/400 (11/4), 280/282 (10/3), 227 (17), 195/197 (57/18), 157 (20), 141(31), 91 (100); высокое разрешение EIMS m/z 640.2531 (рассчитано для $\text{C}_{34}\text{H}_{41}\text{ClN}_2\text{O}_8$, 2.1mmu ошибка); ^1H NMR (CDCl_3) амино или оксикислотное звено δ (положение углерода, мультиплетность; J in Hz) 7,8-эпокси-5-окси-6-метил-8-фенилоктановая кислота (А) 5.73 (2, d; 15.7), 6.67 (3, ddd; 15.7, 9.7 и 5.4), 2.45 (4, m), 2.55 (4, m), 5.13 (5, ddd; 11.2, 5.0 и 1.7), 1.78 (6, m), 1.15 (6-Me, d, 6.9), 2.91 (7, dd, 7.5 и 1.9), 3.68 (8, d; 1.7), 7.25 (10/14, m), 7.33-7.38 (11/12/13, m); 3-хлор-4-метоксифенилаланин (В) 4.80 (2, ddd, 8.3, 7.1 и 5.4), 5.61 (2-NH, d; 8.3), 3.03 (3, dd; 14.4 и 7.3), 3.13 (3, dd; 14.4 и 5.6), 7.21 (5, d; 1.9), 3.87 (7-OMe, s), 6.83 (8, d; 8.4), 7.07 (9, dd; 8.4 и 2.2); 3-амино-2-метилпропионовая кислота (С) 2.71 (2, m), 1.22 (2-Me, d; 7.3), 3.29 (3, dt; 13.6 и 6.9), 3.49 (3, ddd; 13.6, 6.7 и 5.0), 6.92 (3-NH, br t; 6.7) 2-оксипентановая кислота (D) 4.75 (2, dd; 9.2 и 3.7), 1.55 (3, m), 1.65 (3, m), 1.33 (4-H₂, m), 0.84 (5, t; 7.3), ^{13}C NMR (CDCl_3) звено δ values (положения углерода) А 165.3 (1), 125.3 (2), 141.0 (3), 36.9 (4), 76.3 (5), 40.8 (6), 13.6 (6-Me), 63.2 (7), 59.1 (8), 136.8 (9), 125.5 (10/14), 128.7 (11/13), 128.5 (11). В 170.9 (1), 53.6

(2), 35.1(3), 129.8 (4), 131.0 (5), 122.5 (6), 154.0 (7), 56.1 (7-OMe), 112.3 (8), 128.5 (9), С 175.6 (1), 38.4 (2), 14.1(2-Me), 41.2 (3); D 170.4 (1), 72.4 (2), 32.7 (3), 18.4 (4),13.5 (5).

Криптофицин 54

EIMS m/z (относит.интенсивность) 654/656 (17/10), 493 (5), 411/413 (12/4), 280 (16), 227 (25), 195/197 (45/25), 141(30), 91 (100); высокое разре-

347

84

шение EIMS m/z 654.2686 (рассчитано для $\text{C}_{35}\text{H}_{43}\text{ClN}_2\text{O}_8$, 2.2mmu ошибка); ^1H NMR (CDCl_3): амино или оксикислотное звено δ (положение углерода, мультиплетность; J in Hz) (А) 5.73 (2, d; 15.4), 6.66 (3, ddd; 15.4, 9.7, 5.7), 2.46 (4, m), 2.53 (4, m), 5.16 (5, ddd; 11.0, 4.2, 1.7), 1.79 (6, m), 1.14 (6-Me, d; 6.8), 2.89 (7, dd, 7.4, 1.8), 3.69 (8, d, 1.9), 7.25 (10/14, m), 7.30-7.38 (11/12/13, m); (В) 4.81 (2, m), 5.63 (2-NH, d; 8.6), 3.03 (3, dd; 14.5, 7.3), 3.13 (3, dd, 14.5, 5.5), 7.21 (5, d, 2.2), 3.87 (7-OMe, s), 6.83 (8, d; 8.4), 7.07 (9, dd; 8.4, 2.2); (С) 2.73 (2, m), 1.22 (2-Me, d; 7.3), 3.26 (3, ddd; 13.4, 6.8, 6.8), 3.51 (3, ddd, 13.4, 6.8, 5.3), 6.88 (3-NH, br t; 6.8); (D) 4.73 (2, d; 4.2), 1.78-1.82 (3, m), 0.92 (3-Me, d; 6.8), 1.36-1.41 (4, m), 1.18-1.20 (4, m), 0.80 (5, t; 7.5); ^{13}C NMR (CDCl_3): звено δ (положение углерода) А 165.3 (1), 125.4 (2), 141.0 (3), 36.6 (4), 76.3 (5), 40.6 (6), 13.2 (6-Me), 63.1(7), 58.7 (8), 136.7 (9), 125.4 (10/14), 128.6 (11/13), 128.5 (12); В 170.9 (1), 53.5 (2), 35.0 (3), 129.8 (4), 131.0 (5), 125.2 (6), 153.9 (7), 56.1(7-OMe), 112.2 (8), 128.4 (9), С 175.4 (1), 38.5 (2), 14.0 (2-Me), 41.3 (3), D 169.4 (1), 76.5 (2), 36.1(3), 15.6 (3-Me), 24.0 (4), 11.2 (5).

Пример 6 Синтез производных Криптофицина

Криптофицин 8

К раствору 3.8 мг Криптофицина 1 в 1.5 мл 2:1 смеси 1,2- диметоксэтана/воды было добавлено 9 мкл 1N HCl. Раствору позволяли перемешиваться в течение 4 часов, нейтрализовали карбонатом калия и упаривали. Остаток был в виде перегородки между водой и CH_2Cl_2 . CH_2Cl_2 - растворимая часть была очищена с помощью жидкостной гель проникающей хроматографии с обращенной фазой с получением 3.3 мг чистого Криптофицина 8.

(Здесь и далее во всех последующих примерах)

Данные EIMS-электронной эмиссионной спектроскопии m/z (относительная интенсивность) 690/692/694 (0.8/0.5/0.2). EIMS высокого разрешения m/z 690.2533 (рассчитано для $\text{C}_{35}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_8$ -5.8mmu ошибка). ^1H -ЯМР (CDCl_3)-данные протонного магнитного резонанса; амино или оксикислотное звено δ (положение углерода, мультиплетность, J в Гц) 8-хлор-5,7-диокси-6-метил-8-фенил-2-октеновая кислота (А) 5.79 (2d-дублет; 15.4), 6.69 (3, ddd-тройной дублет; 15.4, 9.7 и 5.6), 2.68 (4 ddt-двойной дублет триплет; 14.0, 5.5 и 1.8), 2.38 (4 m-мультиплет); 5.11 (5ddd-тройной дублет; 10.8, 8.6 и 1.8), 2.51 (6 m-мультиплет), 1.05 (6-Me, d-дублет; 7.0), 4.01 (7dd-двойной дублет; 9.6 и 1.4), 4.65 (8 d-

дублет; 9.6), 7.36-7.41 (10/11/12/13/14, m), лейциновая кислота (D) 4.92 (2, dd; 10.1 и 3.5), 1.76 (3/4, m), 1.45 (3, m), 0.94 (5, d; 6.6), 0.94 (4-Me, d; 6.4); 3-амино-2-метилпропионовая кислота (C) 2.73 (2, m), 1.22 (2-Me, d; 7.2), 3.25 (3, ddd; 13.6, 6.8 и 6.1), 3.54 (3, ddd; 13.5, 6.1 и 3.4), 6.91 (3-NH, brt; 6.1); 3-хлор-метоксифенилаланин (B) 4.82 (2, ddd; 8.8, 7.2 и 5.6),

85

5.64 (2-NH, d; 8.8), 3.03 (3, dd; 15.4 и 7.2), 3.16 (3, dd; 15.4 и 5.6), 7.23 (5, d, 2.2), 3.88 (7-OCH₃, s), 6.85 (8, d; 8.5), 7.09 (9, dd; 8.5 и 2.2).

Криптофицин 9

К раствору 10 мг Криптофицина 1 в 1 мл сухого метанола было добавлено 10 мкл HCl (полученного путем обработки 1.25 г тионилхлорида 25 мл MeOH). После перемешивания в течение 4 часов, растворитель удаляли в вакууме и образец оставляли в вакууме на 12 часов. Очистка с помощью жидкостной гель проникающей хроматографии с обращенной фазой давала 8 мг чистого. Криптофицина 9.

¹H NMR (CDCl₃): amino or hydroxy acid unit δ (carbon position, multiplicity, J in Hz), 5,7-dihydroxy-8-methoxy-8-methoxy-6-methyl-8-phenyl-2-octenoic acid (A) 5.76 (2, d; 15.5), 6.67 (3, ddd; 15.5, 9.5 and 5.6), 2.34 (4, ddd; 14.1, 11.1 and 9.5), 2.62 (4, dddd; 14.1, 5.6, 1.8 and 1.5), 5.09 (5, ddd; 11.1, 7.8 and 1.8), 2.24 (6, dqd; 7.8, 7.0 and 2.2), 1.03 (6-Me, d; 7.0), 3.71 (7, dd; 8.3 and 2.2), 4.03 (8, d; 8.3), 3.20 (8-OCH₃, s), 7.31-7.40 (10/11/12/13/14, m), leucic acid (D) 4.86 (2, dd, 9.8 and 3.5), 1.71 (3/4, m), 1.41 (3, m), 0.89 (5/4-Me, d; 6.4); 3-amino-2-methylpropionic acid (C) 2.71 (2, ddq; 6.8, 3.9 and 7.2), 1.21 (2-Me, d; 7.2); 3.23 (3, ddd; 13.5, 6.8 and 6.0), 3.52 (3, ddd; 13.5, 6.0 and 3.9), 6.90 (3-NH, brt; 6.0); 3-chloro-4-methoxyphenylalanine (B) 4.82 (2, ddd; 8.8, 7.4 and 5.7), 5.66 (2-NH, d; 8.8), 3.02 (3, dd; 14.4, 7.4), 3.15 (3, dd; 14.4 and 5.5), 7.23 (5, d; 2.2), 3.87 (7-OCH₃, s), 6.84 (8, d; 8.5), 7.08 (9, dd; 8.5 and 2.2).

Криптофицин 10

К перемешиваемому раствору 7 мг Криптофицина 9 в 1 мл ацетона и 0.3 мл воды было добавлено 8 мкл 2N раствора NaOH. После перемешивания в течение 4 часов, раствор подвергали нейтрализации до pH 7 1N раствором HCl и растворитель удаляли при пониженном давлении. Остаток подвергали обработке с помощью жидкостной гель проникающей хроматографии с обращенной фазой с использованием смеси 7:3 MeOH/H₂O с получением чистого Криптофицина 10 (5 мг).

¹H NMR (CD₃OD): amino or hydroxy acid unit δ (carbon position, multiplicity; J in Hz); 5,7-dihydroxy-8-methoxy-6-methyl-8-phenyl-2-octenoic acid (A) 5.99 (2, dt; 15.4 and 1.3), 6.82 (3, dt, 15.4 and 7.3), 2.30 (4, m), 2.50 (4, m), 3.66 (5, td; 7.8 and 3.5), 2.05 (6, d pentet; 1.8 and 7.0), 0.96 (6-Me, d; 7.0), 4.04 (7, dd; 8.8 and 2.0), 4.01 (8, d; 8.8), 3.12 (8-OCH₃, s), 7.26-7.36 (10/11/12/13/14, m), 3-amino-2-methylpropionic

acid (C) 2.50 (2, m), 1.02 (2-Me, d; 7.3), 3.16 (3, dd; 13.4 and 6.9), 3.82 (3, dd; 13.4 and 6.6), 3-chloro-4-methoxyphenylalanine (B) 4.57 (2, dd; 8.5 and 6.5), 2.82 (3, dd; 13.9 and 8.6), 3.03 (3, dd, 13.9 and 6.5), 7.25 (5, d; 2.2), 3.82 (7-OCH₃, s), 6.96 (8, d; 8.6), 7.13 (9, dd; 8.6 and 2.2). ¹³C NMR (CD₃OD): δ 179.5, 173.4, 168.2, 155.4, 143.7, 141.7, 131.9, 131.7, 129.8,

347

86

129.3 (2C, 129.2 (2C), 128.8, 126.2, 123.2, 113.4, 85.9, 74.5, 74.1, 56.8, 56.6, 56.3, 43.3, 41.2, 40.2, 38.8, 38.0, 15.5, 9.9.

Криптофицин 12

К раствору 5 мг Криптофицинов 1, 5 или 8 в 1 мл 4:1 смеси ацетон/вода было добавлено 15 мкл 2N раствора NaOH. После перемешивания при комнатной температуре в течение 5 часов, реакционную смесь подвергали нейтрализации до pH 7 1N раствором HCl и растворитель упаривали. Вещество, растворимое в CH₂Cl₂ пропускали через небольшой кремниевый картридж с CH₂Cl₂, 1:1 EtOAc/CH₂Cl₂, и EtOAc. Фракция, элюированная EtOAc, содержала чистый. Криптофицин 12.

¹H NMR (CD₃OD): amino or hydroxy acid unit δ (carbon position, multiplicity, J in Hz); 5,7,8-trihydroxy-6-methyl-8-phenyl-2-octenoic acid (A) 6.07 (2, ddd; 15.5, 1.3 and 1.2), 6.40 (3, dt; 15.5 and 7.3), 2.49 (4, m), 2.60 (4, m), 3.92 (5, ddd; 9.3, 6.7 and 4.5), 1.94 (6, m), 1.07 (6-Me, d, 6.6), 3.61 (7, dd; 8.9 and 7.6), 4.56 (8, d; 7.6), 7.36 (10/14, dd; 7.4 and 1.5), 7.32 (11/13, brt; 7.5), 7.25 (12, m), 3-amino-2-methylpropionic acid (C) 2.54 (2, ddq; 7.0, 6.6 and 7.0), 1.02 (2-Me, d; 7.0), 3.14 (3, dd; 13.5 and 7.0), 3.42 (3, dd; 13.4 and 6.6), 3-chloro-4-methoxyphenylalanine (B) 4.57 (2, dd, 8.4 and 6.7), 2.83 (3, dd; 13.8 and 8.4), 3.02 (3, dd; 13.8 and 6.6), 7.25 (5, d; 2.1), 3.82 (7-OCH₃, s), 6.95 (8, d; 8.5), 7.12 (9, dd; 8.5 and 2.1).

Метилирование Криптофицина 12 диазометаном давало Криптофицин 6.

Криптофицин 14

К раствору 3 мг Криптофицина 6 в 1 мл 3:1 смеси ацетон/вода было добавлено 5 мкл 2N раствора NaOH. После перемешивания в течение 5 часов, реакционную смесь подвергали нейтрализации до pH 7 1N раствором HCl и затем упаривали досуха. Остаток подвергали обработке с помощью жидкостной гель проникающей хроматографии с обращенной фазой с получением 2.4 мг. Криптофицина 14.

¹H NMR (CD₃OD): amino or hydroxy acid unit δ (carbon position, multiplicity; J in Hz); 5-hydroxy-6-methyl-8-phenyl-2,7-octadienoic acid (A) 5.98 (2, d; 15.3), 6.78 (3, dt; 15.3 and 7.5), 2.35 (4, m), 3.64 (5, td; 7.2 and 4.8), 2.47 (6, m), 1.14 (6-Me, d; 6.9), 6.22 (7, dd; 15.9 and 8.1), 6.39 (8, d, 15.9), 7.24-7.36 (10/11/12/13/14, m); 3-amino-2-methylpropionic acid (C) 2.35 (2, m), 1.02 (2-Me, d; 6.9), 3.18 (3, dd; 13.2 and 6.6), 3.36 (3, dd; 13.2 and 4.5); 3-chloro-4-methoxyphenylalanine (B) 4.58 (2, dd; 8.7 and 6.3), 2.80 (3, dd; 13.8 and 9.0), 3.05 (3, dd; 13.8 and 6.3),

7.25 (5, d, 2.1), 3.82 (7-OCH₃, s), 6.95 (8, d; 8.4), 7.13 (9, dd; 8.4 and 2.1).

Криптофицин 35

Каталитическое количество PtO₂ было добав-

87

лено в колбу, содержащую 0.5 мл CH₂Cl₂. Колба была подвергнута вакуумированию, был введен H₂ и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 минут. Раствор 10 мг Криптофицина 1 в минимальном количестве CH₂Cl₂ был добавлен и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 45 минут. Катализатор удаляли фильтрованием через целит/хлопковую ткань и растворитель упаривали. Обработка остатка с помощью жидкостной гель проникающей хроматографии с обращенной фазой с использованием C18 колонки давала 6.5 мг Криптофицина 35

EIMS m/z (relative intensity) 656/658 (25/10), 412/414 (25/12), 280/282 (20/10), 195/197 (78/25), 141(58), 91 (100); high resolution EIMS m/z 656.2864 (calcd for C₃₅H₄₅ClN₂O₈, 0.0 mmu error); ¹H NMR (CDCl₃) amino or hydroxy acid unit δ values (carbon positions, multiplicities, J in Hz) 2,3-dihydro-7,8-epoxy-5-hydroxy-6-methyl-8-phenyl octanoic acid (A) 2.32 (2, ddd; 14.5, 9.2, 5.8), 2.10 (2, ddd; 14.5, 9.2, 6.2), 1.5-1.8 (3/4 overlapping m), 5.07 (5, ddd; 12.5, 5.6, 2.0), 1.80 (6, m), 1.12 (6-Me, d; 7.0), 2.90 (7, dd; 7.4, 1.8), 3.67 (8, d; 1.8), 7.24 (10/14, m), 7.32-7.38 (11/12/13, m); 3-chloro-4-methoxyphenylalanine (B) 4.71 (2, ddd; 8.7, 6.4, 6.3), 5.62 (2-NH, d; 8.7), 3.08 (2H-3, br d; 6.4), 7.19 (5, d; 2.0), 3.87 (7-OMe, s), 6.83 (8, d, 8.5), 7.07 (9, dd; 8.4, 2.0); 3-amino-2-methylpropionic acid (C) 2.72 (2, m), 1.18 (2-Me, d, 6.9), 3.12 (3, ddd; 11.4, 10.6, 5.6), 3.70 (3, ddd), 6.76 (3-NH, br t, 6.0); leucic acid (D) 4.83 (2, dd; 9.9, 3.8), 1.39 (3, m), 1.70 (3, m), 1.72 (4, m), 0.87 (4-Me, d; 5.3), 0.86 (5, d; 5.3), ¹³C NMR (CDCl₃) unit δ values (carbon positions) A 172.4 (1), 36.2 (2), 32.0 (3), 21.1 (4), 76.6 (5), 40.2 (6), 13.6 (6-Me), 63.3 (7), 59.2 (8), 136.8 (9), 125.6 (10/14), 128.7 (11/13), 128.6 (12); B 170.7 (1), 53.7 (2), 35.5 (3), 130.0 (4), 131.1 (5), 122.2 (6), 153.8 (7), 56.1 (7-OMe), 112.1 (8), 128.5 (9), C 175.2 (1), 38.2 (2), 13.6 (2-Me), 42.1 (3); D 171.9 (1), 71.7 (2), 39.6 (3), 24.5 (4), 22.9 (4-Me), 21.4 (5).

Пример 7 Анализ активности криптофициновых соединений в микротрубочковой деполимеризации.

Винбластин, цитохалазин В, тетраметилпродамин изотиоцианат (TRITC)- фалоидин, сульфородамин В (SRB) и антитела против β-тубулина и виментина были получены из Sigma Chemical Company. Базальная среда орла, содержащая соли Earle (BME), была из Gibco и фетальная бычья сыворотка (FBS) была куплена у Halcone Laboratories.

Линии клеток.

Jurkat Т линия клетки лейкемии и клеток А-10 гладкой мышцы крысиной аорты были получены из American Type Culture Collection и культивированы

в BME, содержащем 10% FBS и 50 мкг/мл гентамицин сульфата. Клетки яичниковой человеческой карциномы (SKOV3) и суб-линия, которая выбрана для сопротивления винбластину (SKVLB1), были великодушным подарком от Dr. Victor Ling из

88

Ontario Cancer Institute. Обе линии клеток содержали в BME, содержащем 10% FBS и 50 мкг/мл гентамицин сульфата. Винбластин добавляли с конечной концентрацией 1 мкг/мл в SKVLB1 клетки через 24 часа после пассажа для поддержания выбранного давления для Р-гликопротеин-сверхэкспрессирующих клеток.

Анализы клеточной пролиферации и задержки цикла.

Анализы клеточной пролиферации были выполнены, как описано Skehan et.al.¹¹. Для Jurkat клеток, культуры обрабатывали инкубированными лекарствами, как описано в Skehan et.al.¹¹, и общие клеточные наборы определяли с помощью подсчета клеток в гематометре. Процентное содержание клеток в митозе определяли с помощью окрашивания 0.4% Giemsa в PBS с последующими тремя быстрыми промывками PBS. По крайней мере, 1000 клеток на обработку были подсчитаны на присутствие митотических структур и митотического индекса, рассчитанного в виде отношения клеток с митотическими структурами к общему числу подсчитанных клеток.

Влияние криптофицинов и винбластина на пролиферацию клеток Jurkat и клеточного цикла.

Кривые доза-ответ для эффектов криптофициновых соединений и винбластина на клеточную пролиферацию и процентное содержание клеток в митозе показываются на Фигурах 2А и 2В, соответственно. Меньше, чем 3% необработанных клеток, обнаруживают митотические структуры. И криптофициновые соединения и винбластин вызывают зависимое от дозы увеличение процента клеток, наблюдавшихся в митозе. Увеличение в митотическом индексе близко коррелировало с уменьшением клеточной пролиферации, т.е. концентрации и криптофициновых соединений и винбластина, которые заставляли 50% клеток накапливаться в митозе, были фактически такими же, как концентрация, которая ингибировала клеточную пролиферацию на 50%. Величины IC₅₀ для криптофициновых соединений и винбластина для этих эффектов составляли 0.2 и 8 нМ соответственно.

Влияние цитохалазина В, винбластина и криптофицинов на цитоскелет.

Клетки (А-10) гладкой мышцы аорты были выращены на стеклянных покровных стеклах и обработаны PBS, 2 мкМ цитохалазина В, 100 нМ винбластина или 10 нМ криптофициновых соединений. Спустя 24 часа, микротрубочковые и виментиновые промежуточные волокна были визуализованы с помощью непрямого иммунофлуорес-

центного анализа и микроволокна были окрашены с

89

использованием TRITC-фаллоидина. Были исследованы морфологические эффекты каждого лекарства. Необработанные клетки проявляли полностью расширенные микротрубочковые сетки с окружающими ядро микротрубочковыми организующими центрами. Виментиновые промежуточные волокна были также равномерно распределенными по всей цитоплазме, в то время как пучки микроволокон были сконцентрированы вдоль большой оси клетки. Цитохалазин В вызывал полную деполимеризацию микроволокон наряду с аккумулярованием паракристаллических остатков. Это соединение не оказывало влияния ни на распределение микротрубочек, ни на распределение промежуточных волокон. И винбластин и криптофициновое соединение вызывали заметное опустошение микротрубочек. Ни одно из соединений не оказывало влияния на организацию микроволокна; однако, виментиновые промежуточные волокна сплющивались, образуя концентрические кольца вокруг ядра клеток, обработанных либо винбластином, либо криптофициновым соединением.

Влияние криптофицинов и винбластина на таксол-стабилизированные микротрубочки.

Клетки A-10 были обработаны в течение 3 часов 0 или 10 мкМ таксола до добавления PBS, 100 нМ винбластина или 10 нМ криптофицинового соединения. Спустя 24 часа, организация микротрубочек была исследована с помощью иммунофлуоресцентного анализа, как описано выше. По сравнению с контрольными клетками, микротрубочки в таксол-обработанных клетках были интенсивно связаны, особенно в клеточных полярных областях. Как и прежде, винбластин вызывал полную деполимеризацию микротрубочек в необработанных предварительно клетках. Однако, предварительная обработка таксолом предотвращала микротрубочки от деполимеризации в ответ на винбластин. Аналогично, предварительная обработка таксолом полностью стабилизировала микротрубочки против криптофицин-индуцированной деполимеризации.

Обратимость деполимеризации микротрубочек за счет винбластина и криптофицина.

Клетки A-10 были обработаны либо 100 нМ винбластина, либо 10 нМ криптофицинов в течение 24 часов, приводя в результате к полной деполимеризации микротрубочек. Затем клетки были промыты и проинкубированы в среде свободной от лекарства в течение 1 часа или 24 часов. Микротрубочки подвергались быстрой повторной полимеризации после удаления винбластина, показывая значительные уровни микротрубочек спустя 1 час и полное морфологическое восстановление за 24 часа. Напротив, микротрубочки не появляются повторно в клетках обработанных криптофицино-

выми соединениями ни через 1 час, ни через 24

347

часа после удаления соединения.

90

Обратимость ингибирования клеточной пролиферации криптофицинами, винбластином и таксолом.

SKOV3 клетки были обработаны в течение 24 часов ранее установленными IC_{50} дозами винбластина, криптофициновых соединений или таксола (т.е. величинами определенными в опытах суммированных в Таблице 5). В течение этого времени плотность клетки увеличивалась от 0,4 до 0.5 ± 0.05 единиц поглощения (Фигура 3), указывал на 25% увеличение количества клеток для всех трех обработок. Удаление лекарства приводило к быстрому росту клеток, обработанных винбластином, так что их количество увеличивалось приблизительно в три раза в течение 24 часов. Напротив, клетки обработанные криптофициновыми соединениями или таксолом оставались заблокированными, увеличиваясь только в 0,2 - 0,4 раза в течение 24 часов после удаления лекарства. Пролиферативная способность клеток, обработанных криптофицинами или таксолом, впоследствии восстанавливалась, так как клетки затем удваивались в следующие 24 часа.

Влияние комбинаций винбластина и криптофицинов на клеточную пролиферацию.

SKOV3 клетки были обработаны комбинациями криптофицинов и винбластина в течение 48 часов. Затем было определено процентное содержание выживших клеток и были рассчитаны величины IC_{50} для каждой комбинации. Влияние этих обработок указанными комбинациями, а также обработок одним лекарством, изображается в виде изоболограм. (Фигура 4). Величины IC_{50} для комбинаций криптофициновых соединений и винбластина очень близко приближается к линии аддитивности, указывая на то, что эти два лекарства индуцируют только аддитивное ингибирование клеточной пролиферации.

Токсичность криптофицинов, винбластина и таксола по отношению к SKOV3 и SKVLB1 клеткам.

SKVLB1 клетки оказывают сопротивление противораковым лекарствам натурального происхождения из-за их сверх экспрессии Р-гликопротеина¹². Способности таксола, винбластина и криптофициновых соединений к ингибированию роста SKOV3 и SKVLB1 клеток суммируется в таблице 5. Таксол вызывает зависимое от дозы ингибирования пролиферации обеих линий клеток с величинами IC_{50} для SKOV3 и SKVLB1 клеток 1 и 8000 и М, соответственно. Винбластин также ингибирует рост обеих линий клеток, с величинами IC_{50} 0,35 и 4200 нМ для SKOV3 и SKVLB1 клеток, соответственно. Криптофицины демонстрируют величины IC_{50} 7 и 600 пкМ для SKOV3 и SKVLB1 клеток, соответственно. Результирующие факто-

ры сопротивления для SKVLB1 клеток соединениям рассчитываются в виде IC₅₀ для SKVKB1. IC₅₀ для SKOV3 клеток также указываются в таблице 5.

Таким образом, это демонстрирует, что настоящее изобретение обеспечивает новые криптофициновые соединения, а также ранее описанные криптофициновые соединения, которые являются мощными ингибиторами клеточной пролиферации, действующими за счет разрыва сетки микротрубочек и ингибирования митоза. Криптофициновые соединения разрушают организацию микротрубочек и, таким образом, нормальные клеточные функции, включающие функции митоза.

Классические антимиотрубочковые агенты, такие как колхицин и алкалоиды Винка, задерживают клеточное деление при митозе. Кажется уместным сравнить эффект одного из этих агентов на клеточную пролиферацию с криптофициновыми соединениями. Для этой цели винбластин алкалоида Винка был выбран в качестве представителя антимиотрубочковых агентов. Таким образом, было проведено сравнение влияния криптофициновых соединений и винбластина на пролиферацию и развитие клеточного цикла клеточной линии Jukart T-клеток лейкемии. Оба соединения вызывали параллельное зависимое от дозы ингибирование клеточной пролиферации и аккумулялирование клеток в митозе.

Так как антимиотические эффекты обычно опосредуются разрушением микротрубочек в митотических веретенах, эффекты криптофициновых соединений на цитоскелетные структуры были охарактеризованы с помощью флуоресцентной спектроскопии. Иммунофлуоресцентное окрашивание клеток, обработанных либо криптофициновым соединением, либо винбластином, четко демонстрирует, что оба соединения вызывают полную потерю микротрубочек. Аналогичные исследования с SKOV3 клетками демонстрируют, что антимиотрубочковые эффекты криптофициновых соединений не являются уникальными для линии клеток гладкой мышцы. Ни одно лекарство оказывает влияние на уровни или распределение микроволокнистых пучков, что было легко проиндуцировано цитохалазином В, указывая на то, что потеря микротрубочек не может быть обусловлена неспецифическим механизмом, например, активацией протеаз или потерей энергетического заряда. И винбластин и криптофициновые соединения также заметно ускоряют схлопывание виментиновых промежуточных волокон так, что яркоокрашенные кольца образуются вокруг клеточных ядер.

Удаление винбластина из культурной среды приводит к быстрой повторной полимеризации микротрубочек. Напротив, клетки, обработанные криптофициновыми соединениями, оставались истощенными по отношению к микротрубочкам в течение, по крайней мере, 24 часов после того как соединение было удалено из культур.

Настоящее изобретение демонстрирует, что криптофициновые соединения нарушают Р-гликопротеин-опосредованное многократное сопротивление лекарству. Транспорт за счет Р-гликопротеина ограничивает способность противоопухолевых лекарств натурального продукта к ингибированию роста опухолевых клеток с требуемым или *de novo* сопротивлением лекарству¹³⁻¹⁵. Алкалоиды Винка, хотя и очень полезные как начальный источник химиотерапии, являются чрезвычайно хорошими субстратами для транспорта Р-гликопротеина и, таким образом, являются очень ограниченно полезными против Р-гликопротеин-опосредованных MDR опухолей.

Поэтому, идентификация агентов, которые могут перекрывать многократное сопротивление лекарству, должна приводить к развитию полезных и новых противоопухолевых агентов. Криптофициновые соединения настоящего изобретения оказываются являющимися такими агентами, так как они являются плохими субстратами для Р-гликопротеин-опосредованного транспорта. Этот факт отражается в низком факторе клеточного сопротивления для криптофициновых соединений, по сравнению с винбластином, таксолом и другими натуральными лекарственными продуктами. Полный синтез криптофицинов.

Структуры новых синтезированных соединений, а именно Криптофицинов 51, 52, 53, 55, 56, 57, 58 и 61 были подтверждены непосредственным образом с использованием методологии, которая является хорошо известной специалистам в этой области. Масс спектральные данные согласовывались с молекулярными составами. Данные протон и углерод ЯМР-спектров были аналогичны данным для криптофицина 1 и соответствующих аналогов природного происхождения и полусинтетических аналогов.

Следующие примеры демонстрируют полный синтез криптофициновых соединений, а также их применение в качестве терапевтических агентов в соответствии с изобретением.

Пример 8 Синтез Криптофицина 51

S-транс-3-пентен-2-ол (A)

Смесь рацемического транс-3-пентен-2-ола (933 мг, 11 ммоль), трифторэтиллаурата (4.14 г, 15 ммоль) и свиной панкреатит липазы (PPL, 2.0 г) в 25 мл безводного диэтилового эфира перемешивали в течение 80 часов. Затем PPL отфильтровывали и промывали три раза. Эфирные фильтраты упаривали и липкое масло затем подвергали вакуумной разгонке с коротким дефлегматором. S-транс-3-пентен-2-ол (A) конденсировался в ловушке, охлаждаемой жидким азотом (338 мг).

¹H-ЯМР (CDCl₃) δ 5.57 (4-H; dq, -15.3/6.0), 5.47 (3-H; ddd, -15.3/6.4/1.2), 4.19 (2-H, 1:4:6:4:1 pentuplet, 6.4), 2.24 (OH, bs), 1.63 (5-H₃; d, 6.0), 1.19 (1-H₃; d, 6.4). ¹³C NMR (CDCl₃) δ 135.5 (3), 125.5 (4), 68.7 (2), 23.3 (5), 17.5 (1).

S-транс-2-(2-пропилилокси)-3-пентен (B)

К интенсивно перемешиваемой смеси S-энантиомера А (628 мг, 7.3 ммоль), тетрабутиламмоний гидросульфата (138 мг, 0.41 ммоль) и 40% NaOH в воде (5 мл) при 0°C добавляют по каплям хлористый пропаргил (767 мг, 10.3 ммоль, 745 мкл). Интенсивное перемешивание продолжают в течение ночи после чего смесь нейтрализуют HCl при 0°C и пропаргильный эфир экстрагируют в пентан. Экстракт упаривают и пропаргильный эфир очищают на короткой колонке с силикагелем (2% диэтиловый эфир/пентан) с получением 778 мг пропаргильного эфира В,

$[\alpha]_D -118.9^\circ$ (с 2.0, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.70 (4-Н; dq, 18.5/6.5), 5.31 (3-Н; ddd, 18.5/7.2/1.4), 4.15 (1'-Н; dd, -15.6/2.1), 4.01 (1'-Н; dd, -15.6/2.1), 4.01 (2-Н; m), 2.38 (3'-Н; t, 2.1), 1.73 (5-Н; dd, 6.5/1.4), 1.25 (1Н; d, 6.3).

(3R,4R)-4-Метилгепт-5(Е)-ен-1-ин-3-ол (C)

Аликвоту гексанового раствора бутиллития (2.5 М, 5.1 мл, 12.8 ммоль) упаривают в вакууме и остаток охлаждают до -90°C. Медленно добавляют раствор пропаргильного эфира В (454 мг, 3.66 ммоль) в 10 мл ТГФ. После этого позволяют температуре подняться в течение ночи до комнатной температуры, реакционную смесь гасят раствором NH₄Cl. Экстракция эфиром три раза, выпаривание высушенного экстракта и очистка остатка на колонке с силикагелем (:% EtOAc/гексан) дает 332 Мг спирта С (выход 71%),

$[\alpha]_D +32.9^\circ$ (с 3.0, CHCl₃); IR (NaCl) ν_{max} 3306, 2968, 1455, 1379, 1029, 975 cm⁻¹. ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.61 (6-Н, dq, 15.3/6.3), 5.38 (5-Н; dd, 15.3/7.7), 4.13 (3-Н; bs), 2.45 (1-Н; d, 1.5), 2.38 (4-Н; m), 2.20 (ОН; bd, 3.3), 1.68 (7-Н; d, 6.2), 1.09 (4-CH₃; d, 6.8). ¹³C NMR (CDCl₃) δ 131.5 (5), 127.9 (6), 83.5 (2), 73.6 (1), 66.2 (3), 43.4 (4), 18.1(7), 15.7 (4-Me).

(3S,4R)-3-трет-Бутилдиметилсилилокси-4-метилгепт-5Е-еналь (D).

К перемешиваемому раствору спирта С (248 мг, 2 ммоль) и имидазола (340 мг, 5 ммоль) в 3 мл сухого ДМФА добавляют трет-бутилдиметилсилил хлорид (452 мг, 3 ммоль). После перемешивания смеси в течение ночи, добавляют 10 мл 10% раствора NaOH для разрушения избытка трет-бутилдиметилсилил хлорида. Продукт экстрагируют в эфир и экстракт промывают последовательно водой, 0.5 N HCl, и водой, сушат и выпаривают. Очистка остатка с помощью хроматографии на силикагеле с гексаном дает 457 мг (3R,4R)-3-трет-бутилдиметилсилилокси-4-метилгепт-5Е-ен-1-ина (выход 96%).

¹H-ЯМР (CDCl₃) δ 5.50 (6-Н; dq, 15.3/6.1), 5.38 (5-Н; dd, 15.3/7.5), 4.16 (3-Н; dd, 5.7/1.7), 2.37 (1-Н; d, 1.7), 2.35 (4-Н; m), 1.68 (7-Н; d, 6.1), 1.07 (4-Me, d, 6.8), 0.90 (CMe₃; s), 0.12 (SiMe; s), 0.09 (SiMe; s).

Используя ту же процедуру, соответствующее TBDPS производное (3R,4R)-3-трет-бутилдифенилсилилокси-4-метилгепт-5Е-ен-1-ина было получено с выходом 92%,

$[\alpha]_D -32.9^\circ$ (с 3.0, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.72/7.38 (2Ph-H₅), 5.32 (6-Н; m), 5.25 (5-Н; dd, 16.2/7.3), 4.29 (3-Н; dd, 5.2/2.0), 2.38 (4-Н; m), 2.33 (1-Н, d, 2.0), 1.64 (7-Н; d, 5.3), 1.11 (4-Me; d, 6.9), 1.06 (CMe₃). ¹³C NMR (CDCl₃) δ 136.1/ 135.9 /133.6 /129.7/129.6/127.5/127.3 (Ph), 132.4 (5), 126.1 (6), 83.3 (2), 73.5 (1), 68.0 (3), 43.6 (4), 26.9 (CMe₃), 19.4 (CMe₃), 18.0 (7), 14.7 (4-Me).

2-Метилбутен (1.15 мл, 2М раствор в ТГФ, 2.3 ммоль) был добавлен к 1.1 мл раствора BF₃ в ТГФ (1М, 1.1 ммоль) при -25°C и смесь перемешивали в бане со льдом в течение двух часов. Затем температуру понижали до -50°C и сразу добавляли раствор TBS производного (238 мг, 1 ммоль) в 1 мл ТГФ. Охлаждающую баню удаляли и реакционной смеси позволяли нагреться до комнатной температуры и оставляли при комнатной температуре в течение одного часа. Затем добавляли 2.2 М раствор KH₂PO₄/K₂HPO₄ (4.8 мл) и 30% H₂O₂ (0.8 мл) при 0°C. Спустя 1 час, ТГФ упаривали и остаток экстрагировали в эфир. Сухой эфирный экстракт выпаривали, остаток хроматографировали на силикагеле (1% EtOAc/гексан) с получением 194 мг альдегида D (выход 76%).

¹H NMR (CDCl₃) δ 9.78 (1-Н; t, 2.3), 5.46 (6-Н, dq, 15.3/6.1), 5.34 (5-Н; dd, 15.3/7.5), 4.13 (3-Н; m), 2.47 (2-Н; m), 2.31 (4-Н; m), 1.66 (7-Н; br d, 6.1), 0.99 (4-Me; d, 6.8), 0.87 (CMe₃; s), 0.07 (SiMe; s), 0.04 (SiMe; s).

Производное трет-бутилдифенилсилилового эфира (TBDPS) альдегида получали с 83% выходом, ¹H-ЯМР (CDCl₃)

δ 9.52 (1-Н; t, 2.4), 7.69/7.40 (2Ph-H₅), 5.28 (6-Н; m), 5.22 (5-Н, dd, 16.2/6.2), 4.19 (3-Н; m), 2.42 (2-Н; m), 2.29 (4-Н; m), 1.60 (7-Н; d, 5.4), 1.07 (CMe₃). 1.02 (4-Me; d, 6.9). ¹³C NMR (CDCl₃) δ 202.0 (1), 136.1/133.6/ 133.3 /130.2/129.7/127.7/127.6 (Ph), 132.3 (5), 126.2 (6), 72.8 (3), 47.6 (2), 42.2 (4), 27.1 (CMe₃), 19.6 (CMe₃), 18.3 (7), 14.9 (4-Me).

Метил(5S,6R)-5-трет-Бутилдиметилсилилокси-6-метил-7-оксонона-2Е,7Е-диеноат (E)

К перемешиваемому раствору альдегида D (0.74 г, 2.9 ммоль) и триметилфосфонацетата (632 Мг, 3.5 ммоль) в 5 мл ТГФ, охлажденного до -78°C, добавляли тетраметилгуанидин (435 мкл, 3.5 ммоль). Через 30 минут охлаждающую баню удаляли и смесь перемешивали дополнительно четыре часа. Смесь нейтрализовали 1 N HCl и продукт экстрагировали в эфир. Выпаривание высушенного эфирного экстракта оставляло остаток, который хроматографировали на силикагеле (5% EtOAc/гексан) с получением 0.814 г E (выход 96%). ¹H-ЯМР (CDCl₃)

δ 6.93 (3-Н; dt, 15.6/7.8), 5.62 (2-Н; dd, 15.6/1.2), 5.37 (8-Н, m), 5.37 (7-Н, m), 3.71 (OCH₃,

s), 3.61 (5-H, m), 2.29 (4-H₂, m), 2.22 (6-H, m), 1.66 (9-H₃; br d, 6.1), 0.99 (6-Me; d, 6.8), 0.88 (CMe₃; s), 0.03 (SiMe; s), 0.01 (SiMe; s).

Производное трет-бутилдифенилсилилового эфира (TBDPS) альдегида получали с 90% выходом, ¹H-ЯМР (CDCl₃)

δ 7.68/7.38 (2Ph-H₅), 6.75 (3-H; dt, 15.6/7.4), 5.62 (2, H; d, 15.6), 5.34 (8-H, m), 5.29 (7-H, m), 3.70 (5-H, m), 3.68 (OCH₃, s), 2.28 (4-H₂, m), 2.20 (6-H, m), 1.62 (9-H₃; d, 5.3), 1.08 (CMe₃), 0.99 (6-Me; d, 6.9). ¹³C NMR (CDCl₃) δ 166.7 (1), 146.4 (3), 136.0/134.2/133.8/129.62/129.56/127.5/127.4 (Ph) 132.5 (7), 125.8 (8), 122.6 (2), 76.2 (5), 51.3 (OCH₃) 41.7 (6), 36.8 (4), 27.0 (CMe₃) 19.4 (CMe₃), 18.1 (9), 14.7 (6-Me).

Метил(5S,6H)-5-трет-

Бутилдиметилсилилокси-6-метил-7-оксогепт-2(Е)-7-еноат (F)

Озон пропускали через раствор метилового эфира E (328 мг, 1.0 ммоль) и 97 мкл пиридина в 15 мл CH₂Cl₂ при -78°C и за протеканием озонлиза наблюдали с помощью тонкослойной хроматографии. После того как был израсходован метиловый эфир, добавляли около 500 мг цинковой пыли и 1 мл ледяной уксусной кислоты. Температуру медленно повышали до 25°C. Смесь отфильтровывали и фильтрат последовательно промывали насыщенными растворами CuSO₄ и NaHCO₃. После упаривания растворителя, неочищенный альдегид F (249 мг, 83%) использовали в следующей стадии без дальнейшей очистки. ¹H-ЯМР (CDCl₃)

δ 9.96 (7-H; t, 2.3), 6.96 (3-H; dt, 15.7/7.6), 5.90 (2-H; dd, 15.7/0.7), 4.05 (5-H; m), 3.74 (OMe; s), 2.51 (6-H; m), 2.45 (4-H₂; m), 1.09 (6-Me; d, 6.9), 0.88 (CMe₃; s), 0.04 (SiMe; s), 0.03 (SiMe; s).

Метил(5S,6R)-5-трет-бутилдиметилсилилокси-6-метил-8-фенил-окта-2(Е),7Е- диеноат (G)

К перемешиваемому раствору альдегида F (25.0 мг, 0.08 ммоль) в 1.5 мл ТГФ при -78°C добавляли 0.80 мл охлажденной (-78°C) смеси бензилтрифенилфосфонийхлорида (268 мг, 0.69 ммоль, в 6.9 мл ТГФ) и n-бутиллития (280 мкл, 2.5 М в гексане). Через 15 минут охлаждающую баню удаляли и перемешивание продолжали в течение двух часов. Реакцию гасили насыщенным раствором хлористого аммония и ТГФ упаривали. Концентрат экстрагировали в гексан дважды и объединенные экстракты промывали солевым раствором, сушили и выпаривали. Оставшееся масло, 5:1 смесь E и Z изомеров, растворяли в 1.5 мл бензола, содержащего тиофенол (0.02 М) и 1.1'-азобис(циклогексанкарбонитрил) (VAZO, 0.006 М), и смесь кипятили с обратным холодильником в течение 5 часов. После охлаждения до комнатной температуры, добавляли гексан (15 мл) и органический раствор последовательно промывали 10% раствором NaOH и солевым раствором, сушили (MgSO₄) и выпаривали. Хроматографирование

остатка на силикагеле (2% EtOAc/гексан) приводило к получению 24 мг (выход 80%) продукта G.

[α]_D + 68.2° (с 1.5, CHCl₃); EIMS m/z 374 (<1%; M⁺), 359 (1; M⁺ -CH₃), 317 (10; M⁺ -Bu), 275 (10), 243, (73), 143 (20), 115 (10), 97 (64), 89 (31), 73 (100), HREIMS m/z 374.2232 (C₂₂H₃₄O₃Si, Δ +4.5mmu), 359.2031 (C₂₁H₃₁O₃Si, Δ + 1.1 mmu), 317.1579 (C₁₈H₂₅O₃Si, Δ-0.6mmu); UV (MeOH) λ_{max} (ε) 206 (33500), 252 (20100) nm; IR ν_{max} 2952, 2855, 1725, 1657, 1435, 1257, 1168, 1097, 970, 836, 775 cm⁻¹; ¹H NMR δ 7.2-7.4 (Ph-H₅; m), 6.96 (3-H; ddd, 15.6/7.8/7.5), 6.37 (8-H; d, 15.9), 6.16 (7-H; dd, 15.9/8.1), 5.84 (2-H; d, 15.6), 3.75 (5-H; ddd, 10.2/6.0/4.2), 3.72 (OMe, s), 2.44 (6-H; m), 2.36 (4-H₂; m), 1.10 (6-Me; d, 6.9), 0.91 (Si-CMe₃; s), 0.06 (Si-Me; s), 0.05 (Si-Me; s); ¹³C NMR δ 166.8 (1), 146.4 (3), 137.6 (Ph 1'), 131.9 (8); 130.4 (7), 128.5 (Ph 3'/5'). 127.0 (Ph 4'), 126.0 (Ph 2'/6'), 122.9 (2), 75.0 (5), 51.4 (OMe), 42.8 (6), 37.6 (4), 25.9 (Si-CMe₃), 18.1 (Si-CMe₃), 16.2 (6-Me), -4.4 (Si-Me), -4.5 (Si-Me). Calcd for C₂₂H₃₄O₃Si: C, 70.52; H, 9.17. Found: C, 70.72; H, 9.42.

(5S,6R)-5-трет-бутилдиметилсилилокси-6-метил-8-фенилокта-2Е,7Е-диеновая кислота (H)

К раствору сложного эфира Cr (159 мг, 0.43 ммоль) в 7 мл ацетона было добавлено 5 мл 1N LiOH. Смесь перемешивали при температуре 25°C в течение 3 часов, разбавляли 20 мл Et₂O и окисляли 1N HCl до ~ pH4. Органический слой отделили и промывали порциями по 20 мл рассола и воды, сушили (Mq SO₄) и выпаривали. Оставшееся масло подвергали хроматографии на силикагеле (40% EtOAc в гексане, содержащем 0,5% AcOH с получением чистой кислоты H в виде бледножелтого маловязкого масла (145 мг, с выходом 95%).

[α]_D + 87.0° (с 1.4, CHCl₃); EIMS m/z 343 (1; M⁺-OH), 303 (5), 275 (9), 257 (4), 229 (62), 213 (16), 171 (22), 143 (37), 131(16), 115 (23), 97 (100), 91 (44); HREIMS m/z 343.2107 (C₂₁H₃₁O₂Si, Δ-1.3mmu), 229.1220 (C₁₅H₁₇O₂, Δ +0.9mmu); UV λ_{max} (ε) 206 (24500), 252 (15600) nm; IR ν_{max} 3300-2800 (br), 2956, 2856, 1697, 1651, 1419, 1256, 1097, 836, 693 cm⁻¹; ¹H NMR δ 10.4 (CO₂H; bs, W_{1/2} ≈ 100), 7.2-7.4 (Ph-H₅; m), 7.09 (3-H; ddd, 15.6/7.6/7.6), 6.39 (8-H; d, 15.9), 6.16 (7-H; dd, 15.9/8.1), 5.85 (2-H; d, 15.6), 3.78 (5-H; ddd, 6.0/6.0/4.2), 2.46 (6-H; m), 2.40 (4-H₂; m), 1.12 (6-Me; d, 6.9), 0.92 (Si-CMe₃; s), 0.07 (SiMe₂; s); ¹³C NMR δ 171.6 (1), 149.1 (3), 137.5 (Ph 1'), 131.8 (8), 130.5 (7), 128.5 (Ph 3'/5'), 127.1 (Ph 4'), 126.1 (Ph 2'/6'), 122.7 (2), 74.9 (5), 42.9 (6), 37.6 (4), 25.8 (Si-CMe₃), 18.1 (Si-CMe₃), 16.1 (6-Me), -4.4 (Si-Me), -4.5 (Si-Me).

2.2.2-трихлорэтиловый эфир 3-(3-хлор-4-метоксифенил)-D-аланина (I)

Образец производного D-хлор-тирозина ВОС (160 Мг, 0.35 ммоль) растворяли в 3 мл чистой трифторуксусной кислоты и оставляли при комнат-

ной температуре на 1 час. Избыток реагента удаляли при пониженном давлении, возвращая желаемый амин 1 в виде трифторацетатной соли (165 мг, 100% выход),

$[\alpha]_D + 1.7^\circ$ (с 5.2, CHCl_3); IR $\nu_{\max}$ 3400-2500 (br), 1760, 1680, 1500, 1200, 1130, 1070, 805, 710 cm^{-1} , ^1H NMR δ 8.07 (NH_2 ; br m, $W_{1/2} \approx 45$), 7.27 (5-H; s), 7.12 (9-H; d, 8.1), 6.88 (8-H; d, 8.1), 4.86/4.67 (CH_2CCl_3 ; AB q, -12.0), 4.41 (2-H; bs, $W_{1/2} \approx 20$), 3.86 (OMe; s), 3.33 (3-H; dd, -14.4/3.6), 3.22 (3-H'; dd, -14.4/6.6); ^{13}C NMR δ 167.6 (1), 155.0 (7), 130.9 (5), 128.8 (9), 125.4 (4), 123.1(6), 112.7 (8), 93.4 (CCl_3), 75.3 (CH_2CCl_3), 56.1 (OMe), 54.2 (2), 34.9 (3).

Соединение J

К перемешиваемому раствору Н (25 мг, 0.07 ммоль) в 3 мл безводного ДМФА в атмосфере аргона последовательно добавляли пентафтордифенилфосфинат (FDPP, 32 мг, 0.08 ммоль), трифторацетатную соль (35 мг, 0.07 ммоль) и диизопропилэтиламин (DIEA, 27 мг, приблизительно 36 мкл, 0.21 ммоль, приблизительно 3 эквивалента). Перемешивание продолжали в течение одного часа при 25°C и затем реакционную смесь экстрагировали 20 мл Et_2O . Эфирный экстракт промывали 10 мл 1 N HCl, с последующей промывкой 10 мл насыщенного раствора NaHCO_3 , 20 мл рассола и 20 мл воды, сушили (MgSO_4) и выпаривали. Оставшееся бледно желтое масло подвергали хроматографии на силикагеле (15% EtOAc в гексане) с получением J в виде бесцветного масла (32 мг, с выходом 65%):

$[\alpha]_D + 11.8^\circ$ (с 1.2, CHCl_3); EIMS m/z; 644/646/648/650 (7/8/6/3; $\text{M}^+\text{-Bu}$), 570/572/574 (46/100/21), 536/538 (18/15), 394/396 (67/29), 275 (20), 155/157 (29/9), HREIMS m/z 644.0981 ($\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{Cl}_4\text{NO}_5\text{Si}$, Δ -2.13mmu); UV $\lambda_{\max}$ (ϵ) 204 (54900), 230 (23200), 248 (19200), 184 (3500) nm; IR $\nu_{\max}$ 3290, 2980, 2850, 1760, 1680, 1640, 1505, 1380, 1270, 1169, 990, 720 cm^{-1} , ^1H NMR unit A δ 7.2-7.4 (Ph-H₅; m), 6.87 (3- H; ddd, 15.0/7.8/7.5), 6.37 (8-H; d, 16.2), 6.18 (7-H; dd, 16.2/8.1), 5.82 (2-H; d, 15.0), 3.75 (5-H; ddd, 9.9/6.0/4.8), 2.46 (6-H; m), 2.36 (4-H₂; m), 1.11 (6-Me; d, 6.9), 0.91 (SiCMe_3 ; s), 0.07 (SiMe ; s), 0.06 (SiMe ; s); unit B δ 7.19 (5-H; d, 2.1), 7.04 (9-H; dd, 8.4/2.1), 6.85 (8-H; d, 8.4), 5.85 (NH; d, 7.8), 5.08 (2-H; ddd, 7.8/6.0/5.7), 4.81/4.74 (CH_2CCl_3 ; AB q, -11.7), 3.87 (OMe; s), 3.22 (3-H; dd, -14.1/5.7), 3.12 (3- H'; dd, -14.1/6.0). ^{13}C NMR unit A δ 165.1 (1), 143.0 (3), 137.6 (9), 132.0 (8), 130.4 (7), 128.5 (11/13), 127.0 (12), 126.0 (10/14), 124.7 (2), 75.0 (5), 42.6 (6), 37.6 (4), 25.9 (SiCMe_3), 18.1 (SiCMe_3), 16.5 (6-Me), -4.3 (Si-Me), -4.6 (Si-Me); unit B δ 170.1 (1), 154.3 (7), 131.1 (5), 128.5 (4/9), 122.6 (6), 112.2

97

(8), 94.2 (CCl_3), 74.8 (CH_2CCl_3), 56.1 (OMe), 53.0 (2), 36.5 (3).

(1',5S,6R)-N-1'-(карбо-2'',2'',2''-трихлорэтокси)-2'-(3-хлор-4- метоксифенил)этил-5-трет-бутилдиметилсилилокси-6-метил-8-фенил-окта-2Е,7Е-диенамид (К)

К раствору J (50 мг, 0.07 ммоль) в 4 мл MeCN добавляли 400 мкл 50% водного раствора HF и смесь перемешивали в течение 1 часа при 25°C . Экстракция в 30 мл Et_2O с последующим промыванием эфирного экстракта 30 мл порциями насыщенного раствора NaHCO_3 , рассола и воды, высушиванием (MgSO_4) и выпариванием давала спирт К в виде бесцветной пены (40 мг, выход 95%)

$[\alpha]_D - 6.1^\circ$ (с 1.3, CHCl_3); EIMS m/z (rel intensity) 587/589/591/593 (M^+ , < 1%), 552/554/556 (1/2/0.5), 456/458/460/462 (1/2/1/0.2), 342/344/346 (7/8/4), 212/214 (15/5), 195/197 (6/2), 155/157 (99/34), 131 (100), 91 (77); HREIMS m/z 587.0721 ($\text{C}_{27}\text{H}_{29}^{35}\text{Cl}_4\text{NO}_5$, Δ +7.9mmu); UV $\lambda_{\max}$ 204 (56500), 230 (22100), 248 (18100), 284 (3600) nm; IR $\nu_{\max}$ 3400, 3300, 2980, 1780, 1680, 1640, 1505, 1270, 1180, 1090, 1000, 770 cm^{-1} , ^1H NMR unit A δ 7.2-7.4 (Ph-H₅; m), 6.92 (3-H, ddd, 15.3/7.8/7.5), 6.46 (8-H; d, 15.9), 6.14 (7-H; dd, 15.9/8.4), 5.90 (2-H; d, 15.3), 3.65 (5-H; ddd 7.8/5.6/4.0), 2.39 (6-H/4-H₂; bm), 1.78 (OH; bs, $W_{1/2} \approx 40$ Hz), 1.14 (6-Me; d, 6.9), unit B δ 7.18 (5-H; d, 1.8), 7.03 (9-H; dd, 8.4/1.8), 6.84 (8-H; d, 8.4), 5.97 (NH; d, 7.8), 5.06 (2-H; ddd, 7.8/6.0/5.7), 4.79/4.72 (CH_2CCl_3 ; AB q, -12.0), 3.86 (OMe; s), 3.20 (3-H; dd, - 14.1/5.7), 3.10 (3-H'; dd, -14.1/6.0). ^{13}C NMR unit A δ 165.3 (1), 142.6 (3), 137.0 (9), 131.7 (8), 131.0 (7), 128.5 (11/13), 127.3 (12), 126.1(10/14), 125.0 (2), 73.8 (5), 43.2 (6), 37.2 (4), 16.8 (6-Me), unit B δ 170.2 (1), 154.2 (7), 131.0 (5), 128.4 (9), 128.3 (4), 122.5 (6), 112.2 (8), 94.2 (CCl_3), 74.7 (CH_2CCl_3), 56.1 (OMe), 53.0 (2), 36.5 (3).

3-(трет-Бутоксикарбонил)амино-2,2-диметилпропановая кислота (М)

К раствору 3-амино-2,2-диметилпропан-1-ола (L) (3 г, 29 ммоль) в 51 мл 10% раствора триэтилоламина в MeOH добавляли ди-трет-бутил дикарбонат (6.7 г, 31 ммоль) и смесь перемешивали при 25°C в течение 1 часа. После удаления растворителя, остаток растворяли в CH_2Cl_2 (30мл) и раствор дважды промывали 1M раствором KHSO_4 (pH 2) и один раз насыщенным раствором NaCl и сушили (MgSO_4). Удаление растворителя в вакууме давало 5.8 г, (выход 93%) 3-(трет- бутоксикарбонил)амино-2,2-диметилпропанола в виде белого твердого вещества, которое непосредственно использовали для следующей стадии без дальнейшей очистки (выше 95% чистоты по данным ЯМР анализа), т.пл $70.5\text{-}71.5^\circ\text{C}$;

IR $\nu_{\max}$ 3350, 1685, 1456 cm^{-1} ; ^1H NMR δ 4,87 (NH₂; br s), 3.72 (OH; br s), 3.19 (1-H₂; d, 5.1), 2.95 (3-H₂; d, 6.0), 1.44 (CMe_3 ; s), 0.85 (2-Me₂; s); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 157.6 (BOC CO), 79.7 (CMe_3),

98

68.1(1), 47.1 (3), 36.7 (2), 28.3 (CMe_3), 22.4 (2-Me₂).

К раствору спирта 3-(трет-бутоксикарбонил)амино-2,2-диметилпропанола (5.3 г, 25.9 ммоль) и периодата натрия (16.6 г, 77.7 ммоль) в четыреххлористом углероде (52 мл) ацетонитриле (52 мл) и воде (78 мл) добавляли гидрат треххлористого рутения (122 мг) и смесь перемешивали

347

при 25°C в течение 1 часа. Смесь отфильтровывали через целит и добавляли насыщенный раствор карбоната калия в воде (50 мл). Водный слой отделяли, промывали эфиром (20 мл), подкисляли HCl до pH 2 при 0°C и экстрагировали CH₂Cl₂ (и экстрагировали 3 раза по 30 мл). Объединенные экстракты промывали насыщенным раствором NaCl и сушили (MgSO₄). Удаление растворителя в вакууме давало остаток, который сначала подвергали флеш хроматографии с обращенной фазой на C18 кремниевой колонке (ODS 120 А, 50 до 90% MeOH) и затем кристаллизовали из эфира с получением 3.7 г, (выход 66%) М в виде белого твердого вещества. т.пл. 106-108°C;

EIMS m/z (rel intensity) 217 (0.1), 161(11), 98 (25), 88 (71), 57 (100); HREIMS m/z 217.1292 (C₁₀H₁₉NO₄, Δ +2.2mmu); IR ν_{max} 3450-2500, 1710, 1694, 1510 cm⁻¹; ¹H NMR of major conformer δ 5.03 (NH; br s), 3.26 (3-H₂; m), 1.45 (CMe₃; s), 1.24 (2-Me₂; s); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 183.2 (l), 156.3 (BOC CO), 79.6 (CMe₃), 49.5/47.9 (2/3), 28.4 (CMe₃), 22.9 (2-Me₂).

Аллил (2S)-2-гидрокси-4-метилпентаноат (N).

К раствору 2.66 г L-лейциновой кислоты (20 ммоль) и 1.74 г бикарбоната натрия (20 ммоль) в 30 мл воды при 0°C добавляли 30 мл раствора 6.44 г тетрабутиламмоний хлорида (20 ммоль) и 1.74 мл аллилбромид (20 ммоль) в CH₂Cl₂. После интенсивного перемешивания смеси в течение 24 часов, CH₂Cl₂ выпаривали. Добавляли около 50 мл воды и водный слой экстрагировали четыре раза Et₂O. Эфирный раствор сушили над безводным сульфатом натрия и затем выпаривали. Остаток пропускали через короткую Si колонку с получением 3.21 г аллилового эфира N (выход 93%) в виде бесцветного масла,

[α]_D - 8.4° (с 1.1, CHCl₃); IR ν_{max} 3464, 2957, 1732, 1203, 1140, 1087 cm⁻¹; ¹H NMR δ 5.92 (allyl 2-H; m), 5.34 (allyl 3-H₂; dd, 17.4/1.1), 5.28 (allyl 3-He; dd, 10.5/1.1), 4.67 (allyl 1-H₂; d, 5.7), 4.23 (2-H; br s), 2.64 (OH; br s), 1.89 (4-H; m), 1.57 (3-H₂; m), 0.96 (5-H₃; d, 6.5), 0.95 (4-Me; d, 6.7), ¹³C NMR δ 175.3 (1), 131.4 (allyl C-2), 118.6 (3), 68.9 (2), 65.7 (allyl C-1), 43.2 (3), 24.1 (4), 23.0 (5), 21.3 (4-Me).

Аллил (2S)-2-[3'(трет-Бутоксикарбонил)амино-2',2'-диметилпропаноилокси]-4-метилпентаноат (O).

К раствору 0.8 г М (3.7 ммоль), 0.76 г N (4.4 ммоль) и 92 мг DMAP в 10 мл сухого CH₂Cl₂ при

99

0°C добавляли 0.84 г DDC (4.1 ммоль) в CH₂Cl₂. Смесь перемешивали при 25°C в течение 3 часов и фильтровали. Фильтрат промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия, сушили (Na₂SO₄) и выпаривали в вакууме. Флеш хроматография (силикагель, 5% EtOAc/гексан) давала 1.0 г (выход 92%) чистого О в виде бесцветного масла, R_f 0.68 (17:83 EtOAc/гексан),

[α]_D - 29.4° (с 18.1, CHCl₃); EIMS m/z (rel intensity) 371 (2, M⁺), 242 (13), 184 (12), 126 (20), 84 (100); HREIMS m/z 371.2317 (C₁₉H₃₃NO₆, Δ -0.9mmu), IR (neat) ν_{max} 3385, 2963, 1731, 1720, 1513 cm⁻¹, ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) unit C δ 5.39 (NH; obscured br s), 3.33 (3-H; dd -13.5/7.4), 3.27 (3-H', dd, -13.5/5.9), 2.78 (2-H, m), 1.44 (CMe₃; s), 1.23 (2-Me; s), 1.22 (2-Me; s), unit D δ 5.91 (allyl 2-H, ddt, 16.6/10.3/6.0 Hz), 5.34 (allyl 3-H₂; bd, 16.6), 5.27 (allyl 3-He; bd, 10.3), 5.08 (2-H; dd, 9.6/3.6), 4.65 (allyl 1-H₂; m), 1.6-1.9 (3-H₂/4-H; m), 0.94 (5-H₃; d, 6.3), 0.94 (4-Me; d, 7.3), ¹³C NMR unit C δ 176.5 (1), 156.3 (BOC CO), 79.0 (CMe₃), 48.6 (3), 44.0 (2), 28.4 (CMe₃), 22.2/23.0 (2-Me₂); unit D δ 170.6 (1), 131.4 (allyl C-2), 119.1 (allyl C-3), 70.9 (2), 66.0 (allyl C-1), 39.5 (3), 24.8 (4), 23.0 (5), 21.5 (4-Me).

(2S)-2-[3'(трет-Бутоксикарбонил)амино-2',2'-диметилпропаноилокси]-4-метилпентановая кислота (P).

К 10 мл раствора 180 мг (0.49 ммоль) О и 60 мг (0.05 ммоль) тетра-кис(трифенилфосфин)палладия в сухом ТГФ (в атмосфере аргона) медленно добавляли 470 мкл (5.4 ммоль) сухого морфолина в течение 10 минут. После перемешивания в течение 50 минут, добавляли 40 мл эфира и раствор промывали 1 N HCl (40 мл) и затем экстрагировали насыщенным раствором бикарбоната натрия (2 раза по 30 мл). Водный экстракт подкисляли раствором 0.5 N HCl и экстрагировали эфиром (40 мл). Эфирный экстракт промывали водой (2 раза по 30 мл), сушили (MgSO₄) и упаривали в вакууме с получением Р в виде бесцветного подвижного масла (152 мг, выход 95%):

[α]_D - 22.2° (с 2.2, CHCl₃); EIMS m/z (rel intensity) 331 (1, M⁺), 275 (1), 258 (4), 231 (9), 202 (36), 174 (13), 144 (31), 126 (16), 114 (14), 98 (54), 88 (50), 84 (9100); HREIMS m/z 331.2004 (C₁₆H₂₉NO₆, Δ -1.0mmu). ¹H NMR (CDCl₃) unit C δ 5.41 (NH; dd, 5.7/5.4), 3.30 (3-H₂; m); 2.68 (2-H; m), 1.43 (CMe₃; br s), 1.22 (2-Me, s), 1.21 (2-Me; s); unit D δ 6.47 (l-OH, br s, W_{1/2} ≈ 35), 5.09 (2-H; dd, 9.3/2.7), 1.7-1.9 (3-H₂/4-H; m), 0.97 (5-H₃; d, 6.0), 0.94 (4-Me, d, 6.0). ¹³C NMR (CDCl₃) unit C δ 176.5 (1), 156.5 (BOC CO), 79.3 (CMe₃), 48.6 (3), 44.0 (2), 28.3 (CMe₃), 23.0 (2-Me), 22.2 (2-Me), unit D δ 175.4 (1), 70.6 (2), 39.5 (3), 24.8 (4), 23.0 (5), 21.4 (4-Me).

Соединение О.

К раствору спирта К (80 мг, 0.14 ммоль), кис-

347

100

лоты Р (68 Мг, 0.21 ммоль) и DMAP (4 мл) в сухом CH₂Cl₂ (4 мл), перемешиваемому при 0°C в атмосфере аргона, добавляли DDC (44 мг, 0.21 ммоль) в сухом CH₂Cl₂ (1 мл). Смесь перемешивали при 0°C в течение 30 минут, время в течение которого образовывался белый осадок, и затем позволяли нагреться до комнатной температуры и перемешивали дополнительно еще 4 часа. Осадок отфильтровывали и фильтрат разбавляли Et₂O (40 мл) и про-

мывали последовательно разбавленным раствором HCl (1 M, 40 мл), насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (40 мл), и рассолом (40 мл). Эфирный слой сушили (MgSO₄) и выпаривали в вакууме с получением воскообразного твердого вещества. Хроматография (силикагель, EtOAc:гексан 1:3) дает чистый Q в виде бесцветного вязкого масла (103 мг, выход 84%),

$[\alpha]_D$ - 3.1° (с 2.9, CHCl₃); EIMS m/z 800/802/804/806 (<1, M⁺-C₅H₈O₂), 415/417/419/421(5/3/3/2), 342/344/346 (7/9/4), 286/288/290 (2/6/2), 207 (34), 178 (22), 155/157 (66/24), 131 (36), 91(70), 70 (100); HREIMS m/z 800.2179 (C₃₈H₄₈N₂O₈³⁵Cl₄, Δ-1.4mmu): UV (MeOH) λ_{max} (ε) 204 (51200), 230 (18500), 248 (17200), 282 (2200) nm; IR (NaCl) ν_{max} 3376, 2965, 1755, 1728, 1712, 1678, 1504, 1258, 1150, 1067, 732 cm⁻¹. ¹H NMR (CDCl₃) δ unit A: 7.28-7.33 (10-H/14-H/11-H/13-H; m), 7.22 (12-H; m), 6.78 (3-H; ddd, 15.8/6.4/6.3), 6.40 (8-H; d, 15.8), 6.01 (7-H; dd, 15.8/8.7), 5.88 (2-H; d, 15.8), 5.06 (5-H; bm, W_{1/2} ≈ 20 Hz), 2.62 (6-H; m), 2.53 (4-H₂; bm, W_{1/2} ≈ 15 Hz), 1.12 (6-CH₃; d, 6.8); unit B 7.18 (5-H; d, 2.0), 7.05 (9-H; dd, 8.5/2.0), 6.83 (8-H; d, 8.5), 6.49 (NH; d, 7.9), 5.06 (2-H; bm, W_{1/2} ≈ 20 Hz), 4.79/4.70 (CH₂CCl₃; AB q, -11.7), 3.85 (OCH₃; s), 3.20 (3-H_b; dd, -14.1/5.8), 3.07 (3-H_a; dd, -14.1/6.7), unit C 5.38 (NH; bt, 6.5), 3.27 (3-H₂; d, 6.5), 1.20 (2-CH₃; s), 1.15 (2-CH₃'; s), unit D 4.92 (2-H; dd, 10.0/3.8), 1.72 (4-H; bm, W_{1/2} ≈ Hz), 1.67 (3-H_b; ddd, -14.1/10.0/5.0), 1.56 (3-H_a; ddd, -14.1/9.1/3.8), 1.43 (CO₂CMe₃; s), 0.86 (4-CH₃; d, 6.4), 0.82 (5-H₃; d, 6.4). ¹³C NMR (CDCl₃) δ unit A 165.4 (1), 139.3 (3), 136.9 (9), 131.7 (8), 130.1(7), 128.6 (11/13), 127.5 (12), 126.2 (10/14), 125.4 (2), 76.5 (5), 41.1 (6), 33.4 (4), 16.7 (6-Me); unit B 170.0 (1), 154.1 (7), 131.2 (5), 128.8 (4), 128.5 (9), 122.3 (6), 112.1 (8), 94.3 (CH₂CCl₃), 74.6 (CH₂CCl₃), 56.1 (7-OMe), 53.2 (2), 36.6 (3), unit C 176.9 (1), 156.4 (CO₂CMe₃), 79.1 (CO₂CMe₃), 48.7 (3), 44.0 (2), 22.8 (2-Me'); 22.3 (2-Me'); unit D 170.7 (1), 71.4 (2), 39.5 (3), 28.4 (CO₂CMe₃), 24.8 (4), 23.0 (4-Me), 21.4 (5).

Аминокислота R.

К аминокислоте Q (100 мг, 0.11 ммоль) добавляли активированную цинковую пыль (400 мг, избыток) и AcOH (4 мл). Гетерогенную смесь подвергали воздействию ультразвука в течение 45 минут, перемешивали дополнительно в течение 90 минут при комнатной температуре и затем выливали на целитовую подкладку. Органическое вещество

101

смывали с целитовой подкладки CH₂Cl₂. Растворитель удаляли в вакууме, оставляя карбоновую кислоту в виде бесцветного аморфного твердого вещества.

Полученную неочищенную кислоту без очистки растворяли в трифторуксусной кислоте (ТФУК, 5 мл) и позволяли оставаться при комнатной температуре в течение 1 часа. Спустя это время, избыток ТФУК удаляли в вакууме и получающееся аморфное твердое вещество затем подвергали хро-

матографической очистке (Sep-PakTM, силикагель, сначала CH₂Cl₂, затем 10% MeOH/CH₂Cl₂) с получением желаемого соединения в виде трифторацетатаммонийной соли. Повторная лиофилизация водного раствора соли дает свободную аминокислоту R в виде бесцветного аморфного твердого вещества (68 мг, выход 91% в двух стадиях); ИК (NaCl)

ν_{max} 3300, 3200, 2965, 1693, 1606, 1504, 1441, 1259, 1201, 1146, 1066, 727 cm⁻¹. ¹H NMR (CD₃OD) δ unit A: 7.33 (10-H/14-H; d, 7.4), 7.28 (11-H/13-H; t, 7.4), 7.18-7.23 (12-H; m), 6.69 (3-H; ddd, 15.6/7.7/7.0), 6.43 (8-H; d, 15.8), 6.04 (7-H; dd, 15.8/8.9), 6.00 (2-H; d, 15.6), 5.01 (5-H; ddd, 9.1/6.9/3.1), 2.64 (4-H_b; bm, W_{1/2} ≈ 30 Hz), 2.60 (6-H; bm, W_{1/2} ≈ 20 Hz), 2.49 (4-H_a; ddd, 15.8/9.1/7.7). 1.13 (6-Me; d, 6.7); unit B 7.18-7.23 (5-H; m), 7.11 (9-H; dd, 8.3/1.6), 6.92 (8-H; d, 8.3), 4.59 (2-H; bm, W_{1/2} ≈ 20 Hz), 3.81 (OCH₃; s), 3.14 (3-H_b; dd, -13.7/4.3), 2.96 (3-H₂; m, W_{1/2} ≈ 20 Hz), unit C 2.96 (3-H_a; bm, W_{1/2} ≈ 20 Hz), 1.31 (2-CH₃; s), 1.25 (2-CH₃'; s), unit D 4.90 (2-H; dd, 9.6/4.0), 1.66 (4-H; bm, W_{1/2} ≈ 25 Hz), 1.59 (3-H_b; ddd, -14.4/9.6/4.8), 1.53 (3-H_a; ddd, -14.4/9.1/4.0), 0.81 (4-Me; d, 6.5), 0.74 (5-H₃; d, 6.5). ¹³C NMR (CD₃OD) δ unit A 167.7 (1), 140.7 (3), 138.4 (9), 133.0 (8), 131.7 (7), 129.6 (11/13), 128.5 (12), 127.3 (10/14), 127.1 (2), 78.4 (5), 43.1 (6), 35.7 (4), 17.4 (6-Me), unit B 179.8 (1), 155.2 (7), 132.3 (4), 132.1 (5), 130.1 (9), 123.0 (6), 113.4 (8), 56.6 (7-OMe), 56.6 (2), 37.8 (3), unit C 176.8 (1), 48.2 (3), 42.2 (2), 23.3 (2-Me), 23.3 (2-Me'), unit D 172.0 (1), 73.4 (2), 40.7 (3), 26.0 (4), 23.1 (4-Me), 21.8 (5).

Криптофицин 51

К перемешиваемому раствору аминокислоты T (75 мг, 0.11 ммоль) в безводном ДМФА (20 мл) при комнатной температуре в атмосфере аргона добавляли диизопропилэтиламин (DIEA, 44 мг, 60 мкл, 0.34 ммоль, приблизительно 3 эквивалента) с последующим добавлением пентафтордифенилфосфината (FDPP, 55 Мг, 0.14 ммоль, приблизительно 1.3 эквивалента) в ДМФА (2 мл). Смесь перемешивали в течение 12 часов, добавляли Et₂O (40 мл) и H₂O (40 мл), сушили (MgSO₄) и упаривали при пониженном давлении. Остаточное воскообразное твердое вещество очищали далее с помощью хроматографии с обращенной фазой (ODC, 10 мкл 30% H₂O/MeCN, 3 мл мин⁻¹) с получением Криптофицина 51 в виде бесцветного аморфного твердого вещества (45 мг, выход 61%),

102

$[\alpha]_D$ +26.4° (с 0.25, CHCl₃); EIMS m/z 652/654 (M⁺, 3/1), 632/634 (3/2), 426/428 (51/15), 227 (64), 195/197 (64/22), 155/157 (71/15), 131(59), 91(100); HREIMS m/z 652.2936 (C₃₆H₄₅N₂O₇³⁵Cl, Δ-2.1mmu), UV (MeOH) λ_{max} (ε) 204 (52000), 228 (20400), 250 (13400), 284 (2800) nm IR (NaCl) ν_{max} 3376, 3270, 2960, 1747, 1721, 1659, 1536, 1514, 1259, 1150, 1066, 1013, 980, 694 cm⁻¹. ¹H NMR (CDCl₃) δ unit A 7.32

347

(10-H/14-H; dd, 8.0/1.5), 7.29 (11-H/13-H, t, 8.0), 7.24 (12-H; bm, $W_{1/2} \approx 15$ Hz), 6.77 (3-H; ddd, 15.2/10.8/4.3), 6.40 (8-H; d, 15.8), 6.01 (7-H; dd, 15.8/8.8), 5.76 (2-H; dd, 15.2/1.1), 5.04 (5-H; ddd, 11.1/6.4/1.9), 2.54 (4-H_b/6-H, bm, $W_{1/2} \approx 15$ Hz), 2.37 (4-H_a; ddd, -14.3/11.1/10.8), 1.13 (6-Me; d, 6.8); unit B 7.20 (5-H, d, 2.0), 7.05 (9-H; dd, 8.4/2.0), 6.84 (8-H; d, 8.4), 5.61 (NH; d, 7.8), 4.74 (2-H; ddd, 7.8/7.6/5.4), 3.87 (OMe; s), 3.11 (3-H_b; dd, -14.2/5.4), 3.06 (3-H_a; dd, -14.2/7.6); unit C 7.24 (NH; bm, $W_{1/2} \approx 15$ Hz), 3.40 (3-H_b; dd, -13.5/8.5), 3.12 (3-H_a; dd, -13.5/3.6), 1.22 (2-Me, s), 1.15 (2-Me', s), unit D 4.85 (2-H; dd, 10.2/3.6), 1.66 (3-H_b; ddd, -14.0/10.2/4.6), 1.61 (4-H; bm $W_{1/2} \approx 20.0$ Hz), 1.33 (3-H_a; ddd, -14.0/9.0/3.6), 0.74 (4-Me; d, 6.6), 0.72 (5-H₃; d, 6.6). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ unit A 165.1 (1), 142.2 (3), 136.7 (9), 131.7 (8), 130.1 (7), 128.6 (11/13), 127.5 (12), 126.1 (10/14), 124.6 (2), 77.0 (5), 42.2 (6), 36.5 (4), 17.3 (6-Me), unit B 170.3 (1), 154.1 (7), 130.9 (5), 129.5 (4), 128.3 (9), 122.5 (6), 112.3 (8), 56.1 (7-OMe), 54.2 (2), 35.3 (3); unit C 178.0 (1), 46.5 (3), 42.7 (2), 22.8 (2-Me), 22.6 (2-Me'), unit D 170.6 (1), 71.5 (2), 39.5 (3), 24.5 (4), 22.7 (4-Me), 21.2 (5).

Пример 9 Синтез Кристофицина 52 и Кристофицина 53.

К перемешиваемому раствору Кристофицина 51 (75 мг, 0.12 ммоль) в безводном дихлорметане при 0°C в атмосфере аргона добавляли раствор м-хлорпербензойной кислоты (mCPBA, 50 мг, 0.23 ммоль, приблизительно 2 эквивалента на 80% активный кислород) в дихлорметане (1 мл). Спустя 30 минут реакционной смеси позволяют нагреться до комнатной температуры и перемешивают дополнительно в течение 12 часов. Затем растворитель удаляют при пониженном давлении с получением 1.8:1 смеси Кристофицинов 52 и 53 (по данным ЯМР анализа), соответственно, в виде аморфного твердого вещества. Смесь региоизомерных эпоксидов растворяли в минимальном количестве ацетонитрила и подвергали хроматографированию с обращенной фазой (YMCODS, 10 мк, 250 мм x 22.5 мм, 30% $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$, 6 мл мин⁻¹) для разделения Кристофицина 52 (37 мг, выход 48%) и Кристофицина 53 (19 мг, выход 25%).

Спектральные данные для Кристофицина 52

$[\alpha]_D +19.9^\circ$ (с 0.5, CHCl_3), EIMS m/z 668/670 (4/2, M^+), 445 (35), 244 (12), 227 (22), 195/197 (66/27), 184 (45), 155/157 (38/10), 91 (100), HREIMS m/z 668.2873 ($\text{C}_{36}\text{H}_{45}\text{N}_2\text{O}_8^{35}\text{Cl}$, Δ -0.9 mmu), 445.2497 ($\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{NO}_6$, Δ -3.3 mmu); UV (MeOH) λ_{max} (ε) 204 (35100), 218 (20900) nm; IR (NaCl) ν_{max} 3415, 3270, 2960, 1748, 1721, 1650, 1536, 1504, 1260, 1192, 1150, 1066, 1013, 800, 698 cm^{-1} . ^1H NMR (CDCl_3) δ unit A 7.33-7.38 (11-H/12-H/13-H; bm, $W_{1/2} \approx 25$ Hz), 7.24 (10-H/14-H; m, $W_{1/2} \approx 15$ Hz), 6.76 (3-H; ddd, 15.1/10.8/4.3), 5.71 (2-H; dd, 15.1/1.7), 5.20 (5-H; ddd, 11.0/5.0/1.8), 3.68 (8-H, d, 1.9), 2.92 (7-H, dd, 7.5/1.9), 2.57 (4-H_b; ddd, -14.6/1.8/1.7), 2.45 (4-H_a; ddd, -14.6/11.0/10.8), 1.78 (6-H; bm, $W_{1/2} \approx 15$ Hz), 1.14 (6-Me; d, 6.9); unit B 7.18 (5-H; d, 2.2), 7.04 (9-

H; dd, 8.4/2.2), 6.83 (8-H, d, 8.4), 5.56 (NH; d, 7.9), 4.73 (2-H; ddd, 7.9/7.4/5.3), 3.87 (OMe; s), 309 (3-H_b; dd, -14.6/5.3), 3.05 (3-H_a; dd, -14.6/7.4); unit C 7.20 (NH; dd, 8.6/3.2), 3.41 (3-H_b; dd, -13.4/8.6), 3.10 (3-H_a; dd, -13.4/3.2), 1.22 (2-Me; s), 1.15 (2-Me', s); unit D 4.82 (2-H; dd, 10.2/3.5), 1.73 (3-H_b; bm, $W_{1/2} \approx 20$ Hz), 1.66 (4-H; bm, $W_{1/2} \approx 20$ Hz), 1.31 (3-H_a; ddd, -13.8/9.1/3.5), 0.84 (4-Me; d, 6.6), 0.82 (5-H₃; d, 6.6); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ unit A 164.9 (1), 141.8 (3), 136.7 (9), 128.7 (11/13), 128.3 (12), 125.6 (10/14), 124.7 (2); 75.9 (5), 63.0 (7), 59.0 (8), 40.7 (6), 36.9 (4), 13.5 (6-Me), unit B 170.3 (1), 154.1 (7), 130.9 (9), 129.5 (4), 128.5 (9), 122.6 (6), 112.4 (8), 56.1 (7-OMe), 54.3 (2), 35.3 (3), unit C 178.0 (1), 46.5 (3), 42.8 (2), 22.8 (2-Me), 22.8 (2-Me'), unit D 170.5 (1), 71.2 (2), 39.3 (3), 24.6 (4), 22.7 (4-Me), 21.2 (5).

Спектральные данные для Кристофицина 53

$[\alpha]_D +20.8^\circ$ (с 1.7, CHCl_3); EIMS m/z 668/670 (5/4, M^+), 445 (32), 244 (15), 227 (24), 195/197 (64/21), 184 (60), 155/157 (33/9), 91 (100); HREIMS m/z 668.2853 ($\text{C}_{36}\text{H}_{45}\text{O}_8^{35}\text{Cl}$, Δ 1.1 mmu); UV (MeOH) λ_{max} (ε) 204 (38700), 218 (22900) nm; IR (NaCl) ν_{max} 3415, 3280, 2917, 2849, 1748, 1722, 1660, 1504, 1465, 1260, 1190, 1150, 1066, 755 cm^{-1} . ^1H NMR (CDCl_3) δ unit A 7.29-7.36 (11-H/12-H/13-H, bm, $W_{1/2} \approx 20$ Hz), 7.23 (10-H/14-H; dd, 8.3/1.7), 6.77 (3-H; ddd, 15.1/10.9/4.3), 5.81 (2-H; dd, 15.1/1.3), 5.17 (5-H; ddd, 11.2/4.9/1.8), 3.58 (8-H; d, 1.7), 2.90 (7-H; dd, 7.8/1.7), 2.67 (4-H_b; ddd, 14.7/11.2/10.9), 2.56 (4-H_a; dddd, 14.7/4.3/1.8/1.3), 1.67-1.78 (6-H, bm, $W_{1/2} \approx 45$), 1.03 (6-CH₃; d, 7.1); unit B 7.21 (5-H; d, 2.1), 7.07 (9-H, dd, 8.5/2.1), 6.84 (8-H; d, 8.4), 5.90 (2-NH; d, 7.9), 4.75 (2-H; ddd, 7.9/7.9/4.9), 3.85 (7-OCH₃; s), 3.14 (3-H_b; dd, 14.5/4.9), 3.03 (3-H_a; dd, 14.5/7.9), unit C 7.29-7.36 (3-NH; bm, $W_{1/2} \approx 25$), 3.43 (3-H_b; dd, 13.7/8.8), 3.10 (3-H_a; dd, 13.7/3.4), 1.23 (2-CH₃; s), 1.17 (2-CH₃', s); unit D 4.92 (2-H; dd, 10.3/3.2), 1.67-1.78 (3-H_b/4-H; bm, $W_{1/2} \approx 45$), 1.48 (3-H_a; ddd, 13.9/8.8/3.2), 0.89 (4-CH₃; d, 6.6), 0.86 (5-H₃; d, 6.6). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ unit A 165.1(1), 142.0 (3), 137.0 (9), 128.5 (11/13), 128.5 (12), 125.3 (10/14), 124.6 (2), 76.7 (5), 63.2 (7), 56.2 (8), 40.8 (6), 36.7 (4), 13.4 (6-Me); unit B 170.4 (1), 154.0 (7), 130.8 (5), 129.7 (4), 128.2 (9), 122.5 (6), 112.3 (8), 56.1 (7-OMe), 54.4 (2), 35.3 (3), unit C 177.9 (1), 46.4 (3), 42.7 (2), 23.0 (2-Me), 22.7 (2-Me'); unit D 170.5 (1), 71.3 (2), 39.2 (3), 24.7 (4), 22.8 (4-Me), 21.3 (5).

Пример 10 Синтез Кристофицина 55

К раствору Кристофицина 52 (6 мг, 0.009 ммоль) в 0.6 мл 2:1 смеси 1,2- диметоксэтан/вода добавляли 2 мкл 12 N раствора HCl. Раствору позволяли перемешиваться при комнатной температуре в течение 20 часов, нейтрализовали карбонатом калия, фильтровали через 5 мк фильтр и упаривали. Вещество, нерастворимое в ацетонитриле, очищали с помощью гель проникающей хроматографии с обращенной фазой на C18 колонке (250 x 10 мм колонка) с использованием 4:1 смеси MeOH/ H_2O с получением 3.0 мг Кристофицина 55 (выход 48%).

$[\alpha]_D +42.5^\circ$ (с 1.1, CHCl_3); EIMS m/z 704/706/708 ($M^+ <1$), 668/670 (1.5/0.5, $M^+ - \text{HCl}$), 445 (6), 226 (8), 195/197 (16/5), 184 (10), 155/157 (33/11), 135 (100), 91 (99), 77 (30); HREIMS m/z 668.2873 ($M^+ - \text{HCl}$, $\text{C}_{36}\text{H}_{45}\text{N}_2\text{O}_8^{35}\text{Cl}$, $\Delta - 0.8\text{mmu}$); UV (MeOH) λ_{max} (ϵ) 204 (48400), 218 (29200), 284 (1600) nm, IR (NaCl) ν_{max} 3410, 3286, 2959, 1748, 1723, 1666, 1538, 1504, 1455, 1257, 1178, 1066, 753 cm^{-1} . ^1H NMR (CDCl_3) δ unit A 7.35-7.42 (10-H/11-H/12-H/13-H/14-H; m), 6.78 (3-H; ddd, 15.1/10.6/4.5), 5.78 (2-H; dd, 15.1/1.7), 5.16 (5-H; ddd, 11.1/8.3/2.1), 4.65 (8-H; d, 9.7), 4.01 (7-H; bd, 9.7), 2.69 (4- H_b ; dddd, -14.5/4.5/2.1/1.7), 2.50 (6-H; bm, $W_{1/2} \approx 15$), 2.38 (4- H_a ; ddd, -14.5/11.1/10.6), 1.53 (7-OH, s), 1.04 (6-Me, d, 7.1), unit B 7.21 (5-H; d, 2.2), 7.07 (9-H; dd, 8.5/2.2), 6.85 (8-H; d, 8.5), 5.57 (2-NH; d, 7.8), 4.74 (2-H; ddd, 7.8/7.6/5.2), 3.88 (7-OCH₃, s), 3.13 (3- H_b ; dd, 14.5/5.2), 3.05 (3- H_a ; dd, 14.5/7.6); unit C 7.21 (3-NH; m), 3.38 (3- H_b ; dd, 13.5/8.3), 3.17 (3- H_a ; dd, 13.5/4.1), 1.23 (2-CH₃; s), 1.17 (2-CH₃'; s), unit D 4.93 (2-H; dd, 10.1/3.5), 1.78 (3- H_b ; ddd, 13.5/10.1/5.0), 1.72 (4-H; bm, $W_{1/2} \approx 20$), 1.43 (3- H_a ; ddd, 13.5/8.8/3.5), 0.92 (4-CH₃; d, 6.6), 0.92 (5- H_3 ; d, 6.4). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ unit A 165.1 (C-1), 142.4 (C-3), 138.4 (C-9), 129.0 (C-11/13), 128.3 (C-12), 128.0 (C-10/14), 124.6 (C-2), 76.1 (C-5), 74.1 (C-7), 62.0 (C-8), 38.4 (C-6), 36.5 (C-4), 8.6 (6-Me); unit B 170.3 (C-1), 154.1 (C-7), 130.9 (C-5), 129.6 (C-4), 129.2 (C-9), 122.6 (C-6), 112.3 (C-8), 56.1 (7-OMe), 54.3 (C-2), 35.3 (C-3); unit C 177.8 (C-1), 46.5 (C-3), 42.8 (C-2), 22.9 (2-Me), 23.0 (C-2-Me'); unit D 170.3 (C-1), 71.3 (C-2), 39.7 (C-3), 24.8 (C-4), 22.7 (4-Me), 21.6 (C-5).

Получали также соответствующий диол, Кристофин 56 (2.8 мг, выход 44%).

Пример 11 Синтез Кристофина 57

Небольшое количество PtO_2 (около 1 мг) добавляли в склянку, содержащую 0.5 мл CH_2HCl_2 . Удаляли воздух из склянки и вводили H_2 и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 минут. Добавляли раствор, содержащий 10.2

105

мг Кристофина 52 (0.015 ммоль) в CH_2HCl_2 (0.3 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 минут. Катализатор удаляли фильтрованием через целит/хлопковую ткань и растворитель удаляли в вакууме. Жидкостная гель проникающая хроматография с обращенной фазой (ODS, 10 мк, 250 x 22.5 мм, MeCN/ H_2O (3:1), 5 мл мин⁻¹) давала чистый Кристофин 57 (9.1 мг, выход 89%).

$[\alpha]_D +3.4$ (с=4.5, CHCl_3); EIMS m/z 670/672 (M^+ , 9/3), 447 (10), 246 (63), 229 (20), 195/197 (78/25), 184 (58), 155/157 (39/13), 128 (21), 91 (100), 77 (23), HREIMS m/z 670.3037 ($\text{C}_{36}\text{H}_{47}\text{N}_2\text{O}_8^{35}\text{Cl}$, $\Delta - 1.6\text{mmu}$); UV (MeOH) λ_{max} (ϵ) 204 (31400), 218 (12000), 204 (1200) nm; ^1H NMR (CDCl_3) δ unit A: 7.30-7.37 (11/12/13-H, bm), 7.23 (10/14-H, bdd, 7.9, 1.9), 5.03 (5-H, ddd, 9.0, 5.6, 3.4), 3.66 (8-H, d, 2.1), 2.89 (7-H, dd, 7.7, 2.1), 2.27 (2- H_b , ddd, 14.3, 8.7, 6.2), 2.04 (2- H_a , ddd, 14.3, 8.8, 6.8), 1.64-1.75 (6-H/4- H_2 ,

bm), 1.61 (3- H_2 , bm, $W_{1/2} \approx 25$), 1.11 (6-CH₃, d, 7.1), unit B: 7.19 (5-H, d, 2.1), 7.04 (9-H, dd, 8.3, 2.1), 6.83 (8-H, d, 8.3), 5.55 (2-NH, d, 8.3), 4.65 (2-H, ddd, 8.3, 7.3, 5.3), 3.87 (7-OCH₃, s), 3.16 (3- H_b , dd, 14.3, 7.3), 3.08 (3- H_a , dd, 14.3, 5.3), unit C: 6.91 (3-NH, dd, 6.4, 6.4), 3.41 (3- H_b , dd, 13.5, 6.4), 3.30 (3- H_a , dd, 13.5, 6.4), 1.21 (2-CH₃, s), 1.13 (2-CH₃', s), unit D: 4.80 (2-H, dd, 9.8, 4.1), 1.64-1.75 (3- H_b /4-H, bm), 1.34 (3- H_a , ddd, 15.4, 10.1, 4.1), 0.86 (4-CH₃, d, 6.5), 0.84 (5- H_3 , d, 6.5); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ unit A: 172.6 (1), 136.9 (9), 128.7 (11/13), 128.5 (12), 125.6 (10/14), 76.8 (5), 63.4 (7), 59.2 (8), 40.2 (6), 36.2 (2), 32.2 (4), 21.4 (3), 13.6 (6-Me), unit B: 170.4 (1), 154.0 (7), 131.1 (5), 130.0 (4), 128.5 (9), 122.5 (6), 112.2 (8), 56.1 (7-OMe), 54.3 (2), 35.3 (3), unit C: 177.6 (1), 47.0 (3), 43.1 (2), 22.5 (2-Me'), 22.4 (2-Me), unit D: 171.7 (1), 72.0 (2), 39.0 (3), 24.6 (4), 22.8 (4-Me), 21.8 (5).

Пример 12 Синтез Кристофина 58

К перемешиваемому раствору Кристофина 57 (5.5 мг, 0.008 ммоль) в 3 мл хлороформа, свободного от этанола, при температуре около -60°C добавляли TMSCl (использовали в таком виде, как получали из Aldrich, около 4.5 мг, около 5.2 мкл, около 0.04 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 20 минут, время за которое не оставалось исходного материала. Затем летучие компоненты, удаленные при пониженном давлении, оставляли аморфное твердое вещество. Это вещество поглощали ацетонитрилом и подвергали обработке с помощью жидкостной гель проникающей хроматографии (ODS, 10 мк, 250 x 22.5 мм, MeCN/ H_2O (3:1), 5 мл мин⁻¹) для выделения чистого Кристофина 58 (5.4 мг, выход 93%) в виде основного продукта.

$[\alpha]_D +7.2$ (с=2.1, CHCl_3); EIMS m/z 706/708/710 (M^+ , 27/23/8), 670/672 ($M^+ - \text{HCl}$, 14/13), 583 (54), 581 (53), 485 (23), 483 (21), 447 (34), 294 (21), 282 (39), 246 (57), 195/197 (87/27), 184 (73), 155/157 (45/10), 128 (30), 91(95), 77 (30), 69 (100), HREIMS m/z 706.2844 ($\text{C}_{36}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_8^{35}\text{Cl}_2$, $\Delta - 5.6\text{mmu}$), m/z

347

106

670.3070 ($M^+ - \text{HCl}$, $\text{C}_{36}\text{H}_{47}\text{N}_2\text{O}_8^{35}\text{Cl}$, $\Delta - 4.9\text{mmu}$); UV (MeOH) λ_{max} (ϵ) 204 (331900), 218 (11800), 284 (1800) nm; ^1H NMR (CDCl_3) δ unit A: 7.34-7.42 (10/11/12/13/14-H, bm), 5.01 (5-H, ddd, 9.6, 8.3, 2.5), 4.65 (8-H, d, 9.6), 4.00 (7-H, dd, 9.6, 1.9), 2.42 (6-H, ddq, 8.3, 1.9, 7.0), 2.29 (2- H_b , ddd, 14.3, 9.4, 4.5), 2.06 (2- H_a , ddd, 14.3, 8.3, 7.5), 1.62-1.82 (3- H_2 /4- H_2 , bm), 0.99 (6-CH₃, d, 7.0), unit B: 7.20 (5-H, d, 2.1), 7.06 (9-H, dd, 8.3, 2.1), 6.84 (8-H, d, 8.3), 5.62 (2-NH, d, 8.3), 4.61 (2-H, ddd, 8.3, 7.7, 5.4), 3.87 (7-OCH₃, s), 3.17 (3- H_b , dd, 14.3, 7.7), 3.11 (3- H_a , dd, 14.3, 5.4), unit C: 6.97 (3-NH, dd, 6.4, 6.2), 3.43 (3- H_b , dd, 13.4, 6.2), 3.31 (3- H_a , dd, 13.4, 6.4), 1.23 (2-CH₃, s), 1.16 (2-CH₃', s), unit D: 4.93 (2-H, dd, 10.0, 4.0), 1.86 (3- H_b , ddd, 14.0, 10.0, 5.5), 1.58 (3- H_a , ddd, 14.0, 8.3, 4.0), 0.97 (4-CH₃, d, 6.8), 0.94 (5- H_3 , d, 6.6); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ unit A: 172.8 (1), 138.7 (9), 129.0 (12), 128.9 (11/13), 128.0 (10/14), 76.5 (5), 73.8 (7), 62.1 (8), 38.1 (6), 35.9 (2), 31.8 (4), 21.4 (3), 8.7 (6-Me),

unit B: 170.6 (1), 153.9 (7), 131.0 (5), 130.2 (4), 128.5 (9), 122.4 (6), 112.2 (8), 56.1 (7-OMe), 54.4 (2), 35.0 (3) unit C: 177.2 (1), 47.0 (3), 43.2 (2), 22.5 (2-Me'), 22.4 (2-Me). unit D: 171.8 (1), 72.0 (2), 39.4 (3), 24.9 (4), 22.9 (4-Me), 21.7 (5).

Пример 13 Синтез Кристофицина 61

К раствору Кристофицина 53 (5 мг, 0.007 ммоль) в сухом бензоле добавляли сульфид трифенилфосфина (4 мг, 0.014 ммоль) с последующим добавлением 0.65 мкл трифторуксусной кислоты в виде раствора в сухом бензоле (100 мкл). Раствору позволяли перемешиваться при комнатной температуре в течение 6 часов, нейтрализовали бикарбонатом натрия, фильтровали и упаривали. Остаток разделяли между водой и CH_2Cl_2 . Вещество, растворимое в CH_2Cl_2 , очищали с помощью гель проникающей хроматографии с обращенной фазой на C18 колонке с использованием 4:1 смеси MeOH/H₂O с получением чистого Кристофицина 61 (1.9 мг, выход 37%).

$[\alpha]_D^{+28.4}$ (c=0.7, CHCl_3), EIMS m/z 684/686 (M^+ , not observed), 652/654 ($\text{M}^+\text{-S}$, 5/4), 426/428 (90/29), 294 (10), 227 (100), 195/197 (57/20), 184 (20), 155/157 (34/9), 131 (45), 129 (44), 91 (76), 77 (27), HREIMS m/z 652.2973 ($\text{M}^+\text{-S}$, $\text{C}_{36}\text{H}_{45}\text{N}_2\text{O}_7^{35}\text{Cl}$, Δ -5.8mmu); UV (MeOH) λ_{max} (ϵ) 204 (26700), 218 (11600), 284 (820) nm; IR (NaCl) ν_{max} 3410, 3271, 2958, 1749, 1724, 1670, 1503, 1463, 1258, 1176, 1066, 758 cm^{-1} . ^1H NMR (CDCl_3) δ unit A 7.29-7.34 (11/12/13-H; m), 7.25 (10/14-H, bd, 6.6), 6.73 (3-H, ddd, 15.2/10.6/4.5), 5.66 (2-H; dd, 15.2/1.7), 5.22 (5-H; ddd, 11.2/4.2/2.0), 3.68 (8-H, d, 5.1), 3.01 (7-H, dd, 8.4/5.1), 2.52 (4-H_b, dddd, -14.4/4.5/2.0/1.7), 2.41 (4-H_a, ddd, -14.4/11.2/10.6), 1.68-1.74 (6-H, m), 1.14 (6-Me, d, 6.9); unit B 7.18 (5-H, d, 2.2), 7.04 (9-H, dd, 8.4/2.2), 6.84 (8-H, d, 8.4), 5.45 (NH, d, 7.8), 4.75 (2-

107

H, ddd, 7.8/7.3/5.4), 3.87 (OMe, s), 3.09 (3-H_b, dd, -14.5/5.4), 3.05 (3-H_a, dd, -14.5/7.3); unit C 7.17 (NH, dd, 8.3, 3.9), 3.39 (3-H_b, dd, -13.5/8.3), 3.14 (3-H_a, dd, -13.5/3.9), 1.23 (2-Me, s), 1.16 (2-Me', s), unit D 4.86 (2-H, dd, 10.2/3.4), 1.77 (3-H_b, ddd, -14.0/10.2/4.9), 1.68-1.74 (4-H, m), 1.42 (3-H_a, ddd, -14.0/8.7/3.4), 0.92 (4-Me, d, 6.6), 0.88 (5-H₃, d, 6.4). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ unit A 164.9 (1), 141.7 (3), 138.3 (9), 128.8 (11/13), 128.0 (12), 126.7 (10/14), 124.7 (2), 76.6 (5), 45.8 (7), 43.9 (8), 43.9 (6), 36.6 (4), 16.0 (6-Me), unit B 170.2 (1), 154.1 (7), 130.9 (5), 129.4 (4), 128.3 (9), 122.8 (6), 112.4 (8), 56.1 (7-OMe), 54.2 (2), 35.3 (3), unit C 177.9 (1), 46.5 (3), 42.7 (2), 22.9 (2-Me), 22.8 (2-Me'). unit D 170.4 (1), 71.3 (2), 39.4 (3), 24.7 (4), 22.7 (4-Me), 21.4 (5).

Пример 14 Синтез Кристофицина 81

Соединение S

Соединение S представляет трет-бутилдифенилсилиловый эфир (TBDVS) производное F.

Соединение T

К 10 мл ТГФ раствора п-метоксибензилтрифенилфосфоний хлорида (1 ммоль) при -78°C добавляли 400 мкл бутиллития (1 ммоль, 2.5 М в гексане). Смесь перемешивали в течение 30 минут и затем добавляли 2.64 мл аликвоту 3 мл ТГФ раствора альдегида S (75.0 мг, 0.24 ммоль) при -78°C. Спустя 30 минут, охлаждение прекращали, но перемешивание продолжали дополнительно в течение двух часов, время в течение которого температура медленно поднималась до 25°C. Реакцию гасили насыщенным раствором хлористого аммония и ТГФ упаривали. Продукт экстрагировали в гексан дважды и объединенные органические экстракты промывали рассолом, сушили и затем концентрировали. Остаток переносили в флеш колонку с силикагелем (3% EtOAc/гексан) и получали 63 мг соединения T и 40 мг смеси T и Z изомеров.

Соединение T имело следующие свойства:

$[\alpha]_D^{+110.5^\circ}$ (CHCl_3 , c 0.75), IR ν_{max} 2956, 2857, 1724, 1608, 1511, 1428, 1250, 1173, 1111, 1037, 821, 703, 505 cm^{-1} , EIMS m/z (relative intensity %) 497 (<1, $\text{M}^+\text{-OMe}$), 471 (31, $\text{M}^+\text{-Bu}$), 367 (56), 294 (31), 199 (75), 135 (100); high-resolution EIMS 497.24770 (calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{37}\text{O}_3\text{Si}$, Δ +3.5mmu, $\text{M}^+\text{-OMe}$), 471.19859 (calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{31}\text{O}_4\text{Si}$, Δ +0.6mmu, $\text{M}^+\text{-Bu}$). ^1H NMR δ 7.71/7.68 (SiPh₂, 2'-H, 6'-H/2''-H, 6''-H; d; 6.5), 7.45/7.43 (SiPh₂, 4'-H/4''-H; t; 7.4), 7.39/7.38 (SiPh₂, 3'-H, 5'-H/3''-H, 5''-H; dd; 7.4, 6.5), 7.24 (10-H, 14-H; d; 8.7), 6.85 (11-H, 13-H; d; 8.7), 6.79 (3-H; dt; 15.7, 7.5), 6.19 (8-H, d, 16.1), 6.00 (7-H, dd, 16.1, 8.1), 5.66 (2-H, dt, 15.7, 1.3), 3.82 (5-H, m), 3.81 (-OCH₃, S), 3.69 (CO₂CH₃, S), 2.41 (6-H, m), 2.36 (4-H, m), 2.30 (4-H, m), 1.12 (6-CH₃, d, 7.0), 1.09 (CMe₃, S). ^{13}C NMR δ 166.7 (1), 158.8 (12), 146.0 (3), 136.0 (SiPh₂, 2', 6'/2'', 6''), 134.1/133.7 (SiPh₂, 1'/1''), 130.4 (9), 130.0 (8), 129.7/129.6 (SiPh₂, 4'/4''), 129.5 (7),

347

127.6/127.5 (3', 5'/3'', 5''), 127.1 (10, 14), 122.8 (2), 113.9 (11, 13), 76.4 (5), 55.2 (OCH₃), 51.3 (CO₂CH₃), 42.1 (6), 37.1 (4), 27.0 (CMe₃), 19.5 (CMe₃), 16.2 (6-CH₃).

Дополнительно соединение T получали из смеси T и Z изомеров. 40 Мг смеси E и Z изомеров растворяли в 4 мл раствора бензола, содержащего тиофенол (0.002 М) и ACN (0.006 М). Смесь нагревали при кипячении с обратным холодильником в течение 5 часов. Обработка и очистка на короткой силикагелевой колонке давала 37.2 мг соединения T.

Соединение U

К 6 мл ацетонового раствора соединения T (76 мг, 0.15 ммоль) добавляли 4.4 мл 1 N LiOH в воде. Прозрачный раствор перемешивали в течение ночи. Ацетон упаривали и водный раствор подкисляли 1 N раствором HCl. Продукт три раза экстрагировали EtOAc Органический слой сушили и концентрировали. Очистка на силикагелевой колонке (20%

EtOAc/ гексан с 0.5 % AcOH) давала 62.2 мг кислоты соединения U (выход 81%);

$[\alpha]_D +120.8^\circ$ (CHCl₃, с 3.1), IR $\nu_{\max}$ 2960, 2858, 1695, 1650, 1511, 1427, 1250, 1111, 1036, 702 cm⁻¹; ¹H NMR δ 7.73/7.70 (SiPh₂, 2'-H, 6'-H/2''-H, 6''-H, d, 7.0), 7.50 (SiPh₂, 4'-H/4''-H, m), 7.44 (SiPh₂, 3'-H, 5'-H/3''-H, 5''-H, m), 7.29 (10-H, 14-H, d, 8.6), 6.96 (3-H; dt; 15.6, 7.8), 6.89 (11-H, 13-H, d, 8.6), 6.22 (8-H, d, 16.0), 6.03 (7-H, dd, 16.0, 7.9), 5.70 (2-H, d, 15.6), 3.88 (5-H, m), 3.83 (OCH₃, S), 2.43 (6-H, m), 2.40 (4-H, m), 1.17 (6-CH₃, d, 6.9), 1.14 (CMe₃, s); ¹³C NMR, 171.7 (1), 158.8 (12), 148.8 (3), 135.0 (SiPh₂, 2', 6'/2'', 6''), 133.9/133.7 (SiPh₂, 1'/1'', 130.3 (9), 130.0 (8), 129.7 (SiPh₂, 4'/4''), 129.4 (7), 127.6 (SiPh₂, 3', 5'/3'', 5''), 127.1 (10, 14), 122.5 (2), 113.9 (11, 13), 76.2 (5), 55.2 (OCH₃), 42.3 (6), 37.1 (4), 27.0 (CMe₃), 19.5 (CMe₃), 16.0 (6-CH₃).

Соединение V

Соединение U (59 мг, 0.12 ммоль), трифторацетатную соль соединения 1 (57.2 мг, 0.12 ммоль) и диизопропилэтиламин (DIEA, 62 мкл, 0.36 ммоль) растворяли в 1.5 мл сухого ДМФА. К этому раствору добавляли пентафтордифенилфосфинат (FDPP, 55 мг, 0.14 ммоль) в 0.6 мл ДМФА и реакционную смесь перемешивали в течение двух часов. Добавляли эфир и органический слой последовательно промывали 1 N раствором HCl, насыщенного раствора бикарбоната натрия, и рассолом, соответственно. Концентрирование и очистка с помощью хроматографии (силикагелевая колонка, 8% EtOAc/гексане) давали 74.2 мг соединения V (выход 72%)

$[\alpha]_D + 53.8^\circ$ (CHCl₃, с. 1.6); IR $\nu_{\max}$ 3286, 2959, 1760, 1667, 1640, 1607, 1510, 1253, 1174, 1111, 1067, 1027, 703 cm⁻¹ EIMS m/z (relative intensity %) 798/799/800/801/802/803/804/805 (31/14/44/17/23/10/6/3, M⁺-Bu), 766 (40), 694/695/696/697/698/699/700/701 (70/31/100/38/58/19/14/5), 662 (67), 622 (71), 544 (70), 518 (83); high-resolution EIMS 798.1443 (calcd for C₄₀H₄₀Cl₄NO₆Si, Δ -6.4mmu, M⁺-Bu). ¹H NMR δ unit A 7.69/7.65 (SiPh₂, 2'-H, 6'-H/2''-H, 6''-H; d; 6.5), 7.41 (SiPh₂, 4'-H/4''-H, m), 7.35 (SiPh₂, 3'-H, 5'-H/3''-H, 5''-H, m), 7.24 (10-H, 14-H; d, 8.7), 6.85 (11-H, 13-H, d, 8.7), 6.65 (3-H, dt, 15.3, 7.5), 6.20 (8-H, d, 16.1), 6.03 (7-H, dd, 16.1, 8.0), 5.50 (2-H, d, 15.3), 3.81 (OCH₃, S), 3.77 (5-H, m), 2.39 (6-H, m), 2.34 (4-H, m), 2.29 (4-H' m), 1.11 (6-Me, d, 6.9), 1.06 (CMe₃, S); unit B 7.15 (5-H, d, 1.8), 7.00 (9-H, dd, 8.4, 1.8), 6.83 (8-H, d, 8.4), 5.65 (NH, d, 7.7), 5.01 (2-H, ddd, 7.7, 6.0, 5.5), 4.78/4.72 (CH₂CCl₃, ABq, - 11.9), 3.86 (OMe, S), 3.15 (3-H; dd, 6.1, -14.5), 3.08 (3-H', dd, 5.8, -14.5). ¹³C NMR δ unit A 165.1(1), 158.8 (12), 142.5 (3), 136.0 (SiPh₂, 2', 6'/2'', 6''). 134.2/133.6 (SiPh₂, 1'/1''), 130.4 (9), 129.9 (8), 129.7/129.6 (SiPh₂, 4'/4''), 129.5 (7), 127.6/127.5 (SiPh₂, 3' 5'/3'', 5''), 127.1 (10, 14), 124.6 (2), 113.9 (11, 13), 76.4 (5), 55.2 (OMe), 42.1 (6), 37.2 (4), 27.0 (CMe₃), 19.5 (CMe₃) 16.6 (6-Me); unit B 170.0 (1), 154.2 (7), 131.0 (5),

128.4 (4/9), 122.5 (6), 112.1 (8), 94.2 (CCl₃), 74.7 (CH₂CCl₃), 56.1 (OMe), 52.9 (2), 36.4 (3).

Соединение W

К раствору соединения V (55.8 мг, 0.065 ммоль) в 5.7 мл ацетонитрила добавляли 0.2 мл 49% гидрофторидной кислоты при 0°C. Баню со льдом удаляли через пять минут и реакционную смесь интенсивно перемешивали в течение 17 часов. Продукт экстрагировали в эфир, промывали последовательно насыщенным раствором бикарбоната натрия и рассолом. Концентрирование и очистка с помощью хроматографии с нормальной фазой (силикагелевая колонка, 25% EtOAc/ гексан) давала 31.6 мг соединения W (выход 79%);

$[\alpha]_D -3.7^\circ$ (CHCl₃, с 1.3), IR $\nu_{\max}$ 3286, 2961, 1756, 1668, 1634, 1607, 1510, 1251, 1175, 1066, 812 cm⁻¹. ¹H NMR δ unit A 7.27 (10-H, 14-H, d, 8.5), 6.93 (3-H, dt, 15.4, 7.6), 6.83 (11-H, 13-H, d, 8.5), 6.34 (8-H, d, 15.9), 5.88 (7-H, dd 15.9, 8.2), 5.86 (2-H, d, 15.4), 3.81 (OMe, S), 3.80 (5-H, m), 2.40 (6-H, m), 2.36 (4-H, m), 1.13 (6-Me, d, 6.8); unit B 7.17 (5-H, d, 1.9), 7.05 (9-H, dd, 8.5, 1.9), 6.83 (8-H, d, 8.5), 5.90 (NH, d, 7.7), 5.03 (2-H, ddd, 7.8, 5.9, 5.6). 4.79/4.72 (CH₂CCl₃, ABq, -11.9), 3.86 (OCH₃, S), 3.20 (3-H, dd, 6.0, -14.3), 3.09 (3-H', dd, 5.9, -14.3). ¹³C NMR δ unit A 165.2 (1), 159.1 (12), 142.6 (3), 131.3 (9), 129.8 (7), 128.7 (8), 127.3 (10, 14), 125.0 (2), 114.0 (11, 13), 73.8 (5), 55.3 (OMe), 43.3 (6), 37.2 (4), 16.9 (6-Me) unit B 170.1 (1), 154.2 (7), 131.0 (5), 128.5 (4/9), 122.5 (6), 112.2 (8), 94.2 (CCl₃), 74.7 (CH₂CCl₃), 56.1 (OMe), 53.0 (2), 36.5 (3).

(2S,2'R)-2-[3'(трет-Бутоксикарбонил)амино-2'-метилпропаноил-окси]-4- метилпентановая кислота (AC)

Раствор метил(S)-(+)-3-гидрокси-2-метилпропаноата (X) (10 г, 85 ммоль) в 300 мл приблизительно 9M аммиака в метаноле нагревали до 50°C в откаченной стеклянной ампуле в течение 168 часов, продували аргоном для удаления избытка аммиака и затем выпаривали досуха в вакууме. Остаток растертый с эфиром оставлял после себя (S)-(+)-3-гидрокси-2-метилпропанамид (5.7 г, выход 66%) в виде твердого белого вещества, т.пл 85.5-87.5°C

$[\alpha]_D +28.7^\circ$ (с 3.5, MeOH); EIMS m/z (rel intensity) 88 (19, M-Me), 85 (35), 73 (69); HREIMS m/z 88.0397 (C₃H₆NO₂, Δ +0.2mmu); IR $\nu_{\max}$ 3384, 2960, 1671, 1473 cm⁻¹; ¹H NMR δ 5.83 (NH; br s), 5.42 (NH; br s), 3.73 (3-H₂; m), 2.25 (2-H; m), 1.19 (2-Me; d, 7.2); ¹³C NMR δ 180.7 (1), 65.4 (3), 44.0 (2), 14.5 (2-Me). Anal. Found: C, 46.45; H, 8.83. Calcd for C₄H₉NO₂: C, 46.59; H, 8.79.

Суспензию (S)-(+)-3-гидрокси-2-метилпропанамид (2.1 г, 20 ммоль) в безводном ТГФ (20 мл) медленно добавляли к 1M комплексу бор-ТГФ (61 ммоль, 61 мл), охлажденному до 0°C. Смесь кипятили с обратным холодильником в течение 6 часов, охлаждали до 0°C, осторожно разла-

гали концентрированной HCl (10 мл) и концентрировали в вакууме. Коцентрат насыщали NaOH (20 г), экстрагировали CHCl_3 (4 раза по 15 мл) и объединенные экстракты сушили (MgSO_4). После фильтрования и удаления растворителя, разгонка в вакууме давала 1.4 г (выход 77%) (R)-3-амино-2-метилпропан-1-ола (Y) в виде бесцветного масла с т.кип. 110-112°C (40 мм Hg).

$[\alpha]_D +8.9^\circ$ (с 22.6, MeOH); IR $\nu_{\max}$ 3358, 1873, 1598, 1466 cm^{-1} ; ^1H NMR δ 5.18 (NH_2 ; br s), 3.8 (1- H_2 ; m), 2.95 (3- H ; m), 2.68 (3- H ; m); 1.81 (2- H ; m), 0.82 (2-Me; d, 7.2); ^{13}C NMR δ 66.9 (1), 46.4 (3), 37.1 (2), 14.4 (2-Me).

К раствору аминспирта Y (2.0 мг, 22 ммоль) в 39 мл 10% раствора триэтиламина в MeOH добавляли ди-трет-бутил-дикарбонат (5.4 мг, 25 ммоль) и смесь перемешивали при 25°C в течение 30 минут. После удаления растворителя, остаток растворяли в CH_2Cl_2 и раствор дважды промывали 1 M KHSO_4 (pH 2) и один раз насыщенным раствором NaCl и сушили (MgSO_4). Удаление растворителя в вакууме давало 4.3 г (выход 100%) (R)-3-(трет-бутоксикарбонил)амино-2-метилпропан-1-ола в виде вязкого масла, которое использовали непосредственно в следующей стадии без дальнейшей очистки (больше 95 % чистоты, по данным ЯМР анализа);

IR $\nu_{\max}$ 3356, 1976, 1686, 1523, 1456 cm^{-1} ; ^1H NMR δ 4.82 (NH; br s), 3.54 (1- H ; dd, -11.4/4.2), 3.31 (1- H /3- H ; m), 3.25 (3- H ; dd, -14.1/6.6), 1.77 (2- H ; m), 1.44 (CMe₃; s), 0.87 (2-Me; d, 6.9).

К раствору спирта (R)-3-(трет-бутоксикарбонил)амино-2-метилпропан-1-ола (2.2 г, 12 ммоль) периодата натрия (7.5 г, 35 ммоль) в четыреххлористом углероде (25 мл), ацетонитриле

111

(25 мл) и воде (38 мл) добавляли гидрат треххлористого рутения (51 мг, 0.25 ммоль) и смесь перемешивали при 25°C в течение 1 часа. Смесь разбавляли CH_2Cl_2 (100 мл) и затем отфильтровывали через целит. Фильтрат подкисляли (pH 9) 2 M раствора K_2CO_3 и водный слой промывали эфиром. Водный слой подкисляли раствором 1 M KHSO_4 до pH 2 при 0°C и экстрагировали CH_2Cl_2 (3 раза по 20 мл). Объединенные экстракты промывали насыщенным раствором NaCl и сушили (MgSO_4). Удаление растворителя в вакууме давало 2.0 г (выход 85%) (R)-3-(трет-бутоксикарбонил)амино-2-метилпропановой кислоты (Z) в виде липкого твердого вещества. Чистую Z (1.75 г, выход 74%) кристаллизовали из эфира, т.пл. 69.5-70.5°C.

$[\alpha]_D -18.4^\circ$ (с 2, MeOH); EIMS m/z (rel intensity) 147 (60; $\text{M}^+ -\text{Me}_2\text{C}=\text{CH}_2$), 130 (12), 74 (29), 57 (100); HREIMS m/z 147.0517 ($\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4$, $\Delta+1.4\text{mmu}$), IR $\nu_{\max}$ 3322-2400, 2797, 1711, 1654, 1413 cm^{-1} ; ^1H NMR of major conformer δ 5.00 (NH; br s), 3.32 (3- H ; m), 3.24 (3- H' ; m), 2.71 (2- H ; m), 1.44 (CMe₃; s), 1.20 (2-Me; d); ^{13}C NMR of major/minor (2:1 ratio) conformers δ 180.7/179.5 (1), 156.0/157.7 (BOC CO), 79.5/81.0 (CMe₃), 42.7/44.0 (3), 39.9/40.2 (2),

28.3/28.3 (CMe₃), 14.6/14.6 (2-Me). Anal. Found: C, 53.04; H, 8.62. Calcd for $\text{C}_9\text{H}_{17}\text{NO}_4$: C, 53.18; H, 8.43.

К раствору 2.66 г L-лейциновой кислоты (20 ммоль) и 1.74 г бикарбоната натрия (20 ммоль) в 30 мл воды при 0°C добавляли 30 мл раствора 6.44 г тетрабутиламмоний хлорида (20 ммоль) и 1.74 мл аллилбромид (20 ммоль) в CH_2Cl_2 . После интенсивного перемешивания смеси в течение 24 часов, CH_2Cl_2 выпаривали. Добавляли около 50 мл воды и водный слой экстрагировали четыре раза Et_2O . Эфирный раствор сушили над безводным сульфатом натрия и затем выпаривали. Остаток пропускали через короткую Si колонку с получением 3.21 г аллил (2S)-2-гидрокси-4-метилпентаноата (AA) (выход 93%) в виде бесцветного масла,

$[\alpha]_D -8.4^\circ$ (с 1.1, CHCl_3); IR $\nu_{\max}$ 3464, 2957, 1732, 1203, 1140, 1087 cm^{-1} ; ^1H NMR δ 5.92 (allyl 2- H ; m), 5.34 (allyl 3- H_2 ; dd, 17.4/1.1), 5.28 (allyl 3- H_E , dd, 10.5/1.1), 4.67 (allyl 1- H_2 , d, 5.7), 4.23 (2- H , br s), 2.64 (OH; br s), 1.89 (4- H ; m), 1.57 (3- H_2 ; m), 0.96 (5- H_3 ; d, 6.5), 0.95 (4-Me; d, 6.7); ^{13}C NMR δ 175.3 (1), 131.4 (allyl C-2), 118.6 (3), 68.9 (2), 65.7 (allyl C-1), 43.2 (3), 24.1 (4), 23.0 (5), 21.3 (4-Me).

К раствору 1.74 г Z (8.55 ммоль), 1.34 г AA (8.0 ммоль) и 64 мг DMAP в 12 мл сухого CH_2Cl_2 при 0°C добавляли по каплям 8 мл раствора DDC (2.47 г, 12 ммоль) в CH_2Cl_2 . Прозрачный раствор перемешивали при 0°C в течение 30 минут и затем при 23°C в течение 3 часов. Белый осадок отфильтровывали, растворитель выпаривали и остаток повторно растворяли в Et_2O . Эфирный раствор промывали последовательно холодным 0.5 N раствором NaCl, раствором бикарбоната натрия и рассо-

347

112

лом. Высушенный эфирный слой (Na_2SO_4) выпаривали и продукт очищали с помощью флеш хроматографии (силикагель) с получением 2.62 г (выход 92%) чистого аллил(2S, 2'-R)-2-[3'-(трет-бутоксикарбонил)амино-2'-метилпропаноил-окси]-4-метилпентаноата (AB) в виде бесцветного масла,

$[\alpha]_D -51.3^\circ$ (с 3.41, CHCl_3), EIMS m/z (rel intensity) 301 (5.2), 284 (4.0), 258 (1.5), 228 (43.5), 170 (41.8), 130 (74.5), 112 (100); HREIMS m/z 301.1532 ($\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{NO}_6$, $\Delta-0.7\text{mmu}$, $\text{M}-\text{Me}_2\text{C}=\text{CH}_2$), 284.1496 ($\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{NO}_5$, $\Delta+0.2\text{mmu}$); IR $\nu_{\max}$ 3395, 2962, 1747, 1715, 1515, 1251, 1175, 1083 cm^{-1} . ^1H NMR unit C δ 5.17 (NH; br s), 3.42 (3- H ; m), 3.22 (3- H' ; m), 2.78 (2- H , m), 1.43 (CMe₃; br s), 1.21 (2-Me; d, 7.1); unit D δ 5.90 (allyl 2- H ; m), 5.33 (allyl 3- H_2 ; d, 16.3), 5.27 (allyl 3- H_E ; d, 10.3), 5.09 (2- H ; dd, 9.7/3.7), 4.63 (allyl 1- H_2 ; m), 1.80 (3- H_2 ; m), 1.64 (4- H , m), 0.96 (5- H_3 ; d, 6.5), 0.94 (4-Me; d, 7.3). ^{13}C NMR unit C δ 174.7 (1), 156.0 (BOC CO), 79.2 (CMe₃), 43.1 (3), 40.3 (2), 28.3 (CMe₃), 14.5 (2-Me), unit D δ 170.4 (1), 131.4 (allyl C-2), 119.0 (allyl C-3), 70.9 (2), 65.9 (allyl C-1), 39.6 (3), 24.7 (4), 23.0 (5), 21.5 (4-Me).

К 10 мл раствора 282 Мг (0.8 ммоль) АВ и 91 мг (0.08 ммоль) тетра-кис(трифенилфосфин)палладия в сухом ТГФ медленно добавляли 688 мкл (8 ммоль) сухого морфолина. После перемешивания в течение 40 минут, растворитель упаривали и добавляли 100 мл CH_2Cl_2 . Раствор последовательно промывали 2 N HCl (40 мл) и водой. Органический слой отфильтровывали и фильтрат экстрагировали дважды насыщенным раствором бикарбоната натрия. После обратного промывания CH_2Cl_2 , водный слой сначала подкисляли до pH 3 холодным раствором KHSO_4 при 0°C и затем экстрагировали три раза эфиром. Высушенный эфирный экстракт выпаривали с получением 250 мг (2S, 2'R)-2-[3' (трет-бутоксикарбонил)амино-2'-метилпропаноил-окси]-4-метилпентановой кислоты (AC) (выход 100%) в виде воскоподобного твердого вещества,

$[\alpha]_D -47.9^\circ$ (с 4.7, CHCl_3); EIMS m/z (rel intensity) 261 (12), 244 (18), 217 (28), 198 (17), 188 (100), 160 (61), HREIMS m/z 261.1221 ($\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{NO}_6$, Δ -0.8mmu, $\text{M-Me}_2\text{C}=\text{CH}_2$), 244.1221 ($\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{NO}_5$, Δ -3.6mmu); IR ν_{max} 3376, 2960, 1738, 1518, 1174, 786 cm^{-1} . ^1H NMR ($\text{CDCl}_3+\text{D}_2\text{O}$) unit C δ 3.49 (H-3; dd, -13.8/3.5), 3.12 (3-H; dd, -13.8/8.7), 2.68 (2-H; m), 1.43 (CMe₃; br s), 1.21 (2-Me, d, 7.1); unit D δ 5.12 (2-H; dd, 9.6/3.5), 1.90-1.68 (3H/4-H; m), 0.97 (5-H; d, 6.1), 0.94 (4-Me; d, 6.0). ^{13}C NMR unit C δ 174.6 or 174.8 (1), 156.1 (BOC CO), 79.5 (CMe₃), 43.0 (3), 40.4 (2), 28.3 (CMe₃), 14.5 (2-Me); unit D δ 174.6 or 174.8 (1), 70.5 (2), 39.5 (3), 24.7 (4), 23.0 (5), 21.4 (4-Me).

113

Соединение AD

Спирт W (34.8 мг, 0.056 ммоль), соединение AC (26.8 мг, 0.085 ммоль) и DMAP (1.74 мг) растворяли в 283 мкл дихлорметана. К этой смеси добавляли 666 мкл раствора DDC (17.5 мг, 0.085 ммоль) в дихлорметане. Реакционную смесь перемешивали в течение ночи. Растворитель упаривали с потоком азота, добавляли эфир и отфильтровывали белый осадок. Фильтрат последовательно промывали 0.5 N раствором HCl, насыщенным раствором бикарбоната натрия и рассолом. Концентрирование и хроматографирование (колонка с силикагелем, 25% EtOAc/гексан) давало 46 мг соединения AD (выход 90%);

$[\alpha]_D -11.8^\circ$ (CHCl_3 , с 2.0), IR ν_{max} 3369, 2961, 1737, 1511, 1252, 1174, 1066, 813, 756 cm^{-1} . ^1H NMR (500MHz) δ unit A 7.25 (10-H/14-H, dt, 8.5, 2.1), 6.84 (11-H/13-H, dt, 8.5, 2.1), 6.76 (3-H, ddd, 15.5, 6.5, 6.4), 6.34 (8-H, d, 15.6), 5.88 (2-H, bd, 15.5), 5.86 (7-H, dd 15.6, 8.7), 5.04 (5, m), 3.80 (OMe, s), 2.56 (6-H, m), 2.52 (4-H, m), 1.10 (6-Me, d, 6.8); unit B 7.19 (5-H, d, 2.1), 7.05 (9-H, dd, 8.5, 2.1), 6.83 (8-H, d, 8.5), 6.55 (NH, bd, 7.3), 5.04 (2-H, m), 4.78/4.70 (CH_2CCl_3 , ABq, -11.8), 3.85 (OCH₃, S), 3.19 (3-H, dd, 6.3, -13.8), 3.08 (3-H', dd, 6.8, -13.8); unit C 5.14 (NH, bt, 6.3), 3.32 (3-H, m), 3.20 (3-H' m), 2.73 (2-H, m), 1.42 (CMe₃, s), 1.18 (2-Me, d, 7.0); unit D 4.93 (2-H, dd,

10.0, 3.7), 1.67 (3-H/4-H, m), 1.55 (3-H', m), 0.86 (5-H, d, 6.5), 0.83 (4-Me-H, d, 6.5). ^{13}C NMR δ unit A 165.4 (1), 159.1 (12), 139.3 (3), 131.1 (9), 129.7 (7), 128.5 (8), 127.3 (10, 14), 125.4 (2), 114.0 (11, 13), 76.5 (5), 55.3 (OMe), 41.1 (6), 33.4 (4), 16.7 (6-Me); unit B 170.5 (1), 154.1 (7), 131.2 (5), 128.9 (4), 128.5 (9), 122.4 (6), 112.1 (8), 94.3 (CCl_3), 74.6 (CH_2CCl_3), 56.1 (OMe), 53.2 (2), 36.6 (3), unit C 175.2 (1), 156.0 (BOC CO), 79.3 (CMe₃), 43.1 (3), 40.4 (2), 28.3 (CMe₃), 14.4 (2-Me), unit D 170.1 (1), 71.4 (2), 39.5 (3), 24.7 (4), 22.9 (5), 21.4 (4-Me).

Криптофицин 81

Соединение AD (46 мг, 0.05 ммоль) смешивали с активированной Zn пылью (178 мг, избыток) в 1.3 мл HOAc. Смесь подвергали воздействию ультразвука в течение 45 минут и затем перемешивали дополнительно 90 минут. Добавляли около 30 мл дихлорметана. Твердое вещество отфильтровывали и фильтрат выпаривали в вакууме. Остаток растворяли в 1.1 мл ТФУК и раствор перемешивали в течение одного часа. ТФУК выпаривали в вакууме и добавляли воду. Проведение лиофильной сушки давало свободную аминокислоту. Аминокислоту растворяли в 4.6 мл ДМФА. К этому раствору добавляли 26 мкл DIEA и FDPP (30 мг, 0.075 ммоль, в 2.2 мл ДМФА), соответственно. После перемешивания в течение 6 часов, растворитель упаривали и добавляли EtOAc. Раствор промывали 0.5 N раствором HCl и рассолом соответственно. Выпаривание растворителя с последующей хроматографической очисткой (силикагель, эфир) давало 20.5 мг

347

114

Криптофицин 81 (выход 61%).

$[\alpha]_D +34.9^\circ$ (CHCl_3 , с 0.45); IR ν_{max} 3409, 3270, 2958, 1746, 1725, 1672, 1511, 1251, 1175, 1066, 1025, 972, 816 cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz) δ unit A 7.26 (10-H/14-H; dt, 8.6, 2.5), 6.84 (11-H/13-H, dt, 8.6, 2.5), 6.68 (3-H, ddd, 15.4, 9.9, 5.6), 6.35 (8-H, d, 15.9), 5.86 (7-H, dd, 15.9, 8.8), 5.77 (2-H, dd, 15.4, 0.9), 4.99 (5-H, ddd, 11.2, 6.0, 1.7), 3.80 (OCH₃, S), 2.53 (4-H/6-H, m), 2.37 (4-H', ddd, 11.2, 9.9, -14.6), 1.12 (6-Me, d, 6.9), unit B 7.22 (5-H, d, 2.2), 7.08 (9-H, dd, 8.4, 2.4), 6.84 (8-H, d, 8.4), 5.64 (NH, d, 8.6), 4.81 (2-H, m), 3.86 (OMe, S), 3.13 (3-H; dd, 5.6, -14.5), 3.05 (3-H', dd, 7.1, -14.5); unit C, 6.93 (NH, bdd, 5.8, 5.6), 3.50 (3-H, ddd, 5.2, 3.9, -13.5), 3.28 (3-H', ddd, 6.9, 6.7, -13.5), 2.71 (2-H, m), 1.22 (2-Me; d, 7.3); unit D 4.84 (2-H, dd, 10.1, 3.4), 1.67 (3-H/4-H; m), 1.38 (3-H', m), 0.78 (5-H, d, 6.5), 0.75 (4-Me-H, d, 6.5). ^{13}C NMR (125 MHz) δ unit A 165.4 (1), 159.2 (12), 141.4 (3), 131.1 (9), 129.6 (7), 128.4 (8), 127.3 (10, 14), 125.2 (2), 114.1 (11, 13), 77.5 (5), 55.3 (OMe), 42.2 (6), 36.4 (4), 17.4 (6-Me); unit B 171.0 (1), 154.0 (7), 131.2 (5), 129.9 (4), 128.4 (9), 122.5 (6), 112.1 (8), 56.2 (OMe), 53.5 (2), 35.1 (3), unit C 175.6 (1), 41.2 (3), 38.3 (2), 14.0 (2-Me); unit D 170.9 (1), 71.6 (2), 39.5 (3), 24.5 (4), 22.7 (5), 21.3 (4-Me).

Пример 15 Синтез Криптофицина 82

Соединение AE

Соединение АЕ представляет производное трет-бутилдифенилсилилового эфира (TBDMS) Е.

Соединение АF

Гидролиз АЕ (150 мг) проводили с 87% выходом с использованием процедуры, описанной выше для гидролиза Т и U.

^1H NMR δ 7.69/7.64 (SiPh₂, 2'-H, 6'-H/2''-H, 6''-H, d, 6.3), 7.41 (SiPh₂, 4'-H/4''-H, m), 7.39 (SiPh₂, 3'-H, 4-Me-H/ 3''-H, 5''-H, m), 6.86 (3-H; dt; 15.5, 7.5), 5.62 (2-H, d, 15.5), 5.30 (7-H/8-H, m).

Соединение АG

Получение АG (96 мг) из АF (76 мг, 0.18 ммоль) проводили с 70 % выходом с использованием процедуры, описанной выше для получения V из U.

^1H NMR δ unit A 7.67 (SiPh₂, 2'-H, 6'-H/2''-H, 6''-H; m), 7.46-7.31 (SiPh₂, 3'-H, 4'-H, 4-Me-H/3''-H, 4''-H, 5''-H, m), 6.62 (3-H, dt, 15.4, 7.6), 5.51/5.48 (2-H, d, 15.4), 5.33 (7/8, m), 3.70 (5-H, m), 2.22 (4-H/6-H, m), 1.61 (9, bd, 7.4), 1.06 (CMe₃, S), 0.98 (6-Me, d, 6.8); unit B 7.16 7.16 (5-H, d, 1.7), 7.00 (9-H, dd, 8.5, 1.7), 6.83/6.82 (8-H, d, 8.5), 5.68/5.66 (NH, d, 7.3), 5.03 (2-H, m), 4.78/4.73 (CH₂CCl₃, ABq, -11.9), 3.87 (OMe, S), 3.16 (3-H; m), 3.09 (3-H', m). ^{13}C NMR δ unit A 165.1 (1), 143.0/142.9 (3), 136.0 (SiPh₂, 2', 6'/2'', 6''), 134.3/133.7 (SiPh₂, 1'/1''), 132.5 (7), 129.6 (8), 129.6 (SiPh₂, 4'/4''), 127.5 (SiPh₂, 3', 4-Me/3'', 5''), 125.7/125.4 (2), 76.3 (5), 41.6 (6), 36.9/36.8 (4), 27.0 (CMe₃), 19.5 (CMe₃), 18.1 (9), 16.4/16.3 (6-Me); unit B 170.0 (1), 154.2 (7), 131.0 (5), 128.4 (4/9), 122.5 (6),

115

112.1 (8), 94.2 (CCl₃), 74.7 (CH₂CCl₃), 56.1 (OMe), 52.9 (2) 36.4 (3).

Соединение АH

Получение АH (53.4 мг) из АG (84 мг, 0.11 ммоль) проводили с 92 % выходом с использованием процедуры, описанной выше для получения W из V.

^1H NMR δ unit A 6.83 (3-H, dt, 15.4, 7.5), 5.80 (2-H, d, 15.4), 5.51 (8-H, m), 5.33 (7-H, dd, 15.2, 8.3), 3.50 (5-H, m), 2.42 (4-H, m), 2.30 (4-H', m), 2.28 (6, m), 1.68 (9, d, 7.3), 0.99 (6-Me, d, 6.7); unit B 7.20 (5-H, d, 1.8), 7.03 (9-H, dd, 8.4, 1.8), 6.80 (8-H, d, 8.4), 6.10 (NH, bd, 7.0), 5.07 (2-H, m), 4.80/4.70 (CH₂CCl₃, ABq, -11.5), 3.88 (OCH₃, S), 3.20 (3-H, dd, 5.5, -14.3), 3.10 (3-H', dd, 7.2, -14.3). ^{13}C NMR δ unit A 165.4 (1), 142.8 (3), 132.2 (7), 127.7 (8), 125.7 (2), 73.6 (5), 42.8 (6), 36.9 (4), 18.1 (9), 16.8 (6-Me); unit B 170.2 (1), 154.2 (7), 131.0 (5), 128.5 (4/9), 122.5 (6), 112.2 (8), 94.2 (CCl₃), 74.7 (CH₂CCl₃), 56.1 (OMe), 53.1 (2), 36.5 (3).

Криптофицин 82

Соединение АI (36.8 мг, выход 86 %) получали из 27.4 мг (0.052 ммоль) соединения АH с использованием процедуры, описанной выше для AD.

Соединение АI (68 мг, 0.083 ммоль) было подвергнуто циклизации до Криптофицина 82 (28.5 мг)

с использованием процедуры, описанной выше для циклизации AD до Криптофицина 81;

$[\alpha]_D^{+19.9^\circ}$ (CHCl₃, c 2.0). ^1H NMR (500 MHz) δ unit A 6.65 (3-H, ddd, 15.4, 9.5, 5.6), 5.76 (2-H, d, 15.4), 5.48 (8-H, dq, 15.3, 6.5), 5.27 (7-H, ddd, 15.3, 8.4, 1.5), 4.89 (5-H, ddd, 10.7, 5.6, 1.5), 2.38 (4-H, m), 2.33 (4-H'/6-H, m), 1.66 (9-H, dd, 6.4, 1.5), 1.00 (6-Me, d, 6.9); unit B 7.22 (5-H, d, 2.0), 7.08 (9-H, dd, 8.4, 2.0), 6.83 (8-H, d, 8.4), 5.74 (NH, m), 4.81 (2-H, ddd, 8.5, 7.3, 5.6), 3.87 (OMe, S), 3.13 (3-H, dd, 5.6, -14.4), 3.04 (3-H', dd, 7.3, -14.4), unit C, 6.93 (NH, bdd, 6.7, 4.7), 3.52 (3-H, ddd, 4.7, 3.9, -13.5), 3.27 (3-H', ddd, 6.8, 6.7, -13.5), 2.72 (2-H, dqd, 7.1, 6.8, 3.9), 1.20 (2-Me; d, 7.1), unit D 4.88 (2-H, dd, 9.6, 3.4), 1.75 (3-H/ 4-H; m), 1.47 (3-H', m), 0.94 (5-H, d, 6.2), 0.91 (4-Me-H, d, 6.4). ^{13}C NMR (125 MHz) δ unit A 165.5 (1), 141.7 (3), 131.4 (7), 127.1 (8), 125.2 (2), 77.7 (5), 41.5 (6), 36.2 (4), 17.9 (9), 17.2 (6-Me); unit B 171.0 (1), 153.9 (7), 131.1 (5), 129.9 (4), 128.4 (9), 122.4 (6), 112.2 (8), 56.1 (OMe), 53.5 (2), 35.1 (3), unit C 175.5 (1), 41.3 (3), 38.2 (2), 14.0 (2-Me), unit D 170.9 (1), 71.5 (2), 39.6 (3), 24.6 (4), 23.0 (5), 21.5 (4-Me).

Пример 16 Синтез Криптофицина 90 и Криптофицина 91

Общая процедура для эпоксицирования Криптофицинов стирольного типа.

К раствору криптофицина (около 10 мг/мл) в дихлорметане добавляли три эквивалента м-

347

116

хлорбензойной кислоты в дихлорметане (около 10 мг/мл). Раствор перемешивали при комнатной температуре до тех пор пока весь исходный материал не прореагирует. Раствор пропускали через короткую колонку с силикагелем с использованием CH₂Cl₂ и затем 1:4 CH₂Cl₂ :Et₂O с получением смеси двух эпоксидов. Эпоксиды разделяли с помощью жидкостной геля проникающей хроматографии (C-18, 7:3 MeCN:H₂O).

Используя эту процедуру, Криптофицин 82 (5 мг) был превращен в 2.2 мг Криптофицина 90 и 1.2 мг Криптофицина 91.

Спектральные данные для Криптофицина 90

^1H -ЯМР (500 МГц) δ -звено А 6.67 (3-H, ddd, 15.4, 9.5, 5.8), 5.79 (2-H, d,

15.4), 5.09 (5-H, ddd, 10.4, 4.5, 2.6), 2.84 (8-H, qd, 5.2, 2.2), 2.57 (7-H, dd, 7.6,

2.2), 2.46 (4-H, m), 1.82 (6-H, m), 1.32 (9-H, d, 5.2), 1.03 (6-Me, d, 6.9), unit B 7.22 (5-H, d, 2.2), 7.08 (9-H, dd, 8.4, 2.2), 6.84 (8-H, d, 8.4), 5.74 (NH, d, 8.6), 4.81 (2-H, ddd, 8.3, 7.4, 5.7), 3.87 (OMe, S), 3.14 (3-H; dd, 5.4, -14.5), 3.03 (3-H', dd, 7.3, -14.5), unit C, 6.95 (NH, bdd, 6.7, 4.8), 3.52 (3-H, ddd, 4.8, 3.7, -13.4), 3.29 (3-H', ddd, 6.7, 6.5, -13.4), 2.74 (2-H, dqd, 7.3, 6.5, 3.7), 1.24 (2-Me; d, 7.3), unit D 4.90 (2-H, dd, 9.9, 3.7), 1.75 (3-H, m), 1.60 (4-H, m), 1.49 (3-H', ddd, 8.7, 3.7, -13.7), 0.95 (5-H, d, 6.5), 0.91 (4-Me-H, d, 6.7). ^{13}C NMR (125 MHz) δ unit A 165.4 (1), 141.1

(3), 125.3 (2), 76.3 (5), 60.0 (7), 56.8 (8), 40.2 (6), 36.5 (4), 17.5 (9), 13.3 (6-Me), unit B 171.0 (1), 154.0 (7), 131.1 (5), 129.9 (4), 128.4 (9), 122.5 (6), 112.3 (8), 56.1 (OMe), 53.6 (2), 35.1 (3), unit C 175.5 (1), 41.2 (3), 38.3 (2), 14.1 (2-Me); unit D 170.7 (1), 71.4 (2), 39.6 (3), 24.7 (4), 23.0 (5), 21.5 (4-Me)

Спектральные данные для Кристофицина 91

¹H-ЯМР (500 МГц) δ-звено А 6.68 (3-H, ddd, 15.4, 9.8, 5.4), 5.78 (2-H, d, 15.4), 5.09 (5-H, ddd, 11.1, 3.7, 2.0), 2.75 (8-H, m), 2.62 (7-H, dd, 9.5, 2.1), 2.48 (4-H, m), 1.78 (6-H, m), 1.32 (9-H, d, 5.2), 0.99 (6-Me, d, 7.1), unit B 7.23 (5-H, d, 1.9), 7.09 (9-H, dd, 8.4, 1.9), 6.85 (8-H, d, 8.4), 5.68 (NH, d, 8.4), 4.82 (2-H, m), 3.88 (OMe, s), 3.15 (3-H, dd, 5.4, -14.4), 3.04 (3-H', dd, 7.2, -14.4); unit C, 6.95 (NH, bdd, 6.0, 4.6), 3.53 (3-H, ddd, 5.0, 4.0, -13.4), 3.29 (3-H', ddd, 6.9, 6.7, -13.4), 2.75 (2-H, m), 1.23 (2-Me; d, 6.7); unit D 4.92 (2-H, dd, 9.8, 3.4), 1.77 (3-H, m), 1.58 (4-H; m), 0.96 (5-H, d, 7.3), 0.92 (4-Me-H, d, 6.7).

Пример 17 Синтез Кристофицина 97

К раствору циклического депсипептида, Кристофицина 53 (9 мг, 0.013 ммоль), растворенного в диметилсульфоксиде (1 мл) добавляли азид цинка (40 мг) и концентрированную серную кислоту (4 мкл). Затем смеси позволяли перемешиваться при 75-85°C в течение 2 суток. После этого времени реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли Et₂O (15 мл) и органический

117

слой промывали рассолом (2 раза по 20 мл) и водой (20 мл). Затем эфирный экстракт сушили (MgSO₄) и растворитель удаляли в вакууме с возвращением аморфного бесцветного твердого вещества, которое было преимущественно азидоспиртом, Кристофицином 86. Очистки продукта достигали за счет хроматографии с обращенной фазой (ODS, 10 мкл, 250 x 1-мм, 25% H₂O/MeCN, 3 мл мин⁻¹) с возвращением чистого азидоспирта, Кристофицина 86, в виде аморфного бесцветного твердого вещества (7.4 мг, выход 77%).

Спектральные данные для Кристофицина 86

[α]_D - 22.0 (c=3.0, CHCl₃); MS (EI) m/z 482/484 (highest observed ion, M⁺-229, 8/3), 625/627 (14/5), 259 (7), 195/197 (100/34), 184 (14), 155/157 (82/70), 91 (23), 77 (22); HRMS, obsd m/z 482.1791, C₂₃H₃₁N₂O₇³⁵Cl (Δ 2.9mmu); MS (FAB) m/z (magic bullet matrix) 712/714 (M⁺ +H, 79/36), 686/688 (31/12), 232 (74), 184 (100). ¹H NMR (CDCl₃) δ unit A 7.37-7.42 (10/11/12/13/14-H, bm, W_{1/2}=20), 6.77 (3-H, ddd, 15.2, 10.6, 4.4), 5.77 (2-H, dd, 15.2, 1.3), 5.45 (5-H, ddd, 11.0, 4.2, 2.0), 4.55 (8-H, d, 5.7), 3.75 (7-H, dd, 7.3, 5.7), 2.55 (4-H_b, dddd, 14.5, 4.4, 2.0, 1.3), 2.43 (4-H_a, ddd, 14.5, 11.0, 10.6), 2.34 (7-OH, s), 1.80 (6-H, ddq, 7.3, 4.2, 7.0), 0.99 (6-Me, d, 7.0), unit B: 7.20 (5-H, d, 2.2), 7.06 (9-H, dd, 8.4, 2.2), 6.84 (8-H, d, 8.4), 5.76 (NH, d, 7.7), 4.74 (2-H, ddd, 7.7, 7.5, 5.5), 3.87

(OCH₃, s), 3.10 (3-H, dd, 14.5, 5.5), 3.06 (3-H_a, dd, 14.5, 7.5), unit C: 7.22 (NH, dd, 8.4, 3.7), 3.40 (3-H_b, dd, 13.6, 8.4), 3.14 (3-H_a, dd, 13.6, 3.7), 1.23 (2-CH₃, s), 1.16 (2-CH₃, s), unit D: 4.85 (2-H, dd, 9.5, 5.1), 1.71 (3-H_b, ddd, 13.6, 9.5, 5.9), 1.59 (4-H, bm, W_{1/2}=25), 1.50 (3-H_a, ddd, 13.6, 7.9, 5.1), 0.89 (4-CH₃, d, 6.6), 0.85 (5-H₃, d, 6.6), ¹³C NMR (CDCl₃) δ unit A: 165.3 (1), 143.0 (3), 135.1 (9), 129.1 (12), 128.9 (11/13), 128.6 (10/14), 124.3 (2), 75.1 (7), 74.6 (5), 67.8 (8), 39.3 (6), 34.7 (4), 11.9 (6-Me), unit B: 170.5 (1), 154.1 (7), 130.9 (5), 129.7 (4), 128.3 (9), 122.5 (6), 112.4 (8), 56.1 (7-OMe), 54.3 (2), 35.3 (3), unit C: 177.8 (1), 46.5 (3), 42.8 (2), 22.9 (2-Me), 22.7 (2-Me'), unit D: 170.2 (1), 71.4 (2), 39.4 (3), 24.7 (4), 22.6 (4-Me), 21.8 (5).

Кристофицин 97

К раствору циклического депсипептида, Кристофицина 86 (5.5 мг, 0.008 ммоль), растворенного в смеси Et₂O/CH₂Cl₂ (3:1 мл, 0.5 мл), добавляли эфирный раствор (0.5 мл) трифенилфосфина (3 мг, 0.011 ммоль). Затем смеси позволяли перемешиваться при комнатной температуре в течение 3 суток. После этого времени растворитель удаляли в вакууме и остаток растворяли в CH₂Cl₂ и подвергали очистке с помощью жидкостной геля проникающей хроматографии (CN колонка, 10 мк, 250 x 10 мм, 80% EtOAc/CH₂Cl₂, 3 мл мин⁻¹) с возвращением чистого Кристофицина 97, в виде аморфного бесцветного твердого вещества (4.2 мг, выход 82%).

118

UV (MeOH) λ_{max} (ε) 202 (24400), 218 (9400), 284 (2200) nm; MS (EI) m/z 667/669 (M⁺, 11/3), 639/641 (41/16), 442 (21), 226 (17), 195 (43), 196 (32), 197 (100), 198 (71), 199 (11), 182/184 (25/16), 155/157 (63/22), 146 (30), 91 (40), 77 (29); HRMS, obsd m/z 667.3061, C₃₆H₄₆N₃O₇³⁵Cl (Δ-3.6mmu). ¹H NMR (CDCl₃) δ unit A 7.35 (11-H/13-H; m, W_{1/2}=15 Hz), 7.28 (12-H, m), 7.16 (10-H/14-H; m, W_{1/2}=15 Hz), 6.74 (3-H; ddd, 15.2/9.0/6.1), 5.69 (2-H, d, 15.2), 5.21 (5-H, ddd, 9.2/4.3/4.2), 2.79 (8-H, bs), 2.51 (4-H₂, m), 2.11 (7-H, bd, 6.5), 1.48 (6-H, m), 1.13 (6-Me, d, 6.9); unit B: 7.18 (5-H, d, 2.1), 7.04 (9-H, d, 8.4, 2.1), 6.83 (8-H, d, 8.4), 5.53 (NH, m), 4.73 (2-H, ddd, 7.6, 5.6, 5.4), 3.87 (OMe, s), 3.09 (3-H_b, dd, 14.7, 5.4), 3.04 (3-H_a, dd, 14.7, 7.6), unit C: 7.20 (NH, m), 3.40 (3-H_b, dd, 13.5, 8.6), 3.11 (3-H_a, dd, 13.5, 3.3), 1.22 (2-Me, s), 1.15 (2-Me, s), unit D: 4.84 (2-H, dd, 10.1, 3.7), 1.71 (3-H_b, m), 1.67 (4-H, bm, W_{1/2}=25), 1.35 (3-H_a, m), 0.86 (4-Me, d, 6.7), 0.84 (5-H₃, d, 6.5); ¹³C NMR (CDCl₃) δ unit A: 165.0 (1), 142.1 (3), 139.2 (9), 128.8 (11/13), 127.5 (12), 125.4 (10/14), 124.6 (2), 76.6 (5), 42.5 (6), 42.1 (7), 40.5 (8), 36.6 (4), 14.8 (6-Me), unit B: 170.2 (1), 154.1 (7), 130.9 (5), 129.5 (4), 128.2 (9), 122.6 (6), 112.4 (8), 56.1 (7-OMe), 54.3 (2), 35.3 (3), unit C: 177.9 (1), 46.5 (3), 42.7 (2), 22.8 (2-Me/2-Me'), unit D: 170.5 (1), 71.3 (2), 39.5 (3), 24.6 (4), 22.7 (4-Me), 21.3 (5).

347

Пример 18 Синтез Кристофицинов 110-112 и 124

Кристофицин 108

К смеси Кристофицина 90 и Кристофицина 91 (27 мг, 0.045 ммоль) в 0.8 мл тетрагидрофурана добавляли 400 мкл водного раствора периодной кислоты (32 мг, 0.14 ммоль). Прозрачный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 5 часов. Добавляли воду и водный раствор экстрагировали дважды этилацетатом. Органический слой промывали водой, сушили и концентрировали. Остаток очищали с помощью хроматографии с обращенной фазой на ODS колонке (1:1 MeCN/H₂O) с получением выхода Кристофицина 108 90%.

¹H-ЯМР (500 МГц) δ-звено А 9.64 (7-Н, d, 1.9), 6.67 (3-Н, ddd, 15.3 10.0, 5.4), 5.81 (2-Н, dd, 15.3, 0.9), 5.32 (5-Н, ddd, 11.0, 6.6, 2.1), 2.65 (6-Н, qdd, 7.2, 6.9, 1.9), 2.53 (4-Н, m), 2.44 (4-Н', m), 1.17 (6-Me, d, 7.2); unit В 7.21 (5-Н, d, 2.2), 7.08 (9-Н, dd, 8.4, 2.2), 6.84 (8-Н, d, 8.4), 5.91 (NH, d, 8.4), 4.80 (2-Н, m), 3.86 (OMe, S), 3.16 (3-Н; dd, 5.4, -14.6), 3.00 (3-Н', dd, 7.8, -14.6), unit С 7.05 (NH, bdd, 6.9, 5.0), 3.47 (3-Н, ddd, 4.6, 4.2, -13.5), 3.32 (3-Н', ddd, 6.9, 6.6, -13.5), 2.73 (2-Н, m), 1.23 (2-Me; d, 7.2); unit D 4.83 (2-Н, dd, 9.5, 3.6), 1.75 (3-Н, m), 1.70 (4-Н; m), 1.40 (3-Н', ddd, 9.5, 3.9, -14.0), 0.93 (5-Н, d, 6.6), 0.88 (4-Me-Н, d, 6.6). ¹³C NMR (125 MHz) δ unit А

119

200.6 (7), 165.4 (1), 140.5 (3), 125.6 (2), 73.7 (5), 50.1 (6), 36.1 (4), 10.8 (6-Me); unit В 171.1 (1), 154.0 (7), 131.0 (5), 129.9 (4), 128.3 (9), 122.4 (6), 112.3 (8), 56.1 (OMe), 53.8 (2), 35.0 (3); unit С 175.6 (1), 41.0 (3), 38.1 (2), 14.1 (2-Me); unit D 170.4 (1), 71.3 (2), 39.3 (3), 24.6 (4), 22.9 (5), 21.4 (4-Me).

Кристофицин 108 получали также селективным озонлизом Кристофицина 82 с использованием процедуры, описанной выше для озонлиза Е в F.

Общая процедура для реакции Виттига

Бутиллитий (0.4 мл, 2.5 М в гексане) добавляли к 10 мл раствора арилтрифенилфосфоний хлорида (1 ммоль) в ТГФ при -78°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 15 минут при -78°C и затем помещали на 1 час в баню со льдом. Три эквивалента указанной выше смеси добавляли к раствору Кристофицина 108 в ТГФ (около 30 мг/мл) при -78°C. Раствор перемешивали в течение 20 минут до удаления охлаждающей бани. Когда температура поднималась до 25°C, реакцию гасили насыщенным водным раствором хлористого аммония. Смесь экстрагировали дважды этилацетатом. Органический экстракт промывали водой, сушили и концентрировали. Остаток очищали на флеш колонке ODS колонке (65:35 MeCN/H₂O) с получением смеси Е и Z изомеров (содержание от 8% до 13% Z изомеров зависело от природы арильной группы; анализ определяли с помощью ЯМР). Желаемый Е изомер кристаллизовали из эфира.

Кристофицин 110

Реакция Виттига приводила к 5.1 мг п-фторфенильного аналога (содержавшего около 8% Z изомера) из 7.3 мг Кристофицина 108 (было возвращено около 1 мг непрореагировавшего альдегида). После кристаллизации из эфира, получали 4.0 мг чистого Кристофицина 110;

[α]_D +42.4° (MeOH, c 2,1). ¹H NMR δ unit А 7.29 (10-Н/14-Н; dd, 8.6, 5.6), 6.99 (11-Н/13-Н, dt, 8.6, 8.5), 6.68 (3-Н, ddd, 15.3, 9.7, 5.6), 6.38 (8-Н, d, 15.8), 5.83 (7-Н, dd, 15.8, 8.8), 5.78 (2-Н, d, 15.3), 5.00 (5-Н, ddd, 10.8, 7.3, 1.3), 2.53 (4-Н/6-Н, m), 2.36 (4-Н', m), 1.13 (6-CH₃, d, 6.8); unit В 7.21 (5-Н, d, 1.8), 7.07 (9-Н, dd, 8.4, 1.8), 6.84 (8-Н, d, 8.4), 5.68 (NH, d, 8.5), 4.82 (2-Н, m), 3.87 (OMe, s), 3.14 (3-Н; dd, 5.6, -14.4), 3.04 (3-Н, dd, 7.2, -14.4); unit С, 6.95 (NH, bdd, 6.8, 5.9), 3.50 (3-Н, td, 4.4, -13.5), 3.28 (3-Н', ddd, 6.8, 6.7, -13.5), 2.72 (2-Н, m), 1.23 (2-Me; d, 7.2); unit D 4.82 (2-Н, m), 1.65 (3-Н/4-Н; m), 1.35 (3-Н', ddd, 4.5, 3.8, -10.9), 0.78 (5-Н, d, 6.4), 0.74 (4-Me-Н, d, 6.4). ¹³C NMR (75 MHz) δ unit А 165.4 (1), 162.3 (12, d, ¹J_{C-F} 245.8 Hz), 141.4 (3), 132.9 (9), 130.6 (7), 129.9 (8), 127.6 (10/14, d, ³J_{C-F} 8.0 Hz), 125.2 (2), 115.5 (11/13, d, ²J_{C-F} 21.5 Hz), 77.4 (5), 42.2 (6), 36.4 (4), 17.3 (6-Me); unit В 170.9 (1), 153.9 (7), 131.0 (5), 129.9 (4), 128.4 (9), 122.4 (6), 112.2 (8), 56.1 (OMe), 53.6 (2), 35.1 (3); unit С 175.6 (1), 41.1 (3), 38.3 (2), 14.0 (2-Me); unit D 170.9 (1), 71.5 (2),

347

120

39.5 (3), 24.5 (4), 22.7 (5), 21.2 (4-Me).

Кристофицин 111

Реакция Виттига приводила к 43 мг п-толильного аналога (содержавшего около 9% Z изомера) из 55 мг Кристофицина 108. После кристаллизации из эфира, получали 34 мг чистого Кристофицина 111;

[α]_D +44.3° (CHCl₃, c 0.6); EIMS m/z (relative intensity %) 652 (2.9, M⁺), 497 (3.6), 412 (23.8), 242 (20), 145 (46), 105 (75); high-resolution EIMS 652.29094 (calcd for C₃₆H₄₅ClN₂O₇, A-0.6mmu, M⁺). ¹H NMR δ unit А 7.21 (10-Н/14-Н; d, 8.0), 7.11 (11-Н/13-Н, d, 8.0), 6.68 (3-Н, ddd, 15.2, 9.6, 5.4), 6.37 (8-Н, d, 15.8), 5.95 (7-Н, dd, 15.8, 8.6), 5.76 (2-Н, d, 15.2), 4.99 (5-Н, dd, 10.4, 6.2), 2.51 (4-Н/6-Н, m), 2.38 (4-Н', m), 2.32 (12-Me, s), 1.13 (6-CH₃, d, 6.8); unit В 7.22 (5-Н, d, 2.1), 7.08 (9-Н, dd, 8.4, 2.1), 6.83 (8-Н, d, 8.4), 5.80 (NH, d, 8.4), 4.81 (2-Н, m), 3.86 (OMe, s), 3.14 (3-Н; dd, 5.6, -14.4), 3.03 (3-Н', dd, 7.3, -14.4); unit С 6.98 (NH, bdd, 6.0, 5.7), 3.49 (3-Н, td, 4.6, -13.4), 3.29 (3-Н', ddd, 6.7, 6.6, -13.4), 2.70 (2-Н, m), 1.22 (2-Me; d, 7.2); unit D 4.81 (2-Н, m), 1.65 (3-Н/4-Н; m), 1.37 (3-Н', m), 0.78 (5-Н', d, 5.8), 0.73 (4-Me-Н, d, 6.4). ¹³C NMR (75 MHz) δ unit А 165.5 (1), 141.5 (3), 137.4 (12), 133.9 (9), 131.7 (7), 129.3 (10/14), 129.0 (8), 126.0 (11/13), 125.1 (2), 77.4 (5), 42.2 (6), 36.4 (4), 21.1 (12-Me), 17.3 (6-Me); unit В 171.0 (1), 153.9 (7), 131.0 (5), 129.9 (4), 128.4 (9), 122.4 (6), 112.2 (8), 56.1 (OMe), 53.6 (2), 35.1 (3),

unit C 175.6 (1), 41.1 (3), 38.3 (2), 14.1 (2-Me); unit D 170.9 (1), 71.6 (2), 39.5 (3), 24.5 (4), 22.7 (5), 21.2 (4-Me).

Криптофицин 112

Реакция Виттига приводила к 35 мг 2-тиенильного аналога (содержавшего около 13% Z изомера) из 51 мг Криптофицина 108. После кристаллизации из эфира, получали 25 мг чистого Криптофицина 111;

^1H NMR (500 MHz) δ unit A 7.12 (12-H; d, 4.9), 6.94 (11-H, dd, 4.9, 3.4), 6.90 (10-H, d, 3.4), 6.68 (3-H, ddd, 15.2, 9.5, 5.3), 6.54 (8-H, d, 15.7), 5.83 (7-H, dd, 15.7, 8.7), 5.78 (2-H, d, 15.2), 4.96 (5-H, dd, 9.5, 6.5), 2.51 (4-H/6-H, m), 2.35 (4-H', m), 1.13 (6-CH₃, d, 6.8); unit B 7.21 (5-H, d, 1.6), 7.07 (9-H, dd, 8.4, 1.6), 6.84 (8-H, d, 8.4), 5.74 (NH, d, 7.1), 4.82 (2-H, m), 3.87 (OMe, s), 3.13 (3-H; dd, 5.5, -14.4), 3.04 (3-H', dd, 7.1, -14.4); unit C, 6.97 (NH, bt, 5.8), 3.50 (3-H, ddd, 4.4, 4.3, -13.4), 3.28 (3-H', ddd, 6.8, 6.6, -13.4), 2.71 (2-H, m), 1.22 (2-Me; d, 7.2); unit D 4.82 (2-H, m), 1.67 (3-H/4-H; m), 1.39 (3-H', m), 0.80 (5-H, d, 6.4), 0.77 (4-Me-H, d, 6.4).

Криптофицин 124

Реакция Виттига приводила к 131 мг п-

121

хлорфенильного аналога (содержавшего около 10% Z изомера) из 153 мг Криптофицина 108. После кристаллизации из эфира, получали 107 мг чистого Криптофицина 124;

$[\alpha]_D +29.2^\circ$ (CHCl₃, c 0.5); high-resolution EIMS m/z 672.23691 (calcd for C₃₅H₄₂Cl₂N₂O₇, Δ 0.0mmu). ^1H NMR (500 MHz) δ unit A 7.26 (10-H/11-H/13-H/14-H, s), 6.68 (3-H, ddd, 15.2, 9.6, 5.4), 6.36 (8-H, d, 15.8), 5.98 (7-H, dd, 15.8, 8.8), 5.77 (2-H, d, 15.2), 5.00 (5-H, bdd, 9.4, 6.3), 2.54 (4-H/6-H, m), 2.38 (4-H', m), 1.13 (6-CH₃, d, 6.8); unit B 7.22 (5-H, d, 1.7), 7.07 (9-H, dd, 8.4, 1.7), 6.84 (8-H, d, 8.4), 5.73 (NH, bd, 7.8), 4.82 (2-H, m), 3.86 (OMe, s), 3.13 (3-H, dd, 5.5, -14.4), 3.04 (3-H', dd, 7.2, -14.4), unit C, 6.97 (NH, bt 5.8), 3.49 (3-H, td, 4.2, -13.4), 3.29 (3-H', ddd, 6.7, 6.6, -13.4), 2.71 (2-H, m), 1.22 (2-Me; d, 7.2), unit D 4.81 (2-H, m), 1.65 (3-H/4-H; m), 1.35 (3-H', m), 0.77 (5-H, d, 7.1), 0.75 (4-Me-H, d, 7.1). ^{13}C NMR (75 MHz) δ unit A 165.4 (1), 141.3 (3), 135.2 (12), 133.2 (9), 130.9 (7), 130.6 (8), 128.7 (11/13), 127.3 (10/14), 125.2 (2), 77.3 (5), 42.2 (6), 36.5 (4), 17.3 (6-Me); unit B 170.9 (1), 153.9 (7), 131.0 (5), 129.8 (4), 128.4 (9), 122.4 (6), 112.2 (8), 56.1 (OMe), 53.6 (2), 35.1 (3), unit C 175.6 (1), 41.1 (3), 38.3 (2), 14.1 (2-Me); unit D 170.8 (1), 71.5 (2), 39.6 (3), 24.5 (4), 22.8 (5), 21.3 (4-Me).

Пример 19 Синтез Криптофицинов 115-120 и 126

Криптофицины 115 и 116

Используя общую процедуру, описанную выше для эпоксидирования криптофицинов стирального типа, Криптофицин 110 (3.5 мг) был превращен

в 2.0 мг Криптофицина 115 и 1 мг Криптофицина 116.

Спектральные данные для Криптофицина 115

$[\alpha]_D +29.1^\circ$ (MeOH, c 0.8), EIMS m/z (relative intensity %) 672 (1.9, M⁺), 412 (5.8), 245 (17), 195 (52), 155 (31), 141 (23), 135 (15), 109 (100), high-resolution EIMS 668.2853 (calcd for C₃₅H₄₂ClFN₂O₈, Δ +3.4mmu, M⁺). ^1H NMR (500 MHz) δ unit A 7.22 (10-H/14-H; ddt, 8.7, 5.2, 2.0), 7.01 (11-H/13-H, ddt, 8.7, 8.5, 2.0), 6.68 (3-H, ddd, 15.2, 9.7, 5.2), 5.74 (2-H, dd, 15.2, 0.8), 5.15 (5-H, ddd, 11.2, 5.0, 1.8), 3.67 (8-H, d, 2.0), 2.88 (7-H, dd, 7.4, 2.0), 2.54 (4-H, dtd, 5.2, 1.8, -14.4), 2.44 (4-H', ddd, 11.2, 9.7, -14.4), 1.79 (6-H, m), 1.13 (6-CH₃, d, 6.8); unit B 7.21 (5-H, d, 2.0), 7.06 (9-H, dd, 8.3, 2.0), 6.83 (8-H, d, 8.3), 5.63 (NH, d, 8.4), 4.80 (2-H, ddd, 8.4, 7.2, 5.4), 3.87 (OMe, s), 3.14 (3-H; dd, 5.4, -14.4), 3.03 (3-H', dd, 7.2, -14.4), unit C 6.94 (NH, bdd, 6.7, 5.0), 3.48 (3-H, ddd, 5.0, 3.7, -13.4), 3.30 (3-H', ddd, 6.8, 6.7, -13.4), 2.72 (2-H, m), 1.22 (2-Me; d, 7.4) unit D 4.83 (2-H, dd, 9.9, 3.6), 1.70 (3-H/4-H; m), 1.35 (3-H', m), 0.87 (5-H, d, 6.5), 0.85 (4-Me-H, d, 6.5). ^{13}C NMR (125 MHz) δ unit A 165.3 (1), 162.9 (12, d, $^1J_{C-F}$ 245.4 Hz), 141.0 (3), 132.5 (9), 127.3 (10/14, d, $^3J_{C-F}$ 8.3 Hz), 125.3 (2), 115.7 (11/13, d, $^2J_{C-F}$ 21.9 Hz), 76.1 (5), 63.0 (7), 58.3 (8), 40.5 (6), 36.7 (4), 13.4 (6-Me); unit B 170.9 (1), 154.0 (7),

347

122

131.0 (5), 129.7 (4), 128.4 (9), 122.5 (6), 112.3 (8), 56.1 (OMe), 53.6 (2), 35.0 (3); unit C 175.6 (1), 41.1 (3), 38.2 (2), 14.1 (2-Me), unit D 170.7 (1), 71.3 (2), 39.4 (3), 24.5 (4), 22.9 (5), 21.3 (4-Me).

Криптофицины 117 и 118

Используя общую процедуру, описанную выше для эпоксидирования криптофицинов стирального типа, Криптофицин 111 (6.2 мг) был превращен в 3.5 мг Криптофицина 117 и 1 мг Криптофицина 118.

Спектральные данные для Криптофицина 117

$[\alpha]_D +25.5^\circ$ (MeOH, c 1.8), EIMS m/z (relative intensity %) 668 (4.8, M⁺), 412 (6.2), 280 (11), 173 (9.4), 145 (15), 135 (34), 105 (100); lush-resolution EIMS m/z 668.28532 (calcd for C₃₆H₄₅ClN₂O₈, Δ +1.1mmu, M⁺). ^1H NMR (500 MHz) δ unit A 7.17/7.13 (10-H/11-H/13-H/14-H, A₂B₂ q, 8.0), 6.67 (3-H, ddd, 15.4, 9.8, 5.6), 5.73 (2-H, dd, 15.4, 0.9), 5.14 (5-H, ddd, 11.2, 4.9, 2.0), 3.65 (8-H, d, 2.0), 2.91 (7-H, dd, 7.6, 2.0), 2.54 (4-H, bdd, 5.6, -14.3), 2.44 (4-H', ddd, 10.7, 9.8, -14.3), 2.35 (12-Me, s), 1.77 (6-H, m), 1.14 (6-CH₃, d, 6.9); unit B 7.21 (5-H, d, 2.2), 7.07 (9-H, dd, 8.5, 2.2), 6.83 (8-H, d, 8.5), 5.65 (NH, d, 8.5), 4.80 (2-H, ddd, 8.3, 7.4, 5.6), 3.87 (OMe, s), 3.13 (3-H; dd, 5.6, -14.5), 3.02 (3-H', dd, 7.4, -14.5); unit C 6.93 (NH, bd, 6.8, 5.1), 3.48 (3-H, ddd, 5.1, 3.8, -13.2), 3.29 (3-H', ddd, 6.9, 6.8, -13.2), 2.71 (2-H, m), 1.22 (2-Me; d, 7.1); unit D 4.82 (2-H, dd, 9.8, 3.6), 1.70 (3-H/4-H, m), 1.33 (3-H', m), 0.85 (5-H, d, 6.5), 0.84 (4-Me-H, d, 6.5). ^{13}C NMR (125 MHz) δ unit A 165.3 (1), 141.0 (3), 138.4 (12), 133.7 (9), 129.4 (10/14), 125.6 (11/13), 125.3 (2), 76.2 (5), 62.9 (7), 59.0 (8), 40.7 (6), 36.7 (4),

21.1 (12-Me), 13.6 (6-Me); unit B 170.9 (1), 154.0 (7), 131.0 (5), 129.8 (4), 128.4 (9), 122.4 (6), 112.3 (8), 56.1 (OMe), 53.6 (2), 35.1 (3), unit C 175.5 (1), 41.1 (3), 38.3 (2), 14.1 (2-Me); unit D 170.7 (1), 71.3 (2), 39.4 (3), 24.5 (4), 22.8 (5), 21.2 (4-Me).

Спектральные данные для Кристофицина 118

¹H-ЯМР спектр указанного криптофицина являлся подобным спектру Криптофицина 38 за исключением мультиплетов при 7.30-7.38 для фе-нильных протонов, заменявшихся 4H мультиплетом при 7.15 и 3H синглетом при 2.35 для р-толильных протонов.

Кристофицины 119 и 120

Используя общую процедуру, описанную выше для эпоксицирования криптофицинов стирольного типа, Криптофицин 112 (8 мг) был превращен в 1.2 мг Криптофицина 119 и 0.5 мг Криптофицина 120.

Спектральные данные для Криптофицина 119

¹H-ЯМР (500 МГц) δ unit A 7.28 (12-H, d, 5.2), 7.11 (10-H, d, 3.3), 7.00 (11-H, dd, 5.2, 3.3), 6.68 (3-H, ddd, 15.1, 9.9, 5.2), 5.76 (2-H, dd, 15.1, 1.3), 5.15

123

(5-H, ddd, 11.2, 5.5, 1.8), 3.94 (8-H, d, 2.0), 3.10 (7-H, dd, 7.5, 2.0), 2.56 (4-H, bdd, 5.2, -14.3), 2.44 (4-H', ddd, 11.2, 9.9, -14.3), 1.76 (6-H, m), 1.13 (6-CH₃, d, 6.8); unit B 7.21 (5-H, d, 2.3), 7.07 (9-H, dd, 8.4, 2.3), 6.83 (8-H, d, 8.4), 5.63 (NH, d, 8.4), 4.80 (2-H, ddd, 8.5, 7.4, 5.7), 3.87 (OMe, s), 3.13 (3-H; dd, 5.7, -14.5), 3.03 (3-H', dd, 7.4, -14.5), unit C 6.95 (NH, bd, 6.5, 5.3), 3.48 (3-H, ddd, 5.3, 3.6, -13.5), 3.31 (3-H', ddd, 6.8, 6.5, -13.5), 2.72 (2-H, m), 1.23 (2-Me; d, 7.3); unit D 4.85 (2-H, dd, 10.3, 3.5), 1.70 (3-H/4-H; m), 1.33 (3-H', m), 0.86 (5-H, d, 6.3), 0.85 (4-Me-H, d, 6.3).

Кристофицины 125 и 126

Используя общую процедуру, описанную выше для эпоксицирования криптофицинов стирольного типа, Криптофицин 124 (47 мг) был превращен в 26 мг Криптофицина 125 и 12 мг Криптофицина 126.

Спектральные данные для Криптофицина 125

$[\alpha]_D^{+35.6^\circ}$ (CHCl₃, c=0.9); high-resolution EIMS m/z 688.2301 (calcd for C₃₅H₄₂Cl₂N₂O₈, Δ +1.7mmu). ¹H NMR (500 MHz) δ unit A 7.33 (11-H/13-H, dt, 8.5, 2.0), 7.18 (10-H/14-H, dt, 8.5, 2.0), 6.67 (3-H, ddd, 15.1, 9.9, 5.2), 5.73 (2-H, dd, 15.1, 0.9), 5.15 (5-H, ddd, 11.0, 4.7, 1.5), 3.66 (8-H, d, 1.9), 2.87 (7-H, dd, 7.4, 1.9), 2.53 (4-H, m), 2.42 (4-H', ddd, 10.6, 10.5, -14.4), 1.78 (6-H, m), 1.12 (6-CH₃, d, 7.0); unit B 7.20 (5-H, d, 2.1), 7.06 (9-H, dd, 8.3, 2.1), 6.83 (8-H, d, 8.3), 5.72 (NH, d, 8.1), 4.79 (2-H, ddd, 8.3, 7.9, 5.4), 3.86 (OMe, s), 3.12 (3-H; dd, 5.4, -14.5), 3.02 (3-H', dd, 7.4, -14.5); unit C 6.97 (NH, bdd, 6.3, 5.5), 3.46 (3-H, ddd, 4.4, 4.1, -13.7), 3.22 (3-H', ddd, 7.0, 6.3, -13.7), 2.70 (2-H, m), 1.22 (2-Me; d, 7.2); unit D 4.82 (2-H, dd, 9.9, 3.4), 1.70 (3-H/4-H; m), 1.33 (3-H', m), 0.87 (5-H, d, 6.5), 0.84 (4-Me-H, d, 6.5). ¹³C NMR (125 MHz) δ unit A 165.3 (1), 141.0 (3), 135.3 (12),

134.4 (9), 128.9 (11/13), 126.9 (10/14), 125.3 (2), 76.0 (5), 63.1 (7), 58.2 (8), 40.4 (6), 36.7 (4), 13.4 (6-Me), unit B 170.9 (1), 154.0 (7), 131.0 (5), 129.8 (4), 128.3 (9), 122.4 (6), 112.3 (8), 56.1 (OMe), 53.7 (2), 35.0 (3); unit C 175.6 (1), 41.0 (3), 38.2 (2), 14.1 (2-Me); unit D 170.7 (1), 71.2 (2), 39.4 (3), 24.5 (4), 22.9 (5), 21.3 (4-Me).

Спектральные данные для Криптофицина 126

¹H-ЯМР (300 МГц) unit A δ 7.26 (11-H/13-H, d, 8.1), 7.17 (10-H/14-H, d, 8.1), 6.70 (3-H, ddd, 15.1, 9.4, 5.3), 5.81 (2-H, d, 15.1), 5.14 (5-H, bdd, 10.0, 4.5), 3.57 (8-H, bs), 2.85 (7-H, bd, 7.6), 2.66 (4-H, m), 2.59 (4-H', m), 1.77 (6-H, m), 1.04 (6-CH₃, d, 7.0), unit B 7.23 (5-H, bs), 7.08 (9-H, bd, 8.4), 6.83 (8-H, d, 8.4), 5.82 (NH, d, 6.8), 4.81 (2-H, ddd, 7.2, 6.8, 5.4), 3.86 (OMe, s), 3.14 (3-H; dd, 5.4, -14.1), 3.03 (3-H', dd, 7.4, -14.1), unit C 7.03 (NH, bt, 5.7), 3.47 (3-H, ddd, 4.0, 3.7, -13.1), 3.34 (3-H', ddd, 6.8, 6.4, -13.1), 2.72 (2-H, m), 1.24 (2-Me, d, 7.0), unit D 4.90 (2-H, dd, 10.0, 2.5), 1.74 (3-H/4-H; m), 1.45 (3-H', m), 0.91 (5-H, d, 6.5), 0.86 (4-Me-H, d, 6.5). ¹³C NMR (125 MHz) δ unit A 165.4 (1), 141.3 (3), 135.6 (12), 134.1 (9),

347

124

128.8 (11/13), 126.8 (10/14), 125.2 (2), 76.8 (5), 63.3 (7), 55.6 (8), 40.8 (6), 36.7 (4), 13.4 (6-Me); unit B 170.9 (1), 153.9 (7), 131.0 (5), 129.8 (4), 128.4 (9), 122.3 (6), 112.2 (8), 56.1 (OMe), 53.7 (2), 35.0 (3), unit C 175.7 (1), 41.0 (3), 38.2 (2), 14.1 (2-Me); unit D 170.8 (1), 71.4 (2), 39.3 (3), 24.6 (4), 23.1 (5), 21.3 (4-Me).

Пример 20 Синтез Криптофицинов 121-123 и 127

Соединение AJ

К раствору моногидрата ВОС-L-лейцина (1.245 г, 5 ммоль) в 30 мл безводного CH₂Cl₂ добавляли твердый EDC (1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимид гидрохлорид) (0.53 г, 2.75 ммоль) в атмосфере N₂ при перемешивании при 0°C. После перемешивания при 0°C в течение 1.5 часов, смесь концентрировали ниже 5°C и остаток разбавляли 35 мл холодного EtOAc, последовательно промывали двумя порциями (10 мл) каждого, охлажденного на льду раствора, 5% водного раствора KHSO₄, 5% водного NaHCO₃, рассолом. Органическую фазу отделяли, сушили (MgSO₄) при 5°C и выпаривали ниже 5°C. Оставшееся масло разбавляли охлажденным на льду ТГФ (5 мл) и добавляли раствор соединения К (295 мг, 0.5 ммоль) в охлажденный на льду безводный ТГФ (5 мл). Затем были добавлены несколько кристаллов DMAP к смеси, которую перемешивали и позволяли смеси достигнуть 25°C в течение ночи. Добавляли раствор 5% водного NaHCO₃ (5 мл) и полученную двухфазную смесь интенсивно перемешивали при 25°C в течение 2 часов. Добавляли EtOAc (40 мл), водную фазу экстрагировали добавлением EtOAc (2 раза по 20 мл) и объединенные органические слои промывали водой и рассолом, сушили

(NaSO₄), фильтровали и выпаривали. Остаток отфильтровывали через слой силикагеля с 25% EtOAc в гексане с получением соединения AJ в виде бесцветного масла (385 мг, выход 96%):

[α]_D 13.6° (c= 0.63, CHCl₃); EIMS m/z (rel. intensity) 805/803/801 (M⁺, 1%), 568/570/572/574 (9/10/6/2), 523/525/527 (5/6/1), 418/420/422/424 (15/15/6/2), 341/343/345/347 (58/70/35/9), 307/309/311(29/22/10), 224/227/228/229 (10/100/31/14), 208/210/211/212 (20/83/45/54), HREIMS m/z 800.2218 (C₃₅H₄₈ ³⁵Cl₄N₂O₈, Δ-5.3mmu); ¹H NMR (CDCl₃) unit A δ 7.21-7.35 (Ph-H₅; m), 6.77 (3-H; ddd, 6.7/6.7/15.3), 6.4 (8-H; d, 15.8), 6.05 (7-H; dd, 8.7/15.8), 5.9 (2-H; d, 15.3), 5.0 (5-H, m), 2.6 (6-H, m), 2.55 (4-H₂; m), 1.17 (6-Me; d, 6.7), unit B δ 7.22 (5-H; s), 7.05 (9-H; d, 8.1), 6.84 (8-H, d, 8.1), 6.55 (NH; d, 7.8), 5.0 (2-H; ddd, 5.5/7.1/7.8), 4.68-4.8 (CH₂CCl₃; ABq, 11.9), 3.86 (OMe; s), 3.2 (3-H; dd, 5.5/14.0), 3.06 (3-H': dd, 7.1/14.0), unit D δ 4.8 (NH; d), 4.2 (2-H; m), 1.65 (4-H; m), 1.55 (3-H; m), 1.4 (CMe₃; s), 1.37 (3-H'; m), 0.85 (4-Me; d, 6.5), 0.8 (5-H, d, 6.5); ¹³C NMR unit A δ 165.4 (1), 139.3 (3),

125

137.0 (9), 131.5 (8), 130.5 (7), 128.5 (11/13), 127.3 (12), 126.2 (10/12), 125.8 (2), 76.2 (5), 40.8 (6), 33.4 (4), 16.8 (6-Me); unit B δ 170.0 (1), 154.2 (7), 131.0 (5), 129.0 (9), 122.5 (6), 112.2 (8), 94.4 (CCl₃), 74.7 (CH₂CCl₃), 56.1 (OMe), 53.3 (2), 36.5 (3), unit D δ 173.2 (1), 155.7 (BOC-CO), 80.0 (CMe₃), 52.4 (2), 41.2 (3), 28.3 (CMe₃), 24.8 (4), 22.8 (4-Me), 21.6 (5).

Соединение АК

Соединение AJ (115 мг, 0.134 ммоль) растворяли в ТФУК (3 мл) и оставляли при 25°C в течение 1 часа. Растворитель удаляли и остаток выпаривали повторно из CH₂Cl₂ с получением в результате аморфного твердого вещества. Это твердое вещество растворяли в безводном ТГФ (5 мл) и добавляли достаточное количество диэтилизопропиламина с доведением pH раствора до 8-9, когда аликвота раствора оставляла пятно на влажной pH бумаге. Раствор охлаждали до 0°C с перемешиванием и добавляли раствор соединения AL в ТГФ (3 мг). Для приготовления соединения AL, соединение Z (55 мг, 0.27 ммоль) растворяли в ТГФ (3 мл) и добавляли диэтилизопропиламин (0.046 мл, 0.27 ммоль). К этой смеси после охлаждения до -15°C добавляли по каплям пивалоилхлорид (0.033 мл, 0.27 ммоль) и раствор перемешивали при -15°C в течение 10 минут и при 0°C в течение 20 минут. Полученную суспензию переносили затем в раствор соединения AJ в ТГФ. Полученную смесь перемешивали при -0°C и позволяли достигнуть температуры 25°C в течение ночи. Через 12 часов нахождения при температуре 25°C добавляли 5% водный раствор NaHCO₃ и полученную смесь интенсивно перемешивали при 25°C в течение 1.5 часов. Добавляли EtOAc (40 мл) и фазы разделяли. Водную фазу экстрагировали дополнительно EtOAc (2 раза по 10 мл). Объединенные органические экстракты промывали 5% водным раствором NaHCO₃ (20 мл),

5% водным раствором KHSO₄ (20 мл) и рассолом, сушили (NaSO₄) и выпаривали. Оставшееся масло хроматографировали на силикагеле, элюируя 35% EtOAc в гексане с получением соединения АК в виде бесцветной пены (98 мг, выход 83%):

[α]_D -8.3 (c 0.88, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) unit A δ 7.28-7.35 (Ph-H₄; m), 7.22 (H-12; m), 6.75 (H-3; ddd, 6.4/6.4/15.4), 6.4 (H-8; d, 15.9), 6.04 (H-7; dd, 8.6/15.9) 5.95 (H-2, d, 15.4), 5.0 (H-5; m), 2.6 (H-4; m), 1.1 (6-Me; d, 6.8); unit B δ 7.22 (H-5, d, 1.5), 7.15 (NH; d, 7.6), 7.05 (H-9; dd, 1.5/8.2), 6.85 (H-8; d, 8.2), 5.0 (H-2; m), 4.8- 4.68 (CH₂CCl₃; ABq, 12), 3.86 (OMe; s), 3.2 (H-3, m), 3.1 (H-3', dd, 7.2/14.1), unit C δ 5.0 (NH; m), 3.2 (H2-3; m), 2.55 (H-2; m), 1.1 (2-Me; d, 7.1), unit D δ 6.12 (NH; m), 4.4 (H-2; m). 1.65 (H-4; m), 1.55 (H-3; m), 1.4 (H-3', m), 0.86 (4-Me; d, 6.8), 0.81 (5-H, d, 6.8); ¹³C NMR (CDCl₃) unit A δ 165.8 (1), 138.9 (3), 131.5 (8), 130.4 (7), 128.6 (11/13), 127.4 (12), 126.2 (10/14), 125.8 (2), 76.3 (5), 33.6 (4), 16.6 (6-Me); unit B δ 170.2 (1), 154.1 (7), 136.9 (4), 131.2 (5), 128.6 (9), 122.3 (6), 112.2 (8), 94.4 (CCl₃), 74.5 (CH₂CCl₃), 56.1 (OMe), 53.4 (2),

347

126

36.6 (3); unit C δ 175.4 (1), 156.3 (BOC-CO), 79.5 (OCMe₃), 43.6 (3), 41.3 (2), 15.1 (2-Me); unit D δ 172.6 (1), 51.3 (2), 40.5 (3), 24.5 (4), 22.7 (4-Me), 21.5 (5).

Криптофицин 121

Соединение АК (73 мг, 0.082 ммоль) растворяли в AcOH (3.5 мл), добавляли активированную Zn пыль и полученную суспензию подвергали ультразвуковому воздействию в течение 45 минут. После перемешивания при 25°C дополнительно в течение 1.5 часов смесь разбавляли CH₂Cl₂ (5 мл) и фильтровали через целит[®]. Твердое вещество промывали дополнительно CH₂Cl₂ (10 мл) и полученный фильтрат упаривали. Остаток без дальнейшей очистки растворяли в ТФУК (3 мл), хранили при 25°C в течение 1 часа и растворитель удаляли в вакууме. Остаток повторно выпаривали из CH₂Cl₂, затем из толуола до получения бесцветного твердого вещества. Это твердое вещество растворяли в ДМФА (3 мл), добавляли FDPP (43 мг, 0.108 ммоль) с последующим добавлением достаточного количества диэтилизопропиламина с доведением pH раствора до pH8-9, когда аликвота оставляла пятно на влажной pH бумаге. После перемешивания при 25°C в течение 16 часов, смесь разбавляли эфиром (40 мл) и промывали 5% водным раствором KHSO₄ (2 раза по 1 мл), 5% водным раствором NaHCO₃ (15 мл) и рассолом. После сушки (Na₂SO₄) и выпаривания остаток очищали с помощью гель проникающей жидкостной хроматографии с обращенной фазой на C-18 колонке с силикагелем (Econosil[®] C-18, 22 x 250 мм), элюируя смесью CH₃CN/вода 65:35 при 6 мл/мин. Фракцию, элюируемую при t_R 48 минут, собирали и выпаривали с получением аморфного твердого вещества (26 мг, выход 50%):

[α]_D +46.5° (с 0.81, CHCl₃); EIMS m/z 637/639 (M⁺, 1%), 449/451 (2/1), 420 (5), 411/413 (7/5), 227/228 (9/7), 195 (10), 184 (15), 167/168/169 (40/86/29), 155/157 (100/26), 91 (85), 69 (86); HREIMS m/z 637.2864 (C₃₅H₄₄³⁵Cl N₃ O₆, Δ + 5.5mmu); ¹H NMR unit A δ 7.21-7.35 (Ph-H₅; m), 6.75 (H-3; ddd, 4.2/10.8/16), 6.4 (H-8; d, 16), 6.04 (H-7; dd, 8.8/16), 5.75 (H-2; d, 16), 5.1 ((H-5; m), 2.55 (H-4; m, H-6; m), 2.35 (H-4'; m); unit B δ 7.18 (H-5; d, 2), 7.05 (H-9; dd, 2.0/8.3), 6.85 (H-8; d, 8.3), 5.7 (NH; d, 7.2), 4.7 (H-2; ddd, 4.9/7.2/7.7), 3.86 (OMe, s), 3.1 (H-3; dd, 4.9/14.4), 3.0 (H-3'; dd, 7.7/ 14.4); unit C δ 7.25 (NH, m), 3.5 (H-3; m), 3.4 (H-3'; m), 2.55 (H-2; m), 1.2 (2-Me; d, 7.2); unit D 5.8 (NH; d, 7.2), 4.4 (H-2; m), 1.55 (H-4; m), 1.38 (H₂-3; dd, 7.2/7.7), 0.76 (4-Me; d, 6.6), 0.74 (H-5; d, 6.6); ¹³C NMR (CDCl₃) unit A δ 165.1 (1), 141.9 (3), 136.8 (9), 131.7 (8), 130.2 (7), 128.5 (11/13), 127.3 (14), 126.1 (10/12), 125.1 (2), 76.5 (5), 42.3 (6), 36.3 (4), 17.2 (6-Me); unit B δ 171.0 (1), 154.1 (7), 130.8(5), 129.6 (4), 128.4 (9), 122.5 (6),

127

112.4 (8), 56.2 (OMe), 54.4 (2), 35.4 (3), unit C δ 175.8 (1), 41.0 (3), 38.6 (2), 14.8 (2-Me); unit D δ 173.2 (1), 51.1 (2), 40.9 (3), 24.7 (4), 23.4 (4-Me), 21.5 (5)

Криптофицины 122 и 123

К перемешиваемому раствору (0°C) Криптофицина 121 (мг, 0.011 ммоль) в безводном CH₂Cl₂ (1.3 мл) добавляли 99% м-СРВА (17 ву, 0.1 ммоль) в виде одной порции. Затем добавляли безводный толуол (0.7 мл) и полученную смесь перемешивали при 25°C в течение 72 часов. Растворитель выпаривали в вакууме и оставшееся твердое вещество очищали с помощью гель проникающей жидкостной хроматографии с обращенной фазой на C-18 колонке с силикагелем (Econosil^R C-18, 22 x 250 мм), элюируя смесью CH₃CN/вода 65:35 при 6 мл/мин. Криптофицин 122 (9 мг, выход 44%) элюировали при t_R 37.5 минут и Криптофицин 123 (5 мг, выход 23%) элюировали при t_R 40 минут.

Криптофицин 122

[α]_D +35.0 (с 1. CHCl₃), EIMS m/z 653/655 (1.6/0.7, M⁺), 411/413 (20/5), 280/282 (39/19), 252/254 (13/8), 223/225/227 (19/10/23), 211/213 (18/6), 195/197 (51/13), 184/186 (49/11), 176/168/169 (20/16/21), 155/156/157 (95/59/42), 139/141/143 (60/40/24), 135/135 (30/11), 129/131 (40/29), 91 (100); HREIMS m/z 653.2906 (C₃₅H₄₄³⁵Cl N₃ O₇, Δ- 3.8mmu). ¹H NMR (d₆-acetone) unit A δ 6.65 (H-3, ddd, 38/11.0/15.0), 5.9 (H-2; dd, 1.9/15.0), 5.25 (H-5; ddd, 1.9/4.9/11.5), 3.82 (H-8; d, 2.0), 3.0 (H-7; dd, 2.0/7.7), 2.65 (H-4; dddd, 2.0/2.0/3.8/14.5), 2.4 (H-4'; ddd, 11.0/11.5/ 14.5), 1.85 (H-6, dqd, 4.9/7.4/7.7), 1.1 (6-Me; d, 6.9); unit B δ 7.45 (NH; d, 7.9), 7.22 (H-9; dd, 2.0/8.4), 7.0 (H-8; d, 8.4), 4.45 (H-2; ddd, 3.6/7.9/11.2), 3.84 (OMe; s), 3.2 (H-3; dd, 3.6/14.5), 2.75 (H-3'; dd, 11.2/14.5); unit C δ 7.8 (NH; d, 8.8),

3.65 (H-3; ddd, 3.3/8.8/13.2), 3.1 (H-3', ddd, 2.1/2.1/13.2), 2.55 (H-2; m), unit D δ 7.35 (NH; d, 8.1), 4.25 (H-2, ddd, 4.8/8.1/10.8), 1.65 (H-4; m), 1.45 (H-3; ddd, 5.1/10.8/13.7), 1.35 (H-3'; 4.8/9.0/13.7), 0.8 (4-Me/ H-5; d, 6.5); ¹³C NMR unit A δ 165.9 (1), 140.8 (3), 138.6 (9), 129.4 (11/13), 129.2 (12), 126.7 (2), 126.6 (10/14), 76.0 (5), 63.9 (7), 59.3 (8), 41.2 (6), 37.7 (4), 13.9 (6-Me); unit B δ 171.9 (1), 154.6 (7), 132.5 (4), 131.4 (5), 129.0 (9), 122.4 (6), 113.1 (8), 56.9 (2), 65.4 (OMe), 36.4 (3) unit C δ 177.2 (1), 41.3 (3), 38.9 (2), 15.7 (2-Me); unit D δ 174.2 (1), 51.7 (2), 40.6 (3), 25.3 (4), 23.1 (4-Me), 21.5 (5).

Криптофицин 123

[α]_D +25.2° (с 0.58, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) unit A δ 7.21-7.35 (Ph-H₅, m), 6.75 (H-3, ddd, 4.1/10.9/14.1), 5.85 (H-2; dd, 1.4/15.2), 5.25 (H-5, m), 3.6 (H-8; d, 2.0), 2.9 (H-7, dd, 2.0/7.8), 2.7 (H-4; m), 2.55 (H-4'; m), 1.75 (H-6; m), 1.05 (6-Me; d, 7.1), unit

347

128

B δ 7.18 (H-5; d, 2.0), 7.05 (H-9; dd, 2.0, 8.5), 6.85 (H-8; d, 8.5), 5.95 (NH; d, 7.7), 4.7 (H-2; ddd, 4.9/7.7/8.1), 3.86 (OMe; s), 3.15 (H-3; dd, 4.9/14.5), 3.05 (H-3'; dd, 8.1/14.5); unit C δ 7.25 (NH; m), 3.55 (H-3; ddd, 4.6/8.7/13.3), 3.15 (H-3'; ddd, 3.0/3.1/13.3), 2.55 (H-2; m), 1.2 (2-Me; d, 7.3); unit D δ 6.0 (NH; d, 8.2), 4.45 (H-2; m), 1.6 (H-4; m), 1.55 (H₂-3; m), 0.88 (4-Me; d, 7.1), 0.87 (5-H; d, 7.1).

Криптофицин 127

Криптофицин 122 (5 мг, 0.0075 ммоль) растворяли в CHCl₃ (2 мл) и охлаждали до -40°C в атмосфере N₂. Добавляли по каплям триметилсилилхлорид (0.02 мл, 0.157 ммоль) и полученную смесь перемешивали при -40°C в течение 1 часа. Растворитель выпаривали и остаток фильтровали через слой силикагеля с 15% EtOH в диэтиловом эфире с получением Криптофицина 127 (4 мг, выход 77%).

[α]_D +28.6 (с 1.16, CHCl₃); EIMS m/z 653 (0.5; M⁺-HCl); 411 (2); 182/184 (22/26), 153/155 (68/40); 135 (31); 107/108/109 (55/22/31); 91/92 (100/30); 79/81 (45/35); HREIMS m/z 653.2841 (C₃₅H₄₄³⁵ClN₃O₇, Δ 2.6mmu); ¹H NMR (CHCl₃) unit A δ 7.3-7.4 (Ph-H₅; m), 6.75 (H-3, ddd, 4.2/10.9/15.0), 5.8 (H-2; dd, 1.5/15.0), 5.2 (H-5; ddd, 1.9/9.9/9.9), 4.65 (H-8; d, 9.6), 4.0 (H-7, brd, 9.6), 2.65 (H-4; m), 2.48 (H-6; m), 2.35 (H-4'; ddd, 10.9/11.2/14.5), 1.02 (6-Me; d, 7.0); unit B δ 7.18 (H-5; d, 2.2), 7.05 (H-9; dd, 2.2/8.6), 6.85 (H-8; d, 8.6), 6.05 (NH; d, 7.7), 4.65 (H-2; ddd, 4.7/7.7/8.6), 3.86 (OMe; s), 3.15 (H-3; dd, 4.7/14.6), 2.9 (H-3'; dd, 8.6/14.6); unit C δ 7.25 (NH; brdd, 4.1/5.7), 3.4 (H₂-3; m), 2.55 (H-2; m), 1.15 (2-Me, d, 7.5); unit D δ 6.2 (NH; d, 8.2), 4.45 (H-2; m), 1.65 (H-4; m), 1.55 (H₂-3; m), 0.93 (4-Me; d, 6.8), 0.92 (5-Me; d, 6.8); ¹³C NMR (CDCl₃) unit A δ 165.4 (1), 142.4 (3), 138.8 (9), 128.8 (11/13), 128.2 (12), 128.0 (10/14), 124.0 (2), 75.6 (5), 73.9 (7), 62.1 (8), 38.6 (6), 36.4 (4), 8.5 (6-Me); unit B δ 171.1 (1), 154.0 (7),

130.8 (5), 129.8 (4), 128.2 (9), 122.4 (6), 112.4 (8), 56.1 (OMe), 54.5 (2), 35.4 (3); unit C δ 175.8 (1), 41.1 (3), 38.8 (2), 14.8 (2-Me); unit D δ 173.2 (1), 51.1 (2), 40.9 (3), 25.0 (4), 22.8 (5), 21.8 (4-Me).

Пример 21 Синтез Кристофицинов 128 и 130-134 Кристофицины 128, 130 и 131

Неочищенную 2:1 смесь 5.7 мг Кристофицинов 117 и 118 растворяли в CHCl_3 (0.5 мл) и обрабатывали триметилсилилхлоридом (5 мкл) при -60°C в течение 3 часов.

Разделение с помощью гель проникающей
129

жидкостной хроматографии с обращенной фазой, полученной смеси хлоргидринов давало Кристофицин 128, Кристофицин 130 и Кристофицин 131. Дальнейшая очистка с помощью гель проникающей жидкостной хроматографии с нормальной фазой давала чистый Кристофицин 128 (2.1 мг).

Спектральные данные для Кристофицина 128

$[\alpha]_D^{+51.4^\circ}$ (CHCl_3 , c 0.4), IR ν_{max} 3408, 3281, 2958, 1747, 1731, 1668, 1538, 1505, 1258, 1179, 1067, 910, 733 cm^{-1} ; EIMS m/z (relative intensity %) 668 (0.3, $\text{M}^+ - \text{HCl}$), 500 (1.2), 445 (4.2), 407 (6), 318 (12), 274 (17), 240 (33), 199 (29), 155 (31), 141 (23), 135 (15), 109 (100); high-resolution EIMS 668.2851 (calcd for $\text{C}_{35}\text{H}_{45}\text{ClN}_2\text{O}_8$, $\Delta +1.3\text{mmu}$, $\text{M}^+ - \text{HCl}$). ^1H NMR (500 MHz) δ unit A 7.27 (10-H/14-H, d, 8.0), 7.18 (11-H/13-H, d, 8.0), 6.69 (3-H, ddd, 15.2, 9.6, 5.4), 5.79 (2-H, dd, 15.2, 0.8), 5.10 (5-H, ddd, 11.0, 8.4, 1.7), 4.63 (8-H, d, 9.6), 3.99 (7-H, bd, 9.6), 2.67 (4-H, bdd, 5.4, -14.2), 2.49 (6-H, dqd, 7.6, 7.6, 1.7), 2.36 (4-H', td, 10.7, -14.2), 2.35 (12-Me, s), 1.04 (6- CH_3 , d, 7.1); unit B 7.23 (5-H, d, 2.1), 7.09 (9-H, dd, 8.5, 2.1), 6.84 (8-H, d, 8.5), 5.83 (NH, d, 8.6), 4.80 (2-H, ddd, 8.2, 7.5, 5.7), 3.87 (OMe, s), 3.16 (3-H, dd, 5.6, -14.4), 3.00 (3-H', dd, 7.5, -14.4); unit C 6.94 (NH, bt, 5.8), 3.53 (3-H, ddd, 5.4, 4.1, -13.5), 3.24 (3-H', ddd, 6.9, 6.6, -13.5), 2.74 (2-H, m), 1.22 (2-Me; d, 7.3); unit D 4.92 (2-H, dd, 9.9, 3.2), 1.75 (3-H/4-H; m), 1.47 (3-H', m), 0.94 (5-H, d, 6.4), 0.92 (4-Me-H, d, 6.4). ^{13}C NMR (125 MHz) δ unit A 165.6 (1), 141.6 (3), 139.2 (12), 135.3 (9), 129.7 (10/14), 127.9 (11/13), 125.2 (2), 76.4 (5), 74.0 (7), 62.0 (8), 38.4 (6), 36.3 (4), 21.1 (12-Me), 8.6 (6-Me); unit B 171.1 (1), 153.9 (7), 131.0 (5), 130.0 (4), 128.4 (9), 122.4 (6), 112.2 (8), 56.1 (OMe), 53.6 (2), 35.0 (3); unit C 175.3 (1), 41.3 (3), 38.3 (2), 14.0 (2-Me); unit D 170.6 (1), 71.3 (2), 39.7 (3), 24.7 (4), 23.1 (5), 21.5 (4-Me).

Спектральные данные для Кристофицина 130

^1H -ЯМР (300 МГц) δ unit A 7.27 (10-H/14-H, d, 7.8), 7.16 (11-H/13-H, d, 7.8), 6.69 (3-H, ddd, 15.1, 9.6, 5.2), 5.75 (2-H, d, 15.1), 5.40 (5-H, ddd, 10.6, 3.0, 1.8), 5.05 (8-H, d, 5.9), 3.74 (7-H, ddd, 10.5, 5.4, 5.2), 2.59 (4-H, m), 2.55 (6-H, m), 2.37 (4-H', m), 2.33 (12-Me, s), 1.06 (6- CH_3 , d, 6.9); unit B 7.21 (5-H, bs), 7.07 (9-H, bd, 8.4), 6.83 (8-H, d, 8.4), 5.77 (NH, d, 6.6),

4.80 (2-H, m), 3.87 (OMe, s), 3.12 (3-H; dd, 5.6, -14.4), 3.02 (3-H', dd, 7.2, -14.4), unit C 7.00 (NH, bt, 6.5), 3.47 (3-H, ddd, 4.3, 4.0, -13.3), 3.24 (3-H', ddd, 6.7, 6.6, -13.3), 2.72 (2-H, m), 1.23 (2-Me, d, 7.3); unit D 4.80 (2-H, m), 1.70 (3-H/4-H; m), 1.42 (3-H', ddd, 7.9, 4.7, -13.0), 0.91 (5-H, d, 6.4), 0.86 (4-Me-H, d, 6.4). ^{13}C NMR (125 MHz) unit A 165.5 (1), 142.1 (3), 138.8 (12), 135.2 (9), 129.5 (10/14), 127.5 (11/13), 124.8 (2), 77.8 (5), 74.2 (7), 67.2 (8), 39.4 (6), 34.6 (4), 21.1 (12-Me), 12.3 (6-Me), unit B 171.0 (1), 153.9 (7), 131.0 (5), 129.5 (4), 128.4 (9), 112.2 (8), 56.1 (OMe), 53.6 (2), 35.0 (3); unit C 175.6 (1), 41.1 (3), 38.3 (2), 14.1 (2-Me); unit D 170.3 (1), 71.5 (2), 39.5 (3), 24.6 (4), 22.7 (5), 21.6 (4-Me).

347

130

Спектральные данные для Кристофицина 131

^1H -ЯМР (300 МГц) δ unit A 7.18 (10-H/11-H/13-H/14-H, s), 6.64 (3-H, ddd, 15.2, 9.8, 5.4), 5.70 (2-H, d, 15.2), 5.06 (5-H, bt, 9.1), 4.86 (8-H, d, 9.7), 4.06 (7-H, bd, 9.7), 2.54 (4-H, bdd, 5.2, -14.2), 2.37 (12-Me, s), 2.13 (4-H', t), 1.85 (6-H, m), 0.97 (6- CH_3 , d, 6.6); unit B 7.21 (5-H, d, 2.1), 7.07 (9-H, dd, 8.4, 2.1), 6.83 (8-H, d, 8.4), 5.66 (NH, d, 10.0), 4.79 (2-H, bq, 7.7), 3.87 (OMe, s), 3.14 (3-H; dd, 5.6, -14.4), 3.02 (3-H', dd, 7.2, -14.4); unit C 6.93 (NH, bt, 6.2), 3.51 (3-H, ddd, 5.0, 4.2, -13.5), 3.27 (3-H', ddd, 6.7, 6.4, -13.5), 2.73 (2-H, m), 1.23 (2-Me; d, 7.3), unit D 4.86 (2-H, dd, 9.7, 3.4), 1.75 (3-H/4-H; m), 1.46 (3-H', m), 0.94 (5-H, d, 6.0), 0.93 (4-Me-H, d, 6.4).

Кристофицин 132, 133 и 134

Смесь Кристофицина 124 и изомера Z (134 мг, 0.199 ммоль) растворяли в дихлорметане (6 мл) и позволяли взаимодействовать с м-хлорпербензойной кислотой (103 мг, 0.598 ммоль) при комнатной температуре в течение 36 часов. Добавляли фосфатный буфер (10 мл, pH 8) для удаления хлорбензойной кислоты образующейся в процессе реакции. Через 30 минут водный слой заменяли диметилсульфоксидом (50 мкл) и свежим образцом фосфатного буфера (10 мл). Перемешивание продолжали в течение 30 минут. Органический слой отделяли растворитель упаривали и остаток очищали с помощью жидкостной гель проникающей хроматографии с обращенной фазой (Econosil ODS силикагель, 22 x 250 мм, 35% смесь вода/ CH_3CN , при 6 мл/мин) с получением Кристофицина 134 (t_R 52.5 мин, 9 мг, выход 6%), частично чистого Кристофицина 133 (t_R 61 мин, 32 мг, выход 22%) и неочищенного Кристофицина 132 (t_R 67.5 мин, 72 мг). Дальнейшая очистка с помощью жидкостной гель проникающей хроматографии с нормальной фазой (Econosil силикагель, 10 x 250 мм, 56% EtOAc/гексан, 3 мл/мин) давала чистый Кристофицин 132 (65 мг, выход 45%).

Спектральные данные для Кристофицина 132

$[\alpha]_D +60.1^\circ$ (CHCl₃, c=1.1); EIMS m/z (relative intensity %) 688 (1.6, M⁺-HCl), 412 (10), 261 (11), 195 (57), 184 (28), 165 (28), 155 (92), 135 (85), high-resolution EIMS m/z 688.23563 (calcd for C₃₅H₄₂Cl₂N₂O₈, Δ-3.8mmu, M⁺-HCl). ¹H NMR (500 MHz) δ unit A 7.33 (10-H/11-H/13-H/14-H, s), 6.67 (3-H, ddd, 15.2, 9.9, 5.1), 5.79 (2-H, dd, 15.2, 1.1), 5.10 (5-H, ddd, 1.11, 8.1, 1.5), 4.63 (8-H, d, 9.5), 3.98 (7-H, bd, 9.3), 2.62 (4-H, bdd, 5.1, -14.2), 2.47 (6-H, dqd, 7.4, 7.4, 1.5), 2.40 (4-H', td, 10.8, -14.2), 2.35 (12-Me, s), 1.02 (6-CH₃, d, 7.0); unit B 7.21 (5-H, d, 2.1), 7.06 (9-H, dd, 8.4, 2.1), 6.82 (8-H, d, 8.4), 6.04 (NH, d, 8.5), 4.74 (2-H, td, 8.0, 5.4), 3.85 (OMe, s), 3.13 (3-H; dd, 5.3, -14.4), 2.95 (3-H', dd, 7.8, -14.4); unit C 7.00 (NH, bt, 5.9). 3.48 (3-H, ddd, 5.0, 3.9, -

131

13.4), 3.23 (3-H', ddd, 6.6, 6.3, -13.4), 2.71 (2-H, m), 1.21 (2-Me; d, 7.2); unit D 4.91 (2-H, dd, 9.7, 3.4), 1.75 (3-H/4-H; m), 1.45 (3-H', m), 0.92 (5-H, d, 6.6), 0.91 (4-Me-H, d, 6.6). ¹³C NMR (125 MHz) δ unit A 165.7 (1), 141.6 (3), 137.3 (12), 134.8 (9), 129.4 (11/13), 129.0 (10/14), 125.2 (2), 76.4 (5), 74.0 (7), 61.4 (8), 38.4 (6), 36.2 (4), 8.7 (6-Me); unit B 171.1 (1), 153.9 (7), 131.0 (5), 130.1 (4), 128.4 (9), 122.3 (6), 112.2 (8), 56.1 (OMe), 53.8 (2), 34.9 (3); unit C 175.3 (1), 41.0 (3), 38.1 (2), 14.1 (2-Me); unit D 170.6 (1), 71.3 (2), 39.7 (3), 24.7 (4), 23.1 (5), 21.5 (4-Me).

Спектральные данные для Кристофицина 134

¹H-ЯМР спектр является подобным спектру Кристофицина 27, за исключением того, что два мультиплета при 7.31 (10/14) и 7.36-7.40 (11/12/13) для фенильных протонов заменялись на два дублета при 7.26 (10/14) и 7.36 (11/13) для п-хлорфенильных протонов.

Пример 22. Отношения структура-активность (SAR) и оценка in vivo

Цитотоксичности Кристофицинов 1, 3 и 8 и новых криптофицинов по отношению к человеческим линиям KB и LoVo опухолевых клеток показывают в Таблице 6. Кристофицин 51 и Кристофицин 3 проявляют сравнимые цитотоксичности (IC₅₀ 3.5-5.8 нМ). Кристофицин 52 (IC₅₀ 43-70 пкМ), однако, обладает слегка меньшей цитотоксичностью, чем Кристофицин 1 (IC₅₀ 9-29 пкМ), и Кристофицин 55 (IC₅₀ 33-47 пкМ), обладает слегка меньшей цитотоксичностью, чем Кристофицин 8 (IC₅₀ 9-19 пкМ). Цитотоксичность IC₅₀ для Кристофицинов 117, 122, 125, 127, 128 и 132 является сравнимой с цитотоксичностью для Кристофицинов 1, 8, 52 и 55; однако, данные не позволяют в настоящий момент провести более полные сравнения.

Кристофицин 52 является активным in vivo, но требует, грубо, применения три раза по полной дозе, по сравнению с Кристофицином 1. Активность in vivo Кристофицина 52 против пяти твердых опухолей мышиноного происхождения и трех человеческих твердых опухолей суммируется в Таблице 7. Аналогично Кристофицин 55 был активен in vivo, но требовал также применения трех

полных дозировок, по сравнению с Кристофицином 8. Активность in vivo Кристофицина 55 против шести твердых опухолей мышиноного происхождения и четырех человеческих твердых опухолей суммируется в Таблице 8. Данные in vivo оказываются коррелируют с данными in vitro.

Кристофицины 117, 125, 128 и 132 являются активными in vivo против панкреатической аденокарциномы мышиноного происхождения (Panc 03). Кристофицины 117 и 128 оказываются являются более сильными, так что они требуют меньших общих доз, чем Кристофицины 1 и 8, соответственно, тогда как Кристофицины 125 и 132 являются менее сильными, так что они требуют более высоких общих доз, чем Кристофицины 1 и 8, соответ-

347

132

ственно. Данные суммируются в Таблице 9.

Величины T/C, которые составляют меньше чем 42%, считаются активными согласно NCI стандартам; считается что величины T/C, которые составляют меньше, чем 10%, имеют превосходную активность и потенциальную клиническую активность согласно NCI стандартам. Суммарную величину Log уничтожения определяют в виде T-C/3.2 Td, где T представляет среднее время в сутках для опухолей обработанной группы для достижения опухоли в 750 мг, C представляет среднее время в сутках для опухолей контрольной группы для достижения опухоли в 750 мг, и Td представляет время удвоения объема опухоли. T.H.Corbett et.al., Cytotoxic Anticancer Drugs: Model and Conceptd for Drug Discovery and Development, pp. 35-87; Kluwer: Norwell, 1992). Суммарные величины Log уничтожения выше 2.8, 2.0-2.8, 1.3-1.9, 0.7-1.2 и ниже 0.7 с продолжительностью обработки лекарством 5-20 суток считают +++, ++, + и (неактивный), соответственно. Характеристика активности от +++ до +++, которая является указанием на клиническую активность, является необходимой для частичного влияния или полной регрессии масс с 100-300 мг размером большинства трансплантированных твердых опухолей мыши. Кристофицин 52 показывает величины T/C, находящиеся в области от 0 до 14% для мышинных опухолей и от 4.1 до 16 для человеческих опухолей и суммарные величины Log уничтожения от 1.1 до 2 для мышинных опухолей и от 0 до 3.2 для человеческих опухолей. Кристофицин 1 показывает величины T/C, находящиеся в области от 0 до 27% и величины Log уничтожения в области меньше 1 до 2. Кристофицин 55 показывает величины T/C, находящиеся в области от больше чем 0 до 4.4% и величины Log уничтожения в области от 2.1 до больше 4.6 (кривые) для всех, но одного из трех, Colon 26 эксперимента, который показывает суммарную величину Log уничтожения 1.2. Кристофицин 8 показывает величины T/C, больше чем 0 и величины Log уничтожения больше 2.8 (некоторые кривые), как показано в Таблице 10. Оказывается, что Кристофицины 117 и 125 имеют величины T/C и суммарные величины Log уничтожения, которые сравнимы с этими вели-

чинами для других криптофицинов эпоксидного типа, а именно Криптофицинов 1 и 52, тогда как Криптофицины 128 и 132 имеют величины Т/С и суммарные величины Log уничтожения, которые являются сравнимыми с этими величинами для

133

других криптофицинов хлорфицинового типа, а именно Криптофицинов 8 и 55.

Все публикации и патентные заявки, перечисленные в этом описании, но не индивидуально и конкретно введенные здесь ссылкой, вводятся здесь

ссылкой, как если бы они были указаны как конкретно и индивидуально введенными ссылкой.

Хотя вышеприведенное изобретение было описано в некоторых деталях с помощью иллюстрации и примера с целью разъяснения и понимания

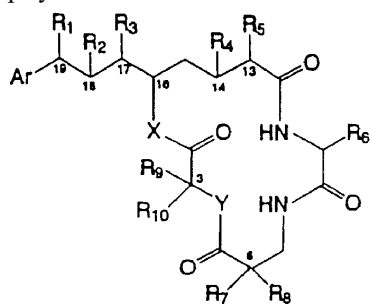
347

134

ния, для специалиста в этой области будет очевидно в свете описания этого изобретения, что некоторые изменения и модификации могут быть проведены в нем без отклонения от сути и объема заявляемого в формуле изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Криптофициновое соединение, представленное формулой:



где

Ag представляет метил, или фенил, или любую простую незамещенную или замещенную ароматическую или гетероароматическую группу;

R₁ представляет галоген;

R₂ представляет OH или

R₁ и R₂ могут объединяться вместе с образованием эпоксидного кольца, азиридинового кольца,

R₁ и R₂ могут объединяться вместе с образованием двойной связи между C₁₈ и C₁₉;

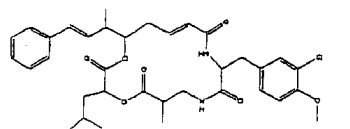
R₃ представляет низшую алкильную группу;

R₄ и R₅ представляют H; или

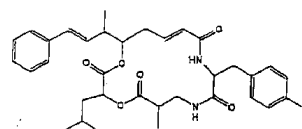
R₄ и R₅ могут объединяться вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄;

R₆ представляет бензильную, гидроксibenзильную (оксibenзильную), алкоксibenзильную, галоидоксibenзильную, дигалоидоксibenзильную, галоидалкоксibenзильную или дигалоидалкоксibenзильную группу;

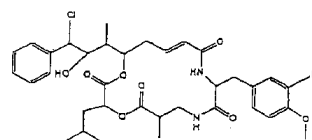
R₇, R₈, R₉ и R₁₀ каждый независимо представляют H или низшую алкильную группу; и X и Y каждый независимо представляют O, NH или алкиламино, при условии, что соединение криптофицина не является.



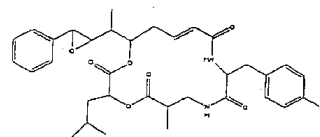
, или



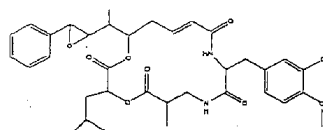
, или



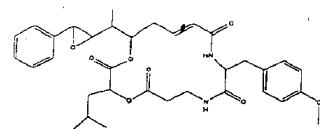
, или



, или



, или



, или

2. Соединение по п. 1, где R₈ представляет этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, пентил или изопентил.

3. Соединение по п. 1, где R₇ представляет этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, пентил или изопентил.

4. Соединение по п. 1, где R₇ представляет H, R₈ представляет метил, R₃ представляет метил, X и Y не являются кислородом.

тил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₈ и R₁₀ представляют водород и X и Y являются кислородом.

38. Соединение по п. 1, где Ag представляет п-толил, R₁ представляет R-хлор, R₂ представляет S-гидроксильную группу, R₃ и R₇ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₈ и R₁₀ представляют водород и X и Y являются кислородом.

39. Соединение по п. 1, где Ag представляет п-толил, R₁ представляет R-хлор, R₂ представляет R-гидроксильную группу, R₃ и R₇ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₈ и R₁₀ представляют водород и X и Y являются кислородом.

40. Соединение по п. 1, где Ag представляет п-хлорфенил, R₁ представляет S-хлор, R₂ представляет R-гидроксильную группу, R₃ и R₇ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₈ и R₁₀ представляют водород, X и Y являются кислородом.

41. Соединение по п. 1, где Ag представляет п-хлорфенил, R₁ представляет R-хлор, R₂ представляет S-гидроксильную группу, R₃ и R₇ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₈ и R₁₀ представляют водород и X и Y являются кислородом.

42. Соединение по п. 1, где Ag представляет п-хлорфенил, R₁ представляет R-хлор, R₂ представляет R-гидроксильную группу, R₃ и R₇ представляют метил, R₄ и R₅ объединяются вместе с образованием двойной связи между C₁₃ и C₁₄, R₆ представляет 3-хлор-4-метоксибензил, R₉ представляет изобутил, R₈ и R₁₀ представляют водород и X и Y являются кислородом.

43. Фармацевтическая композиция для ингибирования пролиферации гиперпролиферативной клетки млекопитающего, *отличающаяся* тем, что она включает эффективное количество соединения общей формулы 1 по п. 1 и фармацевтически приемлемый носитель.

44. Фармацевтическая композиция по п. 43, *отличающаяся* тем, что она дополнительно содержит, по крайней мере, один противоопухолевый агент.

45. Способ ингибирования пролиферации клетки млекопитающего, *отличающийся* тем, что

клетки приводят в контакт с эффективным количеством соединения общей формулы 1 по п. 1.

46. Способ по п. 45, *отличающийся* тем, что клетки приводят в контакт с эффективным количеством соединения общей формулы 1 по п. 1, дополнительно содержащего, по крайней мере, один противоопухолевый агент.

47. Способ по п. 45, *отличающийся* тем, что клетка млекопитающего является гиперпролиферативной.

48. Способ по п. 47, *отличающийся* тем, что гиперпролиферативная клетка является человеческой.

49. Способ ингибирования пролиферации гиперпролиферативной клетки млекопитающего, обладающей фенотипом множественного сопротивления лекарству, *отличающийся* тем, что клетки приводят в контакт с криптофициновым соединением общей формулы 1 по п. 1 в количестве, эффективном для нарушения динамического состояния полимеризации и деполимеризации микротрубочки с блокированием клеточного митоза.

50. Способ по п. 49, *отличающийся* тем, что клетки приводят в контакт с эффективным количеством соединения общей формулы 1 по п. 1, дополнительно содержащего, по крайней мере, один противоопухолевый агент.

51. Способ по п. 49, *отличающийся* тем, что гиперпролиферативная клетка является человеческой.

52. Способ смягчения патологического состояния, вызванного гиперпролиферирующими клетками млекопитающего, включающий введение субъекту эффективного количества фармацевтической композиции, *отличающийся* тем, что субъекту вводят фармацевтическую композицию по п. 43 для ингибирования пролиферации клеток.

53. Способ по п. 52, *отличающийся* тем, что клетки млекопитающих являются человеческими.

54. Способ по п. 52, *отличающийся* тем, что его осуществляют в комбинации с другим способом той же направленности.

55. Способ по п. 52, *отличающийся* тем, что патологическое состояние характеризуется образованием опухолей.

56. Способ по п. 55, *отличающийся* тем, что патологическое состояние обусловлено опухолями молочной железы, мало-камерного легкого, немолокамерного легкого, калоректальной лейкемии, меланомы, панкреатической аденокарциномы, центральной нервной системы (CNS), яичниковой простаты, саркомы мягкой ткани или кости, головы и шеи, гастрита, который включает панкреатический гастрит и желудочный гастрит, желудка, миеломы, мочевого пузыря, ренальной нейроэндокринии, которая включает щитовидную железу и неоплазмы, не связанные с заболеванием Ходжкина, и неоплазмы, связанные с заболеванием Ходжкина.

Таблица 1

Данные цитотоксичности для криптофицинов и полу-синтетических аналогов. Данные анализа Corbett/Valeriotе для 5-фторурацила, этопсиды (МЗ-16) и урацолы включаются для сравнения.

Тип цитотоксичности (Дифференциальный в единицах зоны (ез))

Соединение	мг/диск	CorbettАнализ ^а	мг/диск	Valeriotе Анализ ^В	КИ IC ₅₀ нг/мл	LoVo IC ₅₀ нг/мл
1	12.5	Е/Т (> 400) ^с		N	0.005	0.003
2	25	Е/Т (> 400) ^с		N	0.007	0.0002
3	25	Е/Т (> 400) ^с		N	0.3	0.5
4	20	Е/Т (> 400) ^с		N	1.3	0.5
5	2.9	Е/Т (> 600) ^с		N	0.02	0.02
6	250	I			≥100	≥100
7					≥750	≥480
8	30	Е/Т (> 500) ^с	30	N	0.0002	0.01
9					15	не определял и
10					≥100	≥100
12					≥100	≥100
14					1.8	3
5-FU	2.5	Е/Т (> 400) ^д	2.5	LL (> 400)		
VP-16	5	L(350), T(530) ^д	5	LL (260)		
таксол	0.2	M/H/T(≥400) ^д				

^аL=селективное к лейкемии (например, к лейкемии (например, Z_{L1210} -Z_{C38} и Z_{L1210} -Z_{H8} больше или равно 250 ез)(zu-ез -единицы зоны)

M=селективное к мышинной твердой опухоли (например, Z_{C38} -Z_{L1210} больше или равно 250 ез)

H=селективное к человеческой твердой опухоли (например, Z_{H8}-Z_{L1210} больше или равно 250 ез)

E=обладает одинаковой токсичностью по отношению к линиям клеток лейкемии и твердой опухоли (зоны ингибирования больше или равно 250 ез)

T=селективное к опухоли (например, Z_{L1210} -Z_{LML}, Z_{CM}-Z_{LML}, и Z_{H8}-Z_{LML} больше или равно 250 ез)

I=неактивное (зоны ингибирования меньше 250)

^ВN=не селективное по отношению к опухоли (лейкемии) и нормальной линии клеток (CFU-GM)

LL=селективное к лимфоцитной лейкемии (Z_{L1210} -Z_{CFU-GM} больше или равно 250 ез)

ML=селективное к острой миелогенной лейкемии (AML) (Z_{AML}-Z_{CFU-GM} больше или равно 250 ез)

^сСелективное по отношению к линиям клеток с чувствительностью к лекарству и с сопротивлением лекарству (Z_{CM}-Z_{LML}, Z_{M17}-Z_{LML}, Z_{H8}-Z_{LML}) &

^дСелективное только по отношению к линиям клеток с чувствительностью к лекарству.

Таблица 2

Данные по цитотоксичности Кристофицинов in Vitro

Кристофин	KBIC ₅₀ нг/мл	LoVoIC ₅₀ нг/мл	SKOV3IC ₅₀ нг/мл
1	0.0025	0.001	0.026
2	0.023	0.021	0.18
3	1.8	0.6	2.8
4	6	2.5	21
5	12	2	7.4
8	0.01	0.0022	0.15
12	18	3	
15			12
16	0.08	0.02	0.64
17	4.7	5.9	11
18	15	4.5	23
19	9.8	5.9	41
21	0.01	0.0003	0.029
23	0.89	0.4	1.7
24	0.12	0.095	0.3
26	19	9.8	95
28	1.5	0.75	6.1
29	1	0.49	3.4
30	11	8	21
31	0.53	0.062	1.9
35	0.055	0.01	0.092
40	9.0	1.0	1.7
43	0.72	0.8	1.1
45	2.3	2.4	1.6
49	1.4	1.9	1.1
50	0.17	0.17	0.2
54	0.80	2.2	2.2

Эксп. #	SC опухоль	# of Inj. IV	мг/кг полная доза	% потери веса тела при	T/C	log уничтожения	Вылечение
1560	ободочной кишки 38	8	10.3	улучшение	6%	1.5	0/5
1694	панкреатический аденокарц 03	8	16.0	улучшение	0%	2,0	0/5
1636	ободочной кишки (толстой) 51	7	28.1	-11%	7%	1.3	0/5
1720	Молочной железы 16/C	5	13.2	-1%	5%	1.4	0/5
1733	Молочной железы таксол 16/T	5	16.5	0%	2%	1.8	0/4
1833	Молочной железы M17/0	5	5.4	-10%	23%	<1	0/5
1749	Панкреатической аденокарц 02	5	11.0	-5%	20%	1.1	0/5
1596	Человеческого малоклеточн. легкого L. DMS273 SCID	6	7.3	0%	27%	<1	0/5
1806	Человеческой груди MX-1	8	12	-3%	3%	2.0	0/5
1823	Человеч. аденокарц. легкого H125	8	14.4	-15% -смерть	9%	1.1	0/5
1841	Человеческ. простаты LNCaP	6	6.5	-6%	26%	<1	0/5

Таблица 4. Активность Кристофициновых аналогов in Vivo

Эксп. #	агент	SC опухоль	# of Inj. IV	мг/кг g TD	% Потери веса тела при	T/C	Log уничтожения	Вылечение s
1813	Кристофицин-2	P03	10	37	-2%	44%	<1	0/5
1843	Кристофицин-3	P03	4	28/5	-9%	54%	<1	0/5
1769	Кристофицин-5	C38	15	45	-2%	>10 0%	нет	0/5
1825	Кристофицин-8	P03	11	106	-6%	4%	4.6	0/5
1885	Кристофицин-8	Mam 16/C	7	21.3	-4.5%	6%	2.5	0/5
1887 B	Кристофицин-8	C38	6	30	-2%	0%	2.8	1/5
1900	Кристофицин-8	ободочн. кишки 51	9	67.5	-1%	7%	1.8	0/5
1843	Кристофицин-15	P03	5	18	-7%	83%	нет	0/5
1878	Кристофицин-16	P03	9	82	-1%	89%	нет	0/5
1813	Кристофицин-21	панкреатичн. аденокарц	9	27	-11% (1/5 смертей)	61%	нет	0/5
1843	Кристофицин-35	P03	7	23	-2%	11%	1.3	0/5

Таблица 5

Цитотоксичности антимиотических агентов для SKOV3 и SKVLB1 клеток.

Клетки были обработаны соединениями, указанными ниже, с изменяющимися концентрациями в течение 48 часов. Количество клеток было затем определено как указано в разделе Способы и величина IC₅₀ была рассчитана для каждого соединения. Величины представляют значение +/- SEM для трех экспериментов.

Клеточная линия			
Соединение	SKOV3	SKVLB1	Фактор сопротивления
		IC ₅₀ (нМ)	
Винбластин	0.35+/-0.25	4200+/-1700	12000
Таксол	1+/-0.4	8000+/-2000	8000
Криптофицины	0.007+/-0.002	0.60+/-0.19	86

Таблица 6
Данные по цитотоксичности Криптофицинов in Vitro

Криптофицин	KB IC ₅₀ нМ	LoVo IC ₅₀ (нМ)
1	0.0092	0.0104
3	3.1-4.6	1.9-5.8
8	0.019	0.0091
51	3.5	5.2
52	0.043	0.070
53	4.2	5.5
55	0.033	0.047
57	0.064	0.27
58	0.048	0.20
61	21	15
81	5.5	5.7
82	310	45
90	0.34	0.30
91	30	34
97	3.6	5.7
110	4.6	5.3
111	4.8	3.2
112	5.4	6.2
115	0.039	0.048
117	0.036	0.031
118	2.3	1.2
119	4.4	6.1
120	4.6	6.4
122	0.021	6.9
125	0.05	0.006
127	0.176	0.075
128	0.023	2.5
132	0.082	0.037

Таблица 7.
Активность Криптофицина-52 in Vivo
Резюме

Exp #	SC опухоль	Общая доза мг/кг	# of inj.	% поте- ри веса тела	T/C In %	частич- ная регрес- сия	полная регрес- сия	унич- тоже- ние опухо- левой	Выле- чивание осво- божда- ющ. от	Осво- божде- ние от опухоли (сутки)	Актив- ность
-------	---------------	------------------------	--------------	----------------------------	-------------	----------------------------------	--------------------------	--	---	---	-----------------

2066**	TSU простата	298.5	10	-8.1%	0	5/5	5/5	4.0	2/5	d 94	++++
2069**	H116 толстая	315*	7	-10.4%	0	4/5	3/5	6.3	2/5	d 84	++++
↓	кишка	157.5	7	-7.6%	8	4/5	0/5	3.6	0/5	d 84	++++
2072**	LNCaP про-	300	12	-3/1%	0	5/5	5/5	5.9	3/5	d 77	++++
↓	стата	200	5	-7.7%	0	4/5	3/5	6.0	0/5	d 77	++++
2075**	Glb панкреат.	320	8	0.0%	4.4	-	-	>2.0	1/5	d68	+++
2087	H125 легкого	впрыскивание в процессе обработки									
мышинные опухоли											
2064**	молочной	144	10	-7/5%	0	-	-	3.9	0/5	d 92	++++
	железы 6/С										
2065	толстой киш-	260	10	-2%	0	-	-	1.2	0/5	d 24	+
	ки 26										
2068	толстой киш-	237	8	-13%	0	5/5	4/5	4.7	0/5	d 95	++++
	ки 38										
2070**	панкреат. 03	402	6	-6.0%	0	-	-	>4.5	5/5	d 84	++++
↓	↓	270	6	-5.0%	0	-	-	>4.5	4/5	d 84	++++
↓	↓	180	4	-0.8%	0	-	-	>4.5	4/5	d 84	++++
2071	молочн. же-	180	6	-4/7%	0	-	-	2.1	0/5	d 18	+++
	лезы 17/Adr										
2082	молочн. же-	180	6	-1.7%	0	-	-	2.4	0/5	d 22	+++
	лезы 16/С/Adr										
2088	панкреат. 02	впрыскивание в процессе обработки									

* Продуцируют 1/5 уничтожения

** Эксп. в стадии продолжен.

Таблица 9

Оценка аналогов Кристофицина по отношению к ранней стадии у BDF₁ cfvwd vsib

клетка	Агент	No. of Inj. IV	общая доза мг/кг	Лекарство смерти	% потери веса или улучшен.	средн. размер опухоли на 14 сутки область	T/C In %	свободный от опухоли (на 14 сут-ки)
1	No Rx	-	-	-	+6.8% (12)	830 (393-1458)	-	0/5
2	Crypto # 117	1	7.0	3/4	-20% (12)	0 (one mouse)	0%	1/4
3	1	6	13.5	1/4	-8.2 (13)	75 (0-256)	9%	1/4
4	1	6	6.75	0/3	-2.4 (8)	247 (80-415)	30%	0/3
5	Crypto # 125	7	42	0/4	0% (10)	0 (0-63)	0%	3/4
6	1	7	21	0/4	-1.6% (10)	101 (0-126)	12%	1/4
7	1	7	10.5	0/4	0% (8)	295 (264-467)	35%	0/4
8	Crypto # 128	3	57	1/4	-15.2% (10)	0 (all zero)	0%	3/4
9	1	4	32.5	0/4	-5.7% (6)	0 (all zero)	0%	4/4
10	1	4	16.25	0/4	0% (12)	0 (all zero)	0%	4/4
11	Crypto # 132	6	180	0/4	-5.7% (10)	0 (all zero)	0%	4/4
12	1	6	90	0/4	-3.3% (8)	0 (all zero)	0%	4/4
13	1	6	45	0/4	1.7% (10)	304 (108-505)	37%	0/4

Опухоли имплантированные на 0 сутки. Обработки лекарствами начаты на 3 день.

С 14 дня мыши находились в хорошем состоянии и наблюдалось улучшение в весе.

Смертей от лекарства больше не будет.

347

Таблица 10

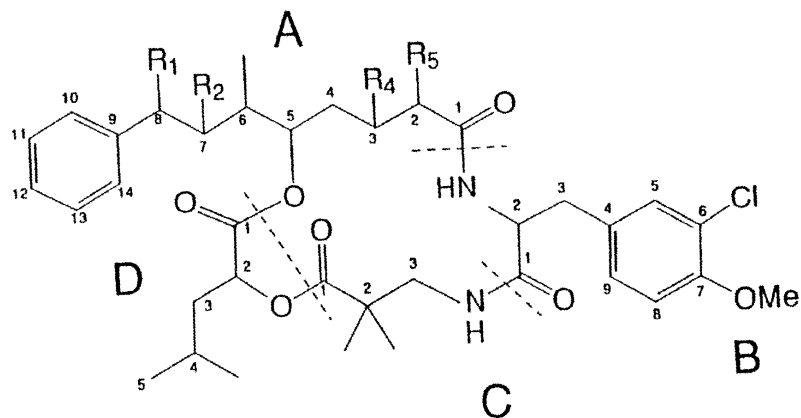
Активность Кристофицина-8 in Vivo

Эксп #	SC опухоль	# of inj.	мг/кг	% потери веса	T/C	log уни-чтожени	Выле-чивание
18258	панкреат. 03	11	106	-6	4	4.6	0/5
1917	панкреат. 03	12	60	-1	0	2.8	0/5
188БА	молочной железы 16/C	7	21.3	-4.5	6	2.5	0/5
18878	толстая кишка 38	6	30	+2	0	3.0	0/5
1954	толстая кишка 38	11	132	-8	0	>4.5	5/5
↓	↓	11	88	-6	0	>4.5	4/5
1965	толстая кишка 26	10	100	-5.4	0	2.3	0/5

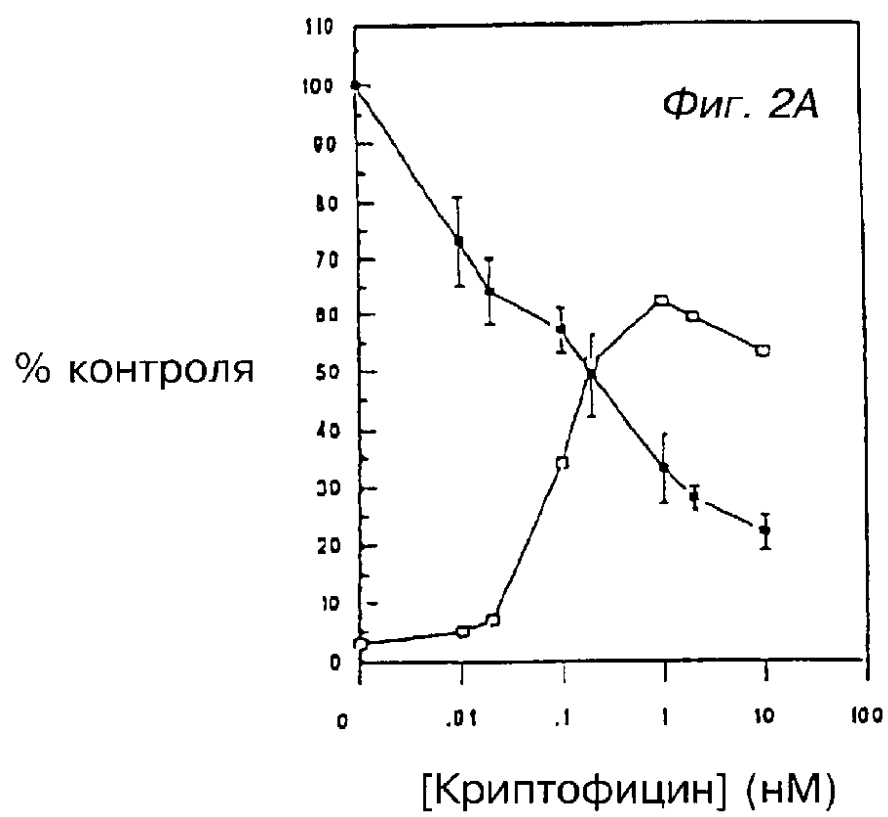
2007	11Б	6	80	-3.5	0	>2	2/5 (d 20)
		6	60		0	>2	1/5 (d 20)
1994	молочн. железе 17/Adr	9	83.1	-0.9	0	3.2	0/6
		9	36.9	-1.8	0	2.6	0/5
1990	молочн. железа 16/C/Adr	7	66	-6	0	2.5	0/5
2001	панкреат. 02	9	126	-3.5	0	>2	1/5 (d25)
1831		9	67.5	-6	18	1.8	0/5
1974	IV P388	7	91	-11%	50% HS	2.3	0/5
1924	толстая кишка 51	9	67.5	-6	7	2.2	0/5
1946	MX-1 человеческ. груди	11	50	-5.9	0	>4.5	3/5
↓		11	34.2	-4.5	0	4.5	1/5
1952	H125 человеческ. аденокарц.	8	96	+3.8	0	1.8	0/5
↓		8	57.6	+9.8	0	1.6	0/5
1983	TSU человеческ. простата	7	94.5	-3.4	0	>4	5/5
		7	66.5	-3.3	0	3.5	0/5
1978	PC.3 человеческ. простата	8	96	+3.1	7.3	1.6	0/5
		8	67.2	+3.6	14.7	0.9	0/5
1980	человеческ. толстая кишка H116	8	108	-6.7	5/5 PR's	3.8	0/5
		8	75	-6.7	4/5 PR's	3.5	0/5
		8	53	-3.3	1/5 PR's	2.9	0/5
1979	человеческ. простата LNCaP	6	81	-3.2	5/5 CR's	8.1*	4/5
		6	57	-3.4	5/5 CR's	7.1*	4/5
		6	40.2	-3.2	5/5 CR's	8.0*	2/5

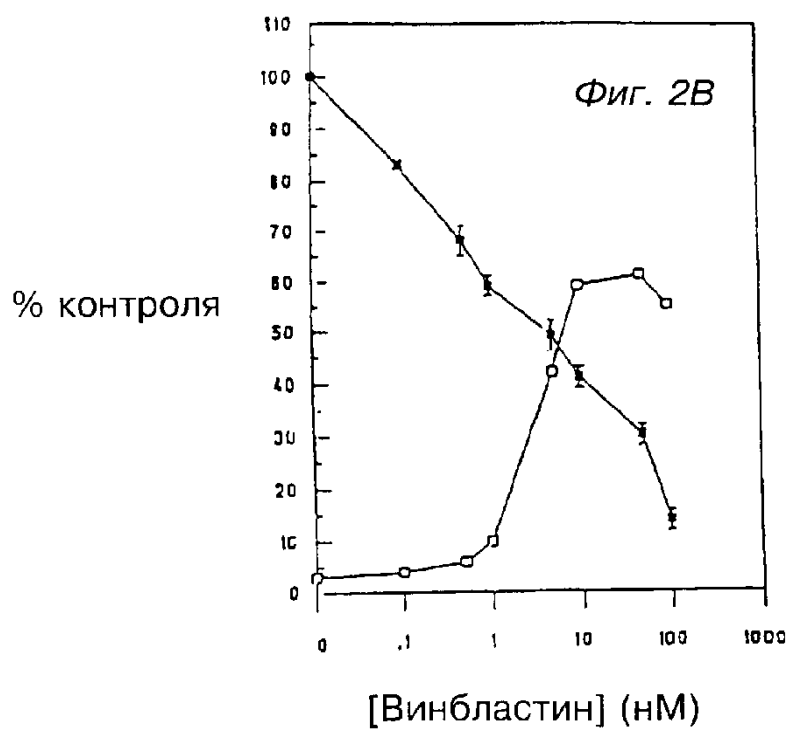
* Ограниченные количества повторных ростов опухоли, на которых проводить расчет log уничтожения.

347



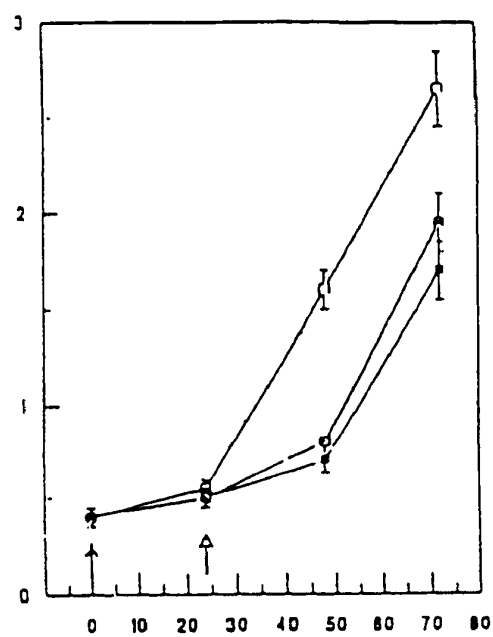
Фиг.1





Фиг.2

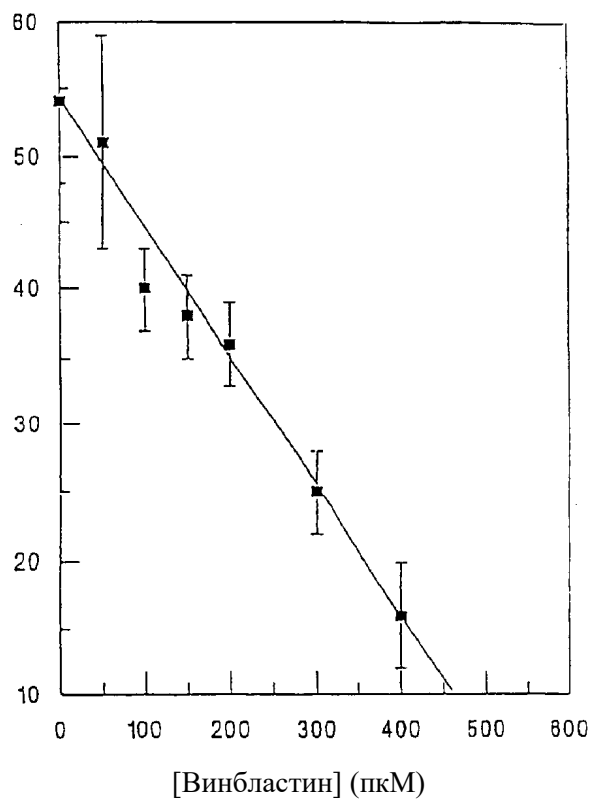
Плотность клеток (A560))



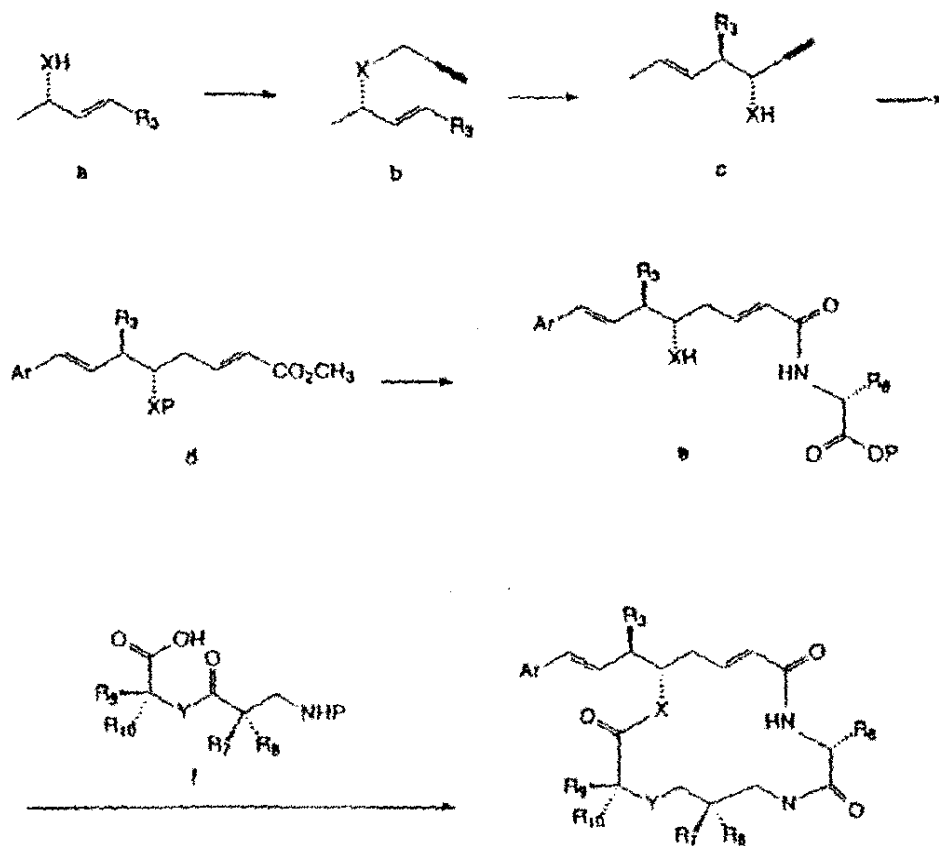
Время инкубирования (час)

Фиг.3
347

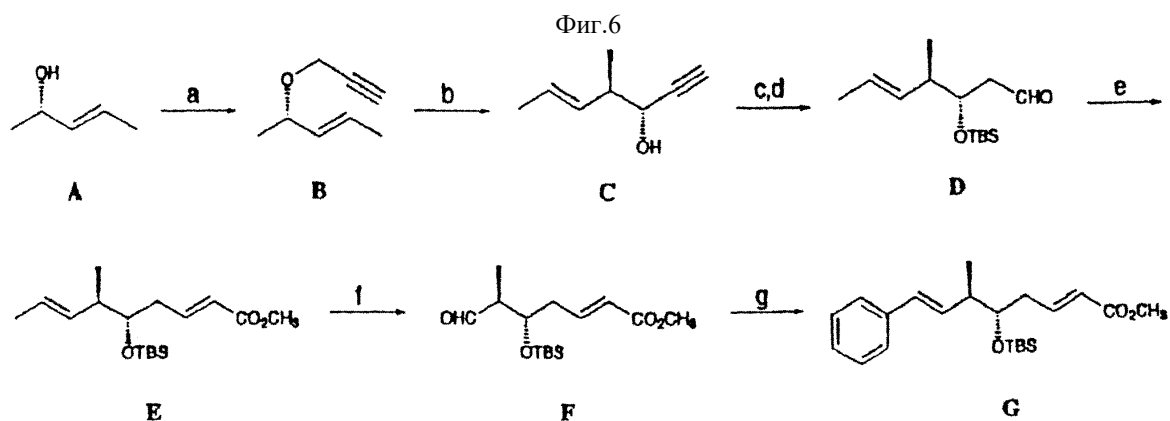
IC50 для криптофицина (пкМ)



Фиг.4

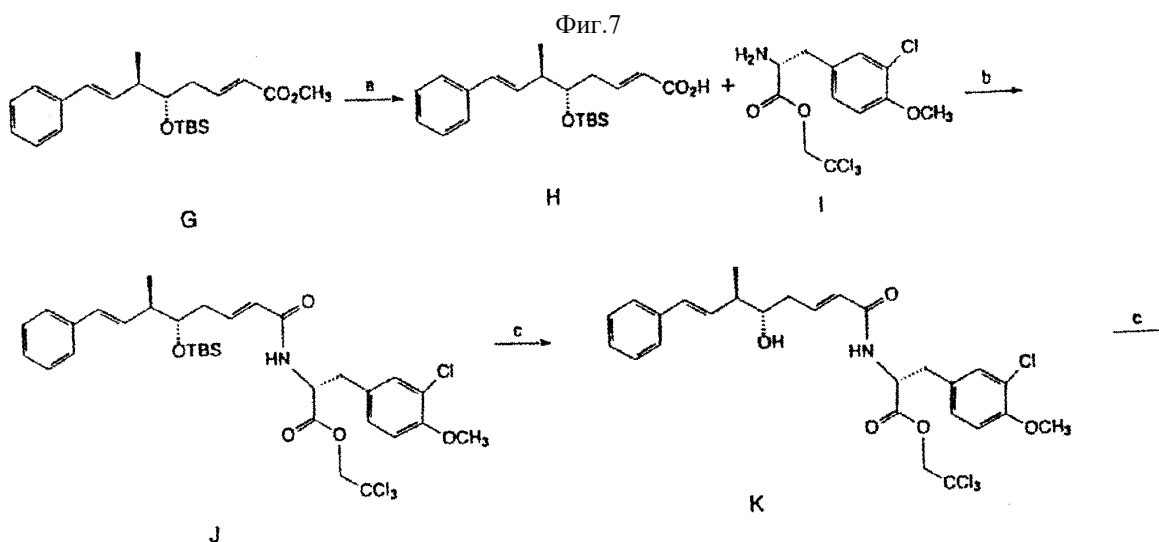


Фиг.5
Схема 1
347



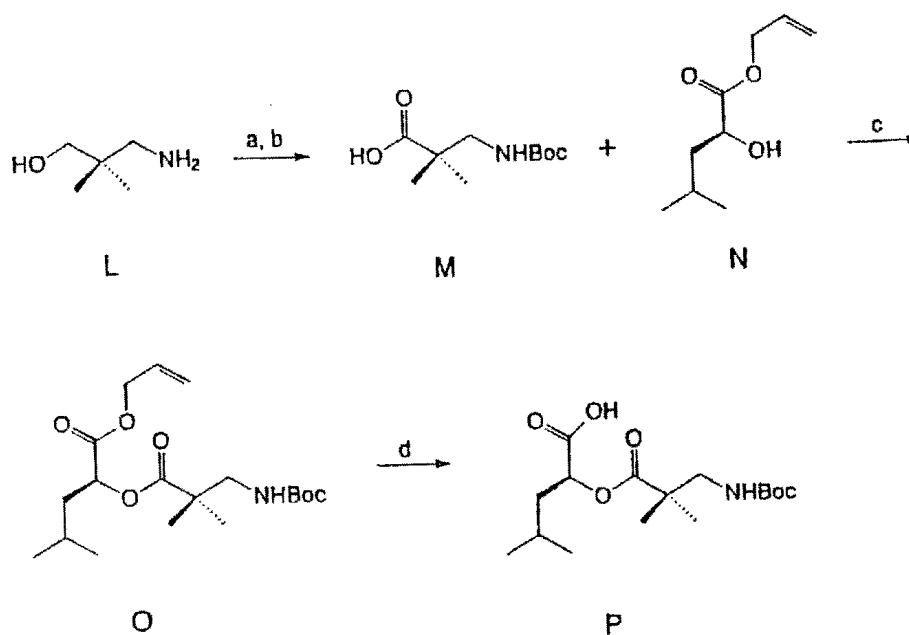
^aпропаргил хлорид, Bu₄NHSO₄, 40% NaOH, 0°C, 86%; ^bBuLi, ТГФ, -90°C-25°C, 71%, ^cTBSCl, ДМФА, имидазол, 25°C, 96%; ^d[(CH₃)₂CHCHNCH₃]₂BH, ТГФ, -50°C-25°C; H₂O₂, фосфатный буфер, 0°C, 76% (две стадии); ^e(CH₃O)₂P(O)CH₂CO₂CH₃, тетраметилгуанидин, ТГФ, -78°C-25°C, 90%; ^fO₃? пиридин, CH₂Cl₂, -78°C, 83%; ^gPhCH₂PPh₃Cl, BuLi, ТГФ, -78°C-25°C, 80%.

Схема 2



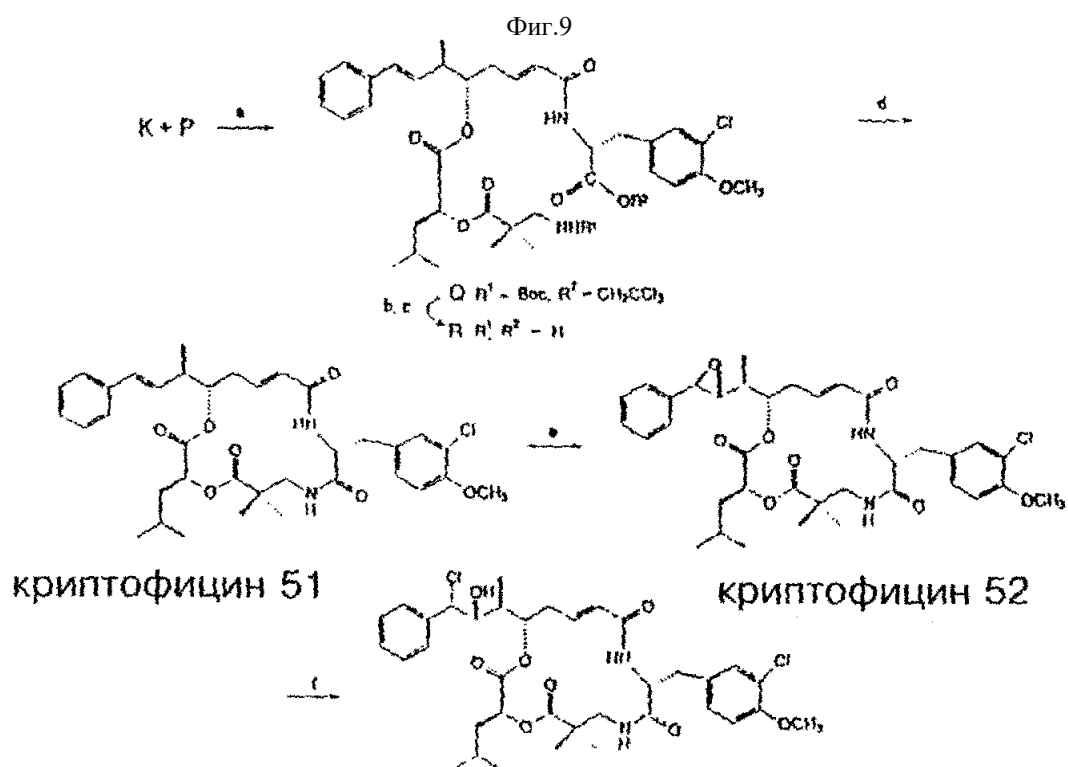
^aLiOH, ацетон, 25°C, 95%; ^bFDPP, DIEA, ДМФА, 25°C, 65%; ^cCH₃CN, 50% водный HF (95/5), 25°C, 95%.

Схема 3



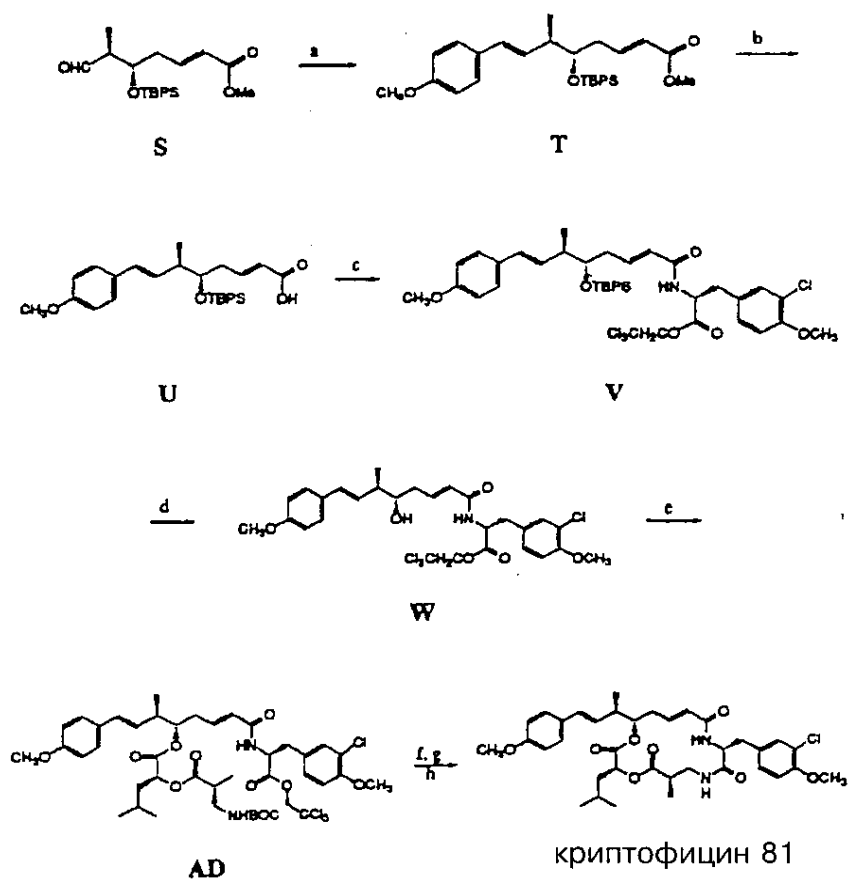
^a(Boc)₂O, Et₃N, CH₃OH, 25°C, 93%; ^bRuCl₃, NaIO₄, CCl₄, CH₃CN, H₂O, 25°C, 66%, ^cDMAP, DCC, CH₂Cl₂, 0°C-25°C, 75%; ^dТГФ, морфолин, Pd(PPh₃)₄, 25°C, 95%.

Схема 4



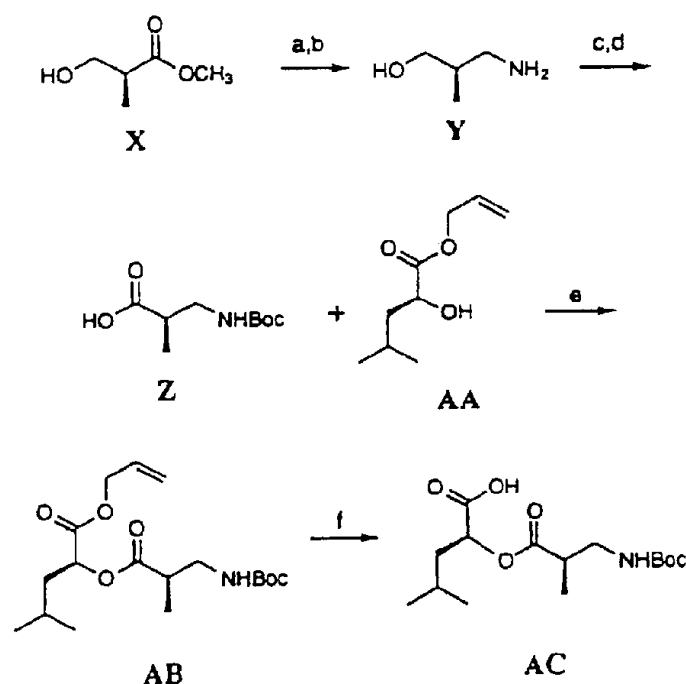
^aDCC, BMAP, CH₂Cl₂, 0°C-25°C, 84%; ^bZn, ТГФ, CH₃CO₂H, воздействие ультразвука, 25°C; ^cCF₃CO₂H чистый, 25°C, 91% (две стадии); ^dFDPP, DIEA, ДМФА, 25°C, 61%; ^em-CPBA, CH₂Cl₂, 0°C-25°C, 48%; ^fHCl, DME H₂O), 25°C, 95%.

Схема 5



(a) п-метоксибензилтрифенил фосфоний хлорид и n-BuLi, ТГФ, -78°C до 25°C, 80%; (b) LiOH, ацетон, 25°C, 81%; (c) FDPP, DIEA, соединение 1, ДМФА, 25°C, 72%; (d) CH₃CN, 49% водный HF(7:3), 25°C, 79%; (e) DCC, DMAP, соединение AC, CH₂Cl₂, 25°C, 90%; (f) Zn, HOAc, воздействие ультразвука, 25°C; (g) ТФУК не разбавленная, 25°C, (h) GDPP, DIEA, ДМФА, 25°C, 61%?

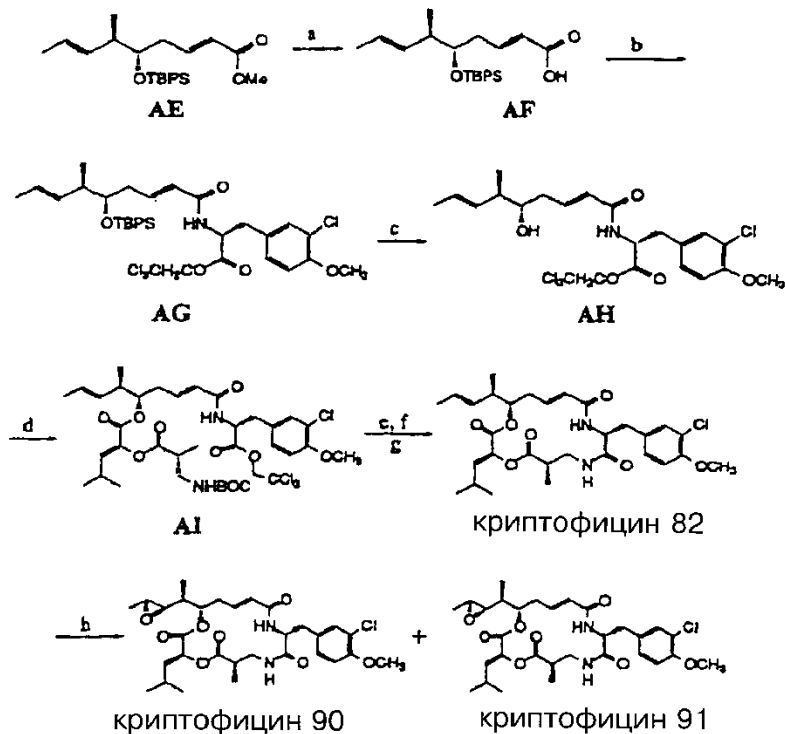
Схема 6



^aNH₃, CH₃OH, 50°C, отпаянная трубка 7d, 66%; ^bBH₃-ТГФ, ТГФ, 0°C- кипячение с обратным холодильником, 77%; ^c(Boc)₂O, Et₃N, CH₃OH, 25°C, 100%; ^dRuCl₃, NaIO₄, CCl₄, CH₃CN, H₂O, 25°C, 74%; ^eDMAP, DCC, CH₂Cl₂, 0°C-25°C, 92%; ТГФ, морфолин, Pd (PPh₃)₄, 25°C, 100%.

Схема 7

Фиг.12

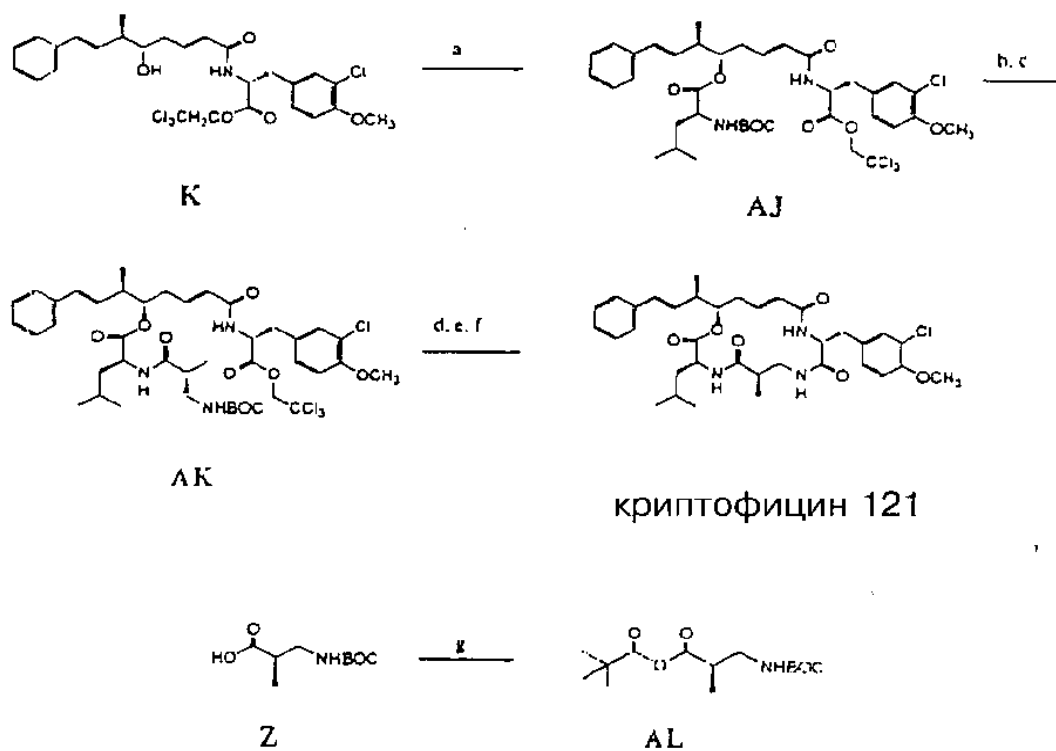


^aLiOH, ацетон, 25°C, 87%; ^bFDPP, DIEA, соединение 1, ДМФА, 25°C, 70%; ^cCH₃CN, 49% водный HF(7:3), 25°C, 92%; ^dDCC, DMAP, соединение AC, CH₂Cl₂, 25°C, 86%; ^eZn, HOAc, воздействие ультразвука, 25°C; ТФУК не разбавленная, 25°C; ^fFDPP, DIEA, ДМФА, 25°C, 60%; ^gmCPBA, CH₂Cl₂, 25°C.

Схема 8

Фиг.13





(а) BOC-L-лейциновый ангидрид, DMAP, ТГФ, 0 до 25°C, 96%; (b) ТФУК не разбавленная, 25°C; (с) соединение AL, DIEA, ТГФ, 0 до 25°C, 83% (две стадии); (d) Zn,HOAc, воздействие ультразвука, 25°C; (е) ТФУК не разбавленная, 25°C; (f)FDPP, DIEA, ДМФА, 25°C, 50% (три стадии); (g) DIEA, пивалоил хлорид, ТГФ, -15 до 25°C.

Схема 10