

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **29. 08. 97**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **30.08.96,
26.02.97, 03.03.97, 04.03.97**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **96/025816, 97/039113,
97/039530, 97/040029**

(33) Země priority: **US, US, US, US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **13. 10. 99**
(**Věstník č. 10/99**)

(86) PCT číslo: **PCT/US97/15240**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 98/08505**

(21) Číslo dokumentu:

645-99

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

C 07 D 291/02
C 07 D 285/00
C 07 D 273/08
A 61 K 31/395

(71) Přihlášovatel:

ELI LILLY AND COMPANY, Indianapolis, IN,
US;

WAYNE STATE UNIVERSITY, Detroit, MI,
US;

UNIVERSITY OF HAWAII, Honolulu, HI, US;

(72) Původce:

Al-Awar Rima Salim, Indianapolis, IN, US;

Ehlhardt William Joseph, Indianapolis, IN,
US;

Gottumukkala Subbaraju Venkata, Tirupati,
IN;

Martinelli Michael John, Zionsville, IN, US;

Moher Eric David, Indianapolis, IN, US;

Moore Richard Elliott, Honolulu, HI, US;

Munroe John Edwin, Indianapolis, IN, US;

Norman Bryan Hurst, Indianapolis, IN, US;

Patel Vinod Francis, Waltham, MA, US;

Shih Chuan, Carmel, IN, US;

Toth John Eldon, Indianapolis, IN, US;

Vasudevan Venkatraghavan, Indianapolis,
IN, US;

Ray James Edward, Indianapolis, IN, US;

(74) Zástupce:

Švorčík Otakar JUDr., Hálkova 2, Praha 2,
12000;

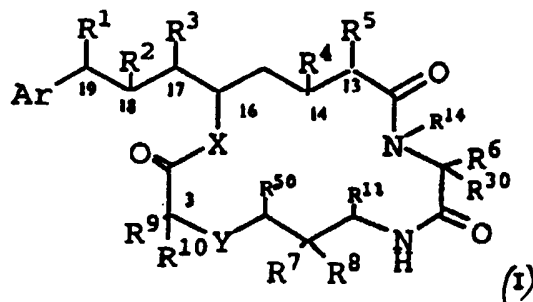
(54) Název přihlášky vynálezu:

Farmaceutické sloučeniny

(57) Anotace:

Řešení se týká nových kryptofycinových sloučenin obecného vzorce I, které mohou být používány pro rozrušení mikrotubulinového systému, jako antineoplastická činidla a pro léčbu rakoviny. Řešení se dále týká přípravků nové kryptofycinové sloučeniny. Sloučenina podle vynálezu má zvýšenou rozpustnost ve

vodě, stejně jako schopnost narušovat mikrotubulový systém.



Farmaceutické sloučeniny

Oblast techniky

Vynález se týká oblasti farmaceutických sloučenin a sloučenin organické chemie, zejména nových kryptofycinových sloučenin použitelných jako antimikrotubulová činidla.

Dosavadní stav techniky

Neoplastická onemocnění, charakterizovaná proliferací buněk, které nejsou podrobeny normální kontrole růstu buněk, jsou jednou z hlavních příčin smrti u člověka a dalších savců. Klinická zkušenost při rakovinové chemoterapii ukazuje, že jsou žádoucí nová a účinnější léčiva pro léčení těchto nemocí.

Mikrotubulový systém eukaryotní buňky je jednou z nejdůležitějších složek cytoskeletu a je v dynamickém skládání a rozkládání; což znamená, že heterodimery tubulinu polymerují a vytvářejí mikrotubulus. Mikrotubuly hrají klíčovou roli v regulaci stavby buňky, jejího metabolismu a dělení. Dynamický stav mikrotubulů je kritický pro normální funkci buňky. Vzhledem k dělení buněk tubulin polymeruje do mikrotubulů, které vytvářejí mitotické vřeténko.

Mikrotubuly potom depolymerují, když byl splněn účel mitotického vřeténka. Z tohoto důvodu činidla, která přerušují polymeraci nebo depolymeraci mikrotubulů a tím způsobují inhibici mitózy, patří mezi nejúčinnější

protirakovinná chemoterapeutická činidla v klinické praxi.

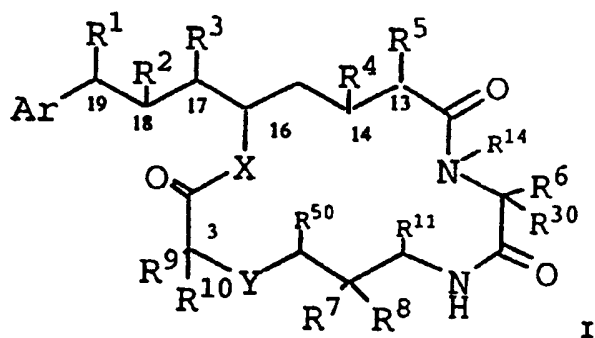
Kromě toho nárokové sloučeniny vykazují také fungicidní vlastnosti. Navíc mohou být činidla, která mají schopnost narušovat mikrotubulový systém, užitečná při výzkumu.

Jisté kryptofycinové sloučeniny jsou známy z literatury; nicméně kryptofycinové sloučeniny, které mají ještě větší rozpustnost a stabilitu jsou žádoucí pro většinu farmaceutických použití. Kromě toho širší škála kryptofycinových sloučenin může poskytnout další léčebné možnosti pro pacienty, trpící rakovinou. Přihlašovatelé nyní objevili nové sloučeniny, přinášející zvýšenou rozpustnost ve vodě, stejně tak jako sloučeniny mající schopnost narušovat mikrotubulový systém. Sloučeniny podle předloženého vynálezu je možno použít pro léčení neoplasmů. Takové sloučeniny mohou být připraveny použitím plně syntetických způsobů a proto jsou vhodné pro vytváření farmaceuticky použitelných přípravků.

Podstata vynálezu

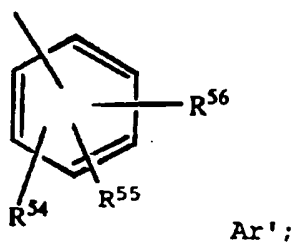
Vynález se týká nových kryptofycinových sloučenin obecného vzorce I

06.04.99



ve kterém

Ar je zvolen ze souboru, zahrnujícího fenyl, libovolnou jednoduchou nesubstituovanou aromatickou skupinu, jednoduchou substituovanou aromatickou skupinu, substituovanou heteroaromatickou skupinu, nesubstituovanou heteroaromatickou skupinu, heterocyklickou skupinu, skupiny C₁-C₁₂ alkyl, C₂-C₁₂ alkenyl, C₂-C₁₂ alkynyl, NR⁵¹R⁵², COR⁵², OR⁵³ a skupinu Ar' obecného vzorce

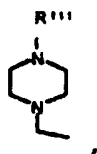


R⁵¹ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C₁-C₃ alkyl;

R⁵² je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C₁-C₃ alkyl;

R^{53} je zvolen ze souboru, zahrnujícího skupiny C_1-C_{12} alkyl;

R^{54} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, skupiny C_1-C_6 alkyl, C_1-C_6 alkyl(R^{57} $R^{57'}$ $R^{57''}$), jednoduchou nesubstituovanou aromatickou skupinu, jednoduchou substituovanou aromatickou skupinu, heterocyklickou skupinu, fenyl, atom halogenu, skupiny 4-(terc.-butyldimethylsiloxy)-benzyl-trifenylfosfonium, $COOR^{57}$, PO_3H , SO_3H , SO_2R^{58} , $N(R^{59})R^{60}$, $NHOR^{61}$, $NHCHR^{61'}$, CN , NO_2 , atom halogenu, skupiny OR^{62} , $CH_2(O)R^{62'}$, $-CH_2OC(O)R^{95}$, $CH_2N(R^{96})R^{96'}$, COR^{100} , $(C_1-C_6alkyl)OR^{100}$,



a SR^{63} ;

R^{95} je zvolen ze souboru, zahrnujícího skupinu $-R^{98}NH_3$;

R^{96} a $R^{96'}$ jsou nezávisle na sobě zvoleny ze souboru, který zahrnuje atom vodíku a skupiny C_1-C_6 alkyl, $-R^{97}NH_3$ a $-R^{99}NR^{99'}R^{99''}$;

R^{97} je zvolen ze souboru, zahrnujícího skupiny C_1-C_6 alkyl;

R^{98} je zvolen ze souboru, zahrnujícího skupiny C_1-C_6 alkyl;

R^{99} znamená skupinu C_1-C_6 alkyl;

$R^{99'}$ a $R^{99''}$ jsou nezávisle na sobě zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C_1-C_6 alkyl;

R^{100} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a Si ($R^{101}R^{102}R^{103}$) ;

R^{101} znamená skupinu C_1-C_6 alkyl;

- R¹⁰² znamená skupinu C₁-C₆ alkyl;
- R¹⁰³ znamená skupinu C₁-C₆ alkyl;
- R¹⁰⁴ je zvolen ze souboru, zahrnujícího skupiny C(O) C₁-C₆ alkyl N(R¹⁰⁶) (R⁵⁹)R⁶⁰, C(O)C₁-C₆ alkylN⁺, kondenzovanou bicyklickou skupinu a NHR¹⁰⁵N(R¹⁰⁶) (R⁵⁹)R⁶⁰;
- R¹⁰⁵ je zvolen ze souboru, zahrnujícího skupiny C(O)C₁-C₆ alkyl, C₁-C₆ alkyl;
- R¹⁰⁶ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, skupiny C₁-C₆ alkyl, C(O)OR¹⁰⁷;
- R¹⁰⁷ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, skupiny C₁-C₆ alkyl, CR¹⁰⁸R¹⁰⁹R¹¹⁰;
- R¹⁰⁸ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C₁-C₆ alkyl;
- R¹⁰⁹ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C₁-C₆ alkyl;
- R¹¹⁰ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C₁-C₆ alkyl;
- R¹¹¹ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, skupiny C₁-C₆ alkyl a C(O)OR¹⁰⁷
- R⁵⁵ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, skupiny C₁-C₆ alkyl, C(R^{57'}R^{57''}R^{57'''}), jednoduchou nesubstituovanou aromatickou skupinu, jednoduchou substituovanou aromatickou skupinu, skupiny fenyl, COOR⁵⁷, PO₃H, SO₃H, SO₂R⁵⁸, NR⁵⁹R⁶⁰, NHOR⁶¹, NHCHR^{61'}, CN, NO₂halogen, OR⁶² a SR⁶³;
- R⁵⁶ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, skupiny C₁-C₆ alkyl, C(R^{57'}R^{57''}R^{57'''}), jednoduchou nesubstituovanou aromatickou skupinu, jednoduchou substituovanou aromatickou skupinu, skupiny fenyl, COOR⁵⁷, PO₃H, SO₃H, SO₂R⁵⁸, NR⁵⁹R⁶⁰, NHOR⁶¹, NHCHR^{61'}, (C₁-C₆)alkylNR⁵⁹R⁶⁰, CN, NO₂, atom halogenu, skupiny OR¹⁰⁴,

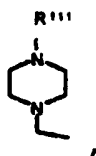
CR¹⁰⁴, OR⁶² a SR⁶³;

- R⁵⁷ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C₁-C₁₂ alkyl;
- R^{57'} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, atom halogenu a skupiny C₁-C₁₂ alkyl;
- R^{57''} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, atom halogenu a skupiny C₁-C₁₂ alkyl;
- R^{57'''} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, atom halogenu a skupiny C₁-C₁₂ alkyl;
- R⁵⁸ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C₁-C₁₂ alkyl;
- R⁵⁹ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, skupiny (C₁-C₆) alkyl, terc.-butoxykarbonyl, karbo-terc.-butoxy (t-BOC) a fluorenylmethoxykarbonyl (Fmoc) ;
- R⁶⁰ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny (C₁-C₆) alkyl;
- R⁶¹ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, skupiny OR⁶⁴, CH₂NHR⁶⁵, NHR^{65'} a fluorenylmethoxykarbonyl (Fmoc) ;
- R^{61'} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, skupiny OR⁶⁴, CH₂NHR⁶⁵, NHR^{65'} a fluorenylmethoxykarbonyl (Fmoc) ;
- R⁶² je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C₁-C₆ alkyl;
- R^{62'} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, skupiny OH, OR⁶² a C₁-C₆ alkyl;
- R⁶³ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C₁-C₆ alkyl;
- R⁶⁴ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, skupiny (C₁-C₆) alkyl, CH₂NR⁶⁶R⁶⁷;

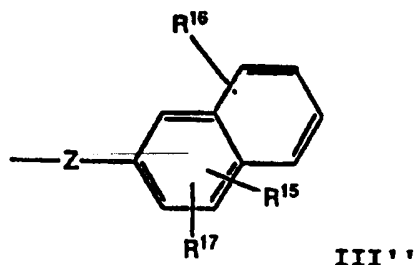
- R^{65} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C_1-C_6 alkyl, NH_2 a fluorenylmethoxykarbonyl (Fmoc);
- $R^{65'}$ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C_1-C_6 alkyl, NH_2 a fluorenylmethoxykarbonyl (Fmoc);
- R^{66} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C_1-C_6 alkyl a fluorenylmethoxykarbonyl (Fmoc);
- R^{67} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C_1-C_6 alkyl;
- R^1 a R^2 jsou nezávisle na sobě zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom halogenu, monalkylamino, dialkylamino, trialkylamonium, alkylthio, dialkylsulfonium, sulfát, fosfát, OR^{31} , SR^{31} , NR^{31} , OH, SH, NR^{92} , R^{93} , NR^{94} a NH_2 ;
- R^{92} , R^{93} a R^{94} jsou nezávisle na sobě zvoleny ze souboru, zahrnujícího skupiny C_1-C_6 alkyl;
za předpokladu, že jeden substituent, který je zvolen ze souboru zahrnujícího R^1 a R^2 , je zvolen ze souboru, zahrnujícího OR^{31} , SR^{31} , R^{31} , OH a SH; nebo
- R^1 a R^2 mohou dohromady vytvářet spolu s C-18 a C-19 epoxidový kruh, aziridinový kruh, episulfidový kruh, sulfátový kruh, cyklopropylový kruh nebo mono(C_1-C_6)alkyl-fosfátový kruh; nebo
- R^1 a R^2 mohou spolu vytvářet druhou vazbu mezi C-18 a C-19;
- R^3 znamená nižší alkylovou skupinu;
- R^4 znamená atom vodíku nebo skupinu OH;
- R^5 znamená atom vodíku nebo skupinu OH;
- R^4 a R^5 mohou spolu vytvářet druhou vazbu mezi C_{13} a C_{14} ;
- R^6 znamená substituent zvolený ze souboru, zahrnujícího skupiny benzyl, hydroxybenzyl, alkoxybenzyl,

06.04.99

halohydroxybenzyl, dihalohydroxybenzyl,
haloalkoxybenzyl, nebo dihaloalkoxybenzyl,
heteroaromatický B-kruh, substituovanou
heteroaromatickou skupinu, (C₁-C₆)alkylový B-kruh,
(C₃-C₈)cykloalkyl, substituovaný C₃-C₈ cykloalkyl,
substituovaný (C₁-C₆) alkyl, skupinu obecného vzorce
III'



a skupinu obecného vzorce III'':

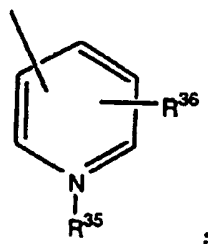


- R^7 je zvolen ze souboru, zahrnujícího skupiny $NR^{51}R^{52}$, $R^{53}NR^{51}R^{52}$, OR^{53} , atom vodíku a nižší alkylovou skupinu;
 R^{51} a R^{52} jsou nezávisle na sobě zvoleny ze souboru, zahrnujícího skupiny C₁-C₃ alkyl;
 R^{53} znamená skupinu C₁-C₃ alkyl;
 R_8 znamená atom vodíku nebo nižší alkylovou skupinu; nebo
 R^7 a R^8 mohou spolu vyvářet cyklopropylový kruh;
 R^9 je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, nižší alkylovou skupinu, nenasycený nižší alkyl, nižší

- alkyl-C₃-C₅ cykloalkyl a benzyl;
- R¹⁰ znamená atom vodíku nebo nižší alkylovou skupinu;
- R¹¹ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, OH, nižší alkylovou skupinu, substituovaný fenyl, benzyl, substituovaný benzyl a fenyl;
- R¹⁴ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a nižší alkyl;
- R¹⁵, R¹⁶ a R¹⁷ jsou nezávisle na sobě zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, skupinu OR¹⁸, atom halogenu, skupiny NR^{18'}R^{19'}, NO₂, OPO₃H₂, OR¹⁹fenyl, SCH₂fenyl, CONH₂, CO₂H, PO₃H₂, SO₂R²³ a ZZ;
- R¹⁸ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, skupiny aryl, C₁-C₆ alkyl, C(O)R⁹⁰ a fluorenylmethoxykarbonyl (Fmoc);
- R^{18'} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, skupiny (C₁-C₆)alkyl a C(O)R^{90'};
- R¹⁹ znamená skupiny C₁-C₆ alkyl, C(O)R^{90''} a fluorenylmethoxy-karbonyl (Fmoc) ;
- R^{19''} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, skupiny (C₁-C₆)alkyl a C(O)R^{90'''};
- R⁹⁰, R^{90'}, R^{90''} a R^{90'''} jsou nezávisle na sobě zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, skupiny (C₁-C₆)alkyl, OR⁹¹ a aryl;
- R^{91'} je zvolen ze souboru, zahrnujícího skupiny (C₁-C₆)alkyl, aryl a atom vodíku;
- R²³ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny (C₁-C₃) alkyl;
- R³⁰ znamená atom vodíku nebo skupiny C₁-C₆ alkyl; nebo
- R³⁰ může dohromady vytvářet spolu s dusíkovým atomem v poloze C-11 tří- až sedmičlenný cyklický kruh;
- R³¹ je zvolen ze souboru, zahrnujícího P, S, skupiny

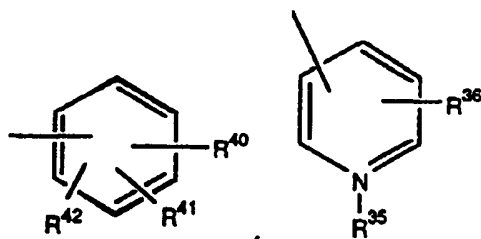
05.04.99

R^{32} (C_1 - C_{12}) alkyl, B, R^{32} a Si;
je zvolen ze souboru, zahrnujícího aminokyseliny, uhlovodíky, aminované cukry, (sacharid)_q, $C(O)R^{33}$ a



R^{33} je zvolen ze souboru, zahrnujícího skupiny $R^{37}R^{38}$, R^{38} , $R^{37}N(R^{20'})R^{38}$, $R^{37}N(R^{20'})(C_1-C_6)alkylC(O)R^{38}$, $R^{37}N(R^{20'})C(O)R^{38}$, $R^{37}O(C_1-C_6)alkylO(C_1-C_6)alkylO(C_1-C_6)alkylO(C_1-C_6)alkyl$ a $R^{37}(NR^{18'}R^{20'})R^{38}$;
 $R^{20'}$ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, skupiny C_1-C_6 alkyl a $-CO_2R^{21'}$;
 $R^{21'}$ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny $(C_1-C_6)alkyl$;
 R^{34} znamená skupinu (C_1-C_4) alkyl;
 R^{35} znamená atom vodíku nebo skupinu $(C_1-C_3)alkyl$;
 R^{36} znamená atom vodíku, OH, atom halogenu, skupiny $(C_1-C_3)alkyl$, OR^{34} , NO_2 , NH_2 a heteroaromatický kruh;
 R^{37} znamená skupinu $(C_1-C_6)alkyl$;
 R^{38} znamená skupinu $COOR^{39}$,

08.04.99



skupiny NH_2 , $(\text{NR}^{18'}\text{R}^{20'})$, heterocyklickou skupinu, heteroaromatickou skupinu, OH , $(\text{C}_1\text{-C}_6)\text{alkyl}$ a aminokyselinu;

R^{39} znamená atom vodíku nebo skupinu $(\text{C}_1\text{-C}_6)\text{alkyl}$;

R^{40} , R^{41} a R^{42} jsou nezávisle na sobě zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, skupinu OR^{43} , atom halogenu, skupiny NH_2 , NO_2 , $\text{OPO}(\text{OR}^{46})_2$, $-\text{OR}^{44}\text{fenyl}$ a R^{45} ;

R^{43} znamená skupinu $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl;

R^{44} znamená skupinu $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl;

R^{45} je zvolen ze souboru, zahrnujícího nesubstituovanou jednoduchou aromatickou skupinu a substituovanou jednoduchou aromatickou skupinu;

R^{46} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, Na , skupiny $(\text{C}_1\text{-C}_6)\text{alkyl}$ a $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$;

R^{50} znamená atom vodíku nebo skupinu



n se rovná 0, 1, nebo 2;

m se rovná 0, 1, nebo 2;

p se rovná 0, 1, nebo 2;

q se rovná 2, 3, nebo 4;

X je zvolen ze souboru, zahrnujícího O , C , S , skupiny NH

- a alkylamino;
- Y je zvolen ze souboru, zahrnujícího C, O, NH, S, SO, SO₂ a alkylamino;
- Z je zvolen ze souboru, zahrnujícího skupiny $-(CH_2)_n-$, $-(CH_2)_p-O-(CH_2)_m-$ a (C₃-C₅) cykloalkyl;
- ZZ je zvolen ze souboru, zahrnujícího jednoduchou nesubstituovanou aromatickou skupinu a jednoduchou substituovanou aromatickou skupinu; nebo

jejich farmaceuticky přijatelných solí nebo solvátů;

s podmínkou, že

jestliže R¹ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom halogenu, OH, OR³¹, SH, amino, monoalkylamino, dialkylamino, trialkylamino, trialkylamonium, alkylthio, dialkylsulfonium, sulfát a fosfát a R² je zvolen ze souboru, zahrnujícího skupiny OH, NH₂, NR³¹ a SH nebo R¹ a R² spolu vytvářejí epoxidový kruh, aziridinový kruh, episulfidový kruh, sulfátový kruh, cyklopropylový kruh nebo monoalkylfosfátový kruh, nebo R¹ a R² spolu vytvářejí druhou vazbu; R³ znamená nižší alkyl; R⁴ a R⁵ znamenají atom vodíku nebo R⁴ a R⁵ spolu vytvářejí dvojnou vazbu mezi C₁₃ a C₁₄; R⁶ znamená benzyl, hydroxybenzyl, alkoxybenzyl, halohydroxybenzyl, diahalohydroxybenzyl, halohydroxybenzyl, nebo dihalohydroxybenzyl; R⁷, R⁸, R⁹ a R¹⁰ jsou nezávisle na sobě atom vodíku nebo nižší alkylová skupina; a x a Y znamenají nezávisle na sobě skupiny O, NH nebo alkylamino a R⁵⁰ znamená



a R^{11} znamená atom vodíku;

potom Ar není zvolen ze souboru, zahrnujícího skupiny C_1-C_{12} alkyl, C_1-C_{12} alkinyl, fenyl, jednoduchou nesubstituovanou aromatickou skupinu, substituovanou aromatickou skupinu, nesubstituovanou heteroaromatickou skupinu a substituovanou heteroaromatickou skupinu; nebo

jestliže Ar je zvolen ze souboru, zahrnujícího skupiny C_1-C_{12} alkyl, C_1-C_{12} alkinyl, fenyl, jednoduchou nesubstituovanou aromatickou skupinu, substituovanou aromatickou skupinu, nesubstituovanou heteroaromatickou skupinu a substituovanou heteroaromatickou skupinu; a R^{50} znamená



a R^{11} znamená atom vodíku;

potom R^2 je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom halogenu, skupiny amino, monoalkylamino, dialkylamino, trialkylamonium, alkylthio, dialkylsulfonium, sulfát, fosfát, OR^{31} a S^{31} ; nebo

jestliže R^1 je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom halogenu, skupiny OH, OR^{31} , SH, amino, monoalkylamino, dialkylamino, trialkylamino, trialkylamonium, alkylthio, dialkylsulfonium, sulfát a fosfát a R^2 je zvolen ze souboru, zahrnujícího skupiny OH, NH_2 , NR^{31} a SH nebo R^1 a R^2 spolu vytvářejí epoxidový kruh, aziridinový kruh, episulfidový kruh, sulfátový kruh, cyklopropylový kruh nebo monoalkylfosfátový kruh, nebo R^1 a R^2 spolu vytvářejí druhou

05.04.99

vazbu a R^3 znamená nižší alkyl a R^4 znamená atom vodíku a R^5 znamená atom vodíku a R^{50} znamená atom vodíku a R^{11} znamená atom vodíku;

potom Ar není zvolen ze souboru, zahrnujícího skupiny C_1-C_{12} alkyl, C_1-C_{12} alkynyl, fenyl, jednoduchou nesubstituovanou aromatickou skupinu, substituovanou aromatickou skupinu a heteroaromatickou skupinu; nebo

jestliže R^1 je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom halogenu, skupiny OH, OR^{31} , SH, amino, monoalkylamino, dialkylamino, trialkylamino, trialkylamonium, alkylthio, dialkylsulfonium, sulfát a fosfát a R^2 je zvolen ze souboru, zahrnujícího skupiny OH, NH_2 , NR^{31} a SH nebo R^1 a R^2 spolu vytvářejí epoxidový kruh, aziridinový kruh, episulfidový kruh, sulfátový kruh, cyklopropylový kruh nebo monoalkylfosfátový kruh, nebo R^1 a R^2 spolu vytvářejí druhou vazbu a R^3 znamená nižší alkyl a R^4 znamená atom vodíku a R^5 znamená atom vodíku a R^{50} znamená atom vodíku a R^{11} znamená atom vodíku; nebo R^{50} je zvolen ze souboru, zahrnujícího



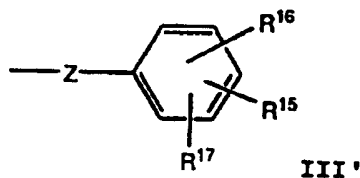
a atom vodíku; a R^{11} je zvolen ze souboru, zahrnujícího skupinu OH, nižší alkylovou skupinu, substituovaný fenyl, benzyl, substituovaný benzyl a fenyl;

potom Ar není zvolen ze souboru, zahrnujícího skupiny C_1-C_{12} alkyl, C_1-C_{12} alkynyl, fenyl, jednoduchou nesubstituovanou aromatickou skupinu, substituovanou aromatickou skupinu, substituovanou heteroaromatickou skupinu a nesubstituovanou heteroaromatickou skupinu; nebo

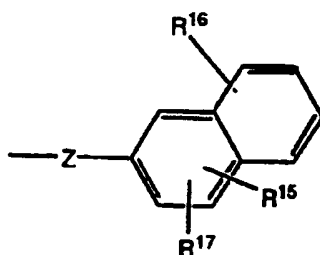
jestliže R^3 znamená nižší alkyl; R^4 a R^5 znamenají atom vodíku nebo R^4 a R^5 spolu dohromady vytvářejí dvojitou vazbu mezi C_{13} a C_{14} ; R_6 skupinu znamená benzyl, hydroxybenzyl, alkoxybenzyl, halohydroxybenzyl, dihalohydroxybenzyl, halohydroxybenzyl, nebo dihalohydroxybenzyl; R^7 , R^8 , R^9 a R^{10} jsou nezávisle na sobě atom vodíku nebo nižší alkylová skupina; a x a Y jsou nezávisle na sobě skupiny O, NH nebo alkylamino; a Ar je skupina obecného vzorce Ar' a jeden z R^{54} , R^{55} , R^{56} je zvolen ze souboru, zahrnujícího alkyl nebo atom halogenu; a R^1 a R^2 mohou spolu vytvářet epoxidový kruh, aziridinový kruh, episulfidový kruh, sulfátový kruh, cyklopropylový kruh nebo monoalkylfosfátový kruh; nebo R^1 a R^2 mohou spolu vytvářet druhou vazbu mezi C_{18} a C_{19} ; nebo R^2 je zvolen ze souboru, zahrnujícího skupiny OH a SH; potom alespoň dva z R^{54} , R^{55} a R^{56} musí být zvoleny ze souboru, zahrnujícího skupiny C_1 - C_6 alkyl, jednoduchou aromatickou skupinu, skupiny fenyl, $COOR^{57}$, PO_3H , SO_3H , SO_2R^{58} , $NR^{59}R^{60}$, $NHOR^{61}$, $NHCHR^{61'}$, CN, NO_2 , atom halogenu, OR^{62} a SR^{63} ; nebo

jestliže R^3 znamená nižší alkyl; R^4 a R^5 znamenají atom vodíku nebo R^4 a R^5 spolu dohromady vytvářejí dvojitou vazbu mezi C_{13} a C_{14} ; R_6 znamená heteroaromatický B-kruh, substituovanou heteroaromatickou skupinu, (C_1-C_6) alkylový B-kruh, (C_3-C_8) cykloalkyl, substituovaný C_3-C_8 cykloalkyl, substituovaný (C_1-C_6) alkyl, skupinu obecného vzorce III'

05.04.99



a skupinu obecného vzorce III''



a x a Y jsou nezávisle na sobě O, NH nebo alkylamino;
 potom Ar není zvolen ze souboru, zahrnujícího skupinu fenyl
 nebo libovolnou jednoduchou nesubstituovanou nebo
 substituovanou aromatickou nebo heteroaromatickou skupinu,
 C₁-C₁₂ alkyl a C₁-C₁₂ alkinyl.

Předložený vynález se týká farmaceutických přípravků,
 způsobu rozrušení mikrotubulového systému použitím účinného
 množství sloučenin obecného vzorce I, způsobu inhibice
 proliferace savčích buněk, zahrnujícího podávání účinného
 množství sloučenin obecného vzorce I a způsobu léčení
 neoplasie u savce, zahrnující podávání účinného množství
 sloučeniny obecného vzorce I. Vynález se také týká způsobu
 zvládání mykotické infekce, zahrnující podávání zvířeti,
 které je infikováno nebo ohroženo infekcí houbou,

antifungálně účinného množství sloučenin obecného vzorce I.

Jak je zde používán, výraz „jednoduchý alkyl“ znamená C_1-C_7 alkylovou skupinu, přičemž alkylová skupina může být nasycená, nenasyčená a mít rozvětvený nebo přímý řetězec. Příklady zahrnují, aniž by tím byly jakýmkoliv způsobem omezeny, skupiny methyl, ethyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, propenyl, ethenyl, sek.-butyl, n-pentyl, isobutyl, terc.-butyl, sek.-butyl, methylované butylové skupiny, pentyl, terc.-pentyl, sek.-pentyl, methylované pentylové skupiny a podobně. Výraz „alkenyl“ znamená alkylovou skupinu, jak byla definována výše, která má od jedné do tří dvojných vazeb. Výraz „alkinyl“ znamená alkylovou skupinu, jak byla definována výše, která má alespoň jednu trojnou vazbu. Obzvláště výhodné jsou alkinily, které mají jedinou trojnou vazbu. Výraz C_1-C_n alkyl; ve kterém n je celé číslo v rozmezí od 2 do 12 znamená alkylovou skupinu, která má od jednoho do uvedeného počtu uhlíkových atomů. C_1-C_n alkyl může mít přímý nebo rozvětvený řetězec.

Jak je zde používán, výraz „ (C_1-C_6) alkylový B-kruh“ znamená nasycený a nenasyčený alkyl s rozvětveným a přímým řetězcem, ve kterém (C_1-C_6) alkylový B-kruh může zahrnovat až tři (3) neuhlíkové substituenty. Takové neuhlíkové substituenty jsou nejvýhodněji zvoleny ze souboru, zahrnujícího OH, SCH_2 fenyl, NH_2 , CO, $CONH_2$, CO_2H , PO_3H_2 , SO_2R^{21} , kde R^{21} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C_1-C_3 alkyl.

Tak jak je zde používán, výraz „aminokyselina“ znamená organickou kyselinu, obsahující aminovou skupinu. Výraz zahrnuje jak přirozeně se vyskytující, tak i syntetické

aminokyseliny, a pronaminová skupina může, ale nemusí, být vázána k atomu uhlíku, sousedícímu s karboxy skupinu. Aminokyselinový substituent je vázán k základní molekule funkční skupinou organické kyseliny.

Jak je zde používán, výraz „uhlovodík“ znamená třídu substituentů skládajících se z uhlíku, vodíku a kyslíku, ve kterých počty atomů vodíku a atomů kyslíku jsou ve stejném poměru jako ve vodě nebo blízké tomuto poměru. Výraz „uhlovodík“ dále znamená aldehydový nebo ketonový alkohol nebo sloučeninu, která při hydrolýze dává aldehyd nebo keton. Výraz „uhlovodík“ je používán tak, jak je běžně chápán odborníkem v oboru. Výraz například znamená, aniž by tím byl jakýmkoli způsobem omezen, $C_{12}H_{22}O_{11}$ a $C_6H_{10}O_5$.

Jak je zde používán, výraz „aminovaný cukr“ znamená uhlovodíkovou skupinu, obsahující od jednoho do tří aminových substituentů v libovolné možné poloze na molekule uhlovodíku.

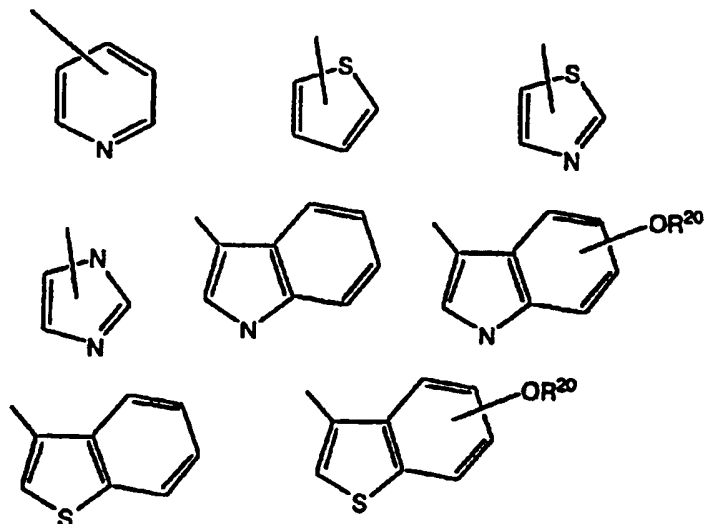
Jak je zde používán, výraz „sacharid“ znamená uhlovodíkovou podjednotku, která vytváří disacharidy nebo polysacharidy. Výraz znamená například, aniž by tím byl jakkoli omezen, laktózu, maltózu, sacharózu, fruktózu, škrob a podobně.

Jak je zde používán, výraz „substituovaný fenyl“ znamená fenylovou skupinu, obsahující od jednoho do tří nevodíkových substituentů, které mohou být nezávisle zvoleny ze souboru, zahrnujícího jednoduchou alkylovou skupinu a atomy chlóru, brómu, fluóru a jódu.

Jak je zde používán, výraz „substituovaný benzylyl“ znamená benzylyl skupina, obsahující od jednoho do tří nevodíkových substituentů které mohou být nezávisle zvoleny ze souboru, zahrnujícího jednoduchou alkylovou skupinu a atomy chlóru, brómu, fluóru a jódu, přičemž tyto substituenty mohou být vázány na libovolný možný uhlíkový atom. Některé výhodné substituované benzylyly již byly popsány. Jak je zde používán, výraz „alkoxybenzylyl“ znamená benzylovou skupinu, nesoucí alkoxy substituent v libovolné možné poloze na benzylovém kruhu. Alkoxylová skupina je nejvýhodněji $-(C_1-C_3)alkyl$. Obzvláště výhodná je skupina m. Stejně tak výraz „haloalkoxybenzylyl“ znamená benzylovou skupinu, která má kromě alkoxy substituentu ještě halogenový substituent. Každý atom halogenu nebo alkoxy skupina jsou vázány k libovolnému možnému atomu uhlíku. Podobně „halohydroxybenzylyl“ znamená benzylyl, substituovaný hydroxy skupinou, který také nese halogenový substituent, vázaný k libovolnému možnému atomu uhlíku na benzylovém kruhu. Nakonec výraz „dihaloalkoxybenzylyl“ znamená benzylyl, substituovaný alkoxy skupinou, který navíc nese dva halogenové substituenty, které jsou nezávisle vázány k libovolnému možnému atomu uhlíku na benzylovém kruhu.

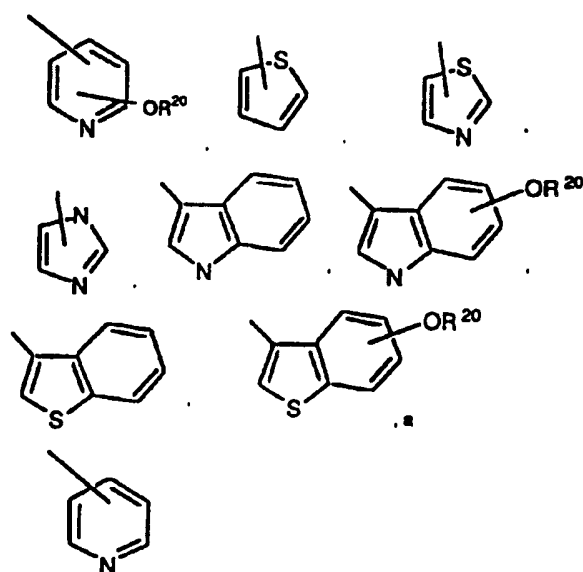
Jak je zde používán, výraz „heteroaromatický B-kruh“ znamená aromatické kruhy, které obsahují jeden nebo více neuhlíkových substituentů, zvolených ze souboru, zahrnujícího atom kyslíku, atom dusíku a atom síry. Obzvláště výhodné heterocyklické B-kruhy jsou zvoleny, aniž by tím byly jakýmkoli způsobem omezeny, ze souboru, zahrnujícího:

05.04.99



kde R^{20} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C_1-C_6 alkyl.

Obzvláště výhodné „heteroaromatické B-kruhy“ jsou substituenty, zvolené ze souboru, zahrnujícího:



„Substituovaná aromatická skupina“ znamená skupinu substituovanou od jednoho do tří substituentů, zvolených ze souboru, zahrnujícího jednoduchou alkylovou skupinu a atom halogenu.

Jak je zde užíván, výraz „cykloalkyl“ znamená nasycenou C_3-C_8 cykloalkylovou skupinu, kde taková skupina může zahrnovat až tři substituenty, zvolené ze souboru, zahrnujícího C_1-C_3 alkyl, atom halogenu a OR^{22} , kde substituent R^{22} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C_1-C_3 alkyl. Takové substituenty mohou být vázány na libovolný možný uhlíkový atom. Obzvláště výhodně cykloalkyl znamená substituovaný nebo nesubstituovaný cyklohexyl.

Jak je zde užíván, výraz „nižší alkoxylová skupina“ znamená libovolnou alkylovou skupinu s jedním až pěti uhlíkovými atomy, vázanou k atomu kyslíku. Jak je zde užíván, výraz „nižší alkylová skupina“ znamená alkylovou skupinu s jedním až šesti atomy uhlíku a zahrnuje přímé a rozvětvené uhlovodíkové řetězce, zahrnující například, aniž by tím byly omezeny, methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl, terc.-butyl, sek.-butyl, methylované butylové skupiny, pentyl, terc.-pentyl, sek.-pentyl a methylované pentylové skupiny. Jak je zde používán, výraz „nenasycený nižší alkylová skupina“ a „nasycená nižší alkylová skupinu“ mají význam, který odborník obvykle spojuje s termíny nenasycený a nasycený. Výraz „nižší alkyl“ znamená jak nasycené, tak i nenasycené nižší alkylové skupiny. (Například nasycená skupina nemá žádné dvojné nebo trojné vazby). Jak je zde užíván, výraz „allylově substituovaný alken“ znamená

libovolnou alkenovou skupinu, která má od dvou do sedmi uhlíkové atomy, která na sobě nese alkylový substituent.

Jak je zde užíván, výraz „epoxidový kruh“ znamená tříčlenný kruh, jehož základna sestává ze dvou uhlíkových atomů a z atomu kyslíku. Jak je zde užíván, výraz, „aziridinový kruh“ znamená tříčlenný kruh, jehož základna sestává ze dvou uhlíkových atomů a z atomu dusíku. Jak je zde užíván, výraz „sulfidový kruh“ znamená tříčlenný kruh, jehož základna sestává ze dvou uhlíkových atomů a z atomu síry. Jak je zde užíván, výraz „episulfidový kruh“ znamená tříčlenný kruh, jehož základna sestává ze dvou uhlíků a z atomu síry. Jak je zde užíván, výraz „sulfátová skupina“ znamená pětičlenný kruh, sestávající ze základny tvořené atomy uhlík-uhlík-kyslík-síra-kyslík se dvěma dodatečnými atomy kyslíku, vázanými k atomu síry. Jak je zde užíván, výraz, „monoalkylfosfátový kruh“ znamená pětičlenný kruh, sestávající ze základny tvořené atomy uhlík-uhlík-kyslík-fosfor-kyslík se dvěma dodatečnými atomy kyslíku, z nichž jeden nese nižší alkylovou skupinu, vázanou k atomu fosforu.

Jak je zde užíván, výraz, „jednoduchá nesubstituovaná aromatická skupina“ znamená obvyklý systém aromatických kruhů, který má $4n+2$ elektronů v monocyklickém nebo bicyklickém konjugovaném systému, například, aniž by tím byly omezeny: furyl, pyrrolyl, thienyl, pyridyl a podobně, nebo bicyklický konjugovaný systém, například, aniž by tím byly omezen, indolyl nebo naftyl.

Jak je zde užíván, výraz „jednoduchá substituovaná aromatická skupina“ znamená jednoduchý aromatický kruh,

substituovaný jedinou skupinou, zvolenou ze souboru, zahrnujícího atom halogenu a nižší alkylovou skupinu.

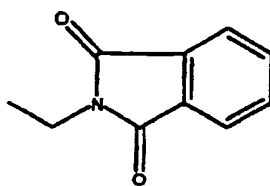
Jak je zde užíván, výraz, „heteroaromatický“ znamená aromatické kruhy, které obsahují jeden nebo více neuhlíkových atomů zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom kyslíku, atom dusíku a atom síry. Nejvýhodnější heteroaromatické kruhy mají od tří do osmi členů v kruhu. Obzvláště výhodná skupina heteroaromatických kruhů má od tří do šesti členů. Mimořádně výhodně má heteroaromatická skupina od jednoho do tří neuhlíkových atomů v kruhu. Pětičlenný kruh obsahující atom kyslíku je jednou z výhodných heteroaromatických skupin; výraz však není v žádném případě omezen jen na tuto skupinu.

Jak je zde užíván, výraz „heterocyklický“ znamená cyklické kruhy, které obsahují jeden nebo více neuhlíkových atomů, zvolených ze souboru, zahrnujícího atom kyslíku, atom dusíku a atom síry. Heterocyklické kruhy mohou být nasycené nebo nenasyčené. Heterocyklické kruhy mohou dále být navzájem kondenzovány a vytvářet bicyklický nebo tricyklický systém. Například, aniž by tím byly omezeny, mohou představovat pětičlenný kruh, který má dvě dvojně vazby nebo pětičlenný kruh, který má jednu dvojnou vazbu. Heterocyklické kruhy mohou být nesubstituované nebo mohou nést od jednoho do tří substituentů, zvolených ze souboru, zahrnujícího C_1-C_6 alkyl, karbonyl, atom halogenu a OR^{62} . Nejvýhodnější heterocyklické kruhy mají od tří do osmi členů v kruhu. Obzvláště výhodná skupina heterocyklických kruhů má od tří do šesti členů. Heterocyklická skupina má obzvláště výhodně od jednoho do tří neuhlíkových atomů. Jeden výhodný heterocyklický kruh je

05.04.99

pětičlenný kruh, obsahující jeden atom dusíku, jeden atom síry, jeden methylový substituent a dvě dvojné vazby.

Výhodné heterocyklické skupiny zahrnují, aniž by tím byly omezeny:



„Substituovaná heteroaromatická skupina“ znamená skupinu substituovanou od jednoho do tří substituenty, zvolenými ze souboru zahrnující jednoduchou alkylovou skupinu a atom halogenu.

Jak je zde užíván, výraz, „atom halogenu“ nebo „halo“ představuje ty členy skupiny periodické tabulky prvků, které jsou historicky známy jako halogeny. Způsoby halogenace zahrnují, aniž by tím byly omezeny, adici halogenidů vodíku, substituce při vysoké teplotě, fotohalogenaci, a podobně a takové způsoby jsou známy odborníkům v oboru. Obzvláště výhodné halogeny zahrnují, aniž by tím byly jakýmkoliv způsobem omezeny, chlór, fluór a bróm.

Jak je zde používán, výraz „aryl“ má význam, pod kterým jej běžně chápe odborník. Výraz tedy znamená organický radikál, odvozený od aromatického uhlovodíku odebráním jednoho atomu vodíku. Například, aniž by tím byly omezeny, znamená fenyl, tolyl, salicyl a podobně.

Jak je zde používán, výraz „savec“ znamená třídu Mammalia vyšších obratlovců. Výraz „zvíře“ zahrnuje, aniž by tím byl omezen, savce, plazy, obojživelníky a ryby. Výraz „savec“ zahrnuje, aniž by tím byly omezen, člověka. Výraz „léčení“, jak je zde užíván, zahrnuje profylaxi pojmenovaných stavů nebo zlepšení nebo odstranění stavu, pokud již k němu došlo. Kryptofycinové sloučeniny, nárokované v této přihlášce vynálezu, jsou použitelné pro použití ve veterinární medicíně stejně tak jako pro léčení člověka.

Pokud požadovaný substituent R^6 v sloučenině obsahuje aminu, pak aminový substituent skupiny R^6 musí být chráněn použitím aminové ochranné skupiny. Odborník může snadno zvolit vhodnou aminovou ochrannou skupinu s využitím standardní literatury, která zahrnuje například monografie „Protective Groups in Organic Chemistry“, Plenum Press, (London a New York, 1973); a Greene, T.W. „Protecting Groups in Organic Synthesis“, Wiley (New York, 1981).

Jak je zde používán, výraz „derivatizace“ znamená standardní chemické transformace známé odborníkům, které umožní získat požadovanou sloučeninu podle předloženého vynálezu.

Způsoby přípravy, nárokované v této přihlášce vynálezu, podávání způsoby plně syntetické přípravy kryptofycinových sloučenin. Je vhodné, aby na kryptofycinovou molekulu byly cyklizovány komerčně dostupné aminokyseliny.

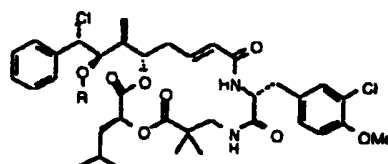
Mnoho ze známých kryptofycinových sloučenin má slibný protinádorový účinek; špatná rozpustnost ve vodě však může

přinášet problémy při intravenózním podávání léčiva. Takové problémy se vztahují k použití rozpouštěcího povrchově aktivního činidla, jako je Cremofor, které může mít vlastní toxicitu. Předložený vynález se týká nových kryptofycinových sloučenin, které mají protinádorový účinek a současně s tím vyšší rozpustnost ve vodě. Takové sloučeniny mají požadované vlastnosti, týkající se rozpustnosti a současně přijatelnou účinnost.

Způsoby přípravy sloučenin podle předloženého vynálezu jsou nejvýhodněji prováděny v přítomnosti rozpouštědla. Zručný odborník může zvolit vhodná rozpouštědla použitím standardních metodologií. Vhodná inertní organická rozpouštědla zahrnují ta, která jsou známa odborníkům, například, aniž by tím byly omezeny, tetrahydrofuran (THF) a dimethylformamid (DMF). DMF je obzvláště výhodný. Vodná rozpouštědla mohou být vhodná pro některé způsoby, používané podle předloženého vynálezu. pH takových vodných rozpouštědel může být požadovaným způsobem upraveno pro usnadnění přípravy.

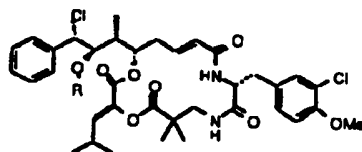
Některé typické sloučeniny podle předloženého vynálezu jsou popsány ve formě tabulky; takovýto seznam sloučenin však nemá za cíl omezit jakýmkoli způsobem rozsah předloženého vynálezu.

Tabulka 1



Sloučenina	R	Sloučenina	R
3		13	
4		14	
5		15	
6		16	
7		17	
8		18	
9		19	
10		20	
11		21	
12		22	
		25	
		26	

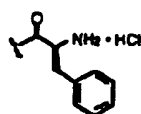
06.04.99



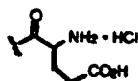
Sloučenina

R

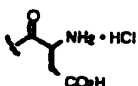
27



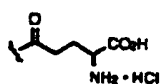
28



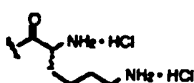
29



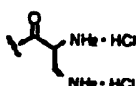
30



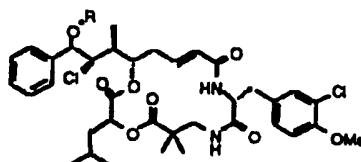
31



32

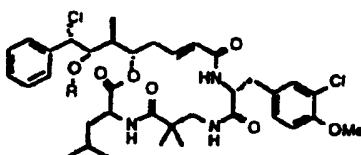


Další výhodně sloučeniny jsou například, aniž by tím byly omezeny, sloučeniny, uvedené v Tabulce I, ve které jsou uvažovány polohy sousedních skupin Cl a OR. Například tytéž R substituenty jako uvedené výše, přičemž základní struktura je následující:



Další zajímavé sloučeniny jsou ty, které jsou uvedeny v Tabulce I; avšak Ar představuje Ar' namísto fenylové skupiny a R^{54} znamená OCH_3 v para poloze Ar', zatímco R^{55} a R^{56} znamenají každý atom vodíku .

Další zajímavé sloučeniny jsou stejné, jako je uvedeno v Tabulce I; NH skupina však nahrazuje O v poloze Y molekuly. Například jedna sloučenina v tomto souboru je:



Další výhodné sloučeniny jsou například, aniž by tím byly omezeny, sloučeniny uvedené výše v Tabulce I stejně tak jako sloučeniny uvedené v sousedních substituentech Cl a OR; kde každá uvedená sloučenina má jedinou methylovou skupinu namísto gem dimethylové skupiny v poloze 6 kryptofycinového kruhu. Viz například 23 uvedená níže.

Obzvláště výhodné sloučeniny podle předloženého vynálezu mají dimethylovou skupinu v poloze 6 kryptofycinového kruhu.

Výhodná sloučenina podle předloženého vynálezu je uvedena v Tabulce I, kde Ar představuje Ar'; pouze jeden ze substituentů R^{54} , R^{55} , R^{56} je OCH_3 ; R^9 a R_{10} znamenají oba methyl.

Ve způsobech výroby sloučenin podle předloženého vynálezu jsou používány obecně známá silylační činidla. Viz například Calvin, E.W., „Silicon Reagents in Organic Synthesis“, Academic Press, (London, 1988). Obzvláště užitečná silylační činidla zahrnují skupiny „tri(nižší alkyl)silyl“, což je výraz, který zahrnuje triisopropylsilyl, trimethylsilyl a triethylsilyl, trimethylsilyl halogenidy, silylované močoviny jako je bis(trimethylsilyl)močovina (BSU) a silylované amidy jako je N,O-bis(trimethylsilyl)acetamid (BSA). Z těchto činidel je preferováno BSA.

Některé výhodné charakteristiky předloženého vynálezu jsou uvedeny v následujícím seznamu, kde možnosti mohou být nezávisle zvoleny pro určení výhodného provedení předloženého vynálezu. Předložený vynález však není jakýmkoli způsobem omezen následujícími příklady:

- A) R^8 znamená ethyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl nebo isopentyl;
- B) R^7 znamená ethyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl, pentyl, nebo isopentyl;
- C) R^7 znamená atom vodíku, R^8 znamená methyl, R^3 znamená methyl a x a Y nejsou oba 0;
- D) R^3 znamená ethyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl, pentyl nebo isopentyl;
- E) R^9 znamená methyl, ethyl, propyl, butyl, isobutyl, pentyl, nebo isopentyl;
- F) R^{10} znamená methyl, ethyl, propyl, butyl, isobutyl, pentyl, nebo isopentyl;
- G) kryptofycinová sloučenina, ve které alespoň jedna ze skupin, zvolených ze souboru, zahrnujícího C-3, C-6, C-7,

C-10, C-16, C-17 a C-18 má R stereochemickou konfiguraci (přičemž je použito číslování podané v obecném vzorci I uvedeném výše);

H) kryptofycinová sloučenina, ve které alespoň jedna ze skupin, zvolených ze souboru, zahrnujícího C-3, C-6, C-7, C-10, C-16, C-17 a C-18 má S stereochemickou konfiguraci (přičemž je použito číslování podané v obecném vzorci I uvedeném výše);

I) Ar' znamená fenyl se substituentem, zvoleným ze souboru, zahrnujícího $\text{NR}^{59}\text{R}^{60}$, NHOR^{61} a $\text{NHCHR}^{61'}$;

J) sloučenina, ve které Y je zvolen ze souboru, zahrnujícího alkylamino, NH a O;

K) sloučenina, ve které Y znamená O, R^7 a R^{10} znamenají atom vodíku; R^9 znamená nižší alkyl; a R^1 znamená halo;

L) R^7 , R^8 znamenají každý methyl;

M) R^7 znamená atom vodíku;

N) R^2 znamená glycinát;

O) R^2 znamená acylát;

P) R^1 a R^2 vytvářejí epoxidový kruh;

Q) R^6 je zvolen ze souboru, zahrnujícího benzyl, hydroxybenzyl, alkoxybenzyl, halohydroxybenzyl, dihalohydroxybenzyl, halohydroxybenzyl a dihalohydroxybenzyl;

R) R^4 a R^5 vytvářejí dvojnou vazbu;

S) n se rovná 0; R^6 je substituovaný benzyl, jehož jeden substituent je atom halogenu a ne je skupina OR^{12} , kde R^{12} je nižší alkyl;

T) sloučenina obecného vzorce I je použita pro rozrušení mikrotubulového systému;

U) sloučenina obecného vzorce I je použita jako antineoplastické činidlo;

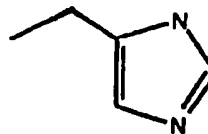
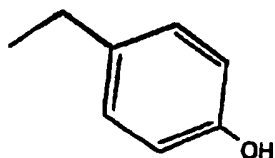
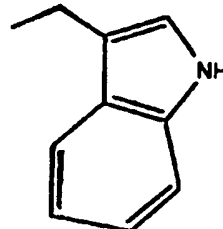
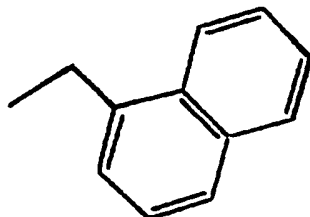
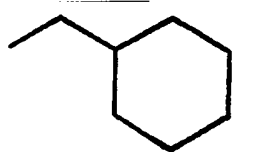
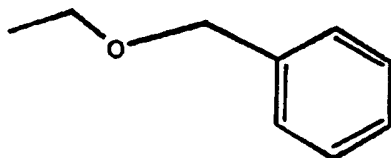
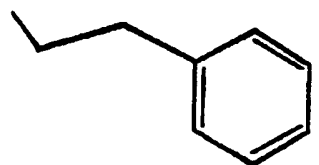
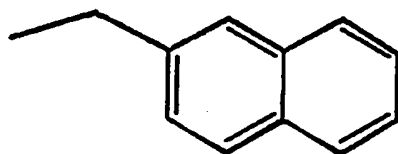
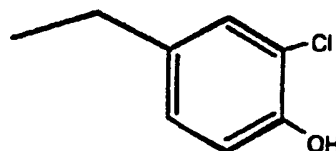
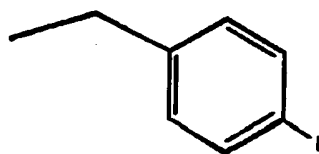
08.04.99

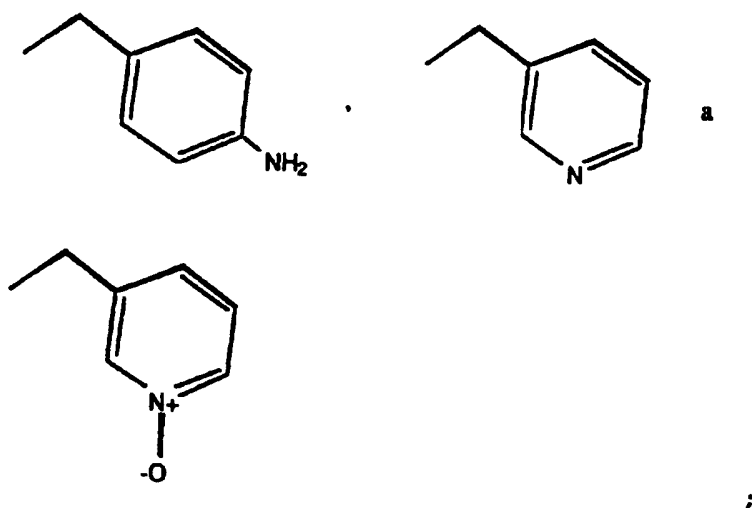
V) sloučenina obecného vzorce I je použita pro léčení rakoviny u savce;

W) sloučenina obecného vzorce I je použita jako antifungální činidlo;

X) R^6 má obecný vzorec III' a je hydroxy substituovaný v poloze para;

R^6 je zvolen ze souboru, zahrnujícího





Z) Z znamená $-(CH_2)_n-$, kde n se rovná 0;

AA) Z znamená $-(CH_2)_n-$, kde n se rovná 2;

BB) Z znamená $-(CH_2)_n-$, kde n se rovná 1;

CC) alespoň jeden ze substituentů R^{15} , R^{16} a R^{17} je zvolen ze souboru, zahrnujícího SCH_2 fenyl, NH_2 , CO , $CONH_2$, CO_2H , PO_3H_2 a SO_2R^{21} ; kde R^{21} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C_1-C_3 alkyl;

DD) Ar znamená fenyl;

EE) Ar znamená fenyl substituovaný jedním nebo dvěma substituenty, zvolenými ze souboru, zahrnujícího skupiny OH , OCH_3 , atom halogenu a methyl;

FF) R^2 je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom halogenu, skupiny amino, monoalkylamino, dialkylamino, trialkylamonium, alkylthio, dialkylsulfonium, sulfát, fosfát, $OR^{31}R^{32}$ a $SR^{31}R^{32}$

GG) R^6 má Z, ve kterém první uhlíkový atom skupiny Z je

06.04.99



vzhledem k místu vazby ke kryptofycinové molekule;

sloučenina obecného vzorce I je použita pro léčení fungální infekce;

II) R^{50} znamená



JJ) R^{11} znamená atom vodíku;

KK) R^4 a R^5 znamenají každý atom vodíku;

LL) Ar znamená fenyl, substituovaný ethylem v poloze para;

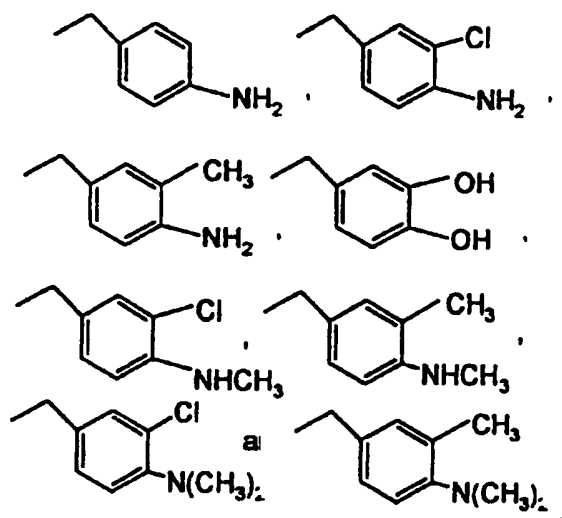
MM) Ar znamená fenyl, substituovaný methylem v poloze para;

NN) Y znamená NH;

OO) R^3 znamená methyl;

PP) R^6 je zvolen ze souboru, zahrnujícího:

06.04.99



Předložený vynález se týká způsobu ulehčení patologického stavu, způsobeného hyperproliferací savčí buňky, zahrnující podávání subjektu účinného množství farmaceutické nebo veterinární komposice, popsané v předložené přihlášce vynálezu, pro inhibici proliferace buněk. Ve výhodném provedení předloženého vynálezu tento způsob dále zahrnuje podávání subjektu alespoň jedné další terapie, zaměřené na zmírnění patologického stavu. Ve výhodném provedení předloženého vynálezu je patologický stav charakterizován tvorbou neoplasmů.

V dalším výhodném provedení předloženého vynálezu patří neoplasmus do souboru, zahrnujícího neoplasmus prsní žlázy, plic, trakčníku, leukemii, melanom, pankreatický adenokarcinom, neoplasmus centrálního nervového systému (CNS), vaječníků, prostaty, sarkom měkké tkáně nebo kosti, hlavy a krku, gastrický neoplasmus, zahrnující neoplasmus slinivky břišní a jícnu, žaludku, kostní dřeně, měchýře, neoplasmus renální, neuroendokrinní, který zahrnuje štítnou

žlázu a ne-Hodgkinsovu nemoc a Hodgkinsovu nemoc.

Jak je zde užíván, výraz „neoplastický“ znamená neoplasmus, který má abnormální růst, jako je růst, ke kterému dochází v důsledku proliferace buněk, které nejsou vystaveny obvyklým omezením růstu. Jak je zde užíván, výraz, „anti-neoplastické činidlo“ je jakákoli sloučenina, kompozice, směs, příměs nebo soubor, který inhibuje, odstraňuje, zpomaluje nebo reverzuje neoplastický fenotyp buňky.

Antimitotická činidla mohou být rozdělena do tří skupin na základě jejich molekulárního mechanismu působení. První skupina sestává z činidel, zahrnujících kolchicin a kolcemid, které inhibují vytváření mikrotubulů sekvestrací tubulinu. Druhá skupina sestává z činidel, zahrnujících vinblastin a vinkristin, které indukují vytváření parakrystalických agregátů na tubulinu.

Vinblastin a vinkristin jsou dobře známá protirakovinná léčiva: jimi způsobované rozrušení mitotického vřeténka mikrotubulů především inhibuje hyperproliferativní buňky. Třetí skupina činidel, zahrnující taxol, podporuje polymeraci tubulinu a tím stabilizuje mikrotubuly.

Existence fenotypu lékové resistance a vícenásobné lékové resistance mnoha nádorových buněk a klinicky dokázaný způsob působení antimikrotubulových činidel proti neoplastickým buňkám si vynucuje vyvinutí antimikrotubulových cytotoxických činidel proti neoplastickým buňkám bez lékové resistance stejně tak jako cytotoxických činidel proti neoplastickým buňkám s fenotypem lékové resistance.

Chemoterapie, chirurgie, radiační terapie, terapie modifikátory biologické odezvy a imunoterapie jsou v současné době používány pro léčbu rakoviny. Každý způsob terapie má specifické indikace, které jsou známé osobám, seznámeným na obvyklé úrovni s oborem a jedna nebo všechny mohou být používány pro dosažení úplné destrukce neoplastické buňky. Navíc kombinace chemoterapie, chemoterapie používající sloučeniny obecného vzorce I v kombinaci s dalšími neoplastickými činidly, spadá také do rozsahu předmětu předloženého vynálezu, neboť kombinovaná terapie je obecně účinnější než použití jediného antineoplastického činidla. Další předmět předloženého vynálezu se tedy týká kompozic, obsahujících terapeuticky účinného množství alespoň jedné sloučeniny obecného vzorce I, v to počítaje jejich netoxické adiční soli, které slouží k poskytnutí výše uvedeného příznivého účinku. Takové kompozice také mohou být podávány spolu s fyziologicky přijatelnou kapalinou, gelem nebo pevným nosičem, ředidlem, adjuvans a excipientem. Takové nosiče, adjuvans a excipienty mohou být nalezeny v publikaci U.S. Pharmacopoeia, Vol. XXII a National Formulary vol. XVII, U.S. Pharmacopoeia Convention, Inc., Rockville, MD (1989). Další způsoby léčby lze nalézt v AHFS Drug Information, 1993e. v American Hospital Formulary Service, str. 522-660. Každá z těchto referencí je dobře známa a snadno dostupná odborníkovi.

Předložený vynález se dále týká farmaceutické kompozice, používané pro léčení neoplastického onemocnění, obsahující alespoň jednu sloučeninu obecného vzorce I a alespoň jedno dodatečné antineoplastické činidlo. Antineoplastická

činidla, která mohou být použita v kombinaci se sloučeninami obecného vzorce I zahrnují ta, která je možno nalézt v Merckově Indexu 11, str. 16-17, Merck & Co., Inc. (1989). Merck Index je obecně uznáván a snadno dostupný odborníkovi v oboru.

V dalším provedení předloženého vynálezu mohou být antineoplastická činidla antimetabolity, které mohou být zvoleny, aniž by tím byly jakkoli omezeny, ze souboru, zahrnujícího methotrexat, 5-fluoruracil, 6-merkaptopurin, cytosin, arabinosid, hydroxymočovinu a 2-chlordeoxyadenosin. V jiném provedení předloženého vynálezu jsou uvažovaná antineoplastická činidla alkylační činidla, které mohou být zvoleny, aniž by tím byly jakkoli omezeny, ze souboru, zahrnujícího cyklofosfamid, mefalan, busulfan, paraplatin, chlorambucil a bis(2-chloralkyl)aminy. V dalším provedení vynálezu jsou uvažovaná antineoplastická činidla rostlinné alkaloidy, které mohou být zvoleny, aniž by tím byly jakkoli omezeny, ze souboru, zahrnujícího vinkristin, vinblastin, taxol a etoposid. V dalším provedení jsou uvažovaná antineoplastická antibiotika, které mohou být zvoleny, aniž by tím byly jakkoli omezeny, ze souboru, zahrnujícího doxorubicin, daunorubicin, mitomycin C a bleomycin. V dalším provedení jsou uvažovaná antineoplastická činidla hormony, které mohou být zvoleny, aniž by tím byly jakkoli omezeny, ze souboru, zahrnujícího kalusteron, diomostavolon, propionát, epitiostanol, mepitiostan, testolakton, tamoxifen, polyestradiolfosfát, megesterolacetát, flutamid, nilutamid a trilotan.

V dalším provedení uvažovaná antineoplastická činidla

zahrnují enzymy, které mohou být zvoleny, aniž by tím byly jakkoli omezeny, ze souboru, zahrnujícího L-asparaginázové a aminoakridinové deriváty jako je, aniž by tím byly omezeny, amsakrin. Další antineoplastická činidla zahrnují ta, která lze nalézt v Skeel, Roland T., „Antineoplastic Drugs and Biologic Response Modifier: Classification, Use and Toxicity of Clinically Useful Agents: Handbook of Cancer Chemoterapie (3rd ed.), Little Brown & Co. (1991).

Tyto sloučeniny a kompozice mohou být podávány savcům pro veterinární použití. Domácí zvířata mohou například být léčena velice podobným způsobem jako lidský klinický pacient. Obecně dávka požadovaná pro terapeutický účinek závisí na druhu použití způsobu podávání stejně tak jako na konkrétních požadavcích individuálních příjemců. Typicky jsou používané dávky v rozmezí od 0,001 do 1000 mg/kg a obvykleji od 0,01 do 10 mg/kg tělesné hmotnosti příjemce. Alternativně mohou být dávky v tomto rozmezí podávány stálou infúzí po delší časový interval, který obvykle přesahuje 24 hodin, dokud není dosaženo požadovaného terapeutického účinku. Dávka léčiva stejně tak jako způsob podávání musí být zvolen na základě relativní účinnosti, relativní toxicity, růstových charakteristik nádoru a účinku sloučeniny obecného vzorce I na buněčný cyklus, farmakokinetiku léčiva, věk, pohlaví, fyzický stav pacienta a předchozí léčení, což vše může být určeno odborníkem.

Sloučenina obecného vzorce I, s nebo bez dodatečných anti-neoplastic činidla, mohou být vytvářeny jako terapeutické kompozice v základní formě nebo formě soli. Farmaceuticky přijatelné netoxické soli zahrnují zásadité adiční soli,

kteře mohou být odvozeny od anorganických bází, jako jsou například hydroxidy sodné, draselné, amonné, vápenaté nebo železité a takové organické báze, jako je isopropylamin, trimethylamin, 2-ethylaminoethanol, histidin, prokain a podobně. Takové soli mohou být také vytvořeny jako kyselé adiční soli s libovolnými volnými kationickými skupinami a budou obecně vytvářeny s anorganickými kyselinami jako je například kyselina chlorovodíková nebo kyselina fosforečná nebo organické kyseliny, jako je kyselina octová, oxalová, vinná, mandlová a podobně. Dodatečné excipienty může odborník nalézt například v U.S. Pharmacopoeia.

Vhodnost konkrétního nosiče pro použití v dané terapeutické kompozici závisí na výhodném způsobu podávání. Antineoplastické kompozice mohou být například upraveny pro orální podávání. Takové kompozice jsou typicky připravovány jako kapalně roztoky nebo suspenze nebo v pevné formě. Orální přípravky obvykle zahrnují taková aditiva jako jsou vazebná činidla, plnidla, nosiče, konzervační činidla, stabilizační činidla, emulsifikátory, pufry, manitol, laktózu, škrob, stearan hořečnatý, sodný sacharin, celulózu, uhličitan hořečnatý a podobně. Tyto kompozice mohou být připraveny ve formě roztoků, suspenzí, tablet, pilulek, kapslí, přípravků s trvalým uvolňováním nebo prášků a typicky obsahují 1% až 95% účinné složky. Výhodněji kompozice obsahují od asi 2% do asi 70% účinné složky.

Kompozice podle předloženého vynálezu mohou být připraveny jako injektovatelné, buď jako kapalně roztoky, suspenze nebo emulze nebo v pevné formě, vhodné pro vytvoření roztoku nebo suspenze v kapalině před injekcí. Takové injektovatelné

kompozice mohou být podávány subkutánně, intravenózně, intraperitoneálně, intramuskulárně, intratekálně, nebo intrapleurálně. Účinná složka nebo ingredienty jsou často míchány s ředidly, nosiči nebo excipienty, které jsou fyziologicky přijatelné a slučitelné s účinnou složkou nebo složkami. Vhodná ředidla a excipienty jsou například voda, fyziologický roztok, dextróza, glycerol a podobně a jejich kombinace. Kromě toho, jestliže je to požadováno, kompozice mohou obsahovat minoritní množství pomocných látek jako jsou smáčedla nebo emulgátory stabilizační činidla a činidla pufrující pH.

Vynález se dále týká způsobu použití sloučenin obecného vzorce I pro inhibici proliferace savčích buněk kontaktem těchto buněk se sloučeninou obecného vzorce I v množství dostatečném pro inhibici proliferace savčích buněk. Výhodné provedení je způsob inhibice proliferace hyperproliferativních savčích buněk. Pro tyto účely podle předloženého vynálezu výraz „hyperproliferativní savčí buňky“ znamená savčí buňky které nejsou vystaveny charakteristickým omezením růstu (například programovaná smrt buněk). Další výhodné provedení spočívá v tom, že savčí buňky jsou lidské buňky. Vynález se dále týká uvedení savčích buněk do kontaktu s alespoň jednou sloučeninou obecného vzorce I a alespoň jedním antineoplastickým činidlem. Typy uvažovaných antineoplastických činidel byly diskutovány výše.

Vynález se dále týká způsobů použití sloučenin obecného vzorce I pro inhibici proliferace hyperproliferativní buňky, která má fenotypy resistance proti léčivům, v to počítaje

buňky s fenotypy vícenásobné resistance proti léčivům, uvedením uvedené buňky do kontaktu se sloučeninou obecného vzorce I v množství dostatečném pro inhibici proliferace hyperproliferativní savčí buňky. Výhodné provedení spočívá v tom, že savčí buňky jsou lidské buňky. Vynález se dále týká uvedení buňky do kontaktu se sloučeninou obecného vzorce I a alespoň jednoho dalšího antineoplastického činidla, jak byly diskutovány výše.

Vynález se týká způsob úlevy patologických stavů, způsobených hyperproliferací savčí buňky, například neoplasií, podáváním subjektu účinného množství farmaceutické kompozice, obsahující sloučeninu obecného vzorce I pro inhibici proliferace hyperproliferativní buňky. Jak je zde užíván, výraz „patologický stav“ znamená jakoukoli patologii, která vzniká proliferací savčích buněk, které nejsou vystaveny normálním omezením růstu. Taková proliferace buněk může být způsobena neoplasmy, jak byly diskutovány výše.

V dalším výhodném provedení jsou neoplastické buňky lidské buňky. Předložený vynález se týká způsobů úlevy takových patologických stavů použitím sloučeniny obecného vzorce I v kombinaci s dalšími terapiemi, stejně tak jako s dalšími antineoplastickými činidly.

Účinnost nárokovaných sloučenin může být určena použitím standardních metod známých odborníkům.

Příklady takových metod jsou následující:

Bylo zjištěno, že sloučeniny podle předloženého vynálezu jsou použitelné proti patogenním houbám. Například použitelnost pro léčení *Cryptococcus neoformans* může být ilustrováno pomocí výsledků testů proti *Cryptococcus neoformans*, které využívají kvasinkové dusíkaté dextrozově-agarové medium. Při provádění tohoto testu se sloučenina podle předloženého vynálezu rozpustí v dimethylsulfoxidu s přídatkem Tween 20. Proveďte se dvojnásobné zředění sterilní destilovanou vodou/10 procentním DMSO pro získání konečné koncentrace léku na agarových testovacích deskách v rozmezí od 0,008 µg/ ml až 16,0 µg/ ml proti expandovanému panelu 84 kmenů *Cryptococcus neoformans*. Určí se minimální inhibiční koncentrace proti panelu 84 *Cryptococcus neoformans*, čímž se ilustruje požadovaný antifungální účinek.

Sloučeniny byly tříděny vzhledem k minimálním inhibičním koncentracím proti KB, lidským nasofaryngeálním nádorovým buněčným liniím, LoVo, lidským kolorektálním adenokarcinomovým buněčným liniím pomocí Corbettova testu, viz Corbett, T.H. a kol. Cytotoxic Anticancer Drugs: Models and Concepts for Drug Discovery and Development, str. 35-87, Kluwer Academic Publishers: Norwell, 1992, viz také, Valeriote, a kol. Discovery and Development of Anticancer Agents; Kluwer Academic Publisher, Norwell, 1993, který byl použit pro hodnocení sloučeniny.

Nejúčinnější sloučeniny byly dále hodnoceny vzhledem k jejich cytotoxicitě proti čtyřem různým druhům buněk, například myší leukemii, myšímu pevnému nádoru, lidskému pevnému nádoru a nízkomalignímu fibroblastu použitím

05.04.99

Corbettova testu.

Sloučeniny byly dále hodnoceny vzhledem k širokému spektru myších a lidských nádorů implantovaných myši, v to počítaje lékově resistantní nádory.

Pro další hodnocení byl používán nádorové zatížení (T/C) (střední nádorové zatížení u ošetřených zvířat versus střední nádorové zatížení u neošetřených zvířat). T/C hodnoty, které byly menší než 42% byly považovány za účinné podle standardů National Cancer Institute; sloučeniny s T/C hodnotami menšími než 10% byly považovány za látky s vynikající účinností a potenciálním klinickým účinkem podle standardů National Cancer Institute.

Materiál

Vinblastin, cytochalasin B, tetramethylrhodamin isothiokyanát (TRITC)-falloidin, sulforhodamin B (SRB) a protilátky proti β -tubulinu a vimentinu jsou komerčně dostupné od uznávaných komerčních obchodních společností. Bazální Eagleovo médium obsahující Earleovy soli (BME) a fetální hovězí sérum (FBS) jsou také komerčně dostupné.

Buněčné linie

Buněčná leukemická linie Jurkat T a A-10 krysí buňky hladkého svalstva aorty byly získány od American Type Culture Collection a kultivovány v BME obsahujícím 10% FBS a 50 μ g/ ml gentamycinsulfátu. Lidské vaječnickové karcinomové buňky (SKOV3) a sub-linie, která byla selektována na

resistenci na vinblastin (SKVLB1) byly laskavý dar Dr. Victora Linga z Ontario Cancer Institute. Obě buněčné linie byly udržovány v BME obsahujícím 10% FBS a 50 µg/ml gentamycinsulfát. Vinblastin byl přidán v konečné koncentraci 1 µg/ml k SKVLB1 buňkám 24 hodin po průchodu pro udržování selekčního tlaku na buňky se zvýšenou expresí P-glykoproteinu.

Testy buněčné proliferace a pozastavení cyklu

Testy buněčné proliferace byly prováděny způsobem, který popsal Skehan a kol. Pro Jurkat buňky byly kultury zpracovány indikovanými léky, jak popsal Skehan a celkový počet buněk byl určován počítáním buněk v hemacytometru. Procento buněk ve stádiu mitózy bylo určeno obarvením 0,4% Giemsa v PBS a následným promýváním PBS. V každém zpracování bylo alespoň 1000 buněk zkoumáno na přítomnost mitotických vzorů a mitotický index byl vypočten jako poměr buněk s mitotickými vzory k celkovému počtu zkoumaných buněk.

Imunofluorescenční testy

A-10 buňky byly kultivovány až do takřka úplného splynutí na skleněném krycím sklíčku v BME/10% FBS. Do uvedených konečných koncentrací byly přidány sloučeniny v PBS a buňky byly inkubovány po dalších 24 hodin. Pro obarvení mikrotubulů a intermediálních filament byly buňky fixovány studeným methanolem a inkubovány s PBS obsahujícím 10% telecí serum pro zablokování nespecifických vazebných míst. Buňky byly potom inkubovány při teplotě 37 °C po 60 minut. Buď s monoklonálním anti-β-tubulinem nebo s monoklonálním

antivimentinem ve zředění doporučeném výrobcem. Vázané primární protilátky byly následně vizualizovány 45 minutovou inkubací s králičím protimýším IgG konjugovaným s fluoresceinem. Krycí sklíčka byla připevněna na podložní mikroskopová sklíčka a byly zkoumány fluorescenční vzory, které byly fotografovány za použití Zeissova fotomikroskopu Il1, vybaveného epifluorescenční optikou pro fluorescein. Pro označení mikrofilament byly buňky fixovány 3% paraformaldehydem, napouštěny 0,2% Tritonem X-100 a chemicky redukovány borhydridem sodným (1 mg/ ml). Potom byl přidán 100nM TRITC-faloidin, obsahující PBS, a směs byla ponechána inkubovat po dobu 45 minut při teplotě 37 °C. Buňky byly rychle promývány PBS před připevněním krycích sklíček a okamžitě fotografovány výše uvedeným způsobem.

Účinky kryptofycinů a vinblastinu na proliferaci a buněčný cyklus Jurkatových buněk

Byly určeny křivky závislosti odezvy na dávce při působení kryptofycinovými sloučeninami a vinblastinem na buněčnou proliferaci a procento buněk v mitóze.

Účinek cytochalasinu B, vinblastinu a kryptofycinů na cytoskeleton

Buňky hladkého svalstva aorty (A-10) byly pěstovány na skleněných krycích sklíčkách a ošetřeny PBS, 2 μ M cytochalasinem B, 100nM vinblastinem nebo 10nM kryptofycinovými sloučeninami. Po 24 hodinách byly mikrotubuly a vimentinové intermediální filamenta vizualizovány nepřímou imunofluorescencí a mikrofilamenta

05.04.99

byla obarvena použitím TRITC-faloidinu. Byl určen morfologický účinek každého z léků. Neošetřené buňky vykazovaly extenzivní mikrotubulovou síť protkanou perinukleárními mikrotubuly organizujícími centry. Vimentinová intermediální filamenta byla také nepravidelně distribuována v cytoplasmě, zatímco svazky mikrofilament byly koncentrovány podél hlavní osy buňky. Cytochalasin B způsobil kompletní depolymeraci mikrofilament spolu s akumulací parakrystalických zbytků. Tato sloučenina neměla účinek ani na rozdělení mikrotubulů ani intermediálních filament. U kryptofycinem ošetřených mikrotubulů a vimentinových intermediálních filament bylo pozorováno ochuzení mikrotubulů a rozpad vimentinových intermediálních filament.

Účinek kryptofycinů a vinblastinu na taxolem stabilizované mikrotubuly

Na A-10 buňky bylo po 3 hodiny působeno 0 nebo 10 μM taxolu před přidáním PBS, 100 nM vinblastinu nebo 10 nM kryptofycinové sloučeniny. Po 24 hodinách byla organizace mikrotubulů zkoumána imunofluorescencí jak bylo popsáno výše. Ve srovnání s kontrolními buňkami byly mikrotubuly v taxolem ošetřených buňkách extenzivně svázány, obzvláště v polárních oblastech buňky. Stejně jako výše vinblastin způsobil úplnou depolymeraci mikrotubulů v buňkách, které nebyly předem ošetřeny. Na druhé straně předběžné ošetření taxolem zabránilo mikrotubulové depolymeraci jako odezvě na vinblastin. Stejně tak byly mikrotubuly předem ošetřené taxolem pozorovány při ošetření kryptofycinem.

Reverzibilita mikrotubulové depolymerace vinblastinem a kryptofycinem

Na A-10 buňky bylo působeno buď 100 nM vinblastinem nebo 10 nM kryptofycinem po 24 hodin, což vedlo k úplné mikrotubulové depolymeraci. Buňky byly potom promývány a inkubovány v médiu bez léků po dobu 1 hodiny nebo 24 hodin. Mikrotubuly rychle repolymerizovaly po odstranění vinblastinu, vykazující významné množství mikrotubulů po uplynutí 1 hodiny a úplné morfologické zotavení po 24 hodinách. Mikrotubulový stav buněk byl zviditelněn po ošetření kryptofycinovou sloučeninou podle předloženého vynálezu buď 1 hodinu nebo 24 hodin po odstranění kryptofycinové sloučeniny.

Účinky kombinací vinblastinu a kryptofycinů na buněčnou proliferaci

Na SKOV3 buňky bylo působeno kombinací kryptofycinů a vinblastinu po dobu 48 hodin. Bylo určeno procento přežívajících buněk a byla vypočtena hodnota IC₅₀ pro každou kombinaci.

Toxicita kryptofycinů, vinblastinu a taxolu vzhledem k buňkám SKOV3 a SKVLB1

SKVLB1 buňky jsou resistantní vůči přirozeně produkováným protirakovinným léčivům v důsledku jejich zvýšené exprese P-glykoproteinů. Byla pozorována schopnost taxolu, vinblastinu a kryptofycinových sloučenin inhibovat růst buněk SKOV3 a SKVLB1. Taxol způsobuje dávkově závislou inhibici

proliferace obou buněčných linií s IC_{50} pro SKOV3 a SKVLB1 buňky o hodnotě 1 respektive 8000 nM. Vinblastin také inhibuje růst obou buněčných linií s IC_{50} o hodnotě 0,35 a 4200 nM pro SKOV3 respektive SKVLB1 buňky. Kryptofycinové sloučeniny podle předloženého vynálezu prokázaly aktivitu s IC_{50} od asi 1 do asi 1000 μ M pro SKOV3 a SKVLB1 buňky.

Bylo tedy prokázáno, že předložený vynález přináší nové kryptofycinové sloučeniny, které jsou účinné inhibitory buněčné proliferace, působící rozpad mikrotubulové sítě a inhibici mitózy. Tyto studie ilustrují, že kryptofycinové sloučeniny rozvrací mikrotubulovou organizaci a tudíž normální buněčné funkce, v to počítaje mitózu.

Klasická antimikrotubulová činidla jako jsou alkaloidy kolchicin a *Vinca*, pozastavují buněčný cykl v mitóze. Zdá se být vhodné porovnat účinek jednoho z těchto činidel na buněčnou proliferaci s kryptofycinovými sloučeninami. S tímto cílem byl zvolen *Vinca* alkaloid vinblastin jako reprezentant klasických antimikrotubulových látek. Na základě toho byl porovnáván účinek kryptofycinových sloučenin a vinblastinu proliferaci a postup buněčného cyklu u Jurkatovy T-buněčné leukemické linie.

Jelikož antimitotické účinky jsou běžně zprostředkovány rozrušením mikrotubulů v mitotických vřetencích, účinek kryptofycinových sloučenin na cytoskeletální struktury byl charakterizován fluorescenční mikroskopií. Imunofluorescenční označení buněk ošetřených buď kryptofycinovou sloučeninou nebo vinblastinem prokázalo, že obě sloučeniny způsobují úplnou ztrátu mikrotubulů. Podobné

studie s SKOV3 buňkami mohou ukázat, že antimikrotubulové účinky kryptofycinových sloučenin nejsou vyhrazeny buněčným liniím hladkého svalstva.

Třídění GC3 lidského karcinomu trakčníku

Zvolené jamky na 96 jamkové destičce byly naočkovány GC3 buňkami lidského karcinomu trakčníku (1×10^5 buněk v 100 μ l testovacího média/jamku) dvacet čtyři hodin před přidáním testované sloučeniny. Do ostatních zvolených jamek na 96 jamkové destičce bylo přidáno testovací médium prosté buněk. Testovací médium (RPMI-1640 bylo použité médium; nicméně přijatelné by bylo jakékoli médium, které by umožnilo buňkám přežít) bylo doplněno 10% dialyzovaným fetálním hovězím sérem a 25 mM pufru HEPES.

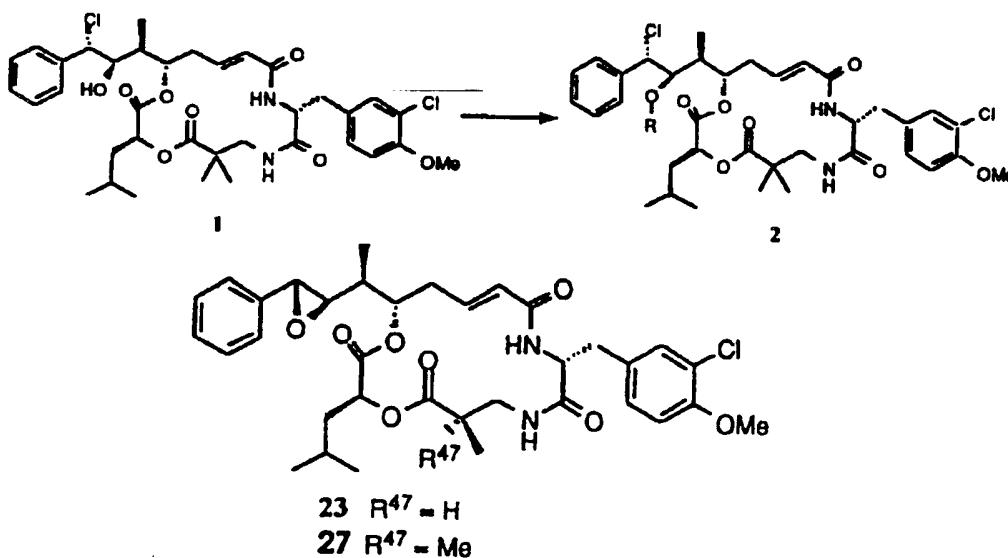
Testovaná sloučenina byla uchovávána před testováním v hnědé lahvi. Čerstvý zásobní roztok dimethylsulfoxidu (200 μ g/ ml) byl připraven těsně před přípravou testovacích vzorků ředěním ve fosforečnanem pufovaném fyziologickém roztoku (PBS). Zředěný 1:20 dimethylsulfoxidový roztok v PBS byl připraven tak, že konečná koncentrace byla 10 μ g/ ml. Byla připravena postupná 1:3 zředění použitím PBS (0,5 ml předchozího vzorku v 1 ml PBS). Pro test byly používány zkuševky Falcon 2054. 10 μ l vzorek každého ředění testované sloučeniny byl přidán trojmo do jamek na GC3 destičkách. Destičky byly inkubovány po 72 hodin při teplotě asi 37 °C. Do každé jamky byl přidán 10 μ l vzorek zásobní 3-[4,5-dimethyl-2-yl]-2,5-difenyltetrazolium bromidové soli („MTT“ 5 mg/ ml v PBS). Destičky byly inkubovány po dobu zhruba

05.04.99

jedné hodiny při teplotě 37 °C. Destičky byly centrifugovány, médium bylo dekantováno z jamek a do každé jamky bylo přidáno 100 µl kyseliny a isopropanolu (0,04 N HCl v isopropanolu). Destičky byly po jedné hodině snímány při vlnové délce 570 nm (čtečka SpectraMax).

Hodnocení sloučenin obecného vzorce I naznačuje, že sloučeniny mohou být použitelné ve způsobech nárokováných v předložené přihlášce vynálezu. Tyto sloučeniny mohou být dále použitelné pro rozrušení mikrotubulového systému.

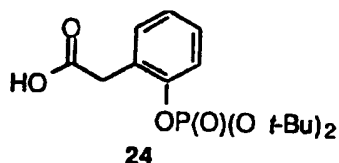
Příprava sloučeniny podle předloženého vynálezu může být provedena podle několika protokolů, které zahrnují aktivovaný ester následovaný chromatografií a pokud je to nutné, pak kyselinou indukovaná deblokace.



Například zpracování sloučeniny 1 (kde tučně vytištěná čísla sloučenin znamenají její očíslování v oddílu příkladů) s

acetanhydridem v přítomnosti triethylaminu a 4-dimethylaminopyridinu dá sloučeninu **3** s 89% výtěžkem po mžikové chromatografii. Podobně sloučenina **4** se získá ze sloučeniny **1** přidáním anhydridu kyseliny jantarové následovaného čištěním pomocí HPLC s obrácenými fázemi. Vystavení pyridinového roztoku sloučeniny **1** komerčně dostupnému hydrochloridu nikotinoylchloridu v přítomnosti triethylaminu a 4-dimethylaminopyridinu následované chromatografií a působením chlorovodíkem umožní vytvořit sloučeninu **7** s vysokým výtěžkem. Pyridiniová sůl **8** se připraví s 47% výtěžkem metodou, kterou popsal Nicolaou, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1994**, 33, kdy se sloučenina **1** zpracovává komerčně dostupným 2-fluor-1-methylpyridinium p-toluensulfonátem a následuje čištění pomocí HPLC s obrácenými fázemi se současnou aniontovou výměnou (acetát za p-toluensulfonát) a lyofilizace. Estery **5**, **9**, **11**, **13**, **15**, **17**, **19** a **21** byly všechny připraveny se středními až vysokými výtěžky ze sloučeniny **1** a komerčně dostupných (s výjimkou příkladů **5** a **9**) N-t-boc chráněných aminokyselin s aktivací působením 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu v přítomnosti 4-dimethylaminopyridinu. Hydrochloridové soli **10**, **12**, **14**, **16**, **18**, **20** a **22** byly připraveny s vysokým výtěžkem z **9**, **11**, **13**, **15**, **11**, **19** respektive **21** po zpracování 4,0 M roztokem chlorovodíku v dioxanu a odebrání rozpouštědla za sníženého tlaku. Bisodná sůl **6** je odvozena ze sloučeniny **5** terc.-butylesterovým štěpením indukovaným kyselinou chlorovodíkovou a zpracováním hydroxidem sodným. Požadovaná kyselina **24** pro přípravu sloučeniny **5** se syntetizuje s 63% výtěžkem posloupností o 5 krocích, vyplývající z metody, kterou popsal Johns, *Synthesis*, **1988**, 142, pro instalaci

fosfátové funkční skupiny.



Několik nových konjugátů bylo analyzováno na *in vitro* cytotoxicitu v modelu GC3 nádorových buněk. Z výsledků uvedených v Tabulce 2 je zřejmé, ve srovnání s kryptofycinem 55 (1) má tento typ sloučenin dobrou až výbornou aktivitu.

Příprava libovolného esteru typu 2 (R^1 nebo R^1 odvozený od karboxylové kyseliny) zahrnuje řadu metod, které využívají chloridy kyselin, anhydridy a obecné aktivační reagenty (například karbodiimidy).² Může být použito libovolné rozpouštědlo jiné než participující alkoholy. Pro usnadnění esterifikace může být použita libovolná středně silná báze a/nebo katalyzátory (aminy, uhličitany).

Přeměna karbamátů 9, 11, 13, 15, 17, 19 a 21 na odpovídající soli může být prováděna libovolnou silnou kyselinou, zejména anorganickými kyselinami, které zahrnují halogenovodíkové kyseliny, hydrogensulfáty, hydrogenfosfáty, hydrogennitráty, hydrogenperchloráty nebo silné organické kyseliny jako je kyselina trifluoroctová, p-toluensulfonová a methansulfonová. Tytéž kyseliny mohou být použity pro přípravu solí typu 7 z odpovídající volné báze. Soubor doplňujících iontů (kationtů) může zahrnovat soli typu 6 zahrnující alkalické kovy a kovy alkalických zemin. Soubor

05.04.99

doplňujících iontů (aniontů) může zahrnovat soli typu 8, zejména libovolné konjugované báze kyseliny (organické nebo anorganické).

Tabulka 2. Data o *in vitro* cytotoxicitě kryptofycinových derivátů vyplývající z testů popsaných výše.

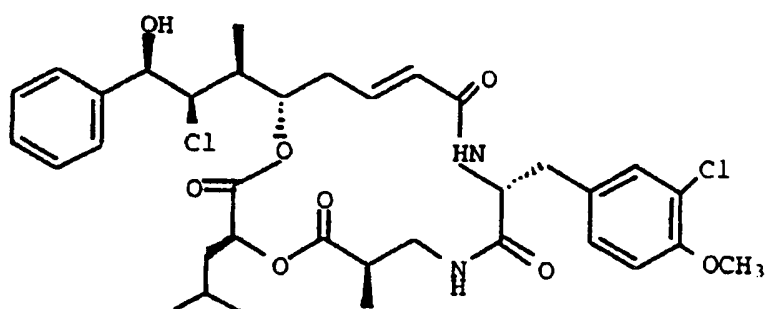
Sloučenina	GC3 IC ₅₀ (nM)
1	0,065
3	83
4	31
6	3,7
7	116
8	2,2
10	---
12	0,10
14	21
16	230
18	2,6
20	---
22	7,2
26	---

Další sloučeniny podle předloženého vynálezu a výsledky GC3 analýzy jsou uvedeny dále:

08.04.99

Vzorec

IC₅₀ (μM)

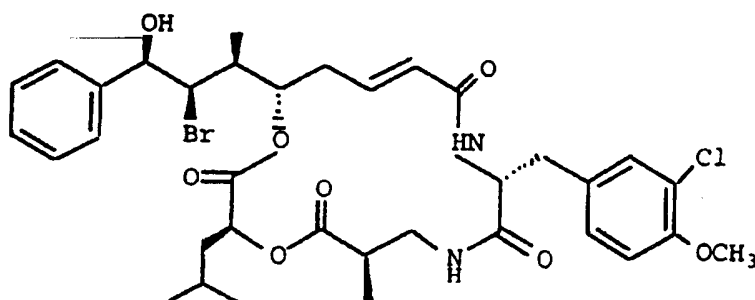


KRYPTOFYCIN-141

0,7950

Vzorec

IC₅₀ (μM)



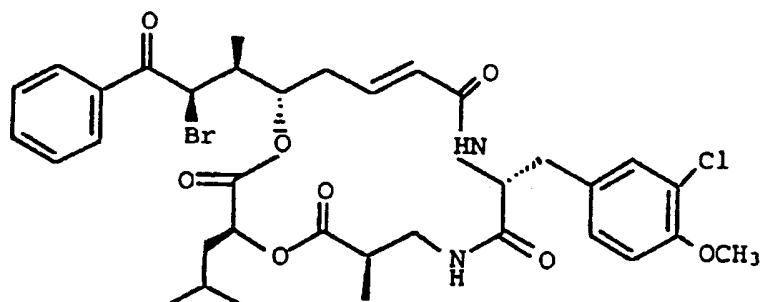
KRYPTOFYCIN-138

0,0308

05.04.99

Vzorec

IC₅₀ (μM)

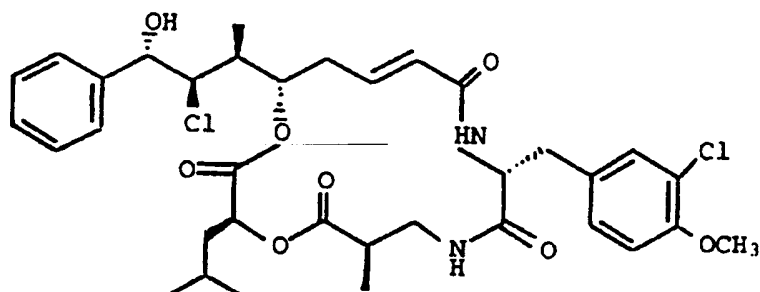


KRYPTOFYCIN-139

0,0034

Vzorec

IC₅₀ (μM)



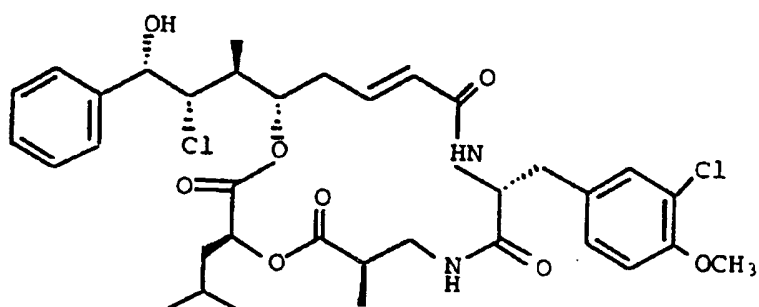
KRYPTOFYCIN-140

0,863

05.04.99

Vzorec

IC₅₀ (μM)

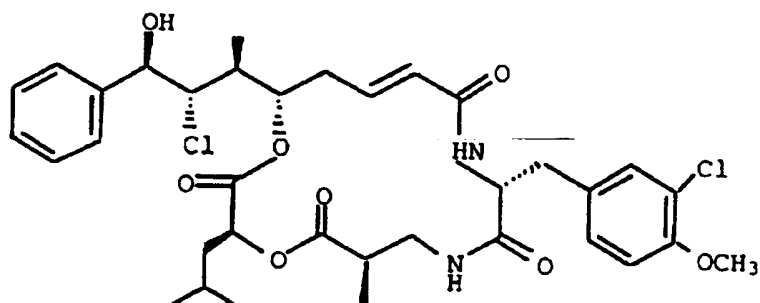


KRYPTOFYCIN-143

0,8500

Vzorec

IC₅₀ (μM)



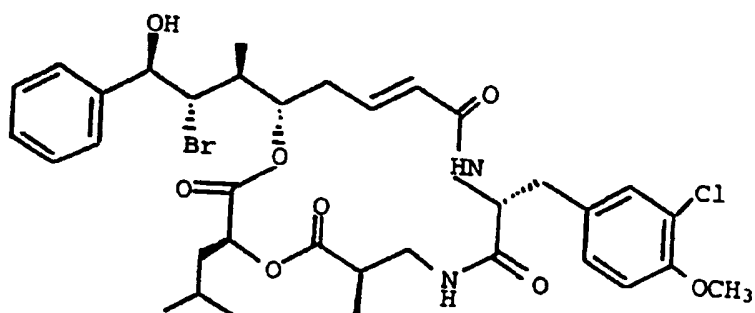
KRYPTOFYCIN-142

0,0011

06.04.99

Vzorec

IC₅₀ (μM)

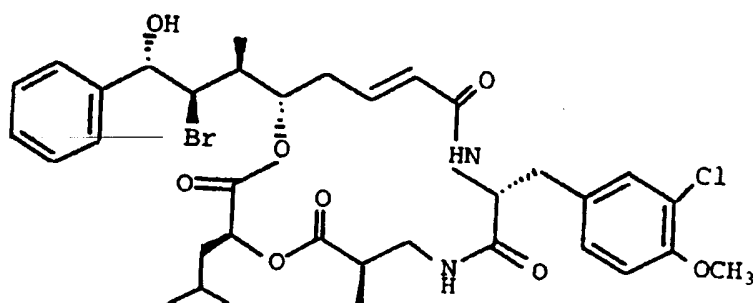


KRYPTOFYCIN-145

0,000015

Vzorec

IC₅₀ (μM)



KRYPTOFYCIN-129

Další sloučeniny podle předloženého vynálezu byly testovány v GC3 testu a měly hodnoty IC₅₀, které se měnily v rozmezí od méně než jeden do asi 700 nM; nicméně typické hodnoty byly menší než 100 nM.

Výsledky srovnávacích předběžných studií rozpustnosti sloučenin **27**, **1** a **12** jsou shrnuty v Tabulce 3. Tyto výsledky naznačují zvýšenou rozpustnost sloučeniny **12**.

Tabulka 3. Porovnání rozpustnosti kryptofycinových sloučenin **1**, **12** a b.

	Excipient, objem upraven 0,05M acetátovým pufrem	% (obj.)	27 (mg/ml)	1 (mg/ml)	12 (mg/ml)
1	Propylenglykol Ethanol	15 10	BQL	BQL	>2,0
2	Propylenglykol Polyethylele Glykol 3000	15 20	BQL	0,0026	>2,0
3	Polysorbát 80	1 (hm./obj)	BQL	0,3113	1-2
4	Emulfor EL719	1 (hm./obj)	0,0272	0,3611	1,5
5	0,05M Acetátový pufr	100	<0,001	<0,001	0,03

(BQL = Below quantitation limit, pod kvantifikačním limitem, přibližně 0,001 mg/ ml)

Porovnávání vlastností, týkajících se stability, pro sloučeniny **1** a **12** ve vodném pH v rozmezí 4-8 bylo provedeno při teplotě okolí po dobu 6 hodin. Výsledky těchto studií jasně demonstrovaly vyšší vodnou rozpustnost a stabilitu sloučeniny **12**. Například při pH 8 měl Kryptofycinu 55 hodnotu rozpustnosti 10 mg/ml při teplotě okolí ve srovnání s rozpustností 30 mg/ml pro sloučeninu **12** za v zásadě

stejných podmínek. Při pH 4 měl Kryptofycinu 55 hodnotu rozpustnosti ve vodě asi 50 mg/ml; rozpustnost ve vodě pro Kryptofycinu 55 však poklesla, když se pH stalo bážickým, zatímco rozpustnost ve vodě sloučeniny **12** zůstala v podstatě neměnná v celém rozmezí zkoumaných hodnot pH.

Vycházejíce z výsledků, týkajících se rozpustnosti a stability, byla zvolena vhodná parenterální vehikula pro určení absolutních hodnot rozpustnosti/stability sloučeniny **12**. Tabulka 4 ukazuje profil rozpustnosti sloučeniny **12** v těchto vehikulech. Předběžné výsledky indikují přijatelnou stabilitu sloučeniny **12** v přípravku 6 po až 3 týdny.

Tabulka 4. Rozpustnost kryptofycinového glycinátu **12** v různých parenterálních vehikulech.

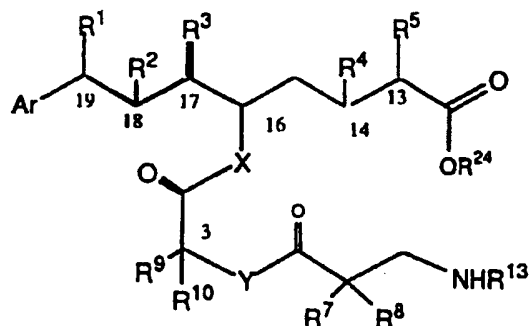
Excipient		% objemově	12 (mg/ ml)
~~1~~	~~Ethanol~~	~~10~~	~~0,11~~
	Propylenglykol	10	
	0,05 M Citrátový pufr pH 4,0	qs	
2	Ethanol	10	1,99
	Propylenglykol	10	
	0,05 M Acetátový pufr pH 4,0	qs	
3	Ethanol	10	1,29
	0,05 M Acetátový pufr pH 4,0	qs	
4	Propylenglykol	10	1,58
	0,05 M Acetátový pufr pH 4,0	qs	

5	Polysorbát 80	0,5 (hm./obj.)	2,21
	0,05 M Acetátový pufr pH 4,0	qs	
6	Ethanol	10	10,27
	Propylenglykol	25	
	0,05 M Acetátový pufr pH 4,0	qs	
7	Ethanol	10	4,32
	Propylenglykol	15	
	0,05 M Acetátový pufr pH 4,0	qs	

Je tedy možné dosáhnout vysokých koncentrací sloučenin podle předloženého vynálezu ve vehikulu, které neobsahuje žádné povrchově aktivní činidlo nebo emulgátor, což zase umožňuje snadné toxikologické a klinické zhodnocení této sloučeniny. Glycinátový ester (12) také přináší lepší stabilitu ve vodném prostředí za fyziologických hodnot pH po delší časové intervaly, což indikuje delší možnou dobu skladování za normálních podmínek. Zatímco je nutné v případě sloučenin 1 a 27 připravovat pro skladování koncentráty, které jsou potom před podáváním ředěny, v případě sloučenin podle předloženého vynálezu je možné používat roztoky, které jsou připraveny k použití.

Sloučeniny obecného vzorce I mohou být získány vycházejíce ze sloučeniny obecného vzorce II

08.04.99



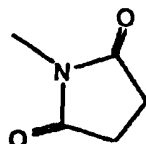
II

ve kterém

Ar, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰ mají stejný význam,
jaký byl uveden výše pro substituenty v obecném vzorci
I,

R¹³ je zvolen ze souboru, zahrnujícího terc.-butylkarbamát
(BOC);

R²⁴ je zvolen ze souboru, zahrnujícího



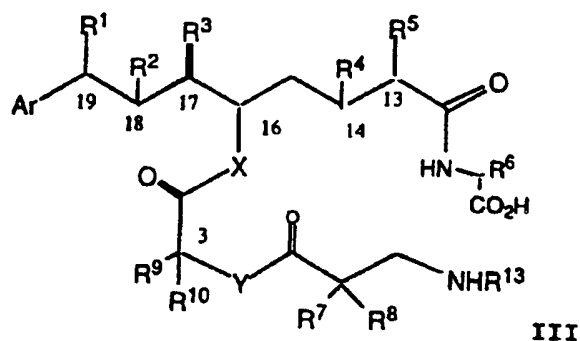
(N-hydroxysukcinimid, označovaný zde jako „NHS“), dále
N-hydroxysulfosukcinimid a jejich soli, 2-nitrofenyl,
4-nitrofenyl a 2, 4-dichlorfenyl;

X znamená O, NH nebo alkylamino;

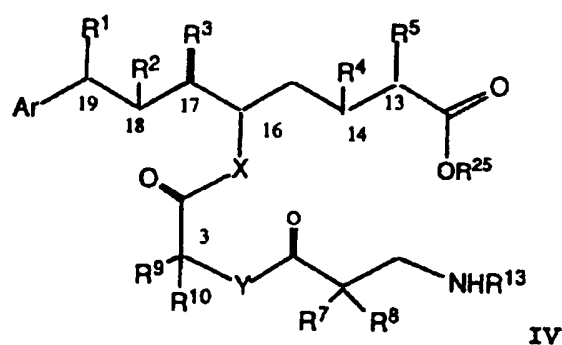
Y znamená O, NH, nebo alkylamino.

Sloučeniny obecného vzorce III

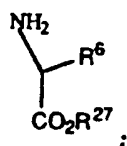
08.04.99



ve kterém skupiny R a různé další substituenty mají význam definovaný výše v tomto popisu předmětu vynálezu; mohou být získány kontaktem sloučeniny obecného vzorce IV



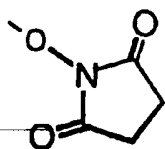
ve kterém R²⁵ znamená s kyselinou obecného vzorce



ve kterém R²⁷ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, C₁-C₁₂ alkyl a aryl;

a silylačním činidlem. Obzvláště výhodné silylační činidlo je bis-N,O-trimethylsilylacetamid (BSA).

Jak je zde užíván, výraz „aktivní esterový substituent“ znamená substituent, který je vhodný jako substituent představující odštěpitelnou skupinu. Vhodné substituenty mohou být zvoleny vycházejíce ze standardních referencí, například „Protective Groups in Organic Chemistry“, Plenum Press, (London a New York, 1973); Greene, T.W. „Protecting Groups in Organic Synthesis“, Wiley (New York, 1981). Viz především strany 180 až 184 v monografii Greene. Obzvláště výhodným aktivním esterovým substituentem je skupina N-hydroxy-sukcinimid (NHS). Další výhodné skupiny zahrnují, aniž by tím byly jakkoli omezeny:



(O-N-hydroxysukcinimid), O-N-hydroxysulfosukcinimid a jeho soli, O-2-nitrofenyl, O-4-nitrofenyl a O-2,4-dichlorfenyl, kde „O“ se vztahuje ke kyslíkové skupině, nutné pro vytvoření esterové funkční skupiny.

Tak jak je zde používán, výraz „amid“ znamená amidovou funkční skupinu, která může být odštěpena za alkalických podmínek. Například se tento výraz vztahuje, aniž by tím byl jakkoli omezen, na $-NMe_2$. Pro další vysvětlení a příklady viz například Greene, T.W. „Protecting Groups in Organic Synthesis“, Wiley (New York, 1981).

Jak je zde užíván, výraz „aktivní esterový substituent“ znamená substituent, který způsobí, že substituent OR^{24} je vhodná odštěpitelná skupina. Vhodné substituenty mohou být zvoleny vycházejíce ze standardních referencí, například, „Protective Groups in Organic Chemistry“, Plenum Press, (London a New York, 1973); Greene, T.W. „Protecting Groups in Organic Synthesis“, Wiley (New York, 1981). Obzvláště výhodná skupina R^{25} je N-hydroxy-sukcinimid (NHS).

Zde popsané způsoby přípravy se nejvýhodněji provádí v přítomnosti rozpouštědla. Odborník může zvolit vhodné rozpouštědlo pro výše uvedený způsob přípravy. Inertní organická rozpouštědla jsou obzvláště výhodná; nicméně za jistých podmínek může být vhodné vodné rozpouštědlo. Například, jestliže R^{27} znamená atom vodíku a R^{13} znamená BOC, bude jako rozpouštědlo vhodná vodná báze.

Pokud požadovaný substituent R^6 v sloučenině obecného vzorce I obsahuje amin, pak aminový substituent skupiny R^6 musí být chráněn použitím aminové ochranné skupiny. Odborník může snadno zvolit vhodnou aminovou ochrannou skupinu využitím reference na standardní monografie, které zahrnují například, „Protective Groups in Organic Chemistry“, Plenum press, (London a New York, 1973); Greene, T.W. „Protecting Groups in Organic Synthesis“, Wiley (New York, 1981).

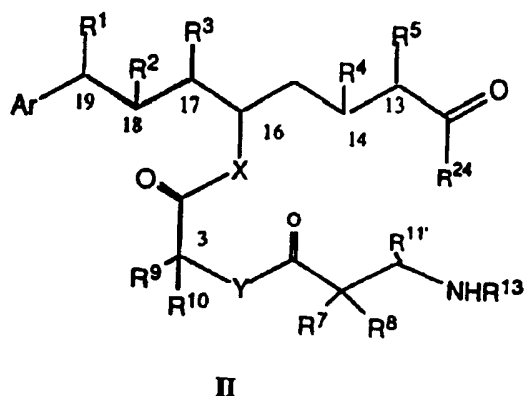
R^{27} by měla být skupina, která umožní odebrání substituentu $-CO_2R^{27}$ za kyselých, neutrálních nebo mírně bázičských podmínek. Výhodné skupiny R^{27} zahrnují, aniž by tím byly jakkoli omezeny, atom vodíku, C_1 - C_6 alkyl, trichlormethyl,

05.04.99

trichlorethyl a methylthiomethyl. Je obzvláště výhodné, aby R^{27} znamenal atom vodíku.

Pro další usnadnění výkladu jsou pro odborníka podány následující schémata:

Sloučeniny obecného vzorce I mohou být připraveny ze sloučeniny obecného vzorce II



ve kterém

Ar, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} mají stejný význam, jaký byl uveden výše pro substituenty v obecném vzorci I. Výraz $R^{11'}$ má stejný význam, jako bylo definováno výše pro R^{11} .

R^{13} znamená zvolenou aminovou ochrannou skupinu;

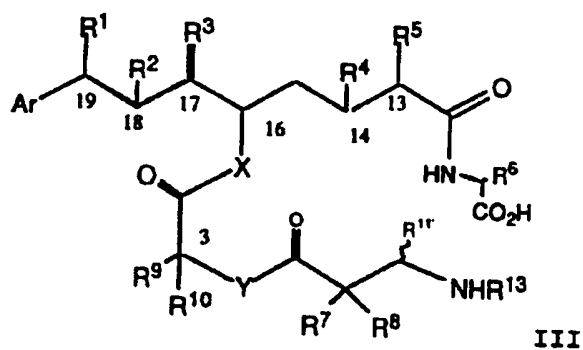
R^{24} je zvolen ze souboru, zahrnujícího aktivní esterový substituent, amidový substituent, O-2-nitrofenyl, O-4-nitrofenyl a O-2,4-dichlorfenyl;

X znamená O, NH nebo alkylamino;

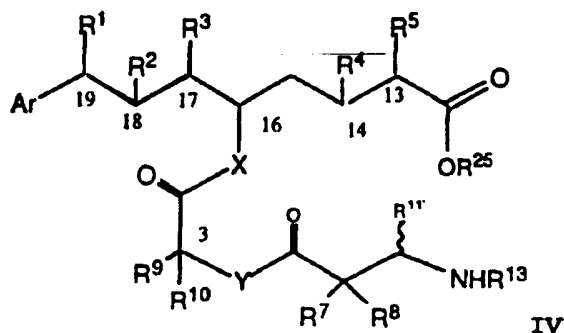
Y znamená C, O, NM, S, SO, SO₂ nebo alkylamino.

06.04.99

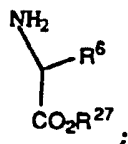
Sloučeniny obecného vzorce III



ve kterém skupiny R a různé další substituenty mají význam definovaný výše v tomto popisu předmětu vynálezu;
mohou být získány kontaktem sloučeniny obecného vzorce IV



ve kterém R²⁵ znamená
s kyselinou obecného vzorce



ve kterém R^{27} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, C_1 - C_{12} alkyl a aryl;
a silylačním činidlem. Obzvláště výhodné silylační činidlo je bis-N,O-trimethylsilylacetamid (BSA).

Jak je zde užíván ve smyslu substituentu R^{25} , výraz „aktivní esterový substituent“ znamená substituent, který ze substituentu OR^{24} vytvoří dobrou odštěpitelnou skupinu. Vhodné substituenty mohou být zvoleny vycházejíce ze standardních referencí, například „Protective Groups in Organic Chemistry“, Plenum Press, (London a New York, 1973); Greene, T.W. „Protecting Groups in Organic Synthesis“, Wiley (New York, 1981). Viz především strany 180 až 184 v monografii Greene. Obzvláště výhodnou skupinou R^{25} je skupina N-hydroxy-sukcinimid (NHS).

Zde popsané způsoby přípravy se nejvýhodněji provádí v přítomnosti rozpouštědla. Odborník může zvolit vhodné rozpouštědlo pro výše uvedený způsob přípravy. Inertní organická rozpouštědla jsou obzvláště výhodná; nicméně za jistých podmínek může být vhodné vodné rozpouštědlo. Například, jestliže R^{27} znamená atom vodíku a R^{13} znamená BOC, bude jako rozpouštědlo vhodná vodná báze.

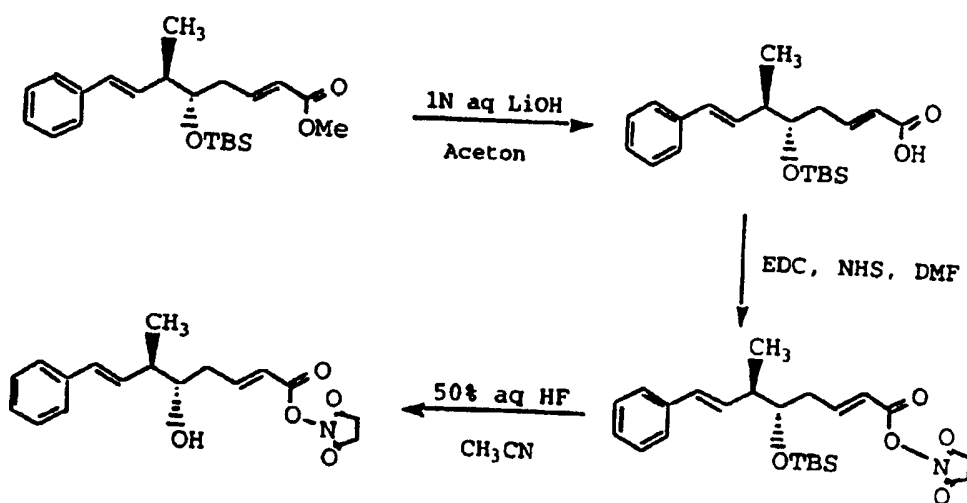
Pokud požadovaný substituent R^6 v sloučenině obecného vzorce I obsahuje amin, pak aminový substituent skupiny R^6 musí být

chráněn použitím aminové ochranné skupiny. Odborník může snadno zvolit vhodnou aminovou ochrannou skupinu využitím reference na standardní monografie, které zahrnují například, „Protective Groups in Organic Chemistry“, Plenum press, (London a New York, 1973); Greene, T.W. „Protecting Groups in Organic Synthesis“, Wiley (New York, 1981).

R^{27} by měla být skupina, která umožní odebrání substituentu $-CO_2R^{27}$ za kyselých, neutrálních nebo mírně zásadických podmínek. Výhodné skupiny R^{27} zahrnují, aniž by tím byly jakkoli omezeny, atom vodíku, C_1 - C_6 alkyl, trichlormethyl, trichlorethyl a methylthiomethyl. Je obzvláště výhodné, aby R^{27} znamenal atom vodíku.

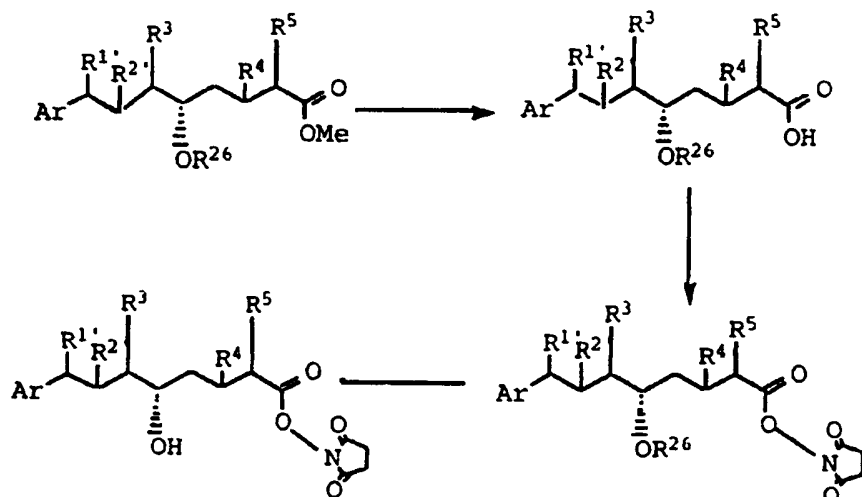
Pro další usnadnění výkladu jsou pro odborníka podány následující schémata:

Schéma I



05.04.99

Schéma I'

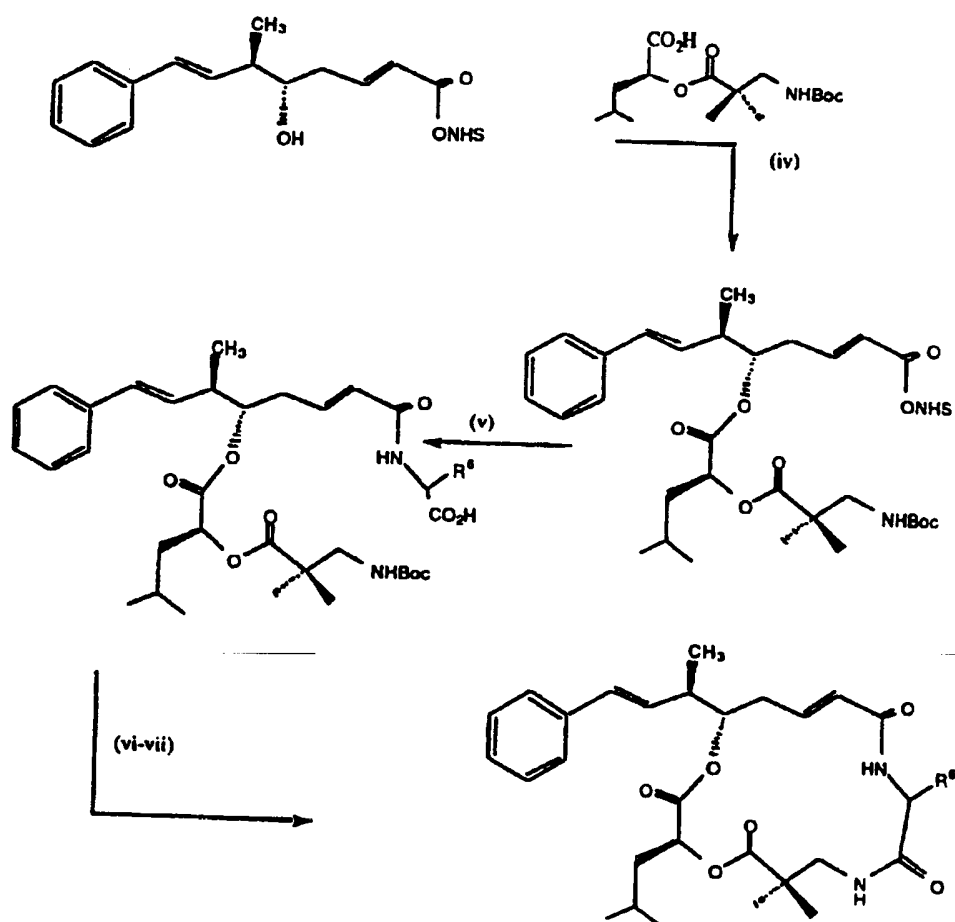


Jak je používán ve Schématu I' a v popisu předmětu vynálezu, R^1 znamená atom halogenu, SH, amino, monoalkylamino, dialkylamino, trialkylamonium, alkylthio, dialkylsulfonium, sulfát, fosfát nebo chráněnou skupinu OH nebo chráněnou skupinu SH;

R^2 znamená OH nebo SH;

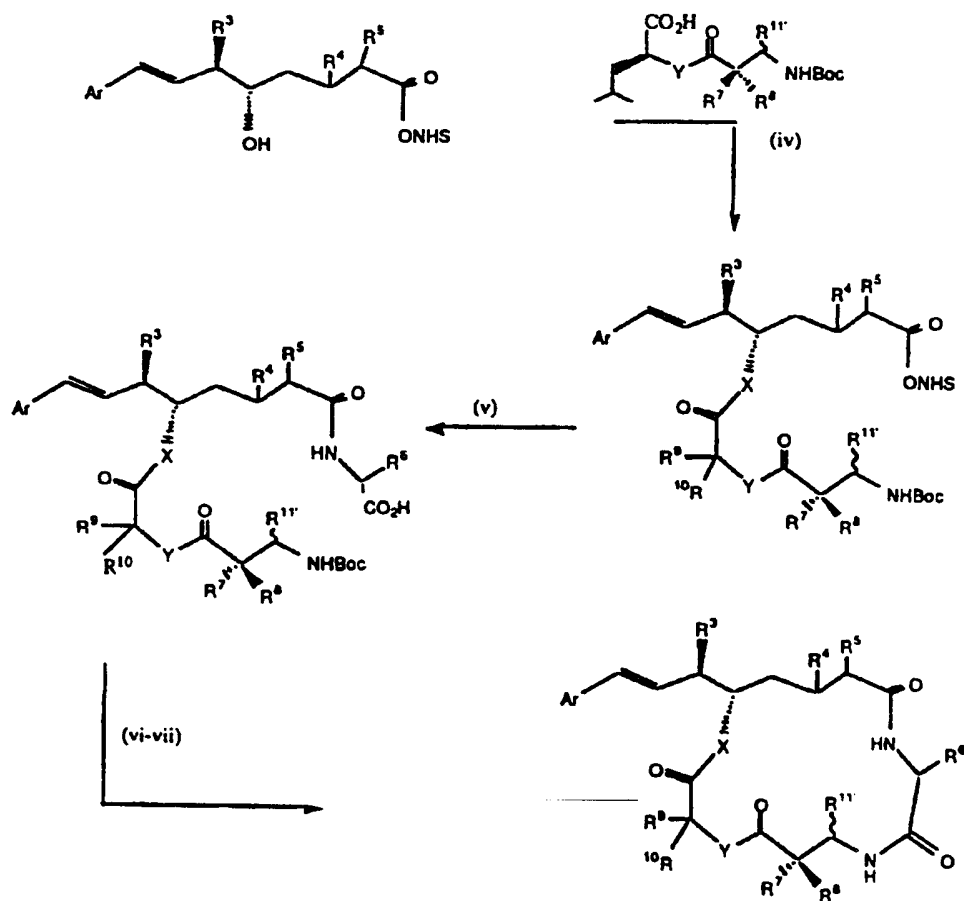
R^{26} znamená alkoholovou ochrannou skupinu, vloženou v průběhu části procesu syntézy pro ochranu alkoholové skupiny, který by jinak mohla reagovat v průběhu chemického zpracování a je odstraněna v pozdější fázi syntézy. Množství reakcí vytvoření a odebrání takových ochranných skupin je popsáno v řadě standard monografií, které zahrnují například, „Protective Groups in Organic Chemistry“, Plenum Press, (London a New York, 1973); Greene, T.W. „Protecting Groups in Organic Synthesis“, Wiley (New York, 1981). Odborník může zvolit vhodnou alkoholovou ochrannou skupinu zejména s využitím poznatků z takových prací. Jednou z obzvláště

výhodných alkoholových ochranných skupin je terc.-butyldimethylsilyl (TBS). Produkty takových reakčních Schémat mohou být derivatizovány použitím standardních metod, čímž se získají další kryptofycinové sloučeniny.

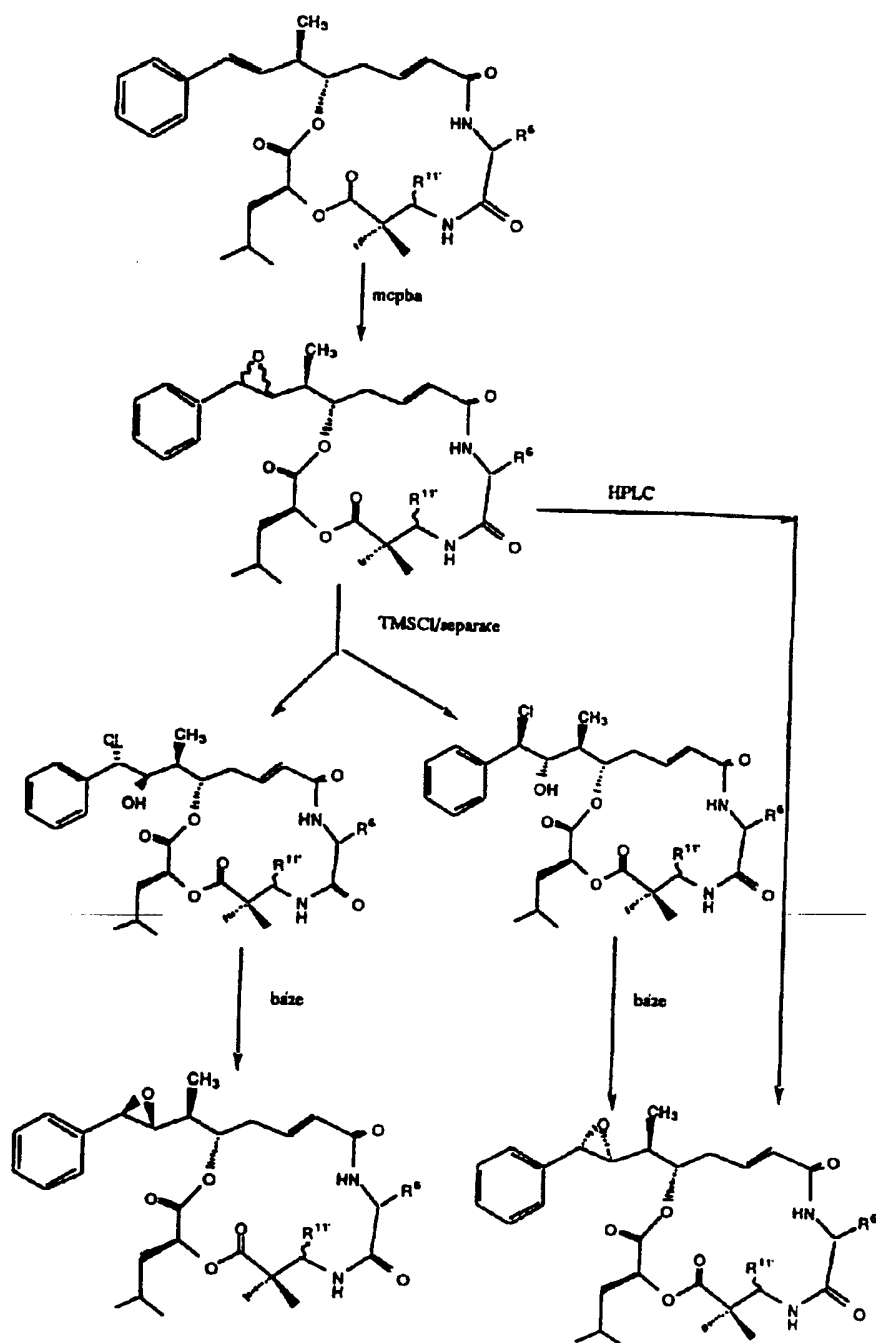


Obecně jsou způsoby podle předloženého vynálezu ilustrovány níže:

05.04.99



06.04.99



R^6 a $R^{11'}$ mají stejný význam jako bylo definováno výše v tomto popisu předmětu vynálezu.

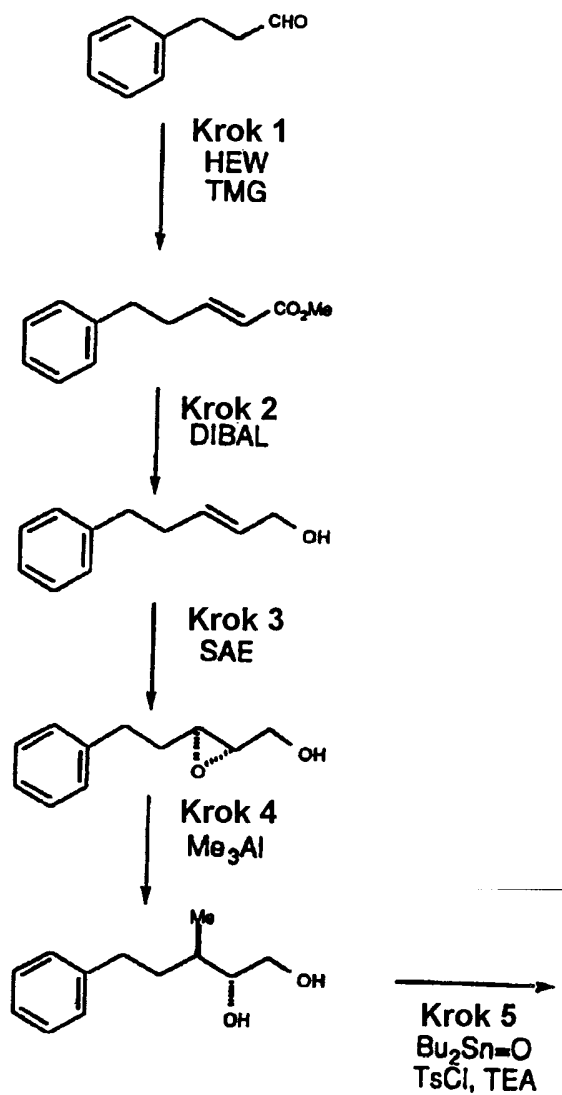
05.04.99

Produkty uvedených reakčních Schémat mohou být derivatizovány použitím standardních metod, čímž se získají další kryptofycinové sloučeniny.

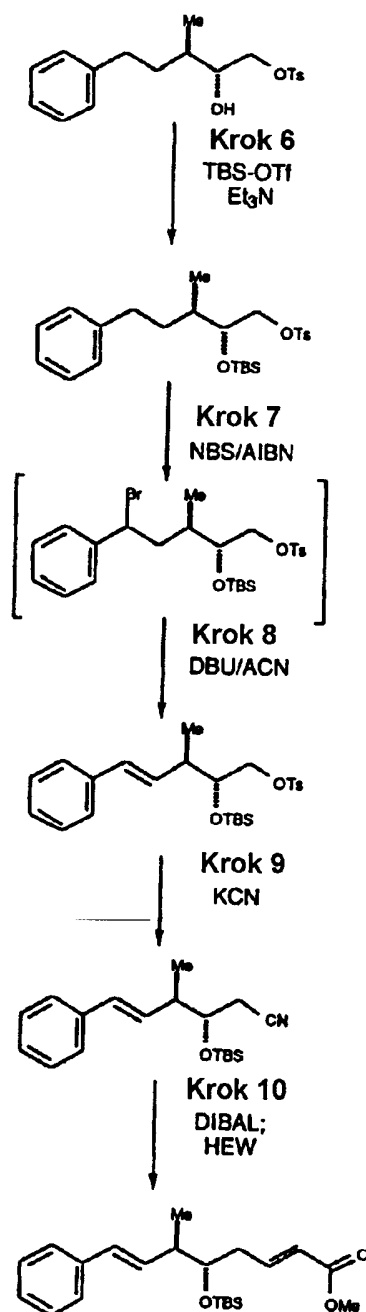
Odborník může používat vhodné výchozí látky a reagenty pro přípravu požadovaných sloučenin, vycházejíce z výše uvedených Schémat a níže podaných příkladů.

Esterové výchozí sloučeniny mohou být připraveny například následujícím způsobem:

06.04.99



06.04.99



kde R⁶ má výše uvedený význam.

Pro poskytnutí dalšího návodu pro přípravu sloučenin podle vynálezu jsou podána následující Schémata. Některé zkratky,

05.04.99

používané ve Schématech, Přípravách a Příkladech jsou obecně známy odborníkům. V zájmu srozumitelnosti jsou zde podána jejich vysvětlení:

DMAP	4-dimethylaminopyridin
BOC	terc.-butoxykarbonyl
mcpba	m-chlorperbenzoová kyselina
TMSCl	chlortrimethylsilan
HEW	Horner-Emmons-Wadsworthova reakce (standardní reakce pro olefinaci aldehydu použitím fosfonátu a báze)
TMG	1,1,3,3-tetramethylguanidin (standardní báze používaná v HEW reakci)
DIBAL	diisobutylaluminumhydrid (standardní reagent pro redukci nenasyceného esteru allylový alkohol)
SAB	Sharpless Asymmetric Epoxidation (zavedená reakce pro enantioselektivní epoxidaci allylických alkoholů)
TBS	terc.-butyldimethylsilyl
TBS-Otf	TBS trifluormethansulfonát (standardní reagent pro terc.-butyldimethylsilylaci alkoholů)
AIBN	2,2'-azobis(isobutyronitril) (standardní radikálový iniciátor)
ACN	acetonitril
DBU	1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec-7-en (standardní aminová báze)
EDCI	1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)karbodiimid

Schéma přípravy esteru je dále vysvětleno v oddíle Příprav uvedeném dále, které pro odborníka uvádí jednu specifickou aplikaci Schématu pro usnadnění pochopení výkladu.

Schéma I

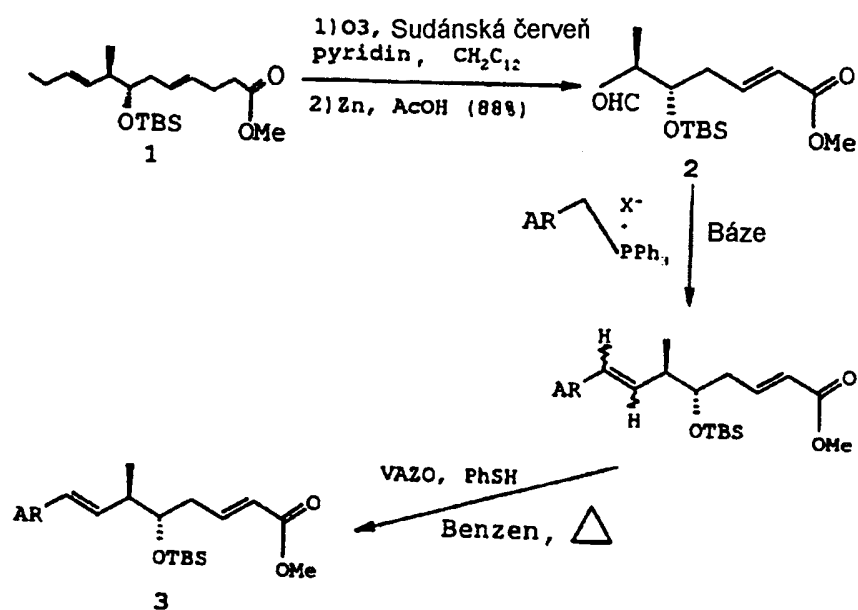


Schéma I (pokračování)

08.04.99

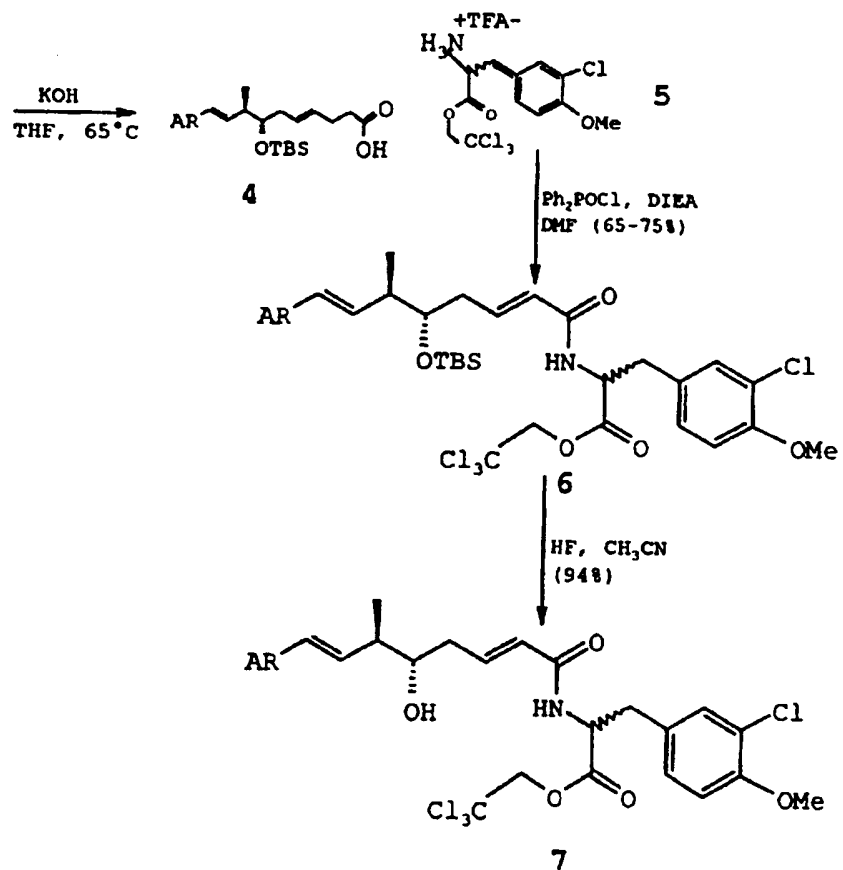


Schéma I (pokračování)

05.04.99

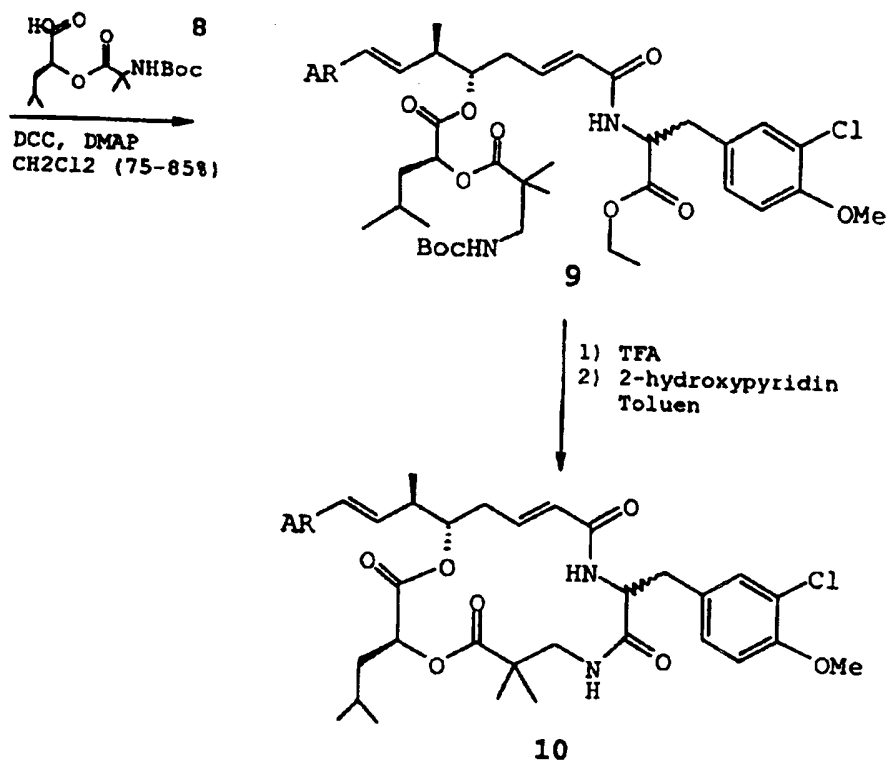
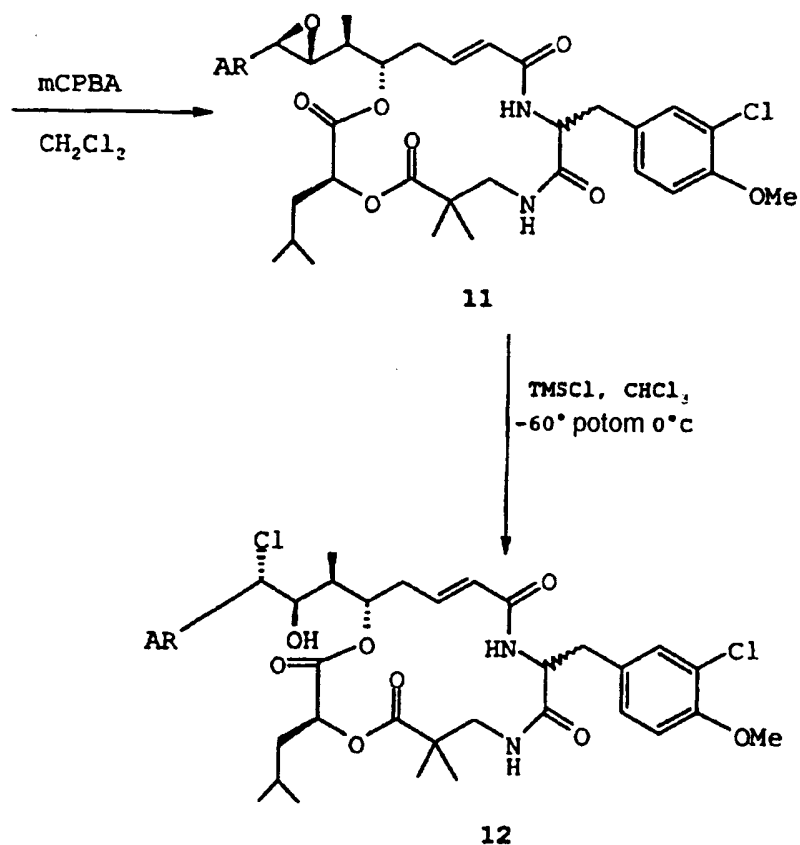


Schéma I (pokračování)

05.04.99



kde substituenty Ar mají nárokováný význam. Ilustrace výkladu Schématy nemá za cíl omezit způsob syntézy pouze na případ, zahrnující fenylový kruh, uvedený ve Schématech, ale odborník může využít ilustrovaného způsobu a aplikovat jej na požadovaný výchozí materiál s cílem získat sloučeniny, které jsou nárokovány v této přihlášce vynálezu.

Nutná reakční doba je závislá na výchozích látkách a operační teplotě. Optimální reakční doba pro daný způsob je, jako vždy, kompromisem, vycházejícím z úvahy zahrnující proti sobě působící požadavky výkonu, který vyžaduje krátké

reakční doby a maximálního výtěžku, který je dosahován při dlouhých reakčních časech.

Jisté sloučeniny podle předloženého vynálezu mohou být připraveny použitím biosyntetického způsobu. Například roztok kryptofycinu 3 (asi 0,24 mmolů) v DME-H₂O (2:1, 15,0 ml) při teplotě asi 0 °C se zpracovává bromsukcinimidem (asi 65 mg) a ponechá se zahřát na teplotu okolí. Po asi 24 hodinách se odstraní rozpouštědlo a residuum se rozpustí v rozpouštědle jako je CH₃CN a podrobí se HPLC chromatografii s obrácenými fázemi (65:35 CH₃CN/H₂O, 6 ml/min je výhodné) a tím se získá směs kryptofycinů. Směs se znovu chromatografuje pomocí HPLC s normálními fázemi (1:1 hexan/ethylacetát, 3 ml/min je výhodné) a tím se získají požadované kryptofyciny.

Podobně se kryptofycinu 3 (asi 40 mg, 0,063 mmolů) vloží do 2:1 DME/H₂O (asi 6 ml) a je přidán N-chlorsukcinimid (0,075 mmolů) a směs se zahřívá na teplotu asi 60-70 °C po dobu asi 24 hodin. Přidá se další dávka NCS (8 mg) a zahřívání pokračuje po dobu dalších 24 hodin. Rozpouštědlo se odstraní a residuum se vystaví HPLC chromatografii (35%H₂O/CH₃CN 6 ml/min) a tím se získají požadované kryptofycinové sloučeniny. Výsledná směs se dále čistí HPLC použitím směsi methanol/voda (asi 4:1) a tím se získají požadované purifikované kryptofycinové sloučeniny.

Příklady provedení vynálezu

Pro další ilustraci vynálezu jsou podány následující

05.04.99

příklady. Rozsah předmětu vynálezu však není žádným způsobem omezen na následující příklady a nebo jimi jakkoli limitován.

Příprava 1

Krok 1. Methyl 5-fenylpent-2(E)-enoát.

Roztok trimethyl-fosfonoacetátu (376 g, 417 ml, 2,07 molů) v THF (750 ml) byl míchán při teplotě 0 °C v 3 l tříhrdlé baňce s kulatým dnem vybavené mechanickým míchačem a příívodem dusíku. Do ochlazeného roztoku byl přidán po kapkách čistý tetramethylguanidin (239 g, 260 ml, 2,07 molů) prostřednictvím dodatečné nálevky. Ochlazený čirý bledě žlutý roztok byl míchán po dobu 25 minut při teplotě 0 °C. Roztok hydrocinnamaldehydu (90%, 253 g, 248 ml, 1,9 molů) v THF (125 ml) byl pomalu přidán po kapkách do reakčního roztoku. Po ukončení přidávání byla reakční směs míchána po dobu 10 hodin, zvyšující teplotu na teplotu okolí. GC indikovala poměr produktu a výchozí látky 95:5. Do reakční nádoby bylo přidáno 500 ml vody a reakční směs byla míchána přes noc s oddělením dvou vrstev. Organická vrstva byla izolována a vodná vrstva byla extrahována t-BuOMe. Organické vrstvy byly sloučeny a sušeny nad MgSO₄, potom koncentrovány za sníženého tlaku a tím byl získán oranžový olej. Surový produkt byl destilován při teplotě 129 °C/0,3mm Hg a tím se získalo 360,5 g, 91,7% výtěžek, čirého slabě žlutého oleje. EIMS m/z 190(13; M⁺), 159(41), 158(39), 131(90), 130(62), 117(22), 104(12), 95(57), 91(100), 77(21), 65(59); HREIMS m/z 190,0998 (C₁₂H₁₄O₂ D -0,4 mmu); UV Imax (e) 210 (8400), 260 (230) nm; IR n_{max} 3027, 2949, 1723, 1658, 1454, 1319, 1203, 978, 700

06.04.99

 cm^{-1} ;

^1H NMR d (CDCl_3) 7,15-7,3 (Ph- H_5 ; bm), 7,00 (3-H; dt, 15,6/6,6), 5,84 (2-H; dt, 15,6/1,2), 3,10 (OMe; s), 2,76 (5- H_2 ; t, 7,2), 2,51 (4- H_2 ; bdt, 6,6/1,2);

^{13}C NMR d (CDCl_3) 166,9 (1), 148,3(3), 140,6(Ph-1'), 128,4/128,2 (Ph2'/3'/5'6'), 126,1 (Ph 4'), 121,4 (2), 51,3 (OMe), 34,2/33,8 (4/5).

Krok 2. 5-fenyl-pent-2-en-1-ol.

Do 12 l 4-hrdlé baňky s kulatým dnem vybavené tepelným spínačem, mechanickým míchačem a přívodem dusíku, byl vložen roztok enoátového esteru (310,5 g, 1,5 molů) v THF (1,5 l) a ochlazen na teplotu -71°C v lázni i-PrOH/ CO_2 . Do reakční nádoby byl přidán po kapkách DIBAL (2,5 l, 1,5 M v toluenu, 3,75 molů) takovou rychlostí, aby byla udržována reakční teplota $4-50^\circ\text{C}$. Po ukončení přidávání byla reakční směs míchána přes noc s reakční teplotou $4-50^\circ\text{C}$. TLC (3:1 Hexany:EtOAc, SiO_2) indikovala nepřítomnost výchozího materiálu po 16 hodin. Reakční teplota byla ponechána vystoupit na -15°C . Reakce byla ukončena pomalu pomocí 1N HCl (150 ml). V tomto okamžiku reakční směs vytvořila želatinovou pevná látka. Lopatka byla použita pro rozmělnění polotuhé látky a byl přidán 1N HCl (200 ml), což zvýšilo tekutost směsi. Byl přidán koncentrovaný HCl (625 ml), aby byl vytvořen dvoufázový systém. Vrstvy byly odděleny a produkt extrahován t-BuOMe. Organická vrstva byla sušena nad MgSO_4 a koncentrována za sníženého tlaku a tím byl získán čirý blbě žlutý olej, 247,8 g. Surový produkt byl destilován při $145^\circ\text{C}/0,25\text{ mm Hg}$ a tím se získalo 209,7 g, 86,2%.

EIMS m/z 162 (1:M+) 144 (16), 129 (7), 117 (9) 108 (6), 92

06.04.99

(17), 91 (100), 75 (5), 65 (12),
HREIMS m/z 162, 1049 ($C_{11}H_{14}O$, $D -0,4$ mmu);
UV I_{max} (e) 206 (9900), 260 (360);
IR ν_{max} 3356, 2924, 1603, 1496, 1454, 970, 746, 700 cm^{-1} ;
 ^1H NMR δ 7,15-7,3 (Ph- H_5 ; m), 5,70 (3-H; dt, 15,6/6,0), 5,61 (2-H; dt, 15,6/4,8), 4,02 (1- H_2 ; d 4,8), 2,68 (5- H_2 ; t, 7,2), 2,40 (OH; bs), 2,36 (4- H_2 ; dt, 6,0/7,2);
 ^{13}C NMR δ 141,6 (Ph 1'), 131,8(3), 129,5 (2), 128,3/128,2 (Ph 2'/3'/5'/6'), 125,7 (Ph 4'), 63,3 (1), 35,4/33,8 (4/5).

Krok 3. (2S,3S)-2,3-Epoxy-5-fenyl-1-pentanol

Do 1 l 3-hrdlé baňky s kulatým dnem vybavené mechanickým míchač, tepelným spínačem a přívodem dusíku byl přidán CH_2Cl_2 (350 ml), bezvodá 4 Å molekulární síta (30 g) a L-(+)-diethyltartarát (7,62 g, 0,037 molů). Výsledná směs byla ochlazená na teplotu $-20^\circ C$ a zpracována $Ti(O-i-Pr)_4$ (9,2 ml, 0,031 molů), následovaným přidáním terc.-butylhydroperoxidu (4,0 M in CH_2Cl_2 , 182 ml, 0,78 molů) takovou rychlostí, aby byla udržována teplota 2 $-20^\circ C$. Po ukončení přidávání byla reakční směs míchána po dobu dalších 30 minut a potom zpracován roztokem allylalkoholu (50 g, 0,31 molů) v CH_2Cl_2 (30 ml) takovou rychlostí, aby byla udržována teplota 2- $20^\circ C$. Reakční směs byla míchána při stejné teplotě po dobu 5 hodin, potom filtrována do roztoku heptahydrátu síranu železitého (132 g) a kyseliny vinné (40 g) ve vodě (400 ml) při teplotě $0^\circ C$. Směs byla míchána po dobu 20 minut, potom přenesena do oddělovací nálevky a extrahována pomocí t-BuOMe (2x200 ml). Sloučená organická fáze byla míchána s 30% roztokem NaOH obsahujícího NaCl po dobu 1 hodiny při teplotě $0^\circ C$. Vrstvy byly opět odděleny a vodná fáze extrahována pomocí t-BuOMe. Sloučená organická

fáze byla promývána solankou, sušena nad MgSO_4 a koncentrována a tím byl získán 52,8 g jako jantarově zbarvený olej.

Krok 4. (2R, 3R)-2-hydroxy-3-methyl-5-fenylpentan-1-ol .

Do 5 l 3-hrdlé baňky s kulatým dnem vybavené mechanickým míchačem, tepelným spínačem a přívodem dusíku byly přidány hexany (1 l) a byla ochlazena na teplotu 0 °C. Byl přidán 2,0 M roztok Me_3Al v hexanech (800 ml, 1,6 molů), následovaný roztokem epoxidu (120 g, 0,677 molů) v hexanech (250 ml)/ CH_2Cl_2 (50 ml) udržující teplotu pod 20 °C. Po ukončení přidávání byla šedivá reakční směs míchána při teplotě 5 °C po dobu 35 min a potom byl přidán po kapkách roztok 10% HCl (300 ml), následovaný přidáním koncentrovaného HCl (350 ml). Vrstvy byly odděleny a organická fáze byla promývána solankou a sušena nad MgSO_4 . Po odebrání těkavých látek za sníženého tlaku bylo získáno 122,1 gramů oleje.

Krok 5. (2R, 3R)-2-hydroxy-3-methyl-5-fenylpent-1-yl tosylát.

Do 2 l 3-hrdlé baňky s kulatým dnem vybavené mechanickým míchačem a přívodem dusíku byl přidán diol (58 g, 0,30 molů), oxid dibutylcínu (1,5 g, 0,006 mol, 2 % molárních), toluensulfonyl chlorid (57,5 g, 0,30 molů), CH_2Cl_2 (580 ml) a triethylamin (42,0 ml, 0,30 molů). Výsledná směs byla míchána při teplotě okolí po dobu 2 hodin (ačkoliv reakce byla ukončena v průběhu 1 hodiny), filtrována, promývána vodou a sušena nad MgSO_4 . Koncentrace těkavých látek za sníženého tlaku poskytla 104,1 gramů mírně jantarově zbarveného oleje.

06.04.99

Krok 6. (2R,3R)-2-[(terc.-butyldimethylsilyl)oxy]-3-methyl-5-fenylpent-1-yl tosylát.

Roztok tosylátu (100 g, 0,29 molů) a triethylaminu (81,0 ml, 0,58 molů) v CH₂Cl₂ (1200 ml) byl zpracován čistým TBS-OTf (99 ml, 0,43 molů) po kapkách za pokračujícího míchání po dobu dalších 20 minut. Reakční směs byla promývána dvakrát solankou, sušena nad MgSO₄ a koncentrována do sucha. Olej byl rozpuštěn v minimálním množství hexanů a filtrován přes vrstvu oxidu křemičitého, vymývání směsí hexany:EtOAc (9:1) a tím byl získán mírně jantarově zbarvený olej, 134 g.

Krok 7. (2R, 3R, 5RS)-2-[(terc.-butyldimethylsilyl)oxy]-3-methyl-5-brom-5-fenylpent-1-yl tosylát.

Do 5 l 3-hrdlé baňky s kulatým dnem vybavené mechanickým míchačem, refluxním kondenzátorem a přívodem dusíku byl přidán CCl₄ (1680 ml), TBS Ts (140 g, 0,30 molů), NBS (65 g, 0,365 molů) a AIBN (16,5 g, 0,10 molů). Směs byla zbavena plynů evakuací za úplného vakua s mícháním a zpětným přiváděním dusík (3x). Reakční směs byla potom zahřívána na teplotu zpětného toku, dokud se barva nestala tmavě hnědou. Po uplynutí 15 minut za usilovného zahřívání na teplotu zpětného toku se reakční směs stala světle žlutou a chromatografická analýza ukázala, že reakce byla ukončena. Po ochlazení na teplotu okolí, reakční směs byla filtrována a filtrát byl koncentrován do sucha. Residuum bylo znovu rozpuštěno v hexanech a filtrováno znovu a koncentrováno do sucha a tím se získalo 170,3 gramů sloučeniny ve formě jantarově zbarveného oleje.

Krok 8. (2R, 3R)-2-[(terc.-butyldimethylsilyl)oxy]-3-methyl-

06.04.99

5-fenylpent-4(E)-en-1-yl tosylát.

Do 2 l 3-hrdlé baňky s kulatým dnem vybavené mechanickým míchačem, refluxním kondenzátorem a přívodem dusíku byl přidán roztok bromidu (100 g, 0,186 molů) v acetonitrilu (700 ml). Byl přidán DBU (83,6 ml, 0,557 molů) a výsledný tmavě hnědý roztok byl míchán při teplotě zpětného toku po dobu 15 minut. Po ochlazení na teplotu okolí, bylo rozpouštědlo odstraněno za sníženého tlaku a residuum vyluhováno v CH_2Cl_2 (200 ml) a filtrováno přes vrstvu oxidu křemičitého. Těkavé látky byly znovu odpařeny a residuum bylo rozpuštěno v EtOAc a promýváno vodou, solankou a sušeno nad MgSO_4 a koncentrováno do sucha. Preparativní mpls (Prep 500) chromatografie dala požadovanou nenasycenou sloučeninu (50,3 g, 60% výtěžek ve 4 krocích).

Krok 9. (3S,4R)-3-[(terc.-butyldimethylsilyl)oxy]-4-methyl-6-fenyl hex-5(E)-en-1-nitril.

Tosylát (50 g, 0,11 molů) byl rozpuštěn v DMSO (1 l) a zpracován KCN^- (14,2 g, 0,22 molů) a voda (25 ml) a výsledná směs byla míchána při teplotě 60 °C pod dusíkovou atmosférou po dobu 18 hodin. Po ochlazení na teplotu okolí byla reakční směs rozdělena mezi EtOAc (1 l) a vodu (1 l). Vodná fáze byla extrahována EtOAc (500 ml) a sloučená organická fáze byla promývána solankou a sušena nad Na_2SO_4 . Mžiková chromatografie přes oxid křemičitý s CH_2Cl_2 poskytla požadovaný nitril s 92% výtěžkem.

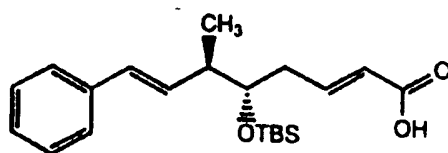
Krok 10. Methyl-(5S,6R)-5-[(terc.-butyldimethylsilyl)oxy]-6-methyl-8-fenyl-okta-2(E),7(E)-dienoát.

Nitril (14,67 g, 46,5 mmolů) byl rozpuštěn v toluenu (200 ml) a ochlazen na teplotu -78 °C pod dusíkovou atmosférou.

06.04.99

1,5M roztok DIBAL v toluenu (37,2 ml, 55,8 mmolů) byl přidán po kapkách za intenzivního míchání. Po ukončení přidávání byla chladicí lázeň odstraněna a reakční směs byla míchána při teplotě okolí po dobu 1 hodiny. Reakční směs byla opatrně vlit do 1N HCl a směs byla míchána při teplotě okolí po dobu 30 minut. Vrstvy byly odděleny a organická fáze byla promývána nasyceným vodným roztokem vlnanu sodno-draselného (2x), solankou a sušena nad Na_2SO_4 . Těkavé látky byly odstraněny za sníženého tlaku a surový blédě žlutý olej byl použit přímo v následující kondenzaci. Surový aldehyd uvedený výše byl rozpuštěn v THF (90 ml) a zpracován trimethylfosfonoacetátem (9,03 ml, 55,8 mmolů) a tetramethylguanidinem (1,0 ml, 55,8 mmolů) při teplotě okolí pod dusíkovou atmosférou. Reakční směs byla míchána po dobu 16 hodin, potom rozdělena mezi EtOAc (200 ml) a vodu (100 ml). Vodná fáze byla zpětně extrahována EtOAc (100 ml) a sloučená organická fáze byla promývána vodou, solankou a sušena nad Na_2SO_4 . Těkavé látky byly odstraněny za sníženého tlaku a surový žlutý olej (17,0 g) byl chromatografován na silikagelu se směsí CH_2Cl_2 :cyklohexan (1 : 1 až 2 : 1) a tím se získalo 13,67 gramů požadovaného esteru, 78,5%.

Příprava 2



06.04.99

Methylester (2,673 mmolů) byl rozpuštěn v acetonu a potom byl přidán 1N vodný LiOH (26 ml) při teplotě okolí. Šedavá směs byla dále zředěna acetonem (20 ml) a výsledná žlutá směs byla míchána při teplotě okolí po dobu 23,5 hodin. Reakční směs byla zředěna diethyletherem (400 ml) a organické složky byly promývány 1N HCl (120 ml), solankou (200 ml) a H₂O (160 ml). Organické složky byly sušeny a koncentrovány za sníženého tlaku a tím daly žlutý olej, který byl čištěn sloupcovou chromatografií (gradient: 5% ACOH + 20%-40% EtOAc/hexany) a tím se získala karboxylová kyselina ve formě žlutého oleje (960 mg, 100%).

¹H NMR (CDCl₃) δ 7,38-7,19 (m, PhH₅), 7,09 (ddd, J = 15,2,7,6 a 7,9 Hz, 3-H), 6,38 (d, J = 16 Hz, 8-H), 6,16 (dd, J = 16 a 8 Hz, 7-H), 5,85 (d, J = 15,8 Hz, 2-H), 3,81-3,75 (m, 5-H), 2,49-2,37 (m, 6-H, 4-CH₂), 1,12 (d, J = 6,7 Hz, 6-Me), 0,91 (s, SiCMe₃), 0,065 (s, SiMe), 0,068 (s, SiMe) ppm;

IR u (CHCl₃) 2957, 2930, 2858, 1697, 1258, 1098, 838 cm⁻¹;

MS (FD) 360,2 (M⁺, 100);

[α]_D 87,6° (c 10,5, CHCl₃);

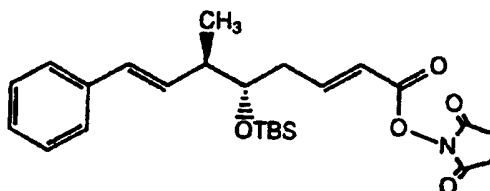
Elementární analýza pro C₂₁H₃₂O₃.

Vypočteno: C, 69,95; H, 8,95%.

Nalezeno: C, 69,19; H, 8,39%.

06.04.99

Příprava 3



Do míchaného roztoku karboxylové kyselina (2 mmolů) v bezvodém dimethylformamidu (5,50 ml) byl přidán 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)karbodiimid (2,4 mmolů) a N-hydroxysukcinimid (2,6 mmolů) při teplotě okolí. Směs byla míchána po dobu 28 hodin a potom zředěna EtOAc (100 ml) a promývána 1N vodným HCl (2x50 ml), H₂O (75 ml), sušena a koncentrována za sníženého tlaku a tím dala olej. Surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií (gradient: 5-30% EtOAc/hexany) a to dalo aktivní ester ve formě blédě žlutého oleje (724 mg, 80%).

¹H NMR (CDCl₃) δ 7,36-7,20 (m, PhH₅, 3-H), 6,38 (d, J = 16Hz, 8-H), 6,14 (dd, J = 16,1 a 8,0 Hz, 7-H), 6,03 (d, J = 16Hz, 2-H), 3,79 (q, J = 4,3 Hz, 5-H), 2,94 (brs, CH₂CH₂), 2,58-2,42 (m, 6-H, 4-CH₂), 1,10 (d, J = 6,8 Hz, 6-Me), 0,90 (s, SiCMe₃), 0,05 (s, SiMe₂) ppm;

IR u (CHCl₃) 2957, 2931, 2858, 1772, 1741, 1648, 1364, 1254, 1092, 1069, 838 cm⁻¹;

MS (FD) 457 (M⁺, 100);

[α]_D +71,3° (c 10,1, CHCl₃);

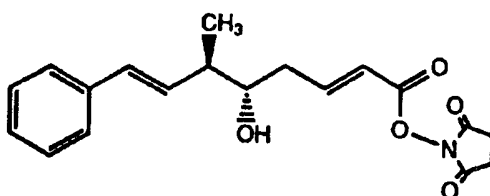
Elementární analýza pro C₂₅H₃₅NO₅.

Vypočteno: C, 65,61; H, 7,71; N, 3,06%.

Nalezeno: C, 65,51; H, 7,56; N, 3,02%.

05.04.99

Příprava 4



Do míchaného roztoku silyletheru (2,50 g, 5,47 mmolů) v CH_3CN (130 ml) byl přidán 48% vodný HF (15 ml) při teplotě 0 °C. Roztok byl míchán při teplotě 0 °C po dobu 0,75 hodin a potom při teplotě okolí po dobu 4 hodin. Reakční směs byla zředěna diethyletherem (300 ml) a promývána H_2O dokud promývaná látka neměla pH přibližně 7. Organické složky byly sušeny (MgSO_4) a koncentrovány za sníženého tlaku a tím se získalo žluté residuum, které bylo, který byl rekrystalizován z Et_2O a tím se získal alkohol ve formě bílých krystalů (1,46 g, 78%).

^1H NMR (CDCl_3) δ 7,41-7,20 (m, PhH_5 , 3-H), 6,48 (d, $J = 16\text{Hz}$, 8-H), 6,15-6,07 (m, 7-H, 2-H), 3,71-3,65 (m, 5-H), 2,83 (brs, CH_2CH_2), 2,60-2,33 (m, 6-H, 4- CH_2), 1,95 (brs, 5-OH), 1,14 (d, $J = 6,8\text{Hz}$, 6-Me) ppm;

IR u (KBr) 3457, 1804, 1773, 1735, 1724, 1209, 1099, 1067, 1049, 975, 744, 694 cm^{-1} .

UV (EtOH) I_{max} 250 ($\epsilon = 20535$) nm;

MS (FD) 343,2 (M^+ , 100);

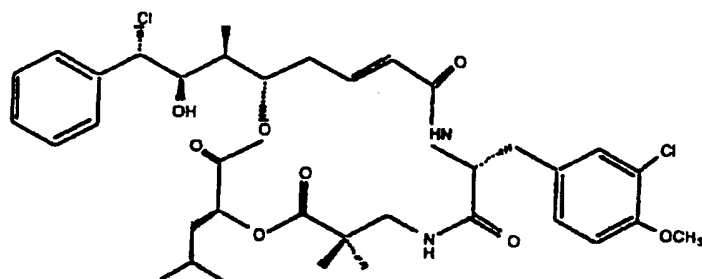
$[\alpha]_D -57,8^\circ$ (c 10,56, CHCl_3);

Elementární analýza pro $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}_5$.

Vypočteno: C, 66,46; H, 6,16; N, 4,08%.

Nalezeno: C, 66,49; H, 6,16; N, 4,07%.

05.04.99



KRYPTOFYCIN-55

Příklad 1

Příprava acetátu Kryptofycinu 55 (3).

Do roztoku 1 (93 mg, 0,13 mmolů) v 659 ml methylenchloridu byl při teplotě 0 °C přidán triethylamin (55 ml, 0,40 mmolů), 4-dimethylaminopyridin (1,6 mg, 0,013 mmolů) a acetanhydrid (19 ml, 0,20 mmolů). Po míchání při teplotě 0 °C po dobu 1 hodiny reakce byla ukončena 19 ml methanolu, reakční směs byla koncentrována na 0,5 objemu a přímo vložena do kolony mžikové chromatografie (19 g silikagelu pro mžikovou chromatografii). Vymývání ethylacetátem a hexany (3:1) poskytlo 88 mg (89%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,38-7,31 (m, 5H), 7,24 (d, 1H, J = 2,1 Hz), 7,22-7,18 (m, 1H), 7,10 (dd, 1H, J = 8,5, 2,1 Hz), 6,88 (d, 1H, J = 8,5 Hz), 6,75 (ddd, 1H, J = 15, 13, 4,6 Hz), 5,75 (dd, 1H, J = 15, 1,0 Hz), 5,55 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 5,46 (dd, 1H, J = 9,8, 1,2 Hz), 4,95 (dd, 1H, J = 11, 2,9 Hz), 4,89 (ddd, 1H, J = 9,9, 9,9, 1,7 Hz), 4,81 (d, 1H, J = 9,8 Hz), 4,79-4,74 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,39 (dd, 1H,

$J = 13, 8,1 \text{ Hz}$), 3,22 (dd, 1H, $J = 13, 4,1 \text{ Hz}$), 3,16 (dd, 1H, $J = 14, 5,1 \text{ Hz}$), 3,07 (dd, 1H, $J = 14, 7,6 \text{ Hz}$), 2,65-2,55 (m, 2H), 2,41-2,39 (m, 1H), 1,95 (ddd, 1H, $J = 14, 13, 4,6 \text{ Hz}$), 1,86-1,77 (m, 1H), 1,73-1,66 (m, 1H), 1,68 (s, 3H), 1,27 (s, 3H), 1,19 (s, 3H), 1,09 (d, 3H, $J = 7,1 \text{ Hz}$), 1,03 (d, 3H, $J = 6,7 \text{ Hz}$), 0,97 (d, 3H, $d = 6,6 \text{ Hz}$).

Příklad 2

Příprava sukcinátu Kryptofycinu 55 (4)

Do roztoku sloučeniny **1** (21 mg, 0,038 mmolů) a anhydridu kyseliny jantarové (5,7 mg, 0,057 mmolů) v 383 ml methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán triethylamin (16 ml, 0,115 mmolů) a 4-dimethylaminopyridin (4,7 mg, 0,038 mmolů). Po míchání po dobu 19 hodin, bylo přidáno dalších 5,7 mg (0,057 mmolů) anhydridu kyseliny jantarové a 4,7 mg (0,038 mmolů) 4-dimethylaminopyridinu, následovalo míchání po dalších 29 hodin. Reakční směs byla zpracována 0,5 ml 1 N vodné kyseliny chlorovodíkové a promývána methylenchloridem (3 x 0,5 ml). Sloučené organické extrakty byly sušeny (Na_2SO_4), filtrovány a koncentrovány za sníženého tlaku na bílou pěnu. Čištění pomocí HPLC⁷ s obrácenou fází poskytlo 10 mg (32%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,36-7,31 (m, 6H), 7,22 (br s, 1H), 7,08 (d, 1H, $J = 8,4 \text{ Hz}$), 7,02 (br s, 1H), 6,87 (d, 1H, $J = 8,4 \text{ Hz}$), 6,61 (m, 1H), 5,94-5,87 (m, 2H), 5,51 (d, 1H, $J = 9,8 \text{ Hz}$), 4,95 (dd, 1H, $J = 10, 2,8 \text{ Hz}$), 4,87-4,76 (m, 3H), 3,90 (s, 3H), 3,39 (dd, 1H, $J = 16, 5,6 \text{ Hz}$), 3,28 (dd, 1H, $J = 16, 8,2 \text{ Hz}$), 3,17 (dd, 1H, $J = 16, 5,6 \text{ Hz}$), 3,05 (dd, 1H, $J = 16, 8,2 \text{ Hz}$), 2,68-2,62 (m, 1H), 2,60-2,46 (m, 2H), 2,45-2,28 (m, 3H), 2,01-1,93 (m, 2H), 1,88-1,70 (m, 2H), 1,26 (s,

3H), 1,18 (s, 3H), 1,12 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz), 1,04 (d, 3H, $J = 6,6$ Hz), 1,00 (d, 3H, $J = 6,5$ Hz) .

Příklad 3

Příprava (2'-di-terc.-butylfosfatyl)fenylacetátu
Kryptofycinu 55 (5)

Do roztoku sloučeniny **1** (0,102 mmolů), sloučeniny **24** (46 mg, 0,134 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (12 mg, 0,102 mmolů) v 250 ml bezvodého methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (21 mg, 0,134 mmolů) v 50 ml methylenchloridu. Po míchání při teplotě okolí po dobu 6 hodin reakční směs byla zředěna 1 ml směsí ethylacetát-hexany (3:1) a filtrován přes vrstvu celitu, promývání ethylacetát-hexany (3:1).

Filtrát a tekutina z promývání byly koncentrovány za sníženého tlaku na purpurovou pěnu. Chromatografie (15 g silikagelu pro mžikovou chromatografii), vymývání směsí ethylacetát-hexany (4:1) poskytlo 86 mg (82%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,35 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz), 1,30-7,19 (m, 8H), 7,11 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,0$ Hz), 7,02 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz), 6,87 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,84 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz), 6,73 (ddd, 1H, $J = 15, 13, 4,7$ Hz), 5,92 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz), 5,79 (dd, 1H, $J = 15, 1,0$ Hz), 5,43 (dd, 1H, $J = 9,4, 1,8$ Hz), 4,98 (dd, 1H, $J = 12, 3,1$ Hz), 4,81 (ddd, 1H, $J = 9,9, 9,9, 1,8$ Hz), 4,75 (d, 1H, $J = 9,4$ Hz), 4,73-4,67 (m, 1H), 3,90 (s, 3H), 3,49 (d, 1H, $J = 16$ Hz), 3,44-3,38 (m, 1H), 3,38 (d, 1H, $J = 16$ Hz), 3,27-3,17 (m, 2H), 3,10 (dd, 1H, $J = 14, 8,2$ Hz), 2,55-2,46 (m, 2H), 2,37-2,27 (m, 1H),

1,95 (ddd, 1H, $J = 14, 12, 4,5$ Hz), 1,83-1,70 (m, 2H), 1,49 (s, 18H), 1,27 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,03 (d, 3H, $J = 6,5$ Hz), 0,97 (d, 3H, $J = 6,4$ Hz), 0,92 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz).

Příklad 4

Příprava disodné soli (2'-fosfatyl)fenylacetátu Kryptofycinu
55 (6)

Do roztoku sloučeniny **5** (84 mg, 0,081 mmolů) v 400 ml methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 4,0 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (81 ml, 0,33 mmolů). Bledě žlutý roztok byl ponechán za míchání při teplotě okolí po dobu 2 hodin. Po koncentraci za sníženého tlaku na bělavou pěnu byl surový dihydrogenfosforečnan rozpuštěn v 614 ml tetrahydrofuranu a zpracován 5,00 N vodným roztokem hydroxidu sodného (33 ml, 0,163 mmolů). Po míchání po dobu 10 minut byla směs koncentrována za sníženého tlaku na snědou pěnu. Surová sůl byla vyjmuta v 1 ml horkého acetonitrilu a 0,1 ml horké vody. Nerozpustné složky byly odfiltrovány a filtrát byl koncentrován za sníženého tlaku a tím se získalo 69 mg (87 %) sloučeniny z názvu ve formě bílé pevné látky:

500 MHz ^1H NMR (MeOH- d_4) δ 7,58 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz), 7,38-7,32 (m, 2H), 7,32-7,28 (m, 3H), 7,28 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz), 7,17 (dd, 1H, $J = 8,5, 2,1$ Hz), 7,09 (ddd, 1H, $J = 7,8, 7,8, 1,7$ Hz), 6,98 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 6,79-6,70 (m, 2H), 6,67 (d, 1H, $J = 7,4$ Hz), 5,91 (dd, 1H, $J = 15, 1,7$ Hz), 5,45 (dd, 1H, $J = 9,4, 1,6$ Hz), 5,06 (dd, 1H, $J = 10, 2,7$ Hz), 5,01 (d, 1H, $J = 9,4$ Hz), 4,89-4,80 (m, 1H), 4,47 (dd, 1H, $J = 11, 3,8$ Hz), 3,84 (s, 3H), 3,67 (d, 1H, $J = 16$ Hz), 3,45 (d, 1H, $J = 14$ Hz), 3,42 (d, 1H, $J = 16$ Hz), 3,18 (dd, 1H, J

= 14, 3,8 Hz), 3,12 (d, 1H, $J = 14$ Hz), 2,77 (dd, 1H, $J = 14, 11$ Hz), 2,67-2,60 (m, 1H), 2,56-2,48 (m, 1H), 2,31-2,22 (m, 1H), 1,96-1,88 (m, 1H), 1,85-1,77 (m, 2H), 1,22 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,03 (d, 3H, $J = 6,2$ Hz), 0,98 (d, 3H, $J = 6,1$ Hz), 0,93 (d, 3H, $J = 7,1$ Hz).

Příklad 5

Příprava hydrochloridové soli nikotinoátu Kryptofycinu 55 (7)

Do roztoku sloučeniny **1** (50 mg, 0,071 mmolů) v 354 ml pyridinu byl při teplotě okolí přidán hydrochlorid nikotinoylchloridu (15 mg, 0,085 mmolů) následovaný triethylaminem (23 ml, 0,170 mmolů). Po míchání po dobu 1,5 hodin byl přidán 4-dimethylaminopyridin (8,6 mg, 0,071 mmolů). Po míchání 5 hodin byl přidán další triethylamin (23 ml, 0,170 mmolů), 4-dimethylaminopyridin (8,6 mg, 0,071 mmolů) a hydrochlorid nikotinoylchloridu (15 mg, 0,085 mmolů) spolu s 50 ml pyridinové promývací lázně. Po míchání 18 hodin reakční směs byla zpracována 0,5 ml nasyceného vodného hydrogenuhličitanu sodného a promývána methylenchloridem (4 x 1 ml). Sloučené organické extrakty byly sušeny (Na_2SO_4), filtrovány a koncentrovány za sníženého tlaku na světle hnědý olej. Chromatografie (14 g silikagelu pro mžikovou chromatografii), vymývání směsí ethylacetát-hexany (10:1) poskytlo 49 mg (85%) volné báze ve formě bílé pěny. Nikotinoát byl rozpuštěn v 1 ml methylenchloridu a zpracován 1,0 M roztokem chlorovodíku v diethyletheru (90 ml, 0,090 mmolů). Čirý bezbarvý roztok byl ponechán stát při teplotě okolí po dobu 5 minut. Odebrání rozpouštědla za sníženého tlaku dalo 51 mg sloučeniny z názvu ve formě bílé

pěny:

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) δ 8,94 (s, 1H), 8,78 (br s, 1H), 8,29 (d, 1H, $J = 7,0$ Hz), 7,57 (br s, 1H), 7,38 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz), 7,30-7,16 (m, 5H), 7,10 (dd, 1H, $J = 8,4, 1,7$ Hz), 6,88 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,71 (m, 1H), 5,80 (d, 1H, $J = 15$ Hz), 5,74 (d, 1H, $J = 9,6$ Hz), 5,56 (br s, 1H), 5,00 (d, 1H, $J = 9,6$ Hz), 4,95 (t, 1H, $J = 8,9$ Hz), 4,84 (d, 1H, $J = 9,8$ Hz), 4,77-4,72 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,39 (dd, 1H, $J = 13, 8,2$ Hz), 3,23-3,14 (m, 2H), 3,06 (dd, 1H, $J = 14, 7,6$ Hz), 2,81-2,74 (m, 1H), 2,62-2,45 (m, 2H), 1,93 (ddd, 1H, $J = 14, 12, 4.8$ Hz), 1,78-1,70 (m, 1H), 1,66-1,59 (m, 1H), 1,25 (s, 3H), 1,20 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz), 1,19 (s, 3H), 0,98 (d, 3H, $J = 6,7$ Hz), 0,84 (d, 3H, $J = 6,5$ Hz).

Příklad 6

Příprava acetátu N-methylpyridinium Kryptofycinu 55 (8)

Do roztoku sloučeniny **1** (53 mg, 0,075 mmolů) v 751 ml methylenchloridu při teplotě 0 °C byl přidán triethylamin (13 ml, 0,090 mmolů) následovaný 2-fluor-1-methylpyridinium-p-toluensulfonátem (23 mg, 0,083 mmolů). Heterogenní reakční směs byla zahřáta na teplotu okolí a míchána po dobu 3,5 hodin a poté bylo přidáno dalších 11 mg (0,039 mmolů) 2-fluor-1-methylpyridinium-p-toluensulfonátu. Po míchání po dobu 14,5 hodin bylo přidáno dalších 11 mg (0,039 mmolů) 2-fluor-1-methylpyridinium-p-toluensulfonátu, následovaných dalšími 11 mg (0,039) 2-fluor-1-methylpyridinium-p-toluensulfonátu a 13 ml (0,090) triethylaminu po 2,5 hodinách. Po míchání dodatečnou 1 hodinu reakční směs byla koncentrována za sníženého tlaku na oranžovou pěnu. Čištění chromatografií HPLC⁸ s obrácenou fází se současnou

aniontovou výměnou (acetát za p-toluensulfonát) následované lyofilizací dalo 30 mg (47%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pevné látky:

500 MHz ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 8,65-8,58 (m, 2H), 8,36 (t, 1H, J = 7,8 Hz), 7,68 (d, 1H, J = 5,9 Hz), 7,60 (d, 1H, J = 6,6 Hz), 7,48 (t, 1H, J = 6,6 Hz), 7,35-7,21 (m, 5H), 7,19 (dd, 1H, J = 8,5, 1,9 Hz), 7,05 (d, 1H, J = 8,5 Hz), 6,49 (ddd, 1H, J = 16, 13, 4,0 Hz), 5,91 (d, 1H, J = 16 Hz), 5,72 (d, 1H, J = 8,0 Hz), 5,66 (dd, 1H, J = 8,0, 1,9 Hz), 5,32-5,27 (m, 1H), 4,73 (dd, 1H, J = 9,7, 4,3 Hz), 4,24 (ddd, 1H, J = 11, 9,8, 3,7 Hz), 3,93 (s, 3H), 3,81 (s, 3H), 3,32 (dd, 1H, J = 13, 9,3 Hz), 3,05-2,97 (m, 2H), 2,77-2,57 (m, 3H), 2,54-2,47 (m, 1H), 1,76 (s, 3H), 1,68-1,62 (m, 1H), 1,55-1,46 (m, 1H), 1,37-1,30 (m, 1H), 1,15 (d, 3H, J = 7,0 Hz), 1,13 (s, 3H), 1,00 (s, 3H), 0,88 (d, 3H, J = 6,7 Hz), 0,73 (d, 3H, J = 6,5 Hz).

Příklad 7

Příprava N-t-Boc-3-(3-chlor-4-methoxyfenyl)-(D)-alaninátu
Kryptofycinu 55 (9)

Do roztoku sloučeniny **1** (23 mg, 0,033 mmolů), N-t-Boc-3-(3-chlor-4-methoxyfenyl)-(D)-alaninu^{4c} (16 mg, 0,049 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (několik krystalů) v 143 ml bezvodého methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (10 mg, 0,049 mmolů) v 20 ml methylenchloridu. Po míchání po dobu 2 hodin byla kalně bílá reakční směs zředěna směsí ethylacetát-hexany (2:1, 1 ml), míchána po dobu 10 minut a filtrována přes vrstvu celitu, promývání směsí ethylacetát-hexany (2:1). Filtrát a promývací tekutiny byly koncentrovány za sníženého tlaku na

bezbarvý olej. Chromatografie (14 g silikagelu pro mžikovou chromatografii, 2:1 ethylacetát-hexany) poskytla 29 mg (88 %) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,42-7,27 (m, 5H), 7,24 (d, 1H, J = 2,0 Hz), 7,25-7,18 (m, 1H), 7,09 (dd, 1H, J = 8,4, 1,9 Hz), 6,91-6,86 (m, 2H), 6,84-6,70 (m, 3H), 5,75 (d, 1H, J = 15 Hz), 5,53 (d, 1H, J = 9,6 Hz), 5,47 (d, 1H, J = 7,6 Hz), 5,00 (dd, 1H, J = 10, 2,9 Hz), 4,90-4,80 (m, 2H), 4,78-4,71 (m, 1H), 4,63 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 4,19-4,12 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,88 (s, 3H), 3,40 (dd, 1H, J = 13, 8,1 Hz), 3,25-3,12 (m, 2H), 3,07 (dd, 1H, J = 14, 7,6 Hz), 2,67-2,57 (m, 2H), 2,39-2,27 (m, 2H), 2,15 (dd, 1H, J = 14, 8,0 Hz), 2,01 (ddd, 1H, J = 14, 12, 4,2 Hz), 1,87-1,76 (m, 2H), 1,39 (s, 9H), 1,27 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,09-1,04 (m, 6H), 1,01 (d, 3H, J = 6,3 Hz).

Příklad 8

Příprava hydrochloridové soli 3-(3-chlor-4-methoxyfenyl)-(D)-alaninátu Kryptofycinu 55 (10)

Do roztoku sloučeniny **9** (27 mg, 0,027 mmolů) v 265 ml methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 4,0 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (33 ml, 0,133 mmolů). Po míchání po dobu 3 hodin byla čirá bezbarvá reakční směs koncentrována za sníženého tlaku a tím se získalo 26 mg (96%, přepočteno pro 5 % hmot. dioxanu) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (MeOH-d_4) δ 7,79 (d, 1H, J = 7,3 Hz), 7,49-7,45 (m, 2H), 7,43-7,48 (m, 3H), 7,31 (d, 1H, J = 2,0 Hz), 7,20 (dd, 1H, J = 8,4, 2,1 Hz), 7,13 (d, 1H, J = 2,2 Hz), 7,07-6,95 (m, 3H), 6,11 (ddd, 1H, 15, 13, 3,8 Hz), 5,98 (dd,

1H, $J = 15$, 1,8 Hz), 5,69 (d, 1H, $J = 10$ Hz), 5,22 (d, 1H, $J = 10$ Hz), 5,18 (dd, 1H, $J = 10$, 2,5 Hz), 4,89-4,80 (m, 1H), 4,53 (dd, 1H, $J = 11$, 3,7 Hz), 4,16 (dd, 1H, $J = 10$, 4,4 Hz), 3,88 (s, 3H), 3,87 (s, 3H), 3,51 (dd, 1H, $J = 13$, 9,9 Hz), 3,20 (dd, 1H, $J = 14$, 3,7 Hz), 3,14 (dd, 1H, $J = 13$, 2,3 Hz), 2,82-2,75 (m, 3H), 2,45 (dd, 1H, $J = 15$, 4,5 Hz), 2,42-2,34 (m, 1H), 2,08-2,00 (m, 1H), 1,97-1,86 (m, 3H), 1,27 (s, 3H), 1,21 (s, 3H), 1,16 (d, 3H, $J = 7,1$ Hz), 1,10 (d, 3H, $J = 6,1$ Hz), 1,06 (d, 3H, $J = 6,0$ Hz).

Příklad 9

Příprava N-t-Boc-glycinát Kryptofycinu 55 (11)

Do roztoku sloučeniny **1** (118 mg, 0,167 mmolů), N-t-Boc-glycinu (44 mg, 0,251 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (2,0 mg, 0,0167 mmolů) v 490 ml bezvodého methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (52 mg, 0,251 mmolů) v 67 ml methylenchloridu. Po míchání po dobu 50 minut, kalně bílá reakční směs byla zředěna směsí ethylacetát-hexany (3:1, 1 ml), míchána po dobu 10 minut a filtrována přes vrstvu celitu, promývána směsí ethylacetát-hexany (3:1). Filtrát a promývací tekutina byly koncentrovány za sníženého tlaku na bezbarvý olej. Chromatografie (19 g silikagelu pro mžikovou chromatografii, 3:1/ethylacetát-hexany) poskytla 138 mg (96%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,34 (s, 5H), 7,24 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz), 7,23-7,19 (m, 1H), 7,10 (dd, 1H, $J = 8,4$, 2,0 Hz), 6,88 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,79-6,70 (m, 1H), 5,71 (d, 1H, $J = 13$ Hz), 5,50 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 5,47 (d, 1H, $J = 9,8$ Hz), 4,97 (dd, 1H, $J = 11$, 2,7 Hz), 4,89 (t, 1H, $J = 10$ Hz), 4,83

(d, 1H, $J = 9,8$ Hz), 4,79-4,72 (m, 1H), 4,68 (br s, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,66 (dd, 1H, $J = 18, 5,3$ Hz), 3,42-3,35 (m, 2H), 3,21 (dd, 1H, $J = 13, 4,0$ Hz), 3,17 (dd, 1H, $J = 15, 5,1$ Hz), 3,0B (dd, 1H, $J = 15, 7,6$ Hz), 2,66-2,57 (m, 2H), 2,47-2,38 (m, 1H), 1,95 (ddd, 1H, $J = 14, 12, 4,7$ Hz), 1,85-1,77 (m, 1H), 1,75-1,67 (m, 1H), 1,43 (s, 9H), 1,27 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,08 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz), 1,03 (d, 3H, $J = 6,7$ Hz), 0,98 (d, 3H, $J = 6,5$ Hz) .

Příklad 9

Příprava hydrochloridu glycinátu Kryptofycinu 55 (12)

Do roztoku sloučeniny **11** (122 mg, 0.141 mmolů) v 471 ml methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 4,0 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (178 ml, 0,107 mmolů). Po míchání po dobu 1 hodiny 20 minut byla čirá bezbarvá reakční směs koncentrována za sníženého tlaku a tím se získalo 120 mg (99 %, přepočteno pro 7 % hmot. dioxanu) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (MeOH- d_4) δ 7,81 (dd, 1H, $J = 8,5, 2,2$ Hz), 7,46-7,41 (m, 2H), 7,40-7,36 (m, 3H), 7,31 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz), 7,20 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,1$ Hz), 7,01 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,10 (ddd, 1H, $J = 15, 13, 3,7$ Hz), 5,97 (dd, 1H, $J = 15, 1,7$ Hz), 5,55 (d, 1H, $J = 9,9$ Hz), 5,18 (d, 1H, $J = 9,9$ Hz), 5,14 (dd, 1H, $J = 10, 2,8$ Hz), 4,84 (t, 1H, $J = 10$ Hz), 4,52 (dd, 1H, $J = 11, 3,7$ Hz), 3,87 (s, 3H), 3,78 (d, 1H, $J = 18$ Hz), 3,50 (dd, 1H, $J = 13, 9,8$ Hz), 3,23 (d, 1H, $J = 18$ Hz), 3,20 (dd, 1H, $J = 14, 3,6$ Hz), 3,13 (dd, 1H, $J = 13,2$ 4 Hz), 2,80-2,69 (m, 3H), 2,41-2,32 (m, 1H), 1,99-1,92 (m, 1H), 1,91-1,81 (m, 2H), 1,25 (3, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,12 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz), 1,06 (d, 3H, $J = 6,2$ Hz), 1,04 (d, 3H, 6,2

Hz).

Příklad 10

Příprava N-t-Boc-b-alaninátu Kryptofycinu 55 (13)

Do roztoku sloučeniny **1** (102 mg, 0,145 mmolů), N-t-Boc-b-alaninu (41 mg, 0,217 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (18 mg, 0,145 mmolů) v 400 ml bezvodého methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (45 mg, 0,217 mmolů) v 82 ml methylenchloridu. Po míchání po dobu 3,5 hodin byla kalně bílá reakční směs zředěna směsí ethylacetát-hexany (3;1, 1 ml), míchán po dobu 10 minut a filtrován přes vrstvu celitu, promývání směsí ethylacetát-hexany (3:1). Filtrát a promývací tekutina byly koncentrovány za sníženého tlaku na bezbarvý olej. Chromatografie (21 g silikagelu pro mžikovou chromatografii, 2:1 potom 4:1/ethylacetát-hexany) poskytla 121 mg (95%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,44-7,39 (m, 2H), 7,37-7,31 (m, 3H), 7,32 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz), 7,20 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,1$ Hz), 7,01 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,72 (ddd, 1H, $J = 15, 13, 3,7$ Hz), 5,96 (dd, 1H, $J = 15, 1,6$ Hz), 5,51 (d, 1H, $J = 9,8$ Hz), 5,11-5,06 (m, 1H), 5,08 (d, 1H, $J = 9,8$ Hz), 4,90-4,83 (m, 1H), 4,50 (dd, 1H, $J = 11, 3,6$ Hz), 3,86 (s, 3H), 3,52-3,46 (m, 1H), 3,20 (dd, 1H, $J = 14, 3,6$ Hz), 3,13 (br d, 1H, $J = 14$ Hz), 3,05-2,92 (m, 2H), 2,79-2,63 (m, 3H), 2,45-2,37 (m, 1H), 2,24 (dt, 1H, $J = 16, 7,0$ Hz), 2,08-1,99 (m, 1H), 1,96-1,79 (m, 3H), 1,43 (s, 9H), 1,25 (s, 3H), 1,21 (s, 3H), 1,12 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz), 1,06 (d, 3H, $J = 6,2$ Hz), 1,02 (d, 3H, $J = 6,1$ Hz).

Příklad 11

Příprava hydrochloridové soli b-alaninátu Kryptofycinu 55 (14)

Do roztoku sloučeniny **13** (119 mg, 0,136 mmolů) v 452 ml methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 4,0 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (170 ml, 0,679 mmolů). Po míchání po dobu 2 hodin 15 minut, kalně bílá reakční směs byla koncentrována za sníženého tlaku a tím se získalo 110 mg (96 %, přepočteno pro 4 % hmot. dioxanu) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (MeOH-d_4) δ 7,80 (dd, 1H, $J = 9,7, 2,3$ Hz), 7,45-7,40 (m, 2H), 7,39-7,32 (m, 3H), 7,20 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,1$ Hz), 7,01 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,68 (ddd, 1H, $J = 15, 13, 3,8$ Hz), 5,98 (dd, 1H, $J = 15, 1,7$ Hz), 5,48 (dd, 1H, $J = 9,4, 1,0$ Hz), 5,15-5,11 (m, 1H), 5,13 (d, 1H, $J = 9,4$ Hz), 4,82 (t, 1H, $J = 10$ Hz), 4,51 (dd, 1H, $J = 11, 3,7$ Hz), 3,90 (s, 3H), 3,50 (dd, 1H, $J = 14, 9,8$ Hz), 3,20 (dd, 1H, $J = 14, 3,7$ Hz), 3,14 (dd, 1H, $J = 14, 2,4$ Hz), 2,85 (t, 2H, $J = 7,0$ Hz), 2,80-2,65 (m, 5H), 2,54 (dt, 1H, $J = 17, 7,4$ Hz), 2,42-2,33 (m, 1H), 2,22 (dt, 1H, $J = 17, 6,7$ Hz), 1,90-1,81 (m, 3H), 1,25 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,13 (d, 3H, $J = 7,1$ Hz), 1,08 (d, 3H, $J = 6,3$ Hz), 1,04 (d, 3H, $J = 6,2$ Hz).

Příklad 12

Příprava N-t-Boc-g-aminobutyrátu Kryptofycinu 55 (15)

Do roztoku sloučeniny **1** (48 mg, 0,068 mmolů), N-t-Boc-4-aminomáselná kyselina (18 mg, 0,088 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (8 mg, 0,068 mmolů) v 150 ml bezvodého methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-

dicyklohexylkarbodiimidu (18 mg, 0,088 mmolů) v 50 ml methylenchloridu. Po míchání po dobu 45 minut byla kalně bílá reakční směs zředěna směsí ethylacetát-hexany (3:1, 0,5 ml), míchána po dobu 5 minut a filtrována přes vrstvu celitu, promývání směsí ethylacetát-hexany (3:1). Filtrát a promývací tekutina byly koncentrovány za sníženého tlaku na bezbarvý olej. Chromatografie (15 g silikagelu pro mžikovou chromatografii, 3:1/ethylacetát-hexany) poskytl 55 mg (90%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,38-7,32 (m, 5H), 7,24 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz), 7,22-7,19 (m, 1H), 7,10 (dd, 1H, $J = 8,4, 1,9$ Hz), 6,88 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,75 (ddd, 1H, $J = 15, 13, 3,9$ Hz), 5,78 (d, 1H, $J = 15$ Hz), 5,60-5,55 (m, 1H), 5,49 (dd, 1H, $J = 9,8, 1,4$ Hz), 4,96 (dd, 1H, $J = 11, 3,0$ Hz), 4,89 (t, 1H, $J = 9,2$ Hz), 4,81 (d, 1H, $J = 9,8$ Hz), 4,78-4,70 (m, 1H), 4,44 (br s, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,40 (dd, 1H, $J = 14, 8,1$ Hz), 3,22 (dd, 1H, $J = 14, 4,1$ Hz), 3,22-3,15 (m, 1H), 3,08 (dd, 1H, $J = 14, 7,8$ Hz), 2,89-2,82 (m, 2H), 2,67-2,56 (m, 2H), 2,47-2,38 (m, 1H), 2,11-2,04 (m, 1H), 2,00-1,77 (m, 3H), 1,75-1,67 (m, 1H), 1,45 (s, 9H), 1,50-1,40 (m, 2H), 1,27 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,09 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz), 1,04 (d, 3H, $J = 6,6$ Hz), 0,98 (d, 3H, $J = 6,6$ Hz).

Příklad 13

Příprava hydrochloridové soli g-aminobutyrátu Kryptofycinu 55 (16)

Do roztoku sloučeniny **15** (53 mg, 0,059 mmolů) v 297 ml methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 1,0 M roztok chlorovodíku v diethyletheru (297 ml, 0,297 mmolů). Výchozí materiál precipitoval ve formě bílé pasty, která byla znovu

rozpuštěna s dalšími 150 ml methylenchloridu. Po míchání po dobu 4 hodin bylo přidáno dalších 59 ml (0,059 mmolů) roztoku chlorovodíku. Míchání pokračovalo po dobu dalších 14 hodin a reakční směs byla koncentrována za sníženého tlaku a tím se získalo 49 mg (100%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 8,49 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,72 (br s, 3H), 7,44-7,33 (m, 5H), 7,32 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz), 7,29 (dd, 1H, $J = 9,4, 2,6$ Hz), 7,20 (dd, 1H, $J = 8,5, 1,9$ Hz), 7,06 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 6,48 (ddd, 1H, $J = 15, 13, 3,9$ Hz), 5,87 (d, 1H, $J = 15$ Hz), 5,37 (d, 1H, $J = 9,7$ Hz), 5,33 (d, 1H, $J = 9,7$ Hz), 5,04-5,01 (m, 1H), 4,73 (t, 1H, $J = 11$ Hz), 4,25 (ddd, 1H, $J = 12, 9,8, 3,5$ Hz), 3,82 (s, 3H), 3,40-3,30 (m, 1H), 3,07-3,01 (m, 2H), 2,72 (dd, 1H, $J = 14, 12$ Hz), 2,65-2,47 (m, 4H), 2,38-2,28 (m, 1H), 2,21 (dt, 1H, $J = 17, 7,5$ Hz), 1,97 (dt, 1H, $J = 17, 7,5$ Hz), 1,80-1,70 (m, 3H), 1,54-1,46 (m, 2H), 1,17 (s, 3H), 1,03 (s, 3H), 1,01 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz), 0,99 (d, 3H, $J = 5,8$ Hz), 0,95 (d, 3H, $J = 5,8$ Hz).

Příklad 14

Příprava H-t-Boc-(L)-alaninátu Kryptofycinu 55 (17)

Do roztoku sloučeniny **1** (103 mg, 0,146 mmolů), N-t-Boc-(L)-alaninu (41 mg, 0,219 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (18 mg, 0,146 mmolů) v 400 ml bezvodého methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (45 mg, 0,219 mmolů) v 87 ml methylenchloridu. Po míchání po dobu 5 hodin 50 minut byla kalně bílá reakční směs zpracována dalšími 5,5 mg (0,029 mmolů) N-t-Boc-(L)-alaninu, 6,0 mg (0,029 mmolů) 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu a několika

krystaly 4-dimethylaminopyridinu. Po míchání další 1 hodinu byla reakční směs zředěna směsí ethylacetátem-hexany (3:1, 1 ml), míchána po dobu 10 minut a filtrován přes vrstvu celitu, promývání směsí ethylacetát:hexany (3:1). Filtrát a promývací tekutina byly koncentrovány za sníženého tlaku na bezbarvý olej. Chromatografie (22 g silikagelu pro mžikovou chromatografii, 1,5:1 potom 2:1 potom 4:1/ethylacetát-hexany) poskytla 96 mg (75%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,35-7,30 (m, 5H), 7,26-7,21 (m, 2H), 7,10 (dd, 1H, $J = 8,4, 1,9$ Hz), 6,88 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,76 (ddd, 1H, $J = 15, 13, 4,2$ Hz), 5,77 (d, 1H, $J = 15$ Hz), 5,52 (d, 1H, 7,6 Hz), 5,44 (d, 1H, $J = 9,7$ Hz), 4,98 (dd, 1H, $J = 11, 2,5$ Hz), 4,85-4,81 (m, 2H), 4,75 (q, 1H, $J = 6,8$ Hz), 4,56 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz), 4,01-3,96 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,41 (dd, 1H, $J = 13, 8,3$ Hz), 3,20 (dd, 1H, $J = 13, 4,0$ Hz), 3,16 (dd, 1H, $J = 15, 5,9$ Hz), 3,08 (dd, 1H, $J = 15, 7,6$ Hz), 2,65-2,57 (m, 2H), 2,40-2,31 (m, 1H), 2,02-1,96 (m, 1H), 1,87-1,73 (m, 2H), 1,43 (s, 9H), 1,27 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,11-1,02 (m, 9H), 0,99 (d, 3H, $J = 6,3$ Hz).

Příklad 15

Příprava hydrochloridové soli (L)-alaninátu Kryptofycinu 55 (18)

Do roztoku sloučeniny **17** (95 mg, 0,108 mmolů) v 361 ml methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 4,0 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (135 ml, 0,542 mmolů). Po míchání po dobu 2,5 hodin byla kalně bílá reakční směs koncentrována za sníženého tlaku a tím se získalo 90 mg (96%, přepočteno pro 6 % hmot. dioxanu) sloučeniny z názvu ve formě bílé

pěny:

500 MHz ^1H NMR (MeOH- d_4) δ 8,54 (d, 1H, 1,6 Hz), 7,81 (br d, 1H, $J = 9,7$ Hz), 7,46-7,44 (m, 2H), 7,39-1,37 (m, 3H), 7,32 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz), 7,20 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,0$ Hz), 7,01 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz), 6,69 (ddd, 1H, $J = 15, 11, 3,7$ Hz), 5,99 (d, 1H, 15 Hz), 5,55 (d, 1H, $J = 9,8$ Hz), 5,20 (d, 1H, $J = 9,8$ Hz), 5,15 (dd, 1H, $J = 11, 2,7$ Hz), 4,78 (t, 1H, $J = 11$ Hz), 4,53-4,50 (m, 1H), 3,87 (s, 3H), 3,65 (q, 1H, $J = 7,3$ Hz), 3,50 (dd, 1H, $J = 13, 9,8$ Hz), 3,20 (dd, 1H, $J = 14, 3,5$ Hz), 3,14 (br d, 1H, $J = 13$ Hz), 2,81-2,71 (m, 3H), 2,41-2,34 (m, 1H), 1,98-1,93 (m, 1H), 1,88-1,82 (m, 2H), 1,41 (d, 3H, $J = 7,3$ Hz), 1,25 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,13 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz), 1,06 (d, 3H, $J = 6,2$ Hz), 1,04 (d, 3H, 6,0 Hz).

Příklad 16

Příprava N-t-Boc-(D)-alaninátu Kryptofycinu 55 (19)

Do roztoku sloučeniny **1** (25 mg, 0,035 mmolů), N-t-Boc-(D)-alaninu (10 mg, 0,053 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (0,4 mg, 0,0035 mmolů) v 130 ml bezvodého methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (11 mg, 0,053 mmolů) v 47 ml methylenchloridu. Po míchání po dobu 5,5 hodin byla kalně bílá reakční směs zředěna směsí ethylacetát-hexany (3:1, 0,5 ml), míchána po dobu 10 minut a filtrován přes vrstvu celitu, promývání směsí ethylacetát:hexany (3:1). Filtrát a promývací tekutina byly koncentrovány za sníženého tlaku na bezbarvý olej. Chromatografie (15 g silikagelu pro mžikovou chromatografii, 2:1/ethylacetát-hexany) poskytla 26 mg (83%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,49-7,29 (m, 5H), 7,24 (d, 1H, J = 2,0 Hz), 7,22-7,18 (m, 1H), 7,09 (dd, 1H, 8,4, 2,0 Hz), 6,87 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 6,76 (ddd, 1H, J = 15, 13, 4,4, Hz), 5,77 (d, 1H, 15 Hz), 5,56 (d, 1H, J = 9,9 Hz), 5,48 (d, 1H, J = 7,7 Hz), 5,01 (dd, 1H, J = 10, 2,6 Hz), 4,91 (t, 1H, J = 9,4 Hz), 4,84 (d, 1H, J = 9,9 Hz), 4,81-4,73 (m, 2H), 3,99-3,93 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,39 (dd, 1H, J = 13, 8,0 Hz), 3,22 (dd, 1H, J = 13, 3,6 Hz), 3,17 (dd, 1H, J = 14, 5,0 Hz), 3,08 (dd, 1H, J = 14 Hz), 2,68-2,58 (m, 2H), 2,42-2,35 (m, 1H), 2,04-1,94 (m, 1H), 1,87-1,50 (m, 2H), 1,42 (s, 9H), 1,27 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,09 (d, 3H, J = 7,1 Hz), 1,04 (d, 3H, J = 6,4 Hz), 0,99 (d, 3H, J = 6,3 Hz), 0,65 (d, 3H, J = 6,8 Hz).

Příklad 17

Příprava hydrochloridové soli (D)-alaninátu Kryptofycinu 55 (20)

Do roztoku sloučeniny **18** (24 mg, 0,027 mmolů) v 274 ml methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 4,0 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (34 ml, 0,137 mmolů). Po míchání po dobu 3,5 hodin byla čirá bezbarvá reakční směs koncentrována za sníženého tlaku a tím se získalo 24 mg (100%, přepočteno pro 8 % hmot. dioxanu) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR ($\text{MeOH}-d_4$) δ 1,79 (d, 1H, J = 5 Hz), 7,47-7,40 (m, 2H), 7,40-7,36 (m, 3H), 7,31 (d, 1H, J = 2,0 Hz), 7,20 (dd, 1H, J = 8,4, 2,0 Hz), 7,01 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 6,71 (ddd, 1H, J = 15, 13, 3,7 Hz), 5,98 (dd, 1H, J = 15, 1,6 Hz), 5,65 (d, 1H, J = 10 Hz), 5,20 (d, 1H, J = 10 Hz), 5,17 (dd, 1H, J = 11, 2,5 Hz), 4,88-4,78 (m, 1H), 4,53 (dd, 1H, J

= 11, 3,7 Hz), 3,95 (q, 1H, J = 1,2 Hz), 3,87 (s, 3H), 3,51 (dd, 1H, J = 13, 9,8 Hz), 3,20 (dd, 1H, J = 14, 3,6 Hz), 3,14 (dd, 1H, J = 13, 2,3 Hz), 2,81-2,74 (m, 3H), 2,41-2,34 (m, 1H), 2,07-1,99 (m, 1H), 1,96-1,84 (m, 2H), 1,26 (s, 3H), 1,21 (s, 3H), 1,15 (d, 3H, J = 7,1 Hz), 1,09 (d, 3H, J = 6,0 Hz), 1,05 (d, 3H, J = 6,0 Hz), 0,80 (d, 3H, J = 7,4 Hz).

Příklad 18

Příprava Na-Ne-di-t-Boc-(L)-lysinátu Kryptofycinu 55 (21)

Do roztoku sloučeniny **1** (105 mg, 0,149 mmolů), Na-Ne-di-t-Boc-(L)-lysinu (67 mg, 0,193 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (18 mg, 0,149 mmolů) v 400 ml bezvodého methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (40 mg, 0,193 mmolů) v 96 ml methylenchloridu. Po míchání po dobu 4 hodin byla kalně bílá reakční směs zpracována dalšími 10 mg (0,030 mmolů) Na-Ne-di-t-Boc-(L)-lysinu a 6,1 mg (0,030 mmolů) 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu jako roztoku v 100 ml methylenchloridu. Po míchání další 1 hodinu byla kalně bílá reakční směs zředěna směsí ethylacetát-hexany (3:1, 1 ml), míchána po dobu 10 minut a filtrována přes vrstvu celitu, promývání směsí ethylacetát:hexany (3:1). Filtrát a promývací tekutina byly koncentrovány za sníženého tlaku na bílou pěnu, která byla znovu vystavena výše uvedeným podmínkám použitím 34 mg (0,097 mmolů) Na-Ne-di-t-Boc-(L)-lysinu, 20 mg (0,097 mmolů) 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu a 9,1 mg (0,075 mmolů) 4-dimethylaminopyridinu. Po míchání po dobu 1,5 hodiny byla reakční směs zpracována jak bylo uvedeno výše a tím se získala surová bílá pěna. Chromatografie (21 g silikagelu pro mžikovou chromatografii,

1:1 potom 4:1/ethylacetát-hexany) poskytla 112 mg (73%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (MeOH- d_4) δ 7,42-7,37 (m, 2H), 7,36-7,29 (m, 3H), 7,27 (br s, 1H), 7,16 (br d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 6,97 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 6,72 (ddd, 1H, $J = 15, 13, 3,5$ Hz), 5,92 (d, 1H, $J = 15$ Hz), 5,50 (d, 1H, $d = 11$ Hz), 5,11-5,04 (m, 2H), 4,84 (t, 1H, $J = 10$ Hz), 4,48 (dd, 1H, $J = 11, 3,6$ Hz), 3,84 (s, 3H), 3,75 (br s, 1H), 3,50-3,43 (m, 1H), 3,17 (dd, 1H, $J = 14, 3,6$ Hz), 3,11 (d, 1H, $J = 14$ Hz), 2,97-2,91 (m, 2H), 2,76-2,58 (m, 3H), 2,36-2,27 (m, 1H), 1,98-1,80 (m, 3H), 1,48-1,38 (m, 2H), 1,43 (s, 9H), 1,40 (s, 9H), 1,35-1,25 (m, 2H), 1,23 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,15-1,09 (m, 2H), 1,07 (d, 3H, $J = 6,8$ Hz), 1,06 (d, 3H, $J = 6,0$ Hz), 1,01 (d, 3H, $J = 6,1$ Hz).

Příklad 19

Příprava di-hydrochloridové soli (L)-lysinátu Kryptofycinu 55(22)

Do roztoku sloučeniny **21** (107 mg, 0,103 mmolů) v 345 ml methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 4,0 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (155 ml, 0,621 mmolů). Po míchání po dobu 4 hodin byla kalně bílá reakční směs filtrována. Shromážděná bílá pevná látka byla promývána methylenchloridem (2 x 1 ml) a sušena za sníženého tlaku při teplotě okolí a tím se získalo 87 mg (93%) sloučeniny z názvu:

500 MHz ^1H NMR (MeOH- d_4) δ 8,61 (d, 1H, $J = 7,7$ Hz), 7,81 (d, 1H, $J = 7,7$ Hz), 1,47-7,44 (m, 2H), 7,40-7,38 (m, 3H), 7,31 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz), 7,20 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,2$ Hz), 7,00 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,63 (ddd, 1H, $J = 15, 13, 4,0$ Hz),



6,00 (dd, 1H, $J = 15, 1,6$ Hz), 5,55 (d, 1H, $J = 9,8$ Hz), 5,20 (d, 1H, $J = 9,8$ Hz), 5,15 (dd, 1H, $J = 10, 2,9$ Hz), 4,68 (t, 1H, $J = 11$ Hz), 4,55-4,49 (m, 1H), 3,87 (s, 3H), 3,79 (t, 1H, $J = 5,6$ Hz), 3,52 (dd, 1H, $J = 14, 9,9$ Hz), 3,20 (dd, 1H, $J = 14, 3,6$ Hz), 3,13 (dd, 1H, $J = 13, 2,4$ Hz), 3,06-2,98 (m, 1H), 2,94-2,87 (m, 1H), 2,85-2,74 (m, 3H), 2,45-2,38 (m, 1H), 1,98-1,76 (m, 5H), 1,71-1,64 (m, 2H), 1,39-1,30 (m, 2H), 1,25 (s, 3H), 1,18 (d, 3H, $J = 8,2$ Hz), 1,17 (s, 3H), 1,08 (d, 3H, $J = 6,2$ Hz), 1,05 (d, 3H, $J = 6,1$ Hz).

Příklad 20

Příprava kyseliny 2'-(di-terc.-butylfosfatyl)fenyloctové (24)

Do roztoku 2'-hydroxyfenethylalkoholu (1,05 g, 7,60 mmolů) v 15,2 ml N,N-dimethylformamidu byl při teplotě 0 °C přidán imidazol (621 mg, 9,11 mmolů) a terc.-butyldimethylsilylchlorid (1,26 g, 8,34 mmolů). Po míchání při teplotě 0 °C po dobu 40 minut a při teplotě okolí po dobu 45 minut bylo přidáno dalších 155 mg (2,28 mmolů) imidazolu a 229 mg (1,52 mmolů) terc.-butyldimethylsilylchloridu. Reakční směs byla ponechán za míchání po dobu dalších 15 minut a poté bylo přidáno 150 ml terc.-butyl-methyletheru. Směs byla promýván studenou 1N vodnou kyselinou chlorovodíkovou (1 x 15 ml) následovanou vodou (1 x 15 ml). Organická vrstva byla sušena (Na_2SO_4), filtrována a koncentrována za sníženého tlaku na žlutý olej. Chromatografie (70 g silikagelu pro mžikovou chromatografii), vymývání směsí hexany-ethylacetát (5:1) poskytlo 1,81 g (94%) 1° silyletheru ve formě bledě bělavého

oleje. Do roztoku silyletheru (506 mg, 2,00 mmolů) a di-terc.-butyl-diethylfosforamiditu (600 ml 93%, 2,00 mmolů) v 2 ml tetrahydrofuranu byl při teplotě okolí přidán 1-H-tetrazol (421 mg, 6,01 mmolů). Po míchání po dobu 45 minut byla reakční směs ochlazená na teplotu -10 °C a rychle zpracována roztokem kyseliny m-chlorperbenzoové (450 mg, 99%, 2,61 mmolů) v 3,6 ml methylenchloridu. Kalně bílá reakční směs byla ponechán zahřát se na teplotu okolí a míchána po dobu 15 minut. Reakce byla ukončena 4 ml 10% vodného hydrogensulfitu sodného, reakční směs byla intenzívně míchána po dobu 10 minut, zředěna 15 ml terc.-butyl-methyletheru a promývána 10% vodným hydrogensulfitem sodným (2 x 10 ml) následovaným 0,5 N vodným hydroxidem sodným (2 x 10 ml). Organická vrstva byla sušena (Na_2SO_4), filtrována a koncentrována za sníženého tlaku na bezbarvý olej (941 mg), který byl použit přímo v následujícím kroku. Surový fosforečnan byl rozpuštěn v 10 ml tetrahydrofuranu, ochlazen na teplotu 0 °C a zpracován 1 M roztokem tetra-n-butylamoniumfluoridu v tetrahydrofuranu (2,4 ml, 2,4 mmolů). Po míchání při teplotě 0 °C po dobu 20 minut a při teplotě okolí po dobu 1,5 hodiny byla reakční směs zředěna 60 ml terc.-butyl-methyletheru a promývána vodou (1 x 10 ml), následovanou solankou (1 x 10 ml). Organická vrstva byla sušena (Na_2SO_4), filtrována a koncentrována za sníženého tlaku na žlutý olej. Chromatografie (50 g silikagelu pro mžikovou chromatografii), vymývání směsí ethylacetát-hexany (3:1) poskytlo 525 mg (79%) 1° alkoholu ve formě bělavého oleje. Do roztoku alkoholu (123 mg, 0,372 mmolů) ve směsi acetonitril-tetrachlormethan (1:1, 1,49 ml) byla při teplotě okolí přidána voda (1,1 ml) následovaná jodistanem sodným (239 mg, 1,12 mmolů) a hydrátem chloridu ruthenitého (1,8

mg, 0,0082 mmolů). Hnědá směs byla ponechána za rychlého míchání při teplotě okolí po dobu 55 minut. Po koncentraci za sníženého tlaku a chromatografie (8 g silikagelu pro mžikovou chromatografii, vymývání směsí 10% methanol-ethylacetát) bylo získáno 109 mg (85%) sloučeniny z názvu ve formě purpurového oleje:

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,49 (d, 1H, $J = 7,53$ Hz), 7,30-7,15 (m, 3H), 3,77 (s, 2H), 1,51 (s, 18H).

Příklad 21

Sloučenina z Příkladů 21-26 byly připraveny způsoby, které jsou v zásadě stejné jako způsoby popsané výše.

Spektrální vlastnosti Kryptofycinu-129

EIMS m/z (relativní intensita) 654/656 (2,1/0,8, M-HBr), 412/414 (9,7/3,6), 280/282 (10,3/3,5), 227 (15,2), 195/197 (50,1/16,3), 105 (100), 91 (100);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 654,2687 ($\text{C}_{35}\text{H}_{43}\text{ClN}_2\text{O}_8$, D 2,1 mmu).

^1H NMR (CDCl_3) aminová nebo hydroxykyselinová jednotka δ (uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) 7-brom-5,8-dihydroxy-6-methyl-8-fenyl-2-oktenová kyselina (A) 5,76 (2,d; 15,3), 6,68 (3,ddd; 15,3,9,9 a 5,6, 2,29 (4,ddd; 14,2, 10,6 a 10,4), 2,67 (4,dd; 14,2 a 5,4), 4,95 (5,ddd; 10,3, 10,3 a 1,8), 2,47 (6,m), 1,15 (6-Me, d; 6,5), 4,29 (1,dd; 9,1 a 2,1), 4,84 (8,d; 9,0, 7,34-7,39 (10/11/12/13/14,m); 3-chlor-4-methoxyfenylalanin (B) 4,80 (2,m), 5,73 (2-NH, d; 8,8), 3,01 (3, dd; 14,6 a 7,6), 3,16 (3, dd; 14,3 a 5,6), 7,23 (5, d; 2,0), 3,87 (7-OMe, s), 6,84 (8, d; 8,4), 7,09



(9, dd; 8,4 a 2,0); 3-amino-2-methylpropionová kyselina (C) 2,73 (2, m), 1,23 (2-Me, d; 7,21, 3,25 (3, ddd; 13,5, 6,5 a 6,5), 3,53 (3, ddd; 13,4, 5,4 a 3,9), 6,93 (3-NH, brt; 6,1); leucinová kyselina (D) 4,91 (2, dd; 10,5 a 2,8, 1,49 (3,m), 1,80 (3,m), 1,73 (4,m), 0,92 (4-Me, d; 6,5), 0,89 (5, d; 6,5).

^{13}C NMR (CDCl_3) jednotka δ (uhlíková poloha) A. 165,4 (11, 125,2 (2), 141,3 (3), 36,6 (4), 75,7 (5), 37,9 (6), 11,8 (6-Me), 60,3 (7), 76,7 (8), 141,6 (9), 126,8 (10/14), 128,7 (11/13), 128,8 (12); B 171,0 (1), 53,6 (2), 35,0 (3), 130,0 (4), 131,0 (5), 122,4 (6), 153,9 (7), 56,1 (7-OMe), 112,3 (8), 128,4 (9); C 175,4 (1), 38,4 (2), 14,0 (2-Me), 41,3 (3), D 170,2 (1), 71,3 (2), 39,6 (3), 24,8 (4), 23,2 (4-Me), 21,4 (5) .

Příklad 22

Spektrální vlastnosti Kryptofycinu-138

EIMS m/z (relativní intensita) 734/736 (0,3/0,1), 654/656 (0,6/0,2), 412/414 (12,6/4,7), 313/315 (20,4/12,5) 280 (7,6), 227 (3,5), 195/197 (44,7/15,6), 155/157 (35,4/13,6), 105 (33,6), 91 (34,2), 80/82 (100/100);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 734,1985 ($\text{C}_{35}\text{H}_{44}\text{ClBrN}_2\text{O}_8$, D-1,6 mmu), 654,2722 ($\text{C}_{35}\text{H}_{43}\text{ClN}_2\text{O}_8$, D-1,4 mmu).

^1H NMR (CDCl_3) aminová nebo hydroxykyselinová jednotka δ (uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) 7-brom-5,8-dihydroxy-6-methyl-8-fenyl-2-oktenová kyselina (A) 5,78 (2, d; 15,5), 6,69 (3, ddd; 15,1, 9,8 a 5,3), 2,33 (4,m), 2,71 (4,m), 4,97 (5, ddd; 10,4, 10,4 a 1,61, 2,45 (6, m), 1,17 (6-Me, d; 6,3), 4,40 (7, dd; 10,1 a 2,2), 5,06 (8, d; 10,1),



7,36-7,42 (10/11/12/13/14, m); 3-chlor-4-methoxyfenylalanin (B) 4,82 (2, m), 5,69 (2-NH, d; 8,1), 3,02 (3, dd; 14,5 a 7,5), 3,17 (3, dd; 14,5 a 5,4), 7,23 (5, d; 2,1), 3,88 (7-OMe, s), 6,85 (8, d; 8,4), 7,09 (9, dd; 8,4 a 1,9); 3-amino-2-methylpropionová kyselina (C) 2,73 (2,m), 1,23 (2-Me, d; 7,3), 3,25 (3, ddd; 13,4, 6,5 a 6,5), 3,54 (3, m), 6,92 (3-NH, brt; 5,1); leucinová kyselina (D) 4,91 (2, dd; 10,6 a 2,7), 1,43 (3, m), 1,82 (3, m), 1,75 (4, m), 0,93 (4-Me, d; 6,6), 0,90 (5, d; 6,6).

^{13}C NMR (CDCl_3) jednotka δ (uhlíková poloha) A 165,4 (1), 125,2 (2), 141,2 (3), 36,6 (4), 76,5 (5), 38,2 (6), 11,7 (6-Me), 55,3 (7), 87,4 (8), 137,4 (9), 128,0 (10/14), 128,7 (11/13), 129,3 (12); B 171,0 (1), 53,6 (2), 35,0 (3), 129,9 (4), 131,0 (5), 122,4 (6), 153,9 (7), 56,1 (7-OMe), 112,2 (8), 128,4 (9); C 175,5 (1), 38,4 (2), 14,0 (2-Me), 41,2 (3), D 170,2 (1), 71,2 (2), 39,6 (3), 24,8 (4), 23,2 (4-Me), 21,4 (5).

Příklad 23

Spektrální vlastnosti Kryptofycinu-139

EIMS m/z (relativní intenzita) 732/734 (0,3/0,3), 652/654 (0,9/0,5), 533 (13,6), 445(5,7), 195/197 (9,2/11,4), 105 (96,2), 80/82 (100/100);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 732,1783 ($\text{C}_{35}\text{H}_{42}\text{ClBrN}_2\text{O}_8$, E 3,0 umu), 652,2573 ($\text{C}_{35}\text{H}_{41}\text{ClN}_2\text{O}_8$, E -2,1 mmu).

^1H NMR (CDCl_3) aminová nebo hydroxykyselinová jednotka δ (uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) 7-brom-8-oxo-5-hydroxy-6-methyl-8-fenyl-2-oktenová kyselina (A) 5,75 (2, d; 15,4), 6,68 (3, ddd; 15,2, 10,1 a 5,0), 2,31 (4, ddd; 14,2,

10,7 a 10,7), 2,63 (4, dd; 14,4 a 5,1), 5,09 (5, ddd; 9,7, 9,7 a 1,5), 2,46 (6, m), 1,18 (6-Me, d; 6,6), 5,41 (7, d; 3,5) 7 94 (10/14, brd; 8,6), 7,50 (11/13, t; 7,8), 7,63 (12, brt; 7,5); 3-chlor-4-methoxyfenylalanin (B) 4,80 (2,m), 5,64 (2-NH, d; 8,3), 3,04 (3, dd; 14,6 a 7,2), 3,14 (3, dd; 14,4 a 5,5), 7,22 (5,d; 2,0), 3,87 (7-OMe, s), 6,84 (8, d; 8,3), 1,08 (9, dd; 8,3 a 2,3); 3-amino-2-methylpropionová kyselina (C) 2,76 (2,m), 1,26 (2-Me, d; 7,1), 3,31 (3, ddd; 13,7, 6,8 a 6,6), 3,53 (3 m), 6,95 (3-NH, brt; 5,9); leucinová kyselina (D) 4,93 (2, dd; 10,6 a 3,0), 1,51 (3, m), 1,95 (3, m), 1,80 (4,m), 0,97 (4-Me, d; 6,8), 0,91 (5, d, 6,6),

¹³C NMR (CD13) jednotka δ (uhlíková poloha) A 165,2 (1), 125,3 (2), 141,0 (3), 36,2 (4), 76,0 (5), 39,3 (6), 13,8 (6-Me), 51,8 (7), 192,3 (8), 134,2 (9), 128,7 (10/14), 129,0 (11/13), 134,0 (12); B 170,9(1), 53,7 (2), 35,0 (3), 129,8 (4), 131,0 (5), 122,4 (6), * (7, nebylo pozorováno), 56,2 (7-OMe), 112,3 (8), 128,4 (9); C 175,6 (1), 38,3 (2), 14,2 (2-Me), 41,1 (3), D 170,2 (1), 71,1 (2), 39,8 (3), 24,7, 23,2 (4-Me), 21,3 (5).

Příklad 24

Spektrální vlastnosti Kryptofycinu-145

EIMS m/z (relativní intensita) 734/736/738 (0,5/0,6/0,2), 654,656 (1,5/1,1), 412/414 (2,2/1,0), 313/315 (19,5/12,9), 227 (4,1), 195/197 (11,5/3,7), 105 (14,6), 91 (25,2), 80/82 (100/100);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 736,1980 (C₃₅H₄₄ClBrN₂O₈, E-3,1 mmu), 654,2714 (C₃₅H₄₃ClN₂O₈, E -0,6 mmu).

¹H NMR (CDCl₃) amino nebo hydro aminová nebo



hydroxykyselinová jednotka δ (uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) 7-brom-5,8-dihydroxy-6-methyl-8-fenyl-2-oktenová kyselina (A) 5,81 (2, d; 15,7), 6,72 (3, m), 2,31 (4, m), 2,77 (4, m), 5,62 (5, m), 2,42 (6, m), 1,22 (6-Me, d; 7,0), 4,23 (7, dd; 8,0 a 3,2), 4,94 (8, d; 7,9), 7,32-7,28 (10/11/12/13/14, m); 3-chlor-4-methoxyfenylalanin (B) 4,82 (2, m), 5,72 (2-NH, brs), 3,05 (3, m), 3,15 (3, m), 7,23 (5, brs), 3,88 (7-OMe, s), 6,84 (8, brd; 7), 7,09 (9, m); 3-amino-2-methylpropionová kyselina (C) 2,75 (2, m), 1,25 (2-Me, d; 7,0), 3,30 (3, m), 3,53 (3, m), 6,97 (3-N, brs); leucinová kyselina (D) 4,90 (2, dd; 9,7 a 3,61, 1,58 (3, m), 1,82 (3, m), 1,70 (4, m). 0,95 (4-Me, d; 6,6), 0,89 (5, d; 6,6).

^{13}C NMR (CDCl_3) jednotka δ (uhlíková poloha) A. 165,14 (1), 125,2 (2), 141,3 (3), 35,8 (4), 75,8 (5), 41,2 (6), 13,4 (6-Me), 60,7 (7), 76,5 (8), 141,6 (9), 126,8 (10/14), 128,5 (11/13), 128,6 (12); B 170,5 (1), 53,7 (2), 35,0 (3), 129,9 (4), 131,0 (5), 122,4 (6), 154,0 (7), 56,2 (7-OMe), 112,3 (8), 128,5 (9); C 175,4 (1), 38,4 (2), 14,1 (2-Me), 41,2 (3), D 170,5 (1), 71,3 (2), 39,7 (3), 24,6 (4), 22,9 (4-e), 21,5 (5).

Příklad 25

Spektrální vlastnosti Kryptofycinu-140

EIMS m/z (relativní intensita) 690/692 (2,3/1,8), 654/656 (3,8/2,2), 412/414 (5,4/2,1), 280/282 (5,4/2,2), 227 (10,2), 195/197 (27,8/10,4), 155/157 (53,7/16,4), 105 (81,0), 91 (100);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 690,2427 ($\text{C}_{35}\text{H}_{44}\text{C}_{12}\text{N}_2\text{O}_8$, E 4,8

mmu), 654,2760 ($C_{35}H_{43}ClN_2O_8$, E-5,2 mmu).

^1H NMR ($CDCl_3$) aminová nebo hydroxykyselinová jednotka δ (uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) 7-chlor-5,8-dihydroxy-6-methyl-8-fenyl-2-oktenová kyselina (A) 5,71 (2, d; 15,4), 6,68 (3, ddd; 15,3, 9,8 a 5,6), 2,29 (4, m), 2,67 (4, m), 4,98 (5, ddd; 10,3, 10,3 a 1,7), 2,64 (6, m), 1,15 (6-Me, d; 6,6), 4,19 (7, dd; 9,2 a 2,11), 4,72 (8, d; 9,2), 7,33-7,39 (10/11/12/13/14, m), 3-chlor-4-methoxyfenylalanin (B) 4,81 (2, m), 5,69 (2-NH, d; 8/8), 3,01 (3, dd; 14,5 a 7,5), 3,16 (3, dd; 14,5 a 5,5), 7,23 (5, d; 2,1), 3,87 (7-OHe, s), 6,84 (8, d; 8,3), 1,09 (9, dd; 8,4 a 2,0), 3-amino-2-methylpropionová kyselina (C) 2,73 (2, m), 1,22 (2-Me, d; 7,3), 3,24 (3, ddd; 13,5, 6,8 a 6,8), 3,53 (3, m), 6,91 (3-NH, brt; 6,0); leucinová kyselina (D) 4,89 (2, dd; 10,4 a 0,87 (5, d; 6,6).

^{13}C NMR ($CDCl_3$) jednotka δ (uhlíková poloha) A. 165,4 (1), 125,2, 141,4 (3), 36,7 (4), 75,5 (5), 38,1 (6), 10,4 (6-Me), 65,0 (7), 75,8 (8), 141,4 (9), 126,8 (10/14), 128,7 (11/13), 128,8 (12); B 171,0 (1), 53,6 (2), 35,0 (3), 129,9 (4), 131,0 (5), 122,4 (6), 153,9 (7), 56,1 (7-OMe), 112,2 (8), 128,4 (9); C 175,5 (1), 38,4 (2), 14,1 (2-Me), 41,3 (3), D 170,3 (1), 71,3 (2), 39,5 (c), 24,7 (4), 23,2 (4-Me), 21,4 (5).

Příklad 26

Spektrální vlastnosti Kryptofycinu-141

EIMS m/z (relativní intenzita) 654/656 (1,8/0,8, M-HCl), 412/414 (7,6/3,1), 280/282 (3,2/2,0), 227 (8,4), 195/197 (35,6/11,9), 155/157 (100/37,2), 105 (68,1), 91 (88,4);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 690,246S ($C_{35}H_{44}Cl_2N_2O_8$, E 0,6 mmu), 654,2706 ($C_{35}H_{43}ClN_2O_8$, E 0,2 mmu).

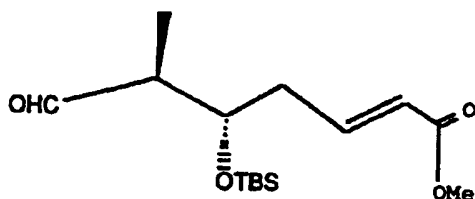
^1H NMR ($CDCl_3$) aminová nebo hydroxykyselinová jednotka δ (uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) 7-chlor-5,8-dihydroxy-6-methyl-8-fenyl-2-oktenová kyselina (A) 5,69 (2, d; 15,4), 6,62 (3, ddd; 15,1, 9,9 a 5,2), 2,07 (4, m), 2,49 (4, dd, 14,4 a 5,4), 4,96 (5, ddd; 10,5, 10,5 a 1,8), 1,88 (6, m), 1,07 (6-Me, d; 6,8, 4,24 (7, dd; 8,9 a 1,9), 4,73 (8, d; 8,8), 2,80 (8-OH, široký pík), 7,32 (10/14, dd; 7,6 a 1,9), 7,36-7,42 (11/12/13, m); 3-chlor-4-methoxyfenylalanin (B) 4,78 (2, m), 5,65 (2-NH, d; 8,6), 3,00 (3, dd; 14,4 a 7,2), 3,13 (3, dd; 14,4 a 5,6), 7,20 (5, d; 2,31, 3,86 (7-OMe, s), 6,82 (8, d; 8,3), 7,06 (9, dd; 8,3 a 2,2); 3-amino-2-methylpropionová kyselina (C) 2,73 (2,), 1,23 (2-Me, d; 7,2) 3,27 (3, ddd; 13,5, 6,8 a 6,8), 3,51 (3, ddd; 13,5, 5,0 a 3,8), 6,91 (3-NH, brt; 6,0); leucinová kyselina (D) 4,83 (2, dd; 10,4 a 2,9), 1,48 (3, m), 1,70 (3, m), 1,76 (4, m), 0,99 (4-Me, d; 6,5), 0,95 (5, d; 6,5).

^{13}C NMR ($CDCl_3$) jednotka δ (uhlíková poloha) A 165,3 (1), 125,2 (s), 141,0 (3), 36,2 (4), 75,5 (5), 39,3 (6), 10,8 (6-Me), 70,0 (7), 76,2 (8), 139,9 (9), 126,7 (10/14), 129,0 (11/13), 129,0 (12); B 170,9 (1), 53,6 (2), 35,0 (3), 129,8 (4), 131,0 (5), 122,4 (6), 153,9 (7), 56,1 (7-Me), 112,2 (8), 128,4 (9); C 175,5 (1), 38,2 (2), 14,1 (2-Me), 41,1 (3), D 170,2 (1), 71,2 (2),

06.04.99

Příklad 27

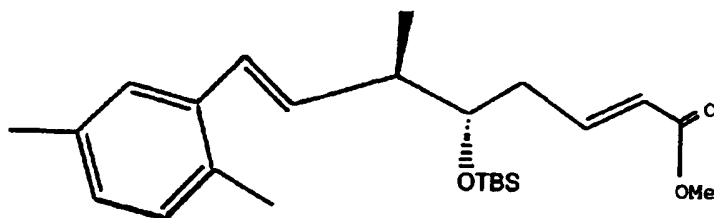
Experimenty podle Schématu 1



Do roztoku alkenu **1** (1,15 g, 3,52 mmolů) v 50 ml CH_2Cl_2 byl při teplotě -78°C přidán pyridin (0,3 ml, 3,9 mmolů) a 0,98 ml 0,15 roztoku sudánské červení 7B in CH_2Cl_2 . Pomalu byl probubláván ozon, dokud se červená barva nezměnila na žlutou. Postup reakce byl monitorován pomocí TLC. Po ukončení byl přidán zinkový prášek (1,63 g, 24,9 mmolů) a 3,4 ml ledová kyselina octová. Studená lázeň byla odstraněna a směs byla ponechána zahřát se pomalu na teplotu okolí a byla míchána další 2 hodiny. Reakční směs byla filtrována přes celit a promývána CuSO_4 (3 x 30 ml), následovaný vodou (3 x 20 ml) a nakonec nasyceným vodným NaHCO_3 (2 x 20 ml). Organická vrstva byla sušena nad MgSO_4 , filtrována a koncentrována za sníženého tlaku a tím se získalo 0,937 g (88%) požadovaného aldehydu, který byl použit v následujícím kroku bez dalšího čištění:

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9,74-9,73 (d, 1 H, $J = 1,97$ Hz), 7,0-6,82 (m, 1 H), 5,91-5,86 (d, 1 H, $J = 15,4$ Hz), 4,1-4,0 (m, 1 H), 3,73 (s, 3 H), 2,55-2,4 (m, 3 H), 1,09-1,07 (d, 3 H, $J = 6,8$ Hz), 0,87 (s, 9 H), 0,08 (s, 3 H), 0,06 (s, 3 H).

05.04.99



Methylolithium (9,6 ml, 14,4 mmolů), jako 1,5 M roztok v diethyletheru komplexovaný s lithiump bromidem, byl přidán po kapkách do roztoku 2,5-dimethylbenzyltrifenylfosfoniumchloridu o teplotě -78°C v 120 ml THF. Roztok byl ponechán zahřát se pomalu na teplotu 0°C a byl ochlazen zpět na teplotu -78°C . Aldehyd **2** v 40 ml THF byl přidán po kapkách do ylidu při teplotě -78°C . Směs byla míchána při teplotě -78°C po dobu 15 minut a potom byla pomalu zahřáta na teplotu okolí. Po uplynutí 1 hodiny při teplotě zpětného toku byl přidán nasycený NH_4Cl (50 ml) a roztok byl extrahován etherem. Etherová vrstva byla promývána vodou (2 x 50 ml), potom solankou, sušen nad MgSO_4 , filtrován a koncentrován za sníženého tlaku. Surový styren jako směs E:Z isomerů byl čištěn na silikagelu použitím směsi 2% EtOAc/hexany a tím bylo získáno 2,32 g (58%) čirého oleje.

E:Z směs byla zahřívána na teplotu zpětného toku po dobu 8 hodin v 120 ml benzenu v přítomnosti thiofenolu (0,3 ml) a 1,1'-azobis(cyklohexankarbonitrilu) (VAZO) (0,16 g). Roztok byl potom ochlazen na teplotu okolí, koncentrován za sníženého tlaku a čištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, 2-5% EtOAc/hexany) a tím bylo získáno 2,2 g (95%) čistého E isomeru ve formě čirého oleje:

06.04.99

$[\alpha]_D +34,6^\circ$ (c 1,0, MeOH);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,3-7,0 (m, 4 H), 6,62-6,57 (d, 1 H, $J = 15,8$ Hz), 6,11-6,03 (dd, 1 H, $J = 15,8, 8,1$ Hz), 5,93-5,88 (d, 1 H, $J = 15,5$ Hz), 3,82-3,78 (m, 1 H), 3,78 (s, 3 H), 2,6-2,34 (m, 3 H), 2,37 (s, 3 H), 2,34 (s, 3 H), 1,18-1,16 (d, 3 H, $J = 6,8$ Hz), 0,96 (s, 9 H), 0,13 (s, 3 H), 0,11 (s, 3 H);

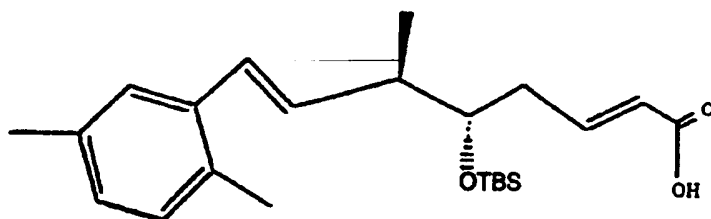
^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 167,2, 146,9, 136,9, 135,7, 133,3, 132,4, 130,5, 128,8, 128,1, 126,5, 123,2, 75,5, 51,8, 43,4, 37,9, 26,2, 21,4, 19,7, 18,5, 16,7, - 4,0, - 4,2;

IR (CHCl_3) 2955, 2930, 2858, 1718, 1658, 1603, 1496, 1472, 1438, 1362, 1325, 1280, 1258, 1097, 1040 cm^{-1} ;

Elementární analýza pro $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{O}_3\text{Si}$:

Vypočteno: C, 71,59; H, 9,51.

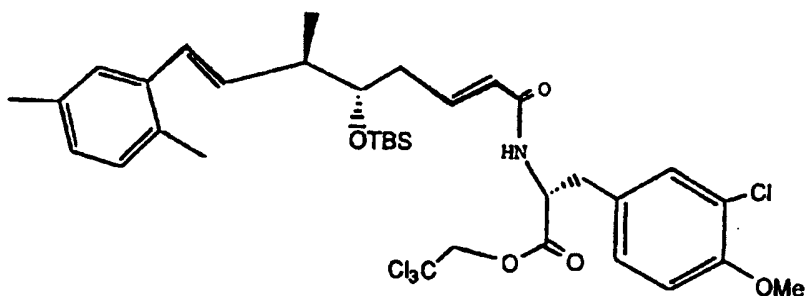
Nalezeno: C, 71,38; H, 9,30.



Do roztoku esteru **3** (2,2 g, 5,46 mmolů) v 10 ml THF bylo přidáno 11 ml 2 M roztoku KOH. Zatímco byla intenzívně míchána, výsledná směs byla zahřívána na teplotu 65 °C po dobu 24 hodin. Po ochlazení na teplotu okolí bylo přidáno 11 ml 2 M roztoku HCl a výsledná směs byla intenzívně míchána po dobu dalších 30 minut. Do směsi byl přidán ethylacetát (50 ml) a vrstvy byly odděleny.

Vodná vrstva byla dále extrahována ethylacetátem (2 x 30 ml). Sloučené organické vrstvy byly promývány 50% solankou (3 x 30 ml), sušeny nad Na_2SO_4 , filtrovány a koncentrovány za sníženého tlaku a tím bylo získáno 2,12 g (100%) požadované kyseliny ve formě hustého žlutého oleje:

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,26–6,95 (m, 4 H), 6,62–6,57 (d, 1 H, $J = 15,8$ Hz), 6,1–6,02 (dd, 1 H, $J = 15,8, 8,0$ Hz), 5,92–5,87 (d, 1 H, $J = 15,7$ Hz), 3,9–3,8 (m, 1 H), 2,6–2,2 (m, 3 H), 2,36 (s, 3 H), 2,34 (s, 3 H), 1,18–1,15 (d, 3 H, $J = 6,8$ Hz), 0,94 (s, 9 H), 0,12 (s, 3 H), 0,11 (s, 3 H).



Do roztoku kyselina **4** (2,12 g, 5,46 mmolů) diisopropylethylaminu (2,9 ml, 16,4 mmolů) v 1 ml DMF o teplotě 0 °C byl po kapkách přidán difenylfosfinchlorid (1,1 ml, 6,01 mmolů). Po uplynutí 5 minut míchání při teplotě 0 °C a 30 minut při teplotě okolí byla přidána po kapkách TFA sůl 3-(3-chlor-4-methoxyfenyl)-D-alanin-2,2,2-trichlorethyl esteru **5** v 7 ml DMF. Výsledná směs byla míchána při teplotě okolí po dobu 2 hodin, vlita do 100 ml vody a promývána diethyletherem (3 x 50 ml). Sloučené organické vrstvy byly promývány solankou, sušeny nad MgSO_4 , filtrovány přes celit a koncentrovány za sníženého tlaku. Čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, 10-30% EtOAc/hexany) dalo 2,86 g

(72%) amidu **6** ve formě bílé pěny:

$[\alpha]^{20}_D +44,8^\circ$ (c 1,0, MeOH);

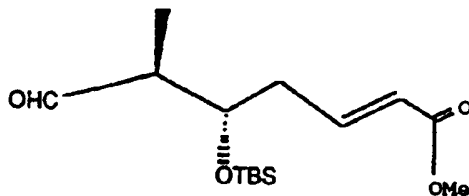
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,25 (s, 1 H), 7,22 (s, 1 H), 7,1-6,83 (m, 5 H), 6,6-6,55 (d, 1H, $J = 15,7$ Hz), 6,11-6,03 (dd, 1 H, $J = 15,6, 8,1$ Hz), 5,9- 5,8 (m, 2 H), 5,18-5,05 (m, 1 H), 4,83-4,75 (q, 2 H, $J = 12,0$ Hz), 3,9 (s, 3 H), 3,83-3,68 (m, 1 H), 3,3-3,1 (m, 2 H), 2,6-2,36 (m, 3 H), 2,36 (s, 3 H), 2,32 (s, 3 H), 1,16- 1,14 (d, 3 H, $J = 6,7$ Hz), 0,95 (s, 9 H), 0,11 (s, 3 H), 0,05 (s, 3H);

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 170,0, 165,1, 154,2, 143,1, 136,4, 135,3, 133,0, 132,0, 131,0, 130,9, 130,0, 128,4, 128,3, 127,7, 126,1, 124,6, 112,3, 112,1, 94,2, 75,0, 74,7, 56,0, 52,9, 42,8, 37,5, 36,5, 25,8, 20,9, 19,3, 18,0, 16,4, - 4,3, - 4,7;

IR (CHCl_3) 3428, 2957, 2930, 2857, 1759, 1676, 1645, 1606, 1503, 1464, 1442, 1380, 1349, 1281, 1259, 1173, 1067 cm^{-1} .

Příklad 27

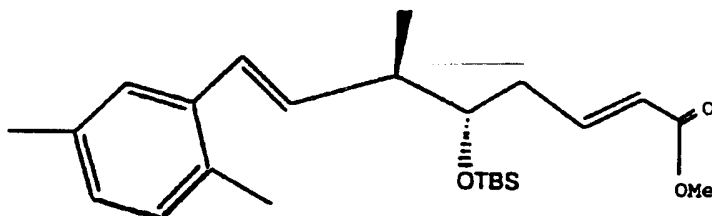
Experimenty podle Schématu 1



Do roztoku alkenu **1** (1,15 g, 3,52 mmolů) v 50 ml CH_2Cl_2 byl při teplotě -78°C přidán pyridin (0,3 ml, 3,9 mmolů) a 0,98 ml 0,15 roztoku sudánské červeně 7B in CH_2Cl_2 . Pomalu byl probubláván ozon, dokud se červená barva nezměnila na

žlutou. Postup reakce byl monitorován pomocí TLC. Po ukončení byl přidán zinkový prášek (1,63 g, 24,9 mmolů) a 3,4 ml ledová kyselina octová. Studená lázeň byla odstraněna a směs byla ponechána zahřát se pomalu na teplotu okolí a byla míchána další 2 hodiny. Reakční směs byla filtrována přes celit a promývána CuSO_4 (3 x 30 ml), následovaný vodou (3 x 20 ml) a nakonec nasyceným vodným NaHCO_3 (2 x 20 ml). Organická vrstva byla sušena nad MgSO_4 , filtrována a koncentrována za sníženého tlaku a tím se získalo 0,937 g (88%) požadovaného aldehydu, který byl použit v následujícím kroku bez dalšího čištění:

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9,74-9,73 (d, 1 H, $J = 1,97$ Hz), 7,0-6,82 (m, 1 H), 5,91-5,86 (d, 1 H, $J = 15,4$ Hz), 4,1-4,0 (m, 1 H), 3,73 (s, 3 H), 2,55-2,4 (m, 3 H), 1,09-1,07 (d, 3 H, $J = 6,8$ Hz), 0,87 (s, 9 H), 0,08 (s, 3 H), 0,06 (s, 3 H).



Methylolithium (9,6 ml, 14,4 mmolů), jako 1,5 M roztok v diethyletheru komplexovaný s lithiump bromidem, byl přidán po kapkách do roztoku 2,5-dimethylbenzyltrifenylfosfoniumchloridu o teplotě -78°C v 120 ml THF. Roztok byl ponechán zahřát se pomalu na teplotu 0°C a byl ochlazen zpět na teplotu -78°C . Aldehyd **2** v 40 ml THF byl přidán po kapkách do ylidu při teplotě -78°C . Směs byla

míchána při teplotě -78°C po dobu 15 minut a potom byla pomalu zahřáta na teplotu okolí. Po uplynutí 1 hodiny při teplotě zpětného toku byl přidán nasycený NH_4Cl (50 ml) a roztok byl extrahován etherem. Etherová vrstva byla promývána vodou (2 x 50 ml), potom solankou, sušen nad MgSO_4 , filtrován a koncentrován za sníženého tlaku. Surový styren jako směs E:Z isomerů byl čištěn na silikagelu použitím směsi 2% EtOAc/hexany a tím bylo získáno 2,32 g (58%) čirého oleje.

E:Z směs byla zahřívána na teplotu zpětného toku po dobu 8 hodin v 120 ml benzenu v přítomnosti thiofenolu (0,3 ml) a 1,1'-azobis(cyklohexankarbonitrilu) (VAZO) (0,16 g). Roztok byl potom ochlazen na teplotu okolí, koncentrován za sníženého tlaku a čištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, 2-5% EtOAc/hexany) a tím bylo získáno 2,2 g (95%) čistého E isomeru ve formě čirého oleje:

$[\alpha]_D +34,6^{\circ}$ (c 1,0, MeOH);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,3-7,0 (m, 4 H), 6,62-6,57 (d, 1 H, $J = 15,8$ Hz), 6,11-6,03 (dd, 1 H, $J = 15,8, 8,1$ Hz), 5,93-5,88 (d, 1 H, $J = 15,5$ Hz), 3,82-3,78 (m, 1 H), 3,78 (s, 3 H), 2,6-2,34 (m, 3 H), 2,37 (s, 3 H), 2,34 (s, 3 H), 1,18-1,16 (d, 3 H, $J = 6,8$ Hz), 0,96 (s, 9 H), 0,13 (s, 3 H), 0,11 (s, 3 H);

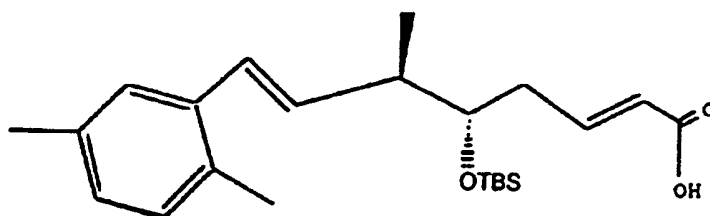
^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 167,2, 146,9, 136,9, 135,7, 133,3, 132,4, 130,5, 128,8, 128,1, 126,5, 123,2, 75,5, 51,8, 43,4, 37,9, 26,2, 21,4, 19,7, 18,5, 16,7, - 4,0, - 4,2;

IR (CHCl_3) 2955, 2930, 2858, 1718, 1658, 1603, 1496, 1472, 1438, 1362, 1325, 1280, 1258, 1097, 1040 cm^{-1} ;

Elementární analýza pro $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{O}_3\text{Si}$:

Vypočteno: C, 71,59; H, 9,51.

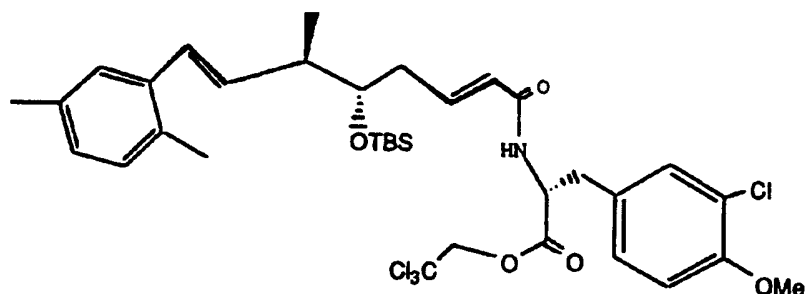
Nalezeno: C, 71,38; H, 9,30.



Do roztoku esteru **3** (2,2 g, 5,46 mmolů) v 10 ml THF bylo přidáno 11 ml 2 M roztoku KOH. Zatímco byla intenzívně míchána, výsledná směs byla zahřívána na teplotu 65 °C po dobu 24 hodin. Po ochlazení na teplotu okolí bylo přidáno 11 ml 2 M roztoku HCl a výsledná směs byla intenzívně míchána po dobu dalších 30 minut. Do směsi byl přidán ethylacetát (50 ml) a vrstvy byly odděleny.

Vodná vrstva byla dále extrahována ethylacetátem (2 x 30 ml). Sloučené organické vrstvy byly promývány 50% solankou (3 x 30 ml), sušeny nad Na₂SO₄, filtrovány a koncentrovány za sníženého tlaku a tím bylo získáno 2,12 g (100%) požadované kyseliny ve formě hustého žlutého oleje:

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,26– 6,95 (m, 4 H), 6,62–6,57 (d, 1 H, J = 15,8 Hz), 6,1–6,02 (dd, 1 H, J = 15,8, 8,0 Hz), 5,92–5,87 (d, 1 H, J = 15,7 Hz), 3,9–3,8 (m, 1 H), 2,6–2,2 (m, 3 H), 2,36 (s, 3 H), 2,34 (s, 3 H), 1,18–1,15 (d, 3 H, J = 6,8 Hz), 0,94 (s, 9 H), 0,12 (s, 3 H), 0,11 (s, 3 H).



Do roztoku kyselina **4** (2,12 g, 5,46 mmolů) diisopropylethylaminu (2,9 ml, 16,4 mmolů) v 1 ml DMF o teplotě 0 °C byl po kapkách přidán difenylfosfinchlorid (1,1 ml, 6,01 mmolů). Po uplynutí 5 minut míchání při teplotě 0 °C a 30 minut při teplotě okolí byla přidána po kapkách TFA sůl 3-(3-chlor-4-methoxyfenyl)-D-alanin-2,2,2-trichlorethyl esteru **5** v 7 ml DMF. Výsledná směs byla míchána při teplotě okolí po dobu 2 hodin, vlita do 100 ml vody a promývána diethyletherem (3 x 50 ml). Sloučené organické vrstvy byly promývány solankou, sušeny nad MgSO₄, filtrovány přes celit a koncentrovány za sníženého tlaku. Čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, 10-30% EtOAc/hexany) dalo 2,86 g (72%) amidu **6** ve formě bílé pěny:

$[\alpha]_D^{20}$ +44,8° (c 1,0, MeOH);

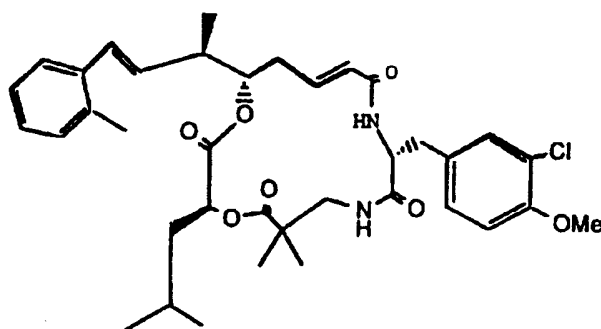
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,25 (s, 1 H), 7,22 (s, 1 H), 7,1-6,83 (m, 5 H), 6,6-6,55 (d, 1H, J = 15,7 Hz), 6,11-6,03 (dd, 1 H, J = 15,6, 8,1 Hz), 5,9- 5,8 (m, 2 H), 5,18-5,05 (m, 1 H), 4,83-4,75 (q, 2 H, J = 12,0 Hz), 3,9 (s, 3 H), 3,83-3,68 (m, 1 H), 3,3-3,1 (m, 2 H), 2,6-2,36 (m, 3 H), 2,36 (s, 3 H), 2,32 (s, 3 H), 1,16- 1,14 (d, 3 H, J = 6,7 Hz), 0,95 (s, 9 H), 0,11 (s, 3 H), 0,05 (s, 3H);

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 170,0, 165,1, 154,2, 143,1, 136,4,

135,3, 133,0, 132,0, 131,0, 130,9, 130,0, 128,4, 128,3, 127,7, 126,1, 124,6, 112,3, 112,1, 94,2, 75,0, 74,7, 56,0, 52,9, 42,8, 37,5, 36,5, 25,8, 20,9, 19,3, 18,0, 16,4, - 4,3, - 4,7;

IR (CHCl₃) 3428, 2957, 2930, 2857, 1759, 1676, 1645, 1606, 1503, 1464, 1442, 1380, 1349, 1281, 1259, 1173, 1067 cm⁻¹.

Příklad 29



Ester (2,1 g) byl připraven z 2,5 g aldehydu 2 a 5,0 g 3-methylbenzyl-trifenylfosfoniumchloridu s 65% výtěžkem použitím způsobu popsaného výše:

[α]_D²⁰ +45,55° (c 1,0, MeOH):

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,22-6,88 (m, 5 H), 6,37-6,31 (d, 1 H, J = 16,0 Hz), 6,18-6,10 (dd, 1 H, J = 16,0, 8,0 Hz), 5,86-5,81 (d, 1 H, J = 15,5 Hz), 3,8-3,7 (m, 4 H), 2,5-2,3 (m, 6 H), 1,11-1,08 (d, 3 H, J = 6,9 Hz), 0,91 (s, 9H), 0,061 (s, 3 H), 0,052 (s, 3 H);

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 166,7, 146,4, 137,5, 135,9, 131,6, 130,4, 128,3, 127,7, 126,7, 123,1, 122,8, 75,0, 51,3, 42,7, 37,4, 33,8, 25,8, 21,9, 21,3, 18,0, 16,0, -4,5, -4,6;

IR (CHCl₃) 2953, 2931, 2859, 1718, 1658, 1604, 1472, 1454, 1438, 1258 cm⁻¹.

Kyselina (1,93 g) byla připravena z 2,0 g esteru v 100% výtěžku použitím způsobu popsaného výše:

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,22-7,0 (m, 5 H), 6,38-6,33 (d, 1 H, J = 16,0 Hz), 6,18-6,10 (dd, 1 H, J = 16,0, 8,0 Hz), 5,87-5,82 (d, 1 H, J = 15,7 Hz), 3,8-3,7 (m, 1 H), 2,5-2,35 (m, 3 H), 2,34 (s, 3 H), 1,12-1,09 (d, 3 H, J = 6,8 Hz), 0,9 (s, 9 H), 0,068 (s, 3 H), 0,061 (s, 3 H).

Amid (2,9 g) byl připraven z 1,93 g kyseliny s 72% výtěžkem použitím způsobu popsaného výše:

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,22-7,1 (m, 4 H), 7,1-7,0 (m, 2 H), 6,9-6,8 (m, 2 H), 6,36-6,30 (d, 1 H, J = 16,0 Hz), 6,19-6,11 (dd, 1 H, J = 16,0, 8,0 Hz), 5,82-5,77 (m, 2 H), 5,1-5,0 (m, 1 H), 4,78-4,71 (q, 2 H, J = 12,0 Hz), 3,86 (s, 3 H), 3,8-3,7 (m, 1 H), 3,25-3,15 (m, 2 H), 2,5-2,3 (m, 6 H), 1,1-1,08 (d, 3 H, J = 6,8 Hz), 0,88 (s, 9 H), 0,056 (s, 3 H), 0,044 (s, 3 H).

Alkohol (2,0 g) byl připraven z 2,4 g výchozího amidu se 100% výtěžkem použitím způsobu popsaného výše:

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,25-6,8 (m, 8 H), 6,46-6,41 (d, 1 H, J = 15,9 Hz), 6,16-6,07 (dd, 1 H, J = 16,0, 8,8 Hz), 5,95-5,8 (m, 2 H), 5,1-5,0 (m, 1 H), 4,81-4,7 (q, 2 H, J = 12,0 Hz), 3,87 (s, 3 H), 3,7-3,6 (m, 1 H), 3,22-3,05 (m, 2 H), 2,5-2,34 (m, 3 H), 2,34 (s, 3 H), 1,8-1,7 (bs, 1 H), 1,15-1,13 (d, 3 H, J = 6,8 Hz).

Substrát (2,3 g) byl připraven z 2,0 g výchozího alkohol s 76% výtěžkem použitím způsobu popsaného výše:

[α]_D²⁰ +31,6° (c 1,08, MeOH);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,2-7,0 (m, 6 H), 6,84-6,81 (d, 1 H, $J = 8,4$ Hz), 6,80-6,73 (m, 1 H), 6,53-6,50 (bd, 1 H, $J = 7,3$ Hz), 6,4- 6,35 (d, 1 H, $J = 15,8$ Hz), 6,03-5,95 (dd, 1 H, $J = 15,8, 8,5$ Hz), 5,9-5,85 (d, 1 H, $J = 15,7$ Hz), 5,42-5,35 (bt, 1 H, $J = 6,38$ Hz), 5,1-4,82 (m, 3 H), 4,8-4,67 (q, 2 H, $J = 12,0$ Hz), 3,85 (s, 3 H), 3,28-3,26 (d, 2 H, $J = 6,46$ Hz), 3,23- 3,16 (dd, 1 H, $J = 14,3, 5,8$ Hz), 3,1-3,03 (dd, 1 H, $J = 14,2, 6,7$ Hz), 2,7-2,4 (m, 3 H), 2,33 (s, 3 H), 1,8-1,5 (m, 3 H), 1,43 (s, 9 H), 1,2 (s, 3 H), 1,15 (s, 3 H), 1,12-1,1 (d, 3 H, $J = 6,7$ Hz), 0,88-0,86 (d, 3 H, $J = 6,2$ Hz), 0,84- 0,82 (d, 3 H, $J = 6,4$ Hz);

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 170,6, 170,0, 165,2, 154,0, 139,2, 138,0, 136,7, 135,8, 131,8, 131,1, 129,7, 128,8, 128,4, 128,2, 126,8, 125,3, 123,3, 122,23, 112,1, 94,2, 78,9, 74,5, 71,3, 56,0, 53,1, 48,6, 43,9, 41,0, 39,4, 36,5, 33,3, 28,3, 24,7, 22,9, 22,7, 22,3, 21,3, 21,2, 16,5;

IR (CHCl_3) 3426, 3383, 2967, 2935, 2874, 2841, 1727, 1710, 1680, 1646, 1605, 1504, 1368, 1280, 1259, 1169, 1151 cm^{-1} .

Styren (0,86 g) byl připraven z 2,2 g výchozího karbamátu s 54% výtěžkem použitím způsobu popsaného výše:

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} +33,1^\circ$ (c 1,03, MeOH);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,24-7,0 (m, 7 H), 6,85-6,82 (d, 1 H, $J = 8,4$ Hz), 6,82-6,70 (m, 1 H), 6,39-6,34 (d, 1 H, $J = 15,8$ Hz), 6,03-5,95 (dd, 1 H, $J = 15,8, 8,7$ Hz), 5,78-5,13 (d, 1 H, $J = 15,2$ Hz), 5,67- 5,64 (d, 1 H, $J = 7,8$ Hz), 5,1-5,0 (m, 1 H), 4,87-4,83 (dd, 1 H, $J = 10,2, 3,5$ Hz), 4,8-4,7 (m, 1 H), 3,9 (s, 3 H), 3,45-3,38 (dd, 1 H, $J = 13,4, 8,6$ Hz), 3,2-3,0 (m, 3 H), 2,6-2,3 (m, 3 H), 2,32 (s, 3 H), 1,75-1,25 (m, 3 H), 1,22 (s, 3 H), 1,15 (s, 3 H), 1,13-1,11 (d, 3 H, $J = 6,8$ Hz), 0,75-0,72 (t, 6 H, $J = 5,7$ Hz);

^{13}C NMR (15 MHz, CDCl_3) δ 177,9, 170,5, 170,3, 165,1, 154,0, 142,1, 138,0, 136,6, 135,6, 131,8, 130,8, 129,9, 129,6, 128,4, 128,22, 128,17, 126,7, 124,5, 123,3, 122,5, 112,3, 71,4, 56,1, 54,3, 46,4, 42,7, 42,2, 39,4, 36,5, 35,3, 24,5, 22,8, 22,6, 22,5, 21,2, 21,1, 17,2;

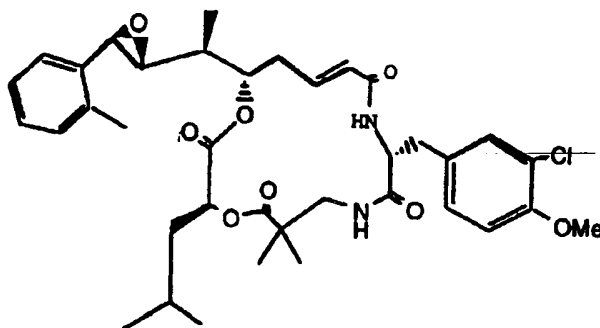
IR (CHCl_3) 3424, 3021, 3017, 2965, 1747, 1711, 1680, 1652, 1528, 1503, 1485, 1259, 1151, 1067 cm^{-1} ;

Elementární analýza pro $\text{C}_{37}\text{H}_{47}\text{ClN}_2\text{O}_7$:

Vypočteno: C, 66,60; H, 7,10; N, 4,20.

Nalezeno: C, 66,79; H, 7,03; N, 4,25.

Příklad 30

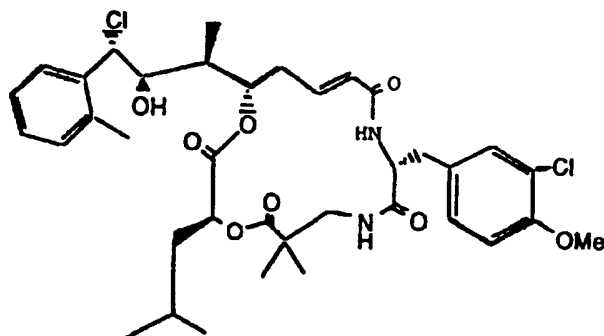


Sloučenina z názvu, b epoxid, (0,20 g) byla připravena z 0,667 g výchozího styrenu s 29% výtěžkem použitím způsobu popsaného výše:

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,3–7,0 (m, 7 H), 6,90–6,87 (d, 1 H, J = 8,4 Hz), 6,87–6,75 (m, 1 H), 5,79–5,74 (d, 1 H, J = 14,8 Hz), 5,54–5,51 (d, 1 H, J = 7,8 Hz), 5,28–5,22 (m, 1 H), 4,89–4,85 (dd, 1 H, J = 10,4, 3,5 Hz), 4,82–4,75 (m, 1 H), 3,92 (s, 3 H), 3,69–3,68 (d, 1 H, J = 1,63), 3,51–3,44

(dd, 1 H, $J = 13,4, 8,6$ Hz), 3,2-3,1 (m, 2 H), 2,98-2,95 (dd, 1 H, $J = 7,6, 1,6$ Hz), 2,65-2,32 (m, 3 H), 2,32 (s, 3 H), 1,85-1,6 (m, 3 H), 1,4-1,25 (m, 1 H), 1,27 (s, 3 H), 1,21 (s, 3 H), 1,21-1,18 (d, 3 H, $J = 7,5$ Hz), 0,90-0,86 (t, 6 H, $J = 6,13$ Hz).

Příklad 31

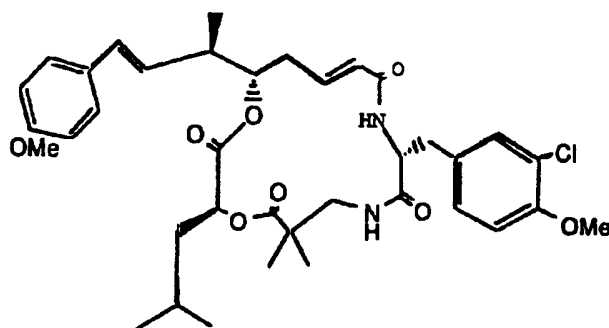


Do roztoku b epoxidu (0,1 g, 0,147 mmolů) v 5,0 ml CHCl_3 při teplotě -60°C byl přidán chlortrimethylsilan (0,093 ml, 0,74 mmolů). Roztok byl míchán při teplotě -60°C po dobu 30 minut a při teplotě okolí po dobu 1,5 hodin předtím než byl koncentrován za sníženého tlaku. Výsledný residuum, obsahující 50:50 směs syn a anti chlorhydrinů, byl čištěn pomocí HPLC s obrácenou fází a tím bylo získáno 0,028 g (21%) požadovaného trans isomeru:

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1,28-7,2 (m, 5 H), 7,13-7,1 (dd, 1 H, $J = 8,32, 1,95$ Hz), 6,91-6,88 (d, 1 H, $J = 8,5$ Hz), 6,88-6,78 (m, 1 H), 5,86-5,81 (d, 1 H, $J = 15,0$ Hz), 5,73-5,71 (d, 1 H, $J = 7,8$ Hz), 5,24-5,11 (t, 1 H, $J = 9,4$ Hz), 5,0-4,96 (dd, 1 H, $J = 9,58, 2,93$ Hz), 4,81-4,74 (m, 1 H), 4,67-4,64 (d, 1 H, $J = 9,73$ Hz), 4,06-4,03 (dd, 1 H, $J = 9,6, 1,1$

Hz), 3,92 (s, 3 H), 3,47-3,39 (dd, 1 H, $J = 13,2, 8,3$ Hz), 3,24-3,0 (m, 3 (s, 3 H), 1,22 (s, 3 H), 1,09-1,07 (d, 3 H, $J = 6,95$ Hz), 0,98-0,96 (d, 6 H, $J = 6,4$ Hz).

Příklad 32



Ester (2,75 g) byl připraven z 3,39 g aldehydu 2 a 7,7 g 4-methoxybenzyl-trifenylfosfoniumchloridu s 54% výtěžkem použitím způsobu popsaného výše.

$[\alpha]^{20}_D +71,85^\circ$ (c 1,03, MeOH);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,25-7,21 (m, 2 H, $J = 9,0$ Hz), 7,0-6,85 (m, 1 H), 6,81-6,78 (d, 2 H, $J = 8,5$ Hz), 6,30-6,23 (d, 1 H, $J = 16,3$ Hz), 6,0-5,9 (dd, 1 H, $J = 16,3, 8,2$ Hz), 5,81-5,75 (d, 1 H, $J = 14,26$ Hz), 3,75 (s, 3 H), 3,67 (s, 4 H), 2,42-2,22 (m, 3 H), 1,05-1,02 (d, 3 H, $J = 6,8$ Hz), 0,86 (s, 9 H), 0,005 (s, 3 H), -0,001 (s, 3 H);

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 166,7, 158,8, 146,4, 130,4, 129,7, 129,7, 127,0, 122,7, 113,8, 75,0, 55,2, 51,3, 42,7, 37,4, 25,8, 19,0, 16,1, -4,5, -4,6;

IR (CHCl_3) 3010, 2955, 2930, 2898, 2857, 1718, 1658, 1607, 1511 cm^{-1} .

Kyselina (1,58 g) byla připravena z 1,7 g esteru s 96% výtěžkem použitím způsobu popsaného výše:

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1,3-7,27 (d, 2 H, $J = 8,7$ Hz), 7,13-7,03 (m, 1 H), 6,86-6,83 (d, 2 H, $J = 8,6$ Hz), 6,35-6,29 (d, 1 H, $J = 16,0$ Hz), 6,04-5,96 (dd, 1 H, $J = 15,9$, 8,0 Hz), 5,87-5,81 (d, 1 H, $J = 15,8$ Hz), 3,8 (s, 3 H), 3,79-3,7 (m, 1 H), 2,5-2,33 (m, 3 H), 1,1-1,08 (d, 3 H, $J = 6,8$ Hz), 0,9 (s, 9 H), 0,058 (s, 3H), 0,055 (s, 3H).

Amid (2,09 g) byl připraven z 1,58 g kyseliny s 70% výtěžkem použitím způsobu popsaného výše:

$[\alpha]^{20}_{\text{D}}$ 2,0° (c 1,0, CHCl_3);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,28-7,26 (d, 2H, $J = 7,33$ Hz), 7,18-7,17 (d, 1 H, $J = 1,8$ Hz), 7,04-7,0 (dd, 1 H, $J = 8,5$, 1,8 Hz), 6,90-6,79 (m, 3 H), 6,32-6,27 (d, 1 H, $J = 16,0$ Hz), 6,05-5,97 (dd, 1 H, $J = 16,0$, 8,1 Hz), 5,83-5,76 (m, 3 H), 5,09-5,05 (m, 1 H), 4,82-4,7 (q, 2 H, $J = 11,9$ Hz), 3,86 (s, 3 H), 3,8 (s, 3 H), 3,77-3,7 (m, 1 H), 3,24-3,17 (dd, 1 H, $J = 14,2$, 5,7 Hz), 3,13-3,07 (dd, 1 H, $J = 14,2$, 5,94 Hz), 2,5-2,3 (m, 3 H), 1,09-1,06 (d, 3 H, $J = 6,8$ Hz), 0,89 (s, 9 H), 0,048 (s, 3 H), 0,038 (s, 3 H);

^{13}C NMR (75 MHz) 135,5, 131,0, 130,4, 129,6, 128,4, 127,0, 124,6, 122,5, 113,8, 112,1, 94,2, 75,0, 74,7, 56,0, 55,2, 52,9, 42,5, 37,4, 36,4, 25,8, 18,0, 16,4, -4,4, -4,1;

IR (CHCl_3) 2957, 2931, 2857, 1757, 1676, 1644, 1607, 1511, 1503 cm^{-1} .

Alkohol (1,35 g) byl připraven z 1,63 g výchozího amidu s 98% výtěžkem použitím způsobu popsaného výše:

$[\alpha]^{20}_{\text{D}}$ +55,7° (c 1,0, MeOH);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,31-7,29 (d, 2 H, $J = 7.9$ Hz), 7,18 (s, 1 H), 7,05-7,02 (d, 1 H, $J = 8,3$ Hz), 7,0-6,87 (m, 1 H), 6,86-6,83 (d, 3 H, $J = 8,2$ Hz) 6,44-6,38 (d, 1 H, $J = 15,8$ Hz), 6,0- 5,82 (m, 3 H), 5,10-5,0 (m, 1 H), 4,81-4.7 (q, 2 H, $J = 11,8$ Hz), 3,87 (s, 3 H) 3 81 (s, 3 H), 3,67-3,6 (m, 1 H), 3,24- 3,19 (dd, 1 H, $J = 14,1, 6,1$ Hz), 3,12-3,07 (dd, 1 H, $J = 14,4, 5.9$ Hz), 2,5-2,25 (m, 3 H), 1,8-1,6 (bs, 1 H), 1,14- 1,12 (d, 3 H, $J = 6,6$ Hz);

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 170,1, 165,2, 159,0, 154,2, 142,5, 131,2, 131,0, 129,8, 128,7, 128,4, 127,2, 125,0, 122,4, 113,9, 112,2, 94,2, 74,7, 73,5, 56,05, 55,2, 53,0, 43,2, 37,1, 36,4, 16,8;

IR (CHCl_3) 3428, 2964, 2936, 2912, 2874, 2840, 1758, 1677, 1645, 1607, 1512, 1503, 1258, 1175 cm^{-1} .

Substrát (1,69 g) byl připraven z 1,26 g výchozího alkoholu s 89% výtěžkem použitím způsobu popsaného výše:

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} +35,2^\circ$ (c 1,02, MeOH);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,26-7,23 (d, 21 H, $J = 8,0$ Hz), 7,18-7,17 (d, 1 H, $J = 1,7$), 7 07-7 03 (dd, 1 H, $J = 8,4, 1,6$), 6,55-6,7 (m, 4H), 6,53-6,5 (d, 1 H, $J = 7,9$ Hz), 6,36-6,31 (d, 1 H, $J = 15,8$ Hz), 5,9-5,81 (m, 2 H), 5,42-5,35 (t, 1 H), 5,1-4,95 (m, 2 H), 4,94-4,90 (dd, 1 H, $J = 9,6, 3,4$ Hz), 4,81-4,67 (q, 2 H, $J = 11,9$ Hz), 3,85 (s, 3 H), 3,79 (s, 3 H), 3,28- 3,26 (d, 2 H, $J = 6,5$ Hz), 3,23-3,16 (dd, 1 H, $J = 14,3, 5,8$ Hz), 3,09-3,02 (dd, 1 H, $J = 14,1, 6,7$ Hz), 2,61-2,4 (m, 3 H), 1,8-1,5 (m, 3 H), 1,43 (s, 9 H), 1,20 (s, 3 H), 1,15 (s, 3 H), 1,11-1,09 (d, 3 H, $J = 6,7$ Hz), 0,87-0,85 (d, 3 H, $J = 6,4$ Hz), 0,84-0,82 (d, 3 H, $J = 6,5$ Hz);

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 174,9, 170,6, 169,9, 165,3, 159,0, 154,0, 139,3, 135,4, 131,1, 131,0, 129,6, 128,8, 128,4,

06.04.99

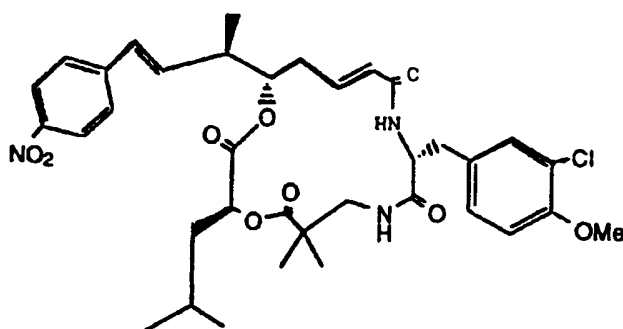
127,8, 127,2, 125,2, 122,2, 113,9, 112,2, 94,3, 74,5, 71,3, 56,0, 55,2, 53,1, 48,6, 43,9, 41,0, 39,4, 36,5, 28,3, 24,7, 22,9, 22,7, 22,3, 21,4, 16,6;

IR (CHCl₃) 3426, 3383, 2965, 2936, 2874, 2840, 1728, 1711, 1680, 1646, 1607, 1512, 1465, 1367, 1254, 1115, 1067 cm⁻¹.

Styrenový produkt (0,676 g) byl připraven z 1,43 g výchozího karbamátu s 65% výtěžkem použitím způsobu popsaného výše:

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 7,26-7,23 (d, 3 H, J = 8,4 Hz), 7,20-7,19 (d, 1 H, J = 1,8 Hz), 7,07-7,03 (dd, 1 H, J = 8,4, 1,9 Hz), 6,84-6,81 (d, 3 H, J = 8,5 Hz), 6,8- 6,7 (m, 1 H), 6,36-6,31 (d, 1 H, J = 15,8 Hz), 5,59-5,81 (dd, 1 H, J = 15,8, 8,8 Hz), 5,78-5,73 (d, 1 H, J = 13,7 Hz), 5,68-5,66 (d, 1 H, J = 7,9 Hz), 5,05-4,99 (ddd, 1 H, J = 10,6, 6,6, 1,6 Hz), 4,87-4,82 (dd, 1 H, J = 9,7, 3,1 Hz), 4,78-4,7 (m, 1 H), 3,86 (s, 3 H), 3,79 (s, 3 H), 3,45-3,31 (dd, 1H, J = 13,4, 8,6 Hz), 3,15-3,0 (m, 3 H), 2,6-2,25 (m, 3 H), 1,7-1,3 (m, 3 H), 1,22 (s, 3 H), 1,15 (s, 3 H), 1,12-1,1 (d, 3 H, J = 6,8 Hz), 0,76-0,75 (d, 3 H, J = 2,9 Hz), 0,74- 0,73 (d, 3 H, J = 2,8 Hz).

Příklad 33



Do roztoku terc.-butoxidu draselného (1,17 g, 10,5 mmolů) v 120 ml THF o teplotě 0 °C byl přidán p-nitrobenzyl-trifenylyfosfoniumbromid (5,0 g, 10,5 mmolů), v malých dávkách v průběhu 30 minut. Směs byla míchána při teplotě 0 °C po dobu 1 hodiny. Aldehyd **2** v 20 ml THF byl přidán po kapkách do předem vytvořeného ylidu. Směs byla míchána při teplotě 0 °C po dobu 15 minut, potom zahřáta pomalu na teplotu okolí a míchán přes noc. Byl přidán nasycený vodný NH₄Cl (50 ml) a roztok byl extrahován ethylacetátem. Organická vrstva byla promývána solankou, sušena nad MgSO₄, filtrována a koncentrována za sníženého tlaku. Surový styren jako směs E:Z isomerů byl čištěn na silikagelu použitím směsi 2% EtOAc/hexany a tím bylo získáno 0,5 g Z isomeru a 1,1 g E isomeru (42%) ve formě žlutého oleje:

$[\alpha]_D^{20} +63,81^\circ$ (c 1,05, MeOH);

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,18-8,15 (d, 2 H, J = 8,6 Hz), 7,47-7,44 (d, 2 H, J = 8,7 Hz), 7,0-6,85 (m, 1 H), 6,5-6,3 (m, 2 H), 5,87-5,82 (d, 1 H, J = 15,6 Hz), 3,8-3,73 (m, 1 H), 3,73 (s, 3 H), 2,55-2,35 (m, 3 H), 1,13-1,11 (d, 3 H, J

= 6,9 Hz), 0,90 (s, 9H), 0,059 (s, 3 H), 0,047 (s, 3 H);

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) 166,5, 145,5, 143,9, 137,3, 128,7, 126,4, 123,9, 123,1, 74,6, 51,3, 42,8, 37,8, 33,8, 25,7, 24,3, 21,9, 18,0, 16,3, -4,4, -4,7;

IR (CHCl_3) 2953, 2931, 2859, 1719, 1658, 1596, 1518, 1472, 1438, 1345, 1259, 1110 cm^{-1} .

Amid (3,06 g) byl připraven z 2,55 g kyseliny s 65% výtěžkem použitím způsobu popsaného výše:

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} +70,67^\circ$ (c 1,05, MeOH);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,15-8,12 (d, 2 H, $J = 8,7$ Hz), 7,45-7,42 (d, 2 H, $J = 8,1$ Hz), 7,17-7,16 (d, 1 H, $J = 2,0$ Hz), 7,04-7,01 (dd, 1 H, $J = 8,45, 1,9$ Hz), 6,88-6,82 (m, 2 H), 6,43-6,3 (m, 2 H), 5,93-5,91 (d, 1 H, $J = 7,5$ Hz), 5,84-5,79 (d, 1 H, $J = 15,3$ Hz), 5,1-5,0 (m, 1 H), 4,82-4,69 (q, 2 H, $J = 11,9$ Hz), 3,85 (s, 3 H), 3,8-3,7 (m, 1 H), 3,24-3,18 (dd, 1 H, $J = 14,3, 5,7$ Hz), 3,13-3,06 (dd, 1 H, $J = 14,2, 6,05$ Hz), 2,52-2,3 (m, 3 H), 1,11-1,09 (d, 3H, $J = 6,8$ Hz), 0,88 (s, 9H), 0,041 (s, 3 H), 0,032 (s, 3 H);

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 170,0, 165,0, 154,2, 146,5, 144,0, 142,2, 137,4, 136,0, 131,0, 128,7, 128,4, 126,4, 124,9, 123,9, 122,5, 112,1, 94,1, 74,72, 74,67, 56,0, 52,9, 42,7, 37,8, 36,4, 25,7, 18,0, 16,5, -4,7, -4,3;

IR (CHCl_3) 3429, 2957, 2931, 2858, 1757, 1677, 1645, 1597, 1517, 1503, 1345, 1259, 1180, 1110, 1067, 1026 cm^{-1} .

Substrát (3,3 g) byl připraven z 2,54 g výchozího alkoholu s 87% výtěžkem použitím způsobu popsaného výše:

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} +38,2^\circ$ (c 1,07, MeOH);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,23-8,2 (d, 2 H, $J = 8,7$ Hz), 7,52-7,49 (d, 2 H, $J = 8,7$ Hz), 7,21 (s, 1 H), 7,12-7,08

(dd, 1 H, $J = 8,2, 1,8$ Hz), 6,89-6,86 (d, 1 H, $J = 8,4$ Hz), 6,86-6,75 (m, 1 H), 6,6-6,58 (d, 1 H, $J = 8,0$ Hz), 6,55-6,5 (d, 1 H, $J = 15,9$ Hz), 6,31-6,23 (dd, 1 H, $J = 15,8, 8,5$ Hz), 5,97-5,92 (d, 1 H, $J = 15,5$ Hz), 5,4-5,3 (bt, 1 H), 5,2-5,0 (m, 2 H), 4,98- 4,94 (dd, 1 H, $J = 9,5, 3,6$ Hz), 4,86-4,72 (q, 2 H, $J = 12$ Hz), 3,9 (s, 3 H), 3,33-3,3 (d, 1 H, $J = 6,6$ Hz), 3,27-3,22 (dd, 1 H, $J = 14,1, 5,7$ Hz), 3,14-3,07 (dd, 2 H, $J = 14,0, 6,7$ Hz), 2,8-2,5 (m, 3 H), 2,9-1,47 (m, 3 H), 1,47 (s, 9 H), 1,3-1,2 (m, 9 H), 0,91-0,89 (d, 3 H, $J = 6,4$ Hz), 0,57-0,85 (d, 3 H, $J = 6,4$ Hz);

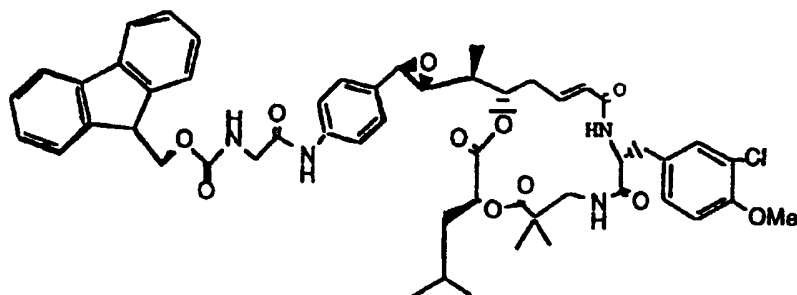
^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 176,8, 170,6, 169,9, 165,1, 156,2, 154,0, 146,8, 143,2, 138,8, 135,8, 135,4, 131,1, 129,7, 128,7, 128,4, 126,7, 126,6, 125,5, 123,9, 122,2, 112,1, 94,2, 79,0, 76,2, 74,5, 71,2, 56,0, 53,1, 48,5, 43,9, 41,2, 39,4, 36,5, 33,3, 28,3, 24,7, 22,9, 22,7, 22,3, 21,4, 16,3; IR (CHCl_3) 3426, 3385, 2967, 2936, 2874, 2841, 1712, 1681, 1646, 1597, 1519, 1500, 1345, 1280, 1259, 1170, 1150, 1067, 1024 cm^{-1} .

Styrenový produkt (0,55 g) byl připraven z 1,77 g výchozího karbamátu s 42% výtěžkem použitím způsobu popsaného výše:

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) 8,23-8,21 (d, 2 H, $J = 8,7$ Hz), 7,52-7,49 (d, 2 H, $J = 8,7$ Hz), 7,24-7,2 (m, 2 H), 7,11-7,08 (dd, 1 H, $J = 8,5, 1,92$ Hz), 6,89-6,87 (d, 1 H, $J = 8,4$ Hz), 6,86-6,72 (m, 1 H), 6,56-6,51 (d, 1 H, $J = 15,9$ Hz), 6,33-6,25 (dd, 1 H, $J = 15,9, 8,7$ Hz), 5,94-5,91 (d, 1 H, $J = 7,8$ Hz), 5,83-5,78 (d, 1 H, $J = 15,2$ Hz), 5,17- 5,12 (m, 1 H), 4,92-4,88 (dd, 1 H, $J = 9,7, 3,6$ Hz), 4,8- 4,75 (m, 1 H), 3,92 (s, 3 H), 3,5-3,43 (dd, 1 H, $J = 13,5, 8,73$ Hz), 3,2-3,1 (m, 3 H), 2,7-2,35 (m, 3 H), 1,8-1,6 (m, 2 H), 1,4-1,19 (m, 1H), 1,2 (s, 3 H), 1,16-1,14 (d, 6 H), 0,82-0,81 (d, 3

H, $J = 3,73$ Hz), 0,80-0,79 (d, 3 H, $J = 3,87$ Hz) .

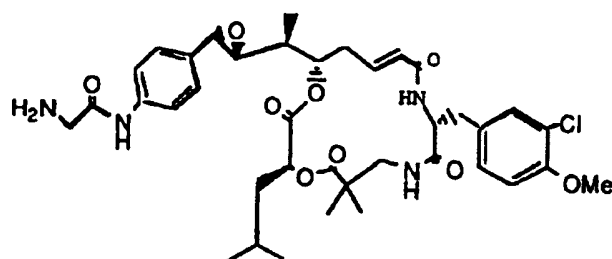
Příklad 34



^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) 8,5 (s, 1 H), 7,76-7,74 (d, 2 H, $J = 7,4$ Hz), 7,58-7,56 (d, 2 H, $J = 7,4$ Hz), 7,5-7,1 (m, 8 H), 7,03-7,0 (d, 1 H, $J = 8,2$ Hz), 6,81-6,78 (d, 1 H, $J = 8,5$ Hz), 6,78-6,65 (m, 1 H), 6,37-6,34 (d, 1 H, $J = 7,3$ Hz), 5,84-5,81 (t, 1 H, $J = 5,2$ Hz), 5,69-5,64 (d, 1 H, $J = 15,0$ Hz), 5,18-5,15 (bd, 1 H, $J = 9,0$ Hz), 4,83-4,6 (m, 2 H), 4,45-4,43 (d, 2 H, $J = 6,1$ Hz), 4,24-4,19 (t, 1 H, $J = 6,6$ Hz), 3,99 (bs, 2 H), 3,81 (s, 3 H), 3,61 (s, 1 H), 3,46-3,39 (dd, 1 H, $J = 13,4, 8,8$ Hz), 3,2-2,8 (m, 5 H), 2,6-2,3 (m, 3 H), 1,8-1,3 (m, 3 H), 1,2 (s, 3 H), 1,14 (s, 3 H), 1,12-1,1 (d, 3 H, $J = 6,8$ Hz), 0,86-0,81 (t, 6 H, $J = 7,3$ Hz).

05.04.99

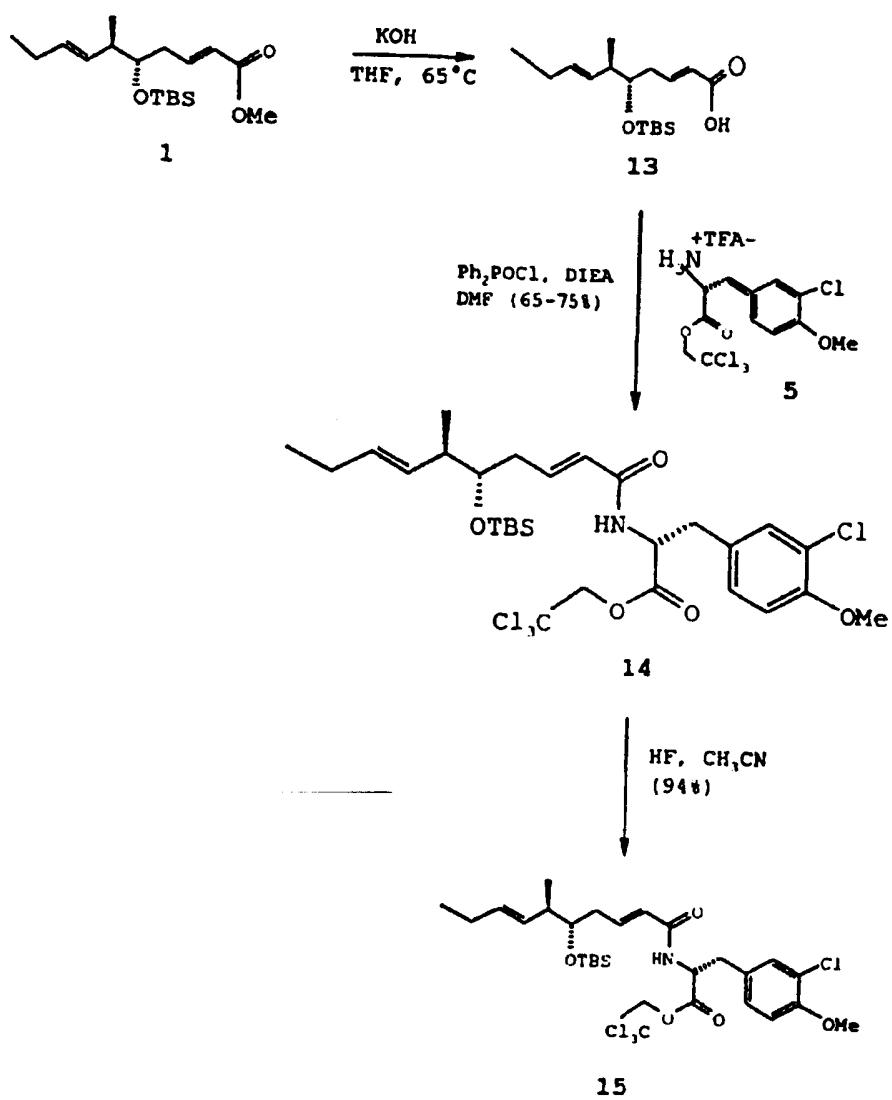
Příklad 35



^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9,5 (M1, 2 H), 7,6-7,57 (d, 2 H, $J = 8,1$ Hz), 7,24-7,18 (m, 5 H), 7,05-7,03 (d, 1 H, $J = 8,3$ Hz), 6,84-6,82 (d, 1 H, $J = 8,4$ Hz), 6,82-6,65 (m, 1 H), 6,02-6,0 (d, 1 H, $J = 7,6$ Hz), 5,72-5,67 (d, 1 H, $J = 15,3$ Hz), 5,19-5,16 (bd, 1 H, $J = 10,5$ Hz), 4,9-4,6 (m, 2 H), 3,85 (s, 3 H), 3,64 (s, 1 H), 3,55-3,4 (m, 3 H), 3,2-2,95 (m, 3 H), 2,90-2,88 (d, 1 H, 7,11 Hz), 2,6-2,3 (m, 3 H), 2,0-1,3 (m, 3 H), 1,2 (s, 3 H), 1,15 (s, 3 H), 1,13-1,11 (d, 3 H, $J = 6,9$ Hz), 0,90-0,84 (t, 6 H, $J = 7,2$ Hz).

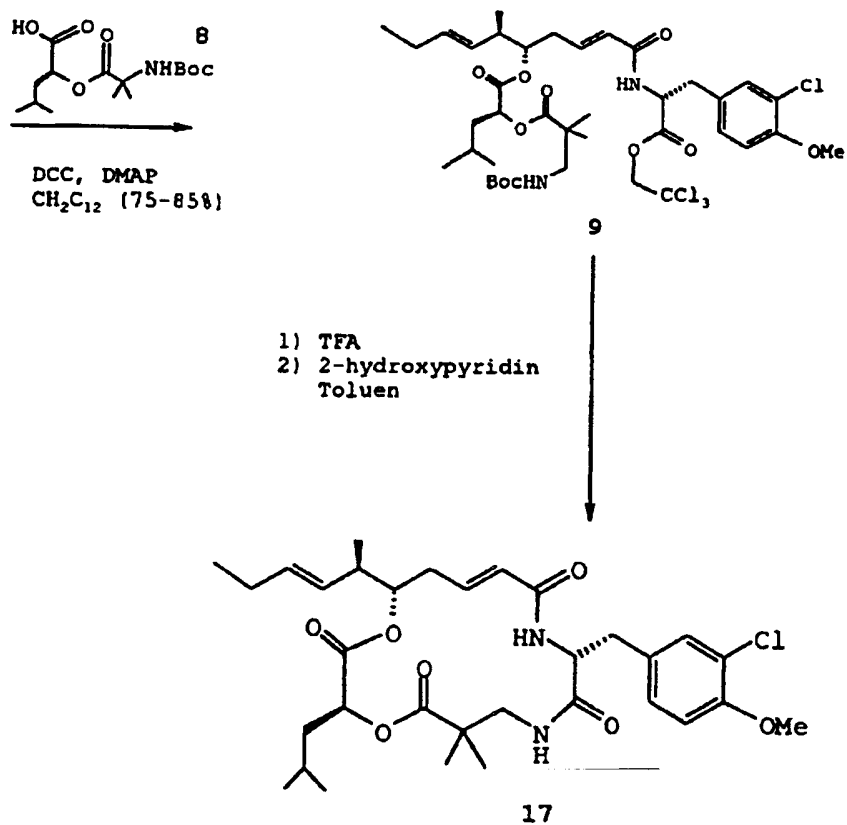
06.04.99

Schéma 2



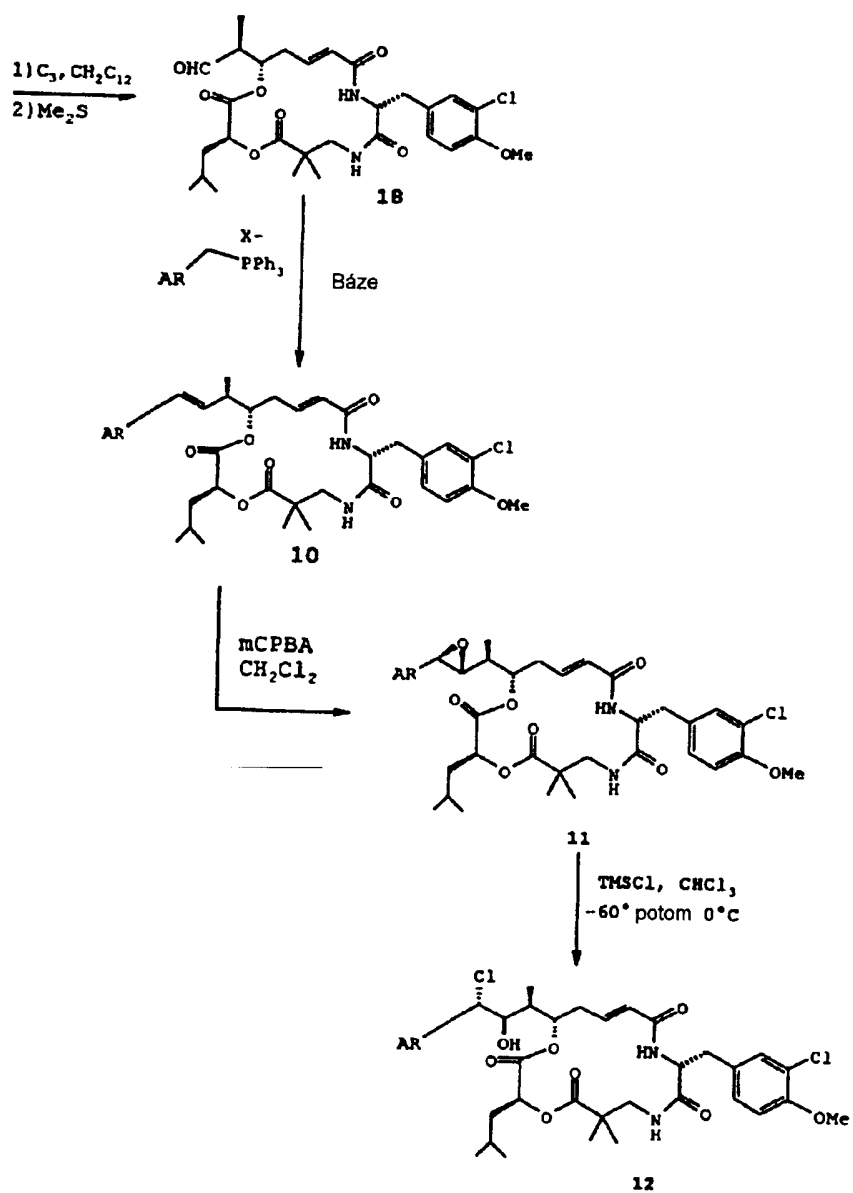
06.04.99

Schéma 2 (pokračování)



06.04.99

Schéma 2 (pokračování)



Příklad 36

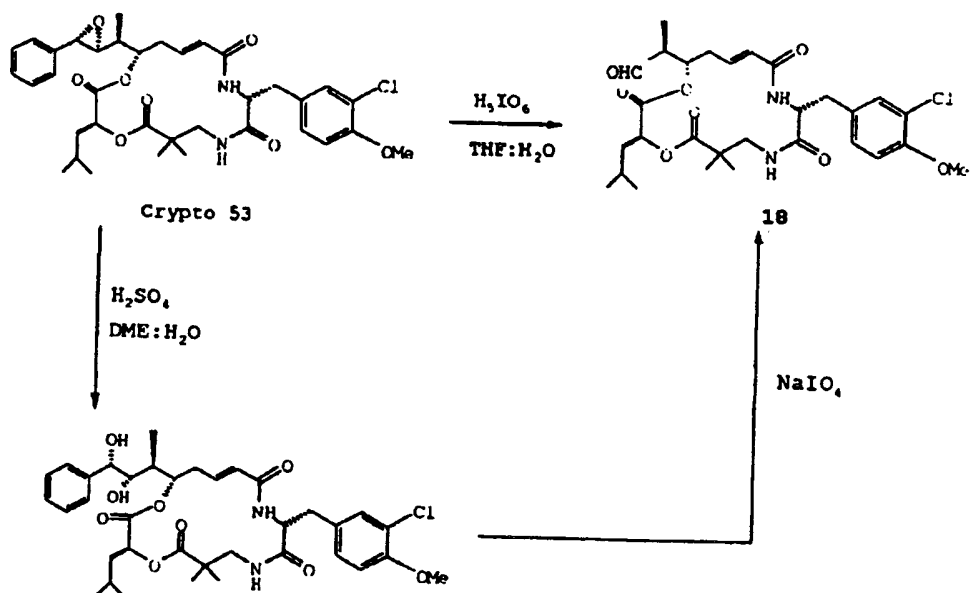
Podle Schématu 2

Do alkenu **17** (0,3 g, 0,50 mmolů) při teplotě $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ v 9,0 ml CH_2Cl_2 /1,0 ml MeOH byl přidán 2-pikolin (0,07 ml, 0,074 mmolů). Tento roztok byl vystaven působení 1,2 ekvivalentů ozonu a výsledný ozonid byl zalit dimethylsulfidem (1,1 ml, 2,2 mmolů). Směs byla pomalu zahřáta na teplotu okolí a míchána přes noc. Roztok byl promýván vodou (2 x 20 ml), sušen nad Na_2SO_4 , filtrován a koncentrován za sníženého tlaku a tím bylo získáno 0,251 g (87%) aldehydu **18**:

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9,64-9,63 (d, 1 H, $J = 1,05\text{ Hz}$), 7,25-7,2 (m, 2 H), 1,08-7,05 (d, 1 H, $J = 8,2\text{ Hz}$), 6,86-6,83 (d, 1 H, $J = 8,4\text{ Hz}$), 6,83-6,7 (m, 1 H), 5,81-5,76 (d, 1 H, $J = 15,1\text{ Hz}$), 5,75-5,65 (bs, 1 H), 5,38- 5,3 (m, 1 H), 4,85-4,81 (dd, 1 H, $J = 10,2, 3,2\text{ Hz}$), 4,80- 4,1 (m, 1 H), 3,87 (s, 3 H), 3,46-3,39 (dd, 1 H, $J = 13,5, 8,7\text{ Hz}$), 3,2-3,0 (m, 3 H), 2,7-2,4 (m, 3 H), 1,8-1,6 (m, 2 H), 1,4-1,3 (m, 1 H), 1,23 (s, 3 H), 1,18-1,16 (d, 6 H), 0,94-0,92 (d, 3 H, $J = 6,5\text{ Hz}$), 0,88-0,86 (d, 3 H, $J = 6,4\text{ Hz}$).

06.04.99

Schéma 3



06.04.99

Schéma 4

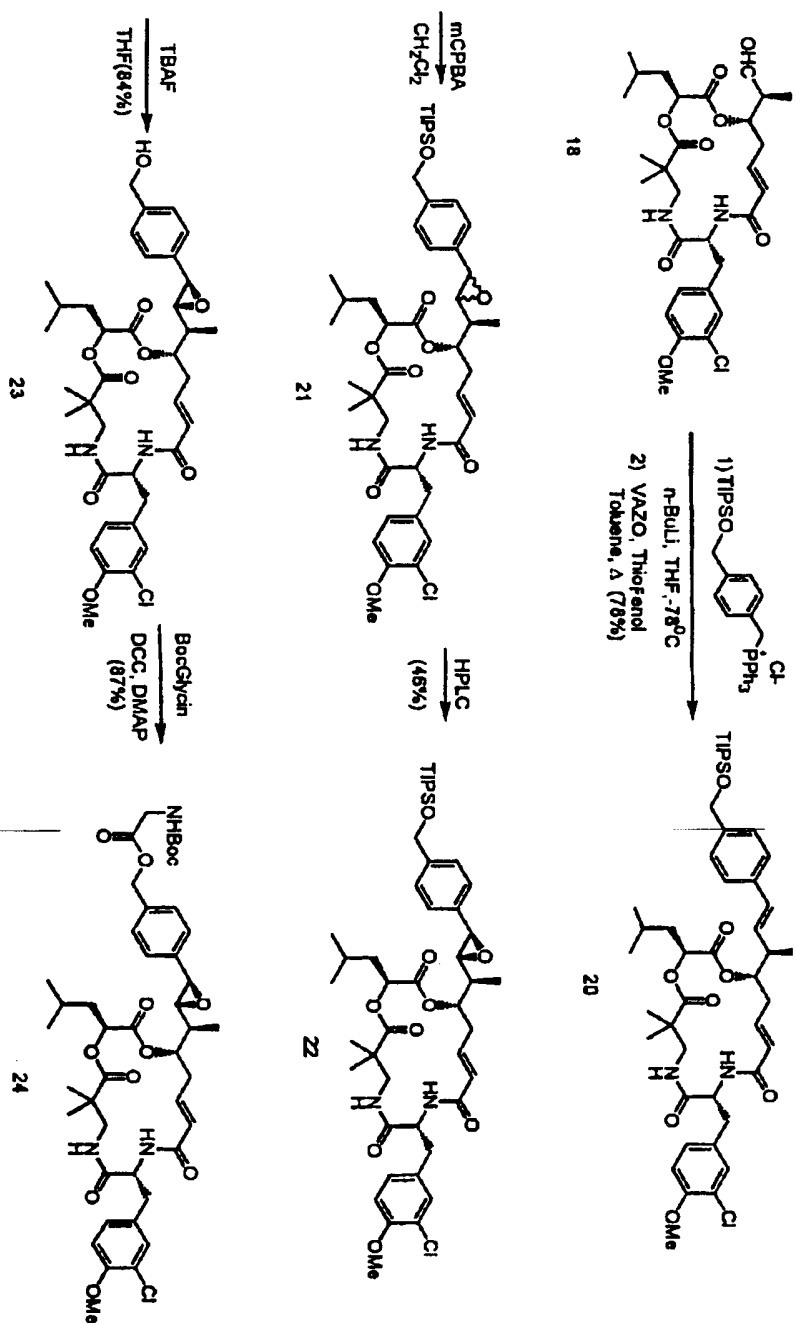


Schéma 4 (pokračování)

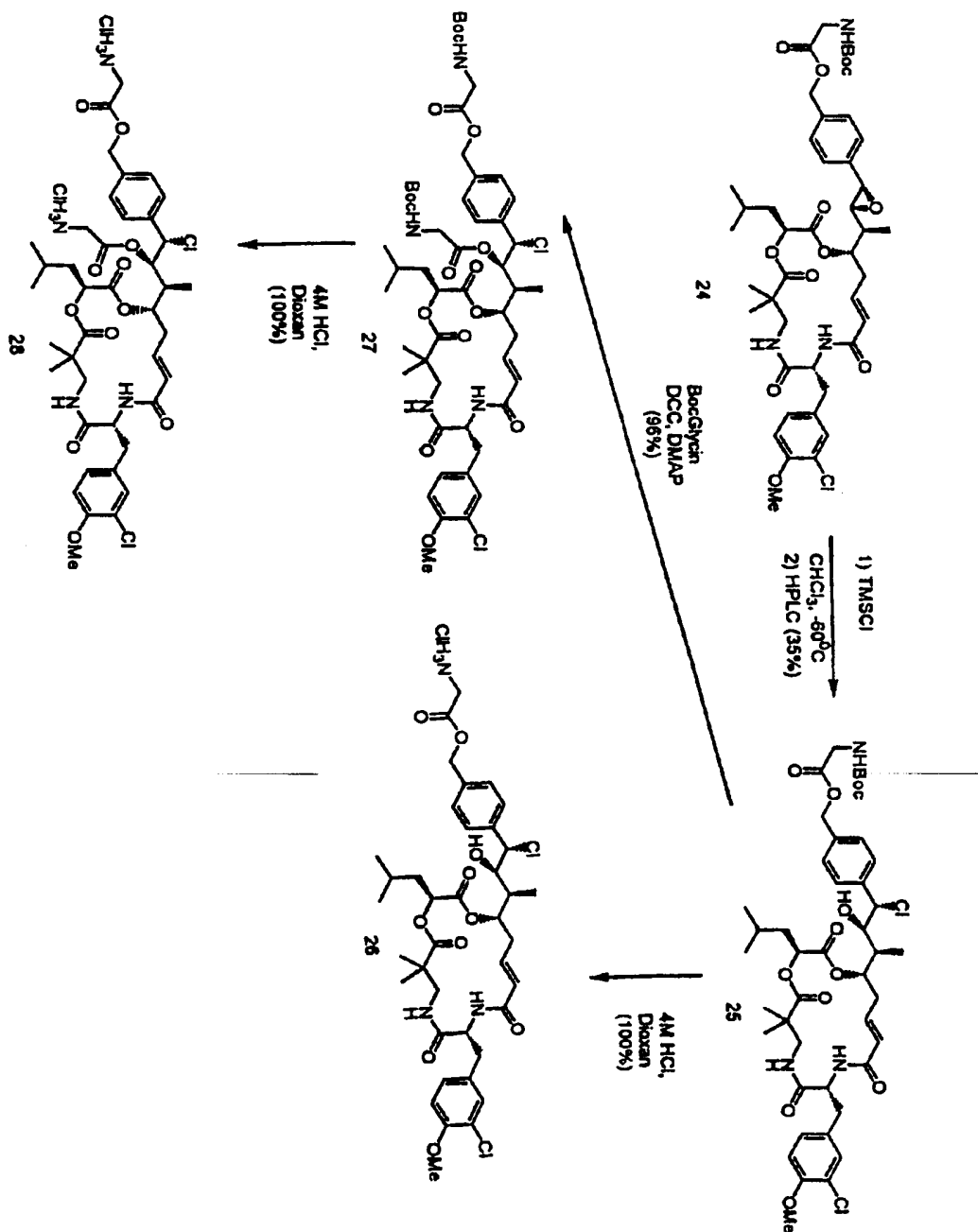
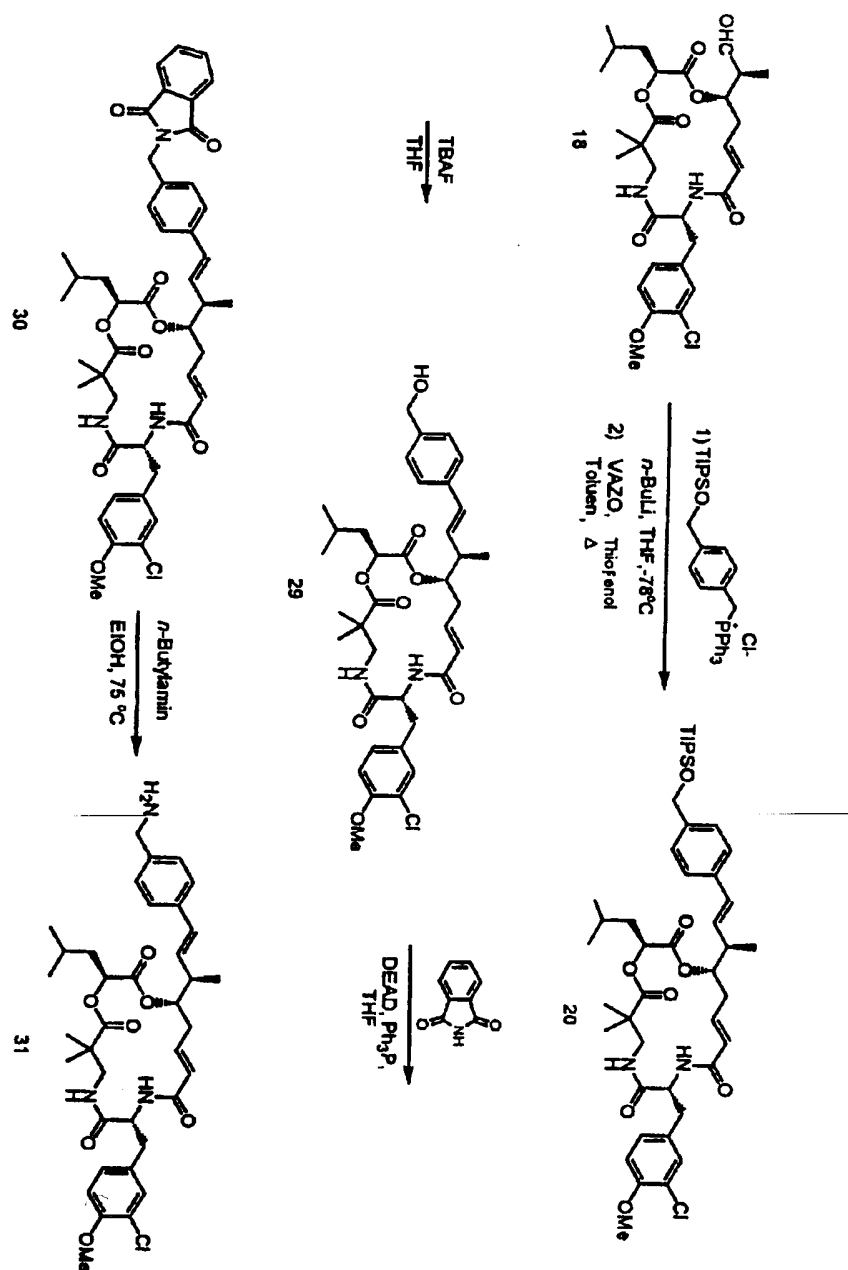
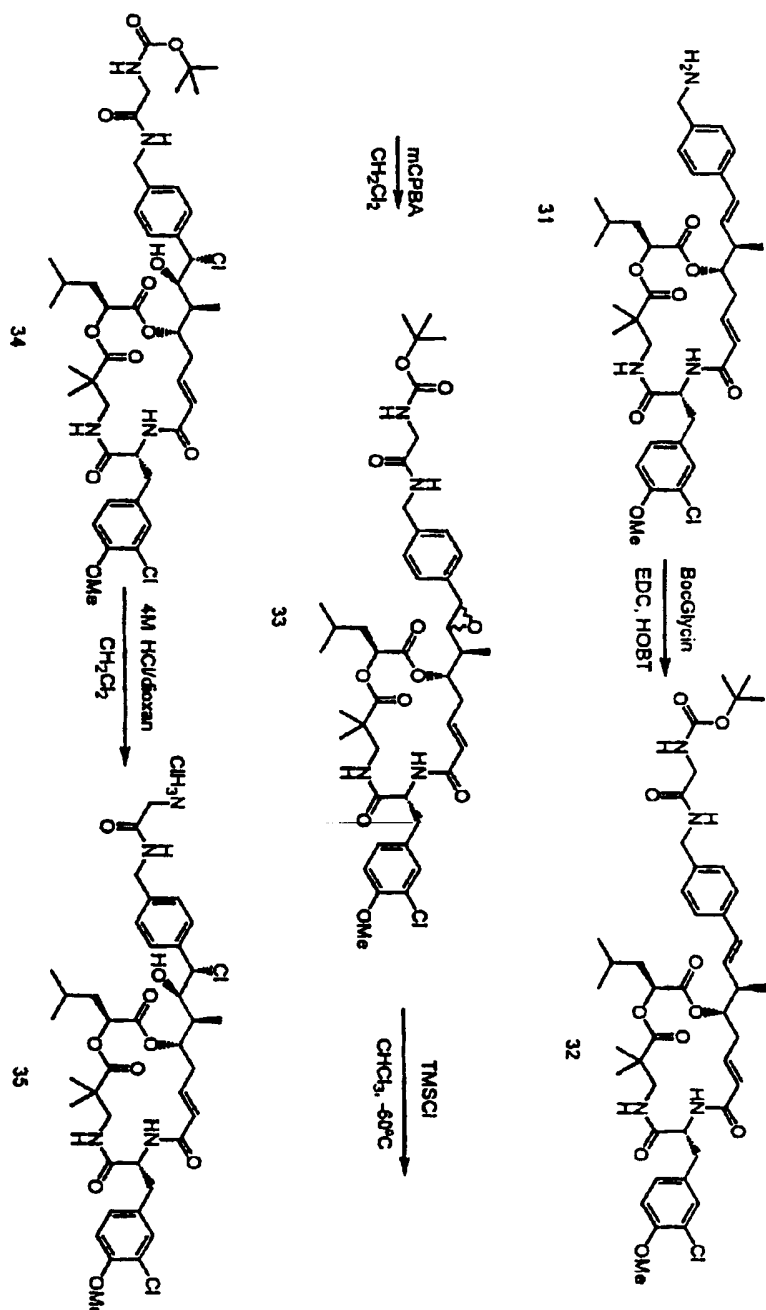


Schéma 5



08.04.99

Schéma 5 (pokračování)



08.04.99

Schéma 6

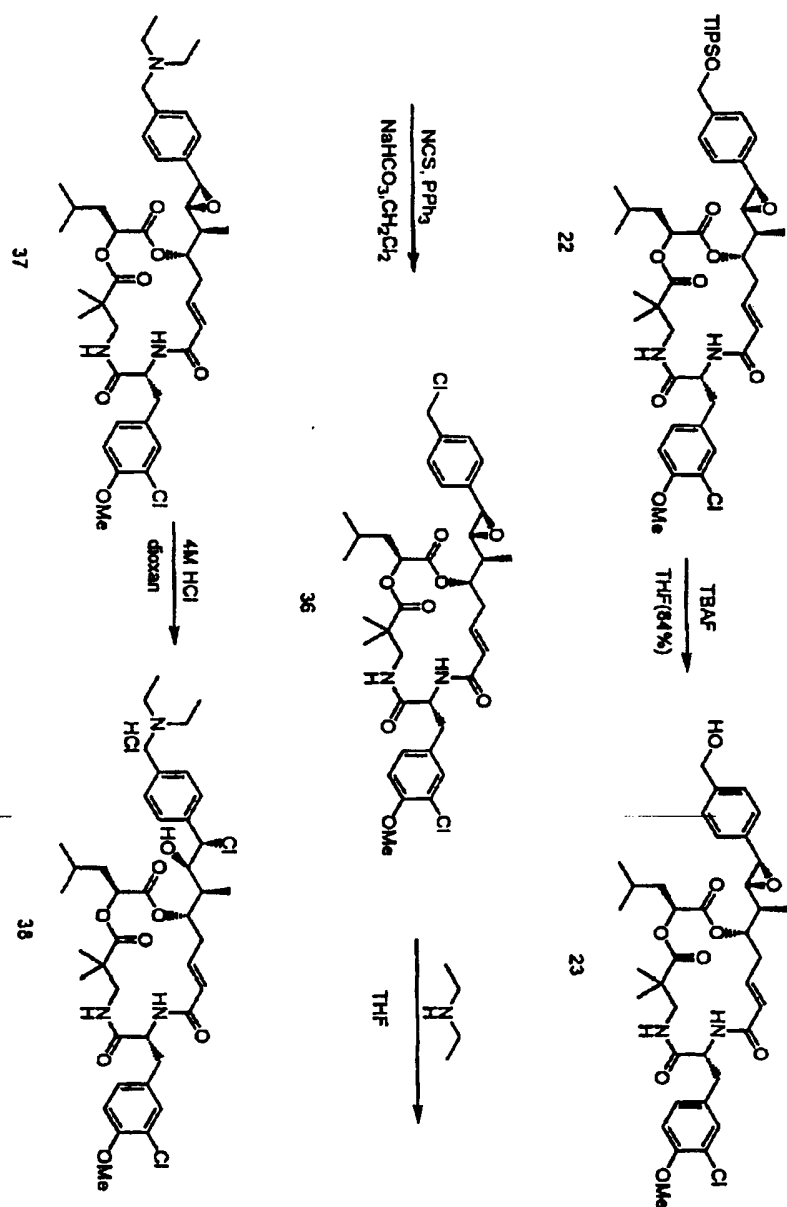


Schéma 7

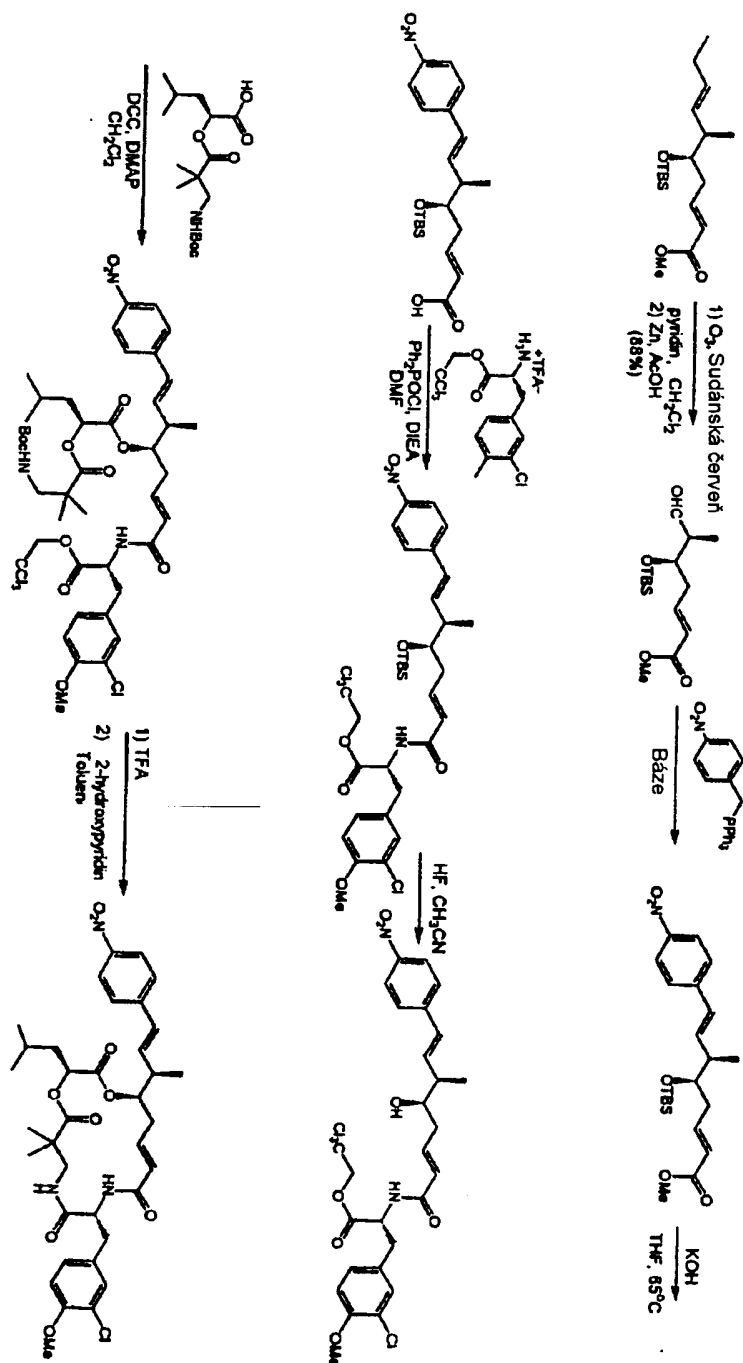
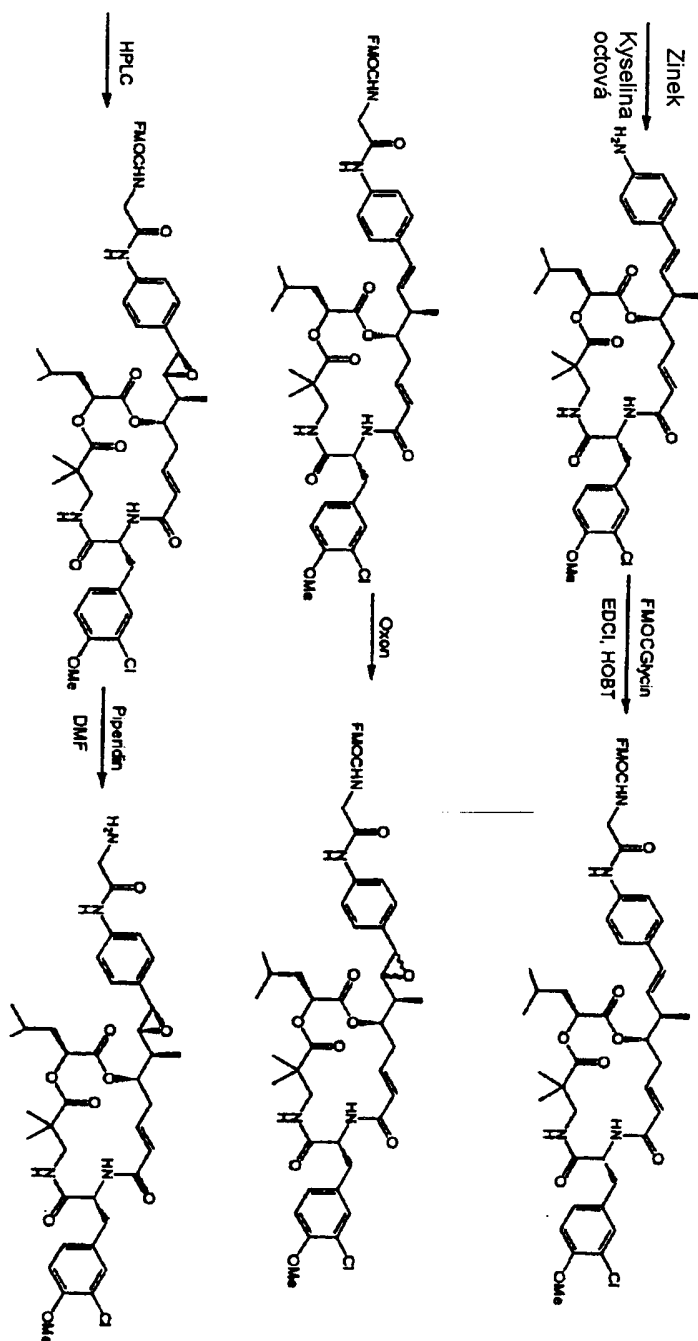


Schéma 7 (pokračování)



Příklad 37

Podle Schématu 3

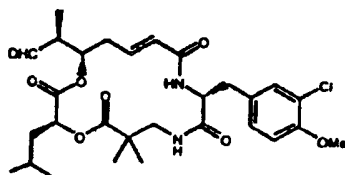
Do roztoku Kryptofycinu **53** (0,15 g, 0,23 mmolů) v 3 ml DME a 2,0 ml H₂O bylo přidáno 5 kapek koncentrované H₂SO₄. Směs byla míchána přes noc a bylo přidáno dalších 5 kapek H₂SO₄ a míchání pokračovalo po dobu dalších 24 hodin. Nasycený NaHCO₃ byl pomalu přidán dokud všechna reaktivita neustala a směs pak byla extrahována CH₂Cl₂. Organická vrstva byla promývána solankou, sušena nad Na₂SO₄, filtrována a koncentrována. Výsledné residuum bylo čištěno sloupcovou chromatografií (silikagel, 2% MeOH/CH₂Cl₂) a tím bylo získáno 0,13 g diolů. Do směsi diolů v 4,0 ml THF a 2,0 ml H₂O byl přidán NaIO₄ (0,144 g, 0,675 mmolů). Výsledná směs byla míchána přes noc při teplotě okolí. Směs byla koncentrována za sníženého tlaku a bylo přidáno 5 ml H₂O a směs byla extrahována CH₂Cl₂. Sloučené organické vrstvy byly sušeny nad Na₂SO₄, filtrovány a koncentrovány za sníženého tlaku a tím se získalo 0,10 g (77%) aldehydu **18**.

Do 4-hydroxymethylbenzyl-trifenylfosfoniumchloridu (0,23 g, 0,4 mmolů) chráněného TIPS v 3,0 ml THF při teplotě -18 °C bylo přidáno po kapkách 0,25 ml 1,6 M roztoku n-butyllithia. Směs byla zahřáta pomalu na teplotu 0 °C a míchána po dobu dalších 10 minut. Do aldehydu **18** v 4,0 ml THF a při teplotě -78 °C bylo přidáno po kapkách 2,5 ml 0,13 M oranžového ylidového roztoku. Výsledná směs byla míchána při teplotě -78 °C po dobu 2 hodin a při teplotě okolí po dobu 30 minut. Nasycený NH₄Cl (20 ml) byl přidán spolu s ethylacetátem (10 ml), vrstvy odděleny a organická vrstva byla promývána vodou

05.04.99

(3 x 10 ml) a solankou. Nakonec, po sušení nad MgSO_4 , byla organická fáze filtrována, koncentrována za sníženého tlaku a výsledné residuum bylo čištěno použitím sloupcové chromatografie (silikagel, 70% EtOAc/hexany) a tím se získalo 0,09 g (62%) požadovaného styrenu.

Příklad 38



Do roztoku Kryptofycinu **53** (2,0 g, 2,99 mmolů) v 30 ml DME, byl přidán 2 M vodný roztok perchlorové kyseliny (15 ml, 30 mmolů) a výsledná směs byla míchána po dobu 6 hodin. Po pečlivé neutralizaci nasyceným NaHCO_3 (50 ml) směs byla extrahována CH_2Cl_2 (4 x 100 ml) a sloučené organické vrstvy byly sušeny nad Na_2SO_4 , filtrovány a koncentrovány za sníženého tlaku. Čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, 5% MeOH/ CH_2Cl_2) dalo dioly **19** (1,5 g) s 72% výtěžkem ve formě 3:1 anti/syn směsi. Do roztoku diolů (1,0 g, 1,46 mmolů) v 20 ml THF a 15 ml vody byl přidán NaIO_4 (1,9 g, 8,9 mmolů) a směs byla míchána pod dusíkovou atmosférou přes noc. Po odstranění hlavní části THF za sníženého tlaku residuum bylo zředěno vodou (100 ml) a extrahováno CH_2Cl_2 (4 x 50 ml). Sloučené organické extrakty byly promývány solankou (1 x 25 ml), sušeny nad Na_2SO_4 , filtrovány a koncentrovány za sníženého tlaku. Residuální benzaldehyd byl odstraněn rozpuštěním pevné látky v 100 ml

toluenu a následným odstraněním toluenu při teplotě 40 °C v rotační odparce. Dvě další odpařování z toluenu daly aldehyd **18** ve formě žluté pěny (0,828 g) s 98% výtěžkem. Výsledný aldehyd byl použit bez dalšího čištění a byl uchováván při teplotě -23 °C z důvodů stability:

$[\alpha]^{20}_D +23,0^\circ$ (c 0,565, CHCl₃);

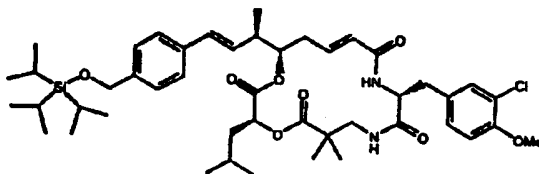
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 9,64-9,63 (d, 1 H, J = 1,4 Hz), 7,28-7,26 (m, 1 H), 7,21-7,20 (d, 1 H, J = 1,9 Hz), 7,08-7,05 (dd, 1 H, J = 7,1, 1,7 Hz), 6,87-6,84 (d, 1 H, J = 8,5 Hz), 6,82-6,72 (m, 1 H), 5,80-5,75 (d, 1 H, J = 15,0 Hz), 5,54-5,51 (d, 1 H, J = 7,7 Hz), 5,40-5,33 (m, 1 H), 4,85-4,81 (dd, 1 H, J = 9,7, 3,2 Hz), 4,78-4,71 (m, 1 H), 3,88 (s, 3 H), 3,46-3,39 (dd, 1 H, J = 13,5, 8,6 Hz), 3,15-3,03 (m, 3 H), 2,68-2,35 (m, 3 H), 1,82-1,63 (m, 2 H), 1,45-1,37 (m, 1 H), 1,24 (s, 3 H), 1,19-1,16 (d, 3 H, J = 7,1 Hz), 1,18 (s, 3 H), 0,94-0,92 (d, 3 H, J = 6,5 Hz), 0,89-0,87 (d, 3 H, J = 6,5 Hz);

¹³C NMR (63 MHz, CDCl₃) δ 200,7, 177,8, 170,6, 170,1, 165,1, 153,9, 141,1, 130,7, 129,8, 128,1, 124,9, 122,3, 112,3, 73,4, 71,1, 56,0, 54,6, 49,9, 46,4, 42,7, 39,2, 36,1, 35,2, 24,7, 22,8, 22,7, 21,3, 10,7;

IR (CHCl₃) 3422, 2964, 2936, 1755, 1730, 1718, 1678, 1529, 1504, 1487, 1474, 1464, 1442, 1320, 1303, 1281, 1259, 1244, 1185, 1151, 1127, 1067 cm⁻¹;

Elementární analýza (C₂₉H₃₉ClN₂O₆): C, H, N.

Příklad 39



Do 4-(triisopropylsilyloxymethyl)benzyltrifenylfosfonium-bromidu (7,6 g, 12,2 mmolů) v 100 ml THF při teplotě $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ byl přidán po kapkách 8,0 ml 1,5 M roztok n-butyllithia (8,1 ml, 12,2 mmolů). Směs byla zahřáta pomalu na teplotu okolí a míchána po dobu dalších 30 minut. Do aldehydu **15** (2,95 g, 5,1 mmolů) v 100 ml THF a při teplotě $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ byl přidán po kapkách červený ylidový roztok pomocí dvojité jehly. Výsledná směs byla míchána při teplotě $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ po 3 hodiny a při teplotě okolí po dobu 45 minut. Nasycený NH_4Cl (100 ml) byl přidán spolu s ethylacetátem (100 ml), vrstvy byly odděleny a vodná vrstva byla extrahována ethylacetátem (2 x 50 ml). Sloučené organické vrstvy byly promývány vodou (3 x 40 ml) a solankou, sušeny nad MgSO_4 filtrovány a koncentrovány za sníženého tlaku. Výsledné žluté residuum bylo čištěno použitím sloupcové chromatografie (silikagel, 10-20-50% EtOAc/hexany) a tím se získalo 3,6 g (84%) požadovaného styrenu ve formě bílé pevné látky a jako směs E:Z isomerů.

Směs isomerů (7,3 g, 8,7 mmolů) byla rozpuštěna v 240 ml benzenu a zahřívána na teplotu zpětného toku v přítomnosti 1,1'-azobis(cyklohexanekarbonitrilu) (VAZO) (0,32 g, 0,87 mmolů) a thiofenolu (3,7 ml, 4,0 mmolů). Po uplynutí 5 hodin

06.04.99

zahřívání na teplotu zpětného toku byl roztok koncentrován a residuum čištěno sloupcovou chromatografií (silikagel, 5-50% EtOAc/hexany) a tím se získalo 6,7 g (92%) E isomeru **20** ve formě bílé pevné látky:

$[\alpha]_D^{20} +31,9^\circ$ (c 1,0, CHCl_3);

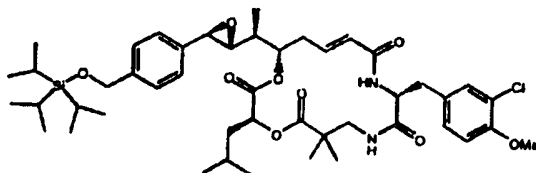
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,3-7,22 (m, 5 H), 7,20-7,19 (d, 1 H, $J = 1,95$ Hz), 7,07-7,04 (dd, 1 H, $J = 8,4, 2,0$ Hz), 6,85-6,82 (d, 1 H, $J = 8,5$ Hz), 6,8-6,7 (m, 1 H), 6,4-6,38 (d, 1 H, $J = 15,8$ Hz), 6,02-5,94 (dd, 1 H, $J = 15,8, 8,8$ Hz), 5,77-5,72 (d, 1 H, $J = 14,9$ Hz), 5,56-5,54 (d, 1 H, $J = 7,9$ Hz), 5,1-4,7 (m, 5 H), 3,9 (s, 3 H), 3,45-3,37 (dd, 1 H, $J = 13,5, 8,5$ Hz), 1,0 (m, 31 H), 0,75-0,71 (t, 6 H, $J = 6,1$ Hz);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,8, 170,5, 170,4, 165,2, 153,9, 142,1, 141,1, 135,2, 131,5, 130,8, 129,7, 129,6, 128,1, 125,9, 124,5, 122,4, 112,2, 77,0, 71,4, 64,7, 56,0, 54,4, 46,4, 42,7, 42,2, 39,4, 36,5, 35,3, 24,5, 22,8, 22,6, 22,5, 21,2, 17,9, 17,2, 11,9;

IR (CHCl_3) 3423, 2962, 2945, 2867, 1746, 1712, 1681, 1652, 1528, 1503, 1485, 1473, 1464, 1303, 1259 cm^{-1} ;

Elementární analýza ($\text{C}_{46}\text{H}_{67}\text{ClN}_2\text{O}_8\text{Si}$): C, H, N.

Příklad 40



3-Chlorperoxybenzoová kyselina (0,27 g, 1,59 mmolů) byla přidána do roztoku styren 20 (1,25 g, 1,49 mmolů) v 20 ml CH_2Cl_2 o teplotě 0 °C. Roztok byl míchán po dobu 1 hodiny při teplotě 0 °C a přes noc při teplotě okolí. Roztok byl koncentrován za sníženého tlaku a výsledné epoxidy byly odděleny pomocí HPLC s obrácenou fází a tím bylo získáno 0,67 g β epoxidu 22 (57%) ve formě bílé pevné látky:

$[\alpha]_D^{20} +20,9^\circ$ (c 0,765, CHCl_3);

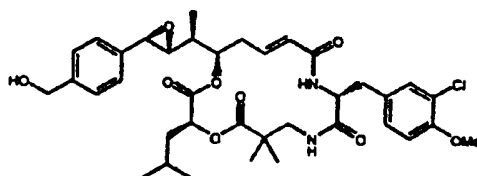
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,35- 7,33 (d, 2 H, $J = 7,8$ Hz), 7,26-7,2 (m, 4 H), 7,05-7,02 (bd, 1 H, J ; 8,2 Hz), 6,84-6,81 (d, 1 H, $J = 8,4$ Hz), 6,81-6,65 (m, 1 H), 5,8-5,65 (m, 2 H), 5,25-5,15 (m, 1 H), 4,9-4,7 (m, 4H), 3,9 (s, 3H), 3,7 (s, 1H), 3,46-3,42 (dd, 1H, $J = 13,4, 8,8$ Hz), 3,15-3,0 (m, 3 H), 2,93-2,9 (d, 1 H, $J = 7,3$ Hz), 0,83-0,79 (t, 6 H, $J = 5,3$ Hz);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,7, 170,5, 170,4, 165,1, 153,9, 142,1, 141,6, 136,7, 135,1, 130,7, 129,8, 128,1, 125,9, 125,5, 124,6, 122,3, 112,2, 75,9, 71,0, 64,6, 63,0, 58,9, 56,0, 54,6, 46,3, 42,7, 40,5, 39,2, 36,8, 35,2, 24,2, 22,8, 22,7, 22,6, 18,0, 13,4, 11,9;

IR (CHCl_3) 3424, 2962, 2945, 2867, 1751, 1712, 1682, 1528, 1503, 1485, 1473, 1464, cm^{-1} ;

Elementární analýza ($\text{C}_{46}\text{H}_{67}\text{ClN}_2\text{O}_9\text{Si}$) : C, H, N.

Příklad 41



Tetrabutylamoniumfluorid (0,14 ml, 0,14 mmolů), ve formě 1,0 M roztoku v THF, byl přidán po kapkách do roztoku β epoxidu **22** (0,1 g, 0,117 mmolů) v 3,5 ml THF o teplotě 0 °C. Roztok byl ponechán zahřát se na teplotu okolí a míchání pokračovalo po dobu dalších 20 minut, následované přidáním vody (10 ml) a ethylacetátu (20 ml). Vrstvy byly odděleny a vodná vrstva byla extrahována CH_2Cl_2 (3 x 20 ml). Sloučené organické vrstvy byly sušeny nad bezvodým Na_2SO_4 , filtrovány a koncentrovány za sníženého tlaku a tím byl získán volný alkohol. Čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, 70-100% EtOAc-hexany) poskytlo 0,068 g (84%) čistého alkoholu **23** ve formě bílé pevné látky:

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} +26,2^\circ$ (c 0,435, CHCl_3);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,39- 7,36 (d, 2 H, $J = 7,8$ Hz), 7,26-7,23 (d, 3 H, $J = 9,1$ Hz), 7,18 (s, 1 H), 7,05-7,02 (d, 1 H, $J = 8,5$ Hz), 6,85-6,82 (d, 1 H, $J = 8,2$ Hz), 6,82-6,7 (m, 1 H), 5,72-5,67 (d, 1 H, $J = 15,1$ Hz), 5,55-5,52 (d, 1 H, $J = 7,8$ Hz), 5,22-5,17 (m, 1 H), 4,85-4,7 (m, 4 H), 3,9 (s, 3 H), 3,7 (s, 1 H), 3,45-3,38 (dd, 1 H, $J = 13,4, 9,3$ Hz), 3,2-3,0 (m, 3 H), 2,92-2,89 (d, 1 H, $J = 7,6$ Hz), 2,65-2,4 (m, 2 H), 1,8-1,6 (m, 4 H), 1,4- 1,2 (m, 1 H), 1,22 (s, 3 H), 1,16 (s, 3 H), 1,16-1,13 (d, 3 H, $J = 7,2$ Hz), 0,86-0,82 (t, 6 H, $J = 6,5$ Hz);

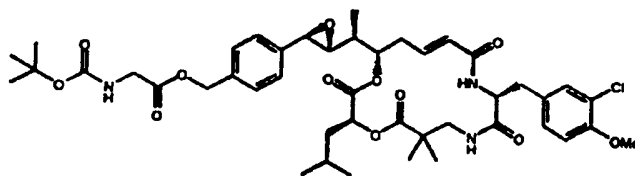
06.04.99

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,8, 171,0, 170,4, 165,5, 153,8, 141,5, 141,4, 135,7, 133,5, 130,6, 130,0, 128,0, 127,1, 125,6, 124,6, 122,2, 112,3, 77,2, 76,5, 76,0, 71,0, 64,2, 63,1, 58,8, 56,0, 54,7, 46,3, 42,7, 40,5, 39,3, 36,9, 35,1, 24,5, 22,7, 22,5, 22,1, 13,4;

IR (CHCl_3) 3422, 2992, 2963, 2936, 2874, 1751, 1713, 1682, 1651, 1504, 1486, 1303, 1259, 1186, 1165, 1151, 1067 cm^{-1} ;

FAB HRMS $[\text{M} + \text{H}]$ vypočteno pro $(\text{C}_{37}\text{H}_{48}\text{ClN}_2\text{O}_9)$ 699,3048, nalezeno 699,3054.

Příklad 42



Do roztoku alkoholu **23** (0,08 g, 0,114 mmolů), N-(terc.-butoxykarbonyl)glycinu (0,034 g, 0,194 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (DMAP) (0,004 g, 0,034 mmolů) v 2,0 ml CH_2Cl_2 o teplotě 0 °C byl přidán 1,3-dicyklohexylkarbodiimid (DCC) (0,040 g, 0,194 mmolů). Směs byla míchána při teplotě 0 °C po dobu 10 minut a při teplotě okolí po dobu 45 minut, filtrována a koncentrována za sníženého tlaku. Výsledné residuum bylo čištěno použitím sloupcové chromatografie (silikagel, 70-80 % EtOAc/hexany) a tím se získalo 0,07 g (72%) esteru ve formě bílé pevné látky:

$[\alpha]_D^{20} +18,5^\circ$ (c 0,65, CHCl_3);

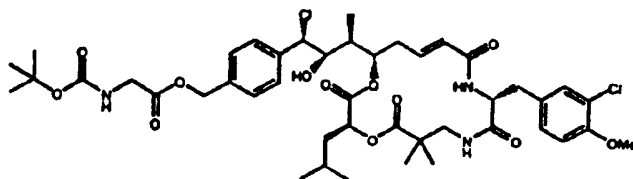
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,4-7,2 (m, 6 H), 7,11-7,08 (dd, 1

H, $J = 8,4, 1,8$ Hz), 6,9-6,87 (d, 1 H, $J = 8,4$ Hz), 6,86-6,7 (m, 1 H), 5,78-5,73 (d, 1 H, $J = 15,2$ Hz), 5,64-5,62 (d, 1 H, $J = 7,4$ Hz), 5,3-5,22 (m, 1 H), 5,22 (s, 2 H), 5,1-5,0 (bs, 1 H), 4,9-4,7 (m, 2 H), 4,0-3,99 (d, 2 H, $J = 5,4$ Hz), 3,9 (s, 3 H), 3,73-3,72 (d, 1 H, $J = 1,0$ Hz), 3,5-3,43 (dd, 1 H, $J = 13,4, 8,6$ Hz), 3,2-3,0 (m, 3 H), 2,95-2,92 (d, 1 H, $J = 6,4$ Hz), 2,65-2,4 (m, 2 H), 1,8-1,6 (m, 3 H), 1,5 (s, 9 H), 1,45-1,3 (m, 1 H), 1,26 (s, 3 H), 1,2 (s, 3 H), 1,2-1,17 (d, 3 H, $J = 8,7$ Hz), 0,9-0,86 (t, 6 H, $J = 6,3$ Hz);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,7, 170,6, 170,3, 170,2, 165,1, 155,6, 153,8, 141,4, 137,1, 135,6, 130,6, 129,9, 128,6, 128,0, 125,7, 124,7, 122,2, 112,2, 79,9, 75,8, 70,9, 66,4, 63,1, 58,5, 56,0, 54,7, 48,9, 46,3, 42,7, 42,4, 40,5, 39,3, 36,8, 35,2, 28,2, 24,5, 22,8, 22,7, 22,6, 21,2, 13,5;

Elementární analýza ($\text{C}_{44}\text{H}_{58}\text{ClN}_3\text{O}_{12}$): C, H, N.

Příklad 43



Trimethylsilylchlorid (0,09 ml, 0,75 mmolů) byl přidán do roztoku b epoxidu **24** (0,16 g, 0,187 mmolů) v 5,0 ml CHCl_3 o teplotě -60 °C. Po uplynutí 2 hodin míchání při teplotě mezi -60 °C a -40 °C bylo přidáno dalších 0,09 ml TMSCl a míchání pokračovalo po dobu 3 hodin. Roztok byl ponechán zahřát se na teplotu okolí, koncentrován a čištěn preparativní HPLC s

obrácenou fází (55:45) CH₃CN:H₂O pro oddělení dvou výsledných chlorhydrinů. Toto čištění dalo 0,058 g (35%) požadovaného chlorhydrinu **25**:

[α]²⁰_D +50,5° (c 1,075, CHCl₃);

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,42-7,2 (m, 6 H), 7,13-7,09 (dd, 1 H, J = 8,4, 1,8 Hz), 6,9-6,87 (d, 1 H, J = 8,4 Hz), 6,85-6,7 (m, 1 H), 5,9-5,8 (m, 2 H), 5,2 (s, 3 H), 4,71-4,68 (d, 1 H, J = 9,7 Hz), 4,07-4,03 (d, 1 H, J = 9,3 Hz), 3,99-3,97 (d, 2 H, J = 5,5 Hz), 3,9 (s, 3 H), 3,44-3,37 (dd, 1 H, J = 13,6, 8,3 Hz), 3,23-3,14 (m, 2 H), 3,08-3,0 (dd, 1 H, J = 14,5, 8,0 Hz), 2,75-2,4 (m, 3 H), 2,0-1,7 (m, 3 H), 1,5 (s, 10 H), 1,26 (s, 3 H), 1,21 (s, 3 H), 1,08-1,06 (d, 3 H, J = 7,0 Hz), 0,977-0,963 (d, 3 H, J = 4,0 Hz), 0,956-0,942 (d, 3 H, J = 4,1 Hz);

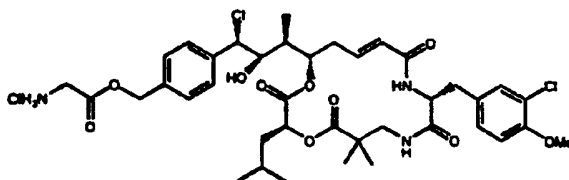
¹³C NMR (63 MHz, CDCl₃) 177,5, 170,5, 170,2, 170,1, 165,3, 153,9, 142,2, 139,0, 138,3, 136,1, 130,8, 129,9, 128,7, 128,2, 128,1, 124,5, 122,3, 112,2, 80,0, 76,1, 73,9, 71,1, 66,2, 61,7, 56,1, 54,6, 46,4, 42,7, 42,3, 39,6, 38,4, 36,3, 35,1, 28,2, 24,8, 23,0, 22,9, 22,7, 21,5, 8,6;

IR (CHCl₃) 3428, 3009, 2966, 2935, 1750, 1714, 1683, 1504, 1456, 1369, 1259, 1193, 1162, 1127, 1067;

FAB HRMS [M + H] vypočteno pro (C₄₄H₆₀ClN₃O₁₂) 892,3554, nalezeno 892,3565.

06.04.99

Příklad 44



4 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (0,08 ml, 0,33 mmolů) byl přidán do roztoku glycinátu **25** (0,058 g, 0,065 mmolů) v 0,2 ml CH_2Cl_2 . Výsledná směs byla míchána při teplotě okolí po dobu 3 hodin, koncentrována za sníženého tlaku a udržována za sníženého tlaku po dobu 3 dnů pro odstranění 1,4-dioxanu, čímž se získala požadovaná hydrochloridová sůl **26** s kvantitativním výtěžkem:

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} + 26,2$ (c 0,58, MeOH);

^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7,48-7,42 (q, 4 H, $J = 11,2$ Hz), 7,31-7,3 (d, 1 H, $J = 2,0$ Hz), 7,21-7,19 (dd, 1 H, $J = 8,5, 2,0$ Hz), 7,01-7,0 (d, 1 H, $J = 8,4$ Hz), 6,8-6,7 (m, 1 H), 6,0-5,95 (dd, 1 H, $J = 15,2, 1,5$ Hz), 5,3 (d, 2 H, $J = 1,3$ Hz), 5,16-5,1 (m, 1 H), 5,09-5,07 (dd, 1 H, $J = 10,0, 3,6$ Hz), 4,84-4,82 (d, 1 H, $J = 9,8$ Hz), 4,54-4,51 (dd, 1 H, $T = 11,3, 3,7$ Hz), 4,05-4,03 (dd, 1 H, $J = 9,5, 1,8$ Hz), 3,9 (s, 2 H), 3,86 (s, 3 H), 3,5-3,47 (d, 1 H, $J = 13,5$ Hz), 3,22-3,18 (dd, 1 H, $J = 14,5, 3,6$ Hz), 3,14-3,11 (d, 1 H, $T = 13,5$ Hz), 2,8-2,77 (d, 1 H, $J = 14,4$ Hz), 2,78-2,75 (m, 2 H), 2,55-2,35 (m, 2 H), 1,9-1,55 (m, 4 H), 1,4-1,3 (m, 1 H), 1,24 (s, 3 H), 1,2 (s, 3 H), 1,04-1,03 (d, 3 H, $J = 7,0$ Hz), 1,02-1,0 (t, 6 H, $J = 7,2$ Hz);

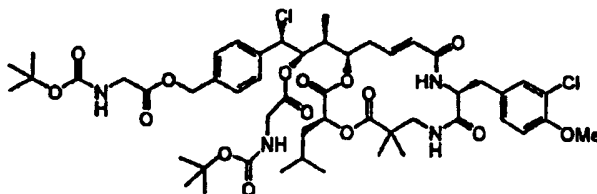
^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 178,9, 173,8, 171,9, 168,3, 155,3, 144,2, 141,8, 136,7, 132,3, 131,5, 129,75, 129,7, 129,4, 125,2, 123,3, 113,5, 77,2, 74,7, 72,6, 68,5, 63,5, 57,6,

05.04.99

56,7, 47,6, 44,1, 41,1, 40,4, 37,9, 36,5, 26,3, 23,6, 23,5, 22,2, 9,0;

IR (KBr) 3412, 2961, 2935, 1752, 1722, 1669, 1504, 1473, 1279, 1259, 1207, 1151, 1126, 1065 cm^{-1} .

Příklad 45



Do chlorhydrinu **25** (0,14 g, 0,16 mmolů), N-(terc.-butoxykarbonyl)glycinu (0,041 g, 0,24 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (DMAP) (0,002 g, 0,016 mmolů) v 0,7 ml CH_2Cl_2 byl přidán 1,3-dicyklohexylkarbodiimid (DCC) (0,049 g, 0,24 mmolů). Výsledná směs byla míchána při teplotě okolí po dobu 1 hodiny, filtrována použitím ethylacetátu a koncentrována za sníženého tlaku. Výsledné residuum bylo čištěno použitím sloupcové chromatografie (silikagel, 50-60-70% EtOAc/hexany) a tím se získalo 0,158 g (97%) diglycinátu **27** ve formě bílé pevné látky:

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} +44,0^\circ$ (c 1,25, CHCl_3);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,4-7,2 (m, 7 H), 7,13-7,10 (bd, 1 H, $J = 9,8$ Hz), 6,91-6,88 (d, 1 H, $J = 8,4$ Hz), 5,8-5,77 (d, 1 H, $J = 15,3$ Hz), 5,6-5,58 (m, 1 H), 5,49-5,46 (d, 1 H, $J = 9,6$ Hz), 5,19 (s, 2 H), 5,1-4,7 (m, 6 H), 3,98-3,97 (d, 2 H, $J = 5,0$ Hz), 3,93 (s, 3 H), 3,69-3,62 (dd, 1 H, $J = 18,2$,

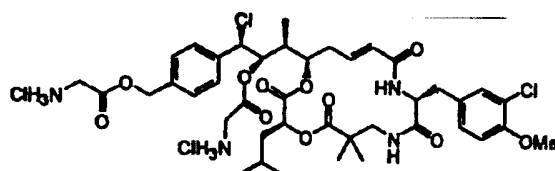
4,0 Hz), 3,5-3,0 (m, 5 H), 2,7-2,35 (m, 3 H), 2,0-1,7 (m, 3 H), 1,49 (s, 9 H), 1,44 (s, 9 H), 1,28 (s, 3 H), 1,22 (s, 3 H), 1,1-1,08 (d, 3 H, $J = 7,0$ Hz), 1,06-1,04 (d, 3 H, $J = 6,4$ Hz), 1,0-0,98 (d, 3 H, $J = 6,2$ Hz);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,6, 170,4, 169,9, 168,5, 165,0, 155,2, 153,9, 141,6, 138,6, 137,3, 136,3, 130,8, 129,8, 128,2, 128,1, 124,6, 122,3, 112,2, 79,9, 74,7, 71,1, 66,2, 60,0, 56,0, 54,5, 46,5, 42,8, 42,4, 41,8, 39,5, 38,0, 36,5, 35,2, 28,2, 28,15, 24,8, 23,1, 22,8, 22,6, 21,4, 9,9;

IR (CHCl_3) 3431, 2982, 2966, 2935, 2872, 1756, 1713, 1685, 1504, 1369, 1258, 1193, 1161;

FAB HRMS [$M - \text{BOC} + \text{H}$] vypočteno pro ($\text{C}_{46}\text{H}_{63}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_{13}$) 949,3769, nalezeno 949,3777.

Příklad 46



4 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (0,1 ml, 0,42 mmolů) byl přidán do roztoku diglycinátu **21** (0,044 g, 0,042 mmolů) v 0,2 ml CH_2Cl_2 . Výsledná směs byla míchána při teplotě okolí po dobu 3 hodin, koncentrována za sníženého tlaku a udržována za sníženého tlaku po dobu 3 dnů pro odstranění residuálního 1,4-dioxanu a tím se získala požadovaná hydrochloridová sůl **28** s kvantitativním výtěžkem:

05.04.99

$[\alpha]^{20}_D +33,1$ (c 0,865, MeOH);

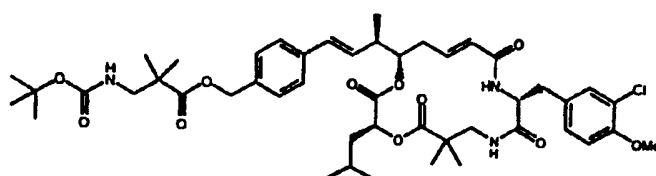
^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7,77-7,74 (d, 1 H), 7,46-7,41 (q, 4 H, $J = 20,3, 8,4$ Hz), 7,29-7,28 (d, 1 H, $J = 2,1$ Hz), 7,18-7,16 (dd, 1 H, $J = 8,6, 2,1$ Hz), 6,99-6,97 (d, 1 H, $J = 8,5$ Hz), 6,7-6,6 (m, 1 H), 5,95-5,92 (d, 1 H, $J = 15,3$ Hz), 5,54-5,52 (dd, 1 H, $J = 9,5, 1,4$ Hz), 5,5 (s, 1 H), 5,28 (s, 2 H), 5,21-5,19 (d, 1 H, $J = 9,4$ Hz), 5,12-5,09 (dd, 1 H, $J = 10,5, 3,1$ Hz), 4,87-4,85 (d, 1 H, $J = 12,4$ Hz), 4,5-4,47 (dd, 1 H, $J = 11,3, 3,7$ Hz), 3,9 (s, 2 H), 3,84 (s, 3 H), 3,82-3,79 (d, 1 H, $J = 17,8$ Hz), 3,48-3,45 (d, 1 H, $J = 13,7$ Hz), 3,35-3,3 (m, 1 H), 3,19-3,15 (dd, 1 H, $J = 14,5, 3,8$ Hz), 3,11-3,09 (d, 1 H, $J = 13,8$ Hz), 2,77-2,6 (m, 3 H), 2,37-2,3 (m, 1 H), 1,95-1,75 (m, 3 H), 1,22 (s, 3 H), 1,17 (s, 3 H), 1,08-1,07 (d, 3 H, $J = 7,0$ Hz), 1,03-1,02 (d, 3 H, $J = 6,4$ Hz), 1,0-0,99 (d, 3 H, $J = 6,2$ Hz);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 178,8, 173,8, 171,9, 168,5, 168,2, 167,8, 155,4, 143,5, 139,3, 137,6, 132,2, 131,4, 129,7, 129,5, 129,4, 125,3, 123,3, 113,5, 77,9, 76,2, 72,4, 68,2, 60,8, 57,7, 56,7, 47,5, 44,2, 41,2, 40,5, 39,8, 37,9, 36,5, 26,3, 23,7, 23,4, 22,0, 9,9;

IR (KBr) 3417, 3234, 2959, 2873, 2622, 1757, 1724, 1673, 1504, 1473, 1303, 1259, 1221, 1150, 1065 cm^{-1} .

05.04.99

Příklad 47



Směs volné kyseliny fragmentu C' 10,22 g, 1,02 mmolů), DMAP (0,032 g, 0,26 mmolů) a DCC (0,21 g, 1,02 mmolů) byla míchána po dobu 30 minut při teplotě 0 °C v 6,5 ml CH₂Cl₂. Volný alkohol 29 (0,35 g, 0,51 mmolů) v 6,0 ml CH₂Cl₂ byl přidán po kapkách. Směs byla míchána při teplotě 0 °C po dobu 10 minut a při teplotě okolí po dobu 24 hodin a nakonec byla zahřívána při teplotě zpětného toku po dobu 3 hodin a znovu ochlazena na teplotu okolí. Reakční směs byla koncentrována za sníženého tlaku a filtrována přes celit použitím EtOAc. Výsledné residuum bylo čištěno použitím sloupcové chromatografie (silikagel, 60-70% EtOAc/hexany) a tím se získalo 0,38 g (85%) výše uvedeného esteru ve formě bílé pevné látky:

$[\alpha]^{20}_D +23,2^\circ$ (c 1,0, CHCl₃);

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,4-7,2 (m, 6 H), 7,12-7,08 (dd, 1 H, J = 8,4, 2,0 Hz), 6,9-6,87 (d, 1 H, J = 8,5 Hz), 6,87-6,75 (m, 1 H), 6,47-6,42 (d, 1 H, J = 15,8 Hz), 6,11-6,03 (dd, 1 H, J = 15,8, 8,8 Hz), 5,82-5,77 (d, 1 H, J = 14,9 Hz), 5,61-5,58 (d, 1 H, J = 7,8 Hz), 5,12 (s, 2 H), 5,12-4,75 (m, 4 H), 3,9 (s, 3 H), 3,49-3,42 (dd, 1 H, J = 13,4, 8,7 Hz), 3,29-3,27 (d, 1 H, J = 6,5 Hz), 3,2-3,1 (m, 3 H), 2,65-2,3 (m, 3 H), 1,8-1,6 (m, 3 H), 1,47 (s, 9 H), 1,45-1,3 (m, 1 H), 1,3-1,15 (m, 15 H), 0,79-0,75 (t, 6 H, J = 6,4

08.04.99

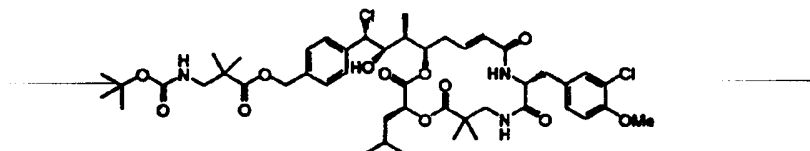
Hz);

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 177,8, 170,4, 165,1, 153,9, 141,9, 136,7, 135,1, 131,1, 130,8, 129,7, 128,3, 128,2, 126,2, 124,6, 122,4, 112,2, 76,9, 71,3, 66,0, 56,0, 54,4, 48,2, 46,4, 43,7, 42,6, 42,2, 39,4, 36,4, 35,2, 28,3, 24,5, 22,8, 22,6, 21,2, 17,2;

IR (CHCl_3) 3426, 2968, 2935, 2874, 2841, 1746, 1713, 1684, 1652, 1504, 1486, 1474, 1368, 1318, 1304, 1259, 1244, 1165, 1151, 1067 cm^{-1} ;

FAB HRMS [M - BOC + H] vypočteno pro ($\text{C}_{42}\text{H}_{57}\text{ClN}_3\text{O}_9$) 782,3783, nalezeno 782,3788.

Příklad 48



3-Chlorperoxybenzoová kyselina (0,092 g, 0,54 mmolů) byla přidána do roztoku výchozího styrenu (0,45 g, 0,51 mmolů) v 9,0 ml CH_2Cl_2 o teplotě 0 °C. Roztok byl míchán po dobu 1 hodiny při teplotě 0 °C a přes noc při teplotě okolí. Pak byl koncentrován za sníženého tlaku a výsledné epoxidy rozpuštěny v 10 ml CHCl_3 a ochlazeny na teplotu -60 °C. Čerstvě destilovaný TMSCl (0,25 ml, 1,95 mmolů) byl přidán do roztoku o teplotě -60 °C a směs byla míchána po dobu 1 hodiny. Byl přidán další TMSCl (0,5 ml, 3,9 mmolů) a míchání pokračovalo při teplotě mezi -60 °C a -40 °C po dobu dalších

2 hodin. Roztok byl ponechán zahřát se na teplotu okolí a byl přidán další TMSCl (0,25 ml, 1,95 mmolů). Po uplynutí 30 minut míchání při teplotě okolí roztok byl koncentrován a čištěn preparativní HPLC pro oddělení výsledných chlorhydrinů. Toto čištění dalo 0,1 g (22%) požadovaného chlorhydrinu:

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} + 47,9^{\circ}$ (c 0,75, CHCl_3);

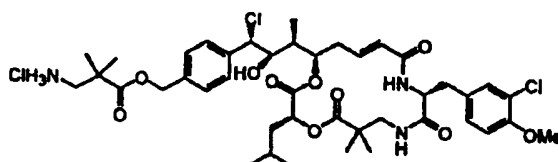
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,5-7,2 (m, 6 H), 7,13-7,10 (dd, 1 H, $J = 8,4, 1,9$ Hz), 6,91-6,88 (d, 1 H, $J = 8,5$ Hz), 6,87-6,75 (m, 1 H), 5,85-5,8 (d, 1 H, $J = 14,9$ Hz), 5,75-5,6 (m, 1 H), 5,22-5,1 (m, 3 H), 5,0-4,9 (m, 2 H), 4,8-4,72 (m, 1 H), 4,71-4,68 (d, 1 H, $J = 9,6$ Hz), 4,07-4,03 (d, 1 H, $J = 9,5$ Hz), 3,9 (s, 3 H), 3,45-3,38 (dd, 1 H, $J = 13,4, 8,5$ Hz), 3,31-3,26 (d, 1 H, $J = 6,4$ Hz), 3,25-3,0 (m, 4 H), 2,8-2,65 (bd, 1 H), 2,6-2,35 (m, 2H), 1,9-1,7 (m, 3 H), 1,47 (s, 10 H), 1,27 (s, 3 H), 1,25 (s, 6 H), 1,22 (s, 3 H), 1,09-1,07 (d, 3 H, $J = 7,0$ Hz), 0,98-0,96 (m, 6 H);

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 177,5, 170,5, 165,2, 153,9, 142,5, 137,0, 130,8, 129,8, 128,2, 124,5, 122,4, 112,2, 79,1, 76,1, 73,9, 71,1, 65,6, 61,7, 56,1, 54,5, 48,2, 46,4, 43,7, 42,7, 39,6, 38,4, 36,3, 35,2, 28,3, 24,8, 23,0, 22,9, 22,8, 22,7, 21,5, 8,6;

IR (CHCl_3) 3426, 2967, 2934, 2873, 2841, 1715, 1684, 1605, 1504, 1485, 1474, 1442, 1368, 1305, 1258, 1151 cm^{-1} ;

FAB HRMS $[\text{M} - \text{BOC} + \text{H}]$ vypočteno pro $(\text{C}_{42}\text{H}_{58}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_{10})$ 834,3499, nalezeno 834,3487.

Příklad 49



4 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (0,11 ml, 0,43 mmolů) byl přidán do roztoku chlorhydrinu (0,08 g, 0,086 mmolů) v 0,35 ml CH_2Cl_2 . Výsledná směs byla míchána při teplotě okolí po dobu 3 hodin, koncentrována za sníženého tlaku a udržována za sníženého tlaku po dobu 3 dnů pro odstranění 1,4-dioxanu a tím se získala požadovaná hydrochloridová sůl (viz výše) (0,075 g) s kvantitativním výtěžkem:

$[\alpha]_D^{20} +28,0^\circ$ (c 0,5, CH_3OH);

^1H NMR (300 MHz, CD_3OH) δ 8,52-8,49 (d, 1 H, $J = 7,5$ Hz), 7,84-7,81 (d, 2 H, $J = 9,6$ Hz) 7,49-7,39 (q, 4 H, $J = 8,3$ Hz) 7,32-7,31 (d, 1 H, $J = 1,9$ Hz), 7,22-7,19 (dd, 1 H, $J = 8,4, 2,1$ Hz), 7,02-7,0 (d, 1 H, $J = 8,4$ Hz), 6,8-6,7 (m, 1 H), 6,0-5,9 (dd, 1 H, $J = 15,4, 1,0$ Hz), 5,22 (s, 2 H), 5,2-5,0 (m, 2 H), 4,85-4,81 (d, 1 H, $J = 9,6$ Hz), 4,6-4,5 (m, 1 H), 4,06-4,03 (dd, 1 H, $J = 9,6, 1,5$ Hz), 3,9 (s, 3 H), 3,54-3,46 (dd, 1 H, $J = 13,5, 9,7$ Hz), 3,25-3,11 (m, 2 H), 3,11 (s, 2 H), 2,8-2,7 (m, 2 H), 2,6-2,3 (m, 3 H), 1,06-1,03 (d, 3 H, $J = 6,9$ Hz), 1,02-1,01 (d, 3 H, $J = 3,2$ Hz), 1,0-0,99 (d, 3 H, $J = 3,4$ Hz);

^{13}C NMR (63 MHz, CD_3OH) δ 178,9, 176,5, 173,8, 171,8, 168,3, 155,3, 144,2, 141,6, 137,4, 132,3, 131,5, 129,8, 129,4, 129,3, 125,2, 123,3, 113,5, 77,2, 74,7, 72,6, 67,8, 63,5,

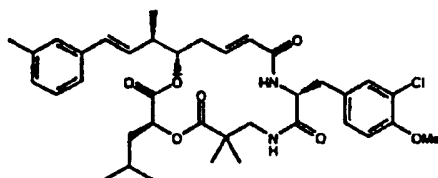
05.04.99

57,6, 56,7, 47,7, 47,6, 44,1, 42,3, 41,1, 40,4, 37,9, 36,5,
26,2, 23,7, 23,4, 22,2, 9,0;

IR (CHCl₃) 3421, 2964, 2935, 2873, 2841, 1717, 1676, 1528,
1504, 1477, 1464, 1405, 1282, 1259, 1185, 1152, 1067 cm⁻¹;

FAB HRMS [M - Cl] vypočteno pro (C₄₂H₅₈Cl₃N₃O₁₀) 834,3499,
nalezeno 834,3504.

Příklad 50



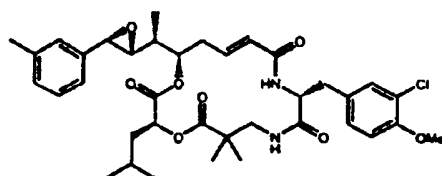
Styren (uvedený výše) (0,67 g) byl připraven z aldehydu **18**
(1,0 g, 1,73 mmolů) a 3-methylbenzyl-
trifenylfosfoniumchloridu (0,886 g, 2,2 mmolů) s 58%
výtěžkem postupující způsobem, popsaným výše pro styren **20**;
[α]_D²⁰ +33,1° (c 1,0, CH₃OH);

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,24-7,0 (m, 7 H), 6,85-6,82 (d, 1
H, J = 8,4 Hz), 6,82-6,7 (m, 1 H), 6,39-6,34 (d, 1 H, J =
15,8 Hz), 6,03-5,95 (dd, 1 H, J = 15,8, 8,7 Hz), 5,78-5,73
(d, 1 H, J = 15,2 Hz), 5,67-5,64 (d, 1 H, J = 7,8 Hz), 5,1-
5,0 (m, 1 H), 4,87-4,83 (dd, 1 H, J = 10,2, 3,5 Hz), 4,8-4,7
(m, 1 H), 3,9 (s, 3 H), 3,45-3,38 (dd, 1 H, J = 13,4, 8,6
Hz), 3,2-3,0 (m, 3 H), 2,6-2,3 (m, 3 H), 2,32 (s, 3 H),
1,75-1,25 (m, 3 H), 1,22 (s, 3 H), 1,15 (s, 3 H), 1,13-1,11
(d, 3 H, J = 6,8 Hz), 0,75-0,72 (t, 6 H, J = 5,7 Hz);

05.04.99

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,9, 170,5, 170,3, 165,1, 154,0, 142,1, 138,0, 136,6, 135,6, 131,8, 130,8, 129,9, 129,6, 128,4, 128,22, 128,17, 126,7, 124,5, 123,3, 122,5, 112,3, 71,4, 56,1, 54,3, 46,4, 42,7, 42,2, 39,4, 36,5, 35,3, 24,5, 22,8, 22,6, 22,56, 21,2, 21,1, 17,2;
 IR (CHCl_3) 3424, 3021, 3017, 2965, 1747, 1711, 1680, 1652, 1528, 1503, 1485, 1259, 1151, 1067 cm^{-1} .

Příklad 51



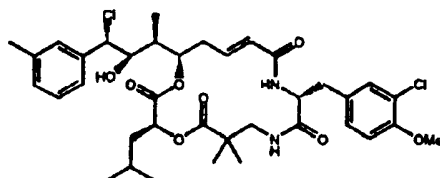
3-Chlorperoxybenzoová kyselina (0,19 g, 1,1 mmolů) byla přidána do styrenu (uvedený výše) (0,667 g, 1,0 mmolů) v 5,0 ml CH_2Cl_2 . Výsledný roztok byl míchán přes noc, koncentrován za sníženého tlaku a tím se získaly β a α epoxidy v poměru 1,8:1 ve prospěch epoxidu β . Separace těchto dvou epoxidů chromatografií HPLC s obrácenou fází (70:30) $\text{CH}_3\text{CN};\text{H}_2\text{O}$, dalo 0,20 g hlavního β epoxidu ve formě bílé pevné látky:

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,3-7,0 (m, 7 H), 6,9-6,87 (d, 1 H, $J = 8,4$ Hz), 6,87-6,75 (m, 1 H), 5,79-5,74 (d, 1 H, $J = 14,8$ Hz), 5,54-5,51 (d, 1 H, $J = 7,8$ Hz), 5,28-5,22 (m, 1 H), 4,89-4,55 (dd, 1 H, $J = 10,4, 3,5$ Hz), 4,82-4,75 (m, 1 H), 3,9 (s, 3 H), 3,69-3,68 (d, 1 H, $J = 1,6$ Hz), 3,51-3,44 (dd, 1 H, $J = 13,4, 8,6$ Hz), 3,2-3,1 (m, 2 H), 2,98-2,95 (dd, 1

06.04.99

H, J = 7,6, 1,6 Hz), 2,65-2,32 (m, 3 H), 2,32 (s, 3 H), 1,85-1,6 (m, 3 H), 1,4-1,25 (s, 3 H), 1,27 (s, 3 H), 1,21 (s, 3 H), 1,21-1,18 (d, 3 H, J = 7,5 Hz), 0,90-0,86 (t, 6 H, J = 6,13 Hz).

Příklad 52



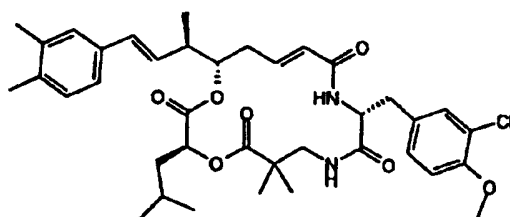
Do roztoku β epoxidu (uvedený výše) (0,1 g, 0,147 mmolů) v 5,0 ml CHCl_3 o teplotě -60°C byl přidán chlortrimethylsilan (0,093 ml, 0,74 mmolů). Roztok byl míchán při teplotě -60°C po dobu 30 minut a při teplotě okolí po dobu 1,5 hodiny předtím, než byl koncentrován za sníženého tlaku. Výsledné residuum, obsahující 50:50 směs syn a anti chlorhydrinů, byl čištěn pomocí chromatografie HPLC s obrácenou fází a tím bylo získáno 0,028 g (27%) požadovaného trans isomeru:

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,28-7,2 (m, 5 H), 7,13-7,1 (dd, 1 H, J = 8,3, 1,9 Hz), 6,91-6,88 (d, 1 H, J = 8,5 Hz), 6,88-6,78 (m, 1 H), 5,86-5,81 (d, 1 H, J = 15,0 Hz), 5,73-5,71 (d, 1 H, J = 7,8 Hz), 5,24-5,17 (t, 1 H, J = 9,4 Hz), 5,0-4,96 (dd, 1 H, J = 9,6, 2,9 Hz), 4,81-4,74 (m, 1 H), 4,67-4,64 (d, 1 H, J = 9,7 Hz), 4,06-4,03 (dd, 1 H, J = 9,6, 1,1 Hz), 3,92 (s, 3 H), 3,47-3,39 (dd, 1 H, J = 13,2, 8,3 Hz), 3,42-3,0 (m, 3 H), 2,8-2,4 (m, 2 H), 2,4 (s, 3 H), 1,9-1,4 (m, 4 H), 1,28 (s, 3 H), 1,22 (s, 3 H), 1,09-1,07 (d, 3 H, J

06.04.99

= 7,0 Hz), 0,98-0,96 (d, 6 H, $J = 6,4$ Hz).

Příklad 53



Styren (uvedený výše) (0,095 g) byl připraven z aldehydu **18** (0,2 g, 0,345 mmolů) a 3,4-dimethylbenzyl-trifenylfosfoniumchloridu (0,26 g, 0,62 mmolů) s 63% výtěžkem postupující způsobem, popsaným výše pro styren **20**:
 $[\alpha]^{20}_D +27,8^\circ$ (c 0,576, CHCl_3);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,22-7,18 (d, 1 H, $J = 1,6$ Hz), 7,12-7,02 (m, 5 H), 6,87-6,81 (d, 1 H, $J = 8,3$ Hz), 6,80-6,71 (m, 1 H), 6,40-6,30 (d, 1 H, $J = 15,8$ Hz), 6,00-5,88 (dd, 1 H, $J = 15,8, 8,8$ Hz), 5,80-5,70 (d, 1 H, $J = 15,1$ Hz), 5,55-5,45 (d, 1 H, $J = 7,7$ Hz), 5,10-4,97 (m, 1 H), 4,90-4,80 (dd, 1 H, $J = 9,4, 2,8$ Hz), 4,80-4,70 (m, 1 H), 3,88 (s, 3 H), 3,50-3,35 (dd, 1 H, $J = 13,3, 4,8$ Hz), 3,20-3,00 (m, 3 H), 2,60-2,48 (m, 2 H), 2,45-2,30 (m, 1 H), 2,23 (s, 3 H), 2,24 (s, 3 H), 1,80-1,55 (m, 2 H), 1,40-1,30 (m, 1 H), 1,22 (s, 3 H), 1,16 (s, 3 H), 1,14-1,10 (d, 3 H, $J = 6,8$ Hz), 0,80-0,73 (m, 6 H);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,9, 170,5, 170,3, 165,1, 154,0, 142,2, 136,5, 135,9, 134,3, 131,6, 130,8, 129.v, 129,5,

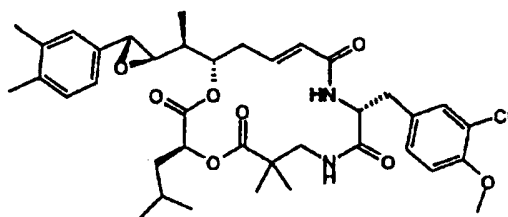
05.04.99

128,8, 128,1, 127,2, 124,4, 123,6, 122,4, 112,2, 71,4, 56,0,
54,2, 46,4, 42,6, 42,1, 39,4, 36,4, 35,2, 24,5, 22,7, 22,6,
22,5, 21,1, 19,6, 19,3, 17,2;

IR (CHCl₃) 3424, 2965, 2935, 1746, 1711, 1681, 1652, 1527,
1503, 1485, 1259, 1187, 1164, 1151, 1064, 970, 727 cm⁻¹;

Elementární analýza (C₃₈H₄₉ClN₂O₇) C, H, N.

Příklad 54



Tento β epoxid (0,06 g) byl připraven ze styrenu (uvedený výše) (0,3 g, 0,44 mmolů) — použitím 3-chlorperoxybenzoové kyseliny (0,081 g, 0,47 mmolů) s 20% výtěžkem použitím způsobu popsaného výše:

[α]_D²⁰ + 20,0° (c 1,43, CHCl₃);

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,26-6,96 (m, 6 H), 6,98 (s, 1 H), 6,84-6,82 (d, 1 H, J = 8,5 Hz) 6,79-6,65 (m, 1 H), 5,73-5,69 (d, 1 H, J = 11,9 Hz), 5,68-5,67 (d, 1 H, J = 4,6 Hz), 5,29-5,15 (m, 1 H), 4,83-4,76 (dd, 1 H, J = 9,7, 2,8 Hz), 4,75-4,58 (m, 1 H), 3,86 (s, 3 H), 3,61-3,60 (d, 1 H, J = 1,6 Hz), 3,46-3,38 (dd, 1 H, J = 13,4, 8,8 Hz), 3,14-2,97 (m, 3 H), 2,92-2,89 (dd, 1 H, J = 7,7, 1,6 Hz), 2,59-2,35 (m, 2 H), 2,25 (s, 6 H), 1,78-1,58 (m, 3 H), 1,28-1,09 (m, 1 H), 1,21 (s, 3 H), 1,15 (s, 3 H), 1,15-1,12 (d, 3 H, J = 7,8

05.04.99

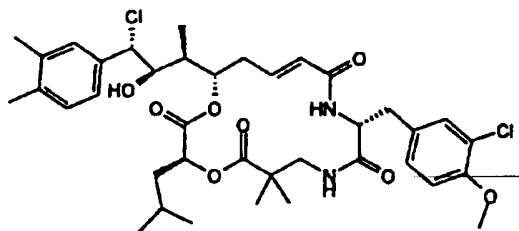
Hz), 0,85-0,77 (m, 6 H);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,8, 170,4, 170,3, 164,9, 154,0, 141,7, 137,0, 136,9, 134,0, 130,8, 129,9, 129,5, 128,1, 126,7, 124,6, 123,2, 122,4, 122,3, 75,9, 71,04, 62,8, 59,1, 56,1, 54,3, 46,4, 42,7, 40,7, 39,2, 36,8, 35,2, 24,4, 22,8, 22,6, 21,0, 19,7, 19,4, 13,6;

IR (KBr) 3419, 2962, 1752, 1721, 1681, 1654, 1534, 1504, 1473, 1442, 1302, 1282, 1259, 1192, 1126, 1066 cm^{-1} ;

Elementární analýza ($\text{C}_{38}\text{H}_{49}\text{ClN}_2\text{O}_8$) C, H, N.

Příklad 55



Do roztoku styrenu (uvedený výše) (0,492 g, 0,72 mmolů) v 2,4 ml CH_2Cl_2 při teplotě 0 °C byla přidána 3-chlorperoxybenzoová kyselina (0,137 g, 0,79 mmolů) a toluen (1,2 ml) a míchání pokračovalo při teplotě 0 °C po dobu 30 minut. Ledová lázeň byla odstraněna a reakční směs byla ponechána při míchání při teplotě okolí po dobu 24 hodin. Po zředění 10 ml CH_2Cl_2 byl roztok promýván 10% Na_2SO_4 (1 x 10 ml), H_2O (1 x 10 ml), 10% NaHCO_3 , (1 x 10 ml) a sušen nad Na_2SO_4 . Koncentrace poskytlo směs b/a surových epoxidů v poměru 2:1.

Surové epoxidy (0,445 g, 0,638 mmolů) byly rozpuštěny v 10 ml bezvodého CHCl_3 , ochlazený na teplotu -60°C a zpracovány trimethylsilylchloridem (0,2 ml, 1,5 mmolů). Míchání pokračovalo po dobu 90 minut a roztok byl koncentrován za sníženého tlaku. Surové chlorhydriny byly čištěny pomocí chromatografie HPLC s obrácenou fází ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$) a tím se získal produkt (uvedený výše) (0,115 g) s 21% výtěžkem ve formě bílé pevné látky:

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 45,9^\circ$ (c 0,59, CHCl_3);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,26-7,01 (m, 5 H), 6,85-6,82 (d, 1 H, $J = 8,4$ Hz), 6,80-6,71 (m, 1 H), 5,71- 5,66 (d, 1 H, $J = 15,1$ Hz), 5,50-5,47 (d, 1 H, $J = 7,6$ Hz), 5,13-5,08 (t, 1 H, $J = 8,8$ Hz), 4,89-4,84 (m, 2 H), 4,81- 4,71 (m, 1 H), 4,09-4,06 (d, 1 H, $J = 9,4$ Hz), 3,87 (s, 3 H), 3,44-3,37 (dd, 1 H, $J = 13,4, 8,4$ Hz), 3,16-3,06 (m, 3 H), 2,60-2,54 (m, 2 H), 2,26 (s, 6 H), 2,26-2,14 (m, 1 H), 1,89-1,81 (m, 1 H), 1,70-1,62 (m, 2 H), 1,58-1,46 (m, 2 H) 1,23 (s, 3 H), 1,17 (s, 3 H), 0,97-0,95 (d, 3 H, $J = 6,6$ Hz), 0,93-0,90 (m, 6 H);

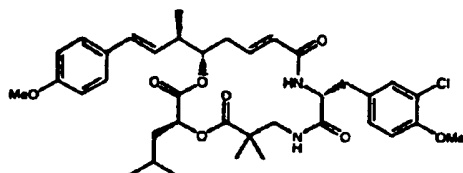
^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) 5177,7, 170,5, 170,1, 165,2, 153,9, 142,3, 137,7, 137,3, 135,1, 130,7, 130,2, 129,8, 128,5, 128,1, 124,6, 124,4, 122,3, 112,2, 75,9, 74,2, 71,2, 68,8, 56,0, 54,4, 46,4, 42,7, 39,6, 38,4, 36,2, 35,2, 24,8, 22,9, 22,8, 22,7, 21,7, 19,8, 19,5, 8,6;

IR (KBr) 3421, 2960, 1756, 1721, 1675, 1504, 1258, 1195, 1151, 1126, 1066 cm^{-1} ;

Elementární analýza ($\text{C}_{37}\text{H}_{46}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_8$) C, H, N.

06.04.99

Příklad 56



Styren (uvedený výše) (0,21 g) byl připraven z aldehydu **18** (0,5 g, 0,87 mmolů) a 4-methoxybenzyltrifenylfosfoniumchloridu (0,47 g, 1,12 mmolů) s 36% výtěžkem postupující způsobem, popsaným výše pro styren 20:

$[\alpha]^{20}_D +31,6^\circ$ (c 1,03, CHCl_3);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,26-7,23 (d, 3 H, $J = 8,4$ Hz), 7,20-7,19 (d, 1 H, $J = 1,5$ Hz), 7,07-7,03 (dd, 1 H, $J = 5,4, 1,9$ Hz), 6,54-6,81 (d, 3 H, $J = 8,5$ Hz), 6,80-6,7 (m, 1 H), 6,36-6,31 (d, 1 H, $J = 15,8$ Hz), 5,89-5,81 (dd, 1 H, $J = 15,8, 8,8$ Hz), 5,78-5,73 (d, 1 H, $J = 13,7$ Hz), 5,65-5,66 (d, 1 H, $J = 7,9$ Hz), 5,05-4,99 (ddd, 1 H, $J = 10,6, 6,6, 1,6$ Hz), 4,87-4,82 (dd, 1 H, $J = 9,7, 3,1$ Hz), 4,78-4,7 (m, 1 H), 3,56 (s, 3 H), 3,79 (s, 3 H), 3,45-3,37 (dd, 1 H, $J = 13,4, 8,6$ Hz), 3,15-3,0 (m, 3 H), 2,6-2,25 (m, 3 H), 1,7-1,3 (m, 3 H), 1,22 (s, 3 H), 1,15 (s, 3 H), 1,12-1,1 (d, 3 H, $J = 6,8$ Hz), 0,76-0,75 (d, 3 H, $J = 2,9$ Hz), 0,74-0,73 (d, 3 H, $J = 2,8$ Hz);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,8, 170,5, 170,4, 165,1, 159,1, 153,9, 142,1, 135,8, 131,0, 130,8, 129,7, 129,5, 128,2, 127,9, 127,2, 124,5, 122,4, 113,9, 112,3, 77,1, 71,4, 56,0, 55,2, 54,4, 46,4, 42,7, 42,1, 39,4, 36,4, 35,3, 24,5, 22,8, 22,6, 21,2, 17,3;

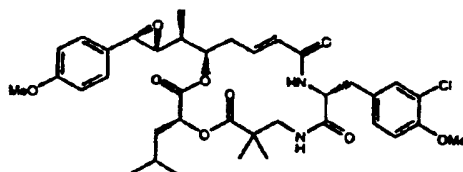
IR (CHCl_3) 3422, 3003, 2964, 2936, 2873, 2840, 1746, 1712,

05.04.99

1681, 1651, 1607, 1527, 1512, 1504, 1485, 1465, 1301, 1251 cm^{-1} ;

Elementární analýza ($\text{C}_{37}\text{H}_{47}\text{ClN}_2\text{O}_8$) C, H, N.

Příklad 57



Do styrenu (uvedeného výše) (0,3 g, 0,44 mmolů) bylo přidáno 19 ml acetonu, 9 ml H_2O , 9 ml CH_2Cl_2 a pevný NaHCO_3 (1,2 g, 14,5 mmolů) a směs byla ochlazena na teplotu 0 °C. Roztok Oxonu (1,08 g, 1,8 mmolů) v 9 ml H_2O byl připraven a přidán (2 ml) do studené styrenové směsi. Po uplynutí 30 minut intenzivního míchání při teplotě 0 °C byly přidány další 2 ml roztoku Oxonu a opět další 2,0 ml byly přidány, po dalších 30 minutách, celkově 6 ml roztoku Oxonu. Postup reakce byl monitorován chromatografií HPLC s obrácenou fází a byl zjištěno, že reakce byla ukončena po 2,5 hodinách míchání. Zatímco teplota byla stále 0 °C, reakce byla ukončena s nasyceným vodným NaHCO_3 (50 ml) a bylo také přidáno dalších 50 ml CH_2Cl_2 . Vrstvy byly odděleny a organická vrstva byl promývána vodným 10% Na_2SO_3 (50 ml), následovaným nasyceným vodným NaHCO_3 (50 ml), potom solankou a nakonec byla sušena nad Na_2SO_4 , filtrována a koncentrována za sníženého tlaku. Směs b a a epoxidů byla oddělena chromatografií HPLC s obrácenou fází (45:55) $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ a tím se získalo 0,12 g b epoxidů ve formě bílé pevné látky s 39%

08.04.99

výtěžkem:

$[\alpha]^{20}_D +25,8^\circ$ (c 0,66, CHCl_3);

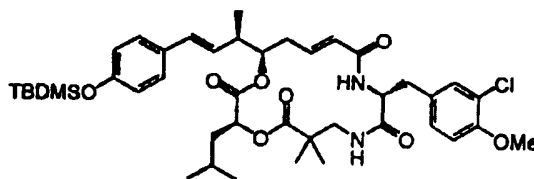
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,26-7,15 (m, 4 H), 7,05-7,03 (d, 1 H, $J = 8,6$ Hz), 6,9-6,87 (d, 2 H, $J = 8,6$ Hz), 6,85-6,82 (d, 1 H, $J = 8,5$ Hz), 6,82-6,7 (m, 1 H), 5,74-5,69 (d, 1 H, $J = 15,1$ Hz), 5,54-5,52 (d, 1 H, $J = 7,8$ Hz), 5,22-5,16 (m, 1 H), 4,84-4,7 (m, 2 H), 3,87 (s, 3 H), 3,81 (s, 3 H), 3,63 (s, 1 H), 3,46-3,38 (dd, 1 H, $J = 13,5, 8,8$ Hz), 3,2-3,0 (m, 3 H), 2,91-2,89 (d, 1 H, $J = 7,4$ Hz), 2,6-2,38 (m, 2 H), 1,8-1,6 (m, 3 H), 1,4-1,23 (m, 1 H), 1,22 (s, 3 H), 1,15 (s, 3 H), 1,15-1,12 (d, 3 H, $J = 8,9$ Hz), 0,84-0,80 (t, 6 H, $J = 6,0$ Hz);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,7, 170,5, 170,4, 165,1, 159,8, 153,9, 141,6, 136,8, 130,7, 129,7, 128,6, 128,1, 126,9, 124,6, 122,3, 114,1, 112,2, 75,9, 71,0, 62,8, 58,9, 56,0, 55,2, 54,6, 46,3, 42,7, 40,6, 39,2, 36,8, 35,2, 24,4, 22,8, 22,7, 22,6, 21,1, 13,5;

IR (CHCl_3) 3423, 3009, 2964, 2936, 2874, 2840, 1751, 1713, 1681, 1653, 1614, 1517, 1504, 1486, 1464, 1442, 1303, 1281, 1257, 1183, 1173, 1152 cm^{-1} ;

Elementární analýza ($\text{C}_{37}\text{H}_{47}\text{ClN}_2\text{O}_9$) C, H, N.

Příklad 58



05.04.99

Styren (uvedený výše) (0,649 g) byl připraven z aldehydu **18** (0,911 g, 1,57 mmolů) a 4-(terc.-butyldimethylsiloxy)benzyl trifenylfosfoniumchloridu (1,7 g, 3,27 mmolů) s 53% výtěžkem postupující způsobem, popsáným výše pro styren **20**:

$[\alpha]^{20}_{\text{D}}$ 30,83° (c 0,52, CHCl_3);

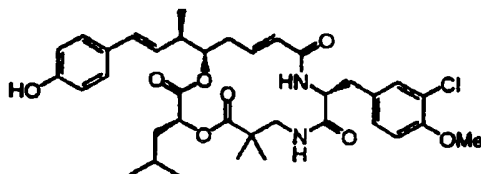
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,25 (s, 1H), 7,26-7,20 (d, 2H, $J = 8,5\text{ Hz}$), 7,12 - 7,06 (dd, 1H, $J = 8,3, 1,6\text{ Hz}$), 6,92-6,86 (d, 1H, $J = 8,5\text{ Hz}$), 6,84-6,78 (d, 2H, $J = 8,5\text{ Hz}$), 6,44-6,33 (d, 1H, $J = 15,9\text{ Hz}$), 5,95-5,85 (dd, 1H, $J = 15,8, 8,8\text{ Hz}$), 5,85-5,77 (d, 1H, $J = 15,5\text{ Hz}$), 5,68-5,55 (bd, 1H, $J = 7,9\text{ Hz}$), 5,15-5,00 (m, 1H), 4,95-4,80 (dd, 1H, $J = 10,0, 3,0\text{ Hz}$), 4,85-4,75 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,53- 3,43 (dd, 1H, $J = 13,4, 8,6\text{ Hz}$), 3,23-3,08 (m, 3H), 2,65- 2,50 (m, 2H), 2,50-2,35 (m, 3H), 1,75-1,60 (m, 2H), 1,45- 1,36 (m, 1H), 1,27 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,16-1,13 (d, 3H, $J = 6,8\text{ Hz}$), 1,01 (s, 9H), 0,85-0,74 (m, 6H), 0,22 (s, 6H);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,8, 170,5, ~~170,4~~, 165,1, 155,2, 153,9, 142,1, 131,1, 130,8, 130,1, 129,7, 128,2, 128,1, 127,1, 124,5, 122,4, 120,2, 112,2, 71,4, 56,0, 54,4, 46,4, 42,7, 42,2, 39,4, 36,5, 35,3, 25,6, 24,5, 22,8, 22,7, 21,2, 18,1, 17,3, -4,5;

IR (CHCl_3) 3422, 3030, 3008, 2961, 2932, 2899, 2860, 1745, 1712, 1681, 1604, 1527, 1509, 1485, 1442, 1370, 1339, 1303, 1258, 1169, 1151, 1067, 1007, 970, 912, 841, 822, 792 cm^{-1} ;

Elementární analýza ($\text{C}_{42}\text{H}_{59}\text{ClN}_2\text{O}_8\text{Si}$) C, H, N.

Příklad 59



Do roztoku silylem chráněného fenolu (0,084 g, 0,107 mmolů), v 4 ml bezvodého THF o teplotě $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ byl přidán 1,0 M THF roztok tetrabutylamoniumfluoridu (TBAF) (0,11 ml, 0,11 mmolů). Světle žlutý roztok byl míchán při teplotě $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 30 minut, potom byla reakce zastavena 2 ml nasyceného NH_4Cl a extrahována CH_2Cl_2 (3 x 25 ml). Sloučené organické extrakty byly sušeny nad MgSO_4 , filtrovány a koncentrovány za sníženého tlaku. Čištění surového produktu radiální PLC (silikagel, 50-100% EtOAc/hexany) dalo požadovaný alkohol (0,0679) s 93% výtěžkem ve formě bílé pevné látky:

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} +30,83^{\circ}$ (c 0,52, CHCl_3);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,40-7,32 (m, 1H), 7,28-7,20 (m, 3H), 7,13-7,05 (dd, 1H, $J = 8,3, 1,6$ Hz), 6,95-6,75 (m, 5H), 6,57 (s, 1H), 6,42-6,33 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz), 5,93-5,53 (dd, 1H, $J = 15,8, 8,8$ Hz), 5,83-5,75 (d, 1H, $J = 15,5$ Hz), 5,75-5,73 (bd, 1H, $J = 7,9$ Hz), 5,15-5,00 (m, 1H), 4,93-4,85 (dd, 1H, $J = 10,0, 3,0$ Hz), 4,85-4,75 (m, 1H), 3,90 (s, 3H), 3,54-3,40 (dd, 1H, $J = 13,4, 8,6$ Hz), 3,25-3,02 (m, 3H), 2,65-2,35 (m, 3H), 1,80-1,60 (m, 2H), 1,45-1,36 (m, 1H), 1,27 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,17-1,12 (d, 3H, $J = 6,8$ Hz), 0,86-0,74 (d, 6H, $J = 5,0$ Hz);

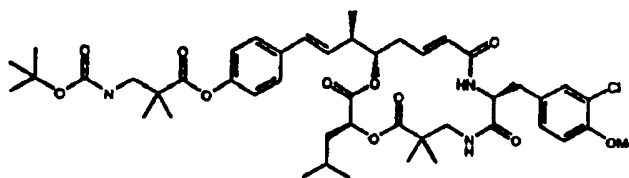
^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,9, 170,7, 170,6, 156,0, 154,0, 142,6, 137,1, 131,3, 130,8, 129,5, 128,9, 128,1, 127,4, 124,3, 122,5, 115,6, 112,3, 77,2, 71,5, 56,1, 54,5, 46,5,

05.04.99

42,7, 42,1, 39,4, 36,5, 35,3, 24,6, 22,8, 22,7, 21,2, 17,3;
 IR (CHCl₃) 3597, 3421, 3319. 2964, 2935, 2874, 2841, 1746,
 1711, 1680, 1652, 1610, 1513, 1504, 1455, 1464, 1259, 1170,
 1152, 1067 cm⁻¹;

Elementární analýza (C₃₆H₄₆ClN₂O₈) C, H, N.

Příklad 60



Roztok fragmentu C' kyseliny (0,040 g, 0,184 mmolů) a karbonyldiimidazolu (CDI) (0,040 g, 0,25 mmolů) v 2 ml toluenu byl zahříván pod dusíkovou atmosférou při teplotě 45 °C po dobu 45 minut. Po přidání alkoholu (uveden výše) (0,10 g, 0,15 mmolů) v 1 ml toluenu byla reakční směs znovu zahřívána při teplotě 45 °C po dobu 4 hodin. Po ochlazení na teplotu okolí byla reakční směs zředěna EtOAc (100 ml), promývána 0,1 N HCl (1 x 10 ml), vodou (1 x 10 ml), nasyceným NaHCO₃ (1 x 10 ml) a solankou (1 x 10 ml). Organická vrstva byla sušena nad MgSO₄, filtrována a koncentrována za sníženého tlaku a tím se získal surový ester ve formě žluté pěny. Čištění radiální PLC (silikagel, 50% EtOAc/hexany) poskytlo čistý ester (0,097) g s 75% výtěžkem ve formě žluté pevné látky:

[α]²⁰_D +17,2° (c 0,58, CHCl₃);

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,40-7,34 (d, 2 H, J = 8,5 Hz)

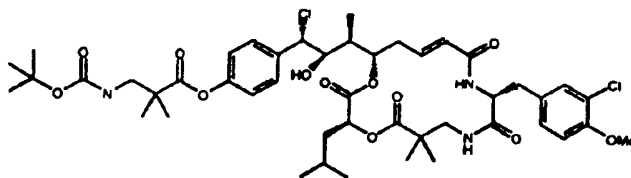
7,29-7,22 (m, 3 H), 7,13-7,00 (m, 3 H), 6,92-6,86 (d, 1 H, $J = 8,8$ Hz), 6,86-6,76 (m, 1 H), 6,50-6,38 (d, 1 H, $J = 15,9$ Hz), 6,10-5,97 (dd, 1 H, $J = 15,8, 8,8$ Hz), 5,85-5,75 (d, 1 H, $J = 15,1$ Hz), 5,55-5,45 (d, 1 H, $J = 7,9$ Hz), 5,15-5,06 (m, 1 H), 5,06-4,96 (m, 1 H), 4,95-4,85 (m, 1 H), 4,83-4,72 (dd, 1 H, $J = 10,0, 3,0$ Hz), 3,92 (s, 3 H), 3,53-3,35 (m, 3 H), 3,22-3,06 (m, 3 H), 2,65-2,50 (m, 2 H), 2,48-2,35 (m, 1 H), 1,80-1,65 (m, 2 H), 1,49 (s, 9 H), 1,40 (s, 6 H), 1,27 (s, 3 H), 1,21 (s, 3 H), 1,20-1,15 (d, 3 H, $J = 6,9$ Hz), 0,86-0,77 (á, 6 H, $J = 6,3$ Hz);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,8, 170,5, 170,4, 165,1, 156,0, 153,9, 150,0, 142,0, 134,5, 130,8, 130,6, 130,4, 129,6, 128,2, 126,9, 124,6, 122,4, 121,5, 112,2, 79,2, 71,3, 56,0, 54,4, 48,2, 46,4, 44,0, 42,7, 42,1, 39,5, 36,5, 35,2, 28,3, 24,9, 24,5, 22,9, 22,8, 22,7, 21,3, 17,2;

IR (CHCl_3) 3425, 2970, 2934, 2874, 1746, 1711, 1684, 1604, 1505, 1442, 1394, 1368, 1305, 1258, 1166, 1123, 1067, 1015, 971 cm^{-1} ;

Elementární analýza ($\text{C}_{41}\text{H}_{55}\text{ClN}_3\text{O}_9$) C, H, N.

Příklad 61



Do styrenu (uvedený výše) (0,276 g, 0,32 mmolů) bylo přidáno 12 ml acetonu, 6 ml H_2O , 6 ml CH_2Cl_2 a pevný NaHCO_3 (0,84 g,

10 mmolů) a směs byla ochlazena na teplotu 0 °C. Roztok Oxonu (0,78 g, 1,27 mmolů) v 6 ml H₂O byl připraven a přidán (2 ml) do studené styrenové směsi. Po uplynutí 30 minut intenzivního míchání při teplotě 0 °C bylo přidáno dalších 2 ml roztoku Oxonu a pak další 2,0 ml po uplynutí dalších 30 minut, celkově 6 ml roztoku Oxonu. Postup reakce byl monitorován chromatografií HPLC s obrácenou fází a bylo zjištěno, že reakce byla ukončena po 2,5 hodinách míchání. Zatímco teplota byla stále 0 °C, reakce byla ukončena s nasyceným vodným NaHCO₃ (50 ml) a bylo také přidáno dalších 50 ml CH₂Cl₂. Vrstvy byly odděleny a organická vrstva byla promývána vodným 10% Na₂SO₄ (50 ml), následovaným nasyceným vodným NaHCO₃, (50 ml), potom solankou a nakonec byla sušena nad Na₂SO₄, filtrována a koncentrována za sníženého tlaku a tím se získalo 0,272 g surových epoxidů ve formě žluté pěny.

Do roztoku epoxidů v 4 ml CH₂Cl₂ při teplotě -60 °C byl přidán trimethylsilylchlorid (0,2 ml, 1,54 mmolů). Po uplynutí 3 hodin při teplotě -60 °C bylo přidáno 5 ml 0,1 N HCl pro hydrolýzu jakéhokoliv zbytku trimethylsilyletheru a směs byla zahřáta na teplotu okolí. Vrstvy byly odděleny a organická vrstva byla sušena nad MgSO₄, filtrována a koncentrována za sníženého tlaku. Surové chlorhydriny byly čištěny dvakrát radiální PLC (silikagel, 50-60-70-100% EtOAc/hexany) a nakonec pomocí HPLC s obrácenou fází (CH₃CN/H₂O) a tím se získal produkt (uvedený výše) (0,090 g, 31%) ve formě bílé pevné látky:

$[\alpha]_D^{20} + 42,7^\circ$ (c 3,0, CHCl₃);

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,48-7,44 (d, 1 H, J = 8,4 Hz), 7,31-7,26 (m, 4 H), 7,16-7,10 (m, 3 H), 6,92-6,89 (d, 1 H, J = 8,4 Hz), 6,87-6,81 (m, 1 H), 5,84- 5,79 (d, 1H, J =

06.04.99

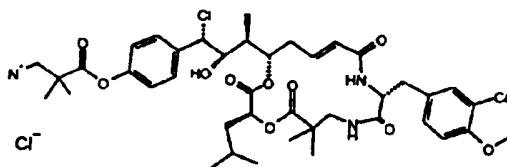
15,1 Hz), 5,58-5,55 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz), 5,24-5,19 (t, 1H, $J = 8,9$ Hz), 5,05-4,95 (m, 2H), 4,79-4,75 (m, 1H), 4,72-4,69 (d, 1H, $J = 9,5$ Hz), 4,04-4,01 (dd, 1H, $J = 1,3, 9,3$ Hz), 3,93 (s, 3H), 3,47-3,40 (m, 3H), 3,25-3,06 (m, 3H), 2,75-2,70 (d, 1H, $J = 13,9$ Hz), 2,55-2,41 (m, 2H), 1,90-1,71 (m, 2H), 1,63 (s, 1H), 1,48 (s, 9H), 1,39 (s, 6H), 1,28 (s, 3H), 1,22 (s, 3H), 1,09-1,06 (d, 3H, $J = 6,9$ Hz), 1,0-0,96 (m, 6H);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,6, 170,4, 170,2, 165,2, 153,9, 142,3, 136,1, 130,8, 129,7, 129,1, 128,2, 124,5, 122,4, 121,9, 112,2, 76,1, 74,0, 71,1, 61,5, 56,5, 54,4, 46,4, 44,1, 42,7, 39,6, 38,4, 36,3, 35,2, 28,3, 24,8, 22,9, 22,8, 22,7, 21,5, 8,6;

IR (CHCl_3) 3417, 2974, 2934, 1755, 1720, 1677, 1505, 1473, 1368, 1320, 1258, 1205, 1167, 1153, 1123, 1066 cm^{-1} ;

FAB HRMS [$\text{M} - \text{BOC}$] vypočteno pro ($\text{C}_{41}\text{H}_{56}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_{10}$) 820,3343, nalezeno 820,3354.

Příklad 62



Do aminu, chráněného pomocí BOC, (uvedený výše) (0,070 g, 0,067 mmolů) v CH_2Cl_2 (0,25 ml) byl přidán 4 M HCl roztok (0,1 ml, 0,4 mmolů) v 1,4-dioxanu. Po uplynutí 2 hodinách míchání při teplotě okolí byla rozpouštědla odstraněna za

sníženého tlaku a výsledné residuum bylo udržováno ve vysokém vakuu po dobu 2 dnů a tím se získal produkt ve formě bílé pevné látky (0,062 g) s 95% výtěžkem:

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} +27,68^{\circ}$ (c 2,5, CHCl_3);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,79-7,76 (d, 1 H, $J = 7,9$ Hz), 7,48-7,38 (m, 2 H), 7,27-7,26 (d, 1 H, $J = 1,2$ Hz), 7,17-7,08 (m, 3 H), 6,98-6,95 (d, 1 H, $J = 8,5$ Hz), 6,71-6,60 (m, 1 H), 5,95- 5,90 (d, 1 H, $J = 15,2$ Hz), 5,14-5,01 (m, 2 H), 4,50-4,46 (dd, 1 H, $J = 3,0, 11,0$ Hz), 3,99-3,96 (d, 1 H, $J = 9,1$ Hz), 3,82 (s, 3 H), 3,49-3,42 (m, 1 H), 3,19 (s, 2 H), 3,2-3,06 (m, 2 H), 2,77-2,68 (m, 2 H), 2,49-2,46 (t, 1 H, $J = 6,8$ Hz), 2,44-2,31 (q, 1 H, $J = 11,4$ Hz), 1,85-1,65 (m, 2 H), 1,60-1,50 (m, 1 H), 1,46 (s, 6 H), 1,20 (s, 3 H), 1,16 (s, 3 H), 1,08-0,94 (m, 9 H);

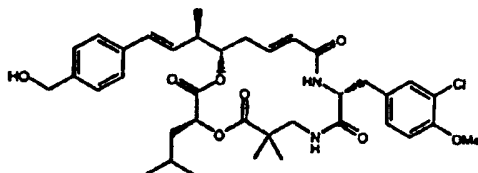
^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) 5178,9, 175,6, 173,8, 171,9, 155,3, 151,8, 144,2, 139,5, 132,2, 131,5, 130,7, 129,4, 125,2, 123,3, 122,6, 113,5, 77,2, 74,8, 72,6, 63,2, 57,6, 56,7, 50,1, 48,3, 48,0, 47,4, 44,1, 42,7, 41,1, 40,4, 37,8, 36,5, 28,8, 26,2, 23,6, 23,4, 22,2, 9,0;

IR (KBr) 3418, 2961, 2934, 1751, 1724, 1671, 1608, 1505, 1474, 1464, 1442, 1303, 1282, 1259, 1203, 1169, 1152, 1126, 1065, 1018;

FAB HRMS $[\text{M} - \text{Cl}]$ vypočteno pro $(\text{C}_{41}\text{H}_{56}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_{10})$ 820,3343, nalezeno 820,3354.

05.04.99

Příklad 63



Tetrabutylamoniumfluorid (TBAF) (4,0 ml, 4,1 mmolů), ve formě 1,0 M roztoku v THF, byl přidán po kapkách do roztok chráněného alkoholu **20** (3,1 g, 3,69 mmolů) v 120 ml THF o teplotě -78 °C. Roztok byl míchán při teplotě -78 °C po dobu 10 minut a lázeň suchého ledu byla odstraněna a směs byla ponechána zahřát se na teplotu okolí. Po uplynutí 30 minut při teplotě okolí reakce byla ukončena vodou (80 ml) a ethylacetátem (100 ml). Vrstvy byly odděleny a vodná vrstva byla extrahována CH₂Cl₂ (3 x 50 ml). Sloučené organické vrstvy byly sušeny nad—bezvodým Na₂SO₄, filtrovány a koncentrovány za sníženého tlaku a tím byl získán volný alkohol. Čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, 50-70- 100% EtOAc/hexany) dalo 2,51 g (99%) čistého alkoholu **29** ve formě bílé pevné látky:

$[\alpha]_D^{20} + 30,0^\circ$ (c 1,0, CHCl₃);

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,31 (s, 4 H), 7,26-7,21 (m, 1 H), 7,2- 7,19 (d, 1 H, J = 1,8 Hz), 7,07-7,03 (dd, 1 H, J = 8,4, 1,7 Hz), 6,85-6,82 (d, 1 H, J = 8,4 Hz), 6,82-6,7 (m, 1 H), 6,43-6,37 (d, 1 H, J = 15,9 Hz), 6,05-5,97 (dd, 1 H, J = 15,9, 8,7 Hz), 5,77-5,72 (d, 1 H, J = 15,0 Hz), 5,58-5,55 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 5,08-5,02 (dd, 1 H, J = 9,4, 6,3 Hz), 4,87-4,83 (dd, 1 H, J = 10,2, 3,1 Hz), 4,8-4,67 (m, 1 H),

05.04.99

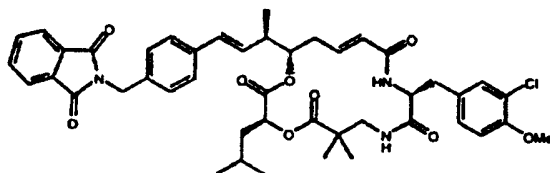
4,67 (s, 2 H), 3,87 (s, 3 H), 3,44-3,37 (dd, 1 H, $J = 13,5$, 8,5 Hz), 3,2-3,0 (m, 3H), 2,6-2,3 (m, 3 H), 1,8-1,6 (m, 3 H), 1,4-1,25 (m, 1 H), 1,22 (s, 3 H), 1,15 (s, 3 H), 1,14-1,12 (d, 3 H, $J = 6,8$ Hz), 0,76-0,73 (t, 6 H, $J = 5,5$ Hz);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,7, 170,7, 170,5, 165,4, 153,8, 142,0, 140,5, 135,9, 131,3, 130,7, 130,0, 129,9, 128,1, 127,1, 126,1, 124,5, 122,2, 112,2, 77,0, 71,3, 64,6, 56,0, 54,6, 46,4, 42,7, 42,1, 39,4, 36,4, 35,2, 24,5, 22,8, 22,6, 21,2, 17,2;

IR (CHCl_3) 3423, 3011, 2965, 2935, 2874, 2841, 1747, 1712, 1681, 1652, 1528, 1503, 1485, 1442, 1371, 1303, 1259, 1151 cm^{-1} ;

Elementární analýza ($\text{C}_{37}\text{H}_{47}\text{ClN}_2\text{O}_8$) C, H, N.

Příklad 64



Do roztoku alkoholu **29** (0,13 g, 0,19 mmolů) v 2,0 ml THF byl přidán trifenylofosfin (0,065 g, 0,25 mmolů), ftalimid (0,037 g, 0,25 mmolů) a nakonec diethylazodikarboxylát (DEAD) (0,04 ml, 0,25 mmolů). Výsledný žlutý roztok byl míchán při teplotě okolí po dobu 2 hodinách reakce byla zastavena H_2O (10 ml) a CH_2Cl_2 (10 ml). Vodná vrstva byla extrahována CH_2Cl_2 12 x 10 ml) a sloučené organické vrstvy byly sušeny nad MgSO_4 , filtrovány a koncentrovány za sníženého tlaku.

Výsledné residuum bylo čištěno radiální PLC (silikagel, 50-60-70% EtOAc/hexany) a tím se získal ftalimid **30** (0,14 g) ve formě bílé pevné látky s 90% výtěžkem:

$[\alpha]^{20}_D +19,2^\circ$ (c 1,0, CHCl₃);

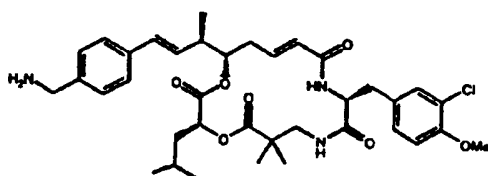
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,9- 7,8 (m, 2 H), 7,72-7,69 (m, 2 H), 7,39-7,36 (d, 2 H, J = 8,0 Hz), 7,28-7,26 (d, 2 H, J = 5,3 Hz), 7,25-7,2 (m, 1 H), 7,19-7,18 (d, 1 H, J = 1,9 Hz), 7,06-7,03 (dd, 1 H, J = 8,5, 1,9 Hz), 6,85-6,82 (d, 1 H, J = 8,4 Hz), 6,81-6,7 (m, 1 H), 6,39-6,33 (d, 1 H, J = 15,9 Hz), 6,01-5,93 (dd, 1 H, J = :5,8, 8,8 Hz), 5,75-5,7 (d, 1 H, J = 15,4 Hz), 5,47-5,44 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 5,05-5,0 (dd, 1H, J = 9,4, 6 3Hz), 4,8 (s, 2 H), 4,83-4,7 (m, 2 H), 3,87 (s, 3 H), 3,4-3,36 (dd, 1 H, J = 13,4, 8,6 Hz), 3,18-3,02 (m, 3 H), 2,6-2,25 (m, 3 H), 1,65-1,5 (m, 2 H), 1,35-1,22 (m, 1 H), 1,2: (s, 3 H), 1,14 (s, 3 H), 1,12-1,09 (d, 3 H, J = 6,8 Hz), 0,71-0,69 (d, 3 H, J = 6,4 Hz), 0,65-0,63 (d, 3 H, J = 6,4 Hz);

¹³C NMR (63 MHz, CDCl₃) δ 177,8, 170,5, 170,4, 167,8, 165,2, 153,9, 142,0, 136,3, 135,6, 133,9, 131,9, 131,1, 130,7, 130,6, 129,8, 128,9, 128,6, 128,5, 128,1, 126,3, 124,6, 123,2, 122,3, 112,2, 76,9, 71,3, 56,0, 54,5, 46,4, 42,6, 42,1, 41,2, 39,4, 36,4, 35,2, 24,4, 22,8, 22,6, 22,5, 21,1, 17,2 ;

IR (CHCl₃) 3421, 2967, 2935, 2873, 2840, 1747, 1716, 1682, 1527, 1503, 1485, 1433, 1395, 1259, 1151.

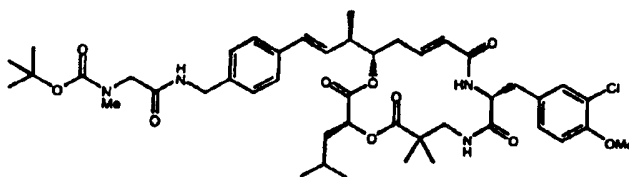
06.04.99

Příklad 65



Do ftalimidu **30** (0,1 g, 0,123 mmolů) v 1,8 ml EtOH byl přidán n-butylamin (0,04 ml, 0,369 mmolů). Roztok byl zahříván při teplotě 75 °C po dobu 2 dnů, koncentrován za sníženého tlaku a čištěn radiální PLC (silikagel, 10-25% MeOH/CH₂Cl₂) a tím se získal volný amin **31** (0,048 g) s 57% výtěžkem.

Příklad 66



Do N-(terc.-butoxykarbonyl)sarkosinu (0,07 g, 0,37 mmolů) v 1,5 ml DMF byl přidán hydrát 1-hydroxybenzotriazolu (HOBT) (0,05 g, 0,37 mmolů) a hydrochlorid 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimidu (EDCI) (0,071 g, 0,37 mmolů). Po uplynutí 45 minut míchání při teplotě okolí byl amin **31** (0,17 g, 0,25 mmolů) v 2,5 ml DMF po kapkách přidán do roztoku dvojitou jehlou. Výsledná směs byla

05.04.99

míchána po dobu dalších 3 hodin, reakce byla zastavena pomocí H_2O (10 ml) a směs byla extrahována CH_2Cl_2 (3 x 10 ml). Sloučené organické extrakty byly sušeny nad MgSO_4 , filtrovány a koncentrovány za sníženého tlaku. Čištění výsledného surového produktu radiální PLC (silikagel, 70-80-100% EtOAc/hexany) dalo požadovaný amid **32** (0,15 g) s 71% výtěžkem ve formě bílé pevné látky.

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} +22,4^\circ$ (c 1,0, CHCl_3);

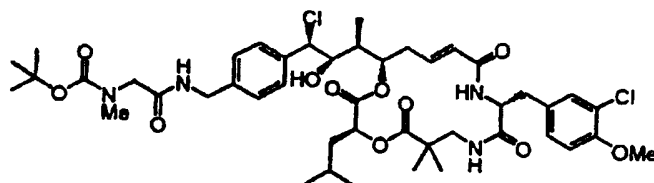
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,27-7,1 (m, 6 H), 7,04-7,0 (dd, 1 H, $J = 8,5, 1,9$ Hz), 6,82-6,79 (d, 1 H, $J = 8,5$ Hz), 6,79-6,65 (m, 1 H), 6,38-6,32 (d, 1 H, $J = 15,9$ Hz), 6,3-6,2 (bs, 1 H), 6,01-5,93 (dd, 1 H, $J = 15,9, 8,7$ Hz), 5,75-5,70 (d, 1 H, $J = 15,0$ Hz), 5,65-5,6 (m, 1 H), 5,0-4,99 (dd, 1 H, $J = 9,3, 6,1$ Hz), 4,84-4,79 (dd, 1 H, $J = 9,6, 3,6$ Hz), 4,74-4,67 (m, 1 H), 4,42-4,4 (d, 2 H, $J = 5,7$ Hz), 3,87 (s, 2 H), 3,84 (s, 3 H), 3,42-3,34 (dd, 1 H, $J = 13,5, 8,6$ Hz), 3,15-3,0 (m, 3 H), 2,9 (s, 3 H), 2,6-2,25 (m, 3 H), 1,8-1,5 (m, 2 H), 1,4 (s, 9 H), 1,39-1,25 (m, 1 H), 1,19 (s, 3 H), 1,12 (s, 3 H), 1,1-1,08 (d, 3 H, $J = 6,8$ Hz), 0,73-0,72 (d, 3 H, $J = 4,4$ Hz), 0,71-0,69 (d, 3 H, $J = 4,3$ Hz);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,7, 170,5, 170,4, 169,2, 165,2, 153,9, 141,9, 137,3, 136,0, 131,1, 130,7, 130,3, 129,8, 128,6, 128,1, 127,7, 126,3, 124,6, 122,3, 112,2, 80,6, 76,9, 71,3, 56,0, 54,5, 53,1, 46,4, 42,8, 42,7, 42,0, 39,4, 36,4, 35,8, 35,2, 28,2, 24,5, 22,8, 22,6, 21,2, 17,1;

IR (CHCl_3) 3427, 2967, 2935, 2874, 2841, 1747, 1680, 1526, 1504, 1484, 1464, 1442, 1393, 1369, 1302, 1281, 1259, 1151, 1067

06.04.99

Příklad 67



Amid **32** (0,34 g, 0,398 mmolů) byl epoxidován použitím mCPBA (0,072 g, 0,42 mmolů) v 1,2 ml CH_2Cl_2 způsobem, který byl popsán výše a tím se získaly b a a epoxidy v poměru 2:1. Výsledná surová směs epoxidů (0,3 g, 0,345 mmolů) byla rozpuštěna v CHCl_3 a ochlazena na teplotu $-60\text{ }^\circ\text{C}$. Byl přidán TMSCl (0,22 ml, 1,73 mmolů) a roztok byl míchán při teplotách mezi $-50\text{ }^\circ\text{C}$ a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 2 hodin. Byl přidán další TMSCl (0,44 ml, 0,173 mmolů) a roztok byl ponechán zahřát se na teplotu okolí. Roztok byl koncentrován za sníženého tlaku a výsledný produkt byl čištěn dvakrát sloupcovou chromatografií (70-80% EtOAc /hexany) a dvakrát radiální PLC (silikagel, 2-5% $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$) a tím se získal trans chlorhydrin **34** (0,1 g) s 48% výtěžkem ve formě bílé pevné látky:

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} + 46,9^\circ$ (c 0,85, CHCl_3);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,36-7,34 (d, 2 H, $J = 7,9\text{ Hz}$), 7,29-7,26 (d, 2 H, $J = 8,3\text{ Hz}$), 7,21 (s, 2 H), 7,08-7,05 (d, 1 H, $J = 8,3\text{ Hz}$), 6,86-6,83 (d, 1 H, $J = 8,5\text{ Hz}$), 6,8-6,7 (m, 1 H), 6,5-6,2 (bs, 1 H), 5,79-5,74 (d, 1 H, $J = 15,2\text{ Hz}$), 5,64-5,62 (d, 1 H, $J = 7,7\text{ Hz}$), 5,18-5,12 (t, 1 H, $J = 9,1\text{ Hz}$), 4,94-4,9 (dd, 1 H, $J = 9,9, 3,5\text{ Hz}$), 4,8-4,67 (m, 1 H), 4,66-4,63 (d, 1 H, $J = 9,6\text{ Hz}$), 4,47-4,45 (d, 2 H, $J = 5,3\text{ Hz}$), 4,02-3,98 (d, 1H, $J = 9,5\text{ Hz}$), 3,89 (s, 2H), 3,88

06.04.99

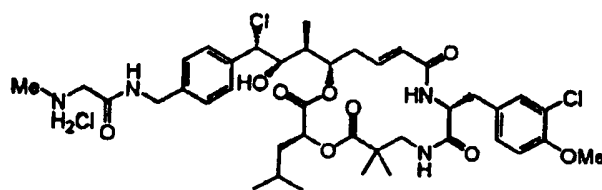
(s, 3 H), 3,41- 3,34 (dd, 1 H, $J = 13,6, 8,5$ Hz), 3,2-3,0 (m, 3 H), 2,94 (s, 3 H), 2,69-2,68 (bdd, 1 H, $J = 14,3, 2,1$ Hz), 2,51-2,3 (m, 2 H), 1,8-1,6 (m, 3 H), 1,42 (s, 10 H), 1,22 (s, 3 H), 1,17 (s, 3 H), 1,03-1,01 (d, 3 H, $J = 6,9$ Hz), 0,94-0,9 (t, 6 H, $J = 5,5$ Hz);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,6, 170,4, 170,2, 165,2, 153,9, 142,4, 139,1, 130,8, 129,7, 128,3, 128,2, 127,9, 124,4, 122,4, 112,2, 80,7, 76,1, 73,9, 71,2, 61,8, 56,1, 54,4, 53,1, 46,4, 42,7, 39,6, 38,4, 36,3, 35,9, 35,2, 28,2, 24,8, 23,0, 22,9, 22,7, 21,5, 8,5 ;

IR (KBr) 3419, 3317, 2964, 2932, 1755, 1670, 1538, 1504, 1473, 1392, 1368, 1301, 125B, 1151, 1066;

FAB HRMS $[\text{M} + \text{H}]$ vypočteno pro $(\text{C}_{45}\text{H}_{62}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_{11})$ 905,3870, nalezeno 905,3876.

Příklad 68



Hydrochloridová sůl **35** (0,041 g) BOC chráněného aminu **34** (0,045 g, 0,05 mmolů) byla připravena s kvantitativním výtěžkem způsobem, který byl popsán výše, použitím 4 M HCl v 1,4-dioxanu:

^1H NMR (300 MHz, MeOD) δ 8,47-8,45 (d, 1 H, $J = 7,7$ Hz), 7,79-7,76 (d, 1 H, $J = 8,9$ Hz), 7,39-7,36 (d, 2 H, $J =$

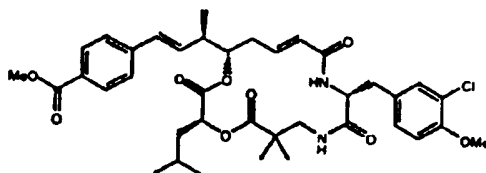
06.04.99

8,1Hz). 7,3-7,27 (d, 3 H, $J = 9,0$ Hz), 7,17- 7,14 (d, 1 H, $J = 8,5$ Hz), 6,98-6,95 (d, 1 H, $J = 8,5$ Hz), 6,75-6,6 (m, 1 H), 5,94-5,89 (d, 1 H, $J = 15,1$ Hz), 5,2-5,0 (m, 2 H), 4,78-4,75 (d, 1 H, $J = 9,4$ Hz), 4,5-4,42 (m, 1 H), 4,41 (s, 2 H), 4,01-3,98 (d, 1 H, $J = 9,5$ Hz), 3,82 (s, 3 H), 3,8 (s, 2 H), 3,5-3,4 (m, 1 H), 3,19-3,13 (dd, 1 H, $J = 14,4, 3,4$ Hz), 3,11-3,06 (dd, 1 H, $J = 13,2, 1,9$ Hz), 2,8- 2,6 (m, 2 H), 2,7 (s, 3 H), 2,5-2,2 (m, 2 H), 1,85-1,45 (m, 3H), 1,3-1,2 (m, 1H), 1,2 (s, 3H), 1,15 (s, 3H), 1,0-0,94 (q, 9H, $J = 11,3 6,0$ Hz);

^{13}C NMR(63MHz, CDCl_3) δ 178,9, 173,7, 171,9, 168,3, 166,3, 155,4, 144,2, 140,5, 139,7, 132,2, 131,5, 129,7, 129,4, 128,8, 125,2, 123,3, 113,5, 77,2, 74,7, 72,6, 63,7, 57,6, 56,6, 50,7, 47,4, 44,1, 43,9, 41,1, 40,4, 37,8, 36,5, 33,7, 26,2, 23,6, 23,4, 22,1, 9,0 ;

IR (KBr) 3410, 3058, 2961, 2933, 1752, 1721, 1675, 1539, 1504, 1463, 1440, 1282, 1259, 1196, 1154, 1127, 1066.

Příklad 69



Suspense hydridu sodného (60% suspense) (0,041 g, 1,0 mmolů) a 4-karbomethoxybenzyl-trifenylfosfoniumbromidu (0,5 g, 1,0 mmolů) v 10 ml THF byla zahřívána při teplotě 65 °C po dobu 1 hodiny a zpětně ochlazena na teplotu okolí. Tato oranžová



směs byla přidána po kapkách do aldehydu **18** (0,46 g, 0,79 mmolů) v THF (10 ml) při teplotě -78°C . Výsledný roztok byl zahřát na teplotu okolí, míchán další 2 hodiny a reakce byla zastavena nasyceným NH_4Cl (30 ml) a EtOAc (30 ml). Vrstvy byly odděleny a vodná vrstva byla dále extrahována EtOAc (2 x 20 ml). Sloučené organické extrakty byly promývány solankou (30 ml), sušeny nad MgSO_4 , filtrovány a koncentrovány za sníženého tlaku. Surový styren byl čištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, 50-65% EtOAc/hexany) a tím se získal čistý styren (0,129 g) s 23% výtěžkem:

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 29,7^{\circ}$ (c 1,15, CHCl_3);

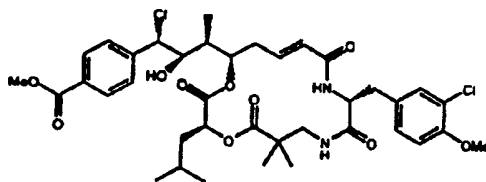
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,03-8,0 (d, 2 H, $J = 8,2$ Hz), 7,44-7,41 (d, 2 H, $J = 8,3$ Hz), 7,3-7,25 (m, 1 H), 7,24-7,23 (d, 1 H, $J = 1,6$ Hz) 7,11-7,08 (dd, 1 H, $J = 8,3, 1,9$ Hz), 6,89-6,86 (d, 1 H, $J = 8,5$ Hz), 6,86-6,8 (m, 1 H), 6,52-6,46 (d, 1 H, $J = 15,9$ Hz), 6,23-6,15 (dd, 1 H, $J = 15,8, 8,8$ Hz), 5,83-5,8 (d, 1 H, $J = 15,3$ Hz), 5,64-5,61 (d, 1 H, $J = 7,9$ Hz), 5,14-5,09 (dd, 1 H, $J = 9,4, 6,5$ Hz), 4,91-4,87 (dd, 1 H, $J = 10,2, 3,6$ Hz), 4,85-4,75 (m, 1 H), 3,95 (s, 3 H), 3,91 (s, 3 H), 3,5-3,4 (dd, 1 H, $T = 13,5, 8,7$ Hz), 3,2-3,1 (m, 3 H), 2,9-2,3 (m, 3 H), 1,8-1,6 (m, 3 H), 1,4-1,3 (m, 1 H), 1,26 (s, 3 H), 1,2 (s, 3 H), 1,2-1,18 (d, 3 H, $J = 6,9$ Hz), 0,8-0,78 (d, 3 H, $J = 5,6$ Hz), 0,78-0,76 (d, 3 H, $J = 6,0$ Hz);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,8, 170,4, 166,7, 165,1, 153,9, 141,8, 141,1, 133,1, 130,8, 129,9, 129,7, 128,9, 128,2, 125,9, 124,6, 122,4, 112,2, 76,8, 71,3, 56,0, 54,4, 52,0, 46,4, 42,7, 42,2, 39,5, 36,5, 35,2, 24,5, 22,8, 22,6, 21,2, 17,1;

IR (CHCl_3) 3424, 2964, 2936, 2874, 2841, 1748, 1716, 1681, 1608, 1528, 1503, 1485, 1437, 1283, 1259 cm^{-1} ;

Elementární analýza ($C_{38}H_{47}ClN_2O_9$) C, H, N.

Příklad 70



Do styrenu (uvedený výše) (0,42 g, 0,59 mmolů) bylo přidáno 30 ml acetonu, 15 ml H_2O , 15 ml CH_2Cl_2 a pevný $NaHCO_3$ (1,7 g, 20,2 mmolů) a směs byla ochlazená na teplotu $0\text{ }^{\circ}C$. Roztok Oxonu (1,4 g, 2,3 mmolů) v 12 ml H_2O byl připraven a přidán (2 ml) do studené styrenové směsi. Po uplynutí 30 minut intenzivního míchání při teplotě $0\text{ }^{\circ}C$ byl přidán další 2 ml roztok Oxonu a roztok byl zahřát na teplotu okolí. Dalších 2 ml roztoku Oxone byl přidán po každých 2 hodinách dokud nebylo spotřebováno 12 ml. Reakční směs byla míchána celkově 5 hodin a reakce byla ukončena nasyceným vodným $NaHCO_3$ (50 ml) a 50 ml CH_2Cl_2 . Vrstvy byly odděleny a organická vrstva byla promývána vodným 10% Na_2SO_4 (50 ml), následovaným nasyceným vodným $NaHCO_3$ (50 ml), potom solankou a nakonec byla sušena nad Na_2SO_4 , filtrována a koncentrována za sníženého tlaku. Surová směs byla čištěna chromatografií HPLC s obrácenou fází (45:55) $CH_3CN:H_2O$ a tím se získalo 0,14 g (33% výtěžek) b a a epoxidů a 0,14 g bisepoxidační směsi.

Směs b/a epoxidů (0,14 g, 0,19 mmolů) byla rozpuštěna v 3,0 ml $CHCl_3$ a ochlazená na teplotu $-60\text{ }^{\circ}C$. Do roztoku o teplotě

-60 °C byl přidán chlortrimethylsilan (0,1 ml, 0,77 mmolů) a směs byla míchána po dobu 1,5 hodin. Byl přidán další TMSCl (0,1 ml, 0,77 mmolů) a roztok byl ponechán zahřát se na teplotu okolí. Po uplynutí 1 hodiny míchání při teplotě okolí byl roztok koncentrován a čištěn radiální PLC (1-2% $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$) a tím se získalo 0,044 g (30% výtěžek) požadovaného chlorhydrinu (uvedený výše) ve formě bílé pevné látky;

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} +50,0^\circ$ (c 0,75, CHCl_3);

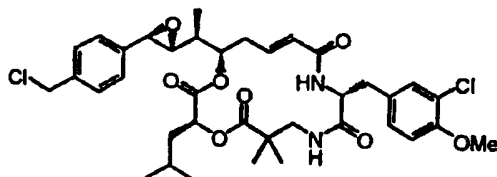
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,1-8,08 (d, 2 H, $J = 8,1$ Hz), 7,54-7,51 (d, 2 H, $J = 8,2$ Hz), 7,3-7,25 (m, 1 H), 7,25 (s, 1 H), 7,13-7,09 (dd, 1 H, $J = 8,5, 1,5$ Hz), 6,91-6,88 (d, 1 H, $J = 8,3$ Hz), 6,87-6,78 (m, 1 H), 5,86-5,8 (d, 1 H, $J = 15,5$ Hz), 5,7-5,6 (m, 1 H), 5,24-5,18 (t, 1 H, $J = 9,2$ Hz), 4,99-4,95 (dd, 1 H, $J = 10,0, 3,6$ Hz), 4,8-4,7 (m, 1 H), 4,76-4,73 (d, 1 H, $J = 9,5$ Hz), 4,09-4,06 (d, 1 H, $J = 9,6$ Hz), 3,97 (s, 3 H), 3,93 (s, 3 H), 3,45-3,38 (dd, 1 H, $J = 13,6, 8,6$ Hz), 3,25- 3,0 (m, 3 H), 2,75-2,62 (m, 1 H), 2,6-2,4 (m, 2 H), 1,9-1,6 (m, 3 H), 1,5-1,4 (m, 1 H), 1,27 (s, 3 H), 1,22 (s, 3 H), 1,1-1,07 (d, 3H, $J = 6,95$ Hz), 0 98-0,95 (t, 6H, $J = 5,3$ Hz);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,5, 170,6, 170,3, 166,3, 165,4, 153,9, 143,5, 142,2, 138,7, 130,7, 130,4, 129,9, 128,1, 128,08, 124,6, 122,3, 112,2, 76,1, 73,8, 71,1, 61,4, 56,0, 54,6, 52,2, 46,4, 42,7, 39,6, 38,4, 36,3, 35,1, 24,8, 23,0, 22,9, 22,7, 21,5, 8,7;

IR (CHCl_3) 3425, 2962, 2935, 2873, 2842, 1750, 1720, 1680, 1528, 1504, 1484, 1438, 1284, 1259, 1194, 1152, 1114, 1067 cm^{-1}

Elementární analýza ($\text{C}_{38}\text{H}_{48} \text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_{10}$) C, H, N.

Příklad 71



Do roztoku alkoholu **23** (0,32 g, 0,46 mmolů) v 8,5 ml CH_2Cl_2 o teplotě 0 °C byl přidán pevný NaHCO_3 (0,19 g, 2,29 mmolů), trifenylfosfin (0,18 g, 0,69 mmolů) a nakonec N-chlorsukcinimid (0,092 g, 0,69 mmolů). Směs byla míchána při teplotě 0 °C po dobu 20 minut a reakce byla zastavena nasyceným vodným NaHCO_3 (20 ml). Vrstvy byly odděleny a vodná vrstva byla extrahována CH_2Cl_2 (3 x 10 ml). Sloučené organické vrstvy byly promývány solankou, sušeny nad Na_2SO_4 , filtrovány a koncentrovány za sníženého tláku. Surová žlutá pevná látka byla čištěna radiální PLC (silikagel, 20-50% EtOAc/hexany) a tím se získalo 0,26 g benzylchloridu **36** s 79% výtěžkem ve formě bílé pevné látky:

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} +25,6^\circ$ (c 0,9, CHCl_3);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,4-7,38 (d, 2 H, $J = 7,9$ Hz), 7,26-7,23 (d, 3 H, $J = 8,3$ Hz), 7,19-7,18 (d, 1 H, $J = 1,9$ Hz), 7,06-7,03 (dd, 1 H, $J = 5,3, 1,9$ Hz), 6,85-6,82 (d, 1 H, $J = 8,4$ Hz), 6,8-6,7 (m, 1 H), 5,74-5,69 (d, 1 H, $J = 15,4$ Hz), 5,49-5,47 (d, 1 H, $J = 7,8$ Hz), 5,22-5,17 (m, 1 H), 4,85-4,8 (dd, 1 H, $J = 9,7, 3,0$ Hz), 4,75-4,7 (m, 1 H), 4,6 (s, 2 H), 3,9 (s, 3 H), 3,69-3,65 (d, 1 H, $J = 1,3$ Hz), 3,45-3,38 (dd, 1 H, $J = 13,4, 8,6$ Hz), 3,2-3,0 (m, 3 H),

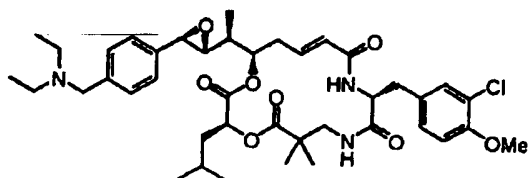
2,92-2,59 (dd, 1 H, $J = 7,6, 1,6$ Hz), 2,6-2,4 (m, 2 H), 1,8-1,6 (m, 3 H), 1,4-1,3 (m, 1 H), 1,22 (s, 3 H), 1,16 (s, 3 H), 1,16-1,13 (d, 3 H, $J = 8,6$ Hz), 0,86-0,82 (t, 6 H, $J = 6,5$ Hz);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,5, 175,1, 170,3, 164,9, 154,0, 141,6, 137,7, 137,1, 130,8, 129,5, 128,9, 125,1, 125,9, 124,6, 122,4, 112,3, 77,2, 75,5, 71,1, 63,1, 55,5, 56,1, 54,4, 46,4, 45,7, 42,7, 40,5, 39,3, 36,8, 35,2, 24,5, 22,8, 22,6, 21,2, 13,5;

IR (CHCl_3) 3416, 3254, 2961, 2933, 2573, 2839, 1752, 1721, 1650, 1655, 1536, 1504, 1473, 1442, 1321, 1302, 1251, 1259, 1192, 1150, 1126, 1066 cm^{-1} ;

Elementární analýza ($\text{C}_{37}\text{H}_{46}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_8$) C, H, N.

Příklad 72



Diethylamin (0,09 ml, 0,84 mmolů) byl přidán do benzylchloridu **36** (0,03 g, 0,042 mmolů) v 0,3 ml THF. Směs byla míchána přes noc při teplotě okolí a reakce byla zastavena nasyceným vodným NaHCO_3 (5 ml). Vodná vrstva byla extrahována CH_2Cl_2 (3 x 5 ml). Sloučené organické vrstvy byly promývány solankou, sušeny nad Na_2O_4 , filtrovány a koncentrovány za sníženého tlaku. Surová žlutá pevná látka byla čištěna radiální PLC (silikagel, 50-70-80%

05.04.99

EtOAC/hexany) a tím se získalo 0,026 gaminu **37** s 82% výtěžkem ve formě bílé pevné látky:

$[\alpha]^{20}_D +25,9^\circ$ (c 0,9, CHCl_3);

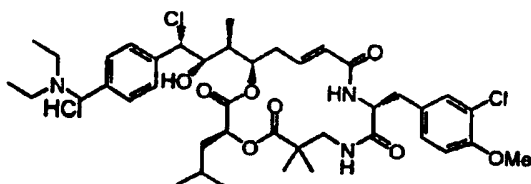
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,35-7,32 (d, 2 H, $J = 7,9$ Hz), 7,25-7,12 (m, 4 H), 7,06- 7,02 (dd, 1H, $J = 8,4, 1,6$ Hz), 6,84-6,82 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 6,82-6,7 (m, 1 H), 5,74-5,69 (d, 1 H, $J = 15,2$ Hz), 5,57-5,55 (d, 1 H, $J = 7,8$ Hz), 5,22-5,17 (m, 1 H), 4,85-4,7 (m, 2 H), 3,86 (s, 3 H), 3,66 (s, 1 H), 3,57 (s, 2 H), 3,46- 3,38 (dd, 1 H, $J = 13,4, 8,7$ Hz), 3,2-3,0 (m, 3 H), 2,93- 2,91 (d, 1 H, $J = 7,4$ Hz), 2,6-2,4 (m, 6 H), 1,8-1,6 (m, 3 H), 1,4-1,3 (m, 1 H), 1,22 (s, 3 H), 1,15 (s, 3 H), 1,15- 1,12 (d, 3 H, $J = 9,2$ Hz), 1,07-1,03 (t, 6 H, $J = 7,1$ Hz), 0,86-0,82 (t, 6 H, $J = 6,3$ Hz);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,9, 170,4, 170,3, 164,9, 154,0, 141,7, 140,1, 135,2, 130,8, 129,6, 129,1, 128,1, 125,4, 124,6, 122,4, 112,3, 77,2, 75,8, 71,1, 62,9, 58,9, 57,1, 56,0, 54,4, 46,6, 46,4, 42,7, 40,6, 39,3, 36,8, 35,2, 24,5, 22,8, 22,6, 21,2, 13,5, 11,5;

IR (CHCl_3) 3424, 2969, 2936, 2874, 1752, 1711, 1682, 1605, 1527, 1503, 1485, 1303, 1259, 1190, 1151, 1067 cm^{-1} ;

Elementární analýza ($\text{C}_{41}\text{H}_{56}\text{ClN}_3\text{O}_8$) C, H, N.

Příklad 73



Do roztoku epoxidu **37** (0,05 g, 0,066 mmolů) v 0,8 ml CHCl_3 o teplotě $-66\text{ }^\circ\text{C}$ byl přidán po kapkách 4 M roztok HCl v 1,4-dioxanu (0,04 ml, 0,166 ml). Směs byla míchána při teplotě $-66\text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 10 minut po které byla lázeň suchého ledu odstraněna a roztok byl ponechán zahřát se pomalu na teplotu okolí. Rozpouštědla byla odstraněna za sníženého tlaku a výsledná sůl byla umístěna do vysokého vakua po dobu 3 dnů pro odstranění residuálního dioxanu a tím se získalo 0,054 g požadovaného chlorhydrinu **38** výhradně s kvantitativním výtěžkem:

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} +29,3^\circ$ (c 1,0, MeOH);

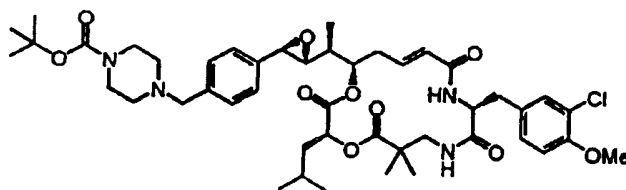
^1H NMR (300 MHz, MeOD) δ 8,5-8,47 (d, 1 H, $J = 7,5\text{ Hz}$), 7,79-7,76 (d, 1 H, $J = 8,8\text{ Hz}$), 7,53 (s, 4 H), 7,26-7,25 (d, 1 H, $J = 1,6\text{ Hz}$), 7,17-7,14 (dd, 1 H, $J = 8,6, 1,6\text{ Hz}$), 6,97-6,94 (d, 1 H, $J = 8,4\text{ Hz}$), 6,75-6,6 (m, 1 H), 5,96-5,90 (d, 1 H, $J = 15,3\text{ Hz}$), 5,2-5,0 (m, 2 H), 4,85-4,82 (d, 1 H, $J = 8,9\text{ Hz}$), 4,5-4,4 (m, 1 H), 4,33 (s, 2 H), 4,02-3,95 (d, 1 H, $J = 9,3\text{ Hz}$), 3,8 (s, 3 H), 3,49-3,42 (dd, 1 H, $J = 13,3, 9,9\text{ Hz}$), 3,2-3,0 (m, 6 H), 2,8-2,6 (m, 2 H), 2,5-2,2 (m, 2 H), 1,8-1,5 (m, 3 H), 1,34-1,3 (m, 7 H), 1,2 (s, 3 H), 1,15 (s, 3 H), 1,01-0,99 (d, 3 H, $J = 7,2\text{ Hz}$), 0,98-0,94 (t, 6 H, $J = 5,4\text{ Hz}$);

05.04.99

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) 5178,9, 173,8, 171,8, 168,3, 155,4, 144,1, 143,4, 132,3, 132,2, 131,5, 131,1, 130,4, 129,4, 125,2, 123,3, 113,5, 77,2, 74,8, 72,6, 63,2, 57,6, 56,7, 56,66, 48,0, 47,5, 44,1, 41,1, 40,4, 37,8, 36,5, 26,2, 23,6, 23,4, 22,2, 9,07, 9,0;

IR (KBT) 3414, 2960, 2934, 1751, 1721, 1671, 1521, 1504, 1463, 1443, 1259, 1197, 1155, 1127, 1065 cm^{-1} .

Příklad 74



Epoxid (uvedený výše) (0,147 g) byl připraven s 81% výtěžkem, postupem podle způsobu popsaného výše, z benzylchloridu **36** (0,15 g, 0,21 mmolů) a N-(terc.-butoxykarbonyl)piperazinu (0,195 g, 1,05 mmolů):

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} +25,4^\circ$ (c 0,65, CHCl_3);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,37-7,23 (m, S H), 7,11-7,08 (d, 1 H, $J = 8,6$ Hz), 6,9-6,87 (d, 1 H, $J = 8,5$ Hz), 6,85-5,72 (m, 1 H), 5,75-5,73 (d, 1 H, $J = 15,2$ Hz), 5,53-5,5 (d, 1 H, $J = 7,7$ Hz), 5,28-5,23 (m, 1 H), 4,88-4,70 (m, 2 H), 3,9 (s, 3 H), 3,7 (s, 2 H), 3,54 (s, 2 H), 3,5-3,4 (m, 5 H), 3,2-3,05 (m, 3 H), 3,0-2,95 (d, 1 H, $J = 7,4$ Hz), 2,65-2,4 (m, 6 H), 1,85-1,6 (m, 3 H), 1,5 (s, 9 H), 1,45-1,4 (m, 1H), 1,27 (s, 3H), 1,2 (s, 3H), 1,2-1,18 (d, 3 H, $J = 8,3$ Hz), 0,91-0,87 (t, 6 H, $J = 6,1$ Hz));

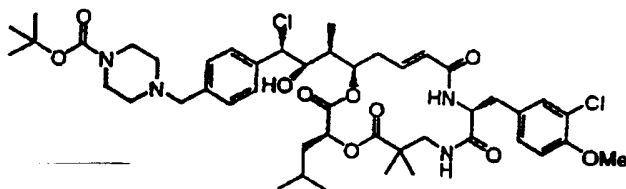
06.04.99

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,9, 170,3, 170,26, 164,9, 154,7, 154,0, 141,7, 138,4, 135,6, 130,8, 129,5, 129,3, 128,1, 125,5, 124,6, 122,4, 112,3, 79,5, 77,2, 75,5, 71,1, 62,9, 62,6, 58,8, 56,1, 54,4, 52,8, 46,3, 42,7, 40,6, 39,3, 36,7, 35,2, 28,3, 24,5, 22,8, 22,6, 21,2, 13,4;

IR (CHCl_3) 3425, 3008, 2965, 2937, 2874, 2817, 1752, 1709, 1683, 1527, 1484, 1463, 1459, 1427, 1367, 1259, 1167, 1150 cm^{-1} ;

FAB HRMS [M - BOC] vypočteno pro ($\text{C}_{46}\text{H}_{64}\text{ClN}_4\text{O}_{10}$) 857,4311, nalezeno 867,4300.

Příklad 75



Do roztoku epoxidu (uvedeného výše) (0,135 g, 0,156 mmolů) v 3,0 ml CHCl_3 o teplotě -66°C byl přidán po kapkách trimethylsilylchlorid (0,16 ml, 1,2 ml). Směs byla míchána při teplotě -66°C po dobu 2 hodin a byl přidán další TMSCl (0,16 ml, 1,2 ml). Po uplynutí další 1 hodiny při teplotě -66°C ledová lázeň byla odstraněna a roztok byl ponechán pomalu se zahřát na teplotu okolí. Rozpouštědla byla odstraněna za sníženého tlaku a výsledná pevná látka byla čištěna radiální PLC (silikagel, 2-5% $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$) a tím se získalo 0,13 g chlorhydrinu (uvedeného výše) s 92% výtěžkem: $[\alpha]_D^{20} +50,0^\circ$ (c 1,0, CHCl_3);

06.04.99

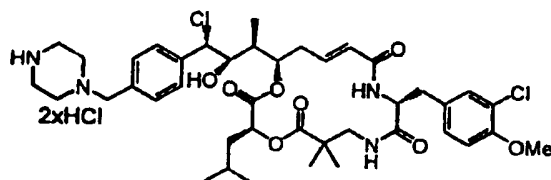
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,34 (s, 4 H), 7,21-7,2 (d, 2 H, J = 1,4 Hz), 7,08-7,05 (dd, 1 H, T = 8,6, 1,6 Hz), 6,86-6,83 (d, 1 H, J = 8,4 Hz), 6,82-6,7 (m, 1 H), 5,8-5,75 (d, 1 H, T = 15,1 Hz), 5,65-5,62 (d, 1 H, J = 7,8 Hz), 5,2-5,1 (m, 1 H), 5,0-4,7 (m, 2 H), 4,66-4,63 (d, 1 H, J = 9,7 Hz), 4,02-4,0 (d, 1 H, J = 9,6 Hz), 3,88 (s, 3 H), 3,49-3,48 (d, 2 H, T = 4,2 Hz), 3,45-3,3 (m, 5 H), 3,2-3,0 (m, 3 H), 2,7-2,3 (m, 7 H), 1,8-1,6 (m, 3 H), 1,45 (s, 10 H), 1,23 (s, 3 H), 1,17 (s, 3 H), 1,04-1,02 (d, 3 H, J = 6,9 Hz), 0,93-0,91 (d, 6 H, J = 6,3 Hz);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,5, 170,5, 170,2, 165,2, 154,6, 153,9, 142,3, 139,1, 137,3, 130,8, 129,8, 129,5, 128,1, 127,9, 124,5, 122,3, 112,2, 79,5, 76,0, 73,9, 71,1, 62,4, 61,9, 56,1, 54,5, 52,8, 46,4, 42,7, 39,6, 38,4, 36,4, 35,2, 28,3, 24,7, 23,0, 22,9, 22,7, 21,5, 8,6;

IR (CHCl_3) 3424, 3007, 2966, 2936, 2872, 2820, 1751, 1712, 1682, 1528, 1504, 1483, 1426, 1367, 1259, 1168, 1150, 1127, 1067, 1006 cm^{-1} ;

Elementární analýza ($\text{C}_{46}\text{H}_{64}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_{10}$) C, H, N.

Příklad 76



Dihydrochloridové soli (0,116 g) BOC chráněného piperazinu

(0,122 g, 0,13 mmolů) byly připraveny s kvantitativním výtěžkem způsobem, který byl popsán výše, použitím 4 M HCl v 1,4-dioxanu (0,32 ml, 1,3 mmolů):

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} +26,3^{\circ}$ (c 0,7, MeOH);

^1H NMR (300 MHz, MeOD) δ 8,47- 8,45 (d, 1 H, $J = 7,5$ Hz), 7,78-7,75 (d, 1 H, $J = 9,2$ Hz), 7,6-7,52 (q, 4 H, $J = 16,9$, 7,9 Hz), 7,27-7,26 (d, 1 H, $J = 1,15$ Hz), 7,18-7,14 (dd, 1 H, $J = 8,6$, 1,8 Hz), 6,98-6,95 (d, 1 H, $J = 8,4$ Hz), 6,75-6,6 (m, 1 H), 5,95-5,9 (d, 1 H, $J = 15,4$ Hz), 5,2-5,0 (n, 2 H), 4,85-4,82 (d, 1 H, $J = 9,9$ Hz), 4,5-4,4 (m, 1 H), 4,4 (s, 2 H), 4,0-3,98 (d, 1 H, $J = 9,3$ Hz), 3,8 (s, 3 H), 3,6-3,4 (m, 9 H), 3,32-3,29 (d, 1 H, $J = 11,3$ Hz), 3,19-3,13 (dd, 1 H, $J = 14,8$, 3,5 Hz), 3,1- 3,06 (d, 1 H, $J = 13,7$ Hz), 2,8-2,6 (m, 2 H), 2,5-2,3 (m, 2 H), 1,85-1,5 (m, 3 H), 1,3-1,2 (m, 1 H), 1,2 (s, 3 H), 1,15 (s, 3 H), 1,02-0,95 (q, 9 H, $J = 13,4$, 6,3 Hz);

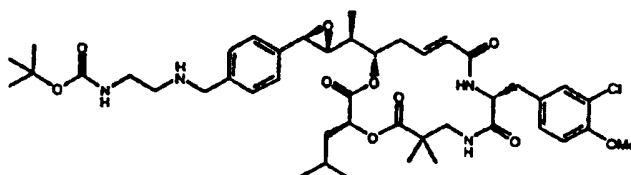
^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) 6175,8, 173,7, 171,9, 168,3, 155,4, 144,2, 143,7, 132,8, 132,2, 131,5, 130,4, 129,9, 129,4, 125,2, 123,3, 113,5, 77,2, 74,8, 72,6, 63,1, 61,2, 57,6, 56,7, 49,2, 47,5, 44,1, 42,1, 41,1, 40,3, 37,8, 36,5, 26,3, 23,7, 23,4, 22,2, 9,0;

IR (KBr) 3415, 2960, 2933, 2455, 1749, 1721, 1671, 1504, 1475, 1442, 1304, 1258, 1197, 1152, 1126, 1065, 1012 cm^{-1} ;

FAB HRMS $[\text{M} - \text{HCl}_2]$ vypočteno pro $(\text{C}_{41}\text{H}_{57}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_8)$ 803,3553, nalezeno 803,3563.

05.04.99

Příklad 77



Epoxid (uvedený výše) (0,15 g) byl připraven s 78% výtěžkem postupem podle způsobu popsaného výše, z benzylchloridu **36** (0,16 g, 0,22 mmolů) a terc.-butyl-N-(2-aminoethyl)karbamátu (0,35 g, 2,22 mmolů):

$[\alpha]^{20}_D +22,3^\circ$ (c 1,0, CHCl_3);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,41-7,38 (d, 2 H, $J = 7,8$ Hz), 7,31 (s, 1 H), 7,26-7,24 (d, 3 H, $J = 8,0$ Hz), 7,11-7,08 (dd, 1 H, $J = 8,4, 1,7$ Hz), 6,88-6,86 (d, 1 H, $J = 8,4$ Hz), 6,86-6,72 (m, 1 H), 5,88-5,8 (bs, 1 H), 5,78-5,73 (d, 1 H, $J = 15,2$ Hz), 5,28-5,22 (m, 1 H), 5,2-5,08 (bs, 1 H), 4,95-4,7 (m, 2 H), 3,91 (s, 3 H), 3,87 (s, 2 H), 3,7 (s, 1 H), 3,45-3,38 (dd, 1 H, $J = 13,4, 8,4$ Hz), 3,35-3,0 (m, 5 H), 2,96-2,93 (dd, 1 H, $J = 7,5, 1,2$ Hz), 2,89-2,78 (m, 2 H), 2,65-2,4 (m, 2 H), 1,85-1,65 (m, 3 H), 1,49 (s, 9 H), 1,48-1,3 (m, 1 H), 1,27 (s, 3 H), 1,2 (s, 3 H), 1,19-1,17 (d, 3 H, $J = 7,1$ Hz), 0,91-0,87 (t, 6 H, $J = 6,8$ Hz);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,7, 170,4, 165,0, 156,0, 153,9, 141,5, 139,9, 135,6, 130,7, 129,7, 128,5, 128,1, 125,6, 124,7, 122,3, 112,2, 77,2, 75,7, 71,0, 63,0, 55,8, 56,0, 54,5, 52,9, 48,5, 46,3, 42,7, 40,5, 39,3, 36,8, 35,2, 28,3, 24,5, 22,83, 22,8, 22,6, 21,2, 13,5;

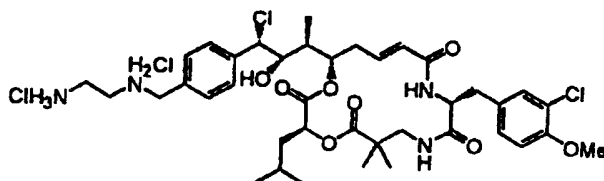
IR (CHCl_3) 3425, 3009, 2967, 2936, 2874, 2841, 1751, 1709,

05.04.99

1685, 1504, 1368, 1280, 1259, 1165, 1153, 1067 cm^{-1} .

Elementární analýza ($\text{C}_{44}\text{H}_{61}\text{ClN}_4\text{O}_{10}$) C, H, N.

Příklad 78



Do roztoku epoxidu (uvedeného výše) (0,065 g, 0,076 mmolů) v 0,9 ml CH_2Cl_2 o teplotě -78°C byl přidán po kapkách 4 M HCl v 1,4-dioxanu (0,09 ml, 0,38 mmolů). Roztok byl míchán při teplotě -78°C po dobu 30 minut a potom byl ponechán to pomalu se zahřát na teplotu okolí. Roztok byl míchán další 2 hodiny při teplotě okolí a byl koncentrován za sníženého tlaku a tím byl získán chlorhydrin (uvedený výše) (0,063 g) s kvantitativním výtěžkem:

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} +16,6^\circ$ (c 1,0, MeOH);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,54- 8,52 (d, 1 H, $J = 7,7$ Hz), 7,84-7,81 (dd, 1 H, $J = e, 8, 1,7$ Hz), 7,63-7,53 (q, 4 H, $J = 20,0, 8,2$ Hz), 7,31-7,3 (d, 1 H, $J = 2,0$ Hz), 7,22-7,18 (dd, 1 H, $J = 8,4, 2,0$ Hz), 7,02-6,99 (d, 1H, $J = 8,5\text{Hz}$), 6,8-6,7 (m, 1H), 6,0-5,92 (d, 1H, $J = 15,0$ Hz), 5,2-5,0 (m, 2 H), 4,9-4,8 (m, 1 H), 4,6-4,4 (m, 1 H), 4,3 (s, 2 H), 4,07-4,03 (dd, 1 H, $J = 9,5, 1,4$ Hz), 3,86 (s, 3 H), 3,6-3,1 (m, 7 H), 2,82-2,7 (m, 2 H), 2,6-2,3 1 1,05-0,99 (m, 9 H);

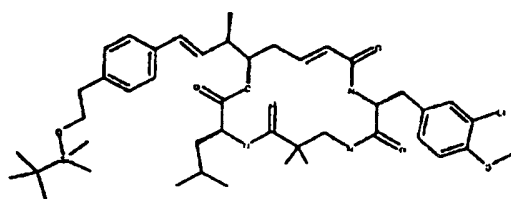
^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 178,8, 173.8, 171,9, 168,3, 155,3, 144,2, 143,1, 132,2, 131,5, 131,4, 130,3, 129,4, 125,2,

123,2, 113,5, 77,2, 74,7, 72,6, 63,2, 57,6, 56,7, 52,4, 47,5, 45,5, 44,1, 41,1, 40,3, 37,8, 36,9, 36,5, 26,3, 23,7, 23,5, 22,2, 9,0;

IR (KBr) 3412, 2961, 2933, 1749, 1721, 1663, 1504, 1462, 1442, 1259, 1199, 1152, 1126, 1065 cm^{-1} ;

FAB HRMS $[M - \text{HCl}_2]$ vypočteno pro $(\text{C}_{39}\text{H}_{55}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_8)$ 777,3397, nalezeno 777,3407.

Příklad 79



Styren (uvedený výše) (1,2 g) jako směs E:Z isomerů byl připraven z aldehydu **18** (1,0 g, 1,73 mmolů) a 4-(ethyl-2-terc.-butyldimethylsiloxy)benzyl-trifenylfosfoniumbromidu (1,23 g, 2,08 mmolů) s 86% výtěžkem postupující způsobem, popsaným výše pro styren **20**. Směs isomerů byla rozpuštěna v toluenu (50 ml) a zahřívána na teplotu zpětného toku v přítomnosti 1,1'-azobis(cyklohexanekarbonitrilu) (VAZO) (0,040 g, 0,16 mmolů) a thiofenolu 10,061 ml, 0,59 mmolů) po dobu 3 hodin. Po koncentraci bylo residuum čištěno radiální PLC (20-75% EtOAc/hexany) a tím se získal E isomer (0,813 g, 68%) ve formě bílé pěny:

$[\alpha]_D^{20} +35,6^\circ$ (c 0,56, MeOH);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,26-7,12 (m, 6 H), 7,07-7,04 (d, 1

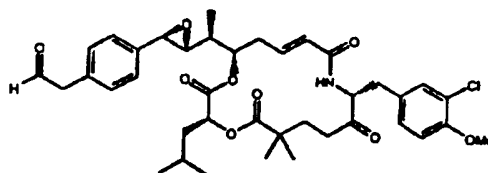
H, $J = 8,5$ Hz), 6,85-6,82 (d, 1 H, $J = 8,4$ Hz), 6,83-6,70 (m, 1 H), 6,40- 6,35 (d, 1 H, $J = 15,8$ Hz), 6,0-5,92 (dd, 1 H, $J = 15,4, 8,7$ Hz), 5,77-5,72 (d, 1 H, $J = 15,2$ Hz), 5,46-5,43 (d, 1 H, $J = 7,7$ Hz), 5,07-5,02 (m, 1 H), 4,56-4,83 (m, 1 H), 4,82-4,74 (m, 1 H), 3,88 (s, 3 H), 3,78-3,74 (t, 2 H, $J = 7,1$ Hz), 3,44-3,37 (dd, 1 H, $J = 12,5, 8,6$ Hz), 3,15-3,08 (m, 3 H), 2,81-2,77 (t, 2 H, $J = 7,1$ Hz), 2,57-2,52 (m, 2 H), 2,43- 2,35 (m, 1 H), 1,74-1,56 (m, 2 H), 1,38-1,23 (m, 1 H), 1,22 (s, 3 H), 1,16 (s, 3 H), 1,13-1,11 (d, 3 H, $J = 6,8$ Hz), 0,88 (s, 9 H), 0,84-0,72 (m, 6 H), 0,0 (s, 6 H);

^{13}C NMR (75MHz, CDCl_3) δ 177,9, 170,5, 170,3, 165,1, 154,0, 142,2, 138,6, 134,6, 131,5, 130,9, 129,6, 129,4, 128,2, 126,0, 125,3, 124,5, 122,5, 112,3, 92,9, 77,0, 71,4, 64,4, 56,1, 54,3, 46,5, 42,7, 42,2, 39,4, 39,2, 36,5, 35,3, 25,9, 24,5, 22,8, 22,7, 22,6, 21,2, 17,2, -5,44;

IR (CHCl_3) 3423, 2959, 2931, 2858, 1747, 1712, 1681, 1605, 1527, 1503, 1485, 1442, 1370, 1339, 1303, 1281, 1258, 1194, 1151, 1095, 1067, 1025, 1007, 838 cm^{-1} ;

Elementární analýza ($\text{C}_{43}\text{H}_{63}\text{ClN}_2\text{O}_8\text{Si}$) C, H, N.

Příklad 80

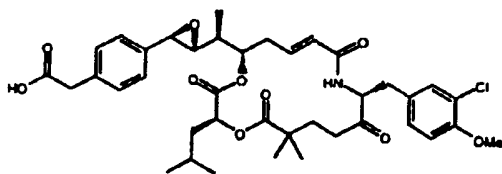


Pyridin (0,06 ml, 0,76 mmolů) následovaný Dess-Martinovým reagentem (0,1619, 0,379 mmolů) byl přidán do roztoku volného alkoholu styrenu (uvedeného výše) (0,135 g, 0,189

mmolů) v 4,5 ml CH_2Cl_2 o teplotě 0 °C. Směs byla míchána po dobu 30 minut při teplotě 0 °C, 20 minut při teplotě okolí a potom byla filtrován a použitím EtOAc přes celit a byla nakonec koncentrována za sníženého tlaku. Rychlé čištění surového produktu radiální PEC (silikagel, 80-100% EtOAc/ CH_2Cl_2) poskytlo požadovaný aldehyd (0,08 g), s 59% výtěžkem ve formě bílé pevné látky:

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) 9,77-9,76 (t, 1 H, $J = 2,0$ Hz), 7,3-7,2 (m, 6 H), 7,06-7,02 (dd, 1H, $J = 8,3, 2,0$ Hz), 6,85-6,82 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,81-6,7 (m, 1 H), 5,74-5,68 (d, 1 H, $J = 15,3$ Hz), 5,51- 5,48 (d, 1 H, $J = 7,8$ Hz), 5,22-5,17 (m, 1 H), 4,85-4,81 (dd, 1 H, $J = 10,3, 3,6$ Hz), 4,77-4,71 (m, 1 H), 3,87 (s, 3 H), 3,72-3,71 (d, 2 H, $J = 2,0$ Hz), 3,69-3,68 (d, 1 H, $J = 1,5$ Hz), 3,45-3,38 (dd, 1 H, $J = 13,5, 8,7$ Hz), 3,17-3,0 (m, 3 H), 2,92-2,89 (dd, 1 H, $J = 7,6, 1,8$ Hz), 2,6-2,4 (m, 2 H), 1,8-1,6 (m, 3 H), 1,4-1,3 (m, 1 H), 1,22 (s, 3 H), 1,16 (s, 3 H), 1,16-1,13 (d, 3 H, $J = 8,3$ Hz), 0,86-0,82 (t, 6 H, $J = 6,3$ Hz).

Příklad 81



Tetrahydrofuran (3,2 ml) a H_2O (3,2 ml) byly přidány do aldehydu (uvedeného výše) (0,08 g, 0,112 mmolů) a směs byla ochlazená na teplotu 0 °C. 2-Methyl-2-buten (3,2 ml),

následovaný NaClO_2 (0,081 g, 0,896 mmolů) a $\text{NaHPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,139 g, 1,0 mmolů) byly také postupně přidány. Směs byla ponechána zahřát se na teplotu okolí a byla intenzívně míchána po dobu 5 hodin. Roztok byl zředěn 10 ml CH_2Cl_2 a vrstvy byly odděleny. Vodná vrstva byla extrahována CH_2Cl_2 (3 x 10 ml) a sloučené organické extrakty byly sušeny nad Na_2SO_4 , filtrovány a koncentrovány za sníženého tlaku. Surový produkt byl čištěn dvakrát radiální PLC (silikagel, 5-10-25% $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$) a tím se získalo 0,03 g karboxylové kyseliny (uvedené výše) s 37% výtěžkem ve formě bílé pevné látky:

$[\alpha]_D^{20} +24,5^\circ$ (c 0,33, MeOH);

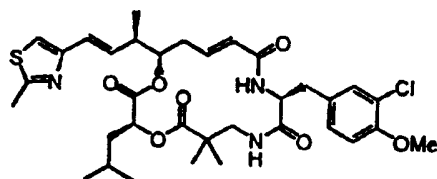
^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7,75-7,71 (dd, 1 H, $J = 10,3, 1,9$ Hz), 7,31-7,2 (m, 5 H), 7,16-7,13 (dd, 1 H, $J = 8,4, 1,9$ Hz), 6,97-6,95 (d, 1 H, $J = 8,4$ Hz), 6,8-6,6 (m, 1 H), 5,87-5,81 (d, 1 H, $J = 15,3$ Hz), 5,19-5,14 (dd, 1 H, $J = 11,0, 5,0$ Hz), 4,9-4,8 (m, 2 H), 4,48-4,43 (dd, 1 H, $J = 11,5, 3,5$ Hz), 3,8 (s, 3 H), 3,77 (s, 1 H), 3,53 (s, 2 H), 3,5-3,4 (m, 1 H), 3,17-3,11 (dd, 1 H, $J = 14,3, 3,5$ Hz), 3,05-3,0 (d, 1 H, $J = 13,6$ Hz), 2,95-2,92 (dd, 1 H, $J = 7,7, 1,7$ Hz), 2,8-2,6 (m, 2 H), 2,5-2,3 (m, 1 H), 1,8-1,6 (m, 3 H), 1,4-1,2 (m, 1 H), 1,17 (s, 3 H), 1,13 (s, 3 H), 1,13-1,1 (d, 3 H, $J = 9,2$ Hz), 0,83-0,81 (d, 6 H, $J = 6,3$ Hz);

^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 178,8, 173,7, 172,0, 168,2, 155,4, 143,4, 138,1, 136,8, 132,2, 131,2, 130,8, 129,3, 126,8, 125,4, 123,3, 113,5, 77,7, 72,4, 64,4, 60,0, 57,5, 56,6, 47,4, 44,1, 41,7, 40,7, 38,6, 36,5, 25,9, 23,4, 23,3, 21,6, 14,0;

IR (KBr) 3417, 2961, 2934, 2874, 1750, 1721, 1674, 1561, 1504, 1464, 1441, 1300, 1259, 1194, 1151, 1066 cm^{-1} ;

FAB HRMS $[\text{M} + \text{H}]$ vypočteno pro $(\text{C}_{38}\text{H}_{48}\text{ClN}_2\text{O}_{10})$ 727,2997, nalezeno 727,3005.

Příklad 82



Do směsi [(2-methyl-4-thiazolyl)ethyl]trifenylfosfonium-chloridu (0,496 g, 1,2 mmolů) v 10 ml THF při teplotě -78°C byl přidán po kapkách 1,6 M roztok n-butyllithia (0,8 ml, 1,2 mmolů). Směs byla zahřáta pomalu na teplotu okolí a míchána po dobu dalších 45 minut. Do aldehydu **18** (0,5 g, 0,865 mmolů) v 15 ml THF byl při teplotě -78°C přidán po kapkách oranžový ylidový roztok prostřednictvím dvojité jehly. Výsledná směs byla míchána při teplotě -78°C po dobu 2 hodin a při teplotě okolí po dobu 1,5 hodiny. Nasycený NH_4Cl (30 ml) byl přidán spolu s ethylacetátem (30 ml), vrstvy byly odděleny a vodná vrstva byla extrahována ethylacetátem (2 x 20 ml). Sloučené organické vrstvy byly promývány vodou (2 x 20 ml) a solankou, sušeny nad MgSO_4 , filtrovány a koncentrovány za sníženého tlaku. Výsledné žluté residuum bylo čištěno použitím sloupcové chromatografie (silikagel, 50-70-80% EtOAc/hexany) a tím se získalo 0,4 g požadovaného styrenu spolu s trifenylfosfinoxidem. Trifenylfosfinoxid byl snadno odstraněn chromatografií HPLC s obrácenou fází použitím $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (50:50) a tím se získalo 0,2 g (34%) čistého thiazolu (uvedeného výše) ve formě bílé pevné látky:

05.04.99

$[\alpha]^{20}_D +16,7^\circ$ (c 1,0, CHCl_3);

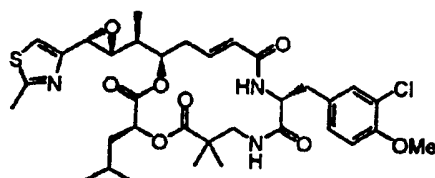
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,3-7,2 (m, 1 H), 7,18-7,17 (d, 1 H, $J = 1,7$ Hz), 7,06-7,03 (dd, 1 H, $J = 8,5, 1,8$ Hz), 6,83 (s, 1 H), 6,83- 6,8 (d, 1 H, $J = 9,0$ Hz), 6,8-6,67 (m, 1 H), 6,37-6,35 (m, 2 H), 5,85-5,82 (d, 1 H, $J = 7,9$ Hz), 5,76-5,71 (d, 1 H, $J = 15,1$ Hz), 5,05-5,0 (dd, 1 H, $J = 9,0, 6,0$ Hz), 4,86-4,82 (dd, 1 H, $J = 10,2, 3,6$ Hz), 4,77-4,68 (m, 1 H), 3,85 (s, 3 H), 3,44-3,37 (dd, 1 H, $J = 13,4, 8,6$ Hz), 3,2-3,0 (m, 3 H), 2,68 (s, 3 H), 2,6-2,3 (m, 3 H), 1,8-1,6 (m, 2 H), 1,43-1,3 (m, 1H), 1,2 (s, 3 H), 1,14 (s, 3 H), 1,12-1,1 (d, 3 H, $J = 6,9$ Hz), 0,79-0,78 (d, 3 H, $J = 3,1$ Hz), 0,77-0,76 (d, 3 H, $J = 3,1$ Hz).

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,8, 170,5, 166,0, 165,2, 153,9, 153,0, 142,1, 136,7, 132,7, 130,8, 129,8, 128,1, 124,6, 124,4, 122,3, 114,1, 112,2, 76,9, 71,4, 56,0, 54,4, 46,4, 42,7, 41,9, 39,3, 36,5, 35,3, 24,5, 22,8, 22,7, 22,6, 21,2, 19,2, 17,1;

IR (CHCl_3) 3423, 3027, 3008, 2965, 2935, 2874, 1747, 1712, 1681, 1652, 1604, 1528, 1504, 1485, 1259, 1181, 1152, 1067 cm^{-1}

Elementární analýza ($\text{C}_{34}\text{H}_{44} \text{ClN}_3\text{O}_7\text{S}$) C, H, N.

Příklad 83



Do styrenu (uvedeného výše) (0,25 g, 0,37 mmolů) bylo přidáno 15 ml acetonu, 6 ml H₂O, 6 ml CH₂Cl₂ a pevný NaHCO₃ (1,0 g, 11,9 mmolů) a směs byla ochlazená na teplotu 0 °C. Roztok Oxonu (0,92 g, 1,5 mmolů) v 8 ml H₂O byl připraven a přidán (2 ml) do studené styrenové směsi. Po uplynutí 30 minut intenzivního míchání při teplotě 0 °C byly přidány další 2 ml roztoku Oxonu a pak další 2,0 ml po dalších 30 minut, celkově 6 ml roztoku Oxonu. Postup reakce byl monitorován chromatografií HPLC s obrácenou fází a bylo zjištěno, že reakce byla ukončena po 2,0 hodinách míchání. Zatímco teplota byla stále 0 °C, reakce byla ukončena nasyceným vodným NaHCO₃ (40 ml) a 40 ml CH₂Cl₂. Vrstvy byly odděleny a organická vrstva byla promývána vodným 10% Na₂SO₄ (40 ml), následovaným nasyceným vodným NaHCO₃ (40 ml), potom solankou a nakonec byla sušena nad Na₂SO₄, filtrována a koncentrována za sníženého tlaku. Směs b a a epoxidů (54:46) byla separována chromatografií HPLC s obrácenou fází (50:50) CH₃CN;H₂O a tím se získalo 0,09 g b epoxidu (uvedeného výše) ve formě bílé pevné látky s 35% výtěžkem:

$[\alpha]^{20}_D +26,0^\circ$ (c 1,0, CHCl₃);

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,19-7,18 (d, 2 H, J = 1,8 Hz), 7,1 (s, 1 H), 7,06-7,03 (dd, 1 H, J = 8,5, 1,9 Hz), 6,85-6,82 (d, 1 H, J = 8,4 Hz), 6,82-6,7 (m, 1 H), 5,76-5,71 (d, 1 H,

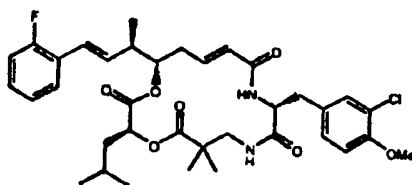
$J = 15,2$ Hz), 5,49-5,47 (d, 1 H, $J = 7,8$ Hz), 5,23-5,18 (m, 1 H), 4,88-4,84 (dd, 1 H, $J = 10,3, 3,6$ Hz), 4,8-4,7 (m, 1 H), 3,88 (s, 3 H), 3,79 (d, 1 H, $J = 0,93$ Hz), 3,45-3,38 (dd, 1 H, $J = 13,4, 8,6$ Hz), 3,35-3,32 (d, 1 H, $J = 7,2$ Hz), 3,2-3,0 (m, 3 H), 2,7 (s, 3 H), 2,6-2,4 (m, 2 H), 1,8-1,6 1,14-1,12 (d, 3 H, $J = 6,8$ Hz), 0,89-0,87 (d, 3 H, $J = 6,5$ Hz), 0,86-0,84 (d, 3 H, $J = 6,4$ Hz);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,9, 170,33, 170,3, 166,9, 165,0, 154,0, 151,9, 141,8, 130,8, 129,5, 128,2, 124,5, 122,4, 116,4, 112,3, 75,8, 71,1, 61,3, 56,1, 55,2, 54,3, 46,4, 42,7, 40,3, 39,3, 36,6, 35,2, 24,5, 22,85, 22,8, 22,6, 21,2, 19,1, 13,3;

IR (CHCl_3) 3425, 3007, 2964, 2936, 2874, 2841, 1751, 1711, 1682, 1604, 1528, 1503, 1485, 1464, 1303, 1259, 1185, 1152, 1067 cm^{-1}

Elementární analýza ($\text{C}_{34}\text{H}_{44}\text{ClN}_3\text{O}_8\text{S}$) C. H, N.

Příklad 84



Styren (uvedený výše) (0,5 g) byl připraven z aldehydu **18** (1,3 g, 2,2 mmolů) a 2-fluorbenzyltrifenylfosfoniumbromidu (1,7 g, 3,8 mmolů) s 33% výtěžkem postupující způsobem, popsaným výše pro styren **20**;

$[\alpha]^{20}_D +17,0^\circ$ (c 1,16, CHCl_3);

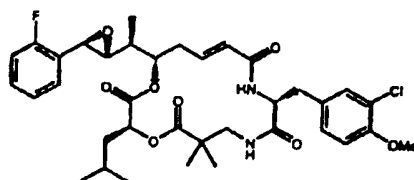
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,40-1,34 (m, 1 H), 7,23-6,96 (m, 6 H), 6,83-6,80 (d, 1 H, $J = 8,4$ Hz), 6,78-6,70 (m, 1 H), 6,57-6,52 (d, 1 H, $J = 16,0$ Hz), 6,10-6,02 (dd, 1 H, $J = 8,8, 16,0$ Hz), 5,76- 5,71 (d, 1 H, $J = 15,3$ Hz) s, 5,50-5,47 (d, 1 H, $J = 7,8$ Hz), 5,05-4,95 (m, 1 H), 4,85-4,80 (dd, 1 H, $J = 9,6, 3,1$ Hz), 4,75-4,69 (m, 1 H), 3,85 (s, 3 H), 3,42-3,34 (dd, 1 H, $J = 13,5, 8,7$ Hz), 3,13-3,05 (m, 3 H), 2,56-2,51 (m, 2 H), 2,37- 2,33 (m, 1 H), 1,68-1,58 (m, 2 H), 1,34-1,23 (m, 1 H), 1,20 (s, 3 H), 1,13 (s, 3 H), 1,13-1,11 (d, 3 H, $J = 7,3$ Hz), 0.79-0.70 (m, 6 H);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,9, 170,5, 170,4, 165,1, 154,0, 142,0, 131,4, 133,0, 132,9, 130,8, 129,6, 128,8, 128,2, 127,0, 126,9, 124,6, 124,1, 115,9, 115,5, 112,3, 76,9, 71,4, 56,1, 54,4, 46,4, 42,7, 42,6, 39,4, 36,5, 35,3, 24,5, 22,8, 22,7, 22,6, 21,1, 17,2;

IR (CHCl_3) 3423, 2965, 2935, 2874, 1747, 1711, 1681, 1605, 1527, 1503, 1487, 1457, 1441, 1370, 1340, 1321, 1280, 1259, 1151, 1093, 1067, 1009, 970 cm^{-1} ;

Elementární analýza ($\text{C}_{36}\text{H}_{44}\text{ClFN}_2\text{O}_7$) C, H, N.

Příklad 85



Do roztoku styrenu (uvedeného výše) (0,26 g, 0,387 mmolů) v 1,3 ml CH_2Cl_2 při teplotě 0 °C byla přidána 3-chlorperoxybenzoová kyselina (0,07 g, 0,41 mmolů) a toluen (0,65 ml) a míchání pokračovalo při teplotě 0 °C po dobu 30 minut. Ledová lázeň byla odstraněna a reakční směs byla ponechána za míchání při teplotě okolí po dobu 24 hodin. Po koncentraci residuum bylo čištěno chromatografií HPLC s obrácenou fází ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$) a tím se získal b-epoxid (uvedený výše) ve formě bílé pěny (0,058 g, 24% přepočteno pro získaný styren):

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} +18,98^\circ$ (c 1,41, CHCl_3);

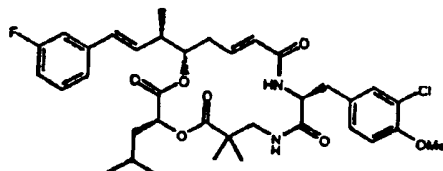
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,30-7,00 (m, 6 H), 6,86-6,83 (d, 1 H, $J = 8,5$ Hz), 6,80-6,75 (m, 1 H), 5,76-5,71 (d, 1 H, $J = 15,1$ Hz), 5,47-5,45 (d, 1 H, $J = 7,8$ Hz), 5,23-5,20 (m, 1 H), 4,86-4,82 (dd, 1 H, $J = 10,3, 3,5$ Hz), 4,78-4,70 (m, 1 H), 4,01 (s, 1 H), 3,88 (s, 3 H), 3,45-3,38 (dd, 1 H, $J = 13,4, 8,6$ Hz), 3,12-3,08 (m, 3 H), 2,91-2,88 (d, 1 H, $J = 7,8$ Hz), 2,59-2,53 (m, 2 H), 1,80-1,71 (m, 3 H), 1,46-1,25 (m, 1 H), 1,23 (s, 3 H), 1,16 (s, 3 H), 1,16-1,14 (d, 3 H, $J = 7,2$ Hz), 0,87-0,83 (m, 6 H);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 178,1, 170,5, 170,3, 165,0, 142,0, 131,0, 129,7, 129,6, 128,3, 126,1, 126,08, 124,65, 124,5, 122,6, 115,5, 115,2, 112,4, 76,0, 71,2, 62,6, 56,2, 54,4, 53,5, 46,5, 42,8, 40,6, 39,4, 36,9, 35,3, 24,7, 22,9, 22,8, 21,3, 13,8;

IR (CHCl_3) 3417, 2962, 2948, 1754, 1721, 1681, 1653, 1534, 1504, 1473, 1459, 1441, 1303, 1282, 1258, 1191, 1148, 1127, 1066 cm^{-1} ;

FAB HRMS $[\text{M} + \text{H}]$ vypočteno pro ($\text{C}_{36}\text{H}_{45}\text{ClFN}_2\text{O}_8$) 687,2848, nalezeno 687,2857.

Příklad 86



Styren (uvedený výše) (0,85 g), ve formě E/Z směsi, byl připraven z aldehydu **18** (2,0 g, 3,45 mmolů) a 3-fluorbenzyltrifenylfosfonium bromidu (1,92 g, 4,25 mmolů) s 37% výtěžkem postupující způsobem, popsaným výše pro styren **20**. Směs isomerů byla rozpuštěna v benzenu (25 ml) a zahřívána na teplotu zpětného toku v přítomnosti 1,1'-azobis(cyklohexanekarbonitrilu) (VAZO) (0,04 g, 0,16 mmolů) a thiofenolu (0,06 ml, 0,58 mmolů) po dobu 20 hodin. Po koncentraci residuum bylo čištěno radiální PLC (20-100% EtOAc/hexany) a tím se získal E isomer (0,652 g, 77%) ve formě bílé pěny:

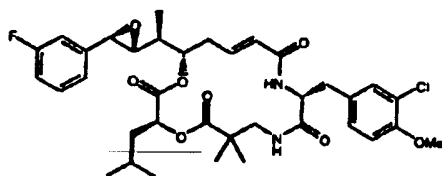
$[\alpha]_D^{20} +30,55^\circ$ (c 0,98, CHCl_3);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,30-7,01 (m, 8 H), 6,95-6,88 (n, 1 H), 6,86-6,83 (d, 1 H, $J = 8,5$ Hz), 6,81-6,72 (m, 1 H), 6,40- 6,35 (d, 1 H, $J = 15,9$ Hz), 6,07-5,99 (dd, 1 H, $J = 8,8, 15,9$ Hz), 5,78-5,73 (d, 1 H, $J = 15,1$ Hz), 5,50-5,47 (d, 1 H, $J = 7,9$ Hz), 5,08-5,02 (dd, 1 H, $J = 9,7, 6,7$ Hz), 4,87- 4,82 (dd, 1 H, $J = 9,7, 3,0$ Hz), 4,78-4,71 (m, 1 H), 3,88 (s, 3 H), 3,45-3,37 (dd, 1 H, $J = 13,5, 8,6$ Hz), 3,15-3,08 (m, 3 H), 2,59-2,52 (m, 2 H), 2,43-2,34 (m, 1 H), 1,72-1,63 (m, 2 H), 1,36-1,26 (m, 1 H), 1,22 (s, 3 H), 1,16 (s, 3

05.04.99

H), 1,15-1,12 (d, 3 H, $J = 6,9$ Hz), 0,80-0,73 (m, 6 H);
 ^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) 6177,8, 170,5, 170,4, 165,1, 165,0, 153,9, 141,9, 137,3, 131,7, 130,8, 130,6, 130,0, 129,6, 128,1, 124,6, 122,4, 114,4, 114,1, 112,6, 112,2, 76,8, 71,3, 56,0, 54,4, 46,4, 42,7, 42,1, 39,5, 36,5, 35,2, 24,5, 22,8, 22,64, 22,6, 21,2, 17,2;
 IR (CHCl_3) 3423, 3008, 2965, 2936, 2874, 1747, 1712, 1680, 1652, 1585, 1528, 1503, 1486, 1464, 1442, 1320, 1303, 1259, 1193, 1147, 1127, 1067, 913 cm^{-1} ;
 Elementární analýza ($\text{C}_{36}\text{H}_{44}\text{ClFN}_2\text{O}_7$) C, H, N.

Příklad 87



Do roztoku výše uvedeného styrenu (0,622 g, 0,927 mmolů) v 3,0 ml CH_2Cl_2 o teplotě 0 °C byla přidána 3-chlorperoxybenzoová kyselina (0,170 g, 0,985 mmolů) a toluen (1,5 ml) a míchání pokračovalo při teplotě 0 °C po dobu 30 minut. Ledová lázeň byla odstraněna a reakční směs byla ponechána za míchání při teplotě okolí po dobu 22 hodin. Po koncentraci residuum bylo čištěno chromatografií HPLC s obrácenými fázemi ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$) a tím se získal b-epoxid (uvedený výše) ve formě žluté pěny (0,067 g, 11 %):
 $[\alpha]_D^{20} +26,23^\circ$ (c 1,54, CHCl_3);

05.04.99

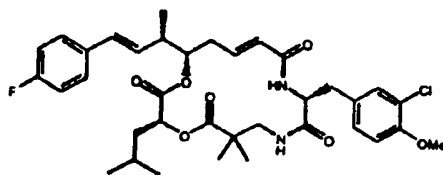
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,37-6,92 (m, 7 H), 6,86-6,83 (d, 1 H, $J = 8,4$ Hz), 6,82-6,73 (m, 1 H), 5,75-5,70 (d, 1 H, $J = 15,5$ Hz), 5,48-5,45 (d, 1 H, $J = 7,8$ Hz), 5,22-5,17 (m, 1 H), 4,85-4,81 (dd, 1 H, $J = 3,1, 9,8$ Hz), 4,76-4,70 (m, 1 H), 3,88 (s, 3 H), 3,68-3,67 (d, 1 H, $J = 0,89$ Hz), 3,46-3,38 (dd, 1 H, $J = 8,6, 13,5$ Hz), 3,13-3,07 (m, 3 H), 2,90-2,87 (dd, 1 H, $J = 1,5, 7,4$ Hz), 2,60-2,37 (m, 2 H), 1,82-1,64 (m, 3 H), 1,36-1,25 (m, 1 H), 1,22 (s, 3 H), 1,16 (s, 3 H), 1,15-1,12 (d, 3 H, $J = 6,9$ Hz), 0,88-0,83 (n, 6 H);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) 5177,9, 170,4, 165,0, 154,0, 141,6, 139,5, 130,8, 130,4, 130,2, 129,6, 128,2, 124,7, 122,4, 121,3, 115,6, 115,3, 112,3, 112,2, 75,8, 71,1, 63,2, 58,2, 56,1, 54,5, 46,4, 42,8, 40,4, 39,4, 36,8, 35,3, 24,5, 22,85, 22,82, 22,7, 21,2, 13,4;

IR (KBr) 3416, 3034, 2963, 2934, 2874, 1751, 1721, 1680, 1658, 1539, 1504, 1473, 1442, 1304, 1280, 1258, 1192, 1144, 1066 cm^{-1}

Elementární analýza ($\text{C}_{36}\text{H}_{44}\text{ClFN}_2\text{O}_8$) C, H, N.

Příklad 88



Styren (uvedený výše) (1,24 g), ve formě E:Z směsi, byl připraven z aldehydu **18** (1,5 g, 2,6 mmolů) a 4-

05.04.99

fluorbenzyltrifenylfosfoniumbromidu (1,4 g, 3,1 mmolů) s 71% výtěžkem postupující způsobem, popsáným výše pro styren 20. Směs isomerů byla rozpuštěna v benzenu (40 ml) a zahřívána na teplotu zpětného toku v přítomnosti 1,1'-azobis(cyklohexanekarbonitrilu) (VAZO) (0,050 g, 0,20 mmolů) a thiofenolu (0,076 ml, 0,74 mmolů) po dobu 24 hodin. Po koncentraci residuum bylo čištěno radiální PLC (20-100% EtOAc/hexany) a tím se získal E isomer (1,06 g) ve formě bílé pěny obsahující trifenylfosfineoxid podle NMR. 0,150 g vzorek byl čištěn chromatografií HPLC s obrácenými fázemi (60:40) CH₃CN:H₂O a tím se získalo 0,092 g čisté pevné látky: $[\alpha]_D^{20} +27,49^\circ$ (c 1,05, CHCl₃);

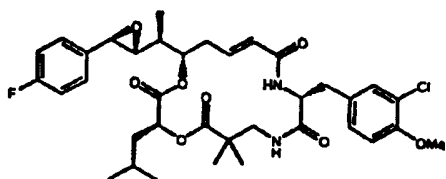
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,31-6,96 (m, 7 H), 6,85-6,83 (d, 1 H, J = 8,5 Hz), 6,81-6,74 (m, 1 H), 6,39-6,34 (d, 1 H, J = 15,8 Hz), 5,96-5,88 (dd, 1 H, J = 8,8, 15,8 Hz), 5,77- 5,72 (d, 1 H, J = 15,2 Hz), 5,49-5,47 (d, 1 H, J = 7,7 Hz), 5,07-5,02 (m, 1 H), 4,86-4,83 (dd, 1 H, J = 9,2, 2,5 Hz), 4,82-4,73 (m, 1 H), 3,87 (s, 3 H), 3,45-3,38 (dd, 1 H, J = 13,4, 8,5 Hz), 3,14-3,08 (m, 3 H), 2,57-2,52 (m, 2 H), 2,43- 2,34 (m, 1 H), 1,71-1,58 (m, 2 H), 1,36-1,29 (m, 1 H), 1,22 (s, 3 H), 1,16 (s, 3 H), 1,14-1,11 (d, 3 H, J = 6,9 Hz), 0,78-0,73 (m, 6 H);

¹³C NMR (63 MHz, CDCl₃) δ 177,8, 170,5, 170,3, 165,1, 160,2, 154,0, 142,0, 137,6, 132,9, 132,8, 130,8, 130,4, 130,0, 129,6, 128,2, 127,6, 127,5, 124,6, 122,4, 115,6, 115,2, 112,2, 71,3, 56,0, 54,4, 46,4, 42,7, 42,1, 39,5, 36,4, 35,2, 24,5, 22,8, 22,6, 21,2, 17,2;

IR (KBr) 3421, 3289, 2862, 2933, 1751, 1722, 1678, 1604, 1534, 1509, 1259, 1228, 1149, 1066, 1024, 1011, 971, 815 cm⁻¹
Elementární analýza (C₃₆H₄₄ClFN₂O₇) C, H, N.

05.04.99

Příklad 89



Do roztoku styrenu (uvedeného výše) (0,906 g, 1,35 mmolů) v 4,5 ml CH_2Cl_2 při teplotě 0 °C byla přidána 3-chlorperoxybenzoová kyselina (0,25 g, 1,45 mmolů) a toluen (2,2 ml) a míchání pokračovalo při teplotě 0 °C po dobu 30 minut. Ledová lázeň byla odstraněna a reakční směs byla ponechána za míchání při teplotě okolí po dobu 23 hodin. Po zředění 20 ml CH_2Cl_2 reakční směs byla promývána 10% Na_2SO_4 (1 x 10 ml), vodou (1 x 10 ml), nasyceným NaHCO_3 (1 x 10 ml) a solankou (1 x 10 ml) a nakonec byla sušena nad Na_2SO_4 . Filtrace a koncentrace daly 0,814 g produktu jako směsi b/a epoxidů. 0,23 g část byla čištěna chromatografií HPLC s obrácenými fázemi ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$) a tím se získalo 0,073 g b-epoxidu (uvedeného výše) ve formě bílé pěny:

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} +25,6$ (c 0,626, CHCl_3);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,26-7,03 (m, 7 H), 6,85-6,83 (d, 1 H, $J = 8,4$ Hz), 6,82-6,72 (m, 1 H), 5,74-5,69 (d, 1 H, $J = 15,2$ Hz), 5,44-5,42 (d, 1 H, $J = 7$ g Hz), 5,23-5,18 (m, 1 H), 4,85-4,81 (dd, 1 H, $J = 9,7, 2,9$ Hz), 4,77-4,73 (m, 1 H), 3,88 (s, 3 H), 3,66 (s, 1 H), 3,46-3,39 (dd, 1 H, $J = 13,5, 8,8$ Hz), 3,12-3,07 (m, 3 H), 2,89- 2,87 (dd, 1 H, $J = 1,5, 7,7$ Hz), 2,60-2,54 (m, 1 H), 2,49- 2,41 (m, 1 H), 1,81-

05.04.99

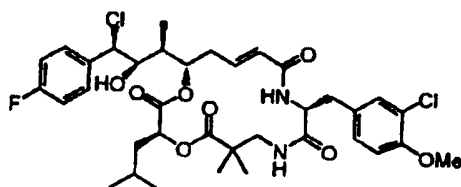
1,65 (m, 3 H), 1,34-1,25 (m, 1 H), 1,22 (s, 3 H), 1,16 (s, 3 H), 1,15-1,13 (d, 3 H, $J = 7,0$ Hz), 0,87-0,82 (m, 6 H);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,8, 170,3, 164,9, 164,7, 154,0, 141,6, 137,8, 132,4, 130,7, 129,6, 128,1, 127,3, 127,2, 124,6, 122,4, 115,8, 115,5, 112,2, 75,8, 71,0, 63,0, 58,2, 56,0, 54,4, 46,3, 42,7, 40,4, 39,3, 36,7, 35,2, 23,5, 22,8, 22,76, 22,6, 21,1, 13,3;

IR (CHCl_3) 3426, 3030, 3006, 2964, 2936, 1752, 1711, 1683, 1608, 1514, 1485, 1442, 1303, 1281, 1259, 1188, 1155, 1067, 838 cm^{-1} ;

Elementární analýza ($\text{C}_{36}\text{H}_{44}\text{ClFN}_2\text{O}_8$) C, H, N.

Příklad 90



4 M roztok HCl v dioxanu (0,4 ml, 1,6 mmolů) byl přidán po kapkách během 5 minut do roztoku b-epoxidu (uvedeného výše) (0,44 g, 0,64 mmolů) v 30 ml CH_2Cl_2 o teplotě -70 °C. Po uplynutí 2 dalších hodin míchání při teplotě -70 °C byl roztok koncentrován za sníženého tlaku. Surový produkt byl čištěn radiální PLC (silikagel, 30-50-100% $\text{EtOAc}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$) následovanou chromatografií HPLC s obrácenou fází (50:50) $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ a tím se získalo 0,152 g (33 %) požadovaného chlorhydrinu (uvedeného výše) ve formě bílé pěny:

05.04.99

$[\alpha]^{20}_D +60,0^\circ$ (c 2,62, CHCl_3);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,41-7,05 (m, 7H), 6,87-6,84 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,83-6,77 (m, 1H), 5,80-5,75 (d, 1H, $J = 15,4$ Hz), 5,52-5,49 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz), 5,13-5,21 (m, 1H), 4,94-4,90 (dd, 1H, $J = 9,7,3,2$ Hz), 4,75-4,72 (m, 1H), 4,67-4,63 (d, 1H, $J = 9,5$ Hz), 4,00-3,95 (m, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,42-3,35 (dd, 1H, $J = 8,3, 13,5$ Hz), 3,20-3,02 (m, 3H), 2,71-2,65 (m, 1H), 2,49-2,37 (m, 2H), 1,82-1,63 (m, 2H), 1,51-1,38 (m, 2H), 1,23 (s, 3H), 1,17 (s, 3H), 1,04-1,02 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz), 0,97-0,85 (m, 6H);

^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3) δ 177,6, 170,5, 170,3, 165,3, 160,7, 153,9, 142,2, 137,5, 134,5, 130,8, 129,8, 129,7, 128,2, 124,6, 122,2, 76,1, 74,0, 71,1, 61,4, 56,1, 54,5, 46,4, 42,7, 39,6, 38,4, 36,3, 35,1, 24,8, 23,0, 22,9, 22,7, 21,5, 8,6;

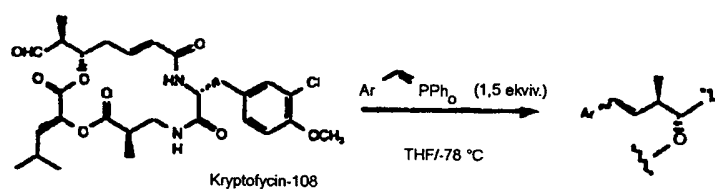
IR (CHCl_3) 3423, 2965, 2935, 2873, 1751, 1715, 1679, 1607, 1528, 1504, 1485, 1464, 1442, 1302, 1281, 1193, 1159, 1152, 1127, 1067 cm^{-1}

Elementární analýza ($\text{C}_{36}\text{H}_{45} \text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_8$) C, H, N.

Příklad 91

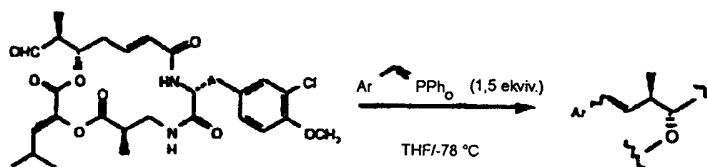
Kryptofyciny-151, -152, -153, -154, 155, -156, -159, 160, -161, -166, -167, -172, -181, -188, 234, 236, 238, 247, 251 a 255.

Tabulka 1



Kryptofycin č.	Ar nebo alkylová skupina	Výtěžek (E + Z) %	% trans isomerů (přibližně)
151		72	90
152		80	70
155		60	<10
156		51	70
160		61	67
172		78	90
255		85	60

06.04.99



Kryptofycin-108

Kryptofycin č.	Ar	Výtěžek (E + Z) %	% trans isomerů (přibližně)
153		80	90
154		63	90
159		75	90
161		61	80
166		38	90
167		48	90
181		73	75
188		85	80
234		81	85
236		59	90
247		51	>90
251		43	>90

Typická procedura, upravená pro kopulaci kryptofycinu-108 s

množstvím trifenylfosforanů je popsána dále s použitím přípravy kryptofycinu-152 jako ilustrativního příkladu.

Kryptofycin-152:

Cinnamyltrifenylfosforan byl vytvořen působením na cinnamyltrifenylfosfoniumchlorid (0,311 g, 0,750 mmolů) v THF (5,7 ml) butyllithiem (300 μ l 2,5 M roztoku v hexanu, 0,750 mmolů) při teplotě -78°C a ponecháním obsahu pomalu se zahřát na teplotu okolí. Cinnamyltrifenylfosforan z této reakční směsi (1,46 ml, 0,182 mmolů) byl pomalu přidán k aldehydu (68,6 mg, 0,122 mmol v THF (3 ml) při teplotě -78°C a míchání pokračovalo po dobu 2 hodin. Reakční směs byla zahřáta na teplotu okolí, zpracována nasyceným NH_4Cl (5 ml) následovaným vodou (15 ml) a extrahována ethylacetátem (40 ml). Organická vrstva byla promývána vodou, sušena nad MgSO_4 a odpařena. Residuum bylo aplikováno do malé ODS kolony a vymýváno směsí 1:1 $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ a 1:3 $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$. Poslední frakce byla odpařena a tím se získala směs kryptofycin-152 a jeho Z isomeru (E/Z 7:3, 64,3 mg, 80%).

Použitím téže experimentální procedury byl aldehyd (kryptofycin-108) reagován s 1-naftylmethyltrifenylfosforanem, 3-methoxybenzyltrifenylfosforanem, 3,5-dimethoxybenzyltrifenylfosforanem, methoxymethyltrifenylfosforanem, 2,4-dimethylbenzyltrifenylfosforanem, 3-furanmethyltrifenylfosforanem, p-trifluormethylbenzyltrifenylfosforanem, 2-methylbenzyltrifenylfosforanem, 3,5-dimethylbenzyltrifenylfosforanem, 2-

naftylmethyltrifenylfosforanem, 2-fluorbenzyltrifenylfosforanem, 3,5-difluorbenzyltrifenylfosforanem, 4-hydroxymethylbenzyltrifenylfosforanem, 4-(t-Boc-aminomethyl)benzyltrifenylfosforanem, 3-(N-t-Boc-amino)benzyltrifenylfosforanem a fenylthiomethyltrifenylfosfoniem a tím se získaly kryptofyciny-151, -153, -154, -156, -159, -160, -161, -166, -167, -172, -181, -188, -234, -236, -247 respektive 255 .

Butyllithium bylo použito jako báze při vytváření ylidů z jejich odpovídajících trifenylfosfoniumchloridových nebo bromidových solí, s tou výjimkou, že fenyllithium bylo použito při přípravě methoxymethyltrifenylfosforanu, 3-furanmethyltrifenylfosforanu a 4-hydroxymethylbenzyltrifenylfosforanu.

Podobná reakce, do které vstupuje hydroxymethyltrifenylfosfoniumbromid, n-butyllithium a kryptofycin-108 dala nečekaný analog kryptofycin-155.

Mírně modifikovaná procedura byl upravena pro přípravu karboxymethylového analogu kryptofycinu-251. THF (5 ml) roztok 4-(karboxymethyl)benzyltrifenylfosfoniumbromidu (0,289 g, 0,59 mmolů) byl zpracován fenyllithiem (1,8 M, 653 μ l, 1,18 mmolů) při teplotě -78 °C po dobu 5 minut a baňka byla přenesena do lázně s vodou a ledem. Po uplynutí 30 minut bylo 0,9 ml této reakční směsi přidáno pomalu do baňky obsahující kryptofycin-108 (35 mg) v 3 ml THF při teplotě - 78 C a obsah byl ponechán za míchání po dobu 2 hodin. Reakční směs byla okyselena 1N HCl (1 ml), byla

přidána voda (30 ml) a směs byla extrahována ethylacetátem (30 ml x 2). Organická vrstva byla sušena nad MgSO_4 a odpařena. Residuum bylo vystaveno mžikové chromatografii na ODS oxidu křemičitém, vymývání směsí 1:1 $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ a 35:65 $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$. Poslední frakce byla odpařena a čištěna v koloně HPLC s obrácenými fázemi (Econosil C18, 10 μ , 250 x 22 mm, 6 ml/minut, 35:65 $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$) a tím se získal nečistý vzorek kryptofycin-251, který byl nakonec čištěn další chromatografií s obrácenými fázemi (Econosil C18, 10 μ , 250 x 10 mm, 3 ml/minut, 0,5% roztok kyseliny octové v 2:3 $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$) a tím se získal kryptofycin-251 (10 mg).

Hlavní experimentální data týkající se vytváření styrenových analogů a data o cytotoxicitě jsou přehledně uvedeny v tabulkách 1 a 2.

Trifenylfosfoniové soli:

Cinnamyltrifenylfosfoniumchlorid, 1-naftylmethyltrifenylfosfoniumchlorid, methoxymethyltrifenylfosfoniumchlorid a 2-methybenzyltrifenylfosfoniumbromid jsou komerčně dostupné, zatímco 3-methoxybenzyltrifenylfosfoniumchlorid, 3,5-dimethoxybenzyltrifenylfosfoniumchlorid, 2,4-dimethylbenzyltrifenylfosfoniumchlorid byly připraven zahříváním na teplotu zpětného toku trifenylfosfinu s mírným přebytkem odpovídajícího chloridu v toluenu po dobu 4 hodin. 4-Trifluomethylbenzyltrifenylfosfoniumbromid, 3-furonmethyltrifenylfosfoniumbromid, 2-naftylmethyltrifenylfosfoniumbromid, 3,5-difluorbenzyltrifenylfosfoniumbromid, 4-(terc.-butyldimethylsilyloxymethyl)benzyltrifenylfosfoniumbromid,

4-(N-t-Boc-aminomethyl)benzyltrifenylfosfoniumbromid a 3-(N-t-Boc-amino)benzyltrifenylfosfoniumbromid byly připraveny zpracováním odpovídajících bromidů s trifenylfosfinem v toluenu při teplotě okolí po dobu 12 hodin.

4-(Karbokymethyl)benzyltrifenylfosfoniumbromid byl připraven zpracováním bromidu s trifenylfosfinem v roztoku 5:1

toluen/THF při teplotě okolí po dobu 48 hodin. 3-furonmethylbromid, 2-naftalenmethylbromid a 3-(N-t-Boc-amino)benzylbromid byly vytvořeny z 3-furonmethanolu, 2-naftalenmethanolu a 3-(N-t-Boc-amino)benzylalkoholu po zpracování PBr_3 v THF při teplotě $-78^\circ\text{C}.$ ^{ref} 3-furonmethanol a 2-naftalenmethanol jsou komerčně dostupné. 3-(N-t-Boc-amino)benzylalkohol byl připraven z komerčního vzorku 3-aminobenzylalkoholu. 4-(terc.-

butyldimethylsilyloxymethyl)benzylbromid a 4-(N-t-Boc-aminomethyl)benzylbromid byly připraveny z komerčních vzorků methylesteru 4-hydroxymethylbenzoové kyseliny a 4-aminomethylbenzoové kyseliny použitím následujících experimentálních procedur.

4-(terc.-butyldimethylsilyloxymethyl)benzylbromid:

Směs methylesteru kyseliny 4-hydroxymethylbenzoové (2 g) a triethylamin (3,36 ml) v dichlormethanu (15 ml) byly zpracovány terc.-butyldimethylsilyltriflátem (4,41 g) při teplotě -78°C . Po 30 minutách byly obsahy ponechány zahřát se na teplotu okolí a míchání pokračovalo po dobu dalších 30 minut. Voda (30 ml) a ethylacetát (60 ml) byly přidány do reakční směsi a organická vrstva byla promývána 0,3 M KHSO_4 , vodou a solankou, sušena nad MgSO_4 a filtrována. Rozpouštědlo bylo odpařeno a residuum bylo vystaveno mžikové chromatografii v koloně oxidu křemičitého vymýváním směsí

10% EtOAc/hexan a tím se získal methylester kyseliny 4-(terc.-butyldimethylsilyloxymethyl)benzoové (3,3 g, 95 % výtěžek).

Lithiumaluminumhydrid (0,21 g) dispergovaný v diethyletheru (20 ml) byl ochlazen na teplotu -18°C pod argonovou atmosférou a zpracován po kapkách methylesterem kyseliny 4-(terc.-butyldimethylsilyloxymethyl)benzoové (2,05 g) v 10 ml diethyletheru. Po 30 minutách byl přidán ethylacetát (2 ml) pro vypláchnutí přebytku hydridu a potom byl přidán nasycený chlorid amonný (1,5 ml). Precipitát byl oddělen filtrací a promýván etherem. Rozpouštědlo bylo odpařeno a tím se získal 4-(terc.-butyldimethylsilyloxymethyl)benzylalkohol (1,71 g, 93% výtěžek) .

4-(terc.-butyldimethylsilyloxymethyl)benzylalkohol (1,7 g) byl rozpuštěn v THF (15 ml) a zpracován bromidem fosforitým (0,609 g) při teplotě -78°C . Po uplynutí 30 minut byla reakční směs zředěna diethyletherem (80 ml) a promývána nasyceným hydrogenuhličitanem sodným (30 ml), vodou a solankou, sušena nad MgSO_4 . Etherová vrstva byla odpařena a residuum (2,0 g) bylo vystaveno mžikové chromatografii na oxidu křemičitém použitím 5% EtOAc/hexane jako vymývacího rozpouštědla, čímž se získal 4-(terc.-butyldimethylsilyloxymethyl)benzylbromid (1,05 g, 49% výtěžek).

4-(N-t-Boc-aminomethyl)benzylbromid:

Do roztoku di-terc.-butyldikarbonátu (2,18 g, 10 mmolů) v triethylamindimethylformidu (1:9, 7,5 ml) byla přidána

kyselina 4-(aminomethyl)benzoová (0,75 g, 5 mmolů) při teplotě okolí a reakční směs byla zahřáta na teplotu 40-50 °C po dobu 10 minut. Po rozpuštění aminokyseliny míchání pokračovalo při teplotě okolí po dobu další jedné hodiny. Rozpouštědlo bylo odstraněno za sníženého tlaku a residuum bylo okyseleno zředěným HCl (pH > 2) a okamžitě extrahováno EtOAc a organická vrstva byla sušena nad MgSO₄. Residuum získané po odebrání rozpouštědla bylo zpracováváno přebytkem diazomethanu (vytvořeného z diazaidu) v etheru po dobu 30 minut a přebytek diazomethanu byl rozložen kyselinou octovou. Residuum získané po odebrání rozpouštědla bylo chromatografováno v koloně oxidu křemičitého (20 g) použitím směsi hexany/EtOAc (9:1) jako vymývacího rozpouštědla a tím se získal methyl-4-(N-t-Boc-aminomethyl)benzoát (1,07 g, 81% výtěžek).

Do studené suspence LiAlH₄ (60 mg, 1,5 mmolů) v etheru (5 ml) byl při teplotě -78 °C přidán po kapkách roztok methyl-4-(N-t-Boc-aminomethyl)benzoátu (0,8 g, 3 mmolů) v etheru (5 ml) a obsah byl ponechán zahřát se na teplotu okolí. Po 3 hodinách bylo přidáno další množství LiAlH₄ (100 mg) a reakce pokračovala při teplotě okolí po dobu dalších 10 minut. Přebytek LiAlH₄ byl eliminován EtOAc následovaným nasyceným chloridem amonným (1,0 ml). Pevná látka, která precipitovala, byla filtrována a promývána etherem. Filtrát byl odpařen a tím se získal 4-(N-t-Boc-aminomethyl)benzylalkohol (250 mg, 35 %).

Roztok 4-(N-t-Boc-aminomethyl)benzylalkoholu (250 mg, 1,1 mmol) v THF (5 ml) byl zpracováván bromidem fosforitým (30 ul, 0,32 mmolů) při teplotě -78 °C po dobu 2 hodin. Po

05.04.99

uplynutí této doby reakce byla ukončena pevným NaHCO_3 (50 mg) a reakční směs byla filtrován pro odstranění pevných látek a filtrát byl odpařen a tím se získal 4-(t-Boc-aminomethyl)benzylbromid (300 mg, 95%).

Požadované E isomery byly odděleny z odpovídajících E/Z směsí krystalizací v roztocích ethylacetát/ethylether. V případě cinnamylu a několika málo analogů s nevýraznou E/z selektivitou byla surová směs vystavena isomerizaci použitím následujícího ilustrativního způsobu, popsaného pro cinnamylový analog, kryptofycin-152.

Isomerizace:

Směs kryptofycinu-152 a jeho cis isomeru (E/Z 7:3, 62 mg, 0,10 mmolů) byla rozpuštěna v benzenu (3 ml) a zahřívána na teplotu zpětného toku s thiofenolem (10 μl , 0,10 molů) a 1,1'-azobis(cyklohexanekarbonitrilem) (12 mg, 0,05 mmolů). Po 16 hodinách byla teplota směsi ponechána přejít na teplotu okolí a směs byla aplikována do malé kolony oxidu křemičitého. Kolona byla promývána dichlormethanem a sloučenina byl vymývána směsí 1:1 ethylacetát/dichlormethan. Rozpouštědlo bylo odpařeno a tím byl získán kryptofycin-151 (53 mg, 85%), který byl stále kontaminován přibližně 5% jeho cis isomeru.

Kryptofycin-151:

EIMS m/z (relativní intensita) 688/690 (3,3/1,5), 412/414 (18/6), 211 (100), 233 (18), 195/191 (16/6), 193 (29), 141 (38);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 688,2900 (vypočteno pro $\text{C}_{39}\text{H}_{45}\text{ClN}_2\text{O}_7$ δ 1,5 nmu).

05.04.99

^1H NMR data, viz tabulka 3;

^{13}C NMR data, viz tabulka 4.

Kryptofycin-152:

EIMS m/z (relativní intensita) 664/666 (24/7), 412/414 (21/7), 253 (100), 91 (85);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 664,2939 (vypočteno pro $\text{C}_{37}\text{H}_{45}\text{ClN}_2\text{O}_7$, δ - 2,3 mmu).

^1H NMR data, viz tabulka 3;

^{13}C NMR data, viz tabulka 4.

Kryptofycin-153:

EIMS m/z (relativní intensita) 668/670 (3,7/1,4), 412/414 (32/12), 251 (62), 198 (100), 195/197 (36/11);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 668,2817 (vypočteno pro $\text{C}_{36}\text{H}_{45}\text{ClN}_2\text{O}_8$, δ 4,7 mmu).

^1H NMR data, viz tabulka 3;

^{13}C NMR data, viz tabulka 4.

Kryptofycin-154:

EIMS m/z (relativní intensita) 698/700 (2,5/0,8), 412/414 (18/5), 287 (28), 228 (35), 195/197 (18/6), 139 (100);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 698,2946 (vypočteno pro $\text{C}_{37}\text{H}_{47}\text{ClN}_2\text{O}_8$, δ 2,5 mmu).

^1H NMR data, viz tabulka 3;

^{13}C NMR data, viz tabulka 4.

Kryptofycin-155:

EIMS m/z (relativní intensita) 604/606 (20/6), 412/414 (24/8), 280/282 (24/8), 195/197 (100/33);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 604,2894 (vypočteno pro

$C_{32}H_{45}ClN_2O_7$, δ 2,1 mmu).

^1H NMR ($CDCl_3$) aminová nebo hydroxykyselinová jednotka δ (uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) A 5,76 (2, d; 15,5), 6,66 (3, ddd; 15,5, 9,5 a 5,9), 2,32 - 2,44 (4- H_2 , m), 4,92 (5, m), 2,66 - 2,76 (6, m), 0,98 (6-Me, d; 6,81, 5,21 (7, t; 10,91, 5,46 (8, dt; 10,9 a 7,41, 2,00 (9- H_2 , m), 1,38 (10- H_2 , m), 0,91 (10-Me, t; 7,51; B 4,81 (2, m), 5,70 (2-NH, d; 8,5), 3,04 (3, dd; -14,5 a 7,21, 3,14 (3, dd; -14,5 a 5,6), 7,22 (5, d; 2,2), 3,81 (7-OMe, s), 6,84 (8, d; 8,5), 7,08 (9, dd; 8,5 a 2,2); C 2,66 - 2,76 (2, m), 1,22 (2-Me, d; 7,4), 3,27 (3, dt; 13,5 a 6,8), 3,52 (3, m), 6,93 (3-NH, br t; 6,4); D 4,86 (2, dd; 9,8 a 3,51, 1,49 (3, m), 1,71 - 1,80 (3/4, m), 0,90 (4-Me, d; 6,0), 0,94 (5, d; 6,5);

^{13}C NMR ($CDCl_3$) jednotka δ (uhlíková poloha) A 165,5 (1), 125,0 (2), 141,6 (3), 36,5 (4), 77,9 (5), 36,2 (6), 17,7 (6-Me), 130,0 (7), 131,6 (8), 29,6 (9- H_2), 22,8 (10- H_2), 13,8 (11- H_3); S 171,0^a (1), 53,5 (2), 35,1 (3), 129,9 (4), 131,0 (5), 122,4 (6), 153,9 (7), 56,1 (7-OCH₃), 112,2 (8), 128,4 (9); C 175,6 (1), 38,3 (2), 14,0 (2-Me), 41,2 (3); D 170,9^a (1), 71,6 (2), 39,5 (3), 24,7 (4), 21,4 (4-Me), 23,1 (5). ^a signály jsou vzájemně zaměnitelné.

Kryptofylin-156:

EIMS m/z (relativní intensita) 412/414 (23/6), 381 (11), 280/282 (22/6), 195/197 (100/33);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 592,2568 (vypočteno pro $C_{30}H_{41}ClN_2O_8$, δ -1,6 mmu).

^1H NMR data, viz tabulka 3;

^{13}C NMR data, viz tabulka 4.

05.04.99

Kryptofycin-159:

EIMS m/z (relativní intensita) 666 (3), 412/414 (16/41, 396 (52), 255 (100), 195/197 (30/8), 91 (54);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 666,3060 (vypočteno pro $C_{37}H_{47}ClN_2O_7$, δ 1,1 mmu).

^1H NMR data, viz tabulka 3;

^{13}C NMR data, viz tabulka 4.

Kryptofycin-160:

EIMS m/z (relativní intensita) 628/630 (9/41, 412/414 (63/23), 280 (25), 217 (89), 195/197 (89/30);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 628,2532 (vypočteno pro $C_{33}H_{41}ClN_2O_8$, δ 2,0 mmu).

^1H NMR data, viz tabulka 3;

^{13}C NMR data, viz tabulka 4.

Kryptofycin-161:

EIMS m/z (relativní intensita) 706/708 (6/2), 412/414 (49/18), 295 (15), 280/282 (25/7), 195/197 (100/34);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 706,2623 (vypočteno pro $C_{36}H_{42}ClF_3N_2O_7$, δ 1,0 mmu).

^1H NMR data, viz tabulka 3;

^{13}C NMR data, viz tabulka 4.

Kryptofycin-166:

EIMS m/z (relativní intensita) 652/654 (1,1/0,41, 412/414 (18/5), 241 (37), 195/197 (64/20);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 652,2918 (vypočteno pro $C_{36}H_{45}ClN_2O_7$, δ - 0,2 mmu).

^1H NMR data, viz tabulka 3;

05.04.99

^{13}C NMR data, viz tabulka 4.

Kryptofycin-167:

EIMS m/z (relativní intensita) 666/668 (3,4/1,1), 412/414 (26/91), 280 (11), 255 (67), 195/197 (46/15);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 666,3058 (vypočteno pro $\text{C}_{37}\text{H}_{47}\text{ClN}_2\text{O}_7$, δ 1,4 mmu).

^1H NMR data, viz tabulka 3;

^{13}C NMR data, Viz tabulka 4.

Kryptofycin-172:

EIMS m/z (relativní intensita) 688/690 (3/2), 412/414 (12/4), 277 (67), 218 (100), 195/197 (29/10), 141 (63);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 688,2916 (vypočteno pro $\text{C}_{39}\text{H}_{45}\text{ClN}_2\text{O}_7$, δ - 0,1 mmu).

^1H NMR data, viz tabulka 3;

^{13}C NMR data, viz tabulka 4.

Kryptofycin-181:

EIMS m/z (relativní intensita) 656/658 (9,0/3,3), 412/414 (84/34), 245 (71), 195/197 (47/7);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 656,2674 (vypočteno pro $\text{C}_{35}\text{H}_{42}\text{ClFN}_2\text{O}_7$, δ - 0,9 mmu).

^1H NMR data, viz tabulka 3;

^{13}C NMR data, viz tabulka 4.

Kryptofycin-188:

EIMS m/z (relativní intensita) 674/676 (20/4), 412/414 (57/20), 280/282 (20/7), 263 (13), 195/197 (89/27);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 674,2551 (vypočteno pro $\text{C}_{35}\text{H}_{41}\text{ClF}_2\text{N}_2\text{O}_7$, δ 1,9 mmu).

05.04.99

^1H NMR data, viz tabulka 3;

^{13}C NMR data, viz tabulka 4.

Kryptofycin-234:

Směs obsahující kryptofycin- 234 a 15% jeho z isomeru (58,3 mg) byla opakovaně krystalizována v roztocích EtOAc/ethylether pro získání kryptofycinu-234 (47 mg) a jeho z isomeru (11 mg).

^1H NMR (CDCl_3) aminová nebo hydroxykyselinová jednotka δ (uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) A 5,77 (2, d; 15,2), 6,68 (3, ddd; 15,2, 9,7 a 5,4), 2,37 (4, dt; 14,2 a 10,5), 2,52 (4, m), 4,99 (5, m), 2,55 (6, m), 1,13 (6-Me, d; 6,8), 5,99 (7, dd; 15,8 a 8,8), 6,40 (8, d; 15,8), 7,25^a (2'/6', d; 8,2), 7,29^a (3'/5', d; 8,2), 4,71 (4'-(CH_2OTBDMS , brs), 0,08 (6H) a 0,93 (9H) (4'-(CH_2OTBDMS); B 4,81 (2, m), 5,77 (2-NH, zastíněno dalším signálem), 3,03 (3, dd; -14,4 a 7,3), 3,14 (3, dd; -14,4 a 5,4), 7,22 (5, d; 2,0), 3,86 (7-OMe, s), 6.B3 (8, d; 8,4), 7,07 (9, dd; 8 4 a 2,0); C 2,71 (2, m), 1,22 (2-Me, d; 7,2), 3,29 (3, m), 3,49 (3, m), 6,98 (3-NH, br t; 5,6); D 4,84 (2, m), 1,36 (3, m), 1,59 - 1,71 (3/4, m), 0,73 (4-Me, d, 6,4), 0,11 (5, d, 6,2). ^a vzájemně zaměnitelné;

^{13}C NMR (CDCl_3) jednotka δ (uhlíková poloha) A 165,5 (1), 125,2 (2), 141,4 (3), 36,4 (4), 77,4 (5), 42,2 (6), 17,3 (6-Me), 129,6 (7), 131,6 (8), 136,4 (1'), 126,0^a (2'/6'), 126,3^a (3'/5'), 140,9 (4'), 64,7 (4'- CH_2O -), 25,9 a - 5,3 (4'- CH_2OTBDMS); B 171,0^b (1), 53,6 (2), 35,1 (3), 129,9 (4), 131,0 (5), 122,4 (6), 153,9 (7), 56,1 (7-OCH₃), 112,2 (8), 128,4 (9); C 175,6 (1), 38,3 (2), 14,0 (2-Me), 41,1 (3); D 170,9^b (1), 71,5 (2), 39,5 (3), 24,5 (4), 22,7 (4-Me), 21,2 (5). ^a a ^b signály jsou vzájemně zaměnitelné.

05.04.99

Kryptofycin-236:

^1H NMR (CDCl_3) aminová nebo hydroxykyselinová jednotka δ (uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) A 5,76 (2, d; 15,2), 6,68 (3, ddd; 15,2, 9,6 a 5,6), 2,37 (4, m), 2,51 (4, m), 5,00 (5, m), 2,54 (6, m), 1,13 (6-Me, d; 6,9), 6,00 (7, dd; 15,9 a 8,6), 6,39 (8, d; 15,9), 7,20 - 7,30 (2'/3'/5'/6', br m), 4,28 (4'-CH₂NH-t-Boc, d; 4,9), 4,80 (4'-CH₂NH-t-Boc, d; 4,9), 1,46 (4'-CH₂NH-t-Boc; s); B 4,80 (2, m), 5,65 (2-NH, d; 8,5), 3,04 (3, dd; -14,4 a 6,9), 3,13 (3, dd; -14,4 a 5,5), 7,22 (5, d; 2,2), 3,87 (7-OMe, s), 6,83 (8, d; 8,4), 7,08 (9, dd; 8,4 a 2,2); C 2,71 (2, m), 1,22 (2-Me, d; 7,3), 3,27 (3, m), 3,51 (3, m), 6,93 (3-NH, br t; 5,61; D 4,84 (2, dd; 9,9 a 3,5), 1,36 (3, m), 1,58 - 1,70 (3/4, m), 0,74 (4-Me, d, 6,4), 0,78 (5, d, 6,4);

^{13}C NMR (CDCl_3) jednotka δ (uhlíková poloha) A 165,4 (1), 125,2 (2), 141,4 (3), 36,5 (4), * (5), 42,2 (6), 17,3 (6-Me), 130,1 (7), 131,4 (8), 135,9 (1'), 126,4 (2'/6'), 127,8 (3'/5'), 138,4 (4'), 44,4 (4'-CH₂NH-t-Boc), 28,4 (4'-CH₂NH-t-Boc); B 170,9 (11, 53,5 (2), 35,1 (3), 129,9 (4), 131,1 (5), (6), 154,0 (7), 56,2 (7-OCH₃), 112,3 (8), 128,4 (9); C 175,6 (1), 38,3 (2), 14,0 (2-Me), 41,2 (3); 1) 170,9 (1), 71,6 (2), 39,6 (3), 24,5 (4), 22,7 (4-Me), 21,3 (5).

* skryto pod signálem rozpouštědla.

Kryptofycin-238:

Kryptofycin-234 (14 mg) v THS (1,5 ml) byl zpracován roztokem tetrabutylamoniumfluoridu (25 μl , 1M in THF) při teplotě 0 °C. Po uplynutí 1 hodiny byl do reakční směsi přidán nasycený NH_4Cl (5 ml), následovaný vodou (15 ml) a směs byla extrahována EtOAc (50 ml). EtOAc vrstva byla

sušena nad MgSO_4 a odpařena. Residuum bylo čištěno v malé koloně oxidu křemičitého použitím CH_2Cl_2 a EtOAc jako vymývacích rozpouštědel. Poslední frakce byla odpařena a tím se získal kryptofycin-238 (11,8 mg).

EIMS m/z (relativní intenzita) 668/670 (3/0,5), 412/414 (38/14), 257 (291, 195/197 (25/10));

EIMS s vysokým rozlišením m/z 668,2898 (vypočteno pro $\text{C}_{36}\text{H}_{45}\text{ClN}_2\text{O}_8$, δ -3,4 mmu).

^1H NMR (CDCl_3) aminová nebo hydroxykyselinová jednotka δ (uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) A 5,76 (2, d; 15,6), 6,68 (3, ddd; 15,6, 9,8 a 5,5), 2,36 (4, dt; 14,4 a 10,4), 2,51 (4, br dd; 14,4 a 5,1), 5,00 (5, m), 2,55 (6, m), 1,13 (6-Me, d; 6,8), 6,01 (1, dd; 15,9 a 8,8), 6,40 (8, d; 15,9), 7,31 (2'/3'/5'/6', br s), 4,47 (4'- CH_2OH , brs); B 4,80 (2, m), 5,78 (2-NH, d; 8,4), 3,01 (3, dd; -14,4 a 7,4), 3,13 (3, dd; -14,4 a 5,5), 7,21 (5, d; 2,0), 3,86 (7-OMe, s), 6,83 (8, d; 8,5), 7,07 (9, dd; 8,5 a 2,0); C 2,71 (2, m), 1,21 (2-Me, d; 7,1), 3,28 (3, m), 3,49 (3, m), 6,98 (3-NH, br t; 6,0); D 4,84 (2, dd; 9,9 a 3,2), 1,35 (3, m), 1,58 - 1,71 (3/4, m), 0,74 (4-Me, d; 6,4), 0,77 (5, d; 6,3);

^{13}C NMR (CDCl_3) jednotka δ (uhlíková poloha) A 165,5 (1), 125,2 (2), 141,4 (3), 36,4 (4), 77,4 (5), 42,2 (6), 17,3 (6-Me), 130,1 (1), 131,4 (8), 136,1 (1'), 126,3^a (2'/6'), 127,2^a (3'/5'), 140,4 (4'), 64,9 (4'- CH_2OH); B 171,0^b (1), 53,7 (2), 35,0 (3), 129,9 (4), 131,0 (5), 122,3 (6), 153,9 (7), 56,1 (7-OCH₃), 112,2 (8), 128,4 (9); C 175,6 (1), 38,2 (2), 14,0 (2-Ne), 41,1 (3); 1) 17C,8^b(1), 11,5 (2), 39,5 (3), 24,5 (4), 22,7 (4-Me), 21,3 (5).

^a a ^b signály jsou vzájemně zaměnitelné.

Kryptofycin-246:

Kryptofycin-236 (9 mg, 0,012 mmolů) v CH_2Cl_2 (50 μl) byl zpracován 4N HCl v dioxanu (20 μl , 0,08 mmolů) při teplotě okolí. Po uplynutí 1 hodiny bylo rozpouštědlo odpařeno a residuum bylo vystaveno mžikové chromatografii v malé C18 koloně oxidu křemičitého (Alltech, 500 mg) použitím směsi methanol/voda (1:1) pro vymývání. První frakce (3 ml) po odpaření rozpouštědla dala kryptofycin-246 (7 mg, 85%).

^1H NMR (CD_3OD) aminová nebo hydroxykyselinová jednotka δ (uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) A 5,92 (2, dd; 15,2 a 1,7), 6,69 (3, ddd; 15,2, 11,1 a 3,8), 2,35 (4, m), 2,68 (4, m), 5,06 (5, m), 2,63 (6, m), 1,15 (6-Me, d; 7,4), 6,18 (7, dd; 15,9 a 8,9), 6,50 (8, d; 15,9), 7,40 (2'/6', br d; 8,2), 7,46 (3'/5', br d; 8,2), 4,08 (4'- $\text{CH}_2\text{NH}_2\text{HCl}$, s); B 4,51 (2, dd; 11,1 a 3,4), 2,75 (3, m), 3,17 (3, dd; -14,5 a 3,9), 7,27 (5, d; 2,0), 3,83 (7-OMe, s), 6,97 (8, d; 8,5), 7,16 (9, dd. 8,5 a 2,0); C 2,73 (2, m), 1,17 (2-Me, d; 8,01, 3,26 (3, m), 3,56 (3, m); D 4,92 (2, dd; 9,8 a 3,91, 1,35 (3, m), 1,54 - 1,65 (3/4, m), 0,71 (4-Me, d; 6,41, 0,75 (5, d; 6,4); —

^{13}C NMR (CD_3OD) jednotka δ (uhlíková poloha) A 168,4 (1), 125,7 (2), 143,5 (3), 37,7 (4), 78,6 (5), 43,5 (6), 17,5 (6-Me), 133,6 (7), 131,9 (8), 139,5^a (1'), 128,0 (2'/6'), 130,3 (3'/5'), 133,3^a (4'), 44,0 (4'- $\text{CH}_2\text{NH}_2\text{HCl}$); B 174,1 (1), 57,4 (2), 36,3 (3), 132,2 (4), 131,5 (5), 123,3 (6), 155,4 (7), 56,6 (7- OCH_3), 113,5 (8), 129,3 (9); C 177,5 (1), 39,0 (2), 15,1 (2-Me), 41,2 (3); D 172,3 (1), 72,8 (2), 41,0 (3), 25,7 (4), 21,7 (4-Me), 23,2 (5).

^a signály jsou vzájemně zaměnitelné.

05.04.99

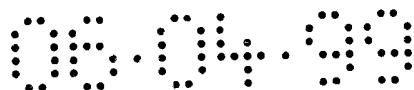
Kryptofycin-250:

Roztok kryptofycinu-247 (5,1 mg) v dichlormethanu (80 μ l) byl zpracován kyselinou chlorovodíkovou (40 μ l, 4N v dioxanu). Po uplynutí 2 hodin byla reakční směs koncentrována, zředěna vodou a ponechána procházet krátkou ODS kolonou. Kolona byla promývána vodou (5 ml) následovanou CH_3CN (3 ml). Poslední frakce byla odpařena pro získání kryptofycinu-250 (5 mg). Tento byl dále čištěn chromatografií HPLC s obrácenými fázemi (Econosil C18, 25 cm x 10 mm, 10 μ , 35% $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$, 4 ml/min) pro získání čistého vzorku (4 mg, t_R 18 minut).

EIMS m/z (relativní intensita) 653/655 (15/10), 533 (33), 242 (48), 195/197 (36/13);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 653,2865 (vypočteno pro $\text{C}_{35}\text{H}_{44}\text{ClN}_3\text{O}_7$, δ 0,3 mmu).

^1H NMR (CDCl_3) aminová nebo hydroxykyselinová jednotka δ (uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) A 5,78 (2, d; 15,1), 6,68 (3, ddd; 15,1, 9,6 a 5,4), 2,35 (4, dt; 14,4 a 10,7), 2,48 (4, br dd; 14,4 a 5,1), 5,01 (5, m), 2,53 (6, m), 1,12 (6-Me, d; 6,8), 6,01 (7, dd; 15,9 a 8,7), 6,33 (8, d; 15,9), 6,81 m, 6,89 d, 6,94 s a 6,99 m (2'/3'- $\text{NH}_3/4'/6'$), 7,15 (5', t; 7,81; B 4,79 (2, m), 5,95 (2-NH), 3,02 (3, dd; -14,4 a 7,3), 3,15 (3, dd; -14,4 a 5,5), 7,22 (5, d; 2,0), 3,86 (7-OMe, s), 6,84 (8, d; 8,4), 7,08 (9, dd; 8,4 a 2,0); C 2,70 (2, m), 1,23 (2-Me, d; 7,1), 3,27 (3, m), 3,51 (3, m), 6,99 (3-NH, m); D 4,87 (2, dd; 9,8 a 3,2), 1,39 (3, m), 1,59 - 1,73 (3/4, m), 0,76 (4-Me, d, 5,4), 0,80 (5, d, 5,6); A 165,8 (11, 125,2 (2), 141,5 (3), 36,4 (4), 77,3 (5), 42,0 (6), 17,1 (6-Me), 131,0 (7), 131,3 (8), 138,3 (1'), 116,0 (2'1, 121,1 (4'), 130,0 (5'), 118,0 (6'); B 171,2 (1), 54,0 (2), 35,0 (3), 129,8 (4), 131,0 (5), 122,4 (6), 153,9 (7),



56,1 (7-OCH₃), 112,3 (8), 128,4 (9); C 175,6 (1), 38,2 (2), 14,2 (2-Me), 41,0 (3); D 170,9 (1), 71,5 (2), 39,6 (3), 24,6 (4), 22,8 (4-Me), 21,4 (5) .

Kryptofycin-251:

EIMS m/z (relativní intensita) 696 (0,7), 652 (M⁺ - CO₂; 0,7), 412/414 (4/2), 285 (6), 241 (5), 195/197 (11/3);

EIMS s vysokým rozlišením m/z (vypočteno pro C₃₇H₄₅ClN₂O₉, δ mmu).

¹H NMR data, viz tabulka 3;

¹³C NMR data, viz tabulka 4.

Kryptofycin-255:

¹H NMR (CDCl₃) aminová nebo hydroxykyselinová jednotka δ (uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) A 5,78 (2, d; 15,1), 6,67 (3, ddd; 15,1, 9,5 a 5,9), 2,37 (4, dt; 14,9 a 10,3), 2,45 (4, m), 4,96 (5, m), 2,52 (6, m), 1,09 (6-Me, d; 6,8), 5,14 (7, dd; 15,1 a 8,9), 6,24 (8, d; 15,1), 7,20 - 7,33 (2'/3'/4'/5'/6', m); B 4,83 (2, m), 5,64 (2-NH, d; 8,8), 3,05 (3, dd; -14,6 a 7,1), 3,14 (3, dd; -14,6 a 5,4), 7,22 (5, d; 2,0), 3,88 (7-OMe, s), 6,85 (8, d; 8,51, 7,08 (9, dd; 8,5 a 2,0); C 2,72 (2, m), 1,23 (2-Me, d; 7,3), 3,29 (3, m), 3,50 (3, m), 6,95 (3-NH, m); D 4,86 (2, dd; 10,0 a 3,4), 1,49 (3, m), 1,63 - 1,85 (3/4, m), 0,89 (4-Me, d, 6,4), 0,94 (5, d, 6,4).

Tabulka 3.

500 MHz ¹H NMR data pro Kryptofyciny-3, -151, -152, -153, -154, -156, -159, -160, -161, -166, -167, -172, -181, -188 a 251



P = poloha

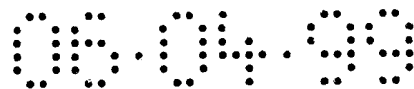
P	3	151	152	153	154	156	159	160	161	166	167	172	181	188	251
A2	5.77 d	5.78	5.77	5.77	5.77	5.76	5.76	5.77	5.78	5.77	5.77	5.78	5.78	5.78	5.76
3	6.68 ddd	6.71	6.67	6.68	6.68	6.66	6.68	6.68	6.68	6.68	6.68	6.70	6.68	6.68	6.68
4R	2.37 dt	2.45	2.37	2.37	2.37	2.34	2.38	2.35	2.36	2.39	2.37	2.41	2.36	2.35	2.35
4S	2.54 brdd	2.58	2.47	2.52	2.52	2.41	2.51	2.49	2.53	2.52	2.51	2.55	2.54	2.52	2.51
5	5.01 ddd	5.10	4.97	5.00	5.00	4.88	5.02	4.96	5.02	5.03	4.99	5.04	5.00	5.01	5.00
6	2.56 m	2.71	2.47	2.54	2.54	2.27	2.56	2.49	2.59	2.59	2.54	2.61	2.57	2.58	2.55
6-Me	1.14 d	1.22	1.09	1.13	1.13	1.04	1.13	1.10	1.15	1.15	1.12	1.17	1.15	1.14	1.13
7	6.01 dd	6.09	5.63 dd	6.00	5.99	4.53 dd	5.87	5.70	6.13	5.92	5.97	6.14	6.09	6.05	6.00
8	6.41 d	7.19	6.23 dd	6.38	6.34	6.31 d	6.59	6.26	6.45	6.63	6.34	6.57	6.58	6.34	6.39
9			6.71 dd												
10			6.49 dd												
8/10- Ar-I'												7.67 br s			
2'	7.28 to	7.41 to	7.36 br d	6.85 t	6.68 d		2.31 s	7.37 br s	7.42 d	2.33 s	6.94 br s			6.83 m	7.30 d
3'	7.34 m	7.58 m	7.30 br t	3.80 s	3.79 s		6.95 br s		7.55 d	7.11 to	2.29 s	7.54 m	7.09 m		7.23 d
4'	7.23 m	7.77 d	7.22 m	6.78 br d	6.36 d		2.31 s	6.47 br s		7.39 m	6.87 br s	7.78 m	7.40 m	6.68 m	3.63 s
5'	7.28 to	7.94 d	7.30 br t	7.21 t	3.79 s		6.95 d	7.35 br s	7.55 d	-	2.29 s	7.78 m	7.02 m		7.23 d
6'	7.34 m	7.41 to	7.36 br d	6.92 d	6.68 d		7.28 d		7.42 d	-	6.94 br s	7.44 m	7.19 m	6.83 m	7.30 d
7'		7.58 d										7.44 m			
8'		8.07 d										7.78 m			
D2	4.84 dd	4.85	4.87	4.84	4.84	4.87	4.84	4.83	4.84	4.85	4.85	4.86	4.85	4.84	4.84
3	1.62 m	1.64	1.72	1.65	1.66	1.75	1.68	1.67	1.65	1.69	1.66	1.67	1.66	1.67	1.36
3'	1.36 m	1.35	1.47	1.37	1.38	1.48	1.38	1.36	1.31	1.38	1.38	1.38	1.36	1.32	1.58 to
4	1.62 m	1.64	1.72	1.65	1.66	1.75	1.68	1.67	1.65	1.69	1.66	1.64	1.66	1.67	1.70 m
4-Me	0.77 d	7.00	0.87	0.77	0.79	0.94	0.79	0.80	0.76	0.79	0.78	0.74	0.78	0.79	0.77
5	0.73d	0.64	0.86	0.74	0.77	0.91	0.77	0.79	0.72	0.76	0.75	0.65	0.74	0.77	0.73

Spektra zaznamenávána v CDCl_3 ; Chemické posuny jsou pro protony nebo methylovou nebo methoxylovou nebo hydroxymethylovou funkční skupinu s polohou na uhlíku indikovanou v tabulce. Chemické posuny pro protony v

jednotkách B a C jsou v intervalu $\pm 0,2$ ppm a kopulační konstanty jsou v intervalu $\pm 0,5$ Hz okolo odpovídajícího hodnot kryptofycinu-3. J (H,H) v Hz pro 151: 3',4' = 8,3; 5',6' = 8,0; 7',8' = 8,1; J (H,H) v Hz pro 152: 6,7 = 8,7; 7,8 = 15,3; 8,9 = 10,5; 9,10 = 15,7; 2',3' = 3',4' = 4',5' = 5',6' = 7,4; J (H,H) v Hz pro 153: 2',4' = 2',6' = 2,0; 4',5' = 5',6' = 7,9; J (H,H) v Hz pro 154: 2',4' = 4',6' = 2,2; δ pro 8-OCH₃ jednotky A v 156 je 3,51; J (H,H) v Hz pro 156: 6,7 = 9,3; 7,8 = 12,6; J (H,H) v Hz pro 159: 5',6' = 8,3; J (H,H) v Hz pro 161: 2',3' = 4',5' = 8,1; J (H,H) v Hz pro 251: 2',3' = 5',5' = 8,2; Pozorovatelné kopulační konstanty pro zbývající protony v tabulce jsou v intervalu $\pm 0,5$ Hz odpovídajících hodnot v 3.

Tabulka 4.

125 MHz ¹³C NMR data pro Kryptofyciny-3, -151, - 152, -153, - 154, -156, -159, -160, -161, -166, -167, -172, - 181, -188 a 251.



P = poloha

P	3	151	152	153	154	156	159	160	161	166	167	172	181	188	25
															1
A	165	165	165	165	165	165	165	165	165	165	165	165	165	165	16
1	.4	.5	.4	.4	.4	.5	.5	.6	.4	.4	.5	.4	.4	.3	5.
2	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	12
	.2	.3	.1	.2	.2	.0	.3	.0	.3	.2	.1	.1	.3	.3	5.
3	141	141	141	141	141	141	141	141	141	141	141	141	141	141	14
	.4	.4	.4	.4	.4	.7	.5	.7	.2	.5	.5	.4	.3	.1	1.
4	36.	36.	36.	36.	36.	36.	36.	36.	36.5	36.	36.	36.	36.	36.	35
	5	6	4	4	5	3	5	4		5	5	5	5	5	.0
5	77.	77.	77.	77.	77.	77.	77.	*	77.1	77.	77.	77.	*	77.	77
	1	5	3	4	3	9	5			4	5	4		1	.2
6	42.	38.	41.	42.	42.	37.	42.	42.	42.3	42.	42.	42.	42.	42.	42
	3	3	9	2	2	7	3	2		3	3	3	7	1	.2
6- Me	17.	17.	17.	17.	17.	18.	17.	17.	17.2	17.	17.	17.	17.	17.	17
	3	4	2	3	3	5	4	3		4	4	4	3	2	.3
7	130	133	134	130	130	103	129	129	130.	130	129	130	127	133	13
	.0	.3	.4	.4	.6	.0	.4	.8	5	.4	.3	.5	.1	.1	0.
8	130	128	132	131	132	148	130	121	133.	131	132	131	132	130	13
	.1	.9	.3	.7	.0	.6	.3	.5	0	.3	.0	.8	.8	.0	1.
9			128												3
			.4												
10			132												
			.0												
8/ 10 - Ar - 1'	136	134	137	138	138	55.	134		140.	135	136	126	**	**	13
	.7	.4	.1	.2	.7	9†	.8		2	.8	.6	.0			5.
2'	126	123	126	111	104		132	143	125.	135	124	134	**	108	12
	.1	.6	.2	.7	.4		.9	.6	6	.0	.0	.1		.8	6.
3'	128	125	128	159	161		131	123	126.	127	138	128	115	**	12
	.6	.5	.6	.9	.0		.1	.8	3	.5	.1	.2	.8		9.
4'	128	128	127	118	99.		137	107	141.	126	129	126	128	102	13
	.4	.0	.5	.8	7		.2	.3	2	.1	.6	.3	.8	.8	2.
5'	128	123	128	129	161		126	140	126.	129	138	127	124	**	12
	.6	.5	.6	.6	.0		.8	.1	3	.5	.1	.8	.2		9.
6'	126	125	126	113	104		125		125.	125	124	123	124	108	12
	.1	.8	.2	.1	.4		.2		6	.4	.0	.3	.2	.8	6.
7'		126										125			4
		.1										.8			
8'		128										127			
		.6										.6			
9'		131										133			
		.0										.5			

10		133										132			
		.7										.9			
B	170	171	170	170	170	170	170	170	170	170	171	170	170	170	17
1	.1	.0	.8	.9	.9	.9	.9	.9	.8	.9	.0	.9	.8	.9	0.9
2	71.	71.	71.	71.	71.	71.	71.	71.	71.5	71.	71.	71.	71.	71.	71
	6	5	5	5	6	6	5	6	6	5	6	5	5	5	.5
3	39.	39.	39.	39.	39.	39.	39.	39.	39.6	39.	39.	39.	39.	39.	39
	5	5	6	5	5	6	6	5	6	6	5	5	5	6	.6
4	24.	24.	24.	24.	24.	24.	24.	24.	24.5	24.	24.	24.	24.	24.	24
	5	5	6	5	5	7	5	5	5	5	5	5	5	5	.5
4-Me	21.	21.	21.	21.	21.	21.	21.	21.	21.2	21.	21.	21.	21.	21.	21
	2	1	4	2	2	4	3	3	2	2	2	2	2	3	.2
5	22.	22.	22.	22.	22.	23.	22.	22.	22.7	22.	22.	22.	22.	22.	22
	6	7	9	7	7	0	7	8	8	7	7	6	7	8	.7

Spektra zaznamenávána v CDCl₃; Chemické posuny pro uhlíky v jednotkách B a C jsou v intervalu $\pm 0,5$ ppm hodnot pro kryptofycin-3.

* signál skryt pod CDCl₃ signálem;

** signály nemohly být nalezeny.

Y signál pro 8-OCH₃ jednotky A;

^a signály v sloupci mohou být navzájem zaměnitelné.

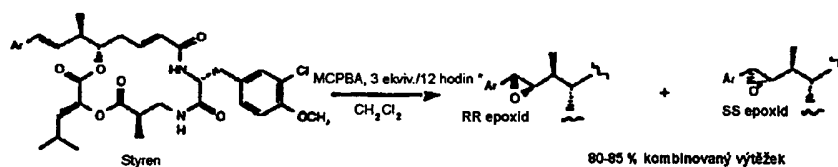
3'-OCH₃ uhlíkové jednotky A v kryptofycinu-153 byly rezonovány při δ 55,1 a 3' a 5'-OCH₃ uhlíky 154 byly rezonovány při δ 55,3. 2' a 4'-CH₃ uhlíkové signály 159 byly pozorovány při δ 19,7 respektive 20,9. 2'-CH₃ uhlíkový signál 166 byl pozorován při δ 19,8. 3' a 5'-CH₃ uhlíkové signály 167 byly pozorovány při δ 21,2. Methylenové a karboxylové uhlíky 4'-CH₂COOH byly pozorovány při δ 40,4 respektive 174,5.

Příklad 92

Epoxidové analogy

Kryptofyciny-157, 158, 164, 165, 168, 169, 170, 171, 173, 174, 177, 178, 179, 180, 182, 183, 200, 242 a 269.

Tabulka 5.



Styren Kryptofycin č.	Ar	Epoxid č.	Stereo- chemie	RR/SS poměr
151		157	RR	2.4 : 1
		158	SS	
153		168	RR	2.4 : 1
		169	SS	
159		170	RR	2.8 : 1
166		177	RR	2.0 : 1
		178	SS	
167		179	RR	2.7 : 1
		180	SS	
172		173	RR	1.5 : 1
		174	SS	
181		182	RR	2.0 : 1
		183	SS	
188		200	RR	1.4 : 1
			SS	
236		242	RR	2 : 1
			SS	
238		269	RR	2 : 1**
			SS	

* 188 vyžaduje 6 ekvivalentů MCPBA a 36 hodin pro 70% přeměnu na epoxidy.

** Neseparovatelná směs.

Obecný způsob epoxidace styrenových analogů:

Roztok styrenových analogů (0,1 mmolů) a kyseliny m-chlorperoxybenzoové (0,3 mmolů) v 3 ml dichlormethanu byl ponechán za míchání při teplotě okolí. Po uplynutí 16 hodin byla reakční směs zředěna dichlormethanem (3 ml) a promývána fosforečnanovým pufrem (0,1M, pH 8, 5 ml) pro odstranění 3-chlorbenzoové kyseliny, vytvořené v průběhu reakce. Organická vrstva byla oddělena, zpracován dimethylsulfidem (20 μ l) pro odstranění perkyseliny a vystavena druhému promývání pufrem. Dichlormethanová vrstva byla oddělena, sušena nad $MgSO_4$, odpařena a uchovávána za sníženého tlaku po dobu 24 hodin. Residuum bylo vystaveno HPLC s obrácenými fázemi (Econosil C18, 10 μ , 250 mm x 22 mm, 35% H_2O/CH_3CN , 6 ml/min) pro získání RR a SS -epoxidů.

Experimentální detaily a data o cytotoxicitě jsou uvedeny v tabulce 3.

Kryptofyciny-157 a -158:

Kryptofycin-151 byl zpracován m-CPBA a produkty byly izolovány použitím chromatografií HPLC s obrácenými fázemi pro získání kryptofycinů-151 a -15B.

Kryptofycin-157:

EIMS m/z (relativní intensita) 704/706 (1/0,3), 195/191 (14/41, 141 (100), 115 (27);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 704,2865 (vypočteno pro $C_{39}H_{45}ClN_2O_8$, - 0,1 nmu chyba);

^1H NMR data viz tabulka 6;

^{13}C NMR data viz tabulka 1.

Kryptofycin-158: EIMS m/z (relativní intensita) 704/106 (2,2/1,9), 195/191 (25/9), 141 (100);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 704,2862 (vypočteno pro $C_{39}H_{45}ClN_2O_8$, 0,3 mmu chyba);

^1H NMR data viz tabulka 6;

^{13}C NMR data viz tabulka 7.

Kryptofyciny-164 a -165:

Roztok kryptofycinu-152 (53 mg, 0,08 mmolů) a kyseliny m-chlorperoxybenzoové (15 mg, 0,087 mmolů) v 3 ml dichlormethanu byl ponechán za míchání při teplotě okolí po dobu 16 hodin. Reakční směs byla vystavena stejnému zpracování a čištění pro získání sloučenin 164/165A a 164/165B (5 mg každá), se stejným výchozím materiálem (10 mg) a dalšími dekompozičními produkty. Hrubé struktury byly analýzou určeny jako kryptofyciny-164 a -165, ale stereochemická struktura epoxidové složky sloučeniny nemohla být určena.

Kryptofycin-164/165A:

^1H NMR ($CDCl_3$) aminová nebo hydroxykyselinová jednotka δ (uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) A 5,77 (2, d; 15,1), 6,67 (3, ddd; 15,1, 9,7 a 5,4.), 2,37 (4, m), 2,44 (4, m), 4,98 (5, m), 2,48 (6, m), 1,06 (6-Me, d; 6,7), 5,83 (7, dd; 15,6 a 8,5), 5,40 (8, dd; 15,6 a 7,8), 3,32 (9, dd; 7,9 a 2,0), 3,75 (10, d; 2,0), 7,26 (2'/6', m), 7,31- (3, dd; -14,5 a 7,3), 3,14 (3, dd; -14,5 a 5,5), 7,23 (5, d; 2,2), 3,87 (7-OMe, s), 6,84 (8, d; 8,2), 7,09 (9, dd; 8,2 a 2,2); C 2,73 (2, m), 1,23 (2-Me, d; 7,2), 3,29 (3, m), 3,51 (3, m), 6,97 (3-NH, br t; 6,3); D 4,88 (2, dd; 10,0 a 3,1), 1,52 (3, m), 1,79 (3/4, m), 0,92 (4-Me, d; 6,51), 0,95 (5, d;



6,5).

^{13}C NMR (CDCl_3) jednotka δ (uhlíková poloha) A 165,4 (1), 125,3 (2), 141,2 (3), 36,5 (4), 77,0 (5), 41,3 (6), 17,0 (6-Me), 136,2 (7), 129,4 (8), 62,5 (9), 60,1 (10), 136,9 (1'), 125,4 (2'/6'), 128,7 (3'/5'), 128,4 (4'); B 171,0 (1), 53,6 (2), 35,0 (3), 129,9 (4), 131,0 (5), 122,4 (6), 154,0 (7), 56,1 (7-OMe), 112,3 (8), 128,3 (9); C 175,6 (1), 38,3 (2), 14,1 (2-Me), 41,2 (3); D 170,8 (1), 71,5 (2), 39,6 (3), 24,7 (4), 21,4 (4-Me), 22,9 (5).

Kryptofycin-164/165B:

^1H NMR (CDCl_3) aminová nebo hydroxykyselinová jednotka δ (uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) A 5,76 (2, d; 15,3), 6,66 (3, ddd; 15,3, 9,6 a 5,7), 2,36 (4, m), 2,40 (4, m), 5,00 (5, m), 2,47 (6, m), 1,08 (6-Me, d; 6,8), 5,95 (1, dd; 15,5 a 8,5), 5,43 (8, ddd; 15,5, 7,6 a 0,6), 3,35 (9, dd; 7,6 a 1,9), 3,75 (10, d; 1,9), 7,27 -7,37 (3, dd; -14,4 a 7,2), 3,14 (3, dd; -14,4 a 5,5), 7,22 (5, d; 2,1), 3,87 (7-OMe, s), 6,84 (8, d; 8,5), 7,08 (9, dd; 8,5 a 2,1); C 2,12 (2, m), 1,22 (2-Me, d; 7,2), 3,27 (3, m), 3,52 (3, m), 6,90 (3-NH, br t; 6,3); D 4,87 (2, dd; 9,8 a 3,8), 1,48 (3, m), 1,77 (3, m), 1,73 (4, m), 0,89 (4-Me, d; 6,4), 0,90 (5, d; 6,6).

^{13}C NMR (CDCl_3) jednotka δ (uhlíková poloha) A 165,4 (1), 125,2 (2), 141,2 (3), 36,4 (4), 41,3 (6), 16,9 (6-Me), 135,9 (7), 129,1 (8), 62,3 (9), 60,4 (10), 136,8 (1'), 125,5 (2'/6'), 128,6 (3'/5'), 128,4 (4'); 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), 112,2 (8), 128,4 (9); C 175,5 (1), 38,3 (2), 14,0 (2-Me), 41,2 (3); D 170,8 (1), 71,4 (2), 39,7 (3), 24,7 (4), 21,5 (4-Me), 22,9 (5).



Kryptofyciny-168 a 169.

Kryptofycin-153 byl zpracován m-CPBA a produkty byly izolovány použitím chromatografie HPLC s obrácenými fázemi pro získání kryptofycinů-168 a -169.

Kryptofycin-168:

EIMS m/z (relativní intensita) 684/686 (7/2), 412/414 (17/6), 280/282 (12/6), 257 (20), 212/214 (14/4), 195/197 (69/24), 121 (100);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 684,2789 (vypočteno pro $C_{36}H_{45}ClN_2O_9$, 2,6 mmu chyba);

^1H NMR data, viz tabulka 6;

^{13}C NMR data, viz tabulka 7.

Kryptofycin-169:

^1H NMR data, viz tabulka 6;

^{13}C NMR data, Viz tabulka 7.

Kryptofyciny-170 a 171:

Kryptofycin-159 byl zpracován m-CPBA a produkty byly izolovány použitím chromatografie HPLC s obrácenými fázemi pro získání kryptofycinů-170 a -171.

Kryptofycin-170:

EIMS m/z (relativní intensita) 682/684 (4/3), 412/414 (11/4), 280/282 (15/4), 255 (25), 195/197 (52/17);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 682,3043 (vypočteno pro $C_{37}H_{47}ClN_2O_8$, - 2,2 mmu chyba);

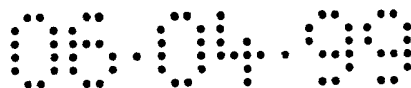
^1H NMR data, viz tabulka 6;

^{13}C NMR data viz tabulka 7.

Kryptofycin-171:

EIMS m/z (relativní intensita) 682/684 (2,0/0,7), 412/414 (1/4), 280/282 (14/4), 255 (19), 195/197 (50/17);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 682,3006 (vypočteno pro



$C_{37}H_{47}ClN_2O_8$, 1,5 mmu chyba);

^1H NMR data, viz tabulka 6;

^{13}C NMR data, viz tabulka 7.

Kryptofyciny-173 a 114:

Kryptofycin-171 byl zpracován m-CPBA a produkty byly izolovány použitím chromatografie HPLC s obrácenými fázemi pro získání kryptofycinů-173 a -174.

Kryptofycin-173:

EIMS m/z (relativní intensita) 704/706 (1,3/0,4), 412/414 (5,1/1,9), 277 (6,3), 141 (100);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 704,2838 (vypočteno pro $C_{39}H_{45}ClN_2O_8$, 2,7 mmu chyba);

^1H NMR data, viz tabulka 6;

^{13}C NMR data, viz tabulka 7.

Kryptofycin-174:

^1H NMR data, viz tabulka 6;

^{13}C NMR data, viz tabulka 7.

Kryptofyciny-177 a 178:

Kryptofycin-166 byl zpracován m-CPBA a produkty byly izolovány použitím chromatografie HPLC s obrácenými fázemi pro získání kryptofycinů-177 a -178.

Kryptofycin-177:

EIMS m/z (relativní intensita) 668(2,7), 412/414 (9/3), 280/282 (11/4), 241 (16), 195/197 (45/17), 105 (100);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 668,2835 (vypočteno pro $C_{36}H_{45}ClN_2O_8$, 2,9 mmu chyba);

^1H NMR data, viz tabulka 6;

^{13}C NMR data, viz tabulka 7.

Kryptofycin-178:

05.04.99

EIMS m/z (relativní intensita) 668/670 (4/1,4), 412/414 (17/6), 280/282 (12/4), 241 (241), 195/197 (59/18), 105 (100);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 668,2836 (vypočteno pro $C_3H_4ClN_2O_8$, 2,9 mmu chyba);

^1H NMR data, viz tabulka 6;

^{13}C NMR data, viz tabulka 7.

Kryptofyciny-179 a 180:

Kryptofycin-161 byl zpracován m-CPBA a produkty byly izolovány použitím stejného postupu jako bylo popsáno výše pro epoxidaci kryptofycinu-151, pro získání kryptofycinů-179 a -180.

Kryptofycin-179:

EIMS m/z (relativní intensita) 682/684 (25/131, 412/414 (100/43), 280/282 (100/50), 255 (100), 211 (100), 195/197 (100/100), 121 (100);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 682,2992 (vypočteno pro $C_{37}H_{47}ClN_2O_8$, 2,9 mmu chyba);

^1H NMR data, viz tabulka 6;

^{13}C NMR data, viz tabulka 7.

Kryptofycin-180:

EIMS m/z (relativní intensita) 682/684 (4/31, 412/414 (14/7), 280/282 (16/11), 255 (101), 195/197 (58/21), 119 (100);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 682,3021 (vypočteno pro $C_{37}H_{47}ClN_2O_8$, 0 mmu chyba);

^1H NMR data, viz tabulka 6;

^{13}C NMR data, viz tabulka 7.

Kryptofyciny-182 a 183:

Kryptofycin-181 byl zpracován m-CPBA a produkty byly izolovány použitím chromatografie HPLC s obrácenými fázemi pro získání kryptofycinů-182 a -183.

Kryptofycin-182:

EIMS m/z (relativní intensita) 672 (1), 412/414 (11/4), 280/282 (10/4), 245 (12), 195/197 (40/12), 109 (77);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 672,2590 (vypočteno pro $C_{35}H_{42}ClFN_2O_8$, 2,3 mmu chyba);

^1H NMR data, viz tabulka 6;

^{13}C NMR data, viz tabulka 7.

Kryptofycin-183:

EIMS m/z (relativní intensita) 672/674 (5/2), 412/414 (32/12), 280/282 (13/4), 245 (29), 195/197 (92/30), 109 (100);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 672,2620 (vypočteno pro $C_{35}H_{42}ClFN_2O_8$, - 0,7 mmu chyba);

^1H NMR data, viz tabulka 6;

^{13}C NMR data, viz tabulka 7.

Kryptofyciny-200:

Kryptofycin-188 byl zpracován m-CPBA a produkty izolovány použitím stejného obecného postupu, s tou výjimkou, že další množství perkyseliny (3 ekvivalenty) byly přidány po uplynutí 12 hodin a míchání pokračovalo po dobu 36 hodin pro získání kryptofycinu-200 a SS-epoxidu.

Kryptofycin-200:

EIMS m/z (relativní intensita) 690/692 (42/16), 412/414 (7/1), 263 (19), 195/197 (27);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 690,2494 (vypočteno pro $C_{35}H_{41}ClF_2N_2O_8$, 2,6 mmu chyba);

^1H NMR data, viz tabulka 6;

^{13}C NMR data, viz tabulka 7.

Kryptofycin-242:

Kryptofycin-236 byl zpracován m-CPBA a produkty byly izolovány použitím stejné obecné procedury pro získání kryptofycinu-242 a jeho SS-epoxidu. Kryptofycin-242 byl čištěn chromatografií HPLC s normálními fázemi (Econosil Si, 250 x 10 mm, 10 μ , EtOAc ; Hexany, 1:1, 3 ml/minutu, t_R : 81 minut) .

Kryptofycin-242:

^1H NMR (CDCl_3) aminová nebo hydroxykyselinová jednotka δ (uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) A 5,73 (2, d; 15,4), 6,64 (3, ddd; 15,4, 10,2 a 5,0), 2,42 (4, m), 2,57 (4, m), 5,14 (5, m), 1,79 (6, m), 1,12 (6-Me, d; 6,7), 2,93 (7, dd; 8,4 a 1,6), 3,69 (8, d; 1,6), 7,26^a (2'/6', d; 8,2), 7,22^a (3'/5', d; 8,2), 4,28 (4'-CH₂NH-t-Boc, d; 5,9), 4,96 (4'-CH₂NH-t-Boc, brs), 1,44 (4'-CH₂NH-t-Boc, s); B 4,66 (2, m), 5,66 (2-NH, d; 7,8), 2,92 (3, dd; -14,5 a 7,2), 3,14 (3, dd; -14,5 a 5,0), 7,21 (5, d; 2,0), 3,85 (7-OMe, s), 6,88 (8, d; 8,5), 7,09 (9, dd; 8,5 a 2,0); C 2,6B (2, m), 1,17 (2-Me, d; 7,4), 3,33 (3, m), 3,39 (3, m), 6,95 (3-NH, br t; 6,1); D 4,85 (2, dd; 10,0 a 3,3), 1,37 (3, m), 1,67 - 1,73 (3/4, m), 0,84 (4-Me, d; 6,7), 0,86 (5, d; 6,7);

^{13}C NMR (CDCl_3) jednotka δ (uhlíková poloha) A 165,7 (1), 125,4 (2), 141,7 (3), 37,2 (4), 76,6 (5), 40,9 (6), 13,7 (6-Me), 63,4 (7), 59,0 (8), 136,4 (1'), 126,2^b (2'/6'), 127,9^b (3'/5'), 140,2 (4'), 44,5 ((4'-CH₂NH-t-Boc), 28,5 ((4'-CH₂NH-t-Boc); B 171,2 (1), 54,6 (2), 35,5 (3), 130,5 (4), 131,2 (5), 122,5 (6), 154,4 (7), 56,5 (7-OCH₃), 112,7 (8), 128,8 (9); C * (1), 38,6 (2), 14,4 (2-Me), 41,1 (3); D 171,2 (1),

05.04.99

71,6 (2), 39,9 (3), 24,9 (4), 23,1 (4-Me), 21,4 (5). ^a a ^b signály s identickými horními indexy jsou vzájemně zaměnitelné.

Kryptofycin-269:

Kryptofycin-243 (6 mg) v acetonu (1,2 ml) byl zpracován pevným K₂CO₃ za intenzivního míchání v reakční nádobce při teplotě okolí. Po uplynutí 12 hodin byla reakční směs filtrována a rozpouštědlo odpařeno. Residuum bylo čištěno na krátké koloně oxidu křemičitého použitím směsí CH₂Cl₂ a EtOAc pro získání kryptofycinu-269 (5,1 mg).

¹H NMR (CDCl₃) aminová nebo hydroxykyselinová jednotka δ (uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) A 5,70 (2, d; 15,4), 6,67 (3, m), 2,42 (4, dt; 14,4 a 10,4), 2,53 (4, m), 5,11 - 5,19 (5, m), 1,63 - 1,83 (6, m), 1,14 (6-Me, d; 6,8), 2,92 (7, d; 7,6), 3,69 (8, br s), 7,37^a (2'/6', d; 7,9), 7,24^a (3'/5', d; 7,9), 4,71 (4'-CH₂OH, s); B 4,74 - 4,85 (2, m), 5,76 (2-NH, d; 8,3), 2,98 (3, dd; -14,5 a 7,7), 3,13 (3, dd; -14,5 a 5,3), 7,20 (5, br s), 3,85 (7-OMe, s), 6,82 (8, d; 8,3), 1,05 (9, br d; 8,3); C 2,68 (2, m), 1,14 (2-Me, d; 7,3), 3,32 (3, m), 3,45 (3, m), 6,98 (3-NH, br m); D 4,14 - 4,85 (2, m), 1,35 (3, m), 1,63 - 1,83 (3/4, m), 0,85 (4-Me, d; 6,1), 0,87 (5, d; 6,1).

^a signály se stejnými horními indexy jsou vzájemně zaměnitelné.

Tabulka 6.

¹H NMR data pro Kryptofyciny-1, -157, -158, -158f -169f - 170, -173, -174, -177, -178, -179, -180, -182, -183 a 200.



P = poloha

P	1	157	158	168	169	170	173	174	177	178	179	180	182	183	200
A 2	5.74 d	5.72	5.82	5.73	5.82	5.75	5.73	5.83	5.76	5.82	5.74	5.82	5.76	5.81	5.75
3	6.68 ddd	6.70	6.72	6.67	6.70	6.68	6.68	6.72	6.69	6.70	6.66	6.71	6.69	6.70	6.67
4R	2.45 dt	2.56	2.72 m	2.45	2.67 m	2.49	2.46	2.70 m	2.51	2.58 m	2.45	2.57 m	2.55	2.57	2.42
4S	2.55 brdd	2.63	2.62 m	2.54	2.56 m	2.54	2.59	2.60 m	2.54	2.69 m	2.54	2.69 m	2.56	2.68	2.53
5	5.16 ddd	5.24	5.21	5.15	5.14 m	5.17	5.18	5.17	5.18	5.15 m	5.14	5.13 m	5.17	5.15	5.14
6	1.80 m	2.04	1.93 m	1.78	1.78	1.86	1.85	1.83	2.87	1.77	1.76	1.75	1.82	1.79	1.81
6-Me	1.14 d	1.20	1.20	1.14	1.05	1.14	1.18	1.08	1.14	1.10	1.14	1.14	1.14	1.08	1.11
7	2.92 d	2.99	2.92	2.90	2.87	2.86	3.03	3.01	2.87	2.80	2.92	2.89	2.90	2.87	2.85
8	3.69 d	4.41	4.26	3.66	3.58	3.85	3.85	3.77	3.88	3.74	3.61	3.53	4.01	3.88	3.66
9															
10															
8/10-Ar-I'							7.77 br s	7.75 br s							
2'	7.25 m	7.41 d	7.42 br d	6.77 br s	6.76 br s	2.38 s			2.42 s	2.40 s	6.85 br s	6.86 br s			6.77 m
3'	7.34 to	7.46 t	7.47 dd	3.81 s	3.81 s	6.99 br s	7.29 dd	7.30 d	7.11 to	7.15 to	2.31 s	2.31 s	7.05 to	7.03 to	
4'	7.39 m	7.82 d	7.82 br d	6.87 br d	6.85 d	2.30 s	7.82 d	7.83 to	7.24 m	7.22 m	6.96 br s	6.95 br s	7.33 m	7.31 m	6.77 m
5'	"	7.91 d	7.91 d	7.27 t	7.26 t	7.00 s	7.84 d	7.83 m	"	"	2.31 s	2.31 s	"	"	
6'	7.25 m	7.53 td	7.53 ddd	6.85 d	6.85 d	7.00 s	7.50 m	7.46 to	"	"	6.85 br s	6.86 br s	"	"	6.77 m
7'		7.57 td	7.57 ddd				7.50 m	7.52 m							
8'		8.08 d	8.07 d				7.84 d	7.83 m							
D 2	4.83 dd	4.81	4.91	4.82	4.91	4.83	4.81	4.92	4.84	4.90	4.82	4.92	4.84	4.91	4.84
3	1.36 m	1.34	1.48	1.36	1.50	1.36	1.31	1.49	1.39	1.50	1.33	1.51	1.39	1.56	1.36
3'	1.70 m	1.68	1.71	1.70	1.74	1.70	1.66	1.72	1.73	1.68	1.71	1.75	1.72	1.76	1.67 to
4	1.70 m	1.63	1.71	1.70	1.74	1.70	1.64	1.72	1.73	1.68	1.71	1.75	1.72	1.76	1.80 m
4-Me	0.86 d	0.78	0.87	0.87	0.91	0.85	0.79	0.87	0.86	0.91	0.85	0.92	0.87	0.92	0.89
5	0.85 d	0.74	0.85	0.85	0.89	0.84	0.75	0.87	0.85	0.89	0.84	0.89	0.85	0.90	0.87

Spektra zaznamenávána v CDCl_3 ; Chemické posuny jsou pro proton nebo methylové nebo methoxylové funkční skupiny s polohou na uhlíku indikovanou v tabulce. Chemické posuny pro protony v jednotkách B a C jsou v intervalu $\pm 0,2$ ppm a kopulační konstanty jsou v intervalu $\pm 0,5$ Hz hodnot

uvedených pro kryptofycin-1. J (H,H) v Hz pro 157: $2',3' = 3',4' = 1,7$; (H,H) v Hz pro 168: $4',5' = 5',6' = 8,0$; J (H,H) v Hz pro 173: $3',4' = 8,5$; $1',3' = 1,4$; $5',6' = 7',8' = 8,3$; Pozorovatelné kopulace protonů arylových segmentů kryptofycinů 158, 169 a 174 jsou v intervalu $\pm 0,5$ Hz hodnot pro 157, 168 respektive 173. Pozorovatelné kopulační konstanty pro zbývající protony v tabulce jsou v intervalu $\pm 0,5$ Hz hodnot kryptofycinu-1.

Tabulka 7

^{13}C NMR data pro Kryptofyciny-157, -158, -168, - 169, -170, - 173, -174, -171, -178, -179, -180, -182, -183 a 200.

05.04.99

P = poloha

P	157	158	168	169	170	173	174	177	178	179	180	182	183	200
A	165.	165	165	165	165	165	165	165	165	165.	165	165	165.	165
1	3	.5	.3	.5	.3	.3	.4	.4	.5	3	.5	.3	4	.3
2	125.	125	125	125	125	125	125	125	125	125.	125	125	125.	125
	3	.2	.3	.2	.3	.3	.3	.3	.3	2	.2	.2	3	.4
3	141.	141	141	141	141	141	141	141	141	141.	141	141	141.	140
	0	.4	.0	.4	.0	.0	.4	.1	.4	2	.5	.2	3	.8
4	36.6	36.	36.	36.	36.	36.	36.	36.	36.	36.8	36.	36.	36.7	36.
	8	*	7	7	6	8	8	5	8		7	7		7
5	76.1	*	76.	*	76.	76.	*	76.	*	76.2	*	76.	76.8	75.
			1		0	2		0				2		9
6	40.1	41.	40.	41.	40.	40.	41.	40.	41.	40.8	41.	40.	40.9	40.
	0	6	0	0	3	7	0	2	0		0	5		2
6- Me	13.1	13.	13.	13.	13.	13.	13.	13.	13.	13.7	13.	13.	13.3	13.
	8	6	6	5	3	6	5	1	8		6	7		3
7	62.6	62.	63.	63.	62.	63.	64.	62.	62.	62.9	63.	62.	62.6	63.
	7	0	1	1	4	2	3	4	7		1	5		3
8	56.3	54.	58.	56.	56.	59.	56.	56.	54.	59.2	56.	53.	51.1	57.
	7	9	3	3	3	3	5	2	5		4	4		6
8/ 10	132.	133	138	138	137	125	124	134	135	136.	137	124	**	141
-	6	.0	.4	.8	.8	.3	.9	.9	.3	6	.0	.3		.1
Ar														m
1'														
2'	122.	122	110	110	135	133	133	135	135	123.	123	161	**	108
	4	.4†	.9	.5	.8	.5	.3	.9	.6	4	.1	.2		.4
3'	125.	125	160	160	131	122	122	130	129	138.	138	115	115.	163
	5	.5	.0	.0	.0	.6	.7	.2	.9	4	.3	.3	2	.4
4'	128.	128	114	111	131	128	128	128	128	130.	128	129	129.	103
	5	.3	.0	4.0	.8	.7	.5	.0	.8	3	.4	.7	5	.9
5'	129.	128	129	129	124	127	127	124	124	138.	138	124	129.	163
	0	.9	.8	.7	.3	.8	.7 ^a	.2	.0	4	.3	.5	5	.4
6'	126.	126	118	117	127	126	126	126	126	123.	123	126	124.	108
	0	.0	.0	.9	.0	.3 ^a	.2 ^b	.4	.3	4	.1	.1	4	.4
7'	126.	126				126	126							
	6	.5				.6 ^a	.5 ^b							
8'	122.	122				127	127							
	3	.3†				.8	.8 ^a							
9'	131.	131				133	133							
	4	.2				.2	.2							
10'	133.	133				134	134							
	4	.3				.2	.5							
D	170.	170	170	170	170	170	170	170	170	170.	171	170	170.	170
1	7	.8	.7	.9	.7	.8	.9	.7	.9	8	.9	.7	8	.7
2	71.4	71.	71.	71.	71.	71.	71.	71.	71.	71.3	71.	71.5	71.	71.
	5	3	3	3	3	3	5	4	5		5		3	3
3	39.4	39.	39.	39.	39.	39.	39.	39.	39.	39.4	39.	39.	39.3	39.
	3	4	4	3	4	4	3	5	3		3	4		5
4	24.5	24.	24.	24.	24.	24.	24.	24.	24.	24.5	24.	24.	24.7	24.
	6	5	5	7	5	5	7	6	7		7	6		6
4- Me	22.8	23.	21.	21.	21.	21.	21.	21.	21.	21.2	21.	21.	21.4	21.
	0	3	3	4	3	2	4	4	4		4	3		3
5	21.3	21.	22.	23.	22.	22.	23.	22.	23.	22.9	23.	22.	23.1	22.
	3	9	1	1	8	8	0	9	1		1	9		9

Spektra zaznamenávána v CDCl₃, Chemické posuny pro uhlíky v

08.04.99

jednotkách B a C jsou v intervalu $\pm 0,5$ ppm hodnot v kryptofycin-1.

*Signál skryt pod CDCl_3 signálem.

** Signály nemohly být nalezeny.

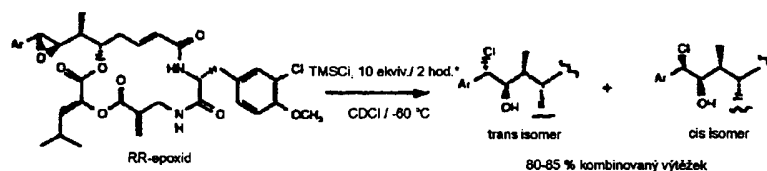
+, ^a a ^b signály se stejnými horními indexy v sloupci jsou vzájemně zaměnitelné.

3'-OCH₃ signál jak u 168, tak i u 169 byl pozorován při δ 55,3. 2' a 4'-CH₃ uhlíkové signály u 170 byly pozorovány při δ 18,9 respektive 21,0. 2'-CH₃ uhlík 177 a 178 rezonoval při δ 19,0 respektive 18,9. 3' a 5'-CH₃ signály u 179 byly pozorovány při δ 21,3 a u 180 byly pozorován při 21,2.

Příklad 93 Chlorhydrinové analogy

Kryptofyciny-163, 184, 185, 186, 187, 191, 192, 193, 194, 195, 212, 216, 217, 222, 223, 224, 243, 252, 253, 263, 264, 265, 212 a 273.

Tabulka 8.



epoxid kryptofycin č.	Ar	chlor- hydrin č.	Stereo- chemie	poměr trans/cis
157		191	trans	1.1 : 1
		192	cis	
168		195	trans	1 : < 0.1
			cis	
170		216	trans	1 : 2.6
		217	cis	
179		222	trans	< 0.1 : 1
			cis	
172		193	trans	1 : 2
		194	cis	
181		223	trans	1 : < 0.1
			cis	
200		212	trans	1 : < 0.1
			cis	
**		184	trans	
**		224	trans	1 : 2
		186	cis	
***		243	trans	1 : < 0.1
			cis	

* Kryptofycin-200 podstoupil za těchto podmínek pouze 30% přeměnu.

** Směs RR epoxidů 3,4 - a 2,3 -dimethylfenylových analogů.

*** Směs RR a SS epoxidů.

* Kryptofycin-200 podstoupil za těchto podmínek pouze 30% přeměnu.

** Směs RR epoxidů 3,4 - a 2,3 -dimethylfenylových analogů.

*** Směs RR a SS epoxidů.

Kryptofycin-163:

Do roztoku kryptofycinu-81 (12 mg, 0,018 mmolů) v CH_2Cl_2 (1,5 ml) při teplotě 0 °C byla přidána m-CPBA (5 mg, 0,029 mmolů) následována HCl v kyselině octové (1,0 M roztok, 25 μl) a teplota byla ponechána stoupnou na teplotu zpětného toku a míchání pokračovalo po 6 hodin. Odpaření rozpouštědla následované mžikovou chromatografií residua na C18 koloně oxidu křemičitého (12 cm x 1 cm) použitím H_2O a CH_3CN směsí dalo směs chlorhydrinů (12 mg, 93%). Pokus o čištění chromatografií HPLC s obrácenými fázemi vedl k částečné hydrolýze na dioly. Čištění chromatografií HPLC s normálními fázemi (Econosil, oxid křemičitý, 250 mm x 10 mm, 1:1 EtOAc/hexan) však dalo kryptofycin-163 (t_R 37,2 minut, 3,0 mg). Protonová a uhlíková NMR data byla podána v tabulkách 9 respektive 10.

Kryptofyciny-184, -185, -186, 187 a 224:

Směs 3,4-dimethylbenzyltrifenylfosfoniumchloridu a 2,3-dimethylbenzyltrifenylfosfoniumchloridu (1:3) byla konvertována na 3,4- a 2,3-dimethylbenzyltrifenylfosforany a potom zpracována kryptofycinem-108 použitím stejného postupu, jaký byl popsán výše pro přípravu kryptofycinu-152. Neseparovatelná směs čtyř styrenových isomerů byla získána s 68% celkovým výtěžkem. Směs (45 mg) v CH_2Cl_2 (3 ml) byla zpracována pomocí m-CPBA (25 mg) při teplotě zpětného toku a udržována za míchání po dobu 15 hodin. Rozpouštědlo bylo

odstraněno a residuum bylo vystaveno HPLC (Econosil C-18, 250 x 22 mm 7:3 H₂O/CH₃CN, 6 ml/min) a byly shromážděny dvě frakce I (t_R 54,0 minut, 20 mg) a II (t_R 61,5 minut, 12 mg). Frakce I (9 mg) v CH₂Cl₂ (2,0 ml) byla zpracována TMSCl (40 µl) při teplotě -78 °C a teplota byla ponechána postupně vzrůst na teplotu okolí. Po uplynutí 3 hodin bylo odpařeno rozpouštědlo a následovala chromatografie HPLC s obrácenými fázemi (Econosil C18, 10 m, 250 x 22 mm, 35:65 H₂O/CH₃CN, 6 ml/min), která dala kryptofycin-186 (t_R 57,8 minut, 4,7 mg), kryptofycin-224 (t_R 74,5 minut, 2,3 mg) a kryptofycin-184 (t_R 78,2 minut, 2,0 mg). Použitím téže procedury byla frakce II zpracována TMSCl a sloučeniny byly odděleny pro získání kryptofycinu-185 (t_R 65,0 minut, 0,7 mg) a kryptofycinu-187 (t_R 69,2 minut, 0,0 mg).

Kryptofycin-184:

EIMS m/z (relativní intensita) 682/684 (1,1/0,4), 236 (10), 195 (9), 135 (100), 119 (83);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 682,2999 (M⁺ - HCl, vypočteno pro C₃₇H₄-7ClN₂O₈ 2,2 mmu chyba);

Protonová a uhlíková data jsou podána v tabulkách 9 respektive 10.

Kryptofylin-185: EIMS m/z (relativní intensita) 682/684 (6/2), 412/414 (14/5), 280/282 (14/5), 255 (10), 195/197 (50/16), 119 (100);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 682,3015 (M⁺ - HCl, vypočteno pro C₃₇H₄7ClN₂O₈, 0,6 mmu chyba);

Protonová a uhlíková data byla podána v tabulkách 9 respektive 10.

Kryptofycin-186: EIMS m/z (relativní intensita) 682/684 (1,3/0,6), 412/414 (2,5/0,8), 254 (7), 195 (11), 119 (100);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 682,3015 (M⁺ - HCl, vypočteno

pro $C_{37}H_{47}ClN_2O_8$, 0,6 mmu chyba);

Protonová a uhlíková data byla podána v tabulkách 9 respektive 10.

Kryptofycin-187: EIMS m/z (relativní intensita) 682/684 (0,9/0,2), 412/414 (3/1), 255 (3), 254 (7), 195 (11), 135 (100), 119 (94);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 682,3044 (M^+ - HCl, vypočteno pro $C_{37}H_{47}ClN_2O_8$, -2,3 mmu chyba);

Protonová a uhlíková data byla podána v tabulkách 9 respektive 10.

Kryptofycin-224:

EIMS m/z (relativní intensita) 682/684 (3/1), 412/414 (3/1), 255 (4), 254 (9), 195/197 (28/6), 119 (100);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 682,3064 (M' - HCl, vypočteno pro $C_{37}H_{41}ClN_2O_8$, -4,3 mmu chyba);

Protonová a uhlíková data byla podána v tabulkách 9 respektive 10.

Kryptofyciny-191, 192, -193, -194, -195, -212, -216, -217, -222 a -223:

Obecná procedura pro přípravu chlorhydrinů: Roztok RR-epoxidu v chlorformu byl ochlazen na teplotu - 60 °C a zpracován přebytkem trimethylsilylchloridu (10 ekvivalentů). Po uplynutí 2 hodin bylo rozpouštědlo odpařeno a residuum bylo čištěno chromatografií HPLC s obrácenými fázemi (Econosil C18, 10 μ , 35% H_2O/CH_3CN , 3 ml/min) pro získání trans a cis chlorhydrinů.

Experimentální detaily přípravy kryptofycinů-191, 192, -193, -194, -195, -212, -216, -217, -222, -223 a 224 a cytotoxicita jsou uvedeny v tabulce 8.

Kryptofycin-195:

EIMS m/z (relativní intensita) 684/686 (3/2), 412/414 (12/4), 257 (11), 195/197 (46/15);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 684,2784 (M+-HCl, vypočteno pro C₃₆H₄₅ClN₂O₉, δ 3,0 mmu);

¹H NMR data, viz tabulka 9;

¹³C NMR data, viz tabulka 10 .

Kryptofycin-212:

EIMS m/z (relativní intensita) ;

EIMS s vysokým rozlišením m/z (M+-HCl, vypočteno pro C₃₅H₄₁ClF₂N₂O₈, δ mmu);

¹H NMR data, viz tabulka 9;

¹³C NMR data, viz tabulka 10.

Kryptofycin-216:

EIMS m/z (relativní intensita) 682/684 (6/3), 412/414 (6/2), _____
255 (4), 195/197 (21/7);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 682,2990 (M+-HCl, vypočteno pro C₃₇H₄₇ClN₂O₈, δ 3,1 mmu);

¹H NMR (CDCl₃) aminová nebo hydroxykyselinová jednotka δ (uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) A 5,79 (2, d; 15,4), 6,70 (3, ddd; 15,4, 9,5 a 5,4), 2,36 (4, m), 2,67 (4, br dd; 14,9 a 4,9), 5,01 (5, m), 2,52 (6, m), 1,07 (6-Me, d; 7,1), 4,07 (7, br d; 9,8), 5,01 (8, d; 9,8), 2,36 (2'-CHJ, s), 7,01 (2', br s), 2,31 (4'-CH₃, s), 7,06 (5', br d; 8,1), 7,32 (6', d; 8,1); B 4.B1 (2, m), 5,71 (2-NH, d; 8,5), 3,02 (3, dd; -14,4 a 7,4), 3,16 13, dd; -14,4 a 5,6), 7,23 (5, d; 2,01, 3,88 (7-OMe, s), 6,85 (8, d; 8,3), 7,09 (9, dd; 8,3 a 2,0); C 2,74 (2, m), 1,23 (2-Me, d; 7,1), 3,25 (3, m),

3,53 (3, m), 6,93 (3-NH, br m); D 4,93 (2, dd; 10,2 a 3,2), 1,49 (3, m), 1,68 - 1,85 (3/4, m), 0,95 (4-Me, d; 6,4), 0,96 (5, d; 6,4).

Kryptofycin-217:

EIMS m/z (relativní intensita) 682/684 (3/1), 412/414 (6/1), 255 (5), 195/197 (23/7);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 682,2920 (M+HCl, vypočteno pro C₃₇H₄₇ClN₂O₈, δ 10,1 umu);

¹H NMR (CDCl₃) aminová nebo hydroxykyselinová jednotka δ (uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) A 5,72 (2, d; 15,4), 6,66 (3, ddd; 15,4, 9,7 a 5,4), 2,17 (4, dt; 13,9 a 10,9), 2,53 (4, br dd; 13,9 a 5,0), 5,08 (5, m), 1,61 (6, m), 0,88 (6-Me, d; 6,8), 4,28 (7, br d; 9,6), 5,13 (8, d; 9,6), 2,3B (2'-CH₃, s), 7,03 (2', br s), 2,32 (4'-CH₃, s), 7,03 (5', brd; 3,03 (3, dd; -14,4 a 7,2), 3,14 (3, dd; -14,4 a 5,6), 7,21 (5, d; 1,6), 3,87 (7-OMe, s), 6,83 (8, d; B,3), 7,0B (9, dd; 8,3 a 1,7); C 2,74 (2, m), 1,24 (2-Me, d; 7,1), 3,29 (3, m), 3,50 (3, m), 6,96 (3-NH, br m); D 4,89 (2, dd; 9,8 a 3,4), 1,52 (3, m), 1,67 (3, m), 1,72 (4, m), 0,94 (4-Me,

Kryptofycin-222:

EIMS m/z (relativní intensita) 718/720 (0,4/0,2), 682/684 (13/7), 412/414 (15/5), 280/282 (16/5), 255 (12), 195/197 (59/19), 119 (100);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 718,2167 (vypočteno pro C₃₇H₄₈Cl₂N₂O₈, δ 2,1 mmu).

¹H NMR data, viz tabulka 9;

¹³C NMR data, viz tabulka 10.

Kryptofycin-223:

EIMS m/z (relativní intensita) 672/674 (1/0,8), 412/414 (3/1), 195/197 (15/3), 149 (100), 109 (35);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 708,2373 (vypočteno pro $C_{35}H_{43}FCl_2N_2O_8$, δ 0,7 mmu).

^1H NMR data, viz tabulka 9;

^{13}C NMR data, viz tabulka 10.

Kryptofyciny-243:

Epoxidace kryptofycinu-238:

Kryptofycin-238 (11,8 mg) byl rozpuštěn v dichlormethanu (1,5 ml) a zpracován MCPBA (9,6 mg). Po uplynutí 15 hodin byla reakční směs zředěna dichlormethanem (3 ml) a promývána 0,1 M fosforečnanovým puforem s pH 8 (3 ml). Organic vrstva byla zpracována dimethylsulfidem (10 μ l) a bylo opakováno promývání puforem. Organická vrstva byla odpařena a residuum (12 mg) bylo neúspěšně čištěno chromatografií HPLC s obrácenými fázemi (Econosil C18, 25 cm x 22 mm, 10 μ , 35% H_2O/CH_3CN , 6 ml/min) a tím se získala směs RR a SS-epoxidů (16,2 mg).

Zpracování pomocí $TMSCl$:

Směs byla rozpuštěna v chlorformu (1 ml) a zpracována $TMSCl$ (15 μ l) při teplotě $-60^\circ C$. Po uplynutí 2 hodin bylo rozpouštědlo odpařeno a residuum (7 mg) bylo vystaveno HPLC s normálními fázemi (Econosil Si, 25 cm x 10 mm, 10 μ , 85% $EtOAc$ /hexan, 4 ml/min). Frakce získané po 30 minutách byla dále čištěna chromatografií HPLC s obrácenými fázemi (Econosil C18, 25 cm x 10 mm, 10 μ , 45% H_2O/CH_3CN , 3 ml/min) pro získání kryptofycinu-243 (2,4 mg).

08.04.99

Kryptofycin-243:

^1H NMR (CDCl_3) aminová nebo hydroxykyselinová jednotka δ (uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) A 5,76 (2, d; 15,0), 6,67 (3, ddd; 15,0, 9,6 a 5,4), 2,35 (4, dt; 14,4 a 10,4), 2,64 (4, br dd; 14,4 a 5,1), 5,07 (5, m), 2,50 (6, m), 1,04 (16-Me, d; 6,8), 4,02 (7, br d; 9,8), 4,68 (8, d; 9,8), 7,39 (2'/3'/5'/6', br s), 4,70 (4'-CH₂OH, brs); B 4,74 (2, m), 5,72 (2-NH, d; 7,8), 2,99 (3, dd; -14,4 a 7,3), 3,14 (3, dd; -14,4 a 5,61), 7,22 (5, d; 2,01, 3,8B (7-OMe, s), 6,84 (8, d; 8,41, 7,08 (9, dd; 8,4 a 2,0); C 2,73 (2, m), 1,21 (2-Me, d; 7,1), 3,23 (3, dt; 13,7 a 1,1), 3,50 (3, dt; 13,7 a 4,5), 6,93 (3-NH, br dd; 7,1 a 4,5); D 4,91 (2, dd; 10,0 a 3,4), 1,47 (3, m), 1,64 - 1,84 (3/4, m), 0,94 (4-Me, d; 6,4), 0,95 (5, d; 6,3);

^{13}C NMR (CDCl_3) jednotka δ (uhlíková poloha) A, 165,6 (1), 125,0 (2), 141,9 (3), 36,3 (4), 76,4 (5), 38,3 (6), 8,7 (6-Me), 74,0 (7), 62,0 (8), 137,7 (1'), 127,4^a (2'/6'), 128,2^a (3'/5'), 142,2 (4'), 64,6 (4'-CH₂OH); B 171,1^b (1), 53,6 (2), 35,1 (3), 129,9 (4), 131,0 (5), 122,4 (6), 154,0 (7), 56,2 (7-OCH₃), 112,3 (8), 128,4 (9); C 175,4 (1), 38,5 (2), 14,1 (2-Me), 41,2 (3); D 170,5^b (1), 71,4 (2), 39,7 (3), 24,8 (4), 23,2 (4-Me), 21,6 (5).

^a a ^b signály se stejnými horními indexy jsou vzájemně zaměnitelné.

Kryptofyciny-252 a 253:

Epoxidace kryptofycinu-247:

Kryptofycin-247 (12 mg) byl rozpuštěn v dichlormethanu (1 ml) a zpracován MCPBA (9,8 mg). Po uplynutí 15 hodin byla reakční směs zředěna dichlormethanem (3 ml) a promývána 0,1 M fosforečnanovým pufrům s pH 8 (3 ml). Organická vrstva

byla oddělena a promývání pufrem se opakovalo po přidání dimethylsulfidu (15 ml). Organická vrstva byla odpařena a residuum (11,5 mg) bylo čištěno chromatografií HPLC s obrácenými fázemi (Econosil C18, 25 cm x 10 mm, 10 μ , 35% H₂O/CH₃CN, 3 ml/min) a tím se získal majoritní RR-epoxid (5 mg) a minoritní SS-epoxid (3 mg).

RR-epoxid:

¹H NMR (CDCl₃) aminová nebo hydroxykyselinová jednotka δ (uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) A 5,74 (2, d; 15,6), 6,67 (3, ddd; 15,6, 9,5 a 5,6), 2,44 (4, dt; 14,7 a 10,5), 2,50 - 2,58 (4, m), 5,15 (5, m), 1,62 - 1,81 (6, m), 1,12 (6-Me, d; 6,8), 2,91 (7, dd; 7,3 a 1,5), 3,66 (8, d; 1,5), 7,38 (2', br s), 6,54 (3'-NH, s), 1,51 (3'-NH-t-Boc), 7,21 - 7,30 (4'/5', m), 6,91 (6', br d; 6,8); B 4,79 (2, m), 5,69 (2-NH, d; 8,5), 3,00 (3, dd; 14,5 a 7,3), 3,13 (3, dd; 14,5 a 5,51, 7,20 (5, d; 2,0), 3,86 (7-OMe, s), 6,83 (8, d; 8,3), 7,06 (9, dd; 8,3 a 2,0); C 2,70 (2, m), 1,22 (2-Me, d; 7,1), 3,30 (3, m), 3,46 (3, m), 6,97 (3-NH, m); D 4,83 (2, dd; 10,0 a 3,4), 1,36 (3, m), 1,62 - 1,81 (3/4, m), 0,85 (4-Me, d; 5,9), 0,87 (5, d; 5,6).

Deprotekce amino skupiny a příprava chlorhydrinů:

Roztok RR-epoxidu (8,0 mg) v dichlormethanu (100 μ l) byl zpracován kyselinou chlorovodíkovou (50 μ l, 4N v dioxanu). Po uplynutí 30 minut bylo rozpouštědlo odpařeno a residuum bylo čištěno chromatografií HPLC s obrácenými fázemi (Econosil C18, 25 cm x 10 mm, 10 μ , 40% H₂O/CH₃CN, 3,5 ml/min) pro získání kryptofycinu-252 (5 mg, t_R minut) a kryptofycinu-253 (2 mg, t_R minut).

05.04.99

Data o cytotoxicitě Kryptofycinu-252: Buněčné linie (násobek síly kryptofycinu-1)

KB (1,20) a LoVo (1,25)

Kryptofycin-252:

EIMS m/z (relativní intensita) 610/672 (7,2/2,2), 669/671 (19,2/7,8), 280/282 (6,8/2,4), 242 (4,7), 195/197 (43/12);

EIMS s vysokým rozlišením m/z 669,2856 (M+ -2HCl-H) vypočteno pro $C_{35}H_{44}N_3O_8$, -3,9 mmu chyba);

^1H NMR (MeOH) aminová nebo hydroxykyselinová jednotka δ (uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) A 5,93 (2, d; 15,1), 6,61- 6,78 (3, m), 2,33 (4, dt; 14,7 a 9,8), 2,69 - 2,80 (4, m), 5,11 (5, m), 2,46 (6, m), 0,95 - 1,04 (6-Me, m), 3,99 (7, brd; 9,4), 4,62 (8, d; 9,4), 7,28 (2', br s), 7,17 (4', brd; 8,1), 7,07 (5', t; 8,1), 6,98 (6', d; 8,1); B 4,50 (2, dd; 10,5 a 3,2), 2,69 - 2,80 (3, m), 3,18 (3, brd; 13,7), 6,61 - 6,78 (5, 8 a 9, m), 3,86 (7-OMe, s); C 2,69 - 2,80 (2, m), 1,19 (2-Me, d; 7,3), 3,28 (3, brd; 13,4), 3,58 (3, br d; 13,4); D 5,01 (2, dd; 9.e a 2,7), 1,53 (3, m), 1,70 - 1,84 (3/4, m), 0,95 - 1,04 (4/5-Me, m) .

Kryptofycin-253:

^1H NMR (MeOH) aminová nebo hydroxykyselinová jednotka δ (uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) A 5,84 (2, dd; 15,3 a 1,6), 6,60 - 6,74 (3, m), 2,10 (4, dt; 14,9 a 11,2), 2,64 (4, m), 5,05 (5, m), 1,50 (6, m), 0,90 (6-Me, d; 6,8), 4,01 (7, dd; 9,5 a 1,2), 4,75 (8, d; 9,5), 6,60 - 6,74 (2'/4'/6', m), 7,09 (5', t; 7,8); B 4,48 (2, dd; 11,4 a 3,9), 2,71 (3, dd; 14,4 a 11,4), 3,16 (3, dd; 14,4 a 3,7), 7,26 (5, d; 2,2), 3,86 (7-OMe, s), 6,96 (8, d; 8,4), 7,15 (9, dd; 8,4 a

05.04.99

2,2); C 2,76 (2, m), 1,18 (2-Me, d; 7,3), 3,26 (3, m), 3,58 (3, dd; 13,5 a 3,1); D 4,94 (2, dd; 9,4 a 3,8), 1,58 (3, m), 1,80 (3, m), 1,70 (4, m), 0,97 (4-Me, d; 6,1), 0,98 (5, d; 6,3).

Kryptofyciny-263, 264 a 265:

Směs kryptofycinu-242 a jeho ss-epoxidu (26 mg) byla rozpuštěna v CH_2Cl_2 (5 ml) a zpracována TMSCl (1,0 M roztok v CH_2Cl_2 , 120 μl) při teplotě -78°C . Po uplynutí 3 hodin bylo rozpouštědlo odpařeno a residuum (27 mg) bylo vystaveno chromatografii HPLC s obrácenými fázemi (Econosil C18, 250 mm x 22 mm, 10 μ , 65:35 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, 6 ml/min) a tím se získal kryptofycin-264 (6,0 mg, t_R 43 minut) a směs kryptofycinů-263 a 265 (15,8 mg, t_R 59 minut). Kryptofyciny-263 a 265 byly odděleny chromatografií HPLC s normálními fázemi (Econosil, oxid křemičitý, 250 mm x 10 mm, 10 μ , 55 : 45 EtOAc/hexan, 3 ml/min) a tím se získal kryptofycin-265 (7,1 mg, 51 minut) a kryptofycin-263 (1,8 mg, 79,0 minut).

Data o cytotoxicitě

Kryptofycin č.	cytotoxicita, násobek síly kryptofycinu-1	
	KB	LoVo
263	1,67	0,56
264	0,044	0,023
265	0,0033	0,021

Kryptofycin-263:

^1H NMR (CDCl_3) aminová nebo hydroxykyselinová jednotka δ

(uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) A 5,79 (2, d; 15,6), 6,68 (3, m), 2,37 (4, m), 2,66 (4, br dd; 14,2 a 4,2), 5,10 (5, m), 2,49 (6, m), 1,03 (6-Me, d; 6,81, 4,00 (7, br d; 9,41, 4,64 (8, d; 9,4), 7,35 (2'/6', br d; 7,91, 1,29 (3'/5', brd; 7,9), 4,31 (4'-CH₂NH-t-BOC, d; 4,8), 4,92 (4'-CH₂NH-t-BOC, brs), 1,45 (4'-CH₂NH-t-BOC, s) ; B 4,79 12, m), 5,76 (2-NH, d; 8,6), 3,01 (3, dd; -14,4 a 7,3), 3,15 (3, dd; -14,4 a 4,9), 7,23 (5, d; 1,3), 3,87 (7-OMe, s), 6,84 (8, d; 8,4), 7,09 (9, br d; 8,4); C 2,73 (2, m), 1,22 (2-Me, d; 7,2), 3,24 (3, m), 3,53 (3, m), 6,93 (3-NH, br t; 5,5); D 4,92 (2, dd; 9,7 a 3,1), 1,48 (3, m), 1,78 (3, m), 1,73 (4, m), 0,93 (4-Me, d; 6,4), 0,94 (5, d; 6,4);

¹³C NMR (CDCl₃) jednotka δ (uhlíková poloha) A 165,6 (1), 125,3 (2), 141,6 (3), 36,4 (4), 76,5 (5), 38,3 (6), 8,7 (6-Me), 74,1 (7), 61,8 (8), 137,5^a (1'), 128,3 (2'/6'), 128,0 (3'/5'), 140,3^a (4'), 44,2 (4'-CH₂NH-t-BOC), 28,4 & 155,9 (4'-CH₂NH-t-BOC); B 171,1^b (1), 53,7 (2), 35,1 (3), 130,0 (4), 131,1 (5), 122,4 (6), 154,0 (7), 56,2 (7-OCH₃), 112,3 (8), 128,5 (9); C 175,4 (1), 38,4 (2), 14,1 (2-Me), 41,3 (3); D 170,6^b (1), 71,4 (2), 39,8 (3), 24,8 (4), 23,2 (4-Me), 21,6 (5).

^a a ^b signály se stejnými horními indexy jsou vzájemně zaměnitelné.

Kryptofycin-264:

¹H NMR (CDCl₃) aminová nebo hydroxykyselinová jednotka δ (uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) A 5,71 (2, d; 15,4), 6,63 (3, ddd; 15,4, 9,9 a 5,5), 2,12 (4, m), 2,51 (4, br dd; 14,2 a 5,0), 5,05 (5, m), 1,47 (6, m), 0,92 (6-Me, d; 6,8), 4,06 (7, dd; 9,6 a 1,5), 4,87 (8, d; 9,6), 7,29 (2'/6', br d; 8,4), 7,27 (3'/5', brd; 8,4), 4,33 (4'-CH₂NH-t-BOC, brs),

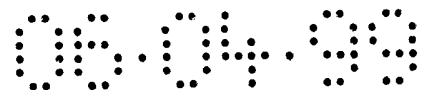
1,47 (4'-CH₂NH-t-BOC, s) ; B 4,80 (2, m), 5,69 (2-NH, brs), 3,01 (3, dd; -14,5 a 7,2), 3,13 (3, dd; - 14,5 a 5,4), 7,21 (5, d; 2,0), 3,86 (7-OMe, s), 6,83 (8, d; 8,4), 1,07 (9, dd; 8 4 a 2,0); C 2,73 (2, m), 1,23 (2-Me, d; 7,3), 3,28 (3, m), 3,52 (3, m), 6,93 (3-NH, br t; 5,7); D 4,86 (2, m), 1,50 (3, m), 1,86 (3, m), 1,73 (4, m), 0,95 (4-Me, d; 6,6), 0,98 (5, d; 6,8);

¹³C NMR (CDCl₃) jednotka δ (uhlíková poloha) A 165,4 (1), 125,1 (2), 141,4 (3), 36,2 (4), 76,0 (5), 38,3 (6), 8,8 (6-Me), 74,3 (7), 68,4 (8), 136,6^a (1'), 128,0 (2'/6'), 127,7 (3'/5'), 140,3^a (4'), 44,2 (4'-CH₂NH-t-BOC), 28,4 (4'-CH₂NH-t-BOC); B 171,0^b (1), 53,6 (2), 35,0 (3), 129,9 (4), 131,0 (5), 122,4 (6), 153,9 (7), 56,1 (1-OCH₃), 112,2 (8), 128,4 (9); C 175,4 (1), 38,5 (2), 14,1 (2-Me), 41,2 (3); 2) 170,4^b (1), 71,4 (2), 39,8 (3), 24,8 (4), 23,2 (4-Me), 21,7 (5).

^a a ^b signály se stejnými horními indexy jsou vzájemně zaměnitelné.

Kryptofycin-265:

¹H NMR (CDCl₃) aminová nebo hydroxykyselinová jednotka δ (uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) A 5,74 (2, d; 15,5), 6,68 (3, ddd; 15,5, 9,9 a 5,3), 2,36 (4, m), 2,54 (4, br dd; 14,2 a 4,9), 5,40 (5, m), 1,87 (6, m), 1,05 (6-Me, d; 7,0), 3,71 (7, br t; 5,8), 5,07 (8, d; 5,3), 7,36 (2'/6', br d; 8,2), 7,28 (3'/5', brd; 8,2), 4,30 (4'-CH₂NH-t-BOC, brs), 4,91 (4'-CH₂NH-t-BOC, brs), 1,46 (4'-CH₂NH-t-BOC, s) ; B 4,78 (2, m), 5,70 (2-NH, brs), 3,03 (3, dd; -14,5 a 7,1), 3,12 (3, dd; -14,5 a 5,5), 7,21 (5, d; 1,81, 3,87 (7-OMe, s), 6,84 (8, d; 8,4), 7,07 (9, dd; 8,4 a 1,8); C 2,72 (2, m), 1,23 (2-Me, d; 7,1), 3,33 (3, m), 3,48 (3, m), 6,91 (3-NH, br t; 5,7); D 4,83 (2, dd; 9,7 a 4,31, 1,43 (3, m), 1,70 (3,



m), 1,63 (4, m), 0,93 (4-Me, d; 6,4), 0,88 (5, d; 6,4);
¹³C NMR (CDCl₃) jednotka δ (uhlíková poloha) A 165,5 (1), 125,0 (2), 142,0 (3), 34,6 (4), 74,4 (5), 39,8 (6), 12,9 (6-Me), 77,5 (7), 66,7 (8), 137,3^a (1'), 127,9 (2'/6'1, 127,8 (3'/5'), 139,9^a (4'), 44,2 (4'-CH₂NH-t-BOC), 28,4 (4'-CH₂NH-t-BOC); B 171,0^b (1), 53,6 (2), 35,1 (3), 129,9 (4), 131,0 (5), 122,4 (6), 154,0 (7), 56,1 (7-OCH₃), 112,3 (8), 128,4 (9); C 175,6 (1), 38,4 (2), 14,1 (2-Me), 41,3 (3); D 170,3^b (1), 71,5 (2), 39,4 (3), 24,7 (4), 22,8 (4-Me), 21,6 (5).

^a a ^b signály se stejnými horními indexy jsou vzájemně zaměnitelné.

Kryptofycin-272:

Kryptofycin-263 (4,9 mg, 0,006 mmolů) v CH₂Cl₂ (30 μl) byl zpracován 4N HCl v dioxanu (30 μl, 0,012 mmolů) při teplotě okolí. Po uplynutí 3 hodin bylo rozpouštědlo odstraněno a residuum byl uchováváno za sníženého tlaku po dobu 2 dní pro odstranění posledních stop dioxanu a tím se získal kryptofycin-272 (4,4 mg, 98%).

¹H NMR (CD₃OD) aminová nebo hydroxykyselinová jednotka δ (uhlíková poloha, multiplicita; J v Hz) A 5,94 (2, dd; 15,0, 1,81, 6,69 (3, ddd; 15,0, 11,1 a 4,9), 2,36 (4, m), 2,72 (4, m), 5,13 (5, m), 2,49 (6, m), 1,01 (6-Me, d; 7,1), 4,02 (7, dd; 9,4 a 2,0), 4,84 (8, d; 9,4), 7,45 (2'/6', d; 8,4), 7,51 (3'/5', d; 8,4), 4,11 (4'-CH₂NH₂HCl, s); B 4,51 (2, dd; 11,2 a 3,9), 2,74 (3, m), 3,18 (3, dd; -14,5 a 3,9), 7,28 (5, d; 2,2), 3,84 (7-Me, s), 6,98 (8, d; 8,4), 7,17 (9, dd; 8,4 a 2,3); C 2,72 (2, m), 1,19 (2-Me, d; 7,5), 3,29 (3, m), 3,58 (3, dd; 13,7 a 3,3); D 5,02 (2, dd; 9,5 a 3,8), 1,56 (3, m), 1,78 (3, m), 1,78 (4, m), 0,97 (4-Me, d; 6,6), 0,99 (5, d;

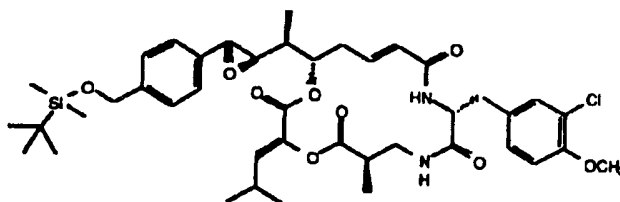
6,6);

^{13}C NMR (CD_3OD) jednotka δ (uhlíková poloha) A 168,4 (1), 125,4 (2), 144,0 (3), 37,7 (4), 77,3 (5), 40,4 (6), 8,1 (6-Me), 74,8 (7), 63,3 (8), 142,5^a (1'), 130,0 (2'/6'), 130,3^a (3'/5'), 134,6^a (4'), 44,0 (4'- $\text{CH}_2\text{NH}_2\text{HCl}$); B 174,1 (1), 57,4 (2), 36,3 (3), 132,2 (4), 131,5 (5), 123,3 (6), 155,4 (7), 56,6 (7- OCH_3), 113,5 (8), 129,3 (9); C 177,5 (1), 39,1 (2), 15,1 (2-Me), 41,2 (3); D 172,1 (1), 72,8 (2), 41,2 (3), 26,0 (4), 22,1 (4-Me), 23,6 (5).

^a signály jsou vzájemně zaměnitelné.

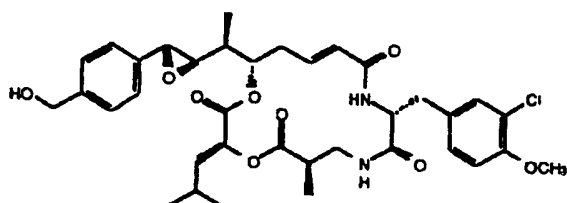
Kryptofyciny-273:

3-Chlorperbenzoová kyselina (128 mg) byla přidána do roztoku kryptofycinu-234 (146 mg) v CH_2Cl_2 (8 ml) při teplotě 0 °C. Roztok byl ponechán pomalu se zahřát na teplotu okolí a míchání pokračovalo po dobu 12 hodin. Reakční směs byla zředěna CH_2Cl_2 (7 ml) a promývána fosforečnanovým pufrem (2 x 10 ml, 0,1 M, pH 8). Organická vrstva byla oddělena a zpracována dimethylsulfidem (50 ml) pro odstranění přebytku perkyseliny a vystavena znovu promývání pufrem. Organická vrstva byla odpařena a residuum bylo vystaveno chromatografii HPLC s obrácenými fázemi (250 mm x 22 mm, 10 μ , 15 % $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$, 6 ml/min) pro získání RR-epoxidu (14 mg, 50%).



06.04.99

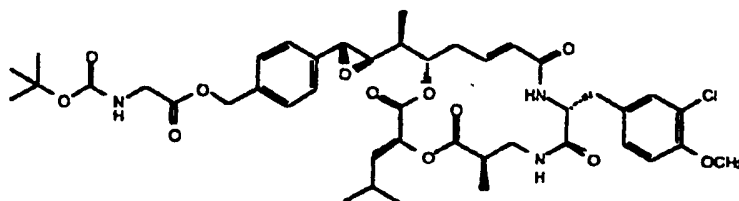
Roztok epoxidu (74 mg) v THF (3 ml) byl zpracován 115 μ l 1M roztoku tetrabutylamoniumfluoridu v CH_2Cl_2 . Po uplynutí 1,5 hodin byl do reakční směsi přidán nasycený roztok NH_4Cl a směs byla extrahována EtOAc (2 x 30 ml). Organické extrakty byly sušeny nad MgSO_4 a odpařeny. Residuum bylo čištěno v malé koloně oxidu křemičitého použitím 50 - 100% EtOAc/ CH_2Cl_2 pro získání kryptofycinu-269 (62 mg, 98%).



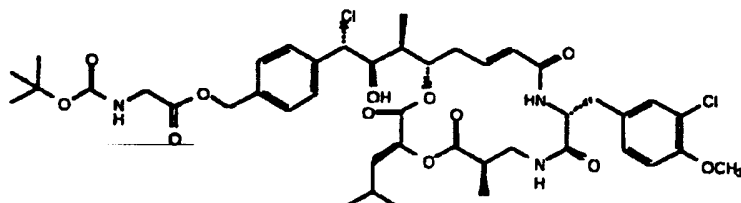
Kryptofycin-269

Do roztoku Kryptofycinu-269 (62 mg), N-(t-BOC)glycinu (30 mg) a DMAP (8 mg) v CH_2Cl_2 (3 ml) byl přidán DCC (160 μ l, 1M roztok v CH_2Cl_2 při teplotě 0 °C. Reakční směs byla míchána při teplotě 0 °C po dobu 15 minut a při teplotě okolí po dobu 2 hodin. Na konci této doby byla směs filtrována a koncentrována za sníženého tlaku. Residuum bylo vystaveno mžikové chromatografii na ODS oxidu křemičitém použitím 75 - 30% $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ pro získání N-t-BOC-glycinátového esteru kryptofycinu-269 (64,4 mg, 85 %).

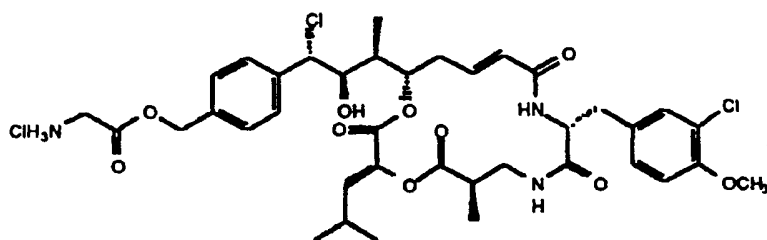
06.04.99



Do roztoku glycinátového esteru (64,4 mg) v chlorformu (3 ml) při teplotě - 60 °C bylo přidáno 200 µl 1M roztoku TMSCl v CH₂Cl₂. Po uplynutí 1 hodiny bylo rozpouštědlo odpařeno a residuum bylo čištěno v malé koloně oxidu křemičitého použitím 40 - 90% směsi EtOAc/hexany pro získání trans chlorhydrinu glycinátu (60 mg, 89%).



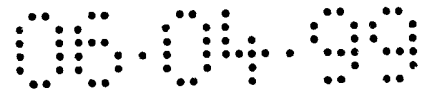
Roztok chlorhydrinu (55 mg) v dichlormethanu (0,25 ml) byl zpracován 4M roztokem chlorovodíku v 1/4-dioxanu (0,1 ml). Výsledná směs byla míchána při teplotě okolí po dobu 2 hodin, koncentrována za sníženého tlaku a sušena na mrazové sušičce po dobu 48 hodin. Kryptofycin-273 byl získán ve formě bílé pevné látky.



Kryptofycin-273

Tabulka 9.

¹H NMR data pro Kryptofycyny-8, 163, 184, 185, 186, 187, 191, 192, 193, 194, 195, 212, 222, 223 a 224.



P = poloha

P	R	163	184	185	186	187	191	192	193	194	195	212	222	223	224
A 2	5.79 d	5.80	5.79	5.74	5.71	5.75	5.80	5.68	5.80	5.67	5.79	5.80	5.71	5.80	5.79
3	6.69 ddd	6.70	6.70	6.68	6.64	6.69	6.70	6.63	6.70	6.62	6.69	6.68	6.65	6.69	6.69
4R	2.37 m	2.35 m	2.38 m	2.36 m	2.15 m	2.37 m	2.40	2.10	2.40	2.09	2.37	2.40	2.17	2.39	2.37
4S	2.67 m	2.75 m	2.70 m	2.55 m	2.53 m	2.59 m	2.70	2.47	2.69	2.51	2.68	2.64	2.54	2.60	2.68
5	5.10 ddd	5.00	5.12	5.32	5.06 m	5.40 m	5.14	5.07	5.13 brt	5.07	5.11	5.10	5.07	5.11	5.11
6	2.50 m	2.85	2.54	1.91	1.50 m	1.83 m	2.65	1.64	2.55	1.57	2.49	2.47	1.51	2.48	2.50
6-Mc	1.05 d	1.13	1.09	1.09	0.93	1.06	1.18	0.95	1.09	0.90	1.04	1.03	0.93	1.04	1.04
7	4.00 brdt	4.41	4.09	3.84	4.07	3.74	4.35	4.48	4.12	4.20	3.99	3.95	4.07	4.16	3.98
8	4.65 d	4.80	5.12	5.46	4.83	5.02	5.66	5.72	4.84	5.06	4.61	4.59	4.81	5.03	4.60
9															
10															
8/10- Ar-I'									7.84 m	7.76 hrs					
2'	7.36 to	7.25 d	2.30 s	2.28	7.06 d	7.15 br s	7.72 brs	7.56			6.97 brd	6.94 m	6.90 br s		7.15 br s
3	7.40 m	6.88 d	2.31 s	2.30	2.27 d	2.24 s	7.50 brm	7.49	7.52 m	7.42 dd	7.30 t		2.32	7.06 to	2.26
4'	"	3.81 s	7.13 to	7.13	2.27 d	2.26 s	7.88 d	7.88	7.89 d	7.88 d	6.88 dd	6.80 t	6.99 br s	7.46 m	2.26
5'	"	6.88 d	7.17 m	7.16 m	7.13 d	7.11 br s	7.90 d	7.92	7.84 m	7.85 m	3.81 s		2.32	"	7.12 to
6'	"	7.25 d	"	"	7.03 dd	"	7.54 t	7.52 to	7.52 m	7.51 to	6.93 t	6.94 m	6.90 bs	"	7.15 m
7'							7.59 t	7.63 m	7.52 m	7.56 m					
8'							8.13 hrs	8.13 hrs	7.84 m	7.85 m					
D 2	4.92 dd	4.93	4.93	4.81 m	4.86	4.81	4.93	4.86	4.93 dd	4.84 dd	4.92	4.91	4.87 dd	4.92 dd	4.93 m
3	1.45 m	1.41	1.50	1.43	1.53	1.42	1.47	1.51	1.46	1.46	1.45	1.43	1.54	1.50	1.46 m
3'	1.78 m	1.78	1.79	1.68	1.85	1.69	1.74	1.86	1.70 to	1.84	1.70 to	1.66 to	1.85	1.74 to	1.72 to
4	1.76 m	1.78	1.79	1.63	1.85	1.59	1.74	1.64	1.81 m	1.58	1.82 m	1.82 m	1.70	1.84 m	1.82 m
4-Mc	0.94 d	0.95	0.95	0.91	0.97	0.91	0.93 brs	0.93	0.95	0.97	0.93	0.94	0.97	0.95	0.98
5	0.93 d	0.92	0.95	0.87	0.94	0.86	0.93 brs	0.90	0.93	0.96	0.93	0.92	0.94	0.93	0.98

Spektra zaznamenávána v CDCl_3 ; Chemické posuny jsou pro protony nebo methylové nebo methoxylové funkční skupiny s polohou na uhlicích indikovanými v tabulce. Chemické posuny pro protony v jednotkách B a C jsou v intervalu $\pm 0,2$ ppm a kopulační konstanty jsou v intervalu $\pm 0,5$ Hz hodnot pro kryptofycin-8. J (H,H) v Hz pro 163: $2',3' = 5',6' = 8,7$; J (H,H) v Hz pro 186: $2',6' = 2,0$; $5',6' = 7,7$; J (H,H) v Hz pro 193 a 194: $3',4' = 8,5$; J (H,H) v Hz pro 195: $2',3' = 3',4' = 7,9$; $2',6' = 4',6' = 2,4$; Pozorovatelné kopulační konstanty pro zbývající protony v tabulce jsou v intervalu $\pm 0,5$ Hz hodnot pro kryptofycin-8. J (HH) a J (H,F) v Hz pro 212: $3'-F,4-H = 4-H,5-F = 8,7$; $2',4' = 4',6' = 2,3$.

Tabulka 10. 125 MHz

^{13}C NMR data pro Kryptofyciny-8, -163, - 184, -185, -186, 187, 191, 192, 194, 195, 222, 223 a 224.



P = poloha

P	8	163	184	185	186	187	191†	192†	194	195	212	222	223	224
A	165	165	165	165	165	165	165.5	165.4	165.	165.5	165.5	165.4	165.5	165.5
1	.5	.4	.5	.4	.4	.5			4					
2	125	125	125	124	125	125	125.1	125.4	125.	125.1	125.4	125.1	125.3	125.2
	.1	.3	.2	.9	.0	.0			1					
3	141	141	141	142	141	142	141.7	141.6	141.	141.7	141.3	141.6	141.4	141.6
	.6	.1	.7	.0	.6	.1			5					
4	36.	36.	36.	34.	36.	34.	36.5	36.2	36.1	36.4	36.3	36.1	36.4	36.4
	3	9	5	9	2	6								
5	76.	75.	76.	74.	76.	74.	76.4	76.3	76.1	76.3	76.3	76.2	76.4	**
	3	8	4	7	2	3								
6	38.	39.	38.	39.	38.	39.	38.3	38.3	38.3	38.3	38.5	38.4	38.5	38.4
	2	5	3	9	3	6								
6-Me	8.7	9.6	8.7	13.	8.7	12.	8.8	9.2	8.7	8.7	8.7	8.7	8.6	8.7
				3		9								
7	74.	65.	74.	76.	74.	77.	74.0	73.9	74.3	74.0	74.0	74.3	73.1	74.0
	0	1	1	4	3	7								
8	61.	62.	57.	63.	69.	67.	57.2	62.8	67.1	61.9	60.7	69.1	55.3	62.0
	9	3	5	6	0	3								
9														
10														
8/10	138	131	135	133	135	135	*	*	126.	139.7	142.7	137.4	130.7	135.5
-	.3	.2	.9	.6	.0	.5			9					
Ar														
-														
1'														
2'	128	128	137	137	128	128	*	*	*	114.1	111.2	125.1	160.6	129.1
	.0	.8	.7	.5	.6	.7				a	d			
3'	129	114	137	136	137	137	125.2	125.0	124.	160.0	163.0	138.7	116.1	137.5
	.1	.1	.7	.1	.4	.3			0		dd			
4'	129	160	130	130	137	137	129.2	127.1	129.	114.2	104.5	130.9	129.3	138.0
	.2	.1	.5	.4	.9	.5			3	a	c			
5'	129	114	126	126	130	130	129.2	129.4	127.	130.2	163.0	138.7	124.8	130.3
	.1	.1	.4	.1	.3	.1			8					
6'	128	128	124	125	124	124	127.0	126.3	127.	120.0	111.2	125.1	130.7	125.3
	.0	.8	.5	.7	.7	.9			0		d			
7'							126.2	126.3	127.					
									1					
8'							*	*	128.					
									0					
9'							*	130.5	*					
10							134.5	*	134.					
*									7					
D	170	170	170	170	170	170	170.6	170.4	170.	170.6	170.7	170.4	170.7	170.6
1	.6	.2	.6	.2	.4	.3			9					
2	71.	71.	71.	71.	71.	71.	71.3	71.4	71.4	71.3	71.3	71.4	71.4	71.4
	3	3	3	5	4	5								
3	39.	39.	39.	39.	39.	39.	39.6	39.7	39.7	39.7	39.9	39.7	39.6	39.7
	7	6	7	3	7	4								
4	24.	24.	24.	24.	24.	24.	24.0	24.8	24.8	24.7	24.7	24.8	24.7	24.7
	7	8	7	6	8	7								
4-Me	23.	23.	23.	22.	23.	22.	23.1	23.1	23.1	23.0	23.0	23.1	23.1	23.1
	1	3	2	8	1	7								
5	21.	21.	21.	21.	21.	21.	21.5	21.7	21.7	21.4	21.5	21.8	21.4	21.5
	5	5	5	6	7	6								

Spektra zaznamenávána v CDCl_3 . Chemické posuny pro uhlíky v jednotkách B a C jsou v intervalu + 0,5 ppm hodnot v kryptofycin-8.

* Signály nemohly být nalezeny vzhledem k malé velikosti vzorku.

+ Přiřazení jsou odhadovaná.

** Sloučené se signály rozpouštědla.

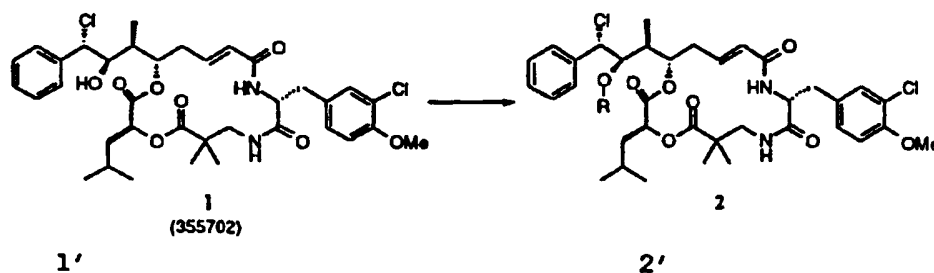
4-OMe uhlík v 163 a také v 195 rezonoval při δ 55,3. 2'-Me a 3'-Me uhlíky v 185 se objevily při δ 15,0 respektive 20,9. 3'-Me a 4'-Me uhlíky v 186 byly pozorovány při δ 19,6 respektive 19,9. Tytéž uhlíky byly pozorovány při δ 19,5 respektive 19,8 v 187 a při δ 19,5 a 19,8 v 224. 3' a 5'-Me uhlíky v 223 byly pozorovány při 21,3.

Příklad 94

Obecná skupina R v 2' (viz níže) sestává z etherového substituentu a několika acylových substituentů, jak je uvedeno v Tabulce 1 (také viz níže). Nové kryptofycinové analogy byly připraveny se středním až vysokým výtěžkem esterifikačními technikami. Viz Mulzer, J., Trost B.M. Fleming, I., Ed. Comprehensive Organic Synthesis; 6:323-380, (Pergamon Press: Oxford, 1991); Benz, G. Trost, B.M., Fleming, I, Ed., Comprehensive Organic Synthesis, 6:381-417, (Pergamon Press: Oxford, 1991). Hydrochloridové soli aminu byly připraveny s vysokým výtěžkem z odpovídajících terc.-butylkarbamátů po zpracování kyselinou chlorovodíkovou, zatímco bisodná sůl 7' byla odvozena z 6' po štěpení terc.-butylesteru indukovaném adicí kyseliny chlorovodíkové a působením hydroxidem sodným. Pyridiniová sůl 9' byla

06.04.99

připravena z 1' způsobem, který popsal Nicolaou. Nicolaou a kol., Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 33:1583+ (1994).



(jak byl použit v popisu způsobu syntézy, popsaném níže)

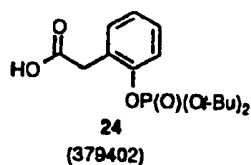
Tabulka 1. R skupiny obecné struktury 2' (viz výše).

06.04.99

Sloučenina	R	Sloučenina	R
3		26	
4		28	
6		29	
8		30	
7		31	
8		32	
9		33	
10		34	
11		36	
12		38	
13		37	
14		38	
15		39	
16		40	
17		41	
18		42	
19		43	
20		44	
21		45	
22		46	
25		47	
		48	

Příprava konjugátů, popsaných v Tabulce 1 postupuje podle několika protokolů, typicky zahrnujících metodologii aktivovaného esteru, následovanou chromatografií a kyselinou indukovanou deblokací, je-li to nutné. Zpracování 1' acetanhydridem v přítomnosti triethylaminu a 4-

dimethylaminopyridinu tedy dává 3' s 89% výtěžkem po provedení mžikové chromatografie. Podobně může být 5' připraven z 1' prostřednictvím anhydridu kyseliny jantarové s následným čištěním pomocí HPLC s obrácenými fázemi.⁷ Alternativně se 5' připraví s vysokým výtěžkem po zpracování mono-terc.-butylesteru 4' kyselinou. Vystavení pyridinového roztoku 1' komerčně dostupnému hydrochloridu nikotinoylchloridu v přítomnosti triethylaminu a 4-dimethylaminopyridinu a následnou chromatografií a působením chlorovodíkem dává 8' s vysokým výtěžkem. Pyridiniová sůl 9' se připraví s 47% výtěžkem způsobem, který popsal Nicolaou (viz výše), zatímco 1' se zpracovává komerčně dostupným 2-fluor-1-methylpyridinium-p-toluensulfonátem a následuje čištění pomocí HPLC s obrácenými fázemi se současnou aniontovou výměnou (acetát za p-toluensulfonát) a lyofilizací. Zbývající estery se všechny připraví se středními až vysokými výtěžky z 1' a komerčně dostupných (s výjimkou případů 4', 6, 10', 43' a 45') N-t-boc chráněných aminokyselin aktivací prostřednictvím 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu v přítomnosti 4-dimethylaminopyridinu. Hydrochloridové soli se připraví s vysokým výtěžkem po zpracování 4,0 M roztokem chlorovodíku v dioxanu a odebrání rozpouštědla za sníženého tlaku. Bisodná sůl 7' se získá z 6' následným štěpením terc.-butylesteru indukovaným kyselinou chlorovodíkovou a působením hydroxidem sodným. Požadovaná kyselina 24' pro příprava 5' se syntetizuje s 63% výtěžkem způsobem sestávajícím z posloupnosti pěti kroků podle metody, kterou popsal Johns a je upravena pro fosfátovou funkční skupinu. Perich, J.W.; Johns R.B. a kol. Synthesis 1985: 142.



Několik nových konjugátů bylo analyzováno na *in vitro* cytotoxicitu v Gc3 nádorovém buněčném modelu, jak bylo popsáno výše. Tyto výsledky jsou uvedeny v Tabulce 2 níže:

Tabulka 2. *In vitro* data o cytotoxicitě kryptofycinových derivátů.

Sloučenina	Gc3 IC ₅₀ (nM)	Sloučenina	Gc3 IC ₅₀ (nM)
1'	0,065	28'	2,6
3'	83	30'	30
5'	31	32'	7,2
7'	3,7	34'	6,5
8'	116	36'	2,8
9'	2,2	36'	2,8
11'	6,8	40'	2,0
13'	7,0	42'	15
15'	60	44'	28
17'	3,6	46'	50
19'	0,10	47'	2,5
21'	21	48'	10
25'	230		

Studie stability byly prováděny při vodných pH v rozmezí 4-8 a bylo určováno procento produktů, které zůstaly neporušeny.

Přeměna terc.-butylkarbamátů na odpovídající soli může být prováděna libovolnou silnou kyselinou, zejména anorganickými kyselinami zahrnujícími hydrogenhalogenidy, hydrogensířany, hydrogenfosforečnany, hydrogendusičnany, hydrogenperchloráty, nebo silné organické kyseliny jako je kyselina trifluoroctová, kyselina p-toluenesulfonová a kyselina methansulfonová. Tytéž kyseliny mohou být použity pro přípravu solí typu 8' z odpovídající volné báze. Škála protiiontů (kationtů) může obsahovat soli typu 7' v to počítaje soli alkalických kovů a kovů alkalických zemin. Škála protiiontů (aniontů) může obsahovat soli typu 9', zejména libovolnou konjugovanou bázi kyseliny (organické nebo anorganické).

Příprava acetátu Kryptofycinu 55 (3') (LSN 362376).

Do roztoku 1' (93 mg, 0,13 mmolů) v 659 μ l methylenchloridu při teplotě 0 °C byl přidán triethylamin (55 μ l 0,40 mmolů), 4-dimethylaminopyridin (1,6 mg, 0,013 mmolů) a acetanhydrid (19 μ l 0,20 mmolů). Po míchání při teplotě 0 °C po dobu 1 hodiny reakce byla ukončena 19 μ l methanolu, směs byla koncentrována na 0,5 objemu a přímo vložena do kolony mžikové chromatografie (19 g silikagelu pro mžikovou chromatografii). Vymývání směsí ethylacetát-hexany (3:1) poskytlo 88 mg (89%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny: 500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) 6,1,38-7,31 (m, 5H), 7,24 (d, 1H, J = 2,1 Hz), 7,22- 7,18 (m, 1H), 7,10 (dd, 1H, J = 8,5, 2,1 Hz), 6,88 (d, 1H, J = 8,5 Hz), 6,75 (ddd, 1H, J = 15, 13, 4,6 Hz), 5,78 (dd, 1H, J = 15, 1,0 Hz), 5,55 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 5,46 (dd, 1H, J = 9,8, 1,2 Hz), 4,95 (dd, 1H, J = 11, 2,9 Hz), 4,89 (ddd, 1H, J = 9,9, 9,9, 1,7 Hz), 4,81 (d, 1H,

$J = 9,8 \text{ Hz}$), 4,79-4,74 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,39 (dd, 1H, $J = 13, 8,1 \text{ Hz}$), 3,22 (dd, 1H, $J = 13, 4,1 \text{ Hz}$), 3,16 (dd, 1H, $J = 14, 5,1 \text{ Hz}$), 3,07 (dd, 1H, $J = 14, 7,6 \text{ Hz}$), 2,65-2,55 (m, 2H), 2,47-2,39 (m, 1H), 1,95 (ddd, 1H, $d = 14, 13, 4,6 \text{ Hz}$), 1,86-1,77 (m, 1H), 1,73-1,66 (m, 1H), 1,68 (s, 3H), 1,27 (s, 3H), 1,19 (s, 3H), 1,09 (d, 3H, $J = 7,1 \text{ Hz}$), 1,03 (d, 3H, $J = 6,1 \text{ Hz}$), 0,97 (d, 3H, $J = 6,6 \text{ Hz}$).

Příprava terc.-butyl esteru jantaranu Kryptofycinu 55 (4') (LSN 384665).

Do roztoku 1' (133 mg, 0,188 mmolů) mono-terc.-butylesteru jantarové kyseliny (66 mg, 0,377 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (2,3 mg, 0,019 mmolů) v 850 μl bezvodého methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (78 mg, 0,377 mmolů) v 92 μl methylenchloridu. Po míchání při teplotě okolí po dobu 1 hodiny reakční směs byla zpracována 150 mg celitu a zředěna 1 ml směsí ethylacetát-hexany (3:1) a filtrována přes vrstvu celitu, promývání směsí ethylacetát-hexany (3:1). Filtrát a promývací tekutina byly koncentrovány za sníženého tlaku na bělavý olej. Chromatografie (25 g silikagelu pro mžikovou chromatografii), vymývání směsí ethylacetát-hexany (2:1) poskytlo 157 mg (97 %) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,38-7,30 (m, 5H), 7,24 (d, 1H, $J = 2,0 \text{ Hz}$), 7,22-7,18 (m, 1H), 1,09 (dd, 1H, $J = 8,5, 2,0 \text{ Hz}$), 6,88 (d, 1H, $J = 8,5 \text{ Hz}$), 6,74 (ddd, 1H, $J = 15, 10, 4,6 \text{ Hz}$), 5,76 (d, 1H, $J = 15 \text{ Hz}$), 5,51 (d, 1H, $J = 8,0 \text{ Hz}$), 5,47 (d, 1H, $J = 9,6 \text{ Hz}$), 4,97 (dd, 1H, $J = 11, 3,1 \text{ Hz}$), 4,90 (t, 1H, $J = 9,3 \text{ Hz}$), 4,83 (d, 1H, $J = 9,6 \text{ Hz}$), 4,79-4,73 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,39 (dd, 1H, $J = 13, 8,0 \text{ Hz}$), 3,22 (dd,

05.04.99

1H, $J = 13, 4,0$ Hz), 3,16 (dd, 1H, $J = 14, 5,1$ Hz), 3,08 (dd, 1H, $J = 14, 7,6$ Hz), 2,63-2,55 (m, 2H), 2,44-2,37 (m, 1H), 2,32-2,21 (m, 2H), 2,19-2,06 (m, 2H), 1,99-1,92 (m, 1H), 1,85-1,68 (m, 2H), 1,42 (s, 9H), 1,27 (s, 3H), 1,19 (s, 3H), 1,08 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz), 1,03 (d, 3H, $J = 6,6$ Hz), 0,98 (d, 3H, $J = 6,5$ Hz).

Příprava sukcinátu Kryptofycinu 55 (5') (LSN 377092) z terc.-butyl esteru jantaranu kryptofycinu 55.

Do roztoku 4' (127 mg, 0,147 mmolů) v 491 μ l methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 4,0 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (184 μ l 0,737 mmolů). Roztok byl ponechán za míchání při teplotě okolí po dobu 5 hodin. Koncentrace za sníženého tlaku poskytla 119 mg (100%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny.

Příprava jantaranu Kryptofycinu 55 (5') (LSN 377092) anhydridu kyseliny jantarové.

Do roztoku sloučeniny 1' (27 mg, 0,038 mmolů) a anhydridu kyseliny jantarové (5,7 mg, 0,057 mmolů) v 383 μ l methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán triethylamin (16 μ l 0,115 mmolů) a 4-dimethylaminopyridin (4,7 mg, 0,038 mmolů). Po míchání po dobu 19 hodin bylo přidáno dalších 5,7 mg (0,057 mmolů) anhydridu kyseliny jantarové a 4,7 mg (0,038 mmolů) 4-dimethylaminopyridin a následovalo míchání po dalších 29 hodin. Reakční směs byla zpracována 0,5 ml 1 N vodnou kyselinou chlorovodíkovou a promývána methylenchloridem (3 x 0,5 ml). Sloučené organické extrakty byly sušeny (Na_2SO_4), filtrovány a koncentrovány za sníženého tlaku na bílou pěnu. Čištění chromatografií HPLC s obrácenou fází⁷ poskytlo 10 mg (32%) sloučeniny z názvu ve formě bílé

pěny:

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) 5,736-7,31 (m, 6H), 7,22 (br s, 1H), 7,08 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,02 (br s, 1H), 6,87 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,61 (m, 1H), 5,94-5,87 (m, 2H), 4,51 (d, 1H, $J = 9,8$ Hz), 4,95 (dd, 1H, $J = 10, 2,8$ Hz), 4,87-4,76 (m, 3H), 3,90 (s, 3H), 3,39 (dd, 1H, $J = 16, 5,6$ Hz), 3,28 (dd, 1H, $J = 16, 8,2$ Hz), 3,17 (dd, 1H, $J = 16, 5,6$ Hz), 3,05 (dd, 1H, $J = 16, 8,2$ Hz), 2,68-2,62 (m, 1H), 2,60-2,46 (m, 2H), 2,45-2,28 (m, 3H), 2,01-1,93 (m, 2H), 1,88-1,70 (m, 2H), 1,26 (s, 3H), 1,18 (s, 3H), 1,12 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz), 1,04 (d, 3H, $J = 6,6$ Hz), 1,00 (d, 3H, $J = 6,5$ Hz).

Příprava (2'-di-terc.-butylfosfatyl)fenylacetátu Kryptofycinu 55 (6') (LSN 379407).

Do roztoku sloučeniny 1' (0,102 mmolů), 24' (46 mg, 0,134 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (12 mg, 0,102 mmolů) v 250 μl bezvodého methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (27 mg, 0,134 mmolů) v 50 μl methylenchloridu. Po míchání při teplotě okolí po dobu 6 hodin reakční směs byla zředěna 1 ml směsí ethylacetát-hexany (3:1) a filtrována přes vrstvu celitu, promývání směsí ethylacetát-hexany (3:1). Filtrát a promývací tekutina byly koncentrovány za sníženého tlaku na purpurovou pěnu. Chromatografie (15 g silikagelu pro mžikovou chromatografii), vymývání směsí ethylacetát-hexany (4:1) poskytlo 86 mg (82%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,35 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz), 7,30-7,19 (m, 8H), 7,11 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,0$ Hz), 7,02 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz), 6,87 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,84 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz), 6,73 (ddd, 1H, $J = 15, 13, 4,7$ Hz), 5,92 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz), 5,79 (dd, 1H, $J = 15, 1,0$ Hz), 5,43 (dd, 1H, $J = 9,4,$

1,8 Hz), 4,98 (dd, 1H, $J = 12, 3,1$ Hz), 4,81 (ddd, 1H, $J = 9,9, 9,9, 1,8$ Hz), 4,75 (d, 1H, $J = 9,4$ Hz), 4,13-4,67 (m, 1H), 3,90 (s, 3H), 3,49 (d, 1H, $J = 16$ Hz), 3,44-3,38 (m, 1H), 3,38 (d, 1H, $J = 16$ Hz), 3,27-3,17 (m, 2H), 3,10 (dd, 1H, $J = 14, 8,2$ Hz), 2,55-2,46 (m, 2H), 2,37-2,27 (m, 1H), 1,95 (ddd, 1H, $J = 14,12, 4,5$ Hz), 1,83-1,70 (m, 2H), 1,49 (s, 18H), 1,27 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,03 (d, 3H, $J = 6,5$ Hz), 0,97 (d, 3H, $J = 6,4$ Hz), 0,92 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz).

Příprava 2'-(di-terc.-butylfosfatyl)fenyloctové kyseliny (24') (LSN 379402).

Do roztoku 2'-hydroxyfenethylalkoholu (1,05 g, 7,60 mmolů) v 15,2 ml N,N-dimethylformamidu při teplotě 0 °C byl přidán imidazol (621 mg, 9,11 mmolů) a terc.-butyldimethylsilylchlorid (1,26 g, 8,34 mmolů). Po míchání při teplotě 0 °C po dobu 40 minut a při teplotě okolí po dobu 45 minut bylo přidáno dalších 155 mg (2,28 mmolů) imidazolu a 229 mg (1,52 mmolů) terc.-butyldimethylsilylchloridu. Reakční směs byla ponechána za míchání po dobu dalších 15 minut a poté bylo přidáno 150 ml terc.-butyl-methyletheru. Směs byla promývána studenou 1N vodnou kyselinou chlorovodíkovou (1 x 15 ml), následovanou vodou (1 x 15 ml). Organická vrstva byla sušena (Na_2SO_4), filtrována a koncentrována za sníženého tlaku na žlutý olej. Chromatografie (70 g silikagelu pro mžikovou chromatografii), vymývání směsí hexany-ethylacetát (5:1) poskytlo 1,81 g (94%) primárního silyletheru ve formě bledě bělavého oleje. Do roztoku silyletheru (506 mg, 2,00 mmolů) a di-terc.-butyldiethylfosforamiditu (600 μl , 93%, 2,00 mmolů) v 2 ml tetrahydrofuranu byl při teplotě okolí přidán 1-H-tetrazole (421 mg, 6,01 mmolů). Po míchání po dobu 45

minut reakční směs byla ochlazena na teplotu $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ a rychle zpracována roztokem kyseliny m-chlorperbenzoové (450 mg, 99%, 2,61 mmolů) v 3,6 ml methylenchloridu. Kalně bílá reakční směs byla ponechána zahřát se na teplotu okolí a míchána po dobu 15 minut. Reakce byla ukončena 4 ml 10% vodným bisulfitem sodným, intenzívně míchána po dobu 10 minut, zředěna 15 ml terc.-butyl-methyletherem a promývána 10% vodným bisulfitem sodným (2 x 10 ml) následovaným 0,5 N vodným hydroxidem sodným (2 x 10 ml). Organická vrstva byla sušena (Na_2SO_4), filtrována a koncentrována za sníženého tlaku na bezbarvý olej (941 mg), který byl použit přímo v následujícím kroku. Surový fosforečnan byl rozpuštěn v 10 ml tetrahydrofuranu, ochlazen na teplotu $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ a zpracován 1 M roztokem tetra-n-butylamoniumfluoridem v tetrahydrofuranu (2,4 ml, 2,4 mmolů). Po míchání při teplotě $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 20 minut a při teplotě okolí po dobu 1,5 hodin byla reakční směs zředěna 60 ml terc.-butyl-methyletheru a promývána vodou (1 x 10 ml), následovanou solankou (1 x 10 ml). Organická vrstva byla sušena (Na_2SO_4), filtrována a koncentrována za sníženého tlaku na žlutý olej. Chromatografie (50 g silikagelu pro mžikovou chromatografii), vymývání směsí ethylacetát-hexany (3:1) poskytlo 525 mg (79%) 1° alkohol ve formě bělavého oleje. Do roztoku alkoholu (123 mg, 0,372 mmolů) ve směsi acetonitril-tetrachlormethan (1:1, 1,49 ml) byla při teplotě okolí přidána voda (1,1 ml), následovaná jodistanem sodným (239 mg, 1,12 mmolů) a hydrátem chloridu ruthenitého (1,8 mg, 0,0082 mmolů). Hnědá směs byla ponechána za rychlého míchání při teplotě okolí po dobu 55 minut. Po koncentraci za sníženého tlaku a chromatografii (8 g silikagelu pro mžikovou chromatografii, vymývání směsí 10% methanol-

ethylacetát) bylo získáno 109 mg (85%) sloučeniny z názvu ve formě purpurového oleje:

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) 57,49 (d, 1H, $J = 7,53$ Hz), 7,30-7,15 (m, 3H), 3,77 (s, 2H), 1,51 (s, 18H).

Příprava bisodné soli (2'-fosfatyl)fenylacetátu Kryptofycinu 55 (7') (LSN 374122).

Do roztoku 6' (84 mg, 0,081 mmolů) v 400 μl methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 4,0 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (81 μl 0,33 mmolů). Bledě žlutý roztok byl ponechán za míchání při teplotě okolí po dobu 2 hodin. Po koncentraci za sníženého tlaku na bělavou pěnu byl surový dihydrogenfosforečnan rozpuštěn v 614 μl tetrahydrofuranu a zpracován 5,00 N vodným roztokem hydroxidu sodného (33 μl 0,163 mmolů). Po míchání po dobu 10 minut směs byla koncentrována za sníženého tlaku na snědou pěnu. Surová sůl byla vyjmuta v 1 ml horkého acetonitrilu a 0,1 ml horké vody. Nerozpustné složky byly odfiltrovány a filtrát byl koncentrován za sníženého tlaku a tím se získalo 69 mg (87%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pevné látky:

500 MHz ^1H NMR ($\text{MeOH}-d_4$) δ 7,58 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz), 7,38-7,32 (m, 2H), 7,32-7,28 (m, 3H), 7,28 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz), 7,17 (dd, 1H, $J = 8,5, 2,1$ Hz), 7,09 (ddd, 1H, $J = 7,8, 7,8, 1,7$ Hz), 6,98 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 6,79-6,70 (m, 2H), 6,67 (d, 1H, $J = 7,4$ Hz), 5,91 (dd, 1H, $J = 15, 1,7$ Hz), 5,45 (dd, 1H, $J = 9,4, 1,6$ Hz), 5,06 (dd, 1H, $J = 10, 2,7$ Hz), 5,01 (d, 1H, $J = 9,4$ Hz), 4,89-4,80 (m, 1H), 4,47 (dd, 1H, $J = 11, 3,8$ Hz), 3,84 (s, 3H), 3,67 (d, 1H, $J = 16$ Hz), 3,45 (d, 1H, $J = 14$ Hz), 3,42 (d, 1H, $J = 16$ Hz), 3,18 (dd, 1H, $J = 14, 3,8$ Hz), 3,12 (d, 1H, $J = 14$ Hz), 2,77 (dd, 1H, $J = 14, 11$ Hz), 2,67-2,60 (m, 1H), 2,56-2,48 (m, 1H), 2,31-2,22

(m, 1H), 1,96-1,88 (m, 1H), 1,85-1,77 (m, 2H), 1,22 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,03 (d, 3H, $J = 6,2$ Hz), 0,98 (d, 3H, $J = 6,1$ Hz), 0,93 (d, 3H, $J = 7,1$ Hz).

Příprava hydrochloridové soli nikotinoátu Kryptofycinu 55 (8') (LSN 368265).

Do roztoku 1' (50 mg, 0,071 mmolů) v 354 μ l pyridinu byl při teplotě okolí přidán hydrochlorid nikotinoylchloridu (15 mg, 0,085 mmolů), následovaný triethylaminem (23 μ l 0,170 mmolů). Po míchání po dobu 1,5 hodin byl přidán 4-dimethylaminopyridin (8,6 mg, 0,071 mmolů). Po míchání 5 hodin byl přidán dodatečný triethylamin (23 μ l 0,170 mmolů), 4-dimethylaminopyridin (8,6 mg, 0,071 mmolů) a hydrochlorid nikotinoylchloridu (15 mg, 0,085 mmolů) spolu s 50 μ l pyridinovým proplachem. Po míchání 18 hodin reakční směs byla zpracována 0,5 ml nasyceným vodným hydrogenuhličitanem sodným a promývána methylenchloridem (4 x 1 ml). Sloučené organické extrakty byly sušeny (Na_2SO_4), filtrovány a koncentrovány za sníženého tlaku na lehce hnědý olej. Chromatografie (14 g silikagelu pro mžikovou chromatografii), vymývání směsí ethylacetát-hexany (10:1) poskytlo 49 mg (85%) volné báze ve formě bílé pěny. Nikotinoát byl rozpuštěn v 1 ml methylenchloridu a zpracován 1,0 M roztokem chlorovodíku v diethyletheru (90 μ l 0,090 mmolů). Čirý bezbarvý roztok byl ponechán stát při teplotě okolí po dobu 5 minut. Odebrání rozpouštědla za sníženého tlaku poskytlo 51 mg sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny: 500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) 58,94 (s, 1H), 8,78 (br s, 1H), 8,29 (d, 1H, $J = 7,0$ Hz), 7,57 (br s, 1H), 7,38 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz), 7,30-7,16 (m, 5H), 7,10 (dd, 1H, $J = 8,4, 1,7$ Hz), 6,88 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,71 (m, 1H), 5,80 (d, 1H, $J = 15$ Hz),

5,74 (d, 1H, $J = 9,6$ Hz), 5,56 (br s, 1H), 5,00 (d, 1H, $J = 9,6$ Hz), 4,95 (t, 1H, $J = 8,9$ Hz), 4,84 (d, 1H, $J = 9,8$ Hz), 4,77-4,72 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,39 (dd, 1H, $J = 13, 8,2$ Hz), 3,23-3,14 (m, 2H), 3,06 (dd, 1H, $J = 14, 7,6$ Hz), 2,81-2,74 (m, 1H), 2,62-2,45 (m, 2H), 1,93 (ddd, 1H, $J = 14, 12, 4,8$ Hz), 1,78-1,70 (m, 1H), 1,66-1,59 (m, 1H), 1,25 (s, 3H), 1,20 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz), 1,19 (s, 3H), 0,98 (d, 3H, $J = 6,7$ Hz), 0,84 (d, 3H, $J = 6,5$ Hz).

Příprava acetátové soli N-methylpyridinia Kryptofycinu 55 (9') (LSN 366550).

Do roztoku 1' (53 mg, 0,075 mmolů) v 751 μ l methylenchloridu při teplotě 0 °C byl přidán triethylamin (13 μ l 0,090 mmolů), následovaný 2-fluor-1-methylpyridinium-p-toluensulfonátem (23 mg, 0,083 mmolů). Heterogenní reakční směs byla zahřata na teplotu okolí a míchána po dobu 3,5 hodin a poté bylo přidáno dalších 11 mg (0,039 mmolů) 2-fluor-1-methylpyridinium-p-toluensulfonátu. Po míchání po dobu 14,5 hodin bylo přidáno dalších 11 mg (0,039 mmolů) 2-fluor-1-methylpyridinium-p-toluensulfonátu, následovaných dalšími 11 mg (0,039) 2-fluor-1-methylpyridinium-p-toluensulfonátu a 13 μ l (0,090) triethylaminu po uplynutí 2,5 hodin. Po míchání další 1 hodinu reakční směs byla koncentrována za sníženého tlaku na oranžový pěna. Čištění chromatografií HPLC s obrácenou fází⁸ se současnou aniontovou výměnou (acetát za p-toluensulfonát) následovanou lyofilizací dalo 30 mg (47%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pevné látky:

500 MHz ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8,65- 8,58 (m, 2H), 8,36 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz), 7,68 (d, 1H, $J = 8,9$ Hz), 1,60 (d, 1H, $J = 6,6$ Hz), 7,48 (t, 1H, $J = 6,6$ Hz), 7,35-7,21 (m, 6H), 7,19 (dd,

1H, $J = 8,5, 1,9$ Hz), 7,05 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 6,49 (ddd, 1H, $J = 16, 13, 4,0$ Hz), 5,91 (d, 1H, $J = 16$ Hz), 5,72 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 5,66 (dd, 1H, $J = 8,0, 1,9$ Hz), 5,32-5,27 (m, 1H), 4,73 (dd, 1H, $J = 9,7, 4,3$ Hz), 4,24 (ddd, 1H, $J = 11, 9,8, 3,7$ Hz), 3,93 (s, 3H), 3,81 (s, 3H), 3,32 (dd, 1H, $d = 13, 9,3$ Hz), 3,05-2,97 (m, 2H), 2,77-2,57 (m, 3H), 2,54-2,47 (m, 1H), 1,76 (s, 3H), 1,68-1,62 (m, 1H), 1,55-1,46 (m, 1H), 1,37-1,30 (m, 1H), 1,15 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz), 1,13 (s, 3H), 1,00 (s, 3H), 0,88 (d, 3H, $J = 6,7$ Hz), 0,73 (d, 3H, $J = 6,5$ Hz).

Příprava N-t-Boc-3-(3-chlor-4-methoxyfenyl)-(D)-alaninátu Kryptofycinu 55 (10') (LSN 382049).

Do roztoku 1' (23 mg, 0,033 mmolů) N-t-Boc-3-(3-chlor-4-methoxyfenyl)-(D)-alaninu^{4c} (16 mg, 0,049 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (několik krystalů) v 143 μ l bezvodého methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (10 mg, 0,049 mmolů) v 20 μ l methylenchloridu. Po míchání po dobu 2 hodin byla kalně bílá reakční směs zředěna směsí ethylacetát-hexany (2:1, 1 ml), míchána po dobu 10 minut a filtrována přes vrstvu celitu, promývání směsí ethylacetát:hexany (2:1). Filtrát a promývací tekutina byly koncentrovány za sníženého tlaku na bezbarvý olej. Chromatografie (14 g silikagelu pro mžikovou chromatografii, 2:1 ethylacetát-hexany) poskytla 29 mg (88%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,42-7,27 (m, 5H), 7,24 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz), 7,25-7,18 (m, 1H), 7,09 (dd, 1H, $J = 8,4, 1,9$ Hz), 6,91-6,86 (m, 2H), 6,84-6,70 (m, 3H), 5,75 (d, 1H, $J = 15$ Hz), 5,53 (d, 1H, $J = 9,6$ Hz), 5,47 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz), 5,00 (dd, 1H, $J = 10, 2,9$ Hz), 4,90-4,80 (m, 2H), 4,78-4,71

(m, 1H), 4,63 (d, 1H, 8,3 Hz), 4,19-4,12 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,88 (s, 3H), 3,40 (dd, 1H, J = 13, 8,1 Hz), 3,25-3,12 (m, 2H), 3,07 (dd, 1H, J = 14, 7,6 Hz), 2,67-2,57 (m, 2H), 2,39-2,27 (m, 2H), 2,15 (dd, 1H, J = 14, 8,0 Hz), 2,01 (ddd, 1H, J = 14, 12, 4,2 Hz), 1,87-1,76 (m, 2H), 1,39 (s, 9H), 1,27 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,09-1,04 (m, 6H), 1,01 (d, 3H, J = 6,3 Hz).

Příprava hydrochloridové soli 3-(3-chlor-4-methoxyfenyl)-(D)-alaninátu Kryptofycinu 55 (11') (LSN 382048).

Do roztoku 10' (27 mg, 0,027 mmolů) v 265 μ l methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 4,0 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (33 μ l 0,133 mmolů). Po míchání po dobu 3 hodin byla čirá bezbarvá reakční směs koncentrována za sníženého tlaku a tím se získalo 26 mg (96%, přepočteno pro 5 % hmot. dioxanu) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (MeOH- d_4) 67,79 (d, 1H, J = 7,3 Hz), 7,49-7,45 (m, 2H), 7,43-7,48 (m, 3H), 7,31 (d, 1H, J = 2,0 Hz), 7,20 (dd, 1H, J = 8,4, 2,1 Hz), 7,13 (d, 1H, J = 2,2 Hz), 7,07-6,95 (m, 3H), 6,71 (ddd, 1H, 15, 13, 3,8 Hz), 5,98 (dd, 1H, J = 15, 1,8 Hz), 5,69 (d, 1H, J = 10 Hz), 5,22 (d, 1H, J = 10 Hz), 5,18 (dd, 1H, J = 10, 2,5 Hz), 4,89-4,80 (m, 1H), 4,53 (dd, 1H, J = 11, 3,7 Hz), 4,16 (dd, 1H, J = 10, 4,4 Hz), 3,88 (s, 3H), 3,87 (s, 3H), 3,51 (dd, 1H, J = 13, 9,9 Hz), 3,20 (dd, 1H, J = 14, 3,7 Hz), 3,14 (dd, 1H, J = 13, 2,3 Hz), 2,82-2,75 (m, 3H), 2,45 (dd, 1H, J = 15, 4,5 Hz), 2,42-2,34 (m, 1H), 2,08-2,00 (m, 1H), 1,97-1,86 (m, 3H), 1,27 (s, 3H), 1,21 (s, 3H), 1,16 (d, 3H, J = 7,1 Hz), 1,10 (d, 3H, J = 6,1 Hz), 1,06 (d, 3H, J = 6,0 Hz).

Příprava N-t-Boc-(L)-fenylalaninátu Kryptofycinu 55 (12') (LSN 382235).

Do roztoku sloučeniny 1' (29 mg, 0,041 mmolů), N-t-Boc-(L)-fenylalaninu (16 mg, 0,062 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (0,5 mg, 0,0041 mmolů) v 165 μ l bezvodého methylenchlorid byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (13 mg, 0,062 mmolů) v 42 μ l methylenchloridu. Po míchání po dobu 40 minut byla kalně bílá reakční směs zředěna směsí ethylacetát-hexany (2:1, 0,5 ml), míchána po dobu 10 minut a filtrována přes vrstvu celitu, promývání směsí ethylacetát:hexany (2:1). Filtrát a promývací tekutina byly koncentrovány za sníženého tlaku na bezbarvý olej. Chromatografie (12 g silikagelu pro mžikovou chromatografii, 2:1/ethylacetát-hexany) poskytla 20 mg (50%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (MeOH-d_4) δ 7,40-7,47 (m, 2H), 7,26-7,37 (m, 6H), 7,12-7,22 (m, 4H), 7,00 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,78-6,71 (m, 1H), 5,94 (d, 1H, $d = 15$ Hz), 5,48 (d, 1H, $J = 9,5$ Hz), 5,15-5,10 (m, 1H), 5,06 (d, 1H, $J = 9,5$ Hz), 4,68 (t, 1H, $J = 9,7$ Hz), 4,52 (dd, 1H, $J = 11, 3,7$ Hz), 4,14-4,10 (m, 1H), 3,87 (s, 3H), 3,49 (d, 1H, $d = 13$ Hz), 3,20 (dd, 1H, $J = 14, 3,7$ Hz), 3,14 (d, 1H, $J = 13$ Hz), 2,77 (dd, 1H, $J = 14, 11$ Hz), 2,67 (dd, 1H, $J = 14, 6,2$ Hz), 2,62-2,57 (m, 2H), 2,51 (dd, 1H, $J = 14, 9,1$ Hz), 2,31-2,23 (m, 1H), 2,00-1,92 (m, 1H), 1,91-1,82 (m, 2H), 1,38 (s, 9H), 1,26 (s, 3H), 1,24 (s, 3H), 1,08 (d, 3H, $J = 5,9$ Hz), 1,03 (d, 3H, $J = 5,8$ Hz), 0,87 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz).

Příprava hydrochloridové soli (L)-fenylalaninátu Kryptofycinu 55 (13') (LSN 382236).

Do roztoku sloučeniny 12' (18 mg, 0,019 mmolů) v 189 μ l methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 4,0 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (24 μ l 0,094 mmolů). Po míchání po dobu 4 hodin byla čirá bezbarvá reakční směs koncentrována za sníženého tlaku a tím se získalo 15 mg (88%, přepočteno pro 2 % hmot. dioxanu) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny;

500 MHz ^1H NMR (MeOH- d_4) δ 7,79 (d, 1H, J = 7,6 Hz), 7,48-7,23 (m, 11H), 7,20 (dd, 1H, J = 8,6, 1,6 Hz), 6,75-6,68 (m, 1H), 5,97 (d, 1H, J = 16 Hz), 5,55 (d, 1H, J = 9,2 Hz), 5,15-5,11 (m, 2H), 4,11 (t, 1H, J = 10 Hz), 4,55-4,51 (m, 1H), 3,87 (s, 3H), 3,21 (dd, 1H, J = 14, 3,8 Hz), 3,17-3,10 (m, 2H), 2,94 (dd, 1H, J = 15, 8,1 Hz), 2,78 (dd, 1H, J = 14, 12 Hz), 2,69-2,63 (m, 2H), 2,34-2,27 (m, 1H), 1,98-1,92 (m, 1H), 1,89-1,82 (m, 2H), 1,25 (s, 3H), 1,22 (s, 3H), 1,06 (d, 3H, J = 6,2 Hz), 1,03 (d, 3H, J = 6,1 Hz), 0,89 (d, 3H, J = 7,0 Hz).

Příprava dihydrochloridové soli (L)-histidinátu Kryptofycinu 55 (15') (LSN 384046).

Do roztoku sloučeniny 1' (19 mg, 0,027 mmolů), N,N'-di-t-Boc-(L)-histidin-benzenového komplexu (18 mg, 0,040 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (0,3 mg, 0,0027 mmolů) v 100 μ l bezvodého methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán roztok 1, 3-dicyklohexylkarbodiimidu (8,3 mg, 0,040 mmolů) v 35 μ l methylenchloridu. Po míchání po dobu 60 minut bylo přidáno dalších 18 mg N,N'-di-t-Boc-(L)-histidin-benzenového komplexu (0,040 mmolů) a 8,3 mg 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (0,040 mmolů). Kalně bílá reakční směs byla míchána další 4 hodiny, zředěn směsí ethylacetát-hexany (3;1, 0,5 ml), míchána po dobu 10 minut a filtrována přes vrstvu celitu,

promývání směsí ethylacetát:hexany (3:1). Filtrát a promývací tekutina byly koncentrovány za sníženého tlaku na bezbarvý olej. Chromatografie (13 g silikagelu pro mžikovou chromatografii, 3:1/ethylacetát-hexany) poskytla 17 mg (61%) N,N'-di-t-Boc sloučeniny (14') ve formě bílé pěny. Do roztoku sloučeniny 14 (17 mg, 0,016 mmolů) v 160 μ l methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 4,0 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (24 μ l 0,098 mmolů). Po míchání po dobu 5 hodin byla kalně bílá reakční směs koncentrována za sníženého tlaku a tím se získalo 15,7 mg (100%, přepočteno pro 4 % hmot. dioxanu) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (MeOH- d_4) δ 8,91 (s, 1H), 7,77 (d, 1H, J = 9,5 Hz), 7,51- 7,37 (m, 6H), 7,31 (d, 1H, J = 2,1 Hz), 7,20 (dd, 1H, 8,4, 2,1 Hz), 6,66-6,58 (m, 1H), 5,99 (d, 1H, J = 15 Hz), 5,57 (d, 1H, J = 9,6 Hz), 5,20 (d, 1H, J = 9,6 Hz), 5,15 (dd, 1H, J = 10, 3,0 Hz), 4,58 (t, 1H, J = 11 Hz), 4,53 (dd, 1H, 11, 3,8 Hz), 4,14 (~~t~~, 1H, J = 6,4 Hz), 3,87 (s, 3H), 3,55-3,47 (m, 1H), 3,27-3,12 (m, 3H), 2,81-2,68 (m, 3H), 2,40-2,31 (m, 1H), 1,98-1,81 (m, 3H), 1,25 (s, 3H), 1,21 (s, 3H), 1,10-1,04 (m, 6H), 1,04 (d, 3H, J = 6,1 Hz).

Příprava N-t-Boc-(L)-prolinátu Kryptofycinu 55 (16') (LSN 382926).

Do roztoku sloučeniny 1' (19 mg, 0,027 mmolů), N-t-Boc-(L)-prolinu (8,7 mg, 0,040 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (0,3 mg, 0,0027 mmolů) v 100 μ l bezvodého methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (8,3 mg, 0,040 mmolů) v 35 μ l methylenchloridu. Po míchání po dobu 45 minut byla kalně bílá reakční směs zředěna směsí ethylacetát-hexany (3:1, 0,5 ml), míchána po dobu 10 minut a

filtrována přes vrstvu celitu, promývání směsí ethylacetát:hexany (3:1). Filtrát a promývací tekutina byly koncentrovány za sníženého tlaku na bezbarvý olej. Chromatografie (15 g silikagelu pro mžikovou chromatografii, 3:1/ethylacetát-hexany) poskytla 11 mg (46%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,39-7,30 (m, 5H), 7,24 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz), 7,21-7,18 (m, 1H), 7,09 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,0$ Hz), 6,87 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,80-6,68 (m, 1H), 5,77 (d, 1H, $J = 15$ Hz), 5,61 (br s, 1H), 5,56 (t, 1H, $J = 9,5$ Hz), 5,04-4,68 (m, 4H), 4,19-4,15 (m, 1H), 3,90 (s, 3H), 3,41-3,34 (m, 2H), 3,27-3,02 (m, 4H), 2,64-2,50 (m, 2H), 2,35-2,25 (m, 1H), 2,10-2,00 (m, 1H), 1,90-1,72 (m, 3H), 1,70-1,50 (m, 3H), 1,44 (s, 9H), 1,28 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,08-0,90 (m, 9H).

Příprava hydrochloridové soli (L)-prolinátu Kryptofycinu 55 (17') (LSN 382927).

Do roztoku sloučeniny 16' (11 mg, 0,012 mmolů) v 122 μl methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 4,0 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (15 μl 0,061 mmolů). Po míchání po dobu 5 hodin byla čirá bezbarvá reakční směs koncentrována za sníženého tlaku a tím se získalo 10 mg (100%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pevné látky:

500 MHz ^1H NMR (MeOH-d_4) δ 7,77 (dd, 1H, $J = 9,4, 2,3$ Hz), 7,48-7,42 (m, 2H), 7,39-7,35 (m, 3H), 7,31 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz), 7,20 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,2$ Hz), 7,01 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,68 (ddd, 1H, $J = 15, 13, 3,8$ Hz), 5,98 (dd, 1H, $J = 15, 1,4$ Hz), 5,52 (d, 1H, $J = 9,8$ Hz), 5,18 (d, 1H, $J = 9,8$ Hz), 5,18-5,14 (m, 1H), 4,18 (t, 1H, $J = 10$ Hz), 4,52 (dd, 1H, $J = 11, 3,9$ Hz), 3,99 (t, 1H, $J = 7,3$ Hz), 3,87 (s, 3H),

3,48 (dd, 1H, $J = 14, 9,7$ Hz), 3,28-3,12 (m, 4H), 2,82- 2,73 (m, 3H), 2,42-2,34 (m, 2H), 2,09-1,79 (m, 6H), 1,24 (s, 3H), 1,88 (s, 3H), 1,16 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz), 1,07 (d, 3H, $J = 6,3$ Hz), 1,04 (d, 3H, $J = 6,2$ Hz).

Příprava N-t-Boc-glycinátu Kryptofycinu 55 (18') (LSN 379403). Do roztoku sloučeniny 1' (118 mg, 3,167 mmolů), N-t-Boc-glycinu (44 mg, 0,251 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (2,0 mg, 0,0167 mmolů) v 490 μ l bezvodého methylenchlorid byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (52 mg, 0,251 mmolů) v 67 μ l methylenchloridu. Po míchání po dobu 50 minut byla kalně bílá reakční směs zředěna směsí ethylacetát-hexany (3:1, 1 ml), míchána po dobu 10 minut a filtrována přes vrstvu celitu, promývání směsí ethylacetát-hexany (3:1). Filtrát a promývací tekutina byly koncentrovány za sníženého tlaku na bezbarvý olej. Chromatografie (19 g silikagelu pro mžikovou chromatografii, 3:1/ethylacetát-hexany) poskytla 138 mg (96%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) 57,34 (s, 5H), 7,24 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz), 7,23-7,19 (m, 1H), 7,10 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,0$ Hz), 6,88 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,79-6,70 (m, 1H), 5,77 (d, 1H, $J = 13$ Hz), 5,50 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 5,47 (d, 1H, $J = 9,8$ Hz), 4,97 (dd, 1H, $J = 11, 2,7$ Hz), 4,89 (t, 1H, $J = 10$ Hz), 4,83 (d, 1H, $J = 9,8$ Hz), 4,79-4,12 (m, 1H), 4,68 (br s, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,66 (dd, 1H, $J = 18, 5,3$ Hz), 3,42-3,35 (m, 2H), 3,21 (dd, 1H, $J = 13, 4,0$ Hz), 3,17 (dd, 1H, $J = 15, 5,1$ Hz), 3,08 (dd, 1H, $J = 15, 7,6$ Hz), 2,66-2,57 (m, 2H), 2,47-2,38 (m, 1H), 1,95 (ddd, 1H, $J = 14, 12, 4,7$ Hz), 1,85-1,77 (m, 1H), 1,75-1,67 (m, 1H), 1,43 (s, 9H), 1,27 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,08 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz), 1,03 (d, 3H, $J = 6,7$

Hz), 0,98 (d, 3H, $J = 6,5$ Hz).

Příprava hydrochloridové soli glycinátu Kryptofycinu 55 (19') (LSN 365422).

Do roztoku sloučeniny 18' (122 mg, 0,141 mmolů) v 471 μ l methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 4,0 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (178 μ l 0,707 mmolů). Po míchání po dobu 1 hodiny 20 minut byla čirá bezbarvá reakční směs koncentrována za sníženého tlaku a tím se získalo 120 mg (99%, přepočteno pro 7 % hmot. dioxanu) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (MeOH- d_4) δ 7,81 (dd, 1H, $J = 8,5, 2,2$ Hz), 7,46-7,41 (m, 2H), 7,40-1,36 (m, 3H), 1,31 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz), 7,20 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,1$ Hz), 7,01 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,70 (ddd, 1H, $J = 15, 13, 3,7$ Hz), 5,97 (dd, 1H, $J = 15, 1,7$ Hz), 5,55 (d, 1H, $J = 9,9$ Hz), 5,18 (d, 1H, $J = 9,9$ Hz), 5,14 (dd, 1H, $J = 10, 2,8$ Hz), 4,84 (t, 1H, $J = 10$ Hz), 4,52 (dd, 1H, $J = 11, 3,7$ Hz), 3,87 (s, 3H), 3,78 (d, 1H, $J = 18$ Hz), 3,50 (dd, 1H, $J = 13, 9,8$ Hz), 3,23 (d, 1H, $J = 18$ Hz), 3,20 (dd, 1H, $J = 14, 3,6$ Hz), 3,13 (dd, 1H, $J = 13, 2,4$ Hz), 2,80-2,69 (m, 3H), 2,41-2,32 (m, 1H), 1,99-1,92 (m, 1H), 1,91-1,81 (m, 2H), 1,25 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,12 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz), 1,06 (d, 3H, $J = 6,2$ Hz), 1,04 (d, 3H, 6,2 Hz).

Příprava N-t-Boc- β -alaninátu Kryptofycinu 55 (20') (LSN 379404).

Do roztoku 1' (102 mg, 0,3145 mmolů), N-t-Boc- β -alaninu (41 mg, 0,217 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (18 mg, 0,145

mmolů) v 400 μ l bezvodého methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (45 mg, 0,217 mmolů) v 82 μ l methylenchloridu. Po míchání po dobu 3,5 hodin byla kalně bílá reakční směs zředěna směsí ethylacetát-hexany (3:1, 1 ml), míchána po dobu 10 minut a filtrována přes vrstvu celitu, promývání směsí ethylacetát-hexany (3:1). Filtrát a promývací tekutina byly koncentrovány za sníženého tlaku na bezbarvý olej. Chromatografie (21 g silikagelu pro mžikovou chromatografii, 2:1 potom 4:1/ethylacetát-hexany) poskytla 121 mg (95%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) 57,44-7,39 (m, 2H), 7,37-7,31 (m, 3H), 7,32 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz), 7,20 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,1$ Hz), 7,01 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,72 (ddd, 1H, $J = 15, 13, 3,7$ Hz), 5,96 (dd, 1H, $J = 15, 1,6$ Hz), 5,51 (d, 1H, $J = 9,8$ Hz) 5,11-5,06 (m, 1H), 5,08 (d, 1H, $J = 9,8$ Hz), 4,90-4,83 (m, 1H), 4,50 (dd, 1H, $J = 11, 3,6$ Hz), 3,86 (s, 3H), 3,52-3,46 (m, 1H), 3,20 (dd, 1H, $J = 14, 3,6$ Hz), 3,13 (br d, 1H, $J = 14$ Hz), 3,05- 2,92 (m, 2H), 2,79-2,63 (m, 3H), 2,45-2,37 (m, 1H), 2,24 (dt, 1H, $J = 16, 7,0$ Hz), 2,08-1,99 (m, 1H), 1,96-1,79 (m, 3H), 1,43 (s, 9H), 1,25 (s, 3H), 1,21 (s, 3H), 1,12 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz), 1,06 (d, 3H, $J = 6,2$ Hz), 1,02 (d, 3H, $J = 6,1$ Hz).

Příprava hydrochloridové soli β -alaninátu Kryptofycinu 55 (21') (LSN 377718).

Do roztoku sloučeniny 20' (119 mg, 0,136 mmolů) v 452 μ l methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 4,0 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (170 μ l 0,679 mmolů). Po míchání po dobu 2 hodin 15 minut byla kalně bílá reakční směs koncentrována za sníženého tlaku a tím se získalo 110 mg

(96%, přepočteno pro 4 % hmot. dioxanu) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny.

500 MHz ^1H NMR (MeOH- d_4) δ 7,80 (dd, 1H, $J = 9,7, 2,3$ Hz), 7,45-7,40 (m, 2H), 7,39-7,32 (m, 3H), 7,20 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,1$ Hz), 7,01 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,68 (ddd, 1H, $J = 15, 13, 3,8$ Hz), 5,98 (dd, 1H, $J = 15, 1,7$ Hz), 5,48 (dd, 1H, $J = 9,4, 1,0$ Hz), 5,15-5,11 (m, 1H), 5,13 (d, 1H, $J = 9,4$ Hz), 4,82 (t, 1H, $J = 10$ Hz), 4,51 (dd, 1H, $J = 11, 3,7$ Hz), 3,90 (s, 3H), 3,50 (dd, 1H, $J = 14, 9,8$ Hz), 3,20 (dd, 1H, $J = 14, 3,7$ Hz), 3,14 (dd, 1H, $J = 14, 2,4$ Hz), 2,85 (t, 2H, $J = 1,0$ Hz), 2,80-2,65 (m, 5H), 2,54 (dt, 1H, $J = 17, 7,4$ Hz), 2,42-2,33 (m, 1H), 2,22 (dt, 1H, $J = 17, 6,7$ Hz), 1,90-1,81 (m, 3H), 1,25 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,13 (d, 3H, $J = 7,1$ Hz), 1,08 (d, 3H, $J = 6,3$ Hz), 1,04 (d, 3H, $J = 6,2$ Hz).

Příprava N-t-Boc- γ -aminobutyrátu Kryptofycinu 55 (22') (LSN 379401).

Do roztoku sloučeniny 1' (48 mg, 0,068 mmolů), N-t-Boc-4-aminomáselné kyseliny (18 mg, 0,088 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (8 mg, 0,068 mmolů) v 150 μl bezvodého methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-dicyklohexyikarbodiimidu (18 mg, 0,088 mmolů) v 50 μl methylenchloridu. Po míchání po dobu 45 minut byla kalně bílá reakční směs zředěna směsí ethylacetát-hexany (3:1, 0,5 ml), míchána po dobu 5 minut a filtrována přes vrstvu celitu, promývání směsí ethylacetát-hexany (3:1). Filtrát a promývací tekutina byly koncentrovány za sníženého tlaku na bezbarvý olej. Chromatografie (15 g silikagelu pro mžikovou chromatografii, 3:1/ethylacetát-hexany) poskytla 55 mg (90%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,38-7,32 (m, 5H), 7,24 (d, 1H, $J =$

1,9 Hz), 7,22-7,19 (m, 1H), 7,10 (dd, 1H, $J = 8,4, 1,9$ Hz), 6,88 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,15 (ddd, 1H, $J = 15, 13, 3,9$ Hz), 5,78 (d, 1H, $J = 15$ Hz), 5,60-5,55 (m, 1H), 5,49 (dd, 1H, $J = 9,8, 1,4$ Hz), 4,96 (dd, 1H, $J = 11, 3,0$ Hz), 4,89 (t, 1H, $J = 9,2$ Hz), 4,81 (d, 1H, $J = 9,8$ Hz), 4,78-4,70 (m, 1H), 4,44 (br s, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,40 (dd, 1H, $J = 14, 8,1$ Hz), 3,22 (dd, 1H, $J = 14, 4,1$ Hz), 3,22-3,15 (m, 1H), 3,08 (dd, 1H, $J = 14, 7,8$ Hz), 2,89-2,82 (m, 2H), 2,67-2,56 (m, 2H), 2,47-2,38 (m, 1H), 2,11-2,04 (m, 1H), 2,00-1,77 (m, 3H), 1,75-1,67 (m, 1H), 1,45 (s, 9H), 1,50-1,40 (m, 2H), 1,27 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,09 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz), 1,04 (d, 3H, $J = 6,6$ Hz), 0,98 (d, 3H, $J = 6,6$ Hz).

Příprava hydrochloridové soli γ -aminobutyrátu Kryptofycinu 55 (25') (LSN 368513).

Do roztoku sloučeniny 22' (53 mg, 0,059 mmolů) v 297 μ l methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 1,0 M roztok chlorovodíku v diethyletheru (297 μ l 0,297 mmolů). Výchozí materiál precipitoval ve formě bílé pasty, která byla znovu rozpuštěna s dalšími 150 μ l methylenchloridu. Po míchání po dobu 4 hodin bylo přidáno dalších 59 μ l (0,059 mmolů) roztoku chlorovodíku.

Míchání pokračovalo po dobu dalších 14 hodin a reakční směs byla koncentrována za sníženého tlaku a tím se získalo 49 mg (100%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 8,49 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,72 (br s, 3H), 7,44-7,33 (m, 5H), 7,32 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz), 7,29 (dd, 1H, $J = 9,4, 2,6$ Hz), 7,20 (dd, 1H, $J = 8,5, 1,9$ Hz),

7,06 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 6,48 (ddd, 1H, $J = 15, 13, 3,9$ Hz), 5,87 (d, 1H, $J = 15$ Hz), 5,37 (d, 1H, $J = 9,7$ Hz), 5,33 (d, 1H, $J = 9,7$ Hz), 5,04-5,01 (m, 1H), 4,73 (t, 1H, $J = 11$ Hz), 4,25 (ddd, 1H, $J = 12, 9,8, 3,5$ Hz), 3,82 (s, 3H), 3,40-3,30 (m, 1H), 3,07-3,01 (m, 2H), 2,72 (dd, 1H, $J = 14, 12$ Hz), 2,65-2,47 (m, 4H), 2,38-2,28 (m, 1H), 2,21 (dt, 1H, $J = 17, 7,5$ Hz), 1,97 (dt, 1H, $J = 17, 1,5$ Hz), 1,50-1,70 (m, 3H), 1,54-1,46 (m, 2H), 1,17 (s, 3H), 1,03 (s, 3H), 1,01 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz), 0,99 (d, 3H, $J = 5,8$ Hz), 0,95 (d, 3H, $J = 5,8$ Hz).

Příprava N-t-Boc-(L)-alaninátu Kryptofycinu 55 (26') (LSN 379405).

Do roztoku 1' (103 mg, 0,146 mmolů), N-t-Boc-(L)-alaninu (41 mg, 0,219 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (18 mg, 0,146 mmolů) v 400 μ l bezvodého methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (45 mg, 0,219 mmolů) v 87 μ l methylenchloridu. Po míchání po dobu 5 hodin 50 minut byla kalně bílá reakční směs zpracována dalšími 5,5 mg (0,029 mmolů) N-t-Boc-(L)-alaninu, 6,0 mg (0,029 mmolů) 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu a několika krystaly 4-dimethylaminopyridinu. Po míchání další 1 hodinu byla reakční směs zředěna směsí ethylacetát-hexany (3:1, 1 ml), míchána po dobu 10 minut a filtrována přes vrstvu celitu, promývání směsí ethylacetát:hexany (3:1). Filtrát a promývací tekutina byly koncentrovány za sníženého tlaku na bezbarvý olej. Chromatografie (22 g silikagelu pro mžikovou chromatografii, 1,5:1 potom 2:1 potom 4:1/ethylacetát-hexany) poskytla 96 mg (75%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) 5,735-7,30 (m, 5H), 7,26-7,21 (m, 2H),

7,10 (dd, 1H, $J = 8,4, 1,9$ Hz) 6,88 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,76 (ddd, 1H, $J = 15, 13, 4,2$ Hz), 5,77 (d, 1H, $J = 15$ Hz), 5,52 (d, 1H, 7,6 Hz), 5,44 (d, 1H, $J = 9,7$ Hz), 4,98 (dd, 1H, $J = 11, 2,5$ Hz), 4,85-4,81 (m, 2H), 4,75 (q, 1H, $J = 6.8$ Hz), 4,56 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz), 4,01-3,96 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,41 (dd, 1H, $J = 13, 8,3$ Hz), 3,20 (dd, 1H, $J = 13, 4,0$ Hz), 3,16 (dd, 1H, $J = 15, 5,9$ Hz), 3,08 (dd, 1H, $J = 15, 7,6$ Hz), 2,65-2,57 (m, 2H), 2,40-2,31 (m, 1H), 2,02-1,96 (m, 1H), 1,87-1,73 (m, 2H), 1,43 (s, 9H), 1,27 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,11-1,02 (m, 9H), 0,99 (d, 3H, $J = 6,3$ Hz).

Příprava hydrochloridové soli (L)-alaninátu Kryptofycinu 55 (28') (LSN 377719).

Do roztoku 26' (95 mg, 0,108 mmolů) v 361 μ l methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 4,0 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (135 μ l 0,542 mmolů). Po míchání po dobu 2,5 hodin byla kalně bílá reakční směs koncentrována za sníženého tlaku a tím se získalo 90 mg (96%, přepočteno pro 6 % hmot. dioxanu) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (MeOH- d_4) δ 8,54 (d, 1H, 7,6 Hz), 7,81 (br d, 1H, $J = 9,7$ Hz), 7,46-7,44 (m, 2H), 7,39-7,37 (m, 3H), 7,32 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz), 7,20 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,0$ Hz), 7,01 (d, 1H, $J = 2,3$ Hz), 6,69 (ddd, 1H, $J = 15, 11, 3,7$ Hz), 5,99 (d, 1H, 15 Hz), 5,55 (d, 1H, $J = 9,8$ Hz), 5,20 (d, 1H, $J = 9,8$ Hz), 5,35 (dd, 1H, 11, 2,7 Hz), 4,78 (t, 1H, $J = 11$ Hz), 4,53-4,50 (m, 1H), 3,87 (s, 3H), 3,65 (q, 1H, $J = 7,3$ Hz), 3,50 (dd, 1H, $J = 13, 9,8$ Hz), 3,20 (dd, 1H, $J = 14, 3,5$ Hz), 3,14 (br d, 1H, $J = 13$ Hz), 2,81-2,71 (m, 3H), 2,41-2,34 (m, 1H), 1,98-1,93 (m, 1H), 1,88-1,82 (m, 2H), 1,41 (d, 3H, $J = 7,3$ Hz), 1,25 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,13

(d, 3H, $J = 7,0$ Hz), 1,06 (d, 3H, $J = 6,2$ Hz), 1,04 (d, 3H, 6,0 Hz).

Příprava N-t-Boc-(D)-alaninátu Kryptofycinu 55 (29') (LSN 382426).

Do roztoku sloučeniny 1' (25 mg, 0,035 mmolů), N-t-Boc-(D)-alaninu (10 mg, 0,053 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (0,4 mg, 0,0035 mmolů) v 130 μ l bezvodého methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (11 mg, 0,053 mmolů) v 47 μ l methylenchloridu. Po míchání po dobu 5,5 hodin byla kalně bílá reakční směs zředěna směsí ethylacetát-hexany (3:1, 0,5 ml), míchána po dobu 10 minut a filtrována přes vrstvu celitu, promývání směsí ethylacetát:hexany (3:1). Filtrát a promývací tekutina byly koncentrovány za sníženého tlaku na bezbarvý olej. Chromatografie (15 g silikagelu pro mžikovou chromatografii, 2:1/ethylacetát-hexany) poskytla 26 mg (83%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,49-7,29 (m, 5H), 7,24 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz), 7,22-7,18 (m, 1H), 7,09 (dd, 1H, 8,4, 2,0 Hz), 6,87 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,76 (ddd, 1H, $J = 15, 13, 4,4$, Hz), 5,77 (d, 1H, 15 Hz), 5,56 (d, 1H, $J = 9,9$ Hz), 5,48 (d, 1H, $J = 7,7$ Hz), 5,01 (dd, 1H, $J = 10, 2,6$ Hz), 4,91 (t, 1H, $J = 9,4$ Hz), 4,84 (d, 1H, $J = 9,9$ Hz), 4,81-4,73 (m, 2H), 3,99-3,93 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,39 (dd, 1H, $J = 13, 8,0$ Hz), 3,22 (dd, 1H, $J = 13, 3,6$ Hz), 3,17 (dd, 1H, $J = 14, 5,0$ Hz), 3,08 (dd, 1H, $J = 14$ Hz), 2,68-2,58 (m, 2H), 2,42-2,35 (m, 1H), 2,04-1,94 (m, 1H), 1,81-1,50 (m, 2H), 1,42 (s, 9H), 1,27 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,09 (d, 3H, $J = 7,1$ Hz), 1,04 (d, 3H, $J = 6,4$ Hz), 0,99 (d, 3H, $J = 6,3$ Hz), 0,65 (d, 3H, $J = 6,8$ Hz).

Příprava hydrochloridové soli (D)-alaninátu Kryptofycinu 55 (30') (LSN 382425).

Do roztoku 29' (24 mg, 0,027 mmolů) v 274 μ l methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 4,0 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (34 μ l 0,137 mmolů). Po míchání po dobu 3,5 hodin byla čirá bezbarvá reakční směs koncentrována za sníženého tlaku a tím se získalo 24 mg (100%, přepočteno pro 8 % hmot. dioxanu) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny.

500 MHz ^1H NMR (MeOH- d_4) δ 7,79 (d, 1H, J = 9,5 Hz), 7,47-7,40 (m, 2H), 7,40-7,36 (m, 3H), 7,31 (d, 1H, J = 2,0 Hz), 7,20 (dd, 1H, J = 8,4, 2,0 Hz), 7,01 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 6,71 (ddd, 1H, J = 15, 13, 3,7 Hz), 5,98 (dd, 1H, J = 15, 1,6 Hz), 5,65 (d, 1H, J = 10 Hz), 5,20 (d, 1H, J = 10 Hz), 5,17 (dd, 1H, J = 11, 2,5 Hz), 4,88-4,78 (m, 1H), 4,53 (dd, 1H, J = 11, 3,7 Hz), 3,95 (q, 1H, J = 7,2 Hz), 3,87 (s, 3H), 3,51 (dd, 1H, J = 13, 9,8 Hz), 3,20 (dd, 1H, J = 14, 3,6 Hz), 3,14 (dd, 1H, J = 13, 2,3 Hz), 2,81-2,74 (m, 3H), 2,41-2,34 (m, 1H), 2,07-1,99 (m, 1H), 1,96-1,84 (m 2H), 1,26 (s, 3H), 1,21 (s, 3H), 1,15 (d, 3H, J = 7,1 Hz), 1,09 (d, 3H, J = 6,0 Hz), 1,05 (d, 3H, J = 6,0 Hz), 0,80 (d, 3H, J = 7,4 Hz).

Příprava $\text{N}\alpha$ - $\text{N}\epsilon$ -di- t -Boc-(L)-lysinátu Kryptofycinu 55 (31') (LSN 379406).

Do roztoku 1' (105 mg, 0,149 mmolů), $\text{N}\alpha$ - $\text{N}\epsilon$ -di- t -Boc-(L)-lysinu (67 mg, 0,193 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (18 mg, 0,149 mmolů) v 400 μ l bezvodého methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (40

mg, 0,193 mmolů) v 96 μ l methylenchloridu. Po míchání po dobu 4 hodin byla kalně bílá reakční směs zpracována dalšími 10 mg (0,030 mmolů) N α -N ϵ -di-t-Boc-(L)-lysinu a 6,1 mg (0,030 mmolů) 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu v roztoku v 100 μ l methylenchloridu. Po míchání další 1 hodinu byla kalně bílá reakční směs zředěna směsí ethylacetát-hexany (3:1, 1 ml), míchána po dobu 10 minut a filtrována přes vrstvu celitu, promývání směsí ethylacetát:hexany (3:1). Filtrát a promývací tekutina byly koncentrovány za sníženého tlaku na bílou pěnu, která byla znovu vystavena výše uvedeným podmínkám použitím 34 mg (0,097 mmolů) N α -N ϵ -di-t-Boc-(L)-lysinu, 20 mg (0,097 mmolů) 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu a 9,1 mg (0,075 mmolů) 4-dimethylaminopyridinu. Po míchání po dobu 1,5 hodin byla reakční směs zpracovávána výše uvedeným způsobem a tím se získala surová bílá pěna. Chromatografie (21 g silikagelu pro mžikovou chromatografii, 1:1 potom 4:1/ethylacetát-hexany) poskytla 112 mg (73%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny: —

500 MHz ^1H NMR (MeOH- d_4) 7,42-7,37 (m, 2H), 7,36-7,29 (m, 3H), 7,27 (br s, 1H), 7,16 (br d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 6,97 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 6,72 (ddd, 1H, $J = 15, 13, 3,5$ Hz), 5,92 (d, 1H, $J = 15$ Hz), 5,50 (d, 1H, $J = 11$ Hz), 5,11-5,04 (m, 2H), 4,84 (t, 1H, $J = 10$ Hz), 4,48 (dd, 1H, $J = 11, 3,6$ Hz), 3,84 (s, 3H), 3-75 (br s, 1H), 3,50-3,43 (m, 1H), 3,17 (dd, 1H, $J = 14, 3,6$ Hz), 3,11 (d, 1H, $J = 14$ Hz), 2,97-2,91 (m, 2H), 2,16-2,58 (m, 3H), 2,36-2,27 (m, 1H), 1,98-1,80 (m, 3H), 1,48-1,38 (m, 2H), 1,43 (s, 9H), 1,40 (s, 9H), 1,35-1,25 (m, 2H), 1,23 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,15-1,09 (m, 2H), 1,07 (d, 3H, $J = 6,8$ Hz), 1,06 (d, 3H, $J = 6,0$ Hz), 1,01 (d, 3H, $J = 6,1$ Hz).

Příprava dihydrochloridové soli (L)-lysinátu Kryptofycinu 55 (32') (LSN 377562).

Do roztoku sloučeniny 31' (101 mg, 0,103 mmolů) v 345 μ l methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 4,0 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (155 μ l 0,621 mmolů). Po míchání po dobu 4 hodin byla kalně bílá reakční směs filtrována. Shromážděná bílá pevná látka byla promývána methylenchloridem (2 x 1 ml) a sušena za sníženého tlaku při teplotě okolí a tím se získalo 87 mg (93%) sloučeniny z názvu:

500 MHz ^1H NMR (MeOH- d_4) δ 8,61 (d, 1H, J = 7,7 Hz), 7,81 (d, 1H, J = 7,7 Hz), 7,47- 7,44 (m, 2H), 7,40-7,38 (m, 3H), 7,31 (d, 1H, J = 2,2 Hz), 7,20 (dd, 1H, J = 8,4, 2,2 Hz), 7,00 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 6,63 (dddd, 1H, J = 15, 13, 4,0 Hz), 6,00 (dd, 1H, J = 15, 1,6 Hz), 5,55 (d, 1H, J = 9,8 Hz), 5,20 (d, 1H, J = 9,8 Hz), 5,15 (dd, 1H, J = 10, 2,9 Hz), 4,68 (t, 1H, J = 11 Hz), 4,55-4,49 (m, 1H), ~~3,87~~ (s, 3H), 3,79 (t, 1H, J = 5,6 Hz), 3,52 (dd, 1H, J = 14, 9,9 Hz), 3,20 (dd, 1H, J = 14, 3,6 Hz), 3,13 (dd, 1H, J = 13, 2,4 Hz), 3,06-2,98 (m, 1H), 2,94- 2,87 (m, 1H), 2,85-2,74 (m, 3H), 2,45-2,38 (m, 1H), 1,98-1,76 (m, 5H), 1,71-1,64 (m, 2H), 1,39-1,30 (m, 2H), 1,25 (s, 3H), 1,18 (d, 3H, J = 8,2 Hz), 1,17 (s, 3H), 1,0B (d, 3H, J = 6,2 Hz), 1,05 (d, 3H, J = 6,1Hz).

Příprava $\text{N}\alpha$ - $\text{N}\epsilon$ -di- t -Boc-(D)-lysinátu Kryptofycinu 55 (33') (LSN 382504).

Do roztoku sloučeniny 1' (24 mg, 0,035 mmolů), $\text{N}\alpha$ - $\text{N}\epsilon$ -di- t -Boc-(D)-lysinu 247 mg, 0,069 mmolů a 4-

dimethylaminopyridinu (0,4 mg, 0,0035 mmolů) v 140 μ l bezvodého methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (14 mg, 0,069 mmolů) v 30 μ l methylenchloridu. Po míchání po dobu 70 minut byla kalně bílá reakční směs zředěna směsí ethylacetát-hexany (3:1, 0,5 ml), míchána po dobu 10 minut a filtrována přes vrstvu celitu, promývání směsí ethylacetát:hexany (3:1). Filtrát a promývací tekutina byly koncentrovány za sníženého tlaku na bělavý olej. Chromatografie (15 g silikagelu pro mžikovou chromatografii, 2:1/ethylacetát-hexany) poskytla 30 mg (87%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (MeOH-d_4) 57,46-7,40 (m, 2H), 7,39-7,31 (m, 3H), 7,31 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz), 7,20 (dd, 1H, $J = 8,4, 1,8$ Hz), 7,01 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,75 (ddd, 1H, $J = 16, 11, 3,7$ Hz), 5,93 (d, 1H, $J = 16$ Hz), 5,59 (d, 1H, $J = 10$ Hz), 5,13-5,09 (m, 2H), 4,92 (t, 1H, $J = 9,8$ Hz), 4,52 (dd, 1H, $J = 11, 3,6$ Hz), 3,87 (s, 3H), 3,79-3,15 (m, 1H), 3,48 (d, 1H, $J = 13$ Hz), 3,21 (dd, 1H, $J = 14, 3,7$ Hz), 3,12 (d, 1H, $J = 13$ Hz), 2,97-2,91 (m, 2H), 2,80-2,62 (m, 3H), 2,41-2,32 (m, 1H), 1,98-1,82 (m, 3H), 1,48-1,38 (m, 2H), 1,46 (s, 9H), 1,42 (s, 9H), 1,35-1,20 (m, 2H), 1,25 (s, 3H), 1,21 (s, 3H), 1,15-0,09 (m, 2H), 1,14 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz), 1,07 (d, 3H, $J = 6,0$ Hz), 1,03 (d, 3H, $J = 6,0$ Hz).

Příprava dihydrochloridové soli (D)-lysinátu Kryptofycinu 55 (34') (LSN 377503).

Do roztoku sloučeniny 33' (28 mg, 0,027 mmolů) v 181 μ l methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 4,0 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (41 μ l 0,162 mmolů). Po míchání po dobu 5,5 hodin byla kalně bílá reakční směs koncentrována za sníženého tlaku a tím se získalo 25 mg (96%, přepočteno

pro 4,5 % hmot. dioxanu) sloučeniny z názvu ve formě bílé pevné látky:

500 MHz ^1H NMR (MeOH- d_4) δ 8,47 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz), 7,76 (dd, 1H, $J = 9,6, 2,1$ Hz), 7,47-7,36 (m, 5H), 7,28 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz), 7,17 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,1$ Hz), 6,98 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,68 (ddd, 1H, 15, 11, 3,7 Hz), 5,95 (dd, 1H, $J = 15, 1,1$ Hz), 5,67 (d, 1H, $J = 10$ Hz), 5,21 (d, 1H, $J = 10$ Hz), 5,14 (dd, 1H, $J = 10, 2,5$ Hz), 4,83-4,77 (m, 1H), 4,52-4,49 (m, 1H), 3,92 (t, 1H, $J = 6,1$ Hz), 3,84 (s, 3H), 3,47 (dd, 1H, $J = 14, 9,8$ Hz), 3,18 (dd, 1H, $J = 14, 3,6$ Hz), 3,12 (dd, 1H, $J = 14, 2,2$ Hz), 2,83 (t, 2H, $J = 7,6$ Hz), 2,78-2,70 (m, 3H), 2,38-2,30 (m, 1H), 2,02-1,82 (m, 3H), 1,52-1,43 (m, 2H), 1,23 (s, 3H), 1,22-1,00 (m, 4H), 1,18 (s, 3H), 1,13 (d, 3H, $J = 8,2$ Hz), 1,06 (d, 3H, $J = 6,2$ Hz), 1,02 (d, 3H, $J = 6,1$ Hz).

Příprava N-t-Boc- γ -terc.-butylester-(L)-glutamátu
Kryptofycinu 55 (35') (LSN 382366).

Do roztoku sloučeniny 1' (27 mg, 0,038 mmolů), γ -terc.-butylesteru N-t-Boc-(L)-glutamové kyseliny (17 mg, 0,057 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (0,5 mg, 0,0038 mmolů) v 150 μl bezvodého methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (12 mg, 0,057 mmolů) v 41 μl methylenchloridu. Po míchání po dobu 60 minut byla kalně bílá reakční směs zředěna směsí ethylacetát-hexany (2:1, 2 ml), míchána po dobu 10 minut a filtrována přes vrstvu celitu, promývání směsí ethylacetát:hexany (2:1). Filtrát a promývací tekutina byly koncentrovány za sníženého tlaku na bělavý olej. Chromatografie (15 g silikagelu pro mžikovou chromatografii, 1:1 ethylacetát-hexany) poskytla 28 mg (74%) sloučeniny z názvu ve formě

bílé pěny;

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,39-7,29 (m, 5H), 7,24 (d, 1H, J = 1,9 Hz), 7,22-7,18 (m, 1H), 7,10 (dd, 1H, J = 8,5, 1,9 Hz), 6,87 (d, 1H, J = 8,5 Hz), 6,76 (ddd, 1H, J = 15, 13, 4,5 Hz), 5,78 (d, 1H, J = 15 Hz), 5,65 (d, 1H, J = 7,6 Hz), 5,43 (d, 1H, J = 9,7 Hz), 4,99 (dd, 1H, J = 10, 2,7 Hz), 4,90-4,80 (m, 1H), 4,83 (d, 1H, J = 9,7 Hz), 4,69-4,61 (m, 1H), 4,55 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 4,01-3,96 (m, 1H), 3,90 (s, 3H), 3,40 (dd, 1H, J = 13, 8,0 Hz), 3,24 (dd, 1H, J = 13, 4,1 Hz), 3,18 (dd, 1H, J = 15, 5,0 Hz), 3,11 (dd, 1H, J = 15, 7,9 Hz), 2,65-2,57 (m, 2H), 2,39-2,30 (m, 1H), 2,14-2,09 (m, 2H), 2,00-1,92 (m, 1H), 1,87-1,73 (m, 3H), 1,60-1,50 (m, 1H), 1,44 (s, 18H), 1,27 (s, 3H), 1,21 (s, 3H), 1,08 (d, 3H, J = 7,0 Hz), 1,05 (d, 3H, J = 6,4 Hz), 1,00 (d, 3H, J = 6,3 Hz).

Příprava hydrochloridové soli (L)- α -glutamátu Kryptofycinu 55 (36') (LSN 382367).

Do roztoku sloučeniny 35' (23 mg, 0,023 mmolů) v 232 μl methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 4,0 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (29 μl , 0,116 mmolů). Po míchání po dobu 8,5 hodin byla čirá bezbarvá reakční směs koncentrována za sníženého tlaku a tím se získalo 20 mg (97%, přepočteno pro 3 % hmot. dioxanu) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR ($\text{MeOH}-d_4$) 7,79 (d, 1H, J = 7,6 Hz), 7,50-7,36 (m, 5H), 7,31 (d, 1H, J = 2,0 Hz), 7,20 (dd, 1H, J = 8,6, 2,0 Hz), 7,01 (d, 1H, J = 8,6 Hz), 6,75-6,65 (m, 1H), 5,98 (d, 1H, 15 Hz), 5,57 (d, 1H, J = 9,7 Hz), 5,20 (d, 1H, J = 9,7 Hz), 5,15 (dd, 1H, J = 11, 3,0 Hz), 4,90-4,80 (m, 1H), 4,52 (dd, 1H, J = 11, 3,7 Hz), 3,87 (s, 3H), 3,80-3,66 (m,

1H), 3,49 (dd, 1H, $J = 13, 10$ Hz), 3,21 (dd, 1H, $J = 14, 3,6$ Hz), 3,15 (dd, 1H, $J = 14, 2,3$ Hz), 2,82-2,72 (m, 3H), 2,41-2,30 (m, 3H), 2,05-1,81 (m, 5H), 1,25 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,15 (d, 3H, $J = 7,1$ Hz), 1,07 (d, 3H, $J = 6,2$ Hz), 1,05 (d, 3H, $J = 6,1$ Hz).

Příprava N-t-Boc- β -terc.-butylester-(L)-aspartátu Kryptofycinu 55 (37') (LSN 382501) a N-t-Boc- β -terc.-butylester-(D)-aspartátu kryptofycinu 55 (39') (LSN 387040). Do roztoku sloučeniny 1' (176 mg, 0,249 mmolů), β -terc.-butylesteru N-t-Boc-(L)-aspartové kyseliny (144 mg, 0,499 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (2,0 mg, 0,066 mmolů) v 1,0 ml bezvodého methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (103 mg, 0,499 mmolů) v 200 μ l methylenchloridu. Po míchání po dobu 45 minut byla kalně bílá reakční směs zpracována 88 mg celitu a zředěna směsí ethylacetát-hexany (3:1, 2 ml), míchána po dobu 10 minut a filtrována přes vrstvu celitu, promývání směsí ethylacetát:hexany (3:1). Filtrát a promývací tekutina byly koncentrovány za sníženého tlaku na bělavý olej. Chromatografie (30 g silikagelu pro mžikovou chromatografii, 2:1 ethylacetát-hexany) poskytla čistou sloučeninu 37' (nižší R_f) spolu se smíšenými frakcemi. Smíšené frakce byly chromatografovány (25 g silikagelu pro mžikovou chromatografii, 1:1 potom 2:1 potom 3:1 ethylacetát-hexany) což dalo čistější 37' spolu s čistou sloučeninou 39' (vyšší R_f). Všechny frakce obsahující čistou sloučeninu 37' byly sloučeny a tím bylo získáno 149 mg (61%) ve formě bílé pěny, zatímco všechny frakce obsahující čistou sloučeninu 39' byly sloučeny a tím bylo získáno 56 mg (23%) ve formě bílé pěny. 500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) data pro 37': δ 7,39-7,30 (m, 5H),

7,24 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz), 1,24-7,18 (m, 1H), 7,09 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,0$ Hz), 6,88 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,76 (ddd, 1H, $J = 15, 13, 4,3$ Hz), 5,75 (d, 1H, 15 Hz), 5,50 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz), 5,46 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz), 5,01-4,98 (m, 2H), 4,93 (t, 1H, $J = 9,9$ Hz), 4,85 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz), 4,78-4,71 (m, 1H), 4,17-4,10 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,41 (dd, 1H, $J = 13, 8,2$ Hz), 3,22 (dd, 1H, $J = 13, 3,9$ Hz), 3,17 (dd, 1H, $J = 14, 5,1$ Hz), 3,09 (dd, 1H, $J = 14, 7,7$ Hz), 2,61-2,50 (m, 4H), 2,36-2,28 (m, 1H), 2,02-1,97 (m, 1H), 1,83-1,76 (m, 2H), 1,45 (s, 9H), 1,41 (s, 9H), 1,28 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,06-1,01 (m, 6H), 0,99 (d, 3H, $J = 6,2$ Hz).

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) data pro 39': δ 7,39- 7,30 (m, 5H), 7,24 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz), 7,24-7,18 (m, 1H), 7,09 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,0$ Hz), 6,88 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,73 (ddd, 1H, $J = 15, 13, 4,3$ Hz), 5,74 (d, 1H, 15 Hz), 5,41 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz), 5,42 (d, 1H, $J = 9,1$ Hz), 5,29 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz), 4,98 (dd, 1H, $J = 10, 3,0$ Hz), 4,92 (t, 1H, $J = 9,6$ Hz), 4,85 (d, 1H, $J = 9,1$ Hz), 4,77-4,71 (m, 1H), 4,18-4,12 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,39 (dd, 1H, $J = 13, 8,1$ Hz), 3,21 (dd, 1H, $J = 13, 4,0$ Hz), 3,16 (dd, 1H, $J = 14, 5,2$ Hz), 3,07 (dd, 1H, $J = 14, 7,6$ Hz), 2,63-2,52 (m, 2H), 2,45 (dd, 1H, $J = 17, 5,8$ Hz), 2,36-2,26 (m, 1H), 2,22 (dd, 1H, $J = 17, 4,5$ Hz), 1,99-1,90 (m, 1H), 1,86-1,69 (m, 2H), 1,47 (s, 9H), 1,43 (s, 9H), 1,25 (s, 3H), 1,19 (s, 3H), 1,11 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz), 1,03 (d, 3H, $J = 6,5$ Hz), 0,99 (d, 3H, $J = 6,4$ Hz).

Příprava hydrochloridové soli (L)-aspartátu Kryptofycinu 55 (38') (LSN 382502).

Do roztoku sloučeniny 37' (146 mg, 0,149 mmolů) v 498 μl methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 4,0 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (374 μl 1,49 mmolů). Po míchání

po dobu 19 hodin byla čirá bezbarvá reakční směs koncentrována za sníženého tlaku a tím se získalo 131 mg (100%, přepočteno pro 2 % hmot. dioxanu) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (MeOH- d_4) δ 7,79 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz), 7,45-7,36 (m, 5H), 7,31 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz), 7,20 (dd, 1H, $J = 8,6, 2,0$ „z), 7,01 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz), 6,75 (ddd, 1H, $J = 15, 13, 3,7$ Hz), 5,96 (dd, 1H, 15, 1,8 Hz), 5,54 (d, 1H, $J = 10$ Hz), 5,17 (d, 1H, $J = 10$ Hz), 5,14 (dd, 1H, $J = 11, 2,1$ Hz), 4,89 (t, 1H, $J = 11$ 1Hz), 4,52 (dd, 1H, $J = 11, 3,7$ Hz), 3,87 (s, 3H), 3,55 (t, 1H, $J = 4,4$ Hz), 3,52-3,47 (m, 1H), 3,21 (dd, 1H, $J = 14, 3,6$ Hz), 3,13 (d, 1H, $J = 14$ Hz), 2,99 (dd, 1H, $J = 18, 5,0$ Hz), 2,83 (dd, 1H, $J = 18, 3,9$ Hz), 2,81-2,68 (m, 3H), 2,35- 2,28 (m, 1H), 2,02-1,84 (m, 3H), 1,26 (s, 3H), 1,21 (s, 3H), 1,08-1,02 (m, 9H).

Příprava hydrochloridové soli (D)-aspartátu Kryptofycinu 55 (40') (LSN 381039).

Do roztoku 39' (53 mg, 0,054 mmolů) v 271 μl methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 4,0 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (136 μl 0,542 mmolů). Po míchání po dobu 14 hodin byla čirá bezbarvá reakční směs koncentrována za sníženého tlaku a tím se získalo 47 mg (94%, přepočteno pro 6 % hmot. dioxanu) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (MeOH- d_4) δ 7,79 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz), 7,45-7,36 (m, 5H), 7,31 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz), 7,20 (dd, 1H, $J = 8,6, 2,0$ Hz), 7,01 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz), 6,71 (ddd, 1H, $J = 15, 13, 3,7$ Hz), 5,96 (dd, 1H, 15, 1,8 Hz), 5,63 (d, 1H, $J = 10$ Hz), 5,19 (d, 1H, $J = 10$ Hz), 5,15 (dd, 1H, $J = 11, 2,1$ Hz), 4.B6-4,80 (m, 1H), 4,55- 4,50 (m, 1H), 4,24 (dd, 1H, J

= 8,4, 4,0 Hz), 3,87 (s, 3H), 3,50 (dd, 1H, $J = 13, 9,7$ Hz), 3,21 (dd, 1H, $J = 14, 3,6$ Hz), 3,14 (dd, 1H, $J = 13, 2,5$ Hz), 2,80-2,70 (m, 3H), 2,40- 2,32 (m, 1H), 2,21 (dd, 1H, $J = 18, 4,0$ Hz), 2,09-1,97 (m, 2H), 1,92-1,84 (m, 2H), 1,26 (s, 3H), 1,21 (s, 3H), 1,15 (d, 3H, $J = 7,1$ Hz), 1,08 (d, 3H, $J = 6,1$ Hz), 1,04 (d, 3H, $J = 6,0$ Hz).

Příprava N-t-Boc- α -terc.-butylester-(L)-glutamátu
Kryptofycinu 55 (41') (LSN 382572).

Do roztoku 1' (23 mg, 0,033 mmolů), α -terc.-butylesteru N-t-Boc-(L)-glutamové kyseliny (15 mg, 0,049 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (0,4 mg, 0,0033 mmolů) v 120 μ l bezvodého methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (10 mg, 0,049 mmolů) v 40 μ l methylenchloridu. Po míchání po dobu 45 minut byla kalně bílá reakční směs zředěna směsí ethylacetát-hexany (3:1, 0,5 ml), míchána po dobu 10 minut a filtrována přes vrstvu celitu, promývání směsí ethylacetát:hexany (3:1). Filtrát a promývací tekutina byly koncentrovány za sníženého tlaku na bělavý olej. Chromatografie (15 g silikagelu pro mžikovou chromatografii, 2:1 ethylacetát-hexany) poskytla 24 mg (75%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,39-7,30 (m, 5H), 7,24 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz), 7,20-7,16 (m, 1H), 7,09 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,1$ Hz), 6,87 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,74 (ddd, 1H, $J = 15, 13, 4,6$ Hz), 5,78 (d, 1H, $J = 15$ Hz), 5,55 (br d, 1H, $J = 6,4$ Hz), 5,46 (dd, 1H, $J = 9,6, 1,0$ Hz), 4,96 (dd, 1H, $J = 11, 3,0$ Hz), 4,91-4,80 (m, 2H), 4,83 (d, 1H, $J = 9,6$ Hz), 4,72 (br s, 1H), 3,99 (br s, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,39 (dd, 1H, $J = 13, 7,9$ Hz), 3,24 (dd, 1H, $J = 13, 3,9$ Hz), 3,18 (dd, 1H, $J = 14, 4,5$ Hz), 3,09 (dd, 1H, $J = 14, 7,8$ Hz), 2,63-2,55 (m,

2H), 2,44-2,37 (m, 1H), 2,10-1,92 (m, 3H), 1,85-1,78 (m, 1H), 1,76-1,61 (m, 3H), 1,46 (s, 9H), 1,45 (s, 9H), 1,27 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,08 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz), 1,04 (d, 3H, $J = 6,6$ Hz), 0,98 (d, 3H, $J = 6,4$ Hz).

Příprava hydrochloridové soli (L)- γ -glutamátu Kryptofycinu 55 (42') (LSN 382514).

Do roztoku 41' (21 mg, 0,021 mmolů) v 212 μ l methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 4,0 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (53 μ l 0,212 mmolů). Po míchání po dobu 23,5 hodin byla reakční směs zředěna methanolem a nechána procházet přes vrstvu celitu. Po koncentraci za sníženého tlaku se získalo 20 mg (100 %, přepočteno pro 6 % hmot. dioxanu) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (MeOH- d_4) δ 7,79 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz), 7,50-7,29 (m, 6H), 7,20 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,0$ Hz), 7,01 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,66 (ddd, 1H, $J = 15, 13, 3,7$ Hz), 5,97 (dd, 1H, $J = 15, 1,5$ Hz), 5,52 (dd, 1H, $J = 10, 0,8$ Hz), 5,14 (dd, 1H, $J = 11, 3,0$ Hz), 5,10 (d, 1H, $J = 10$ Hz), 4,90-4,80 (m, 1H), 4,51 (dd, 1H, $J = 11, 3,1$ Hz), 3,90-3,80 (m, 1H), 3,87 (s, 3H), 3,50 (dd, 1H, $J = 13, 10$ Hz), 3,19 (dd, 1H, $J = 14, 3,7$ Hz), 3,13 (dd, 1H, $J = 14, 2,3$ Hz), 2,81-2,67 (m, 3H), 2,41-2,32 (m, 2H), 2,15-2,06 (m, 1H), 1,97-1,79 (m, 5H), 1,25 (s, 3H), 1,19 (s, 3H), 1,13 (d, 3H, $J = 7,1$ Hz), 1,08 (d, 3H, $J = 5,9$ Hz), 1,04 (d, 3H, $J = 5,8$ Hz).

Příprava N,N'-di-t-Boc-(S)-2,3-diaminopropionátu Kryptofycinu 55 (43') (LSN 3B2765).

Do roztoku sloučeniny 1' (21 mg, 0,030 mmolů), N,N'-di-t-Boc-(S)-2,3-diaminopropionové kyseliny (18 mg, 0,060 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (0,3 mg, 0,0030 mmolů) v 110 μ l

bezvodého methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (12 mg, 0,060 mmolů) v 39 μ l methylenchloridu. Po míchání po dobu 70 minut byla kalně bílá reakční směs zředěna směsí ethylacetát-hexany (3:1, 0,5 ml), míchána po dobu 10 minut a filtrována přes vrstvu celitu, promývání směsí ethylacetát:hexany (3:1). Filtrát a promývací tekutina byly koncentrovány za sníženého tlaku na bělavý olej. Chromatografie (15 g silikagelu pro mžikovou chromatografii, 2:1 ethylacetát-hexany) poskytla 24 mg (80%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (MeOH-d_4) δ 7,49-7,40 (m, 2H), 7,38-7,30 (m, 4H), 7,19 (dd, 1H, $J = 8,5, 1,9$ Hz), 7,00 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 6,74 (ddd, 1H, $J = 16, 11, 3,5$ Hz), 5,95 (d, 1H, $J = 16$ Hz), 5,49 (d, 1H, $J = 10$ Hz), 5,16-5,08 (m, 2H), 4,90-4,80 (m, 1H), 4,51 (dd, 1H, $J = 11, 3,7$ Hz), 4,06-4,10 (m, 1H), 3,81 (s, 3H), 3,48 (d, 1H, $J = 13$ Hz), 3,19 (dd, 1H, $J = 14, 3,7$ Hz), 3,14 (d, 1H, $J = 13$ Hz), 3,03 (dd, 1H, $J = 14, 4,2$ Hz), 2,94-2,87 (m, 1H), 2,80-2,59 (m, 3H), 2,39-2,30 (m, 1H), 1,98-1,81 (m, 3H), 1,43 (s, 18H), 1,25 (s, 3H), 1,21 (s, 3H), 1,10 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz), 1,07 (d, 3H, $J = 6,0$ Hz), 1,03 (d, 3H, $J = 5,8$ Hz).

Příprava dihydrochloridové soli (S)-2,3-diaminopropionátu Kryptofycinu 55 (44') (LSN 382764).

Do roztoku sloučeniny 43' (21 mg, 0,021 mmolů) v 211 μ l methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 4,0 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (42 μ l 0,169 mmolů). Po míchání po dobu 5 hodin byla reakční směs koncentrována za sníženého tlaku a tím se získalo 18,5 mg (100%, přepočteno pro 3 % hmot. dioxanu) sloučeniny z názvu ve formě bílé pevné látky:

500 MHz ^1H NMR (MeOH-d_4) δ 7,50-7,39 (m, 5H), 7,31 (d, 1H, J

= 2,0 Hz), 7,20 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,0$ Hz), 7,01 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,68 (ddd, 1H, $J = 15, 11, 3,8$ Hz), 5,99 (dd, 1H, $J = 15, 1,7$ Hz), 5,56 (d, 1H, $J = 9,6$ Hz), 5,24 (d, 1H, $J = 9,6$ Hz), 5,16 (dd, 1H, $J = 10, 3,1$ Hz), 4,90-4,80 (m, 1H), 4,51 (dd, 1H, $J = 11, 3,8$ Hz), 4,04-4,00 (m, 1H), 3,87 (s, 3H), 3,50-3,45 (m, 1H), 3,26 (dd, 1H, $J = 14, 4,0$ Hz), 3,22-3,12 (m, 3H), 2,81-2,75 (m, 3H), 2,42-2,32 (m, 1H), 1,98-1,78 (m, 3H), 1,25 (s, 3H), 1,19 (s, 3H), 1,22-1,16 (m, 3H), 1,07 (d, 3H, $J = 6,4$ Hz), 1,04 (d, 3H, $J = 6,3$ Hz).

Příprava N-t-Boc-(L)-serinátu Kryptofycinu 55 (45') (LSN 384340).

Do roztoku sloučeniny 1' (38 mg, 0,053 mmolů), N-t-Boc-O-terc.-butyldimethylsilyl(L)-serinu¹¹ (51 mg, 0,160 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (0,6 mg, 0,0053 mmolů) v 200 μ l bezvodého methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (33 mg, 0,160 mmolů) v 69 μ l methylenchloridu. Po míchání po dobu 4 hodin byla kalně bílá reakční směs zředěna směsí ethylacetát-hexany (2:1, 1 ml), míchána po dobu 10 minut a filtrována přes vrstvu celitu, promývání směsí ethylacetát:hexany (2:1). Filtrát a promývací tekutina byly koncentrovány za sníženého tlaku na bezbarvý olej, který byl použit přímo v následujícím kroku. Do roztoku surového silyletheru (54 mg, 0,054 mmolů) v 268 μ l tetrahydrofuranu bylo při teplotě okolí přidáno 268 μ l zásobního roztoku fluorovodíku-pyridinu (připraven z 0,5 g HF-pyridinu (Aldrich), 4 ml tetrahydrofuranu a 1 ml pyridinu). Po míchání po dobu 4 hodin bylo přidáno dalších 67 μ l zásobního roztoku HF-pyridinu. Po míchání po dobu 30 minut byla reakční směs zpracována 0,6 ml nasyceného vodného hydrogenuhličitanu

sodného a promývána ethylacetátem (1 ml x 3). Sloučené organické složky byly sušeny (Na_2SO_4), filtrovány a koncentrovány za sníženého tlaku na bledě žlutou pěnu. Chromatografie (16 g SiO_2 , vymývání směsí 3:1 a potom 6:1 ethylacetát-hexany) poskytlo 26 mg (44%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (MeOH-d_4) δ 7,79 (dd, 1H, $J = 9,5, 2,4$ Hz), 7,45-7,38 (m, 2H), 7,37-7,29 (m, 3H), 7,29 (d, 1H, $d = 2,0$ Hz), 7,18 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,0$ Hz), 6,99 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,72 (ddd, 1H, $J = 15, 13, 3,7$ Hz), 5,95 (dd, 1H, $J = 15, 1,6$ Hz), 5,53 (d, 1H, $J = 9,5$ Hz), 5,12-5,08 (m, 2H), 4,94 (t, 1H, $J = 10$ Hz), 4,52 (dd, 1H, $J = 12, 3,6$ Hz), 3,92 (t, 1H, $J = 4,6$ Hz), 3,85 (s, 3H), 3,52-3,46 (m, 3H), 3,20 (dd, 1H, $J = 14, 3,5$ Hz), 3,14 (dd, 1H, $J = 13, 3,0$ Hz), 2,75 (dd, 1H, $d = 14, 11$ Hz), 2,73-2,66 (m, 1H), 2,65-2,59 (m, 1H), 2,38-2,29 (m, 1H), 2,00-1,82 (m, 3H), 1,43 (s, 9H), 1,25 (s, 3H), 1,22 (s, 3H), 1,10-1,06 (m, 6H), 1,03 (d, 3H, 6,0 Hz).

Příprava hydrochloridové soli (L)-serinátu Kryptofycinu 55 (46') (LSN 384339).

Do roztoku 45' (26 mg, 0,029 mmolů) v 291 μl methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 4,0 M roztok chlorovodíku v 1,4-dioxanu (36 μl 0,146 mmolů). Po míchání po dobu 2,5 hodin byla čirá bezbarvá reakční směs koncentrována za sníženého tlaku a tím se získalo 23 mg (94%, přepočteno pro 2 % hmot. dioxanu) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (MeOH-d_4) δ 7,48-7,40 (m, 2H), 7,39-1,31 (m, 3H), 7,31 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz), 7,20 (dd, 1H, $d = 8,5, 2,0$ Hz), 7,01 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 6,70 (ddd, 1H, $J = 15, 13,$

3,7 Hz), 5,95 (dd, 1H, 15, 1,8 Hz), 5,59 (d, 1H, $J = 10$ Hz), 5,20 (d, 1H, $J = 10$ Hz), 5,14 (dd, 1H, $J = 11$, 2,1 Hz), 4,94 (t, 1H, $J = 10$ Hz), 4,52 (dd, 1H, $J = 3,5$ Hz), 3,96 (dd, 1H, $J = 11$, 3,9 Hz), 3,83 (dd, 1H, $J = 11$, 2,8 Hz), 3,66 (t, 1H, $J = 3,2$ Hz), 3,50 (d, 1H, $J = 14$ Hz), 3,20 (dd, 1H, $J = 14$, 3,5 Hz), 3,13 (d, 1H, $J = 14$ Hz), 2,80-2,71 (m, 3H), 2,38-2,28 (m, 1H), 2,01-1,82 (m, 3H), 1,26 (s, 3H), 1,21 (s, 3H), 1,13 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz), 1,07 (d, 3H, $J = 6,1$ Hz), 1,05 (d, 3H, $J = 6,2$ Hz).

Příprava hydrochloridové soli glycidylglycinátu Kryptofycinu 55 (47') (LSN 387750).

Do roztoku 1' (18 mg, 0,026 mmolů), N-t-Boc-glycidylglycinu (12 mg, 0,051 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (0,3 mg, 0,0026 mmolů) v 228 μ l bezvodého methylenchloridu a 28 μ l N,N-dimethylformamidu byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (11 mg, 0,051 mmolů) v 28 μ l methylenchloridu. Po míchání po dobu 3 hodin bylo přidáno dalších 24 mg (0,102 mmolů) N-t-Boc-glycidylglycinu a 22 mg (0,102 mmolů) 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu v 30 μ l N,N-dimethylformamidu. Po míchání po dobu 1,5 hodin byla kalně bílá reakční směs zředěna směsí ethylacetát-hexany (3:1, 0,5 ml), míchána po dobu 10 minut a filtrována přes vrstvu celitu, promývání směsí ethylacetát:hexany (3:1). Filtrát a promývací tekutina byly koncentrovány za sníženého tlaku na bezbarvý olej. Chromatografie (12 g silikagelu pro mžikovou chromatografii, 1% methanol v ethylacetátu) poskytlo 12 mg bílé pěny, který byla použita tak jak byla získána v dalším experimentu. Do roztoku N-Boc glycidylglycinátu (12 mg, 0,013 mmolů) získaného výše v 130 μ l methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán 4,0 M roztok chlorovodíku v 1,4-

dioxanu (16 μ l 0,065 mmolů). Po míchání po dobu 3,5 hodin byla reakční směs koncentrována za sníženého tlaku a tím se získalo 11 mg (100%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

500 MHz ^1H NMR (MeOH- d_4) δ 7,45-7,29 (m, 5H), 7,31 (d, 1H, J = 2,1 Hz), 7,20 (dd, 1H, J = 8,4, 2,1 Hz), 7,01 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 6,72 (ddd, 1H, J = 15, 11, 3,8 Hz), 5,96 (dd, 1H, 15, 1,4 Hz), 5,49 (dd, 1H, J = 10, 0,8 Hz), 5,14-5,09 (m, 2H), 4,90-4,80 (m, 1H), 4,51 (dd, 1H, J = 11, 3,9 Hz), 3,91-3,84 (m, 1H), 3,81 (s, 3H), 3,70-3,65 (m, 2H), 3,50 (d, 1H, J = 14 Hz), 3,38 (d, 1H, J = 18 Hz), 3,19 (dd, 1H, J = 14, 3,6 Hz), 3,12 (d, 1H, J = 14 Hz), 2,82-2,63 (m, 3H), 2,40-2,30 (m, 1H), 1,97-1,80 (m, 3H), 1,25 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,12 (d, 3H, J = 7,0 Hz), 1,06 (d, 3H, J = 6,0 Hz), 1,03 (d, 3H, J = 5,9 Hz).

Příprava 3,6,9-trioxadekanoátu Kryptofycinu 55 (48') (LSN 387414).

Do roztoku sloučeniny 1' (18 mg, 0,026 mmolů), 3,6,9-trioxadekanové kyseliny (7,8 μ l 0,051 mmolů) a 4-dimethylaminopyridinu (0,3 mg, 0,0026 mmolů) v 100 μ l bezvodého methylenchloridu byl při teplotě okolí přidán roztok 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (11 mg, 0,051 mmolů) v 28 μ l methylenchloridu. Po míchání po dobu 30 minut byla kalně bílá reakční směs zředěna směsí ethylacetát-hexany (3:1, 0,5 ml), míchán po dobu 10 minut a filtrována přes vrstvu celitu, promývání směsí ethylacetát:hexany (3:1). Filtrát a promývací tekutina byly koncentrovány za sníženého tlaku na bělavý olej. Chromatografie (12 g silikagelu pro mžikovou chromatografii, 2% methanol v ethylacetát) poskytla 19 mg (86%) sloučeniny z názvu ve formě bílé pěny:

05.04.99

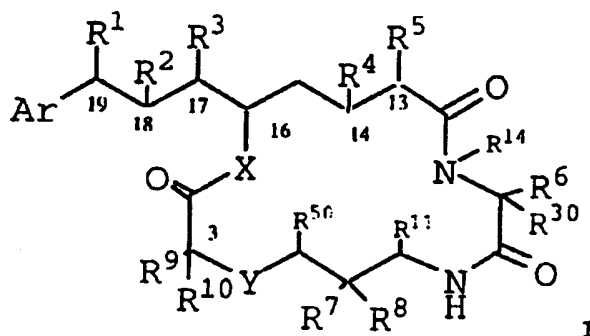
500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,49-7,29 (m, 5H), 7,24 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz), 7,22-7,19 (m, 1H), 7,10 (dd, 1H, $J = 8,4, 1,8$ Hz), 6,87 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,74 (ddd, 1H, $J = 15, 10, 4,5$ Hz), 5,32-5,28 (m, 2H), 5,56 (d, 1H, $J = 9,7$ Hz), 4,98-4,90 (m, 2H), 4,83 (d, 1H, $J = 9,7$ Hz), 4,77-4,71 (m, 1H), 3,90 (s, 3H), 3,83 (d, 1H, $J = 17$ Hz), 3,65-3,55 (m, 7H), 3,42-3,33 (m, 6H), 3,24-3,18 (m, 2H), 3,03 (dd, 1H, $J = 15, 8,1$ Hz), 2,69-2,61 (m, 1H), 2,61-2,56 (m, 1H), 2,54-2,46 (m, 1H), 2,00-1,93 (m, 1H), 1,85-1,77 (m, 1H), 1,72-1,66 (m, 1H), 1,26 (s, 3H), 1,19 (s, 3H), 1,09 (d, 3H, $J = 7,0$ Hz), 1,02 (d, 3H, $J = 6,6$ Hz), 0,97 (d, 3H, $J = 6,5$ Hz).

Zastupuje:

Dr. O. Švorčík

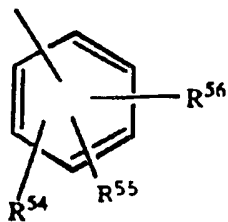
PATENTOVÉ NÁROKY

1. Sloučenina obecného vzorce I



ve kterém

Ar je zvolen ze souboru, zahrnujícího fenyl, libovolnou jednoduchou nesubstituovanou aromatickou skupinu, jednoduchou substituovanou aromatickou skupinu, substituovanou heteroaromatickou skupinu, nesubstituovanou heteroaromatickou skupinu, heterocyklickou skupinu, C₁-C₁₂ alkyl, C₂-C₁₂ alkenyl, C₂-C₁₂ alkinyl, NR⁵¹R⁵², COR⁵², OR⁵³, a skupinu Ar' obecného vzorce



06.04.99

- R^{51} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C_1-C_3 alkyl;
- R^{52} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C_1-C_3 alkyl;
- R^{53} je zvolen ze souboru, zahrnujícího skupiny C_1-C_{12} alkyl;
- R^{54} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, skupiny C_1-C_6 alkyl, C_1-C_6 alkyl($R^{57'}R^{57''}R^{57'''}$), jednoduchou nesubstituovanou aromatickou skupinu, jednoduchou substituovanou aromatickou skupinu, heterocyklickou skupinu, fenyl, atom halogenu, 4-(terc.-butyldimethylsiloxy)-benzyltrifenylfosfonium, $COOR^{57}$, PO_3H , SO_3H , SO_2R^{58} , $N(R^{59})R^{60}$, $NHOR^{61}$, $NHCHR^{61'}$, CN , NO_2 , atom halogenu, OR^{62} , $CH_2(O)R^{62'}$, $-CH_2OC(O)R^{95}$, $CH_2N(R^{96})R^{96'}$, COR^{100} , $(C_1-C_6alkyl)OR^{100}$,



- a SR^{63} ;
- R^{95} je zvolen ze souboru, zahrnujícího $-R^{98}NH_3$;
- R^{96} a $R^{96'}$ jsou nezávisle na sobě zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a C_1-C_6 alkyl, $-R^{97}NH_3$ a $-R^{99}NR^{99'}R^{99''}$;
- R^{97} je zvolen ze souboru, zahrnujícího skupiny C_1-C_6 alkyl;
- R^{98} je zvolen ze souboru, zahrnujícího C_1-C_6 alkyl;
- R^{99} znamená C_1-C_6 alkyl;
- $R^{99'}$ a $R^{99''}$ jsou nezávisle na sobě zvoleny ze souboru,

06.04.99

- zahrnujícího atom vodíku a C₁-C₆ alkyl;
- R¹⁰⁰ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a Si (R¹⁰¹R¹⁰²R¹⁰³) ;
- R¹⁰¹ znamená C₁-C₆ alkyl;
- R¹⁰² znamená C₁-C₆ alkyl;
- R¹⁰³ znamená C₁-C₆ alkyl;
- R¹⁰⁴ je zvolen ze souboru, zahrnujícího C(O)C₁-C₆ alkyl N(R¹⁰⁶)(R⁵⁹)R⁶⁰, C(O) C₁-C₆ alkylN⁺, kondenzovanou bicyklickou skupinu a NHR¹⁰⁵N (R¹⁰⁶)(R⁵⁹)R⁶⁰;
- R¹⁰⁵ je zvolen ze souboru, zahrnujícího C(O)C₁-C₆ alkyl, C₁-C₆ alkyl;
- R¹⁰⁶ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, skupiny C₁-C₆ alkyl, C(O)OR¹⁰⁷;
- R¹⁰⁷ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, skupiny C₁-C₆ alkyl, CR¹⁰⁸ R¹⁰⁹ R¹¹⁰;
- R¹⁰⁸ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C₁-C₆ alkyl;
- R¹⁰⁹ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C₁-C₆ alkyl;
- R¹¹⁰ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C₁-C₆ alkyl;
- R¹¹¹ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, skupiny C₁-C₆ alkyl a C(O)OR¹⁰⁷
- R⁵⁵ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, skupiny C₁-C₆ alkyl, C(R^{57'}R^{57''}R^{57'''}), jednoduchou nesubstituovanou aromatickou skupinu, jednoduchou substituovanou aromatickou skupinu, fenyl, COOR⁵⁷, PO₃H, SO₃H, SO₂R⁵⁸, NR⁵⁹R⁶⁰, NHOR⁶¹, NHCHR^{61'}, CN, NO₂, atom halogenu, OR⁶² a SR⁶³
- R⁵⁶ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, skupiny C₁-C₆ alkyl, C(R^{57'}R^{57''}R^{57'''}), jednoduchou

06.04.99

nesubstituovanou aromatickou skupinu, jednoduchou substituovanou aromatickou skupinu, fenyl, COOR⁵⁷, PO₃H, SO₃H, SO₂R⁵⁸, NR⁵⁹R⁶⁰, NHOR⁶¹, NHCHR^{61'}, (C₁-C₆)alkylNR⁵⁹R⁶⁰, CN, NO₂, atom halogenu, OR¹⁰⁴, CR¹⁰⁴, OR⁶² a SR⁶³;

R⁵⁷ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C₁-C₁₂ alkyl;

R^{57'} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, atom halogenu a skupiny C₁-C₁₂ alkyl;

R^{57''} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, atom halogenu a skupiny C₁-C₁₂ alkyl;

R^{57'''} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, atom halogenu a skupiny C₁-C₁₂ alkyl;

R⁵⁸ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C₁-C₁₂ alkyl;

R⁵⁹ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, (C₁-C₆) alkyl, terc.-butoxykarbonyl, karbo-terc.-butoxy(t-BOC) a fluorenylmethoxykarbonyl (FMOC) ;

R⁶⁰ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a (C₁-C₆) alkyl;

R⁶¹ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, OR⁶⁴, CH₂NHR⁶⁵, NHR^{65'} a fluorenylmethoxykarbonyl (FMOC) ;

R^{61'} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, OR⁶⁴ CH₂NHR⁶⁵, NHR^{65'} a fluorenylmethoxykarbonyl (FMOC) ;

R⁶² je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C₁-C₆ alkyl;

R^{62'} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, OH, OR⁶² a C₁-C₆ alkyl;

R⁶³ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny C₁-C₆ alkyl;

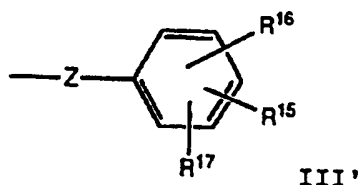
R⁶⁴ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, (C₁-C₆)

06.04.99

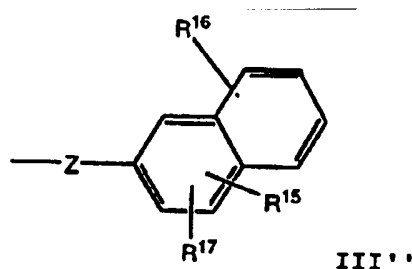
- alkyl, $\text{CH}_2\text{NR}^{66}\text{R}^{67}$;
- R^{65} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl, NH_2 a fluorenylmethoxykarbonyl (FMOC);
- $\text{R}^{65'}$ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl, NH_2 a fluorenylmethoxykarbonyl (FMOC);
- R^{66} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl a fluorenylmethoxykarbonyl (FMOC);
- R^{67} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a skupiny $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl;
- R^1 a R^2 jsou nezávisle na sobě zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom halogenu, monalkylamino, dialkylamino, trialkylamonium, alkylthio, dialkylsulfonium, sulfát, fosfát, OR^{31} , SR^{31} , NR^{31} , OH, SH, NR^{92} , R^{93} , NR^{94} a NH_2 ;
- R^{92} , R^{93} a R^{94} jsou nezávisle na sobě zvoleny ze souboru, zahrnujícího skupiny $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl;
- za předpokladu, že jeden substituent, který je zvolen ze souboru zahrnujícího R^1 a R^2 , je zvolen ze souboru, zahrnujícího OR^{31} , SR^{31} , R^{31} , OH a SH; nebo
- R^1 a R^2 mohou dohromady vytvářet spolu s C-18 a C-19 epoxidový kruh, aziridinový kruh, episulfidový kruh, sulfátový kruh, cyklopropylový kruh nebo mono($\text{C}_1\text{-C}_6$)alkyl-fosfátový kruh; nebo
- R^1 a R^2 mohou spolu vytvářet druhou vazbu mezi C-18 a C-19;
- R^3 znamená nižší alkylovou skupinu;
- R^4 znamená atom vodíku nebo OH;
- R^5 znamená atom vodíku nebo OH;
- R^4 a R^5 mohou spolu vytvářet druhou vazbu mezi C_{13} a C_{14} ;
- R^6 znamená substituent, zvolený ze souboru, zahrnujícího

05.04.99

benzyl, hydroxybenzyl, alkoxybenzyl,
halohydroxybenzyl, dihalohydroxybenzyl,
haloalkoxybenzyl, nebo dihaloalkoxybenzyl,
heteroaromatický B-kruh, substituovanou
heteroaromatickou skupinu, (C₁-C₆)alkylový B-kruh,
(C₃-C₈)cykloalkyl, substituovaný C₃-C₈ cykloalkyl,
substituovaný (C₁-C₆) alkyl, skupinu obecného vzorce
III'



a skupinu obecného vzorce III'':



- R⁷ je zvolen ze souboru, zahrnujícího NR⁵¹R⁵², R⁵³NR⁵¹R⁵², OR⁵³, atom vodíku a nižší alkylovou skupinu;
R⁵¹ a R⁵² jsou nezávisle na sobě zvoleny ze souboru, zahrnujícího C₁-C₃ alkyl;
R⁵³ znamená C₁-C₃ alkyl;
R₈ znamená atom vodíku nebo nižší alkylovou skupinu; nebo

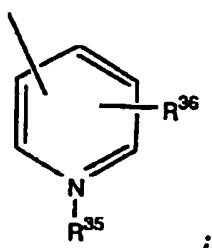
- R^7 a R^8 mohou spolu vyvážet cyklopropylový kruh;
- R^9 je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, nižší alkylovou skupinu, nenasycený nižší alkyl, nižší alkyl- C_3 - C_5 cykloalkyl a benzyl;
- R^{10} znamená atom vodíku nebo nižší alkylovou skupinu;
- R^{11} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, OH, nižší alkylovou skupinu, substituovaný fenyl, benzyl, substituovaný benzyl a fenyl;
- R^{14} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a nižší alkyl;
- R^{15} , R^{16} a R^{17} jsou nezávisle na sobě zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, OR^{18} , atom halogenu, $NR^{18'}R^{19'}$, NO_2 , OPO_3H_2 , OR^{19} fenyl, SCH_2 fenyl, $CONH_2$, CO_2H , PO_3H_2 , SO_2R^{23} a ZZ;
- R^{18} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, aryl, C_1 - C_6 alkyl, $C(O)R^{90}$ a fluorenylmethoxykarbonyl (Fmoc);
- $R^{18'}$ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, (C_1 - C_6)alkyl a $C(O)R^{90'}$;
- R^{19} znamená C_1 - C_6 alkyl, $C(O)R^{90''}$ a fluorenylmethoxykarbonyl (Fmoc) ;
- $R^{19'}$ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, (C_1 - C_6)alkyl a $C(O)R^{90'''}$;
- R^{90} , $R^{90'}$, $R^{90''}$ a $R^{90'''}$ jsou nezávisle na sobě zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, (C_1 - C_6)alkyl, OR^{91} a aryl ;
- $R^{91'}$ je zvolen ze souboru, zahrnujícího (C_1 - C_6)alkyl, aryl a atom vodíku;
- R^{23} je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a (C_1 - C_3) alkyl;
- R^{30} znamená atom vodíku nebo C_1 - C_6 alkyl; nebo
- R^{30} může vytvářet spolu s dusíkovým atomem v poloze C-11

05.04.99

tří- až sedmičlenný cyklický kruh;

R^{31} je zvolen ze souboru, zahrnujícího P, S, (C_1-C_{12}) alkyl, B, R^{32} a Si;

R^{32} je zvolen ze souboru, zahrnujícího aminokyselinu, uhlovodík, aminovaný cukr, (sacharid)_q, $C(O)R^{33}$ a



R^{33} je zvolen ze souboru, zahrnujícího $R^{37}R^{38}$, R^{38} , $R^{37}N(R^{20'})R^{38}$, $R^{37}N(R^{20'})(C_1-C_6)alkylC(O)R^{38}$, $R^{37}N(R^{20'})C(O)R^{38}$, $R^{37}O(C_1-C_6)alkylO(C_1-C_6)alkylO(C_1-C_6)alkylO(C_1-C_6)alkyl$ a $R^{37}(NR^{18'}R^{20'})R^{38}$;

$R^{20'}$ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, skupiny C_1-C_6 alkyl a $-CO_2R^{21'}$;

$R^{21'}$ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku a $(C_1-C_6)alkyl$;

R^{34} znamená (C_1-C_4) alkyl;

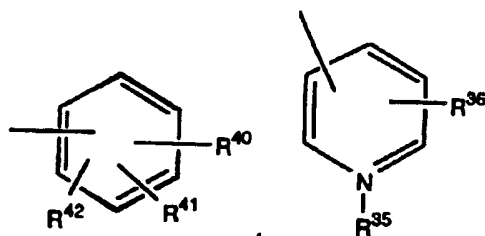
R^{35} znamená atom vodíku nebo $(C_1-C_3)alkyl$;

R^{36} znamená atom vodíku, OH, atom halogenu, $(C_1-C_3)alkyl$, OR^{34} , NO_2 , NH_2 a heteroaromatickou skupinu;

R^{37} znamená $(C_1-C_6)alkyl$;

R^{38} znamená $COOR^{39}$,

06.04.99



NH₂, (NR^{18'}R^{20'}), heterocyklickou skupinu, heteroaromatickou skupinu, OH, (C₁-C₆)alkyl a aminokyselinu;

R³⁹ znamená atom vodíku nebo (C₁-C₆)alkyl;

R⁴⁰, R⁴¹ a R⁴² jsou nezávisle na sobě zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, OR⁴³, atom halogenu, NH₂, NO₂, OPO(OR⁴⁶)₂, -OR⁴⁴fenyl a R⁴⁵;

R⁴³ znamená C₁-C₆ alkyl;

R⁴⁴ znamená C₁-C₆ alkyl;

R⁴⁵ je zvolen ze souboru, zahrnujícího nesubstituovanou jednoduchou aromatickou skupinu a substituovanou jednoduchou aromatickou skupinu;

R⁴⁶ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, Na, (C₁-C₆)alkyl a -C(CH₃)₃;

R⁵⁰ znamená atom vodíku nebo



n se rovná 0, 1, nebo 2;

m se rovná 0, 1, nebo 2;

p se rovná 0, 1, nebo 2;

05.04.99

- q se rovná 2, 3, nebo 4;
- X je zvolen ze souboru, zahrnujícího O, C, S, NH a alkylamino;
- Y je zvolen ze souboru, zahrnujícího C, O, NH, S, SO, SO₂ a alkylamino;
- Z je zvolen ze souboru, zahrnujícího $-(CH_2)_n-$, $-(CH_2)_p-O-(CH_2)_m-$ a (C₃-C₅) cykloalkyl;
- ZZ je zvolen ze souboru, zahrnujícího jednoduchou nesubstituovanou aromatickou skupinu a jednoduchou substituovanou aromatickou skupinu; nebo

její farmaceuticky přijatelná sůl nebo solvát;

s podmínkou, že

jestliže R¹ je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom halogenu, OH, OR³¹, SH, amino, monoalkylamino, dialkylamino, trialkylamino, trialkylamonium, alkylthio, dialkylsulfonium, sulfát a fosfát a R² je zvolen ze souboru, zahrnujícího OH, NH₂, NR³¹ a SH nebo R¹ a R² spolu vytvářejí epoxidový kruh, aziridinový kruh, episulfidový kruh, sulfátový kruh, cyklopropylový kruh, nebo monoalkylfosfátový kruh, nebo R¹ a R² spolu vytvářejí druhou vazbu; R³ znamená nižší alkyl; R⁴ a R⁵ znamenají atom vodíku nebo R⁴ a R⁵ spolu vytvářejí dvojnou vazbu mezi C₁₃ a C₁₄; R⁶ znamená benzyl, hydroxybenzyl, alkoxybenzyl, halohydroxybenzyl, diahalohydroxybenzyl, halohydroxybenzyl, nebo dihalohydroxybenzyl; R⁷, R⁸, R⁹ a R¹⁰ jsou nezávisle na sobě atom vodíku nebo nižší alkylovou skupinu; a X a Y jsou každý nezávisle na sobě O, NH nebo alkylamino a R⁵⁰ znamená

05.04.99



a R^{11} znamená atom vodíku; potom

Ar není zvolen ze souboru, zahrnujícího C_1 - C_{12} alkyl, C_1 - C_{12} alkinyl, fenyl, jednoduchou nesubstituovanou aromatickou skupinu, substituovanou aromatickou skupinu, nesubstituovanou heteroaromatickou skupinu a substituovanou heteroaromatickou skupinu; nebo

jestliže Ar je zvolen ze souboru, zahrnujícího C_1 - C_{12} alkyl, C_1 - C_{12} alkinyl, fenyl, jednoduchou nesubstituovanou aromatickou skupinu, substituovanou aromatickou skupinu, nesubstituovanou heteroaromatickou skupinu a substituovanou heteroaromatickou skupinu; a R^{50} znamená



a R^{11} znamená atom vodíku; potom

R^2 je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom halogenu, amino, monoalkylamino, dialkylamino, trialkylamonium, alkylthio, dialkylsulfonium, sulfát, fosfát, OR^{31} a S^{31} ; nebo

jestliže R^1 je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom halogenu, OH, OR^{31} , SH, amino, monoalkylamino, dialkylamino, trialkylamino, trialkylamonium, alkylthio, dialkylsulfonium, sulfát a fosfát a R^2 je zvolen ze souboru, zahrnujícího OH, NH_2 , NR^{31} a SH nebo R^1 a R^2 spolu vytvářejí epoxidový kruh,

aziridinový kruh, episulfidový kruh, sulfátový kruh, cyklopropylový kruh, nebo monoalkylfosfátový kruh, nebo R^1 a R^2 spolu vytvářejí druhou vazbu a R^3 znamená nižší alkyl a R^4 znamená atom vodíku a R^5 znamená atom vodíku a R^{50} znamená atom vodíku a R^{11} znamená atom vodíku; potom

Ar není zvolen ze souboru, zahrnujícího C_1 - C_{12} alkyl, C_1 - C_{12} alkynyl, fenyl, jednoduchou nesubstituovanou aromatickou skupinu, substituovanou aromatickou skupinu a heteroaromatickou skupinu; nebo

jestliže R^1 je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom halogenu, OH, OR^{31} , SH, amino, monoalkylamino, dialkylamino, trialkylamino, trialkylamonium, alkylthio, dialkylsulfonium, sulfát a fosfát a R^2 je zvolen ze souboru, zahrnujícího OH, NH_2 , NR^{31} a SH nebo R^1 a R^2 spolu vytvářejí epoxidový kruh, aziridinový kruh, episulfidový kruh, sulfátový kruh, cyklopropylový kruh, nebo monoalkylfosfátový kruh, nebo R^1 a R^2 spolu vytvářejí druhou vazbu a R^3 znamená nižší alkyl a R^4 znamená atom vodíku a R^5 znamená atom vodíku a R^{50} znamená atom vodíku a R^{11} znamená atom vodíku; nebo R^{50} je zvolen ze souboru, zahrnujícího



a atom vodíku; a R^{11} je zvolen ze souboru, zahrnujícího OH, nižší alkylovou skupinu, substituovaný fenyl, benzyl, substituovaný benzyl a fenyl; potom

Ar není zvolen ze souboru, zahrnujícího C_1 - C_{12} alkyl, C_1 - C_{12} alkynyl, fenyl, jednoduchou nesubstituovanou aromatickou

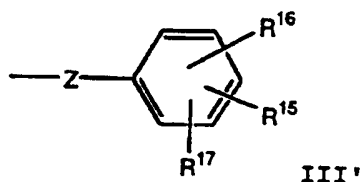
skupinu, substituovanou aromatickou skupinu, substituovanou heteroaromatickou skupinu a nesubstituovanou heteroaromatickou skupinu; nebo

jestliže R^3 znamená nižší alkyl; R^4 a R^5 znamenají atom vodíku nebo R^4 a R^5 spolu dohromady vytvářejí dvojnou vazbu mezi C_{13} a C_{14} ; R^6 znamená benzyl, hydroxybenzyl, alkoxybenzyl, halohydroxybenzyl, dihalohydroxybenzyl, halohydroxybenzyl, nebo dihalohydroxybenzyl; R^7 , R^8 , R^9 a R^{10} jsou nezávisle na sobě atom vodíku nebo nižší alkylová skupinu; a X a Y jsou nezávisle na sobě O , NH nebo alkylamino; a Ar je skupina obecného vzorce Ar' a jeden z R^{54} , R^{55} , R^{56} je zvolen ze souboru, zahrnujícího alkyl nebo atom halogenu; a R^1 a R^2 mohou spolu vytvářet epoxidový kruh, aziridinový kruh, episulfidový kruh, sulfátový kruh, cyklopropylový kruh nebo monoalkylfosfátový kruh; nebo R^1 a R^2 mohou spolu vytvářet druhou vazbu mezi C_{18} a C_{19} ; nebo R^2 je zvolen ze souboru, zahrnujícího OH a SH ;

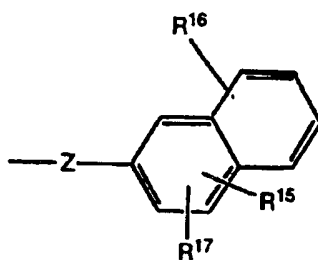
potom alespoň dva z R^{54} , R^{55} a R^{56} musí být zvoleny ze souboru, zahrnujícího skupiny C_1-C_6 alkyl, jednoduchá aromatická skupina, fenyl, $COOR^{57}$, PO_3H , SO_3H , SO_2R^{58} , $NR^{59}R^{60}$, $NHOR^{61}$, $NHCHR^{61'}$, CN , NO_2 , atom halogenu, OR^{62} a SR^{63} ; nebo

jestliže R^3 znamená nižší alkyl; R^4 a R^5 znamenají atom vodíku nebo R^4 a R^5 spolu dohromady vytvářejí dvojistou vazbu mezi C_{13} a C_{14} ; R^6 znamená heteroaromatický B-kruh, substituovanou heteroaromatickou skupinu, (C_1-C_6) alkylový B-kruh, (C_3-C_8) cykloalkyl, substituovaný C_3-C_8 cykloalkyl, substituovaný (C_1-C_6) alkyl, skupinu obecného vzorce III'

06.04.99



a skupinu obecného vzorce III''



a X a Y jsou nezávisle na sobě O, NH nebo alkylamino;
potom Ar není zvolen ze souboru, zahrnujícího skupinu fenyl
nebo libovolnou jednoduchou nesubstituovanou nebo
substituovanou aromatickou nebo heteroaromatickou skupinu,
skupinu C₁-C₁₂ alkyl a C₁-C₁₂ alkynyl.

2. Sloučenina podle nároku 1 obecného vzorce I ve kterém Y
znamená atom kyslíku.

3. Sloučenina podle nároku 2 ve kterém X znamená atom
kyslíku.

4. Sloučenina podle nároku 3 ve kterém R⁶ je zvolen ze
souboru, zahrnujícího benzyl, hydroxybenzyl,

05.04.99

halohydroxybenzyl, dihalohydroxybenzyl, haloalkoxybenzyl a dihaloalkoxybenzyl.

5. Sloučenina podle nároku 4 ve kterém R^9 znamená isobutyl a R^{10} znamená atom vodíku.

6. Sloučenina podle nároku 5 ve kterém R^8 a R^7 jsou nezávisle na sobě atom vodíku nebo nižší alkyl.

7. Sloučenina podle nároku 3 ve kterém R^{11} znamená atom vodíku.

8. Sloučenina podle nároku 7 ve kterém R^{50} znamená



9. Způsob rozrušení mikrotubulové vazby u savce **vyznačující se tím**, že se podává účinné množství sloučeniny podle nároku 1 obecného vzorce I.

10. Způsob rozrušení mikrotubulové vazby *in vitro* **vyznačující se tím**, že se podává účinné množství sloučeniny podle nároku 1 obecného vzorce I.

11. Způsob léčení neoplasmů u savce **vyznačující se tím**, že se podává účinné množství sloučeniny podle nároku 1 pacientovi, který má jeho potřebu.

12. Přípravek obsahující sloučeninu podle nároku 1,

05.04.99

vyznačující se tím, že obsahuje jeden nebo více jejích farmaceuticky přijatelných ředidel nebo nosičů.

13. Způsob léčení živočicha, infikovaného houbou nebo ohroženého takovou infekcí, **vyznačující se tím**, že se podává antifungálně účinné množství sloučeniny podle nároku 1.

14. Způsob podle nároku 13, **vyznačující se tím**, že živočich je savec.

15. Způsob podle nároku 13, **vyznačující se tím**, že živočich je infikován houbou.

16. Sloučenina podle nároku 1 obecného vzorce I ve kterém Y znamená NH.

17. Sloučenina podle nároku 16 ve kterém R^{50} znamená



18. Sloučenina podle nároku 17 ve kterém X znamená atom kyslíku.

19. Sloučenina podle nároku 18 ve kterém R^6 je zvolen ze souboru, zahrnujícího benzyl, hydroxybenzyl, halohydroxybenzyl, dihalohydroxybenzyl, haloalkoxybenzyl a dihaloalkoxybenzyl.

20. Sloučenina podle nároku 19 ve kterém R^9 znamená isobutyl

a R¹⁰ znamená atom vodíku.

21. Sloučenina podle nároku 20 ve kterém R⁸ a R⁷ jsou nezávisle na sobě atom vodíku nebo nižší alkyl.

22. Sloučenina podle nároku 18 ve kterém R¹¹ znamená atom vodíku.

23. Sloučenina podle nároku 1 obecného vzorce I, která je zvolena ze souboru, zahrnujícího acetát Kryptofycinu 55, sukcinát Kryptofycinu 55, (2'-di-terc.-butylfosfatyl) fenylacetát Kryptofycinu 55, (2'-fosfatyl)fenylacetát Kryptofycinu 55, nikotinoát Kryptofycinu 55, N-methylpyridinium Kryptofycinu 55, N-t-Boc-3-(3-chlor-4-methoxyfenyl)-(D)-alaninát Kryptofycinu 55, 3-(3-chlor-4-methoxyfenyl)-(D)-alaninát Kryptofycinu 55, N-t-Boc-glycinát Kryptofycinu 55, N-t-Boc-β-alaninát Kryptofycinu 55, N-t-Boc-γ-aminobutyryát Kryptofycinu 55, N-t-Boc-(L)-alaninát Kryptofycinu 55, N-t-Boc-(D)-alaninát Kryptofycinu 55, (D)-alaninát Kryptofycinu 55 a Nα-Nε-di-t-Boc-(L)-lysinát Kryptofycinu 55; nebo její farmaceuticky přijatelná sůl.

24. Sloučenina podle nároku 1 obecného vzorce I, která je zvolena ze souboru, zahrnujícího Kryptofycin 129, kryptofycin 138, kryptofycin 139, kryptofycin 145, kryptofycin 140 a kryptofycin 141; nebo její farmaceuticky přijatelná sůl.

25. Sloučenina podle nároku 1 obecného vzorce I, která je zvolena ze souboru, zahrnujícího kryptofycin 152, kryptofycin 160, kryptofycin 255, kryptofycin 153,

kryptofycin 154, kryptofycin 161, kryptofycin 234, kryptofycin 236, kryptofycin 247, kryptofycin 251 a kryptofycin 238; nebo její farmaceuticky přijatelná sůl.

26. Sloučenina podle nároku 1 obecného vzorce I, která je zvolena ze souboru, zahrnujícího terc.-butylester sukcinátu Kryptofycinu 55, (2'-di-terc.-butylfosfatyl)fenylacetát Kryptofycinu 55, 2'-(di-terc.-butylfosfatyl)fenyloctovou kyselinu, (2'-fosfatyl)fenylacetát Kryptofycinu 55, nikotinoát Kryptofycinu 55, N-methylpyridinium Kryptofycinu 55, N-t-Boc-3-(3-chlor-4-methoxyfenyl)-(D)-alaninát Kryptofycinu 55, N-t-Boc-(L)-fenylalaninát Kryptofycinu 55, (L)-fenylalaninát Kryptofycinu 55, (L)-histidinát Kryptofycinu 55, N-t-Boc-(L)-prolinát Kryptofycinu 55, (L)-prolinát Kryptofycinu 55, N-t-Boc-glycinát Kryptofycinu 55, glycinát Kryptofycinu 55, N-t-Boc-β-alaninát Kryptofycinu 55, β-alaninát Kryptofycinu 55, N-t-Boc-γ-aminobutyrate Kryptofycinu 55, γ-aminobutyrate Kryptofycinu 55, N-t-Boc-(L)-alaninát Kryptofycinu 55, (L)-alaninát Kryptofycinu 55, N-t-Boc-(D)-alaninát Kryptofycinu 55, (D)-alaninát Kryptofycinu 55, Nα-Nε-di-t-Boc-(L)-lysinát Kryptofycinu 55, (L)-lysinát Kryptofycinu 55, Nα-Nε-di-t-Boc-(D)-lysinát Kryptofycinu 55, (D)-lysinát Kryptofycinu 55, N-t-Boc-γ-terc.-butylester-(L)-glutamát Kryptofycinu 55, (L)-α-glutamát Kryptofycinu 55, N-t-Boc-β-terc.-butyl ester-aspartát kryptofycinu 55, (D)-aspartát Kryptofycinu 55, N-t-Boc-α-terc.-butylester-(L)-glutamát Kryptofycinu 55, (L)-γ-glutamát Kryptofycinu 55, N,N'-di-t-Boc-(S)-2,3-diaminopropionát Kryptofycinu 55, (S)-2,3-diaminopropionát Kryptofycinu 55, N-t-Boc-(L)-serinát Kryptofycinu 55, (L)-

05.04.99

serinát Kryptofycinu 55 a sukcinát Kryptofycinu 55; nebo
její farmaceuticky přijatelná sůl.

Zastupuje:

Dr. O. Švorčík