



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 17 08 79
(21) PV 5664-79
(89) 138 663, DD
(32)(31)(33) 12 09 78 (C 07 D/207 758), DD

(40) Zveřejněno 25 03 83
(45) Vydáno 05 06 85

(11) 231 555
B1

(51) Int. Cl.³
C 07 D 307/93

(75)
Autor vynálezu

LISCHEWSKI MANFRED Dr., HALLE-NEUSTADT,
ADAM GÜNTHER Dr., HALLE/S, (DD)

(54) Způsob epimerizace giberellin-7-aldehydů

Cílem vynálezu je poprvé připravit giberellin-7-aldehydy s aldehydovou skupinou v 6 α -poloze a tak poskytnout novou skupinu biologicky aktivních látek. Dále se giberellin-7-aldehydy značí deuteriem nebo tritiem.

Podle vynálezu se giberellin-7-aldehyd s aldehydovou skupinou v poloze 6 α nebo 6 β - enolizují alkalii a přidavkem sloučenin s vlastnostmi donorů vodíku, deuterie nebo tritia zreagují na epimerní směs, sestávající z giberellin-7-aldehydu s aldehydovou skupinou v 6 α - poloze a giberellin-7-aldehydu s aldehydovou skupinou v 6 β -poloze, přičemž při použití donorů deuterie nebo tritia jsou oba získané epimery značeny na šestém atomu uhlíku.

Způsob podle vynálezu je obecně přijatelný pro všechny giberellin-7-aldehydy, přičemž se nemění jejich části citlivé k alkáliím. Podle vynálezu získané značené giberellin-7-aldehydy slouží jako výchozí látky pro přípravu značených přírodních giberellinů a jejich derivátů.

I. НАЗВАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

ÚŘAD PRO VYNÁLEZY A OBJEVY

S.

SOB./POSTA

20.1.

DOŠLO

002671

CJ

Способ для эпитеризации гибереллин-7-альдегидов

Изобретение касается способа для эпитеризации гибереллин-7-альдегидов. Под гибереллин-7-альдегидами понимают гибереллиновые производные, которые имеют у шестого атома основного скелета энт-гибереллана альдегидную группу. Причем альдегидная группа может находиться в природном 6β -положении или в эпитерном 6α -положении (в основном применяется энт-гибереллановая номенклатура).

У гибереллин-7-альдегидов основной скелет энт-гибереллана неспрежден или малоизменен (например, секо-, гомо-, нор- или динор-энт-гибереллан, в данном случае в эпитерном виде или содержащий многократные связи) и в данном случае по-разному замещен. Как меченые гибереллин-7-альдегиды определяют такие соединения, которые мечены тритием или дейтерием.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗВЕСТНЫХ ТЕХНИЧЕСКИХ РЕШЕНИЙ

Получение некоторых гибереллин-7-альдегидов уже описано. Так, например, известны гибереллин-7-альдегиды, которые имеют в естественном 6β -положении основного скелета энт-гибереллана альдегидную группу M. Lischewski und G. Adam, описание изобретения к патенту ГДР II2 753; M. Lischewski und G. Adam, Tetrahedron Letters 2835 (1974); M. Lischewski und G. Adam, описание изобретения к патенту ГДР I20975; M. Lischewski und G. Adam, Tetrahedron Letters 2569 (1975); M. Lischewski und G. Adam, Z. Chem 16, 486 (1976); J. R. Hanson and J. Hawker, J. Chem. Soc. Chem. Comm. 1971, 208 und Phytochemistry 12, 1073 (1973); B. E. Cross, K. Norton und J. C. Steward, J. Chem. Soc. (C) 1968, 1054; B. E. Cross und I. L. Gatfield, *ibid.* 1971, 1539 .

Однако, до сих пор не было синтезировано гиббереллин-7-альдегидов, которые имели бы в эпимерном 6α -положении альдегидную группу. Также имеется сведение о получении некоторых меченых гиббереллин-7-альдегидов с альдегидной группой в 6β -положении. Так было описано получение $6-^3\text{H}$ - или $6-^2\text{H}$ - гиббереллин- A_{12} -альдегида и -гиббереллин- A_{14} -альдегида [I. R. Bearder, J. MacMillan und B. O. Phinney, *Phytochemistry* **12**, 2173, 2615 (1973); J. H. Graebe, P. Hedden und J. MacMillan, *J. chem. Soc. Chem. Comm.* **1975**, 161; P. Hedden, J. MacMillan und B. O. Phinney, *J. chem. Soc., Perkin I*, **1974**, 587].

Однако, из-за жестких условий (длительное время реакций, большой избыток щелочи, повышенные температуры) этот способ применим лишь к гиббереллинам, которые довольно стойки по отношению к щелочам и дает лишь небольшой выход.

Далее, известен синтез $7-^3\text{H}$, $17-^{14}\text{C}$ -гиббереллин- A_{12} -альдегида B. Dockerill, [R. Evans und J. R. Hanson, *J. chem. Soc. Chem. Comm.* **1977**, 919].

Такие замещенные тритием на седьмой позиции гиббереллин-7-альдегиды имеют тот недостаток, что при биосинтетическом или химическом превращении 7-альдегидной функции в карбоксильную группу удаляется тритий.

3. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Гиббереллины как фитогормоны многократного действия имеют большое биологическое значение. Известно, что модификация структуры таких в природе существующих гиббереллинов ведет к соединениям с измененной биологической активностью.

Далее, гиббереллины применяют в виде их меченых представителей так, например, для биотехнологических способов, для исследования биосинтеза, метаболизма, транспорта, распределения, способа действия и анализа соотношения между структурой и действием

этих фитогормонов и их частично синтетических структурных аналогов, как основа для синтеза новых активных веществ.

ЦЕЛЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Цель изобретения состоит в том, чтобы впервые сделать доступными гиббереллин-7-альдегиды с альдегидной группой в 6α -положении и тем самым предоставить в распоряжение новую группу биологически активных веществ. Причем этот способ должен быть общеприменим для их получения и одновременно он должен быть способен к мечению гиббереллин-7-альдегидов с большим выходом.

ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Задача изобретения состоит в том, чтобы эпитеризировать знакомые гиббереллин-7-альдегиды при мягких условиях, причем этот способ должен быть способен к одновременному мечению тритием или дейтерием у такой С-Н-связи, которая незамещена у всех природных гиббереллинов и их производных, полученных от гиббереллин-7-альдегидов и у которой до сих пор не было обнаружено биохимических изменений, чтобы гарантировать широкую область применения этого способа.

Согласно изобретению гиббереллин-7-альдегид с альдегидной группой в 6α -положении или 6β -положении энолизируют щелочью и путем добавления соединений со свойствами донора трития, дейтерия или водорода превращают в эпитерную смесь, состоящую из гиббереллин-7-альдегида с альдегидной группой в 6α -положении и гиббереллин-7-альдегида с альдегидной группой в 6β -положении, причем при применении соединений со свойствами донора дейтерия или трития оба полученные эпитеры мечены у шестого атома углерода.

Примененные как исходные вещества гиббереллин-7-альдегиды получают известными способами химическим путем M. Lischewski u. G. Adam, описания изобретений к патентам ГДР I20 875; C 07 D , 307/77; II2753, C 07 , 5/06; M. Lischewski u. G. Adam, Tetrahedron Letters 1974, 2835; *ibid.* 1975, 2569; *ibid.* 1975, 3691; Z.Chem, 16, 486 (1976) или микробным путем J. R. Bearder, J. MacMillan u. B. O. Phinney, Phytochemistry 12, 2173 (1973); J. R. Hanson u. J. Hawker, J.chem. Soc.Chem.Comm. 1971, 208 u. Phytochemistry 12, 1073 (1973).

Способ, согласно изобретению, проводится без воздуха, например в атмосфере аргона или азота, в органическом растворителе, предпочтительно в абс. тетрагидрофуране или абс. диоксане.

При способе, согласно изобретению, в качестве щелочей используют прежде всего сильные, но мало нуклеофильные щелочи. При этом особенно выгодны щелочные амиды, прежде всего такие с органическими остатками, заполняющими пространство, например, диизопропиламид лития или 2,2,6,6-тетраметилпиперидид лития или гидриды, особенно гидрид калия. Таким образом, с применением этих сильных, но мало нуклеофильных щелочей впервые возможно энолизировать C₁₉-гиббереллин-7-альдегиды с I9→I0 лактонным кольцом. Особенное преимущество этого способа заключается в том, что для образования энолата достаточно добавлять щелочь в эквивалентном количестве или лишь в небольшом избытке (например, I,I эквивалент). Это действительно для гиббереллин-7-альдегидов без кислых атомов водорода (например, гиббереллин-A₉-7-альдегид). При использовании гиббереллин-7-альдегидов с кислыми атомами водорода (например, гиббереллин-7-альдегиды, содержащие гидроксильные или карбоксильные группы) целесообразно замещать эти атомы водорода. В качестве защитных групп для гидроксильных групп можно применять, например, триметилсилильную группу, третичную бутилдиметилсилильную группу или тетрагидропиранильную группу. Помимо этого карбоксильные группы этерифицируют или нейтрализуют избытком щелочи. Энолизация гиббереллин-7-альдегидов в присутствии кислых атомов водорода тоже возможна. Однако, здесь требуется соответственно больше эквивалентов щелочи, чтобы произошло образование энолата.

Как соединения со свойствами донора водорода-, дейтерия или трития (в дальнейшем обозначены как доноры водорода, дейтерия или трития) применимы самые разные соединения с водородом, дейтерием или тритием, способными к обмену, например, H_2O , $^2\text{H}_2\text{O}$, $^3\text{H}_2\text{O}$, H-OR , $^2\text{H-OR}$, причем R стоит для замещенной или незамещенной алкильной, арильной или ацильной группировки, а также органических или неорганических кислот. При применении кислот образующиеся гиббереллин-7-альдегиды не подвергаются щелочным или нуклеофильным условиям, что особенно важно для получения неустойчивых к щелочам гиббереллин-7-альдегидов.

Независимо от того, исходят ли для мечения гиббереллин-7-альдегида с альдегидной группой в 6β -положении или же с альдегидной группой в 6α -положении, всегда получают как меченые гиббереллин-7-альдегиды с альдегидной группой в 6β -положении, так и меченые гиббереллин-7-альдегиды с альдегидной группой в 6α -положении.

Как во время образования энолата, так и при превращении с донорами водорода, дейтерия или трития температура может колебаться в широких пределах. Целесообразно работать в пределах между -78°C и комнатной температурой.

Обработку продуктов реакции производят по обычным методам, например, путем хроматографии на колонке с применением органических растворителей. Замечательно то, что оба образовавшихся по способу, согласно изобретению, изомеры характеризуются легкой хроматографической делимостью.

Способ, согласно изобретению, общеприменим к гиббереллин-7-альдегидам,

причем неустойчивые к щелочам структурные признаки не изменяются. По этому способу впервые стали доступными меченые или немеченые гиббереллин-7-альдегиды с альдегидной группой в 6α -положении. Благодаря мягким условиям при проведении реакции, способ, согласно изобретению, годится для эпитермизации и мечения даже C_{19} -гиббереллин-7-альдегидов с $\text{I9} \rightarrow \text{I0}$ лактонным кольцом, на-

пример, можно получать $[6-^3\text{H}]$ - или $[6-^2\text{H}]$ -гиббереллин- A_1 -7-альдегид, -гиббереллин- A_3 -7-альдегид, -гиббереллин- A_4 -7-альдегид, -гиббереллин- A_5 -7-альдегид, -гиббереллин- A_7 -7-альдегид, -гиббереллин- A_8 -7-альдегид и гиббереллин- A_9 -7-альдегид, которых до сих пор не было возможно получать другим путем.

Кроме того, синтезируют этим способом, согласно изобретению, знакомые меченые гиббереллин-7-альдегиды, например, $[6-^3\text{H}]$ -гиббереллин- A_{12} -7-альдегид с большими выходами, чем раньше описано.

Также получение двойных меченых гиббереллин-7-альдегидов возможно с помощью способа, согласно изобретению. Например, получают таким образом $[17-^{14}\text{C}, 6-^3\text{H}]$ -гиббереллин- A_3 -7-альдегид и $[17-^{14}\text{C}, 6-^3\text{H}]$ -6-эпигиббереллин- A_3 -7-альдегид из $[17-^{14}\text{C}]$ -гиббереллин- A_3 -7-альдегида, $[1-^3\text{H}, 6-^3\text{H}]$ гиббереллин- A_5 -7-альдегид и $[1-^3\text{H}, 6-^3\text{H}]$ -6-эпигиббереллин- A_5 -7-альдегид из $[1-^3\text{H}]$ -гиббереллин- A_5 -7-альдегида, а также $[6-^3\text{H}, 15-^3\text{H}]$ -гиббереллин- A_3 -7-альдегид и $[6-^3\text{H}, 15-^3\text{H}]$ -6-эпигиббереллин- A_3 -7-альдегид из $[15-^3\text{H}]$ -гиббереллин- A_3 -7-альдегида.

Полученные по способу, согласно изобретению, гиббереллин-7-альдегиды с альдегидной группой в 6-положении показывают измененную биологическую активность по сравнению с исходными веществами.

Характерно для полученных по способу, согласно изобретению, меченых гиббереллин-7-альдегидов то, что мечение устойчивое и достигается с большой удельной радиоактивностью. Так как метку, с одной стороны, легко можно обнаружить или локализовать и она, с другой стороны, находится на такой позиции, на которой до сих пор не было обнаружено биохимических изменений, эти соединения, например, отлично подходят для исследования биосинтеза или метаболизма.

Кроме того, полученные по способу, согласно изобретению, меченые гиббереллин-7-альдегиды служат исходными веществами для получения меченых природных гиббереллинов и их производных.

Последующие примеры объясняют изобретение, причем данные специальные условия не ограничивают изобретение и условия реакций применимы также для получения других соединений.

ПРИМЕРЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Пример I

К 330,4 мг (1 ммол) гиббереллин-А₃-7-альдегида (Ia), растворенного в 15 мл абс. пиридина, добавляют 2 мл гексаметилдисилазана и 2 мл триметилхлорсилана. Оставляют на 3 часа при комнатной температуре и после этого выпаривают в вакууме. После добавления насыщенного раствора NaHCO_3 исчерпывающе встряхивают с эфиром. Объединенные эфирные фазы выступают безводным MgSO_4 и выпаривают в вакууме. Остаток оставляют на ночь под вакуумом над P_4O_{10} . После этого силилированный гиббереллин-7-альдегид растворяют в атмосфере аргона в 8 мл свободного от кислорода абс. ТГФ-е и добавляют при комнатной температуре 44 мг (1,1 ммол) гидрида калия. После одного часа перемешивания при комнатной температуре добавляют 1 мл ледяной уксусной кислоты и 2 мл воды. Раствор оставляют на ночь для удаления защитных групп, потом выпаривают и после добавления насыщенного раствора NaHCO_3 несколько раз встряхивают с этиловым эфиром уксусной кислоты. Высушивание органических фаз с помощью Na_2SO_4 и выпаривание в вакууме дает остаток, который хроматографируют на 20 г силикагеля (Woelm). Вымывание с хлороформом (фракции I-35), хлороформом/этиловым эфиром уксусной кислоты 9:1 об/об (фракции 36-60), хлороформом/этиловым эфиром уксусной кислоты 8:2 об/об (фракции 61-90) и хлороформом/этиловым эфиром уксусной кислоты 7:3 об/об (фракции 91-150) дает при объединении фракции 68-89 96 мг исходного альдегида Ia.

Из фракции 94-141 изолируют 143 мг = 61 % теоретического значения 6-эпигиббереллин-А₃-7-альдегида (Ib) (расчет выхода относительно превращенному альдегиду Ia): точка плавления: 185-187 °C (из ацетона/н-гексана), $[\alpha]_D^{26}$ 0° C (с = 0,35 - этанол), МС : м/е 330 (M+ или M⁻), ИК (CHCl₃): $\gamma_{\text{макс.}}$ 3600 (ОН), 2730 и 1725 (альдегид),

1775 (γ -лактон-CO) и 1665 cm^{-1} ($=\text{CH}_2$),
 100 МГц - ^1H -ЯМР: δ $\frac{\text{ацетон}-\text{D}_6}{\text{TMS}}$ 1,19 (s, 18-H),
 2,75 (dd, J = 10 Гц и J' = 2,5 Гц, 6-H),
 2,97 (d, J = 10 Гц 5-H),
 4,32 (m, 3-H),
 4,89 и 5,21 (, 17 Гц)
 5,84 (dd, J = 9 Гц и J' = 2,5 Гц, 2-H),
 6,28 (dd, J = 9 Гц и J' = 2 Гц, 1-H) и
 9,80 ppm (части на мно. частей) (d, J' = 2,5 Гц, 7-H).

Аналогично получают из I ммол гиббереллин-7-альдегида с альдегидной группой в 6 -положении и I,1 ммол гидроксида калия следующие гиббереллин-7-альдегиды с альдегидной группой в 6 -положении:

6-эпигиббереллин-A_I-7-альдегид (IIб):

выход: 153 мг $\hat{=}$ 64 % теоретического значения (93 мг II а получили назад), вымывание с хлороформом/этиловым эфиром уксусной кислоты 7:3 об/об, точка плавления: 182-186 °C (из ацетона/н-гексана), МС: м/е 332 (M⁺), ИК (нуйол): γ макс. 3410 (br., OH), 1755 (γ -лактон-CO) и 1720 cm^{-1} (альдегид).

6-эпигиббереллин-A_{II}-7-альдегид (III б):

выход: 152 мг $\hat{=}$ 66 % теоретического значения (86 мг III а получили назад) вымывание с хлороформом, аморфный, МС: м/е 316 (M⁺), ИК (CHCl₃): γ макс. 3610 (OH), 2725, 2820 и 1725 (альдегид) и 1775 cm^{-1} (γ -лактон-CO).

6-эпигиббереллин-A₅-7-альдегид (IV б):

выход: 152 мг $\hat{=}$ 70 % теоретического значения (97 мг IV а получили назад), вымывание с хлороформом, точка плавления: 195-197 °C (из хлороформа/н-гексана), МС м/е 314 (M⁺), ИК (нуйол): γ макс. 3400 (br., OH), 1755 (γ -лактон-CO) и 1720 cm^{-1} (альдегид).

6-эпигиббереллин-А₈-7-альдегид (V б):

выход: 150 мг $\cong$ 60 % теоретического значения (98 мг V а получили назад), вымывание с хлороформом/этиловым эфиром уксусной кислоты 2:8 об/об, аморфный,
МС: м/е 348 (M^+), ИК (нуйол): γ макс. 3400 (ν .. OH), 1750 (γ -лактон-CO) и 1720 cm^{-1} (альдегид).

6-эпигиббереллин-А₉-7-альдегид (VI б):

Берется 30 мг (0,1 ммол) VI а и 9 мг гидрида калия. Здесь не надо силилировать. Выход: 14,2 мг = 69 % VI б (9,7 мг VI а получили назад), вымывание с н-гексаном/хлороформом 4:6 об/об, аморфный,
МС: м/е 300 (M^+), ИК (CHCl_3): γ макс. 2725 и 1725 (альдегид), 1775 cm^{-1} (γ -лактон-CO).

ПРИМЕР 2

330,4 мг (1 ммол) гиббереллин-А₃-7-альдегида (Ia) силилируют аналогично примеру I. Потом смешивают по каплям раствор из O(3), O(I3)-бис-триметилсилил-гиббереллин-А₃-7-альдегида в 5 мл абс.

ТТФ в атмосфере арона при -78°C с раствором диизопропиламида лития (изготовленного из 2 мл абс. ТТФ, III мг диизопропиламина и 70 мг бутиллития).

Оставляют на 10 минут при -78°C , 10 минут при 0°C и 30 минут при $+20^\circ\text{C}$ и потом добавляют 2 мл воды и 1 мл ледяной уксусной кислоты. Теперь оставляют на 12 часов и потом обрабатывают аналогично примеру I и хроматографируют.

Выход: 104 мг = 50 % теоретического значения 6-эпигиббереллин-А₃-7-альдегида (Iб) (122 мг Ia получили назад), вымывание с хлороформом/этиловым эфиром уксусной кислоты 7:3 об/об, физические и спектроскопические данные, см. пример I.

Пример 3

К 330 мг (I ммол) гиббереллин- A_3 -7альдегида (Ia), который аналогично примеру I силилировали, добавляют по каплям в атмосфере аргона при $-78^{\circ}C$ 5 мл абс. ТТФ и раствор 2,2, 6,6-тетраметилпиперидида (изготовленного из 2 мл абс. ТТФ, 160 мг 2,2,6,6-тетраметилпиперидина и 70,4 мг бутиллития). Оставляют на 10 минут при $-78^{\circ}C$, 10 минут при $0^{\circ}C$ и 30 минут при $+20^{\circ}C$ и добавляют I мл метанола и I мл ледяной уксусной кислоты. Оставляют теперь на 12 часов и обрабатывают аналогично по примеру I и остаток хроматографируют.

Выход: 99 мг $\hat{=}$ 47 % теоретического значения 6-эпигиббереллин-А₃-7-альдегида (Iб) (I20 мг Ia получили назад), вымывание с хлороформом/этиловым эфиром уксусной кислоты 7:3 об/об, физические и спектроскопические данные см. пример I.

Пример 4

Аналогично примеру I из I ммол гиббереллин-7-альдегида с альдегидной группой в 6 α -положении и I, I ммол гидроксида калия получают следующие гиббереллин-7-альдегиды с альдегидной группой в 6 β -положении:

Гиббереллин-А₃-7-альдегид (Ia):

Выход: 99 мг $\hat{=}$ 54 % теоретического значения (146 мг Iб получи-
ли назад), вымывание с хлороформом/этиловым эфиром уксусной ки-
слоты 8:2 об/об, точка плавления: 172-175°C (из ацетона) α D²⁵
+ 118,8° (с=0,61, этанол),

МС: м/е 330 (M^+ или M^-),

ИК (CHCl₃): $\gamma_{\text{макс.}}$ 3610 (ОН), 2723, 2820 и 1725 (альдегид), 1775 (γ -лактон-СО) и 1635 см⁻¹ (-CH=CH-),

100 МГц - ¹H-ЯМР: о ацетон-D₆ TMS, 1,14 (s, 18-H₃), 2,79 (dd, J = 10 Гц и J' = 2,5 Гц, 6-H),

3,29 (a, J = 10,5 Гц, 5-Н),
4,06 (a, J = 3,5 Гц, 3-Н),
4,93 и 5,24 (м, 17-Н₂),
5,90 (ад, J = 9,5 Гц и J' = 3,5 Гц, 2-Н),
6,39 (a, J = 9,5 Гц, 1-Н) и
9,84 мм (a, J = 2,5 Гц, 7-Н),

гиббереллин-А₁-7-альдегид (IIa):

Выход: 90 мг $\hat{=}$ 52 % теоретического значения (158 мг IIб получили назад), вымывание с хлороформом/этиловым эфиром уксусной кислоты 8:2 об/об, аморфный,
МС: м/е 332 (M⁺ или M⁻),
ИК (CHCl₃): γ макс. 3610 (ОН), 2725, 2820 и 1725 (альдегид) и 1770 см⁻¹ (γ -лактон-СО).

гиббереллин-А₅-7-альдегид (IVa):

Выход: 94 мг $\hat{=}$ 59 % теоретического значения (155 мг IVб получили назад), вымывание с н-гексаном/хлороформом 1:9 об/об, точка плавления: 152-153°C (из эфира),
МС: м/е 314 (M⁺),
ИК (CHCl₃): γ макс. 3605 (ОН), 2725 и 1725 (альдегид) и 1775 см⁻¹ (γ -лактон-СО).

гиббереллин-А₈-7-альдегид (V a):

Выход: 95 мг $\hat{=}$ 49 % теоретического значения (154 мг Vб получили назад), вымывание с хлороформом/этиловым эфиром уксусной кислоты 4:6 об/об, аморфный,
МС: м/е 348 (M⁺),,
ИК (нуйол): γ макс. 3400 (бг .., ОН), 1750 (γ -лактон-СО) и 1720 см⁻¹ (альдегид).

гиббереллин- A_9 -7-альдегид (Ia):

применяют только 30 мг (0,1 ммол) 6-эпигиббереллин- A_9 -7-альдегид. Силилирования здесь не надо.

Выход: 9,3 мг $\hat{=}$ 62 % ∇ Ia (15 мг ∇ Ib получили назад),
вымывание с н-гексаном/хлороформом 1:1 об/об, аморфный,
МС: м/е 300(M^+).

Пример 5:

К 330,4 мг (1 ммол) гиббереллин- A_3 -7-альдегида (Ia), который аналогично примеру I силилировали, в атмосфере аргона добавляют 8 мл абс. ТГФ и 44 мг (1,1 ммол) гидрида калия. После часового перемешивания к эноляту добавляют при комнатной температуре 0,1 мл 3H_2O (5,55 ммол) (удельная радиоактивность 3 мкюри/ммол). Теперь перемешивают три минуты и смешивают потом с 1 мл ледяной уксусной кислоты. Путем многократного выпаривания в вакууме и многократного добавления метанола возможно удалить нестабильный тритий. Для удаления защитных групп к остатку добавляют 8 мл ТГФ, 2 мл H_2O и 1 мл ледяной уксусной кислоты и оставляют на ночь. После выпаривания в вакууме наливают насыщенный раствор $N. aHCO_3$ и несколько раз встряхивают с этиловым эфиром уксусной кислоты. Высушивание органической фазы с помощью $N a_2SO_4$ и выпаривание в вакууме дает остаток, который аналогично примеру I хроматографируют. При вымывании с хлороформом/этиловым эфиром уксусной кислоты 8:2 об/об получают 99 мг $\hat{=}$ 30 % теоретического значения $[6-^3H]$ - гиббереллин- A_3 -7-альдегида (Iв), имеющего удельную радиоактивность 1,37 мкюри/ммол. Последовательное вымывание с хлороформом/этиловым эфиром уксусной кислоты 7:3 об/об дает 145 мг = 44 % теоретического значения $[6-^3H]$ -6-эпигиббереллин- A_3 -7-альдегида (Iг) с удельной радиоактивностью 1,47 мкюри/ммол. Физические и спектроскопические данные этих соединений см. в примерах I и 4.

Аналогично получают из 1 ммол гиббереллин-7-альдегида с альдегидной группой в 6 β -положении, 1,1 ммол гидрида калия и 0,1 мл 3H_2O

(удельная радиоактивность 3 мкюри/ммол) следующие $[6-^3\text{H}]$ -гиббереллин-7-альдегиды с альдегидной группой в 6α -положении и $[6-^3\text{H}]$ -гиббереллин-7-альдегиды с альдегидной группой в 6β -положении (физические и спектроскопические данные полученных соединений см. в примерах I и 4):

$[6-^3\text{H}]$ -гиббереллин- A_1 -7-альдегид (IIв) и
 $[6-^3\text{H}]$ -6-эпигиббереллин- A_1 -7-альдегид (IIг):

вымывание с хлороформом/этиловым эфиром уксусной кислоты 8:2 об/об, выход 93 мг $\hat{=}$ 28% теоретического значения II в (удельная радиоактивность: I, 32 мкюри/ммол, вымывание с хлороформом/этиловым эфиром уксусной кислоты 7:3 об/об, выход 150 мг $\hat{=}$ 45 % теоретического значения IIг (удельная радиоактивность: I, 48 мкюри/ммол).

$[6-^3\text{H}]$ -гиббереллин- A_4 -7-альдегид (IIIв) и
 $[6-^3\text{H}]$ -6-эпигиббереллин- A_4 -7-альдегид (IIIг):

вымывание с н-гексаном/хлороформом 2:8 об/об, выход: 91,5 мг $\hat{=}$ 29 % теоретического значения IIIв (удельная радиоактивность: I, 35 мкюри/ммол), аморфный, МС: м/е 316 (M^+), ИК (CHCl_3): $\gamma_{\text{макс.}}$ 3610 (ОН), 2725 и 1725 (альдегид) и 1775 cm^{-1} (γ -лактон-СО), вымывание с хлороформом, выход: 149 мг $\hat{=}$ 47 % теоретического значения IIIг (удельная радиоактивность: I, 49 мкюри/ммол).

$[6-^3\text{H}]$ - гиббереллин- A_5 -7-альдегид (IVв) и
 $[6-^3\text{H}]$ -6-эпигиббереллин- A_5 -7-альдегид (IVг):

вымывание с н-гексаном/хлороформом 1:9 об/об, выход: 101 мг $\hat{=}$ 32 % теоретического значения I в (удельная радиоактивность: I, 39 мкюри/ммол), вымывание с хлороформом, выход: 1,53 мг $\hat{=}$ 49 % теоретического значения IVг (удельная радиоактивность: I, 5 мкюри/ммол).

[6-³H]-гиббереллин-А₈-7-альдегид (V_B) и

[6-³H]-6-эпигиббереллин-А₈-7-альдегид (V_Г):

вымывание с хлороформом/этиловым эфиром уксусной кислоты 4:6 об/об, выход: 100 мг = 29 % теоретического значения V_B (удельная радиоактивность: 1,10 мкюри/ммол),

вымывание с хлороформом/этиловым эфиром уксусной кислоты 2:8 об/об, выход: 147 мг = 42 % теоретического значения V_Г (удельная радиоактивность: 1,21 мкюри/ммол).

[6-³H]-гиббереллин-А₉-7-альдегид (VI_B) и

[6-³H]-6-эпигиббереллин-А₉-7-альдегид (VI_Г):

Применяют 30 мг (0,1 ммол) VI_A и 9 мг гидрида калия.

Здесь не надо силилирования, вымывание с н-гексаном/хлороформом 1:1 об/об, выход: 9,9 мг = 33 % теоретического значения VI_B (удельная радиоактивность: 1,42 мкюри/ммол),

вымывание с н-гексаном/хлороформом 4:6 об/об, выход: 13,8 мг = 46 % теоретического значения VI_Г (удельная радиоактивность: 1,5 мкюри/ммол).

[6-³H]-гиббереллин-А₁₂-7-альдегид (VII) и

[6-³H]-6-эпигиббереллин-А₁₂-7-альдегид (IX)

К раствору, состоящему из 3,16 мг (0,01 ммол) гиббереллин-А₁₂-7-альдегида (VII) в 0,5 мл абс.ТГФ добавляют при комнатной температуре в атмосфере аргона 1 мг гидрида калия. После часового перемешивания добавляют 0,1 мл ³H₂O (удельная радиоактивность: 3 мкюри/ммол) и после трех минут наливают 0,5 мл ледяной уксусной кислоты. Потом выпаривают в вакууме и с целью удаления трития, способного к обмену, остаток растворяют в этиловом эфире уксусной кислоты и несколько раз встряхивают с 2 %-ым водным HCl. После высушивания с помощью Na₂SO₄ и выпаривания в вакууме получают после тонкослойного хроматографического разделения на силикагеле (Merck).

1,27 мг $\hat{=}$ 40 % теоретического значения $[6-^3\text{H}]$ -гиббереллин- A_{12} -7-альдегида (VIII): точка плавления: 160-162°C (из ацетона/-н-гексана),

МС: м/е 316 (M^+),

ИК (CHCl_3): $\gamma_{\text{макс.}}$ 2730 (альдегид) и 1710 cm^{-1} (br., C=O), и 1,1 мг $\hat{=}$ 35 % теоретического значения $[6-^3\text{H}]$ -6-эпигиббереллин- A_{12} -7-альдегида (IX), аморфный,

МС: м/е 316 (M^+),

ИК (CHCl_3): $\gamma_{\text{макс.}}$ 2730 (альдегид) и 1705 cm^{-1} (br., C = O),

Аналогично получают из 1 ммол гиббереллин-7-альдегида с альдегидной группой в 6 α -положении, 1,1 ммол гидроксида калия и 0,1 мл $^3\text{H}_2\text{O}$ (удельная радиоактивность: 3 мкюри/ммол) следующие $[6-^3\text{H}]$ -гиббереллин-7-альдегиды с альдегидной группой в 6 α -положении и $[6-^3\text{H}]$ -гиббереллин-7-альдегиды с альдегидной группой в 6 β -положении (физические и спектроскопические данные выявленных соединений написаны в примерах I и 4):

$[6-^3\text{H}]$ -гиббереллин- A_3 -7-альдегид (Iв) и $[6-^3\text{H}]$ -6-эпигиббереллин- A_3 -7-альдегид Iг:

вымывание с хлороформом/этиловым эфиром уксусной кислоты 8:2 об/об, выход: 103 мг $\hat{=}$ 31 % Iв (удельная радиоактивность: 1,5 мкюри/ммол), вымывание с хлороформом/этиловым эфиром уксусной кислоты 7:3 об/об, выход: 148,3 мг $\hat{=}$ 45 % теоретического значения Iг (удельная радиоактивность: 1,38 мкюри/ммол):

$[6-^3\text{H}]$ -гиббереллин- A_1 -7-альдегид (IIв) и $[6-^3\text{H}]$ -6-эпигиббереллин- A_1 -7-альдегид (IIг):

вымывание с хлороформом/этиловым эфиром уксусной кислоты 8:2 об/об, выход: 86,5 мг $\hat{=}$ 26 % теоретического значения IIв (удельная радиоактивность: 1,43 мкюри/ммол).

Вымывание с хлороформом/этиловым эфиром уксусной кислоты 7:3 об/об, выход: 163 мг $\hat{=}$ 49 % теоретического значения IIг (удельная радиоактивность: 1,33 мкюри/ммол).

$[6-^3\text{H}]$ -гиббереллин- A_4 -7-альдегид (IIIв) и $[6-^3\text{H}]$ -эпигиббереллин- A_4 -7-альдегид (IIIг):

вымывание с н-гексаном/хлороформом 2:8 об/об, выход: 82 мг $\cong$ 26 % теоретического значения IIIв (удельная радиоактивность: 1,5 мкюри/ммол), вымывание с хлороформом, выход: 161 мг $\cong$ 51 % теоретического значения IIIг (удельная радиоактивность: 1,31 мкюри/ммол).

$[6-^3\text{H}]$ -гиббереллин- A_5 -7-альдегид (IVв) и $[6-^3\text{H}]$ -эпигиббереллин- A_5 -7-альдегид (IVг):

вымывание с н-гексаном/хлороформом 1:9 об/об, выход: 94 мг $\cong$ 30 % теоретического значения IVб (удельная радиоактивность: 1,5 мкюри/ммол), вымывание с хлороформом, выход: 157 мг $\cong$ 50 % теоретического значения IVг (удельная радиоактивность: 1,36 мкюри/ммол).

$[6-^3\text{H}]$ -гиббереллин- A_9 -7-альдегид (Vв) и $[6-^3\text{H}]$ -эпигиббереллин- A_9 -7-альдегид (Vг):

Берут 30 мг (0,1 ммол) Vб и 9 мг гидрида калия. Силилирования здесь не надо. Вымывание с н-гексаном/хлороформом 1:1 об/об, выход: 9,6 мг $\cong$ 32 % теоретического значения Vв (удельная радиоактивность: 1,5 мкюри/ммол), вымывание с н-гексаном/хлороформом 4:6 об/об, выход: 15,9 мг $\cong$ 53 % теоретического значения Vг (удельная радиоактивность: 1,40 мкюри/ммол).

Пример 6

Аналогично примеру 5 энолат получают из 330,4 мг (1 ммол) гиббереллин- A_3 -7-альдегида (Iа) и 44 мг (1,1 ммол) гидрида калия, которые превращают с помощью 0,1 мл $^2\text{H}_2\text{O}$ (5,55 ммол, 99,9 %-ая чистота). Аналогичная обработка и хроматографирование дает $[6-^2\text{H}]$ -гиббереллин- A_3 -7-альдегид (X):

выход: 102,5 мг $\cong$ 31 % теоретического значения,
точка плавления 172-174°C (из ацетона/н-гексана),
МС: м/е 331 (M^+ или M^-)

в ^1H -ЯМР-спектре протоны (5-H) и (7-H) появляются как синглет,
следовательно, (6- ^2H) не видно, и $[6-^2\text{H}]$ -6-эпигиббереллин-А₃-7-
альдегид (XI): выход: 142,3 мг $\cong$ 43 % теоретического значения,
точка плавления: 184-187°C (из ацетона/н-гексана),
МС: м/е 331 (M или M^-),
в ^1H -ЯМР-спектре также протоны (5-H) и (7-H) появляются как син-
глет, (6- ^2H) отсутствует.

Пример 7

Аналогично примеру 5 энолат получают из 3,3 мг (0,01 ммол)
 $[17-^{14}\text{C}]$ -гиббереллин-А₃-7-альдегида (удельная радиоактивность:
0,23 мкюри/ммол) и 4 мг гидроксида калия, который после этого за-
мещают тритием с помощью 0,1 мл $^3\text{H}_2\text{O}$ (удельная радиоактивность:
3 мкюри/ммол). Аналогичная обработка и тонкослойная хроматография
дают $[17-^{14}\text{C}, 6-^3\text{H}]$ -гиббереллин-А₃-7- альдегид (удельная радио-
активность ^{14}C : 0,23 мкюри/ммол, удельная радиоактивность ^3H :
1,39 мкюри/ммол) и $[17-^{14}\text{C}, 6-^3\text{H}]$ -6-эпигиббереллин-А₃-7-альдегид
(удельная радиоактивность ^{14}C : 0,20 мкюри/ммол, удельная радио-
активность ^3H : 1,44 мкюри/ммол).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ эпитеризации гибереллин-7-альдегидов, отличающийся тем, что гибереллин-7-альдегид с альдегидной группой в 6α - положении или 6β - положении энолизуют с помощью щелочи и путем добавления доноров водорода, дейтерия или трития превращают в эпитерную смесь, состоящую из гибереллин-7-альдегида с альдегидной группой в 6α - положении и гибереллин-7-альдегида с альдегидной группой в 6β - положении, причем при применении доноров дейтерия или трития оба полученные эпитеры мечены у шестого атома углерода.

2. Способ по пункту 1, отличающийся тем, что превращение проводят без воздуха, например, в атмосфере аргона или азота, в органическом растворителе.

3. Способ по пунктам 1 и 2, отличающийся тем, что в качестве щелочей предпочтительно используют гидрид калия или щелочные амиды, прежде всего такие с органическими остатками, заполняющими пространство, напр., диизопропиламид лития или 2,2,6,6-тетраметилпиперидид лития.

4. Способ по пунктам 1 - 3, отличающийся тем, что кислые атомы водорода в исходных соединениях замещают перед энолизацией защитными группами.

5. Способ по пунктам 1 - 4, отличающийся тем, что получают дважды меченные гибереллин-7-альдегиды, причем например, один ^{14}C - и/или ^2H - или ^3H -гибереллин-7-альдегид превращают в дополнительно замещенный тритием или дейтерием на шестой позиции гибереллин-7-альдегид.

АННОТАЦИЯ

Цель изобретения состоит в том, чтобы впервые сделать доступным гиббереллин-7-альдегиды с альдегидной группой в 6α -положении и тем самым предоставить в распоряжение новую группу биологически активных веществ. Далее гиббереллин-7-альдегиды метят дейтерием или тритием.

Согласно изобретению гиббереллин-7-альдегид с альдегидной группой в 6α - или в 6β - положениях энантизируют щелочью и с помощью добавления соединений со свойствами доноров водорода, дейтерия или трития превращают в эпитимную смесь, состоящую из гиббереллин-7-альдегида с альдегидной группой в 6α - положении и гиббереллин-7-альдегида с альдегидной группой в 6β - положении, причем оба полученные эпитимы мечены у 6-го атома углерода при применении доноров дейтерия или трития.

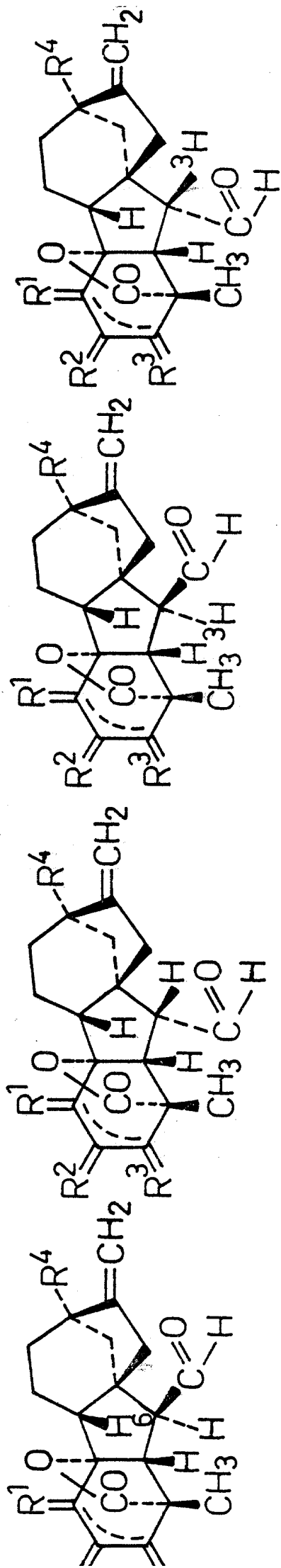
согласно изобретению
Способ/общеприменим ко всем гиббереллин-7-альдегидам, причем чувствительные к щелочам структурные признаки не изменяются. Согласно изобретению полученные меченные гиббереллин-7-альдегиды служат исходными веществами для получения меченных природных гиббереллинов и их производных.

Předmět vynálezu

1. Způsob epimerizace giberellin-7-aldehydů, vyznačující se tím, že se giberellin-7-aldehyd s aldehydovou skupinou v 6 - poloze nebo 6 - poloze enolizuje za přítomnosti zásady s přídavkem donorů vodíku, deuteria nebo tritia se přemění na epimerní směs sestávající z giberellin-7-aldehydu s aldehydovou skupinou v 6 - poloze a giberellin-7-aldehydu s aldehydovou skupinou v 6 - poloze, přičemž při použití donorů deuteria nebo tritia jsou oba získané epimery značeny na šestém atomu uhlíku.
2. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se reakce provádí za nepřístupu vzduchu, například v atmosféře argonu nebo dusíku, v organickém rozpouštědle.
3. Způsob podle bodů 1 a 2, vyznačující se tím, že se jako zásada výhodně použije hybrid draselný nebo zásadité amidy, především amidy s organickými prostorově uspořádanými zbytky, například diisopropylamid lithný nebo 2,2,6,6-tetramethylpiperidid lithný.
4. Způsob podle bodů 1 až 3 vyznačující se tím, že se kyselé atomy vodíku ve výchozích sloučeninách nahradí před enolizací chránícími skupinami.
5. Způsob podle bodů 1 až 4, vyznačující se tím, že se připraví dvakrát značené giberellin-7-aldehydy, přičemž například ^{14}C - a/ nebo ^2H - nebo ^3H -giberellin-7-aldehyd se převede na tritiem nebo deuteriem v poloze šest značený giberellin-7-aldehyd.

2 výkresy

Uznáno vynálezem na základě výsledků expertizy, provedené
Úřadem pro vynálezectví a patentnictví, Berlín, DD



Ia - VIa

Ib - VIb

Ic - VIc

Id - VI d

соединение	Δ^1	R^1	R^2	R^3	R^4
I	Δ^1	H	H	β OH ; α H	OH
II		H ₂	H ₂	β OH ; α H	OH
III		H ₂	H ₂	β OH ; α H	H
IV		H ₂	H	H	OH
V	Δ^2	H ₂	β OH ; α H	β OH ; α H	OH
VI		H ₂	H ₂	H ₂	H

соединение

I

II

III

IV

V

VI

Δ^1

Δ^2

R^1

R^2

R^3

R^4

H

H₂

H₂

H₂

H₂

H₂

H

H₂

H₂

H

β OH ; α H

H₂

β OH ; α H

β OH ; α H

β OH ; α H

H

β OH ; α H

H₂

OH

OH

H

OH

OH

H

