

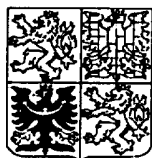
# PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

## 285 703

(19)

ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **192-94**

(22) Přihlášeno: **14. 07. 92**

(30) Právo přednosti:  
**29. 07. 91 EP 91/9112685**  
**12. 06. 92 EP 92/92109906**

(40) Zveřejněno: **16. 11. 94**  
**(Věstník č. 11/94)**

(47) Uděleno: **18. 08. 99**

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: **13. 10. 99**  
**(Věstník č. 10/99)**

(86) PCT číslo: **PCT/EP92/01594**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 93/03060**

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>:

**C 07 K 9/00**

**A 61 K 38/10**

(73) Majitel patentu:

BIOSEARCH ITALIA S. P. A., Gerenzano  
(VA), IT;

(72) Původce vynálezu:

Malabarba Adriano, Binasco, IT;  
Ciabatti Romeo, Novate Milanese, IT;  
Panzone Gianbattista, Cornaredo, IT;  
Marazzi Alessandra Maria, Saronno, IT;

(74) Zástupce:

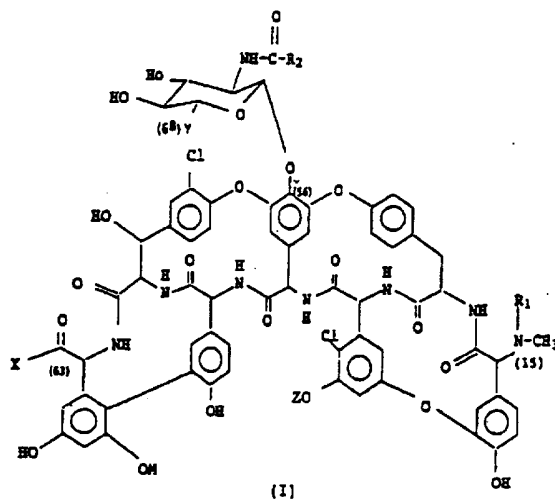
Korejzová Zdeňka JUDr., Spálená 29, Praha  
1, 11000;

(54) Název vynálezu:

**Amidové deriváty antibiotika A-40926,  
způsob jejich výroby a farmaceutický  
prostředek s jejich obsahem**

(57) Anotace:

Amidové deriváty antibiotika A-40926 jsou látky, které je možno vyjádřit obecným vzorcem I, v němž jednotlivé symboly mají význam, uvedený v hlavním nároku a které jsou vysoce účinné proti bakteriím, odolným proti glykopeptidům. Je tedy možno je použít ve formě farmaceutického prostředku, který rovněž tvoří součást řešení, k léčení infekcí uvedených bakteriemi. Popsán je rovněž způsob výroby těchto látek.



CZ 285 703 B6

## Amidové deriváty antibiotika A-40926, způsob jejich výroby a farmaceutický prostředek s jejich obsahem

### 5 Oblast techniky

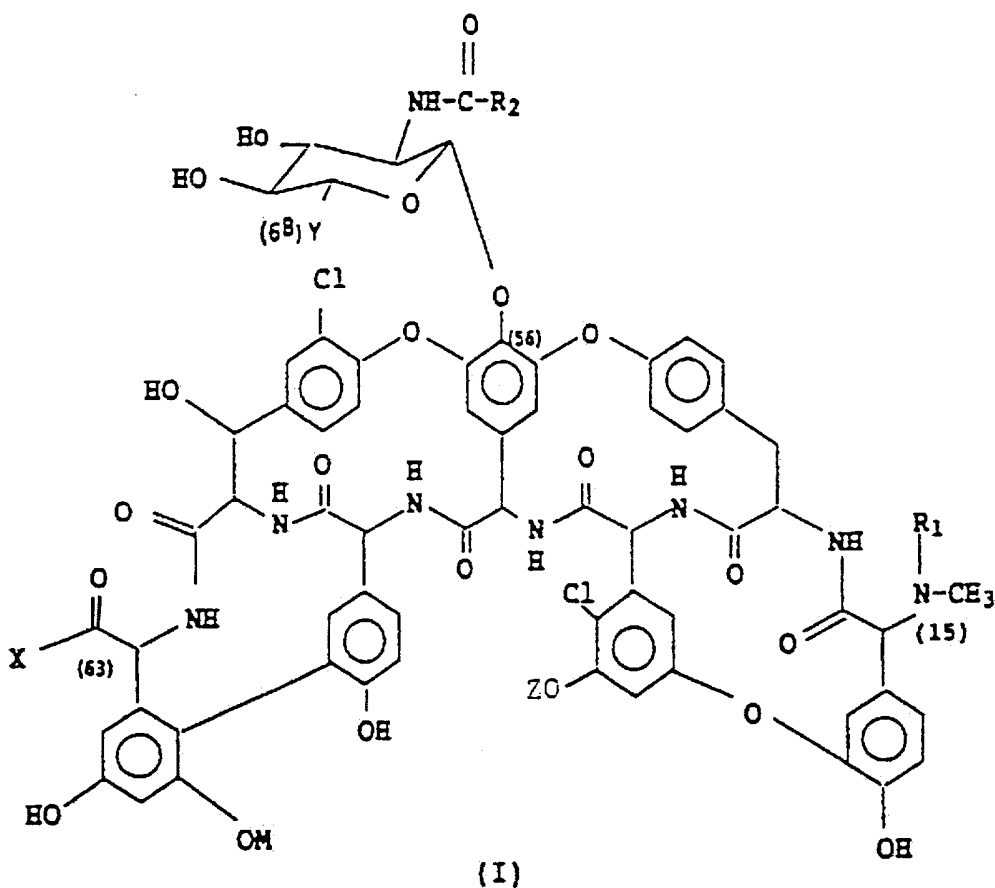
Vynález se týká amidových derivátů antibiotika A-40926, které mají in vitro vysokou účinnost proti některým bakteriím, odolným proti glykopeptidům, způsobu výroby těchto látek a farmaceutických prostředků s jejich obsahem.

10

### Podstata vynálezu

Podstatu vynálezu tvoří amidové deriváty antibiotika A 40926 obecného vzorce I

15



kde

- 20  $R_1$  znamená atom vodíku nebo ochrannou skupinu na aminoskupině,
- $R_2$  znamená alkyl o 9 až 12 atomech uhlíku,
- 25  $M$  znamená atom vodíku, alfa-D-mannopyranosyl nebo 6-O-acetyl-alfa-D-mannopyranosyl,
- $Y$  znamená karboxylovou skupinu, alkoxykarbonylovou skupinu o 1 až 4 atomech uhlíku v alkoxylové části, aminokarbonylovou skupinu, alkylaminokarbonylovou nebo dialkyl-

aminokarboxylovou skupinu o 1 až 4 atomech uhlíku v alkylových částech, přičemž alkylové skupiny mohou být ještě dále substituovány substituentem ze skupiny hydroxyskupina, aminoskupina, alkylaminoskupina a dialkylaminoskupina vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v alkylové části nebo hydroxymethyl,

5

X znamená hydroxyskupinu nebo skupinu obecného vzorce  
 $-NR_3-alk_1-(NR_4-alk_2)_p-(NR_5-alk_3)_q-W$ ,

kde

10

$R_3$  znamená atom vodíku nebo alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku,

$alk_1$ ,  $alk_2$  a  $alk_3$  nezávisle znamenají alkylenový zbytek s přímým nebo rozvětveným řetězcem o 2 až 10 atomech uhlíku,

15

$p$  a  $q$  jsou celá čísla 0 nebo 1 nezávisle na sobě,

$R_4$  a  $R_5$  znamenají nezávisle na sobě atom vodíku nebo alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku nebo

$R_3$  a  $R_4$  společně tvoří alkylenovou skupinu o 2 až 4 atomech uhlíku, spojující oba atomy dusíku za předpokladu, že  $p$  znamená 1, nebo

$R_4$  a  $R_5$  společně tvoří alkylenovou skupinu o 2 až 4 atomech uhlíku, spojující oba atomy dusíku za předpokladu, že  $p$  i  $q$  znamenají 1,

25

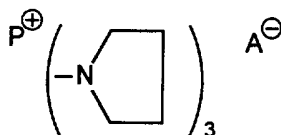
W znamená atom vodíku, alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku, aminoskupinu, alkylaminoskupinu nebo dialkylaminoskupinu vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v alkylové části, aminoskupinu, substituovanou jednou nebo dvěma aminoalkylovými skupinami o 2 až 4 atomech uhlíku nebo jednou nebo dvěma alkylaminoalkylovými skupinami o 1 až 4 atomech uhlíku v jedné a 2 až 4 atomech uhlíku ve druhé alkylové části nebo dialkylaminoalkylovou skupinou o 1 až 4 atomech uhlíku ve dvou alkylových částech a 2 až 4 atomech uhlíku v jedné alkylové části nebo v případě, že  $p$  i  $q$  znamená 0, může W tvořit spolu se skupinou  $-NR_3-alk_1$  piperazinovou nebo 4-methylpiperazinovou skupinu,

30

za předpokladu, že v případě, že X znamená hydroxyskupinu, znamená Y hydroxymethylovou skupinu a

35

Z znamená atom vodíku nebo skupinu obecného vzorce



40

kde  $A^-$  znamená anion anorganické nebo organické kyseliny ze skupiny kyselina chlorovodíková, bromovodíková, sírová, fosforečná, octová, trifluoroctová, trichloroctová, jantarová, citronová, askorbová, mléčná, maleinová, fumarová, palmitová, cholová, pamoová, mucinová, glutamová, kafrová, glutarová, glykolová, ftalová, vinná, laurová, stearová, salicylová, methansulfonová, benzensulfonová, sorbová, pikrová, benzoová nebo skořicová nebo v případě, že se ve zbývající části antibiotika nachází funkční zbytek karboxylové kyseliny, může jít také o vnitřní sůl, odvozenou od karboxylové funkce,

45

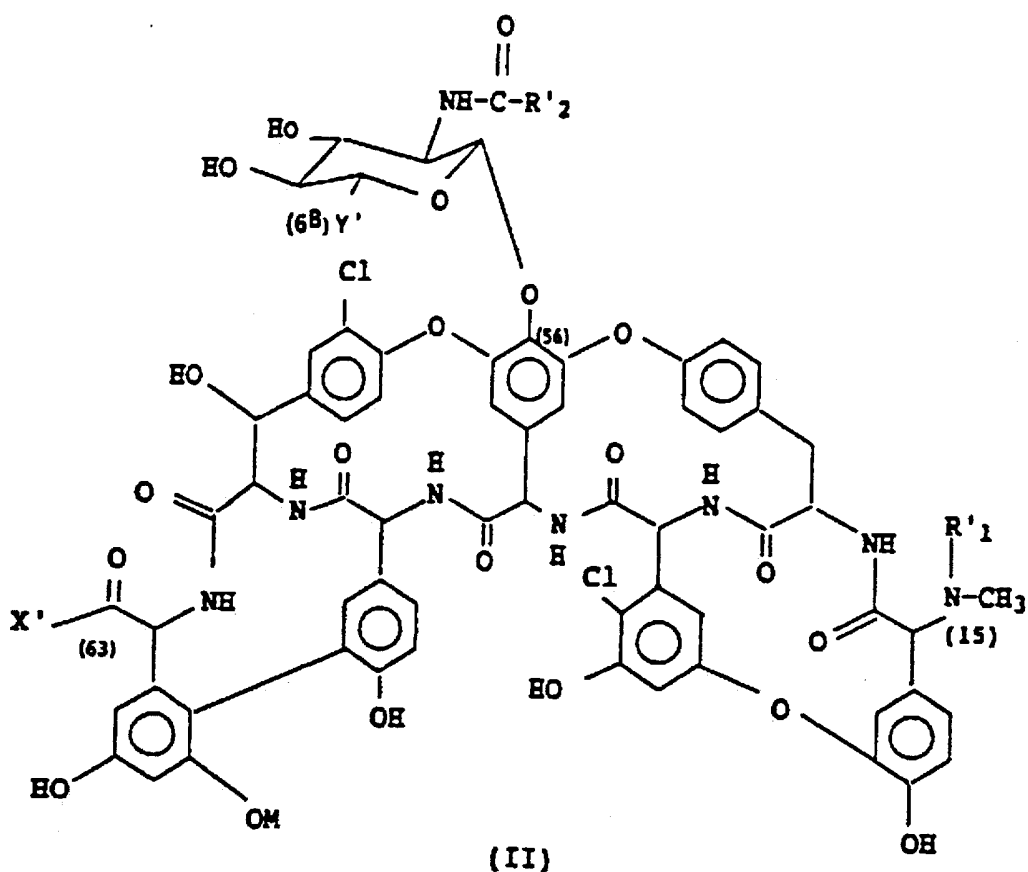
jakož i adiční soli těchto sloučenin, přijatelné z farmaceutického hlediska.

Čísla, uvedená ve vzorci I v závorkách nebo v závorkách jiných obecných vzorců označují běžné číslování atomů uhlíku v molekulové struktuře antibiotika A-40926 nebo derivátů tohoto antibiotika.

5

Antibiotikum A-40926 je glykopeptidový antibiotický komplex, který byl izolován z kultury *Actinomadura* sp. ATCC 39727 v živném prostředí, obsahujícím využitelné zdroje uhlíku, dusíku a anorganických solí, jak bylo popsáno v EP 177 882. Podle postupu, který byl uveden v tomto patentovém spisu je možno antibiotický komplex, jehož faktory byly označeny faktor A, faktor B, faktor B<sub>0</sub>, faktor B<sub>1</sub>, faktor PA a faktor PB izolovat tak, že se fermentační prostředí po filtraci nebo po předběžném čištění podrobí afinitní chromatografii při použití imobilizovaného D-alanyl-D-alanin.

15 Faktory antibiotika A-40926 až dosud identifikované je možno vyjádřit obecným vzorcem II



kde

20

R'<sub>1</sub> znamená atom vodíku,

X' znamená hydroxyskupinu,

25

Y' znamená karboxylovou skupinu,

R'<sub>2</sub> znamená alkyl o 9 až 12 atomech uhlíku a

M' znamená alfa-D-mannopyranosylovou nebo 6-O-acetyl-alfa-D-mannopyranosylovou skupinu.

5

Antibiotikum A-40926, faktor A je sloučenina obecného vzorce II, v němž R'<sub>1</sub> znamená atom vodíku, X' znamená hydroxyskupinu, Y' znamená karboxylovou skupinu, R'<sub>2</sub> znamená n-decylovou skupinu a M' znamená alfa-D-mannopyranosylovou skupinu. Podle posledních průzkumů je látka, identifikovaná ve svrchu uvedeném EP 177 882 jako antibiotikum A-40926 faktor B ve skutečnosti tvořeno dvěma blízkými složkami. Antibiotikum A-40926 faktor B<sub>0</sub> je ve skutečnosti hlavní složka faktoru B a odpovídá sloučenině obecného vzorce II, v němž R'<sub>1</sub> znamená atom vodíku, X' znamená hydroxyskupinu, Y' znamená karboxylovou skupinu, R'<sub>2</sub> znamená 9-methyldecyl a M' znamená alfa-D-mannopyranosyl. Menší složka faktoru B byla označena jako faktor B<sub>1</sub> a od faktoru B<sub>0</sub> se liší pouze tím, že R'<sub>2</sub> znamená n-undecyl, jak bylo popsáno v E. Riva a další, Chromatographia, sv. 24, 295, 1987.

15

Antibiotikum A 40926 faktor PA a faktor PB se od odpovídajících faktorů A a B liší tím, že zbytek mannosy je nahrazen 6-O-acetyl-alfa-D-mannopyranosovou jednotkou.

20 Antibiotikum A-40926 faktory PA a PB jsou alespoň za určitých fermentačních podmínek hlavními antibiotickými produkty mikroorganismu, produkujícího A-40926.

Antibiotikum A-40926, faktory A a B jsou hlavními transformačními produkty antibiotika A-40926, faktorů PA a PB a jsou často přítomné již ve fermentačním prostředí.

25

Všechny skupiny, odvozené od cukrů jsou vázány na jádro antibiotika A-40926 O-glykosidickými vazbami.

30 Bylo prokázáno, že antibiotikum A-40926 faktor PA je možno transformovat na antibiotikum A-40926 faktor A a antibiotikum A-40926 faktor PB je možno transformovat na antibiotikum A-40926 faktor B za bazických podmínek, které vedou k odstranění acetylové skupiny z mannosové jednotky, aniž by došlo k odštěpení acylové skupiny na aminoglukuronové jednotce.

35 To znamená, že v případě, že se fermentační prostředí nebo jeho extrakt nebo koncentrát, obsahující antibiotikum A-40926 nechá stát po určitou dobu za zásaditých podmínek, například ve vodném roztoku v přítomnosti nukleofilní báze při pH vyšším než 9 přes noc, získá se komplex antibiotika A-40926, obohacený o faktor A a faktor B.

40 Antibiotikum A-40926 faktor B je možno z komplexu izolovat chromatografickým dělením, při němž se užívá postupu podle EP 177 882. Čistý faktor B<sub>0</sub>, který za podmínek, uvedených v EP 177 882 tvoří 90 % faktoru B je možno získat dalším čištěním faktoru B, například opakovanou chromatografií v reversní fázi.

45 Současné studie, jejichž výsledky jsou uvedeny například v publikaci L. Zerilli a další, Rapid Communications in Mass Spectrometry, sv. 6, 109, 1992 prokázaly, že v komplexu antibiotika A-40926 jsou v menším množství přítomny ještě další faktory, které byly označeny A<sub>1</sub>, RS-1, RS-2 a RS-3. Tyto menší faktory byly izolovány pomocí HPLC a jejich struktura byla stanovena při použití plynové chromatografie a hmotové spektrometrie po zpracování komplexu antibiotika A-40926 methanolózou. Všechny uvedené menší faktory mají strukturu, která odpovídá základní struktuře faktoru A, B<sub>0</sub> a B<sub>1</sub> až na zbytky nasycených alifatických kyselin, které jsou vázány na aminoglukuronovou skupinu. To znamená, že v případě těchto faktorů mají v obecném vzorci II symboly R'<sub>1</sub>, X' a Y' svrchu uvedený význam a R'<sub>2</sub> znamená 8-methylnonyl v případě faktoru

50

A<sub>1</sub>, 7-methyloktyl v případě faktoru RS-1, n-nonyl v případě faktoru RS-2 a n-dodecyl v případě faktoru RS-3.

5 Přestože v komplexu antibiotika A-40926, tak jak se běžně získává za fermentačních podmínek, popsanych v EP 177 882 převažují faktory, v nichž R'<sub>2</sub> znamená alkyl o 10 až 11 atomech uhlíku, je možné modifikovat fermentační podmínky tak, aby došlo ke zvýšení množství menších složek, v nichž R'<sub>2</sub> znamená alkyl o 9 nebo 12 atomech uhlíku.

10 V průběhu běžných čistících postupů pro komplex antibiotika A-40926 dochází k převedení převážného množství faktorů PA a PB na faktory A a B.

15 Mimoto bylo prokázáno, že je možno transformovat antibiotikum A-40926 ve formě komplexu, jeho jednotlivé faktory nebo směsi těchto faktorů v jakémkoliv poměru na odpovídající N-acylaminoglukuronylaglykonový komplex AB, N-acylaminoglukuronylaglykonový faktor A, N-acylaminoglukuronylaglykonový faktor B a mannosylaglykon antibiotika A-40926 řízenou hydrolyzou jedné z cukerních skupin výchozího materiálu v kyselém prostředí, jak bylo také popsáno v EP 240 609 a v EP 228 015.

20 Výhodné podmínky hydrolyzy pro produkci N-acylaminoglukuronylaglykonů zahrnují použití směsi dimethylsulfoxidu a koncentrované kyseliny chlorovodíkové v poměru 8 : 2 až 9,5 : 0,5 při teplotě 40 až 80 °C.

25 N-acylaminoglukuronylaglykony antibiotikum A-40926 je možno vyjádřit obecným vzorcem II, v němž R'<sub>1</sub> a M' znamenají atomy vodíku, X' znamená hydroxyskupinu, Y' znamená karboxylovou skupinu a R'<sub>2</sub> znamená alkyl o 9 až 12 atomech uhlíku.

Úplným odštěpením všech zbytků cukrů z antibiotika A-40926 vzniká aglykon. Tato hydrolyza byla popsána v EP č. 240 609.

30 Antibiotikum A-40926 ve formě komplexu, jeho jednotlivé faktory, odpovídající N-acylaminoglukuronylaglykony, mannosylaglykon, aglykon a směsi těchto látek v jakémkoliv poměru jsou účinné převážně proti gram-positivním bakteriím a proti Neisseriím.

35 V mezinárodní patentové přihlášce č. PCT/EP92/00374 s právem přednosti z evropské patentové přihlášky č. 91104857 jsou popsány esterové deriváty antibiotika A-40926, esterifikované v poloze 6<sup>B</sup>, to znamená na karboxylové skupině N-acylaminoglukuronylové části molekuly a odpovídající N-acylaminoglukuronylaglykon, jde o sloučeniny obecného vzorce II, v němž X' znamená hydroxyskupinu, Y' znamená alkoxykarbonylovou skupinu o 1 až 4 atomech uhlíku v alkoxylové části a R'<sub>1</sub>, R'<sub>2</sub> a M' mají stejný význam jako symboly R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> a M svrchu. Tyto esterové deriváty je možno připravit tak, že se uvede do reakce antibiotikum A-40926, chráněné v poloze N<sup>15</sup>, to znamená na dusíkovém atomu aminoskupiny, která je vázána na atom uhlíku, označený číslem 15, nebo se uvede do reakce antibiotikum s volnou aminoskupinou v této poloze nebo jeho demannosylderivát, to znamená N-acylaminoglukuronylaglykon s alkanolem v kyselém prostředí, nebo se uvede do reakce N<sup>15</sup>-chráněný derivát A-40926 nebo jeho demannosylanalog s alkylhalogenidem, s výhodou bromidem, chloridem nebo jodidem, 45 popřípadě v přítomnosti látky, schopné vázat halogenovodíkovou kyselinu, zvláště působením přebytku alkanolu v přítomnosti koncentrované anorganické kyseliny při teplotě místnosti až teplotě 0 °C.

50 Esterové deriváty antibiotika A-40926, připravené svrchu uvedeným způsobem je možno použít jako výchozí látky pro výrobu derivátu antibiotika A-40926 obecného vzorce I.

Jak již bylo svrhu uvedeno, řízená esterifikace, kterou je možno použít pro přípravu esterových derivátů a demannosylesterových derivátů antibiotika A-40926, které jsou výchozími látkami pro výrobu sloučenin podle vynálezu zahrnuje esterifikační reakce, při nichž se antibiotikum A-40926 uvádí do reakce s přebytkem zvoleného alkanolu v přítomnosti koncentrované anorganické kyseliny při teplotě 0 °C až teplotě místnosti na dobu, která se mění se sterickou komplexitou skupiny, která má být zavedena.

V některých případech je vhodné chránit primární aminoskupinu v poloze 15 prekursoru A-40926 tak, aby byl snížen výskyt nežádoucích vedlejších reakcí. Ochrana této skupiny může být uskutečněna známým způsobem, například podle publikace T. W. Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley and Sons, New York, 1981, a M. McOmie, *Protecting Groups in Organic Chemistry*, Plenum Press, New York, 1973. Použité ochranné skupiny musí být stále za použitých reakčních podmínek, nesmí nepříznivě interferovat s hlavní reakcí a musí být možné je snadno odštěpit po ukončení této hlavní reakce.

Příkladem vhodných ochranných skupin na aminoskupinu mohou být terc.butoxykarbonylová skupina (t-BOC), karbobenzyloxyskupina (CBz), a arylalkylové skupiny. Benzylace působením případně substituovaných benzylohalogenidů v přítomnosti báze probíhá hladce s kvantitativním výtěžkem a vede výlučně ke tvorbě odpovídajícího N<sup>15</sup>-benzylového derivátu, aniž by současně docházelo ke vzniku benzylesteru na karboxylových skupinách.

Selektivní ochranu aminoskupiny v poloze 15 je možno s výhodou uskutečnit reakcí s benzylbromidem v přítomnosti látky, schopné vázat halogenovodík, například terciárního aminu bez současné esterifikace některé z obou karboxylových skupin.

Podmínky pro odstranění ochranných skupin v poloze N<sup>15</sup> spadají do známých podmínek pro odstranění ochranných skupin na aminoskupinách a užívá se podmínek, které se volí v závislosti na vyhodnocení reaktivity dalších skupin, které jsou v molekule přítomny.

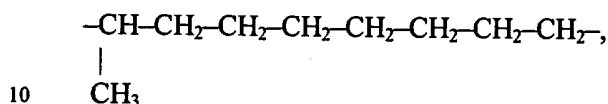
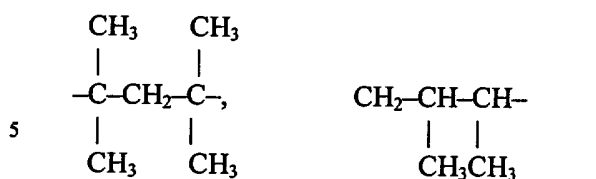
Výchozí esterová sloučenina obecného vzorce II, v němž M' znamená alfa-D-mannopyranosyl nebo 6-O-acetyl-alfa-D-mannopyranosyl a Y' znamená alkoxykarbonyl o 1 až 4 atomech uhlíku v alkoxylové části může být transformována na odpovídající sloučeninu, v níž M' znamená atom vodíku selektivní hydrolyzou v kyselém prostředí. Jak je popsáno v EP 240 609, zahrnují výhodné podmínky hydrolyzy pro získání demannosylderivátů antibiotika A-40926, například pro získání N-acylaminoglukuronylaglykonu použití směsi dimethylsulfoxidu a koncentrované kyseliny chlorovodíkové v objemovém poměru 8 : 2 až 9,5 : 0,5 při teplotě v rozmezí 40 až 80 °C.

Demannosyl deriváty esterů antibiotika A-40926 je možno získat ze směsi s odpovídajícím glykonem a je možno je od sebe oddělit preparativní HPLC.

Podmínky při hydrolyze je možno vhodným způsobem modifikovat tak, aby bylo možno dosáhnout změněného poměru množství výsledných produktů. Například v případě, že se vychází z antibiotika A-40926, esterifikovaného v poloze 6<sup>B</sup>, poměr rozpouštědla a kyseliny chlorovodíkové se zvýší na 78 : 1, reakční teplota se udržuje na hodnotě nižší než 60 °C a reakční doba se prodlouží až na 7 dnů, je možno dosáhnout poměru požadovaného demannosylderivátu A-40926, esterifikovaného v poloze 6<sup>B</sup> k nežádoucímu glykonu přibližně 1,4 : 1,0.

Průběh reakce je možno sledovat pomocí HPLC známým způsobem. Na základě výsledků, získaných při tomto stanovení může odborník vyhodnotit průběh reakce a zvolit okamžik jejího přerušeni, v němž se začíná reakční směs zpracovávat známým způsobem, který zahrnuje například extrakci pomocí rozpouštědel, sráženi látkami, v nichž se produkt nerozpouští a také chromatografické čištění.

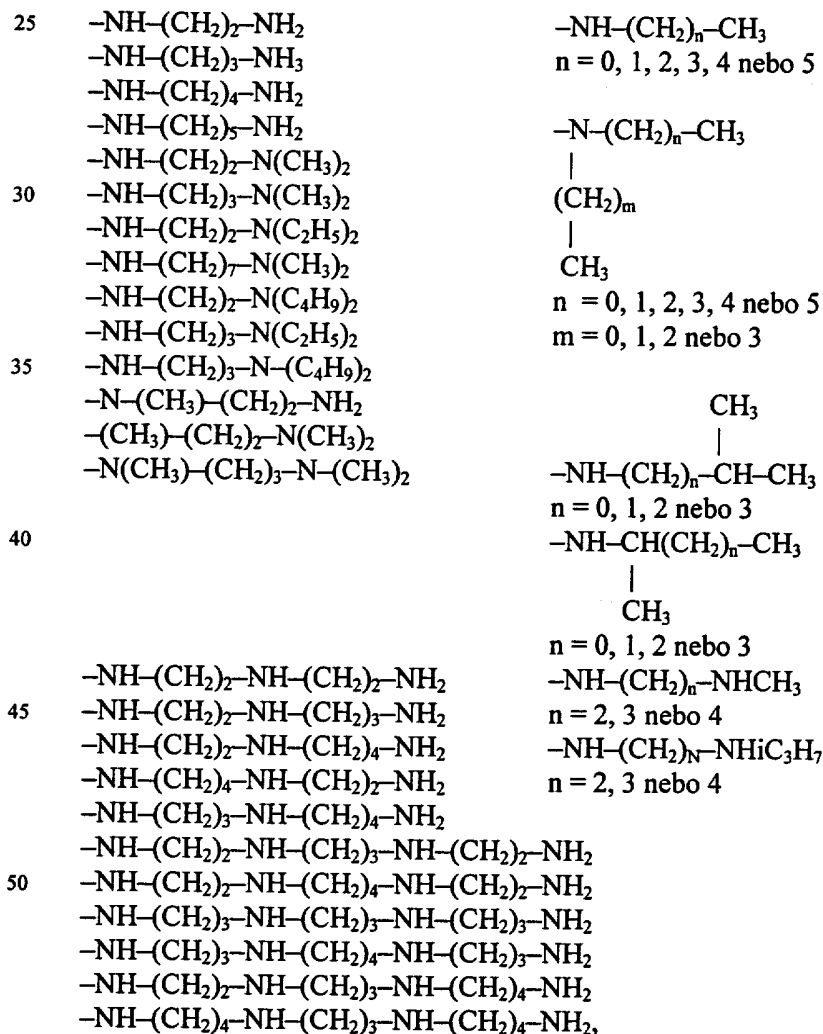


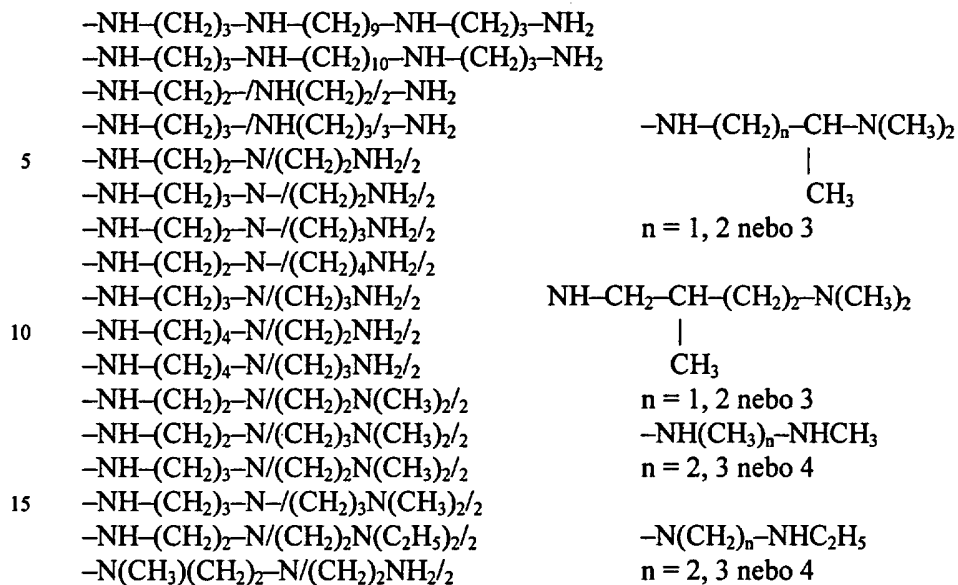


Pod pojmem "alkyl o 2 až 4 atomech uhlíku" a "alkylenová skupina o 2 až 4 atomech uhlíku" se rozumí přímé nebo rozvětvené alifatické zbytky o 2 až 4 atomech uhlíku, tak jak byly svrchu uvedeny.

Pod pojmem "alkoxykarbonyl o 1 až 4 atomech uhlíku v alkoxylové části" se rozumí alkoxykarbonylové skupiny s přímým nebo rozvětveným řetězcem, jako methoxykarbonyl, ethoxykarbonyl, propyloxykarbonyl, isopropyloxykarbonyl, butoxykarbonyl, isobutoxykarbonyl a terc.butoxykarbonyl.

Dále budou uvedeny příklady řetězců, které spadají pod obecný pojem skupiny





a podobně.

20

V případě, že R<sub>3</sub> a R<sub>4</sub> (nebo R<sub>4</sub> a R<sub>5</sub>) společně tvoří alkylenovou skupinu, spojující oba atomy dusíku, je nasycenou heterocyklickou skupinou, vytvořenou v kombinaci s částí alk<sub>1</sub> (nebo alk<sub>2</sub>) a oběma sousedními atomy dusíku s výhodou piperazinový kruh.

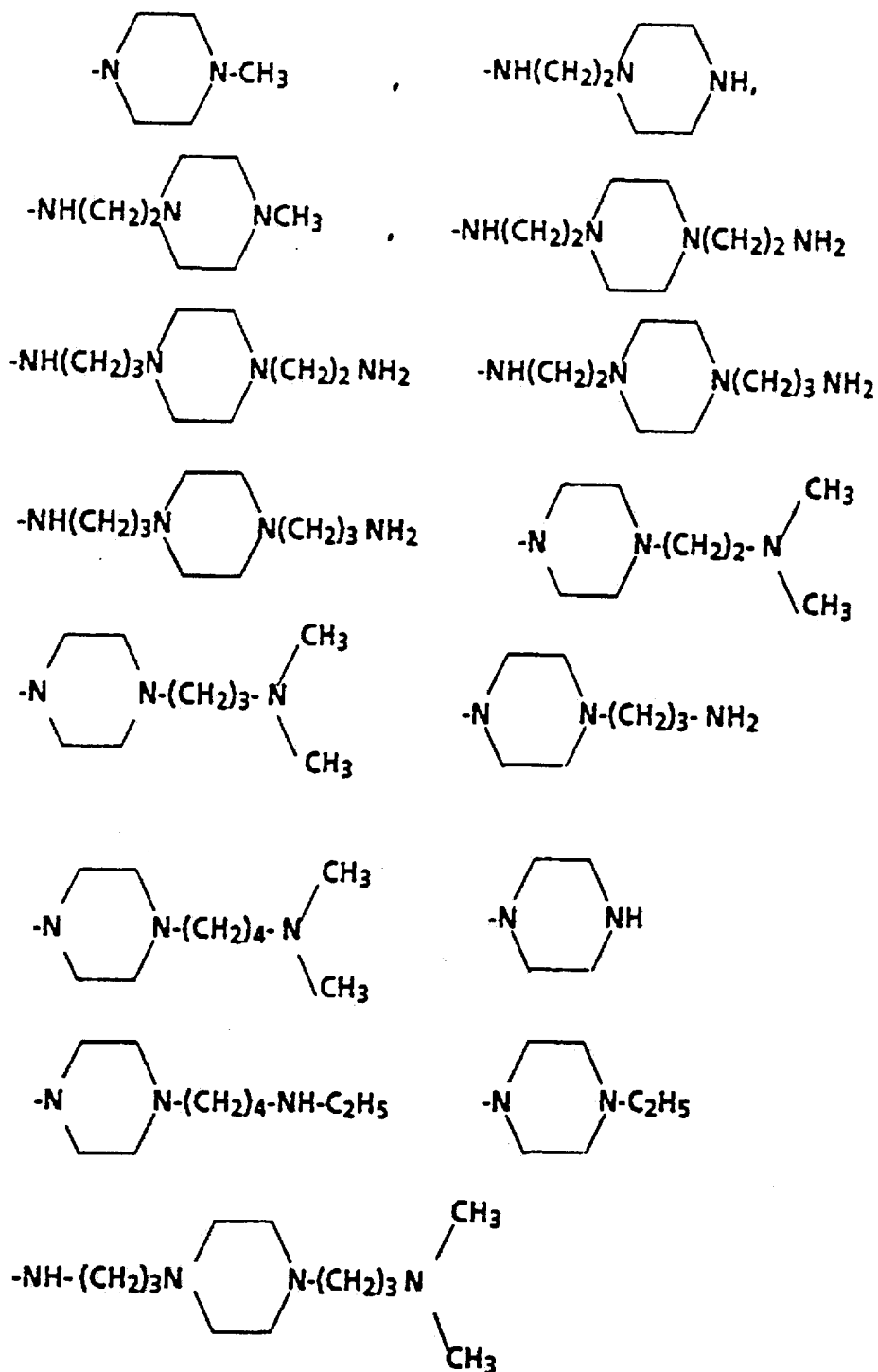
25

Například v případě, že R<sub>3</sub> a R<sub>4</sub> (nebo R<sub>4</sub> a R<sub>5</sub>) společně tvoří alkylenovou skupinu o 2 až 4 atomech uhlíku, spojující oba atomy dusíku nebo v případě, že p i q = 0 a W spolu se skupinou --NR<sub>3</sub>--alk<sub>1</sub>-- znamená piperazinový nebo 4-methylpiperazinový kruh, mohou tvořit skupinu obecného vzorce

30



následující skupiny:



- 5 Vynález zahrnuje sloučeniny obecného vzorce I, které mohou být odvozeny od jednotlivých faktorů prekurzorového komplexu antibiotika A-40926 a také směsi sloučenin obecného vzorce I, odvozené od celého komplexu antibiotika A-40926 nebo od směsi dvou nebo většího počtu jeho faktorů v jakémkoliv poměru. Změny vzájemného poměru složek směsi sloučenin obecného vzorce I, odpovídajících faktorům komplexu A-40926 mohou vzniknout tak, že se užijí různé podmínky při fermentaci, oddělení, izolaci a čištění prekurzorového komplexu antibiotika A-40926 nebo tak, že se smísí izolované faktory výchozích esterů obecného vzorce II v požadova-
- 10

ném poměru před jejich přeměnou na sloučeniny obecného vzorce I, nebo je také možno smísit jednotlivé čisté faktory sloučenin obecného vzorce I v požadovaném poměru.

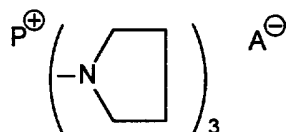
Výhodnými sloučeninami obecného vzorce I jsou ty látky, v nichž

- 5  
 R<sub>1</sub> znamená atom vodíku nebo ochrannou skupinu na aminoskupině,  
 R<sub>2</sub> znamená alkylový zbytek o 9 až 12 atomech uhlíku,  
 10 M znamená atom vodíku, alfa-D-mannopyranosyl nebo 6-O-acetyl-alfa-D-mannopyranosyl,  
 Y znamená karboxylovou skupinu, alkoxykarbonylovou skupinu o 1 až 4 atomech uhlíku v alkoxylové části, aminokarbonyl, alkylaminokarbonyl nebo dialkylaminokarbonyl vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v alkylové části, přičemž tato alkylová část může nést substituent ze skupiny hydroxyskupina, aminoskupina, alkylaminoskupina a dialkylaminoskupina vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v alkylové části nebo hydroxymethyl,  
 15  
 X znamená hydroxyskupinu nebo aminoskupinu obecného vzorce  
 20  

$$-NR_3-alk_1-(NR_4-alk_2)_p-(NR_5-alk_3)_q-W$$
 kde  
 25 R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> a R<sub>5</sub> znamenají atomy vodíku,  
 alk<sub>1</sub>, alk<sub>2</sub> a alk<sub>3</sub> nezávisle znamenají alkylenové zbytky s přímým nebo rozvětveným řetězcem o 2 až 4 atomech uhlíku,  
 30 p a q jsou celá čísla, nezávisle znamenající 0 nebo 1,  
 W znamená atom vodíku, alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku, aminoskupinu, alkylaminoskupinu nebo dialkylaminoskupinu vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v alkylové části, aminoskupinu, substituovanou jednou nebo dvěma aminoalkylovými skupinami o 2 až 4 atomech uhlíku nebo jednou nebo dvěma alkylaminoalkylovými skupinami o 1 až 4 atomech uhlíku v jedné a 2 až 4 atomech uhlíku ve druhé alkylové části nebo jednou nebo dvěma dialkylaminoalkylovými skupinami o 1 až 4 atomech uhlíku ve dvou alkylových částech a 2 až 4 atomech uhlíku v jedné alkylové části nebo v případě, že p i q = 0, může W spolu se skupinou -NR<sub>3</sub>-alk<sub>1</sub>- tvořit také piperazinovou nebo 4-methylpiperazinovou skupinu,  
 35  
 40

za předpokladu, že v případě, že X znamená hydroxyskupinu, znamená Y hydroxymethylovou skupinu,

- 45 Z znamená atom vodíku nebo skupinu obecného vzorce



kde  $A^-$  znamená anion anorganické nebo organické kyseliny nebo v případě, že je přítomna funkce karboxylové kyseliny ve zbývající části antibiotika, může také jít o vnitřní anion, odvozený od této funkce karboxylové kyseliny,

5 jakož i soli těchto sloučenin, přijatelné z farmaceutického hlediska.

Další výhodnou skupinou sloučenin podle vynálezu jsou ty deriváty obecného vzorce I, v němž  $R_2$  znamená alkyl o 10 až 11 atomech uhlíku, M znamená alfa-D-mannopyranosyl a  $R_1$ , X, Y a Z mají svrchu uvedený význam, jakož i farmaceuticky přijatelné soli těchto sloučenin.

10 Další výhodnou skupinou sloučenin podle vynálezu představují ty látky obecného vzorce I, v němž

15  $R_1$  znamená atom vodíku nebo ochrannou skupinu na aminoskupině, s výhodou atom vodíku,

$R_2$  znamená 7-methyloktyl, n-nonyl, 8-methylnonyl, n-decyl, 9-methyldecyl, n-undecyl nebo n-dodecyl, s výhodou n-decyl, 9-methyldecyl nebo n-undecyl a zvláště 9-methyldecyl,

20 M znamená atom vodíku nebo alfa-D-mannopyranosyl, s výhodou alfa-D-mannopyranosyl,

25 Y znamená karboxylovou skupinu, alkoxykarbonyl o 1 až 4 atomech uhlíku v alkoxylové části, aminokarbonyl, aminoalkylkarbonyl nebo dialkylaminokarbonyl vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v každé alkylové části, přičemž tato alkylová část může být dále substituována substituentem ze skupiny hydroxyskupina, aminoskupina, alkylaminoskupina nebo dialkylaminoskupina vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v alkylové části nebo hydroxymethyl, s výhodou znamená Y karboxyskupinu, methoxykarbonyl, amino-  
30 karbonyl, methylaminokarbonyl, dimethylaminokarbonyl, (dimethylamino)ethylamino-  
karbonyl nebo hydroxymethyl,

X znamená zbytek obecného vzorce



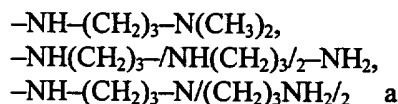
kde

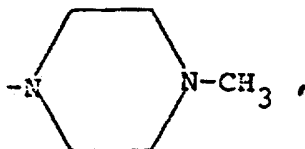
40  $R_3$  znamená atom vodíku,  
 $alk_1$ ,  $alk_2$  a  $alk_3$  nezávisle znamenají lineární alkylenové zbytky o 2 až 4 atomech uhlíku,

p a q znamenají celá čísla 0 nebo 1 a

45 W znamená aminoskupinu, alkylaminoskupinu nebo dialkylaminoskupinu vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v alkylových částech, aminoskupinu, substituovanou jednou nebo dvěma aminoalkylovými skupinami o 2 až 4 atomech uhlíku v alkylové části nebo v případě, že p i q znamenají 0, může W spolu se skupinou  $-NR_3-alk_1-$  představovat také piperazinový nebo 4-methylpiperazinový kruh,

50 nejvýhodnějším významem pro X je zbytek





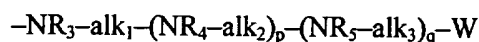
Z znamená atom vodíku,

jakož i farmaceuticky přijatelné adiční soli těchto sloučenin.

5

Sloučeniny obecného vzorce I, v němž Y znamená alkoxykarbonylovou skupinu o 1 až 4 atomech uhlíku v alkoxylové části,  $R_1$ ,  $R_2$ , M a Z mají význam, uvedený v obecném vzorci I a X znamená zbytek obecného vzorce

10



v němž  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $alk_1$ ,  $alk_2$ ,  $alk_3$ , p, q a W mají význam, uvedený v obecném vzorci I,

15

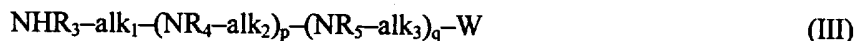
je možno připravit amidací odpovídajících derivátů obecného vzorce II, v němž  $R'_1$ ,  $R'_2$  a M' mají tentýž význam jako  $R_1$ ,  $R_2$  a M, X' znamená hydroxyskupinu a Y' znamená alkoxykarbonyl o 1 až 4 atomech uhlíku v alkoxylové části.

20

Tyto výchozí látky obecného vzorce II je možno připravit svrchu uvedeným způsobem, některé specifické příklady výroby těchto látek jsou uvedeny ve svrchu zmíněné mezinárodní patentové přihlášce č. PCT/EP92/00374.

Amidace zahrnuje kondenzaci výchozích látek obecného vzorce II s příslušným aminem obecného vzorce III

25



kde  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $alk_1$ ,  $alk_2$ ,  $alk_3$ , p, q a W mají význam, uvedený v obecném vzorci I,

30

v přítomnosti kondenzačního činidla nebo přes "aktivovaný ester" výchozí  $C^{63}$ -karboxylové kyseliny obecného vzorce II v inertním organickém rozpouštědle.

35

Inertními organickými rozpouštědly, vhodnými pro amidační reakci jsou ta organická aprotická rozpouštědla, která nepříznivě neinterferují s průběhem reakce a jsou schopná alespoň částečně rozpouštět výchozí materiál.

40

Příkladem inertních organických rozpouštědel mohou být organické amidy, ethery glykolů a polyolů, amidy kyseliny fosforečné a sulfoxidy. Výhodnými příklady inertních organických rozpouštědel jsou dimethylformamid, dimethoxyethan, amid kyseliny hexamethylfosforečné, dimethylsulfoxid a směsi těchto látek.

45

Kondenzačním činidlem, vhodným pro použití při provádění způsobu podle vynálezu je činidlo, schopné způsobit tvorbu amidových vazeb v organických sloučeninách, zvláště při syntéze peptidů.

50

Jako příklady těchto kondenzačních činidel je možno uvést diisopropylkarbodiimid (DIC), decyklohexylkarbodiimid (DCC) v přítomnosti hydroxybenzotriazolu (HBT), benzotriazololyoxy-tris-(dimethylamino)fosfoniumhexafluorofosfát, benzotriazololyoxy-tris-(pyrrolidino)fosfoniumhexafluorofosfát a alkyl fosforazidáty o 1 až 4 atomech uhlíku v alkylové části, fenyfosforazidáty nebo heterocyklické fosforazidáty, například difenyfosforazidát, diethylfosforazidát, di-(4-nitrofenyl)fosforazidát, dimorfolyfosforazidát a difenyfosforchloridát. Výhodným kondenzač-

ním činidlem je difenylfosforazidát, to znamená azid difenylesteru kyseliny fosforečné (DPPA), benzotriazoloxo-tris-(dimethylamino)fosfoniumhexafluorfosfát (BOP) a benzotriazoloxo-tris-(pyrrolidino)fosfoniumhexafluorfosfát (PyBOP).

- 5 Ze dvou naposledy jmenovaných kondenzačních činidel je PyBOP zvláště výhodnou látkou vzhledem k tomu, že vznikající vedlejší produkt pyrrolidin má nižší potenciální toxicitu než dimethylamin.

10 Při popsané amidaci podle vynálezu se amin, užitý jako jedna z reakčních složek obvykle užívá v molárním přebytku, ačkoliv v některých případech je možno reakci uskutečnit s dobrým výtěžkem při použití aminu v ekvimolárním množství nebo jen v mírném molárním přebytku, například v případě, že se jako kondenzační činidlo užije BOP nebo PyBOP.

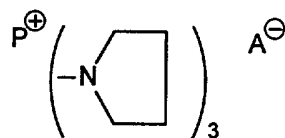
15 Obvykle se v případě, že výchozí amin není příliš nákladný nebo je možno jej snadno získat užívá 2 až 10-násobný, s výhodou 3 až 4-násobný molární přebytek tohoto aminu.

Při provádění amidace svrchu uvedeného výchozího materiálu obecného vzorce II působením aminu obecného vzorce III v přítomnosti kondenzačního činidla je zapotřebí, aby použitý amin byl schopen vytvořit sůl s karboxylovou funkcí výchozího materiálu ( $X' =$  hydroxyskupina).  
 20 V případě, že amin není dostatečně silný pro tvorbu takové soli ve zvoleném reakčním prostředí, je zapotřebí přidat bázi, schopnou sůl vytvořit, například terciární alifatický nebo heterocyklický amin, jako triethylamin, N-methylpyrrolidin nebo N-methylpiperazin, tyto látky nevytvoří amidovou vazbu s karboxylovou funkcí a přidávají se v alespoň ekvimolárním množství, vztaheno na množství výchozí látky.

25 Použití malého molárního přebytku aminu ze současného přidání báze, schopné vytvořit sůl je vhodnou metodou v případě, že amin je nákladný nebo v případě, že je obtížné jej připravit.

30 Příkladem bází pro tvorbu solí mohou být terciární organické alifatické nebo heterocyklické aminy, například trimethylamin, triethylamin, N-methylpyrrolidin nebo pikolin a podobně.

Kondenzační činidlo se obvykle užívá v ekvimolárním množství nebo v malém molárním přebytku, například 1,1 až 1,7, s výhodou 1,2 až 1,5, vztaheno na výchozí sloučeninu A-40926. Zvláště bylo pozorováno, že při použití výchozích látek obecného vzorce II, v němž Y znamená  
 35 alkoxykarbonyl o 1 až 4 atomech uhlíku v alkoxylové části je možno při použití velkého přebytku, například trojnásobného molárního přebytku PyBOP jako kondenzačního činidla a velkého přebytku aminu, například molárního přebytku 6 až 10 získat výsledné amidy obecného vzorce I, v němž Z znamená skupinu obecného vzorce



40 kde  $A^-$  má svrchu uvedený význam,

45 v téměř kvantitativním výtěžku.

Amin, použitý jako reakční složka je možno do reakční směsi přivádět ve formě odpovídající adiční soli s kyselinou, například ve formě hydrochloridu. V tomto případě se přidává alespoň dvojnásobný molární podíl, s výhodou 2 až 4-násobný molární přebytek silné báze, schopné uvolnit amin z jeho solí. Také v tomto případě je vhodnou bází obvykle terciární organický

alifatický nebo heterocyklický amin, který nemůže tvořit amidovou vazbu s karboxylovou funkcí, tak jak byly svrchu uvedeny. V některých případech je použití soli, z níž je pak amin uvolněn přímo v reakční směsi velmi výhodné, zejména v případě, že sůl je stálejší než odpovídající volný amin.

5

Reakční teplota se může měnit v širokém rozmezí v závislosti na použitých výchozích látkách a na reakčních podmínkách. Obvykle je výhodné reakci provádět při teplotě v rozmezí 0 až 30 °C.

10

Reakční doba se rovněž může měnit v širokém rozmezí v závislosti na kondenzačním činidle a na dalších parametrech reakce. Obvykle je kondenzační reakce ukončena v průběhu jedné až 24 až 48 hodin.

15

Průběh reakce je možno sledovat chromatografií na tenké vrstvě nebo s výhodou při použití HPLC známými způsoby.

20

Na základě výsledků, získaných těmito zkouškami může odborník vyhodnotit průběh reakce a rozhodnout, kdy má být reakce zastavena a reakční směs zpracována známými postupy, které zahrnují například extrakci pomocí rozpouštědel, srážení přidáním látek, v nichž se produkt nerozpouští a podobně ve spojení s běžnými izolačními a čisticími postupy, například chromatografií na sloupci.

25

Obvykle v případě použití uvedených kondenzačních činidel není zapotřebí chránit N<sup>15</sup>-aminoskupinu ve výchozím esteru obecného vzorce II. Může však být užitečné použít výchozí estery, které jsou na této skupině chráněné v případě, že se získávají při reakci, při níž jsou estery připravovány z antibiotika A-40926 jako prekurzoru. Mimoto se mohou vyskytnout specifické případy, u nichž podmínku amidační reakce vyžadují ochranu N<sup>15</sup>-aminoskupiny ve výchozím esteru obecného vzorce II nebo při nichž je taková ochrana výhodná.

30

V těchto případech je možno chránit aminoskupinu v uvedené poloze známými postupy, tak jak jsou uvedeny ve svrchu uvedených publikacích při ochraně prekurzoru A-40926 při výrobě esterů obecného vzorce II, v němž Y' znamená alkoxykarbonylovou skupinu o 1 až 4 atomech uhlíku v alkoxylové části.

35

Ochranné skupiny na atomu dusíku musí být stálé za použití reakčních podmínek, nesmí nepříznivě interferovat s průběhem amidační reakce a musí být snadno odštěpitelné a pak odstranitelné z reakčního prostředí po ukončení reakce, aniž by při tom došlo k porušení nově vytvořené amidové vazby a celé struktury získaných sloučenin, například zbytků cukrů.

40

Příkladem ochranných skupin na atomu dusíku, které je možno při provádění způsobu podle vynálezu použít k ochraně N<sup>15</sup>-primární aminoskupiny esterového výchozího materiálu a popřípadě k ochraně jakékoliv jiné aminoskupiny, popřípadě se vyskytující v aminu III, aniž by se tato skupina měla zúčastnit amidační reakce mohou být především reakční činidla, schopná vytvořit karbamáty a obsahující následující oxykarbonylové skupiny: 1,1-dimethylpropinyloxykarbonyl, terc.butyloxykarbonyl, vinyloxykarbonyl, cinnamyloxykarbonyl, benzyloxykarbonyl, p-nitrobenzyloxykarbonyl, 3,4-dimethoxy-6-nitrobenzyloxykarbonyl, 2,4-dichlorbenzyloxykarbonyl, 5-benzisoxazolymethyloxykarbonyl, 9-anthranilymethyloxykarbonyl, difenylmethyloxykarbonyl, isonikotinoyloxykarbonyl, difenylmethyloxykarbonyl, S-benzyloxykarbonyl a podobně.

50

Tyto ochranné skupiny je obecně možno odstranit po ukončení amidační reakce působením silné organické kyseliny, například kyseliny trifluoroctové (TFA) nebo zředěnými anorganickými kyselinami. Aby bylo možno omezit riziko hydrolýzy cukerných skupin, vázaných na jádro molekuly antibiotika je také možné odstranit různé ochranné skupiny za různých podmínek,

například katalytickou hydrogenací, například při použití paladia na aktivním uhlí jako katalyzátoru. Jinak je také možno odstranit svrchu uvedené ochranné skupiny na aminoskupině řízenou hydrolyzou v kyselém prostředí, například při nízkých teplotách a/nebo při použití krátké reakční doby.

5

V případě, že se amidační reakce provádí přes tvorbu meziprojektu "aktivovaného esteru" výchozí látky obecného vzorce II, vytváří se takový "aktivovaný ester" obvykle přímo v reakční směsi, je však také možno jej izolovat a pak uvést do reakce s aminem obecného vzorce III. Výchozí látka obecného vzorce II je s výhodou chráněna na N<sup>15</sup>-aminoskupině tak, aby nedošlo k interakci s aktivujícím esterem v této poloze. Uvedenou skupinu je možno chránit známým způsobem při použití známých metod, tak jak již bylo svrchu popsáno.

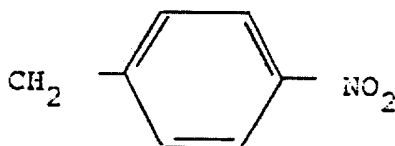
10

Tvorba "aktivovaných esterů" karboxylových kyselin je obecně popsána v publikaci Fieser a Fieser, Reagent for organic synthesis, John Wiley and Sons Inc., str. 129 – 130, 1967.

15

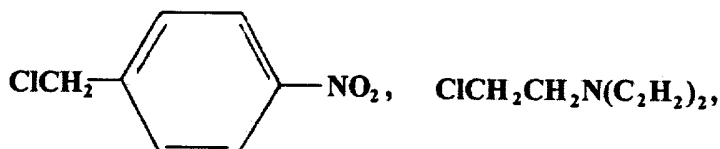
Příkladem reakčních činidel pro tvorbu aktivovaných esterů, která je možno s úspěchem použít při provádění způsobu podle vynálezu mohou být látky, které byly popsány v publikaci R. Schwyzer a další, Helv. Chim. Acta, 1955, 38, 69 – 70, jde například o ty esterové deriváty obecného vzorce II, v nichž X' znamená skupiny CH<sub>2</sub>CN, CH<sub>2</sub>COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, CH<sub>2</sub>(COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>COCH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>,

20



25

tyto sloučeniny je možno připravit z výchozích látek obecného vzorce II, v němž R'<sub>1</sub> znamená vhodnou ochrannou skupinu a X' znamená hydroxyskupinu reakcí se sloučeninami ClCH<sub>2</sub>CN, BrCH<sub>2</sub>COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, BrCH(COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>, ClCH<sub>2</sub>COCH<sub>3</sub>,



30

v rozpouštědle v přítomnosti látky, schopné vázat kyselinu.

Výhodným reakčním činidlem tohoto typu je chloracetonitril. Jako výhodné rozpouštědlo je možno použít rovněž chloracetonitril, dále dimethylformamid DMF nebo dimethylsulfoxid DMSO.

35

Obecně je možno uvést, že organickými rozpouštědly, vhodnými pro tvorbu aktivovaného esteru jsou ta inertní organická aprotická rozpouštědla, která neinterferují nepříznivě s průběhem reakce a jsou schopna alespoň částečně rozpouštět výchozí karboxylovou kyselinu.

40

Příkladem těchto inertních organických rozpouštědel mohou být organické amidy, ethery glykolů a polyolů, amidy kyseliny fosforečné, sulfoxidy a některé aromatické sloučeniny. Výhodnými příklady inertních organických rozpouštědel mohou být dimethylformamid, dimethoxyethan, amid kyseliny hexamethylfosforečné, dimethylsulfoxid, benzen, toluen a směsi těchto látek.

45

Zvláště výhodná rozpouštědla se volí ze skupiny acetonitril, dimethylsulfoxid a dimethylformamid. Tvorba aktivovaného esteru je obvykle uskutečněna v přítomnosti báze, která neinterferuje nepříznivě s průběhem reakce, například trialkylaminu, jako je triethylamin, dále je možno

použit také uhličitan nebo hydrogenuhličitan sodný nebo draselný. Obvykle se užívá báze v molárním přebytku 2 až 6, vztaženo na množství výchozí látky, s výhodou se užívá přibližně trojnásobný molární přebytek. Výhodnou bází je triethylamin.

5 Reakční činidlo pro tvorbu "aktivovaného esteru" se užívá ve velkém přebytku vzhledem k výchozí látce obecného vzorce II s karboxylovou skupinou na uhlíkovém atomu v poloze 63. Toto reakční činidlo se obvykle užívá v molárním přebytku 5 až 35, s výhodou 20 až 30. Reakční teplota se pohybuje v rozmezí 10 až 60, s výhodou 15 až 30 °C. Reakční doba se jako obvykle mění v závislosti na ostatních specifických reakčních podmínkách a pohybuje se obvykle  
10 v rozmezí 3 až 48 hodin.

Průběh reakce je možno sledovat pomocí HPLC nebo TLC tak, aby bylo možno zjistit okamžik ukončení reakce, v němž je možno začít reakční směs zpracovávat nebo izolovat požadovaný meziprodukt. Meziprodukt, kterým je "aktivovaný ester", je možno přímo použít v tom reakčním prostředí, v němž byl připraven, avšak obvykle se tento meziprodukt izoluje vysrážením pomocí  
15 látek, v nichž se nerozpouští nebo extrakcí rozpouštědlem a pak se užije bez dalšího čištění v následujícím reakčním stupni. V případě potřeby je však tento meziprodukt možno čistit chromatografií na sloupci, například rychlou chromatografií nebo chromatografií na sloupci v reversní fázi.

20 Takto získaný "aktivovaný ester" se pak uvádí do reakce s molárním přebytkem aminového derivátu obecného vzorce III v přítomnosti organického polárního rozpouštědla při teplotě v rozmezí 5 až 60, s výhodou v rozmezí 10 až 30 °C.

25 Organickým polárním rozpouštědlem může být v tomto případě polární protické rozpouštědlo nebo aprotické rozpouštědlo.

Výhodnými příklady organických polárních protických rozpouštědel mohou být alkanoly o 2 až 4 atomech uhlíku, například ethanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol a podobně, nebo také směsi těchto látek, s výhodou se rozpouštědlo užije v bezvodé formě.  
30

Výhodnými příklady organických polárních aprotických rozpouštědel mohou být N,N-dimethylformamid (DMF), amid kyseliny hexamethylfosforečné (HMPA), směsi těchto látek, dále 1,3-dimethyl-3,4,5,6-tetrahydro-2(1H)-pyrimidon (DMPU), dimethylsulfoxid (DMSO) nebo dimethoxyethan (DME).  
35

Reakci "aktivovaného esteru" se zvoleným aminem obecného vzorce III je možno provádět při teplotě v rozmezí 5 až 60 °C, výhodná teplota je obvykle v rozmezí 10 až 30, s výhodou 20 až 25 °C a výhodný molární poměr mezi aktivovaným esterem jako meziproduktem a aminem  
40 obecného vzorce III se pohybuje v rozmezí 1 : 5 až 1 : 30, s výhodou 1 : 10 až 1 : 20. Průběh reakce je možno jako obvykle sledovat pomocí TLC nebo HPLC.

V případě, že použitým aminem je polyamin obecného vzorce III, je možno chránit jednu nebo větší počet jeho aminoskupin, které se nemají účastnit tvorby amidové vazby. Také v těchto případech jsou vhodnými ochrannými skupinami ty skupiny, které byly svrchu uvedeny  
45 v případě N<sup>15</sup>-aminoskupiny.

Výsledný N<sup>63</sup>-chráněný amidový derivát je pak možno zbavit ochranných skupin za podmínek, které jsou obdobné podmínkám, svrchu uvedeným pro odstranění ochranné skupiny v poloze 15.  
50

Sloučeniny obecného vzorce I v němž Y znamená hydroxymethyl, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, M, X a Z mají význam, uvedený v obecném vzorci I, je možno připravit redukcí odpovídajícího derivátu obecného vzorce I, v němž R<sub>2</sub>, M, X a Z mají svrchu uvedený význam, Y znamená alkoxykarbonylovou skupinu o 1 až 4 atomech uhlíku v alkoxylové části a R<sub>1</sub> znamená vhodnou ochrannou skupinu na

N<sup>15</sup>-aminoskupině, působením hydroborátu alkalického kovu, s výhodou hydroborátu sodného nebo draselného nebo kyanhydroborátu sodného při teplotě 0 až 40 °C ve vodě nebo ve směsi vody a alkoholu. Odstranění ochranné skupiny na N<sup>15</sup>-aminoskupině je pak možno uskutečnit svrchu uvedeným způsobem.

5

Použití tohoto postupu je zvláště vhodné pro výrobu sloučenin obecného vzorce I, v němž Y znamená hydroxymethyl, X znamená hydroxyskupinu, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> a M mají význam, uvedený v obecném vzorci I a Z znamená atom vodíku. V tomto případě je výchozí materiál, který se redukuje za svrchu uvedených podmínek sloučenina obecného vzorce II, v němž Y' znamená alkoxykarbonyl o 1 až 4 atomech uhlíku v alkoxylové části, X' znamená hydroxyskupinu, R'<sub>2</sub> a M' mají stejný význam jako R<sub>2</sub> a M a R'<sub>1</sub> znamená vhodnou ochrannou skupinu na N<sup>15</sup>-aminoskupině. Specifická příprava výchozí látky byla popsána v mezinárodní patentové přihlášce č. PCT/EP92/00374 a provádí se podle obecného postupu pro výrobu esterů obecného vzorce II, tak jak byl svrchu popsán.

15

Směs vody a alkoholu, která se užívá při redukční reakci, tak jak byla svrchu uvedena, je směs vody a ve vodě rozpustného nebo s vodou částečně mísitelného nižšího alkanolu, přičemž objemový poměr vody a alkoholu se pohybuje v rozmezí 40 : 60 až 90 : 10, s výhodou v rozmezí 60 : 40 až 68 : 32, nejvýhodnější poměr je 65 : 35.

20

Přestože reakce v některých případech probíhá i v přítomnosti nižšího množství vody, například ve směsi vody a nižšího alkoholu v objemovém poměru 30 : 70 nebo 20 : 80, je obvykle reakční rychlost velmi nízká v případě, že objemový poměr vody a nižšího alkanolu klesne pod 40 : 60.

25

Výhodnými nižšími alkanoly jsou alkylalkoholy s přímým nebo rozvětveným řetězcem o 1 až 4 atomech uhlíku, nejvýhodnější je n-butanol, ethanol a methanol.

30

Někdy je možno přidat také malé množství polárního pomocného rozpouštědla, aby bylo možno v průběhu reakce úplně rozpustit výchozí látku, jde například o N,N-dimethylformamid, 1,3-dimethyl-3,4,5,6-tetrahydro-2(1H)-pyrimidon (DMPU), dimethylsulfoxid a podobně. Někdy se přidává také určité množství diethyletheru k zábraně pěnovosti.

35

Z hydroborátů alkalických kovů je nejvýhodnější hydroborát sodný. Vhodné množství hydroborátů alkalických kovů pro použití při reakci se může měnit v závislosti na použitém rozpouštědle a také na reakční teplotě, je však vhodné použít velký přebytek hydroborátu alkalického kovu, vztaženo na stechiometricky nezbytné množství tak, aby pH reakční směsi bylo neutrální nebo alkalické, s výhodou v rozmezí pH 7 až 10. Molární poměr mezi hydroborátem alkalického kovu a výchozím antibiotikem se obvykle pohybuje v rozmezí 50 až 300.

40

Reakční teplota se může měnit v širokém rozmezí v závislosti na specifických výchozích látkách a na reakčních podmínkách. Obvykle je výhodné reakci provádět při teplotě 0 až 40 °C, zvláště výhodná je teplota místnosti.

45

Také reakční doba se může podstatně měnit v závislosti na ostatních parametrech reakce a je nutno ji pečlivě řídit. Reakce je obvykle ukončena v průběhu 1 až 4 hodin. V případě, že reakce probíhá déle než 4 hodiny, může dojít k výskytu nežádoucích vedlejších reakcí, které také mohou vyvolat rozštěpení některých peptidových vazeb ve struktuře molekuly.

50

Ve všech případech je možno průběh reakce sledovat při použití TLC nebo s výhodou při použití HPLC známým způsobem. Na základě výsledků těchto zkoušek pak může odborník vyhodnotit průběh reakce a také rozhodnout, kdy má být reakce zastavena a kdy může být reakční směs zpracovávána některým ze známých postupů, které zahrnují například extrakci pomocí

rozpouštědla, vysrážení přidáním látek, v nichž se výsledný produkt nerozpouští a podobně, pak je v případě potřeby možno provést další dělení a čištění, například chromatografií na sloupci.

Po ukončení reakce je možno přebytek hydroborátu alkalického kovu odstranit přidáním příslušného množství kyseliny, například alkylkarboxylové organické kyseliny o 1 až 4 atomech uhlíku v alkylové části, alkylsulfonové kyseliny o 1 až 6 atomech uhlíku v alkylové části, arylsulfonové kyseliny a podobně v roztoku v polárním protickém rozpouštědle, například alkylalkoholu o 1 až 4 atomech uhlíku.

Sloučeniny obecného vzorce I, v němž Y znamená hydroxymethyl,  $R_1$ ,  $R_2$  a M mají význam, uvedený ve vzorci I, X znamená zbytek obecného vzorce



v němž  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $alk_1$ ,  $alk_2$ ,  $alk_3$ , p, q a W mají význam, uvedený ve vzorci I a Z znamená atom vodíku,

je možno také připravit svrchu uvedeným amidačním postupem, tak, že se uvede do reakce odpovídající sloučenina obecného vzorce I, v němž Y znamená hydroxymethyl, X znamená hydroxyskupinu,  $R_1$ ,  $R_2$  a M mají svrchu uvedený význam a Z znamená atom vodíku s aminem obecného vzorce I, tak jak bylo uvedeno svrchu.

Také v tomto případě je možno amidační reakci uskutečnit při použití vhodného kondenzačního činidla nebo přes tvorbu meziprojektu typu "aktivovaného esteru", tak jak bylo uvedeno svrchu při výrobě sloučenin obecného vzorce I, v němž Y znamená alkoxykarbonyl o 1 až 4 atomech uhlíku v alkoxylové části.

Obvykle vznikají při amidaci derivátů obecného vzorce I, v němž Y znamená hydroxymethyl, X znamená hydroxyskupinu a Z znamená atom vodíku při použití PyBOP jako kondenzačního činidla výsledné produkty obecného vzorce I, v němž Z znamená atom vodíku, i když se kondenzační činidlo PyBOP užije ve velkém molárním přebytku, vztaženo na výchozí karboxylovou kyselinu. V případě, že se amidační reakce provádí přes tvorbu "aktivovaného esteru" sloučeniny obecného vzorce I, v němž X znamená hydroxyskupinu, Y znamená hydroxymethyl a Z znamená atom vodíku, je výhodné chránit  $N^{15}$ -aminoskupinu této sloučeniny pomocí svrchu uvedených ochranných skupin.

Další postup, jímž je možno získat sloučeniny obecného vzorce I, v němž Y znamená alkoxykarbonylovou skupinu o 1 až 4 atomech uhlíku v alkoxylové části nebo hydroxymethylovou skupinu,  $R_1$ ,  $R_2$ , M a Z mají význam, uvedený v obecném vzorci I, X znamená zbytek obecného vzorce

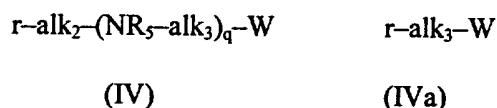


kde  $R_3$ ,  $R_4$  a  $R_5$  nezávisle znamenají atom vodíku nebo alkylový zbytek o 1 až 4 atomech uhlíku,  $alk_1$ ,  $alk_2$ ,  $alk_3$  a W mají význam, uvedený v obecném vzorci I, p = 1 a q = 1 nebo 0, spočívá v tom, že se uvede do reakce  $N^{15}$ -chráněný derivát  $N^{63}$ -amidu (v průběhu popisu znamená údaj " $N^{63}$ " atom dusíku karboxyamidové skupiny, obsahující atom uhlíku molekuly A-40926, identifikovaný číslem 63) obecného vzorce I, v němž Y,  $R_2$ , M a Z mají svrchu uvedený význam a X znamená zbytek obecného vzorce

$-NR_3-alk_1-NHR_4$ , kde  $R_3$ ,  $R_4$  a  $alk_1$  mají svrchu uvedený význam, nebo

$-NR_3-alk_1-NR_4-alk_2-NHR_5$ , kde  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $alk_1$  a  $alk_2$  mají svrchu uvedený význam,

s reakční složkou, kterou je amin obecného vzorce IV nebo IVa



kde  $R_5$ ,  $\text{alk}_2$ ,  $\text{alk}_3$  a  $W$  mají svrchu uvedený význam,  $q$  znamená celé číslo 0 nebo 1 a  $r$  znamená atom halogenu, methanosulfonylovou nebo tosylovou skupinu, v inertním rozpouštědle v přítomnosti látky, schopné vázat kyselinu.

Svrchu uvedený  $N^{15}$ -chráněný derivát  $N^{63}$ -amidu je možno připravit při použití obecného postupu pro výrobu sloučenin obecného vzorce I. Odstranění ochranné skupiny z  $N^{15}$ -aminoskupiny, je možno uskutečnit za svrchu uvedených podmínek.

Také v případě svrchu uvedené alkylační metody může být užitečné nebo nutné chránit aminoskupinu nebo aminoskupiny, odlišné od  $N^{15}$ -aminoskupiny  $N^{63}$ -amidu obecného vzorce I a/nebo aminoskupiny v reakčních složkách obecného vzorce IV nebo IVa, které se neúčastní alkylační reakce. Výsledné  $N^{63}$ -chráněné amidy je pak možno zbavit ochranných skupin za svrchu uvedených podmínek.

Při všech svrchu uvedených reakcích je možno použít ochranné skupiny, které již byly svrchu popsány. Zvláštní význam však má odstranění ochranných skupin v derivátech obecného vzorce I, v nichž  $Y$  znamená hydroxymethylovou skupinu. Pro tyto sloučeniny je v případě, že je ochranná skupina v poloze 15 odstranitelná v kyselém prostředí, je odstranění této skupiny kritické vzhledem k poměrně rychlému kompetitivnímu přesunu odpovídající 56-acylglukosaminové skupiny, například při působení bezvodé kyseliny trifluoroctové (TFA). Při opatrném provádění je však možno tyto nežádoucí vedlejší reakce omezit na minimum. Například v případě, že použitou ochrannou skupinou je terc.butyloxykarbonylová skupina (t-BOC), je možno použít následujících podmínek: nejprve se působí 1 minutu bezvodou TFA při teplotě místnosti nebo 10 až 30 minut při teplotě 0 až 5 °C, načež se reakční produkt rychle vysráží přidáním diethyletheru nebo směsi methanolu a diethyletheru při teplotě 0 až 5 °C. Na druhé straně v případě sloučenin obecného vzorce I, v němž  $Y$  znamená karboxylovou skupinu nebo methoxykarbonylovou skupinu, bylo pozorováno, že skupina kyseliny 56-acylamino-glukuranové je k působení TFA daleko stářejší. Tvorbu odpovídajícího deglukuronylpseudo-aglykonu je možno pozorovat až po jedné hodině reakce. V těchto případech se však odstranění ochranné skupiny t-BOC uskuteční v průběhu 30 minut.

Další vhodný postup pro odstranění ochranné skupiny t-BOC bez podstatného ovlivnění ostatních částí molekuly spočívá v tom, že se působí bezvodou TFA v dichlormethanu po dobu 1 až 2 hodiny při teplotě 0 až 10 °C, načež se reakční produkt vysráží přidáním rozpouštědla, v němž se produkt nerozpouští.

Sloučeniny obecného vzorce I, v němž  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $M$ ,  $X$  a  $Z$  mají význam, uvedený ve vzorci I a  $Y$  znamená karboxylovou skupinu, je možno připravit z odpovídajících sloučenin obecného vzorce I, v němž  $Y$  znamená alkoxykarbonylovou skupinu o 1 až 4 atomech uhlíku v alkoxylové části, s výhodou methoxykarbonylovou skupinu a ostatní symboly mají svrchu uvedený význam, působením vodného roztoku hydroxidu alkalického kovu, například hydroxidu sodného nebo draselného při teplotě 0 až 30 °C, vyšších teplot je nutno se vyvarovat, aby nedošlo k epimerisaci na uhlíkovém atomu v poloze 3 molekuly, postup se provádí v inertním organickém rozpouštědle, například v nižším dialkyletheru, ethylenglykolu nebo tetrahydrofuranu.

Sloučeniny obecného vzorce I, v němž  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $M$ ,  $X$  a  $Z$  mají význam, uvedený ve vzorci I a  $Y$  znamená aminokarbonyl, alkylaminokarbonyl nebo dialkylaminokarbonyl, v nichž alkylová část obsahuje 1 až 4 atomy uhlíku a je popřípadě dále substituována substituentem ze skupiny

hydroxyskupina, aminoskupina, alkylaminoskupina nebo dialkylaminoskupina vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v každé alkylové části je možno připravit některým z následujících postupů:

- 5 i) Příprava derivátů, v nichž symbol Y a skupina COX v poloze C<sup>63</sup> znamenají tutěž alkylaminokarbonylovou nebo dialkylaminokarbonylovou skupinu o 1 až 4 atomech uhlíku v každé alkylové části, přičemž alkylová část může nést substituent ze skupiny alkylaminoskupina nebo dialkylaminoskupina vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v alkylové části nebo aminoskupina:
- 10 (a) amidace komplexu antibiotika A-40926, jeho demennosylderivátu nebo jeho faktoru, to znamená sloučeniny vzorce II, v němž X' znamená hydroxyskupinu, Y' znamená karboxylovou skupinu a R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> a M' mají týž význam jako R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> a M svrchu, působením velkého přebytku příslušného aminu obecného vzorce III, v němž symboly R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, alk<sub>1</sub>, alk<sub>2</sub>, alk<sub>3</sub>, p, q a W mají význam, který je v souladu se svrchu uvedeným vymezením karboxyamidových zbytků ve významu Y a COX. Tato amidace se provádí za svrchu uvedených podmínek.
- 15
- ii) Příprava derivátů, v nichž symbol Y a skupina COX v poloze 6<sup>3</sup> znamenají odlišné karboxamidové zbytky, přičemž význam Y se volí ze skupiny aminokarbonyl, alkylaminokarbonyl nebo dialkylaminokarbonyl s alkylovou skupinou vždy o 1 až 4 atomech uhlíku, popřípadě substituovanou substituentem ze skupiny hydroxyskupina, aminoskupina, alkylaminoskupina nebo dialkylaminoskupina, vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v každé alkylové části a X znamená zbytek ve významu, uvedeném ve vzorci I:
- 20

Metoda A: amidace odpovídající sloučeniny obecného vzorce I, v němž R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, M a Z mají význam, uvedený v obecném vzorci I a X znamená zbytek obecného vzorce -NR<sub>3</sub>-alk<sub>1</sub>-(NR<sub>4</sub>-alk<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-(NR<sub>5</sub>-alk<sub>3</sub>)<sub>q</sub>-W, v němž všechny symboly mají význam, uvedený v obecném vzorci I a Y znamená karboxylovou skupinu, reakcí s příslušným aminem za vzniku svrchu definovaného karboxamidového zbytku Y v přítomnosti kondenzačního činidla, například PyBOP nebo DPPA za svrchu uvedených podmínek.

25

Metoda B:

- (a) Tataž výchozí látka, jaká byla užita v metodě A se chrání na N<sup>15</sup>-aminoskupině, například zavedením ochranné skupiny t-BOC nebo CBz,
- 35 (b) vytvoří se "aktivovaný ester" na karboxyskupině v poloze 6<sup>B</sup>, například reakcí s chloracetonitrilem,
- (c) skupina "aktivovaného esteru" v uvedené látce se uvede do reakce s příslušným aminem za vzniku svrchu uvedeného karboxyamidového zbytku ve významu Y za svrchu popsaných podmínek, načež se
- 40 (d) popřípadě odstraní N<sup>15</sup>-ochranná skupina svrchu popsanými postupy, například působením kyseliny nebo hydrogolyzou.

Sloučeniny obecného vzorce I, v němž M znamená atom vodíku je možno snadno připravit svrchu uvedeným způsobem při použití odpovídajících výchozích látek obecného vzorce II, v němž M' znamená atom vodíku.

45

Další možný postup pro výrobu sloučenin obecného vzorce I, v němž M znamená atom vodíku spočívá v převedení sloučeniny obecného vzorce I, v němž M znamená alfa-D-mannopyranosyl nebo 6-O-acetyl-alfa-D-mannopyranosyl na odpovídající sloučeninu, v níž M znamená atom vodíku selektivní hydrolyzou v kyselém prostředí za podmínek, které byly popsány v EP 240 609.

50

Jak již bylo popsáno, je možno sloučeniny obecného vzorce I získat jako jednotlivé sloučeniny, odpovídající jednotlivým faktorům prekursorového antibiotika A-40926 nebo jako směsi

v jakýchkoliv poměrech. Vzhledem k tomu, že ve většině případů je biologická účinnost směsi velmi podobná účinnosti jednotlivých faktorů, není specificky důležité oddělovat od sebe jednotlivé složky v případě, že se získá směs. Avšak v případě, že jsou požadovány čisté faktory obecného vzorce I, je možno je ze směsi oddělit chromatografií na sloupci v reversní fázi způsobem podle EP 177 882. Jednotlivé faktory je možno připravit také v případě, že se jako výchozí látky užijí sloučeniny obecného vzorce II, které odpovídají jednotlivým faktorům komplexu antibiotika A-40926.

Za popsaných obecných postupů a reakčních podmínek může být užitečné použít prekurzorový komplex, který obsahuje některý z jednotlivých faktorů, například faktor B<sub>0</sub> ve větším podílu ve srovnání se zbývajícími složkami směsi, například v množství 60 % při stanovení pomocí HPLC. Pak budou získány sloučeniny obecného vzorce I, které budou tvořeny směsí, v níž bude rovněž převažovat složka, odpovídající tomu faktoru, který převažoval v prekurzorovém komplexu antibiotika A-40926, který byl použit jako výchozí materiál.

Způsob výroby komplexu A-40926, obohaceného o faktory A a/nebo B<sub>0</sub> nebo PA a/nebo PB byl popsán například v EP 259 781.

Sloučeniny podle vynálezu obsahují bazické skupiny, které mohou tvořit soli s organickými a anorganickými kyselinami, soli je možno získat běžným způsobem.

Jako vhodné adiční soli sloučenin podle vynálezu s kyselinami je možno uvést takové soli, které je možno vytvořit běžnou reakcí těchto látek s organickými nebo anorganickými kyselinami, jde například o soli s kyselinou chlorovodíkovou, bromovodíkovou, sírovou, fosforečnou, octovou, trifluorooctovou, trichlorooctovou, jantarovou, citronovou, askorbovou, mléčnou, maleinovou, fumarovou, palmitovou, cholovou, pamoovou, mucinovou, glutamovou, kafrovou, glutarovou, glykolovou, ftalovou, vinnou, laurovou, stearovou, salicylovou, methansulfonovou, benzen-sulfonovou, sorbovou, pikrovou, benzoovou, skořicovou a podobně.

Sloučeniny obecného vzorce I, v němž X znamená hydroxyskupinu a Y znamená hydroxymethylovou skupinu a sloučeniny, v nichž Y znamená karboxylovou skupinu mají také kyselou funkci a mohou tedy tvořit soli s organickými i anorganickými bázemi.

Jako příklady bází, které mohou vytvářet soli se sloučeninami podle vynálezu, obsahujícími kyselou funkci je možno uvést hydroxid sodný, draselný, vápenatý, hořečnatý nebo barnatý, dále amoniak a alifatické, alicyklické a aromatické organické aminy, jako methylamin, dimethylamin, triethylamin, ethanolamin a pikolin.

Volné látky podle vynálezu je možno převést na odpovídající adiční soli a obráceně, adiční soli sloučenin podle vynálezu je možno převést na volnou formu postupy, které jsou v oboru známy a běžně se provádějí, takže je není zapotřebí specificky popisovat.

Například sloučeniny obecného vzorce I je možno převést na některou ze solí působením kyseliny nebo zásady tak, že se volná forma rozpustí nebo uvede do suspenze ve vodném rozpouštědle a pak se přidá malý molární přebytek zvolené kyseliny nebo báze. Výsledný roztok nebo výsledná suspenze se pak lyofilizuje, čímž je možno požadovanou sůl izolovat.

V případě, že výsledná sůl je nerozpustná v rozpouštědle, v němž je volná látka rozpustná, je možno vzniklou sůl izolovat filtrací z roztoku volné formy po přidání stechiometrického množství nebo malého molárního přebytku zvolené kyseliny nebo báze.

Volnou formu je možno připravit z odpovídající soli, která se rozpustí ve vodném roztoku, který se pak neutralizuje, čímž se uvolní volná forma. Tuto volnou formu je pak možno izolovat

například extrakcí organickým rozpouštědlem nebo je možno ji převést na jinou adiční sůl přidáním zvolené kyseliny nebo báze a zpracování reakční směsi svrchu uvedeným způsobem.

5 V případě, že je po neutralizaci nutno odstranit sůl, je možno použít některý z běžných postupů například chromatografii na sloupci s použitím polydextranové pryskyřice s řízenou velikostí pórů, jako je Sephadex LH 20 nebo silanizovaný silikagel. Po vymytí nežádoucích solí pomocí vodného roztoku je možno ze sloupci vymýt výsledný produkt při použití lineárního gradientu nebo postupného gradientu nebo směsi vody a polárního nebo nepolárního organického rozpouštědla, například při použití směsi acetonitrilu a vody od poměru 50 : 50 až do 100 %  
10 acetonitrilu.

Jak je obecně známo, je možno použít tvorbu solí s farmaceuticky přijatelnými kyselinami nebo bázemi nebo s dalšími kyselinami nebo bázemi, jako běžný čisticí postup. Po tvorbě soli a po její izolaci je možno sůl sloučeniny obecného vzorce I opět převést na volnou formu nebo na sůl,  
15 přijatelnou z farmaceutického hlediska.



Vzhledem k podobnosti vlastností sloučenin obecného vzorce I a jejich solí platí údaje o biologické účinnosti sloučenin obecného vzorce I v průběhu přihlášky také pro jejich soli, přijatelné z farmaceutického hlediska.  
20

V následující tabulce I jsou shrnuty údaje o řadě sloučenin podle vynálezu.

Tabulka I

slouč. č.	identifi- kační kód	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	M	Y	X	Z
1	RA	H	(C <sub>9</sub> -C <sub>12</sub> )	α-DMP	CH <sub>2</sub> OH	OH	H
2	MA-A-1/B <sub>0</sub>	H	iC <sub>10</sub>	α-DMP	COOCH <sub>3</sub>	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
3	RA-A-1/B <sub>0</sub>	H	iC <sub>10</sub>	α-DMP	CH <sub>2</sub> OH	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
4	MA-A-2/B <sub>0</sub>	H	iC <sub>10</sub>	α-DMP	COOCH <sub>3</sub>	NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -[NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> ] <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>	H
5	MA-A-3/B <sub>0</sub>	H	iC <sub>10</sub>	α-DMP	COOCH <sub>3</sub>	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -N[(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> ] <sub>2</sub>	H
6	MA-A-1	H	(C <sub>9</sub> -C <sub>12</sub> )	α-DMP	COOCH <sub>3</sub>	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
7	PyMA-A-1	H	(C <sub>9</sub> -C <sub>12</sub> )	α-DMP	COOCH <sub>3</sub>	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	P <sup>⊕</sup> (NC <sub>4</sub> H <sub>8</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub> COO <sup>⊖</sup>
8	RA-A-1	H	(C <sub>9</sub> -C <sub>12</sub> )	α-DMP	CH <sub>2</sub> OH	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
9	RA-A-2	H	(C <sub>9</sub> -C <sub>12</sub> )	α-DMP	CH <sub>2</sub> OH	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -[NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> ] <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>	H
10	RA-A-3	H	(C <sub>9</sub> -C <sub>12</sub> )	α-DMP	CH <sub>2</sub> OH	NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -N[(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> ] <sub>2</sub>	H
11	A-A-1	H	(C <sub>9</sub> -C <sub>12</sub> )	α-DMP	COOH	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
12	PyA-A-1	H	(C <sub>9</sub> -C <sub>12</sub> )	α-DMP	COO <sup>⊖</sup>	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	P <sup>⊕</sup> (NC <sub>4</sub> H <sub>8</sub> ) <sub>3</sub>
13	A-A-3/B <sub>0</sub>	H	iC <sub>10</sub>	α-DMP	COOH	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -N[(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> ] <sub>2</sub>	H
14	ABA-A-1	H	(C <sub>9</sub> -C <sub>12</sub> )	α-DMP	CONHCH <sub>3</sub>	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H

Tabulka I - pokračování

slouč. č.	identifi- kační kód	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	M	Y	X	Z
15	ADA-A-1	H	(C <sub>9</sub> -C <sub>12</sub> )	α-DMP	CONH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	B
16	PyRA-A-1	H	(C <sub>9</sub> -C <sub>12</sub> )	α-DMP	CH <sub>2</sub> OH	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	P <sup>⊖</sup> (NC <sub>4</sub> H <sub>8</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub> COO <sup>⊖</sup>
17	A-A-2	H	(C <sub>9</sub> -C <sub>12</sub> )	α-DMP	COOH	NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -[NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> ] <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>	H
18	AA-A-1	H	(C <sub>9</sub> -C <sub>12</sub> )	α-DMP	CONH <sub>2</sub>	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
19	ACA-A-1	H	(C <sub>9</sub> -C <sub>12</sub> )	α-DMP	CON(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
20	AA-A-2/B <sub>0</sub>	H	iC <sub>10</sub>	α-DMP	CONH <sub>2</sub>	NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -[NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> ] <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>	H
21	AA-A-3	H	(C <sub>9</sub> -C <sub>12</sub> )	α-DMP	CONH <sub>2</sub>	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -N[(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> ] <sub>2</sub>	H
22	PyA-A-3	H	(C <sub>9</sub> -C <sub>12</sub> )	α-DMP	COOH	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -N[(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> ] <sub>2</sub>	P <sup>⊖</sup> (NC <sub>4</sub> H <sub>8</sub> ) <sub>3</sub> Cl <sup>⊖</sup>
23	PyAA-A-1	H	(C <sub>9</sub> -C <sub>12</sub> )	α-DMP	CONH <sub>2</sub>	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	P <sup>⊖</sup> (NC <sub>4</sub> H <sub>8</sub> ) <sub>3</sub> Cl <sup>⊖</sup>
24	RA-A-4	H	(C <sub>9</sub> -C <sub>12</sub> )	α-DMP	CH <sub>2</sub> OH		H
25	MA-A-4	H	(C <sub>9</sub> -C <sub>12</sub> )	α-DMP	COOCH <sub>3</sub>		H
26	DM-RA-A-1	H	(C <sub>9</sub> -C <sub>12</sub> )	H	CH <sub>2</sub> OH	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H

Tabulka I - pokračování

slouč. č.	identi- fi- kační kód	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	M	Y	X	Z
27	DM-RA-A-1/B <sub>0</sub>	H	iC <sub>10</sub>	H	CH <sub>2</sub> OH	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
28	DM-MA-A-1	H	(C <sub>9</sub> -C <sub>12</sub> )	H	COOCH <sub>3</sub>	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
29	RA-A-1/B	H	iC <sub>10</sub> /nC <sub>11</sub>	α-DMP	CH <sub>2</sub> OH	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
30	MA-A-1/B	H	iC <sub>10</sub> /nC <sub>11</sub>	α-DMP	COOCH <sub>3</sub>	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
31	RA-A-1/A	H	nC <sub>10</sub>	α-DMP	CH <sub>2</sub> OH	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
32	MA-A-1/A	H	nC <sub>10</sub>	α-DMP	COOCH <sub>3</sub>	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
33	RA-A-1/B <sub>1</sub>	H	nC <sub>11</sub>	α-DMP	CH <sub>2</sub> OH	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
34	MA-A-1/B <sub>1</sub>	H	nC <sub>11</sub>	α-DMP	COOCH <sub>3</sub>	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H

(NC<sub>4</sub>H<sub>8</sub>)<sub>3</sub> = (pyrolidino)<sub>3</sub>

alfa-DMP = alfa-D-mannopyranosyl

iC<sub>10</sub>- = 9-methyldecyl (odpovídá faktoru B<sub>0</sub> A-40926)

nC<sub>10</sub> = n-decyl (odpovídá faktoru A komplexu A 40926)

nC<sub>11</sub> = n-undecyl (odpovídá faktoru B<sub>1</sub> A-40926)

iC<sub>10</sub>/nC<sub>11</sub> = 9-methyldecyl a n-undecyl (odpovídá faktoru B A-40926)

(C<sub>9</sub>-C<sub>12</sub>) = alkyl o 9 až 12 atomech uhlíku (odpovídá všem faktorům A-40926)

Deriváty antibiotika A-40926 podle vynálezu jsou účinné zejména proti gram pozitivním bakteriím.

- 5 Sloučeniny podle vynálezu mají zejména překvapující účinnosti proti některým kmenům Enterokoků a Staphylokoků, které jsou odolné proti glykopeptidům.

- 10 Antimikrobiální účinnost, vyjádřená jako minimální inhibiční koncentrace (MIC), byla pro deriváty antibiotika A-40926 obecného vzorce I proti vybraným kmenům gram-positivních bakterií stanovena ve srovnání s teicoplaninem a s účinností komplexu antibiotika A-40926. Bylo užito běžného ředění v Müller-Hintonově živném prostředí, obsahujícím 0,01 g sérového albuminu skotu, frakce V-Sigma ve 100 ml živného prostředí. Konečné ředění bylo  $10^5$  cfu/ml, MIC byla stanovena jako nejnižší koncentrace v mikrogramech/ml, při jejímž použití nebylo  
15 možno pozorovat po 18 až 24 hodinách inkubace při teplotě 37 °C žádné viditelné známky růstu mikroorganismu.

V následující tabulce II je shrnuto spektrum antimikrobiální účinnosti pro celou řadu sloučenin podle vynálezu.

Tabulka II

L č.(1)	organismus kmen	MIC ( /ug/ml)							
		TEICO- PLANIN*	A/40926 komplex*	slouč. 1 RA	slouč. 2 MA-A-1/B0	slouč. 3 RA-A-1/B0	slouč. 4 MA-A-2/B0		
165	<u>Staph. aureus</u>	0.25	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.25	
561	<u>Staph. aureus</u>	8	8	4	1	0.13	0.13	0.5	
147	<u>Staph. epidermidis</u>	4	4	4	0.25	0.13	0.13	0.13	
533	<u>Staph. epidermidis</u>	8	8	4	0.13	0.06	0.06	0.25	
602	<u>Staph. haemolyticus</u>	32	16	8	0.5	0.13	0.13	0.25	
49	<u>Strep. pyogenes</u>	0.13	0.13	0.13	0.13	0.06	0.06	0.13	
44	<u>Strep. pneumoniae</u>	0.06	0.06	0.03	0.03	0.01	0.01	0.13	
149	<u>Entero. faecalis</u>	0.13	0.13	0.13	0.13	0.06	0.06	0.25	
562	<u>Entero. faecalis</u>	> 128	64	16	8	8	8	16	
997	<u>Neisseria gonorrh.</u>	32	1	2	8	16	16	32	
47	<u>Esch. coli</u>	> 128	> 128	128	> 128	> 128	> 128	> 128	
4	<u>Pseudomonas aerug.</u>	> 128	128	> 128	128	128	128	64	
79	<u>Proteus vulgaris</u>	> 128	64	> 128	32	128	128	64	

(1) kódové číslo kmene ve sbírce mikroorganismů

\* srovnávací sloučenina

Tabulka II - pokračování

L.č.(1)	organismus kmen	MIC ( ,ug/ml)									
		slouč. 5 MA-A-3/B0	slouč. 6 MA-A-1	slouč. 7 PyMA-A-1	slouč. 8 RA-A-1	slouč. 9 RA-A-2	slouč. 10 RA-A-3				
165	<u>Staph. aureus</u>	0.06	0.13	1	0.13	0.06	0.06				
561	<u>Staph. aureus</u>	0.5	1	16	0.13	0.25	0.13				
147	<u>Staph. epidermidis</u>	0.13	0.25	8	0.13	0.13	0.13				
533	<u>Staph. epidermidis</u>	0.13	0.13	4	0.06	0.25	0.25				
602	<u>Staph. haemolyticus</u>	0.06	0.5	8	0.13	0.13	0.13				
49	<u>Strep. pyogenes</u>	0.03	0.13	0.13	0.06	0.06	0.06				
44	<u>Strep. pneumoniae</u>	0.03	0.03	0.06	0.01	0.06	0.06				
149	<u>Enter. faecalis</u>	0.13	0.13	0.5	0.13	0.13	0.13				
562	<u>Enter. faecalis</u>	8	8	8	8	8	8				
997	<u>Neisseria gonorrh.</u>	32	8	>128	16	64	32				
47	<u>Esch. coli</u>	>128	>128	>128	>128	>128	>128				
4	<u>Pseudomonas aerug.</u>	64	128	>128	128	64	16				
79	<u>Proteus vulgaris</u>	64	32	>128	>128	>128	>128				

(1) kódové číslo kmene ve sbírce mikroorganismů

Tabulka II - pokračování

L č. (1)	organismus kmen	MIC (1 µg/ml)					
		slouč. 11 A-A-1	slouč. 12 PYA-A-1	slouč. 13 A-A-3/B0	slouč. 14 ABA-A-1	slouč. 15 ADA-A-1	
165	<u>Staph. aureus</u>	0.13	0.25	0.06	0.13	0.13	
561	<u>Staph. aureus</u>	0.5	4	0.13	16	1	
147	<u>Staph. epidermidis</u>	0.25	2	0.13	8	0.13	
533	<u>Staph. epidermidis</u>	0.13	1	0.06	32	0.13	
602	<u>Staph. haemolyticus</u>	0.13	2	0.06	16	0.25	
49	<u>Strep. pyogenes</u>	0.03	0.06	0.03	0.06	0.06	
44	<u>Strep. pneumoniae</u>	0.06	0.06	0.03	0.01	0.06	
149	<u>Enter. faecalis</u>	0.13	0.5	0.13	0.13	0.06	
562	<u>Enter. faecalis</u>	16	4	16	8	8	
997	<u>Neisseria gonorrh.</u>	1	128	8	>128	16	
47	<u>Esch. coli</u>	>128	>128	>128	>128	>128	
4	<u>Pseudomonas aerug.</u>	>128	>128	>128	>128	>128	
79	<u>Proteus vulgaris</u>	>128	>128	>128	>128	>128	

(1) kódové číslo kmene ve sbírce mikroorganismů

Tabulka II - pokračování

L. č. (1)	organismus kmen	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )			
		slouč. 16 PYRA-A-1	slouč. 24 RA-A-4	slouč. 25 MA-A-4	
165	<u>Staph. aureus</u>	1	0.06	0.13	
561	<u>Staph. aureus</u>	16	2	4	
147	<u>Staph. epidermidis</u>	4	0.25	1	
533	<u>Staph. epidermidis</u>	4	0.13	2	
602	<u>Staph. haemolyticus</u>	8	0.5	2	
49	<u>Strep. pyogenes</u>	0.06	0.03	0.06	
44	<u>Strep. pneumoniae</u>	0.06	0.03	0.06	
149	<u>Enter. faecalis</u>	1	0.06	0.13	
562	<u>Enter. faecalis</u>	8	8	8	
997	<u>Neisseria gonorrh.</u>	>128	16	16	
47	<u>Esch. coli</u>	>128	>128	>128	
4	<u>Pseudomonas aerug.</u>	>128	>128	>128	
79	<u>Proteus vulgaris</u>	>128	>128	>128	

(1) kódové číslo kmene ve sbírce mikroorganismů

5 V následující tabulce III jsou uvedeny údaje o účinnosti in vitro pro některé reprezentativní sloučeniny podle vynálezu, pro srovnání je uvedena účinnost teicoplaninu a vancomycinu. Byla stanovena účinnost in vitro proti kmenům Enterokoků, které jsou při běžných léčebných postupech vysoce odolné proti působení chemoterapeutických látek ze skupiny glykopeptidů.

Tabulka III

MIC (µg/ml)

organismus kmen (1)	sloučenina 6 MA-A-1	sloučenina 8 RA-A-1	TEICOPLANIN	VANCOMYCIN
<u>Enterococcus faecalis</u>				
L 560	32	32	>128	>128
L 562	8	8	>128	>128
L 563	16	16	>128	>128
<u>Enterococcus faecium</u>				
L 564	8	8	>128	>128
L 565	8	8	>128	>128
L 569	16	16	>128	>128
L 1650	64	32	>128	>128
L 1652	8	8	>128	>128
L 1666	32	32	>128	>128
L 1680	8	8	>128	>128
L 1681	8	8	>128	>128
L 1683	4	8	>128	>128
L 1686	4	4	>128	>128

(1) kódové číslo kmene ve sbírce mikroorganismů

- 5 V následující tabulce IV jsou shrnuty výsledky pro reprezentativní sloučeniny podle vynálezu při použití těchto látek k léčbě experimentální streptokokové septikemie u myší.

Uvedené pokusy byly prováděny způsobem, který byl popsán v publikaci V. Arioli a další, Journal of Antibiotics, 29, 511, 1976.

Tabulka IV

sloučenina č.	infekční organismus Strep. Pyogenes C 203 ED <sub>50</sub> při sc podání
Teicoplanin	0.16
A 40926 komplex	0.35
slouč. 1 RA	0.08
slouč. 2 MA-A-1/B <sub>0</sub>	0.03
slouč. 3 RA-A-A/B <sub>0</sub>	0.03
slouč. 4 MA-A-2/B <sub>0</sub>	0.13
slouč. 5 MA-A-3/B <sub>0</sub>	0.04
slouč. 6 MA-A-1	0.03
slouč. 7 PyMA-A-1	0.11
slouč. 8 RA-A-1	0.03
slouč. 11 A-A-1	0.03
slouč. 12 PyA-A-1	0.04
slouč. 13 A-A-3/B <sub>0</sub>	0.05
slouč. 15 ADA-A-1	0.05
slouč. 16 PyRA-A-1	0.06

5 Svrchu uvedené údaje prokazují, že sloučeniny podle vynálezu, přesto že jsou obecně o něco méně účinné proti *Neisseria gonorrhoeae* než prekurzor A-40926, mají proti klinicky izolovaným kmenům *Staphylokoků* a *Entrokoků* ve srovnání se srovnávacími látkami lepší účinnost. Zejména jsou tyto sloučeniny

- 10 a) značně účinnější in vitro než teicoplanin a A-40926 proti *Staphylokokům*, které jsou odolné nebo částečně odolné proti glykopeptidům a jejich meziproduktům, zvláště jde o kmeny, negativní na koagulázu a odolné proti methicillinu,
- 15 b) účinné in vitro proti *Enterokokům*, vysoce odolným proti glykopeptidům, které jsou vysoce odolné proti teicoplaninu a vancomycinu a částečně odolné proti A-40926, kde je MIC  $\geq$  64  $\mu$ g/ml,
- c) účinnější in vivo než teicoplanin a A-40926 proti septikemii, vyvolané *Streptokoky* u myši.

20 Vzhledem ke svrchu uvedené antimikrobiální účinnosti je možno sloučeniny podle vynálezu účinně použít jako účinné složky farmaceutických prostředků s antimikrobiálním účinkem v lidském i veterinárním lékařství pro prevenci a pro léčení infekčních onemocnění, která byla způsobena patogenními bakteriemi, které jsou na sloučeninu podle vynálezu citlivé. Zvláště se

25 sloučeniny podle vynálezu užívají pro léčení infekcí, které byly způsobeny některými kmeny *Enterokoků*, *Streptokoků* a *Staphylokoků*, které jsou málo citlivé na antibiotika glykopeptidového typu.

30 Sloučeniny podle vynálezu je možno podávat perorálně, místně nebo parenterálně, přičemž nejvýhodnějším způsobem podání je parenterální podání.

35 V závislosti na způsobu podání je možno sloučeniny podle vynálezu zpracovat na různé léčkové formy. Lékovými formami pro perorální podání mohou být například kapsle, tablety, nebo také roztoky nebo suspenze v kapalném prostředí. Jak je v oboru obecně známo, mohou kapsle a tablety obsahovat kromě účinné složky ještě běžné pomocné látky jako jsou ředidla, například laktosa, fosforečnan vápenatý, sorbitol a podobně, kluzné látky, například stearan hořečnatý,

mastek, polyethylenglykol, dále pojiva, jako polyvinylpyrolidon, želatinu, sorbitol, tragakant, akacii nebo také chuťové látky a popřípadě látky, napomáhající rozpadu tablety a smáčedla. Kapalné prostředky, obvykle ve formě roztoků nebo suspenzí ve vodném nebo olejovém prostředí mohou rovněž obsahovat běžné pomocné látky, například činidla, napomáhající vzniku suspenze.

Pro místní podání je sloučeniny podle vynálezu možno také zpracovat na formy, vhodné pro vstřebávání nosní sliznicí nebo sliznicí hltanu nebo tkání průdušek, tyto lékové formy mohou být například kapalné formy, určené k inhalaci nebo k aplikaci rozstříkovaní, dále může jít o tablety, určené k rozpuštění pod jazykem nebo kloktadlo.

Pro použití do očí nebo do uší je možno účinné látky podle vynálezu zpracovat na kapalnou nebo polotuhou formu. Tyto prostředky pro místní podání mohou být připraveny smísením účinné složky s hydrofobním nebo hydrofilním základem za vzniku mazání, krémů, prášků nebo lotionů.

Pro rektální podání je možno sloučeninu podle vynálezu zpracovat na čípky při použití běžného základu pro výrobu čípků, jako je kakaové máslo, vosky, spermaceti nebo polyethylenglykoly a jejich deriváty.

Farmaceutické prostředky, určené pro injekční podání mohou mít formu suspenzí, roztoků nebo emulzí v olejovém nebo ve vodném prostředí a mohou rovněž obsahovat pomocné složky, například činidla, napomáhající vzniku suspenze, stabilizační činidlo a/nebo dispergační činidlo. Účinná složka může být také dodávána ve formě suchého prášku, určeného pro rekonstituci ve vhodném prostředí, například ve sterilní vodě těsně před podáním.

Množství účinné látky, která má být podána, závisí na použitém faktoru, na podmínkách onemocnění a na nemocném, který má být léčen, jakož i na způsobu podání a frekvenci dávek a na mikroorganismu, který infekční onemocnění vyvolal.

Sloučeniny podle vynálezu jsou obvykle účinné v dávce v rozmezí 1 až 40 mg účinné složky na kg tělesné hmotnosti nemocného. V závislosti na vlastnostech specifické zvolené sloučeniny, na typu infekce a na stavu nemocného je možno tuto účinnou dávku podat jednou denně nebo rozděleně ve dvou až čtyřech jednotlivých dávkách za den. Zvláště vhodné farmaceutické prostředky obsahují 30 až 500 mg v jedné dávce a obsahují tedy dávku, vhodnou pro jednotlivé podání.

Praktické provedení vynálezu bude osvětleno následujícími příklady:

#### Příklady provedení vynálezu

##### Příklad 1

##### Příprava výchozího materiálu (MA)

(sloučenina vzorce II, v němž Y' znamená  $-\text{COOCH}_3$ , X' =  $-\text{OH}$ , R'<sub>1</sub> znamená  $-\text{H}$ , R'<sub>2</sub> znamená alkyl o 9 až 12 atomech uhlíku, v závislosti na faktorech komplexu A-40926, M' znamená alfa-D-mannopyranosyl a Z znamená atom vodíku)

150 mg, 0,0866 mmol antibiotika A-40926, získaného ve formě komplexu podle EP 177 882 se rozpustí ve 30 ml methanolu a pH se upraví na 2 koncentrovanou kyselinou sírovou. Směs se míchá 26 hodin při teplotě místnosti. Pak se pH upraví na 6 přidáním 0,15 ml triethylaminu

(TEA), čímž se vytvoří sraženina. Po přidání diethyletheru se sraženina oddělí, důkladně se promyje diethyletherem a suší, čímž se ve výtěžku 99 % získá 150 mg produktu.

## 5 Příklad 2

### Příprava sloučeniny 1 (RA)

(sloučenina obecného vzorce I, v němž Y znamená  $-\text{CH}_2\text{OH}$ , Y znamená  $-\text{OH}$ ,  $\text{R}_1$  je atom vodíku,  $\text{R}_2$  je alkyl o 9 až 12 atomech uhlíku, jak to odpovídá faktorům komplexu A-40926, M je alfa-D-mannopyranosyl a Z je atom vodíku)

#### Stupeň a: Příprava $\text{N}^{15}$ -(t-BOC)-MA

15 K míchanému roztoku 1,8 g sloučeniny z příkladu 1 (MA) a 1 g hydrogenuhličitanu sodného v 50 ml směsi dioxanu a vody v poměru 1 : 1 se při teplotě 5 °C v průběhu 15 minut po kapkách přidá roztok 0,25 g di-terc.butylidikarbonátu v 5 ml dioxanu. Po 1 hodině stání při teplotě místnosti se pH reakční směsi upraví na 4 přidáním 1N HCl. Pak se přidá 150 ml vody a výsledná směs se extrahuje 2 x 100 ml n-butanolu. Organická vrstva se oddělí, promyje se 20 100 ml vody a pak se zahustí na malý objem přibližně 25 ml při teplotě 40 °C za sníženého tlaku. Pevný podíl, který se vysráží přidáním 100 ml diethyletheru se oddělí a suší přes noc ve vakuu při teplotě místnosti, čímž se získá 1,6 g výsledné sloučeniny  $\text{N}^{15}$ -(t-BOC)-MA s čistotou, dostatečnou pro použití v následujícím stupni.

#### 25 Stupeň b: Příprava $\text{N}^{15}$ -(t-BOC)-RA

K míchanému roztoku 0,9 g sloučeniny z předchozího stupně v 50 ml vody se přidá 30 ml směsi n-butanolu a diethyletheru v poměru 1 : 1 a pak ještě 0,9 g hydroborátu sodného. Redukční činidlo se přidává po částech v průběhu 30 minut při teplotě místnosti, pak se reakční směs ještě 30 jednu hodinu míchá při teplotě místnosti. Pak se směs zchladí na 5 °C a přidá se nejprve 1,5 ml ledové kyseliny octové a pak 50 ml vody. Výsledná směs se extrahuje 100 ml n-butanolu a organická vrstva se zpracovává svrchu uvedeným způsobem, čímž se získá 0,8 g výsledné sloučeniny  $\text{N}^{15}$ -(t-BOC)-RA, dostatečně čisté pro použití ve stupni c.

#### 35 Stupeň c:

Roztok 0,5 g sloučeniny  $\text{N}^{15}$ -(t-BOC)-RA ze stupně b v 5 ml bezvodé kyseliny trifluoroctové (TFA) se míchá jednu minutu při teplotě místnosti nebo 20 až 30 minut při teplotě 0 až 5 °C a pak se vlije do 10 ml směsi methanolu a diethyletheru v poměru 1 : 4 při teplotě 0 až 5 °C. 40 Výsledná sloučenina RA se odfiltruje, čímž se po promytí diethyletherem a sušením při teplotě místnosti přes noc ve vakuu získá 0,35 g produktu. Čistý vzorek 0,15 g sloučeniny RA se připraví chromatografií na sloupci v reverzní fázi při použití silikagelu v silanisované formě, spojí se vždy frakce, obsahující jednotlivé čisté faktory, jak bude dále popsáno.

45

## Příklad 3

### Příprava sloučeniny 2 (MA-A-1/B<sub>0</sub>) a sloučeniny 6 (MA-A-1)

50 (sloučenina obecného vzorce I, v němž Y znamená  $-\text{COOCH}_3$ , X je  $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ,  $\text{R}_1$  je atom vodíku,  $\text{R}_2$  je 9-methyldecyl (MA-A-1/B<sub>0</sub>) nebo alkyl o 9 až 12 atomech uhlíku podle faktorů komplexu A-40926 (MA-A-1), M je alfa-D-mannopyranosyl a Z je atom vodíku)

## Metoda A

Stupeň a: Příprava N<sup>15</sup>-(t-BOC)-MA-A-1

- 5 K míchanému roztoku 1,3 g N<sup>15</sup>-(t-BOC)-MA ve 30 ml DMSO, připravenému podle stupně a v příkladu 2, se přidá 0,2 ml 3,3-dimethylamino-1-propylaminu a 0,3 ml difenylfosforazidátu (DPPA). Po 4 hodinách míchání při teplotě místnosti se přidá další podíl 0,15 ml DPPA a směs se míchá při teplotě místnosti ještě 20 hodin. Pevný podíl, který se vysráží přidáním 170 ml diethyletheru se oddělí, čímž se získá 1,3 g výsledného produktu N<sup>15</sup>-(t-BOC)-MA-A-1.

10

## Stupeň b:

- 15 Produkt z předchozího stupně se rozpustí v 10 ml TFA. Výsledný roztok se míchá 20 minut při teplotě místnosti a pak se přidá 90 ml diethyletheru. Vysrážený pevný podíl se oddělí, dvakrát se promyje vždy 50 ml diethyletheru a pak se suší přes noc ve vakuu při teplotě místnosti, čímž se získá 0,9 g surového výsledného produktu (MA-A-1), který se chromatografuje na sloupci silanizovaného silikagelu v reverzní fázi, spojí se pouze frakce, obsahující čistý požadovaný individuální faktor, čímž se získá 0,15 g čistého MA-A-1/B<sub>0</sub>.

## 20 Metoda B

- 25 K míchanému roztoku 1,8 g, přibližně 1 mmol sloučeniny z příkladu 1 (MA) ve 30 ml DMF se přidá 0,14 ml, přibližně 1,15 mmol 3,3-dimethylamino-1-propylaminu a 600 mg, přibližně 1,2 molu PyBOP při teplotě místnosti. Směs se míchá 3 hodiny při teplotě 20 až 25 °C a pak se přidá 150 ml diethyletheru. Vysrážený pevný podíl se oddělí a pak se čistí chromatografií na sloupci v reverzní fázi, spojí se všechny frakce, obsahující čisté jednotlivé faktory, čímž se získá 1,15 g sloučeniny MA-A-1.

## 30 Příklad 4

## Příprava sloučeniny 7 (PyMA-A-1)

- 35 (sloučenina obecného vzorce I, v němž Y znamená -COOCH<sub>3</sub>, X znamená -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R<sub>1</sub> je atom vodíku, R<sub>2</sub> je alkyl o 9 až 12 atomech uhlíku, odpovídající faktorům A-40926, M je alfa-D-mannopyranosyl a Z znamená skupinu P<sup>+</sup>(NC<sub>4</sub>H<sub>8</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>)

- 40 K míchanému roztoku 1,8 g, přibližně 2 mmol sloučeniny MA, připravené podle příkladu 1 ve 40 ml DMF se při teplotě místnosti přidají 2 ml, přibližně 16 mmol 3,3-dimethylamino-1-propylaminu a 3,12 g, přibližně 6 mmol PyBOP. Po 30 minutách se reakční směs zpracuje způsobem podle příkladu 3, metoda B, čímž se získá 1,5 g PyMA-A-1.

## Příklad 5

45

Příprava sloučeniny 3 (RA-A-1/B<sub>0</sub>) a 8 (RA-A-1)

- 50 (sloučenina obecného vzorce I, v němž Y znamená -CH<sub>2</sub>OH, X znamená -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R<sub>1</sub> je atom vodíku, R<sub>2</sub> je 9-methyldecyl (RA-A-1/B<sub>0</sub>) nebo alkyl o 9 až 12 atomech uhlíku podle faktorů A-40926 (RA-A-1), M znamená alfa-D-mannopyranosyl a Z je atom vodíku)

## Metoda A

Stupeň a: Příprava N<sup>15</sup>-(t-BOC)-RA-A-1

Postupuje se jako příkladu 3, metoda A, stupeň a, při použití 2 g  $N^{15}$ -(t-BOC)-RA (příklad 2, stupeň b), čímž se získá 1,7 g výsledné sloučeniny  $N^{15}$ -(t-BOC)-RA-A-1.

5    Stupeň b:

Postupuje se v podstatě způsobem podle příkladu 2, stupeň c, při použití 1,7 g sloučeniny  $N^{15}$ -(t-BOC)-RA-1, čímž se získá 0,22 g čisté sloučeniny RA-A-1.

- 10   Faktor RA-A-1/B<sub>0</sub> se získá tak, že se postupuje obdobným způsobem jako svrchu s tím rozdílem, že se při chromatografii v reverzní fázi spojí pouze ty frakce, které obsahují čistý požadovaný faktor.

Metoda B

15

K míchanému roztoku 50 g, přibližně 27 mmol sloučeniny z příkladu 2 (RA) ve 200 ml DMF se při teplotě místnosti přidá 11 ml, přibližně 90 mmol 3,3-(N,N-dimethylamino)-1-propylaminu a 18 g, přibližně 35 mmol PyBOP. Po 15 minutách míchání se přidá 1 litr ethylacetátu a oddělí se přibližně 63 g vysráženého pevného podílu a tento materiál se čistí chromatografií na sloupci v reverzní fázi, spojí se všechny frakce, obsahující čisté jednotlivé faktory, čímž se získá 25 g sloučeniny RA-A-1.

20

Příklad 6

25

Příprava sloučeniny 4 (MA-A-2/B<sub>0</sub>)

(sloučenina obecného vzorce I, v němž Y znamená -COOCH<sub>3</sub>, X znamená -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-NH<sub>2</sub>, R<sub>1</sub> je atom vodíku, R<sub>2</sub> je 9-methyldecyl, M znamená alfa-D-mannopyranosyl a Z je atom vodíku)

30

Stupeň a: Příprava  $N^{15}$ -(t-BOC)-MA, kyanomethylesteru

Roztok 2,5 g sloučeniny z příkladu 2, stupeň a ( $N^{15}$ -(t-BOC)-MA), 0,25 ml TEA a 2,5 ml chloracetonitrilu v 10 ml dimethylsulfoxidu (DMSO) se míchá 4 hodiny při teplotě místnosti. Pak se přidá ještě 90 ml ethylacetátu a vysrážený pevný podíl se oddělí, čímž se získá 2,8 g surové výsledné látky,  $N^{15}$ -(t-BOC)-MA-kyanomethylesteru.

35

Stupeň b: Příprava  $N^{15}$ -(t-BOC)-MA-A-2

40

Svrchu získaný kyanomethylester se rozpustí ve 30 ml DMSO. K výslednému roztoku se přidá 2,8 ml N,N'-bis-(3-aminopropyl)-1,3-propandiaminu a reakční směs se míchá 4 hodiny při teplotě místnosti. Pak se přidá 200 ml ethylacetátu a vysrážená pevná látka se oddělí, čímž se získají 3 g surové výsledné sloučeniny  $N^{15}$ -(t-BOC)-MA-A-2.

45

Stupeň c:

Surový produkt, získaný v předchozím stupni se zpracovává působením TFA podle příkladu 3, metoda A, stupeň b, čímž se po chromatografii na sloupci v reverzní fázi, při níž se spojí pouze frakce, obsahující čistý požadovaný faktor, získá 0,45 g čisté sloučeniny MA-A-2/B<sub>0</sub>.

50

## Příklad 7

Příprava sloučeniny 5 (MA-A-3/B<sub>0</sub>)

- 5 (sloučenina obecného vzorce I, v němž Y znamená  $-\text{COOCH}_3$ , X znamená  $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{N}-/-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2/2$ , R<sub>1</sub> je atom vodíku, R<sub>2</sub> znamená 9-methyldecyl, M znamená alfa-D-mannopyranosyl a Z je atom vodíku)

10 Stupeň a: Příprava N',N''-di(t-BOC)-tris(3-aminopropyl)aminu

N',N''-chráněný polyamin se připraví způsobem, popsaným ve zveřejněné mezinárodní patentové přihlášce č. WO 90/11300

15 Stupeň b: Kondenzace MA působením N',N''-di(t-BOC)-tris-(3-aminopropyl)aminu

Roztok 18 g přibližně 10 mmol sloučeniny z příkladu 1 (MA), 14 g, přibližně 36 mmol chráněného aminu, 3 ml, přibližně 22 mmol TEA a 6 ml, přibližně 28 mmol DPPA ve 150 ml DMSO se míchá 2 hodiny při teplotě místnosti a pak se přidá 500 ml ethylacetátu. Vysrážená pevná látka v množství přibližně 22 g se oddělí a užije v následujícím stupni bez dalšího čištění.

20 Stupeň c: Odstranění t-BOC-ochranných skupin

Surový produkt ze stupně b se rozpustí ve 150 ml bezvodé TFA, předem zchlazené na 0 °C a vzniklý roztok se míchá 20 minut při teplotě 0 až 5 °C. Pak se přidá 150 ml methanolu a 300 ml diethyletheru. Vysrážený pevný podíl se oddělí, několikrát se promyje diethyletherem a pak se čistí chromatografií na sloupci v reverzní fázi, spojí se pouze frakce, obsahující čistý požadovaný faktor, čímž se získá 9 g sloučeniny MA-A-3/B<sub>0</sub>.

## 30 Příklad 8

## Příprava sloučeniny 9 (RA-A-2)

- 35 (sloučenina vzorce I, kde Y znamená  $-\text{CH}_2\text{OH}$ , X znamená  $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}(\text{CH}_2)_3/2-\text{NH}_2$ , R<sub>1</sub> je atom vodíku, R<sub>2</sub> znamená alkyl o 9 až 12 atomech uhlíku podle faktorů A-40926, M znamená alfa-D-mannopyranosyl a Z je atom vodíku)

Stupeň a: Příprava kyanomethylesteru N<sup>15</sup>-(t-BOC)-RA

- 40 Roztok 8 g, přibližně 4 mmol sloučeniny z příkladu 2, stupeň b, (N<sup>15</sup>-(t-BOC)-RA), 0,75 ml, přibližně 5,5 mmol TEA a 8 ml chloracetonitrilu ve 40 ml DMSO se míchá 5 hodin při teplotě místnosti. Pak se přidá ještě 200 ml ethylacetátu a vysrážený pevný podíl se oddělí, čímž se získá 8,2 g výsledného surového kyanomethylesteru.

- 45 Stupně b a c: Kondenzace působením N',N''-bis-(3-aminopropyl)-1,3-propandiaminu a odštěpení ochranné skupiny t-BOC kyselinou

Surový kyanomethylester ze stupně a se rozpustí v 80 ml DMSO a přidá se 9 g N,N'-bis-(3-aminopropyl)-1,3-propandiaminu. Směs se míchá ještě 20 hodin při teplotě místnosti a pak se přidá 320 ml ethylacetátu. Vysrážený pevný podíl se oddělí a znovu rozpustí v 70 ml bezvodé TFA za chlazení ledem. Vzniklý roztok se míchá 10 minut při teplotě 0 °C a pak se přidá 230 ml chladného diethyletheru. Vysrážený pevný podíl se oddělí a rychle se znovu rozpustí ve 200 ml vody. Roztok se upraví na pH 5,5 přidáním 1N hydroxidu sodného a pak se čistí chromatografií

na sloupci v reverzní fázi, spojí se všechny frakce, obsahující čistý požadovaný faktor, čímž se získá 1,3 g čisté výsledné látky RA-A-2.

5 Příklad 9

Příprava sloučeniny 10 (RA-A-3)

10 (sloučenina vzorce I, v němž Y znamená  $-\text{CH}_2\text{OH}$ , X znamená  $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{N}/(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2/2$ ,  $\text{R}_1$  je atom vodíku,  $\text{R}_2$  znamená alkyl o 9 až 12 atomech uhlíku podle faktorů komplexu A-40926, M znamená alfa-D-mannopyranosyl a Z je atom vodíku)

15 K míchanému roztoku 9 g, přibližně 5 mmol ve 100 ml DMSO se přidá 7 g, přibližně 18 mmol  $\text{N}'\text{,N}''$ -di-(t-BOC)-tris-(3-aminopropyl)aminu z příkladu 7, stupeň a, 1,5 ml TEA a 3 ml DPPA při teplotě 10 °C. Směs se míchá jednu hodinu při teplotě 10 °C a pak ještě 4 hodiny při teplotě místnosti a pak se přidá 400 ml ethylacetátu. Přibližně 12 g vysrážené pevné látky se znovu rozpustí v 80 ml TFA, chlazené ledem a vzniklý roztok se míchá 10 minut při teplotě 0 až 5 °C. Pak se přidá přibližně 300 ml směsi methanolu a diethyletheru v poměru 1 : 1, předem zchlazené na -10 °C. Vysrážený pevný podíl se oddělí a rychle znovu rozpustí ve 200 ml vody. Výsledný roztok se upraví na pH 4 přidáním 1N hydroxidu sodného a čistí chromatografií v reverzní fázi, spojí se všechny frakce, obsahující čistý požadovaný faktor, čímž se získá 1,8 g čistého produktu RA-A-3.

25 Příklad 10

Příprava sloučeniny 11 (A-A-1)

30 (sloučenina vzorce I, v němž Y znamená  $-\text{COOH}$ , X znamená  $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ,  $\text{R}_1$  je atom vodíku,  $\text{R}_2$  znamená alkyl o 9 až 12 atomech uhlíku podle faktorů A-40926, M znamená alfa-D-mannopyranosyl a Z je atom vodíku)

35 K míchané suspenzi 5 g, přibližně 2,5 mmol sloučeniny 6 (MA-A-1), připravené podle příkladu 3, metoda B, v 60 ml tetrahydrofuranu THF se při teplotě místnosti přidá 10 ml vody a 20 ml 1N hydroxidu sodného. Po 30 minutách se výsledný roztok upraví na pH 7 přidáním 1N HCl, přidá se 150 ml n-butanu a směs se odpaří na malý objem přibližně 20 ml při teplotě 40 °C za sníženého tlaku. Pevný podíl, vysrážený přidáním přibližně 200 ml diethyletheru se oddělí a 5,2 g získaného produktu se čistí chromatografií v reverzní fázi, spojí se frakce s obsahem čistých faktorů, čímž se získá 2,1 g výsledného produktu A-A-1.

40

Příklad 11

Příprava sloučeniny 12 (PyA-A-1)

45

(sloučenina vzorce I, v němž Y znamená  $-\text{COO}^-$ , X znamená  $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ,  $\text{R}_1$  je atom vodíku,  $\text{R}_2$  znamená alkyl o 9 až 12 atomech uhlíku podle faktorů A-40926, M znamená alfa-D-mannopyranosyl a Z je  $\text{P}^+(\text{NC}_4\text{H}_8)_3$ )

50

Sloučeninu 12 (PyA-A-1) je možno získat ze sloučeniny 7 (PyMa-A-1) z příkladu 4 za podmínek, popsanych v příkladu 10 pro přípravu sloučeniny 11 (A-A-1) ze sloučeniny 6 (MA-A-1), s výtěžkem 35 %.

## Příklad 12

Příprava sloučeniny 13 (A-A-3/B<sub>0</sub>)

5

(sloučenina vzorce I, v němž Y znamená -COOH, X znamená -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-N/(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>/2, R<sub>1</sub> je atom vodíku, R<sub>2</sub> znamená 9-methyldecyl, M znamená alfa-D-mannopyranosyl a Z znamená atom vodíku)

10 Sloučeninu 13 (A-A-3/B<sub>0</sub>) je možno získat ze sloučeniny 5 (MA-A-3/B<sub>0</sub>) z příkladu 7 za podmínek, popsanych v příkladu 10 pro přípravu sloučeniny 11 (A-A-1) ze sloučeniny 6 (MA-A-1) s výtěžkem 41 %.

## 15 Příklad 13

## Příprava sloučeniny 14 (ABA-A-1)

20 (sloučenina vzorce I, v němž Y znamená -CONHCH<sub>3</sub>, X znamená -NH-(CH<sub>2</sub>)-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R<sub>1</sub> je atom vodíku, R<sub>2</sub> znamená alkyl o 9 až 12 atomech uhlíku podle faktorů A-40926, M znamená alfa-D-mannopyranosyl a Z je atom vodíku)

Stupeň a: Příprava 6<sup>B</sup>-kyanomethylesteru N<sup>15</sup>-(t-BOC)-A-A-1

25 K míchanému roztoku 22 g, přibližně 11 mmol sloučeniny 11 (A-A-1) z příkladu 10 a 3 g NaHCO<sub>3</sub> ve 220 ml směsi vody a dioxanu v poměru 1 : 1 se po kapkách při teplotě místnosti v průběhu 10 minut přidá roztok 5 g di-terc.butylidikarbonátu ve 20 ml bezvodého dioxanu. Směs se 2 hodiny míchá při teplotě místnosti, přidá se 200 ml vody, roztok se upraví na pH 3 přidáním 1N HCl a extrahuje 300 ml n-butanolu. Organická vrstva se oddělí a odpaří při teplotě 35 °C za sníženého tlaku na malý objem přibližně 45 ml. Pevný podíl, který se vysráží přidáním přibližně 30 250 ml diethyletheru se oddělí, přibližně 20 g takto získaného surového N<sup>15</sup>-(t-BOC)-A-A-1 se znovu rozpustí ve 150 ml DMSO, přidají se 3 ml TEA a 20 ml chloracetonitrilu a vzniklý roztok se míchá 5 hodin při teplotě místnosti, pak se přidá 500 ml ethylacetátu. Vysrážený pevný podíl, přibližně 18 g kyanomethylesteru je dostatečně čistý pro použití v následujícím stupni.

35

Stupeň b: Reakce 6<sup>B</sup>-kyanomethylesteru s methylaminem a odstranění t-BOC-ochranné skupiny

40 Roztok 5 g produktu z předchozího stupně v 75 ml roztoku 25 g methylaminu ve 100 ml ethanolu se míchá 3 hodiny při teplotě místnosti a pak se přidá 300 ml diethyletheru. Vysráží se 5,1 g pevné látky, která se oddělí a znovu rozpustí ve 35 ml TFA při 0 °C. Výsledný roztok se míchá 15 minut při 0 °C, pak se přidá 50 ml směsi methanolu a diethyletheru v poměru 1 : 1, čímž se vysráží 4,5 g surového produktu, který se čistí chromatografií na sloupci v reverzní fázi, při níž se spojí všechny frakce, obsahující jednotlivé čisté faktory, získá se 1,7 g sloučeniny 14 (ABA-A-1).

45

## Příklad 14

## Příprava sloučeniny 15 (ADA-A-1)

50

(sloučenina vzorce I, v němž Y znamená -CONH-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, X znamená -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R<sub>1</sub> je atom vodíku, R<sub>2</sub> znamená alkyl o 9 až 12 atomech uhlíku podle faktorů A-40926, M znamená alfa-D-mannopyranosyl a Z je atom vodíku)

5 Roztok 7 g, přibližně 4 mmol komplexu antibiotika A-40926, 2,5 ml přibližně 20 mmol 3,3-dimethylamino-1-propylaminu a 5,2 g, přibližně 10 mmol PyBOP v 70 ml DMF se jednu hodinu míchá při teplotě místnosti a pak se přidá 400 ml ethylacetátu. Vysrážený pevný podíl se oddělí a čistí chromatografií v reverzní fázi, spojí se frakce, obsahující jednotlivé čisté faktory, čímž se získá 2,1 g výsledné sloučeniny 15 (ADA-A-1).

#### Příklad 15

#### 10 Příprava sloučeniny 16 (PyRA-A-1)

(sloučenina vzorce I, v němž Y znamená  $-\text{CH}_2\text{OH}$ , X znamená  $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ,  $\text{R}_1$  je atom vodíku,  $\text{R}_2$  znamená alkyl o 9 až 12 atomech uhlíku podle faktorů A-40926, M znamená alfa-D-mannopyranosyl a Z znamená  $\text{P}^+(\text{NC}_4\text{H}_8)_3\text{CH}_3\text{COO}^-$ )

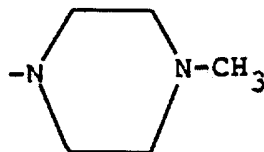
15 K míchanému roztoku 400 mg přibližně 0,2 mmol sloučeniny 7 (PaMA-A-1), připravené způsobem podle příkladu 4 ve 20 ml vody se přidá při teplotě místnosti 4 ml n-butanolu a 200 mg hydroborátu sodného. Směs se míchá přes noc při teplotě místnosti, pak se pH reakční směsi upraví na 4,5 přidáním ledové kyseliny octové a směs se extrahuje 50 ml n-butanolu.  
20 Organická vrstva se oddělí a rozpouštědlo se odpaří za sníženého tlaku při teplotě 45 °C. Pevný odparek se čistí chromatografií v reverzní fázi, při níž se spojí všechny frakce, obsahující jednotlivé čisté faktory, čímž se získá 175 mg čistého výsledného produktu 16 (PyRA-A-1).

#### 25 Příklad 16

#### Příprava sloučeniny 25 (MA-A-4)

(sloučenina obecného vzorce I, v němž Y je  $-\text{COOCH}_3$ , X znamená

30



$\text{R}_1$  je atom vodíku,  $\text{R}_2$  znamená alkyl o 9 až 12 atomech uhlíku podle faktorů komplexu A-40926, M znamená alfa-D-mannopyranosyl a Z je atom vodíku)

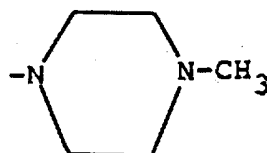
35

K míchanému roztoku 5 g sloučeniny z příkladu 1 (MA) v 60 ml směsi DMF a DMSO v poměru 5 : 1 se přidá 0,3 ml N-methylpiperazinu a 1,7 g PyBOP při teplotě místnosti. Reakce se nechá probíhat 1 hodinu, pak se přidá 140 ml ethylacetátu a vysrážená pevná látka se oddělí a čistí chromatografií na sloupci v reverzní fázi, spojí se všechny frakce, které obsahují čisté jednotlivé faktory, čímž se získá 1,9 g výsledné sloučeniny MA-A-4.  
40

## Příklad 17

## Příprava sloučeniny 24 (RA-A-4)

- 5 (sloučenina obecného vzorce I, v níž Y znamená skupinu  $\text{CH}_2\text{OH}$ , X znamená skupinu



- 10  $R_1$  je atom vodíku,  $R_2$  znamená alkyl o 9 až 12 atomech uhlíku podle faktorů komplexu A-40926, M znamená alfa-D-mannopyranosyl a Z je atom vodíku)

Postupuje se způsobem, který byl popsán svrchu v příkladu 16 za týchž reakčních podmínek při použití 5 g sloučeniny RA jako výchozí látky, čímž se získá 2,7 g čisté výsledné látky RA-A-4.

- 15 Chromatografie na sloupci v reverzní fázi

Čisté vzorky sloučenin, připravených v předchozích příkladech se získají chromatografií na sloupci v reverzní fázi na silanizovaném silikagelu (0,063 až 0,2 mm, Merck). Surový produkt, například 0,5 g tohoto produktu se rozpustí v co nejmenším množství směsi acetonitrilu a vody v poměru 1 : 1 a roztok se upraví na pH 7 přidáním 1N hydroxidu sodného a pak se ředí vodou tak dlouho, až se vytvoří zakalený roztok. Pak se za energického míchání přidá několik kapek acetonitrilu. Jakmile vznikne čirý roztok, nanese se tento roztok na sloupec, který obsahuje 100 g silanizovaného silikagelu ve vodě. K eluci se užije lineární gradient 10 až 60 % acetonitrilu v 0,1 N kyselině octové v průběhu 10 hodin při rychlosti průtoku přibližně 250 ml za hodinu, odebírají se frakce s objemem 20 ml a analyzují se pomocí HPLC. Ty frakce, které obsahují čistou sloučeninu obecného vzorce I se oddělí a v případě, že je požadován komplex sloučenin, v němž  $R_2$  znamená alkyl o 9 až 12 atomech uhlíku v závislosti na faktorech komplexu A-40926, spojí se všechny frakce s obsahem čistých faktorů a rozpouštědlo se odpaří při teplotě 40 °C za sníženého tlaku v přítomnosti n-butanolu, aby nedocházelo k pění.

30 V případě, že se při výrobě sloučenin obecného vzorce I užije jako prekurzor komplex A-40926 a požaduje se jednotlivý faktor vzorce I, v němž  $R_2$  odpovídá jednomu z možných významů, které charakterizují jednotlivé faktory komplexu antibiotika A-40926, například v případě, že  $R_2$  znamená 9-methyldecyl, spojí se pouze frakce, které podle HPLC obsahují požadovaný čistý faktor a tyto frakce se zpracovávají svrchu uvedeným způsobem.

40 Totožnost a struktura každého jednotlivého faktoru sloučenin podle vynálezu se prokazuje při použití HPLC-analýzy každého reakčního produktu. Postupuje se obvykle tak, že se provede předběžná identifikace požadovaného faktoru srovnáním výsledku HPLC pro celý komplex antibiotika A-40926 s výsledkem pro získaný surový reakční produkt, tento postup byl popsán například v publikaci L. F. Zerilli a další, "Rapid Communications in Mass Spectrometry," sv. 6, 109, 1992, v této publikaci se uvádí faktor  $B_0$  komplexu A-40926 jako faktor B.

45 Analýza HPLC se provádí na sloupci Hibar (125 x 4 mm, Merck), předem naplněném prostředkem Li-Chrospher RP-8 (průměr částic 5 mikrometrů) při použití kapalinového chromatografu Varian Model 5500 spolu s detektorem s měnitelně nastaveným UV-světla. Chromatogramy se zaznamenávají při 254 nm. Eluce se provádí při použití lineárního stupňovitěho gradientu v rozmezí 20 až 60 % acetonitrilu v 0,2% vodném roztoku mravenčanu amonného v průběhu 30 minut při rychlosti průtoku 1,5 ml/min.

50

Vzhledem k tomu, že všechny komplexní sloučeniny podle vynálezu poskytují při provádění HPLC typický výsledek, který je podobný výsledku, získanému při analýze prekurzorového komplexu A-40926, je možno jednotlivé faktory podle vynálezu, které odpovídají faktorům prekurzorového komplexu A-40926 snadno odlišit na základě korelace uvedených výsledků.

5 Frakce, získané při chromatografii v reverzní fázi, které obsahují tyto čisté faktory je pak možno izolovat a dále zpracovávat svrchu uvedeným způsobem. Pro další ověření totožnosti alkylových řetězců o 9 až 12 atomech uhlíku je možno vzorek každé frakce odpařit svrchu uvedeným způsobem k získání vzorku výsledného produktu, který je pak možno analyzovat při použití

10 plynové chromatografie a hmotové spektrometrie (GC/MS) podle postupu, který byl popsán ve svrchu uvedené publikaci L. F. Zerilliho a dalších.

V následující tabulce V jsou uvedeny doby retence ( $t_R$ ) pro každý čistý faktor sloučeniny obecného vzorce I podle vynálezu, v nichž  $R_2$  znamená 9-methyldecyl, sloučenina odpovídá faktoru  $B_0$  komplexu A-40926 a užívá se jako kontrolní látka při čistících postupech,

15 prováděných v reverzní fázi.

V tabulce je uvedena také hodnota  $t_R$  pro faktor  $B_0$  prekurzorového komplexu A-40926 a pro odpovídající esterový výchozí materiál (MA), hodnota byla zaznamenána za stejných podmínek jako svrchu.

20

#### Tabulka 5

#### Analýza pomocí HPLC

25

sloučenina	$t_R$ (minuty)
prekurzor A 40926	9,7
výchozí látka (MA)	11,3
sloučenina 1	10,2
sloučenina 2	13,7
sloučenina 3	15,3
sloučenina 4	15,5
sloučenina 5	15,3
sloučenina 6	13,7
sloučenina 7	20,5
sloučenina 8	15,3
sloučenina 9	12,9
sloučenina 10	14,8
sloučenina 11	12,1
sloučenina 12	17,4
sloučenina 13	12,2
sloučenina 14	14,7
sloučenina 15	16,4
sloučenina 16	19,2
sloučenina 24	13,4
sloučenina 25	14,8

#### $^1\text{H}$ - a $^{31}\text{P}$ -NMR spektra

$^1\text{H}$ -NMR-spektrum při 500 MHz bylo zaznamenáno v teplotním rozmezí 20 až 30 °C na

30 spektrometru Bruker AM 500 při použití  $\text{DMSO}-d_6$  a při použití tetramethylsilanu (TMS) jako

vnitřního standardu ( $\delta = 0,00$  ppm). V následující tabulce VI jsou uvedeny nejvýznačnější chemické posuny (v  $\delta$  ppm) pro některé reprezentativní sloučeniny podle vynálezu.

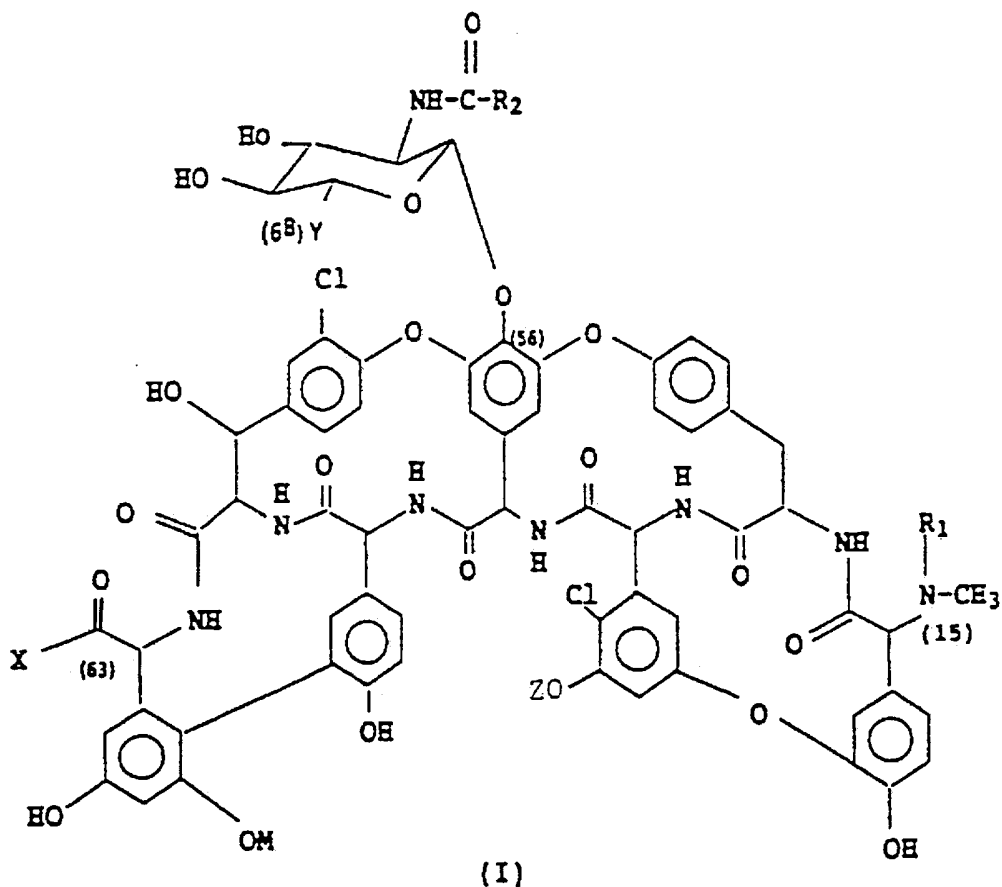
5	Tabulka VI	
	sloučenina 1 (RA):	0,85, 1,13, 1,42, 1,98 (acylový řetězec), 3,72 (CH <sub>2</sub> OH), 4,05 – 6,22 (peptidové skupiny CH), 6,43 – 8,52 (aromatické protony a peptidové skupiny NH)
10	sloučenina (MA-A-1/B <sub>0</sub> ):	0,83, 1,14, 1,38, 1,99 (acylový řetězec), 1,83, 2,83 (CH <sub>2</sub> – postranní řetězec), 2,73 (N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ), 4,11 – 6,10 (peptidové skupiny CH), 6,48 – 9,50 (aromatické protony a peptidové skupiny NH)
15	sloučenina 3 (RA-A-1/B <sub>0</sub> ):	0,84, 1,14, 1,38, 1,92 (acylový řetězec), 1,72, 2,75 (CH <sub>2</sub> – postranní řetězec), 2,53 (N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ), 3,69 (CH <sub>2</sub> -OH), 4,09 – 6,11 (peptidové skupiny CH), 6,41 – 9,18 (aromatické protony a peptidové skupiny NH)
20	sloučenina 4 (MA-A-2/B <sub>0</sub> ):	0,84, 1,14, 1,39, 1,98 (acylový řetězec), 1,96, 2,86 (CH <sub>2</sub> -postranní řetězec), 4,08 – 6,15 (peptidové skupiny CH), 6,42 – 9,61 (aromatické protony a peptidové skupiny NH)
25	sloučenina 5 (MA-A-3/B <sub>0</sub> ):	0,85, 1,13, 1,42, 2,02 (acylový řetězec), 1,73, 2,82 (alkylaminoskupiny), 2,42 (-N-CH <sub>3</sub> ), 3,63 (COOCH <sub>3</sub> ), 3,10 – 3,80 (cukry), 4,10 – 6,10 (peptidové skupiny CH), 6,41 – 8,52 (aromatické protony a peptidové skupiny NH)
30	sloučenina 7 (PyMA-A-1):	0,84, 1,13, 1,42, 2,01 (acylové řetězce), 1,83, 2,16 (dimethylpropylamid), 2,32 (NH-CH <sub>3</sub> ), 1,70, 3,23 (pyrrolidin), 3,10 – 3,80 (cukry), 4,10 – 6,20 (peptidové skupiny CH), 6,38 – 8,40 (aromatické protony a peptidové skupiny NH)
35	sloučenina 9 (RA-A-2):	0,84, 1,13, 1,39, 1,98 (acylové řetězce), 1,88, 2,91 (alkylaminoskupiny), 2,41 (NH-CH <sub>3</sub> ), 3,10 – 3,80 (cukry), 4,10 – 6,10 (peptidové skupiny CH), 6,38 – 8,49 (aromatické protony a peptidové skupiny NH)
40	sloučenina 10 (RA-A-3):	0,84, 1,13, 1,39, 1,98 (acylové řetězce), 1,73, 2,82 (alkylaminoskupiny), 2,47 (NH-CH <sub>3</sub> ), 3,10 – 3,80 (cukry), 4,10 – 6,10 (peptidové skupiny CH), 6,37 – 8,70 (aromatické protony a peptidové skupiny NH), 9,2 – 10,4 (skupiny OH fenolu)
45	sloučenina 11 (A-A-1):	0,84, 1,13, 1,39, 2,00 (acylové řetězce), 1,74 – 2,79 (alkylaminoskupiny), 2,37 (NH-CH <sub>3</sub> ), 3,10 – 3,80 (cukry), 4,10 – 6,10 (peptidové skupiny OH), 6,39 – 8,50 (aromatické protony a peptidové skupiny NH)
50		

- sloučenina 12  
(PyA-A-1): 0,84, 1,13, 1,42, 2,02 (acylové řetězce), 1,87, 2,73, 3,00 (dimethylpropylamid), 2,48 (NH-CH<sub>3</sub>), 1,71, 3,30 (pyrrolidin), 3,10 – 3,80 (cukry), 4,10 – 6,25 (peptidové skupiny CH), 6,38 – 8,55 (aromatické protony a peptidové skupiny NH)
- 5
- sloučenina 13  
(A-A-3/B<sub>0</sub>): 0,84, 1,13, 1,42, 2,02 (acylové řetězce), 2,33 (NH-CH<sub>3</sub>), 1,71, 2,80 (alkylaminoskupiny), 3,10 – 3,80 (cukry), 4,10 – 6,10 (peptidové skupiny CH), 6,37 – 8,50 (aromatické protony, a peptidové skupiny NH)
- 10
- sloučenina 14  
(ABA-A-1): 0,84, 1,13, 1,42, 1,96 (acylové řetězce), 2,35 (CH-NH-CH<sub>3</sub>), 1,78, 2,70 (alkylaminoskupiny), 3,10 – 3,80 (cukry), 4,10 – 6,10 (peptidové skupiny CH), 6,37 – 8,50 (aromatické protony a peptidové skupiny NH)
- 15
- sloučenina 15  
(ADA-A-1): 0,82, 1,13, 1,40, 1,98 (acylové řetězce), 2,50 (MH-CH<sub>3</sub>), 1,72, 1,85, 2,73, 3,00 (alkylaminoskupiny), 3,10 – 3,80 (cukry), 4,10 – 6,10 (peptidové skupiny CH), 6,40 – 8,55 (aromatické protony a peptidové skupiny NH)
- 20
- sloučenina 16  
(PyRA-A-1): 0,84, 1,13, 1,41, 2,00 (acylové řetězce), 2,33 (NH-CH<sub>3</sub>), 1,82, 2,16 (dimethylpropylamid), 1,71, 3,23 (pyrrolidin), 3,10 – 3,80 (cukry), 4,10 – 6,20 (peptidové skupiny CH), 6,38 – 8,40 (aromatické protony a peptidové skupiny NH)
- 25
- sloučenina 24  
(RA-A-4): 0,84, 1,13, 1,40, 1,97 (acylové řetězce), 2,10 (CH<sub>3</sub> piperazinu), 2,38 (NH-CH<sub>3</sub>), 3,10 – 3,80 (cukry), 4,05 – 6,07 (peptidové skupiny CH), 6,38 – 8,49 (aromatické protony a peptidové skupiny NH)
- 30
- sloučenina 25  
(MA-A-4): 0,84, 1,13, 1,40, 2,00 (acylové řetězce), 2,13 (CH<sub>3</sub> piperazinu), 2,43 (NH-CH<sub>3</sub>), 3,10 – 3,80 (cukry), 3,63 (COOCH<sub>3</sub>), 4,05 – 6,09 (peptidové skupiny CH), 6,38 – 8,49 (aromatické protony a peptidové skupiny NH)
- 35
- <sup>31</sup>P-NMR-spektra byla zaznamenána při 161,98 MHz (sloučenina 12), nebo při 202,46 MHz (sloučeninu 7 a 16) v roztoku v DMSO-d<sub>6</sub> při použití 85% kyseliny fosforečné jako vnitřního standardu.
- 40
- sloučenina 7  
(PyMA-A-1) (<sup>31</sup>P): jeden signál při delta 24,12 ppm
- 45
- sloučenina 12  
(PyA-A-1) (<sup>31</sup>P): jeden signál při delta 23,50 ppm
- sloučenina 16  
(PyRA-A-1) (<sup>31</sup>P): jeden signál při delta 24,11 ppm.

## PATENTOVÉ NÁROKY

5

## 1. Amidové deriváty antibiotika A-40926 obecného vzorce I



10 kde

$R_1$  znamená atom vodíku nebo ochrannou skupinu na aminoskupině,

$R_2$  znamená alkyl o 9 až 12 atomech uhlíku,

15

M znamená atom vodíku, alfa-D-mannopyranosyl nebo 6-O-acetyl-alfa-D-mannopyranosyl,

20 Y znamená karboxylovou skupinu, alkoxykarbonylovou skupinu o 1 až 4 atomech uhlíku v alkoxylové části, aminokarbonylovou skupinu, alkylaminokarbonylovou nebo dialkylaminokarbonylovou skupinu o 1 až 4 atomech uhlíku v alkylových částech, přičemž alkylové skupiny mohou být ještě dále substituovány substituentem ze skupiny hydroxyskupina, aminoskupina, alkylaminoskupina a dialkylaminoskupina vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v alkylové části nebo hydroxymethyl,

25

X znamená hydroxyskupinu nebo skupinu obecného vzorce  $-NR_3-alk_1-(NR_4-alk_2)_p-(NR_5-alk_3)_q-W$ ,

kde

$R_3$  znamená atom vodíku nebo alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku,

5  $alk_1$ ,  $alk_2$  a  $alk_3$  nezávisle znamenají alkylenový zbytek s přímým nebo rozvětveným řetězcem o 2 až 10 atomech uhlíku,

$p$  a  $q$  jsou celá čísla 0 nebo 1 nezávisle na sobě,

10  $R_4$  a  $R_5$  znamenají nezávisle na sobě atom vodíku nebo alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku nebo

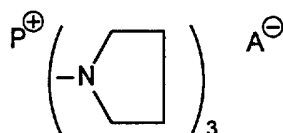
$R_3$  a  $R_4$  společně tvoří alkylenovou skupinu o 2 až 4 atomech uhlíku, spojující oba atomy dusíku za předpokladu, že  $p$  znamená 1, nebo

15  $R_4$  a  $R_5$  společně tvoří alkylenovou skupinu o 2 až 4 atomech uhlíku, spojující oba atomy dusíku za předpokladu, že  $p$  i  $q$  znamenají 1,

20  $W$  znamená atom vodíku, alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku, aminoskupinu, alkylaminoskupinu nebo dialkylaminoskupinu vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v alkylové části, aminoskupinu, substituovanou jednou nebo dvěma aminoalkylovými skupinami o 2 až 4 atomech uhlíku nebo jednou nebo dvěma alkylaminoalkylovými skupinami o 1 až 4 atomech uhlíku v jedné a 2 až 4 atomech uhlíku ve druhé alkylové části nebo dialkylaminoalkylovou skupinou o 1 až 4 atomech uhlíku ve dvou alkylových částech a 2 až 4 atomech uhlíku v jedné alkylové části nebo v případě, že  $p$  i  $q$  znamená 0, může  $W$  tvořit spolu se  
25 skupinou  $-NR_3-alk_1-$  piperazinovou nebo 4-methylpiperazinovou skupinu,

za předpokladu, že v případě, že  $X$  znamená hydroxyskupinu, znamená  $Y$  hydroxymethylovou skupinu a

30  $Z$  znamená atom vodíku nebo skupinu obecného vzorce



35 kde  $A^-$  znamená anion anorganické nebo organické kyseliny ze skupiny kyselina chlorovodíková, bromovodíková, sírová, fosforečná, octová, trifluoroctová, trichloroctová, jantarová, citronová, askorbová, mléčná, maleinová, fumarová, palmitová, cholová, pamoová, mucinová, glutamová, kafrová, glutarová, glykolová, ftalová, vinná, laurová, stearová, salicylová, methansulfonová, benzensulfonová, sorbová, pikrová, benzoová nebo skořicová nebo v případě, že se ve zbývající části antibiotika nachází  
40 funkční zbytek karboxylové kyseliny, může jít také o vnitřní sůl, odvozenou od karboxylové funkce,

jakož i adiční soli těchto sloučenin, přijatelné z farmaceutického hlediska.

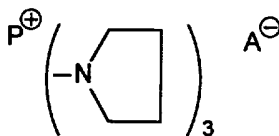
45

2. Amidové deriváty antibiotika A-40926 obecného vzorce I podle nároku 1, v němž

$R_1$  znamená atom vodíku nebo ochrannou skupinu na aminoskupině,

- R<sub>2</sub> znamená alkylový zbytek o 9 až 12 atomech uhlíku,
- 5 M znamená atom vodíku, alfa-D-mannopyranosyl nebo 6-O-acetyl-alfa-D-mannopyranosyl,
- 10 Y znamená karboxylovou skupinu, alkoxykarbonylovou skupinu o 1 až 4 atomech uhlíku v alkoxylové části, aminokarbonyl, alkylaminokarbonyl nebo dialkylaminokarbonyl vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v alkylové části, přičemž tato alkylová část může nést substituent ze skupiny hydroxyskupina, aminoskupina, alkylaminoskupina a dialkylaminoskupina vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v alkylové části nebo hydroxymethyl,
- 15 X znamená hydroxyskupinu nebo skupinu obecného vzorce
- $$-NR_3-alk_1-(NR_4-alk_2)_p-(NR_5-alk_3)_q-W$$
- kde
- 20 R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> a R<sub>5</sub> znamenají atomy vodíku,
- alk<sub>1</sub>, alk<sub>2</sub> a alk<sub>3</sub> nezávisle znamenají alkylénové zbytky s přímým nebo rozvětveným řetězcem o 2 až 4 atomech uhlíku,
- 25 p a q jsou celá čísla, nezávisle znamenající 0 nebo 1,
- W znamená atom vodíku, alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku, aminoskupinu, alkylaminoskupinu nebo dialkylaminoskupinu vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v alkylové části, aminoskupinu, substituovanou jednou nebo dvěma aminoalkylovými skupinami o 2 až 4 atomech uhlíku nebo jednou nebo dvěma alkylaminoalkylovými skupinami o 1 až 4 atomech uhlíku v jedné a 2 až 4 atomech uhlíku ve druhé alkylové části nebo jednou nebo dvěma dialkylaminoalkylovými skupinami o 1 až 4 atomech uhlíku ve dvou alkylových částech a 2 až 4 atomech uhlíku v jedné alkylové části nebo v případě, že p i q = 0, může W spolu se skupinou -NR<sub>3</sub>-alk<sub>1</sub>- tvořit také piperazinovou nebo 4-methylpiperazinovou skupinu,
- 35 za předpokladu, že v případě, že X znamená hydroxyskupinu, znamená Y hydroxymethylovou skupinu,

- 40 Z znamená atom vodíku nebo skupinu obecného vzorce



- 45 kde A<sup>-</sup> znamená anion anorganické nebo organické kyseliny ze skupiny kyselina chlorovodíková, bromovodíková, sírová, fosforečná, octová, trifluoroctová, trichloroctová, jantarová, citronová, askorbová, mléčná, maleinová, fumarová, palmitová, cholová, pamoová, mucinová, glutamová, kafrová, glutarová, glykolová, ftalová, vinná, laurová, stearová, salicylová, methansulfonová, benzensulfonová, sorbová, pikrová, benzoová nebo skořicová nebo v případě, že se ve zbývající části antibiotika nachází funkční zbytek karboxylové kyseliny, může jít také o vnitřní sůl, odvozenou od
- 50 karboxylové funkce,

jakož i soli těchto sloučenin, přijatelné z farmaceutického hlediska.

5 3. Amidové deriváty antibiotika A-40926 obecného vzorce I podle nároku 1, v nichž R<sub>2</sub> znamená alkyl o 10 až 11 atomech uhlíku, M znamená alfa-D-mannopyranosyl a R<sub>1</sub>, X, Y a Z mají význam, uvedený v nároku 1, jakož i adiční soli těchto sloučenin, přijatelné z farmaceutického hlediska.

10 4. Amidové deriváty antibiotika A-40926 obecného vzorce I podle nároku 1, v nichž

R<sub>1</sub> znamená atom vodíku nebo ochrannou skupinu na aminoskupině,

15 R<sub>2</sub> znamená 7-methyloktyl, n-nonyl, 8-methylnonyl, n-decyl, 9-methyldecyl, n-undecyl nebo n-dodecyl,

M znamená atom vodíku nebo alfa-D-mannopyranosyl,

20 Y znamená karboxylovou skupinu, alkoxykarbonyl o 1 až 4 atomech uhlíku, aminokarbonyl, alkylaminokarbonyl o 1 až 4 atomech uhlíku, dialkylaminokarbonyl o 1 až 4 atomech uhlíku v každé alkylové části, přičemž alkylová skupina může nést substituent ze skupiny hydroxyskupina, aminoskupina, alkylaminoskupina nebo dialkylaminoskupina vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v každé alkylové části nebo hydroxymethylová skupina,

25 X znamená skupinu obecného vzorce



30 kde

R<sub>3</sub> znamená atom vodíku,

35 alk<sub>1</sub>, alk<sub>2</sub> a alk<sub>3</sub> nezávisle znamenají alkylenovou skupinu s přímým řetězcem o 2 až 4 atomech uhlíku,

p a q nezávisle znamenají celé číslo 0 nebo 1 a

40 W znamená aminoskupinu, alkylaminoskupinu nebo dialkylaminoskupinu vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v každé alkylové části, aminoskupinu, substituovanou jednou nebo dvěma aminoalkylovými skupinami vždy o 2 až 4 atomech uhlíku v alkylové části nebo v případě, že p i q znamenají 0, může W tvořit spolu se skupinou -NR<sub>3</sub>-alk<sub>1</sub>-piperazinový nebo 4-methylpiperazinový zbytek,

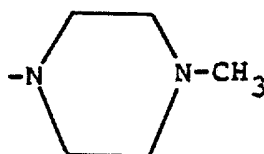
45 Z znamená atom vodíku,

jakož i adiční soli těchto sloučenin, přijatelné z farmaceutického hlediska.

50 5. Amidové deriváty antibiotika A-40926 obecného vzorce I podle nároku 1, v nichž

R<sub>1</sub> znamená atom vodíku,

- R<sub>2</sub> znamená 7-methyloktyl, n-nonyl, 8-methylnonyl, n-decyl, 9-methyldecyl, n-undecyl nebo n-dodecyl,
- M znamená alfa-D-mannopyranosyl,
- 5 Y znamená karboxyskupinu, methoxykarbonyl, dimethylaminokarbonyl, (dimethylamino)-ethylaminokarbonyl nebo hydroxymethyl,
- X znamená skupinu vzorce
- 10  $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{N}-(\text{CH}_3)_2,$   
 $-\text{NH}(\text{CH}_2)_3-\text{NH}(\text{CH}_2)_3/2-\text{NH}_2,$   
 $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{N}/(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2/2$  a



- 15 Z znamená atom vodíku,

jakož i adiční soli těchto sloučenin, přijatelné z farmaceutického hlediska.

- 20 6. Amidové deriváty antibiotika A-40926 obecného vzorce I podle nároku 1, v nichž

R<sub>2</sub> znamená n-decyl, 8-methylnonyl, 9-methyldecyl, nebo n-undecyl,

- 25 R<sub>1</sub>, M, Y, X a Z mají význam, uvedený v nároku 5,

jakož i adiční soli těchto sloučenin, přijatelné z farmaceutického hlediska.

- 30 7. Amidový derivát antibiotika A-40926 obecného vzorce I podle nároku 5, v němž R<sub>2</sub> znamená 9-methyldecyl, a R<sub>1</sub>, M, Y, X a Z mají význam, uvedený v nároku 5, jakož i adiční soli těchto sloučenin, přijatelné z farmaceutického hlediska.

- 35 8. Amidové deriváty antibiotika A-40926 podle nároku 5, obecného vzorce I, v němž

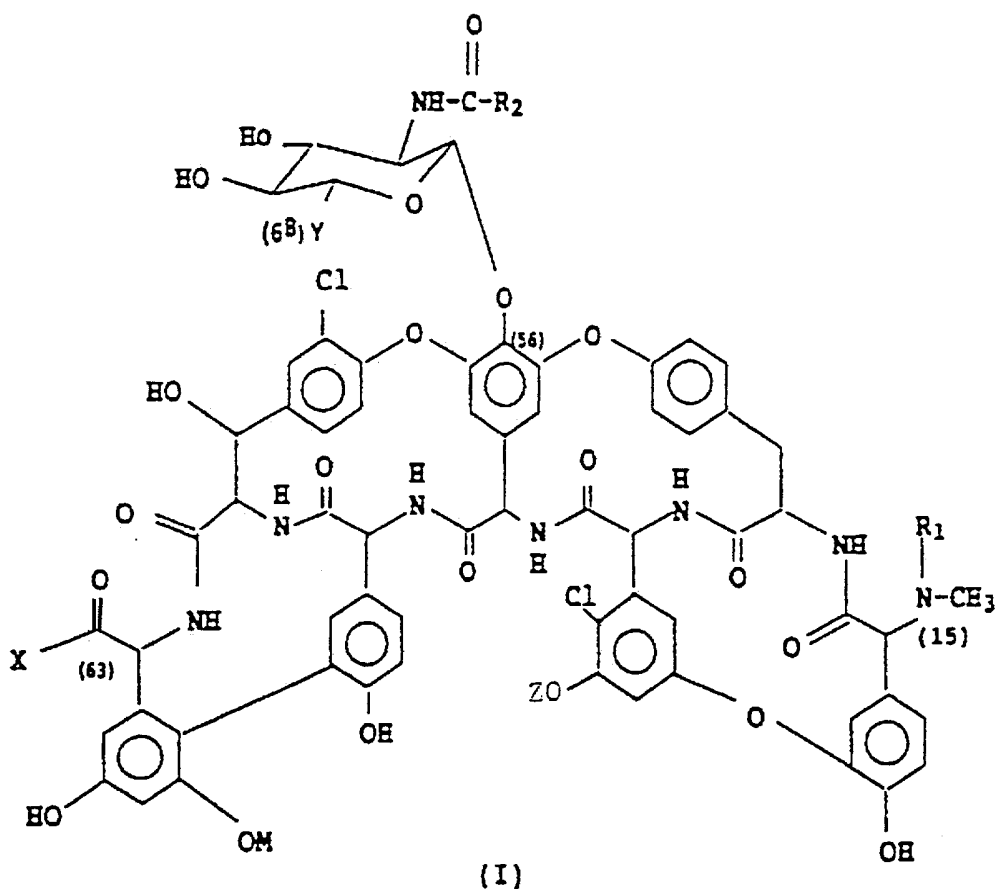
Y znamená methoxykarbonyl nebo hydroxymethyl,

X znamená skupinu  $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{N}-(\text{CH}_3)_2,$

- 40 R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, M a Z mají význam, uvedený v nároku 5,

jakož i adiční soli těchto sloučenin, přijatelné z farmaceutického hlediska.

## 9. Amidové deriváty antibiotika A-40926 podle nároku 1, obecného vzorce I



5 kde

$R_1$  znamená atom vodíku nebo ochrannou skupinu na aminoskupině,

$R_2$  znamená alkyl o 10 až 11 atomech uhlíku,

10

$M$  znamená atom vodíku, alfa-D-mannopyranosyl nebo 6-O-acetyl-alfa-D-mannopyranosyl,

$Y$  znamená alkoxykarbonyl o 1 až 4 atomech uhlíku nebo hydroxymethyl,

15

$X$  znamená hydroxyskupinu nebo skupinu obecného vzorce



20

$Z$  znamená atom vodíku,

kde

$R_3$  znamená atom vodíku nebo alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku,

25

$alk_1$ ,  $alk_2$  a  $alk_3$  nezávisle znamenají přímý nebo rozvětvený alkylenový zbytek o 2 až 10 atomech uhlíku,

$p$  a  $q$  znamenají nezávisle celé číslo 0 nebo 1,

$R_4$  a  $R_5$  nezávisle znamenají atom vodíku nebo alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku nebo

5  $R_3$  a  $R_4$  společně tvoří alkylenový zbytek o 2 až 4 atomech uhlíku, spojující oba atomy dusíku za předpokladu, že  $p$  znamená 1, nebo

$R_4$  a  $R_5$  společně tvoří alkylenový zbytek o 2 až 4 atomech uhlíku, spojující oba atomy dusíku za předpokladu, že  $p$  i  $q$  znamenají 1,

10  $W$  znamená atom vodíku, alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku, aminoskupinu, alkylamino-  
skupinu nebo dialkylaminoskupinu vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v alkylových částech,  
aminoskupinu, substituovanou jednou nebo dvěma aminoalkylovými skupinami o 2 až 4  
15 atomech uhlíku v alkylové části nebo jednou nebo dvěma alkylaminoalkylovými  
skupinami o 1 až 4 atomech uhlíku v jedné a 2 až 4 atomech uhlíku ve druhé alkylové  
části nebo jednou nebo dvěma dialkylaminoalkylovými skupinami o 1 až 4 atomech  
uhlíku ve dvou alkylových částech a 2 až 4 atomech uhlíku v jedné alkylové části,

za předpokladu, v případě, že  $X$  znamená hydroxyskupinu, znamená  $Y$  hydroxymethylovou  
skupinu, jakož i adiční soli těchto látek, přijatelné z farmaceutického hlediska.

20

#### 10. Amidové deriváty antibiotika A-40926 podle nároku 9, v nichž

25  $R_1$  znamená atom vodíku nebo ochrannou skupinu na aminoskupině,

$R_2$  znamená alkyl o 10 až 11 atomech uhlíku,

30  $M$  znamená atom vodíku, alfa-D-mannopyranosyl nebo 6-O-acetyl-alfa-D-manno-  
pyranosyl,

$Y$  znamená alkoxykarbonyl o 1 až 4 atomech uhlíku nebo hydroxymethyl,

$X$  znamená hydroxyskupinu nebo skupinu obecného vzorce

35  $-NR_3-alk_1-(NR_4-alk_2)_p-(NR_5-alk_3)_q-W$

kde  $R_3$ ,  $R_4$  a  $R_5$  znamenají atomy vodíku,

40  $alk_1$ ,  $alk_2$  a  $alk_3$  nezávisle znamenají přímý nebo rozvětvený alkylenový zbytek o 2 až 4  
atomech uhlíku,

$p$  a  $q$  jsou nezávisle celá čísla 0 nebo 1,

45  $W$  znamená atom vodíku, alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku, aminoskupinu, alkylamino-  
skupinu nebo dialkylaminoskupinu o 1 až 4 atomech uhlíku v alkylových částech nebo  
aminoskupinu, substituovanou jednou nebo dvěma aminoalkylovými skupinami o 2 až 4  
atomech uhlíku nebo jednou nebo dvěma dialkylaminoalkylovými skupinami o 1 až 4  
atomech uhlíku ve dvou a 2 až 4 atomech uhlíku v jedné alkylové části,

50 za předpokladu, že v případě, že  $X$  znamená hydroxyskupinu, znamená  $Y$  hydroxymethylovou  
skupinu,

jakož i adiční soli těchto sloučenin, přijatelné z farmaceutického hlediska.

11. Amidové deriváty antibiotika A-40926 podle nároku 9, v nichž  $R_2$  znamená 9-methyldecyl, M znamená alfa-D-mannopyranosyl a  $R_1$ , X a Y mají význam z nároku 9.

5 12. Amidové deriváty antibiotika A-40926 podle nároku 9, v nichž

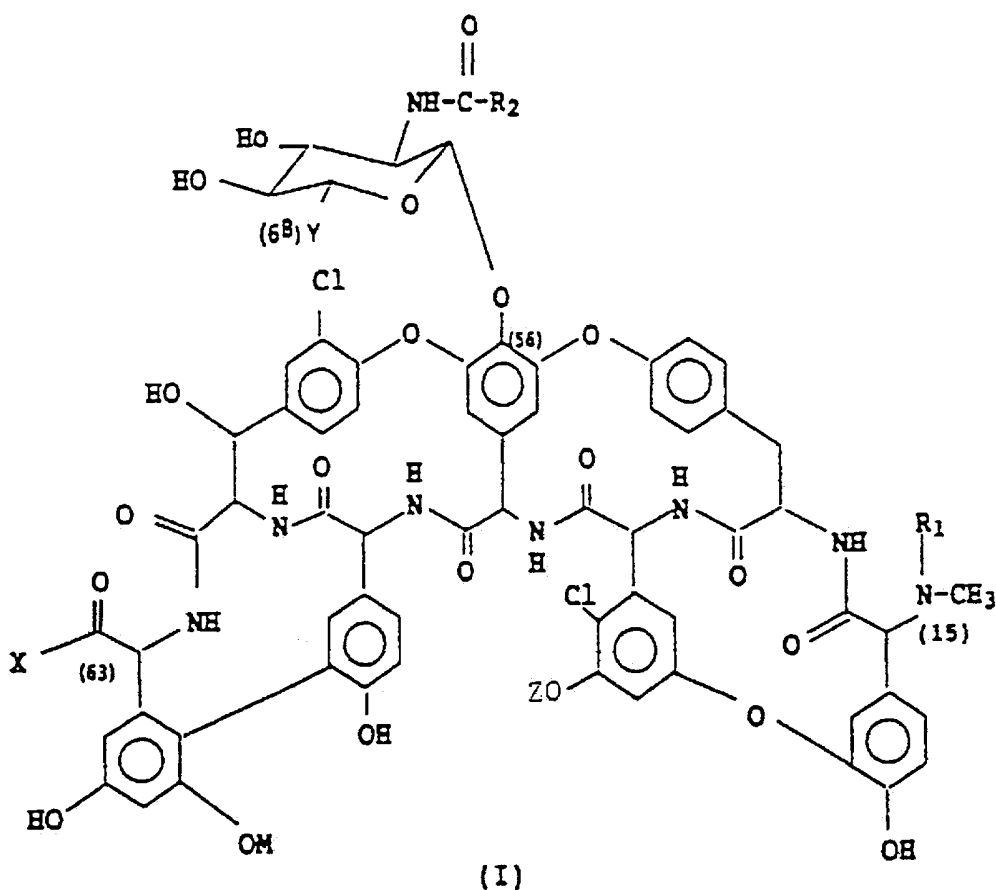
$R_2$  znamená alkyl o 10 až 11 atomech uhlíku, s výhodou 9-methyldecyl,

10 Y znamená alkoxykarbonyl o 1 až 4 atomech uhlíku v alkoxylové části, s výhodou methoxymethyl nebo hydroxymethyl a

X se volí ze skupin

15  $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ,  
 $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2$  a  
 $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{N}/(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2/2$ .

20 13. Způsob výroby amidových derivátů antibiotika A-40926 podle nároku 1 až 9 obecného vzorce I



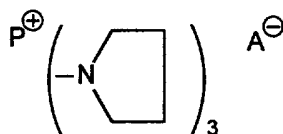
kde

25

$R_1$  znamená atom vodíku nebo ochrannou skupinu na aminoskupině,

$R_2$  znamená alkyl o 9 až 12 atomech uhlíku,

- M znamená atom vodíku, alfa-D-mannopyranosyl nebo 6-O-acetyl-alfa-D-mannopyranosyl,
- Y znamená karboxylovou skupinu, alkoxykarbonylovou skupinu o 1 až 4 atomech uhlíku v alkoxylové části, aminokarbonylovou skupinu, alkylaminokarbonylovou nebo dialkylaminokarbonylovou skupinu o 1 až 4 atomech uhlíku v alkylových částech, přičemž alkylové skupiny mohou být ještě dále substituovány substituentem ze skupiny hydroxyskupina, aminoskupina, alkylaminoskupina a dialkylaminoskupina vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v alkylové části nebo hydroxymethyl,
- X znamená hydroxyskupinu nebo skupinu obecného vzorce  $-NR_3-alk_1-(NR_4-alk_2)_p-(NR_5-alk_3)_q-W$ ,  
kde  
 $R_3$  znamená atom vodíku nebo alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku,  
 $alk_1$ ,  $alk_2$  a  $alk_3$  nezávisle znamenají alkylenový zbytek s přímým nebo rozvětveným řetězcem o 2 až 10 atomech uhlíku,  
 $p$  a  $q$  jsou celá čísla 0 nebo 1 nezávisle na sobě,  
 $R_4$  a  $R_5$  znamenají nezávisle na sobě atom vodíku nebo alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku nebo  
 $R_3$  a  $R_4$  společně tvoří alkylenovou skupinu o 2 až 4 atomech uhlíku, spojující oba atomy dusíku za předpokladu, že  $p$  znamená 1, nebo  
 $R_4$  a  $R_5$  společně tvoří alkylenovou skupinu o 2 až 4 atomech uhlíku, spojující oba atomy dusíku za předpokladu, že  $p$  i  $q$  znamenají 1,  
W znamená atom vodíku, alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku, aminoskupinu, alkylaminoskupinu nebo dialkylaminoskupinu vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v alkylové části, aminoskupinu, substituovanou jednou nebo dvěma aminoalkylovými skupinami o 2 až 4 atomech uhlíku nebo jednou nebo dvěma alkylaminoalkylovými skupinami o 1 až 4 atomech uhlíku v jedné a 2 až 4 atomech uhlíku ve druhé alkylové části nebo dialkylaminoalkylovou skupinou o 1 až 4 atomech uhlíku ve dvou alkylových částech a 2 až 4 atomech uhlíku v jedné alkylové části nebo v případě, že  $p$  i  $q$  znamená 0, může W tvořit spolu se skupinou  $-NR_3-alk_1$ -piperazinovou nebo 4-methylpiperazinovou skupinu,  
za předpokladu, že v případě, že X znamená hydroxyskupinu, znamená Y hydroxymethylovou skupinu a  
Z znamená atom vodíku nebo skupinu obecného vzorce



kde  $A^-$  znamená anion anorganické nebo organické kyseliny ze skupiny kyselina chlorovodíková, bromovodíková, sírová, fosforečná, octová, trifluoroctová, trichloroctová, jantarová, citronová askorbová mléčná, maleinová, fumarová, palmitová, cholová,

pamoová, mucinová, glutamová, kafrová, glutarová, glykolová, fталová, vinná, laurová, stearová, salicylová, methansulfonová, benzensulfonová, sorbová, pikrová, benzoová nebo skořicová nebo v případě, že se ve zbývající části antibiotika nachází funkční zbytek karboxylové kyseliny, může jít také o vnitřní sůl, odvozenou od karboxylové funkce,

5

jakož i adičních solí těchto sloučenin, přijatelných z farmaceutického hlediska, **v y z n a -**  
**č u j í c í s e t í m**, že se

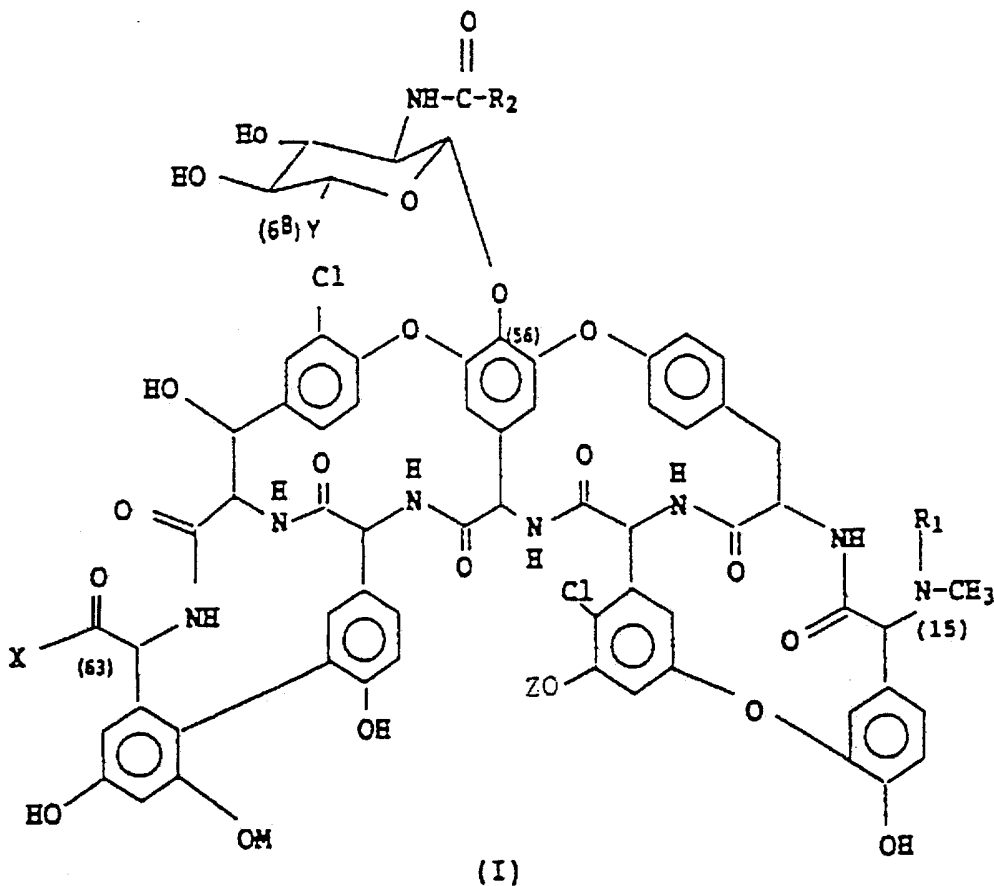
10 a) v případě, že je požadována sloučenina obecného vzorce I, v němž  $R_1$ ,  $R_2$ , M, Y a Z mají svrchu uvedený význam a X znamená skupinu obecného vzorce



kde  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $alk_1$ ,  $alk_2$ ,  $alk_3$ , p, q a W mají význam, uvedený svrchu

15

podrobí amidaci sloučenina obecného vzorce II



20 kde  $R'_1$ ,  $R'_2$  a  $M'$  mají též význam jako  $R_1$ ,  $R_2$  a M,

$Y'$  znamená alkoxykarbonyl o 1 až 4 atomech uhlíku a

$X'$  znamená hydroxyskupinu,

25

působením aminu obecného vzorce III



kde  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $alk_1$ ,  $alk_2$ ,  $alk_3$ ,  $p$  a  $q$  a  $W$  mají svrchu uvedený význam,

v přítomnosti kondenzačního činidla nebo přes "aktivovaný ester" karboxylové kyseliny na atomu uhlíku v poloze 63, načež se

5 i) popřípadě podrobí získaný derivát obecného vzorce I, v němž  $Y$  znamená alkoxykarbonyl o 1 až 4 atomech uhlíku,  $R_1$  znamená vhodnou ochrannou skupinu na dusíkovém atomu aminoskupiny v poloze  $N^{15}$  a ostatní symboly mají svrchu uvedený význam redukcí působením hydroborátu alkalického kovu a popřípadě se odstraní ochranná skupina v poloze  $N^{15}$  za vzniku odpovídající sloučeniny, v níž  $Y$  znamená hydroxymethylovou skupinu a  $R_1$  je atom vodíku,

15 ii) popřípadě se získaný derivát obecného vzorce I, v němž  $Y$  znamená alkoxykarbonyl o 1 až 4 atomech uhlíku nebo hydroxymethyl,  $R_1$  znamená vhodnou ochrannou skupinu na aminoskupině v poloze  $N^{15}$ ,  $R_2$ ,  $M$  a  $Z$  mají svrchu uvedený význam a  $X$  znamená zbytek obecného vzorce  $-NR_3-alk_1-NHR_4$ , v němž  $R_3$  a  $R_4$  nezávisle znamenají atom vodíku nebo alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku a  $alk_1$  má svrchu uvedený význam, nebo

20  $-NR_3-alk_1-NR_4-alk_2-NHR_5$

kde  $R_3$ ,  $R_4$  a  $R_5$  nezávisle znamenají atom vodíku nebo alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku a  $alk_1$  a  $alk_2$  mají svrchu uvedený význam, alkyluje působením aminu obecného vzorce IV nebo IVa

25

$r-alk_2-(NR_5-alk_3)_q-W$

$r-alk_3-W$

(IV)

(IVa)

30 kde  $R_5$ ,  $alk_2$ ,  $alk_3$  a  $W$  mají svrchu uvedený význam,  $q$  znamená celé číslo 0 nebo 1 a  $r$  znamená atom halogenu, methansulfonyl nebo tosyl, v přítomnosti látky, schopné vázat kyselinu v inertním rozpouštědle s případným následným odstraněním ochranné skupiny v poloze  $N^{15}$ ,

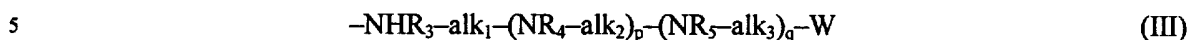
35 iii) popřípadě se získaný derivát obecného vzorce I, v němž  $Y$  znamená alkoxykarbonyl o 1 až 4 atomech uhlíku a ostatní symboly mají svrchu uvedený význam zpracovává působením vodného roztoku hydroxidu alkalického kovu za vzniku odpovídající sloučeniny, v níž  $Y$  znamená karboxylovou skupinu,

40 iiiii) popřípadě se získaný derivát obecného vzorce I, v němž  $M$  znamená alfa-D-mannopyranosyl nebo 6-O-acetyl-alfprekurzorD-mannopyranosyl a ostatní symboly mají svrchu uvedený význam podrobí hydrolyze působením kyseliny za vzniku odpovídající sloučeniny, v níž  $M$  znamená atom vodíku,

45 b) v případě, že je požadována sloučenina obecného vzorce I, v němž  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $X$  a  $M$  mají význam, uvedený ve vzorci I,  $Y$  znamená hydroxymethyl a  $Z$  znamená atom vodíku, podrobí se sloučenina obecného vzorce II, v němž  $R'_1$  znamená vhodnou ochrannou skupinu na  $N^{15}$ -aminoskupině,  $R'_2$  má též význam jako  $R_2$ ,  $Y'$  znamená alkoxykarbonyl o 1 až 4 atomech uhlíku a  $X'$  znamená hydroxyskupinu redukcí působením hydroborátu alkalického kovu a popřípadě se odstraní ochranná skupina v poloze  $N^{15}$  za vzniku odpovídající sloučeniny, v níž  $R_1$  znamená atom vodíku,

50

- i) načež se popřípadě získaná sloučenina obecného vzorce I, v němž Y znamená hydroxymethyl, X znamená hydroxyskupinu a ostatní symboly mají svrchu uvedený význam, podrobí amidační reakci působením aminu obecného vzorce III

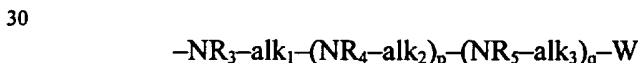


kde  $R_3, R_4, R_5, \text{alk}_1, \text{alk}_2, \text{alk}_3, p, q$  a W mají svrchu uvedený význam,

10 v přítomnosti kondenzačního činidla nebo přes aktivovaný ester karboxylové kyseliny v poloze  $C^{63}$  v inertním organickém rozpouštědle,

- c) v případě, že se požaduje derivát obecného vzorce I, v němž  $R_1, R_2, M$  a Z mají význam, uvedený v obecném vzorci I, Y a skupina COX znamenají tutéž alkylaminokarbonylovou nebo dialkylaminokarbonylovou skupinu vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v alkylové části, která může být ještě substituována substituentem ze skupiny aminoskupina, alkylaminoskupina nebo dialkylaminoskupina vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v každé alkylové části, podrobí se sloučenina obecného vzorce II, v němž  $R'_1, R'_2$  a  $M'$  mají též význam jako  $R_1, R_2$  a  $M$ ,  $Y'$  znamená karboxylovou skupinu a  $X'$  znamená hydroxyskupinu amidační reakci obdobným způsobem jako ve stupni a) působením přebytku zvoleného aminu obecného vzorce III, v němž symboly  $R_3, R_4, R_5, \text{alk}_1, \text{alk}_2, p, q$  a W mají význam, který je v souladu se svrchu uvedeným karboxamidovým zbytkem Y a COX,

- d) v případě, že se požaduje derivát obecného vzorce I, v němž  $R_1, R_2, M$  a Z mají význam, uvedený ve vzorci I, Y a skupina COX znamenají odlišné karboxamidové zbytky, přičemž Y znamená aminokarbonyl, alkylaminokarbonyl nebo dialkylaminokarbonyl vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v každé alkylové části, která může být dále substituována substituentem ze skupiny hydroxyskupina, aminoskupina, alkylaminoskupina nebo dialkylaminoskupina vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v každé alkylové části a X znamená zbytek obecného vzorce



kde  $R_3, R_4, R_5, \text{alk}_1, \text{alk}_2, \text{alk}_3, p, q$  a W mají význam, uvedený ve vzorci I,

- 35 i) podrobí se derivát obecného vzorce I, v němž  $R_1, R_2, M$  a Z mají svrchu uvedený význam, X znamená zbytek obecného vzorce



kde  $R_3, R_4, R_5, \text{alk}_1, \text{alk}_2, \text{alk}_3, p, q$  a W mají svrchu uvedený význam a Y znamená karboxylovou skupinu, amidaci působením příslušného aminu za vzniku svrchu definovaného karboxamidového zbytku Y v přítomnosti kondenzačního činidla, nebo se

- 45 ii) převede derivát obecného vzorce I, v němž  $R_1$  znamená ochrannou skupinu na  $N^{15}$ -aminoskupině,  $R_2, M$  a Z mají svrchu uvedený význam a X znamená zbytek obecného vzorce

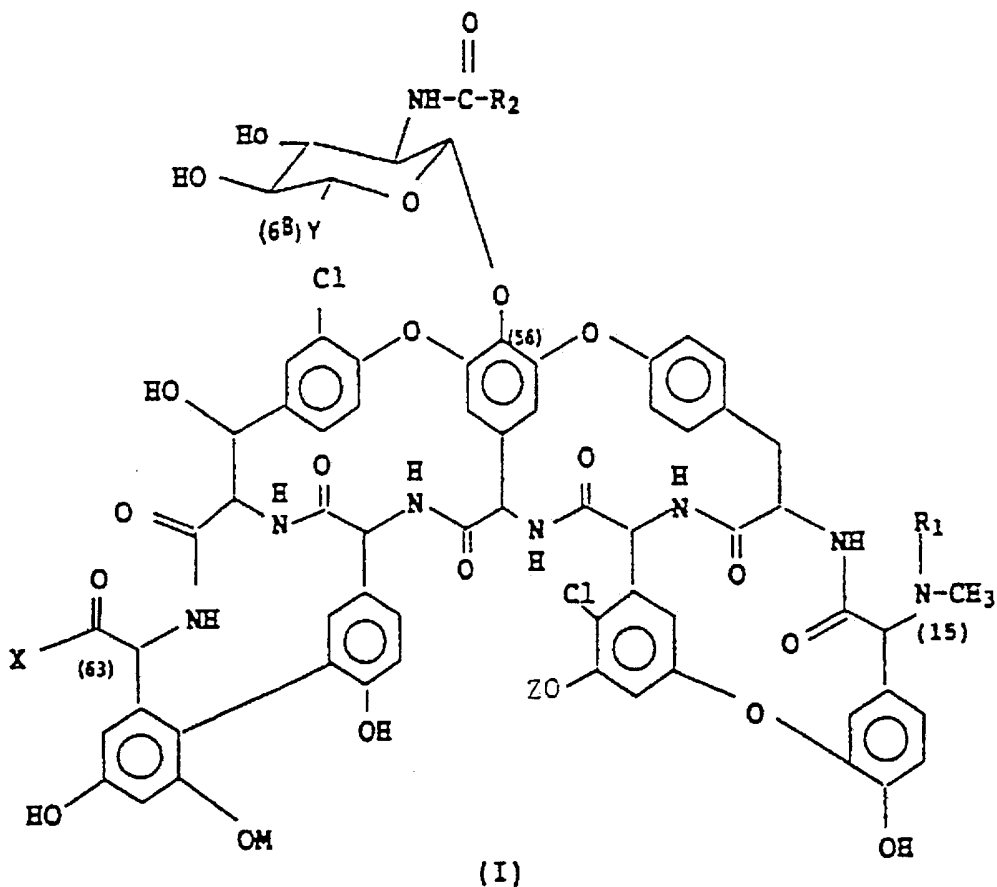


kde  $R_3, R_4, R_5, \text{alk}_1, \text{alk}_2, \text{alk}_3, p, q$  a W mají svrchu uvedený význam a Y znamená karboxylovou skupinu na odpovídající aktivovaný ester v poloze  $6^B$  a tento aktivovaný ester se uvede do reakce a příslušným aminem za vzniku svrchu definovaného karbox-

amidového zbytku Y, s případným následným odstraněním ochranné skupiny v poloze N<sup>15</sup> za vzniku odpovídající sloučeniny, v níž R<sub>1</sub> znamená atom vodíku.

- 5 14. Způsob podle nároku 13, **vyznačující se tím**, že se ve stupních a), b)i), c) a d)i) amidace provádí v inertním organickém rozpouštědle v přítomnosti kondenzačního činidla ze skupiny alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku-, fenylo- nebo heterocyklylfosfoazidátu a benzo-triazolyloxy-tris-(pyrrolidino)fosfoniumhexafluorofosfátu při teplotě 0 až 20 °C.
- 10 15. Způsob podle nároku 13, **vyznačující se tím**, že se v průběhu amidace ve stupních a), b)i), c) a d)ii) převede výchozí karboxylová kyselina obecného vzorce II na odpovídající aktivovaný ester, s výhodou chráněný na N<sup>15</sup>-aminoskupině a tento aktivovaný ester se uvede do reakce s molárním přebytkem aminu obecného vzorce III v přítomnosti organického polárního rozpouštědla při teplotě 5 až 60, s výhodou 10 až 30 °C.
- 15 16. Způsob podle nároku 15, **vyznačující se tím**, že se jako aktivovaný ester užije kyanomethylester při molárním podílu této látky k aminu v rozmezí 1 : 5 až 1 : 30.
- 20 17. Způsob podle nároku 16, **vyznačující se tím**, že se kyanomethylester připraví reakcí výchozí karboxylové kyseliny obecného vzorce II, s výhodou chráněné na N<sup>15</sup>-aminoskupině s 20 až 30-násobným molárním přebytkem chloracetonitrilu v přítomnosti inertního organického rozpouštědla a báze, která neinterferuje s průběhem reakce při teplotě v rozmezí 5 až 60, s výhodou 10 až 30 °C.
- 25 18. Způsob podle nároku 13, **vyznačující se tím**, že se ve stupních a)i) a b) užije molární poměr hydroborátu alkalického kovu ke sloučenině obecného vzorce II v rozmezí 50:1 až 300:1 a reakce se provádí při teplotě 0 až 40 °C, s výhodou při teplotě místnosti.
- 30 19. Způsob podle nároku 14, **vyznačující se tím**, že se inertní organické rozpouštědlo volí ze skupiny dimethylformamid, dimethoxyethan, amid kyseliny hexamethylfosforečné, dimethylsulfoxid a směsi těchto látek.
- 35 20. Způsob podle nároku 15, **vyznačující se tím**, že se organické polární rozpouštědlo volí ze skupiny nižší alkanoly, dimethylformamid, amid kyseliny hexamethylfosforečné, 1,3-dimethyl-3,4,5,6-tetrahydro-2(1H)-pyrimidon, dimethylsulfoxid a dimethoxyethan.
- 40 21. Způsob podle nároku 18, **vyznačující se tím**, že se hydroborát alkalického kovu volí ze skupiny hydroborát sodný nebo draselný a kyanohydroborát sodný a reakčním rozpouštědlem je směs vody a ve vodě rozpustného nebo částečně rozpustného nižšího alkanolu a popřípadě se jako protipěnové činidlo užije diethylether.
- 45 22. Způsob podle nároku 13, **vyznačující se tím**, že se jako ochranná skupina v poloze N<sup>15</sup> užije terc.butoxykarbonyl nebo karbobenzylloxyskupina a po ukončené amidaci se tato skupina popřípadě odštěpí.
- 50 23. Způsob podle nároku 13, **vyznačující se tím**, že se jedna nebo větší počet aminoskupin v aminu obecného vzorce III, které se neúčastní tvorby amidové vazby chrání před uskutečněním amidační reakce, načež se po jejím ukončení tyto ochranné skupiny opět odštěpí.
24. Způsob výroby derivátu obecného vzorce I podle nároku 1 až 9, **vyznačující se tím**, že se

a) v případě, že se požaduje sloučenina obecného vzorce I, v němž Y znamená hydroxymethyl, X znamená hydroxyskupinu a  $R_1$ ,  $R_2$  a M mají význam, uvedený v nároku 9, redukuje sloučenina obecného vzorce II



5

kde

X' znamená hydroxyskupinu,

10

Y' znamená alkoxykarbonylovou skupinu o 1 až 4 atomech uhlíku a

$R'_1$  je ochranná skupina na aminoskupině,

15

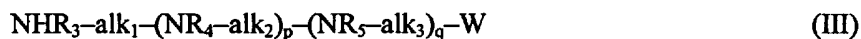
působením hydroborátu alkalického kovu, s výhodou hydroborátu sodného nebo draselného nebo kyanhydroborátu sodného při teplotě 0 až 40 °C ve vodě nebo ve směsi vody a alkoholu s případným následným odstraněním ochranné skupiny a

20

b) v případě, že je požadována sloučenina obecného vzorce I, v němž X znamená skupinu  $-NR_3-alk_1-(NR_4-alk_2)_p-(NR_5-alk_3)_q-W$  a Y,  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $alk_1$ ,  $alk_2$ ,  $alk_3$ , p, q a M mají význam, uvedený v nároku 9,

25

i) kondenzuje se karboxylová sloučenina obecného vzorce II, v němž X' znamená hydroxyskupinu, Y' znamená alkoxykarbonyl o 1 až 4 atomech uhlíku a  $R'_1$  znamená ochrannou skupinu na aminoskupině nebo karboxylová sloučenina obecného vzorce I, v němž  $R_2$  a M mají svrchu uvedený význam, Y znamená hydroxymethyl, X znamená hydroxyskupinu a  $R_1$  znamená ochrannou skupinu na aminoskupině, s přebytkem příslušného aminu vzorce III



5 kde  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $\text{alk}_1$ ,  $\text{alk}_2$ ,  $\text{alk}_3$ ,  $p$ ,  $q$  a  $W$  mají svrchu uvedený význam, v inertním organickém rozpouštědle v přítomnosti kondenzačního činidla ze skupiny alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku-, fenylo- nebo heterocyklylfosforazidátu při teplotě 0 až 20 °C, načež se popřípadě odstraní ochranná skupina na aminoskupině, nebo se

10 ii) převede svrchu definovaná karboxylová sloučenina obecného vzorce II nebo I na odpovídající aktivovaný ester a tento aktivovaný ester se uvede do reakce s aminem vzorce III ve svrchu uvedeném významu v přítomnosti organického polárního rozpouštědla při teplotě 5 až 60, s výhodou 10 až 30 °C a popřípadě se odstraní ochranná skupina na aminoskupině.

15

25. Amidový derivát podle kteréhokoliv z nároků 1 až 12 pro použití jako léčiva.

26. Použití amidového derivátu podle kteréhokoliv z nároků 1 až 12 pro výrobu farmaceutického prostředku pro léčení bakteriálních infekcí.

20

27. Farmaceutický prostředek s antibiotickým účinkem pro léčení bakteriálních infekcí, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že jako svou účinnou složku obsahuje amidový derivát podle kteréhokoliv z nároků 1 až 12.

25

28. Použití amidového derivátu podle kteréhokoliv z nároků 9 až 12 pro výrobu farmaceutického prostředku pro léčení bakteriálních infekcí.

30

29. Farmaceutický prostředek s antibiotickým účinkem pro léčení bakteriálních infekcí, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že jako svou účinnou složku obsahuje amidový derivát podle kteréhokoliv z nároků 9 až 12.

35

---

Konec dokumentu

---