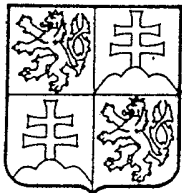


ČESKÁ A SLOVENSKÁ
FEDERATIVNÍ
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

270 776

(21) PV 657-89.Y
(22) Přihlášeno 01 02 89

(40) Zveřejněno 13 12 89
(45) Vydáno 04 07 91

(11)

(13) 81

(51) Int. Cl.⁴
C 07 J 63/00
C 07 O 313/10

(75) Autor vynálezu KOHOUT LADISLAV, PRAHA,
STRNAD MIROSLAV, HRUBČICE

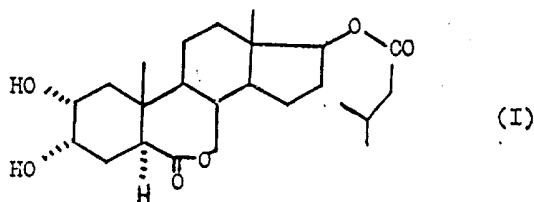
(54) 2 α ,3 α -Dihydroxy-17 β -(3'-methyl)-butyryloxy-
-7-oxa-8-homo-5 α -androstan-6 on

(57) Řešení se týká nové sloučeniny, 2 α ,
3 α -dihydroxy-17 β -(3'-methyl)-butyryloxy-
-7-oxa-8-homo-5 α -androstan-6-onu, která
ovlivňuje růst rostlin podobným způsobem
jako rostlinný hormon brassinolid, a způso-
bu přípravy této sloučeniny.

Vynález se týká nové sloučeniny, 2 α ,3 α -dihydroxy-17 β -(3-methyl)-butyryloxy-7-oxa-8-homo-5 α -androstan-6-onu, který má brassinolidní účinnost, projevující se tím, že působí na růst rostlin, a způsobu jeho přípravy.

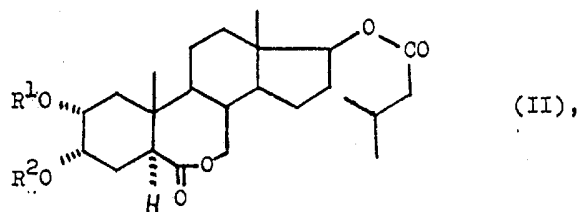
V roce 1979 [Grove M.D. a spol.: Nature (London) 281, 216 (1979).] byl izolován rostlinný hormon brassinolid, který způsobuje dělení buněk a jejich prodlužování, má tedy vliv na růst rostlin. Přístupnost brassinolidu izolací z přírodního materiálu je značně obtížná, protože se vyskytuje ve velmi nízkých koncentracích. Například v pylu řepky [Grove M.D. a spol.: Nature (London) 281, 216 (1979).] je jeho obsah 0,1 ppm, v hálkách kaštanu [Ikeda M. a spol.: Agr. Biol. Chem. 47, 655 (1983).] 0,005 ppm, v čínském zelí [Morishita T. a spol.: Phytochemistry 22, 1051 (1983).] 0,000003 ppm a podobně. Přístupnost brassinolidu a jeho analog syntézou je rovněž značně obtížná díky složitosti syntetických postupů a nízkým výtěžkům [viz například: Abe a spol.: Agr. Biol. Chem. 46, 2609 (1982), Fung S. a spol.: J. Amer. Chem. Soc. 102, 6580 (1980), Inshiguro M. a spol.: J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1980, 962, Thompson M.J. a spol.: Steroids 38, 567 (1981), Aburatani M. a spol.: Agr. Biol. Chem. 50, 3043 (1986), pro souhrn viz například: Adam G. a spol.: Zeitschrift für Chemie 27, 41 (1987), Československý patent č. 252 605 apod.]. Žádná z dosud synteticky připravených sloučenin neměla současně dvě vlastnosti, které jsou důležité pro její praktickou využitelnost: snadnou dostupnost a vysokou účinnost. Podmínce snadné přístupnosti vyhovuje naše sloučenina 2 α ,3 α ,17 β -trihydroxy-5 α -androstan-6-on, kterou jsme popsali v Čs. patentu č. 252 605. Tato sloučenina vykazuje význačnou účinnost v testu na 2. internodu fazole, avšak ani při vysokých koncentracích nedosahuje typická účinnost brassinolidu - rozštěpení 2. internodu. Je tedy žádoucí získat sloučeninu, která by byla snadno připravitelná a při tom měla vysokou účinnost.

Během studia synthesy a účinnosti analog brassinolidu jsme neočekávaně zjistili, že 2 α ,3 α -dihydroxy-17 β -(3-methyl)-butyryloxy-7-oxa-8-homo-5 α -androstan-6-on-vzorce I

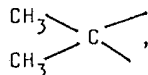


vykazuje typickou brassinolidní účinnost v testu na druhém internodu fazole [Mitchell J.W. a spol.: "Methods of Studying Plant Hormones and Growth Regulating Substances", Agriculture Handbook No. 336, str. 26, US Government Printing Office, Washington D. C., 1968.], což je test, který je používán pro stanovení brassinolidní účinnosti.

Předmětem tohoto vynálezu je 2 α ,3 α -dihydroxy-17 β -(3-methyl)-butyryloxy-7-oxa-8-homo-5 α -androstan-6-on shora uvedeného vzorce I, který ovlivňuje růst rostlin, a způsob přípravy této sloučeniny tím, že se sloučenina obecného vzorce II



v němž R^1 a R^2 znamenají nezávisle na sobě vhodnou chránicí skupinu, kterou lze selektivně odstranit z molekuly vedle 17 β -(3'-methyl)-butyryloxyskupiny, s výhodou R^1 i R^2 znamená skupinu CH_3CO - nebo R^1 společně s R^2 znamená skupinu



působením kyselého prostředí, například zředěné kyseliny chlorovodíkové, nebo alkalického prostředí, například působením uhličitanu alkalického kovu, jako je uhličitán sodný nebo uhličitán draselný, převede na sloučeninu shora uvedeného vzorce I.

Účinnost sloučeniny shora uvedeného vzorce I podle tohoto vynálezu na růst rostlin je srovnávána s účinností epibrassinolidu, což je sloučenina, která je účinností blízká přírodnímu brassinolidu. Ze získaných dat je zřejmé, že sloučenina vzorce I, přes mnohem jednodušší strukturu ve srovnání s epibrassinolidem, vykazuje značnou brassinolidní účinnost. Při aplikovaném množství 10^{-7} molu dochází dokonce k typicky brassinolidnímu efektu - k rozštěpení druhého internodu testované rostliny.

Dále uvedené příklady mají za účel podrobněji ilustrovat tento vynález, nejsou však zamýšleny jako omezení rozsahu tohoto vynálezu.

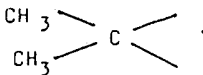
Příklad 1

Příprava 2 α ,3 α -dihydroxy-17 β -(3'-methyl)-butyryloxy-7-oxa-8-homo-5 α -androstan-6-onu ze sloučeniny obecného vzorce II, v němž R^1 i R^2 znamená skupinu CH_3CO -.

K roztoku 2 α ,3 α -diacetoxy-17 β -(3'-methyl)-butyryloxy-7-oxo-B-homo-5 α -androstan-6-onu (220 mg) v methanolu (14 ml) se přidá roztok uhličitanu draselného (127 mg) ve vodě (1,3 ml). Směs se nechá stát třicet minut za teploty místnosti. Potom se reakční směs vlije do chloroformu, chloroformová vrstva se promyje vodou, oddělí, vysuší nad síranem sodným a rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Získá se tak 195 mg odparku, který po přečištění chromatografií na sloupci silikagelu (200 g, eluce směsí chloroformu s etherem v poměru 1 : 1) poskytne 141 mg nekrytalujícího diolu uvedeného v titulu tohoto příkladu. IČ spektrum (tetrachlormethan): 3445 (hydroxylové skupiny), 1737, 1728, 1712, 1189 (17 β -ester), 1728, 1712, 1297 (lakton) cm^{-1} . Hmotové spektrum (m/z): 422 (M^+), 404, 377, 355. ^1H NMR spektrum: 0,82 s, 3H (H-18), 0,92 s, 3H (H-19), 0,95 d, 6H (metylové skupiny 17 β -esteru), 3,42 až 4,18 m, 2H (H-2 β a H-3 β), 4,05 br d, 2H (J = 5 Hz, H-7a), 4,61 m, 1H ($W_{1/2}$ = 19 Hz, H-17 α). Pro $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{O}_6$ (422,5) vypočteno: 68,22 % C, 9,06 % H, nalezeno: 67,99 % C, 9,01 % H.

Příklad 2

Příprava 2 α ,3 α -dihydroxy-17 β -(3'-methyl)-butyryloxy-7-oxa-8-homo-5 α -androstan-6-onu ze sloučeniny obecného vzorce II, v němž R^1 a R^2 společně znamenají skupinu



K roztoku 2 α ,3 α -isopropylidendioxy-17 β -(3'-methyl)-butyryloxy-7-oxa-8-homo-5 α -androstan-6-onu (110 mg) v methanolu (10 ml) se přidá 0,1 ml 37% kyseliny chlorovodíkové. Po 90 minutách stání za teploty místnosti se přidá 10 ml benzenu a 5 ml ethanolu a vše se oddestiluje za sníženého tlaku dosucha. Získá se tak 89 g olejovitého 2 α ,3 α -dihydroxy-17 β -(3'-methyl)-butyryloxy-7-oxa-8-homo-5 α -androstan-6-onu, jehož spektroskopické vlastnosti (IČ, ^1H NMR) byly identické s látkou připravenou v příkladu 1.

Příklad 3

Testování 2 α ,3 α -dihydroxy-17 β -(3'-methyl)-butyryloxy-7-oxa-8-homo-5 α -androstan-6-onu na druhém internodu fazole

Semena fazole (*Phaseolus vulgaris*; var. Pinto) se zasazuje do květináčů (průměr 7,0 cm) obsahujících vermikulit a Hoaglandův roztok (poloviční koncentrace, pH 5,7). Rostliny se pěstují ve skleníku za teploty 23 až 27 °C s osvětlením 6 000 luxu po dobu 16 hodin denně. Různá

množství (v molech) testované sloučeniny ve 2 μ l lanolinu se aplikují na skupinky 8 rostlin starých 7 dnů s druhým internodem dlouhým 2 mm. Na kontrolní rostlinky se aplikuje samotný lanolin. Způsob aplikace je popsán v odborné literatuře [Mitchell J. W. a spol.: "Methods of Studying Plant Hormones and Growth Regulating Substances", Agriculture Handbook No. 336, str. 26, US Government Printing Office, Washington D. C., 1968). Vyhodnocení se provádí pátý den po aplikaci. Při vyhodnocení se měří délka druhého internodu testovaných a kontrolních rostlin. Rozdíl mezi těmito délkami se používá jako míra účinnosti těchto sloučenin. V případě maximální účinnosti dochází k zesílení, případně až k rozštěpení internodu.

Výsledky testování 2 α , 3 α -dihydroxy-17 β -(3'-methyl)-butyryloxy-7-oxa-8-homo-5 α -androstan-6-onu (sloučenina vzorce I) a jeho srovnání s epibrassinolidem [(22R, 23R, 24R)-2 α , 3 α , 22, 23-tetrahydroxy-24-methyl-8-homo-7-oxa-5 α -cholestan-6-onem] jsou uvedeny v tabulce I.

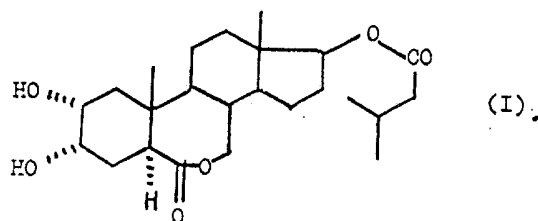
Tabulka I
Výsledky testování

	aplikovaná dávka v molech						
	2.10 ⁻⁷	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰	10 ⁻¹¹	10 ⁻¹²
	prodloužení druhého internodu fazole při dané aplikované dávce (mm):						
sloučenina vzorce I	12,2	13,6 ⁺	6,5	4,2	3,6	2,6	0,6
epibrassinolid	-	-	20,7 ⁺	24,9	26,8	19,6	13,3

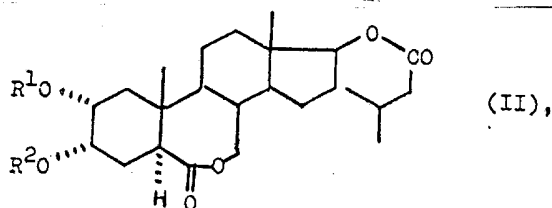
+ Došlo k rozštěpení 2. internodu testovaných rostlin

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. 2 α , 3 α -Dihydroxy-17 β -(3'-methyl)-butyryloxy-7-oxa-8-homo-5 α -androstan-6-on vzorce I



2. Způsob přípravy sloučeniny vzorce I, vyznačující se tím, že se sloučenina obecného vzorce II



v němž R^1 a R^2 znamenají nezávisle na sobě selektivně odstranitelnou chránič skupinu, působením alkalického nebo kyselého prostředí převede na sloučeninu vzorce I

3. Způsob podle bodu 2, vyznačující se tím, že R^1 a R^2 znamenají jednotlivě acetylovou skupinu nebo společně skupinu

