



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

217 432

(11) (B1)

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 14 03 79
(21) (PV 1701-79)
(89) 135 725, DD
(32)(31)(33) Právo přednosti od 13 04 78
(WP C 07 D/204 769) DD

(51) Int. Cl. C 07 D 311/78

(40) Zveřejněno 26 03 82
(45) Vydáno 01 07 84

(75)
Autor vynálezu

LISCHEWSKI MANFRED dr.dipl.chem., HALLE-NEUSTADT
ADAM GÜNTER dr.dipl.chem., HALLE (DD)

(54) Způsob výroby giberelinových sloučenin

Cíl vynálezu spočívá v tom, že je přepracován dosud známý způsob, s jehož pomocí je možno s vysokými výtěžky přeměnit aldehydickou skupinu v poloze 6 u přírodních C₁₉ giberelinů, u giberelin-7/-aldehydů a jejich derivátů ve skupinu karboxylovou.

V souladu s vynálezem se přidáváním okysličovadla za mírných podmínek bez použití silné kyseliny přeměňují v rozpouštědle, zejména v pyridinu, giberelin-7/-aldehydu nebo jeho deriváty získané z přírodního C₁₉ giberelinu, v odpovídající giberelinovou sloučeninu s karboxylovou skupinou na šestém atomu. Přednost tohoto způsobu v souladu s vynálezem spočívá v tom, že je možno přeměňovat také značené gibereliny, například giberelin-7/-aldehyd značený deuteriem nebo tritiem v odpovídající karbonové kyseliny. Tak se stávají dostupnými značené přírodní gibereliny a jejich deriváty.

217 432

НАЗВАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Способ получения гиббереллиновых соединений

Изобретение касается способа получения гиббереллиновых соединений с карбоксильной группой у шестого атома. Под этим понимаются природные C_{19} -гиббереллины и гибберелиновые производные, которые имеют у шестой позиции основного скелета *ent*-гиббереллана карбоксильную группу. У гибберелиновых производных дело идет о соединениях с основным скелетом 20-нор - *ent*-гиббереллана, который неподвижен или лишь мало изменен и в данном случае может быть по разному замещен.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Гиббереллины вызывают как фитогормоны с многосторонним действием большой биологический интерес. Так имеет большое значение применение гибберелиновых соединений или радиоактивно меченных гиббереллинов и их производных во многих областях, например, для биотехнологических и аналитических способов, для исследования биосинтеза, метаболизма, транспорта, распределения, механизма действия и анализа отношения между структурой и действием этих фитогормонов и их частично синтетических аналогов.

ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗВЕСТНЫХ ТЕХНИЧЕСКИХ РЕШЕНИЙ

Известно, что получение C_{20} -гиббереллинов или их производных с карбоксильной группой, находящейся у шестого атома, удается в присутствии реактива Джонса химическим путем, исходя из C_{20} -гиббереллин-(7)-альдегидов или их производных /, J.R. Bearder, J. Mac Millan und B.O. Phinney, *Phytochemistry* 12, 2173 /1973/; E. Fujita, M. Node und Hori, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1975, 898 und *J. Chem. Soc., Perkin I* 1977, 611/

Однако до сих пор нет такого способа, который позволял бы проводить превращение альдегидной группой у шестого атома в полученных из природных C₁₉-гиббереллинов гиббереллин-(7)-альдегидов или их производных в карбоксильную группу. Этот знакомый способ для C₂₀-гиббереллин-(7)-альдегидов или их производных не является общеприемлемым, особенно нельзя его применять для соединений с чувствительными к кислотам структурными признаками, как например, при одновременном присутствии гидроксильной группы у 13-го атома углерода и $\Delta^{16.17}$ - двойной связи.

ЦЕЛЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Целью изобретения является разработка общеприменимого способа, позволяющего превращать альдегидную группу у шестого атома в гиббереллин-(7)-альдегидах, полученных из природных C₁₉-гиббереллинов и их производных в карбоксильную группу с повышенными выходами.

ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Задача изобретения заключается в том, чтобы специфически окислять альдегидную группу у шестого атома в гиббереллин-(7)-альдегидах, полученных из природных C₁₉-гиббереллинов и их производных в карбоксильную группу.

Согласно изобретению, полученный из природного C₁₉-гиббереллина гиббереллин-(7)-альдегид или производное такого альдегида превращается с помощью окислителя при мягких условиях в соответствующее гиббереллиновое соединение с карбоксильной группой у шестого атома. Под мягкими условиями понимают здесь особенно отсутствие сильной кислоты.

Примененные гиббереллиновые альдегиды были синтезированы по известным способам (M. Lischewski u. G. Adam) описание изобретения к экономическому патенту ГДР 112 753, C 07 a, 5/60; описание изобретения к экономическому патенту ГДР 120 875, C 07 D, 307/77; M. Lischewski u. G. Adam, Tetrahedron Letters 1974, 2835; ibid. 1975, 2569, ibid. 3691, Z.Chem. 16, 486 (1976).

217 432

В качестве окислителя можно применять самые разные вещества, как например, хромосодержащие соединения, в особенности окись хрома (У1), пероксосоединения, например, пербензойная кислота или *m*-хлор-пербензойная кислота, кислород воздуха, в данном случае под влиянием солей тяжелых металлов, как соли марганца или кобальта. Окисление проводится в растворителе, который при данных условиях не окисляется, предпочтительнов третичном амине, причем особенно годится пиридин.

Температура реакции может колебаться в широких пределах, причем лучше всего работать при комнатной температуре.

При применении гиббереллиновых соединений с чувствительными к окислению гидроксильными группами рекомендуется предусмотреть их защиту перед окислением защитными группами. В качестве защитной группа можно применять, например, ацильные группы, как ацетил, пропион или бензоил, силильные группы, как приметил-силил, или тетрагидропиранильную группу. Защитить таким образом, можно, например, гидроксильную группу у 3-его атома углерода в гиббереллин- A_3 -(7)-альдегиде или гиббереллин- A_1 -(7)-альдегиде.

Обработка продуктов реакции производится по обычным методам, например, хроматографией на колонке с применением органических растворителей.

Способ, согласно изобретению, общеприменим и дает желаемые гиббереллиновые соединения с карбоксильной группой у шестого атома из гиббереллин-(7)-альдегидов с высоким выходом. Этот способ годится особенно для гиббереллин/(7)-альдегидов, у которых одновременно присутствует гидроксильная группа у 13-ого атома углерода и $\Delta^{17.17}$ -двойная связь.

Особенное преимущество способа, согласно изобретению, заключается в том, что можно превращать также меченные тритием или дейтерием гиббереллин-(7)-альдегиды в соответствующие карбоновые кислоты. Таким образом, меченые гиббереллиновые сое-

динения становятся доступными, которые до сих пор другими путями нельзя было получать, например, меченые тритием или дейтерием гиббереллины у 15-ого атома углерода.

Особенное преимущество меченых у 15-ого атома углерода гиббереллиновых соединений заключается в том, что наряду с легкой и простой доступностью исходных веществ, метка находится на такой позиции, на которой редко наблюдается биологические изменения, например, при изучении биосинтеза или исследованиях метаболита. Другие преимущества-это устойчивое мечение, которое достигается с большой удельной радиоактивностью и что его легко можно обнаружить.

Последние примеры объясняют изобретение, причем данные здесь специальные условия не ограничивают изобретение.

ПРИМЕРЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Пример 1:

К 207,3 мг (0,5 ммол) O(3), O(13)-диацетил-гиббереллин-A₃-(7)-альдегида (1a), растворенного в 3 мл абсолютного пиридина, добавляют при перемешивании 100 мг (1 ммол) CrO₃. После 2 часов перемешивания выпаривают в вакууме, добавляют эфир и несколько раз взбалтывают с 2% HCl.

Остаток высушенной и выпаренной эфирной фазы хроматографируют на 12 г силикагеля (Woelm). Вымывание с гексаном/хлороформом 4:6 об/об дает 31 мг непревращенного O(3), O(13)-диацетил-гиббереллин-A₃-(7)-альдегида (1a). С хлороформом, как средством вымывания, получают 165 мг \approx 90% от теории O(3), O(13)-диацетил-гиббереллин-A₃(1): точка плавления: 186-188°C (из хлороформа п-рексана), $[\alpha]_D^{25} +177,8^\circ$ (c=0,53, этанол).

217 432

Пример 2

К 414,5 мг (1 ммол) $[15-^3\text{H}]$ - 0, (3), (13)- диацетилгиббереллин- A_3 -(7)-альдегида (1а) (удельная радиоактивность 1.44 мкюри/ммол) растворенного в 5 мл абсолютного пиридина, добавляют при перемешивании 200 мг (2 ммол) CrO_3 . После двух часов перемешивания выпаривают в вакууме, добавляют эфир и взбалтывают несколько раз с 2% HCl . Остаток высушенной и выпаренной эфирной фазы хроматографируют на 25 г силикагеля (Woelm). Сп - гексаном/хлороформом 4:6 об/об получают 65 мг направленного $[15-^3\text{H}]$ - 0(3)-диацетил-гиббереллин- A_3 -(7)-альдегида. Последующее вымывание с хлороформом дает 326 мг $\hat{=} 90\%$ от теории $[15-^3\text{H}]$ - 0(3), 0(13)-диацетил-гиббереллин- A_3 (выход, рассчитанный на превращенный $[15-^3\text{H}]$ - 0(3), 0, (13)-диацетилгиббереллин- A_3 -(7)-альдегид: точка плавления: $186-188^\circ\text{C}$ (из хлороформа/п - гексана), $[\alpha]_D^{25} +177,2^\circ$ (с = 0,58, этанол). Удельная радиоактивность $[15-^3\text{H}]$ - 0(3), 0(13)-диацетилгиббереллин- A_3 (1 б) составляет 1,44 мкюри/ммол. Последующее деацетилирование 326 мг $[15-^3\text{H}]$ - 0(3), 0(13)-диацетилгиббереллин- A_3 с помощью 7,5 мл 0,2 н раствора метилата натрия (комнатная температура, 4 часа) дает 178 мг $\hat{=} 68\%$ от теории $[15-^3\text{H}]$ - гиббереллин- A_3 (удельная радиоактивность 1,21 мкюри/ммол).

Пример 3

К 330 мг (1 ммол) $[15-^3\text{H}]$ - гибберелин- A_3 -(7)-альдегида (Па) (удельная радиоактивность 0,43 мкюри/ммол) добавляют 15 мл абсолютного пиридина, 2 мл триметилхлорсилана и 2 мл гексаметилдисилавана. После 3 часов выпаривают в вакууме, растворяют остаток в 5 мл абсолютного пиридина и добавляют при перемешивании 200 мг CrO_3 (2 ммол). После трех часов снова выпаривают в вакууме, растворяют остаток в этоловом эфире уксусной кислоты и несколько раз взбалтывают с 2% HCl . После высушивания и выпаривания этилацетатной фазы остаток хроматографируют на 20 г силикагеля (Woelm). Вымывают с хлороформом/этиловым эфиром уксусной кислоты 8:2 об/об дает 52 мг непревращенного $[15-^3\text{H}]$ - гиббереллин- A_3 -альдегида.

С градиентом хлороформ/этиловый эфир уксусной кислоты 4:6 об/об получают 248 мг $\hat{=}$ 85% от теории $[15-^3\text{H}]$ - гиббереллин- A_3 (11 В): точка плавления: 232 - 235 $^{\circ}\text{C}$. (из ацетона/*n*-гексана), $[\alpha]_D^{25} + 82,4^{\circ}$ ($c = 0,53$, этанол) (удельная радиоактивность 0,38 мкюри/ммол).

Аналогично были получены среди других :

0(3)-ацетилгиббереллин- A_3 (111 б): точка плавления: 233-235 $^{\circ}\text{C}$ (этиловый эфир уксусной кислоты/*n*-гексан), $[\alpha]_D^{25} + 152,5^{\circ}$ ($c = 0,53$ этанол) из 0(3(-ацетилгиббереллин- A_3 -(7)-альдегида (111 а).

$[15-^3\text{H}]$ -0(3)-ацетилгиббереллин- A_3 (111 б): точка плавления: 233-234 $^{\circ}\text{C}$ (этиловый эфир уксусной кислоты/*n*-гексан), $[\alpha]_D^{25} + 151,4^{\circ}$ ($c = 0,58$, этанол) из $[15-^3\text{H}]$ -0(3)-ацетилгиббереллин- A_3 -(7)-альдегида (111 а).

$[15-^3\text{H}]$ -0(3)-ацетилгиббереллин- A_1 (1У б): точка плавления: 269-271 $^{\circ}\text{C}$ (этиловый эфир уксусной кислоты/*n*-гексан), $[\alpha]_D^{25} + 53,8^{\circ}$ ($c = 0,43$, этанол) из $[15-^3\text{H}]$ -0(3)-ацетилгиббереллин- A_1 -(7)-альдегида (1У а). Последующее деацетилирование 1У б с одним эквивалентом метилата натрия дает $[15-^3\text{H}]$ - гиббереллин- A_1 точка плавления: 255-259 $^{\circ}\text{C}$ (этиловый эфир уксусной кислоты/*n*-гексан), $[\alpha]_D^{25} + 35,2^{\circ}$ ($c = 0,62$, этанол).

$[15-^3\text{H}]$ - гиббереллин- A_4 точка плавления: 214-216 $^{\circ}\text{C}$ (этиловый эфир уксусной кислоты/*n*-гексан). $[\alpha]_D^{25} - 4,2^{\circ}$ ($c = 0,62$, этанол) из $[15-^3\text{H}]$ -0(3)-триметилсилилгиббереллин- A_4 -(7)-альдегида (У а) через $[15-^3\text{H}]$ -0(3)-триметилсилилгиббереллин- A_4 (У б).

Гиббереллин- A_4 точка плавления: 212-215 $^{\circ}\text{C}$ (этиловый эфир уксусной кислоты/*n*-гексан), $[\alpha]_D^{25} - 3,8^{\circ}$ ($c = 0,57$, этанол) из 0(3)-тетрагидропиранилгиббереллин- A_4 -(7)-альдегида (У1 а через 0(3(-тетрагидропиранилгиббереллин- A_4 (У1 б).

$15-^3\text{H}$ -гиббереллин- A_5 (У11): точка плавления: 259-261 $^{\circ}\text{C}$ (этиловый эфир уксусной кислоты/*n*-гексан), $[\alpha]_D^{25} - 75,8^{\circ}$ ($c = 0,57$, метанол) из $[15-^3\text{H}]$ -гиббереллин- A_5 -(7)- альдегида (У11 а).

$[15-^3\text{H}]$ -O(3)-ацетилгиббереллин- A_7 (VIII б) точка плавления: 189-192°C (этиловый эфир уксусной кислоты / η гексан), + 86,2° (с = 0,72, этанол) из $[15-^3\text{H}]$ -O(3)-ацетилгиббереллин- A_7 -(7)-альдегида (VIII б). Последующее деацетилирование VIII б с одним эквивалентом метилата натрия дает $[15-^3\text{H}]$ -гиббереллин- A_7 , точка плавления: 170-172°C (этиловый эфир уксусной кислоты/ η -гексан, $[\alpha]_D^{25} + 20,7^\circ$ (с=0,62, этанол).

O(2), O(3), O(13)-триацетилгиббереллин- A_8 (IX б) точка плавления: 218-219°C (этиловый эфир уксусной кислоты/петролейный эфир), $[\alpha]_D^{25} + 40,9^\circ$ (с=0,53, этанол) из O(2), O(3), O(13)-триацетил-гиббереллин- A_8 -(7)-альдегида (IXа).

$[15-^3\text{H}]$ - гиббереллин- A_9 (X б) точка плавления: 209-211°C (хлороформ/ η гексан), $[\alpha]_D^{25} - 23,6^\circ$ (с = 0,47, этанол) из

$[15-^3\text{H}]$ -гиббереллин- A_9 -(7)- альдегида (Xа).

$[15-^3\text{H}]$ -гиббереллин- A_8 -(XI б) точка плавления: 210-214°C, $[\alpha]_D^{25} + 13,5^\circ$ (с = 0,42, этанол) из $[15-^3\text{H}]$ гиббереллин- A_8 -(7)-альдегида (XI а).

Пример 4

К 314,5 мг (1ммол) гиббереллин- A_5 -(7)-альдегида (VII а), растворенного в 50 мл этилового эфира уксусной кислоты, добавляют 20 мл 2% водного раствора ацетата марганца и кобальта. При 30-35°C вводят 4 часа тонко распределенный воздух, после подкисления спомощью разбавленной HCl фазу этилового эфира уксусной кислоты несколько раз взбалтывают с водой. После этого остаток выпаренной органической фазы хроматографируют на 30 г силикагеля (Woelm), при этом вымываются хлороформом 202 мг непревращенного гиббереллин- A_5 -(7)-альдегида. После этого получают хлороформом/этиловым эфиром уксусной кислоты 8:2 об/об 104 мг = 88% от теории гиббереллин- A_5 (VII б) точка плавления 258-261°C (этиловый эфир уксусной кислоты/ η -гексан), $[\alpha]_D^{25} - 76^\circ$ (с = 0,6, метанол).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

217 432

1. Способ получения гиббереллиновых соединений, отличающийся тем, что полученный от природного C₁₉-гиббереллина гиббереллин-(7)-альдегид или производное такого альдегида, в данном случае после защиты чувствительных к окислению гидроксильных групп, превращают при мягких условиях с помощью окислителя в соответственное гибберелиновое соединение с карбоксильной группой у шестого атома.
2. Способ по пункту 1, отличающийся тем, что в качестве окислителя применяют кислород воздуха, в данном случае под влиянием солей тяжелых металлов.
3. Способ по пункту 1, отличающийся тем, что в качестве окислителя применяют хромсодержащие соединения, особенно хром (VI) окись.
4. Способ по пункту 1, отличающийся тем, что в качестве окислителя применяют пероксосоединения.
5. Способ по пункту 1-4, отличающихся тем, что превращение проводится в растворителе, предпочтительно в третичном амине, например, пиридине.
6. Способ по пунктам 1-5, отличающийся тем, что превращает меченый, например, меченый тритием или дейтерием C₁₉-гиббереллин-(7)-альдегид или производное такого альдегида.
7. [15-³H] - гибберелины
8. [15-³H] - гиббереллин-A₁
9. [15-³H] - гиббереллин-A₃
10. [15-³H] - гиббереллин-A₄
11. [15-³H] - гиббереллин-A₅
12. [15-³H] - гиббереллин-A₇
13. [15-³H] - гиббереллин-A₈

217 432

14. $[15-^3\text{H}]$ -гиббереллин-А₉
15. $[15-^3\text{H}]$ -O(3)-ацетилгиббереллин-А₁
16. $[15-^3\text{H}]$ -O(3)-ацетилгиббереллин-А₃
17. $[15-^3\text{H}]$ -O(3).O(13)-диацетилгиббереллин-А₃
18. $[15-^3\text{H}]$ -O(3) ацетилгиббереллин-А₇
19. $[15-^3\text{H}]$ -O(3)-триметилсилилгиббереллин-А₄

АННОТАЦИЯ

217 432

Способ получения гиббереллиновых соединений

Цель изобретения состоит в том, чтобы разработать общеприменяемый способ, с помощью которого возможно превращать с высокими выходами альдегидную группу, стоящую у шестого атома в полученных из природных C_{19} -гиббереллинов гиббереллинов-7-альдегидах и их производных в карбоксильную группу.

Согласно изобретению, с помощью окислителя при мягких условиях, особенно без сильной кислоты, гиббереллин-7-альдегид или его производные, полученные из природного C_{19} -гибберелина, превращаются в растворителе, предпочтительно в пиридине, в соответствующее гиббереллиновое соединение с карбоксильной группой у шестого атома. Особое преимущество способа, согласно изобретению, заключается в том, что возможно превращать также меченные, например, меченные дейтерием или тритием гиббереллин-7-альдегиды в соответствующие карбоновые кислоты. Таким образом, меченные природные гибберелины и их производные становятся доступными.

1. Způsob výroby giberelinových sloučenin, vyznačující se tím, že giberelin-7/-aldehyd nebo jeho deriváty získané z přírodního C₁₉ giberelinu, v daném případě za ochrany hydroxylových skupin citlivých na oxidaci, se přeměňují za mírných podmínek s pomocí oksylichovadla v odpovídající giberelinovou sloučeninu s karboxylovou skupinou na šestém atomu.
2. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že jako oksylichovadlo se používá vzdušný kyslík, v daném případě za spolupůsobení solí těžkých kovů.
3. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se jako oksylichovadlo použijí sloučeniny obsahující chrom, zejména kysličník chromový.
4. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se jako oksylichovadlo použije peroxysloučenina.
5. Způsob podle bodů 1 až 4, vyznačující se tím, že se přeměna provádí v rozpouštědle, zejména v terciárním aminu, například pyridinu.
6. Způsob podle bodů 1 až 5, vyznačující se tím, že se přeměna provádí se značeným giberelinem například C₁₉ - giberelin-7/-aldehydem nebo jeho derivátem značeným tritiem nebo deuteriem.
7. [15-³H] - giberelin
8. [15-³H] - giberelin - A₁
9. [15-³H] - giberelin - A₃
10. [15-³H] - giberelin - A₄
11. [15-³H] - giberelin - A₅
12. [15-³H] - giberelin - A₇
13. [15-³H] - giberelin - A₈
14. [15-³H] - giberelin - A₉
15. [15-³H] - 0/3/-acetylgiberelin - A₁
16. [15-³H] - 0/3/-acetylgiberelin - A₃
17. [15-³H] - 0/3/,0/13/-diacetylgiberelin - A₃
18. [15-³H] - 0/3/-acetylgiberelin - A₇
19. [15-³H] - 0/3/-trimetylsilylgiberelin - A₄

217 432

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