

FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

268 654

(11)

(13) B2

(51) Int. Cl.⁴
C 07 C 133/10
A 61 K 31/155

(21) PV 7179-82
(22) Přihlášeno 07 10 82
(30) Právo přednosti od 08 10 81 (159503)

(40) Zveřejněno 14 08 89
(45) Vydáno 18 12 90

(72) Autor vynálezu

UMEZAWA HAMAO, TAKEUCHI TOMIO, TOKIO, KON-
DO SHINICHI, YOKOHAMA, IINUMA HIRONOBU,
IKEDA DAISHIRO, TOKIO, NAKAMURA TERUYA,
KUSATSU, FUJII AKIO, KAMAKURA (JP)

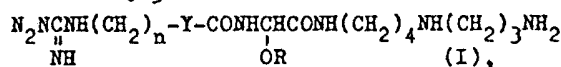
(73) Majitel patentu

ZAIDAN HOJIN BISEIBUTSU KAGAKU KENKYU
KAI, TOKIO (JP)

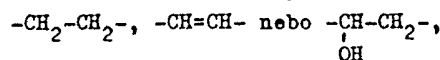
(54)

Způsob výroby 2-substituovaných 2-(ω -
-guanidinoalkanamido, ω -guanidinoalka-
namido a ω -guanidinohydroxyalkanamido)-
-N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]]ethana-
midů a jejich solí

(57) Způsob výroby kancerostaticky účinných
2-substituovaných 2-(ω -guanidino-alkana-
mido, ω -guanidinoalkenamido a ω -guanidi-
nohydroxyalkanamido)-N-[4-(3-aminopropyl)-
-aminobutyl]]-ethanamidů a jejich solí.
Způsob výroby kancerostaticky účinných 2-
-substituovaných 2-(ω -guanidinoalkanami-
do, ω -guanidinoalkenamido a ω -guanidi-
nohydroxyalkanamido)-N-[4-(3-aminopropyl)-
-aminobutyl]]-ethanamidů obecného vzorce I

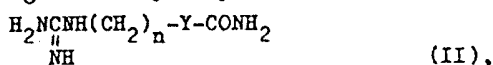


ve kterém Y značí skupinu

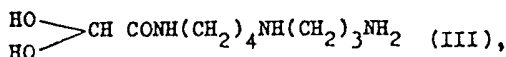


R znamená vodík, C₁-4 alky, popřípadě sub-
stituovaný hydroxylem, nebo benzylem,
a n jest celé číslo od 1 do 8, s podmínkou,
že když Y značí skupinu $-\underset{\text{OH}}{\text{CH}}-\text{CH}_2-$

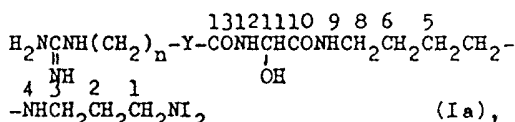
a n jest číslo 4, je R odlišné od vodíku,
spočívající v tom, že se ω -guanidinoal-
kanamid, ω -guanidinoalkenamid nebo ω -
-guanidinohydroxyalkanamid vzorce II



kondensuje s N-[4-(3-aminopropyl)aminobu-
tyl]-2,2-dihydroxyethanamidem vzorce III

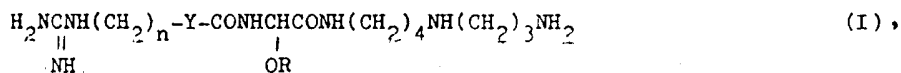


a vzniklý N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-
-2-(ω -guanidinoalkanamido, ω -guanidino-
alkenamido nebo ω -guanidinohydroxyalka-
namido)-2-hydroxyethanamid vzorce Ia



popřípadě reaguje, popřípadě po chránění
aminoskupiny a iminoskupiny, s C₁-4 ali-
fatickým alkoholem, diolem, diazoparafi-
nem nebo s benzylalkoholem.

Vynález se týká způsobu výroby nových kancerostaticky účinných 2-substituovaných 2-(ω -guanidinoalkanamido, -alkenamido a -hydroxyalkanamido)-N-[4-3-aminopropyl]aminobutyl]-ethanamidů obecného vzorce I



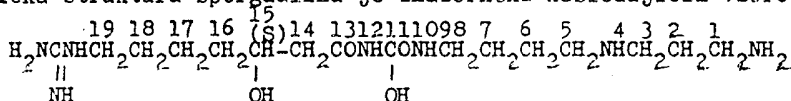
ve kterém

Y značí skupinu $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-$ nebo $-\underset{\text{OH}}{\underset{|}{\text{CH}}}-\text{CH}_2-$,

R značí atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, popřípadě substituovanou hydroxylovou skupinou, nebo benzylovou skupinu, a n jest celé číslo od 1 do 8, s podmínkou, že když Y značí skupinu $\text{-CH-CH}_2\text{-}$ a n jest číslo 4, OH

představuje R jiné skupiny než atom vodíku,
a způsobu výroby solí zmíněných sloučenin.

Při systematickém výzkumu kancerostatik našli autoři vynálezu nové kancerostaticky účinné antibiotikum BMG 162-aF₂, které nazvali spergualin. Toto antibiotikum isolovali z filtrátu po kultivaci kmene BMG 162-aF₂ (uloženého pod číslu FERM P-5230 a ATCC 31932) mikroorganismu *Bacillus laterosporus*, patřícího do rodu *Bacillus* (viz *Journal of Antibiotics*, svazek 34, str. 1619 a str. 1622 (1981)). Chemická struktura spergualinu je znázorněna následujícím vzorcem:



Konfigurace na uhlíku v poloze 15 jest S, zatím co konfigurace na uhlíku 2: není ještě určena /viz Journal of Antibiotics, svazek 34, str. 1622 (1981)/. Sloučenina uvedeného vzorce byla syntetisována kondensací příslušného karboxamidu s glyoxylyl-spermidinem; získaná epimerní sloučenina byla rozštěpena na přirozený (-)-spergualin a nepřirozený (+)-spergualin /viz Journal of Antibiotics, sv. 34, 1625 (1981)/.

Autoři vynálezu provedli rozsáhlé studium různých sloučenin odvozených od spergualinu. Předložený vynález je založen na jejich objevu, že sloučeniny znázorněné obecným vzorcem I vykazují vynikající kancerostatickou účinnost, a zvláště v případě, když substituent R značí jinou skupinu než atom vodíku, mají uvedené sloučeniny rovněž výbornou stabilitu.

Podle vynálezu lze sloučeniny obecného vzorce I vyrábět následujícím způsobem:

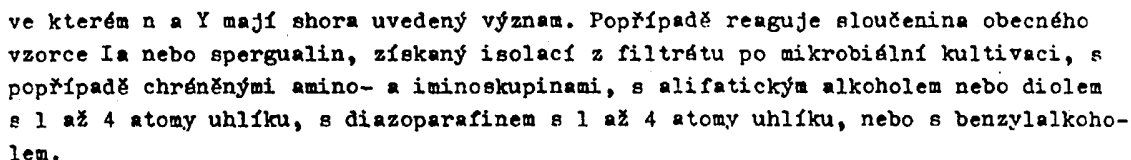
ω -guanidinoalkanamid, -alkenamid nebo -hydroxyalkanamid obecného vzorce II



ve kterém Y a n mají shora uvedený význam, kondensuje s N-[4-(3-aminopropyl)amino-butyl]-2,2-dihydroxyethanamidem vzorce III

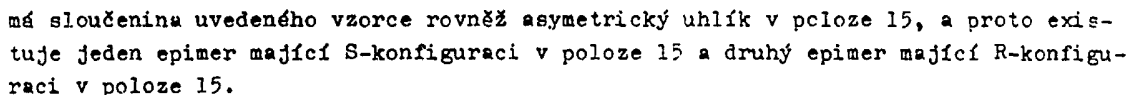
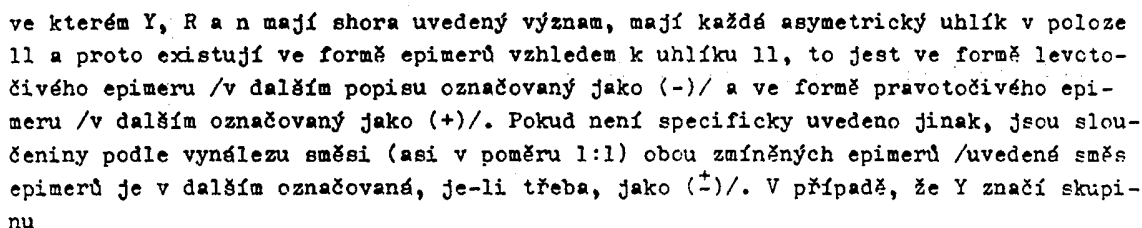


za vzniku N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(ω -guanidinoalkanamido, -alkanamido ne-
bo -hydroxyalkanamido)-2-hydroxyethanamidu obecného vzorce Ia



Přítomné chránicí skupiny se případně odštěpí.

Sloučeniny obecného vzorce I se obvykle používají ve formě svých farmakologicky vhodných adičních solí s kyselinami. Jako uvedených adičních solí s kyselinami lze používat jejich adičních solí s anorganickými kyselinami, jako s kyselinou chlorovodíkovou, sírovou, fosforečnou nebo boritou, nebo s organickými kyselinami, jako s kyselinou octovou, citronovou, vinnou nebo glutarovou.



Pokud není specificky uvedeno jinak, jest uvedená sloučenina podle vynálezu směsí (v poměru asi 1:1) S-epimeru a R-epimeru.

Fysikálně-chemické a biologické vlastnosti typických příkladů sloučenin obecného vzorce I jsou popsány níže.

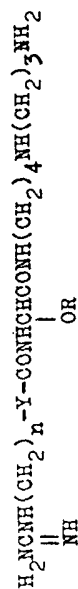
1. Fyzikálně-chemické vlastnosti

Názvy typických sloučenin obecného vzorce I jsou uvedeny v tabulce 1. Sumární vzorce a elementární analýzy hydrochloridů těchto sloučenin jsou shrnuty v tabulce 2, a infračervená spektra (v KBr tabletě) a protonová NMR spektra (v deuterio-methanolu, za použití tetramethylsilanu (TMS) jako vnitřního standardu) jsou uvedena v tabulce 3. Specifické otáčivosti optických isomerů některých sloučenin podle vynálezu jsou zachyceny v tabulce 4.

Chemická stabilita sloučenin obecného vzorce I byla stanovována zjišťováním retence (obsahu nezměněné výchozí látky) po zahřívání testované sloučeniny na teplotu 60 °C po dobu 4 hodin při různém pH. Výsledky testu jsou zachyceny v tabulce 5, spolu s výsledky získanými se spergualinem jako standardem. Retence byly stanoveny po-

mocí vysokotlaké kapalinové chromatografie (HPLC), za použití kolony s náplní Nucleosil [®] 5C18. Jako rozpouštědla bylo v případě spergualinu použito směsi (6:94) acetonitrilu s 0,01 M pentansulfonátem sodným + 0,01 M hydrogenfosforečnanem sodným (pH 3), v případě sloučenin obecného vzorce I bylo používáno směsi acetonitrilu s 0,005 M pentansulfonátem sodným + 0,01 M hydrogenfosforečnanem sodným (pH 3); v posléze uvedeném případě se mísící poměr uvedených složek měnil pro každou jednotlivou sloučeninu. Na příklad pro sloučeninu číslo 9 bylo používáno mísícího poměru 10:90, zatím co pro sloučeninu číslo 22 mísícího poměru 7:93.

Tabulka 1



Sloučenina číslo	n	Y	R	Název sloučeniny
1	1	CH ₂ CH ₂	H	N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(4-guanidinobutanamido)-2-hydroxyethanamid
2	2	"	"	N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(5-guanidinopentanamido)-2-hydroxyethanamid
3	3	"	"	N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(6-guanidinohexanamido)-2-hydroxyethanamid
4	4	"	"	N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidinoheptanamido)-2-hydroxyethanamid
5	5	"	"	N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(8-guanidinoooktanamido)-2-hydroxyethanamid
6	6	"	"	N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(9-guanidinononanamido)-2-hydroxyethanamid
7	1	"	CH ₃	N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(4-guanidinobutanamido)-2-methoxyethanamid
8	3	"	"	N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(4-guanidinohexanamido)-2-methoxyethanamid

pokračování

Tabulka 1 - pokračování

9	4	CH_2CH_2	CH_3	N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidinoheptan- amido)-2-methoxyethanamid
10	5	-"-	"	N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(8-guanidinooktan- amido)-2-methoxyethanamid
11	6	-"-	"	N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(9-guanidinononan- amido)-2-methoxyethanamid
12	4	-"-	CH_2CH_3	N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidinoheptan- amido)-2-ethoxyethanamid
13	4	-"-	CH_2CH_2 - CH_2CH_3	N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidinoheptan- amido)-2-butoxyethanamid
14	4	-"-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidinoheptan- amido)-2-(2-hydroxy)ethoxyethanamid
15	4	-"-	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidinoheptan- amido)-2-benzoyloxyethanamid
16	4	$\text{CH}=\text{CH}$	H	N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidino-2- heptenamido)-2-hydroxyethanamid
17	5	-"-	"	N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(8-guanidino-2- oktenamido)-2-hydroxyethanamid
18	6	-"-	"	N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(9-guanidino-2- nonenamido)-2-hydroxyethanamid

pokračování

Tabulka 1 - pokračování

19	4	CH=CH	CH ₃	N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidino-2-heptenamido)-2-methoxyethanamid
20	5	$\begin{array}{c} \text{CHCH}_2 \\ \\ \text{OH} \end{array}$	H	N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(8-guanidino-3-hydroxyoktanamido)-2-hydroxyethanamid
21	6	$\begin{array}{c} \text{CHCH}_2 \\ \\ \text{OH} \end{array}$	"	N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(9-guanidino-3-hydroxynonanamido)-2-hydroxyethanamid
22 ^x	4	$\begin{array}{c} \text{(S)} \\ \text{CHCH}_2 \\ \\ \text{OH} \end{array}$	CH ₃	N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidino-3-hydroxyheptanamido)-2-methoxyethanamid
23 ^x	4	-"-	CH ₂ CH ₃	N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidino-3-hydroxyheptanamido)-2-ethoxyethanamid
24 ^x	4	-"-	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{CH}_2^- \\ \\ \text{CH}_2\text{CH}_3 \end{array}$	N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidino-3-hydroxyheptanamido)-2-butoxyethanamid
25 ^x	4	-"-	CH ₂ CH ₂ OH	N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidino-3-hydroxyheptanamido)-2-(2-hydroxy)ethoxyethanamid
26 ^x	4	-"-	CH ₂ C ₆ H ₅	N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidino-3-hydroxyheptanamido)-2-benzyloxyethanamid

Poznámka: ^xTy sloučeniny obecného vzorce I, ve kterém Y značí skupinu $\begin{array}{c} \text{(S)} \\ -\text{CHCH}_2^- \\ | \\ \text{OH} \end{array}$, n jest číslo 4

a R představuje jinou skupinu než atom vodíku, jsou v dalším popisu krátce nazývány jako "11-O-(název substituentu R)-spergualin".

Tabulka 2

Sloučenina číslo	Sumární vzorec	Elementární analyza (%)				
			C	H	N	Cl
1	$C_{14}H_{31}N_7O_3 \cdot 3HCl \cdot 3/2 H_2O$	vypočteno nalezeno	34,90 34,92	7,74 7,87	20,35 20,21	22,07 21,96
2	$C_{15}H_{33}N_7O_3 \cdot 3HCl \cdot 3/2 H_2O$	vypočteno nalezeno	36,33 36,27	7,93 8,05	19,77 19,68	21,45 21,30
3	$C_{16}H_{35}N_7O_3 \cdot 3HCl \cdot 3/2 H_2O$	vypočteno nalezeno	37,69 37,83	8,10 8,38	19,23 19,18	20,86 20,67
4	$C_{17}H_{37}N_7O_3 \cdot 3HCl \cdot 3/2 H_2O$	vypočteno nalezeno	38,97 39,10	8,27 8,42	18,71 18,57	20,30 20,18
5	$C_{18}H_{39}N_7O_3 \cdot 3HCl \cdot 3/2 H_2O$	vypočteno nalezeno	40,19 40,31	8,43 8,74	18,23 17,96	19,77 19,51
6	$C_{19}H_{41}N_7O_3 \cdot 3HCl \cdot 3/2 H_2O$	vypočteno nalezeno	41,34 41,32	8,58 8,79	17,76 17,65	19,27 19,13
7	$C_{15}H_{33}N_7O_3 \cdot 3HCl \cdot 3/2 H_2O$	vypočteno nalezeno	36,33 36,41	7,93 8,10	19,77 19,46	21,45 21,32
8	$C_{17}H_{37}N_7O_3 \cdot 3HCl \cdot 3/2 H_2O$	vypočteno nalezeno	38,97 39,20	8,27 8,31	18,71 18,48	20,30 20,11
9	$C_{18}H_{39}N_7O_3 \cdot 3HCl \cdot 3/2 H_2O$	vypočteno nalezeno	40,19 40,33	8,43 8,51	18,23 18,08	19,77 20,11

pokračování

Tabulka 2 - pokračování

10	$C_{19}H_{41}N_7O_3 \cdot 3HCl \cdot 3/2 H_2O$	vypočteno nalezeno	41,34 41,39	8,58 8,82	17,76 17,62	19,27 19,15
11	$C_{20}H_{43}N_7O_3 \cdot 3HCl \cdot 3/2 H_2O$	vypočteno nalezeno	42,44 42,51	8,73 8,92	17,32 17,33	18,79 18,50
12	$C_{19}H_{41}N_7O_3 \cdot 3HCl \cdot 3/2 H_2O$	vypočteno nalezeno	41,34 41,44	8,58 8,75	17,76 17,59	19,27 19,11
13	$C_{21}H_{45}N_7O_3 \cdot 3HCl \cdot 3/2 H_2O$	vypočteno nalezeno	43,48 43,61	8,86 9,04	16,90 16,78	18,34 18,43
14	$C_{19}H_{41}N_7O_4 \cdot 3HCl \cdot 3/2 H_2O$	vypočteno nalezeno	40,18 40,07	8,34 8,39	17,26 17,31	18,73 18,58
15	$C_{21}H_{43}N_7O_3 \cdot 3HCl \cdot 3/2 H_2O$	vypočteno nalezeno	46,94 47,03	8,04 8,20	15,97 15,76	17,32 17,12
16	$C_{17}H_{35}N_7O_3 \cdot 3HCl \cdot 3/2 H_2O$	vypočteno nalezeno	39,12 39,10	7,92 8,02	18,79 19,05	20,38 20,07
17	$C_{18}H_{37}N_7O_3 \cdot 3HCl \cdot 3/2 H_2O$	vypočteno nalezeno	40,34 40,53	8,09 8,22	18,29 18,26	19,85 19,69
18	$C_{19}H_{39}N_7O_3 \cdot 3HCl \cdot 3/2 H_2O$	vypočteno nalezeno	41,49 41,46	8,25 8,07	17,83 17,93	19,34 19,20
19	$C_{18}H_{37}N_7O_3 \cdot 3HCl \cdot 3/2 H_2O$	vypočteno nalezeno	40,34 40,09	8,09 7,86	18,29 18,11	19,85 19,71

pokračování

Tabulka 2 - pokračování

20	$C_{18}H_{39}N_7O_4 \cdot 3HCl \cdot 3/2 H_2O$	vypočteno nalezeno	39,03 38,77	8,19 8,05	17,70 17,64	19,20 20,41
21	$C_{19}H_{41}N_7O_4 \cdot 3HCl \cdot 3/2 H_2O$	vypočteno nalezeno	40,18 40,41	8,34 8,60	17,26 17,35	18,73 18,58
22	$C_{18}H_{39}N_7O_4 \cdot 3HCl \cdot 3/2 H_2O$	vypočteno nalezeno	39,03 39,03	8,19 8,50	17,70 17,49	19,20 19,15
23	$C_{19}H_{41}N_7O_4 \cdot 3HCl \cdot 3/2 H_2O$	vypočteno nalezeno	40,18 40,23	8,34 8,75	17,26 17,17	18,73 18,35
24	$C_{21}H_{45}N_7O_4 \cdot 3HCl \cdot 3/2 H_2O$	vypočteno nalezeno	42,32 42,37	8,62 8,90	16,45 16,31	17,84 17,74
25	$C_{19}H_{41}N_7O_5 \cdot 3HCl \cdot 3/2 H_2O$	vypočteno nalezeno	39,08 39,15	8,11 8,26	16,79 16,42	18,21 18,10
26	$C_{24}H_{43}N_7O_4 \cdot 3HCl \cdot 3/2 H_2O$	vypočteno nalezeno	45,75 45,77	7,84 7,93	15,56 14,39	16,88 16,64

Tabulka 3

Sloučenina číslo	Infračervené absorpční spektrum (cm ⁻¹)	Protonové NMR spektrum (δ hodnoty)
1	3320, 2950, 1655, 1525, 1460, 1365, 1260, 1160, 1115, 1070	1.4-2.4 (CH ₂ x4), 2.40 (CH ₂), 2.9-3.4 (NCH ₂ x5), 5.55 (CH)
2	3400, 2950, 1660, 1530, 1465, 1170, 1120, 1080, 1020	1.9-2.0 (CH ₂ x4), 2.0-2.5 (CH ₂ x2), 2.9-3.4 (NCH ₂ x5), 5.53 (CH)
3	3270, 2950, 1560, 1530, 1460, 1370, 1240, 1165, 1120, 1080	1.4-2.0 (CH ₂ x5), 2.0-2.5 (CH ₂ x2), 2.9-3.4 (NCH ₂ x5), 5.52 (CH)
4	3400, 2950, 1653, 1525, 1460, 1360, 1160, 1120, 1030	1.2-2.0 (CH ₂ x6), 2.24 (CH ₂), 2.30 (CH ₂), 2.9-3.4 (NCH ₂ x5), 5.56 (CH)
5	3330, 2925, 1655, 1520, 1460, 1360, 1160, 1120, 1080	1.20-2.0 (CH ₂ x7), 2.0-2.4 (CH ₂ x2), 2.9-3.4 (NCH ₂ x5), 5.52 (CH)
6	3370, 2925, 1655, 1520, 1460, 1155, 1115, 1080	1.2-2.0 (CH ₂ x8), 2.0-2.4 (CH ₂ x2), 2.9-3.4 (NCH ₂ x5), 5.50 (CH)
7	3400, 2930, 1650, 1520, 1460, 1360, 1190, 1160, 1090	1.4-2.4 (CH ₂ x4), 2.40 (CH ₂), 2.8-3.4 (NCH ₂ x5), 3.38 (OCH ₃), 5.30 (CH)

pokračování

Tabulka 3 - pokračování

8	3420, 2940, 1650, 1520, 1460, 1355, 1190, 1160, 1090	1.4-2.0 ($\text{CH}_2\text{x5}$), 2.0-2.5 ($\text{CH}_2\text{x2}$), 2.9-3.4 ($\text{NCH}_2\text{x5}$), 3.38 (OCH_3), 5.29 (CH)
9	3420, 2950, 1650, 1520, 1460, 1360, 1190, 1160, 1090	1.2-2.0 ($\text{CH}_2\text{x6}$), 2.0-2.5 ($\text{CH}_2\text{x2}$), 2.9-3.4 ($\text{NCH}_2\text{x5}$), 3.37 (OCH_3), 5.26 (CH)
10	3400, 2925, 1650, 1520, 1455, 1355, 1250, 1190, 1160, 1090	1.2-2.0 ($\text{CH}_2\text{x7}$), 2.0-2.5 ($\text{CH}_2\text{x2}$), 2.9-3.4 ($\text{NCH}_2\text{x5}$), 3.37 (OCH_3), 5.28 (CH)
11	3400, 2930, 1655, 1520, 1460, 1360, 1190, 1160, 1090	1.2-2.0 ($\text{CH}_2\text{x8}$), 2.0-2.5 ($\text{CH}_2\text{x2}$), 2.9-3.4 ($\text{NCH}_2\text{x5}$), 3.37 (OCH_3), 5.29 (CH)
12	3400, 2930, 1655, 1520, 1460, 1360, 1160, 1085	1.23 (CH_3), 1.3-2.0 ($\text{CH}_2\text{x6}$), 2.0-2.5 ($\text{CH}_2\text{x2}$), 2.9-3.4 ($\text{NCH}_2\text{x5}$) 3.64 (CH_2), 5.42 (CH)
13	3380, 2925, 1655, 1520, 1455, 1360, 1155, 1080	0.92 (CH_3), 1.2-2.0 ($\text{CH}_2\text{x8}$), 2.0-2.5 ($\text{CH}_2\text{x2}$), 2.9-3.4 ($\text{NCH}_2\text{x5}$), 3.61 (CH_2), 5.41 (CH)
14	3370, 2930, 1655, 1520, 1455, 1355, 1165, 1110, 1060	1.2-2.0 ($\text{CH}_2\text{x6}$), 2.0-2.5 ($\text{CH}_2\text{x2}$), 2.9-3.4 ($\text{NCH}_2\text{x5}$), 3.70 ($\text{CH}_2\text{x2}$), 5.45 (CH)

pokračování

Tabulka 3 - pokračování

15	3340, 2930, 1655, 1520, 1450, 1160, 1065, 1020, 740, 695	1.2-2.0 (CH ₂ x6), 2.0-2.5 (CH ₂ x2), 2.9-3.4 (NCH ₂ x5), 4.64 (CH ₂), 5.51 (CH), 7.32 (C ₆ H ₅)
16	3350, 2930, 1660, 1520, 1460, 1355	1.4-2.5 (CH ₂ x6), 2.9-3.4 (NCH ₂ x5), 5.56 (CH), 6.01 (CH), 6.81 (CH)
17	3400, 2925, 1660, 1530, 1460, 1360, 1165, 1115, 1080	1.4-2.5 (CH ₂ x7), 2.9-3.4 (NCH ₂ x5), 5.60 (CH), 6.02 (CH), 6.85 (CH)
18	3400, 2940, 2850, 1660, 1530, 1460, 1360, 1225, 1115, 1080	1.2-2.5 (CH ₂ x8), 2.9-3.4 (NCH ₂ x5), 5.65 (CH), 6.04 (CH), 6.88 (CH)
19	3400, 2940, 1665, 1520, 1455, 1350, 1195, 1095, 985	1.4-2.5 (CH ₂ x6), 2.9-3.4 (NCH ₂ x5), 3.4 (OCH ₃), 5.39 (CH), 6.09 (CH), 6.90 (CH)
20	3450, 2925, 1650, 1525, 1460, 1160, 1110, 1075	1.4-2.3 (CH ₂ x7), 2.38 (CH ₂), 2.9-3.4 (NCH ₂ x5), 4.0 (CH), 5.52 (CH)
21	3400, 2950, 1655, 1520, 1460, 1165, 1110, 1075	1.2-2.4 (CH ₂ x8), 2.41 (CH ₂), 2.9-3.4 (NCH ₂ x5), 4.0 (CH), 5.58 (CH)

pokračování

Tabulka 3 - pokračování

22	3330, 2930, 1655, 1520, 1460, 1360, 1190, 1160, 1090, 1020	1.4-1.9 ($\text{CH}_2 \times 5$), 2.19 (CH_2), 2.49 (CH_2), 2.9-3.4 ($\text{NCH}_2 \times 5$), 3.41 (CH_3), 4.04 (CH), 5.35 (CH)
23	3350, 2925, 1655, 1520, 1460, 1360, 1160, 1085, 1020	1.23 (CH_3), 1.4-1.9 ($\text{CH}_2 \times 5$), 2.16 (CH_2), 2.46 (CH_3), 2.9-3.4 ($\text{NCH}_2 \times 5$), 3.64 (CH_2), 4.02 (CH_2), 5.43 (CH)
24	3380, 2925, 1655, 1520, 1455, 1370, 1155, 1080, 1020	0.92 (CH_3), 1.2-1.9 ($\text{CH}_2 \times 7$), 2.09 (CH_2), 2.43 (CH_2), 2.9-3.4 ($\text{NCH}_2 \times 5$), 3.61 (CH_2), 4.01 (CH), 5.41 (CH)
25	3375, 2930, 1655, 1520, 1450, 1165, 1115, 1060	1.4-1.9 ($\text{CH}_2 \times 5$), 2.13 (CH_2), 2.45 (CH_2), 2.9-3.4 ($\text{NCH}_2 \times 5$), 3.70 ($\text{CH}_2 \times 2$), 4.02 (CH) 5.44 (CH)
26	3330, 2930, 1655, 1520, 1445, 1360, 1160, 1065, 1020, 740, 695	1.4-1.9 ($\text{CH}_2 \times 5$), 2.12 (CH_2), 2.46 (CH_2), 2.9-3.4 ($\text{NCH}_2 \times 5$), 4.00 (CH), 4.64 (CH_2), 5.50 (CH), 7.32 (C_6H_5)

Tabulka 4

Sloučenina číslo	Poloha 15	Poloha 11	Specifická rotace $[\alpha]_D^{25}$
9	--	(±)	0,0 ° (c = 1, H ₂ O)
		(-)	-30,4 ° (c = 1, H ₂ O)
		(+)	+29,5 ° (c = 1, H ₂ O)
22	(S)	(±)	- 1,0 ° (c = 1, H ₂ O)
		(-)	-27,3 ° (c = 1, H ₂ O)
		(+)	+25,4 ° (c = 1, H ₂ O)
23	(S)	(±)	- 0,2 ° (c = 1, H ₂ O)
		(-)	-25,0 ° (c = 1, H ₂ O)
		(+)	+24,2 ° (c = 1, H ₂ O)
24	(S)	(±)	+ 0,5 ° (c = 1, H ₂ O)
		(-)	-22,9 ° (c = 1, H ₂ O)
		(+)	+23,5 ° (c = 1, H ₂ O)
25	(S)	(±)	- 2,1 ° (c = 1, H ₂ O)
		(-)	-18,7 ° (c = 1, H ₂ O)
		(+)	+15,8 ° (c = 1, H ₂ O)

pokračování

Tabulka 4 - pokračování

26	(S)	(+)	- 3,1 °	(c = 1, H ₂ O)
		(-)	-24,3 °	(c = 1, H ₂ O)
		(+)	+21,0 °	(c = 1, H ₂ O)

Tabulka 5 Retence (%)

pH Sloučenina číslo	2	3	4	5	6	7	8	9	10
9	69.3	89.3	100	100	100	100	100	97.5	97.9
13	72.4	90.1	100	-	100	-	100	98.0	96.0
14	71.8	90.6	100	-	100	-	100	97.5	97.3
15	76.5	91.4	100	-	100	-	100	99.0	96.2
22 (-) 22 (+)	79.7 79.7	- -	100 100	100 100	100 100	100 100	100 100	97.6 100	95.7 95.6
24	76.3	-	100	100	100	100	100	97.1	94.8
25	68.9	-	100	100	100	100	100	97.7	95.5
26	77.2	-	100	100	100	100	100	95.9	94.5
(-) Sperqualin	88.1	88.0	87.8	82.5	46.5	12.6	6.1	0	-

2. Biologické vlastnosti

Všechny sloučeniny obecného vzorce I mají významnou kancerostatickou účinnost a vykazují silný inhibiční účinek na růst rakovinových buněk in vitro, a rovněž prodlužují dobu života myši s implantovanými rakovinovými buňkami, jak je ukázáno níže.

A. Inhibiční účinek na růst rakovinových buněk in vitro

Myším kmene DBA/2 bylo implantováno každé po 10^5 buněk myší leukemie L-1210. Ascites, odebraný asepticky myším za 4 dny po naočkování, byl promyt třikrát fyziologickým roztokem soli. Získané buňky L-1210 pak byly suspendovány do živné půdy RPMI 1640 /viz. G.E. Moore, Journal of the American Medical Association, svazek 199, str. 519 (1967); H.J. Morton, In Vitro, svazek 6, 89 (1970)/, do které bylo přidáno 10 % fetálního telecího sera a $5 \mu\text{M}$ 2-merkaptoethanolu, a získaná suspence byla zředěna tak, aby obsahovala 5×10^4 buněk L-1210 v 0,9 ml. Mikrodeska obsahující 0,9 ml buněčné suspence a 0,1 ml živné půdy s testovaným vzorkem byla umístěna v inkubátoru promývaném kyslíčným uhlíčitým a buňky kultivovány při 37°C po dobu 48 hodin. Pak byl zjištěn počet buněk počítacem a stanovena inhibice růstu ze vztahu

$$(\%) = (1 - T/C) \times 100,$$

t.j. 1 minus (počet buněk vyrostlých v půdě obsahující testovaný vzorek/počet buněk vyrostlých v kontrolní půdě) $\times 100$.

Z hodnot inhibice růstu při různých koncentracích testovaných vzorků byla vypočtena koncentrace, při které dochází k 50 % inhibici růstu buněk.

Výsledky testování typických sloučenin obecného vzorce I na schopnost inhibování růstu buněk L-1210 jsou shrnuty v tabulce 6.

Tabulka 6

Sloučenina číslo	Inhibice růstu (%), (1-T/C) x 100										50% inhi- biční kon- centrace ($\mu\text{g/ml} \times 10$)
	Koncentrace testované sloučeniny, $\mu\text{g/ml} \times 10$										
	1.25	2.5	5	10	20	40	80	160			
1	-	52.2	89.3	101	100	-	-	-	2.4		
2	9.6	30.5	46.9	69.5	77.6	79.6	79.6	-	5.0		
3	20.6	36.7	64.2	81.6	86.7	-	-	-	3.7		
4	20.0	27.5	29.9	58.4	75.5	78.7	-	-	8.1		
5	-	24.9	29.1	40.0	54.2	66.0	88.5	96.8	18		
6	38.0	40.3	45.5	50.3	57.5	-	-	-	8.0		
7	38.7	80.7	98.5	99.8	99.9	99.3	-	-	1.5		
8	-	-	33.2	38.1	46.8	53.5	66.3	88.2	28		
9	-	-	35.5	45.9	62.3	78.1	90.9	96.0	12		
10	-	-	19.9	28.5	36.5	52.4	62.4	79.5	39		
11	-	-	35.0	52.2	59.4	71.8	77.9	-	10		
12	-	21.5	31.1	38.4	47.3	58.6	73.5	-	21		

pokračování

Tabulka 6 - pokračování

13	17.0	21.3	24.0	33.2	65.7	72.5	-	-	14
14	-	-	22.3	24.6	29.9	42.7	58.6	-	52
15	27.1	39.0	71.0	94.5	97.7	100	-	-	3.1
16	-	22.6	31.1	32.5	56.3	-	-	-	17
17	2.1	4.5	13.3	16.5	33.7	52.53	-	-	70
18	-	-	15.7	20.9	29.5	32.3	47.8	-	90
19	29.9	32.2	46.4	56.4	75.6	85.4	93.1	-	6.3
20	17.2	20.1	28.9	30.7	45.7	-	-	-	27
21	14.6	21.5	29.7	37.5	51.6	84.0	94.5	-	18
22	-	60.8	82.6	94.5	96.9	98.3	-	-	1.8
23	-	58.5	85.5	93.0	96.1	96.4	-	-	2.2
24	-	47.3	75.6	89.5	95.0	97.2	-	-	2.6
25	-	9.0	20.0	42.0	63.5	74.7	-	-	7.2
26	-	54.2	79.0	90.2	96.6	97.3	-	-	2.2

B. Terapeutická účinnost u implantovaných myších nádorů

Myším samcům kmene BDF₁, starým 5 týdnů, bylo každému intraperitoneálně inokulováno po 10⁵ buněk myší leukemie L-1210 a pak jim byla intraperitoneálně podávána jednou denně testovaná sloučenina rozpuštěná ve fyziologickém roztoku soli po dobu 6 po sobě jdoucích dnů počínaje ode dne inokulace. Pak byly myši chovány a pozorovány po dobu 30 dnů a stanoven stupeň prodloužení doby jejich přežití (%) podle vztahu

$$(\%) = 100 \times T/C$$

t.j. $100 \times (\text{průměrná doba přežití léčené skupiny}) / (\text{průměrná doba přežití kontrolní skupiny})$. Terapeutický účinek typických sloučenin obecného vzorce I na myší leukemii L-1210 u myších samců BDF₁ je uveden v tabulce 7.

Tabulka 7

Sloučenina číslo	Dávka (mg/kg/den)	Prodloužení doby přežití % = T/C x 100	Počet myší přežívajících po 30 dnech
4	50	0	0/4
	25	336	0/4
	12,5	>357	2/4
	6,25	>369	1/4
	3,13	>364	2/4
	1,56	>429	4/4
	0,78	>429	4/4
	0,39	>390	3/4
	0,20	197	0/4
5	50	0	0/4
	25	306	0/4
	12,5	181	0/4
	6,25	125	0/4
	3,13	118	0/4
	1,56	104	0/4
6	50	0	0/4
	25	0	0/4
	12,5	>429	4/4
	6,25	>429	4/4
	3,13	>386	2/4
	1,56	>393	3/4
	0,78	>429	4/4
	0,39	>383	2/4
	0,20	>354	2/4
9 (+)	50	0	0/4
	25	0	0/4
	12,5	>429	4/4
	6,25	>429	4/4
	3,13	>429	4/4
	1,56	>411	1/4
	0,78	>300	2/4
	0,39	171	0/4
	0,20	114	0/4
9 (-)	25	0	0/4
	12,5	>390	2/4
	6,25	>336	1/4
	3,13	>411	3/4
	1,56	>356	2/4
	0,78	>370	2/4
	0,39	>342	2/4
	0,20	127	0/4
	0,10	110	0/4
10	50	0	0/4
	25	0	0/4
	12,5	129	0/4
	6,25	107	0/4
	3,13	100	0/4
	1,56	100	0,4

Sloučenina číslo	Dávka (mg/kg/den)	Prodloužení doby přežití % = T/C x 100	Počet myší přežívajících po 30 dnech
11	50	0	0/4
	25	0	0/4
	12,5	> 357	2/4
	6,25	> 393	3/4
	3,13	> 357	2/4
	1,56	200	0/4
	0,78	200	0/4
	0,39	143	0/4
	0,20	107	0/4
16	50	0	0/4
	25	236	0/4
	12,5	> 354	2/4
	6,25	> 350	2/4
	3,13	> 343	2/4
	1,56	233	0/4
	0,78	129	0/4
18	12,5	0	0/4
	6,25	> 350	2/4
	3,13	> 429	4/4
	1,56	> 429	3/4
	0,78	200	0/4
	0,39	157	0/4
	0,20	136	0/4
	0,10	129	0/4
19	25	0	0/4
	12,5	> 364	2/4
	6,25	> 429	3/4
	3,13	> 321	2/4
	1,56	> 350	2/4
	0,78	164	0/4
	0,39	107	0/4
	0,20	100	0/4
21	50	0	0/4
	25	229	0/4
	12,5	200	0/4
	6,25	164	0/4
	3,13	129	0/4
	1,56	114	0/4
	0,78	100	0/4
	0,39	100	0/4
	0,20	100	0/4
22 (S) (+)	50	7	0/8
	25	> 414	6/8
	12,5	> 380	5/8
	6,25	> 332	4/8
	3,13	163	0/8
	1,56	117	0/8
22 (S) (-)	25	> 423	5/5
	12,5	> 408	4/5
	6,25	> 400	4/5
	3,13	> 290	1/5
	1,56	177	0/5
23	25	200	0/4
	12,5	129	0/4
	6,25	119	0/4
	3,13	104	0/4
25	50	> 429	4/4
	25	229	0/4
	12,5	193	0/4
	6,25	107	0/4

C. Toxicita

Všechny sloučeniny obecného vzorce I vykazují relativně nízkou toxicitu a vyznačují se nízkou kumulativní toxicitou při kontinuálním podávání. V následující tabulce 8 jsou uvedeny střední smrtné dávky (LD_{50}) typických sloučenin podle vynálezu u myši po jednorázovém intraperitoneálním podání a rovněž maximální snášené dávky vyjádřené ve formě celkové dávky, ke které se dojde, když se určené množství látky na jednotku tělesné hmotnosti podává myši intraperitoneálně jednou denně po dobu šesti po sobě následujících dnů.

Tabulka 8

Sloučenina číslo	LD_{50} x (mg/kg)	Maximální snášená dávka ^{xx} (mg/kg)
1	50 <	300 <
2	50 <	300 <
3	50 <	300 <
4	25 - 50	150 <
5	25 - 50	150 <
6	12,5 - 25	75 <
8	25 - 50	150 <
9	12,5 - 25	75 <
10	12,5 - 25	75 <
11	12,5 - 25	75 <
12	12,5 - 25	75 <
14	25 - 50	150 <
15	12,5 - 25	75 <
16	25 - 50	150 <
17	12,5 - 25	75 <
18	6,25 - 12,5	35,5 <
19	12,5 - 25	75 <
20	50 <	300 <
21	25 - 50	150 <
22	25 - 50	150 <
23	25 <	150 <
24	50 <	300 <
25	50 <	300 <
26	12,5 - 25	75 <

Poznámky: ^x Střední smrtná dávka po jednorázovém podání.

^{xx} Maximální hodnota celkové dávky, která nezpůsobuje uhynutí zvířat, když se určené množství látky na jednotku tělesné hmotnosti podává myši jednou denně po dobu šesti po sobě jdoucích dnů.

Z předcházejícího popisu je zřejmé, že sloučeniny obecného vzorce I jsou použitelné jako kancerostatika. Všechny shora uvedené individuální sloučeniny vykazují vynikající inhibiční účinnost na růst buněk myši leukemie L-1210. Z těchto sloučenin mají velmi vysokou účinnost obzvláště ty sloučeniny obecného vzorce I, ve kterém R značí atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, popřípadě substituovanou hydroxylovou skupinou, nebo benzylovou skupinu, a n jest celé číslo od 1 do 6, za předpokladu, že v případě, když Y značí skupinu $\begin{array}{c} -\text{CH}-\text{CH}_2- \\ | \\ \text{OH} \end{array}$, značí R jinou skupinu než atom vodíku.

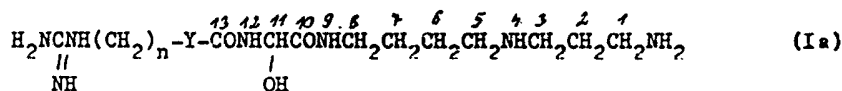
Vynikající terapeutický účinek u myši s implantovanými nádory vykazaly dále ty sloučeniny obecného vzorce I, ve kterém R značí atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 2, výhodně s jedním atomem uhlíku, popřípadě substituovanou hydroxylovou skupinou, a n jest číslo 4 nebo 6. Z uvedených sloučenin vykazují ty sloučeniny, ve kterých R značí methylovou skupinu (to je alkylovou skupinu s jedním atomem uhlíku) rovněž výbornou chemickou stabilitu, a z nich jsou sloučeniny číslo 9, 19 a 22 nejvýhodnější.

Způsob výroby sloučenin obecného vzorce I je podrobně objasněn v následujícím popisu.

Kondensace amidů ω -guanidinomastných kyselin obecného vzorce II s dihydroxyethanamidem obecného vzorce III, i když ji lze uskutečnit v organických rozpouštědlech, se podle vynálezu provádí obvykle v přítomnosti malého množství vody, vzhledem k rozpustnosti obou složek, které se obvykle používají ve formě svých adičních solí s kyselinami.

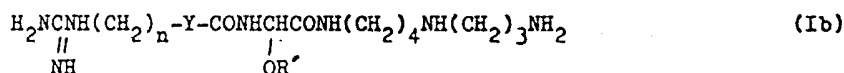
V případě, že se použije organických rozpouštědel, jsou vhodnými rozpouštědly aceton nebo dimethylformamid, ale kondensace se výhodně provádí v prostředí malého množství samotné vody, bez použití organických rozpouštědel. Voda se má používat v nejmenším možném množství potřebném k rozpuštění obou složek. V praxi se používá voda v množství v rozmezí od 2 do 60, výhodně od 4 do 40 mol na 1 mol amidu guanidinomastné kyseliny obecného vzorce II. Vzhledem k tomu, že se sloučeniny obecných vzorců II a III obvykle používají ve formě adičních solí s kyselinami, není nutné přidávat další kyselinu do roztoku k urychlení reakce. Avšak vzhledem k výtěžkům kondensátu je vhodné používat kyselého katalyzátoru. Jako kyselé katalyzátory jsou vhodné anorganické kyseliny, jako kyselina chlorovodíková, kyselina sírová, kyselina fosforečná nebo kyselina boritá, nebo organické kyseliny, jako kyselina octová, kyselina citronová, kyselina vinná, kyselina jantarová, kyselina glutarová nebo kyselina adipová. Výhodné jsou zvláště dikarboxylové kyseliny, jako kyselina glutarová. Vhodné množství kyseliny pro zmíněnou kyselou katalysu jest 0 až 10, výhodně 0,5 až 4 moly na 1 mol amidu guanidinomastné kyseliny obecného vzorce II. Reakci lze provádět při teplotě v rozmezí od 0 do 100 °C, obvykle v rozmezí od teploty místnosti do 80 °C, výhodně při 40 až 70 °C. Výhodná reakční doba, vzhledem k dosažení vyšších výtěžků, je jeden až 2 dny. I když molární poměr amidu ω -guanidinomastné kyseliny obecného vzorce II k dihydroxyethanamidu obecného vzorce III

není nijak specificky omezen, v praxi se obvykle používá 0,5 až 4 mol, výhodně 0,8 až 1,5 mol, posléze uvedené sloučeniny obecného vzorce III na 1 mol prvně uvedené sloučeniny. Kondensací vzniklé sloučenina je N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(ω-guanidinoalkanamido-, alkenamido nebo -hydroxyalkanamido)-2-hydroxyethanamid obecného vzorce Ia



ve kterém Y a n mají shora uvedený význam; je to sloučenina obecného vzorce I, ve kterém R značí atom vodíku.

Sloučeniny obecného vzorce I, ve kterém R značí jinou skupinu než atom vodíku, lze získat alkylací hydroxylové skupiny v poloze 11 sloučeniny obecného vzorce Ia shora uvedeným alifatickým alkoholem, diazoparafinem nebo benzylalkoholem. Jako výchozí sloučeniny obecného vzorce Ia lze při tom používat buď sloučeniny připravené výše popsanou kondensací nebo spergualinu získaného mikrobiální kultivací. Sloučenina získaná uvedenou alkylací jest N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(ω-guanidinoalkanamido-, -alkenamido nebo -hydroxyalkanamido)-2-alkoxyethanamid obecného vzorce Ib



ve kterém Y a n mají shora uvedený význam a R' značí alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, popřípadě substituovanou hydroxylovou skupinou, nebo benzylovou skupinu. Alkylace se podle vynálezu provádí následujícíma způsoby.

Reakce N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(ω-guanidinoalkanamido-, alkenamido a -hydroxyalkanamido)-2-hydroxyethanamidu obecného vzorce Ia s alkoholem se provádí obecně v přítomnosti kyselého katalyzátoru. Guanidinoskupinu a aminoskupinu hydroxyethanamidu obecného vzorce Ia není nezbytně nutné před reakcí chránit, ale je možné ji chránit. Používaný alkohol má obecný vzorec IV



ve kterém R' značí alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, popřípadě substituovanou hydroxylovou skupinou, nebo benzylovou skupinu. Uvedený obecný vzorec zahrnuje nižší alkoholy, jako methanol, ethanol, propanol a butanol, glykoly, jako ethylen-glykol a propylenglykol, a benzylalkohol. Reakce se s výhodou provádí v prostředí přebytečného alkoholu obecného vzorce IV, ale lze používat i inertního rozpouštědla jako prostředí. Jako kyselého katalyzátoru lze používat anorganických kyselin, jako kyseliny chlorovodíkové a kyseliny sírové, organických kyselin, jako kyseliny octové nebo kyseliny p-toluensulfonové, a katexových iontoměničových pryskyřic. Reakce se provádí při teplotě v rozmezí od 0 do 100 °C, obvykle v rozmezí od teploty místnosti do 80 °C, s výhodou při teplotě místnosti. Reakční doba závisí na reakční teplotě a pohybuje se v rozmezí od 1 hodiny do 10 dnů, výhodně od jednoho do dvou dnů.

Popřípadě, že rozpustnost výchozího hydroxyethanamidu obecného vzorce Ia v alkoholu obecného vzorce IV jest nízká, jest z důvodu zvýšení výtěžků vhodné použít jako výchozí sloučeniny hydroxyethanamidu, jehož amino- a iminoskupina jsou chráněné vhodnými chránicími skupinami.

Vhodné chránící skupiny lze vybrat podle údajů odborné literatury; viz na příklad J.F. W. Mcomie, Ed., "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press. N. Y. 1973. Pro chránění aminoskupiny jsou vhodné na příklad chránící skupiny používané obvykle při syntese peptidů. Jako příklad lze uvést jednovazné chránící skupiny, jako skupinu benzyloxykarbonylovou, p-methoxybenzyloxykarbonylovou, p-nitrobenzyloxykarbonylovou, ters.-butoxykarbonylovou, trichlorethoxykarbonylovou a isobornyloxykarbonylovou, a dvojvazné chránící skupiny, jako skupinu ftaloylovou a sukcinoylovou. Z uvedených skupin jsou výhodné aralkoxykarbonylové skupiny, jako skupina benzyloxykarbonylová a p-methoxybenzyloxykarbonylová vzhledem k snadnosti jejich zavedení a opětného odstranění. Uvedené chránící skupiny se zavádějí známými postupy, s výhodou metodou aktivovaných esterů. Při tomto způsobu zůstává guanidinová skupina ve sloučenině obecného vzorce Ia nezměněna.

Alkylace hydroxylové skupiny v poloze 11 hydroxyethanamidu obecného vzorce Ia reakcí s diazoparafinem se provádí následujícím způsobem.

Obvykle se nejprve amino- a iminoskupina hydroxyethanamidu obecného vzorce Ia chrání některou ze shora uvedených chránících skupin a získaná sloučenina se uvádí do reakce s diazoparafinem v prostředí inertního organického rozpouštědla, jako methylenchloridu nebo tetrahydrofuranu, při teplotě v rozmezí od -20 do $+20$ °C, obvykle od -10 do $+10$ °C, výhodně od -3 do $+3$ °C, po dobu 1 až 15 hodin, obvykle 2 až 8 hodin, aby došlo k alkylaci. Reakce nevyžaduje nezbytně katalysátoru, ale je urychlována v přítomnosti katalysátorů typu Lewisových kyselin, jako fluoridu boritého, chloridu hlinitého, kyseliny fluoroborité nebo kysličníku seleničitého. Jako příklad diazoparafinů s 1 až 4 atomy uhlíku lze uvést diazomethan, diazoethan, diazopropan a diazobutan. Tyto diazoparafiny lze syntetizovat známými způsoby z příslušných N-nitrosoalkylmočovin, N-nitrosoalkylurethanů, N-nitrosoalkylsulfonamidů a N-nitrosoalkyl-N'-nitroguanidinů /viz na příklad "Organic Synthesis" (John Wiley and Sons, Inc.), II, 165 (1943); III, 119 (1955); Journal of Organic Chemistry 13, 763 (1948); "Organic Synthesis", IV, 250 (1963); Chemische Berichte 94, 2547 (1961); Canadian Journal of Research, 28B, 683 (1950); "Organic Synthesis", III, 244 (1955); Journal of Chemical Society, 1935, 286/.

Způsob alkylace pomocí diazoparafinů dovoluje alkylovat hydroxylovou skupinu v poloze 11 beze změny konfigurace na uhlíku 11 sloučeniny obecného vzorce Ia. Na příklad (-)-hydroxyethanamid obecného vzorce Ia se tímto způsobem převede na odpovídající (-)-alkoxyethanamid obecného vzorce Ib. Z příslušného (+)-hydroxyethanamidu, popřípadě z (+)-hydroxyethanamidu, se získá (+)-alkoxyethanamid, popřípadě epimerní směs (+)-isomerů vzhledem k poloze 11.

Hydroxyethanamid obecného vzorce Ia může mít v případě, že Y značí skupinu $-\text{CH}-\text{CH}_2-$, hydroxylové skupiny v polohách 11 a 15. V tomto případě, vzhledem k roz-

OH

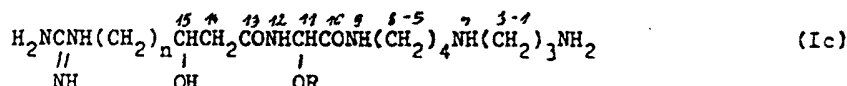
dílům v reaktivitě mezi oběma hydroxylovými skupinami, jest možné alkylovat selektivně hydroxylovou skupinu v poloze 11.

Chránící skupiny amino- a iminoskupiny alkylovaného produktu lze odstranit obvyklým způsobem za vzniku žádaného alkoxyethanamidu obecného vzorce Ib. Tak na příklad aralkoxykarbonylová chránící skupina se dá obvykle odstranit katalytickou hydrogenací za atmosférického tlaku. Hydrogenace se provádí v prostředí vhodného rozpouštědla, jako methanolu, ethanolu, dioxanu nebo jejich směsí, v přítomnosti paladia nebo platiny jako katalysátoru.

Reakce se dá urychlit přidáním kyseliny, jako kyseliny chlorovodíkové nebo octové.

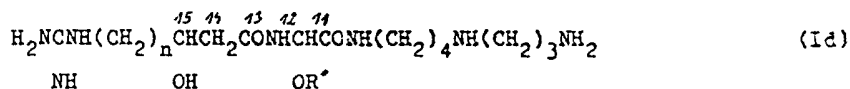
V případě, že Y značí skupinu vzorce $-\underset{\text{OH}}{\text{CH}}-\text{CH}_2-$, získá se při alkylation jako

2-substituovaný ethanamid obecného vzorce I specificky 2-substituovaný N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(ω -guanidino- β -hydroxyalkanamido)ethanamid obecného vzorce Ic

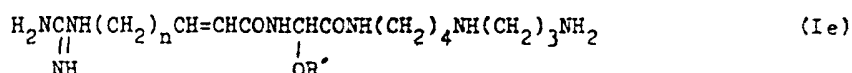


ve kterém R a n mají shora uvedený význam, s podmínkou, že když n jest číslo 4, značí R jinou skupinu než atom vodíku. Je-li konfigurace této sloučeniny v poloze 15 buď (S) nebo (R), a jedná-li se o epimerní směs vzhledem k uhlíku v poloze 11, lze uvedenou směs rozdělit v jednotlivé isomery /(+)-formu a (-)-formu/ pomocí chromatografie. Pro uvedený účel jest vhodná vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC). Žádaného rozdělení na jednotlivé epimery se dosáhne na příklad za použití Nucleosilu (R) C 18 (výrobek firmy M. Nagel Co.) jako náplně kolony a směsi acetonitrilu s pufrům složeným z pentansulfonátu sodného a fosforečnanu sodného jakožto elučního činidla.

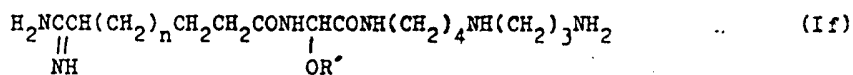
Jak bylo popsáno výše, získá se alkylation hydroxylové skupiny v poloze 11 diazoparafinem nebo rozdělením směsi diastereomerů pomocí HPLC opticky aktivní N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(ω -guanidino- β -hydroxyalkanamido)-2-alkoxyethanamid obecného vzorce Id



ve kterém R' a n mají shora uvedený význam. Když se hydroxylové skupina v poloze 15 uvedené sloučeniny Id odstraní dehydratací nebo deoxygenací, vznikne opticky aktivní N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(ω -guanidino- $\Delta\alpha,\beta$ -alkenamido)-2-alkoxyethanamid obecného vzorce Ie



ve kterém R' a n mají shora uvedený význam, nebo opticky aktivní N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(ω -guanidinoalkenamido)-2-alkoxyethanamid obecného vzorce If



ve kterém R' a n mají shora uvedený význam.

Sloučenina obecného vzorce Ie se získá tím způsobem, že se amino- a iminoskupina sloučeniny obecného vzorce Id chrání shora uvedenými chránícími skupinami, získaná chráněná sloučenina se podrobí dehydratační reakci a pak se chránící skupiny odstraní. Dehydrataci lze provádět například o sobě známým způsobem, při kterém se na hydroxysloučeninu působí dicyklohexylkarbodiimidem v přítomnosti chloridu měďného nebo měďnatého /viz Journal of the American Chemical Society, 90, 3245 (1965)/. Tento způsob je zvláště vhodný, neboť se provádí za mírných neutrálních podmínek. Použitím přebytku dicyklohexylkarbodiimidu se dá zkrátit reakční doba. Vhodným rozpouštědlem pro reakci je, vzhledem k rozpustnosti výchozích sloučenin, N,N-dimethylformamid.

Reakce se provádí obvykle při teplotě v rozmezí od teploty místnosti do 100 °C. Reakční doba kolísá od několika hodin do několika dnů, v závislosti na reakční teplotě.

Sloučenina obecného vzorce If, kterou lze získat ze sloučeniny obecného vzorce Id deoxygenací hydroxylové skupiny v poloze 15, lze výhodně připravovat ze sloučeniny obecného vzorce Ie redukcí dvojné vazby. Redukce dvojné vazby se provádí obvyklými způsoby, jako na příklad katalytickou hydrogenací. V případě, že bylo k chránění amino- a iminoskupiny použito aralkyloxykarbonylové skupiny, lze katalytickou hydrogenací dosáhnout současně redukci dvojné vazby i odstranění chránících skupin.

Když substituent R' v alkoxyethanamidu obecného vzorce Ib představuje benzylovou skupinu, lze zmíněnou benzylovou skupinu odstranit katalytickou hydrogenací a výchozí sloučenina se při tom převede na hydroxyethanamid obecného vzorce Ia za zachování konfigurace v poloze 11. V tomto případě odredukování aralkylové chránicí skupiny katalytickou hydrogenací probíhá za atmosférického tlaku pomalu, ale dobré výsledky, za současného zkrácení reakční doby, se získávají při provedení reakce v prostředí vodné kyseliny octové za zvýšeného tlaku několika atmosfér až několika desítek atmosfér (několika desetin až několika MPa).

Amidy ω -guanidinomastných kyselin obecného vzorce II



ve kterém Y a n mají shora uvedený význam, které jsou výchozími látkami pro syntesu sloučenin obecného vzorce Ia, lze připravovat níže uvedenými způsoby.

a) Synthesa sloučenin obecného vzorce II, ve kterém Y značí skupinu $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$:

Tyto sloučeniny jsou amidy nasycených ω -guanidinomastných kyselin (t.j. ω -guanidinoalkanamidy) obecného vzorce IIa



ve kterém n má shora uvedený význam. ω -guanidinoalkanamidy obecného vzorce IIa jsou známé látky a lze je syntetizovat z komerčně dostupných surových materiálů známými postupy. Tak například lze zmíněné amidy připravit tím způsobem, že se chrání aminoskupina ω -aminomastné kyseliny obecného vzorce V



ve kterém n má shora uvedený význam, karboxylová skupina chráněné aminokyseliny se esterifikuje, získaný ester se uvede do reakce s amoniakem, ze vzniklého amidu se odstraní chránicí skupina a volná aminoskupina se převede na guanidinovou skupinu.

Sloučeniny obecného vzorce IIa lze rovněž připravovat oxidací diaminů na odpovídající nitrily obecného vzorce VI



ve kterém n má shora uvedený význam, poté hydrolysou nitrilové skupiny na amidickou skupinu a převedením aminoskupiny vzniklého amidu aminokyseliny na guanidinovou skupinu. Jako příklad amidů nasycených ω -guanidinomastných kyselin použitelných při způsobu podle vynálezu lze uvést 4-guanidinobutanamid, 5-guanidinopentanamid, 6-guanidinohexanamid, 7-guanidinoheptanamid, 8-guanidinooktanamid, 9-guanidinononanamid, 10-guanidinodekanamid a 11-guanidinoundekanamid.

b) Synthesa sloučenin obecného vzorce II, ve kterém Y značí skupinu $-\underset{\text{OH}}{\underset{|}{\text{CH}}}-\text{CH}_2-$:

Tyto sloučeniny jsou amidy ω -guanidino- β -hydroxymastných kyselin (t.j. ω -guanidino-3-hydroxyalkanamidy) obecného vzorce IIb



ve kterém n má shora uvedený význam, a lze je syntetizovat o sobě známými způsoby různými cestami. Tak například je lze připravit tím způsobem, že se chrání aminoskupina nasycené ω -aminomastné kyseliny obecného vzorce VII



ve kterém n má shora uvedený význam, pak se prodlouží uhlíkatý řetězec o dva atomy uhlíku, získaná sloučenina se řadou reakcí používaných při synthese derivátů β -hydroxykarboxylových kyselin převede na amid β -hydroxymastné kyseliny, poté se odstraní chránící skupina z aminové skupiny a volná aminoskupina se převede na guanidinovou skupinu. Postup je níže podrobně popsán jako příklad.

Při uvedené synthese amidu ω -guanidino- β -hydroxymastné kyseliny obecného vzorce IIb se nejprve aminoskupina výchozí ω -aminomastné kyseliny (ω -aminoalkankarboxylové kyseliny) obecného vzorce VII chrání vhodnou chránící skupinou, jako benzyloxykarbonylovou skupinou, karboxylová skupina chráněné aminokyseliny se převede na reaktivní derivát, jako na příslušný imidazolid kyseliny, získaný reaktivní derivát se kondensuje s magnesium-enolátem monoethylmalonanu vzorce VIII

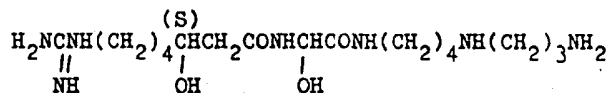


/viz Buletin de la Société Chimique de France, 945 (1964)/, v získaném β -ketoesteru obecného vzorce IX



ve kterém X' značí chránící skupinu aminoskupiny a n má shora uvedený význam, se zredukuje ketonická karboxylová skupina, získaný β -hydroxyester se uvede do reakce s amoniakem, ze vzniklého amidu se odstraní chránící skupina aminoskupiny, a volná aminoskupina se převede na guanidinovou skupinu. Jako příklad tímto způsobem připravených amidů ω -guanidino- β -hydroxymastných kyselin lze uvést 4-guanidino-3-hydroxybutanamid, 5-guanidino-3-hydroxypentanamid, 6-guanidino-3-hydroxyhexanamid, 7-guanidino-3-hydroxyheptanamid, 8-guanidino-3-hydroxyoktanamid, a 9-guanidino-3-hydroxynonanamid.

Opticky aktivní (S)-7-guanidino-3-hydroxyheptanamid lze rovněž připravit kyselou nebo alkalickou hydrolysou antibiotika BMG 162-aF₂ (spergualinu) vzorce



který se získá izolací z filtrátu po kultivaci mikroorganismu rodu *Bacillus*, jako například mikroorganismu *Bacillus* BMG 162-aF₂ (číslo FERM-P5230; ATCC 31932). Lze ho rovněž syntetizovat způsobem popsaným v časopisu *Journal of Antibiotics*, sv. 34, 1625 (1981), z L-lysinu Arnt-Eistertovou reakcí /viz *Journal of Organic Chemistry*, sv. 17, 347 (1952)/, poté deaminací β-aminoskupiny takto získané kyseliny (S)-3,7-čdiaminoheptanové působením kyseliny dusité, převedením karboxylové skupiny v získané sloučenině na amidickou skupinu a posléze převedením aminoskupiny na guanidinovou skupinu.

c) Synthesa sloučenin obecného vzorce II, ve kterém Y značí skupinu -CH=CH-:

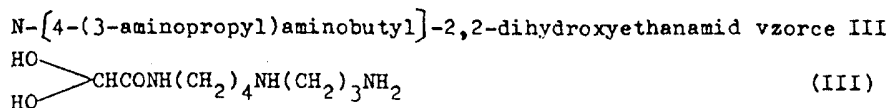
Uvedené sloučeniny jsou amidy α,β-nenasycených ω-guanidinomastných kyselin (t.j. ω-guanidino-2-alkenamidy) obecného vzorce IIc



ve kterém n má shora uvedený význam. Uvedené sloučeniny se s výhodou syntetizují dehydratací amidů ω-guanidino-β-hydroxymastných kyselin obecného vzorce IIb, jejichž příprava byla popsána výše. I když lze dehydrataci provádět metodami běžně používanými při dehydrataci amidů β-hydroxymastných kyselin, přece jen je v případě amidů obecného vzorce IIb vhodné provádět reakci za mírných neutrálních podmínek. Jeden z vhodných způsobů spočívá v provedení dehydratace působením dicyklohexylkarbodiimidu v přítomnosti chloridu měďnatého /viz *Journal of the American Chemical Society* 90, 3245 (1968)/. Vzhledem k tomu, že se výchozí sloučenina obecného vzorce IIb obvykle používá ve formě své adiční soli s kyselinou, jest vhodným rozpouštědlem pro reakci N,N-dimethylformamid, ve kterém je zmíněná adiční sůl s kyselinou rozpustná.

Reakční teplota leží obvykle v rozmezí od teploty místnosti do 100 °C, a reakční doba se obecně pohybuje od několika hodin až po několik dnů, v závislosti na reakční teplotě. Reakční dobu lze zkrátit, použije-li se dicyklohexylkarbodiimid v přebytku. Jako příklad tímto způsobem připravených amidů α,β-nenasycených ω-guanidinomastných kyselin lze uvést 4-guanidino-2-butenamid, 5-guanidino-2-pentanamid, 6-guanidino-2-hexenamid, 7-guanidino-2-heptenamid, 8-guanidino-2-oktanamid a 9-guanidino-2-nonenamid.

Redukcí dvojnás vazby ve shora uvedených amidech α,β-nenasycených ω-guanidinomastných kyselinách obecného vzorce IIc, buď katalytickou hydrogenací provedenou obvyklým způsobem nebo redukcí borohydridem sodným v přítomnosti sloučeniny přechodného kovu, jako chloridu nikelnatého nebo chloridu kobaltnatého /viz *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 19, 817 (1971)/ se získá amid nasycené ω-guanidinomastné kyseliny obecného vzorce IIa.



který je výchozí látkou pro syntesu sloučeniny obecného vzorce Ia, se připraví následujícím způsobem, který je podrobně popsán v časopisu *Journal of Antibiotics*, sv. 34, 1625 (1981).

V prvním stupni se volná aminoskupina sloučeniny obecného vzorce X



ve kterém X^1 značí chránicí skupinu aminoskupiny, acyluje dialkylacetalem glyoxylové kyseliny obecného vzorce XI



ve kterém X^2 značí alkylovou skupinu s 1 až 5 atomy uhlíku, nebo s reaktivním derivátem uvedené karboxylové kyseliny, a v dalším stupni se chránicí skupiny aminoskupiny X^1 a alkylové skupiny X^2 odstraní za vzniku sloučeniny vzorce III.

Sloučenina vzorce III se dá rovněž získat ve vysokém výtěžku hydrolysou shora zmíněného antibiotika BMG 162-aF₂ (spergualinu).

Způsob podle vynálezu je podrobně objasněn v následujících příkladech; příklady A až H se týkají přípravy potřebných výchozích látek a příklady 1 až 29 přípravy sloučenin obecného vzorce I.

Příklad A

Synthesa (S)-7-guanidino-3-hydroxyheptanamidu

a) Synthesa (S)-3,7-diaminoheptanové kyseliny

K roztoku 15 g (82,15 mmol) hydrochloridu L-lysinu ve 150 ml vody se přidá 8,7 g (82,15 mmol) uhličitanu sodného a 43,2 g (200 mmol) N-ethoxykarbonylfthalimidu a směs se míchá 20 hodin při teplotě místnosti. Reakční směs se promyje 50 ml ethylacetátu, vodný podíl se upraví 6 M kyselinou chlorovodíkovou na pH 3,0 a vyextrahuje se třikrát po 100 ml toluenu. Spojené toluenové podíly se promyjí dvakrát po 100 ml vody (pH 2,0), vysuší bezvodým síranem sodným a rozpouštědlo se oddestiluje za sníženého tlaku. Získá se 27,95 g (výtěžek 84 %) di-N-ftaloyl-L-lysinu ve formě bezbarvé práškovité látky o t.t. 71 až 72 °C za rozkladu; optická rotace $[\alpha]_D^{22} = -32^\circ$ (c = 1, methanol).

Ke 27,0 g (66,4 mmol) di-N-ftaloyl-L-lysinu se přidá 40 ml oxalylchloridu, směs se zahřeje na olejové lázni na 90 °C, přidá se 40 ml 1,2-dimethoxyethanu a roztok se zahřívá 2 hodiny k varu pod zpětným chladičem. Reakční směs se odpaří k suchu, odparek se rozpustí znovu ve 20 ml 1,2-dimethoxyethanu a roztok se přikape k 500 ml ethetického roztoku obsahujícího 330 mmol diazomethanu za chlazení ledovou vodou. Reakční směs se míchá jednu hodinu, pak se rozpouštědlo oddestiluje a odparek se rozpustí ve 250 ml bezvodého methanolu. K roztoku se přidá 50 ml triethylaminu ve kterém je rozpouštěno 3,4 g (14,8 mmol) benzoátu stříbrného a směs se míchá při teplotě místnosti 15 hodin. Vyloučený produkt se odfiltruje, rozpustí ve 100 ml chloroformu, nerozpustný podíl se odfiltruje a filtrát se odpaří k suchu. Získá se 15,3 g (výtěžek 53 %) methylesteru kyseliny (S)-3,7-di-ftaloylaminoheptanové, t.t. 118 až 119 °C za rozkladu; $[\alpha]_D^{22} = -3^\circ$ (c = 2, chloroform).

Methylester kyseliny (S)-3,7-difthaloylaminoheptanové (15,0 g, 34,5 mmol) se vnese do 100 ml 1 M ethanolického roztoku hydrazinhydrátu, přidá se 95 % ethanol (100 ml a směs se zahřívá jednu hodinu pod zpětným chladičem k varu (teplota olejové lázně 90 °C). Reakční směs se odpaří k suchu, odparek se rozpustí ve 250 ml 5% kyseliny chlorovodíkové, roztok se zahřívá jednu hodinu na 80 °C, pak se pH směsi upraví 17% vodným amoniakem na hodnotu 7,1 a roztok se nechá protéci přes sloupec připravený z 300 ml Amberlitu (R) CG-50 (trubice o vnitřním průměru 27 mm, icnex 70% NH₄-typ). Sloupec se promývá postupně 900 ml vody a 900 ml 0,2 M vodného amoniaku a pak se provede eluce 0,5 M vodným amoniakem. Ninhydrin-positivní frakce se spojí a rozpouštědlo se oddestiluje za sníženého tlaku. Získá se 3,15 g (výtěžek 57 %) kyseliny (S)-3,7-diaminoheptanové (C₇H₁₆N₂O₂·1/4 H₂CO₃) ve formě bezbarvého sirupu; $[\alpha]_D^{21} = +2,9^\circ$ (c = 1, voda).

b) Synthesa (S)-7-guanidino-3-hydroxyheptanamidu

K roztoku 3,1 g (19,3 mmol) kyseliny (S)-3,7-diaminoheptanové v 30 ml směsi pyridinu s vodou a triethylaminem (10:10:1) se pomalu přidá 4,81 g (19,3 mmol) N-benzyloxykarbonyloxysukcinimidu. Směs se míchá 5 hodin při teplotě místnosti, pak se rozpouštědla odpaří, odparek se rozpustí ve 30 ml vody, pH roztoku se upraví 6 M kyselinou chlorovodíkovou na pH 6,4 a roztok se nechá protéci přes sloupec připravený ze 100 ml Amberlitu (R) CG-50 (80% NH₄-typ, trubice o vnitřním průměru 16 mm). Sloupec se vymyje 300 ml vody. Efluent se spojí a nanese na sloupec připravený ze 100 ml Dcwexu (R) 50W-X4 (H-typ; trubice o vnitřním průměru 16 mm). Sloupec se promyje postupně 300 ml vody a 300 ml 0,2 M vodného roztoku amoniaku a produkt se eluuje 0,5 M vodným roztokem amoniaku (frakce po 10 ml). Frakce číslo 16 až 33 se spojí, rozpouštědlo se odpaří a odparek se vysuší. Získá se 2,73 g (výtěžek 48 %) kyseliny (S)-3-amino-7-benzyloxykarbonylaminoheptanové (C₁₅H₂₂N₂O₄·H₂O) ve formě bezbarvé práškovité látky; t.t. 143 až 147 °C, $[\alpha]_D^{22} = +14^\circ$ (c = 1, methanol). Sloupec Amberlitu (R) CG-50 se eluuje 0,5 M vodným roztokem amoniaku a regeneruje se 746 mg (výtěžek 24 %) kyseliny (S)-3,7-diaminoheptanové.

K roztoku 2,7 g (9,17 mmol) kyseliny (S)-3-amino-7-benzyloxykarbonylaminoheptanové v 33% vodné kyselině octové se za chlazení ledem, během jedné hodiny, přikape roztok 1,9 g (27,51 mmol) dusitanu sodného v 10 ml vody. Směs se míchá další jednu hodinu a pak se nechá stát 24 hodin při 5 °C. Rostok se zředí 50 ml vody, produkt se vyjme dvakrát 50 ml ethylacetátu, spojené organické výtřepky se suší bezvodným síranem sodným a rozpouštědlo se oddestiluje za sníženého tlaku. Získaný surový produkt (2,16 g) se chromatografuje na sloupci silikagelu (značky Wakogel (R) C-200; 200 g), za použití trubice o vnitřním průměru 28 mm a směsi chloroformu s methanolem a s koncentrovaným amoniakem (v objemovém poměru 30:10:1) k eluci produktu; jímají se frakce po 20 ml. Frakce číslo 51 až 60 se spojí a rozpouštědla se odpaří k suchu. Získá se 460 mg (výtěžek 17 %) kyseliny (S)-7-benzyloxykarbonylamino-3-hydroxyheptanové ve formě bezbarvé práškovité látky; teplota tání 115 až 117 °C (za rozkladu), $[\alpha]_D^{23} = +3^\circ$ (c = 2, methanol).

K roztoku 450 mg (1,52 mmol) shora uvedeným způsobem připravené kyseliny (S)-7-benzyloxykarbonylamino-3-hydroxyheptanové v 1,2-dimethoxyethanu se za chlazení ledem přidá po kapkách 7 ml (4,56 mmol) roztoku diazomethanu v etheru. Reakční směs se míchá 30 minut a pak se těkavé složky oddestilují; získá se 461 mg (výtěžek 98 %) methylesteru kyseliny (S)-7-benzyloxykarbonylamino-3-hydroxyheptanové o optické rotaci $[\alpha]_D^{21} = +1^\circ$.

Roztok 450 mg (1,45 mmol) methylesteru kyseliny (S)-7-benzyloxykarbonylamino-3-hydroxyheptanové v 50 ml bezvodého methanolu se za chlazení na -10° nasytí plyným amoniakem a reakční směs se nechá stát 3 dny v zatavené trubici při teplotě místnosti. Rozpouštědlo se oddestiluje za sníženého tlaku a odparek se podrobí sloupcové chromatografii (trubice o vnitřním průměru 20 mm) na 50 g silikagelu (značky Wakogel $\textcircled{R}$ C-200), za použití směsi chloroformu s methanolem (100:1, objemově). Frakce číslo 82 až 106 (každá o objemu 10 ml) se spojí a rozpouštědla se odpaří. Získá se 371 mg (výtěžek 87 %) (S)-7-benzyloxykarbonylamino-3-hydroxyheptanamidu ve formě bezbarvé práškovité látky; teplota tání 126 až 127°C za rozkladu, $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -3^{\circ}$ ($c = 5$, methanol).

K roztoku 350 mg (1,19 mmol) (S)-7-benzyloxykarbonylamino-3-hydroxyheptanamidu v 10 ml směsi 90% vodného methanolu s 0,01 ml kyseliny octové se přidá 50 mg 5% paladia na aktivním uhlí a směs se míchá 3 hodiny při teplotě místnosti v proudě vodíku. Katalysátor se odfiltruje, z filtrátu se oddestilují rozpouštědla, odparek se rozpustí v malém objemu vody a roztok se chromatografuje na sloupci z 30 ml Dowexu $\textcircled{R}$ 50W-X4 (v H-formě) (trubice o vnitřním průměru 12 mm). Sloupec se nejprve promyje 90 ml vody a produkt se eluuje 0,5 M vodným roztokem amoniaku (frakce po 3 ml). Frakce číslo 28 až 34 se spojí a rozpouštědlo se odpaří k suchu; získá se 201 mg (výtěžek 96 %) (S)-7-amino-3-hydroxyheptanamidu, $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -2^{\circ}$ ($c = 2$, voda).

K roztoku 190 mg (1,08 mmol) (S)-7-amino-3-hydroxyheptanamidu ve 3 ml vody se přidá 0,54 ml 2M vodného roztoku hydroxidu sodného a k roztoku se za chlazení ledem, během 30 minut, přikape 1 ml methanolickeho roztoku obsahujícího 129 mg (1,08 mmol) 2-methyl-1-nitrosomočoviny. Reakční směs se míchá dalších 5 hodin, pak se okyslí 6M kyselinou chlorovodíkovou na pH 6,0, rozpouštědla se oddestilují za sníženého tlaku a odparek se čistí sloupcovou chromatografií (trubice o vnitřním průměru 15 mm) na 30 g silikagelu (značky Wakogel $\textcircled{R}$ C-200), za použití směsi chloroformu s methanolem a s koncentrovaným vodným amoniakem (v poměru 60:10:1 objemově) k eluci látek. Frakce číslo 67 až 90 (o objemu po 6 ml) se spojí a rozpouštědla se odpaří k suchu. Získá se 187 mg (výtěžek 70 %) (S)-7-nitroguanidino-3-hydroxyheptanamidu ve formě bezbarvé práškovité látky; teplota tání 148 až 149°C za rozkladu, $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -2^{\circ}$ ($c = 2$, methanol).

K roztoku 170 mg (0,69 mol) (S)-7-nitroguanidino-3-hydroxyheptanamidu ve směsi 15 ml vody, 15 ml methanolu a 7,5 ml kyseliny octové se přidá 50 mg 5% paladia na aktivním uhlí a směs se míchá v proudě vodíku při teplotě místnosti po dobu jedné hodiny. Katalysátor se odfiltruje, z filtrátu se oddestilují rozpouštědla, odparek (165 mg surového produktu) se rozpustí v 10 ml vody, roztok se nanese na sloupec (trubice o vnitřním průměru 12 mm) připravený z 20 ml CM-Sephadexu $\textcircled{R}$ C-25 (Na-forma) a látka se eluuje 0,5 M vodným roztokem chloridu sodného (frakce po 2 ml). Frakce číslo 18 až 25 se spojí, rozpouštědlo se oddestiluje a odparek se extrahuje třikrát po 10 ml methanolu. Methanolicke roztoky se spojí, roztok se nechá projít sloupcem (trubice o vnitřním průměru 20 mm) připraveným ze 100 ml Sephadexu $\textcircled{R}$ LH-20 a produkt se eluuje methanolem (frakce po 1 ml). Frakce číslo 28 až 46 se spojí a rozpouštědlo se odpaří k suchu; získá se 149 mg (výtěžek 91 %) bezbarvé práškovité látky, která je hydrochloridem (S)-7-guanidino-3-hydroxyheptanamidu, $\text{C}_8\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2 \cdot \text{HCl}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -2^{\circ}$ ($c = 2$, voda).

Příklad B

Synthesa 7-guanidino-2-heptanamidu

K roztoku 955 mg (4 mmol) hydrochloridu (S)-7-guanidino-3-hydroxyheptanamidu ve 20 ml bezvodého *N,N*-dimethylformamidu se přidá 2,48 g (12 mmol) dicyklohexylkarbodiimidu a 40 mg chloridu měďnatého, a směs se míchá 2 dny při teplotě místnosti. Vyloučená sraženina se odfiltruje a filtrát se zahustí za sníženého tlaku. Odparek se rozpustí v 10 ml vody a promyje dvakrát po 10 ml ethylacetátu. Vodný podíl se odpaří k suchu, odparek se rozpustí v 5 ml vody, roztok se nechá protéci sloupcem (trubice o vnitřním průměru 20 mm) připraveným z 50 ml CM-Sephadexu (R) C-25 (Na-forma) a sloupec se eluuje 200 ml 0,5 M vodného roztoku chloridu sodného (frakce po 10 ml). Frakce číslo 17 až 30 se spojí, rozpouštědlo se odpaří k suchu a odparek se extrahuje třikrát methanolem. Methanolický roztok se nanese na sloupec (trubice o vnitřním průměru 20 mm) připravený ze 150 ml Sephadexu (R) LH-20 a produkt se eluuje methanolem (frakce po 5 ml). Frakce číslo 9 až 16 se spojí a rozpouštědlo se oddestiluje. Odparek (950 mg) se překrystalizuje ze směsi ethanolu s acetonem; získá se 790 mg (výtěžek 89,5 %) hydrochloridu 7-guanidino-2-heptenamidu, teplota tání 162 až 168 °C.

Protonové NMR spektrum (proměřené v deuteromethanolu), :

1,4 - 1,8 ($\text{CH}_2 \times 2$); 2,27 (CH_2); 3,20 (CH_2); 5,98 (CH), 6,80 (CH).

Infračervené absorpční spektrum (KBr tableta), cm^{-1} : 3370, 3150, 1660, 1625, 1610, 1590, 1415, 1395, 1370.

Příklad C

Synthesa hydrochloridu 7-guanidinoheptanamidu

K roztoku 441 mg (2 mmol) 7-guanidino-2-heptenamidu hydrochloridu v 7 ml methanolu se přidá 47,5 mg (0,2 mmol) chloridu nikelnatého. K uvedené směsi se za míchání, při teplotě místnosti, přidává po malých částech 189 mg (5 mmol) borohydridu sodného. Po skončení přidávání borohydridu se směs míchá dalších 1,5 hodiny, pak se vzniklá černá sraženina odfiltruje a filtrát se odpaří k suchu. Odparek se rozpustí v 5 ml 0,5 M vodného roztoku chloridu sodného, roztok se nechá protéci sloupcem (trubice o vnitřním průměru 30 mm) připraveným ze 100 ml Diaionu (R) HP-20 a provede se eluce 300 ml 0,5 M vodného roztoku chloridu sodného a pak 300 ml vody (frakce po 15 ml). Frakce číslo 25 až 33 se spojí, rozpouštědlo se oddestiluje a odparek se extrahuje třikrát po 5 ml methanolu.

Methanolicke extrakty se spojí, roztok se nanese na sloupec (trubice o vnitřním průměru 20 mm) připravený ze 150 ml Sephadexu (R) LH-20 a produkt se eluuje methanolem (frakce po 5 ml). Frakce číslo 8 až 13 se spojí, rozpouštědlo se oddestiluje a odparek se překrystalizuje ze směsi ethanolu s acetonem. Získá se 372 mg (výtěžek 83,5 %) hydrochloridu 7-guanidinoheptanamidu ve formě bezbarvé krystalické látky o teplotě tání 140 až 141 °C.

Protonové NMR spektrum (proměřené v deuteromethanolu), :

1,2 - 1,9 ($\text{CH}_2 \times 4$); 2,23 (CH_2); 3,20 (CH_2).

Infračervené absorpční spektrum (KBr tableta), cm^{-1} : 3350, 3150, 2920, 1655, 1630, 1590, 1455, 1430, 1400, 1220, 1165, 1130, 1065.

Příklad D

Synthesa 8-guanidino-3-hydroxyoktanamidu

a) Synthesa ethylesteru kyseliny 8-benzyloxykarbonylamino-3-ketooktanové

K roztoku 6,56 g (50 mmol) kyseliny 6-aminohexanové ve 25 ml 2M vodného roztoku hydroxidu sodného se přidá 5 ml ethyletheru. Ke směsi se za chlazení ledem a za míchání, během 30 minut, přikape 10 ml benzyloxykarbonylchloridu a 37,5 ml 2M vodného roztoku hydroxidu sodného. Po přidání obou složek se teplota reakční směsi nechá vystoupit na teplotu místnosti a pokračuje se v míchání ještě 2 hodiny. Směs se promyje dvakrát 20 ml etheru, vodný podíl se okyslí koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou a produkt se vyjme do ethylacetátu (3x po 50 ml). Ethylacetátové extrakty se spojí, roztok se promyje nasyceným roztokem chloridu sodného, vysuší bezvodným síranem sodným a rozpouštědlo se oddestiluje. Získá se 12,16 g (výtěžek 92 %) kyseliny 6-benzyloxykarbonylaminohexanové o teplotě tání 127 až 128 °C.

K roztoku 2,65 g (10 mmol) kyseliny 6-benzyloxykarbonylaminohexanové ve 25 ml bezvodného tetrahydrofuranu se přidá 1,62 g (10 mmol) obchodního 1,1'-karbonyldiimidazolu a směs se míchá 15 minut při teplotě místnosti. K reakční směsi se přidá 6,18 g (40 mmol) práškovitého magnesiumentolátu monoethylmalonanu (připraveného z 5,28 g monoethylsteru kyseliny malonové a 972 mg hořčíku) nasuspendovaného do 50 ml bezvodného tetrahydrofuranu. Směs se míchá 2 hodiny při teplotě místnosti. Pak se přidá 50 ml 1M kyseliny chlorovodíkové, směs se míchá 10 minut a produkt se vyjme do chloroformu (3x po 50 ml). Spojené chloroformové extrakty se postupně promyjí 1M kyselinou chlorovodíkovou, nasyceným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a nasyceným roztokem chloridu sodného, vysuší se bezvodným síranem sodným a rozpouštědlo se oddestiluje. Odparek se nanese na sloupec připravený ze 100 g silikagelu značky Silica Gel 50 (Merck and Co.) a látka se vymývá chloroformem (frakce po 20 g). Frakce číslo 43 až 105 se spojí a rozpouštědlo se oddestiluje; získá se 2,35 g (výtěžek 70 %) ethylesteru kyseliny 8-benzyloxykarbonylamino-3-ketooktanové.

Protonové NMR spektrum (v deuteriochloroformu), :

1,27 (CH₃); 1,1 - 1,9 (CH₂ x 3); 2,52 (CH₂); 3,17 (NCH₂); 3,40 (CH₂); 4,18 (CH₂); 5,05 (NH); 5,09 (CH₂); 7,32 (C₆H₅).

Infračervené absorpční spektrum (KBr tableta), cm⁻¹: 3360, 2920, 1730, 1710, 1520, 1240.

b) Synthesa 8-guanidino-3-hydroxyoktanamidu

Ve 20 ml ethanolu se rozpustí 2,01 g (6 mmol) ethyl-8-benzyloxykarbonylamino-3-ketooktanoátu, připraveného způsobem popsaným výše od a), a k roztoku se za míchání, při teplotě místnosti, přidá po částech 227 mg (6 mmol) borohydridu sodného. Reakční směs se míchá 30 minut, pak se přidá několik kapek kyseliny octové, roztok se nalije do 10 ml vody a produkt se vyjme do chloroformu (3x po 50 ml). Chloroformové extrakty se spojí, promyjí postupně 1M kyselinou chlorovodíkovou, nasyceným vodným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a nasyceným vodným roztokem chloridu sodného, pak se vysuší bezvodným síranem sodným a rozpouštědlo se oddestiluje. Získá se 2,00 g (výtěžek 99 %) ethylesteru kyseliny 8-benzyloxykarbonylamino-3-hydroxyoktanové o teplotě tání 47 až 50 °C.

Do 40 ml methanolu nasyceného plynným amoniakem se vnese 1,69 g (5 mmol) ethyl-8-benzyloxykarbonylamino-3-hydroxy-oktanoátu připraveného shora popsaným způsobem a roztok se míchá 3 dny při teplotě místnosti.

Rozpouštědlo se odpaří k suchu a odparek se překrystalisuje z ethanolu. Získá se 1,18 g (výtěžek 72,5 %) 8-benzyloxykarbonylamino-3-hydroxyoktanamidu o teplotě tání 100 až 101 °C.

K roztoku 1,04 g (3,2 mmol) posléze uvedeného 8-benzyloxykarbonylamino-3-hydroxyoktanamidu ve 20 ml methanolu se přidá 3,2 ml 1M kyseliny chlorovodíkové a 200 ml 10 % paladia na uhlí a směs se míchá 3 hodiny při teplotě místnosti v proudu vodíku. Katalysátor se odfiltruje a filtrát se odpaří k suchu; získá se 670 mg hydrochloridu 8-amino-3-hydroxyoktanamidu.

K roztoku 670 mg hydrochloridu 8-amino-3-hydroxyoktanamidu v 8 ml 1M vodného roztoku hydroxidu sodného se přidá 668 mg (2,4 mmol) hemisulfátu S-methylisothiomočoviny. Reakční směs se míchá přes noc při teplotě místnosti, pak se okyselí na pH 6 1M kyselinou chlorovodíkovou a odpaří k suchu. Odparek se rozpustí v 5 ml 1M vodného roztoku chloridu sodného. Roztok se nechá protéci přes sloupec připravený ze 160 ml Diaionu (R) HP-20 (výrobek firmy Mitsubishi Chemical Co.) a sloupec se pak postupně promývá 400 ml 1M roztoku chloridu sodného, 400 ml 0,8M roztoku chloridu sodného a 800 ml 0,6M roztoku chloridu sodného (frakce po 15 g). Frakce číslo 41 až 87 se spojí, voda se odpaří k suchu a odparek se extrahuje třikrát po 10 ml methanolu. Methanolicke extrakty se spojí, roztok se nanese na sloupec připravený ze 300 ml Ephadexu (R) LH-20 a látka se eluuje methanolem (frakce po 7 ml). Odsolené frakce číslo 25 až 35 se spojí a rozpouštědlo se oddestiluje. Získá se 687 mg (výtěžek 85 %) hydrochloridu 8-guanidino-3-hydroxyoktanamidu. Protonové NMR spektrum (v deuteromethanolu), : 1,4 - 1,8 (CH₂ x 4); 2,36 (CH₂); 3,20 (NCH₂); 3,95 (CH). Infračervené absorpční spektrum (v KBr tabletě), cm⁻¹: 3350, 3170, 2930, 1655, 1400, 1175.

Příklad E

Synthesa 8-guanidino-2-oktenamidu

Podobným způsobem jak bylo popsáno v příkladu B pro syntesu 7-guanidino-2-heptenamidu se z 270 mg hydrochloridu 8-guanidino-3-hydroxyoktanamidu získá 218 mg hydrochloridu 8-guanidino-2-oktenamidu (výtěžek 98 %) o teplotě tání 163 až 165 °C. Protonové NMR spektrum (v deuteromethanolu), : 1,4 - 1,9 (CH₂ x 3); 2,25 (CH₂); 3,19 (NCH₂); 5,94 (CH); 6,79 (CH). Infračervené absorpční spektrum (v KBr tabletě), cm⁻¹: 3400, 3120, 2920, 1660, 1630, 1400.

Příklad F

Synthesa 9-guanidino-3-hydroxynonanamidu

Podobným způsobem jak bylo popsáno v příkladu D pro syntesu 8-guanidino-3-hydroxyoktanamidu se z 2,56 g kyseliny 7-aminoheptanové získá 892 mg hydrochloridu 9-guanidino-3-hydroxynonanamidu. Protonové NMR spektrum (v deuteromethanolu), : 1,2 - 1,9 (CH₂ x 5); 2,35 (CH₂); 3,19 (NCH₂); 3,92 (CH). Infračervené absorpční spektrum (v KBr tabletě), cm⁻¹: 3350, 3180, 2940, 1660, 1400, 1175.

Příklad G

Synthesa 9-guanidino-2-nonenamidu

Podobným způsobem jak bylo popsáno v příkladu B pro syntesu 7-guanidino-2-heptenamidu se z 361 mg hydrochloridu 9-guanidino-3-hydroxynonanamidu získá 253 mg (výťažek 75 %) hydrochloridu 9-guanidino-2-nonenamidu o teplotě tání 132 až 135 °C. Protonové NMR spektrum (v deuteromethanolu), :
1,2 - 1,9 ($\text{CH}_2 \times 4$); 2,23 (CH_2); 3,20 (NCH_2); 5,97 (CH); 6,80 (CH).
Infračervené absorpční spektrum (KBr tableta), cm^{-1} : 3350, 3175, 2940, 1660, 1620, 1420.

Příklad H

Synthesa N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2,2-dihydroxyethanamidu

a) Synthesa mono-N-benzyloxykarbonyl-1,4-butandiaminu

K roztoku 1,76 g (20 mmol) 1,4-butandiaminu ve 30 ml 50% vodného methanolu se přidá 5,48 g (20 mmol) benzyl-S-4,6-dimethylpyrimid-2-ylthiokarbonátu (výrobek firmy Kokusan-kagaku Co.) a směs se míchá 3 hodiny. Vyloučená sraženina se odfiltruje /z odfiltrovaného produktu se získá 2,08 g (výťažek 29%) di-N-benzyloxykarbonylové sloučeniny) a z filtrátu se oddestiluje rozpouštědlo. Odparek se rozpustí ve 250 ml chloroformu, roztok se promyje pětkrát po 100 ml vody, chloroformový podíl se vysuší bezvodým síranem sodným a rozpouštědlo se odpaří k suchu. Získá se 1,0 g /výtěžek 23 %/ mono-N-benzyloxykarbonyl-1,4-butandiaminu ve formě bezbarvého sirupu.

b) Synthesa O-tosyl-3-terc.-butoxykarbonylamino-1-propanolu

K roztoku 1,5 g (20 mmol) 3-amino-1-propanolu v 30 ml methanolu se přidá 4,8 g (20 mmol) terc.butyl-S-4,6-dimethylpyrimid-2-ylthiokarbonátu a směs se míchá 6 hodin. Rozpouštědlo se oddestiluje, odparek se rozpustí ve 200 ml chloroformu a roztok se promyje 200 ml vody. Chloroformový podíl se zahustí a zahuštěný roztok se chromatografuje na sloupci připraveném z 300 g silikagelu (značky Wakogel ^(R) C-200), za použití směsi toluenu s ethylacetátem (v poměru 1:1, objemově) k eluci látek (frakce po 15 ml). Frakce číslo 82 až 151 se spojí, rozpouštědla se oddestilují za sníženého tlaku a odparek se vysuší; získá se 2,95 g (výtěžek 84%) 3-terc.butyloxykarbonylamino-1-propanolu ve formě bezbarvé olejovité látky.

K roztoku 2,95 g (16,9 mmol) 3-terc.butoxykarbonylamino-1-propanolu v 50 ml pyridinu se za chlazení ledem, v atmosféře argonu, přikape během 40 minut pyridinový roztok obsahující 3,36 g (17,7 mmol) p-toluensulfonchloridu. Reakční směs se nechá stát přes noc při 7 °C, pak se přidá malé množství vody a rozpouštědla se oddestilují. Odparek se rozpustí ve 200 ml chloroformu, roztok se postupně promyje 5% vodným roztokem hydrogensíranu draselného, nasyceným vodným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a vodou, vysuší se bezvodým síranem sodným a rozpouštědlo se oddestiluje. Odparek se podrobí sloupcové chromatografii na 120 g silikagelu (značky Wakogel ^(R) C-200), za použití směsi toluenu s ethylacetátem (v poměru 8:1 objemově) k eluci látek (frakce po 15 ml). Frakce číslo 35 až 68 se spojí a rozpouštědla se odpaří k suchu. Získá se 3,06 g (výtěžek 55 %) O-tosyl-3-terc.butoxykarbonylamino-1-propanolu ve formě bezbarvé olejovité látky.

c) Synthesa N-terc.butoxykarbonyl-N-(terc.-butoxykarbonylaminopropyl)-1,4-butandiaminu

K roztoku 800 mg (2,43 mmol) O-tosyl-3-terc.-butoxykarbonylamino-1-propanolu připraveného shora popsaným způsobem b), v 15 ml N,N-dimethylformamidu se přidá 510 mg (4,8 mmol) bromidu lithného ($\text{LiBr} \cdot \text{H}_2\text{O}$) a směs se míchá 24 hodin při teplotě místnosti. K reakční směsi obsahující příslušný bromderivát se přidá 540 mg (2,43 mmol) mono-N-benzyloxykarbonyl-1,4-butandiaminu získaného shora uvedeným postupem a) a 0,34 ml triethylaminu, a směs se míchá 48 hodin při teplotě místnosti. Pak se k reakční směsi přidá 699 mg (2,9 mmol) terc.-butyl-S-4,6-dimethylpyrimid-2-ylthiokarbonátu a směs se míchá dalších 13 hodin při teplotě místnosti. Rozpouštědlo se oddestiluje za sníženého tlaku, odparek se rozpustí ve 100 ml chloroformu, roztok se promyje 50 ml vody, vysuší bezvodým síranem sodným a chloroform se odpaří. Odparek se podrobí sloupcové chromatografii na 200 g silikagelu (značky Wakogel [®] C-200), za použití směsi toluenu s ethylacetátem (v poměru 4:1 objemově) jako elučního činidla (jímají se frakce po 12 ml). Frakce číslo 134 až 165 se spojí a rozpouštědla se oddestilují; získá se 608 mg (výtěžek 52 %) N-benzyloxykarbonyl-N'-terc.-butoxykarbonyl-N'-(terc.-butoxykarbonylaminopropyl)-1,4-butandiaminu ve formě bezbarvé sirupovité látky.

K roztoku 144 mg (0,3 mmol) posléze uvedené sirupovité substance v 5 ml methanolu se přidá 100 mg 5% paladia na uhlíčitanu barnatém a směs se míchá 5 hodin v proudu vodíku při teplotě místnosti. Katalysátor se odfiltruje a z filtrátu se oddestiluje rozpouštědlo; získá se 103 mg (výtěžek 100 %) N-terc.-butoxykarbonyl-N'-(terc.-butoxykarbonylaminopropyl)-1,4-butandiaminu.

d) Synthesa N-4-(3-aminopropyl)aminobutyl-2,2-dihydroxyethanamidu

Ve 2 ml ethylacetátu se rozpustí 100 mg (0,29 mmol) N-terc.-butoxykarbonyl-N'-(terc.-butoxykarbonylaminopropyl)-1,4-butandiaminu získaného shora uvedeným způsobem c) a 148 mg (1 mmol) kyseliny 2,2-diethoxyoctové. K získanému roztoku se přidá 135 mg (1 mmol) 1-hydroxybenzotriazolu a 206 mg (1 mmol) dicyklohexylkarbodiimidu, a směs se míchá 15 hodin při teplotě místnosti. Vyloučená dicyklohexylmočovina se odfiltruje a promyje chladným ethylacetátem. Filtrát a promývací kapalina se spojí a roztok se promyje 1M vodným amoniakem a vodou. Ethylacetátový podíl se vysuší bezvodým síranem sodným, rozpouštědlo se oddestiluje a odparek se podrobí sloupcové chromatografii na sloupci 20 g silikagelu (značky Wakogel [®] C-200) za použití směsi toluenu s ethylacetátem (v objemovém poměru 1:2) jako elučního činidla; jímají se frakce po 3 ml. Frakce číslo 14 až 21 se spojí a rozpouštědla se odpaří k suchu. Získá se 109 mg (výtěžek 79 %) N-[4-(3-terc.-butoxykarbonylaminopropyl)-4-terc.-butoxykarbonylaminobutyl]-2,2-diethoxyethanamidu ve formě bezbarvé sirupovité látky.

K roztoku 44 mg (0,13 mmol) posléze uvedené sirupovité substance v 1 ml dioxanu se přidá 2,5 ml 0,1 M kyseliny chlorovodíkové a směs se zahřívá za míchání na olejové lázni 4 hodiny na 100 °C. Reakční směs se zneutralisuje 0,2 M vodným roztokem hydroxidu sodného na pH 6 a rozpouštědla se oddestilují. Odparek se extrahuje 1,5 ml methanolu a methanolický roztok se nechá protéci přes sloupec (trubice o vnitřním průměru 16,5 mm) připravený ze 100 ml Sephadexu [®] LH-20 a produkt se eluuje methanolem (frakce po 2 ml). Frakce 22 až 25, pozitivní při nynydrinové reakci, se spojí a rozpouštědlo se odpaří k suchu. Získá se 13 mg (výtěžek 46 %) dihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2,2-dihydroxyethanamidu ve formě bezbarvé sirupovité látky.

Příklad 1

Synthesa N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(4-guanidinobutanamido)-2-hydroxyethanamidu

Směs 360 mg (2 mmol) hydrochloridu 4-guanidinobutanamidu, 701 mg (2,4 mmol) dihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2,2-dihydroxyethanamidu, 264 mg (2 mmol) kyseliny glutarové a 0,36 ml vody se zahřívá 24 hodin na 60 °C. Po skončení reakce se k reakční směsi přidá 5 ml vody, roztok se nanese na sloupec (trubice o vnitřním průměru 20 mm) připravený ze 150 ml CM-Sephadexu (R) C-25 (Na-forma) a provede se frakcionace gradientovou elucí 1,5 litrem vody a 1,5 litrem 0,8 M vodným roztokem chloridu sodného; jímají se frakce po 15 ml. Frakce číslo 125 až 137, odpovídající koncentracím 0,48 až 0,56 M chloridu sodného, se spojí, odpaří k suchu a extrahují třikrát po 10 ml methanolu. Methanolicke extrakty se spojí, roztok se nanese na sloupec (trubice o vnitřním průměru 20 mm) připravený ze 150 ml Sephadexu (R) LH-20 a produkt se eluuje methanolem (frakce po 7 ml). Frakce číslo 9 až 15 se spojí a rozpouštědlo se odpaří k suchu. Získá se 318 mg (výtěžek 35 %) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(4-guanidinobutanamido)-2-hydroxyethanamidu ve formě bílé práškovité látky.

Příklad 2

Synthesa N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(5-guanidinopentanamido)-2-hydroxyethanamidu

Směs 92,4 mg (0,48 mmol) hydrochloridu 5-guanidinopentanamidu, 166,5 mg (0,57 mmol) dihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2,2-dihydroxyethanamidu, 62,8 mg (0,48 mmol) kyseliny glutarové a 0,1 ml vody se zahřívá 24 hodin na 60 °C. Po skončení reakce se k reakční směsi přidá 5 ml vody a roztok se čistí podobným způsobem jako v příkladu 1, za použití CM-Sephadexu (R) C-25 (Na-formy) a Sephadexu (R) LH-20. Získá se 82,5 mg (výtěžek 37,1 %) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(5-guanidinopentanamido)-2-hydroxyethanamidu.

Příklad 3

Synthesa N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(6-guanidinohexanamido)-2-hydroxyethanamidu

Směs 446 mg (2,14 mmol) hydrochloridu 6-guanidinohexanamidu, 750 mg (2,57 mmol) dihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2,2-dihydroxyethanamidu, 283 mg (2,14 mmol) kyseliny glutarové a 0,45 ml vody se zahřívá 24 hodin na 60 °C. Po skončení reakce se k reakční směsi přidá 5 ml vody a roztok se čistí podobným způsobem jako v příkladu 1, za použití CM-Sephadexu (R) C-25 (Na-formy) a Sephadexu (R) LH-20. Získá se 459 mg (výtěžek 44 %) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(6-guanidinohexanamido)-2-hydroxyethanamidu ve formě bílé práškovité látky.

Příklad 4

Synthesa N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidinoheptanamido)-2-hydroxyethanamidu

Směs 360 mg (1,62 mmol) hydrochloridu 7-guanidinoheptanamidu, 568 mg (1,94 mmol) N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2,2-dihydroxyethanamidu dihydrochloridu, 214 mg (1,62 mmol) kyseliny glutarové a 0,36 ml vody se zahřívá 24 hodin na 60 °C. Po skončení reakce se k reakční směsi přidá 5 ml vody a získaná směs látek se čistí podobným způsobem jako v příkladu 1, za použití CM-Sephadexu [®] C-25 (v Na-formě) a Sephadexu [®] LH-20. Získá se 317 mg (výťažek 39 %) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidinoheptanamido)-2-hydroxyethanamidu ve formě bílé práškovité látky.

Příklad 5

Synthesa N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(8-guanidinooktanamido)-2-hydroxyethanamidu

Směs 500 mg (2,11 mmol) hydrochloridu 8-guanidinooktanamidu, 740 mg (2,53 mmol) dihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2,2-dihydroxyethanamidu, 335 mg (2,53 mmol) kyseliny glutarové a 0,34 ml vody se zahřívá 24 hodin na 60 °C. Po skončení reakce se k reakční směsi přidá 5 ml vody a získaná směs látek se čistí podobným způsobem jako v příkladu 1, za použití CM-Sephadexu [®] C-25 (v Na-formě) a Sephadexu [®] LH-20. Získá se 526 mg (výťažek 49 %) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(8-guanidinooktanamido)-2-hydroxyethanamidu ve formě bílé práškovité látky.

Příklad 6

Synthesa N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(9-guanidinononanamido)-2-hydroxyethanamidu

Směs 316 mg (1,26 mmol) hydrochloridu 9-guanidinononanamidu, 442 mg (1,51 mmol) dihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2,2-dihydroxyethanamidu, 166 mg (1,26 mmol) kyseliny glutarové a 0,01 ml vody se zahřívá 24 hodin na 60 °C. Po skončení reakce se k reakční směsi přidá 5 ml vody a získaná směs látek se čistí podobným způsobem jako v příkladu 1, za použití CM-Sephadexu [®] C-25 (v Na-formě) a Sephadexu [®] LH-20. Získá se 324 mg (výťažek 49 %) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(9-guanidinononanamido)-2-hydroxyethanamidu ve formě bílé práškovité látky.

Příklad 7

Synthesa N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(4-guanidinobutanamido)-2-methoxyethanamidu

K roztoku 45,5 mg (0,10 mmol) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(4-guanidinobutanamido)-2-hydroxyethanamidu v 1 ml bezvodého methanolu se přidá 0,1 ml 2 M methanolického roztoku chlorovodíku a směs se míchá 17 hodin při teplotě místnosti. Reakční směs se zahustí za sníženého tlaku a odparek se rozpustí ve 3 ml vody. Roztok se nanese na sloupec (trubice o vnitřním průměru 20 mm) připravený ze 150 ml CM-Sephadexu [®] C-25 a provede se frakcionace gradientovou elucí jedním litrem vody a jedním litrem 1 M vodného roztoku chloridu sodného; jímají se frakce po 17 ml.

Frakce číslo 67 až 71, odpovídající koncentracím 0,63 až 0,67 M chloridu sodného, se spojí, odpaří k suchu a odparek se extrahuje třikrát po 5 ml methanolu. Methanolicke extrakty se spojí, roztok se nanese na sloupec (trubice o vnitřním průměru 20 mm) připravený ze 150 ml Sephadexu (R) LH-20 a produkt se eluuje methanolem (frakce po 7 ml). Frakce číslo 10 až 14 se spojí a rozpouštědlo se odpaří k suchu. Získá se 31,5 mg (výťažek 67 %) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(4-guanidinobutanamido)-2-methoxyethanamidu ve formě bílé práškovité látky.

Příklad 8

Synthesa N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-guanidinohexanamido)-2-methoxyethanamidu

K roztoku 177 mg (0,37 mmol) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(6-guanidinohexanamido)-2-hydroxyethanamidu ve 3,6 ml bezvodého methanolu se přidá 0,36 ml 2 M methanolickeho roztoku chlorovodíku a směs se míchá 17 hodin při teplotě místnosti. Reakční směs se zahustí za sníženého tlaku a získaný bílý odparek se čistí podobným způsobem jako v příkladu 7, za použití CM-Sephadexu (R) C-25 (v Na-formě) a Sephadexu (R) LH-20. Získá se 110 mg (výťažek 60 %) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(6-guanidinohexanamido)-2-methoxyethanamidu ve formě bílé práškovité látky.

Příklad 9

Synthesa N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidinoheptanamido)-2-methoxyethanamidu

K roztoku 920 mg (1,85 mmol) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidinoheptanamido)-2-hydroxyethanamidu ve 20 ml bezvodého methanolu se přidají 2 ml 2 M methanolickeho roztoku chlorovodíku a směs se míchá 15 hodin při teplotě místnosti. Reakční směs se zahustí za sníženého tlaku a získaný bílý odparek se rozpustí v 15 ml vody. Vodný roztok se upraví 1 M vodným roztokem hydroxidu sodného na pH 6, nanese se na sloupec (trubice o vnitřním průměru 25 mm) připravený z 300 ml CM-Sephadexu (R) C-25 (v Na-formě) a provede se frakcionace gradientovou elucí za použití 2 litrů vody a 2 litrů 1 M vodného roztoku chloridu sodného; jímají se frakce po 17 ml. Frakce číslo 138 až 152, odpovídající koncentracím 0,59 až 0,65 M chloridu sodného, se spojí odpaří k suchu a odparek se extrahuje dvakrát po 10 ml methanolu. Methanolicke extrakty se spojí, roztok se nanese na sloupec (trubice o vnitřním průměru 25 mm) připravený ze 300 ml Sephadexu (R) LH-20 a produkt se eluuje methanolem (frakce po 7 ml). Frakce číslo 18 až 32 se spojí a rozpouštědlo se odpaří k suchu. Získá se 607 mg (výťažek 64 %) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidinoheptanamido)-2-methoxyethanamidu ve formě bílé práškovité látky.

Příklad 10

Synthesa N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(8-guanidinooktanamido)-2-methoxyethanamidu

K roztoku 220 mg (0,43 mmol) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(8-guanidinooktanamido)-2-hydroxyethanamidu ve 4,4 ml bezvodého methanolu se přidá 0,44 ml 2 M methanolickeho roztoku chlorovodíku a směs se míchá přes noc při te-

plotě místnosti. Reakční směs se zahustí za sníženého tlaku a bílý odparek se čistí podobným způsobem jako v příkladu 7, za použití CM-Sephadexu $\textcircled{R}$ C-25 (v Na-formě) a Sephadexu $\textcircled{R}$ LH-20. Získá se 195 mg (výťažek 86 %) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(8-guanidinooktanamido)-2-methoxyethanamidu ve formě bílého práškovitého produktu.

Příklad 11

Synthesa N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(9-guanidinononanamido)-2-methoxyethanamidu

K roztoku 160 mg (0,31 mmol) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(9-guanidinononanamido)-2-hydroxyethanamidu ve 3,2 ml bezvodého methanolu se přidají 0,32 ml 2 M methanolického roztoku chlorovodíku a směs se míchá přes noc při teplotě místnosti. Reakční směs se odpaří za sníženého tlaku a získaný bílý odparek se čistí podobným způsobem jako v příkladu 7, za použití CM-Sephadexu $\textcircled{R}$ C-25 (v Na-formě) a Sephadexu $\textcircled{R}$ LH-20. Získá se 107 mg (výťažek 65 %) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(9-guanidinononanamido)-2-methoxyethanamidu ve formě bezbarvé práškovité látky.

Příklad 12

Synthesa N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidinoheptanamido)-2-ethoxyethanamidu

Ke 100 mg (0,20 mmol) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidinoheptanamido)-2-hydroxyethanamidu se přidá 10 ml bezvodého ethanolu a 1 ml bezvodého ethanolu nasyceného plynným chlorovodíkem a směs se míchá 24 hodin při teplotě místnosti. Nerozpuštěný podíl se odfiltruje a z filtrátu se oddestiluje rozpouštědlo za sníženého tlaku. Bezbarvý práškový odparek se čistí podobným způsobem jako v příkladu 7, za použití CM-Sephadexu $\textcircled{R}$ C-25 (Na-forma) a Sephadexu $\textcircled{R}$ LH-20. Získá se 71 mg (výťažek 68 %) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidinoheptanamido)-2-ethoxyethanamidu ve formě bezbarvé práškovité látky.

Příklad 13

Synthesa N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidinoheptanamido)-2-butoxyethanamidu

Ke 100 mg (0,2 mmol) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidinoheptanamido)-2-hydroxyethanamidu se přidá 10 ml n-butanolu a 1 ml nasyceného roztoku plynného chlorovodíku v n-butanolu, a směs se míchá 2 dny při teplotě místnosti. Nerozpuštěný podíl se odfiltruje a filtrát (n-butanolický roztok) se extrahuje třikrát po 5 ml vody. Vodné extrakty se spojí, roztok se zneutralisuje Amberlitem $\textcircled{R}$ IR-410 a zahustí za sníženého tlaku. Odparek se čistí podobným způsobem jako v příkladu 7, za použití CM-Sephadexu $\textcircled{R}$ C-25 (v Na-formě) a Sephadexu $\textcircled{R}$ LH-20. Získá se 15 mg (výťažek 13,5 %) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidinoheptanamido)-2-butoxyethanamidu ve formě bílé práškovité látky.

Příklad 14

Synthesa N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidinoheptanamido)-2-(2-hydroxyethoxy)ethanamidu

K roztoku 100 mg (0,20 mmol) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidinoheptanamido)-2-hydroxyethanamidu v 5 ml ethylenglykolu se přidá 0,5 ml nasyceného roztoku plynného chlorovodíku v ethylenglykolu a směs se míchá přes noc při teplotě místnosti. Reakční směs se ředí 25 ml vody, roztok se zneutralisuje 1 M vodným roztokem hydroxidu sodného na pH 6 a směs se čistí podobným způsobem jako v příkladu 7, za použití CM-Sephadexu ^(R) C-25 (v Na-formě) a Sephadexu ^(R) LH-20. Získá se 63 mg (výťažek 58 %) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidinoheptanamido)-2-(2-hydroxyethoxy)ethanamidu ve formě bezbarvé práškovité látky.

Příklad 15

Synthesa N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidinoheptanamido)-2-hydroxyethanamidu

Ke 100 mg (0,20 mmol) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidinoheptanamido)-2-hydroxyethanamidu se přidá 10 ml benzylalkoholu a 1 ml nasyceného roztoku plynného chlorovodíku v benzylalkoholu, a směs se míchá 18 hodin při teplotě místnosti. Nerozpuštěný podíl se odfiltruje a benzylalkoholový filtrát se extrahuje třikrát po 5 ml vody. Vodné podíly se spojí, roztok se zneutralisuje Amberlitem ^(R) IR-410, odpaří k suchu a odparek se čistí podobným způsobem jako v příkladu 7, za použití CM-Sephadexu ^(R) C-25 (v Na-formě) a Sephadexu ^(R) LH-20. Získá se 61 mg (výťažek 52 %) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidinoheptanamido)-2-benzylxyethanamidu ve formě bílé práškovité látky.

Příklad 16

Synthesa N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidino-2-heptenamido)-2-hydroxyethanamidu

Směs 234,5 mg (1,06 mmol) hydrochloridu 7-guanidino-2-heptenamidu, 372,3 mg (1,27 mmol) dihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2,2-dihydroxyethanamidu, 140,4 mg (1,06 mmol) kyseliny glutarové a 0,2 ml vody se zahřívá 24 hodin na 60 °C. Po skončení reakce se reakční směs čistí podobným způsobem jako v příkladu 1, za použití CM-Sephadexu ^(R) C-25 (v Na-formě) a Sephadexu ^(R) LH-20. Získá se 244,6 mg (výťažek 46,5 %) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidino-2-heptenamido)-2-hydroxyethanamidu, ve formě bílé práškovité látky.

Příklad 17

Synthesa N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(8-guanidino-2-oktenamido)-2-hydroxyethanamidu

Směs 202,4 mg (0,86 mmol) hydrochloridu 8-guanidino-2-oktenamidu, 302,4 mg (1,04 mmol) dihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2,2-dihydroxyethanamidu, 113,9 mg (0,86 mmol) kyseliny glutarové a 0,2 ml vody se zahřívá 24 hodin na 60 °C.

Po skončení reakce se reakční směs čistí podobným způsobem jako v příkladu 1, za použití CM-Sephadexu $\textcircled{R}$ C-25 (v Na-formě) a Sephadexu $\textcircled{R}$ LH-20. Získá se 128,3 mg (výtěžek 29,2 %) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(8-guanidino-2-oktenamido)-2-hydroxyethanamidu.

Příklad 18

Synthesa N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(9-guanidino-2-nonenamido)-2-hydroxyethanamidu

Směs 206,2 mg (0,84 mmol) hydrochloridu 9-guanidino-2-nonenamidu, 291,0 mg (1,00 mmol) dihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2,2-dihydroxyethanamidu, 109,6 mg (0,84 mmol) kyseliny glutarové a 0,2 ml vody se zahřívá 24 hodin na 60 °C. Po skončení reakce se reakční směs čistí podobným způsobem jako v příkladu 1, za použití CM-Sephadexu $\textcircled{R}$ C-25 (v Na-formě) a Sephadexu $\textcircled{R}$ LH-20. Získá se 135,0 mg (výtěžek 31,1 %) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(9-guanidino-2-nonenamido)-2-hydroxyethanamidu ve formě bílé práškovité látky.

Příklad 19

Synthesa N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidino-2-heptenamido)-2-methoxyethanamidu

K roztoku 50,3 mg (0,10 mmol) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidino-2-heptenamido)-2-hydroxyethanamidu v 1 ml bezvodého methanolu se přidá 0,1 ml 2M methanolickeho roztoku chlorovodíku a směs se míchá přes noc při teplotě místnosti. Rozpouštědlo se oddestiluje za sníženého tlaku a odparek se čistí podobným způsobem jako v příkladu 7, za použití CM-Sephadexu $\textcircled{R}$ C-25 (v Na-formě) a Sephadexu $\textcircled{R}$ LH-20. Získá se 37,2 mg (výtěžek 72,4 %) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidino-2-heptenamido)-2-methoxyethanamidu.

Příklad 20

Synthesa N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(8-guanidino-3-hydroxyoktanamido)-2-hydroxyethanamidu

Směs 150 mg (0,59 mmol) hydrochloridu 8-guanidino-3-hydroxyoktanamidu, 208 mg (0,71 mmol) dihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2,2-dihydroxyethanamidu, 78 mg (0,59 mmol) kyseliny glutarové a 0,1 ml vody se zahřívá 24 hodin na 60 °C. Po skončení reakce se reakční směs čistí podobným způsobem jako v příkladu 1, za použití CM-Sephadexu $\textcircled{R}$ C-25 (v Na-formě) a Sephadexu $\textcircled{R}$ LH-20. Získá se 120,7 mg (výtěžek 38,6 %) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(8-guanidino-3-hydroxyoktanamido)-2-hydroxyethanamidu ve formě bílé práškovité látky.

Příklad 21

Synthesa N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(9-guanidino-3-hydroxynonanamido)-2-hydroxyethanamidu

Směs 325,8 mg (1,23 mmol) hydrochloridu 9-guanidino-3-hydroxynonanamidu, 428,1 mg (1,49 mmol) dihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2,2-dihydroxyethanamidu, 161,4 mg (1,23 mmol) kyseliny glutarové a 0,3 ml vody se zahřívá 24 hodin na 60 °C. Po skončení reakce se reakční směs čistí podobným způsobem jako v příkladu 1, za použití CM-Sephadexu [®] C-25 (v Na-formě) a Sephadexu [®] LH-20. Získá se 220,8 mg (výtěžek 33,4 %) trihydrochloridu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(9-guanidino-3-hydroxynonanamido)-2-hydroxyethanamidu ve formě bílé práškovité látky.

Příklad 22

Synthesa 11-O-methylspergualinu

K roztoku 1,8 g (3,51 mmol) trihydrochloridu (-)-spergualinu v 35 ml bezvodého methanolu se přidá 3,5 ml 2M methanolickeho chlorovodíku a směs se míchá 15 hodin při teplotě místnosti. Rozpouštědlo se oddestiluje za sníženého tlaku, odparek se rozpustí v 30 ml vody, roztok se nanese na sloupec CM-Sephadexu [®] C-25 (v Na-formě; 600 ml) a provede se frakcionace gradientovou elucí za použití 3 litrů vody a 1M vodného roztoku chloridu sodného (frakce po 17 g). Frakce číslo 208 až 230 se spojí, rozpouštědlo se odpaří k suchu a odparek se extrahuje třikrát po 10 ml methanolu. Methanolicke extrakty se spojí a roztok se odsolí pasáží přes sloupec Sephadexu [®] LH-20 (300 ml) a následující elucí methanolem (frakce po 7 g). Frakce číslo 19 až 33 se spojí a rozpouštědlo se odpaří k suchu. Získá se 1,528 g (výtěžek 82 %) trihydrochloridu 11-O-methylspergualinu.

Získaný trihydrochlorid 11-O-spergualinu se rozdělí na příslušné epimerní složky za použití vysokoučinné kapalinové chromatografie, na koloně o průměru 2 cm a délky 25 cm, naplněné Nucleosilem [®] 30 C₁₈ (náplň s reversní fází vyráběná firmou M. Nagel Co.), za následujících podmínek: rychlost toku 10 ml/min.; tlak 30 kg/cm²; rozpouštědlo: acetonitril se směsí pentansulfonátu sodného 0,01 M a 0,01 M hydrogenufosforečnanu sodného o pH 3, v poměru 9 : 91; nanáška 6 mg; detekce UV světlo 205 nm. Při HPLC se UV absorpční maximum pro (-)-11-O-methylspergualin objevuje první (retenční čas 48,3 minuty) a absorpční maximum pro (+)-11-O-methylspergualin následuje (retenční čas 56,5 minuty). Frakcionace se opakuje 12 krát. Frakce odpovídající jednomu každému z uvedených maxim se spojí a provede se čištění podobným způsobem jako v příkladu 1, za použití CM-Sephadexu [®] C-25 (v Na-formě) a Sephadexu [®] LH-20. Získá se 32,9 mg trihydrochloridu (-)-11-O-methylspergualinu ve formě bílé práškovité látky a 24,5 mg hydrochloridu (+)-11-O-methylspergualinu ve formě bílé práškovité látky.

Příklad 23

Synthesa 11-O-ethylspergualinu

Ke 484 mg (0,94 mmol) dihydrochloridu spergualinu (-)-spergualin: (+)-spergualin = 1 : 1, se přidá 20 ml bezvodého ethanolu a 2 ml 2M ethanolického roztoku chlorovodíku a směs se míchá 2 dny při teplotě místnosti. Reakční směs se odpaří k suchu, odparek se rozpustí v 10 ml vody, pH se upraví 1M vodným roztokem hydroxidu sodného na hodnotu 4 a směs se čistí v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 22 za použití CM-Sephadexu [®] C-25 (v Na-formě) a Sephadexu [®] H-20.

Získá se 355,6 mg (výtěžek 70 %) trihydrochloridu 11-O-ethylspergualinu ve formě bílé práškovité látky

Získaný trihydrochlorid 11-O-ethylspergualin se rozdělí na své epimerní složky pomocí vysokoučinné kapalinové chromatografie v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 22 s tím rozdílem, že se jako rozpouštědla použije směsi acetonitrilu s 0,01 M-pentansulfonátem sodným + 0,01 M hydrogenfosforečnanem sodným (pH 3) v poměru 10,5 : 89,5. Po opakování frakcionace šestkrát a spojení odpovídajících frakcí se získá 11 mg trihydrochloridu (-)-11-O-ethylspergualinu ve formě bílé práškovité látky a 14,5 mg trihydrochloridu (+)-11-O-ethylspergualinu ve formě bezbarvé práškovité látky.

Příklad 24

Synthesa 11-O-butylspergualinu

Ke 493 mg (0,96 mmol) trihydrochloridu (-)-spergualinu se přidá 30 ml n-butanolu a 3 ml nasyceného roztoku plynného chlorovodíku v n-butanolu, a směs se míchá 2 dny při teplotě místnosti. Reakční směs se zfiltruje, z filtrátu se oddestiluje n-butanol, odparek se rozpustí v 10 ml vody, pH roztoku se upraví 1M vodným hydroxidem sodným na hodnotu 4 a směs se čistí za použití CM-Sephadexu [®] C-25 (v Na-formě) a Sephadexu [®] LH-20 v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 22. Získá se 114,7 mg (výtěžek 21 %) trihydrochloridu 11-O-n-butylspergualinu ve formě bílé práškovité látky.

Získaný trihydrochlorid 11-O-n-butylspergualinu se rozdělí na své epimerní složky pomocí vysokoučinné kapalinové chromatografie v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 22, s tím rozdílem, že se jako rozpouštědla použije směsi acetonitrilu s [0,01 M pentasulfonátem sodným + 0,01 M hydrogenfosforečnanem sodným (pH 3)] v poměru 14,5 : 85,5. Frakcionace se opakuje celkem šestkrát a odpovídající podíly se spojí. Získá se 15 mg trihydrochloridu (-)-11-O-n-butylspergualinu ve formě bílé práškovité látky a 16 mg trihydrochloridu (+)-11-O-n-butylspergualinu ve formě bílé krystalické látky.

Příklad 25

Synthesa 11-O-(2-hydroxyethyl)spergualinu

K roztoku 2,88 g (5,61 mmol) trihydrochloridu (-)-spergualinu ve 100 ml ethylenglykolu se přidá 10 ml nasyceného roztoku chlorovodíku v ethylenglykolu a směs se míchá 24 hodin při teplotě místnosti. Reakční směs se zředí 200 ml vody, pH roztoku se upraví 1 M vodným roztokem hydroxidu sodného na pH 4 a směs se čistí za použití CM-Sephadexu [®] C-25 (v Na-formě) a Sephadexu [®] LH-20 v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 22. Získá se 2,7 g (výtěžek 73 %) trihydrochloridu 11-O-(2-hydroxyethyl)spergualinu ve formě bílé práškovité látky.

Získaný trihydrochlorid 11-O-(2-hydroxyethyl)spergualinu se rozdělí na své epimerní složky pomocí vysokoučinné kapalinové chromatografie stejným způsobem jako v příkladu 22, s tím rozdílem, že se použije jako rozpouštědla směsi acetonitrilu s [0,01 M pentasulfonátem sodným + 0,01 M hydrogenfosforečnanem sodným (pH 3,0)] v poměru 7 : 93 a že se na kolonu nanáší 20 mg látky. Po šestinásobném opakování frakcionace se získá 2,3 mg trihydrochloridu (-)-11-O-(2-hydroxyethyl)spergualinu ve formě bezbarvé práškovité látky a 2,5 mg trihydrochloridu (+)-11-O-(2-hydroxyethyl)spergualinu ve formě bezbarvé práškovité látky.

Příklad 26

Synthesa 11-O-benzylspergualinu

Ke 2,36 g (4,60 mmol) trihydrochloridu (-)-spergualinu se přidá 90 ml bezylalkoholu a 9 ml nasyceného roztoku chlorovodíku v benzylalkoholu a směs se míchá přes noc při teplotě místnosti. Produkt se vyjme do 350 ml vody, vodný extrakt se upraví 1 M vodným roztokem hydroxidu sodného na pH 6,0 a odpaří se k suchu. Odparek se rozpustí ve 20 ml 1 M vodného roztoku chloridu sodného, roztok se nechá protéci přes sloupec připravený z 500 ml Diaionu [®] HP-20 (výrobek firmy Mitsubishi Chemical Co.) a produkt se eluuje postupně po 1,5 litru 0,6 M vodného roztoku chloridu sodného, 0,4 M vodného roztoku chloridu sodného a vody. Podíly eluované vodou se odpaří k suchu a provede se odsolení na Sephadexu [®] LH-20 způsobem popsáným v příkladu 1. Získá se 1,92 g (výtěžek 69 %) trihydrochloridu 11-O-benzylspergualinu ve formě bílé práškovité látky.

Získaný trihydrochlorid 11-O-spergualinu se rozdělí na své epimerní složky pomocí vysokodělné kapalinové chromatografie, která se provede stejným způsobem jako v příkladu 22, ale s tím rozdílem, že se jako rozpouštědla použije směs acetonitrilu s [0,01 M pentansulfonátem sodným + 0,01 M hydrogenfosforečnanem sodným (pH 3)] v poměru 16 : 84. Po devitinásobném opakování frakcionace se získá 21,2 mg trihydrochloridu (-)-11-O-benzylspergualinu ve formě bílé práškovité látky a 18,8 mg trihydrochloridu (+)-11-O-benzylspergualinu ve formě bílé práškovité látky.

Příklad 27

Synthesa (-)-11-O-methylspergualinu

a) (-)-1-N,4-bis(benzyloxykarbonyl)spergualin

K roztoku 2,3 g (4,48 mmol) trihydrochloridu (-)-spergualinu ve směsi 11 ml N,N-dimethylformamidu a 11 ml vody se za chlazení ledem postupně přidá 1,25 ml (8,96 mmol) triethylaminu a roztok 2,24 g (8,97 mmol) N-benzyloxykarbonyloxysukcinimidu v 11 ml N,N-dimethylformamidu a směs se míchá 15 hodin při 5 °C. Rozpouštědlo se oddestiluje za sníženého tlaku, odparek se rozpustí v 10 ml 0,5 M vodného roztoku chloridu sodného, roztok se nechá protéci sloupcem Diaionu [®] HP-20 (400 ml), ekvilibrovaného předem 0,5 M vodným roztokem chloridu sodného, sloupec se promyje 1 litrem 0,5 M vodného roztoku chloridu sodného a 1 litrem vody a produkt se eluuje methanolem (jímají se frakce po 15 g). Frakce číslo 21 až 30 se spojí a rozpouštědlo se odpaří k suchu. Získá se 287 mg (výtěžek 82 %) hydrochloridu (-)-1-N,4-bis(benzyloxykarbonyl)spergualinu; $[\alpha]_D^{21} = -11.0$ (c = 1, voda). Protonové NMR spektrum (v deuteromethanolu), δ : 1,3 - 2,0 (CH₂ x 6), 2,38 (CH₂), 2,9 - 3,4 (NCH₂ x 5), 4,0 (CH), 5,04 (CH₂), 5,07 (CH₂), 5,56 (CH), 7,30 (C₆H₅ x 2).

b) (-)-1-N,4-bis(benzyloxykarbonyl)-11-O-methylspergualin

K roztoku 78 mg (0,484 mmol) shora uvedeným způsobem získaného hydrochloridu (-)-1-N,4-bis(benzyloxykarbonyl)spergualinu ve 12 ml methylenchloridu se za chlazení ledem přidá roztok 0,1 ml komplexu bortrifluorid-etherátu ve 4 ml methylenchloridu a ke směsi se po částech přidá 9 ml roztoku diazomethanu v methylenchloridu (po 1 ml v časových intervalech 30 minut až 1 hodina). Roztok diazomethanu v methylenchloridu se připraví postupným přidáváním 10 g N-nitrosomethyl-močoviny do

směsi 30 ml 40% roztoku hydroxidu draselného a 100 ml methylenchloridu za chlazení vodou na 40 °C; organický podíl se oddělí, vodný roztok se extrahuje 10 ml methylenchloridu, organické extrakty se spojí a vysuší pevným hydroxidem draselným při 5 °C po dobu 3 hodin. Shora uvedená reakční směs se míchá 3,5 hodiny, pak se přidá několik kapek zředěné kyseliny octové a rozpouštědlo se oddestiluje za sníženého tlaku. Odparek se rozpustí ve 3 ml 50% vodného methanolu, roztok se nechá protéci sloupcem Diaionu [®] HP-20 (100 ml), sloupec se promyje 300 ml 10% vodného methanolu a eluuje methanolem (frakce po 15 ml). Frakce číslo 25 až 28 se spojí a rozpouštědlo se odpaří do sucha. Získá se 262,4 mg směsi hydrochloridu (-)-1-N,4-bis-(benzyloxykarbonyl)-11-O-methylspergualinu s nezreagovaným hydrochloridem (-)-1-N,4-bis(benzyloxykarbonyl)spergualinu (výtěžek 69,2 vahových %). Směs uvedeného složení se podrobí vysokoučinné kapalinové chromatografii za použití náplně Nucleosil [®] 5C₁₈ (sloupec 4,0 x 150 mm) a směsi (1:1) acetonitrilu s 0,01 M hydrogenfosforečnanem sodným jako elučního činidla, při rychlosti roku 0,8 ml/min. Nalezený poměr mezi hydrochloridem (-)-1-N,4-bis(benzyloxykarbonyl)-11-O-methylspergualinu (retenční čas 10,47 minut) a výchozím hydrochloridem (-)-1-N,4-bis(benzyloxykarbonyl)spergualinu (retenční čas 7,74 minut) je 47:50).

Shora uvedená směs (78,5 mg) se nanese na sloupec 30 ml Silicagelu [®] 60 (výrobek firmy Merck Co.) a produkt se eluuje směsí chloroformu s methanolem v poměru 9:1. Eluát se dále čistí vysokoučinnou kapalinovou chromatografií prováděnou za stejných podmínek jak bylo popsáno výše. Frakce vykazující UF absorpci při 220 nm a retenční dobu 10,47 minut se spojí a rozpouštědlo se odpaří k suchu. Získá se 28,6 mg hydrochloridu (-)-1-N,4-bis(benzyloxykarbonyl)-11-O-methylspergualinu, $[\alpha]_D^{25} = -14,4^\circ$ (c = 1, methanol). Protonové NMR spektrum (v deuteromethanolu), δ : 1,3 - 2,0 (CH₂ x 6), 2,42 (CH₂), 2,9 - 3,4 (NCH₂ x 5), 3,37 (OCH₃), 4,0 (CH), 5,03 (CH₂), 5,08 (CH₂), 5,34 (CH), 7,29 (C₆H₅ x 2).

c) (-)-11-O-methylspergualin

130 mg shora uvedené směsi (47:50) hydrochloridu (-)-1-N,4-bis(benzyloxykarbonyl)-11-O-methylspergualinu s hydrochloridem (-)-1-N,4-bis(benzyloxykarbonyl)-spergualinu se rozpustí ve směsi 5 ml ethanolu, 5 ml vody a 0,36 ml 1 M kyseliny chlorovodíkové, k roztoku se přidá 50 mg 10% paladia na aktivním uhlí a směs se míchá 4 hodiny při teplotě místnosti v proudě vodíku. Katalysátor se odfiltruje, filtrát se odpaří k suchu, odparek se rozpustí ve 3 ml vody, roztok se nechá protéci sloupcem připraveným ze 150 ml CM-Sephadexu [®] C-25 (v Na-formě) a provede se frakcionace gradientovou elucí 900 ml vody a 900 ml 1 M vodného roztoku chloridu sodného; jímají se frakce po 17 g. Frakce číslo 76 až 81 se spojí a provede se odsolení stejným způsobem jako v příkladu 22, za použití Sephadexu [®] LH-20. Získá se 25,4 mg (výtěžek 51 %) trihydrochloridu (-)-11-O-methylspergualinu ve formě bílé práškovité látky; $[\alpha]_D^{25} = -27,1^\circ$ (c = 1, voda).

Frakce 83 až 86 eluátu ze sloupce CM-Sephadexu [®] se rovněž spojí a podobným způsobem odsolí; získá se 24,5 mg (výtěžek 52 %) trihydrochloridu (-)-spergualinu ve formě bílé práškovité látky.

Příklad 28

Synthesa (-)-11-O-ethylespergualinu

Způsobem popsaným ve stupni b) příkladu 27 se nechá reagovat methylenchloridový roztok diazoethanu s 352 mg (0,451 mmol) hydrochloridu (-)-1-N,4-bis(benzyloxykarbonyl)spergualinu připraveného způsobem popsaným ve stupni a) příkladu 27. Získá se 217,0 mg směsi hydrochloridu (-)-1-N,4-bis(benzyloxykarbonyl)-11-O-ethylspergualinu s nezreagovaným hydrochloridem (-)-1-N,4-bis(benzyloxykarbonyl)spergualinu. Směs se zpracuje v podstatě stejným způsobem jak bylo popsáno ve stupni c) příkladu 27 a získá se 41,7 mg trihydrochloridu (-)-11-O-ethylspergualinu ve formě bílé práškovité látky, v celkovém výtěžku 17,1 %; $[\alpha]_D^{25} = -24,8^\circ$ (c = 1, voda).

Příklad 29

Synthesa (-)-N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidinoheptanamido)-2-methoxyethanamidu

a) (-)-N-[4-(3-benzyloxykarbonylaminopropyl)benzyloxykarbonylaminobutyl]-2-(7-guanidino-2-heptanamido)-2-methoxyethanamid

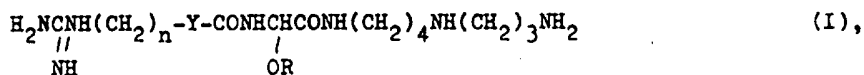
V 1,2 ml N,N-dimethylformamidu se rozpustí 134,8 mg (0,187 mmol) hydrochloridu (-)-1-N,4-bis(benzyloxykarbonyl)-11-O-methylspergualinu získaného způsobem popsaným ve stupni b) příkladu 27. K roztoku se přidá 192,9 mg (0,935 mmol) dicyklohexylkarbodiimidu a 5,6 mg chloridu měďného (CuCl) a směs se zahřívá 3 hodiny na 70 °C. Po ochlazení směsi se sraženina odfiltruje a rozpouštědlo se oddestiluje za sníženého tlaku. Odparek se rozpustí v 5 ml 30 % vodného methanolu, pH roztoku se upraví na hodnotu 7,0, roztok se nanese na sloupec Diaionu (R) HP-20 (80 ml), sloupec se promyje 300 ml vody a 300 ml 10% vodného methanolu a produkt se eluuje methanolem. Frakce pozitivní na Sakaguchiho reakci se spojí, a rozpouštědlo se oddestiluje za sníženého tlaku. Získá se 114 mg surového hydrochloridu (-)-N-[4-(3-benzyloxykarbonalaminopropyl)benzyloxykarbonylaminobutyl]-2-(7-guanidino-2-heptanamido)-2-methoxyethanamidu, který v protonovém NMR spektru (v deuteromethanolu) vykazuje signál olefinického protonu při δ 6,02.

b) (-)-N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidinoheptanamido)-2-methoxyethanamid

Ve směsi 5 ml methanolu s 5 ml vody se rozpustí 114 mg surového hydrochloridu (-)-N-[4-(3-benzyloxykarbonylaminopropyl)benzyloxykarbonylaminobutyl]-2-(7-guanidino-2-heptanamido)-2-methoxyethanamidu získaného ve shora uvedeném stupni a), k roztoku se přidá 0,32 ml 1 M kyseliny chlorovodíkové a 50 mg 10% paladia na aktivním uhlí, a směs se míchá 1,5 hodiny při teplotě místnosti v proudě vodíku. Katalysátor se odfiltruje, filtrát se zahustí za sníženého tlaku, odparek se nanese na sloupec připravený ze 100 ml CM-Sephadexu (R) C-25 (v Na-formě) a provede se frakcionace gradientovou elucí za použití 500 ml vody ředěné postupně 1 M vodným roztokem chloridu sodného; jímají se frakce po 10 g. Frakce číslo 69 až 74 se spojí, rozpouštědlo se oddestiluje za sníženého tlaku a odparek se extrahuje třikrát po 5 ml methanolu. Spojené methanolicke podíly se nechají protéci přes sloupec Sephadexu R LH-20 (připravený ze 150 ml) a produkt zbavený solí se eluuje methanolem; jímají se frakce po 5 g. Frakce číslo 16 až 21 se spojí a rozpouštědlo se odpaří k suchu. Získá se 17,4 mg trihydrochloridu (-)-N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(7-guanidinoheptanamido)-2-methoxyethanamidu ve formě bílé práškovité látky; celkový výtěžek 16,7 %, $[\alpha]_D^{25} = -30,4^\circ$ (c = 1, voda).

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob výroby 2-substituovaných 2-(ω -guanidinoalkanamido, ω -guanidinoalkenamido a ω -guanidinohydroxyalkanamido)-N-[4-(3-aminopropyl)-aminobutyl]ethanamidů obecného vzorce I



ve kterém

Y značí skupinu $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-$ nebo $-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-$,

R značí atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, popřípadě substituovanou hydroxylovou skupinou, nebo benzylovou skupinu, a n jest celé číslo od 1 do 8,

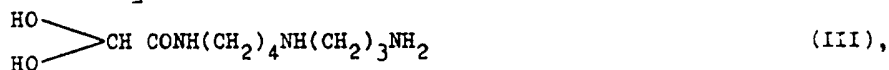
s podmínkou, že když Y značí skupinu $-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-$ a n jest číslo 4,

představuje R jiné skupiny než atom vodíku a jejich soli, vyznačující se tím, že se

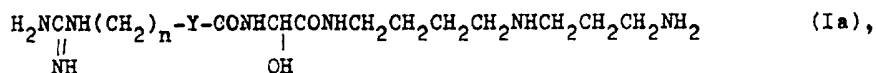
ω -guanidinoalkanamid, ω -guanidinoalkenamid nebo ω -guanidinohydroxyalkanamid obecného vzorce II



ve kterém Y a n mají shora uvedený význam, kondensuje s N-[4-(3-aminopropyl)-aminobutyl]-2,2-dihydroxyethanamidem vzorce III

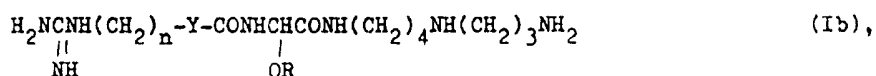


a vzniklý N-4-(3-aminopropyl)aminobutyl-2-(ω -guanidinoalkanamido, ω -guanidinoalkenamido nebo ω -guanidinohydroxyalkanamido)-2-hydroxyethanamid obecného vzorce Ia



ve kterém n a Y mají shora uvedený význam, nebo jeho sůl se popřípadě uvede do reakce, popřípadě po chránění aminoskupiny a iminoskupiny, a alifatickým alkoholem nebo diolem s 1 až 4 atomy uhlíku, s diazoparafinem s 1 až 4 atomy uhlíku, nebo s benzylalkoholem, a případně přítomné chránící skupiny se odštěpí.

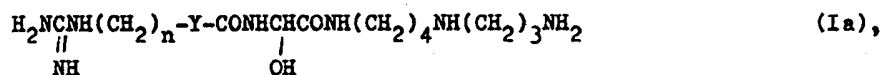
2. Způsob podle bodu 1 pro výrobu N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(ω -guanidinoalkanamido, ω -guanidinoalkenamido a ω -guanidinohydroxyalkanamido)-2-alkoxyethanamidů obecného vzorce Ib



ve které

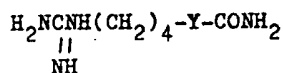
Y značí skupinu $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-$ nebo $-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-$,

R' značí alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, popřípadě substituovanou hydroxylovou skupinou, nebo benzylovou skupinu, a n jest celé číslo od 1 do 8, nebo jejich soli, vyznačující se tím, že se N-[4-(3-aminopropyl)aminobutyl]-2-(ω -guanidinoalkanamido, ω -guanidinoalkenamido nebo ω -guanidinohydroxyalkanamido)-2-hydroxy-ethanamid obecného vzorce Ia



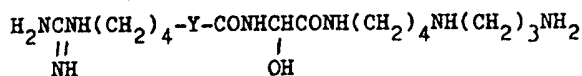
ve kterém Y a n mají shora uvedený význam, nebo jeho súl, uvede do reakce, popřípadě po chránění aminoskupiny a iminoskupiny, s alifatickým alkoholem nebo diolem s 1 až 4 atomy uhlíku, s diazoparafinem s 1 až 4 atomy uhlíku, nebo s benzylalkoholem, a případně přítomné chránící skupiny se odštěpí.

3. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se kondensace ω -guanidinoalkanamidu, ω -guanidinoalkenamidu nebo ω -guanidinohydroxyalkanamidu obecného vzorce II, kde Y a n mají shora uvedený význam, s dihydroxyethanamidem vzorce III provádí v přítomnosti vody.
4. Způsob podle bodu 1 nebo 3 vyznačující se tím, že se kondensace ω -guanidinoalkanamidu, ω -guanidinoalkenamidu nebo ω -guanidinohydroxyalkanamidu obecného vzorce II, kde Y a n mají shora uvedený význam, s dihydroxyethanamidem vzorce III provádí v přítomnosti karboxylové kyseliny jako kyselého katalysátoru.
5. Způsob podle bodu 1 nebo 2, vyznačující se tím, že se reakce hydroxyethanamidu obecného vzorce Ia s alifatickým alkoholem nebo diolem s 1 až 4 atomy uhlíku nebo benzylalkoholem provádí v prostředí uvedeného alkoholu v přítomnosti karboxylové kyseliny jako kyselého katalysátoru.
6. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se ω -guanidinoalkanamid, ω -guanidinoalkenamid nebo ω -guanidinohydroxyalkanamid obecného vzorce II



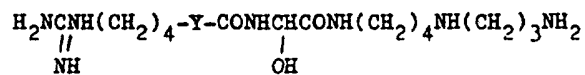
ve kterém Y značí skupinu $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-$ nebo $-\text{CH}-\text{CH}_2-$,
 OH

kondensuje s dihydroxyethanamidem vzorce III za vzniku hydroxyethanamidu obecného vzorce



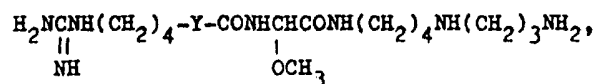
ve kterém Y má shora uvedený význam.

7. způsob podle bodu 2, vyznačující se tím, že se hydroxyethanamid obecného vzorce



ve kterém Y značí skupinu $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-$ nebo $-\text{CH}-\text{CH}_2-$,
 $\qquad \qquad \qquad |$
 $\qquad \qquad \qquad \text{OH}$

uvede do reakce, po případě po chránění aminoskupin a iminoskupiny, s methanolem
 nebo s diazomethanem za vzniku methoxyethanamidu obecného vzorce



ve kterém Y má shora uvedený význam.