

FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

273 185

(11)

(13) B2

(51) Int. Cl.⁵

C 07 H 17/08
C 07 D 311/70

(21) PV 3312-88.Y

(22) Přihlášeno 17 05 88

(30) Právo přednosti od 19 05 87 US (051 434)

(40) Zveřejněno 13 06 90

(45) Vydáno 03 01 92

(72) Autor vynálezu

VYAS DOLATRAI MOHANLAL, MEDISON,
CONNECTICUT, SAULNIER MARK GEORGE,
MIDDLETOWN, CONNECTICUT, KADOW JOHN F.,
NEW HAVEN, CONNECTICUT (US)

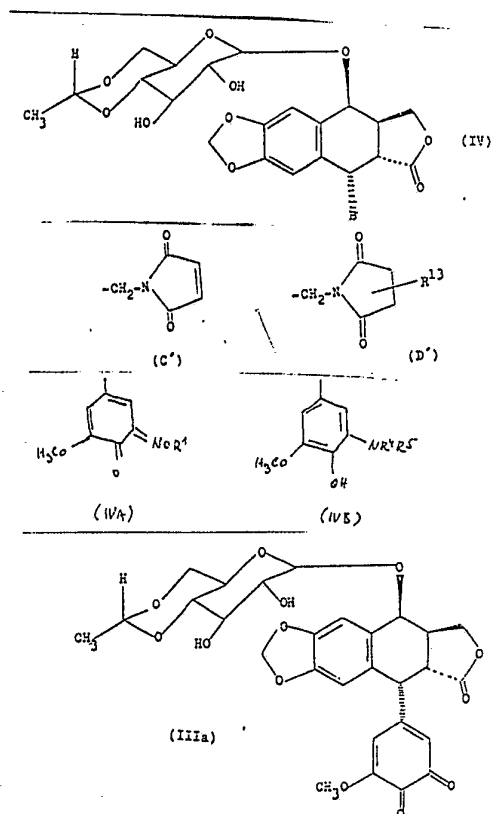
(73) Majitel patentu

BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY, NEW YORK,
N. Y.
(US)

(54)

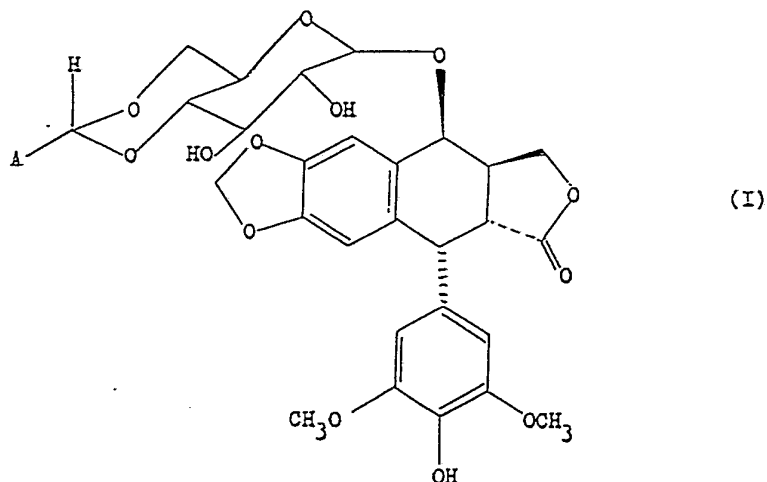
Způsob výroby dusík obsahujících derivátů
epipodofylotoxin-glukosidů

(57) Způsob výroby dusík obsahujících derivátů epipodofylotoxinu-glykosidů obecného vzorce IV, kde B je zbytek vzorce IVA nebo IVB, v nichž R¹ je C₁-4-alkyl popřípadě substituovaný fenylem a buď R⁴ znamená vodík a R⁵ vodík, C₁-6-alkyl, C₁-4-alkansulfonyl, zbytek -C(O)H, -C(O)R¹⁰, -C(O)OR¹⁰ nebo -C(O)NHR¹⁰, zbytek C nebo D, v nichž R¹⁰ je C₁-5-alkyl popřípadě substituovaný 1 až 3 halogeny nebo fenylem a R¹³ je vodík, C₁-10-alkylthioskupina nebo 5- či 6-členný dusíkatý heteroaromatický zbytek, nebo NR⁴R⁵ znamená azidoskupinu, nitroskupinu, zbytek N=CHR⁶ nebo N=CHNR⁷R⁸, kde R⁶ je 5- či 6-členný heteroaromatický kruh s 1 či 2 heteroatomy vybranými z dusíku, kyslíku a síry, nebo popřípadě substituovaný fenyl a R⁷ a R⁸ znamenají stejný nebo různý C₁-4-alkyl, nebo NR⁴R⁵ společně se sousedícím hydroxylem tvoří vnitřní diazonium-hydroxid nebo nakondenzovaný oxazolový zbytek, vyznačující se tím, že se sloučenina vzorce IIIa nechá reagovat s aminoderivátem H₂NA, kde A je vodík, C₁-6-alkyl nebo zbytek OR¹, produkt této reakce v případě, že A znamená zbytek OR¹, se podrobí redukci a do výsledné aminosloučeniny se popřípadě zavedou příslušné zbytky tak, aby vzniklo shora definované seskupení NR⁴R⁵. Vyráběné sloučeniny jsou účinnými inhibitory růstu nádorů a lze je používat v medicíně.

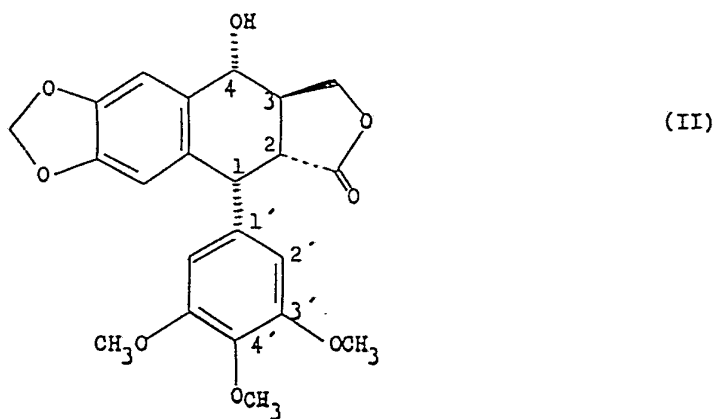


Vynález se týká nových, dusík obsahujících derivátů epipodofylotoxin-glukosidů, způsobu jejich výroby, jejich terapeutického použití k boji proti nádorovým chorobám a farmaceutických prostředků obsahujících tyto nové látky.

Etoposid (VP-16, vzorec Ia) a teniposid (VM-26, vzorec Ib) jsou klinicky používaná protinádorová činidla odvozená od přírodního lignanu podofylotoxinu vzorce II



Ia A = CH₃
Ib A = 2-thienyl

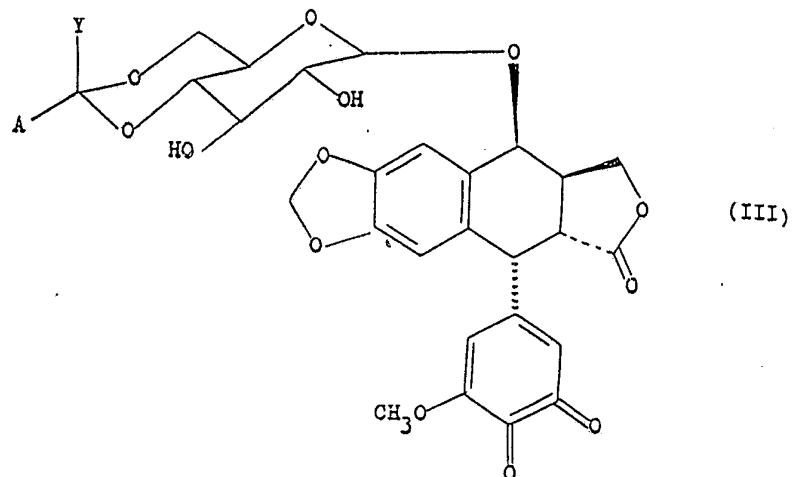


Ve vzorci II je rovněž vyznačeno číslování poloh pro nomenklaturní účely.

Etoposid a teniposid jsou deriváty epipodofylotoxinu, přičemž epipodofylotoxin je epimerem podofylotoxinu v poloze 4. Etoposid a teniposid jsou účinné při léčbě řady nádorových onemocnění, včetně plicních nádorů z malých buněk, nelymfocytární leukémie a nádorů varle-
te neseminomového typu (AMA Drug Evaluation, 5. vydání, American Medical Association, 1983, Chicago, Illinois, str. 1554-1555).

Etoposid a teniposid, jakož i způsoby jejich výroby popsali Keller-Juslen a spol. v US patentovém spisu č. 3 524 844. Etoposid-3',4'-chinon, odpovídající níže uvedenému vzorci IIIa, vzniká při elektrochemické oxidaci etoposidu (J. J. M. Holthuis a spol., J. Electro-

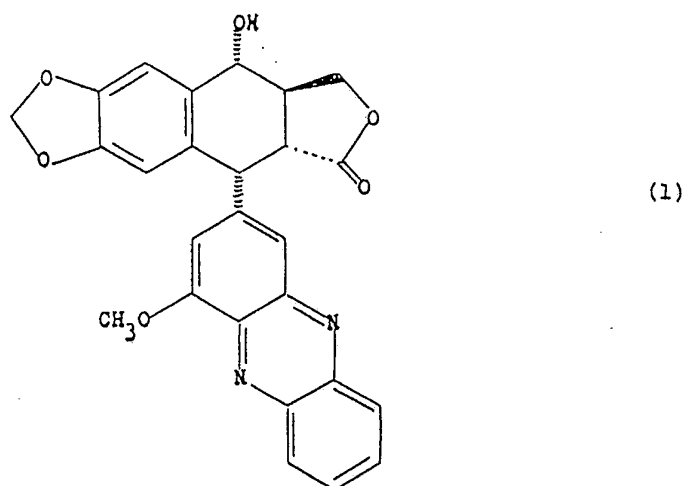
anal. Chem. Interfacial Elektrochem., 1985, 184 (2), 317-329). Josef Nemec v US patentovém spisu č. 4 609 644 popisuje přípravu chinonu vzorce III



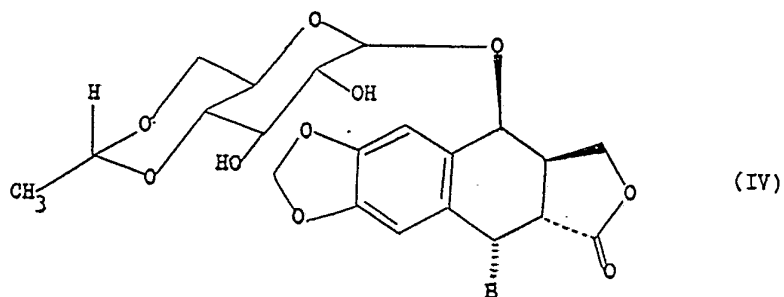
IIIa A = CH₃; Y = H

Deriváty epipodofylotoxin-3',4'-chinonu obecného vzorce IIIa slouží jako výchozí látky pro přípravu dusík obsahujících derivátů epipodofylotoxinu podle tohoto vynálezu.

Avres a Lim v Cancer Chemother. Pharmacol, 7, 88 - 101, 1982 popisují podofylotoxin odpovídající vzorci

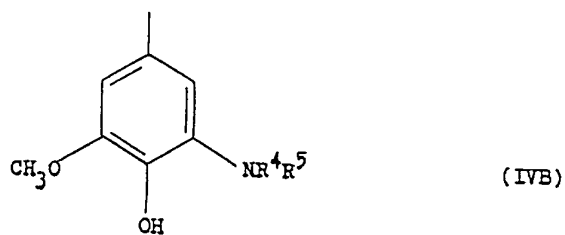
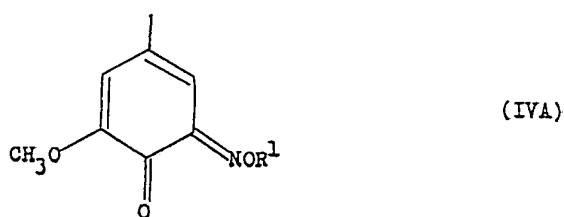


Vynález popisuje protinádorové účinné sloučeniny obecného vzorce IV



ve kterém

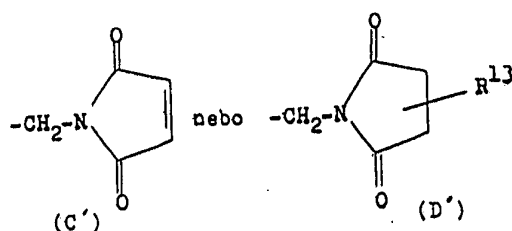
B představuje zbytek vybraný ze skupiny zahrnující zbytky vzorců IVA a IVB



kde

R^1 představuje alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, popřípadě substituovanou fenyl-
lovou skupinou a buď

R^4 znamená atom vodíku a R^5 atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, alkan-
sulfonylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, zbytek $-CH$, $-CR^{10}$, $-CNR^{10}$, $-COR^{10}$,
" " " "
O O O O



v nichž

R¹⁰ představuje alkylovou skupinu s 1 až 5 atomy uhlíku, popřípadě substituovanou 1 až 3 atomy halogenu nebo fenylovou skupinou a

R¹³ představuje atom vodíku, alkylthioskupinu s 1 až 10 atomy uhlíku nebo pěti- šestičlennou heteroaromatickou skupinu obsahující jako heteroatom dusík, nebo seskupení

NR⁴R⁵ znamená azidoskupinu, nitroskupinu, skupinu N = CHR⁶ nebo N = CHNR⁷R⁸, kde

R⁶ představuje pěti- nebo šestičlenný heteroaromatický zbytek obsahující 1 nebo 2 heteroatomy (dusíku, kyslíku a síry, nebo vybrané ze skupiny zahrnující atomy) nebo znamená fenylovou skupinu popřípadě substituovanou 1 až 3 substituenty vybranými ze skupiny zahrnující alkokyskupiny s 1 až 4 atomy uhlíku a nitroskupinu a

R⁷ a R⁸ nezávisle na sobě znamenají vždy alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, nebo

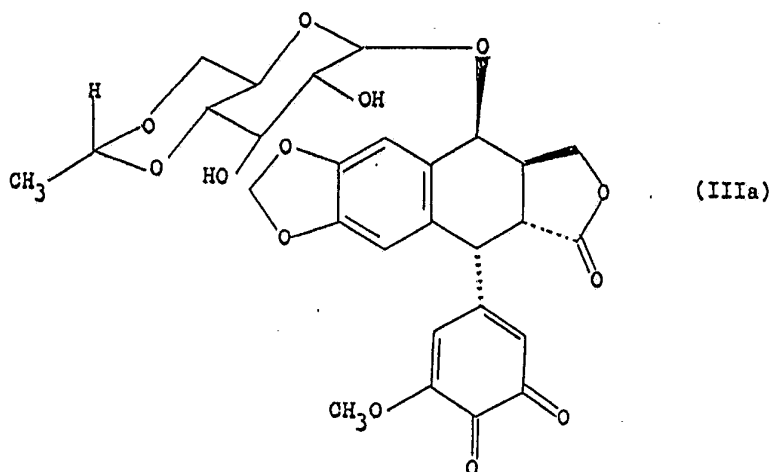
NR⁴R⁵ společně se sousedící hydroxylovou skupinou tvoří vnitřní diazonium-hydroxid nebo nakondenzovaný oxazolový zbytek.

Alkylovými skupinami se míní přímé nebo rozvětvené nasycené uhlíkaté řetězce, jako skupina methylová, ethylová, n-propylová a isopropylová. Atomy halogenů se míní atomy fluoru, chloru, bromu nebo jodu.

Vynález rovněž popisuje farmaceutické prostředky obsahující protinádorově účinnou sloučeninu obecného vzorce IV a farmaceuticky upotřebitelný, netoxický nosič.

Dále vynález popisuje způsob inhibice vývoje nádorů u savců, který spočívá v tom, že se savci s takovýmto nádorem podá účinné množství protinádorově aktivní sloučeniny obecného vzorce IV.

Vlastním předmětem vynálezu je způsob výroby sloučenin shora uvedeného obecného vzorce IV, vyznačující se tím, že se etoposid-ortho-chinon vzorce IIIa



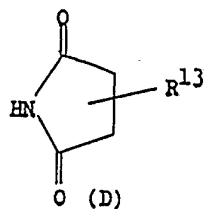
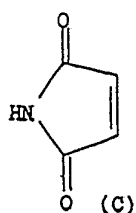
nechá reagovat s aminoderivátem obecného vzorce



kde

A znamená atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku nebo zbytek OR^1 , kde R^1 má shora uvedený význam,

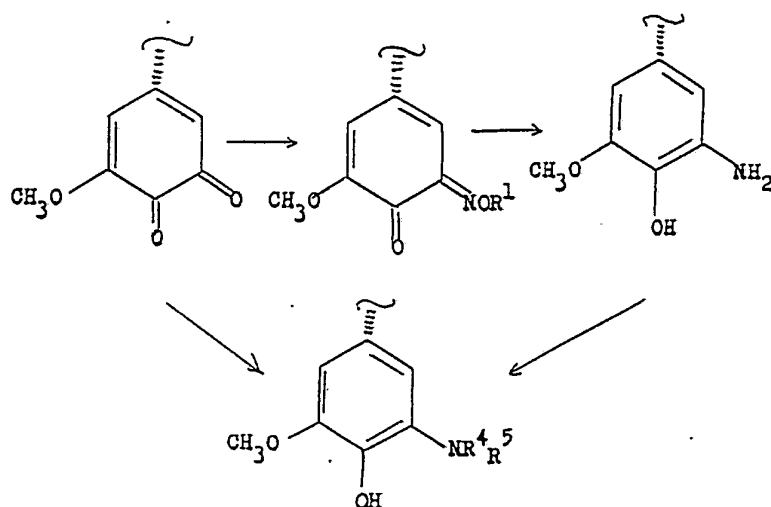
produkt této reakce v případě, že A znamená shora definovaný zbytek OR^1 , se podrobí redukci a výsledná sloučenina se popřípadě, k zavedení symbolu R^5 odlišného od atomu vodíku nebo k vytvoření shora definovaného zbytku NR^4R^5 , podrobí reakci s činidlem vybraným ze skupiny zahrnující odpovídající acylační činidla, sulfonylační činidla, estery uhličitých kyselin, substituované isokyanáty, alkylační činidla, aldehydy obecného vzorce R^6CHO , kde R^6 má shora uvedený význam, trialkoxyestery obecného vzorce $\text{HC}(\text{Oalk})_3$ a amid-acetaly obecného vzorce $(\text{alkO})_2\text{CHNR}^7\text{R}^8$, kde alk znamená alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku a R^7 a R^8 mají shora uvedený význam, diazotační činidla s případným následujícím působením azidů alkalických kovů, perkyseliny a cyklické imidy vzorců C a D



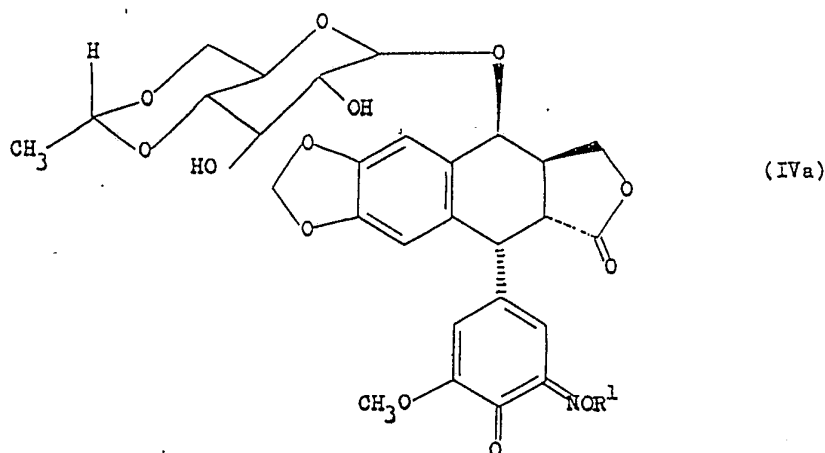
kde R^{13} má shora uvedený význam, v přítomnosti formaldehydu.

Způsob podle vynálezu tedy spočívá v modifikaci zbytku ve významu symbolu B a lze jej popsat následujícím reakčním schématem I;

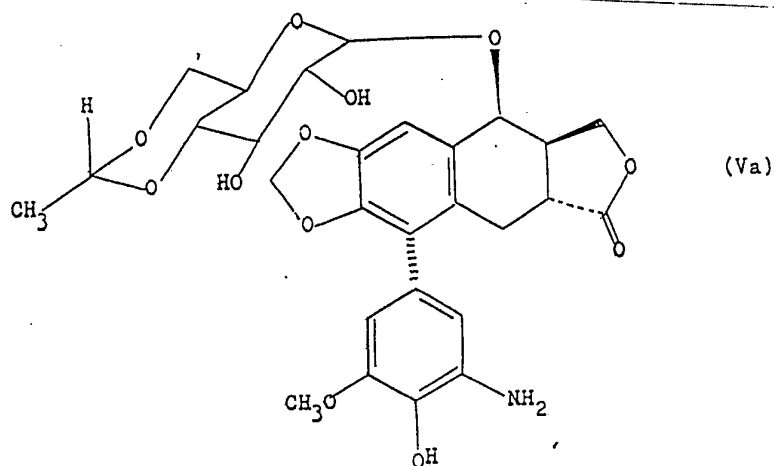
S c h é m a I



V souladu s vynálezem se reakcí ortho-chinonu vzorce IIIa s O-substituovaným hydroxylaminem obecného vzorce H_2NOR^1 nebo s jeho adiční solí s kyselinou ve vhodném organickém rozpouštědle, jako v pyridinu, získá příslušný 3'-oxinether obecného vzorce IVa



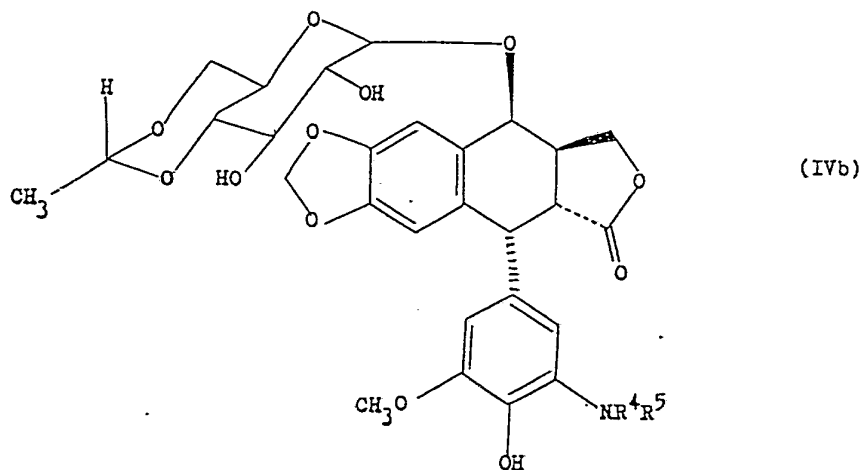
Reakce se s výhodou provádí při teplotě místnosti po dobu postačující ke vzniku mono-oximetheru, jež se pohybuje například zhruba od 30 minut do 1 hodiny. Takto vzniklý produkt je možno izolovat a vyčistit například velmi rychlou chromatografií, nebo alternativně ho lze bez izolace přímo redukovat na odpovídající aminoderivát vzorce Va



Amin vzorce Va je tedy možno připravit redukcí oximetheru vzorce IVa a, jak již bylo uvedeno výše, k danému účelu je možno používat buď vyčištěnou sloučeninu obecného vzorce IVa nebo surový produkt. Redukci oximetheru je možno uskutečnit běžnými metodami, například působením mírného chemického redukčního činidla nebo hydrogenací v přítomnosti vhodného katalyzátoru, jako platiny, paladia, niklu, ruthenia nebo rhodia. S výhodou se používá katalytická hydrogenace. Aminové deriváty vzorce Va lze rovněž připravit přímo z ortho-chinonu vzorce IIIa působením amoniaku nebo příslušného alkylaminu při teplotě místnosti. Reakcí s alkylaminem se získává jak amin vzorce Va, tak odpovídající alkylsubsti-

tuovaný amin. Výhodnou preparativní metodou je redukce oximetheru vzorce IVa.

Aminosloučeninu vzorce Va lze podrobovat reakci s řadou činidel za vzniku sloučenin obecného vzorce IVb



ve kterém

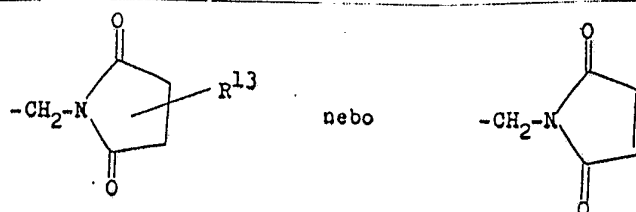
R^4 a R^5 mají shora uvedený význam s výjimkou vodíku.

Tyto reakce se obecně provádějí v inertních organických rozpouštědlech, jako v tetrahydrofuranu, dichlormethanu nebo chloroformu, za podmínek, při nichž dochází ke vzniku žádaných produktů. Výsledné produkty je možno izolovat a čistit známými metodami, jako překrystallizací nebo různými chromatografickými technikami.

V souladu s jedním provedením vynálezu se tedy vyrábějí sloučeniny obecného vzorce IVb, v němž R^4 znamená atom vodíku a R^5 má shora uvedený význam s výjimkou vodíku.

Různé acilderiváty obecného vzorce IVb je možno připravovat standardními postupy, z nichž je možno uvést následující příklady. Aminoderiváty je možno získat acylací 3'-aminoskupiny ve sloučenině vzorce Va karboxylovou kyselinou, s výhodou v přítomnosti kondenzačního činidla, jako dicyklohexylkarbodiimidu, nebo halogenidem kyseliny symetrickým nebo nesymetrickým anhydridem nebo reaktivním esterem či amidem. Analogickým postupem jako amidy je možno připravovat sulfonamidy, a to reakcí sloučeniny vzorce Va s deriváty sulfonové kyseliny, jako se sulfonylhalogenidy. Obecně platí, že při přípravě amidoderivátů za použití halogenidů nebo anhydridů kyselin, nebo při přípravě sulfonamidoderivátů se reakce s výhodou provádějí při teplotě nižší než je teplota místnosti, v rozmezí zhruba od -20°C do 5°C . Na sloučeninu vzorce Va je možno působit chlormravenčany nebo estery kyseliny uhličitě k přeměně 3'-aminoskupiny na karbomátový zbytek, nebo substituovanými isokyanáty za vzniku odpovídajících derivátů močoviny. Pokud se při shora popsaných reakcích očekává vznik halogenovodíku nebo silné kyseliny jako vedlejšího produktu je často výhodné přidávat k reakční směsi aminovou bázi. Vhodnými aminovými bázemi jsou například pyridin, triethylamin, diisopropylethylamin a dimethylaminopyridin. Je-li žádoucí chránit 4'-hydroxylovou skupinu ve sloučeninách obecného vzorce IVb, je možno k tomuto účelu zvolit řadu chránicích skupin, například skupinu benzylovou, nebo acylové skupiny, nebo acetalové seskupení. Volba reakčních činidel sloužících k zavádění chránicích skupin, jakož i odstranění chránicích skupin jsou popsány v odborných publikacích, jako je práce "Protective Groups in Organic Synthesis" (Theodora Greene; John Wiley and Sons, 1981). Metody chránění fenolické funkce lze aplikovat na sloučeniny obecného vzorce IVb.

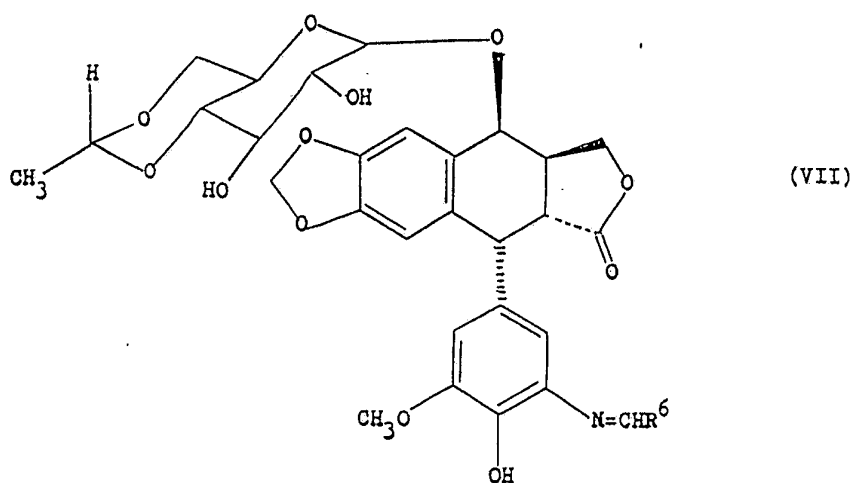
Aminalové deriváty obecného vzorce IVb, v němž R^5 znamená zbytek vzorce



je možno připravit reakcí aminu vzorce Va s odpovídajícím cyklickým imidem v přítomnosti nejméně ekvivalentního množství formaldehydu.

N-Alkylované deriváty obecného vzorce IVb je možno získat několika způsoby. Tak například je možno amin vzorce Va přímo alkylovat, například působením alkylhalogenidu. Jak již bylo rovněž uvedeno výše, lze chinon vzorce IIIa podrobit reakci s alkylaminem a získat kromě aminu vzorce Va i příslušný alkylderivát. K přípravě monoalkylovaných derivátů aminů vzorce Va lze použít rovněž redukci amidů, iminoderivátů a aminorů za použití chemických redukčních činidel nebo katalytické hydrogenace. Shora uvedené metody jsou v chemii dobře známé a pro odborníky běžné.

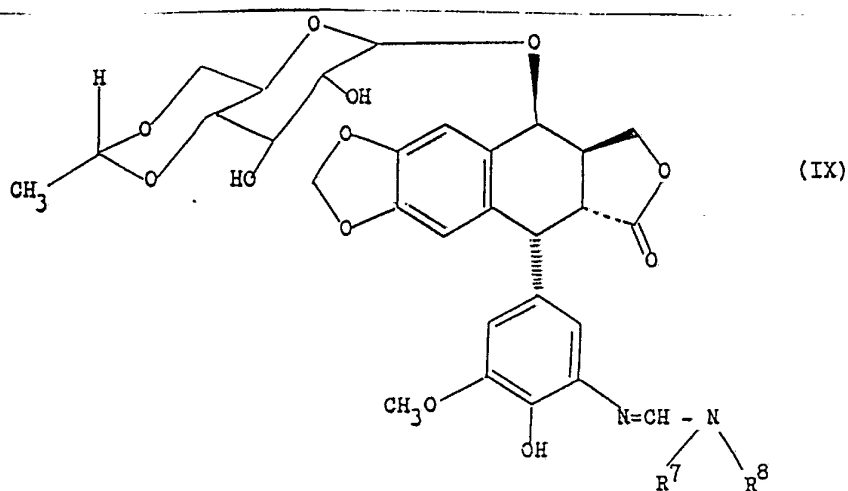
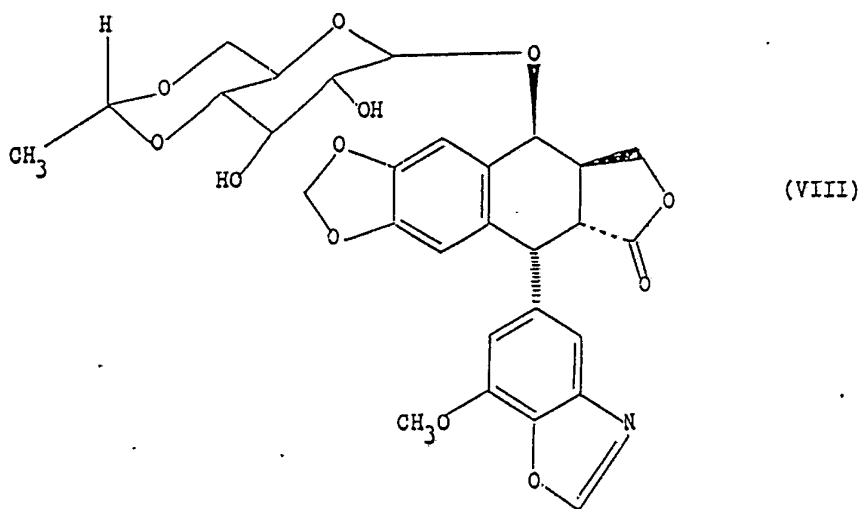
V souladu s dalším provedením vynálezu se připravují sloučeniny obecného vzorce VII



ve kterém R^6 má shora uvedený význam.

Iminosloučeniny obecného vzorce VII se mohou tvořit při reakci sloučeniny vzorce Va s aldehydem obecného vzorce R^6CHO při teplotě místnosti, výhodně v přítomnosti kyselého katalyzátoru, jako p-toluensulfonové kyseliny, přičemž se rovněž s výhodou pracuje za odstraňování vznikající vody, což se účelně provádí například pomocí dehydratačního činidla, jako molekulárního síta, nebo za použití azeotropické destilace. Sloučeniny obecného vzorce VII jsou často labilní a výhodnou metodou jejich izolace je chromatografie na neutrálním oxidu hlinitém.

V souladu s dalším provedením vynálezu se vyrábějí sloučeniny vzorců VIII a IX

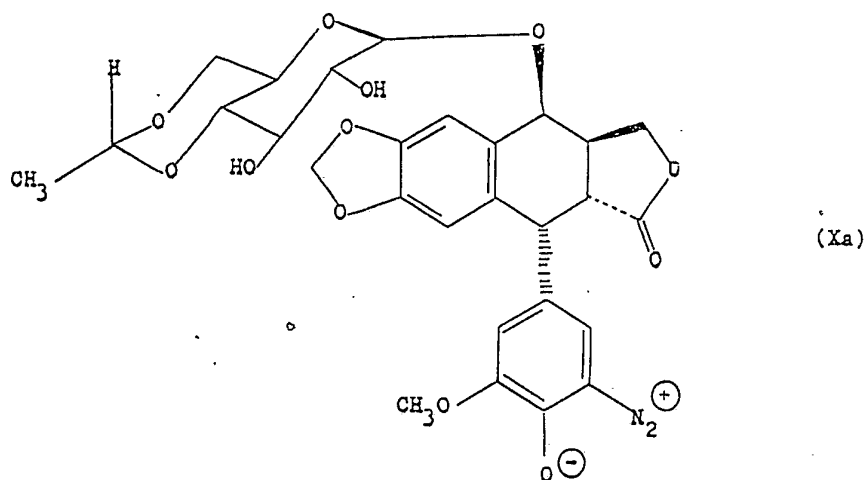


kde

R^7 a R^8 mají shora uvedený význam,

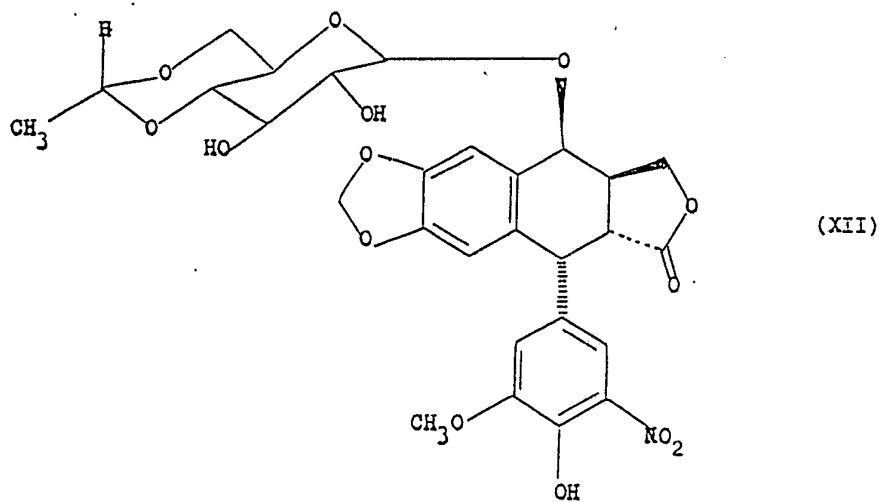
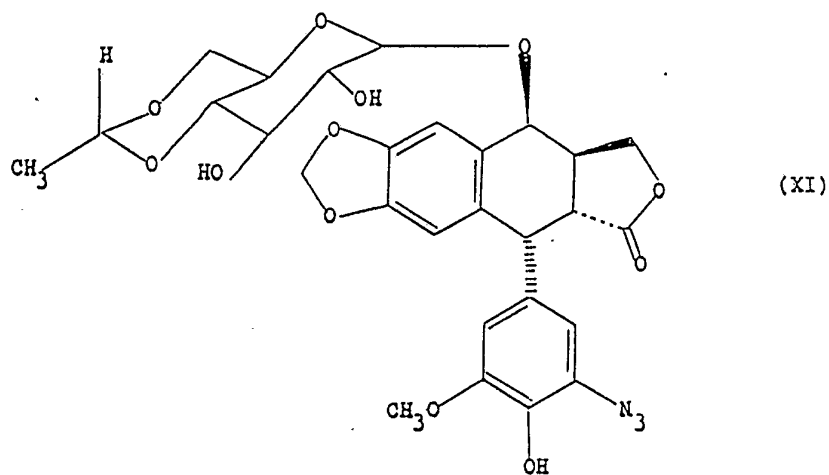
které lze získat reakcí aminu vzorce Va s trialkyl-orthoformiáty v přítomnosti kyselého katalyzátoru, resp. s amid-acetaly obecného vzorce $(\text{alkO})_2\text{CHNR}^7\text{R}^8$, kde alk je alkylová skupina obsahující s výhodou 1 až 6 atomů uhlíku a R^7 a R^8 mají shora uvedený význam.

V souladu s dalším provedením vynálezu se vyrábějí sloučeniny vzorce Xa



Sloučeniny vzorce Va je možno diazotovat v inertním organickém rozpouštědle za snížení teploty a po zpracování v přítomnosti vody pak lze získat stabilní vnitřní sůl diazonium-hydroxidu vzorce Xa.

Podle dalšího provedení vynálezu se vyrábějí 3'-azidoderiváty a 3'-nitroderiváty odpovídající níže uvedeným vzorcům XI a XII



Azidový analog se připraví výměnou diazoniové skupiny za azidoskupinu. Oxidací sloučeniny vzorce Va perkyselinou se získají 3'-nitroanalogy.

Biologická aktivita

Protinádorová účinnost reprezentativních sloučenin podle vynálezu byla hodnocena in vitro testy cytotoxicity proti lidským a myším liniím nádorových buněk, jakož i proti transplantovatelné myší leukémii P388.

Leukémie P388

Myším samicím (CDR₁) se intraperitoneálně implantuje 10⁶ buněk ascitického nádoru myší leukémie P388 a zvířatům se podávají různé dávky testované sloučeniny. Každá dávka se testuje na 4 myších a 10 zvířat slouží jako kontrola (podává se jim pouze solný roztok). Testované látky se aplikují intraperitoneální injekcí ve dnech 5 a 8 (za den 1 se považuje den implantace nádoru). Protinádorová aktivita se vyjadřuje v hodnotách T/C (%), což je procenticky vyjádřený poměr střední doby přežití skupiny ošetřené účinnou látkou k střední době přežití kontrolní skupiny, již se podává solný roztok. Sloučenina, která má poměr T/C (%) rovný nebo vyšší než 125 se obecně pokládá za látku vykazující při testu na leukémii P388 výraznou protinádorovou účinnost. Pokus trvá 31 dnů a po jeho ukončení se zaznamená počet přežívajících zvířat.

Výsledky shora popsaného testu jsou uvedeny v následující tabulce I. Uvádějí se pouze maximální hodnoty T/C (%) a dávky, při nichž dochází k maximálnímu účinku.

Protinádorová účinnost proti myší leukémii P388

sloučenina z příkladu č.	dávka (mg/kg) x)	maximální hodnota T/C (%) x)
1	100	200 (444)
2	50	242
3	60	228 (444)
4	140 (80)	170 (275)
7	70 (80)	135 (275)
10	≅ 160 (80)	110 (275)
11	≅ 160 (60)	110 (280)
12	140 (60)	150 (280)
13	>200 (80)	230 (275)
17	≅ 140 (60)	195 (280)
18	≅ 120 (60)	200 (280)
19	≅ 200 (60)	230 (280)
20	70 - 140 (80)	175 (275)
21	>200 (60)	225 (280)
22	>200 (80)	235 (275)

pokračování tabulky I

sloučenina z příkladu č.	dávka (mg/kg) x)	maximální hodnota T/C (%) x)
24	140 (25)	>140 (>140)
25	>200 (80)	240 (275)
27	≥120 (60)	165 (280)

Legenda: x) hodnoty uváděné v závorkách představují údaje získané při použití etoposidu jako pozitivní kontrolní látky ve stejném experimentu

Test cytotoxicity

Test cytotoxicity in vitro spočívá v kultivaci různých nádorových buněk savců, včetně lidských nádorových buněk, na mikrotitračních destičkách za použití běžných metod práce s tkáňovými kulturami. Za použití techniky čtyřnásobné zředovací řady se stanoví pro každou sloučeninu koncentrace potřebná k inhibici růstu buněk o 50 % (IC_{50}). Platnost této metody potvrzuje zpráva zveřejněná v "Proceedings of the American Association for Cancer Research", 1984, 25, 1891 (Abst. č. 328). Pro každou testovanou sloučeninu se používají nádorové buňky následujících typů:

myší melanom B16-F10,

Moserův nádor tlustého střeva,

lidský plicní nádor SW900 a

tři linie lidských nádorových buněk tlustého střeva, a to HCT-116, HCT-VN a HCT-VP, z nichž poslední dvě jsou resistantní na teniposid (VM, resp. etoposid (VP)).

Hodnoty IC_{50} nižší než 500 $\mu\text{g/ml}$ jsou pozitivním indikátorem protinádorové účinnosti.

Hodnoty IC_{50} různých sloučenin podle vynálezu proti shora uvedeným buněčným liniím jsou uvedeny v následující tabulce II:

T a b u l k a I I

Hodnoty IC_{50} x) zjištěné při testu cytotoxicity in vitro

sloučenina z příkladu č.	B-16-F10	HCT-116	HCT/VM34	HCT/VP35	MOSER	SW900
4	13,9	16,2	23	40	56	63
	17,9	15,7	33	47	49	63
7	54	60	63	90	>188	78
	63	63	65	83	82	>188
10	57	71	81	92	121	116
	87	78	100	106	>250	>250
11	44	58	24	30	89	74
	40	98	26	31	93	84

pokračování tabulky II

sloučenina z příkladu č.	B16-F10	HCT-116	HCT/VM34	HCT/VP35	MOSER	SW900
12	61	54	59	88	90	188
	54	62	>188	132	>188	>188
13	5,5	3,6	2,7	3,4	12,3	11,0
	8,7	4,1	3,9	3,3	12,1	0,6
17	6,7	12,3	23	31	45	22
	8,4	10,1	24	44	45	44
18	12,5	29	37	55	40	42
	15,3	18,4	>125	>125	37	40
19	16,9	13,9	21	71	38	42
	16,4	12,7	19,3	>188	32	28
20	13,3	9,6	92	35	74	>188
	19,8	5,6	>188	61	>188	78
21	5,3	10,0	14	26	25	76
	4,3	39	10,6	15,6	27	33
22	10,9	17,0	21	36	>250	>250
	14,1	13,3	16,2	43	>250	>250
24 ⁽¹⁾	41	43	56	>188	92	66
	50	53	82	92	84	90
25	29	24	38	78	>250	76
	25	38	43	102	120	>250
27	5,3	10,0	14	26	25	76
	4,3	39	10,6	15,6	27	33

Legenda: x) hodnoty pro etoposid v tomto pokusu (kromě sloučeniny z příkladu 24) jsou 2,7, 1,9 (B16-F10), 2,1, 2,7 (HCT-116), 6,1, 3,1 (HCT/VM34), 30, 41 (HCT/VP35), 39, 39 (Moser) a 67, 12,5 (SW900)

(1) hodnoty pro etoposid v tomto pokusu jsou 7,0, 4,6 (B16-F10), 9,6, 10,2 (HCT-116), 31, 33 (HCT/VM34), 92, 51 (HCT/VP35), 126, 112 (Moser) a 25, 65 (SW900)

Z výše uvedených testů na zvířatech vyplývá, že sloučeniny obecného vzorce IV působí jako účinné inhibitory nádorového bujení u savců. V souladu s tím vynález rovněž popisuje způsob inhibice nádorového bujení u savců, spočívající v tom, že se savci trpícímu nádorem podá účinná inhibiční dávka protinádorově aktivní sloučeniny obecného vzorce IV.

Dále vynález popisuje farmaceutické prostředky obsahující účinné inhibiční množství protinádorově aktivní sloučeniny obecného vzorce IV a farmaceuticky upotřebitelný nosič. Tyto prostředky je možno zpracovávat na libovolné lékové formy vhodné pro daný způsob podání. Jako příklady zmíněných prostředků je možno uvést pevné prostředky pro orální podání, jako tablety, kapsle, pilulky, prášky a granule, kapalně prostředky pro orální podání, jako roztoky, suspenze, sirupy a elixíry, a prostředky pro parenterální podání, jako sterilní

pevné preparáty, které lze před použitím rozpustit ve sterilní vodě, ve fyziologickém solném roztoku nebo v jiném sterilním injekčním prostředí.

Výběr vhodných dávek a režimu dávkování pro léčeného savce nebude odborníkům činit potíže. Je pochopitelné, že používaná dávka se bude měnit v závislosti na charakteru použitého prostředku, na účinné látce, na způsobu podání, na ošetřovaném místě, na ošetřovaném pacientovi a na typu a závažnosti onemocnění. Je třeba mít na zřeteli i četné další faktory modifikující působení účinné látky, jako jsou věk, hmotnost, pohlaví, výživa, doba podání, způsob podání, rychlost vyměšování, stav pacienta, kombinace účinných látek, citlivost pacienta na účinnou látku a závažnost onemocnění.

Vynález ilustrují následující příklady provedení, jimiž se však rozsah vynálezu v žádném směru neomezuje.

Uváděné teploty tání byly stanovovány na kapilárním bodotávku (Thomas-Hoover) a nejsou korigovány. ^1H -NMR spektra byla měřena buď na spektrofotometru Bruker WM 360 nebo Varian VX2 200, za použití deuteriochloroformu jako vnitřního standardu. Chemické posuny jsou udávány v hodnotách δ a interakční konstanty v Hz. Tvary signálů se označují obvyklými zkratkami s (singlet), d (doublet), t (triplet), q (kvartet), m (multiplet), b (široký signál) a dd (doublet doublet). IČ spektra byla měřena buď na přístroji Bekman Model 4240 nebo na přístroji Perkin-Elmer 1800 Fourier Transform Infrared Spectrophotometer a údaje jsou udávány v cm^{-1} . Chromatografie na tenké vrstvě byla prováděna na hotových deskách se silikagelem (60F-254), přičemž detekce byla prováděna UV zářením nebo/a parami jodu. Hmotová spektroskopie s vysokou a nízkou rozlišovací schopností byla prováděna na přístrojích KTRATOS MS 25RFA. Velmi rychlou chromatografií se míní metoda, kterou popsali W. C. Still a spol. v J. Org. Chem., 43, 2923, (1978). Tato chromatografie byla prováděna buď na silikagelu Merck (0,074 až 0,038 mm) nebo na silikagelu Woelm (32-63 μm). Všechna odpařování rozpouštědla byla prováděna za sníženého tlaku.

Příklad 1

Etoposid-ortho-chinon-3'-O-methyloxim
(IVa, $\text{R}^1 = \text{methyl}$)

K roztoku 350 mg (0,611 mmol) etoposid-ortho-chinonu vzorce IIIa ve 20 ml pyridinu se přidá roztok 350 mg (4,19 mmol) methoxylamin-hydrochloridu v 10 ml pyridinu, výsledný oranžově zbarvený roztok se 30 minut míchá při teplotě místnosti, načež se pyridin odpaří ve vakuu. Zbytek se rozpustí v 50 ml dichlormethanu a roztok roztřepe s 20 ml vody a 10 ml 1N kyseliny chlorovodíkové. Vodná vrstva se extrahuje dalšími 25 ml dichlormethanu, spojené organické extrakty se vysuší síranem hořečnatým a rozpouštědlo se odpaří ve vakuu. Tmavě oranžový olejovitý odparek poskytne po chromatografii na 14 g silikagelu za použití 5% methanolu v dichlormethanu jako elučního činidla 243 mg (66 %) sloučeniny uvedené v názvu, ve formě oranžově zbarvené pevné látky. Triturací tohoto materiálu s diethyletherem se získá analyticky čistý produkt. Při práci ve větším měřítku se tento oxim obecně nečistí, ale v celkovém výtěžku cca 70 % se přímo hydrogenuje na amin obecného vzorce Va.

IČ (KBr-technika): 3480, 1775, 1670, 1625, 1488, 1237, 1040 cm^{-1} .

^1H -NMR (deuteriochloroform, hodnoty δ): 6,82 (s, 1H), 6,56 (s, 1H), 6,48 (d, 1H), 6,07 (d, 1H), 6,01 (d, 1H), 5,75 (d, 1H), 4,92 (d, 1H), 4,76 (q, 1H), 4,66 (d, 1H), 4,50 (dd, 1H), 4,38 (dd, 1H), 4,27 (d, 1H), 4,22 - 4,17 (m, 1H), 4,15 (s, 3H), 3,79 (s, 3H), 3,78 - 3,74 (m, 1H), 3,63 - 3,58 (m, 1H), 3,44 (dd, 1H), 3,38 - 3,30 (m, 3H), 2,95 - 2,87 (m, 1H), 1,40 (d, 3H).

Analýza: pro $C_{29}H_{31}NO_{13}$

vypočteno 57,90 % C, 5,19 % H, 2,33 % N;

nalezeno 56,01 % C, 5,04 % H, 2,41 % N.

Příklad 2

Etoposid-ortho-chinon-3'-O-benzyloxim

(IVa, R^1 = benzyl)

Sloučenina uvedená v názvu se připraví postupem popsaným v příkladu 1 s tím, že se namísto methyloxylamin-hydrochloridu použije O-benzylhydroxylamin-hydrochlorid.

Příklad 3

3'-Amino-3'-demethoxyetoposid (Va)

Surový oxim připravený postupem podle příkladu 1 z 4,1 g (7,2 mmol) etoposid-ortho-chinonu IIIa a 4,1 g (49 mmol) methoxylamin-hydrochloridu se rozpustí ve 275 ml alkoholu a k roztoku se přidá 290 mg 20% hydroxidu paladnatého na uhlí a 1,6 g 10% paladia na uhlí. Směs se hydrogenuje za tlaku vodíku 0,28 až 0,35 MPa. Po 16 hodinách se reakční směs zfiltruje přes křemelinu, která se promyje ethylacetátem. Rozpouštědlo se odpaří a surový produkt se podrobí velmi rychlé chromatografii na 300 g silikagelu Merck (0,080 až 0,038 mm), za použití směsi ethylacetátu a hexanu (8 : 2) jako elučního činidla. Získá se 2,89 g (celkový výtěžek 70 %) sloučeniny uvedené v názvu, ve formě bílé pevné látky. Analytický vzorek produktu se získá překrystalováním tohoto materiálu z ethanolu.

IC (KBr-technika): 3455, 1775, 1615, 1490, 1235, 1070, 1030, 1000, 930 cm^{-1} .

1H -NMR (deuteriochloroform, hodnoty δ): 6,76 (s, 1H), 6,48 (s, 1H), 6,37 (d, 1H), 5,96 (ABq, 2H), 5,65 (d, 1H), 4,87 (d, 1H), 4,37 (q, 1H), 4,61 (d, 1H), 4,47 (d, 1H), 4,38 (dd, 1H), 4,23 - 4,16 (m, 2H), 3,78 (s, 3H), 3,76 - 3,72 (m, 1H), 3,60 - 3,55 (m, 1H), 3,42 (dd, 1H), 3,37 - 3,30 (m, 2H), 3,21 (dd, 1H), 2,97 - 2,88 (m, 1H), 1,37 (d, 3H).

Analýza: pro $C_{28}H_{31}NO_{12}$

vypočteno 58,63 % C, 5,45 % H, 2,44 % N;

nalezeno 57,85 % C, 5,76 % H, 2,35 % N.

Příklad 4

3'-Demethoxy-3'-methylaminoetoposid

(IVb, R^5 = methyl, R^4 = H)

K roztoku 0,25 g (0,437 mmol) etoposid-ortho-chinonu IIIa v 50 ml methanolu se za míchání při teplotě místnosti během 3 minut přidá roztok 1 ml 40% vodného methylaminu (12,80 mmol) ve 4 ml methanolu. Původně tmavě červená barva roztoku přejde na tmavě hnědou. Po 30 minutách se reakční roztok zahustí a zbytek se vyčistí preparativní chromatografií na silikagelu, za použití 5% methanolu v dichlormethanu jako elučního činidla. Izolací dvou pásů, které v UV světle nejintenzivněji září, se získají dvě hlavní komponenty složité směsi. Z předního pásu se získá 45 mg (18 %) sloučeniny uvedené v názvu, ve formě špinavě bílé pevné látky.

$^1\text{H-NMR}$ (deuteriochloroform, hodnoty δ): 6,82 (s, 1H), 6,38 (s, 1H), 6,16 (s, 1H), 5,94 (m, 2H), 5,85 (s, 1H), 4,95 (d, J = 3,2 Hz, 1H), 4,75 (m, 1H), 4,70 - 4,32 (m, 3H), 4,21 (m, 2H), 4,78 (s, 3H), 4,75 - 2,85 (m, 7H), 2,72 (s, 3H), 1,40 (d, J = 5,0 Hz, 1H).

Ze zadního pásu se získá 51 mg (20 %) sloučeniny z příkladu 3.

Příklad 5

3'-Butylamino-3'-demethoxyetoposid

(IVb, R^4 = H, R^5 = butyl)

Opakuje se obecný postup popsaný v příkladu 4 s tím rozdílem, že se použije n-butylamin. Získají se sloučenina uvedená v názvu a sloučenina z příkladu 3.

Hmotové spektrum (EI) $m/e^+ = 630 (M+1)^+$.

$^1\text{H-NMR}$ (deuteriochloroform, hodnoty δ): 6,80 (s, 1H), 6,54 (s, 1H), 6,14 (bs, 1H), 5,94 (d, 2H), 5,78 (bs, 1H), 3,75 (s, 3H), 1,36 (d, 3H), 0,89 (t, 3H) (parciální spektrum).

Příklad 6

3'-Demethoxy-3'-formylaminoetoposid

(IVb, R^4 = H, R^5 = formyl)

Přidáním 0,60 ml 98% kyseliny mravenčí (16 mmol) k 1,23 ml (13 mmol) acetanhydridu za míchání při teplotě místnosti pod dusíkem se připraví roztok smíšeného anhydridu kyseliny mravenčí a octové. Výsledný roztok se 1,5 hodiny míchá při teplotě 55 °C a pak se nechá zchladnout na teplotu místnosti. 0,45 ml tohoto činidla se pak za míchání při teplotě 2 °C pod dusíkem přikape k roztoku 0,26 g (0,454 mmol) 3'-aminoetoposidu Va ve 4 ml suchého tetrahydrofuranu. Reakční směs se 2 hodiny míchá při teplotě 2 °C, pak se nechá během 1 hodiny ohřát na 10 °C, vylije se do 50 ml vody a extrahuje se jednou 60 ml dichlormethanu a jednou 30 ml ethylacetátu. Spojené organické extrakty se vysuší ve vakuu a odpaří se. Zbytek se podrobí velmi rychlé chromatografii na silikagelu za použití nejprve 3% a pak 4% methanolu v dichlormethanu jako elučního činidla. Izoluje se materiál, který při chromatografii na tenké vrstvě v 10% methanolu v dichlormethanu má R_f mírně nižší než výchozí amin. Získá se 0,213 g (78 %) narůžovělé pevné látky o teplotě tání 216 až 220 °C.

IČ (KBr-technika): 3430 (široký pás), 2940, 1780, 1690 cm^{-1} .

^1H -NMR (deuteriochloroform, hodnoty δ): 8,46 (bs, 1H), 8,45, 8,19 (dvojice singletů, 1H, proton formylové skupiny), 7,80 (bm, 1H), 6,95, 6,85, 6,71, 6,58, 6,53, 6,15 (singlety, celková integrace odpovídá 4H), 4,69 - 4,40 (m, 3H), 4,38 - 4,10 (m, 2H), 3,86, 3,83 (s, 1H), 3,80 - 3,51 (m, 2H), 3,60 - 3,30 (m, 4H), 3,02 (bm, 1H), 1,39 (d, J = 4,9 Hz, 3H).

Hmotové spektrum (FAB) m/e (relativní intenzita) 602 (MH^+).

Příklad 7

3'-Acetylamino-3'-demethoxyetoposid

(IVb, $\text{R}^4 = \text{H}$, $\text{R}^5 = \text{acetyl}$)

K roztoku 0,420 g (0,70 mmol) 3'-aminoetoposidu Va ve 14 ml suchého dichlormethanu se za míchání pod dusíkem při teplotě 2 °C přikape 0,065 ml (0,69 mmol) acetanhydridu. Reakční směs se 5,5 hodiny míchá při teplotě 2 °C a pak se k ní přidá dalších 0,01 ml (0,11 mmol) acetanhydridu. Výsledná směs se 1 hodinu míchá při teplotě 2 °C, pak se vylije do roztoku tvořeného 25 ml vody a 25 ml nasyceného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného, extrahuje se třikrát vždy 50 ml dichlormethanu, spojené organické vrstvy se promyjí nasyceným vodným roztokem chloridu sodného, vysuší se bezvodým síranem hořečnatým a zahustí se. Zbytek poskytne po velmi rychlé chromatografii na silikagelu za použití nejprve 3% a pak 4% methanolu v dichlormethanu jako elučního činidla 19,3 mg neidentifikovaného vedlejšího produktu (při chromatografii na tenké vrstvě v 5% methanolu v dichlormethanu má R_f 0,17) a 0,328 g (73 %) sloučeniny uvedené v názvu, ve formě špinavě bílého prášku o teplotě tání 225 až 227 °C.

Při chromatografii na tenké vrstvě v 5% methanolu v dichlormethanu má produkt R_f 0,14.

IČ (KBr-technika): 3350 - 3080, 1960, 1770 cm^{-1} .

^1H -NMR (deuteriochloroform, hodnoty δ): 8,45 (s, 1H), 8,23 (bs, 1H), 6,76 (s, 1H), 6,61 (s, 1H), 6,49 (s, 1H), 6,38 (s, 1H), 5,84 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 4,86 (d, J = 3,2 Hz, 1H), 4,63 (m, 1H), 4,30 - 4,15 (m, 3H), 4,15 - 4,05 (m, 2H), 3,72 (s, 3H), 3,6 - 3,4 (m, 2H), 3,4 - 3,25 (m, 4H), 2,86 (m, 1H), 2,19 (s, 3H), 1,26 (d, J = 5,0 Hz, 3H).

Příklad 8

3'-Demethoxy-3'-trifluoracetylaminoetoposid

(IVb, $\text{R}^4 = \text{H}$, $\text{R}^5 = \text{trifluoracetyl}$)

K roztoku 200 mg (0,349 mmol) 3'-aminoetoposidu Va v 10 ml suchého dichlormethanu a 50 μl pyridinu se za míchání pod dusíkem při teplotě 0 °C přikape během 1 minuty 76 mg (0,362 mmol) anhydridu trifluoroctové kyseliny. Reakční směs se míchá 30 minut při teplotě 0 °C a pak 2 hodiny při teplotě místnosti, načež se roztřepe mezi 75 ml fosfátového pufru o pH 7 a 75 ml dichlormethanu. Organická fáze se promyje 75 ml roztoku chloridu sodného, vysuší se síranem sodným a rozpouštědlo se odpaří ve vakuu. Preparativní chromatografií zbytku na tenké vrstvě (5% methanol v dichlormethanu) se získá 149,7 mg (64,1 %) čisté sloučeniny uvedené v názvu, ve formě bílé pevné látky o teplotě tání 209 až 212 °C.

IČ (KBr-technika): 3420, 1775, 1735, 1625, 1510, 1490, 1237, 1165, 1082, 1045, 1010, 940, 878, 702 cm^{-1} .

^1H -NMR (deuteriochloroform, hodnoty δ): 7,03 (d, 1H), 6,99 (d, 1H), 6,82 (s, 1H), 6,49 (s, 1H), 6,00 (bs, 2H), 4,97 (d, 1H), 4,74 (q, 1H), 4,66 (d, 1H), 4,57 (d, 1H), 4,42 (dd, 1H), 4,30 - 4,14 (m, 2H), 3,92 (s, 3H), 3,75 (m, 1H), 3,56 (m, 1H), 3,49 - 3,17 (m, 4H), 3,09 - 2,92 (m, 1H), 1,38 (d, 3H).

Analýza: pro $C_{30}H_{30}F_3NO_{13}$

vypočteno 53,82 % C, 4,52 % H, 2,09 % N;

nalezeno 53,62 % C, 4,44 % H, 1,96 % N.

Příklad 9

3'-Demethoxy-3'-[[[(2,2,2-trichlorethyl)oxy]karbonyl]aminoetoposid

(IVb, $R^4 = H$, $R^5 = 2,2,2$ -trichlorethoxykarbonyl)

K roztoku 0,40 g (0,70 mmol) 3'-aminoetoposidu Va a 90 μ l (1,11 mmol) pyridinu v 5 ml dichlormethanu se za míchání pod dusíkem při teplotě 2 °C přikape pomocí injekční stříkačky 0,10 ml (0,73 mmol) trichlorethyl-chlorformiátu. Reakční směs se 5 hodin míchá při teplotě 2 a 10 °C, pak se k ní přidá dalších 10 μ l trichlorethyl-chlorformiátu a reakční směs se míchá ještě 15 hodin při teplotě místnosti. Výsledná směs se vylije do 50 ml vody a extrahuje se třikrát vždy 50 ml dichlormethanu. Spojené organické vrstvy se vysuší bezvodým síranem hořečnatým a vyčistí se velmi rychlou chromatografií na silikagelu za použití 3% methanolu v dichlormethanu jako elučního činidla. Hlavní, méně polární produkt se izoluje, čímž se získá 0,32 g (62 %) žluté pevné látky tající za rozkladu nad 220 °C.

IČ (KBr-technika): 3440, 2910, 1780 (široký pás), 1625, 1552 cm^{-1} .

1H -NMR (deuterochloroform, hodnoty δ): 7,12 (m, 1H), 6,83 (m, 2H), 6,49 (s, 1H), 5,95 (m, 2H), 5,65 (s, 1H), 4,94 (d, $J = 3,28$ Hz, 1H), 4,80 - 4,60 (m, 4H), 4,54 (d, $J = 5,3$ Hz, 1H), 4,38 (m, 1H), 4,23 - 4,05 (m, 2H), 3,94 (s, 3H), 3,72 (m, 1H), 3,52 (m, 1H), 3,43 (m, 1H), 3,32 (m, 2H), 3,23 (dd, $J = 14,2, 5,4$ Hz, 1H), 3,01 (m, 1H), 2,68 (s, 1H), 2,41 (s, 1H), 1,38 (d, $J = 2,4$ Hz, 3H).

Hmotové spektrum (FAB): m/e 748 ($M+H$)⁺.

Příklad 10

3'-[(2-Chlorethylamino)karbonyl]amino-3'-demethoxyetoposid

(IVb, $R^4 = H$, $R^5 = 2$ -chlorethylaminokarbonyl)

K roztoku 0,40 g (0,69 mmol) 3'-aminoetoposidu Va ve 4 ml suchého dichlormethanu se za míchání pod dusíkem při teplotě 20 °C přikape za pomoci injekční stříkačky 62 μ l (0,76 mmol) 2-chlorethylisokyanátu. Okamžitě po přidání se začne tvořit bílá sraženina. Reakční směs se míchá 4 hodiny při teplotě 20 °C, pak 15 minut při teplotě 0 °C, načež se odsaje. Po vysušení ve vakuu se získá 0,32 g (68 %) špinavě bílé amorfnní pevné látky o teplotě tání 195 až 197 °C.

IČ (KBr-technika): 3400 (široký pás), 2920, 1770, 1660 cm^{-1} .

1H -NMR (deuterochloroform/dimethylsulfoxid, hodnoty δ): 8,97 (bs, 1H), 7,87 (s, 1H), 6,71 (s, 1H), 6,54 (t, $J = 5,6$ Hz, 1H), 6,33 (s, 1H), 6,31 (s, 1H), 6,24 (s, 1H), 5,78 (ABq, $J_{AB} = 5,5$ Hz, 2H), 4,79 (d, $J = 5,3$ Hz, 1H), 4,58 (m, 1H), 4,51 - 4,24 (m, 4H), 4,06 - 3,98 (m, 2H), 3,61 (s, 3H), 3,45 - 3,33 (m, 6H), 3,24 - 3,12 (m, 4H), 2,80 - 2,76 (m, 1H), 1,21 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H).

Hmotové spektrum: MH^+ pro $C_{31}H_{35}O_{13}N_2Cl$

vypočteno 678,1828

nalezeno 678,1826.

Příklad 11

3'-Demethoxy-3'-[[[fenylmethyl]amino]karbonyl]aminoetoposid

(IVb, $R^4 = H$, $R^5 = \text{benzylaminokarbonyl}$)

K roztoku 200 mg (0,349 mmol) 3'-aminoetoposidu Va ve směsi dichlormethanu a tetrahydrofuranu (9 : 1) se pomalu přidá nejprve 0,25 ml triethylaminu a pak 50 μ l (0,40 mmol) benzyl-isokyanátu. Po 20 minutách se vyloučená sraženina odfiltruje, promyje se studeným ethylacetátem a vysuší se. Získá se 150 mg (61 %) sloučeniny uvedené v názvu, ve formě bezbarvé pevné látky.

$^1\text{H-NMR}$ (deuteriochloroform, hodnoty δ): 7,33 - 7,18 (m, 6H), 7,01 (s, 1H), 6,55 (d, 1H), 6,51 (s, 1H), 6,00 (d, 2H), 5,22 (d, 2H), 4,92 (d, 1H), 4,71 (q, 1H), 4,59 (d, 1H, $J = 7,7$ Hz), 4,49 (d, 1H, $J = 5,5$ Hz), 4,31 - 4,07 (m, 3H), 3,67 (s, 3H), 3,49 - 2,95 (m, 7H), 1,37 (d, 3H).

Příklad 12

3'-Demethoxy-3'-methansulfonamidoetoposid

(IVb, $R^4 = H$, $R^5 = \text{methansulfonyl}$)

K roztoku 0,22 g (0,384 mmol) 3'-aminoetoposidu Va a 0,10 ml (1,24 mmol) pyridinu v 9 ml suchého dichlormethanu se za míchání pod dusíkem při teplotě -20°C přidá 31 μ l (0,384 mmol) methansulfonylchloridu. Reakční směs se 3 hodiny míchá při teplotě -20°C , pak se nechá během 1 hodiny za míchání ohřát na 20°C , vylije se do 50 ml vody a extrahuje se jednou 50 ml a pak dvakrát vždy 10 ml dichlormethanu. Spojené organické extrakty se vysuší bezvodým síranem hořečnatým a zahustí se ve vakuu. Zbytek se podrobí velmi rychlé chromatografii za použití nejprve 3% a pak 4% methanolu v dichlormethanu jako elučního činidla. Získá se 0,139 g (56 %) špinavě bílé pevné látky o teplotě tání 208 až 211°C (bílý pevný materiál přejde na růžovou pěnu).

$\text{I}\ddot{\text{C}}$ (KBr-technika): 3460 (široký pás), 2925, 1779, 1620, 1340, 1163 cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (deuteriochloroform/dimethylsulfoxid, hodnoty δ): 7,04 (s, 1H), 6,97 (s, 1H), 6,77 (s, 1H), 6,66 (d, $J = 1,7$ Hz, 1H), 6,41 (s, 1H), 6,37 (d, $J = 1,7$ Hz, 1H), 5,89 (m, 2H), 4,89 (d, $J = 3,4$ Hz, 1H), 4,67 (m, 1H), 4,66 (m, 2H), 4,40 (m, 1H), 4,17 (m, 2H), 3,82 (s, 3H), 3,66 (t, $J = 8,8$ Hz, 1H), 3,39 - 3,28 (m, 4H), 2,90 (m, 1H), 2,85 (s, 3H), 1,32 (d, $J = 5,0$ Hz, 3H).

Hmotové spektrum (FAB): m/e (relativní intenzita) 652 (MH^+).

Příklad 13

3'-Demethoxy-3'-[(N-sukcinimido)methyl]aminoetoposid

(IVb, $R^4 = H$, $R^5 = (\text{N-sukcinimido})\text{methyl}$)

Roztok 0,30 g (0,52 mmol) 3'-aminoetoposidu Va a 0,052 g (0,52 mmol) sukcinimidu ve 4 ml bezvodého absolutního ethanolu se pod dusíkem uvede k varu pod zpětným chladičem a přidá se k němu 0,040 ml (0,52 mmol) 37% vodného formaldehydu. Reakční směs se 4 hodiny zahřívá k varu pod zpětným chladičem, přičemž se z ní vyloučí bílá sraženina. Reakční směs se ochladí na 0°C , odsaje se a zbytek na filtru se promyje 5 ml studeného ethanolu. Získá se 0,272 g (76 %) špinavě bílé pevné látky o teplotě tání 210 až 212°C .

$\text{I}\ddot{\text{C}}$ (KBr-technika): 3435 (široký pás), 2920, 1780, 1705, 1620 cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (deuteriochloroform/dimethylsulfoxid, hodnoty δ): 6,81 (s, 1H), 6,40 (s, 2H), 5,80 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H), 5,83 (s, 1H), 5,82 (s, 1H), 5,04 - 4,97 (m, 2H; jeden vyměnitelný), 4,73 - 4,67 (m, 3H), 4,51 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 4,38 (m, 2H), 4,14 (t, $J = 8,3$ Hz, 2H), 3,97 (d, $J = 2,9$ Hz, 1H), 3,75 (s, 3H), 3,61 (t, $J = 2,2$ Hz, 1H), 3,53 (t, $J =$

= 9,0 Hz, 1H), 3,36 - 3,25 (m, 4H), 2,99 (bm, 1H), 2,51 (m, 4H), 1,32 (d, J = 5,0 Hz, 3H).

Hmotové spektrum: pro $C_{33}H_{36}O_{14}N_2$

vypočteno MH^+ 684,2167

nalezeno MH^+ 684,2151.

Příklad 14

3'-Demethoxy-3'-[N-(3-oktylthio)sukcinimido]methylaminoetoposid

(IVb, $R^4 = H$, $R^5 = [N-(3-oktylthio)sukcinimido]methyl$)

K roztoku 0,085 g (0,35 mmol) 3-oktylthiosukcinimidu a 0,20 g (0,35 mmol) 3'-aminoetoposidu Va v 6 ml ethanolu se za míchání a varu pod zpětným chladičem přidá 26 μ l (0,35 mmol) formalinu. Reakční směs se 3 hodiny zahřívá k varu pod zpětným chladičem, pak se 14 hodin míchá při teplotě místnosti, přidá se k ní dalších 5 mg sukcinimidu a 5 μ l formalinu, výsledná směs se ještě 1 hodinu zahřívá k varu pod zpětným chladičem, pak se ochladí na teplotu místnosti a ethanol se odpaří ve vakuu. Zbytek se podrobí velmi rychlé chromatografii za použití 4% methanolu v dichlormethanu jako elučního činidla. Získá se 0,111 g (38 %) produktu ve formě bílého prášku. Kapalinová chromatografie s vysokou rozlišovací schopností svědčí o přítomnosti dvou diastereomerů přítomných v poměru 1 : 1.

IC (KBr-technika): 3480, 2962, 2925, 1781, 1707, 1621, 1520, 1490 cm^{-1} .

1H -NMR (deuteriochloroform, hodnoty δ): 6,83, 6,81 (s, 1H), 6,49, 6,47 (s, 1H), 6,45 (s, 1H), 5,95 (m, 2H), 5,84, 5,81 (s, 1H), 5,33 (s, 1H), 5,01 (m, 2H), 4,80 - 4,70 (m, 2H), 4,62 (m, 1H), 4,45 (m, 1H), 4,37 (m, 1H), 4,15 (m, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,68 (m, 1H), 3,57 (m, 2H), 3,41 (m, 1H), 3,19 (m, 2H), 3,04 (m, 1H), 3,02 (m, 2H), 2,82 (m, 1H), 2,62 - 2,30 (m, 4H), 1,60 - 1,40 (m, 2H), 1,37 (d, J = 2,4 Hz, 3H), 0,86 (t, J = 6,3 Hz, 3H).

Příklad 15

3'-Demethoxy-3'-[N-maleinimido]methylaminoetoposid

(IVb, $R^4 = H$, $R^5 = maleinimidomethyl$)

Pracuje se analogickým postupem jako v příkladu 14 s tím rozdílem, že se namísto 3-oktylthiosukcinimidu použije melainimid. Po chromatografii se ve výtěžku 68 % získá sloučenina uvedená v názvu, ve formě nažloutlého prášku.

IC (KBr-technika): 3440, 2918, 1775, 1710, 1616, 1505, 1486 cm^{-1} .

1H -NMR (deuteriochloroform, hodnoty δ): 6,85 (s, 1H), 6,57 (s, 1H), 6,56 (s, 2H), 6,45 (s, 1H), 5,95 (m, 2H), 5,76 (s, 1H), 5,31 (s, 1H), 5,01 (d, J = 3,3 Hz, 1H), 4,91 (m, 1H), 4,78 - 4,66 (m, 3H), 4,47 (d, J = 5,3 Hz, 1H), 4,37 (m, 1H), 4,18 (m, 2H), 3,82 (s, 3H), 3,74 (m, 1H), 3,55 (m, 1H), 3,43 (m, 1H), 3,22 (m, 2H), 3,20 (dd, J = 7,0, 5,26 Hz, 1H), 3,05 (m, 1H), 2,68 (s, 1H), 2,41 (s, 1H), 1,38 (d, J = 4,9 Hz, 3H).

Hmotové spektrum (FBA): m/e 682 (M^+).

Příklad 16

3'-Demethoxy-3'-[N-[3-(pyridol)thio]sukcinimido]methylaminoetoposid

(IVb, $R^4 = H$, $R^5 = [N-[3-(2-pyridyl)thio]sukcinimido]methyl$)

Pracuje se analogickým postupem jako v příkladu 14 s tím rozdílem, že se namísto 3-oktylthiosukcinimidu použije 3-(2-pyridyl)thiosukcinimid. Získá se krémově zbarvená pevná látka, která při stanovení teploty tání se pomalu rozkládá při teplotě nad 185 $^{\circ}C$.

Příklad 17

3'-Demethoxy-3'-[(3-thienyl)methylen]aminoetoposid

(VII, R⁶ = 3-thienyl)

Ke směsi 222 mg (0,387 mmol) 3'-aminoetoposidu Va, 2,0 g bezvodého síranu hořečnatého, 2,7 g aktivovaného molekulárního síta (4×10^{-10} m) a 11 mg monohydrátu p-toluensulfonové kyseliny se pod dusíkem přidá nejprve 30 ml suchého dichlormethanu a pak pomocí injekční stříkačky 3,37 g (30,1 mmol) 3-thiofenkarboxaldehydu. Směs se v temnu 7 dnů míchá při teplotě místnosti, pak se zfiltruje a pevný materiál se promyje 10 ml dichlormethanu a 25 ml ethylacetátu. Filtrát se zahustí na objem zhruba 15 ml a koncentrát se nanese na sloupec neutrálního oxidu hlinitého (Woelm; $3 \times 11,5$ cm). Elucí sloupce nejprve 250 ml dichlormethanu a pak 5% methanolem v dichlormethanu se získá 95,0 mg (37 %) sloučeniny uvedené v názvu, ve formě žlutohnědé pevné látky tající za rozkladu při 190 až 195 °C.

IČ (KBr-technika): 3445, 1775, 1630, 1605, 1510, 1495, 1290, 1240, 1165, 1085, 1045, 1008, 940, 875, 805, 700 cm⁻¹.

¹H-NMR (deuteriochloroform, hodnoty δ): 8,45 (s, 1H), 7,77 (d, 1H, J = 2,9 Hz), 7,64 (d, 1H, J = 5,2 Hz), 7,35 (dd, 1H, J = 2,9 a 5,2 Hz), 6,81 (s, 1H), 6,58 (d, 1H, J = 1,6 Hz), 6,54 (s, 1H), 6,40 (d, 1H, J = 1,6 Hz), 5,97 (d, 2H), 4,91 (d, 1H, J = 3,5 Hz), 4,75 (q, 1H, J = 5,0 Hz), 4,65 (d, 1H, J = 7,5 Hz), 4,61 (d, 1H, J = 5,3 Hz), 4,41 (dd, 1H), 4,22 (dd, 1H), 4,16 (dd, 1H), 3,81 (s, 3H), 3,74 (dd, 1H), 3,56 (dd, 1H), 3,43 (dd, 1H), 3,34 - 3,31 (m, 2H), 3,26 (dd, 1H, J = 5,3 a 14,0 Hz), 2,94 - 2,88 (m, 1H), 1,38 (d, 3H, J = 5,0 Hz).

Příklad 18

3'-Demethoxy-3'-[(2-furyl)methylen]aminoetoposid

(VII, R⁶ = 2-furyl)

Postupuje se podle příkladu 19 za použití 213 mg (0,371 mmol) 3'-aminoetoposidu Va, 2,0 g bezvodého síranu hořečnatého, 2,5 g aktivovaného molekulárního síta (4×10^{-10} m), 13 mg monohydrátu p-toluensulfonové kyseliny, 3,39 g (35,2 mmol) 2-furankarboxaldehydu a 30 ml dichlormethanu. Reakce se nechá probíhat 72 hodiny při teplotě místnosti, načež se reakční směs zpracuje a vyčistí postupem popsáním v příkladu 19. Získá se 79,0 mg (33 %) sloučeniny uvedené v názvu, ve formě žlutooranžové pevné látky.

IČ (KBr-technika): 3440, 1775, 1630, 1603, 1508, 1488, 1285, 1235, 1162, 1080, 1023, 935, 893, 765, 705 cm⁻¹.

¹H-NMR (deuteriochloroform, hodnoty δ): 8,30 (s, 1H), 7,57 (d, 1H, J = 1,5 Hz), 6,95 (d, 1H, J = 3,5 Hz), 6,80 (s, 1H), 6,66 (d, 1H, J = 1,5 Hz), 6,53 (s, 1H), 6,34 (d, 1H, J = 1,5 Hz), 5,97 (d, 2H), 4,89 (d, 1H, J = 3,4 Hz), 4,73 (q, 1H, J = 5,0 Hz), 4,65 (d, 1H, J = 7,5 Hz), 4,60 (d, 1H, J = 5,3 Hz), 4,41 (dd, 1H), 4,23 - 4,13 (m, 2H), 3,83 (s, 3H), 3,75 (dd, 1H), 3,56 (dd, 1H), 3,43 (dd, 1H), 3,34 - 3,31 (m, 2H), 3,25 (dd, 1H, J = 5,3 a 14,1 Hz), 2,93 - 2,88 (m, 1H), 1,38 (d, 3H, J = 5,0 Hz).

Příklad 19

3'-Demethoxy-3'-[(4-pyridyl)methylen]aminoetoposid

(VII, R⁶ = 4-pyridil)

Směs 215 mg (0,375 mmol) 3'-aminoetoposidu Va, 2,1 g aktivovaného molekulárního síta (4×10^{-10} m) a 3,8 g (35,5 mmol) 4-pyridinkarboxaldehydu ve 38 ml suchého dichlormethanu se 7 dnů míchá při teplotě místnosti a pak se přímo nanese na sloupec neutrálního oxidu hlinitého (Woelm; $2 \times 16,5$ cm). Elucí sloupce 250 ml dichlormethanu a pak 250 ml směsi stejných dílů ethylacetátu a dichlormethanu se odstraní nadbytek aldehydu a další elucí

5 až 6% methanolem v dichlormethanu se získá 114,2 mg (46 %) sloučeniny uvedené v názvu, ve formě žlutooranžové pevné látky tající za rozkladu při 198 až 204 °C.

IČ (KBr-technika): 3440, 1775, 1608, 1490, 1388, 1292, 1238, 1165, 1085, 1040, 1010, 940, 705 cm⁻¹.

¹H-NMR (deuteriochloroform, hodnoty δ): 8,72 (d, 2H, J = 4,5 Hz), 8,49 (s, 1H), 7,70 (d, 2H, J = 4,5 Hz), 6,82 (s, 1H), 6,65 (s, 1H), 6,63 (s, 1H, J = 1,7 Hz), 6,54 (s, 1H), 6,49 (d, 1H, J = 1,7 Hz), 5,98 (d, 2H), 4,92 (d, 1H, J = 3,5 Hz), 4,73 (q, 1H, J = 5,0 Hz), 4,66 (d, 1H, J = 7,6 Hz), 4,62 (d, 1H, J = 5,3 Hz), 4,42 (dd, 1H), 4,25 - 4,15 (m, 2H), 3,82 (s, 3H), 3,77 (m, 1H), 3,56 (dd, 1H), 3,44 (dd, 1H), 3,34 - 3,20 (m, 3H), 2,91 - 2,87 (m, 1H), 1,38 (d, 3H, J = 5,0 Hz).

Příklad 20

3'-Demethoxy-3'-[[[(4-methoxy)fenyl]metylen]aminoetoposid

(VII, R⁶ = p-methoxyfenyl)

Roztok 260 mg (0,453 mmol) 3'-aminoetoposidu Va, 4,1 g (30,1 mmol) p-anisaldehydu a 7,0 mg monohydrátu p-toluensulfonové kyseliny v 70 ml suchého dichlormethanu se 6 hodin zahřívá k varu pod zpětným chladičem v baňce opatřené Soxhletovým extraktorem naplněným 4,8 g aktivovaného molekulárního síta (4 x 10⁻¹⁰ m). Ke směsi se pak přidá 0,31 g aktivovaného molekulárního síta (4 x 10⁻¹⁰ m) a výsledná směs se 13 dnů míchá při teplotě místnosti. Reakční směs se přímo nanese na sloupec 20,5 g neutrálního oxidu hlinitého (Woelm; 2 cm). Elucí sloupce nejprve 400 až 500 ml dichlormethanu a pak 2% methanolem v dichlormethanu se získá 175 mg (56 %) analyticky čisté sloučeniny uvedené v názvu, ve formě světle žluté pevné látky tající za rozkladu při 173 až 178 °C.

IČ (KBr-technika): 3450, 1775, 1605, 1390, 1260, 1235, 1168, 1080, 1040, 940, 840, 70 cm⁻¹.

¹H-NMR (deuteriochloroform, hodnoty δ): 8,37 (s, 1H), 7,81 (d, 2H), 6,94 (d, 2H), 6,81 (s, 1H), 6,57 (d, 1H), 6,55 (s, 1H), 6,41 (d, 1H), 5,97 (d, 2H), 4,91 (d, 1H), 4,73 (q, 1H), 4,65 (d, 1H), 4,61 (d, 1H), 4,41 (dd, 1H), 4,23 - 4,13 (m, 2H), 3,85 (s, 3H), 3,81 (s, 3H), 3,74 (dd, 1H), 3,56 (dd, 1H), 3,43 (dd, 1H), 3,34 - 3,31 (m, 2H), 3,25 (dd, 1H), 2,94 - 2,87 (m, 1H), 1,37 (d, 3H).

Analýza: pro C₃₆H₃₇NO₁₃

vypočteno 62,51 % C, 5,39 % H, 2,02 % N;

nalezeno 62,48 % C, 5,67 % H, 2,11 % N.

Příklad 21

3'-Demethoxy-3'-[[[(3,4-trimethoxy)fenyl]metylen]aminoetoposid

(VII, R⁶ = 3,4,5-trimethoxyfenyl)

Směs 145 mg (0,253 mmol) 3'-aminoetoposidu Va, 825 mg (4,23 mmol) 3,4,5-trimethoxybenzaldehydu, 2 mg monohydrátu p-toluensulfonové kyseliny a 15 ml dichlormethanu se v přítomnosti bezvodého síranu hořečnatého 11 dnů míchá při teplotě místnosti. Pevné podíly se odfiltrují a promyjí se čerstvým dichlormethanem. Filtrát se odpaří ve vakuu a zbytek se chromatografuje na neutrálním oxidu hlinitém (Woelm; průměr sloupce 2 cm). Elucí nejprve 30% ethylacetátem v hexanu a pak 3% methanolem v dichlormethanu se získá 155,5 mg (82 %) sloučeniny uvedené v názvu, ve formě slabě žluté pevné látky tající za rozkladu při 192 až 196 °C.

IČ (KBr-technika): 3445, 1776, 1585, 1490, 1460, 1380, 1330, 1235, 1128, 1038, 1005, 940, 760, 700 cm⁻¹.

$^1\text{H-NMR}$ (deuteriochloroform, hodnoty δ): 8,39 (s, 1H), 7,11 (s, 2H), 6,81 (s, 1H), 6,53 (s, 1H), 6,53 – 6,49 (m, 2H), 5,97 (d, 2H), 4,91 (d, 1H), 4,73 (q, 1H), 4,63 (d, 1H), 4,59 (d, 1H), 4,41 (dd, 1H), 4,24 – 4,08 (m, 2H), 3,91 (bs, 9H), 3,80 (s, 3H), 3,72 (dd, 1H), 3,55 (dd, 1H), 3,42 (dd, 1H), 3,32 – 3,17 (m, 3H), 2,94 – 2,88 (m, 1H), 1,37 (d, 3H).

Příklad 22

3'-Demethoxy-3'-[[[(3-nitro)fenyl]methylen]amino]etoposid

(VII, R^6 = 3-nitrofenyl)

K roztoku 200 mg (0,349 mmol) 3'-aminoetoposidu Va a 83 mg (0,55 mmol) m-nitrobenzaldehydu v 10 ml ethanolu se přidají 3 mg monohydrátu p-toluensulfonové kyseliny. Po 15 minutách se vyloučená sraženina odfiltruje a promyje se studeným methanolem, čímž se získá 20 mg žluté krystalické látky. Filtrát se odpaří a zbytek poskytne po krystalizaci 150 mg sloučeniny uvedené v názvu, ve formě žluté pevné látky (celkový výtěžek 69 %).

IČ (KBr-technika): 3445, 1775, 1605, 1535, 1505, 1485, 1355, 1235, 1095, 1075, 1040, 1005, 935, 890, 870, 815, 735, 680 cm^{-1} .

Parciální $^1\text{H-NMR}$ (perdeuterodimethylsulfoxid, hodnoty δ): 8,79 (s, 1H), 8,39 (d, 1H, J = 7,5 Hz), 8,34 – 8,30 (m, 2H), 7,76 (dd, 1H), 6,99 (s, 1H), 6,65 (d, 1H, J = 1,3 Hz), 6,53 (s, 1H), 6,26 (d, 1H, J = 1,3 Hz), 6,00 (s, 2H), 5,25 – 5,22 (m, 2H), 4,95 (d, 1H), 4,73 (q, 1H), 4,58 (d, 1H), 4,52 (d, 1H), 4,29 – 4,26 (m, 2H), 4,07 (dd, 1H), 3,72 (s, 3H), 1,23 (d, 3H, J = 5 Hz).

Příklad 23

3'-Demethoxy-3'-[N,N-dimethylamino]methylen]aminoetoposid

(IX, R^7 = R^8 = methyl)

K roztoku 0,26 g (0,454 mmol) 3'-aminoetoposidu Va ve 4 ml chloroformu se za míchání při teplotě 20 $^{\circ}\text{C}$ pod dusíkem přidá 80 μl (0,60 mmol) N,N-dimethyl-dimethylformamidacetalu. Po 20 minutách svědčí chromatografie na tenké vrstvě o přítomnosti produktu (R_f = 0,18; 10% methanol v dichlormethanu) a o nepřítomnosti výchozího materiálu (R_f = 0,25). Rozpouštědlo se odpaří ve vysokém vakuu a zbytek se podrobí velmi rychlé chromatografii na silikagelu za použití nejprve 80% ethylacetátu v hexanu a pak samotného ethylacetátu jako elučního činidla. Získá se 171 mg nahnědlé pevné látky, která po nové chromatografii na silikagelu za použití postupně 10%, 20% a 30% acetonu v ethylacetátu jako elučního činidla poskytne 85 mg (30 %) špinavě bílého pevného produktu o teplotě tání 198 až 200 $^{\circ}\text{C}$.

IČ (KBr-technika): 3440 (široký pás), 2925, 1780, 1645, 1615 cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (deuteriochloroform, hodnoty δ): 7,60 (s, 1H), 6,82 (s, 1H), 6,57 (s, 1H), 6,37 (s, 1H), 6,17 (s, 1H), 5,99 (d, J = 4,4 Hz, 2H), 4,91 (d, J = 3,4 Hz, 1H), 4,76 (q, J = 9,0 Hz, 1H), 4,66 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 4,58 (d, J = 4,6 Hz, 1H), 4,42 (t, J = 9,6 Hz, 1H), 4,22 (t, J = 7,8 Hz, 2H), 3,75 (s, 3H), 3,60 (t, J = 9 Hz, 1H), 3,49 – 3,21 (m, 5H), 3,03 (s, 6H), 2,95 (m, 1H), 1,41 (d, J = 6,0 Hz, 3H).

Hmotové spektrum (FAB): m/c (relativní intenzita)
629 (MH^+).

Příklad 24

3'-Demethoxy-3'-nitroetoposid (XII)

K roztoku 100 mg (0,174 mmol) 3'-aminoetoposidu Va v 5 ml dichlormethanu se během 3 minut přidá 114 mg (0,542 mmol) 80 až 85% m-chlorperbenzoové kyseliny (Aldrich) a směs se 6 dnů míchá při teplotě místnosti. Reakční směs se rozřepe mezi 75 ml nasyceného vodného

roztoku hydrogenuhličitanu sodného a 75 ml dichlormethanu. Vodný podíl se zředí 70 ml fosfátového pufru o pH 7 a 50 ml roztoku chloridu sodného a extrahuje se 20 ml dichlormethanu a 100 ml ethylacetátu. Organické vrstvy se promyjí roztokem chloridu sodného a po vysušení síranem sodným se zahustí ve vakuu. Zbytek se podrobí velmi rychlé chromatografii na silikagelu za použití 2 až 5% methanolu v dichlormethanu jako elučního činidla. Získá se 83,7 mg (82 %) čisté sloučeniny uvedené v názvu.

IR (KBr-technika): 3460, 1775, 1630, 1550, 1492, 1455, 1393, 1340, 1275, 1240, 1160, 1100, 1080, 1040, 935, 890, 760, 705 cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (deuteriochloroform, hodnoty δ): 7,42 (d, 1H, $J = 1,6$ Hz), 6,83 (s, 1H), 6,76 (d, 1H, $J = 1,6$ Hz), 6,44 (s, 1H), 5,99 (d, 2H), 4,93 (d, 1H, $J = 3,2$ Hz), 4,72 (q, 1H, $J = 5$ Hz), 4,62 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz), 4,59 (d, 1H, $J = 5,4$ Hz), 4,42 (dd, 1H), 4,23 (dd, 1H), 4,15 (dd, 1H), 3,94 (s, 3H), 3,71 (dd, 1H), 3,55 (m, 1H), 3,41 (dd, 1H), 3,37 - 3,27 (m, 3H), 2,81 - 2,73 (m, 1H), 1,37 (d, 3H, $J = 5$ Hz).

$^{13}\text{C-NMR}$ (deuteriochloroform, hodnoty δ): 174,6, 149,3, 149,1, 147,6, 145,6, 133,2, 131,0, (2 C), 128,5, 121,3, 116,3, 110,2, 109,2, 102,0, 101,7, 99,7, 79,6, 74,4, 73,5, 73,0, 68,0, 67,9, 66,4, 56,7, 43,0, 40,7, 37,3, 20,1.

Příklad 25

3'-Demethoxy-3'-diazoniumetoposid-hydroxid (vnitřní sůl (Xa))

K roztoku 0,22 g (0,384 mmol) 3'-aminoetoposidu Va v 17 ml suchého tetrahydrofuranu se za míchání pod dusíkem při teplotě 0 $^{\circ}\text{C}$ přidá nejprve 3,0 ml (26,2 mmol) ledové kyseliny octové a pak 0,15 g (2,17 mmol) dusitanu sodného. Reakční směs se 3,4 hodiny míchá při teplotě 0 $^{\circ}\text{C}$ a pak se vylíje do 150 ml dichlormethanu. Tmavě červená organická vrstva se promyje 100 ml vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného, spojené organické extrakty se promyjí 100 ml nasyceného roztoku hydrogenuhličitanu sodného, vysuší se síranem hořečnatým a zahustí se ve vakuu. Získá se 0,177 g (79 %) červeně oranžové pevné látky, která se při stanovení teploty tání pomalu rozkládá při teplotě 150 $^{\circ}\text{C}$.

IR (KBr-technika): 3440 (široký pás), 2930, 2160, 2120, 1779 cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (deuteriochloroform, hodnoty δ): 6,78 (s, 1H), 6,73 (s, 1H), 6,52 (s, 1H), 5,97 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 5,82 (s, 1H), 4,86 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 4,72 (m, 1H), 4,54 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 4,43 (t, $J = 9,0$ Hz, 1H), 4,35 (d, $J = 5,1$ Hz, 1H), 4,26 (t, $J = 8,3$ Hz, 1H), 4,14 (m, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,55 (t, $J = 9,7$ Hz, 1H), 3,40 (t, $J = 8,1$ Hz, 1H), 3,3 (bm, 4H), 3,02 (m, 1H), 1,35 (d, $J = 4,9$ Hz, 3H).

Příklad 26

3'-Demethoxy-3'-azidoetoposid (XI)

K roztoku 210 mg (0,366 mmol) 3'-aminoetopoxidu Va v 10 ml suchého tetrahydrofuranu, ochlazeném na 0 $^{\circ}\text{C}$, se pod dusíkem přidají nejprve 2 ml ledové kyseliny octové a pak 149 mg (2,16 mmol) pevného dusitanu sodného. Směs se míchá 2 hodiny při teplotě 0 $^{\circ}\text{C}$ a 1 hodinu při teplotě místnosti, pak se k ní přidá roztok 110 mg (1,69 mmol) azidu sodného v 1 ml vody a po 15 minutách dalších 200 mg pevného azidu sodného. Reakční směs se 30 minut míchá při teplotě místnosti a pak se rozťepe mezi 100 ml dichlormethanu, 30 ml nasyceného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného a 100 ml vody. Vodný podíl se dále extrahuje dvakrát vždy 40 ml dichlormethanu, spojené organické vrstvy se promyjí 65 ml vody a 75 ml roztoku chloridu sodného, a vysuší se síranem sodným. Po odpaření na rotační odparce se zbytek podrobí chromatografii na 0,45 g silikagelu Merck (0,080 až 0,038 mm), za použití nejprve dichlormethanu a pak 2% methanolu v dichlormethanu jako elučního činidla. Získá se 210 mg (96 %) čisté sloučeniny uvedené v názvu, ve formě zlatožlutého pevného materiálu.

IC (KBr-technika): 3460, 2120, 1775, 1612, 1510, 1490, 1240, 1165, 1080, 1045, 1006, 935, 700 cm^{-1} .

^1H -NMR (deuteriochloroform, hodnoty δ): 6,80 (d, 1H), 6,79 (s, 1H), 6,48 (s, 1H), 5,99 (ABq, 2H), 5,79 (d, 1H, $J = 1,6$ Hz), 4,88 (d, 1H, $J = 3,5$ Hz), 4,73 (q, 1H, $J = 5$ Hz), 4,62 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz), 4,54 (d, 1H, $J = 5,3$ Hz), 4,38 (dd, 1H), 4,23 - 4,15 (m, 2H), 3,85 (s, 3H), 3,74 (m, 1H), 3,56 (m, 1H), 3,41 (dd, 1H), 3,33 - 3,30 (m, 2H), 3,24 (dd, 1H), 2,89 - 2,83 (m, 1H), 1,37 (d, 3H, $J = 5$ Hz).

Příklad 27

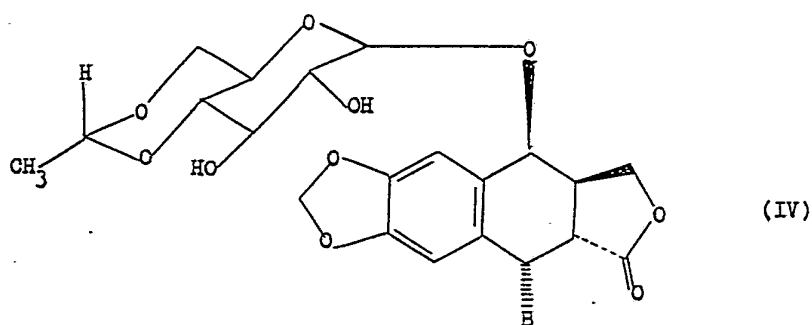
Benzoxazolový derivát etoposidu (VIII)

K roztoku 240 mg (0,419 mmol) 3'-aminoetoposidu Va ve směsi dichlormethanu a methanolu (9 : 1) se přikape 1 ml trimethyl-orthoformátu a 1 až 2 kapky 60% kyseliny chloristé. Reakční směs se 18 hodin míchá při teplotě místnosti, načež se rozpouštědlo odpaří ve vakuu a zbytek se vyčistí preparativní chromatografií na silikagelu za použití směsi dichlormethanu a methanolu (9 : 1) jako elučního činidla. Získá se 80 mg (33 %) sloučeniny uvedené v názvu, ve formě bezbarvé pevné látky.

^1H -NMR (deuteriochloroform, hodnoty δ): 7,97 (s, 1H), 7,18 (bs, 1H), 6,81 (s, 1H), 6,52 (bs, 2H), 5,97 (m, 2H), 4,90 (d, 2H, $J = 3,5$ Hz), 4,75 - 4,71 (m, 2H), 4,64 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz), 4,41 (dd, 1H), 4,20 - 4,15 (m, 2H), 4,02 (s, 3H), 3,76 - 3,72 (m, 1H), 3,58 - 3,54 (m, 1H), 3,45 - 3,41 (m, 1H), 3,37 - 3,32 (m, 3H), 2,95 - 2,90 (m, 1H), 1,37 (d, 3H, $J = 5$ Hz).

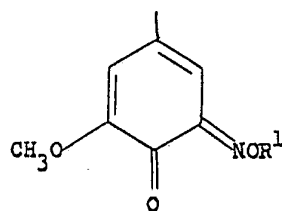
PŘEDMĚT VYNÁLEZU

I. Způsob výroby dusík obsahujících derivátů epipodofylotoxin-glukosidů obecného vzorce IV

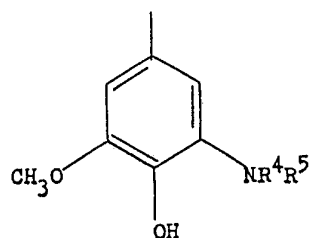


ve kterém

B představuje zbytek vybraný ze skupiny zahrnující zbytky vzorců IVA a IVB



(IVA)

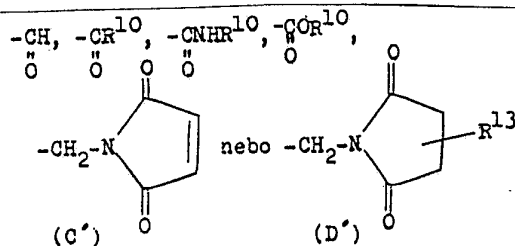


(IVB)

kde

R^1 představuje alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, popřípadě susbtituovanou fenylovou skupinou a

buď R^4 znamená atom vodíku a R^5 atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, alkansulfonylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, zbytek



v nichž

R^{10} představuje alkylovou skupinu s 1 až 5 atomy uhlíku, popřípadě substituovanou 1 až 3 atomy halogenu nebo genylovou skupinou a

R^{13} představuje atom vodíku, alkylthioskupinu s 1 až 10 atomy uhlíku nebo pěti- či šestičlennou heteroaromatickou skupinu obsahující jako heteroatom dusík, nebo

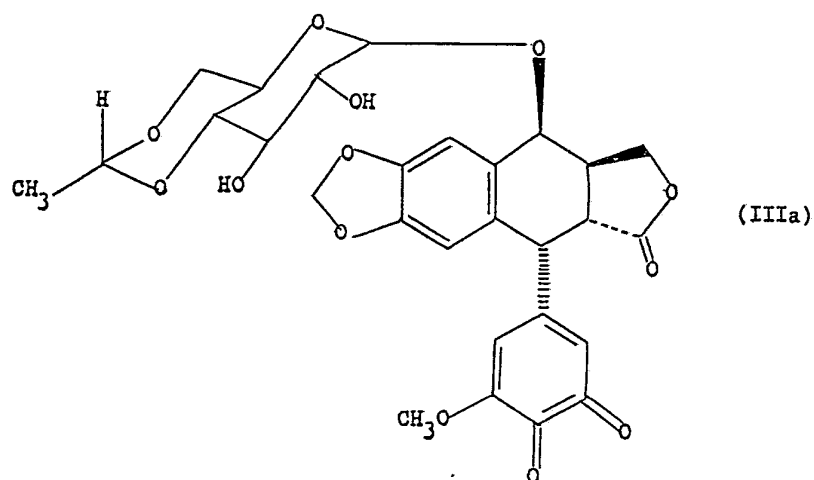
seskupení NR^4R^5 znamená azidoskupinu, nitroskupinu, skupinu $N=CHR^6$ nebo $N=CHNR^7R^8$, kde

R^6 představuje pět- nebo šestičlenný heteroaromatický zbytek obsahující 1 nebo 2 heteroatomy vybrané ze skupiny zahrnující atomy dusíku, kyslíku a síry, nebo znamená fenylovou skupinu popřípadě substituovanou 1 až 3 substituenty vybranými ze skupiny zahrnující alkoxy skupiny s 1 až 4 atomy uhlíku a nitroskupinu a

R^7 a R^8 nezávisle na sobě znamenají vždy alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, nebo

NR^4R^5 společně se sousedící hydroxylovou skupinou tvoří vnitřní diazonium-hydroxid nebo nakondenzovaný oxazolový zbytek,

vyznačující se tím, že se etoposid-ortho-chinon vzorce IIIa



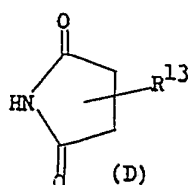
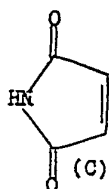
nechá reagovat s aminoderivátem obecného vzorce



kde

A znamená atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku nebo zbytek OR^1 , kde R^1 má shora uvedený význam,

produkt této reakce v případě, že A znamená shora definovaný zbytek OR^1 , se podrobí redukci a výsledná sloučenina se popřípadě, k zavedení symbolu R^5 odlišného od atomu vodíku nebo k vytvoření shora definovaného zbytku NR^4R^5 , podrobí reakci s činidlem vybraným ze skupiny zahrnující odpovídající acylační činidla, sulfonylační činidla, estery uhličitých kyselin, substituované isokyanáty, alkylační činidla, aldehydy obecného vzorce R^6CHO , kde R^6 má shora uvedený význam, trialkoxyestery obecného vzorce $\text{HC}(\text{Oalk})_3$ a amid-acetaly obecného vzorce $(\text{alkO})_2\text{CHNR}^7\text{R}^8$, kde alk znamená alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku a R^7 a R^8 mají shora uvedený význam, diazotační činidla s případným následujícím působením azidů alkalických kovů, perkyseliny a cyklické imidy vzorců C a D



kde

R^{13} má shora uvedený význam, v přítomnosti formaldehydu.

2. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se aminoderivát obecného vzorce H_2NA , v němž A znamená zbytek OR^1 , kde R^1 má shora uvedený význam, nasazuje k reakci ve formě adiční soli s kyselinou.

3. Způsob podle bodů 1 a 2, vyznačující se tím, že se reakce sloučeniny vzorce IIIa s aminoderivátem obecného vzorce H_2NA definovaným v bodu 2, nebo s jeho adiční solí s kyselinou, provádí v organickém rozpouštědle, jako v pyridinu, při teplotě místnosti.

4. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se redukce produktu reakce sloučeniny vzorce IIIa se sloučeninou obecného vzorce H_2NA , kde A znamená shora definovaný zbytek OR^1 , nebo s její adiční solí s kyselinou, provádí hydrogenací v přítomnosti katalyzátoru na bázi platiny, paladia, niklu, ruthenia nebo rhodia.