



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

205027
(11) (B2)

[51] Int. Cl.³
C 07 H 5/06

[22] Přihlášeno 09 12 76
[21] (PV 284-79)

[32] [31] [33] Právo přednosti od 10 12 75
(16042/75) Švýcarsko

[40] Zveřejněno 31 07 80

[45] Vydáno 15 01 84

[72]
Autor vynálezu

BASCHANG GERHARD dr., BETTINGEN (Švýcarsko), HARTMANN
ALBERT dr., GRENZACH (NSR), STANEK JAROSLAV dr.,
BIRSFELDEN a SELE ALEX, MUTTENZ (Švýcarsko)

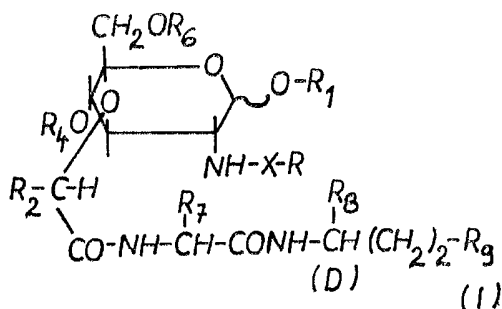
[73]
Majitel patentu

CIBA-GEIGY AG, BASILEJ (Švýcarsko)

[54] Způsob výroby glukosaminových derivátů

1

Předmětem vynálezu je způsob výroby nových glukosaminových derivátů, zejména glukosamino-3-alkanoyldipeptidů, především sloučenin obecného vzorce I



v němž

X znamená karbonylovou skupinu nebo sulfonylovou skupinu,

R znamená alkylový zbytek s 1 až 18 atomy uhlíku nebo fenylový zbytek,

R₁ znamená vodík nebo alkylový zbytek s 1 až 5 atomy uhlíku, nebo benzylový zbytek,

R₂ znamená vodík nebo alkylovou skupinu s 1 až 5 atomy uhlíku,

2

R₄ a R₆ znamenají vodík nebo acylový zbytek se 2 až 18 atomy uhlíku,

R₇ znamená vodík, alkylovou skupinu s 1 až 5 atomy uhlíku, hydroxymethylovou skupinu nebo fenylovou skupinu,

R₈ znamená popřípadě esterifikovanou nebo amidovanou karboxylovou skupinu a

R₉ znamená popřípadě esterifikovanou skupinu nebo amidovanou karboxylovou skupinu s tím, že

alkylový zbytek ve významu symbolu R obsahuje více než 1 atom vodíku, jestliže X znamená karbonylovou skupinu a zbytek R₂ znamená methylovou skupinu, nebo jestliže X znamená karbonylovou skupinu, zbytek R₂ znamená vodík a R₈ a R₉ představují karboxylovou skupinu, jakož i jejich farmaceuticky použitelných adičních solí s kyselinami.

V další části se výrazem „nižší“ u zbytků radikálů nebo sloučenin rozumí, pokud není uvedeno jinak, výhodně zbytky obsahující až 7, především až 4 atomy uhlíku.

Alkylovou skupinou je například skupina isopropylová, přímá nebo rozvětvená, v libovolné poloze vázaná skupina butylová, pentylová, hexylová nebo heptylová a především skupina methylová, ethylová nebo n-propylová.

Případně esterifikovanou nebo amidovanou karboxylovou skupinou je především karboxylová skupina samotná nebo karboxylová skupina esterifikovaná nižším alkoholem, jako methanolem nebo ethanolem nebo také karbamoylová skupina, která je na atomu dusíku nesubstituována nebo je disubstituována alkylovou skupinou, zejména nižší alkylovou skupinou, arylovou skupinou, především fenylovou skupinou nebo aralkylovou skupinou, jako benzylovou skupinou.

Karbamoylová skupina může obsahovat také alkylidenovou skupinu, jako skupinu butylidenovou nebo skupinu pentylidenovou. Karbamoylová skupina R_3 může obsahovat na atomu dusíku také karbamoylmethylou skupinu.

Acylovou skupinou je zejména acylová skupina organické kyseliny, zejména organické karboxylové kyseliny. Tak je acylovou skupinou zejména alkanoylová skupina, především se 2 až 12 atomy uhlíku, jako skupina acetylová nebo propionylová, nebo také skupina aroylová jako 1-naftoylová, 2-naftoylová a zejména benzoylová nebo halogenem, nižším alkylem, nižším alkoxykem, trifluormethylem, hydroxyskupinou nebo nižší alkanoyloxyskupinou substituovaná skupina benzoylová nebo naftoylová, nebo také acylový zbytek organické sulfonové kyseliny, například alkansulfonové kyseliny, zejména nižší alkansulfonové kyseliny, jako methansulfonové kyseliny nebo ethansulfonové kyseliny, nebo arylsulfonové kyseliny, zejména fenylsulfonové kyseliny, která je popřípadě substituována nižším alkylem, jako benzensulfonové kyseliny nebo p-toluensulfonové kyseliny.

Ve shora uvedených sloučeninách, ve kterých R_2 znamená alkylovou skupinu, je zbytek amidu R_2 -octové kyseliny spojený s atomem kyslíku v poloze 3 glukosaminového zbytku opticky aktivní, tj. vyskytuje se v D-formě. Jestliže R_7 neznámá vodík, je R_7 -aminoctová kyseliny přítomna v L-formě.

Nové sloučeniny podle tohoto vynálezu jsou vždy podle druhu svých substituentů neutrálními, kyselými nebo zásaditými sloučeninami. Jestliže v těchto sloučeninách jsou přítomny nadbytečné kyselé skupiny, tvoří tyto sloučeniny soli s bázemi, jako amoniové soli nebo soli s alkalickými kovy nebo s kovy alkalických zemin, například se sodíkem, draslíkem, vápníkem nebo hořčíkem. Jsou-li však přítomny nadbytečné zásadité skupiny, pak takové sloučeniny tvoří adiční soli s kyselinami.

Adičními solemi s kyselinami jsou zejména farmaceuticky použitelné, netoxické adiční soli s kyselinami, jako s anorganickými kyselinami, například s chlorovodíkovou kyselinou, bromovodíkovou kyselinou, dusičnou kyselinou, sírovou kyselinou nebo fosforečnými kyselinami nebo s organickými kyselinami, jako s organickými karboxylovými kyselinami, například s octovou ky-

selinou, propionovou kyselinou, glykolovou kyselinou, jantarovou kyselinou, maleinovou kyselinou, hydroxymaleinovou kyselinou, methylemaleinovou kyselinou, fumarovou kyselinou, jablečnou kyselinou, vinnou kyselinou, citrónovou kyselinou, benzoovou kyselinou, skořicovou kyselinou, mandlovou kyselinou, salicylovou kyselinou, 4-aminosalicylovou kyselinou, 2-fenoxybenzoovou kyselinou, 2-acetoxybenzoovou kyselinou, embonovou kyselinou, nikotinovou kyselinou nebo isonikotinovou kyselinou nebo s organickými sulfonovými kyselinami, jako například s methansulfonovou kyselinou, ethansulfonovou kyselinou, 2-hydroxyethansulfonovou kyselinou, ethan-1,2-disulfonovou kyselinou, benzensulfonovou kyselinou, p-toluensulfonovou kyselinou nebo naftalen-2-sulfonovou kyselinou, dále také jiné adiční soli s kyselinami, například takové, které se mohou používat jako meziprodukty, například k čištění volných sloučenin nebo k výrobě jiných solí, jakož i za účelem charakterizování jako jsou například soli s kyselinou pikrovou, pikrolonovou, flaviánovou, fosfowolframovou kyselinou, fosfomolybdenovou kyselinou, chlorplatitovou kyselinou, Reineckeho soli nebo soli s kyselinou chloristou.

Sloučeniny podle vynálezu mají cenné farmakologické vlastnosti, zejména mají výrazný účinek při potencionování imunity. Tento účinek lze prokázat na základě dále popsaných pokusů:

1. Potencionování buněčné imunity in vivo:

Zvýšení přecitlivělosti opožděného typu vůči ovalbuminu u morčat

Morčata (Pirbright) se v nultý den imunizují 10 mg ovalbuminu v kompletním Freundově adjuvans injekcí 0,1 ml směsi obsahující adjuvans a antigen do obou zadních tlapek. Za 4 týdny poté se vyvolá kožní reakce intrakutánní injekcí 100 μ g ovalbuminu v 0,1 ml pufovaného fyziologického roztoku chloridu sodného a kvantitativní vyhodnocení se provede po 24 hodinách na základě reakčního objemu vypočteného pomocí plochy erythemu a přírůstku tloušťky kůže. Přírůstek reakčního objemu specifický pro antigen a pozorovaný po 24 hodinách (opožděná reakce) platí jako míra buněčné imunity. Ovalbumin je příliš slabým imunogenem, aby mohl indukovat opožděnou reakci buď sám jako takový, nebo v emulzi vody v oleji spolu s nekompletním Freundovým adjuvans (10 dílů roztoku ovalbuminu v 0,9% roztoku chloridu sodného se smísí s 8,5 dílu Bayolu F (minerální olej) a 1,5 dílu Arlcelu A (monooleát mannitu), a pro účinné imunizování se musí přidávat v kompletním adjuvans, ku kterému byly přidány mykobakterie (5 mg usmrcených a lyofilizovaných M-butyricum na 10 ml Bayolu F/Arlcelu A). K důkazu účinnosti při po-

tencování imunity testovaných látek se mohou tyto látky přimíchávat místo mykobakterií v dávkách od 10 do 100 μg ke směsi antigenu v oleji.

Glukosaminopeptidy podle tohoto vynálezu mají schopnost dokonale napodobit vliv mykobakterií při popsaném uspořádání pokusu a kvantitativně jej převyšují.

Statisticky významného potencování o-
požděné reakce vůči ovalbuminu lze dosáhnout také tím, že se sloučeniny popsaného typu nepřidávají do směsi antigenu v oleji, ale aplikují se subkutánně v dávkách od 10 do 100 μg na 1 zvíře během několika dnů po imunizaci (například v nultý, 1., 2., 5., 6. a 7. den) v roztoku chloridu sodného.

Tím je ukázáno, že sloučeniny popsaného typu jsou schopny podstatně zvyšovat buněčnou imunitu, a to jak ve směsi s antigenem samotným (účinek adjuvans v užším slova smyslu), tak i při časově a místně odděleném přívodu od injekce antigenu (systemické potencování imunity).

2. Potencování humorální imunity in vivo:

Zvyšování produkce protilátek proti albuminu hovězího séra u myši

Myši (kmen NMRI) se imunizují intraperitoneálně (i. p.) injekcí 10 μg albuminu hovězího séra, prostého sraženin v nultý den. Za 9, 15 a 29 dnů se odeberou vzorky séra a zjistí se obsah protilátek proti albuminu hovězího séra pasivní hemaglutinací. V používané dávce je rozpustný albumin hovězího séra subimmunogenní pro zvířata, kterým se podává, tzn., že není schopen vyvolat žádnou, nebo vyvolá jen zcela nepatrnou produkci protilátek. Dodatečné podání určitých imunopotencujících látek myším před podáním antigenu nebo po podání antigenu vede k vzestupu titru protilátek v séru. Účinek tohoto podání se vyjadřuje hodnotou dosaženého stupně, tj. součtem $\log_2$ rozdílů titru ve třech zmíněných dnech odběru krve.

Sloučeniny podle tohoto vynálezu jsou schopny při intraperitoneálním nebo subkutánním podávání dávky 100 až 300 mg/kg hmotnosti zvířete po pět po sobě následujících dnů (tj. ve dnech 0 až 4) po imunizaci albuminem hovězího séra zvýšit statisticky významně produkci protilátek proti albuminu hovězího séra.

Imunostimulační účinek uvedených sloučenin je na rozdíl od jiných bakteriálních imunoleptik (například LPS z *Escherichia coli*) závislý na antigenu. Injekce nových sloučenin způsobuje zvýšení titru protilátek proti albuminu hovězího séra jen u myši, které byly imunizovány albuminem hovězího séra, nikoli však u myši, které takto imunizovány nebyly. Je velmi pozoruhodné, že subkutánní dávka uvedených sloučenin je právě tak účinná jako dávka při intraperitoneálním podávání, tzn., že pozorovaný

imunopotencující účinek je systemický a není závislý na tom, zda se stimulans podává stejnou cestou jako antigen, případně zda se musí podávat společně ve směsi s antigenem, jako je tomu v případě klasických adjuvancií.

Popsanými pokusy se dokazuje, že sloučeniny popisovaného typu jsou schopny specificky zvyšovat i humorální imunitu, že zlepšují imunologickou odezvu na dráždění a že jejich imunopotencující účinky spočívají na systemickém aktivování imunologické soustavy.

3. Potencování humorální imunity in vitro:

Účinek substituující vliv T-buněk při odezvě na protilátky u slezinných buněk myši na erythrocyty ovcí (SE)

Pro indukci odezvy na protilátky jsou nutné v četných případech lymfocyty z brzlíku (tzv. T-buňky). Tyto buňky spolupracují se vznikajícími lymfocyty, tvořícími protilátky (B-buňky) a pomáhají jim reagovat na stimulování tak zvanými T-závislými antigeny za současné proliferace, diferenciaci a syntézy protilátek. Suspenze slezinných buněk kongenitálně athymických nu/nu myši neobsahují žádné funkční T-buňky a nemohou například tvořit in vitro za přítomnosti erythrocytů z ovcí žádné protilátky proti erythrocytům z ovcí.

Sloučeniny podle tohoto vynálezu jsou s překvapením schopny nahradit funkčně T-buňky v takovýchto kulturách a umožnit tak tvorbou protilátek odezvu proti erythrocytům z ovcí. Přísada těchto látek k nu/nu kulturám slezinných buněk za přítomnosti erythrocytů z ovcí vede během 4 dnů k podstatnému vzestupu počtu buněk, tvořících protilátky. Výsledky ukazují, že uvedené sloučeniny jsou schopny zvyšovat tvorbu humorálních protilátek in vitro a kompenzovat nedostatek T-buněk v systému.

4. Selektivní mitogenita pro B-buňky:

Vliv na stimulaci proliferace v kulturách B-lymfocytů

Suspenze vysoce obohacených B-lymfocytů (buňky z lymfatických uzlin kongenitálně athymických nu/nu myši), jakož i z velké míry čistých nezralých či zralých T-lymfocytů (buňky brzlíku, případně brzlíkové buňky z myši Balb/c, resistentní na kortison, tj. buňky persistentní po 48 hodinách po injekci kortisonu) se inkubují po dobu 3 dnů za přítomnosti testovaných sloučenin. Inkorporace H^3 -thymidinu do lymfocytů během posledních 18 hodin pěstování kultury platí jako míra proliferací aktivity.

Sloučeniny podle tohoto vynálezu jsou mitogenní pro B-lymfocyty (tj. pro předchůdce buněk, tvořících protilátky), nikoli však pro T-lymfocyty.

Jsou tedy schopny podpořit proliferaci lymfocytů, účastnících se na humorální imunologické odpovědi.

5. Snášelnost

Ačkoliv se u sloučenin popisovaného typu jeví potencující účinek u morčat například již po jediné dávce 0,05 mg na 1 kg při subkutánním podávání, a u myši po podání pěti dávek 10 mg na 1 kg subkutánně, nebyly pozorovány u myši ani při podání pěti dávek po 300 mg/kg intraperitoneálně žádné toxické jevy. Uvedené látky mají proto vynikající terapeutickou šíři.

Sloučeniny podle tohoto vynálezu jsou schopny jednak ve směsi s antigenem zvyšovat jeho imunogenitu, na druhé straně zvyšují při systemickém podávání imunologickou reaktivitu léčeného organismu. Přitom jsou uvedené sloučeniny schopny podporovat jak buněčnou, tak i humorální imunitu, a aktivují lymfocyty, které tvoří protilátky.

Nové sloučeniny se mohou tudíž používat jako adjuvancia ve směsi s očkovacími látkami k tomu, aby se zlepšil výsledek očkování a tím i ochrana proti infekci, zprostředkovaná humorální nebo/a buněčnou imunitou, a to proti bakteriím, virům nebo parazitům.

Dále se uvedené sloučeniny hodí ve směsi s nejrůznějšími antigeny jako adjuvancia při pokusné a průmyslové výrobě antisér pro terapii a diagnostiku a pro indukci imunologicky aktivovaných populací lymfocytů při buněčném přenosu.

Kromě toho se mohou nové sloučeniny používat i bez současného přívodu antigenu k tomu, aby se podpořily již slabě probíhající imunologické reakce u lidí a zvířat. Tyto sloučeniny se hodí podle toho zvláště pro stimulování vlastní obrany těla, například při chronických a akutních infekcích nebo při selektivních (specifických na antigen) imunologických defektech, jakož i při vrozených, ale též později získaných obecných (tj. nikoliv na antigen specifických) imunologických defektních stavech, jak se s nimi lze setkat ve stáří, v průběhu těžších primárních onemocnění a především po terapii ionisujícím zářením nebo hormony, které působí tak, že potlačují imunitu. Uvedené látky je možno tedy s výhodou podávat také v kombinaci s antiinfekčními antibiotiky, chemoterapeutiky nebo při jiných způsobech léčení, aby se tak působilo proti imunologickým poškozením.

Konečně jsou popisované látky vhodné také při obecné profylaxi injekčních onemocnění u lidí a zvířat.

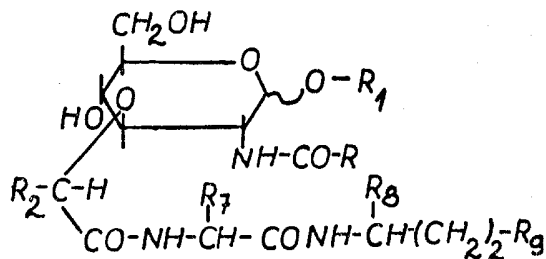
Vynález se týká zejména způsobu výroby sloučenin obecného vzorce I, v němž

X znamená karbonylovou skupinu,
R znamená nižší alkylovou skupinu nebo fenylovou skupinu a

R₁, R₂, R₄, R₆, R₇, R₈ a R₉ mají shora uvedený význam, a jejich soli.

Zvláště cenné jsou také sloučeniny, ve kterých R₂ znamená vodík a ostatní zbytky mají shora uvedený význam, a jejich soli.

Zdůraznit nutno zejména sloučeniny obecného vzorce II



(II)

v němž

R znamená nižší alkylovou skupinu nebo fenylovou skupinu,

R₁ znamená vodík nebo nižší alkylovou skupinu,

R₂ znamená vodík nebo methylovou skupinu,

R₇ znamená vodík, nižší alkylovou skupinu nebo hydroxymethylovou skupinu,

R₈ znamená karbamoylovou skupinu a

R₉ znamená karboxylovou skupinu, s tím, že nižší alkylový zbytek R obsahuje více než 1 atom uhlíku, jestliže R₂ znamená methylovou skupinu, a jejich soli.

Především nutno uvést sloučeniny obecného vzorce II, v němž

R znamená nižší alkylovou skupinu nebo fenylovou skupinu,

R₁ znamená vodík,

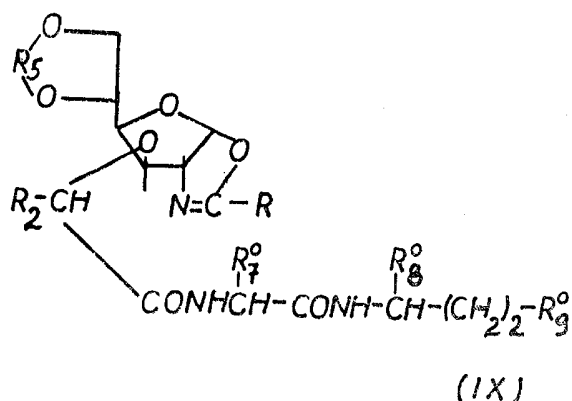
R₂ znamená vodík nebo methylovou skupinu,

R₇ znamená vodík, methylovou skupinu nebo hydroxymethylovou skupinu,

R₈ znamená karbamoylovou skupinu a

R₉ znamená karboxylovou skupinu, s tím, že nižší alkylový zbytek ve významu R obsahuje více než 1 atom uhlíku, jestliže R₂ znamená methylovou skupinu, a jejich soli.

Podle vynálezu se sloučeniny obecného vzorce I vyrábějí tím, že se ve sloučenině obecného vzorce IX



v němž

R a R₂ mají shora uvedený význam, R⁷, R⁸ a R⁹ mají význam symbolů R₇, R₈ a R₉ nebo pokud obsahují volné karboxylové a popřípadě volné hydroxyskupiny, jsou tyto skupiny chráněny snadno odštěpitelnými krycími skupinami, a

R₅ znamená alkylidenovou nebo cykloalkylidenovou skupinu, rozštěpí oxazolinový a dioxolanový kruh za kyselých podmínek, případně přítomné krycí skupiny se odštěpí a do případně volné aminoskupiny v poloze 2 molekuly cukru se zavede zbytek —X—R, v němž X a R mají shora uvedený význam, načež se popřípadě získané soli převedou na volné sloučeniny nebo se získané soli převedou na své fyziologicky použitelné soli s kyselinami.

Alkylidenovou skupinou je zejména nižší alkylidenová skupina, jako isopropylidenová skupina, a cykloalkylidenovou skupinou je především cyklopentylidenová nebo cyklohexylidenová skupina.

Toto štěpení se provádí rovněž o sobě známým způsobem, například působením kyselých iontoměníčů, zejména takových, které obsahují sulfoskupiny, jako je „Amberlite IR-120“ (styrenová pryskyřice se silně kyselými sulfoskupinami) nebo „Dowex 50“ (polystyren-sulfonové kyseliny), nebo působením silných anorganických nebo organických kyselin, jako je kyselina chlorovodíková, kyselina bromovodíková, kyselina sírová nebo sulfonové kyseliny, například methansulfonová kyselina, nebo popřípadě v aromatickém kruhu substituovaná fenylnsulfonová kyselina, jako p-toluen-sulfonová kyselina nebo trifluoroctová kyselina. Pracuje-li se přitom v přítomnosti vody, získá se v poloze 1 volná hydroxyskupina; pracuje-li se naproti tomu v přítomnosti alkoholu vzorce HO—R₁, v němž R₁ znamená popřípadě substituovaný alkylový zbytek, pak se získá 1-O-R₁-derivát. Je-li také některá z karboxylových skupin ve významu symbolu R₈ nebo/a R₉ esterifikována alkoholem, zejména nižším alkanolem, dá se tato skupina zmýdelnit zejména při vyšší teplotě působením vodného roztoku kyseliny.

Je však také možné, že se při štěpení u-

volní aminoskupina v poloze 2 molekuly cukru. V tomto případě se musí dodatečně zavést zbytek —X—R, v němž X a R mají shora uvedený význam. Toto zavedení se provádí obvyklým způsobem acylací nebo sulfonací.

V získaných sloučeninách se dají krycí skupiny na peptidovém zbytku dodatečně odštěpit, například hydrogenolýzou, jako například katalyticky aktivovaným vodíkem nebo hydrolýzou.

Výchozí látky používané při tomto postupu se dají získat například tím, že se do příslušného oxazolinu s volnou hydroxyskupinou v poloze 3 zbytku cukru zavede R₂-acetamidopeptidový zbytek v jednom nebo v několika stupních.

Získané sloučeniny se mohou o sobě známým způsobem převádět na své soli, například reakcí získaných kyselých sloučenin s hydroxidy alkalických kovů nebo s hydroxidy kovů alkalických zemin nebo reakcí získaných bazických sloučenin s kyselinami.

Shora popsání postupy se provádějí o sobě známými metodami, v nepřítomnosti nebo výhodně v přítomnosti ředidla nebo rozpouštědla, popřípadě za chlazení nebo za zahřívání, za zvýšeného tlaku nebo/a v atmosféře inertního plynu jako v atmosféře dusíku.

Přitom je možno s přihlédnutím ke všem substituentům nacházejících se v molekule, popřípadě, zejména v přítomnosti snadno hydrolyzovatelných O-acylových zbytků, používat zvláště šetrných reakčních podmínek, jako jsou krátké reakční doby, používat mírná kyselá nebo zásaditá činidla v nižší koncentraci, používat stechiometrických poměrů, volit vhodné katalyzátory, rozpouštědla, teploty nebo/a tlakové podmínky.

Vynález se rovněž týká farmaceutických stupů, při nichž se jako výchozí látky používají sloučeniny, která byla získána jako meziprodukt na libovolném stupni postupu a provedou se chybějící stupně, nebo se postup na libovolném stupni přeruší, nebo se výchozí látka tvoří za reakčních podmínek nebo se používá ve formě reaktivního derivátu nebo soli. Přitom se výhodně používá takových výchozích látek, které podle vynálezu vedou ke sloučeninám, které byly shora popsány jako zvláště cenné.

Vynález se rovněž týká farmaceutických přípravků, které obsahují sloučeniny vzorce I. U farmaceutických přípravků podle vynálezu se jedná o přípravky k enterálnímu, jako orálnímu nebo rektálnímu, jakož i k parenterálnímu podávání teplokrevným, a které obsahují farmakologicky účinnou látku samotnou nebo společně s farmaceuticky použitelným nosičem. Dávka účinné látky je závislá na druhu teplokrevného jedince, stáří a individuálním stavu, jakož i na způsobu aplikace.

Nové farmaceutické přípravky obsahují asi 10 % až asi 95 %, výhodně od asi 20 % do asi 90 % účinné látky. Farmaceutické

přípravky podle vynálezu mohou být přitomny například ve formě jednotlivých dávek jako jsou dražé, tablety, kapsle, čípky nebo ampule.

Farmaceutické přípravky podle předloženého vynálezu se vyrábějí o sobě známým způsobem, například pomocí běžných mísicích, granulačních, dražovacích, rozpouštěcích nebo lyofilizačních postupů. Kromě způsobů aplikace zmíněných shora, mohou se farmaceutické přípravky vyrábět také ve formě vhodné zejména pro orální aplikaci tím, že se účinná látka smísí s pevnými nosnými látkami, získaná směs se popřípadě granulují a směs popřípadě granulát, popřípadě po přidání vhodných pomocných látek, se zpracovává na tablety nebo na jádra dražé.

Vhodnými nosnými látkami jsou zejména plnidla, jako cukry, například laktóza, sacharóza, mannit nebo sorbit, celulózy, přípravy nebo/a fosforečnany vápenaté, například fosforečnan vápenatý nebo střední fosforečnan vápenatý, dále pojidla, jako zmazovatelný škrob za použití například kuřičného škrobu, pšeničného škrobu, rýžového škrobu nebo bramborového škrobu, želatina, tragant, methylcelulóza, hydroxypropylmethylcelulóza, natriumkarboxymethylcelulóza nebo/a polyvinylpyrrolidon, nebo/a popřípadě látky umožňující rozpad tablet jako jsou shora uvedené škroby, dále karboxymethylškrob, zesítný polyvinylpyrrolidon, agar, kyselina alginová nebo její sůl jako alginát sodný, pomocné látky, kterými jsou především regulátory tekutosti a látky lubrikační jako je například kyselina křemičitá, mastek, kyselina stearová nebo její soli jako hořečnatá sůl nebo vápenatá sůl kyseliny stearové, nebo/a polyethylenglykol.

Jádra dražé se opatřují vhodnými povlaky, které jsou popřípadě resistentní vůči účinku žaludečních šťáv, přičemž se kromě jiného používá koncentrovaných roztoků cukrů, které popřípadě obsahují arabskou gumu, mastek, polyvinylpyrrolidon, polyethylenglykol nebo/a kysličník titaničitý, dále roztoků laků ve vhodných organických rozpouštědlech nebo směsích rozpouštědel, nebo k výrobě povlaků resistentních vůči účinkům žaludečních šťáv, roztoky vhodných celulóзовých derivátů, jako je ftalát acetylcelulózy nebo ftalát hydroxypropylmethylcelulózy. Tablety nebo jádra dražé mohou obsahovat přídavek barviv nebo pigmentů, například k rozlišení nebo k identifikaci různých dávek účinné látky.

Následující příklady ilustrují shora popsaný vynález. Tyto příklady rozsah vynálezu v žádném případě neomezuji. Teploty jsou udávány ve stupních Celsia.

Příklad 1

3,77 g 2-fenyl-4,5-[3-O-(D-1-karboxyethyl)-5,6-O-isopropyliden-D-glukofura-

no]- Δ^2 -oxazolinu v 60 ml acetonitrilu a 15 ml dimethylformamidu se míchá společně s 1,4 ml triethylaminu a 2,55 g N-ethyl-5-fenylisoxazolium-3'-sulfonátu 1,5 hodiny při teplotě 0 °C, přičemž téměř všechny složky přejdou do roztoku. Potom se přidá 3,44 g hydrochloridu 1-amido- γ -benzylesteru L-alanyl-D-glutamové kyseliny a dalších 1,4 ml triethylaminu a reakční směs se ponechá míchat 24 hodin při teplotě místnosti. Potom se reakční směs odpaří ve vakuu olejové pumpy na sirup a tento sirupovitý produkt se chromatografuje na silikagelu za použití směsi chloroformu a acetonu (8/2). Získá se bezbarvý sirup, který při roztírání s etherem krystaluje. Teplota tání 96 až 99 °C, $[\alpha]_D^{20} = +13^\circ$ (v chloroformu).

Krystalický benzylester se hydrogenuje v přítomnosti 5% paládia na uhlí v dioxanu při teplotě místnosti a atmosférickém tlaku a skýtá po odpaření ve vakuu příslušnou kyselinu ve formě sirupu.

Tento sirup se míchá ve vodě s 10 ml „Dowex-50“ v H^+ -cyklu při teplotě místnosti po dobu 15 hodin. Po filtraci a vysušení vymrazením se získá bezbarvý prášek o teplotě rozkladu 140 °C. Získaná 2-benzoylamino-3-O-D-1-[L-1-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl)-1-karbamoylethyl]-karbamoylethyl/-2-deoxy- α,β -D-glukóza obsahuje vždy podle podmínek sušení měnící se množství krystalické vody, ve shora uvedeném případě po sušení při 60 °C, 1,3 Pa, při 15 hodinách: 1/3 mol krystalické vody.

Příklad 2

6,0 g 2-fenyl-4,5-[3-O-(D-1-karboxypropyl)-5,6-O-isopropyliden-D-glukofurano]- Δ^2 -oxazolinu, 4,03 g N-ethyl-5-fenylisoxazolium-3'-sulfonátu a 2,25 ml triethylaminu se míchá ve 100 ml acetonitrilu a 25 ml dimethylformamidu 1 hodinu při teplotě 0 až 5 °C, přičemž vše přejde do roztoku. Potom se přidá 5,55 g hydrochloridu 1-amido- γ -benzylesteru L-alanyl-D-glutamové kyseliny a dalších 2,35 ml triethylaminu a reakční směs se míchá 48 hodin při teplotě místnosti. Reakční směs se odpaří ve vakuu olejové vývěvy a produkt se chromatografuje na silikagelu za použití směsi chloroformu a ethanolu (19:1). 9 g takto získaného bezbarvého sirupu se hydrogenuje v dioxanu za použití 5% paládia na uhlí, katalyzátor se odfiltruje, filtrát se odpaří ve vakuu a zbytek se hydrolyzuje ve směsi 40 ml tetrahydrofuranu a 30 ml vody za použití 1,5 ml trifluoroctové kyseliny při teplotě místnosti. Potom se odpaří voda ve vakuu čtyřikrát k suchu, zbytek se rozpustí ve vodě a lyofilizuje se. Získaná 2-benzoylamino-3-O-D-1-[L-1-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl)karbamoylethyl]karbamoylpropyl/-2-deoxy- α,β -D-glukóza krystaluje s 0,5 mol vody, teplota tání 114 až 152 °C, $[\alpha]_D^{20} = +17^\circ$ (v methanolu).

Příklad 3

3,63 g 2-fenyl-4,5-[3-O-karboxymethyl-5,6-O-isopropyliden-D-glukofurano]- Δ^2 -oxazolinu, 3,43 g hydrochloridu 1-amido- γ -benzylesteru L-alanyl-D-glutamové kyseliny, 1,21 g N-hydroxysukcinimidu, 2,16 g dicyklohexylkarbodiimidu a 1,45 ml triethylaminu se rozpustí ve 40 ml dimethylformamidu a směs se míchá 24 hodin při teplotě místnosti. Potom se reakční směs odpaří ve vakuu olejové vývěvy, zbytek se vyjme dichlorethanem a vodou, vyloučená dicyklohexylmočovina se odfiltruje a organická fáze se dvakrát vytřepává s vodou a vodná fáze se dvakrát extrahuje dichlorethanem. Po vysušení a odpaření organické fáze se získá sirup, který se chromatografuje na silikagelu za použití směsi chloroformu a ethanolu (9:1) jako elučního činidla. Získaný peptidester, který krystaluje při roztírání s etherem taje při 167 až 168 °C, $[\alpha]_D^{20} = -5^\circ$ (chloroform).

4,5 g shora uvedeného esteru se hydrogenuje v dioxanu za použití 5% paládia na uhlí, poté se katalyzátor odfiltruje a znovu se extrahuje ethanolem. Spojené filtráty se odpaří a zbytek se překrystaluje z isopropylalkoholu. Získaná kyselina taje při 200 až 207 °C.

2,85 g této kyseliny se míchá ve směsi sestávající z 30 ml vody a 15 ml tetrahydrofuranu a 5 ml „Dowex-50“ v H^+ -cyklu 15 hodin při teplotě místnosti, poté se směs zfiltruje a filtrát se odpaří ve vakuu k suchu. Při roztírání s etherem se získá bezbarvý prášek, který představuje 2-benzylamino-3-O-/[L-1-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl)-1-karbamoylethyl]karbamoylethyl/-2-deoxy- α,β -D-glukózu o teplotě tání 175 až 177 °C (ve formě hydrátu).

Obměnou metody popsané v Acta Chem. Scand. 18, 185 (1964) se dá výchozí látka vyrobit následujícím postupem:

100 g 2-fenyl-4,5-[5,6-O-isopropyliden-D-glukofurano]- Δ^2 -oxazolinu se rozpustí za vyloučení vlhkosti a kysličníku uhlíčitého v 1 litru acetonitrilu a k tomuto roztoku se po částech přidá 15,2 g 55% disperze hydridu sodného v minerálním oleji za dobrého míchání a reakční směs se dále míchá 1 hodinu při teplotě místnosti. Potom se při teplotě 0 °C přikape 42 ml ethylesteru chloroctové kyseliny a po další 1,5 hodině se přikape dalších 42 ml. Po 1,5 hodině se přidá znovu 11,4 g disperze hydridu sodného, směs se míchá půl hodiny a při 0 °C se přikape dalších 42 ml ethylesteru chloroctové kyseliny. Po dalších 2 hodinách se nechá reakční směs zahřát na teplotu místnosti a odpaří se ve vakuu — nakonec ve vakuu vodní vývěvy — za vzniku sirupu. Tento sirup se vyjme etherem, etherický roztok se třikrát protřepává s vodou, etherická fáze se vysuší síranem sodným a po odpaření se získá 155 g hnědého oleje. Tento olej se rozpustí ve 150 ml methanolu a

pak se přidá roztok 30 g hydroxidu draselného ve 150 ml vody, dvakrát se extrahuje etherem a etherická fáze se jedenkrát promyje vodou. Vodné fáze se ve vakuu zbaví etheru a přidávkem 1 N roztoku kyseliny chlorovodíkové se hodnota pH upraví na 4 (úprava se sleduje pomocí pH-metru).

Vyloučený krystalický 2-fenyl-4,5-[3-O-(karboxymethyl)-5,6-O-isopropyliden-D-glukofurano]- Δ^2 -oxazolin se odfiltruje, promyje se vodou a vysuší se. Získá se 107 g, tj. 93 % teorie produktu o teplotě tání 186 až 188 °C, $[\alpha]_D^{20} = -9^\circ$ (chloroform, c = 0,9), a $[\alpha]_D^{20} = -23^\circ$ (chloroform, c = 3).

Příklad 4

6,33 g 2-fenyl-4,5-[3-O-karboxymethyl-5,6-O-isopropyliden-D-glukofurano]- Δ^2 -oxazolinu, 5,75 g 2-ethoxy-N-ethoxykarbonyl-1,2-dihydrochinolinu a 9,3 ml triethylaminu se přidá k roztoku trifluoracetátu dibenzylesteru L-alanyl-D-glutamové kyseliny [získané z 8,3 g dibenzylesteru N-terc-butyloxykarbonyl-L-alanyl-D-glutamové kyseliny s 5,1 ml trifluoroctové kyseliny a 2,6 mililitru dichlorethanu 4hodinovou hydrolyzou při 40 °C] v 70 ml dichlorethanu. Reakční směs se nechá reagovat 15 hodin při 40 °C, zředí se chloroformem, dvakrát se protřepává vodou a vodné fáze se jednou vytřepává chloroformem. Po vysušení síranem sodným a odpaření chloroformového roztoku se získá 19,9 g oleje, který se čistí přes 400 g silikagelu (Merck) vymýváním etherem a potom směsí chloroformu a acetonu 17 : 3. Takto se získá čistý 2-fenyl-4,5-[3-O-(1-L-/1-D,3-dibenzylloxykarbonylpropyl/karbamoylethyl]karbamoylmethyl-5,6-O-isopropyliden-D-glukofurano]- Δ^2 -oxazolin o teplotě tání 113 až 116 °C a $[\alpha]_D^{20} = -47^\circ$ ($CHCl_3$, c = 1,54).

7 g shora uvedeného sloučeniny se hydrogenuje v přítomnosti 1,8 g 5% paládia na uhlí ve směsi 80 ml tetrahydrofuranu a 20 mililitrů vody až do ustání spotřeby vodíku, načež se katalyzátor odfiltruje, filtrát se odpaří ve vakuu a zbytek se rozetře s etherem. Takto se získá 4,9 g dikarboxylové kyseliny ve formě bezbarvého prášku.

4,4 g shora uvedeného dikarboxylové kyseliny se míchá 10 hodin při teplotě 40 °C s 11 mililitry iontoměníče „Dowex-50 W X 4“ ve směsi sestávající z 45 ml tetrahydrofuranu a 20 ml vody. Po filtraci a vyčištění aktivním uhlím (Darco G 60), vysušení vymrazením roztoku se získá bezbarvá, amorfni 2-benzamido-2-deoxy-3-O-[1-L-(1-D,3-dikarboxypropyl)karbamoylethyl]karbamoylmethyl-D-glukopyranosa s optickou rotací $[\alpha]_D^{20} = +25^\circ$ (H_2O , c = 0,997).

Příklad 5

Analogickým způsobem jako v příkladu 4 se kondenzuje 5,7 g 2-fenyl-4,5-[3-O-karb-

oxymethyl-5,6-O-isopropyliden-D-glukofurano]- Δ^2 -oxazolinu s 4,9 g hydrochloridu γ -terc.butylesteru α -amidu L-seryl-D-glutamové kyseliny za přídavku 2,3 ml triethylaminu a 5,2 g 2-ethoxy-N-ethoxykarbonyl-1,2-dihydrochinolinu ve 45 ml dichlorethanu. Po 18 hodinách při 40 °C vznikne krystalizát. Potom se přidá dalších 50 ml dichlorethanu, směs se ochladí v ledu, zfiltruje se a krystaly se promyjí studeným dichlorethanem. Analytický čistý, bezbarvý krystaly 2-fenyl-4,5-[3-O-(1-L-/1-D-karbamoyl-3-terc.butylloxykarbonylpropyl/karbamoyl-2-hydroxyethyl)-karbamoylmethyl-5,6-O-isopropyliden-D-glukofurano]- Δ^2 -oxazolinu mají teplotu tání 187 až 188 °C a $[\alpha]_D^{20} = +7^\circ$ (CH₃OH, $c = 1,125$).

2 g této sloučeniny se hydrolyzují při teplotě místnosti po dobu 20 hodin směsí 15 ml methylenchloridu a 5 ml trifluoroctové kyseliny. Směs se odpaří ve vakuu olejové vývěvy, zbytek se rozetře s etherem a získá se 2-benzamido-2-deoxy-3-O-[1-L-(1-D-karbamoyl-3-karboxypropyl)karbamoyl-2-hydroxyethyl]karbamoylmethyl-D-glukopyranosa ve formě běžového prášku o teplotě tání 100 až 115 °C, $[\alpha]_D^{20} = +23^\circ$ (H₂O, $c = 0,886$), která krystaluje se 2 mol vody a 1 mol trifluoroctové kyseliny. Hodnota $R_f = 0,28$ (směs chloroformu a methanolu 1:1, chromatografie na tenké vrstvě).

Příklad 6

Analogickým způsobem jako v příkladu 4 se kondenzuje 5,25 g 2-fenyl-4,5-[3-O-karbomethyl-5,6-O-isopropyliden-D-glukofurano]- Δ^2 -oxazolinu se solí γ -benzylesteru α -n-propylamidu L-alanyl-D-glutamové kyseliny s trifluoroctovou kyselinou, která byla získána z 6,2 g γ -benzylesteru α -n-propylamidu N-terc.butylloxykarbonyl-L-alanyl-D-glutamové kyseliny a 4,2 ml trifluoroctové kyseliny v 2,5 ml dichlorethanu během 6 hodin při 40 °C, v 60 ml dichlorethanu za přídavku 7,75 ml triethylaminu a 4,8 g 2-ethoxy-N-ethoxykarbonyl-1,2-dihydrochinolinu. Po 20 hodinách při 40 °C se reakční směs zředí 50 ml chloroformu, dvakrát se protřepává s vodou a voda se potom dvakrát extrahuje chloroformem. Po vysušení a zahuštění chloroformových fází se získá 15 g oleje, který se čistí přes 200 g silikagelu za použití etheru a poté směsí chloroformu a acetonu (7:3) jako elučního činidla. Získá se 6,4 g bezbarvé, amorfni látky o hodnotě $R_f = 0,35$, směs chloroformu a acetonu 7:3 (chromatografie na tenké vrstvě, silikagel, Merck).

Tato látka se potom hydrogenuje v přítomnosti 1,2 g 5% paládia na uhlí v 80 ml tetrahydrofuranu a 20 ml vody až do ustání spotřeby vodíku, katalyzátor se odfiltruje a filtrát se zahustí. Kyselina má hodnotu $R_f = 0,58$ (směs chloroformu a methanolu 3:1,

chromatografie na tenké vrstvě silikagelu, Merck). Potom se míchá s 10 ml iontoměniče „Dowex 50—W x 4“, 50 ml tetrahydrofuranu a 25 ml vody 15 hodin při teplotě místnosti a 12 hodin při teplotě 40 °C. Po filtraci, vyčerpání aktivním uhlím (Darco-G-60), opětovné filtraci a vysušení vymražením se získá bezbarvá amorfni 2-benzamido-2-deoxy-3-O-[1-L-(1-D-N-n-propylkarbamoyl-3-karboxypropyl)karbamoylethyl]-karbamoylmethyl-D-glukopyranosa o teplotě tání 65 až 140 °C $[\alpha]_D^{20} = 28^\circ$ (voda, $c = 1,03$), $R_f = 0,48$ (směs chloroformu a methanolu 1:1, chromatografie na tenké vrstvě silikagelu, Merck).

Příklad 7

7,3 g 2-fenyl-4,5-[3-O-karbomethyl-5,6-O-isopropyliden-D-glukofurano]- Δ^2 -oxazolinu, 6,5 g hydrochloridu γ -terc.butylesteru α -amidu α -aminoisobutyroyl-D-glutamové kyseliny a 2,9 g isobutylesteru chlormravenčí kyseliny se rozpustí ve 25 ml dimethylformamidu a 50 ml dichlorethanu. K této směsi se přikape při teplotě -15 až -10 °C během 30 minut roztok 6,1 ml triethylaminu v 20 ml dichlorethanu. Potom se nechá směs zahřát na teplotu místnosti a míchá se ještě 15 hodin při teplotě místnosti. Reakční směs se zředí 50 ml dichlorethanu, potom se protřepává s vodou, dvakrát s 0,5 N roztokem hydroxidu sodného a třikrát s vodou, vodné fáze se dvakrát extrahuje dichlorethanem, organické fáze se vysuší a po odpaření se získá 16,6 g oleje. Tento olej se čistí na silikagelu, Merck, vymýváním směsí chloroformu a ethanolu 19:1. Získá se 9,7 g bezbarvého amorfniho 2-fenyl-4,5-/3-O-[1-methyl-1-(1-D-karbamoyl-3-terc.butylloxykarbonylpropyl)karbamoylethyl]-5,6-O-isopropyliden-D-glukofurano/- Δ^2 -oxazolinu s optickou rotací $[\alpha]_D^{20} = +6^\circ$ (chloroform, $c = 1,027$), teplota tání = 75 až 89 °C, hodnota $R_f = 0,35$, směs chloroformu a ethanolu 9:1 (chromatografie na tenké vrstvě silikagelu, Merck).

8,3 g shora uvedené sloučeniny se ponechá v klidu 15 hodin při teplotě místnosti ve směsi z 20 ml trifluoroctové kyseliny, 60 ml methylenchloridu a 2 ml vody. Poté se směs odpaří ve vakuu a zbytek se roztírá s etherem. Vzniklý růžově zbarvený prášek se rozpustí v 200 ml vody a vyčerpá se pomocí 0,5 g aktivního uhlí (Darco-G-60). Po filtraci a odpaření se získá bezbarvá, amorfni 2-benzamido-2-deoxy-3-O-[1-methyl-1-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl)-karbamoylethyl]karbamoylmethyl-D-glukopyranosa o teplotě tání 110 až 120 °C, $[\alpha]_D^{20} = +31^\circ$ (H₂O, $c = 0,88$), $R_f = 0,52$ (směs acetonu a ethanolu 1:1, chromatografie na tenké vrstvě silikagelu, Merck), která krystaluje s 0,6 mol trifluoroctové kyseliny a 1,7 mol vody.

Příklad 8

Analogickým postupem jako je popsán v příkladu 4 se z 2-benzamido-2-deoxy-3-O-karboxymethyl- β -ethyl-D-glukopyranosidu a soli γ -terc.butylesteru α -amidu L-alanyl-D-glutamové kyseliny s trifluoroctovou kyselinou a s 2-ethoxy-N-ethoxykarbonyl-1,2-dihydrochinolinu získá příslušný glykopeptid s $[\alpha]_D^{20} = -23^\circ$ (methanol, $c = 1,107$) a $R_f = 0,47$ (methylenchlorid : ethanol = 8:2) a po hydrogenaci v přítomnosti 5% paládia na uhlí ve směsi tetrahydrofuranu a vody se získá 2-benzamido-2-deoxy-3-O-[L-1-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl)karbamoyl-ethyl]karbamoylmethyl- β -ethyl-D-glukopyranosid o teplotě tání 215 až 217 °C, $[\alpha]_D^{20} = -22^\circ$ (methanol, $c = 0,97$), $R_f = 0,36$ (ve směsi chloroformu a methanolu 1:1, chromatografie na tenké vrstvě silikagelu, Merck).

2-benzamido-2-deoxy-3-O-karboxymethyl- β -ethyl-D-glukopyranosid, který se používá jako výchozí látka, se získá následujícím způsobem:

2-fenyl-4,5-[3-O-karboxymethyl-5,6-O-isopropyliden-D-glukofurano]- Δ^2 -oxazolin se rozpustí v 0,1 N roztoku ethanolickeho chlorovodíku a směs se ponechá 6 hodin v klidu při teplotě místnosti. Potom se zneutralizuje ethoxidem sodným v ethanolu, odpaří se k suchu a zbytek se rozpustí v acetonu. Získaný roztok se filtruje přes vrstvu silikagelu, eluát se odpaří k suchu a odparek se dvakrát extrahuje etherem při teplotě místnosti. Po překrystalování z ethylacetátu se získá 2-benzamido-2-deoxy-3-O-ethoxykarbonylmethyl- β -ethyl-D-glukopyranosid o teplotě tání 185 až 188 st. Celsia a $[\alpha]_D^{20} = -35^\circ$ (methanol, $c = 1,121$).

9,4 g tohoto esteru se zmýdelní roztokem 1,7 g hydroxidu draselného ve 250 ml ethanolu a 25 ml vody během 2 hodin při teplotě místnosti. Potom se hodnota pH upraví přidáním 1 N roztoku kyseliny chlorovodíkové na 3,5 a roztok se zahustí ve vakuu. Zbytek se roztírá nejprve s etherem, potom třikrát vždy s 20 ml ledové vody a produkt se odfiltruje. Takto se získají krystaly 2-benzamido-2-deoxy-3-O-karboxymethyl- β -ethyl-D-glukopyranosid o teplotě tání 205 až 210 °C a $[\alpha]_D^{20} = -40^\circ$ (methanol, $c = 1,04$).

Příklad 9

2-benzamido-2-deoxy-3-O-[(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl)karbamoylmethyl]karbamoylmethyl-D-glukosa se získá z 3 g 2-fenyl-4,5-[3-O-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl)karbamoylmethyl]karbamoylmethyl-5,6-O-isopropyliden-D-glukofurano]- Δ^2 -oxazolinu hydrolýzou působením 1,5 ml trifluoroctové kyseliny ve směsi 15 ml dimethoxyethanu a 15 ml vody při 40 °C během 3 hodin. Potom se směs za-

hustí ve vakuu k suchu a zbytek se extrahuje znovu etherem. Zbýlý prášek se rozpustí ve vodě, roztok se vyčerpá aktivním uhlím (Darco-G-60), zfiltruje se a vysuší se vymrazením. Takto se získá bezbarvá, amorf- ní látka o teplotě tání 115 až 155 °C a $[\alpha]_D^{20} = +34^\circ$ (voda, $c = 0,81$), $R_f = 0,28$ (směs chloroformu a methanolu 1:1, chromatografie na tenké vrstvě silikagelu, Merck).

Výchozí látka pro tento účel se získá následujícím způsobem:

8,0 g γ -benzylesteru α -amidu N-terc.butyl-oxykarbonylglycyl-D-glutamové kyseliny se rozpustí ve směsi 6,3 ml trifluoroctové kyseliny a 7 ml dichlorethanu a roztok se ponechá 2 dny reagovat při teplotě místnosti a 3 hodiny při teplotě 45 °C. Potom se přidá za chlazení 12,1 ml triethylaminu, 7,0 g 2-ethoxy-N-ethoxykarbonyl-1,2-dihydrochinolinu a 8,1 g 2-fenyl-4,5-[3-O-karboxymethyl-5,6-O-isopropyliden-D-glukofurano]- Δ^2 -oxazolinu a 20 ml dimethylformamidu. Po 20 hodinách při 40 °C se směs zahustí ve vakuu olejové vývěvy a zbytek se rozdělí mezi methylenchlorid a vodu. Po vysušení a zahuštění methylenchloridových fází se získá pevný zbytek, který se dvakrát extrahuje etherem a překrystaluje se z toluenu. Výtěžek 8,25 g, teplota tání 157 st. Celsia, $[\alpha]_D^{20} = +10^\circ$ (chloroform, $c = 1,48$), $R_f = 0,35$ (směs chloroformu a ethanolu 9:1, chromatografie na tenké vrstvě silikagelu, Merck).

Takto získaný benzylester se hydrogenuje v přítomnosti 5% paládia na uhlí ve 100 ml tetrahydrofuranu a 25 ml vody až do ustání spotřeby vodíku. Po odfiltrování katalyzátoru a odpaření se látka chromatografuje na 250 g silikagelu, Merck, za použití chloroformu a methanolu 4:1, jako elučního činidla. Získá se 5,8 g bezbarvého, amorf- ního 2-fenyl-4,5-[3-O-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl)karbamoylmethyl]karbamoylmethyl-5,6-O-isopropyliden-D-glukofurano]- Δ^2 -oxazolinu o $R_f = 0,43$, směs chloroformu a methanolu 3:2 (chromatografie na tenké vrstvě silikagelu, Merck).

Příklad 10

Analogickým postupem jako v příkladu 4 se kondenzuje 9,5 g 2-fenyl-4,5-[3-O-karboxymethyl-5,6-O-isopropyliden-D-glukofurano]- Δ^2 -oxazolinu s 6,25 g hydrochloridu α,γ -diamidu kyseliny L-alanyl-D-glutamové za přítomnosti 3,4 ml triethylaminu a 7,95 g 2-ethoxy-N-ethoxykarbonyl-1,2-dihydrochinolinu ve směsi 50 ml dichlorethanu a 150 ml dimethylformamidu. Směs se nechá reagovat za míchání 2 dny při teplotě místnosti a 4 hodiny při teplotě 40 st. Celsia. Pak se směs zahustí ve vakuu olejové vývěvy a zbytek se extrahuje nejprve dvakrát etherem, potom dvakrát ledovou vodou. Po vysušení se produkt překrystalu-

je z dichlorethanu. Takto se získají bezbarvé krystaly o teplotě tání 170 až 184 °C, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +3^\circ$ (dimethylsulfoxid, $c = 1,43$), $R_f = 0,64$ (směs chloroformu a methanolu 3:1, chromatografie na tenké vrstvě silikagelu, Merck).

6,1 g této sloučeniny se hydrolyzuje působením 13,5 ml iontoměniče (Dowex 50) ve směsi 60 ml dimethoxyethanu a 60 ml vody 15 hodin při teplotě místnosti. Po filtraci a zahuštění se zbytek vyjme vodou, vyčeří se aktivním uhlím (Darco-G-60), znovu se zfiltruje a filtrát se vysuší vymrazením. Získá se bezbarvá amorfnní 2-benzamido-2-deoxy-3-O-[L-1-(D-1,3-dikarbamoylpropyl)karbamoylethyl]karbamoylmethyl-D-glukopyranosa o teplotě tání 82 až 143 st. Celsia, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +24^\circ$ (voda, $c = 0,98$), $R_f = 0,45$ směs chloroformu a methanolu 1:1, chromatografuje na tenké vrstvě silikagelu, Merck). Látka krystaluje s 1,23 mol krystalické vody.

Analogickým způsobem se dají získat následující sloučeniny:

a) benzyl-3-O-/D-1-[L-1-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl)karbamoylethyl]-karbamoylethyl/-2-propionylamino-2-deoxy- α -D-glukopyranosid, teplota tání 155 až 160 °C (rozklad), $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +105^\circ \pm 1^\circ$ (dimethylformamid, $c = 0,58$),

b) 3-O-/L-1-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl)karbamoylethyl]karbamoylmethyl/-2-acetamido-2-deoxy-D-glukóza, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -10^\circ \pm 1^\circ$ (voda, $c = 0,930$),

c) 3-O-/D-1-[L-1-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl)karbamoylethyl]karbamoylpropyl/-2-acetamino-2-deoxy-D-glukóza,

d) 3-O-[L-1-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl)karbamoylethyl]karbamoylmethyl-2-benzamido-2-deoxy- β -ethyl-D-glykofuranosid, teplota tání 215 až 217 °C, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -22^\circ$ (CH₃OH, $c = 0,97$),

e) β -ethyl-2-benzamido-2-deoxy-3-O-[L-1-(D-1,3-bis-N-methylkarbamoylpropyl)karbamoylethyl]karbamoylmethyl-D-glukopyranosid, teplota tání 233 až 240 °C, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -20^\circ$ (CH₃OH, $c = 0,937$),

f) 2-benzamido-2-deoxy-3-O-[L-1-(D-1,3-bis-N-methylkarbamoylpropyl)karbamoylethyl]karbamoylmethyl-D-glukopyranosa, teplota tání 125 až 132 °C, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +24^\circ$ (H₂O, $c = 0,93$),

g) 2-benzamido-2-deoxy-3-O-[L-1-(D-1,3-bis-methoxykarbonylpropyl)karbamoylethyl]karbamoylmethyl-D-glukopyranosa jako hydrát, teplota tání 80 až 90 °C, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +25^\circ$ (CH₃OH, $c = 1,017$),

h) ethyl-2-benzamido-2-deoxy-3-O-[L-1-

-(D-1,3-bis-methoxykarbonylpropyl)karbamoylethyl]karbamoylmethyl- β -D-glukopyranosid, teplota tání 127 až 135 st. Celsia, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -17^\circ$ (CH₃OH, $c = 1,024$),

i) 2-benzamido-2-deoxy-3-O-[L-1-(D-1-N-benzylkarbamoyl-3-karboxypropyl)karbamoylethyl]karbamoylmethyl-D-glukopyranosa,

k) 2-benzamido-2-deoxy-3-O-[L-1-(D-1-N-karbamoylmethylkarbamoyl-3-karboxypropyl)karbamoylethyl]karbamoylmethyl-D-glukopyranosa,

l) 2-benzamido-2-deoxy-3-O-[L-1-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl)karbamoylbutyl]karbamoylmethyl-D-glukopyranosa,

m) 2-benzamido-2-deoxy-3-O-[L-1-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl)karbamoylpropyl]karbamoylmethyl-D-glukopyranosa,

n) 2-benzamido-3-deoxy-3-O-[L-1-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl)karbamoyl-2-methylpropyl]-1-karbamoylmethyl-D-glukopyranosa,

o) 2-acetamido-3-O-[D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl]karbamoylmethylkarbamoylmethyl]-2-deoxy-D-glukóza,

p) methyl-2-acetamido-3-O-/L-1-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl)karbamoylethyl]karbamoylmethyl/-2-deoxy- α -D-glukopyranosid o $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +49^\circ \pm 1^\circ$ (voda, $c = 0,939$),

q) methyl-2-acetamido-3-O-/L-1-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl)karbamoylethyl]karbamoylmethyl/-2-deoxy-6-O-stearoyl- α -D-glukopyranosid o $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +50^\circ \pm 1^\circ$ (N,N-dimethylformamid, $c = 0,921$),

r) 2-acetamido-3-O-/L-1-(D-1,3-dikarbamoylpropyl)karbamoylethyl]karbamoylmethyl/-2-deoxy-D-glukóza, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +7^\circ \pm 1^\circ$ (voda, $c = 0,514$),

s) 2-acetamido-3-/D-1-[D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl]karbamoylmethyl]-karbamoylpropyl/-2-deoxy-D-glukóza, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +46^\circ \pm 1^\circ$ (voda, $c = 0,630$),

t) 2-acetamido-3-O-[L-1-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl)karbamoylethyl]karbamoylmethyl-2-deoxy-D-glukóza,

u) dimethylester-2-acetamido-3-O-/L-1-(D-1,3-dikarboxypropyl)karbamoylethyl]karbamoylmethyl/-2-deoxy-D-glukózy $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +23^\circ \pm 1^\circ$ (voda, $c = 0,814$),

v) 3-O-/L-1-(D-1-karbamoyl-3-karbo-

xypropyl]karbamoylethyl]karbamoylmethyl/-2-deoxy-2-propionamido-D-glukóza,

w) 3-O-/[L-1-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl]karbamoylethyl]karbamoylmethyl/-2-kaprinoylamido-2-deoxy-D-glukóza,

x) 2-acetamido-2-deoxy-3-O-/[L-1-(D-1,3-bis-methylkarbamoylpropyl]karbamoylethyl]karbamoylmethyl/-D-glukóza,

y) 2-acetamido-3-O-/[L-1-(D-karbamoyl-3-karboxypropyl]karbamoyl-2-hydroxyethyl]karbamoylmethyl/-2-deoxy-D-glukóza,

z) 2-acetamido-3-O-/[L-1-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl]karbamoylbutyl]karbamoylmethyl/-2-deoxy-D-glukóza,

aa) 3-O-/[L-1-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl]karbamoylethyl]karbamoylmethyl/-2-deoxy-2-stearoylamido-D-glukóza,

bb) 2-acetamido-3-O-/[L-1-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl]karbamoyl-2-methylpropyl]karbamoylmethyl/-2-deoxy-D-glukóza,

cc) 2-acetamido-3-O-/[L-1-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl]karbamoyl-3-methylbutyl]karbamoylmethyl/-2-deoxy-D-glukóza,

dd) 2-acetamido-3-O-/[L-1-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl]karbamoylpropyl]karbamoylmethyl/-2-deoxy-D-glukóza,

ee) 2-acetamido-3-O-/[L-1-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl]karbamoylphenylmethyl]karbamoylmethyl/-2-deoxy-D-glukóza,

ff) benzyl-2-acetamido-3-O-/[L-1-(D-1,3-bis-karbamoylpropyl]karbamoylethyl]karbamoylmethyl/-2-deoxy-β-D-glukopyranosid, $[\alpha]_D^{20} = -44^\circ \pm 1^\circ$ (N,N-dimethylformamid, $c = 0,989$),

gg) dimethylester benzyl-2-acetamido-3-O-/[L-1-(D-1,3-bis-karboxypropyl]karbamoylethyl]karbamoylmethyl/-2-deoxy-β-D-glukopyranosidu,

hh) 2-acetamido-3-O-/[L-1-(D-1-karbamoylmethylkarbamoyl-3-karboxypropyl]karbamoylethyl]karbamoylmethyl/-2-deoxy-D-glukóza, bílý prášek,

ii) 3-O-/[L-1-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl]karbamoylethyl]karbamoylmethyl/-2-deoxy-2-p-tolylsulfonfylamino-D-glukóza, bílý prášek,

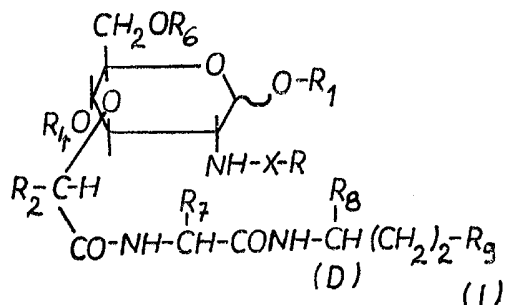
kk) 2-(acetaminomethylkarbonylamino)-2-deoxy-3,0-/[L-1-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl]-1-karbamoylethyl]karbamoylmethyl/-α,β-D-glukóza,

ll) 2-trimethylacetamido-2-deoxy-3,0-/[L-1-(D-1-karbamoyl-3-karboxypropyl]-1-karbamoylethyl]karbamoylmethyl/-α,β-D-glukóza,

mm) benzyl-2-acetamido-3-O-/[L-1-(D-1-karbamoyl-3-karbamoylpropyl]karbamoylethyl]karbamoylmethyl-2-deoxy-6-O-stearoyl-α-D-glukopyranosid.

PREDMĚT VYNÁLEZU

Způsob výroby glukosaminových derivátů obecného vzorce I



v němž

X znamená karbonylovou skupinu nebo sulfonylovou skupinu,

R znamená alkylový zbytek s 1 až 18 atomy uhlíku nebo fenylový zbytek,

R1 znamená vodík nebo alkylový zbytek

s 1 až 5 atomy uhlíku nebo benzylový zbytek,

R2 znamená vodík nebo alkylovou skupinu s 1 až 5 atomy uhlíku,

R4 a R6 znamenají vodík nebo acylový zbytek se 2 až 18 atomy uhlíku,

R7 znamená vodík, alkylovou skupinu s 1 až 5 atomy uhlíku, hydroxymethylovou skupinu nebo fenylovou skupinu,

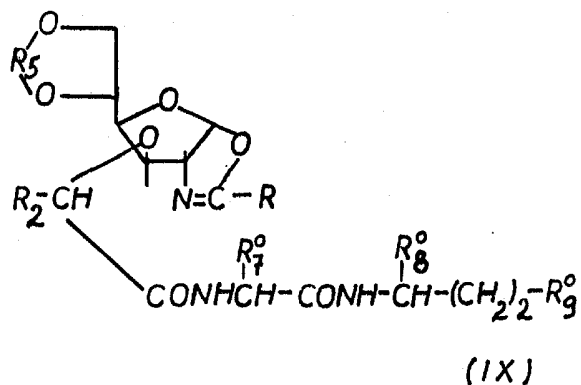
R8 znamená popřípadě esterifikovanou nebo amidovanou karboxylovou skupinu a

R9 znamená popřípadě esterifikovanou nebo amidovanou karboxylovou skupinu,

s tím, že alkylový zbytek ve významu symbolu R obsahuje více než 1 atom uhlíku,

jestliže X znamená karbonylovou skupinu a zbytek R2 znamená methylovou skupinu, nebo jestliže X znamená karbonylovou skupinu,

zbytek R2 znamená vodík a R8 a R9 představují karboxylovou skupinu, jakož i jejich farmaceuticky použitelných adičních solí s kyselinami, vyznačující se tím, že se ve sloučenině obecného vzorce IX



v němž

R a R₂ mají shora uvedený význam,

R^{7°}, R^{8°} a R^{9°} mají význam symbolů R₇, R₈ a R₉ nebo pokud obsahují volné karboxylové a popřípadě volné hydroxyskupiny, jsou tyto skupiny chráněny snadno odštěpitelnými krycími skupinami, a

R₅ znamená alkylidenovou nebo cykloalkylidenovou skupinu,

rozštěpí oxazolinový a dioxolanový kruh za kyselých podmínek, případně přítomné krycí skupiny se odštěpí a do případně volné aminoskupiny v poloze 2 molekuly cukru se zavede zbytek —X—R, v němž X a R mají shora uvedený význam, načež se popřípadě získané soli převedou na volné sloučeniny nebo se získané soli převedou na své fyziologicky použitelné adiční soli s kyselinami.