



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

227500

(11) (B1)

(51) Int. Cl.³
C 07 C 69/753

(22) Přihlášeno 09 07 82
(21) (PV 5287-82)

(40) Zveřejněno 26 08 83

(45) Vydáno 15 04 86

(75)
Autor vynálezu

STIBOR IVAN ing. CSc., PRAHA, VESELÝ IVAN ing. CSc., ROKYCANY,
PALEČEK JAROSLAV ing. CSc., KUBELKA VLADISLAV RNDr. CSc.,
MOSTECKÝ JIRÍ prof. ing. DrSc., STANĚK JAN ing. CSc.,
VOTAVA VLADIMÍR ing., ČERNÝ MILOSLAV ing., NERATOVICE

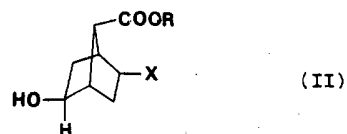
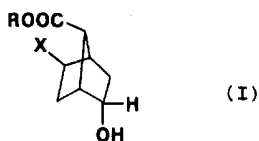
(54) Opticky aktivní alkylestery kyseliny 2-hydroxy-5-halogenbicyklo(2,2,1)heptan-7-karboxylové

Vynález se týká opticky aktivních alkylesterů kyseliny 2-hydroxy-5-halogenbicyklo(2,2,1)heptan-7-karboxylových, které jsou významnými meziprodukty při syntéze opticky základních typů prostaglandinů řady A, D, E a F a jejich analogů.

Prostaglandiny tvoří skupinu v přírodě se vyskytujících polyhydroxymastných kyselin s rozmanitou biologickou aktivitou, které zejména regulují endokrinní, reprodukční, nervový, zažívací, hemostatický, dýchací, kardiovaskulární a ledvinový systém. Všechny prostaglandiny jsou chirálními sloučeninami, to znamená, že mohou existovat ve formě dvou struktur, které jsou ve stejném vztahu, jako předmět a jeho zrcadlový obraz. V přírodě se vyskytuje vždy pouze jeden z obou možných optických isomerů, přičemž je možné říci, že oba isomery se výrazně liší ve svých biologických vlastnostech a to oběma směry. Znamená to, že v některých případech je přírodní isomer podstatně aktivnější (až o několik řádů); jsou však známy i případy některých syntetických derivátů prostaglandinů, kde biologická aktivita obou isomerů je srovnatelná. V mnohých případech nejsou skutečné biologické aktivity obou isomerů vůbec známy, často z důvodů, že neexistuje dostatek univerzálně použitelných metod pro syntézu obou možných isomerů jednotlivého prostaglandinového derivátu. Klíčovým problémem v tomto směru je dostupnost obou isomerů vhodného syntetického meziproduktu obecně použitelného při syntéze prostaglandinů.

Naprostá většina popsaných meziproduktů je dostupná pouze v jedné z obou možných isomerních forem, navíc metody přípravy opticky čistých isomerů bývají většinou velmi náročné a nákladné, jak popisuje například literatura: J. S. Bindra, R. Bindra: Prostaglandin Synthesis; A. Mitra: The Synthesis of Prostaglandin Derivatives, P. Crabbé: Prostaglandin Research, N. Kharash, J. Fried: Biochemical Aspects of Prostaglandin and Tromoxanes, E. W. Horton: Prostaglandins.

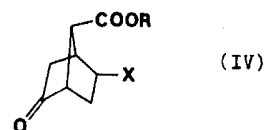
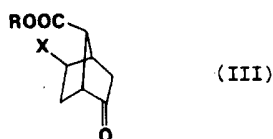
Vynález se týká opticky aktivních alkylesterů kyseliny 2-hydroxy-5-halogenbicyklo-(2,2,1)heptan-7-karboxylové kyseliny obecného vzorce I a II,



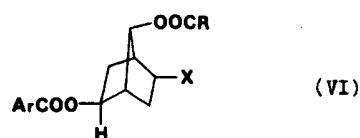
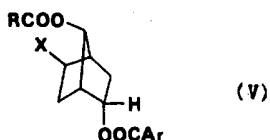
kde R je vodík nebo alkyl obsahující 1 až 4 atomy uhlíku

X značí atom chloru nebo bromu

a způsobu jejich přípravy. Jeho podstata spočívá v tom, že se snadno dostupná recemická směs halogenketoesteru obecného vzorce III a IV



kde R a X mají shora uvedený význam, redukuje stereospecificky působením enzymu dehydrogenázy z mikroorganismů rodu *Saccharomyces Candida Torulopsis*, na směs alkoholů obecného vzorce I a II. Výhodou způsobu provedení redukce podle vynálezu je ta skutečnost, že dehydrogenázu není zapotřebí izolovat v čisté formě, ale pracuje se přímo s mikroorganismy. Redukce se provádí při teplotě 15 až 40 °C s výhodou 25 až 30 °C ve zředěném vodném roztoku, který obsahuje živné látky - cukry a živné soli. Po ukončení redukce, jejíž průběh se snadno sleduje (například pomocí chromatografie na tenké vrstvě), se nerozpustné podíly buď odfiltrují ne adsorpčním materiálem nebo oddělí centrifugací. Z čirého vodného roztoku se odpaří rozpouštědla za sníženého tlaku a produkt se extrahuje do organického rozpouštědla s výhodou se používají alkoholy obsahující 1 až 5 atomů uhlíku, ketony, estery kyselin obsahujících 2 až 7 atomů uhlíku a ethery obsahující 4 až 8 atomů uhlíku. Takto získaná směs diastereoisomerních alkoholů obecného vzorce I a II se dělí na jednotlivé optické isomery přímo krystalizací nebo sloupcovou chromatografií. Zvláště výhodně dělení této směsi lze dosáhnout ve formě jejich arylesterů obecného vzorce V a VI,



kde Ar značí $R^2C_6H_4$ skupinu, kde R^2 je vodík nebo fenyl. Arylestery obecného vzorce V a VI se snadno připraví z alkoholů obecného vzorce I a II působením aroylhalogenidu v halogenalkanu obsahujícím 1 až 4 atomy chloru a 1 až 2 atomy uhlíku za přítomnosti terciárního aminu jako pyridinu, triethylaminu. Po rozdělení látek obecného vzorce V a VI na optické isomery pomocí frakční krystalizace nebo frakčního tavení nebo sloupcové adsorpční chromatografie se alkoholy obecného vzorce I resp. II uvolní reesterifikací alkoholem obsahujícím 1 až 4 atomy uhlíku za přítomnosti alkalicky reagujícího činidla jako uhličitanu sodného, uhličitanu draselného nebo iontoměnice v $OH^{(-)}$ cyklu, například Dowex 2 AG, Amberlit CG 400.

Uvedený postup přípravy čistých optických isomerů obecného vzorce I a II podle vynálezu nevyžaduje nákladné provozní zařízení, pracuje s levnými, snadno dostupnými a bezpečnými chemikáliemi. Postup je možno provádět v relativně velkých množstvích. Snadná izolovatelnost a vysoké výtěžky činí tento způsob ekonomicky výhodný.

Vynález a jeho účinky jsou blíže objasněny na následujících příkladech provedení, které jsou pouze ilustrativní a žádným způsobem neomezuji předmět vynálezu.

Příklad 1

1S, 2S, 4S, 5S, 7R methylester kyseliny 2-hydroxy-5-chlorbicyklo(2,2,1)heptan-7-karboxylové (vzorce II, $R = CH_3$, $X = Cl$).

Do roztoku 500 g sacharosy v 5 l vody se přidá za míchání 500 g pekařských kvasnic. Směs se promíchává při 28 až 30 °C do ukončení vývoje plynů (1 až 2 hodiny), načež se najednou přidá 43 g racemického methylesteru kyseliny 5-chlor-2-oxo-bicyklo(2,2,1)heptan-7-karboxylové (vzorce III a IV, $R = CH_3$, $X = Cl$) a směs se promíchává při teplotě 25 až 28 °C 48 hodin. Vodná alkoholická suspenze se zfiltruje přes vrstvu celitu, čirý roztok se odpaří za vakua, zbytek se rozpustí v 100 ml ethanolu a zředí 400 ml acetonu. Zfiltruje se, filtrační koláč se promyje acetonem, odpaří se rozpouštědla a celý postup (rozpuštění v minimálním množství ethanolu a zředění acetonem) se opakuje. Zbytek se destiluje za sníženého tlaku (b. v. 125 až 130 °C/40 Pa) a získá se 42,8 g surového produktu, který stáním zkrystalizuje. Krystaly se oddělí, promyje tetrachlormethanem a tak se získá 15,4 g (35,6 %) čistého produktu obecného vzorce II. Olejovitý zbytek představuje směs látek obecného vzorce I a II společně se zbytky glycerolu, přičemž tuto směs lze zpracovat chromatograficky (silikagel-benzen s 1 % acetonu) na čistý produkt obecného vzorce II, kde $R = CH_3$ a $X = Cl$.

Pro $C_9H_{13}O_3Cl$ (204,6)	vypočteno:	52,84 % C	6,42 % H
	nalezeno:	52,67 % C	6,30 % H

Příklad 2

1S, 2S, 4S, 5S, 7R kyselina 2-hydroxy-5-chlorbicyklo(2,2,1)-heptan-7-karboxylová (vzorce II, $R = H$, $X = Cl$).

K 2,5 litrům suspenze kvasnic *Candida utilis* CCY 29-38-73 bylo najednou přidáno 15 g racemické kyseliny (III a IV, $R = H$, $X = Cl$) a směs byla zvolna promíchána 7 dní. Suspenze se odseje přes vrstvu celitu a zbytek po odpaření rozpouštědel za vakua se rozmíchá se 100 ml acetonu a 100 g silikagelu. Za vakua se odpaří všechny těkavé podíly, načež se vzniklá sypká hmota nasype na 150 g silikagelu na fritě a promývání směsí benzen - 1% acetonu se regeneruje nezreagovaný podíl látek obecného vzorce III a IV (8,5 g). Směsí benzen - 15 % dioxanu se izoluje 7,5 g směsi látek obecného vzorce I a II ($R = H$, $X = Cl$), z kterého se krystalizací ze směsi dioxan-benzen nebo dioxan-chloroform získá čistý produkt obecného vzorce II 5,9 g (39 %), teploty tání 205 °C.

Pro $C_8H_{11}ClO_3$ (190,6)	vypočteno:	50,40 % C	5,83 % H	18,60 % Cl
	nalezeno:	50,62 % C	5,80 % H	18,10 % Cl

Druhý izomer obecného vzorce I ($R = H$, $X = Cl$) je možné izolovat z matečných louhů sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití elučního roztoku benzen-kyseliny octové-ethanol 97 : 2 : 1.

Příklad 3

1S, 2S, 4S, 5S, 7R methylester kyseliny 2-hydroxy-5-chlorbicyklo(2,2,1)heptan-7-karboxylové (vzorce II, $R = CH_3$, $X = Cl$).

1,9 g kyseliny obecného vzorce II ($X = Cl$, $R = H$) rozpuštěné v 10 ml suchého etheru bylo při laboratorní teplotě smícháno s přebytkem etherického roztoku diazomethanu. Po jedné hodině stání při teplotě místnosti byla směs odpařena k suchu za vakua a destilační

zbytek překrystalizován. Bylo získáno 2,05 g čistého izomeru obecného vzorce II ($R = CH_3$, $X = Cl$) teploty tání 87 až 88 °C. Hmotnostní spektrum m/z (% rel. int) 79 (100), 108 (54), 124 (53), 137 (51), 136 (49), 81 (48), 77 (40 %), 66 (40 %).

Pro $C_9H_{13}ClO_3$ (204,6) vypočteno: 52,84 % C, 6,42 % H, 17,32 % Cl
nalezeno: 52,67 % C, 6,30 % H, 16,70 % Cl.

P ř í k l a d 4

1R, 2S, 4R, 5R, 7S n-Butylester kyseliny 2-hydroxy-5-chlorbicyklo(2,2,1)heptan-7-karboxylové (vzorce I, $R = n-C_4H_9$, $X = Cl$)

Postupem podle příkladu 1 za použití Toluropsis ethanolis tolerans CGY 26-58-1 bylo zpracováno 4 g racemické směsi esteru III a IV ($R = n-C_4H_9$, $X = Cl$) a získaná směs I a II ($R = n-C_4H_9$, $X = Cl$) byla rozdělena pomocí sloupcové chromatografie (silikagel eluens benzen - 1% acetonu). Bylo získáno 1,21 g (30 %) látky I a 0,98 g (25 %) látky II.

Pro $C_{12}H_{19}ClO_3$ (246,8) vypočteno: 58,400 % C, 7,78 % H
nalezeno pro látku I: 58,06 % C, 7,68 % H
pro látku II: 58,24 % C, 7,79 % H.

P ř í k l a d 5

1R, 2S, 4R, 5R, 7S Methylester kyseliny 5-brom-2-hydroxybicyklo(2,2,1)heptan-7-karboxylové (vzorce I, $R = CH_3$, $Br = X$)

1S, 2S, 4S, 5S, 7R methylester kyseliny 5-brom-2-hydroxybicyklo(2,2,1)heptan-7-karboxylové (vzorce II, $R = CH_3$, $X = Br$)

Postupem podle příkladu 1 bylo zpracováno 2 g racemické směsi esteru III a IV ($R = CH_3$, $X = Br$). Po analogickém zpracování bylo získáno 1,95 g surové směsi, která po chromatografii poskytla 420 mg (24 %) látky I a 340 mg (17 %) látky II.

Pro $C_9H_{13}BrO_3$ (249,2) vypočteno: 43,37 % C, 5,27 % H, 32,10 % Br
nalezeno pro látku I: 43,02 % C, 5,15 % H, 31,60 % Br
pro látku II: 43,07 % C, 5,68 % H, 30,98 % Br.

P ř í k l a d 6

Benzoáty 1R, 2S, 4R, 5R, 7S methylesteru kyseliny 2-hydroxy-5-chlorbicyklo(2,2,1)heptan-7-karboxylové (vzorce V, $R = CH_3$, $X = Cl$, $R^2 = H$) a 1S, 2S, 4S, 5S, 7R methylesteru kyseliny 2-hydroxy-5-chlorbicyklo(2,2,1)heptan-7-karboxylové (vzorce VI)

4 g destilované směsi hydroxyesterů I a II ($R = CH_3$, $X = Cl$) připravené postupem uvedeným v příkladu 1, se rozpustí v 40 ml dichlormethanu, přidá se 2,4 g (3,28 ml) triethylaminu a potom najednou 3,3 g (2,7 ml) benzoylchloridu. Směs se ponechá při teplotě místnosti 12 hodin, zředí dichlormethanem (100 ml), vytřepe vodou, 5% roztokem HCl, nasyceným roztokem $NaHCO_3$ vysuší bezvodým síranem hořečnatým, rozpouštědla odpaří za sníženého tlaku a destilační zbytek 6,5 se dělí pomocí sloupcové chromatografie (silikagel, eluens benzen) a získá se 1,5 g opticky čistého derivátu vzorce VI a 2,4 g derivátu vzorce V a 0,7 g jejich směsi. Krystalizací látky vzorce V ze směsi ether-petrolether se získá čistý preparát teploty tání 59 až 61 °C. Látka vzorce VI po překrystalizování z heptanu tála při 104,5 až 105 °C.

Pro $C_{16}H_{17}ClO_4$ (304,7) vypočteno: 63,06 % C, 4,29 % H
nalezeno pro látku V: 62,86 % C, 4,25 % H
pro látku VI: 62,99 % C, 4,18 % H.

Příklad 7

1R, 2S, 4R, 5R, 7S Methylester kyseliny 2-hydroxy-5-chlorbicyklo(2,2,1)heptan-7-karboxylové (vzorec I, R = CH₃, X = Cl)

1 g krystalického derivátu V (viz příklad 6) byl rozpuštěn v 50 ml methanolu a po přidání 0,2 g bezvodé potaše byla směs míchána 24 hodin při teplotě místnosti. Potom byl methanol odpařen a destilační zbytek roztrpán mezi vodu a chloroform (50 ml : 50 ml), chloroformový roztok vysušen bezvodým síranem hořečnatým a odpařen. Bylo získáno 0,5 g (74 %) produktu I.

Pro C₉H₁₃ClO₃ (204,6) vypočteno: 52,84 % C, 6,42 % H
nalezeno: 52,45 % C, 6,30 % H.

Příklad 8

1S, 2S, 4S, 5S, 7R Methylester kyseliny 2-hydroxy-5-chlorbicyklo(2,2,1)heptan-7-karboxylové (vzorec II, R = CH₃, X = Cl)

Bylo postupováno jako v příkladu 7 z benzoátu VI bylo získáno 0,47 g (70 %) produktu II.

Pro C₉H₁₃ClO₃ (204,6) vypočteno: 52,84 % C, 6,42 % H
nalezeno: 52,81 % C, 6,37 % H.

Příklad 9

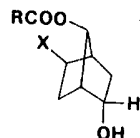
4-Fenylbenzoáty 1R, 2S, 4R, 5R, 7S methylesteru kyseliny 2-hydroxy-5-chlorbicyklo(2,2,1)heptan-7-karboxylové (vzorce V, R = CH₃, X = Cl, R² = C₆H₅) a 1S, 2S, 4S, 5S, 7R methylesteru kyseliny 2-hydroxy-5-chlorbicyklo(2,2,1)heptan-7-karboxylové (vzorce VI, R = CH₃, X = Cl, R² = C₆H₅)

Bylo postupováno jako v příkladu 6, za použití 4-fenylbenzoylchloridu jako acylačního činidla bylo získáno 2,1 g čistého derivátu VI teploty tání 146 až 148 °C (dichlormethyn-pentan) a 2,7 g derivátu V teploty tání 115 až 117 °C.

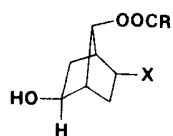
Pro C₂₂H₂₁ClO₄ (380,8) vypočteno: 69,39 % C, 5,56 % H
nalezeno pro látku V: 69,08 % C, 5,42 % H
pro látku VI: 69,21 % C, 5,68 % H.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Opticky aktivní alkylestery kyseliny 2-hydroxy-5-halogenbicyklo(2,2,1)heptan-7-karboxylové obecného vzorce I a II,



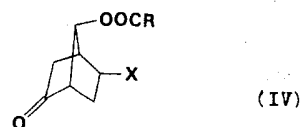
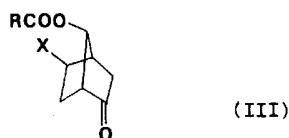
(I)



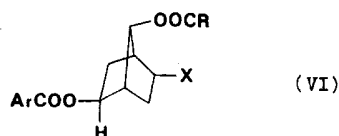
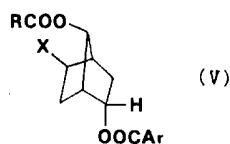
(II)

kde R značí vodík nebo alkyl obsahující 1 až 4 atomy uhlíku a
X značí chlor nebo brom.

2. Způsob výroby opticky aktivních izomerů obecného vzorce I a II vycházející ze snadno dostupné racemické směsi halogenketoderivátů obecného vzorce III a IV,



kde R a X mají shora uvedený význam vyznačený tím, že se racemická směs halogenketonů obecného vzorce III a IV stereospecificky redukuje působením enzymu dehydrogenázy při teplotě 15 až 40 °C ve vodném nebo vodně alkoholickém roztoku za přítomnosti živných látek na racemickou směs sloučenin obecného vzorce I a II, která se dělí na jednotlivé optické izomery jako taková nebo ve formě esterů obecného vzorce V a VI,



kde Ar značí $R^2C_6H_4$ skupinu, kde R^2 značí vodík nebo fenyl, které se připraví z alkoholů obecného vzorce I a II působením aroylhalogenidů $ArCOY$, kde Ar má shora uvedený význam a Y značí atom chloru nebo bromu, za přítomnosti terciárního aminu v roztoku halogenalkanu, načež se po získání čistých optických izomerů obecného vzorce V resp. VI uvolní opticky čistý alkohol obecného vzorce I respektive II reesterifikací alkoholem obsahujícím 1 až 4 atomy uhlíku za použití katalytického množství alkalicky reagujícího činidla.

3. Způsob podle bodu 2 vyznačený tím, že se dehydrogenáza neizoluje, ale provádí se přímo kvasnicemi, například *Saccharomyces cerevisiae* Hansen CCY 21-4-6, CCY 21-4-1, *Candida utilis* CCY 29-38-18 a CCY 29-38-73 nebo *Torulopsis colliculosa* CCY 26-7-6; *tethanolitolerans* CCY 26-58-1.

4. Způsob podle bodu 2, vyznačený tím, že se kvašení provádí při teplotě 15 až 40 °C zvláště při teplotě 25 až 30 °C ve vodném nebo ve vodně alkoholickém prostředí.

5. Způsob podle bodu 2 vyznačený tím, že se dělení izomerů obecného vzorce I a II, resp. V a VI, provede chromatograficky, frakční krystalizací nebo frakčním tavením.

6. Způsob podle bodu 2, vyznačený tím, že se při esterifikaci alkoholu použije jako terciární amin pyridin, triethylamin nebo diisopropylethylamin.

7. Způsob podle bodu 2, vyznačený tím, že se jako halogenalkanu použijí sloučeniny obsahující 1 až 2 atomy uhlíku a 1 až 4 atomy chloru.

8. Způsob podle bodu 2, vyznačený tím, že se jako alkalicky reagující činidlo použije uhličitan sodný nebo draselný nebo iontoměnič v $OH^{(-)}$ cyklu.

Tisk

2 VII. 86

Oprava ve vytištěných popisech vynálezů

V popise vynálezu k autorskému osvědčení č. 227 500 (PV 5257-82),
je u pěti autorů vynálezu chybně vytištěno bydliště.

Správně:P. LEŠKA JAROSLAV ing., CSc., RUSSIAK VLADISLAV RNDr., CSc.,
MOSTOUCÍ JIŘÍ prof., ing., DrSc., STABÍK JAN ing., CSc.,
VOJNÝ VLADISLAV ing., Praha

Sub -