

# PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(19)  
ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **18.10.2005**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **25.04.2007**  
(Věstník č. 17/2007)

(21) Číslo dokumentu:

**2005-658**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.:  
**C07H 15/04** (2006.01)

(71) Přihlašovatel:

Ústav organické chemie a biochemie, Akademie věd  
ČR, Praha, CZ

(72) Původce:

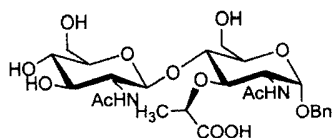
Ledvina Miroslav CSc., Praha, CZ  
Džoganová Martina Mgr., Svidník, SK  
Zyka Daniel Mgr. PhDr., Chodov, CZ

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Deriváty kyseliny glykosaminylmuramové**

(57) Anotace:

Disacharidový synthon (benzyl-2-acetamido-2-deoxy- $\beta$ -D-glukopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-2-deoxy-3-O-[1-(R)-karboxyethyl- $\alpha$ -D-glukopyranosid] vzorce I a jeho využití při syntéze kyseliny 2-acetamido-2-deoxy- $\beta$ -D-glukopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-N-acetylmuramové a muramylových glykopeptidů založených na molekule GMDP.



I

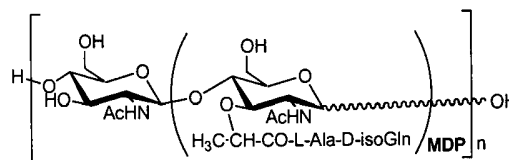
## Deriváty kyseliny glukosaminylmuramové

### Oblast techniky

Vynález se týká derivátů kyseliny glukosaminylmuramové (kyseliny 2-amino-2-deoxy-β-D-glukopyranosyl-(1→4)-*N*-acetylmuramové) a způsobu jejich přípravy a využití při syntéze glukosaminylmuramových glykopeptidů, tj. disacharidových analogů muramových glykopeptidů.

### Dosavadní stav techniky

Imunofarmaka představují novou skupinu léčiv, která má již nezastupitelnou úlohu v moderní klinické praxi. Narušení obranyschopnosti organismu v důsledku negativních změn životního prostředí, nárůst výskytu patogenních mikroorganismů rezistentních k antibiotikům, a infekčních chorob poškozujících imunitu (např. AIDS), stejně jako časté používání imunosuprimujících léčebných postupů, např. při radio- a chemoterapii nádorových onemocnění a po transplantacích, představují závažný medicínský problém. Rovněž současný trend přejít od živých vakcín k bezpečnějším semisyntetickým, rekombinantním a syntetickým vakcínám vyžaduje nová strukturně definovaná adjuvans. Proto je v poslední době věnována značná pozornost vývoji látek s imunostimulační aktivitou, s cílem získat: a) bezpečná, strukturně definovaná adjuvans pro proteinové, peptidové a DNA-vakcíny, b) stimulatory nespecifické antiinfekční a protinádorové imunity, c) stimulatory krvetvorby (hemopoézy).



Peptidoglykan  $n = 10 - 100$ ; GMDP  $n = 1$

Obr. 1 Peptidoglykan a jeho fragmenty

Významnými představiteli této skupiny látek jsou muramové glykopeptidy, tj. látky odvozené od fragmentů peptidoglykanu buněčné bakteriální stěny (Obr. 1). Jedná se především o látky odvozené od minimální imunoadjuvantní jednotky, „muramyl-dipeptidu“ (MDP) a základní opakující se disacharid-dipeptidové jednotky, „glukosaminyl-muramyl-dipeptidu“ (GMDP).

V uplynulých dvou desetiletích bylo syntetizováno značné množství analogů MDP a několik analogů GMDP, s cílem zvýšit strukturními změnami specifitu terapeutického účinku a potlačit nežádoucí vedlejší projevy, zejména pyrogenitu. Toto úsilí poskytlo několik látek, které se staly předmětem zájmu farmaceutického průmyslu (pro přehled lit.<sup>1-4</sup>).

Z látek odvozených od MDP je jako terapeutikum nejdále ve vývoji preparát Romurtid<sup>TM</sup> (MDP-Lys-L-18) založený na molekule MDP prodloužené v peptidové části o lysin substituovaný stearylovým zbytkem. Romurtid<sup>TM</sup> je méně pyrogenní než MDP a úspěšně prošel klinickými zkouškami. Hlavním směrem jeho praktické aplikace je stimulace krvetvorby poškozené u pacientů podrobených radioterapii nebo chemoterapii<sup>3-5</sup>. Urychlení normalizace počtu neutrofilů v periferní krvi je důležité z hlediska snížení rizika infekce u imunosuprimovaných pacientů<sup>6,7</sup>. Romurtid<sup>TM</sup> je rovněž schopen zvýšit přirozenou imunitu proti virovým<sup>8</sup> a bakteriálním<sup>9,10</sup> infekcím a nádorovému bujení<sup>11</sup>.

GMDP má ve srovnání s MDP vyšší imunoadjuvantní aktivitu a je méně pyrogenní. Proto se látky odvozené od GMDP jeví perspektivnější jako potenciální imunoterapeutika, než látky odvozené od MDP<sup>2</sup>. Na molekule GMDP založený preparát Likopid<sup>TM</sup> je prvním imunoterapeutikem typu muramových glykopeptidů zavedeným do klinické praxe. Likopid<sup>TM</sup> byl vyvinut a registrován ruskou firmou Peptek jako imunoterapeutikum s širokou aplikační oblastí. Jedná se o posílení imunity a prevenci infekcí komplikujících post-traumatické, post-operativní, post-chemo a radioterapeutické období pacientů<sup>12</sup>. Dále je to léčba infekčních onemocnění, jako jsou tuberkulóza, cervikální lidský papilomavirus, oftalmické herpetické

infekce, psoriáza (nežidová i exsudativní forma) a léčba hnisavých a zánětlivých procesů. Při léčbě infekčních onemocnění Likopid™ může být použit samostatně nebo v kombinaci s antibiotiky a antivirálními látkami<sup>13</sup>. Vedlejší účinky léku jsou u pacientů spojeny s pyrogenitou vázanou na jeho aktivní složku GMDP.

Firma ImmunoTherapeutics, Inc., North Dakota, USA, vyvíjí lipofilní analogy GMDP, tj. "disacharidtripeptid-glyceroldipalmitát" (**DTP-GDP**), modifikovaný v karboxyterminální části peptidového řetězce glycerol-dipalmitátovým zbytkem, a jemu strukturně blízký **GMTP-N-DPG**, modifikovaný v karboxyterminální části peptidového řetězce dipalmitoylpropylamidovým zbytkem. **DTP-GDP** byl navržen jako potenciální imunoterapeutikum nádorových onemocnění<sup>14</sup>. Látka aplikovaná v liposomech je účinná při terapii metastázujících nádorů jater<sup>15</sup>. **DTP-GDP** prošel úspěšně fází II klinických zkoušek, ale je silně pyrogenní<sup>15</sup>. Jeho hlavními vedlejšími účinky jsou, vedle zvýšené teploty, třesavka, nevolnost a hypotenze. **GMTP-N-DPG** se ukazuje být perspektivní jako adjuvans k navození buněčné imunity při konstrukci vakcín nové generace proti některým závažným infekčním onemocněním (např. AIDS, tuberkulóze a malárii)<sup>16,17</sup>.

Některé z výše jmenovaných analogů jsou součástí vyráběných adjuvans. Jako příklady lze uvést Gerbu Adjuvant™, jehož součástí je **GMDP** (CC Biotech Corporation, USA), ImmTher™, obsahující **DTP-GDP** a Theramide™ obsahující strukturně **DTP-DPP** (**GMTP-N-DPG**) (ImmunoTherapeutics, USA); ref.<sup>18</sup>.

Hlavním problémem při syntéze muramylových glykopeptidů odvozených od GMDP je dostupnost jejich sacharidové složky. Syntéza oligosacharidů představuje stále náročný úkol, zejména pak u sekvencí obsahujících jednotky odvozené od D-glukopyranosy spojené  $\beta(1\rightarrow4)$  glykosidickou vazbou, s ohledem na nízkou reaktivitu OH(4) skupiny<sup>19-23</sup>. Dosud známé syntetické postupy pro přípravu disacharidové komponenty GMDP představují náročný proces charakterizovaný značným počtem syntetických stupňů a s tím spojenou nízkou efektivitou. Tyto syntézy lze rozdělit, podle glykosylakceptoru použitého při glykosylační reakci, která je klíčovým krokem při výstavbě diacharidové jednotky, do třech skupin: (a) glykosylace s acyklickým prekurzorem kyseliny muramové<sup>24,25</sup>, (b) glykosylace cyklickým prekurzorem kyseliny muramové<sup>26-28</sup>, (c) glykosylace s cyklickým derivátem kyseliny muramové<sup>29-33</sup>. Proto se v oblasti syntézy GMDP a od něj odvozených analogů uplatňuje vedle syntézy *de novo* i semisyntetický přístup. Příprava cukerné složky je založena na biotechnologickém procesu přípravy bakteriální masy fermentací, parciální enzymatické hydrolýze bakteriálních stěn a náročné izolaci disacharidové jednotky pomocí chromatografických technik. Takto získaná sacharidová komponenta, tj. kyselina 2-acetamido-2-deoxy- $\beta$ -D-glukopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-N-acetylmuramová ( $\beta$ -D-GlcNAc-(1 $\rightarrow$ 4)-MurNAc), je následně kondenzována s peptidovou komponentou<sup>17,34-36</sup>. Semisyntetický postup je aplikován jak ruskou firmou Peptek při přípravě účinné složky léčiva Likopid™ (GMDP), tak i firmou ImmunoTherapeutics, Inc. z USA při přípravě analogů GMDP (**DTP-GDP** a **GMTP-N-DPG**) vyvíjených jako imunoterapeutika, a modifikovaných v karboxyterminální části peptidového řetězce lipofilním zbytkem. Přes zdánlivou jednoduchost semisyntetického postupu jsou jeho nevýhodou špatná reprodukovatelnost a standardizace biotechnologického procesu produkce disacharidové komponenty. Přitom reprodukovatelnost a standardizace výrobních procesů je jedním z hlavních kritérií při výrobě léčiv a jejich substancí.

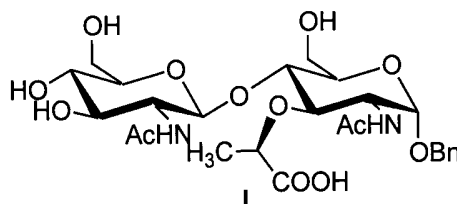
Omezujícím faktorem při zavádění imunoterapeutik založených na GMDP do praxe je komplikovaná dostupnost jejich disacharidové složky, tj. kyseliny 2-acetamido-2-deoxy- $\beta$ -D-glukopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-N-acetylmuramové ( $\beta$ -D-GlcNAc-(1 $\rightarrow$ 4)-MurNAc), respektive jejích derivátů. Tento problém řeší předmětný vynález vypracováním efektivní syntézy disacharidového synthonu umožňujícího racionální syntézu muramylových glykopeptidů, založených

na molekule GMDP, jakož i samotné kyseliny 2-acetamido-2-deoxy- $\beta$ -D-glukopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-*N*-acetylmuramové.

### Podstata vynálezu

Předmětem vynálezu jsou:

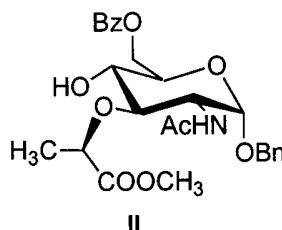
a) Disacharidový synthon vzorce I,



a

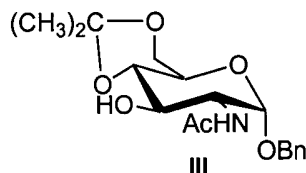
b) Způsob přípravy disacharidového synthonu vzorce I.

Při syntéze disacharidového synthonu vzorce I byl jako glykosyldonor použit 3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy-2-ftalimido- $\beta$ -D-glukopyranosyl-bromid získaný dvoustupňovou syntézou podle lit.<sup>37,38</sup> z komerčně dostupného hydrochloridu D-glukosaminu. Jako glykosylakceptor byl použit derivát kyseliny muramové, tj. benzyl-2-acetamido-6-*O*-benzoyl-2-deoxy-3-*O*-[1-(*R*)-(methoxykarbonyl)ethyl]- $\alpha$ -D-glukopyranosid vzorce II,



jehož příprava je rovněž předmětem vynálezu.

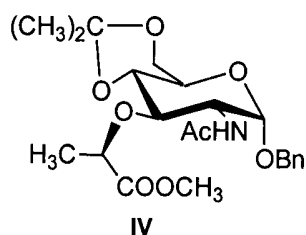
Syntéza glykosylakceptoru vzorce II vychází z benzyl-2-acetamido-2-deoxy-4,6-*O*-isopropyliden- $\alpha$ -D-glukopyranosidu vzorce III,



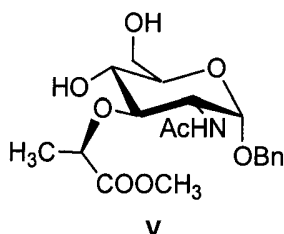
získaného ve dvou syntetických krocích podle lit.<sup>39</sup> z komerčně dostupného *N*-acetyl-D-glukosaminu.

3-*O*-Alkylací látky vzorce III racemickou kyselinou 2-brompropionovou nebo jejím (*S*)-stereoisomerem v polárním aprotickém rozpouštědle a v přítomnosti silné báze (s výhodou v dioxanu nebo tetrahydrofuranu za přítomnosti hydridu sodného) a následnou

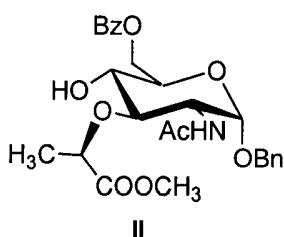
esterifikací vzniklé kyseliny reakcí s diazomethanem nebo její soli reakcí s methyljodidem se získá benzyl 2-acetamido-2-deoxy-4,6-*O*-isopropyliden-3-*O*-[1-(*R*)-(methoxykarbonyl)ethyl]- $\alpha$ -D-glukopyranosid vzorce **IV**.



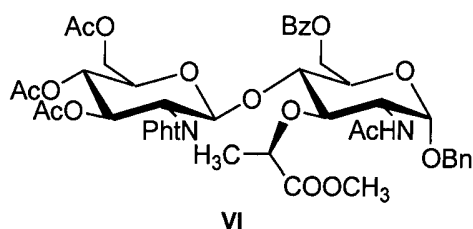
Acetálová chránicí skupina látky vzorce **IV** se odstraní kyselou hydrolyzou, s výhodou působením iontoměniče Dowex 50 v  $H^+$  cyklu v suchém methanolu nebo zahříváním ve vodné kyselině octové, za vzniku benzyl-2-acetamido-2-deoxy-3-*O*-[1-(*R*)-(methoxykarbonyl)ethyl]- $\alpha$ -D-glukopyranosidu vzorce **V**.



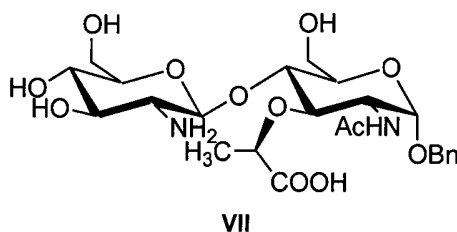
Parciální benzoylací látky **V**, s výhodou reakcí s benzoylimidazolem v dichlormethanu, se získá glykosylakceptor vzorce **II**.



Reakcí 3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy-2-ftalimido- $\beta$ -D-glukopyranosyl bromidu, jako glykosyldonoru, s glykosylakceptorem vzorce **II** v aprotickém rozpouštědle promotovanou solemi těžkých kovů (s výhodou v dichlormethanu za přítomnosti trifluormethansulfonanu stříbrného jako promotoru) se získá benzyl-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy-2-ftalimido- $\beta$ -D-glukopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-6-*O*-benzoyl-2-deoxy-3-*O*-[1-(*R*)-(methoxykarbonyl)ethyl]- $\alpha$ -D-glukopyranosid vzorce **VI**.

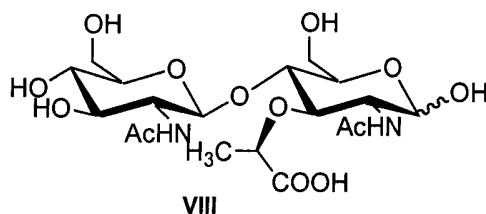


Postupným odstraněním alkalilabilních chránicích skupin (tj. acetylové, benzoylové, methylesterové a ftalimidové), s výhodou působením methoxidu sodného v methanolu, hydroxidu sodného ve vodě a *n*-butylaminu v methanolu, se získá benzyl-2-amino-2-deoxy- $\beta$ -D-glukopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-2-deoxy-3-*O*-[1-(*R*)-karboxyethyl]- $\alpha$ -D-glukopyranosid vzorce VII.



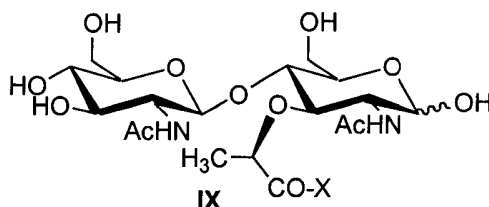
*N*-acetylací látky vzorce VII působením anhydridu kyseliny octové ve vodě se získá disacharidový synthon vzorce I.

c) Využití disacharidového synthonu vzorce I při syntéze kyseliny 2-acetamido-2-deoxy- $\beta$ -D-glukopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-*N*-acetylmuramové vzorce VIII.



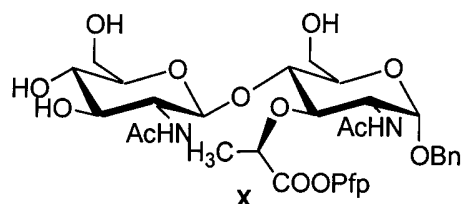
Kyselina 2-acetamido-2-deoxy- $\beta$ -D-glukopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-*N*-acetylmuramová vzorce VIII se připraví z disacharidového synthonu vzorce I hydrogenolytickým odštěpením benzylové chránicí skupiny, s výhodou za použití paladiového katalyzátoru na uhlí v kyselině octové.

d) Využití disacharidového synthonu vzorce I při syntéze muramylových glykopeptidů založených na molekule GMDP obecného vzorce IX,

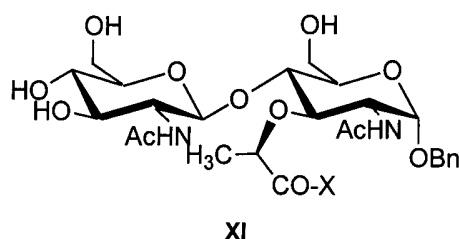


kde substituent X je peptidový zbytek.

Reakcí disacharidového synthonu vzorce I s bis(pentafluorfenyl)karbonátem v polárním aprotickém rozpouštědle v přítomnosti báze, s výhodou v *N,N*-dimethylformamidu za přítomnosti *N*-methylmorfolinu, se získá benzyl-2-acetamido-2-deoxy- $\beta$ -D-glukopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-2-deoxy-3-*O*-[1-(*R*)-(pentafluorfenyloxykarbonyl)ethyl]- $\alpha$ -D-glukopyranosid vzorce X.



Reakcí pentafluorfenylesteru **X** s peptidovou komponentou v polárním aprotickém rozpouštědle v přítomnosti báze, s výhodou v *N,N*-dimethylformamidu za přítomnosti triethylaminu nebo *N*-methylmorfolinu, se získá chráněný glykopeptid obecného vzorce **XI**,



kde substituent **X** je peptidový zbytek. Například reakcí s benzyl esterem *L*-alanyl-*D*-isoglutaminu (dostupným podle lit.<sup>40</sup>) se získá benzyl ester *N*-{2-*O*-[benzyl-2-acetamido-2-deoxy-β-*D*-glukopyranosyl-(1→4)-2-acetamido-2,3-dideoxy-α-*D*-glukopyranosid-3-yl]-(*R*)-laktoyl}-*L*-alanyl-*D*-isoglutaminu (**XI**, kde substituent **X** je *L*-Ala-*D*-iso-Gln-OBn).

Hydrogenolytickým odštěpením benzylové chránicí skupiny z redukujícího konce sacharidové části a chránicích skupin štěpitelných za těchto podmínek z peptidového řetězce (benzylové nebo benzyloxykarbonylové) glykopeptidu obecného vzorce **XI** (s výhodou za použití paladiového katalyzátoru na uhlí v kyselině octové), se získá glykopeptid obecného vzorce **IX**. Například hydrogenolýzou benzylových skupin benzyl esteru *N*-{2-*O*-[benzyl-2-acetamido-2-deoxy-β-*D*-glukopyranosyl-(1→4)-2-acetamido-2,3-dideoxy-α-*D*-glukopyranosid-3-yl]-(*R*)-laktoyl}-*L*-alanyl-*D*-isoglutaminu (**XI**, kde substituent **X** je *L*-Ala-*D*-iso-Gln-OBn) na paladiovém katalyzátoru na uhlí v kyselině octové se získá 2-acetamido-2-deoxy-β-*D*-glukopyranosyl-(1→4)-*N*-acetylmuramyl-*L*-alanyl-*D*-isoglutamin (GMDP) (**IX**, kde substituent **X** je *L*-Ala-*D*-iso-Gln-OH).

Předmět vynálezu je následovně doložen příklady provedení, aniž se tím jakkoliv omezuje.

#### Příklady provedení vynálezu

##### **Příklad 1**

K míchanému roztoku benzyl-2-acetamido-2-deoxy-4,6-*O*-isopropyliden-α-*D*-glukopyranosidu vzorce **III** (24,6 g, 70 mmol) v suchém dioxanu (270 ml) se při teplotě místnosti přidá hydrid sodný (9,0 g, 375 mmol) a směs se za míchání zahřívá 2 h na 90 °C. Směs se ochladí na teplotu místnosti, přidá se kyselina 2-brompropionová (9,0 ml, 100 mmol) a směs se míchání zahřívá 6 h na 65 °C. Po ochlazení na teplotu místnosti, se přebytečný hydrid rozloží vodou; ke směsi se za míchání přidá pevný oxid uhličitý a voda (20 ml). Směs se za *vakua* odpaří. Odparek se rozpustí ve vodě (450 ml) a roztok se za míchání a chlazení ledem zneutralizuje 5% vodným roztokem hydrogensíranu sodného. Vyloučený produkt se extrahuje octanem ethylnatým (3 × 200 ml), extrakt se vysuší bezvodým síranem hořečnatým a za *vakua* odpaří na objem cca 100 ml. K odparku se za míchání a chlazení ledem přidá roztok diazomethanu v diethyletheru do trvale žlutého zabarvení. Po 30 min se přebytečný

diazomethan rozloží kyselinou octovou, směs se za *vakua* odpaří a odparek se chromatografuje na sloupci silikagelu v soustavě octan ethylnatý – toluen (2 : 1).

Homogenní frakce o vyšší  $R_F$  hodnotě se za *vakua* odpaří a získaný krystalický odparek 19,6 g (64,0 %) benzyl-2-acetamido-2-deoxy-4,6-*O*-isopropyliden-3-*O*-[1-(*R*)-(methoxykarbonyl)ethyl]- $\alpha$ -D-glukopyranosidu vzorce **IV** se bez další purifikace deisopropylidenuje (viz příklady 3 a 4). Krystalizací odparku ze směsi toluen – diethylether – petrolether se připraví analytický vzorek látky vzorce **IV** ve výtěžku 76,5 %; t.t. 123 °C,  $[\alpha]_D + 139$  (c 0,5, chloroform). Pro  $C_{22}H_{31}NO_8$  vypočteno: relativní molekulová hmotnost 437,5, monoisotopická hmotnost 437,2. FAB MS,  $m/z$ : 438,4  $[M + H]^+$ , 460,3  $[M + Na]^+$ . Pro  $C_{22}H_{31}NO_8$  (437,5) vypočteno: 60,40 % C; 7,14 % H; 3,20 % N; nalezeno: 60,23 % C, 7,28 % H, 3,27 % N.

Odpařením homogenní frakce o nižší  $R_F$  hodnotě se získá 9,0 g (29,4 %) sirupovitého odparku benzyl-2-acetamido-2-deoxy-4,6-*O*-isopropyliden-3-*O*-[1-(*S*)-(methoxykarbonyl)ethyl]- $\alpha$ -D-glukopyranosidu který stáním prokrystaluje; t.t. 83 °C ;  $[\alpha]_D + 77$  (c 0,5, chloroform). Pro  $C_{22}H_{31}NO_8$  vypočteno: relativní molekulová hmotnost 437,5, monoisotopická hmotnost 437,2. FAB MS,  $m/z$ : 438,3  $[M + H]^+$ , 460,3  $[M + Na]^+$ . Pro  $C_{22}H_{31}NO_8$  (437,5) vypočteno: 60,40 % C; 7,14 % H; 3,20 % N; nalezeno: 60,51 % C, 7,23 % H, 3,18 % N.

### Příklad 2

Hydrid sodný suspendovaný v minerálním oleji (60%; 1,2 g, 30 mmol) se pod argonem promyje suchým hexanem (3 x 5 ml) a suspenduje se v suchém tetrahydrofuranu (10 ml). K míchané suspensi při teplotě místnosti přidá roztok benzyl-2-acetamido-2-deoxy-4,6-*O*-isopropyliden- $\alpha$ -D-glukopyranosidu vzorce **III** (3,5 g, 10 mmol) v suchém tetrahydrofuranu (20 ml) a směs se za míchání zahřívá 2,5 h na 50 °C. Ke směsi se během 2 h přidá roztok kyseliny (*S*)-2-brompropionové (1,1 ml, 12 mmol) v suchém tetrahydrofuranu (10 ml) a směs se za míchání zahřívá dalších 8 h na 50 °C. Směs se ochladí na teplotu místnosti a za míchání se přidá methyljodid (1,0 ml, 16 mmol) a směs se míchá při teplotě místnosti 24 h. Přebytný hydrid se rozloží suchým methanolem (2,0 ml) a pevným oxidem uhličitým a směs se za *vakua* odpaří. Odparek se vezme mezi octan ethylnatý (60 ml) a vodu (20 ml), organická vrstva se oddělí, promyje vodou (2 x 20 ml), vysuší bezvodým síranem hořečnatým a za *vakua* odpaří. Odparek se zfiltruje přes sloupec silikagelu v soustavě octan ethylnatý – toluen (2 : 1) a filtrát se za *vakua* odpaří. Krystalizací produktu ze směsi toluen – diethylether – petrolether se získá 3,3 g (75,4 %) benzyl-2-acetamido-2-deoxy-4,6-*O*-isopropyliden-3-*O*-[1-(*R*)-(methoxykarbonyl)ethyl]- $\alpha$ -D-glukopyranosidu vzorce **IV** shodného s látkou vzorce **IV**, která se připraví postupem podle příkladu 1.

### Příklad 3

K roztoku benzyl-2-acetamido-2-deoxy-4,6-*O*-isopropyliden-3-*O*-[1-(*R*)-(methoxykarbonyl)ethyl]- $\alpha$ -D-glukopyranosidu vzorce **IV** (87,5 g, 200 mmol) v suchém methanolu (500 ml) se přidá iontoměnič Dowex 50 v  $H^+$  cyklu (35 g) a směs se míchá 2 h při teplotě místnosti. Průběh reakce se monitoruje pomocí TLC v soustavě chloroform – methanol (10 : 1). Iontoměnič se odfiltruje, promyje methanolem (2 x 400 ml) a filtrát se za *vakua* odpaří. Výtěžek 78,7 g (99 %) krystalického benzyl-2-acetamido-2-deoxy-3-*O*-[1-(*R*)-(methoxykarbonyl)ethyl]- $\alpha$ -D-glukopyranosidu vzorce **V**, který se bez další purifikace benzoyluje (viz příklad 5). Krystalizací produktu ze směsi octan ethylnatý – diethylether se připraví analytický vzorek látky vzorce **V**; t.t. 134 – 138 °C,  $[\alpha]_D + 152$  (c 0,5, chloroform); lit.<sup>41</sup> t.t. 130 – 132 °C,  $[\alpha]_D + 145$  (c 1,0, chloroform); lit.<sup>42</sup> t.t. 120 – 122 °C,  $[\alpha]_D + 137$  (c 0,9, chloroform); lit.<sup>43</sup>  $[\alpha]_D + 127$  (c 1,0, chloroform). Pro  $C_{19}H_{27}NO_8$  vypočteno: relativní molekulová hmotnost 397,4, monoisotopická hmotnost 397,2. ESI MS,  $m/z$ : 420,3  $[M + Na]^+$ . Pro  $C_{19}H_{27}NO_8$  (397,4) vypočteno: 57,42 % C, 6,85 % H, 3,52 % N; nalezeno: 57,17 % C, 6,88 % H, 3,49 % N.



**Příklad 4**

Benzyl-2-acetamido-2-deoxy-4,6-*O*-isopropyliden-3-*O*-[1-(*R*)-(methoxykarbonyl)ethyl]- $\alpha$ -D-glukopyranosid vzorce **IV** (8,8 g, 20 mmol) se zahřívá za míchání ve směsi kyselina octová - voda (1 : 1, 80 ml) 30 min na 90 °C. Směs se za *vakua* odpaří a odparek se zkrystalizuje směsí octan ethylnatý - diethylether. Výtěžek 6,2 g (78,0 %) benzyl-2-acetamido-2-deoxy-3-*O*-[1-(*R*)-(methoxykarbonyl)ethyl]- $\alpha$ -D-glukopyranosidu vzorce **V**, shodného s látkou vzorce **V**, která se připraví postupem podle příkladu 3.

**Příklad 5**

K míchané suspensi benzyl-2-acetamido-2-deoxy-3-*O*-[1-(*R*)-(methoxykarbonyl)ethyl]- $\alpha$ -D-glukopyranosidu vzorce **V** (79,5 g, 200 mmol) v suchém dichlormethanu (500 ml) se při 0 °C přidá roztok benzoylimidazolu (37,9 g, 220 mmol) v suchém dichlormethanu (150 ml). Směs se míchá 30 min při 0 °C a ponechá stát nejméně 24 h při teplotě místnosti. Průběh reakce se monitoruje pomocí TLC v soustavě chloroform - methanol (10 : 1) a v soustavě toluen - octan ethylnatý (1 : 1). Směs se zředí chloroformem (1000 ml) a získaný roztok se promyje 5% vodným roztokem hydrogensíranu sodného (700 ml), vodou (1000 ml) a nasyceným vodným roztokem chloridu sodného (1000 ml), vysuší bezvodým síranem hořečnatým a za *vakua* odpaří. Výtěžek 99,3 g (99 %) krystalického benzyl-2-acetamido-6-*O*-benzoyl-2-deoxy-3-*O*-[1-(*R*)-(methoxykarbonyl)ethyl]- $\alpha$ -D-glukopyranosidu vzorce **II**, který lze bez další purifikace použít jako glykosylakceptor k syntéze disacharidu (viz příklad 6). Krystalizací produktu ze směsi toluen - heptan se připraví analytický vzorek látky vzorce **II** ve výtěžku 90 %; t.t. 133 - 135 °C,  $[\alpha]_D + 85$  (c 0,3, chloroform). Lit.<sup>44</sup> t.t. 98 - 100 °C,  $[\alpha]_D + 81$  (c 1,0, chloroform). Pro  $C_{26}H_{31}NO_9$  vypočteno: relativní molekulová hmotnost 501,5, monoisotopická hmotnost 501,2. FAB MS,  $m/z$ : 502,1  $[M + H]^+$ , 524,3  $[M + Na]^+$ . Pro  $C_{26}H_{31}NO_9$  (501,5) vypočteno: 62,27 % C, 6,23 % H, 2,79 % N; nalezeno: 62,58 % C, 6,45 % H, 2,66 % N.

**Příklad 6**

Směs benzyl-2-acetamido-6-*O*-benzoyl-2-deoxy-3-*O*-[1-(*R*)-(methoxykarbonyl)ethyl]- $\alpha$ -D-glukopyranosidu vzorce **II** (50,2 g, 100 mmol) a trifluormethansulfonanu stříbrného (46,3 g, 180 mmol) se suší 6 h při teplotě místnosti a tlaku 1,32 Pa. Pod argonem se přidá suchý dichlormethan (300 ml). Směs se ochladí na -30 °C a za míchání se během 1 h přidá roztok 3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy-2-ftalimido- $\beta$ -D-glukopyranosyl bromidu (89,7 g, 180 mmol) v suchém dichlormethanu (300 ml). Směs se míchá 1 h při -30 °C a 2 h při -20 °C. Ke směsi se za míchání při -20 °C přidá pyridin (50 ml) a po vystoupení teploty na teplotu místnosti se směs se zředí chloroformem (1000 ml) a zfiltruje. Filtrát se promyje chlazeným (+4 °C) nasyceným vodným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného (1000 ml), vodou (1000 ml) a nasyceným vodným roztokem chloridu sodného (1000 ml), vysuší se bezvodým síranem hořečnatým, za *vakua* odpaří a za *vakua* kodestiluje s toluenem (2 x 500 ml). Chromatografií odparku na sloupci silikagelu v soustavě octan ethylnatý - toluen (2 : 1) se získá 78,1 g (85,0 %) benzyl-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy-2-ftalimido- $\beta$ -D-glukopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-6-*O*-benzoyl-2-deoxy-3-*O*-[1-(*R*)-(methoxykarbonyl)ethyl]- $\alpha$ -D-glukopyranosidu vzorce **VI** ve formě pevné pěny;  $[\alpha]_D + 37$  (c 0,1, chloroform). Pro  $C_{46}H_{50}N_2O_{18}$  vypočteno: relativní molekulová hmotnost 918,9, monoisotopická hmotnost 918,3. ESI MS,  $m/z$ : 941,5  $[M + Na]^+$ . Pro  $C_{46}H_{50}N_2O_{18}$  (918,9) vypočteno: 60,13 % C, 5,48 % H, 3,05 % N; nalezeno: 60,33 % C, 5,45 % H, 2,86 % N.

**Příklad 7**

Roztok benzyl-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy-2-ftalimido- $\beta$ -D-glukopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-6-*O*-benzoyl-2-deoxy-3-*O*-[1-(*R*)-(methoxykarbonyl)ethyl]- $\alpha$ -D-glukopyranosidu vzorce **VI** (18,4 g, 20 mmol) v 0,01 M roztoku methoxidu sodného v suchém methanolu (500 ml) se nechá

stát 48 h při laboratorní teplotě a směs se zneutralizuje přidáním iontoměniče Dowexu 50 v pyridiniovém cyklu. Iontoměnič se odfiltruje, promyje methanolem (200 ml) a filtrát se za *vakua* odpaří. Odparek se za míchání zahřívá v 0,25 M vodném roztoku hydroxidu sodného (550 ml) na 60 °C 3,5 h. Po ochlazení na teplotu místnosti je směs zneutralizována iontoměničem Dowex 50 v pyridiniovém cyklu. Iontoměnič se odfiltruje, promyje vodou (100 ml), eluát se za *vakua* odpaří a odparek se za *vakua* kodestiluje se suchým methanolem (3 x 80 ml). Odparek se rozpustí ve směsi methanolu a *n*-butylaminu (4 : 1, 300 ml) a roztok se zahřívá v tlakové nádobě 11 h na 85 - 90 °C. Po ochlazení na teplotu místnosti se směs za *vakua* odpaří a odparek se extrahuje diethyletherem (3 x 150 ml). Nerozpustný zbytek se rozpustí ve vodě (250 ml), pH roztoku se kyselinou mravenčí upraví na pH 4 a roztok se nalije na sloupec iontoměniče Dowex 50 v amoniiovém cyklu (800 ml). Sloupec iontoměniče se promyje vodou (1500 ml) a produkt se z iontoměniče uvolní promytím 5% vodným amoniakem (1000 ml). Eluát se za *vakua* odpaří. Získaný enzym-2-amino-2-deoxy- $\beta$ -D-glukopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-2-deoxy-3-*O*-[1-(*R*)-karboxyethyl- $\alpha$ -D-glukopyranosid] vzorce **VII** se bez další purifikace *N*-acetyluje (viz příklad 8). Analytický vzorek látky vzorce **VII** se připraví krystalizací z ethanolu; t.t. 183 - 185 °C;  $[\alpha]_D^{20} +109$  (c 0,2, voda). Pro  $C_{24}H_{36}N_2O_{12}$  vypočteno: relativní molekulová hmotnost 544,6, monoisotopická hmotnost 544,2. ESI MS,  $m/z$ : 545,0  $[M + H]^+$ , 567,3  $[M + Na]^+$ .

#### Příklad 8

K míchanému roztoku benzyl-2-amino-2-deoxy- $\beta$ -D-glukopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-2-deoxy-3-*O*-[1-(*R*)-karboxyethyl- $\alpha$ -D-glukopyranosid] vzorce **VII** (získaného v příkladě 7) ve vodě (160 ml) se při teplotě místnosti postupně během 15 min přidá anhydrid kyseliny octové (20 ml). Po 30 min se přidá další podíl anhydridu kyseliny octové (20 ml) a v míchání se pokračuje po dobu 2 h. Roztok se za *vakua* odpaří, odparek se rozpustí ve vodě a roztok se nalije na sloupec iontoměniče Dowex 50 v pyridiniovém cyklu (300 ml). Iontoměnič se promyje vodou (700 ml) a eluát se za *vakua* odpaří a odparek se lyofilizuje z vody. Výtěžek 7.1 g (60,5 %) benzyl-2-acetamido-2-deoxy- $\beta$ -D-glukopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-2-deoxy-3-*O*-[1-(*R*)-karboxyethyl- $\alpha$ -D-glukopyranosid] vzorce **I**, vzhledem k množství látky vzorce **VI**;  $[\alpha]_D^{20} + 70$  (c 0,2, voda). Pro  $C_{26}H_{38}N_2O_{13}$  vypočteno: relativní molekulová hmotnost 586,6, monoisotopická hmotnost 586,2. ESI MS,  $m/z$ : 609,4  $[M + Na]^+$ . Pro  $C_{26}H_{38}N_2O_{13}$  (586,6) vypočteno: 53,24 % C, 6,53 % H, 4,78 % N; nalezeno: 53,05 % C, 6,82 % H, 4,55 % N.

#### Příklad 9

K míchanému roztoku benzyl-2-acetamido-2-deoxy- $\beta$ -D-glukopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-2-deoxy-3-*O*-[1-(*R*)-karboxyethyl- $\alpha$ -D-glukopyranosid] **I** (587 mg, 1 mmol) v *N,N*-dimethylformamidu (4 ml) se při teplotě místnosti přidá bis(pentafluorfenyl)karbonát (434 mg, 1,1 mmol) a 4-methylmorfolin (0,11 ml, 1 mmol) a směs se míchá jednu hodinu. Průběh reakce se monitoruje pomocí TLC v ethanolu. Přidá se dioxan (20 ml) a směs se lyofilizuje. Opakovanou lyofilizací produktu z dioxanu se získá 723 mg (96 %) benzyl-2-acetamido-2-deoxy- $\beta$ -D-glukopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-2-deoxy-3-*O*-[1-(*R*)-(pentafluorfenoxycarbonyl)ethyl- $\alpha$ -D-glukopyranosid] vzorce **X**, který se bez další purifikace kondenzuje s peptidovou komponentou (viz příklad 10). Pro  $(C_{32}H_{37}F_5N_2O_{13})$  vypočteno: relativní molekulová hmotnost 752,6, monoisotopická hmotnost 752,2. ESI MS,  $m/z$ : 775,6  $[M + Na]^+$ .

#### Příklad 10

K míchanému roztoku benzyl-2-acetamido-2-deoxy- $\beta$ -D-glukopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-2-deoxy-3-*O*-[1-(*R*)-(pentafluorfenoxycarbonyl)ethyl- $\alpha$ -D-glukopyranosid] vzorce **X** (753 mg, 1 mmol) se při 0 °C přidá roztok L-Ala-D-iso-Gln-OBn (615 mg, 2 mmol) a *N*-methylmorfolinu (0,30 ml, 2,73 mmol) v pyridinu (6 ml) a v míchání se pokračuje 20 h při

+5 °C. Směs se za *vakua* odpaří a odparek se za *vakua* kodestiluje s kyselinou octovou (10 ml) a chromatografuje na koloně silikagelu C18 v soustavě voda - methanol (lineární gradient: 0→30 %, 60 min). Lyofilizací odparku homogenní frakce z vody se získá 744 mg (85,0 %) benzyl esteru *N*-{2-*O*-[benzyl-2-acetamido-2-deoxy-β-D-glukopyranosyl-(1→4)-2-acetamido-2,3-dideoxy-α-D-glukopyranosid-3-yl]-(*R*)-laktoyl}-*L*-alanyl-D-isoglutaminu obecného vzorce **XI** (kde substituent *X* je *L*-Ala-D-iso-Gln-OBn);  $[\alpha]_D +50$  (c 0,4, 50% methanol ve vodě). Pro (C<sub>41</sub>H<sub>57</sub>N<sub>5</sub>O<sub>16</sub>) vypočteno: relativní molekulová hmotnost 875,9, monoisotopická hmotnost 875,4. ESI MS, *m/z*: 898,4 [M + Na]<sup>+</sup>. Pro C<sub>41</sub>H<sub>57</sub>N<sub>5</sub>O<sub>16</sub> (875,9) vypočteno: 56,22 % C, 6,56 % H, 8,00 % N; nalezeno: 55,81 % C, 6,60 % H, 7,90 % N.

#### Příklad 11

Benzylester *N*-{2-*O*-[benzyl-2-acetamido-2-deoxy-β-D-glukopyranosyl-(1→4)-2-acetamido-2,3-dideoxy-α-D-glukopyranosid-3-yl]-(*R*)-laktoyl}-*L*-alanyl-D-isoglutaminu vzorce **XI** (876 mg, 1 mmol) se hydrogenolyzuje vodíkem na 5% paladiovém katalyzátoru na uhlí (300 mg) v kyselině octové (14 ml) při teplotě místnosti 48 h. Po propláchnutí aparatury argonem se katalyzátor odfiltruje, promyje 50% kyselinou octovou (30) a filtrát za *vakua* odpaří. Odparek se chromatografuje na koloně silikagelu C18 v soustavě voda - methanol (lineární gradient: 0→20 %, 60 min). Lyofilizací odparku homogenní frakce z vody se získá 612 mg (88 %) 2-acetamido-2-deoxy-β-D-glukopyranosyl-(1→4)-*N*-acetylmuramyl-*L*-alanyl-D-isoglutaminu (GMDP) obecného vzorce **IX** (kde substituent *X* je *L*-Ala-D-iso-Gln-OH);  $[\alpha]_D -3$  (c 0,3, voda); lit.<sup>27</sup>  $[\alpha]_D -2$  (c 1,0, voda). Pro (C<sub>27</sub>H<sub>45</sub>N<sub>5</sub>O<sub>16</sub>) vypočteno: relativní molekulová hmotnost 695,7, monoisotopická hmotnost 695,3. ESI MS, *m/z*: 718,5 [M + Na]<sup>+</sup>. Pro C<sub>27</sub>H<sub>45</sub>N<sub>5</sub>O<sub>16</sub> (695,7) vypočteno: 46,62 % C, 6,52 % H, 10,07 % N; nalezeno: 46,21 % C, 6,85 % H, 9,96 % N.

#### Příklad 12

Benzyl-2-acetamido-2-deoxy-β-D-glukopyranosyl-(1→4)-2-acetamido-2-deoxy-3-*O*-[1-(*R*)-karboxyethyl-α-D-glukopyranosid vzorce **I** (5,9 g, 10 mmol) se hydrogenolyzuje vodíkem na 5% paladiovém katalyzátoru na uhlí (3 g) v kyselině octové (140 ml) při teplotě místnosti 48 h. Po propláchnutí aparatury argonem se katalyzátor odfiltruje, promyje 50% kyselinou octovou (300 ml) a filtrát za *vakua* odpaří. Odparek se chromatografuje na koloně silikagelu C18 v soustavě voda - methanol (lineární gradient: 0→20 %, 60 min). Lyofilizací odparku homogenní frakce z vody se získá 4667 mg (94 %) kyseliny 2-acetamido-2-deoxy-β-D-glukopyranosyl-(1→4)-*N*-acetylmuramové vzorce **VIII**;  $[\alpha]_D +5$  (c 0,3, voda); lit.<sup>29</sup>  $[\alpha]_D +4$  (c 1,0, voda). Pro (C<sub>19</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>13</sub>) vypočteno: relativní molekulová hmotnost 496,5, monoisotopická hmotnost 496,2. ESI MS, *m/z*: 519,4 [M + Na]<sup>+</sup>. Pro C<sub>19</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>13</sub> (496,5) vypočteno: 45,97 % C, 6,50 % H, 5,64 % N; nalezeno: 45,57 % C, 6,72 % H, 5,43 % N.

Struktura výše jmenovaných látek byla dále jednoznačně prokázána jejich <sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C NMR spektry.

#### Průmyslová využitelnost

Látky podle vynálezu lze využít v základním výzkumu, farmaceutickém průmyslu a v humánním a veterinárním lékařství.

## Literatura

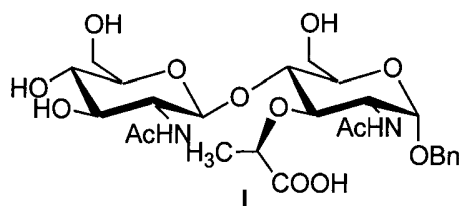
1. Adam A.Adam A., in: *Synthetic Adjuvants*, p. 1. John Wiley and Sons, New York 2004.
2. Andronova T.M., Ivanov V.T.: *Sov. Nedical. Review D. Immunology* 1991, 4, 1.
3. Azuma I.: *Vaccine* 1992, 10, 1000.
4. Baschang G.: *Tetrahedron* 1989, 45, 6331.
5. Hiraoka A., Masaoka T., Satoh T., Ota K., Oyama A., Horiuchi A., Hasegawa H., Nagai K., Kosaki M., Kanemaru A.: *Arzneimittel-Forschung* 1988, 38,1499.
6. Furuse K., Sakuma A.: *Arzneimittel-Forschung* 1989, 39,915.
7. Khaidukov S., V, Komaleva R.L., Nesmeyanov V.A.: *International Journal of Immunopharmacology* 1995, 17,903.
8. Yoo Y.C., Yoshimatsu K., Koike Y., Hatsuse R., Yamanishi K., Tanishita O., Arikawa J., Azuma I.: *Vaccine* 1998, 16, 216.
9. Namba K., Nakajima R., Otani T., Azuma I.: *Vaccine* 1996, 14,1149.
10. Niki Y., Tatara O.: *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1992, 319,185.
11. Yoo Y.C., Park S.Y., Lee K.B., Azuma I.: *Journal of Microbiology and Biotechnology* 2000, 10, 399.
12. Aston R. ((Biokine Technology Ltd., UK): WO 92-GB2137.9310148;
13. Aston R., Maitchouk I., Andronova T.M. ((Peptech (Uk) Limited, UK): WO 95-GB2237.9609063;
14. Vosika G.J., Cornelius D.A., Bennek J.A., Sadlik J.R., Gilbert C.W.: *Mol. Biother.* 1990, 2, 50.
15. Vosika G.J., Cornelius D.A., Gilbert C.W., Sadlik J.R., Bennek J.A., Doyle A., Hertsgaard D.: *J. Immunother.* 1991, 10, 256.
16. Fast D.J., Vosika G.J.: *Vaccine* 1997, 15, 1748.
17. Vosika G.J. ((Endorex Corporation, USA): WO 97-US8146.9743308;
18. M.F.Powell, M. J. Newman Eds.*Vaccine design*, (M.F.Powell, M. J. Newman Eds.), p. 141. Plenum Press, New York 1995.
19. Banoub J., Boullanger P., Lafont D.: *Chemical Reviews* 1992, 92, 1167.
20. Garegg P.J.: *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry, Vol 52* 1997, 52, 179.
21. Paulsen H.: *Angewandte Chemie-International Edition in English* 1982, 21, 155.

22. Schmidt R.R., Kinzy W.: *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, Vol 50 **1994**, 50, 21.
23. Sinay P.: *Pure and Applied Chemistry* **1991**, 63, 519.
24. Inage M., Imoto M., Kambayashi Y., Kusumoto S., Shiba T.: *Tetrahedron Letters* **1980**, 21, 3767.
25. Kusumoto S., Yamamoto K., Imoto M., Inage M., Tsujimoto M., Kotani S., Shiba T.: *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1986**, 59, 1411.
26. Durette P.L., Meitzner E.P.: *Carbohydr. Res.* **1981**, 89, 279.
27. Kiso M., Kaneda Y., Shimizu R., Hasegawa A., Azuma I.: *Carbohydr. Res.* **1982**, 104, 253.
28. Durette P.L. ((Merck and Co., Inc. USA): EP 80-400566.18901;
29. Kantoci D., Keglevic D., Derome A.E.: *Carbohydr. Res.* **1987**, 162, 227.
30. Kusumoto S., Imoto M., Ogiku T., Shiba T.: *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1986**, 59, 1419.
31. Termin A., Schmidt R.R.: *Liebigs Annalen der Chemie* **1989**, 789.
32. Termin A., Schmidt R.R.: *Liebigs Annalen der Chemie* **1992**, 527.
33. Vosika G.J. ((Endorex Corporation, USA): WO 96-US15391.9712894;
34. Bezrukova E.J. ((Bezrukov, Mikhail Vasilievich Russia and Bezrukova, Elena Jurievna): WO 96-RU254.9710259;
35. Bistrichenko A. ((Bistrichenko, Andrejs Latvia and Jermolajevs, Jevgenijs): LV 94-940018.10963;
36. Vosika G.J. ((ImmunoTherapeutics, Inc. USA): WO 89-US302.9000396;
37. Farkaš J., Ledvina M., Brokeš J., Ježek J., Zajíček J., Zaoral M.: *Carbohydr. Res.* **1987**, 163, 63.
38. Veselý J., Ledvina M., Jindřich J., Šaman D., Trnka T.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2003**, 68, 1264.
39. Ledvina M., Farkaš J., Zajíček J., Ježek J., Zaoral M.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1989**, 54, 2784.
40. Zaoral M., Jezek J., Straka R., Masek K.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1978**, 43, 1977.
41. Keglevic D., Pongracic M.: *Carbohydr. Res.* **1984**, 135, 85.
42. Flowers H.M., Jeanloz R.: *Jouranal of Organic Chemistry* **1963**, 28, 2983.

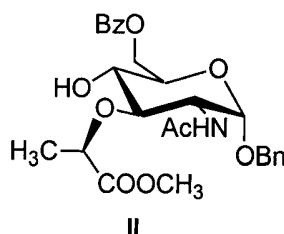
43. Arita H., Fukukawa K., Matsushima Y.: *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1972**, 45, 3611.
44. Hasegawa A., Kaneda Y., Amano M., Kiso M., Azuma I.: *Agricultural and Biological Chemistry* **1978**, 42, 2187.

# Patentové nároky

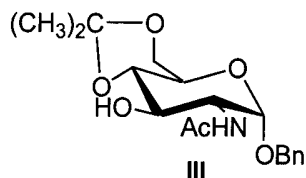
## 1. Disacharidový synthon vzorce I



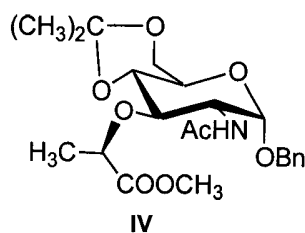
## 2. Způsob přípravy látky vzorce I podle nároku 1, vyznačující se tím, že jako glykosylakceptor se při její syntéze použije derivát kyseliny muramové vzorce II



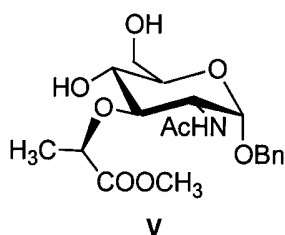
který se připraví z látky vzorce III



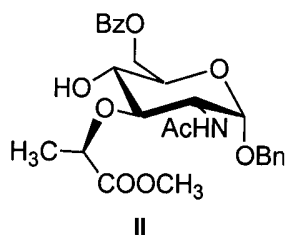
přičemž látka vzorce III se 3-O-alkylací kyselinou 2-brompropionovou a následnou esterifikací převede na látku vzorce IV



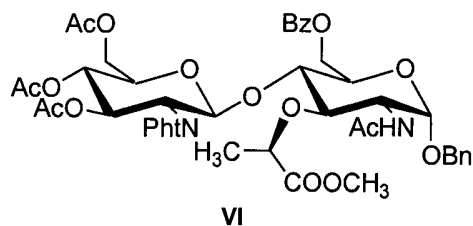
která se převede odštěpením isopropylidenové skupiny na látku vzorce V



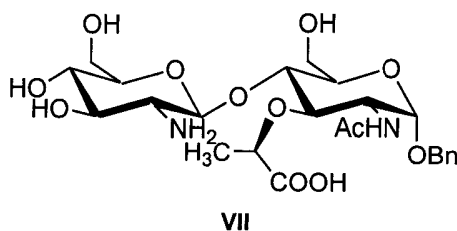
ta se parciální benzoylací benzoylimidazolem převede na glykosylakceptor vzorce **II**



který reakcí s 3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy-2-ftalimido- $\beta$ -D-glukopyranosyl-bromidem, jako glykosyldonorem, poskytne disacharid vzorce **VI**



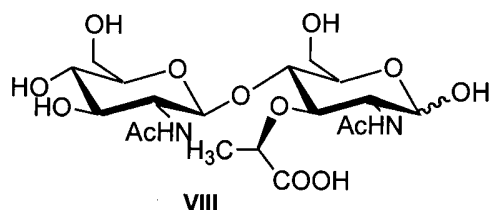
ten se převede postupným odstraněním alkalilabilních chránících skupin (tj. acetylové, benzoylové, methylesterové a ftalimidové) na látku vzorce **VII**



která *N*-acetylací poskytne disacharidový synthon vzorce **I**.

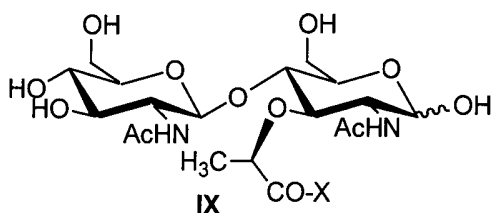
3. Využití disacharidového synthonu vzorce **I** podle nároků 1 a 2 při syntéze kyseliny 2-acetamido-2-deoxy- $\beta$ -D-glukopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-*N*-acetylmuramové vzorce **VIII**



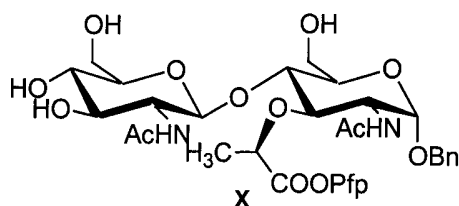


na kterou se převede hydrogenolytickým odštěpením benzylové chránicí skupiny.

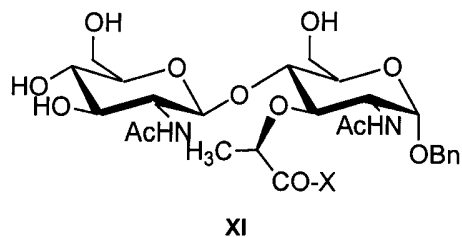
4. Využití disacharidového synthonu vzorce I podle nároků 1 a 2 při syntéze muramyl-  
lových glykopeptidů založených na molekule GMDP obecného vzorce IX



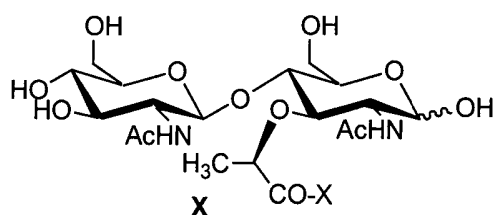
kde substituent X je peptidový zbytek,  
přičemž se disacharidový synthon vzorce I reakcí s bis(pentafluorofenyl)karbonátem převede  
na látku vzorce X



která se reakcí s peptidovou komponentou převede na látku obecného vzorce XI



kde substituent X je peptidový zbytek, ta odštěpením chránících skupin za podmínek daných  
jejich charakterem poskytne látku obecného vzorce IX



kde substituent X je peptidový zbytek.