



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY

A OBJEVY

(22) Přihlášeno 03 02 81
(21) (PV 797-81)
(32) (31)(33) Právo přednosti od 04 02 80
(118049) a (118051)
Spojené státy americké

(40) Zveřejněno 13 08 84

(45) Vydáno 15 08 86

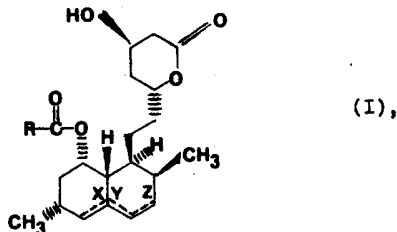
(51) Int. Cl.³

C 07 D 309/30
C 07 C 69/616
//A 61 K 31/35

(72) Autor vynálezu WILLARD ALVIN K., WILMINGTON, SMITH ROBERT L., HOFFMAN WILLIAM F.,
LANSDALE (Sp. st. a.)
(73) Majitel patentu MERCK & CO., INC., RAHWAY, NEW JERSEY (Sp. st. a.)

(54) Způsob přípravy acyloxypolyhydronaftylderivátů 2H-pyran-2-onu

Způsob přípravy acyloxypolyhydronaftyl-
derivátů 2H-pyran-2-onu obecného vzorce I



a odpovídajících dihydroxykyselin obecného vzorce II při němž se zahřívá sloučenina obecného vzorce III s hydroxidem alkalického kovu v protickém rozpouštědle, načež se okyselením a laktónisací získá sloučenina obecného vzorce IV, která se nechá reagovat s terc.butyldimethylchlorsilanem v inertní atmosféře při teplotě místnosti v přítomnosti akceptoru kyseliny, vzniklé 4-terc.-butyldimethylsilyloxysloučenina se acyluje odpovídajícím acylačním činidlem obsahujícím zbytek ve významu R, ve vzniklé sloučenině se silylová skupina odstraní při teplotě místnosti v tetrahydrofuranu v přítomnosti 3 ekvivalentů tetrabutylamoniumfluoridu a 4 ekvivalentů kyseliny octové na ekvivalent silylsloučeniny.

Sloučeniny podle vynálezu jsou silnými inhibitory biosynthesy cholesterolu.

Vynález se týká skupiny 6(R)-[2-(8'-acyloxy-2'-methyl-6'-methyl(nebo hydrogeno)-polyhydronaftyl-1')-ethyl]-4(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-onů a hydroxykyselinové formy těchto pyrenonů a farmaceutických vhodných solí těchto hydroxykyselin a nižším alkylem a fenylem, dimethylaminoskupinou nebo acetylaminoskupinou substituovaných alkylesterů těchto hydroxykyselin.

Přesněji se vynález týká sloučenin obecného vzorce I uvedených v tabulce I, kde čárkované linie X, Y a Z představují možné dvojné vazby, přičemž tyto dvojné vazby v případě, že jsou přítomné, jsou buď X a Z dohromady nebo samotné X, Y nebo Z, R je nerozvětvený nebo rozvětvený alkyl s 1 až 10 atomy uhlíku (kromě (S)-2-butylu), cykloalkyl s 3 až 10 atomy uhlíku, alkenyl s 2 až 10 atomy uhlíku, skupinou CF_3 substituovaný alkyl s 1 až 10 atomy uhlíku, halogenfenyl, a volných hydroxykyselin vzorce II vzniklých otevřením laktonového kruhu vzorce I v tabulce I.

Vynález se také týká 6(R)-[2-(8'-hydroxy-2', 6'-dimethylpolyhydronaftyl-1')-ethyl]-4(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-onů jako meziproduktů pro výše popsané 8'-acyloxysloučeniny.

Je známo, že určité deriváty kyseliny mevalonové inhibují biosyntesu cholesterolu viz F.M. Singer aj., Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 102, 370 (1959) a F.H. Hulcher, Arch. Biochem. Biophys., 146, 422 (1971). I když aktivita těchto známých sloučenin není vždy dostatečná, mají tyto sloučeniny praktické uplatnění.

V USA patentech č. 4 049 495, 4 137 322 a 3 983 140 se uvádí příprava fermentačních produktů, které jsou zcela aktivní při inhibici biosyntesy cholesterolu. Nejaktivnějším členem této skupiny přírodních látek nyní nazývaných Compactin (IIIa) byl uveden Brownem aj. [J. Chem. Soc. Perkin I, 1165 (1976)] a tato sloučenina má strukturu derivátu mevalolaktonu.

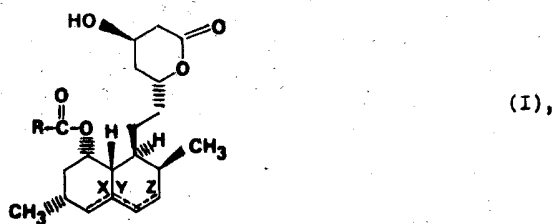
V USA patentu č. 4 231 938 je uveden inhibitor, označený MK-803 struktury IIIa v tabulce I, který byl izolován z úplně odlišné fermentace.

Dále se popisují dihydro MK-803 označený vzorcem III_d v tabulce I, který má stejný účinek jako MK-803 izolovaný ze stejné fermentace jako MK-803. Kromě toho jsou známé dihydro- a tetrahydroderiváty MK-803 struktur III_{b,c,e} (tabulka I), které se připraví katalytickou hydrogenací MK-803.

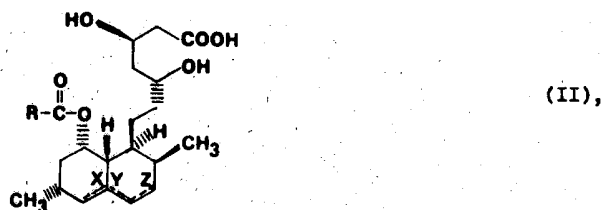
Nyní bylo nalezeno, že α -methyl-butyrylskupina ve sloučenině vzorce III_a a v hydrogenovaných derivátech vzorce III_{b-e} se může snadno odštěpit za vzniku skupiny 6(R)-[2-(8-hydroxy-2,6-dimethylpolydihronaftyl)-1-ethyl]-4(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-onů, které jsou také hypocholesteremická činidla a které jsou použitelné jako meziprodukty pro přípravu nových esterů, které jsou ještě účinnější při tomto použití.

Bylo nalezeno, že 8'-hydroxysloučeniny strukturního vzorce IV je možno acylovat za vzniku nové skupiny 8-acyloxysloučenin vzorce I a II níže uvedených definicí. Tyto nové sloučeniny jsou inhibitory syntesy cholesterolu in vivo.

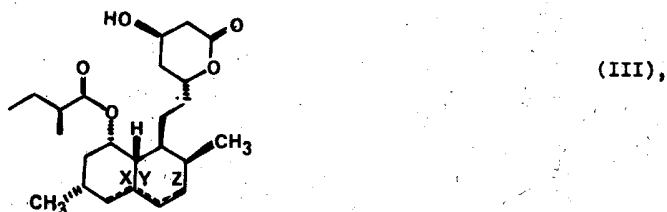
Předmětem vynálezu je způsob přípravy acyloxypolyhydronaftylderivátů 2H-pyran-2-onu obecného vzorce I



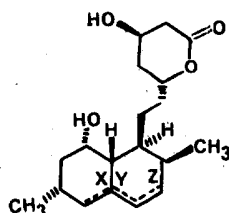
kde R je popřípadě rozvětvený alkyl s 1 až 10 atomy uhlíku, s výjimkou 2-(S)-butylu, cykloalkyl s 3 až 10 atomy uhlíku, alkenyl s 2 až 10 atomy uhlíku, skupinou CF_3 substituovaný alkyl s 1 až 10 atomy uhlíku, halogenfenyl, symboly X, Y a Z představují možné dvojné vazby, přičemž jestliže jsou tyto dvojné vazby přítomné, pak jsou buď v kombinaci X a Z nebo samotné vazby X, Y nebo Z a odpovídajících dihydroxykyselin obecného vzorce II



kde symboly R, X, Y a Z mají výše uvedený význam nebo farmaceuticky vhodných solí těchto kyselin, alkylesterů s 1 až 4 atomy uhlíku těchto kyselin nebo fenyldeimethylemino- nebo acetylaminosubstituovaných alkylesterů s 1 až 4 atomy uhlíku těchto kyselin, který se provádí tak, že se zahrývá sloučenina obecného vzorce III



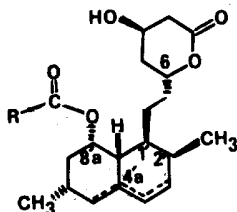
kde symboly X, Y a Z mají výše uvedený význam, s hydroxidem alkalického kovu v protickém rozpouštědle, načež se okyselením a laktonisací získá sloučenina obecného vzorce IV



(IV),

kde symboly X, Y a Z mají výše uvedený význam, která se nechá reagovat s terc.butyldimethyl-chlorsilanem v inertní atmosféře při teplotě místnosti v přítomnosti akceptoru kyseliny, vzniklá 4-terc.-butyldimethylsilyloxysloučenina se acyluje odpovídajícím acylačním činidlem obsahujícím zbytek ve významu R, ve vzniklé sloučenině se silylová skupina odstraní při teplotě místnosti v tetrahydrofuranu v přítomnosti 3 ekvivalentů tetrabutylamoniumfluoridu a 4 ekvivalentů kyseliny octové na ekvivalent silylsloučeniny.

Absolutní konfigurace těchto sloučenin je známá ze struktury stanovené difrakcí X-paprsky. Tabulka I znázorňuje tyto struktury a jejich stereochemické vztahy. Vztahová čísla různých sloučenin, včetně sloučenin různých serií polyhydronaftylových struktur zůstávají stejná během celého popisu a jako taková se používají. Každý z esterů vzorce I_{a-e} tohoto vynálezu obsahuje sedm až osm chirálních center. Relativní a absolutní konfigurace těchto asymetrických center je znázorněna v tabulce I. Přesněji pro ester vzorce I_a, Cahn, Ingold, Prelogovo označení absolutní konfigurace je 4(R), 6(R), 1'(S), 2'(S), 6'(R), 8'(S) a 8a'(R) [R.S. Cahn, C. Ingold a V. Prelog, Angew. Chem. Int. Ed., 5, 385 (1966)].

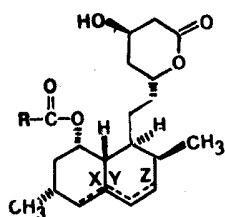


(Ia),

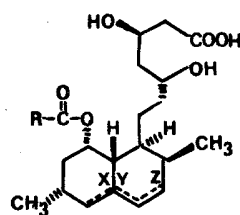
Jak je uvedeno ve vzorcích I_{a-e} všechny tyto sloučeniny mají stejnou prostorovou orientaci skupin na každém z chirálních atomů uhlíku a tudíž přísluší ke stejné stereochemické serii. R-S označení pro každé centrum nemusí být identické s označením nalezeným pro ester vzorce I_a vzhledem k detailům sekvenčního pravidla použitého pro stanovení tohoto označení. U dvou esterů vzorce I_a a I_e, které mají další chirální atom uhlíku, který nebyl přítomen v esteru vzorce I_a, atom vodíku u 4a' je orientován pod rovinu (nebo α), jak je znázorněno v tabulce I a má tudíž trans spojení kruhů.

Tabulka I

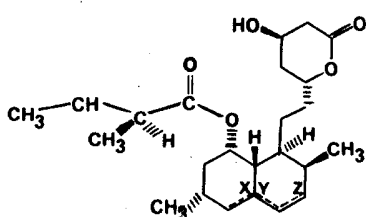
Sloučeniny podle vynálezu a jejich stereochemický vztah



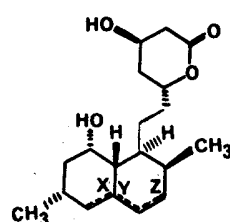
I-a-e,



II-a-e,



III-a-e,



IV-a-e

Stereochemie hydronaftylové série

Série

Přítomná
dvojná vazba

Struktura

a

X a Z



b

X



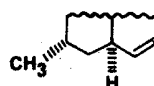
c

Y



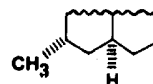
d

Z



e

žádná

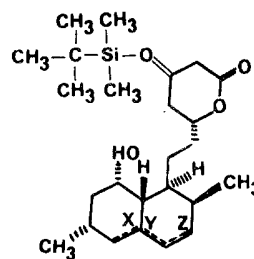
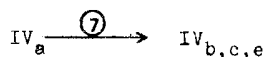
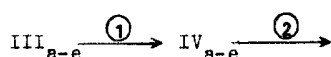


8'-acyloxysloučeniny podle vynálezu jsou použitelné jako antihypercholesterolemická činidla vhodná pro léčení atherosklerosy, hyperlipemie a podobných nemocí u lidí. Mohou se aplikovat orálně nebo parenterálně ve formě kapslí, tablet, injikovatelných preparátů apod. Obvykle je žádoucí použití orálního způsobu. Dávky mohou být různé a závisí na věku, vážnosti onemocnění, tělesné hmotnosti a ostatních stavech pacienta, ale denní dávka pro dospělého je v rozmezí od 2 do 2 000 mg (s výhodou 10 až 100 mg) ve třech až čtyřech rozdělených dávkách. V případě potřeby se mohou aplikovat i vyšší dávky.

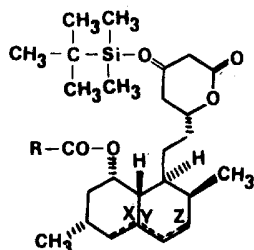
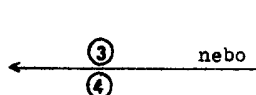
Sloučeniny podle vynálezu se mohou také používat jako činidla proti plísni. Například se mohou použít pro kontrolu růstu kmenů *Penicillium* sp., *Aspergillus niger*, *Cladosporium* sp., *Cochliobolus miyabeanus* a *Helminthosporium cynodnotis*. Pro takové použití se smísí s vhodným formulačním činidlem, jako jsou popraše, emulgační činidla nebo rozpouštědla (například vodný ethanol) a stříkají se jím nebo poprašují rostliny, které mají být chráněny.

Příprava sloučenin podle vynálezu je znázorněna ve schématu A.

S c h é m a A



V_{a-e}



VI_{a-e}

(5)

I_{a-e}

(6)

II_{a-e}

Označení - X, Y, Z a R mají význam uvedený v popisu a serii a-e, jak je definováno v tabulce I.

Reakce - 1) Lithium hydroxid, zahřívání, okyselení a laktonisace.

2) Terc.butylldimethylchlorsilan a imidazol v dimethylformamidu při teplotě místnosti v inertní atmosféře.

3) Reakce s RCOCl a 4-dimethylaminopyridinem v pyridinovém roztoku, s výhodou v inertní atmosféře.

4) Reakce s RCOOH a N,N'-dicyklohexylkarbodiimidem a 4-pyrrolidinopyridinem v dichlormethanu, s výhodou v inertní atmosféře.

5) Tři ekvivalenty tetrabutylamoniumfluoridu a čtyři ekvivalenty kyseliny octové na ekvivalent esteru v tetrahydrofuranu, s výhodou v inertní atmosféře.

6) Vodný hydroxid alkalického kovu a následující opatrné okyselení zředěnou kyselinou.

7) Viz reakce, reakční činidla a schéma pro syntesu sloučenin vzorce $\text{III}_{b,c,e}$.

Příprava nových alkoholů podle vynálezu se provádí zahříváním esterů vzorce III_{a-e} s hydroxidem alkalického kovu, jako je hydroxid lithný, hydroxid draselný nebo hydroxid sodný v protickém rozpouštědle, jako jsou voda nebo alkoholy za varu po dobu 50 až 72 hodin nebo za tlaku při vyšších teplotách 120 až 180 °C po kratší dobu 8 až 24 hodin.

Pyranonový kruh se snadno otevírá, ale odstranění podstranní acylové skupiny neprobíhá snadno. Zahřívání se musí provádět dlouho a/nebo se musí použít tlak. Rovněž tak je výhodné použití inertní atmosféry. Je zcela neočekávané, že molekula s tak mnoha citlivými funkčními centry může vydržet podmínky nutné pro odstranění vysoce bráněného α -methylbutyrylesteru. Zcela neočekávané je, že sloučenina se získá ve vysokém výtěžku.

Produkty se izolují okyselením a extrakcí organickými rozpouštědly a získá se tak forma trihydroxykyseliny sloučeniny vzorce IV_{a-e} . Tyto trihydroxykyseliny se mohou re-laktonisovat zahříváním roztoku kyseliny ve vhodném organickém rozpouštědle, jako je toluen nebo benzen v aparatuře umožňující kontinuální oddělování vzniklé vody.

Alkoholy, které tvoří část předloženého vynálezu zahrnují struktury vzorců IV_{a-e} , jakož i trihydroxykyseliny vznikající otevřením laktonových kruhů.

Alternativní syntetická cesta ke sloučeninám vzorců $\text{IV}_{b,c,e}$ zahrnuje stupně hydrolysy sloučenin vzorců III_a až IV_a , jak bylo popsáno výše a následující hydrogenací sloučeniny vzorce IV_a , za podmínek popsaných dříve pro přípravu sloučenin vzorce $\text{III}_{b,c,e}$, za vzniku sloučenin vzorců IV_b , IV_c nebo IV_e , a to v závislosti na reakčních podmínkách.

Příprava sloučenin vzorců IV_{a-e}

Výchozí materiály, 8'-hydroxysloučeniny vzorců IV_{a-e} popsané Willardem se připravují z různých 8'-esterů popsaných Monaghanem aj. (III_a), Albers-Schonbergem aj. (III_d) a Patchettem aj. ($\text{III}_{b,c,e}$) zahříváním s roztokem hydroxidu sodného po delší dobu. Pyranový kruh se snadno otevírá, ale odstranění postranní skupiny není snadné. Zahřívání se musí provádět delší dobu a/nebo se musí použít tlak. Rovněž tak je vhodné použití inertní atmosféry.

V případě sloučenin vzorců III_{a-e} zymdelnění 8'-esterů probíhá snadněji, a to asi během 20 hodin je zymdelnění úplné.

8'-hydroxyprodukty se izolují okyselením a extrakcí organickými rozpouštědly, které poskytnou sloučeniny ve formě hydroxykyseliny, ve které pyranonový kruh je stále otevřen. Tyto hydroxykyseliny se relaktonisují zahříváním roztoku kyseliny ve vhodném organickém rozpouštědle, jako je benzen nebo toluen v aparatuře, která dovoluje kontinuální oddělování vzniklé vody.

Ve formě lektonu jsou tyto alkoholy sloučeninami vzorce IV_{a-e} uvedeny v tabulce I a připravují se podle následujících příprav:

Příprava 6(R)-[2-8'(S)-hydroxy-2'(S), n'(R)-dimethyl-1',2',6',7',8', 8á(R)-hexahydro-naftyl-1'(S))-ethyl-4(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-onu, IV_a

Směs 8,0 g (19,78 mmol) MK-803 (III_a) a 8,31 g (197,8 mmol) LiOH · H₂O v 600 ml vody se míchá a zahřívá k varu 56 hodin v atmosféře dusíku. Reakční směs se ochladí na 0 °C a za míchání se smísí s 20 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové. Směs se pak extrahuje třemi 250 ml dávkami etheru a spojené extrakty se postupně promyjí třemi 200 ml dávkami vody a pak 200 ml nasyceného roztoku chloridu sodného. Po vysušení síranem hořečnatým se roztok filtruje a rozpouštědlo se odpaří ve vakuu za vzniku olejovitého zbytku. Odparek se znovu rozpustí v 200 ml toluenu a zahřívá se k varu dvě hodiny za kontinuálního oddělování, které umožní relaktonisaci. Odpařením toluenu a rozmělněním odparku v hexanu se získá 5,15 g (81 %) sloučeniny uvedené v nadpisu vzorce IV_a (R' = CH₃) ve formě bílé pevné látky, která nevyžaduje další čištění.

Analytický vzorek se připraví rekrystalizací části tohoto materiálu z butylchloridu za vzniku drůz t.t. 128 až 131 °C, NMR (CDCl₃) δ 0,87 (d, 3, J = 7 Hz, CH₃), 1,16 (d, 3, J = 7 Hz, CH₃), 2,64 (m, 2, pyran C₃H^s), 4,27 (brn, 1, naftalen C₈H), 4,37 (m, 1, pyran C₄H), 4,71 (m, 1, pyran C₆H), 5,56 (m, 1, naftalen C₅H), 5,79 (dd, 1, J = 6,10 Hz, naftalen, C₃H), 6,03 (d, 1, J = 10 Hz, naftalen C₄H). IČ (CHCl₃) 3 400 (OH), 1 725 (C=O), 1 240, 1 120, 1 080 cm⁻¹.

Analýza pro C₁₉H₂₈O₄ · 0,1 C₄H₉Cl:

vypočteno: C 70,67 % · H 8,84 %

nalezeno: C 70,77 % · H 8,75 %.

Alternativní příprava 6(R)-[2-(8'(S)-hydroxy-2'(S)-6'(R)-dimethyl-1',2',6',7',8',8'a(R)-hexahydro-naftyl-1'(S)-ethyl]-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on, IV_a

Suspense 188 mg (0,463 mmol) MK-803 (III_a) v 5 ml (5 mmol) vodného 1 N roztoku hydroxidu lithného se třepe 12 hodin při 135 °C v 30 ml tlakové nádobě z nerez oceli. Ochlazená reakční směs se okyselí 1 M kyselinou fosforečnou a extrahuje se ethylacetátem. Ethylacetátový roztok se vysuší síranem hořečnatým a po filtraci se odpaří rozpouštědlo. Odparek se rozpustí v 20 ml toluenu a zahřívá se 4 hodiny k varu v Dean-Starkově aparatuře a proběhne relaktonisace. Odpařením toluenu se získá sloučenina uvedená v nadpisu.

V novém postupu podle vynálezu se 4-hydroxylová skupina pyranonového kruhu, alkoholů vzorce IV_{a-e} nejprve chrání terc.butylidimethylsilylskupinou reakcí s terc.butylidimethylchlorosilanem v inertní atmosféře při teplotě místnosti v přítomnosti akceptoru kyseliny, jako je imidazol a získají se chráněné alkoholy, vzorce V_{a-e}; 8-hydroxyl na polyhydronaftylovém kruhu se pak acyluje jedním ze dvou způsobů. Prvý zahrnuje reakci s chloridem kyseliny požadované acylové skupiny v pyridinu v přítomnosti 4-dimethylaminopyridinu jako katalyzátoru. Druhý zahrnuje reakci 8'-hydroxypolyhydronaftolu s volnou kyselinou požadované acylové skupiny a karbodiimidem, jako je N,N'-dicyklohexylkarbodiimid, s 4-pyrrolidinopyridinem jako katalyzátorem v dichlormethanu. Tento postup poskytuje chráněné estery vzorce VI_{a-e}.

Odstranění silylové chránicí skupiny z 4-hydroxyly pyranonového kruhu se pak provádí použitím tří ekvivalentů tetrabutylamoniumfluoridu a čtyř ekvivalentů kyseliny octové na ekvivalent esterů vzorce VI_{a-e} a získají se požadované sloučeniny vzorce I_{a-e} . Poměr reakčních činidel v této reakci není rozhodující pro výtěžek postupu a čistotu produktů.

Acylové skupiny, které se připojují na 8'-hydroxylovou skupinu jsou ty, kde R ve sloučeninách vzorců I_{a-e} jsou:

1) nerozvětvený nebo rozvětvený alkylový řetězec s 1 až 10 atomy uhlíku s výjimkou (S)-2-butylu,

2) cykloalkyl s 3 až 10 atomy uhlíku,

3) alkenyl s 2 až 10 atomy uhlíku,

4) CF_3 skupinou substituovaný alkyl s 1 až 10 atomy uhlíku,

5) hydrogenfenyl, kde atom halogenu je atom chloru, fluoru, bromu nebo jodu.

Výhodnými substituenty R jsou:

alkyl s nerozvětveným řetězcem s 2 až 5 atomy uhlíku,

alkyl s rozvětveným řetězcem s 3 až 10 atomy uhlíku s výjimkou (S)-2-butylu,

cykloalkyl s 3 až 10 atomy uhlíku,

alkenyl s 3 až 10 atomy uhlíku, ve kterém dvojná vazba není v konjugaci s karbonylem,

a zejména výhodné jsou alkyl s rozvětveným řetězcem s výjimkou (S)-2-butylu.

Výhodné jednotlivé skupiny R jsou 1,1-diethylpropyl nebo 1-ethyl-1-methylpropyl. Dále výhodnými sloučeninami jsou ty, kde žádný ze symbolů X, Y nebo Z nepředstavuje dvojnou vazbu.

Sloučeniny vzorce I_{a-e} se mohou hydrolyzovat basemi, jako je NaOH za vzniku solí, jako je sodná sůl sloučenin vzorce II_{a-e} . Použitím basí s ostatními farmaceuticky vhodnými kationty se získají soli těchto kationtů. Opatrným okyselením solí se získají hydroxykyseliny vzorce II_{a-e} , které se převedou při kyselém pH na sloučeniny vzorce I_{a-e} . Reakcí sloučenin vzorce I_{a-e} za kyselého nebo basického katalysu s methanolem, ethanolom, propanolem nebo butanolem nebo s fenyl-, dimethylamino-, nebo acetylaminoskanoly se získají odpovídající estery sloučenin vzorce II_{a-e} , které také spadají do rozsahu tohoto vynálezu.

Farmaceuticky vhodné soli podle vynálezu zahrnují ty, které vznikají z kationtů sodíku, draslíku, hliníku, vápníku, lithia, hořčíku, zinku a tetramethylamoniového kationtu, jakož i soli odvozené od aminů, jako je amoniak, ethylendiamin, N-methyl-glukamin, lysin, arginin, ornithin, cholin, N,N'-dibenzylethylendiamin, chlorprokain, diethanolamin, prokain, N-benzylfenethylamin, 1-p-chlorbenzyl-2-pyrrolidin-1'-yl-methylbenzimidazol, diethylamin, piperazin a tris-(hydroxymethyl)aminomethan.

Příprava výchozích materiálů vzorce III se provádí fermentací kmenu *Aspergillus terreus* ATCC č. 20542, označeného MF-4845 ve sbírce kultur Merck & Co. Inc., Rahway, New Jersey.

Příprava sloučenin vzorců III_a a III_d

A. Fermentace

Zkumavka lyofilisované kultury MF-4845 se asepticky otevře a obsah se suspenduje v 250 ml Erlenmeyerově baňce (očkovací baňka) obsahující asi 10 ml média následujícího složení:

Médium:

kukuřičné výluhy	5 g
tomatová pasta	40 g
ovesná mouka	10 g
glukosa	10 g
roztok stopových prvků	10 g
destilovaná voda	1 000 ml
pH 6,8 upraveno NaOH	

Roztok stopových prvků

$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	1 000 mg
$\text{MnSO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	1 000 mg
$\text{CuCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	25 mg
$\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	100 mg
H_3BO_3	56 mg
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	19 mg
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	200 mg
destilovaná voda deionisovaná	1 000 ml

Naočkováná baňka se inkubuje 24 hodin při 28 °C na rotační třepačce s 220 otáčkami za minutu (posun 5,4 cm). Dvoulitrová Erlenmeyerova baňka bez přepážek obsahující 500 ml média se naočkuje 10 ml fermentačního média se vzrostlou očkovací směsí. Obě baňky se třepou 24 hodin při 28 °C.

Fermentační tank z nerezové oceli objemu 910 litrů se naplní 485 litry média obsahujícího

cerełosu	4,5 % hmot./obj.
peptonisované mléko	2,5 % hmot./obj.
autolysované kvasnice	0,25 % hmot./obj.
polyglykol P 2000	0,25 % hmot./obj.,

jehož pH se upraví na 7,0. Médium se sterilizuje 15 minut při 121 °C. Přidá se jeden litr výše připraveného druhého stupně a směs se inkubuje 12 hodin při 85 otáčkách za minutu a pak 84 hodin při 28 °C a 130 otáčkách za minutu, za průtoku vzduchu 0,14 m³/min po dobu 12 hodin a pak 0,28 m³/min po dobu 84 hodin.

B. Isolace

1. Extrakce

Dvě násady 454,6 litrů celkového média se spojí, okyselí za míchání na pH 4,1 opatrným přidáním 800 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové a extrahují se přidáním 341 litrů ethylacetátu a směs se míchá další dvě hodiny.

Pak se přidá asi 11,3 kg křemičité pomocné filtrační hmoty a celková suspenze se čerpá přes 61 cm filtrační lis. Další 341 litrů ethylacetátu se použije pro promytí lisovaného koláče a jeho extrakce se provádí čtyřnásobným opakovaným čerpáním v obrácených směrech. Pak se

veškeré promývací rozpouštědlo z koláče odstraní a spojí se s prvním filtrátem. Dvoufázový filtrát se nechá usadit a vodná fáze se odstraní. Ethylacetátová fáze se promyje 45,5 litry deionizované vody, fáze se nechají oddělit a ethylacetátové extrakty se zahustí ve vakuu na zbytek asi 45,5 litrů.

2. Laktonisace

Ethylacetátové extrakty z dalších 1 304 litrů fermentačního média se přidají k výše připravenému extraktu a objem se destilací ve vakuu zmenší asi na 136 litrů. Přidá se 227 litrů toluenu a ná sada se zahustí ve vakuu na 145 litrů. Tento stupeň se opakuje a pak se přidá dostatečné množství čerstvého toluenu, aby se získal objem 341 litrů. Bez vakua se pak směs zahřívá k varu pod zpětným chladičem dvě hodiny a teplota se udržuje nad 106 °C.

Roztok se pak zahustí ve vakuu na malý objem, který se dále zahustí na olejovitý odparek ve velkém rotačním odpařováku ve vakuu.

3. Chromatografie na silikagelu

Extrakt získaný výše uvedeným způsobem se zbaví ostatních rozpouštědel přidáním 9,1 litru methylenchloridu a zahuštěním na olejovitý zbytek.

Odparek se rozpustí v 22,7 litrech směsi ethylacetát-methylenchlorid (30/70 obj./obj.) a přidáním 2,8 kg silikagelu se připraví suspenze, která se nanese na vršek kolony 30,5 x x 127 cm naplněné silikagelem ve stejné směsi rozpouštědel.

Eluce se provádí směsí ethylacetát-methylenchlorid (40 : 60 obj./obj.) rychlostí 800 ml/min. Jímá se předek 45 litrů a pak se odebírají frakce po 18 litrech.

Frakce 6 až 10 včetně se zahustí ve vakuu a olejovitý odparek se rozpustí v horkém ethylacetátu, zpracuje se aktivním uhlím, za horka zfiltruje a ochladí. Krystaly sloučeniny vzorce III_a se odfiltrují a matečné louhy se zahustí na olej, který se znovu chromatografuje. Čistá sloučenina vzorce III_a má t.t. 170 až 171 °C.

4. Rechromatografie na silikagelu

Matečné louhy z obdobných extraktů ekvivalentní zpracování dalších 2 700 litrů fermentačního média se spojí s výše získaným methylenchloridovým roztokem. Jedna polovina tohoto roztoku se odebere pro další chromatografii na silikagelu. Malý alikvotní podíl ukazuje, že celkový obsah pevných látek je 325 g. Roztok se zpracuje s 40 g aktivního uhlí, přefiltruje se a filtrační koláč se propláchne methylenchloridem. Spojené filtráty a promývací roztoky se zahustí ve vakuu na olejovitý zbytek. Ten se znovu rozpustí v 800 ml směsi ethylacetátu a methylenchloridu (30/70 obj./obj.) a smísí se s 225 g silikagelu. Suspenze se nanese na vršek kolony 14 x 36 cm obsahující silikagel ve stejné směsi rozpouštědel. Kolona se eluuje směsí ethylacetátu a methylenchloridu (40/60 obj./obj.) Předek tří litrů se odebere a vyleje a pak se jímají frakce po 800 ml.

5. Chromatografie na obrácených fázích

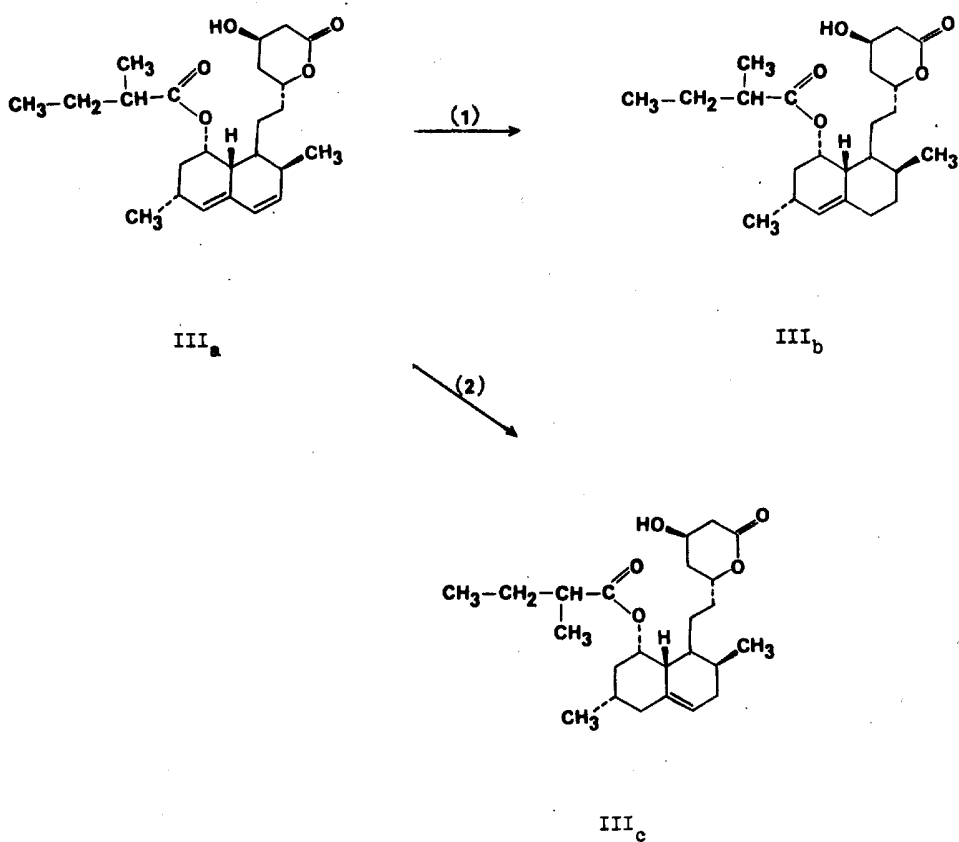
40 ml z frakce 22 výše provedené chromatografie se zahustí na olej hmotnosti 500 mg a olej se znovu rozpustí v 5 ml acetonitrilu. Acetonitrilový roztok se nanese na kolonu 1,5 x 180 cm z nerezové oceli naplněnou preparativní fází pro kapalinovou chromatografii na obrácených fázích ("Bondapak C18/Porasil B", oktadecasilanem modifikovaný silikagel/silikagel). Kolona se eluuje směsí sestávající z (obj./obj.) 55 % acetonitrilu a 45 % 0,05 M fosforečnanu amonného pH 3. Eluční objemy mezi 1 360 ml a 1 700 ml se spojí podle detekce indexu lomu. Organické rozpouštědlo se odstraní ve vakuu a zbylý vodný roztok se extrahuje

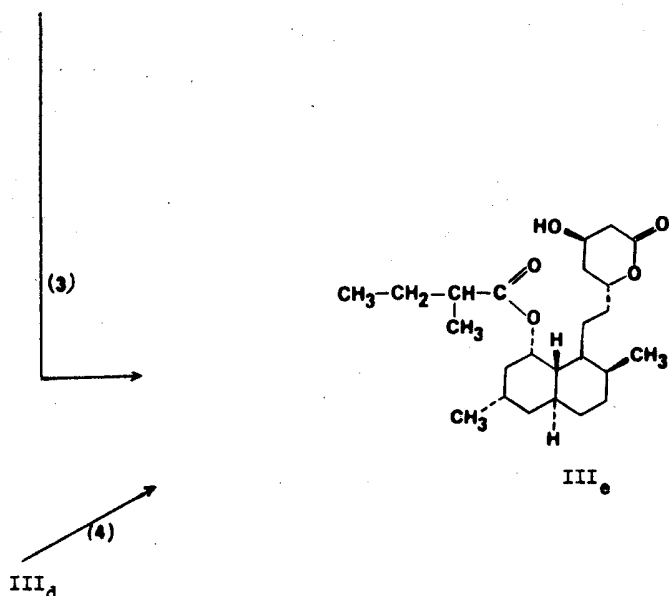
ethylacetátem. Odstraněním ethylacetátu ve vakuu se získá 120 mg sloučeniny, která krystaluje ze zahuštěného acetonitrilového roztoku a získají se krystaly sloučeniny vzorce III_d , t.t. 129 až 131 °C.

Příprava sloučenin vzorců $\text{III}_{b,c,e}$

Výchozí materiály vzorců III_b , III_c a III_e se připraví podle následujícího schématu a uvedených preparativních metod.

Pro přípravu sloučeniny vzorce III_e je výhodné redukovat sloučeninu vzorce III_d pokud žádoucí trans spojení perhydronaftalenového kruhu, které je přítomné ve výchozích materiálech, se zachovává v konečném produktu. Tím není nutné oddělovat isomery.





Reakce a reakční činidla

1. Hydrogenace při teplotě 20 až 75 °C za atmosférického tlaku až asi 0,4 MPa se provádí na tris-(trifenylfosfin)chlorrhodi v aromatickém rozpouštědle, jako je benzen, toluen nebo xylen, s výhodou v toluenu. S výhodou se hydrogenace provádí při 40 °C a si 0,2 až 0,7 MPa v toluenu.

2. Hydrogenace při teplotě 20 až 25 °C za atmosférického tlaku se provádí na 5 % paladiu na uhlíčitě vápenatém v nižším alkanolu, jako je alkanol s 1 až 3 atomy uhlíku, zejména ethanol.

3. Hydrogenace při teplotě 20 až 25 °C a za atmosférického tlaku se provádí na kysličníku platičitým v ethylacetátu.

4. Hydrogenace při teplotě 20 až 25 °C a za atmosférického tlaku se provádí na 10 % paladiu na uhlí v ethylacetátu.

Příprava 6α[2-(8'β-2-(S)-methylbutyryloxy-2'β,6'α-dimethyl-1', 2', 3', 4', 6', 7', 8', 8'a-oktahydronaftyl-1)ethyl]-4β-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-onu III_b

Směs 50 mg (0,1236 mmol) sloučeniny vzorce III_a a ekvivalentního molárního množství (114,35 mg, 0,1236 mmol) tris-(trifenylfosfin)chlorrhodia v 10 ml bezvodého toluenu se hydrogenuje při teplotě místnosti 6 dnů, přičemž se celkem spotřebuje 14,6 ml vodíku. Směs se odpaří ve vakuu k suchu. Červený odparek se chromatografuje na tenké vrstvě silikagelu impregnovaného dusičnanem stříbrným a desky se dvakrát vyvíjejí 10 % ethylacetátu v etheru. Výtěžek sloučeniny vzorce III_b je 22,3 mg.

Hmotové spektrum (m/e)	406 (M ⁺)
	304 (M-102)
	286 (m-102-18).

NMR (CDCl ₃ , 300 MHz) δ	4,37 (m, 1H)
	4,60 (m, 1H)

5,34 (d, t, J = 2,5 Hz, 1H)
5,41 (m, 1H).

Příprava 6 α -[2-(8 β -2-(S)-methylbutyryloxy-2 β , 6 β -dimethyl-1',2',3',5',6',7',8', 8'a-octahydronaftyl-1)ethyl]-4 β -hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-onu, III_c

Roztok 80,91 mg (0,2 mmol) sloučeniny vzorce III_a v 10 ml absolutního ethanolu se hydrogenuje v přítomnosti stejné hmotnosti 5 % Pd na CaCO₃ za tlaku 0,1 MPa tak dlouho, až se spotřebuje 1 molární ekvivalent vodíku. Katalyzátor se pak odfiltruje a filtrát se odpaří k suchu (81 mg). Po čištění preparativní chromatografií na tenké vrstvě se odstraní malé množství vedlejšího produktu, tetrahydrosloučeniny a získá se 72 mg produktu vzorce III_c, který vzniká 1,4-redukci.

Hmotové spektrum (m/e) 406 (M⁺)
304 (M-102)
286 (304-H₂O).

NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 4,38 (m, 1H)
4,64 (m, 1H)
5,28 (d, t, J = 3,5 Hz, 1H)
5,48 (m, 1H).

Příprava 6 α -[2-(8 β -2-(S)-methylbutyryloxy-2 α , 6 β -dimethyl-1',2',3',4',4' a α ,5',6',7', 8',8'a-dekahydronaftyl-1)ethyl]-4 β -hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-onu, III_a

Roztok 80,91 mg (0,2 mmol) sloučeniny vzorce III_a v 10 ml ethylacetátu se hydrogenuje v přítomnosti stejné hmotnosti kyslíčnicku platičitého za tlaku 0,1 MPa. Během jedné hodiny se spotřebují 2 molární ekvivalenty vodíku. Katalyzátor se odfiltruje, filtrát se zahustí k suchu a získá se olejovitý odparek. Cis- a trans-isomery se oddělí preparativní chromatografií na silikagelových deskách (10 % ethylacetátu v etheru a pásy se detegují postříkáním vodou. Trans-isomer vzorce III_a se vyskytuje jako polárnější skvrna ve srovnání s cis-isomerem. Isoluje se 60 mg produktu.

Hmotové spektrum (m/e) 408 (M⁺)
323 (M-85)
306 (M-102).

NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 4,36 (široký singlet, 1H)
4,59 (m, 1H)
5,19 (d, t, J = 2,5 Hz, 1H).

Vynález je blíže objasněn v následujících příkladech, které jej však žádným způsobem neomezuji:

P ř í k l a d 1

6(R)-[2-(8'(S)-2",2"-dimethylpropanoyloxy-2'(S)-6'(R)-dimethyl-1',2',6',7',8',8'a(R)-hexahydronaftyl-1'(S))ethyl]-4(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on

Stupeň A: Příprava 6(R)-[2-(8'(S)hydroxy-2'(S)-6'(R)-dimethyl-1',2',6',7',8',8'a(R)-hexahydronaftyl-1'(S))ethyl]-4(R)-(dimethyl-terc.butylsilyloxy)-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on, ^{V_a}

Směs alkoholu vzorce IV_a (18,3 g, 57,1 mmol), 21,5 g (142,8 mmol) terc.butyldimethylchlorsilanu a 19,4 g (285,6 mmol) imidazolu v 200 ml N,N-dimethylformamidu se míchá 18 hodin při 20 °C v atmosféře dusíku. Reakční směs se pak zředí 1 500 ml etheru a postupně se promyje vodou, 2% vodným roztokem kyseliny chlorovodíkové, vodou a nasyceným roztokem hydro-

genuhlčitanu sodného. Etherický roztok se vysuší síranem hořečnatým, přefiltruje se a zahustí na objem 1 litru. Po přidání 600 ml hexanu se objem zmenší na 600 ml destilací z parní lázně. Produkt krystaluje při teplotě místnosti a po izolaci a sušení na vzduchu se získá 13,7 g bílé, vatovité pevné látky. Matečné louhy se zahustí na 250 ml a druhý podíl krystalického produktu se izoluje po stání tohoto roztoku přes noc při teplotě 0 °C. Spojené výtěžky 17,13 g (69 %) sloučeniny uvedené v nadpisu ve formě bílé vatovité pevné látky t.t. 142 až 144 °C. NMR (CDCl₃) δ 0,10 (s, 6, (CH₃)₂Si), 0,90 (s, 9, (CH₃)₃CSi), 1,19 (d, 3, J = 7 Hz, CH₃), 2,58 (d, 2, J = 4 Hz, pyranové C₃ protony), 4,3 (m, 2, pyran, C₄H a naftalenový C₈H), 4,70 (m, 1, pyranový C₆H), 5,57 (m, 1, naftalenový C₃H), 5,58 (dd, 1, J = 6,10 Hz, naftalenový C₃H), 6,03 (d, 1, J = 10 Hz, naftalenový C₄H).

Analýza pro C₂₅H₄₂O₄Si:

vypočteno: C 69,08 %, H 9,74 %,

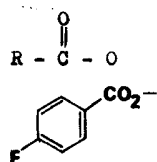
nalezeno: C 69,46 %, H 9,83 %.

Stupeň B: Příprava 6(R)-[2-(8'(S)-2",2"-dimethylpropanoxy-2'(S),6'(R)-dimethyl-1',2',6',7',8',8'a(R)-hexahydronaftyl-1'(S))ethyl]-4(R)-(dimethyl-terc.butylsilyloxy)-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-onu, VI_a

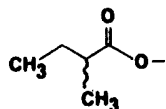
Roztok 6,0 g (13,8 mmol) alkoholu vzorce V_a ze stupně A a 200 mg 4-dimethylaminopyridinu v 50 ml pyridinu se ochladí v atmosféře dusíku na 0 °C. K tomuto míchanému roztoku se přidá během 15 minut 6,8 ml (6,65 g, 55,2 mmol) pivaloylchloridu. Reakční směs se míchá jednu hodinu při 0 °C a pak 4 dny při 20 °C. Reakční směs se zředí 750 ml etheru a promývá se 2% kyselinou chlorovodíkovou až je promývací roztok kyselý, načež se promyje nasyceným roztokem hydrogenuhlčitanu sodného. Po vysušení síranem hořečnatým se roztok filtruje a odpařením se získá 7,81 g sloučeniny uvedené v nadpisu ve formě světle oranžového oleje. NMR (CDCl₃) δ 0,09 (s, 6 (CH₃)₂Si), 0,88 (s, 9, (CH₃)₃CSi), 1,28 (s, 9, (CH₃)₃CCO₂-), 2,57 (d, 2, J = 4 Hz, pyranové C₃ protony), 4,32 (m, 1, pyranový C₄H), 4,63 (m, 1, pyranový C₆H), 5,34 (m, 1, naftalenový C₈H), 5,54 (m, 1, naftalenový C₅H), 5,78 (dd, 1, J = 6,10 Hz, naftalenový C₃H), 6,03 (d, 1, J = 10 Hz, naftalenový C₄H).

Použitím postupu popsaného v příkladu 1 stupni B, ale záměnou tam použitého pivaloylchloridu za ekvimolární množství chloridu kyseliny struktury R-COCl popsaného v tabulce II se připraví estery vzorce VI_a popsané v tabulce II.

T a b u l k a II



CH₃CO₂



MNR (CDCl₃, δ)

7,10 (t, 2, J = 8 Hz, p-FPh-)

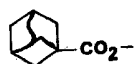
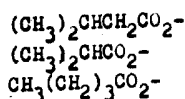
8,03 (dd, 2, J = 5,8 Hz, p-FPh)

2,02 (s, 3, CH₃CO₂-)

1,19 (d, J = 7 Hz, α-CH₃ ester),

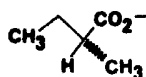
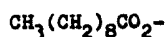
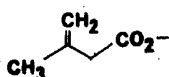
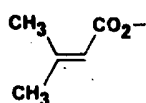
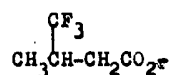
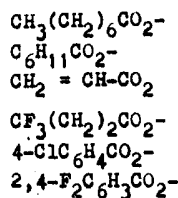
1,21 (d, J = 7 Hz, α-CH₃ ester)

celkem 3H



0,83 (d, 6, J = 6 Hz, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}-$)
1,13 (d, 6, J = 6 Hz $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$)
0,95 (t, 3, J = 7 Hz, $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_3-$)

1,60-2,08 (m, 15, adamantyl)



Stupeň C: Příprava 6(R)-[2-(8'(S)-2",2"-dimethylpropanoyloxy-2'(S),6'(R)-dimethyl-1',2',6',7',8',8'a(R)-hexahydronaftyl-1'(S))-ethyl]-4(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyren-2-onu, I_a

K roztoku 10,0 g (31,7 mmol) $\text{Bu}_4\text{N}^+\text{F}^- \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ a 2,4 ml (2,5 g, 42,3 mmol) kyseliny octové v 50 ml tetrahydrofuranu se přidá 7,81 g (13,8 mmol) silyletheru vzorce VI_a ze stupně B v 50 ml tetrahydrofuranu. Tato směs se míchá 18 hodin v atmosféře dusíku při 20 °C. Reakční směs se zředí 700 ml etheru a postupně se promyje 2 % vodné kyseliny chlorovodíkové, vodou a nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného. Organický nasycený roztok se vysuší (MgSO_4) a prefiltruje. Odpařením rozpouštědla se získá 6,45 g téměř bílé pevné látky. Tento materiál se krystaluje z 100 ml butylchloridu a izolované krystaly se suší 4 hodiny při 35 °C/1,3 Pa. Výtěžek 4,0 g (72 %) sloučeniny uvedené v nadpisu ve formě téměř bílých jehlic: t.t. 167,5 až 170,5 °C, NMR (CDCl_3) δ 0,88 (d, 3, J = 7 Hz, CH_3), 1,08 (d, 3, J = 7 Hz, CH_3), 1,19 (s, 9, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$), 2,67 (d, 2, J = 4 Hz, pyranové C_3 protony), 4,39 (m, 1, pyranový C_4H), 4,65 (m, 1, pyranový C_6H), 5,36 (m, 1, naftalenový C_8H), 5,55 (m, 1, naftalenový C_5H), 5,80 (dd, 1, J = 6 Hz, naftalenový C_3H), 6,04 (d, 1, J = 10 Hz, naftalenový C_4H), vysoko-
tlaká kapalinová chromatografie (4,6 mm x 25 cm Partisil 10 PAC, 10 % isopropylalkohol/he-

xan, 4 ml/min) retenční čas 4,4 min.

Analýza pro $C_{24}H_{36}O_5$:

vypočteno: C 71,25 %, H 8,97 %,

nalezeno: C 71,40 %, H 8,93 %.

Použitím postupu podle příkladu 1, stupně C, ale záměnou 2,2-dimethylpropanoyloxysilyletheru sloučeniny vzorce VI_a za ekvivalentní množství ostatních esterů vzorce VI_a, popsané v tabulce II se připraví estery vzorce I_a popsané v tabulce III.

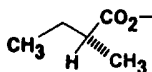
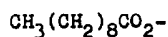
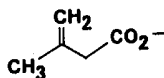
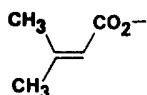
T a b u l k a III

RCO ₂ ⁻	vzorec	t.t. (°C)
	$C_{24}H_{36}O_5$	139 - 148
	$C_{26}H_{31}FO_5$	119,5 - 120,5
$(CH_3)_2CHCH_2CO_2^-$	$C_{24}H_{36}O_5$	126 - 128
$(CH_3)_2CHCO_2^-$	$C_{23}H_{34}O_5$	144 - 147
$CH_3(CH_2)_3CO_2^-$	$C_{24}H_{36}O_5$	
$CH_3CO_2^-$	$C_{21}H_{30}O_5 \cdot 0,1 C_4H_9$	153 - 156
	$C_{30}H_{42}O_5 \cdot 0,05 C_6H_{12}$	155 - 158
$CH_3(CH_2)_6CO_2^-$		
$C_6H_{11}CO_2^-$		
$CH_2=CH-CO_2^-$		
$CF_3(CH_2)_2CO_2^-$		
$4-ClC_6H_4CO_2^-$		
$2,4-F_2C_6H_3CO_2^-$		

RCO₂⁻

vzorec

t.t. (°C)



Příklad 2

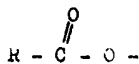
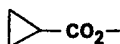
6(R)-[2-(8'(S)-fenylacetoxy-2'(S), 6'(R)-dimethyl-1',2',6',7',8',8'a(R)-hexahydronaftyl-1'(S)ethyl]-4-(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on

Stupeň A: Příprava 6(R)-[2-(8'(S)-fenylacetoxy-2'(S)-6'(R)-dimethyl-1',2',6',7',8',8'a(R)-hexahydronaftyl-1'(S)ethyl]-4(R)-dimethyl-terc.-butylsilyloxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-onu, VI_A

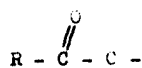
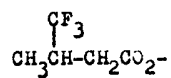
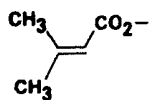
Roztok 434 mg (0,1 mmol) alkoholu vzorce V_A z příkladu 1, stupeň A, 204 mg (1,5 mmol) fenylacetoxy kyseliny a 309 mg (1,5 mmol) N,N'-dicyklohexylkarbodiimidu v 10 ml dichlormethanu se nechá reagovat s 22 mg (0,15 mmol) 4-pyrrolidinopyridinu a reakční směs se míchá při 20 °C v atmosféře dusíku. Po 3 dnech se rozpouštědlo odpaří ve vakuu a odparek se suspenduje v 25 ml etheru a přefiltruje se. Odpařením filtrátu se získá viskózní olej, který se chromatografuje na 3 x 15 cm koloně silikagelu (230 až 400 ok). Elucí (za tlaku vzduchu) směsí etheru a hexanu (1 : 1 obj./obj.) se získá 460 mg (83 %) sloučeniny uvedené v nadpisu ve formě viskózního oleje. NMR (CDCl₃) δ 0,10 (s, 6, (CH₃)₂Si), 0,90 (s, 9, (CH₃)₃CSi), 3,58 (s, 2, PhCH₂-), 5,34 (m, 1, naftalenový C₈H), 7,30 (s, 5, Ph).

Použitím postupu podle příkladu 2, stupně A, ale záměnou použité fenylacetoxy kyseliny za ekvimolární množství organické kyseliny vzorce RCOOH popsané v tabulce IV se získají estery vzorce VI_A popsané v tabulce IV.

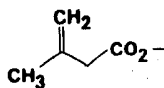
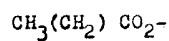
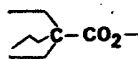
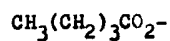
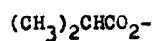
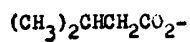
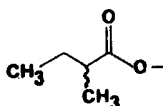
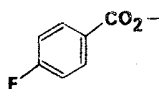
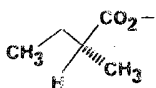
Tabulka IV

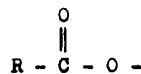
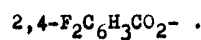
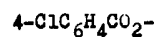
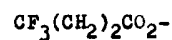
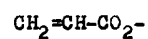
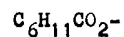
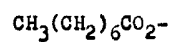
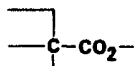
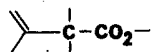
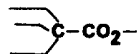
NMR (CDCl₃, δ)

0,78-1,02 (m, 4, cyklopropan)

NMR (CDCl₃, δ)1,04 (d, 3, J = 7 Hz, CH₃CHCF₃)1,88 (s, 3, CH₃C=C)2,17 (d, 3, J = 2 Hz, CH₃C=C)

5,68 (široký, s, 1, C=CH-)

1,80 (s, 3, CH₃C=C)4,86, 4,92 (s, 2, CH₂=C)0,87 (m, 3, CH₃ (CH₂)₈CO₂-)1,25 (m, 14, CH₃(CH₂)₇CH₂CO₂-)

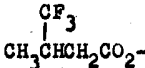
NMR (CDCl₃, δ)

Stupeň B: Příprava 6(R)-[2-(8'(S)-fenylacetoxy-2'(S),6'(R)-dimethyl-1',2',6',7',8',8'a(R)-hexahydronaftyl-1'(S))ethyl]-4(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-onu, I_a

Použitím postupu popsaného v příkladu 1, stupni C, záměnou propanoyloxysloučeniny za ekvimolární množství fenylacetoxysloučeniny z příkladu 2, stupně A, se získá sloučenina uvedená v nadpisu, t.t. 109 až 112 °C.

Použitím ostatních esterů vzorce VI_a popsaných v příkladu 2, stupni A (tabulka IV) a provedením postupu podle příkladu 2, stupeň B, se připraví estery vzorce I_a popsané v tabulce V.

T a b u l k a V

RCO ₂	vzorec	t.t. (°C)
 -CO ₂ -	C ₂₃ H ₃₂ O ₅	116 - 119
 -CO ₂ -	C ₂₄ H ₃₃ F ₃ O ₅	110 - 113

RCO ₂ ⁻	vzorec	t.t. (°C)
	C ₂₄ H ₃₄ O ₅	113 - 118
	C ₂₄ H ₃₄ O ₅	116 - 119
CH ₃ (CH ₂) ₈ CO ₂ ⁻	C ₂₉ H ₄₆ O ₅	(vosk)
	C ₂₄ H ₃₆ O ₅	126 - 129
CH ₃ CO ₂ ⁻		
(CH ₃) ₂ CHCH ₂ CO ₂ ⁻		
(CH ₃) ₂ CHCO ₂ ⁻		
CH ₃ (CH ₂) ₃ CO ₂ ⁻		

RCO ₂	vzorec	t.t. (°C)
	CH ₃ (CH ₂) ₆ CO ₂ -	
	C ₆ H ₁₁ CO ₂ -	
	CH ₂ =CH-CO ₂ -	
	CF ₃ (CH ₂) ₂ CO ₂ -	
	4-ClC ₆ H ₄ CO ₂ -	
	2,4-F ₂ C ₆ H ₃ CO ₂ -	

P ř í k l a d 3

6(R)-[2-(8'(S)-2"-methylbutyryloxy-2'(S)-6'(R)-dimethyl-1',2',6',7',8',8'a(R)-hexahydro-naftyl-1'(S)ethyl]-4(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on

Stupeň A: Příprava 6(R)-[2-(8'(S)-2"-ethyl-2"-methylbutyryloxy-2'(S)-6'(R)-dimethyl-1',2',6',7',8',8'a(R)-hexahydronaftyl-1'(S)ethyl]-4(R)-((dimethyl-terc.butylsilyloxy)-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-onu, VI_a

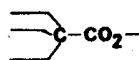
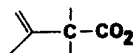
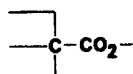
3,0 g 2-ethyl-2-methylbutyrylchloridu (20 mmol) se přidá k magneticky míchanému roztoku 2,17 g (5 mmol) alkoholu vzorce V_a a 74 mg 4-pyrrolidinopyridinu v 20 ml pyridinu. Tato reakční směs se míchá 9 hodin při 100 °C v atmosféře dusíku. Reakční směs se zředí 500 ml etherem, promývá 1 N kyselinou chlorovodíkovou až je promývací roztok kyselý a pak roztokem chloridu sodného (3 x 50 ml). Po vysušení síranem hořečnatým se roztok filtruje a odpařením se získá 4,2 g hnědého oleje. Tento olej se chromatografuje na koloně 6 x 15 cm silikagelu (230 až 400 ok). Elucí (za tlaku vzduchu) směsí etheru a hexanu (1 : 1, obj./obj.) se získá 2,6 g (95 %) sloučeniny uvedené v nadpisu ve formě viskosního žlutého oleje.

NMR (CDCl₃) δ 0,08 (s, 6, (CH₃)₂Si), 0,9 (s, 9, (CH₃)₃CSi), 2,57 (d, 2, J = 4 Hz, pyranové C₃ protony), 4,30 (m, 1, pyranový C₄H), 4,63 (m, 1, pyranový C₆H), 5,42 (m, 1, naftalenový C₈H), 5,53 (m, 1, naftalenový C₅H), 5,78 (dd, k, J = 6 Hz, naftalenový C₃H), 6,03 (d, 1, J = 10 Hz, naftalenový C₄H).

Použitím postupu popsaného v příkladu 3, stupni A, ale záměnou 2-ethyl-2-methyl-but-rylchloridu za ekvimolární množství chloridu kyseliny vzorce RCOCl popsané v tabulce VI se získají estery vzorce VI_a popsané v tabulce VI.

T a b u l k a VI

	NMR (CDCl ₃ , δ)
	0,87 (m, 9, CH ₃ CH ₂ CH ₂ (CH ₃ CH ₂) ₂ CCO ₂)

NMR (CDCl₃,)0,78 (t, 9, J = 7 Hz, (CH₃CH₂)₃CCO₂)1,48 (q, 6, J = 7 Hz, (CH₃CH₂)₃CCO₂)1,28 (s, 6, (CH₃)₂CCO₂)2,20 (s, 3, CH₃-C=CH₂)3,86 (m, 2, CH₂ = C)1,12 (s, 6, (CH₃)₂CCO₂)0,83 (t, 3, (CH₃CH₂)CCO₂)

Stupeň B: Příprava 6(R)-[2-(8'(S)-2"-ethyl-2"-methylbutyryloxy-2'(S)-6'(R)-dimethyl-1', 2', 6', 7', 8', 8'a(R)-hexahydronaftyl-1'(S))ethyl]-4(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-onu

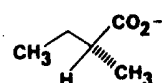
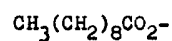
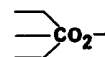
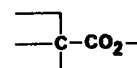
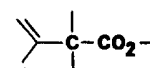
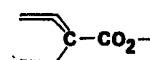
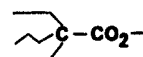
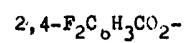
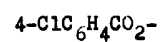
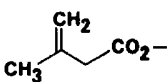
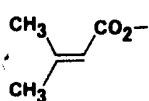
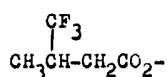
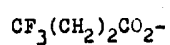
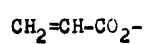
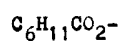
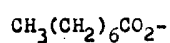
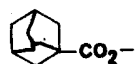
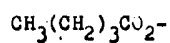
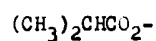
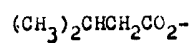
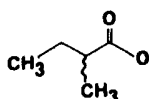
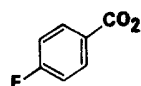
Použitím postupu popsaného v příkladu 1, stupni C, nebo příkladu 2, stupni B, ale použitím silyletheru sloučeniny z příkladu 3, stupně A, jako výchozího materiálu se připraví sloučenina uvedená v nadpisu, t.t. 111 až 113 °C (C₂₆H₄₀O₅).

Obdobně se připraví estery struktury I_a popsané v tabulce VII, použitím ostatních esterů vzorce VI_a popsaných v tabulce VI, jakožto výchozích materiálů.

T a b u l k a VII

RCO ₂ -	vzorec	t.t. (°C)
$\begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}-\text{CO}_2- \end{array}$	C ₂₈ H ₄₄ O ₅	81.- 83
$\begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}-\text{CO}_2- \end{array}$	C ₂₇ H ₄₂ O ₅	129 - 132
$\begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}-\text{CO}_2- \end{array}$	C ₂₆ H ₃₈ O ₅	75 - 78
$\begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}-\text{CO}_2- \end{array}$	C ₂₅ H ₃₈ O ₅	135 - 138

Použitím postupů podle příkladu 1, stupně A a následujícího příkladu 1 stupně B a C nebo příkladů 2 nebo 3, stupně A a B a záměnou diolu vzorce IV_a v příkladu 1, stupeň A, se připraví odpovídající dioly vzorce IV_{b,c,d} nebo e, vznikají postupně silylethery vzorců V a nové estery vzorců I v souhlase se schématem A, kde R - CO v 8'-alkamoylové skupině je:



Příklad 4

Příprava 6(R)-{2-[8(S)-(2"-ethyl-2"-methylbutyryloxy)-2'(S),6'(S)-dimethyl-1',2',3',4',4'a(S),5',6',7',8',8'a(S)-dekahydronaftyl-1'(S)-]ethyl}-4(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-onu, I_e

Stupeň A: Příprava 6(R)-[2-(8'(S)-hydroxy-2'(S),6'(S)-dimethyl-1',2',3',4',4'a(S),5',6',7',8',8'a(S)-dekahydronaftyl-1'(S))ethyl]-4(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-onu, V_e

Roztok 2,0 g (6,2 mmol) alkoholu vzorce IV_e v 100 ml ethylacetátu se hydrogenuje přítomnosti kyslíčnicku platiničitého (1 g) za tlaku 0,3 MPa až do spotřeby dvou molárních ekvivalentů vodíku. Katalyzátor se pak odfiltruje a filtrát se odpaří k suchu a získá se bílá pevná látka (1,9 g), která se chromatografuje na koloně 6 x 20 cm silikagelu (230 až 400 ok). Elucí (za tlaku vzduchu) směsí acetonu a methylenchloridu (3 : 7, obj./obj.) se získá 1,0 g (50 %) sloučeniny uvedené v nadpisu ve formě bezbarvé pevné látky.

Analytický vzorek se připraví krystalizací části materiálu z chloroformu a získá se bílá vatovitá pevná látka t.t. 166 až 168 °C.

Stupeň B: Příprava 6(R)-[2-(8'(S)-hydroxy-2'(S),6'(S)-dimethyl-1',2',3',4',4'a(S),5',6',7',8',8'a(S)-dekahydronaftyl-1'(S)-ethyl)-4(R)-(dimethyl-terc.butylsilyloxy)-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-onu, V_e

Roztok alkoholu vzorce IV_e (1,0 g, 3,1 mmol), imidazolu (1,05 g, 15,4 mmol) a terc. butyldimethylchlorsilanu (1,16 g, 7,7 mmol) v 20 ml N,N-dimethylformamidu se míchá 18 hodin v atmosféře dusíku při 20 °C. Reakční roztok se zředí 200 ml etheru a postupně se promyje vodou, 2% vodnou kyselinou chlorovodíkovou a roztokem chloridu sodného. Etherický roztok se vysuší síranem hořečnatým a odpařením se získá bílá pevná látka (1,8 g), která se chromatografuje na koloně 6 x 20 cm silikagelu (230 až 400 ok). Elucí za tlaku vzduchu směsí acetonmethylenchlorid (1 : 19, obj./obj.) se získá 1,0 g (74 %) sloučeniny uvedené v nadpisu ve formě bílé pevné látky, t.t. 136 až 138 °C.

Stupeň C: Příprava 6(R)-{2-[8'(S)-(2"-ethyl-2"-methylbutyryloxy)-2'(S),6'(S)-dimethyl-1',2',3',4',4'a(S),5',6',7',8',8'a(S)-dekahydronaftyl-1'(S)]ethyl}-4(R)-dimethyl-terc.butylsilyloxy)-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-onu, VI_e

Záměnou ekvimolárního množství alkoholu vzorce V_e za alkohol vzorce vzorce V_a ve stupni A, příkladu 3 a provedením postupu pro stupeň A se získá odpovídající množství sloučeniny uvedené v nadpisu vzorce VI_e ve formě žlutého oleje. NMR ($CDCl_3$) 0,08 (s, 6, $(CH_3)_2Si$), 0,90 (s, 9, $(CH_3)_3CSi$), 1,13 (s, 6, $(CH_3)_2CO_2$), 2,63 (m, 2, pyranové C_3 protony), 4,33 (m, 1, pyranový C_4H), 4,60 (m, 1, pyranový C_6H), 5,23 (m, 1, naftalenový C_8H).

Stupeň D: Příprava 6(R)-{2-[8'(S)-(2"-ethyl-2"-methylbutyryloxy)-2'(S),6'(S)-dimethyl-1',2',3',4',4'a(S),5',6',7',8',8'a(S)-dekahydronaftyl-1'(S)]ethyl}-4(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-onu, I_e

Záměnou ekvimolárního množství silyletheru vzorce VI_e z příkladu 4, stupeň C za silyl-ther ze stupně C, příkladu 1 s provedením postupu stupně C příkladu 1, se získá odpovídající množství sloučeniny uvedené v nadpisu ve formě pevné látky.

Analytický vzorek se připraví rekrystalizací materiálu z hexanu a získají se bílé jehličky t.t. 146 až 147 °C.

Příklad 5

5(R)-{2-[8'(S)-(2"-ethyl-2"-methylbutyryloxy)-2'(S),6'(R)-dimethyl-1',2',3',4',6',7',8'a(S)-oktahydronaftyl-1'(S)]ethyl}-4(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on, I_b

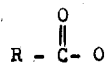
Stupeň A: Příprava 6(R)-[2-(8'(S)-hydroxy-2'(S),6'(R)-dimethyl-1',2',3',4',6',7',8'a(S)-oktahydronaftyl-1'(S)]ethyl-4(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-onu, IV_b

Použitím postupu popsaného pro přípravu výchozího materiálu vzorce IV_a hydrolysou MK-803 zahříváním s vodným LiOH . H₂O po dobu 56 hodin, ale záměnou MK-803 za ekvimolární množství sloučeniny vzorce III_b vzniká ve srovnatelném výtěžku sloučenina uvedená v nadpisu vzorce IV_b, t.t. 136 až 139 °C.

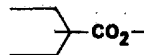
Postupem podle příkladu 4, stupně B, C a D, ale záměnou sloučeniny vzorce IV_a použité ve stupni B za ekvimolární množství sloučeniny vzorce IV_b ze stupně A tohoto příkladu, se získají srovnatelné výtěžky, jako v příkladu 4, následujících sloučenin.

Stupeň B: (R)-2-(8'(S)-hydroxy-2'(S), 6'(R)-dimethyl-1',2',3',4',6',7',8'a(S)-oktahydronaftyl-1'(S)-ethyl]-4(R)-(dimethyl-terc.-butylsilyloxy)-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on, V_b, t.t. 140 až 142 °C

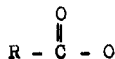
Stupeň C: 6(R)-{2-[(8'(S)-(2"-ethyl-2"-methylbutyryloxy)-2'(S),6'(R)-dimethyl-1',2',3',4',6',7',8'a(S)-oktahydronaftyl-1'(S)]-ethyl}-4(R)-(dimethyl-terc.butylsilyloxy)-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on, VI_(b), kde



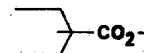
je



Stupeň D: 6(R)-{2-[8'(S)-(2"-ethyl-2"-methylbutyryloxy)-2'(S),6'(R)-dimethyl-1',2',3',4',6',7',8'a(S)-oktahydronaftyl-1'(S)]-ethyl}-4(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on, I_b, t.t. 129 až 131 °C, kde



je

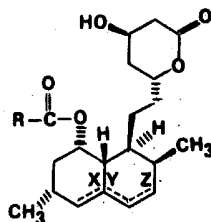


P ř í k l a d 6

Typické směsi pro plnění tvrdých želatinových kapslí velikosti 0 obsahují 3,125 mg, 6,25 mg, 12,5 mg, 25 mg nebo 50 mg jedné z nových sloučenin podle vynálezu jako jsou produkty příkladu 3, stupeň B, příkladu 1, stupeň C, nebo příkladu 2, stupeň B a dostatečné množství jemně rozptýlené laktosy v množství, které doplňuje obsah v kapsli na asi 580 až 590 mg.

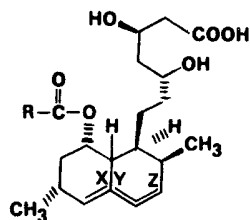
P Ř E D M Ě T V Y N Á L E Z U

1. Způsob přípravy acyloxypolyhydronaftylderivátů 2H-pyran-2-onu obecného vzorce I



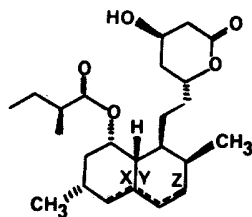
(I),

kde R je popřípadě rozvětvený alkyl s 1 až 10 atomy uhlíku, s výjimkou 2-(S)-butylu, cykloalkyl s 3 až 10 atomy uhlíku, alkenyl s 2 až 10 atomy uhlíku, skupinou CF_3 substituovaný alkyl s 1 až 10 atomy uhlíku, halogenfenyl, symboly X, Y a Z představují možné dvojné vazby, přičemž jestliže jsou tyto dvojné vazby přítomné, pak jsou buď v kombinaci X a Z nebo samotné vazby X, Y nebo Z a odpovídajících dihydroxykyselin obecného vzorce II



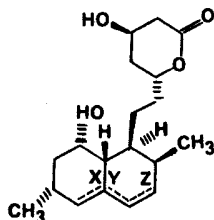
(II),

kde symboly R, X, Y a Z mají výše uvedený význam nebo farmaceuticky vhodných solí těchto kyselin, alkylesterů s 1 až 4 atomy uhlíku těchto kyselin nebo fenyldimethylamino- nebo acetylamino-substituovaných alkylesterů s 1 až 4 atomy uhlíku těchto kyselin, vyznačený tím, že se sloučenina obecného vzorce III



(III),

kde symboly X, Y a Z mají výše uvedený význam, zahřívá s hydroxidem alkalického kovu v protickém rozpouštědle, načež se okyselením a laktonisací získá sloučenina obecného vzorce IV

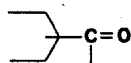


(IV),

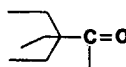
kde symboly X, Y a Z mají výše uvedený význam, která se nechá reagovat s tercetyltrimethylchlorosilanem v inertní atmosféře při teplotě místnosti v přítomnosti akceptoru kyseliny, vzniklá 4-terc.butyltrimethylsilyloxysloučenina se acyluje odpovídajícím acylačním činidlem obsahujícím zbytek ve významu R, ve vzniklé sloučenině se silylová skupina odstraní při teplotě místnosti v tetrahydrofuranu v přítomnosti 3 ekvivalentů tetrabutylamoniumfluoridu a 4 ekvivalentů kyseliny octové na ekvivalent silylsoučeniny, načež se získaný produkt případně převede na odpovídající dihydroxykyseliny, soli nebo alkylestery.

2. Způsob podle bodu 1, vyznačený tím, že se nechají reagovat odpovídající výchozí sloučeniny, kde R je rozvětvený alkyl s 3 až 10 atomy uhlíku, s výjimkou 2-(S)-butylu a X, Y a Z mají význam uvedený v bodě 1.

3. Způsob podle bodu 1, vyznačený tím, že se nechají reagovat odpovídající výchozí sloučeniny, kde substituent $R - \overset{\textstyle |}{\underset{\textstyle |}{\text{C}}} = \text{O}$ je



nebo



a X, Y a Z mají význam uvedený v bodě 1.

4. Způsob podle bodů 1 až 3, vyznačený tím, že se nechají reagovat odpovídající výchozí sloučeniny, kde žádný ze symbolů X, Y nebo Z nepředstavuje dvojnou vazbu a R má význam uvedený v bodě 1.