

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

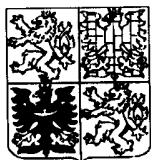
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

3388-96

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **15. 05. 95**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **19.05.94**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **94/245935**

(33) Země priority: **US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **16. 07. 97**
(Věstník č. 7/97)

(86) PCT číslo: **PCT/US95/06004**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 95/32215**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

C 07 J	75/00
B 01 J	21/06
B 01 J	23/02
B 01 J	23/30
B 01 J	23/46

(71) Přihlášovatel:

MERCK AND CO., INC., Rahway, NJ, US;

(72) Původce:

Miller Ross A., Rahway, NJ, US;

Thompson Andrew S., Rahway, NJ, US;

Bakshi Raman K., Rahway, NJ, US;

Corley Edward G., Rahway, NJ, US;

(74) Zástupce:

**Korejzová Zdeňka JUDr., Břehová 1, Praha
1, 11000;**

(54) Název přihlášky vynálezu:

Způsob oxidace delta-5-steroidních alkanů

(57) Anotace:

Způsob oxidace delta-5-steroidních alkenů na odpovídající delta-5-7-ketosteroidní alkeny spočívá v tom, že se na delta-5-steroidní alken v rozpouštědle působí hydroperoxidem v přítomnosti katalyzátoru na bázi ruthenia. Výsledné produkty je možno použít jako inhibitory 5-alfa-reduktázy.

CZ 3388-96 A3

8388-96

PRIL.
VLASTNICTVI PRŮMYŠLOVÉHO ÚRADU
08 IV 97
07510
19-97 0
2.1.

Způsob oxidace delta-5-steroidních alkenů

Oblast techniky

Vynález se týká způsobu oxidace sloučenin, obsahujících allylové skupiny při použití katalyzátoru na bázi ruthenia. Způsob je vhodný pro oxidaci látek s obsahem allylových skupin, zvláště pro oxidaci delta-5-steroidních sloučenin.

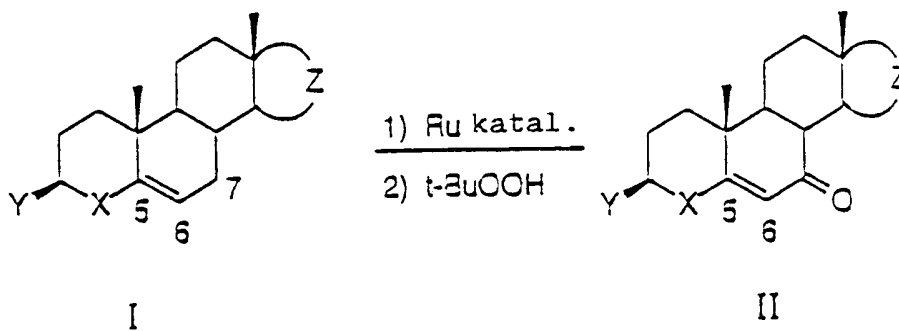
Dosavadní stav techniky

Hlavním mediátorem androgenního účinku v některých cílových orgánech, například v prostatě, je 5-alfa-dihydrotestosteron, DHT. Tato látka se tvoří v cílových orgánech působením 5-alfa-reduktázy, která mění testosteron na DHT. Některé nežádoucí fyziologické projevy, jako akné, mazotok, zvýšené ochlupení žen nebo plešatost androgenního typu u žen i u mužů a také benigní hyperplazie prostaty jsou důsledkem hyperandrogenní stimulace, způsobené nahromaděním testosteronů T nebo podobných androgenních hormonů v metabolickém systému. Látky, způsobující inhibici 5-alfa-reduktázy budou mírnit příznaky uvedené stimulace nebo mohou jejich vzniku zabránit. Takové látky byly popsány zejména v US 4 377 584 z 22. března 1983 a v US 4 760 071 z 26. července 1988 (oba Merck and Co., Inc.). Je známo, že existuje ještě druhý isoenzym 5alfa-reduktázy, který působí v pokožce, zvláště v pokožce hlavy, jak bylo popsáno například v G. Harris a další, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, sv. 89, str. 10787 - 10791, listopad 1992. Isoenzym, působící převážně v kožních tkáních se obvykle označuje jako 5alfa-reduktáza 1, kdežto isoenzym, působící převážně v prostatě, je označován jako 5alfa-reduktáza 2.

Oxidace delta-5-steroidních alkenů na odpovídající enony je důležitým stupněm v syntéze steroidních látek, které jsou inhibitory 5alfa-reduktázy. Pro oxidaci allylových skupin byly dříve užívány postupy, založené na působení sloučenin chromu, tyto postupy jsou však nyní nepřijatelné z hlediska ochrany životního prostředí a mimoto vyžadují chromatografii na silikagelu. Vynález si klade za úkol navrhnout jiný výhodnější způsob oxidace delta-5-steroidních alkenů, který může být snadno proveden a nepoškozuje při tom životní prostředí. Mimoto výtěžek a čistota oxidovaného meziprojektu, získaného novým postupem odpovídá nebo převyšuje hodnoty, které bylo možno získat při použití známých postupů.

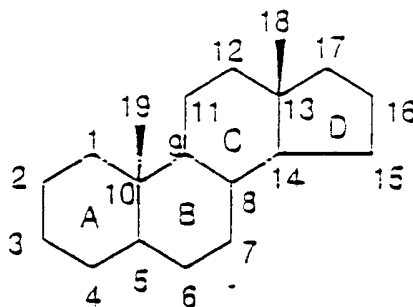
Podstata vynálezu

Podstatu vynálezu tvoří způsob oxidace sloučenin, obsahujících allylovou alkoholovou skupinu nebo atomy vodíku allylové skupiny na odpovídající enony při použití katalyzátoru na bázi ruthenia v přítomnosti hydroperoxidu. Podstatu vynálezu zvláště tvoří přeměna delta-5-steroidních alkenů na delta-5-7-ketosteroidní alkeny při použití katalyzátoru na bázi ruthenia v přítomnosti hydroperoxidu. Nový postup je možno vyjádřit následujícím schematem:



Sloučeniny obecného vzorce II jsou vhodné jako mezi-
produkty pro výrobu 7-beta-substituovaných 3-keto-4-aza-
steroidních sloučenin, z nichž některé jsou také inhibito-
ry 5alfa-reduktázy. Inhibitory 5alfa-reduktázy je možno po-
užít při léčení hyperandrogenních poruch, například benigní
hyperplasie prostaty, akné, mazotoku, zvýšeného ochlupen-
ní žen, androgenní alopecie, mužské plešatosti a prevence
a léčení zhoubných nádorů prostaty.

Vynález je založen na zjištění, že steroidní slouče-
niny, které obsahují dvojnou vazbu mezi uhlíkovými atomy
v poloze 5,6 (to znamená delta5-steroidní alkeny), je mož-
no oxidovat na odpovídající 7-ketosloučeniny působením per-
oxidu vodíku v přítomnosti katalyzátoru na bazi ruthenia.
Při použití téhož postupu je možno sloučeniny, obsahující
allylalkoholovou skupinu oxidovat na odpovídající ketony.
Je nutno uvést běžné číslování nesubstituované steroidní
struktury a označení kruhů pomocí velkých písmen:



I

Bylo neočekávaně zjištěno, že oxidace bude probíhat
v přítomnosti jakéhokoliv katalyzátoru na bazi ruthenia.
Je známa celá řada katalyzátorů tohoto typu a všechny je
možno k tomuto účelu použít. Jako příklady je možno uvést
následující látky: $\text{RuW}_{11}\text{O}_{39}\text{SiNa}_5$, RuCl_3 , $\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3$,

$\text{Ru}(\text{acac})_3$, $\text{Ru}(\text{dimethylglyoximato})_2(\text{PPh}_3)_2$, RuO_2 ,
 $\text{Ru}(\text{TPP})(\text{CO})(\text{THF})$, $\text{Ru}(\text{bipy})_2\text{Cl}_2$, Ru/C a $\text{K}_5\text{SiRu}(\text{H}_2\text{O})\text{W}_{11}\text{O}_{39}$.
TPP znamená tetrafenylporfin, acac znamená acetylacetonát,
a bipy znamená bipyridin. Katalyzátoru na bazi ruthenia
byly popsány například v publikacích R. Neuman, J. Am. Chem.
Soc., sv. 112, 6025, 1990, S. I. Murahashi, Tetrahedron
Letters, sv. 34, 1299, 1993.

Zvláště je možno využít katalyzátor na bazi wolframa-
nu ruthenia a sodíku, zvláště $\text{RuW}_{11}\text{O}_{39}\text{SiNa}_5$. Při reakci se
užívá katalytické množství sloučeniny ruthenia. Odborníkům
bude toto použití zřejmě stejně jako skutečnost, že množství
katalyzátoru se může měnit podle objemu reakční směsi a podle
použití určitého katalyzátoru. Jako příklad je možno použít
množství 0,05 až 5 mol % a zvláště přibližně 0,5 mol % ka-
talyzátoru na 1 mol výchozího materiálu, mohou však být po-
užita i odlišná množství.

Výchozí materiál typu alkenů se zpracovává působením
katalyzátoru na bazi ruthenia na odpovídající enon. Je zná-
ma řada hydroperoxidů a kterýkoliv z nich může být použit
při provádění způsobu podle vynálezu. Jako příklad hydroper-
oxidů, které mohou být použity, je možno uvést terc.butyl-
hydrogenperoxid, t-BuOOH, kumenhydroperoxid, peroxid vodíku
a benzoylperoxid, výhodný je t-BuOOH. Množství hydroperoxidu
se může pohybovat od nejméně 2 mol, s výhodou se užije 8
až 10 mol na 1 mol výchozí látky.

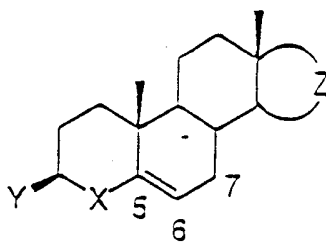
Při provádění způsobu podle vynálezu je možno použít
jakékoliv běžné rozpouštědlo nebo směs rozpouštědel, jako
jsou alkyly, ethery, alkoholy, halogenovaná rozpouštědla,
voda a podobně. Jako příklad specifických rozpouštědel je
možno uvést toluen, ethylacetát, hexan, chlorbenzen, heptan,
terc.butylmethylether MTBE, benzen, acetonitril, cyklohexan,
methylenchlorid, 1,2-dichlorethan a terc.butylalkohol t-BuOH,

použit je možno také kombinace rozpouštědel. V případě, že katalyzátorem je $\text{RuW}_{11}\text{O}_{39}\text{SiNa}_5$, je výhodným rozpouštědlem heptan. Při použití $\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3$ jsou výhodnými rozpouštědly chlorbenzen nebo benzen.

Oxidaci je možno provádět při teplotě $-20\text{ }^\circ\text{C}$ až teplotě varu použitého rozpouštědla pod zpětným chladičem, například $100\text{ }^\circ\text{C}$, zvláště v rozmezí 5 až $50\text{ }^\circ\text{C}$, s výhodou při teplotě $15\text{ }^\circ\text{C}$. Reakce dobře probíhá při jakémkoliv pH, zvláště v kyselé oblasti a zvláště při pH 1. Úpravu pH je možno uskutečnit před přidáním t-BuOOH přidáním vodné kyseliny, například kyseliny sírové. Přestože to není zapotřebí, reakce velmi výhodně probíhá v atmosféře inertního plynu, například dusíku nebo argonu.

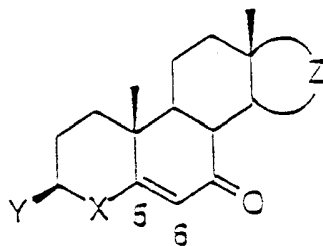
Delta-5-steroidní alkeny pro použití při provádění způsobu podle vynálezu jsou známé, běžným dodavatelem je například Sigma Chemical Co.

Při jednom z provedení způsobu podle vynálezu se postupuje tak, že se na sloučeninu obecného vzorce I



i

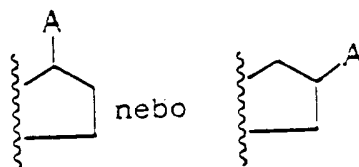
působí hydroperoxidem v přítomnosti katalyzátoru na bazi ruthenia v rozpouštědle za vzniku sloučeniny obecného vzorce II



II

kde

- Y znamená hydroxyskupinu, esterifikovanou hydroxyskupinu, ketoskupinu nebo ethylenketalovou skupinu,
- X znamená skupinu $-\text{CH}_2-$, $-\text{NH}-$ nebo $-\text{N}(\text{CH}_3)-$ nebo $-\text{N}-2,4-$ -dimethoxybenzylovou skupinu a
- Z znamená skupinu



Oxidační reakce není ovlivněna substituentem v poloze 16 nebo 17 steroidu, což znamená, že A může znamenat jakýkoliv substituent, přípustný ze syntetického hlediska. Široká použitelnost způsobu podle vynálezu je zřejmá právě z toho, že postup není omezen na určité substituenty v poloze 16 a 17 výchozího steroidního materiálu.

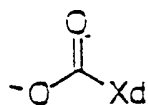
Jako příklady skupin ve významu A je možno uvést například atom vodíku, ketoskupinu = O, chráněnou hydroxyskupinu, jako dimethyl-terc.butylsilyloxyskupinu, trimethylsilyloxyskupinu, triethylsilyloxyskupinu, triisopropylsilyloxyskupinu, trifenylsilyloxyskupinu, zbytek acetátu, hydroxyskupinu,

chráněnou aminoskupinu, jako acetylaminoskupinu, aminoskupinu, alkyl o 1 až 10 atomech uhlíku, jako methyl, ethyl, 1,5-dimethylhexyl, 6-methylhept-2-ylcholestanylový 17-postranní řetězec, pregnanový nebo stigmasterolový 17-postranní řetězec, alkyl o 1 až 10 atomech uhlíku, substituovaný arylovým zbytkem, například omega-fenylpropyl, 1-(chlorfenoxi)ethyl, alkyl o 1 až 10 atomech uhlíku, substituovaný arylkarbamoylovou skupinou, jako 2-(4-pyridinylkarbamoyl)ethyl, alkylkarbonyl o 1 až 10 atomech uhlíku v alkylové části, jako isobutylkarbonyl, arylkarbonyl, jako fenylkarbonyl, alkyl o 1 až 10 atomech uhlíku, substituovaný etherovou skupinou, jako 1-methoxyethyl nebo 1-ethoxyethyl, alkyl o 1 až 10 atomech uhlíku, substituovaný ketoskupinou, jako 1-ketoethyl, alkyl o 1 až 10 atomech uhlíku, substituovaný heteroarylovou skupinou, jako omega-(4-pyridyl)butyl, karboxyskupinu, estery této skupiny, například s alkylkarboxylovými kyselinami o 1 až 10 atomech uhlíku v alkylové části, karboxamidy, například alkylkarboxamidy o 1 až 10 atomech uhlíku v alkylové části nebo aralkylkarboxamidy, jako N,N-diisopropylkarboxamid, N-terc.butylkarboxamid nebo N-(difenylmethyl)karboxamid, karbamáty, například alkylkarbamáty o 1 až 10 atomech uhlíku v alkylové části, zvláště terc.butylkarbamát, substituované nebo nesubstituované anilidové deriváty, v nichž fenylový zbytek může být substituován 1 až 2 substituenty ze skupiny ethyl, methyl, trifluormethyl nebo atom halogenu, deriváty močoviny, jako alkylkarbonylaminomočoviny o 1 až 10 atomech uhlíku v alkylové části, jako terc.butylkarbonylaminomočovina, alkylkarbonylaminoskupiny o 1 až 10 atomech uhlíku v alkylové části, jako terc.butylkarbonylaminoskupina, ethery, jako n-butyloxyethylenketal, substituované a nesubstituované arylethery, jako chlorfenyloxyskupina, methylfenyloxyskupina, fenylloxyskupina, methylsulfonylfenyloxyskupina, pyrimidinylloxyskupina a podobně.

Pod pojmem "alkyl" se rozumí alkylové skupiny s přímým nebo rozvětveným řetězcem, pojem "aryl" zahrnuje fenyl, pyridinyl a pyrimidinyl.

Ochranné skupiny na hydroxyskupině a aminoskupině jsou běžné známé skupiny. Pro hydroxyskupinu je například možno použít acetátové, benzoátové, etherové a silylové ochranné skupiny. Běžné silylové skupiny je možno vyjádřit obecně vzorcem $-Si(Xa)_3$, kde skupina Xa nezávisle znamená alkylovou nebo arylovou skupinu, může tedy jít například o trimethylsilyl, triethylsilyl, triisopropylsilyl, trifenylsilyl a také o terc.butyl-di-(Xb)-silyl, kde Xb znamená methyl, ethyl, isopropyl nebo fenyl Ph. Běžné ochranné skupiny pro aminoskupinu je možno vyjádřit obecným vzorcem $-C(O)-Xc$, kde Xc znamená alkyl, aryl, O-alkyl nebo O-aryl a jde tedy například o N-terc.butoxykarbonyl. Ochranné skupiny byly souhrnně popsány v publikaci Protective Groups in Organic Synthesis, T. W. Green a další, John Wiley and Sons, 1991.

Je zřejmé, že v případě, že Y znamená esterifikovanou hydroxyskupinu, padají v úvahu například substituenty vzorce III

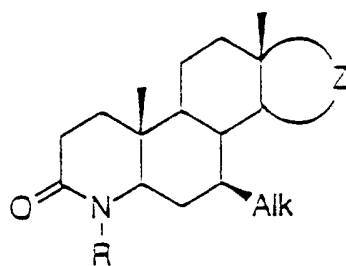


III

kde X_d může znamenat jakoukoliv synteticky přijatelnou esterovou skupinu. Postup není omezen na volbu určité esterové formy Y . Jako příklady Xa je možno uvést alkylové zbytky s přímým nebo rozvětveným řetězcem, například o 1 až 18

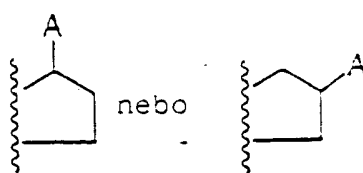
atomech uhlíku, fenyl nebo mono- nebo disubstituovaný fenyl, v němž substituenty zahrnují například atomy halogenu, alkokyskupinu a aminoskupinu.

Meziprodukt vzorce II je možno použít pro výrobu 7beta-substituovaných 4-azasteroidních sloučenin a z nich zvláště takových látek, které jsou inhibitory 5alfa-reduk-tázy. Příklady těchto látek je možno nalézt například v US 4 377 534, US 4 760 071, WO 93/23419 a WO 93/23420. Sloučeniny, které je možno připravit z meziproductu vzorce II zahrnují zvláště sloučeniny obecného vzorce IV



IV

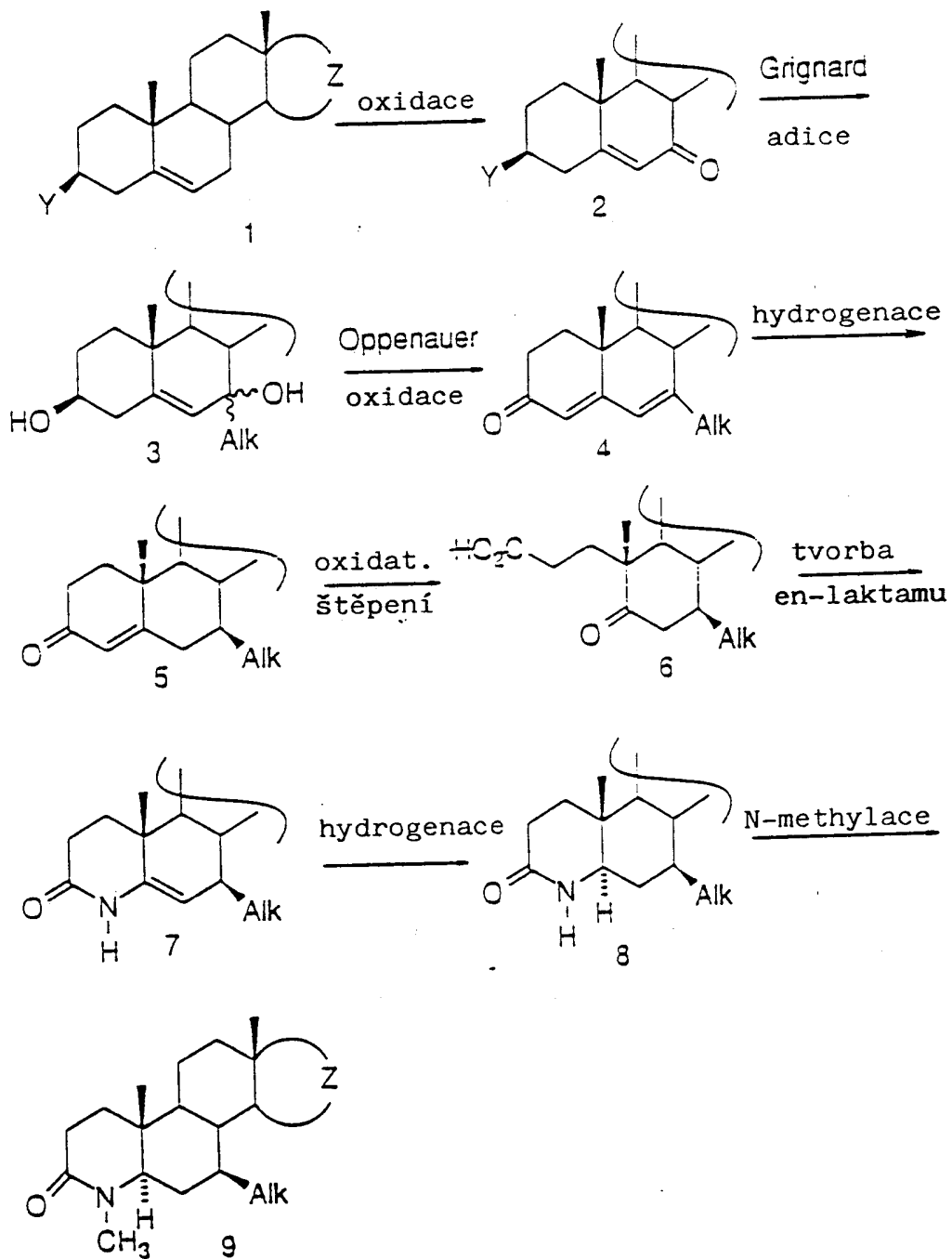
kde R znamená vodík nebo methyl, Z znamená



a Alk znamená alkyl s přímým nebo rozvětveným řetězcem o 1 až 25 atomech uhlíku, jako methyl Me, ethyl Et, propyl Pr, isopropyl i-Pr, n-butyl n-Bu, sek-butyl, isobutyl, terc.butyl t-Bu a podobně, alkyl o 3 až 6 atomech uhlíku, jako cyklopropyl, cyklobutyl, cyklopentyl nebo cyklohexyl a allyl. Výroba těchto látek byla popsána v US 5 237 064, WO 93/23419, WO 93/23420 a PCT US 94/12071.

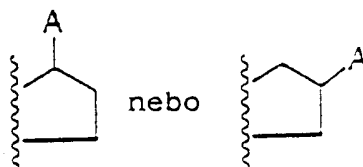
Výroba sloučenin vzorce IV je popsána v následujícím schematu:

Reakční schema



Výchozím materiálem pro postup jsou obvykle 3-acet-oxyandrost-5-eny, které jsou známé a dostupné.

Z znamená skupinu



Skupina A byla svrchu popsána, může jít o jakoukoliv skupinu, s výhodou inertní a neinterferující za použitých reakčních podmínek v jednotlivých stupních svrchu uvedeného reakčního schématu.

Skupinou A může být také chráněná hydroxyskupina nebo chráněná aminoskupina, chráněnou skupinu je možno po ukončení reakce uvolnit nebo je možno ochrannou skupinu odstranit v průběhu zvláštního stupně, který nesmí interferovat s požadovanou reakcí. Například v případě, že A znamená terc.butyl-dimethylsilyloxyskupinu -O-TBDMS, je možno silylovou ochrannou skupinu odstranit například v průběhu uzavření kruhu ve sloučenině vzorce 6 za vzniku 4-azasteroidu vzorce 7, takže následující stupně se provádějí na 16- nebo 17-OH-sloučenině. Také může být výchozí skupina A prekursorem pro konečnou skupinu A, na niž může být převedena v průběhu některého stupně. Například v případě, že A obsahuje dvojnou vazbu, například analog stigmasterolu, je možno dvojnou vazbu postranního řetězce v poloze 16 nebo 17 také oxidovat v průběhu tvorby sekokyseliny na přechodu ze stupně 5 do stupně 6.

Jak je znázorněno ve svrchu uvedeném reakčním schématu, je možno substituent Alk zavést do kruhu B a za steroid-

ní sloučeniny obvykle adicí organokovové karbonylové sloučeniny, například Grignardovou reakcí, při níž se 7-karbo-nylová skupina nechá reagovat s Grignardovým reakčním činidlem, které obsahuje Alk jako skupinu R ve sloučenině RMgX . Podmínky Grignardovy reakce jsou běžné a zahrnují použití například methyl-, allyl- nebo cykloalkylmagnesiumchloridu, ethylmagnesiumbromidu, cyklopropylmagnesiumbromidu a podobně. S výhodou se Grignardovo reakční činidlo užije spolu s CeCl_3 . Použít je možno bezvodá rozpouštědla, jako tetrahydrofuran THF, diethylether, dimethoxyethan a di-n-butylether. Reakce se provádí za bezvodých podmínek obvykle při teplotě 0 až 40 °C. Reakce obvykle trvá 6 až 24 hodin. V tomto stupni je možno použít také jiné organokovové sloučeniny, například s obsahem lithia nebo zinku, které jsou v oboru známé.

Adiční produkt vzorce 3 se pak oxiduje například působením isopropoxidu hlinitého a cyklohexanonu (Oppenauerovy oxidační podmínky), například ve vroucím toluenu pod zpětným chladičem za vzniku 7-alkyl-4,6-dien-3-onu vzorce 4. Dalšími reakčními činidly, která je možno použít, jsou například ethoxid nebo terc.butoxid hlinitý. Z rozpouštědel je možno použít také například methylethylketon MEK a xylen. Teplota se pohybuje obvykle v rozmezí 60 až 120 °C, reakce se provádí v bezvodém prostředí, reakční doba je obvykle v rozmezí 2 až 24 hodin.

Dien-3-on vzorce 4 se pak převede na 4-en vzorce 5 působením paladia na aktivním uhlí, DBU, a cyklohexenu v rozpouštědle, například ethanolu.

Pak se rozštěpí kruh A například působením manganistanu draselného nebo jodistanu sodného například v terc.-butylalkoholu při teplotě 80 °C za vzniku odpovídající sekokyseliny vzorce 6. Dalšími použitelnými oxidačními činidly

jsou oxid rutheničelý a ozon. Z rozpouštědel je možno užít také methylkyanid, tetrachlormethan, methanol MeOH a methylenchlorid. Reakce obvykle trvá 2 až 4 hodiny.

Na sekokyselinu se působí v alkankyselině o 2 až 4 atomech uhlíku, například v kyselině octové HOAc octanem amonným při teplotě 15 až 30 °C a pak se směs vaří 2 až 4 hodiny pod zpětným chladičem. Po zchlazení na 50 až 70 °C se přidá voda a směs se naočkuje k vyvolání krystalizace en-laktamu vzorce 7.

Hydrogenaci této látky je možno uskutečnit při použití katalyzátoru na bazi ušlechtilého kovu, jako Pd(OH)₂, PtO₂, Pd na aktivním uhlí, Rh na aktivním uhlí nebo Rh na oxidu hlinitém, s výhodou se užije Rh na aktivním uhlí nebo oxidu hlinitém v alkankyselině o 2 až 4 atomech uhlíku, jako kyselině octové nebo v alkoholu, jako ethanolu nebo ethylacetátu při tlaku vodíku 0,35 až 0,49 MPa. Reakce se provádí při teplotě 15 až 25 °C po dobu 8 až 12 hodin a pak je možno teplotu zvýšit například na 50 až 70 °C k ukončení reakce. Katalyzátor se odfiltruje a filtrát se odpaří do sucha. Produkt vzorce 8 je pak možno čistit například překrytím.

Poslední stupeň, N-methylaci je možno uskutečnit tak, že se na roztok laktamu vzorce 8 v aromatickém rozpouštědle, jako benzenu nebo toluenu v přítomnosti tetrabutylamoniumhydrogensulfátu a vodného roztoku zásady, jako hydroxidu sodného nebo draselného působí za energického míchání plynným methylchloridem při teplotě 40 až 60 °C do ukončení reakce, obvykle 20 až 30 hodin.

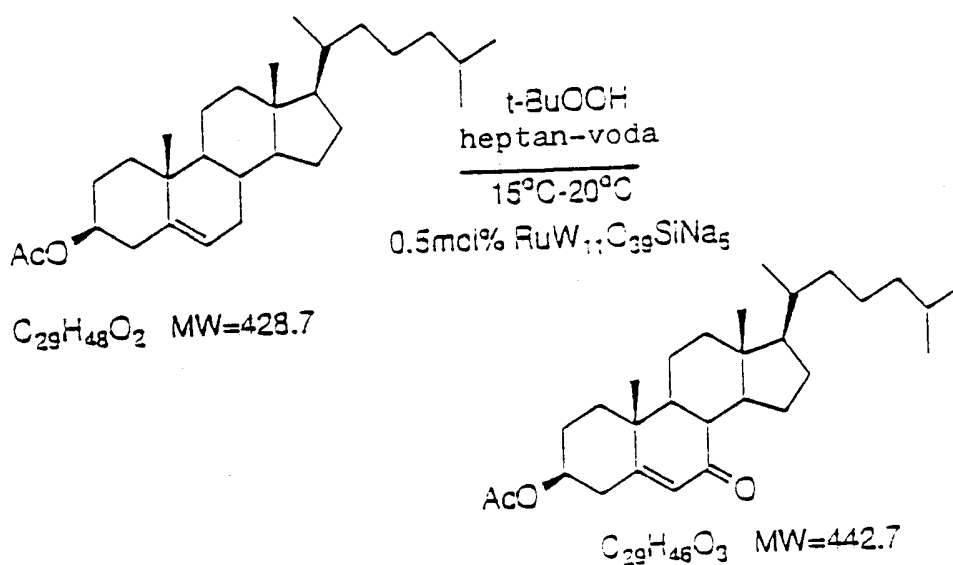
Příklady postupů s využitím nového způsobu podle vynálezu jsou dále podrobněji popsány v příkladové části, která však nemá sloužit k omezení rozsahu vynálezu.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Příprava 4,7beta-dimethyl-4-aza-5alfa-cholestan-3-onu

Stupeň 1:



MW = molekulová hmotnost

Materiály	množství	mol	MW
cholesterylacetát (95% Aldrich)	78,1 g	0,173	428,7
t-BuOOH (70 % hmot, Aldrich)	189 g	1,46	90,12
Na ₂ WO ₄ -2H ₂ O	3,3 g	0,010	329,9
RuCl ₃ xH ₂ O	0,24 g	0,00116	207,43
metasilikát sodný (Na ₂ SiO ₃)	0,315 g	0,00258	122,06
kyselina sírová (d=1,84 g/ml, 18M)	0,45 ml	0,0081	98,08

siřičitan sodný (Na_2SO_3)	39 g	0,309	126,04
heptan	300 ml		
MEK (methylethylketon)	550 ml		
voda	460 ml.		

V baňce se třemi hrdly s objemem 2000 ml se míchá směs 3,3 g dihydrátu wolframnanu sodného, 0,315 g methasilikátu sodného a 70 ml vody až do vzniku homogenního roztoku. Roztok se pak neutralizuje přidáním 0,45 ml koncentrované kyseliny sírové na pH 6 až 7. Při přidání kyseliny je možno pozorovat exothermní reakci, směs se zahřeje o 4 °C. Přidá se 240 mg hydrátu chloridu ruthenitého a směs se ještě 10 minut míchá. Pak se přidá ještě 78,1 g cholesterylacetátu a 300 ml heptanu a směs se míchá míchadlem rychlostí 225 až 275 ot/min.

Pak se v průběhu 5 až 10 minut přidá 189 g 70% t-BuOOH. Vnitřní teplota směsi se chlazením ve vodní lázni udržuje na 15 až 20 °C. Po 5 až 15 minutách se teplota směsi počne zvyšovat. Směs se míchá tak dlouho, až je možno prokázat pouze 1,5 % hmotnostních výchozího materiálu a méně než 2 % 7-hydroxycholesterylacetátu jako meziprojektu, což trvá přibližně 20 až 24 hodiny.

Reakci je možno sledovat na sloupci YMC při použití směsi acetonitrilu a vody 90 : 10, rychlost průtoku 1,5 ml/min, detekce při 200 nm UV-světlem. Doba retence: tR cholesterylacetát = 17,0 min, tR 7-ketocholesterylacetát = 7,8 min, tR endion = 4,5 min, tR 7-hydroperoxidů a 7-olů jako meziprojektů = 6,8, 6,9, 7,0 a 8,2 min. Později vystupující nečistoty po 18 a 19 min jsou 7-t-BuOO-cholesterylacetáty.

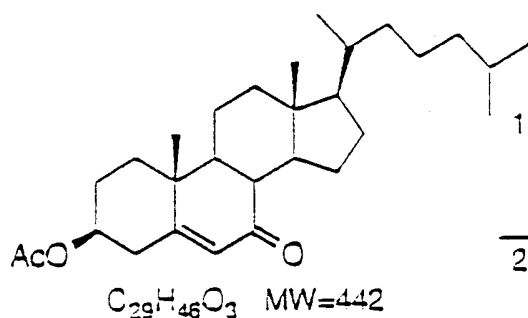
K reakční směsi se přidá 550 ml MEK, 390 ml vody a 39 g siřičitanu sodného. Směs se zahřívá na 70 °C až do odstranění znečišťujícího endionu, přibližně 3 hodiny. Pak se reakční směs zchladí, prenese do dělicí nálevky, vodná vrstva se vypustí a organická vrstva se promyje 100 ml 1% roztoku chloridu sodného. Pak se MEK a t-BuOH odstraní azeotropní destilací s heptanem (800 ml heptanu se přidá po počátečním zahuštění na 300 ml) tak dlouho, až směs obsahuje méně než 0,7 % směsi MEK a t-BuOH při průkazu pomocí plynové chromatografie GC.

Heptan se kontroluje na přítomnost MEK a t-BuOH pomocí GC při použití sloupce HP-5 při 35 °C při rychlosti průtoku 0,5 ml/min. tR MEK = 4,9 min, tR t-BuOH = 5,3 min, tR heptan = 7,7 min. Objem se upraví na 350 ml, roztok se zchladí na -5 °C, zfiltruje, dvakrát promyje 150 ml heptanu při 0 °C. Po usušení se ve výtěžku 62 % získá 51,5 g produktu s čistotou 94 % hmotnostních, 97 A % jako špinavě bílá pevná látka s teplotou tání 155 až 157 °C.

A % = plocha pod křivkou v %.

NMR (^1H , 300 MHz, CDCl_3): 5,70 (s, 1H), 4,7 (m, 1H), 2,5 - 0,8 (m, 43 H), 0,6 (s, 3H).

Stupeň 2:

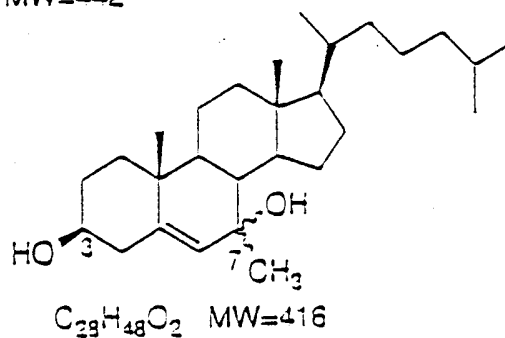


1) MeMgCl/CeCl₃

THF

20°C-30°C

2) kys.citronová/voda



Materiály	množství	mol	MW
7-ketocholestylacetát (95 % čistoty)	60 g	0,13	442
methylmagnesiumchlorid 3,0M	160 ml	0,48	
CeCl ₃ (bezvodý)	16,6 g	0,068	245
THF (KF=50,ug/ml)	300 ml		
kyselina citronová	115-g	0,60	192
voda	500 ml		
toluen	600 ml		
nasyčený NaHCO ₃	240 ml.		

16,6 g bezvodého chloridu ceritého se míchá v suspenzi ve 150 ml THF pod dusíkem při teplotě 20 °C celkem 2 hodiny.

Chlorid ceritý byl získán jako heptahydrát a sušen ve vakuu v sušicí peci při 170 °C 3 až 4 dny. Sušený chlorid ceritý byl získán po ztrátě 0,7 % hmotnosti. Po 2 hodinách byl odebrán vzorek suspenze a pod mikroskopem bylo možno prokázat jemné jehličky. K suspenzi bylo přidáno 160 ml Grignardova reakčního činidla a výsledná světle purpurová směs byla ponechána v klidu 30 minut.

Po zchlazení směsi na 20 °C bylo přidáno 60 g ketonu s čistotou 95 %, to znamená 57 g této látky ve 150 ml THF v průběhu 50 minut, došlo k exothermní reakci a teplota směsi se zvýšila na 30 °C. Vzhledem k uvolnění tepla byla teplota řízena rychlostí přidávání. Roztok ketonu v THF je zapotřebí zahřát na 30 °C k úplnému rozpuštění před přidáním Grignardova činidla.

Postup reakce byl sledován vysokotlakou kapalinovou chromatografií HPLC. Vzorek 0,5 ml byl přidán k 10 ml 0,1N HOAc a pak zředěn na 50 ml methylnyanidem. Byl užit sloupec Zorbax^R fenyl a směs CH₃CN, vody, a kyseliny fosforečné v poměru 75 : 25 : 0,1 až 90 : 10 : 0,1 v průběhu 18 minut, rychlost průtoku 1,5 ml/min, detekce UV zářením při 200 nm. Doba retence pro 3,7-diol t_R = 5,6 a 5,9 min, pro výchozí keton je t_R = 10,9 minut, pro meziprodukty 7-OH, 3-OAc t_R = 9,8 a 10,8 min. Plocha pod křivkou pro 3,7-diol byla přibližně 95 % (přibližně 85 mg/ml). Jakýkoliv zbývající výchozí materiál nebo meziprodukt může být převeden na požadovaný produkt použitím dalšího množství Grignardova činidla.

Po ukončení reakce se směs přidá při teplotě 0 °C ke směsi roztoku kyseliny citronové (115 g ve 300 ml vody) a 300 ml toluenu. Reakce je exothermní a je nutno ji pečlivě řídit k udržení teploty pod hodnotou 10 °C.

Dvoufázová směs se 30 minut míchá a pak se nechá 10 až 15 minut stát k oddělení fází. pH vodné vrstvy bylo přibližně 2. Organická fáze se oddělí, promyje se 200 ml vody (po promytí pH = 3) a 240 ml nasyceného roztoku hydrogenuhličitanu sodného (po promytí pH = 8). Získá se 750 ml organické vrstvy, obsahující 66 mg/ml diolu, ve výtěžku 93 % se získá 49,5 g této látky. Vodná vrstva obsahuje méně než 1 % tohoto produktu.

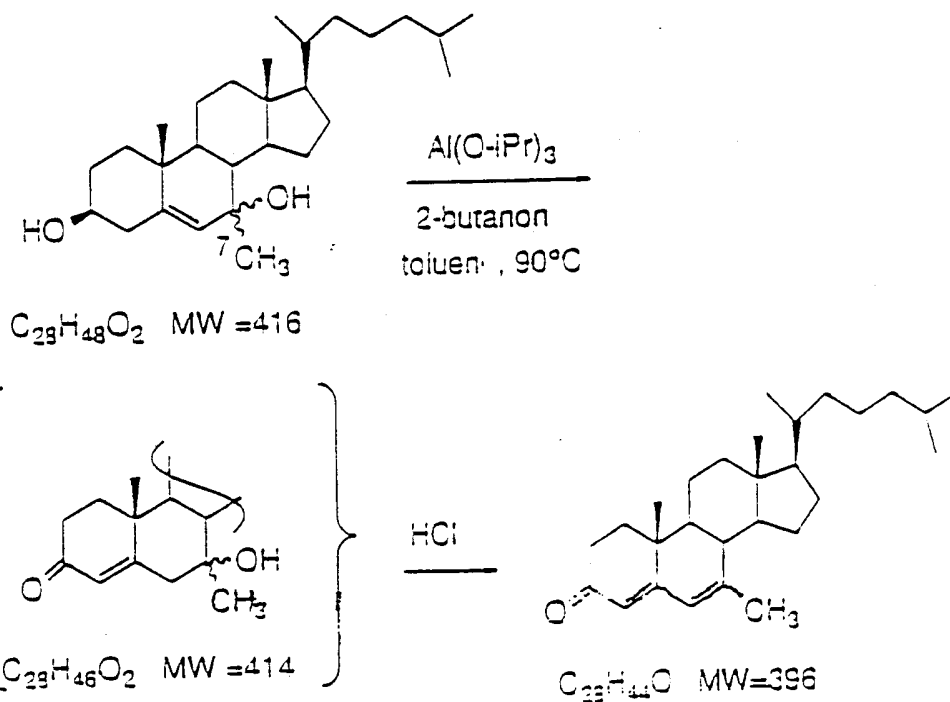
Směs se odpaří na 300 ml ve vakuu při tlaku 13 až 26 kPa, pak se zředí na 600 ml toluenem a znovu odpaří na 360 ml. Změna rozpouštědla za toluen je úplná v případě, že při GC je plocha pod křivkou pro THF menší než 2 % plochy pro toluen. Prvních 200 ml destilátu má při nízkém tlaku sklon k pění. Po ukončení této fáze by měl být tlak snížen na 13 kPa. Destilační teplota pomalu stoupá od 20 do 45 °C při dokončování výměny za toluen.

Vzorky destilátu byly podrobeny zkouškám na zbývající THF pomocí GC. Vzorek 0,1 ml směsi byl zředěn methanolem na 1 ml. Byl použit sloupec HP-5 s vnitřním průměrem 0,32 mikrometrů, při použití zahříváního vstřikovacího zařízení, teplota 35 °C, průtok 0,5 ml/min. Methanol t_R = 5,5 min, THD t_R = 6,2 min, toluen t_R = 10,1 min. Konečná zkouška byla prováděna při použití vzorku, odebraného ze směsi.

Organická vrstva obsahovala 134,4 mg/ml diolů, ve výtěžku 90 % bylo získáno 48,4 g těchto látek. KF směsi má být nižší než 100 mikrogramů/ml před prováděním následujícího reakčního stupně.

Stupeň 3:

Oppenauerova oxidace



materiály	množství	mmol	MW
7-methyl-7-hydroxycholesterol	30,2 g	72,6	416
2-butanon (d = 0,805, KF = 480, $\mu\text{g/ml}$)	125 ml	1404	72,11
aluminiumisopropoxid	18,9 g	93	204,25
3N HCl	120 ml		
5% roztok NaCl	120 ml		
koncentrovaná HCl	3,5 ml	42	
deionizovaná voda	60 ml		
nasycený NaHCO_3	60 ml		

Ke 256 ml toluenu s obsahem 118 mg/ml diolu se přidá 126 ml 2-butanonu a 18,9 g isopropoxidu hlinitého. Roztok se zahřívá na teplotu 92 °C pod zpětným chladičem pod dusíkem. Reakce se sleduje pomocí HPLC.

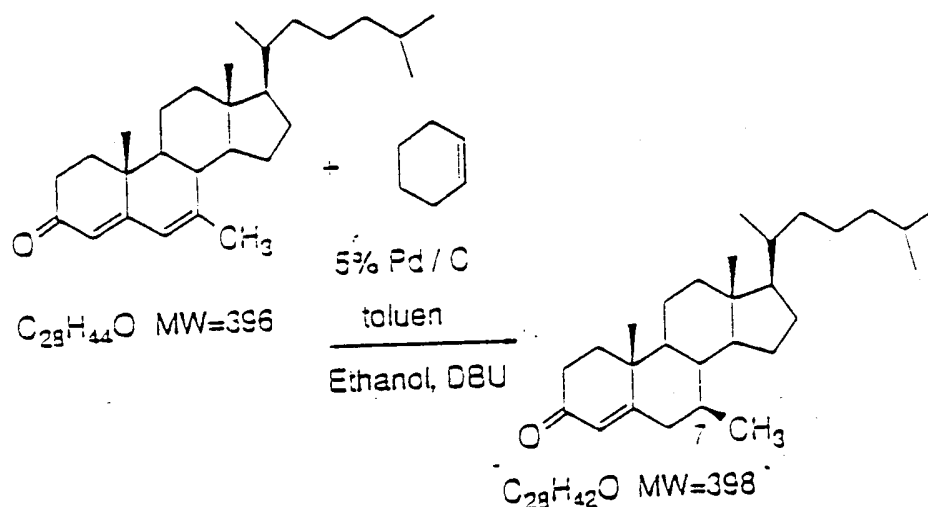
Před přidáním isopropoxidu hlinitého se ve směsi určí plynovou chromatografií GC obsah 2-butanonu. Vzorek 0,1 ml směsi se zředí methanolem na 1 ml. K chromatografii se užije sloupec HP-5 (25 m, 0,32 mikrometrů vnitřní průměr) a vstřikovací zařízení s teplotou 250 °C, teplota sloupce 35 °C, průtok 0,5 ml/min, doba retence pro 2-butanon $t_R = 6,1$ min, pro methanol $t_R = 5,5$ min a pro toluen $t_R = 10,1$ min. Hodnota KF výchozí směsi byla 70 mikrogramů/ml.

Vzorek 0,1 ml reakční směsi se přidá do 2 až 3 ml 0,1 N roztoku HOAc a pak se zředí methylycyanidem na 10 ml ve volumetrické nádobě. HPLC se provádí na sloupci Zorbax^R Phenyl 25 cm při použití $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O}$ s 0,1 % kyseliny fosforečné 75 : 25 až 90 : 10 po 18 minutách až do 22 minut, průtok 1,5 ml/min, detekce UV-světlem při 210 nm. Doba retence pro výchozí dioly $t_R = 5,5$ a 5,8 min, pro meziprodukt delta-4-enon $t_R = 6,4$ min a pro dienon $t_R = 12,1$ min.

Reakce se považuje za ukončenou po poklesu množství výchozího diolu na méně než 3 % plochy (8 hodin). Po ukončení reakce se směs zchladí na 15 až 20 °C a přidá se 120 ml 3N kyseliny chlorovodíkové. Dvoufázová směs se 20 minut míchá a pak se nechá usadit. Spodní vodná vrstva se oddělí a organická vrstva se promyje 120 ml 5% chloridu sodného. Směs se odpaří ve vakuu na polovinu svého objemu při teplotě 40 až 60 °C a tlaku 2 kPa. Při destilaci se odstraní přebytek 2-butanonu. Obsah 2-butanonu ve výsledné směsi je nižší než 2 % obsahu toluenu podle GC, hodnota KF pro výslednou směs je 60 mikrogramů/ml.

K toluenovému roztoku se přidá 3,5 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové pod dusíkem při teplotě 25 °C. Reakce se sleduje pomocí HPLC tak dlouho, až se terciární alkohol, tvořící se jako meziprodukt úplně převede na dienon, což trvá přibližně 1 hodinu. Roztok se promyje 60 ml deionizované vody a 60 ml nasyceného roztoku hydrogenuhličitanu sodného. Hydrogenuhličitan sodný, použitý k promytí měl hodnotu pH 8,5. (V případě, že se reakce provádí déle než 8 hodin, dojde k rozkladu a ke zčernání směsi.) 128 ml výsledného červeného roztoku obsahuje při výtěžku 90 % celkem 25,9 g dienonu, to znamená 202 mg/ml.

Stupeň 4: Hydrogenace



MW = molekulová hmotnost.

materiály	množství	mmol	MW
dienon (toluenový roztok)	31,5 g	79,5	396,7
5% paladium na aktivním uhlí (bezvodém)	4,5 g		
cyklohexen (d=0,811)	120 ml	1,18 mol	82,15

1,8-diazabicyklo/5,4.0/- undec-7-en (DBU)	0,63 ml	4,2	152,2
absolutní ethanol	495 ml		
3N HCl	150 ml		
NaHCO ₃ , nasycený na 50 %	100 ml		
hexany	250 ml		
terc.butanol	175 ml		
Solka Flok			

150 ml toluenu s obsahem 214,6 mg/ml dienonu se zředí 120 ml ethanolu, 120 ml cyklohexenu a 0,62 ml DBU. Ke směsi se přidá 9,0 g 5% paladia na aktivním uhlí ve formě 50% suspenze ve vodě. Směs se zbaví plynů trojím propláchnutím dusíkem za sníženého tlaku. Pak se směs zahřívá pod zpětným chladičem na teplotu 72 °C. Průběh reakce se leduje HPLC.

Vzorek 2 ml reakční směsi se zfiltruje přes Solka Flok. 0,1 ml filtrátu se zředí na 10 ml methylycyanidem a analyzuje pomocí HPLC při použití 25 cm sloupce Zorbax^R Phenyl a směsi acetonitrilu a vody s obsahem 0,1 % kyseliny fosforečné při gradientu 75 : 25 až 90 : 10 v průběhu 18 minut a pak 90 : 10 až do 22 minut, průtok 1,5 ml/min, detekce UV světlem 3, 200 nm.

Doba retence pro dienon t_R = 12,1 min, pro delta-4-enon t_R = 13,2 min, pro delta-5-enon t_R = 14,1 min, pro příliš redukovaný keton t_R = 14,4 min a pro ethylenolether t_R = 20,9 min. Keton je nutno analyzovat při 192 nm.

Reakce se považuje za ukončenou po poklesu množství dienonu na 2 % a množství delta-5-enonu na 5 % plochy pod

křivkou, což trvá přibližně 10 hodin. Po ukončení reakce se směs zchladí na teplotu místnosti. Paladium se odfiltruje přes Solka Flok a filtrační koláč se promyje 150 ml ethanolu.

Směs obsahovala 51 mg/ml enonu. (Delší reakční doby je nutno se vyvarovat vzhledem k možnosti příliš velké redukce. Po spotřebování výchozího materiálu a dosažení úrovně delta-5-enonu vyšší než 5 % po 10 hodinách je nutno paladium odfiltrovat a isomeraci ukončit bez katalyzátoru.)

Roztok se odpaří za sníženého tlaku 1,5 kPa na objem přibližně 150 ml. Směs se zředí 225 ml ethanolu a znovu zahustí na 150 ml.

Změna rozpouštědla za ethanol se považuje za ukončenou, jakmile je obsah toluenu menší než 2 % obsahu ethanolu při detekci pomocí GC a není možno prokázat cyklohexen. (Odstranění cyklohexenu je důležité, protože cyklohexan reaguje při následujícím oxidativním štěpení a dochází k neproduktivní spotřebě jodistanu.) Vzorek 0,1 ml směsi se zředí ethanolem na 1 ml pro zkoušku na cyklohexan a 1,1,1-trichlorethanem pro zkoušku na toluen. K plynové chromatografii se užije sloupec HP-5 (25 M x 0,32 mikrometru vnitřní průměr), vstřikovací zařízení má teplotu 250 °C, teplota sloupce 35 °C, průtok 0,5 ml/min. Doba retence pro ethanol $t_R = 5,6$ min, pro cyklohexen $t_R = 7,7$ min, pro trichlorethan $t_R = 7,7$ min a pro toluen $t_R = 10,2$ min. Přítomnost cyklohexenu je také možno prokázat pomocí $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): protony vinylové skupiny cyklohexenů při 5,64 ppm a vinylové skupiny enonu při 5,69 ppm.

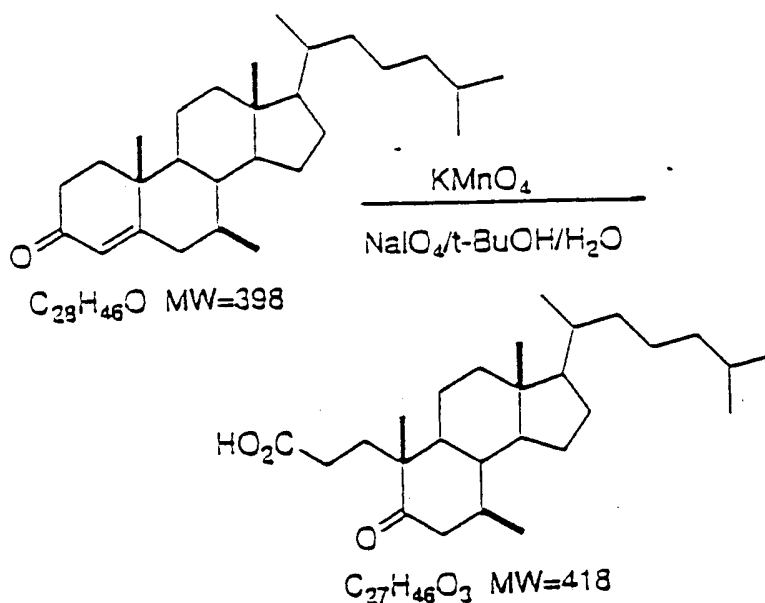
Koncentrát se zředí 250 ml hexanů a 150 ml 3N HCl. Dvoufázová směs se zahřívá na 40 °C až do ukončení hydrolyzy

enoetheru. Vrstvy se oddělí a organická vrstva se promyje 100 ml roztoku hydrogenuhlíčitanu sodného, nasyceného na 50 %. Hexanová fáze měla objem 291 ml, obsahovala méně než 5 % objemových ethanolu a 92 mg/ml enonu.

Roztok se odpaří na 100 ml za sníženého tlaku 13 kPa při teplotě 15 °C. Pak se směs zředí 175 ml terc.butanolu a znovu odpaří na 100 ml při tlaku 13 kPa a teplotě 40 °C. Směs obsahuje 260 mg/ml požadovaného 7-beta-methylenonu, ve výtěžku 85 % se tedy získá 26,8 g této látky.

Uvedené látky je možno prokázat také pomocí G.C.M.S. Použití plynové chromatografie není vhodné vzhledem k tomu, že enon nepostupuje sloupcem proporcionálně. Podmínky pro G.C.M.S.: sloupec HP-5, 25 M, vzorek se vstříkuje při 285 °C. Doba retence pro redukovaný enon $t_R = 12,8$ min, pro 7-alfa-epimer $t_R = 15,7$ min, pro produkt $t_R = 17,3$ min a pro výchozí materiál $t_R = 21,3$ min.

Stupeň 5: Oxidativní štěpení



materiály	množství	mol	MW
7-beta-methylcholest- -4-en-3-on	300 g	0,75	398
terc.butanol (d=0,786)	6,6 l		
uhličitan sodný	159 g	1,5	106
jodistan sodný	1550 g	7,2	213,9
manganistan draselný	11,1 g	0,07	158
deionizovaná voda	14,2 l		
diatomit	50 g		
ethylacetát (d=0,902)	2,6 l		
heptan (d=0,684)	5,0 l		
koncentrovaná HCl	250 ml		
5% vodný NaCl	2,5 l		
kyselina octová (d=1,049)	9,0 l		

Do baňky s objemem 5 litrů s okrouhlým dnem se vloží 4,93 litru deionizované vody, 1,55 kg jodistanu sodného a 11,1 g manganistanu draselného. Směs se míchá 30 minut při teplotě 65 °C k vytvoření čirého roztoku.

K roztoku 300 g enonu ve 4,6 litrech terc.butanolu se přidá roztok 159 g uhličitanu sodného ve 2,3 litrech vody. Dvoufázová směs se zahřeje na 65 °C. Enon musí být prostý toluenu, ethanolu a cyklohexenu. Koncentrace enonu v organické vrstvě je přibližně 56 mg/ml. Pak se za energického míchání v průběhu 3 hodin přidá k roztoku enonu roztok jodistanu sodného, přičemž teplota směsi se udržuje na 65 °C. Suspenze se pak nechá stát 2 hodiny při teplotě 65 °C. Roztok jodistanu se přidává zahřátou přidávací nálevkou.

V průběhu reakce dochází k uvolnění oxidu uhličitého. Vývoj plynu je možno poněkud potlačit pomalým přidáváním. Exothermní reakce nebyla pozorována. V průběhu přidávání se vytvoří purpurově hnědá suspenze.

Průběh reakce se sleduje pomocí HPLC. Vzorek reakční směsi s objemem 2 ml se zchladí na 15 °C a zfiltruje. 0,1 ml filtrátu se zředí na 10 ml směsí vody a methylycyanidu v poměru 1 : 3. Užije se sloupec YMC Basic s rozměrem 25 cm x 4,6 mm a isokratická směs methylycyanidu a 0,01 M kyseliny fosforečné 90 : 10, průtok 1,5 ml/min, detekce UV světlem při 200 nm. Doba retence pro enon $t_R = 11,5$ min a pro seko-kyselinu $t_R = 5,5$ min.

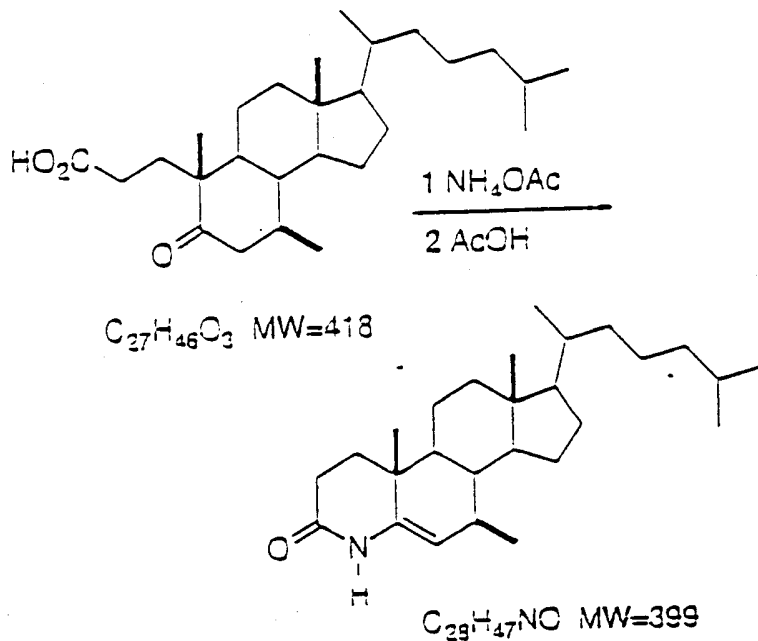
Reakce se považuje za ukončenou, jakmile množství výchozího enonu klesne pod 0,5 mg/ml. Přidá se 3,0 l vody a vzniklá suspenze se vaří 2 hodiny pod zpětným chladičem k rozložení jakéhokoliv zbytku manganistanu draselného, přičemž barva směsi se změní z purpurové na hnědou a k rozpuštění pevného podílu, vysráženého na stěnách nádoby. Výsledná suspenze se zchladí na 15 °C a zfiltruje přes 50 g dicalitu. Nádoba a filtrační koláč se promyjí 6 litry směsi terc.butanolu a vody 1 : 2.

Filtrační koláč se analyzuje na přítomnost sekokyseliny tak, že se 200 až 400 mg filtračního koláče rozpustí ve směsi 50 ml vody a 50 ml acetonitrilu a směs se zfiltruje přes diatomit k odstranění malého množství oranžového pevného podílu sloučeniny manganu. Filtrát o pH 9,0 až 10,5 se pak extrahuje 5,0 litry heptanu.

K vodné směsi se přidá 2,6 litru ethylacetátu a pH se upraví na $2,5 \pm 0,3$ přidáním 250 ml koncentrované HCl. Vodná vrstva se pak oddělí.

Organická vrstva se pak promyje 2 x 1,2 l 5% vodného roztoku chloridu sodného. Ethylacetátový roztok se odpaří při teplotě 30 °C a tlaku 20kPa na přibližně 10 % svého objemu. Přidá se 7,4 l kyseliny octové a zbývající ethylacetát se odpaří při teplotě 60 °C a tlaku 13 kPa na méně než 1 % objemu, to znamená méně než 0,5 % plochy při HPLC. Konečný objem se upraví na 5,0 l přidáním kyseliny octové. Odstranění ethylacetátu se sleduje pomocí HPLC za svrchu uvedených podmínek až na to, že rychlost průtoku je 0,5 ml/min a detekce se provádí UV světlem při 210 nm. Doba retence pro ethylacetát $t_R = 7,4$ min, pro kyselinu octovou $t_R = 6,9$ min. Ve výtěžku 88 % se získá 275 g produktu. Roztok kyseliny octové se přímo užije v následujícím stupni při tvorbě enlaktamů.

Stupeň 6: Tvorba NH-enlaktamu



materiály	množství	mol	MW
Seko-kyselina	265 g	0,634	418
octan amonný	488 g	6,33	77,1
2,6-di-terc.butyl-4- -methylnfenol (BHT)	5,3 g	0,024	220
deionizovaná voda	565 ml		
kyselina octová	833 ml.		

K roztoku 265 g seko-kyseliny v 5,3 litrech kyseliny octové z předchozího stupně se při teplotě 20 °C přidá 5,3 g BHT a 488 g octanu amonného. Suspenze se zahřívá na mírný var pod zpětným chladičem pod dusíkem celkem 3 hodiny. Při teplotě 30 °C dojde k vytvoření čirého roztoku. V průběhu varu je vnitřní teplota směsi 120 °C. Barva směsi se mění ze žluté na tmavě červenohnědou. Při použití nižšího množství kyseliny octové se v průběhu krystalizace produkt vyloučí ve formě oleje.

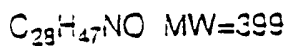
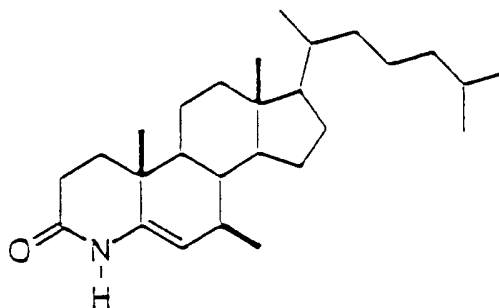
Průběh reakce se sleduje pomocí HPLC při použití sloupce SB Phenyl a směsi CH₃CN a 0,01 M kyseliny fosforečné isokraticky 80 : 20 celkem 30 minut, rychlost průtoku 1,5 ml/min, detekce UV světlem při 190/200 nm. Doba retenční pro en-laktam t_R = 9,4 min, pro seko-kyselinu t_R = 5,3 min. Detekce se provádí při 190 nm pro sledování reakce a při 200 nm pro stanovení obsahu výchozího materiálu a produktu. Reakce se považuje za ukončenou při zbytku seko-kyseliny nižším než 0,05 % plochy, což trvá 3 až 4 hodiny.

Reakční směs se zchladí na 60 °C a v průběhu 15 minut se přidá 398 ml vody. Je zapotřebí přidat přesně 7,5 % objemových vody k roztoku kyseliny octové. Roztok se nechá zchladnout na 50 °C a pak se naočkuje přidáním 1,0 g en-

-laktamu. Ke krystalizaci počne docházet při teplotě 50 °C. Získaná suspenze se nechá ještě 1 hodinu stát při teplotě 50 °C a pak se v průběhu 2 hodin zchladí na 0 až 2 °C.

Suspenze se zfiltruje a špinavě bílá pevná látka se promyje 1 litrem směsi kyseliny octové a vody 5 : 1. Pevný podíl se suší ve vakuu přes noc při 30 °C, získá se 255 g produktu s čistotou 87 % hmotnostních, zbytek tvoří kyselina octová, výtěžek je 88 %. Podle HPLC a UV při 200 nm tvoří produkt 99,4 % plochy. Teplota tání solvátu je 112 až 115 °C a teplota tání čisté látky je 175 až 178 °C, produkt měkne při 162 °C.

Stupeň 7: Překrystalování NH-enlaktamu



Materiály	množství	mol	MW
enlaktam	20 g	0,041	400
deionizovaná voda	17 ml		
kyselina octová	133 ml		
BHT	0,20 g	0,00091	220

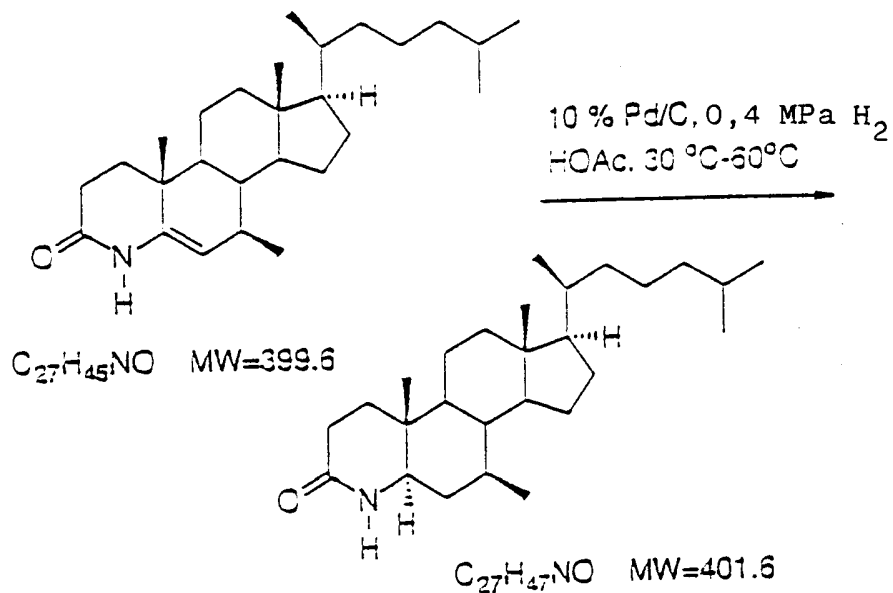
Ke 20 g en-laktamu s čistotou 83 % hmotnostních se přidá 100 ml kyseliny octové, která obsahuje 200 mg BHT. Vznikne suspenze, která se zahřívá v dusíkové atmosféře na teplotu 60 °C tak dlouho, až dojde k rozpuštění, načež se roztok zchladí na 50 °C. Pak se k roztoku přidá 10 ml vody. Výsledná směs se v průběhu 1,5 hodiny zchladí až na teplotu 5 °C, při této teplotě se nechá 1 hodinu stát a pak se pevný podíl odfiltruje. Roztok s teplotou 50 °C by měl začít krystalizovat ještě před zchlazením na teplotu 5 °C. Hodnota KF roztoku po přidání BHT se pohybuje v rozmezí 0,2 až 0,4 % hmotnostních.

Množství matečného louhu se sleduje pomocí HPLC, která se provádí při použití sloupce SB Phenyl a směsi methylkyanidu a 0,01 M kyseliny fosforečné, eluce se provádí isokraticky 30 minut při použití uvedených látek v poměru 80:20, rychlost průtoku 1,5 ml/min, detekce UV světlem při 200 nm. Doba retence pro enlaktam $t_R = 9,4$ min. Odebírá se vzorek 100 mikrolitrů, který se ředí acetonitrilem na 10 ml.

Výsledná suspenze se zfiltruje a špinavěbílý pevný podíl se promyje 40 ml směsí kyseliny octové a vody v poměru 5 : 1 při teplotě 5 °C. Získaná pevná látka se suší přes noc při teplotě 30 °C, čímž se získá 18,5 g produktu s čistotou 84 % hmotnostních, zbytek tvoří kyselina octová. Výťažek produktu je 94 %. Při HPLC, detekci UV světlem při 200 nm tvoří množství produktu 99,4 % plochy.

Teplota tání solvátu je 112 až 115 °C. Teplota tání čistého produktu je v rozmezí 175 až 178 °C, produkt měkne při teplotě 162 °C.

Stupeň 8: Redukce NH-enlaktamu



Materiály	množství	mol	MW
enlaktam (87 % hmot)	190,0 g	0,475	399,64
HOAc (d=1,05)	3,8 l		
BHT	3,8 g	0,017	220,4
10% Pd/C (50% suspenze)	38 g	10 % hmot.	
vodík	0,4 MPa		
heptan	3,8 l		
MEK	2,65 l.		

3,8 g BHT se rozpustí v 1,71 l kyseliny octové při teplotě 20 °C. Roztok se zbaví plynů probubláváním dusíkem po dobu 30 minut a pak se najednou přidá 218 g enlaktamu s čistotou 87 % hmotnostních. Výsledný roztok se nechá probublávat dusíkem ještě 15 minut. Pak se přidá 38 g 10%

Pd/C (50% suspenze) a suspenze se přenese do autoklávu s objemem 4 litry za stálého míchání. V autoklávu se suspenze promyje 190 ml kyseliny octové, zbavené plynů. BHT je nutno ke kyselině octové přidat před přidáním enlaktamu vzhledem k tomu, že použití kyseliny octové, stabilizované BHT je nezbytné v důsledku oxidativní nestálosti enlaktamu.

Směs se promyje dusíkem ve vakuu a pak se hydrogenuje vodíkem při tlaku 0,4 MPa za míchání při teplotě 20 °C. Po 10 hodinách při této teplotě se teplota zvýší na 60 °C na tak dlouho, až je reakce ukončena na více než 99,9 %.

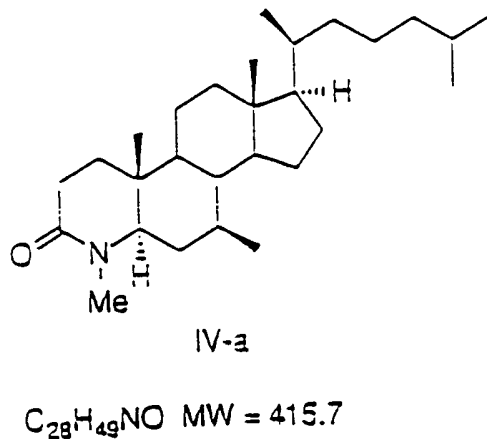
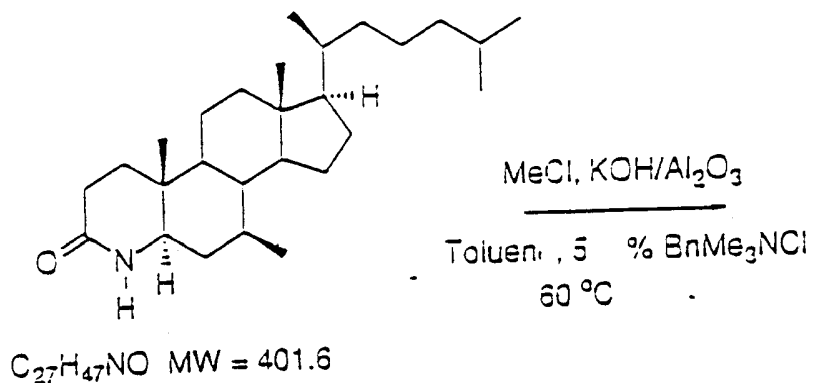
Průběh reakce se sleduje pomocí HPLC při použití sloupce Zorbax^R Phenyl SB, s výškou 25 cm při použití směsi methylkyanidu a 0,01% kyseliny fosforečné 90 : 10, rychlost průtoku 1,5 ml/min, detekce UV při 210 a 240 nm. Doba retence pro enlaktam je 8,50 min, pro translaktam 12,4 min, pro cis-laktam 18,4 min. Odebírá se vzorek 20 mikrolitrů, který se ředí na 2 ml acetonitrilem.

Po ukončení reakce (přeměna z více než 99,9 %) se směs zchladí na 20 °C a zfiltruje se přes 20 g Solka Flok. Filtrační koláč se promyje 1,9 litry kyseliny octové. Filtráty se spojí a odpaří při teplotě 30 °C a tlaku 1,3 kPa na objem 570 ml. Přidá se 3,8 l heptanu a směs se zahustí za atmosférického tlaku (teplota varu azeotropní směsi je 91 až 92 °C) k odstranění kyseliny octové. Odstranění kyseliny octové na hodnotu nižší než 0,2 % objemová je důležité vzhledem k vysoké rozpustnosti produktu v kyselině octové. Konečná teplota varu je 98 až 99 °C. Množství kyseliny octové se sleduje při 200 nm pomocí HPLC při použití sloupce Zorbax^R Phenyl SB s výškou 25 cm při použití směsi methylkyanidu a vody 90 : 10 při průtoku 0,5 ml/min. Odebírá se vzorek 100 mikrolitrů, který se ředí na 10 ml acetonitrilem.

Roztok se odpaří na 570 ml a přidá se 2,5 litru MEK. Heptan se odstraní azeotropní destilací za atmosférického tlaku až na méně než 5 % objemových při sledování destilátu a směsi pomocí GC. K chromatografii se užije sloupec DB-5, 20 m, 0,5 ml/min, helium, teplota sloupce 35 °C. Doba reten- ce pro MEK $t_R = 6,4$ min a pro heptan $t_R = 8,0$ min. V průbě- hu odstranění heptanu dojde ke krystalizaci.

Objem se upraví na 600 ml a roztok se v průběhu 3 ho- din nechá zchladnout na 20 °C. Výsledná suspenze se nechá 2 hodiny stát při -10 °C. Pevný podíl se oddělí na skleněné fritě a promyje se 150 ml chladného MEK. Pak se pevná látka suší ve vakuu při 20 °C. Ve výtěžku 89 % se získá 170 g pro- duktu s čistotou vyšší než 99 % hmotnostních, plocha pod křivkou je vyšší než 99,2 % při 210 nm.

Stupeň 9: Methylace



Materiály	množství	mol	MW
NH-laktam	3,0 kg	7,47	401,6
methylchlorid	453 g	8,96	50,5
KOH/oxid hlinitý (1:1)	3,0 kg	22,8	56
BnMe ₃ NCl	150 g	0,81	185,7
toluen (d=0,867)	14,0 l.		

Autokláv s objemem 20 l se naplní 3,0 kg laktamu, 150g BnMe₃NCl a 3,0 kg hydroxidu draselného na oxidu hlinitém 1 : 1 ve 12 l toluenu při teplotě místnosti. Pak se za pomalého míchání přidá při teplotě 20 °C celkem 453 g methylchloridu. Suspenze se za pomalého míchání zahřeje na 65 °C a při této teplotě se nechá 1 hodinu stát. Je možno pozorovat exothermní fázi, při teplotě 52 °C se teplota zvýší o 3 °C, což se projeví vrcholem na záznamu teploty.

Postup reakce se sleduje pomocí HPLC, která se provádí na sloupci Zorbax^R Phenyl SB při použití směsi methylkyanidu a 0,01 M kyseliny fosforečné 90 : 10, průtok 1,5 ml/min, detekce UV světlem při 200 nm. Doba retence pro laktam $t_R = 12,4$ min a pro sloučeninu IV-a $t_Z = 15,0$ min. Vzorek toluenové vrstvy 25 mikrolitrů se ředí na 2 ml acetonitrilem. Reakce se sleduje až do dosažení úplné přeměny, vyšší než 99,95 %. Reakce je ukončena za méně než 60 minut při 60 °C.

Reakční směs se zchladí na 20 °C a čtyřikrát se promyje dusíkem k odstranění jakéhokoliv zbytku methylchloridu. Toluenový roztok se pak zfiltruje přes 100 g Solka Flok a nádoba i filtrační koláč se promyjí 2 litry toluenu. Filtráty se spojí, odpaří se při tlaku 1,3 kPa a teplotě 20 až 30 °C na olej, který je při 10 ml/g heptanu čirý.

Olej byl sledován na obsah toluenu pomocí GC při teplotě 35 °C. 100 mg produktu bylo rozpuštěno v 0,5 ml methanolu a byl vstříknut vzorek 1 mikrolitr roztoku. Doba retence pro toluen $t_R = 4,4$ min a pro methanol $t_R = 2,7$ min.

Olej se udržuje za sníženého tlaku tak dlouho, až obsah rozpouštědla klesne pod 2 %. Pak se olej vlije na skleněnou misku a jako očkovací materiál se přidá 1,25 g sloučeniny IV-a a olej se nechá stát přes noc ve vakuu při tlaku 2,6 kPa.

Výsledná pevná látka se rozřeže na bloky a rozdrtí v mísícím zařízení WARING s obsahem 10 litrů vody s teplotou 2 °C až na částice menší než 50 mikrometrů. Suspenze se zfiltruje, promyje se 5 litry vody a suší přes noc v proudu dusíku. Ve výtěžku 97 % se tímto způsobem získá 3,0 kg produktu.

Příklad 2

Příprava 7-ketocholesterylacetátu

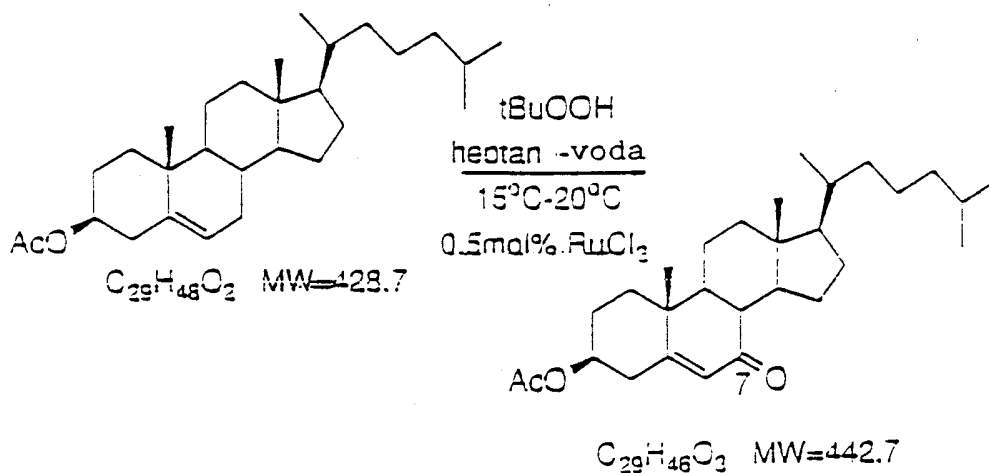
96 mg, 0,1 mmol tris(trifenylfosfin)rutheiumchloridu jako katalyzátoru se rozpustí v 10 ml chlorbenzenu, načež se přidá 4,3 g, 10,0 mmol cholesterylacetátu. Směs se zbaví plynu ve vakuu trojím promytím dusíkem a pak se zchladí na +5 °C. Pak se ke směsi pod dusíkem přidá 4,4 ml, 40 mmol 90% terc.butylhydrogenperoxidu v průběhu 15 hodin. Pomocí HPLC je možno prokázat 2,85 g (65 %) 7-ketocholesterylacetátu.

Směs se zfiltruje přes Solka Flok a rozpouštědlo se odpaří ve vakuu. Odparek se rozpustí v methanolu a pak se směs zchladí na +5 °C a při této teplotě se nechá 30 minut

stát. Pak se směs zfiltruje a promyje se chladným methanolem. Pevný podíl se suší na vzduchu, čímž se ve výtěžku 51 % získá 2,26 g 7-ketocholesterylacetátu.

Příklad 3

Příprava 7-ketocholesterylacetátu



Materiály	množství	mol	MW
cholesterylacetát (95%, Aldrich)	78,1 g	0,173	428,7
t-BuOOH (70 % hmot., Aldrich)	229 g	1,77	90,12
$\text{RuCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$	0,24 g	0,00116	207,43
siřičitan sodný	39 g	0,309	126,04
heptan	310 ml		
MEK (methylethylketon)	550 ml		
voda	445 ml		

Do baňky s objemem 2000 ml se třemi hrdly, opatřené míchadlem se přidá 240 mg hydrátu chloridu ruthenitého, 55 ml vody, 78,1 g cholesterylacetátu a 310 ml heptanu. Směs byla míchána míchacím zařízením s lopatkami rychlostí 225 až 275 ot/min.

Pak bylo v průběhu 4 hodin pomalu přidáno 229 g 70% t-BuOOH. Vnitřní teplota směsi byla udržována na 15 až 20 °C chlazením ve vodní lázni. Po počátečním období 5 až 15 minut se teplota směsi počala pomalu zvyšovat.

Reakční směs se míchá tak dlouho, až zbývá méně než 1,5 % hmotnostních výchozího materiálu a méně než 2 % 7-hydroxycholesterylacetátu jako meziprojektu, což trvá přibližně 20 až 24 hodin.

Průběh reakce se sleduje na bazickém sloupci YMC při použití směsi acetonitrilu a vody 90 : 100, rychlost průtoku 1,5 ml/min, detekce UV světlem při 200 nm. Doba retence t_R pro cholesterylacetát = 17,0 min, t_R pro 7-ketocholesterylacetát = 7,8 min, t_R pro endion = 4,5 min, t_R pro 7-hydroperoxy a 7-olové meziprojektu = 6,8, 6,9, 7,0 a 8,2 min. Později se vymývají ještě některé nečistoty, například po 18 a 19 minutách se vymývají 7-tBuOO-cholesterylacetáty.

K reakční směsi se přidá 550 ml MEK, 390 ml vody a 39 g siřičitanu sodného. Směs se zahřívá na 70 °C až do vymizení endionu jako nečistoty, což trvá 3 hodiny. Pak se směs zchladí a zfiltruje přes vrstvu Solka Flok k odstranění solí ruthenia. Čirý roztok se přenese do dělicí látky, vodná vrstva se oddělí a organická vrstva se promyje 100 ml 1% roztoku chloridu sodného. Pak se MEK a t-BuOH odstraní azeotropní destilací s heptanem (800 ml heptanu se přidá

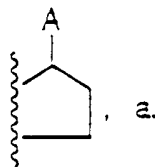
po počátečním zahuštění na 300 ml) tak dlouho, až zbývá pouze méně než 0,7 % směsi MEK a *t*-BuOH při průkazu plynovou chromatografií.

Heptan se sleduje na obsah MEK a *t*-BuOH plynovou chromatografií při použití sloupce HP-5 při teplotě 35 °C a průtoku 0,5 ml/min. Doba retence t_R pro MEK = 4,9 min, t_R pro *t*-BuOH = 5,3 min a t_R pro heptan = 7,7 min.

Objem směsi se upraví na 350 ml, směs se zchladí na -5 °C, zfiltruje a dvakrát promyje 150 ml heptanu s teplotou 0 °C. Po vysušení se ve výtěžku 62 % získá celkem 51,5 g produktu s čistotou 94 % hmotnostních, plocha pod křivkou je 97 %, jde o špinavě bílou pevnou látku.

Příklad 4

Postupuje se obdobným způsobem jako ve stupni 1 příkladu 1, sloučeniny vzorce II se připraví z odpovídajících výchozích látek obecného vzorce I, v němž Z znamená



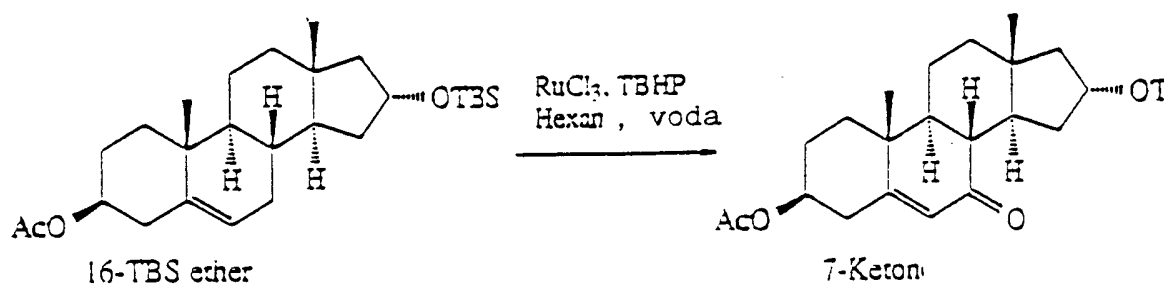
A, X a Y mají následující významy:

- A = 6-methylhept-2-yl, X = $-\text{CH}_2-$ a Y = $-\text{OH}$,
- A = ethylenketal, X = $-\text{CH}_2-$ a Y = ethylenketal,
- A = terc.butyl dimethylsilyloxy (TBDMS-O-), X = $-\text{CH}_2-$ a Y = $-\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$, nebo
- A = 6-methylhept-2-yl, X = $-\text{N}(\text{CH}_3)-$ a Y = keto (=O).

Cyklohexenon se oxiduje na cyklohexenon v podstatě stejným postupem, jaký byl popsán ve stupni 1 příkladu 1.

Výchozí materiál pro postup b) se připraví zpracováním běžně dodávaného 4-androsten-3,17-dionu působením ethylenglykolu a HCl za běžných reakčních podmínek. Výchozí materiál pro možnost c) se připraví tak, že se 5-androsten-3,17-diol-3-acetát zpracovává působením TBDMS-Cl a imidazolu při použití běžných reakčních podmínek. Výchozí materiál pro možnost za b) se získá běžnými syntetickými postupy, tj. oxidativním štěpením běžně dodávaného cholestanonu (postup je popsán ve stupni 5 příkladu 1) s následným působením NH_2CH_3 .

Příklad 5



Materiály	množství	mol	MW
16-TBS ether	100 g*	0,224	447
Hexan	1000 ml		
hydrát chloridu rutheni- tého	0,46 g	0,0022	207,43
tBuOOH (70 % hmot)	432 g	3,36	90,12
siřičitan sodný	20 g	0,24	126
voda	600 ml		
aktivní uhlí	10 g		

* stanoveno pomocí HPLC.

K roztoku 100 g 16-terc.butylsilyletheru, 16-TBS v 500 ml hexanu se při teplotě 20 °C přidá 300 ml vody a 0,46 g hydrátu chloridu ruthenitého. Dvoufázová směs se míchá a současně chladí na 10 °C. Pak se v průběhu 5 hodin přidá 432 g tBuOOH s čistotou 70 % hmotnostních a současně se teplota udržuje v rozmezí 10 až 15 °C.

Reakce je mírně exothermní. K udržení teploty v rozmezí 10 až 15 °C se užije lázeň s vodou a ledem.

Průběh reakce se sleduje pomocí HPLC při použití sloupce ZORBAX Phenyl SB s výškou 25 cm, eluční činidlo je směs acetonitrilu a vody 30 : 70 až 80 : 20 v průběhu 25 minut, pak se 15 minut zachová stejný poměr složek. Detekce UV světlem při 200 nm, průtok 1,5 ml/min.

Doba retence	min
OTBS ether	29,4
7-keton	23,8
TBHP	3,25

Reakce se považuje za ukončenou v okamžiku, kdy zůstává pouze méně než 2 % výchozího materiálu, to znamená méně než 1,5 mg/ml. Typická doba reakce je 10 hodin.

Po ukončení reakce se přidá 10 g aktivního uhlí a pak ještě 20 g siřičitanu sodného, načež se vzniklá suspenze ještě 30 minut míchá.

Působením siřičitanu sodného dojde k rozkladu jakéhokoliv zbytku tBuOOH a jiných hydroperoxidů. Přidání siřičitanu sodného je mírně exothermní a teplota závisí na zbývající koncentraci tBuOOH. Úplné odstranění této látky se kontroluje pomocí HPLC. Dvoufázová směs se zfiltruje přes vrstvu dicality s tloušťkou 5 cm v nálevce se sintrem a filtrační koláč se promyje 300 ml hexanu. Vodná vrstva se oddělí a hexanová vrstva se promyje 2 x 100 ml vody.

Malá vrstva nečistot na rozhraní se odstraní přidáním 20 ml acetonitrilu.

Hexanová vrstva se zahustí na malý objem a pak se destiluje spolu se 400 ml hexanu. Roztok se zahustí na konečný objem 150 ml (poměr hexanu a substrátu je přibližně 2 : 1) a užije se jako takový pro další čištění.

Před chromatografií na oxidu křemičitém se hexanový roztok vysuší.

Zpracování oxidem křemičitým

Hexanový roztok se nanese na sloupec silikagelu (470g, 60 až 230 mesh v hexanu). Sloupec se promyje 800 ml hexanu k odstranění nezreagované výchozí látky a pak se vymývá 1000 ml 10% ethylacetátu v hexanu k získání 7-ketonu.

Odebírají se frakce po 100 ml, pak se provádí TLC (20% ethylacetát v hexanu) nebo HPLC jako svrchu. Frakce 14 až 17 se spojí a odpaří na 100 ml.

Je zřejmé, že by bylo možno uskutečnit ještě řadu dalších úprav, rovněž spadajících do rozsahu vynálezu.

Zastupuje:

JUDr. ZDĚNKA KOREJZOVÁ
ADVOKÁTKA

7.5.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Způsob oxidace delta-5-steroidních alkenů na odpovídající delta-5-7-ketosteroidní alkeny, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se na delta-5-steroidní alken v rozpouštědle působí hydroperoxidem v přítomnosti katalyzátoru na bazi ruthenia.

2. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se provádí při teplotě -20 až 100 °C.

3. Způsob podle nároku 2, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se provádí při teplotě 5 až 50 °C.

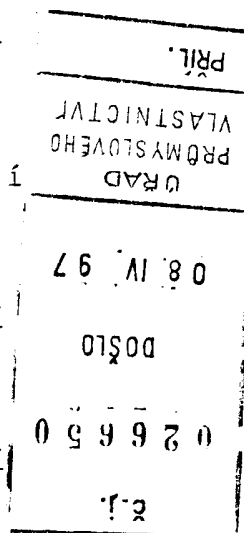
4. Způsob podle nároku 3, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se provádí při teplotě 15 °C.

5. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se provádí při kyselém pH.

6. Způsob podle nároku 5, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se provádí při pH 1.

7. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se provádí v atmosféře inertního plynu.

8. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se jako rozpouštědlo užije voda, toluen, ethylacetát, hexan, chlorbenzen, 1,2-dichlorethan, heptan, terc.butylmethylether, benzen, acetonitril, cyklohexan, methylenchlorid, terc.butylalkohol nebo směs těchto látek.



9. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se jako katalyzátor na bazi ruthenia užije katalyzátor na bazi wolframenu ruthenia a sodíku.

10. Způsob podle nároku 9, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se jako katalyzátor na bazi wolframenu ruthenia a sodíku užije $\text{RuW}_{11}\text{O}_{39}\text{SiNa}_5$.

11. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se katalyzátor na bazi ruthenia volí ze skupiny $\text{RuW}_{11}\text{O}_{39}\text{SiNa}_5$, RuCl_3 , $\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3$, $\text{Ru}(\text{acac})_3$, $\text{Ru}(\text{dimethylglyoximato})_2(\text{PPh}_3)_2$, RuO_2 , Ru/C , $\text{Ru}(\text{TPP})(\text{CO})(\text{THF})$, $\text{Ru}(\text{bipy})_2\text{Cl}_2$ a $\text{K}_5\text{SiRu}(\text{H}_2\text{O})\text{W}_{11}\text{O}_{39}$.

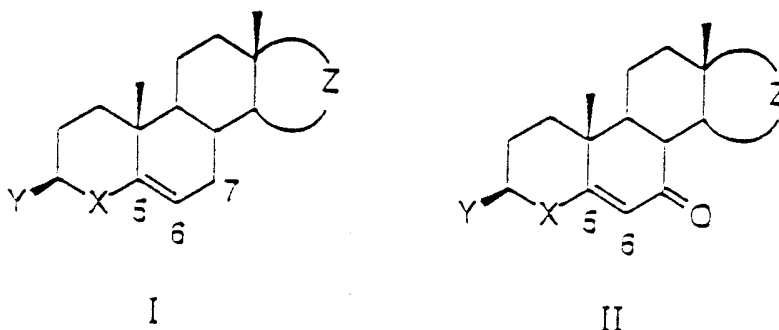
12. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se hydroperoxid volí ze skupiny terc.butylhydrogenperoxid, kumenhydroperoxid, peroxid vodíku a benzoylperoxid.

13. Způsob podle nároku 12, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se jako hydroperoxid užije terc.butylhydrogenperoxid.

14. Způsob podle nároku 13, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se jako katalyzátor na bazi ruthenia užije $\text{RuW}_{11}\text{O}_{39}\text{SiNa}_5$.

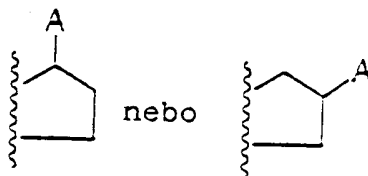
15. Způsob podle nároku 14, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se jako rozpouštědlo užije heptan.

16. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m , že delta-5-steroidní alken a delta-5-7-keto-steroidní alken je možno vyjádřit obecnými vzorci I a II



kde

Z znamená skupinu



Y znamená hydroxyskupinu, esterifikovanou hydroxyskupinu, ketoskupinu nebo ethylenketalovou skupinu,

X znamená skupinu $-\text{CH}_2-$, $-\text{NH}-$, $-\text{N}(\text{CH}_3)-$ nebo $-\text{N}-2,4-$ -dimethoxybenzylovou skupinu a

A znamená jakýkoliv substituent, přijatelný ze syntetického hlediska.

17. Způsob podle nároku 16, -v y z n a č u j í c í s e t í m , že A se volí ze skupiny atom vodíku, ketoskupina, chráněná hydroxyskupina, zbytek acetátu, hydroxyskupina, chráněná aminoskupina, aminoskupina, alkyl o 1 až 10 atomech uhlíku, popřípadě substituovaný arylovou skupinou nebo arylkarbamoylovou skupinou, alkylkarbonyl o 1 až 10 atomech uhlíku v alkylové části, arylkarbonyl, alkyl o 1 až 10 atomech uhlíku, substituovaný etherovou skupinou, ketoskupinou nebo heteroarylovou skupinou, zbytek esteru kyseliny karboxylové, karboxamidu, karbamátu, substituovaného

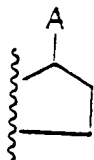
nebo nesubstituovaného anilidového derivátu nebo močoviny, alkylkarbonylaminoskupina o 1 až 10 atomech uhlíku v alkylové části, ethylenketalová skupina, etherová skupina a substituovaná a nesubstituovaná aryetherová skupina.

18. Způsob podle nároku 17, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se

- a) chráněná hydroxyskupina volí ze skupiny dimethyl-terc.-butylsilyloxyskupina, trimethylsilyloxyskupina, triethylsilyloxyskupina, triisopropylsilyloxyskupina a trifenylsilyloxyskupina,
- b) chráněnou aminoskupinou je acetalaminoskupina,
- c) alkyl o 1 až 10 atomech uhlíku se volí ze skupiny methyl, ethyl, 1,5-dimethylhexyl, 6-methylhept-2-yl, a 1-methyl-4-isopropylhexyl,
- d) alkyl o 1 až 10 atomech uhlíku, substituovaný arylovou skupinou je omega-fenylpropyl nebo 1-(chlorfenoxy)-ethyl,
- e) alkyl o 1 až 10 atomech uhlíku, substituovaný arylkarbamoylovou skupinou je 2-(4-pyridinylkarbamoyl)ethyl,
- f) alkylkarbonyl o 1 až 10 atomech uhlíku v alkylové části je isobutylkarbonyl,
- g) arylkarbonyl je fenylkarbonyl,
- h) alkyl o 1 až 10 atomech uhlíku, substituovaný etherovou skupinou je 1-methoxyethyl nebo 1-ethoxyethyl,
- i) alkyl o 1 až 10 atomech uhlíku, substituovaný keto-skupinou je 1-ketoethyl,
- j) alkyl o 1 až 10 atomech uhlíku, substituovaný heteroarylovou skupinou je omega-(4-pyridyl)butyl,
- k) estery karboxylových kyselin jsou estery alkylkarboxylových kyselin o 1 až 10 atomech uhlíku v alkylové části, a to karbomethoxyskupiny a karboethoxyskupiny,

- l) zbytek karboxamidu je zbytek N,N-diisopropylkarboxamidu, N-terc.butylkarboxamidu a N-(difenylmethyl)-karboxamidu,
- m) zbytek karbamátu je zbytek terc.butylkarbamátu nebo isopropylkarbamátu,
- n) ve zbytku substituovaného nebo nesubstituovaného amidového derivátu je fenylový zbytek substituován 1 až 2 substituenty ze skupiny ethyl, methyl, trifluoromethyl nebo atom halogenu (F, Cl, Br, I),
- o) zbytek močoviny je zbytek terc.butylkarbonylaminomočoviny,
- p) alkylní karbonylaminoskupinou o 1 až 10 atomech uhlíku v alkylové části je terc.butylkarbonylaminoskupina,
- q) zbytek etheru je n-butyloxyskupina nebo ethylenketalová skupina,
- r) substituovaný a nesubstituovaný aryether se volí ze skupiny chlorfenyloxyskupina, methylfenyloxyskupina, fenylloxyskupina, methylsulfonylfenyloxyskupina a pyrimidinyloxyskupina.

19. Způsob podle nároku 16, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se užije výchozí látka, v níž Z znamená

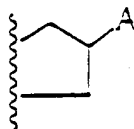


20. Způsob podle nároku 19, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se užije výchozí látka, v níž A znamená 6-methylhept-2-yl, terc.butylkarbamoyl, fenylkarbamoyl, 2,5-ditrifluormethylfenylkarbamoyl, 4-methylsulfonylfenoxy-skupina, isobutylkarbonyl, fenylkarbonyl, 1-methoxyethyl,

1-ketoethyl, 2-(4-pyridinylkarbamoyl)ethyl nebo chlorfenoxyethyl.

21. Způsob podle nároku 19, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se užije výchozí látka, v níž A znamená 6-methylhept-2-yl.

22. Způsob podle nároku 16, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se užije výchozí látka v níž Z znamená



23. Způsob podle nároku 22, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se užije výchozí látka, v níž A znamená fenoxyskupinu, chlorfenoxyskupinu, methylfenoxyskupinu, 2-pyrimidinylloxyskupinu nebo terc.butylsilyloxyskupinu.

24. Způsob podle nároku 16, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se jako katalyzátor na bazi ruthenia užije katalyzátor na bazi wolframanu ruthenia a sodíku.

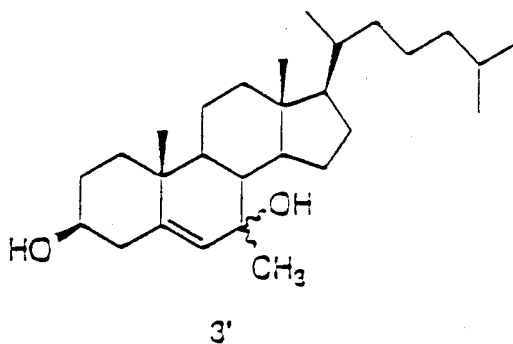
25. Způsob podle nároku 24, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se jako katalyzátor na bazi wolframanu ruthenia a sodíku užije $\text{RuW}_{11}\text{O}_{39}\text{SiNa}_5$.

26. Způsob podle nároku 25, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se užije výchozí látka, v níž Y znamená $-\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$ a Z znamená $-\text{CH}_2-$.

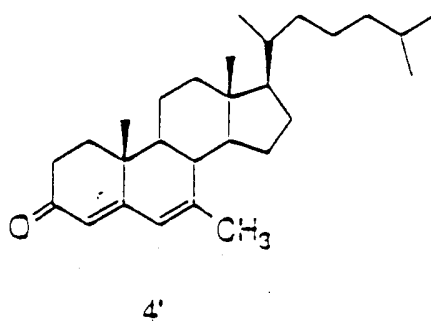
27. Sloučenina $\text{RuW}_{11}\text{O}_{39}\text{SiNa}_5$.

28. Způsob podle nároku 21, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se

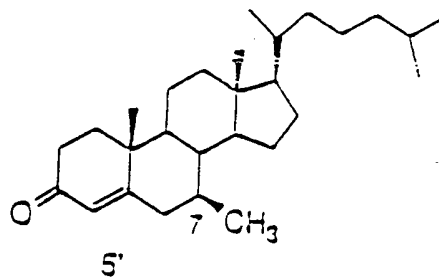
- a) delta-5-7-ketosteroidní alken převede na sloučeninu vzorce 3'



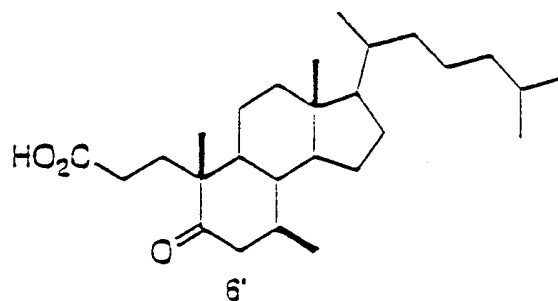
- b) sloučenina 3' se oxiduje na sloučeninu 4'



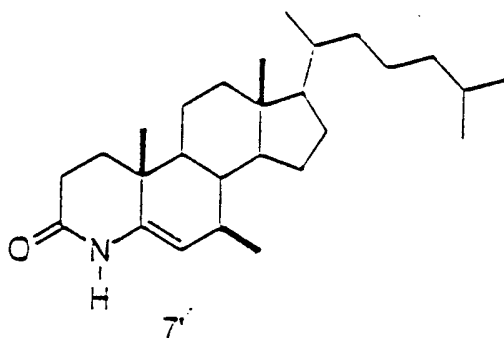
- c) sloučenina 4' se hydrogenuje za vzniku sloučeniny vzorce 5'



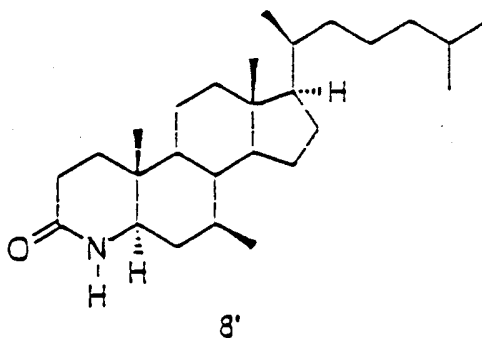
- d) sloučenina 5' se oxidativně štěpí za vzniku sloučeniny 6'



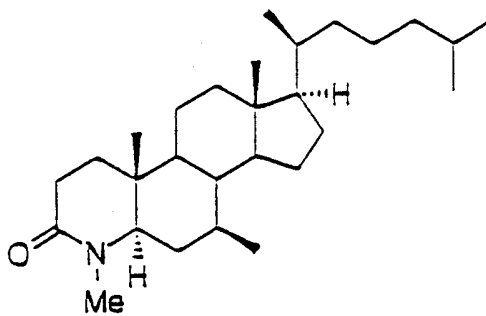
- e) sloučenina 6' se laktamizuje za vzniku NH-enlaktamu vzorce 7'



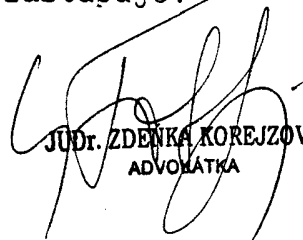
- f) NH-n-laktam vzorce 7' se redukuje za vzniku sloučeniny vzorce 8'



- g) sloučenina vzorce 8' se methyluje za vzniku sloučeniny vzorce 9'



Zastupuje:

a. s. 
JUDr. ZDENKA KOREJZOVÁ
ADVOKÁTKA