



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

242 122

(11)

(B1)

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 01 10 84
(21) (PV 7437-84)

(51) Int. Cl.⁴
A 01 N 43/22

(40) Zveřejněno 22 08 85
(45) Vydáno 01 02 88

(75)
Autor vynálezu

ČERNÝ VÁCLAV dr. ing. DrSc.; KAMÍNEK MIROSLAV ing. CSc., PRAHA;
STRNAD MIROSLAV ing., ŽDÍREC

(54)

Analogy brasinolidu a způsob jejich přípravy

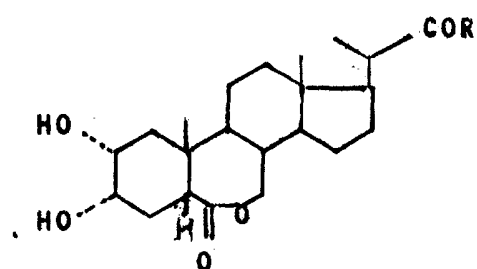
Řešení se týká analogů brasinolidu jako nových regulátorů růstu rostlin. Jde o látky obecného vzorce I, kde R je OX nebo NHX, přičemž X je H nebo alkyl s 1 až 6 atomy uhlíku. Např. R může být OCH_3 , OH, $\text{OCH}/\text{CH}_3/\text{CH}/\text{CH}_3/2$, NH_2 , NHC_2H_5 , $\text{NHCH}/\text{CH}_3/2$. Připravují se z kyseliny 2 α , 3 α -diacetoxy-7-oxa-6-oxo-23,24-dinor-B-homo-5 α -cholanové přes její chlorid působením NH_3 , aminů nebo alkoholů a následným selektivním zmydlením.

Vynález se týká analogů brasinolidu a způsobu jejich přípravy. Tyto látky se dají použít jako regulátory růstu rostlin.

Před několika lety objevený brasinolid /M.D. Grove a kol.: Nature 281, 216 /1979/ je velmi účinným regulátorem růstu rostlin. Význačnou účinnost mají rovněž látky lišící se od brasinolidu stereochemií postranního řetězce /M. J. Thompson a kol.: Steroids 39, 89 /1983/. Pokusy dokládají, že tyto sloučeniny zvyšují tvorbu listové plochy a výnos lusků fazolí, zvyšují hmotnost hlávek salátu, zkracují dobu jeho vývoje a podporují růst a vývoj rostlin ječmene /W. I. Meudt a kol.: Investigation on the mechanism of the brassinosteroid response, III. Technique for potential enhancement of crop production. 10th ann. meeting of the Plant growth society of America, East Lansing, Mich., June 19-23, 1983/. Tyto látky jsou však dostupné synteticky jen složitými, mnohostupňovými pochody. Zvláště obtížná je syntéza postranního řetězce /M. Sakakibara a K. Mori: Agric. Biol. Chem. 47, 663 /1983/.

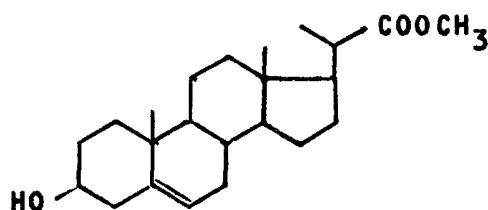
Naproti tomu příprava látek podle vynálezu umožňuje jednodušší technologii, přičemž takto připravené látky zachovávají vysokou růstovou účinnost.

Podstatou předmětu vynálezu jsou nové analogy brasinolidu obecného vzorce I,



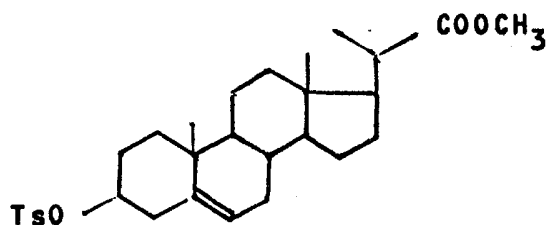
/I/

kde R je OX nebo NHX, přičemž X je H nebo alkyt s 1 až 6 atomy uhlíku. Na př. R může být OCH_3 , OH, $\text{OCH/CH}_3\text{/CH/CH}_3/2$, NH_2 , NHC_2H_5 , $\text{NHCH/CH}_3/2$ nebo $\text{NHCH}_2\text{CH/CH}_3/2$. Dále je předmětem vynálezu způsob přípravy těchto analogů, jehož podstatou je, že se methylester kyseliny 3 β -hydroxy-23, 24-dinor-5-cholenové /vzorecII/



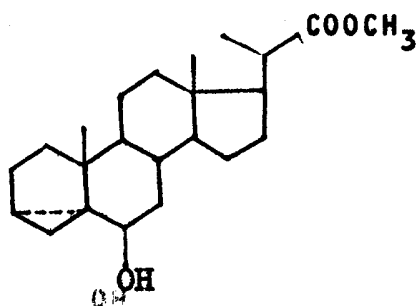
/II/

převeďte na tosylát vzorce III,



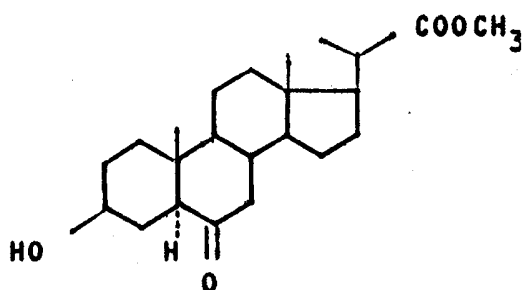
/III/

ten se v prostředí octanu alkalického kovu nebo pyridinu převede na 6 β -hydroxy-3 α ,5 α -cyklosteroid vzorce IV,



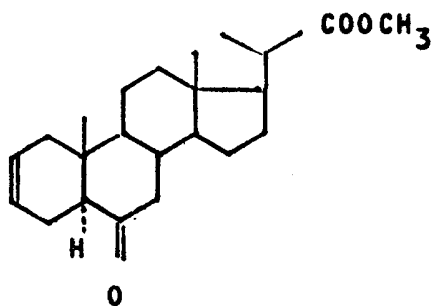
(IV),

který po oxidaci ne keton se převede v kyselém prostředí na 3⁴-hydroxyderivát vzorce V



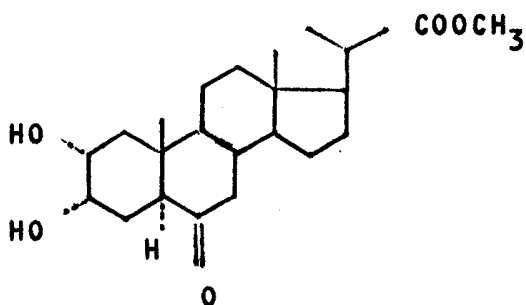
(V)

a ten dále na tosylát, z kterého odštěpením kyseliny p-toluen-sulfonové bromidem lithným v dimethylformamidu se získá látka vzorce VI,



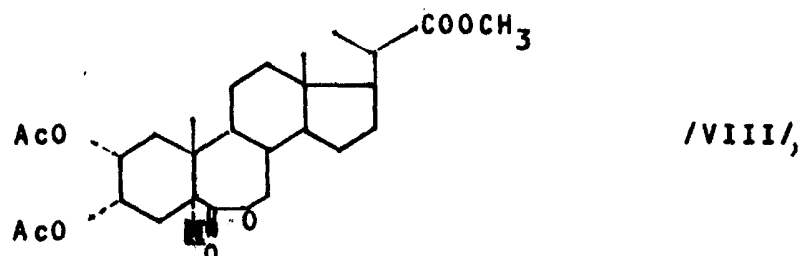
(VI),

která působením oxidu osmičelého v přítomnosti N-methylmorfolin-N-oxidu poskytne látku vzorce VII,



(VII)

a ta se acetyluje na diacetát, který působením perkyseliny, s výhodou trifluoperoctové nebo permravenčí, je převeden na lakton vzorce VIII,



který po zmýdelnění a acetylaci poskytne působením oxalylchloridu příslušný chlorid, který reakcí s NH_3 , aminy nebo alkoholy s 1-6 atomy uhlíku a následným parciálním zmýdelněním poskytne amidy nebo estery vzorce I.

Tyto látky vykazují vysokou účinnost jako regulátory růstu rostlin, např. látky vzorce I $/\text{R}=\text{NHCH}/\text{CH}_3/2$, $\text{R}=\text{NHCH}_2\text{CH}/\text{CH}_3/2$ mají aktivitu srovnatelnou s aktivitou 24-epibrasinolidu v testu založeném na stimulaci ohybu 1. internodia fazole /W. J. Meudt, H. Bennet: *Physiol. Plant.* **44**, 422 /1978/. V následující tabulce je provedeno toto srovnání

Tabulka

Vliv analogů brasinolidu na stimulaci ohybu 1. internodia fazole ve srovnání s 24-epibrasinolidem. /Ohyb v mm/.

Látka	koncentrace /mol/			
	10^{-8}	10^{-9}	10^{-10}	10^{-11}
24-epibrasinolid	ohyb v mm			
	4,2	4,3	3,0	1,4
vzorec I, $\text{R}=\text{NHCH}/\text{CH}_3/2$	3,8	2,5	2,0	2,8
vzorec I, $\text{R}=\text{OH}$	2,6	3,6	4,5	2,3
vzorec I, $\text{R}=\text{OCH}_3$	4,4	3,0	2,3	1,4

Příklad 1

242 122

Methylester kyseliny 2 α , 3 α -dihydroxy-7-oxa-6-oxo-23,24-dinor-
B-homo-5 α -cholanové /vzorec I, R=OCH₃/

Methylester kyseliny 6 β -hydroxy-3 α ,5-cyklo-23,24-dinor-5 α -cho-
lanové /vzorec IV/

Methylester kyseliny 3 β -hydroxy-23,24-dinor-5-cholenové /vzo-
rec II/ /4 g/ se rozpustí v bezvodém pyridinu /50 ml/ a přidá
se tosylchlorid /6 g/. Po třech dnech stání při teplotě míst-
nosti je směs nalita na led, zředěna vodou a produkt odsát,
promyt vodou a vytřepán do etheru. Roztok je promyt vodou,
NaHCO₃ a vodou. Vysušení síranem sodným a odpaření rozpouštěd-
la ve vakuu poskytne bílý, krystalický produkt /vzorec III/.
IČ-spektrum /CCl₄/: 1738, /1435/, 1162 cm⁻¹ /COOCH₃/, 1368,
1189, 1178 cm⁻¹ /-SO₂-/, 1716 cm⁻¹ /CO/. Pro C₃₀H₄₂O₅S /514,70/
vypočteno: 6,28% S; nalezeno: 6,14% S/. Produkt je přidán
v pevném stavu do vroucího roztoku octanu sodného /3,2 g/
a pyridinu /20 ml/ v acetonu /1 l/ a vodě /250 ml/ za míchá-
ní míchadlem. Var za míchání je udržován ještě 2 h 15 min.,
pak ponecháno stát přes noc při teplotě místnosti. Při max.
45° C je ve vakuu odstraněna většina acetonu, směs nalita na
led, zředěno vodou a vyňato do etheru, promyto /10 x/ vodou.
Po odpaření /max. 35° C/ se získá krystalický produkt /4,2 g/.
Pro analýzu vzorek rozpuštěn při teplotě místnosti v acetonu
a ponecháno krystalovat při -20° C přes noc; t. t. 127 $\div$ 128° C,
[α]_D²⁰ +36 /CHCl₃, c=1,29/. Pro C₂₃H₃₆O₃ /360,52/ vypočteno:
76,62% C, 10,07% H; nalezeno: 76,23% C, 10,04% H.

Methylester kyseliny 6-oxo-3 α ,5-cyklo-23,24-dinor-5 α -cholanové

Surový 6-hydroxyderivát /vzorec IV/ je rozpuštěn v pyridinu
/40 ml/ a roztok přidán při 0° C a za míchání ke komplexu CrO₃-
pyridin připravenému z CrO₃ /5 g/ a pyridinu /40 ml/. Po při-
dání se pokračuje v míchání ještě 4 hodiny při teplotě míst-
nosti a ponechá se stát přes noc. Pak se směs zředí etherem,

nerozpuštěný podíl odsaje a dobře promyje etherem. Filtrát je promyt 10x vodou, vysušen Na_2SO_4 a rozpouštědlo oddestilováno. Chromatografie na silikagelu v benzenu a benzen-2% etheru poskytne produkt /2,2 g/, který po krystalizaci z methanolu dá 1,84 g žádané látky, t.t. $112\text{--}113^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{+31}$ / CHCl_3 , $c = 1,34$ /. IČ-spektrum / CCl_4 /: $1737, 1433, 1161\text{ cm}^{-1}$ / COOCH_3 /; $1690, 3080, 3020, 3005\text{ cm}^{-1}$ /karbonyl konj. s cykloprop. kruhem/. Pro $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_3$ /358,50/ vypočteno: 77,05% C, 9,56% H; nalezeno: 77,28% C, 9,52% H.

Methylester kyseliny 3 β -hydroxy-6-oxo-23,24-dinor-5 α -cholanové
/vzorec V/

Předchozí produkt /500mg/ je zahříván 1 h k varu s kyselinou octovou /18 ml/ a $2\text{N-H}_2\text{SO}_4$ /3,6 ml/. Směs je nalita na led, zředěna vodou, odsáta a promyta vodou. Ještě vlhký produkt je spláchnut methanolem /50 ml/ do baňky, přidáno roztoku K_2CO_3 /400 mg ve 3 ml vody/, vařeno 45 min.; pak okyseleno 10% HCl , nalito na led a odsáto. Po promytí vodou a krystalizaci z methanolu získáme 330 mg produktu, t. t. $177\text{--}178^\circ\text{C}$. IČ-spektrum / CCl_4 /: 3620 cm^{-1} /OH/, 1714 cm^{-1} /CO/, $1737, 1161\text{ cm}^{-1}$ /COOR/.

Methylester kyseliny 6-oxo-23,24-dinor-5 α -chol-2-enové
/vzorec VI/

Hydroxyderivát /vzorec V/ /500 mg/ je rozpuštěn v pyridinu /10 ml/ a přidáno tosylchloridu /750 mg/. Ponecháno stát 48 h, pak přidán led a nalito do ledové vody /150 ml/. Po chvíli odsáto, promyto vodou, vyňato do etheru, roztok promyt vodou, 5% HCl , vodou, NaHCO_3 , a vodou. Po odpaření ve vakuu zůstává bílý krystalický zbytek /600 mg/ tosylátu, t. t. $139\text{--}141^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{+15}$ / CHCl_3 , $c = 1,61$ /. IČ-spektrum / CCl_4 /: $1738, 1162\text{ cm}^{-1}$ / COOCH_3 /, $1368, 1189, 1178\text{ cm}^{-1}$ /- SO_2 -/, 1716 cm^{-1} /CO/.

Tento produkt je 45 min zahříván k varu s LiBr /750 mg/ v dimethylformamidu /8 ml/ v atmosféře argonu. Po vychladnutí je směs zředěna vodou a vytřepána do etheru, roztok promyt vodou, 5% HCl , vodou, NaHCO_3 a vodou. Produkt je zbaven polárnějších nečistot chromatografií v benzenovém roztoku na

silikagelu /12 g/. Takto se získá 333 mg krystalické čisté frakce, která krystalizací z methanolu poskytne 300 mg produktu VI, t. t. $148\text{--}148,5^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D + 27$ /CHCl₃, c=1,28/. Pro C₂₃H₃₄O₃ /358,50/ vypočteno: 77,05% C, 9,56% H; nalezeno: 77,18% C, 9,86% H.

Methylester kyseliny 2 α ,3 α -dihydroxy-6-oxo-23,24-dinor-5 α -choľanové /vzorec VII/

Nenasycený ester /vzorec VI/ /1 g/ je rozpuštěn v tetrahydrofuranu /50 ml/, přidáno 10 ml vody, N-methylmorfolin-N-oxidu /1,4 g/ a 60 mg OsO₄ rozpuštěného v několika ml t-butyľalkoholu. Směs je míchána 8 h při teplotě místnosti v atmosféře argonu, ponechána stát přes noc, přidáno Na₂SO₃·7H₂O /2 g/ rozpuštěného v 10 ml vody a mícháno 2 h. Pak zředěno vodou a vyňato do dichlormethanu, promyto 5% HCl, NaHCO₃ a vodou, odpařeno rozpouštědlo a krystalováno z methanolu při +5° C. Získáno 630 mg diolu o t. t. $196\text{--}197,5^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D -6$ /CHCl₃, c = 2,3/. IČ-spektrum /CHCl₃/: 3620, 3580, 1045, 1010 cm⁻¹ /OH/; 1730, 1438, 1170 cm⁻¹ /COOCH₃/, 1712 /CO/. Chromatografie matečných louhů na silikagelu v benzen-methanolu /0,75% / poskytne ještě 400 mg diolu. Pro C₂₃H₃₆O₅ /392,52/ vypočteno: 70,37% C, 9,25% H; nalezeno: 70,77% C, 9,29% H.

Methylester kyseliny 2 α ,3 α -diacetoxy-6-oxo-23,24-dinor-5 α -choľanové

Diol VII /500 mg/ je acetylován v pyridinu /5 ml/ anhydridem kyseliny octové /3 ml/ přes noc. Po nalití na led, vynětí do etheru a promytí vodou, 5% HCl, NaHCO₃ a vodou je produkt krystalován z methanolu a poskytne 530 mg látky, t. t. $206\text{--}208^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D -14$ /CHCl₃, c = 1,84/. IČ-spektrum /CCl₄/: 1740, 1250, 1044 cm⁻¹ /OAc/, 1745, 1164 cm⁻¹ /COOCH₃/, 1719 cm⁻¹ /CO/. Pro C₂₇H₄₀O₇ /476,59/ vypočteno: 68,04% C, 8,46% H; nalezeno 68,03% C, 8,25% H.

Methylester kyseliny 2 α ,3 α -diacetoxy-23,24-dinor-8-homo-7-oxa-6-oxo-5 α -choľanové /vzorec VIII/

Předchozí produkt /446 mg/ je rozpuštěn v dichlormethanu /6 ml/

a přidán roztok kyseliny trifluorperoctové připravené z $\text{CF}_3\text{CO}/2^0$ /1 ml/ a H_2O_2 /70%, 0,15 ml/ v 15 ml dichlormethanu při 0°C . Ponecháno stát při teplotě místnosti 5 h. Pak promyto vodou, NaHCO_3 a vodou, vysušeno a odpařeno. Krystalizace z methanolu poskytne látku VIII /383 mg/, t. t. $265\text{--}267^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{25} + 34$ / CHCl_3 , $c = 1,28$ /. IČ-spektrum / CHCl_3 /: CO /: 1732 cm^{-1} / COOCH_3 , OAc, lakton/; $1435, 1170\text{ cm}^{-1}$ / COOCH_3 /, $1252, 1045\text{ cm}^{-1}$ /OAc/, 1183 cm^{-1} /lakton/. Pro $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{O}_8$ /492,59/ vypočteno: 65,83% C, 8,19% H; nalezeno: 66,37% C, 8,15% H.

Methylester kyseliny 2 α ,3 α -dihydroxy-7-oxa-6-oxo-23, 24-dinor-B-homo-5 α -cholanové /vzorec I, $\text{R} = \text{OCH}_3$ /

Roztok diacetátu /vzorec VIII/ /150 mg/, KHCO_3 /120 mg/ v methanolu/30 ml/ a vodě /1 ml/ je vařen 30 min., pak okyselen 5% HCl , zahuštěn ve vakuu na malý objem, přidána voda a produkt vyňat do etheru. Po promytí vodou odpařeno a zbytek /110 mg/ krystalován ze směsi heptan-methanol. Produkt /81 mg/ taje $185\text{--}186^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{25} + 32$ / CHCl_3 , $c = 1,40$ /. IČ-spektrum / CHCl_3 /: $3610, 1050\text{ cm}^{-1}$ /OH/, $1723, 1435, 1170\text{ cm}^{-1}$ /lakton/. Pro $\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{O}_6$ /408,52/ vypočteno: 67,62% C, 8,88% H; nalezeno: 67,86% C, 8,90 H.

Příklad 2. Kyselina 2 α ,3 α -dihydroxy-7-oxa-6-oxo-23,24-dinor-B-homo-5 α -cholanová /vzorec I, $\text{R} = \text{OH}$ /

Roztok esteru o vzorci VIII /500 mg/ a NaOH /800 mg/ v ethanolu /26 ml/ a vodě /9,5 ml/ se zahřívá k varu v atmosféře argonu 37 h. Pak okyseleno HCl , zahuštěno na odparce na třetinu objemu, zředěno pětinásobným objemem vody a ponecháno stát přes noc. Vyloučené krystaly jsou odsáty /400 mg/, t. t. $305\text{--}310^\circ\text{C}$. Krystalizace z vodného ethanolu poskytne produkt /303 mg, t. t. $317\text{--}319^\circ\text{C}$, jednotný při chromatografii na tenké vrstvě silikagelu v soustavě CHCl_3 /9/, MeOH /0,5/ a AcOH /0,5/. Pro $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_6$ /394,49/ vypočteno: 66,98% C, 8,69% H; nalezeno: 67,05% C, 8,83% H.

Příklad 3. D-1,2-Dimethylpropylester kyseliny 2 α ,3 α -dihydroxy-7-oxa-6-oxo-23,24-dinor-B-homo-5 α -cholanové /vzorec I, R = OH/CH₃/CH/CH₃/-2-/-

Kyselina 2 α ,3 α -diacetoxy-7-oxa-6-oxo-23,24-dinor-B-homo-5 α -cholanová

Dihydroxykyselina /vzorec I, R = OH/ /300 mg/ je acetylována v pyridinu /12 ml/ anhydridem kyseliny octové /5 ml/ stáním přes noc. Pak je ke směsi přidáno vody /5 ml/ a zahřívá se 1 h na 90° C. Pak zředěno vodou a okyseleno HCl. Vyloučí se krystaly, které po 5 min. jsou odsáty. Výtěžek je 338 mg, t. t. 266–268 °C. Krystalizace z vodné kyseliny octové poskytně čistou látku /320 mg/ o t. t. 271–273,5 °C, $[\alpha]_D^{25} + 26$ /CHCl₃, c = 1,53/. IČ-spektrum /CHCl₃/: 3500–2500, 1711 cm⁻¹ /COOH/, 1740, 1256 cm⁻¹ /OAc/, 1730, 1186 cm⁻¹ /lakton/. Pro C₂₆H₃₈O₈ /478,56/ vypočteno: 65,25% C, 8,00% H; nalezeno: 65,42% C, 8,13% H.

D-1,2-Dimethylpropylester kyseliny 2 α ,3 α -diacetoxy-7-oxa-6-oxo-23,24-dinor-B-homo-5 α -cholanové

Kyselina 2 α ,3 α -diacetoxy-7-oxa-6-oxo-23,24-dinor-B-homo-5 α -cholanová /290 mg/ je azeotropicky vysušena tak, že její benzenový roztok /40 ml/ byl zahuštěn na 15 ml, přidán oxalylchlorid /1,2 ml/ a ponecháno stát 3 h, pak přidána kapka pyridinu a po dalších 2 h odpařeno ve vakuu /teplota do 35 °C/ do sucha. Krystalický odparek se zbaví zbytků oxalylchloridu opakovaným přidáním suchého benzenu a jeho oddestilováním ve vakuu /do 35 °C/ do sucha. Takto připravený chlorid je rozpuštěn ve 3 ml benzenu a přidán D-3-methyl-butanol-2 /0,2 ml/. Ponecháno stát přes noc, zpracováno vynětím do etheru, promytím roztoku NaHCO₃, vodou a chromatografováno na silikagelu /20 g/ v benzen-etheru /10%/, čímž se oddělí krystalický ester /246 mg/ od malého množství polární nečistoty. Krystalizace z methanolu poskytně čistou látku /196 mg/, t. t. 240–241 °C, $[\alpha]_D^{25} + 35$ /CHCl₃, c = 1,33/. IČ-spektrum /CHCl₃/: 1736, 1256, 1050 cm⁻¹ /OAc/, 1726, 1184 cm⁻¹ /COO/. Hmotové spektrum: M⁺ = 548. Pro C₃₁H₄₈O₈ /548,69/ vypočteno: 67,85% C, 8,82% H; nalezeno: 68,16% C, 8,80% H.

D-1,2-Dimethylpropylester kyseliny 2 α ,3 α -dihydroxy-7-oxa-6-oxo-23,24-dinor-B-homo-5 α -cholanové /vzorec I, R = OCH /CH₃/CH/CH₃/₂ /

Předchozí produkt /D-1,2-dimethylpropylester kyseliny 2 α ,3 α -diacet-oxy-7-oxa-6-oxo-23,24-dinor-B-homo-5 α -cholanové/ /150 mg/ je zahříván k varu ve vodně /1 ml/ methanolickém /30 ml/ roztoku za přítomnosti KHCO₃ /120 mg/. Po 30 minutách je směs okyselena HCl, zahuštěna skoro do sucha, zředěna vodou a vyňata do etheru. Po promytí roztoku vodou a NaHCO₃ a vysušení Na₂SO₄ je rozpouštědlo odpařeno ve vakuu a zbytek /128 mg/ překrystalován postupně z benzen-heptanu a methanol-heptanu. Poskytne 101 mg esteru o t. t. 215 $\pm$ 215,5 °C, $[\alpha]_D^{20} + 38$ /CHCl₃, c = 1,63/. IČ-spektrum /CHCl₃/: 3610, 3585, 1027, 1040, 1067 cm⁻¹ /OH/, 1721, 1183 cm⁻¹ /COO/. Pro C₂₇H₄₄O₆ /464,62/ vypočteno: 69,79% C, 9,55% H; nalezeno: 70,03% C, 9,52% H.

Příklad 4. Amid kyseliny 2 α ,3 α -dihydroxy-7-oxa-6-oxo-23,24-dinor-B-homo-5 α -cholanové /vzorec I, R = NH₂/

Amid kyseliny 2 α ,3 α -diacetoxi-7-oxa-6-oxo-23,24-dinor-B-homo-5 α -cholanové

Z kyseliny 2 α ,3 α -diacetoxi-7-oxa-6-oxo-23,24-dinor-B-homo-5 α -cholanové /157 mg/ byl podle postupu uvedeného v příkladu 3 připraven chlorid, rozpuštěn v benzenu /15 ml/ a roztokem probubláván fritou suchý amoniak po dobu 5 min. Po stání přes noc bylo zředěno benzenem obsahujícím několik procent chloroformu a ethylacetátu. Po promytí H₂O, HCl, NaHCO₃ a H₂O a odpaření jevil krystalický zbytek /110 mg/, t. t. 308 $\pm$ 310 °C. IČ-spektrum /CHCl₃/: 3530, 3415, 1684, 1591 cm⁻¹ /CONH₂/; 1739, 1255 cm⁻¹ /OAc/; 1729, 1189 cm⁻¹ /lakton/.

Amid kyseliny 2 α ,3 α -dihydroxy-7-oxa-6-oxo-23,24-dinor-B-homo-5 α -cholanové

K předchozímu produktu /100 mg/ byl přidán KHCO₃ /80 mg/ rozpuštěný ve vodě /1ml/ a směs byla po přidání methanolu /25 ml/ zahřívána k varu 30 min. Zahuštění reakční směsi a okyselení

HCl poskytl produkt /76 mg/, který po krystalizaci z ethanolu dal látku o t. t. $341\text{--}343\text{ }^{\circ}\text{C}$ /rozkl./ /57 mg/. IČ- spektrum /KBr/: $1679, 1634, 1621\text{ cm}^{-1}$ /CONH₂/, $1056, 1029\text{ cm}^{-1}$ /OH/, $1722, 1184$ /lakton/. Pro C₂₂H₃₅N₂O /393,51/ vypočteno: 67,14% C, 8,96% H, 3,56% N; nalezeno: 67,12% C, 8,73% H, 3,59% N.

Příklad 5. Ethylamid kyseliny 2 α ,3 α -dihydroxy-7-oxa-6-oxo-23,24-dinor-B-homo-5 α -cholanové /vzorec I, R = NHC₂H₅/

Ethylamid kyseliny 2 α ,3 α -diacetoxy-7-oxa-6-oxo-23,24-dinor-B-homo-5 α -cholanové

Z kyseliny 2 α ,3 α -diacetoxy-7-oxa-6-oxo-23,24-dinor-B-homo-5 α -cholanové /157 mg/ byl podle postupu uvedeného u příkladu 3 připraven chlorid, rozpuštěn v benzenu /15 ml/ a přidán 1 ml benzenového roztoku obsahujícího 50% ethylaminu. Směs ponechána stát přes noc. Pak zředěno benzenem, promyto H₂O, HCl /5%/ a NaHCO₃. Po odpaření ve vakuu se získá krystalický produkt /146 mg/, t. t. $289\text{--}290\text{ }^{\circ}\text{C}$. IČ-spektrum /CHCl₃/: $1740, 1252\text{ cm}^{-1}$ /OAc/; $1740, 1189\text{ cm}^{-1}$ /lakton/; $3455, 1763, 1521\text{ cm}^{-1}$ /CONH/.

Ethylamid kyseliny 2 α ,3 α -dihydroxy-7-oxa-6-oxo-23,24-dinor-B-homo-5 α -cholanové /vzorec I, R = NHC₂H₅/

K předchozímu produktu /138 mg/ byl přidán KHCO₃ /120 mg/ rozpuštěný ve vodě /1 ml/, pak methanol /30 ml/ a směs byla zahřívána k varu 30 min. Po zahuštění na jednu čtvrtinu bylo doplněno vodou na původní objem a okyseleno dvěma kapkami konc. HCl. Opětovným zahuštěním získán produkt /105 mg/; krystalizace z methanol-etheru poskytne látku /70 mg/, t. t. $301\text{--}303\text{ }^{\circ}\text{C}$. IČ-spektrum /CHCl₃/: 1720 cm^{-1} /lakton/; $3450, 1668, 1658, 1520\text{ cm}^{-1}$ /CONH/; $3625, 3585\text{ cm}^{-1}$ /OH/. Pro C₂₄H₃₉N₂O₅ /421,56/ vypočteno: 68,37% C, 9,32% H, 3,32% N; nalezeno: 68,49% C, 9,26% H, 3,28% N.

Příklad 6. Isopropylamid kyseliny 2 α ,3 α -dihydroxy-7-oxa-6-oxo-23,24-dinor-B-homo-5 α -cholanové /vzorec I, R = NHCH(CH₃)₂/

Z kyseliny 2 α ,3 α -diacetoxy-7-oxa-6-oxo-23,24-dinor-B-homo-5 α -cholanové /227 mg/ byl podle postupu uvedeného v příkladu 3

připraven chlorid, ten rozpuštěn v bezvodém benzenu /10 ml/ a přidán 2-aminopropan /0,5 ml/. Po 15 h. zředěno benzenem, promyto vodou, HCl /5%/, NaHCO₃, vodou, zahuštěno na malý objem a přidáno etheru. Vyloučí se krystalický amid o t. t. 321~~2~~322 °C ve výtěžku 155 mg, $[\alpha]_D^{25} + 25$ /CHCl₃, c = 1,66/. Další podíl /65 mg/ o stejné t. t., byl získán obdobně z matečných louhů. IČ-spektrum /CHCl₃/: 3440, 1661, 1514 cm⁻¹ /CONH/; 1736, 1252, 1052 cm⁻¹ /OAc/; 1736, 1189 cm⁻¹ /lakton/. Pro C₂₉H₄₅N₇ /519,66/ vypočteno: 67,02% C, 8,73% H, 2,69% N; nalezeno: 66,93% C, 8,96% H, 2,67% N.

Isopropylamid kyseliny 2 α ,3 α -dihydroxy-7-oxa-6-oxo-23,24-dinor-B-homo-5 α -cholanové /vzorec I, R = NHCH/CH₃/₂ /

Předchozí produkt /135 mg/ a KHCO₃ /110 mg/ rozpuštěný v 1 ml vody byly po přidání methanolu /25 ml/ zahřívány k varu 35 min. Po zahuštění byla přidána voda a opětovně zahuštěno. Vykřystaluje 50 mg a opakováním postupu dalších 46 mg produktu. Krystalizace z methanolu-etheru poskytne 91 mg, t. t. 325~~2~~326 °C, $[\alpha]_D^{25} + 34$ /CHCl₃, c = 1,28/. IČ-spektrum /CHCl₃/: 3440, 1660, 1517 cm⁻¹ /NHCO/; 1722, 1186 cm⁻¹ /lakton/; 3620, 3585, 1027 cm⁻¹ /OH/. Pro C₂₅H₄₁N₅ /435,59/ vypočteno: 68,92% C, 9,49% H, 3,22% N; nalezeno: 69,15% C, 9,58% H, 3,48% N.

Příklad 7. Isobutylamid kyseliny 2 α ,3 α -dihydroxy-7-oxa-6-oxo-23,24-dinor-B-homo-5 α -cholanové /vzorec I₂ R = NHCH₂CH/CH₃/₂ /

Isobutylamid kyseliny 2 α ,3 α -diacetoxy-7-oxa-6-oxo-23,24-dinor-B-homo-5 α -cholanové

Z kyseliny 2 α ,3 α -diacetoxy-7-oxa-6-oxo-23,24-dinor-B-homo-5 α -cholanové /245 mg/ byl podle postupu uvedeného v příkladu 3 připraven chlorid, ten rozpuštěn v suchém benzenu /10 ml/ a přidáno isobutylaminu /0,5 ml/. Druhý den zředěno benzenem a promyto H₂O, HCl /5%/, NaHCO₃ a H₂O. Roztok byl zahuštěn na malý objem a přidáno dvojnásobného objemu etheru. Vykřystaluje látka /187 mg/, t. t. 298~~2~~300 °C a z matečných louhů se stejným postupem získá ještě 39 mg o t. t. 295~~2~~298 °C. Překrystalizací z benzen-etheru se získá 177 mg produktu o t. t. 300-301,5 °C a 29 mg o t. t. 295~~2~~297 °C, $[\alpha]_D^{25} + 34$ /CHCl₃/, c = 1,28.

IČ-spektrum /CHCl₃/: 1740, 1253 cm⁻¹ /OAc/; 3455, 1666, 1523 cm⁻¹ /CONH/, 1730 infl., 1188 cm⁻¹ /lakton/. Pro C₃₀H₄₇N₇O₇ /533,69/ vypočteno: 67,51% C, 8,89% H, 2,62% N; nalezeno: 67,12% C, 9,11% H, 2,48% N.

Isobutylamid kyseliny 2 α ,3 α -dihydroxy-7-oxa-6-oxo-23, 24-dinor-B-homo-5 α -cholanové /vzorec I, R = NHCH₂CH/CH₃/₂ /

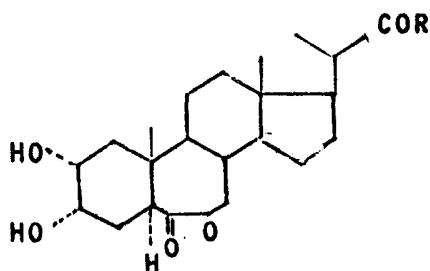
Roztok KHCO₃ /150 mg/ ve vodě /1 ml/ je přidán k předchozímu produktu /170 mg/, potom methanol /35 ml/ a směs zahřívána k varu 30 min. Poté zahuštěno na jednu čtvrtinu objemu a přidán čtyřnásobek vody. Přes noc vykrystaluje produkt a zahuštěním matečných louhů se získá další. Oba spojeny /115 mg/, t. t. 291 $\div$ 293 °C. Překrystalování z methanol-etheru poskytne amid /83 mg/, t. t. 297 $\div$ 298,5 °C, $[\alpha]_D^{20} + 19$ /CHCl₃, c = 1,34/.

IČ-spektrum /CHCl₃/: 3455, 1661, 1526 cm⁻¹ /CONH/; 1721, 1185 cm⁻¹ /COO/; 3620, 3570, 3370, 1067 cm⁻¹ /OH/. Pro C₂₆H₄₃N₅O₅ /449,61/ vypočteno: 69,45% C, 9,82% H, 2,91% N.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

242 122

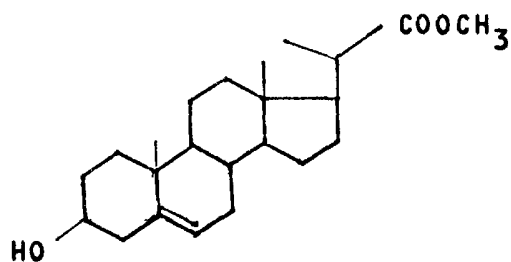
1. Analogy brasinolidu obecného vzorce I



/I/

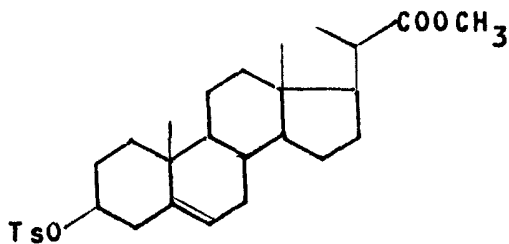
kde R je OX nebo NHX, přičemž X je H nebo alkyl s 1 až 6 atomy uhlíku.

2. Způsob přípravy analogů brasinolidu podle bodu 1, vyznačený tím, že se methylester kyseliny 3 β -hydroxy-23,24-dinor-5-cholelenové /vzorec II/



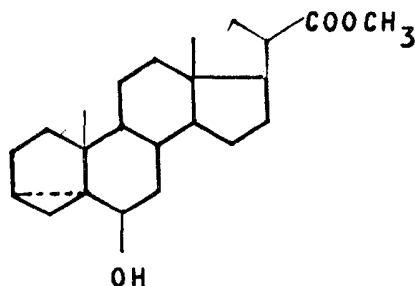
/II/

převeďte působením tosylchloridu na tosylát vzorce III



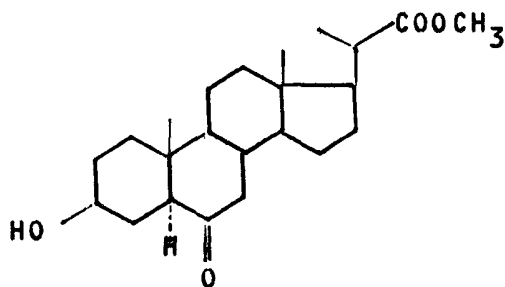
/III/

ten se v prostředí octanu alkalického kovu nebo pyridinu převede na 6 β -hydroxy-3 α ,5 α -cyklosteroid vzorce IV,



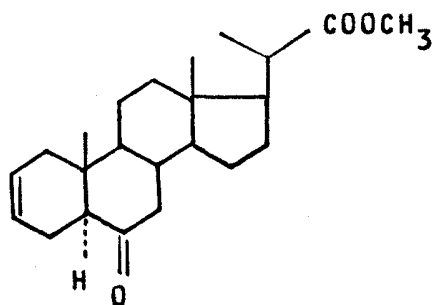
/IV/

který se po oxidaci na keton převede v kyselém prostředí na 3 β -hydroxyderivát vzorce V



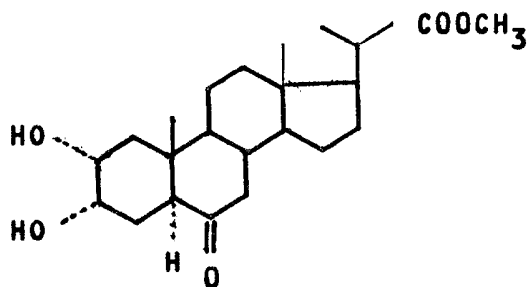
/V/

působením tosylchloridu a ten dále na tosylát, z kterého odštěpením kyseliny p-toluen-sulfonové bromidem lithným v dimethylformamidu se získá látka vzorce VI,



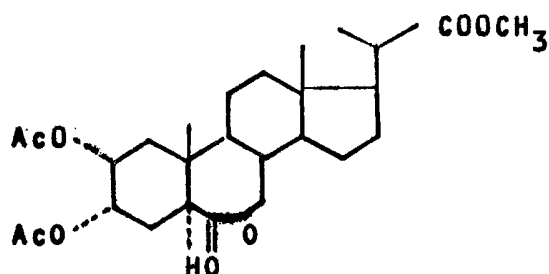
/VI/

která působením oxidu osmičelého v přítomnosti N-methylmorfolin-N-oxidu poskytne látku vzorce VII,



/VII/

a ta se acetyluje na diacetát, který působením perkyseliny, s výhodou trifluorperoctové nebo permravenčí, je převeden na lakton vzorce VIII,



/VIII/,

který po zmýdelnění a acetylaci poskytne působením oxalylchloridu příslušný chlorid, který reakcí s NH_3 , aminy nebo alkoholy s 1-6 atomy uhlíku a následným parciálním zmýdelněním poskytne konečný produkt.