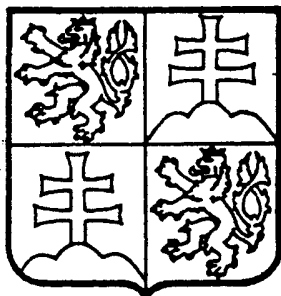


ČESKÁ A SLOVENSKÁ
FEDERATIVNÍ
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU (12)

(22) 26.05.92
(32) 30.05.91
(31) 91/707505
(33) US
(40) 16.12.92

(21) 1589-92
(13) A3
(51) C 07 H 15/24
A 61 K 31/71

- (71) Bristol-Myers Squibb Company, New York, New York, US;
- (72) Soichiro Toda, Ohmiya, JP;
Haruhiro Yamashita, Chiba, JP;
Takayuki Naito, Kawasaki, JP;
Yuji Nishiyama, Tokyo, JP;
- (54) Příprava derivátů 6-0-acylsamycinu A
- (57) Nové deriváty elsamycinu A, které mají 6-0-acylsubstituent, způsob výroby těchto derivátů elsamycinu A, protinádorových prostředků, obsahujících je jako účinnou složku a způsob léčby s využitím těchto prostředků.

- 1 -

Příprava derivátů 6-O-acylelsamycinu A

č.j.	043413
došlo	23. VII. 92
ÚŘAD PRO VYNÁLEZY A OBJEVY	PŘÍL.

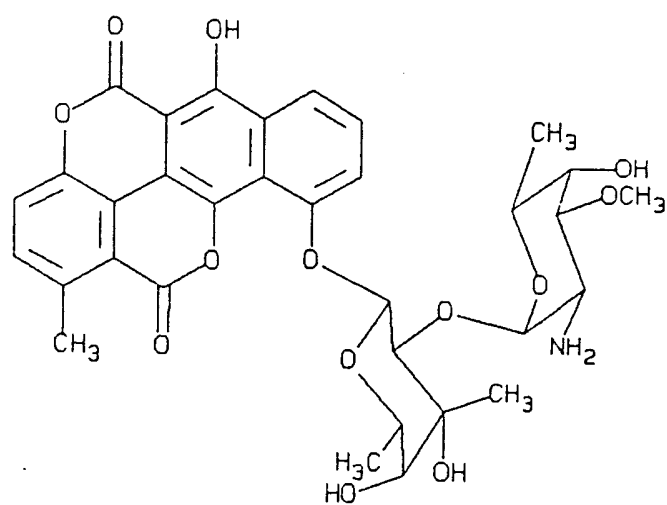
Oblast vynálezu

Vynález se týká nových derivátů elsamycinu A, které mají zvýšený protinádorový účinek, nižší toxicitu a/nebo lepší farmakokinetické vlastnosti, jejich výroby, prostředků, které je obsahují jako účinnou složku a terapeutických metod využívajících tyto prostředky.

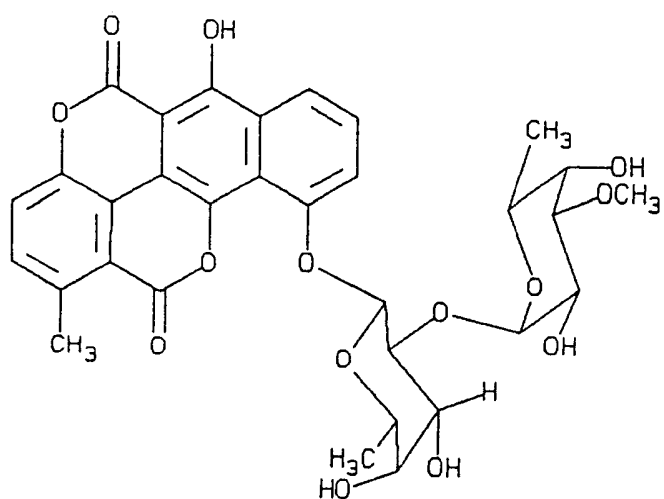
Dosavadní stav techniky

Elsamycin A je antibiotikum s protinádorovým účinkem, vyráběné kultivací kmene aktinomycet, který produkuje elsamycin A a je označen jako kmen J907-21 /ATCC 39417/, nebo jeho mutanty. Elsamycin A projevuje antibakteriální účinek vůči aerobním gram-positivním bakteriím a vůči anaerobním organismům. Rovněž vykazuje účinek proti různým buňkám tumoru u myší, zahrnujících leukemii P388, lymfoidní leukemii L1210 a melanom B16, in vitro a in vivo. Konishi, et al, Elsamicins, new antitumor antibiotics related to chartreusin. I. Production, isolation, characterization and antitumor activity, J. Antibiotics, 39: 784 - 791, /1986/, US patent č. 4 518 589 Konishi, et al, zveřejněno 21. května 1985.

Struktura elsamycinu A /vzorec I uvedený dále/ byla stanovena a ukázala se být v úzkém vztahu k chartreusinu /vzorec II uvedený dále/. Sugawara, et al, Elsamicins A and B, new antitumor antibiotics related to chartreusin. II. Structures of elsamicins A and B. J. Org. Chem., 52: 996 - 1001, /1987/.



I



II

Jak elsamycin A tak chartreusin mají týž aglykon, chartarin, ale obě antibiotika se liší disacharidovým zbytkem. Leach, et al, Chartreusin, a new antibiotic produced by *Streptomyces chartreusis*, a new species, J. Am. Chem. Soc., 75: 4011 - 4012, /1953/, Beisler, J.A., Chartreusin, a glycosidic antitumor antibiotic for *Streptomyces*, In progress in Medicinal Chemistry, Ed., G.P. Ellis a G.B. West 19: str. 247 - 268, Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, /1982/, Simonitsch, et al: Über die Struktur des Chartreusins I, Helv. Chim. Acta, 47: 1459 - 1475, /1964/, Eisenhuth, et al, Über die Struktur des Chartreusins II, Helv. Chim. Acta, 47, 1475 - 1484, /1964/. Vzájemná konverze obou sloučenin chemickou cestou dosud nebyla popsána.

Během chemické modifikace elsamycinu A jsme zjistili, že acylace v poloze 6 elsamycinu A poskytuje nové deriváty se zvýšeným protinádorovým účinkem, nižší toxicitou a/nebo lepšími farmakokinetickými vlastnostmi.

Podstata vynálezu

Předložený vynález poskytuje nové deriváty elsamycinu A, které vykazují zvýšený protinádorový účinek, nižší toxicitu a/nebo lepší farmakokinetické vlastnosti. Zvláště umožňuje předložený vynález syntesu 6-O-acylelsamycinu A a jeho 3',4'-O-isopropylidenových derivátů.

Vynález dále poskytuje protinádorový prostředek obsahující jako účinnou složku alespoň jeden derivát vybraný ze skupiny zahrnující deriváty elsamycinu A podle vynálezu.

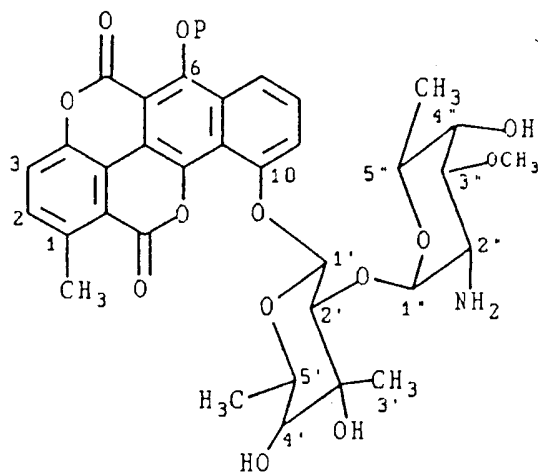
Dále vynález poskytuje způsob léčby rakoviny s použitím shora uvedeného protinádorového prostředku.

Dále je poskytnut způsob výroby shora uvedeného derivá-

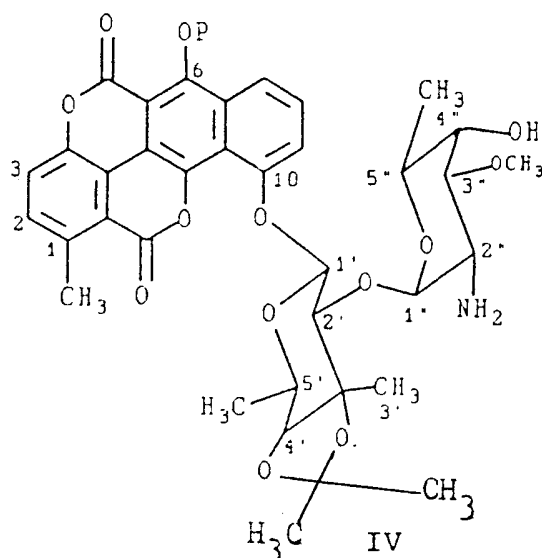
US. patent č. 4 518 589 Konishi et al, popisuje produkci a izolaci protinádorového činidla označeného elsamycin A /vzorec I uvedený shora/. Shora uvedená sloučenina, elsamycin A, je hlavní složkou fermentace kmene aktinomycet, který produkuje elsamycin A a je označen jako kmen J907-21 /ATCC 39417/.

Nyní bylo podle předloženého vynálezu zjištěno, že acylace v poloze 6 elsamycinu A poskytuje nové deriváty se zvýšeným protinádorovým účinkem, nižší toxicitou a/nebo lepšími farmakokinetickými vlastnostmi.

Deriváty elsamycinu A podle vynálezu mají obecný vzorec III a IV



III



kde P znamená COR a R je alkyl s 1 až 5 atomy uhlíku, který může být nesubstituovaný nebo substituovaný, přednostně amino nebo acylaminoskupinou.

Výrazem "alkyl s 1 až 5 atomy uhlíku", jak je užit zde i v nárocích /pokud není uvedeno jinak/ se rozumí rozvětvený nebo přímý řetězec uhlovodíkové skupiny mající 1 až 5 atomů uhlíku, jako je metnyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl, t-butyl apod. Výrazem "substituovaný nebo nesubstituovaný", jak je užit zde a v nárocích je míněna uhlovodíková skupina, kde atom, prvek nebo skupina nahrazuje atom vodíku, zmíněné substituované alkylskupiny jsou přednostně substituovány amino nebo acylaminoskupinou, jinak je blíže specifikováno v konkrétním příkladu.

Deriváty elsamycinu A podle vynálezu lze vyrobit například synthetickým postupem znázorněným graficky ve schematu 1. Jak ukazuje schema 1, O-acylace N-t-butoxy-elsamycinu A /3/ příslušnou karboxylovou kyselinou a di-

cyklohexylkarbodiimidem /DCC/ v přítomnosti báze, jako je pyridin, poskytla 6-O-acylderiváty /7/. 6-O-Acyl-3',4'-O-isopropylidenderiváty /8/ byly připraveny podobně, acylací N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycinu A /4/ a následným odštěpením t-butoxykarbonylové skupiny meziproduktu 6 pomocí kyseliny p-toluensulfonové /TsOH/ v acetonu nebo kyseliny trifluoroctové /TFA/. Isopropylidenová skupina meziproduktů 6 zůstává během shora uvedeného odblokování zachována. Reakce meziproduktů 6 s vodnou TFA odštěpuje souběžně jak t-butoxykarbonylovou skupinu, tak i isopropylidenovou skupinu za vzniku sloučeniny 7.

V tabulce 1 jsou uvedeny sloučeniny podle vynálezu a jejich číselné značení.

TABULKA 1

Sloučeniny podle vynálezu a jejich číselné značení

sloučenina č.	název
<u>1</u>	Elsamycin A
<u>2</u>	Chartreusin
<u>3</u>	2''-N-t-butoxykarbonylelsamycin A
<u>4</u>	2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropyliden-elsamycin A
<u>5a</u>	6-O-acetyl-2''-N-t-butoxykarbonylelsamycin A
<u>5c</u>	2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-/N-trifluoracetyl- β -alanyl/elsamycin A

TABULKA 1 /pokračování/

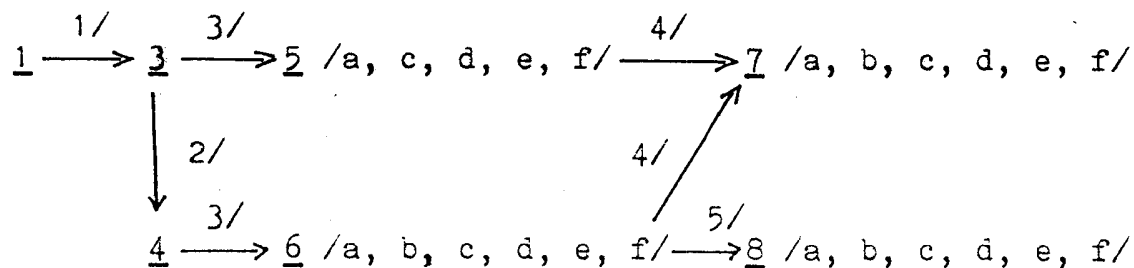
<u>5d</u>	2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-/N-t-butoxykarbo- nyl- -alanyl/elsamycin A
<u>5e</u>	2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-/N-t-butoxykarbo- nyl-L-alanyl/elsamycin A
<u>5f</u>	2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-/N-t-butoxykarbo- nyl-D-alanyl/elsamycin A
<u>6a</u>	6-O-acetyl-2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O- isopropylidenelsamycin A
<u>6b</u>	2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-n-hexanoyl-3',4'- O-isopropylidenelsamycin A
<u>6c</u>	2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropyliden- 6-O-/N-trifluoracetyl- β -alanyl/elsamycin A
<u>6d</u>	2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-/N-t-butoxykarbo- nyl- β -alanyl/-3',4'-O-isopropylidenelsamy- cin A
<u>6e</u>	2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-/N-t-butoxykarbo- nyl-L-alanyl/-3',4'-O-isopropylidenelsamy- cin A
<u>6f</u>	2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-/N-t-butoxykarbo- nyl-D-alanyl/-3',4'-O-isopropylidenelsamy- cin A
<u>7a</u>	6-O-acetylsamycin A
<u>7b</u>	6-O-n-hexanoylsamycin A

TABULKA 1 /pokračování/

<u>7c</u>	6-O-/N-trifluoracetyl- -alanyl/elsamycin A
<u>7d</u>	6-O- -alanylelsamycin A
<u>7e</u>	6-O-L-alanylelsamycin A
<u>7f</u>	6-O-D-alanylelsamycin A
<u>8a</u>	6-O-acetyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A
<u>8b</u>	6-O-n-hexanoyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A
<u>8c</u>	3',4'-O-isopropyliden-6-O-/N-trifluoracetyl- /β-alanyl/elsamycin A
<u>8d</u>	6-O-β-alanyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A
<u>8e</u>	6-O-L-alanyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A
<u>8f</u>	6-O-D-alanyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A

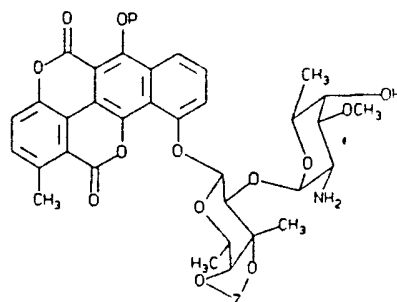
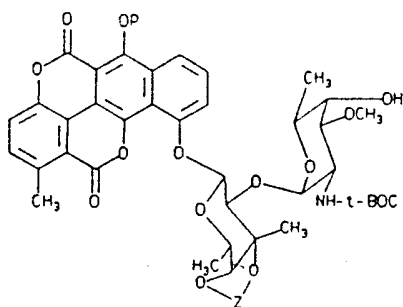
Schema 1

Postup synthesy 6-O-acylderivátů elsamycinu A



- 1/ /t-BOC/₂O / NEt₃
- 2/ /CH₃O/₂C/CH₃/₂ / TsOH
- 3/ R'COOH / Pyr / DCC
- 4/ TFA
- 5/ TFA nebo TsOH/aceton

schema 1 /pokračování/



meziprodukt	P	-Z-
<u>3</u>	H	(-H) ₂
<u>4</u>	H	C(CH ₃) ₂
<u>5</u>	COR'	(-H) ₂
<u>6</u>	COR'	C(CH ₃) ₂

- R' a: -CH₃
 b: -(CH₂)₄-CH₃
 c: -(CH₂)₂-NHCOCF₃
 d: -(CH₂)₂-NH-t-BOC
 e: -CHCH₃ (L)
 |
 NH-t-BOC
 f: -CHCH₃ (D)
 |
 NH-t-BOC

sloučenina	P	-Z-
<u>7</u>	COR	(-H) ₂
<u>8</u>	COR	C(CH ₃) ₂

- R a: -CH₃
 b: -(CH₂)₄-CH₃
 c: -(CH₂)₂-NHCOCF₃
 d: -(CH₂)₂-NH₂
 e: -CHCH₃ (L)
 |
 NH₂
 f: -CHCH₃ (D)
 |
 NH₂

Protinádorový účinek derivátů 6-O-acylclisamycinu

Dvanáct derivátů 6-O-acylclisamycinu bylo syntetizováno a testováno ve srovnání s mateřskou sloučeninou na protinádorový účinek in vitro a in vivo.

Pro zkoušku cytotoxicity in vitro byly vypěstovány buňky myšího melanomu B16-F10, které se udržovaly v minimálním esenciálním mediu podle Eaglea /Nissui/, obsahujícím 60 µg/ml kanamycinu, které je doplněno tepelně inaktivovaným fetálním telecím sérem /10 %/ a neesenciálními aminokyselinami /0,6 %/, při 37 °C ve zvlhčené atmosféře v 5 % CO₂ inkubátoru. Exponenciálně rostoucí buňky B16-F10 se shromažďily, spočítaly a suspendovaly v kultivačním mediu v koncentraci $2,0 \times 10^4$ buněk/ml. Buněčná suspenze /180 µl/ se pěstovala v jamkách 96 jamkové mikrotitrační destičky a inkubovala se 24 hodin. Testované sloučeniny /20 µl/ se přidaly do jamek a destičky se dále inkubovaly 72 hodin. Cytotoxický účinek se stanovil kolorimetricky při 540 nm po obarvení životaschopných buněk neutrálním červeným roztokem. Z dvanácti testovaných 6-O-acylclisamycinů sedm derivátů vykazovalo přibližně stejně silnou cytotoxicitu vůči buňkám B16-F10 jako mateřská sloučenina. Jak je patrné z tabulky 2, je to těchto sedm derivátů- 6-O-acetylclisamycin A /7a/, 6-O-n-hexanoylclisamycin A /7b/, 6-O-/N-trifluoracetyl-β-alanyl/elsamycin A /7c/, 6-O-β-alanylclisamycin A /7d/, 6-O-n-hexanoyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A /8b/, 3',4'-O-isopropyliden-6-O-/N-trifluoracetyl-β-alanyl/elsamycin A /8c/ a 6-O-β-alanyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A /8d/. Dalšíh pět derivátů bylo méně účinných.

Protinádorový účinek in vivo dvanácti shora uvedených 6-O-acylclisamycinů se testoval v systémech lymfocytární leukemie P388 a melanomu B16. Samice myší CDF₁ /pro P388/ a samci myší BDF₁ /pro B16/ se naočkovali i.p. injekcí 10^6 buněk P388 a 0,5 ml 10 %ní suspenze B16 na myš /den 0/. Tes-

tované sloučeniny se podávaly myším intraperitoneálně jedenkrát denně ve dnech 1 až 3 /Q1D x 3/ u systému P388 nebo jedenkrát denně ve dnech 1, 5 a 9 /Q4D x 3/ u systému B16 a zvířata byla pozorována 50 dní. Percentuální vzrůst střední doby přežití /MST/ ošetřených zvířat ve srovnání s neošetřenou kontrolou byl stanoven a označen jako T/C %. Sloučeniny vykazující hodnoty T/C % 125 nebo vyšší byly považovány za sloučeniny s výrazným protinádorovým účinkem. Jak je patrné z tabulky 2, několik derivátů wykázalo příznivý protinádorový účinek proti leukemii P388 a hodnoty minimální účinné dávky /MED/ sedmi derivátů, které vykazují cytotoxicitu stejně velkou jako mateřská sloučenina byly rovněž stejné jako u elsamycinu A /1/.

Zejména 6-O-acetylsamycin A /7a/, 6-O-/N-trifluoracetyl- β -alanyl/samycin A /7c/ a 6-O- β -alanylsamycin A /7d/ vykazují větší protinádorový účinek než elsamycin A /1/ v hodnotách terapeutického indexu /toxická dávka/MED/. Z pěti méně účinných derivátů nebyl protinádorový účinek čtyř z nich, s výjimkou 6-O-n-hexanoyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycinu A /8b/, výrazně odlišný od mateřské sloučeniny.

V systému B16 byly 6-O-acetylsamycin A /7a/, 6-O-n-hexanoylsamycin A /7b/, 6-O- β -alanylsamycin A /7d/, 6-O-n-hexanoyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A /8b/ a 6-O-D-alanyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A /8f/ stejně účinné jako elsamycin A /1/ /tabulka 3/. Je zajímavé, že zatímco deriváty 6-O-acetyl-3',4'-isopropylidenelsamycin A /8a/ a 6-O-L-alanyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A /8e/ byly méně účinné než mateřská sloučenina, prodlužovaly pozoruhodně délku života myši zasažených B16.

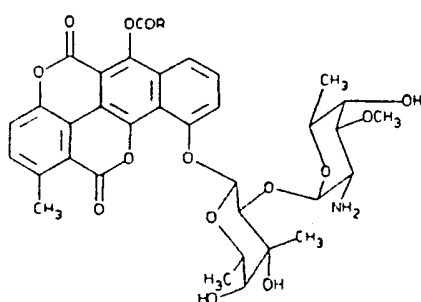
TABULKA 2

In vitro cytotoxicita proti melanomu B16 a in vivo protinádorový účinek proti leukemii P388 u myší

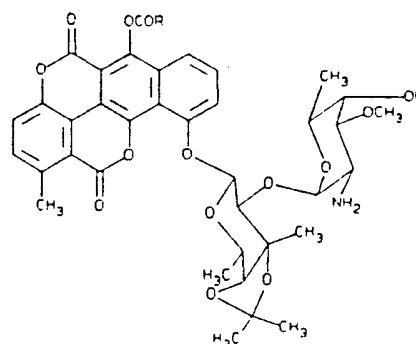
sloučenina	COR	Cytotoxicita IC ₅₀ (μg/ml)	T/C % MST ⁺¹					
			20 ⁺²	10	3	1	0.3	0.1
7a	COCH ₃	0.06	247	185	160	145	130	120
7b	CO(CH ₂) ₄ CH ₃	0.04		170	165	140	130	110
7c	CO(CH ₂) ₂ NHCOCF ₃	0.03	211	170	150	130	125	110
7d	CO(CH ₂) ₂ NH ₂	0.03	255	160	170	150	135	115
7e	COCH(NH ₂)CH ₃ (L)	0.3	186	176	157	124	114	105
7f	COCH(NH ₂)CH ₃ (D)	0.3	182	200	152	133	124	119
8a	COCH ₃	0.09	255	224	171	152	124	114
8b	CO(CH ₂) ₄ CH ₃	0.05		225	210	150	130	115
8c	CO(CH ₂) ₂ NHCOCF ₃	0.04		260	230	160	135	110
8d	CO(CH ₂) ₂ NH ₂	0.04		230	175	160	130	110
8e	COCH(NH ₂)CH ₃ (L)	0.16		248	210	152	124	124
8f	COCH(NH ₂)CH ₃ (D)	0.3		200	171	157	135	124
1		0.04	Tox	201	171	152	136	123

⁺¹ střední doba přežití udaná ve dnech

⁺² dávka v mg/kg/den, Q1D x 3 ip



7



8

TABULKA 3

In vivo protinádorový účinek proti melanomu B16 u myší

sloučenina	10 ⁻²	T/C % MST ¹			
		3	1	0.3	0.1
<u>7a</u>	229	182	154	136	121
<u>7b</u>	257	186	154	136	114
<u>7c</u>	184	158	134	116	113
<u>7d</u>	315	215	173	146	123
<u>7f</u>	210	173	137	110	
<u>8a</u>	287	280	170	123	
	(1/4) ⁺³	(1/4)			
<u>8b</u>	254	182	164	132	111
<u>8c</u>	≥250	179	121	115	
	(2/4)				
<u>8d</u>	296	211	139	121	118
<u>8e</u>	≥333	180	153	123	
	(3/4)				
<u>8f</u>	240	180	153	140	107
<u>1</u>	287	211	179	142	122
	(6/24)	(3/24)			

- ⁺¹ střední doba přežití udaná ve dnech
⁺² dávka v mg/kg/den, Q4D x 3 ip
⁺³ počet přeživších/testovaných 50.den

V rozsahu předloženého vynálezu je zahrnut způsob výroby derivátů elsamycinu A podle vynálezu.

Dalším aspektem vynálezu jsou farmaceutické kompozi-

ce, které obsahují účinné, tumor inhibující množství sloučeniny vzorce III nebo IV v kombinaci s inertním, farmaceuticky přijatelným nosičem nebo ředidlem.

Podle dalšího aspektu vynálezu je poskytnut způsob terapeutického ošetřování živočichů, především savců, zasažených tumorem, který spočívá v podávání účinné, tumor inhibující dávky antibiotika, sloučeniny vzorce III nebo IV.

Příklady vhodných kompozic zahrnují pevné kompozice pro orální podávání, jako jsou tablety, tobolky, pastilky, prášky a granule, kapalně kompozice pro orální podávání, jako jsou roztoky, suspenze, sirupy a elixíry a přípravky pro parenterální podávání, jako jsou sterilní roztoky, suspenze nebo emulze. Mohou být rovněž zpracovány do formy sterilních pevných kompozic, které mohou být rozpuštěny ve sterilní vodě, fyziologickém roztoku nebo jiném sterilním mediu vhodném pro injekce bezprostředně před použitím.

Je třeba si uvědomit, že aktuální preferované dávkování derivátu elsamycinu A podle vynálezu se může měnit podle konkrétní sloučeniny, která je užita, konkrétní formy prostředku, způsobu aplikace a konkrétní lokalizace choroby, pacienta a choroby, která je léčena. Mnohé faktory, které modifikují působení léčiva, jako je věk, tělesná hmotnost, pohlaví, strava, doba podávání, rychlost exkrece, kondice pacienta, kombinace léků, senzitivita a obtížnost choroby. Podávání se může provádět kontinuálně nebo periodicky, v rámci maximálně tolerované dávky. Optimální aplikační rychlosti pro daný soubor podmínek může odborník v oboru snadno zjistit pomocí testů ke stanovení konvenčního dávkování.

Předložený vynález je ilustrován následujícími příklady, jejichž účelem nemá být omezení rozsahu vynálezu.

Příklady specifické synthesy meziproduktů 3 - 6 /f/ jsou uvedeny níže. Z těchto meziproduktů se způsoby uvedenými shora syntetizují sloučeniny 7a - 7f a 8a - 8f podle vynálezu.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Synthesa 2''-N-t-butoxykarbonylsamycinu A /3/

Směs 653 mg /1mmol/ elsamycinu A /1/, 348 mg /1,6 mmol/ di-t-butyldikarbonátu a 0,14 ml /1 mmol/ triethylaminu v 10 ml dioxanu se míchala při teplotě místnosti přes noc. Reakční směs se odpařila ve vakuu, čímž se získal částečně krystalický odparek, který se překrystaloval ze směsi CH_2Cl_2 /ether a získalo se 768 mg /100 %/ meziproduktu 3 ve formě žlutého krystalického prášku.

T.t. 183 - 184 °C.

IR ν_{max} /KBr/ cm^{-1} 3410, 1700, 1505, 1370, 1255, 1120, 1065, 875, 780.

UV λ_{max} /MeOH/ nm / ϵ / 236 /38300/, 266 /37800/, 333 /6180/, 380 /8770/, 400 /14500/, 423 /15900/.

^1H NMR / CDCl_3 / δ 0,73 /9H, široké s/, 1,31 /3H, d, $J = 7,0$ Hz/, 1,36 /3H, s/, 1,39 /3H, d, $J = 6$ Hz/, 2,68 /3H, s/, 3,35 /3H, s/, 5,37 /1H, d, $J = 8,0$ Hz/, 4,66 /1H, d, $J = 4$ Hz/, 8,18 /1H, dd, $J = 8,0$ a 1,5 Hz/, 11,59 /1H, s/.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{38}\text{H}_{43}\text{NO}_{15} \times \text{H}_2\text{O}$: C 59,14, H 5,88, N 1,81
nalezeno: C 59,12, H 6,06, N 2,27

Příklad 2

Synthesa 2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycinu A /4/

K roztoku 200 mg meziprojektu 3 a 1,2 ml 2,2-dimethoxypropanu ve 4 ml suchého CH_2Cl_2 se přidalo 5 mg TsOH a směs se udržovala na teplotě místnosti přes noc. K reakční směsi se přidal nasycený vodný roztok NaHCO_3 a organická vrstva se oddělila, vysušila nad MgSO_4 a odpařila ve vakuu. Získalo se 190 mg /90 %/ meziprojektu 4 ve formě žluté pevné látky.

T.t. 168 - 169 °C.

IR ν_{max} /KBr/ cm^{-1} 3420, 1740, 1690, 1505, 1375, 1250, 1065, 780.

UV λ_{max} /MeOH/ nm / ϵ / 236 /40600/, 266 /39100/, 333 /6370/, 380 /8850/, 399 /14200/, 422 /15500/.

^1H NMR / CDCl_3 / δ 1,34 /3H, d, J = 6 Hz/, 1,37 /3H, d, J = 7 Hz/, 1,37 /3H, s/, 1,42 /3H, s/, 1,68 /3H, s/, 2,87 /3H, s/, 3,35 /3H, s/, 5,23 /1H, d, J = 8 Hz/, 5,80 /1H, d, J = 4 Hz/, 8,33 /1H, dd, J = 8 a 1,5 Hz/, 1,63 /1H, br/.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{41}\text{H}_{47}\text{NO}_{15} \times \text{H}_2\text{O}$: C 60,66, H 6,08, N 1,73

nalezeno: C 60,92, H 6,03, N 2,00

Příklad 3

Synthesa 6-O-acetyl-2''-N-t-butoxykarbonylsamycinu A /5a/

Roztok 79 mg /0,1 mmol/ 2''-N-t-butoxykarbonylsamycinu A /3/, 12 mg /0,2 mmol/ kyseliny octové, 33 mg /0,16 mmol/

a 0,5 ml suchého pyridinu v 1 ml ethylacetátu se udržoval při teplotě místnosti přes noc. Směs se vlila do 30 ml zředěného vodného roztoku HCl a extrahovala se pomocí EtOAc, extrakt se promyl postupně zředěným vodným roztokem HCl, vodou a nasyceným vodným roztokem NaCl a potom se odpařil ve vakuu. Odparek se vyčistil chromatografií na silikage-lu s použitím roztoku MeOH/CHCl₃ jako elučního činidla. Získalo se 66 mg /79 %/ meziproduktu 5a ve formě žlutého amorfního prášku.

T.t. 184 - 186 °C.

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm⁻¹ 1775, 1735, 1365, 1250, 1165, 1065, 1035, 770.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 236 /36500/, 267 /41200/, 311 /6190/, 326 /7380/, 366 /10800/, 389 /12300/, 410 /13000/.

¹H NMR /CDCl₃/ δ 0,77 /9H, s/, 1,27 /3H, d, J = 6 Hz/, 1,37 /3H, s/, 1,42 /3H, d, J = 6 Hz/, 2,59 /3H, s/, 2,80 /3H, s/, 3,38 /3H, s/, 5,39 /1H, d, J = 8 Hz/, 5,60 /1H, d, J = 4 Hz/, 7,93 /1H, dd, J = 8,0 a 1,5 Hz/.

Analýza

vypočteno pro C₄₀H₄₅NO₁₆ x H₂O: C 59,03, H 5,82, N 1,72
nalezeno: C 59,33, H 5,76, N 1,68

Příklad 4

Synthesa meziproduktů 5c - 5f

Meziprodukty 5c - 5f byly připraveny metodou podobnou metodě přípravy meziproduktu 5a z meziproduktu 3. Acylační kyseliny a výtěžky izolace jsou uvedeny.

a/ Synthesa 2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-/N-trifluoracetyl- β -alanyl/elsamycinu A /5c/

N-Trifluoracetyl- β -alanin /82 %/.

T.t. 170 - 173 °C.

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 1740 /sh/, 1720, 1370, 1250, 1160, 1070, 775.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 236 /36600/, 267 /40800/, 311 /6280/, 325 /7460/, 366 /9210/, 390 /12100/, 411 /12600/.

^1H NMR / CDCl_3 / δ 0,73 /9H, s/, 1,33 /3H, d, J = 7 Hz/, 1,38 /3H, s/, 1,40 /3H, d, J = 6 Hz/, 2,78 /3H, s/, 3,38 /3H, s/, 5,43 /1H, s, J = 8 Hz/, 5,69 /1H, d, J = 4 Hz/.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{43}\text{H}_{47}\text{N}_2\text{O}_{17}\text{F}_3 \times \text{H}_2\text{O}$: C 55,01, H 5,26, N 2,98
nalezeno: C 54,95, H 5,16, N 3,19

b/ Synthesa 2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-/N-t-butoxykarbonyl- β -alanyl/elsamycinu A /5d/

N-t-Butoxykarbonyl- β -alanin /71 %/.

T.t. 171 - 173 °C.

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 3420, 1740, 1710, 1610, 1580, 1370, 1255, 1165.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 236 /36700/, 268 /41800/, 311 /6410/, 326 /7630/, 365 /9400/, 390 /12700/, 410 /13100/.

^1H NMR / CDCl_3 / δ 0,79 /9H, s/, 1,1 - 1,75 /22H, m/, 2,84 /3H, s/, 3,40 /3H, s/, 5,40 /1H, d, J = 8 Hz/, 5,63 /1H, d, J = 4 Hz/.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{46}\text{H}_{56}\text{N}_2\text{O}_{18} \times \text{H}_2\text{O}$: C 58,59, H 6,20, N 2,97

nalezeno:

C 58,44, H 5,90, N 2,78

c/ Synthesa 2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-/N-t-butoxykarbonyl-L-alanyl/elsamycinu A /5e/

N-t-Butoxykarbonyl-L-alanin /80 %/

T.t. 180 - 182 °C

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 3420, 1740, 1610, 1500, 1370, 1250, 1160, 1070.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 237 /35700/, 267 /40000/, 312 /6250/, 326 /7380/, 367 /9200/, 389 /12100/, 410 /12800/.

^1H NMR / CDCl_3 / δ 0,75 /9H, s/, 1,27 /3H, d, J = 6 Hz/, 1,37 /3H, s/, 1,40 /3H, d, J = 6 Hz/, 1,50 /9H, s/, 1,77 /3H, d, J = 7 Hz/, 2,81 /3H, s/, 3,38 /3H, s/, 5,39 /1H, d, J = 8 Hz/, 5,63 /1H, d, J = 4 Hz/.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{46}\text{H}_{56}\text{N}_2\text{O}_{18} \times \text{H}_2\text{O}$: C 58,59, H 6,20, N 2,97

nalezeno:

C 58,70, H 6,12, N 2,72

d/ Synthesa 2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-/N-t-butoxykarbonyl-D-alanyl/elsamycinu A /5f/

N-t-Butoxykarbonyl-D-alanin /81 %/

T.t. 180 - 182 °C

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 3420, 1740, 1610, 1450, 1370, 1250, 1165, 1070.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 236 /35500/, 267 /39800/, 312 /6260/, 326 /7420/, 366 /9210/, 389 /12200/, 410 /12900/.

^1H NMR / CDCl_3 / δ 0,8 /9H, s/, 1,26 /3H, d, J = 6 Hz/, 1,38

/3H, s/, 1,40 /3H, d, J = 6 Hz/, 1,49 /9H,
s/, 1,78 /3H, d, J = 7 Hz/, 2,81 /3H, s/,
3,39 /3H, s/, 5,38 /1H, d, J = 8 Hz/, 5,60
/1H, d, J = 4 Hz/.

Analýza

vypočteno pro $C_{46}H_{56}N_2O_{18} \times 3/2H_2O$: C 59,15, H 6,15, N 3,00
nalezeno: C 59,36, H 6,18, N 2,71

Příklad 5

Synthesa 6-O-acetyl-2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopro-
pylidenelsamycinu A /6a/

Roztok 123 mg meziprojektu 4, 20 mg kyseliny octové,
33 mg DCC a 0,75 ml pyridinu ve 2 ml EtOAc se udržovalo
přes noc při teplotě místnosti. Reakční směs se zfiltr-
ovala a odpařila ve vakuu. Odparek se vyčistil sloupcovou
chromatografií na silikagelu /4,5 x 16 mm/, jako eluční
činidlo se použil roztok MeOH v $CHCl_3$. Získalo se 128 mg
/99 %/ žádaného produktu.

T.t. 188 - 190 °C

IR ν_{max} /KBr/ cm^{-1} 3450, 1780, 1745, 1500, 1370, 1255, 1170,
1070.

UV λ_{max} /MeOH/ nm / ϵ / 236 /36500/, 267 /41900/, 310 /6310/,
324 /7620/, 364 /9280/, 389 /12000/,
409 /12300/.

1H NMR / $CDCl_3$ / δ 0,67 /3H, s/, 1,3 - 1,5 /12H, m/, 1,70 /3H,
s/, 2,60 /3H, s/, 2,90 /3H, s/, 3,39 /3H,
s/, 5,25 /1H, d, J = 8 Hz/, 5,82 /1H, d, J
= 4 Hz/.

Analýza

vypočteno pro $C_{43}H_{49}NO_{16} \times 1/2H_2O$: C 61,13, H 5,97, N 1,66

nalezeno:

C 60,86, H 5,84, N 1,73

Příklad 6

Synthesa meziproduktů 6b - 6f

Meziprodukty 6b - 6f byly připraveny metodou podobnou té, která byla popsána pro přípravu meziproduktu 6a z meziproduktu 4. Acylační kyseliny, reakční doba a výtěžky izolace jsou uvedeny.

a/ Synthesa 2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-n-hexanoyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycinu A /6b/

Kyselina kapronová, přes noc, /76 %/.

T.t. 184 - 186 °C.

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 1740, 1495, 1370, 1250, 1170, 1125, 1070, 780.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 236 /38300/, 267 /43000/, 311 /6380/, 325 /7910/, 365 /9550/, 389 /12500/, 409 /13000/.

^1H NMR / CDCl_3 / δ 0,67 /9H, s/, 1,34 /3H, d, J = 6 Hz/, 1,41 /3H, d, J = 6 Hz/, 1,42 /3H, s/, 1,46 /3H, s/, 1,71 /3H, s/, 2,92 /3H, s/, 3,40 /3H, s/, 5,25 /1H, d, J = 8 Hz/, 5,77 /1H, d, J = 4 Hz/.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{47}\text{H}_{57}\text{NO}_{16} \times 1/2\text{H}_2\text{O}$: C 62,66, H 6,49, N 1,55
nalezeno: C 62,81, H 6,37, N 1,58

b/ Synthesa 2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropyliden-6-O-/N-trifluoracetyl- β -alanyl/elsamycinu A /6c/

N-Trifluoracetyl- β -alanin, 24 hodin, /93 %/.

T.t. 169 - 170 °C

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 1740, 1720, 1500, 1370, 1255, 1215, 1165,
1120, 1070, 780.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 236 /36500/, 267 /41500/, 310 /6500/,
325 /7720/, 365 /9390/, 390 /12100/,
410 /12200/.

^1H NMR / CDCl_3 / δ 0,66 /9H, s/, 1,36 /3H, d, J = 6 Hz/, 1,38
/3H, d, J = 6 Hz/, 1,42 /3H, s/, 1,46 /3H,
s/, 1,71 /3H, s/, 2,92 /3H, s/, 3,38 /3H,
s/, 5,24 /1H, d, J = 8 Hz/, 5,84 /1H, d, J
= 4 Hz/.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{46}\text{H}_{51}\text{N}_2\text{O}_{17}\text{F}_3 \times \text{H}_2\text{O}$: C 56,44, H 5,46, N 2,86
nalezeno: C 56,50, H 5,23, N 2,74

c/ Synthesa 2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-/N-t-butoxykarbonyl-
 β -alanyl/-3',4'-O-isopropylidenelsamycinu A /6d/

N-t-Butoxykarbonyl- β -alanin, 67 hodin, /81 %/.

T.t. 171 - 173 °C

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 3400, 1740, 1710, 1610,

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 236 /35200/, 267 /40200/, 310 /6240/,
325 /7540/, 364 /9020/, 389 /11800/,
409 /11900/

^1H NMR / CDCl_3 / δ 0,67 /9H, s/, 1,40 /18H, m/, 1,62 /3H, s/,
1,71 /3H, s/, 2,82 /3H, s/, 3,10 /2H, t, J
= 6 Hz/, 3,40 /3H, s/, 5,24 /1H, d, J = 8
Hz/, 5,80 /1H, d, J = 4 Hz/.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{49}\text{H}_{60}\text{N}_2\text{O}_{18}$: C 60,99, H 6,27, N 2,90
nalezeno: C 60,79, H 6,12, N 2,83

d/ Synthesa 2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-/N-t-butoxykarbonyl-L-alanyl/-3',4'-O-isopropylidenelsamycinu A /6e/

N-t-Butoxykarbonyl-L-alanin, 93 hodin, /86 %/.

T.t. 174 - 176 °C

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 3420, 1745, 1710, 1500, 1370, 1250, 1070.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 236 /35800/, 267 /40500/, 311 /6290/,
324 /7510/, 364 /9160/, 389 /12000/,
410 /12300/.

^1H NMR / CDCl_3 / δ 0,67 /9H, s/, 1,40 /21H, m/, 1,70 /3H, s/,
1,77 /3H, d, J = 7 Hz/, 2,92 /3H, s/, 3,39
/3H, s/, 5,24 /1H, d, J = 8 Hz/, 5,81 /1H,
d, J = 4 Hz/.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{46}\text{H}_{60}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}_{18} \times 1/2\text{H}_2\text{O}$: C 60,42, H 6,31, N 2,88
nalezeno: C 60,21, H 6,32, N 2,74

e/ Synthesa 2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-/N-t-butoxykarbonyl-D-alanyl/-3',4'-O-isopropylidenelsamycinu A /6f/

N-t-Butoxykarbonyl-D-alanin, 46 hodin, /87 %/

T.t. 174 - 176 °C

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 3420, 1745, 1710, 1450, 1370, 1250, 1070.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 236 /34400/, 267 /39300/, 311 /6180/,
324 /7410/, 364 /8960/, 389 /11600/,
409 /11900/.

^1H NMR / CDCl_3 / δ 0,65 /9H, s/, 1,4 - 1,76 /32H, m/, 2,90
/3H, s/, 3,36 /3H, s/, 4,85 /1H, q, J =
7,5 Hz/, 5,23 /1H, d, J = 8 Hz/, 5,79 /1H,
d, J = 4 Hz/.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{49}\text{H}_{60}\text{N}_2\text{O}_{18} \times 3/2\text{H}_2\text{O}$: C 60,42, H 6,31, N 2,88
nalezeno: C 60,19, H 6,33, N 2,74

Příklad 7

Synthesa 6-O-acetylsamycinu A /7a/

Směs 55 mg meziprojektu 5a a 0,5 ml kyseliny trifluor-octové se míchala 5 minut při teplotě místnosti, potom se odpařila za sníženého tlaku a získala se lepkavá pevná látka, která se rozetřela s etherem a získalo se 60 mg sloučeniny 7a ve formě žlutého prášku.

T.t. 189 - 191 °C

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 1780, 1735, 1680, 1370, 1260, 1210, 1140, 1075, 780.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 237 /35500/, 267 /40100/, 309 /6110/, 324 /7350/, 365 /8770/, 388 /11600/, 408 /11900/.

^1H NMR / CDCl_3 + CD_3OD / δ 1,19 /3H, d, J = 7,6 Hz/, 1,37 /3H, d, J = 6 Hz/, 1,42 /3H, s/, 2,52 /3H, s/, 2,71 /3H, s/, 3,45 /3H, s/, 5,74 /1H, d, J = 8 Hz/, 5,83 /1H, d, J = 4 Hz/.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{35}\text{H}_{37}\text{NO}_{14}$ x CF_3COOH x $3\text{H}_2\text{O}$:

C 51,45, H 5,13, N 1,62

nalezeno:

C 51,42, H 4,32, N 1,47

MS: /SIMS/ M/Z 696 /M + H $^+$, 377, 334, 160

Příklad 8

Synthesa 6-O-n-hexanoylsamycinu A /7b/

Směs 60 mg meziprojektu 6b a 0,5 ml 90 %ního vodného roztoku kyseliny trifluor-octové se udržovala při teplotě

místnosti 20 minut. Směs se zahustila a rozetřela, získal se žlutý prášek, který se vyčistil sloupcovou chromatografií na silikagelu, jako eluční činidlo se použil MeOH v CHCl_3 /2 % - 10 %/. Získalo se 29 mg /57 %/ žádaného produktu.

T.t. 184 - 187 °C

IR ν_{max} /KBr/ cm^{-1} 1735, 1675, 1255, 1205, 1135, 1070, 805, 780, 720.

UV λ_{max} /MeOH/ nm / ϵ / 237 /26800/, 267 /29700/, 310 /4590/, 325 /5590/, 365 /6660/, 388 /8760/, 409 /9110/.

^1H NMR / CDCl_3 / δ 0,99 /3H, t, J = 7 Hz/, 1,23 /3H, d, J = 6 Hz/, 1,37 /3H, d, J = 6 Hz/, 1,43 /3H, s/, 2,85 /3H, s/, 3,43 /3H, s/, 5,63 /1H, d, J = 8 Hz/, 5,76 /1H, d, J = 4 Hz/.

MS /SIMS/: M/Z 752 /M + H/ $^+$, 654, 433, 334, 320, 100, 99, 86.

Příklad 9

Synthesa 6-O-/N-trifluoracetyl- β -alanyl/elsamycinu A /7c/

Směs 110 mg meziproductu 5c a 0,5 ml kyseliny trifluoroctové se míchala pomocí ultrazvukových vibrací dokud se nezhomogenizovala, potom se odpařila za sníženého tlaku. Odparek se rozpustil v malém množství vodného roztoku t-BuOH a lyofilizoval se. Získalo se 104 mg /93 %/ titulní sloučeniny.

T.t. 169 - 171 °C

IR ν_{max} /KBr/ cm^{-1} 1740 /sh/, 1720, 1365, 1255, 1200, 1170, 1070, 800, 755, 720.

UV λ_{max} /MeOH/ nm / / 237 /36100/, 267 /40200/, 310 /6230/, 324 /7490/, 365 /8900/, 388 /11700/, 408 /12000/.

$^1\text{H NMR}$ / CDCl_3 + CD_3OD / δ 1,19 /3H, d, $J = 7$ Hz/, 1,28 /3H, d, $J = 7$ Hz/, 1,43 /3H, s/, 2,72 /3H, s/, 3,46 /3H, s/, 5,73 /1H, d, $J = 8$ Hz/, 5,87 /1H, d, $J = 4$ Hz/.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{38}\text{H}_{39}\text{N}_2\text{O}_{15}\text{F}_3 \times \text{CF}_3\text{COOH} \times 5/2\text{H}_2\text{O}$:

C 49,03, H 4,63, N 2,86

nalezeno:

C 48,91, H 4,08, N 3,12

Příklad 10

Synthesa sloučenin č. 7d - 7f

Sloučeniny 7d - 7f byly připraveny z meziproduktů 5d - 5f metodou podobnou té, která byla popsána pro přípravu sloučeniny 7c z meziproduktu 5c. Výtěžky izolace jsou uvedeny.

a/ Synthesa 6-O- β -alanylsamycinu A /7d/

94 mg /91 %/,

t.t. 177 - 179 $^{\circ}\text{C}$ /rozkl./

$\text{IR } \nu_{\text{max}}$ /KBr/ cm^{-1} 3400, 1740, 1730, 1670, 1255, 1170, 1070.

$\text{UV } \lambda_{\text{max}}$ /MeOH/ nm / ϵ / 236 /34700/, 268 /38800/, 309 /6180/,
324 /6910/, 365 /8400/, 390 /10900/,
409 /10700/.

$^1\text{H NMR}$ / D_2O / δ 1,43 /3H, d, $J = 6$ Hz/, 1,49 /3H, d, $J = 6$ Hz/,
1,59 /3H, s/, 2,92 /3H, s/, 3,52 /3H, s/,
5,90 /1H, d, $J = 8$ Hz/, 6,15 /1H, d, $J = 4$ Hz/.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{36}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_{14} \times 2\text{CF}_3\text{COOH} \times 3,5\text{H}_2\text{O}$:

C 47,29, H 4,86, N 2,76

nalezeno:

C 47,18, H 4,22, N 2,71

b/ Synthesa 6-O-L-alanylsamycinu A /7e/

93,7 mg /98 %/,

t.t. 173 - 175 °C /rozkł./

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 3400, 1780, 1610, 1370, 1260, 1180.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 237 /37400/, 268 /34400/, 341 /5800/,
413 /11100/.

^1H NMR / D_2O / δ 1,1 - 1,7 /9H, m/, 1,85 /3H, d, J = 7 Hz/, 2,8
/3H, s/, 3,5 /3H, s/, 5,85 /1H, br./, 6,05
/1H, br./,

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{36}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_{14}$ x $2\text{CF}_3\text{COOH}$ x $3,5\text{H}_2\text{O}$:

C 47,29, H 4,86, N 2,76

nalezeno:

C 47,49, H 4,26, N 2,69

c/ Synthesa 6-O-D-alanylsamycinu A /7f/

91,2 mg /96 %/,

t.t. 187 - 189 °C /rozkł./

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 3400, 1780, 1730, 1370, 1205, 1155, 1105.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 237 /37100/, 268 /35000/, 327 /5790/,
412 /10900/.

^1H NMR / D_2O / δ 1,1 - 1,75 /9H, m/, 2,06 /3H, d, J = 7 Hz/,
2,9 /3H, s/, 3,45 /3H, s/, 5,88 /1H, d, J =
8 Hz/, 6,17 /1H, d, J = 4 Hz/,

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{36}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_{14}$ x $3\text{CF}_3\text{COOH}$:

C 47,29, H 4,06, N 2,63

nalezeno:

C 47,55, H 4,12, N 2,62

Synthesa 6-O-acetyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycinu A /8a/

Roztok 239 mg meziproduktu 6a a 150 mg monohydrátu kyseliny p-toluensulfonové v 0,5 ml acetonu se udržoval na teplotě místnosti 10 minut a odpařil se. Odparek se rozpustil ve 20 ml CHCl_3 a roztok se promyl vodou a solankou. Organický roztok se vysušil nad Na_2SO_4 a odpařil ve vakuu. Odparek se vyčistil sloupcovou chromatografií na silikagelu /15 x 120 mm/, jako eluční činidlo se použil roztok MeOH v CHCl_3 a získalo se 89 mg /42 %/ titulní sloučeniny.

T.t. 220 - 230 °C /rozkl./

IR ν_{max} /KBr/ cm^{-1} 1740, 1500, 1370, 1255, 1215, 1130, 1110, 1070, 1050, 780.

UV λ_{max} /MeOH/ nm / ϵ / 237 /33500/, 267 /36800/, 309 /5420/, 324 /6560/, 363 /7960/, 388 /10200/, 408 /10500/, 449 /1250/.

^1H NMR / CDCl_3 / δ 1,3 - 1,5 /12H, m/, 1,73 /3H, s/, 2,48 /3H, s/, 2,80 /3H, s/, 3,34 /3H, s/, 5,46 /1H, d, $J = 8$ Hz/, 5,88 /1H, d, $J = 4$ Hz/.

Příklad 12

Synthesa 6-O-n-hexanoyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycinu A /8b/

Směs 60 mg meziproduktu 6b a 0,5 ml 99%ní kyseliny trifluoroctové se udržovala při teplotě místnosti. Po 5 minutách se směs odpařila za sníženého tlaku. Odparek se rozetřel s isopropyletherem a získal se žlutý prášek, který se vyčistil sloupcovou chromatografií na silikagelu, jako eluční činidlo se použil roztok MeOH v CHCl_3 a získalo se 32 mg /66 %/ žádaného produktu.

T.t. 160 - 164 °C.

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 1730, 1355, 1240, 1115, 1060, 765.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 236 /36200/, 267 /39500/, 309 /6140/,
324 /7440/, 364 /8760/, 388 /11300/,
408 /11600/.

^1H NMR / CDCl_3 / δ 0,97 /3H, t, $J = 7$ Hz/, 1,30 /3H, d, $J = 6$ Hz/,
1,37 /3H, d, $J = 6$ Hz/, 1,42 /3H, s/, 1,46
/3H, s/, 1,70 /3H, s/, 2,87 /3H, s/, 3,37
/3H, s/, 5,25 /1H, d, $J = 8$ Hz/, 5,80 /1H,
d, $J = 4$ Hz/.

MS /SIMS/: M/Z 792 / $M + H^+$, 694, 433, 360, 334, 160, 99, 86.

Příklad 13

Synthesa 3',4'-O-isopropyliden-6-O-/N-trifluoracetyl- -
alanyl/elsamycinu A /8c/

Roztok 127 mg meziproductu 6c a 77 mg TsOH v 1,5 ml
acetonu se udržoval při teplotě místnosti 15 minut. Reak-
ční směs se odpařila a odstranilo se tak rozpouštědlo.
Odparek se opět rozpustil v acetonu a udržoval se 15 minut
na teplotě místnosti. Odpařování a rozpouštění se opakova-
lo do vymizení výchozího materiálu na TLC / CHCl_3 /MeOH
= 9 : 1/. Odparek se rozpustil v 1,5 ml acetonu a 0,5 ml
2,2-dimethoxypropanu se přidalo k roztoku. Reakční směs
se nechala stát při teplotě okolí 1 hodinu a odpařila se
ve vakuu, získal se olejovitý odparek, který se rozpustil
v 10 ml CHCl_3 a roztok se dvakrát promyl ledovou vodou,
vysušil nad MgSO_4 a odpařil za sníženého tlaku. Získala
se žlutá látka, která se rozetřela s etherem a získalo se
110 mg /81 %/ sloučeniny 8c ve formě žlutého prášku.

T.t. 186 - 187 $^{\circ}\text{C}$

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 1740, 1720, 1500, 1370, 1255, 1215, 1170,
1120, 1070.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 229 /35500/, 236 /37300/, 267 /12500/,
309 /6680/, 323 /8020/, 364 /9260/,
388 /11800/, 427 /11700/.

^1H NMR / CDCl_3 + CD_3OD / δ 1,18 /3H, d, J = 6 Hz/, 1,40 /3H, s/,
1,43 /3H, d, J = 6 Hz/, 1,49 /3H, s/,
1,64 /3H, s/, 2,38 /3H, s/, 3,47 /3H,
s/, 5,73 /1H, d, J = 8 Hz/, 5,96 /1H,
d, J = 4 Hz/, 7,10 /2H, d, J = 8 Hz/,
7,58 /2H, d, J = 8 Hz/.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{41}\text{H}_{43}\text{N}_2\text{O}_{15}\text{F}_3 \times \text{TsOH} \times 3/2\text{H}_2\text{O}$:

C 54,39, H 5,13, N 2,64

nalezeno:

C 54,37, H 4,94, N 2,54

Příklad 14

Synthesa 6-O- β -alanyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycinu A /8d/

Roztok 96,5 mg meziproductu 6d a 85 mg p-TsOH ve 2 ml suchého acetonu se míchal při teplotě místnosti 2,5 hodiny, načež se odpařil ve vakuu. Odparek se rozpustil ve směsi 10 % MeOH v CHCl_3 a roztok se promyl vodou a solankou, vysušil nad MgSO_4 a odpařil ve vakuu. Odparek se rozetřel s etherem a získalo se 44 mg /47 %/ sloučeniny 8d.

T.t. 191 - 193 °C /rozkl./

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 3380, 1730.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 236 /29600/, 267 /32800/, 309 /5080/,
324 /6180/, 364 /7170/, 388 /9150/,
407 /9130/.

^1H NMR / CDCl_3 + CD_3OD + D_2O / δ 1,1 - 1,6 /15H, m/, 2,32 /3H,
s/, 2,85 /3H, s/, 3,07 /2H, m/,
3,45 /3H, s/, 5,56 /1H, d, J =

8 Hz/, 5,96 /1H, d, J = 4 Hz/,
7,02 /2H, d, J = 8 Hz/, 7,64
/2H, d, J = 8 Hz/.

Příklad 15

Synthesa 6-O-L-alanyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycinu A /8e/

Roztok 145 mg meziproduktu 6e a 143 mg p-TsOH ve 3 ml suchého acetonu se míchal při teplotě místnosti 2 hodiny a odpařil se ve vakuu. Odparek se rozpustil ve 20 ml CHCl_3 a roztok se promyl vodou a solankou, vysušil se nad MgSO_4 a odpařil se ve vakuu v přítomnosti malého množství CH_3COOH . Odparek se rozetřel s etherem a sraženina se odfiltrovala. Získalo se 71,7 mg /51 %/ sloučeniny 8e.

T.t. 208 - 210 °C /rozkl./

IR ν_{max} /KBr/ cm^{-1} 3400, 1735, 1495, 1370, 1215, 1070,

UV λ_{max} /MeOH/ nm / ϵ / 237 /36700/, 267 /39200/, 309 /6150/,
324 /7400/, 363 /8740/, 388 /11200/,
407 /11300/.

^1H NMR / CDCl_3 / δ 1,45 /21H, m/, 2,68 /3H, s/, 3,29 /3H, s/,
5,45 /1H, br./, 5,85 /1H, br./.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{39}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_{14}$ x 1/2TsOH x 5/2AcOH x 3/2H₂O:

C 55,49, H 5,98, N 2,72, S 1,52

nalezeno:

C 55,55, H 5,64, N 2,73, S 1,62

Příklad 16

Synthesa 6-O-D-alanyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycinu A /8f/

Roztok 145 mg meziproduktu 6f a 143 mg p-TsOH ve 3 ml

suchého acetonu se míchal při teplotě místnosti 2 hodiny a odpařil se ve vakuu. Odparek se rozpustil ve 20 ml CHCl_3 a roztok se promyl vodou a solankou, vysušil se nad MgSO_4 a odpařil se ve vakuu v přítomnosti malého množství CH_3COOH . Odparek se rozetřel s etherem a sraženina se odfiltrovala. Získalo se 95,6 mg /68 %/ sloučeniny 8f.

T.t. 217 - 219 °C /rozkl./

IRV_{max} /KBr/ cm^{-1} 3400, 1730, 1495, 1370, 1215, 1070, 1025.

$\text{UV}\lambda_{\text{max}}$ /MeOH/ nm / ϵ / 236 /32900/, 267 /36400/, 309 /5730/,
324 /6900/, 363 /8610/, 388 /10300/,
407 /10300/.

$^1\text{H NMR}$ / CDCl_3 / δ 1,45 /21H, m/, 2,67 /3H, s/, 3,4 /3H, s/,
5,24 /1H, d, J = 8 Hz/, 5,91 /1H, br./.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{39}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_{14}$ x 1/2TsOH x 5/2AcOH x 2H₂O:

C 55,01, H 6,02, N 2,70, S 1,54

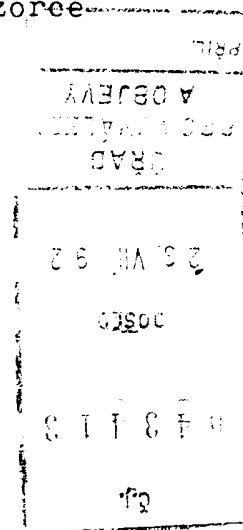
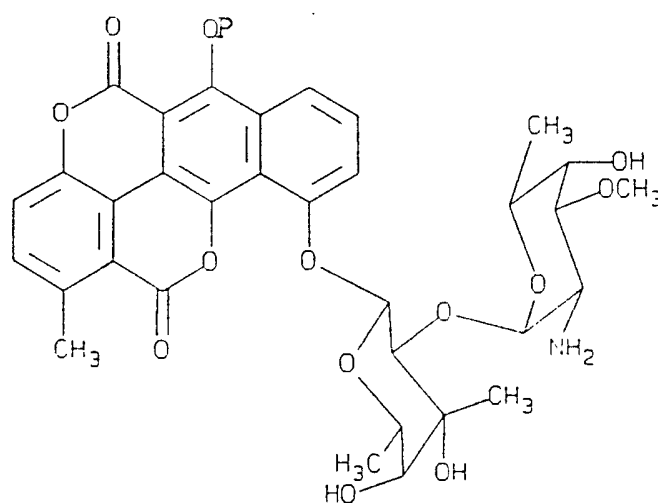
nalezeno:

C 54,90, H 5,81, N 2,60, S 1,43



P A T E N T O V É N Á R O K Y

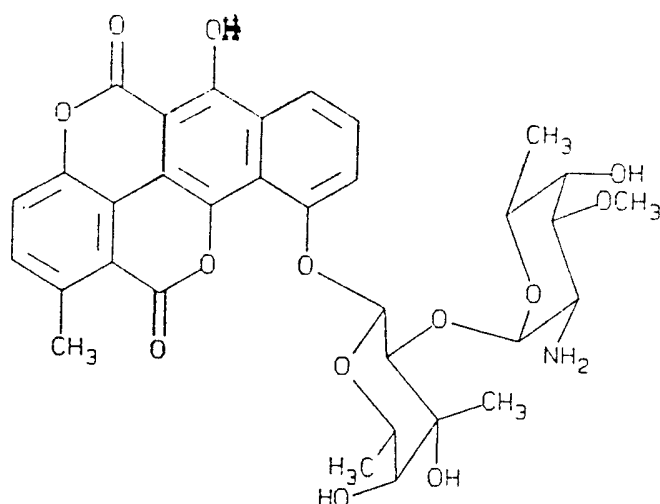
1. Způsob přípravy sloučeniny obecného vzorce



kde

P znamená COR a R je alkyl s 1 až 5 atomy uhlíku, který může být nesubstituovaný nebo substituovaný aminoskupinou nebo acylaminoskupinou, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se N-t-butoxykarbo-nylsamycin A O-acyluje příslušnou karboxylovou kyselinou a dicyklohexylkarbodiimidem v přítomnosti báze, načež se odštěpí chránící skupina.

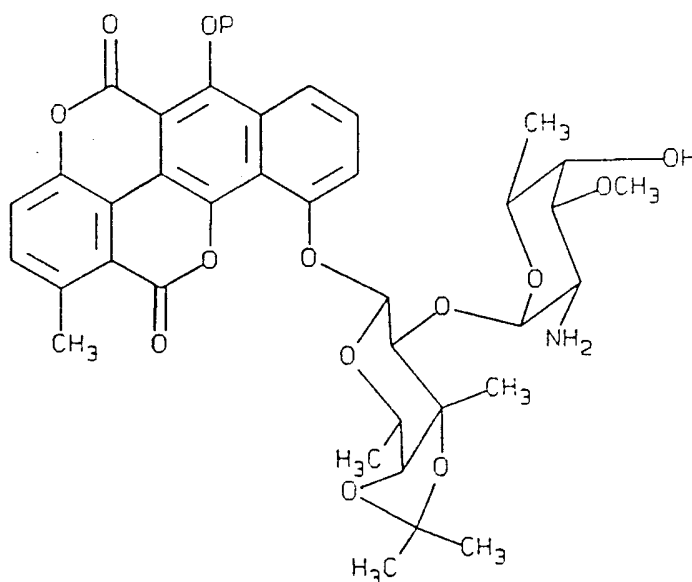
2. Způsob přípravy sloučeniny obecného vzorce



kde

P znamená COR a R je alkyl s 1 až 5 atomy uhlíku, který může být nesubstituovaný nebo substituovaný aminoskupinou nebo acylaminoskupinou, vyznačující se tím, že se N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A O-acyluje příslušnou karboxylovou kyselinou, načež se odštěpí chránicí skupina kyselinou trifluoroctovou.

3. Způsob přípravy sloučeniny obecného vzorce



kde

P znamená COR a R je alkyl s 1 až 5 atomy uhlíku, který může být nesubstituovaný nebo substituovaný aminoskupinou nebo acylaminoskupinou,
v y z n a č u j í c í s e t í m, že se N-t-butoxykarbo-
nyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A acyluje příslušnou
karboxylovou kyselinou a dicyklohexylkarbodiimidem v pří-
tomnosti báze, načež se chránící skupina odštěpí kyseli-
nou p-toluensulfonovou v acetonu nebo kyselinou trifluor-
octovou.

4. Sloučenina připravená způsobem podle kterého-
koliv z nároků 1 a 2, kterou je
6-O-acetylsamycin A,
6-O-n-hexanoylsamycin A,
6-O-/N-trifluoracetyl- -alanyl/samycin A,
6-O-β-alanylsamycin A,
6-O-L-alanylsamycin A nebo

6-O-D-alanylsamycin A.

5. Sloučenina připravená způsobem podle nároku 3, kterou je

6-O-acetyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A,
6-O-n-hexanoyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A,
3',4'-O-isopropyliden-6-O-/N-trifluoracetyl- β -alanyl/elsamycin A,

6-O--alanyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A,
6-O-L-alanyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A nebo
6-O-D-alanyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A.

6. Způsob přípravy meziproductu, 2''-N-t-butoxykarbonylsamycinu A,

v y z n a č u j í c í s e t í m, že se smísí elsamycin A, di-t-butyldikarbonát a triethylamin v dioxanu a míchá se při teplotě místnosti.

7. Způsob přípravy meziproductu, 2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycinu A,

v y z n a č u j í c í s e t í m, že se k roztoku 2''-N-t-butoxykarbonylsamycinu A a 2,2-dimethoxypropanu v suchém dichlormethanu přidá za teploty místnosti kyselina p-toluensulfonová a potom nasycený vodný roztok hydrogenuhlíčitanu sodného.

8. Způsob přípravy meziproductu, 6-O-acetyl-2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycinu A,

v y z n a č u j í c í s e t í m, že se smísí 2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A, kyselina octová, dicyklohexylkarbodiimid a báze v EtOAc při teplotě

místnosti a odparek se potom vyčistí.

9. Způsob přípravy meziprojektu, 2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-n-hexanoyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycinu A, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se smísí 2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A, kyselina octová, dicyklohexylkarbodiimid a báze v EtOAc při teplotě místnosti a odparek se potom vyčistí.

10. Způsob přípravy meziprojektu, 2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropyliden-6-O-/N-trifluoracetyl- β -alanyl/elsamycinu A, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se smísí 2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A, kyselina octová, dicyklohexylkarbodiimid a báze v EtOAc při teplotě místnosti a odparek se potom vyčistí.

11. Způsob přípravy meziprojektu, 2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-/N-t-butoxykarbonyl- β -alanyl/-3',4'-O-isopropylidenelsamycinu A, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se smísí 2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A, kyselina octová, dicyklohexylkarbodiimid a báze v EtOAc při teplotě místnosti a odparek se potom vyčistí.

12. Způsob přípravy meziprojektu, 2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-/N-t-butoxykarbonyl-L-alanyl/-3',4'-O-isopropylidenelsamycinu A, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se smísí 2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A, kyselina octová, dicyklohexylkarbodiimid a báze v EtOAc při teplotě místnosti a odparek se potom vyčistí.

- 38 -

13. Způsob přípravy meziprojektu, 2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-/N-t-butoxykarbonyl-D-alanyl/-3',4'-O-isopropylidenelsamycinu A, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se smísí 2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A, kyselina octová, dicyklohexylkarbodiimid a báze v EtOAc při teplotě místnosti a odparek se potom vyčistí.

14. Způsob přípravy farmaceutického prostředku, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se smísí sloučenina z kteréhokoliv z nároků 1 až 13 s jedním nebo více farmaceutickými nosiči, ředidly nebo excipienty.

15. Sloučenina podle kteréhokoliv z nároků 1 až 13 pro použití při léčení nebo k prevenci tumorů.

ASSOCIATED LAW OFFICES
JUD. DR. J. K. K. K.
1120-1120
Czechoslovakia

92