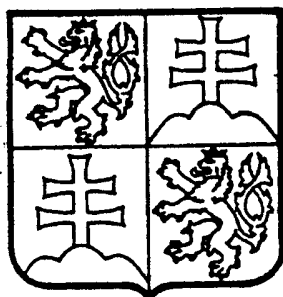


ČESKÁ A SLOVENSKÁ
FEDERATIVNÍ
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU (12)

(22) 26.05.92
(32) 30.05.91
(31) 91/707504
(33) US
(40) 16.12.92

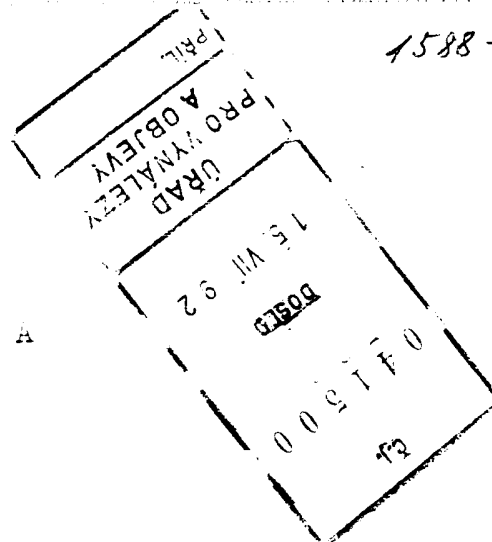
(21) 1588-92
(13) A3
(51) A 61 K 31/71
C 07 H 15/24

(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-alkylelsamycinu A

(57) Nové deriváty elsamycinu A s 6-0-alkylsubstitu entem, způsob výroby těchto derivátů elsamycinu A, protinádorových prostředků obsahujících je jako účinnou složku a způsob léčení s využitím těchto prostředků.



1588-92

Příprava derivátů 6-O-alkylelsamycinu A

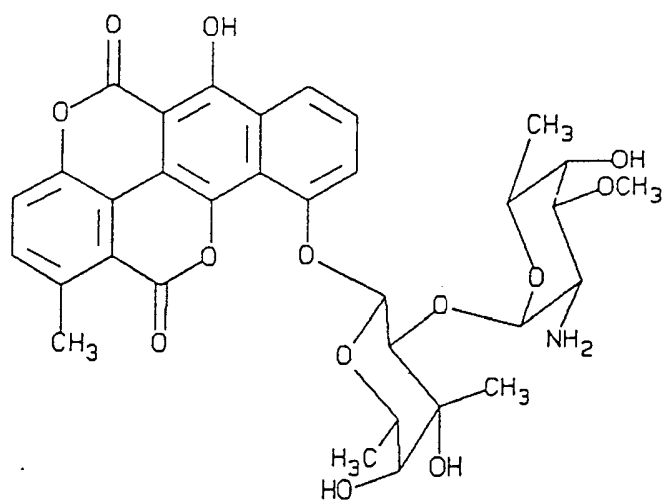
Oblast vynálezu

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 léčebných metod využívajících tyto prostředky.

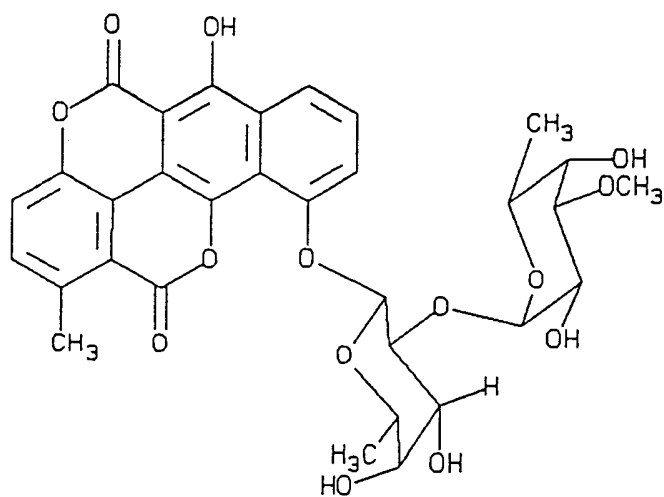
Dosavadní stav techniky

Elsamycin A je antibiotikum s protinádorovým účinkem, produkované kultivací kmene aktinomycet produkujícího elsamycin A, který je označen jako kmen J907-21 /ATCC 39417/, nebo jeho mutanty. Elsamycin A projevuje antibakteriální účinek vůči aerobním gram-positivním bakteriím i vůči anaerobním bakteriím. Rovněž vykazuje in vitro a in vivo účinek proti různým buňkám tumoru u myši, zahrnujícím leukemii P388, lymfoidní leukemii L1210 a melanotický melanom B16. 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, zveř. 21.5.1985.

Struktura elsamycinu A /vzorec I, uveden dále/ byla stanovena a ukázala se být v úzkém vztahu k chartreusinu /vzorec II, uveden 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 and 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 uvedena.

Během chemické modifikace elsamycinu A jsme zjistili, že alkylace na 6-OH skupině elsamycinu A poskytuje nové deriváty mající zvýšený protinádorový účinek, nižší toxicitu a/nebo lepší farmakokinetické vlastnosti.

Předložený vynález poskytuje nové deriváty elsamycinu A, které vykazují zvýšenou protinádorovou aktivitu, nižší toxicitu a/nebo lepší farmakokinetické vlastnosti. Zvláště předložený vynález umožňuje alkylaci hydroxylu v poloze 6 elsamycinu A.

Vynález dále poskytuje protinádorový prostředek obsahující jako účinnou složku alespoň jednu sloučeninu vybranou ze skupiny zahrnující deriváty elsamycinu A podle vynálezu.

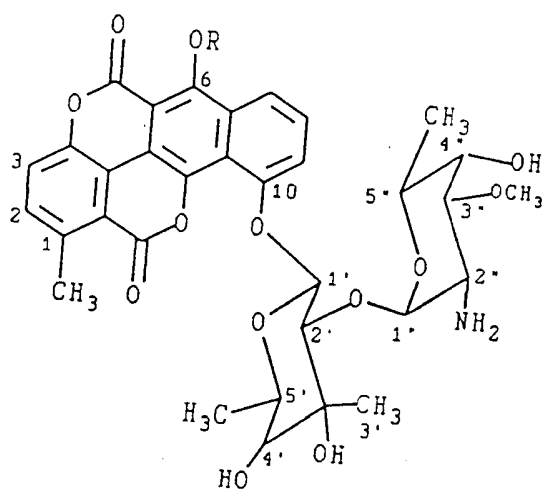
Dále vynález poskytuje způsob léčení rakoviny využívající shora uvedený protinádorový prostředek.

Dále je poskytnut způsob výroby shora uvedeného derivátu elsamycinu A.

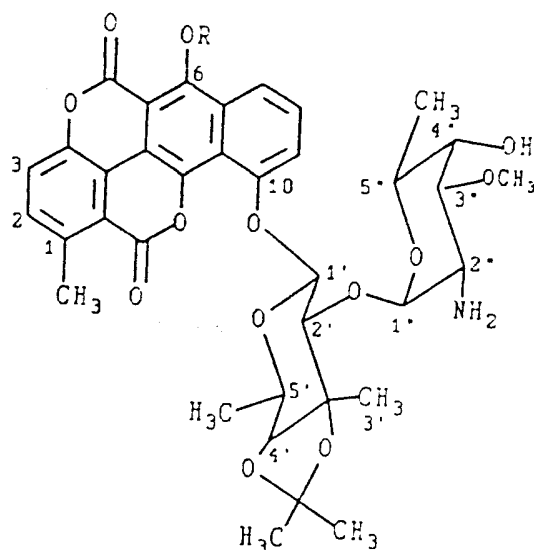
US patent 3. 4 518 559 Konishi et al, popisuje výrobu a izolaci protinádorového činidla označeného elsamycin A. /vzorec I uvedený níže/. Shora uvedená sloučenina elsamycin A je hlavní složkou fermentu ze kmenů aktinomyceet produkujícího elsamycin A, který je označen jako kmen J907-21 /ATCC 32117/.

Nyní bylo podle předloženého vynálezu nalezeno, že alkylace 6-OH skupiny elsamycinu A poskytuje nové deriváty, které vykazují zvýšenou protinádorovou aktivitu, nižší toxicitu a/nebo lepší farmakokinetické vlastnosti.

Deriváty elsamycinu A podle vynálezu mají obecný vzorec III a IV, které jsou uvedeny dále



III



IV

kde R je alkyl s 1 až 10 atomy uhlíku a s přímým řetězcem, nebo substituovaný nebo nesubstituovaný aminoalkyl.

Výrazem "alkyl s 1 až 10 atomy uhlíku", jak je užit zde a v nárocích /pokud není uvedeno jinak/ se rozumí rozvětvený nebo přímý řetězec uhlovodíkové skupiny, mající 1 až 10 atomů uhlíku, jako je methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl, t-butyl apod.

Deriváty elsamycinu podle vynálezu se mohou vyrábět například syntetickým pochodem znázorněným ve schematu 1. Jak je ukázáno ve schematu 1, byly 6-O-alkylderiváty /7/ a odpovídající 6-O-alkyl-3',4'-O-isopropylidenderiváty /8/ připraveny přes N-t-butoxykarbonyl /t-BOC/ elsamycin /3/ a/nebo jeno 3',4'-O-isopropylidenderivát/IP/ /4/. 6-O-Alkylace derivátů 3 a 4 se uskutečnila reakcí s vhodnými alkylhalogenidy v přítomnosti jodidu draselného /KI/ a uhličitanu draselného /K₂CO₃/ v dimethylsulfoxidu /DMSO/ a poskytl odpovídající 6-O-alkylderiváty 5 resp. 6. t-BOC skupina derivátu 5 se odstranila reakcí s vodným roztokem kyseliny trifluoroctové, čímž se získal derivát 7. Podobné reakce derivátu 6 s TFA měla za následek odblokování jak

t-BOC tak IP skupin za vzniku sloučeniny 7. 6-O-Elsamycin A /7a/ se rovněž získal přímou O-methylací sloučeniny 1 diazometnanem ve směsi dioxan-ether.

t-BOC skupina derivátu 6 se selektivně odštěpila působením kyseliny toluensulfonové /TsOH/ v acetonu nebo kyseliny trifluoroctové /TFA/ při teplotě místnosti za vzniku sloučeniny 8. Ftalimid skupina sloučeniny 8h se odstranila reakcí s hydrazinhydrátem, získala se sloučenina 8i, která se eliminací IP skupiny převedla na sloučeninu 7i.

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

TABULKA 1

Sloučeniny podle vynálezu a jejich číselné označení

slouč. č.	název
<u>1</u>	Elsamycin A
<u>2</u>	Chartreusin
<u>3</u>	2''-N-t-butoxykarbonylsamycin A
<u>4</u>	2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropyliden-samycin A
<u>5a</u>	2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-methylsamycin A
<u>5c</u>	2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-n-propylsamycin A
<u>5d</u>	2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-isopropylsamycin A

TABULKA 1 /pokračování/

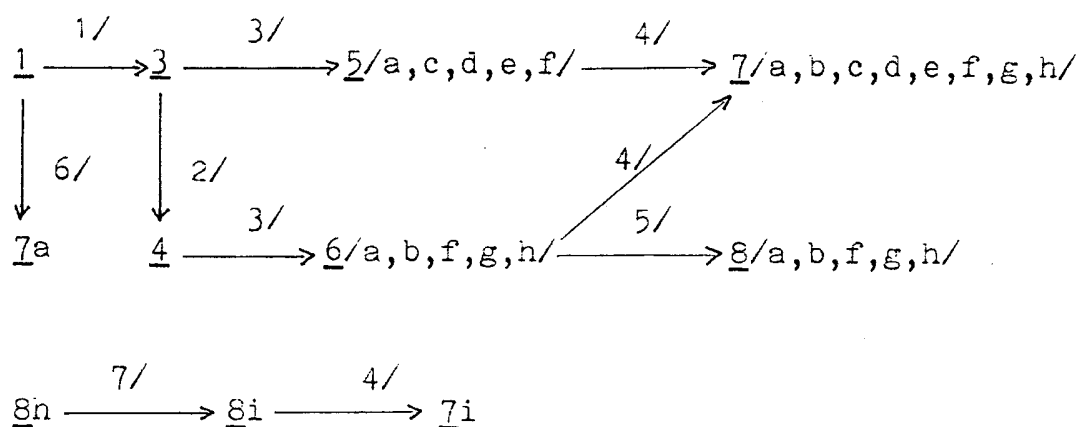
<u>5e</u>	2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-n-butylelsamycin A
<u>5f</u>	2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-n-hexylelsamycin A
<u>6a</u>	2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropyliden-6-O-methylelsamycin A
<u>6b</u>	2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-ethyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A
<u>6f</u>	2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-n-hexyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A
<u>6g</u>	2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-n-decyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A
<u>6h</u>	2''-N-t-butoxykarbonyl-3,4-isopropyliden-6-O-/3-ftalimidopropyl/elsamycin A
<u>7a</u>	6-O-methylelsamycin A
<u>7b</u>	6-O-ethylelsamycin A
<u>7c</u>	6-O-n-propylelsamycin A
<u>7d</u>	6-O-isopropylelsamycin A
<u>7e</u>	6-O-n-butylelsamycin A
<u>7f</u>	6-O-n-hexylelsamycin A
<u>7g</u>	6-O-n-decylelsamycin A
<u>7h</u>	6-O-/3-ftalimidopropyl/elsamycin A

TABULKA 1 /pokračování/

<u>7i</u>	6-O-/3-aminopropyl/elsamycin A
<u>8a</u>	3',4'-O-isopropyliden-6-O-methylelsamycin A
<u>8b</u>	6-O-ethyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A
<u>8f</u>	6-O-n-hexyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A
<u>8g</u>	6-O-n-decyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A
<u>8h</u>	3',4'-O-isopropyliden-6-O-/3-ftalimidopropyl/elsamycin A
<u>8i</u>	6-O-/3-aminopropyl/-3',4'-isopropylidenelsamycin A

Schema 1

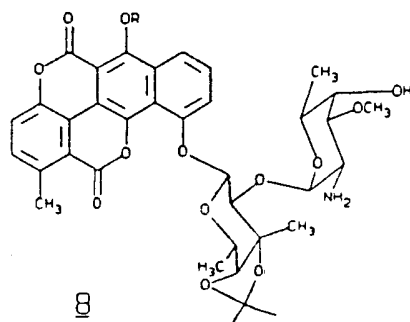
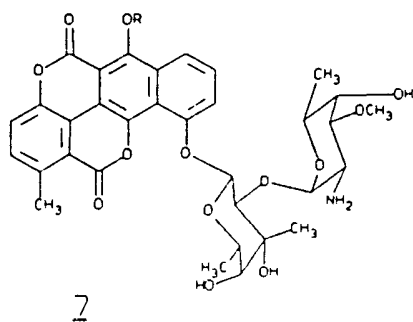
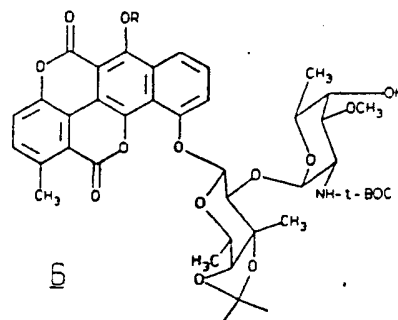
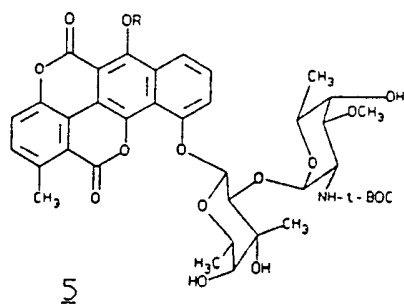
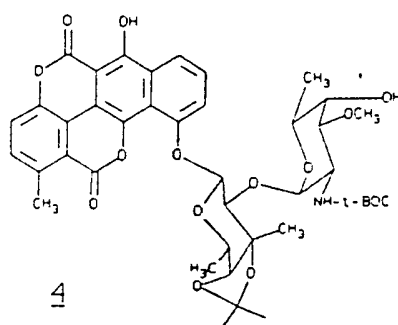
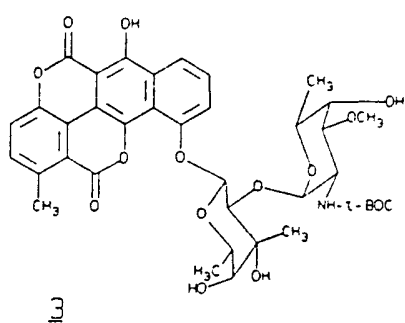
Synthesa 6-O-alkylderivátů elsamycinu A

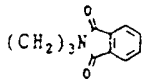


1/ /t-BOC/₂O / NEt₃

2/ /CH₃O/₂C/CH₃/₂ / TsOH

- 3/ alkylhalogenid / K_2CO_3 v DMSO s nebo bez KI
- 4/ TFA
- 5/ TsOH / aceton
- 6/ CH_2N_2
- 7/ $NH_2NH_2 \times H_2O$



- R = (a) CH_3
(b) C_2H_5
(c) $n\text{-C}_3\text{H}_7$
(d) $i\text{-C}_3\text{H}_7$
(e) $n\text{-C}_4\text{H}_9$
(f) $n\text{-C}_6\text{H}_{13}$
(g) $n\text{-C}_{10}\text{H}_{21}$
(h) 
(i) $(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$

Protinádorový účinek derivátů 6-O-alkylelsamycinu A

Patnáct derivátů 6-O-alkylelsamycinu A bylo syntetizováno a následně testováno ve srovnání s mateřskou sloučeninou na protinádorové účinky *in vitro* a *in vivo*.

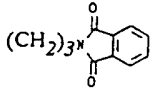
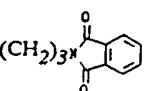
Pro zkoušku cytotoxicity *in vitro* se vypěstovaly buňky myšího melanomu B16-F10 a udržovaly se v minimálním esenciálním mediu podle Eaglea /Nissui/, které obsahuje kanamycin /60 $\mu\text{g}/\text{ml}$ /, doplněném tepelně inaktivovaným fetálním telecím sérem /10 %/ a neesenciálními aminokyselinami /0,6 %/ při 37 °C ve zvlhčené atmosféře v 5 % CO_2 inkubátoru. Exponenciálně rostoucí buňky B16-F10 se shromáždily, 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 rozto- kem. Jak je ukázáno v tabulce 2, vykazují 6-O-ethylelsamycin A

7b, 6-O-n-propylelsamycin A 7c, 6-O-n-butylelsamycin A 7e a 6-O-etnyl-3',4'-isopropylidenelsamycin A 8b přibližně rovnocennou cytotoxicitu jako mateřská sloučenina vůči buňkám B16-F10. Ostatních jedenáct alkylderivátů bylo méně účinných.

Protinédorový účinek in vivo snora uvedených patnácti derivátů se testoval v systému lymfocytární leukemie P388 a v systému melanomu B16. Samice myši CDF₁ /pro P388/ a samci myši BDF₁ /pro B16/ se naočkovali ip injekcí 10^6 buněk P388 a 0,5 ml 10 % suspenze B16 na myš /den 0/. Testované 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/ ošetřovaných zvířat ve srovnání s neošetřenou kontrolou byla stanovena a označena jako T/C %. Sloučeniny vykazující hodnoty T/C % 125 nebo větší projeví výrazný protinédorový účinek. Podobně jako u cytotoxicity in vitro byly deriváty 7b, 7c, 7e a 8b stejně účinné jako elsamycin A v systému P388 a jeví se být méně toxické /tabulka 2/. Na druhé straně, ačkoliv 6-O-methylelsamycin A 7a a 3',4'-O-isopropyliden-6-O-methylelsamycin A 8a byly méně cytotoxické než mateřská sloučenina, vykazaly přibližně stejnou anti-P388 aktivitu z hlediska minimálních účinných dávek. Jak je ukázáno v tabulce 3, sedm derivátů testovaných v systému B16 vykazalo docela dobrou reakci vůči tumoru. Zejména sloučeniny 7a, 7b a 8a projevily vynikající chemotherapeutický účinek s vysokými hodnotami T/C %, protože při dávkách 10 - 40 mg/kg/den bylo pozorováno několik přežívajících jedinců. 50. den.

TABULKA 2

Cytotoxicita proti melanomu B16 in vitro a protinádorový účinek proti leukemii P388 u myši in vivo

slouč.	R	Cytotoxicita IC ₅₀ (μg/ml)	T/C % MST ⁺¹						
			40 ⁺²	20	10	3	1	0.3	0.1
<u>7a</u>	CH ₃	0.19	184	205	160	140	125	135	120
<u>7b</u>	C ₂ H ₅	0.06	180	170	170	150	130	125	110
<u>7c</u>	n-C ₃ H ₇	0.03	159	155	152	152	133	129	105
<u>7d</u>	i-C ₃ H ₇	0.49			148	133	124	119	95
<u>7e</u>	n-C ₄ H ₉	0.03	164	141	162	152	133	124	110
<u>7f</u>	n-C ₆ H ₁₃	0.11			140	130	120	105	100
<u>7g</u>	n-C ₁₀ H ₂₁	2.5			100	115	105	115	
<u>7h</u>		0.71			140	125	120	105	105
<u>7i</u>	(CH ₂) ₃ NH ₂	2.3			130	110	110	105	
<u>8a</u>	CH ₃	0.08			245	160	135	120	110
<u>8b</u>	C ₂ H ₅	0.06		200	190	140	125	125	110
<u>8f</u>	n-C ₆ H ₁₃	0.9			120	115	110	110	110
<u>8g</u>	n-C ₁₀ H ₂₁	2.9			100	115	105	115	
<u>8h</u>		0.4			130	120	110	110	100
<u>8i</u>	(CH ₂) ₃ NH ₂	1.8			135	120	110	105	
Elsamicin A (1)		0.05		Tox	206	180	155	138	124

⁺¹ střední doba přežití udané ve dnech

⁺² dávka v mg/kg/den, Q1D x 3 ip

TABULKA 3

Protinádorový účinek proti B16 melanomu u myši in vivo

slouč.	T/C %			MST ⁺¹			
	40 ⁺²	20	10	3	1	0.3	0.1
<u>7a</u>	≥370 (3/4) ⁺³	≥370 (3/4)	262	197	147	121	106
<u>7b</u>			≥313 (3/4)	178	144	113	103
<u>7e</u>			213	160	127	123	
<u>7f</u>			146	132	129	111	107
<u>7g</u>			183	153	126	107	
<u>8a</u>		≥370 (3/4)	285	215	141	104	
<u>8b</u>			216	153	119	106	97
Elsamicin A (1)			≥305 (9/24)	≥216 (2/24)	178	139	120

⁺¹ střední doba přežití udané 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 kompozice, 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 nalezen způsob terapeutického ošetřování živočichů, především savců, za-

sažených tumorem, který spočívá v podávání účinné, tumor inhibující dávky antibiotika, sloučeniny vzorce III nebo IV.

Příklady vhodných kompozic zahrnují pevné prostředky pro orální podávání, jako jsou tablety, tobolky, pastilky, prášky a granule, kapalně prostředky pro orální podávání, jako jsou roztoky, suspenze, sirupy a elixíry a přípravky pro parenterální podávání, jako jsou sterilní roztoky, suspenze nebo emulze. Mohou se zpracovat do formy sterilních pevných prostředků, které se mohou rozpustit ve sterilní vodě, fyziologickém roztoku nebo některém jiném mediu pro injekce bezprostředně před použitím.

Je třeba si uvědomit, že aktuální preferované dávkování derivátu elsamycinu A podle vynálezu se může měnit podle konkrétně použité sloučeniny, konkrétní formy prostředku, podle způsobu aplikace a konkrétního místa, pacienta a nemoci, která se léčí. Mnohé faktory, které modifikují působení léčiva, například věk, tělesná hmotnost, pohlaví, strava, doba podávání, rychlost exkrece, kondice pacienta, kombinace léčiv, citlivost a obtížnost onemocnění budou jistě odborníkem v oboru brány v úvahu. Podávání se může provádět buď kontinuálně nebo periodicky v rámci maximálně tolerované dávky. Optimální aplikační rychlosti pro daný soubor podmínek může odborník v oboru snadno zjistit použitím testů ke stanovení konvenčního dávkování.

Vynález je ilustrován následujícími příklady, které nemají být chápány jako omezení rozsahu vynálezu.

Dále jsou uvedeny příklady specifické syntézy derivátů 3 až 6n, z nichž se syntetizují sloučeniny podle vynálezu 7 a 8 dříve uvedenými způsoby.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

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

Směs 653 mg /1 mmol/ elsamycinu A, 348 mg /1,6 mmol/ di-t-butylkarbonátu a 0,14 ml /1 mmol/ triethylaminu v 10 ml dioxanu se míchala při teplotě místnosti přes noc. Reakční směs se odpařila ve vakuu za vzniku polokrystalického odpar-ku, který se překrystaloval z CH_2Cl_2 /ether. Získalo se 768 mg /100 %/ 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, $J = 7$ Hz/, 1,36 /3H, s/, 1,39 /3H, d, $J = 6$ Hz/, 2,68 /3H, s/, 3,35 /3H, s/, 5,37 /1H, d, $J = 8$ Hz/, 4,66 /1H, d, $J = 4$ Hz/, 8,18 /1H, dd, $J = 8$ 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 2''-N-t-butoxykarbonylsamycinu A /3/

a 1,2 ml 2,2-dimethoxypropanu ve 4 ml suchého CH_2Cl_2 se přidalo 5 mg TsOH a směs se nechala stát při teplotě místnosti přes noc. Přidal se nasycený vodný roztok NaHCO_3 a reakční směs se energicky míchala. Organická vrstva se vyjmula, vysušila pomocí MgSO_4 a odpařila ve vakuu. Získalo se 190 mg /90 %/ žluté pevné látky.

T.t. 168 - 169 °C.

$\text{IR}_{\text{max}}^{\nu}$ /KBr/ cm^{-1} 3420, 1740, 1690, 1505, 1375, 1250, 1065, 780.

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

$^1\text{H NMR}$ / 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 2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-methylelsamycinu A /2a/

Směs 753 mg 2''-N-t-butoxykarbonylsamycinu A /3/, 186 μl methyljodidu a 276 mg K_2CO_3 v 10 ml suchého DMSO se míchala při teplotě místnosti 24 hodin. Potom se reakční směs zředila vodou a extrahovala pomocí CHCl_3 . Extrakt se vysušil pomocí MgSO_4 a odpařil za sníženého tlaku. Získal se olejovitý odparek, který se vyčistil sloupcovou chromatografií na silikagelu s použitím 1 - 3 % MeOH v CHCl_3 jako elučního činidla. Získalo se 572 mg /75 %/ titulního

produktu.

T.t. 183 - 185 °C.

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 1740, 1610, 1495, 1365, 1250, 1070, 1050.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 236 /36000/, 266 /40300/, 327 /7070/,
369 /8830/, 390 /12700/, 411 /13700/.

^1H NMR / CDCl_3 / δ 0,77 /9H, s/, 1,27 /3H, d, J = 6 Hz/, 1,38 /3H, s/, 1,42 /3H, d, J = 6 Hz/, 2,85 /3H, s/, 3,38 /3H, s/, 4,15 /3H, s/, 5,39 /1H, d, J = 8 Hz/, 5,63 /1H, d, J = 4 Hz/.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{39}\text{H}_{45}\text{NO}_{15} \times \text{H}_2\text{O}$: C 59,61, H 6,03, N 1,78
nalezeno: C 59,54, H 5,76, N 1,64

Deriváty 5c - 5f se připravily z meziprojektu 3 metodou podobnou té, které byla popsána pro přípravu meziprojektu 5a. Alkylační činidla, výtěžky a fyzikálně-chemické údaje produktů jsou uvedeny.

Příklad 4

Synthesa 2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-n-propylelsamycinu A /5c/

Alkylační činidlo: n-propyljodid. Výtěžek: 77 %

T.t. 167 - 169 °C.

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 3420, 1735, 1360, 1255, 1070.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 237 /35400/, 266 /39400/, 328 /7190/,
371 /8920/, 391 /12900/, 411 /13900/.

^1H NMR / CDCl_3 / δ 0,77 /9H, s/, 1,05 - 1,50 /12H, m/, 2,08 /3H, s/, 3,38 /3H, s/, 5,40 /1H, d, J = 8 Hz/, 5,68 /1H, d, J = 4 Hz/.

Analýza

vypočteno pro $C_{41}H_{49}NO_{15} \times H_2O$: C 60,51, H 6,32, N 1,72

nalezeno: C 60,62, H 6,23, N 1,66

Příklad 5

Synthesa 2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-isopropylelsamycinu A /5d/

Alkylační činidlo: isopropyljodid. Výtěžek: 81 %

T.t. 169 - 171 °C.

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 3420, 1730, 1370, 1250, 1075.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 236 /35700/, 266 /39200/, 329 /7040/,
372 /8760/, 393 /12800/, 414 /13800/.

1H NMR / $CDCl_3$ / δ 0,80 /9H, s/, 1,15 - 2,00 /15H, m/, 2,85
/3H, s/, 3,88 /3H, s/, 4,22 /1H, m/, 5,38
/1H, d, J = 8 Hz/, 5,60 /1H, d, J = 4 Hz/.

Analýza

vypočteno pro $C_{41}H_{49}NO_{15} \times 1/2 H_2O$: C 61,19, H 6,26, N 1,74

nalezeno: C 61,06, H 6,15, N 1,70

Příklad 6

Synthesa 2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-n-butylelsamycinu A /5e/

Alkylační činidlo: n-butyljodid. Výtěžek: 81 %

T.t. 164 - 166 °C.

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 3420, 1725, 1360, 1255, 1070.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 237 /36600/, 265 /40400/, 327 /7460/,
371 /9230/, 391 /13300/, 411 /14300/.

1H NMR / $CDCl_3$ / δ 0,78 /9H, s/, 1,05 /3H, t, J = 7 Hz/, 1,32
/3H, d, J = 6 Hz/, 1,38 /3H, s/, 1,42 /3H,

d, J = 6 Hz/, 1,61 /2H, m/, 1,98 /2H, m/,
2,84 /3H, s/, 3,38 /3H, s/, 5,40 /1H, d,
J = 8 Hz/, 5,63 /1H, d, J = 4 Hz/.

Analýza

vypočteno pro $C_{42}H_{51}NO_{15} \cdot x H_2O$: C 60,93, H 6,45, N 1,69
nalezeno: C 61,08, H 6,37, N 1,76

Příklad 7

Synthesa 2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-n-hexylelsamycinu A /5f/

Alkylační činidlo: n-hexylbromid /alkylace se provádě-
la v přítomnosti KI/. Výtěžek: 84 %

T.t. 145 - 147 °C.

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 1740, 1360, 1250, 1165, 1105, 1070, 780.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 237 /37700/, 266 /41000/, 327 /7690/,
370 /9260/, 391 /13300/, 412 /14300/.

1H NMR / $CDCl_3$ / δ 0,75 /9H, s/, 0,94 /3H, t, J = 6 Hz/, 1,27
/3H, d, J = 6 Hz/, 1,34 /3H, s/, 1,42 /3H,
d, J = 6 Hz/, 2,83 /3H, s/, 3,37 /3H, s/,
5,38 /1H, d, J = 8 Hz/, 5,61 /1H, d, J = 4
Hz/, 8,20 /1H, d, J = 8 Hz/.

Analýza

vypočteno pro $C_{44}H_{55}NO_{15} \cdot x H_2O$: C 61,74, H 6,71, N 1,64
nalezeno: C 61,88, H 6,58, N 1,57

Příklad 8

Synthesa 2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropyliden-6-O-
methylelsamycinu A /6a/

Směs 952 mg 2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycinu A /4/, 995 mg K_2CO_3 a 1,02 g MeI ve 20 ml DMSO se míchala při teplotě místnosti 18 hodin a 2 hodiny při 60 °C, zředila se vodou a extrahovala se EtOAc. Extrakt se promyl vodou, vysušil nad Na_2SO_4 a odpařil se ve vakuu. Olejovitý odparek se přečistil sloupcovou chromatografií na silikagelu, s použitím CH_3OH v CH_2Cl_2 /0 - 2 %/ jako elučního činidla. Získalo se 831 mg /86 %/ titulní sloučeniny.

T.t. 160 - 162 °C.

IR ν_{max} /KBr/ cm^{-1} 3450, 2980, 2860, 1745, 1715sh.

UV λ_{max} /MeOH/ nm / ϵ / 236 /35400/, 266 /39600/, 327 /6960/, 366 /8630/, 390 /12100/, 410 /12800/.

1H NMR / $CDCl_3$ / δ 0,65 /9H, s/, 1,38 /9H, m/, 1,65 /3H, s/, 1,70 /3H, s/, 2,82 /3H, s/, 3,38 /3H, s/, 4,15 /3H, s/, 5,24 /1H, d, $J = 8$ Hz/, 5,82 /1H, d, $J = 4$ Hz/, 8,21 /1H, d, $J = 8$ Hz/.

Analýza

vypočteno pro $C_{42}H_{49}NO_{15} \times 1,5 H_2O$: C 60,42, H 6,28, N 1,68
nalezeno: C 60,16, H 5,96, N 1,61

Meziprodukty 6b, 6f, 6g a 6h byly připraveny z meziprojektu 4 metodou podobnou té, která byla popsána pro přípravu meziprojektu 6a. Alkylační činidla, výtěžky a fyzikálně-chemické údaje produktů jsou uvedeny.

Příklad 9

Synthesa 2''-N-t-butoxykarbonyl-6-C-ethyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycinu A /6b/

Alkylační činidlo: ethylbromid /reakce se prováděla

v přítomnosti KI/. Výtěžek: 94 %

T.t. 161 - 183 °C.

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 3420, 2970, 2925, 2860, 1735.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 236 /35800/, 266 /40100/, 326 /7360/,
369 /8960/, 390 /12700/, 411 /13200/.

^1H NMR / CDCl_3 / δ 0,65 /9H, s/, 1,15 - 1,85 /18H/, 2,90 /3H, s/,
4,25 /2H, q, $J = 7$ Hz/, 5,25 /1H, d, $J = 8$
Hz/, 5,80 /1H, d, $J = 4$ Hz/, 8,23 /1H, dd,
 $J = 8$ a 1 Hz/.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{43}\text{H}_{51}\text{NO}_{15} \times \text{H}_2\text{O}$: C 61,49, H 6,36, N 1,67
nalezeno: C 61,67, H 6,19, N 1,66

Příklad 10

Synthesa 2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-n-hexyl-3',4'-O-iso-propylidenelsamycinu A /6f/

Alkylační činidlo: n-hexylbromid /v přítomnosti KI/.

Výtěžek: 98 %

T.t. 143 - 145 °C.

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 3440, 2970, 2930, 2855, 1740.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 236 /37900/, 266 /40800/, 327 /7450/,
368 /8960/, 391 /12600/, 411 /13400/.

^1H NMR / CDCl_3 / δ 0,65 /9H, s/, 0,93 /3H, t, $J = 7$ Hz/, 1,38
/15H, m/, 1,63 /3H, s/, 1,70 /3H, s/, 2,05
/2H, m/, 2,90 /3H, s/, 3,38 /3H, s/, 4,17
/2H, q, $J = 7$ Hz/, 5,24 /1H, d, $J = 8$ Hz/,
5,79 /1H, d, $J = 4$ Hz/.

Analýza

vypočteno pro $C_{47}H_{59}NO_{15} \times H_2O$: C 63,00, H 6,86, N 1,56
nalezeno: C 63,12, H 7,01, N 1,52

Příklad 11

Synthesa 2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-n-decyl-3',4'-O-iso-propylidenelsamycinu A /6q/

Alkylační činidlo: n-decylbromid /v přítomnosti KI/.
Výtěžek: 50 %

T.t. 113 - 115 °C.

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 3440, 2970, 2920, 2840, 1740.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 236 /38100/, 266 /41600/, 327 /8200/,
367 /9530/, 390 /13300/, 411 /14000/.

1H NMR / $CDCl_3$ / δ 0,65 /9H, s/, 0,89 /3H, m/, 1,05 - 1,80
/29H, m/, 2,05 /2H, m/, 2,90 /3H, s/, 3,39
/3H, s/, 4,16 /2H, t, J = 7 Hz/, 5,25 /1H,
d, J = 8 Hz/, 5,80 /1H, d, J = 4 Hz/.

Analýza

vypočteno pro $C_{51}H_{67}NO_{15} \times 1/2 H_2O$: C 64,95, H 7,27, N 1,49
nalezeno: C 64,98, H 7,24, N 1,46

Příklad 12

Synthesa 2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropyliden-6-O-
/3-ftalimidopropyl/elsamycinu A /6h/

Alkylační činidlo: 3-ftalimidopropylchlorid /v pří-
tomnosti KI/. Výtěžek: 100 %

T.t. 157 - 159 °C.

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 3340, 1740, 1710, 1495, 1395, 1365, 1250, 1070, 785.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 220 /55900/, 234 /49000/, 267 /40100/, 326 /7560/, 368 /8930/, 391 /12500/, 411 /13100/.

^1H NMR / CDCl_3 / δ 0,70 /9H, s/, 1,25 - 1,5 /12H, m/, 1,70 /3H, s/, 2,43 /2H, kvint, $J = 7$ Hz/, 2,90 /3H, s/, 3,38 /3H, s/, 5,25 /1H, d, $J = 8$ Hz/, 5,82 /1H, d, $J = 4$ Hz/.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{52}\text{H}_{56}\text{N}_2\text{O}_{17} \times 1/2 \text{H}_2\text{O}$: C 63,33, H 5,55, N 2,69
nalezeno: C 63,32, H 5,68, N 2,77

Příklad 13

Synthesa 6-O-methylelsamycinu A /7a/

Metoda A

Etherický roztok diazomethanu /připravený z 500 mg N-nitrosomethylmočoviny/ se přidal k suspenzi 130 mg elsamycinu A ve 20 ml dioxanu. Reakční směs se míchala při teplotě místnosti 3 hodiny, přidal se etherický diazomethan v témže množství a směs se znovu míchala při teplotě místnosti další hodinu, potom se odpařila ve vakuu, čímž se získala amorfni žlutá látka, která se vyčistila následnou preparativní chromatografií na tenké vrstvě s použitím CHCl_3 -MeOH-28 % NH_4OH /8 : 3 : 1/ a CHCl_3 -MeOH /4 : 1/ jako vyvolávacího rozpouštědla. Získalo se 73 mg /55 %/ titulní sloučeniny.

T.t. 176 - 179 °C.

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 3400, 1735, 1365, 1250, 1105, 1075, 780.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 237 /37600/, 265 /41600/, 327 /7680/.

$^1\text{H NMR}$ / $\text{CDCl}_3 + \text{D}_2\text{O}$ / 368 /9140/, 390 /13100/, 410 /13900/.
1,30 /3H, d, $J = 6,0 \text{ Hz}$ /, 1,38 /3H, s/,
1,40 /3H, d, $J = 6 \text{ Hz}$ /, 2,82 /3H, s/,
3,39 /3H, s/, 4,14 /3H, s/, 5,35 /1H, d,
 $J = 8 \text{ Hz}$ /, 5,54 /1H, d, $J = 4 \text{ Hz}$ /, 8,12
/1H, d, $J = 8 \text{ Hz}$ /.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{35}\text{H}_{37}\text{NO}_{13} \times 1/2\text{H}_2\text{O}$: C 60,35, H 5,66, N 2,07
nalezeno: C 60,05, H 5,68, N 2,57

SIMS M/Z 668 /M + H/ $^+$, 348, 320, 160.

Metoda B

321 mg 2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-methylelsamycinu /5a/ se rozpustilo v 1 ml 90 %ní kyselině trifluoroctové. Reakční směs se udržovala na teplotě místnosti 5 minut a zahustila se za sníženého tlaku. Ke zbytku se přidala směs 10 ml nasyceného vodného roztoku NaHCO_3 a CHCl_3 . Vrstva CHCl_3 se vyjmula, vysušila pomocí Na_2SO_4 a odpařila. Získal se žlutý odparek, který se vyčistil sloupcovou chromatografií na silikagelu a získalo se 217 mg /78 %/ žádaného produktu.

T.t. 176 - 178 $^{\circ}\text{C}$.

Hodnoty spekter tohoto produktu byly zcela identické s hodnotami produktu reakce elsamycinu A a diazomethanu.

Metoda C

242 mg 2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropyliden-6-O-methylelsamycinu A /6a/, se rozpustilo v 0,5 ml kyseliny trifluoroctové při teplotě místnosti. Po 5 minutách se kyselina trifluoroctová odpařila za sníženého tlaku a odparek se rozpustil ve směsi 10 ml nasyceného rozto-

ku NaHCO_3 a 10 ml CHCl_3 . Organická vrstva se vyjmula, vysušila pomocí Na_2SO_4 a odpařila. Získala se žlutá hmota, která se vyčistila sloupcovou chromatografií na silikagelu a získalo se 154 mg /77 %/ žádaného produktu.

T.t. 176 - 178 °C.

Hodnoty spekter tohoto produktu byly zcela identické s hodnotami produktu získaného metodou A.

Sloučeniny 7c - 7f se připravily z derivátů 5c - 5f postupem podobným tomu, který byl popsán při přípravě sloučeniny 7a z derivátu 5a /metoda B/. Výtěžky a fyzikálně-chemické údaje produktů jsou uvedeny.

Příklad 14

Synthesa 6-O-n-propylelsamycinu A /7c/

Výtěžek z 5c: 72 %

T.t. 159 - 161 °C.

IR ν_{max} /KBr/ cm^{-1} 3420, 1735, 1360, 12505, 1110.

UV λ_{max} /MeOH/ nm / ϵ / 237 /34900/, 266 /38600/, 327 /7310/,
368 /8560/, 396 /12300/, 411 /13000/.

^1H NMR / CDCl_3 / δ 1,15 /3H, t, J = 7,5 Hz/, 1,30 /3H, d, J = 7 Hz/, 1,38 /3H, s/, 1,39 /3H, d, J = 7 Hz/, 2,06 /2H, m/, 2,85 /3H, s/, 3,40 /3H, s/, 4,14 /2H, t, J = 7,5 Hz/, 5,37 /1H, d, J = 8 Hz/, 5,55 /1H, d, J = 4 Hz/.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{36}\text{H}_{41}\text{NO}_{13} \times 3/2\text{H}_2\text{O}$: C 59,83, H 6,14, N 1,94
nalezeno: C 59,99, H 5,92, N 1,88

Příklad 15

Synthesa 6-O-isopropylelsamycinu A /7d/

Výtěžek z 5d: 81 %

T.t. 167 - 169 °C.

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 3400, 1735, 1370, 1250, 1080.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 236 /36400/, 266 /40000/, 328 /7450/,
371 /8910/, 392 /12900/, 414 /13600/.

^1H NMR / CDCl_3 / δ 1,35 /15H, m/, 2,85 /3H, s/, 3,39 /3H, s/,
5,35 /1H, d, J = 8 Hz/, 5,55 /1H, d, J =
4 Hz/.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{36}\text{H}_{41}\text{NO}_{13} \times 1,5\text{H}_2\text{O}$: C 59,83, H 6,14, N 1,94
nalezeno: C 59,90, H 5,90, N 1,81

Příklad 16

Synthesa 6-O-n-butylelsamycinu A /7e/

Výtěžek z 5e: 84 %

T.t. 153 - 155 °C.

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 3380, 1735, 1355, 1250, 1110, 1075.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 237 /37300/, 266 /41300/, 327 /7880/,
369 /9160/, 390 /13200/, 411 /14100/.

^1H NMR / CDCl_3 / δ 1,04 /3H, t, J = 7 Hz/, 1,30 /3H, d, J = 7
Hz/, 1,38 /3H, d, J = 7 Hz/, 1,38 /3H, s/,
1,8 /4H, m/, 2,85 /3H, s/, 3,38 /3H, s/,
5,35 /1H, d, J = 8 Hz/, 5,55 /1H, d, J = 4
Hz/.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{37}\text{H}_{43}\text{NO}_{13} \times 1,5\text{H}_2\text{O}$: C 60,32, H 6,29, N 1,90
nalezeno: C 60,43, H 6,06, N 1,88

Příklad 17

Synthesa 6-O-n-hexylelsamycinu A /7f/

Výtěžek z 5f: 89 %

T.t. 133 - 135 °C.

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 1735, 1355, 1250, 1105, 1070, 780.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 237 /38600/, 266 /42300/, 326 /8140/,
369 /9380/, 390 /13400/, 410 /14100/.

^1H NMR / CDCl_3 / δ 0,93 /3H, t, J = 6 Hz/, 1,28 /3H, d, J = 6 Hz/, 1,38 /3H, s/, 1,39 /3H, d, J = 7 Hz/, 2,83 /3H, s/, 3,39 /3H, s/, 5,34 /1H, d, J = 7 Hz/, 5,54 /1H, d, J = 4 Hz/, 8,16 /1H, dd, J = 8 a 1 Hz/.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{39}\text{H}_{47}\text{NO}_{13} \times 1/2\text{H}_2\text{O}$: C 62,72, H 6,48, N 1,88
nalezeno: C 62,54, H 6,35, N 1,79

SIMS M/Z: 738 /M + H⁺, 654, 419, 320, 160.

Sloučeniny 7b, 7g a 7h se rovněž připravily z derivátů 6b, 6g a 6h metodou podobnou té, která byla popsána při přípravě sloučeniny 7a z derivátu 6a /metoda C/. Výtěžky a fyzikálně-chemické údaje produktu jsou uvedeny.

Příklad 18

Synthesa 6-O-ethylelsamycinu A /7b/

Výtěžek z 6b: 88 %

T.t. 164 - 166 °C.

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 3420, 2970, 2920, 2860, 1740,

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 237 /36200/, 265 /40200/, 327 /7500/,
368 /8870/, 390 /12800/, 411 /13500/.

$^1\text{H NMR /CDCl}_3/$ δ 1,30 /3H, d, $J = 7,5 \text{ Hz/}$, 1,38 /3H, s/, 1,38 /3H, d, $J = 7,5 \text{ Hz/}$, 1,62 /3H, t, $J = 7 \text{ Hz/}$, 2,85 /3H, s/, 3,40 /3H, s/, 4,26 /2H, q, $J = 7 \text{ Hz/}$, 5,35 /1H, d, $J = 8 \text{ Hz/}$, 5,55 /1H, d, $J = 4 \text{ Hz/}$, 8,16 /1H, dd, $J = 8 \text{ a } 1,5 \text{ Hz/}$.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{35}\text{H}_{39}\text{NO}_{13} \times \text{H}_2\text{O}$: C 60,48, H 5,91, N 2,00
nalezeno: C 59,85, H 5,78, N 1,85

Příklad 19

Synthesa 6-O-n-decylelsamycinu A /7g/

Výtěžek z 6g: 66 %

T.t. 116 - 118 °C.

IR ν_{max} /KBr/ cm^{-1} 3420, 2920, 2840, 1740.

UV λ_{max} /MeOH/ nm / ϵ / 237 /36300/, 266 /40100/, 327 /7690/,
369 /8970/, 390 /12800/, 411 /13600/.

$^1\text{H NMR /CDCl}_3/$ δ 0,89 /3H, m/, 1,35 /23H, m/, 2,0 /2H, m/,
2,87 /3H, s/, 3,40 /3H, s/, 4,17 /2H, t, $J = 7 \text{ Hz/}$, 5,35 /1H, d, $J = 8 \text{ Hz/}$, 5,55 /1H, d, $J = 4 \text{ Hz/}$.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{43}\text{H}_{55}\text{NO}_{13} \times 1/2\text{H}_2\text{O}$: C 64,32, H 7,03, N 1,74
nalezeno: C 64,47, H 7,09, N 1,69

Příklad 20

Synthesa 6-O-/3-ftalimidopropyl/elsamycinu A /7h/

Výtěžek z 6h: 78 %

T.t. 165 - 168 °C.

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 3400, 1740, 1715, 1400, 1360, 1255, 1110,
1075, 1050, 785.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm $\leq$ 220 /54800/, 233 /46700/, 266 /38500/,
326 /7590/, 368 /8600/, 390 /12200/,
411 /12800/.

^1H NMR / CDCl_3 + D_2O / δ 1,27 /3H, d, J = 6 Hz/, 1,36 /3H, s/,
1,37 /3H, d, J = 6 Hz/, 2,4 /2H, m/,
2,80 /3H, s/, 3,38 /3H, s/, 5,33 /1H,
d, J = 8 Hz/, 5,52 /1H, d, J = 4 Hz/.

Příklad 21

Synthesa 6-O-/3-aminopropyl/elsamycinu A /7i/

53 mg 6-O-/3-Aminopropyl/-3',4'-O-isopropylidenelsamycinu A /8i/ se rozpustilo v 0,5 ml 90 %ního vodného roztoku TFA pomocí ultrazvukových vibrací. Roztok se odpařil za sníženého tlaku. Odparek se rozpustil ve vodném NaHCO_3 roztoku /ca 5 ml/ a roztok se podrobil sloupcové chromatografii na HP-20 /10 x 140 mm/. Frakce obsahující žádaný produkt se spojily a odpařily. Získalo se 39 mg /78 %/ sloučeniny 7i.

T.t. 197 - 206 $^{\circ}\text{C}$ /rozkl./.

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 1735, 1680, 1360, 1255, 1110, 1075, 1045,
780.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm $\leq$ 236 /32200/, 267 /33700/, 312 /5590/,
326 /6490/, 369 /7400/, 391 /10100/,
412 /10400/.

^1H NMR / CDCl_3 + CD_3OD / δ 1,2 - 1,5 /9H, m/, 2,22 /2H, m/,
2,88 /3H, s/, 3,34 /3H, s/, 5,40
/1H, d, J = 8 Hz/, 5,58 /1H, d, J =
4 Hz/.

SIMS M/Z: 711 /M + H/ $^{+}$, 392, 334, 160.

Příklad 22

Synthesa 3',4'-O-isopropyliden-6-O-methylelsamycinu A /8a/

Roztok 100 mg 2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropyliden-6-O-methylelsamycinu A /6a/ a 118 mg monohydrátu kyseliny p-toluensulfonové ve 2 ml acetonu se míchal při teplotě místnosti 2 hodiny a odpařil se za sníženého tlaku. Olejovitý odparek se rozpustil ve směsi MeOH a CHCl_3 v poměru 1 : 9 a roztok se promyl vodným 10 % NaHCO_3 , vodou a solankou v uvedeném pořadí, vysušil nad Na_2SO_4 a odpařil ve vakuu. Získala se žlutavá lepkavá pevná látka. Ta se vyčistila preparativní TLC a získalo se 61 mg /69 %/ titulní sloučeniny.

T.t. 168 - 170 °C,

$\text{IR } \nu_{\text{max}} / \text{KBr} / \text{cm}^{-1}$ 3420, 2980, 2925, 2860, 1740,

$\text{UV } \lambda_{\text{max}} / \text{MeOH} / \text{nm} / \epsilon /$ 237 /36000/, 266 /40600/, 325 /7360/,
367 /8780/, 389 /12200/, 409 /12600/.

$^1\text{H NMR} / \text{CDCl}_3 / \delta$ 1,39 /12H, m/, 1,70 /3H, s/, 2,88 /3H, s/,
3,38 /3H, s/, 4,14 /3H, s/, 5,24 /1H, d, J
= 8 Hz/, 5,80 /1H, d, J = 4 Hz/, 8,16 /1H,
dd, J = 8 a 1,5 Hz/.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{37}\text{H}_{41}\text{NO}_{13} \times 5/2\text{H}_2\text{O}$: C 59,04, H 6,16, N 1,86
nalezeno: C 58,87, H 5,64, N 2,01

Sloučeniny 8b, 8f, 8g a 8h se připravily z derivátů 6b, 6f, 6g a 6h metodou podobnou té, která byla popsána při přípravě sloučeniny 8a z derivátu 6a. Výtěžky a fyzikálně-chemické údaje produktů jsou uvedeny.

Příklad 23

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

Výtěžek z 6b: 76 %

T.t. 156 - 158 °C.

IR max /KBr/ cm^{-1} 3375, 2980, 2930, 2860, 1740.

UV max /MeOH/ nm / / 236 /35600/, 266 /39700/, 326 /7440/,
368 /8660/, 389 /12100/, 409 /12600/.

^1H NMR / CDCl_3 / 1,1 - 1,8 /18H, m/, 2,88 /3H, s/, 3,38 /3H,
s/, 4,25 /2H, q, $J = 7$ Hz/, 5,23 /1H, d, J
 $= 8$ Hz/, 5,80 /1H, d, $J = 4$ Hz/, 8,17 /1H,
d, $J = 8$ Hz/.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{38}\text{H}_{43}\text{NO}_{13} \times 3/2\text{H}_2\text{O}$: C 60,95, H 6,19, N 1,87
nalezeno: C 61,14, H 6,01, N 1,96

Příklad 24

Synthesa 6-O-n-hexyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycinu A /8f/

Výtěžek: z 6f: 76 %

T.t. 132 - 134 °C

IR max /KBr/ cm^{-1} 3420, 2970, 2920, 2850, 1740.

UV max /MeOH/ nm / / 236 /35900/, 266 /40100/, 326 /7640/,
367 /8870/, 389 /12400/, 410 /12800/.

^1H NMR / CDCl_3 / 0,95 /3H, m/, 1,15 - 1,80 /21H, m/, 2,04
/2H, m/, 2,83 /3H, s/, 3,38 /3H, s/, 4,17
/2H, t, $J = 7$ Hz/, 5,22 /1H, d, $J = 8$ Hz/,
5,73 /1H, d, $J = 4$ Hz/.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{42}\text{H}_{51}\text{NO}_{13} \times 1/2\text{H}_2\text{O}$: C 64,11, H 6,66, N 1,78
nalezeno: C 63,89, H 6,61, N 1,72

Příklad 25

Synthesa 6-O-n-decyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycinu A /8g/

Výtěžek z 6g: 84 %

T.t. 101 - 102 °C.

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 3380, 2920, 2840, 1740.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 236 /36300/, 266 /40400/, 326 /7750/,
368 /9010/, 390 /12500/, 411 /13000/.

^1H NMR / CDCl_3 / δ 0,88 /3H, m/, 1,1 - 1,8 /29H, m/, 2,03 /2H,
m/, 2,87 /3H, s/, 3,37 /3H, s/, 4,15 /2H, t,
J = 7 Hz/, 5,21 /1H, d, J = 8 Hz/, 5,78 /1H,
d, J = 4 Hz/.

Analýza

vypočteno pro $\text{C}_{46}\text{H}_{59}\text{NO}_{13} \times 1/2\text{H}_2\text{O}$: C 65,54, H 7,17, N 1,66
nalezeno: C 65,30, H 7,29, N 1,71

Příklad 26

Synthesa 3',4'-O-isopropyliden-6-O-(3-ftalimidopropyl)elsa-
mycinu A /8h/

Výtěžek z 6h: 72 %

T.t. 157 - 160 °C.

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 3400, 1730, 1700, 1385, 1350, 1240, 1065,
770, 715.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm / ϵ / 220 /60100/, 233 /50800/, 266 /41500/,
325 /8210/, 367 /9270/, 390 /1290/,
410 /13300/.

^1H NMR / $\text{CDCl}_3 + \text{D}_2\text{O}$ / δ 1,38 /3H, d, J = 6 Hz/, 1,39 /3H, d,
J = 6 Hz/, 1,43 /3H, s/, 1,45 /3H, s/,
1,72 /3H, s/, 2,83 /3H, s/, 3,37 /3H,
s/, 2,42 /2H, kvint, J = 7 Hz/, 5,22
/1H, d, J = 8 Hz/, 5,80 /1H, d, J = 4 Hz/.

Analýza

vypočteno pro $C_{47}H_{48}N_2O_{15} \times H_2O$: C 62,80, H 5,61, N 3,12
nalezeno: C 62,83, H 5,50, N 3,36

Příklad 27

Synthesa 6-O-/3-aminopropyl/-3',4'-isopropylidenelsamycinu A
/8i/

K roztoku 142 mg 3',4'-O-isopropyliden-6-O-/3-ftalimidopropyl/elsamycinu A /8h/ v 1 ml EtOH se přidalo 25 ml 80 %ního hydrazinhydrátu a reakční směs se nechala stát při teplotě místnosti 2 hodiny, zředila se 20 ml AcOH a odpařila se dosucha. Odparek se vyčistil sloupcovou chromatografií na silikagelu a získalo se 87 mg /72 %/ žádaného produktu.

T.t. 190 - 199 °C /rozkl./

IR $\nu_{\max}$ /KBr/ cm^{-1} 1740, 1360, 1255, 1110, 1070, 1050, 780.

UV $\lambda_{\max}$ /MeOH/ nm $\leq$ 236 /31200/, 267 /34500/, 311 /5410/,
326 /6510/, 366 /7580/, 391 /10200/,
411 /10400/.

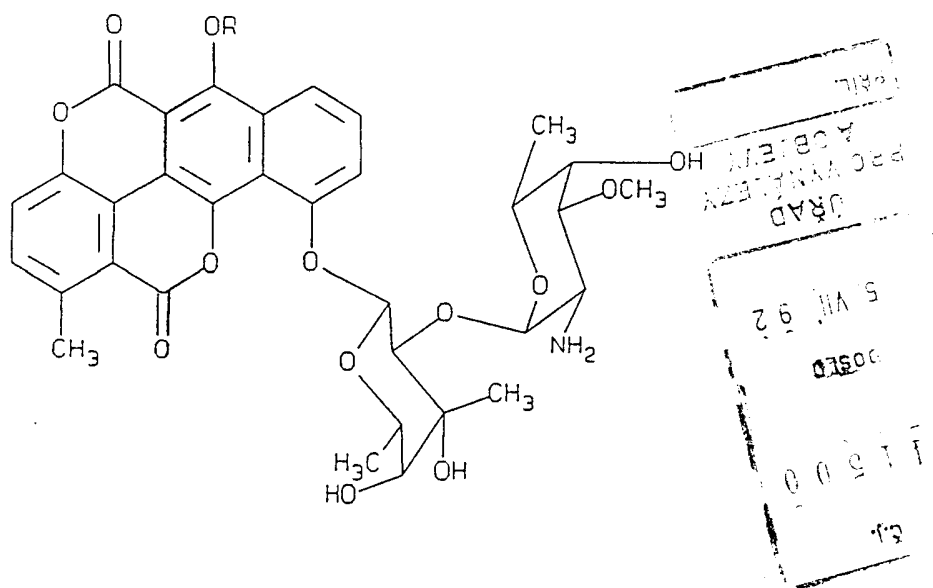
1H NMR / $CDCl_3$ + CD_3OD / δ 1,2 - 1,6 /12H, m/, 1,72 /3H, s/,
2,22 /2H, m/, 2,84 /3H, s/, 3,40
/3H, s/, 5,34 /1H, d, J = 8 Hz/,
5,73 /1H, d, J = 4 Hz/.

SIMS M/Z: 751 /M + H/ $^+$, 392, 334, 200, 160

- 34 -

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Způsob přípravy sloučeniny obecného vzorce

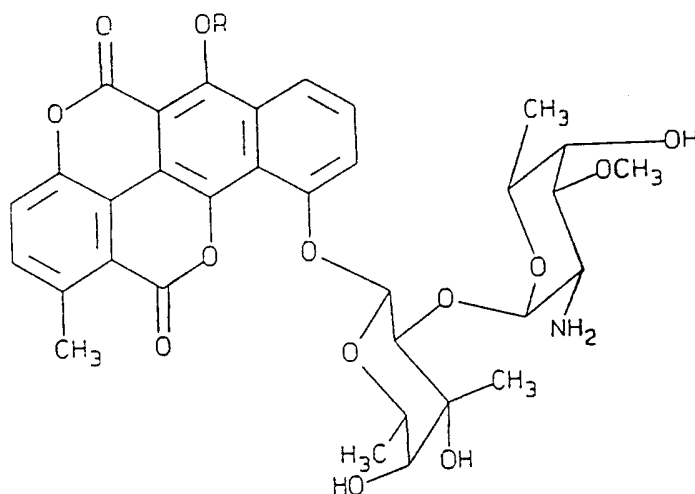


kde

R znamená alkyl s 1 až 10 atomy uhlíku nebo substituo-
vaný nebo nesubstituovaný aminoalkyl,

v y z n a č u j í c í s e t í m, že se nechá reagovat
2'-N-t-butoxykarbonylsamycin A s alkylhalogenidem v pří-
tomnosti jodidu draselného a/nebo uhličitanu draselného
v dimethylsulfoxidu, za vzniku odpovídajícího 6-O-alkyl-
derivátu, který se nechá reagovat s kyselinou trifluor-
octovou.

2. Způsob přípravy sloučeniny obecného vzorce

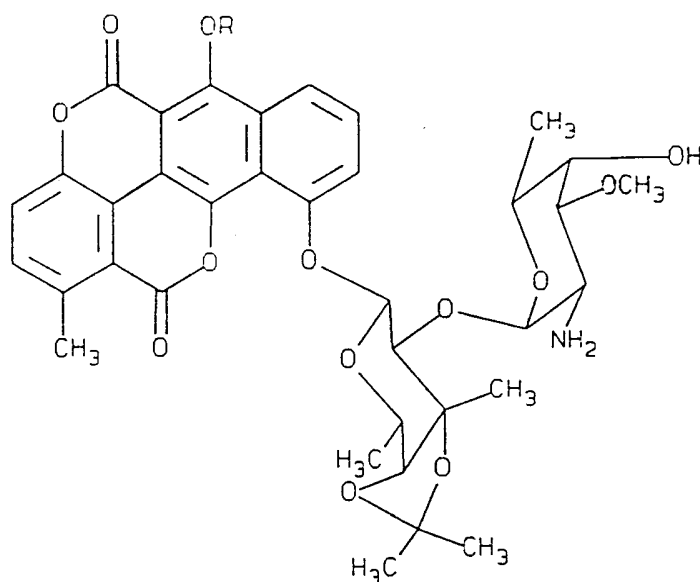


kde

R znamená alkyl s 1 až 10 atomy uhlíku nebo substituo-
vaný nebo nesubstituovaný aminoalkyl,

v y z n a č u j í c í s e t í m, že se nechá reagovat
2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A
s alkylhalogenidem, je-li třeba, v přítomnosti jodidu
draselného a/nebo uhličitanu draselného, za vzniku odpoví-
dajícího 6-O-alkylderivátu, který se nechá reagovat s kyse-
linou trifluoroctovou.

3. Způsob přípravy sloučeniny obecného vzorce



kde

R znamená alkyl s 1 až 10 atomy uhlíku nebo substituo-
vaný nebo nesubstituovaný aminoalkyl,

v y z n a č u j í c í s e t í m, že se nechá reagovat
2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A
s alkylhalogenidem v přítomnosti jodidu draselného a/nebo
uhličitanu draselného v dimethylsulfoxidu, za vzniku odpo-
vídajícího 6-O-alkylderivátu, který se potom nechá reago-
vat s kyselinou toluensulfonovou v acetonu při teplotě
místnosti.

4. Sloučenina připravená postupem podle kterého-
koliv z nároků 1 a 2, kterou je
6-O-methylelsamycin A,
6-O-n-propylelsamycin A,
6-O-isopropylelsamycin A,
6-O-n-butylelsamycin A,

- 37 -

6-O-n-hexylelsamycin A,
 6-O-ethylelsamycin A,
 6-O-n-decylelsamycin A,
 6-O-/3-ftalimidopropyl/elsamycin A,
 6-O-/3-aminopropyl/elsamycin A.

5. Sloučenina připravená postupem definovaným v nároku 2, kterou je
 3',4'-O-isopropyliden-6-O-methylelsamycin A,
 6-O-ethyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A,
 6-O-n-hexyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A,
 6-O-n-decyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A,
 3',4'-O-isopropyliden-6-O-/3-ftalimidopropyl/elsamycin A nebo
 6-O-/3-aminopropyl/-3',4'-isopropylidenelsamycin A.

6. Způsob přípravy meziproductu, 2''-N-t-butoxy-karbonyl-6-O-methylelsamycinu A,
 v y z n a č u j í c í s e t í m, že se smísí 2''-N-t-butoxykarbonylsamycin A a příslušný alkylhalogenid v přítomnosti jodidu draselného a uhličitanu draselného v dimethylsulfoxidu a následuje čištění.

7. Způsob přípravy meziproductu, 2''-N-t-butoxy-karbonyl-6-O-n-propylelsamycinu A,
 v y z n a č u j í c í s e t í m, že se smísí 2''-N-t-butoxykarbonylsamycin A a příslušný alkylhalogenid v přítomnosti jodidu draselného a uhličitanu draselného v dimethylsulfoxidu a následuje čištění.

8. Způsob přípravy meziproductu, 2''-N-t-butoxy-karbonyl-6-O-isopropylelsamycinu A,
 v y z n a č u j í c í s e t í m, že se smísí 2''-N-t-

butoxykarbonylsamycin A a příslušný alkylhalogenid v přítomnosti jodidu draselného a uhličitanu draselného v dimethylsulfoxidu a následuje čištění.

9. Způsob přípravy meziprojektu, 2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-n-butylsamyčinu A, vyznačující se tím, že se smísí 2''-N-t-butoxykarbonylsamycin A a příslušný alkylhalogenid v přítomnosti jodidu draselného a uhličitanu draselného v dimethylsulfoxidu a následuje čištění.

10. Způsob přípravy meziprojektu, 2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-n-hexylsamyčinu A, vyznačující se tím, že se smísí 2''-N-t-butoxykarbonylsamycin A a příslušný alkylhalogenid v přítomnosti jodidu draselného a uhličitanu draselného v dimethylsulfoxidu a následuje čištění.

11. Způsob přípravy meziprojektu, 2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropyliden-6-O-methylsamyčinu A, vyznačující se tím, že se smísí 2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A a příslušný alkylhalogenid v přítomnosti jodidu draselného a uhličitanu draselného v dimethylsulfoxidu a následuje čištění.

12. Způsob přípravy meziprojektu, 2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-ethyl-3',4'-O-isopropylidenelsamyčinu A, vyznačující se tím, že se smísí 2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A a příslušný alkylhalogenid v přítomnosti jodidu draselného a uhličitanu draselného v dimethylsulfoxidu a následuje čištění.

13. Způsob přípravy meziprojektu, 2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-n-hexyl-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 a příslušný alkylhalogenid v přítomnosti jodidu draselného a uhličitanu draselného v dimethylsulfoxidu a následuje čištění.

14. Způsob přípravy meziprojektu, 2''-N-t-butoxykarbonyl-6-O-n-decyl-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 a příslušný alkylhalogenid v přítomnosti jodidu draselného a uhličitanu draselného v dimethylsulfoxidu a následuje čištění.

15. Způsob přípravy meziprojektu, 2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-isopropyliden-6-O-/3-ftalimidopropyl/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 a příslušný alkylhalogenid v přítomnosti jodidu draselného a uhličitanu draselného v dimethylsulfoxidu a následuje čištění.

16. Způsob přípravy 6-O-methylelsamycinu A, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se elsamycin A O-methyluje diazomethanem.

17. Způsob přípravy 6-O-/3-aminopropyl/-3',4'-isopropylidenelsamycinu A, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se nechá reagovat 2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A s alkylhalogenidem v přítomnosti jodidu draselného a uhličitanu draselného v dimethylsulfoxidu za vzniku odpovídající-

cího 6-O-alkylderivátu, který se nechá reagovat s kyselinou toluensulfonovou v acetonu při teplotě místnosti a potom s hydrazinhydrátem.

18. Způsob přípravy 6-O-/3-aminopropyl/elsamycinu A, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se nechá reagovat 2''-N-t-butoxykarbonyl-3',4'-O-isopropylidenelsamycin A s alkylhalogenidem, je-li třeba, v přítomnosti jodidu draselného a/nebo uhličitanu draselného v dimethylsulfoxidu, za vzniku odpovídajícího 6-O-alkylderivátu, který se nechá reagovat s kyselinou toluensulfonovou v acetonu při teplotě místnosti a potom s hydrazinhydrátem, načež následuje reakce s kyselinou trifluoroctovou.

19. Způsob přípravy farmaceutické kompozice, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se smísí sloučenína podle kteréhokoli v z nároků 1 až 15 s jedním nebo více farmaceutickými nosiči nebo ředidly.

20. Sloučenina podle kteréhokoli v z nároků 1 až 15 pro použití při léčení nebo prevenci tumorů.

