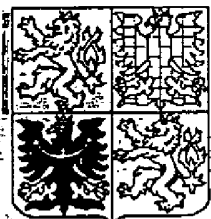


ČESKÁ
REPUBLIKA

(19)



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

(12)

(22) 07.06.90

(32) 07.06.89

(31) 89/362555

(33) US

(40) 15.02.95

(21) 2838-90.J

(13) A3

6(51)

C 07 H 17/04

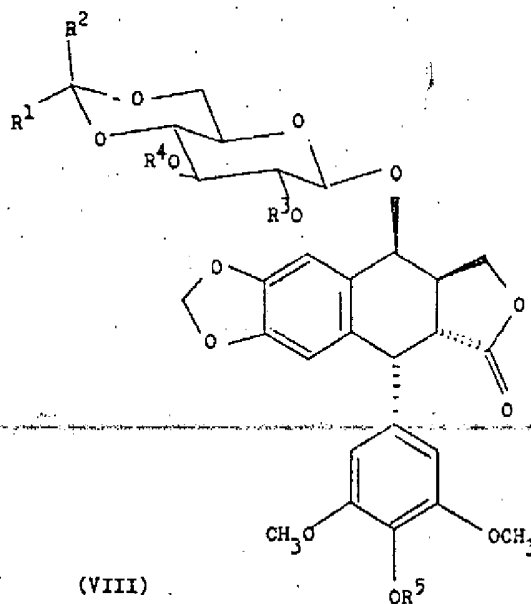
A 61 K 31/70

(71) BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY, New York,
NY, US;

(72) Ohnuma Takeshi, Tokyo, JP;
Obata Rika, Kamakura, JP;
Kamei Hideo, Tokyo, JP;
Naito Takayuki, Kawasaki, JP;

(54) Acylovaný derivát epipodofylotoxinu a
protinádorově účinný farmaceutický prostředek,
který jej obsahuje

(57) Protinádorově účinný pro savce acylovaný derivát epipodo-
fylotoxinu obecného vzorce VIII, kde znamená R^2 vodík a
 R^1 C_{1-10} alkyl, C_{2-10} alkenyl, C_5 -cykloalkyl, 2-furyl, 2-thi-
enyl, C_6 -10aryl nebo C_{7-14} aralkyl nebo R^1 a R^2 vždy C_{1-10}
alkyl nebo spolu s uhlíkem, na který jsou vázány, tvoří
 C_5 -cykloalkyl, jeden ze symbolů R^3 a R^4 atom vodíku a
druhý C_{1-15} alkanoyl nebo benzoyl, nebo R^3 a R^4 znamenají
vždy skupinu ze souboru C_{1-5} alkanoyl a benzoyl a R^5 vodík
nebo fosfát a farmaceutický prostředek, který jej obsahuje.



(VIII)

052828	Dr. J.
14. XI. 91	UŘAD PRO VYŘÁZENÍ A OBJEVY

Acylovaný derivát epipodofylotoxinu a protinádorové účinný farmaceutický prostředek, který se obsahuje. *PV 2838-90*

Oblast techniky

Vynález se týká derivátu epipodofylotoxinu, způsobu jeho výroby a jeho použití jakožto protinádorových činidel a farmaceutických prostředků obsahujících tuto sloučeninu jakožto účinnou látku. Zvláště se vynález týká nových adylderivátů 4'-demethylepipodofylotoxin-glukosidů

Dosavadní stav techniky

Etoposid a teniposid jsou klinicky používanými protinádorovými činidly, odvozenými od přírodního lignanu podofylotoxin. V současné době je etoposid na trhu ve Spojených státech pod obchodním označením Vepesid a je určen pro léčbu plicních nádorů z malých buněk a nádorů varlat. Příznivé farmakologické vlastnosti etoposidu a teniposidu stimulovaly aktivitu při hledání dalších aktivních analogů v této skupině sloučenin.

4'-O-demethylepipodofylotoxin-glukosidy, v nichž jsou hydroxylové skupiny na cukerném zbytku vázány, jsou popsány v literatuře jakožto meziprodukty pro přípravu odpovídajících 4'-demethylepipodofylotoxin-glukosidů; tyto známé sloučeniny však obsahují rovněž chráněnou fenolovou skupinu.

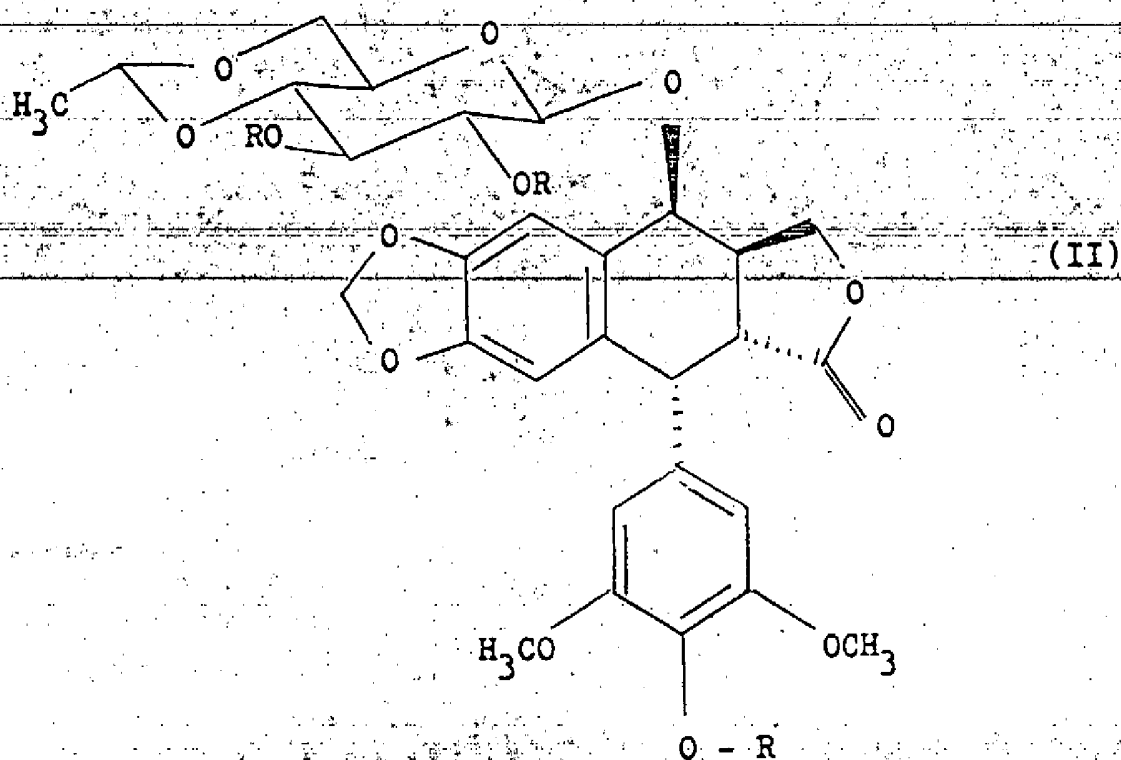
V kanadském patentovém spise číslo 956939 jsou popsány sloučeniny obecného vzorce I


JUDr. Petr KALENSKY



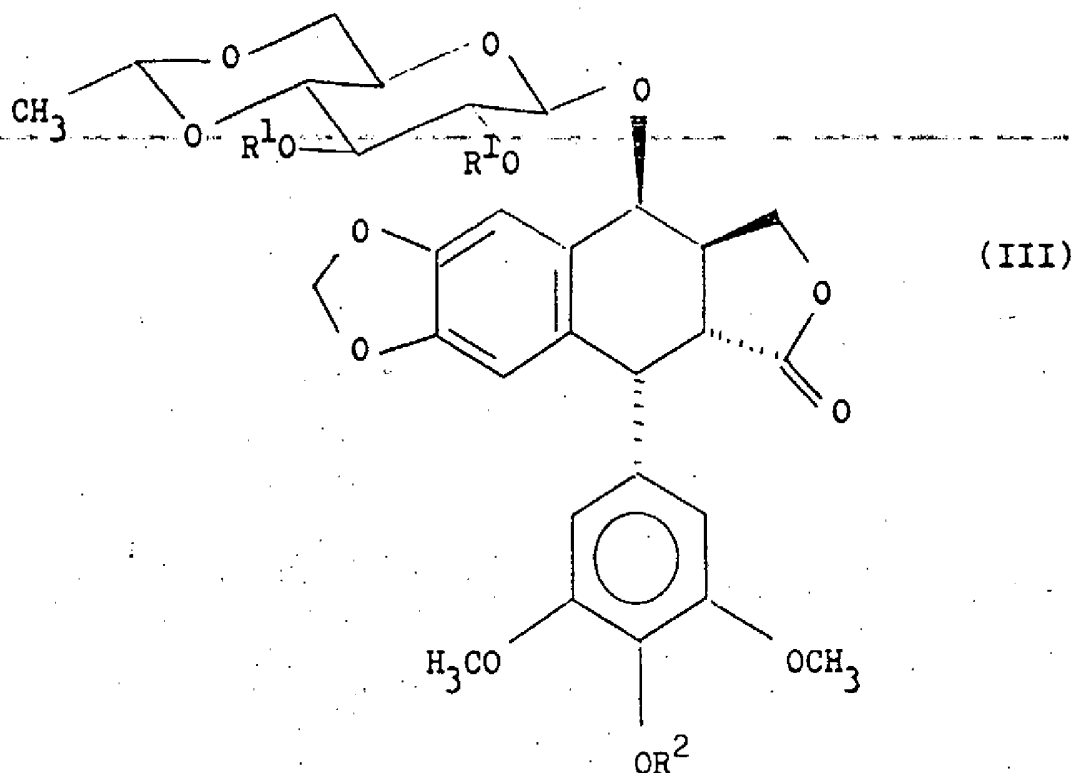
R¹ představuje alkylovou skupinu s 1 až 5 atomy uhlíku,
R² znamená acetylovou nebo formylovou skupinu a
R³ představuje fenylovou skupinu nebo substituovanou
fenylovou skupinu, přičemž jako možné substituované
fenylové skupiny jsou uvedeny, nikoli však příklady
doloženy, p-nitrofenylová skupina a p-methoxyfenylo-
vá skupina.

V americkém patentovém spisu č. 4 564 675 jsou popsány sloučeniny obecného vzorce II



ve kterém R představuje skupinu $-C(O)CH_2C$, kde X znamená atom halogenu.

Ve zveřejněné evropské patentové přihlášce č. 162 701 jsou popsány sloučeniny obecného vzorce III



ve kterém

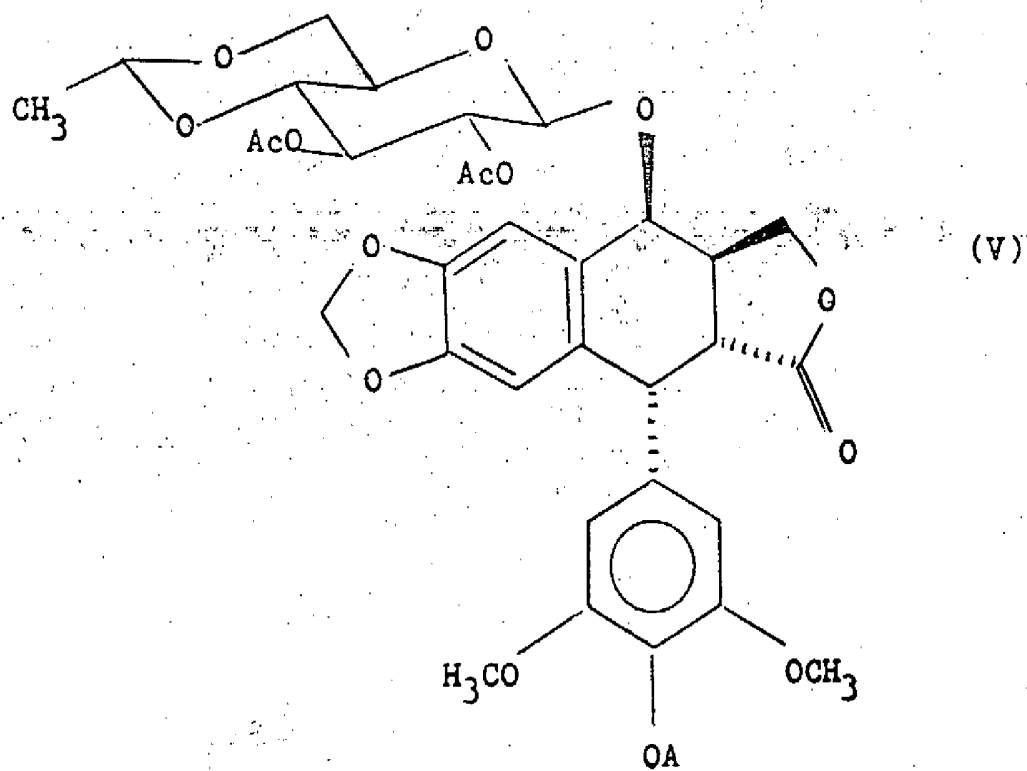
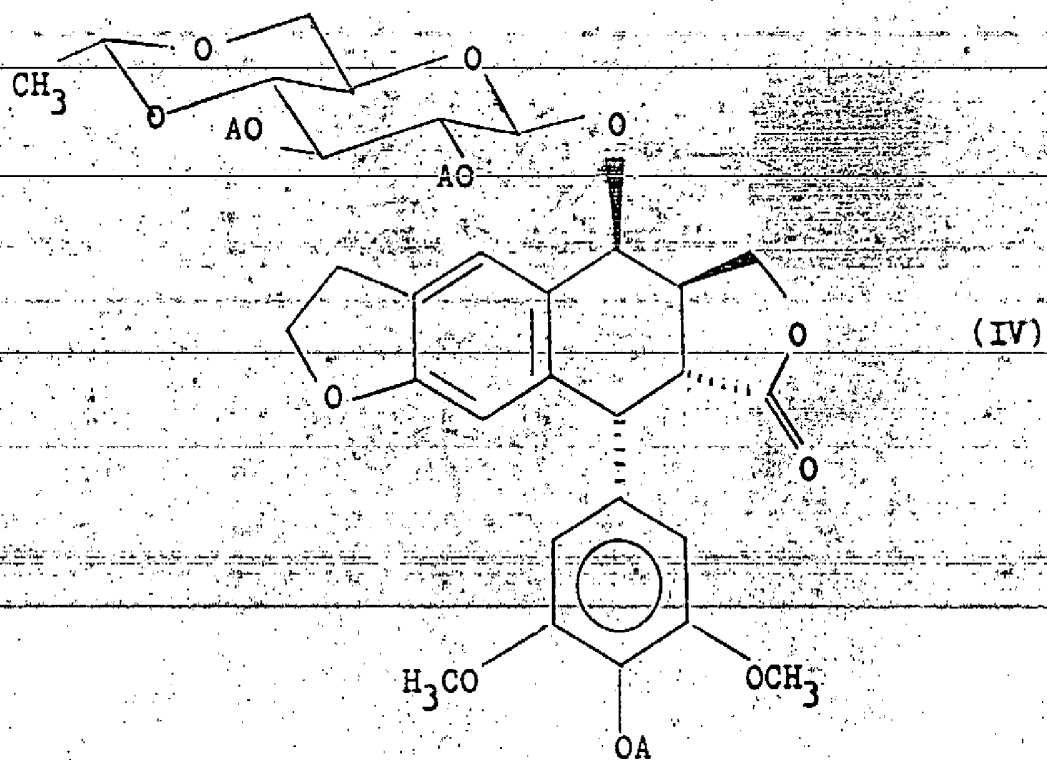
¹
R a R² jsou stejné nebo rozdílné a znamenají vždy skupinu

-C(O)CHX₂ nebo -C(O)CX₃, kde X znamená atom halogenu.

Ve zveřejněných japonských patentových přihláškách

č. 58/225 096 (Derwent Abst. č. 84-834268/06) a 58/219 196

(Derwent Abst. č. 84-027495/05) jsou popsány sloučeniny obecných vzorců IV a V

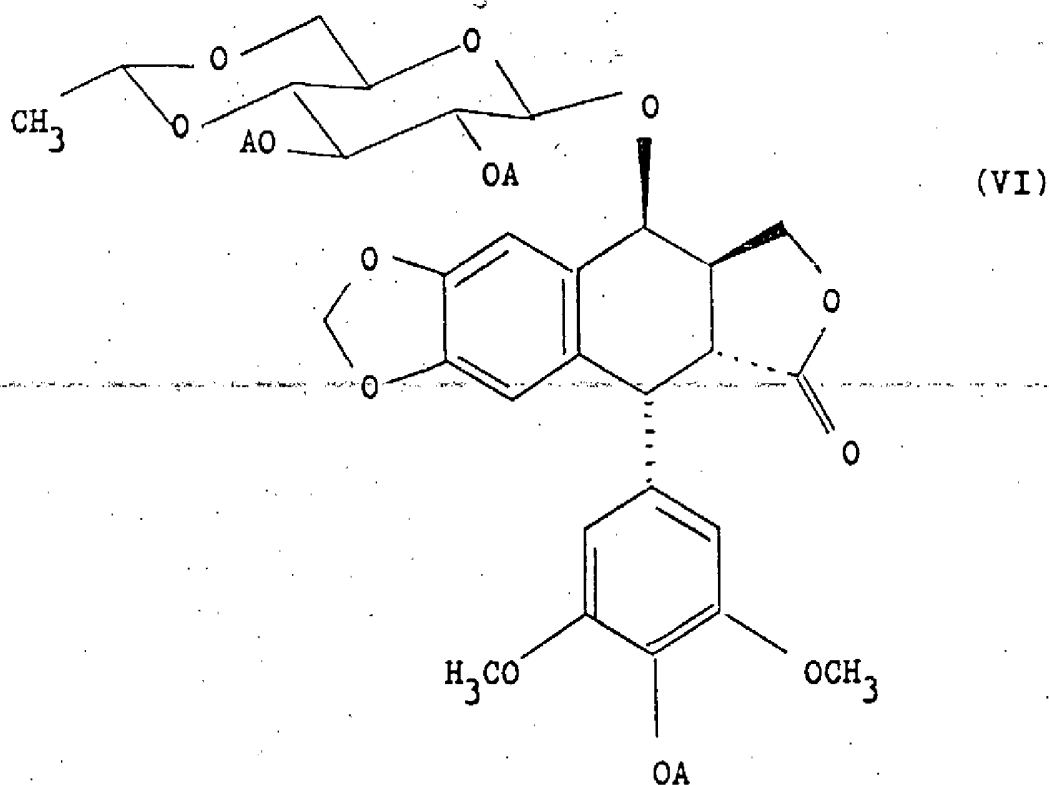


v nichž

A představuje zbytek vzorce $-\text{CO}_2-\text{CH}_2-\text{C}(\text{H})_{\underline{m}}(\text{X})_{\underline{n}}$,
kde X znamená atom halogenu, $\underline{m}$ má hodnotu 0 až 2
a $\underline{n}$ má hodnotu 1 až 3 s tím, že součet $\underline{m} + \underline{n} = 3$ a

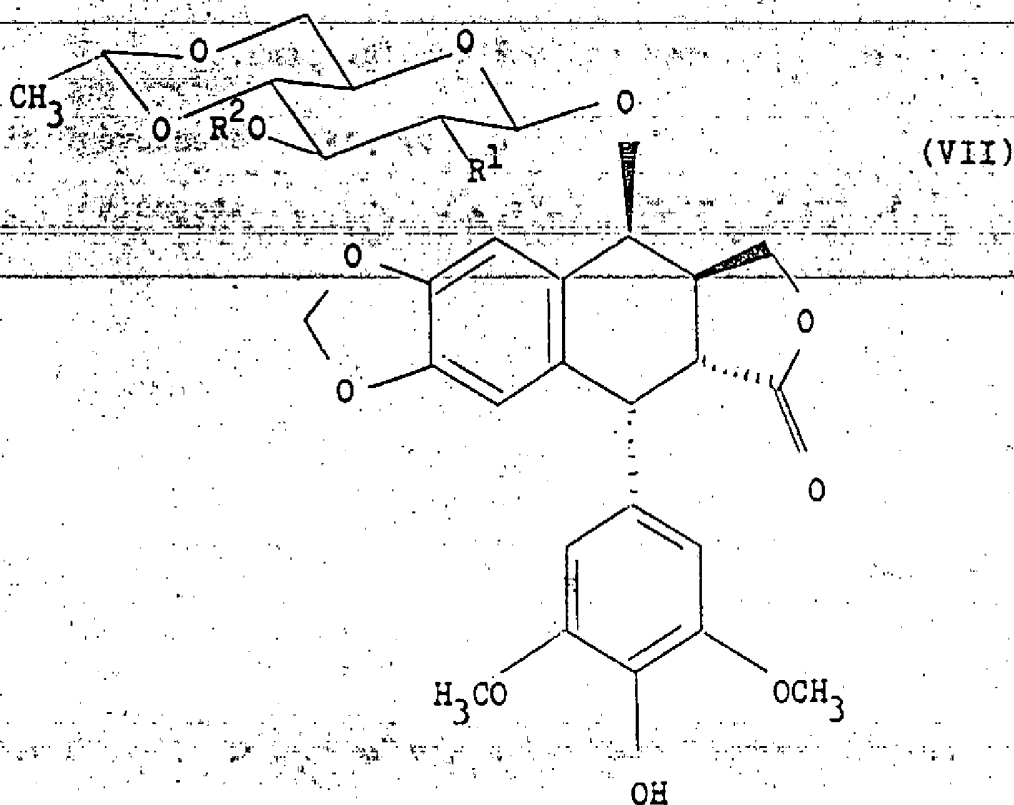
Ac znamená acylovou skupinu.

Ve zveřejněné evropské patentové přihlášce č. 226 202
je popsán meziprodukt pro syntézu etoposidu, odpovídající
vzorci VI



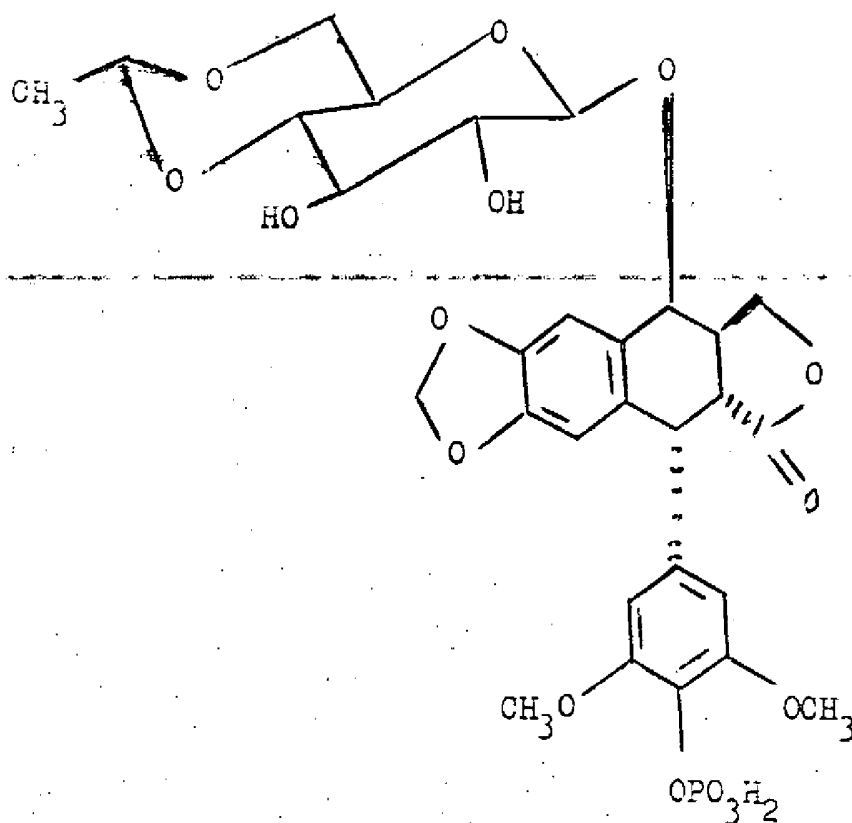
v němž A znamená acetylovou skupinu.

V J. Pharm. Biomed. Anal., 1987, 5(1), 11 - 20 jsou popsány mono-hemisukcináty etoposidu odpovídající obecnému vzorci VII



ve kterém jeden ze symbolů R^1 a R^2 znamená atom vodíku a druhý představuje skupinu $-\text{CO}(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$. Tyto sloučeniny se používají k navazování etoposidu na albumin hovězího séra.

4'-fosfát etoposidu, odpovídající vzorci



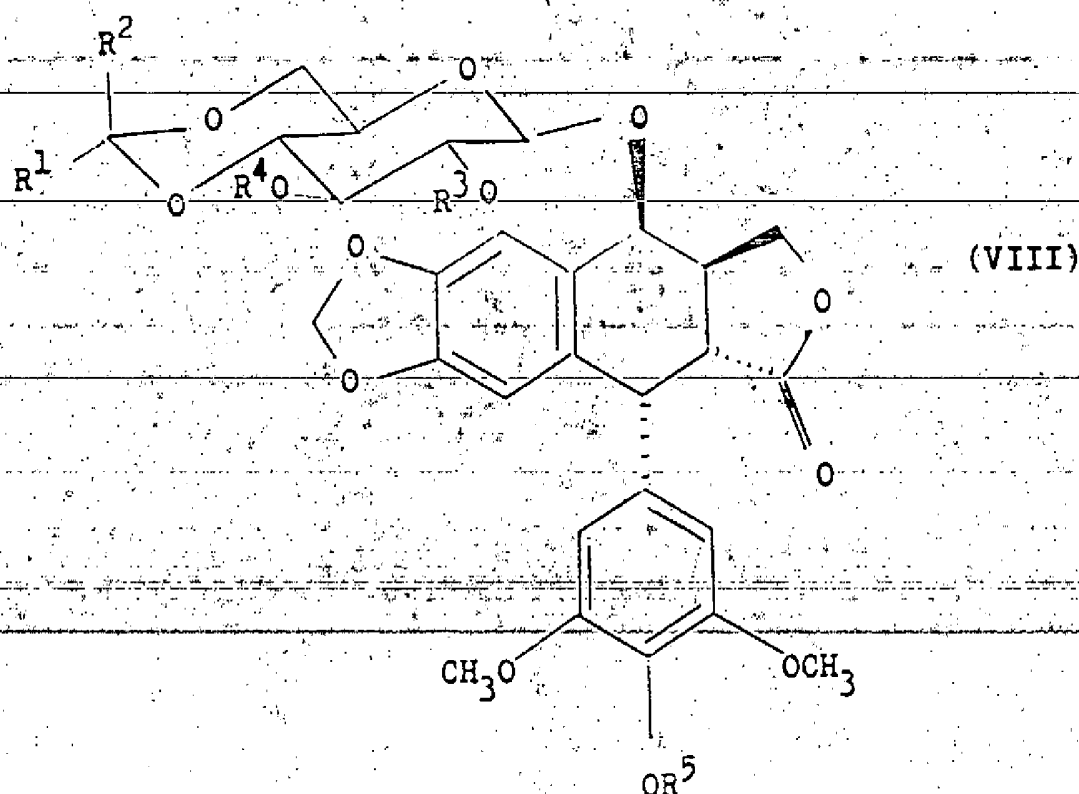
PRŮVODNÍ PRO VYNÁLEZ Č. 63/192 793
16. XI. 91
052828
12

a jeho dvojsodné soli jsou popsány ve zveřejněné japonské přihlášce vynálezu č. 63/192 793.

Podstata vynálezu

Podstatou vynálezu jsou sloučeniny obecného vzorce VIII

~~JUDr. Petr KALENSKÝ~~



ve kterém

R² představuje atom vodíku a R¹ znamená alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku, alkenylovou skupinu se 2 až 10 atomy uhlíku, cykloalkylovou skupinu s 5 až 6 atomy uhlíku, 2-furylovou skupinu, 2-thienylovou skupinu, arylovou skupinu se 6 až 10 atomy uhlíku nebo aralkylovou skupinu se 7 až 14 atomy uhlíku, nebo R¹ a R² znamenají vždy alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku nebo R¹ a R² spolu s uhlíkovým atomem, na který jsou navázány, tvoří cykloalkylovou skupinu s 5 až 6 atomy uhlíku,

jeden ze symbolů R³ a R⁴ představuje atom vodíku a druhý znamená alkanoylovou skupinu s 1 až 5 atomy uhlíku

nebo benzoylovou skupinu, nebo R^3 a R^4 jsou stejné a jsou vybrány ze skupiny zahrnující alkanoylové skupiny s 1 až 5 atomy uhlíku a benzoylovou skupinu a

R^5 znamená atom vodíku nebo fosfátovou skupinu.

Dále vynález popisuje farmaceutické prostředky obsahující protinádorově účinné množství sloučeniny obecného vzorce VIII a farmaceuticky upotřebitelný nosič.

Vynález rovněž popisuje způsob inhibice růstu nádorů u savců, vyznačující se tím, že se takovému savci podá protinádorově účinné množství sloučeniny obecného vzorce VIII.

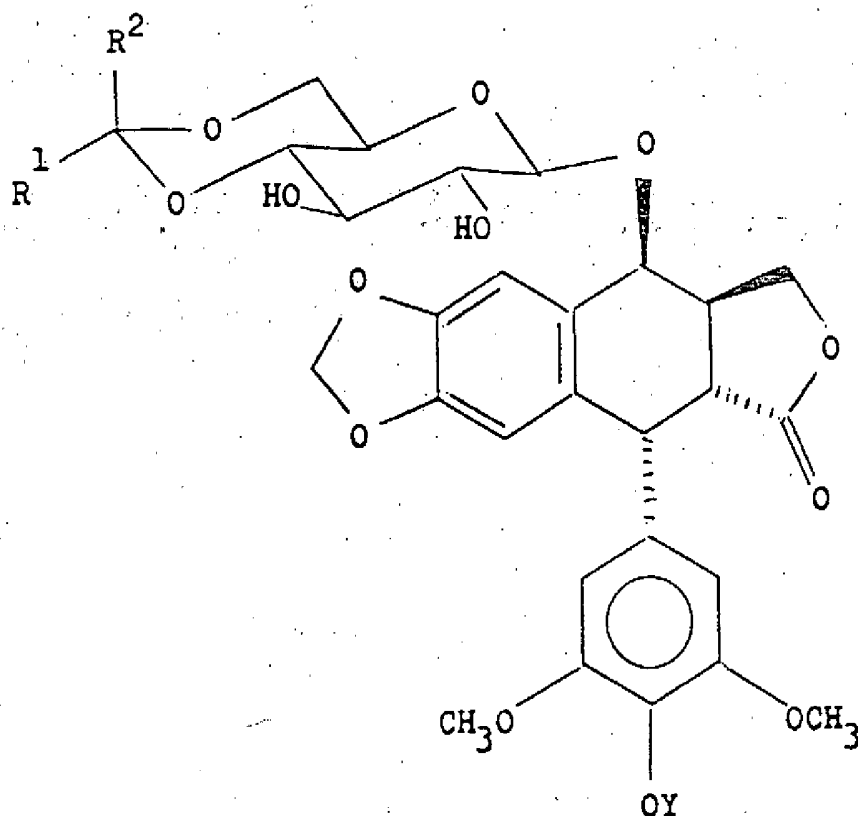
V souladu s jedním výhodným provedením popisuje vynález sloučeniny obecného vzorce VIII, v němž R^2 představuje atom vodíku a R^1 znamená methylovou, 2-thienylovou nebo fenylovou skupinu, nejvýhodněji skupinu methylovou.

Podle dalšího výhodného provedení popisuje vynález sloučeniny obecného vzorce VIII, v němž R^3 a R^4 znamenají alkanoylové skupiny s 1 až 5 atomy uhlíku, nejvýhodněji pak oba tyto symboly formylovou skupinu.

Podle ještě dalšího výhodného provedení popisuje vynález sloučeniny obecného vzorce VIII, v němž jeden ze symbolů R^3 a R^4 představuje atom vodíku a druhý znamená alkanoylovou skupinu s 1 až 5 atomy uhlíku nebo benzoylovou skupinu.

Používaným výrazem "fosfát" resp. "fosfátová skupina" se míní seskupení PO_3H_2 a jeho farmaceuticky upotřebitelné soli. Tyto farmaceuticky upotřebitelné soli zahrnují jak normální soli tak monohydrogen-soli, které jako kationty obsahují, bez jakéhokoli omezení pouze na tyto případy, kationty odvozené od alkalického kovu, například sodíku, draslíku nebo lithia, kationty odvozené od kovů alkalických zemin, například hořčíku, vápníku nebo baria a kationty amonné, včetně kationtů odvozených od organických aminů.

Nové sloučeniny podle vynálezu je možno vyrobit reakcí 4'-demethylepipodofylotoxin-glukosidu s chráněnou 4'-fenolickou skupinou, odpovídajícího obecnému vzorci IXa



IXa: Y = chránicí skupina

IXb: Y = H

s příslušnou karboxylovou kyselinou nebo jejím acylačním ekvivalentem, s následujícím odštěpením chránicí skupiny fenolické funkce.

Rozsah použitelných chránicích skupin fenolické funkce není nijak zvlášť omezen a k danému účelu lze použít libovolnou chránicí skupinu, kterou je možno zavést a odštěpit s jen malým nebo vůbec žádným nepříznivým účinkem na jiné části molekuly. Tuto chránicí skupinu fenolické funkce by zejména mělo být možno odštěpit za použití metod, jimiž by nebyly napadeny acyloxylové funkce v cukerném zbytku finálních produktů. Způsoby ochrany fenolické funkce jsou v oboru známe a jako příklady obecných skupin chránicích zbytků fenolické funkce lze uvést ethery, acetaly, estery a karbonáty. Bylo zjištěno, že pro účely vynálezu je možno použít účelně benzyloxykarbonylovou skupinu. V souladu s tím se tedy reakcí 4'-demethylepipodofylotoxin-glukosidu obecného vzorce IXb s benzyl-chlorformiátem při nízké teplotě, například při teplotě -15°C , v inertním organickém rozpouštědle, jako v methylenchloridu a v přítomnosti terciární organické báze, jako pyridinu, získá odpovídající 4'-O-benzyloxykarbonyl-4'-demethylepipodofylotoxin-glukosid. Sloučeniny obecného vzorce IXb a jejich syntéza jsou popsány v americkém patentovém spisu č. 3 524 844.

Acylaci hydroxylových skupin v cukerném zbytku sloučenin obecného vzorce IXa je možno uskutečnit za použití

příslušné karboxylové kyseliny nebo acylačního činidla od ní odvozeného, například halogenidu kyseliny, jako chloridu kyseliny, aktivního esteru odvozeného od N-hydroxysukcinimidu nebo 1-hydroxytriazolu, nebo symetrického či smíšeného anhydridu. Pokud se jako acylační činidlo používá karboxylová kyselina, používá se s výhodou v kombinaci s kondenzačním činidlem, například s karbodiimidem, jako dicyklohexylkarbodiimidem.

Acylačními činidly jsou alkanové kyseliny s 1 až 5 atomy uhlíku, benzoová kyselina a jejich acylační ekvivalenty, jak byly popsány výše. Mezi alkanové kyseliny náleží, bez jakéhokoli omezování pouze na tyto případy, kyselina mravenčí, kyselina octová, kyselina propionová, kyselina máselná, pentanová kyselina a alkanové kyseliny s rozvětvenými řetězci, jako 2-methylpropionová kyselina a 3-methylbutanová kyselina.

Acylační reakční je možno provádět v inertním organickém rozpouštědle, jako v pyridinu, přičemž v případě, že jako vedlejší produkt bude vznikat kyselina, přidává se k reakční směsi s výhodou akceptor kyseliny. Vhodnými akceptory kyseliny jsou například terciární aminové báze, jako pyridin, triethylamin, diisopropylethylamin apod., nebo anorganické báze, jako uhličitan sodný a draselný. Reakci je možno uskutečňovat při teplotě umožňující vznik žádaných produktů, která se může pohybovat zhruba od -15°C do 50°C . V závislosti na charakteru reakčních složek a na volbě reakčních podmínek, jako na teplotě, může být reakce ukončena v době pohybující se od

několika minut do několika dnů.

Acylace neprobíhá co do polohy selektivně a může při ní vznikat směs 2"-monoacylovaného produktu, 3"-monoacylovaného produktu a 2",3"-bisacylovaného produktu. Použijí-li se nejméně dva ekvivalenty acylačního činidla vzhledem k výchozímu epipodofylotoxinu, vzniká převážně bisacylovaný derivát. Vzájemný poměr monoacylovaného produktu a bisacylovaného produktu je možno do určité míry regulovat změnou reakčních parametrů podle principů obvykle používaných v daném oboru, například obměnou vzájemných množství reakčních složek nebo změnou reakčních podmínek, jako jsou teplota a reakční doba. Obecně platí, že při použití ekvimolárních množství reakčních složek vede snížení reakční teploty a zkrácení reakční doby k zvýšení množství vznikajících monoacylovaných produktů. Alternativně je možno monoacylované produkty získat tak, že se nejprve chrání jedna z hydroxylových skupin cukerného zbytku výchozího epipodofylotoxin-glukosidu s chráněnou 4'-fenolickou skupinou. Chránicí skupinou pro tuto hydroxylovou skupinu cukerného zbytku je s výhodou objemná chránicí skupina, například terc.butyl dimethylsilylová skupina, aby se na minimum snížila možnost reakce s oběma hydroxylovými skupinami. Ani toto chránění hydroxylových skupin cukerného zbytku neprobíhá co do polohy selektivně, je-li to však žádoucí, lze výsledné 2"-chráněné a 3"-chráněné sloučeniny snadno oddělit chromatograficky. Autoři tohoto vynálezu provedli formylaci etoposidu, nepoda-

řilo se jim však izolovat žádný z očekávaných monoformylderivátů etoposidu.

Směs produktů obsahující acylované deriváty s chráněnou fenolickou funkcí je možno rozdělit na individuální komponenty běžnými dělicími metodami, jako sloupcovou chromatografií. Odštěpením chránicí skupiny z fenolické hydroxylové funkce a v případě potřeby z hydroxylové skupiny cukerného zbytku se získají sloučeniny podle vynálezu. Toto odštěpování je možno uskutečnit buď před nebo po izolaci individuálních komponent. V daném případě nehraje pořadí rozhodující úlohu. Chránicí skupina se odštěpuje za použití metody vhodné pro tu kterou vybranou chránicí skupinu. Tyto metody jsou v oboru obecně známé. Tak například benzyloxykarbonylovou chránicí skupinu je možno odštěpit katalytickou hydrogenací za atmosférického tlaku, za použití paladia na uhlí jako katalyzátoru. Chránicí terc.butyldimethylsilylovou skupinu je možno odštěpit záhřevem ve vodně alkoholickém roztoku nebo působením fluoridového aniontu nebo vodné kyseliny octové.

Po odštěpení chránicí skupiny fenolické funkce je možno tuto 4'-fenolickou skupinu dále převádět na žádaný 4'-fosfát odpovídající obecnému vzorci VIII. Fosforylaci 4'-fenolu je možno uskutečnit běžnými metodami. Tak například je možno sloučeninu obecného vzorce VIII, ve kterém R^5 představuje atom vodíku, podrobit reakci s fosforylačním

činidlem, jako s oxychloridem fosforečným. Intermediární fosforylchlorid se pak in situ hydrolyzuje na příslušný 4'-fosfát. Hydrolyzou v přítomnosti báze, například hydrogenuhlčitanu sodného, se získá odpovídající sůl. Tento postup, jakož i jiné možné upotřebitelné fosforylační metody jsou popsány v americké patentové přihlášce GB2 207 674.

Je třeba zdůraznit, že syntéza sloučenin podle vynálezu není omezena na postupy a činidla popsané výše, ale že je možno použít i jiné metody acylace hydroxylových skupin na cukerné části 4'-demethylepipodofylotoxin-glukosidů. Reakční podmínky se v závislosti na volbě výchozích látek budou pochopitelně měnit, jejich volba však odborníkům nebude činit potíže.

Protinádorová účinnost reprezentativních sloučenin podle vynálezu byla hodnocena na transplantovatelné myší leukémii P388. Pět týdnů starým myším samicím (CDF_1) se intraperitoneálně aplikuje 0,4 ml zředěné ascitické tekutiny obsahující 10^6 buněk leukémie P388. Testované sloučeniny se podávají intraperitoneálně v jednorázové dávce ve dnu 1 a pokusná zvířata se pozorují 50 dnů. Zjišťuje se procentické zvýšení střední doby přežití (MST) ošetřených zvířat v porovnání s neošetřenými kontrolními zvířaty, které se zaznamenává v hodnotách T/C (%). Sloučeniny, které mají hodnoty T/C (%) rovné nebo vyšší než 125, se považují za látky vyka-

zující výraznou protinádorovou účinnost. Výsledky tohoto testu in vivo jsou uvedeny v následující tabulce I. Uvádějí se pouze maximální hodnoty T/C (%) a dávky, při nichž dochází k maximálnímu účinku.

T a b u l k a I

Protinádorová účinnost proti myší leukémii P388

sloučenina z příkladu č.	dávka (mg/kg/den)	MST [T/C (%)]
1	30	165
3	30	240
4	30	210
etoposid	30	182
6	120	>500 (3/4) ^{x)}
8	120	145
9	60	420 (1/4)
10	120	125
etoposid	120	>390 (6/12)

Legenda: x) počet přežívajících exemplářů/počet pokusných
exemplářů ve dnu 50

Cytotoxicita sloučenin podle vynálezu in vitro byla hodnocena na myších melanomu B16-F10 a na Moserově karcinomu tlustého střeva člověka. Exponenciálně rostoucí buňky

B-16-F10 a Moserova karcinomu se odeberou, spočítají se a v koncentraci $1,5 \times 10^4$ resp. 3×10^4 buněk/ml se suspendují v kultivačním prostředí. Buněčná suspenze se v dávkách 180 μ l vnese do jamek v mikrotitrační destičce s 96 jamkami, do každé jamky se přidá 20 μ l testované látky a destičky se 72 hodiny inkubují. Po obarvení živých buněk roztokem neutrální červeně se kolorimetricky (při 540 nm) zjistí cytotoxická aktivita proti nádorovým buňkám. Dosažené výsledky jsou uvedeny v následující tabulce II.

T a b u l k a II

Cytotoxicita in vitro proti buňkám myšího a lidského nádoru

sloučenina z příkladu č.	IC ₅₀ (μ g/ml)	
	B16-F10	Moser
3	1,6	1,1
4	1,4	ND ^{x)}
1	1,3	<0,8
8	0,92	ND
9	0,17	0,83
10	4,4	ND
6	2,0	0,84
etoposid	0,45	ND

Legenda: x) ND = nestanovováno

V souladu s tím popisuje vynález způsob inhibování nádorového bujení u savců, spočívající v tom, že se savci trpícími nádorem podá účinná inhibiční dávka protinádorově aktivní sloučeniny obecného vzorce VIII. K shora uvedenému účelu je možno sloučeninu podle vynálezu aplikovat běžnými cestami, zahrnujícími bez jakéhokoli omezování aplikaci intravenosní, intramuskulární, intratumorální, intraarteriální, intralymfatickou a orální.

Dále vynález popisuje farmaceutické prostředky obsahující sloučeninu obecného vzorce VIII a farmaceuticky upotřebitelný nosič. Tyto protinádorově účinné prostředky je možno zpracovávat na libovolné lékové formy vhodné pro žádaný způsob podání. Jako příklady zmíněných prostředků je možno uvést pevné prostředky pro orální podání, jako tablety, kapsle, pilulky, prášky a granule, kapalné prostředky pro orální podání, jako roztoky, suspenze, sirupy a elixíry, a prostředky pro parenterální podání, jako sterilní roztoky, suspenze a emulze. Popisované prostředky lze rovněž vyrábět jako sterilní pevné preparáty, které lze bezprostředně před použitím rozpustit ve sterilní vodě, ve fyziologickém solném roztoku nebo v jiném sterilním injekčním prostředí.

Výběr optimálních dávek a režimu dávkování pro léčeného savce nebude odborníkům činit potíže. Je pochopitelné, že používaná dávka se bude měnit v závislosti na charakteru použitého prostředku, na účinné látce, na způsobu podání, na ošetřovaném místě, na ošetřovaném pacientovi a na typu a závažnosti onemocnění. Je třeba mít na zřeteli i četné další faktory modifikující působením účinné látky, jako jsou věk, hmotnost, pohlaví, výživa, doba podání, způsob podání, rychlost vyměšování, stav pacienta, kombinace účinných látek, citlivost pacienta na účinnou látku a závažnost onemocnění.

Vynález ilustrují následující příklady provedení, jimiž se však rozsah vynález v žádném směru neomezuje.

Příprava 4'-O-benzyloxykarbonyletoposidu

K směsi 5,88 g (10 mmol) etoposidu a 10 ml pyridinu ve 100 ml methylenchloridu se za udržování teploty na -15°C přidá během 30 minut 1,98 ml (15 mmol) benzyl-chlorformiátu. Směs se další hodinu míchá při teplotě -15°C , pak se postupně promyje 5% kyselinou chlorovodíkovou, vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a vodou, vysuší se bezvodým síranem sodným a rozpouštědlo se odpaří. Získá se 8,05 g surového produktu, který se vyčistí chromatografií na sloupci silikagelu za použití 5% methanolu v methylenchloridu jako elučního činidla. Získá se 6,93 g (96 %) 4'-O-benzyloxykarbonyletoposidu

ve formě bezbarvé polotuhé látky o teplotě tání 152 až 155 °C.

IČ.(nujol) $\nu_{\max}$: 3200-3600 (OH), 1760 (lakton a 4'-O-benzyl-oxykarbonyl), 1600 cm^{-1} (aromatika).

$^1\text{H-NMR}$ (60 MHz, deuterochloroform, hodnoty δ): 7,36 (5H, s, $\text{OCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 6,81 (1H, s, 5-H), 6,50 (1H, s, 8-H), 6,25 (2H, s, 2' - a 6'-H), 5,94 (2H, šs, O- CH_2 -O), 5,23 (2H, s, $-\text{OCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 4,89 (1H, d, $J = 4 \text{ Hz}$, 4-H), 3,66 (6H, s, 3', 5'- OCH_3), 2,8 - 3,0 (2H, m, 2'', 3''-OH, výměna s D_2O), 1,38 (3H, d, $J = 5 \text{ Hz}$, 7''- CH_3).

P ř í k l a d 1

Příprava 2'', 3''-di-O-acetyletoposidu (vzorec VIII, $\text{R}^1 = \text{CH}_3$, $\text{R}^2 = \text{H}$, $\text{R}^3 = \text{R}^4 = \text{CH}_3\text{CO}-$)

(a) Příprava 2'', 2''-di-O-acetátu 4'-O-benzyl-oxykarbonyletoposidu

K roztoku 500 mg (0,69 mmol) 4'-O-benzyl-oxykarbonyletoposidu v 10 ml pyridinu se přidá 1 ml acetanhydridu a směs se 4 hodiny míchá při teplotě místnosti. Reakce se přeruší přidáním 2 ml methanolu, reakční směs se zředí dichlormethanem a postupně se promyje vodou, 5% kyselinou chlorovodíkovou a znovu vodou. Organická vrstva se vysuší síranem sodným, zfiltruje se a filtrát se zahustí ve vakuu. Získá se 551 mg

(99 %) bezbarvé pevné látky. Tento surový pevný produkt poskytne po překrystalování z methanolu 2",3"-di-O-acetát 4'-O-benzyloxykarbonyletoposidu (první podíl 395 mg, druhý podíl 60 mg) ve formě bezbarvých krystalů o teplotě tání 236 až 238 °C.

IČ (KBr-technika) $\nu_{\max}$: 3500 (široký pás), 1770, 1610 cm^{-1} .

UV (methanol) $\lambda_{\max}$ nm (ϵ): 290 (3950).

Analýza: pro $\text{C}_{41}\text{H}_{42}\text{O}_{17}$

vypočteno 61,04 % C, 5,25 % H;

nalezeno 60,64 % C, 5,36 % H.

(b) Příprava 2",3"-di-O-acetyletoposidu

Roztok 405 mg (0,5 mmol) produktu připraveného ve stupni (a) v 15 ml směsi ethanolu a acetonu (4:1) se 1,5 hodiny hydrogenuje za tlaku 100 kPa v přítomnosti 400 mg 10% paladia na uhlí. Katalyzátor se odfiltruje a filtrát se zahustí ve vakuu. Získá se 360 mg (cca 100 %) bezbarvého pevného produktu, který po překrystalování ze ^(směsi)ethylacetátu a methanolu poskytne 204 mg sloučeniny uvedené v názvu, ve formě bezbarvé krystalické látky o teplotě tání 287 až 289 °C, jejíž čistota je podle vysoce účinné kapalinové chromatografie 90%.

IČ (KBr-technika) $\nu_{\max}$: 3500 (široký pás), 1760, 1610 cm^{-1} .

UV (methanol) $\lambda_{\max}$ nm (ϵ): 240 (rameno, 12780), 285 (4060).

Analýza: pro $C_{33}H_{36}O_{15}$

vypočteno: 58,93 % C, 5,39 % H;

nalezeno: 58,56 % C, 5,41 % H.

P ř í k l a d 2

Příprava 2"-O-acetátu 3"-O-acetátu 4'-O-benzyloxykarbonyl-etoposidu

K roztoku 142 mg (0,2 mmol) 4'-O-benzyloxykarbonyl-etoposidu v 8 ml pyridinu se za udržování teploty na -10°C přidá 20 μl (0,18 mmol) acetanhydridu a 5 mg 4-dimethylamino-pyridinu. Směs se 30 minut míchá při teplotě -10°C , načež se k ní přidá dalších 20 μl (0,18 mmol) acetanhydridu. Reakční směs se dalších 30 minut míchá při teplotě -10°C , načež se zředí dichlormethanem a postupně se promyje vodou, 5% kyselinou chlorovodíkovou, vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a znovu vodou. Organická fáze se vysuší síranem sodným, zfiltruje se a filtrát se zahustí ve vakuu. Získá se bezbarvý práškový materiál (117 mg), který obsahuje 4 složky, jež mají při chromatografii na tenké vrstvě silikagelu v rozpouštědlovém systému tvořeném směsí stejných dílů a acetonu R_f 0,56, 0,46, 0,34 a 0,24. Tato směs se rozdělí chromatografií na sloupci silikagelu za použití 2,5% methanolu v dichlormethanu

jako elučního činidla. Frakce obsahující materiál o R_f 0,56 se spojí a odpaří se ve vakuu, čímž se získá 1 mg (1 %) 2",3"-di-O-acetyl-4'-O-benzyloxykarbonyletoposidu (4). Obdobně se z frakcí obsahujících látky o R_f 0,46, 0,34 resp. 0,24 získají 3"-O-acetyl-4'-O-benzyloxykarbonyletoposid (3), 2"-O-acetyl-4'-O-benzyloxykarbonyletoposid (2) a 4'-O-benzyl-oxykarbonyletoposid (1) (60 mg, 42 %) ve formě bezbarvého prášku. Z mezilehlých frakcí se rovněž získá 18 mg směsi produktů 3 a 4, 15 mg směsi produktů 2 a 3 a 6 mg směsi produktů 1 a 2.

2"-O-acetyl-4'-O-benzyloxykarbonyletoposid

Teplota tání 224 až 227 °C.

IČ (KBr-technika) $\nu_{\max}$: 3400 (široký pás), 1740, 1600 cm^{-1} .

UV (methanol) $\lambda_{\max}$ nm (ϵ): 291 (4200).

Analýza: pro $\text{C}_{39}\text{H}_{40}\text{O}_{16} \cdot 0,5 \text{ H}_2\text{O}$

vypočteno 61,25 % C, 5,27 % H;

nalezeno 60,84 % C, 5,25 % H.

3"-O-acetyl-4'-O-benzyloxykarbonyletoposid

Teplota tání 139 až 145 °C.

IČ (KBr-technika) $\nu_{\max}$: 3500 (široký pás), 1770, 1600 cm^{-1} .

UV (methanol) $\lambda_{\max}$ nm (ϵ) 291 (3920).

Analýza: pro $C_{39}H_{40}O_{16} \cdot 0,5 H_2O$

vypočteno 60,54 % C, 5,34 % H;

nalezeno 60,27 % C, 5,26 % H.

P ř í k l a d 3

Příprava 2"-O-acetyletoposidu (vzorec VIII, $R^1 = CH_3$,
 $R^2 = H$, $R^3 = CH_3CO-$, $R^4 = H$)

Postup popsany v odstavci (b) příkladu 1 se opakuje za použití 25 mg (0,03 mmol) 2",O-acetyl-4'-O-benzyloxykarbo-nyletoposidu. Získá se 21 mg (cca 100 %) sloučeniny uvedené v názvu, jejíž čistota je podle vysoce účinné kapalinové chromatografie 90%.

Teplota tání 144 až 147 °C.

IČ (KBr-technika) ν_{max} : 3450 (široký pás), 1770, 1740, 1610 cm^{-1}

UV (methanol) λ_{max} nm (ϵ): 240 (rameno, 12900), 284 (4030).

Analýza: pro $C_{31}H_{34}O_{14}$

vypočteno 59,04 % C, 5,43 % H;

nalezeno 58,65 % C, 5,46 % H.

P ř í k l a d 4

Příprava 3"-O-acetyletoposidu (vzorec VIII, $R^1 = CH_3$, $R^2 = H$,
 $R^3 = H$, $R^4 = CH_3CO$)

Postup popsaný v odstavci (b) příkladu 1 se opakuje za použití 10 mg (0,01 mmol) 3"-O-acetyl-4"-O-benzyloxykarbonyletoposidu. Získá se 9 mg (cca 100 %) sloučeniny uvedené v názvu, ve formě bezbarvého prášku, jehož čistota je podle vysoce účinné kapalinové chromatografie 85%.

Teplota tání 226 až 228 °C.

IČ (KBr-technika) $\nu_{\max}$: 3450 (široký pás), 1760, 1610 cm^{-1} .

UV (methanol) $\lambda_{\max}$ nm (ϵ): 240 (rameno, 12610), 285 (3960).

Analýza: pro $\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{O}_{14} \cdot 0,5 \text{H}_2\text{O}$.

vypočteno 58,21 % C, 5,52 % H;

nalezeno 58,22 % C, 5,42 % H.

P ř í k l a d 5

Příprava 2"-O-acetyletoposidu a 3"-O-acetyletoposidu ze směsi shora popsanych produktů 2 a 3

Směs látek 2 a 3 (60 mg; 0,08 mmol) se rozpustí v 5 ml směsi ethanolu a acetonu (4:1) a roztok se za míchání 1,5 hodiny hydrogenuje za tlaku 100 kPa v přítomnosti 30 mg 10% paladia na uhlí jako katalyzátoru. Katalyzátor se odfiltruje a filtrát se zahustí, čímž se získá 50 mg (cca 100 %) směsi polohových isomerů, která se dělí chromatografií na sloupci silikagelu. Získá se 10 mg (20 %) 2"-O-acetyletoposidu, 4 mg (8 %) 3"-O-acetyletoposidu a 30 mg (61 %) směsi těchto látek, ve formě bezbarvého prášku.

Přík l a d 6

Příprava 2",3"-di-O-formyletoposidu (vzorec VIII, $R^1 = \text{CH}_3$,
 $R^2 = \text{H}$, $R^3 = R^4 = \text{CHO}$ -)

(a) Příprava 2",3"-di-O-formiátu 4'-O-benzyloxykarbonyleto-
posidu

K roztoku 100 mg (0,14 mmol) 4'-O-benzyloxykarbonyl-
etoposidu v 0,7 ml pyridinu se při teplotě 0 °C přikape směs
1,4 ml 99% kyseliny mravenčí a 0,56 ml acetanhydridu. Reakční
směs se 4 hodiny míchá při teplotě místnosti, pak se zředí di-
chlormethanem a promyje se vodou. Organická fáze se vysuší sí-
ranem sodným, zfiltruje se a filtrát se zahustí ve vakuu. Zís-
ká se 122 mg bezbarvého práškového materiálu, který po vy-
čištění chromatografií na sloupci silikagelu, za použití směs:
methanolu a dichlormethanu (1:50) jako elučního činidla,
poskytne 91 mg (84 %) 2",3"-di-O-formiátu 4'-O-benzyloxykar-
bonyletoposidu ve formě bezbarvého prášku.

$^1\text{H-NMR}$ (deuterochloroform, hodnoty δ): 8,04 a 7,80 (vždy 1H,
s, CHO), 7,36 (5H, s, PhCH_2CO), 6,72 (1H, s, H-5),
6,53 (1H, s, H-8), 6,23 (2H, s, 2',6'-H), 5,97
(2H, s, OCH_2O), 5,23 (2H, s, PhCH_2CO), 5,4 - 4,0
(9H, m), 3,66 (6H, s, 3',5'- OCH_3), 3,6 - 2,6 (6H,
m), 1,35 (3H, d, $J = 5 \text{ Hz}$, 8"- CH_3).

(b) Příprava 2'',3''-di-O-formyletoposidu

Míchavý roztok 71 mg (0,009 mmol) produktu z odstavce (a) ve 2,5 ml směsi ethanolu a acetonu (4:1) se 1,5 hodiny hydrogenuje za tlaku 100 kPa v přítomnosti 50 mg 10% paladia na uhlí jako katalyzátoru. Po odfiltrování katalyzátoru se filtrát zahustí ve vakuu, čímž se získá 59 mg (cca 100 %) sloučeniny uvedené v názvu, ve formě bezbarvého prášku, jehož čistota je podle vysoce účinné kapalinové chromatografie 80%.

Teplota tání 278 až 280 °C.

IČ (KBr-technika) $\nu_{\max}$: 3400, 1760, 1740, 1610 cm^{-1} .

UV (methanol $\lambda_{\max}$ nm (ϵ): 236 (rameno, 14100), 285 (4230).

$^1\text{H-NMR}$ (deuteriochloroform, hodnoty δ): 8,04 a 7,83 (vždy 1H, s, CHO), 6,72 (1H, s, H-5), 6,53 (1H, s, H-8), 6,23 (2H, s, 2',6'-H), 5,98 (2H, s, OCH₂O), 5,6 - 4,1 (9H, m), 3,76 (6H, s, 3',5'-OCH₃), 3,7 - 2,6 (6H, m), 1,35 (3H, d, $J = 5$ Hz, 8''-CH₃).

Analýza: pro $\text{C}_{31}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$

vypočteno 57,26 % C, 5,00 % H;

nalezeno 57,09 % C, 5,00 % H.

P ř í k l a d 7

Příprava 2"-O-benzoátu, 3"-O-benzoátu a 2",3"-di-O-benzoátu
4'-O-benzyloxykarbonyletoposidu

K roztoku 500 mg (0,7 mmol) 4'-O-benzyloxykarbonyletoposidu v 5 ml pyridinu se přidá 100 μ l (0,86 mmol) benzoylchloridu. Reakční směs se 3 dny míchá při teplotě místnosti, pak se zředí dichlormethanem a postupně se promyje vodou, 5% kyselinou chlorovodíkovou a znovu vodou. Organická vrstva se vysuší síranem sodným, zfiltruje se a filtrát se zahustí ve vakuu. Získá se světle žlutý olejovitý materiál, která obsahuje 3 nové komponenty, jež mají při chromatografii na tenké vrstvě silikagelu v rozpouštědlovém systému dichlormethan-methanol (100:1) R_f 0,50, 0,38 a 0,21. Tato směs se rozdělí chromatografií na sloupci silikagelu za použití 40% hexanu v acetonu jako elučního činidla. Získá se 30 mg (5 %) 2",3"-di-O-benzoátu (7) (R_f 0,50) 227 mg (40 %) 3"-O-benzoátu (6) (R_f 0,38), 70 mg (12 %) 2",O-benzoátu (5) (R_f 0,21) a 215 mg (43 %) nezreagovaného 4'-O-benzyloxykarbonyletoposidu (1).

2"-O-benzoát 4'-O-benzyloxykarbonyletoposidu (5)

IČ (KBr-technika) $\nu_{\max}$: 3400 (široký pás), 1700, 1720, 1600 cm^{-1}

UV (methanol) $\lambda_{\max}$ nm (ϵ): 281 (4050).

$^1\text{H-NMR}$ (deuterochloroform, hodnoty δ): 7,3 - 7,9 (10H, m, $2 \times \text{C}_6\text{H}_5$), 5,17 (1H, t, $J = 8 \text{ Hz}$, 2"-OH), 5,01 (1H, d, $J = 8 \text{ Hz}$, 1"-H), 4,77 (1H, q, $J = 5 \text{ Hz}$, 7"-H), 3,2 - 3,8 (1H, m, 3"-H), 2,75 (1H, s, 3"-OH), 1,31 (3H, d, $J = 5 \text{ Hz}$, 7"-CH₃).

Analýza: pro $\text{C}_{44}\text{H}_{42}\text{O}_{16}$

vypočteno 63,92 % C, 5,12 % H;

nalezeno 63,80 % C, 5,17 % H.

3"-O-benzoát 4'-O-benzyl oxykarbonyletoposidu (6)

IČ (KBr-technika) ν_{max} : 3500 (široký pás), 1770, 1600 cm^{-1} .

UV (methanol) λ_{max} nm (ϵ): 225 (rameno, 30890), 281 (4300).

$^1\text{H-NMR}$ (deuterochloroform, hodnoty δ): 7,4 - 8,0 (10H, m, $2 \times \text{C}_6\text{H}_5$), 5,34 (1H, t, $J = 9 \text{ Hz}$, 3"-H), 4,74 (1H, d, $J = 8 \text{ Hz}$, 1"-H), 4,68 (1H, q, $J = 5 \text{ Hz}$, 7"-H), 3,60 (1H, m, 2"-H), 1,28 (3H, d, $J = 5 \text{ Hz}$, 7"-CH₃).

Analýza: pro $\text{C}_{44}\text{H}_{42}\text{O}_{16}$

vypočteno 62,55 % C, 5,25 % H;

nalezeno 62,73 % C, 5,29 % H.

2",3"-di-O-benzoát 4'-O-benzyl oxykarbonyletoposidu (7)

IČ (KBr-technika) ν_{max} : 1770, 1730, 1600 cm^{-1} .

UV (methanol) λ_{max} nm (ϵ): 227 (rameno, 40270), 282 (4550).

$^1\text{H-NMR}$ (deuteriochloroform, hodnoty δ): 7,3 -- 7,9 (10H, m, $2 \times \text{C}_6\text{H}_5$), 5,55 (1H, t, $J = 8 \text{ Hz}$, 3"-H), 5,32 (1H, t, $J = 8 \text{ Hz}$, 2"-H), 4,93 (1H, d, $J = 8 \text{ Hz}$, 1"-H), 4,50 (1H, q, 7"-H), 1,31 (3H, d, $J = 5 \text{ Hz}$, 7"- CH_3).

Analýza: pro $\text{C}_{51}\text{H}_{46}\text{O}_{17}$
vypočteno 65,80 % C, 4,55 % H;
nalezeno 65,28 % C, 4,98 % H.

P ř í k l a d . 8

Příprava 2"-O-benzoyletoposidu (VIII, $\text{R}^1 = \text{CH}_3$, $\text{R}^2 = \text{H}$, $\text{R}^3 = \text{PhCO-}$, $\text{R}^4 = \text{H}$)

Míchaný roztok 54 mg (0,07 mmol) 2"-O-benzoátu 4'-O-benzyloxykarbonyletoposidu ve 3 ml směsi ethanolu a acetonu (2:1) se v přítomnosti 50 mg 10% paladia na uhlí 2 hodiny hydrogenuje za tlaku 100 kPa. Katalyzátor se odfiltruje a filtrát se zahustí, čímž se získá 40 mg (88 %) sloučeniny uvedené v názvu, ve formě bezbarvého prášku, jehož čistota je podle vysoce účinné kapalinové chromatografie 95%.

Teplota tání 289 až 292 °C.

IČ (KBr-technika) ν_{max} : 3450, 1760, 1730 cm^{-1} .

UV (methanol) λ_{max} nm (ϵ): 283 (4470).

^1H -NMR (deuterochloroform, hodnoty δ): 7,4 - 7,8 (5H, m, COC_6H_5), 5,07 (1H, dd, $J = 7,7$ a $9,2$ Hz, $2''\text{-H}$), 4,89 (1H, d, $J = 7,7$ Hz, $1''\text{-H}$), 4,80 (1H, q, $J = 5,1$ Hz, $7''\text{-H}$), 4,23 (1H, dd, $J = 4,8 = 10,3$ Hz, $6''\text{-H}$ ekv.), 3,98 (1H, dt, $J = 3,3$ a $9,2$ Hz, $3''\text{-H}$), 3,64 (1H, t, $J = 10,3$ Hz, $6''\text{-H}$ ax.), 3,47 (1H, t, $J = 9,2$ Hz, $4''\text{-H}$), 3,40 (1H, dt, $J = 4,8$ a 10 Hz, $5''\text{-H}$), 2,74 (1H, d, $J = 3,3$ Hz, $3''\text{-OH}$), 1,41 (3H, d, $J = 5,1$ Hz, $7''\text{-CH}_3$).

Analýza: pro $\text{C}_{36}\text{H}_{36}\text{O}_{14} \cdot \text{H}_2\text{O}$
vypočteno 60,84 % C, 5,11 % H;
nalezeno 61,10 % C, 5,40 % H.

P ř í k l a d 9

Příprava $3''\text{-O}$ -benzoyletopoxidu (vzorec VIII, $\text{R}^1 = \text{CH}_3$,
 $\text{R}^2 = \text{H}$, $\text{R}^3 = \text{H}$, $\text{R}^4 = \text{PhCO}$)

34 mg (0,04 mmol) $3''\text{-O}$ -benzoátu $4'\text{-O}$ -benzyloxykarbonyletoposidu se hydrogenuje postupem popsaným v příkladu 8, za vzniku 27 mg (95 %) sloučeniny uvedené v názvu, ve formě bezbarvé pevné látky, která po vysušení sloupcovou chromatografií poskytne bezbarvý krystalický produkt, jehož čistota je podle vysoce účinné kapalinové chromatografie 95%.

Teplota tání 188 až 191 °C.

IČ (KBr-technika) $\nu_{\max}$: 3400 (široký pás), 1730 cm^{-1} .

UV (methanol) $\lambda_{\max}$ nm (ϵ): 223 (35900), 280 (4030).

$^1\text{H-NMR}$ (deuteriochloroform, hodnoty δ): 7,4 - 7,8 (5H, m, CPh), 5,38 (1H, t, $J = 9,2$ Hz, 3"-H), 4,79 (1H, d, $J = 7,7$ Hz, 1"-H), 4,72 (1H, q, $J = 5,1$ Hz, 7"-H), 4,22 (1H, dd, $J = 5$ a 10 Hz, 6"-H ekv.), 3,67 (1H, št, $J = 8$ Hz, 2"-H), 3,61 (1H, t, $J = 10$ Hz, 6"-H ax.), 3,59 (1H, t, $J = 9,4$ Hz, 4"-H), 3,47 (1H, m, 5"-H), 2,58 (1H, š, 2"-OH), 1,31 (3H, d, $J = 5,1$ Hz, 7"-CH₃).

Analýza: pro $\text{C}_{36}\text{H}_{36}\text{O}_{14} \cdot 2 \cdot \text{H}_2\text{O}$

vypočteno 59,31 % C, 4,98 % H;

nalezeno 59,14 % C, 5,10 % H.

P ř í k l a d 10

Příprava 2",3"-O-di-benzoyletoposidu (vzorec VIII, $\text{R}^1 = \text{CH}_3$, $\text{R}^2 = \text{H}$, $\text{R}^3 = \text{R}^4 = \text{PhCO}-$)

Roztok 130 mg (0,14 mmol) 2",3"-di-O-benzoátu 4'-O-benzyloxykarbonyletoposidu ve 4,5 ml směsi ethylacetátu, ethanolu a acetonu (4:4:1) se za míchání hydrogenuje postupem podle příkladu 8. Získá se 112 mg (cca 100 %) sloučeniny uve-

dené v názvu, ve formě bezbarvé práškovité látky, jejíž čistota je podle vysoce účinné kapalinové chromatografie 90%. Teplota tání vyšší než 295 °C.

IČ (KBr-technika) $\nu_{\max}$: 1770, 1730 cm^{-1} .

UV (methanol) $\lambda_{\max}$ nm (ϵ): 226 (rameno, 24200), 281 (3470).

$^1\text{H-NMR}$ (deuterochloroform, hodnoty δ): 7,3 - 8,0 (10H, m, 2 x COC_6H_5), 5,67 (1H, t, $J = 9,5$ Hz, 3"-H), 5,35 (1H, dd, $J = 8,1$ a 9,7 Hz, 2"-H), 4,98 (1H, d, $J = 8,1$ Hz, 1"-H), 4,73 (1H, q, $J = 4,8$ Hz, 7"-H), 4,28 (1H, dd, $J = 4,4$ a 10,3 Hz, 6"-H ekv.), 3,69 (1H, t, $J = 9,5$ Hz, 4"-H), 3,67 (1H, t, $J = 10$ Hz, 6"-H ax.), 3,56 (1H, dt, $J = 9,5$ a 10 Hz, 5"-H), 1,33 (3H, d, $J = 4,8$ Hz, 7"- CH_3).

Analýza: pro $\text{C}_{43}\text{H}_{40}\text{O}_{15} \cdot \text{H}_2\text{O}$

vypočteno 63,39 % C, 5,20 % H;

nalezeno 62,99 % C, 4,99 % H.

P ř í k l a d 11

Pracuje se postupem popsáním v příkladu 1, za použití 4'-O-benzyloxykarbonylteniposidu namísto 4'-O-benzyloxykarbonyletoposidu. Získá se 2",3"-di-O-acetylteniposid.

P ř í k l a d 12

Postup podle příkladu 2 až 4 se opakuje s tím, že se místo 4'-O-benzyloxykarbonyletoposidu použije 4'-C-benzyl-oxykarbonylteniposid. Získají se 2"-O-acetylteniposid a 3"-O-acetylteniposid.

P ř í k l a d 13

Obecný postup podle příkladu 6 se opakuje za použití 4'-O-benzyloxykarbonylteniposidu místo 4'-O-benzyloxykarbonyletoposidu. Získá se 2",3"-di-O-formylteniposid.

P ř í k l a d 14

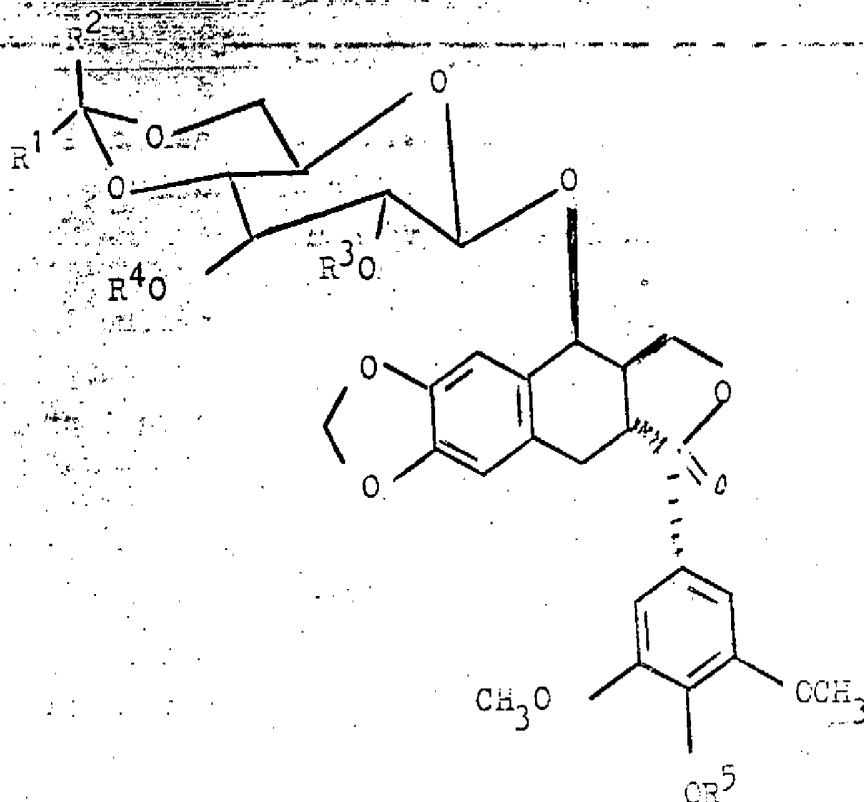
Obecný postup podle příkladu 7 až 10 se opakuje za použití 4'-O-benzyloxykarbonylteniposidu místo 4'-O-benzyloxykarbonyletoposidu. Získají se 2"-O-benzylteniposid, 3"-O-benzylteniposid a 2",3"-di-O-benzoylteniposid.

Průmyslová využitelnost

Acylovený derivát epipodofylotoxinu, určený pro léčbu plicních nádorů a nádorů varlat, způsob jeho výroby a použití jakožto účinné látky protinádorových prostředků pro savce.

052828	14. XI. 91	PROV. JÁLEZY A OBJEVY	UŘAD
14. XI. 91			

cyklovaný derivát epipedofylotoxinu obecného vzorce VIII



/VIII/

kde znamená

R^2 atom vodíku a
 R^1 alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku, aralkylovou skupinu se 2 až 10 atomy uhlíku, cykloalkylovou skupinu s 5 až 6 atomy uhlíku, 2-furylovou skupinu, 2-thienylovou skupinu, arylovou skupinu se 6 až 10 atomy uhlíku nebo aralkylovou skupinu se 7 až 14 atomy uhlíku nebo

R^1 a R^2 vždy alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku nebo spolu s atomem uhlíku, na který jsou vázány, tvoří cykloalkylovou skupinu s 5 až 6 atomy uhlíku,

R^3 a R^4 jeden znamená atom vodíku a druhý alkanoylovou skupinu s 1 až 5 atomy uhlíku nebo benzoylovou skupinu, nebo vždy stejnou skupinu ze souboru zahrnujícího alkanoylovou skupinu s 1 až 5 atomy uhlíku a benzoylovou skupinu a

PRŮVĚŘE A OBJEVY	UŘAD PRO VYŘEŠENÍ SPRÁVNÍ	14. XI. 91	DOK. 052828	21

R^5 atom vodíku nebo fosfátovou skupinu.

2. Acylovaný derivát epipodofylotoxinu podle nároku 1 obecného vzorce VIII, kde znamená R^2 atom vodíku, R^1 methylovou skupinu, 2-thienylovou skupinu nebo fenylovou skupinu a ostatní symboly mají v nároku 1 uvedený význam.

3. Acylovaný derivát epipodofylotoxinu podle nároku 2 obecného vzorce VIII, kde znamená R^1 methylovou skupinu a ostatní symboly mají v nároku 2 uvedený význam.

4. Acylovaný derivát epipodofylotoxinu podle nároku 1 obecného vzorce VIII, kde znamená R^3 a R^4 alkynoylové skupiny s 1 až 5 atomy uhlíku a ostatní symboly mají v nároku 1 uvedený význam.

5. Acylovaný derivát epipodofylotoxinu podle nároku 1 obecného vzorce VIII, kde znamená jeden ze symbolů R^3 a R^4 atom vodíku a druhý alkanoylovou skupinu s 1 až 5 atomy uhlíku nebo benzoylovou skupinu a ostatní symboly mají v nároku 1 uvedený význam.

6. Acylovaný derivát epipodofylotoxinu podle nároku 4 obecného vzorce VIII, kde znamená R^1 methylovou skupinu nebo 2-thienylovou skupinu a ostatní symboly mají v nároku 4 uvedený význam.

7. Acylovaný derivát epipodofylotoxinu podle nároku 6 obecného vzorce VIII, kde znamená R^1 methylovou skupinu, R^3 a R^4 vždy formylovou skupinu, R^5 atom vodíku a R^2 má význam, uvedený v nároku 6.

8. Acylovaný derivát epipodofylotoxinu podle nároku 6 obecného vzorce VIII, kde znamená R^1 methylovou skupinu, R^3 a R^4 vždy acetylovou skupinu, R^5 atom vodíku a R^2 má význam uvedený v nároku 6.

9. Acylovaný derivát epipodofylotoxinu podle nároku 3 obecného vzorce VIII, kde znamená R^3 a R^4 vždy benzoylovou

skupinu, R^2 atom vodíku a ostatní symboly mají v nároku 3 uvedený význam.

10. Acylovaný derivát epipodofylotoxinu podle nároku 3 obecného vzorce VIII, kde znamená R^5 atom vodíku, jeden ze symbolů R^3 a R^4 atom vodíku a druhý alkanoylovou skupinu se 2 až 5 atomy uhlíku a ostatní symboly mají v nároku 3 uvedený význam.

11. Acylovaný derivát epipodofylotoxinu podle nároku 3 obecného vzorce VIII, kde znamená R^5 atom vodíku, jeden ze symbolů R^3 a R^4 atom vodíku a druhý benzoylovou skupinu a ostatní symboly mají v nároku 3 uvedený význam.

12. Protinádorově účinný farmaceutický prostředek pro savce, vyznačující se tím, že obsahuje účinné množství sloučeniny podle nároku 1 až 11, obecného vzorce VIII, kde jednotlivé symboly mají v nároku 1 až 11 uvedený význam, a farmaceuticky vhodný nosič.


JUDr. Petr KALENSKY

