



⑩ A **Terinzagelegging** ⑪ **8101095**

Nederland

⑲ NL

---

- ⑤4 **Werkwijze ter bereiding van daunosaminehydrochloride en tussenprodukten, die voor de bereiding daarvan gebruikt worden.**
- ⑤1 Int.Cl<sup>3</sup>.: C07H 5/06, C07H 15/26.
- ⑦1 Aanvrager: Purdue Research Foundation te Lafayette, Indiana, Ver.St.v.Am.
- ⑦4 Gem.: Ir. G.F. van der Beek c.s.  
NEDERLANDSCH OCTROOIBUREAU  
Joh. de Wittlaan 15  
2517 JR 's-Gravenhage.

- 
- ②1 Aanvraag Nr. 8101095.
- ②2 Ingediend 6 maart 1981.
- ③2 Voorrang vanaf 7 maart 1980.
- ③3 Land van voorrang: Ver. St. v. Am. (US).
- ③1 Nummer van de voorrangsaanvraag: 128299 .
- ⑥2 - -

- 
- ④3 Ter inzage gelegd 1 oktober 1981.

De aan dit blad gehechte stukken zijn een afdruk van de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en).

---

Werkwijze ter bereiding van daunosaminehydrochloride en tussenprodukten, die voor de bereiding daarvan gebruikt worden.

---

De onderhavige uitvinding heeft betrekking op een techniek voor de bereiding van daunosaminehydrochloride en tussenprodukten, die tot daunosaminehydrochloride kunnen worden omgezet. De onderhavige uitvinding heeft eveneens betrekking op bepaalde nieuwe tussenprodukten, die geschikt zijn voor de synthese van daunosaminehydrochloride.

Doxorubicine is een bekend antracycline antibioticum, dat bijvoorbeeld in het Amerikaanse octrooischrift 3.590.028 beschreven is. Doxorubicine en de nauw verwante verbinding daunomycine, zijn anti-neoplastische middelen van gevestigde klinische bruikbaarheid. Doxorubicinehydrochloride, verkrijgbaar bij Adria Laboratories Inc. onder de handelsnaam Adriamycine<sup>®</sup> is goed gekeurd door de Food and Drug Administration voor gebruik in klinische research en is één van de meest krachtige anti-kankergeneesmiddelen, die beschikbaar zijn tegen talrijke vormen van kanker.

Thans wordt doxorubicine technisch bereid uit een bodemfungus volgens een fermentatieproces. Een geschikte fermentatietechniek voor de bereiding van doxorubicine is beschreven in het Amerikaanse octrooischrift 3.590.028. Dergelijke technieken zijn van zichzelf kostbaar en beperken de typen moleculen, die voortgebracht kunnen worden. Vanwege de inherente nadelen van thans beschikbare technische technieken voor de bereiding van doxorubicine en dergelijke verwante verbindingen zoals daunomycine, zijn aanzienlijke pogingen gewijd aan de ontwikkeling van werkwijzen ter bereiding van dergelijke verbindingen door chemische synthese.

Doxorubicine bestaat uit een aglycon, adriamycinon, en een aminosuiker, daunosamine. Op soortgelijke wijze bestaat daunomycine uit het aglycon daunomycinon en de aminosuiker daunosamine. Meer in het bijzonder hebben doxorubicine en daunomycine de formule 13, welke verbinding doxorubicine is wanneer R -OH is en daunomycine is, wanneer R -H is.

Technieken voor de synthese van doxorubicine en daunomycine en hun aglyconen, adriamycinon en daunomycinon, zijn bekend. Zie bijvoorbeeld Wong c.s., Canadian Journal of Chemistry, 51, (1973) 466; Acton c.s., Journal of Medicinal Chemistry, 17, nr. 6, (1974) 659; Kende c.s., Journal of American Chemical Society, 97, nr. 15, (1975) 4425 en 98, nr. 7, (1976) 1967; en Kende c.s., en het Amerikaanse octrooi-

8101095

schrift 4.021.457. Technieken voor het verbinden van daunosamine aan de aglyconen zijn eveneens bekend. Zie bijvoorbeeld Acton c.s., hiervoor, en Smith c.s., Journal of American Chemical Society , 98, nr. 7 (1976) 1969.

5        Geen van de bekende technieken voor de synthese van antracycline-antibiotica, zoals doxorubicine, zijn technisch succesvol gebleken. Vanwege de vraag naar en de schaarste van deze verbindingen is een technisch praktische techniek voor de synthese ervan zeer noodzakelijk. Aangezien de suiker/daunosamine een belangrijk deel van de  
10 ze verbindingen uitmaakt, en aangezien het zowel bekend is hoe de aglyconen adriamycinon en daunomycinon te synthetiseren, alsmede hoe daunosamine te binden aan de aglyconen, zijn technieken voor de synthese van daunosamine en verwante verbindingen in hoge mate gewenst als een deel van een techniek voor de totale synthese van de antra-  
15 cycline-antibiotica.

Terwijl technieken voor de synthese van daunosamine bekend zijn, lijden de bekende technieken aan ernstige tekortkomingen, die hun praktisch gebruik begrenzen. Bijvoorbeeld gebruikt de werkwijze beschreven door Marsh c.s., Chemical Communications, bladz. 973 (1967)  
20 een moeilijke methode voor het verkrijgen van glycal als een uitgangsprодукt en houdt het gebruik van een potentieel gevaarlijke trap in van het maken van een azidederivaat met natriumazide. Voorts worden bij de werkwijze beschreven door Marsh c.s. isomeren voortgebracht, die scheiding vereisen door een moeilijke chromatografische  
25 trap. De werkwijze beschreven door Horton c.s. in Carbohydrate Research, 44, (1975) 227, vereist het gebruik van een aantal zeer dure reagentia en resulteert eveneens in de produktie van moeilijk te scheiden isomeren.

In de Amerikaanse octrooiaanvraag 908.240, ingediend 22 mei 1978.  
30 is een werkwijze beschreven voor de synthese van daunosamine en verwante verbindingen alsmede nieuwe tussenprodukten. In de Amerikaanse octrooiaanvraag 128.298, ingediend 7 maart 1980, wordt onder andere een werkwijze beschreven voor de synthese van alkyl L-ristosaminiden en N-benzoyl-L-ristosamine, waarbij ristosamine een configuratie-  
35 analoog van daunosamine is.

De onderhavige uitvinding verschaft een praktische techniek voor de synthese van daunosaminehydrochloride. Bovendien verschaft de onderhavige uitvinding nieuwe tussenprodukten en werkwijzen ter bereiding ervan, die waardevol zijn bij de synthese van daunosamine-  
40 hydrochloride. Bovendien kunnen de hierin beschreven synthesesetech-

8101095

ken als uitgangsprодукten de gemakkelijk verkrijgbare en goedkope verbindingen D-glucose en D-galactose gebruiken.

Volgens de onderhavige uitvinding worden de bekende verbindingen, L-fucal of 6-deoxy-L-idal, welke verbindingen kunnen worden afgeleid van D-galactose en D-glucose gebruikt worden als uitgangsprодукten ter bereiding van alkyl L-daunosaminiden. Deze laatste verbindingen kunnen worden omgezet tot L-daunosaminehydrochloride.

De werkwijze van de onderhavige uitvinding voor de bereiding van alkyl L-ristosaminiden omvat:

- 10 a. oxydatie van L-fucal of 6-deoxy-L-idal;
- b. reactie van het verkregen 1,5-anhydro-3-oxo-2,3,6-trideoxy-L-treo-hex-1-enitol met een blokkeringsmiddel ter bereiding van een verbinding met formule 6, waarin R een blokkeringsgroep is;
- c. het onderwerpen van de verkregen verbinding aan een alkyloxy-15 mercurering ter bereiding van een ketose met formule 7, waarin R' alkyl met 1 - 6 koolstofatomen voorstelt;
- d. onderwerping van de verkregen ketose aan oximevorming ter bereiding van een oxime met formule 8;
- e. demercurering van het oxime tot een verbinding met formule 9;
- 20 en
- f. reductie van de verkregen verbinding met gelijktijdige verwijdering van de blokkeringsgroep ter bereiding van alkyl L-daunosaminiden.

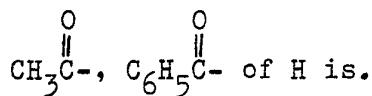
Het L-fucal, gebruikt bij trap (a), kan bereid worden door acetylering van L-fucose; bromering van het verkregen fucosetetraäcetaat tot 2,3,4-tri-O-acetyl-L-fucopyranosylbromide, reductie van dit bromide tot 3,4-di-O-acetyl-L-fucal en deacetylering van dit fucal tot L-fucal.

Het 6-deoxy-L-idal, gebruikt bij trap (a), kan bereid worden door acetylering van 6-deoxy-L-idose, bromering van het verkregen idosetetraäcetaat tot 2,3,4-tri-O-acetyl-6-deoxy-L-idopyranosylbromide, reductie van dit bromide tot 3,4-di-O-acetyl-6-deoxy-L-idal en deacetylering van dit idal tot 6-deoxy-L-idal.

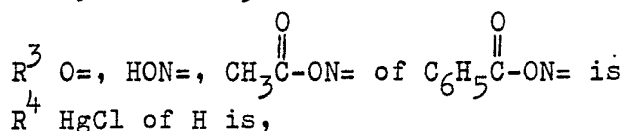
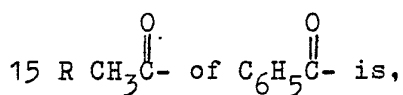
Terwijl de bij trap (e) voortgebrachte verbinding direkt kan worden gereduceerd met gelijktijdige verwijdering van de blokkeringsgroep verdient het de voorkeur deze eerst om te zetten met een blokkeringsmiddel ter bereiding van een verbinding met formule 10, waarin R een blokkeringsgroep voorstelt en vervolgens de verkregen verbinding te reduceren met gelijktijdige verwijdering van de blokkeringsgroepen ter bereiding van alkyl L-daunosaminiden.

De alkyl L-daunosaminiden voortgebracht volgens de hiervoor beschreven werkwijze kunnen worden omgezet tot L-daunosaminehydrochloride door het daunosaminide om te zetten met waterstofchloride.

De onderhavige uitvinding heeft eveneens betrekking op nieuwe tussenprodukten en werkwijzen ter bereiding ervan, die geschikt zijn voor de synthese van daunosaminehydrochloride. Onder deze produkten zijn die met formule 14, waarin  $R^2$



De onderhavige uitvinding verschaft eveneens waardevolle tussenprodukten en werkwijzen ter bereiding daarvan, die geschikt zijn voor de synthese van daunosaminehydrochloride, met inbegrip van die met formule 15, waarin  $R^1$  alkyl met 1 - 6 koolstofatomen is,



met dien verstande dat wanneer  $\text{R}^4 \text{ HgCl}$  is,  $\text{R}^3 \text{ O=}$  of  $\text{HON=}$  moet zijn, wanneer  $\text{R}^4 \text{ H}$  is,  $\text{R}^3$  geen  $\text{O=}$  kan zijn.

Bij de synthesesetechniek van de onderhavige uitvinding kan D-galactose, een gemakkelijk verkrijgbare en goedkope verbinding, als uitgangsprodukt gebruikt worden. Onder toepassing van de methode beschreven door Dejter-Juszynski en Flowers, Synthesis of L-fucose in Carbohydrate Research, 28 (1973) 144-146, wordt D-galactose omgezet tot L-fucose met formule 1.

Opgemerkt wordt, dat in de hiervoor gegeven structuurformule, alsmede in andere structuurformules, sommige van de waterstofatomen duidelijkheidshalve zijn weggelaten. Deskundigen zullen geen moeilijkheden ondervinden bij de interpretatie van de formules, om de weggelaten waterstofatomen op te nemen.

L-Fucose wordt vervolgens geacetyleerd met azijnzuuranhydride ter bereiding van fucosetetraäcetaat. Bij voorkeur wordt de reactie uitgevoerd door L-fucose in een oplosmiddel, zoals pyridine, te suspenderen en langzaam het azijnzuuranhydride toe te voegen. Het mengsel wordt geroerd, in een ijswater bevattende scheitrechter gegoten en met chloroform geëxtraheerd. De organische extrakten worden met water, water bevattend natriumwaterstofcarbonaat gewassen en boven magnesiumsulfaat gedroogd. Het mengsel wordt gefiltreerd en het oplosmiddel wordt onder verminderde druk verwijderd. Het residu wordt

tezamen met toluen verdampt ter verwijdering van eventueel achtergebleven pyridine of azijnzuur. Het fucosetetraäcetaat wordt vervolgens gebromeerd tot 2,3,4-tri-O-acetyl-L-fucopyranosylbromide met formule 2. Opgemerkt wordt, dat in de voorafgaande formule en elders 5 het gebruik van "Ac" de acetylgroep voorstelt, dat wil zeggen

$\text{CH}_2\overset{\text{O}}{\underset{\text{||}}{\text{C}}}-$ . Het fucosetetraäcetaat wordt gebromeerd met waterstofbromide in azijnzuur. Het mengsel wordt op soortgelijke wijze opgewerkt zoals hiervoor beschreven voor de bereiding van fucosetetraäcetaat, dat 10 wil zeggen chloroformextractie uit ijswater.

Het bromide met formule 2 wordt vervolgens gereduceerd tot 3,4-di-O-acetyl-L-fucal met formule 3. De reductie wordt uitgevoerd door een mengsel van het bromide met formule 2 en een oplossing van ijsazijn, dat natriumacetaat bevat, met geactiveerde zinkstof te behandelen. Het reactiemengsel wordt vervolgens gefiltreerd en met chloroform geëxtraheerd. De organische laag wordt daarna met water bevattend natriumwaterstofcarbonaat en water gewassen, boven magnesiumsulfaat gedroogd, gefiltreerd en het oplosmiddel wordt onder verminderde druk verwijderd. De verbinding met formule 3 wordt daarna gezuiverd 20 door vacuümdestillatie tot een siroop, die bij bewaren kristalliseert.

De verbinding met formule 3 wordt gedeacetyleerd tot L-fucal met formule 4. De deacetylering wordt uitgevoerd door de verbinding met formule 3 in methanol op te lossen en de pH op 8 - 9 in te stellen door de toevoeging van natriummethanolaat in methanol. Het reactiemengsel wordt vervolgens geneutraliseerd en het oplosmiddel wordt door verdamping verwijderd. Het onzuivere L-fucal wordt vervolgens door herkristallisatie gezuiverd.

Als een alternatief voor de hiervoor beschreven methode, die D-galactose als uitgangsubstant gebruikt, kan D-glucose als uitgangsubstant 30 produkt gebruikt worden.

D-glucose wordt eerst omgezet tot 5,6-anhydro-3-O-benzyl-1,2-O-isopropylideen-β-L-idofuranose volgens de methode beschreven door Nayak en Whistler, Improved Syntheses of 5-Thio-D-glucose in J. Organic Chem., 34, (1969) 97. De laatstgenoemde verbinding wordt omgezet tot 6-deoxy-1,2-O-isopropylideen-α-L-idofuranose volgens de methode beschreven door Blidenbacker en Reichstein, Synthese des L-Glucomethylose-3-methyläthers und seine Identifizierung mit Thevetose in Helvetica Chimica Acta, 31, (1948) 1669. Hydrolyse van deze verbinding zal 6-deoxy-L-idose geven met formule 1'. De hydrolyse 40 wordt uitgevoerd in 0,05 M zwavelzuur bij 50°C gedurende 16 uren on-

der stikstof.

Deze verbinding wordt omgezet tot 2,3,4-tri-O-acetyl-6-deoxy-L-idopyranosylbromide met de formule 2'. De methode voor de uitvoering van de omzetting is identiek aan die beschreven voor de omzetting van 5 L-fucose (verbinding 1) tot de verbinding met formule 2, waarbij de vroegere methode exakt gevolgd wordt met 6-deoxy-L-idose gesubstitueerd voor L-fucose.

De verbinding met formule 2' wordt gereduceerd tot 3,4-di-O-acetyl-6-deoxy-L-idal met formule 3'. De methode voor de reductie 10 van de verbinding met formule 2' tot de verbinding met formule 3' is identiek aan die beschreven voor de reductie van de verbinding met formule 2 tot de verbinding met formule 3, waarbij alleen de verbinding met formule 2' gesubstitueerd wordt voor de verbinding met formule 2. De verbinding met formule 3' wordt gezuiverd door destilla- 15 tie en/of herkristallisatie.

De verbinding met formule 3' wordt vervolgens gedeacetyleerd tot 6-deoxy-L-idal met formule 4'. De werkwijze voor de uitvoering van de deacetylering is identiek aan die beschreven voor de deacetylering van de verbinding met formule 3 tot de verbinding met formule 4, 20 waarbij de verbinding met formule 3' alleen gesubstitueerd is voor de verbinding met formule 3.

De volgende trap bij de synthese van alkyl L-daunosaminiden is de oxydatie van de verbinding met formule 4 of 4' tot 1,5-anhydro-3-oxo-2,3,6-trideoxy-L-treo-hex-1-enitol met formule 5. De oxydatie 25 wordt bij voorkeur uitgevoerd door in een kolf de verbinding met formule 4 of 4' in benzeen op te lossen en vervolgens zilvercarbonaat op celite (reagens volgens Fetizon) toe te voegen. Het mengsel wordt gedestilleerd om een deel van het oplosmiddel te verwijderen en wordt vervolgens onder terugvloeiing verhit. Het mengsel wordt 30 daarna door celite gefiltreerd en het filtraat wordt onder een verminderde druk verdampt, waarbij de verbinding met formule 5 verkregen wordt.

Het bij de voorafgaande oxydatietrap gebruikte reagens volgens Fetizon wordt bereid door zilvernitraat in gedestilleerd water op te 35 lossen, celite en vervolgens een oplossing van kaliumwaterstofcarbonaat in gedestilleerd water toe te voegen. De goed geroerde suspensie wordt gefiltreerd om het reagens te verzamelen, welk reagens vervolgens wordt gedroogd. Het reagens volgens Fetizon wordt bewaard in een bruine glazen fles bij kamertemperatuur.

40 Als een alternatieve voorkeurs-oxydatietrap kan de verbinding

8101095

met formule 4 of 4' worden omgezet met een speciaal bereide suspensie van mangaandioxide in tetrahydrofuran. Het bij deze trap gebruikte mangaandioxide wordt bereid door kaliumpermanganaat in gededistilleerd water op te lossen, te verwarmen en gelijktijdig mangaan-  
5 sulfaatmonohydraat in water en een oplossing van natriumhydroxide toe te voegen. De suspensie wordt geroerd, gefiltreerd en gewassen. De verkregen chocoladebruine vaste stof wordt vervolgens gedroogd ter bereiding van een mangaandioxide, dat voor gebruik bij de oxydatietrap bevredigend is.

10 Als een andere alternatieve voorkeurs-oxydatietrap kan de verbinding met formule 4 of 4' worden omgezet met chroomtrioxide:pyridinecomplex in dichloormethaan gekatalyseerd met azijnzuuranhydride.

De verbinding met formule 5 wordt vervolgens omgezet met een blokkeringsmiddel ter bereiding van een verbinding met formule 6,  
15 waarin R een blokkeringsgroep voorstelt.

Voorbeelden van geschikte blokkeringsmiddelen, die gebruikt kunnen worden tijdens de gehele onderhavige synthesesetchniek omvat acetyl- en benzoylgroepen. Deze groepen kunnen worden ingevoerd door de verbinding met formule 5 respectievelijk om te zetten met verbindingen  
20 zoals azijnzuuranhydride of benzoylchloride. De reactie wordt bij voorkeur uitgevoerd in een oplosmiddel, dat een goed zuurbindend middel is, zoals pyridine, een natriumhydroxide-oplossing of choline. Na de reactie wordt het oplosmiddel onder verminderde druk verwijderd en wordt het residu tezamen enkele malen met tolueen verdampt.  
25 Het produkt wordt door destillatie, herkristallisatie en/of kolomchromatografie gezuiverd. Wanneer het voorkeurs-reagens, azijnzuuranhydride, wordt omgezet met de verbinding met formule 5 wordt 1,5-anhydro-3-oxo-4-O-acetyl-2,3,6-trideoxy-L-treo-hex-1-enitol voortgebracht.

30 De verbinding met formule 6 wordt vervolgens onderworpen aan een alkyloxymercuring ter bereiding van een ketose met formule 7, waarin R een blokkeringsgroep is zoals hiervoor beschreven en R' een alkylgroep met 1 - 6 koolstofatomen is. Wanneer R de voorkeursacetylgroep is, en R' is methyl, zal deze verbinding methyl-2-chloor-  
35 mercuri-3-oxo-4-O-acetyl-2,3,6-trideoxy-L-xylo, 1xyo-hexopyranoside zijn. De alkyloxymercuring wordt bij voorkeur uitgevoerd door mercuri-acetaat en mercurichloride in methanol op te lossen en het mengsel onder terugvloeiing te verhitten. De verbinding met formule 6 wordt als een oplossing in methanol daarna toegevoegd aan het onder  
40 terugvloeiing kokende mengsel. Wanneer de reactie voltooid is wordt

8101095

het oplosmiddel verwijderd en wordt het residu tezamen met tolueen verdampt ter verwijdering van het azijnzuur, dat bij de reactie is gevormd. Het produkt wordt gezuiverd door herkristallisatie of kolomchromatografie.

5 De ketose met formule 7 wordt vervolgens onderworpen aan oximevorming ter bereiding van een oxime met formule 8, waarin R en R' zoals hiervoor beschreven zijn. Wanneer R de voorkeurs-acetylgroep is en R' is methyl, zal deze verbinding methyl 2-chloormercuri-3-oximino-4-O-acetyl-2,3,6-trideoxy-L-xylo, 1xyo-hexopyranoside zijn.

10 De oximevorming kan worden uitgevoerd door de ketose met formule 7 met hydroxylamine om te zetten.

De verbinding met formule 8 wordt vervolgens onderworpen aan demercurering ter bereiding van een verbinding met formule 9, waarin R en R' zoals hiervoor beschreven zijn. Wanneer R de voorkeurs-acetylgroep is en R' is methyl, zal de verbinding methyl 3-oximino-4-O-acetyl-2,3,6-trideoxy-L-treo-hexopyranoside zijn. Bij voorkeur wordt de demercurering uitgevoerd door de verbinding met formule 8 in methanol op te lossen en triëthylamine toe te voegen gevolgd door natriumboorhydride. De verkregen suspensie wordt door celite gefiltreerd ter verwijdering van elementaire kwik en het filtraat wordt verdampt. Het residu wordt in warme diëthylether gesuspendeerd en gefiltreerd ter verwijdering van triëthylammoniumchloride. Het filtraat wordt verdampt ter bereiding van de verbinding met formule 9, welke verbinding gezuiverd kan worden door herkristallisatie of kolomchromatografie.

Terwijl het oxime met formule 9 direkt gereduceerd zou kunnen worden met gelijktijdige verwijdering van de blokkeringsgroep ter bereiding van alkyl L-daunosaminiden, verdient het de voorkeur dit eerst om te zetten met een blokkeringsmiddel ter bereiding van een verbinding met formule 10, waarin R en R' zoals hiervoor beschreven zijn. Het blokkeringsmiddel kan hetzelfde zijn als die verbindingen omgezet met de verbinding met formule 5, namelijk azijnzuuranhydride of benzoylchloride. Evenals met de hiervoor beschreven reactie, waarbij de verbinding met formule 5 is betrokken, wordt de reactie, waarbij het oxime met formule 9 is betrokken, bij voorkeur uitgevoerd in een oplosmiddel, dat een goed zuurbindend middel is, zoals pyridine, een natriumhydroxide-oplossing of chinoline. Wanneer het voorkeursreagens, azijnzuuranhydride, wordt omgezet met het voorkeurs-oxime met formule 9, en wanneer R' methyl is, wordt methyl 3-acetyloximino-4-O-acetyl-2,3,6-trideoxy-L-treo-hexopyranoside bereid.

8101095

De verbinding met formule 10 wordt vervolgens gereduceerd met gelijktijdige verwijdering van de blokkeringsgroepen voor de bereiding van alkyl L-daunosaminide met formule 11. Wanneer R' methyl is, is deze verbinding methyl L-daunosaminide. De reductie wordt bij 5 voorkeur uitgevoerd door de verbinding met formule 10 in tetrahydrofuran op te lossen en vervolgens als reductiemiddel lithiaaluminiumhydride toe te voegen, gevolgd door verhitting onder terugvloeiing. Water, gevolgd door natriumhydroxide worden vervolgens toegevoegd. Het mengsel wordt daarna door celite gefiltreerd en het oplosmiddel 10 wordt verwijderd. Het daunosaminide met formule 11 kan vervolgens gezuiverd worden door herkristallisatie of kolomchromatografie.

De verbinding met formule 11 kan desgewenst worden omgezet tot L-daunosaminehydrochloride met formule 12. De omzetting kan worden uitgevoerd door de verbinding met formule 11 in waterstofchloride 15 op te lossen. De oplossing wordt met houtskool ontkleurd, door celite gefiltreerd en verdampt. Het verkregen produkt kristalliseert na toevoeging van aceton.

L-Daunosaminehydrochloride kan omgezet worden tot een derivaat, dat geschikt is voor reactie met de aglyconen adriamycinon, als het 20 14-p-methoxytritylderivaat, of daunomycinon, onder toepassing van op zichzelf bekende technieken. Bijvoorbeeld kan volgens de methode van Acton c.s., zie hiervoor, L-daunosaminehydrochloride worden omgezet met trifluorazijnzuuranhydride voor het verkrijgen van N-trifluoracetyl-L-daunosamine, dat behandeld wordt met p-nitrobenzoyl- 25 chloride, waarbij op zijn beurt 1,4-bis-(O-p-nitrobenzoyl)-N-trifluoracetyl-L-daunosamine verkregen wordt. Behandeling van dit produkt met watervrij waterstofbromide geeft 4-(O-p-nitrobenzoyl)-N-trifluoracetyl-L-daunosaminylbromide. Het suikerbromide kan met daunomycine of het geblokkeerde adriamycinonderivaat gecondenseerd worden bij 30 aanwezigheid van mercuricyanide, mercuribromide en een verpoederde moleculaire zeef ter bereiding van daunorubicinehydrochloride of doxorubicinehydrochloride afhankelijk van het gebruikte aglycon, na verwijdering van de blokkeringsgroepen.

#### Voorbeeld I.

35 Aan een suspensie van 10 g L-fucose in 50 ml pyridine worden langzaam 50 ml azijnzuuranhydride toegevoegd. Het mengsel wordt 1 - 2 dagen bij kamertemperatuur geroerd en vervolgens in een ijswater bevattende scheitrechter gegoten. Het verkregen mengsel wordt 3 - 4 40 maal met hoeveelheden van 50 ml chloroform geëxtraheerd. De organische extrakten worden met water en water bevattend natriumwaterstof-

carbonaat gewassen en boven magnesiumsulfaat gedroogd. Het mengsel wordt gefiltreerd en het oplosmiddel wordt onder verminderde druk verwijderd, waarbij een residu verkregen wordt van onzuiver fucose-tetraäcetaat. Het onzuivere tetraäcetaat wordt enkele malen tezamen  
5 met tolueen verdampt ter verwijdering van eventueel achtergebleven pyridine of azijnzuur. Het fucose-tetraäcetaat wordt vervolgens behandeld met 32% waterstofbromide en azijnzuur gedurende 2 uren en het mengsel wordt op soortgelijke wijze opgewerkt zoals hiervoor beschreven voor het tetraäcetaat, dat wil zeggen chloroformextractie  
10 uit een ijswatermengsel. Het verkregen onzuivere produkt is 2,3,4-tri-O-acetyl-L-fucopyranosylbromide.

#### Voorbeeld II.

De voorafgaande methode voor de bereiding van het fucopyranosylbromide wordt exakt gevolgd, behalve dat 6-deoxy-L-idose voor L-  
15 fucose gesubstitueerd wordt. Het produkt is 2,3,4-tri-O-acetyl-6-deoxy-L-idopyranosylbromide.

#### Voorbeeld III.

Het onzuivere produkt van voorbeeld I wordt in een 50-procentige oplossing van azijnzuur, die natriumacetaat bevat, behandeld met ge-  
20 activeerde zinkstof. De temperatuur van de reactie werd 2 - 3 uren op 0 - 10°C gehouden. Het reactiemengsel werd vervolgens gefiltreerd en met chloroform geëxtraheerd. De organisch laag werd met water bevattend natriumwaterstofcarbonaat en water gewassen, boven magnesiumsulfaat gedroogd, gefiltreerd en het oplosmiddel werd onder vermin-  
25 derde druk verwijderd. Het verkregen 3,4-di-O-acetyl-L-fucal wordt gezuiverd door vacuümdestillatie, waarbij een siroop verkregen werd, die bij bewaren kristalliseert en een smeltpunt heeft van 47 - 49°C.

#### Voorbeeld IV.

De in voorbeeld III beschreven methode wordt gevolgd, behalve  
30 dat het onzuivere produkt van voorbeeld II gesubstitueerd wordt voor het onzuivere produkt van voorbeeld I. Het verkregen 3,4-di-O-acetyl-6-deoxy-L-idal wordt gezuiverd door destillatie en/of herkristallisatie.

#### Voorbeeld V.

35 10 g Van het produkt van voorbeeld III worden opgelost in 100 ml methanol en de pH wordt op 8 - 9 ingesteld door de druppelsgewijze toevoeging van een oplossing van natriummethanolaat in methanol. Het mengsel wordt één nacht bij 0 - 5°C bewaard, na welke tijd de acylering heeft plaats gevonden zoals vastgesteld door het volgen met  
40 dunne-laag-chromatografie. Het reactiemengsel wordt geneutraliseerd

met enkele druppels azijnzuur en het oplosmiddel wordt door verdampen verwijderd. Het onzuivere L-fucal wordt gezuiverd door herkristallisatie uit geschikte oplosmiddelen.

Voorbeeld VI.

5 De in voorbeeld V beschreven methode wordt gevolgd, behalve dat het produkt van voorbeeld IV gesubstitueerd wordt voor het produkt van voorbeeld III. Het verkregen produkt is 6-deoxy-L-idal.

Voorbeeld VII.

In een rondbodemkolf van 250 ml wordt 1 g L-fucal (het produkt  
10 van voorbeeld V) opgelost in 100 ml benzeen. Aan deze oplossing werden 20 - 25 g zilvercarbonaat op celite (reagens volgens Fetizon), bereid zoals hierna beschreven, toegevoegd en het mengsel werd geroerd. De kolf was uitgerust voor eenvoudige destillatie en 20 -  
25 ml oplosmiddel werden door destillatie verwijderd. Gedurende de  
15 ze tijd werd het gele reagens volgens Fetizon donkerbruin. De destillatie-inrichting wordt vervangen door een efficiënte terugvloei-koeler en het mengsel wordt één uur onder terugvloeiing verhit, na welke periode de reactie in het algemeen voltooid is zoals vastgesteld door volgen met dunne-laag-chromatografie. Het warme mengsel  
20 wordt door celite gefiltreerd en het filtraat wordt onder een verminderde druk verdampt, waarbij 1,5-anhydro-3-oxo-2,3,6-trideoxy-L-treo-hex-1-enitol verkregen wordt.

Bereiding van het reagens volgens Fetizon.

In 200 ml gedestilleerd water worden 34 g zilvernitraat opge-  
25 lost, gevolgd door 30 g celite. Vervolgens wordt voorzichtig en in verschillende porties een oplossing toegevoegd van 21 g kaliumwaterstofcarbonaat in 300 ml gedestilleerd water. 10 Minuten na de laatste toevoeging van de waterstofcarbonaatoplossing wordt de goed geroerde suspensie gefiltreerd om het reagens te verzamelen. Het reagens  
30 g wordt 15 - 30 minuten aan de lucht gedroogd en daarna overgebracht naar een kolf van 1 liter en enkele uren op een roterende verdamper gebracht om het grootste deel van het water te verwijderen. De opbrengst aan het reagens volgens Fetizon was 58 g. Het reagens wordt in een bruine glazen fles bewaard om het tegen licht te be-  
35 schermen en op kamertemperatuur gehouden.

Voorbeeld VIII.

Als een alternatief voor de methode van voorbeeld VII kan 1 g L-fucal geoxydeerd worden met 15 - 20 g speciaal bereid mangaandioxide (hierna beschreven) in tetrahydrofuran bij kamertemperatuur.  
40 Evenals met de methode van voorbeeld VII is het produkt 1,5-anhydro-

8101095

3-oxo-2,3,6-trideoxy-L-treo-hex-1-enitol. Het nadeel van deze methode is de uitgebreide reactietijd van 24 - 48 uren. Echter is het oxydatiemiddel relatief goedkoop en gemakkelijk te bereiden.

Bereiding van geactiveerd mangaandioxide.

5        48 g Kaliumpermanganaat in 300 ml gedestilleerd water werden tot 90°C verwarmd. Aan deze oplossing werden gelijktijdig 42 g mangaan-sulfaatmonohydraat in 75 ml water en 60 ml 40% natriumhydroxide in een periode van 15 - 20 minuten toegevoegd. De suspensie werd één uur bij 85 - 90°C geroerd, gefiltreerd en met water gewassen tot de was-  
10 vloeistoffen doorzichtig waren. De chocoladebruine vaste stof wordt één nacht bij 160°C gedroogd, waarbij 41 g mangaandioxide verkregen worden.

Voorbeeld IX.

Als een tweede alternatief voor de methode van voorbeeld VII  
15 worden 4 g chroomtrioxide toegevoegd aan een oplossing van dichloormethaan, die 1,61 ml pyridine bevat en het mengsel wordt 15 minuten bij 25°C geroerd. Aan deze oplossing worden 1,3 g L-fucal toegevoegd, onmiddellijk gevolgd door de toevoeging van 0,95 ml azijnzuuranhydride, welke reactie dunne-laag-chromatografisch wordt gevolgd. De re-  
20 actie is in het algemeen in 5 - 10 minuten voltooid. Vervolgens wordt het reactiemengsel op een silicagelkolom gegoten, die erboven een hoeveelheid ethylacetaat heeft voor het precipiteren van de chroomverbindingen en het produkt wordt als één fraktie geëluëerd. Het verkregen 1,5-anhydro-3-oxo-2,3,6-trideoxy-L-treo-hex-1-enitol wordt  
25 door herkristallisatie gezuiverd.

Voorbeeld X.

De methode identiek aan die beschreven in voorbeeld VII wordt gevolgd, behalve dat 6-deoxy-L-idal (het produkt van voorbeeld VI) gesubstitueerd wordt voor L-fucal. Hetzelfde produkt wordt gevormd.

30 Voorbeeld XI.

De methode identiek aan die beschreven in voorbeeld VIII wordt gevolgd, behalve dat 6-deoxy-L-idal gesubstitueerd wordt voor L-fucal. Hetzelfde produkt wordt gevormd.

Voorbeeld XII.

35 De methode identiek aan die beschreven in voorbeeld IX wordt gevolgd, behalve dat 6-deoxy-L-idal gesubstitueerd wordt voor L-fucal. Hetzelfde produkt wordt gevormd.

Voorbeeld XIII.

De in de voorbeelden VII - XII gevormde verbinding (1,5-anhydro-  
40 3-oxo-2,3,6-trideoxy-L-treo-hex-1-enitol) wordt behandeld met azijn-

zuuranhydride:pyridine (1:1) gedurende de nacht bij kamertemperatuur. Vervolgens wordt het oplosmiddel onder verminderde druk verwijderd en het residu wordt enkele malen tezamen met tolueen verdampt om een volledige verwijdering van azijnzuuranhydride en pyridine te waarborgen. Het verkregen onzuivere 1,5-anhydro-3-oxo-4-O-acetyl-2,3,6-trideoxy-L-treo-hex-1-enitol wordt gezuiverd door destillatie, herkristallisatie en/of kolomchromatografie.

Voorbeeld XIV.

Pas herkristalliseerd mercuriacetaat (0,5 mol-equivalent) en 10 kristallijn mercurichloride (0,5 molequivalent) worden opgelost/ge-suspendeerd in methanol van reagenskwaliteit (70 ml methanol/g Hg (II) zout) en het mengsel wordt onder terugvloeiing verhit. Na 1 - 1,5 uren wordt de oplossing tot kamertemperatuur gekoeld en wordt de bij voorbeeld XIII verkregen verbinding (1 molequivalent) toegevoegd 15 als een oplossing in methanol. Het mengsel wordt enkele uren bij kamertemperatuur geroerd en de reactie wordt dunne-laag-chromatografisch gevolgd op de aanwezigheid van de langzamer bewegende 2-chloor-mercuriderivaten. Wanneer de reactie volledig is, zoals vastgesteld door dunne-laag-chromatografische volging, wordt het oplosmiddel onder 20 verminderde druk verwijderd en wordt het residu tezamen met tolueen enkele malen verdampt ter verwijdering van bij de reactie gevormd azijnzuur. Het onzuiver verkregen methyl 2-chloormercuri-3-oxo-4-O-acetyl-2,3,6-trideoxy-L-xylo, lyxo-hexopyranoside wordt door herkristallisatie of kolomchromatografie gezuiverd.

25 Voorbeeld XV.

Pas herkristalliseerd hydroxylaminehydrochloride (6 molequivalenten) en kaliumhydroxide (6 molequivalenten) worden in 99,5% ethanol opgelost (100 ml ethanol/g  $\text{NH}_2\text{OH HCl}$ ) en het verkregen kaliumchloride wordt gefiltreerd. De bij voorbeeld XIV verkregen verbinding (1 molequivalent) wordt vervolgens in ethanol opgelost en toe- 30 gevoegd aan de oplossing van overmaat hydroxylamine. Het witte troebele mengsel wordt één nacht bij kamertemperatuur geroerd. Het verkregen poedervormige methyl 2-chloormercuri-3-oximino-4-O-acetyl-2,3,6-trideoxy-L-xylo, lyxo-hexopyranoside wordt gefiltreerd en meer 35 kan gewonnen worden door een geschikte verwerking van het filtraat. Zuivering door herkristallisatie volgt.

Voorbeeld XVI.

Het produkt van voorbeeld XV (1 molequivalent) wordt in methanol van reagenskwaliteit opgelost (25 ml methanol/g produkt van voor- 40 beeld XV) en de oplossing wordt tot 0°C gekoeld. 3,5 molequivalenten

triëthylamine worden snel aan deze oplossing toegevoegd, snel gevolgd door de toevoeging in verschillende porties van natriumboorhydride (0,5 molequivalent). Een onmiddellijk dermercuring wordt vastgesteld. De suspensie wordt 10 minuten bij 0°C geroerd en vervolgens 20 - 30 minuten bij kamertemperatuur. De elementaire kwik wordt door filtratie door een laag celite verwijderd en het filtraat wordt onder verminderde druk verdampt. Het residu wordt in warme diëthylether gesuspenseerd en gefiltreerd ter verwijdering van onoplosbaar triëthylammoniumchloride. Het etherachtige filtraat wordt verdampt voor het verkrijgen van onzuiver methyl 3-oximino-4-O-acetyl-2,3,6-trideoxy-L-treo-hexopyranoside, dat gezuiverd kan worden door herkristallisatie of kolomchromatografie.

Voorbeeld XVII.

De bij voorbeeld XVI verkregen verbinding wordt opgelost in een overmaat azijnzuuranhydride:pyridine (1:1) en een nacht bij kamertemperatuur geroerd. Het oplosmiddel wordt onder verminderde druk verdampt en het residu wordt tezamen enkele malen met tolueen verdampt ter verwijdering van de laatste sporen pyridine en/of azijnzuuranhydride. Het verkregen methyl 3-acetyloximino-4-O-acetyl-2,3,6-trideoxy-L-treo-hexopyranoside wordt door herkristallisatie gezuiverd.

Voorbeeld XVIII.

De bij voorbeeld XVII verkregen verbinding (1 molequivalent) wordt bij 0°C in tetrahydrofuran opgelost en de oplossing wordt ontgast door droge stikstof gedurende 10 - 15 minuten erdoor te borrelen. Porties lithiualuminiumhydride (2 molequivalenten) worden langzaam onder krachtig roeren toegevoegd. De reactie wordt 30 minuten bij 0°C voortgezet en vervolgens wordt het mengsel onder stikstof 1 - 2 uren onder terugvloeiing verhit. De voltooiing van de reductie kan worden vastgesteld door het dunne-laag-chromatografisch volgen (een sterke, langzaam bewegende, ninhydrine positieve vlek wordt waargenomen). Water wordt voorzichtig toegevoegd gevolgd door 1N natriumhydroxide om de overmaat hydride te vernietigen. Het mengsel wordt door celite gefiltreerd en het oplosmiddel wordt onder verminderde druk verwijderd. Het verkregen methyl L-daunosaminide wordt door herkristallisatie of kolomchromatografie gezuiverd.

Voorbeeld XIX.

De bij voorbeeld XVIII verkregen verbinding wordt opgelost in 0,5N zoutzuur en wordt 3 uren tot 100°C verhit. De oplossing wordt met houtskool ontkleurd, door celite gefiltreerd en onder verminderde druk verdampt. Het verkregen L-daunosaminehydrochloride kristal-

liseert na toevoeging van aceton en heeft een smeltpunt van 168 - 170°C.

8101095

C O N C L U S I E S

1. Werkwijze ter bereiding van alkyl L-daunosaminiden, m e t  
h e t k e n m e r k , dat men
- a. L-fucal of 6-deoxy-L-idal oxydeert;
  - 5 b. het verkregen 1,5-anhydro-3-oxo-2,3,6-trideoxy-L-treo-hex-1-enitol omzet met een blokkeringsmiddel ter bereiding van een verbinding met formule 6, waarin R een blokkeringsgroep is;
  - c. de verkregen verbinding onderwerpt aan een alkyloxymercure-ring ter bereiding van een ketose met formule 7, waarin R' alkyl met  
10 1 - 6 koolstofatomen is;
  - d. de verkregen ketose onderwerpt aan een oximevorming ter bereiding van een oxime met formule 8;
  - e. het oxime demercureert tot een verbinding met formule 9; en
  - f. de verkregen verbinding reduceert met gelijktijdige verwijde-  
15 ring van de blokkeringsgroep.
2. Werkwijze volgens conclusie 1, m e t h e t k e n m e r k , dat trap (f) bestaat uit de reactie van de bij trap (e) verkregen verbinding met een blokkeringsmiddel ter bereiding van een verbinding met formule 10, waarin R een blokkeringsgroep voorstelt en vervol-  
20 gens de verkregen verbinding <sup>ge-</sup>reduceerd <sup>wordt</sup> met gelijktijdige verwijdering van de blokkeringsgroepen.
3. Werkwijze volgens conclusie 2, m e t h e t k e n m e r k , dat men L-fucal bereidt volgens een methode, die de acetylering van L-fucose, de bromering van het verkregen fucosetetraäcetaat tot  
25 2,3,4-tri-O-acetyl-L-fucopyranosylbromide, de reductie van dit bromide ter bereiding van 3,4-di-O-acetyl-L-fucal en de deacetylering van dit fucal tot L-fucal omvat.
4. Werkwijze volgens conclusie 2, m e t h e t k e n m e r k , dat men 6-deoxy-L-idal bereidt volgens een methode, die de acetylering van  
30 ring van 6-deoxy-L-idose, de bromering van het verkregen idosetetraacetaat tot 2,3,4-tri-O-acetyl-6-deoxy-L-idopyranosylbromide, de reductie van dit bromide tot 3,4-di-O-acetyl-6-deoxy-L-idal en de deacetylering van dit idal tot 6-deoxy-L-idal omvat.
5. Werkwijze volgens conclusie 2, m e t h e t k e n m e r k ,  
35 dat men alkyl L-daunosaminiden omzet tot L-daunosaminehydrochloride door omzetting van dit daunosaminide met waterstofchloride.
6. Werkwijze ter bereiding van 1,5-anhydro-3-oxo-2,3,6-trideoxy-L-treo-hex-1-enitol, m e t h e t k e n m e r k , dat men L-fucal of 6-deoxy-L-idal oxydeert.
- 40 7. Werkwijze ter bereiding van 1,5-anhydro-3-oxo-4-O-acetyl-

2,3,6-trideoxy-L-treo-hex-1-enitol, met het kenmerk, dat men 1,5-anhydro-3-oxo-2,3,6-trideoxy-L-treo-hex-1-enitol acetyleert.

8. Werkwijze ter bereiding van methyl 2-chloormercuri-3-oxo-4-O-acetyl-2,6-dideoxy-L-xylo, lyxo-hexopyranoside, met het kenmerk, dat men 1,5-anhydro-3-oxo-4-O-acetyl-2,6-dideoxy-L-treo-hex-1-enitol onderwerpt aan een methoxymercurering.

9. Werkwijze ter bereiding van methyl 2-chloormercuri-3-oximino-4-O-acetyl-2,3,6-trideoxy-L-xylo, lyxo-hexopyranoside, met het kenmerk, dat men methyl 2-chloormercuri-3-oxo-4-O-acetyl-2,3,6-trideoxy-L-xylo, lyxo-hexopyranoside aan een oximevorming onderwerpt.

10. Werkwijze ter bereiding van methyl 3-oximino-4-O-acetyl-2,3,6-trideoxy-L-treo-hexopyranoside, met het kenmerk, dat men methyl 2-chloormercuri-3-oximino-4-O-acetyl-2,3,6-trideoxy-L-xylo, lyxo-hexopyranoside aan een demercurering onderwerpt.

11. Werkwijze ter bereiding van methyl 3-acetyloximino-4-O-acetyl-2,3,6-trideoxy-L-treo-hexopyranoside, met het kenmerk, dat men methyl 3-oximino-4-O-acetyl-2,3,6-trideoxy-L-treo-hexopyranoside acetyleert.

12. Werkwijze ter bereiding van methyl L-daunosaminide, met het kenmerk, dat men 3-acetyloximino-4-O-acetyl-2,3,6-trideoxy-L-treo-hexopyranoside aan een reductie met gelijktijdige deacetylering onderwerpt.

25 13. Verbinding met formule 14, waarin  $R^2 \text{CH}_3\overset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}-$ ,  $\text{C}_6\text{H}_5\overset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}-$  of H is.

14. Verbinding volgens conclusie 13, waarin  $R^2 \text{H}$  is.

15. Verbinding volgens conclusie 13, waarin  $R^2$  acetyl of benzo-yl is.

16. Verbinding met formule 15, waarin  $R^1$  alkyl met 1 - 6 koolstofatomen is,

$R \text{CH}_3\overset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}-$  of  $\text{C}_6\text{H}_5\overset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}-$  is,

$R^3 \text{O}=\text{, HON}=\text{, CH}_3\overset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}-\text{ON}=\text{ of } \text{C}_6\text{H}_5\overset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}-\text{ON}=\text{ is en}$   
35  $R^4 \text{HgCl}$  of H is,

met dien verstande, dat wanneer  $R^4 \text{HgCl}$  is,  $R^3 \text{O}=\text{ of HON}=\text{ moet zijn, wanneer } R^4 \text{H is, } R^3$  geen  $\text{O}=\text{ kan zijn.}$

17. Verbinding volgens conclusie 16, waarin  $R^3 \text{O}=\text{ is en } R^4 \text{HgCl}$  is.

40 18. Verbinding volgens conclusie 16, waarin  $R^3 \text{HON}=\text{ is en } R^4$

HgCl is.

19. Verbinding volgens conclusie 16, waarin  $R^3$  HON= is en  $R^4$  H is.

20. Verbinding volgens conclusie 16, waarin  $R^3$   $\text{CH}_3\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{ON}=\text{}$  of  
5  $\text{C}_6\text{H}_5\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{ON}=\text{}$  is en  $R^4$  H is.

\*\*\*\*\*

