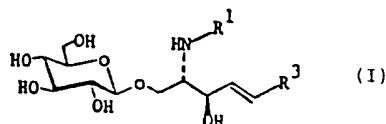


Menetelmässä galaktoosi suojataan 4,6-asemassa ja hapetetaan vastaavaksi 2,4-asemassa suojatuksi treoosiksi, kondensoidaan jälkimmäiseen Wittig-reaktion avulla alifaattinen ketju (K^3), muutetaan vapaa hydroksyyli-ryhmä atsidoryhmäksi ja lohkaistaan suojaryhmä, suojataan saatu 2-atsido-1,3-dihydroksiyhdiste selektiivisesti 1-asemaan ja kiinnitetään 3-asemaan, irrotetaan jälleen 1-hydroksiryhmä ja saatu yhdiste tai aiemmin mainittu 2-atsido-1,3-dihydroksiyhdiste glykosidoidaan O-trifluori- tai O-triklooriasetimidaatilla tai 2,3,4,6-O-tetra-asyyli-D-glukosin 1^h-halogeenijohdannaisella, asyyli-ryhmät tai ne ja 3-asemassa oleva suojaryhmä lohkaistaan pois, atsidoryhmä muutetaan aminoryhmäksi ja aminoyhdiste asyloidaan rasvahapolla R^1-OH . Menetelmän avulla saadaan suhteellisen vähin vaihein terapeuttisesti vaikuttavan D-ryhmän yhdisteitä, ilman että diastereomeerejä erotetaan, ja saanto on hyvä.

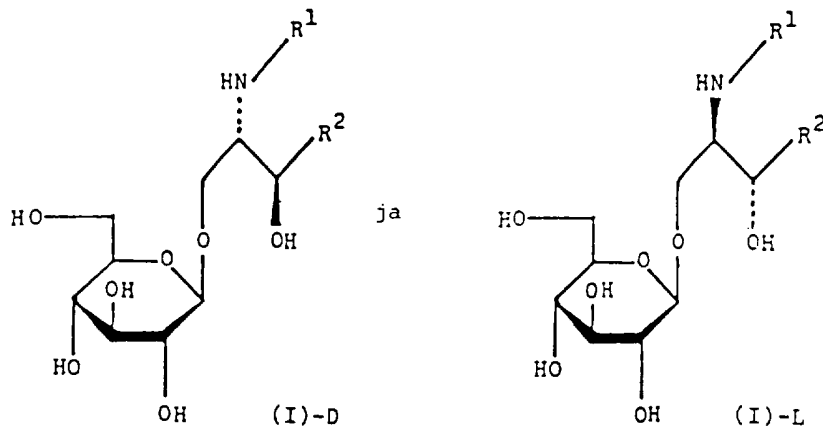
Uppfinningen avser ett nytt förfarande för framställning av de i europeiska patentanmälningen nr. 146810 beskrivna sfingosinderivaten med formeln I,



vari R^1 är en fettsyra-acylgrupp eller en motsvarande acylgrupp, vilken innehåller en hydroxylgrupp i α -ställning eller har en eller två dubbelbindningar i cis-konfiguration, och R^3 är en alifatisk grupp, vilken kan innehålla 1-3 dubbelbindningar eller 1-3 trippelbindningar. Enligt förfarandet skyddas D-galaktos i 4,6-ställning och oxideras till i 2,4-ställning skyddad D-treos och den sistnämnda tillkondenseras genom Wittig-reaktion en alifatisk kedja (R^3), varefter den fria hydroxylgruppen omvandlas till en azidgrupp och skyddsgruppen avspjälks, den erhållna 2-azido-1,3-dihydroxiföreningen skyddas selektivt i 1-ställning och blockeras i 3-ställning, 1-hydroxigruppen frigörs åter och den erhållna föreningen eller den tidigare nämnda 2-azido-1,3-dihydroxiföreningen glykosideras med O-trifluor- eller O-triklor-acetimidat eller med 1-halogenderivatet av en 2,3,4,6-O-tetraacyl-D-glukosförening, acylgrupperna eller dessa och skyddsgruppen i 3-ställning avspjälks, azidgruppen överförs i en aminogrupp och aminoföreningen acyleras med en fettsyra R^1 -OH. Förfarandet ger i relativt få steg föreningarna i den terapeutiskt aktiva D-serien utan separation av diastereomerer och med gott utbyte.

Uusi menetelmä sfingosiinijohdannaisten valmistamiseksi

EP-patenttihakemuksen 84114415.7 (julkaisunumero 146 810) kohteena ovat uudet sfingosiinijohdannaiset, joilla on kaavat

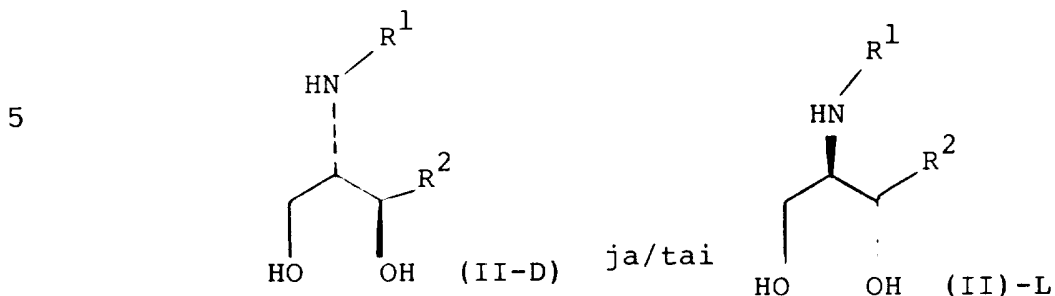


ja niiden valmistusmenetelmä.

Yllä olevissa kaavoissa R^1 on 14 - 24 hiiliatomia sisältävän rasvahapon asyyliiryhmä tai vastaava asyyliiryhmä, jonka α -asemassa on hydroksyyliiryhmä tai jossa on yksi tai kaksi cis-konfiguraatiossa olevaa kaksoissidosta ja R^2 on pentadekanyyli- tai heptadekanyyliiryhmä tai vastaava C_{15} - tai C_{17} -ryhmä, jossa on yksi, kaksi tai kolme kaksoissidosta, joista kulloinkin yksi on 1,2-asemassa ja trans-konfiguraatiossa ja toinen tai toiset, mikäli niitä on, ovat cis-konfiguraatiossa.

Näillä yhdisteillä on erythro-konfiguraatio ja ne vastaavat jo tunnettuja neutraaleja glykosfingolipidejä. Niillä on haavojen parantumista edistäviä, soluja ja kudoksia uudistavia ominaisuuksia ja ne sopivat käytettäväksi eri alkuperää olevien haavojen terapeuttiseen käsitte-lyyn, erityisesti kun kyseessä ovat huonosti tai hitaasti paranevat haavat tai haavaumat. Ne saavat todella aikaan erityisesti haavoihin ulkoisesti käytettyinä uuden kudoksen, jossa on hyvä verenkierto, eikä häiritseviä arpia synny.

Yllä mainittujen yhdisteiden valmistus aloitetaan seramideista, joilla on kaavat



10

Seramideja puolestaan voidaan valmistaa C₁₈- tai C₂₀-sfin-
gosiineista N-asyloimalla kaavan R¹-OH mukaisella ras-
vahapolla. Riippuen siitä, käytetäänkö lähtöaineena op-
tisesti aktiivista vai raseemista sfingosiiniä, saadaan
15 kaavan (I)-D tai (I)-L mukaisia yhdisteitä optisesti yh-
tenäisenä muotona tai diastereomeerin (I)-D ja (I)-L seos-
ta; jälkimmäisessä tapauksessa täytyy määrättyssä valmis-
tusvaiheessa suorittaa diastereomeerien erottaminen.

Raseemisia sfingosiinejä voidaan nyttemmin valmis-
20 taa hyvin saannoin glysiinistä käyttämällä yksinkertaista
synteesiä, jonka ovat esittäneet R.R.Schmidt ja R.Klänger
[Angew. Chem. 94 (1982) s. 215 - 216; Angew. Chem. Int.
Ed. Engl. 21 (1982) s. 210 - 211; Angew. Chem. Suppl.
1982, s. 393 - 397]. Vaikka yllä esitetyllä valmistus-
25 menetelmällä saadaan kaavan (I)-D ja (I)-L mukaisia sfin-
gosiinijohdannaisia saannon ollessa tyydyttävä, olisi kui-
tenkin edullista käyttää menetelmää, jota käytettäessä
diastereomeerejä ei tarvitse erottaa, varsinkin jos aja-
tellaan, että tehokkaammat yhdisteet kuuluvat D-ryhmään.

30 Toisaalta tunnetaan erilaisia synteesejä, joissa
käytetään lähtöaineena vartavasten valittua kiraalista
yhdistettä, ja jotka siten johtavat ilman diastereomeerien
erottamista erythro-konfiguraation omaaviin ja D-ryhmään
kuuluviin optisesti aktiivisiin sfingosiineihin, siis
35 luonnossa esiintyviin sfingosiineihin.

Jonkin verran vanhempaan synteisiin, jonka ovat esittäneet E. J. Reist ja P.H. Christie [J.Org.Chem. 35 (1970) s. 3521 ja 4127] ja jossa lähtöaineena on D-glukosi, ja synteisiin, jonka on esittänyt H. Newman [J. Am. Chem. Soc. 95 (1973) s. 4098], sekä synteisiin, jonka ovat esittäneet P. Tkaczuk ja E.R. Thornton [J. Org. Chem. 46 (1981) s. 4393], joissa molemmissa käytetään lähtöaineena L-seriiniä, kuuluu aina reaktiovaihe, jossa on pieni saanto, nimittäin 3-amino-3-deoksi-di-(O-isopropylideeni)- α -D-allofuranoosin valmistus tai trans-vinylalaanin ja L-seriinistä johdetun aldehydin additioreaktio.

Uudehkolla synteisillä, jonka ovat esittäneet B. Bernet ja A. Vasella, [Tetrahedron Letters 24 (1983) s. 5491 - 5994], saadaan D-erythro-C₁₈-sfingosiinia 6 reaktiovaiheen jälkeen, jolloin kokonaissaannoksi tulee 33 %. Siinä käytetään tosin lähtöaineena pentadekyyniä, jota ei ole välittömästi saatavissa ja jonka valmistus vaikuttaa epäedullisesti valmistusvaiheiden lukumäärään ja kokonaissaantoon.

Lopuksi mainittakoon vielä erään seramidin synteisi, jonka ovat esittäneet K. Koike, Y. Nakahara ja T. Ogava [Glycoconjugate J. 1 (1984) s. 107 - 109] ja jossa käytetään lähtöaineena D-glukoosijohdannaista ja joka käsittää 12 reaktiovaihetta ja jolla saadaan seramidia noin 20 %:n saannoin. Menetelmää voitaneen käyttää luonnon sfingosiinien konfiguraation omaavien sfingosiinien valmistukseen.

Alussa kuvatussa kaavan (I)-D mukaisten sfingosinijohdannaisten valmistuksessa sinänsä edullista optisesti aktiivisen D-sfingosinin käyttöä on siis tähän saakka haitannut niiden suuritöinen ja/tai saantoon nähden epätydyttävä valmistus.

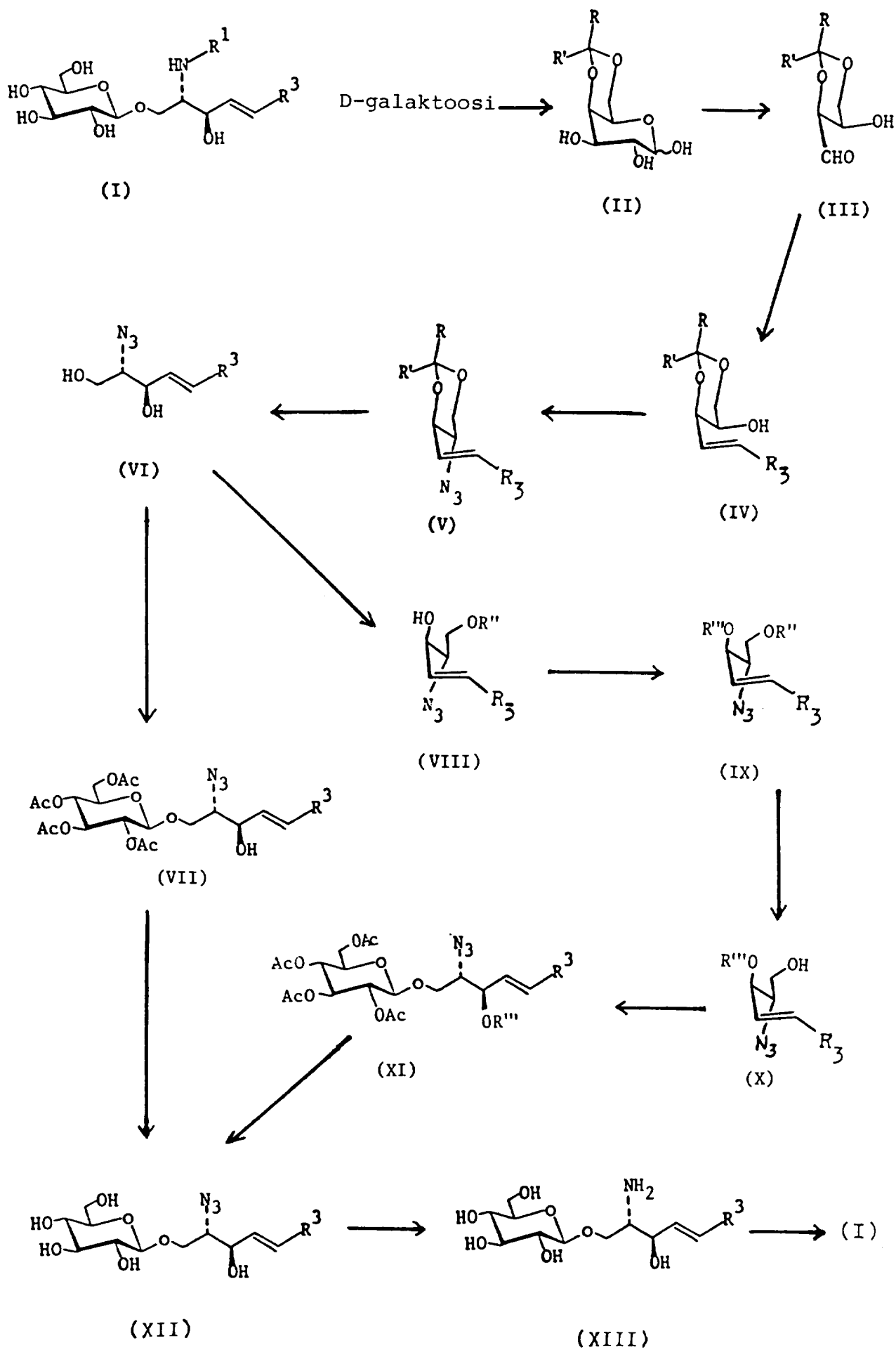
Nyt havaittiin, että seuraavalla sivulla esitetyn kaavan (I) mukaisia optisesti yhtenäisiä sfingosinijohdannaista voidaan saada uudella menetelmällä, jossa käyte-

tään lähtöaineena kaupallisesti saatavaa D-galaktoosia ja jossa on yhteensä 9 - 12 reaktiovaihetta ja jota käytettäessä haluttujen yhdisteiden kokonaissaanto on tyydyttävä.

5 Kaavassa (I) R^1 tarkoittaa samoja asyyliiryhmiä kuin edellä kaavojen (I)-D ja (I)-L selityksen yhteydessä on ilmoitettu, kun taas R^3 on alifaattinen ryhmä, jossa on 13 - 19 hiiliatomia, joista vähintään 13 muodostaa suoran ketjun ja mahdollisesti korkeintaan 4 muodostaa metyyli-

10 vuryhmiä, ja jossa ryhmässä voi olla 1 - 3 cis- tai trans-konfiguraation omaavaa kaksoissidosta tai 1 - 3 kolmoissidosta.

 Keksinnön mukaista menetelmää kuvaa seuraavassa esitetty reaktiokaavio.



Keksinnön mukaisessa menetelmässä D-galaktoosin annetaan reagoida kaavan $R-CO-R'$ mukaisen alemman alifaattisen ketonin tai aromaattisen aldehydin kanssa, jossa kaavassa R ja R' tarkoittavat alempaa alkyyliryhmää tai toinen symboleista R tai R' tarkoittaa vetyä ja toinen aromaattista ryhmää 4- ja 6-asemissa suojatuksi kaavan (II) mukaiseksi D-galaktoosiksi, tämä yhdiste hajotetaan visinaalisia dioleja lohkaisevalla hapettimella vastaavaksi 2- ja 4-asemissa suojatuksi kaavan (III) mukaiseksi D-treosiksi, suojatun D-treosin annetaan reagoida R^3-CH_2 -fosfonaatin tai R^3-CH_2 -trifenyylifosfoniumhalogenidin kanssa, joissa R^3 merkitsee samaa kuin edellä, emäksen tai emäksen ja suolan läsnäollessa kaavan (IV) mukaiseksi yhdisteeksi, tämän yhdisteen vapaa hydroksyyli-ryhmä aktivoidaan ja muutetaan atsidoryhmäksi, saatu kaavan (V) mukainen atsidoyhdiste vapautetaan alifaattisen ketjun asemassa 1 ja 3 olevien hydroksyyli-ryhmien suojaryhmästä, jolloin saadaan kaavan (VI) mukainen 2-atsido-1,3-dihydroksidiyhdiste, jonka annetaan reagoida orgaanisen reagenssin kanssa, joka pystyy reagoimaan selektiivisesti primaarisen hydroksyyli-ryhmän kanssa, jolloin saadaan kaavan (VIII) mukainen yhdiste, jossa R'' on hydroksyyli-suojaryhmä, kaavan (VIII) mukaisen yhdisteen sekundaarinen hydroksyyli-ryhmä suojataan suojaryhmällä R''' , saadusta kaavan (IX) mukaisesta yhdisteestä lohkaistaan hydroksyyli-suojaryhmä R'' , jolloin saadaan kaavan (X) mukainen yhdiste, ja joko aiemmin saatu kaavan (VI) mukainen yhdiste tai kaavan (X) mukainen yhdiste glykosidoidaan D-glukoosin O-trifluori- tai O-triklooriasetamidaatin tai 1-halogeenijohdannaisen kanssa, joiden 2-, 3-, 4- ja 6-asemissa olevat hydroksyyli-ryhmät ovat asyyli-ryhmien ac suojaamia, jolloin saadaan kaavan (VII) tai (XI) mukainen yhdiste, saadusta yhdisteestä lohkaistaan asyyli-ryhmät Ac tai asyyli-ryhmät Ac ja suojaryhmä R''' , jolloin saadaan kaavan (XII) mukainen yhdiste, tämän yhdisteen atsidoryhmä

muutetaan primaariseksi aminoryhmäksi ja saatu kaavan (XIII) mukainen yhdiste N-asyloidaan kaavan R^1 -OH mukaisen rasvahapon kanssa.

5 Seuraavassa kuvataan keksintöä yksityiskohtaisemmin.

Orgaaninen karboksyylihappo R^1 -OH, josta kaavan (I) mukainen sfingosiinijohdannaisten asyyliiryhmä R^1 on johdettu, on esimerkiksi myristiinihappo $C_{14}H_{28}O_2$, palmitiinihappo $C_{16}H_{32}O_2$, steariinihappo $C_{18}H_{36}O_2$, öljyhappo $C_{18}H_{34}O_2$, linoli-
10 happo $C_{18}H_{32}O_2$, arakishappo (maapähkinähappo) $C_{20}H_{40}O_2$, be-
heeni-
happo $C_{22}H_{44}O_2$ ja - symbolille R^1 annetun merkityksen
yläraajalla - tetrakosaanihappo (lignoseriinihappo) $C_{24}H_{48}O_2$,
cis-15-tetrakoseeni-
happo (nervoni-
happo) $C_{24}H_{46}O_2$, 2-hydrok-
sitetrakosaani-
happo (serebronihappo) $C_{24}H_{48}O_2$, 2-hydroksi-
15 15-tetrakoseeni-
happo (hydroksinervoni-
happo) $C_{24}H_{46}O_3$ tai
viime mainitun kanssa isomeerinen 2-hydroksi-17-tetrako-
seenihappo.

Alifaattinen ryhmä R^3 voi olla haaroittumaton ketju tai siinä voi olla yksi, kaksi, kolme tai neljä metyyli-
20 ryhmää substituentteina. Lisäksi ketju voi olla tyydyt-
tynyt tai tyydyttymätön; jälkimmäisessä tapauksessa siinä
on 1 - 3 kaksoissidosta tai 1 - 3 kolmoissidosta. Kaksois-
sidoksilla on cis- tai trans-konfiguraatio. Edullisia ali-
faattisia ryhmiä R^3 ovat sellaiset, joissa on pariton määrä
25 hiiliatomeja, erityisesti C_{13} - ja C_{15} -ryhmät.

Menetelmän ensimmäisessä vaiheessa voidaan D-galak-
toosin 4- ja 6-asemassa olevien hydroksyyli-
ryhmien suo-
jaukseen käyttää alempaa alifaattista ketonia kuten aseto-
nia, etyyli-
metyyli-
ketonia tai dietyyli-
ketonia tai aro-
maattista aldehydiä kuten bentsaldehydiä tai fenyyli-
30 rena-
kaastaan substituoitua bentsaldehydiä. Tässä on edullista
bentsaldehydin käyttö. Reaktion kondensointiaineiksi sopi-
vat yleensä Lewishapot kuten sinkkikloridi, booritrifluo-
ridi, alumiinikloridi ja rautakloridi tai Brønsted-hapot
35 kuten p-tolueenisulfonihappo. D-galaktoosin muuttaminen

4,6-O-bentsylideeni-D-galaktoosiksi voidaan suorittaa esim. menetelmällä, jonka ovat esittäneet E.G. Gros ja V. Deulofeu [J. Org. Chem. 29 (1964) s. 3647 - 3654), ja D-galaktoosin reaktio asetonin kanssa 4,6-O-isopropylideeni-D-galaktoosiksi voidaan suorittaa menetelmällä, jonka ovat
5 esittäneet J. Gelas ja D. Horton (Carbohydr. Res 71 (1979) s. 103 - 121.

Menetelmän toisessa vaiheessa käytetty hapetin voi olla alkalimetalliperjodaatti, esim. litium-, natrium- tai kaliumsuola, tai lyijytetra-asetaatti. Hapetus suoritetaan edullisesti pH-arvon ollessa noin 7 - 8, esim. vastaavassa puskuriliuoksessa, ja huoneen lämpötilassa.
5

Menetelmän kolmannen vaiheen Wittig-reaktio suoritetaan tavallisesti inertissä atmosfäärissä, esim. tyypessä, matalassa lämpötilassa, esim. -10 - -20 °C, ja käyttämällä R^3-CH_2 -fosfoniumhalogenidia suolan, esim. litiumbromidin, natriumkloridin tai kaliumbromidin läsnäollessa.
10 Emäksi sopivat muun muassa orgaaniset litiumyhdisteet, erityisesti fenyyllilitium tai litiummetylaatti, lisäksi natriumamidi, natriummetylaatti ja natriumkarbonaatti. Liuottimina voidaan käyttää aromaattisia hiilivetyjä kuten bentseeniä, tolueenia tai ksyleeniä, tai eettereitä kuten dietyylieetteriä, tetrahydrofuraania tai dioksaania; liuottimen tulee olla vedetön.
15

Vapaan hydroksyyli ryhmän aktivointi ja muuttaminen atsidoryhmäksi voidaan edullisesti suorittaa O-sulfonoinnalla kaavan (IV) mukainen yhdiste ja saattamalla muodostunut O-sulfonyyli johdannainen, esim. metaanisulfonyyli-, trifluorimetaanisulfonyyli- tai p-tolueenisulfonyyli johdannainen sen jälkeen reagoimaan alkalimetalliatsidin kanssa; tällöin tapahtuu D-treosin 2-aseman hiiliatomissa konfiguraatio inversio. O-sulfonointi voidaan suorittaa teoksessa "Ullmanns Encyklopädie der technischen Chemie",
20 4. painos, osa 11, alkaen sivulta 91, Verlag Chemie GmbH, Weinheim BRD (1976) esitettyjä menetelmiä käyttäen. Taval-
25

lisesti käytetään alemman alifaattisen sulfonihapon tai monosyklisen aromaattisen sulfonihapon happohalogenidia tai happoanhydridiä, esimerkiksi metaanisulfonyylikloridia, p-tolueenisulfonyylikloridia, metaanisulfonihappoanhydridiä tai trifluorimetaanisulfonihappoanhydridiä. O-sulfonointi suoritetaan edullisesti emäksen läsnäollessa. Koska reaktion pitää tapahtua vedettömissä olosuhteissa ja koska käytetään orgaanista liuotinta kuten bentseeniä, tolueenia, tetrahydrofuraania, dietyylieetteriä tai dikloorimetaania, emäkseksi sopivat erityisesti tertiääriset orgaaniset emäket kuten trietyyliamiini, dimetyylianiiliini, pyridiini, kollidiini, lutidiini yms. Seuraava reaktio alkalimetalliatsidin esim. litium-, natrium- tai kaliumatsidin kanssa suoritetaan edullisesti ilman o-sulfonyyli johdannaisen puhdistusta. Molemmat reaktiot suoritetaan edullisesti inertissä atmosfäärissä, esim. typesä, ja matalassa lämpötilassa tai huoneen lämpötilassa.

Menetelmän viidennessä vaiheessa voidaan suojaryhmä lohkaista kaavan (V) mukaisesta yhdisteestä happohydrolyysin avulla. Yhdiste liuotetaan esimerkiksi orgaaniseen liuottimeen kuten dikloorimetaaniin tai dimetyyliformamidiin ja sen jälkeen annetaan pienen määrän väkevää vetykloridihappoa ja vettä vaikuttaa jonkin aikaa, edullisesti huoneen lämpötilassa.

Nyt voidaan kaavan (VI) mukainen yhdiste suoraan glykosidoida, niin että syntyy kaavan (VII) mukainen yhdiste, tai se voidaan muuttaa välituotteiden (VIII), (IX) ja (X) kautta kaavan (XI) mukaiseksi yhdisteeksi, joka vasta glykosidoidaan. Tässä toisessa menetelmävaihtoehdossa on tosin kolme reaktiovaihetta enemmän, mutta sen avulla saadaan suurempi kokonaissaanto ja se soveltuu sen vuoksi erityisen hyvin teollisen mittakaavan tuotantoon. Sitä selvitetään lähemmin seuraavassa.

Kaavan (VI) mukaisen 2-atsido-1,3-dihydroksiyhdisteen primaarisen hydroksyyli ryhmän suojaus suoritetaan

reagensseillä, jotka primaarisen ja sekundaarisen hydrok-
syyliiryhmän läsnäollessa reagoivat selektiivisesti ensin
mainitun kanssa. Suojaryhmäksi R" sopivat erityisesti sel-
laiset, jotka vievät suuren tilan kuten tert. butyyli-,
5 trifenyylimetyyli- (trityyli-), triklooriasetyyli-, trime-
tyyllisilyyli-, tert. butyylidimetyyllisilyyli- tai tert.
butyylidifenyyllisilyyli- ryhmä. Edullisia ovat trifenyylime-
tyyli-, monometoksifenyylimetyyli-, tert. butyylidimetyy-
lisilyyli- ja tert. butyylidifenyyllifenyyllisilyyli.

10 Suojaryhmän R" liittäminen tapahtuu käyttäen tun-
nettuja orgaanisen kemian menetelmiä, joiden valinta riip-
puu valitusta suojaryhmästä. Esimerkiksi tri-fenyylime-
tyyli-ryhmä voidaan liittää käsittelemällä yhdistettä vas-
taavalla halogenidillä kuten trifenyylidikloorimetaanilla
15 tai trifenyylibromimetaanilla. Myös tert. butyylidimetyy-
lisilyyli- ja tert. butyylidifenyyllisilyyli-ryhmälle voi-
daan käyttää edullisesti vastaavaa halogenidia, edullises-
ti kloridia tai bromidia.

Tämän jälkeen kaavan (VIII) mukaisen 1-asemassa
20 suojatun yhdisteen 3-asemassa oleva hydroksyyli-ryhmä suo-
jataan suojaryhmällä R'', esim. esteröimällä orgaanisella
karboksyylihapolla Ac'OH tai sen reaktiokykyisellä funk-
tionaalaisella johdannaisella. Siihen sopivat ennen kaikkea
yksinkertaiset alifaattiset karboksyylihapot ja aromaatt-
25 tiset, erityisesti monosykliset aromaattiset karboksyyli-
hapot, edullisesti käytetään bentsoehappoa, substituoitua
bentsoehappoa tai pivaliinihappoa.

Esteröinti karboksyylihapolla Ac'OH voidaan suorit-
taa teoksessa "Ullmanns Encyklopädie der technischen
30 Chemie", 4. painos, osa 11, Verlag Chemie, Weinheim BRD
(1976) sivulta 91 alkaen kuvattujen menetelmien avulla.
Se tapahtuu edullisesti käyttämällä karboksyylihappohalo-
genidia tertiäärin orgaanisen emäksen kuten trietyyli-
amiinin, pyridiinin tai dimetyylianiiliinin läsnäollessa
35 vedettömässä liuottimessa kuten bentseenissä, tolueenissa,

tetrahydrofuraanissa, dietyylieetterissä tai dikloorime-
taanissa.

Kaavan (IX) mukaisen yhdisteen 1-asemassa olevan
hydroksyyli-ryhmän suojaryhmä R" voidaan lohkaista käyt-
tämällä happohydrolyysiä (trifenyyylimetyylisuojaryhmät,
silyylisuojaryhmät) tai booritrifluoridikäsittelyä (tri-
fenyyylimetyyli-ryhmät). Saadaan kaavan (X) mukainen yh-
diste, jossa on vielä 3-asemassa suojaryhmä R'', mutta 1-
aseman primaarinen hydroksyyli-ryhmä on taas vapaa.

Kaavan (IX) mukaisen yhdisteen tai kaavan (VI) mu-
kaisen yhdisteen reaktiota D-glukoosin O-trikloori- tai O-
trifluoriasetimidaatin kanssa, joiden hydroksyyli-ryhmät
lukuunottamatta 1-asemassa olevaa ovat asyyli-ryhmien Ac
suojaamia, katalysoi edullisesti Lewis-happo tai boori-
trifluoridieetteraatti tai trifluorimetaanisulfonihappo-
trimetyylisilyyli-esteri. Reaktio suoritetaan yleensä ve-
dettömässä orgaanisessa liuottimessa kuten hiilivedyssä
(heksaani) tai halogenoidussa hiilivedyssä (dikloorime-
taani). Asyyli-ryhminä D-glukoosin 2-, 3-, 4- ja 6-asemissa
olevien hydroksyyli-ryhmien suojauksessa käytetään edulli-
sesti alempia alifaattisia asyyli-ryhmiä kuten asetyyli-,
propionyyli-, pivaloyyli-, trifluoriasetyyli- tai metaani-
sulfonyyli-ryhmää. Yksityiskohtia reagenssin valmistuksesta
saadaan julkaisuista R.R. Schmidt ja M. Stumpp, Liebigs
Ann. Chem. 1983, 1249 - 1256 ja R.R. Schmidt, J. Michel ja
M. Roos, Liebigs Ann. Chem. 1984, 1343 - 1357.

Vastaava reaktio O-tetra-asyloidun D-glukoosin 1-
halogeenijohdannaisen esim. O-asetyyli- α -D-glukopyrano-
syylikloridin tai -bromidin (jälkimmäistä kutsutaan myös
 α -D-O-asetobromiglukoosiksi) kanssa suoritetaan yleensä
raskasmetalliyhdisteen kuten hopeaoksidin, raskasmetalli-
suolan kuten hopeakarbonaatin tai elohopeasyanidin, tai
orgaanisen emäksen kanssa, jotka toimivat happoa sitovina
aineina (Ullmanns Encyklopädie der technischen Chemie, 4.
painos, osa 24, Verlag Chemie GmbH, Weinheim BRD, 1983
sivu 757).

Asyyliiryhmien Ac ja suojaryhmän R'' lohkeamista kaavan (VII) tai (XI) mukaisesta yhdisteestä katalysoivat yleensä emäkset; erityisen edullista on käyttää natriummetanolaattia vedettömässä metanolissa huoneen lämpötilassa.

5 Menetelmän toiseksi viimeisessä vaiheessa atsido-ryhmän muuttaminen primaariseksi aminoryhmäksi suoritetaan parhaimmin käsittelemällä kaavan (XII) mukaista yhdistettä rikkivedyllä huoneen lämpötilassa. Tätä varten yhdiste liuotetaan esimerkiksi veden ja pyridiinin (1:1) seokseen.
10 Sama muutos voidaan suorittaa myös hydraamalla natriumboorihydridillä tai jollain muulla pelkistimellä, esim. natriumsyanoboorihydridillä.

Kaavan (XIII) mukaisen yhdisteen N-asylointi voidaan suorittaa kaavan R¹-OH mukaisella orgaanisella karboksyylihapolla (menetelmän viimeinen vaihe) käyttämällä D. Shapiron ja avustajien esittämää menetelmää [J. am. Chem. Soc. 86, (1964) s. 4472]. Tavallisesti käytetään itse karboksyylihappoa vettä lohkaisevan aineen, esim. disykloheksyylikarbodi-imidi dikloorimetaanissa, läsnäollessa tai
20 karboksyylihapon funktionaalista reaktiokykyistä johdannaisista, esim. aktivoitua esterä tai halogenidia epäorgaanisen emäksen, kuten natriumasetaatin, tai tertiäärin orgaanisen emäksen läsnäollessa. N-asylointi suoritetaan edullisesti huoneen lämpötilassa.

25 Menetelmän jokaisessa vaiheessa valmistettujen yhdisteiden eristys ja puhdistus suoritetaan tavallisia orgaanisen kemian menetelmiä käyttäen.

Seuraavat esimerkit havainnollistavat keksinnön edullisia suoritustapoja.

30 ¹H-NMR-spektrit mitattiin 250 MHz-laitteella WM 250 Cryospec, valmistaja Bruker, Spectrospin, Industriestrasse 26, CH-8117 Fällanden/Zürich. Siirtymät on mitattu käyttämällä tetrametyylisilaania (TMS) sisäisenä standardina ja siirtymät on ilmoitettu yksikköinä
35 ppm.

Annetut sulamispisteet määritettiin kupariharkoilla eikä niitä ole korjattu.

5 Analyyyttiseen ohutkerroskromatografiaan (DC) käytettiin silikageelilevyjä (valmistaja E. Merck AG, Darmstadt, BRD). Ohutkerroskromatogrammit sumutettiin 15-%:isella rikkihapolla ja kehitettiin lämpötilassa 120 °C, mikäli yhdisteet eivät olleet UV-aktiivisia.

10 Preparatiiviset pylväskromatografia-ajot suoritettiin Kieselgel 60:llä (0,062 - 0,200 mm) (valmistaja Merck). Keskipaine-kromatografiassa käytettiin D. Flockerzi'n (diplomityö, Stuttgartin yliopisto, BRD (1978) kuvaamia valmiita pylväitä, jotka oli täytetty silikageelillä "LiChroprep Si 60, 15 - 25".

15 Saannot on ilmoitettu sellaisen puhtausasteen mukaan, jossa NMR-spektroskooppisesti ja ohutlevykromatografian avulla ei enää voitu osoittaa epäpuhtauksia.

Liuotinseoksien yhteydessä suluissa ilmoitetut arvot tarkoittavat tilavuusosia.

Esimerkki 1

20 2S,3R-2-heksadekanoyyliamino-3-hydroksi-1-(β-D-glukopyranosyylioksi)-4-trans-eikoseeni

a) 4,6-O-bentsylideeni-D-galaktoosi

Katso J. Org. Chem. 29, (1964) s. 3647 - 3654.

b) 2,4-O-bentsylideeni-D-treoosi (1)

25 30 g (0,111 mol) 4,6-O-bentsylideeni-d-galaktoosia liuotetaan noin 1200 millilitraan fosfaattipuskuria, jonka pH on 7,6. 55 g (0,257 mol) natriumperjodaattia lisätään voimakkaasti sekoittaen. Lisäämällä 2-molaarista (2-normaalista) natriumhydroksidia tipoittain pH pidetään arvossa noin 7 - 8. Sekoitetaan huoneen lämpötilassa 1,5 tuntia. Sen jälkeen haihdutetaan vesisuihkupumpun aikaansaamassa alipaineessa kuiviin. Kiinteää jäännöstä uutetaan neljä kertaa kulloinkin 250 millilitralla etyyliasetaatia. Uute suodatetaan, kuivataan magnesiumsulfaatilla ja haihdutetaan. Saanto: 20 g (85 %), $R_f = 0,64$, liuottimena 35 tolueeni/etanoli (3:1).

c) 2R,3R-1,3-O-bentsylideeni-2-hydroksi-4-trans-eikoseeni (2)

70 g (0,12 mol) heksadekyylitrifenyylifosfoniumbromidia uutetaan typpi-atmosfäärissä noin 1 litralla vedetöntä, typellä kyllästettyä tolueenia. Fenyyllilitiumia, joka valmistettiin käyttämällä 6,5 g (0,94 mol) litiumia ja 74 g (0,47 mol) bromibentseeniä noin 200 millilitrassa vedetöntä eetteriä, lisätään tipoittain ilman puhdistusta. Samalla seos jäähdytetään lämpötilaan -15 °C. Sen jälkeen lisätään tipoittain 20 g (0,096 mol) yhdistettä (1) noin 150 millilitrassa vedetöntä tetrahydrofuraania typpi-atmosfäärissä 20 minuutin aikana. Seuraavien 20 minuutin kuluttua lisätään ensin 150 ml metanolia ja sen jälkeen 250 ml vettä. Sekoitetaan voimakkaasti. Orgaaninen faasi haihdutetaan vesifaasin erottamisen jälkeen. Tuotteen puhdistamiseksi suoritetaan kromatografinen erotus silikageelillä käyttäen petrolieetteri/etyyliasetaatista (9:1). Saanto 27 g (68 %), $R_f = 0,21$, liuottimena petrolieetteri/etyyliasetatti (9:1).

20 d) 2S,3R-2-atsido-1,3-O-bentsylideeni-4-trans-eikoseeni (3)

10 g (0,025 mol) yhdistettä (2) liuotetaan noin 70 millilitraan vedetöntä dikloorimetaania, joka sisältää 5 ml vedetöntä pyridiiniä. Se jäähdytetään typpi-atmosfäärissä lämpötilaan -15 °C. Lisätään hitaasti tipoittain 8,12 g (0,029 mol) trifluorimetaanisulfonihapponhydridiä. Suodatetaan 15 minuutin kuluttua silikageelillä ja eluoidaan dikloorimetaani/petrolieetteri-seoksella (1:1). Reaktioastiaa huuhdellaan koko ajan typellä. Suoritetaan haihdutus, josta jäävä öljy sekoitetaan 50 millilitraan vedetöntä dimetyyliformamidia. Lisätään typpi-atmosfäärissä 7,5 g (0,1 mol) natriumatsidia. Sekoitetaan 2 tuntia huoneen lämpötilassa. Sen jälkeen laimenetaan noin 350 millilitralla dikloorimetaania, suodatetaan ja haihdutetaan vesisuihkupumpulla aikaansaadussa alipaineessa. Tuotteen

puhdistamiseksi suoritetaan kromatografinen erotus silika-geelillä käyttämällä petrolieetteri/etyyliasetaatiseosta (9:1). Saanto: 8 g (75 %), $R_f = 0,8$, liuottimena petrolieetteri/etyyliasetaatii (9:1).

5 e. 2S,3R-2-atsido-1,3-dihydroksi-4-trans-eikoseeni
(4)

8 g yhdistettä (3) liuotetaan 100 millilitraan dikloorimetaania. Lisätään 5 ml väkevää vetykloridihappoa ja 3 ml vettä ja sekoitetaan huoneen lämpötilassa voimakkaasti 12 tuntia. Sen jälkeen ravistellaan natriumvetykarbonaatin vesiliuoksen kanssa. Orgaaninen faasi erotetaan, kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan. Tuotteen puhdistamiseksi suoritetaan kromatografinen erotus silika-geelillä käyttämällä dikloorimetaani/metanoli-seosta (95:5). Saanto 4,32 g (68 %), $R_f = 0,46$, liuottimena dikloorimetaani/metanoli (95/5), sulamispiste 56 - 57 °C.

Alkuaineanalyysi:

Laskettu: C 67,95 H 11,11 N 11,88

Saatu: 67,62 11,12 11,85

20 $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3 , yksikköinä ppm) yhdiste (4):
5,83 (m, 1H, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{C}$); 5,55 (dd, 1H, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$, $J = 15,5 \text{ Hz}$, $J = 6,5 \text{ Hz}$); 4,25 (m, 1H; $-\text{CH}-\text{N}_3$); 3,8 (m, 2H; $-\text{CH}_2-\text{OH}$, $\text{CH}-\text{OH}$); 2,05 (m, 4H, OH, $\text{C}=\text{CH}-\text{CH}_2$); 1,45 - 1,18 (m, 26H, alifaatt.); 0,88 (t. 3H, CH_3).

25 f) 2S,3R-2-atsido-3-hydroksi-1-(2,3,4,6-tetra-O-asetyyli- β -D-glukopyranosyylioks)-4-trans-eikoseeni

0,5 g (0,41 mmol) yhdistettä (4) liuotetaan 50 millilitraan vedetöntä heksaania. Lisätään 0,1 ml 0,5-molaarista booritrifluoridieetteraattia dikloorimetaanissa ja spaatelinkärjellinen molekyyliseulaa 4 Å. 0,7 g (1,41 mmol) O-(2,3,4,6-tetra-O-asetyyli- α -D-glukopyranosyyli)-triklooriasetamidaattia liuotetaan 3 millilitraan vedetöntä tolueenia ja lisätään hitasti tipoittain. Pestään 4 tunnin kuluttua 30 millilitralla kylläistä natriumvetykarbonaattiliuosta. Vesifaasia ravistellaan kolme kertaa dikloori-

metaanin kanssa, jota käytetään kulloinkin 30 millilitraa. Orgaaniset faasit kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan. Tuotteen puhdistamiseksi suoritetaan kromatografinen erotus silikageelillä käyttämällä dikloorimetaani/metanoli-seosta (97,5:2,5). Saanto: 0,385 g (40 %), R_f = 0,7, liuottimena dikloorimetaani/metanoli (95:5).

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3 , yksikköinä ppm) yhdiste (6): 5,78 (m, 1H, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{C}$); 5,5 (dd, 1H; $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$, $J = 15,5$ Hz, $J = 7,3$ Hz); 5,3 - 4,98 (m, 3H; H-2, H-3, H-4); 4,58 (d, 1H, H-1, $J = 7,6$ Hz); 4,35 - 4,13 (m, 3H, H-6; H-6; $-\text{CH}-\text{N}_3$); 4,05 (dd, 1H; $-\text{CH}_2-\text{O}-$); 3,73 (m, 2H, H-5- CH_2-O); 3,47 (m, 1H, $>\text{CH}-\text{OH}$), 2,24 (d, 1H, OH, $J = 4,8$ Hz), 2,16 - 1,94 (m, 14H, asetyyli, $\text{C}=\text{CH}-\text{CH}_2$); 1,45 - 1,15 (m, 26H, alifaatt.); 0,88 (s, 3H, $-\text{CH}_3$).

g) 2S,3R-2-atsido-3-hydroksi-1-(β -D-glykopyranosyylioksi)-4-trans-eikoseeni (7)

0,4 g (0,585 mmol) yhdistettä (6) liuotetaan 30 millilitraan vedetöntä metanolia. Lisätään 0,2 ml 1-molaarista natriummetyylaattiliuosta metanolissa. Sekoitetaan 1 tunti huoneen lämpötilassa. Sen jälkeen neutraloidaan ioninvaihtohartsilla Amberlit IR 120 (H^+ -muoto). Tuotteesta suodatetaan ioninvaihtohartsin pois, haihdutetaan ja suoritetaan kromatografinen erotus silikageelillä käyttämällä kloroformi/metanoli-seosta (9:1). Saanto: 0,26 g (86 %), R_f = 0,22, liuottimena kloroformi/metnaoli (9:1).

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, yksikköinä ppm) yhdiste (7): 4,10 (d, 1H, H-1, $J = 7,6$ Hz).

h) 2S,3R-2-amino-3-hydroksi-1-(β -D-glykopyranosyylioksi)-5-trans-eikoseeni (8)

0,26 g (0,5 mmol) yhdistettä (7) liuotetaan pyridiinin (4 ml) ja veden (4 ml) seokseen. Liuos kyllästetään rikkivedyllä. Sekoitetaan 24 tuntia huoneen lämpötilassa. Haihdutetaan kuiviin ja suoritetaan kromatografinen erotus silikageelillä käyttämällä ensin kloroformi/metanoliseosta (6:4) ja sitten kloroformi/metanoli/vesi-seosta (5:4:1).

Saanto: 0,234 g (96 %), $R_f = 0,65$, liuottimena kloroformi/metanoli/vesi (5:4:1).

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO-d_6 , yksikköinä ppm) yhdiste (8): 4,10 (d, 1H, H-1, $J = 7,6$ Hz).

5 i) 2S,3R-2-heksadekanoyyliamino-3-hydroksi-1-(β -D-glukopyranosyylioksi)-4-trans-eikoseeni (9)

0,23 g (0,47 mmol) yhdistettä (8) liuotetaan 5 millilitraan tetrahydrofuraania. Lisätään 5 ml natriumasetatin 50-%:ista vesiliuosta. Seos yhdistetään voimakkaasti sekoittaen 0,19 gramman (0,7 mmol) kanssa heksadekanoyylikloridia. N. 2 tunnin kuluttua orgaaninen faasi erotetaan. Vesifaasia ravistellaan kolme kertaa kulloinkin 2 millilitran kanssa kloroformia. Orgaaniset faasit kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan. Tuotteen puhdistamiseksi suoritetaan kromatografinen erotus silikageelillä käyttämällä kloroformi/metanoli-seosta (9:1). Saanto: 0,3 g (90 %), $R_f = 0,50$, liuottimena kloroformi/metanoli (9:1).

20 $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO-d_6 , yksikköinä ppm) yhdiste (9): 7,5 (d, 1H, NH, $J = 8,7$ Hz); 5,52 (m, 1H, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{C}$); 5,35 (dd, 1H, $\text{C}=\text{CH}-$, $J = 15,2$ Hz, $J = 6,5$ Hz); 5,03 (d, 1H, OH; $J = 3,4$ Hz); 4,92 (m, 3H) OH); 4,5 (5, 1H, OH; $J = 4,9$ Hz); 4,09 (d, 1H; H-1, $J = 7,6$ Hz); 4,0 - 3,55 (m, 4H); 3,45 (m, 2H); 3,15 - 2,9 (m, 4H); 2,1 - 1,88 (m, 4H); 1,45 (m, 2H); 122 (m, 54H, alifaatt.); 0,85 (m, 6H, CH_3).

Lisäys

30 Kaavan (VI) mukaiselle yhdisteelle kirjoitetun rakenteen varmistamiseksi käsitellään yhdiste (4) samalla tavalla rikkivedyllä (katso alla) kuin edellä olevassa esimerkissä kohdassa h) on kuvattu. Tällöin on todellakin satu yhdiste (5), jonka fysikaalis-kemialliset ominaisuudet pitävät täydellisesti yhtä luonnossa esiintyvistä lähtöaineista valmistettujen erythro-D- C_{18} -sfingosiinien ominaisuuksien kanssa.

35 2S,3R-2-amino-1,3-dihydroksi-4-trans-eikoseeni (5)
0,25 g (0,7 mmol) yhdistettä (4) liuotetaan pyri-

diinin (5 ml) ja veden (2 ml) seokseen. Liuos kyllästetään rikkivedyllä. Sekoitetaan 48 tuntia huoneen lämpötilassa. Seos haihdutetaan kuiviin. Jäännökselle suoritetaan kromatografinen erotus silikageelillä käyttämällä ensin kloroformia, sitten kloroformi/metanoli-seosta (9:1) ja lopuksi kloroformi/metanoli/vesi-seosta (18:2:0,25). Saanto 0,215 g (95 %), $R_f = 0,2$, liuottimena kloroformia/metanoli (1:1), sulamipiste: 70 - 72 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3 , yksikköinä ppm) yhdiste (5): 5,78 (m, 1H, $-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{C}$); 5,47 (dd, 1H, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$, $J = 15,5 \text{ Hz}$, $J = 7,3 \text{ Hz}$); 4,12 (dd, 1H, $\text{C}=\text{CH}-\text{CH}-\text{OH}$, $J = 6,1 \text{ Hz}$); 3,7 (m, 2H, CH_2-OH); 2,93 (m, 1H, $-\text{CH}-\text{NH}_2$); 2,57 (m, 4H, NH_2 , OH); 2,06 (m, 2H, $\text{C}=\text{CH}-\text{CH}_2$); 1,45 (m, 26H, alifaat.); (t, 3H, $-\text{CH}_3$).

Esimerkki 2

2S,3R-2-heksadekanoyyliamino-3-hydroksi-1-(β -D-glukopyranosyylioksi)-4-trans-oktadekeeni

j) 2R,3R-1,3-O-bentsylideeni-2-hydroksi-4-trans-oktadekeeni (10)

70 g (0,13 mol) tetradekyyliitrifenyylylifosfoniumbromidia suspendoidaan typpi-atmosfäärissä noin 1 litraan vedetöntä, typellä kyllästettyä tolueenia. Fenyyllitium, joka on valmistettu litiumista (6,5 g, 0,94 mol) ja bromibentseenistä (74 g, 0,47 mol) noin 200 millilitrassa vedetöntä eetteriä, lisätään tipoittain ilman lisäpuhdistusta. Samalla seos jäädytetään lämpötilaan -15 °C. Sen jälkeen lisätään 21,6 g (0,104 mol) 2,4-O-bentsylideeni-D-treoosia [katso esimerkki 1, yhdiste (1)] noin 150 millilitrassa vedetöntä tetrahydrofuraania tipoittain typpi-atmosfäärissä 20 minuutin aikana. Seuraavan 20 minuutin kuluttua lisätään ensin 150 ml metanolia ja sen jälkeen 250 ml vettä. Sekoitetaan voimakkaasti. Orgaaninen faasi haihdutetaan vesifaasin erottamisen jälkeen. Tuotteen puhdistamiseksi suoritetaan kromatografinen erotus silikageelillä käyttäen petrolieetteri/etyyliasetatti-seosta (9:1). Saanto: 27 g

(68 %), $R_f = 0,21$, liuottimena petrolieetteri/ etyyliasettaatti (9:1), sulamispiste: 54 - 55 °C.

k) 2S,3R-2-atsido-1,3-0-bentsylideeni-4-trans-oktadekeeni (11)

5 10 g (0,025 mol) yhdistettä (10) liuotetaan noin 70 millilitraan vedetöntä dikloorimetaania, joka sisältää 5 ml pyridiiniä. Seos jäädytetään typpi-atmosfäärissä lämpötilaan -15 °C. 8,7 g (0,31 mol) trifluorimetaanisulfonylihappoanhydridiä lisätään hitaasti tipoittain. Seos
10 suodatetaan 15 minuutin kuluttua silikageelillä ja eluoidaan dikloorimetaani/petrolieetteriseoksella (1:1). Reaktioastiaa huuhdellaan jatkuvasti typellä. Suoritetaan haihdutus ja jäljelle jäänyt öljy sekoitetaan 50 millilitraan vedetöntä dimetyyliformamidia. Typpi-atmosfäärissä lisätään 7,5 g (0,1 mol) natriumatsidia. Sekoitetaan huoneen lämpötilassa 2 tuntia. Sen jälkeen laimennetaan noin 350 millilitralla dikloorimetaania, suodatetaan ja haihdutetaan vesisuihkupumpulla aikaansaadussa alipaineessa. Tuotteen puhdistamiseksi suoritetaan kroma-
20 tografinen erotus silikageelillä käyttämällä petrolieetteri/etyyliasettaatti-seosta (9:1). Saanto: 7,8 g (75 %), $R_f = 0,8$, liuottimena petrolieetteri/etyyliasettaatti (9:1).

1) 2S,3R-2-atsido-1,3-dihydroksi-4-trans-oktadekeeni (12)

25 7 g (0,017 mol) yhdistettä (11) liuotetaan 100 millilitraan dikloorimetanaania. Lisätään 5 ml väkevää vetykloridihappoa ja 3 ml vettä ja sekoitetaan 12 tuntia huoneen lämpötilassa voimakkaasti. Sen jälkeen ravistellaan natriumvetykarbonaatin vesiliuoksen kanssa. Orgaaninen
30 faasi erotetaan, kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan. Tuotteen puhdistamiseksi suoritetaan kromatografinen erotus silikageelillä käyttämällä dikloorimetaani/metanoli-seosta. (95:5). Saanto: 3,76 g (68 %), $R_f = 0,46$, liuottimena dikloorimetaani/metanoli (95:5).

35 $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3 , yksikköinä ppm): yhdiste

(12): 5,83 (m, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH=C}$); 5,55 (dd, 1H; $\text{-CH}_2\text{-CH=CH-}$, $J = 15,5 \text{ Hz}$, $J = 6,5 \text{ Hz}$); 4,25 (m, 1H; -CH-N_3); 3,8 (m, 2H, $\text{-CH}_2\text{-OH}$, >CH-OH); 3,52 (m, 1H, $\text{-CH}_2\text{-OH}$); 2,05 (m, 4H; OH, C=CH-CH_2); 1,45 - 1,18 (m, 22H, alifaatt.); 0,88 (t, 3H, CH_3).

5 m) 2S,3R-2-atsido-3-hydroksi-1-O-trifenyyylimetyyli-4-trans-oktadekeeni (13)

4 g (12,3 mmol) yhdistettä (12) liuotetaan 45 millilitraan seosta, joka koostuu pyridiinistä, kloroformista ja tetrahydrofuraanista (1:1:1), jotka kaikki ovat vedetömiä. Lisätään 6 g (21,5 mmol) trityylikloridia. Seosta sekoitetaan huoneen lämpötilassa 48 tuntia. Sen jälkeen suoritetaan haihdutus vesisuihkupumpun avulla aikaansaadussa alipaineessa. Jäännös lisätään 200 millilitraan dietyylieetteriä ja ravistellaan veden (100 ml) kanssa. Orgaaninen faasi kuivataan magnesiumsulfaatilla. Tuotteen puhdistamiseksi suoritetaan kromatografinen erotus silikaagelillä käyttämällä petrolieetteri/etyyliasettaatti-seosta (9:1). Saanto: 6,3 g (90 %), $R_f = 0,39$, liuottimena petrolieetteri/etyyliasettaatti (9:1).

10
15
20

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3 , yksikköinä ppm) yhdiste (13): 7,55 - 7,15 (m, 15H, aromaatt.); 5,75 - 5,58 (m, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH=C}$); 5,38 - 5,26 (dd, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH=CH-}$, $J = 15,5 \text{ Hz}$, $J = 7,3 \text{ Hz}$); 4,20 (m, 1H, -CH-N_3); 3,53 (m, 1H, -CH-OH); 3,30 (d, 2H, $\text{O-CH}_2\text{-}$, $J = 5,4 \text{ Hz}$); 2,03 - 1,188 (m, 3H, -OH , CH=CH-CH_2); 1,40-1,10 (m, 22H, alifaatt.); 0,88 (t, 3H, CH_3).

25

n) 2S,3R-2-atsido-3-bentsoyylioksi-1-O-trifenyyylimetyyli-4-trans-oktadekeeni (14)

6,3 g (11,1 mmol) yhdistettä (13) liuotetaan 30 millilitraan seosta, joka sisältää vedetöntä tolueenia ja vedetöntä pyridiiniä (4:1). 3 g (21,3 mmol) bentsoyylikloridia lisätään. Sekoitetaan huoneen lämpötilassa 12 tuntia. Sen jälkeen seos lisätään noin 200 millilitraan vettä ja uutetaan kaksi kertaa dietyylieetterillä, jota

30
35

käytetään molemmilla kerroilla 100 ml. Orgaaninen faasi kuivataan magnesiumsulfaatilla ja haihdutetaan. Tuotteen puhdistamiseksi suoritetaan kromatografinen erotus silika-geelillä käyttämällä petrolieetteri/etyyliasetatti-seosta (95:5). Saanto: 6,7 g (90 %), $R_f = 0,60$, liuottimena petrolieetteri/etyyliasetatti (9:1).

o) 2S,3R-2-atsido-3-bentsoyylioksi-1-hydroksi-4-trans-oktadekeeni (15)

6,7 g (9,97 mmol) yhdistettä (14) liuotetaan seokseen, joka sisältää 30 ml vedetöntä tolueenia ja 5 ml metanolia. 10 ml 3-molaarista booritrifluoridieetteraattia dikloorimetaanissa lisätään. 5 tunnin kuluttua seos lisätään 50 millilitraan vettä ja erotetaan orgaaninen faasi. Magnesiumsulfaatilla suoritettua kuivauksen jälkeen haihdutetaan ja sen jälkeen suoritetaan kromatografinen erotus ensin käyttämällä petrolieetteri/etyyliasetattiseosta (9:1), sitten petrolieetteri/etyyliasetattiseosta (8:2). Saanto: 3,8 g (90 %), $R_f = 0,13$, liuottimena petrolieetteri/etyyliasetatti (9:1).

Alkuaineanalyysi yhdisteelle $C_{25}H_{39}N_3O_3$:
(molekyyllipaino 429,56)

laskettu: C 69,90 H 9,41 N 9,78

saatu: 69,92 9,16 9,65

1H -NMR (250 MHz, $CDCl_3$, yksikköinä ppm) yhdiste (15): 8,14 (m, 2H; aromaatt.); 7,58 (m, 1H, aromaatt.); 7,47 (m, 2H, aromaatt.); 6,05 - 5,87 (m, 1H; $CH_2-CH=C$); 5,69 - 5,53 (m, 2H; $CH_2-CH=CH-$, $CH-OBz$); 2,15 - 1,95 (m, 3H, $-OH$, $C=CH-CH_2$); 1,47 - 1,13 (m, 22H, alifaat.); 0,86 (t, 3H, CH_3).

p) 2S,3R-2-atsido-3-bentsoyylioksi-1-(2,3,4,6-tetra- β -D-glukopyranosyylioksi)-4-trans-oktadekeeni (16)

2 g (4,6 mmol) yhdistettä (15) ja 4,6 g (7,0 mmol) 2,3,4,6-tetra-O-pivaolyyli- α -D-glukopyranosyyli-tri-klooriasetimidaattia liuotetaan 40 millilitraa vedetöntä dikloorimetaania ja sekoitetaan 30 min molekyliseulan 4 Å

kanssa. Sen jälkeen lisätään 0,2 ml 0,1-molaarista boori-
 trifluoridieetteraattia dikloorimetaanissa. Reaktion ai-
 kana lisätään vielä 2 ml 0,1-molaarista booritrifluoridi-
 eetteraattia 0,5 millilitran annoksina. 48 tunnin kuluttua
 5 laimennetaan 200 millilitralla petrolieetteriä ja suodate-
 taan. Suodosta ravistellaan 50 millilitran kanssa natrium-
 vetykarbonaatin vesiliuosta, kuivataan orgaaninen faasi
 natriumsulfaatilla ja haihdutetaan. Tuotteen puhdistami-
 seksi suoritetaan kromatografinen erotus silikageelillä
 10 käyttämällä tolueeni/asetoni-seosta (97,5:2,5). Saanto: 4
 g (94 %), $R_f = 0,57$, liuottimeen tolueeni/asetoni (97,5:-
 2,5).

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3 , yksikköinä ppm) yhdiste
 (16): 8,05 (m, 2H; aromaatt.); 7,58 (m, 1H, aromaatt.),
 15 7,45 (m, 2H, aromaatt.); 5,99 - 5,83 (m, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{C}$);
 5,65 - 5,46 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}$, CH-OBz); 5,37 - 5,02 (m, 3H;
 H-2, H-3, H-4); 4,58 (d, 1H, H-1, $J = 7,9$ Hz); 4,25 - 3,58
 (m, 6H, H-6, H-6', H-5, CH-N_3 , $\text{CH}_2\text{-O}$), 2,06 (m 2H;
 $\text{CH}=\text{CH-CH}_2$); 1,45 - 1,04 (m, 58H; pivalolyyli, alifaatt.);
 20 0,89 (t, 3H, CH_3).

g) 2S,3R-2-atsido-3-hydroksi-1-(β -D-glikopyrano-
syylioksi)-4-trans-oktadekeeni (17)

4 g (4,3 mmol) yhdistettä (16) liuotetaan 50 milli-
 litraan vedetöntä dikloorimetaaniamia. Lisätään 8 ml 0,05-
 25 molaarista natriummetylaattiliuosta vedettömässä metano-
 lissa. Sekoitetaan 3 päivää huoneen lämpötilassa. Sen jäl-
 keen neutraloidaan ioninvaihtohartsilla Amberlit JR 120
 (H^+ -muoto). Ioninvaihtohartsin suodatetaan pois, suori-
 taan haihdutus ja kromatografinen erotus silikageelillä
 30 käyttämällä kloroformi/metanoli-seosta (8,5:1,5). Saanto:
 1,65 g (78 %), $R_f = 0,20$, liuottimena kloroformi/metanoli
 (9:1).

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO-d_6 , yksikköinä ppm) yhdiste
 (17): 4,10 (d, 1H, H-1, $J=7,6$ Hz).

r) 2S,3R-2-amino-3-hydroksi-1-(β-D-glukopyrano-
syylioksi)-4-trans-oktadekeeni (18)

1,65 g (3,4 mmol) yhdistettä (17) liuotetaan 50 millilitraan pyridiinin ja veden (1:1) seosta. Liuos kyl-
 5 lästetään rikkivedyllä. Sekoitetaan 24 tuntia huoneen läm-
 pötilassa. Haihdutetaan kuiviin ja suoritetaan kromatogra-
 finen erotus silikageelillä käyttämällä ensin kloroformi/metanoli-seosta (9:1), sitten kloroformi/metanoli/vesi-
 seosta (5:4:1). Saanto: 1,47 g (94 %), $R_f = 0,64$, liuottimenä kloroformi/metanoli/vesi (5:4:1).

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO- d_6 , yksikköinä ppm) yhdiste
 (18): 4,10 (d, 1H, 1-H, $J = 7,6$ Hz).

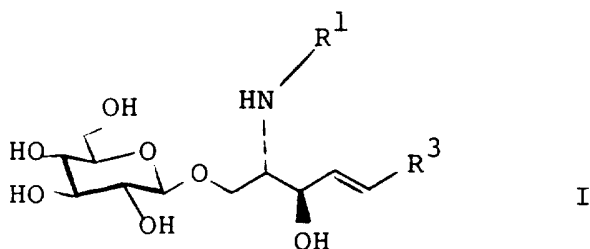
s) 2S,3R-2-heksadekanoyyliamino-3-hydroksi-1-(β-D-
glukopyranosyylioksi)-4-trans-oktadekeeni

1,47 g (3,2 mmol) yhdistettä (18) liuotetaan 50 millilitraan tetrahydrofuraania. Lisätään 50 ml 50 %:ista natriumasetaatin vesiliuosta. Seokseen lisätään voimak-
 kaasti sekoittaen huoneen lämpötilassa 0,87 g (3,2 mmol) heksadekanoyylikloridia. Noin 2 tunnin kuluttua laimen-
 20 netaan seos 350 millilitralla tetrahydrofuraania ja vesi-
 faasi erotetaan. Orgaanista faasia ravistellaan kaksi ker-
 taa keittosuolaliuoksen kanssa, jota käytetään kummallakin
 kerralla 50 ml, ja haihdutetaan. Jäännös kuivataan suur-
 tyhjössä. Tuotteen puhdistamiseksi suoritetaan kromato-
 25 grafinen erotus silikageelillä käyttämällä ensin kloro-
 formia, sitten kloroformi/metanoli-seosta (9:1). Saanto:
 1,81 g (81 %), $R_f = 0,4$, liuottimenä kloroformia/metanoli
 (8,5:1,5).

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO- d_6 , yksikköinä ppm) yhdiste
 30 (19): 7,5 (d, 1H, NH; $J = 8,7$ Hz); 5,52 (m, 1H, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{C}$);
 5,35 (dd, 1H, $\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$, $J = 15,2$ Hz, $J = 6,5$ Hz); 5,03
 (d, 1H, OH; $J = 3,4$ Hz); 4,92 (m, 3H, OH); 4,5 (s, 1H, OH;
 $J = 4,9$ Hz); 4,09 (d, 1H, H-1, $J = 7,6$ Hz); 4,0 - 3,55 (m,
 4H); 3,45 (m, 2H); 3,15 - 2,9 (m, 4H); 2,1 - 1,88 (m, 4H);
 35 1,45 (m, 2H); 1,22 (m, 50H; alifaatt.); 0,85 (s, 6H, CH_3).

Patenttivaatimukset

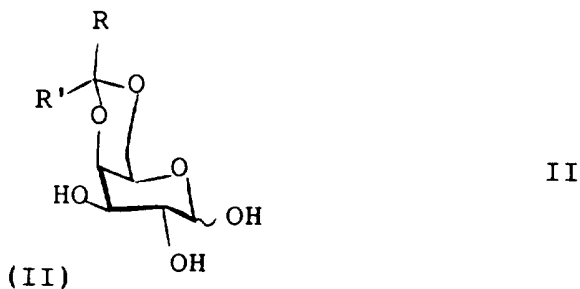
1. Menetelmä sfingosiinijohdannaisten valmistamiseksi, joilla on yleinen kaava (I),



(I)

jossa

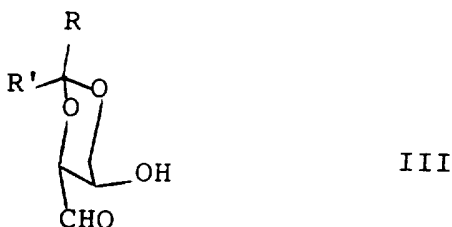
R^1 on 14 - 24 hiiliatomia sisältävän rasvahapon asyyliiryhmä tai vastaava asyyliiryhmä, jossa on hydroksyyliiryhmä α -asemassa tai jossa on yksi tai kaksi kaksoissidosta cis-konfiguraatiossa, ja R^3 on alifaattinen ryhmä, jossa on 13 - 19 hiiliatomia, joista vähintään 13 muodostaa suoran ketjun ja mahdollisesti korkeintaan 4 muodostaa metyyliisivuryhmiä, ja joka ryhmä voi sisältää korkeintaan 3 cis- tai trans-konfiguraation omaavaa kaksoissidosta tai korkeintaan 3 kolmoissidosta, t u n n e t t u siitä, että D-galaktoosin annetaan reagoida alemman alifaattisen ketonin tai aromaattisen aldehydin kanssa, jolla on kaava $R-CO-R'$, jossa R ja R' tarkoittavat kumpikin alempaa alkyyliiryhmää tai toinen symboleista R ja R' tarkoittaa vetystä ja toinen aromaattista ryhmää, 4- ja 6-asemissa suojaetuiksi D-galaktoosiksi, jolla on kaava (II)



(II)

tämä yhdiste hajotetaan visinaalisia dioleja lohkaisevalla hapettimella vastaavaksi 2- ja 4-asemissa suojatuksi D-treosiksi, jolla on kaava (III)

5



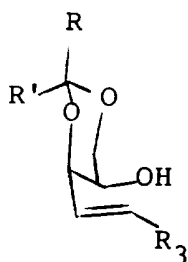
III

10

(III)

soijatun D-treosin annetaan reagoida R^3 -CH₂-fosfonaatin tai R^3 -CH₂-trifenyyylifosfoniumhalogenidin kanssa, joissa R^3 merkitsee samaa kuin edellä, emäksen tai emäksen ja suolan läsnäollessa yhdisteeksi, jolla on kaava (IV)

15

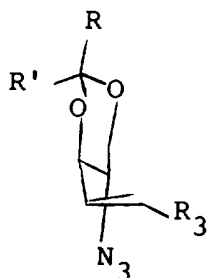


IV

20

tämän yhdisteen vapaa hydroksyyliiryhmä aktivoidaan ja muutetaan atsidoryhmäksi, saatu atsidoyhdiste, jolla on kaava (V)

25



V

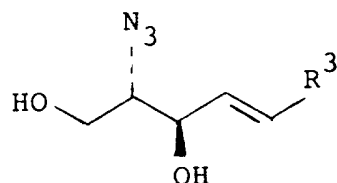
30

35

vapautetaan alifaattisen ketjun asemassa 1 ja 3 olevien

hydroksyyli­ryhmien suo­jaryhmästä, jolloin saadaan 2-atsido-1,4-dihydroksiyhdiste, jolla on kaava (VI)

5

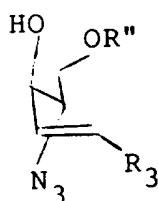


VI

10

jonka yhdisteen annetaan reagoida orgaanisen reagenssin kanssa, joka pystyy reagoimaan selektiivisesti primäärisen hydroksyyli­ryhmän kanssa, jolloin saadaan yhdiste, jolla on kaava (VIII)

15

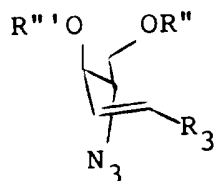


VIII

20

jossa R'' on hydroksyyli­suojaryhmä, kaavan (VIII) mukaisen yhdisteen sekundaärinen hydroksyyli­ryhmä suo­jataan suo­jaryhmällä R''', saadusta yhdisteestä, jolla on kaava (IX)

25

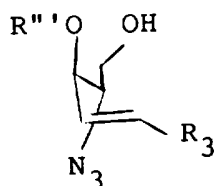


IX

30

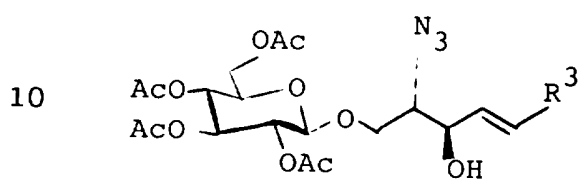
lohkaistaan hydroksyyli­suojaryhmä R'', jolloin saadaan yhdiste, jolla on kaava (X)

35

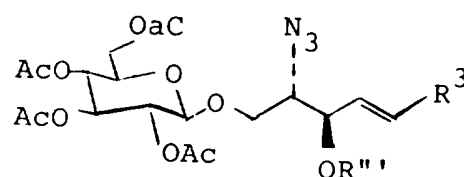


X

ja joko aiemmin saatu kaavan (VI) mukainen yhdiste tai kaavan (X) mukainen yhdiste glykosidoidaan D-glukoosin O-trifluori- tai O-triklooriasetamidaatin tai 1-halogeenijohdannaisen kanssa, joiden 2-, 3-, 4- ja 6-asemissa olevat hydroksyylliryhmät ovat asyylliryhmien Ac suojaamia, jolloin saadaan yhdiste, jolla on kaava (VII) tai (XI)

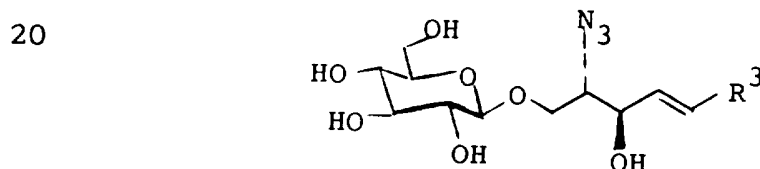


VII



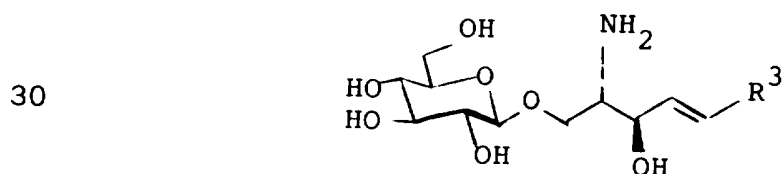
XI

15 saadusta yhdisteestä lohkaistaan asyylliryhmät Ac tai asyylliryhmät Ac ja suojarahmät R'', jolloin saadaan yhdiste, jolla on kaava (XII)



XII

25 tämän yhdisteen atsidoryhmä muutetaan primääriseksi aminoryhmäksi ja saatu yhdiste, jolla on kaava (XIII)



XIII

N-asyloidaan kaavan R¹-OH mukaisen rasvahapon kanssa.

35 2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,

t u n n e t t u siitä, että kaavan $R-CO-R'$ mukaisena ketonina tai aldehydinä käytetään asetonia, etyyylimetyyliketonia tai dietyyliketonia tai bentsaldehydiä, jonka fenyyllirengas voi olla substituoitu.

5 3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että hapettimena käytetään alkali-
metalliperjodaattia tai lyijytetra-asetaattia ja että kaa-
van (II) mukaisen yhdisteen hapetus suoritetaan pH-alueel-
la 7 - 8 huoneen lämpötilassa.

10 4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että kaavan (III) mukaisen suojatun
D-treosin reaktio R^3-CH_2 -fosfonaatin tai R^3-CH_2 -trifenyyli-
fosfoniumhalogenidin kanssa toteutetaan fenyyllilitiumin,
litiummetylaatin, natriumamidin, natriummetylaatin tai
15 natriumkarbonaatin läsnäollessa vedettömässä hiilivedyssä
tai eetterissä typpi-atmosfäärissä matalassa lämpötilassa
ja käytettäessä R^3-CH_2 -fosfoniumhalogenidia lisätään suo-
laa.

20 5. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että kaavan (IV) mukaisen yhdis-
teen vapaa hydroksyyli-ryhmä muutetaan atsidoryhmäksi käyt-
tämällä O-trifluorimetaanisulfonointia, metaanisulfonoin-
tia tai p-tolueenisulfonointia ja antamalla saadun O-sul-
fonyylijohtannaisen reagoida alkalimetalliatsidin kanssa.

25 6. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että suojaryhmän $R-CO-R'$ lohkaise-
minen kaavan (V) mukaisesta yhdisteestä tai suojaryhmän R''
lohkaiseminen kaavan (IX) mukaisesta yhdisteestä suori-
tetaan käyttäen happohydrolyysiä.

30 7. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että hydroksyyli-suojaryhmänä R''
käytetään tilavuudeltaan suurta ryhmää kuten trifenyyli-
metyyli-, monometoksitrifenyylimetyylisilyyli-, tert.bu-
tyyli-, triklooriasetyyli-, trimetyylisilyyli-, tert.bu-
35 tyylidimetyylisilyyli- tai tert.butyylidifenyylisilyyli-
ryhmää.

8. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että suojaryhmänä R''' käytetään
alifaattisen tai aromaattisen karboksyylihapon asyyyliryh-
mää tai tert.butoksikarbonyyliryhmää, edullisesti
5 bentsoehapon tai substituoidun bentsoehapon tai pivaliini-
hapon asyyyliryhmää.

9. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että kaavan (VI) tai (X) mukaisen
yhdisteen glykosidointi suoritetaan mainitulla O-tri-
10 fluori- tai O-triklooriasetimidaatilla Lewis-happokataly-
saattorin läsnäollessa vedettömässä hiilivedyssä tai halo-
genoidussa hiilivedyssä tai mainitulla l-halogeenijohdan-
naisella happoa sitovan aineen tai raskasmetallisuolan
läsnäollessa.

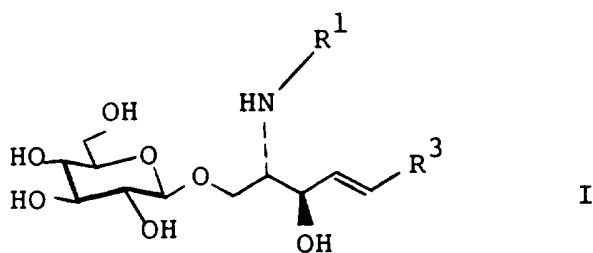
15 10. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että asyyyliryhmät Ac ja suojaryhmä
R''' lohkaistaan kaavan (VII) tai (XI) mukaisesta yhdis-
teestä emäksisen katalyyysin avulla.

11. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
20 t u n n e t t u siitä, että kaavan (XII) mukaisen yhdis-
teen atsidoryhmän muuttaminen primaariseksi aminoryhmäksi
suoritetaan käsittelemällä rikkivedyllä veden ja pyridii-
nin (1:1) seoksessa tai hydraamalla natriumboorihydridillä
tai muulla pelkistimellä.

25 12. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että kaavan (XIII) mukaisen yhdis-
teen N-asylointi suoritetaan käyttämällä kaavan R¹-OH mu-
kaista rasvahappoa vettä lohkaisevan aineen läsnäollessa
tai käyttämällä rasvahapon aktivoitua esterä tai käyttä-
30 mällä rasvahapon halogenidia epäorgaanisen emäksen tai
tertiäärisen orgaanisen emäksen läsnäollessa.

Patentkrav

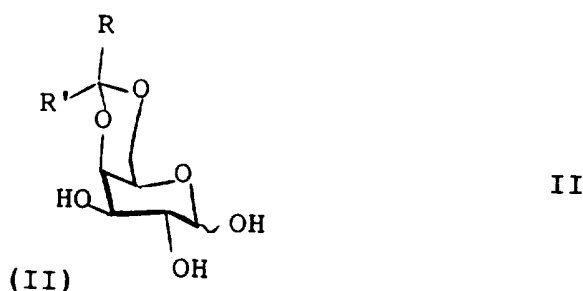
1. Förfarande för framställning av sfingosinderivat med den allmänna formeln (I)



(I)

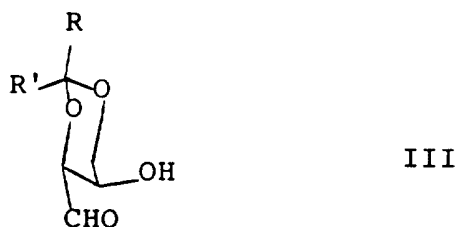
vari

R^1 är acylgruppen av en fettsyra med 14 - 24 kolatomer eller en motsvarande acylgrupp med en hydroxylgrupp i α -ställning eller med en eller två dubbelbindningar i cis-konfiguration och R^3 är en alifatisk grupp med 13 - 19 kolatomer, av vilka minst 13 bildar en rak kedja och eventuellt högst 4 bildar metylensidogrupper, och vilken grupp kan innehålla högst 3 dubbelbindningar med cis- eller trans-konfiguration eller högst 3 trippelbindningar, k ä n n e t e c k n a t därav, att D-galaktos omsätts med en lägre alifatisk keton eller en aromatisk aldehyd med formeln $R-CO-R'$, vari R och R' vardera betecknar en lägre alkylgrupp eller den ena av symbolerna R och R' betecknar väte och den andra en aromatisk grupp, till en i 4- och 6-ställningarna skyddad D-galaktos med formeln (II)



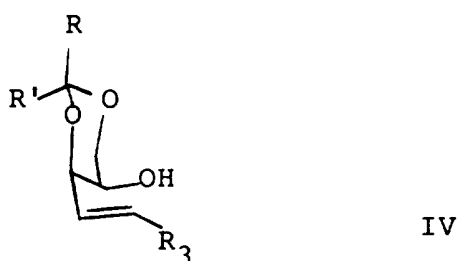
(II)

denna förening spjälkas med ett vicinala dioler spjälkan-
de oxidationsmedel till en motsvarande i 2- och 4-ställ-
ningar skyddad D-treos med formeln (III)

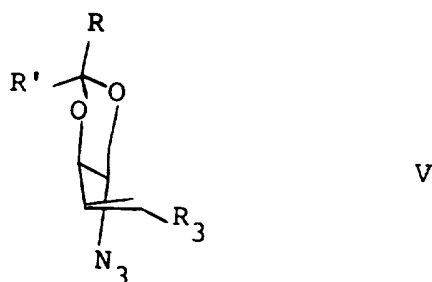


(III)

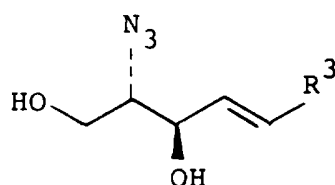
den skyddade D-treosen omsätts med $R^3\text{-CH}_2\text{-fosfonat}$ eller
 $R^3\text{-CH}_2\text{-trifenylfosfoniumhalogenid}$, i vilka R^3 betecknar sam-
ma som ovan, i närvaro av en bas eller en bas och ett salt
till en förening med formeln (IV)



den fria hydroxylgruppen i denna förening aktiveras och
överförs i en azidogrupp, den erhållna azidoföreningen med
formeln (V)



befrias från skyddsgruppen av hydroxylgrupperna i 1- och
3-ställningarna i den alifatiska kedjan, varvid man er-
håller en 2-azido-1,4-dihydroxiförening med formeln (VI)

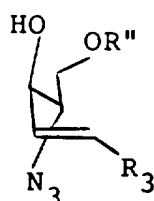


VI

5

vilken förening omsätts med ett organiskt reagens, som förmår reagera selektivt med en primär hydroxylgrupp, varvid man erhåller en förening med formeln (VIII)

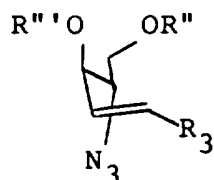
10



VIII

15 vari R'' är en hydroxylskyddsgrupp, den sekundära hydroxylgruppen i föreningen med formeln (VIII) skyddas med en skyddsgrupp R''', från den erhållna föreningen med formeln (IX)

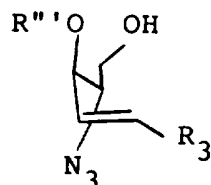
20



IX

25 spjälkas hydroxylskyddsgruppen R'', varvid man erhåller en förening med formeln (X)

30

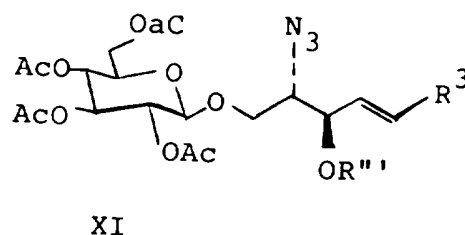
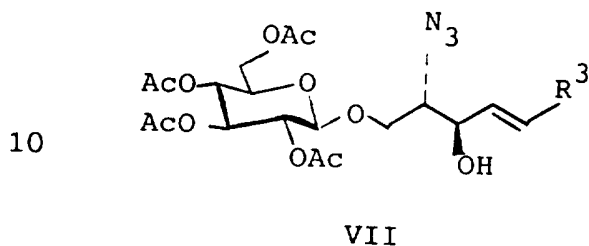


X

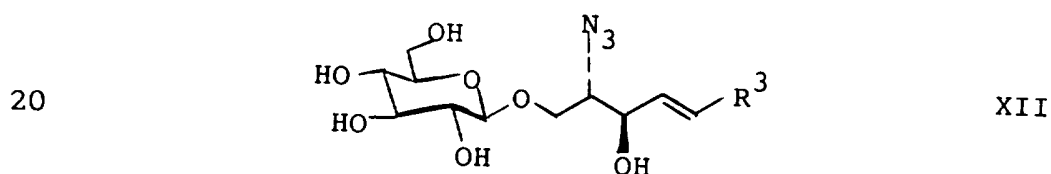
35

och antingen den förut erhållna föreningen med formeln

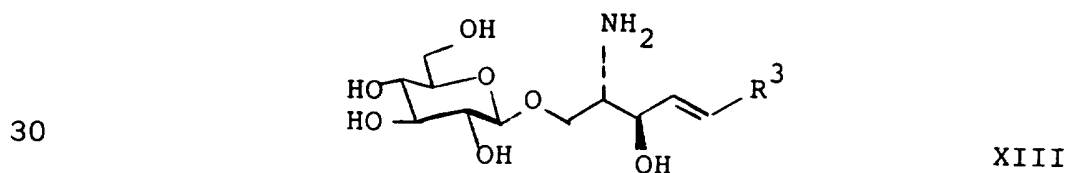
(VI) eller föreningen med formeln (X) glycosideras med O-trifluor- eller O-trikloracetimidat eller 1-halogenderivat av D-glukos, i vilka hydroxylgrupperna i 2-, 3-, 4- och 6-ställningarna är skyddade med acylgrupper Ac, varvid man erhåller en förening med formeln (VII) eller (XI)



från den erhållna föreningen spjälkas acylgrupperna Ac eller acylgrupperna Ac och skyddsgruppen R'', varvid man erhåller en förening med formeln (XII)



azidogruppen i denna förening omvandlas till en primär aminogrupp och den erhållna föreningen med formeln (XIII)



N-acyleras med en fettsyra med formeln R¹-OH.

2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att aceton, etylmetylketon eller di-
etylketon eller bensaldehyd, vars fenyling kan vara subs-

tituerad, används som ketonen eller aldehyden med formeln $R-CO-R'$.

3. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att ett alkalimetallperjodat eller
5 blytetraacetat används som oxidationsmedlet och att oxidationen av föreningen med formeln (II) utförs i pH-området 7 - 8 vid rumstemperatur.

4. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att reaktionen mellan den skyddade
10 D-treosen med formeln (III) och R^3-CH_2 -fosfonatet eller R^3-CH_2 -trifenylfosfoniumhalogeniden utförs i närvaro av fenyllitium, litiummetylat, natriumamid, natriummetylat eller natriumkarbonat i ett kolväte eller en eter, vilka inte innehåller vatten, i kväveatmosfär vid en låg temperatur och vid användning av R^3-CH_2 -fosfoniumhalogenid till-
15 sätts ett salt.

5. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att den fria hydroxylgruppen i föreningen med formeln (IV) överförs i en azidogrupp genom O-
20 trifluormetansulfonering, metansulfonering eller p-toluensulfonering och genom omsättning av det erhållna O-sulfonylderivatet med en alkalimetallazid.

6. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att spjälkningen av skyddsgruppen
25 $R-CO-R'$ från föreningen med formeln (V) eller spjälkningen av skyddsgruppen R'' från föreningen med formeln (IX) utförs medelst sur hydrolys.

7. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att en grupp med stor volym såsom en
30 trifenylmetyl-, monometoxitrifenylmetyl-, tert-butyl-, trikloracetyl-, trimetylsilyl-, tert-butyldimetylsilyl- eller tert-butyldifenylsilylgrupp används som skyddsgruppen R'' .

8. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -
35 t e c k n a t därav, att en acylgrupp av en alifatisk eller aromatisk karboxylsyra eller en tert-butoxikarbonyl-

grupp, företrädesvis acylgruppen av bensoesyra eller en substituerad bensoesyra eller pivalinsyra, används som skyddsgruppen R''.

5 9. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att glycosideringen av föreningen
med formeln (VI) eller (X) utförs med nämnda O-trifluor-
eller O-trikloracetimidat i närvaro av en Lewis-syrakata-
lysator i ett vattenfritt kolväte eller halogenkolväte
10 eller med nämnda 1-halogenderivat i närvaro av ett syra-
bindande ämne eller tungmetallsalt.

10. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att skyddsgrupperna Ac och skydds-
gruppen R'' spjälkas från föreningen med formeln (VII)
eller (XI) medelst basisk katalys.

15 11. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att överförandet av azidgruppen av
föreningen med formeln (XII) i en primär aminogrupp ut-
förs medelst behandling med svavelväte i en blandning
(1:1) av vatten och pyridin eller medelst hydrering med
20 natriumborhydrid eller ett annat reducerande medel.

25 12. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att N-acyleringen av föreningen med
formeln (XIII) utförs medelst fettsyran med formeln R¹-OH
i närvaro av ett vattenavspjälkande medel eller medelst en
aktiverad ester av fettsyran eller medelst en halogenid av
fettsyran i närvaro av en oorganisk bas eller en tertiär
organisk bas.