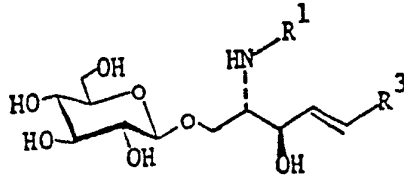


tredobbelbindinger. Fremgangsmåden består i, at D-galactose beskyttes i 4,6-stilling og oxideres til den tilsvarende, i 2,4-stilling beskyttede D-threose, til hvilken der ved Wittig-reaktion kondenseres en aliphatisk kæde (R^3), den frie OH-gruppe overføres i en azidogruppe, og beskyttelsesgruppen fraspaltes, den vundne 2-azido-1,3-dihydroxyforbindelse beskyttes selektivt i 1-stilling og blokeres i 3-stilling, 1-OH-gruppen frigøres igen, og den vundne forbindelse eller den ovennævnte 2-azido-1,3-dihydroxyforbindelse glykosideres med et O-trifluor- eller O-trichlor-acetimidat eller et 1-halogenderivat af en 2,3,4,6-O-tetraacyl-D-glucose, acylgrupperne eller disse og beskyttelsesgruppen i 3-stillingen fraspaltes, azidogruppen overføres i en aminogruppe, og aminoforbindelsen acyleres med en fedtsyre R^1 -OH.

Fremgangsmåde fører i relativt få trin til forbindelserne fra den terapeutisk mere aktive D-række uden opdeling af diastereomere og under opnåelse af gode udbytter.

Opfindelsen angår en særlig fremgangsmåde til fremstilling af sphingosinderivater med den almene formel (I):

5



(I)

10

hvor:

R^1 er en acylgruppe af en fedtsyre med 14-24 C-atomer eller de tilsvarende acylgrupper med en hydroxygruppe i α -stilling eller med én eller to dobbeltbindinger i cis-konfiguration, og

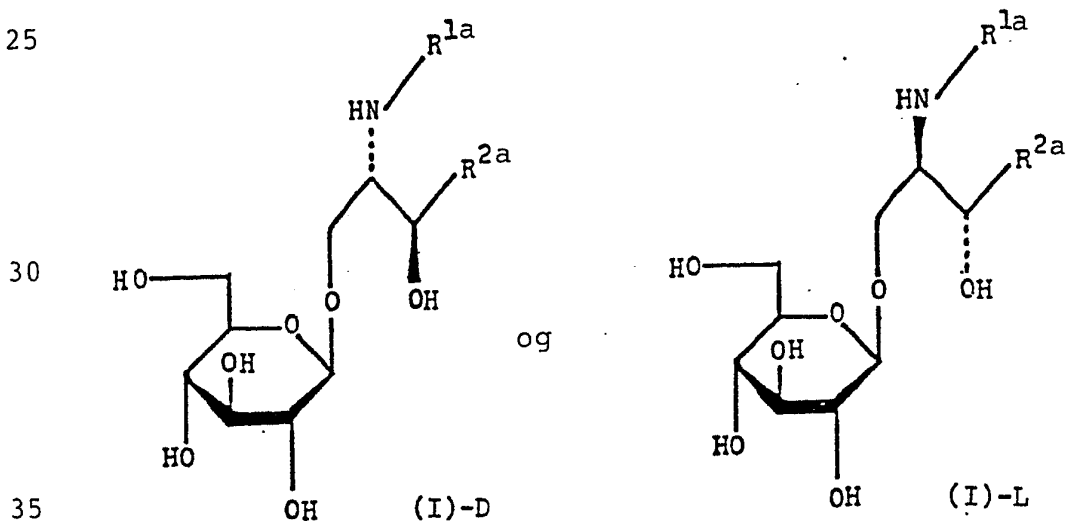
15

R^3 er en alifatisk gruppe med 13-19 C-atomer, hvoraf mindst 13 foreligger i lige kæde og eventuelt højst 4 som methyl-sidegrupper, hvilken alifatiske gruppe eventuelt indeholder op til tre dobbeltbindinger med cis- eller trans-konfiguration, eller op til tre tredobbelbindinger.

20

Den europæiske patentansøgning nr. 84114415.7 (offentliggørelsesskrift nr. 146.810) angår hidtil ukendte sphingosinderivater med formlerne:

25



30

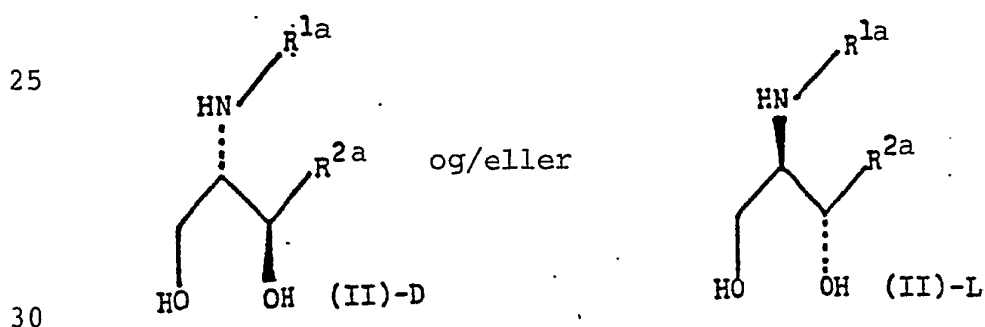
35

og fremgangsmåder til deres fremstilling.

I ovenstående formler betyder R^{1a} acylgruppen af en fedtsyre med 14-24 C-atomer eller de tilsvarende acylgrupper med en hydroxygruppe i α -stilling eller med én eller to dobbeltbindinger i cis-konfiguration, og R^{2a} er en pentadecanyl- eller heptadecanylgruppe eller de tilsvarende C_{15} - og C_{17} -grupper med én, to eller tre dobbeltbindinger, hvoraf altid én sidder i 1,2-stilling og udviser trans-konfiguration, og den anden eller de andre, om tilstede, udviser cis-konfiguration.

Disse forbindelser har erythro-konfiguration og svarer til de allerede kendte neutrale glycosphingolipider. De udmærker sig ved sårhelingsfremmende eller celle- og vævsregenererende egenskaber og egner sig til terapeutisk anvendelse ved sår af enhver genese, navnlig ved dårligt eller langsomt helende sår eller ulcerationer. I den henseende fører de, navnlig ved topisk anvendelse på sår, til dannelse af sundt, godt blodgennemstrømmet nyt væv uden generende ardannelse. Sphingosinderivaterne med formlen (I)-D foretrækkes på grund af deres større terapeutiske aktivitet.

Fremstillingen af de ovennævnte forbindelser begynder med de tilsvarende ceramider med formlerne:



hvor R^{1a} og R^{2a} er som ovenfor defineret.

Ceramiderne kan selv fremstilles ud fra C_{18} - eller C_{20} -sphingosinerne ved N-acylering med en fedtsyre med formlen R^1-OH . Alt efter om der som udgangsprodukt anvendes en optisk aktiv eller en racemisk sphingosin, vindes forbindelserne med formlen (I)-D eller (I)-L i optisk ensartet form, eller der vindes en blanding af de

diastereomere (I)-D og (I)-L. I sidstnævnte tilfælde må der på et vist fremgangsmådetrin foretages en opdeling af de diastereomere.

De racemiske sphingosiner kan som noget nyt vindes i godt udbytte ud fra glycin ved en simpel syntese ifølge R. R. Schmidt og R. Kläger [Angew. Chem. 94, 215-216 (1982), Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 21, 210-211 (1982), Angew. Chem. Suppl. 1982, 393-397]. Selvom den ovennævnte fremstillingsmetode ligeledes giver sphingosinderivaterne med formlen (I)-D eller (I)-L i tilfredsstillende udbytte, vil det være at foretrække at have en fremgangsmåde, det er fri for opdeling af diastereomere, navnlig når der tages i betragtning, at de mere aktive forbindelser tilhører D-rækken.

Endvidere kendes forskellige synteser, der som udgangsprodukt benytter en ad hoc udvalgt chiral forbindelse og således uden opdeling af diastereomere fører til de optisk aktive sphingosiner af erythro-konfiguration og af D-rækken, og følgelig til de i naturen forekommende sphingosiner.

Den noget ældre syntese ifølge E. J. Reist og P. H. Christie [J. Org. Chem. 35, 3521 og 4127 (1970)], der går ud fra D-glucose, og syntesen ifølge H. Newman [J. Am. Chem. Soc. 95, 4098 (1973)] samt ifølge P. Tkaczuk og E. R. Thornton [J. Org. Chem. 46, 4393 (1981)], begge startende med L-serin, omfatter hver især et reaktionstrin med ringe udbytte, nemlig fremstillingen af 3-amino-3-desoxy-di-(O-isopropyliden)- α -D-allofuranose eller additionsreaktionen af trans-vinylalan og et af L-serin afledt aldehyd.

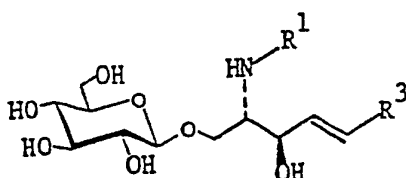
En nyere syntese ifølge B. Bernet og A. Vasella [Tetrahedron Letters 24, 5491-5494 (1983)] giver D-erythro-C₁₈-sphingosin efter 6 reaktionstrin med et totaludbytte på 33%. Den går imidlertid ud fra det ikke umiddelbart opnåelige pentadecyn, hvis fremstilling indvirker negativt på antallet af trin og på totaludbyttet.

Endelig skal nævnes syntesen af et ceramid ifølge L. Koike, Y. Nakahara og T. Ogawa (Glycoconjugate J.,

1, 107-109 (1984)], der går ud fra et D-glucosederivat, omfatter 12 reaktionstrin og giver ceramidet i et udbytte på ca. 20%. Fremgangsmåden skulle kunne anvendes til fremstilling af sphingosinerne med naturlig konfiguration.

Ved den ovenfor omtalte fremstilling af sphingosinderivaterne med formlen (I)-D er altså hidtil den i og for sig fordelagtige anvendelse af de optisk aktive D-sphingosiner som udgangsprodukter blevet påvirket ugunstigt af den arbejdsmæssigt kostbare og/eller udbyttemæssigt utilfredsstillende tilvejebringelse af nævnte sphingosiner.

Det har nu vist sig, at optisk ensartede sphingosinderivater med formlen (I):



15

20

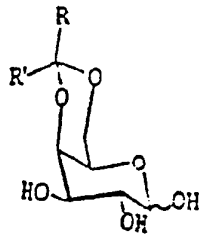
(I)

hvor R^1 og R^3 er som ovenfor defineret, kan vindes ved en hidtil ukendt fremgangsmåde, der går ud fra det i handelen værende D-galactose, omfatter ialt 9 eller 12 trin og giver de ønskede forbindelser i et tilfredsstillende totaludbytte.

I overensstemmelse hermed er fremgangsmåden ifølge opfindelsen ejendommelig ved, at D-galactose i nærværelse af et kondensationsmiddel omsættes med en lavere alifatisk keton eller et aromatisk aldehyd med formlen $R-CO-R'$, hvor R og R' hver er en lavere alkylgruppe, eller den ene af R og R' er et hydrogenatom, og den anden er en aromatisk gruppe, til en i 4- og 6-stillingerne beskyttet D-galactose med formlen (II):

30

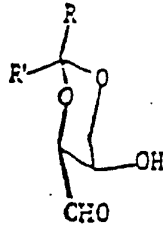
5



5

(II)

hvor R og R' er som ovenfor defineret,
 10 hvilken forbindelse ved hjælp af et alkalimetallperiodat
 eller blytetraacetat opspaltes til den tilsvarende, i 2-
 og 4-stillingerne beskyttede D-threose med formlen (III):

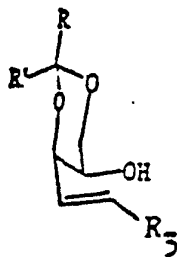


15

(III)

20

hvori R og R' er som ovenfor defineret,
 der omsættes med et $R^3\text{-CH}_2\text{-phosphonat}$ eller et $R^3\text{-CH}_2\text{-}$
 $\text{triphenylphosphoniumhalogenid}$, hvor R^3 er som ovenfor
 25 defineret, i nærværelse af en base eller en base og et
 salt i et vandfrit opløsningsmiddel, til en forbindelse
 med formlen (IV):



30

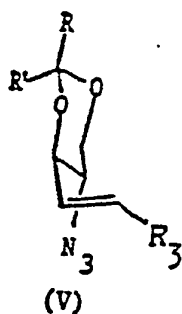
(IV)

35

6

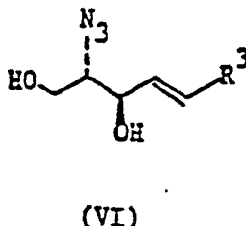
hvor R , R' og R^3 er som ovenfor defineret,
 i hvilken forbindelse den frie hydroxygruppe ved aktive-
 ring overføres i en azidogruppe i et vandfrit organisk
 opløsningsmiddel, og den vundne azidoforbindelse med
 5 formlen (V):

10



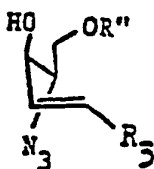
hvor R , R' og R^3 er som ovenfor defineret,
 15 befries for beskyttelsesgrupperne i 1- og 3-stillingerne
 af den alifatiske kæde under dannelse af en 2-azido-1,3-
 dihydroxyforbindelse med formlen (VI):

20



hvor R^3 er som ovenfor defineret,
 hvilken forbindelse omsættes med et organisk reagens,
 25 der blandt primære og sekundære hydroxygrupper på grund
 af en i reagenset indeholdt rumlig stor gruppe vil rea-
 gere selektivt med en primær hydroxygruppe, under dan-
 nelse af en forbindelse med formlen (VIII):

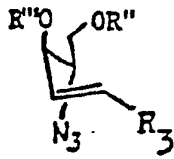
30



(VIII)

hvor R'' er en hydroxy-beskyttelsesgruppe, og R^3 er som
 35 ovenfor defineret, i hvilken forbindelse med formlen
 (VIII) den sekundære hydroxygruppe blokeres med en be-
 skyttelsesgruppe R''' , og der fra den vundne forbindel-
 se med formlen (IX):

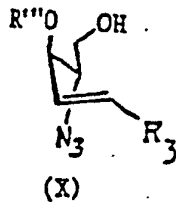
7



5

(LX)

hvor R'' og R^3 er som ovenfor defineret, og R''' er en hydroxybeskyttelsesgruppe, fraspaltes hydroxy-beskyttelsesgruppen R'' ved sur hydrolyse eller ved behandling med
 10 bortrifluoridetherat, under dannelse af en forbindelse med formelen (X):

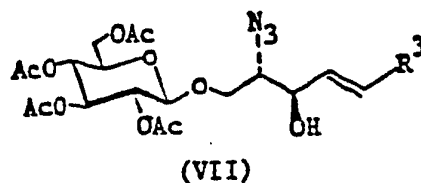


15

(X)

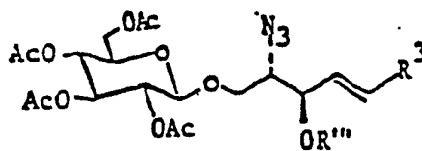
hvor R^3 og R''' er som ovenfor defineret, og enten den ovenfor vundne forbindelse med formelen (VI) eller forbindelsen emd formlen (X) ved hjælp af et O-tri-
 20 fluor- eller O-trichlor-acetimidat eller et l-halogen-derivat af en D-glucose, hvis hydroxygrupper i 2-, 3-, 4- og 6-stillingerne er beskyttet med acylgrupper Ac, glykosideres til en forbindelse med formlen (VII) eller
 (XI):

25



(VII)

30

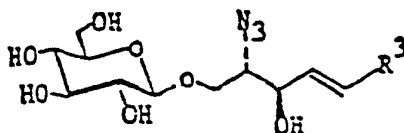


(XI)

35

8

hvor R^3 og R''' er som ovenfor defineret,
 og der fra den vundne forbindelse fraspaltes acylgrup-
 perne Ac eller acylgrupperne Ac og beskyttelsesgruppen
 R''' under dannelse af en tilsvarende forbindelse med
 5 formlen (XII):

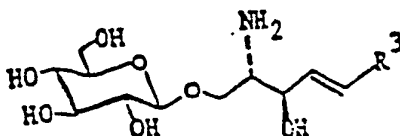


10

(XII)

hvor R^3 er som ovenfor defineret,
 i hvilken azidogruppen overføres i en primær aminogruppe,
 og den vundne forbindelse med formlen (XIII):

15

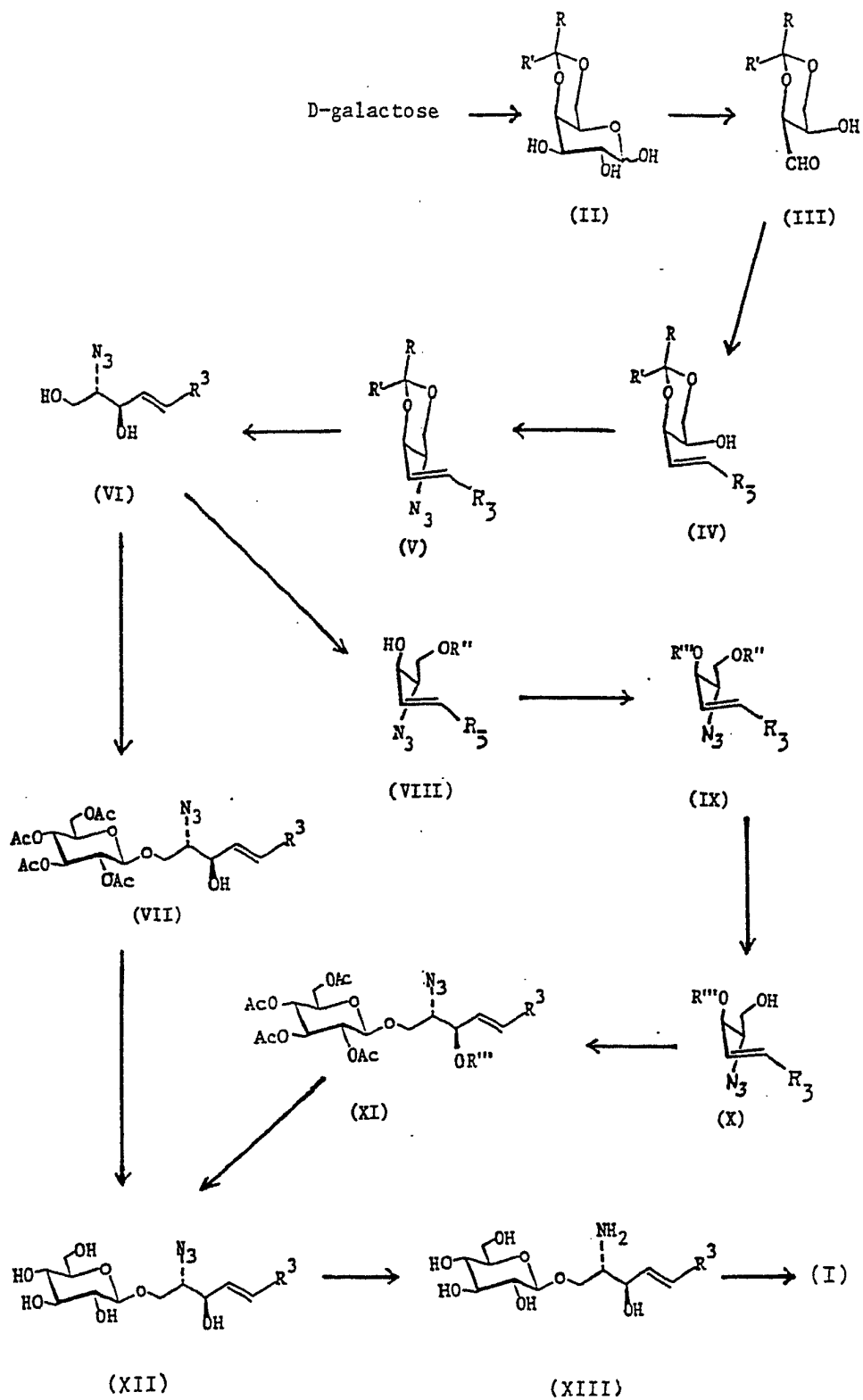


20

(XIII)

hvor R^3 er som ovenfor defineret,
 underkastes en N-acylering med en fedtsyre med formlen
 R^1OH , hvor R^1 er som ovenfor anført.

25 Fremgangsmåden ifølge opfindelsen er illustreret
 i følgende reaktionsskema:



Opfindelsen beskrives mere detaljeret i det følgende.

Den organiske carboxylsyre R^1-OH , af hvilken acylgruppen R^1 i sphingosinderivaterne med formlen (I) er
 5 afledt, er for eksempel myristinsyre $C_{14}H_{28}O_2$, palmitinsyre $C_{16}H_{32}O_2$, stearinsyre $C_{18}H_{36}O_2$, oliesyre $C_{18}H_{34}O_2$, linolsyre $C_{18}H_{32}O_2$, arachinsyre $C_{20}H_{40}O_2$, behensyre $C_{22}H_{44}O_2$ og - ved den øvre grænse af den for R^1 angivne betydning - tetracosansyre (lignocerinsyre) $C_{24}H_{48}O_2$,
 10 cis-15-tetracosensyre (nervonsyre) $C_{24}H_{46}O_2$, hydroxy-tetracosansyre (cerebronsyre) $C_{24}H_{48}O_3$, 2-hydroxy-15-tetracosensyre (hydroxynervonsyre) $C_{24}H_{46}O_3$ eller den med sidstnævnte isomere 2-hydroxy-17-tetracosensyre.

Den alifatiske gruppe R^3 kan være en uforgrenet
 15 kæde eller kan bære én, to, tre eller fire methylgrupper som substituent. Endvidere kan kæden være mættet eller umættet. I sidstnævnte tilfælde udviser den én til tre dobbeltbindinger eller én til tre tredobbelte bindinger. Dobbeltbindingerne har cis- eller trans-konfiguration.
 20 Foretrukne alifatiske grupper R^3 er sådanne med ulige antal carbonatomer, navnlig C_{13} - og C_{15} -grupper.

Ved fremgangsmådens første trin kan der til beskyttelse af hydroxygrupperne i 4- og 6-stillingen af D-galactose anvendes en lavere alifatisk keton, såsom
 25 acetone, ethylmethylketon eller diethylketon, eller et aldehyd fra den aromatiske række, såsom benzaldehyd eller et på phenylringen substitueret benzaldehyd. Der anvendes hertil fortrinsvis benzaldehyd. Som kondensationsmiddel til reaktionen egner sig i almindelighed Lewis-
 30 syrer, såsom zinkchlorid, bortrifluorid, aluminiumchlorid og jernchlorid, eller Brøndstedsyrer, såsom p-toluen-sulfonsyre. Overføringen af D-galactosen i 4,6-O-benzyliden-D-galactose kan for eksempel gennemføres ved metoden ifølge E. G. Gros og V. Deulofeu [J. Org. Chem. 29,

3647-3654 (1964)], og omsætningen af D-galactose med acetone til 4,6-O-isopropyliden-D-galactose kan foregå ved metoden ifølge J. Gelas og D. Horton [Carbohydr. Res. 71, 103-121 (1979)].

5 Det i det andet reaktionstrin anvendte oxidationsmiddel er som nævnt et alkalimetallperiodat, f.eks. lithium-, natrium- eller kaliumsaltet, eller blytetraacetat, idet der fortrinsvis anvendes natriumperiodat. Oxidationen gennemføres med fordel ved en pH-værdi på 7-8, f.eks. i
10 en tilsvarende pufferopløsning, og ved stuetemperatur.

Wittig-reaktionen ifølge det tredje reaktionstrin gennemføres i reglen i en indifferent luftartatmosfære, f.eks. under nitrogen, ved lave temperaturer, f.eks. ved
15 fra -10 til -20°C, og under anvendelse af et R³-CH₂-phosponiumhalogenid i nærværelse af et salt, f.eks. lithiumbromid, natriumchlorid eller kaliumbromid. Som base egner sig blandt andre organiske lithiumforbindelser, navnlig phenyllithium eller lithiummethylat, endvidere natriumamid, natriummethylat og natriumcarbonat.
20 Som opløsningsmiddel kan der anvendes aromatiske carbonhydrider, såsom benzen, toluen eller xylen, eller etherer, såsom diethylether, tetrahydrofuran eller dioxan. Opløsningsmidlet skal være vandfrit.

Overføringen af den frie hydroxygruppe i en azidogruppe ved aktivering kan med fordel gennemføres ved
25 O-sulfonering af forbindelsen (IV) og efterfølgende omsætning af det dannede O-sulfonylderivat, f.eks. methansulfonyl-, trifluormethansulfonyl- eller p-toluensulfonylderivatet, med et alkalimetallazid. Herved sker en in-
30 version af konfigurationen ved C₂ af D-threosen. O-Sulfoneringen kan gennemføres ved de i "Ullmanns Encyklopädie der technischen Chemie", 4. oplag, bind 11, side 91 og følgende, Verlag Chemie GmbH, Weinheim BRD (1976), beskrevne metoder. Der anvendes i reglen et syrehalogenid eller et syreanhydrid af en lavere alifatisk sul-
35 fonsyre eller en monocyclisk aromatisk sulfonsyre, for eksempel methansulfonylchlorid, p-toluensulfonylchlorid,

- methansulfonsyreanhydrid eller trifluormethansulfonsyreanhydrid. O-Sulfoneringen gennemføres fortrinsvis i nærværelse af en base. Da vandfrie reaktionsbetingelser skal foreligge, og der skal anvendes et organisk opløsnings-
- 5 middel, såsom benzen, toluen, tetrahydrofuran, diethylether eller dichlormethan, egner sig som base navnlig tertiære organiske baser, såsom triethylamin, dimethylanilin, pyridin, collidin, lutidin og lignende. Den efterfølgende omsætning med alkalimetazid, f.eks.
- 10 lithium-, natrium- eller kaliumazid, gennemføres med fordel uden rensning af O-sulfonylderivatet. Begge reaktioner gennemføres fortrinsvis i en atmosfære af indifferert luftart, f.eks. under nitrogen, og ved lave temperaturer eller stuetemperatur.
- 15 I det femte fremgangsmådetrin kan fraspaltningen af beskyttelsesgruppen fra forbindelsen (V) foregå ved sur hydrolyse. For eksempel opløses forbindelsen i et organisk opløsningsmiddel, såsom dichlormethan eller dimethylformamid, og derefter får en lille mængde koncentreret saltsyre og vand lov at indvirke i nogen tid, for-
- 20 trinsvis ved stuetemperatur.

Nu kan forbindelsen (VI) direkte underkastes glykosideringen under dannelse af en forbindelse (VII) eller over mellemprodukterne (VIII), (IX) og (X) omdannes til en

25 forbindelse (XI). Denne anden fremgangsmådevariant omfatter ganske vist tre reaktionstrin mere, men den giver et højere totaludbytte og egner sig derfor særligt godt til en produktion i industriel målestok. Den er beskrevet nærmere i det følgende.

- 30 Beskyttelsen af den primære hydroxygruppe i 2-azido-1,3-dihydroxyforbindelsen (VI) skal foretages med reagenser, der i nærværelse af en primær og en sekundær hydroxygruppe reagerer selektivt med førstnævnte. Som beskyttelsesgruppe R" egner sig navnlig sådanne, der er
- 35 rumligt store, såsom t.butyl-, triphenylmethyl-(trityl-), trichloracetyl-, trimethylsilyl-, t.butyl-dimethylsilyl- eller t.butyl-diphenylsilylgruppen. Der foretrækkes triphenylmethyl-, monomethoxytriphenylmethyl-, t.butyl-dime-

thylsilyl- og t.butyldiphenylsilyl-gruppen.

Indføringen af beskyttelsesgruppen R" foregår ved kendte metoder fra den organiske kemi, svarende til arten af den valgte beskyttelsesgruppe. Eksempelvis kan
 5 triphenylmethylgruppen indføres ved behandling af forbindelsen (VI) med et tilsvarende halogenid, såsom triphenylchlormethan eller triphenylbrommethan. Også til t.butyldimethylsilyl- og t.butyldiphenylsilylgruppen kan
 10 der med fordel anvendes det tilsvarende halogenid, fortrinsvis chloridet eller bromidet.

Herpå bliver den i 1-stillingen beskyttede forbindelse med formlen (VIII) beskyttet ved hydroxygruppen i 3-stilling ved hjælp af en beskyttelsesgruppe R"', f.eks. ved forestring med en organisk carboxylsyre Ac'OH eller
 15 et reaktionsdygtigt funktionelt derivat deraf. Hertil egner sig navnlig simple, alifatiske carboxylsyrer og aromatiske, navnlig monocycliske aromatiske carboxylsyrer. Det foretrakkes at anvende benzoesyre, en substitueret benzoesyre eller pivalinsyre. En yderligere egnet
 20 beskyttende gruppe R'' er en tert.butoxycarbonylgruppe.

Forestringen med carboxylsyren Ac'OH kan gennemføres ved de i "Ullmanns Encyklopädie der technischen Chemie", 4. oplag, bind 11, side 91 og fremefter, Verlag Chemie GmbH, Weinheim BRD (1976), beskrevne metoder.
 25 Den foregår med fordel under anvendelse af et carboxylsyrehalogenid i nærværelse af en tertiær organisk base, såsom triethylamin, pyridin eller dimethylanilin, i et vandfrit, organisk opløsningsmiddel, såsom benzen, toluen, tetrahydrofuran, diethylether eller dichlormethan.

Beskyttelsesgruppen R" for hydroxygruppen i 1-stilling i forbindelsen med formlen (IX) kan fraspaltes ved sur hydrolyse (triphenylmethyl-beskyttelsesgrupper, silylbeskyttelsesgrupper) eller ved behandling med bortrifluorid-etherat (triphenylmethyl-grupper). Der vindes
 30 forbindelsen med formlen (X), hvori hydroxygruppen i 3-stillingen stadig er blokeret med beskyttelsesgruppen R"', mens den primære hydroxygruppe i 1-stillingen igen er fri.

Omsætningen af forbindelsen (X) eller omsætning-
en af forbindelsen (VI) med O-trichlor- eller O-trifluor-
acetimidatet af en D-glucose, hvis hydroxygrupper foru-
den den i 1-stillingen er beskyttet med acylgrupper Ac,
5 katalyseres med fordel med en Lewis-syre, såsom bortri-
fluorid-etherat eller trifluormethansulfonsyretrimethyl-
silylester. Den gennemføres i almindelighed i et vand-
frit organisk opløsningsmiddel, såsom et carbonhydrid
(hexan) eller et haløgenet carbonhydrid (dichlormethan).
10 Som acylgrupper til beskyttelse af hydroxygrupperne i
2-, 3-, 4- og 6-stillingerne af D-glucosen anvendes for-
trinsvis lavere alifatiske acylgrupper, såsom acetyl-,
propionyl-, pivaloyl-, trifluoracetyl- eller methansul-
fonylgruppen. Enkeltheder vedrørende fremstillingen af
15 reagenset kan findes i en afhandling af R.R. Schmidt og
M. Stumpp (Liebigs Ann. Chem. 1983, 1249-1256) og R. R.
Schmidt, J. Michel og M. Roos (Liebigs Ann. Chem. 1984,
1343-1357).

Den tilsvarende omsætning med 1-halogenderivatet
20 af den O-tetraacylerede D-glucose, for eksempel med O-
acetyl- α -D-glucopyranosylchlorid eller -bromid (sidst-
nævnte også betegnet α -D-O-acetobromglucose), gennem-
føres i reglen i nærværelse af en tungmetalforbindelse,
såsom sølvoxid, et tungmetalsalt, såsom sølvcarbonat
25 eller kviksølvcyanid, eller en organisk base, der fun-
gerer som syrebindende middel (Ullmanns Encyklopädie
der technischen Chemie, 4. oplag, bind 24, side 757, Ver-
lag Chemie GmbH, Weinheim BRD 1983).

Fraspaltningen af acylgrupperne Ac og beskyttel-
30 sesgruppen R''' fra forbindelsen (VII) eller (XI) kataly-
seres i almindelighed med baser. Særligt velegnet her-
til er anvendelsen af natriummethanolat i vandfri me-
thanol ved stuetemperatur.

I næstsidste fremgangsmådetrin gennemføres over-
35 føringen af azidgruppen i den primære aminogruppe bedst
ved behandling af forbindelsen (XII) med hydrogensulfid

ved stuetemperatur. Hertil bliver forbindelsen for eksempel opløst i en blanding (1:1) af vand og pyridin. Samme overføring kan også foregå ved hydrogenering med natriumborhydrid eller et andet reduktionsmiddel, såsom

5 natriumcyanoborhydrid.

N-Acyleringen af forbindelsen (XIII) med den organiske carboxylsyre med formlen R^1-OH (sidste fremgangsmådetrin) kan gennemføres ved metoden ifølge D. Shapiro og medarbejdere [J. Am. Chem. Soc. 86, 4472 (1964)].

10 I almindelighed benyttes carboxylsyren selv i nærværelse af et vandfraspaltende middel, såsom dicyclohexylcarbodiimid i dichlormethan, eller et funktionelt reaktionsdygtigt derivat af carboxylsyren, såsom en aktiveret ester eller et halogenid i nærværelse af en uorganisk

15 base, såsom natriumacetat, eller en tertiær organisk base. N-Acyleringen gennemføres med fordel ved stuetemperatur.

Isoleringen og rensningen af de ved hvert fremgangsmådetrin fremkomne forbindelser foregår ved sædvanlige metoder fra den organiske kemi.

20

Opfindelsen beskrives nærmere gennem følgende eksempler.

1H -NMR-Spektre er målt med 250 MHz-udstyret WM 250 Cryospec fra firma Bruker, Spectrospin, Industrie-

25 strasse 26, CH-8117 Fällanden/Zürich. Forskydningerne er henført til tetramethylsilan (TMS) som intern standard og angivet i ppm.

De angivne smeltepunkter er bestemt på kobberblok og er ikke korrigerede.

30 Til den analytiske tyndtlagschromatografi (DC) er anvendt silicagelplader fra firma E. Merck AG, Darmstadt (BRD). Tyndtlagschromatogrammerne blev, såfremt stofferne ikke var UV-aktive, besprøjtet med 15% svovlsyre og udviklet ved $120^{\circ}C$.

35 Præparative søjlechromatografier er gennemført med Kieselgel 60 (0,062-0,200 mm) fra firma Merck. Til

middeltrykchromatografi anvendtes færdigsøjler ifølge D. Flockerzi, Diplomarbeit, Universität Stuttgart/BRD (1978), med silicagel "LiChroprep Si 60, 15-25".

Udbytterne er angivet på det rensningstrin, på 5 hvilket der ikke NMR-spektroskopisk og ved tyndtlagschromatografi kunne påvises nogen forureninger.

Ved opløsningsmiddelblandinger betyder angivelserne i parentes volumendele.

10

Eksempel 1

(2S,3R) 2-Hexadecanoylamino-3-hydroxy-1-(β -D-glucopyranosyloxy)-4-trans-eicosen.

a) 4,6-O-Benzyliden-D-galactose.

Til en blanding af 30 ml benzaldehyd og 13 g D- 15 galactose føjedes 10 g smeltet zinkchlorid og suspensionen blev holdt under kraftig omrystning, til den efter ca. 3 timers forløb størknede. Der tilføjedes yderligere 30 ml benzaldehyd og omrystningen fortsattes i 21 timer til opnåelse af en sirup indeholdende en ringe mængde u- 20 opløst zinkchlorid. Der tilsattes 30 ml vand, hvorefter blandingen ved henstand ved 5°C langsomt adskiltes i to faser. Den nedre vandige fase blev sat til side, og den øvre fase blev to gange vasket med 30 ml vand og gemt med henblik på fremstilling af 1,2:3,4-di-O-benzyliden-D-galactose. De samlede vandfaser blev alkaliseret med en 10% opløsning af natriumcarbonat, det udfældede voluminøse bundfald af zinkcarbonat blev frafiltreret, og filtratet blev ekstraheret med petroleumsether (kp. 40-60°C) og inddampet til tørhed under vakuum.

Den opnåede faste remanens blev ekstraheret tre gange med 250 ml kogende ethylacetat, de samlede ekstrakter herfra blev indkoncentreret til ca. 200 ml og gav ved afkøling til 5°C 8,3 g nåle, smp. 186-189°C. Efter en yderligere indkoncentrering kunne et andet udbytte på 1,5 g opnås, smp. 186-188°C. Omkrystallisering adskillige gange fra ethanol gav 5,2 g rent produkt med smp. 190-191°C; $[\alpha]_D^{18} = +118,5$ (c 1,0, methanol).

Analyse: for $C_{13}H_{18}O_6$

	C, %	H, %
	beregnet	58,20
5	fundet	58,42
		6,01
		5,98

b) 2,4-O-Benzyliden-D-threose (1).

30 g (0,111 mol) 4,6-O-Benzyliden-D-galactose blev opløst i ca. 1200 ml fosfatpuffer på pH 7,6. 55 g
 10 (0,257 mol) Natriumperiodat blev tilsat under kraftig omrøring. pH-Værdien blev ved tildrypning af 2N natriumhydroxid holdt på ca. 7-8. Der blev henstillet 1,5 time med omrøring ved stuetemperatur. Derefter blev der ind-
 15 dampet til tørhed i vandstrålevakuum. Den faste inddampningsrest blev ekstraheret fire gange med hver gang 250 ml ethylacetat. Ekstrakten blev filtreret, tørret over magnesiumsulfat og inddampet. Udbytte: 20 g (85%),
 $R_F = 0,64$ i toluen/ethanol (3:1).

c) (2R,3R)1,3-O-Benzyliden-2-hydroxy-4-trans-eicosen (2).

20 70 g (0,12 mol) Hexadecyltriphenylphosphoniumbromid blev under nitrogen suspenderet i ca. 1 liter vandfrit nitrogenmættet toluen. Phenyllithium, der var fremstillet ud fra 6,5 g (0,94 mol) lithium og 74 g (0,47
 25 mol) brombenzen i ca. 200 ml vandfri ether, blev uden yderligere rensning tildryppet. Samtidigt blev blandingen afkølet til $-15^{\circ}C$. Derefter blev 20 g (0,096 mol) forbindelse (1) i ca. 150 ml vandfrit tetrahydrofuran tildryppet i løbet af 20 minutter under nitrogen. Efter yderligere 20 minutter blev der først tilsat 150 ml methanol
 30 og derefter 250 ml vand. Der blev omrørt kraftigt. Den

organiske fase blev inddampet efter fraskillelse af den vandige fase. Til rensning blev der chromatograferet over silicagel med petroleumether/ethylacetat (9:1). Udbytte: 27 g (68%), $R_F=0,21$ i petroleumether/ethylacetat (9:1).

d) (2S,3R)2-Azido-1,3-O-benzyliden-4-trans-eicosen (3).

10 10 g (0,025 mol) Forbindelse (2) blev opløst i ca. 70 ml vandfrit dichlormethan, der indeholdt 5 ml vandfrit pyridin. Der blev under nitrogen afkølet til -15°C . Der blev langsomt tildryppet 8,12 g (0,029 mol) trifluormethansulfonsyreanhydrid. Efter 15 minutter blev der filtreret over silicagel og elueret med dichlormethan/petroleumether (1:1). Forlaget blev til stadighed skyllet med nitrogen. Der blev inddampet, og den som
15 inddampningsrest vundne olie blev optaget i 50 ml vandfrit dimethylformamid. Under nitrogen blev der tilsat 7,5 g (0,1 mol) natriumazid. Der blev henstillet 2 timer ved stuetemperatur med omrøring. Derefter blev der fortyndet med ca. 350 ml dichlormethan, filtreret og inddampet i vandstrålevakuum. Til rensning blev der chromatograferet over silicagel med petroleumether/ethylacetat (9:1). Udbytte: 8 g (75%), $R_F=0,8$ i petroleumether/ethylacetat (9:1).

e) (2S,3R)2-Azido-1,3-dihydroxy-4-trans-eicosen (4).

25 8 g (0,018 mol) Forbindelse (3) blev opløst i 100 ml dichlormethan. Der blev tilsat 5 ml koncentreret saltsyre og 3 ml vand og henstillet ved stuetemperatur 12 timer med kraftig omrøring. Derefter blev der udrystet med vandig natriumbicarbonatopløsning. Den organiske fase blev fraskilt, tørret over natriumsulfat og inddampet. Til rensning blev der chromatograferet over silicagel med dichlormethan/methanol (95:5). Udbytte: 4,32 g (68%), $R_F=0,46$ i dichlormethan/methanol (95:5), smp. 56-57 $^{\circ}\text{C}$.

Elementaranalyse:

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

Fundet : C: 67,62, H: 11,12, N: 11,85

5 $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3 i ppm) Forbindelse (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 Hz, $J = 6,5$ Hz); 4,25 (m, 1H, $-\text{CH}-\text{N}_3$); 3,8 (m,
 2H, $-\text{CH}_2-\text{OH}$, $\text{CH}-\text{OH}$); 3,52 (m, 1H, $-\text{CH}_2-\text{OH}$); 2,05 (m,
 4H, OH, $\text{C}=\text{CH}-\text{CH}_2$); 1,45-1,18 (m, 26H, alifat.); 0,88
 10 (t, 3H, CH_3).

f) (2S,3R)2-Azido-3-hydroxy-1-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -
 D-glucopyranosyloxy)-4-trans-eicosen (6).

0,5 g (1,41 mmol) Forbindelse (4) blev opløst i
 15 50 ml vandfrit hexan. Der blev tilsat 0,1 ml 0,5M bortri-
 fluorid-etherat i dichlormethan og en spatelstids mo-
 lekylsigte 4 Å. 0,7 g (1,41 mmol) O-(2,3,4,6-Tetra-O-
 acetyl- α -D-glucopyranosyl)-trichloracetimidat blev op-
 løst i 3 ml vandfrit toluen og langsomt tildryppet.
 20 Efter 4 timer blev der vasket med 30 ml mættet natrium-
 bicarbonatopløsning. Den vandige fase blev udrystet tre
 gange med hver gang 30 ml dichlormethan. De organiske
 faser blev tørret over natriumsulfat og inddampet. Til
 rensning blev der chromatograferet over silica gel med
 25 dichlormethan/methanol (97,5:2,5). Udbytte: 0,385 g
 (40%), $R_F=0,7$ i dichlormethan/methanol (95:5).

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3 i ppm) Forbindelse (6): 5,78
 (m, 1H, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{C}$); 5,5 (dd, 1H, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$, $J =$
 30 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,
 $-\text{CH}_2-\text{O}$); 3,47 (m, 1H, $>\text{CH}-\text{OH}$); 2,24 (d, 1H, OH, $J =$
 4,8 Hz); 2,16-1,94 (m, 14H, acetyl, $\text{C}=\text{CH}-\text{CH}_2$); 1,45-
 35 1,15 (m, 26H, alifat.); 0,88 (t, 3H, $-\text{CH}_3$).

g) (2S,3R)2-Azido-3-hydroxy-1-(β -D-glucopyranosyloxy)-4-trans-eicosen (7).

0,4 g (0,585 mmol) Forbindelse (6) blev opløst i 30 ml vandfrit methanol. Der blev tilsat 0,2 ml af en 1M opløsning af natriummethylat i methanol. Der blev henstillet en time ved stuetemperatur med omrøring. Derefter blev der neutraliseret med ionbytteren Amberlite[®] IR 120 (H⁺-form). Ionbytteren blev frafiltreret, der blev indampet og chromatograferet over silicagel med chloroform/methanol (9:1). Udbytte: 0,26 g (86%), $R_F=0,22$ i chloroform/methanol (9:1).

¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆ i ppm) Forbindelse (7): 4,10 (d, 1H, H-1, J = 7,6 Hz).

h) (2S,3R)2-Amino-3-hydroxy-1-(β -D-glucopyranosyloxy)-4-trans-eicosen (8).

0,26 g (0,5 mmol) Forbindelse (7) blev opløst i en blanding af 4 ml pyridin og 4 ml vand. Opløsningen blev mættet med hydrogensulfid. Der blev henstillet 24 timer ved stuetemperatur med omrøring. Der blev indampet til tørhed og chromatograferet over silicagel først med chloroform/methanol (6:4) og derefter med chloroform/methanol/vand (5:4:1). Udbytte: 0,234 g (96%), $R_F=0,65$ i chloroform/methanol/vand (5:4:1).

¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆ i ppm) Forbindelse (8): 4,10 (d, 1H, H-1, J = 7,6 Hz).

i) (2S,3R)2-Hexadecanoylamino-3-hydroxy-1-(β -D-glucopyranosyloxy)-4-trans-eicosen (9).

0,23 g (0,47 mmol) Forbindelse (8) blev opløst i 5 ml tetrahydrofuran. Der blev tilsat 5 ml af en 50%'s vandig natriumacetatopløsning. Til blandingen blev der ved stuetemperatur under kraftig omrøring sat 0,19 g (0,7 mmol) hexadecanoylchlorid. Efter ca. 2 timer blev den organiske fase fraskilt. Den vandige fase blev udrystet tre gange med hver gang 2 ml chloroform. De organiske faser blev tørret over natriumsulfat og indampet. Til rensning blev der chromatograferet over silica-

gel med chloroform/methanol (9:1). Udbytte: 0,3 g (90%),
 $R_F=0,50$ i chloroform/methanol (9:1).

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO-d_6 i ppm) Forbindelse (9): 7,5
 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 (t, 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,
 10 4H); 1,45 (m, 2H); 1,22 (m, 54H, alifat.); 0,85
 (m, 6H, CH_3).

Appendiks

15 Til bekræftelse af den struktur, der er tilskre-
 vet forbindelsen med formlen (VI), blev forbindelsen (4)
 underkastet samme behandling med hydrogensulfid (se ne-
 denfor), som beskrevet i afsnit (h) i det foregående
 eksempel. Herved vandtes forbindelsen (5), hvis fysisk-
 kemiske egenskaber stemte fuldstændig overens med egen-
 20 skaberne af det ud fra naturlige kilder fremstillede
 erythro-D- C_{18} -sphingosin.

(2S,3R)2-Amino-1,3-dihydroxy-4-trans-eicosen (5).

0,25 g (0,7 mmol) Forbindelse (4) blev opløst i
 en blanding af 5 ml pyridin og 2 ml vand. Opløsningen
 25 blev mættet med hydrogensulfid. Der blev henstillet 48
 timer ved stuetemperatur med omrøring. Der blev inddam-
 pet til tørhed. Inddampningsresten blev chromatograferet
 over silicagel først med chloroform, derefter med chlo-
 roform/methanol (9:1) og til sidst med chloroform/metha-
 30 nol/vand (8:2:0,25). Udbytte: 0,215 g (95%), $R_F=0,2$ i
 chloroform/methanol(1:1), smp. $70-72^\circ\text{C}$.

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3 i ppm) Forbindelse (5): 5,78 (m,
 1H, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{C}$); 5,47 (dd, 1H, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$, $J = 15,5$ Hz,
 35 $J = 7,3$ Hz); 4,12 (dd, 1H, $\text{C}=\text{CH}-\text{CH}-\text{OH}$, $J = 6,1$ 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, $\text{C}=\text{CH}-\text{CH}_2$); 1,45-1,18 (m, 26 H,
 alifat.); 0,88 (t, 3H, $-\text{CH}_3$).

Eksempel 2

(2S,3R)2-Hexadecanoylamino-3-hydroxy-1-(β -D-glucopyranosyloxy)-4-trans-octadecen.

j) (2R,3R)1,3-O-Benzyliden-2-hydroxy-4-trans-octadecen
5 (10).

70 g (0,13 mol) Tetradecyltriphenylphosphoniumbromid blev under nitrogen suspenderet i ca. 1 liter vandfrit nitrogenmættet toluen. Phenyllithium, der var fremstillet ud fra 6,5 g (0,94 mol) lithium og 74 g (0,47
10 mol) brombenzen i ca. 200 ml vandfri ether, blev tildryppet uden yderligere rensning. Samtidigt blev blandingen afkølet til -15°C . Derefter blev der i løbet af 20 minutter under nitrogen tildryppet 21,6 g (0,104 mol) 2,4-O-benzyliden-D-threose [se Eksempel 1, forbindelse
15 (1)] i ca. 150 ml vandfrit tetrahydrofuran. Efter yderligere 20 minutter blev der først tilsat 150 ml methanol og derefter 250 ml vand. Der blev omrørt kraftigt. Den organiske fase blev indampet efter fraskillelse af den vandige fase. Til rensning blev der chromatograferet
20 ret over silicagel med petroleumether/ethylacetat (9:1). Udbytte: 27 g (68%), $R_F=0,21$ i petroleumether/ethylacetat (9:1), smp. $54-55^{\circ}\text{C}$.

k) (2S,3R)2-Azido-1,3-O-benzyliden-4-trans-octadecen (11).

10 g (0,025 mol) Forbindelse (10) blev opløst i
25 ca. 70 ml vandfrit dichlormethan, der indeholdt 5 ml vandfrit pyridin. Der blev under nitrogen afkølet til -15°C . Der blev langsomt tildryppet 8,7 g (0,31 mol) trifluormethansulfonsyreanhydrid. Efter 15 minutter blev der filtreret over silicagel og elueret med dichlormethan/
30 petroleumether (1:1). Forlaget blev til stadighed skyllet med nitrogen. Der blev indampet, og den som indampningsrest vundne olie blev optaget i 50 ml vandfrit dimethylformamid. Under nitrogen blev der tilsat 7,5 g (0,1 mol) natriumazid. Der blev henstillet 2 timer ved
35 stuetemperatur. Derefter blev der fortyndet med ca. 350 ml dichlormethan, filtreret og indampet i vandstrålevakuum. Til rensning blev der chromatograferet over sili-

cagel med petroleumether/ethylacetat (9:1). Udbytte:
7,8 g (75%), $R_F=0,8$ i petroleumether/ethylacetat (9:1).
1) (2S,3R)2-Azido-1,3-dihydroxy-4-trans-octadecen (12).

7 g (0,017 mol) Forbindelse (11) blev opløst i
5 100 ml dichlormethan. Der blev tilsat 5 ml koncentreret
saltsyre og 3 ml vand og henstillet ved stuetemperatur
i 12 timer med kraftig omrøring. Derefter blev der ud-
rystet med vandig natriumbicarbonatopløsning. Den orga-
nisme fase blev fraskilt, tørret over natriumsulfat og
10 inddampet. Til rensning blev der chromatograferet over
silicagel med dichlormethan/methanol (95:5). Udbytte:
3,76 g (68%), $R_F=0,46$ i dichlormethan/methanol (95:5).

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3 i ppm): Forbindelse (12): 5,83
15 (m, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH=C}$): 5,55 (dd, 1H, $\text{-CH}_2\text{-CH=CH-}$, $J = 15,5$
Hz, $J = 6,5$ Hz); 4,25 (m, 1H, -CH-N_3); 3,8 (m, 2H,
 $\text{-CH}_2\text{-OH}$, $>\text{CH-OH}$); 3,52 (m, 1H, $\text{-CH}_2\text{-OH}$); 2,05 (m, 4H,
OH, C=CH-CH_2); 1,45-1,18 (m, 22H, alifat.); 0,88 (t,
3H, CH_3).

20 m) (2S,3R)2-Azido-3-hydroxy-1-0-triphenylmethyl-4-trans-
octadecen (13).

4 g (12,3 mmol) Forbindelse (12) blev opløst i
45 ml af en blanding af pyridin/chloroform/tetrahydro-
25 furan (alle vandfrie) (1:1:1). 6 g (21,5 mmol) Trityl-
chlorid blev tilsat. Blandingen blev omrørt 48 timer ved
stuetemperatur. Derefter blev der inddampet i vandstråle-
vakuum. Inddampningsresten blev optaget i 200 ml die-
thylether og udrystet med 100 ml vand. Den organiske
30 fase blev tørret over magnesiumsulfat og inddampet. Til
rensning blev der chromatograferet over silicagel med
petroleumether/ethylacetat (9:1). Udbytte: 6,3 g (90%),
 $R_F=0,39$ i petroleumether/ethylacetat (9:1).

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3 i ppm) Forbindelse (13):
 7,55-7,15 (m; 15 H, aromat.); 5,75-5,58 (m; 1H, $\text{CH}_2\text{-CH=C}$);
 5,38-5,26 (dd, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH=CH-}$, $J = 15,5$ Hz, $J = 7,3$ Hz);
 4,20 (m, 1H, $-\text{CH-N}_3$); 3,53 (m, 1H, $-\text{CH-OH}$); 3,30 (d, 2H,
 5 $0\text{-CH}_2\text{-}$, $J = 5,4$ Hz); 2,03-1,188 (m, 3H, $-\text{OH}$, CH=CH-CH_2);
 1,40-1,10 (m, 22H, alifat.); 0,88 (t, 3H, CH_3).

n) (2S,3R)2-Azido-3-benzoyloxy-1- β -D-triphenylmethyl-4-trans-octadecen (14).

10 6,3 g (11,1 mmol) Forbindelse (13) blev opløst i 30 ml af en blanding af toluen/pyridin (begge vandfrie) (4:1). 3 g (21,3 mmol) Benzoylchlorid blev tilsat. Der blev henstillet 12 timer ved stuetemperatur med omrøring. Derefter blev der hældt på ca. 200 ml vand og ekstraheret to gange med hver gang 100 ml diethylether.
 15 Den organiske fase blev tørret over magnesiumsulfat og inddampet. Til rensning blev der chromatograferet over silicagel med petroleumether/ethylacetat (95:5). Udbytte: 6,7 g (90%), $R_F=0,60$ i petroleumether/ethylacetat (9:1).
 20

o) (2S,3R)2-Azido-3-benzoyloxy-1-hydroxy-4-trans-octadecen (15).

25 6,7 g (9,97 mmol) Forbindelse (14) blev opløst i en blanding af 30 ml vandfrit toluen og 5 ml vandfri methanol. Der blev tilsat 10 ml 3M bortrifluorid-etherat i dichlormethan. Efter 5 timer blev der hældt på 50 ml vand, og den organiske fase blev fraskilt. Efter tørring over magnesiumsulfat blev der inddampet og chromatograferet først med petroleumether/ethylacetat (9:1), derefter med petroleumether/ethylacetat (8:2). Udbytte: 3,8 g (90%), $R_F=0,13$ i petroleumether/ethylacetat (9:1).
 30

Elementæranalyse for $\text{C}_{25}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_3$ (molvægt 429,56):

Beregnet: C: 69,90, H: 9,14, N: 9,78

35 Fundet : C: 69,92, H: 9,16, N: 9,65

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃ i ppm) Forbindelse(15): 8,14 (m, 2H, aromat.); 7,58 (m, 1H, aromat.); 7,47 (m, 2H, aromat.); 6,05-5,87 (m, 1H, CH₂-CH=C); 5,69-5,53 (m, 2H, CH₂-CH=CH-, CH-OBz); 2,15-1,95 (m, 3H, -OH, C=CH-CH₂); 1,47-1,13 (m, 22H, alifat.); 0,86 (t, 3H, CH₃).

p) (2S,3R)2-Azido-3-benzoyloxy-1-(2,3,4,6-tetra-0-pivaloyl-β-D-glucopyranosyloxy)-4-trans-octadecen (16).

2 g (4,6 mmol) Forbindelse (15) og 4,6 g (7,0 mmol) 2,3,4,6-tetra-0-pivaloyl-α-D-glucopyranosyltrichloracetimidat blev opløst i 40 ml vandfrit dichlormethan og omrørt 30 minutter med molekylsigte 4 Å. Derefter blev der tilsat 0,2 ml 0,1M bortrifluorid-etherat i dichlormethan. Under reaktionens forløb blev der yderligere tilsat 2 ml 0,1M bortrifluorid-etherat i portioner på hver gang 0,5 ml. Efter 48 timer blev der fortyndet med 200 ml petroleumether og frafiltreret. Filtratet blev udrystet med 50 ml vandfri natriumbicarbonatopløsning, den organiske fase blev tørret over natriumsulfat og inddampet. Til rensning blev der chromatograferet over silicagel med toluen/acetone (97,5:2,5). Udbytte: 4 g (94%), R_F=0,57 i toluen/acetone (97,5:2,5).

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃ i ppm) Forbindelse (16): 8,05 (m, 2H, aromat.); 7,58 (m, 1H, aromat.); 7,45 (m, 2H, aromat.); 5,99-5,83 (m, 1H, CH₂-CH=C); 5,65-5,46 (m, 2H, CH₂-CH=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-N₃, CH₂-O); 2,06 (m, 2H, CH=CH-CH₂); 1,45-1,04 (m, 58H, pivaloyl, alifat.); 0,89 (t, 3H, CH₃).

q) (2S,3R)2-Azido-3-hydroxy-1-(β-D-glucopyranosyloxy)-4-trans-octadecen (17).

4 g (4,3 mmol) Forbindelse (16) blev opløst i 50 ml vandfrit dichlormethan. Der blev tilsat 8 ml af en 0,05M natriummethylatopløsning i vandfri methanol. Der blev henstillet tre dage ved stuetemperatur med omrøring.

Derefter blev der neutraliseret med ionbytteren Amberlite[®] JR 120 (H⁺-form). Ionbytteren blev frafiltreret, og der blev inddampet og chromatograferet over silicagel med chloroform/methanol (8,5:1,5). Udbytte: 1,65 g (78%),

5 $R_F=0,20$ i chloroform-methanol (9:1).

¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆ i ppm) Forbindelse (17):
4,10 (d, 1H, H-1, J = 7,6 Hz).

r) (2S,3R)2-Amino-3-hydroxy-1-(β-D-glucopyranosyloxy)-4-trans-octadecen (18).

10 1,65 g (3,4 mmol) Forbindelse (17) blev opløst i 50 ml af en blanding af pyridin/vand (1:1). Opløsningen blev mættet med hydrogensulfid. Der blev henstillet 24 timer ved stuetemperatur med omrøring. Der blev inddampet til tørhed og chromatograferet over silicagel først
15 med chloroform/methanol (9:1), derefter med chloroform/methanol/vand (5:4:1). Udbytte: 1,47 g (94%), $R_F=0,64$ i chloroform/methanol/vand (5:4:1).

¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆ i ppm) Forbindelse (18):
4,10 (d, 1H, H-1, J = 7,6 Hz).

20 s) (2S,3R)2-Hexadecanoylamino-3-hydroxy-1-(β-D-glucopyranosyloxy)-4-trans-octadecen (19).

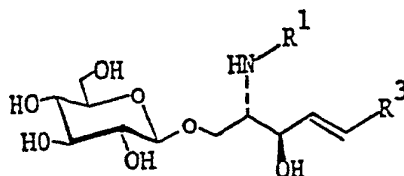
1,47 g (3,2 mmol) Forbindelse (18) blev opløst i 50 ml tetrahydrofuran. Der blev tilsat 50 ml af en 50% vandig natriumacetatopløsning. Til blandingen blev der
25 ved stuetemperatur under kraftig omrøring sat 0,87 g (3,2 mmol) hexadecanoylchlorid. Efter ca. 2 timer blev blandingen fortyndet med 350 ml tetrahydrofuran, og den vandige fase blev fraskilt. Den organiske fase blev udrystet to gange med hver gang 50 ml mættet kogsaltop-
30 løsnings og inddampet. Inddampningsresten blev tørret i højvakuum. Til rensning blev der chromatograferet over silicagel først med chloroform og derefter med chloroform/methanol (9:1). Udbytte: 1,81 g (81%), $R_F=0,4$ i chloroform/methanol (8,5:1,5).

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO- d_6 i ppm) Forbindelse
(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 (t, 1H, OH,
5 $J = 4,9$ 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); 1,22 (m, 5OH, alifat.); 0,85 (t, 6H, CH_3).

P A T E N T K R A V

1. Fremgangsmåde til fremstilling af sphingosin-derivater med den almene formel (I):

5



10

(I)

hvor:

R^1 er en acylgruppe af en fedtsyre med 14-24 C-atomer eller de tilsvarende acylgrupper med en hydroxygruppe i α -stilling eller med én eller to dobbeltbindinger i cis-konfiguration, og

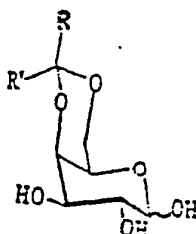
15

R^3 er en alifatisk gruppe med 13-19 C-atomer, hvoraf mindst 13 foreligger i lige kæde og eventuelt højst 4 som methyl-sidegrupper, hvilken alifatiske gruppe eventuelt indeholder op til tre dobbeltbindinger med cis- eller trans-konfiguration, eller op til tre tredob-

20

beltebindinger, kendes det ved, at D-galactose i nærværelse af et kondensationsmiddel omsættes med en lavere alifatisk keton eller et aromatisk aldehyd med formlen $R-CO-R'$, hvor R og R' hver er en lavere alkylgruppe, eller den ene af R og R' er et hydrogenatom, og den anden er en aromatisk gruppe, til en i 4- og 6-stillingerne beskyttet D-galactose med formlen (II):

30



35

(II)

hvor R og R' er som ovenfor defineret, hvilken forbindelse ved hjælp af et alkalimetallperiodat

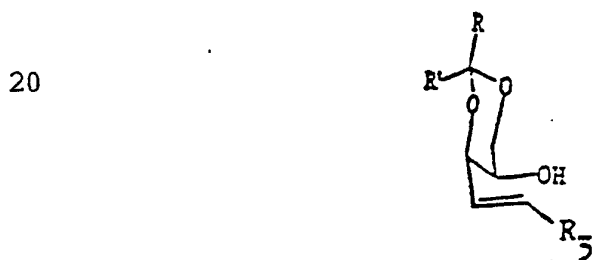
eller blytetraacetat opspaltes til den tilsvarende, i 2- og 4-stillingerne beskyttede D-threose med formlen (III):



(III)

10

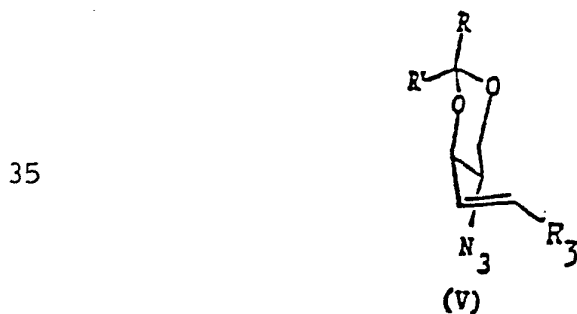
hvor i R og R' er som ovenfor defineret, der omsættes med et R^3 -CH₂-phosponat eller et R^3 -CH₂-triphenylphosponiumhalogenid, hvor R³ er som ovenfor
 15 defineret, i nærværelse af en base eller en base og et salt i et vandfrit opløsningsmiddel, til en forbindelse med formlen (IV):



(IV)

25

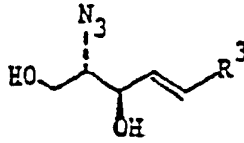
hvor i R, R' og R³ er som ovenfor defineret, i hvilken forbindelse den frie hydroxygruppe ved aktive-
 ring overføres i en azidogruppe i et vandfrit organisk
 30 opløsningsmiddel, og den vundne azidoforbindelse med formlen (V):



(V)

hvor R , R' og R^3 er som ovenfor defineret, befries for beskyttelsesgrupperne i 1- og 3-stillingerne af den alifatiske kæde under dannelse af en 2-azido-1,3-dihydroxyforbindelse med formlen (VI):

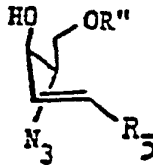
5



(VI)

10 hvor R^3 er som ovenfor defineret, hvilken forbindelse omsættes med et organisk reagens, der blandt primære og sekundære hydroxygrupper på grund af en i reagentet indeholdt rumlig stor gruppe vil reagere selektivt med en primær hydroxygruppe, under dan-

15 nelse af en forbindelse med formlen (VIII):

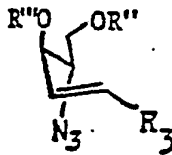


20

(VIII)

hvor R'' er en hydroxy-beskyttelsesgruppe, og R^3 er som ovenfor defineret, i hvilken forbindelse med formlen (VIII) den sekundære hydroxygruppe blokeres med en beskyttelsesgruppe R''' , og der fra den vundne forbindelse med formlen (IX):

25

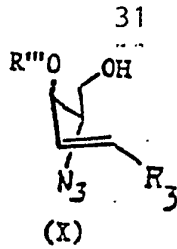


30

(IX)

hvor R'' og R^3 er som ovenfor defineret, og R''' er en hydroxybeskyttelsesgruppe, fraspaltes hydroxy-beskyttelsesgruppen R'' ved sur hydrolyse eller ved behandling med bortrifluoridetherat, under dannelse af en forbindelse

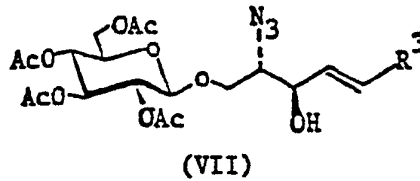
35 med formlen (X):



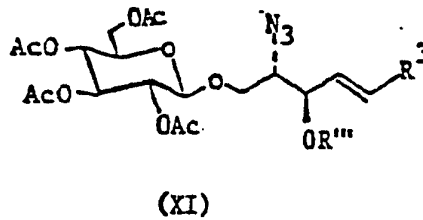
5

hvor R^3 og R''' er som ovenfor defineret,
 og enten den ovenfor vundne forbindelse med formelen (VI)
 eller forbindelsen emd formelen (X) ved hjælp af et O-tri-
 fluor- eller O-trichlor-acetimidat eller et l-halogen-
 10 derivat af en D-glucose, hvis hydroxygrupper i 2-, 3-,
 4- og 6-stillingerne er beskyttet med acylgrupper Ac,
 glykosideres til en forbindelse med formelen (VII) eller
 (XI):

15



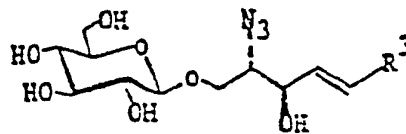
20



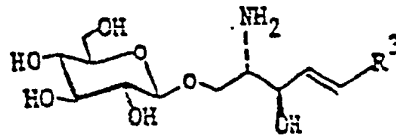
hvor R^3 og R''' er som ovenfor defineret,

25 og der fra den vundne forbindelse fraspaltes acylgrup-
 perne Ac eller acylgrupperne Ac og beskyttelsesgruppen
 R''' under dannelse af en tilsvarende forbindelse med
 formelen (XII):

30



35 hvori R^3 er som ovenfor defineret,
 i hvilken azidogruppen overføres i en primær aminogruppe,
 og den vundne forbindelse med formelen (XIII):



(XIII)

5

hvor R^3 er som ovenfor defineret, underkastes en N-acylering med en fedtsyre med formlen R^1OH , hvori R^1 er som ovenfor anført.

2. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g -
10 n e t ved, at der som keton eller aldehyd med formlen $R-CO-R'$ anvendes acetone, ethylmethylketon eller diethylketon, eller benzaldehyd eller et i phenylringen substitueret benzaldehyd.

3. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g -
15 n e t ved, at oxidationen af forbindelsen med formlen (II) gennemføres ved en pH-værdi på ca. 7 eller 8 ved stuetemperatur.

4. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g -
n e t ved, at omsætningen af den beskyttede D-threose
20 med formlen (III) med R^3-CH_2 -phosphonatet eller med R^3-CH_2 -triphenylphosphoniumhalogenidet, hvori R^3 er som ovenfor defineret, gennemføres i nærværelse af phenyllithium, lithiummethylat, natriumamid, natriummethylat eller natriumcarbonat i et vandfrit carbonhydrid eller
25 ether under nitrogenatmosfære ved lave temperaturer og ved anvendelse af et R^3-CH_2 -phosphoniumhalogenid under tilsætning af et salt.

5. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g -
n e t ved, at overføringen af den frie hydroxygruppe i
30 forbindelsen med formlen (IV) i en azidogruppe gennemføres ved O-trifluormethansulfonering, methansulfonering eller p-toluensulfonering i et vandfrit organisk opløsningsmiddel og efterfølgende omsætning af O-sulfonylderivatet med et alkalimetallazid.

35 6. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g -
n e t ved, at fraspaltningen af beskyttelsesgruppen $R-CO-R'$, hvori R og R' er som ovenfor defineret, fra forbindelsen med formlen (V) eller beskyttelsesgruppen

R" fra forbindelsen med formlen (IX) gennemføres ved sur hydrolyse.

7. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g-
n e t ved, at der som hydroxy-beskyttelsesgruppe R"
5 anvendes en triphenylmethyl-, monomethoxytriphenylmethyl-,
t.butyl-, trichloracetyl-, trimethylsilyl-, t.butyldime-
thylsilyl- eller t.butyldiphenylsilyl- eller t.butyldi-
phenylsilyl-gruppe.

8. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g-
10 n e t ved, at der som beskyttelsesgruppe R''' anvendes
acylgruppen af en alifatisk eller aromatisk carboxylsyre
eller en t.butoxycarbonylgruppe, fortrinsvis acylgruppen
af benzoesyre eller en substitueret benzoesyre eller
pivalinsyre.

9. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g-
n e t ved, at glykosideringen af forbindelsen med form-
len (VI) eller (X) med nævnte O-trifluor- eller O-tri-
chlor-acetimidat gennemføres i nærværelse af en Lewissy-
rekatalysator og i et vandfrit carbonhydrid eller halo-
20 generet carbonhydrid, og glykosideringen med nævnte l-
halogenderivat gennemføres i nærværelse af et syrebin-
dende middel eller et tungmetalsalt.

10. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g-
n e t ved, at acylgrupperne Ac og beskyttelsesgruppen
25 R''' fraspaltes fra forbindelsen med formlen (VII) eller
(XI) ved basisk katalyse.

11. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g-
n e t ved, at overføringen af azidgruppen i forbin-
delsen med formlen (XII) i en primær aminogruppe gen-
30 nemføres ved behandling med hydrogensulfid i en blanding
(1:1) af vand og pyridin eller ved hydrogenering med
natriumborhydrid eller et andet reduktionsmiddel.

12. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g-
n e t ved, at N-acyleringen af forbindelsen med formlen
35 (XIII) gennemføres med fedtsyren med formlen R¹-OH, hvori
R¹ er som ovenfor defineret, i nærværelse af et vandfra-
spaltende middel eller med en aktiveret ester af fedt-
syren eller med et halogenid af fedtsyren i nærværelse
af en uorganisk base eller en tertiær organisk base.