

(19) DANMARK



(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT (11) 146540 B



DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENEN

(21) Patentansøgning nr.: 2214/78

(51) Int.Cl.³: C 07 D 519/04

(22) Indleveringsdag: 19 maj 1978

(41) Alm. tilgængelig: 21 nov 1978

(44) Fremlagt: 31 okt 1983

(86) International ansøgning nr.: —

(30) Prioritet: 20 maj 1977 HU RI 632

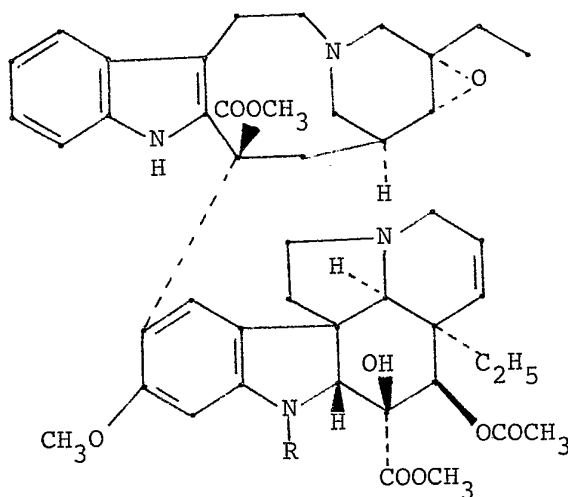
(71) Ansøger: *RICHTER GEDEON VEGYESZETI GYAR R.T.; Budapest X., HU.

(72) Opfinder: Csaba *Szantay; HU, Lajos *Szabo; HU, Katalin *Honty; HU, Katalin *Nogradi; HU, Karola *Jovanovics; HU, Eszter *Dezseri; HU, Lajos *Dancsi; HU, Csaba *Loerincz; HU, Bela *Szarvady; HU, Lajos *Kovacs; HU.

(74) Fuldmægtig: Kontor for Industriel Eneret

(54) Fremgangsmåde til fremstilling af alkaloider af leurosin-typen eller syreadditionssalte der-af

Den foreliggende opfindelse angår en særlig fremgangsmåde til fremstilling af alkaloider af leurosin-typen med den almene formel



I

DK 146540 B

eller syreadditionssalte deraf. I formel I repræsenterer R et hydrogenatom, en metylgruppe eller en formylgruppe.

Alkaloider af leurosin-typen med den almene formel I er kendte forbindelser som udviser cytostatisk virkning. Indtil for nyligt har man isoleret leurosin (forbindelsen med formel I, hvor $R = -CH_3$) fra *Vinca rosea* L. ved ekstraktion (D.J. Abraham, N.R. Farnsworth: J. of Pharm. Sci. 58/6694/1969).

De første halvsyntetiske derivater af leurosin, såsom N-desmetyl-leurosin ($R = -H$) og N-desmetyl-N-formyl-leurosin ($R = \text{formyl}$) er beskrevet i HU-patentskrift nr. 165.986 og i det tilsvarende GB-patentskrift nr. 1.412.932.

De første forsøg på at udføre en total syntese af vincaalkaloider er udført inden for de sidste to år. Disse metoder er baseret på sammenkoblingen af de to fragmenter, dvs. af vincaalkaloidets vindolindel og velbanamindel (fx katarantin). Ifølge Potier et al.'s metode (Tetrahedron Letters, 3945, 1976) fremstilles de forskellige vincaalkaloider omfattet af den almene formel I, hvori R er en metylgruppe, nemlig leurosin og derivater deraf substitueret i vindolindelens C-14,15-stillinger ved en metode der skal beskrives i det følgende.

- A) Katarantin eller et andet velbanaminderivat oxyderes til et tilsvarende N-oxyd med p-nitroperbenzoesyre,
- B) det vundne N-oxyd kobles med et tilsvarende vindolinderivat ved Polonovszky's reaktion til dannelse af et immoniumsalt, der har vincaalkaloidstrukturen, og som derpå reduceres til et tilsvarende 3',4'-anhydro-vincaalkaloidderivat,
- C) det vundne 3',4'-anhydro-vincaalkaloidderivat omdannes til N-oxydet af et tilsvarende 3',4'-epoxyderivat med p-perbenzoesyre, og til sidst
- D) elimineres oxygen fra N-oxydgruppen med zink i nærværelse af eddikesyre.

Kutney et al (Helv. Chim. Acta 59, 2858 (1976) og Heterocycles 4, 997 (1976)) har valgt en meget lignende syntese. De træk der adskiller deres syntese fra Potier's metode er følgende:

I trin A anvendes m-klorperbenzoesyre som et oxydationsmiddel og reaktion C udføres med t-butyl-hydroperoxyd i nærværelse af tetrahydrofuran. I syntesens trin C beskyttes nitrogenatomet i form af et trifluoreddikesyresalt for at undgå dannelsen af et N-oxyd hvilket overflødiggør trin D.

Den midlertidige beskyttelse af nitrogenatomet i trin C ved denne metode kræver indføring af et yderligere reaktionstrin og epoxyderingen resulterer ikke altid i det ønskede produkt, med andre ord reaktionen er vanskelig at kontrollere.

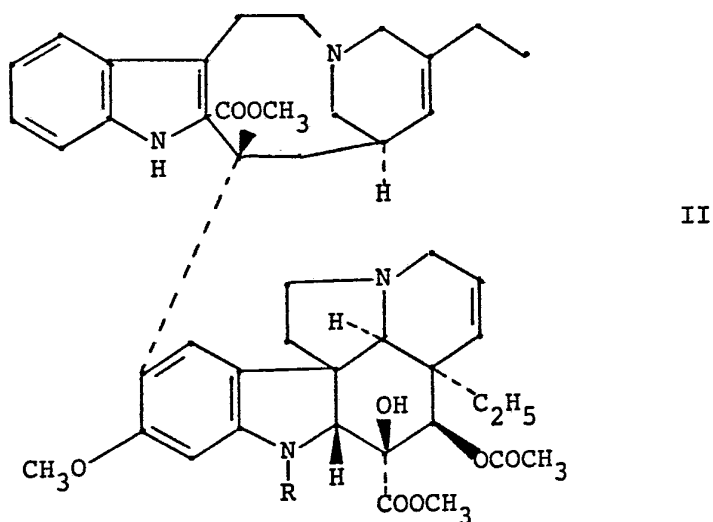
Det har nu vist sig at når man udfører epoxyderingen ifølge reaktionstrin C enten med oxygen eller et alkalimetalhypohalogenit, i nærværelse af et organisk opløsningsmiddel, eller med organiske peroxyder, i nærværelse af forbindelser der indeholder nitril- og/eller azogrupeer kan man undgå dannelsen af N-oxydet, og som følge heraf behøver nitrogenets enkelte elektronpar ikke at blive beskyttet før reaktionen, og yderligere reaktionstrin til eliminering af N-oxydgruppen kan også udelades. Det på denne måde vundne produkt udmærker sig ved sin gode krystalliserbarhed og renhed. Målt ved kromatografi udviser selv råproduktet en fremragende renhed og - uventet for fagmanden - kan der ikke spores noget N-oxyderet produkt, til trods for den kendsgerning at det enkelte elektronpar på nitrogenet ikke har været beskyttet i forvejen.

En yderligere fordel ved epoxyderingen ifølge opfindelsen er dens selektivitet. Forbindelsen som underkastes epoxydering indeholder to olefinbindinger, men epoxygruppen dannes kun på det ønskede sted, dvs. epoxyderingen er områdeselektiv.

Dertil kommer at den ved epoxyderingen resulterende forbindelse teoretisk kan dannes i to forskellige konfigurationer, men i praksis opnås ifølge opfindelsen kun den ene af dem, nemlig den isomer der svarer til den naturlige forbindelse, hvilket betyder at epoxyderingen også er stereoselektiv.

Også udbytterne forbedres. Mens de kendte metoder gav produktet med et maximalt udbytte på 51% kan der ved anvendelse af den foreliggende fremgangsmåde opnås et udbytte på 63%, hvilket er en betydelig økonomisk fordel i betragtning af produktets yderst høje pris.

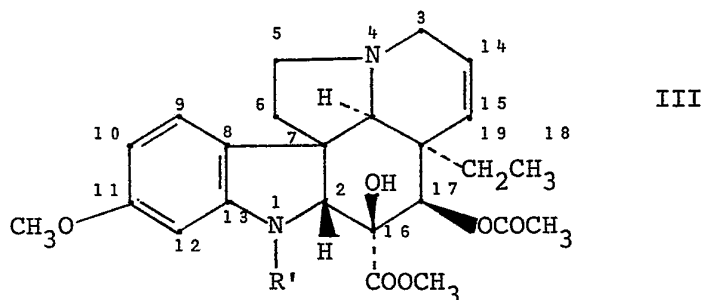
Fremgangsmåden ifølge opfindelsen er i overensstemmelse hermed ejendommelig ved at man eventuelt i nærværelse af en syre epoxyderer en forbindelse med den almene formel



hvor R er et hydrogenatom eller en metylgruppe eller en formylgruppe, med oxygen eller et alkalimetallhypohalogenit i et organisk opløsningsmiddel, eller med et organisk hydroperoxyd i nærværelse af en nitrilgruppe- og/eller azogruppeholdig forbindelse, og om ønsket omdanner en vundet forbindelse med den almene formel I, hvori R er et hydrogenatom eller en metylgruppe, til en tilsvarende forbindelse med den almene formel I, hvori R er en formylgruppe, på i og for sig kendt måde, og om ønsket omdanner en forbindelse med den almene formel I til et syreadditionssalt deraf.

Til fremstilling af den som udgangsmateriale anvendte forbindelse med formel II kan man gå frem på følgende måde.

a) Til fremstilling af forbindelsen med formel II, hvor R er hydrogen eller metyl omsættes en forbindelse med den almene formel III



hvor R' er et hydrogenatom eller en metylgruppe, med katarantin-

N-oxyd og derefter med et alkalimetallborhydrid på i og for sig kendt måde. Derefter kan man om ønsket omsætte en vunden forbindelse med formel II, hvor R er hydrogen, med et formyleringsmiddel, på i sig selv kendt måde, til dannelse af en forbindelse med formel II, hvor R er en formylgruppe.

b) En forbindelse med formel II, hvor R er formyl eller metyl kan også fremstilles ved at man behandler vinkristin eller vinblastin eller et syreadditionssalt deraf med et svovl- eller fosforhalogenid eller -oxyhalogenid i et organisk opløsningsmiddel.

Ved ovennævnte metode a) anvendes katarantin-N-oxyd og en forbindelse med den almene formel III som udgangsforbindelser. Begge udgangsforbindelserne er kendte forbindelser. Katarantin og vindolin (en forbindelse med den almene formel III hvori R' er en metylgruppe) er først isoleret fra planten *Catharantus roseus* G. Don (se J. Am. Pharm. Assoc. 48, 256 (1959)). En anden mulig vej til fremstilling af katarantin-N-oxydet er beskrevet i DE-offentliggørelsesskrift nr. 2.558.124. Den almene formel III, sådan som den er defineret i den ovennævnte publikation, omfatter også N-desmetylvindolin - R' er hydrogen - uden at beskrive fremstillingen af denne forbindelse.

N-Desmetylvindolin fremstilles ved, at vindolin først omdannes til N-desmetyl-N-formyl-vindolin ved oxydation gennemført med et metaloxyd, fortrinsvis med mangandioxyd. Oxydationen udføres i et organisk opløsningsmiddel, hensigtsmæssigt i en kloreret kulbrinte, fx diklormetan, diklorætan eller kloroform. Det foretrækkes at udføre oxydationen ved under 25°C, fortrinsvis i området fra ca. 5 til ca. 10°C.

N-Desmetyl-N-formyl-vindolin vundet ved oxydationen omdannes til N-desmetyl-vindolin ved hydrolyse. Hydrolysen udføres hensigtsmæssigt med en syre, fortrinsvis med en mineralsyre, fx saltsyre, svovlsyre osv. Ifølge en yderligere fordelagtig metode desmetyleres vindolin direkte til dannelse af N-desmetyl-vindolin.

N-Desmetyl-vindolin fremstillet ved en hvilken som helst af de ovenfor beskrevne metoder omsættes med katarantin-N-oxyd. Katarantin-N-oxyd kan fremstilles ved en hvilken som helst af de kendte metoder, men vindes fortrinsvis ved oxydation af katarantin med alifatiske persyrer med 6-18 kulstofatomer, fx med peroktansyre, perpelargonsyre eller perlaurinsyre. Oxydationen udføres i

et organisk opløsningsmiddel, fortrinsvis i en kloreret kulbrinte, i temperaturområdet fra ca. -30°C til $+25^{\circ}\text{C}$.

N-Desmetylvindolin omsættes fx med katarantin-N-oxyd fremstillet in situ i nærværelse af trifluoreddikesyreanhydrid og det vundne diindolimmoniumsalt reduceres med et alkalimetallborhydrid. Skønt denne reaktionsvej er kendt som Polonovszky's reaktion har den aldrig tidligere været anvendt til kobling af katarantin-N-oxyd og N-desmetylvindolin.

Når der ved metode a) skal fremstilles en forbindelse med den almene formel II, hvori R er en metylgruppe, omsættes vindolin med katarantin-N-oxyd på en måde der er analog med den ovenfor beskrevne.

Ifølge ovennævnte metode b) fremstilles udgangsforbindelsen med den almene formel II, hvori R er en formylgruppe, ved afspaltning af vand fra vinkristin. Vinkristin behandles med et svovlhalogenid eller et fosforhalogenid eller fosforoxyhalogenid, i et organisk opløsningsmiddel, fortrinsvis et med protonaccepterende karakter.

Hensigtsmæssigt anvendes til dette formål tionylhalogenid, fosfortrihalogenid, fosforpentahalogenid eller fosforoxyhalogenid.

Fjernelsen af vand gennemføres i et organisk opløsningsmiddel. Typiske eksempler på egnede opløsningsmidler er fx benzenhomologe, såsom benzen, toluen eller xylene; alifatiske eller cykliske ætere, såsom diætylæter eller dioxan; og organiske opløsningsmidler med protonaccepterende karakter, hensigtsmæssigt organiske baser indeholdende nitrogen eller acylerede derivater deraf, såsom pyridin, piperidin eller deres acylerede derivater; alifatiske karboxylsyreamider med 1-5 kulstofatomer; eller et N-disubstitueret derivat af et hvilket som helst af disse amider, såsom dimetylformamid, dimetylacetamid eller N-formyl-N-metylanilin. Passende blandinger af de ovennævnte inaktive eller protonaccepterende organiske opløsningsmidler kan også anvendes.

Med fordel udføres metode b) ved at gennemføre fjernelsen af vand med tionylklorid eller fosforoxyklorid i nærværelse af dimetylformamid. Om ønsket kan det polære kompleks hidrørende fra indvirkning af halogenforbindelsen og opløsningsmidlet med protonaccepterende karakter isoleres og anvendes som reaktant i nærværelse af et hvilket som helst af de ovenfor beskrevne opløsningsmidler. Reaktionen gennemføres fortrinsvis i nitrogenatmosfære ved en temperatur på -10 til $+30^{\circ}\text{C}$.

Hvis der anvendes oxygen, hensigtsmæssigt oxygen fra luften, eller et alkalimetallhypohalogenid som epoxyderingsmiddel ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen kan reaktionen gennemføres praktisk taget stereo- og områdeselektivt i et hvilket som helst organisk opløsningsmiddel. Eksempler på egnede opløsningsmidler er tetrahydrofuran og organiske aminoforbindelser, fx dimetylformamid. Om ønsket kan der som aktivatorer anvendes komplekse metalforbindelser, fx vanadinacetylacetonat eller koboltnaftenat eller metal- eller metaloxydkatalysatorer, fx sort platin eller aluminiumoxyd. Reaktionen kan også udføres i et opløsningsmiddel af nitriltypen og den kan eventuelt aktiveres ved tilsætning af radikal-initiatorer.

Hvis epoxyderingsmidlerne er organiske peroxyder, såsom kumyl- eller t-butyl-hydroperoxyd, gennemføres epoxyderingen i nærværelse af forbindelser som indeholder en eller flere nitril- og/eller azogrupeer. Disse forbindelser kan virke som opløsningsmidler og/eller radikal-initieringsmidler. Typiske repræsentanter for disse forbindelser er nitriler af alifatiske syrer som indeholder 1-5 kulstofatomer, fx acetonitril og isobutyronitril, eller nitriler af aromatiske syrer, fx benzonitril. 2,2'-Azo-bis-isobutyronitril, 2-cyan-2-propyl-azoformamid, 2,2'-azo-bis-2-cyklohexylpropionitril og triazobenzen kan også anvendes til det ovennævnte formål. Forbindelser med den almene formel II, hvor R er et hydrogenatom, epoxyderes i nærværelse af en syre, fortrinsvis en organisk syre, såsom trifluoreddikesyre.

Forbindelserne med den almene formel I, fremstillet ved epoxydering, hvori R er et hydrogenatom eller en metylgruppe, isoleres fra reaktionsblandingen på konventionel måde, såsom ved ekstraktion eller inddampning, og slutforbindelserne omdannes om ønsket til deres syreadditionssalte ligeledes ved kendte metoder.

Forbindelserne med den almene formel I, hvori R er et hydrogenatom, kan omdannes til en tilsvarende forbindelse, hvori R er en formylgruppe, ved formylering. Formylering udføres med myresyre eller et reaktionsdygtigt derivat deraf, eller med en blanding med myresyre og eddikesyreanhydrid. Reaktionstemperaturen er under 30°C, fortrinsvis mellem -5 og +10°C.

Forbindelsen med den almene formel I, hvori R er en metylgruppe, kan om ønsket omdannes til en tilsvarende forbindelse,

hvor R er en formylgruppe på i og for sig kendt måde, fortrinsvis som beskrevet i omstående eksempel 23.

Forbindelserne med den almene formel I fremstillet som beskrevet ovenfor kan om ønsket omdannes til syreadditionssalte deraf.

Opfindelsen belyses nærmere i det følgende ved hjælp af nogle eksempler, hvor eksemplerne nr. 1-6, 11 og 11a belyser fremstilling af udgangsforbindelserne og eksemplerne nr. 7-10 og 12-23 belyser fremgangsmåden ifølge opfindelsen.

Eksempel 1

N-Desmetyl-N-formylvindolin

2,00 g (4,38 mmol) vindolin opløses i 200 ml tørt diklormetan og 50,0 g aktiveret mangan(IV)oxyd (leveret af Merck) sættes til opløsningen. Reaktionsblandingen omrøres kraftigt i nitrogenatmosfære ved 0-5°C i 10 timer hvorefter der filtreres. Det fra-filtrerede oxydationsmiddel vaskes med 100 ml diklormetan og filtratet inddampes til tørhed under nedsat tryk. Remanensen renses ved præparativt tyndtlagskromatografi (adsorberingsmiddel: silikagel PF₂₅₄₊₃₆₆, opløsningsmiddel: 100:10 blanding af diklormetan og metanol, elueringsmiddel: acetone). Fra laget med en højere retentionsfaktor udvindes 0,05g (25%) uomsat vindolin som kan anvendes ved krystallisation fra æter. Fra laget med lavere retentionsfaktor vindes den i overskriften angivne forbindelse efter indampning af acetoneeluatet og triturering af remanensen med æter.

Udbytte: 0,70 g (34,0%) N-desmetyl-N-formylvindolin, smp.: 140-144°C (krystalliseret fra æter).
 IR-spektrum (KBr): 3500 cm⁻¹ (ν OH), 1760 cm⁻¹ (ν CO₂CH₃, OCOCH₃), 1695 cm⁻¹ (ν amid CO), 1630 cm⁻¹ (ν C=C).
¹H-NMR-spektrum (CDCl₃): δ = 8,65 (1H, s, N-CHO), 3,82 (3H, s, CO₂CH₃), 3,70 (3H, s, OCH₃), 2,01 ppm (3H, s, OCOCH₃).
¹³C-NMR-spektrum (CDCl₃): 170,03 (CO₂CH₃, OCO), 161,07 (C₁₁), 160,42 (N-CHO), 142,00 (C₁₃), 130,23 (C₁₅), 125,21 (C₈), 124,57 (C₁₄), 124,16 (C₉), 111,17 (C₁₀), 97,19 (C₁₂), 97,10 (C₂), 76,75 (C₁₆), 72,34 (C₁₇), 71,50 (C₁₈), 65,25 (C₂₁), 55,65 (OCH₃), 52,66 (C₇), 52,60 (CO₂CH₃), 50,43 (C₃), 49,91 (C₅), 42,43 (C₂₀), 41,02 (C₆), 30,31 (C₁₉), 20,88 (OCOCH₃).
 Massespektrum m/e (%): 470 (M⁺, 20), 442 (5), 441 (3), 427 (3), 411 (9), 393 (2), 383 (6), 381 (6), 369 (2), 353 (1), 351 (3), 339 (1), 323 (7), 321 (4), 311 (23), 309 (15), 203 (17), 202 (26), 188 (17), 174 (65), 160 (56), 159 (22), 158 (13), 131 (20), 130 (20), 121 (100).

Eksempel 2

N-Desmetylvindolin

540 ml (1,19 mmol) N-desmetyl-N-formylvindolin opløses i 110 ml 10% opløsning af saltsyre i metanol i nitrogenatmosfære ved 0°C. Reaktionsblandingen henstår ved 5-10°C i 3 timer og derpå indstilles opløsningens pH-værdi på 7 ved tilsætning af 10% ammoniakopløsning i metanol under afkøling. Den neutraliserede opløsning inddampes til 20 ml under nedsat tryk og 30 ml isvand sættes til remanensen hvorpå der tilsættes en blanding i forholdet 1:1 af vand og ammoniumhydroxyd tilstrækkelig til at indstille pH-værdien på 9. Den alkaliske opløsning ekstraheres med 3 portioner a 20 ml diklormetan, diklormetanelekstrakterne forenes, tørres med magniumsulfat og filtreres. Filtratet inddampes under nedsat tryk. Remanensen omkrystalliseres fra 10 ml diætylæter.
 Udbytte: 400 mg (78,7%) N-desmetylvindolin, smp.: 118°C (krystalliseret fra æter).
 IR-spektrum (KBr): 3320 cm⁻¹ (ν NH,OH), 1760 cm⁻¹ (CO₂CH₃, OCOCH₃), 1630 cm⁻¹ (ν C=C).

Massespektrum m/e (%): 442 (M^+ , 17), 383 (7,6), 295 (2,9), 282 (58), 175 (62), 174 (51), 160 (15), 147 (16), 135 (87), 122 (58), 121 (100).

$[\alpha]_D = -38,10^\circ$ (C = 0,76 kloroform).

$^1\text{H-NMR}$ -spektrum (CDCH_3): $\delta = 6,98, 6,85, 6,15$ (3H, aromatiske protoner), 5,98-5,18 (2H, olefinprotoner), 5,55 (1H, s, 17-H), 4,58 (1H, OH, forsvinder med D_2O), 4,15 (1H, NH), 3,65 (6H, s, CO_2CH_3 , OCH_3), 2,09 (3H, s, OCOCH_3).

Eksempel 3

N-Desmetylvindolin

Ved at følge proceduren i eksempel 2 men ved at udføre hydrolysen i nærværelse af en 2% vandig svovlsyreopløsning i stedet for saltsyre og ved at holde temperaturen ved 5°C vindes den i overskriften angivne forbindelse i et udbytte på 79,1%.

Eksempel 4

N-Desmetyl-3',4'-anhydrovinblastin

340 mg (1,01 mmol) katarantin opløses i 17 ml tørt diklormetan. Opløsningen afkøles til -10°C og 240 mg 82% perpelargon-syre (1,1 ækvivalenter) i 3 ml diklormetan tilsættes under omrøring i nitrogenatmosfære inden for ca. 15 minutter. Reaktionsblandingen afkøles til -15°C hvorpå der tilsættes 442 mg (1,0 mmol) N-desmetylvindolin og derefter 0,82 ml (5,8 mmol) friskt destilleret trifluoreddikesyreanhydrid. Reaktionsblandingen henstår ved en temperatur mellem -10 og -20°C i 18 timer og derpå sættes 140 mg natriumborhydrid opløst i 14 ml tør metanol til reaktionsblandingen ved -10°C . Reaktionen overvåges ved tyndtlagskromatografi (absorberingsmiddel: silikagel G, opløsningsmiddel: 20:2 blanding af diklormetan og metanol). Når reaktionen er tilendebragt koncentrerer reaktionsblandingen til 1/4 af sit oprindelige rumfang ved en badtemperatur på 20°C . Derpå sættes 15 ml diklormetan til remanensen og pH-værdien indstilles på 9 med en blanding af vand og ammoniumhydroxyd i forholdet 1:1. Faserne adskilles og diklormetanfasen vaskes med 2 x 10 ml vand. De forenede vandige faser ekstraheres med 2 x 10 ml diklormetan. Diklormetanfaserne forenes, tørres med magniumsulfat, filtreres og fil-

tratet inddampes til tørhed under nedsat tryk. Remanensen renses ved præparativ tyndtlagskromatografi (adsorberingsmiddel, opløsningsmiddel og elueringsmiddel som beskrevet i eksempel 1). Acetoneopløsningen af produktet inddampes og produktet omkrystalliseres fra ætanol.

Udbytte: 315 mg (40,2%) N-desmetyl-3',4'-anhydrovinblastin med smp. 202-204°C (sønderdeling), $[\alpha]_D^{20} = +38,5^\circ$ (c = 1,06 i kloroform).

IR-spektrum (KBr): 3400 cm^{-1} (ν NH,OH), 1740 cm^{-1} (CO_2CH_3 , OCOCH_3), 1620 cm^{-1} (ν C=C).

Massespektrum m/e (%): 778 (M^+).

Eksempel 4a

3',4'-Anhydrovinblastin

Ved at følge den procedure der er beskrevet i eksempel 4 men ved at omsætte katarantin-N-oxyd med vindolin i stedet for N-desmetylvindolin vindes 50% af den i overskriften angivne forbindelse med smp. 215-216°C, $[\alpha]_D = +71^\circ$ (c = 0,7, kloroform), molekylvægt: 792.

Eksempel 5

N-Desmetyl-3',4'-anhydrovinblastin-sulfat

0,1 g N-desmetyl-3',4'-anhydrovinblastin suspenderes i 1 ml tør metanol og suspensionens pH-værdi indstilles på 5 ved tilsætning af 1% metanolisk svovlsyreopløsning. Svovlsyreadditionssaltet udfældes fra opløsningen med 3 ml diætylater og de udfældede krystaller filtreres fra og tørres.

Udbytte: 95% af den i overskriften angivne forbindelse med smp. 210°C (sønderdeling).

Eksempel 6

N-Desmetyl-N-formyl-3',4'-anhydrovinblastin

260 mg (0,33 mmol) N-desmetyl-3',4'-anhydrovinblastin opløses i 3 ml af en blanding i forholdet 6:1 af myresyre og eddikesyreanhydrid. Opløsningen henstår ved en temperatur på 5-10°C i 16 timer. Reaktionsblandingen udhældes i 10 ml isvand og pH-værdien indstilles til 9 med koncentreret vandig ammoniumhydroxydop-

løsning. Den alkaliske opløsning ekstraheres med 3 x 6 ml benzen, benzenekstrakterne forenes, tørres med magniumsulfat og filtreres. Filtratet inddampes under nedsat tryk og remanensen krystalliseres fra 1,5 ml metanol. Udbytte: 190 mg (70,5%) af den i overskriften angivne forbindelse med smp. 208°C (sønderdeling).
 IR-spektrum (KBr): 3400 cm^{-1} (ν NH,OH), 1730 cm^{-1} (ν CO_2CH_3 , OCOCH_3), 1690 cm^{-1} (ν N-CHO), 1618 cm^{-1} (ν C=C).
 $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +72,2^{\circ}$ ($c = 1,01$, kloroform).
 Massespektrum m/e (%): 806 (M^+).

Eksempel 7

N-Desmetyl-N-formylleurosin

Til en opløsning af 100 mg (0,124 mmol) N-desmetyl-N-formyl-3',4'-anhydrovinblastin i 3 ml benzonitril sættes 4 mg 2,2'-azobis-isobutyronitril. Reaktionsblandingen afkøles til en temperatur på mellem 0 og 5°C og 160 mg (0,75 mmol) 70% kumyl-hydroperoxyd opløst i 1 ml benzonitril tilsættes under omrøring under nitrogenatmosfære. Reaktionsblandingen henstår ved $5-10^{\circ}\text{C}$ i 4 dage under nitrogenstrøm hvorpå der tilsættes 6 ml benzen og reaktionsblandingen ekstraheres med 3 x 5 ml 2,5% vandig svovlsyreopløsning ved $0-5^{\circ}\text{C}$. Faserne adskilles. Den sure fase rystes med 2 ml benzen og faserne får lov til at skille. Den sure opløsnings pH-værdi indstilles på 9 med koncentreret vandig ammoniumhydroxydopløsning ved 0°C . Den vundne alkaliske opløsning ekstraheres med 3 x 4 ml diklormetan. De organiske ekstrakter forenes, tørres med magniumsulfat og inddampes under nedsat tryk. Remanensen krystalliseres fra 1 ml metanol.

Udbytte: 55 mg (54%) af den i overskriften angivne forbindelse med smp. 203°C (sønderdeling).

IR-spektrum (KBr): 3400 cm^{-1} (ν NH,OH), 1730 cm^{-1} (ν CO_2CH_3 , OCOCH_3), 1700 cm^{-1} (ν N-CHO).

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +79,5^{\circ}$ ($c = 0,60$, kloroform).

Massespektrum m/e (%): 822 (M^+).

Eksempel 8

N-Desmetyl-N-formylleurosin-sulfat

0,1 g N-desmetyl-N-formylleurosin fremstillet ifølge eksempel 7 opløses i 0,5 ml tør ætanol og opløsningens pH-værdi indstilles på 4 med en 1% opløsning af svovlsyre i ætanol. Blandingen henstår ved stuetemperatur i flere timer, det udskilte svovlsyreadditionssalt filtreres fra og tørres.

Udbytte: 93% af den i overskriften angivne forbindelse med smp. 248-252°C.

Eksempel 9

N-Desmetylleurosin

Til en opløsning af 100 mg (0,128 mmol) N-desmetyl-3',4'-anhydrovinblastin i 3 ml tør acetonitril sættes 29,0 mg (0,25 mmol) trifluoreddikesyre og 4 mg 2,2'-azo-bis-isobutyronitril. Reaktionsblandingen afkøles til 0-5°C og 160 mg (0,75 mmol) 70% kumyl-hydroperoxyd i 1 ml tør acetonitril tilsættes under omrøring under nitrogenatmosfære. Derpå henstilles reaktionsblandingen i 22 timer under nitrogenatmosfære hvorpå den fortyndes med 6 ml tør benzen. Produktet adskilles fra reaktionsblandingen på den i eksempel 7 beskrevne måde, krystalliseres fra 1 ml metanol og krystallerne filtreres fra og tørres. Der vindes 40 mg af den i overskriften angivne forbindelse. En yderligere portion på 10 mg af den i overskriften angivne forbindelse vindes fra den metanoliske modervæske ved præparativt tyndtlagskromatografi (adsorberingsmiddel og opløsningsmiddel som beskrevet i eksempel 1).

Samlet udbytte: 50 mg (48%) N-desmetylleurosin med smp. 221°C (krystalliseret fra metanol).

IR-spektrum (KBr): 3460 cm^{-1} , 3380 cm^{-1} (ν NH,OH), 1735 cm^{-1} , 1738 cm^{-1} (ν CO₂CH₃, ν OCOCH₃).

$[\alpha]_D^{20} = +49,7^\circ$ (c = 0,98, kloroform).

Massespektrum m/e: 794 (M^+).

Eksempel 10N-Desmetyl-N-formylleurosin

En opløsning af 1 g N-desmetylleurosin fremstillet ifølge eksempel 9 i en blanding af 6 ml koncentreret myresyre og 1 ml eddikesyreanhydrid henstår ved stuetemperatur i 10 minutter. Derpå udhældes blandingen i 30 ml vand med en temperatur på 0 til +5°C og den gøres basisk til pH 9 med kold, koncentreret vandig ammoniumhydroxydopløsning. Alkaloidet ekstraheres fra den vandige opløsning med 3 x 30 ml metylenklorid og den forenede og tørrede metylenkloridopløsning inddampes til tørhed under nedsat tryk.

Udbytte: 995 g N-desmetyl-N-formylleurosin.

Eksempel 11N-Desmetyl-N-formyl-3',4'-anhydrovinblastin

Til en opløsning af 600 mg (0,65 mmol) vinkristinsulfat i 9 ml tørt dimetylformamid sættes 1,2 ml tionylklorid opløst i 3 ml dimetylformamid med ydre isafkøling. Reaktionsblandingen henstår ved stuetemperatur i 2 timer, udhældes i isvand og indstilles til pH 9 med koncentreret vandig ammoniumhydroxydopløsning. Den alkaliske opløsning ekstraheres med 3 x 10 ml benzen, de forenede benzenekstrakter tørres med magniumsulfat, filtreres og filtratet inddampes under nedsat tryk. Remanensen krystalliseres fra 2 ml metanol. Udbytte: 300 mg (57%) af den i overskriften angivne forbindelse. De fysiske egenskaber af denne forbindelse er identiske med dem hos produktet ifølge eksempel 6. Den i overskriften angivne forbindelse kan omdannes til N-desmetyl-N-formylleurosin ved at følge den procedure der er beskrevet i eksempel 7.

Eksempel 11a3',4'-Anhydrovinblastin

Ved at følge den procedure der er beskrevet i eksempel 11 men ved at gå ud fra vblastinsulfat i stedet for vinkristinsulfat vindes den i overskriften angivne forbindelse i et udbytte på 55%. Smp.: 205-210°, $[\alpha]_D^{20} = +65,3^\circ$ (c = 0,66 i kloroform), molekylvægt: 792.

Eksempel 12

(+)-Leurosin

200 mg (0,25 mmol) (+)-3',4'-anhydrovinblastin opløses i en blanding af 6 ml tørt acetonitril og 0,3 ml tør benzen. Reaktionsblandingen afkøles til 0-5°C og der tilsættes 320 mg 70% kumyl-hydroperoxyd (1,5 mmol) opløst i 1 ml acetonitril under omrøring i nitrogenatmosfære. Reaktionen overvåges ved tyndtlagskromatografi og reaktionsblandingen omrøres indtil reaktionen afslutter (ca. 3-8 timer) ved stuetemperatur. Derefter sættes 14 ml tør benzen til reaktionsblandingen og den vundne blanding ekstraheres med 3 x 10 ml 2,5% vandig svovlsyreopløsning. De sure faser forenes, ekstraheres med 5 ml benzen og den sure fase pH-værdi indstilles på 9 med koncentreret vandig ammoniumhydroxydopløsning. Den fremstillede alkaliske opløsning ekstraheres med 3 x 8 ml diklormetan, de organiske faser forenes, tørres med magnesiumsulfat, filtreres og filtratet inddampes under nedsat tryk. Der sættes 1 ml metanol til remanensen og den metanoliske opløsning får lov til at krystalliseres. Krystallerne filtreres fra og tørres.

Udbytte: 102 mg (50%) (+)-leurosin med smp. 202-204°C, $[\alpha]_D^{20} = +76^\circ$ (c = 0,9 i kloroform), massespektrum m/e: 808 (M^+).

Eksempel 13

(+)-Leurosin

Ved at følge den procedure der er beskrevet i eksempel 12 men ved også at sætte 4,0 mg 2,2'-azo-bis-isobutyronitril til reaktionsblandingen under den med peroxyd udførte oxydation vindes 128 mg (62,7%) af den i overskriften angivne forbindelse.

Eksempel 14

(+)-Leurosin

Til en opløsning af 100 mg (0,12 mmol) (+)-3',4'-anhydrovinblastin i en blanding af 3 ml tør acetonitril og 0,15 ml tør benzen sættes der 4 mg (0,02 mmol) 2,2'-azo-bis-isobutyronitril. Reaktionsblandingen afkøles til 0-5°C og 80 mg 80% t-butyl-hydroperoxyd (0,7 mmol) i 0,5 ml acetonitril tilsættes under omrøring under nitrogenatmosfære. Blandingen henstår ved stuetemperatur i 8 timer og derefter ved -15°C i 14 timer under omrøring. Den

bundfaldholdige opløsning filtreres, vaskes med 0,5 ml acetonitril ved 0°C og tørres. Der vindes 43 mg leurosin som den første fraktion. Modervæsken koncentrerer til 0,5 ml på et vandbad på 20°C under nedsat tryk. Remanensen afkøles til -15°C og henstår i 24 timer, de udfældede krystaller filtreres fra, vaskes med acetonitril eller metanol og tørres. Der vindes 21 mg leurosin som den anden fraktion. Samlet udbytte: 64 mg (63%) af den i overskriften angivne forbindelse.

Eksempel 15

(+)-Leurosin

Til en opløsning af 200 mg (0,25 mmol) (+)-3',4'-anhydrovinblastin i 4 ml benzonitril sættes 8 mg (0,048 mmol) 2,2'-azobis-isobutyronitril. Reaktionsblandingen afkøles til 0-5°C og 320 mg kumyl-hydroperoxyd (1,5 mmol) i 1 ml benzonitril tilsættes under omrøring i en nitrogenatmosfære. Ved derefter at følge den procedure der er beskrevet i eksempel 12 vindes 104 mg (51%) af den i overskriften angivne forbindelse.

Eksempel 16

N-Desmetyl-N-formylleurosin

100 mg (0,124 mmol) N-desmetyl-N-formyl-3',4'-anhydrovinblastin opløses i 3 ml benzonitril, 4 mg 2,2'-azobis-isobutyronitril sættes til opløsningen og denne omrøres i 3 dage ved stuetemperatur under oxygenatmosfære. 6 ml tør benzen sættes derpå til reaktionsblandingen som ekstraheres med 3 x 5 ml 2,5% vandig svovlsyreopløsning afkølet til 0,5°C. Den organiske fase ekstraheres med 2 ml benzen og faserne adskilles. Den sure fase pH-værdi indstilles på 9 med koncentreret vandig ammoniumhydroxydopløsning under isafkøling og den vundne alkaliske opløsning ekstraheres med 3 x 4 ml diklormetan. De forenede diklormetanfaser tørres med magnesiumsulfat, filtreres og filtratet indampes under nedsat tryk. Remanensen krystalliseres fra 1 ml metanol. Udbytte: 50 mg (49%) af den i overskriften angivne forbindelse.

Eksempel 17

N-Desmetyl-N-formylleurosin

Ved at følge den procedure der er beskrevet i eksempel 16 men ved at gennemføre oxydationen i nærværelse af 10 mg vanadin-acetylacetonat slutter reaktionen inden for 3 timer og giver 31 mg (30%) af den i overskriften angivne forbindelse.

Eksempel 18

Leurosin

100 mg 3',4'-anhydrovinblastin oxyderes med oxygen fra luften på en måde analog med den der er beskrevet i eksempel 16. Udbytte: 45 mg (44%) af den i overskriften angivne forbindelse.

Eksempel 19

Leurosin

0,6 g 3',4'-anhydrovinblastin opløses i 75 ml dimetylformamid. Oxygen bobles gennem opløsningen langsomt i 10 minutter hvorpå reaktionsblandingen henstår ved stuetemperatur i 16-20 timer. pH indstilles til 8,5 med koncentreret vandig ammoniumhydroxydopløsning. Den vundne alkaliske blanding ekstraheres med 3 x 100 ml benzen. De forenede ekstrakter tørres med natriumsulfat, filtreres og filtratet inddampes. Remanensen opløses i 3 ml ætanol og henstår ved 5°C i 16 timer. De udfældede krystaller filtreres fra, vaskes med en lille portion kold metanol og tørres. Der vindes 0,366 mg (61,0%) af den i overskriften angivne forbindelse.

Eksempel 20

Leurosin

Ved at følge den procedure der er beskrevet i eksempel 19 med ved at gennemføre oxydationen i nærværelse af sort platin hvis vægt er den samme som vægten af anhydrovinblastin føres reaktionen til ende inden for 1 time. Udbytte: 30,5% af den i overskriften angivne forbindelse.

Eksempel 21

Leurosin

Ved at følge den procedure der er beskrevet i eksempel 19 men ved at gennemføre oxydationen i nærværelse af aluminiumoxyd anvendt i den femdobbelte mængde i forhold til anhydrovinblastin fremstilles den i overskriften angivne forbindelse. Kvaliteten af det anvendte aluminiumoxyd svarer til aktivitetsgraderne I eller II. Reaktionen er tilendebragt inden for 2 timer. Udbytte: 30% af den i overskriften angivne forbindelse.

Eksempel 22

Leurosin

Til en opløsning af 50 mg 3',4'-anhydrovinblastin i 5 ml tetrahydrofuran sættes 50 mg af en 15% vandig natriumhypoklorit-opløsning.

Epoxyderingen tilendebringes ved -10°C (pH 8,5) inden for 3-10 minutter. Reaktionsblandingen ekstraheres med 3 x 10 ml benzen, de forenede benzenekstrakter tørres med natriumsulfat, filtreres og filtratet inddampes. Remanensen krystalliseres fra 1 ml ætanol. Udbytte 30% af den i overskriften angivne forbindelse.

Eksempel 23

N-Desmetyl-N-formylleurosin

Leurosin fremstillet ifølge et hvilket som helst af eksemplerne 12-15 eller 18-21 omdannes til sulfatsaltet deraf på konventionel måde hvorpå det yderligere omdannes efter følgende reaktionsvej:

Til en opløsning af 12 g (0,0132 mol) leurosinsulfat i 2640 ml acetone sættes iseddikesyre destilleret fra 0,6 liter kromsyre. Opløsningen afkøles til -55°C og eddikesyreanhydrid indeholdende 5,94 g (0,135 mol) kromsyre afkølet til den samme temperatur tilsættes inden for 3 minutter. Blandingen henstår i yderligere 5 minutter hvorpå en tilstrækkelig mængde (ca. 6 liter) dybfrossent koncentreret ammoniumhydroxydopløsning forsigtigt tilsættes for at indstille blandingens pH-værdi på 6. Under neutralisationen må der drages omsorg for at blandingens temperatur ikke overstiger $+50^{\circ}\text{C}$. Derpå sættes der 9 liter destilleret vand

til den alkaliske opløsning som derpå yderligere gøres basisk med vandig ammoniumhydroxydopløsning indtil der opnås en pH-værdi på 8,5.

Reaktionsblandingen ekstraheres med 4 x 1,5 liter metylenklorid hvorpå alkaloidbasen overføres til metylenkloridfasen. Faserne får lov til at skille og de forenede organiske faser vaskes med 3 x 1 liter destilleret vand. Den organiske fase tørres derpå med natriumsulfat og inddampes til tørhed under nedsat tryk. Der vindes 10 g af en beigefarvet-hvid, tør remanens som identificeres som en blanding af rå N-desmetyl-N-formylleurosin og N-desmetylleurosin.

Denne remanens opløses i en blanding af 60 ml koncentreret myresyre og 10 ml eddikesyreanhydrid. Blandingen udhældes i 300 ml vand afkøles til 0 til +5°C og pH-værdien indstilles derefter til 9 ved tilsætning af vandig koncentreret ammoniumhydroxydopløsning med samme temperatur under omrøring. Opløsningen ekstraheres derpå med 3 x 100 ml metylenklorid og de forenede og tørrede metylenkloridekstrakter inddampes til tørhed under nedsat tryk.

Der vindes 9,8 g amorf, rå, hvid N-desmetyl-N-formylleurosin.

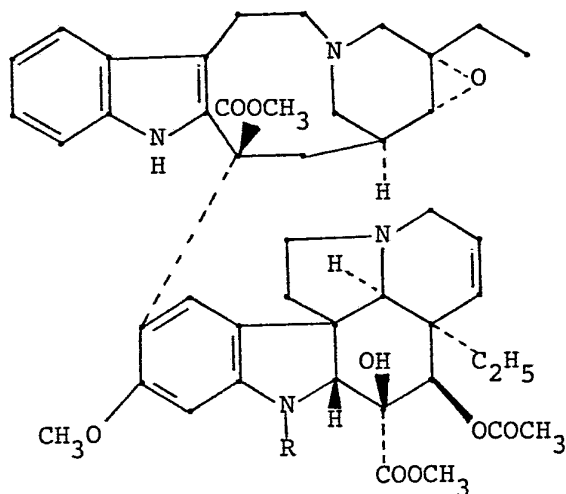
Den rå N-desmetyl-N-formylleurosin renses ved søjlekromatografi på følgende måde: 9,8 g af den rå N-desmetyl-N-formylleurosin opløses i 60 ml benzen og opløsningen føres over en kolonne med en diameter på 45 mm fyldt med 500 g aluminiumoxyd med aktivtetsgraden III. Derefter gennemføres eluering med opløsningsmidelsystemerne vist i følgende tabel.

Sammensætning af elueringsmiddel	Mængde (ml)
Benzen	1200
2:1-blanding af benzen og kloroform	5000
1:1-blanding af benzen og kloroform	3000
Kloroform	800

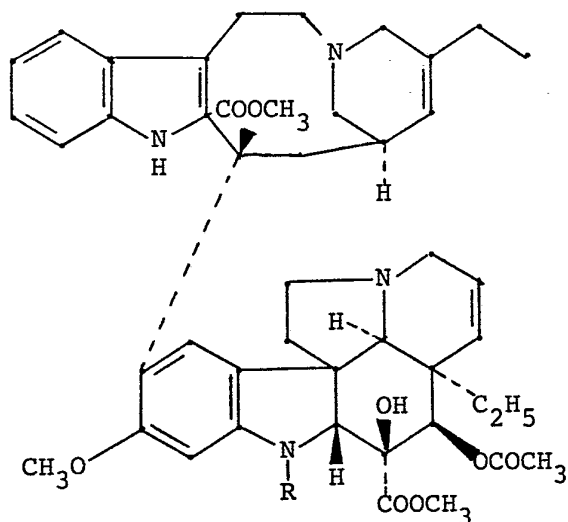
Der opsamledes eluatfraktioner på 400 ml. N-desmetyl-N-formylleurosin indeholdes hovedsagelig i fraktionerne 15-20. De forenede fraktioner indeholdende N-desmetyl-N-formylleurosin inddampes til tørhed under nedsat tryk. Den vundne remanens kan om ønsket omdannes til et svovlsyreadditionssalt på den måde der er beskrevet i eksempel 8. Udbytte: 7,10 g (63,7%) N-desmetyl-N-formylleurosin-monosulfat med smp. 248-252°C.

P a t e n t k r a v

1. Fremgangsmåde til fremstilling af leurosin eller et derivat deraf med formlen



hvor R er et hydrogenatom eller en metylgruppe eller en formylgruppe, eller et syreadditionssalt deraf, k e n d e t e g n e t ved at man eventuelt i nærværelse af en syre epoxyderer en forbindelse med den almene formel



hvor R er et hydrogenatom eller en metylgruppe eller en formylgruppe, med oxygen eller et alkalimetallhypohalogenit i et organisk opløsningsmiddel, eller med et organisk hydroperoxyd i nær-

værelse af en nitrilgruppe- og/eller azogruppeholdig forbindelse, og om ønsket omdanner en vundet forbindelse med den almene formel I, hvori R er et hydrogenatom eller en metylgruppe, til en tilsvarende forbindelse med den almene formel I, hvori R er en formylgruppe, på i og for sig kendt måde, og om ønsket omdanner en forbindelse med den almene formel I til et syreadditionssalt deraf.

2. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved at man anvender kumyl- eller t-butyl-hydroperoxyd som epoxyderingsmiddel.

3. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved at man anvender oxygen fra luften som epoxyderingsmiddel.

4. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved at man gennemfører reaktionen i et opløsningsmiddel af nitril-typen.

5. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved at man udfører epoxyderingen i dimetylformamid.

Fremdragne publikationer:
