

(19) **DANMARK**



(12) **FREMLÆGGELSESSKRIFT** (11) **147182 B**



DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENET

(21) Patentansøgning nr.: 0158/82

(51) Int.Cl.³: **C 07 D 519/04**

(22) Indleveringsdag: 15 jan 1982

(24) Løbedag: 19 maj 1978

(41) Alm. tilgængelig: 15 jan 1982

(44) Fremlagt: 07 maj 1984

(86) International ansøgning nr.: –

(62) Stamansøgning nr.: 2214/78

(30) Prioritet: 20 maj 1977 HU RI 632

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

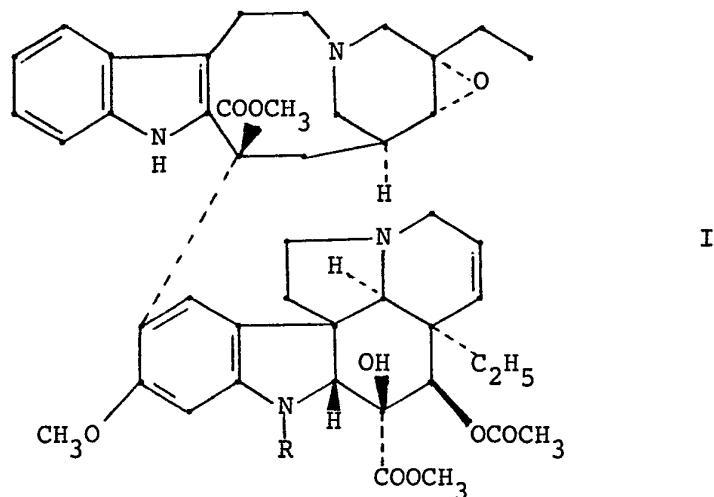
(72) Opfinder: Csaba *Szantay; HU, Lajos *Szabo; HU, Katalin *Honty; HU, Katalin *Nogradi; HU, Karola *Jovanovics; HU, Eszter *Dezseri; HU, Lajos *Dancsi; HU, Csaba *Lorincz; HU, Bela Szarvady *Szarvady; HU, Lajos *Kovacs; HU.

(74) Fuldmægtig: Kontor for Industriel Eneret

(54) **Mellemprodukt til anvendelse ved fremstilling af
N-desmethyl-N-formyl-leurosin eller syread-
ditionssalte deraf**

DK 147182 B

Den foreliggende opfindelse angår et mellemprodukt til anvendelse ved fremstilling af N-desmetyl-N-formyl-leurosin med formelen



hvor $R = \text{CHO}$, eller syreadditionssalte deraf.

Mellemproduktet ifølge opfindelsen er ejendommeligt ved at det er forbindelsen N-desmetyl-N-formyl-3',4'-anhydro-vinblastin eller et syreadditionssalt deraf.

Fremstillingen af N-desmetyl-N-formyl-leurosin eller syreadditionssalte deraf ud fra mellemproduktet ifølge opfindelsen sker ved en hidtil ukendt, særligt fordelagtig fremgangsmåde, som er beskrevet i dansk patentansøgning nr. 2214/78, og som består i, at man epoxyderer mellemproduktet med oxygen eller et alkalimetahypohalogenit i et organisk opløsningsmiddel, eller med et organisk hydroperoxyd i nærværelse af en nitrilgruppe- og/eller azogruppeholdig forbindelse, og om ønsket omdanner den vundne forbindelse til et syreadditionssalt deraf.

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 $R = -\text{CH}_3$) 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 ($R = -\text{H}$) og N-desmetyl-N-formyl-leurosin ($R = \text{formyl}$) er beskrevet i HU-PS nr. 165.986 og i det tilsvarende GB-PS nr. 1.412.932.

De første forsøg på at udføre en total syntese af vinca-

alkaloider 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) fremstilledes de forskellige vincaalkaloider omfattet af den almene formel I, hvori R er en metylgruppe, nemlig leurosine 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 dannelsen 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 alkalimetahypohalogenit, 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 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 epoxy—ringen teoretisk kan dannes i to forskellige konfigurationer, men i praksis opnås 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 omhandlede fremgangsmåde ud fra mellemproduktet ifølge opfindelsen opnås et udbytte på 63%, hvilket er en betydelig økonomisk fordel i betragtning af slutproduktets yderst høje pris.

Hvis der anvendes oxygen, hensigtsmæssigt oxygen fra luften eller et alkalimetallhypohalogenit som epoxyderingsmiddel til at omdanne mellemproduktet ifølge opfindelsen til N-desmetyl-N-formylleurosin eller et syreadditionssalt deraf 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.

Mellemproduktet ifølge opfindelsen kan fremstilles 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, fosforpenta-halogenid eller fosforoxyhalogenid.

Fjernelsen af vand gennemføres i et organisk opløsningsmiddel. Typiske eksempler på egnede opløsningsmidler er fx benzen-homologe, såsom benzen, toluen, xylen; 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.

Det foretrækkes at gennemføre fjernelsen af vand med tionylklorid eller fosforoxyklorid i nærværelse af dimetylformamid. Om ønsket kan det polære kompleks hydrørende 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 en nitrogenatmosfære på -10 til +30°C.

Mellemproduktet kan også fremstilles ved formylering af N-desmetyl-3',4'-anhydrovinblastin.

Opfindelsen belyses nærmere i det følgende ved hjælp af nogle eksempler.

I Fremstilling af mellemproduktet ifølge opfindelsen.Eksempel 1
-----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 ammoniumhydroxydopløsning. 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 CO₂CH₃, OCOCH₃), 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 2
-----N-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 1.

II Anvendelse af mellemproduktet ved fremstilling af de ønskede produkter.

Eksempel 3

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% s kumyl-hydroperoxyd opløst i 1 ml benzonitril tilsættes under omrøring under nitrogenatmosfære. Reaktionsblandingen henstår ved 5-10°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°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 magnesiumsulfat og inddampes under nedsat tryk. Residualen 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 CO₂CH₃, OCOCH₃), 1700 cm^{-1} (ν N-CHO).

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

Massespektrum m/e (%): 822 (M⁺).

Eksempel 4

N-Desmetyl-N-formylleurosin-sulfat

0,1 g N-desmetyl-N-formylleurosin fremstillet ifølge eksempel 3 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 5

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'-azo-bis-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 magniumsulfat, filtreres og filtratet inddampes under nedsat tryk. Remanensen krystalliseres fra 1 ml metanol. Udbytte: 50 mg (49%) af den i overskriften angivne forbindelse.

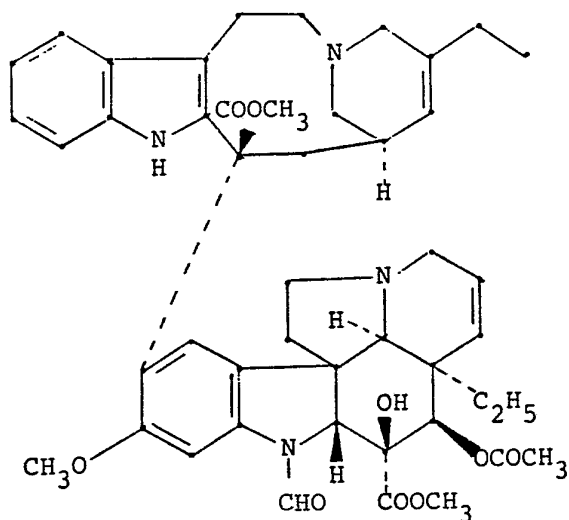
Eksempel 6

N-Desmetyl-N-formylleurosin

Ved at følge den procedure der er beskrevet i eksempel 5 men ved at gennemføre oxydationen i nærværelse af 10 mg vanadinacetylacetonat slutter reaktionen inden for 3 timer og giver 31 mg (30%) af den i overskriften angivne forbindelse.

P a t e n t k r a v

Mellemprodukt til anvendelse ved fremstilling af N-desmetyl-N-formyl-leurosin eller et syreadditionssalt deraf, k e n d e t e g n e t ved at det er forbindelsen N-desmetyl-N-formyl-3',4' -anhydrovinblastin med formlen



eller et syreadditionssalt deraf.

Fremdragne publikationer:
