

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

293 076

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: 1997 - 199

(22) Přihlášeno: 21.07.1995

(30) Právo přednosti:

26.07.1994 IT 1994/MI1592

19.06.1995 IT 1995/RM413

(40) Zveřejněno: 16.07.1997

(Věstník č. 7/1997)

(47) Uděleno: 03.12.2003

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: 18.02.2004

(Věstník č. 2/2004)

(86) PCT číslo: PCT/EP1995/002896

(87) PCT číslo zveřejnění: WO 1996/003394

(13) Druh dokumentu: B6

(51) Int. Cl.⁷:

C 07 D 305/14

A 61 K 31/337

A 61 P 35/00

(73) Majitel patentu:

INDENA S. P. A., Milano, IT;

(72) Původce vynálezu:

Bombardelli Ezio, Milano, IT;

De Bellis Paolo, Milano, IT;

Gabetta Bruno, Milano, IT;

(74) Zástupce:

Korejzová Zdeňka JUDr., Břehová 1, Praha 1, 11000;

(54) Název vynálezu:

**Polosyntetické taxany, způsob jejich výroby,
farmaceutické prostředky s jejich obsahem a
meziprodukty pro jejich výrobu**

(57) Anotace:

Vynález se týká nových derivátů, získaných oxidací a stereospecifickou redukcí 10-deacetylbaicatinu III, po nichž následuje esterifikace různě substituovaným izoserinovým řetězcem k přípravě taxolových analogů. Produkty podle vynálezu mají cytotoxické a protinádorové účinky a pokud jsou vhodně upraveny, mohou být podávány injekčně nebo perorálně.

CZ 293076 B6

Polosyntetické taxany, způsob jejich výroby, farmaceutické prostředky s jejich obsahem a meziprodukty pro jejich výrobu

5 Oblast techniky

Vynález se týká nových derivátů, získaných oxidací a stereospecifickou redukcí 10-deacetyl-baccatinu III a následnou esterifikací různě substituovaným řetězcem izoserinu k přípravě taxolových analogů. Látky podle vynálezu mají cytotoxický a protinádorový účinek.

10

Dosavadní stav techniky

O diterpenech se strukturou taxanů, a zejména taxolu, je známo, že vykazují protinádorové působení vůči mnoha lidským nádorům. Ovšem použití těchto léků (drog) a zvláště taxolu má i některé nevýhody, a to nežádoucí vedlejší účinky. Z tohoto důvodu, a také vzhledem k rychlému indukovaní odolnosti při podobné protinádorové léčbě, je žádoucí vyvinutí nových molekul, které by zmírnily obtíže, pozorované při klinickém použití.

20 WO 93/02067 (Nippon Steel) ze 4. 2. 1993 předkládá například 10-alfa-acetyltaxol, extrahovaný z tkáňové kultury bílkoviny rodu *Taxus*, mající výraznou cytotoxickou aktivitu.

Podstata vynálezu

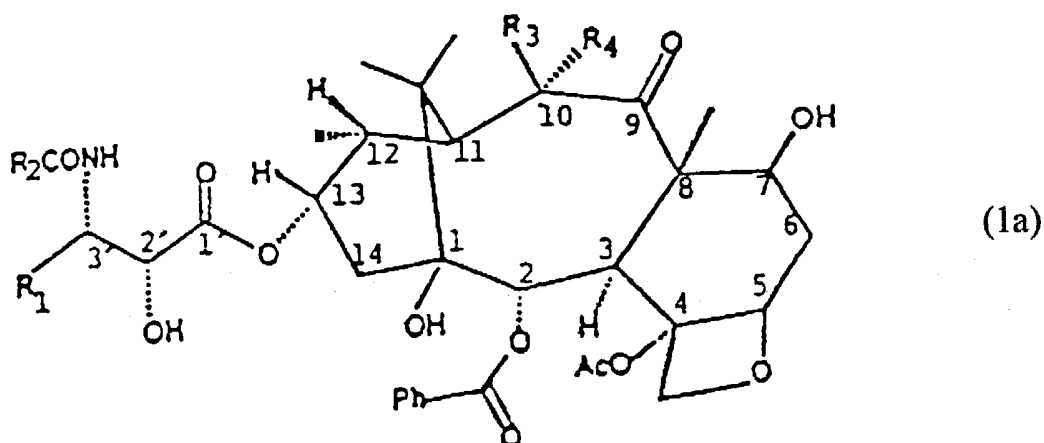
25

Předkládaný vynález se týká nových derivátů s taxanovou kostrou, získaných polosynteticky a vykazujících silný protinádorový účinek.

Deriváty podle vynálezu mohou být rozděleny do dvou skupin:

30

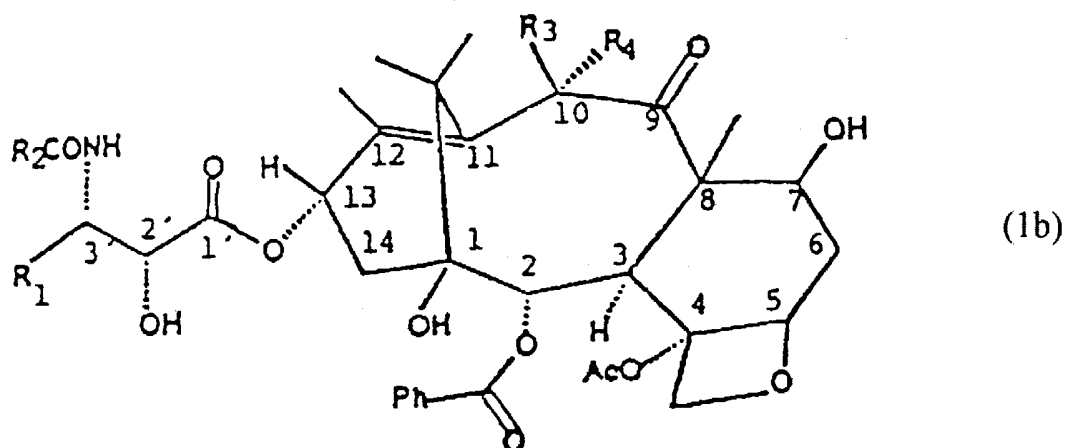
a) Taxanové deriváty, obsahující dvojitou olefinovou vazbu v polohách 11, 12 a hydroxy- nebo acyloxyskupinu v poloze 10 α (taxany o vzorci 1a)



(R₃ = H; R₄ = OH či acyloxyskupina, Ph = fenyl, Ac = acetyl)

35

b) taxanové deriváty, obsahující jednoduchou vazbu mezi uhlíkovými atomy v poloze 11 a 12, methylovou skupinu v poloze 12 v orientaci α , a hydroxy- či acyloxyskupinu, s výhodou acetoxykupinu, poloze β (taxany o vzorci 1b)



(R₃ = OH či acyloxy-, s výhodou pak acetoxyskupina; R₄ = H, Ph = fenyl, Ac = acetyl)

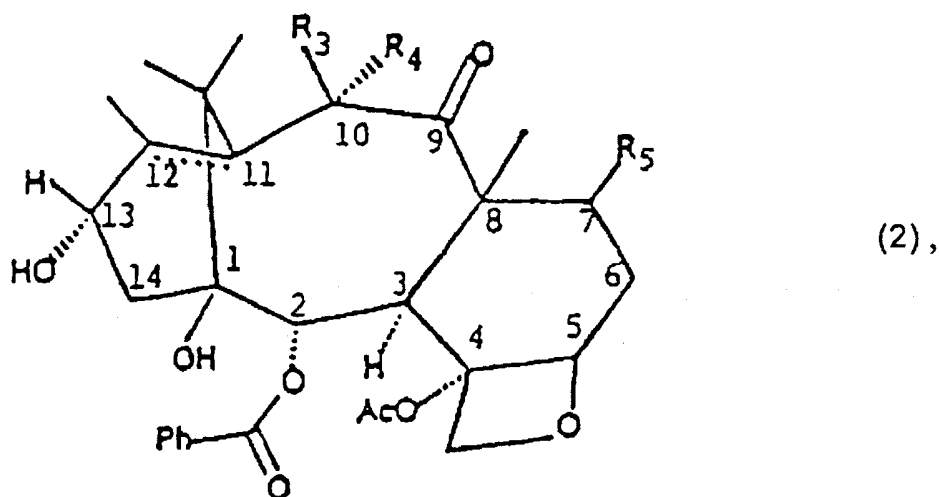
U taxanů obecného vzorce 1a a 1b jsou R₁ a R₂, buď stejné, nebo odlišné, a značí arylovou (s výhodou fenylovou) skupinu. R₂ může být také terciární butoxyskupinou.

U sloučenin o vzorci 1a R₃ je vodík a R₄ je hydroxylová skupina nebo C₂–C₈ acyloxyskupina.

U sloučenin o vzorci 1b je R₃ hydroxylová skupina nebo C₂–C₈ acyloxyskupina, s výhodou acetoxyskupina, a R₄ je vodík.

Taxany o vzorci 1a a 1b jsou vyráběny esterifikací polohy 13 nových syntonů o vzorci 2 za použití vhodně aktivovaných izoserinových řetězců acylačních činidel, a to podle popisu v literatuře pro polosyntézu taxolů a jejich analogů (viz např. EP-A-400971. 1992, Fr. Dem. 86, 10400; E. Didier se spol., Tetrahedron Letters 35, 2349, 1994, E. Didier se spol., Tetrahedron Letters 35, 3063, 1994).

Ve vzorci 2

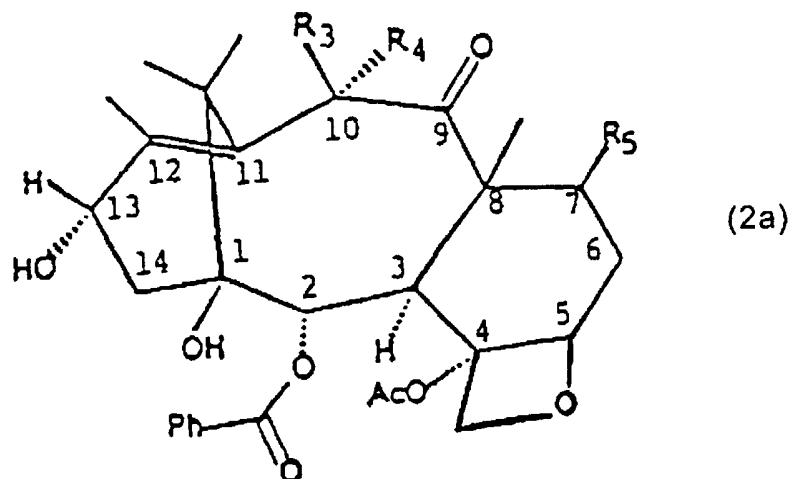


platí

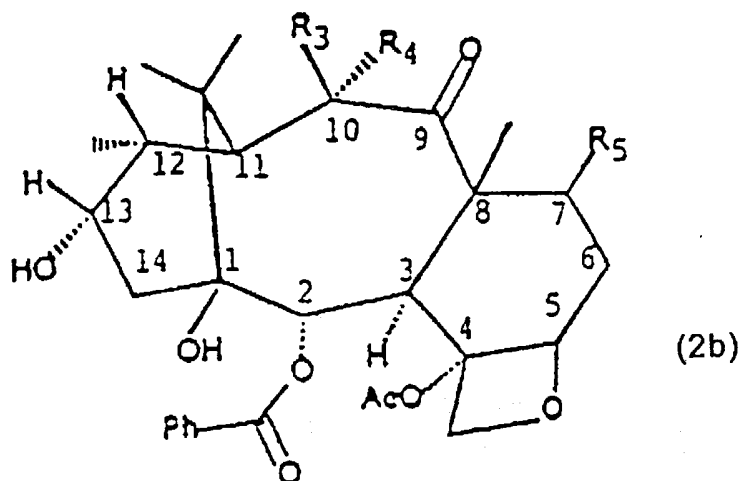
20 pokud je přítomna dvojná olefinová vazba v poloze 11, 12, je R₃ vodíkový atom a R₄ a R₅ jsou hydroxylové skupiny, C₂–C₈ acyloxyskupiny, alkylsilyloxyskupiny nebo 2,2,2-trichlorethoxykarbonyloxyskupiny; a

pokud není přítomna dvojná olefinová vazba v poloze 11, 12, má methyl v poloze 12 orientaci α , R_4 je atom vodíku a R_3 a R_4 jsou hydroxylové skupiny, C_2 – C_8 acyloxyskupiny, alkylsilyloxyskupiny nebo 2,2,2-trichlorethoxykarbonyloxyskupiny.

- 5 Konkrétně syntony o vzorci 2a jsou používány pro syntézu nových taxanů o vzorci 1a. Na druhou stranu, syntony o vzorci 2b jsou používány pro syntézu nových taxanů o vzorci 1b.



- 10 U syntonů 2a je dvojná olefinová vazba přítomna v poloze 11, 12 a C_2 – C_8 acyloxyskupina anebo volitelně chráněná hydroxyskupina jsou přítomné v poloze 10 α . U syntonů 2a je tedy R_3 vodík a R_4 a R_5 jsou hydroxyskupiny, acyloxyskupiny, alkylsilyloxyskupiny (jako triethylsilyloxyskupina, O-TES) nebo 2,2,2-trichlorethoxykarbonyloxyskupiny (O-CO-O-CH₂CCl₃, O-TROC).



- 15 U syntonů 2b jsou uhlíkové atomy v polohách 11 a 12 vázány jednoduchou vazbou, methyl v poloze 12 má orientaci α , a acyloxyskupina nebo volitelně chráněná hydroxyskupina jsou přítomné v poloze 10 α . U syntonů 2b je tedy R_4 vodík a R_3 a R_5 jsou hydroxyskupiny, acyloxyskupiny, alkylsilyloxyskupiny (jako triethylsilyloxyskupina, O-TES) nebo 2,2,2-trichlorethoxykarbonyloxyskupiny (O-CO-O-CH₂CCl₃, O-TROC).

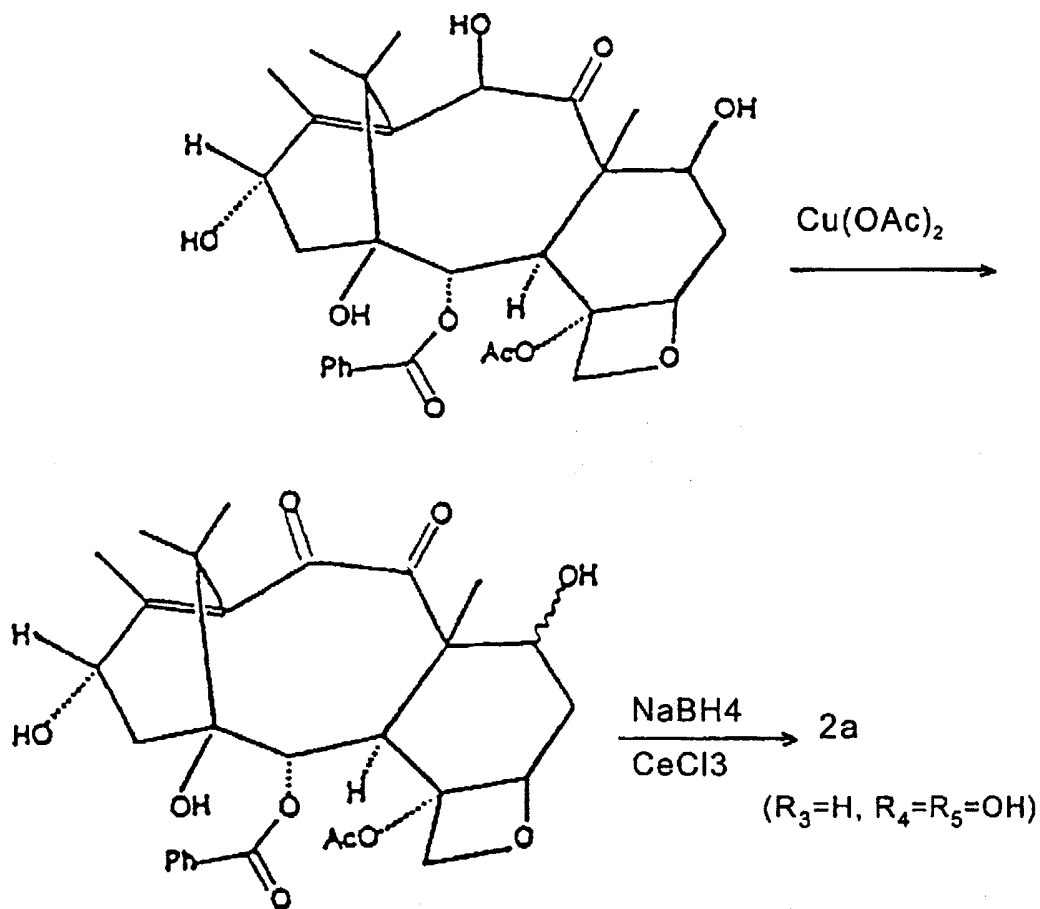
- 20 Po esterifikaci syntonů 2 v poloze 13 izoserinovým řetězcem jsou k získání nových taxanů o vzorci 1 chránicí skupiny odstraněny běžnými metodami, známými z literatury.

10-deacetylbaccatin III 3, který lze izolovat z listů *Taxus Baccata* (G. Chauvière se spol., C.R. Acad. Sc. Ser. III, 293, 591, 1981), je používán jako výhradní výchozí produkt pro výrobu syntonů 2a a 2b.

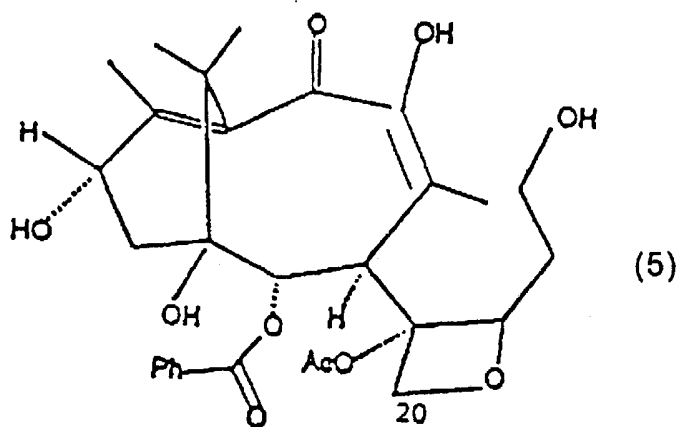
- 5 Syntony o vzorci 2a, které nejsou z literatury známy, jsou získávány (viz Schéma 1) z látky 3 oxidací octanem měďnatým v poloze 10 za vzniku diketonu o vzorci 4 a následnou redukcí borohydridem sodným v přítomnosti ceritých solí.

- 10 Výsledný produkt (2a, $R_3 = H$, $R_4 = R_5 = OH$), který je epimerem v poloze 10 látky 3, je vhodně chráněn v polohách 7 a 10 a použit k syntéze taxanů 1a.

Schéma 1

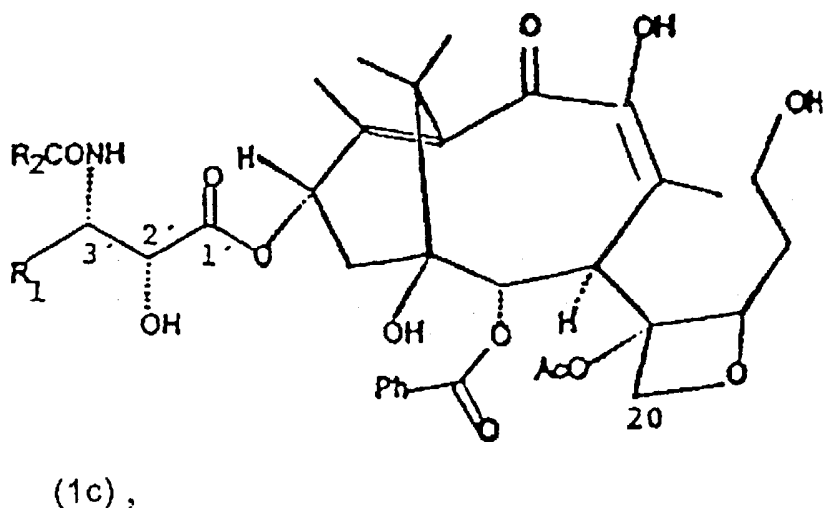


- 15 Jako vedlejší produkt reakčního kroku, znázorněného na schématu 1, je získán nový sekotaxan 5



Sekotaxan 5 může být použit pro syntézu dalších taxanů s možnou protinádorovou aktivitou.

Předkládaný vynález se rovněž týká nových derivátů se sekotaxanovou kostrou, připravovaných polosynteticky a majících silnou protinádorovou aktivitu. takové deriváty mají vzorec 1c



kde:

R_1 a R_2 , stejné nebo odlišné, jsou C_1 – C_{20} alkylové nebo arylové (s výhodou fenylové) skupiny. R_2 může být také terciární butoxyskupina.

Taxany o vzorci 1c jsou připravovány esterifikací sloučeniny 5 v poloze 13, za použití vhodně aktivovaných izoserinových řetězců jako acylačních činidel, jak je popsáno v literatuře, zabývající se polosyntézou taxolu a jeho analogů (viz např. EP-A-400971; E. Didier se spol., Tetrahedron Letters 35, 2349, 1994; E. Didier se spol., Tetrahedron Letters 35, 3063, 1994). Hydroxyskupiny sloučeniny 5 mohou být volitelně chráněny vhodnými chránicími skupinami podle běžných metod.

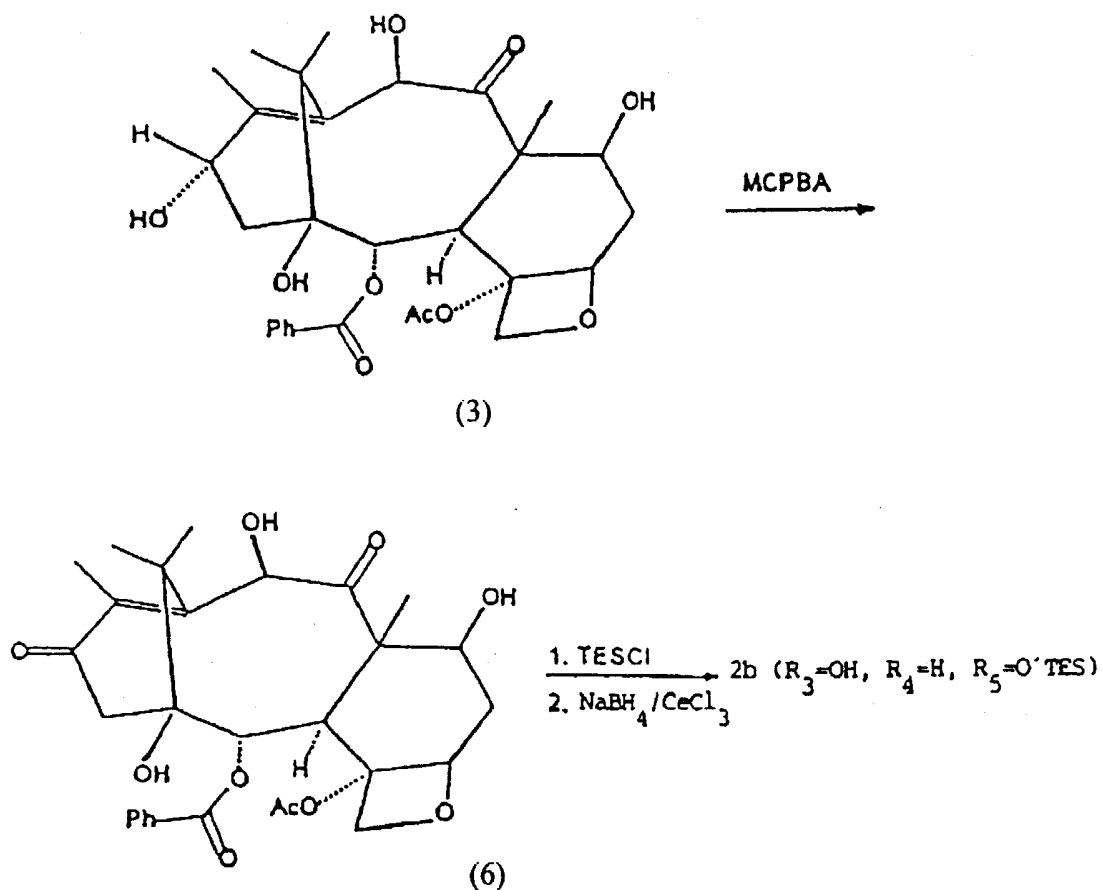
Po esterifikaci sloučeniny 5 v poloze 13 izoserinovým řetězcem jsou k získání sekotaxanů o vzorci 1c chránicí skupiny odstraněny obvyklými postupy, známými z literatury.

Syntony o vzorci 2b, které nejsou z literatury známy, se rovněž získávají z 10-deacetyl-baccatinu III 3, viz schéma 2. Bylo zjištěno, že oxidací látky 3 kyselinou m-chloroperbenzoovou (MCPBA) se získá odpovídající 13-ketoderivát6. Po ochraně hydroxylu v poloze 7 triethylsilylchloridem (TESCI) poskytuje látka6 při redukci borohydridem sodným v přítomnosti ceritých

solí synton 2b ($R_3 = \text{OH}$, $R_4 = \text{H}$, $R_5 = \text{O-TES}$), který může být vhodný pro syntézu taxanů o vzorci (1b). Orientace α methylu v poloze 12 u syntonů 2b byla vyvozena na základě důkladných studií za použití nukleární magnetické resonance.

5

Schéma 2



- Produkty podle tohoto vynálezu byly testovány vzhledem k jejich cytotoxickému působení na různé nádorové buněčné linie a jejich účinek byl srovnáván s taxolem. tabulka 1 ukazuje hodnoty IC_{50} , ve srovnání se stejným údajem pro taxol, sloučenin 13-[(2R,3S)-3-fenyl-2-hydroxy-3-*t*-butoxykarbonylaminopropanoyl]-10-epi-10-deacetylbaecatinu III (1a, $R_1 = \text{Ph}$, $R_2 = \text{tBuO}$, $R_3 = \text{H}$, $R_4 = \text{OH}$), 13-[(2R,3S)-3-fenyl-2-hydroxy-3-*t*-butoxykarbonylaminopropanoyl]-10-deacetyl-11,12-dihydrobaecatinu III (1b, $R_1 = \text{Ph}$, $R_2 = \text{tBuO}$, $R_3 = \text{OH}$, $R_4 = \text{H}$), 13-[(2R,3S)-3-fenyl-2-hydroxy-3-*t*-butoxykarbonylaminopropanoyl]-C-seko-10-deacetylbaecatinu III (1c, $R_1 = \text{Ph}$, $R_2 = \text{tBuO}$) a 13-[(2R,3S)-3-izobutyl-2-hydroxy-3-kaproylaminopropanoyl]-C-seko-10-deacetylbaecatinu (1c, $R_1 = \text{izobutyl}$, $R_2 = \text{pentyl}$).

Tabulka 1: IC₅₀ taxanů 1a (R₁ = Ph, R₂ = tBuO, R₃ = H, R₄ = OH),
1b (R₁ = Ph, R₂ = tBuO, R₃ = OH, R₄ = H),
a taxolu, měřeno u 6 buněčných linií

buněčná linie	dobu expozice (h)	taxol	1a (R ₁ =Ph, R ₂ =tBuO, R ₃ =H, R ₄ =OH)	1b (R ₁ =Ph, R ₂ =tBuO, R ₃ =OH, R ₄ =H)
L1210 (myší leukémie)	48	57,0 ± 3,0	46,0 ± 2,1	32,0 ± 0,1
A121 (lidské ovarium)	72	3,7 ± 0,3	2,8 ± 0,3	1,6 ± 0,2
A549 (lidské NSCLC)	72	5,4 ± 0,5	6,9 ± 0,3	2,1 ± 0,3
HT-29 (lidské střevo)	72	6,0 ± 0,6	3,4 ± 0,1	3,6 ± 0,4
HCF7 (lidský prs)	72	4,3 ± 0,1	2,2 ± 0,2	0,8 ± 0,2
HCF7-ADR (odolné)	72	395,0 ± 8,7	130,0 ± 2,2	128,0 ± 6,2

5

NSCLC = buňky plicního karcinomu, odlišného od „karcinomu malých buněk“ (non-small-cell lung cancer)

Standardní podmínky: substrát RPMI 1640 (suspenní médium pro imunofenotypové druhy buněk firmy Sigma) + 20 mM HEPES (kyselina N-[2-hydroxyethyl]piperazin-N'-[2-ethan-sulfonová]) + 2 mM L-glutamin

10

Tabulka 1: IC₅₀ taxanů 1c (R₁ = Ph, R₂ = tBuO),
1c (R₁ = izobutyl, R₂ = pentyl),
a taxolu, měřeno u 6 buněčných linií

15

buněčná linie	dobu expozice (h)	taxol	1c (R ₁ =Ph, R ₂ =tBuO)	1c (R ₁ =izobutyl, R ₂ =pentyl)
L1210 (myší leukémie)	48	57,0 ± 3,0	35,0 ± 1,2	26,0 ± 1,3
A121 (lidské ovarium)	72	3,7 ± 0,3	1,9 ± 0,2	1,3 ± 0,1
A549 (lidské NSCLC)	72	5,4 ± 0,5	3,3 ± 0,4	2,6 ± 0,3
HT-29 (lidské střevo)	72	6,0 ± 0,6	3,2 ± 0,3	2,7 ± 0,2
HCF7 (lidský prs)	72	4,3 ± 0,1	1,5 ± 0,2	1,1 ± 0,2
HCF7-ADR (odolné)	72	395,0 ± 8,7	31,3 ± 4,2	25,4 ± 3,7

Standardní podmínky: substrát RPMI 1640 + 20 mM HEPES + 2 mM L-glutamin

20 Sloučeniny s různými substituenty v řetězci izoserinu se chovají podobně. Sloučeniny vykazují překvapivé výhody ve srovnání s taxolem v působení na buněčné linie, odolné vůči jiným protinádorově působícím látkám, jako je adriamycin a cis-platina. Rozdíly mezi taxolem a těmito produkty jsou ještě zřejmější u modelů *in vivo*, jako jsou atymické nahé myši s implantovaným lidským tumorem.

25

Sloučeniny podle vynálezu se hodí pro začlenění do vhodných farmaceutických prostředků pro parenterální a perorální podávání. Pro intravenózní podávání se hlavně používají směsi polyethoxylovaného ricínového oleje a ethanolu, nebo liposomální přípravky, připravené s přírodním fosfatidylcholinem, či směsí přírodních fosfolipidů v přítomnosti cholesterolu.

30

Níže uvedené příklady dále dokreslují vynález.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

5

Příprava 10-dehydro-10-deacetyl-baccatinu III 4

10 g 10-deacetyl-baccatinu III 3 bylo suspendováno v 350 ml methanolu, do něhož bylo přidáno 65 g $\text{Cu}(\text{OAc})_2$. Suspenze byla nepřetržitě míchána 120 hodin při laboratorní teplotě. Sole byly odfiltrovány a roztok byl chromatografován na 100 g silikagelu za eluce směsí hexanu a ethylacetátu (6:4). Krystalizací z ligroinu bylo získáno 9,5 g látky (4), M^+ při m/z 542.

10

Příklad 2

15

Příprava 10-deacetyl-10-epibaccatinu III (2a, $\text{R}_3 = \text{H}$, $\text{R}_4 = \text{R}_5 = \text{OH}$) a C-seko-10-deacetyl-baccatinu III 5

Roztok 300 mg látky (4) v 5 ml methanolu byl doplněn jedním ekvivalentem $\text{CeCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, míchán 5 minut při laboratorní teplotě a poté doplněn 80 mg NaBH_4 . Roztok byl ovlivněn roztokem NH_4Cl , extrahován ethylacetátem a chromatografován na silikagelu za eluce směsí hexanu a ethylacetátu (3:7). Získáno bylo 98 mg látky 2a (M^+ při m/z 544) a 120 mg látky 5 (M^+ při m/z 546).

20

25 10-deacetyl-10-epibaccatin III měl následující ^1H -NMR spektrum (CDCl_3): H_2 , d 5,68 J 6,8; H_3 , d 4,26 J 6,8; H_5 , d 5,03 J 7,1; $\text{H}_7/13$, m 4,76; H_{10} , br s 5,20; 10 OH, Br s 3,44; H_{16} , s 1,14; H_{17} , s 1,68; H_{18} , s 2,22; H_{19} , s 1,13; H_{20a} , d 4,33; H_{20b} , d 4,18; Ac, s 2,31; Bnz, br 8,12 J 8, br t 7,60 J 8, br t 17,49 J 8.

30

Příklad 3

Příprava 10-deacetyl-13-dehydrobaccatinu III 6

35 K suspenzi 1 g 10-deacetyl-baccatinu III 3 ve 100 ml CH_2Cl_2 byly přidány 3 g kyseliny meta-chlorperbanzoové a 1 g acetátu sodného. Suspenze byla nepřetržitě míchána 120 hodin při laboratorní teplotě a pak byla naředěna roztokem uhličitany sodného. Organická fáze byla promyta 5% vodným roztokem uhličitany sodného a vysušena do sucha. Zbytek byl vyčištěn na silikagelu za eluce směsí hexanu a ethylacetátu (3:7). Získáno bylo 789 mg látky 6, M^+ při m/z 542.

40

Příklad 4

45 Příprava 10-deacetyl-11,12-dihydro-7-triethylsilyl-baccatinu III (2b, $\text{R}_3 = \text{OH}$, $\text{R}_4 = \text{H}$, $\text{R}_5 = \text{O-TES}$)

1,6 látky 6 bylo rozpuštěno v methylenchloridu a doplněno 370 mg 4-dimethylaminopyridinu a 2,5 ml triethylsilylchloridu. Po 2 hodinách při laboratorní teplotě byla reakční směs naředěna methylenchloridem a promyta vodou. Organická fáze byla zahuštěna do sucha. Získalo se tak 1,72 g zbytku, který byl spojen se 150 ml 95% ethanolu a ovlivněn působením 9 g NaBH_4 . Po 3 hodinách byla směs naředěna roztokem NH_4Cl a produkt byl extrahován ethylacetátem. Následnou chromatografií na silikagelu za použití směsí hexanu a ethylacetátu (7:3) bylo získáno 800 g látky 2b ($\text{R}_3 = \text{OH}$, $\text{R}_4 = \text{H}$, $\text{R}_5 = \text{O-TES}$).

55

Příklad 5

Příprava 11,12-dihydro-7-TES-baccatinu III (2b, $R_3 = \text{OH}$, $R_4 = \text{H}$, $R_5 = \text{O-TES}$) a 11,12-dihydrobaccatinu III (2b, $R_3 = \text{OH}$, $R_4 = \text{H}$, $R_5 = \text{O-TES}$)

500 mg 10-deacetyl-11,12-dihydro-7-triethylsilylbaccatinu III (2b, $R_3 = \text{OH}$, $R_4 = \text{H}$, $R_5 = \text{O-TES}$) bylo ponecháno reagovat v bezvodém pyridinu se 3ekvivalenty acetylchloridu po dobu 6 hodin při teplotě 0 °C. Reakční směs byla zředěna vodou a extrahována methylenchloridem. Po odpaření rozpouštědla byl zbytek krystalizován ze směsi acetonu a hexanu. Získalo se tak 510 mg 11,12-dihydro-7-TES-baccatinu III, M^+ při m/z 702 III (TES= triethylsilyl). Produkt byl rozpuštěn v methanolu a upravován zředěnou HCl až do úplné desilylace. Reakční směs byla zředěna vodou, extrahována ethylacetátem a krystalizována z vodného methanolu. Získalo se tak 400 mg 11,12-dihydrobaccatinu III, M^+ při m/z 588.

Příklad 6

Příprava 13-[(2R,2S)-3-fenyl-2-hydroxy-3-*t*-butoxykarbonylaminopropanol]-11,12-dihydrobaccatinu III (1b, $R_1 = \text{Ph}$, $R_2 = \text{terciární butoxyskupina}$, tj. $t\text{-BuO}$, $R_3 = \text{OAc}$, $R_4 = \text{H}$)

500 mg 11,12-dihydrobaccatinu III (2b, $R_3 = \text{OAc}$, $R_4 = \text{H}$, $R_5 = \text{O-TES}$) bylo rozpuštěno ve 20 ml toluenu spolu s 0,45 g (4S,5R)-N-*t*-butoxykarbonyl-2,2-dimethylfenyl-5-oxozolidin-karboxylové kyseliny, dicyklohexylkarbodiimidem (1,03 ekviv.) a N,N-dimethylamido-pyridinem (0,2 ekviv.) 2 hodiny při 80 °C. Reakční směs byla promývána vodou až do odstranění přebytku reagentů a poté zahuštěna do sucha. Zbytek byl upraven působením methanolu, obsahujícího 1% kyselinu mravenčí, po dobu 4 hodin při laboratorní teplotě. Methanolvý roztok byl naředěn vodou, neutralizován a extrahován ethylacetátem. Organická fáze byla zahuštěna do sucha a zbytek byl upraven roztokem, obsahujícím 1,5 ekvivalent uhličitánu di-*t*-butylnatého a kyselého uhličitánu sodného v 15 ml tetrahydrofuranu. Reakční směs byla naředěna vodou, extrahována ethylacetátem a heteroacetátová fáze byla zahuštěna do sucha. Zbytek byl k dokončení desilylace rozpuštěn v methanolu, okyseleném kyselinou chlorovodíkovou. Pak byl roztok naředěn vodou a extrahován ethylacetátem. Zbytek, získaný odpařením fáze heteroacetátu, byl chromatografován na silikagelu za eluce směsí acetonu a hexanu (1:1) k odstranění reakčních nečistot. Získalo se tak 580 mg produktu o M^+ při m/z 851.

Příklad 7

Příprava 13-[(2R,2S)-3-benzoylamino-3-fenyl-2-hydroxypropanoyl]-11,12-dihydrobaccatinu III (1b, $R_1 = R_2 = \text{Ph}$, $R_3 = \text{OAc}$, $R_4 = \text{H}$)

500 mg 11,12-dihydro-7-TES-baccatinu III (2b, $R_3 = \text{OAc}$, $R_4 = \text{H}$, $R_5 = \text{O-TES}$) bylo rozpuštěno ve 20 ml toluenu spolu s 1,5 g (4S,5R)-N-benzoyl-2,2-dimethyl-4-fenyl-5-oxazolidinkarboxylové kyseliny, s dicyklohexylkarbodiimidem (1,03 ekviv.) a N,N-dimethylamido-pyridinem (0,2 ekviv.) 2 hodiny při 80 °C. Reakční směs byla promývána vodou až do odstranění přebytku reagujících látek a poté zahuštěna do sucha. Zbytek byl upraven působením methanolu, obsahujícího 1% kyselinu mravenčí, po 4 hodiny při laboratorní teplotě. Methanolvý roztok byl naředěn vodou, neutralizován a extrahován ethylacetátem. Organická fáze byla zahuštěna do sucha a zbytek byl spojen s methanolem, okyseleným kyselinou chlorovodíkovou, k dokončení desilylace. Poté byl roztok naředěn vodou a extrahován ethylacetátem. Zbytek získaný odpařením a fáze heteroacetátu byly chromatografovány na silikagelu za eluce směsí acetonu a hexanu (1:1) k odstranění reakčních nečistot. Získalo se tak 530 mg produktu, M^+ při m/z 855.

Příklad 8

Příprava 13-[(2R,2S)-3-fenyl-2-hydroxy-3-*t*-butoxykarbonylaminopropanoyl]-10-epi-10-deacetylbaecatinu III (1a, R₁ = Ph, R₂ = *t*-BuO, R₃ = H, R₄ = OH)

500 mg 10-deacetyl-10-epibaecatinu III (2a, R₃ = H, R₄ = OH) bylo rozpuštěno v 15 ml bezvodého pyridinu, upraveno působením 3 ekvivalentů trichlorethoxykarbonylchloridu (TROC-Cl) po dobu 5 minut při 80 °C a poté ochlazeno na laboratorní teplotu. K rozpadu nadbytku látky TROC-Cl byl přidán 1 ml methanolu. Roztok byl naředěn ledovou vodou a extrahován chloroformem za promytí organické fáze zředěným roztokem kyseliny chlorovodíkové. Organická fáze byla odpařena do sucha a na zbytek bylo při laboratorní teplotě působeno 24 hodin roztokem toluenu, obsahujícího 3 ekvivalenty (4S,5R)-N-*t*-butoxykarbonyl-2,2-dimethyl-4-fenyl-5-oxazolidinkarboxylové kyseliny, 3 ekvivalenty dicyklohexylkarbodiimidu a 0,2 ekvivalentu N,N-dimethylaminopyridinu. Reakční směs byla promyta vodou a organická fáze byla ve vakuu odpařena do sucha. Zbytek byl převeden do methanolu a upraven působením 1 ekvivalent kyseliny *p*-toluensulfonové po dobu 48 hodin, poté byl naředěn vodou a extrahován ethylacetátem. Organická fáze byla odpařena ve vakuu, zbytek byl převeden do 200 ml směsi kyseliny octové a ethylacetátu (1:1) a 3 hodiny byl vystaven působení 11 ekvivalent práškového zinku při teplotě 30 °C. Pevný materiál byl odfiltrován a roztok byl naředěn vodou, extrahován ethylacetátem a chromatografován na silikagelu za eluce směsí ethylacetátu a hexanu (1:4). Získalo se tak 512 mg produktu (1a), M⁺ při m/z 807.

25 Příklad 9

Příprava 7,9-di-triethylsilyl-C-seko-10-deacetylbaecatinu III

Roztok látky 5 (200 mg, 0,37 mmol) v bezvodém dimethylformamidu (DMF, 5 ml) byl přidán k imidazolu (75 mg, 1,11 mmol, 3 ekv. mol.) a triethylsilylchloridu (TES, 186 ml, 1,11 mmol, 3 ekv. mol.) a reakční směs byla míchána 10 minut při laboratorní teplotě. Reakce byla ověřována pomocí tenkovrstevné chromatografie (TLC) ve směsi hexanu a ethylacetátu (3:7). R_f výchozí látky bylo 0,10; R_f produktu 0,80. Reakce pak byla zastavena přidávkem vody a Celitu®, a sraženina byla zfiltrována a promyta vodou k odstranění DMF a poté CHCl₃ k vydělení produktu. Po vyčištění kolonovou chromatografií (za použití směsi hexanu a ethylacetátu 9:1 k eluci silanolu a poté směsi hexanu a ethylacetátu 6:4 k eluci produktu) bylo získáno 146 mg v nadpisu uvedeného produktu (51%).

40 Příklad 10

Příprava 13-[(2R,3S)-3-fenyl-2-hydroxy-3-*t*-butoxykarbonylaminopropanoyl]-C-seko-10-deacetylbaecatinu III (1c, R₁ = Ph, R₂ = *t*-BuO)

45 Roztok produktu, získaného v Příkladu 9 (126 mg, 0,16 mmol) v bezvodém toluenu (5 ml), byl doplněn 67,5 mg dicyklohexylkarbodiimidu (0,327 mmol, 2 mol. ekv.), 105 mg (4S,5R)-N-Boc-2-(2,4-dimethoxyfenyl)-4-fenyl-5-oxazolidinkarboxylové kyseliny (0,327 mmol, 2 mol. ekv.) a 5 mg 4-dimethylaminopyridinu. Směs byla zahřívána 24 hodin na 60 °C a zředěna nasyceným vodným roztokem NaHCO₃ a ethylacetátu. Zbytek byl vyčištěn kolonovou chromatografií (hexan/ethylacetát, 8:2) za vzniku 175 mg 13-esteru (95 %). Zbytek byl převeden do 50 ml směsi methanol/HCl (0,01%) a reakční směs byla ponechána 1 hodinu při laboratorní teplotě. Roztok byl alkalizován na pH 5 a ve vakuu zahuštěn do sucha. Vzniklý zbytek byl chromatografován na koloně silikagelu za eluce směsí methylenchloridu a methanolu (98:2). Po krystalizaci z ethylacetátu bylo získáno 85 mg v nadpisu uvedené sloučeniny.

55

Příklad 11

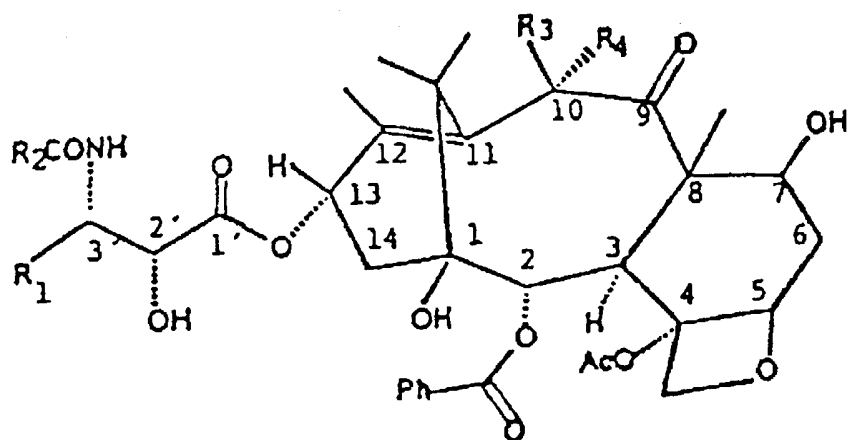
Příprava 13-[(2R,3S)-3-izobutyl-2-hydroxy-3-kaproylaminopropanoyl]-C-seko-10-deacetyl-
 5 baccatinu III (1c, R₁ = Ph, R₂ = pentyl)

Roztok produktu, získaného v Příkladu 9 (126 mg, 0,16 mmol), v bezvodém toluenu (5 ml) byl
 přidán k 67,5 mg dicyklohexylkarbodiimidu (0,327 mmol, 2 mol. ekv.), 140 mg kyseliny
 10 (4S,5R)-N-kaproyl-2-(2,4-dimethoxyfenyl)-4-izobutyl-5-oxazolidinkarboxylové
 (0,327 mmol, 2 mol. ekv.) a 5 mg 4-dimethylaminopyridinu. Směs byla zahřívána 24 hodin na
 60 °C a zředěna nasyceným vodným roztokem NaHCO₃ a ethylacetátu. Vzniklý zbytek byl
 vyčištěn kolonovou chromatografií (hexan/ethylacetát, 8:2) za vzniku 175 mg 13-esteru (95 %).
 Zbytek byl převeden do 50 ml směsi methanol/HCl (0,01 %) a reakční směs byla ponechána
 15 1 hodinu při laboratorní teplotě. Roztok byl alkalizován na pH 5 a ve vakuu zahuštěn do sucha.
 Vzniklý zbytek byl chromatografován na koloně silikagelu za eluce směsí methylenchloridu
 a methanolu (98:2). Po krystalizaci z ethylacetátu bylo získáno 88 mg v nadpisu uvedené
 sloučeniny.

20

PATENTOVÉ NÁROKY

25 1. Polosyntetický taxan se systematickým názvem 13-[(2R,3S)-3-fenyl-2-hydroxy-3-*tert*-
 butoxykarbonylaminopropanoyl]-10-epi-10-deacetylbaccatin III obecného vzorce 1a

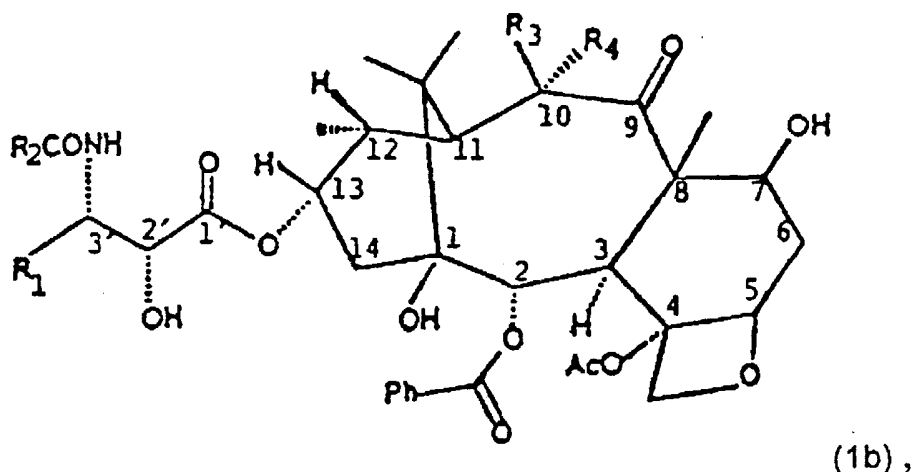


(1a),

kde

30 R₁ je fenyl, R₂ je terciární butoxyskupina, R₃ je atom vodíku a R₄ je hydroxyskupina; Ph = fenyl,
 Ac = acetyl.

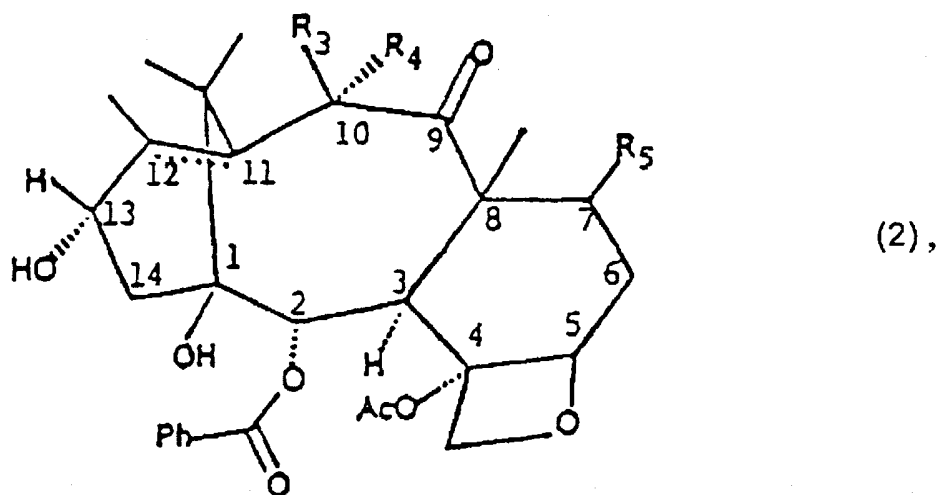
2. Polosyntetický taxan se systematickým názvem 13-[(2R,3S)-3-fenyl-2-hydroxy-3-*tert*-
 35 butoxykarbonylaminopropanoyl]-11,12-dihydrobaccatin III obecného vzorce 1b



kde

- 5 R_1 je fenyl, R_2 je terciární butoxyskupina, R_3 je acetoxyskupina a R_4 je atom vodíku; Ph = fenyl, Ac = acetyl.

- 10 3. Způsob výroby polosyntetických taxanů 13-[(2R,3S)-3-fenyl-2-hydroxy-3-*tert*-butoxy-karbonylaminopropanoyl]-10-*epi*-10-deacetyl-11,12-dihydrobaccatinu III, obecného vzorce 1a podle nároku 1 a 13-[(2R,3S)-3-fenyl-2-karboxy-3-*tert*-butoxykarbonylaminopropanoyl]-11,12-dihydrobaccatinu III, obecného vzorce 1b podle nároku 2, vyznačující se tím, že syntony obecného vzorce 2

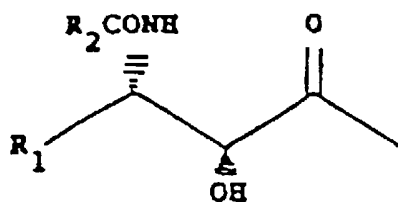


kde

- 15 pokud je přítomna dvojná olefinová vazba v poloze 11,12, R_3 je vodíkový atom a R_4 a R_5 jsou hydroxylové skupiny, C_2-C_8 acyloxyskupiny, alkylsilyloxyskupiny nebo 2,2,2-trichlorethoxykarbonyloxyskupiny; a

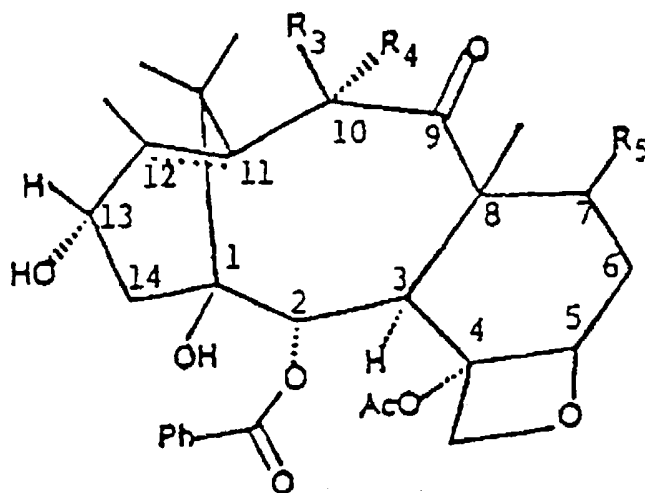
- 20 pokud není přítomna dvojná olefinová vazba v poloze 11, 12, má methyl v poloze 12 orientaci α , R_4 je atom vodíku a R_3 a R_5 jsou hydroxylové skupiny, C_2-C_8 acyloxyskupiny, alkylsilyloxyskupiny nebo 2,2,2-trichlorethoxykarbonyloxyskupiny; přičemž Ph fenyl a Ac = acetyl;

se podrobí příslušné esterifikaci reakcí s vhodně aktivovanými a/nebo chráněnými izoserinovými deriváty k zavedení acylové skupiny



kde R_1 a R_2 mají stejný význam jako v nároku 1 či 2, do polohy 13, a chránicí skupiny se následně odstraní podle známých postupů.

5 4. Sloučenina obecného vzorce 2



(2),

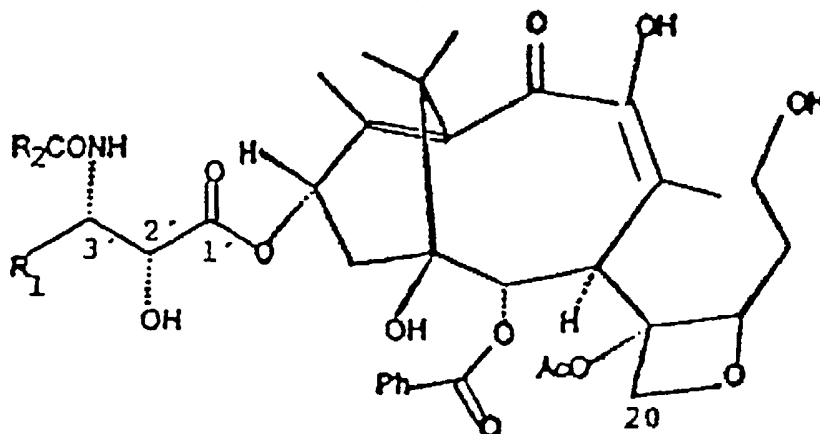
kde:

10 pokud je přítomna dvojná olefinová vazba v poloze 11,12, R_3 je vodíkový atom a R_4 a R_5 jsou hydroxylové skupiny, C_2-C_8 acyloxyskupiny, alkylsilyloxyskupiny nebo 2,2,2-trichlorethoxykarbonyloxyskupiny; a

15 pokud není přítomna dvojná olefinová vazba v poloze 11,12, má methyl v poloze 12 orientaci α , R_4 je atom vodíku a R_3 a R_5 jsou hydroxylové skupiny, C_2-C_8 acyloxyskupiny, alkylsilyloxyskupiny nebo 2,2,2-trichlorethoxykarbonyloxyskupiny; přičemž Ph = fenyl a Ac = acetyl;

jako meziprodukt pro přípravu sloučeniny podle nároku 1 obecného vzorce 1a či nároku 2 obecného vzorce 1b.

20 5. Polosyntetické taxany obecného vzorce 1c



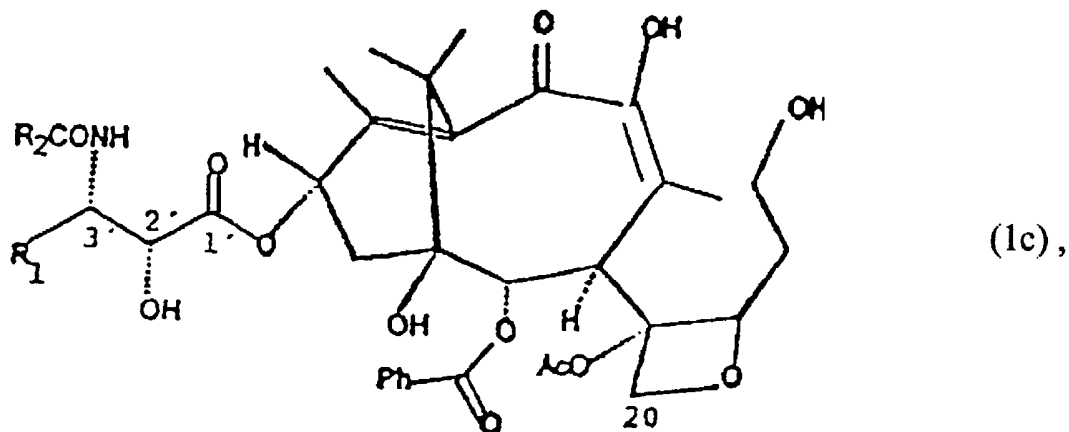
(1c),

kde

R_1 a R_2 , které mohou být stejné nebo odlišné, jsou C_1 – C_{20} alkylové nebo arylové skupiny a R_2 může být také terciární butoxyskupina; Ph = fenyl a Ac = acetyl.

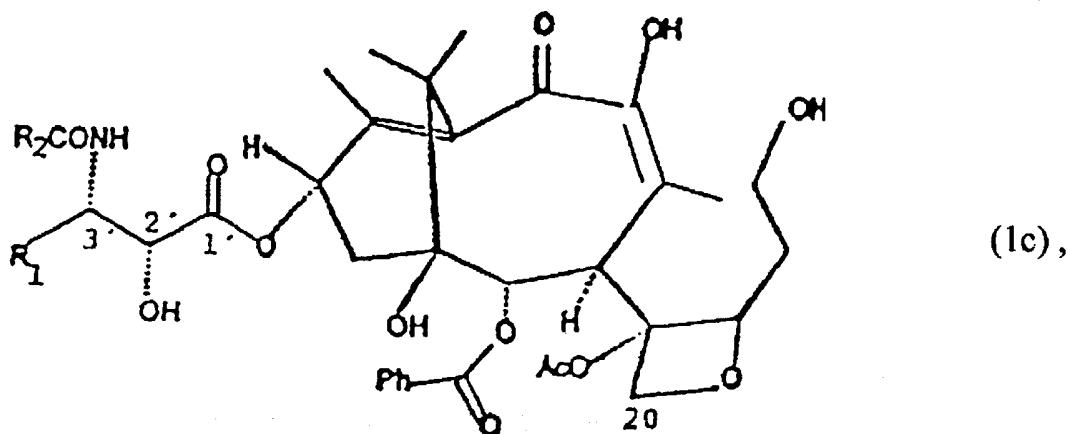
5

6. Polosyntetický taxan podle nároku 5 se systematickým názvem 13-[(2R,3S)-3-fenyl-2-hydroxy-3-*tert*-butoxykarbonylaminopropanoyl]-C-seko-10-deacetylbaecatin III, obecného vzorce 1c



10 ve kterém R_1 je fenyl a R_2 je terciární butoxyskupina; Ph = fenyl a Ac = acetyl.

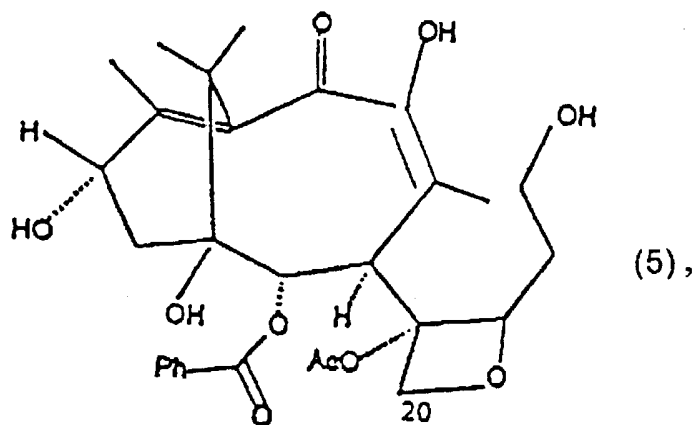
7. Polosyntetický taxan podle nároku 5 se systematickým názvem 13-[(2R,3S)-3-izobutyl-2-hydroxy-3-kaproylaminopropanoyl]-C-seko-10-deacetylbaecatin III obecného vzorce 1c



15 ve kterém R_1 je izobutyl a R_2 je pentyl; Ph = fenyl a Ac = acetyl.

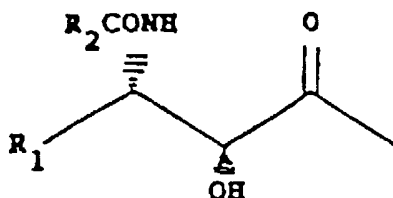
8. Způsob výroby polosyntetických taxanů 13-[(2R,3S)-3-fenyl-2-hydroxy-3-*tert*-butoxykarbonylaminopropanoyl]-C-seko-10-deacetylbaecatinu III obecného vzorce 1c podle nároku 6 a 13-[(2R,3S)-3-izobutyl-2-hydroxy-3-kaproylaminopropanoyl]-C-seko-10-deacetylbaecatinu III obecného vzorce 1c podle nároku 7, vyznačující se tím, že sloučenina obecného vzorce 5

20



kde Ph = fenyl a Ac = acetyl,

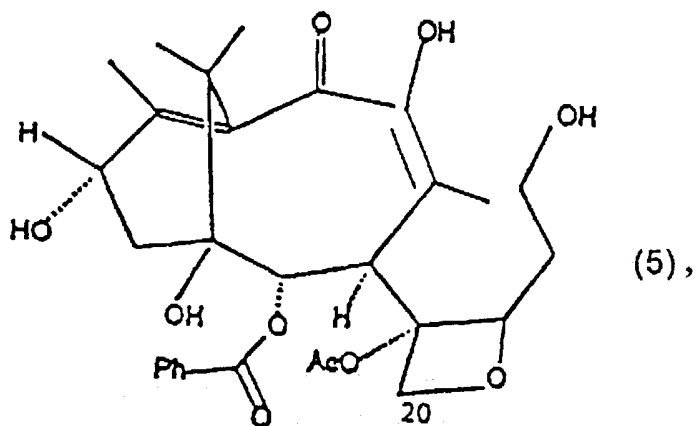
se podrobí příslušné esterifikaci reakcí s deriváty, vhodně aktivovanými a/nebo chráněnými v místě izoserinového řetězce, k zavedení acylové skupiny



5

kde R_1 a R_2 mají stejný význam jako v nároku 5, do polohy 13, a chránicí skupiny se následně odstraní podle známých postupů.

9. Sloučenina obecného vzorce 5



10

kde Ph = fenyl a Ac = acetyl,

jako meziprodukt pro přípravu sloučenin obecného vzorce 1c podle nároku 5.

15 **10.** Farmaceutické prostředky, vyznačující se tím, že obsahují taxany podle nároků 1 a 2 a 5 až 7.

11. Farmaceutické prostředky podle nároku 10, mající protinádorový účinek.

20 **12.** Použití taxanů podle nároků 1 a 2 a 5 až 7 k výrobě léčiv, vhodných pro léčení rakoviny.

13. Použití taxanů podle nároku 5 vzorce 1c, kde R_2 je alkylová skupina, k výrobě léčiv, vhodných pro léčení rakoviny u kardiopatických pacientů.

5

Konec dokumentu
