

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4367829号  
(P4367829)

(45) 発行日 平成21年11月18日(2009.11.18)

(24) 登録日 平成21年9月4日(2009.9.4)

(51) Int.Cl. F I  
**C O 7 D 305/14 (2006.01)** C O 7 D 305/14  
**A 6 1 K 31/337 (2006.01)** A 6 1 K 31/337  
**A 6 1 P 35/00 (2006.01)** A 6 1 P 35/00

請求項の数 1 (全 6 頁)

|              |                               |           |                                        |
|--------------|-------------------------------|-----------|----------------------------------------|
| (21) 出願番号    | 特願2003-29438 (P2003-29438)    | (73) 特許権者 | 591156825                              |
| (22) 出願日     | 平成15年2月6日(2003.2.6)           |           | アベンテイス・ファルマ・ソシエテ・アノ<br>ニム              |
| (62) 分割の表示   | 特願平6-520721の分割                |           | Aventis Pharma S. A.                   |
| 原出願日         | 平成6年3月18日(1994.3.18)          |           | フランス・エフ92160アントニイ・ア<br>ベニューレイモンドアロン20  |
| (65) 公開番号    | 特開2003-201287 (P2003-201287A) | (74) 代理人  | 110000741                              |
| (43) 公開日     | 平成15年7月18日(2003.7.18)         |           | 特許業務法人小田島特許事務所                         |
| 審査請求日        | 平成15年2月6日(2003.2.6)           | (72) 発明者  | アンドレ・デュラン                              |
| 審査番号         | 不服2007-12618 (P2007-12618/J1) |           | フランス国エフ-91700サントジュヌ<br>ビエブデボワ・リュデビネイ30 |
| 審査請求日        | 平成19年5月1日(2007.5.1)           | (72) 発明者  | アラン・ジェルボー                              |
| (31) 優先権主張番号 | 93/03251                      |           | フランス国エフ-91200アティモン・<br>リュドラゲーテ40       |
| (32) 優先日     | 平成5年3月22日(1993.3.22)          |           |                                        |
| (33) 優先権主張国  | フランス (FR)                     |           |                                        |

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 タキソテレ三水和物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

4 - アセトキシ - 2  $\alpha$  - ベンゾイルオキシ - 5  $\beta$  , 20 - エポキシ - 1  $\beta$  , 7  $\beta$  , 10  $\beta$   
 - トリヒドロキシ - 9 - オキシ - 11 - タキセン - 13  $\alpha$  - イル ( 2 R , 3 S ) - 3 - t  
 - ブトキシカルボニルアミノ - 3 - フェニル - 2 - ヒドロキシプロピオネート三水和物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は遠心分配クロマトグラフィー ( centrifugal partition chromatography ) によるタキソイドの精製法に関する。

【0002】

さらに特定的には、本発明はタキソテレ ( Taxotere ) 及び10 - デアセチルバッカチンIIIの精製法に関する。

【0003】

【従来の技術及び課題】

いちいの葉から抽出される10 - デアセチルバッカチンIIIは、例えばヨーロッパ特許EP 0 , 253 , 738又はEP 0 , 336 , 841、あるいは国際特許PCT WO 92 / 09 , 589に記載されているような条件下におけるタキソテレの製造に有用である。

【0004】

いちいの葉の抽出により得られる 10 - デアセチルバッカチン III は、それが由来する種に依存して不純物を含み、それは主に、例えば、2 $\alpha$  - ベンゾイルオキシ - 4 - アセトキシ - 5 $\beta$  , 20 - エポキシ - 1 $\beta$  , 7 $\beta$  , 10 $\beta$  , 13 $\alpha$  , 19 - ペンタヒドロキシ - 9 - オキソ - 11 - タキセン、2 $\alpha$  - ベンゾイルオキシ - 4 - アセトキシ - 5 $\beta$  , 20 - エポキシ - 1 $\beta$  , 7 $\alpha$  , 10 $\beta$  , 13 $\alpha$  - テトラヒドロキシ - 11 - タキセン又はタキシン類などのタキソイド群に属する生成物である。

【0005】

10 - デアセチルバッカチン III から部分的合成により得られるタキソテレは、主な不純物として、10 - デアセチルバッカチン III に含まれる不純物のエステル化生成物、ならびに例えば側鎖の 2' 位における炭素のエピマー化に由来する他の不純物を含む。

10

【0006】

10 - デアセチルバッカチン III 及びタキソテレ自身は、一般に、カラム上の液体クロマトグラフィー法により、さらに特定のには、シリカカラム上の高性能液体クロマトグラフィー (HPLC) により精製することができる。しかし、これらの方法は数十グラムの精製には特に適しているが、それらを工業的に外挿すると、消費される溶媒の量及び毒性残留物により汚染された (シリカ) 担体の取り扱い及び破壊などの圧迫に会い、それは最大となる。

【0007】

毒性が非常に高い場合が多く、反応性が高い生成物を構成するタキソイド類の場合、優れた生産性を有し、購入、使用及び破壊が高価な固体担体を必要とせず、少量の溶媒の使用を必要とし、容易に自動化して連続的生産を可能にすることができる精製法の使用の可能性を有することが特に重要である。

20

【0008】

【課題を解決するための手段】

今回、その原理が、例えば、A. Foucault and P. Rosset, *Analusis*, 16 (3), 157 - 167 (1988) に記載されている遠心分配クロマトグラフィー (CPC) 又は高速向流クロマトグラフィーを行うことによりタキソイド類の精製、さらに特定のにはタキソテレ及び 10 - デアセチルバッカチン III の精製が達成されることが見いだされ、これが本発明の主題を形成する。

【0009】

30

遠心分配クロマトグラフィーは、論理的に及び自動的に作られる連続的平衡を確立することにより、分離されるべき混合物の成分を 2 種の非混和性液相に分配することを可能にする。

【0010】

この方法は非常に有効な分配機構、固定相の強い保持 (retention) 及び可動相の高速を特徴とし、数時間で優れた分離に導く。

【0011】

遠心分配クロマトグラフィーは 2 つの部分的混和相を与える 2 つ又はそれ以上の溶媒の使用を必要とする。この特徴を示す溶媒は無限にあるが、非 - 塩素化及び無 - 毒性工業用溶媒を用いるのが工業的に特に重要である。比較的低い危険で工業的に用いることができる溶媒の中に、メタノールなどのアルコール類、メチル t - ブチルエーテルなどのエーテル類、酢酸エチルなどのエステル類、メチルイソブチルケトンなどのケトン類及びヘプタン又はイソオクタンなどの脂肪族炭化水素類を挙げることができる。

40

【0012】

有効な精製を行うために、それが迅速に完全に分離して分配係数が 0.1 ~ 10、好ましくは 0.5 ~ 5、さらに好ましくは 1 近辺である 2 相を与える溶媒の混合物を選択することが必要である。

【0013】

分配係数 (K) が例えば 10 に等しい生成物は、下相より上相に 10 倍可溶性である。結局、上相が可動相である場合、それは迅速に溶離し、下相が可動相である場合、非常に長

50

時間の後も非常に分割が悪い。対照的にKが1近辺である場合、両相における溶解度が事実上同一であり、溶離の両様式を用いることができ、適切に組み合わせられると最大の分割を得ることができる。

【0014】

10 - デアセチルバッカチンIIIの特定の場合、脂肪族炭化水素、エステル、アルコール及び水の混合物、例えばヘプタン/酢酸エチル/メタノール/水(体積により1:2:1:2)混合物、さらに脂肪族ケトン類及び水の混合物、例えばメチルイソブチルケトン/アセトン/水(体積により2:3:2)混合物が最も特別に適している。

【0015】

さらに、装置の合計体積における、可動相の流量が固定された平衡時に固定相により占有される割合である固定相における保持が可能な限り高く、少なくとも50%に等しいことが必要である。

10

【0016】

さらに、生産性の向上のために高流量で作業できることが特に有利であり、それはローターにより与えられる最大圧力により制限される。

【0017】

タキソテレの特定の場合、脂肪族炭化水素、エステル、アルコール及び水の混合物、例えばヘプタン/酢酸エチル/メタノール/水(体積により2:4:3:2)系を用いるのが有利であり、その保持は80%であり、分配係数は0.5近辺であり、かくして迅速に溶離する狭いピークを与え、それにより生産性における非常に顕著な向上に導く。

20

【0018】

遠心分配クロマトグラフィーは、この目的に適した商業的に入手可能ないずれの装置においても、例えばYoichiro Ito [CRC Crit. Rev. Anal. Chem., 17, 65 (1986)]により開発された装置、あるいはSANKI Engineering Limited in Kyoto (Japan)により販売されている装置において行うことができる。

【0019】

本発明は、それが本発明の方法を行うことにより得られる場合、精製タキソテレ及び精製10 - デアセチルバッカチンIIIにも関する。

【0020】

30

【実施例】

【0021】

下記の実施例は本発明の実行法を示す。

実施例1 - タキソテレの精製

4 - アセトキシ - 2 $\alpha$  - ベンゾイルオキシ - 5 $\beta$ , 20 - エポキシ - 1 $\beta$  - ヒドロキシ - 7 $\beta$ , 10 $\beta$  - ビス(2, 2, 2 - トリクロロエトキシカルボニルオキシ) - 9 - オキソ - 11 - タキセン - 13 $\alpha$  - イル(2R, 3S) - 3 - t - ブトキシカルボニルアミノ - 3 - フェニル - 2 - ヒドロキシプロピオネートを酢酸の存在下で、ヨーロッパ特許EP 0, 336, 841に記載の条件下において亜鉛で処理することにより、タキソテレ(すなわち4 - アセトキシ - 2 $\alpha$  - ベンゾイルオキシ - 5 $\beta$ , 20 - エポキシ - 1 $\alpha$ , 7 $\beta$ , 10 $\beta$  - トリヒドロキシ - 9 - オキソ - 11 - タキセン - 13 $\alpha$  - イル(2R, 3S) - 3 - t - ブトキシカルボニルアミノ - 3 - フェニル - 2 - ヒドロキシプロピオネート)を得る。

40

【0022】

10gの4 - アセトキシ - 2 $\alpha$  - ベンゾイルオキシ - 5 $\beta$ , 20 - エポキシ - 1 $\beta$  - ヒドロキシ - 7 $\beta$ , 10 $\beta$  - ビス(2, 2, 2 - トリクロロエトキシカルボニルオキシ) - 9 - オキソ - 11 - タキセン - 13 $\alpha$  - イル(2R, 3S) - 3 - t - ブトキシカルボニルアミノ - 3 - フェニル - 2 - ヒドロキシプロピオネートを150cm<sup>3</sup>のメチルt - ブチルエーテルに溶解し、次いで10gの亜鉛を加える。蒸発乾固の後、灰色の粉末が得られ、それを反応器に入れる。

50

## 【0023】

攪拌後、 $6\text{ cm}^3$ の酢酸及び $50\text{ cm}^3$ のアセトニトリルの混合物を5分かけて加える。混合物を水浴を用いて外部から45℃において1時間加熱する。氷浴において冷却した後、 $850\text{ cm}^3$ のメチルト-ブチルエーテルを激しく攪拌しながら導入し、次いで亜鉛塩及び過剰の亜鉛を多孔度が4の焼結ガラス上で濾過する。

## 【0024】

濾液を濃縮乾固する。それにより泡(12g)が得られ、それをすぐに $20\text{ cm}^3$ の酢酸エチル、 $15\text{ cm}^3$ のメタノール、 $10\text{ cm}^3$ のヘプタン及び $10\text{ cm}^3$ の水に取り上げる。

## 【0025】

遠心分配クロマトグラフィーをSANKI LLI-07装置において行う。圧力を55バールに制限するポペットバルブを設けた2つのピストンポンプにより遠心機に供給する。1つのポンプはセクターバルブを用いて2層の片方又は他方を運搬するように働き、他のポンプは注入用に確保されている。

## 【0026】

装置に固定相を低い回転速度(200rpm)及び高い流量( $110\text{ cm}^3/\text{分}$ )で充填した後、直後に注入を行う。

## 【0027】

水相から始めて2相を注入し、ヘキサン/酢酸エチル/メタノール/水(体積により2:4:3:2)系の水相を用いて $60\text{ cm}^3/\text{分}$ の流量で溶離を行う。71%保持に等しい1.9リットルの固定相を集め、次いで $15\text{ cm}^3$ の画分を集める。画分72~110をプールし、 $140\text{ cm}^3$ の体積に濃縮する。形成される沈澱を濾過により分離する。内部標準法を用いて99.7%と分析される5.2gのタキソテレ三水和物がそれにより80.5%の収率で得られる。

実施例2 - タキソテレの精製

82gの4-アセトキシ-2 $\alpha$ -ベンゾイルオキシ-5 $\beta$ , 20-エポキシ-1 $\beta$ -ヒドロキシ-7 $\beta$ , 10 $\beta$ -ビス(2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニルオキシ)-9-オキソ-11-タキセン-13 $\alpha$ -イル(2R, 3S)-3-t-ブトキシカルボニルアミノ-3-フェニル-2-ヒドロキシプロピオネート、82gの亜鉛及び $150\text{ cm}^3$ の49.2 $\text{ cm}^3$ の酢酸と328 $\text{ cm}^3$ のアセトニトリルの混合物を用いて出発する以外は実施例1に記載の方法を用い、理論的に49.69gのタキソテレ又は53gのタキソテレ三水和物を含む115gの粗生成物が得られる。

## 【0028】

粗生成物を $450\text{ cm}^3$ のメチルト-ブチルエーテルを用いて取り上げ、次いで合計で15gの塩化ナトリウムを含む $450\text{ cm}^3$ の水で3回洗浄する。合わせた水相を $200\text{ cm}^3$ のメチルト-ブチルエーテルで2回抽出する。3つのエーテル抽出物を合わせ、濃縮乾固する。72gの泡がそれにより得られ、その生成物を $120\text{ cm}^3$ のメタノールを用いて取り上げる。

## 【0029】

得られる淡黄色溶液に $160\text{ cm}^3$ の酢酸エチル、 $80\text{ cm}^3$ の水及び $80\text{ cm}^3$ のヘプタンをこの順序で加える。

## 【0030】

それにより合計体積が $460\text{ cm}^3$ の2つの透明な液相が得られ、その上相はタキソテレの不在の場合の35%の代わりに合計体積の1/4を示すのみである。

## 【0031】

遠心分配クロマトグラフィー装置に $110\text{ cm}^3/\text{分}$ の流量で、200rpmの回転速度において有機相を充填する。装置が満たされたら、回転速度を800rpmに上げる。水相を注入し、次いで有機相の注入の後に $200\text{ cm}^3$ の有機相を用いて濯ぎを行い、次いで水相を用いて $60\text{ cm}^3/\text{分}$ の流量で溶離する。

## 【0032】

10

20

30

40

50

67.7%保持に等しい2.5リットルの過剰の固定相を集める。

【0033】

200 cm<sup>3</sup>の水性可動相が通過した後、360の12-~13-cm<sup>3</sup>画分を集める。200 cm<sup>3</sup>の体積に濃縮された画分25~110は87.7%の収率で46.5gのタキソテレ三水和物の沈澱を与え、その純度は99.1%である。

実施例3-10-デアセチルバッカチンIIIの精製

合計体積が245 cm<sup>3</sup>のSANKI HPCPCシリーズ1000クロマトグラフにおいて遠心分配クロマトグラフィーを行う。

【0034】

100 rpmで回転するローターに、6 cm<sup>3</sup>/分の流量で有機相及び3 cm<sup>3</sup>の流量で水相を同時にポンプで汲み入れることにより、下降様式で(in the descending mode)メチルイソブチルケトン/アセトン/水(体積により2:3:2)混合物を充填する。

10

【0035】

その後回転速度を1200 rpmに上げ、次いで83.3%の10-デアセチルバッカチンIII及び3.4%の10-デアセチル-19-ヒドロキシバッカチンIIIを含む1.5gの結晶化粗10-デアセチルバッカチンIIIを注入する。

【0036】

次いで3 cm<sup>3</sup>/分の流量において水相を用い、下降様式で溶離を行い、2分毎に6-cm<sup>3</sup>の画分を集める。

20

【0037】

10-デアセチル-19-ヒドロキシバッカチンIIIは画分39~52に含まれる。

【0038】

61番目の画分において溶離の方向を逆転し、かくして5 cm<sup>3</sup>/分の流量において上昇様式で可動相として有機相を用い、2分毎に10-cm<sup>3</sup>の画分を集める。

【0039】

10-デアセチルバッカチンIIIを含む画分70~84を減圧下で濃縮する。15 cm<sup>3</sup>のアセトニトリル中の再結晶の後、アセトニトリルで溶媒和された(1モル/モル)1.25gの10-デアセチルバッカチンIIIが白色結晶の形態で得られ、内部標準法を用いたHPLCにより決定されるその純度は98%である。

30

【0040】

修正された収率は91.2%である。

---

フロントページの続き

(72)発明者 ロドルフ・マルグラフ

フランス国エフ - 9 1 1 7 0 ビリシヤテイヨン・アレデュボタジエ 1 6

合議体

審判長 内田 淳子

審判官 弘實 謙二

審判官 星野 紹英

(56)参考文献 Cancer Research , 1991 , Vol . 51 , No . 18 , pp . 4845 - 4852

特開昭63 - 30479号公報

特開平1 - 305077号公報

(58)調査した分野(Int.Cl. , DB名)

C07D 305/14