

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-522801

(P2004-522801A)

(43) 公表日 平成16年7月29日(2004.7.29)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C07C 51/09	C O 7 C 51/09	4 B O 6 4
C07C 51/353	C O 7 C 51/353	4 C O 3 3
C07C 59/90	C O 7 C 59/90	4 C O 6 3
C07D 277/20	C O 7 D 277/24	4 C O 7 1
C07D 277/24	C O 7 D 417/06	4 H O O 6
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 31 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2002-571909 (P2002-571909)	(71) 出願人	500034790
(86) (22) 出願日	平成14年2月27日 (2002.2.27)		ゲゼルシャフト フェア バイオテクノロ
(85) 翻訳文提出日	平成15年8月12日 (2003.8.12)		ギッシェ フォーシュンク エム ペー
(86) 国際出願番号	PCT/EP2002/002105		ハー (ゲー ペー エフ)
(87) 国際公開番号	W02002/072858		Gesellschaft fuer B
(87) 国際公開日	平成14年9月19日 (2002.9.19)		iotechnologische Fo
(31) 優先権主張番号	01104448.4		rschung mbh (GBF)
(32) 優先日	平成13年2月27日 (2001.2.27)		ドイツ連邦共和国 D-38124 ブラ
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		ウンシュバイク マッシェローダー ヴェ
			ーク 1
			Mascheroder Weg 1, D
			-38124 Braunschweig
			, (Germany)
		(74) 代理人	100088904
			弁理士 庄司 隆
			最終頁に続く

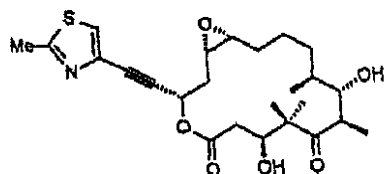
(54) 【発明の名称】 エポチロンの分解

(57) 【要約】

【課題】

【解決手段】

本発明は、エチレンの存在下で、エポチロンCまたはエポチロンDをオレフィンメタセシス、続いて任意のエステル加水分解に供する、エポチロンCまたはエポチロンDの分解方法に関する。本発明はさらに、(2-メチル-1, 3-チアゾール-4-イル) -エチニル置換エポチロン (9) (式9) に関する。



(9)

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

エポチロン C または エポチロン D の分解方法であって、エポチロン C または エポチロン D は、エチレンの存在下でのオレフィンメタセシス、続いて任意のエステル加水分解に供される（スキーム I）方法。

【請求項 2】

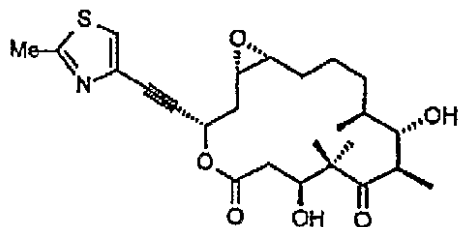
前記エポチロン C または エポチロン D は 醜酵生成物である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

式 9：

【化 1】

10



9

20

のエポチロンの製造方法であって、

(i) 式 2 a のエポチロン（スキーム I および II）は式 3 a の化合物（スキーム II）に変換され、

(ii) 該式 3 a の化合物は式 6 の化合物（式 4 の化合物と式 5 の化合物と反応させることにより生成されたもの；スキーム II）と反応して、式 7 の化合物（スキーム II）を得て、

(iii) 該式 7 の化合物は Grubbs 触媒の存在下で反応して、式 8 a の化合物（スキーム II）を得て、

(iv) 該式 8 a の化合物は式 8 b の化合物（スキーム II）に変換され、

(v) 式 8 b の化合物は式 9 の化合物（スキーム II）に変換される方法。

【請求項 4】

30

前記工程 (i) において、最初に遊離ヒドロキシ基が保護され、次にエステル加水分解が行われる、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

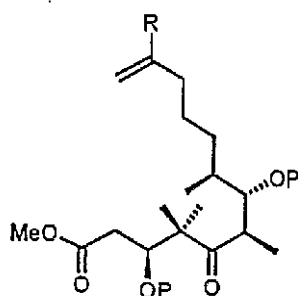
前記工程 (iv) において、脱保護が酸性媒質中で、好ましくはトリフルオロ酢酸を用いて行われる、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 6】

式 3 b：

【化 2】

40



3b

50

[R = H、メチル

P = H、例えばトリアルキルシリル、p-メトキシベンジル等の保護基]

の化合物の製造方法であって、

(i) エポチロンCまたはエポチロンDのラクトン基は開裂され、

(ii) 式10の開裂生成物(スキームIII)は、ジアゾメタンを用いたエステル化に任意に供され、3, 7-ヒドロキシ基は任意に保護されて、式11の化合物(スキームIII)を得て、

(iii) 該式11の化合物はオレフィンメタセシスに供されて、3, 7-ヒドロキシ基は任意に保護されて、式3bの化合物(スキームIII)を得る方法。

【請求項7】

10

前記工程(i)において、前記開裂はブタ肝エステラーゼにより、または3, 7-ヒドロキシ基を保護した後、水性塩基により行われる、請求項6に記載の方法。

【請求項8】

前記工程(iii)において、オレフィンとしてエチレンが使用され、および/またはメタセシス触媒としてルテニウムまたはモリブデン触媒が使用される、請求項6に記載の方法。

【請求項9】

前記3, 7-ヒドロキシ基はトリアルキルシリルまたはp-メトキシベンジルで保護される、請求項3または6に記載の方法。

【請求項10】

20

前記式3bの化合物は、請求項3の工程(ii)～工程(v)に従ってさらに処理される、請求項6に記載の方法。

【請求項11】

先行の請求項のいずれか1項以上に記載の方法により得られる、式2、2a、3、3a、3b、4、5、6、7、8、8a、8b、9、10および11の化合物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

C型およびD型のエポチロンは当該技術分野に属し、特に、12および13位のC=C二重結合、ならびに12位の水素原子(C型)あるいはアルキル基(D型)を有することを特徴とする。 30

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0002】

一実施形態によれば、本発明は、エポチロンCまたはエポチロンDの分解方法であって、エポチロンCまたはエポチロンDは、エチレンの存在下でのオレフィンメタセシス、続いて任意のエステル加水分解に供される(スキームI)方法に関する。

【0003】

本発明によれば、上記エポチロンCまたはエポチロンDは醜酵生成物であり得る。

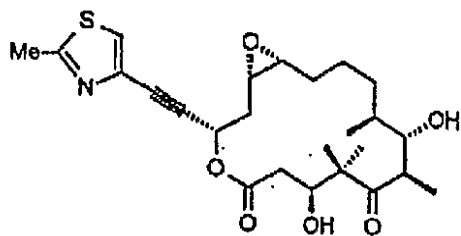
【0004】

40

別の実施形態によれば、本発明は、式9のエポチロンの製造方法であって、

【0005】

【化1】



9

10

【0006】

式2aのエポチロン（スキームIおよびII）は式3aの化合物（スキームII）に変換され、該式3aの化合物は式6の化合物（式4の化合物と式5の化合物と反応させることにより生成されたもの；スキームII）と反応して、エステル化により式7の化合物（スキームII）を得て、該式7の化合物はGrubbs触媒の存在下で反応して、脱保護により式8aの化合物（スキームII）を得て、該式8aの化合物は脱保護により式8bの化合物（スキームII）に変換され、式8bの化合物はエポキシ化により式9の化合物（スキームII）に変換される方法に関する。

【0007】

タイプ3の合成中間体は、スキームIに示される一連の反応の他に、
 （1）10を得るための、例えばブタ肝エステラーゼ（PLE）、または3，7-ジヒドロキシル基を保護した後、水性塩基を用いた、エポチロンCまたはDのラク톤の開裂（この変換については、2001年3月19日付、BMS/GBFの米国特許出願第09/811,808号に記載）、
 （2）11を得るための、ジアゾメタンによる任意のエステル化および3，7-ジヒドロキシル基の任意の保護、
 （3）3bを得るための、過剰のオレフィン、例えばエチレン、およびルテニウムまたはモリブデンメタセシス触媒を用いるオレフィンメタセシスならびに、3，7-ジヒドロキシ基の任意の保護、
 により、スキームIIIからも得ることができる。

20

30

【発明を実施するための最良の形態】

【0008】

（実施例）

12, 13-セコエポチロンC（2a）：

エポチロンC（1）450mg（0.95mmol）をジクロロメタン250mLに溶解し、エチレンで飽和してGrubbs's触媒（PhCHRuCl₂ [P(Cy)₃]₂）60mgを加えた後、24時間攪拌した。さらに触媒60mgを加えて24時間攪拌した後、暗色の溶液を乾固するまで蒸発させて、残渣をヘキサン／tert-ブチルメチルエステル／メタノール 80：20：1の溶媒系を用いてシリカによるクロマトグラフィーで精製した。第一分画には360mg（75%）の2aが、第二分画には100mg（22%）の回収された出発物質1が含まれていた。

40

【0009】

2a：¹H-NMR（CDCl₃，300MHz）：δ=6.95（s，19-H）、6.02（s，17-H）、5.89～5.64（m，12-H，13-H）、5.16～4.89（m，12a-H₂，13a-H₂）、5.37（t，J=7Hz，15-H）、4.24（ddd，J=10，3，3.5Hz，3-H）、3.36（s，OH）、3.34（d，J=8Hz，7-H）、3.25（dq，J=1.5，7Hz，8-H）、3.21（d，J=3.8Hz，OH）、2.70（s，21-H₃）、2.52～2.32（m，2-H₂，14-H₂）、2.07（d，J=1.5Hz，16-Me）、2.05～1.95（m，11-H₂）、1.8～1.1（m，6-H，8-H，9-H₂）

50

, 1.0-H₂)、1.18 (s, 4-Me)、1.10 (s, 4-Me)、1.04 (d, J=7 Hz, 6-Me)、0.83 (d, J=7 Hz, 8-Me)。

ESI-MS (pos イオン) m/z = 506 [M+H⁺]、CI-MS (NH₃ pos. イオン) m/z = 506 [M+H⁺] (22%)、380 (100%)。

【0010】

3, 7-ジ- [tert-ブチルジメチル-シリルオキシ] -4, 4, 6, 8-テトラメチル-5-オキソ-12-トリデセン酸 (3a)

THF 10 mL に溶解した 12, 13-セコ-エポチロン C (2a) 330 mg (0.65 mmol) に、NEt₃ 0.6 mL および tert-ブチルジメチルシリルトリフレート 0.6 mL を攪拌しながら加えた。1 時間後、この溶液を減圧下で蒸発させた。残渣を THF 10 mL に溶解し、水 0.5 mL に溶解した LiOH 70 mg を加えて、混合物を 16 時間攪拌した。溶媒を蒸発させ、残渣を pH 5 のリン酸緩衝液と酢酸エチルとの間に分配させた。有機相を MgSO₄ で乾燥し、乾固するまで蒸発させた。メタノール/20 mmol 酢酸アンモニウム緩衝液 (pH 7) 溶媒系を用いた RP-18 による分取 HPLC により、235 mg (67%) の 3a が無色の粘性油状物として得られた。

【0011】

Nucleosil RP-18 (260×5 mm) による HPLC 分析、溶媒系：メタノール/20 mmol 酢酸アンモニウム緩衝液 (pH=7)、1 mL/分、光散乱検出器：R_t = 5.5 分

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) : δ = 5.78 (m, 12-H)、4.99、4.92 (m, 13-H₂)、4.39 (dd, J=6.3, 3.4 Hz, 3-H)、3.79 (dd, J=7.2, 2.0 Hz, 7-H)、3.12 (dq, J=7.0 Hz, 8-H)、2.49 (dd, J=16.5, 3.5 Hz, 2-H_a)、2.32 (dd, J=16.5, 6.2 Hz, 2-H_b)、1.5~1.0 (m, 6-H, 8-H, 9-H₂, 10-H₂, 11-H₂)、1.2 (s, 4-Me)、1.07 (s, 4-Me)、1.04 (d, J=6.9 Hz, 6-Me)、0.91 (d, J=7.0 Hz, 8-Me)、0.89 (s, tBuSi)、0.88 (s, tBuSi)、0.09 (s, MeSi)、0.06 (s, MeSi)、0.05 (s, 2MeSi)。

ESI-MS (neg. イオン) m/z = 541 (M-H)。

【0012】

4-ブロモ-2-メチル-チアゾール (4)

2, 4-ジブromoチアゾール 1 g (2.05 mmol) を無水エーテル 25 mL に溶解し、得られる溶液を N₂ 雰囲気下にて、-78℃で攪拌した。この溶液に n-BuLi (1.1 当量、4.52 mmol、ヘキサン中 1.6 M 溶液 2.82 mL) を加え、攪拌を 1 時間続けた。次に、反応混合物に、エーテル 1 mL 中に硫酸ジメチル 1.16 mL (12.34 mmol) を含む溶液を滴下した。-78℃で 4 時間攪拌した後、反応混合物を室温となるように加温し、14 時間攪拌した。この反応混合物を NaHCO₃ 飽和溶液 (10 mL) で希釈した。水層をエーテルで抽出し、合わせた有機抽出物を塩水で洗浄し、MgSO₄ で乾燥した。真空下での濃縮、およびフラッシュカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、10:1 石油エーテル/酢酸エチル) により、0.52 g (70.6%) の黄色油状物を得た。

【0013】

IR (KBr) : 3122、2923、1485、1441、1252、1178、1085887、834 cm⁻¹。

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) : δ = 7.02 (s, 1H)、2.71 (s, 3H)。

¹³C-NMR (CDCl₃, 100.6 MHz) : δ = 167.31、124.18、116.11、19.40。

EI-MS (70 eV) : m/z (%) : 179 (93) [M+2H]⁺、177 (100) [M+H]⁺、169 (30)、164 (20)、159 (15)。

HRMS (EI) : C_4H_4BrNS 176.9251、 176.9248

【0014】

1-(2-メチルチアゾール-4-イル)-ヘキサ-5-エン-1-イン-3-オール (6)

Et₃N 4 mL 中の 4-ブロモ-2-メチルチアゾール (4) 480 mg (2.68 mmol) を、PdCl₂(PPh₃)₂ 131 mg (0.187 mmol) に加え、懸濁液を N₂ 雰囲気下で、室温にて 15 分間攪拌した。その後、CuI 117 mg (0.614 mmol) を N₂ 雰囲気下で加え、続いて Et₃N 1 mL 中のアルコール 5 (A. B. Smith, III et al. JACS 120, 3935-3948(1998)) 283 mg を滴下した。この混合物を室温で 15 分間攪拌し、6 時間 80 °C に加熱した。真空下での濃縮、およびフラッシュカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、3:2 石油エーテル/酢酸エチル) により、0.29 g (56%) の黄色油状物を得た。[α]_D²⁰ = -29.1 (クロロホルム中、c = 1)

【0015】

IR (KBr) : 3386、3142、2924、1641、1501、1435、1286、1194、1041、993、918 cm⁻¹。

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) : δ = 7.26 (s, 1H)、5.98~5.88 (m, 1H)、5.23~5.16 (m, 2H)、4.62 (dd, J = 11.9, 5.8 Hz, 1H)、2.68 (3H, s)、2.58~2.54 (2H, m)、2.39 (d, J = 6.1 Hz, 1H, OH)。

¹³C-NMR (CDCl₃, 75.5 MHz) : δ = 165.77、136.20、133.09、122.48、118.85、89.53、79.04、61.84、41.87、19.10。

DCI-MS (NH₃) : 211 [M+NH₄⁺]、194 [M+H⁺]

【0016】

(1S)-1-[(2-メチルチアゾール-4-イル)-1-エチニル]-3-ブテニル-(3S, 6R, 7S, 8S)-3, 7-ジ-tert-ブチルジメチルシロキシ-4, 4, 6, 8-テトラメチル-5-オキソ-12-トリデセノエート (7)

0 °C にて、DCC 99 mg (0.478 mmol) を、酸 200 mg (0.368 mmol)、アルコール 79 mg (0.405 mmol)、および DMAP 12 mg (0.09 mmol) を含む CH₂Cl₂ 中の溶液 10 mL の溶液に加えた。この混合物を 0 °C にて 15 分間、および室温にて 16 時間攪拌した。真空下での濃縮、およびフラッシュカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、10:1 石油エーテル/酢酸エチル) により、240 mg (91%) の黄色油状物を得た。

【0017】

[α]_D²⁰ = -45.8 (CH₂Cl₂ 中、c = 1)

IR (KBr) : 2929、2856、1742、1697、1641、1472、1253、989 cm⁻¹。

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) : δ = 7.28 (s, 1H, チアゾール H-5)、5.91~5.73 (m, 2H, H-12, H-3')。

5.58 (t, J = 6.1 Hz, 1H, H-1')、5.20~4.90 (m, 4H, H-13, H-4')、4.38 (dd, J = 6.3, 3.3 Hz, 1H, H-3)、3.74 (dd, J = 6.8, 2.2 Hz, 1H, H-7)、3.11 (dq, J = 6.8, 6.8 Hz, 1H, H-6)、2.67 (s, 3H, チアゾール CH₃)、2.60 (t, J = 6.6 Hz, 1H, H-2)、2.55 (dd, J = 16.7, 3.5 Hz, 1H, H-2')、2.99 (dd, J = 17.0, 6.3 Hz, 1H, H-2')、2.05~1.95 (m, 2H, H-11)、1.47~1.29 (m, 3H)、1.17~1.08 (m, 2H)、(H-8, H-9, H-10)、1.21 (s, 3H, H-22)、1.05 (s, 3H, H-23)、1.03 (d, J = 6.6 Hz, 3H, C6-C

H_3)、0.89 (d, $J=6.6$ Hz, 3H, C8- CH_3)、0.88、0.87 (2s, 2x9H, OSiC(CH_3)₃) 0.089 (s, 3H, OSi(CH_3)₂)、0.032、0.028、0.024 (3s, 3x3H, OSi(CH_3)₂)。

^{13}C -NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): 217.63、170.84、165.55、138.97、136.08、132.23、123.22、118.91、114.41、85.67、79.97、73.76、63.77、53.38、45.23、40.20、39.09、38.87、34.35、34.00、30.48、27.11、26.26、26.07、25.66、24.97、23.44、19.89、18.55、17.66、15.52、-3.61、-3.74、-4.20、-4.59。

DCI-MS (NH₃): 735 [M+NM₄⁺]、718 [M+H⁺]

HRMS (DCI): C₃₉H₇₀N₂O₅SSi₂ 735.4622 735.4675

【0018】

(4S, 7R, 8S, 9S, 16S)-4, 8-ジ-tert-ブチルジメチルシリルオキシ-5, 5, 7, 9-テトラメチル-1-6-[2-(2-メチル-1, 3-チアゾール-4-イル)-1-エチニル]-1-オキサ-13-シクロヘキサデセン-2, 6-ジオン、ZおよびE異性体の混合物 (8a)

ジエン7 190mg (0.264mmol) を含むCH₂Cl₂ 66mL中の溶液に、ビス(トリシクロヘキシルホスフィン)ベンジリデンルテニウム二酸化物44mg (0.053mmol)を加え、反応混合物を室温下で48時間攪拌した。真空下での濃縮、およびフラッシュカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、10:1 石油エーテル/酢酸エチル)により、95mg (52%)の黄色油状物を得た。

【0019】

(4S, 7R, 8S, 9S, 16S)-4, 8-ジヒドロキシ-tert-5, 5, 7, 9-テトラメチル-1-6-[2-(2-メチル-1, 3-チアゾール-4-イル)-1-エチニル]-1-オキサ-13-シクロヘキサデセン-2, 6-ジオン (8b)、シスおよびトランス異性体の混合物

ラクトンX 95mg (0.137mmol) を含むCH₂Cl₂ 12mL中の-20℃の溶液を、トリフルオロ酢酸2mLで処理し、混合物を0℃にて2時間攪拌した。真空下で濃縮をした後、残渣をEtOAcで希釈し、飽和NaHCO₃溶液で洗浄し、MgSO₄で乾燥させた。真空下での濃縮、およびHPLC(80:20:3 ヘキサン/t-BuOMe/MeOH)による分離により、27mg (42%)のシス-ヒドロキシラクトン8bおよび相当する27mg (42%)のトランス異性体を得た。

【0020】

[α]_D = -123 (CH₂Cl₂中、c=1)

^1H -NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 7.30 (s, 1H, H-19)、5.65 (dd, $J=9.1$, 2.9 Hz, 1H, H-15)、5.55~5.41 (m, 2H, H-12, H-13)、4.20 (dd, $J=10.8$, 2.7 Hz, 1H, H-3)、3.67~3.65 (m, 1H, H-7)、3.12 (dq, $J=6.6$, 2.0 Hz, 1H, H-6)、2.88~2.77 (m, 1H, H-14)、2.70 (s, 3H, H-21)、2.51 (dd, $J=15.0$ Hz, 10.9 Hz, 1H, H-2)、2.27 (dd, $J=15.2$, 2.8 Hz, 1H, H-2)、2.18~2.00 (m, 2H, H-11, H-14)、1.71~1.58 (m, 3H, H-8, H-9, H-10)、1.32 (s, 3H, H-22)、1.30~1.19 (3H, H-8, H-9, H-10)、1.18 (d, $J=6.7$ Hz, 3H, H-24)、1.07 (s, 3H, H-23)、0.98 (d, $J=6.9$ Hz, 3H, H-25)。

^{13}C -NMR (CDCl₃, 75.5 MHz): δ = 220.81、169.96、164.44、134.16、134.27、123.75、123.00、86.13、80.00、74.38、72.03、64.11、53.31、41.74、39.3

10

20

30

40

50

7、38.71、32.87、32.37、27.63、27.47、22.69、19.18、18.37、15.46、13.70。

【0021】

16, 17-ジデヒドロ-16-デスメチル-エポチロンA (9)

ラクトン(8b) 27mg (0.058mmol)を含むCH₂Cl₂ 4mL中の溶液に、-20℃で、ジメチルジオキシランを含むアセトン中の溶液(2当量)を滴下した。-20℃で2時間攪拌を続けた。真空下での濃縮、およびHPLC(80:20:3 ヘキサン/t-BuOMe/MeOH)による分離により、17mg (60%)のα-エポキシド9および9mg (32%)のβ-エポキシドを得た。

【0022】

α-エポキシド

[α] = -34 (CH₂Cl₂中、c = 1)

IR (KBr): 3453、2958、2850、1744、1690、1500、1467、1376、1290、1261、1147、979、775 cm⁻¹。

¹³C-NMR (CDCl₃, 100.6MHz): 220.55、170.19、166.12、135.50、123.28、85.00、80.56、75.12、73.59、62.71、57.17、53.75、52.67、43.68、38.69、35.96、32.67、29.72、26.56、23.63、21.12、20.48、19.16、17.06、14.46。

ESI-MS (70eV): m/z (%): 477 (27) [M+H]⁺、421 (14)、389 (19)、378 (100)、364 (28)、346 (27)、328 (15)。

【0023】

β-エポキシド

¹³C-NMR (CDCl₃, 75.5MHz): δ = 221.38、170.03、166.05、135.70、123.28、85.13、80.48、73.24、73.11、62.24、57.14、55.31、52.28、42.89、38.98、37.53、32.40、31.82、27.60、27.01、23.45、20.62、20.36、16.38、13.49。

【図面の簡単な説明】

【0024】

【図1】スキームIを示す図である。

【図2】スキームIIを示す図である。

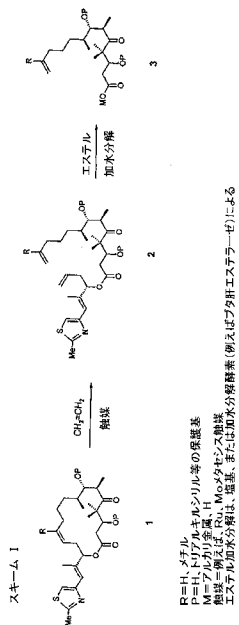
【図3】スキームIIIを示す図である。

10

20

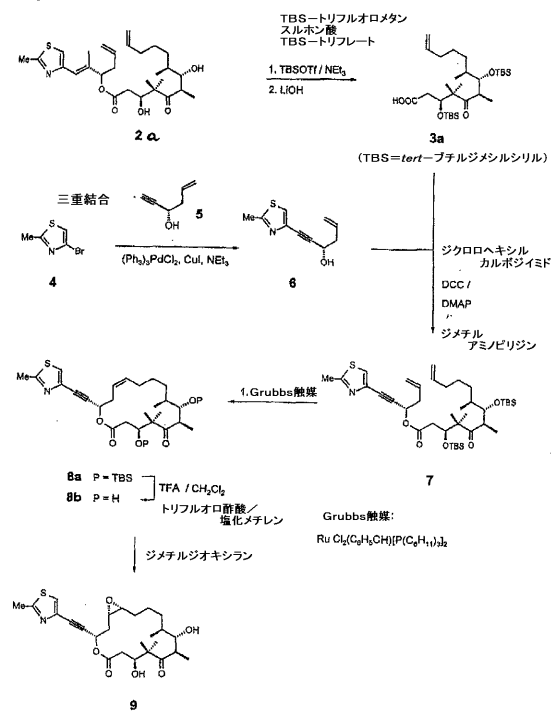
30

【図 1】



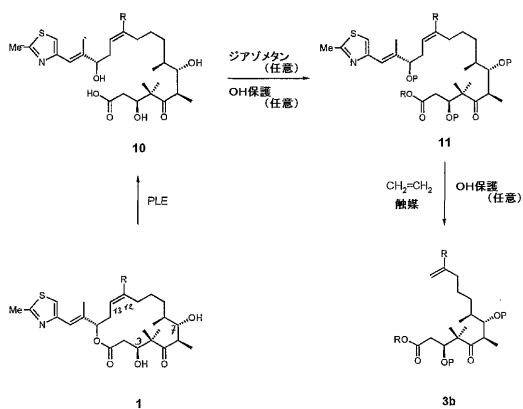
【図 2】

スキーム II



【図 3】

スキーム III



R = H, メチル
P = H, 例えはトリアルキルシリル, p-メトキシベンジル等の保護基
触媒 = 例えは Ru, Mo タタセキス触媒
エステル加水分解は、塩基、または加水分解酵素 (例えはブタ肝エステラーゼ) による

【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
19 September 2002 (19.09.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/072858 A2

(51) International Patent Classification: C12P 17/14, C07D 277/30 (74) Agents: BOETERS, Hans, D. et al.; Boeters & Bauer, Bereiteranger 15, 81541 München (DE).

(21) International Application Number: PCT/EP02/02105

(22) International Filing Date: 27 February 2002 (27.02.2002)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data: 01104484 27 February 2001 (27.02.2001) EP

(71) Applicant (for all designated States except US):
GESELLSCHAFT FÜR BIOTECHNOLOGISCHE
FORSCHUNG MBH (GBF) [DE/DE]; Mascheroder
Weg 1, 38124 Braunschweig (DE).

(81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GI, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SI, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:
— without international search report and to be republished upon receipt of that report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(72) Inventors; and
(75) Inventors/Applicants (for US only): HOEFLE, Gerhard [DE/DE]; Mascheroder Weg 1, 38124 Braunschweig (DE); KARMA, Usama [EG/DI]; Alte Stöckener Strasse 100, 30419 Hannover (DE).

WO 02/072858 A2

(54) Title: DEGRADATION OF EPOTHILONES

(57) Abstract: According to one embodiment the invention concerns a process for a degradation of an epothilone C or a epothilone D, wherein an epothilone C or epothilone D is subjected to an olefin metathesis in the presence of ethylene and subsequently an optional ester hydrolysis.

WO 02/072858

PCT/EP02/02105

Our ref.: 12838-GBF
 New International Patent Application
Gesellschaft fuer Biotechnologische Forschung mbH (GBF)

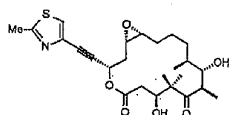
Degradation of Epothilones

Epothilones of type C and type D belong to the art and are especially characterized by a C=C double bond at positions 12 and 13 and a hydrogen atom at position 12 (type C) or an alkyl group- (type D).

According to one embodiment the invention concerns a process for a degradation of an epothilone C or an epothilone D, wherein an epothilone C or an epothilone D is subjected to an olefin metathesis in the presence of ethylene and subsequently an optional ester hydrolysis (scheme I).

According to the invention the epothilone C or D can be a fermentation product.

According to another embodiment the invention concerns a process for the production of an epothilone of formula 9



9

wherein an epothilone of formula 2a (schemes I and II) is converted into compound of formula 3a (scheme II), the compound of formula 3a is reacted with a compound of formula 6 (which has been formed by reacting a compound of formula 4 with a compound of formula 5; scheme II) to give a compound of

CONFIRMATION COPY

WO 02/072858

PCT/EP02/02105

2

formula 7 by esterification (scheme II), the compound of formula 7 is reacted in the presence of a Grubbs catalyst to give a compound of formula 8a by deprotection (scheme II), the compound of formula 8a is converted into a compound of formula 8b by deprotection (scheme II), and compound of formula 8b is converted to a compound of formula 9 by epoxidation (scheme II).

Alternatively to the reaction sequence depicted in scheme I synthetic intermediates of type 3 may be obtained according to scheme III by

- 1) cleavage of the lactone of epothilone C or D with e.g. pig liver esterase (PLE) or, after protection of the 3,7-hydroxyl groups, with aqueous base to give 10 (this conversion is described in U.S. Patent Application 09/811,808, March 19, 2001 by BMS/GBF),
- 2) optionally esterification with diazomethane and optionally protection of the 3,7-dihydroxyl groups to give 11,
- 3) olefin metathesis with an excess of an olefin, e.g. ethylene and a ruthenium or molybdenum metathesis catalyst and optionally protection of the 3,7-dihydroxyl groups to give 3b.

Experimental Part

12,13-*seco*-Epothilone C (2a):

450 mg of epothilone C (1) (0.95 mmol) were dissolved in 250 mL of dichloromethane, saturated with ethylene and after addition of 60 mg of Grubbs' catalyst ($\text{PhCH}=\text{CHRuCl}_2[\text{P}(\text{Cy})_3]_2$) stirred for 24 hours. After addition of further 60 mg of catalyst and stirring for 24 hours the dark solution was evaporated to dryness and the residue purified by

WO 02/072858

PCT/EP02/02105

3

chromatography on silica with the solvent system hexanes/tert.-butylmethylester/methanol 80:20:1. The first fraction contained 360 mg (75 %) of **2a**, the second 100 mg (22 %) of recovered starting material **1**.

2a: $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3), 300 MHz): δ = 6.95 (s, 19-H), 6.02 (s, 17-H), 5.89 - 5.64 (m, 12-H, 13-H), 5.16 - 4.89 (m, 12a-H₂, 13a-H₂), 5.37 (t, J = 7 Hz, 15-H), 4.24 (ddd, J = 10, 3, 3.5 Hz, 3-H), 3.36 (s, OH), 3.34 (d, J = 8 Hz, 7-H), 3.25 (dq, J = 1.5, 7 Hz, 8-H), 3.21 (d, J = 3.8 Hz, OH), 2.70 (s, 21-H₃), 2.52 - 2.32 (m, 2-H₂, 14-H₂), 2.07 (d, J = 1.5 Hz, 16-Me), 2.05 - 1.95 (m, 11-H₂), 1.8 - 1.1 (m, 6-H, 8-H, 9-H₂, 10-H₂), 1.18 (s, 4-Me), 1.10 (s, 4-Me), 1.04 (d, J = 7 Hz, 6-Me), 0.83 (d, J = 7 Hz, 8-Me).

ESI-MS (pos ions) m/z = 506 [$\text{M} + \text{H}^+$], CI - MS (NH_3 pos. ions) m/z = 506 [$\text{M} + \text{H}^+$] (22 %), 380 (100 %).

3,7-Di-[tert-butyldimethylsilyloxy]-4,4,6,8-tetramethyl-5-oxo-12-tridecenoic acid (3a)

To 330 mg (0.65 mmol) of 12,13-seco-epothilone C (**2a**) dissolved in 10 mL of THF were added with stirring 0.6 mL of NEt_3 and 0.6 mL of tert-butyldimethylsilyltriflate. After one hour the solvent was evaporated in vacuo. The residue was dissolved in 10 mL of THF, 70 mg of LiOH dissolved in 0.5 mL of water were added and the mixture stirred for 16 hours. The solvents were evaporated and the residue distributed between phosphate buffer of pH 5 and ethyl acetate. The organic layer was dried with MgSO_4 and evaporated to dryness. Preparative HPLC on RP-18 with the solvent system methanol/20 mmol ammonium acetate buffer pH 7 gave 235 mg (67 %) of **3a** as colorless viscous oil.

WO 02/072858

PCT/EP02/02105

4

Analytical HPLC on Nucleosil RP-18 (260 x 5 mm) solvent system methanol/20 mmol ammonium acetate buffer pH 7, 1 mL/min, light scattering detector: R_t = 5.5 min.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz): δ = 5.78 (m, 12-H), 4.99, 4.92 (m, 13-H₂), 4.39 (dd, J = 6.3, 3.4 Hz, 3-H), 3.79 (dd, J = 7.2, 2.0 Hz, 7-H), 3.12 (dq, J = 7.0 Hz, 8-H), 2.49 (dd, J = 16.5, 3.5 Hz, 2-H_a), 2.32 (dd, J = 16.5, 6.2 Hz, 2-H_b), 1.5 - 1.0 (m, 6-H, 8-H, 9-H₂, 10-H₂, 11-H₂), 1.2 (s, 4-Me), 1.07 (s, 4-Me), 1.04 (d, J = 6.9 Hz, 6-Me), 0.91 (d, J = 7.0 Hz, 8-Me), 0.89 (s, $t\text{BuSi}$), 0.88 (s, $t\text{BuSi}$), 0.09 (s, MeSi), 0.06 (s, MeSi), 0.05 (s, 2 MeSi).

ESI - MS (neg. ions) m/z = 541 (M-H).

4-Bromo-2-methyl-thiazole (4)

1 g (2.05 mmol) 2,4-Dibromothiazole was dissolved in 25 mL anhydrous ether and the resulting solution was stirred under N_2 atmosphere at -78°C . To the solution was added $n\text{-BuLi}$ (1.1 equivalent, 4.52 mmol, 2.82 mL of 1.6 M solution in hexane) and the stirring was continued for 1 h. To the reaction mixture was then added dropwise a solution of dimethylsulfate 1.16 mL (12.34 mmol) in 1 mL ether. After stirring for 4 h at -78°C the reaction mixture was allowed to warm to room temperature and stirred for 14 h. The reaction mixture was diluted with a saturated solution of NaHCO_3 (10 mL). The aqueous layer was extracted with ether and the combined organic extracts were washed with a brine and dried over MgSO_4 . Concentration under vacuum, and flash column chromatography (silica gel, 10:1 petroleum ether/ethyl acetate), yielded 0.52 g (70.6%) a yellow oil.

IR (KBr): 3122, 2923, 1485, 1441, 1252, 1178, 1085887, 834 cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) : δ = 7.02 (s, 1H), 2.71 (s, 3H).

WO 02/072858

PCT/EP02/02105

5

¹³C-NMR (CDCl₃, 100.6 MHz) : δ = 167.31, 124.18, 116.11, 19.40.
 EI-MS (70 eV): m/z (%): 179 (93) [M+2H]⁺, 177 (100) [M+H]⁺, 169 (30), 164 (20), 159 (15).

HRMS (EI): calcd for C₄H₄BrNS 176.9251, found 176.9248

1-(2-methyl-thiazol-4-yl)-hex-5-en-1-yn-3-ol (6)

480 mg (2.68 mmol) 4-Bromo-2-methyl-thiazole (4) in 4 mL Et₃N was added to 131 mg (0.187 mmol) PdCl₂(PPh₃)₂ and the suspension was stirred 15 minutes under N₂ atmosphere at room temperature. then 117 mg (0.614 mmol) CuI was added under N₂ atmosphere followed by dropwise addition of 283 mg alcohol 5 (A.B. Smith, III et al. JACS 120, 3935-3948 (1998)) in 1 mL Et₃N. The mixture was stirred for 15 minutes at room temperature and heated to 80°C for 6 h. Concentration under vacuum, and flash column chromatography (silica gel, 3:2 petroleum ether/ethyl acetate), yielded 0.29 g (56 %) a yellow oil. [α] = - 29.1 (c= 1 in chloroform)

IR (KBr): 3386, 3142, 2924, 1641, 1501, 1435, 1286, 1194, 1041, 993, 918 cm⁻¹.

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) : δ = 7.26 (s, 1H), 5.98-5.88 (m, 1 H), 5.23-5.16 (m, 2H), 4.62 (dd, J= 11.9, 5.8 Hz, 1H), 2.68 (3H, s), 2.58-2.54 (2H, m), 2.39 (d J= 6.1Hz, 1H, OH)

¹³C-NMR (CDCl₃, 75.5 MHz) : δ = 165.77, 136.20, 133.09, 122.48, 118.85, 89.53, 79.04, 61.84, 41.87, 19.10.

DCI-MS (NH₃): 211 [M+NH₄]⁺, 194 [M+H]⁺.

**(1S)-1-[(2-Methyl-thiazole-4-yl)-1-ethynyl]-3-butenyl
 (3S,6R,7S,8S)-3,7-di-[tert-butyldimethylsiloxy]-4,4,6,8-tetramethyl-5-oxo-12-tridecenoate (7)**

99 mg (0.478 mmol) DCC was added at 0°C to a solution of acid 200 mg (0.368 mmol), alcohol 79 mg (0.405 mmol) and 12 mg (0.09 mmol) DMAP in 10 mL CH₂Cl₂. The mixture was stirred for 15 min

WO 02/072858

PCT/EP02/02105

6

at 0°C and for 16 h at room temperature. Concentration under vacuum, and flash column chromatography (silica gel, 10:1 petroleum ether/ethyl acetate), yielded 240 mg (91%) a yellow oil.

$[\alpha] = -45.8$ ($c = 1$ in CH_2Cl_2)

IR (KBr): 2929, 2856, 1742, 1697, 1641, 1472, 1253, 989 cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 7.28$ (s, 1H, thiazole H-5), 5.91-5.73 (m, 2H, H-12, H-3'), 5.58 (t, $J = 6.1\text{ Hz}$, 1H, H-1'), 5.20-4.90 (m, 4H, H-13, H-4'), 4.38 (dd, $J = 6.3, 3.3\text{ Hz}$, 1H, H-3), 3.74 (dd, $J = 6.8, 2.2\text{ Hz}$, 1H, H-7), 3.11 (dq, $J = 6.8, 6.8\text{ Hz}$, 1H, H-6), 2.67 (s, 3H, thiazole CH_3), 2.60 (t, $J = 6.6\text{ Hz}$, 1H, H-2), 2.55 (dd, $J = 16.7, 3.5\text{ Hz}$, 1H, H-2'), 2.29 (dd, $J = 17.0, 6.3\text{ Hz}$, 1H, H-2'), 2.05-1.95 (m, 2H, H-11), 1.47-1.29 (m, 3H, H-17-1.08 (m, 2H) (H-8, H-9, H-10), 1.21 (s, 3H, H-22), 1.05 (s, 3H, H-23), 1.03 (d, $J = 6.6\text{ Hz}$, 3H, C6- CH_3), 0.89 (d, $J = 6.6\text{ Hz}$, 3H, C8- CH_3), 0.88, 0.87 (2s, 2x9H, $\text{OSi}(\text{CH}_3)_3$), 0.089 (s, 3H, $\text{OSi}(\text{CH}_3)_2$), 0.032, 0.028, 0.024 (3s, 3x3H, $\text{OSi}(\text{CH}_3)_2$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100.6 MHz): 217.63, 170.84, 165.55, 138.97, 136.08, 132.23, 123.22, 118.91, 114.41, 85.67, 79.97, 73.76, 63.77, 53.38, 45.23, 40.20, 39.09, 38.87, 34.35, 34.00, 30.48, 27.11, 26.26, 26.07, 25.66, 24.97, 23.44, 19.89, 18.55, 17.66, 15.52, -3.61, -3.74, -4.20, -4.59

DCI-MS (NH_3): 735 [$\text{M} + \text{NH}_4^+$], 718 [$\text{M} + \text{H}^+$].

HRMS (DCI): calcd for $\text{C}_{39}\text{H}_{70}\text{N}_2\text{O}_5\text{SSi}_2$ 735.4622, found 735.4675.

(4*S*,7*R*,8*S*,9*S*,16*S*)-4,8-Di-*tert*-butyldimethylsilyloxy-5,5,7,9-tetramethyl-1-6-[2-(2-methyl-1,3-thiazol-4-yl)-1-ethynyl]-1-oxa-13-cyclohexadecen-2,6-dione, mixture of *Z* and *E* isomers (8a)

To a solution of 190 mg (0.264 mmol) diene 7 in 66 mL CH_2Cl_2 was added 44 mg (0.053 mmol)

WO 02/072858

PCT/EP02/02105

7

bis(tricyclohexylphosphine)benzylideneruthenium dichloride and the reaction mixture was stirred for 48 h at room temperature. Concentration under vacuum, and flash column chromatography (silica gel, 10:1 petroleum ether/ethyl acetate), yielded 95mg (52%) of a yellow oil.

(4*S*,7*R*,8*S*,9*S*,16*S*)-4,8-Dihydroxy-tert-5,5,7,9-tetra-methyl-1-6-[2-(2-methyl-1,3-thiazol-4-yl)-1-ethynyl]-1-oxa-13-cyclohexadecen-2,6-dione (8b), mixture of *cis* and *trans* isomers

A solution of 95 mg (0.137 mmol) lactone X in 12 mL CH₂Cl₂ at -20°C was treated with 2 mL trifluoroacetic acid, and the mixture was stirred for 2 h at 0°C. After concentration under vacuum, the residue was diluted with EtOAc, washed with saturated NaHCO₃ solution and dried over MgSO₄. Concentration under vacuum, and separation by HPLC (80:20:3 hexane/*t*-BuOMe/MeOH), yielded 27 mg (42 %) of the *cis*-hydroxy lactone 8b and 27 mg (42 %) of the corresponding *trans* isomer.

[α]_D = -12.3 (c=1 in CH₂Cl₂)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) : δ = 7.30 (s, 1H, H-19), 5.65 (dd, *J* = 9.1, 2.9 Hz, 1H, H-15), 5.55-5.41 (m, 2H, H-12, H-13), 4.20 (dd, *J* = 10.8, 2.7 Hz, 1H, H-3), 3.67-3.65 (m, 1H, H-7), 3.12 (dq, *J* = 6.6, 2.0 Hz, 1H, H-6), 2.88-2.77 (m, 1H, H-14), 2.70 (s, 3H, H-21), 2.51 (dd, *J* = 15.0 Hz, 10.9 Hz, 1H, H-2), 2.27 (dd, *J* = 15.2, 2.8 Hz, 1H, H-2), 2.18-2.00 (m, 2H, H-11, H-14), 1.71-1.58 (m, 3H, H-8, H-9, H-10), 1.32 (s, 3H, H-22), 1.30-1.19 (3H, H-8, H-9, H-10), 1.18 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, H-24), 1.07 (s, 3H, H-23), 0.98 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, H-25)

¹³C-NMR (CDCl₃, 75.5 MHz) : δ = 220.81, 169.96, 164.44, 134.16, 134.27, 123.75, 123.00, 86.13, 80.00, 74.38, 72.03, 64.11, 53.31, 41.74, 39.37, 38.71, 32.87, 32.37, 27.63, 27.47, 22.69, 19.18, 18.37, 15.46, 13.70.

WO 02/072858

PCT/EP02/02105

8

16,17-Didehydro-16-desmethyl-epothilone A (9)

To a solution of 27 mg (0.058) of lactone (8b) 4 mL CH₂Cl₂ was added dropwise at - 20°C a solution of dimethyl dioxirane in acetone (2 equiv). Stirring was continued for 2 h at - 20°C . Concentration under vacuum, and separation by HPLC (80:20:3 hexane/t-BuOMe/ MeOH), yielded 17 mg (60 %) of α-epoxide 9 and 9 mg (32 %) of β-epoxide.

α-epoxide

[α] = - 34 (c= 1 in CH₂Cl₂)

IR (KBr): 3453, 2958, 2850, 1744, 1690, 1500, 1467, 1376, 1290, 1261, 1147, 979, 775 cm⁻¹.

¹³C-NMR (CDCl₃, 100.6 MHz) : 220.55, 170.19, 166.12, 135.50, 123.28, 85.00, 80.56, 75.12, 73.59, 62.71, 57.17, 53.75, 52.67, 43.68, 38.69, 35.96, 32.67, 29.72, 26.56, 23.63, 21.12, 20.48, 19.16, 17.06, 14.46

EI-MS (70 eV): m/z (%): 477(27) [M+H]⁺, 421 (14), 389 (19), 378 (100), 364 (28), 346 (27), 328 (15).

β-epoxide

¹³C-NMR (CDCl₃, 75.5 MHz) : δ = 221.38, 170.03, 166.05, 135.70 , 123.28, 85.13, 80.48, 73.24, 73.11, 62.24, 57.14, 55.31, 52.28, 42.89, 38.98, 37.53, 32.40, 31.82, 27.60, 27.01, 23.45, 20.62, 20.36, 16.38, 13.49.

WO 02/072858

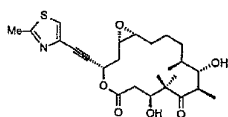
PCT/EP02/02105

9

Our ref.: 12827-GBF
 New International Patent Application
Gesellschaft fuer Biotechnologische Forschung mbH (GBF)

Claims

1. Process for a degradation of an epothilone C or an epothilone D, wherein an epothilone C or an epothilone D is subjected to an olefin metathesis in the presence of ethylene and subsequently an optional ester hydrolysis (scheme I).
2. Process according to claim 1, wherein the epothilone C or D is a fermentation product.
3. Process for the production of an epothilone of formula 9



9

wherein

- (i) an epothilone of formula 2a (schemes I and II) is converted into compound of formula 3a (scheme II),
- (ii) the compound of formula 3a is reacted with a compound of formula 6 (which has been formed by reacting a compound of formula 4 with a compound of formula 5; scheme II) to give a compound of formula 7 (scheme II),

WO 02/072858

PCT/EP02/02105

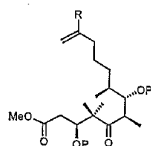
10

- (iii) the compound of formula 7 is reacted in the presence of a Grubbs catalyst to give a compound of formula 8a (scheme II),
- (iv) the compound of formula 8a is converted into a compound of formula 8b (scheme II), and
- (v) compound of formula 8b is converted to a compound of formula 9 (scheme II).

4. Process according to claim 3, wherein at step (i) first free hydroxy groups are protected and second an ester hydrolysis is carried out.

5. Process according to claim 3, wherein at step (iv) deprotection is carried out in an acidic medium preferably by means of trifluoro acetic acid.

6. Process for the production of a compound of formula 3b



R = H, Methyl

P = H, protecting group e.g. trialkylsilyl, p-methoxybenzyl

wherein

3b

- (i) the lactone group of an epothilone C or an epothilone D is cleaved,
- (ii) the cleavage product of formula 10 (scheme III)
 - is optionally subjected to an esterification with diazomethane and
 - the 3,7-hydroxy groups are optionally protected to give a compound of formula 11 (scheme III) and
- (iii) the compound of formula 11

WO 02/072858

PCT/EP02/02105

11

- is subjected to an olefin metathesis and
- the 3,7-hydroxy groups are optionally protected, to give a compound of formula 3b (scheme III).

7. Process according to claim 6, wherein in step (i) the cleavage is carried out

- with pig liver esterase or
- after protection of the 3,7-hydroxy groups, with an aqueous base.

8. Process according to claim 6, wherein in step (iii) ethylene is used as olefin and/or a ruthenium or molybdenum catalyst is used as metathesis catalyst.

9. Process according to claim 3 or claim 6, wherein the 3,7-hydroxy groups are protected by trialkylsilyl or p-methoxybenzyl.

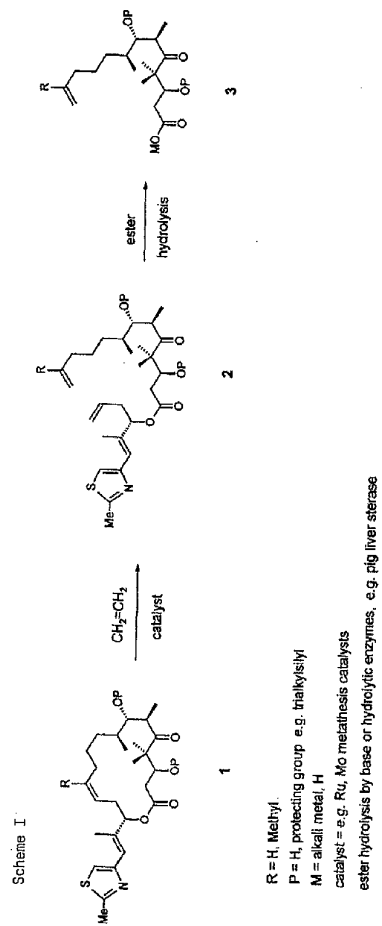
10. Process according to claim 6, wherein the compound of formula 3b is further processed in accordance to steps (ii) to (v) of claim 3.

11. Compounds of formula 2, 2a, 3, 3a, 3b, 4, 5, 6, 7, 8, 8a, 8b, 9, 10 and 11, obtainable according to a process according to one or more of the preceding claims.

WO 02/072858

PCT/EP02/02105

1/3

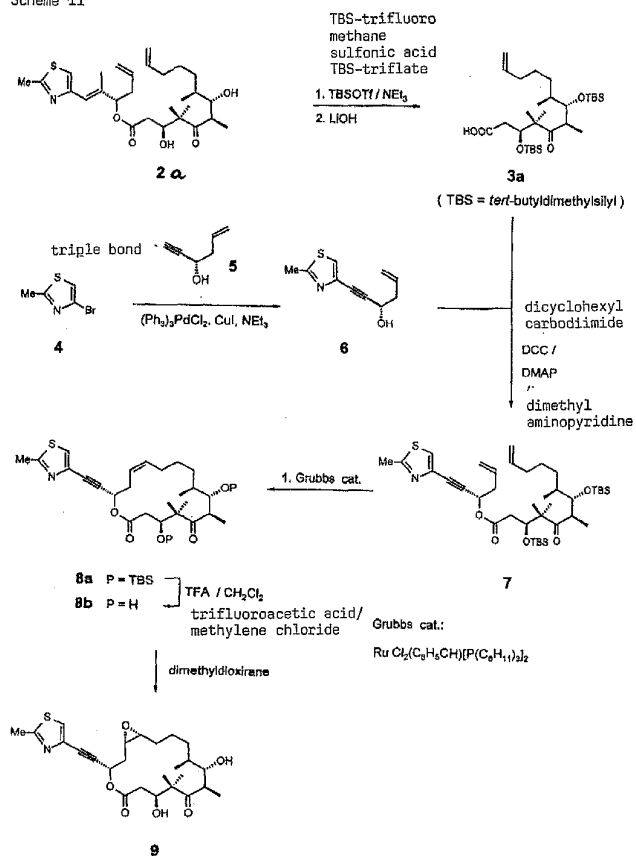


WO 02/072858

PCT/EP02/02105

2/3

Scheme II

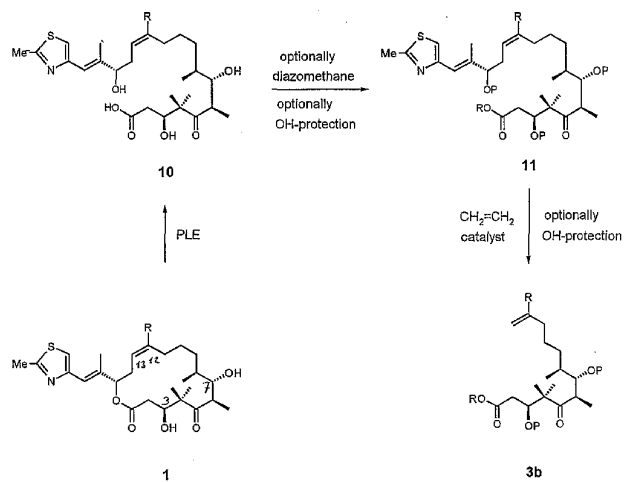


WO 02/072858

PCT/EP02/02105

3/3

Scheme III



R = H, Methyl

P = H, protecting group e.g. trialkylsilyl, p-methoxybenzyl

catalyst = e.g. Ru, Mo metathesis catalysts

ester hydrolysis by base or hydrolytic enzymes, e.g. pig liver starase

【国際公開パンフレット（コレクトバージョン）】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
19 September 2002 (19.09.2002)

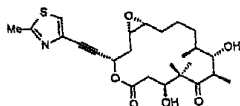
PCT

(10) International Publication Number
WO 02/072858 A3

- (51) International Patent Classification: C12P 17/14, C07D 277/30
- (21) International Application Number: PCT/A/02/02105
- (22) International Filing Date: 27 February 2002 (27.02.2002)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data: 0110444/8.4 27 February 2001 (27.02.2001) EP
- (71) Applicant (for all designated States except US): GESELLSCHAFT FÜR BIOTECHNOLOGISCHE FORSCHUNG MBH (GBF) [DE/DE]; Mascheröder Weg 1, 38124 Braunschweig (DE).
- (72) Inventors; and
- (75) Inventors/Applicants (for US only): HOEFLE, Gerhard [DE/DE]; Mascheröder Weg 1, 38124 Braunschweig (DE). KARAMA, Usama [EG/DE]; Alte Stöckener Strasse 100, 30419 Hannover (DE).
- (74) Agents: BOETERS, Hans, D. et al.; Boeters & Bauer, Berchtranger 15, 81541 München (DE).
- (81) Designated States (national): AE, AG, AI, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GI, GM, GR, HU, IL, IN, IS, JP, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NZ, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Published:
with international search report
- (88) Date of publication of the international search report: 19 December 2002
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 02/072858 A3

(54) Title: DEGRADATION OF EPOTHILONES AND ETHYNYL SUBSTITUTED EPOTHILONES



(9)

(57) Abstract: The invention concerns a process for a degradation of an epothilone C or a epothilone D, wherein an epothilone C or epothilone D is subjected to an olefin metathesis in the presence of ethylene and subsequently an optional ester hydrolysis. The invention further concerns (2-methyl-1,3-thiazol-4-yl)-ethynyl substituted epothilones (9). Formula (9).

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/EP 02/02105
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C12P17/14 C07D277/30		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C12P C07D		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, BEILSTEIN Data, CHEM ABS Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 98 25929 A (CIBA GEIGY AG ; SARABIA FRANCISCO (ES); VALLBERG HANS (SE); NICOLAO) 18 June 1998 (1998-06-18)	1,2
X	*compounds 4,45,46,47* page 57 -page 58; figures 2,7,16	11
A	figure 1	3-5,9
Y	WO 98 08849 A (NOVARTIS AKTIENGESELLSCHAFT ; BAUER ARMIN (DE); CORDES MARTIN (DE);) 5 March 1998 (1998-03-05)	1,2
X	*schemes 2 and 4* page 30 -page 32 page 9	11
-/-		
☒ Further documents are listed in the continuation of box C. ☒ Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another document or other special reason (as specified) *O* document relating to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *Z* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 24 July 2002		Date of mailing of the international search report 20.09.02
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.O. Box 5010 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-5050, Tx. 51 851 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Härtinger, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Final Application No
PCT/EP 02/02105

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	NICOLAOU K C ET AL: "Chemical Biology of Epothilones" ANGEWANDTE CHEMIE. INTERNATIONAL EDITION, VERLAG CHEMIE. WEINHEIM, DE, vol. 37, no. 15, August 1998 (1998-08), pages 2014-2045, XP002131418 ISSN: 0570-0833	1,2
X	*scheme 8*	11
A	examples 3,38-42 page 2040, left-hand column, paragraph 2	3-5,9
Y	EP 0 057 736 A (PHILLIPS PETROLEUM CO) 18 August 1982 (1982-08-18) page 13, line 24 - line 38	1,2
Y	MARCH J: "ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY", ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY. REACTIONS, MECHANISMS, AND STRUCTURE, NEW YORK, JOHN WILEY & SONS, US XP002200250 ISBN: 0-471-60180-2 *chapter 8-39 Metathesis of Olefins* page 1146 -page 1149	1,2
A	ZHEN YANG ET AL: "ANGEWANDTE CHEMIE, VCH VERLAGSGESELLSCHAFT, WEINHEIM, DE" ANGEWANDTE CHEMIE, VCH VERLAGSGESELLSCHAFT, WEINHEIM, DE, vol. 109, no. 1/2, 1997, pages 170-172, XP002095722 ISSN: 0044-8249 *scheme 2*	1-5,9,11
A	WO 98 38192 A (BIOTECHNOLOG FORSCHUNG GMBH ;HOEFLE GERHARD (DE); SEFKOW MICHAEL ()) 3 September 1998 (1998-09-03) page 9 -page 10; examples	3-5,9,11
X	WO 00 58254 A (UNIV KANSAS) 5 October 2000 (2000-10-05) page 16; example 17	11
X	SMITH A B ET AL: "Total Synthesis of (-)-Macrolactin A" JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, DC, US, vol. 118, 1996, pages 13095-13096, XP002207324 ISSN: 0002-7863 *scheme 2* example 3	11

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1999)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT	national application No. PCT/EP 02/02105
Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)	
This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons: 1. ☐ Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely: 2. ☐ Claims Nos.: because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically: 3. ☐ Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 5.4(a).	
Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)	
This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows: see additional sheet As a result of the prior review under R. 40.2(e) PCT, no additional fees are to be refunded. 1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims. 2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee. 3. ☒ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.: 1-5, 9, 11 4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:	
Remark on Protest ☒ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest. ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.	

International Application No. PCT/EP 02 02105

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. Claims: 1(part),2(part),11(part)

olefin methathesis of product 1 to give intermediate 2;
intermediates 2 (2a)

2. Claims: 1(part),2(part),3(part),4(part),11(part)

ester hydrolysis of intermediate 2 (2a) to give intermediate
3 (3a,3b) and product 3 (3a, 3b)

3. Claims: 3(part),5(part),9(part),11(part)

process for the production of 9 starting from intermediates
6 and 3 (3a, 3b); intermediates 4, 5, 6, 7, 8 (8a, 8b), 9

4. Claims: 6(part)-10(part),11(part)

process for the production of intermediates 10 or 11
starting from 1; products 10, 11

5. Claims: 6(part)-10(part),11(part)

process for the preparation of intermediate 3 (3a, 3b)
starting from 11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.
PCT/EP 02/02105

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9825929 A	18-06-1998	AU 746597 B2	02-05-2002
		AU 5757798 A	03-07-1998
		BR 9714140 A	29-02-2000
		CN 1246862 A	08-03-2000
		WO 9825929 A1	18-06-1998
		EP 0944634 A1	29-09-1999
		JP 2001504856 T	10-04-2001
		US 6380394 B1	30-04-2002
WO 9808849 A	05-03-1998	DE 19636343 C1	23-10-1997
		DE 19645361 A1	30-04-1998
		DE 19645362 A1	30-04-1998
		AU 716610 B2	02-03-2000
		AU 2149397 A	19-03-1998
		WO 9808849 A1	05-03-1998
		EP 0923583 A1	23-06-1999
		JP 2001500851 T	23-01-2001
		NZ 334821 A	22-12-2000
		US 6043372 A	28-03-2000
EP 0057736 A	18-08-1982	US 6156905 A	05-12-2000
		US 5969145 A	19-10-1999
EP 0057736 A	18-08-1982	EP 0057736 A1	18-08-1982
WO 9838192 A	03-09-1998	AU 736062 B2	26-07-2001
		AU 6724998 A	18-09-1998
		BR 9807742 A	22-02-2000
		CN 1248974 T	29-03-2000
		DE 19880193 D2	24-08-2000
		WO 9838192 A1	03-09-1998
		EP 1201666 A2	02-05-2002
		EP 0975638 A1	02-02-2000
		HU 0002189 A2	28-10-2001
		JP 2001513098 T	28-08-2001
		NO 994071 A	21-10-1999
		NZ 337195 A	25-05-2001
		PL 335329 A1	25-04-2000
		US 6359140 B1	19-03-2002
		ZA 9801575 A	08-09-1998
WO 0058254 A	05-10-2000	US 6211412 B1	03-04-2001
		AU 3771100 A	16-10-2000
		WO 0058254 A1	05-10-2000

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 D 277/30	C 0 7 D 493/04	1 1 1 4 H 0 3 9
C 0 7 D 417/06	C 1 2 P 17/00	4 H 0 4 9
C 0 7 D 493/04	C 0 7 D 277/30	
C 1 2 P 17/00	C 0 7 B 61/00	3 0 0
// C 0 7 B 61/00	C 0 7 F 7/18	A
C 0 7 F 7/18		

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN, TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH, GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,PL,PT,RO,R U,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZW

(74)代理人 100124453

弁理士 資延 由利子

(72)発明者 ホフレ、ゲルハルト

ドイツ連邦共和国、3 8 1 2 4 ブラウンシュバイク、マッシェローダー ヴェーク 1

(72)発明者 カラマ、ウサマ

ドイツ連邦共和国、3 0 4 1 9 ハノーヴァー、アルテ シュテッケネル シュトラーセ 1 0 0

Fターム(参考) 4B064 AE61 CA01 CA21 CB02 CB30 CD07 CD08 CD13 DA02 DA05
 4C033 AD03 AD08 AD16 AD17 AD18 AD19
 4C063 AA01 BB03 CC80 DD62
 4C071 AA01 BB01 CC12 DD35 EE02 FF18 GG01 HH05 HH08 HH09
 JJ04 KK02
 4H006 AA01 AA02 AB84 AC29 AC46 BA23 BA32 BN10 BR10 BS10
 4H039 CA29 CJ90
 4H049 VN01 VP02 VQ26 VQ57 VQ65 VR23 VR41 VW01