



FI000112478B

**(12) PATENTTIJULKAISU
PATENTSKRIFT****(10) FI 112478 B**

(45) Patentti myönnetty - Patent beviljats

15.12.2003

(51) Kv.lk.7 - Int.kl.7

C07D 305/14

(21) Patentihakemus - Patentansökning

924227

(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag

21.09.1992

(24) Alkuperäpäivä - Löpdag

21.09.1992

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig

24.03.1993

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet

23.09.1991 US 763805 P

03.04.1992 US 863198 P

**SUOMI - FINLAND
(FI)****PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN**

(73) Haltija - Innehavare

1 •Florida State University, 2035 East Paul Dirac Drive, 109 Herb Morgan Building, Tallahassee, FL 32310, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1 •Holton,Robert A., 2035 East Paul Dirac Drive, Tallahassee, FL 32310, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
2 •Biediger,Ronald J., 2035 East Paul Dirac Drive, Tallahassee, FL 32310, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)(74) Asiamies - Ombud: Kolster Oy Ab
Iso Rooberinkatu 23, 00120 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

Menetelmä lääkeaineena käyttökelpoisten 3'-alkoksikarbonyyliamino-substituoitujen taksaanijohdannaisten valmistamiseksi
Förfarande för framställning av ett som läkemedel användbart 3'-alkoksikarbonylamino-substituerade taxanderivat

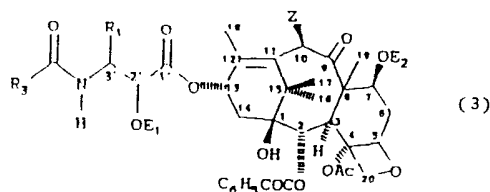
(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

Senilh et al., Comptes Rendus des Seances de l'Academie des Sciences. Serie II, vol. 299, nro 15, 1984, p. 1039-1043

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Keksintö koskee kaavan (3) mukaisten taksaanijohdannaisten valmistusta,

jotka lisäävät taksaanijohdannaisen vesiliukoisuutta. Yhdisteet (3) ovat käyttökelpoisia kasvainten vastaisina aineina.



Jossa R_1 on fenyyli tai substituoitu fenyyli, R_2 on CH_3O- tai CH_3CH_2O- , Z on $-OT_1$, T_1 on vety, hydroksyylin suojaryhmä tai $-COT_2$, T_2 on H, C_{1-6} -alkyyli, C_{1-6} -alkenyyl, C_{1-6} -alkynyyl tai monosyklinen aryyli, Ac on asetyyli, ja E_1 ja E_2 valitaan toisistaan riippumatta ryhmästä, jonka muodostavat vety ja funktionaaliset ryhmät,

Uppfinningen avser framställning av taxanderivat med formeln (3), vari R_1 är fenyl eller substituerad fenyl, R_2 är CH_3O- eller CH_3CH_2O- , Z är OT_1 , T_1 är väte, en hydroxylskyddsgrupp eller $-COT_2$, T_2 är H, C_{1-6} -alkyl, C_{1-6} -alkenyl, C_{1-6} -alkynyl eller monocyklisk aryl, Ac är acetyl, och E_1 och E_2 har självständigt valts bland väte och funktionella grupper, vilka ökar taxanderivatens vattenlöslighet. Föreningarna (3) är användbara som antitumörmedel.

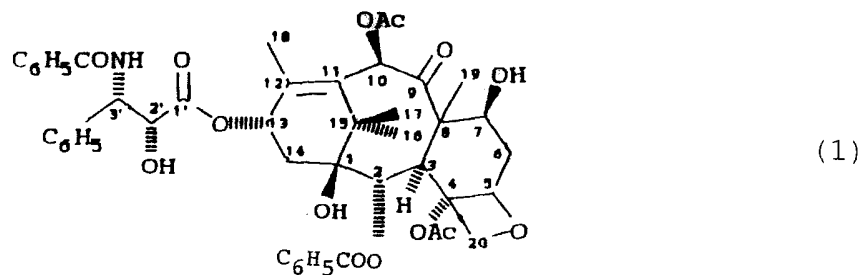
Menetelmä lääkeaineena käyttökelpoisten 3'-alkoksykarbonyyliamino-substituoitujen taksaanijohdannaisten valmistamiseksi

5 **Keksinnön taustaa**

Tämä keksintö koskee uusien taksaanien valmistusta, jotka ovat käyttökelpoisia leukemian ja kasvainten vastaisina aineina.

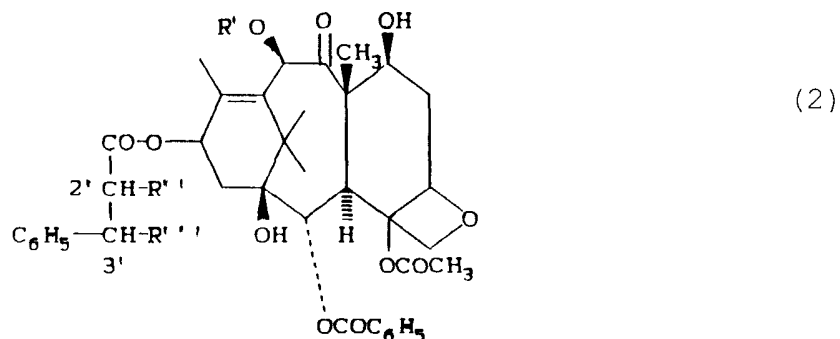
Terpeenien taksaaniryhmä, jonka jäsen taksaani on, 10 on saanut osakseen huomattavaa kiinnostusta sekä biologian että kemian alalla. Taksoli on lupaava syöpäkemoterapeuttinen aine, jolla on laaja-alainen leukemian vastainen ja kasvaimia inhiboiva aktiivisuus. Taksolilla on 2'R,3'S-konfiguraatio ja seuraava rakennekaava:

15



jossa Ac on asetyyli. Tämän lupaavan aktiivisuuden vuoksi 25 taksolille suoritetaan tällä hetkellä klinisiä kokeita sekä Ranskassa että Yhdysvalloissa.

Colin et al. selostavat US-patentissa 4 814 470, että jäljempänä esitetyn rakennekaavan (2) mukaisten tak- 30 solijohdannaisten aktiivisuus on huomattavasti suurempi kuin taksolin (1) aktiivisuus.



10

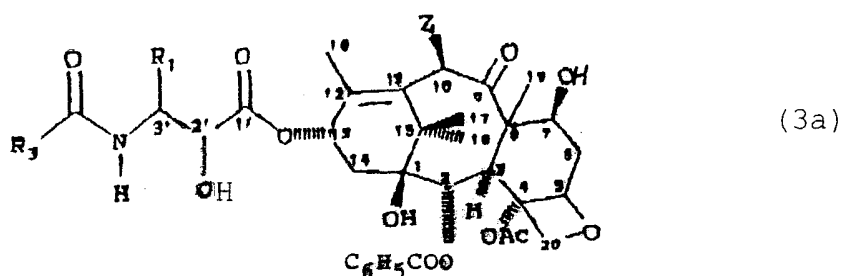
R' merkitsee vetyä tai asetyyliä ja toinen radikaaleista R'' ja R''' merkitsee hydroksia ja toinen merkitsee tert-butoksikarbonyyliaminoa, ja sen stereoisomeeristen muotojen ja niiden seosten aktiivisuus. Kaavan (2) mukaiseen yhdisteeseen, jossa R'' on hydroksi, R''' on tert-butoksikarbonyyliamino ja jolla on 2'R,3'S-konfiguraatio, viitataan tavallisesti taksoteerina.

Vaikka taksoli ja taksoteeri ovat lupaavia kemoterapeuttisia aineita, ne eivät ole yleispätevästi tehokkaita. Siten edelleen tarvitaan lisää kemoterapeuttisia aineita.

Keksinnön yhteenveto

Tämän keksinnön tavoitteisiin kuuluu sen vuoksi uusien taksaanijohdannaisien tarjoaminen, jotka johdannaiset ovat arvokkaita leukemian vastaisia ja kasvainten vastaisia aineita.

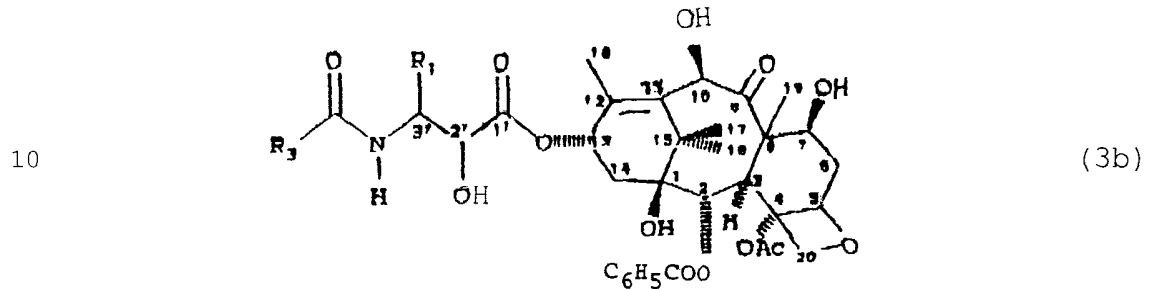
Keksinnön kohteena on menetelmä lääkeaineena käyttökelpoisen taksaanijohdannaisen valmistamiseksi, jolla johdannaisella on kaava



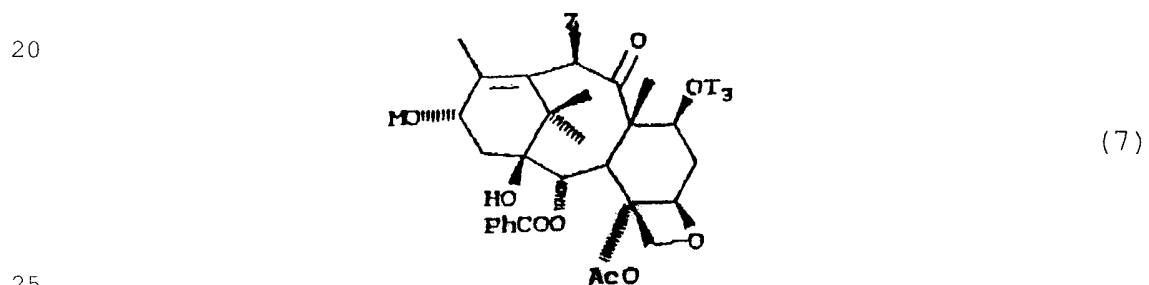
Ac on asetyyli ja

E₁ on hydroksyyllisuojarahmä.

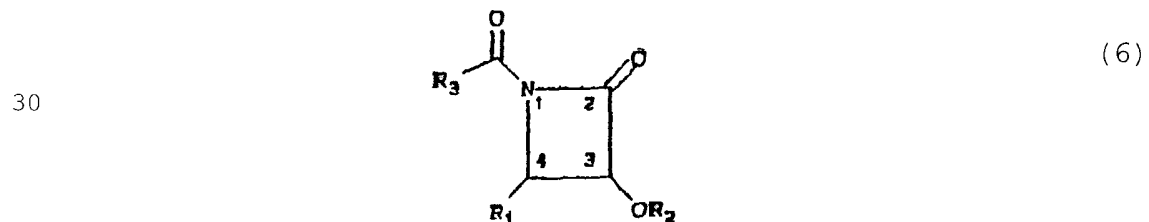
Keksinnön kohteena on myös menetelmä lääkeaineena käyttökelpoisen taksaanijohdannaisen valmistamiseksi, jolla johdannaisella on kaava



15 jossa menetelmässä metallialkoksidi ja β-laktaami saatetaan reagoimaan ja näin saatu välituote muutetaan taksaanijohdannaiseksi poistamalla hydroksisuojarahmät, jolloin metallialkoksidilla on kaava

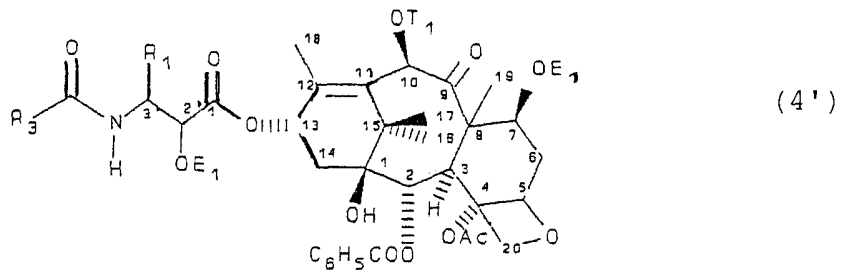


25 β-laktaamilla on kaava



ja välituotteella on kaava:

5



10 joissa

R_1 on fenyyli tai substituoitu fenyyli,

R_2 on hydroksyyllisuojarahmä,

R_3 on $\text{CH}_3\text{O}-$,

Z on $-\text{OT}_1$,

15 M on metalli,

T_1 on hydroksyyllisuojarahmä,

T_3 on hydroksyyllisuojarahmä,

Ac on asetyyli ja

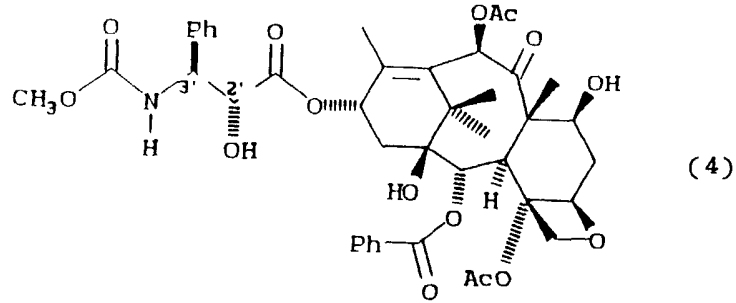
E_1 on hydroksyyllisuojarahmä.

20 Muut tämän keksinnön tavoitteet ja piirteet ovat osaksi ilmeisiä ja osaksi ne on osoitettu jäljempänä.

Edullisten toteutusmuotojen yksityiskohtainen kuvaus

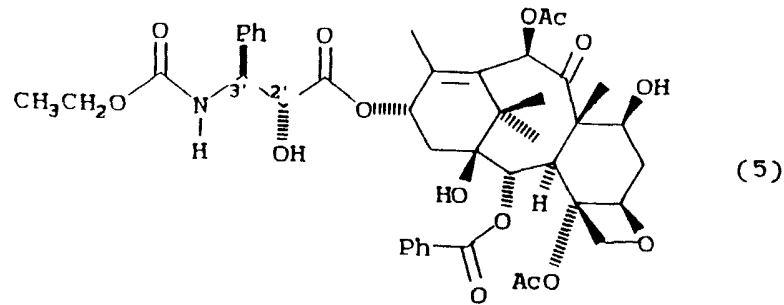
Tämän keksinnön mukaisesti on huomattu, että yhdisteillä, joilla on rakennekaava (3a) tai (3b) yleisesti ja
 25 rakennekaavat (4) ja (5) erityisesti, on merkittäviä in vitro -ominaisuuksia ja ne ovat arvokkaita leukemian ja kasvainten vastaisia aineita. Niiden biologinen aktiivisuus on määritetty in vitro käyttäen tubuliinikokeita julkaisun Parness et al., J. Cell Biology, 91: 479 - 487 (1981),
 30 menetelmän mukaisesti ja ihmisen syöpäsolulinjoja, ja se on verrattavissa taksolin ja taksoteerin osoittamiin aktiivisuuksiin.

5



10

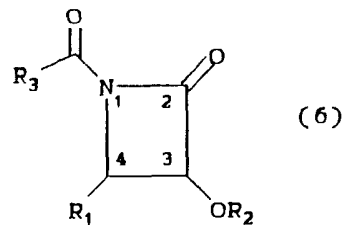
15



20

Kaavojen (4) ja (5) mukaiset taksaanit, joilla on 2'R,3'S-konfiguraatio, voidaan saada saattamalla β -laktaami reagoimaan metallialkoksidien kanssa, joilla on taksaanitetrasyklinen ydin ja C-13-metallioksidisubstituentti, jolloin muodostuu yhdisteitä, joilla on β -amidoesterisubstituentti asemassa C-13. β -laktaameilla on seuraava rakennekaava:

30



35

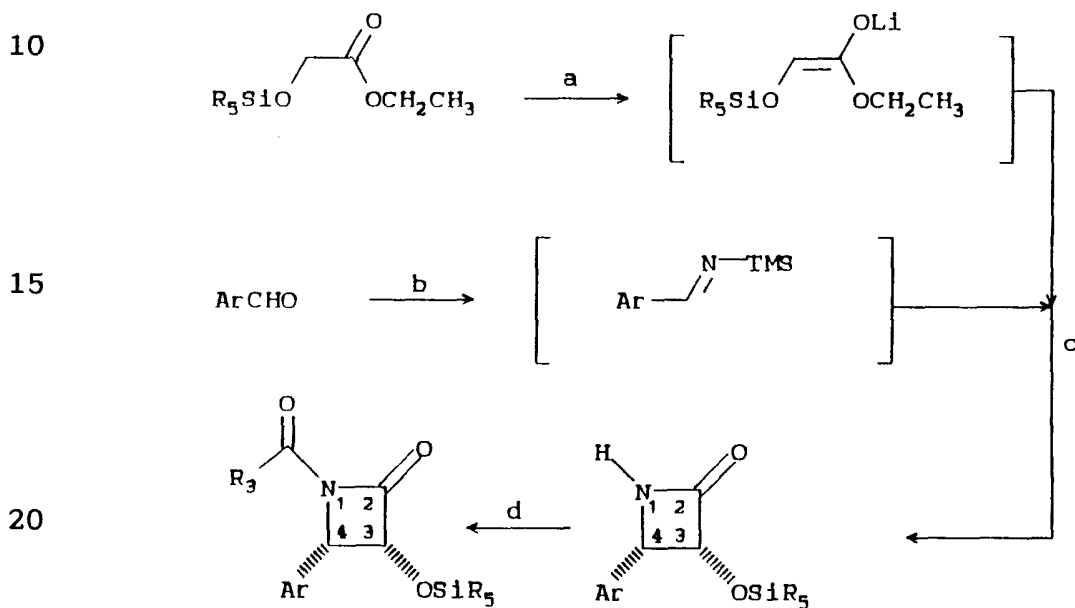
jossa

R_1 on fenyyli tai substituoitu fenyyli,

R_2 on hydroksin suojarahmä,

R_3 on CH_3O - tai $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$ -.

- 5 β -laktaamit (6) voidaan valmistaa helposti saatavissa olevista lähtöaineista kuten seuraavalla reaktiokaaviolla on kuvattu:



reagenssit

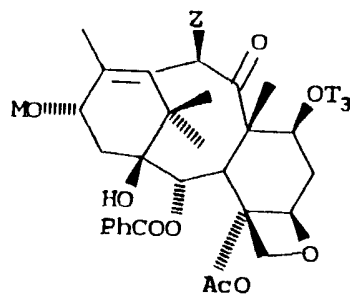
- 25 (a) LDA, THF, $-78\text{ }^\circ\text{C}$ - $-50\text{ }^\circ\text{C}$;
 (b) LHMDS, THF, $-78\text{ }^\circ\text{C}$ - $0\text{ }^\circ\text{C}$;
 (c) THF, $-78\text{ }^\circ\text{C}$ - $25\text{ }^\circ\text{C}$, (2 h); ja
 (d) treityyliamiini ja alkyylikloroformaatti (R_3 = alkoksikarbonyyli).

- 30 Edellä olevassa reaktiokaaviossa esitetty 3-hydroksyylin suojarahmä on $-\text{SiR}_5$, jossa R_5 on trialkyyli tai triaryyli kuten trietyyli. 3-hydroksyyli voi olla suojarahmuilla tavanomaisilla suojarahmillä kuten 1-etoksietyylillä tai 2,2,2-trikloorietoksimetyylillä. Lisää hydroksin suojarahmiä ja niiden synteesejä voi löytää julkaisusta
- 35

T.W. Greene, "Protective groups in Organic Synthesis", John Wiley & Sons, 1981.

Raseemiset β -laktaamit voidaan erottaa puhtaiksi enantiomeereiksi ennen suojausta uudelleenkiteyttämällä
5 vastaavat 2-metoksi-2-(trifluorimetyyli)fenyylitikkahap-
poesterit. Kuitenkin jäljempänä kuvatulla reaktiolla, jos-
sa β -amidoesterisivuketju on kiinnittynyt, on se etu, että
se on erittäin diastereoselektiivinen ja sallii siten si-
vuketjuprekursorin raseemisen seoksen käytön.

10 Metallialkoksidoilla, joilla on taksaanitetrasyk-
linen ydin ja C-13-metallioksidisubstituentti, on seuraava
rakennekaava:



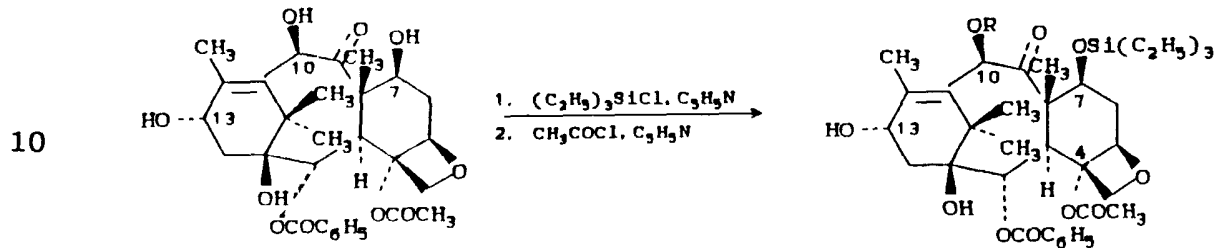
(7)

20 jossa Z on $-OT_1$; T_1 on vety, hydroksyylin suojaryhmä tai
 $-COT_2$; T_2 on H, C_{1-6} -alkyyli, C_{2-6} -alkenyyl, C_{2-6} -alkynyyl
tai monosyklinen aryyli; T_3 on hydroksin suojaryhmä; ja M
on metalli, joka edullisesti valitaan ryhmästä, jonka muo-
dostavat ryhmä IA, ryhmä IIA ja siirtymämetallit, edulli-
30 simmin Li, Mg, Na, K ja Ti.

Metallialkoksidit valmistetaan edullisesti saatta-
malla alkoholi, jossa on taksaanitetrasyklinen ydin ja
C-13-hydroksyyli-ryhmä, reagoimaan metalliorganisen yhdis-
teen kanssa sopivassa liuotuksessa. Edullisimmin alkoholi
30 on suojattu bakkatiini III, erityisesti 7-O-trietyylisi-
lyyllibakkatiini III (joka voidaan saada kuten on kuvattu
julkaisussa Greene et al., JACS 110: 5917 (1988) tai muil-
la tavoilla) tai 7,10-bis-O-trietyylisilyyllibakkatiini
35 III.

Kuten Greene et al. ovat selostaneet, 10-deasetyylibakkatiini III muutetaan 7-O-trietyylisilyyli-10-deasetyylibakkatiiniksi III seuraavan reaktiokaavion mukaisesti:

5



15

(8)

(9) a, $T_1=H$
b, $T_1=COCH_3$

20 Olosuhteissa, joiden on selostettu olevan huolellisesti optimoituja, 10-deasetyylibakkatiini III saatetaan reagoimaan 20 ekvivalentin kanssa $(C_2H_5)_3SiCl$:a 23 °C:ssa argonatmosfäärissä 20 tunnin ajan niin, että läsnä on 50 ml pyridiiniä/mmole 10-deasetyylibakkatiinia III, jolloin saadaan 7-trietyylisilyyli-10-deasetyylibakkatiini III (9a) reaktiotuotteena 84 - 86 %:n saannolla puhdistuksen jälkeen. Reaktiotuote voidaan sitten mahdollisesti asetyloidä 5 ekvivalentilla CH_3COCl :a ja 25 ml:lla pyridiiniä/mmole 9a:ta 0 °C:ssa argonatmosfäärissä 48 tunnin aikana, jolloin saadaan 86 %:n saannolla 7-O-trietyylisilyylibakkatiinia III (9b). Greene et al., JACS 110, 5917 - 5918 (1988).

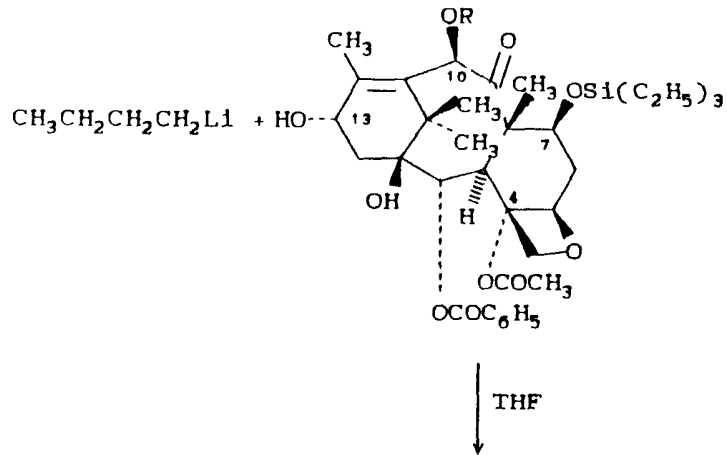
30

7-O-trietyylisilyylibakkatiini III (9b) saatetaan reagoimaan metalliorganisen yhdisteen kuten n-butyylilitiumin kanssa liuottimessa kuten tetrahydrofuraanissa (THF:ssa), jolloin muodostuu metallialkoksidi 13-O-litium-

7-O-trietyylisilyylibakkatiini III (10), kuten seuraavassa reaktiokaaviossa on esitetty:

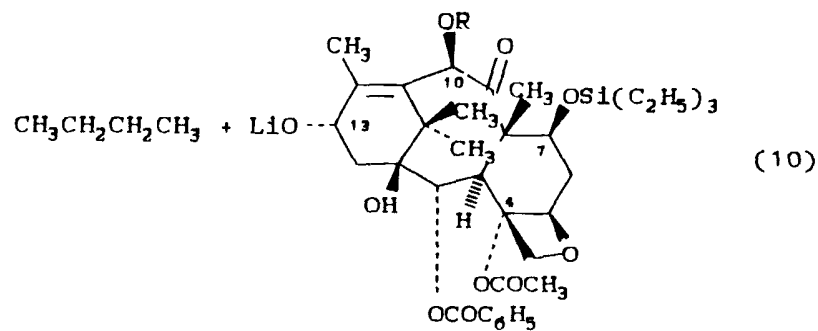
5

10



15

20

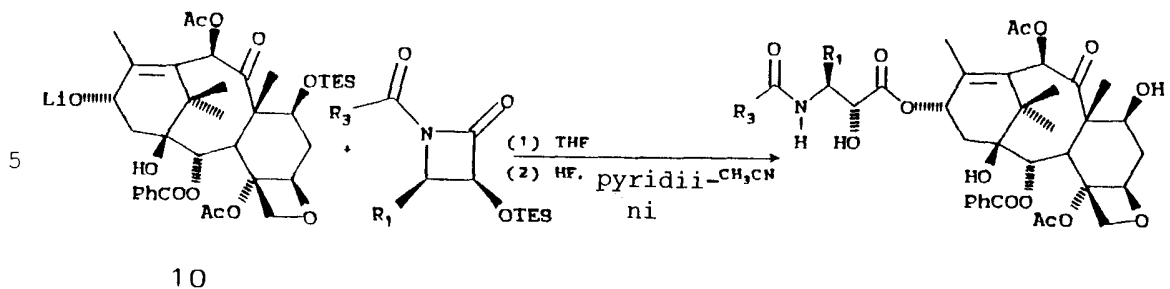


25

30

35

Kuten seuraavassa reaktiokaaviossa on esitetty, 13 III (10) reagoi β-laktaamin (6) kanssa, jossa R₂ on trietyylisilyyli, jolloin saadaan välituote, jossa C-7- ja C-2'-hydroksyyliiryhmät on suojattu trietyylisilyyliiryhmällä. Sen jälkeen trietyylisilyyliiryhmät hydrolysoidaan lievissä olosuhteissa, niin ettei esterisidosta tai taksaani-substituentteja häiritä.



10 jossa

R_1 on fenyyli tai substituoitu fenyyli,

R_3 on CH_3O - tai $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$ -.

Sekä alkoholin muuttaminen metallialkoksidiksi että taksaanijohdannaisen lopullinen synteesi voivat tapahtua samassa reaktioastiassa. β -laktaami lisätään edullisesti reaktioastiaan sen jälkeen, kun siinä on muodostunut metallialkoksidi.

Yhdisteet (3a) ja (3b) ovat käyttökelpoisia farmaseuttisissa koostumuksissa, jotka sisältävät kaavan (3a) tai (3b) mukaista yhdistettä yleisesti ja kaavojen (4) ja (5) mukaisia yhdisteitä erityisesti yhdessä yhden tai useamman farmaseuttisesti hyväksyttävän inertin tai fysiologisesti aktiivisen laimentimen tai adjuvantin kanssa.

25 Nämä koostumukset voivat olla läsnä missä tahansa muodossa, joka sopii aiottuun antotapaan. Parenteraalinen tapa ja erityisesti laskimonsisäinen tapa on edullinen antotapa.

Farmaseuttiset koostumukset parenteraalista antamista varten voivat olla vesipitoisia tai ei-vesipitoisia steriilejä liuoksia, suspensioita tai emulsioita. Propyleeniglykolia, kasviöljyä, erityisesti oliiviöljyä, ja injektoitavia orgaanisia estereitä, esim. etyylioleaattia, voidaan käyttää liuottimena tai vehikkelinä. 35 Nämä koostumukset voivat myös sisältää adjuvantteja, erityisesti kostutusaineita, emulgointiaineita tai disper-

gointiaineita. Sterilointi voidaan toteuttaa useilla tavoilla, esim. käyttäen bakteerisuodatinta, sisällyttämällä sterilointiaineita koostumukseen, säteilyttämällä tai kuumentamalla. Ne voivat olla myös steriileinä kiinteinä
 5 koostumuksina, jotka voidaan liuottaa tai dispergoida steriiliin veteen tai mihin tahansa muuhun injektoitavaan steriiliin väliaineeseen.

Yleisten kaavojen (3a) ja (3b) mukaisia tuotteita käytetään erityisemmin akuuttien leukemioiden ja kiinteiden
 10 kasvainten hoidossa vuorokausiannoksina, jotka ovat yleensä välillä 1 - 2 mg/kg laskimonsisäisellä (perfuusio) tavalla aikuiselle ihmiselle.

Kaavan (3) mukaisten yhdisteiden vesiliukoisuutta voidaan parantaa modifioimalla C2'- ja/tai C7-substituentteja liittämällä sopivat funktionaaliset ryhmät E₁ ja E₂.
 15 Lisättyä vesiliukoisuutta varten E₁ ja E₂ voivat merkitä toisistaan riippumatta vetyä ja ryhmää -COGCOR¹, jossa G on etyleeni, propyleeni, CH=CH, 1,2-sykloheksyleeni tai 1,2-fenyleeni,

20 R¹ = OH-emäs, NR²R³, OR³, SR³, OCH₂CONR⁴R⁵ tai OH,

R² = vety tai metyyli,

R³ = (CH₂)_nNR⁶R⁷ tai (CH₂)_nN⁺R⁶R⁷R⁸X⁻,

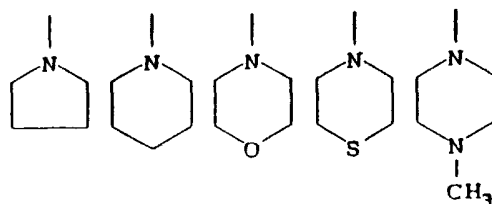
n = 1 - 3,

R⁴ = vety tai alempi alkyyli, jossa on 1 - 4 hiiltä,

25 R⁵ = vety, alempi alkyyli, jossa on 1 - 4 hiiltä, bentsyyli, hydroksietyyli, CH₂CO₂H tai dimetyyliaminoetyyli,

R⁶ ja R⁷ = kumpikin alempi alkyyli, jossa on 1 tai 2 hiiltä, tai bentsyyli, tai R⁶ ja R⁷ muodostavat yhdessä ryhmän NR⁶R⁷ typpiä atomin kanssa jonkin seuraavista renkaista

30



R^8 = alempi alkyyli, jossa on 1 tai 2 hiiltä, tai bentsyyli,

X^- = halogenidi, ja

emäs = NH_3 , $(HOC_2H_4)_3N$, $N(CH_3)_3$, $CH_3N(C_2H_4OH)_2$, $NH_2(CH_2)_6NH_2$,
 5 N-metyyliglukamiini, NaOH tai KOH.

Yhdisteiden valmistus, joissa yhdisteissä E_1 tai E_2 on $-COGCR^1$, on esitetty julkaisussa Hangwitz, US-patentti 4 942 184, joka sisällytetään tähän viittauksella.

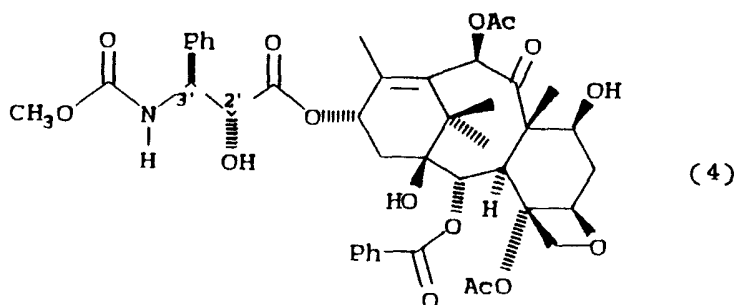
Seuraavat esimerkit valaisevat keksintöä.

10

Esimerkki 1

N-debentsoyyli-N-metoksikarbonyylitaksolin valmistus

15



20

Liuokseen, jonka muodosti 7-trietyylisilyylibakka-
 tiini III (100 mg, 0,143 mmol) 1 ml:ssa THF:a -45 °C:ssa,
 25 lisättiin tipoittain 0,087 ml 1,63 M nBuLi:n liuosta hek-
 saanissa. Sen jälkeen, kun seosta oli pidetty 0,5 tuntia
 -45 °C:ssa, siihen lisättiin tipoittain cis-1-metoksikar-
 bonyyli-3-trietyylisilyylioksi-4-fenyyliatsetidin-2-onin
 (252 mg, 0,715 mmol) liuos 1 ml:ssa THF:a. Liuos lämmitet-
 30 tiin 0 °C:seen ja pidettiin siinä lämpötilassa 1 tunti
 ennen kuin lisättiin 1 ml 10-%:ista AcOH:n liuosta
 THF:ssa. Seosta jakoutettiin kylläisellä vesipitoisella
 NaHCO₃:lla ja 60/40-suhteisella etyyliasetaatin ja hek-
 saanin seoksella. Orgaaninen kerros haihdutettiin, jolloin
 35 saatiin jäännös, joka puhdistettiin suodattamalla silika-
 geelin läpi, jolloin saatiin 129 mg seosta, joka sisälsi

(2'R,3'S)-2',7-(bis)trietyylisilyyli-N-debentsoyyli-N-metoksikarbonyylitaksolia ja pienen määrän (2'S,3'R)-isomeeriä.

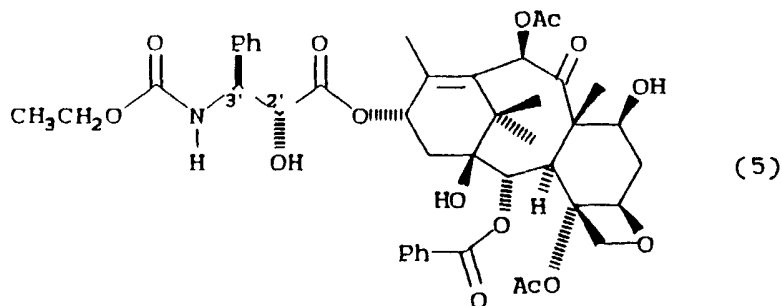
5 Liuokseen, jonka muodostivat 129 mg (0,112 mmol) edellä esitetystä reaktiosta saatua seosta 6 ml:ssa asetonitriiliä ja 0,3 ml pyridiiniä 0 °C:ssa, lisättiin 0,9 ml 48-%:ista vesipitoista HF:a. Seosta sekoitettiin 0 °C:ssa 3 tuntia, sitten 25 °C:ssa 13 tuntia ja jakoutettiin kyl-
10 läisellä vesipitoisella natriumbikarbonaatilla ja etyyliasetaatilla. Etyyliasetaatiliuos haihdutettiin, jolloin saatiin 108 mg ainetta, joka puhdistettiin flash-kromatografialla, jolloin saatiin 90 mg (76 %) N-debentsoyyli-N-metoksikarbonyylitaksolia, joka uudelleenkiteytettiin me-
tanolista/vedestä.

15 Sp. 169 - 171 °C; $[\alpha]_{Na}^{25} -63,7^\circ$ (c 1,1, CHCl₃).
¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 8,12 (d, J = 7,1 Hz, 2H, bentsoaatti, orto), 7,65 - 7,3 (m, 8H, aromaattinen), 6,28 (m, 2H, H10, H13), 5,66 (d, J = 7,1 Hz, 1H, H2B), 5,58 (d, J = 9,4 Hz, 1H, H3'), 5,30 (d, J = 9,4 Hz, 1H, NH), 4,93
20 (dd, J = 9,3, 1,7 Hz, 1H, H5), 4,65 (leveä s, 1H, H2'), 4,40 (m, 1H, H7), 4,29 (d, J = 8,8 Hz, 1H, H20α), 4,17 (d, J = 8,8 Hz, 1H, H20B), 3,79 (d, J = 7,1 Hz, 1H, H3), 3,58 (s, 3H, COOMe), 3,34 (d, J = 5 Hz, 1H, 2'OH), 2,54 (m, 1H, H6α), 2,47 (d, J = 3,8 Hz, 1H, 7OH), 2,36 (s, 3H, 4Ac),
25 2,24 (s, 3H, 10Ac), 2,22 (m, 2H, H14α, H14β), 1,88 (m, 1H, H6α), 1,82 (leveä s, 3H, Me18), 1,73 (s, 1H, 10H), 1,68 (s, 3H, Me19), 1,27 (s, 3H, Me17), 1,14 (s, 3H, Me16).

Esimerkki 2

N-debentsoyyli-N-etoksikarbonyylitaksolinvalmistus

30



35

Liuokseen, jonka muodosti 7-trietyylisilylibakka-
tiini III (155 mg, 0,221 mmol) 2 ml:ssa THF:a -45 °C:ssa,
lisättiin tipoittain 0,136 ml 1,63 M nBuLi:n liuosta hek-
saanissa. Sen jälkeen, kun seosta oli pidetty 0,5 tuntia
5 -45 °C:ssa, siihen lisättiin tipoittain cis-1-etoksikarbo-
nyyli-3-trietyylisilylioksi-4-fenyliatsetidin-2-onin
(386 mg, 1,11 mmol) liuos 2 ml:ssa THF:a. Liuos lämmitet-
tiin 0 °C:seen ja pidettiin siinä lämpötilassa 1 tunti
ennen kuin lisättiin 1 ml 10-%:ista AcOH:n liuosta THF:ssa.
10 Seosta jakouutettiin kylläisellä vesipitoisella NaHCO₃:lla
ja 60/40-suhteisella etyyliasetaatin ja heksaanin
seoksella. Orgaaninen kerros haihdutettiin, jolloin saatiin
jäännös, joka puhdistettiin suodattamalla silikageelin
läpi, jolloin saatiin 252 mg seosta, joka sisälsi
15 (2'R,3'S)-2',7-(bis)trietyylisilyyli-N-debentsoyyli-N-
etoksikarbonyylitaksolia ja pienen määrän (2'S,3'R)-iso-
meeriä.

Liuokseen, jonka muodostivat 252 mg edellä esite-
tystä reaktiosta saatua seosta 12 ml:ssa asetonitriiliä ja
20 0,6 ml pyridiiniä 0 °C:ssa, lisättiin 1,8 ml 48-%:ista
vesipitoista HF:a. Seosta sekoitettiin 0 °C:ssa 3 tuntia,
sitten 25 °C:ssa 13 tuntia ja jakouutettiin kylläisellä
vesipitoisella natriumbikarbonaatilla ja etyyliasetaatilla.
Etyyliasetaattiliuos haihdutettiin, jolloin saatiin 216 mg
25 ainetta, joka puhdistettiin flash-kromatografialla, jolloin
saatiin 155 mg (85 %) N-debentsoyyli-N-etoksikarbonyyli-
taksolia, joka uudelleenkitetyttiin metanolista/vedestä.
Sp. 161,5 - 162,5 °C; $[\alpha]_{\text{Na}}^{25} -62,2^\circ$ (c 0,51, CHCl₃).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 8,12 (d, J = 7,7 Hz, 2H, bentso-
30 aatti, orto), 7,65 - 7,3 (m, 8H, aromaattinen), 6,28 (m,
1H, H10), 6,27 (m, 1H, H13), 5,67 (d, J = 7,1 Hz, 1H,
H2B), 5,53 (d, J = 9,3 Hz, 1H, H3'), 5,29 (d, J = 9,3 Hz,
1H, NH), 4,94 (dd, J = 9,3, 2,2 Hz, 1H, H5), 4,64 (dd, J =
5,0, 2,8 Hz, 1H, H2'), 4,41 (m, 1H, H7), 4,29 (d, J =

8,5 Hz, 1H, H_{20α}), 4,17 (d, J = 8,5 Hz, 1H, H_{20β}), 4,01 (q, J = 7,1 Hz, 2H, COOCH₂CH₃), 3,79 (d, J = 7,1 Hz, 1H, H₃), 3,45 (d, J = 5 Hz, 1H, 2'OH), 2,54 (m, 1H, H_{6α}), 2,47 (d, J = 3,9 Hz, 1H, 7OH), 2,36 (s, 3H, 4Ac), 2,24 (s, 3H, 10Ac), 2,22 (m, 2H, H_{14α}, H_{14β}), 1,87 (m, 1H, H_{6α}), 1,83 (leveä s, 3H, Me₁₈), 1,77 (s, 1H, 10H), 1,68 (s, 3H, Me₁₉), 1,27 (s, 3H, Me₁₇), 1,15 (s, 3H, Me₁₆), 1,14 (t, J = 7,1 Hz, 2H, COOCH₂CH₃).

Esimerkki 3

10 Tubuliinisitoutumiskokeet suoritettiin käyttäen yhdisteitä (4) ja (5) oleellisesti kuten on esitetty julkaisussa Parness et al., J. Cell Biology 91: 479 - 487 (1981) ja verrattuna taksoliin ja taksoteeriin. Tulokset on esitetty taulukossa 1.

15

Taulukko 1

| Yhdiste nimi/kaava | Tubuliinikoe | |
|-----------------------|-------------------|-----------------|
| | Ensimm. piikki | Suht. nopeus |
| 20 4 | 64 | |
| 5 | 44 | 78 |
| Taksoli | 100 | 98 |
| Taksoteeri | 100 | - |

25 Esimerkki 4

IC₅₀-tulokset saatiin in vitro ihmisen syöpäsolulinjalla (HCT 116), jota on saatavissa yhtiöltä National Cancer Institute, ja monilääkeresistentillä solulinjalla (HCT/VM46), joka on resistentti erilaisille hydrofobisille aineille, mukaanlukien taksolin. Sytotoksisuus määritettiin 30 ihmisen HCT116- ja HCT VM46-paksusuolisyöpäsoluissa XTT-kokeella (2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sulfofenyyli)-5-[(fenyyliamino)karbonyyli]-2H-tetratsoliumhydroksidiko- keella) (Scudiero et al, "Evaluation of a soluble tetrazo- 35 lium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity

in culture using human and other tumor cell lines", Cancer Res. 48: 4827 - 4833, 1988). Soluja laitettiin 4000 solua/kuoppa 96 kuoppamikrotiitterilevyille ja 24 tuntia myöhemmin lisättiin lääkkeet ja tehtiin sarjalaimennokset. 5 Soluja inkuboitiin 37 °C:ssa 72 tuntia, jona aikana lisättiin tetratsoliumväriainetta, XTT:tä. Elävien solujen dehydrogenaasiensyymi pelkistää XTT:n muotoon, joka absorboi valoa 450 nm:n aallonpituudella, mikä voidaan määrittää kvantitatiivisesti spektrofotometrisesti. Mitä suurempi 10 absorbanssi on, sitä suurempi on elävien solujen määrä. Tulokset on ilmaistu IC₅₀:nä, joka on se lääkepitoisuus, joka vaaditaan solujen jakautumisen inhiboimiseen (so. absorbanssi 450 nm:n aallonpituudella) 50 %:lla käsittelemättömien vertailusolujen jakautumisesta. Tulokset on esitetty taulukossa 2. Pienemmät numerot ilmaisevat suuremman 15 aktiivisuuden.

Taulukko 2

| | IC ₅₀ | |
|---------------|------------------|-------|
| 20 Yhdiste | HCT | HCT |
| nimi/kaava | 116 | VM46 |
| 4 | 0,093 | n.d. |
| 5 | 0,007 | 0,206 |
| Taksoli | 0,004 | 0,536 |
| 25 Taksoteeri | 0,007 | 0,246 |

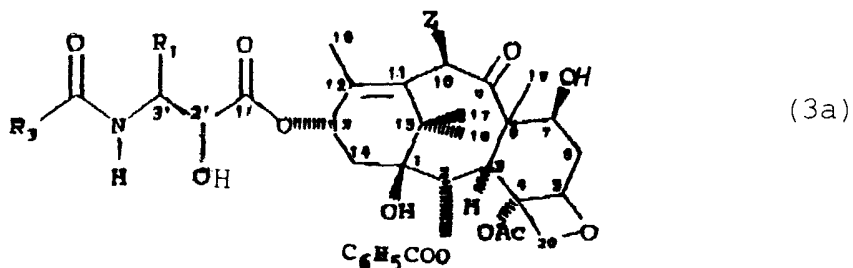
Edellä esitetyn vuoksi huomataan, että useat keksinnön tavoitteet saavutetaan.

Koska edellä esitettyihin koostumuksiin voidaan 30 tehdä erilaisia muutoksia eroamatta keksinnön piiristä, on tarkoitettu, että kaikki edellä esitettyyn kuvaukseen sisältyvä asia tulkitaan valaisevana eikä rajoittavassa mielessä.

Patenttivaatimukset

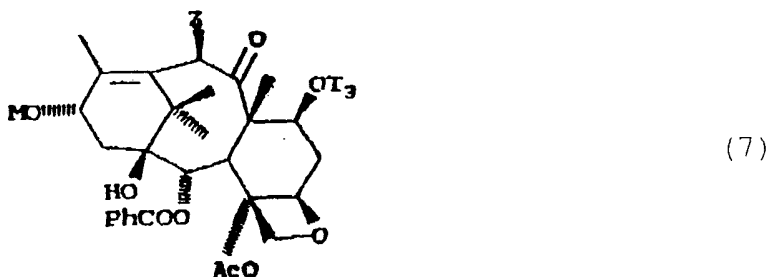
1. Menetelmä lääkeaineena käyttökelpoisen taksaani-
johdannaisen valmistamiseksi, jolla johdannaisella on kaava

5



10

t u n n e t t u siitä, että metallialkoksidi ja β -laktaami
saatetaan reagoimaan ja näin saatu välituote muutetaan
15 taksaanijohdannaiseksi poistamalla hydroksisuojarahmät,
jolloin metallialkoksidilla on kaava



20

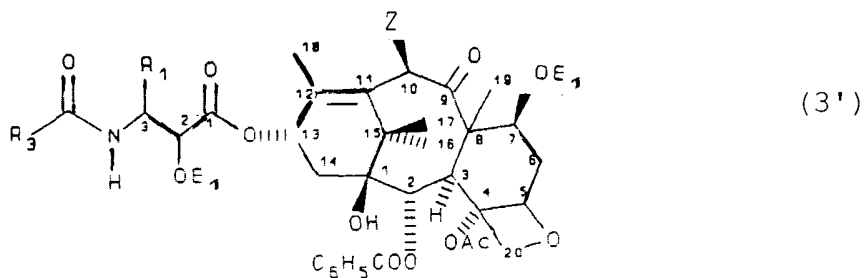
β -laktaamilla on kaava

25



30

ja välituotteella on kaava:



35

joissa

R_1 on fenyyli tai substituoitu fenyyli,

R_2 on hydroksyyllisuojarahmä,

R_3 on $\text{CH}_3\text{O}-$ tai $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-$,

5 Z on $-\text{OCOT}_2$,

M on metalli,

T_2 on H , C_{1-6} -alkyyli, C_{2-6} -alkenylyli, C_{2-6} -alkynylyli tai monosyklinen arylyli,

T_3 on hydroksyyllisuojarahmä,

10 Ac on asetyyli ja

E_1 on hydroksyyllisuojarahmä.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että R_1 on fenyyli, R_3 on $\text{CH}_3\text{O}-$, Z on $-\text{OCOCH}_3$ ja taksaanijohdannaisella on 2'R,3'S-kon-
15 figuraatio.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että R_1 on fenyyli, R_3 on $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-$, Z on $-\text{OCOCH}_3$, ja taksaanijohdannaisella on 2'R,3'S-konfiguraatio.

20 4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että Z on $-\text{OCOCH}_3$.

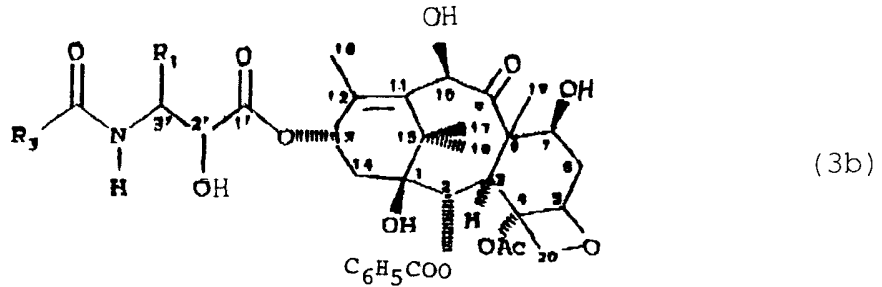
5. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että M on litium, magnesium, natrium, kalium tai titaani.

25 6. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että R_1 on fenyyli ja R_3 on $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-$.

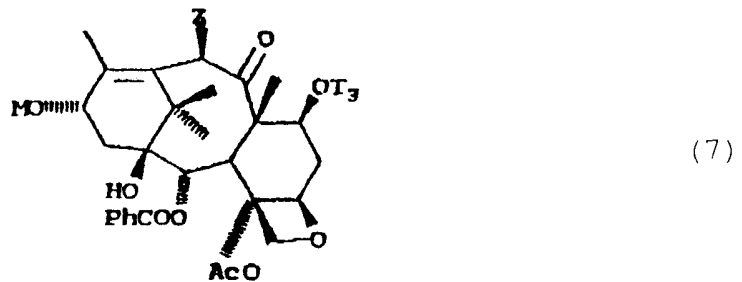
7. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että, että R_1 on fenyyli ja R_3 on
30 $\text{CH}_3\text{O}-$.

8. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että Z on $-\text{OCOCH}_3$, ja M on litium, magnesium, natrium, kalium tai titaani.

9. Menetelmä lääkeaineena käyttökelpoisen taksaani-
johdannaisen valmistamiseksi, jolla johdannaisella on kaava



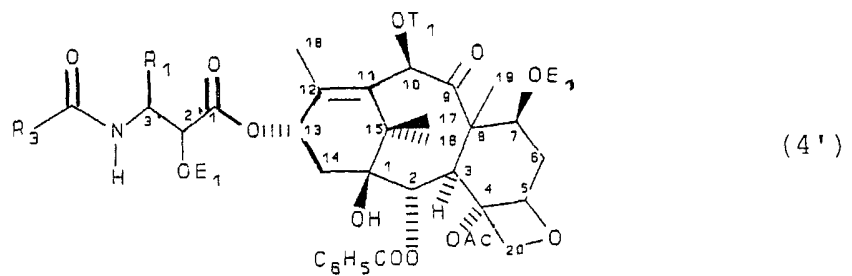
10
t u n n e t t u siitä, että metallialkoksidi ja β -laktaami
saatetaan reagoimaan ja näin saatu välituote muutetaan
taksaanijohdannaiseksi poistamalla hydroksisuojarahmät,
jolloin metallialkoksidilla on kaava



20
 β -laktaamilla on kaava



30
ja välituotteella on kaava:



joissa

R_1 on fenyyli tai substituoitu fenyyli,

R_2 on hydroksyyllisuojarahmä,

R_3 on $\text{CH}_3\text{O}-$,

5 Z on $-\text{OT}_1$,

M on metalli,

T_1 on hydroksyyllisuojarahmä,

T_3 on hydroksyyllisuojarahmä,

Ac on asetyyli ja

10 E_1 on hydroksyyllisuojarahmä.

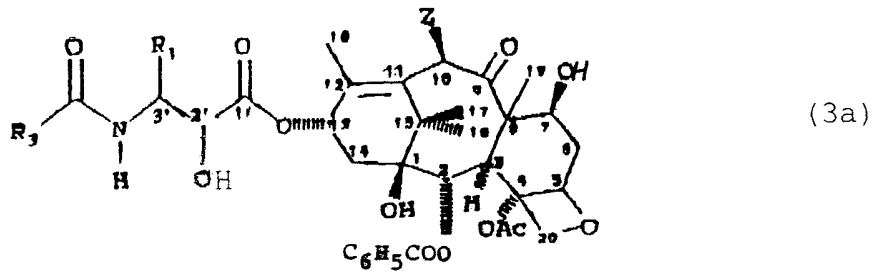
10. Patenttivaatimuksen 9 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että M on litium, magnesium, nat-
rium, kalium tai titaani.

11. Patenttivaatimuksen 9 mukainen menetelmä,
15 t u n n e t t u siitä, että R_1 on fenyyli.

Patentkrav

1. Förfarande för framställning av ett som läke-
medel användbart taxanderivat med formeln

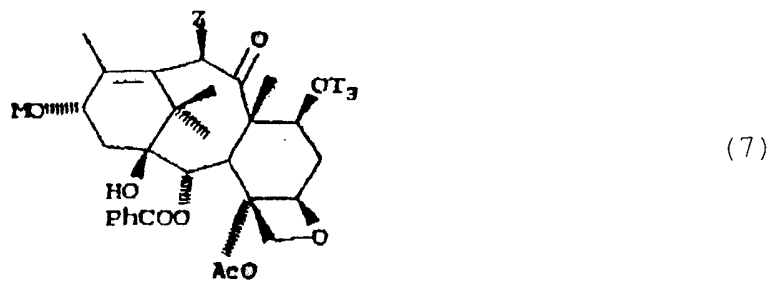
5



10

k ä n n e t e c k n a t av att en metallalkoxid och en β -
laktam bringas att reagera och den så erhållna
15 mellanprodukten omvandlas till ett taxanderivat genom
avlägsnande av hydroxiskyddsgrupperna, varvid metallalk-
oxiden har formeln

20

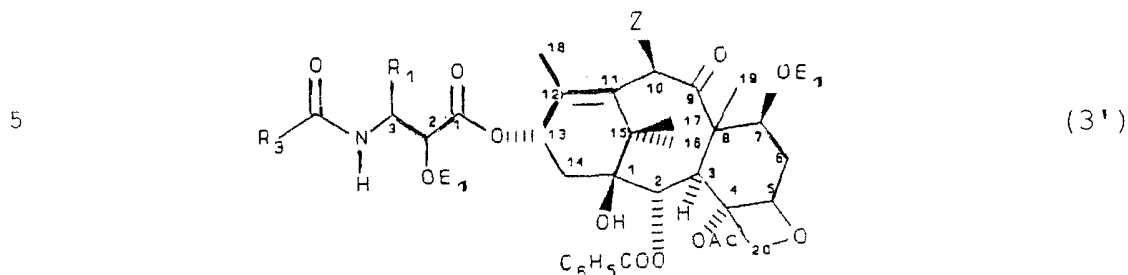


25 β -laktamen har formeln

30



och mellanprodukten har formeln:



10 där

R_1 är fenyl eller substituerad fenyl,

R_2 är en hydroxylskyddsgrupp,

R_3 är $\text{CH}_3\text{O}-$ eller $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-$,

Z är $-\text{OCOT}_2$,

15 M är en metall,

T_2 är H, C_{1-6} -alkyl, C_{2-6} -alkenyl, C_{2-6} -alkynyl eller monocyklisk aryl,

T_3 är en hydroxylskyddsgrupp,

Ac är acetyl och

20 E_1 är en hydroxylskyddsgrupp.

2. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
t e c k n a t av att R_1 är fenyl, R_3 är $\text{CH}_3\text{O}-$, Z är
 $-\text{OCOCH}_3$ och taxanderivatet har en 2'R,3'S-konfiguration.

3. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
25 t e c k n a t av att R_1 är fenyl, R_3 är $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-$, Z är
 $-\text{OCOCH}_3$ och taxanderivatet har en 2'R,3'S-konfiguration.

4. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
t e c k n a t av att Z är $-\text{OCOCH}_3$.

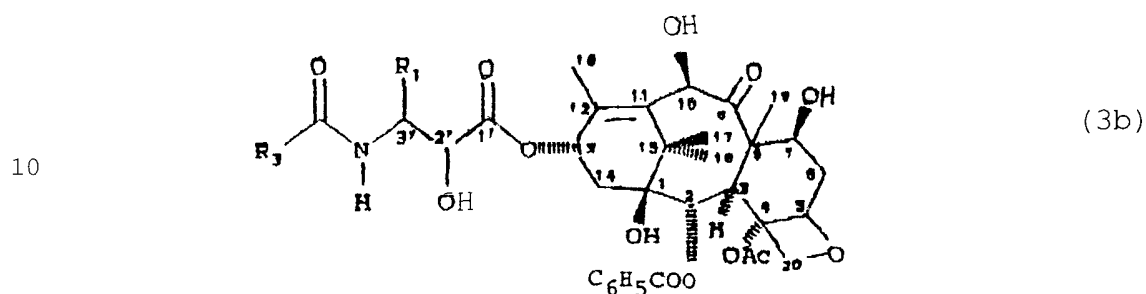
5. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
30 t e c k n a t av att M är litium, magnesium, natrium,
kalium eller titan.

6. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
t e c k n a t av att R_1 är fenyl och R_3 är $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-$.

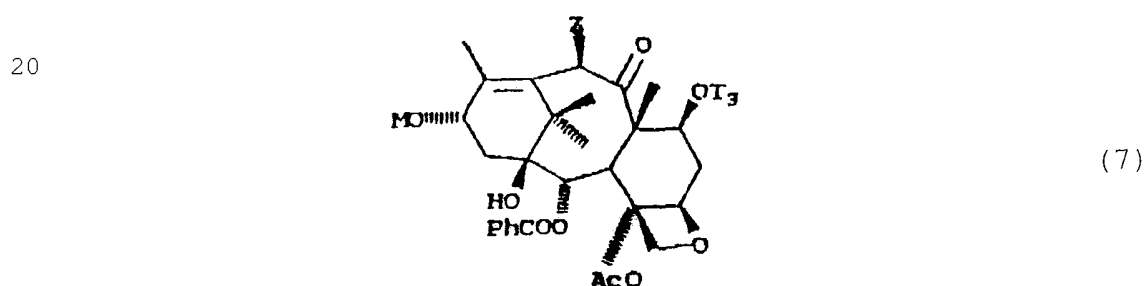
7. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
35 t e c k n a t av att R_1 är fenyl och R_3 är $\text{CH}_3\text{O}-$.

8. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
t e c k n a t av att Z är $-\text{OCOCH}_3$, och M är litium,
magnesium, natrium, kalium eller titan.

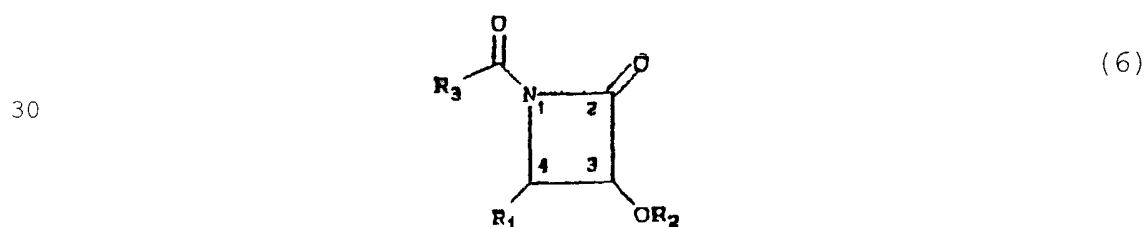
9. Förfarande för framställning av ett som
5 läkemedel användbart taxanderivat med formeln



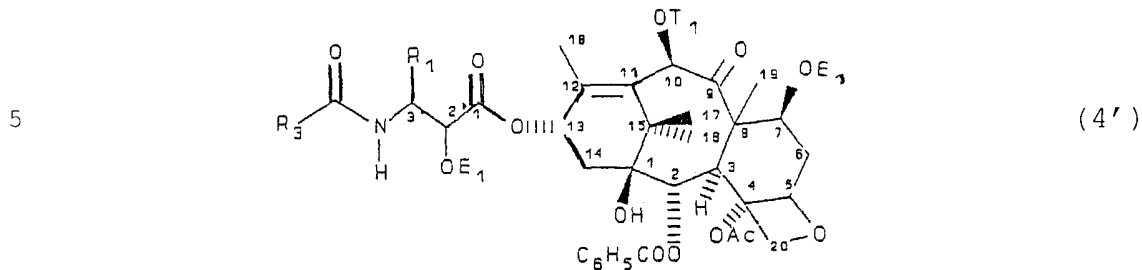
k ä n n e t e c k n a t av att en metallalkoxid och en β -
15 laktam bringas att reagera och den så erhållna
mellanprodukten omvandlas till ett taxanderivat genom
avlägsnande av hydroxiskyddsgrupperna, varvid metall-
alkoxiden har formeln



25
 β -laktamen har formeln



och mellanprodukten har formeln:



10 där

R_1 är fenyl eller substituerad fenyl,

R_2 är en hydroxylskyddsgrupp,

R_3 är $\text{CH}_3\text{O}-$,

Z är $-\text{OT}_1$,

15 M är en metall,

T_1 är väte eller en hydroxylskyddsgrupp,

T_3 är en hydroxylskyddsgrupp,

Ac är acetyl och

E_1 är väte eller en hydroxylskyddsgrupp.

20 10. Förfarande enligt patentkrav 9, kännetecknat av att M är litium, magnesium, natrium, kalium eller titan.

11. Förfarande enligt patentkrav 9, kännetecknat av att R_1 är fenyl.