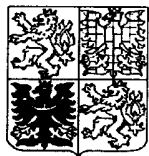


PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

287 609

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **1994 - 661**

(22) Přihlášeno: **22.09.1992**

(30) Právo přednosti:

23.09.1991 US 1991/763805

18.06.1992 US 1992/900408

(40) Zveřejněno: **12.07.1995**

(Věstník č. 7/1995)

(47) Uděleno: **01.11.2000**

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: **17.01.2001**

(Věstník č. 1/2001)

(86) PCT číslo: **PCT/US92/07935**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 93/06093**

(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:

Florida State University, Tallahassee, FL, US;
Bristol-Myers Squibb Company, New York, NY,
US;

(72) Původce vynálezu:

Holton Robert A., Tallahassee, FL, US;
Chen Shu-Hui, Wallingford, CT, US;
Farina Vittorio, Wallingford, CT, US;

(74) Zástupce:

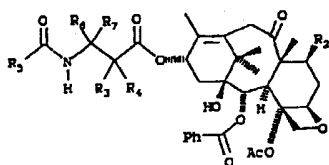
Čermák Karel JUDr., Národní 32, Praha 1, 11000;

(54) Název vynálezu:

Deriváty 10-deacetoxytaxolu

(57) Anotace:

Řešení se týká derivátů 10-deacetoxytaxolu, které jsou užitečné jako protinádorová činidla. Tyto sloučeniny mají strukturu odpovídající obecnému vzorci 1, kde R_2 je H, hydroxy nebo chráněná hydroxy; R_8 a R_9 nezávisle je vždy H, alkyl, alkenyl se 2 až 6 C v hlavním řetězci a celkem s až 15 C, alkynyl se 2 až 6 C v hlavním řetězci a celkem s až 15 C, nebo aryl se 6 až 15 C; a R_{10} je alkoxy s 1 až 6 C v hlavním řetězci a celkem s až 15 C, alkyl s 1 až 6 C v hlavním řetězci a celkem s až 15 C, alkenyl se 2 až 6 C v hlavním řetězci a celkem s až 15 C, alkynyl se 2 až 6 C v hlavním řetězci a celkem s až 15 C nebo aryl; s tou podmínkou, že když R_2 je H, potom R_3 a R_4 nezávisle je vždy H, methyl, merkpto, amino nebo $-NR_8R_9$.



(1)

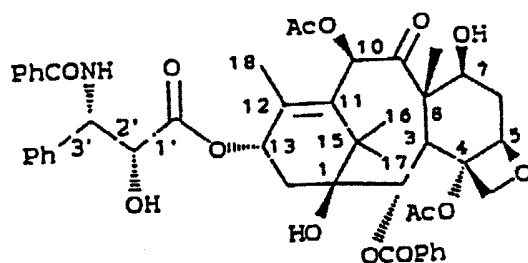
Deriváty 10-deacetoxytaxolu

Oblast techniky

Vynález se týká nových protinádorových činidel a zejména se týká derivátů 10-deacetoxytaxolu.

Dosavadní stav techniky

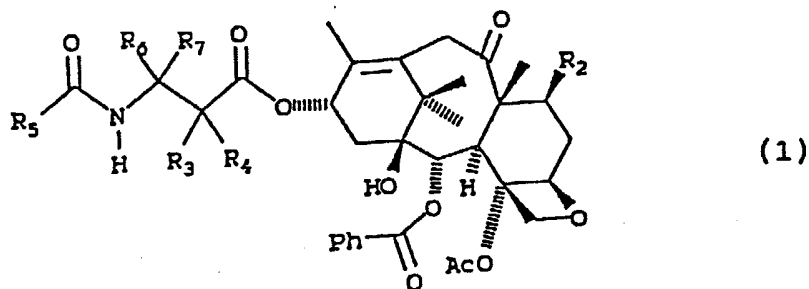
Taxol je přírodním produktem, který se extrahuje z kůry *Taxus brevifolia*. Ukázalo se, že vykazuje vynikající protinádorovou účinnost na zvířecích modelech in vivo a nedávné studie osvětlily jeho jedinečný způsob účinku, který zahrnuje abnormální polymeraci tubulinu narušení mitosy. V současné době se s touto látkou provádějí klinické zkoušky v USA a ve Francii, které jsou zaměřeny na použití proti rakovině vaječníků, prsu a jiným typům rakoviny. Předběžné výsledky potvrzují, že se jedná o velmi slibné chemoterapeutikum. Struktura taxolu a číslování jeho systému, kterého se obvykle používá, je znázorněno dále. Tohoto systému číslování lze také používat pro označování sloučenin podle tohoto vynálezu.



Podstata vynálezu

Vynález se opírá o nalezení nové taxanové sloučeniny, 10-deacetoxytaxolu a jeho derivátů, které ukazují protinádorovou účinnost.

Předmětem tohoto vynálezu jsou deriváty 10-deacetoxytaxolu obecného vzorce 1



kde

R_2 představuje atom vodíku, hydroxyskupinu nebo chráněnou hydroxyskupinu zvolenou ze souboru zahrnujícího etherové skupiny s 1 až 19 atomy uhlíku, etherové skupiny s 1 až 19 atomy uhlíku s jedním až třemi atomy dusíku a/nebo jedním atomem síry a etherové skupiny s 1 až 19 atomy uhlíku a jedním atomem křemíku, esterové skupiny s 1 až 8 atomy uhlíku, esterové skupiny s 1 až 8 atomy uhlíku substituované alespoň jedním atomem halogenu, alkoxykarbonyloxy skupiny obsahující 1 až 6 atomů uhlíku v alkoxylové části, alkoxykarbonyloxy skupiny obsahující 1 až 6 atomů uhlíku v alkoxylové části a substituované alespoň jedním atomem halogenu, alkenyloxykarbonyloxy skupiny obsahující 2 až 6 atomů uhlíku v alkenylové části, cykloalkyloxykarbonyloxy skupiny obsahující 3 až 6 atomů uhlíku v cykloalkylové části a fenoxyskupiny obsahující 1 až 6 atomů uhlíku v alkoxylové části.

karbonyloxy- nebo benzyloxykarbonyloxyskupiny, které jsou popřípadě v kruhu substituovány alespoň jednou alkoxyskupinou s 1 až 6 atomy uhlíku nebo nitroskupinou;

- 5 R_3 a R_4 nezávisle představuje vždy atom vodíku, hydroxyskupinu, chráněnou hydroxyskupinu definovanou výše, methylskupinu, merkaptoskupinu, aminoskupinu nebo skupinu vzorce $-NR_8R_9$;
- R_5 představuje skupinu R_{10} nebo $-OR_{10}$;
- 10 R_6 a R_7 nezávisle představuje vždy atom vodíku, alkylskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku v hlavním řetězci a celkem s až 15 atomy uhlíku nebo arylskupinu se 6 až 15 atomy uhlíku;
- 15 R_8 a R_9 nezávisle představuje vždy atom vodíku, alkylskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenylskupinu se 2 až 6 atomy uhlíku v hlavním řetězci a celkem s až 15 atomy uhlíku, alkynylskupinu se 2 až 6 atomy uhlíku v hlavním řetězci a celkem s až 15 atomy uhlíku, nebo arylskupinu s 6 až 15 atomy uhlíku; a
- 20 R_{10} představuje alkoxyskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku v hlavním řetězci a celkem s až 15 atomy uhlíku, alkylskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku v hlavním řetězci a celkem s až 15 atomy uhlíku, alkenylskupinu se 2 až 6 atomy uhlíku v hlavním řetězci a celkem s až 15 atomy uhlíku, alkynylskupinu se 2 až 6 atomy uhlíku v hlavním řetězci a celkem s až 15 atomy uhlíku nebo arylskupinu s až 15 atomy uhlíku;
- 25 Ph představuje fenylskupinu; a
- Ac představuje acetylskupinu;

30 s tou podmínkou, že když R_2 představuje atom vodíku, R_3 a R_4 nezávisle představuje vždy atom vodíku, methylskupinu, merkaptoskupinu, aminoskupinu nebo skupinu vzorce $-NR_8R_9$.

Kromě řady jiných derivátů spadá do rozsahu vynálezu také 10-deacetoxytaxol a 10-deoxytaxoter.

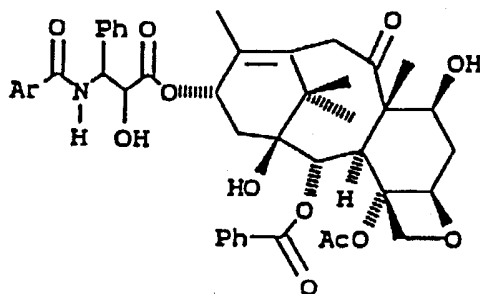
35 Další úkoly vynálezu a znaky, které jsou pro něj charakteristické, jsou uvedeny v následujícím podrobnějším popisu.

Pod označením „Ar“ se rozumí arylskupina, pod označením „Ph“ se rozumí fenylskupina, „Ac“ znamená acetylskupinu, „R“ znamená alkylskupinu, „11-en“ představuje strukturu s dvojnou vazbou mezi atomy uhlíku 11 a 12 sloučeniny obecného vzorce 1 a „10,12-dien“ představuje strukturu s dvojnými vazbami mezi atomy uhlíku 10 a 11, jakož i 12 a 18 sloučeniny vzorce 1.

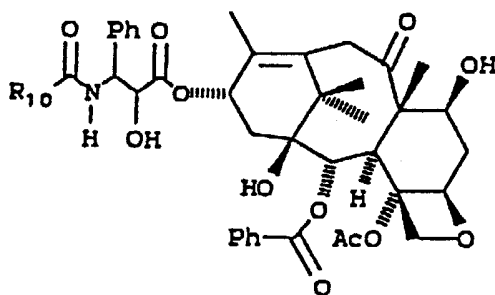
45 Do rozsahu chránících skupin hydroxyskupiny spadají (ale nejsou na ně omezeny) etherové skupiny, jako methyl-, terc.butyl-, benzyl-, p-methoxybenzyl-, p-nitrobenzyl-, allyl-, trityl-, methoxymethyl-, methoxyethoxymethyl-, ethoxyethyl-, tetrahydropyranyl-, tetrahydrothiopyranyl- a trialkylsilyletherové skupiny, jako je trimethylsilyl-, triethylsilyl-, dimethylarylsilyl-, triisopropylsilyl a terc. butyldimethylsilyletherová skupin; esterové skupiny, jako je benzoyl-, acetyl-, fenylacetyl-, formyl-, mono-, chloracetyl-, dichloracetyl-, trichloracetyl- a trifluoracylesterová skupina; karbonové skupiny, jako například alkyloxykarbonyloxy skupiny obsahující 1 až 6 atomů uhlíku, jako je methyl-, ethyl-, n-propyl-, isopropyl-, n-butyl-, 50 terc.butyl-, isobutyl- a n-pentyloxykarbonyloxy skupina; alkyloxykarbonyloxy skupiny obsahující 1 až 6 atomů uhlíku a substituované jedním nebo více atomy halogenu, jako je 2,2,2-trichlorethoxymethyl- a 2,2,2-trichlorethyloxykarbonyloxy skupina; alkenyloxykarbonyloxy skupiny obsahující 2 až 6 atomů uhlíku, jako je vinyl- a allyloxykarbonyloxy skupina; 55 cykloalkyloxykarbonyloxy skupina obsahující 3 až 6 atomů uhlíku, jako je cyklopropyl-,

cyklobutyl-, cyklopentyl- a cyklohexyloxykarbonyloxy skupina; a fenyloxykarbonyloxy nebo benzyloxykarbonyloxy skupiny, které jsou popřípadě v kruhu substituovány jednou nebo více alkoxy skupinami s 1 až 6 atomy uhlíku nebo nitroskupinami.

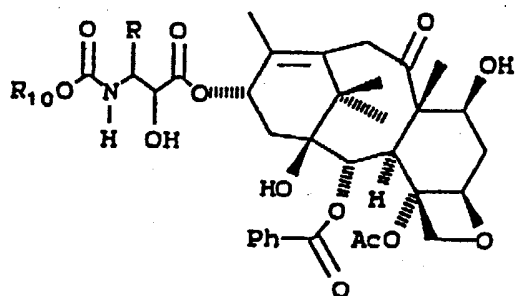
- 5 Jako příklady sloučenin spadajících do výše uvedeného obecného vzorce 1 je možno uvést sloučeniny vzorce 2 až 9



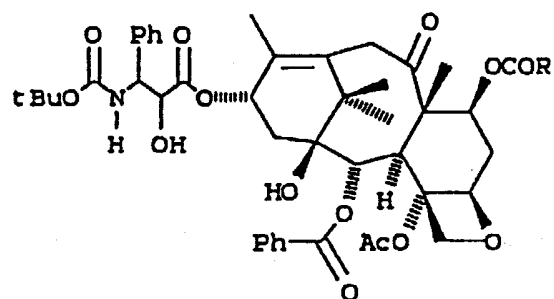
(2)



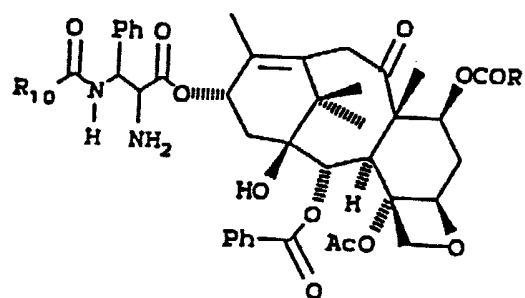
(3)



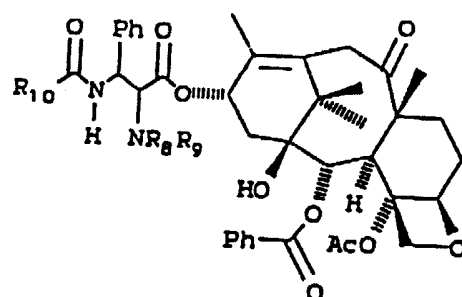
(4)



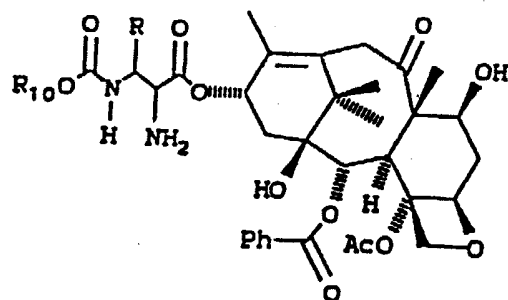
(5)



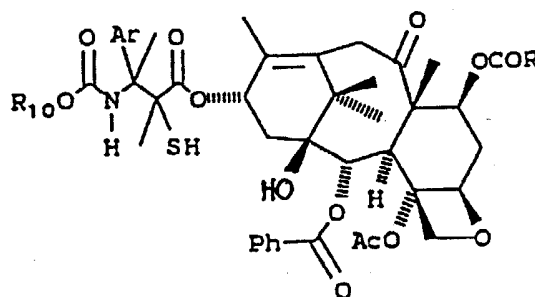
(6)



(7)



(8)



(9)

Přednostně jeden ze symbolů R_3 a R_4 představuje atom vodíku nebo methylskupinu, přičemž zbývající představuje hydroxyskupinu nebo chráněnou hydroxyskupinu. R_5 přednostně představuje fenylskupinu, p-substituovanou fenylskupinu nebo nižší alkoxyskupinu a nejvýhodněji fenylskupinu, methoxyskupinu, ethoxyskupinu nebo terc.butoxyskupinu. Jeden ze symbolů R_6 a R_7 přednostně představuje atom vodíku nebo nižší alkylskupinu a zbývající představuje fenylskupinu nebo naftylskupinu. R_8 přednostně představuje atom vodíku nebo nižší alkylskupinu a R_9 přednostně představuje chránicí skupinu aminoskupiny.

V jednom přednostním provedení sloučenin obecného vzorce 1 R_2 představuje hydroxyskupinu nebo chráněnou hydroxyskupinu; R_3 představuje atom vodíku, R_4 představuje hydroxyskupinu nebo chráněnou hydroxyskupinu; R_5 představuje fenylskupinu, R_6 představuje atom vodíku a R_7 představuje fenylskupinu. V jiném přednostním provedení představuje R_5 terc.butoxyskupinu. V případě, že buď R_3 , nebo R_4 představuje chráněnou hydroxyskupinu, jedná se přednostně o skupinu karbonátového typu, která se nejvýhodněji volí ze souboru zahrnujícího 2,2,2-trichlorethoxykarbonylskupinu, allyloxykarbonylskupinu a benzyloxykarbonylskupinu, nebo o skupinu trialkylsilylového typu, nejvýhodněji o triethylsilylskupinu. V nejvýhodnějším provedení sloučenina obecného vzorce 1 (1) 10-deacetyltaxol a (2) 10-deoxytaxoter.

Způsob výroby sloučenin obecného vzorce 1 zahrnuje reakční sekvenci znázorněnou ve schématu I.

Schéma I

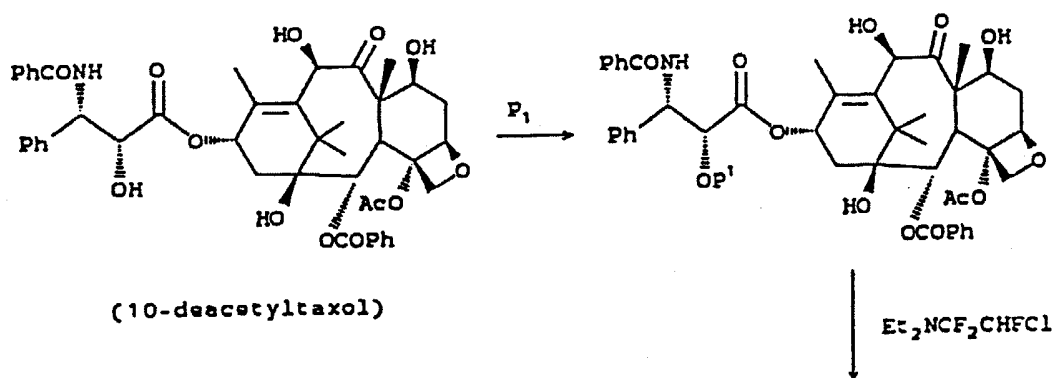
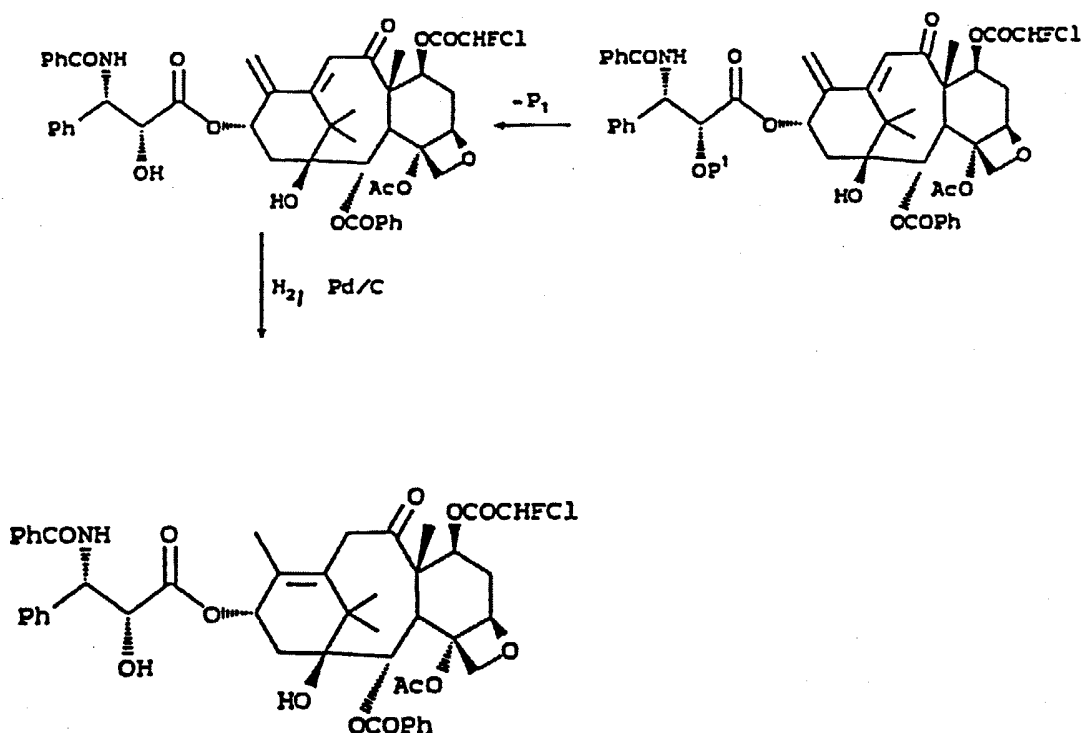


Schéma I - pokračování



- 5 Jak je to znázorněno, jako výchozích látek pro přípravu sloučenin obecného vzorce 1 se podle schématu I používá 10-deacetyltaxolu, který je možno získat z taxolu reakcí s bromidem zinečnatým ve směsi chloroformu a methanolu (viz G. Samaranayake et al., J. Org. Chem., 1991, 56: 5114 až 5119).

- 10 Ve schématu I představuje symbol P_1 chránicí skupinu hydroxyskupiny. V prvním reakčním stupni se tedy 2'-hydroxyskupina 10-deacetyltaxolu chrání. Jako chránicí skupiny se může použít skupiny, které lze zavést a opět odštěpit, aniž by to představovalo nepříjemné ovlivnění zbytku molekuly. S výhodou se používá chránicí skupiny, která preferenčně blokuje 2'-hydroxyskupinu před dvěma sekundárními hydroxyskupinami obsaženými v kruhu, totiž 7- a 10-hydroxyskupinou. Ochrana hydroxyskupiny se může provést způsobem, který je dobře znám
- 15 v tomto oboru, například reakcí s karboxylovou kyselinou nebo jejím acylačním ekvivalentem, kterou se vytvoří ester, reakcí s alkylhalogenidem za přítomnosti báze, které se vytváří ether nebo reakcí s chlorformiátem, kterou se vytvoří karbonát.

- 20 Přednostní chránicí skupinou 2'-hydroxyskupiny je při této reakci exokarbonyloxy skupina, již lze zavést tak, že se na 10-deacetyltaxol působí vhodným chlorformiátem, například allyl- nebo benzylchlorformiátem, za vzniku odpovídajícího karbonátu. Tato reakce se provádí v inertním organickém rozpouštědle, jako je dichlormethan, tetrahydrofuran, acetonitril, dimethylformamid, benzen, pyridin, p-dioxan a přednostně za přítomnosti látky vázající kyseliny, jako je aminická báze, například pyridin, diisopropylethylamin, 4-aminopyridin, triethylamin apod., nebo
- 25 anorganická báze, jako je uhličitán draselný nebo tetrabutylamoniumhydroxid, při vhodné teplotě, která, v závislosti na zvolených reakčních činidlech, leží v rozmezí od asi - 78 do asi 50 °C. Obvykle se může používat asi jednoho až deseti ekvivalentů reakčního činidla zavádějícího chránicí skupinu, počítáno na taxolovou sloučeninu. Výhodné je sledovat průběh reakce, například chromatografií na tenké vrstvě, aby se mohlo dosáhnout požadovaného stupně
- 30 chránění.

Takto získaný 2'-hydroxy-chráněný 10-deacetyltaxol se potom nechá reagovat s 1,1,2-trifluor-2-chlortriethylaminem (TFCT), za vzniku 2'-hydroxy-chráněného-7-O-chlorfluoracetyl-10-deacetoxy-11,12-dihydroxytaxol-10,12(18)-dienu. TFCT se může získat z diethylaminu a trifluorchlorethylanu způsobem popsáným v N.N. Yarovenko, J. Org. Chem., USSR (anglická verze), 1959, 29: 2125 až 2128. Reakce 2'-hydroxy-chráněného 10-deacetyltaxolu a TFCT se provádí v inertním organickém rozpouštědle, jako jsou halogenované uhlovodíky, například dichlormethan, chloroform a tetrachlormethan, při teplotě v rozmezí od asi 0 °C do teploty zpětného toku reakčního roztoku. Přednostně se reakce provádí při teplotě okolí. TFCT se používá přinejmenším v množství jednoho ekvivalentu, vztaženo na taxolový derivát. Přednostně se ho však používá v nadbytku, obvykle v množství od asi jednoho do asi deseti ekvivalentů TFCT, vztaženo na derivát taxolu.

Chránicí skupina 2'-hydroxyskupiny se může odštěpovat postupy, které jsou známe v tomto oboru a které se hodí pro konkrétně použitou chránicí skupinu. Tak například se může použít kysele nebo zásaditě katalyzované hydrolýzy, redukce, hydrogenolýzy apod. Allyloxykarbonyloxy chránicí skupinu je tedy například možno odštěpit působením tributylstannihydridu a tetrakis(trifenylfosfin)paladia. Benzyloxykarbonyloxy chránicí skupinu je možno odštěpit katalytickou hydrogenolýzou.

7-O-Chlorfluoracetyl-10-deacetoxy-11,12-dihydrotaxol-10,12(18)dien je možno převést na 10-deacetoxy-7-O-chlorfluoracetyltaxol katalytickou hydrogenací, při níž se jako katalyzátoru může například použít paladia, platiny, rhodia apod. V případech, kdy byla při předchozích stupních reakční sekvence jako chránicí skupina 2'-hydroxyskupiny použita benzyloxykarbonyloxoskupina, má katalytická hydrogenace za následek převedení 10,12-dienu na 11-en a odstranění 2'-chránicí skupiny v jednom stupni. Je zřejmé, že pořadí deprotektce 2'-hydrogenace není rozhodující a tyto reakce lze provést v libovolném pořadí.

Při dalším způsobu výroby sloučenin podle tohoto vynálezu se získávají sloučeniny obecného vzorce 1, kde R_2 představuje atom vodíku, hydroxyskupinu nebo chráněnou hydroxyskupinu a R_3 představuje fenylskupinu. Sloučeniny tohoto typu je možno připravovat z 10-deacetyltaxolu nebo 10-deacetyl-7-epitaxolu způsobem znázorněným ve schématu II.

Schéma II

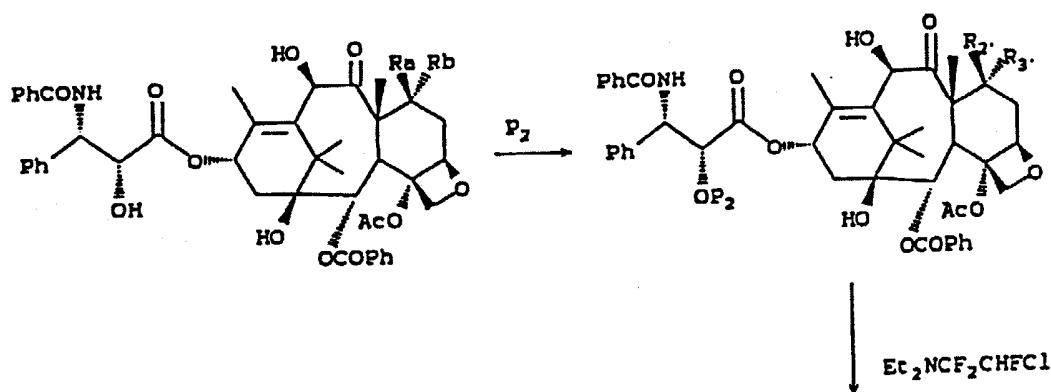
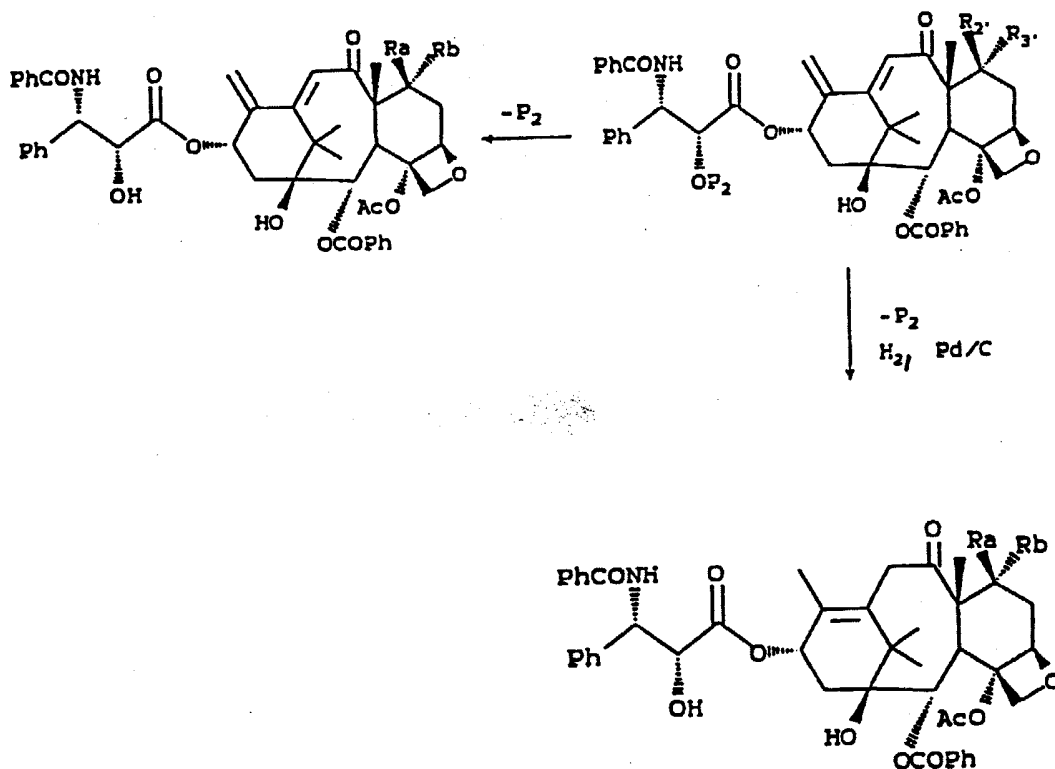


Schéma II - pokračování



- 5 Ve schématu II R_a představuje hydroxyskupinu, R_b představuje atom vodíku, R_2' představuje skupinu OP_2 a R_3' představuje atom vodíku; nebo R_a představuje vodík, R_b představuje hydroxyskupinu, R_2' představuje vodík a R_3' představuje hydroxyskupinu; P_2 představuje chránicí skupinu hydroxyskupiny.
- 10 V případě, že se jako výchozí látky používá 10-deacetyltaxolu (tj. R_a představuje hydroxyskupinu a R_b představuje atom vodíku), je žádoucí chránit jak 2'-, tak 7-hydroxyskupinu, přičemž 10-hydroxyskupina je ponechána volná. Přednostní chránicí skupinou je v tomto případě 2,2,2-trichlorethoxykarbonylskupina, kterou lze zavádět reakcí taxolové reakční složky s 2,2,2-trichlorethylchlorformiátem za přítomnosti báze, jako je pyridin, diisopropylamin, triethylamin, dimethylaminopyridin apod. Pro kontrolu stupně chránění a minimalizaci blokování 10-
- 15 hydroxyskupiny se báze obvykle používá v množství přibližně od jednoho do dvou ekvivalentů, vzhledem k taxolu a chlorformiátu v množství od asi 0,6 do asi 1,5 ekvivalentu, vzhledem k taxolu.
- 20 V případě, že se jako výchozí látky používá 10-deacetyl-7-epitaxolu (tj. R_a představuje atom vodíku a R_b představuje hydroxyskupinu), chrání se pouze 2'-hydroxyskupina, poněvadž 7-hydroxyskupina je podstatně inertnější než 2'-hydroxyskupina a je relativně neschopná acylace, ať již chlorformiátem, nebo TFCT v následujícím stupni.
- 25 Takto získaný 2',7-bishydroxy-chráněný 10-deacetyltaxol nebo 2'-hydroxy-chráněný 10-deacetyl-7-epitaxol se potom nechá reagovat s TFCT, za vzniku 2',7-bishydroxy-chráněného 10-deacetoxy-11,12-dihydrotaxol-10,12(18)-dienu nebo 2'-chráněného 10-deacetoxy-11,12-dihydro-7-epitaxol-10,12(18)-dienu. Reakce s TFCT se provádí v inertním organickém rozpouštědle, jako je halogenovaný uhlovodík, například dichlormethan, chloroform nebo tetrachlormethan, při teplotě v rozmezí od asi 0 °C do teploty zpětného toku reakčního roztoku. Přednostně se reakce provádí při teplotě okolí. TFCT se používá přinejmenším v množství
- 30 jednoho ekvivalentu, vzhledem k taxolové reakční složce, ale přednostně se ho používá

v nadbytku. Obvykle se používá TFCT v množství od asi jednoho do asi deseti ekvivalentů. 2'-a, pokud je přítomna, i 7-chráněná hydroxyskupina se potom zbaví chránicí skupiny způsobem, který je vhodný pro konkrétně použitou chránicí skupinu a tak se získá 10-deacetoxy-11,12-dihydrotaxol-10,12(18)-dien nebo 10-deacetoxy-11,12-dihydro-7-epitaxol-10,12(18)-dien.

5 Trichlorethoxykarbonylová skupina se například odštěpuje pomocí zinku, benzyloxykarbonylová skupina se odštěpuje hydrogenolýzou a allylkarbonátová skupina se odštěpuje pomocí tributylcínhydridu a tetrakis(trifenylfosfin)paladia. 10-deacetoxy-11,12-dihydrotaxol-10,12(18)-dien a 10-deacetoxy-11,12-dihydro-7-epitaxol-10,12(18)-dien se potom může podrobit katalytické hydrogenaci, popsané výše, za vzniku 10-deacetoxytaxolu nebo 10-deacetoxy-7-epitaxolu.

2',7-Bishydroxy-chráněný 10-deacetoxy-11,12-dihydrotaxol-10,12(18)-dien nebo 2'-hydroxy-chráněný 10-deacetoxy-11,12-dihydro-7-epitaxol-10,12(18)-dien se také může podrobit katalytické hydrogenaci, za vzniku 2',7-bishydroxy-chráněného 10-deacetoxytaxolu nebo 2'-hydroxy-chráněného 10-deacetoxy-7-epitaxolu. Chránicí skupiny hydroxyskupin se potom mohou z těchto látek odštěpit, jak to bylo uvedeno výše a tím se získá 10-desacetoxytaxol nebo 10-deacetoxy-7-epitaxol.

Při dalším způsobu výroby se získávají sloučeniny podle tohoto vynálezu obecného vzorce 1, kde R_2 představuje hydroxyskupinu nebo chráněnou hydroxyskupinu, R_3 představuje atom vodíku, R_4 představuje atom vodíku, hydroxyskupinu nebo chránicí skupinu hydroxyskupiny, R_5 představuje terc.butoxyskupinu, R_6 představuje atom vodíku a R_7 představuje fenylskupinu. Sloučeniny tohoto typu se mohou připravovat ze 7-chráněného-10-deacetoxybaccatinu III nebo 10-deacetoxy-7-epibaccatinu III za použití způsobu znázorněného ve schématu III.

Schéma III

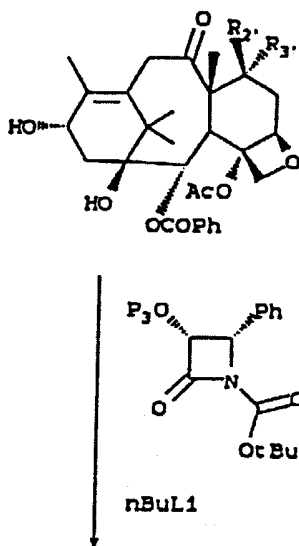
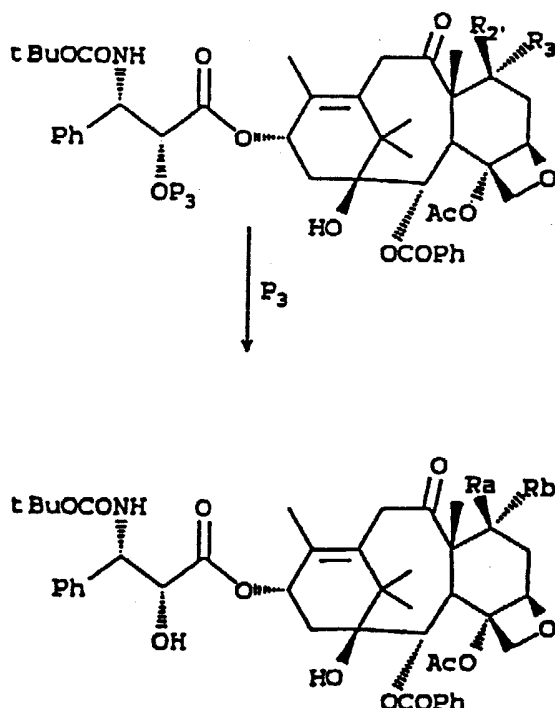
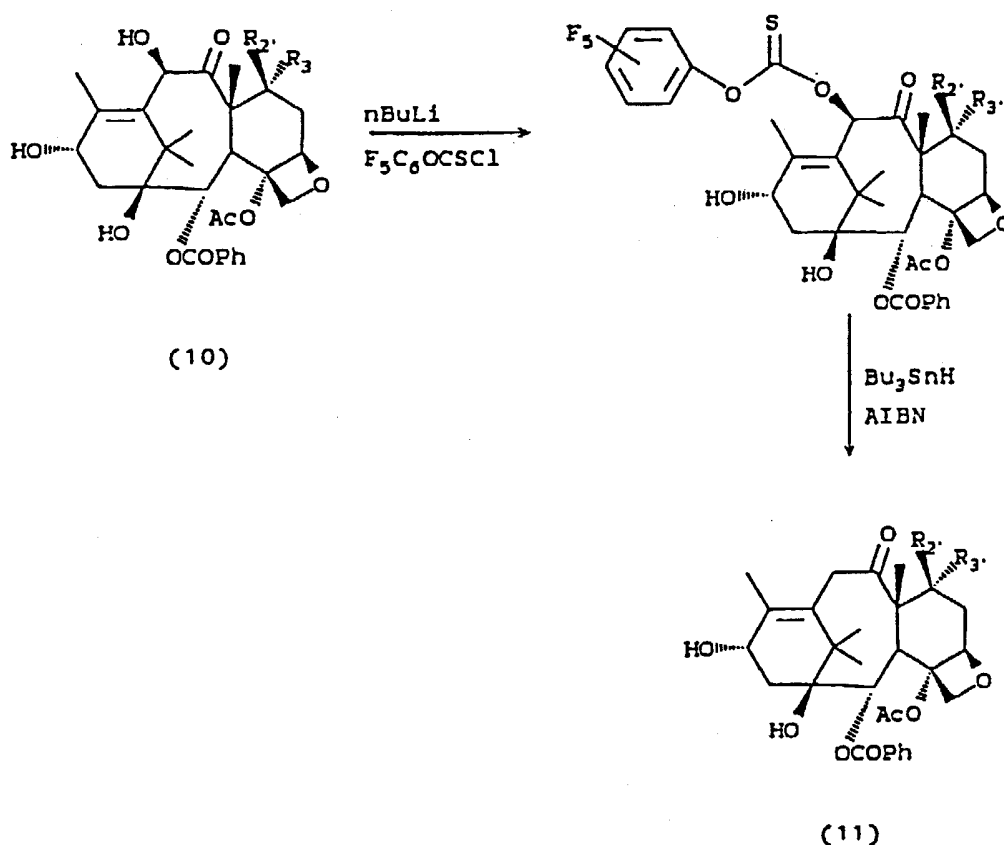


Schéma III - pokračování



- 5 Ve schématu III R_a představuje hydroxyskupinu, R_b představuje atom vodíku, R_2 představuje skupinu OP_3 a R_3 , představuje atom vodíku; nebo R_a představuje vodík, R_b představuje hydroxyskupinu, R_2 představuje vodík a R_3 představuje hydroxyskupinu; P_3 představuje chránicí skupinu hydroxyskupiny, kterou je přednostně trialkylsilylskupina, nejvýhodněji triethylsilylskupina.
- 10 Na 7-hydroxy-chráněný 10-deacetoxybaccatin III nebo 10-deacetoxy-7-epitaccatin III se působí silnou bází, jako je *n*-butyllithia a tím se získá odpovídající 13-alkoxid. Tento alkoxid se nechá reagovat s (3*R*,4*S*)-1-*tert*-butoxykarbonyl-4-fenyl-3-chráněná hydroxy-2-azetidinonem v inertním organickém rozpouštědle, jako je tetrahydrofuran, za vzniku odpovídajícího 2',7-
- 15 bishydroxychráněného 10-deoxytaxoteru. Tato reakce se provádí při nízké teplotě v rozmezí od asi -20 do asi 25 °C, přednostně při asi 0 °C. Potom se odštěpí chránicí skupiny hydroxyskupin obvyklými metodami, přičemž se získá 10-deoxytaxoter. Tak například triethylsilylskupinu je možno odštěpovat kyselou hydrolyzou pomocí kyseliny chlorovodíkové.
- 20 Reakční sekvence, která je znázorněna ve schématu III, ukazuje přípravu 10-deoxytaxoteru nebo 10-deoxy-7-epitaxoteru, je však stejně dobře aplikovatelná na přípravu 10-deacetoxytaxolu nebo 10-deacetoxy-7-epitaxolu. Je tedy možno 10-deacetoxytaxol a 10-deacetoxy-7-epitaxol získat analogickým způsobem tak, že se β -laktam, uvedený ve schématu III, nahradí (3*R*,4*S*)-1-benzoyl-4-fenyl-3-hydroxy-chráněným 2-azetidinonem.
- 25 Jiné deriváty 10-deacetoxytaxolu spadající do rozsahu sloučeniny obecného vzorce I je možno snadno připravit tak, že se zvolí vhodné substituenty β -laktamu, které tvoří β -amidoesterový postranní řetězec připojený v poloze C-13 taxolové struktury.
- 30 10-deacetoxybaccatin III a 10-deacetoxy-7-epibaccatin III je možno připravit z 10-deacetyl-10-deoxybaccatinu III a 10-deacetyl-7-epitaccatinu III způsobem, který je znázorněn ve schématu IV.

Schéma IV



- 5 Ve schématu IV R_2' představuje atom vodíku a R_3' představuje hydroxyskupinu nebo R_2' představuje chráněnou hydroxyskupinu a R_3' představuje vodík. Chránicí skupinou hydroxyskupiny je přednostně trialkylsilyl etherová skupina, například triethylsilylskupina.

10 Při postupu podle reakčního schématu IV se tedy 10-deacetylbaecatin III nechá reagovat nejprve se silnou bází, jako je *n*-butyllithium a in situ vzniklý alkoxid se nechá reagovat s pentafluorfenylchlorthionoformiátem, za vzniku odpovídajícího 10-(pentafluorfenyl)thio-

15 karbonyloxyátu. Reakce se provádí v inertním organickém rozpouštědle, jako je tetrahydrofuran, při teplotě v rozmezí od asi -78°C do asi teploty místnosti. Takto získaný thiokarbonyloxyát se potom nechá reagovat s vhodným reakčním činidlem, jako je tributylcínhydrid, trifenylcínhydrid,

20 trimethylsilan a tributylcínchlorid a natriumkyanborhydridem, za přítomnosti radikálového iniciátoru, jako je azobisisobutyronitril (AIBN). Tato reakce se provádí v organickém rozpouštědle, jako je *tert*-butylalkohol, *N*-methylpyrrolidon, dimethylsulfoxid, dimethyl-

formamid, toluen a benzen, při teplotě v rozmezí od asi 80 do asi 115°C , za vzniku 7-chráněná hydroxy-10-deacetoxybaecatinu III nebo 7-epibaecatinu III. Alternativně se tato reakce může

provádět za fotochemických podmínek (triorganocínhydrid, ozařování, benzen, 0°C až teplota místnosti). Chránicí skupina hydroxyskupiny se může odštěpit způsoby, které jsou o sobě známe v tomto oboru. Tak například triethylsilylskupiny je možno odštěpit kyselou hydrolýzou za

použití kyseliny chlorovodíkové.

- 25 Deriváty 10-acetoxytaxolu podle tohoto vynálezu jsou činidla, která jsou užitečná při inhibici růstu nádorů u zvířat a lidí. Některé sloučeniny byly vyhodnocovány na in vitro cytotoxicitu proti buňkám karcinomu tračníku člověka HCT-116 a HCT-116/VM46. Buňky HCT-116/VM jsou buňky, které byl podrobeny selekci na resistenci vůči teniposidu a vykazují fenotyp resistance
- 30 vůči mnoha léčivům, včetně resistance vůči taxolu. Cytotoxicita se stanoví na buňkách karcinomu tračníku člověka HCT-116 za použití XTT /2,3-bis(2-methoxy-4-nitro-5-

sulfofenyl)-5-[(fenylamino)-karbonyl]-2H-tetrazoliumhydroxidu/ způsobem popsaným v D. A. Sczdueri et al., „Evaluation of soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tuor cell lines“, Carcer Res. 48: 4827 až 4833, 1988. Buňky se nanesou v počtu 4000 buněk na jamku do jednotlivých jamek 96 jamkové mikrotitrační plotny. Po 24 hodinách se přidá léčivo a provede se sériové ředění. Buňky se inkubují 72 hodin při 37 °C a potom se přidá tetrazoliové barvivo, XTT. Enzym dehydrogenasa v živých buňkách redukuje XTT na formu, která absorbuje světlo při 450 nm a kterou lze kvantifikovat spektrofotometricky. Čím vyšší je absorbance, tím větší je počet živých buněk. Výsledky jsou vyjádřeny v podobně hodnoty IC₅₀, přičemž tato hodnota představuje koncentraci léčiva potřebnou pro inhibici proliferace buněk (tj. absorbance při 450 nm) na 50 % hodnoty zjištěné u neošetřených kontrolních vzorků. Hodnoty IC₅₀ pro 10-deacetoxytaxol a taxol jsou uvedeny v tabulce 1.

Tab. 1

In vitro cytotoxicita analogů taxolu při buňkách karcinomu tračníku člověka

Sloučenina	IC ₅₀ (μM)	
	HCT-116	HCT-116/VM46
10-deacetoxytaxol	0,008	1,22 (153)*
Taxol	0,004	0,440 (124)*

* Hodnota v závorkách představuje násobnou rezistenci vůči HCT-116 buňkám

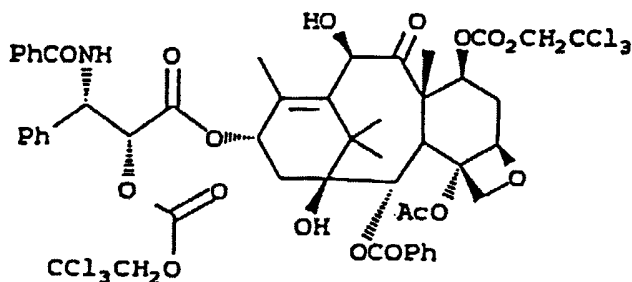
- Sloučeniny obecného vzorce 1 podle vynálezu jsou užitečné při inhibici růstu nádorů u zvířat, včetně lidí a přednostně se podávají ve formě farmaceutických přípravků obsahujících protinádorově účinné množství sloučeniny podle vynálezu v kombinaci s farmaceuticky vhodným nosičem nebo ředidlem.
- Protinádorové přípravky podle vynálezu mohou být zpracovány na jakoukoliv formu, která se hodí pro zamýšlené nebo topické podávání. Jako příklady parenterálního podávání je možno uvést intramuskulární, intravenosní, intraperitoneální, rektální a subkutánní podávání.
- Příspědy, které slouží jako ředidla nebo nosiče je třeba volit tak, aby nesnižovaly terapeutickou účinnost protinádorových sloučenin.
- Jako vhodné dávkovací formy pro orální podávání je možno uvést tablety, dispergovatelné prášky, granule, kapsle, suspenze, sirupy a elixíry. Jako inertní ředidla a nosiče pro tablety je možno například uvést uhličitan vápenatý, uhličitan sodný, laktózu a matek. Tablety také mohou obsahovat granulační a disintegrační činidla, jako je škrob a alginová kyselina, pojiva, jako je škrob, želatina a klovatina a lubrikační přísady, jako je stearan hořečnatý, kyselina stearová a mastek. Tablety mohou být nepotažené nebo mohou být potažené známými technikami, například za účelem odložení jejich rozpadu a absorpce. Jako příklady inertních ředidel a nosičů, kterých je možno používat v kapslích, je možno uvést uhličitan vápenatý, fosforečnan vápenatý a kaolin. Suspenze, sirupy a elixíry mohou obsahovat běžné exipienty, jako je například methylcelulóza, tragant a alginát sodný; smáčedla, jako je lecitin a polyoxyethylenstearát; a konzervační látky, například ethyl-p-hydroxybenzoát.
- Dávkovací formy, které jsou vhodné pro parenterální podávání, zahrnují roztoky, suspenze, disperze, emulze apod. Také je možno je vyrábět ve formě sterilních pevných přípravků, které lze dodatečně rozpustit nebo suspendovat ve sterilním injekčním médiu, bezprostředně před použitím. Tyto přípravky mohou obsahovat suspenzní a disperzní činidla, která jsou známá v tomto oboru.

- Jeden aspekt tohoto vynálezu je také zaměřen na terapeutickou inhibici růstu nádorů zvířecího hostitele, jehož nádor je citlivý vůči sloučeninám podle tohoto vynálezu. Tato léčba se provádí tak, že se hostiteli podá protinádorově účinné množství sloučeniny podle vynálezu. Je zřejmé, že skutečné množství sloučeniny podle vynálezu, kterému se bude dávat v jednotlivých případech přednost, bude záviset na konkrétně použité sloučenině, zvoleném přípravku, způsobu aplikace a konkrétně zvoleném místě aplikace, stavu hostitele a druhu léčené choroby. Odborníci v tomto oboru vezmou v úvahu při určení této dávky řadu faktorů, jako je například věk, tělesná hmotnost, pohlaví, strava, doba podávání, způsob podávání, rychlost vylučování, stav hostitele, kombinace podávaných léčiv, citlivost hostitele, pokud se týče jeho odpovědi a závažnost choroby. Podávání se může provádět kontinuálně nebo periodicky, až do maximálně tolerované dávky. Optimální intenzitu aplikace určí pro daný soubor podmínek odborník v tomto oboru za použití konvenčních dávkovacích zkoušek, pro něž mohou výše uvedené údaje sloužit jako vodítko.
- Vynález je blíže objasněn v následujících příkladech provedení. Tyto příklady mají výhradně ilustrativní charakter a rozsah vynálezu v žádném ohledu neomezuje.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

2',7-Bis[O-(2,2,2-trichlorethoxykarbonyl)]-10-deacetyltaxol (sloučenina 12)



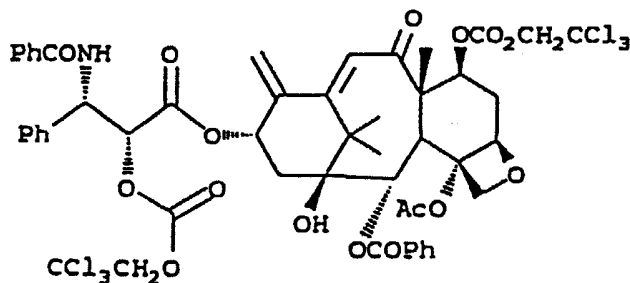
(12)

- 10-Deacetyltaxol (140 mg, 0,173 mmol) v suchém dichlormethanu (3,5 ml) se smíchá při 0 °C s pyridinem (0,028 ml, 0,346 mmol) a trichlorethylchlorformiátem (0,0724 ml, 0,260 mmol). Po jedné hodině při této teplotě se chladicí lázeň odstaví a směs se přes noc míchá při teplotě místnosti. Rozpouštědlo se odpaří a zbytek se chromatografuje na silikagelu (30 až 50% ethylacetát v exanu, jako eluční činidlo). Získá se sloučenina 12 ve formě pěny (99,3 mg, 46 %). Další elucí se získá nezreagovaná výchozí látka (35 mg, 25 %).
- Karbonát 12 má toto NMR (30 MHz, CDCl₃) δ 8,14 (d, J=8,5 Hz, 2H), 7,75 (d, J=8,5 Hz, 2H) 7,65–7,35 (m, 11H) 6,94 (vždy d, J=9,3 Hz, 1H) 6,27 (br t, 1H), 6,04 (dd, J=9,3 Hz, J'=2,6 Hz, 1H) 5,71 (d, J=6,9 Hz, 1H) 5,54 (d, J=2,6 Hz, 1H) 5,43–5,37 (m, 2H), 4,96 (d, J=7,9 Hz, 1H), 4,85–4,67 (m, 4H) 4,29 (AB q, 2H), 4,04–4,01 (m, 2H), 2,69–1,80 (m, 14H včetně singletů při 2,58, 1,96, 1,89, 3H každý) 1,20 (s, 3H) 1,09 (s, 3H).
- Hmotnostní spektrum s vysokým rozlišením pro C₅₁H₅₁NO₁₇Cl₆K (MK⁺)
 vypočteno 1198,0925
 nalezeno 1198,0949

Příklad 2

2',7-Bis[O-(2,2,2-trichlorethoxykarbonyl)]-10-deacetoxy-11,12-dihydrotaxol-10,12(18)-dien (sloučenina 13)

5



(13)

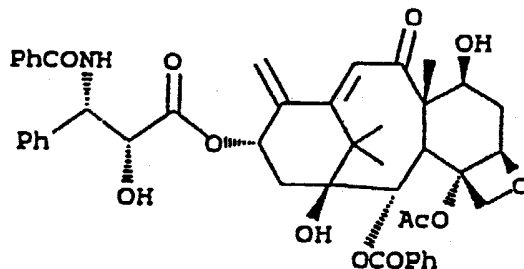
Biskarbonát 12 (92,3 mg, 0,079 mmol) v suchém dichlormethanu (2 ml) se smíchá při teplotě místnosti s FCT (0,0384 ml, 0,0238 mmol). Vzniklý roztok se míchá přes noc, rozpouštědlo se odpaří a zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií za použití 25% ethylacetátu v hexanu, jako elučního činidla. Získá se sloučenina 13 ve formě bílého prášku (42,8 mg, 47,3 %).

NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,18 (d, J=8,5 Hz, 2H), 7,69 (d, J=8,5 Hz, 2H), 7,58–7,28 (m, 11H), 6,90 (exch. d, J=9,7 Hz, 1H), 6,31 (s, 1H), 6,25 (br t, 1H), 6,04 (dd, J=9,7 Hz, J'=2,2 Hz, 1H), 5,80 (d, J=7,8 Hz, 1H), 5,51 (d, J=2,2 Hz, 1H), 5,38 (d, J=2,3 Hz, 1H), 5,31 (dd, J=11,0 Hz, J'=7,3 Hz, 1H), 4,99 (d, J=2,3 Hz, 1H), 4,97 (br d, 1H), 4,80–4,65 (m, 4H), 4,30 (AB q, 2H), 3,75 (d, J=7,8 Hz, 1H), 2,60 (m, 1H), 2,55 (s, 3H), 2,16–2,09 (m, 3H), 1,83 (s, 3H), 1,77 (s, 1H), 1,13 (s, 3H), 1,07 (s, 3H).

Hmotnostní spektrum s vysokým rozlišením pro C₅₁H₄₉NO₁₆Cl₆K (MK+)
 vypočteno 1180,0820
 nalezeno 1180,0777

Příklad 3

10-Deacetoxy-1,12-dihydrotaxol-10,12(18)-dien (sloučenina 14)



(14)

30

Dienon (sloučenina 13) (180 mg, 0,157 mmol) se rozpustí v methanolu (3 ml) a smíchá s zinkovým prachem promytým v kyselině (300 mg, 4,72 mmol). Suspenze se 20 minut vaří pod zpětným chladičem, přefiltruje a filtrát se odpaří. Zbytek se chromatografuje za použití 40 až

60% ethylacetátu v hexanu, jako elučního činidla. Získá se sloučenina 14 ve formě pěn (18 mg, 14 %) spolu s jedním 7-epiisomerem (97 mg, 77,7 %).

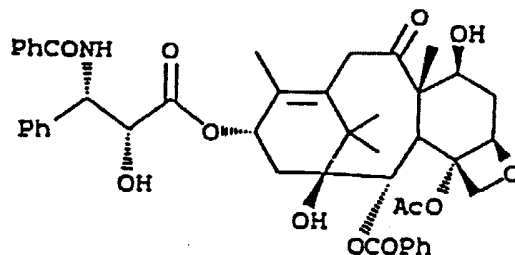
Sloučenina 14 má toto NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,18 (d, $J=8,5$ Hz, 2H), 7,69 (d, $J=8,5$ Hz, 2H) 7,59–7,25 (m, 11H), 7,00 (exch. d, $J=10,4$ Hz, 1H), 6,20 (br t, 1H), 5,96 (s, 1H) 5,83–5,77 (m, 2H), 5,18 (d, $J=2,2$ Hz, 1H), 4,94 (dd, $J=7,2$ Hz, $J'=2,1$ Hz, 1H) 4,79 (d, $J=2,2$ Hz, 1H) 4,72 (dd, $J=4,3$ Hz, $J'=2,2$ Hz, 1H), 4,30 (AB q, 2H) 4,00 (m, 1H) 3,65 (d, $J=7,8$ Hz, 1H) 3,51 (exch. d, $J=4,3$ Hz, 1H) 2,60 (m, 1H) 2,40 (s, 3H) 2,30–1,80 (m, 5H) 1,70 (s, 3H) 1,16 (s, 3H) 1,06 (s, 3H).

Hmotnostní spektrum s vysokým rozlišením pro $\text{C}_{45}\text{H}_{48}\text{NO}_{12}$ (MH⁺)
vypočteno 794,3177
nalezeno 794,3152

Alternativně se může postupovat tak, že se dienom (sloučenina 13) (39 mg, 0,034 mmol) rozpustí v methanolu (0,5 ml) a kyselině octové (0,5 ml) a k roztoku se přidá zinkový prach prosetý kyselinou (66,4 mg, 1,020 mmol). Suspenze se 1 hodinu zahřívá na 40 °C, potom se přefiltruje a filtrát se odpaří. Zbytek se chromatografuje za použití 60% ethylacetátu v hexanu, jako elučního činidla. Získá se sloučenina 14 ve formě pěny (22 mg, 81 %). Spektrální data jsou shodná s daty uvedenými výše.

Příklad 4

10-deacetytaxol (sloučenina 15)



(15)

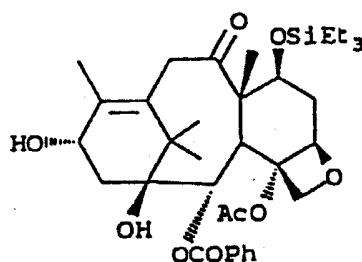
Dienom (sloučenina 14) (22 mg, 0,028 mmol) v ethylacetátu (0,7 ml) se hydrogenuje za atmosférického tlaku za přítomnosti paladia na aktivním uhlí (10%, 14,7 mg, 0,014 mmol paladia). Po 5,5 hodiny při teplotě místnosti se katalyzátor odfiltruje a promyje ethylacetátem a spojená organická vrstva se odpaří. Zbytek se chromatografuje za použití 60% ethylacetátu v hexanu, jako elučního činidla. Získá se 10-deoxytaxol (sloučenina 15) (15,0 mg, 68 %) ve formě bílé pěny.

NMR (CDCl_3) δ 8,12 (d, $J=8,5$ Hz, 2H) 7,61 (d, $J=8,4$ Hz, 2H) 7,60–7,27 (m, 11H) 7,06 (exch. d, $J=8,9$ Hz, 1H) 6,09 (br t, 1H), 5,78 (dd, $J=8,9$ Hz, $J'=2,6$ Hz, 1H) 5,66 (d, $J=6,8$ Hz, 1H), 4,91 (d, $J=7,6$ Hz, 1H) 4,76 (dd, $J=5,1$ Hz, $J'=2,6$ Hz, 1H), 4,29–4,20 (m, 3H), 4,01 (d, $J=6,8$ Hz, 1H) 3,75 (d, $J=15,8$ Hz, 1H) 3,60 (exch. d, $J=5,1$ Hz, 1H) 3,39 (br d, 1H) 2,60 (m, 1H), 2,34 (s, 3H), 2,34–2,22 (m, 2H) 1,90–1,71 (m, 2H) 1,62 (s, 3H), 1,61 (s, 3H) 1,53 (exch. d, $J=7,8$ Hz, 1H), 1,14 (s, 3H), 1,12 (s, 3H).

Hmotnostní spektrum s vysokým rozlišením pro $\text{C}_{45}\text{H}_{50}\text{NO}_{12}$ (MH⁺)
vypočteno 796,3333
nalezeno 796,3319

Příklad 5

10-Deacetoxy-7-O-triethylsilylbaccatin III (sloučenina 16)



(16)

A. 10-Deacetyl-7-triethylsilylbaccatin III (sloučenina A)

10-Deacetyl-7-triethylsilylbaccatin III (z *Taxus baccata*, 628,0 mg, 1,150 mmol) se rozpustí v suchém dimethylformamidu (312,8 mg, 4,595 mmol) a chlortriethylsilan (0,772 ml, 4,60 mmol). Směs se 4 hodiny míchá při 0 °C, potom se zředí ethylacetátem (150 ml) a vyčerpávajícím způsobem promyje vodou a roztokem chloridu sodného. Organická vrstva se vysuší a zkoncentruje. Zbytek se chromatografuje na silikagelu za použití 50% ethylacetátu v hexanu, jako elučního činidla. Získá se sloučenina A ve formě pěny (586 mg, 77 %). Tato sloučenina byla popsána v publikaci Greene et al., J. Am. Chem. Soc. 1988, 110, 5917.

B. 10-Deacetyl-7-O-triethylsilyl-10-O-(pentafluorfenyloxy)thiokarbonylbaccatin III (sloučenina B)

Sloučenina A (319 mg, 0,485 mmol) se rozpustí v suchém tetrahydrofuranu (5 ml), roztok se ochladí na -40 °C a přidá se k němu *n*-butyllithium (1,58M roztok v hexanové směsi, 0,384 ml, 0,606 mmol). Po 40 minutách při této teplotě se injekční stříkačkou přidá pentafluorfenylchlorothionoformát, jakožto čistá látka. Reakční směs se 90 minut míchá při -20 °C, potom se rozloží nasyceným roztokem chloridu amonného a extrahuje ethylacetátem. Ethylacetátová vrstva se vysuší, odpaří. Zbytek se chromatografuje na silikagelu za použití 40% ethylacetátu v hexanu, jako elučního činidla. Získá se sloučenina B ve formě pěny 320 mg, 74%.

NMR (CDCl₃) δ 8,09 (d, 2H), 7,56 (t, 1H), 7,44 (m, 2H), 6,78 (s, 1H), 5,64 (d, J=6,9 Hz, 1H), 4,96-4,89 (m, 2H), 4,49 (dd, J=10,2 Hz, J'=6,6 Hz, 1H), 4,12 (AB q, 2H), 3,80 (d, J=6,9 Hz, 1H), 2,55-0,44 (m, 43H).

Hmotnostní spektrum: 884 (MH⁺)

C. 10-Deacetoxy-7-O-triethylsilylbaccatin III

Thionokarbonát (sloučenina B), 119 mg, 0,135 mmol) se rozpustí v suchém toluenu (3 ml) a k roztoku se přidá 2,2'-azobisisobutyronitril (AIBN, 2 mg). Roztok se odplynní pomocí suchého dusíku, potom se k němu přidá tributylcínhydrid (0,055 ml, 0,202 mmol) a vzniklý roztok se 1 hodinu zahřívá na 90 °C, načež se odpaří rozpouštědlo. Zbytek se chromatografuje na silikagelu za použití 40% ethylacetátu v hexanu, jako elučního činidla. Získá se sloučenina jmenovaná v nadpise (87 mg, 99 %) ve formě bezbarvé pěny.

Sloučenina má toto spektrum NMR (CDCl₃) δ 8,07 (d, J=8,2 Hz, 2H), 7,56 (br t, 1H), 7,44 (m, 2H), 5,57 (d, J=6,7 Hz, 1H), 4,92 (d, J=9,3 Hz, 1H), 4,78 (br s, 1H), 4,48 (dd, J=10,4 Hz, J'=6,6

Hz, 1H), 4,09 (AB q, 2H) 4,06 (d, J=6,7 Hz, 1H), 3,74 (d, J=14,8 Hz, 1H) 3,35 (br d, 1H) 2,44 (m, 1H), 2,25 (s, 3H) 2,22–0,45 (m, 42H).

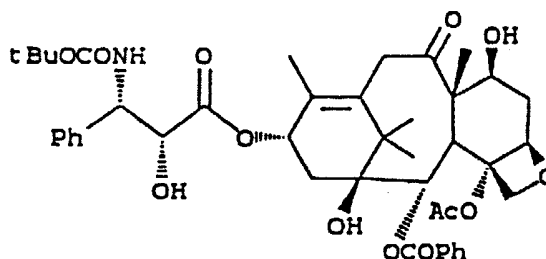
Hmotnostní spektrum: 642 (MH⁺)

5

Příklad 6

10-deoxytaxoter (sloučenina 17)

10



(17)

Sloučenina 16 (10 mg, 0,156 mmol) se umístí do baňky pod argonovou atmosférou a rozpustí se v suchém tetrahydrofuranu (1,5 ml). Vzniklý roztok se ochladí na $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ a přikape se k němu *n*-butyllithium (1,45M roztok v hexanové směsi, 0,119 ml, 0,170 mmol) a potom (3*R*,4*S*)-1-terc.butoxykarbonyl-4-fenyl-3-triethylsilyloxy-2-azetidinon (94,2 mg, 0,25 mmol) v tetrahydrofuranu (0,5 ml), v průběhu 2 minut. Ihned poté se směs ohřeje na $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, míchá se 45 minut a potom se rozloží nasyceným roztokem chloridu amonného (3 ml). Směs se extrahuje ethylacetátem, vysuší a odpaří. Zbytek se chromatografuje na silikagelu za použití 30% ethylacetátu v hexanu, jako elučního činidla. Získá se 2',7-bis-[O-(triethylsilyl)]-10-deoxytaxoter ve formě pěny (125 mg, 76 %).

Tato sloučenina (100 mg, 0,98 mmol) se ihned nato rozpustí v acetonitrilu (2 ml) při $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ a smíchá s kyselinou chlorovodíkovou (0,037 ml, 36%, 12M). Směs se 2 hodiny míchá při $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$, potom se rozloží vodným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného, extrahuje ethylacetátem a extrakt se vysuší a odpaří. Zbytek se chromatografuje na silikagelu za použití 75% ethylacetátu v hexanu, jako elučního činidla. Získá se sloučenina jmenovaná v nadpise ve formě pěny (80,5 mg, 80 %).

Tato sloučenina má toto NMR (CDCl₃) δ 8,10 (d, J=8,2 Hz, 2H) 7,64–7,29 (m, 8H), 6,11 (br t, 1H) 5,68 (d, J=6,9 Hz, 1H), 5,43 (br d, 1H), 5,25 (br d, 1H), 4,93 (d, J=7,7 Hz, 1H) 4,60 (br s, 1H), 4,30–4,18 (m, 3H), 4,02 (d, J=7,7 Hz, 1H) 3,80 (d, J=15,8 Hz, 1H), 3,46–3,40 (m, 2H), 2,62 (m, 1H), 2,35 (s, 3H), 2,35–2,25 (m, 2H), 1,89–1,65 (m, 5H) 1,63 (s, 3H) 1,35 (s, 9H), 1,19 (s, 3H), 1,16 (s, 3H).

35

Příklad 7

Příprava (3*R*,4*S*)-1-terc.butoxykarbonyl-4-fenyl-3-triethylsilyloxy-2-azetidinonu (viz schéma 5)

40

Hydrochlorid methylesteru (L)-threoninu (1,26 g, 7,44 mmol) v bezvodém dichlormethanu (15 ml) se míchá s imidazolem (1,01 g, 14,89 mmol) v terc.butoxydifenylsilylchloridem (2,274 g, 7,816 mmol) po dobu 16 hodin při teplotě místnosti. Reakční směs se rozdělí mezi vodu a

dichlormethan. Organická fáze se promyje 5% vodným roztokem hydrogenuhlčitanu sodného a vodou, vysuší a zkoncentruje.

Získá se 2,88 g surového oleje, kterého se přímo použije v následujícím stupni.

5

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,70 – 7,25 (m, 10H), 4,44 (m, 1H), 3,62 (s, 3H) 3,31 (d, $J=3$ Hz, 1H), 2,12 (bs, 2H), 1,3 – 1,15 (m, 12H).

10

Tento olej (548 mg, 1,414 mmol) v bezvodém dichlormethanu (10 ml) se smíchá s benzaldehydem (0,158 ml, 1,55 mmol) a ponechá stát při teplotě místnosti za přítomnosti molekulárního síta 4. Získá se sloučenina vzorce XVIIa (in situ). Po ochlazení roztoku obsahujícího sloučeninu XVIIa na -40°C se přidá triethylamin (0,20 ml, 1,698 mmol) a potom acetoxyacetylchlorid (sloučenina XVIa, 0,182 ml, 1,698 mmol) v průběhu 10 minut. Směs se nechá ohrát na teplotu místnosti (za 4 hodiny) a produkt se rozdělí mezi dichlormethan a vodu.

15

Organická fáze se dále promyje vodou a nasyceným roztokem chloridu sodného, vysuší a zkoncentruje. Zbytek se chromatografuje na silikagelu za použití směsi ethylacetátu a hexanu v poměru 1:4, jako elučního činidla. Získá se 411 mg sloučeniny XVIII, ve formě směsi (3R,4S)/(3S,4R)diastereomerů v poměru asi 10:1.

20

Tato směs diastereomerů (245,1 mg, 0,414 mmol) v suchém tetrahydrofuranu (2 ml) se smíchá s kyselinou octovou (0,15 ml) atetrabutylamoniumfluoridem (TBAF, 1M roztok v tetrahydrofuranu, 1,20 ml). Vzniklý roztok se 14 hodin míchá při teplotě místnosti a potom se rozdělí mezi ethylacetát a 5% vodný roztok hydrogenuhlčitanu sodného. Organická fáze se vysuší a zkoncentruje. Zbytek se chromatografuje na silikagelu (mžiková chromatografie) za použití směsi ethylacetátu a hexanu (1:1), jako elučního činidla. Získá se 66 mg (výtěžek 50 %) sloučeniny XIXa ve formě jednoho diastereomeru.

25

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,42–7,25 (m, 5H) 5,90 (d, $J=4,8$ Hz, 1H) 5,09 (d, $J=4,8$ Hz, 1H) 4,28 (m, 1H), 4,01 (d, $J=4,8$ Hz, 1H) 3,70 (s, 3H) 1,73 (s, 3H) 1,19 (d, $J=6,6$ Hz, 3H).

30

Sloučenina vzorce XIXa (9,8 g, 0,305 mmol) v suchém dichlormethanu (100 ml) se nechá reagovat při -78°C s triethylaminem (9,40 ml, 0,0671 mmol) a methansulfonfylchloridem (MsCl , 3,50 ml, 0,0457 mmol). Roztok se nechá ohrát přes noc na teplotu místnosti. Reakční směs se rozdělí mezi vodu a dichlormethan. Organická vrstva se promyje 5% vodným roztokem hydrogenuhlčitanu sodného, zředěnou vodnou kyselinou chlorovodíkovou, vodou a roztokem chloridu sodného a zkoncentruje. Sloučenina vzorce XXa se získá ve formě surového olejovitého zbytku. Tento surový zbytek (10,0 g se rozpustí v dichlormethanu (250 ml) a roztok se ozonizuje při -78°C tak dlouho, dokud vzniklé modré barvení není stálé. Potom se přidá methylsulfid (11 ml) a reakční směs se zkoncentruje. Získá se surová sloučenina vzorce XXIa.

35

40

Sloučenina vzorce XXIa se rozpustí v tetrahydrofuranu (150 ml) a ke vzniklému roztoku se při -78°C přidá hydrazinhydrát (10 ml). Po 2 hodinách se směs nalije do zředěné vodné kyseliny chlorovodíkové a ethylacetátu a vzniklé 2 fáze se od sebe oddělí. Organická fáze se promyje další kyselinou, vodou a nasyceným roztokem chloridu sodného a zkoncentruje. Zbytek, tj. surový produkt, se chromatografuje na silikagelu za použití 1 až 5% methanolu v methylenchloridu, jako elučního činidla. Získá se 4,40 g (71 % teorie) sloučeniny vzorce XXIIa

45

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,38 – 7,24 (m, 5H), 6,31 (bs, 1H) 5,87 (bm, 1H), 5,04 (d, $H=4,8$ Hz, 1H), 1,67 (s, 3H).

50

K chladné (-5°C) směsi 1M vodného roztoku hydroxidu draselného (140 ml) a acetonitrilu (100 ml), se přidá roztok sloučeniny XXIIa (2,39 g, 11,22 mmol) v acetonitrilu (130 ml). Přidávání se děje po kapkách. Směs se 1 hodinu míchá při 0°C a potom se zředí ethylacetátem (300 ml), vodou (50 ml) a nasyceným vodným roztokem hydrogenuhlčitanu sodného (50 ml). Organická fáze se oddělí a vodná fáze se dále extrahuje ethylacetátem (3x200 ml). Organická fáze se spojí,

55

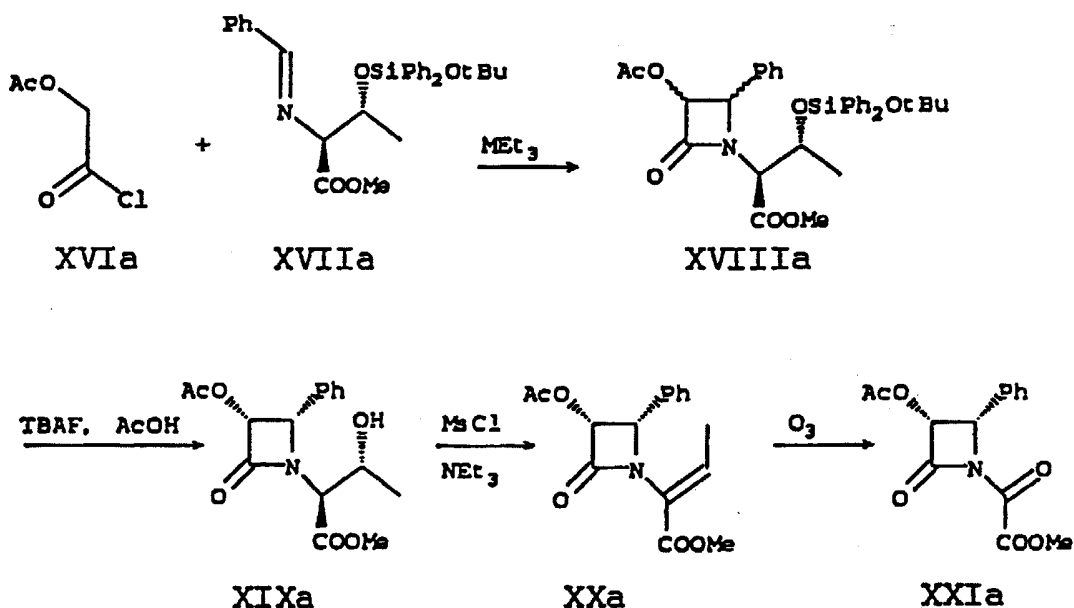
vysuší, přefiltrují a zkoncentrují. Získá se sloučenina vzorce XXIIIa (v surovém stavu), která se překrystaluje ze směsi hexanu a acetonu (teplota varu 184–186 °C). Získá se 1,53 g výsledného produktu (výtěžek 82 % teorie).

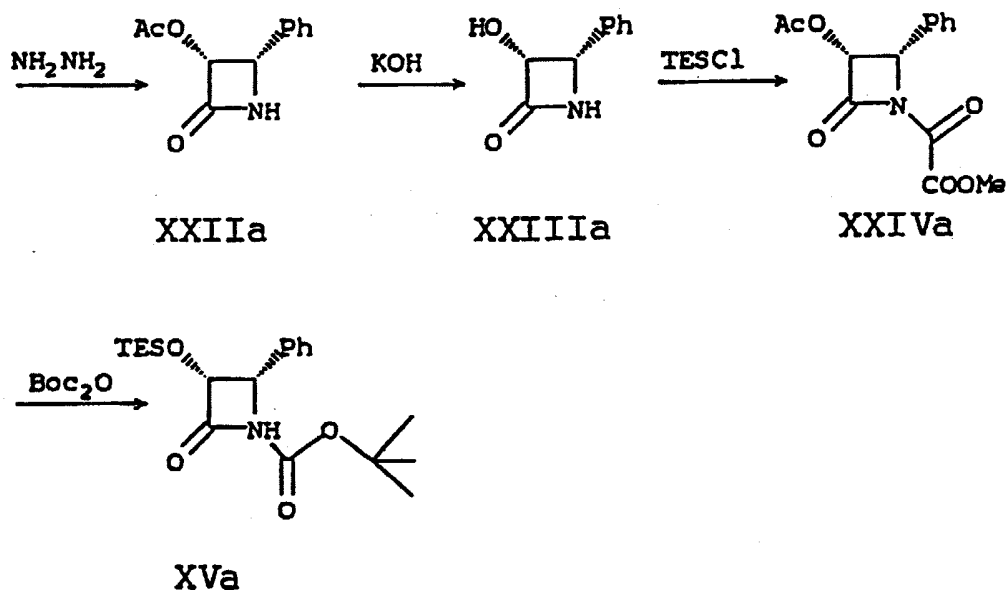
- 5 K azetidinonu vzorce XXIIIa (580 mg, 3,55 mmol) v suchém tetrahydrofuranu (5,0 ml) se přidá imidazol (265,5 mg, 3,90 mmol) a potom triethylsilylchlorid (0,654 ml, 3,90 mmol). Směs se
míchá po dobu 1 hodiny, přidá se k ní ethylacetát a vzniklá organická vrstva se promyje
roztokem chloridu sodného, 10% vodním roztokem kyseliny chlorovodíkové a vysuší. Zbytek se
10 chromatografuje na silikagelu za použití 25% ethylacetátu v hexanu, jako elučního činidla. Získá
se 670 mg (výtěžek 68 % teorie) sloučeniny vzorce XXIVa ve formě pěny.

- K míchanému roztoku sloučeniny XXIVa (2,20 g, 7,92 mmol) v suchém tetrahydrofuranu
(25 ml) se přidá ethyldiisopropylamin (1,65 ml, 9,51 mmol) při teplotě 0 °C a pod atmosférou
argonu. Vzniklý roztok se 5 minut míchá a potom se k němu přidá diterc.butyloxykarbonyloxyát
15 (2,08 g, 9,51 mmol) a 4-dimethylaminopyridin (193,6 mg, 1,58 mmol). Reakční směs se
60 minut míchá při 0 °C, potom se zředí ethylacetátem (25 ml) a vzniklá směs se promyje
roztokem chloridu sodného, 10% vodním roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a 10% vodním
roztokem kyseliny chlorovodíkové, vysuší síranem hořečnatým a zkoncentruje na olejovitý
zbytek. Zbytek se chromatografuje na silikagelu za použití 15% ethylacetátu v hexanu, jako
20 elučního činidla. Získá se 2,40 g (výtěžek: 83 %) sloučeniny XVa ve formě bílé pevné látky.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,28 (m, 5H), 5,03 (m, 2H), 1,38 (s, 9H) 0,76 (t, $J=7,56$, 9H), 0,43 (m, 6H).

25 Schéma V



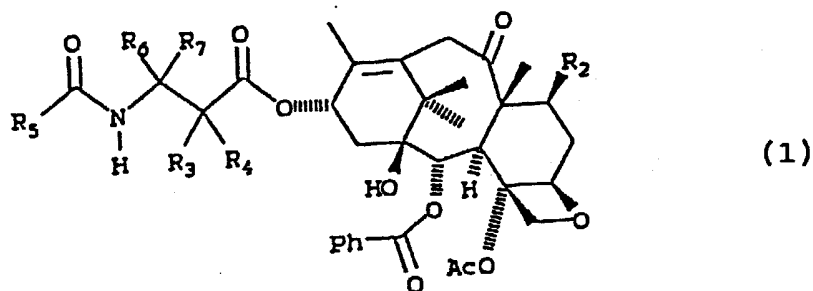


Z výše uvedeného popisu je zřejmé, že pomocí vynálezu se skutečně dosahuje stanovených úkolů.

Vynález lze různým způsobem obměňovat, pokud se týče složení používaných směsí a parametrů postupu, aniž by to znamenalo únik z rozsahu tohoto vynálezu, který je vymezen pouze následujícími patentovými nároky.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Deriváty 10-deacetoxytaxolu obecného vzorce 1



kde

R_1 představuje atom vodíku, hydroxyskupinu nebo chráněnou hydroxyskupinu zvolenou ze souboru zahrnujícího etherové skupiny s 1 až 19 atomy uhlíku, etherové skupiny s 1 až 19 atomy uhlíku a jedním až třemi atomy dusíku a/nebo jedním atomem síry a etherové skupiny s 1 až 19 atomy uhlíku a jedním atomem křemíku, esterové skupiny s 1 až 8 atomy uhlíku, esterové skupiny s 1 až 8 atomy uhlíku substituované alespoň jedním atomem halogenu, alkoxykarbonyloxyskupiny obsahující 1 až 6 atomů uhlíku

- v alkoxylové části, alkoxykarbonyloxyskupiny obsahující 1 až 6 atomů uhlíku v alkoxylové části a substituované alespoň jedním atomem halogenu, alkenyloxykarbonyloxyskupiny obsahující 2 až 6 atomů uhlíku v alkenylové části, cykloalkyloxykarbonyloxyskupiny obsahující 3 až 6 atomů uhlíku v cykloalkylové části a fenoxycarbonyloxy- nebo benzyloxykarbonyloxyskupiny, které jsou popřípadě v kruhu substituovány alespoň jednou alkoxyskupinou s 1 až 6 atomy uhlíku nebo nitroskupinou;
- 5
- 10 R_3 a R_4 nezávisle představuje vždy atom vodíku, hydroxyskupinu, chráněnou hydroxyskupinu definovanou výše, methylskupinu, merkaptoskupinu, aminoskupinu nebo skupinu vzorce $-NR_8R_9$;
- R_5 představuje skupinu R_{10} nebo $-OR_{10}$;
- 15 R_6 a R_7 nezávisle představuje vždy atom vodíku, alkylskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku v hlavním řetězci a celkem s až 15 atomy uhlíku nebo arylskupinu se 6 až 15 atomy uhlíku;
- 20 R_8 a R_9 nezávisle představuje vždy atom vodíku, alkylskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenylskupinu se 2 až 6 atomy uhlíku v hlavním řetězci a celkem s až 15 atomy uhlíku, alkynylskupinu se 2 až 6 atomy uhlíku v hlavním řetězci a celkem s až 15 atomy uhlíku, nebo arylskupinu se 6 až 15 atomy uhlíku; a
- 25 R_{10} představuje alkoxyskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku v hlavním řetězci a celkem s až 15 atomy uhlíku, alkylskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku v hlavním řetězci a celkem s až 15 atomy uhlíku, alkenylskupinu se 2 až 6 atomy uhlíku v hlavním řetězci a celkem s až 15 atomy uhlíku, alkynylskupinu se 2 až 6 atomy uhlíku v hlavním řetězci a celkem s až 15 atomy uhlíku nebo arylskupinu s až 15 atomy uhlíku;
- 30 Ph představuje fenylyskupinu; a
- Ac představuje acetylskupinu;
- s tou podmínkou, že když R_2 představuje atom vodíku, R_3 a R_4 nezávisle představuje vždy atom vodíku, methylskupinu, merkaptoskupinu, aminoskupinu nebo skupinu vzorce $-NR_8R_9$.
- 35
2. Deriváty 10-deacetoxytaxolu podle nároku 1 obecného vzorce 1, kde R_3 představuje atom vodíku a R_4 představuje hydroxyskupinu nebo chráněnou hydroxyskupinu definovanou v nároku 1, R_5 představuje fenylyskupinu nebo terc.butoxyskupinu, R_6 představuje atom vodíku a R_7 představuje fenylyskupinu.
- 40
3. Deriváty 10-deacetoxytaxolu podle nároku 2 obecného vzorce 1, kde R_5 představuje fenylyskupinu.
- 45
4. Deriváty 10-deacetoxytaxolu podle nároku 2 obecného vzorce 1, kde R_5 představuje terc.butoxyskupinu.
5. Deriváty 10-deacetoxytaxolu podle nároku 1 obecného vzorce 1, kde R_3 představuje atom vodíku a R_4 představuje aminoskupinu.
- 50
6. Deriváty 10-deacetoxytaxolu podle nároku 5 obecného vzorce 1, kde R_5 představuje fenylyskupinu nebo terc.butoxyskupinu.

7. Deriváty 10-deacetoxytaxolu podle nároku 1 obecného vzorce 1, kde R_3 představuje methylskupinu, R_4 představuje merkaptoskupinu, R_6 představuje arylskupinu s až 15 atomy uhlíku a R_7 představuje methylskupinu.
- 5 8. Deriváty 10-deacetoxytaxolu podle nároku 7 obecného vzorce 1, kde R_5 představuje fenylyskupinu nebo terc.butoxyskupinu.
9. Deriváty 10-deacetoxytaxolu podle nároku 1 obecného vzorce 1, kde každý ze symbolů R_2 , R_3 a R_6 představuje atom vodíku, R_4 představuje skupinu vzorce $-NR_8R_9$, přičemž R_8 a R_9 mají
10 význam uvedený v nároku 1, R_5 má význam skupiny R_{10} , přičemž R_{10} má význam uvedený v nároku 1 a R_7 představuje fenylyskupinu.
10. Deriváty 10-deacetoxytaxolu podle nároku 9 obecného vzorce 1, kde R_8 představuje atom vodíku, R_9 představuje atom vodíku a R_{10} představuje terc.butoxyskupinu.
- 15 11. Deriváty 10-deacetoxytaxolu podle nároku 1 obecného vzorce 1, kde R_2 představuje hydroxyskupinu.
12. Deriváty 10-deacetoxytaxolu podle nároku 11 obecného vzorce 1, kde R_3 představuje atom vodíku, R_4 představuje hydroxyskupinu nebo chráněnou hydroxyskupinu, definovanou v nároku 1, R_5 představuje fenylyskupinu nebo terc.butoxyskupinu, R_6 představuje atom vodíku a R_7 představuje fenylyskupinu.
- 20 13. Deriváty 10-deacetoxytaxolu podle nároku 11 obecného vzorce 1, kde R_3 představuje atom vodíku a R_4 představuje aminoskupinu.
- 25 14. Deriváty 10-deacetoxytaxolu podle nároku 3 obecného vzorce 1, kde R_5 představuje fenylyskupinu nebo terc.butoxyskupinu.
- 30 15. Deriváty 10-deacetoxytaxolu podle nároku 11 obecného vzorce 1, kde R_3 představuje methylskupinu a R_4 představuje merkaptoskupinu.
16. Deriváty 10-deacetoxytaxolu podle nároku 15 obecného vzorce 1, kde R_5 představuje fenylyskupinu nebo terc.butoxyskupinu.
- 35 17. Deriváty 10-deacetoxytaxolu podle nároku 11 obecného vzorce 1, kde každý ze symbolů R_3 a R_6 představuje atom vodíku, R_4 představuje skupinu vzorce $-NR_8R_9$, přičemž R_8 a R_9 mají význam uvedený v nároku 1, R_5 představuje fenylyskupinu nebo terc.butoxyskupinu a R_7 představuje fenylyskupinu.
- 40 18. Deriváty 10-deacetoxytaxolu podle nároku 17 obecného vzorce 1, kde R_8 představuje atom vodíku a R_9 představuje atom vodíku.
19. Derivát 10-deacetoxytaxolu obecného vzorce 1, podle nároku 1, kterým je 10-deacetoxytaxol.
- 45 20. Derivát 10-deacetoxytaxolu obecného vzorce 1, podle nároku 1, kterým je 10-deoxytaxoter.

50

 Konec dokumentu
