

PATENTOVÝ SPIS

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: 2003-1534
(22) Přihlášeno: 03.12.2001
(30) Právo přednosti: 06.12.2000 IT 2000MI/2654
(40) Zveřejněno: 13.08.2003
(Věstník č. 3/2003)
(47) Uděleno: 03.12.2008
(24) Oznámení o udělení ve Věstníku: 14.01.2009
(Věstník č. 2/2009)
(86) PCT číslo: PCT/EP2001/014084
(87) PCT číslo zveřejnění: WO 2002/046177

(11) Číslo dokumentu:

300 024

(13) Druh dokumentu: B6

(51) Int. Cl.:

C07D 305/14 (2006.01)

A61K 31/337 (2006.01)

(56) Relevantní dokumenty:

US 6 020 507 B; US 5 917 062 B.

EP 1 339 703 B.

(73) Majitel patentu:

INDENA S. P. A., Milano, IT

(72) Původce:

Battaglia Arturo, Bologna, IT

Dambruoso Paolo, Putignano, IT

Guerrini Andrea, Bologna, IT

Bombardelli Ezio, Milano, IT

Pontiroli Alessandro, Milano, IT

(74) Zástupce:

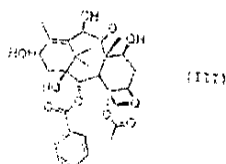
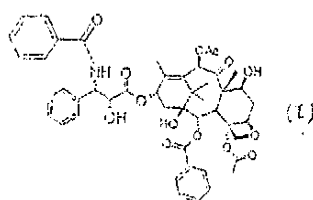
JUDr. Zdeňka Korejzová, Spálená 29, Praha 1, 11000

(54) Název vynálezu:

Způsob výroby paclitaxelu

(57) Anotace:

Způsob výroby paclitaxelu vzorce I, při němž se vychází z 10-deacetylbaecatinu vzorce III a jímž je možno získat paclitaxel vzorce I ve vyšším konečném výtěžku ve srovnání se známými postupy, a meziprodukt.



CZ 300024 B6

Způsob výroby paclitaxelu

Oblast techniky

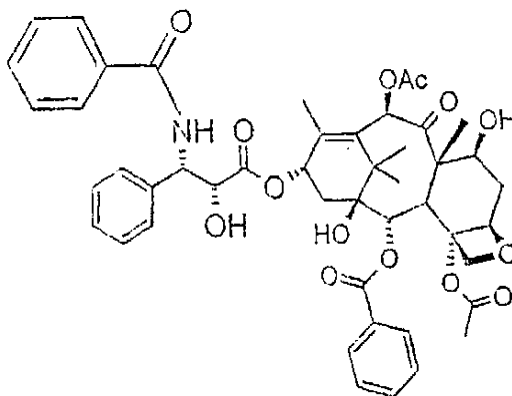
5

Vynález se týká nového způsobu výroby známého léčiva paclitaxelu.

Dosavadní stav techniky

10

Paclitaxel je molekula přírodního původu se širokým spektrem protinádorového účinku se strukturním vzorcem



15

Uvedená látka byla poprvé izolována z kůry *Taxus brevifolia* a pak s dalších přírodních zdrojů a je možno ji připravit semisynteticky řadou způsobů, které jsou popsány ve vědecké i patentové literatuře.

20

US 4 924 011 popisuje semisyntetický způsob pro výrobu paclitaxelu, při němž se používá 10-deacetylbaccatin III, chráněný na uhlíkovém atomu hydroxylové skupiny v poloze 7 trialkylsilylovou skupinou, tato látka se pak acetyluje na uhlíkovém atomu v poloze 10. Výsledný mezi-produkt se nechá reagovat s (2R,3S)-N-benzoyl-2-O-(1-ethoxyethyl)-3-fenylisoserinu a výsledný produkt se zbaví ochranné skupiny, čímž se získá výsledný paclitaxel.

25

V mezinárodní přihlášce WO 93/06094 se popisuje příprava paclitaxelu, při níž se nechá reagovat β -laktamový prekurzor s 7-O-triethylsilylbaccatinem III s následnou hydrolyzou v mírně kyselém prostředí.

30

Podle US 5 476 954 je možno připravit paclitaxel tak, že se vychází z 10-deacetylbaccatinu III, esterifikovaného na uhlíkovém atomu v poloze 7 pomocí 2,2,2-trichlorethoxykarbonylové skupiny (TROC).

35

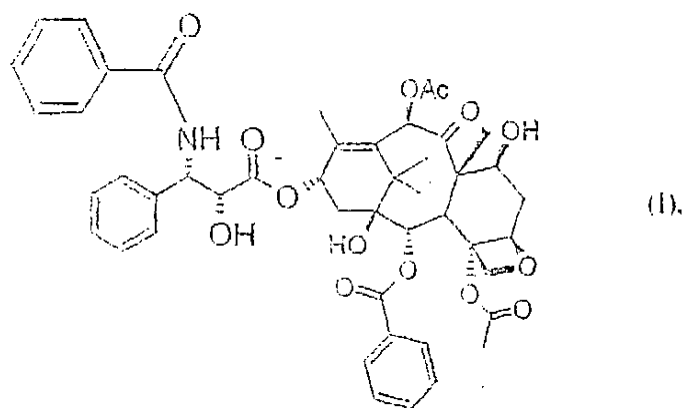
Podle dokumentů US 5 917 062 a US 6 020 507 je možno hydroxylovou skupinu na atomu uhlíku v poloze 7 chránit při použití karbobenzoxyskupiny (CBZ) nebo pomocí karbo-terc-butoxyskupiny (Boc) s následnou selektivní acetylací hydroxylové skupiny na atomu uhlíku v poloze 10.

40

Z literatury je zřejmé, že při výrobě paclitaxelu je nezbytné selektivně chránit hydroxylové skupiny na diterpenové skupině v základní struktuře 10-deacetylbaccatinu III. Uhlíkový atom v poloze 7 je nejreaktivnější a je tedy možno na něj navázat skupiny, které je možno později snadno odstranit. Běžně užívanou skupinou je triethylsilylová skupina (TES), která je stálá za podmínek, užívaných pro esterifikaci ostatních hydroxylových skupin, které se účastní syntézy a je možno dosáhnout přibližně 85% přeměny. Přibližně 85% výtěžek je možno získat v případě, že se do polohy 10 na uhlíkový atom později zavede acetylová skupina.

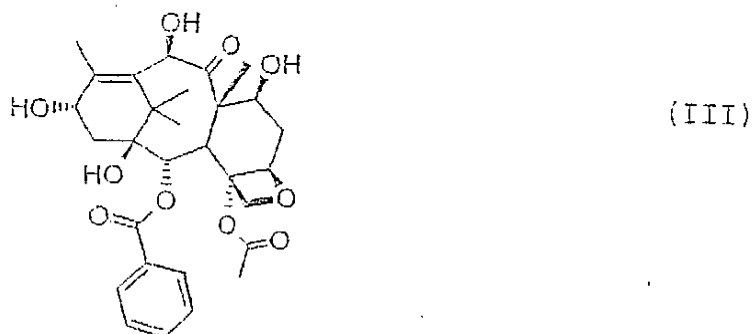
Podstata vynálezu

Podstata vynálezu tvoří způsob výroby paclitaxelu vzorce I

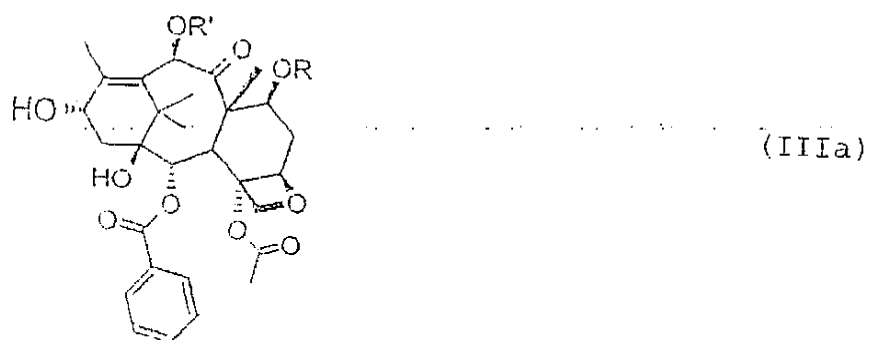


5 který spočívá v tom, že se

a) zavedou ochranné skupiny R a R' na hydroxylové skupiny v polohách 7 a 10 ve výchozím 10-deacetylbaccatinu vzorce III

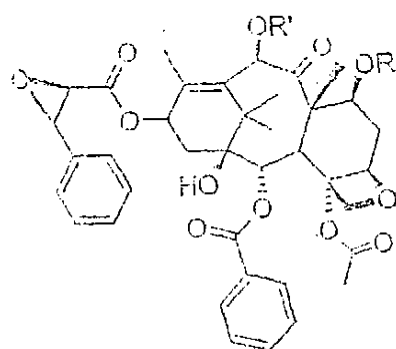


10 za vzniku chráněného derivátu obecného vzorce IIIa



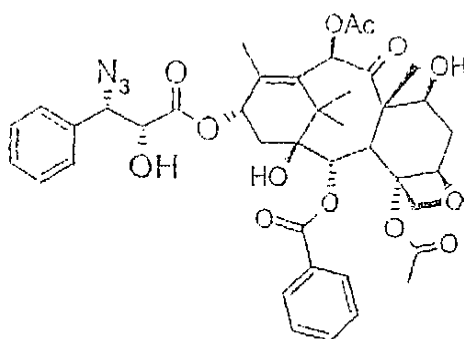
kde R=R'= trichloracetyl nebo R' = acetyl a R znamená *tert*-butoxykarbonyl nebo trichloracetyl,

b) hydroxylová skupina v poloze 13 tohoto derivátu se esterifikuje kyselinou 3-fenyl-2-epoxypropionovou za vzniku meziproductu obecného vzorce IIIb



(IIIb),

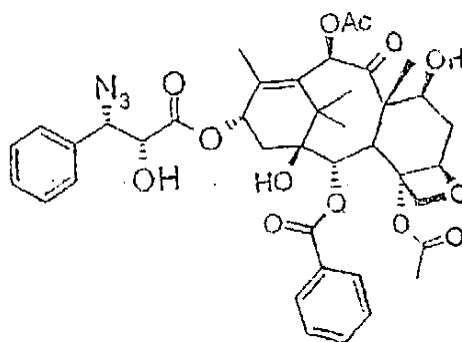
c) v případě, že obě ochranné skupiny v polohách 7 a 10 jsou trichloracetylové skupiny, odstraní se tyto skupiny s následnou selektivní acetylací vzniklého meziproductu v poloze 10 a s následným otevřením epoxidu působením azidu sodíku za vzniku meziproductu vzorce IIIc



(IIIc),

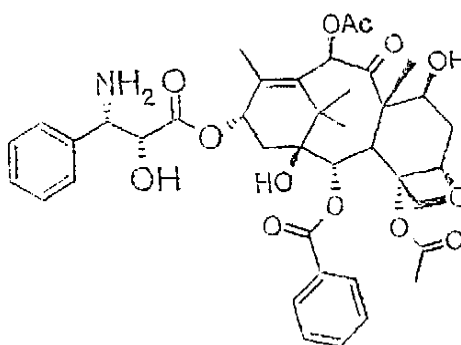
nebo

c') v případě, že $R' = \text{acetyl}$ a $R = \text{trichloracetyl}$, otevře se epoxid působením azidu sodíku a současně se odstraní ochranná skupina v poloze 7 za vzniku téhož meziproductu vzorce IIIc



(IIIc),

d) azidoskupina v meziproductu vzorce IIIc se redukuje na aminoskupinu za vzniku meziproductu vzorce IIId



(IIId),

e) produkt vzorce III d se podrobí benzoylaci za vzniku výsledného paclitaxelu vzorce I.

Výchozím produktem je 10-deacetylbaecatin III. (10-DAB III), který se extrahuje z listů *Taxus baccata*. V prvním stupni se tato látka kvantitativně esterifikuje na hydroxylových skupinách na uhlíkových atomech v poloze 7 a 10. V případě, že $R = R' = \text{trichloracetyl}$, nechá se 10-DAB III reagovat s trichloracetylchloridem v methylenchloridu v přítomnosti triethylaminu a v přítomnosti katalytického množství 4-dimethylaminopyridinu (DMAP). V případě, že R je odlišné od R' , uskuteční se nejprve selektivní acetylace 10-DAB III působením anhydridu kyseliny octové v přítomnosti solí ceru skandia nebo ytterbia, s výhodou se použije $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Výsledný baecatin III se pak chrání na uhlíkovém atomu v poloze 7 při použití *tert*-butoxykarbonylové nebo trichloracetylové skupiny. První z uvedených skupin je možno zavést reakcí baecatinu III s *tert*-butoxypyrokarbonátem v přítomnosti DMAP a ethyldiisopropylaminu nebo je možno použít postup, popsáný v US 5 917 062. Trichloracetylovou skupinu je možno do polohy 7 zavést reakcí s trichloracetylchloridem v pyridinu.

V následujícím stupni b) se hydroxylová skupina v poloze 13 esterifikuje působením kyseliny 3-fenyl-2-epoxypropionové, s výhodou působením amonné soli této kyseliny v toluenu v přítomnosti dicyklohexylkarbodiimidu (DMAP) a kyseliny *p*-toluensulfonové, čímž se získá ester baecatinu III s kyselinou (2R,3R)-3-fenyl-2,3-epoxypropionovou.

V případě, že obě ochranné skupiny R a R' jsou trichloracetylové skupiny, je možno tyto skupiny odstranit při použití podmínek reakčních činidel, popsáných v publikacích Zheng a další, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36, 2001 a Datta a další, *J. Org. Chem.*, 1995, 60, 761. S výhodou se obě trichloracetylové skupiny odstraní působením 2 ekvivalentů hydroxidu amonného. Sloučeniny, zbavené ochranných skupin se pak selektivně acetylují v poloze 10 při použití anhydridu kyseliny octové v přítomnosti solí ceru, skandia nebo ytterbia, s výhodou se použije $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

Výsledná látka se nechá reagovat s NaN_3 ve vodném methanolu v přítomnosti methylmravenčanu za podmínek, popsáných v publikaci Yamaguchi T., *Tetrahedron Letters*, 39, 5575–78, 1998 za vzniku odpovídajícího azidu.

V případě, že R znamená trichloracetyl a R' znamená acetyl (d), nechá se oxiran reagovat s NaN_3 na odpovídající azid s následným odstraněním ochranné skupiny v poloze 7, což odpovídá sloučenině, získané ve stupni (c').

Azid se redukuje na amin v následujícím stupni (d). Redukci je možno uskutečnit působením vodíku v přítomnosti katalyzátoru nebo působením PPh_3 . Získaný produkt se v posledním stupni (e) podrobí benzoylaci na aminoskupině, čímž se získá výsledný paclitaxel. Benzoylaci je možno uskutečnit působením anhydridu kyseliny benzoové, tento postup je možno provádět současně s redukcí nebo následně na izolovaném redukovaném produktu při použití stechiometrického množství benzoylchloridu v přítomnosti uhličitanu draselného.

Praktické provedení vynálezu bude osvětleno následujícími příklady, které však nemají sloužit k omezení rozsahu vynálezu.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Syntéza 7-trichloracetylbaecatinu III

V baňce s okrouhlým dnem s objemem 25 ml se rozpustí 0,603 g, 1,03 mmol, 1,0 ekvivalentu baecatinu 3 za míchání magnetickým míchadlem v 9,7 ml bezvodého pyridinu při teplotě 25 °C

v atmosféře dusíku. Do vzniklého čirého světla žlutého roztoku se po kapkách přidá 138 μ l, 1,23 mmol, 1,23 ekvivalentu trichloracetylchloridu. 30 minut po skončeném přidávání se vytvoří bílá sraženina. Do reakční suspenze se po kapkách přidá ještě 120 μ l, 1,07 mmol, 1 ekvivalent trichloracetylchloridu za svrchu uvedených podmínek. Po 20 minutách vznikne žlutohnědý roztok. Pomocí TLC při použití oxidu křemičitého a směsi n-hexanu a ethylacetátu v poměru 2:3 je možno prokázat téměř úplnou přeměnu výchozího baccatinu III. Reakční směs se zředí methylenchloridem. Výsledný roztok se opakovaně promyje nasyceným vodným roztokem síranu měďnatého až do úplného odstranění pyridinu, takže již roztok není modře zbarven. Organická fáze se zahustí ve vakuu, vysuší se síranem hořečnatým, zfiltruje a rozpouštědlo se odpaří, čímž se získá 0,612 g běložlutého prášku, který je tvořen 7-trichloracetyl-baccatinem III s následujícími spektroskopickými vlastnostmi.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ_{ppm} = 1,08 (s, 3H, Me), 1,13 (s, 3H, Me), 1,86 (s, 3H, Me), 1,97 (ddd, 1H, J_1 = 14,4 Hz, J_2 = 10,3 Hz, J_3 = 1,9 Hz, C6-H), 2,13 (d, 3H, J = 1,2 Hz, Me), 2,15 (s, 3H, Me), 2,30 (s, 3H, Me), 2,32 – 2,28 (m, 2H, C14-H₂), 2,68 (ddd, 1H, J_1 = 14,4 Hz, J_2 = 9,3 Hz, J_3 = 7,3 Hz, C6-H), 4,04 (d, 1H, J = 7,0 Hz, C3-H), 4,17 (dd, 1H, J_1 = 8,4 Hz, J_2 = 1,0 Hz, C20-H), 4,34 (d, 1H, J = 8,4 Hz, C20-H), 4,86 (t, 1H, J = 7,5 Hz, C13-H), 4,98 (dd, 1H, J_1 = 9,5 Hz, J_2 = 1,7 Hz, C5-H), 5,65 (d, 1H, J = 7,0 Hz, C2-H), 5,70 (dd, 1H, J_1 = 10,4 Hz, J_2 = 7,4 Hz, C7-H), 6,42 (s, 1H, C10-H), 7,52 – 7,46 (m, 2H, arom.), 7,62 (m, 1H, arom.), 8,10 (m, 2H, arom.); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ_{ppm} = 10,8, 15,5, 20,4, 20,9, 22,8, 26,9, 32,5, 38,6, 43,0, 47,2, 56,2, 68,1, 74,5, 75,5, 76,5, 77,0, 79,0, 80,5, 83,7, 89,9, 129,0, 129,4, 130,3, 132,0, 134,0, 145,4, 160,8, 167,2, 169,2, 171,0, 201,9.

Příklad 2

Syntéza (2'R,3'R)-7-trichloracetyl-baccatin III-13-(3'-fenyl-2',3'-epoxypropionátu)

0,164 g, 1,00 mmol, 1 ekvivalent čerstvě připravené kyseliny 3-fenyl-2-epoxypropionové se rozpustí při teplotě 0 °C ve 30 ml bezvodého toluenu. Pak se v atmosféře dusíku při teplotě 0 °C přidá 0,5 g, 1 mmol, 0,68 ekvivalentu 7-(trichloracetyl)-baccatinu III (7-(TCA)-baccatinu III). Pak se postupně přidá 0,21 g, 1,00 mmol, 1,0 ekvivalentu dicyklohexylkarbodiimidu (DCC), 0,084 g, 0,68 mmol, 0,66 ekvivalentu 4-dimethylaminopyridinu DMAP a 0,17 g, 0,10 mmol, 0,1 ekvivalentu kyseliny p-toluensulfonové (p-TSA). Pak se roztok zahřívá pod dusíkem za míchání magnetickým míchadlem na teplotu 70 °C. Postup reakce se sleduje pomocí TLC při použití oxidu křemičitého a směsi n-hexanu a ethylacetátu v poměru 3:2. První skvrna s R_f = 0,28 odpovídá epoxysteru 7-(TCA)-baccatinu III. Druhá skvrna s R_f = 0,11 odpovídá 7-(TCA)-baccatinu III. Po 3 hodinách se směs zchladí a ze suspenze se odfiltruje pevná látka. Vysrážená dicyklohexylmočovina (DCU) se promyje methylenchloridem. Organické frakce se spojí a odpaří se do sucha. Získá se 0,919 g surového produktu, který se chromatografuje rychlou chromatografií při použití oxidu křemičitého a směsi n-hexanu a ethylacetátu 3:2. Získá se 0,100 g, 0,14 mmol, 20 % nezreagovaného 7-TCA-baccatinu III a 0,435 g, 0,49 mmol, 73 % (2'R,3'R)-7-trichloracetyl-baccatin III-13-(3'-fenyl-2',3'-epoxypropionátu) s následujícími spektroskopickými vlastnostmi.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ_{ppm} = 1,11 (bs, 6H, 2Me), 1,25 (bs, 1H, OH), 1,76 (d, 3H, J = 1,2 Hz, Me), 1,84 (s, 3H, Me), 2,02 – 1,92 (m, 3H, C14-H₂ + C6-H), 2,13 (s, 3H, Me), 2,39 (s, 3H, Me), 2,69 (ddd, 1H, J_1 = 14,6 Hz, J_2 = 9,3 Hz, J_3 = 7,3 Hz, C6-H), 3,92 (d, 1H, J = 6,9 Hz, C3-H) +, 3,97 (d, 1H, J = 4,7 Hz, C2'-H), 4,15 (dd, 1H, J_1 = 8,4 Hz, J_2 = 1,0 Hz, C20-H), 4,31 (d, 1H, J = 8,3 Hz, C20-H), 4,33 (d, 1H, J = 4,7 Hz, C3'-H), 4,97 (dd, 1H, J_1 = 9,5 Hz, J_2 = 1,8 Hz, C5-H), 5,63 (d, 1H, J = 6,8 Hz, C2-H), 5,65 (dd, 1H, J_1 = 10,7 Hz, J_2 = 7,33 Hz, C7-H), 6,02 (dt, 1H, J_1 = 8,8 Hz, J_2 = 1,8 Hz, C13-H), 7,45 – 7,30 (m, 5H, arom.), 6,34 (s, 1H, C10-H), 7,49 (m, 2H, arom.), 7,64 (m, 1H, arom.), 8,00 (m, 2H, arom.); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ_{ppm} = 10,8, 14,9, 20,8, 21,0, 22,5, 26,5, 32,4, 35,7, 43,2, 46,7, 56,0, 56,1,

57,9, 70,9, 74,5, 74,8, 76,4, 76,7, 79,0, 80,6, 83,6, 89,8, 126,8, 128,7, 128,9, 129,2, 129,3, 130,2, 132,6, 133,0, 134,1, 141,3, 160,7, 166,3, 167,1, 169,1, 170,1, 201,3.

5 Příklad 3

Syntéza (2'R,3'R)-baccatin III-13-(3'-azido-2'-hydroxy-3'-fenylpropionátu)

V baňce s okrouhlým dnem s jedním hrdlem s objemem 25 ml, opatřené magnetickým míchadlem se při 25 °C uvede do suspenze 0,397 g, 0,45 mmol, 1 ekvivalent (2'R,3'R)-7-trichloracetyl-baccatin III-13-(3'-fenyl-2',3'-epoxypropionátu) v 10,0 ml methanolu. Pak se postupně přidá 1,26 ml vody, 1,26 ml HCOOCH₃ a 0,735 g, 11,3 mmol, 25,0 ekvivalentu azidu sodíku. Teplota se zvýší na 50 °C a průběh reakce se sleduje pomocí TLC při použití oxidu křemičitého a směsi chloroformu, ethylacetátu a methanolu 12,0:2,0:0,3. Je možno pozorovat vymizení výchozí látky a současnou tvorbu dvou produktů s $R_f = 0,22$ a 0,29. Produkt s $R_f = 0,29$ byl identifikován jako výsledný produkt, zatímco produkt s $R_f = 0,22$ byl identifikován jako (2'R,3'R)-baccatin III-13-(3'-fenyl-2',3'-epoxypropionát), který se vytvořil jako reakční meziprodukt. V průběhu času se zvyšuje množství produktu s $R_f = 0,29$ na úkor produktu s $R_f = 0,22$. Po 46 hodinách má reakční roztok žlutohnědé zbarvení a obsahuje bílou sraženinu, kterou je nezreagovaný NaN₃. Reakce se po 46 hodinách zastaví přidáním vody a při analýze je možno pozorovat 2 další skvrny s $R_f = 0,38$ a 0,13, jde o neizolované produkty rozkladu. Vysrážená mléčně bílá pevná látka se odfiltruje a promyje se vodou a pak ethylacetátem. Vznikne dvoufázová směs s dvěma čirými fázemi, které se od sebe oddělí. Vodná fáze se třikrát extrahuje ethylacetátem, organické fáze se spojí a vysuší síranem hořečnatým. Směs se zfiltruje a rozpouštědlo se odpaří, čímž se získá 0,335 g bělo-
žlutého prášku. Tento surový produkt se čistí rychlou chromatografií při použití oxidu křemičitého a směsi chloroformu, ethylacetátu a methanolu 12:2:0,3, čímž se získá 0,279 g, 0,36 mmol, 80 % (2'R,3'R)-baccatin III-13-(3'-azido-2'-hydroxy-3'-fenylpropionátu). $R_f = 0,22$.

Výsledný produkt má následující spektroskopické vlastnosti.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta_{ppm} = 1,14$ (s, 3H, Me), 1,25 (bs, 4H, Me + OH), 1,67 (s, 3H, Me), 1,87 (ddd, 1H, $J_1 = 13,9$ Hz, $J_2 = 11,1$ Hz, $J_3 = 2,5$ Hz, C6-H), 1,93 (d, 3H, $J = 0,8$ Hz, Me), 2,08 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, C14-H₂), 2,24 (s, 3H, Me), 2,26 (s, 3H, Me), 2,55 (m, 2H, C6-H + C7-OH), 3,28 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, C2'-OH), 3,77 (d, 1H, $J = 7,2$ Hz, C3-H), 4,15 (dd, 1H, $J_1 = 8,2$ Hz, $J_2 = 0,8$ Hz, C20-H), 4,28 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, C20-H), 4,41 (m, 2H, C7-H + C2'-H), 4,93 (dd, 1H, $J_1 = 9,6$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, C5-H), 4,96 (d, 1H, $J = 4,4$ Hz, C3'-H), 5,64 (d, 1H, $J = 7,2$ Hz, C2-H), 6,17 (dt, 1H, $J_1 = 7,9$ Hz, $J_2 = 1,2$ Hz, Hz, C13-H), 6,30 (s, 1H, C10-H), 7,46 – 7,32 (m, 5H, arom.), 7,46 – 7,32 (m, 5H, arom.), 7,50 (m, 2H, arom.), 7,63 (m, 1H, arom.), 8,06 (m, 2H, arom.); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): $\delta_{ppm} = 9,8, 15,3, 21,1, 21,9, 22,6, 27,0, 35,6, 35,8, 43,3, 45,9, 58,8, 68,1, 72,0, 72,4, 75,1, 75,3, 75,8, 76,7, 79,4, 81,3, 84,6, 127,9, 128,9, 129,2, 129,5, 130,3, 133,4, 134,1, 135,3, 142,2, 167,2, 170,5, 171,5, 203,8$.

45 Příklad 4

Syntéza N-debenzoylpaclitaxelu

V okrouhlé baňce s okrouhlým dnem s objemem 25 ml se dvěma hrdly se rozpustí 0,102 g, 0,13 mmol, 1,0 ekvivalentu (2'R,3'R)-baccatin III-13-(3'-azido-2'-hydroxy-3'-fenylpropionátu) v 5,2 ml čerstvě destilovaného methylenchloridu a výsledný světle žlutý roztok se smísí s 0,05 ml vody a pak se přidá 0,071 g, 0,26 mmol, 2,0 ekvivalentu PPh₃. Směs se nechá reagovat při teplotě místnosti za míchání magnetickým míchadlem. Po 16 hodinách se složení reakční směsi prokazuje pomocí TLC při použití oxidu křemičitého a směsi chloroformu a methanolu 9:1. Výchozí produkt o $R_f = 0,61$ vymizel a je možno pozorovat skvrnu s $R_f = 0,19$. Reakce se

zastaví zředěním světla žluté směsi s bílou sraženinou přidáním chloroformu. Pak se směs promyje destilovanou vodou a pak nasyceným vodným roztokem chloridu sodného. Jasně žlutá organická fáze se vysuší síranem hořečnatým, zfiltruje se a rozpouštědlo se odpaří. Získá se 0,177 g okrové žlutého oleje. Tento surový produkt se podrobí rychlé chromatografii při použití oxidu křemičitého a směsi chloroformu a methanolu 9:1, čímž se získá 0,074 mg, 0,10 mmol, 76 % N-debenzoylpaclitaxelu jako světle žlutého prášku.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ_{ppm} = 1,07 (s, 3H, Me), 1,09 (s, 3H, Me), 1,38 – 1,22 (bs, 2H, 20H), 1,75 (s, 3H, Me), 1,88 (s, 3H, Me), 1,90 (s, 3H, Me), 1,93 (s, 3H, Me), 2,20 – 1,96 (m, 6H, C14–H₂ + C6–H, NH₂ + OH), 2,52 (ddd, 1H, J_1 = 15,7 Hz, J_2 = 9,5 Hz, J_3 = 5,9 Hz, C6–H), 3,88 (d, 1H, J = 7,2 Hz, C3–H), 4,10 (d, 1H, J = 4,0 Hz, C20–H), 4,17 (d, 1H, J = 4,0 Hz, C20–H), 4,22 (d, 1H, J = 8,0 Hz, C2'–H), 4,26 (d, 1H, J = 8,0 Hz, C3'–H), 4,56 (dd, 1H, J_1 = 11,6 Hz, J_2 = 6,9 Hz, C7–H), 4,84 (d, 1H, J = 8,8 Hz, C5–H), 5,83 (d, 1H, J = 7,2 Hz, C2–H), 6,25 (t, 1H, J = 8,0 Hz, C13–H), 6,51 (s, 1H, C10–H), 7,20 – 7,00 (m, 8H, arom.), 8,13 (m, 2H, arom.); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ_{ppm} = 9,8, 15,2, 21,1, 22,0, 22,7, 27,0, 30,0, 35,4, 35,8, 43,3, 45, 58,7, 71,3, 72,3, 75,2, 75,8, 76,6, 79,3, 81,2, 84,6, 127,2, 128,5, 128,9, 129,0, 129,4, 130,3, 133,1, 134,1, 142,6, 167,1, 170,4, 171,5, 173,2, 203,9.

Příklad 5

Syntéza paclitaxelu

V baňce s okrouhlým dnem s objemem 10 ml se rozpustí 0,031 g, 0,041 mmol, 1,0 ekvivalentu N-debenzoylpaclitaxelu v 1,25 ml ethylacetátu. K čirému žlutému roztoku se přidá 1,25 ml nasyceného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného. Do vzniklé dvofázové směsi se za energického míchání magnetickým míchadlem po kapkách přidá 7,1 ml, 0,064 mmol, 1,5 ekvivalentu benzoylchloridu. Reakce se sleduje pomocí TLC při použití oxidu křemičitého a směsi chloroformu a methanolu 9:1. Po vymizení výchozí látky je možno pozorovat jedinou skvrnu s R_f = 0,50. Reakční směs se zředí ethylacetátem. Organická fáze se oddělí od vodné fáze a vodná fáze se 3krát extrahuje ethylacetátem. Organické fáze se spojí, vysuší se síranem hořečnatým, zfiltrují a odpaří. Získá se 0,037 g surového produktu, který se rozpustí ve směsi methylenchloridu a ethyletheru 1:1 a pak se přidá 0,030 g, 0,035 mmol, 86 % n-pentanu k vysrážení paclitaxelu, který má spektroskopické vlastnosti, popsané v literatuře.

Příklad 6

Syntéza (2'R,3'R)-7,10-bis-trichloracetyl-10-deacetylbaaccatin III-13-(3'-fenyl-2',3'-epoxypropionátu)

V baňce s okrouhlým dnem s objemem 100 ml se při teplotě 0 °C rozpustí 0,178 g, 1,09 mmol, 1,0 ekvivalentu čerstvě připravené kyseliny 3-fenyl-2-epoxypropionové ve 30 ml bezvodého toluenu. Ve výsledném roztoku se v atmosféře dusíku při teplotě 0 °C uvede do suspenze 0,663 g, 0,79 mmol, 0,73 ekvivalentu 7,10-bis-(trichloracetyl)-10-deacetylbaaccatinu III, 7,10-bis-(TCA)-10-DAB III. Pak se postupně přidává 0,224 g, 1,09 mmol, 1,0 ekvivalentu dicyklohexylkarbodiimidu (DCC), 0,088 g, 0,72 mmol, 0,66 ekvivalentu 4-dimethylaminopyridinu. (DMAP) a 0,19g, 0,11 mmol, 0,1 ekvivalentu kyseliny p-toluensulfonové. Reakce se provádí v heterogenní fázi při teplotě 70 °C za míchání magnetickým míchadlem a pod proudem dusíku. Průběh reakce se sleduje pomocí TLC při použití oxidu křemičitého a směsi n-hexanu a ethylacetátu 3:2. První skvrna o R_f = 0,28 odpovídá epoxysteru 7,10-bis-(TCA)-10-DAB III. Druhá skvrna o R_f = 0,15 odpovídá 7,10-bis-(TCA)-10-DAB III. Po 3 hodinách se směs zchladí a pevný podíl se ze suspenze odfiltruje. Tmavě žlutá sraženina se promyje methylenchloridem, zbývající bílá sraženina je DCU. Spojené organické frakce se odpaří a výsledný pevný odparek se podrobí rychlé chromatografii na oxidu křemičitém při použití směsi n-hexanu a ethylacetátu

3:2, čímž se získá 0,63 g výsledného (2'R,3'R)-7,10-bis-trichloracetyl-10-deacetyl-baccatin III-13-(3'-fenyl-2',3'-epoxypropionátu).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_{ppm} = 1,12 (s, 3H, Me), 1,14 (s, 3H, Me), 1,76 – 1,60 (m, 2H, C6-H + OH), 1,81 (s, 3H, Me), 1,88 (s, 3H, Me), 2,04 – 1,98 (m, 2H, C14-H), 2,41 (s, 3H, Me), 2,69 (ddd, 1H, J₁ = 14,5 Hz, J₂ = 9,3 Hz, J₃ = 7,3 Hz, C6-H), 3,89 (d, 1H, J = 7,2 Hz, C3-H), 3,98 (d, 1H, J = 4,0 Hz, C2'-H), 4,14 (d, 1H, J = 8,0 Hz, C20-H), 4,32 (d, 1H, J = 8,0 Hz, C20-H), 4,34 (d, 1H, J = 4,0 Hz, C3'-H), 4,97 (d, 1H, J = 7,6 Hz, C5-H), 5,70 – 5,62 (m, 2H, C7-H + C2-H), 6,05 (dt, 1H, J₁ = 8,4 Hz, J₂ = 1,0 Hz, C13-H), 7,52 – 7,30 (m, 7H, ArH), 6,39 (s, 1H, C10-H), 7,45 (m, 1H, ArH), 7,99 (m, 2H, ArH); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ_{ppm} = 10,9, 15,1, 20,8, 22,6, 26,3, 32,5, 35,6, 43,1, 46,7, 55,9, 56,5, 58,0, 70,8, 74,2, 76,4, 78,6, 78,9, 80,5, 83,5, 89,5, 89,6, 126,8, 128,8, 129,0, 129,1, 129,4, 130,2, 131,5, 132,5, 134,2, 143,3, 160,6, 161,1, 166,3, 167,0, 170,3, 199,5.

Příklad 7

Syntéza (2'R,3'R)-10-deacetyl-baccatin III-13-(3'-fenyl-2',3'-epoxypropionátu)

V baňce s okrouhlým dnem s objemem 25 ml se uvede do suspenze 0,174 g, 0,18 mmol, 1,0 ekvivalentu (2'R,3'R)-7,10-bis(TCA)-10-DAB III-13-(3'-fenyl-2',3'-epoxypropionátu) ve 3 ml methanolu. Výsledná suspenze se zchladí na 0 °C a za energického míchání magnetickým míchadlem se po kapkách přidá 0,24 ml, 0,36 mmol, 2,0 ekvivalentu 1,57M vodného roztoku NH₃. Reakce se nechá probíhat 15 minut při teplotě 0 °C, v průběhu této doby se barva suspenze změní na žlutozelenou. Pak se směs zahřeje na teplotu místnosti a nechá se ještě 5 minut reagovat k úplnému rozpuštění sraženiny, čímž se získá čirý žlutozelený roztok. Úplné vymizení výchozích látek je možno ověřit pomocí TLC při použití oxidu křemičitého a směsi n-hexanu a ethylacetátu 3:2, je možno pozorovat jedinou skvrnu na základní čáře. Reakční směs se zředí vodou, čímž vznikne mléčně bílý roztok, organická fáze se 3krát extrahuje ethylacetátem, po přidání organického rozpouštědla vznikne emulze, která opět zanikne rozpuštěním chloridu sodného. Organické fáze se spojí, vysuší se síranem hořečnatým, zfiltrují a rozpouštědlo se odpaří. Tímto způsobem se získá 0,194 g bílého prášku, kterým je výsledný (2'R,3'R)-10-deacetyl-baccatin III-13-(3'-fenyl-2',3'-epoxypropionát).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_{ppm} = 1,05 (s, 3H, Me), 1,09 (s, 3H, Me), 1,71 (s, 3H, Me), 1,72 (d, 3H, J = 1,2 Hz, Me), 1,83 (m, 1H, C6-H), 1,95 (2H, d, J = 8,8 Hz, C14-H₂), 2,34 (s, 3H, Me), 2,58 (ddd, 1H, J₁ = 14,6 Hz, J₂ = 9,9 Hz, J₃ = 6,9 Hz, C6-H), 3,85 (d, 1H, J = 7,3 Hz, C3-H), 3,95 (d, 1H, J = 4,4 Hz, C2'-H), 4,14 (d, 1H, J = 8,4 Hz, C20-H), 4,22 (dd, 1H, J₁ = 11,3 Hz, J₂ = 6,6 Hz, C7-H), 4,27 (d, 1H, J = 8,4 Hz, C20-H), 4,31 (d, 1H, J = 4,4 Hz, C3'-H), 4,95 (d, 1H, J = 8,8 Hz, C5-H), 5,16 (s, 1H, C10-H), 5,59 (d, 1H, J = 7,3 Hz, C3-H), 5,99 (dt, 1H, (d, 1H, J₁ = 8,8 Hz, J₂ = 1,2 Hz, C7-H), 7,30 – 7,50 (m, 7H, arom.), 7,60 – 7,70 (m, 1H, arom.), 7,90 – 8,00 (m, 2H, arom.).

Příklad 8

Syntéza (2'R,3'R)-baccatin III-13-(3'-fenyl-2',3'-epoxypropionátu)

K roztoku 138 mg (2'R,3'R)-10-deacetyl-baccatin III-13-(3'-fenyl-2',3'-epoxypropionátu) ve 3 ml bezvodého tetrahydrofuranu se přidá 7,3 mg CeCl₃·7H₂O a 0,073 ml anhydridu kyseliny octové. Reakční směs se míchá 5 hodin při teplotě místnosti, v průběhu této doby se reakční směs stane homogenní. Přidá se 1 g ledu a směs se míchá ještě 1 hodinu. Organické rozpouštědlo se odpaří ve vakuu a odparek se zředí 5 ml vody. Vytvořená sraženina se odfiltruje a suší ve vakuu

celkem 18 hodin. Výsledný produkt má formu bílého prášku, získá se celkem 130 mg tohoto produktu s následujícími vlastnostmi:

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_{ppm} = 1,05 (s, 3H, Me), 1,09 (s, 3H, Me), 1,71 (s, 3H, Me), 1,72 (d, 3H, J = 1,2 Hz, Me), 1,83 (m, 1H, C6-H), 1,95 (2H, d, J = 8,8 Hz, C14-H₂), 2,34 (s, 3H, Me), 2,58 (ddd, 1H, J_1 = 14,6 Hz, J_2 = 9,9 Hz, J_3 = 6,9 Hz, C6-H), 3,85 (d, 1H, J = 7,3 Hz, C3-H), 3,95 (d, 1H, J = 4,4 Hz, C2'-H), 4,14 (d, 1H, J = 8,4 Hz, C20-H), 4,22 (dd, 1H, J_1 = 11,3 Hz, J_2 = 6,6 Hz, C7-H), 4,27 (d, 1H, J = 8,4 Hz, C20-H), 4,31 (d, 1H, J = 4,4 Hz, C3'-H), 4,95 (d, 1H, J = 8,8 Hz, C5-H), 5,59 (d, 1H, J = 7,3 Hz, C3-H), 5,65 (dd, 1H, J_1 = 10,7 Hz, J_2 = 7,33 Hz, C7-H), 6,34 (s, 1H, C10-H), 7,30 – 7,50 (m, 7H, arom.), 7,60 – 7,70 (m, 1H, arom.), 7,90 – 8,00 (m, 2H, arom.).

Příklad 9

Syntéza (2'R,3'R)-baccatin III-13-(3'-azido-2'-hydroxy-3'-fenylpropionátu)

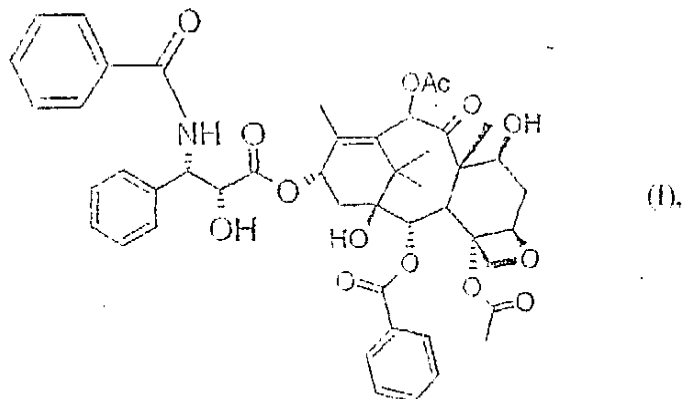
V baňce s okrouhlým dnem s objemem 25 ml s jedním hrdlem, opatřené magnetickým míchadlem se při teplotě 25 °C uvede do suspenze 0,17 g, 0,45 mmol, 1 ekvivalent (2'R,3'R)-baccatin III-13-(3'-fenyl-2',3'-epoxypropionátu) v 5 ml methanolu. Pak se postupně přidá 0,63 ml vody, 0,23 ml HCOOCH₃ a 0,36 g, 5,5 mmol, 12,5 ekvivalentu azidu sodíku. Směs se zahřeje na 50 °C a průběh reakce se sleduje pomocí TLC při použití oxidu křemičitého a směsi chloroformu, ethylacetátu a methanolu 12,0:2,0:0,3. Po 46 hodinách má reakční roztok žlutohnědé zbarvení a obsahuje bílou sraženinu, kterou je nezreagovaný NaN₃. Reakce se po 46 hodinách zastaví přidáním 10 ml vody. Vysrážená mléčně bílá pevná látka se odfiltruje a promyje se vodou a pak ethylacetátem. Vznikne dvoufázová směs s dvěma čirými fázemi, které se od sebe oddělí. Vodná fáze se třikrát extrahuje ethylacetátem, organické fáze se spojí a vysuší síranem hořečnatým. Směs se zfiltruje a rozpouštědlo se odpaří, čímž se získá 0,20 g běložlutého prášku. Tento surový produkt se čistí rychlou chromatografií při použití oxidu křemičitého a směsi chloroformu, ethylacetátu a methanolu 12:2:0,3, čímž se získá 0,140 g, (2'R,3'R)-baccatin III-13-(3'-azido-2'-hydroxy-3'-fenylpropionátu).

Výsledný produkt má stejné spektroskopické vlastnosti jako sloučeniny, připravená podle příkladu 3.

PATENTOVÉ NÁROKY

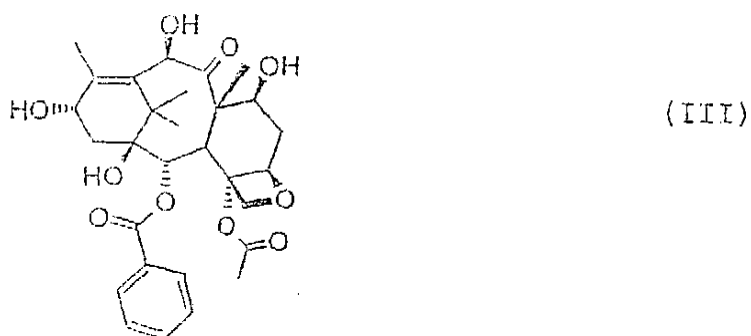
5

1. Způsob výroby paclitaxelu vzorce I

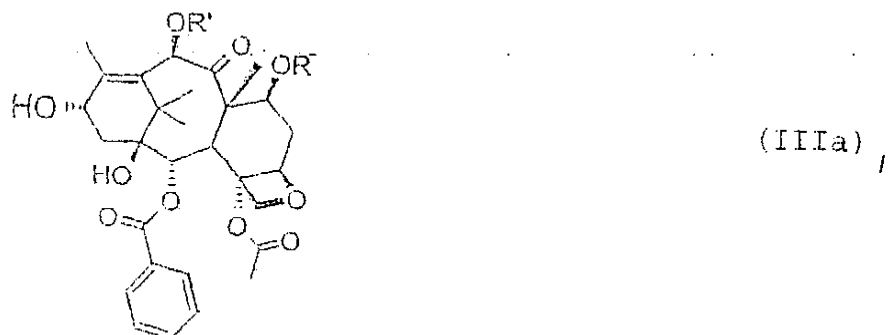


vyznačující se tím, že se

- 10 a) zavedou ochranné skupiny R a R' na hydroxylové skupiny v polohách 7 a 10 ve výchozím 10-deacetylbaccatinu vzorce III

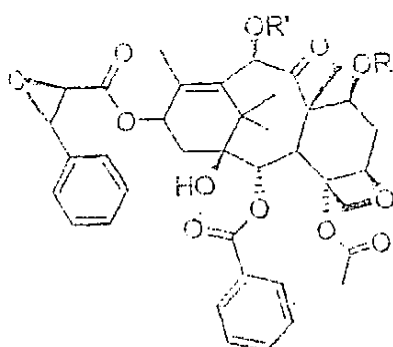


za vzniku chráněného derivátu obecného vzorce IIIa



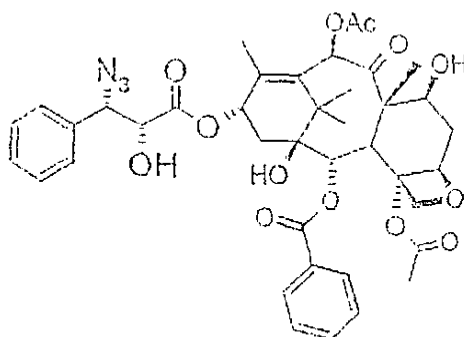
- 15 kde R=R'= trichloracetyl nebo R' = acetyl a R znamená *tert*-butoxykarbonyl nebo trichloracetyl,

b) hydroxylová skupina v poloze 13 tohoto derivátu se esterifikuje kyselinou 3-fenyl-2-epoxypropionovou za vzniku meziproduktu obecného vzorce IIIb



(IIIb),

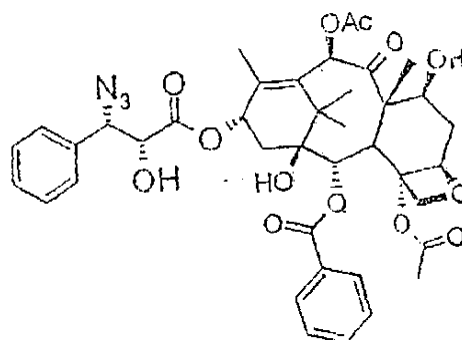
5 c) v případě, že obě ochranné skupiny v polohách 7 a 10 jsou trichloracetylové skupiny, odstraní se tyto skupiny s následnou selektivní acetylací vzniklého meziproduktu v poloze 10 a s následným otevřením epoxidu působením azidu sodíku za vzniku meziproduktu vzorce IIIc



(IIIc),

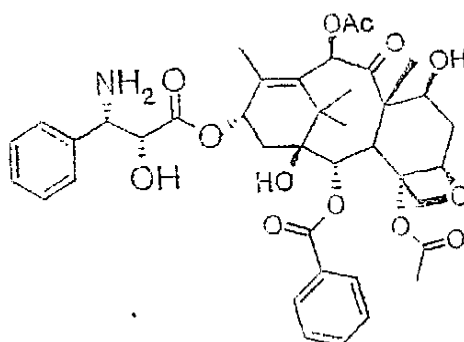
nebo

10 c') v případě, že $R' = \text{acetyl}$ a $R = \text{trichloracetyl}$, otevře se epoxid působením azidu sodíku a současně se odstraní ochranná skupina v poloze 7 za vzniku téhož meziproduktu vzorce IIIc



(IIIc),

d) azidoskupina v meziproduktu vzorce IIIc se redukuje na aminoskupinu za vzniku meziproduktu vzorce IIId



(IIId),

e) produkt vzorce III d se podrobí benzoylaci za vzniku výsledného paclitaxelu vzorce I.

2. Způsob podle nároku 1, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že se na hydroxylové skupiny mezi-
 5 produktu vzorce III v polohách 7 a 10 zavedou trichloracetylové skupiny reakcí s trichloracetyl-
 chloridem v methylenchloridu v přítomnosti triethylaminu a katalytického množství 4-di-
 methylaminopyridinu.

3. Způsob podle nároku 1, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že se meziprodukt vzorce III nejprve
 10 acetyluje v poloze 10 reakcí s anhydridem kyseliny octové v přítomnosti soli ceru, skandia nebo
 ytterbia a pak se na hydroxylovou skupinu v poloze 7 zavede *tert*-butoxykarbonylová nebo
 trichloracetylová skupina.

4. Způsob podle nároku 1, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že se hydroxylová skupina v poloze
 13 esterifikuje působením amonné soli kyseliny fenyl-2-epoxypropionové v toluenu v přítom-
 15 nosti dicyklohexylkarbodiimidu, dimethylaminopyridinu a kyseliny *p*-toluensulfonové.

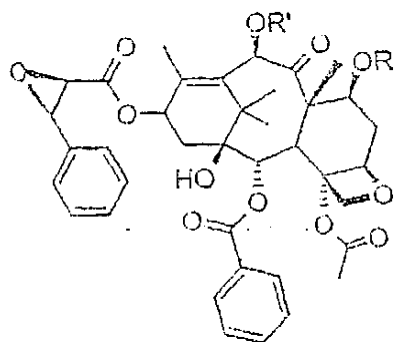
5. Způsob podle nároku 1, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že se ochranné skupiny ve významu
 R a R' odstraní působením hydroxidu amonného v případě, že běží o trichloracetylové skupiny.

6. Způsob podle nároku 1, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že se epoxid otevře působením NaN_3
 20 ve vodném methanolu v přítomnosti methylenmravenčanu.

7. Způsob podle nároku 1, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že se azid redukuje na amin působení-
 25 m vodíku v přítomnosti katalyzátoru nebo působením trifenylofosfinu.

8. Způsob podle nároku 1, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že se benzoylace v posledním stupni
 provádí působením anhydridu kyseliny benzoové současně s redukcí nebo následně na izolova-
 ném redukovaném produktu působením benzoylchloridu v přítomnosti uhličitanu draselného.

9. Sloučeniny obecného vzorce III b



(IIIb),

kde R a R' mají význam uvedený v nároku 1 nebo znamenají atomy vodíku.

Konec dokumentu