



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA TUTELA DELLA PROPRIETÀ INDUSTRIALE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

UIBM

DOMANDA NUMERO	102000900891939
Data Deposito	28/11/2000
Data Pubblicazione	28/05/2002

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
C	07	D		
Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	K		

Titolo

PROCEDIMENTO PER LA PREPARAZIONE DI DERIVATI TASSANICI.

5963 M Descrizione del brevetto per invenzione industriale avente per titolo:

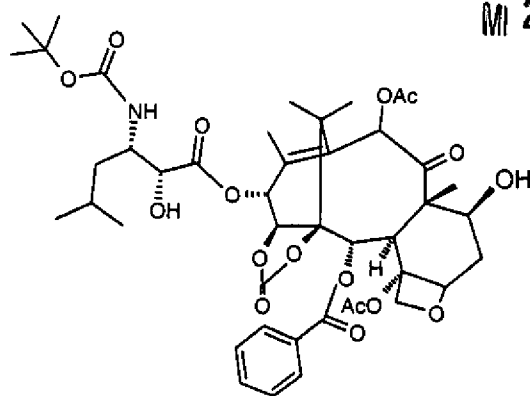
PB/st **"PROCEDIMENTO PER LA PREPARAZIONE DI DERIVATI
TASSANICI "**

a nome : **INDENA S.p.A.**

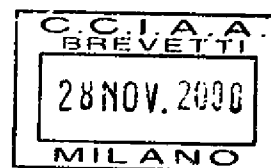
residente in: Milano

* *

Viene qui descritto un procedimento per la preparazione del composto 13-(N-Boc- β -isobutylisoserinil)-14 β -idrossibaccatina III 1,14-carbonato, di formula (I):



MI 2000A002553

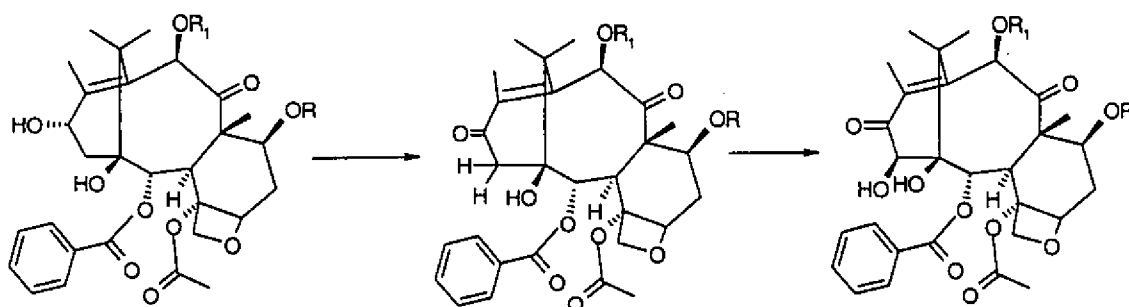


Il composto (I), descritto nella domanda di brevetto italiano n. MI99/A001483, è risultato particolarmente attivo contro tumori al seno, polmone, ovaio, colon, prostata, rene, pancreas, e anche contro cellule resistenti a noti antitumorali quali adriamicina, vinblastina e alcuni derivati del Pt. Normalmente i derivati della 14 β -idrossi-1,14-carbonato-desacetilbaccatina III vengono preparati a partire dal precursore 14- β -idrossi-desacetilbaccatina III, che è un composto naturale ottenibile in piccole quantità per estrazione da foglie di *Taxus wallichiana*, come descritto in EP 559019. E' fortemente sentita la necessità di disporre di procedimenti alternativi che consentano di preparare i derivati della 14 β -idrossi-1,14-carbonato-desacetilbaccatina III, in particolare i composti (I),

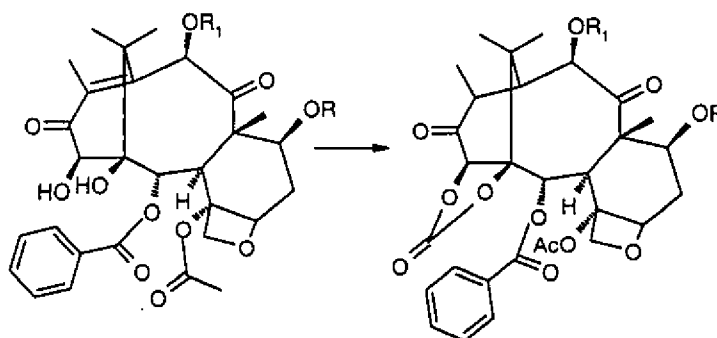
22

11

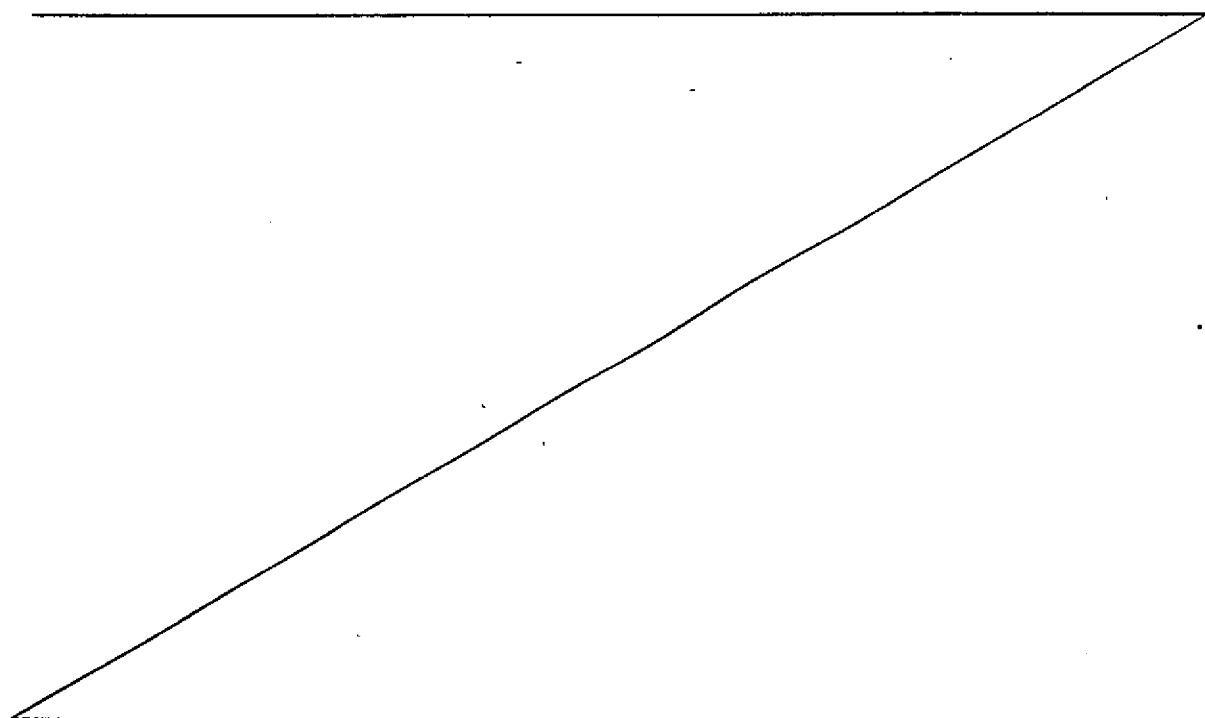
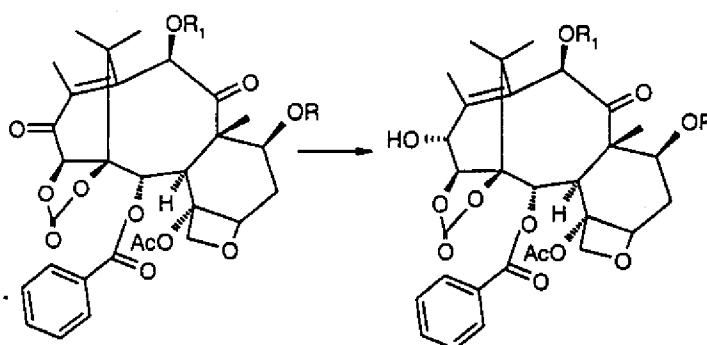
•



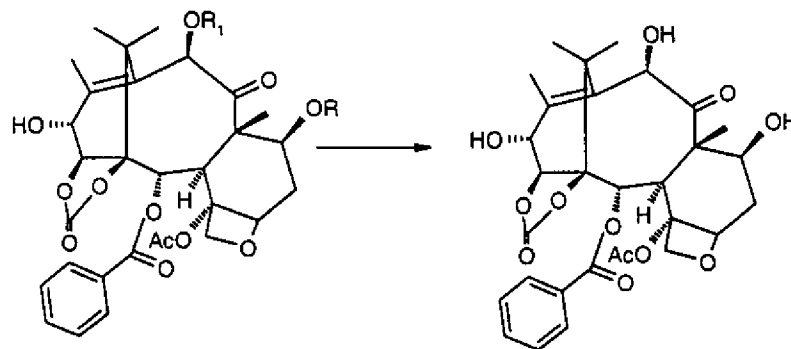
c) carbonatazione degli idrossili vicinali in posizione 1 e 14 a dare
il derivato 1,14 carbonato:



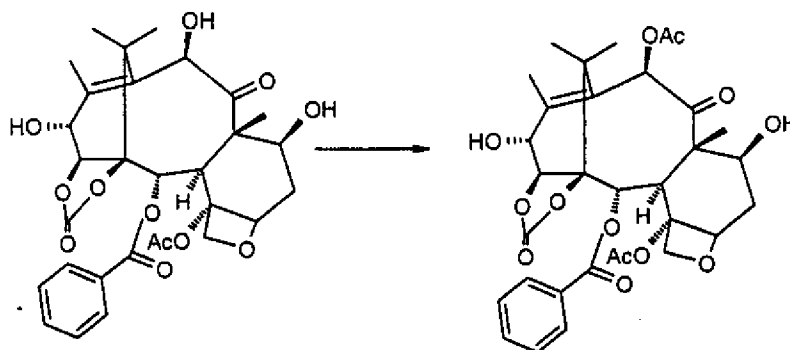
d) riduzione del carbonile in posizione 13:



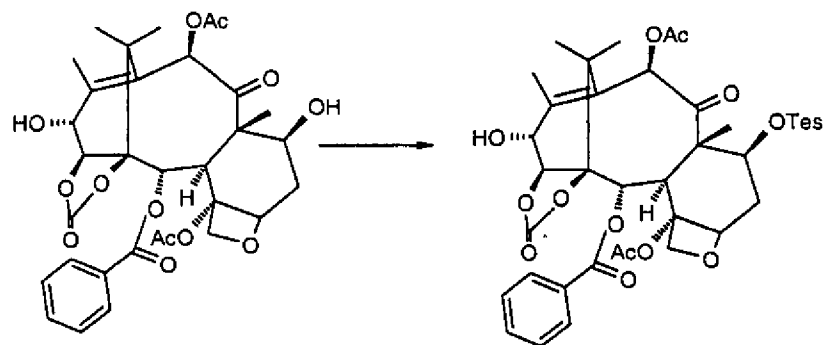
e) rimozione dei gruppi protettori in posizione 7 e 10:



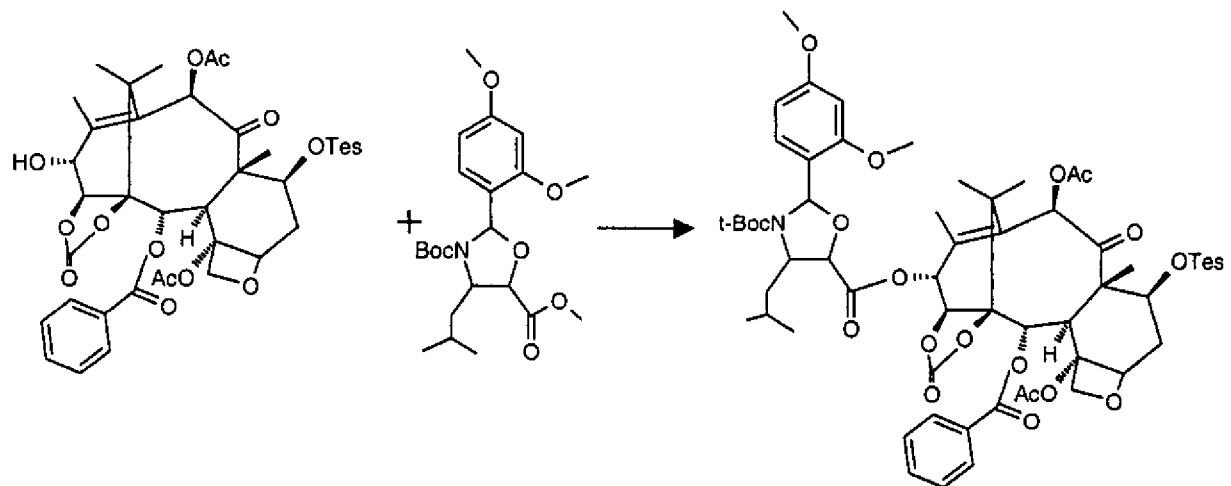
f) acetilazione selettiva dell'idrossile in 10:



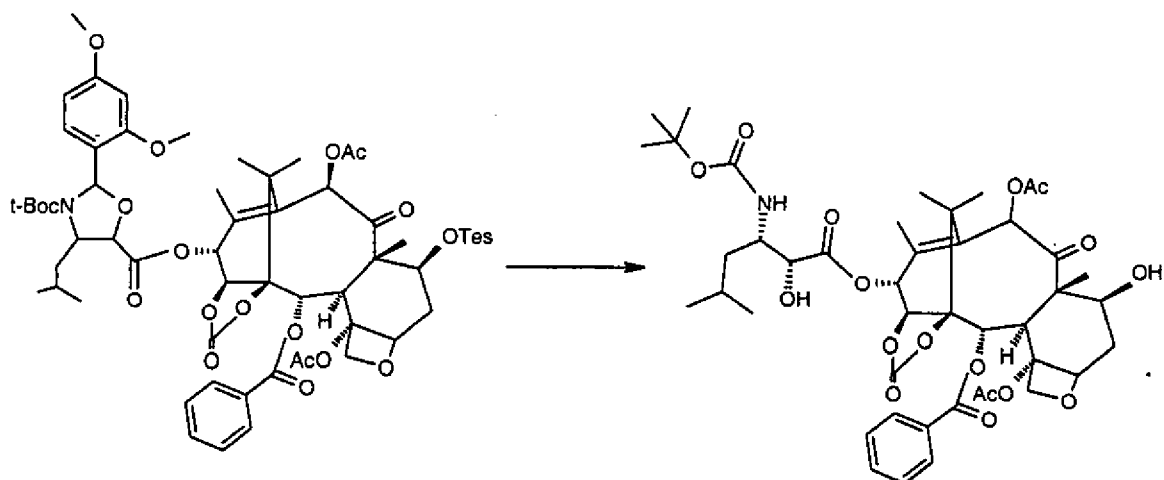
g) trasformazione della 14β-idrossi-baccatina-1,14-carbonato III
nel derivato trietilsililato in posizione 7:



h) reazione del prodotto del passaggio (g) con l'acido (4S, 5R)-N-
Boc-2-(2,4-dimetossifenil)-4-isobutil-1-ossazolidin-5-carbossilico;



i) eliminazione dei gruppi protettori trietilsilile e dimetossibenzilidenico dal prodotto del passaggio (h).



Le procedure impiegabili per la protezione selettiva degli idrossili in 7 e 10 sono descritte nella pubblicazione Holton et al., Tetrahedron Letters 39, (1998) 2883-2886. La protezione differenziale degli idrossili del composto di partenza desacetilbaccatina III è resa possibile dalla loro diversa reattività. In particolare si è visto che la reattività verso agenti

acilanti, alchilanti o sililanti varia nell'ordine $C(7)-OH > C(10)-OH > C(13)-OH > C(1)-OH$, dunque è possibile proteggere selettivamente i gruppi in 7 e 10 lasciando gli idrossili in 1 e 13 liberi. Inoltre, variando le condizioni di reazione, è possibile invertire l'ordine di reattività degli idrossili in 7 e 10 consentendo così la sostituzione differenziale degli stessi. Esempi di reagenti e condizioni di reazione impiegabili nella protezione degli idrossili in 10 e 7 sono riportati nella pubblicazione sopra citata. Selettività analoghe si ottengono partendo da 14- β -idrossibaccatina-1,14-carbonato.

Secondo una realizzazione preferita, la desacetilbaccatina III è fatta reagire con cloruro di tricloroacetile in cloruro di metilene in presenza di trietilammina e utilizzando dimetilamminopiridina (DMAP) in quantità catalitiche. L'utilizzo dei gruppi protettori tricloroacetici si è dimostrato molto vantaggioso nei successivi passaggi di ossidazione, carbonatazione e riduzione (rispettivamente (b), (c) e (d)). In particolare il derivato 7,10-bis-tricloroacetato, che viene ottenuto con rese quantitative dal prodotto di partenza, dopo ossidazione e carbonatazione viene facilmente ridotto in posizione 13 con simultanea deprotezione dei gruppi tricloroacetici a dare 14-idrossi-1,14 carbonato-desacetilbaccatina III. L'uso di DMAP in quantità catalitiche offre indubbi vantaggi dal punto di vista industriale e ambientale, se si considera che finora le acilazioni del substrato in questione venivano condotte in piridina con i conseguenti problemi di smaltimento del solvente residuo.

Il passaggio (b) di ossidazione dell'idrossile in posizione 13 viene condotto con biossido di manganese o biossido di bismuto od ozono in un solvente scelto tra acetonitrile, acetone o miscela acetato di etile/cloruro di

metilene 9:1, sotto energica agitazione, preferibilmente con ozono o biossido di manganese in acetonitrile o acetone. La reazione con ozono forma rapidamente il derivato ossidato in 13, mentre con MnO_2 la reazione procede velocemente a dare il derivato ossidato in posizione 13, che può essere isolato dall'ambiente di reazione, mentre se è mantenuta per tempi più lunghi fornisce il derivato ossidato in 13 e idrossilato in 14.

Il successivo passaggio (c) di carbonatazione degli idrossili nelle posizioni 1 e 14 viene generalmente condotto con fosgene in miscela cloruro di metilene/toluene in presenza di piridina. Successivamente, il derivato 1,14 carbonato così ottenuto può essere facilmente ridotto in posizione 13 a dare il corrispondente 13-idrossi derivato (passaggio (d)). Tale riduzione avviene in maniera regioselettiva sul carbonile in 13 lasciando inalterato il carbonile in 9. Viene generalmente condotta con sodio boroidruro in metanolo o tetrabutylammonio boroidruro e procede con alte rese. Il successivo passaggio (e) consiste nella deprotezione degli idrossili in posizione 7 e 10 a dare il 14-beta-idrossi-1,14-carbonato desacetilbaccatina III. Le condizioni e i reagenti impiegabili nella deprotezione selettiva degli idrossili in 7 e 10 sono descritti in Zheng et al., *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36, 2001, e in Datta et al., *J. Org. Chem.*, 1995, 60, 761.

L'acetilazione selettiva in posizione 10 (passaggio (f)) viene condotta con anidride acetica in presenza di sali di cerio, scandio, itterbio, preferibilmente $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Si procede quindi alla protezione in 7 come sililderivato (passaggio (g)). Il successivo passaggio (h) prevede la condensazione tra 14- β -idrossi-7-Tes-1,14-carbonato-baccatina III e

l'acido (4S, 5R)-N-Boc-2-(2,4-dimetossifenil)-4-isobutil-1-ossazolidin-5-carbossilico. La preparazione di quest'ultimo è descritta nella domanda di brevetto italiano MI 99/A 001483. La reazione è condotta in solvente organico apolare anidro, in presenza di una base e di un agente di condensazione quale dicicloesilcarbodiimide (DCC).

Infine, nel passaggio (i) il trietilsilile può essere eliminato con fluoruro di piridinio in soluzione di acetonitrile/piridina sotto azoto, mentre il gruppo dimetossibenzilidenico può essere eliminato in solvente di metilene cloruro per aggiunta di HCl metanolico e successivamente di NaHCO_3 .

Gli esempi che seguono illustrano l'invenzione in maggior dettaglio.

ESEMPIO I

Preparazione della 7,10-bis(tricloroacetil)-10-desacetilbaccatina III.

1^a alternativa:

A una soluzione di 10g di 10-desacetilbaccatina III (18.4 mmoli) in 125 mL di metilene cloruro anidro e 42 mL di piridina si aggiungono gocciolando 4.77 mL di anidride tricloroacetica (42.32 mmoli). La miscela di reazione si mantiene sotto agitazione per tre ore o in ogni caso fino a reazione completa controllata per TLC su gel di silice usando come eluente una miscela n-esano/etile acetato 1:1. A fine reazione si aggiungono 5 mL di metanolo per distruggere l'eccesso di anidride tricloroacetica e quindi si aggiunge acqua. La fase organica si lava accuratamente con acqua acida per HCl per eliminare la piridina mentre la rimanente fase organica si disidrata su MgSO_4 e si concentra a secco sotto vuoto. Si ottiene un solido giallino (17 g) che dopo cristallizzazione da cloroformio ha: $[\alpha]_D - 34^\circ$

(CH₂Cl₂ C5.8) IR (KBr) 3517, 1771, 1728, 1240, 981, 819, 787, 675 cm⁻¹;

¹H-NMR (200MH): δ 8.11 (Bz C), 7.46 (Bz, BB'), 6.50 (s, H-10), 5.72 (m, H-7 H-29), 5.02 (d, J = 8 Hz, H-5), 4.95 8m, H-13), 4.37 (d, J = 8 Hz, H-20a), 4.18 (d, J = 8 Hz, H-20b), 4.02 (d, J = 6 Hz, H-3), 2.32 (s, 4-Ac), 2.22 (s, H-18), 1.91 (s, H-19), 1.25 e 1.11 (s, H-16, H-17), 1.94 (m, H14α), 1.89 (m, H14β).

2^a alternativa:

10-DAB III (10 g, 18.38 mmol) viene sospesa in CH₂Cl₂ (120 ml), si aggiunge DMAP (220 mg, 1.4 mmol, 0.1 eqv.) e si raffredda a 0°C in bagno di ghiaccio. Si aggiungono quindi sotto flusso di azoto Et₃N (10.26 mL, 73.6 mmol, 4 eqv.) e, subito dopo, Cl₃COCl (4.12 mL, 36.8 mmol, 2 eqv.) in 5 min. mantenendo la temperatura sotto i 10°C. Al termine delle aggiunte, si lascia sotto agitazione in bagno di ghiaccio per 15 min, quindi si toglie il bagno e si agita a t.a. per 1 h. Dopo 1 h si controlla per TLC (AcOEt 2/*n*-Esano 3, R_f 10-DAB III = 0.05, R_f 7,10-bistricloroacetil -10-DAB III = 0,26) e si aggiunge Cl₃CCOCl (1 mL, 0.5 eqv.). Si continua l'agitazione a t.a. per 10 min, quindi si versa in un beaker contenente 160 g di ghiaccio triturato e si lascia sotto agitazione fino all'equilibrio a t.a. (1h circa). La fase acquosa è quindi separata ed estratta con CH₂Cl₂ (3 x 40 mL). Le fasi organiche riunite sono poi lavate con HCl 1N (20 mL), quindi NaHCO₃ sol. Sat. (20 mL). Si secca su Na₂SO₄ e si elimina il solvente al rotavapor. Peso grezzo: 16.5 g. Dopo cristallizzazione da cloroformio, IR, ¹H-NMR e [α]_D sono in accordo con quelli del composto ottenuto usando piridina e anidride tricloroacetica.

ESEMPIO II

Ossidazione in 13 e idrossilazione in 14 di 10-desacetilbaccatina III7,10-bistricloroacetato.

30 g di MnO_2 attivata sono aggiunti ad una soluzione di 10-desacetilbaccatina III 7,10-bistricloroacetato (3 g) in acetonitrile (40 mL), agitando la sospensione con agitatore magnetico a temperatura ambiente e seguendo il decorso della reazione per mezzo di TLC (etere di petrolio-acetato d'etile 5:5; R_f del materiale di partenza circa 0,31). Dopo circa un'ora, la formazione del 13-deidroderivato è completata (analisi TLC, R_f del 13-deidroderivato circa 0,50). L'agitazione è quindi mantenuta per circa 72 ore, durante le quali il 13-deidroderivato viene lentamente ossidato nel corrispondente 14- β -idrossiderivato (R_f circa 0,36). La miscela di reazione è filtrata su Celite, e il panetto è lavato con acetato d'etile più volte. Dopo rimozione del solvente, il residuo è purificato per cromatografia su colonna in gel di silice (100 mL, eluente etere di petrolio-acetato d'etile 7:3) fino a ottenere 170 mg del 13 deidroderivato e 1,05 g del 14- β -idrossi-13-deidroderivato.

13-deidro-14 β -idrossi-10-deacetilbaccatina III, 7,10-bis tricloro-acetato: polvere bianca, mp 97°C; IR (KBr disc): 3440, 1780, 1767, 1736, 1686, 1267, 1232, 1103, 1010, 854 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3): δ 8.07 (Bz AA'), 7.60 (Bz, C), 7.49 (Bz, BB'), 6.52 (s, H-10), 5.92 (d, $J = 6.7$ Hz, H-2), 5.70 (br t, $J = 8.0$ Hz, H-7), 4.95 (br d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 4.37 (d, $J = 8.2$ Hz, H-20a), 4.31 (d, $J = 8.2$ Hz, H-20b), 4.17 (s, H14), 4.02 (d, $J = 6.7$ Hz, H-3), 2.71 (m, H-6), 2.29 (s, OAc), 2.17 (s, OAc), 1.96 (s, H-18), 1.27, 1.01 (s, H-16,

H-17 e H-19).

ESEMPIO III

Ossidazione in 13 e idrossilazione in 14 di 7-trietilsililbaccatina III.

10 g di MnO_2 attivata sono aggiunti ad una soluzione di 7-trietilsililbaccatina III (1,0 g) in acetonitrile (10 mL), agitando la sospensione con agitatore magnetico a temperatura ambiente e seguendo il decorso della reazione per mezzo di TLC (etere di petrolio-acetato d'etile 6:4; R_f del materiale di partenza circa 0,25). Dopo circa 2 ore, la formazione del 13-deidroderivato è completata (analisi TLC, R_f 13-deidroderivato circa 0,45). L'agitazione è mantenuta per circa 188 ore, durante le quali ulteriore MnO_2 (10 g) è aggiunta. Il 13-deidroderivato viene lentamente ossidato nel corrispondente 14- β -idrossiderivato (R_f circa 0,38). La miscela di reazione è filtrata su Celite, e il solido è lavato con acetato d'etile. Dopo rimozione del solvente, il residuo è purificato per cromatografia su colonna in gel di silice (40 mL, eluente etere di petrolio-acetato d'etile 7:3) fino a ottenere 126 mg del 13 deidroderivato, 479 mg (46%) del 14 β -idrossi-13-deidroderivato e 189 mg di una miscela dei due.

13-deidro-7-trietilsililbaccatina III. Polvere bianca, mp 168°C $[\alpha]_D^{25}$ - 35 (CH_2Cl_2 , C 0.67) IR (KBr) 3488, 1726, 1711, 1676, 1373, 1269, 1244, 1230, 1105 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (200MH CDCl_3): δ 8.07 (Bz AA'), 7.60 (Bz, C), 7.49 (Bz, BB'), 6.59 (s, H-10), 5.69 (d, $J = 6.9$ Hz, H-2), 4.92 (d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 4.48 (dd, $J = 10.6$ Hz, H-7), 4.33 (d, $J = 8.0$ Hz, H-20a), 4.12 (d, $J = 8.0$ Hz, H-20b), 3.91, (d, $J = 6.9$ Hz, H-3), 2.96 (d, $J = 20$ Hz, H-14a), 2.65 (d, $J = 20$ Hz, H-20b), 2.50 (m, H-6 α), 2.23 (s, OAc), 2.19 (s, OAc + H-18), 1.67, 1.28, 1.19 (s, H-16, H-17 e H-19), 0.19 (m, TES).

13-deidro-14 β -idrossi-10-deacetilbaccatina III, 7,10-bis tricloroacetato: polvere bianca, mp 153°C $[\alpha]_D^{25} + 20$ (CH₂Cl₂, C 0.75) IR (KBr) 3431, 1723, 1692, 1371, 1269, 1242, 1223, 1096 cm⁻¹; ¹H-NMR (500MH CDCl₃): δ 8.06 (Bz AA'), 7.60 (Bz, C), 7.48 (Bz, BB'), 6.51 (s, H-10), 5.88 (d, J = 6.9 Hz, H-2), 4.90 (d, J = 8.2 Hz, H-5), 4.47 (dd, J = 10.6 7 Hz, H-7), 4.30 (d, J = 8 Hz, H-20a), 4.28 (d, J = 8.2 Hz, H-20b), 4.13 (br d, J = 2 Hz, H-14), 3.84 (d, J = 6.9 Hz, H-3), 3.69 (br d, J = 2 Hz, 14-OH), 3.62 (s, 1-OH), 2.52 (m, H-6 α), 2.24 (s, OAc), 2.21 (s, OAc), 2.11 (s, H-18), 1.92(m, H-6 β), 1.74, 1.56, 1.28 (s, -h-16, H-17 e H-19), 0.94 (m, TES), 0.59 (m, TES). HRNS: 714.3092 (calcolato per C₃₇H₅₀O₁₂Si 714.3092).

ESEMPIO IV

Preparazione di 1,14-carbonato-13-deidro-7-tes-14- β -idrossi-baccatina III.

Una soluzione di 13-deidro-14 β -idrossi-7-trietilsililbaccatina III (124 mg, 1,17 mMol) in CH₂Cl₂ (1 mL) è aggiunta a gocce in 5 min a una soluzione di fosgene (1,8 mL di una soluzione al 20% in toluene, 3,4 mMol, 20 mol. equiv.) e piridina (0,56 mL, 6,8 mMol, 20 mol. equiv.) in CH₂Cl₂ (2 mL). La miscela è agitata a temperatura ambiente per 1 ora e successivamente l'eccesso di fosgene è neutralizzato con soluzione satura di NaHCO₃ e estrazione con CH₂Cl₂. La fase organica è lavata con soluzione satura di NaHCO₃, salamoia, ed essiccata (Na₂SO₄). La rimozione del solvente fornisce un residuo rossastro, che è purificato su una piccola colonna di gel di silice (circa 5 mL, eluente esano/acetato d'etile 8:2) fino a ottenere 118 mg (92%) del carbonato. Se la reazione

viene condotta con trietilammina come base senza l'aggiunta inversa, si ottiene una miscela di circa 1:15 dell'1,14-carbonato e del 2-debenzoil-1,2-carbonato-14 benzoato.

13-deidro-14 β -idrossi-7-trietilsililbaccatina III 1,14-carbonato.

Polvere bianca, mp 153°C $[\alpha]_D^{25} + 23$ (CH₂Cl₂, C 0.75) IR (KBr) No. di banda OH 1834, 1734, 1709, 1373, 1242, 1225, 1088, 1057 cm⁻¹; ¹H-NMR (200MH CDCl₃): δ 7.99 (Bz AA'), 7.60 (Bz, C), 7.48 (Bz, BB'), 6.51 (s, H-10), 6.12 (d, J = 6.9 Hz, H-2), 4.90 (d, J = 8.2 Hz, H-5), 4.78 (s, H-14), 4.44 (dd, J = 10.7 Hz, H-7), 4.34 (d, J = 8 Hz, H-20a), 4.19 (d, J = 8.2 Hz, H-20b), 3.80 (d, J = 6.9 Hz, H-3), 2.50 (m, H-6 α), 2.23 (s, OAc), 2.22 (s, OAc), 2.19 (s, H-18), 1.92(m, H-6 β), 1.72, 1.39, 1.26 (s, -H-16, H-17 e H-19), 0.90 (m, TES), 0.56 (m, TES). HRNS: 740.2851 (calcolato per C₃₈H₄₈O₁₃Si 740.2864).

13-deidro-14 β -idrossibaccatina III 1,14-carbonato. Polvere bianca 240°C $[\alpha]_D^{25} - 2.5$ (CH₂Cl₂, C 0.4) IR (KBr) 3539, 1831, 1736, 1240, 1088, 1068, 1057, 1024 cm⁻¹; ¹H-nmr (200mh CDCl₃): δ 7.98 (Bz AA'), 7.61 (Bz, C), 7.50 (Bz, BB'), 6.39 (s, H-10), 6.14 (d, J = 6.9 Hz, H-2), 4.98 (d, J = 8.2 Hz, H-5), 4.80 (s, H-14), 4.43 (dd, J = 10.7 Hz, H-7), 4.35 (d, J = 8 Hz, H-20a), 4.24 (d, J = 8.2 Hz, H-20b), 3.80 (d, J = 6.9 Hz, H-3), 2.50 (m, H-6 α), 2.30 (s, OAc), 2.20 (s, OAc), 2.15 (s, H-18), 1.90 (m, H-6 β), 1.74, 1.34, 1.25 (s, H-16, H-17 e H-19), HRMS: 626.2005 (calcolato per C₃₃H₃₄O₁ 626.1999).

ESEMPIO V

Preparazione di 1,14-carbonato-7-O-trietilsilil baccatina III.

NaBH₄ in eccesso (circa 20 mg) viene aggiunto in piccole porzioni a

una soluzione di 13-deidro-14 β -idrossi-7-trietilsililbaccatina III 1,14-carbonato (50 mg) in metanolo (5ml). Dopo 30 min., alla miscela di reazione viene aggiunto NH₄Cl saturo, e si estrae con acetato d'etile. Dopo lavaggio con salamoia, essiccazione con Na₂SO₄ e rimozione del solvente, il residuo è purificato per cromatografia su colonna in gel di silice (circa 5 mL, eluizione con esano-acetato d'etile 8:2) fino a ottenere 35 mg del 13- α -idrossi derivato e 9 mg del 13- β -idrossi derivato.

14 β -idrossi-7-trietilsililbaccatina III 1,14-carbonato $[\alpha]_D^{25} -35$ (CH₂Cl₂, C 0.60) IR (KBr) 3054, 1819, 1736, 1603, 1371, 1261, 1238, 1090, 1069, cm⁻¹; ¹H-NMR (200MH CDCl₃): δ 8.06 (Bz AA'), 7.65 (Bz, C), 7.50 (Bz, BB'), 6.47 (s, H-10), 6.12 (d, J = 6.9 Hz, H-2), 5.05 (br d, J = 5.5 Hz, H-13), 4.98 (br d, J = 9 Hz, H-5), 4.83 (d, J = 5 Hz, H-14), 4.50 (dd, J = 10.7 Hz, H-7), 4.34 (d, J = 8 Hz, H-20a), 4.23 (d, J = 8 Hz, H-20b), 3.75 (d, J = 6.9 Hz, H-3), 2.56 (m, H-6 α), 2.34 (s, OAc), 2.22 (s, OAc), 1.78 (m, H-6 β), 1.35 (s, H-18), 1.75, 1.18, 0.95 (s, -H-16, H-17 e H-19), 0.90 (m, TES), 0.62 (m, TES).

14 β -idrossi-7-trietilsilil-13-epibaccatina III 1,14-carbonato. Amorfo $[\alpha]_D^{25} -13$ (CH₂Cl₂, C 0.60) IR (KBr) 3630, 1825, 1734, 1603, 1375, 1262, 1091, 1071, 1049 cm⁻¹; ¹H-NMR (200MH CDCl₃): δ 8.01 (Bz AA'), 7.63 (Bz, C), 7.48 (Bz, BB'), 6.44 (s, H-10), 6.12 (d, J = 7.2 Hz, H-2), 4.90 (br d, J = 9 Hz, H-5), 4.81 (d, J = 8 Hz, H-14), 4.48 (br, J = 8, H-13), 4.50 (dd, J = 10, 7 Hz, H-7), 4.41 (d, J = 8 Hz, H-20a), 4.31 (d, J = 8 Hz, H-20b), 3.68 (d, J = 7.2 Hz, H-3), 2.60 (m, H-6 $\square$), 2.32 (s, OAc), 2.26 (s, H-18), 2.21 (s, OAc), 1.80 (m, H-6 β), 1.72, 1.43, 1.27 (s, -H-16, H-17 e H-19), 0.93 (m, TES), 0.61 (m, TES).

ESEMPIO VI

Preparazione di 13-deidro-14 β -idrossi-7,10-bistricloroacetil-
baccatina III 1,14-carbonato.

Una soluzione di 13-deidro-14 β -idrossi-7,10-bistricloroacetil-baccatina III (200 mg) in CH₂Cl₂ (2 mL) viene aggiunta in 5 min ad una soluzione di fosgene (20% in toluene, 3.6 mL, 20 equiv.) e piridina (1.12 mL, 20 equiv.) in CH₂Cl₂ (2 mL). La miscela è agitata a t.a. per 1 h, quindi l'eccesso di fosgene è neutralizzato con soluzione satura di NaHCO₃ (3 mL). Si estrae con CH₂Cl₂, e si lava la porzione organica con soluzione satura di NaHCO₃ quindi con soluzione satura di NaCl e si secca su Na₂SO₄. Dopo rimozione del solvente al rotavapor, il residuo viene purificato per cromatografia su colonna di gel di silice (eluente esano/AcOEt 9:1) ad ottenere 175 mg (89%) del carbonato.

13-Deidro-14 β -idrossi-7,10-bistricloroacetil-baccatina III 1,14-carbonato. Solido amorfo bianco. IR (KBr) 1834, 1771, 1735, 1709, 1232, 1103, 1010, 854 cm⁻¹.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 8.03 (Bz AA'), 7.60 (Bz, C), 7.50 (Bz, BB'), 6.52 (s, H-10), 5.92 (d, J = 6.7 Hz, H-2), 5.70 (br t, J = 8.0 Hz, H-7), 4.95 (br d, J = 8.2 Hz, H-20b), 4.77 (s, H-14), 4.02 (d, J = 6.7 Hz, H-3), 2.71 (m, H-6), 2.29 (s, OAc), 1.96 (s, H-18), 1.27 – 1.01 (m, H-16, H-17, H-19).

ESEMPIO VII

Preparazione di 14 β -idrossi-10-desacetilbaccatina III 1,14-
carbonato.

Una soluzione di 13-deidro-14 β -idrossi-7,10-bistricloroacetil-

baccatina III 1,14-carbonato (500 mg) in MeOH (8 mL) L) viene raffreddata a 0°C in bagno di ghiaccio e viene aggiunto NaBH₄ solido (44 mg) in 5 min. La miscela è agitata a t.a. per 1 h, quindi raffreddata a 0°C. Si aggiunge acetone (2 mL) in 5 min e si concentra al rotavapor. Si aggiunge AcOEt (10 mL) e si filtra su celite. Si lava la soluzione limpida con soluzione satura di NaCl e si secca su Na₂SO₄. Dopo rimozione del solvente al rotavapor, il residuo (miscela 4.5 : 1 di epimeri al C13) viene purificato per cromatografia su colonna di gel di silice (eluente esano/AcOEt 1:1) ad ottenere 251 mg dell'epimero 13β e 55 mg dell'epimero 13α (88% totale) del carbonato deprotetto.

13α -14β-idrossi-10-desacetilbaccatina III 1,14-carbonato. Solido amorfo bianco. IR (KBr): 3520 (OH), 1834, 1709, 1232, 1103, 1010, 854 cm⁻¹.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 8.03 (Bz AA'), 7.60 (Bz, C), 7.50 (Bz, BB'), 6.27 (s, H-10), 5.92 (d, J = 6.7 Hz, H-2), 4.95 (br d, J = 8.2 Hz, H-20b), 4.85 (m, H-13), 4.77 (s, H-14), 4.42 (br t, J = 8.0 Hz, H-7), 4.02 (d, J = 6.7 Hz, H-3), 2.71 (m, H-6), 2.29 (s, OAc), 1.96 (s, H-18), 1.27 - 1.01 (m, H-16, H-17, H-19).

13α -14β-idrossi-10-desacetilbaccatina III 1,14-carbonato. Solido amorfo bianco. IR (KBr): 3520 (OH), 1834, 1709, 1232, 1103, 1010, 854 cm⁻¹.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 8.03 (Bz AA'), 7.60 (Bz, C), 7.50 (Bz, BB'), 6.27 (s, H-10), 5.92 (d, J = 6.7 Hz, H-2), 4.95 (br d, J = 8.2 Hz, H-20b), 4.80 (m, H-13), 4.77 (s, H-14), 4.42 (br t, J = 8.0 Hz, H-7), 4.02 (d, J = 6.7 Hz, H-3), 2.71 (m, H-6), 2.29 (s, OAc), 1.96 (s, H-18),

1.27 - 1.01 (m, H-16, H-17, H-19).

ESEMPIO VIII

Preparazione di 13-(N-Boc- β -isobutilserinil)-14 β -idrossibaccatina

III 1,14-carbonato.

Ad una soluzione di 14 β -idrossi-10-deacetilbaccatina III 1,4-carbonato (126 mg) in 3 mL di tetraidrofurano anidro si aggiungono 7,5 mg di $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e 0,078 mL di anidride acetica. La miscela di reazione viene mantenuta sotto agitazione a temperatura ambiente per 5 h. Durante questo tempo la miscela di reazione diventa omogenea. Si aggiungono 1,5 g di ghiaccio e si mantiene sotto agitazione per 1 h. Si rimuove il solvente organico sotto vuoto e il residuo viene diluito con 5 mL di H_2O . Il precipitato che si forma viene filtrato ed essiccato alla pompa da vuoto per 18 h. Il prodotto così ottenuto (polvere bianca, 135 mg) ha le seguenti caratteristiche:

^1H NMR (400 MHz, CDCl_2). δ_{ppm} = 1.25, 1.11 (s, H-16 e H-17), 1.66 (s, H-19), 2.04 (s, H-18), 2.22 (s, OAc), 2.29 (s, OAc), 3.89 (d, $J = 0.9$ Hz, H-3), 4.06 (d, $J = 7$ Hz, C20b), 4.20 (d, $J = 7$ Hz, H20a), 4.41 (m, H-7), 4.77 (d, $J = 4$ Hz, H-14), 4.85 (br d, $J = 4$ Hz, H-13), 4.97 (br d, $J = 8$ Hz, H-5), 5.8 (d, $J = 7$ Hz, H-2), 6.31 (s, H-10), 7.44 (t, J (Hz, Bz), 7.55 (d, $J = 8$ Hz, Bz), 8.07 (d, $J = 8\text{Hz}$, Bz).

14 β -idrossibaccatina III 1,14-carbonato (130 mg) viene sciolta in dimetilformammide (4 mL) e si aggiunge N-metilimidazolo (0,07 mL). Trietilclorosilano (0,042 mL) viene aggiunto alla soluzione sotto forte agitazione a temperatura ambiente in 1 h. La miscela è quindi versata in 10 mL di H_2O sotto forte agitazione. Si forma un precipitato bianco che

viene rimosso per filtrazione dopo aver lasciato la sospensione a 4°C per 18 h. Il solido viene lavato con H₂O (5 mL) e quindi con esano (2 x 3 mL). Si ottiene un solido bianco (150 mg) con caratteristiche spettrali identiche a quelle del composto ottenuto in esempio V.

In un pallone da 1L si pongono 20 g di 14β-idrossi-7-Tes-1,14-carbonato-baccatina III insieme a 300 mL di toluene rigorosamente anidro; si aggiungono sciolti in CH₂Cl₂ 10 g dell'acido (4S, 5R)-N-Boc-2-(2,4-dimetossifenil)-4-isobutil-1-oxazolidine-5-carbossilico e 2 g di N,N-dimetilamminopiridina (DMAP) e 9,5 g di dicicloesilcarbodiimmide (DCC). La miscela di reazione è riscaldata a riflusso per 3h. Si elimina dopo raffreddamento della reazione il prodotto ureico che precipita e le acque madri sono lavate con soluzione satura di NaHCO₃ per l'eliminazione dell'acido non reagito quindi con acido cloridrico diluito per eliminare DMAP e poi ancora con NaHCO₃ fino a neutralità. Si ottengono dopo concentrazione a secco della fase organica 41,5 g di prodotto che può essere usato come tale nella fase successiva.

40 g di questo composto vengono deprotetti in due passaggi per eliminazione del Tes prima e del 2,4-dimetossibenzaldeide dopo. 40 g del composto sono sciolti in 100 mL di una miscela acetonitrile/piridina (80:100) sotto azoto ed il tutto raffreddato a 0°C; si aggiungono 13 mL di fluoruro di piridinio e il tutto è lasciato sotto agitazione per 24 h. La soluzione è versata in 2L di acqua ed il prodotto filtrato ed essiccato sotto vuoto.

Il residuo viene sciolto in 60 mL di metilene cloruro ed a questa soluzione sotto forte agitazione e a 0°C si aggiungono 40 mL di Metanolo

HCl 0,6N. La miscela di reazione è lasciata per 2h sotto agitazione, quindi diluita con 150 mL di metilene cloruro e sbattuta con una soluzione di NaHCO_3 aggiustando il pH fra 6-7. La fase organica è concentrata a secco ed il residuo cristallizzato da acetone esano. Si ottengono dopo essiccamento 16 g di 13-(N-Boc- β -isobutylisoserinil)-14 β -idrossibaccatina-1,14-carbonato avente le seguenti caratteristiche fisico-chimiche e spettroscopiche:

Formula: $\text{C}_{44}\text{H}_{57}\text{NO}_{17}$

Aspetto: polvere bianca.

Punto di fusione: 245°C

Tabella 1: Spostamenti chimici (ppm) ^1H NMR in soluzione di CDCl_3 (200 MHz)

H	Ppm, molteplicità (Hz)	H	Ppm, molteplicità (Hz)
2	6,09-d (7,8)	2'	4,30-dd (6,4; 3,2)
3	3,68-d (7,4)	3'	4,08-m
5	4,91-dd (9,7; 2,5)	4'a	1,21-m
6 α	2,52-ddd (14,8; 9,8; 6,9)	4'b	1,43-m
6 β	1,86-m	5'	1,65-m
7	4,37-m	6'	0,96-d (6,3)
10	6,25-s	7'	0,95-d (6,3)
13	6,44-d (ampio, 6,9)	4-OCOCH ₃	2,40-s
14	4,84-d (6,9)	10-OCOCH ₃	2,22-s
16	1,25-s	Boc	1,35-s
17	1,32-s	o-benzoile	8,01-m
18	1,87-d (1,6)	m-benzoile	7,46-m
19	1,69-s	p-benzoile	7,58-m
20 α	4,27-d (8,4)	3'-NH	4,72-d (9,0)
20 β	4,20-d (8,4)		

Tabella 2: Spostamenti chimici (ppm) ^{13}C NMR in soluzione di CDCl_3 (50,308 MHz)

C	ppm, molteplicità	C	ppm, molteplicità
9	201,8-s	8	58,2-s
1'	172,6-s	3'	51,2-d
4-OCOCH ₃	170,5-s	3	44,6-d
10-OCOCH ₃	170,2-s	15	41,3-s
2-COPh	164,3-s	4'	39,9-t
C=O (Boc)	155,8-s	6	34,9-t
C=O (carbonato)	151,4-s	(CH ₃) ₃ C Boc	27,7-q
12	139,4-s	17	25,5-q
11	133,1-s	16	22,6-q
(Me) ₃ C(Boc)	80,0-s	4-OCOCH ₃	22,0-q
5	83,8-d	10-OCOCH ₃	20,2-q
1	87,7-s	5'	24,3-d
4	80,0-s	6'	22,7-q
2	69,0-d	7'	21,6-q
20	75,5-t	18	14,6-q
2'	73,3-d	19	9,8-q
7	71,2-d	q-benzoile	127,5-s
10	74,3-d	o-benzoile	129,5-d
13	74,1-d	m-benzoile	128,6-d
14	79,1-d	p-benzoile	133,7-d

Spettri di massa: (NH₃, DEP/CI, ioni positivi): (*m/z*) 889

[(MNH₄)⁺], 832 [(MNH₄-(CH₃)₃C)⁺], 772 [(MNH₄-BocNH₂)⁺]

(NH₃, DEP/CI, ioni negativi): (*m/z*) 871 (M⁻), 260 (catena laterale)

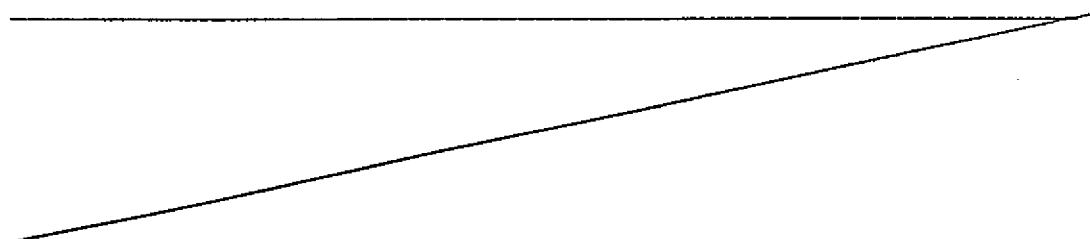
Spettro infrarosso (disco KBr): 3521, 3321, 2971, 2953, 1826, 1762, 1706, 1526, 1366, 1238, 1165, 1072, 723 cm⁻¹

Spettro UV (MeOH): 231, 276 e 284 nm;

-E_{1%} a 231 nm = 180,99

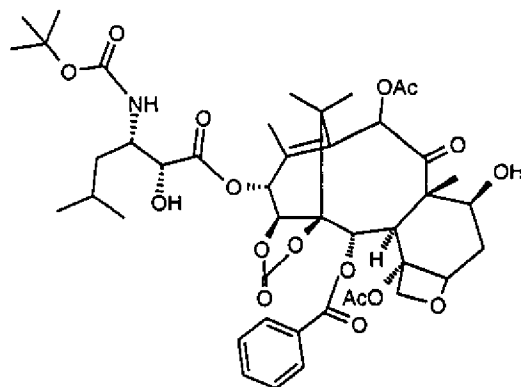
-E_{1%} a 276 nm = 14,094

-E_{1%} a 284 nm = 12,182



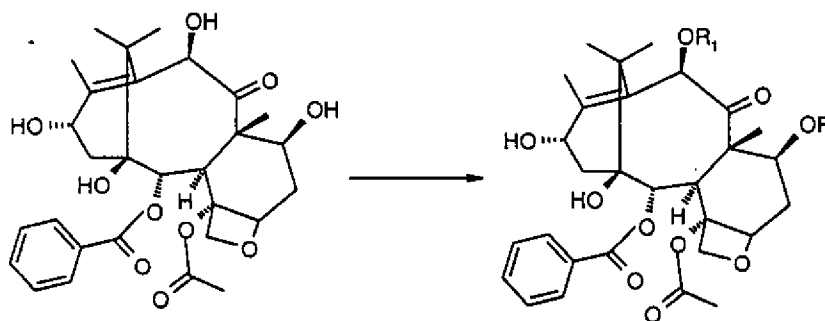
RIVENDICAZIONI

1. Procedimento per la preparazione dei composti 13-(N-Boc- β -isobutylisoserinil)-14 β -idrossibaccatina III 1,14-carbonato, di formula (I)



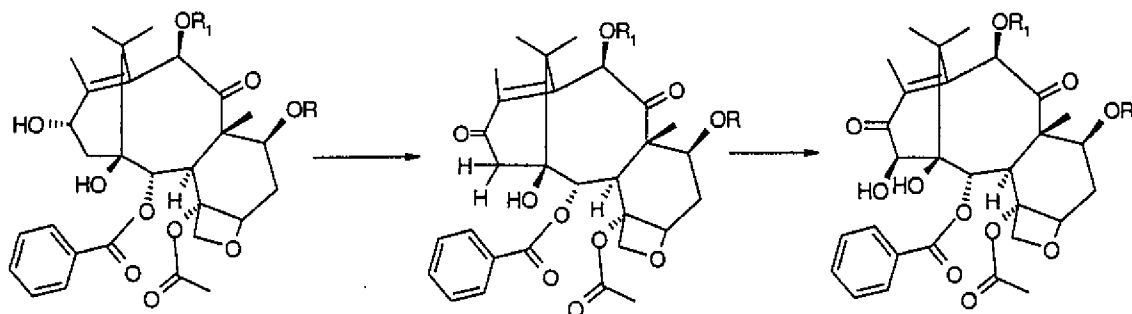
che comprende:

a) protezione degli idrossili in posizione 7 e 10 della 10 desacetilbaccatina III:

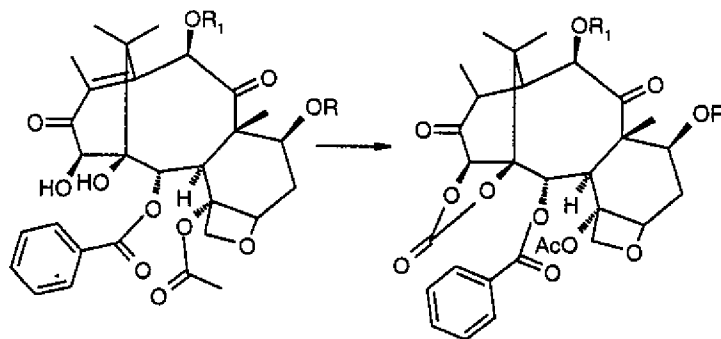


dove R e R1 possono essere uguali o diversi e sono scelti tra idrogeno, alchile o arile C1-C10, alchil- o aril-carbonile C1-C10, tricloroacetile, trialchilsilile C1-C4;

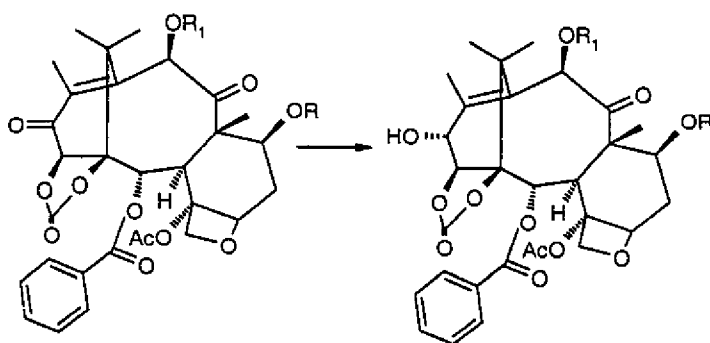
b) ossidazione in due stadi a dare il derivato ossidato a carbonile in posizione 13 e idrossilato in posizione 14:



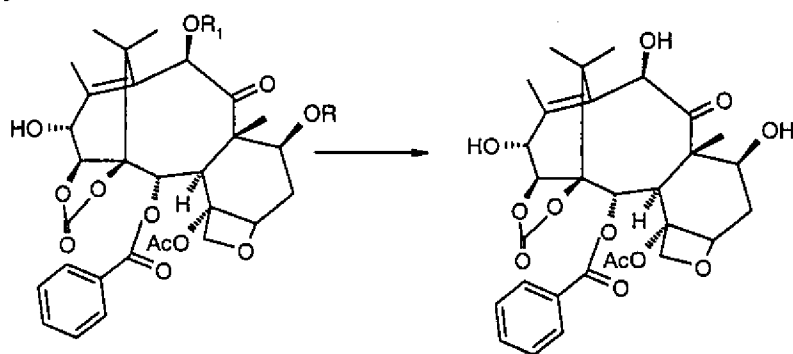
c) carbonatazione degli idrossili vicinali in posizione 1 e 14 a dare il derivato 1,14 carbonato:



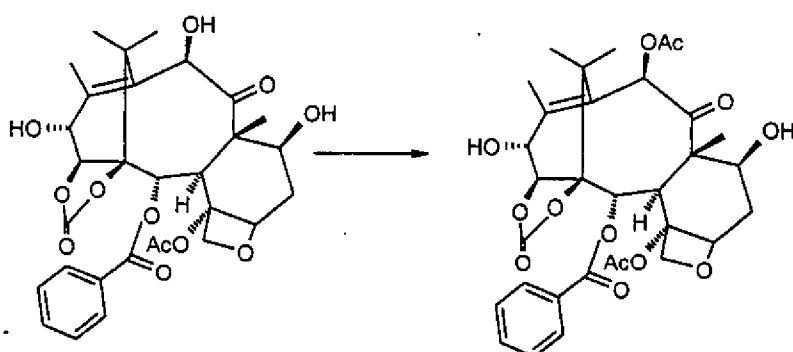
d) riduzione del carbonile in posizione 13:



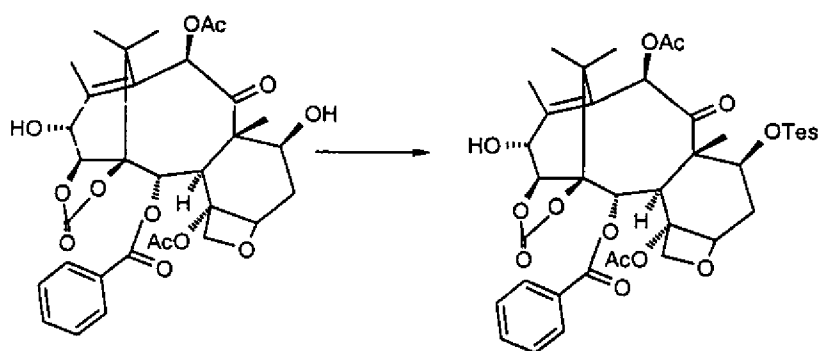
e) rimozione dei gruppi protettori in posizione 7 e 10:



f) acetilazione selettiva dell'idrossile in 10:

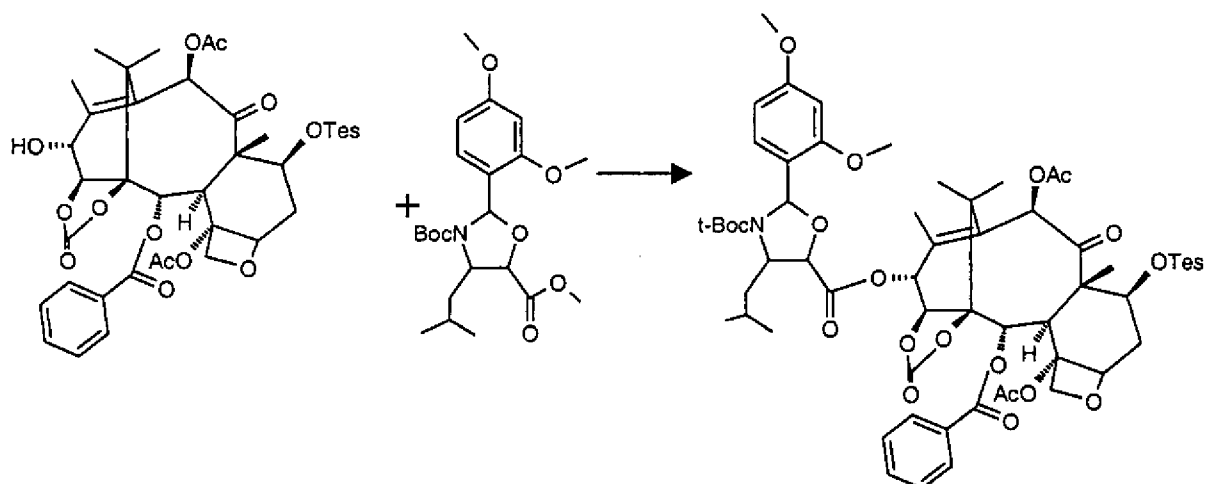


g) trasformazione della 14 β -idrossi-10-desacetilbaccatina III o V nel derivato trietilsililato in posizione 7:

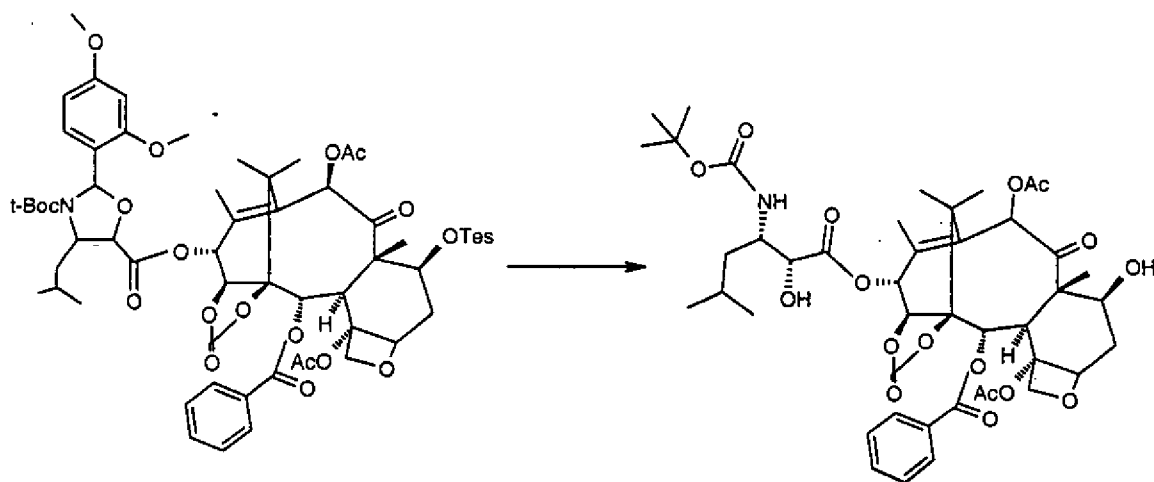


h) reazione del prodotto del passaggio (g) con l'acido (4S, 5R)-N-Boc-2-

(2,4-dimetossifenil)-4-isobutil-1-ossazolidin-5-carbossilico;



i) eliminazione dei gruppi protettori trietilsilile e dimetossibenzilidenico dal prodotto del passaggio (h).



2. Procedimento secondo la rivendicazione 1 in cui $R = R_1 =$ tricloroacetile

3. Procedimento secondo la rivendicazione 1, in cui R e R_1 sono diversi e R è tricloroacetile e R_1 acetile, oppure R è trietile o trimetilsilile ed R_1 acetile.

4. Procedimento secondo la rivendicazione 1, in cui il passaggio (a) di

protezione degli idrossili in posizione 7 e 10 viene condotto con tricloroacetilcloruro in metilene cloruro in presenza di trietilammina e di quantità catalitiche di dimetilamminopiridina.

5. Procedimento secondo la rivendicazione 1, in cui il passaggio (b) di ossidazione dell'idrossile in posizione 13 e idrossilazione in posizione 14 viene condotto con biossido di manganese o biossido di bismuto od ozono in un solvente scelto tra acetonitrile, acetone o miscela acetato di etile/cloruro di metilene.

6. Procedimento secondo la rivendicazione 1, in cui il passaggio (c) di carbonatazione degli idrossili nelle posizioni 1 e 14 è condotto con fosgene in miscela cloruro di metilene/toluene in presenza di piridina.

7. Procedimento secondo la rivendicazione 1, in cui il passaggio (d) di riduzione a 13-idrossi è condotto con sodioboroidruro in metanolo.

8. Procedimento secondo la rivendicazione 1, in cui il passaggio (f) di acetilazione dell'idrossile in 10 è condotto con acetilcloruro.

9. Procedimento secondo la rivendicazione 8, in cui il passaggio (g) di sililazione è condotto con trietilclorosilano.

10. Procedimento secondo la rivendicazione 1, in cui la reazione del passaggio (h) viene condotta in solvente organico apolare anidro, in presenza di una base e dell'agente di condensazione dicicloesilcarbodiimide (DCC).

11. Procedimento secondo la rivendicazione 1, in cui l'eliminazione del gruppo protettore trietilsilile nel passaggio (i) viene condotta con fluoruro di piridinio in soluzione di acetonitrile/piridina sotto azoto, e l'eliminazione del gruppo protettore dimetossibenzilidenico viene condotta

in solvente di metilene cloruro per aggiunta di metanolo HCl e
successivamente di NaHCO_3 .

Milano, 28 novembre 2000.

Il Mandatario
(Banfi Paolo)
di Bianchetti Bracco Minoja S.r.l.

