

10-去乙酰基巴卡亭Ⅲ羟基保护反应过程的研究

天津大学化工学院(300072) 韩晓燕* 刘斌 李培凡** 元英进***

摘要 对半合成紫杉醇类化合物的关键步骤 10-去乙酰基巴卡亭Ⅲ(10-DAB)的羟基保护反应进行了研究。结果表明,利用氯甲酸(2,2,2-三氯)乙酯作为羟基保护基,获得 7,10-二(三氯乙氧羰基)-10-去乙酰基巴卡亭Ⅲ[7,10-di(Troc)-10-DAB]的反应为连串反应,受反应时间和温度影响较大。当反应温度为 80℃,反应时间为 2 min 时,目的产物 7,10-di(Troc)-10-DAB 的反应选择性最好。

关键词 紫杉醇 10-DAB 羟基保护 连串反应

Studies on the Protection of Hydroxy Groups in 10-deacetyl Baccatin Ⅲ

Han Xiaoyan, Liu Bin, Li Peifan, *et al.* (College of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072)

Abstract The use of 2,2,2-trichloroethyl chloroformate as the hydroxy protecting group of 10-deacetyl baccatin Ⅲ was studied to give 7,10-di(2,2,2-trichloroethoxyxycarbonyl)-10-deacetyl baccatin Ⅲ, the key intermediate for the semisynthesis of taxanes. Result of the study showed that it is a consecutive reaction which could be significantly effected by reaction conditions of temperature and time. It was found that at 80℃ for 2 min the selectivity of 7,10-di(2,2,2-trichloroethoxyxycarbonyl)-10-deacetyl baccatin Ⅲ is at its best.

Key words 10-deacetyl baccatin Ⅲ hydroxy group protection consecutive reaction 2,2,2-trichloroethyl chloroformate

Paclitaxel(I, taxol)是从红豆杉属植物树皮中分离得到的一种二萜化合物,其结构新颖,抗癌机制独特,是近年来国际上公认的最好的抗癌药物之一。但它天然含量甚微,远远不能满足临床及基础研究的需要。因此,多年来人们不断努力试图通过细胞培养和化学合成的方法得到紫杉醇,以解决其供应不足的问题。到目前,细胞培养生产紫杉醇已取得了一定的成果^[1,2]。1994年,紫杉醇的化学全合成也获得了成功^[3,4],但全合成路线复杂,成本昂贵,目前仅具有理论意义。而从可再生

的植物枝叶中提取含量相对较高的紫杉烷二萜成分作为化学合成的前体,进行紫杉醇的半合成不仅可以缓解紫杉醇的供应危机,还可通过半合成的研究获得有关构效关系的信息,对紫杉醇进行结构改造以期寻找活性更大、毒副作用小,抗癌谱略有不同或更广的紫杉醇类抗癌药物,被认为是最有前途的方法。docetaxel(Ⅱ, taxotere)就是通过半合成的方法得到的一种紫杉醇类似物,其抗癌活性及水溶性均略优于紫杉醇。

化学半合成的方法是通过从天然提取含

* Address: Han Xiaoyan, College of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin

天津市职工医学院访问学者 *通讯联系人

△天津市重大科技攻关项目(NO 98311811)

量较丰富的 10-去乙酰基巴卡亭 II (10-DAB) (III), 将其活性基团进行保护后再与合成的侧链偶联, 然后脱去保护基得到紫杉醇。10-DAB 中含有 4 个游离的羟基, 早期研究表明^[5], 这 4 个游离羟基的反应活性顺序为 7-OH > 10-OH > 13-OH > 1-OH。如何选择性地保护 7-OH, 10-OH, 使侧链选择性地与 10-DAB 中 13-OH 偶联, 是半合成 I 及 II 的关键步骤。Gueritte-Voegelein 等人从有机合成的角度对该反应进行了探讨^[5], 提出温度为 80 °C, 反应时间为 5 min 的反应条件, 但他们对于该反应的动力学未做任何研究。显然, 这些信息对于大规模工业生产来说还是远远不够的。同时, 我们在研究中还发现, 该条件下反应体系中有大量的 7, 10, 13-三羟基保护 10-DAB 生成, 这无疑降低了 10-DAB 转变为 7, 10-双羟基保护 10-DAB 的转化率。同时, 增加了产物的分离、纯化难度, 增大了半合成的成本。所以, 我们从反应工程角度对该反应的动力学进行了研究。结果表明, 该反应为一连串反应, 最佳反应条件为反应温度 80 °C, 反应时间 2 min。这对于设计反应器, 优化合成操作, 进行大规模工业生产有十分重要的意义。I 和 II 的化学结构式见图 1, 10-DAB 的化学结构式见图 2。

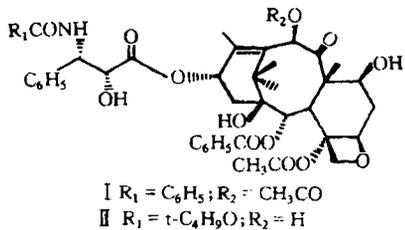


图 2 10-DAB 的化学结构式

在 227 nm 下用紫外检测器检测, 每次进样量为 10 μ L, 进样之前用 0.4 μ m 的滤膜过滤。双蒸水由上海徐新生化仪器厂生产的 SZ-93 自动双重纯水蒸馏器制备。

1.2 保护基的选择: 在有机合成中对醇羟基的保护可以采取将其转化为醚类、缩醛或缩酮类、酯类的方法^[6,7]。按照保护基应具有的介绍方便、在所需反应条件下稳定和易于除去的要求, 同时考虑到紫杉醇在碱性介质中不稳定, 我们选择氯甲酸-(2, 2, 2-三氯)乙酯作为其羟基保护基, 在无水吡啶溶液中形成相应的 2, 2, 2-三氯乙基碳酸酯, 该保护基在比较强的酸性介质中稳定, 并且可以用锌粉或铜-锌偶在较温和的条件下还原除去^[6]。

1.3 实验方法: 称取 10-DAB 100 mg (0.184 mmol), 溶于 2 mL 无水吡啶中, 搅拌, 油浴加热, 数分钟后加入 $\text{ClCOOCH}_2\text{CCl}_3$ 0.085 mL (0.617 mmol), 每隔 1 min 取样 100 μ L, 加入盛有 3 mL H_2O 的 50 mL 容量瓶中使其反应停止, 然后用甲醇稀释至刻度。HPLC 检测。

2 结果与讨论

2.1 实验结果: 图 3~图 5 分别为反应温度为 70 °C、80 °C、90 °C 时不同时间 10-DAB 羟基保护反应进程的测定结果。图中横坐标为反应时间, 纵坐标为 HPLC 检测时产物浓度对应的色谱响应值。比较以上 3 个图我们可以发现, 在不同的反应温度下, 该反应的进程有如下的规律:

(1) 单羟基保护的反应产物 IV [7-(Troc)-10-DAB] 仅在反应开始后很短的时间内可以检测得到, 说明 IV 同样具有较高的反应活性, 很快继续反应形成双羟基或三羟

图 1 化合物 I 和 II 的化学结构式

1 材料与实验方法

1.1 实验材料: 10-DAB 纯品由本实验室从红豆杉枝叶浸膏中提取分离得到 (纯度 99% 以上); 氯甲酸-(2, 2, 2-三氯)乙酯购自 Aldrich Chemical Company, Inc; 其它试剂均为市售分析纯试剂, 使用前经常规无水干燥处理。

10-DAB 用高效液相色谱仪 (HPLC.

基保护的产物；

(2) 双羟基保护的反应产物 V [7,10-di(Troc)-10-DAB] 的色谱响应值均出现一个由小变大, 然后再变小并趋于恒定的变化规律；

(3) 三羟基保护的反应产物 VI [7,10,13-tri(Troc)-10-DAB] 在反应进行 2 min 后才能检测到, 3 min 后色谱响应值趋于恒定。

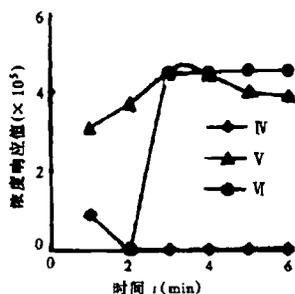


图 3 70 °C 10-DAB 的羟基保护反应

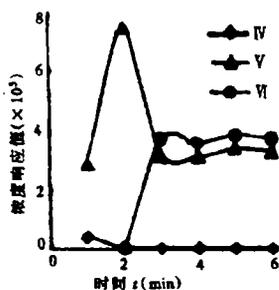


图 4 80 °C 10-DAB 的羟基保护反应

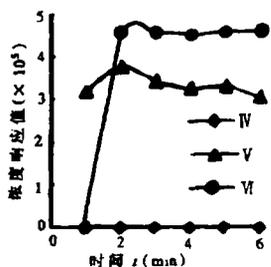


图 5 90 °C 10-DAB 的羟基保护反应

但是, 同时我们也可以发现目标产物 V 出现的最大色谱响应值, 在不同的反应温度下有明显的不同。在温度为 70 °C 和 90 °C 时, 目标产物 V 的色谱响应值出现最高点的同时, 三羟基保护 10-DAB (产物 VI) 也出现一个较大的色谱响应值。而反应温度为 80 °C 时

双羟基保护 10-DAB (产物 V) 在 2 min 时有一个明显的色谱响应值, 而且与 90 °C 的结果相比, 80 °C 时三羟基保护产物稳定在一个较低的水平上。说明反应体系中双羟基保护 10-DAB (V) 最多, 三羟基保护 10-DAB (VI) 生成的极少, 单羟基保护 10-DAB (IV) 几乎已全部转化为双羟基保护 10-DAB。此时停止反应, 可以使 10-DAB 有较高的转化率, 减少产物的分离、纯化难度, 降低半合成的成本。通过以上实验结果, 我们认为在 80 °C 的条件下, 2 min 停止反应是获得半合成紫杉醇类化合物关键的中间体——双羟基保护 10-DAB (V) 的最佳反应条件。

2.2 结果分析: 在图 3、图 4 中, 单羟基保护 10-DAB (IV) 在 1 min 时有一色谱响应值, 2 min 时该值明显下降。而 3 min 时才检测到三羟基保护 10-DAB (VI) 的存在。因此, VI 不可能由 IV 直接生成。这一点在图 5 中也有显示, 由于反应温度的升高, 反应速度增大, 在反应 1 min 后间隔取样已经检测不到单羟基保护 10-DAB 的存在; 而反应产物 VI 在 2 min 取样时才检测到, 这也说明 VI 不是由直接 IV 反应而来。根据文献中报道的 10-DAB 上 4 个羟基的反应活性顺序为: 7-OH > 10-OH > 13-OH > 1-OH, 因此反应过程具备连串反应的条件。图 3 和图 4 中均可看到, 在间隔时间取样时, 单羟基保护 10-DAB IV 均出现一峰值, 然后很快降低到零, 符合连串反应的特征。因此, 可以得到以下结论: 用氯甲酸-(2, 2, 2-三氯) 乙酯作为保护基, 进行 10-去乙酰巴卡亭 III (10-DAB) 羟基保护的反应为一连串反应, 反应方程式见图 6。

在图 3~5 中上单羟基保护 10-DAB 的色谱响应值始终很低, 说明上单羟基保护 10-DAB 非常活泼, 迅速转化为双羟基保护 10-DAB; 且高温时更会加速这一反应。比较图 3 和图 5 可知, 在反应温度为 70 °C, 1 min 时单羟基保护 10-DAB 出现一个峰值, 但在 90 °C 却始终检测不到该峰。这是由于随着反应温度增高, 由 III 转化为 IV 的反应逐渐加快

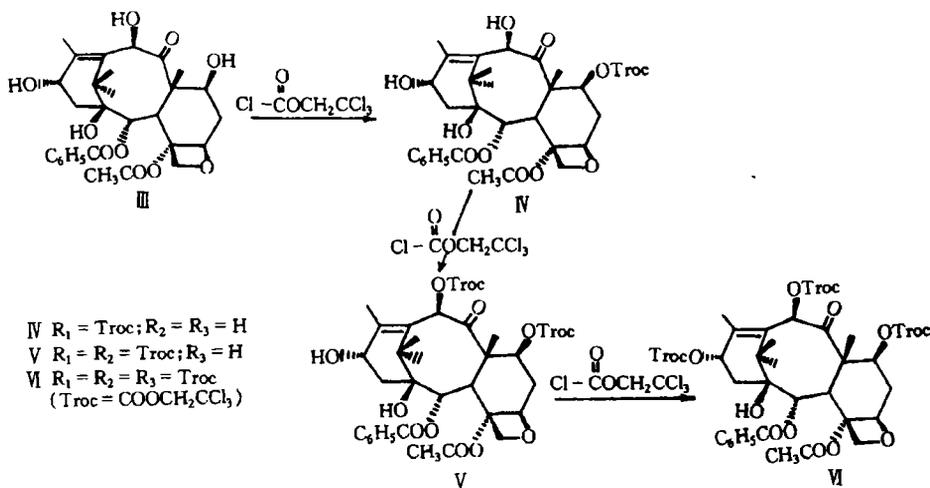


图 6 10-DAB 羟基保护反应示意图

的结果。可见单羟基保护 10-DAB 的生成反应受温度影响较大。

另外,从以上 3 个图中我们还可以看出,反应进行 3 min 后,双羟基保护 10-DAB(V)和三羟基保护 10-DAB(VI)的色谱响应值基本上均处于一个恒定值。即双羟基保护 10-DAB(V)并不完全转化为三羟基保护 10-DAB(VI),说明该反应为可逆反应,不能象单羟基保护 10-DAB(IV)转化为双羟基保护 10-DAB(V)的反应那样进行的较完全。同时,图 5 与图 4 进行比较,我们还发现 90 °C 时最终产物三羟基保护 10-DAB(VI)的色谱响应值稳定在一个较高的水平,说明双羟基保护 10-DAB(V)转化为三羟基保护 10-DAB(VI)的反应为吸热反应。所以,高温有利于 10-DAB 向最终产物三羟基保护 10-DAB(VI)的转化。定量的结果还有待于更详细的实验数据来证实。

3 结论

氯甲酸-(2,2,2-三氯)乙酯作为 10-去乙酰巴卡亭 III 的羟基保护基,与 10-DAB 反应,获得紫杉烷类化合物半合成的前体 7,10-二(三氯乙氧羰基)-10-去乙酰巴卡亭 III 的反应为连串反应,反应受温度和浓度影响显著。对于目的产物 7,10-二(三氯乙氧羰基)-10-去乙酰巴卡亭 III,反应温度为 80 °C,反应 2 min 的反应选择性最好。

参考文献

- 1 元英进,等. 中草药,1997,28(增):9
- 2 元英进,等. 中草药,1997,28(增):12
- 3 Holton R A, *et al.* J Am Chem,1994,116:1597
- 4 Nicolaon K C, *et al.* Nature,1994,367:630
- 5 Gueritte-Voegelein F, *et al.* Tetrahedron,1986,42:4451
- 6 Windholz T B, *et al.* Tetrahedron Lett,1967:2555
- 7 赵知中,等. 有机化学中的保护基团. 北京:科学出版社,1984:89

(1999-04-05 收稿)

欢迎订阅 2000 年《中文科技资料目录·中草药》

《中文科技资料目录·中草药》(季刊)1978 年创刊,以全面、系统、准确、迅速地报道中草药文献题录,为读者提供准确、便捷的检索途径为办刊宗旨,是国内唯一全面报道中草药文献的国家科技信息检索体系的刊物。由国家药品监督管理局主管,中草药信息中心站和国家药品监督管理局天津药物研究院主办。国内统一刊号 CN 12-1104/R。

本刊 2000 年计划报道中草药文献题录 9000 条,文献来源为 700 种国内公开和内部发行的期刊,以及各种资料汇编,会议论文集。报道时差 4~6 个月。本刊从 2000 年改为大 16 开本,每期 152 页,报道条目增加至每期 2200~2300 条,每期定价 25 元,全年出版 4 期及年度主题索引,全年订费共 125 元(包括邮费),编辑部自办发行。本刊尚有少量 1995~1997 年各年度精装合订本,每本售价 70 元,1998 年合订本售价 100 元,欲订者请向编辑部索取订单并汇款至:天津市南开区鞍山西道 308 号天津药物研究院《中文科技资料目录·中草药》编辑部 邮政编码:300193 电话:022-27381328