



NORGE

(12) **PATENT**

(19) NO

(11) **310414**

(13) B1

(51) Int Cl⁷ C 07 D 305/14

Patentstyret

(21) Søknadsnr	19951281	(86) Int. inng. dag og	
(22) Inng. dag	1995.04.03	søknadsnummer	1993.10.04, PCT/FR93/00971
(24) Løpedag	1993.10.04	(85) Videreføringsdag	1995.04.03
(41) Alm. tilgj.	1995.04.03	(30) Prioritet	1992.10.05, FR, 9211745
(45) Meddelt dato	2001.07.02		
(71) Patenthaver	Rhône-Poulenc Rorer SA, 20, avenue Raymond Aron, F-92165 Antony Cédex, FR		
(72) Oppfinner	Rodolphe Margraff, Viry-Châtillon, FR		
(74) Fullmektig	Bryns Zacco AS, 0106 Oslo		

(54) Benevnelse **Fremgangsmåte for fremstilling av 10-desacetyl-baccatin-III**

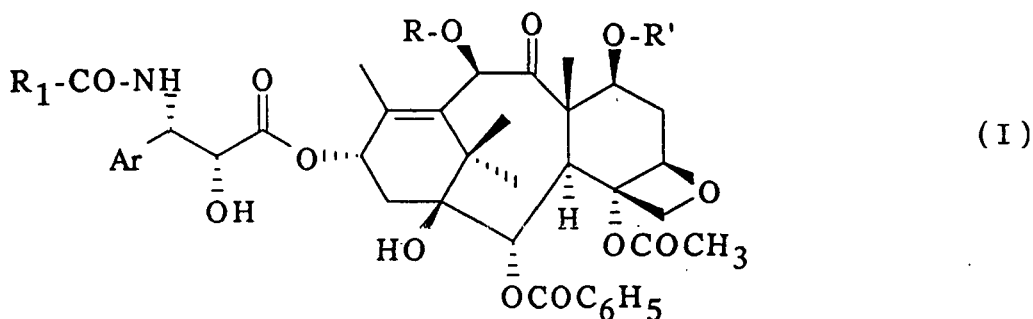
(56) Anførte publikasjoner Ingen

(57) Sammendrag **En fremgangsmåte for å oppnå 10-desacetyl-baccatin-III arbeider fra forskjellige deler av planten barlind (Taxus sp.) ved ekstrahering med et hensiktsmessig organisk oppløsningsmiddel fra den vandige oppløsning som oppnås etter behandling med vann og av den egnede del av barlinden eller ved adsorpsjon av den vandige oppløsning på en egnet bærer og desorpsjon av 10-desacetyl-baccatin-III ved hjelp av et hensiktsmessig oppløsningsmiddel med efterfølgende selektiv krystallisering av 10-desacetyl-baccatin-III.**

Foreliggende oppfinnelse angår en fremgangsmåte for fremstilling av mellomprodukter som kan benyttes for semi-syntetisk fremstilling av taxol, Taxotère eller analoger derav fra forskjellige deler av planter inneholdende disse mellomprodukter.

Mer spesielt angår oppfinnelsen denne selektive fremstilling av 10-desacetyl-baccatin-III fra barken, stammen, røttene eller bladene av forskjellige specier av barlind.

Taxol og Taxotère samt deres analoger med den generelle formel:



og som manifesterer interessante anticancerøse og anti-leukemiske egenskaper, utgjør bemerkelsesverdige kjemoterapeutiske midler for behandling av et visst antall cancere som for eksempel bryst-, prostata-, colon-, mave-, nyre- eller testikkelkreft og mer spesielt ovariekreft.

Fortrinnsvis kan i forbindelsen med den generelle formel (I) Ar bety en eventuelt substituert fenylrest,

R bety et hydrogenatom eller en acetylrest eller en N-substituert karbamoylrest,

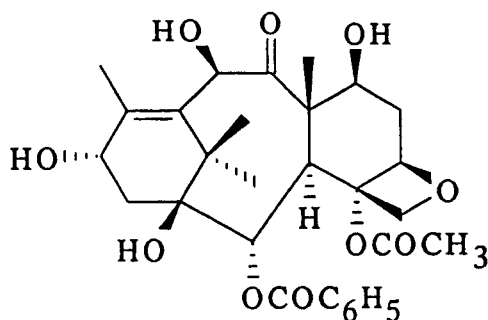
R' kan bety et hydrogenatom eller en N-substituert karbamoylrest og

R₁ kan bety en fenylrest eller en rest R₂-O-, der R₂ betyr en rest alkyl, alkenyl, alkynyl, cykloalkyl, cykloalkenyl, bicykloalkyl, fenyl eller heterocyklyl.

Taxol tilsvarende det produkt med den generelle formel (I) der Ar og R₁ betyr en fenylrest, R betyr en acetylrest og R' betyr et hydrogenatom, og Taxotère tilsvarende den forbindelse med den generelle formel (I) der Ar betyr en fenylrest, R og R' betyr et hydrogenatom og R₁ betyr en t-butoksyrest.

Taxol som foreligger i naturlig tilstand i forskjellige specier av barlind der forbindelsene finnes i små mengder, er vanskelig å isolere uten å ty til total destruering av planten. For eksempel kan taxol isoleres i henhold til metoden ifølge C.H.O. Huang et al. som beskrevet i "J. Natl. Prod.", 49, 665 (1986) og som omfatter å behandle oppmalt bark fra *Taxus brevifolia* med metanol, og konsentrere ekstrakten, ekstrahere konsentratet med diklormetan, å konsentrere på ny, og dispergere resten i heksan:aceton i volumforholdet 1:1, og rense den oppløselige del ved kolonnekromatografi på en Florisil for å oppnå rå-taxol som så renses ved suksessive omkrystalliseringer i metanol:vann- og heksan:aceton-blandinger med sluttende kromatografi og ny krystallisering. Mengdene av taxol som ekstraheres på denne måte utgjør 0,005 til 0,017% av plantedel som benyttes.

Taxotère som ikke eksisterer i naturlig tilstand, kan fremstilles ved hemi-syntese fra 10-desacetyl-baccatin-III med den generelle formel:



(II)

i henhold til prosesser som for eksempel er beskrevet i US 4 814 470 eller US 4 924 012, eller i den internasjonale søknad PCT WO 92/09589.

Taxol kan også fremstilles ved fremgangsmåter som anvender 10-desacetyl-baccatin-III, enten ved gjennomgang via Taxotère under betingelser som beskrevet i US 4 857 653, eller ved
5 forestring av baccatin-III under de betingelser som er beskrevet i EP 400 971 eller EP 428 376, eller ved forestring av 10-desacetyl-baccatin-III og acetylering under de betingelser som er beskrevet i US 4 924 011.

10 De forskjellige varieteter av barlind (*Taxus baccata*, *Taxus brevifolia*, *Taxus canadensis*, *Taxus cupidata*, *Taxus floridana*, *Taxus media* og *Taxus wallichiana*) inneholder taxanderivatene av hvilke de prinsipale i det vesentlige er taxol og 10-desacetyl-baccatin-III, idet de andre derivater særlig
15 er cefalomannin, 10-desacetyl-cefalomannin eller baccatin-III, eventuelt forbundet til sukkeret.

Mens taxol hovedsakelig finnes i stammen og barken, er 10-desacetyl-baccatin-III hovedsakelig til stede i bladene.
20 Imidlertid er mengden av 10-desacetyl-baccatin-III i bladene generelt langt over den mengde taxol med hvilken denne forbindelse er til stede i bark, stamme eller blader.

Et resultat av dette er at det er særlig viktig å kunne
25 disponere over 10-desacetyl-baccatin-III som er essensiell ved fremstilling mengder av taxol som er langt større enn ved direkte ekstrahering ut fra barlind samt ved fremstilling av Taxotère.

30 Ved å ekstrahere 10-desacetyl-baccatin-III fra blader av barlind er man ikke tvunget til total destruering av planten hvis blader kan benyttes på ny etter hver ny vekstcyklus.

Generelt nødvendiggjør de kjente metoder for ekstrahering av
35 taxanderivater inneholdt i forskjellige deler av barlind (bark, stamme, røtter, blader,), anvendelse av kromatografiske teknikker er lange og kostbare og som ikke tillater

noen total og kvantitativ separering av taxanderivatene som til å begynne med er til stede i planten.

10-desacetyl-baccatin-III kan oppnås, med utbytter nær 300 mg/kg blader (*Taxus baccata*), ved en fremgangsmåte som anvender masserering av nålene i etanol, en ekstrahering med et organisk oppløsningsmiddel som metylenklorid og suksessive kromatografier i henhold til den fremgangsmåte som er beskrevet i US 4 814 470.

10

De forskjellige bestanddeler som avledes fra taxan som er til stede i de forskjellige deler av barlind kan også separeres ved metoder som anvender "revers"-væskefasekromatografi som beskrevet særlig i den internasjonale søknad PCT WO 92/07842. Disse prosesser omfatter i det vesentlige å behandle råekstraktene av barlind med kromatografi i "revers"-væskefase på et absorpsjonsmiddel der taxanderivatene fikseres, og så å eluere taxanderivatene og å isolere dem. I henhold til denne fremgangsmåte er det mulig å isolere 200 mg 10-desacetyl-baccatin-III fra 1 kg oppmalt og tørkede blader.

20

Det er nu funnet, og det er gjenstanden for foreliggende oppfinnelse, at 10-desacetyl-baccatin-III kan ekstraheres meget selektivt og med et utmerket utbytte, fra forskjellige deler av barlind og mer spesielt fra bladene, ved en enkel fremgangsmåte som ikke benytter kromatografiske teknikker. Det er således for eksempel mulig å ekstrahere ca. 800 mg 10-desacetyl-baccatin-III pr. kg barlinblader (*Taxus baccata*).

25

Fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen består i å isolere 10-desacetyl-baccatin-III fra en vandig ekstrakt av barlindblader.

30

Nærmere bestemt angår foreliggende oppfinnelse en fremgangsmåte for fremstilling av 10-desacetyl-baccatin-III, og denne fremgangsmåte karakteriseres ved at man

35

- 1) behandler med 2 til 10 l vann pr. kg, knuste deler som bark, stamme, røtter eller blader av barlind fra varieteten *Taxus baccata*, *Taxus brevifolia*, *Taxus canadensis*, *Taxus cupidata*, *Taxus floridana*, *Taxus media* eller *Taxus wallichiana* ved en temperatur mellom 20 og 65°C,
5
- 2) separerer den vandige oppløsning inneholdende 10-desacetyl-baccatin-III fra den vegetabiliske masse i suspensjon ved filtrering, sentrifugering eller dekantering,
10
- 3) ekstraherer 10-desacetyl-baccatin-III fra den vandige oppløsning hvis pH-verdi er under 7 ved hjelp av et organisk oppløsningsmiddel valgt blant alifatiske etere og estere som metyl-t-butyleter, etyl-t-butyleter, metyl-n-butyleter, metyl-n-amyleter, etyl-t-amyleter, t-butylisopropyleter, etyl-isobutyleter, t-butyl-n-propyleter, etyl-n-heksyleter, etylacetat, propylacetat, isopropylacetat, n-butylacetat, t-butylacetat, metyl-t-butylacetat, t-butylpropionat og t-amylacetat,
15
20
- 4) separerer den organiske ekstrakt inneholdende 10-desacetyl-baccatin-III fra den vandige fase ved dekantering,
- 5) fjerner oppløsningsmidlet fra den således separerte organiske ekstrakt ved destillasjon under redusert trykk,
25
- 6) krystalliserer selektivt 10-desacetyl-baccatin-III fra den således oppnådde rest i et organisk oppløsningsmiddel valgt blant alifatiske nitriler som acetonitril og propionitril, eventuelt i blanding med en alifatisk alkohol som metanol, etanol, propanol, isobutanol eller n-butanol eller en alifatisk ester som etyl-, isopropyl-, n-butyl- eller t-butylacetat eller et alifatisk keton som aceton, metyletylketon, metylpropylketon, metyl-n-butylketon og metylisobutylketon, og derefter
30
35

- 7) isolerer 10-desacetyl-baccatin-III i rensset form ved filtrering, dekantering eller sentrifugering.

Oppfinnelsen angår også en fremgangsmåte for fremstilling av 10-desacetyl-baccatin-III, som karakteriseres ved at man:

- 1) behandler med 2 til 10 l vann pr. kg knuste deler som bark, stamme, røtter eller blader av barlind fra varieteten *Taxus baccata*, *Taxus brevifolia*, *Taxus canadensis*, *Taxus cupidata*, *Taxus floridana*, *Taxus media* eller *Taxus wallichiana* ved en temperatur mellom 20 og 65°C,
- 2) separerer den vandige oppløsning inneholdende 10-desacetyl-baccatin-III fra den vegetabiliske masse i suspensjon ved filtrering, sentrifugering eller dekantering,
- 3) adsorberer ved perkolering på en harpiksbærer, for eksempel polystyren-divinylbenzenharpiks, den vandige oppløsning inneholdende 10-desacetyl-baccatin-III,
- 4) desorberer 10-desacetyl-baccatin-III ved hjelp av et organisk oppløsningsmiddel valgt blant alifatiske C₁₋₃-alkoholer,
- 5) eliminerer det organiske oppløsningsmiddel fra desorbatet ved destillasjon under redusert trykk,
- 6) krystalliserer selektivt 10-desacetyl-baccatin-III fra den således oppnådde rest i et organisk oppløsningsmiddel valgt blant alifatiske nitriler som acetonitril og propionitril, eventuelt i blanding med en alifatisk alkohol som metanol, etanol, propanol, isopropanol og n-butanol eller en alifatisk ester som etyl-, isopropyl-, n-butyl- og t-butylacetat eller et alifatisk keton som metyletylketon, metylpropylketon, metyl-n-butylketon og metyl-isobutylketon, og

7) isolerer 10-desacetyl-baccatin-III i renset form ved filtrering, dekantering eller sentrifugering.

5 Fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen kan gjennomføres på en hvilken som helst egnet del av barlind som barken, stammen, røttene eller bladene. Barlinden som benyttes for gjennomføring av fremgangsmåten er fortrinnsvis *Taxus baccata*, *Taxus brevifolia*, *Taxus canadensis*, *Taxus cupidata*, *Taxus floridana*, *Taxus media* eller *Taxus wallichiana*. Det er 10 særlig fordelaktig å benytte blader av barlind (*Taxus baccata*, *Taxus brevifolia*) som generelt er langt rikere på 10-desacetyl-baccatin-III. De benyttede fragmenter kan ha dimensjoner fra 0,5 og opp til noen mm. Av bekvemmelighets- hensyn kan det være fordelaktig å benytte fragmenter hvis 15 midlere dimensjoner er under 1 mm. De oppmalte deler, eventuelt også tørkede, av barlinden kan oppnås ved operasjoner omfattende oppmaling, og eventuelt tørking, som eventuelt går foran eller følger etter fryseteknikker og opptiningsteknikker av friske plantedeler, eller som går inn 20 mellom frys-tiningsprosesser på de friske plantedeler.

Behandlingen med vann av de oppmalte deler av barlind gjennomføres i henhold til kjente teknikker. Særlig blir en 25 vandig oppløsning inneholdende 10-desacetyl-baccatin-III generelt oppnådd ved omrøring, ved en temperatur mellom 20°C og 65°C, av de oppmalte deler av barlind i vann i tidsrom fra 30 minutter til 2 timer. Mengden vann som benyttes kan variere innen vide grenser, imidlertid er det hensiktsmessig å benytte en vannmengde på 2 til 10 liter, beregnet pr. kg 30 oppmalt og tørket plantedel, fortrinnsvis ca. 5 l vann pr. kg plantedel som skal behandles. Det kan være fordelaktig å benytte demineralisert vann for å gjennomføre behandlingen, og å arbeide under ultralyd.

35 For å forbedre utbyttet, kan det være fordelaktig å gjennomføre flere behandlinger med vann av den vegetabiliske masse for å oppnå vandige oppløsninger fra hvilke man ekstraherer

10-desacetyl-baccatin-III under de nedenfor beskrevne betingelser.

Den oppnådde vandige oppløsning inneholdende 10-desacetyl-baccatin-III separeres fra den vegetabiliske masse ved kjente teknikker som filtrering, sentrifugering eller dekantering. Den resulterende vandige oppløsning, eventuelt avkjølt, kan behandles i henhold til en av de følgende metoder:

1) 10-desacetyl-baccatin-III ekstraheres, en eller flere ganger, med et organisk oppløsningsmiddel. De organiske oppløsningsmidler som egner seg særlig bra velges blant etere som metyl-t-butyleter, etyl-t-butyleter, metyl-n-butyleter, metyl-n-amyleter, etyl-t-amyleter, t-butyl-isopropyleter, etyl-isobutyleter, t-butyl-n-propyleter eller etyl-n-heksyleter og alifatiske estere som etylacetat, propylacetat, isopropylacetat, n-butylacetat, t-butylacetat, metyl-t-butylacetat, t-butylpropionat eller t-amylacetat. Av helt spesielt interesse er metyl-t-butyleter, etyl-t-butyleter, etylacetat eller n-butylacetat.

Ekstrahering med et organisk oppløsningsmiddel gjennomføres generelt i vandig oppløsning hvis pH-verdi er under 7 og fortrinnsvis under 6.

De organiske ekstrakter inneholdende 10-desacetyl-baccatin-III separeres fra den vandige fase ved anvendelse av vanlige teknikker som dekantering.

De organiske ekstrakter vaskes eventuelt ved hjelp av en svakt basisk vandig oppløsning (for eksempel en vandig natriumkarbonatoppløsning) og/eller med vann. Etter tørking blir det organiske oppløsningsmiddel fra ekstrakten fjernet i henhold til vanlige metoder og særlig ved destillasjon, eventuelt under redusert trykk, for derved å

gi en generelt fast rest hvorfra man isolerer 10-des-acetyl-baccatin-III;

- 5 2) den vandige oppløsning adsorberes på en hensiktsmessig bærer for å fiksere 10-desacetyl-baccatin-III. Som bærer benyttes en adsorberende harpiks som fortrinnsvis velges blant polystyren-divinylbenzenharpikser.

10 Desorpsjonen av 10-desacetyl-baccatin-III skjer ved vasking av bæreren med et egnet oppløsningsmiddel. Som oppløsningsmiddel benyttes fortrinnsvis en alifatiske C_{1-3} -alkohol og mer spesielt metanol.

15 Den organiske oppløsning separeres fra bæreren, generelt ved filtrering og konsentreres derefter til tørr tilstand, generelt ved destillasjon, eventuelt under redusert trykk, og man oppnår derved en generelt fast rest hvorfra man isolerer 10-desacetyl-baccatin-III.

20 Den selektive krystallisering av det urene 10-desacetyl-baccatin-III, oppnådd på den ene eller andre måte, gjennomføres fra en oppløsning av resten, oppnådd i et organisk oppløsningsmiddel eller i en blanding av organiske oppløsningsmidler. Som oppløsningsmidler som tillater selektiv
25 krystallisering av 10-desacetyl-baccatin-III kan med fordel benyttes nitriler som acetonitril, propionitril eller isobutyronitril, eventuelt i blanding med en alifatisk alkohol som metanol, etanol, propanol, isopropanol eller n-butanol, eller en alifatisk ester som etylacetat, isopropylacetat, n-butylacetat eller t-butylacetat, eller et alifatisk
30 keton som aceton, metyletylketon, metylpropylketon, metyl-n-butylketon eller metylisobutylketon. Det er spesielt fordelaktig å gjennomføre den selektive krystallisering i acetonitril, eventuelt i nærvær av etanol og/eller etyl- eller n-butylacetat og/eller aceton.
35

Det 10-desacetyl-baccatin-III som precipiterer separeres ved filtrering, dekantering eller sentrifugering.

5 Fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen tillater å oppnå 10-desacetyl-baccatin-III i praktisk talt ren form og med utbytter som generelt ligger godt over det som oppnås ved gjennomføring av de tidligere kjente prosesser. Fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen tillater på kvasikvantitativ måte å ekstrahere den totale mengde 10-desacetyl-baccatin-III i
10 plantedelene som benyttes og særlig bladene.

Det 10-desacetyl-baccatin-III som oppnås ved ekstraheringsprosessen ifølge oppfinnelsen kan benyttes for å fremstille taxol eller Taxotère eller deres derivater under betingelser
15 som er beskrevet nærmere i EP 0 253 738, EP 0 253 739, EP 0 336 841, EP 0 336 840, WO 92 09589, EP 0 400 971 og EP 0 428 376.

Oppfinnelsen skal illustreres nærmere under henvisning til de
20 følgende eksempler.

Eksempel 1

Til 2,5 l demineralisert vann, oppvarmet til 50°C, settes 500 g barlindblad (*Taxus baccata*) i oppmalt og tørket tilstand og
25 hvis midlere partikkelstørrelse er under 1 mm og der innholdet av 10-desacetyl-baccatin-III, bestemt ved HPLC, er 0,08%, det vil si 400 mg 10-desacetyl-baccatin-III i 500 g blad. Man omrører i 1 time ved 50°C og filtrerer.

30 Filtratet på 1,8 l og hvis pH-verdi er 5,4, ekstraheres med 3 x 0,9 l etylacetat. De organiske faser forenes (2,7 l), vaskes 2 ganger med 1 l av en 0,1M natriumkarbonatopløsning og så med 2 x 1 l demineralisert vann og tørkes til slutt over natriumsulfat. Etter filtrering og konsentrering til
35 tørr tilstand oppnås 3,2 g av et fast stoff som tas opp i 9 cm³ acetonitril ved en temperatur nær 70°C. Etter avkjøling over natten ved en temperatur nær +4°C blir precipitatet

separert ved filtrering. Man oppnår på denne måte, etter tørking, 2,45 mg krystaller som i henhold til HPLC-analyse inneholder 75% 10-desacetyl-baccatin-III i ren form, det vil si 183 mg. Moderlutene inneholder, etter HPLC-analyse, 40 mg
5 10-desacetyl-baccatin-III.

Den vegetabiliske masse som holder tilbake 0,7 l vann, ekstraheres 2 ganger under de ovenfor beskrevne betingelser. De forenede, vandige filtrater behandles som ovenfor. Man
10 oppnår på denne måte 2,5 g av et fast produkt som man tar opp i 5 cm³ acetonitril ved en temperatur nær 70°C. Etter avkjøling over natten ved en temperatur nær +4°C, separeres ved filtrering 169 mg krystaller som i henhold til HPLC inneholder 75% rent 10-desacetyl-baccatin-III, det vil si 127
15 mg. Moderlutene inneholder i henhold til HPLC, 47 mg 10-desacetyl-baccatin-III.

Den totale mengde 10-desacetyl-baccatin-III som er ekstrahert med vann, er $183 + 40 + 127 + 47 = 397$ mg.

20

Utbyttet er praktisk kvantitativt.

Eksempel 2

Man oppvarmer 3 l demineralisert vann til 50°C og tilsetter
25 så 500 g knuste og tørkede barlindblader hvis midlere partikkeldiameter er ca. 1 mm og hvis innhold av 10-desacetyl-baccatin-III, bestemt ved HPLC, er 0,08%, det vil si 400 mg 10-desacetyl-baccatin-III i 500 g blader. Man omrører i 1 time ved 50°C og filtrerer. Filtratet på 1,97 l og hvis
30 pH-verdi er 5,15, justeres til pH lik 4,6 ved tilsetning av konsentrert saltsyre, hvorefter det hele filtreres på en membran av asbestpapp i et Seitz-filter. Man gjenvinner 1,8 l filtrat.

35 Man ekstraherer 300 cm³ filtrat med 3 x 150 cm³ og så med 4 x 60 cm³ metyl-tert-butyleter, MTBE. De forenede ekstrakter

konsentreres og gir 620 mg fast stoff som tas opp i 3 cm³ acetonitril ved 70°C.

5 Etter avkjøling over natten ved +4°C separerer man ved filtrering 28 mg 10-desacetyl-baccatin-III i krystallisert form og hvis renhet, bestemt ved HPLC, er 90%. Moderlutene inneholder 12,8 mg 10-desacetyl-baccatin-III, bestemt ved HPLC.

10 Eksempel 3

Man knuser 1 kg nyklippede barlindblader (*Taxus baccata*) hvis vanninnhold er 69% og hvis innhold av 10-desacetyl-baccatin-III er 651 mg/kg, bestemt ved HPLC, i en blander på 2 liter, i nærvær av demineralisert vann, ved 10 suksessive identiske
15 operasjoner idet man hver gang anvender 100 g blad og 500 cm³ vann med en temperatur nær 20°C. Den oppnådde blanding filtreres over en bomullsduk og så på papir og man skyller med tilsammen 200 cm³ vann. Man gjenvinner 5000 cm³ filtrat, det vil si 84,9 volum-% av den totale mengde vann (benyttet
20 vann og vann fra bladene). I henhold til HPLC-bestemmelse inneholder den således oppnådde, vandige oppløsning 72 g tørrstoff hvorav 550 mg 10-desacetyl-baccatin-III, det vil si praktisk talt den teoretiske mengde på 552,7 mg (84,9% av 651 mg). Resten av det 10-desacetyl-baccatin-III som er inneholdt
25 i vannet i det vegetabiliske materialet kan oppnås ved vasking av vannet fra det vegetabiliske materialet.

Den vandige oppløsning på 5000 cm³ perkoleres på en kolonne med diameter 5 cm, fylt i en høyde på 10 cm med en poly-
30 styren-divinylbenzenharpiks (Amberchrom CG 161 med® (Tosohaas, Stuttgart, Tyskland)).

Harpiksen skylles med vann, tørkes og bringes i suspensjon i metanol.

35

Efter filtrering og konsentrering til tørr tilstand av filtratet oppnås en rest på 15,5 g som tas opp i 100 cm³

etylacetat. Ved filtrering separeres 8,7 g av et uoppløselig produkt og filtratet konsentreres til et volum på 5 cm³. Man tilsetter 30 cm³ acetonitril. Man oppnår en uklar oppløsning i hvilket det meget hurtig opptrer hvite krystaller. Efter
5 henstand over natten ved 4°C, blir de hvite krystaller separert ved filtrering og tørket. Man oppnår på denne måte 548 mg 10-desacetyl-baccatin-III, solvatisert med 1 mol acetonitril, i et utbytte på 92%.

10 HPLC-analyse med intern normalisering viser at krystallene inneholder 82% 10-desacetyl-baccatin-III.

Utbyttet av 10-desacetyl-baccatin-III er således 75,4%.

15

20

25

30

35

P a t e n t k r a v

1.

5 Fremgangsmåte for fremstilling av 10-desacetyl-baccatin-III,
k a r a k t e r i s e r t v e d a t m a n

1) behandler med 2 til 10 l vann pr. kg, knuste deler som bark, stamme, røtter eller blader av barlind fra varieteten *Taxus baccata*, *Taxus brevifolia*, *Taxus canadensis*,
10 *Taxus cupidata*, *Taxus floridana*, *Taxus media* eller *Taxus wallichiana* ved en temperatur mellom 20 og 65°C,

2) separerer den vandige oppløsning inneholdende 10-des-acetyl-baccatin-III fra den vegetabiliske masse i suspensjon ved filtrering, sentrifugering eller dekantering,
15

3) ekstraherer 10-desacetyl-baccatin-III fra den vandige oppløsning hvis pH-verdi er under 7 ved hjelp av et organisk oppløsningsmiddel valgt blant alifatiske etere og estere som metyl-t-butyleter, etyl-t-butyleter, metyl-n-butyleter, metyl-n-amyleter, etyl-t-amyleter, t-butylisopropyleter, etyl-isobutyleter, t-butyl-n-propyleter, etyl-n-heksyleter, etylacetat, propylacetat, isopropylacetat, n-butylacetat, t-butylacetat, metyl-t-butylacetat,
20 t-butylpropionat og t-amylacetat,
25

4) separerer den organiske ekstrakt inneholdende 10-des-acetyl-baccatin-III fra den vandige fase ved dekantering,

30 5) fjerner oppløsningsmidlet fra den således separerte organiske ekstrakt ved destillasjon under redusert trykk,

6) krystalliserer selektivt 10-desacetyl-baccatin-III fra den således oppnådde rest i et organisk oppløsningsmiddel valgt blant alifatiske nitriler som acetonitril og propionitril, eventuelt i blanding med en alifatisk alkohol som metanol, etanol, propanol, isobutanol eller
35

n-butanol eller en alifatisk ester som etyl-, isopropyl-, n-butyl- eller t-butylacetat eller et alifatisk keton som aceton, metyletylketon, metylpropylketon, metyl-n-butylketon og metylisobutylketon, og derefter

5

7) isolerer 10-desacetyl-baccatin-III i renset form ved filtrering, dekantering eller sentrifugering.

2.

10

Fremgangsmåte for fremstilling av 10-desacetyl-baccatin-III, karakterisert ved at man:

15

1) behandler med 2 til 10 l vann pr. kg knuste deler som bark, stamme, røtter eller blader av barlind fra variasjonen *Taxus baccata*, *Taxus brevifolia*, *Taxus canadensis*, *Taxus cupidata*, *Taxus floridana*, *Taxus media* eller *Taxus wallichiana* ved en temperatur mellom 20 og 65°C,

20

2) separerer den vandige oppløsning inneholdende 10-desacetyl-baccatin-III fra den vegetabiliske masse i suspensjon ved filtrering, sentrifugering eller dekantering,

25

3) adsorberer ved perkolering på en harpiksbærer, for eksempel polystyren-divinylbenzenharpiks, den vandige oppløsning inneholdende 10-desacetyl-baccatin-III,

30

4) desorberer 10-desacetyl-baccatin-III ved hjelp av et organisk oppløsningsmiddel valgt blant alifatiske C₁₋₃-alkoholer,

35

6) krystalliserer selektivt 10-desacetyl-baccatin-III fra den således oppnådde rest i et organisk oppløsningsmiddel valgt blant alifatiske nitriler som acetonitril og propionitril, eventuelt i blanding med en alifatisk

alkohol som metanol, etanol, propanol, isopropanol og n-butanol eller en alifatisk ester som etyl-, isopropyl-, n-butyl- og t-butylacetat eller et alifatisk keton som metyletylketon, metylpropylketon, metyl-n-butylketon og metyl-isobutylketon, og

7) isolerer 10-desacetyl-baccatin-III i renset form ved filtrering, dekantering eller sentrifugering.