



УКРАЇНА

(19) UA (11) 40601 (13) C2

(51) 7 C07D305/14

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ 10-ДЕЗАЦЕТИЛ-БАККАТИНУ III (ВАРІАНТИ)

(21) 95038243

(22) 04.10.1993

(24) 15.08.2001

(31) 92/11745

(32) 05.10.1992

(33) FR

(86) PCT/FR93/00971, 04.10.1993

(46) 15.08.2001, Бюл. № 7, 2001 р.

(72) Марграфф Родольф, FR

(73) РОН-ПУЛЕНК РОПЕР С.А., FR

(56) 1. Journal of natural products, 1986, vol. 49, № 4, pp. 665-669.

2. Comptes Rendus de L'academie des Sciences. Serie 11: Mecanique, Physique, Chimie, Sciences de L'univers, Sciences de la Terre, vol. 299, № 15, 21, November 1984, pp. 1039-1043.

(57) 1. Способ получения 10-дезацетил-баккатина III из водного экстракта различных частей тиса (Taxus sp.), **отличающийся** тем, что:

- 1) измельченные части тиса обрабатывают водой,
- 2) отделяют водный раствор, содержащий 10-дезацетил-баккатин III от суспензии растительной массы,
- 3) экстрагируют 10-дезацетил-баккатин III из водного раствора с помощью органического растворителя,
- 4) отделяют органический экстракт, содержащий 10-дезацетил-баккатин III, от водной фазы,
- 5) удаляют растворитель из полученного таким образом органического экстракта,
- 6) селективно кристаллизуют 10-дезацетил-баккатин III из полученного таким образом остатка в органическом растворителе, после чего
- 7) выделяют 10-дезацетил-баккатин III в виде очищенного вещества.

2. Способ получения 10-дезацетил-баккатина III из водного экстракта различных частей тиса (Taxus sp.), **отличающийся** тем, что:

- 1) обрабатывают водой измельченные части тиса (Taxus sp.),
- 2) отделяют водный раствор, содержащий 10-дезацетил-баккатин III, от суспензии растительной массы,
- 3) адсорбируют водный раствор, содержащий 10-дезацетил-баккатин III, на подходящем носителе,
- 4) десорбируют 10-дезацетил-баккатин III с помощью органического растворителя,
- 5) удаляют органический растворитель десорбента,

6) селективно кристаллизуют 10-дезацетил-баккатин III из полученного таким образом в органическом растворителе остатка,

7) выделяют 10-дезацетил-баккатин III в виде очищенного вещества.

3. Способ по п. 1 или 2, **отличающийся** тем, что измельченные и, при необходимости, высушенные части тиса перемешивают с водой при температуре, составляющей от 20 до 65 °C.

4. Способ по п. 3, **отличающийся** тем, что измельченные, при необходимости, высушенные части тиса получают при операциях измельчения и, при необходимости, высушивания, которые могут предшествовать или следовать за операциями замораживания и размораживания свежих частей растений или входят в операции замораживания и размораживания свежих частей растения.

5. Способ по п. 3, **отличающийся** тем, что используют от 2 до 10 литров воды на 1 кг измельченных и высушенных частей растения.

6. Способ по любому из пп. 3-5, **отличающийся** тем, что используют деминерализованную воду.

7. Способ по любому из пп. 3-5, **отличающийся** тем, что его осуществляют в условиях ультразвука.

8. Способ по п. 1 или 2, **отличающийся** тем, что водный раствор, содержащий 10-дезацетил-баккатин III, отделяют от суспензии растительной массы путем фильтрования, центрифугирования или отстаивания.

9. Способ по п. 1, **отличающийся** тем, что водный раствор, содержащий 10-дезацетил-баккатин III, экстрагируют органическим растворителем, выбранным из простых эфиров и сложных алифатических эфиров.

10. Способ по п. 9, **отличающийся** тем, что органический растворитель выбран из метил-трет.бутилового эфира, этил-трет.бутилового эфира, метил-н-бутилового эфира, метил-н-амилового эфира, этил-трет.амилового эфира, трет.бутилизопропилового эфира, этилизобутилового эфира, трет.бутил-н-пропилового эфира, этил-н-гексилового эфира, этилацетата, пропилацетата, изопропилацетата, бутилацетата, трет.бутилацетата, метил-трет.бутилацетата, трет.бутил-пропионата и трет. амилацетата.

11. Способ по п. 9, **отличающийся** тем, что растворитель выбран среди метил-трет.бутилового эфира, этил-трет.бутилового эфира, этилацетата и н-бутилацетата.

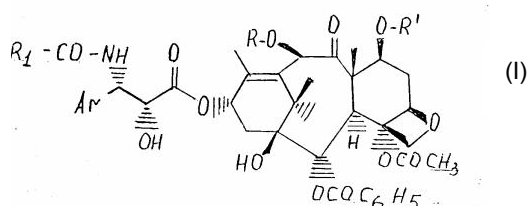
12. Способ по п. 9, **отличающийся** тем, что используют водный раствор, pH которого ниже 7.
13. Способ по п. 9, **отличающийся** тем, что pH водного раствора ниже 6.
14. Способ по п. 1, **отличающийся** тем, что органический экстракт, содержащий 10-дезацетилбаккатин III, отделяют от водного раствора путем отстаивания.
15. Способ по п. 1, **отличающийся** тем, что растворитель органического экстракта, содержащего 10-дезацетилбаккатин III, промытый водным раствором слабого основания и/или воды, удаляют с помощью дистилляции.
16. Способ по п. 15 **отличающийся** тем, что удаление растворителя органического экстракта осуществляют путем дистилляции при пониженном давлении.
17. Способ по п. 2, **отличающийся** тем, что адсорбируют водный раствор путем перколяции на смолу.
18. Способ по п. 17, **отличающийся** тем, что смола представляет собой полистиролдивинилбензольную смолу.
19. Способ по п. 2, **отличающийся** тем, что десорбцию 10-дезацетилбаккатина III со смолы осуществляют с помощью органического растворителя.
20. Способ по п. 19, **отличающийся** тем, что органический растворитель выбран среди алифатических спиртов, содержащих от 1 до 3 атомов углерода.
21. Способ по п. 20, **отличающийся** тем, что органический растворитель представляет собой метанол.
22. Способ по п. 2, **отличающийся** тем, что органический раствор, содержащий 10-дезацетилбаккатин III, концентрируют насухо.
23. Способ по п. 22, **отличающийся** тем, что концентрирование осуществляют путем дистилляции, возможно при пониженном давлении.
24. Способ по п. 1 или 2, **отличающийся** тем, что селективно кристаллизуют 10-дезацетилбаккатин

- III из остатка, полученного после удаления растворителя, при этом кристаллизацию осуществляют в органическом растворителе или в смеси органических растворителей.
25. Способ по п. 24, **отличающийся** тем, что растворитель выбран из алифатических нитрилов, при необходимости смешанный с алифатическим спиртом или алифатическим эфиром или алифатическим кетоном.
26. Способ по п. 25, **отличающийся** тем, что нитрилы выбраны из ацетонитрила и пропионитрила.
27. Способ по п. 25, **отличающийся** тем, что алифатический спирт выбран из метанола, этанола, пропанола, изопропанола и н-бутанола.
28. Способ по п. 25, **отличающийся** тем, что алифатический сложный эфир выбран из этилацетата, изопропилацетата, н-бутилацетата и трет.бутилацетата.
29. Способ по п. 25, **отличающийся** тем, что алифатический кетон выбран из ацетона, этилметилкетона, метилпропилкетона, метил-н-бутилкетона и метилизобутилкетона.
30. Способ по п. 25, **отличающийся** тем, что селективную кристаллизацию осуществляют из ацетонитрила, при необходимости, объединенного с этанолом и/или этилацетатом или н-бутилацетатом и/или ацетоном.
31. Способ по п. 1 или 2, **отличающийся** тем, что 10-дезацетилбаккатин III выделяют путем фильтрования, отстаивания или путем центрифугирования.
32. Способ по любому из пп. 1-31, **отличающийся** тем, что 10-дезацетилбаккатин III экстрагируют из коры, ствола, корней или листьев тиса.
33. Способ по любому из пп. 1-31, **отличающийся** тем, что 10-дезацетилбаккатин III экстрагируют из листьев тиса.
34. Способ по п. 32 или 33, **отличающийся** тем, что тис принадлежит к его следующим разновидностям: *Taxus baccata*, *Taxus brevifolia*, *Taxus canadensis*, *Taxis cupidata*, *Taxis floridana*, *Taxus media* или *Taxis wallichiana*.

Настоящее изобретение касается способа получения промежуточных соединений, используемых для получения полусинтетическими методами таксола, таксотера или их аналогов из различных частей растений, содержащих эти промежуточные соединения.

Более конкретно, изобретение касается селективного получения 10-дезацетил баккатина III из коры, ствола, корней или листьев тиса различного вида.

Таксол и таксотер, а также их аналоги соответствуют общей формуле:



и проявляют замечательные противораковые и противолейкемические свойства, являются составной частью химиотерапевтических препаратов, используемых для лечения некоторых видов рака, например, рака груди, рака предстательной железы, рака ободочной кишки, рака желудка, рака почки или рака тестикул, а преимущественно рака яичников.

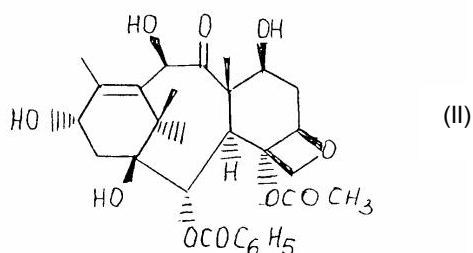
При этом в общей формуле (I) Ar представляет собой возможно замещенный фенил, R может представлять собой атом водорода или ацетил или N-замещенный карбамоил, R представляет собой атом водорода или N-замещенный карбамоил, а R₁ может представлять собой фенил или остаток R₂-O-, где R₂ представляет собой алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, циклоалкенил, бициклоалкил, фенил или гетероцикл.

Таксол соответствует соединению общей формулы (I), где Ar и R₁ представляют собой фенил, а R представляет собой ацетил, а R' предс-

тавляет собой атом водорода. Таксотер соответствует соединению общей формулы (I), где Ar представляет собой фенил, R и R' представляет собой атом водорода, а R₁ представляет собой трет.букси.

Таксол, который находится в естественном состоянии в тисе различного вида, но в незначительном количестве, трудно поддается выделению без полной деструкции этого растения. Например, таксол может быть выделен в соответствии с методикой C.H.O. HUANG et coll. I. Natl. Prod. 49, 665 (1986), которая заключается в том, что измельченную кору *Taxus brevifolia* обрабатывают метанолом, экстракт концентрируют, экстрагируют концентрат дихлорметаном, снова концентрируют, диспергируют остаток в смеси гексан-ацетон (1–1 по объему), растворенную часть очищают путем хроматографии на колонке Florisil с получением необогащенного таксола, который очищают путем рекристаллизации последовательной в смесях метанол-вода и гексан-ацетон, затем путем хроматографии и снова путем кристаллизации. Количество таким образом экстрагированного таксола может составлять от 0,005 до 0,17% от используемой части растения.

Таксотер, который не существует в естественном виде, может быть получен путем гемисинтеза из 10-дезацетил-баккатина III формулы:



в соответствии со способами, описанными, например в американских патентах US4 814 470 или US 4924012 или в материалах международной заявки PCT WO 92/09589.

Кроме того, таксол может быть получен в соответствии со способами, предусматривающими использование 10-дезацетил-баккатин III, включающими либо прохождение этого промежуточного для таксотера продукта через условия, указанные в патенте США 4857653, либо осуществление этерификации баккатина III в условиях, описанных в европейских патентах EP 400971 или EP 428376, либо осуществление этерификации 10-дезацетил-баккатина III и ацетилирования в условиях, описанных в американском патенте US 4924011.

Различные виды тиса

(*Taxus baccata*, *Taxus brevifolia*, *Taxus canadensis*, *Taxus cupidata*, *Taxus floridana*, *Taxus media*, *Taxus wallichiana*) содержат различные производные таксана, основными из которых, в большей части, является таксол и 10-дезацетил-баккатин III, при этом другие производные, представляющие собой, в частности, цефаломаннин, 10-дезацетил-цефаломаннин или баккатин III в ряде случаев связаны с сахарами.

Таксол содержится, в основном, в стволе и коре тиса, в 10-дезацетил-баккатин III преимущественно присутствует в его листьях. Впрочем, содержание 10-дезацетил-баккатина III в листьях,

в основном, намного превосходит содержание таксола в коре, стволе или в листьях тиса.

Из сказанного следует, что особо важно иметь в распоряжении 10-дезацетил-баккатин III, который: является основным продуктом при получении таксола в количествах, значительно превосходящих количество таксола, получаемого прямой экстракцией из тиса: а также является основным продуктом при получении Таксотера.

Экстрагируя 10-дезацетил-баккатин III из листьев тиса, не достигают полной деструкции растения, листья которого возможно использовать снова после каждого цикла.

В основном, известные способы экстрагирования производных таксана, содержащихся в различных частях тиса (кора, ствол, корни, листья), предусматривают использование продолжительной и дорогостоящей хроматографической технологии, которая не позволяет в полном объеме выделять производные таксана, изначально присутствующие в этом растении.

10-дезацетил-баккатин III может быть получен (с выходом, близким 300 мг на кг листьев (*Taxus baccata*) способом, включающим мацерацию иголок в этаноле, экстракцию с помощью такого органического растворителя, как метиленхлорид, и последовательную хроматографию, согласно способу, описанному в Патенте США № 4814470.

Различные производные таксана, присутствующие в различных частях тиса, могут быть также выделены с помощью методов, использующих хроматографию жидкостную "реверс", которые описаны в частности, в Международной заявке PCT WO 92/07842. Эти способы преимущественно включают разделение необогащенных экстрактов тиса обратной жидкостной хроматографией, в результате которой на сорбенте фиксируются производные таксана, последующие элюирование этих производных и их выделение. Согласно этому способу, возможно выделить 200 мг 10-дезацетил-баккатина III из 1 кг измельченных и высушенных листьев.

Теперь было найдено и это составляет объект настоящего изобретения, что 10-дезацетил-баккатин III может быть очень селективно экстрагирован (с высоким выходом) из различных частей тиса, а точнее, из его листьев с помощью простого способа, исключающего использование хроматографии. Например, возможно экстрагировать примерно 800 мг 10-дезацетил-баккатин III из 1 кг листьев тиса (*Taxus baccata*).

Способ заявляемый в настоящем изобретении, заключается в том, что выделяют 10-дезацетил-баккатин III из водного экстракта листьев тиса.

Более конкретно способ, согласно изобретению, включает:

1) обработку водой измельченных частей тиса (*Taxus* sp.),

2) отделение водного раствора, содержащего 10-дезацетил-баккатин III, от растительной массы, находящейся в состоянии суспензии,

3) экстрагирование 10-дезацетил-баккатина III из водного раствора с помощью органического растворителя,

4) отделение органического экстракта, содержащего 10-дезацетил-баккатин III, от водной фазы,

5) удаление органического растворителя из таким образом отделенного органического экстракта,

6) селективную кристаллизацию 10-дезацетил-баккатина III из остатка, полученного указанным образом в органическом растворителе,

7) выделение 10-дезацетил-баккатина III в виде очищенного соединения,

или же

1) обработку водой измельченных частей тиса (*Taxus* sp.),

2) отделение водного раствора, содержащего 10-дезацетил-баккатин III, от растительной массы, находящейся в состоянии суспензии,

3) адсорбирование водного раствора, содержащего 10-дезацетил-баккатин III, на подходящем носителе,

4) десорбцию 10-дезацетил-баккатина III с помощью органического растворителя,

5) удаление органического растворителя из десорбированного вещества,

6) селективную кристаллизацию 10-дезацетил-баккатина III из остатка, полученного указанным образом в органическом растворителе,

7) выделение 10-дезацетил-баккатина III в виде очищенного соединения.

Способ, предлагаемый в настоящем изобретении, позволяет использовать любую соответствующую часть тиса, например, кору, ствол, корни или листья. Тис, используемый в соответствии с заявляемым способом, преимущественно принадлежит к его следующим разновидностям: *Taxus baccata*, *Taxus brevifolia*, *Taxus canadensis*, *Taxus cupidata*, *Taxus floridana*, *Taxus media* или *Taxus wallichiana*. Однако, особо предпочтительно использовать листья тиса (*Taxus baccata*, *Taxus brevifolia*), которые наиболее богаты по содержанию 10-дезацетил-баккатина III. Используемые кусочки названных частей тиса могут иметь размеры, колеблющиеся от 0,5 до нескольких миллиметров. Из соображений удобства осуществления заявляемого способа предпочтительно использовать кусочки, средний размер которых менее 1 мм. Измельченные и, возможно, высушенные части тиса могут быть получены в результате осуществления стадии измельчения, возможно, высушивания, которые, возможно, предшествуют или осуществляются после стадии замораживания и размораживания свежих частей растения, или которые включаются в стадии замораживания и размораживания свежих частей растений.

Обработка водой измельченных частей тиса осуществляется в соответствии с технологией, известной специалисту в этой области. В частности, водный раствор, содержащий 10-дезацетил-баккатин III, преимущественно получен в результате перемешивания при температуре, равной от 20 до 65°C, измельченных частей тиса в водной среде в течение от 30 минут до 2 часов. Количество используемой воды может изменяться в широких пределах, однако, целесообразно использовать воду в количестве, равном от 2 до 10 л на 1 кг измельченных и высушенных частей растений, а предпочтительно, количество используемой воды составляет примерно 5 л на 1 кг обрабатываемых частей растения. Целесообразно использовать де-

минерализованную воду для осуществления этой обработки и проводить ее в условиях ультразвука.

С целью повышения значения выхода, целесообразно осуществлять многократную обработку водой растительной массы, чтобы получить водные растворы, из которых экстрагируют 10-дезацетил-баккатин III в вышеуказанных условиях.

Полученный водный раствор, содержащий 10-дезацетил-баккатин III, отделяют от растительной массы с помощью обычных методов, например, путем фильтрования, центрифугирования или отстаивания. Полученный водный раствор, возможно охлажденный, может быть подвергнут следующей обработке:

1) 10-дезацетил-баккатин III экстрагируют, один или несколько раз, органическим растворителем. Особо подходят органические растворители, выбранные среди следующих: таких простых эфиров как метил-трет.бутиловый эфир, этил-трет.бутиловый эфир, метил-н-бутиловый эфир, метил-п-амиловый эфир, этил-трет.амиловый эфир, трет.бутилизопропиловый эфир, этилизопропиловый эфир, трет.бутил-н-пропиловый эфир или этил-н-гексильный эфир, таких алифатических сложных эфиров как этилацетат, пропилацетат, изопропилацетат, н-бутилацетат, метил трет.бутилацетат, трет.бутилпропионат или трет.амилацетат. Особый интерес представляют метил-трет.бутиловый эфир, этил-трет.бутиловый эфир, этилацетат или н-бутилацетат.

Экстрагирование с помощью органического растворителя осуществляют в основном из водного раствора, pH которого ниже 7, а предпочтительно ниже 6.

Органические экстракты, содержащие 10-дезацетил-баккатин III, отделяют от водной фазы с помощью обычных методик, например, с помощью отстаивания.

Органические экстракты в некоторых случаях промывают водными растворами слабых оснований (водный раствор карбоната натрия, например) и/или водой. После высушивания органический растворитель удаляют из продукта экстрагирования в соответствии с обычными методиками, в частности, путем возможной дистилляции, осуществляемой при пониженном давлении, с получением в основном твердого остатка, из которого выделяют 10-дезацетил-баккатин III.

2) водный раствор адсорбируют на подходящий носитель для того, чтобы зафиксировать на этом носителе 10-дезацетил-баккатин III. В качестве носителя используют адсорбирующие смолы, которые выбирают преимущественно среди полистиролдивинилбензолных смол.

Десорбцию 10-дезацетил-баккатина III осуществляют с помощью промывания носителя подходящим растворителем. В качестве растворителя предпочтительно использовать алифатический спирт, содержащий от 1 до 3 атомов углерода, а более конкретно, метанол.

Органическую фазу отделяют от носителя, в основном, путем фильтрования, последующей концентрацией досуха, в основном, с помощью дистилляции, осуществляемой, при необходимости, при пониженном давлении, с получением, в основном, твердого остатка, из которого выделяют 10-дезацетил-баккатин III.

Селективную кристаллизацию необогащенного 10-дезацетил-баккатина III, полученного тем или иным указанным методом, осуществляют из раствора этого остатка в органическом растворителе или в смеси органических растворителей. В качестве растворителя, при котором возможна селективная кристаллизация 10-дезацетил-баккатина III, целесообразно использовать такие нитрилы как ацетонитрил, пропионитрил или изобутиронитрил, взятые, возможно, в смеси с алифатическим спиртом, например, метанолом, этанолом, пропанолом, изопропанолом или n-бутанолом или в смеси с алифатическим сложным эфиром, например, этилацетатом, изопропилацетатом, n-бутилацетатом или трет.бутилацетатом, или в смеси с алифатическим кетоном, например, ацетоном, метилэтилкетон, метилпропилкетон, метил-n-бутилкетон или метилизобутилкетон. Особо предпочтительно осуществлять селективную кристаллизацию в ацетонитриле, возможно, в присутствии этанола и/или этилацетата или бутила и/или ацетона.

Выпавший в осадок 10-дезацетил-баккатин III может быть выделен с помощью фильтрования, отстаивания или центрифугирования.

Способ, согласно изобретению, позволяет получать практически чистый 10-дезацетил-баккатин III при значении выхода целевого продукта, значительно превышающем значение выхода, достигнутое при осуществлении прежде известных способов. Способ, согласно изобретению, позволяет экстрагировать почти что полностью 10-дезацетил-баккатин III, содержащийся в используемых частях растения, в частности, в его листьях.

10-дезацетил-баккатин III, полученный в соответствии со способом экстрагирования, заявляемым в настоящем изобретении, позволяет получать таксол или таксотер или их производные в условиях, описанных более конкретно в Патентах EP 0 253 738, EP 0 253 739, EP 0 336 941, EP 0 3336 840, WO 92 09589, EP 0 400 971 и EP 0 428 376.

Нижеследующие примеры иллюстрируют способ, заявляемый в настоящем изобретении.

Пример 1.

К 2,5 л деминерализованной воды, нагретой до 50°C, прибавляют 500 г листьев тиса (*Taxus baccata*), измельченных и высушенных, средний размер частиц которых менее 1 мм, а содержание в которых 10-дезацетил-баккатин III, определенное путем жидкостной хроматографии высокой точности (ЖХВТ), составляет 0,08% (или 400 мг 10-дезацетил-баккатина III в 500 г листьев). Названные компоненты перемешивают в течение 1 часа при температуре 50°C, а затем фильтруют.

Фильтрат (1,9 л), pH которого 5,4, трижды экстрагируют 0,9 л этилацетата. Органические фазы объединяют (2,7 л), промывают дважды в 1 л 0,1 М-ного раствора карбоната натрия, а затем дважды в 1 л деминерализованной воды, и наконец сушат на сульфате натрия. После фильтрования и концентрирования насухо получают твердое вещество (3,3 г), которое растворяют в 9 см³ ацетонитрила при температуре, близкой 70°C. После охлаждения в течение ночи при температуре, близкой +4°C, осадок отделяют фильтрованием.

Таким образом получают после высушивания 245 мг кристаллов, содержащих согласно анализу ЖХВТ 75% чистого 10-дезацетил-баккатина III или 183 мг названного чистого вещества. Маточные воды согласно анализу ЖХВТ содержат 40 мг 10-дезацетил-баккатина III.

Растительную массу, содержащую 0,7 л воды, дважды экстрагируют в условиях, аналогичных указанным выше. Собранный водный фильтрат обрабатывают аналогично указанному выше. Таким образом получают 2,5 г твердого продукта, который растворяют в 5 см³ ацетонитрила при температуре, близкой 70°C. После охлаждения в течение ночи при температуре близкой +4°C путем фильтрования отделяют 169 мг кристаллов, содержащих согласно анализу ЖХВТ 75% 10-дезацетил-баккатина III очищенного, что составляет 127 мг. Маточные воды содержат, согласно анализу ЖХВТ, 47 мг 10-дезацетил-баккатина III.

Общее количество 10-дезацетил-баккатина III, экстрагированного водой, составляет 183+40+127+47=397 мг.

Выход практически количественный.

Пример 2.

Нагревают 3 л деминерализованной воды до 50°C, затем прибавляют 500 г измельченных и высушенных листьев, средний диаметр частиц которых составляет 1 мм, а содержание 10-дезацетил-баккатина III, определенного путем жидкостной хроматографии высокой точности (ЖХВТ), составляет 0,08% (или 400 мг 10-дезацетил-баккатина III в 500 г листьев). Компоненты перемешивают в течение 1 часа при температуре 50°C, затем проводят фильтрование. Фильтрат (1,97 л), pH которого 5,15 изменяют до pH 4,6 путем прибавления концентрированной соляной кислоты, затем фильтруют через асбокартонную мембрану фильтра Seitz. Получают 1,8 л фильтрата.

300 см³ фильтрата дважды экстрагируют 150 см³, а затем четырежды 60 см³ метил-трет.бутилового эфира (МТБЭ). Объединенные и сконцентрированные экстракты содержат 620 мг твердых веществ, которые растворяют в 3 см³ ацетонитрила при температуре 70°C.

После охлаждения в течение ночи при температуре, равной +4°C, отделяют фильтрованием 28 мг 10-дезацетил-баккатина III в виде кристаллов, что соответствует, согласно анализу ЖХВТ, 90%. Маточные воды содержат 12,8 мг 10-дезацетил-баккатина III (количественный анализ согласно ЖХВТ).

Пример 3.

Измельчают 1 кг листьев тиса (*Taxus baccata*), свежесрезанных, содержание воды в которых составляет 69%, а содержание 10-дезацетил-баккатина III составляет 651 мг/кг (определено с помощью ЖХВТ), в миксере объемом 2 л в присутствии воды деминерализованной. Указанное измельчение осуществляют в 10 идентичных этапов, проводимых последовательно друг за другом при использовании каждый раз 100 г листьев и 500 см³ воды при температуре, близкой 20°C. Полученную смесь фильтруют через хлопковое полотно, а затем через бумагу, промывая водой, общее количество которой составляет 200 см³. Собирают 5000 см³ фильтрата или 84,9 объемн. % общего количества воды (воды, использованной при измельчении, и воды, содержащейся в лист-

ьях). Согласно количественному анализу, осуществленному с помощью ЖХВТ, таким образом полученный раствор содержит 72 г сухих веществ, из которых 550 мг составляет 10-дезацетил-баккатина III, что практически соответствует теоретическому количеству этого вещества – 552,7 мг (84,9% от 651 мг). Остаток 10-дезацетил-баккатина III содержится в воде, пропитавшей растительный продукт, и может быть рекуперировано путем промывания в воде растительного продукта.

Водный раствор (5000 см³) перколируют через колонку диаметром 5 см, наполненную на высоту 10 см полистирол-дивинилбензольной смолой (Amberchrom CG 161md (Tosohaas, Stuttgart, Allemagne)).

Смолу промывают водой, высушивают, затем суспендируют в метаноле.

После фильтрования и концентрирования насухо фильтрата, получают остаток (15,5 г), кото-

рый растворяют в 100 см³ этилацетата. Путем фильтрования отделяют 8,7 г нерастворимого соединения, затем фильтрат концентрируют до объема в 5 см³. Прибавляют 30 см³ ацетонитрила. Получают прозрачный раствор, в котором очень быстро появляются белые кристаллы. После ночи выдержки при температуре 4°C белые кристаллы отделяют фильтрованием и сушат. Таким образом получают 548 мг 10-дезацетил-баккатина III, сольватированного одним молей ацетонитрила, выход составляет 92%.

Количественный анализ с помощью ЖХВТ при внутрисферной нормализации показал, что эти кристаллы содержат 82% 10-дезацетил-баккатина III.

Таким образом, выход – 10-дезацетил-баккатина III – составляет 75,4%.

Тираж 50 экз.

Відкрите акціонерне товариство «Патент»

Україна, 88000, м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101

(03122) 3 – 72 – 89 (03122) 2 – 57 – 03
