

(19)



(10) **LT 3398 B**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

(11) Patent numeris: **3398**

(51) Int.Cl.⁵: **C07D 305/14**

(21) Paraiškos numeris: **IP1397**

(22) Paraiškos padavimo data: **1993 10 04**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **1994 11 25**

(45) Patent paskelbimo data: **1995 09 25**

(31,32,33) Prioritetas: **92 11746, 1992 10 05, FR**

(72) Išradėjas:

Jean-Claude Gaullier, FR
Bernadette Mandard, FR
Rodolphe Margraff, FR

(73) Patent savininkas:

RHONE-POULENC RORER S.A., 20, avenue Raymond Aron, 92160 Antony, FR

(74) Patentinis patikėtinis:

Reda Žabalienė, 7, UAB "Metida", Pilies g. 8/1-2, 2600 MTP Vilnius, LT

(54) Pavadinimas:

Deacetil-10-bakatino III gavimo būdas

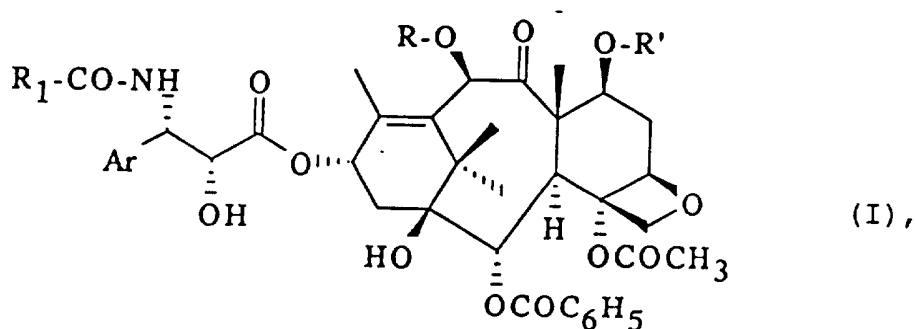
(57) Referatas:

Deacetil-10 bakatino III gavimo būdas iš įvairių kukmedžio (*Taxus sp.*) dalių jas ekstrahuojant ir selektyviai kristalinant iš augalinės masės metanolinio ekstrakto.

Šis išradimas nagrinėja selektyvų gavimo būdą vertingų tarpinių produktų, tinkančių taksolo (taxol), Taksotero (Taxotere) arba jų analogų gamybai pusiau sintetiniais metodais iš augalų įvairių dalių, turinčių šių tarpinių produktų.

Konkrečiai išradimas nagrinėja deacetyl-10 bakatino III gavimą iš įvairių rūšių kukmedžio žievės, stiebo, šaknų arba lapų.

Taksolas, Taksoteras ir jų analogai, turi bendrą formulę



pasižymi puikiomis priešvėžinėmis ir priešleukeminėmis savybėmis, yra puikūs cheminės terapijos preparatai, gydant kai kurias vėžio rūšis, tokias kaip krūties, prostatos, gaubiamosios žarnos, skrandžio, inkstų arba gimdos ir ypač kiaušidės vėžys.

Būtent bendroje formulėje (I) Ar gali būti fenilo radikalas, kartais turintis pakaitų, R gali būti vandenilio atomas, acetilo radikalas arba karbamoilo N-pakeistas radikalas. R' yra vandenilio atomas arba karbomoilo N-pakeistas radikalas ir R₁ gali būti fenilo radikalas arba R₂-O- radikalas, kuriame R₂ yra alkanilo, alkenilo, alkinilo, cikloalkanilo, ciklo-

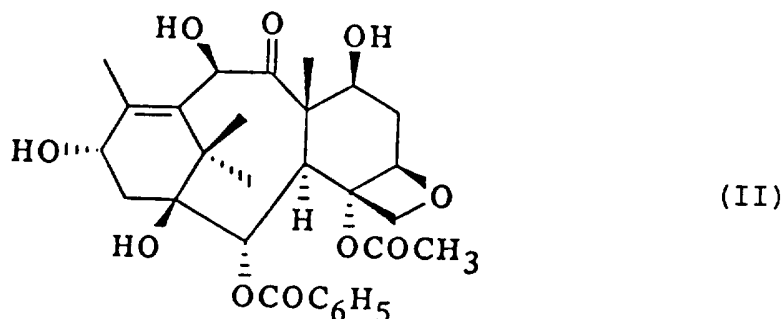
alkenilo, bicikloalkanoilo, fenilo arba heterociklilo radikalas.

5 Taksolas (taxol) yra produktas, turintis bendrą formulę (I), kurioje Ar ir R_1 yra fenilo radikalai, R yra acetilo radikalas ir R' yra vandenilio atomas.

10 Taksoteras (Taxotere) yra produktas, turintis bendrą formulę (I), kurioje Ar yra fenilo radikalas, R ir R' yra vandenilio atomai ir R_1 yra t.butoksi radikalas.

15 Gamtinį taksolą, kurio maži kiekiai yra įvairių rūšių kukmedžiuose, sunku išskirti visai nesunaikinant augalo. Pavyzdžiui, taksolas gali būti išskirtas C.H.O. HUANG et coll. J. Natl. Prod. 49,665 (1986) metodu, kuri sudaro tokios operacijos: *Taxus brevifolia* sutrinta žievė yra apdorojama metanolio, ekstraktas koncentruojamas, koncentratas ekstrahuojamas dichlor-
20 metanu, vėl koncentruojamas, likutis disperguojamas heksano-acetono mišinyje (tūrio santykis 1:1), tirpstanti dalis valoma chromatografiškai praleidžiant per Florisil koloną, gautas nevalytas taksolas yra valomas iš eilės prekrystalinant iš metanolio-vandens
25 ir heksano-acetono mišinių, tada vėl chromatografiškai valomas ir vėl kristalinamas. Taip išskirtas taksolo kiekis sudaro nuo 0,005 iki 0,017 % sunaudotos augalo dalies.

30 Taksoteras, kuris neegzistuoja gamtoje, gali būti pagamintas pusiau sintetiniu būdu iš deacetyl-10 bakatino III, turinčio formulę



būdais, kurie aprašyti, pavyzdžiui, JAV patentuose Nr. 4 814 470 arba Nr. 4 924 012 arba tarptautinėje paraiškoje PCT WO 92/09589.

5 Taksolas taip pat gali būti gaunamas būdais, kuriuose yra panaudojamas deacetil-10 bakatinas III arba pereinant per tarpinį produktą Taksotero, esant sąlygoms, aprašytoms JAV patentuose Nr. 4 857 653 arba esterinant bakatiną III, esant sąlygoms, aprašytoms EP
10 Nr. 400 971 arba EP Nr. 428 376 arba esterinant deacetil-10 bakatiną III ir jį acetilinant, esant sąlygoms, aprašytoms JAV patente Nr. 4 924 011.

15 Įvairios kukmedžio rūšys (*Taxus baccata*, *Taxus brevifolia*, *Taxus canadensis*, *Taxus cupidata*, *Taxus floridana*, *Taxus media*, *Taxus wallichiana*) turi taksano darinių, iš kurių svarbiausi iš esmės yra taksolas ir deacetil-10 bakatinas III. Iš kitų darinių ypač pažymėtinas cefalomaninas (cephalomannine), deacetil-10
20 cefalomaninas arba bakatinas III (baccatine III), pasirinktinai susijungęs su cukrais.

Taksolas daugiausia yra susikaupęs kamiene ir žievėje, o deacetil-10 bakatinas III iš esmės kaupiasi lapuose.
25 Be to, deacetil-10 bakatino III kiekis lapuose

paprastai yra daug didesnis negu taksolo kiekis, kurio yra žievėje, kamiene arba lapuose.

5 Iš to seka, kad ypač svarbu yra turėti deacetil-10 bakatino III, iš kurio galima pagaminti daug didesnius kiekius taksolo, negu jo tiesioginė ekstrakcija iš kukmedžio arba jį gaminant iš Taksotero.

10 Ekstrahuojant deacetil-10 bakatiną III iš kukmedžio lapų, augalas nėra visiškai sunaikinamas, ir jo lapai vėl gali būti panaudoti iš naujo po kiekvieno augimo ciklo.

15 Bendrai visi žinomi taksano darinių ekstrakcijos iš įvairių kukmedžio dalių (žievė, kamienas, šaknys, lapai, ...) būdai reikalauja chromatografinės technikos panaudojimo, kuri yra ilga ir brangi ir kuri neleidžia pilnai kiekybiškai išskirti augaluose esantį taksaną.

20 Pagal JAV patente Nr. 4 814 470 aprašytą gavimo būdą, spygliai mirkomi etanolyje, tada ekstrahuojama organiniu tirpikliu, tokiu kaip metileno chloridas ir po to chromatografija galima išskirti apie 40% lapuose esančio deacetil-10 bakatino III.

25 Įvairūs taksano dariniai, esantys įvairiose kukmedžio dalyse, gali būti išskirstyti skysčių chromatografijos atvirkščių fazių metodais, kurie yra aprašyti tarptautinėje paraiškoje PCT WO Nr. 92/07842. Šie
30 metodai iš esmės apima kukmedžio nevalyto ekstrakto chromatografinį apdorojimą skystoje fazėje atvirkščių fazių principu, praleidžiant pro sorbentą, ant kurio prisijungia taksano dariniai, tada jie išskirstomi ir atskiriami. Šiuo būdu galima išskirti apie 25% lapuose
35 esančio deacetil-10 bakatino III.

Dabar buvo rasta, kad deacetil-10 bakatinas III gali būti labai selektyviai ekstrahuotas iš įvairių kukmedžio dalių ir ypač iš lapų paprastu būdu nenaudojant chromatografinės technikos, kas sudaro šio išradimo objektą. Pavyzdžiui, yra galima ekstrahuoti apie 75% lapuose deacetil-10 bakatino III.

Pagal šį išradimą deacetil-10 bakatinas III yra atskiriamas iš kukmedžio lapų vandeninio ekstrakto.

10

Pagal išradimą gavimo būdas yra toks:

- arba

1) sutrintų kukmedžio (*Taxus* sp.) dalys apdorojamos alifatiniu alkoholiu taip, kad būtų gautas alkoholinis ekstraktas, turinti deacetil-10 bakatino III,

2) koncentruotas alkoholinis ekstraktas praskiedžiamas vandeniu,

20

3) netirpios dalys atskiriamos nuo vandeninio-alkoholinio tirpalo filtravimu, dekantavimu arba centrifūgavimu,

25

4) iš vandeninio-alkoholinio tirpalo pašalinama didžioji dalis alkoholio,

5) iš taip gautos vandeninės fazės deacetil-10 bakatinas III ekstrahuojamas tinkamu organiniu tirpikliu,

30

6) iš gauto organinio ekstrakto, turinčio deacetil-10 bakatino III, pašalinamas organinis tirpiklis,

35

7) iš taip gautų nuosėdų deacetil-10 bakatinas III selektyviai kristalinamas organiniame tirpiklyje.

- arba

- 1) sutrintos kukmedžio (*Taxus* sp.) dalys taip
5 apdorojamos alifatiniu alkoholiu, kad būtų gautas
alkoholinis deacetil-10 bakatino III ekstraktas,
 - 2) alkoholinis ekstraktas ekstrahuojamas organiniu
10 tirpikliu,
 - 3) vandens-alkoholio fazė atskiriama dekantavimu,
 - 4) vandens-alkoholio fazė atskiedžiama vandeniu,
 - 15 5) netirpios dalys atskiriamos nuo vandneninio-
alkoholinio tirpalo filtravimu, dekantavimu arba
centrifūgavimu,
 - 6) iš filtruotos vandens-alkoholio fazės deacetil-10
20 bakatinas III ekstrahuojamas organiniu tirpikliu,
 - 7) iš deacetil-10 bakatino III organinio ekstrakto iš
dalies arba visiškai pašalinamas tirpiklis,
 - 25 8) iš gauto tirpalo arba iš nuosėdų deacetil-10
bakatinas III selektyviai kristalinamas organiniame
tirpiklyje,
 - 9) atskiriamas išvalytas deacetil-10 bakatinas III.
30
- Pagal išradimą procesui gali būti panaudotos visos
turimo kukmedžio dalys, tokios kaip žievė, kamienas,
šaknys arba lapai. Pagal išradimą procesui gali būti
naudojamas įvairių rūšių kukmedis, bet pirmenybė
35 teikiama *Taxus baccata*, *Taxus brevifolia*, *Taxus*
canadensis, *Taxus cupidata*, *Taxus floridana*, *Taxus*
media arba *Taxus wallichiana*. Ypač pelninga vartoti

kukmedžio (*Taxus baccata*, *taxus brevifolia*) lapus, kurie turi didžiausią deacetil-10 bakatino III kiekį. Kad geriau vyktų procesas verčiau naudoti susmulkintas ir, jei reikia, džiovintas įvairias kukmedžio dalis.

5 Panaudojamos dalelės gali būti nuo 0,5 iki kelių milimetrų dydžio. Patogumo dėlei gali būti naudinga vartoti daleles mažesnes už 1 mm. Susmulkintos kukmedžio dalys ir, jei reikia, džiovintos gali būti

10 gaunamos atliekant smulkinimo ir džiovinimo operacijas, kurios vykdomos prieš arba po užšaldymo šviežių augalų dalių, prieš užšaldymą ir atšildymą, arba įsiterpia tarp užšaldymo ir atšildymo.

Alkoholinis ekstraktas gaunamas susmulkintas ir kartais

15 džiovintas kukmedžio dalis maišant su alkoholiu ir, jei reikia, pašildant. Alkoholis parenkamas iš metanolio, etanolio, propanolio, izopropanolio, t.butanolio. Ypač tinka vartoti metanolį.

20 Alkoholinis ekstraktas, turintis deacetil-10 bakatino III gali būti apdorojamas pagal vieną iš metodų:

1) Alkoholinis ekstraktas, turintis deacetil-10 bakatino III, yra skiedžiamas vandeniu ir gaunamas

25 vandeninis-alkoholinis tirpalas.

Proceso paleidimui naudinga pasirinkti specialias praskiedimo sąlygas ir reikiamą kiekį alkoholio-vandens fazėje, kad būtų išvengta deacetil-10 bakatino III

30 nuostolių ir kad būtų pašalintas kaip galima didesnis netirpių produktų kiekis, šioms sąlygoms pasiekti kartais būtina iš anksto sukonzcentruoti deacetil-10 bakatino III organinį ekstraktą, prieš jį skiedžiant vandeniu.

35 Alkoholinis ekstraktas, kuris gali būti sukonzcentruotas distiliavimu normaliaame ar dar geriau sumažintame

slėgyje, specialiai skiedžiamas vandeniu tokiu būdu, kad skiedžiamo mišinio svorio santykis su svoriu sausos medžiagos, esančios alkoholiniame ekstrakte būtų tarp 4 ir 8 ir skiestas vandens-alkoholio mišinys turėtų nuo 10 iki 30 svorio % alkoholio.

Iš taip gauto vandeninio-alkoholinio tirpalo netirpūs produktai yra pašalinami vienu iš įprastinių būdų, geriausiai filtravimu, dekantavimu ar centrifūgavimu. Kai jų pašalinimas atliekamas filtravimu, gali būti naudinga tai atlikti pridėjus filtravimo agento, tokio kaip infuzorinė žemė (celitas), ir kogulianto.

Alkoholio pašalinimas iš taip gauto vandeninio-alkoholinio tirpalo atliekamas distiliavimu, arba geriau distiliavimu, esant sumažintam slėgiui, galima idėti putojimą slopinančios medžiagos, taip, kad būtų išvengta arba būtų apribotas terpės sudėtinių dalių terminis skaidymas.

Apskritai taip gautame tirpale, paprastai turinčiame ne mažiau kaip 1% alkoholio, esantis deacetil-10 bakatinas III yra per vieną ar kelis kartus ekstrahuojamas organiniu tirpikliu, pasirinktu iš eterių. Ypač tinkami šiai operacijai organiniai tirpikliai pasirinkti iš eterių, tokių kaip metil-t.butiloeteris, etil-t.butiloeteris, metil-n.butiloeteris, metil-n.amiloeteris, etil-t.amiloeteris, t.butilizopropiloeteris, etilizobutiloeteris, t.butil-n.propiloeteris ar etil-n.heksiloeteris, arba alifatinių esterių, tokių kaip etilo acetatas, propilo acetatas, izopropilo acetatas, n.butilo acetatas, t.butilo acetatas, metilo t.butilacetatas, t.butilo propionatas arba t.amilo acetatas. Ypač naudingi yra metil-t.butiloeteris, etil-t.butiloeteris, etilo acetatas ir n.butilo acetatas.

2) alkoholinis ekstraktas, turintis vandens, atsiradusio iš apdorotų kukmedžio lapų, yra ekstrahuojamas tinkamu organiniu tirpikliu pasirinktu iš aromatinių angliavandenių, tokių kaip toluenas arba ksilenas.

5

Vandeninis-alkoholinis ekstraktas yra skiedžiamas vandeniu tokiu būdu, kad ekstrakte būtų nuo 20 iki 40 % alkoholio, paskui jis filtruojamas, dekantuojamas arba centrifuguojamas norint atskirti jame esančius netirpius produktus. Gautas vandeninis-alkoholinis ekstraktas, turintis deacetil-10 bakatino III, yra per vieną arba kelis kartus ekstrahuojamas organiniu tirpikliu, pasirinktu iš eterių, tokių kaip metil-t.butiloeteris, etil-t.butiloeteris, metil-n.butiloeteris, metil-n.amiloeteris, etil-t.amiloeteris, t.butil-izopropiloeteris, etil-izobutiloeteris, t.butil-n.propiloeteris ar etil-n.heksiloeteris, arba alifatinių esterių, tokių kaip etilo acetatas, propilo acetatas, izopropilo acetatas, n.butilo acetatas, t.butilo acetatas, metilo t.butilacetatas, t.butilo propionatas arba t.amilo acetatas. Ypač naudingi yra metil-t.butiloeteris, etil-t.butiloeteris, etilo acetatas ir n.butilo acetatas.

Vienu ar kitu būdu gauti organiniai ekstraktai yra pasirinktinai plaunami vandeniniu silpnos bazės tirpalu, (pavyzdžiui, vandeniniu natrio karbonato tirpalu) ir vandeniu, arba vienu vandeniu. Po, reikalui esant, džiovavimo, organinis tirpiklis yra iš dalies arba visiškai pašalinamas iš ekstrakto naudojant įprastinius metodus, ypač distiliavimo arba distiliavimo, esant sumažintam slėgiui, kad susidarytų tirpalas su nuosėdomis, iš kurių atskiriamas deacetil-10 bakatinas III.

Deacetil-10 bakatino III selektyvus kristalinimas atliekamas iš jo tirpalo organiniame mišinyje arba organinių tirpiklių mišinio. Kaip tirpikliai,

igalinantys selektyvų deacetil-10 bakatino III iškristalinimą, gali būti sėkmingai vartojami nitrilai, tokie kaip acetonitrilas, arba propionitrilas, esant reikalui, sumaišyti su alifatiniu alkoholiu, tokiu kaip metanolis, etanolis, propanolis, izopropanolis, ar n.butanolis, arba alifatiniu esteriu, tokiu kaip etilo acetatas, izopropilo acetatas, n.butilo acetatas, t.butilo acetatas, arba ketonu, tokiu kaip acetonas, metiletilketonas, metilpropilketonas, metil-n.butilketonas ir metilizobutilketonas. Ypač naudinga atlikti selektyvų kristalinimą iš acetonitrilo, sumaišyto su etanolio arba acetonu, arba etilo acetatu, arba n.butilo acetatu.

Nusėdęs deacetil-10 bakatinas III, gautas šiame išradime aprašytu būdu, gali būti vartojamas taksolio, taksotero ir jų darinių gamybai, esant sąlygoms, aprašytoms patentuose: EP Nr. 0 253 738, EP Nr. 0 253 739, EP Nr. 0 336 840, EP Nr. 0 336 841, WO Nr. 92 09589, EP Nr. 0 400 971 ir EP Nr. 0 428 376. Išrasti gavimo būdai gali būti pailiustruojami pavyzdžiais:

1 PAVYZDYS

I virintuvą su filtru dedama 200 litrų metanolio, 1,4 kg stiklo vatos ir 250 g sutrintų kukmedžio (*Taxus baccata*) lapų, kurių dalelių vidutinis dydis yra artimas 0,8 mm. Įpilama 400 litrų gryno metanolio. Ekstrakcija atliekama maitinant ekstrahuojamą masę šviežiu tirpikliu iš viršaus, debitas 870 litrų/valandą ir renkant metanolinį ekstraktą apačioje. Ekstrakcija trunka 5 val., esant 20°C. Surinktas metanolinis tirpalas yra garinamas sumažintame slėgyje (70-80 kPa) garintuve, esant 40°C iki 80 svorio % sausos medžiagos.

Vartojamas metanolinis ekstraktas (gautas aukščiau aprašytais sąlygomis), turintis 352 g sauso likučio

420 g metanolio ir 40 g. vandens, kuriame yra 1130 mg deacetil-10 bakatino III

5 Į 2 litrų talpos reaktorių supilamas metanolinis ekstraktas, po to maišant supilama 1590 cm³ vandens. Mišinys yra maišomas 1 valandą, tada įdedama 35 g celito ir maišant 1 valandą ir 25 cm³ koagulianto "ZETAG 87". Gauta suspensija filtruojama per stiklinį
10 filtrą Nr.4 130 mm diametro. Netirpūs produktai ir celitas yra plaunami 100 g vandens metanolio mišinio (8:2 svorio santykiu).

15 Filtratas dedamas į 2 litrų talpos reaktorių, tada įdedami 2 cm³ SILICONE 426 R. Mišinys distiliuojamas sumažintame slėgyje (7,3-11 kPa), esant temperatūrai tarp 35 ir 42⁰C, išorinės vonios temperatūra tarp 45 ir 50⁰C. Gaunamas distiliatas (909 g) ir koncentratas (1432 g), turintis 0,5% metanolio.

20 Koncentratas yra ekstrahuojamas 1 kartą 700 cm³ etilo acetato, paskui 2 kartus po 350 cm³ etilo acetato, sujungtos organinės fazės 2 kartus praplaunamos 700 cm³ 0,1 M natrio karbonato tirpalu, paskui organinė fazė (1049 g) yra koncentruojama iki sausumo sumažintame
25 slėgyje (1,33-21,3 kPa). Taip gaunama 16,2 g sauso ekstrakto.

2 PAVYZDYS

30 Į 500 cm³ kolbą dedama 45,5 g sauso ekstrakto, gauto 1 pavyzdyje aprašytu būdu ir turinčio 9,3% deacetil-10 bakatino III, tada įpilama 18 cm³ etilo acetato. Homogeninis mišinys maišomas pašildant iki 50⁰C. Tada per 15 minučių supilama 136 cm³ acetonitrilo, esant
35 50⁰C. Suspensija apie 1 valandą maišoma, tada atšaldoma iki temperatūros artimos 20⁰C per 3 valandas. Nuosėdos atskiriamos filtruojant per stiklo filtrą Nr.3 (35 mm

diametro) paskui jos perplaunamos 20 cm³ acetonitrilo, tada 2 kartus po 20 cm³ diizopropilo eterio. Gautas produktas 20 valandų džiovinamas, esant sumažintam slėgiui (1,33 kPa) ir 40°C temperatūroje. Taip gaunama
5 5,2 g balto produkto, turinčio 75,8 % deacetil-10 bakatino III.

Kristalinimo išeiga yra 93,6%.

10 3 PAVYZDYS

I 1 litro kolbą ipilama 275,2 g tirpalo, gauto etilo acetate ištirpinus 39,6 g sausos medžiagos, turinčios 3,48 g deacetil-10 bakatino III. Šis tirpalas yra
15 koncentruojamas, esant sumažintam slėgiui (6,0 kPa). Surenkama 164 g etilo acetato. Į koncentratą pridedama 36 cm³ etanolio ir atšaldoma iki 10°C. Lėtai (maždaug per pusę valandos) ir maišant (30 apsisukimų/minutę) supilama 60 cm³ acetonitrilo. Suspensija prie 10°C
20 maišoma 1 valandą, tada greitai supilama 84 cm³ acetonitrilo. Dar 15 valandų maišoma 10°C temperatūroje. Nuosėdos atskiriamos filtruojant per stiklinį filtrą Nr.3 (35 mm diametro), paskui jos 2 kartus plaunamos 20 cm³ acetonitrilo, tada 2 kartus 20 cm³ diizopropileterio.
25 Produktas 12 valandų džiovinamas sumažintame slėgyje (0,27 kPa) ir 40°C temperatūroje. Taip gaunama 2,85 g baltų kristalinių miltelių, turinčių 93,8% deacetil-10 bakatino III. Nuo kristalų nupiltas tirpalas ir plovimo skystis (247 g) yra koncentruojami esant sumažintam
30 slėgiui (2,7 kPa) ir 40°C temperatūroje. Taip gaunama 36 g sausos medžiagos, kuri vėl apdorojama 18 cm³ etanolio. Lėtai supilama 72 cm³ acetonitrilo. Mišinys 15 valandų maišomas, esant temperatūrai artimai 20°C. Nuosėdos atskiriamos filtruojant, 2 kartus plaunamos
35 5 cm³ acetonitrilo ir 2 kartus 5 cm³ diizopropileterio. Išdžiovimus gaunama 0,662 g smulkių miltelių, turinčių 62,7% deacetil-10 bakatino III.

4 PAVYZDYS

Vartojamas metanolinis ekstraktas, gautas 1 pavyzdyje aprašytu būdu ir susidedantis iš 1840 g sauso ekstrakto, 1117 g metanolio, 329 g vandens ir turintis 7,17 g deacetil-10 bakatino III.

I 10 litrų reaktorių supilamas metanolinis ekstraktas, tada 3 kartus ekstrahuojama su 1,5 litro tolueno stipriai maišant. Vandens-metanolio fazė (3020 g) atskiriama dekantavimu, praskiedžiama vandeniu (3800 g) ir filtruojama. Taip atskiriama 42 g. nuosėdų.

Nufiltruotas vandeninis-metanolinis tirpalas yra 3 kartus ekstrahuojamas 1540 cm³ n-buti acetato. Sujungtos organinės fazės koncentruojamos, esant sumažintam slėgiui (1,33 kPa) ir 40°C temperatūrai tol, kol gaunamas tirpalas, turintis 30% sauso ekstrakto, tada jis filtruojamas. Gautos nuosėdos (4 g) plaunamos 50 cm³ n-butilo acetato. Organiniai filtratai sujungiami ir vėl koncentruojami esant sumažintam slėgiui (1,33 kPa) ir 40°C temperatūrai taip, kad būtų gautas tirpalas, turintis 65% sauso ekstrakto arba 95 g.

Taip gautas koncentratas supilamas į 500 cm³ kolbą ir įpilama 45 cm³ etanolio. Homogeninis mišinys maišomas ir šildomas iki 40°C. Esant 40°C temperatūrai per 1 valandą supilama 270 cm³ acetonitrilo. Suspensija atšaldoma iki -10°C ir maišoma 2 valandas, paskui išlaikoma -10°C temperatūroje per visą naktį. Nuosėdos atskiriamos filtruojant per stiklinį filtrą, 2 kartus plaunamos 35 cm³ acetonitrilo, tada 2 kartus 35 cm³ diizopropileterio, paskui per naktį džiovinamos esant sumažintam slėgiui (1,33 kPa) ir 40°C temperatūrai.

Taip gaunama 5,92 g balto produkto, turinčio 84,2% deacetil-10 bakatino III.

Išeiga, lyginant su deacetil-10 bakatino III kiekiu, esančiu pradiniamame metanoliniame ekstrakto, yra 9,5%.

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Deacetil-10 bakatino III gavimo būdas, b e s i s -
k i r i a n t i s tuo, kad deacetil-10 bakatiną gauna
5 iš įvairių kukmedžio (Taxus sp.) dalių metanolinio
ekstrakto.

2. Deacetil-10 bakatino III gavimo būdas iš įvairių
kukmedžio (Taxus sp.) dalių, b e s i s k i r i a n t i s
10 tuo, kad:

1) susmulkinto kukmedžio dalys veikiamos alifatiniu
alkoholiu, siekiant gauti alkoholio ekstraktą, kuriame
būtų deacetil-10 bakatino III,
15

2) atsitiktinės koncentracijos alkoholio ekstraktas
ištirpdomas vandenyje,

3) filtravimo, nuosėdų atskyrimo nuo skysčio, centrifu-
gavimo būdais atskiriamos netirpios medžiagos, esančios
20 gautame vandeniniame-alkoholiniame tirpale,

4) iš gautojo vandeninio-alkoholinio tirpalo pašali-
namas beveik visas alkoholis,
25

5) atitinkamu organiniu tirpikliu ekstrahuojamas deacetil-
10 bakatinas III, esantis taip gautoje vandeninėje fazėje,

6) iš taip gauto organinio ekstrakto pašalinamas tirpiklis,
30

7) iš taip gauto likučio atrankiuoju būdu kristalinamas
deacetil-10 bakatinas III yra išskiriamas.

3. Deacetil-10 bakatino III gavimo būdas pagal
35 apibrėžties 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo,
kad

- 1) sutrintas kukmedžio dalis taip apdoroja alifatiniu alkoholiu, kad būtų gautas alkoholinis deacetil-10 bakatino III ekstraktas,
 - 5 2) alkoholinį ekstraktą ekstrahuoja organiniu tirpikliu,
 - 3) vandens-alkoholio fazę atskiria dekantavimu,
 - 4) vandens-alkoholio fazę atskiedžia vandeniu,
 - 10 5) netirpias medžiagas atskiria nuo vandeninio-alkoholinio tirpalo filtravimu, dekantavimu arba centrifugavimu,
 - 15 6) iš filtruotos vandens-alkoholio fazės deacetil-10 bakatiną III ekstrahuoja organiniu tirpikliu,
 - 7) iš deacetil-10 bakatino III turinčio organinio ekstrakto iš dalies arba visiškai pašalina tirpiklį,
 - 20 8) iš gauto tirpalo arba iš nuosėdų deacetil-10 bakatiną III selektyviai kristalina iš organinio tirpiklio,
 - 25 9) atskiria išvalytą deacetil-10 bakatiną III.
4. Gavimo būdas pagal 2 arba 3 apibrėžties punktus, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad alkoholinį ekstraktą gauna maišant susmulkintas iš anksto išdžiovintas kukmedžio dalis su alifatiniu alkoholiu, parinktu iš metanolio, etanolio, propanolio, izopropanolio ir t.butanolio.
- 30
5. Gavimo būdas pagal 3 ir 4 apibrėžties punktus, b e - s i s k i r i a n t i s tuo, kad alifatinis alkoholis yra metanolis.
- 35

6. Gavimo būdas pagal 2 arba 3 apibrėžties punktus, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad sutrintos ir, jei reikia, išdžiovintos kukmedžio dalys yra gaunamos smulkinimo ir džiovinimo operacijų metu, kurios gali būti atliekamos prieš šviežių augalo dalių užšaldymą ir atšildymą, arba įsiterpti tarp užšaldymo ir atšildymo, arba eiti po šviežių augalo dalių užšaldymo ir atšildymo.
7. Gavimo būdas pagal 2, 4, 5 apibrėžties punktus, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad sukoncentruotą alkoholinį ekstraktą skiedžia vandeniu tokiu būdu, kad santykis skiedžiamo mišinio svorio ir alkoholiniame ekstrakto esančios sausos medžiagos svoriu būtų tarp 4 ir 8, ir kad skiedžiamas vandens alkoholio mišinys turėtų 10-30 % alkoholio, kai būtų gautas vandeninis-alkoholinis tirpalas.
8. Gavimo būdas pagal 2, 4, 5 apibrėžties punktus, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad netirpias medžiagas nuo vandeninio-alkoholinio tirpalo atskiria filtravimu, dekantavimu arba centrifūgavimu.
9. Gavimo būdas pagal 2, 4, 5 ar 6 apibrėžties punktus, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad iš vandeninio-alkoholinio tirpalo alkoholį pašalina distiliavimu arba distiliavimu sumažintame slėgyje.
10. Gavimo būdas pagal 2, 4, 5 arba 6 apibrėžties punktus, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad iš vandens fazės, gautos po alkoholio pašalinimo, deacetil-10 bakatiną III ekstrahuoja organiniu tirpikliu.
11. Gavimo būdas pagal 10 apibrėžties punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad organinį tirpiklį parenka iš alifatinių eterių ir esterių.

12. Gavimo būdas pagal 11 apibrėžties punktą, b e s i s
k i r i a n t i s tuo, kad eterius parenka iš metil-
t.butilo eterio, etil-t.butilo eterio, metil-n.butilo
5 eterio, metil-n.amilo eterio, etil-t.amilo eterio,
t.butilizopropilo eterio, etilizobutilo eterio,
t.butil-n.propilo eterio, etil-n.heksilo eterio.
13. Gavimo būdas pagal 11 apibrėžties punktą, b e -
10 s i s k i r i a n t i s tuo, kad alifatinius esterius
parenka iš etilo acetato, propilo acetato, izopropilo
acetato, n.butilo acetato, t.butilo acetato, metilo
t.butilacetato, t.butilo propionato, t.amilo acetato.
14. Gavimo būdas pagal 10 apibrėžties punktą, b e -
15 s i s k i r i a n t i s tuo, kad organinis tirpiklis
yra etilo acetatas arba n.butilo acetatas.
15. Gavimo būdas pagal 3, 4, 5 arba 6 apibrėžties
20 punktus, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad
alkoholio fazę ekstrahuoja organiniu tirpikliu,
parinktu iš aromatinių angliavandenilių.
16. Gavimo būdas pagal 12 apibrėžties punktą, b e -
25 s i s k i r i a n t i s tuo, kad aromatinį
angliavandenilį parenka iš tolueno ir ksileno.
17. Gavimo būdas pagal 3, 4, 5 ar 6 apibrėžties
punktus, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad
30 dekantavimu atskirtą vandens-alkoholio fazę skiedžia
vandeniu tol, kol alkoholio kiekis tirpale sudaro nuo
20 iki 40 svorio %.
18. Gavimo būdas pagal 3, 4, 5 arba 6 apibrėžties
35 punktus, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad nuo
praskiesto vandeninio-alkoholinio tirpalo netirpias medžiagas
atskiria filtravimu, dekantavimu arba centrifūgavimu.

19. Gavimo būdas pagal 3, 4, 5 arba 6 apibrėžties
punktus, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad iš
vandens-alkoholio fazės deacetil-10 bakatiną III
5 ekstrahuoja organiniu tirpikliu.

20. Gavimo būdas pagal 19 apibrėžties punktą, b e -
s i s k i r i a n t i s tuo, kad tirpiklį parenka iš
alifatinių eterių ar esterių.
10

21. Gavimo būdas pagal 20 apibrėžties punktą, b e -
s i s k i r i a n t i s tuo, kad eterius parenka iš
metil-t.butilo eterio, etil-t.butilo eterio, metil-
n.butilo eterio, metil-n.amilo eterio, etil-t.amilo
15 eterio, t.butilizopropilo eterio, etilizobutilo eterio,
t.butil-n.propilo eterio, etil-n.heksilo eterio.

22. Gavimo būdas pagal 21 apibrėžties punktą, b e -
s i s k i r i a n t i s tuo, kad alifatinius esterius
20 parenka iš etilo acetato, propilo acetato, izopropilo
acetato, n.butilo acetato, t.butilo acetato, metilo
t.butilacetato, t.butilo propionato, t.amilo acetato.

23. Gavimo būdas pagal 21 apibrėžties punktą, b e -
25 s i s k i r i a n t i s tuo, kad organinis tirpiklis
yra etilo acetatas arba n.butilo acetatas.

24. Gavimo būdas pagal 3, 4, 5 arba 6 apibrėžties
punktus, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad
30 deacetil-10 bakatino III turintį organinį ekstraktą
koncentruoja iš dalies arba visiškai nudistiliuojant
tirpiklį, esant normaliam arba sumažintam slėgiui.

25. Gavimo būdas pagal 2, 3, 4, 5 ar 6 apibrėžties
35 punktus, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad
deacetil-10 bakatiną III selektyviai kristalina
organiniame tirpiklyje, parinktame iš alifatinių

nitrilų, kartais sumaišytų su alifatiniais alkoholiais arba alifatiniais esteriais, arba alifatiniais ketonais.

5 26. Gavimo būdas pagal 25 apibrėžties punktą, b e -
s i s k i r i a n t i s tuo, kad alifatinius nitrilus
parenka iš acetonitrilo ar propionitrilo.

10 27. Gavimo būdas pagal apibrėžties 25 punktą, b e -
s i s k i r i a n t i s tuo, kad alifatinį alkoholį
parenka iš metanolio, etanolio, propanolio, izopropanolio
ir n.butanolio.

15 28. Gavimo būdas pagal apibrėžties 25 punktą, b e -
s i s k i r i a n t i s tuo, kad alifatinį esterį
pasirenka iš etilo acetato, izopropilo acetato,
n.butilo acetato ar t.butilo acetato.

20 29. Gavimo būdas pagal apibrėžties 25 punktą, b e -
s i s k i r i a n t i s tuo, kad ketoną parenka iš
acetono, metiletilketono, metilpropilketono, metil-
n.butilketono, metilizobutilketono.

25 30. Gavimo būdas pagal apibrėžties 25 punktą, b e -
s i s k i r i a n t i s tuo, kad selektyvų kristalinimą
vykdo acetonitrile, pasirinktai sumaišytame su etanolio
arba etilo acetatu, arba n.butilo acetatu, arba acetonu.

30 31. Gavimo būdas pagal 2, 3, 4, 5 ar 6 apibrėžties
punktus, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad išvalytą
deacetil-10 bakatiną III atskiria filtravimu,
dekantavimu arba centrifūgavimu.

35 32. Gavimo būdas pagal vieną iš 1-31 apibrėžties
punktų, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad deacetil-
10 bakatiną III ekstrahuoja iš kukmedžio lapų.

33. Gavimo būdas pagal 32 apibrėžties punktą, b e -
s i s k i r i a n t i s tuo, kad kukmedis priklauso
vienai iš rūšių: Taxus cuspidanta, Taxus baccata, Taxus
brevifolia, Taxus canadensis, Taxus floridana, Taxus
5 media arba Taxus wallichiana.

34. Deacetil-10 bakatino III, gauto nuo 1 iki 31
apibrėžties punktuose aprašytais būdais, panaudojimas
Taksolo (Taxol), Taksotero (Taxotere) ir jų darinių
10 gavimui.

35. Deacetil-10 bakatinas III, kuris yra gautas įdiegus
vieną iš gavimo būdų pagal 1-34 apibrėžties punktus.