

Kristoffer Tennfjord Engås

Semisyntese av paclitaxel - et historisk perspektiv

Bacheloroppgave i Lektor i realfag
Veileder: Elisabeth Egholm Jacobsen
April 2023

Kristoffer Tennfjord Engås

Semisyntese av paclitaxel - et historisk perspektiv

Bacheloroppgave i Lektor i realfag
Veileder: Elisabeth Egholm Jacobsen
April 2023

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet
Fakultet for naturvitenskap
Institutt for kjemi



Kunnskap for en bedre verden

Sammendrag

Det viktige kreftbehandlingsstoffet paclitaxel, som kommer fra barken på stillehavsbarlinden, er ikke bærekraftig å ekstrahere fra den saktevoksende planten. Blant andre alternativer for anskaffelse er semisyntese av paclitaxel, som i dag er en av de viktigste produksjonsmetodene for å dekke etterspørselen. Denne bacheloroppgaven ser på hvordan semisyntesen av paclitaxel har utviklet seg over tid, og vurderer hvilke kjemiske oppdagelser som har vært viktige for at metoden anvendes i dag. Spesielt har ulike forbedringer av syntesesteg og rapportering av alternative synteseruter vært viktig i denne prosessen.

Abstract

The important antitumor drug paclitaxel, gathered from the bark of the Pacific Yew, is not sustainably possible to extract from the slow-growing plant. Among other sources of paclitaxel is semisynthesis, which today is one of the most important production methods in order to meet the demand. This bachelor thesis looks at how the semisynthesis of paclitaxel has developed over time, and assesses which chemical discoveries has had importance for the use of this method today. Various improvements of synthesis steps, as well as reports of alternative semisynthetic routes, has been of great importance during this process.

Innholdsfortegnelse

Sammendrag	1
Abstract	1
Introduksjon	3
Teori	4
Bruk av paclitaxel.....	4
Strukturen til paclitaxel	4
Stereokjemi.....	5
Acetylering	6
Forestring	6
Oxazoliner	7
β -laktamer.....	7
Beskyttelse av funksjonelle grupper.....	8
Første semisyntese: Denis <i>et al.</i>	8
Diskusjon.....	10
Utvinning av 10-DAB fra plante.	10
Historisk utvikling av semisyntesen til paclitaxel	10
Konklusjon	16
Referanser.....	17

Introduksjon

Paclitaxel er et eksempel på en naturressurs som har vist seg å ha stor medisinsk verdi. Dette stoffet brukes som et cellegiftmiddel på grunn av sin evne til å hemme veksten av kreftceller. Paclitaxel brukes i behandlingen av en rekke kreftformer, inkludert brystkreft, eggstokkreft, lungekreft, prostatakreft, blærekreft og kreft i hode og nakke [1–4]. Stoffet fungerer ved å binde seg til et protein som heter tubulin, som er nødvendig for å danne mikrotubuli. Mikrotubuli er viktige strukturer i cellene som er involvert i flere prosesser, inkludert celledeling. Ved å binde seg til tubulin, hindrer paclitaxel dannelsen av funksjonelle mikrotubuli, og dette fører til at kreftcellene ikke kan dele seg og formere seg som normalt. Resultatet er at kreftcellene enten dør eller stopper å vokse.

Paclitaxel ble opprinnelig isolert fra barken av stillehavsbarlind (*Taxus brevifolia*) i 1960-årene, men produksjonsutbyttet av paclitaxel fra dette treet var begrenset og miljømessig utfordrende [1,5,6]. Totalsyntese av stoffet er kjemisk interessant, men de kjente rutene er for lange og upraktiske for kommersiell bruk [7–9]. Semisyntesen av paclitaxel, som involverer en kombinasjon av kjemisk syntese og modifikasjon av et naturlig forekommende forløpermolekyl, 10-desacetylbaaccatin III (10-DAB), har vært avgjørende for å gjøre stoffet tilgjengelig i større mengder og til en rimeligere pris, og semisyntese er i dag den dominerende produksjonsmetoden [4,5].

Denne bacheloroppgaven vil undersøke hvordan semisyntesen av paclitaxel har utviklet seg over tid, og hvilke nøkkelfaktorer som har bidratt til den kommersielle anvendelsen av denne metoden i dag. Oppgaven vil først gi en oversikt over begreper og tema som blir aktuelle, deretter gi en innføring i de forskjellige trinnene i den første rapporterte semisyntesen av paclitaxel, og så se på hvilke viktige forbedringer som har blitt gjort for å øke utbyttet og forbedre kvaliteten av produktet over tid. Oppgaven vil også se litt på alternative ruter for semisyntese, men vil ikke diskutere biologisk produksjon av paclitaxel i stor grad.

Gjennom en litteraturstudie og analyse av tilgjengelige data vil denne bacheloroppgaven vurdere hvilke fremskritt og oppdagelser som har vært avgjørende for å gjøre semisyntesen av paclitaxel til en effektiv og pålitelig teknologi for produksjon av stoffet. Oppgaven velger å ikke fokusere på farmasøytiske selskaper, regulatoriske myndigheter, forretningspraksis og politikk, men heller fordype seg i endringer innen kjemien over tid.

Teori

Bruk av paclitaxel

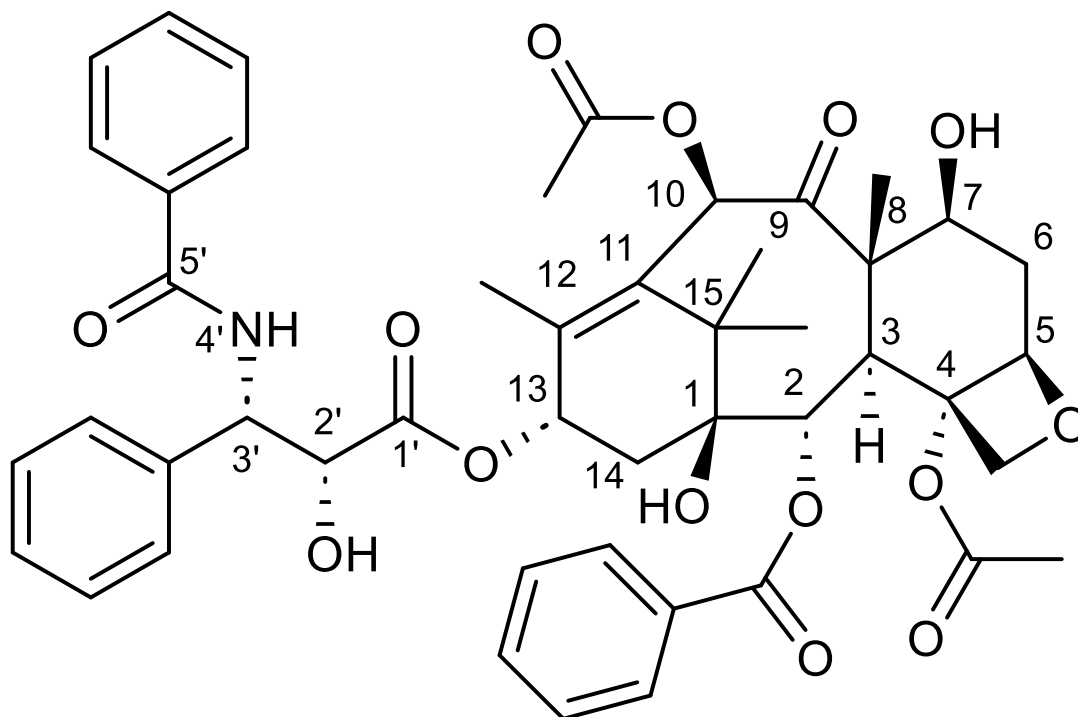
Siden den første godkjenningen av paclitaxel som legemiddel i bruk av behandling av eggstokkreft i 1992 [2], har dette komplekse stoffet blitt undersøkt som mulig behandlingsmiddel for også andre typer kreft og sykdommer. Paclitaxel har i etterkant blitt godkjent til behandling av brystkreft, eggstokkreft, plateepitelkreft i blære, prostata, hode og nakke, samt ikke-småcellet lungekreft, små-cellet lungekreft og AIDS-relatert Kaposi sarcoma [2–4].

Som legemiddel, under navnet Taxol, har stoffet blitt anerkjent som et lovende og viktig antikreft-middel [2,3,9], som med sin unike mekanisme også har åpnet opp for nye måter å behandle kreft på. Paclitaxel hindrer vekst og celledeling av kreftceller ved å påvirke mikrotubuli, nærmere bestemt ved å promotere samlingen av tubulin og hindre demontering [2,4]. Dette gjør at paclitaxel også er undersøkt til behandling av sykdommer utenfor kreft, men som også krever stabilisering av mikrotubuli.

Selv med stor suksess innen medisinske prøver er det største problemet ved bruk av paclitaxel tilgjengeligheten av tilstrekkelige mengder for behandling [3]. Hver kreftpasient trenger 2-3 g med Taxol, mens det bare produseres 2 mg fra hver enkelt voksne plante av stillehavsbarlind [9]. Dermed har det siden stoffet først ble godkjent til medisinsk bruk i 1992 vært konstant leting etter andre måter å dekke behovet på, og semisyntese av paclitaxel er et av de viktigste alternativene per nå.

Strukturen til paclitaxel

Paclitaxel blir gjerne betraktet som et molekyl i to deler; Ringsystemet på 17 karbonatomer, og den komplekse sidekjeden *N*-benzoyl- β -fenylisoserine [4,6]. Det har blitt vist at begge disse delene er nødvendige for den biologiske aktiviteten til molekylet, med noen små unntak der substituenten på enkelte posisjoner kan varieres noe. For enkelhets skyld navnettes ofte karbonatomene som vist i figur 1, for å lettere kunne henviser til spesifikke deler av molekylet. Med denne navnettingen kan man for eksempel si at sidekjeden er koblet på i C13-posisjon, og at sidekjeden har en OH-gruppe i C2'-posisjon.



Figur 1: Strukturen til paclitaxel med nummerering av hovedkjede [6,10].

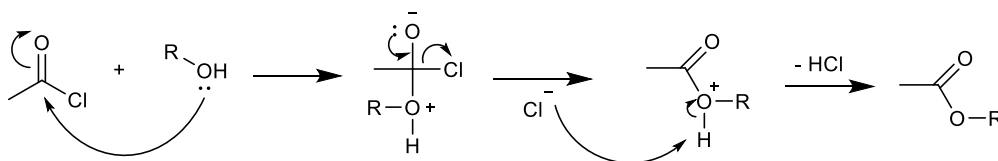
Stereokjemi

Stereokjemi er et viktig felt i kjemi som fokuserer på romlige arrangementer av atomer i molekyler og deres innvirkning på molekylære egenskaper og reaktivitet. Stereokjemien tar for seg forskjellige typer stereoisomerer som oppstår på grunn av forskjellige romlige arrangementer av atomer i et molekyl. Et stereosenter er et atom i et molekyl som er koblet til fire forskjellige grupper eller atomer. Molekyler med et stereosenter kan eksistere i to forskjellige romlige arrangementer kalt stereoisomerer. Stereoisomerer kan klassifiseres som enantiomerer eller diastereomerer. Enantiomerer er stereoisomerer som er speilbilder av hverandre og dermed ikke kan legges over hverandre. Diastereomerer er stereoisomerer som ikke er speilbilder av hverandre og bare delvis kan legges over hverandre. Forholdet mellom mengden av ulike enantiomerer måles i enantiomert overskudd og oppgis i prosent, der 50% er et 1:1 forhold, mens 100% betyr at stoffer bare inneholder én enantiomer [11].

Paclitaxel har 11 stereosentre, og dermed mange stereoisomere. Som nevnt kan ulike stereoisomere ha ulik reaktivitet, og bare én av stereoisomerene til paclitaxel er biologisk aktiv. Strukturen i figur 1 viser den bioaktive stereoisomereren som brukes i kreftbehandling.

Acetylering

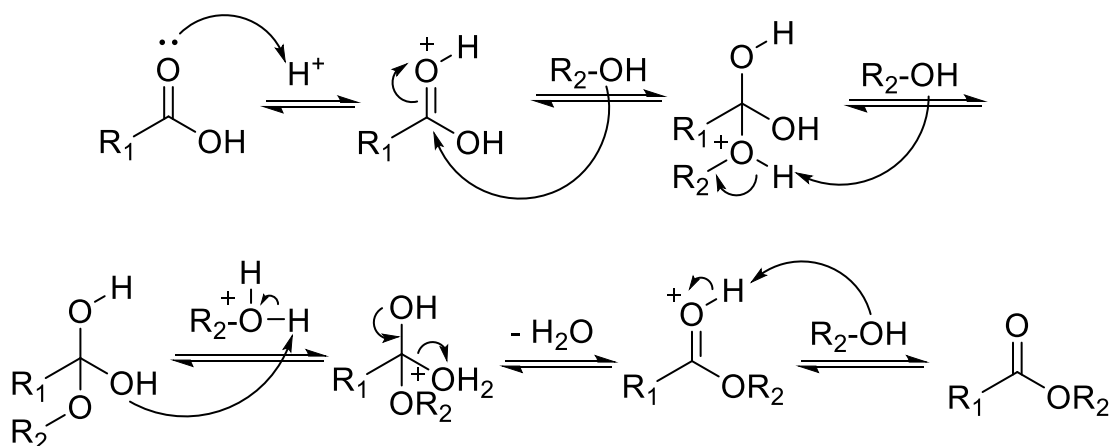
Acetylgrupper, sammensatt av en karbonylgruppe og metylgruppe, er reaktive grupper innenfor organisk kjemi [11]. De anvendes ofte innen legemiddelkjemi, ettersom acetylering kan øke bioaktivitet eller -tilgjengelighet. For eksempel er aspirin en acetykert form av salisylsyre, og heroin er en acetykert form av morfin. Acetyleringsreaksjoner kan utføres ved tilsats av en acetylkilde, eksempelvis acetylklorid eller acetylanhydrid, og katalyseres ved syre eller base. Den generelle mekanismen for acetylering av alkoholer (med acetylklorid) er gitt i skjema 1, og innebærer nukleofilt angrep på karbonylgruppen i acetylen.



Skjema 1: Mekanisme for acetylering av alkoholer [11,12].

Forestring

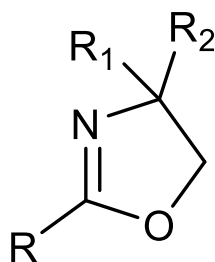
En esterreaksjon er en kjemisk reaksjon mellom en alkohol og en karboksylsyre, eller et derivat av en karboksylsyre, som resulterer i dannelsen av en ester og vann. Reaksjonen kalles ofte en kondensasjonsreaksjon ettersom to molekyler blir koblet sammen med dannelse av et mindre molekyl, her vann, som biprodukt. Mekanismen innebærer protonering av syren, nukleofilt angrep, eliminering av vann, og deprotonering, se skjema 2. Esterreaksjonen kan katalyseres ved tilsats av syre som protonkilde, og er en reversibel reaksjon [11].



Skjema 2: Mekanisme for dannelsen av ester fra en karboksylsyre og en alkohol [11].

Oxazoliner

Oxazoliner er en type heterosyklisk forbindelse som inneholder en fem-leddet ring bestående av ett nitrogenatom og ett oksygenatom. De har ulike typer undergrupper basert på plasseringen av oksygenatomet i ringen, og et 2-oxazolin er vist i figur 2 [13]. Oxazoliner har siden sin introduksjon på 1980-tallet blitt et svært viktig og allsidig verktøy innen organisk syntese. Dette fordi de er enkle å syntetisere og tilpasse, og at de kan modifiseres til å ha ulike stereoselektiviteter og reaktiviteter. En annen fordel med oxazoliner er at de er relativt stabile og derfor kan brukes under en rekke forskjellige reaksjonsbetingelser. De kan brukes i både protiske og aprotiske løsningsmidler og tåler ofte høye temperaturer og trykk [14].

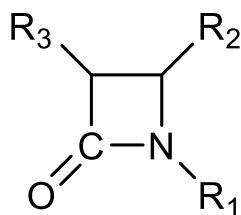


Figur 2: Generell struktur for 2-oxazoliner [13].

Noen av områdene der oxazoliner blir brukt er som kirale ligander for å kontrollere stereokjemi, som kirale katalysatorer for å øke hastigheten og selektiviteten til en rekke reaksjoner [15], og i asymmetrisk hydrogenering av umettede forbindelser. Oxazoliner kan også brukes i en del andre reaksjoner, inkludert Diels-Alder-reaksjoner og andre sykloaddisjoner, eller som utgangsstoffer for syntese av blant annet aminosyrer, peptider og andre biologisk aktive molekyler [13].

β -laktamer

Laktamer er sykliske amider, og β -laktamer er en gruppe organiske forbindelser som inneholder en fireleddet laktamring, dvs. et nitrogenatom i ringstrukturen og med en karbonylgruppe i β -posisjon, se figur 3. Ringen kan også substitueres med ulike R-grupper.



Figur 3: Generell struktur for β -laktamer med substituent [16].

Strukturen til β -laktamer gir dem en rekke unike egenskaper som gjør dem svært nyttige innenfor organisk syntese. Ringspenningen gir en høy grad av reaktivitet, og de brukes derfor ofte som byggesteiner for å produsere mer komplekse molekyler. Den vanligste reaksjonen er ringåpnende reaksjoner, som har blitt brukt til å syntetisere mange ulike stoffer. Blant annet er β -laktamer viktige for syntese av medisinsk aktive stoffer innen antibiotika, og forskning innen kolesterol og kreft [17].

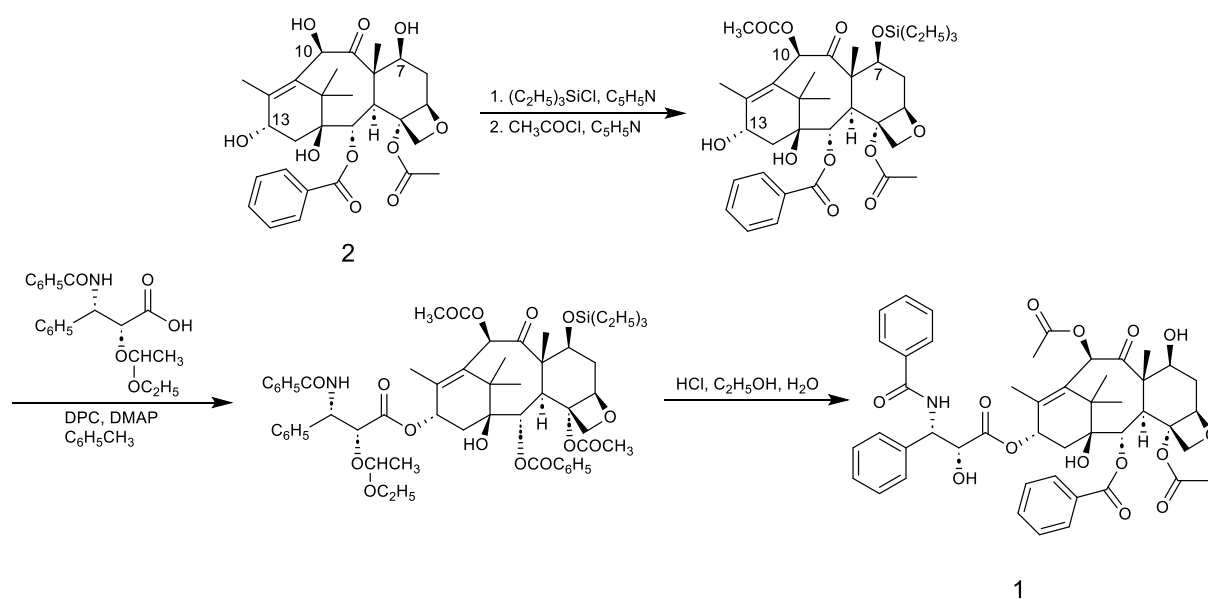
Beskyttelse av funksjonelle grupper

Funksjonelle grupper i organiske molekyler kan være følsomme for uønskede reaksjoner i visse situasjoner, og dermed kan det være nødvendig å beskytte dem for å unngå uønsket reaktivitet eller nedbrytning. En vanlig metode for å beskytte funksjonelle grupper er å lage en beskyttende gruppe som reagerer med funksjonell gruppe for å skape et midlertidig produkt som er mindre reaktivt. Dette midlertidige produktet kan så reageres med andre reaktanter, uten at den beskyttede funksjonelle gruppen vil reagere. Etter at den ønskede reaksjonen har funnet sted, kan beskyttelsesgruppen fjernes fra det midlertidige produktet ved hjelp av passende betingelser, slik at den funksjonelle gruppen gjenoprettes.

Eksempelvis kan man for å beskytte en OH-gruppe, la gruppen først reagere med aldehyd eller keton for å danne en acetal eller ketal. Dette er en reversibel reaksjon og dermed svært egnet til beskyttelse av OH-gruppen. Andre alternativer er esterdannelse og silyleterdannelse, som også er reversible reaksjoner. Det finnes flere forskjellige beskyttelsesgrupper som kan brukes for ulike funksjonelle grupper, og valg av beskyttelsesgruppe avhenger av molekylet som skal beskyttes og den ønskede reaksjonen.

Første semisyntese: Denis *et al.*

Den første semisyntesen av paclitaxel ble rapportert av Denis *et al.* i april 1988 [10], og ble utført med utgangspunkt i 10-deacetylbaccatin III (10-DAB). Dette stoffet har store strukturelle likheter med paclitaxel, spesielt med tanke på ringsystemet, og er dermed et godt egnet utgangsstoff. Semisyntesen omfatter to steg med endringer på ringsystemet, påkobling av sidekjede ved forestring, og fjerning av beskyttelsesgrupper, se skjema 3.



Skjema 3: Semisyntese av paclitaxel (**1**) fra 10-DAB (**2**), basert på Denis *et al.* [10].

Første steg i semisyntesen er trietylsilylering av karbon 7 (C7) ved tilsats av trietylsilylklorid i pyridin. Dette ble gjort ettersom direkte acetylering av 10-DAB førte til acetylering av både C7 og C10, mens det bare er ønskelig med acetylering av C10. Derfor ble C9 først beskyttet på denne måten. Deretter er steg to acetylering av C10 ved tilsats av CH_3COCl slik at et mellomprodukt dannes.

Videre ble det erfart, både ved kalkulasjoner og praktiske forsøk, at den nødvendige forestringen på C13 for å koble på den beskyttede N -benzoyl- β -fenylisoserine sidekjeden var vanskelig å utføre grunnet sterisk hindring og mulighet for stabilisering innad i molekylet. Ingen av de kjente og normalt effektive metodene for forestring av hindrede substrater gav den ønskede koblingen, men etter videre forsøk ble det utviklet ny protokoll og reaksjonsbetingelser som var effektive [10]. Dette gav C2', C7-beskyttet paclitaxel. Fjerning av beskyttelsesgruppene på disse posisjonene viste seg å fint utføres med saltsyre i etanol, hvilket gav paclitaxel med karakteristikk og analyseresultater lik paclitaxel som ekstraheres fra stillehavsbarlind. Denne prosessen, i tillegg til å være et interessant steg mot en totalsyntese, åpnet opp en alternativ måte å anskaffe paclitaxel på til medisinske/kliniske studier om effekten ved og bruken av stoffet i behandling av ulike kreftformer.

Diskusjon

Utvinning av 10-DAB fra plante.

10-Deacetylbaaccatin III (10-DAB) kan ekstraheres i stort utbytte fra bladene til barlind (*Taxus baccata* L). Bladene vokser raskt, noe som gjør at 10-DAB kan skaffes i store mengder og med minimal påvirkning på trærne i et utbytte på rundt 1g/kg, noe som er omtrent 10 ganger større enn mengden paclitaxel som kan isoleres fra barken på stillehavsbarlind [4,6,10]. Dette gjør semisyntese fra 10-DAB til et attraktivt alternativ for å øke produksjonen av paclitaxel, ettersom det er mindre skadelig for stillehavbarlind, som er en saktevoksende plante, og gir mulighet for større utbytte enn ved ren ekstraksjon og isolering av paclitaxel fra naturlige kilder.

Historisk utvikling av semisyntesen til paclitaxel

Etter den første semisyntesen utført av Denis *et al.* og godkjenningen av bruk av paclitaxel fra semisyntese til bruk som medisin, har det blitt gjort flere forsøk på å forbedre semisyntesen og gjøre den mer kommersielt anvendelig. Hovedsakelig er dette blitt gjort ved å forbedre enkeltsteg, eller ved å finne alternativ til eksisterende steg.

Den første registrerte semisyntesen fra 10-DAB fra Denis *et al.* kan oppsummeres i tre hovedtrekk: Klargjøring av paclitaxel-sidekjeden *N*-benzoyl- β -fenylisoserine – om nødvendig i beskyttet form, kobling av sidekjeden til et hensiktsmessig beskyttet derivat av baaccatin III, og fjerning av beskyttelsesgrupper for endelig produkt [10]. Denis *et al.* skriver lite om sidekjeden i sin syntese, men nevner at den må være optisk ren.

I 1994 rapporteres det om en 6-steps syntese av paclitaxel-sidekjeden av Wang *et al.* som går via asymmetrisk dihydroksyleringsreaksjon (AD-reaksjon), og som er utarbeidet med tanke på storskalaproduksjon. Det presenteres en enantioselektiv syntese som sammen med lav pris på reagenser, manglende behov for kromatografisk separasjon, og minimalt med ekstraksjonsprosesser gjør dette til en av de mest praktiske og effektive metodene for produksjon av større mengder enantiomert ren sidekjede [18]. Det totale utbyttet av syntesen etter seks steg var 29%.

Samme år gir også Suffness ut en oversikt over forskning på paclitaxel så langt [5], og vi får et øyeblikksbilde over progresjonen siden 1988. Et forventet poeng er at det allerede er tydelig at stillehavsbarlind ikke er en god nok kilde til paclitaxel, og produksjonen skiftes

derfor allerede mot semisyntese fra 10-DAB, ekstrahert fra europeisk barlind eller himalayabarlind. Suffness gjennomgår det antatt vanskeligste trinnet ved semisyntesen, nemlig påkobling av sidekjeden, og viser til både grunnleggende arbeid fra Denis *et al.* og nyere muligheter ved hjelp av kondenserte sidekjedener som oxazoliner og β -laktamer [5,19]. Bruk av oxazoliner og β -laktamer reduserer den steriske hindringen involvert i syntesetrinnet ved å «binde sammen» sidekjeden og slik gjøre reaksjonssetet mer tilgjengelig for reaksjon på C13. Det har også kommet et stort fremskritt ved at det er oppnådd spesifikk aktivering av hydroksylgruppen på C13 ved bruk av metaller til å danne et reaktivt anion som reagerer enda bedre med de kondenserte sidekjedevariantene. I følge Suffness bidrar denne kombinasjonen av nye metoder til en høyst effektiv semisyntese av paclitaxel fra 10-DAB [5].

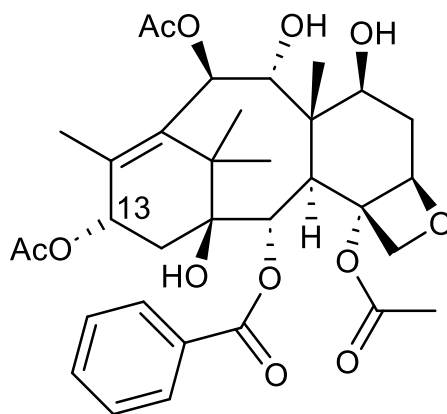
Likevel er det interessant å se at Suffness påstår at lite grunnleggende forskning gjenstår innenfor semisyntesen av paclitaxel, og at resterende forbedring og bruk av prosessen vil komme fra økt utbytte og produksjon av 10-DAB, da ved utforskning av ulike biologiske kilder. Generelt har også Suffness mer fokus på biologiske kilder og fremskritt, og viser til flere interessante muligheter og pågående forskning, men som per 1994 ikke er egnet for storskalaproduksjon.

Allerede i 1997 kommer det ny og viktig forskning fra Gennari *et al.* som undersøker alternative ruter for å lage derivater av fenylisoserine, derunder paclitaxels sidekjede, og prosedyrer for kobling av den nødvendige C13 sidekjeden til baccatin III-kjernen. Spesielt letes det etter prosedyrer som kan tilpasses til kommersiell produksjon, ettersom semisyntese nå er en av hovedkildene til paclitaxel. Når det gjelder sidekjeden presenteres det en ett-stegs syntese med riktig stereokjemi, og med vesentlig forbedring av rensing, i dette tilfellet fra bruk av blant annet hydrogenperoksid over til enkel vask med eter, og praktisk ekstraksjon uten behov for kromatografi. Totalt utbytte rapporteres til 60%, med enantiomert overskudd på over 96%. Også andre varianter med tilsvarende gode resultater blir presentert [20]. Dette er med på å fjerne steg, som dermed begrenser mengden avfall og gjør prosessen billigere og grønnere.

Det andre viktige Gennari *et al.* oppnår er å finne en ny måte å koble sammen baccatin-kjernen og sidekjeden på. Det brukes en tioester oxazoline som sidekjede, som kobles direkte på baccatin-kjernen ved bruk av litiumamid som reagens for å aktivere C13-posisjonen for kobling. Dette gav beskyttet form av paclitaxel i høyt utbytte, før beskyttelsesgruppene ble fjernet ved hydrolyse til paclitaxel i 80% totalt utbytte [20]. En slik økning av utbytte er med

på å gjøre kommersiell produksjon mer lønnsomt, og har potensiale til å gjøre legemiddelet billigere.

I 2006 presenterer Dubois en oversikt over utvikling av paclitaxel, dens analog docetaxel og mulighetene for andre analoger. Etter hvert som semisyntesen har blitt godt nok utviklet har det kommet til kunnskap om hvordan koble til ulike sidekjedder på baccatin-kjernen, og dermed muligheten til å oppdage og teste nye analoger. Ut fra semisyntesen som Dubois legger frem er det tydelig at de overordnede prosessene fortsatt er de samme; Beskyttelse av C7, acetylering av C10, forestring med sidekjeden på C13, og fjerning av beskyttelsesgrupper [21]. Det som derimot har endret seg på de nesten 20 årene syntesen har eksistert, er hvordan hvert steg gjøres. Her har det kommet mange ulike modifikasjoner og forbedringer på hvert trinn. Det henvises også til fire patenter som rapporterer bruk av 9-dihydro-13-acetylbaccatin III (9DHB), se figur 4, som utgangspunkt for ringsystemet heller enn 10-DAB, men ellers er prosessen relativt lik med beskyttelse av grupper, oksidering og deacetylering (aktivering av C13-posisjon), addisjon av sidekjede ved β -laktam og fjerning av beskyttelsesgrupper [21]. Dette nye utgangsstoffet bidrar mest til å åpne mulighetene for større produksjon, ettersom det nå er mer brukbar biomasse tilgjengelig. Samtidig viser dette at det er mulig å finne andre utgangsstoffer som også kan være nyttige i semisyntesen av paclitaxel, noe som kan ha vekket interessen for å lete etter bedre startmaterialer enn 10-DAB.

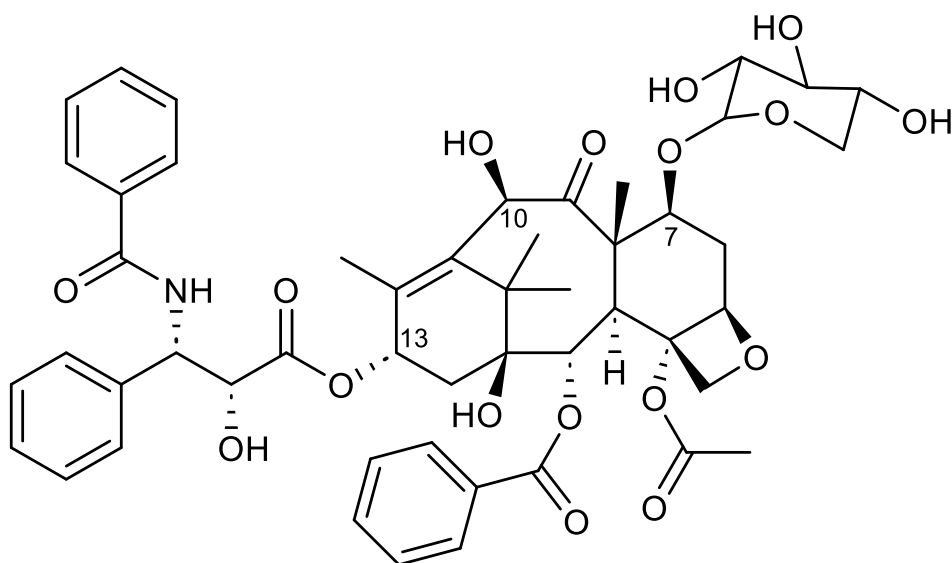


Figur 4: Strukturformel til 9-dihydro-13-acetylbaccatin III (9DHB).

Ti år senere er semisyntese av paclitaxel fra 10-DAB en av hovedkildene til kommersiell bruk av paclitaxel [4]. Det har kommet til noen få nye varianter av de samme stegene, men lite banebrytende. Liu *et al.* velger likevel å trekke frem én spesifikk metode som den beste, på bakgrunn av korthet og effektivitet: Dannelse av sidekjede som β -laktam via Sharpless

asymmetrisk dihydroksylering, beskyttelse av sidekjede, kobling til 10-DAB etter aktivering av C13, og fjerning av beskyttelsesgrupper til ferdig paclitaxel [4]. Denne metoden bruker få steg og kjemikalier, og virker til å være en av de grønnere semisyntesene av paclitaxel per 2016.

Noe nytt er derimot en gjennomført semisyntese fra 7- β -xylosyl-10-deacetyltaxol (XDT), se figur 5. XDT kan utvinnes fra tørket bark fra barlindtreet i opp mot 0,5%, hvilket er fem ganger så høyt utbytte som 10-DAB [4]. Ved fjerning av xylosyl på C7 ved hydrolyse, kan den resulterende 10-deacetyltaxol (DT) brukes til semisyntese av paclitaxel ved beskyttelse av C7, acetylering på C10, og fjerning av beskyttelsesgruppe på C7. Sammenlignet med semisyntese fra 10-DAB er det enklere å lage paclitaxel fra DT ettersom den allerede har en C13 sidekjede [4], men for å kunne bruke dette kommersielt må det først lages en effektiv reaksjon som omdanner XDT til DT. Her er det mulig at biologiske enzymatiske prosesser kan gjøre omdannelsen mer miljøvennlig enn en ren kjemisk prosess.



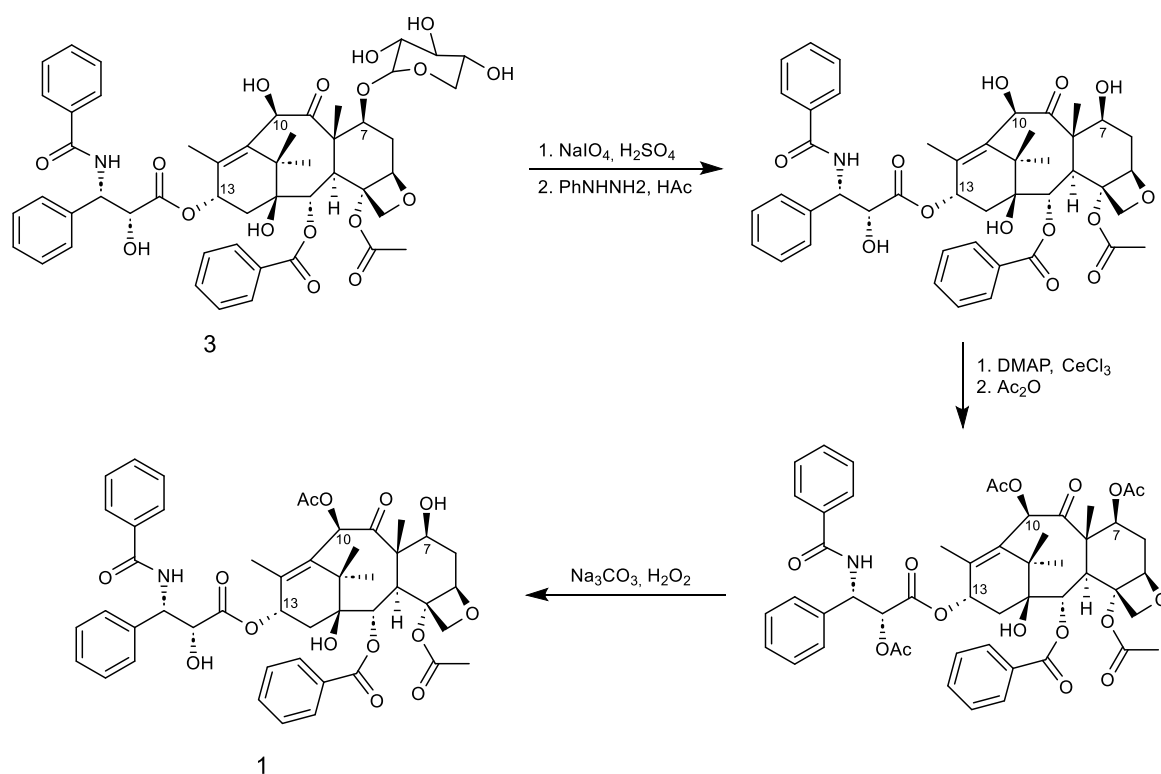
Figur 5: Strukturformel til 7- β -xylosyl-10-deacetyltaxol (XDT).

Det kan nevnes at Liu *et al.* velger å fokusere mest på biologiske muligheter som *Taxus* cellekulturer, eller å modifisere andre arter som produserer paclitaxel i små mengder til å ha større utbytte. Det virker som om mulighetene er rike for forbedring på denne fronten, og at det kanskje er her fremtiden til paclitaxel-produksjon ligger.

Zhu & Chen i 2019, og Sabzehari *et al.* i 2020, oppsummerer en del av de ulike verktøyene og metodene som kan velges i semisyntesen fra 10-DAB til paclitaxel: Asymmetrisk

epoksidering, asymmetrisk dihydroksylering, kiral hjelpestrategi, Diels-Alder reaksjon eller enol imin-kondensasjon [9,22]. Dette viser litt av bredden av ulike metoder som har blitt undersøkt, og som fungerer. De viser også til at denne semisyntesen er en av de viktigste metodene for kommersielt supplement av paclitaxel, men Sabzehari *et al.* fortsetter med at kjemisk syntese, både fullstendig og semisyntese, av paclitaxel ikke er praktisk nok enda på grunn av stoffets komplekse molekylærstruktur, syntesens mange steg og vanskelige reaksjonsforhold, mye giftig avfall som dannes i prosessen, samt høy produksjonspris [9]. Noen «perfekt» semisyntese eller produksjonsmåte er altså ikke funnet enda, men kommersielt anvendes semisyntese som den «mest optimale» metoden for produksjon gitt nåværende kunnskap og behov for paclitaxel.

Men i 2020 kommer Xue *et al.* med en ny semisyntese, se skjema 4. Denne tar utgangspunkt i 10-deacetyl-7-xylosyltaxaner, og bruker bare tre steg på å danne paclitaxel: Redoks-reaksjon, acetylering og deacetylering [23].



Skjema 4: Semisyntese av paclitaxel (1) fra et 10-deacetyl-7-xylosyltaxan (3), basert på Xue *et al.* [23].

Denne semisyntesen har samme fordel som syntese fra DT, nemlig at utgangsstoffet allerede inneholder C13 sidekjeden, som er dyr å lage selv. Dermed bruker denne semisyntesen færre

trinn og kjemikalier, og er dermed også billigere å utføre. I tillegg rapporteres det om økt utbytte, og mulighet til å omdanne biprodukter videre til nyttige analoger av paclitaxel. Denne prosessen øker også mengden biomasse som kan brukes til produksjon av paclitaxel [23]. Igjen viser det seg altså at semisyntese ikke er et fullstendig utforsket alternativ, men at det kan dukke opp nye oppdagelser som forbedrer eller utfordrer kjent kunnskap.

Yang *et al.* oppsummerer fint fordelene og ulempene med semisyntese som metode for å anskaffe paclitaxel. Fordeler er rike råmaterialer, lett ekstraksjon og store fornybare ressurser, høyt utbytte, fleksibel strukturell rekonstruksjon, og at prosessen er passende og mulig å gjennomføre for industrialisert produksjon. Ulempen er at syntesen er relativt komplisert og inkluderer mange trinn. Den industrielle semisyntesen fra 10-DAB har for eksempel 11 kjemiske omdannelsestrinn og 7 separasjonstrinn [1].

Forskning på produksjon av paclitaxel er på ingen måte over. Det kommer stadig nye metoder som enten forbedrer allerede eksisterende steg, eller som finner helt nye veier. I en artikkel om katalyserte multikomponentreaksjoner skriver Li *et al.* at semisyntese av paclitaxel og lignende analoger er nærliggende applikasjoner for metoden de forteller om. De har også gjennomført syntesen selv [24]. Senest i februar 2023 skriver Shi *et al.* om hvordan en lignende metode kan brukes til å produsere paclitaxel på en miljøvennlig måte. Metoden er en videreføring av 10-DAB syntesen, der en baccatin-kjerne, som 10-DAB, kobles på en C13 sidekjede i form av eksempelvis β -laktam, fenylisoserine, eller karboksylsyre av oxazolidine eller oxazoline [25].

Hvordan kan så semisyntesen forbedres i fremtiden? Ut fra prinsippene om grønn kjemi bør videre forskning fokusere på å forbedre atomøkonomi og utbytte – spesielt innen kommersiell masseproduksjon, om det er mulig å bruke mindre helsefarlige kjemikalier, og i hvilken grad skadelige eller forurensende biprodukter og avfall kan unngås. Som vist har det skjedd store fremskritt innenfor disse områdene allerede, eksempelvis at semisyntese fra 10-deacetyl-7-xylosyltaxaner gir biprodukter som kan videre bearbeides til nyttige analoger av paclitaxel [23] og dermed ikke blir kastet som farlig avfall. Det blir også spennende å se om kilder til 10-DAB og andre utgangsstoffer kommer til å holde tritt med den økende forespørselen av paclitaxel. Per nå er disse fornybare, men ved større forbruk og produksjon kan det bli behov for vurderinger rundt overhøsting av ressurser fra barlind og ande planter. Her er det mulig at fremskritt på den biologiske fronten kan være til hjelp [4,5,9].

Konklusjon

Produksjon av paclitaxel er et viktig tema innen medisinsk kjemi. Helt siden stoffets aktivitet ble oppdaget, har det vært utført forskning på hvordan stoffet fungerer og hvordan produsere stoffet i store nok mengder. Originalkilden, ekstraksjon fra barken på stillehavsbarlind, er ikke en bærekraftig kilde og gir for lavt utbytte. Derfor har forskningen gått mot blant annet semisyntese av paclitaxel.

Den første semisyntesen av paclitaxel baserte seg på 10-deacetylbaccatin III (10-DAB) som utgangsstoff grunnet likheten i ringstrukturene. Denne syntesen gikk ut på å beskytte C7-posisjonen til 10-DAB, etterfulgt av acetylering av C10, før beskyttet sidekjede *N*-benzoyl- β -fenylisoserine ble koblet på C13 ved forestringsreaksjon. Disse stegene har stort sett gått igjen gjennom hele semisyntesens historie, med forbedringer rundt utbytte og atomøkonomi heller enn total endring av syntesen. Likevel er det noen unntak, eksempelvis har enkelte rapportert at beskyttelse av C7 og acetylering av C10 kan gjøres omtrent samtidig, noe som sparer tid og begrenser avfall.

Størst forbedring innen paclitaxelsyntese fra 10-DAB er innen produksjon av sidekjeden. Utvikling av nye reaksjonstyper og ulike stereoselektive prosedyrer som gjør at sidekjeden kan produseres enantiomert rent, har gjort at det totale utbyttet fra syntesen øker, og at mengden avfall minker. Det har også blitt gjort store fremskritt innenfor forestringstrinnet der sidekjeden kobles på C13 posisjon på 10-DAB.

De største forbedringene innen semisyntese av paclitaxel har kommet fra andre kanter enn 10-DAB. Det har i nyere tid dukket opp semisynteser som baserer seg på andre utgangsstoffer, som 9DHB, XDT/DT og 10-deacetyl-7-xylosyltaxaner. I tillegg til å åpne opp for flere muligheter i valg av utgangsstoff, er spesielt DT og 10-deacetyl-7-xylosyltaxaner veldig lovende synteseveier. Dette fordi disse stoffene allerede har en sidekjede som er tilnærmet lik den nødvendige sidekjeden i paclitaxel. Dermed er det mulig å spare mye kjemikalier, avfall og tid ved å slippe å produsere sidekjeden fra bunnen av, som må gjøres i semisyntese fra 10-DAB. Samtidig er det også tegn til at nye synteseforbedringer er på vei, og det er fortsatt mye å gå på når det gjelder effektivitet og praktisk utførelse.

Referanser

- [1] Y.-H. Yang, J.-W. Mao, X.-L. Tan, Research progress on the source, production, and anti-cancer mechanisms of paclitaxel, *Chin. J. Nat. Medicines*. 18 (2020) 890–897. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(20\)60032-2](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(20)60032-2).
- [2] N.H. Oberlies, D.J. Kroll, Camptothecin and Taxol: Historic Achievements in Natural Products Research, *J. Nat. Prod.* 67 (2004) 129–135. <https://doi.org/10.1021/np030498t>.
- [3] R. Pazdur, A.P. Kudelka, J.J. Kavanagh, P.R. Cohen, M.N. Raber, The taxoids: paclitaxel (Taxol®) and docetaxel (Taxotere®), *Cancer Treat Rev.* 19 (1993) 351–386. [https://doi.org/10.1016/0305-7372\(93\)90010-O](https://doi.org/10.1016/0305-7372(93)90010-O).
- [4] W. C. Liu, T. Gong, P. Zhu, Advances in exploring alternative Taxol sources, *RSC Advances*. 6 (2016) 48800–48809. <https://doi.org/10.1039/C6RA06640B>.
- [5] M. Suffness, Overview of Paclitaxel Research, in: *Taxane Anticancer Agents*, Am Chemical Society, 1994: pp. 1–17. <https://doi.org/10.1021/bk-1995-0583.ch001>.
- [6] E. Baloglu, D.G.I. Kingston, A New Semisynthesis of Paclitaxel from Baccatin III, *J. Nat. Prod.* 62 (1999) 1068–1071. <https://doi.org/10.1021/np990040k>.
- [7] R.A. Holton, C. Somoza, H.B. Kim, F. Liang, R.J. Biediger, P.D. Boatman, M. Shindo, C.C. Smith, S. Kim, First total synthesis of taxol. 1. Functionalization of the B ring, *J. Am. Chem. Soc.* 116 (1994) 1597–1598. <https://doi.org/10.1021/ja00083a066>.
- [8] R.A. Holton, H.B. Kim, C. Somoza, F. Liang, R.J. Biediger, P.D. Boatman, M. Shindo, C.C. Smith, S. Kim, First total synthesis of taxol. 2. Completion of the C and D rings, *J. Am. Chem. Soc.* 116 (1994) 1599–1600. <https://doi.org/10.1021/ja00083a067>.
- [9] M. Sabzehzari, M. Zeinali, M.R. Naghavi, Alternative sources and metabolic engineering of Taxol: Advances and future perspectives, *Biotechnol Adv.* 43 (2020) 107569. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107569>.
- [10] J.Noel. Denis, A.E. Greene, Daniel. Guenard, Francoise. Gueritte-Voegelein, Lydie. Mangatal, Pierre. Potier, Highly efficient, practical approach to natural taxol, *J. Am. Chem. Soc.* 110 (1988) 5917–5919. <https://doi.org/10.1021/ja00225a063>.
- [11] T.W.G. Solomons, C.B. Fryhle, S.A. Snyder, *Solomons' organic Chemistry*, Global ed., John Wiley & Sons, Hoboken, 2017.
- [12] P.Y. Bruice, *Essential Organic Chemistry*, International ed., Pearson Educational, Upper Saddle River, N.J, 2006.
- [13] A. Rauf, N.N. Farshori, Oxazolines, in: A. Rauf, N.N. Farshori (Eds.), *Microwave-Induced Synthesis of Aromatic Heterocycles*, Springer Netherlands, Dordrecht, 2012: pp. 21–24. https://doi.org/10.1007/978-94-007-1485-4_4.
- [14] F.M. Cordero, D. Giomi, L. Lascialfari, Chapter 5.7 - Five-Membered Ring Systems With O and N Atoms, in: G.W. Gribble, J.A. Joule (Eds.), *Progress in Heterocyclic Chemistry*, Elsevier, 2017: pp. 353–382. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102310-5.00011-4>.
- [15] J.J. Li, ed., *Meyers oxazoline method*, in: *Name Reactions: A Collection of Detailed Reaction Mechanisms*, Springer, Berlin, Heidelberg, 2006: pp. 378–379. https://doi.org/10.1007/3-540-30031-7_169.
- [16] A. Saini, R. Bansal, Insights on the structural characteristics of NDM-1: The journey so far, *Advances in Biological Chemistry*. 2 (2012) 323–334. <https://doi.org/10.4236/abc.2012.24040>.
- [17] A. Kamath, I. Ojima, Advances in the chemistry of β -lactam and its medicinal applications, *Tetrahedron*. 68 (2012) 10640–10664. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2012.07.090>.

- [18] Z.-M. Wang, H.C. Kolb, K.B. Sharpless, Large-Scale and Highly Enantioselective Synthesis of the Taxol C-13 Side Chain through Asymmetric Dihydroxylation, *J. Org. Chem.* 59 (1994) 5104–5105. <https://doi.org/10.1021/jo00096a072>.
- [19] R.A. Holton, Method for preparation of taxol | DigiNole, 5336785, 1994. <https://diginole.lib.fsu.edu/islandora/object/fsu:565503> (accessed March 9, 2023).
- [20] C. Gennari, M. Carcano, M. Donghi, N. Mongelli, E. Vanotti, A. Vulpetti, Taxol Semisynthesis: A Highly Enantio- and Diastereoselective Synthesis of the Side Chain and a New Method for Ester Formation at C-13 Using Thioesters, *J. Org. Chem.* 62 (1997) 4746–4755. <https://doi.org/10.1021/jo9703212>.
- [21] J. Dubois, Recent progress in the development of docetaxel and paclitaxel analogues, *Expert Opin. Ther. Pat.* 16 (2006) 1481–1496. <https://doi.org/10.1517/13543776.16.11.1481>.
- [22] L. Zhu, L. Chen, Progress in research on paclitaxel and tumor immunotherapy, *Cell. Mol. Biol. Lett.* 24 (2019) 40. <https://doi.org/10.1186/s11658-019-0164-y>.
- [23] B. Xue, J. Zhao, Y. Fan, S. Chen, W. Li, J. Chen, Z. Li, H. Wang, H. Kong, Synthesis of Taxol and Docetaxel by Using 10-Deacetyl-7-xylosyltaxanes, *Chem. Biodivers.* 17 (2020) e1900631. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201900631>.
- [24] X. Li, Y. Li, J. Shu, X. Fu, L. Wu, T. Shi, W. Hu, Rh₂(Ph₃COO)₃(OAc)/Chiral Phosphoric Acid Cocatalyzed N-Alkyl Imines-Involved Multicomponent Reactions Yielding N-(Anthracen-9-ylmethyl) Isoserines as Drug Intermediates, *Org. Lett.* 24 (2022) 8633–8638. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.2c03368>.
- [25] T. Shi, X. Li, Y. Li, X. Fu, L. Wu, D. Wu, W. Hu, An asymmetric catalytic multi-component reaction enabled the green synthesis of isoserine derivatives and semi-synthesis of paclitaxel, *Green Synthesis and Catalysis.* 4 (2023) 58–63. <https://doi.org/10.1016/j.gresc.2022.05.008>.

