

Arlene G. Corrêa

Departamento de Química - Universidade Federal de São Carlos - CP 676 - 13565-905 - São Carlos - SP

Recebido em 9/12/94; aceito em 2/3/95

Taxol, a natural product obtainable in only low yield from yew bark, is a very exciting antileukemic and tumor-inhibiting agent. This review summarizes the discovery, development, clinical status, structure-activity relationships and approaches to the synthesis of the taxol.

Keywords: taxol; taxotere; anticancer agent.

INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade, o homem vem utilizando as propriedades medicinais de produtos naturais para o tratamento de doenças. Os chineses, mil anos atrás, e mais tarde os egípcios e depois os gregos e romanos tratavam certas infecções com extratos vegetais, dos quais não conheciam a composição. No século vinte, o progresso científico considerável permitiu o estudo sistemático de um grande número de plantas e a identificação dos compostos que apresentam atividades farmacológicas. Hoje, os produtos naturais formam a base dos terapêuticos. A medicina alopática utiliza aproximadamente 119 drogas, com estruturas definidas, que são extraídas de cerca de 90 espécies de plantas superiores. No entanto, existem cerca de 250.000 espécies de plantas superiores e somente 10% delas já foram estudadas com a finalidade de verificar suas atividades biológicas, o que permite deduzir que muitas substâncias com atividade medicinal podem ainda ser isoladas¹.

O câncer constitui a segunda maior causa de morte para o homem. Nos países industrializados, uma pessoa em quatro sofre de câncer e uma em cinco morre desta doença². Por outro lado, apenas 3% dos investimentos da indústria farmacêutica provém da comercialização de substâncias antitumorais. A etiologia do câncer é múltipla, mas grandes progressos foram feitos nos últimos tempos no entendimento desta doença com a descoberta dos oncogenes. Estas descobertas têm levado a uma linha de tratamento mais racional do câncer³.

OS COMPOSTOS ANTICANCERÍGENOS

No momento os tratamentos disponíveis para o câncer são: cirurgia, radioterapia e quimioterapia. A imunoterapia seria a melhor solução, porém as pesquisas nesta área estão ainda muito no início.

A quimioterapia baseia-se principalmente em produtos naturais ou derivados (Fig. 1) e são classificados de acordo com seu modo de ação em³:

- agentes alquilantes: alquilam vários centros biológicos essenciais (ácidos nucleicos, por ex.) Ex: ciclofosfamida, derivados de platina;
- agentes intercalantes: se intercalam entre os pares de bases de ácidos nucleicos (DNA, por ex.). Ex: elipticina (1), adriamicina, derivados de platina e bleomicina;
- antimetabólicos: comportam-se como armadilhas frente a processos metabólicos. Ex: metotrexato, fluoro-uracila;
- antimitóticos: inibem o fuso mitótico, prevenindo a formação dos microtúbulos, ex: colchicina, vimblastina (2); ou impedem a despolimerização dos microtúbulos, ex: taxol (3), durante a divisão celular.

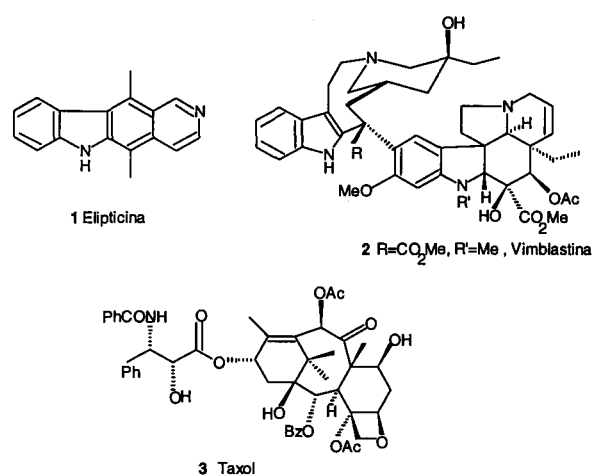


Figura 1. Exemplos de substâncias anticancerígenas que apresentam diferentes modos de ação.

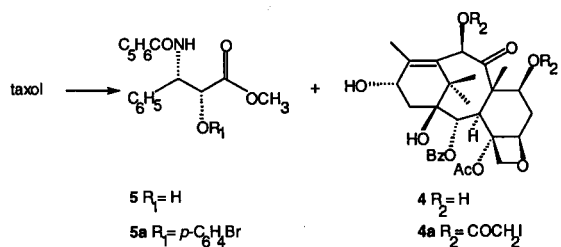
ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DO TAXOL

O teixo, planta da família Taxaceae, é conhecido desde a antiguidade por suas propriedades medicinais variadas (cardiotônico, expectorante, anti-espasmódico, etc). Estas atividades biológicas despertaram o interesse de cientistas e resultaram na descoberta de mais de sessenta compostos, pertencentes ao grupo dos diterpenos taxanos, que foram isolados das raízes, caules e folhas de diversas espécies de *Taxus*⁴.

No começo dos anos 60, o "National Cancer Institute" (NCI) dos Estados Unidos iniciou um programa intensivo para a descoberta de novas drogas anticancerígenas, através do estudo de plantas superiores. Em 1962 amostras de teixo (*Taxus brevifolia* Nutt) foram coletadas nas florestas do estado de Oregon e enviadas ao NCI para estudos e dois anos mais tarde, constataram as atividades citotóxicas de seus extratos. Em 1966 Wall e col., guiados por testes sobre células KB e sistemas leucêmicos, isolaram o componente bioativo de *T. brevifolia*, em 0,2% a partir de extratos da casca seca⁵, o qual foi denominado taxol. Posteriormente ele foi também isolado de várias outras espécies de *Taxus*^{5,7,8}.

A fórmula molecular do taxol (3) foi determinada como sendo $C_{47}H_{51}NO_{14}$ e a análise por espectrometria de RMN ¹H mostrou que se tratava de um diterpeno da classe dos taxanos. A confirmação estrutural foi feita através da difração de raios-X de seus produtos de degradação (os cristais de derivados

halogenados do taxol não foram apropriados para análise de raio-X⁶. A metanólise do taxol conduz, entre outros produtos à desacetil-10-baccatina III (4) e ao éster metílico da cadeia lateral (2R,3S)-3-N-benzoil-3-fenilissorina (5). Os derivados *p*-bromobenzoato 5a da cadeia lateral e o bis-iodoacetato 4a foram analisados por difração de raio-X⁶ (Esquema 1).



Esquema 1. Derivados sintéticos do taxol que foram analisados por difração de raio-X.

ATIVIDADE BIOLÓGICA DO TAXOL

As células de cada órgão do corpo humano têm seu ciclo de vida característico. Algumas das aproximadamente 10^{13} células, como os neurônios, são incapazes de se replicar e existem em um estado denominado diferenciação terminal. Células de outros tecidos passam a maior parte do tempo em um estado não proliferativo, o qual está fora do ciclo celular. Estas células se replicam em diferentes velocidades: células dos músculos se replicam menos que uma vez por ano, as do fígado aproximadamente uma vez por ano e as da parede dos intestinos duas vezes por dia⁹. A replicação celular é dirigida por um autocontrole da densidade populacional de cada sistema. O câncer é uma doença caracterizada pela proliferação irregular das células. As células cancerosas fogem do controle de densidade populacional e continuam a se replicar¹⁰.

AÇÃO SOBRE OS MICROTÚBULOS

Em 1979, Horwitz e col. demonstraram que o taxol atua como um agente antimitótico, através de sua ação sobre o equilíbrio tubulina-microtúbulos¹¹.

Os microtúbulos desempenham muitas funções na biologia celular. Eles dão forma às células¹², direcionam materiais nas células¹³, funcionam como unidades estruturais e móveis nos cílios e flagelos eucarióticos. Os microtúbulos são absolutamente necessários para a divisão celular, processo no qual eles têm um papel fundamental.

Os microtúbulos são estruturas de fibras cilíndricas constituídas de duas sub-unidades, α - e β -tubulina. Estas são proteínas estruturalmente semelhantes, contendo aproximadamente 440 aminoácidos e peso molecular de 50kD cada¹⁴. O dímero tubulina liga-se a duas moléculas de guanosina 5'-trifosfato (GTP), um evento envolvido na polimerização dos microtúbulos. A polimerização e a despolimerização dos microtúbulos são, em parte, regulados pela proteína de associação dos microtúbulos (MAPs)¹⁵. Um microtúbulo normal é composto por 13 protofilamentos e tem um diâmetro de aproximadamente 24nm.

Em geral, eles não são estruturas estáticas. Depois de um certo período de crescimento, o microtúbulo e a tubulina livre irão atingir concentrações relativas correspondentes a um equilíbrio constante. Neste ponto, denominado concentração crítica, polimerização e crescimento estão precariamente balanceados¹⁶. Quando a concentração relativa de tubulina está baixa, a polimerização espontânea não ocorre. O taxol tem a capacidade de promover a associação dos microtúbulos tanto na presença ou na ausência de GTP, MAPs e magnésio^{17,18}. No en-

tanto, os microtúbulos formados na presença do taxol são resistentes à despolimerização por resfriamento e por íons cálcio (condições que despolimerizam o agrupado MAP-microtúbulo) e frequentemente apresentam estruturas anormais.

AÇÃO SOBRE O CICLO CELULAR

Quando a célula é induzida a entrar no ciclo celular, encontra-se na interfase, onde DNA, histonas e os centros de organização de microtúbulos (C.O.M.) são duplicados¹⁹. Durante a divisão mitótica, a célula passa por várias fases. Na primeira, a prófase, as cromatinas duplicadas se condensam em cromossomos, compostos de duas cromátides irmãs idênticas. Esta condensação é acompanhada pela quebra dos citoesqueletos levando a tubulinas livres, surgindo assim o fuso mitótico nos polos da célula. O fuso mitótico se forma a partir dos microtúbulos reunidos ao redor dos C.O.M.s²⁰. A prófase é seguida pela metáfase, onde os cromossomos se dirigem para o equador do fuso²¹. A divisão celular entra então rapidamente na anáfase, onde as cromátides irmãs são separadas, cada uma contendo uma cópia da mensagem genética do cromossomo²². Finalmente a célula entra na telófase, durante a qual as cromátides chegam nos polos do fuso, formam-se membranas nucleares, os cromossomos se alargam e começam as divisões citoplasmáticas. A células filhas separadas continuam a crescer e sintetizar novas proteínas, entrando a seguir na fase de repouso ou novamente no ciclo celular.

Os estudos de Horwitz e col. em cultura de células *in vitro*, mostraram que o taxol impede a transição da célula da interfase para a mitose²³. Morfológicamente estas células exibem um feixe de microtúbulos e não um fuso mitótico. Estes estudos foram ampliados por outros grupos, que descobriram que o taxol afeta os microtúbulos em todas as fases do ciclo celular. As células que são bloqueadas na mitose exibem microtúbulos deformados, que não se organizam ao redor dos C.O.M.s e são formados irreversivelmente²⁴. Em outras fases do ciclo celular, taxol causa a formação de um feixe de microtúbulos geralmente irreversível²⁵. O claro efeito deste fenômeno é o sequestro da tubulina em uma estrutura estável. A resultante ausência de tubulina livre previne a formação de um fuso mitótico normal. Pode ser que as células cancerosas não detectem a ausência do fuso e tentem continuar o ciclo celular, levando à morte da célula.

Outros processos celulares vitais, que dependem dos microtúbulos, também são impedidos ou perturbados pelo taxol^{26,27}. Tem-se verificado ainda sua implicação com o distúrbio de processos celulares que não são diretamente ligados com a divisão celular²⁸. Estudos enfocando a atividade biológica do taxol sobre os microtúbulos e consequentemente sobre o ciclo celular continuam sob intensa investigação²⁹.

APLICAÇÕES CLÍNICAS

Devido à alta atividade antitumoral do taxol sobre o melanoma B16, ele foi selecionado em 1977 como um candidato a aplicação clínica. Resultados dos testes clínicos em fase II, conduzidos durante 1989-1992 demonstraram sua alta atividade contra câncer de ovário³⁰. Em julho de 1992 a Bristol-Myers Squibb registrou esta aplicação terapêutica ("New Drugs Applications" - NDA) do taxol (paclitaxel), que foi aprovada em tempo recorde, pela "Food and Drug Administration" (FDA) nos Estados Unidos, em dezembro de 1992.

Estudos clínicos recentes mostraram que o taxol pode ser um efetivo agente quimioterápico para o tratamento de câncer da mama³¹, de pulmão^{32,33}, do cérebro e da garganta³⁴. Outros testes clínicos estão atualmente sendo desenvolvidos para avaliar plenamente as possibilidades de tratamento de outras formas de câncer e a combinação com outros agentes quimioterápicos^{35,36}.

FORMULAÇÃO

O taxol tem uma solubilidade muito baixa em água ($<5 \times 10^{-6}$ M). Várias formulações foram investigadas, incluindo soluções, emulsões, micelas e preparações surfactantes³⁵. A formulação utilizada no momento, para a aplicação injetável, contém 30mg de taxol em ampola de 5mL com 50% de Cremophor EL (óleo castor polietoxilado) e 50% de álcool. A concentração de Cremophor EL é consideravelmente maior do que as utilizadas em outros produtos comerciais. É sabido que Cremophor EL causa liberação de histamina e reações alérgicas³⁷. Novas formulações estão sendo testadas, por exemplo, utilizando-se ácido cítrico para ajustar o pH, juntamente com os outros componentes acima citados³⁸, e ainda outros componentes que possam minimizar a toxicidade do Cremophor³⁹.

TOXICOLOGIA

A toxicidade do taxol foi avaliada em ratos Sprague-Dawley, via intraperitoneal, tanto com uma única dose, como em doses diárias durante cinco dias consecutivos. A LD₅₀ foi de 206mg/m² em doses simples e 51mg/m²/dia na escala de cinco dias. A mesma administração de cinco dias em camundongos CD2F₁ mostrou uma LD₅₀ de 82mg/m²/dia⁴⁰. A toxicidade também foi avaliada em cães via administração intravenosa e constatou-se efeitos hematopoiético, gastrointestinal, linfático e no sistema reprodutivo⁴⁰. Estes dados sugerem que a mielossupressão poderá ser a dose de toxicidade limitante (DLT) em ensaio humanos.

RELAÇÃO ESTRUTURA-ATIVIDADE

A relação estrutura-atividade biológica do taxol tem sido intensamente estudada nos últimos anos com a finalidade de se identificar seu farmacoforo e ainda para se encontrar novos derivados com atividades biológicas⁴¹.

Por conveniência, os estudos de relação estrutura-atividade do taxol podem ser divididos em três partes: o norte (posições 7, 9, 10 e a dupla em 11-12); o sul (posições 1, 2, 4 e 5); e a cadeia lateral em C13. Existem também três níveis de testes que têm sido utilizados para estes estudos: a nível bioquímico, usando testes tanto para a polimerização da tubulina como para a inibição da despolimerização dos microtúbulos; a nível celular, medindo a citotoxicidade frente a vários tipos de células tumorais, tais como: células KB, macrófagos J774.2, leucêmicas P388 ou melanoma B16; e a nível de organismo, examinando a inibição do crescimento tanto de tumores de ratos ou humanos. A correlação entre testes de tubulina mamária e os testes de cultura de célula é geralmente boa, exceto para alguns análogos altamente polares, que têm apresentado problemas na penetração da célula. Algumas substâncias polares, que são efetivos em cultura de células não têm sido eficientes em tumores animais, talvez devido à rápida excreção ou metabolismo para formas inativas³⁵.

Os estudos feitos com o taxol, com seus derivados sintéticos e com outras substâncias naturais da classe dos taxanos, mostraram que existem pontos-chaves na molécula do taxol, que são indispensáveis para a sua atividade⁴² (Fig. 2).

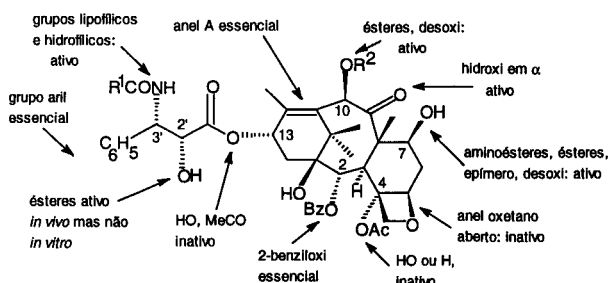


Figura 2. Influência das modificações estruturais na citotoxicidade do taxol⁴².

A presença da cadeia lateral sob forma de éster na posição C13 é indispensável. A desacetil-10-bacatina III (4) e seus derivados sem a cadeia lateral são no mínimo 50 vezes menos ativos que o taxol^{43,44}. Supõe-se que a cadeia lateral forma complexos moleculares e que age como um bom grupo de partida, formando assim uma carga positiva sobre o carbono 13 e criando, por consequência, um centro alquilante de grande especificidade. As hidroxilas em C7 e C10 podem ou não ser esterificadas; a colocação de grupos hidrofílicos nestas posições pode ser útil na busca de drogas solúveis em água. A hidroxila em C2' é essencial; a hidrólise de ésteres em C2' de pró-drogas pode fornecer drogas ativas. A estrutura rígida, parcialmente imposta pelo anel oxetano é também indispensável. A redução parcial ou total do grupo acetato em C4 leva a derivados menos ativos^{45,46}.

O estudo da relação estrutura-atividade, através da modificação da estrutura do taxol, continua sob intensa investigação, visando a descoberta de derivados, ou pró-drogas, mais ativos⁴⁷⁻⁴⁹, mais hidrofílicos⁵⁰ e com menores efeitos colaterais.

TAXOTERE: UM DERIVADO SINTÉTICO

Através de estudos de estrutura-atividade, Potier e col.⁵¹ chegaram a um derivado sintético, chamado taxotere (docetaxel), cujas modificações estruturais, em relação ao taxol, são a hidroxila livre em C10 e o grupo N-*tert*-butoxicarbonil em C3' (Fig. 2: R¹ = 'BuO e R² = H). Este derivado se mostrou mais potente em testes *in vitro* do que o taxol^{52,53}.

Os testes clínicos em fase I já foram realizados⁵⁴ e no momento taxotere está sendo submetido a testes clínicos em fase II, assim como seu metabolismo também está sendo estudado⁵⁵. A atividade biológica é semelhante à do taxol. Ele promove a polimerização e a estabilidade dos microtúbulos com uma ação aproximadamente duas vezes maior do que o taxol. Os microtúbulos formados em presença de taxotere são estruturalmente diferentes daqueles formados por indução do taxol⁵⁶.

MÉTODOS DE OBTENÇÃO DO TAXOL

Somente nos Estados Unidos, o taxol pode beneficiar mais de 40.000 mulheres que morrem de câncer por ano. O consumo estimado de taxol em 1993, para suprir as necessidades clínicas, seria de 230 Kg⁵⁷. No entanto, ele é extraído das cascas do tronco de árvores do teixo (*Taxus brevifolia* Nutt), em quantidades que variam de 40 a 165 mg/Kg de cascas secas. Este baixo rendimento é agravado pelo fato que o teixo tem um crescimento extremamente lento e a extração do taxol necessita da destruição total da árvore. Para a realização de testes biológicos, 3000 árvores foram cortadas para a obtenção de 1,0 Kg de taxol.

Métodos alternativos de obtenção do taxol incluem culturas de célula e síntese. Vários progressos têm sido alcançados em culturas de células de *T. brevifolia*⁵⁸ e estima-se que dentro de 2 a 5 anos se iniciará a produção comercial^{59,60}.

Um método bastante eficiente e que atualmente está sendo utilizado para a produção em larga escala do taxol é a síntese parcial ou semi-síntese. Esta metodologia foi desenvolvida pelo grupo de Greene e col.⁶¹ e pode ser aplicada também para a obtenção do taxotere. Uma modificação desta metodologia, feita por Holton e col.⁶² está sendo utilizada pela Bristol-Myers Squibb para a produção comercial do taxol⁶³.

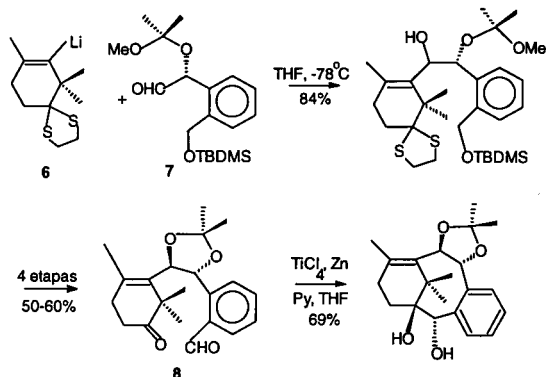
A obtenção do taxol através de síntese total é muito dificultada devido a sua complexidade estrutural: um composto tetracíclico com 11 centros quirais. Somente em 1994, dois grupos de pesquisa conseguiram, quase simultaneamente, realizar a síntese total do taxol, porém necessitaram de um número grande de etapas, envolvendo condições reacionais bastante especiais e rendimento global muito baixo⁶⁴⁻⁶⁶. No entanto, apesar da dificuldade de aplicação industrial, a síntese total, além de ser um grande desafio para o químico orgânico sintético, deve

contribuir muito para o avanço nas buscas de novos derivados sintéticos mais ativos biologicamente.

ESTUDOS SINTÉTICOS VISANDO A OBTENÇÃO DO ESQUELETO TAXANO

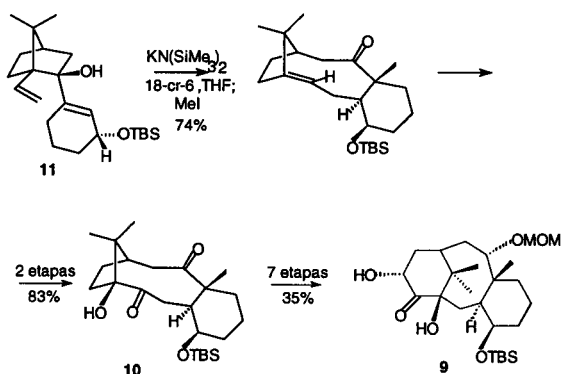
Cerca de quarenta grupos de pesquisa no mundo têm trabalhado nos últimos vinte anos visando a síntese do triciclo [9.3.1.0^{3,8}] ou de produtos naturais da classe dos taxanos. A grande dificuldade da síntese destes compostos se encontra principalmente na construção do anel B de oito membros, altamente funcionalizado. Devido a sua estrutura côncava, as metilas C17 e C19 se encontram sobre o anel B, resultando em um grande impedimento estérico para realizar as funcionalizações necessárias. Dentre os diversos estudos de síntese podem-se distinguir duas estratégias diferentes: a construção do esqueleto taxano e a construção de partes da molécula, como os anéis A e C e a cadeia lateral. Encontram-se na literatura excelentes trabalhos de revisão sobre as diversas metodologias sintéticas investigadas para a obtenção do esqueleto taxano⁶⁷⁻⁶⁹. Assim sendo, pretende-se descrever aqui apenas os trabalhos mais recentes, que não foram citados nas revisões anteriores e que efetivamente levaram ao esqueleto taxano.

Swindell e col.⁷⁰ construíram o anel B através de uma reação de acoplamento do tipo pinacol, utilizando as condições desenvolvidas por Mukaiyama. O intermediário **8** foi obtido em forma de uma mistura dos epímeros em C10. Este foi preparado a partir da adição nucleofílica do ânion vinílico **6** ao aldeído **7**, seguido da hidrólise do tiocetal e do éter de silício e posterior oxidação (Esquema 2).



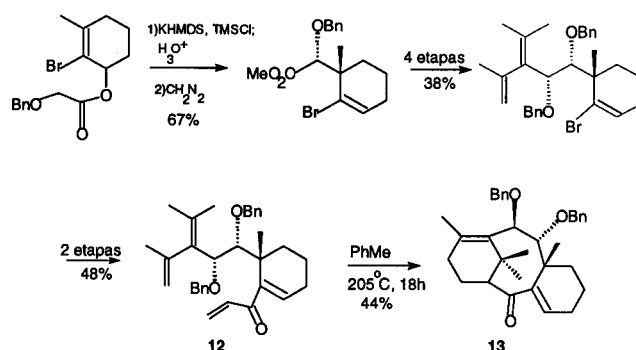
Esquema 2. Metodologia sintética para a obtenção de taxanos desenvolvida por Swindell e col.

Paquette e col.⁷¹ prepararam o taxano **9** através de um rearranjo 1,2 do α -ceto **10**. Este intermediário foi obtido a partir do produto de rearranjo oxi-Cope do álcool **11**, derivado da (+)-cânfora (Esquema 3).



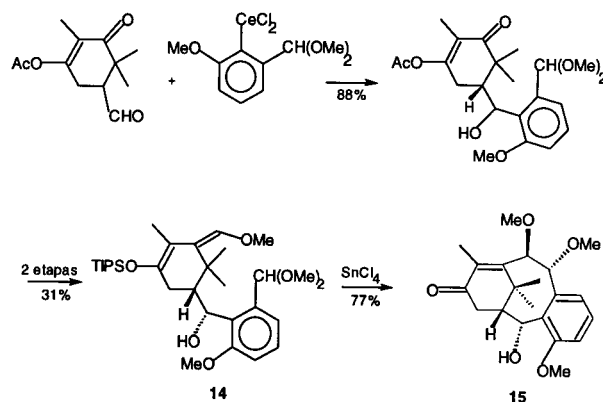
Esquema 3. Metodologia sintética para a obtenção de taxanos desenvolvida por Paquette e col.

Shea e col.⁷² construíram o esqueleto dos taxanos através de uma reação de Diels-Alder intramolecular do intermediário **12** altamente funcionalizado, que forneceu estereosseletivamente o composto **13** (Esquema 4).



Esquema 4. Metodologia sintética para a obtenção de taxanos desenvolvida por Shea e col.

Kuwajima e col.⁷³ construíram o anel B através do acoplamento catalisado por ácido de Lewis, dos anéis A e C do intermediário **14**, levando ao composto **15** com boa diastereosseletividade (Esquema 5).

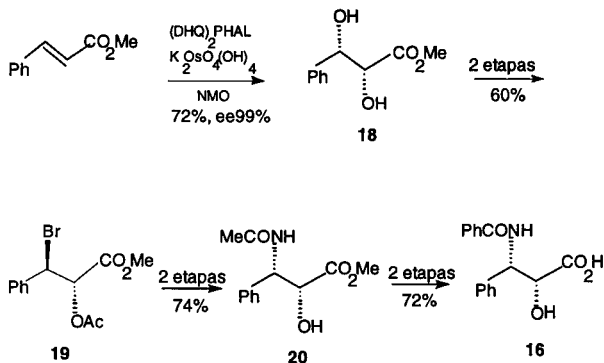


Esquema 5. Metodologia sintética para a obtenção de taxanos desenvolvida por Kuwajima e col.

SÍNTESE DA CADEIA LATERAL

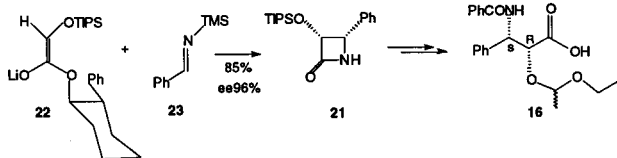
Assim como o esqueleto taxano, a cadeia lateral do taxol também tem sido objeto de estudo de vários grupos de pesquisa. Métodos eficientes para a obtenção em grande escala de **5** opticamente pura são fundamentais para a síntese do taxol. Já é conhecido que sem a mesma o taxol perde praticamente toda sua atividade biológica.

Várias metodologias sintéticas foram desenvolvidas⁶⁹ para a obtenção da cadeia lateral. Greene e col. prepararam a cadeia lateral na forma do ácido carboxílico **16**, a partir do cinamato de metila⁷⁵, utilizando a reação de dihidroxilação assimétrica desenvolvida por Sharpless. Esta metodologia foi recentemente modificada pelos grupos de Koskinen⁷⁶ e de Sharpless⁷⁷. A hidroxilação do cinamato de metila leva ao diol **18** com alta enantioseletividade. O diol **18** é estereosseletivamente convertido no brometo **19**, que por sua vez reage com azido de sódio, seguido de hidrogenação, fornecendo **20**. Finalmente a hidrólise seguida de N-acilação leva à cadeia lateral **16** (Esquema 6). A mesma rota sintética foi utilizada na preparação da cadeia lateral do taxotere.



Esquema 6. Metodologia sintética para a obtenção da cadeia lateral desenvolvida por Sharpless e col.

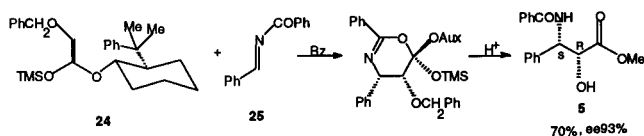
A cadeia lateral **5** foi substituída por suas formas cíclicas na reação de esterificação com a bacatina III. O uso da cadeia lateral cíclica elimina os problemas de formação de produtos epímeros em C2', normalmente encontrados durante a reação de esterificação. A metodologia de síntese da cadeia lateral na forma da β -lactama **21** foi desenvolvida por Ojima e col.^{78,79} e está baseada na condensação do ânion **22**, contendo um auxiliar quiral, com a imina derivada da benzilamina **23** (Esquema 7).



Esquema 7. Metodologia sintética para a obtenção da cadeia lateral desenvolvida por Ojima e col.

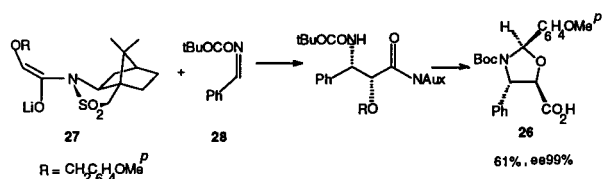
Posteriormente outras sínteses da cadeia lateral do taxol em forma de β -lactama foram desenvolvidas^{80,81}, utilizando metodologias semelhantes.

Swindell e col.⁸² realizaram a síntese enantiosseletiva da cadeia lateral **5** através de uma reação de Diels-Alder, com demanda eletrônica inversa, do ceteno cetal **24** contendo um auxiliar quiral com a N-benzoilbenzaldimina (**25**) (Esquema 8).



Esquema 8. Metodologia sintética para a obtenção da cadeia lateral desenvolvida por Swindell e col.

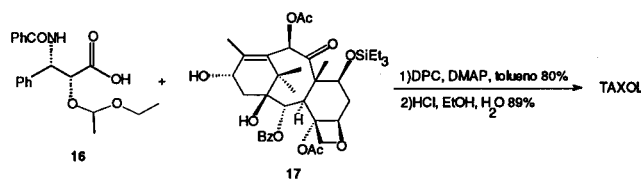
Greene e col.⁸³ sintetizaram a cadeia lateral do taxotere na forma da oxazolidina **26**, através da condensação do ceteno cetal **27** quiral com a N-*tert*-butoxibenzaldimina (**28**) (Esquema 9). Commerçon e col.^{84,85} prepararam outras oxazolidinas com substituintes variados para verificar suas influências na reação de esterificação com a bacatina-III.



Esquema 9. Metodologia sintética para a obtenção da cadeia lateral desenvolvida por Greene e col.

SEMI-SÍNTESE

A semi-síntese do taxol desenvolvida por Greene e col.⁶¹ é baseada no acoplamento da desacetil-10-bacatina III (**4**), que é a parte diterpênica do taxol, desacetilada na posição C10, com a cadeia lateral **5**. A substância **4** pode ser isolada das folhas de *T.baccata*, em até 1g/Kg de folhas frescas, sem danos à árvore e atualmente está disponível comercialmente. Para efetuar a semi-síntese do taxol, foi feita a proteção dos grupos hidroxila em C7 e C10 da desacetil-10-bacatina III, levando ao derivado **17**, seguido da esterificação da hidroxila em C13 com a cadeia lateral sintética **16**⁷⁴. Esta hidroxila em C13 é praticamente inerte aos métodos clássicos de esterificação, devido à estrutura côncava do esqueleto taxano, existindo inclusive uma ponte de hidrogênio intramolecular desta hidroxila com a carbonila do grupo acetato em C4. Esta síntese foi realizada em 4 etapas, com rendimento global de 53%, a partir de **4** (Esquema 10).



Esquema 10. Semi-síntese do taxol desenvolvida por Greene e col.

A modificação deste método, realizada por Holton e col.⁶², utilizou a cadeia lateral na forma da β -lactama **21** (Esquema 7), sintetizada por Ojima e col.^{78,79}.

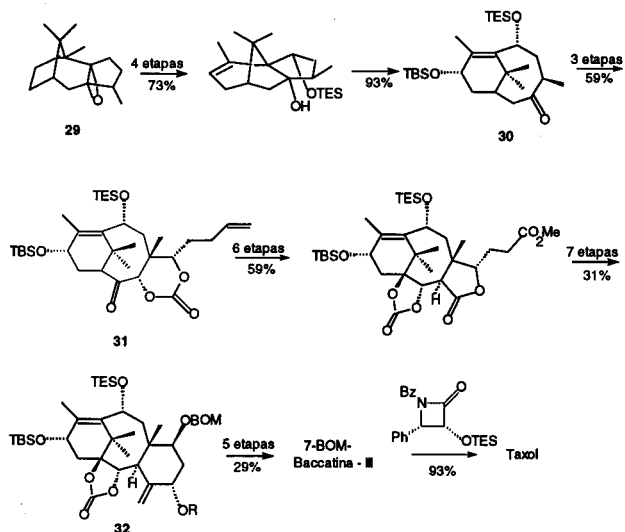
Mais recentemente os grupos de Commerçon⁸⁶, Greene⁸³ e Kingston⁸⁷ realizaram a semi-síntese do taxol e do taxotere, utilizando a cadeia lateral na forma da oxazolidina **26** e com outros compostos análogos.

SÍNTESE TOTAL

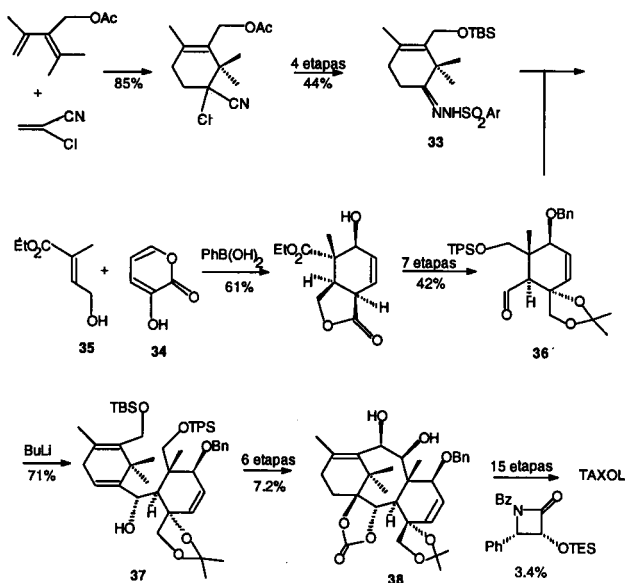
As duas primeiras sínteses totais do taxol foram publicadas quase simultaneamente por dois grupos de pesquisa americanos, no início do ano de 1994. No entanto, as estratégias sintéticas utilizadas foram totalmente diferentes⁸⁸. Holton e col.^{64,65} construíram primeiramente os anéis A e B, usando uma fragmentação muito elegante do sistema [3.3.0] de um derivado do óxido de β -patchuleno (**29**). O fragmento **30** resultante contém o anel A homo-quiral completo, com todos os grupos metílicos, bem como posições oxigenadas no anel B para as necessárias modificações posteriores. O estereocentro em C7 foi construído a seguir, usando uma reação aldol diastereosseletiva, levando ao intermediário **31**. O rearranjo de Chan foi utilizado para introduzir C4, seguido da desoxigenação de C3 e oxidação de C1. O diol em C1-C2 foi protegido na forma de um carbonato, que foi utilizado para preparar o benzoato em C2. O grupo vinil sofre uma clivagem oxidativa, levando ao éster metílico, que sofreu uma condensação de Dieckmann, levando ao anel C, com posterior descarboxilação. A resultante carbonila em C4 favorece a oxidação de C5 e posterior conversão para um grupo metileno, através da adição de brometo de metilmagnésio, seguido de eliminação com o reagente de Burgess, levando ao intermediário **32**. A diidroxilação desta dupla ligação leva ao precursor do anel oxetano. Em seguida fez-se a oxidação de C9 e as devidas proteções para realizar a esterificação com a cadeia lateral na forma de β -lactama (Esquema 11).

Nicolaou e col.⁶⁶ utilizaram uma rota convergente para a síntese do taxol. Primeiro eles prepararam os anéis A e C, que em seguida foram fundidos levando ao anel B. O anel A foi construído através de uma reação de Diels-Alder, levando ao cicloaduto que foi refuncionalizado, fornecendo a sulfonil-hidrazona **33**. Esta sofre uma reação de Shapiro para dar o

nucleófilo alquênil-lítio correspondente. O anel C também foi preparado através de uma reação de Diels-Alder intramolecular da 3-hidroxi-2-pirona (**34**) com o dienófilo éster **35**, complexados com o ácido fenilborônico, de acordo com o procedimento de Narasaka. Transformações subsequentes levam ao aldeído **36**, que irá reagir com o alquênil-lítio do anel A com alta diastereosseletividade. A epoxidação da dupla ligação entre C1 e C14 do produto resultante **37**, e posterior hidrogenação, leva à adequada oxigenação de C1. Em seguida, os aldeídos em C9 e C10 são preparados e o acoplamento destes através da reação de McMurry, leva ao composto **38**, que contém o anel B funcionalizado. Para a formação do anel oxetano, a dupla ligação entre C5 e C6 é hidroborada e em seguida oxidada. Finalmente, foi efetuada a oxidação em C13 para posterior esterificação com a cadeia lateral em forma de β -lactama (Esquema 12).



Esquema 11. Síntese total do taxol desenvolvida por Holton e col.



Esquema 12. Síntese total do taxol desenvolvida por Nicolaou e col.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como pode ser constatado, o taxol pertence a uma seleta classe de produtos naturais, que possui, além da estrutura

molecular fascinante, atividades biológicas extremamente importantes. Devido a estas propriedades, o taxol tem sido intensivamente estudado desde sua descoberta, tanto a nível da química orgânica sintética como da modelagem molecular, da biologia celular e molecular e da farmacologia, chegando finalmente à aplicação clínica. No entanto, estes estudos devem prosseguir na busca de derivados que apresentem maior atividade anticancerígena e também maior facilidade na aplicação.

AGRADECIMENTOS

A autora agradece à FAPESP, CNPq e CAPES pelo apoio financeiro, ao Dr. Andrew E. Greene (Université Joseph Fourier, França) pela sugestão e envio de referências e ao Prof. Dr. Paulo Cezar Vieira (UFSCar) pela leitura do manuscrito.

REFERÊNCIAS

- Chadwick, D. J.; Marsh, J.; *Bioactive Compounds from Plants* (1990), John Wiley, New York.
- Le Pecq, J. B.; "Sur la Piste du Cancer", In: *Aux Frontières de la Recherche - 50 Ans de Recherche CNRS* (1989), Paris.
- Potier, P.; *Chem. Soc. Rev.* (1992), 113.
- Kingston, D. G. I.; Molinero, A. A.; Rimoldi, J. M.; "The Taxane Diterpenoids". In: *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products* (1993), Springer, New York, p.1-206.
- Wani, M. C.; Taylor, M. E.; Coggon, P.; McPhail, A. T.; *J. Am. Chem. Soc.* (1971), **93**, 2325.
- Della Casa de Marcano, D. P.; Halsall, T. G.; *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* (1970), 1382.
- Georg G. I.; Gollapudi, S. R.; Grunewald, G. L.; Gunn, C. W.; Himes, R. H.; Kessava R. G.; Liang, X. Z.; Mirhom, Y. W. Mitscher, L. A.; Velde, D. G. V.; Ye, Q. M.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (1993), **3**, 1345.
- Hongjie, Z.; Takeda, Y.; Matsumoto, T.; Minami, Y.; Yoshida, K.; Wei, X.; Quing, M.; Handong, S.; *Heterocycles* (1994), **38**, 975.
- Pardee, A. B.; *Science* (1989), **249**, 603.
- Pardee, A. B.; *Cancer Res.* (1987), **47**, 1488.
- Horwitz, S. B.; Fant, J.; Schiff, P. B.; *Nature* (1979), **277**, 665.
- Brinkley, B. R.; *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* (1982), **46**, 1029.
- Ball, E. H.; Singer, J. J.; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1982), **79**, 123.
- Sullivan, K. F.; *Annu. Rev. Cell Biol.* (1988), **4**, 687.
- Olmsted, J. B.; *Curr. Opin. Cell Biol.* (1991), **3**, 52.
- Purich, D. L.; Kristofferson, D.; *Adv. Protein Chem.* (1984), **36**, 133.
- Schiff, P. B.; Fant, J.; Horwitz, S. B.; *Nature* (1979), **277**, 665.
- Schiff, P. B.; Horwitz, S. B.; *Proc. Natl. Acad. Sc. USA* (1980), **77**, 1561.
- Pardee, A. B.; Dubrow, R.; Hamlin, J. L.; Hamlin, R. F.; Kletzien, R. F.; *Annu. Rev. Biochem.* (1978), **47**, 715.
- Kuriyama, R.; Nislow, C.; *Bioessays* (1992), **14**, 81.
- McIntosh, J. R.; Pfarr, C. M.; *J. Cell. Biol.* (1991), **115**, 577.
- Gorbsky, G.; *Bioessays* (1992), **14**, 73.
- Schiff, P. B.; Horwitz, S. B.; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1980), **77**, 1561.
- De Brabander, M.; Geuens, G.; Nuydens, R.; Willebroads, R.; De May, J.; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1981), **78**, 5608.
- Manfredi, J. J.; Fant, J.; Horwitz, S. B.; *Eur. J. Cell. Biol.* (1986), **42**, 126.
- Ball, R. L.; Carney, D. H.; Albrecht, T.; *Exp. Cell. Res.* (1990), **191**, 37.

27. Rowinsky, E. K.; Donehower, R. C.; Jones, R. J. Tucker, R. W.; *Cancer Res.* (1988), **48**, 4093. Young, D. H.; Michelotti, E. L.; Swindell, C. S.; Kraus, N. E.; *Experientia* (1992), **48**, 882.
28. Keller, H. U.; Zimmerman, A.; *Invasion Metastasis* (1986), **6**, 33. Komiya, Y.; Tashiro, T.; *Cell. Motil. Cytoskeleton* (1988), **11**, 151. Rainey, W. E.; Kramer, R. E.; Mason, J. I.; Shay, J. W.; *J. Cell. Physiol.* (1985), **123**, 17. Mattson, M. P.; *Brain Res.*, (1992), **582**, 107.
29. Swindell, C. S.; Heerding, J. M.; Krauss, N. E.; Horwitz, S. B.; Rao, S.; Ringel, I.; *J. Med. Chem.* (1994), **37**, 1446.
30. Rowinsky, E. K.; Donehower, R. C.; *Pharmacol. Ther.* (1991), **52**, 35.
31. Holmes, F. A.; Walters, R. S.; Theriault, R. L.; Forman, A. D.; Newton, L. K.; Raber, M. N.; Buzdar, A. U.; Frye, D. K.; Hortobagyi, G. N.; *J. Nat. Cancer Inst.* (1991), **83**, 1797.
32. Murphy, W. K.; Fossella, F. V.; Winn, R. J.; Shin, D. M.; Hynes, H. E.; Gross, H. M.; Davilla, E.; Leimert, J.; Dhingra, H.; Raber, M. N.; Krakoff, I. H.; Hong, W. K.; *J. Nat. Cancer Inst.* (1993), **85**, 384.
33. Chang, A. Y.; Kim, K.; Glick, J.; Anderson, T.; Karp, D.; Johnson, D.; *J. Natl. Cancer Inst.* (1993), **85**, 388.
34. Forastiere, A. A.; Adams, G.; Neuberger, D.; Taylor, S. "Phase II Trial of Taxol in Head and Neck Cancer: An Eastern Oncology Group Study". In: *Second National Cancer Institute Workshop on Taxol and Taxus* (1992). Alexandria, National Cancer Institute.
35. Suffness, M., "Taxol: From Discovery to Therapeutic Use". In: *Ann. Rep. Med. Chem.* (1993), **28**, 305. Bissett, D. Kaye, S. B.; *Eur. J. Cancer* (1993), **29A**, 1228.
36. Rowinsky, E. K.; Wright, M.; Monsanat, B.; Lesser, G. J.; Donehower, R. C.; *Cancer Surv.* (1993), **17**, 283.
37. Weiss, R. B.; Donehower, R. C.; Wiernik, P. H.; Ohnuma, T.; Gralla, R. J.; Trump, D. L.; Baker, J. R.; Van Echo, D. A.; Von Hoff, D. D.; Leyland-Jones, B.; *J. Clin. Oncol.* (1990), **8**, 1263.
38. Carver, D. R.; Prout, T. R.; Ewald, H. WO 94,12030. Elliott, R. L.; Handreck, G. P.; Carver, D.; Prout, T.; Ewald, H., WO 94,12198.
39. Sharma, A.; Straubinger, R. M.; *Pharm. Res.* (1994), **11**, 889.
40. Rowinsky, E. K.; Cazenave, I. A.; Donehower, R. C.; *J. Nat. Cancer Inst.*, (1990), **82**, 1247.
41. Kingston, D. G. I.; *Trends Biotechnol.* (1994), **12**, 222.
42. Georg, G. I.; Ali, S. M.; Zygmunt, J.; Jayasinghe, L. R.; *Exp. Opin. Ther. Patents* (1994), **4**, 109.
43. Lataste, H.; S enilh, V.; Wright, M.; Gu enard, D.; Potier, P.; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1984), **81**, 4090.
44. Kingston, D. G. I.; *Pharmacol. Ther.* (1991), **52**, 1.
45. Neidigh, K. A.; Gharpure, M. M.; Rimoldi, J. M.; Kingston, D. G. I.; Jiang, Y. Q.; Hamel, E.; *Tetrahedron Lett.* (1994), **35**, 6839.
46. Chordia, M. D.; Chaudhary, A. G.; Kingston, D. G. I.; Jiang, Y. Q.; Hamel, E.; *Tetrahedron Lett.* (1994), **35**, 6843.
47. Chaudhary, A. G.; Gharpure, M. N.; Rimoldi, J. M.; Chordia, M. D.; Kingston, D. G. I.; Grover, S.; Lin, C. M.; Hamel, E.; Grunatilake, A. A. L.; *J. Am. Chem. Soc.* (1994), **116**, 4097.
48. Klein, L. L.; Maring, C. J.; Li, L.; Yeung, C. M.; Thomas, S. A.; Grampovnik, D. J.; *J. Org. Chem.* (1994), **59**, 2370.
49. Kant, J.; O'Keffe, W. S.; Chen, S. H.; Farina, V.; Favichild, C.; Johnston, K.; Kadow, J. F.; Long, B. H.; Vuas, D.; *Tetrahedron Lett.* (1994), **35**, 5543.
50. Nicolaou, K. C.; Guy, R. K.; Pitsinos, E. N.; Wrasidlo, W.; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* (1994), **33**, 1583.
51. Mangatal, L.; Adeline, M.; Gu enard, D.; Gu eritte-Voegelein, F.; Potier, P.; *Tetrahedron* (1989), **45**, 4177.
52. Ringel, I.; Horwitz, S. B.; *J. Natl. Cancer Inst.* (1991), **83**, 288-291.
53. Bissery, M. A.; Gu enard, D.; Gu eritte-Voegelein, F.; Lavelle, F.; *Cancer Research* (1991), **51**, 4845.
54. Pazdur, R.; Newman, R. A.; Newman, B. M.; Fuentes, A.; Benvenuto, J.; Bready, B.; Moore, D.; Jaiyesimi, I.; Vreeland, F.; Bayssas, M. M. G.; Raber, M. N.; *J. Natl. Cancer Inst.* (1992), **84**, 1781.
55. Monegier, B.; Gaillard, C.; Sabl e, S.; Virilhorgne, M.; *Tetrahedron Lett.* (1994), **35**, 3715.
56. Fromes, V.; Guonon, P.; Bissery, M. C.; Fellous, A.; *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* (1992), **33**, 511.
57. Braz Fo., R.; *Quim. Nova* (1994), **17**, 405.
58. Christen, A. A.; Gibson, D. M.; Bland, J.; *USA 5019504* (1992).
59. Edgington, S. M.; *Bio Technology* (1991), **9**, 933.
60. Blume, E.; *J. Natl. Cancer Inst.* (1991), **83**, 1054.
61. Denis, J.-N.; Greene, A. E.; Gu enard, D.; Gu eritte-Voegelein, F.; Mangatal, L.; Potier, P.; *J. Am. Chem. Soc.* (1988), **110**, 5917.
62. Holton, R. A.; US Patent 5, 015, 744, 1991.
63. McCormick, D.; *Bio Technology* (1993), **11**, 26.
64. Holton, R. A.; Somoza, C.; Kim, H. B.; Liang, F.; Biedinger, R. J.; Boatman, P. D.; Shindo, M.; Smith, C. C.; Kim, S.; Nadizadeh, H.; Suzuki, Y.; Tao, C.; Vu, P.; Tang, S.; Zhang, P.; Murthi, K. K.; Gentile, L. N.; Liu, J. H.; *J. Am. Chem. Soc.* (1994), **116**, 1597.
65. Holton, R. A.; Kim, H. B.; Somoza, C.; Liang, F.; Biedinger, R. J.; Boatman, P. D.; Shindo, M.; Smith, C. C.; Kim, S.; Nadizadeh, H.; Suzuki, Y.; Tao, C.; Vu, P.; Gentile, L. N.; Liu, J. H.; *J. Am. Chem. Soc.* (1994), **116**, 1599.
66. Nicolaou, K. C.; Yang, Z.; Liu, J. J.; Ueno, H.; Nantermet, P. G.; Guy, R. K.; Clalborne, C. F.; Renaud, J.; Coula-douros, E. A.; Paulvannan, K.; Sorensen, E. J.; *Nature*, (1994), **367**, 630.
67. Swindell, C. S.; *Org. Prep. Proced. Int.* (1991), **23**, 465.
68. Gragg, G. M.; Schepartz, S. A.; Suffness, M.; Grever, M. R.; *J. Nat. Prod.* (1993), **56**, 1657.
69. Nicolaou, K. C.; Dai, W. M.; Guy, R. K.; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* (1994), **33**, 15.
70. Swindell, C. S.; Fan, W.; Klimbo, P. G.; *Tetrahedron Lett.* (1994), **35**, 4959.
71. Elmore, S. W.; Paquette, L. A.; *J. Org. Chem.* (1993), **58**, 4963.
72. Jackson, R. W.; Shea, K. J.; *Tetrahedron Lett.* (1994), **35**, 1317.
73. Seto, M.; Morihira, K.; Horiguchi, Y.; Kuwajima, I.; *J. Org. Chem.* (1994), **59**, 3165.
74. Denis, J. N.; Greene, A. E.; Serra, A. A.; Luche, M. J.; *J. Org. Chem.* (1986), **51**, 46.
75. Denis, J.-N.; Correa, A.; Greene, A. E.; *J. Org. Chem.* (1991), **56**, 6939.
76. Koskinen, A. M. P.; Karvinen, E. K.; Siirila, J. P.; *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* (1994), 21.
77. Wang, Z. M.; Kolb, H. C.; Sharpless, K. B.; *J. Org. Chem.* (1994), **59**, 5104.
78. Ojima, I.; Habus, I.; Zhao, M.; *J. Org. Chem.* (1991), **56**, 1681.
79. Ojima, I.; Habus, I.; Zhao, M.; Zucco, M.; Park, Y. H.; Sun, C. M.; Brigaud, T.; *Tetrahedron* (1992), **48**, 6985.
80. Farina, V.; Hauck, S. I.; Walker, D. G.; *Synlett.* (1992), 761.
81. Georg, G. I.; Cheruvallath, Z. S.; Harriman, G. C. B.; Hepperle, M.; Park, H.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (1993), **3**, 2467.
82. Swindell, C. S.; Tao, M.; *J. Org. Chem.* (1993), **58**, 5889.
83. Kanazawa, A. M.; Denis, J. N.; Greene, A. E.; *J. Org. Chem.* (1994) **59**, 1238.

84. Didier, E.; Fouque, E.; Taillepied, I.; Commerçon, A.; *Tetrahedron Lett.* (1994), **35**, 2349.
85. Didier, E.; Fouque, E.; Commerçon, A.; *Tetrahedron Lett.* (1994), **35**, 3063.
86. Commerçon, A.; Bezard, D.; Bernard, F.; Bourzart, J. D.; *Tetrahedron Lett.* (1992), **33**, 5195.
87. Kingston, D. G. I.; Chaudhary, A.; Gunatilaka, A. A. L.; Middleton, M. L.; *Tetrahedron Lett.* (1994), **35**, 4483.
88. Wessjohann, L.; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* (1994), **33**, 959.

Publicação financiada pela FAPESP