

Full paper	Bollettino Accademia Gioenia Sci. Nat.	Vol. 45	N.° 375	pp. 637 - 650	Catania 2012	ISSN 0393 - 7143
------------	--	---------	---------	---------------	--------------	------------------

Domenico Amato e il Tasso Baccato: fu egli il primo ad isolare l'alcaloide antitumorale?

PAOLO FINOCCHIARO E SALVATORE FAILLA

*Dipartimento di Ingegneria Industriale Università di Catania,
Viale A. Doria, 6-95125 Catania (Italy)
e-mail: pfinocchiaro@dmfci.unict.it; sfailla@dmfci.unict.it*

RIASSUNTO

Dall'albero del tasso si estrae l'alcaloide taxolo che è usato con successo quale potente antitumorale, assai attivo per curare il cancro delle ovaie, ed è efficace in molti tumori refrattari, compresi quelli della testa, del collo, quelli a piccole cellule del polmone, può rallentare la progressione del melanoma e agisce prevalentemente sui tumori solidi. Nel 1880 il chimico Domenico Amato ha isolato dal tasso baccato un alcaloide che caratterizzò tramite svariate reazioni riconoscitive, ma purtroppo non ne diede la formula e non perseguì ulteriormente questi suoi studi. Tuttavia resta il dubbio che in effetti egli sia stato il primo chimico a isolare questa sostanza, pur non avendone descritto gli effetti terapeutici. In letteratura, sarà necessario attendere oltre un secolo per conoscere l'uso terapeutico di questo alcaloide, la sua caratterizzazione e la sua struttura molecolare. L'occasione è stata per noi propizia per fare anche un breve excursus sulla sintesi totale del taxolo, che risulta assai complessa ed impegnativa per i chimici organici.

Parole chiave: Lavori scientifici di Amato, principi attivi del Tasso, storia del taxolo, meccanismo antitumorale, sintesi chimica totale.

SUMMARY

Domenico Amato and the Taxus Baccata: was he the first to extract the Taxol which is a powerful antitumoral alkaloid?

From the tree of taxus it is possible to extract the alkaloid taxol which can be used successfully as a powerful anticancer, very much active in order to cure the ovarian cancer, and it is effective in many refractory tumors, comprising those of the head, those of small cells of the lung, it can slow down the progression of the melanoma and acts mostly on solid tumors. In the 1880 the chemist Domenico Amato isolated from the taxus baccata an alkaloid that he characterized through many analytical reactions, but unfortunately he did not give the formula and he did not pursue furthermore these studies. However, the doubt still remains that in effects he has been the first chemist who isolated this substance, although he did not describe the therapeutic effects. It is necessary to attend beyond a century in order to find in literature the therapeutic use of this alkaloid, its characterization and its molecular structure. The occasion was good in order to make a short review on the total synthesis of the taxol, that it turned out challenging and very complex for the organic chemists.

Keywords: Amato's scientific work, active principles from Taxus, story of Taxol, antitumoral mechanism, total chemical synthesis.

INTRODUZIONE

Il *taxus baccata*, noto comunemente come tasso, è originario dell'Africa del Nord e dell'Asia, vegeta spontaneo nelle zone montuose della regione mediterranea prediligendo zone umide e ombrose, viene coltivato come pianta ornamentale ed è un albero sempreverde di incredibile longevità, dotato di una chioma ricca di foglie aghiformi verdi scure, di una durissima corteccia rossiccia e di frutti dalla forma di bacche, chiamati arilli e può raggiungere i 15 – 20 metri di altezza. Esso è molto longevo, e nel Giardino dei semplici di Firenze è presente un tasso piantato da Pier Antonio Micheli nel 1720. Ne esistono esemplari di 1500 – 2000 anni di età. Attualmente il tasso più vecchio conosciuto dal genere umano, il cui seme deve essere germinato nella tundra post-glaciale circa 8000 anni fa, si trova a Fortingall, in Scozia. Il Parco dei Nebrodi ospita, all'interno del bosco della Tassita, alcuni esemplari maestosi che raggiungono i 25 m di altezza ed il tasso vegeta rigogliosamente anche sulle montagne di Alcara Li Fusi vicino a Bronte. In America, lungo le coste del pacifico, la specie più diffusa è il *Taxus brevifolia*.

Il nome comune deriva dal greco *taxon* che significa "freccia", e l'appellativo di albero della morte nasce proprio dal suo impiego nella fabbricazione di dardi velenosi e dalla sua caratteristica tossicità, oltre al fatto che veniva utilizzato nelle alberature dei cimiteri. Il tasso è in genere un albero ermafrodita: i fiori maschili sono piccole strutture globulari situate singolarmente sull'ascella della foglia, sotto i rami dell'anno precedente, mentre i fiori femminili, sistemati in una posizione simile, sono fiorellini verdi che si espandono dopo l'impollinazione. Un duro seme verde oliva è circondato da un arillo, polposo e dolce, di colore rosso che ricorda una tazza aperta. Questa pianta viene usata per la costruzione di archi e manici di scuri. Già 5.000 anni fa veniva utilizzata dall'uomo di Similanum per la costruzione di questi attrezzi come dimostrano i ritrovamenti avvenuti sulle Alpi europee.

Il tasso ha una caratteristica inquietante: tutte le sue parti, esclusi i rossi arilli, sono terribilmente velenose. Il legame di quest'albero con gli inferi è testimoniato da Ovidio, secondo il quale la strada verso il mondo dei morti era fiancheggiata da queste piante. Giulio Cesare nei *Commentarii de bello gallico scrisse di Catuvolcus*, re degli Eburones, che si avvelenò con il tasso in quanto ormai vecchio e non più in grado di far fronte ad un'altra guerra. E in questo modo venne ucciso anche il padre di Amleto, come ci riferisce Shakespeare. Plinio il Vecchio notò che molte persone morivano dopo aver bevuto del vino conservato in recipienti di tasso. Nella cultura celtica l'albero era sacro, tanto che molti oggetti di culto erano intagliati nel suo legno. Per Dioscoride, gli uomini che gli si avvicinavano erano colpiti da diarrea. Il tasso aveva un effetto così violento da essere nocivo persino a coloro che si coricavano sotto la sua ombra. Ad alcuni animali selvatici piace nutrirsi col tasso, in particolare i cervi sono ghiotti delle sue parti ed è come se raggiungessero una sorta di irresistibile trance stimolante attraverso gli alcaloidi contenuti nella pianta. Per gli animali domestici e per noi esseri umani invece il tasso è drammaticamente mortale (tanto che viene stimato che un grammo di pianta per chilo di peso corporeo sia già sufficiente come quantità letale per un essere umano). Gli alcaloidi del tasso producono aritmie e dispnea, fino a portare in poche ore alla paralisi muscolare, al coma e alla morte. La capacità di provocare violente contrazioni addominali lo fece diventare un metodo abortivo frequentemente utilizzato nel tardo Medioevo, con lo spaventoso effetto collaterale di portare spesso alla morte anche della gestante.



Figura 1. Tronco e foglie con frutti e fiori del Tasso Baccato



Figura 2. Arillo del tasso baccato

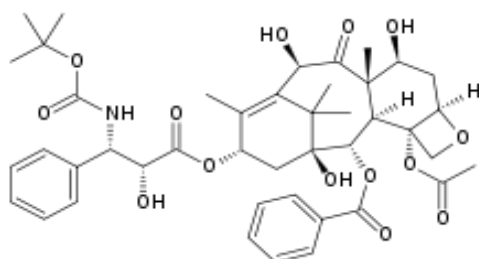
La tintura tradizionale per il *bindhi*, il piccolo punto sulla fronte usato in India, era in origine ricavata dalla corteccia del tasso. Tale punto ha grande valenza spirituale perché individua il nostro "terzo occhio", un potente centro energetico cui sono associati stati di coscienza elevati. E' abbastanza probabile che gli antichi saggi indiani sapessero come preparare con gli alcaloidi di questo albero una "pozione magica" in grado di alterare lo stato di coscienza dei loro adepti. Anche nella medicina occidentale il tasso ha acquistato grande fama grazie alle sue proprietà antitumorali e la sostanza ricavata dalla pianta, il *taxolo*, ha permesso a molti esseri umani di sopravvivere alla malattia.

INTERESSE DEL TAXOLO

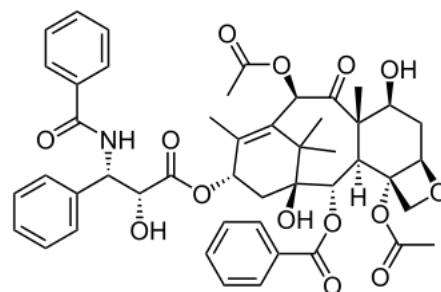
Dalla corteccia del tasso è stato isolato il taxolo, alcaloide poco solubile in acqua; esso è risultato molto attivo in diversi carcinomi e sarcomi umani ed il suo meccanismo d'azione è unico e differente da altri agenti anticancro presenti sul mercato. La maggior parte degli antimitotici, quali gli alcaloidi della vinca e la colchicina, depolimerizzano il fuso mitotico. In questo modo la cellula non è più in grado di dividersi. Con il taxolo, invece, la cellula non riesce a duplicarsi finché il farmaco è presente nell'organismo. Esso induce una sorta di cristallizzazione del fuso mitotico, impedendo la conclusione del processo di divisione cellulare.

Susan Horwitz [1] dell'Albert Einstein College of Medicine di New York scoprì nel 1979 l'originale meccanismo d'azione del taxolo cioè la stabilizzazione della tubulina che è una proteina globulare e costituisce l'unità fondamentale delle strutture del citoscheletro, ossia il microtubulo che si forma per polimerizzazione reversibile della proteina stessa. La tubulina è implicata in numerose funzioni essenziali per la sopravvivenza cellulare, quali la divisione e riproduzione (mitosi), il trasporto, la mobilità cellulare, il movimento ciliare e dei flagelli e genera altresì la forma e la struttura della cellula.

Le cellule cancerogene non presentano lo stato di quiescenza normale delle cellule sane e quindi tendono a riprodursi in modo esacerbante e senza alcuna regola limitante. I microtubuli sono quindi un target privilegiato per numerosi agenti antitumorali ed il taxolo legandosi solo ai microtubuli li stabilizza, inibendone la depolimerizzazione ed esso interferisce sull'equilibrio tubulina-microtubuli, riducendo la concentrazione della tubulina libera ed il periodo di induzione per la polimerizzazione, con la conseguenza che i microtubuli formati in presenza del taxolo hanno una morfologia differente e lunghezza minore. Esso arresta il ciclo mitotico bloccando la divisione della cellula, inibendo altresì la produzione di certe proteine e la conseguenza è una rapida morte delle cellule cancerogene per apoptosi (suicidio cellulare). La sostanza è efficace in molti tumori refrattari, compresi quelli della testa, del collo, quelli a piccole cellule del polmone e può rallentare la progressione del melanoma ed agisce prevalentemente su tumori solidi.



Taxolo di Holton



Taxolo di Nicolau

Nome IUPAC: (1*S*,2*S*,3*R*,4*S*,7*R*,9*S*,10*S*,12*R*,15*S*) -4,12-Diacetoxy-15- {[(2*R*,3*S*) - 3 - (benzoylamino)- phenylpropanoyl-2-hydroxy-3-]oxy} 1.9- benzoato di dihydroxy-10,14,17,17-tetramethyl -11 oxo-6-oxatetracyclo [11.3.1.0 ~3.10~.0~4.7~] heptadec-13-en-2-yl

Formola: $C_{47}H_{51}NO_{14}$, **Massa molecolare:** 853,906.

Trademark: Paclitaxel

IL LAVORO DI AMATO DEL 1880

Domenico Amato, nato a Castelvetro nel 1839, fu chiamato nel 1875 a Catania a ricoprire la cattedra di Chimica Farmaceutica e Tossicologica, presso la Facoltà di Farmacia a seguito di esplicita raccomandazione di Stanislao Cannizzaro. Egli diresse l'Istituto sino alla sua morte avvenuta nel 1897 a seguito di malore improvviso e tramite le sue insistenze riuscì a convincere il rettore Salvatore Marchese a far aumentare la dotazione annua dell'Istituto da lire 500 a lire 1000, somma pari a circa la metà del suo stipendio annuo, che allora ammontava a lire 1250 annue per l'insegnamento di Chimica farmaceutica integrata con lire 750 per l'indennità di direzione dell'Istituto.

Da studente, sotto la guida del Prof. Cannizzaro, l'Amato si distinse nelle indagini analitiche e nel maneggio dello spettroscopio, strumento innovativo per i tempi. E' sintomatico notare che egli ottenne dal Cannizzaro l'ufficio di primo preparatore e la direzione della scuola analitica in età assai giovane (1867-69), nonostante non fosse ancora laureato in chimica, laurea che ottenne a Napoli nel 1878. Nel 1883 conseguì l'abilitazione alla libera docenza con effetti legali in Chimica generale, e nel 1888 quella di Chimica farmaceutica. Nel 1880 spedì a Cannizzaro una ristampa (fatta a sue spese) della sua pubblicazione sulle ricerche sul tasso baccato [2].

Questo lavoro, eseguito in collaborazione col proprio allievo Andrea Capparelli, fu sollecitato dal Prof. Antonino Orsini che aveva descritto gli usi terapeutici dell'infuso delle foglie del tasso: in particolare essi riguardano le proprietà come deprimente delle bronchiti acute in sostituzione della digitale purpurea e la virtù, assai importante per i tempi, di presentare proprietà emmenagoghe (epiteto di rimedi reputati acconci a promuovere e regolare le mestruazioni). Nel suo lavoro l'Amato descrive, con dovizia di procedure sperimentali e tecniche separative dei tempi, quanto segue:

Egli si servì di foglie fresche del tasso baccato raccolte in dicembre nei monti dell'Alcara e dopo averle pestate le trattò con etere a ricadere in un pallone da 13 litri per circa sei o sette volte. L'estratto eterico venne acidificato con acido solforico diluito e distillato in corrente di vapore. L'acqua passata per distillazione trasportò una sostanza oleosa che fu quindi estratta con etere. Essa costituisce il prodotto di degradazione riduttiva di una nuova sostanza, isolata per la prima volta da Amato, che egli battezzò *milossina*, da *milos* nome del tasso secondo Teofrasto, e che presenta spiccate proprietà emmenagoghe. Essa non è un alcaloide, non contiene azoto, cristallizza in aghi bianchi, fonde a 86-87°C e brucia con fiamma senza lasciare residuo. Quotando Amato, *“la scoperta di questa sostanza è un fatto importante per la chimica non solo ma ancora per la terapia, poiché sin ad ora non si conosce una sostanza emmenagoga che sia un principio chimico unico e ben definito.”* Infatti egli riporta che sebbene estratti come quello della segala cornuta, o sostanze quale la sabina, l'erba di Tuja, la radice di Aletris, la ruta, il rosmarino, la mirra, lo zafferano, etc. nei consigli del volgo figurano come sostanze emmenagoghe occorre tenere presente che gli estratti sono solo dei miscugli complessi di principi diversi e mal definiti e mai una sostanza pura e chimicamente definita.

Tornando al sequenza estrattiva delle foglie, l'Amato riferisce che il residuo, rimasto nel pallone dopo la distillazione in corrente di vapore, venne per decantazione separato dall'acqua acida. Quest'ultima, lasciata a riposo, lasciava depositare una sostanza bianca amorfa e di aspetto poco puro, che venne allontanata per filtrazione. Indi, le acque acide, neutralizzate con idrossido di bario, vennero estratte con etere. Svaporando l'etere si ricavò una sostanza che, dopo ripetute cristallizzazioni da acqua, si dimostrò essere un alcaloide del tasso. Infatti l'Amato riporta che esso ha le seguenti caratteristiche:

Sostanza azotata, bianca cristallina, di odore di muffa, solubile nell'alcool e nell'etere, poco solubile nell'acqua, dà reazione alcalina sulle carte di tornasole, ed emette densi fumi bianchi in presenza di una bacchetta bagnata di acido cloridrico diluito;

Le sue reazioni in soluzione acquosa sono le seguenti, così come descritte dall'autore:

Con acido fosfo-molibdico precipita in giallo canarino; Con acido jodidrico jodurato e con joduro di potassio jodurato precipita in rosso bruno; Con l'acido picrico precipita in giallo (reazione di Hager); Con joduro mercurico potassico precipita in bianco (reazione di Mayer); Con acido molibdico (reattivo di Frohde) dà un coloramento giallo pallido, tendente al verdognolo; Col cloruro d'oro dà un coloramento azzurro violaceo dopo pochi minuti; Col reattivo di Erdmann dà un coloramento giallo paglia istantaneo; Con acido nitrico di densità 1,40 si scioglie senza decomporsi.

Altra consistente quantità di questo alcaloide venne ottenuta da Amato a seguito di estrazione con alcool delle foglie già spossate con etere.

Dalle reazioni riportate non vi è dubbio che la sostanza isolata da Amato è un alcaloide: ma questo alcaloide è lo stesso del Taxolo di così grande interesse terapeutico ai giorni nostri?

Purtroppo l'Amato, nonostante prometta di fare l'analisi elementare, di determinare il suo peso molecolare e quindi risalire alla sua formula bruta, nel seguito degli anni non riporta più nulla sull'argomento, possibilmente perché ai tempi la dotazione strumentale dell'Istituto era assai carente in tale senso e forse anche perché di lì a pochi anni l'Amato sarebbe morto di colpo improvviso e in assoluta solitudine nella sua casa di Via G. Bruno 84.

STORIA RECENTE DEL TAXOLO

Da quando è disponibile (1992 in Usa, 1993 in Europa), il taxolo ha portato nuove speranze ai malati di cancro migliorando sia la loro qualità di vita che la sopravvivenza. Oggi, il taxolo ha ricevuto l'approvazione delle autorità di 75 Paesi per il trattamento di 3 forme di

tumore (seno, ovaio e polmone) e continua ad essere oggetto di nuove ricerche.

Ripercorriamo le tappe fondamentali di questo cammino: Nel 1958 il National Cancer Institute (NCI) avviò un programma per esaminare 35.000 specie botaniche allo scopo di trovare un principio attivo contro le cellule cancerose. Uno dei campioni esaminati proveniva dalla costa californiana del Pacifico: era la corteccia dell'albero dello Tasso. Le sue proprietà condussero i ricercatori americani alla scoperta di un agente anticancro che venne battezzato *'taxolo'*.

I ricercatori Monroe Wall e M.C. Wani del Research Triangle Institute in North Carolina nel 1963 scoprirono che il taxolo ricavato dalla corteccia del tasso presentava attività antitumorale e nel 1971 gli stessi scienziati ne isolarono il principio attivo.

Dopo la pubblicazione del lavoro di Susan Horwitz [1] nel 1979 ed inerente meccanismo d'azione del taxolo sulla stabilizzazione della tubulina, il National Cancer Institute avviò quindi nel 1983 studi clinici per valutare l'impiego del taxolo contro numerosi tipi di tumore. Il primo risultato arrivò nel 1989: il 30% delle pazienti con tumore dell'ovaio in cura con taxolo al Johns Hopkins Oncology Center risposero positivamente al trattamento. Il National Cancer Institute invitò le aziende farmaceutiche a collaborare alle sperimentazioni e la Bristol-Myers Squibb diventò il partner per la produzione e commercializzazione del nuovo farmaco antitumorale. Di conseguenza nel 1992 la Food and Drug Administration (FDA) autorizzò negli Usa l'impiego del taxolo per il trattamento del tumore avanzato dell'ovaio recidivato e nel 1993 il programma di studi clinici sul taxolo ricevette la prima approvazione dall'Agenzia Europea di Controllo sui medicinali (EMA) che quindi ne autorizzò l'impiego con la stessa indicazione valida negli Usa anche per il trattamento del cancro del seno metastatico. Nel 1998 il taxolo in associazione con cisplatino fu approvato in Europa per il trattamento di prima linea del tumore del polmone.

SINTESI DEL TAXOLO

La quantità di taxolo che può essere estratta dal tasso è assai modesta e quindi, si sarebbero dovuti sacrificare interi boschi di tasso per fare fronte alla richiesta mondiale di questo alcaloide provocando notevoli danni all'ecosistema. Basti pensare che 28 kg dell'estratto grezzo fu ottenuto da circa 1.200 kg della corteccia del tasso, e a sua volta dall'estratto si poté isolare solo 10 g di materiale puro. Ad esempio, all'inizio della sperimentazione, 38.000 alberi furono sacrificati per ottenere 25 kg di taxolo appena sufficiente per curare 12.000 pazienti e ciò significava abbattere più di tre alberi per paziente, il che avrebbe avuto come conseguenza un devastante disastro ecologico con la scomparsa di questi alberi lungo tutta la costa americana del Pacifico.

Per fortuna esistono i chimici e ciò generò una gara senza precedenti tra i chimici organici sintetici, i quali furono motivati a cercare una via di sintesi del taxolo per ovviare a questo inconveniente di disponibilità.

Il fascinoso richiamo consisteva non solo per ottenere notevoli quantità dell'alcaloide senza danneggiare gli alberi ma soprattutto la scommessa inerente l'alta complessità della sintesi a causa della unicità e particolare architettura della molecola. Infatti la struttura del taxolo consiste di uno scheletro diterpenico con un particolare arrangiamento stereochimico dell'anello [9.3.1.0] pentadecenico, una struttura periferica densamente popolata con raggruppamenti ossidrilici funzionalizzati, e nove centri stereogenici. Inoltre, attaccato al nucleo centrale è presente una catena laterale esterea che porta due ulteriori atomi di carbonio asimmetrici. Nel taxolo l'anello **A** è essenzialmente bloccato nella conformazione a barca, quello **B** nella conformazione a sedia-barca, e l'anello **C** assume una conformazione a busta

distorta a causa dell'anello **D** ad esso attaccato.

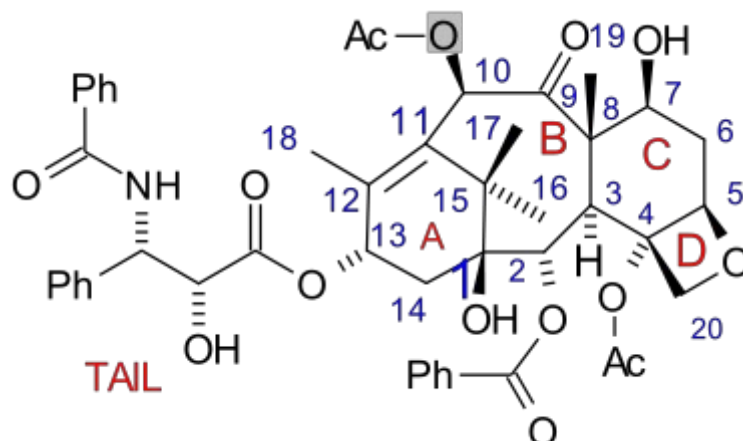


Figura 3: Gli anelli dello scheletro centrale sono convenientemente identificati quali: anello A (cicloesene), anello B (ciclottano), anello C (cicloesano) ed anello D (oxietano).

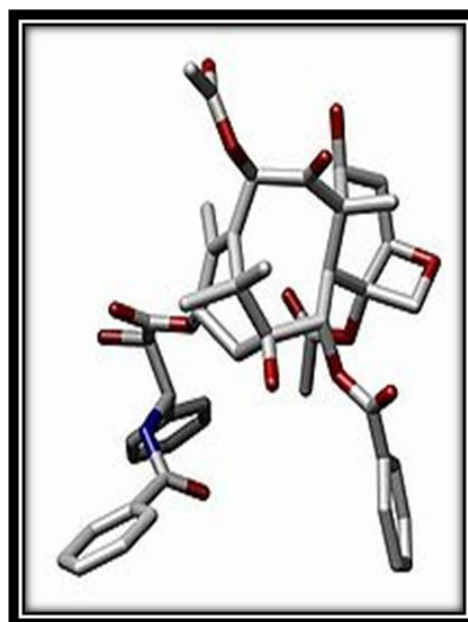
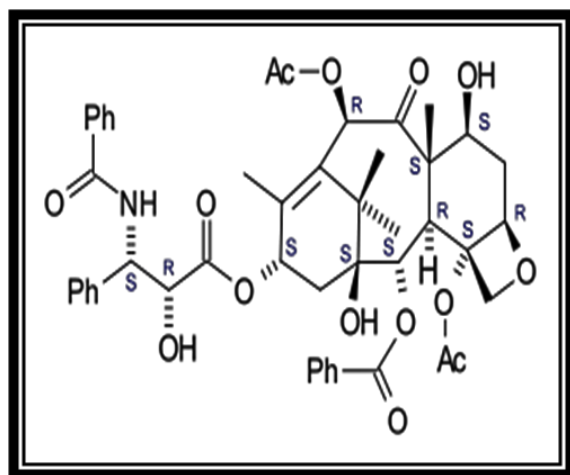
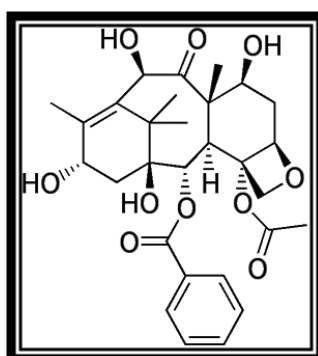


Figura 4. a) Stereochimica e configurazione assoluta degli stereocentri del taxolo; b) struttura tridimensionale stick del taxolo come ricavata dai raggi X.

I chimici organici, ed in particolare gli stereochimici, possono ben comprendere quindi quale immane e complesso compito fosse la procedura di sintesi che rispettasse la stereochimica dell'alcaloide estratto dalla pianta. La sintesi del taxolo apparve subito simile alla ricerca del santo Graal e fortunatamente negli anni novanta circa 30 gruppi di ricerca accettarono la sfida e tramite procedure innovative ed assai complesse solo 5 ne riportarono una procedura di sintesi

totale [4-9]. Tutti i protocolli sintetici hanno in comune la costruzione dell'anello [9.3.1.0] pentadecenico e si differenziano poi nella procedura di scelta della catena laterale (Tail).

Bisogna precisare che in alcune procedure di sintesi si usarono quali precursori molecole già presenti in natura. Infatti il frammento diterpenico tetraciclico del taxolo, ossia la **10-deacetilbaccatina III**, che costituisce la parte più complessa del taxolo per quanto riguarda la sua sintesi totale, è facilmente disponibile in natura per estrazione dalle foglie di tasso baccato in buona resa (1g/Kg).



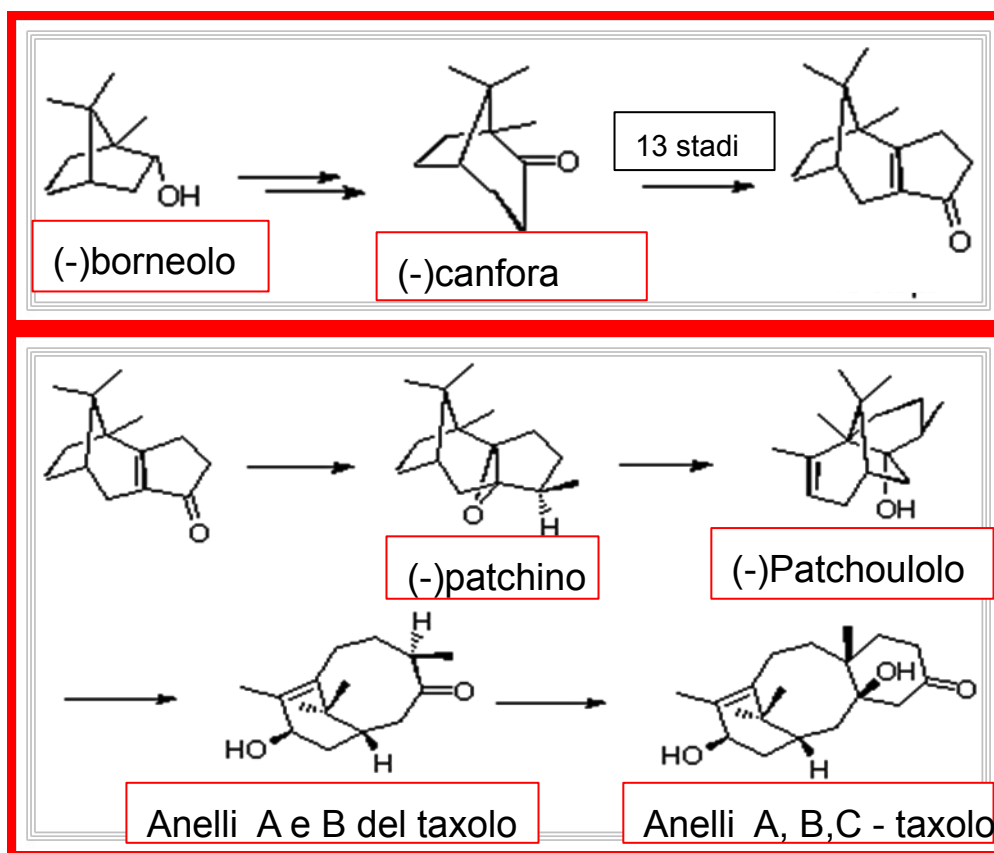
10-Deacetilbaccatina III

Dal punto di vista dell'ingegneria chimica, le prime e più innovative ed affascinanti procedure sintetiche furono quelle riportate dal gruppo di Robert A. Holton [4,5] della Florida State University in Tallahassee e dal team di Nicolaou [6] dello Scripps Institute di La Jolla, California. Ai tempi, Holton era un chimico alquanto anonimo ed iniziò la sua ricerca da solo proseguendola però con perseveranza e grande rigore scientifico, mentre Nicolaou era già un'autorità nel campo, possedeva sofisticate strumentazioni avanzate nonché notevoli risorse finanziarie ed il suo gruppo di ricerca era costituito da numerosi validi collaboratori e dottorandi. È significativo riportare quello che accadde dopo la pubblicazione dei risultati dei due gruppi di ricerca sopra citati. Nel 1993 il gruppo di Holton riuscì nella sintesi prima di Nicolaou ed immediatamente spedì il lavoro al *Journal of American Chemical Society*, ma si evidenziò subito un grosso problema di priorità. Infatti, Nicolaou, che perseguì una differente strategia sintetica, completò la sua sintesi poco dopo Holton e pubblicò i suoi risultati su *Nature*. A causa dei tempi tecnici di "referaggio" e di pubblicazione dei fascicoli, risultò che il lavoro di Nicolaou apparve in letteratura prima di quello di Holton, nonostante quest'ultimo lo avesse sottomesso in data antecedente.

A chi dare quindi la vittoria temporale in questa storica sfida? La controversia, che affascinò anche i lettori non addetti ai lavori, fu sanata dallo stesso Nicolaou tramite un procedimento di "replay migliorativo". Ogni passaggio della procedura di Holton fu da lui sperimentalmente rivisitato, apportando a volte qualche miglioramento nelle rese, ed attribuendo onestamente quindi ad Holton la priorità temporale nella sintesi totale di questa affascinante e preziosa molecola.

La procedura sintetica di Holton [4,5], partendo dal (-)patchino ricavato dalla (-)canfora, si completa dopo 41 stadi ed il taxolo fu ottenuto con una resa complessiva del 2% (vedi schema 1). La strategia consiste in una sintesi lineare con formazione dell'anello **AB**, quindi ad esso si attacca l'anello **C** e successivamente l'anello **D**, indicati in figura 3.

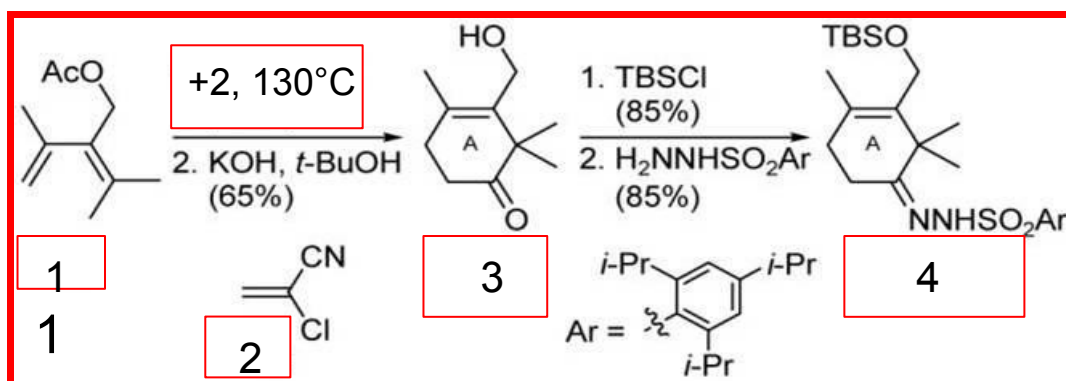
La licenza per la sintesi fu acquistata dalla Bristol-Myers Squibb che corrispose all'Università della Florida più di 200 milioni di dollari, di cui il 40% andò ad Holton.



Schema 1. Principali stadi reattivi della sintesi di Holton

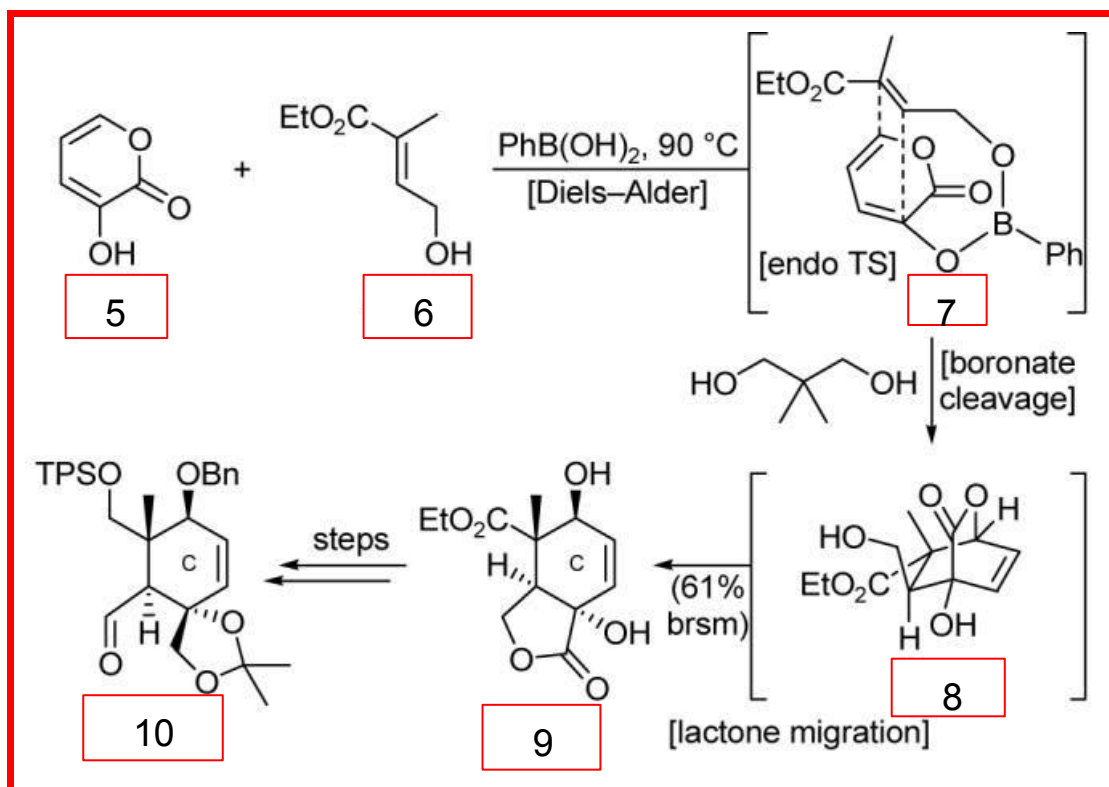
La procedura di **Nicolaou** prese l'avvio da una sofisticata retro sintesi da lui effettuata con grande competenza onde individuare gli spezzoni molecolari da assemblare per ottenere il taxolo. Quindi nella sua strategia sintetica usò come precursore il 3-idrossi-2-pirrone (ottenuto dall'acido mucico) e tramite una sintesi convergente gli anelli **A** e **C** confluiscono per dare lo spezzone **ABC** e successivamente ad esso attaccò l'anello **D**. La resa finale fu dell'0,03% dopo 51 stadi reattivi [6].

Riscaldando il diene **1** con un equivalente di 2-cloroacrilonitrile (**2**) si ottiene l'anello cicloesenico **A** (**3**), che fu trasformato nel suo idrazone **4** (Schema 2).



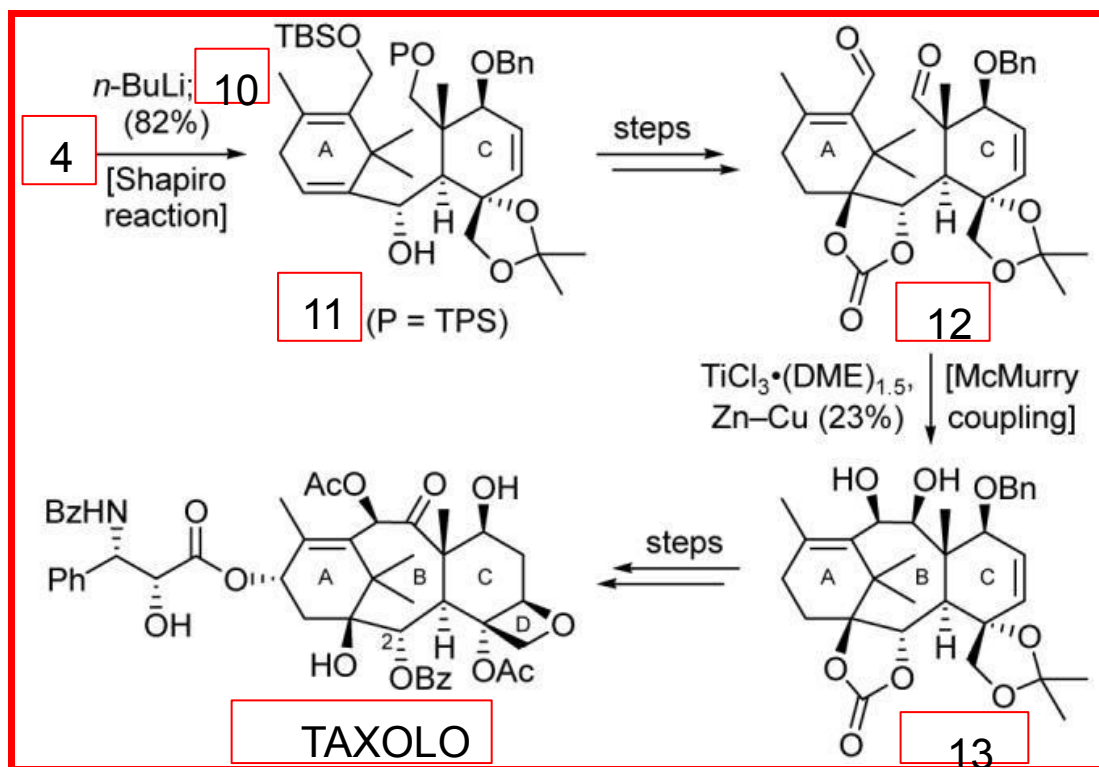
Schema 2. Formazione dell'anello A del taxolo.

Partendo quindi dall'3-idrossi-2-pirrone(5) che fece reagire con il dienofilo (6), tramite una addizione di Diels-Alder in presenza di acido fenilboronico, ottenne gli intermedi (7) e (8) che diedero quindi il lattone (9), convertito poi nell'anello C (composto 10, Schema 3)



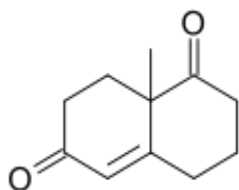
Schema 3. Formazione dell'anello C del taxolo

Indi gli anelli A e C vennero uniti per dare il composto (11), che fu trasformato nella dialdeide (12), la quale tramite una reazione di McMurry coupling diede l'intermedio (13) che contiene i tre anelli A, B e C del taxolo. Ulteriori manipolazioni ed attacco della catena laterale fornirono a Nicolau il desiderato Taxolo. (Schema 4).

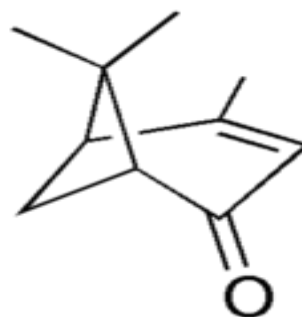


Schema 4. Formazione degli anelli A, B, C ed ottenimento del taxolo.

La sintesi di Danishefsky [7] richiede 47 stadi e la resa in taxolo si aggira sull'0,2% partendo dal chetone di Wieland-Mieshler; mentre quella di Wender [8] parte dal verbenone (facilmente ottenibile dall' α -pinene) e consiste di 37 stadi reattivi con resa finale dell'0,2%.



chetone di Wieland-Mieshler



verbenone

CONCLUSIONI

La scarsità di dati riportati da Amato inerenti la formula bruta e l'eventuale struttura dell'alcaloide da lui isolato non ci consentono di affermare che esso sia proprio il taxolo. Inoltre, l'Amato non fu interessato alle proprietà terapeutiche dell'alcaloide del tasso baccato, in quanto egli rivolse i suoi interessi scientifici prevalentemente alla milossina per via delle sue citate proprietà emmenagoghe. In letteratura nessuno proseguì gli studi dell'Amato né tanto meno egli o i suoi collaboratori pubblicarono altre notizie sull'alcaloide e quindi il dubbio permane. Resta però certamente assodato che la procedura di Amato per isolare questa sostanza è simile a quella adottata circa un secolo dopo dai ricercatori interessati al taxolo e le reazioni da lui descritte confermano che egli aveva ottenuto un potente alcaloide in forma pura. Potrebbe sorgere il dubbio che esso fosse la 10-Deacetilbaccatina III, sostanza maggiormente presente nel tasso baccato e di più facile estrazione, ma quest'ipotesi sarebbe in contrasto con le proprietà analitiche riportate da Amato in quanto essa non contiene atomi di azoto. Alternativamente, una ipotesi plausibile è che egli abbia isolato la taxina, un alcaloide relativamente abbondante nel tasso baccato, e che presenta una notevole analogia chimica con il taxolo.

In ogni caso, per gli autori, l'occasione è stata assai propizia e gratificante per fare un excursus sulle proprietà del taxolo, sulla sua costituzione e sulla sua sintesi chimica totale.

Bibliografia

- SCHIFF P.B., FANT J., HORWITZ S.B. 1979 - *Promotion of Microtubule Assembly in vitro by Taxol*, *Nature*, **277**, 665-667.
- AMATO D. E CAPPARELLI A. 1881 - *Ricerche sul tasso baccato*, *Atti dell'Accademia Gioenia*, **15**, 89-98.
- WANI M.C., TAYLOR H.L., MONROE, WALL E., COGGON P., MCPHAIL A.T. 1971 - *Plant Antitumor Agents. VI. The Isolation and Structure of Taxol, a Novel Antileukemic and Antitumor Agent from Taxus breoifolia*, *J Amer. Chem. Soc.*, **93**, 2325-2327.
- HOLTON R.A., SOMOZA C., KIM H-B., LIANG F., BIEDIGER R. J., BOATMAN P.D., SHINDO M., SMITH C.C., S. KIM, H. NADIZADEH, Y. SUZUKI, C. TAO, P. VU, S. TANG, P. ZHANG, K. K. MURTHI, GENTILE L. N., AND LIU J.H. 1994 - *First total synthesis of taxol. 1. Functionalization of the B Ring*, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 1597-1598.
- HOLTON R.A., SOMOZA CKIM., H-B., LIANG F., BIEDIGER 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., AND LIU J.H. 1994 - *First Total Synthesis of Taxol. 2. Completion of the C and D Rings*, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 1599-1600.
- NICOLAOU K.C., YANG Z., LIU J.J., UENO H., NANTERMET P.G., GUY R.K., CLAIBORNE C.F., RENAUD J., COULADOUROS E.A., PAULVANNAN K. AND SORENSEN E.J., 1994 - *Total synthesis of taxol, nature*, **367**, 630-634.
- MASTERS J.J., LINK J.T., SNYDER L.B., YOUNG W.B., DANISHEFSKY S.J. 1995 - *A Total Synthesis of Taxol*, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **34**, 1723-1726 ; b) DANISHEFSKY S.J., MASTERS J.J., LINK J.T., SNYDER L.B., YOUNG W.B., MAGEE T.V., JUNG D.K., ISAACS R.C.A., BORNMANN W.G., ALAIMO C.A., COBURN C.A., DI GRANDI M.J. 1996 - *Total Synthesis of Baccatin III and Taxol*, *J. Amer. Chem. Soc.*, **118**, 2843-2859.
- WENDER P.A., BADHAM N.F., CONWAY S.P., FLOREANCING P.E., GLASS T.E., GRANICHER C., HOUZE J.B., JANICHEN J., LEE D., MARQUESS D.G., MCGRANE P.L., MENG W., MUCCIARO T.P., MUHLENBACH M.,

- NATCHUS M.G., PAULSEN H., RAWLINS D.B., SATKOFKY J., SHUKER A.J., SUTTON J.C., TAYLOR R.E., TOMOOKA K. 1997 - *The Pinene Path to Taxanes. 5. Stereocontrolled Synthesis of a Versatile Taxane Precursor*; *J. Amer. Chem. Soc.*, **119**, 2755-2756; b) WENDER P.A., BADHAM N.F., CONWAY S.P., FLOREANCING P.E., GLASS T.E., HOUZE J.B., KRAUSS N.E., LEE D., MARQUESS D.G., MCGRANE P.L., MENG W., NATCHUS M.G., SHUKER A.J., SUTTON J.C., TAYLOR R.E. 1997 - *The Pinene Path to Taxanes. 6. A Concise Stereocontrolled Synthesis of Taxol*, *J. Amer. Chem. Soc.*, **119**, 2757-2758.
- MUKAIYAMA T., SHIINA I., IWADARE H., SAKOH H., TANI Y., HASEGAWA M., SAITOH K. 1997 - *Asymmetric Total Synthesis of Taxol*, *Proc. Japan. Acad.*, **73**, 95-100.