



A4
C4

申請日期	87.5.29
案 號	87108477
類 別	CO7H/00, 15/24

Int.-Cl.⁸

491850

(以上各欄由本局填註)

發明專利說明書

一、發明 名稱	中 文	製備鬼白乙叉甙之方法
	英 文	"PROCESS FOR PREPARING ETOPOSIDE"
二、發明 人	姓 名	1.李 J. 西佛伯格 2.普魯索桑 維米謝提
	國 籍	1.美國 2.印度
	住、居所	1.美國紐澤西州櫻桃谷市比佛布魯克街1301號 2.美國紐約州東希洛庫斯市雪球街7316號
三、申請人	姓 名 (名稱)	美商必治妥美雅史谷比公司
	國 籍	美國
	住、居所 (事務所)	美國紐澤西州普林斯頓市勞倫斯維爾-普林斯頓路
	代 表 人 姓 名	多明尼克.姆.梅薩培里

裝 訂 線

(由本局填寫)

承辦人代碼：
大類：
IPC分類：

A6
B6

本案已向：

國(地區) 申請專利，申請日期： 案號： ， 有 無主張優先權

美國 1997年6月2日 60/048,292 有 無主張優先權

有關微生物已寄存於： ，寄存日期： ，寄存號碼：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝 訂 線

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明(1)

本發明係關於一種製備具C-1"- β 變旋異構(anomeric)形式之抗癌化合物，鬼白乙叉甙，的新方法及一種新穎的中間化合物。

鬼白乙叉甙，VP-16，一種4'-去甲基-4-環鬼白基毒素(epipodophyllotoxin)的衍生物，為Bristol-Myers Squibb以Vepesid™商標賣出，乃廣泛地使用在癌症的臨床治療上。Sandoz公司的Kuhn等人於1968¹年首先報導出鬼白乙叉甙。在典型的鬼白乙叉甙合成中(圖1)，乃於4'-去甲基(demethyl)-4-環鬼白基毒素之側芳香基環的酚上做保護，然後再與已保護的葡萄糖衍生物之變旋異構(anomeric)的羥基做偶合。然後將糖及酚的羥基去保護而得到鬼白乙叉甙。

酚的保護反應通常以苄氧羰基(CBz)或其它的醯基保護基來完成。但是，最近幾年Wang^{3a}及Allevi^{3b}已各別地報導了沒有保護酚的偶合。在這些實例中分離都很困難，及所報導之想要的偶合產物之產率不如酚基有保護時高。而Wang及Allevi二者皆需要於初始的偶合步驟中使用具C-1"- β 變旋異構(anomeric)取向且已有保護的糖。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

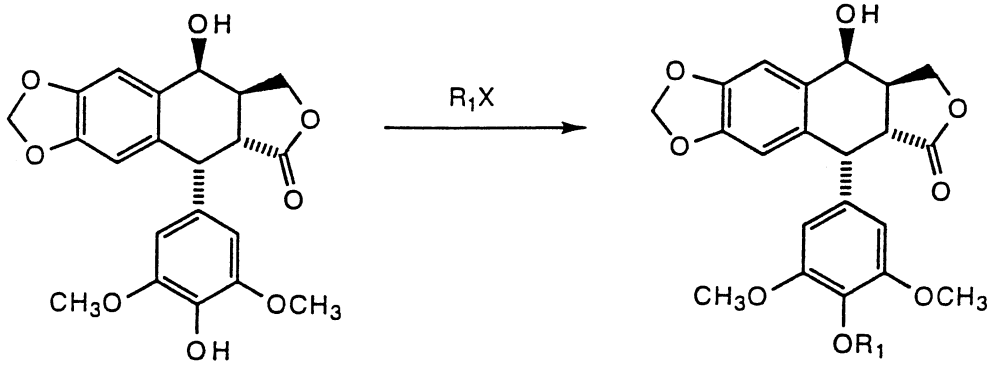
裝

訂

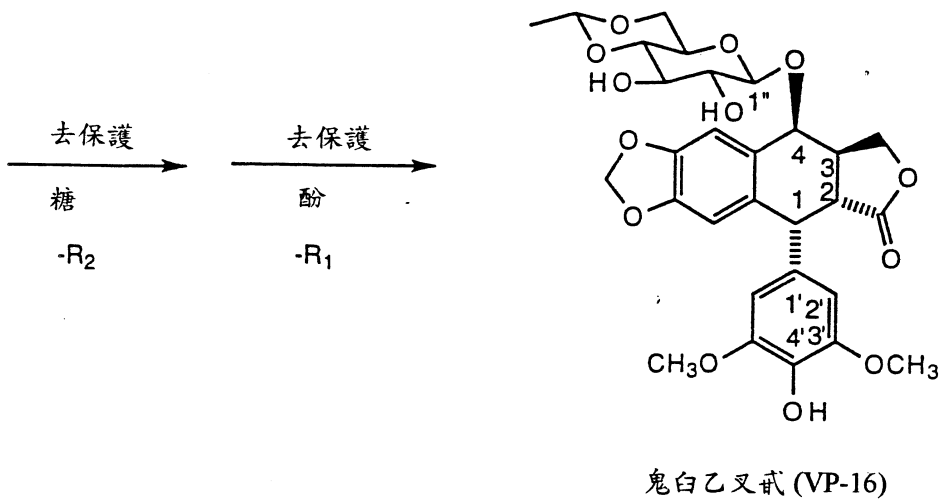
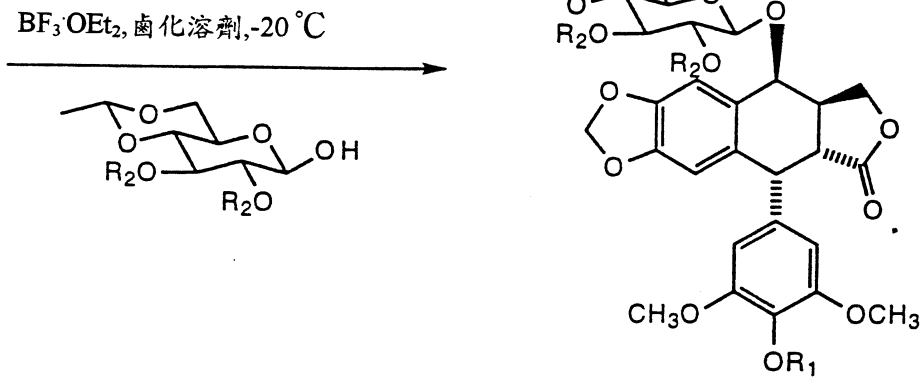
線

五、發明說明(2)

圖 1. 典型的鬼白乙叉甙之製程



4'-去甲基(demethyl)-4-環鬼白基毒素(epipodophyllotoxin)



鬼白乙叉甙 (VP-16)

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 (3)

此方法的關鍵步驟為偶合反應。通常利用攻擊糖在 $\text{BF}_3 \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{O}$ 上之變旋異構(anomeric)氧而產生 C-4 木聚糖碳陽離子而達成，此會得到 C-1"- α 及 - β 變旋異構(anomeric)的混合物。為了達到選擇性，先前技藝教導先製造大部分為 β 的糖使得反應會顯著地以保持 β -變旋異構(anomeric)組態^{1,2,3}的形式進行。此意謂著使用以 2,3-醯基保護的糖，其可顯著地製造成 β ，但是這些化合物會遭受保護基難以移除乾淨及通常需要使用化學計量的重金屬之缺點。相當少使用醚類保護基，因為 β 糖不容易製得(例如，從未報導 2,3,4,6-四-*o*-苄基- β -D-葡萄糖吡喃糖)。苄基醚保護基提供了溫和的、中性的去保護條件的優點。

Ohnuma 及 Hoshi⁴ 報導 2,3-二-*o*-苄基-4,6-*o*-亞乙基- α, β -D-別吡喃糖(allopyranose)與 4'-*o*-CBZ-4'-去甲基-4-環鬼白基毒素的偶合。Allevi 已報導 1-*o*- β -三甲基矽烷基糖的偶合，包括 1-*o*-TMS-2,3,4,6-四-*o*-苄基- β -D-葡萄糖吡喃糖於三氟甲酸三甲基矽烷酯存在下達成高選擇性^{3c,d}。

Silverberg 等人最近報導 4,6-亞乙基-2,3-二-*o*-苄基系- α, β -D-葡萄糖吡喃糖⁵的選擇性偶合。在典型地使用鹵化溶劑中，於反應條件下糖的變旋異構化(anomerization)非常地快速，所產生的偶合物為變旋異構(anomeric)混合物(其選擇性會受苄基上的取代基影響)。相對於偶合的速度，使用乙腈當溶劑可較佳地減緩糖的變旋異構(anomeric)化速度及可讓 C-1" 的立體化學受控制。製備 >85% 的 β 2,3-二-*o*-苄基-4,6-*o*-亞乙基-D-葡萄糖吡喃

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

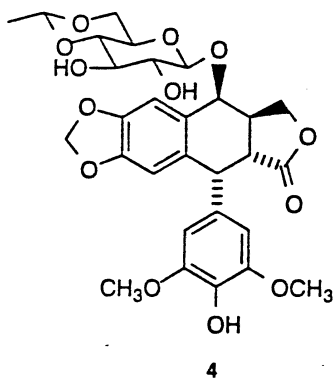
五、發明說明(4)

糖及其用在鬼白乙叉甙磷酸鹽的合成方法亦有揭示。

與先前技藝之問題相吡，吾等描述了一種新的鬼白乙叉甙之合成，僅兩個步驟而可達到高的產率，其乃藉由將 2,3-二-*o*-苄基-4,6-*o*-亞乙基- α, β -D-葡萄糖吡喃糖(即 α 和 β 變旋異構體(anomers)的混合物)與 4'-去甲基-4-環鬼白基毒素(即具有未保護的酚)，於有機溶劑中，較佳地為乙腈，使用 $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ 偶合。新的中間產物形成意想不到的好選擇性，及由於 $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ 的存在驚人地及想不到地從 α 至 β 進行差向立體異構化(epimerize)，大概經由一利用 β 產物的沉澱來趨動的可逆反應，而得到非常高的選擇性(>44:1)。用來反應的糖不需含高的 β 變旋異構(anomeric)成分即可於偶合中達到高選擇性。產物可容易地分離及可利用再結晶純化。羥基的去保護反應，較佳地藉由於溫和的條件下進行氫化反應，以容易地獲得高的鬼白乙叉甙產率及純度。

發明概述

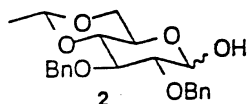
據此，本發明係關於製備具有下列結構的鬼白乙叉甙 4 化合物的方法



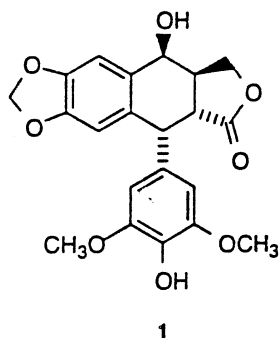
五、發明說明(5)

其包含：

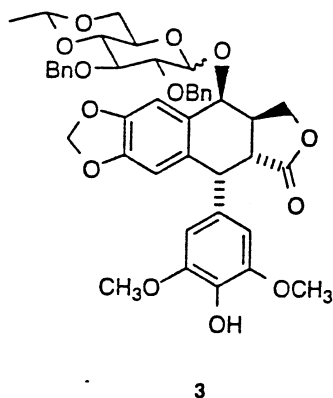
(a) 將具有下列化學式 2 結構的化合物之變旋異構(anomeric)混合物



與具有下列結構的化合物 1 反應



其係於作為反應介質的有機溶劑中及於路易士(Lewis)酸的存在下，於室溫或室溫之下進行，以形成具有下列化學式 3 結構的化合物之變旋異構(anomeric)混合物



(b) 從該反應介質中回收實質上無 α 形式的 C-1'' - β 形

五、發明說明(6)

式之化合物 3 ; 及

(c) 移除步驟(b)中的產物之羥基保護基。

較佳的具體實施例為前述的方法，其中該溶劑可為鹵化或非鹵化，更佳地為乙腈。

另一較佳的具體實施例為前述的方法，其中該羥基保護基乃在周圍溫度下於貴金屬催化劑的存在下，利用氫化反應移除。

在另一較佳的具體實施例中之貴金屬催化劑為鈀。

在另一較佳的具體實施例中之路易士酸為三氟化硼醚合物(boron trifluoride etherate)。

在另一較佳的具體實施中，反應在約室溫至 -40°C ，更佳地在 0°C 至 -40°C 及仍然更佳地在 -10°C 進行。

本發明亦關於獲得化合物 3 之 C-1"- β 變旋異構體(anomer)的方法，其包含於有機溶劑中形成化合物 3 的變旋異構(anomeric)混合物溶液，回收所產生的沉澱產物，將該回收產物於醇中形成第二個溶液，從該第二個溶液中結晶該 C-1"- β 變旋異構體(anomer)及回收實質上無 α 變旋異構體(anomer)的該 C-1"- β 變旋異構體(anomer)結晶。

在一較佳的具體實施例中之醇為甲醇。

本發明亦關於新的具有下列化學式的中間化合物 3 α , β 。

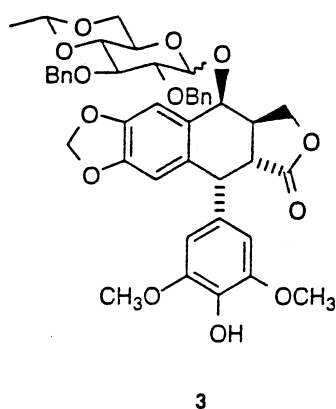
(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明(7)



較佳地，化合物 3 為 C-1''-β 變旋異構體(anomer)。

發明之詳細說明

於此描述之本發明係關於一種從 4'-去甲基-4-環鬼臼基毒素 1 中合成鬼臼乙叉甙 4 的新方法。

如較佳的具體實施例之圖解(圖 2)，在 1 與 2,3-二-*o*-苄基-4,6-*o*-亞乙基- α,β -D-葡萄糖呷喃糖 2 α,β 間的偶合，產生一新的中間化合物之混合物， 3β 及 3α 。可讓反應繼續，化合物在 C-1'' 的差向立體異構化(epimerization)會提供很高的 $\beta:\alpha$ 選擇性。固體直接地以過濾反應混合物而分離(亦可使用其它整理方法)，利用再結晶純化至 3β 。然後將 3β 進行氫化反應以移除保護基，而得到鬼臼乙叉甙 4。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

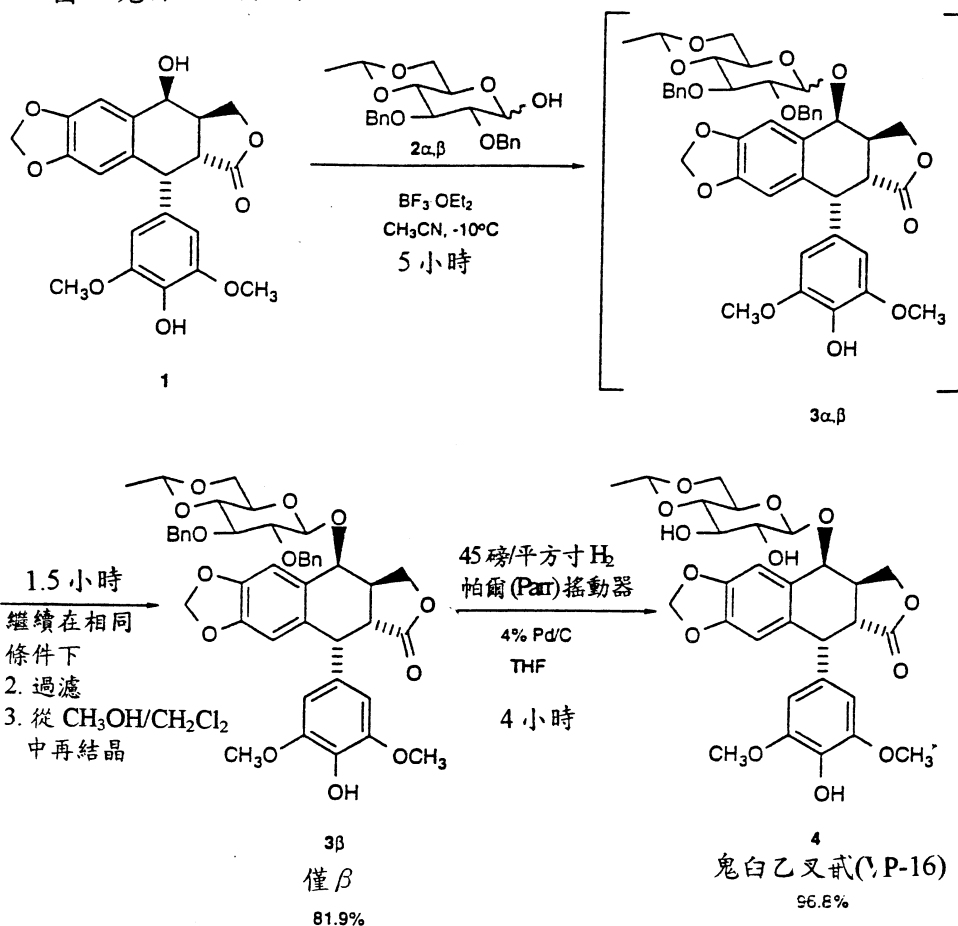
裝

訂

錄

五、發明說明 (8)

圖 2. 鬼白乙叉貳之製程



(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

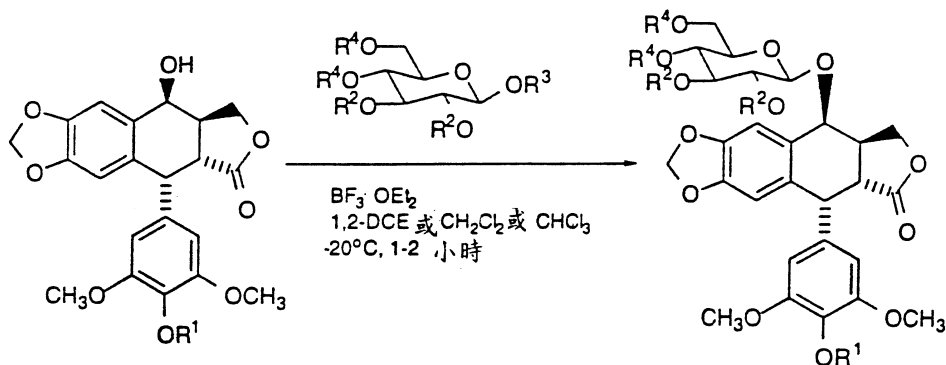
1. 偶合

於過去大部分的糖-木聚糖偶合物(即化合物1及2之反應)具有非常相類似的特質，實質上與 Sandoz¹所揭示之方法沒什麼不同。典型地，4'-經保護的-4'-去甲基-4-環鬼白基毒素與2,3-二-o-醯基(酯或碳酸鹽)-經保護的- β -D-葡萄糖吡喃糖於三氟化硼醚合物(boron trifluoride etherate)存在下，於鹵化溶劑中(1,2-二氯乙烷或DCE、二氯甲烷

五、發明說明 (9)

或氯仿)於-20°C下偶合(圖3)^{1,2,3}。只要糖2在C-1位置完全地為β組態且在此反應條件下其變旋異構化(anomerization)緩慢，此反應提供了幾乎唯一的C-1"-β產物。

圖3. 文獻上之前例，醯基保護基



R¹ = -H, -C(O)R 或 -C(O)OR; R² = -C(O)R 或 -C(O)OR;
R³ = -H, -SnBu₃, -SiMe₃ 或 -P(NTs)Ph₂; R⁴ = R¹ 或 亞乙基縮醛

最近發表了使用醯基保護基的兩項方案(圖4)。Ohnuma及Hoshi⁴報導了2,3-*o*-二苄基-4,6-*o*-亞乙基- α, β -D-別哌喃糖(allopyranose)與4'-*o*-CBZ-4'-去甲基-4-環鬼白基毒素的偶合。Allevi及其同僚^{3c,d}報導1-*o*-三甲基矽烷基-2,3,4,6-四-*o*-苄基- β -D-哌喃葡糖苷可與相配的木聚糖偶合，其包括1，於二氯甲烷中使用三氟甲酸三甲基矽烷酯，在-70°C下可得到近乎唯一的C-1"- β 產物。要獲得高百分比的 β 偶合產物TMS基(即三甲基矽烷基)是必需的，同時需要一額外的步驟以將相同的基插入糖中。

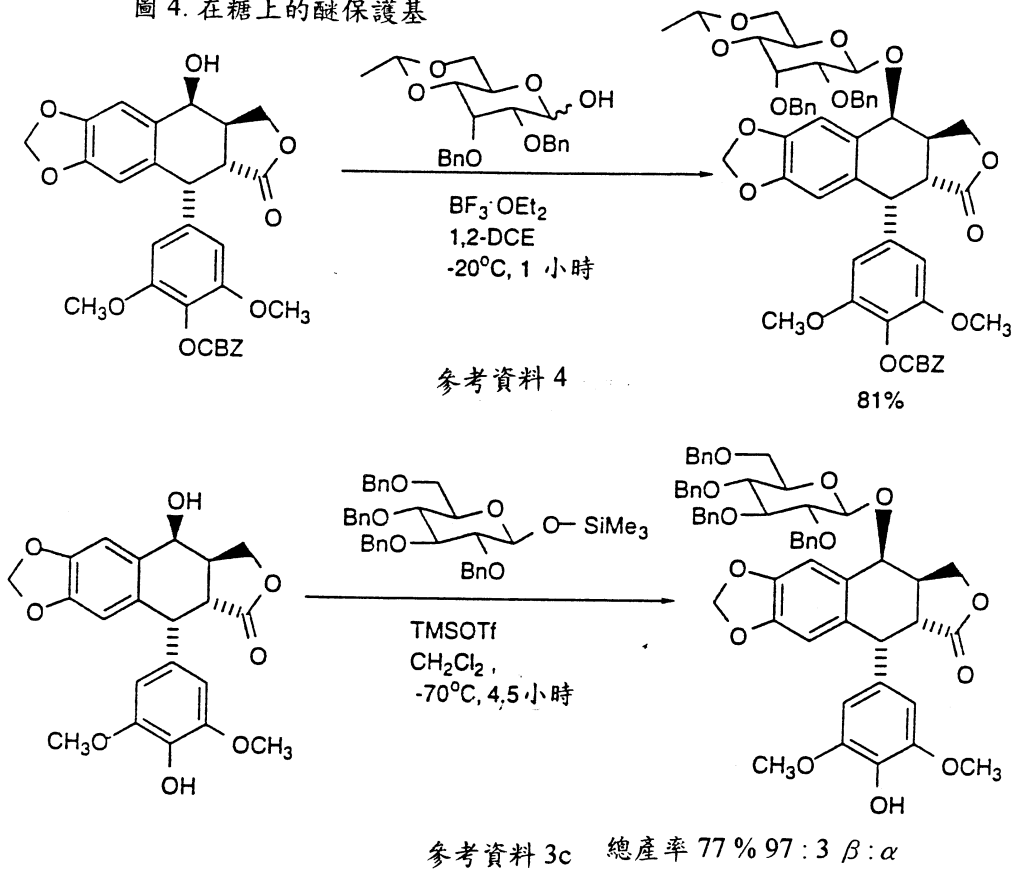
(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 (10)

圖 4. 在糖上的醚保護基



與先前技藝比較，於此揭示之方法(即圖 2)使用 2 當做糖或醣類成分。所需的糖 2 可用於文獻上已知對相似的化合物之製備方法來製備⁴。若有需要，2 的變旋異構體(anomers)混合物可轉變為 >85% 的 β 混合物。此可包括 a) 從己烷或庚烷中再結晶； b) 讓變旋異構體(anomers)的油狀混合物在室溫下靜置 2 個月；或 c) 從甲醇/水中再結晶，然後在低於其熔點下加熱此固體 1-7 天。但是，驚人地與想不到地發現於此使用的偶合步驟中並不需要純的 2 β 變旋異構純糖。1 及 2 α, β 於路易士酸存在下於有機溶

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 (11)

劑中的偶合非常迅速，其中路易士酸較佳地為三氟化硼醚合物，其中有機溶劑可為鹵化或非鹵化，較佳地為乙腈，其溫度在室溫至 -40°C ，較佳地 0°C 至 -40°C ，仍然更佳地在 -10°C ，在約5時內完成。

產物的初始變旋異構(anomeric)比例與化合物2的初始變旋異構(anomeric)組成物有關。若起始化合物2為 $>90\%$ 的 β ，偶合產物3之比例在 -40°C 下為約8:2的 $\beta:\alpha$ 。若所使用的糖2為63:37，則初始偶合產物3之比例為61:39。但是，若讓反應繼續，產物的 $\beta:\alpha$ 比例會有意想不到的增加。若產物殘存在溶液中，二個產物3 α 及3 β 間會達成熱力學平衡。此大概因為糖之可逆的未偶合及接著為快速的去偶合所造成。但是在此特定的實例中，產物3 β 由於較低的溶解度故優先地從乙腈中沉澱。殘存在溶液中的產物(可能大部分為 α)然後再達成平衡，促使反應朝向 β 產物。此理論說明了於反應中產物並不快速的沉澱而產物的比例朝向 α 。當最後有沉澱時，比例會反移向 β 。可使用非含高 β 成分的化合物2，雖然如此會使反應花多些時間以達到較高的比例。如97.8:2.2的 $\beta:\alpha$ 如此高的比例業已達到。有著純3 β 晶種的溶液亦可輔助產物的沉澱，因而降低整體的反應時間。

雖然在葡萄糖哌喃糖化合物2上的2,3-羥基-保護基較佳地為苄基(即 R_1 為苄基)，亦可考慮使用其它的芳基甲基。例如，有取代基的苄基可以選自由 C_{1-4} 烷基、羥基、苯基、苄基、鹵素，如氟、氯、溴及碘、烷氧基、硝基及羧酸和

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

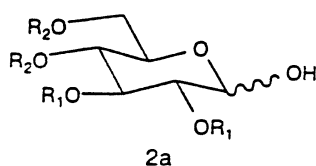
裝

訂

五、發明說明(12)

其酯所組成之群的一個或多個來取代。合適的經取代苄基包括2-甲基苄基、3-甲基苄基、4-甲基苄基、1或2-萘基、2,3或4-苯基苄基、4-甲氧基羰基苄基、2,6-二氯苄基、2-氟苄基及五氟苄基。

葡萄糖喃糖可進一步的具有化合物2a的結構



其中 R_1 乃如上述且 R_2 與 R_1 相同，或者二個 R_2 基一起為 C_{1-5} 亞烷基。較佳地，二個 R_2 基一起為亞乙基。在另一個具體實施例中，二個 R_2 基可一起為亞丙基或亞異丙基。

化合物2及2a乃藉由已知的方法製備，如於美國專利號碼4,997,931中所述。

產物3可直接地過濾反應混合物而將之分離。此產生了粗糙的固體其重量產率為95%及純度~90%。有一小量的3 α 。此分離結果比Wang或Allevi的方法所獲得的較佳。然後藉將固體3溶解在二氯甲烷中、加入甲醇、蒸掉大部分的二氯甲烷及冷卻進行結晶。所獲得的3 β 產率為78.6%其純度>99%。此產率比Wang的(60%)^{3a}或Allevi的偶合產率還高，同時提供較高品質的產物(總 α 及 β 量的產率為77%，97:3的 β : α)^{3c}，且不必使用層析法即可達到。亦可用其它的分離方法來達到如81.9%那樣高的產

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 (13)

率，如於實驗部分中所詳細描述的。

在偶合產物中的初始 C-1"-β:α 比例乃被多個因數影響，包括溫度及溶劑。

用於偶合步驟中所使用的路易士酸可為 AlCl₃、ZnCl₂、Et₂AlCl、CF₃SO₃H、CF₃SO₃Ag、Zn(CF₃SO₃)₂、TMSCF₃SO₃ 及三氟化硼醚合物。較佳地為三氟化硼醚合物。

用來當反應介質的有機溶劑可為鹵化或非鹵化的。其實施例有丙腈、丙酮、二氯甲烷、氯仿、1,2-二氯乙烷、乙腈及其混合物。用在偶合反應中較佳的溶劑為乙腈，因為它可直接的做 3β 產物的結晶，可讓純化來驅動所想要的產物之反應。

偶合反應通常在室溫或低於室溫下進行，較佳地在約 0°C 至 -40°C。較佳的溫度為 -10°C。

2. 去保護反應

於先前最常見的鬼白乙叉甙之合成，糖乃以醯基保護。因為鬼白乙叉甙對酸及鹼皆很敏感，這些的移除乃是重要的。通常，使用化學計量的重金屬化合物如醋酸鋅來達成去保護作用。此並非工業方法上所想要的。再者，視保護基的移除而定經常可見嚴重的降解。例如，Allevi 報導在最近的鬼白乙叉甙合成中，此步驟僅有 70% 的產率^{3b}。在鬼白乙叉甙的合成中，酚通常亦被保護起來，最普通是以苄基氧羰基，故亦需去保護；然而最近的公告³已證明酚的保護並非必要。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 (14)

於此描述的發明中，在回收化合物 3 的 C-1"-β 變旋異構體 (anomer) 後，羥基保護基乃利用已知的方法移除，而較佳地為氫化反應。氫化去保護作用步驟有效率的在小量的降解內進行，而製造出高產率的鬼白乙叉甙。化合物 3 非常的活潑及對酸和鹼都很敏感。存在之使用酸或鹼以移除羥保護基的方法通常會造成部分的想要的產物分解。此外，去保護反應步驟可將亞乙基從葡萄糖呋喃糖中分離。

氫化反應可以數種已知的方法來達成。典型地，氫化反應可於貴金屬催化劑存在下，於合適的溶劑或溶劑混合物中完成。

在較佳的具體實施例中，氫化反應於含化合物 3C-1"-β 變旋異構體 (anomer) 的四氫呋喃 (THF) 或丙酮溶液中，使用 4% 鈀/碳進行。混合物進行氫化反應數個小時，典型地為在 40-50 磅/平方吋的氫下 3-6 小時。催化劑可利用過濾法移除，而鬼白乙叉甙可從 THF-水或甲醇-水溶液中做再結晶。

在此描述的發明中，保護基較佳地在 Pd/C 催化劑之上以氫化反應移除。可獲得 96.8% 的產率。與先前的鬼白乙叉甙合成比較有幾種優點：a) 僅有一個去保護反應步驟而非兩個；b) 在進行糖的去保護時可避免使用重金屬如醋酸鋅；c) 氫化反應條件為溫和的、中性的及高產率的；d) 不需使用層析法而可獲得高純度的鬼白乙叉甙。

簡而言之，此方法具有下列優點：a) 它為短的有效率的不需任何層析法純化的鬼白乙叉甙之合成；b) 在偶合

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

錄

五、發明說明 (15)

反應期間，化合物 1 酚未被保護且在產生的化合物 3 β 上的糖保護基可移除以得到高產率(此二步驟的總產率為 79.3%-Allevi 報導全部為 35.7%^{3b} 及 70%^{3c}，Wang 為 54%^{3a})；c) 考慮到 3 α 至 3 β 的新差向立體異構化(epimerization)，甚至從適中的 β : α 比例之糖 2 起始反應，可獲得非常高的 β : α 比例之偶合產物 3；及 d) 不需如 Allevi 所教示^{3c,d} 在偶合之前於糖化合物 2 上製造 C-1 衍生物(如使用 1-*o*- β -三甲基矽烷基糖)。

接著於此闡明本發明之特定實施例，其非為限制其本發明範圍，熟於此方面技藝之人士可明白其變異。

實施例 12',3'-二-*o*-苄基鬼白乙叉甙(3 β)(直接過濾)：

將 250 毫升的三頸圓底瓶於烘箱中乾燥，塞上塞子、注入 N₂、置入機械攪拌子及溫度計及在 N₂ 下冷卻。加入化合物 1 (5.00 克，12.49 毫莫耳)及 2 α, β (5.792 克，14.99 毫莫耳，1.2 當量)，接著加入無水乙腈(111 毫升)。於室溫下攪拌此泥漿數分鐘，然後冷卻至 -40 °C。用注射器加入三氟化硼醚合物(4.15 毫升，33.72 毫莫耳，2.7 當量)。泥漿變黃且固體開始溶解，但是在八分鐘內當產物沉澱時，泥漿顯得較稠。HPLC 顯示出 14% 的 1、14.6% 的 3 α 及 66.2% 的 3 β 。在 25 分鐘之後，慢慢地加入無水乙腈(55.5 毫升)(保持溫度於 -35 °C 以下)使混合物變稀。在 -40 °C 下 18 小時後，HPLC 顯示出 3 β : 3 α 的比例為 97.5 : 2.5。在總共 19 小時後，固體以真空抽濾法收

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 (16)

集 -40°C 的反應混合物。固體以非常冷的乙腈 (-40°C 至 -20°C) 清洗兩次，然後在真空烘箱中乾燥。粗糙的固體顯示出具有面積百分比 96。將此固體置於 500 毫升有機機械攪拌子的雙頸圓底瓶中，溶解在 CH_2Cl_2 (54 毫升) 裏。慢慢地加入甲醇 (270 毫升)，攪拌溶液數分鐘，可看見晶體形成。將混合物加熱至迴流，在大氣壓下蒸餾直到收集 55 毫升的蒸餾物。混合物在室溫下攪拌 2 小時，然後在冰中冷卻 2.5 小時。以真空抽濾法收集白色晶體化合物，以冰甲醇清洗兩次。固體在真空 40°C 下乾燥過夜。可獲得 7.54 克 (78.6% 產率) 的 3β ，其 HPLC 的面積百分比為 99.3。 $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ 7.36-7.19 (m, 8H), 6.99 (dd, $J=1.9, 7.5\text{Hz}$, 2H), 6.82 (s, 1H), 6.55 (s, 1H), 6.24 (s, 2H), 5.97 (d, $J=1.2\text{Hz}$, 1H), 5.89 (d, $J=1.2\text{Hz}$, 1H), 4.90-4.85 (m, 2H), 4.78-4.71 (m, 3H), 4.59-4.50 (m, 3H), 4.38 (dd, $J=9.0, 10.5\text{Hz}$, 1H), 4.23-4.14 (m, 1H), 3.75 (s, 6H), 3.65 (t, $J=9.0\text{Hz}$, 1H), 3.54 (t, $J=10.2\text{Hz}$, 1H), 3.45-3.35 (m, 2H), 3.32-3.27 (m, 1H), 3.23 (dd, $J=5.2, 14.1\text{Hz}$, 1H), 2.92-2.82 (m, 1H), 1.38 (d, $J=5.0\text{Hz}$, 3H)。 $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3): δ 174.9, 148.7, 147.0, 146.4, 138.5, 137.8, 134.0, 132.5, 130.6, 128.6, 128.3, 128.2, 128.1, 127.9, 127.73, 127.66, 110.6, 109.1, 107.8, 102.3, 101.5, 99.5, 81.7, 80.9, 75.4, 75.0, 73.5, 68.2, 67.9, 66.0, 59.2, 56.4, 43.7, 41.3, 37.5, 20.4。

實施例 2

2',3'-二-0-苄基鬼白乙叉甙 (3β) (以緩衝液冷卻)

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 (17)

將 250 毫升的三頸圓底瓶於烘箱中乾燥，塞上塞子、機械攪拌子、溫度計、注入 N_2 且在 N_2 之下冷卻。加入化合物 1 (5.00 克) 及無水乙腈 (111 毫升)。攪拌此泥漿然後冷卻至 $-40\text{ }^\circ\text{C}$ 。加入 2 α, β (5.792 克，1.2 當量) 的樣品。用注射器加入三氟化硼醚合物 (4.15 毫升，2.7 當量)。泥漿變黃且固體開始溶解，但是在十分鐘內當產物沉澱時，泥漿顯得較稠。在 17 分鐘後 HPLC 顯示出 15% 的 1、19% 的 3 α 及 54% 的 3 β 。泥漿在 $-40\text{ }^\circ\text{C}$ 下攪拌 18 小時後，加入 pH 7 的緩衝液 (Fisher, 0.05M KH_2PO_4 , 222 毫升)。此混合物可加溫至 $0\text{ }^\circ\text{C}$ 與室溫之間。固體以真空抽濾法收集，以水清洗兩次然後在真空中乾燥 ($40\text{ }^\circ\text{C}$)。所獲得的粗糙的白色固體 (9.42 克，98.1%) 具有 HPLC 面積百分比 85.1%。將固體溶解在 CH_2Cl_2 (56.4 毫升) 中及在加熱時慢慢地加入一個百分比的甲醇 (282 毫升) 同時攪拌溶液。混合物加熱至迴流，在大氣壓下蒸餾直到收集 56 毫升的蒸餾物。將混合物冷卻至室溫，然後在冰浴中冷卻 2 小時。以真空抽濾法收集白色晶體，以冰甲醇清洗兩次。固體於真空烘箱中乾燥 ($40\text{ }^\circ\text{C}$ ，真空下 (house vacuum)) 過夜。可獲得 7.06 克 (73.6% 產率) 的 3 β 。其 HPLC 的面積百分比為 99.1。

實施例 3

2',3'-二-0-苄基鬼白乙叉甙 (3 β) (以 N-甲基嗎林冷卻及甲苯萃取)

將含攪拌子的 25 毫升雙頸圓底瓶於烘箱中乾燥、塞上

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

錄

五、發明說明 (18)

塞子、注入 N_2 及在 N_2 之下冷卻。加入化合物 1 (0.180 克) 及 2 α, β (0.21 克, 1.2 當量), 接著為無水乙腈 (4 毫升)。攪拌泥漿然後冷卻至 $-40^\circ C$ 。用注射器加入三氟化硼醚合物 (0.15 毫升, 2.7 當量)。泥漿變黃且固體開始溶解, 但是在十二分鐘內當產物沉澱時, 泥漿看起來變稠。在 12 分鐘後, 加入無水乙腈 (2 毫升) 便於攪拌。泥漿在 $-40^\circ C$ 下攪拌過夜。加入 N-甲基嗎林 (0.45 毫升, 9 當量) 以冷卻反應。混合物以甲苯稀釋 (固體會溶解) 並以水洗兩次。溶劑在真空中移除。所產生的黃色固體溶解在熱甲苯 (2 毫升) 中。慢慢地加入甲醇 (10 毫升) 此時保持溶液溫暖及攪拌所產生的溶液。讓混合物冷卻至室溫, 當溫度接近周圍溫度時產物開始結晶。泥漿在冰浴中冷卻 2.5 小時。以真空抽濾法收集白色晶體並以冰甲醇洗兩次。固體於真空中 ($40^\circ C$) 乾燥過液。可獲得 0.18 克 (51.3% 產率) 的 3b, 其面積百分比為 99.1。

實施例 4

2',3'-二-o-苄基鬼白乙叉甙 (3 β) (緩衝液冷卻及甲苯萃取)

將 15 毫升裝有攪拌子的圓底瓶在烘箱中乾燥、塞上塞子在 N_2 下冷卻。加入化合物 1 (0.18 克) 及 2 α, β (0.21 克)。加入無水乙腈 (4 毫升), 將泥漿冷卻至 $-40^\circ C$ 。加入三氟化硼醚合物 (0.15 毫升)。在 25 分鐘後, 加入乙腈 (2 毫升)。此混合物在 $-40^\circ C$ 下攪拌過夜。加入 pH 7 的緩衝液 (0.05 M KH_2PO_4 , 8 毫升) 及將混合物加熱至室溫, 然

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

錄

五、發明說明 (19)

後攪拌以甲苯萃取。有機相以水洗一次，在真空中濃縮至油狀。加入甲苯(1.5 毫升)然後將溶液加溫至 55 °C。加入甲醇(7.5 毫升)及在攪拌時將溶液冷卻至室溫然後 0 °C。固體在瓷漏斗(Buchner funnel)上收集，以冰甲醇洗兩次，在真空烘箱中乾燥(40 °C，真空下(house vacuum))過夜。此產生 0.1830 克(53.0%)的 3 β，其 HPLC 百分比為 99.3。

實施例 52',3'-二-0-苄基鬼白乙叉甙(3 β)：

將 500 毫升的三頸圓底瓶於烘箱中乾燥，加入機械攪拌子、溫度計、注入 N₂ 及在 N₂ 下冷卻。加入化合物 1 (9.0 克，22.5 毫莫耳)及 2 α,β (10.53 克，27.2 毫莫耳)。加入無水乙腈(200 毫升)。攪拌此泥漿且冷卻至 -13 °C。加入一部分的三氟化硼醚合物(4.45 毫升，33.7 毫莫耳)。在 -10 °C 下攪拌溶液 5 小時，此時 HPLC 顯示出比例 >95 : 5 的 α,β。在 10-15 分鐘之後結晶開始沉澱。加入吡啶(8:22 毫升，102 毫莫耳)攪拌 10 分鐘。混合物於真空中濃縮至體積 70 毫升。加入二氯甲烷(100 毫升)且溶液以水洗三次(每次 100 毫升)。將有機層濃縮至 70 毫升然後加入乙腈(100 毫升)。將溶液濃縮至 80 毫升。重覆加入乙腈及濃縮的步驟。將溶液加熱至 65-70 °C 然後慢慢地冷卻至 20 °C 且攪拌一小時。泥漿冷卻至 0 °C 且攪拌二小時。以真空抽濾收集產物並以冰乙腈(50 毫升)清洗。將溼餅(wet cake)溶在二氯甲烷(150 毫升)中，然後濃縮至

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

錄

五、發明說明 (20)

100 毫升。加入甲醇(300 毫升)及在大氣壓下將二氯甲烷蒸掉。藉由加入甲醇而將體積維持在 325 毫升。將泥漿冷卻至 20 °C 並攪拌一小時，然後冷卻至 0 °C 並攪拌二小時。收集產物並以冰甲醇清洗。固體在真空烘箱中於 45 °C 下乾燥，產生 14.08 克(81.9% 產率)的 3 β。

實施例 6

鬼白乙叉甙(4)：

於帕爾搖動器瓶中，將 THF : CH₃OH (1:1 , 30 毫升) 加入 3 β (2 克) 的混合物及 4% 溼 Pd/C 催化劑中。以氫氣清洗三次，然後在 50 磅/平方寸下進行氫化反應。於室溫下 3.5 小時後，將泥漿以通過塞里塑料(celite)過濾，以溫甲醇(56 °C , 3 x 15 毫升)清洗。將結合的過濾物蒸發成固體，加入水(25 毫升)且蒸發移除至~5 毫升。在室溫下攪拌此產生的水性泥漿(~25 毫升) 15 分鐘，在 20 °C 下 15 分鐘，然後過濾。固體的鬼白乙叉甙以水(2 x 5 毫升)清洗，同時在 40 °C 下乾燥至恆重(1.42 克， 92.5% 產率)。根據 HPLC，它含 99.7% 的 4。

實施例 7

鬼白乙叉甙(4)：

在 Buchi 儀器中於氮大氣下，將於 THF (150 毫升) 中的 3 β (20 克， 26.01 毫莫耳) 溶液加入於 THF (50 毫升) 中溼 5% -Pd/C (2.5 克， 50% 水溼 (water wet)) 的混合物中。以氫氣及氫氣清洗三次，在室溫 50 磅/平方寸下進行氫化反應。在 4 小時後，小心的減壓並從建立的氫化反應中移

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

錄

五、發明說明 (21)

出，以溫 THF 清洗(55 °C，2 x 200 毫升)。將豐富的反應混合物在含 0.45 微米耐綸薄膜的過濾器及塞里塑料-521 的瓷漏斗(Buchner funnel)上過濾。塞里塑料餅(celite cake)以用來清洗反應器的 THF 清洗。過濾物蒸發至~50 毫升的淡黃色溶液。加入水(300 毫升)及 10% 的 NaHSO₃ (3 毫升)及在室溫下攪拌 30 分鐘，在 3 °C 下 30 分鐘。將產生的無色泥漿過濾，以冷水(2 x 25 毫升)清洗，乾燥以得到鬼白乙叉貳(4, 14.83 克)重量產率 96.8%，其純度為 100.0%。

實施例 8

鬼白乙叉貳(4)：

在丙酮(250 毫升)中的 3 β (25 克，32.5 毫莫耳)泥漿及 5% Pd/C (50% 水溼(water wet))放在 1 升的氫化反應容器中。以額外量的丙酮(250 毫升)來清洗 3 β 及催化劑。產生的泥漿以氮氣清洗六次接著以氫氣，在 3 巴的壓力及室溫下進行氫化反應一小時。在完成反應後，加入 MeOH (250 毫升)溶解產物，催化劑以過濾法移除。反應器以 MeOH (250 毫升)沖洗，其接著用來清洗失去效能的催化劑。結合的過濾物以 NaHSO₃ 溶液(1N，7.5 毫升)處理以移除任何顏色及利用蒸餾交換來做 MeOH 的溶劑交換。產生物 MeOH 泥漿(325 毫升)加熱至 65 °C，在此時加入水(500 毫升)。結晶的泥漿加熱至 85 °C 以形成澄清的溶液，以鬼白乙叉貳種晶慢慢地冷卻至室溫然後 0 °C，在此處停留一小時。產物利用抽濾法分離及在真空中乾燥以得

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (22)

到鬼白乙叉貳 (4, 17.6-17.99 克), 其重量產率平均為 93.3%, 其 HPLC 面積%以執行三次為基礎大於 99%。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

錄

五、發明說明 (23)

參考文獻

1. a) von Kuhn, M.; von Wartburg, A. *Helv. Chim. Acta* 1968, 51, 1631.
b) Kuhn, M.; Keller-Juslen, C. Renz, J.; von Wartburg, A. *Canadian Patent No. 956939*, Oct. 24, 1974.
2. c) Keller-Juslen, C.; Kuhn, M.; von Wartburg, A. *J. Med. Chem.* 1971, 14, 936.
d) Keller-Juslen, C.; Kuhn, M.; Renz, J.; von Wartburg, A. *U.S. Pat. 3,524,844*, 1970.
e) Kuhn, M.; von Wartburg, A. *Helv. Chim. Acta* 1969, 52, 948.
f) Robin, J-P; Houlbert, N.; Lenain, V. *Eur. Pat. 435709-A1*, 1991.
g) Robin, J-P; Lenain, V. *Eur. Pat. 445021-A2*, 1991.
h) Saito, H.; Nishimura, Y.; Kondo, S.; Umezawa, H. *Chem. Lett.* 1987, 799.
i) Kolar, C. *Eur. Pat. 394907-A1*, 1990.
j) Kolar, C.; Moldenhauer, H.; Kneissl, G. *J. Carbohydr. Chem.* 1990, 9, 571.
k) Sterling, J.; Nudelman, A.; Herzig, J.; Keinan, E.; Weiner, B.Z. *U.S. Pat 4,900,814*, 1990.
l) Nudelman, A.; Herzig, J.; Keinan, E.; Weiner, B.Z.; Sterling, J. *Eur. Pat. 226202*, 1987.
m) Hashimoto, S.; Honda, T.; Ikegami, S. *Tetrahedron Lett.* 1991, 32, 1653.
n) Kurabayash, K.; Kinoshita, H.; Saito, H.; Takahashi, T. *Eur. Pat., 111058-A1*, 1984.
o) Fujii, T.; Chikui, Y. *U.S. Pat. 4,757,138*, 1988.
p) *Japanese Kokai J58-225-096*.
3. a) Wang, Z.; Ma, M.; Zhang, C. *U.S. Patent 5,206,350*, Apr. 27, 1993.
b) Allevi, P.; Anastasia, M.; Ciuffreda, P.; Sanvito, A.M.; Macdonald, P. *Tet. Lett.* 1992, 33, 4831.

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 (24)

- c) Allevi, P.; Anastasia, M.; Ciuffreda, P.; Bigatti, E.;
Macdonald, P. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 4175.
- d) Allevi, P.; Anastasia, M.; Bigatti, E.; Macdonald, P.
PCT Patent Application No. WO 93/02094., Feb. 4, 1993.
4. Ohnuma, T.; Hoshi, H. *U.S. Patent No. 4,997,931*, Mar. 5, 1991.
5. Silverberg, L.J.; Vemishetti, P.; Dillon, J.L., Usher, J.J.; *U.S. Patent 5,459,248*, Oct. 17, 1995.

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

四、中文發明摘要 (發明之名稱：製備鬼白乙叉甙之方法)

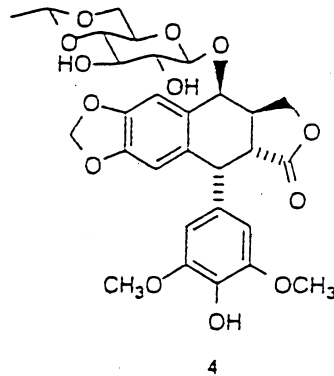
本發明係關於一種製備具 C-1"- β 變旋異構 (anomeric) 形式之抗癌化合物，鬼白乙叉甙，的新方法及一種新穎的中間化合物。

英文發明摘要 (發明之名稱："PROCESS FOR PREPARING ETOPOSIDE")

The present invention relates to a novel process for preparing the anticancer compound, etoposide, in the C-1"- β anomeric form, as well as a novel intermediate compound.

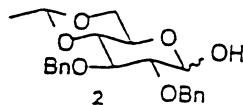
六、申請專利範圍

1. 一種製備具有下列結構的鬼白乙叉甙 4 化合物之方法

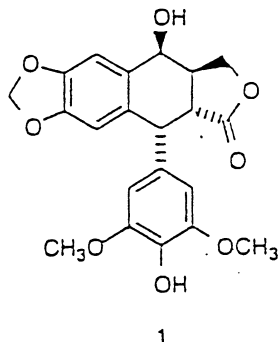


其包含：

(a) 將具下列化學式 2 結構的化合物變旋異構 (anomeric) 混合物

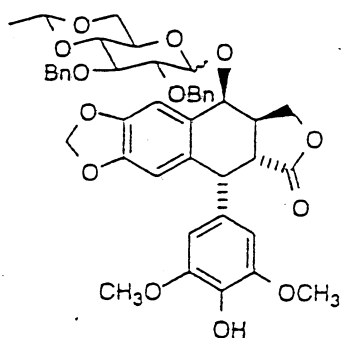


與具下列結構的化合物 1 反應



其係於作為做反應介質的乙腈中及於三氟化硼醚合物 (boron trifluoride etherate) 的存在下，於 $0^{\circ}\text{C} \sim -40^{\circ}\text{C}$ 之溫度下進行，以形成具下列化學式 3 結構的化合物變旋異構 (anomeric) 混合物

六、申請專利範圍

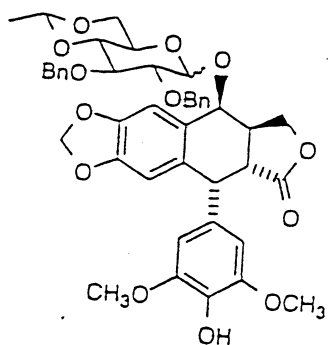


3

(b) 從該反應介質中回收實質上無 α 形式的化合物 3 之 C-1"- β 形式；及

(c) 用 Pd/C 催化劑移除步驟 (b) 中的產物之羥基保護基。

2. 根據申請專利範圍第 1 項之方法，其中該反應溫度為 -10°C 。
3. 一種獲得具下列結構的化合物 3 的 C-1"- β 變旋異構體 (anomer) 之方法，



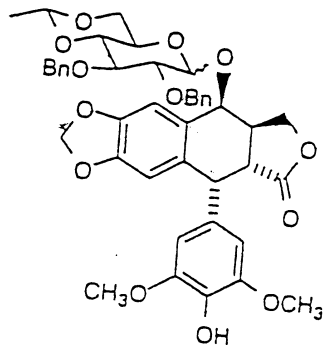
3

其包含於有機溶劑中形成化合物 3 的變旋異構 (anomeric) 混合物溶液，回收所產生的沉澱產物，將該

六、申請專利範圍

回收的產物在甲醇中形成第二個溶液，從該第二個溶液中結晶該 C-1''- β 變旋異構體 (anomer) 及回收該實質上無 α 變旋異構體 (anomer) 的 C-1''- β 變旋異構體 (anomer) 結晶。

4. 一種具有下列結構的化合物 3



3

5. 根據申請專利範圍第 4 項之化合物，其中該化合物 3 為 C-1''- β 變旋異構體 (anomer)。