

公告本

A4
C4

420687

申請日期	83.10.03
案 號	83109134
類 別	C67H9/02

Int.·Cl⁶

(以上各欄由本局填註)

發明專利說明書

一、發明名稱	中 文	伊托普賽得磷酸酯及伊托普賽得 (ETOPOSIDE) 之製法
	英 文	"PROCESS OF PREPARING ETOPOSIDE PHOSPHATE AND ETOPOSIDE"
二、發明人	姓 名	1. 李 · J · 錫維伯格 2. 布魯修森 · 維米薛提 3. 約翰 · L · 狄倫二世 4. 約翰 · J · 尤席爾
	國 籍	1. 美國 2. 印度 3. 美國 4. 英國
三、申請人	住、居所	1. 美國紐約州法耶維里市布魯克席德巷130號 2. 美國紐約州東喜拉庫斯市斯諾伯爾路7316號 3. 美國紐約州克雷市怡透巷5505號 4. 美國紐約州東喜拉庫斯市桑莫海文大道486號
	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)	美國紐約州紐約市公園街345號
	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：

A6

大類：

B6

IPC分類：

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 1993.11.04 145,517

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

J6.6 02.1

五、發明說明 (1)

發明之領域

本發明係關於抗腫瘤化合物之新穎製法以及製備抗腫瘤化合物之新穎中間物。更特定而言，本發明係針對 4'-去甲基表鬼臼毒素葡萄糖苷 4'-磷酸酯及製備該磷酸酯之中間化合物。本發明尤其關於伊托普賽得磷酸酯之製法及自伊托普賽得磷酸酯製備伊托普賽得。

發明之背景

伊托普賽得 (etoposide) 及泰尼普賽得 (teniposide) 為 4'-去甲基表鬼臼毒素葡萄糖苷衍生物，其在臨床上被廣泛用於治療癌症。尤其伊托普賽得在美國被准許用於治療小細胞肺癌及睪丸癌。不過伊托普賽得顯示在水中之溶解度有限，此使得調配成醫藥組合物困難。

為了增加伊托普賽得之水溶性及其被投與之能力，製備伊托普賽得磷酸酯以做為原藥。伊托普賽得磷酸酯在體內被代謝成伊托普賽得，然後被身體利用。水溶性原藥之一例被述於美國專利 4,904,768 號中，其揭示擁有 4'-磷酸酯基之 4'-去甲基表鬼臼毒素葡萄糖苷衍生物之水溶性原藥。本文所揭示之一例為伊托普賽得 4'-磷酸酯，伊托普賽得 4'-磷酸酯藉伊托普賽得與氧氯化磷反應繼而水解而製備，或者藉伊托普賽得與氯磷酸二苯酯反應繼而氫化以移除苯基而製備。

表鬼臼毒素葡萄糖苷之製備亦被揭示於美國專利 4,997,931 號。4'-去甲基表鬼臼毒素葡萄糖苷藉將 4'-經保護之 4'-去甲基表鬼臼毒素與經保護之糖縮合而製備。然後將生成之化合物衍化以產生對應的 4'-磷酸酯。

五、發明說明(2)

伊托普賽得及伊托普賽得磷酸酯之先前製法通常需要保護酚，與經保護之糖偶合，然後移除保護基。此外，大多數此等方法對於羥基及磷酸酯基需要不同的保護基。去保護步驟常需酸或鹼性條件，但其可能會使終產物降解而造成產率降低。

伊托普賽得磷酸酯通常藉額外的磷醯基化及去保護步驟而自伊托普賽得製備。此等多重步驟使得所期望化合物之總產率較低，以及由於在伊托普賽得之糖苷羥基上產生不期望的磷醯基化而使得製造化合物之費用及困難度增加。

發明之簡要說明

本發明係關於製備4'-去甲基表鬼白毒素葡萄糖苷-4'-磷酸酯之方法，尤其是藉偶合新穎被保護糖及新穎被保護4'-去甲基-4-表鬼白毒素-4'-磷酸酯而製備伊托普賽得磷酸酯之方法。更特定而言，本發明係關於經二(芳甲基)保護糖及經四芳甲基保護之4'-去甲基-4-表鬼白毒素葡萄糖苷4'-磷酸酯以及自其製備伊托普賽得磷酸酯之方法。在羥基及磷酸酯基上之芳甲基保護基可相同或相異，其較好為苄基或者為被一個或以上選自C₁₋₄烷基、羥基、苯基、苄基、鹵原子、烷氧基、硝基及羧酸及其酯之基取代之苄基。二(芳甲基)4'-去甲基-4-表鬼白毒素-4'-磷酸酯藉酚與亞磷酸二(芳甲)酯、四鹵代甲烷、三級胺及醯化觸媒在適當溶劑中反應而製備。

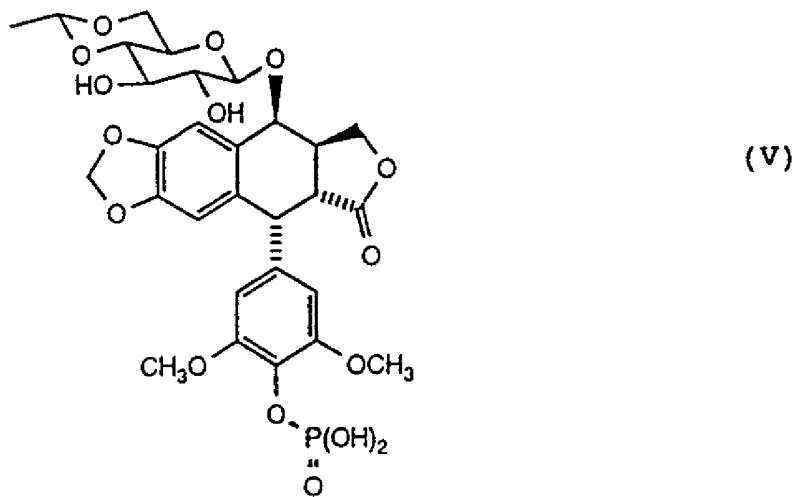
根據本發明之第一具體例，被保護之糖為2,3-二-O-苄基-4,6-O-亞乙基- α, β -D-吡喃型葡萄糖，其與4'-去甲

五、發明說明(3)

基-4-表鬼臼毒素磷酸酯在溶劑中偶合，以產生經四苄基保護之伊托普賽得磷酸酯。將被保護之伊托普賽得4'-磷酸酯結晶或再結晶以回收C-1"-β異構體。保護基藉氫化或其他適當方法自葡萄糖苷及磷酸酯基同時移除以得到伊托普賽得磷酸酯。

整個製程在無需廣泛純化步驟下，能有效率地得到純形式之伊托普賽得4'-磷酸酯。被保護之4-(2,3-二-O-苄基-4,6-O-亞乙基-β-D-吡喃型葡萄糖基)-4'-去甲基-4-表鬼臼毒素-4'-磷酸二苄酯易自反應介質結晶或被再結晶而單離得大致為純形式之C-1"-β形式。所期望之異構體通常藉單一結晶步驟獲得。

更特定而言，本發明係關於具有式V之化合物之製法：

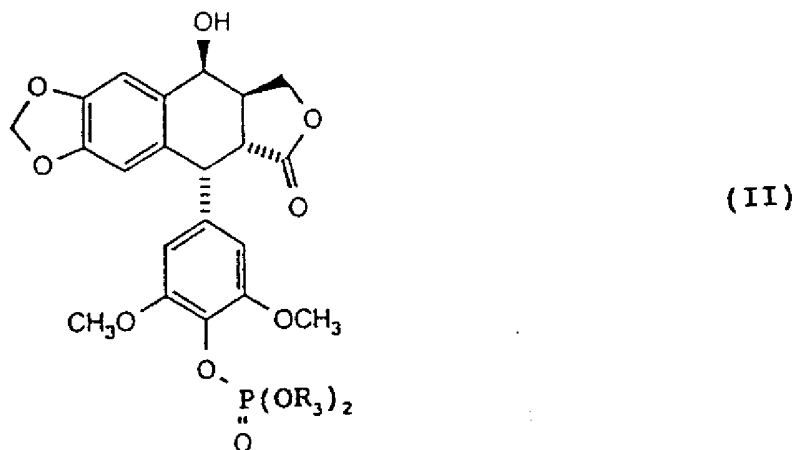


其包含令式IIIb化合物：

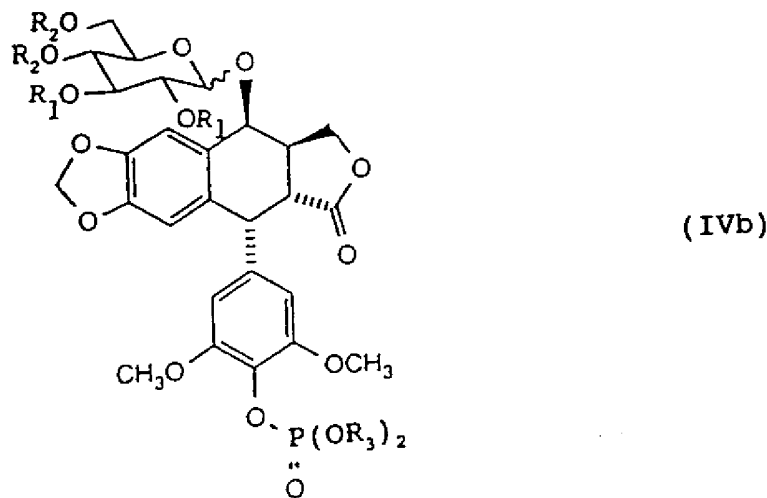


五、發明說明(4)

(其中 R_1 為芳甲基羥基保護基及 R_2 為芳甲基，或者二 R_2 基合併成為 C_{1-5} 亞烷基)與式 II 化合物：



(其中 R_3 為芳甲基及 R_1 ， R_2 及 R_3 為相同或相異)於存在路易斯酸下，在反應介質中反應，而形成式 IVb 化合物：

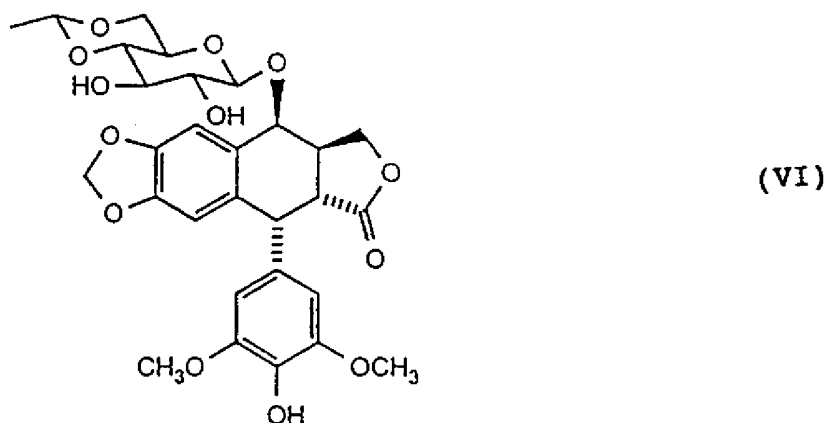


將化合物 IVb 之 C-1''- β 異構體選擇性結晶，繼而移除羥基及磷酸酯之保護基，以及在 R_2 為芳甲基羥基保護基之情況，令化合物 IVb 與具有 1 至 5 個碳原子之羰基或其對等縮

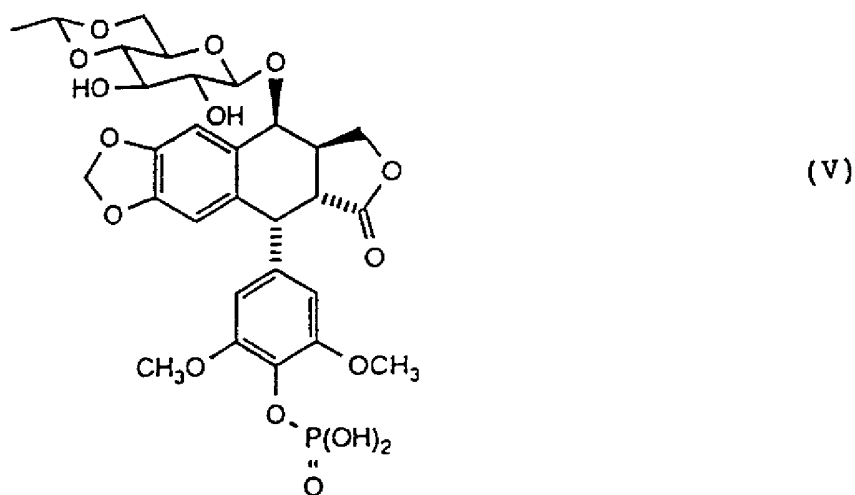
五、發明說明(5)

醛反應。

本發明之另一方面為具有式VI之化合物之製法：



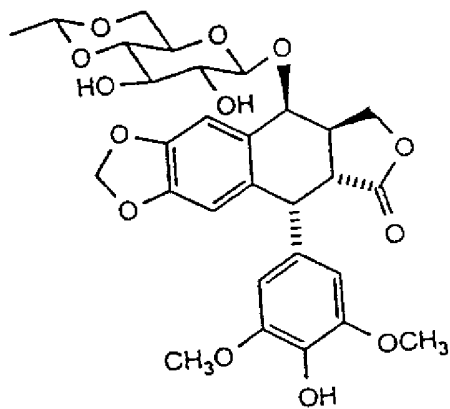
其包含令式V化合物：



與磷酸酯酶在緩衝溶液中反應以移除磷酸酯，然後回收該式VI化合物。

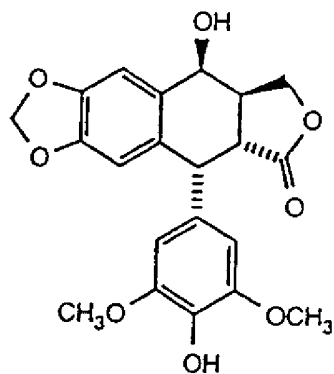
本發明之再一方面為提供一種式VI化合物之製法：

五、發明說明(6)



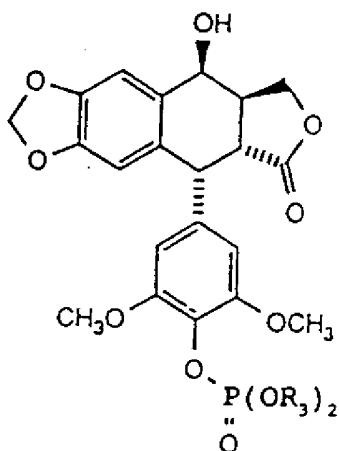
(VI)

其包含用磷醯基化劑磷醯基化式 I 化合物：



(I)

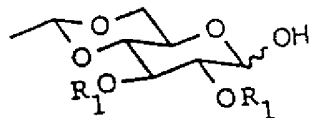
以產生如式 II 之被保護 4'-去甲基-4-表鬼臼毒素-4'-磷酸酯：



(II)

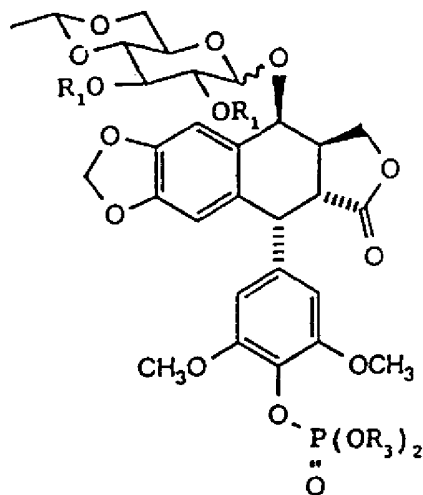
五、發明說明(7)

(其中 R_3 為芳甲基)，令該式 II 化合物與如式 III 之被保護糖反應，



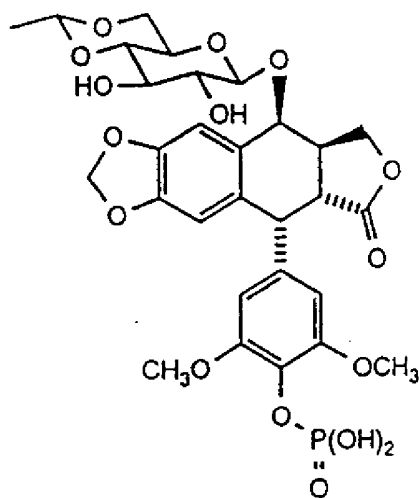
(III)

以產生式 IV 化合物：



(IV)

(其中 R_1 為芳甲基保護基)；單離如式 IV 之 C-1"- β 形式；
移除羥基及磷酸酯之保護基而產生式 V 化合物：



(V)

五、發明說明 (8)

以及用磷酸酯酶處理該式 V 化合物以移除磷酸酯基及產生式 VI 化合物。

發明之詳細說明

本發明係關於 4'-去甲基表鬼臼毒素葡萄糖苷-4'-磷酸酯，尤其是伊托普賽得 4'-磷酸酯，其醫藥上可接受之鹽及媒合物。本發明尚關於經芳甲基保護之糖以及伊托普賽得及伊托普賽得 4'-磷酸酯之經芳甲基保護之先質。本發明尚關於用羥基及磷酸酯保護基製造伊托普賽得磷酸酯之方法，此等保護基使得異構體易藉結晶分離。另一有利的特點為羥基及磷酸酯保護基易於不造成終產物降解下被同時移除。

本發明方法得到經芳甲基，尤其是經苄基保護之伊托普賽得 4'-磷酸酯，其易藉結晶自反應介質中分離出或自適當溶劑再結晶出而得到純異構體 C-1"- β 形式。整個製程快速且有效率，提供一種伊托普賽得 4'-磷酸酯之有效製法。磷酸酯基易藉磷酸酯酶移除，此提供一種製備伊托普賽得，其醫藥合格鹽及其媒合物之有效率方法。

整個製程在製造伊托普賽得磷酸酯或伊托普賽得上很有效率，此將在下文更詳細說明。在一較佳具體例中，4'-去甲基-4-表鬼臼毒素-4'-磷酸二苄酯於存在路易士酸下，與 2,3-二苄基-4,6-O-亞乙基- α, β -D-呋喃型葡萄糖偶合，以產生 4-(2,3-二-O-苄基-4,6-O-亞乙基- α, β -D-呋喃葡萄糖基)-4-去甲基-4-表鬼臼毒素-4'-磷酸二苄酯之異構體混合物。現已出乎意料之外地發現 C-1"- β 異構體

(請先閱讀背面之注意事項
填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明(9)

易自溶液中結晶而呈大致純之形式。C-1"- β 異構體可自反應介質中直接結晶出或自適當溶劑中再結晶出。C-1"- β 異構體然後被回收及氫化以同時移除羥基及磷酸酯保護基。

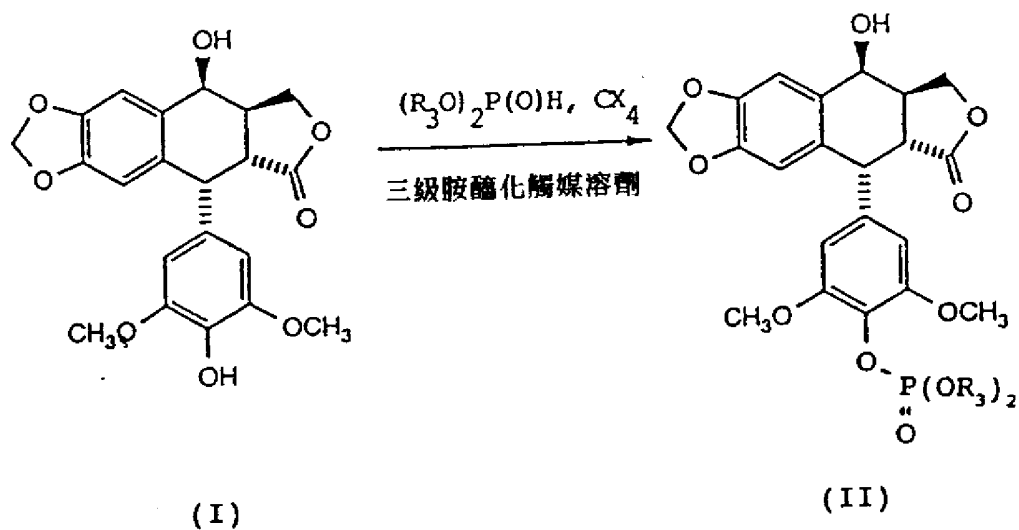
在本文中，術語「醫藥上可接受之鹽」包括單-及二-鹼金屬鹽及鹼土金屬鹽。在較佳具體例中，最終化合物為乙醇鹽媒合物。媒合物係藉標準方法自有機溶劑諸如乙醇中結晶或再結晶而形成。術語亞烷基包括直鏈或分支鏈烷基，例如亞乙基、亞丙基及亞異丙基。

本發明之一方面為將如式 I 之 4'-去甲基表鬼臼毒素磷酸酯基化，以製造如式 II 之 4'-去甲基表鬼臼毒素-4'-磷酸二(芳甲酯)。磷酸酯基化製程較好藉 4'-去甲基表鬼臼毒素與亞磷酸二(芳甲)酯，四鹵甲烷，三級胺及鹵化觸媒反應而進行。四鹵甲烷具有結構式 CX_4 ，其中 X 為選自 F，Cl，Br 及 I 之鹵原子。在較佳具體例中，四鹵甲烷為 CCl_4 。碳上之鹵原子可相同或相異。在較佳具體例中三級胺為 N,N-二異丙基乙胺(DIPA)，惟可使用其他適當的三級胺。鹵化觸媒可為本技藝已知之標準觸媒。在較佳具體例中，鹵化觸媒為 N,N-二甲基胺基吡啶(DMAP)。該反應可被摘要如下：

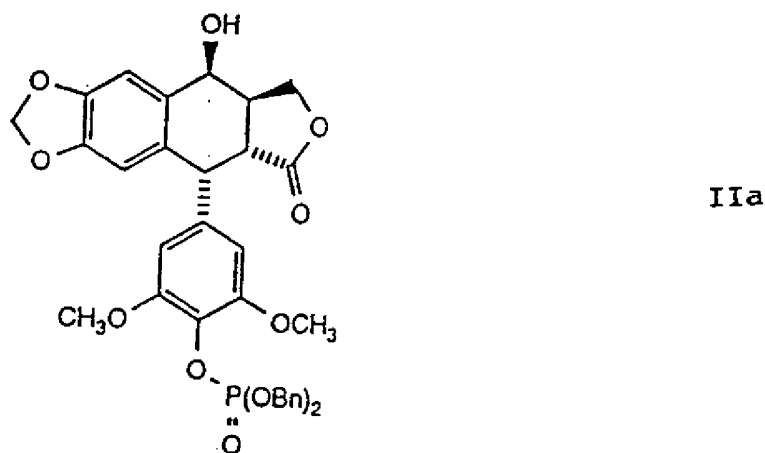
(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(10)



(其中 R_3 為芳甲基)。在較佳具體例中， R_3 為苄基，藉其所生成之磷酸酯為具有如化合物 IIa 之結構式：



或者， R_3 為苄基，其被一個或以上選自 C_{1-4} 烷基、羥基、苯基、苄基、鹵原子、烷氧基、硝基以及羧酸及其酯之基所取代。適當的經取代苄基包括，例如，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-甲氧羰基苄基、2,6-二氯苄基、2-氟苄基及五氟

五、發明說明 (11)

苯基。

該磷醯化製程為方便且易行之製程，其以高產率製造被保護之4'-去甲基表鬼臼毒素-4'-磷酸二(芳甲基)酯。該製程主要為單槽製程，其迅速且對化合物I之酚系羥基具有高度選擇性。雖然該製程特別利於磷醯基化4'-去甲基表鬼臼毒素，但該製程對於酚，包括，例如，對-氟酚、2,6-二甲氧基酚、1,2-苯二酚及4-羥基苯乙醇，皆可適用且具高度選擇性。使用4-羥基苯乙醇之製程於一級醇處極少產生磷醯基化。伊托普賽得之磷醯基化得到所期望的產物，且比預先形成氯磷酸二苯酯者較少產生葡萄糖苷磷醯基化。

較佳的溶劑為乙腈，惟任何鹵化或非鹵化溶劑皆可被用於磷醯基化。四鹵甲烷，尤其是四氯甲烷，較好以試劑量使用，而非如在一些習知方法中以溶劑量使用。被用於磷醯化反應之四鹵甲烷之量為每當量原料酚使用一當量或以上。該反應亦於溫和條件下進行，反應溫度為室溫或低於室溫（通常低於約-10℃）。磷醯化反應實質上在未添加氯磷酸二苯酯(DBPCI)下進行，既然DBPCI於原地產生。此使得無需以另外的步驟製備DBPCI，而減少所生成磷醯基化產物之雜質含量。通常反應在約45分鐘內完成。化合物II藉標準方法諸如在異丙醇中再結晶而回收。

化合物II然後於存在路易士酸下與羥基被保護之呋喃型葡萄糖偶合。在較佳具體例中，路易士酸為三氟化硼醚化物。另外的路易士酸包括，例如， $AlCl_3$ ， $ZnCl_2$ ，

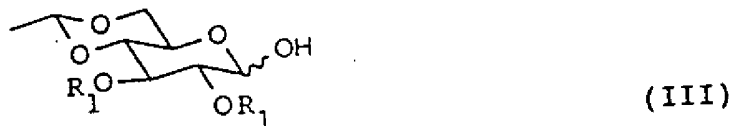
(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

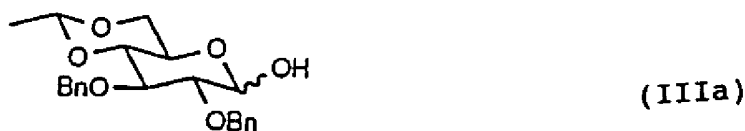
五、發明說明(12)

Et_2AlCl , $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$, $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{Ag}$, $\text{Zn}(\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$ 及 $\text{TMSCF}_3\text{SO}_3$ 。偶合反應可於存在分子篩下進行。偶合反應在鹵化或非鹵化溶劑中進行，最好在乙腈中進行。其他溶劑包括，例如，丙腈、丙酮、二氯甲烷、氯仿、1,2-二氯乙烷及其混合物。

較佳之羟基被保護之呋喃型葡萄糖具有式 III :



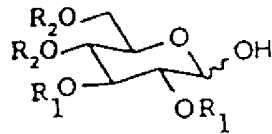
(其中 R_1 為芳甲基)。在較佳具體例中， R_1 為苄基，以致呋喃葡萄糖具有結構式 IIIa :



在另一具體例中， R_1 為經取代之苄基，其被一個或以上選自 C_1-4 烷基、羟基、苯基、苄基、鹵原子（諸如氟、氯、溴及碘）、烷氧基、硝基以及羧酸及其酯所組成族群中之基取代。適當的經取代苄基包括 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。通常， R_1 與 R_2 相同。

呋喃型葡萄糖尚可具有化合物 IIIb 之結構：

五、發明說明 (13)



IIIb

其中 R_1 如前及 R_2 與 R_1 相同，或者二 R_2 基聯合形成 C_{1-5} 亞烷基。二 R_2 基較好聯合形成亞乙基。在另一具體例中，二 R_2 基可聯合形成亞丙基或亞異丙基。

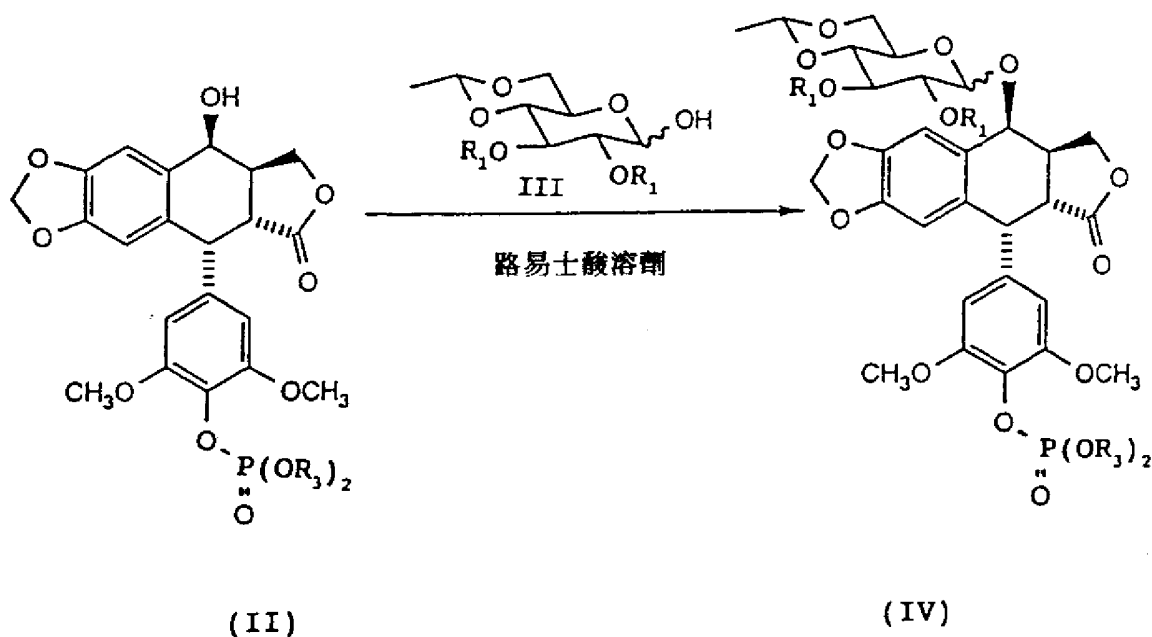
化合物 III、IIIa 及 IIIb 種已知方法諸如美國專利 4,997,931 號所述者製備。被芳基保護之呋喃型葡萄糖被形成為 C-1- α, β 之異構體混合物。芳甲基呋喃型葡萄糖之 C-1- β 異構體，與大多數異構體混合物不同，可藉結晶與 α -異構體分離。更特定而言，呋喃型葡萄糖化合物 IIIa 之異構體混合物可自己烷結晶而提供化合物 IIIa 之純異構體 C-1- β 形式。再者初始 $\beta : \alpha$ 組成為 1:1 之呋喃型葡萄糖化合物 IIIa 隨時間固化後， $\beta : \alpha$ 比變為 85:15。

如化合物 III 之被保護呋喃型葡萄糖與如化合物 II 之被保護 4'-去甲基-4-表鬼臼毒素-4'-磷酸酯之偶合反應較好於存在路易士酸下在乙腈中進行。

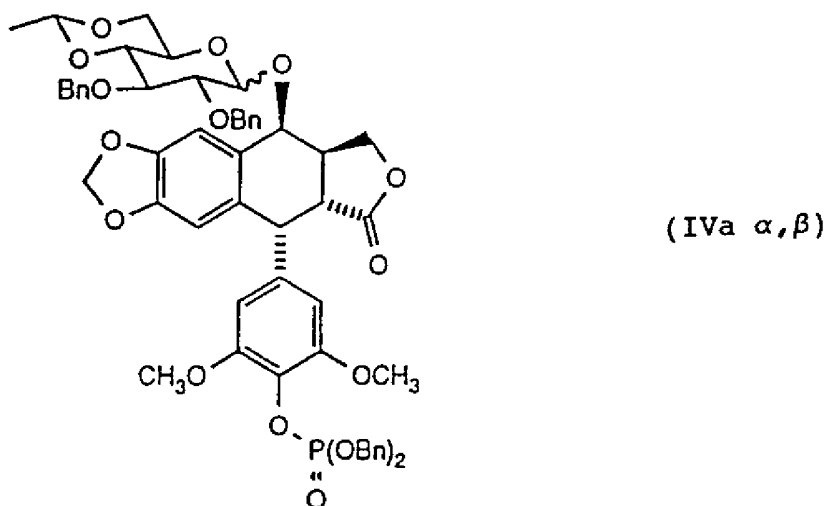
(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 (14)



如化合物 IIIa 之被經基保護之呋喃型葡萄糖與 4'- 去甲基-4-表鬼臼毒素-4'-磷酸二苄酯 (IIa) 之偶合產生具有結構式 IVa 之 4-(2,3-二-O-苄基-4,6-O-亞乙基-D-呋喃型葡萄糖基)-4'-去甲基-4-表鬼臼毒素-4'-磷酸二苄酯之 C-1"- α, β 異構體混合物：



五、發明說明 (15)

偶合反應於存在三氟化硼下會迅速且容易地進行，而得到化合物 IVa 之 α 及 β 異構體。

在偶合之前無需分離出化合物 III，尤其是 IIIa 之 β 形式。當該反應在鹵化溶劑中進行時，IVa α 與 IVb β 之最終比與原料化合物 IIIa 之異構體組成無關。在乙腈中，化合物 IIa 與 IIIa (85:15 β : α) 於 -20°C 及三氟化硼乙醚化物下偶合所得到之化合物 IVa β 與 IVa α 之比為 72:28。咸信糖在鹵化溶劑中會極迅速地異構化，而在乙腈中異構化將慢得多。

在另一具體例中，適當的鹽可被加到反應混合物中以增加溶劑的離子強度。適當的鹽包括鹼金屬及鹼土金屬過氧酸鹽。舉例言之，將 0.5M LiClO_4 溶於乙腈可使 IVa β : α 之比增加至 81:19。

所生成化合物 IVa α , β 之異構體混合物可自甲醇中再結晶而以高產率得到實質上為純之 C-1"- β 形式。在甲醇中或在甲醇與其他溶劑之組合物中結晶時，極性較低之 IVa β 異構體幾乎完全結晶析出且實質上未被 IVa α 異構體污染。

偶合反應通常在室溫或低於室溫下進行，其較好於約 -10°C 至 -40°C 下進行。雖然偶合反應在較低溫度下進行較慢，但較低溫度藉著減緩 IIIa 在反應混合物中之異構化而有助於 IVa C-1"- β 異構體之形成。舉例言之，4'-去甲基-4-表鬼臼毒素-4'-磷酸二苄酯與 2,3-二-O-苄基-4,6-O-亞乙基- α , β -D-吡喃型葡萄糖於 -20°C 在乙腈中之偶合反

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 (16)

應所產生之 IVa β 及 IVa α 之比為 72:28，而在 -40°C 下，該比為 74:26。於 -20°C 下在丙腈中進行相同的反應，所產生之 IVa β 與 IVa α 之比為 57:43，於 -78°C 下，該比為 76:24。

供偶合反應用之較佳溶劑為乙腈，因為其與偶合反應之標準溶劑相較，反應進行較迅速。乙腈具有能使偶合反應在約 2 小時內完成之不可預期之性質，而在二氯乙烷中之反應需要花費約 18 小時。在乙腈中之偶合反應比在丙腈中快速。再者，在乙腈中之偶合反應利於 IVa β 異構體之生成。曾研究數種溶劑對 4'-去甲基-4-表鬼臼毒素-4'-磷酸二苄酯與 2,3-O-苄基-4,6-O-亞乙基- α, β -D-呋喃葡萄糖之偶合反應之影響。一般而言， $\beta:\alpha$ 比率隨溶劑之介電常數增高而增加。

在呋喃型葡萄糖之經取代苄基保護基上之取代基亦會影響 IVa β 與 IVa α 之生成比。舉例言之，在相鄰位置之大型基團藉著在化合物 IVa 中產生立體阻礙而利於化合物 IV 之 C-1"- β 形式之生成，而相間及相對的取代基極少造成阻礙。電子吸引基團亦有助於 C-1"- β 異構體之生成。使用五氟苄基可得到最高的 $\beta:\alpha$ 比，其所產生之 IVa C-1"- β 與 IVa C-1"- α 之比為 80:20。

IVa α, β 之異構物混合物於標準處理之後藉著單次結晶步驟可被分離而得到大致純之 C-1"- β 形式。IVa α, β 之異構體混合物被溶於甲醇。將該溶液加熱至回流以完全溶解化合物 IVa α, β 。讓該溶液冷卻至室溫。所生成之

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(17)

沈澱為化合物 IVa 之大致純的 C-1"- β 形式。

在較佳具體例中，結晶以得到化合物 IVa 之 C-1"- β 形式係直接在偶合反應物中進行。偶合反應完全後，在未經進一步萃取或標準處理下，將甲醇加到溶液中並讓溶液溫熱至 0℃。讓該溶液於 0℃ 下靜置數小時。發現所生成之固體為大致純的 IVa C-1"- β 。

使化合物 IVa 之 C-1"- β 異構體直接結晶之能力（甚至從 50:50 異構體混合物中結晶）為本發明方法之一重要及不可預期的優點。如 J. March. 在 Advanced Organic Chemistry, 4th Ed., John Wiley and Sons, New York, 1992, p. 121 中所報告者，極少非對映異構物能藉單次結晶分離。

回收化合物 IV 之 C-1"- β 異構體後，藉已知方法，較好藉氫化同時移除羥基及磷酸酯保護基。氫化去保護基步驟能在極少降解下，以高產率有效地製造伊托普賽得磷酸酯。化合物 IV, IVa 及 IVb 極不安定且對酸及鹼二者皆敏感。原先使用酸或鹼移除羥基及磷酸酯保護基之方法通常會造成一部份期望產物分解。此外，去保護步驟可將亞乙基從嘔喃型葡萄糖上打斷下來。與原來去除保護基之方法相較，氫化法具有下列優點：只需一個去保護步驟，不需重金屬以及該法在溫和中性條件下進行且具有高產率。另外，得到純形式之伊托普賽得磷酸酯不需要層析，此與其他方法不同。

氫化法可藉許多已知方法進行。一般而言，氫化於存在

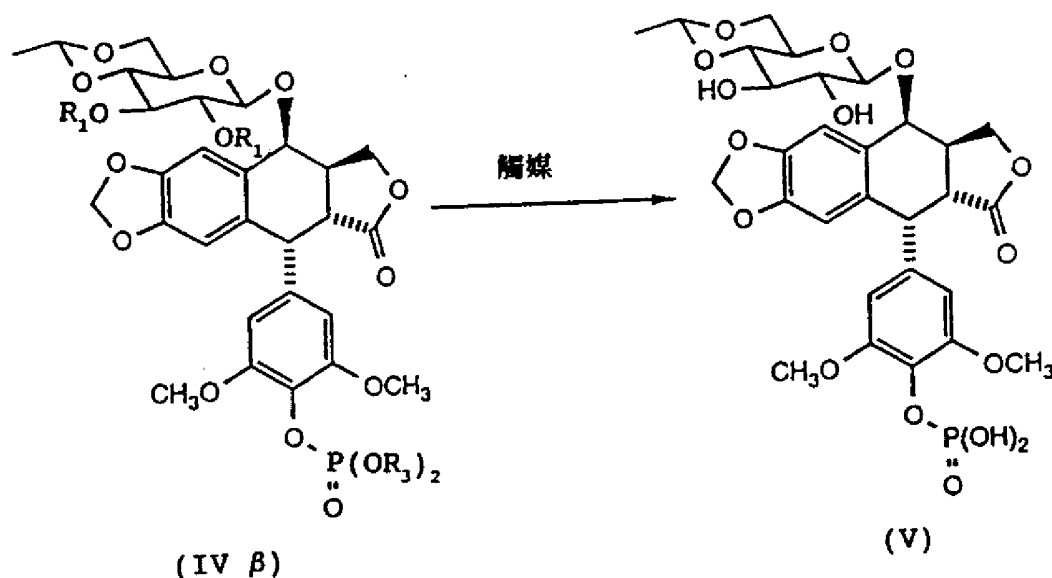
(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(18)

貴金屬觸媒下，在適當溶劑或溶劑混合物中進行。

在較佳具體例中，氫化於化合物 IVa C-1"- β 溶於 50/50 甲醇 / 四氫呋喃 (THF) 之溶液中用 4% 鈀 / 碳進行。將該混合物於 40-50 psig 氫氣下氫化數小時，通常為 3-6 小時。然後將觸媒濾除及令伊托普賽得磷酸酯自乙醇中再結晶。將 IV C-1"- β 去保護得到如式 V 之伊托普賽得磷酸酯之反應式如下：



如式 V 之 4'-去甲基表鬼臼毒素葡萄糖苷 4'-磷酸酯藉著與適當陽離子源接觸而可被轉變成醫藥上可接受之鹽。舉例言之，鈉鹽可藉適當鈉鹼處理磷酸酯以形成其鈉鹽而製造。如式 V 之 4'-去甲基表鬼臼毒素葡萄糖苷 4'-磷酸酯之媒合物亦可藉已知方法得到。

伊托普賽得磷酸酯尚可藉磷酸酯酶在緩衝水溶液中移除磷酸酯基而轉變成伊托普賽得。磷酸酯酶能將伊托普賽得

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

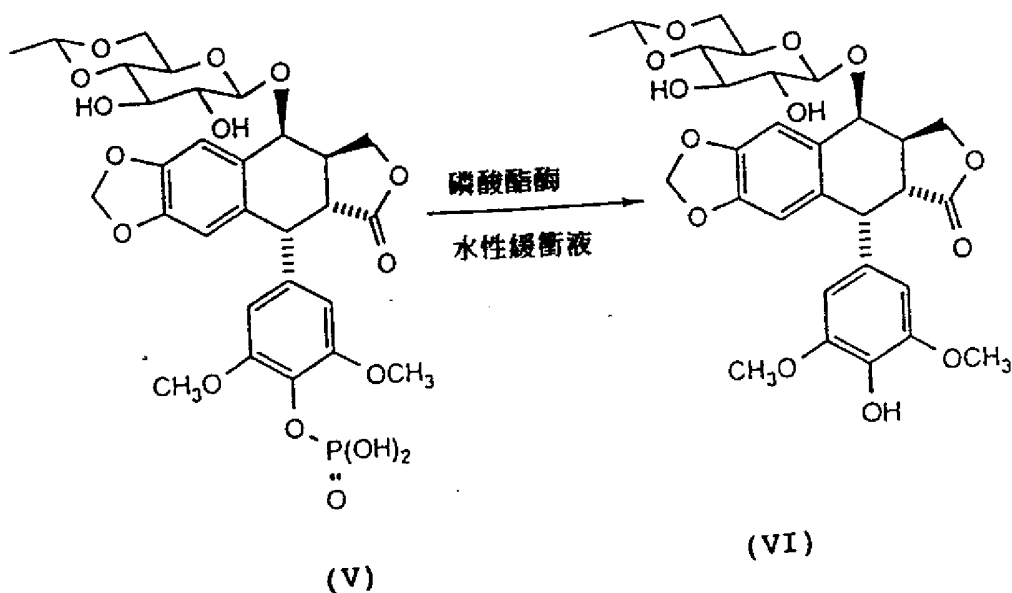
訂

五、發明說明(19)

磷酸酯完全轉變成伊托普賽得。該反應於室溫下，在 pH 值為約 5-12 (較好 pH 為 6-9) 之緩衝液槽中進行。通常當伊托普賽得磷酸酯與緩衝水溶液混合時，為媒合物形式。

伊托普賽得-4'-磷酸酯被轉變成伊托普賽得之酶反應具有優點，因為該轉換反應於溫和條件下進行，不會發生伊托普賽得或伊托普賽得 4'-磷酸酯降解。舉例言之，不安定的亞乙基大致不受磷酸酯酶影響。該酶可在 pH 5-12 下 (較好在 pH 為 6-9 下) 具有磷酸酯酶活性之任何酶。適當的磷酸酯酶包括酸性及鹼性磷酸酯酶。磷酸酯酶可從牛，細菌或其他來源諸如牛及小牛腸黏膜得到。或者，磷酸酯酶可為麥芽脂肪酶，已知其具有磷酸酯酶活性。此等酶得自西格瑪化學公司。

適當的緩衝液例如包括 M-Tris pH 7.8, M-Tris pH 8.7, M-硼酸鹽 pH 10.0 以及 M-碳酸氫鹽 pH 10.3。伊托普賽得磷酸酯 V 去磷酸基形成伊托普賽得 VI 之反應式如下：



五、發明說明(20)

下列非限定實施例係示範本發明之較佳具體例。

實施例 1

2,3-二-O-苄基-4,6-O-亞乙基- α, β -D-呋喃型葡萄糖
(IIIa α, β)。本化合物根據美國專利 4,997,931 號所揭示之類似化合物之製備方法製備。 ^1H NMR顯示異構體組成為 57:43 $\beta : \alpha$ 。R_r (40% EtOAc/己烷): 0.40。 ^1H NMR (CDCl_3): δ 7.39-7.27 (m, 10H), 5.14 (d, 0.5H, $J=3.7$ Hz), 4.91-4.66 (m, 5.5H), 4.14 (dd, 0.5H, $J=5.0, 10.5$ Hz), 4.09 (dd, 0.5H, $J=5.0, 10.3$ Hz), 3.94-3.88 (m, 1H), 3.66 (t, 0.5H, $J=9.0$ Hz), 3.56-3.25 (m, 3.5H), 3.10 (bs, 1H, 濃度依賴性 OH), 1.36 (d, 3H, $J=5.0$ Hz)。 ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 128.53, 128.42, 128.31, 128.09, 127.95, 127.83, 127.63, 99.50, 97.72, 92.12, 82.94, 81.44, 81.08, 80.89, 79.31, 78.33, 75.23, 75.12, 74.96, 73.81, 68.53, 68.22, 66.22, 62.48, 20.43。

實施例 2

2,3-二-O-苄基-4,6-O-亞乙基- β -D-呋喃型葡萄糖
(IIIa β)。將異構體混合物 IIIa α, β (7克)置於 250 毫升圓底燒瓶中。加入己烷 (125毫升) 並將懸浮液加熱至回流。糖變成不溶性油，其沈於底部。讓懸浮液冷卻至室溫，然後加入攪棒並溫和攪拌溶液整夜。在己烷中形成白色絨毛狀結晶，其漂浮在其餘不純固體之上。將上層液澤析入布契納漏斗 (Buchner funnel) 中而收集得結晶。不純

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(21)

固體被留在燒瓶中。將白色固體 IIIa β 於室溫及真空 (20 mm Hg) 下乾燥。 ^1H NMR (CDCl_3): δ 7.37-7.27 (m, 10H), 4.90-4.69 (m, 6H), 4.14 (dd, 1H, $J=4.9$, 10.4 Hz), 3.66 (t, 1H, $J=9.0$ Hz), 3.54 (t, 1H, $J=10.2$ Hz), 3.45 (t, 1H, $J=9.3$ Hz), 3.37-3.27 (m, 2H), 3.23 (d, 1H, $J=5.5$ Hz, 濃度依賴性 OH), 1.36 (d, 3H, $J=5.1$ Hz)。 ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 128.42, 128.29, 128.11, 127.93, 127.82, 127.63, 99.45, 97.71, 82.93, 81.06, 80.88, 75.22, 74.96, 68.21, 66.21, 20.39。

實施例 3

4'-去甲基-4-表鬼臼毒素-4'-磷酸二苄酯 (IIa)。將經烘箱乾燥之三頸 1 升圓底燒瓶裝設滴漏、攪棒、溫度計、二中隔及 N_2 入口。在該燒瓶中饋入 4'-去甲基表鬼臼毒素 (I, 25.00 克, 62.45 毫莫耳) 及無水乙腈 (367 毫升, 0.17 M)。將懸浮液冷卻至 -10°C 。加入四氯化碳 (30.1 毫升, 312.25 毫莫耳) 並將溫度保持在 -10°C 。藉注射管經 3 分鐘加入 N,N -二異丙基乙胺 (22.84 毫升, 131.15 毫莫耳)。一次加入所有 N,N -二甲胺吡啶 (0.763 克, 6.25 毫莫耳), 繼而經 15 分鐘逐滴加入亞磷酸二苄酯 (20.00 毫升, 90.55 毫莫耳)。該反應於添加期間會放一些熱, 但內部溫度藉外部冷卻被保存在 -10°C 。將反應混合物於 -10°C 下攪拌 37 分鐘。於此期間, 原料溶解以及反應藉 HPLC 追蹤。加入 0.5 M KH_2PO_4 (150 毫升) 並讓溶液溫熱至室溫。將混合

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(22)

物用 EtOAc (1x 350 毫升) 萃取，然後用水洗滌 (2x 100 毫升)。將有機層經 Na_2SO_4 乾燥並在真空中濃縮至體積為 150 毫升。加入 2-丙醇 (500 毫升)。於真空中移除溶劑 (200 毫升)，固體於該期間沈澱。加入 2-丙醇 (500 毫升)，然後於真空中移除另外 550 毫升溶劑。最後，加入 2-丙醇 (250 毫升) 並將該混合物加熱至回流直至所有固體溶解。將黃色溶液冷卻至室溫，然後冷卻至 0℃ 歷 4 小時。收集白色固體，用冷 2-丙醇洗滌二次及在真空中 (40℃, 20 mm Hg) 乾燥，得到 37.15 g (90.10%)。HPLC R_t R_f (10% MeOH/ CH_2Cl_2): 0.66。 ^1H NMR (CDCl_3): δ 7.37-7.28 (m, 10H), 6.81 (s, 1H), 6.39 (s, 1H), 6.30 (s, 2H), 5.90 (dd, 2H, $J=1.0, 12.7$ (Hz)), 5.28-5.14 (m, 4 H), 4.71 (d, 1H, $J=3.4$ Hz), 4.53 (d, 1H, $J=5.1$ Hz), 4.25 (dd, 1H, $J=8.7, 10.7$ Hz), 3.63 (s, 6H), 3.27 (dd, 1H, $J=5.2, 14.1$ Hz), 2.71-2.61 (m, 1H)。 ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 175.27, 151.15, 151.11, 148.22, 147.32, 137.28, 136.04, 135.94, 132.19, 131.35, 128.43, 128.30, 128.26, 127.69, 127.64, 110.13, 109.32, 107.66, 101.45, 69.62, 69.53, 69.46, 67.75, 66.17, 56.06, 43.18, 40.39, 38.47。

實施例 4

4-(2,3-二-O-苄基-4,6-O-亞乙基- β -D-吡喃葡萄糖基)-4'-去甲基-4-表鬼臼毒素-4'-磷酸二苄酯 (IVa β) (在

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(23)

乙腈中偶合)。在裝設有攪棒溫度計、中隔及N₂入口之經烘箱乾燥之25毫升二頸圓底燒瓶中饋入4'-去甲基-4-表鬼臼毒素-4'-磷酸二苄酯(IIa, 1.00克, 1.51毫莫耳), 乾燥4A分子篩(1/16"小丸)(2.0克), 2,3-二-O-苄基-4,6-O-亞乙基- α, β -D-葡萄糖(IIIa α, β , 85:15, 0.702克, 1.817毫莫耳)及無水乙腈(10.0毫升)。攪拌該溶液直至均勻, 然後冷卻至-20℃。經2分鐘逐滴加入三氟化硼乙醚化物(0.50毫升, 4.08毫莫耳)。將反應混合物保持在-20℃歷80分鐘。加入BF₃後45分鐘白色固體開始沈澱。加入吡啶(5.23毫升, 64.7毫莫耳)。讓懸浮液溫熱至室溫, 然後用CH₂Cl₂(10毫升)稀釋。將白色固體溶解。過濾溶液以移除剩餘的固體。將溶液用3% HCl(7毫升)洗滌, 然後將水相用CH₂Cl₂(10毫升)萃取。將合併之有機相用水(7毫升)洗滌及將水相用CH₂Cl₂回萃取。將合併之有機相最後用飽和NaCl(7毫升)洗滌。將有機層經Na₂SO₄乾燥及於真空中濃縮至白色/黃色固體。粗製產物之HPLC顯示IVa β 與IVa α 之比為71.6:28.4。將固體於攪拌下溶於CH₂Cl₂(10毫升)。加入甲醇(90毫升)。一些固體立即沈澱出。將溶液於攪拌下溫熱至回流, 於此期間固體溶解, 然後蒸餾出20毫升溶劑。收集19毫升後固體開始結晶。讓混合物冷卻至室溫, 同時溫和攪拌5小時。收集白色固體及用室溫甲醇洗滌二次。將固體IVa β 在真空中(40℃, 20 mm Hg)乾燥, 得到0.830克(53.3%)。R_f(50% EtOAc己烷): 0.36。¹H NMR(CDCl₃): δ

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(24)

7.38-7.18 (m, 18H), 7.00-6.98 (m, 2H), 6.82 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 6.25 (s, 2H), 5.97-5.89 (dd, 2H, $J=1.0$, 26.7 Hz), 5.29-5.18 (m, 4H), 4.89-4.85 (m, 2H), 4.77-4.71 (m, 3H), 4.60-4.49 (m, 3H), 4.39 (t, 1H, $J=10.2$ Hz), 4.23 (t, 1H, $J=8.2$ Hz), 4.16 (dd, 1H, $J=4.9$, 10.4 Hz), 3.63 (s, 6H), 3.55 (t, 1H, $J=10.2$ Hz), 3.45-3.34 (m, 2H), 3.32-3.21 (m, 2H), 2.89-2.80 (m, 1H), 1.38 (d, 3H, $J=5.0$ Hz)。 ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 174.74, 151.20, 148.72, 147.17, 138.48, 137.75, 137.0, 136.3, 136.2, 132.02, 128.62, 128.42, 128.30, 128.21, 128.07, 127.87, 127.70, 127.67, 110.72, 109.18, 107.73, 102.32, 101.60, 99.55, 81.66, 80.95, 75.40, 75.06, 73.45, 69.45, 68.19, 67.87, 65.97, 43.87, 41.22, 37.48, 20.40。

C-1"- α 異構體 IV α 留在母液中，一些期望的產物 IV β 亦留在母液中 (IV β :IV α = 13.7:86.3)。

實施例 5

4-(2,3-二-O-苄基-4,6-O-亞乙基- β -D-呋喃葡萄糖)-4'-去甲基-4-表鬼臼毒素-4'-磷酸二苄酯 (IVa β) (在二氯乙烷中偶合)。在裝設有攪棒，溫度計，二中隔及 N_2 入口之經烘箱乾燥之 250 毫升三頸圓底燒瓶中饋入 4'-去甲基-4-表鬼臼毒素-4'-磷酸二苄酯 (IIa, 14.295 克, 21.57 毫莫耳)，乾燥 4A 分子篩 (1/16" 小丸) (28.6 克)，

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

長

訂

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 (25)

2,3-二-0-苄基-4,6-0-亞乙基- α, β -D-葡萄糖 (IIIa α, β , 10.0克, 25.88毫莫耳) 及無水1,2-二氯乙烷 (143毫升)。攪拌溶液直至達到均勻, 然後冷卻至 -20°C 。將三氟化硼乙醚化物 (7.15毫升, 58.24毫莫耳) 經10分鐘逐滴加入。將反應混合物保持在 -20°C 歷18小時。加入吡啶 (5.23毫升, 64.7毫莫耳) 反應混合物由褐色轉為黃色。將霧狀溶液溫熱至室溫, 用 CH_2Cl_2 (200毫升) 稀釋, 然後過濾以移除固體。將溶液用3% HCl (100毫升), 水 (100毫升) 及飽和 NaCl 溶液 (100毫升) 接續洗滌。有機層經 Na_2SO_4 乾燥並於真空中濃縮成黃色油。於攪拌下加入回流的甲醇 (1500毫升)。讓混合物冷卻至室溫並靜置整夜。收集白色固體並用甲醇洗滌二次。將固體 IVa β 在真空中 (40%, 20 mm Hg) 乾燥, 得到 8.86克 (39.8%)。

C-1"- α 異構體 IVa α 及一些期望產物 IVa β 留在母液中。該剩餘的偶合產物藉進一步結晶及 / 或層析回收。IV β 結晶前粗製產物之 $\beta : \alpha$ 比為 54:46。粗製產物之總產率為 81%。4-(2,3-二-0-苄基-4,6-0-亞乙基- α -D-呋喃葡萄糖基)-4'-去甲基-4-表鬼臼毒素-4'-磷酸二苄酯 (IVa α): R_f (50% EtOAc/己烷): 0.31。 $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ 7.38-7.21 (m, 20H), 6.87 (s, 1H), 6.26 (s, 2H), 5.95 (d, 2H, $J=5.8$ Hz), 5.29-5.18 (m, 4H), 4.87 (dd, 3H, $J=2.3, 11.1$ Hz), 4.79-4.74 (m, 2H), 4.68-4.58 (m, 4H), 4.11 (t, 1H, $J=7.9$ Hz), 3.95 (q, 1H, $J=10.6$ Hz), 3.86 (t, 1H, $J=9.2$ Hz),

五、發明說明(26)

3.63 (s, 6H), 3.51 (dd, 1H, $J=3.6, 9.4$ Hz), 3.45 (d, 1H, $J=7.2$ Hz), 3.45-3.35 (m, 3H), 2.82-2.75 (m, 1H), 1.32 (d, 3H, $J=5.0$ Hz)。 ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 174.91, 151.22, 151.18, 148.44, 147.02, 138.56, 137.83, 137.05, 136.27, 136.18, 132.19, 129.27, 128.59, 128.45, 128.34, 128.24, 128.12, 127.96, 127.89, 127.72, 127.69, 110.44, 109.81, 107.85, 101.61, 101.08, 99.59, 82.07, 79.36, 78.59, 76.76, 75.09, 74.69, 69.52, 69.46, 69.41, 68.18, 67.04, 62.95, 56.15, 43.82, 41.10, 38.41, 20.40。

實施例 6

該實施例示範在相同的反應槽中進行偶合及結晶步驟。將設有攪拌之50毫升三頸圓底燒瓶烘乾，裝設二中隔，及於 N_2 下冷卻。加入4'-去甲基-4-表鬼臼毒素-4'-磷酸二苄酯(1.002克，1.51毫莫耳)及2,3-O-苄基-4,6-O-亞乙基哌喃葡萄糖(IIa 85:15 $\beta:\alpha$ ，0.702克，1.81毫莫耳)。將固體溶於無水乙腈(10.0毫升)，然後將溶液冷卻至 -40°C 。逐滴加入三氟化硼乙醚化物(0.50毫升，4.1毫莫耳)。將該溶液於 -40°C 下冷卻，且以HPLC追蹤。該反應期間，一些產物析出。6小時後，逐滴加入甲醇(30毫升)。於攪拌下讓懸浮液溫熱至 -30°C ，然後在不攪拌下讓其於 0°C 下靜置17小時。以布契納漏斗收集固體，然後用室溫甲醇洗滌二次。其產生0.9668克(62.0%)IVa β ，HI為100%。

五、發明說明(7)

實施例7

伊托普賽得-4'-磷酸酯(V)：將4%鈣/碳，50%潮溼(314毫克)加到4-(2,3-貳-O-苄基-4,6-O-亞乙基-β-D-呋喃葡萄糖基)-4'-去甲基-4-表鬼臼毒素-4'-磷酸二苄酯(IVa β, 758毫克)溶於50/50 MeOH/THF (50毫升)之溶液。將該混合物於室溫及40-50 psig氫壓下氫化3-6小時。將觸媒濾除及用MeOH洗滌。將濾液在真空中(40-60℃, 抽氣器)濃縮至體積為8-10毫米。加入無水乙醇(50毫升)後，將溶液再次濃縮至8-10毫升。再次加入乙醇(25毫升)並將溶液濃縮至10毫升。加入伊托普賽得-4'-磷酸酯二乙醇媒合物之種子結晶並將溶液之溫度從約50℃經30-60分鐘調整至15-20℃。保持在15-20℃下再30分鐘後，濾集白色結晶及用5℃乙醇(5-10毫升)洗滌。將固體於25-40℃下高度真空乾燥。得到436毫克(77.8%)伊托普賽得-4'-磷酸酯二乙醇媒合物(V)，其藉HPLC測定純度為99.2面積%。

實施例8

伊托普賽得(VI)：於磁性攪拌下，將伊托普賽得-4'-磷酸酯二乙醇媒合物(V, 410毫克)溶於1.0 M Tris 緩衝液(8.0毫升)中，用1 N NaOH將pH值從8.1調整至8.7。將溶液溫熱至35℃。加入鹼性磷酸酶(Sigma, catalog #P6774)溶於MilliQ水之溶液(2.0毫升, 200單位/毫升)。在10分鐘內，固體析出。需要時藉加入1 N NaOH將pH值維持在8.4至8.8之範圍內。反應藉HPLC追蹤。3小

86. 6. 20

五、發明說明(續)

時後，將混合物冷卻至10℃歷15分鐘。藉真空過濾收集固體，將其用水(5-7毫升)洗滌及於高度真空(20℃)下乾燥18小時。得到241毫克(76%)伊托普賽得(VI)，藉HPLC測定純度為95.5面積%。

(請先閱讀背面之注意事項
再寫本頁)

裝

訂

線

四、中文發明摘要(發明之名稱：伊托普賽得磷酸酯及伊托普賽得(ETOPOSIDE)之製法)

伊托普賽得磷酸酯藉4'-去甲基-4-表鬼臼毒素-4'-磷酸二苄酯與2,3-二-O-苄基-4,6-O-亞乙基- α, β -D-吡喃型葡萄糖在溶劑中偶合，繼而移除保護基而製備。被四苄基保護之伊托普賽得磷酸酯自甲醇中再結晶或藉加入甲醇而直接從乙腈中結晶，得到大致純之C-1"- β -型。苄基保護基藉氫化同時移除，以高產率製造伊托普賽得磷酸酯。在另一具體例中，伊托普賽得磷酸酯用磷酸酶處理以得到伊托普賽得。

英文發明摘要(發明之名稱："PROCESS OF PREPARING ETOPOSIDE PHOSPHATE AND ETOPOSIDE")

Etoposide phosphate is prepared by coupling dibenzyl 4'-demethyl-4-epipodophyllotoxin-4'-phosphate with 2,3-di-O-benzyl-4,6-O-ethylidene- α, β -D-glucopyranose in a solvent and subsequently removing the protecting groups. The tetra-benzyl protected etoposide phosphate is recrystallized from methanol or directly crystallized from acetonitrile by adding methanol to yield substantially the pure C-1"- β form. The benzyl protecting groups are simultaneously removed by hydrogenation to produce etoposide phosphate in high yields. In a further embodiment, etoposide phosphate is treated with a phosphatase enzyme to yield etoposide.

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

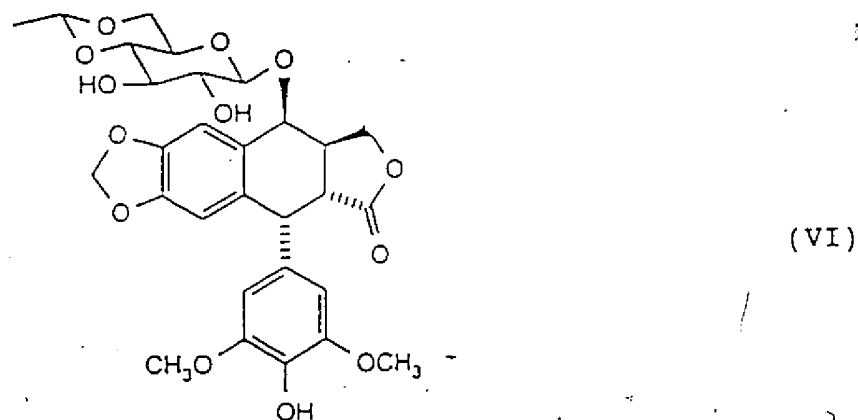
裝

訂

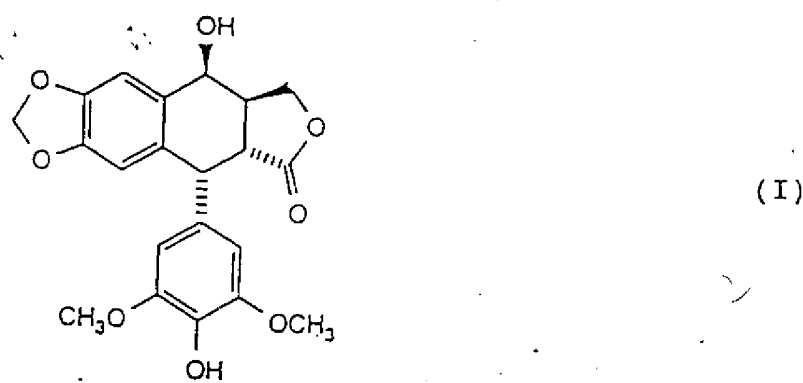
線

六、申請專利範圍

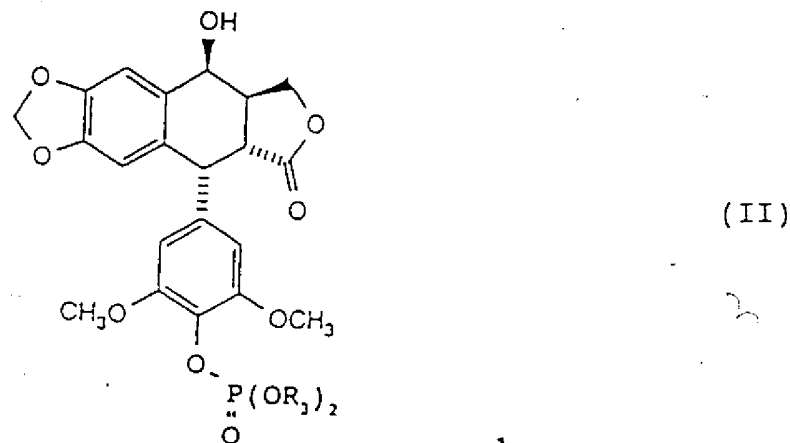
1. 一種製備式(VI)化合物之方法：



其包含將式(I)化合物：



用磷醯化劑磷醯化，以製造如式(II)之經保護4'-去甲基-4-表鬼臼毒素-4'-磷酸酯：

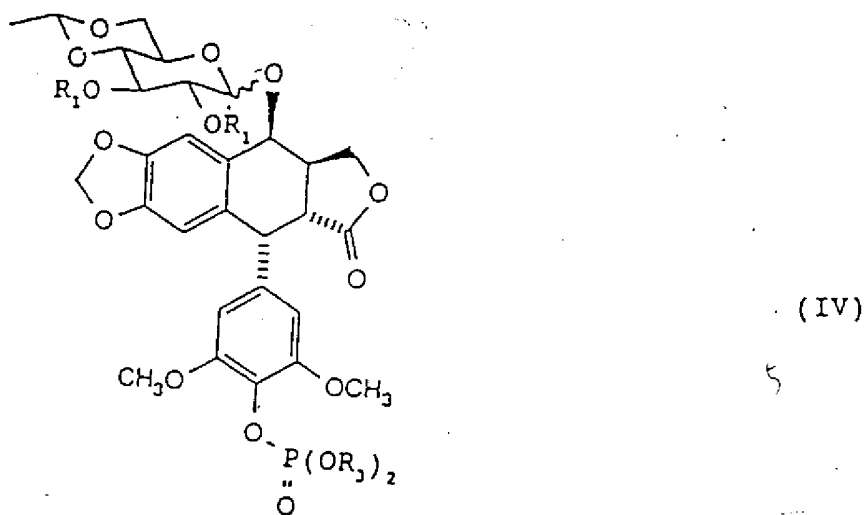


六、申請專利範圍

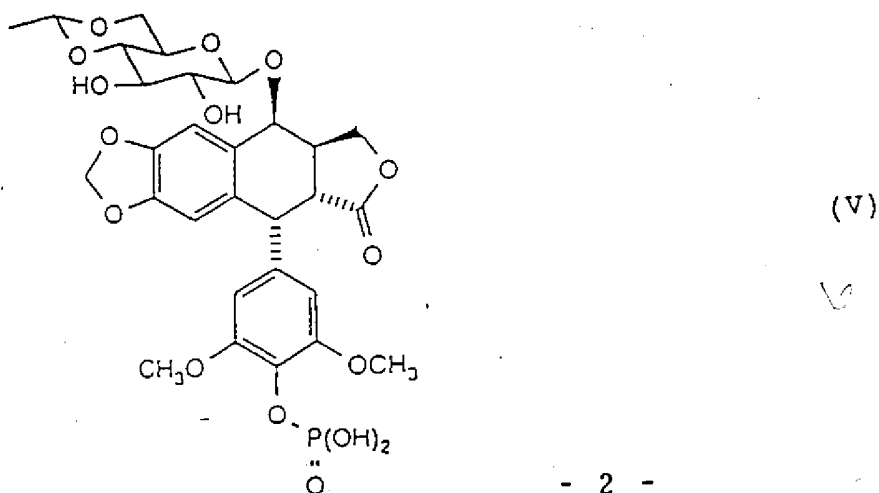
(其中 R_3 為磷酸芳甲基酯之保護基)，令該式 (II) 化合物於存在路易士酸下，與如式 (III) 之被保護糖反應，



以產生如式 (IV) 之化合物，其中 R_1 為芳甲基，做為羥基保護基；



將式 (IV) 之 C-1"- β 形式分離；移除羥基及磷酸酯保護基以產生式 (V) 化合物；



六、申請專利範圍

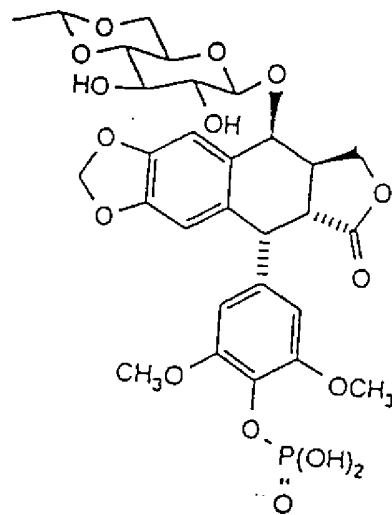
(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

- 將該式(V)化合物用磷酸酯酶處理，以產生式(VI)化合物。
2. 根據申請專利範圍第1項之方法，其尚包含令該式(I)酚與亞磷酸二(芳甲基)酯，四鹵甲烷，第三胺及鹼化觸媒在溶劑中反應，生成如式(II)之被保護磷酸酯。
 3. 根據申請專利範圍第2項之方法，其中該亞磷酸二(芳甲基)酯為磷酸二甲酯。
 4. 根據申請專利範圍第2項之方法，其中該四鹵甲烷為 CCl_4 ，該三級胺為 $\text{N,N}'$ -二異丙基乙胺，以及該鹼化觸媒為 N,N -二甲胺吡啶。
 5. 根據申請專利範圍第1項之方法，其中 R_1 與 R_3 為相同或相異且為苄基。
 6. 根據申請專利範圍第1項之方法，其包含令式(II)化合物與化合物(III)在鹼化或非鹼化溶劑中反應。
 7. 根據申請專利範圍第6項之方法，其中該非鹼化溶劑為乙腈。
 8. 根據申請專利範圍第1項之方法，該分離式(IV) C-1"- β 異構體之步驟包含將該式(IV)化合物溶於醇，將該式(IV)化合物再結晶，以形成大致為式(IV)之純C-1"- β 型式之沈澱物，然後回收該沈澱物。
 9. 根據申請專利範圍第1項之方法，其中該分離化合物

六、申請專利範圍

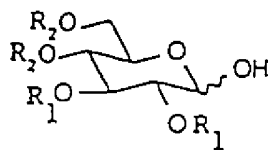
(IV)之C-1"- β 異構物之步驟包含令化合物(II)與化合物(III)在反應介質中反應，將醇直接加到該反應介質中並讓化合物(IV)之該C-1"- β 異構體結晶，以及分離出大致為化合物(IV)之純C-1"- β 異構體之結晶。

10. 一種製備式(V)化合物之方法：



(V)

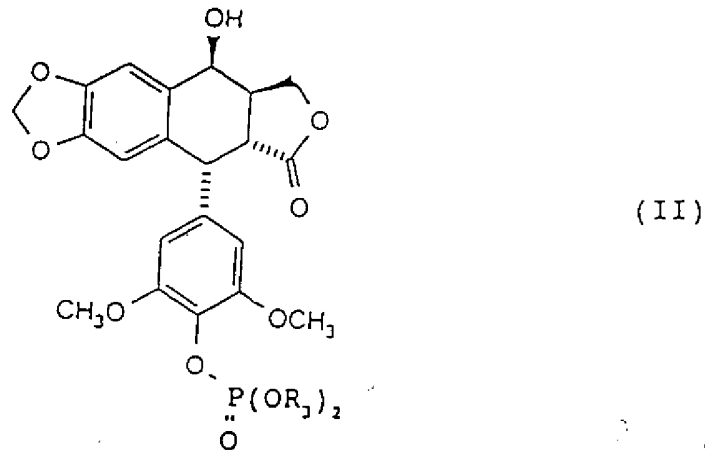
其包含令式(IIIb)化合物：



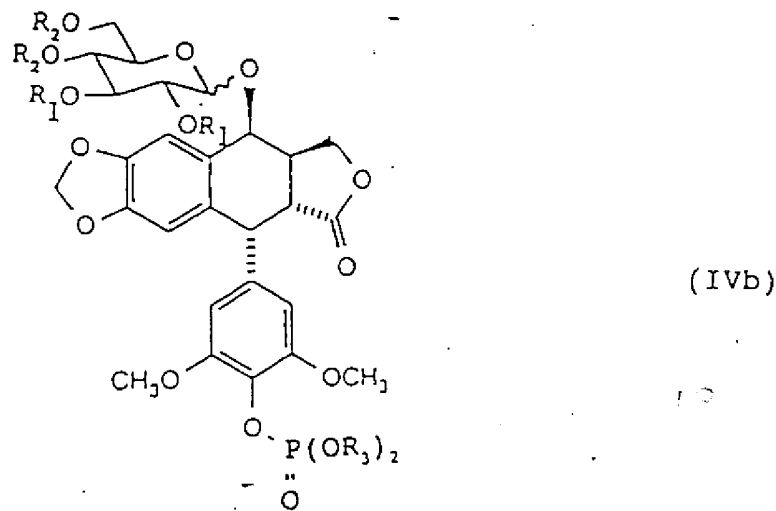
(IIIb)

(其中R₁為芳甲基以做為羥基保護基以及R₂為芳甲基，或者二個R₂基聯合形成C₁₋₅亞烷基)與式(II)化合物：

六、申請專利範圍



(其中 R_3 為芳甲基以及 R_1 , R_2 及 R_3 相同或相異) 於存在路易士酸下在反應介質中反應, 以生成式 (IVb) 化合物:



令化合物 (IVb) 之 C-1"- β 形式結晶, 繼而移除羥基及磷酸酯基之保護基, 在 R_2 為芳甲基之情況, 令化合物 (IVb) 與具有 1 至 5 個碳原子之羥基或其對等縮醛反應。

11. 根據申請專利範圍第 10 項之方法, 其中 R_1 及 R_3 為相同或相異且為苄基。
12. 根據申請專利範圍第 10 項之方法, 其中該羥基及磷酸酯保護基被同時移除。
13. 根據申請專利範圍第 10 項之方法, 其中該羥基及磷酸酯

六、申請專利範圍

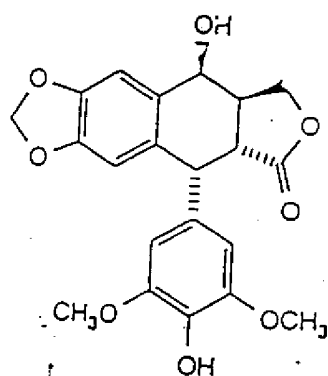
保護基藉於存在貴金屬觸媒及室溫下氫化而被同時移除。

14. 根據申請專利範圍第13項之方法，其中該貴金屬觸媒為鈀。
15. 根據申請專利範圍第10項之方法，其中該二 R_2 基為亞乙基以及在移除該保護基之前，該結晶步驟包含回收該式(IVb)化合物，將該式(IVb)化合物溶於溶劑，加入有效量的醇以沈澱出化合物(IVb)之C-1"- β 形式及回收該C-1"- β 異構體。
16. 根據申請專利範圍第15項之方法，其中該醇為甲醇。
17. 根據申請專利範圍第10項之方法，其中二 R_2 基形成亞乙基以及該結晶步驟包括將醇直接加到該反應混合物中以使化合物(IVb)之該C-1"- β 異構體結晶化，然後分離出大致為化合物(IVb)之純C-1"- β 異構體之結晶。
18. 根據申請專利範圍第17項之方法，其中該醇為甲醇。
19. 根據申請專利範圍第10項之方法，其中該路易斯酸為三氟化硼乙醚化物。
20. 根據申請專利範圍第10項之方法，其包含令化合物(II)與化合物(IIb)在鹵化或非鹵化溶劑中反應。
21. 根據申請專利範圍第20項之方法，其中該溶劑為乙腈。
22. 根據申請專利範圍第21項之方法，其中該溶劑含有有效量之金屬過氧酸鹽，以增加溶劑之離子強度。
23. 根據申請專利範圍第10項之方法，其尚包含製備該式(II)化合物，其包括令式(I)酚：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

六、申請專利範圍



(I)

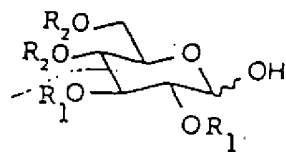
與磷酸二(芳甲基)酯，四鹵甲烷，三烷胺及鹽化觸媒反應，以形成如式(II)之被保護磷酸酯。

24. 根據申請專利範圍第10項之方法，其中該反應於約室溫至 -40°C 下進行。
25. 根據申請專利範圍第10項之方法，其中二 R_2 基形成亞乙基，以及在化合物(IIIb)與化合物(IVb)反應之前，尚包含令該化合物(IIIb)於室溫下自溶劑中結晶，回收化合物(IIIb)之大致純的C-1- β 形式，繼而令化合物(IIIb)之該C-1- β 形式與化合物(IV)反應。
26. 根據申請專利範圍第23項之方法，包含自己烷再結晶化合物(IIIb)。
27. 根據申請專利範圍第10項之方法，其中二 R_2 基形成亞乙基，以及當化合物(III)與化合物(II)反應之前，該法包含讓該混合物有充足的時間異構化成C-1- β 異構體。
28. 一種具有式(IIIb)之化合物：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

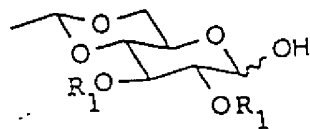
六、申請專利範圍



(IIIb)

其中 R_1 為苄基及二 R_2 聯合係 C_{1-5} 亞烷基。

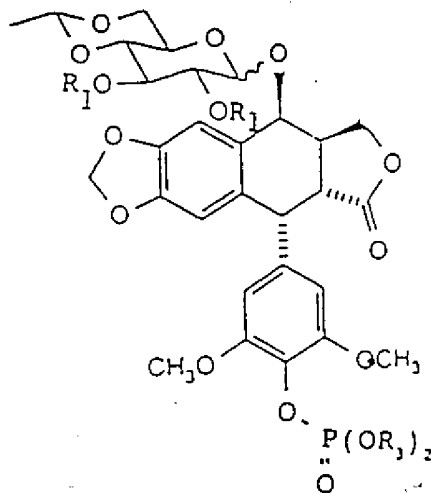
29. 根據申請專利範圍第28項之化合物，其中二 R_2 基聯合形成亞乙基，藉此該化合物具有式 (III)



(III)

其中 R_1 為苄基。

30. 一種具有式 (IV) 之化合物：

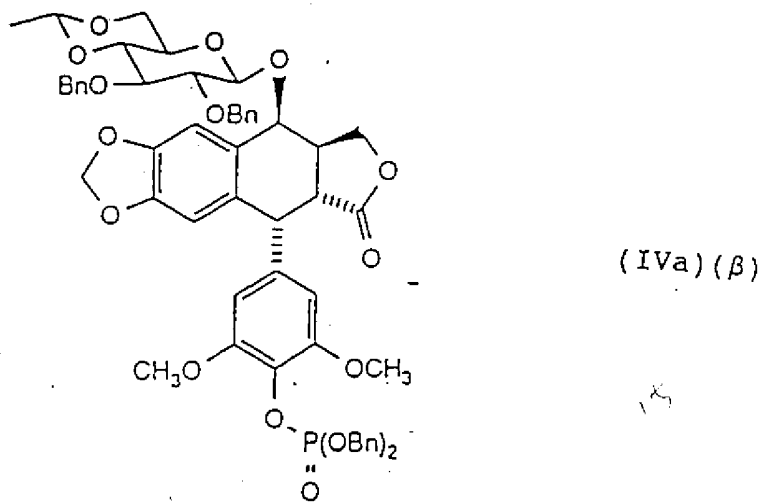


(IV)

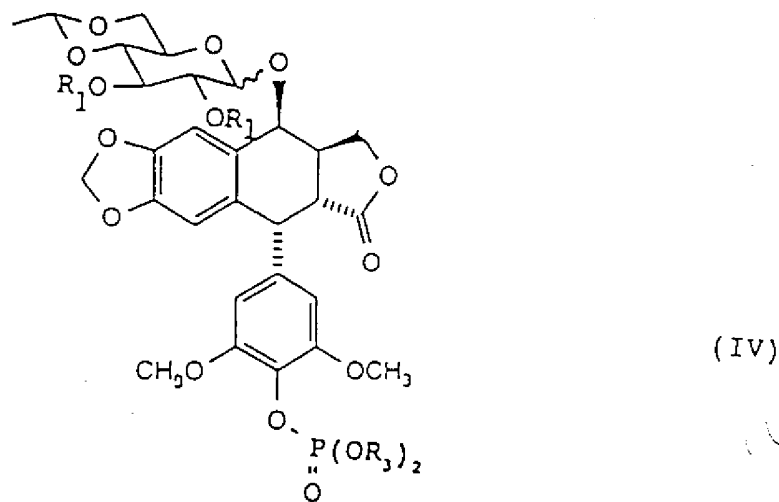
其中 R_1 為苄基以做為羟基保護基，以及 R_2 為苄基以做為磷酸酯保護基。

六、申請專利範圍

31. 一種製備式 (IVa) 之 C-1"- β 異構體之方法：



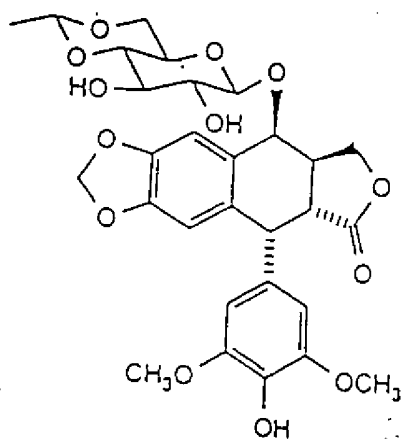
該法包含在溶劑中形成式 (IV) 化合物之異構體混合物之溶液



六、申請專利範圍

(其中 R_1 及 R_2 為芳甲基，其可相同或相異)，令該 C-1"- β 異構體在該溶液中結晶及回收大致為式 (IVa) 之純 C-1"- β 異構體之結晶。

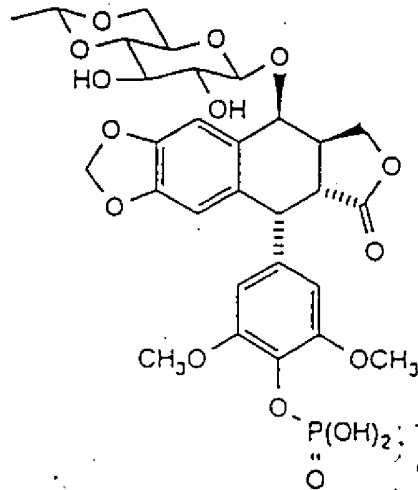
32. 根據申請專利範圍第 31 項之方法，其中該溶劑為乙腈。
33. 根據申請專利範圍第 31 項之方法，其中該溶劑為醇，以及該法包含將該醇加熱以溶解該異構體混合物，然後冷卻該溶液以使該式 (IVa) 之 C-1"- β 異構體結晶。
34. 根據申請專利範圍第 31 項之方法，其包含將醇直接加到該溶液中且其量能使式 (IVa) 之 C-1"- β 異構體結晶。
35. 根據申請專利範圍第 34 項之方法，其中該醇為甲醇。
36. 一種製備式 (VI) 化合物之方法：



(VI)

其包含令式 (V) 化合物：

六、申請專利範圍



(V)

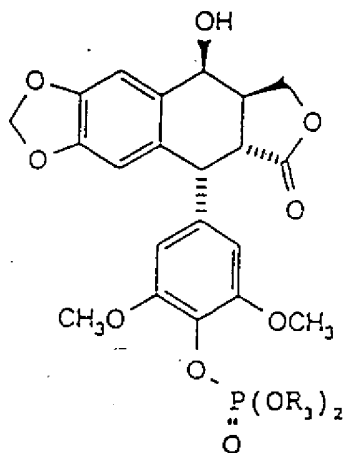
在緩衝溶液中與磷酸酯酶反應以藉酶解反應移除磷酸酯基，及回收該式 (VI) 化合物。

37. 根據申請專利範圍第 36 項之方法，其中該反應在 pH 值約為 5-12 之緩衝溶液中進行。
38. 根據申請專利範圍第 36 項之方法，其中該酶為酸性或鹼性磷酸酶。
39. 根據申請專利範圍第 36 項之方法，其中該酶在 pH 值約為 6-9 下具有磷酸酯酶活性。
40. 一種製備式 (II) 化合物之方法：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

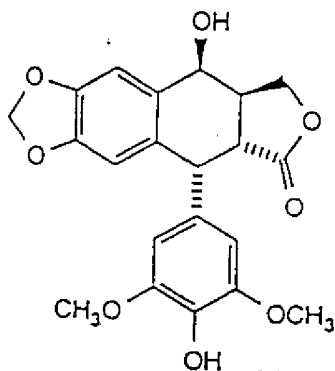
訂

六、申請專利範圍



(II)

(其中 R₃ 為芳甲基)，該法包含令式 (I) 酚：



(I)

與亞磷酸二(芳甲基)酯，四鹵甲烷，三級胺及醃化觸媒反應，以形成如式 (II) 之被保護磷酸酯。

41. 根據申請專利範圍第 40 項之方法，其中該反應在室溫至約 -40℃ 下進行。
42. 根據申請專利範圍第 40 項之方法，其中該亞磷酸二(芳甲基)酯為亞磷酸二苄酯。

六、申請專利範圍

43. 根據申請專利範圍第40項之方法，其中該溶解為乙腈。
44. 根據申請專利範圍第40項之方法，其中氯磷酸二苄酯於原地製造以及該法於實質未加入氯磷酸二苄酯下進行。
45. 根據申請專利範圍第40項之方法，其中該四鹵甲烷以試劑量存在。
46. 根據申請專利範圍第40項之方法，其中該四鹵甲烷為 CCl_4 ，該三級胺為 $\text{N,N}'$ -二異丙基乙胺，以及該醯化觸媒為 N,N -二甲胺基吡啶。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

J6.6 02.1

五、發明說明 (1)

發明之領域

本發明係關於抗腫瘤化合物之新穎製法以及製備抗腫瘤化合物之新穎中間物。更特定而言，本發明係針對 4'-去甲基表鬼臼毒素葡萄糖苷 4'-磷酸酯及製備該磷酸酯之中間化合物。本發明尤其關於伊托普賽得磷酸酯之製法及自伊托普賽得磷酸酯製備伊托普賽得。

發明之背景

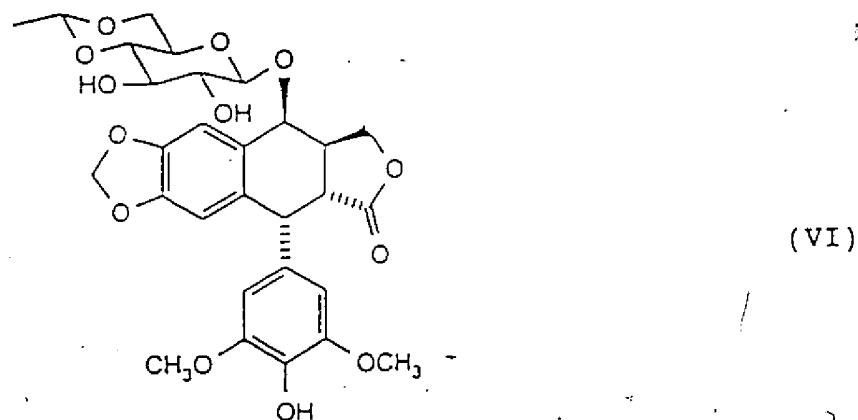
伊托普賽得 (etoposide) 及泰尼普賽得 (teniposide) 為 4'-去甲基表鬼臼毒素葡萄糖苷衍生物，其在臨床上被廣泛用於治療癌症。尤其伊托普賽得在美國被准許用於治療小細胞肺癌及睪丸癌。不過伊托普賽得顯示在水中之溶解度有限，此使得調配成醫藥組合物困難。

為了增加伊托普賽得之水溶性及其被投與之能力，製備伊托普賽得磷酸酯以做為原藥。伊托普賽得磷酸酯在體內被代謝成伊托普賽得，然後被身體利用。水溶性原藥之一例被述於美國專利 4,904,768 號中，其揭示擁有 4'-磷酸酯基之 4'-去甲基表鬼臼毒素葡萄糖苷衍生物之水溶性原藥。本文所揭示之一例為伊托普賽得 4'-磷酸酯，伊托普賽得 4'-磷酸酯藉伊托普賽得與氧氯化磷反應繼而水解而製備，或者藉伊托普賽得與氯磷酸二苯酯反應繼而氫化以移除苯基而製備。

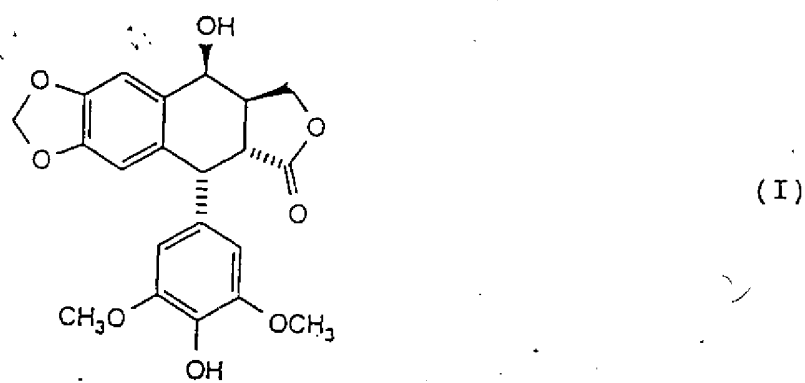
表鬼臼毒素葡萄糖苷之製備亦被揭示於美國專利 4,997,931 號。4'-去甲基表鬼臼毒素葡萄糖苷藉將 4'-經保護之 4'-去甲基表鬼臼毒素與經保護之糖縮合而製備。然後將生成之化合物衍化以產生對應的 4'-磷酸酯。

六、申請專利範圍

1. 一種製備式(VI)化合物之方法：



其包含將式(I)化合物：



用磷醯化劑磷醯化，以製造如式(II)之經保護4'-去甲基-4-表鬼臼毒素-4'-磷酸酯：

