



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 202342493 A

(43)公開日：中華民國 112 (2023) 年 11 月 01 日

(21)申請案號：112104963

(22)申請日：中華民國 112 (2023) 年 02 月 13 日

(51)Int. Cl. : C07K5/093 (2006.01)

C07K5/068 (2006.01)

C07K1/06 (2006.01)

(30)優先權：2022/02/14

歐洲專利局

22156480.0

(71)申請人：瑞士商赫孚孟拉羅股份公司 (瑞士) F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (CH)
瑞士

(72)發明人：亞當 珍 蜜雪 ADAM, JEAN-MICHEL (BE)；布里斯 佛瑞茲 BLISS, FRITZ (DE)；道特 帕司可 吉恩 克勞德 DOTT, PASCAL JEAN CLAUDE (FR)；霍夫曼 埃梅里 法比耶娜 羅姆 HOFFMANN-EMERY, FABIENNE ROXANE (CH)；拉森 烏爾夫 戈蘭 LARSSON, ULF GOERAN (SE)；普恩提納 柯特 PUENTENER, KURT (CH)

(74)代理人：陳長文；王淑靜；朱淑尹

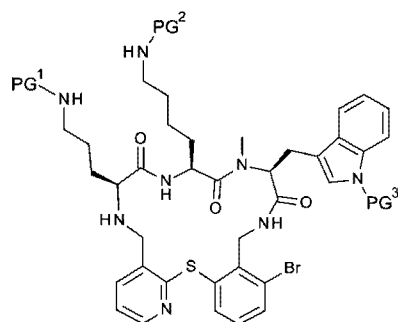
申請實體審查：無 申請專利範圍項數：39 項 圖式數：0 共 63 頁

(54)名稱

製造大環肽之方法

(57)摘要

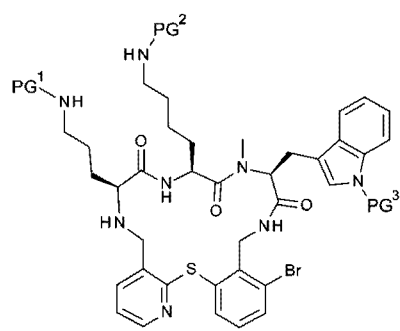
本發明提供一種製造式 (I) 化合物或其鹽之新穎方法，



(I)

其中 PG¹、PG² 及 PG³ 為胺基保護基團。根據本發明之方法特定而言適用於在 GMP 條件下之大規模製造。

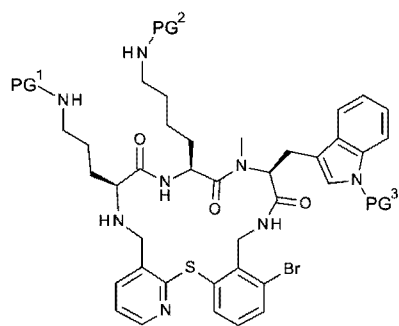
The invention provides a novel process for manufacturing a compound of formula (I), or a salt thereof,



(I)

wherein PG¹, PG² and PG³ are amino protective groups. The process according to the invention is particularly suitable for large-scale manufacturing under GMP conditions.

特徵化學式：



(I)

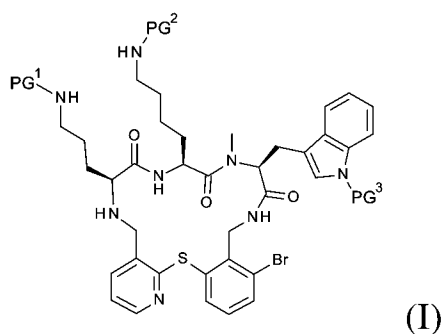


【發明摘要】

【中文發明名稱】 製造大環肽之方法

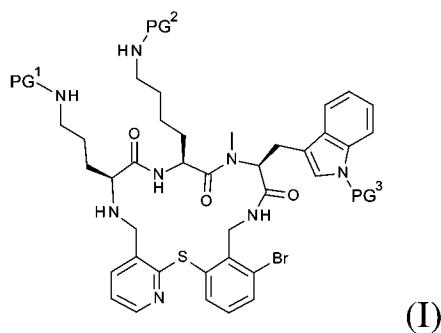
【英文發明名稱】 PROCESS FOR MANUFACTURING MACROCYCLIC
PEPTIDES

【中文】 本發明提供一種製造式 (I) 化合物或其鹽之新穎方法，



其中 PG¹、PG² 及 PG³ 為胺基保護基團。根據本發明之方法特定而言
適用於在 GMP 條件下之大規模製造。

【英文】 The invention provides a novel process for manufacturing a compound of
formula (I), or a salt thereof,

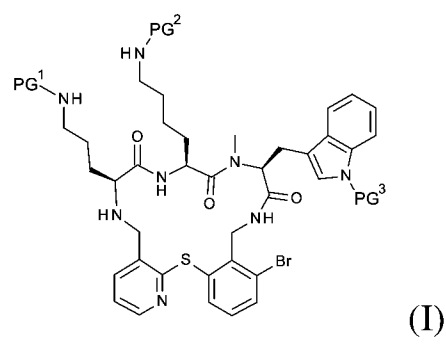


wherein PG¹, PG² and PG³ are amino protective groups. The process according to the invention is particularly suitable for large-scale manufacturing under GMP conditions.

【指定代表圖】

無

【特徵化學式】



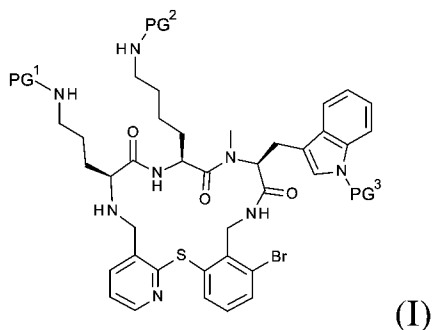
【發明說明書】

【中文發明名稱】 製造大環肽之方法

【英文發明名稱】 PROCESS FOR MANUFACTURING MACROCYCLIC PEPTIDES

【技術領域】

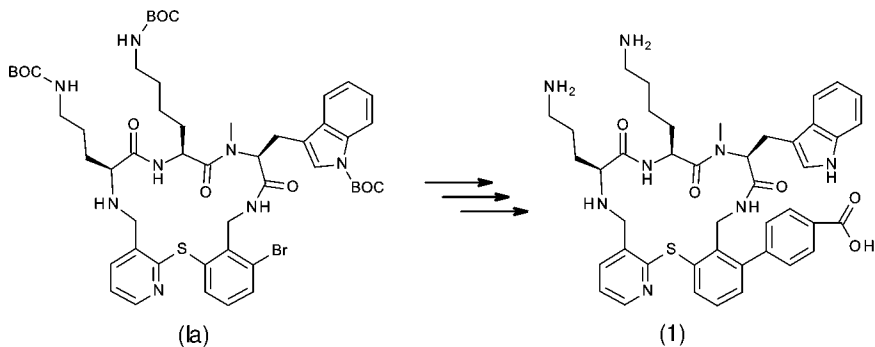
【0001】 本發明涉及一種製造式 (I) 化合物或其鹽之新穎方法，



其中 PG¹、PG² 及 PG³ 為胺基保護基團。根據本發明之方法特定而言適用於在 GMP 條件下之大規模製造。

【先前技術】

【0002】 式 (Ia) 化合物為合成新穎抗生素 1 之關鍵前驅物：



【0003】 對於行銷產品，有必要根據優良藥品製造規範 (「GMP」) 大量生產藥品。因此，高產率、廉價、安全及可再現的合成至關重要。

【0004】 WO2019206853 揭示了式 (Ia) 化合物之實驗室規模合成，其依賴於特定三肽之固相合成。然而，已發現，由於諸如產率低、反應時間長及某些立體中心之差向異構化的各種問題，該固相合成不適用於式 (Ia) 化合物之工業規模製造。

【0005】 因此，對於製造式 (Ia) 化合物的新方法存在高度未滿足的需求。

【發明內容】

【0006】 本發明提供了一種製造式 (I) 化合物之溶液相方法，其克服了上述問題。本發明還提供了可用於新方法中的某些中間體。最後，本發明提供了一種對 Fmoc 保護之胺進行 Fmoc 去保護的新方法。

【實施方式】

【0007】 定義

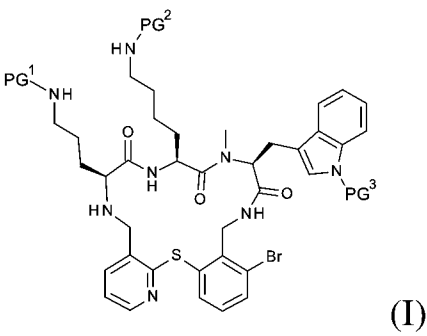
【0008】 結合本發明之特定態樣、實施例或實例描述之特徵、整體、特性、化合物、化學部分或基團應理解為適用於本文所描述之任何其他態樣、實施例或實例，除非與之不相容。本說明書中所揭示之所有特徵 (包括任何隨附申請專利範圍及摘要) 及/或如此揭示之任何方法或程序之所有步驟可以任何組合形式組合，惟此類特徵及/或步驟中之至少一些相互排斥之組合除外。本發明不限於任何前述實施例之細節。本發明擴展至本說明書 (包括任何隨附申請專利範圍及摘要) 中所揭示之特徵之任何新穎特徵或任何新穎組合或擴展至如此揭示之任何方法或程序之步驟的任何新穎步驟或任何新穎組合。

【0009】術語「保護基團」(PG)在合成化學中慣常與其相關之含義中表示一種基團，其選擇性阻斷多官能化合物中的反應位點，從而化學反應可在另一未保護反應位點處選擇性進行。保護基可在適當時間移除。示例性胺基保護基團為 Boc (三級丁氧基羰基)、苄基、4-甲氧基苄基、二苯甲基、Fmoc (芴基甲氧基羰基)、Cbz (苄基氧羰基)、Moz (對甲氧基苄基氧羰基)、Troc (2,2,2-三氯乙氧基羰基)、Teoc (2-(三甲基矽烷基)乙氧基羰基)、Adoc (金剛烷氧基羰基)、甲醯基、乙醯基及環丁氧基羰基。更特定的胺基保護基團為三級丁氧基羰基(Boc)及芴基甲氧基羰基(Fmoc)。示例性羧酸保護基團為烯丙基及 9-芴基甲基(Fm)。示例性胺基及羧酸保護基團以及其在有機合成中之應用描述於例如「Protective Groups in Organic Chemistry」中，由 T. W. Greene 及 P. G. M. Wuts 著, 第 5 版, 2014, John Wiley & Sons, N.Y.，其藉由引用整體包括在本文中。

【0010】如本文所用的術語「鹽」係指藉由使本文所揭示之化合物與以下酸反應而形成的任何種類的鹽：無機酸，諸如鹽酸、氫溴酸、硫酸、硝酸、磷酸及類似者，特定而言為鹽酸；以及有機酸，諸如乙酸、丙酸、乙醇酸、丙酮酸、草酸、順丁烯二酸、丙二酸、丁二酸、反丁烯二酸、酒石酸、檸檬酸、苯甲酸、肉桂酸、苦杏仁酸、甲磺酸、乙磺酸、對甲苯磺酸、水楊酸、N-乙醯半胱胺酸及類似者。在本文所揭示之化合物含有游離酸部分的情況下，亦可藉由向游離酸中加入無機鹼或有機鹼來製備鹽。衍生自無機鹼的鹽類包括但不限於鈉、鉀、鋰、銨、鈣、鎂鹽及類似者。衍生自有機鹼的鹽包括但不限於一級胺、二級胺、和三級胺的鹽、取代胺，包括天然存在的取代胺、環胺和鹼性離子交換樹脂，諸如異丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺、乙醇胺、離胺酸、精胺酸、N-乙基哌啶、哌啶、聚亞胺樹脂及類似者。

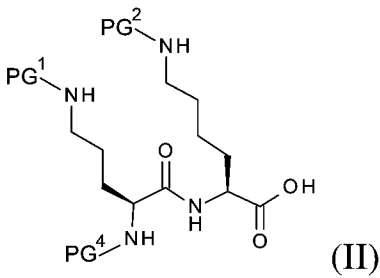
【0011】 製造方法

【0012】 在第一態樣中，本發明提供一種製造式 (I) 化合物或其鹽之方法，

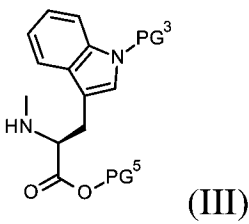


該方法包含：

(a) 使用選自以下之試劑，使式 (II) 羧酸



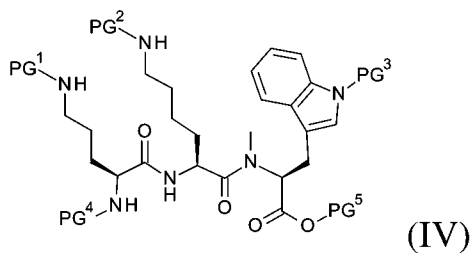
與式 (III) 二級胺



進行反應：

- (i) HOAt 及 DIC；
- (ii) HODhat 及 DIC；
- (iii) HOPO 及 DIC；
- (iv) HOPO 及 DCC；以及
- (v) HOPO 及 EDC；

以形成式 (IV) 化合物



其中 PG¹、PG²、PG³ 及 PG⁴ 為胺基保護基團，且 PG⁵ 為羧酸保護基團。

【0013】 在一個實施例中，PG¹、PG²、PG³ 及 PG⁴ 為獨立地選自 BOC、Adoc、Moz 及 Fmoc 中的胺基保護基團，且 PG⁵ 為選自烯丙基及 9-芴基甲基中的羧酸保護基團。

【0014】 已經發現，羧酸 (II) 與二級胺 (III) 之偶合極傾向於差向異構化，如比較實例 6 中所說明。根據本發明之特定反應條件提供高產率，差向異構化程度極低。

【0015】 在一較佳的實施例中，本發明提供了一種如本文所揭示之製造方法，其中在步驟 (a) 中使用的混合物為 HOAt 及 DIC 之混合物。

【0016】 在一特佳的實施例中，本發明提供了一種如本文所揭示之製造方法，其中在步驟 (a) 中使用的試劑為 HOPO 及 DIC 之混合物。

【0017】 在一個實施例中，本發明提供了一種如本文所揭示之製造方法，其中步驟 (a) 係在選自以下之溶劑中進行：

- (i) 三級丁基甲基醚、正庚烷及二甲基乙醯胺之混合物；
- (ii) 含有或不含有 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮的乙酸異丙酯；
- (iii) 含有或不含有 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮的三級丁基甲基醚；
- (iv) 含有或不含有 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮的二氯甲烷；
- (v) 含有或不含有 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮的 THF；
- (vi) 含有或不含有 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮的 2-甲基-THF；

- (vii) 含有或不含有 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮的甲苯；以及
- (viii) 乙腈。

【0018】 在一較佳的實施例中，本發明提供了一種如本文所揭示之製造方法，其中，在步驟 (a) 中，所用試劑為 HOAt 及 DIC 之混合物，且溶劑為三級丁基甲基醚、正庚烷及二甲基乙醯胺之混合物。

【0019】 在一較佳的實施例中，本發明提供了一種如本文所揭示之製造方法，其中，在步驟 (a) 中，所用試劑為 HOPO 及 DIC 之混合物；且溶劑係選自：

- (i) 含有或不含有 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮的乙酸異丙酯；
- (ii) 含有或不含有 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮的三級丁基甲基醚；
- (iii) 含有或不含有 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮的二氯甲烷；
- (iv) 含有或不含有 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮的 THF；
- (v) 含有或不含有 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮的 2-甲基-THF；以及
- (vi) 含有或不含有 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮的甲苯。

【0020】 在一較佳的實施例中，本發明提供了一種如本文所揭示之製造方法，其中，在步驟 (a) 中，所用試劑為 HOPO 及 DIC 之混合物；且溶劑係選自：

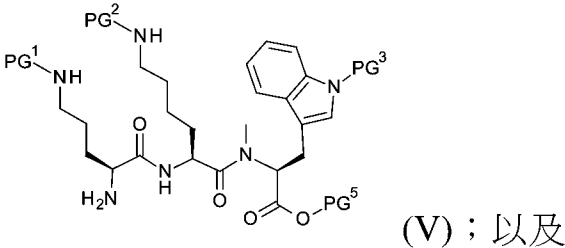
- (i) 含有或不含有 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮的乙酸異丙酯；
- (ii) 含有或不含有 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮的三級丁基甲基醚；
- (iii) 含有或不含有 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮的 2-甲基-THF；以及
- (iv) 含有或不含有 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮的甲苯。

【0021】 在一特佳的實施例中，本發明提供了一種如本文所揭示之製造方法，其中，在步驟 (a) 中，所用試劑為 HOPO 及 DIC 之混合物；且溶劑為乙酸異丙酯及 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮之混合物。

【0022】 在一特佳的實施例中，本發明提供了一種如本文所揭示之製造方法，其中，在步驟 (a) 中，所用試劑為 HOPO 及 DIC 之混合物；且溶劑為三級丁基甲基醚及 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮之混合物。

【0023】 在一個實施例中，本發明提供了一種如本文所揭示之製造方法，其進一步包含：

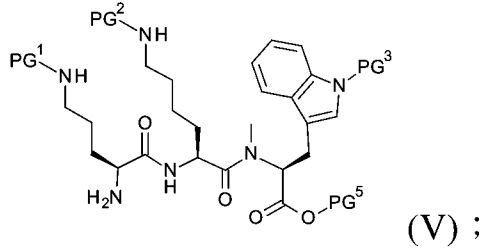
(b1) 使該式 (IV) 化合物與 N-乙醯半胱胺酸及 tAmNH₂ 進行反應，其中 PG⁴ 為 Fmoc，以形成式 (V) 化合物：



(b2) 以鹼性水溶液洗滌在 (b1) 中所獲得的反應混合物。

【0024】 在一個實施例中，本發明提供了一種如本文所揭示之製造方法，其進一步包含：

(b1) 使該式 (IV) 化合物與 N-乙醯半胱胺酸及 tAmNH₂ 或 tBuNH₂ 進行反應，其中 PG⁴ 為 Fmoc，以形成式 (V) 化合物：



其中 PG^1 、 PG^2 及 PG^3 為獨立地選自 BOC、Adoc、Moz 及 Fmoc 中的胺基保護基團，且 PG^5 為選自烯丙基及 9-芴基甲基中的羧酸保護基團；以及

(b2) 以鹼性水溶液洗滌在 (b1) 中所獲得的反應混合物。

【0025】 在一較佳的實施例中，該鹼性水溶液為 $KHCO_3$ 及/或 K_2CO_3 之水溶液。

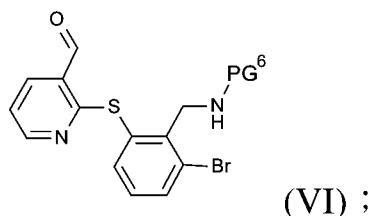
【0026】 在一特佳的實施例中，該步驟 (b2) 係由以下組成：

(b2a) 以 $KHCO_3$ 之水溶液洗滌 (b1) 中獲得的反應混合物；以及

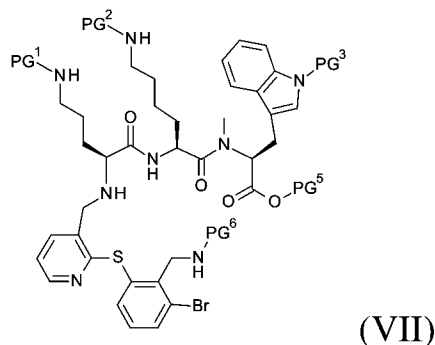
(b2b) 以 K_2CO_3 之水溶液洗滌 (b2a) 中獲得的反應混合物。

【0027】 在一個實施例中，本發明提供了一種如本文所揭示之製造方法，其進一步包含：

(c) 使該式 (V) 化合物與式 (VI) 化合物：



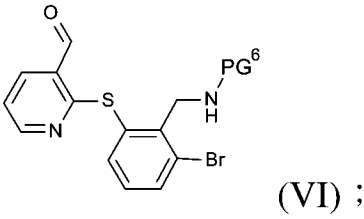
在 (i) 選自 $NaBH_3CN$ 及 $NaBH(OAc)_3$ 中的還原劑；以及 (ii) 選自乙酸及丙酸中的羧酸的存在下進行反應，其中 PG^6 為胺基保護基團，以形成式 (VII) 化合物：



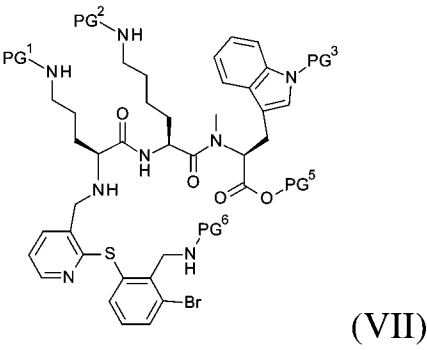
其中 PG^1 、 PG^2 、 PG^3 及 PG^6 為胺基保護基團，且 PG^5 為羧酸保護基團。

【0028】 在一個實施例中，本發明提供了一種如本文所揭示之製造方法，其進一步包含：

(c) 使該式 (V) 化合物與式 (VI) 化合物：



在 (i) 選自 $NaBH_3CN$ 及 $NaBH(OAc)_3$ 中的還原劑；以及 (ii) 選自乙酸及丙酸中的羧酸的存在下進行反應，其中 PG^6 為選自 BOC、Adoc、Moz 及 Fmoc 中的胺基保護基團，以形成式 (VII) 化合物：

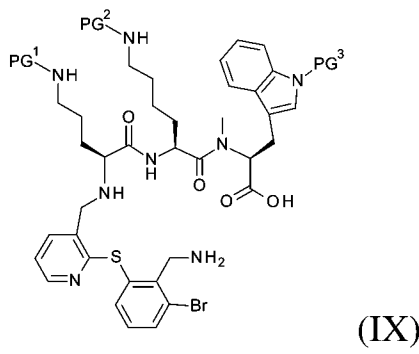


其中 PG^1 、 PG^2 、 PG^3 及 PG^6 為獨立地選自 BOC、Adoc、Moz 及 Fmoc 中的胺基保護基團，且 PG^5 為選自烯丙基及 9-芴基甲基中的羧酸保護基團。

【0029】 在一個實施例中，本發明提供了一種如本文所揭示之製造方法，其中，在步驟 (c) 中，該還原劑為 $NaBH(OAc)_3$ 且該羧酸為乙酸。

【0030】 在一個實施例中，本發明提供了一種如本文所揭示之製造方法，其進一步包含：

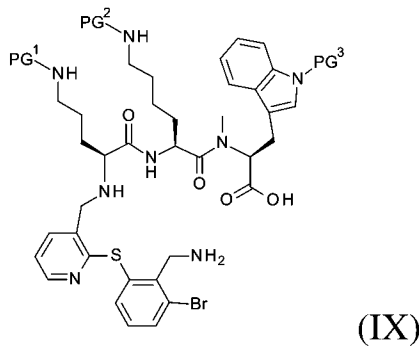
(d) 使該式 (VII) 化合物與過渡金屬催化劑在二級胺的存在下進行反應，其中 PG^5 為烯丙基基團，以形成式 (IX) 化合物：



其中 PG¹、PG²、PG³ 及 PG⁶ 為胺基保護基團。

【0031】 在一個實施例中，本發明提供了一種如本文所揭示之製造方法，其進一步包含：

(d) 使該式 (VII) 化合物與過渡金屬催化劑在二級胺的存在下進行反應，其中 PG⁵ 為烯丙基基團，以形成式 (IX) 化合物：



其中 PG¹、PG² 及 PG³ 為獨立地選自 BOC、Adoc、Moz 及 Fmoc 中的胺基保護基團。

【0032】 在一個實施例中，步驟 (d) 中使用的該過渡金屬催化劑為鈀催化劑。

【0033】 在一較佳的實施例中，步驟 (d) 中使用的該過渡金屬催化劑為鈀⁽⁰⁾催化劑。

【0034】 在一特佳的實施例中，步驟 (d) 中使用的該過渡金屬催化劑為 (PPh₃)₄Pd。

【0035】 在一特佳的實施例中，用於步驟 (d) 中的該二級胺為 Et₂NH。

【0036】 在一特佳的實施例中，用於步驟 (d) 中的該二級胺為 Et_2NH 且該過渡金屬催化劑為 $(\text{PPh}_3)_4\text{Pd}$ 。

【0037】 在一個實施例中，本發明提供了一種如本文所揭示之製造方法，其中步驟 (d) 係在乙腈中進行且進一步包含藉由以下步驟處理 (work up) 從步驟 (d) 獲得的反應混合物：

(d2) 將 N-乙醯半胱胺酸添加至從步驟 (d) 獲得的該反應混合物；

(d3) 將 Cy_2NH 添加至從步驟 (d2) 獲得的反應混合物；

(d4) 蒸餾去除來自步驟 (d) 的該二級胺；以及

(d5) 過濾從 (d4) 獲得的反應混合物。

【0038】 在一個實施例中，本發明提供了一種如本文所揭示之製造方法，其進一步包含：

(e) 使該式 (IX) 化合物與以下進行反應：

(i) HOBt 及 EDCI 之混合物；

(ii) DIC 及 oxyma 之混合物；

(iii) COMU；

(iv) 2,4,6-三氯-1,3,5-三吡啶 (TCT)；或

(v) 4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三吡啶-2-基)-4-甲基-嗎啉鎢氯化物 (DMTMM)；

以形成式 (I) 化合物。

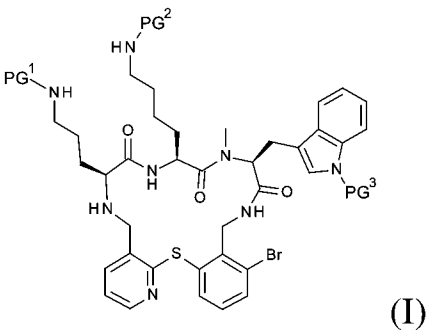
【0039】 在一個實施例中，本發明提供了一種如本文所揭示之製造方法，其進一步包含：

(e) 使該式 (IX) 化合物與以下進行反應：

(i) HOBt 及 EDCI 之混合物；或

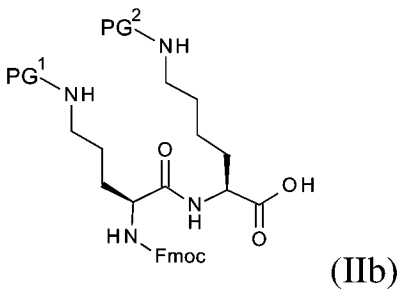
- (ii) DIC 及 oxyma 之混合物；或
 - (iii) COMU；
- 以形成式 (I) 化合物。

【0040】 在一個態樣中，本發明提供一種製造式 (I) 化合物或其鹽之方法，

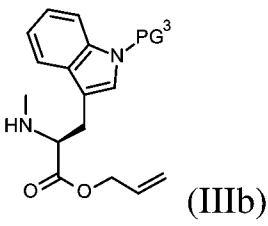


該方法包含：

- (a) 使用選自以下之試劑，使式 (IIb) 羧酸



與式 (IIIb) 二級胺進行反應，其中 PG¹ 及 PG² 為胺基保護基團，

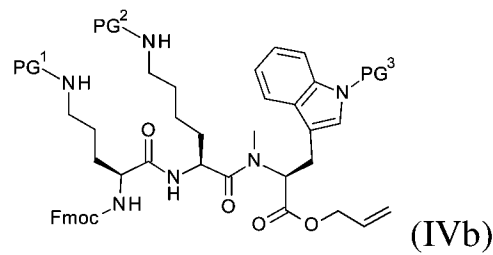


其中 PG³ 為胺基保護基團，

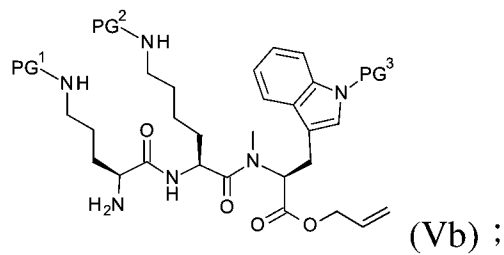
- (i) HOAt 及 DIC；或
- (ii) HODhat 及 DIC；或
- (iii) HOPO 及 DIC；或
- (iv) HOPO 及 DCC；或

(v) HOPO 及 EDC ；

以形成式 (IVb) 化合物

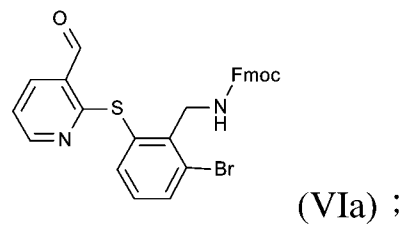


(b1) 使該式 (IVb) 化合物與 N-乙醯半胱胺酸及 tAmNH₂ 進行反應，以形成式 (Vb) 化合物：

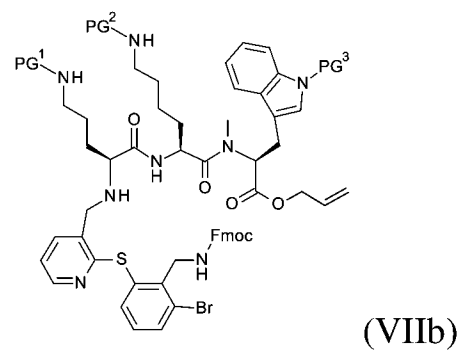


(b2) 以鹼性水溶液洗滌在 (b1) 中所獲得的反應混合物

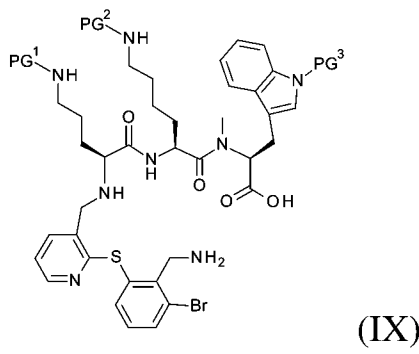
(c) 使該式 (Vb) 化合物與式 (VIa) 化合物：



在 (i) 選自 NaBH₃CN 及 NaBH(OAc)₃ 中的還原劑；以及 (ii) 選自乙酸及丙酸中的羧酸的存在下進行反應，以形成式 (VIIb) 化合物：



(d) 使該式 (VIIb) 化合物與過渡金屬催化劑在二級胺的存在下進行反應，以形成式 (IX) 化合物：



隨後藉由以下步驟處理從 (d) 獲得的反應混合物：

(d2) 將 N-乙醯半胱胺酸添加至從步驟 (d) 獲得的該反應混合物；

(d3) 將 Cy₂NH 添加至從步驟 (d2) 獲得的反應混合物；

(d4) 蒸餾去除來自步驟 (d) 的該二級胺；以及

(d5) 過濾從步驟 (d4) 獲得的反應混合物；以及

(e) 使該式 (IX) 化合物與以下進行反應：

(i) HOBt 及 EDCI 之混合物；或

(ii) DIC 及 oxyma 之混合物；或

(iii) COMU；

以形成式 (I) 化合物。

【0041】 在一個態樣中，本發明提供了一種製造本文所述之式 (IVb) 化合物或其鹽之方法，其包含：

(a) 使用選自以下之試劑使本文所述之式 (IIb) 羧酸與本文所述之式 (IIIb) 胺進行反應：

(i) HOAt 及 DIC；

(ii) HODhat 及 DIC；

(iii) HOPO 及 DIC；

(iv) HOPO 及 DCC；以及

(v) HOPO 及 EDC；

以形成該式 (IVb) 化合物。

【0042】 在一個態樣中，本發明提供了一種製造本文所述之式 (Vb) 化合物或其鹽之方法，其包含：

(a) 使用選自以下之試劑使本文所述之式 (IIb) 羧酸與本文所述之式 (IIIb) 胺進行反應：

- (i) HOAt 及 DIC；
- (ii) HODhat 及 DIC；
- (iii) HOPO 及 DIC；
- (iv) HOPO 及 DCC；以及
- (v) HOPO 及 EDC；

以形成本文所述之式 (IVb) 化合物；

(b1) 使該式 (IVb) 化合物與 N-乙醯半胱胺酸及 tAmNH₂ 進行反應，以形成該式 (Vb) 化合物；以及

(b2) 以鹼性水溶液洗滌在 (b1) 中所獲得的反應混合物。

【0043】 在一個態樣中，本發明提供了一種製造本文所述之式 (VIIb) 化合物或其鹽之方法，其包含：

(a) 使用選自以下之試劑使本文所述之式 (IIb) 羧酸與本文所述之式 (IIIb) 胺進行反應：

- (i) HOAt 及 DIC；
- (ii) HODhat 及 DIC；
- (iii) HOPO 及 DIC；
- (iv) HOPO 及 DCC；以及
- (v) HOPO 及 EDC；

以形成本文所述之式 (IVb) 化合物；

(b1) 使該式 (IVb) 化合物與 N-乙醯半胱胺酸及 tAmNH₂ 進行反應，以形成該式 (Vb) 化合物；

(b2) 以鹼性水溶液洗滌在 (b1) 中獲得的反應混合物；以及

(c) 在 (i) 選自 NaBH₃CN 及 NaBH(OAc)₃ 中的還原劑；以及 (ii) 選自乙酸及丙酸中的羧酸的存在下使該式 (Vb) 化合物與式 (VIa) 化合物進行反應，以形成該式 (VIIb) 化合物。

【0044】 在一個態樣中，本發明提供了一種製造本文所述之式 (IX) 化合物或其鹽之方法，其包含：

(a) 使用選自以下之試劑使本文所述之式 (IIb) 羧酸與本文所述之式 (IIIb) 胺進行反應：

- (i) HOAt 及 DIC；
- (ii) HODhat 及 DIC；
- (iii) HOPO 及 DIC；
- (iv) HOPO 及 DCC；以及
- (v) HOPO 及 EDC；

以形成本文所述之式 (IVb) 化合物；

(b1) 使該式 (IVb) 化合物與 N-乙醯半胱胺酸及 tAmNH₂ 進行反應，以形成該式 (Vb) 化合物；

(b2) 以鹼性水溶液洗滌在 (b1) 中所獲得的反應混合物；

(c) 在 (i) 選自 NaBH₃CN 及 NaBH(OAc)₃ 中的還原劑；以及 (ii) 選自乙酸及丙酸中的羧酸的存在下使該式 (Vb) 化合物與式 (VIa) 化合物進行反應，以形成該式 (VIIb) 化合物；以及

- (d) 使該式 (VIIb) 化合物與過渡金屬催化劑在二級胺的存在下進行反應，以形成該式 (IX) 化合物。

【0045】 在一個態樣中，本發明提供了一種製造本文所述之式 (IX) 化合物或其鹽之方法，其包含：

- (a) 使用選自以下之試劑使本文所述之式 (IIb) 羧酸與本文所述之式 (IIIb) 胺進行反應：

- (i) HOAt 及 DIC；
- (ii) HODhat 及 DIC；
- (iii) HOPO 及 DIC；
- (iv) HOPO 及 DCC；以及
- (v) HOPO 及 EDC；

以形成本文所述之式 (IVb) 化合物；

- (b1) 使該式 (IVb) 化合物與 N-乙醯半胱胺酸及 tAmNH₂ 進行反應，以形成該式 (Vb) 化合物；

- (b2) 以鹼性水溶液洗滌在 (b1) 中所獲得的反應混合物；

- (c) 在 (i) 選自 NaBH₃CN 及 NaBH(OAc)₃ 中的還原劑；以及 (ii) 選自乙酸及丙酸中的羧酸的存在下使該式 (Vb) 化合物與式 (VIa) 化合物進行反應，以形成該式 (VIIb) 化合物；以及

- (d) 使該式 (VIIb) 化合物與過渡金屬催化劑在二級胺的存在下進行反應，以形成該式 (IX) 化合物；隨後為藉由以下步驟處理從步驟 (d) 獲得的反應混合物：

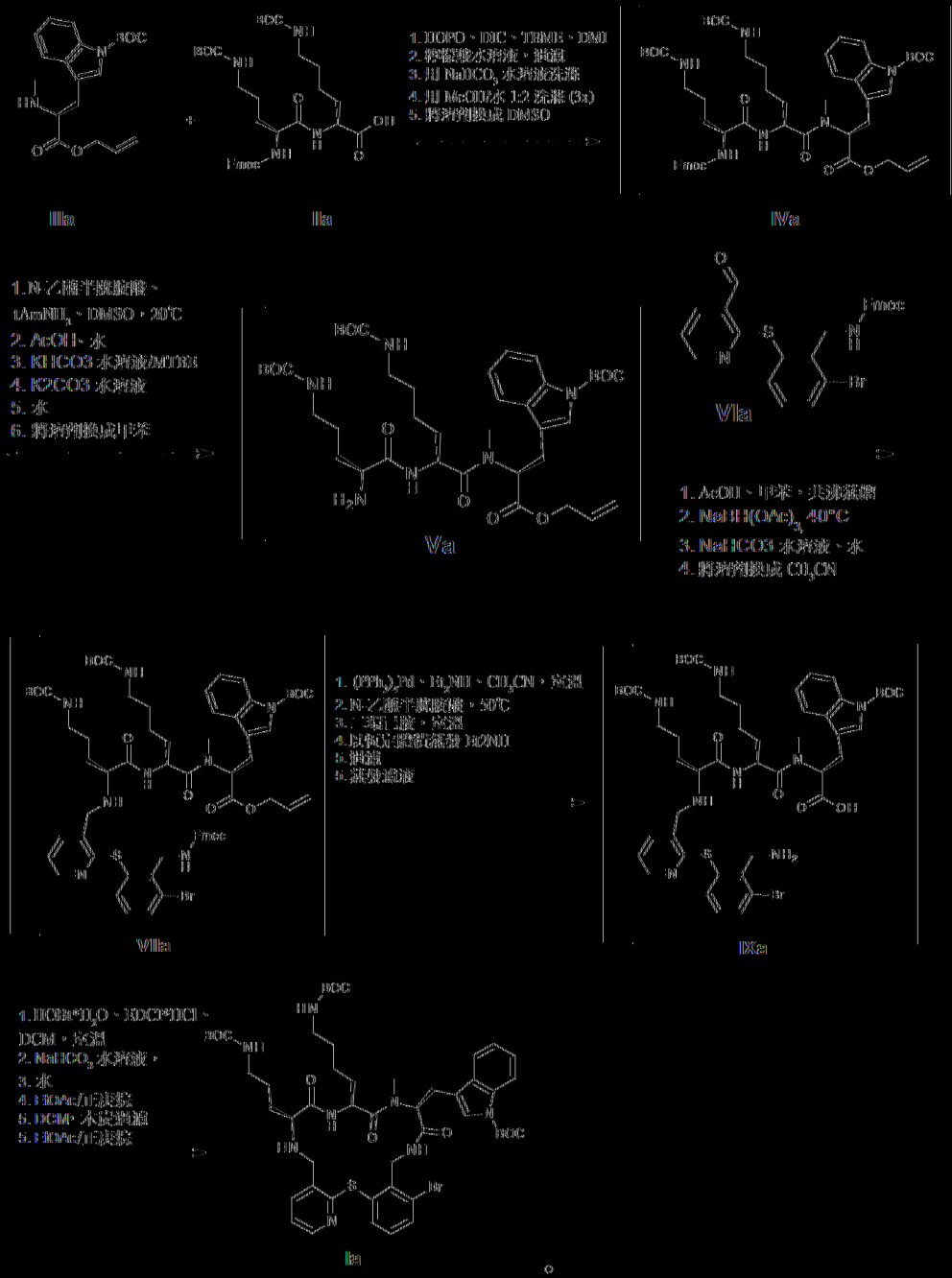
(d2) 將 N-乙醯半胱胺酸添加至從步驟 (d) 獲得的該反應混合物；

(d3) 將 Cy₂NH 添加至從步驟 (d2) 獲得的反應混合物；

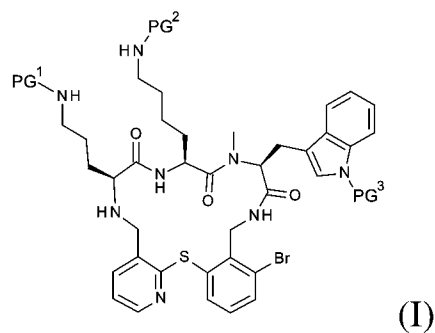
(d4) 蒸餾去除來自步驟(d)的該二級胺；以及

(d5) 過濾從步驟(d4)獲得的反應混合物。

[(0046)] 在一個特定的實施例中，本發明提供一種製造式(Ia)化合物的方法，其為：

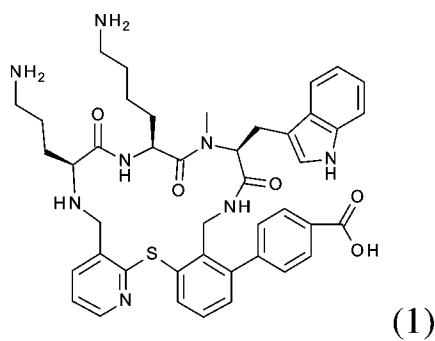


[(0047)] 在一個態樣中，本發明提供一種如本文所述之式(I)化合物或其鹽，



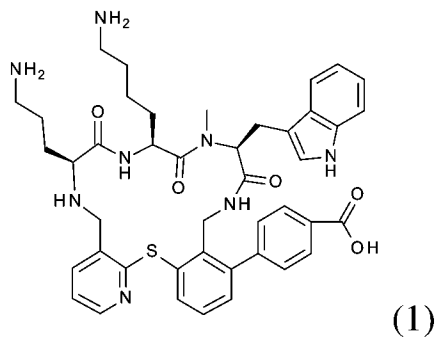
其係根據本發明之方法所製造。

【0048】 在一個態樣中，本發明提供一種製造式 (1) 化合物或其鹽之方法，



其包含本文所述之任何方法。

【0049】 在一個態樣中，本發明提供本文所述之任何方法在製造式 (1) 化合物



或其鹽中之用途。

【0050】 在一個實施例中，在本文所揭示之方法及化合物中，PG¹ 為 BOC。

【0051】 在一個實施例中，在本文所揭示之方法及化合物中，PG² 為 BOC。

【0052】 在一個實施例中，在本文所揭示之方法及化合物中，PG³ 為 BOC。

【0053】 在一個實施例中，在本文所揭示之方法及化合物中，PG⁴ 為 Fmoc。

【0054】 在一個實施例中，在本文所揭示之方法及化合物中，PG⁵ 為烯丙基。

【0055】 在一個實施例中，在本文所揭示之方法及化合物中，PG⁶ 為 Fmoc。

【0056】 在一個實施例中，在本文所揭示之方法及化合物中：

PG¹ 為 BOC；

PG² 為 BOC；且

PG⁴ 為 Fmoc。

【0057】 在一個實施例中，在本文所揭示之方法及化合物中：

PG³ 為 BOC；且

PG⁵ 為烯丙基。

【0058】 在一個實施例中，在本文所揭示之方法及化合物中：

PG¹ 為 BOC；

PG² 為 BOC；

PG³ 為 BOC；

PG⁴ 為 Fmoc；且

PG⁵ 為烯丙基。

【0059】 在一個實施例中，在本文所揭示之方法及化合物中：

PG¹ 為 BOC；

PG² 為 BOC；

PG³ 為 BOC；且

PG⁵ 為烯丙基。

【0060】 在一個實施例中，在本文所揭示之方法及化合物中：

PG¹ 為 BOC；

PG² 為 BOC；

PG³ 為 BOC；

PG⁵ 為烯丙基；且

PG⁶ 為 Fmoc。

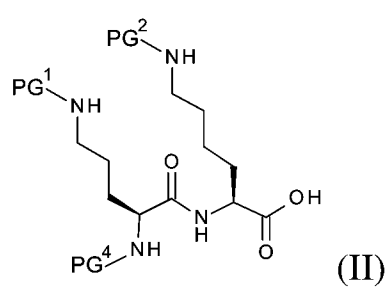
【0061】 在一個實施例中，在本文所揭示之方法及化合物中：

PG¹ 為 BOC；

PG² 為 BOC；且

PG³ 為 BOC。

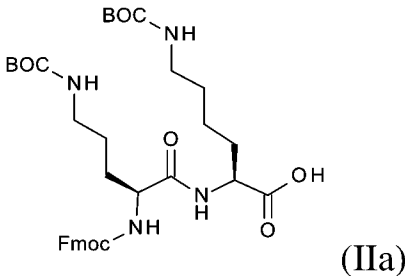
【0062】 在一個態樣中，本發明提供一種式 (II) 化合物



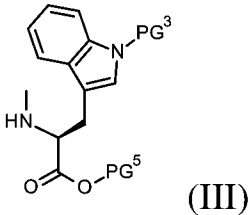
或其鹽，其中 PG¹、PG² 及 PG⁴ 為胺基保護基團。

【0063】 在一個實施例中，本發明提供一種如本文所述之式 (II) 化合物或其鹽，其中 PG¹、PG² 及 PG⁴ 為獨立地選自 BOC、Adoc、Moz 及 Fmoc 中的胺基保護基團。

【0064】 在一較佳的實施例中，本發明提供一種如本文所述之式 (II) 化合物或其鹽，其中該式 (II) 化合物為式 (IIa) 化合物



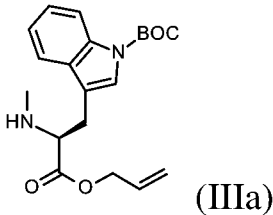
【0065】 在一個態樣中，本發明提供一種式 (III) 化合物



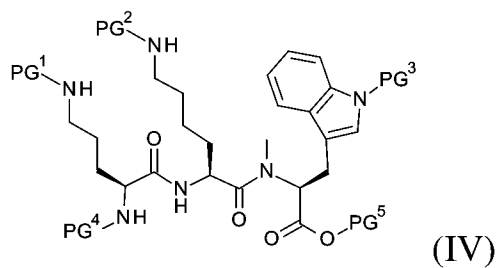
或其鹽，其中 PG³ 為胺基保護基且 PG⁵ 為羧酸保護基團。

【0066】 在一個實施例中，本發明提供一種如本文所述之式 (III) 化合物或其鹽，其中 PG³ 為選自 BOC、Adoc、Moz 及 Fmoc 中的胺基保護基團，且 PG⁵ 為選自烯丙基及 9-芴基甲基中的羧酸保護基團。

【0067】 在一較佳的實施例中，本發明提供一種如本文所述之式 (III) 化合物或其鹽，其中該式 (III) 化合物為式 (IIIa) 化合物



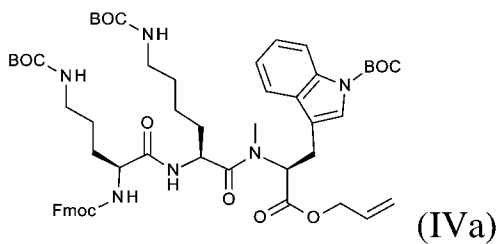
【0068】 在一個態樣中，本發明提供一種式 (IV) 化合物



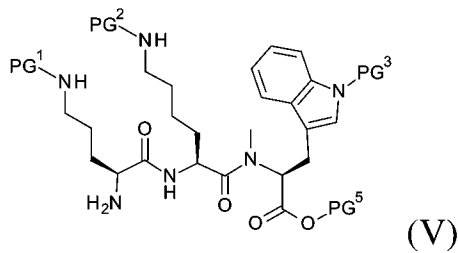
或其鹽，其中 PG¹、PG²、PG³ 及 PG⁴ 為胺基保護基團，且 PG⁵ 為羧酸保護基團。

【0069】 在一個實施例中，本發明提供一種如本文所述之式 (IV) 化合物或其鹽，其中 PG¹、PG²、PG³ 及 PG⁴ 為獨立地選自 BOC、Adoc、Moz 及 Fmoc 中的胺基保護基團，且 PG⁵ 為選自烯丙基及 9-芴基甲基中的羧酸保護基團。

【0070】 在一較佳的實施例中，本發明提供一種如本文所述之式 (IV) 化合物或其鹽，其中該式 (IV) 化合物為式 (IVa) 化合物



【0071】 在一個態樣中，本發明提供一種式 (V) 化合物

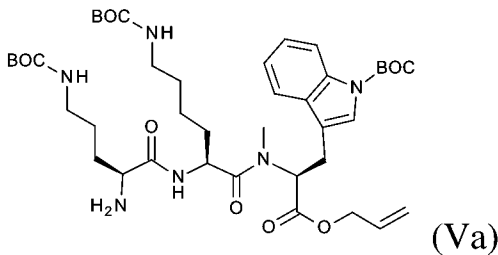


或其鹽，其中 PG¹、PG² 及 PG³ 為胺基保護基團，且 PG⁵ 為羧酸保護基團。

【0072】 在一個實施例中，本發明提供一種如本文所述之式 (V) 化合物或其鹽，其中 PG¹、PG² 及 PG³ 為獨立地選自 BOC、Adoc、Moz 及 Fmoc 中的胺基保護基團，且 PG⁵ 為選自烯丙基及 9-芴基甲基中的羧酸保護基團。

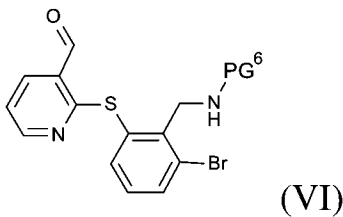
【0073】 在一較佳的實施例中，本發明提供一種如本文所述之式 (V) 化合物之半磷酸鹽 (hemiphosphate salt)。

【0074】 在一較佳的實施例中，本發明提供一種如本文所述之式 (V) 化合物或其鹽，其中該式 (V) 化合物為式 (Va) 化合物



【0075】 在一較佳的實施例中，本發明提供一種如本文所述之式 (Va) 化合物之半磷酸鹽。

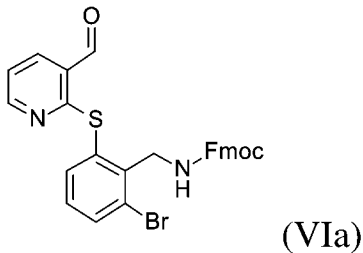
【0076】 在一個態樣中，本發明提供一種如本文所述之式 (VI) 化合物



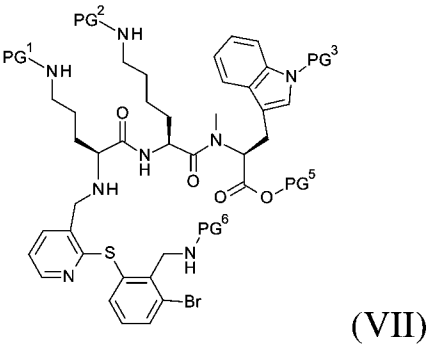
或其鹽。

【0077】 在一個實施例中，本發明提供一種如本文所述之式 (VI) 化合物或其鹽，其中 PG⁶ 為選自 BOC、Adoc、Moz 及 Fmoc 中的胺基保護基團。

【0078】 在一較佳的實施例中，本發明提供一種如本文所述之式 (VI) 化合物或其鹽，其中該式 (VI) 化合物為式 (VIa) 化合物



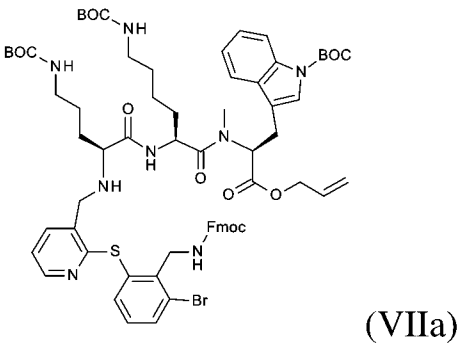
【0079】 在一個態樣中，本發明提供一種式 (VII) 化合物



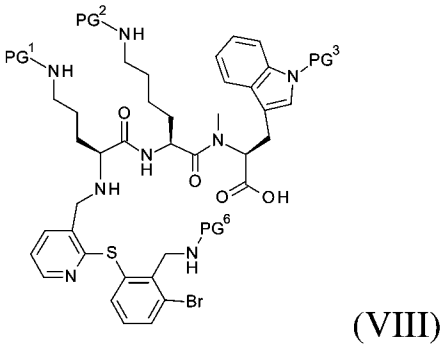
或其鹽，其中 PG¹、PG²、PG³ 及 PG⁶ 為胺基保護基團，且 PG⁵ 為羧酸保護基團。

【0080】 在一個實施例中，本發明提供一種如本文所述之式 (VII) 化合物或其鹽，其中 PG¹、PG²、PG³ 及 PG⁶ 為獨立地選自 BOC、Adoc、Moz 及 Fmoc 中的胺基保護基團，且 PG⁵ 為選自烯丙基及 9-芴基甲基中的羧酸保護基團。

【0081】 在一較佳的實施例中，本發明提供一種如本文所述之式 (VII) 化合物或其鹽，其中該式 (VII) 化合物為式 (VIIa) 化合物



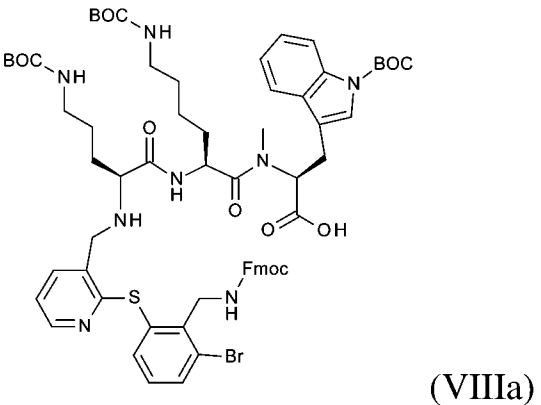
【0082】 在一個態樣中，本發明提供一種式 (VIII) 化合物



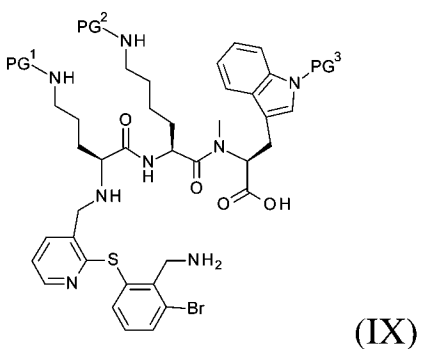
或其鹽，PG¹、PG² 及 PG³ 及 PG⁶ 為胺基保護基團。

【0083】 在一個實施例中，本發明提供一種如本文所述之式 (VIII) 化合物或其鹽，其中 PG^1 、 PG^2 及 PG^3 及 PG^6 為獨立地選自 BOC、Adoc、Moz 及 Fmoc 中的胺基保護基團。

【0084】 在一較佳的實施例中，本發明提供一種如本文所述之式 (VIII) 化合物或其鹽，其中該式 (VIII) 化合物為式 (VIIIa) 化合物



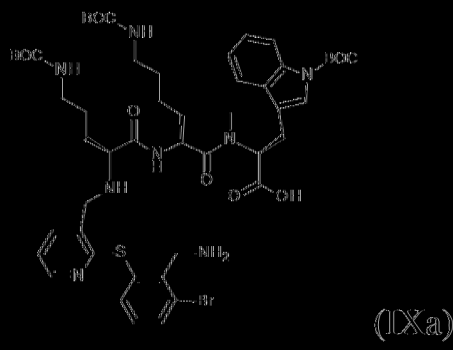
【0085】 在一個態樣中，本發明提供一種式 (IX) 化合物



或其鹽，其中 PG^1 、 PG^2 及 PG^3 為胺基保護基團。

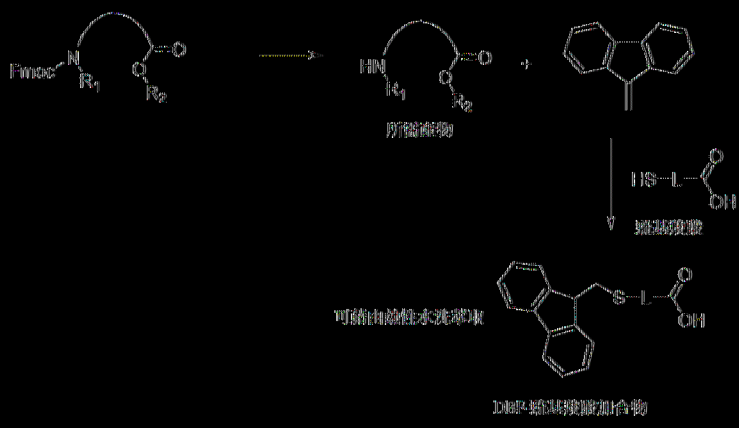
【0086】 在一個實施例中，本發明提供一種如本文所述之式 (IX) 化合物或其鹽，其中 PG^1 、 PG^2 及 PG^3 為獨立地選自 BOC、Adoc、Moz 及 Fmoc 中的胺基保護基團。

【0087】 在一較佳的實施例中，本發明提供一種如本文所述之式 (IX) 化合物或其鹽，其中該式 (IX) 化合物為式 (IXa) 化合物



[(0088)] Fmoc 去保護之新穎方法

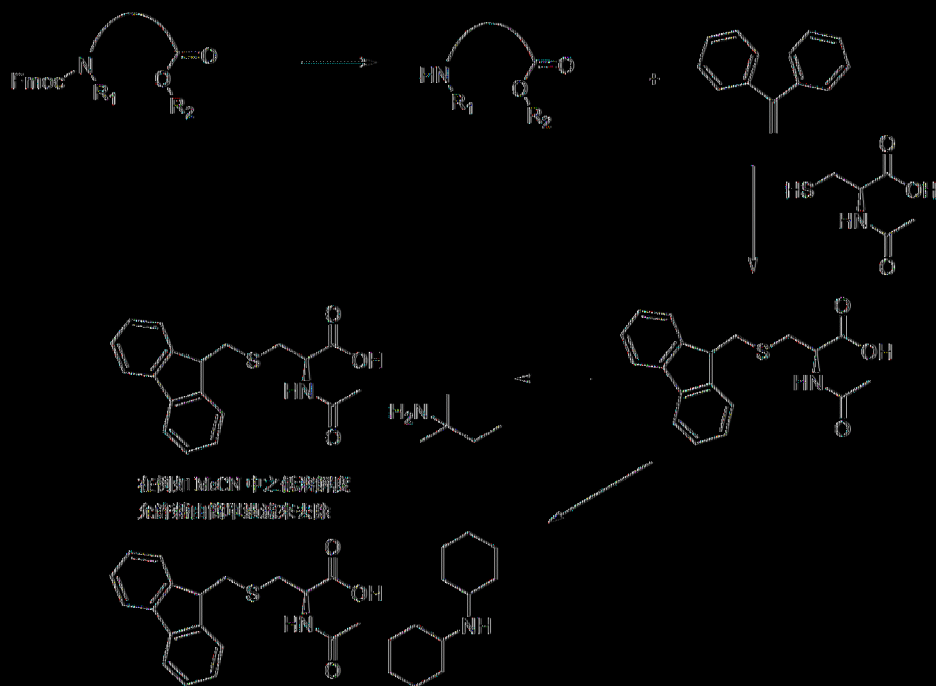
[(0089)] US9334302 揭露了一種從胺中去除 Fmoc 保護基團之方法，其包含將巯基羧酸添加到二苯並富烯 (DBF) Fmoc 去保護副產物中，隨後藉由鹼性水洗去除加合物：

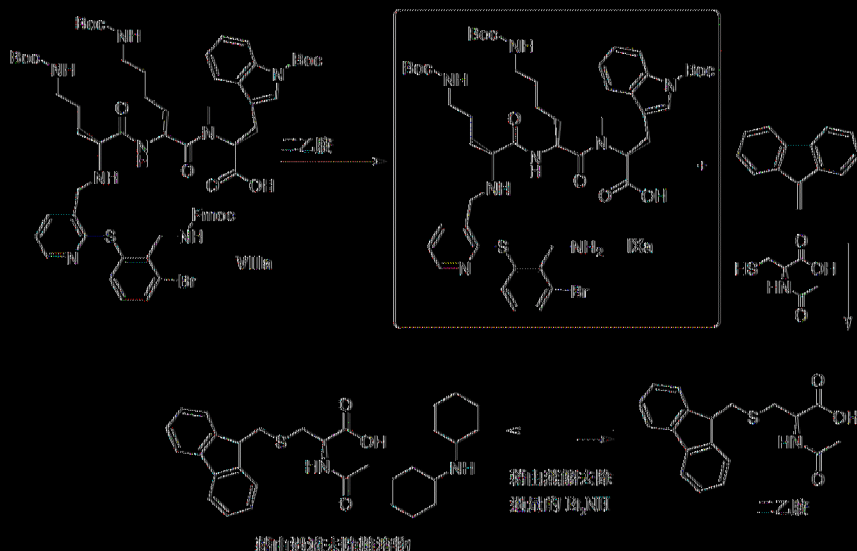


[(0090)] 舉例而言，若所需產物含有酸性官能基 (R2: -COOH)，則此方法可能不適用，因為該酸性官能基團會與 DBF-巯基羧酸加合物一起被帶入水相。此外，進行鹼性水溶液萃取當以工業規模進行時可能不方便。

[(0091)] 因此，本發明提供了一種 Fmoc 去保護之新方法，由此藉由簡單過濾而非用鹼性水溶液洗滌來去除該副產物。

[(0092)] 令人驚訝地發現，三級戊胺及二環己胺可與 DBF-N-乙酰半胱氨酸加合物形成鹽，並且此等鹽在選定的有機溶劑 (如 MeCN) 中呈現出較差的溶解度：





[(0096)] 事實上，在這種特定情況下，產物 IXa 包含羧酸官能基團，這會阻礙簡單鹼性水洗來去除任何 DDBL 巰基羧酸加合物副產物。

[(0097)] 在一個態樣中，本發明提供了一種從包含 Fmoc 保護之胺的化合物中去除 Fmoc 保護基團的方法，其包含：

- (a) 使該包含 Fmoc 保護之胺的化合物與鹼進行反應；
- (b) 將 N-乙醯半胱胺酸添加至從步驟 (a) 獲得的反應混合物；
- (c) 只要步驟 (a) 中的該鹼不為 Cy₂NHCl 或三級戊胺，則將選自 Cy₂NHCl 及三級戊胺中的鹼添加至從步驟 (b) 獲得的反應混合物；
- (d) 視情況蒸餾去除來自步驟 (a) 的該鹼；以及
- (e) 過濾從步驟 (b)、(c) 或 (d) 獲得的反應混合物。

[(0098)] 應當理解，步驟 (a) 及步驟 (b) 不需要依序進行，而是可以同時進行，即以「一鍋法 (one pot)」方式進行。因此，在一個實施例中，本發明提供了一種去除 Fmoc 保護基團之方法，其包含：

- (a) 使包含 Fmoc 保護之胺的化合物與包含鹼及 N-乙醯半胱胺酸的試劑混合物進行反應；

- (b) 只要步驟 (a) 中的鹼不為 Cy_2NH 或三級戊胺，則將選自 Cy_2NH 及三級戊胺中的鹼添加至從步驟 (a) 獲得的反應混合物；
- (c) 視情況蒸餾去除來自步驟 (a) 的該鹼；以及
- (d) 過濾從步驟 (a)、(b) 或 (c) 獲得的反應混合物。

【0099】 在一較佳的實施例中，該方法在作為溶劑之乙腈中進行。

【0100】 在一較佳的實施例中，用於步驟 (a) 中的鹼為二乙胺。

【0101】 在一較佳的實施例中，用於步驟 (c) 中的鹼為 Cy_2NH 。

【0102】 在一較佳的實施例中，根據本發明之去除 Fmoc 保護基團的方法包含步驟 (d)，即蒸餾去除來自步驟 (a) 的鹼。

【0103】 在一個實施例中，在步驟 (b) 中獲得的反應混合物經加熱至 30°C 以回流。

【0104】 在一個實施例中，在步驟 (b) 中獲得的反應混合物經加熱至 30°C 至 70°C 。

【0105】 在一較佳的實施例中，在步驟 (b) 中獲得的反應混合物經加熱至 40°C 至 60°C 。

【0106】 在一特佳的實施例中，在步驟 (b) 中獲得的反應混合物經加熱至 50°C 。

【0107】 令人驚訝地發現，若在根據本發明之方法的步驟 (a) 中使用 ≥ 10 當量的鹼，則 Fmoc 去保護在室溫下順利進行。因此，在一較佳的實施例中，在根據本發明之方法的步驟 (a) 中，相對於包含 Fmoc 保護之胺的化合物，使用 ≥ 10 當量的鹼。在進一步較佳的實施例中，根據本發明之方法的步驟 (a)-(c) 在室溫下進行。在進一步較佳的實施例中，在根據本發明之方法的步驟 (a) 中，

相對於包含 Fmoc 保護之胺的化合物，使用 ≥ 10 當量的鹼，且根據本發明之方法的步驟 (a)-(c) 在室溫下進行。

【0108】 在一較佳的實施例中，根據本發明之去除 Fmoc 保護基團的方法包含：

- (a) 在乙腈中使包含 Fmoc 保護之胺的化合物與 Et_2NH 進行反應；
- (b) 將 N-乙醯半胱胺酸添加至從 (a) 獲得的反應混合物；
- (c) 將 Cy_2NH 添加至從 (b) 獲得的反應混合物；
- (d) 蒸餾去除 Et_2NH ；以及
- (e) 過濾從 (d) 獲得的反應混合物。

【0109】 在一較佳的實施例中，根據本發明之去除 Fmoc 保護基團的方法包含：

- (a) 在乙腈中使包含 Fmoc 保護之胺的化合物與選自 Cy_2NH 及三級戊胺中的鹼進行反應；
- (b) 將 N-乙醯半胱胺酸添加至從 (a) 獲得的反應混合物；以及
- (c) 過濾從 (b) 獲得的反應混合物。

【0110】 在一較佳的實施例中，根據本發明之去除 Fmoc 保護基團的方法包含：

- (a) 在乙腈中使包含 Fmoc 保護之胺的化合物與包含 N-乙醯半胱胺酸之試劑混合物及選自 Cy_2NH 及三級戊胺中的鹼進行反應；以及
- (b) 過濾從 (a) 獲得的反應混合物。

【0111】 在一個實施例中，用於步驟 (a) 中的試劑混合物進一步包含 DBF-N-乙醯半胱胺酸加合物 Cy_2NH 或三級戊胺鹽的晶種。

【0112】如上文所提及，舉例而言，若所需產物含有酸性官能基，則 US9334302 中描述的鹼性水洗可能不適用，因為該酸性官能基團會與 DBF-羧基羧酸加合物副產物一起被沖入水相中。因此，在一較佳的實施例中，用於根據本發明之方法中的包含 Fmoc 保護之胺的化合物進一步包含至少一個羧酸部分，較佳一至三個羧酸部分，最佳一個羧酸部分。

【0113】實例

【0114】藉由參照以下實例將更充分地理解本發明。然而，申請專利範圍不應被解釋為限於實例的範圍。

【0115】本文中使用了以下縮寫：

All = 烯丙基；Boc = 三級丁氧基羰基；BOP-Cl = 雙(2-側氧-3-呋啉啟基)氯化磷；COMU = (1-氰基-2-乙氧基-2-側氧亞乙基胺基氧基)二甲基胺基-嗎啉-碳鎢六氟磷酸鹽；Cy₂NH：二環己胺；DBF = 二苯並富烯；DCM = 二氯甲烷；DIPEA = 二異丙基乙胺；DIC = N,N'-二異丙基碳二亞胺；DMAP = 4-二甲基胺基吡啶；DMF = N,N-二甲基甲醯胺；DMSO = 二甲基亞砷；DMTMM = 4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三吡啶-2-基)-4-甲基嗎啉鎢氯化物；EDCI = 1-(3-二甲基胺基丙基)-3-乙基碳二亞胺鹽酸鹽；Fmoc = 苄基甲氧基羰基；HATU = 2-(7-氮雜-1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸鹽；HOAt = 1-羥基-7-氮雜苯并三唑；HOBt = 1-羥基苯并三唑；HODhat = 3-羥基吡啶并[3,2-d][1,2,3]三吡啶-4(3H)-酮；HOPO = 2-羥基吡啶-N-氧化物；IPC = 過程中對照；KFT = 卡耳-費雪滴定 (Karl Fischer titration)；NMM = N-甲基嗎啉；Oxyma = 氰基羥基亞胺基乙酸乙酯；PyBrop = 溴-三-吡咯啟基-鎢六氟磷酸鹽；Su = 琥珀醯亞胺；T = 溫度；T3P = 丙基膦酸酐；TBTU = N,N,N',N'-四甲基-O-(苯并三唑-1-基)鈾四氟硼酸鹽；

THF = 四氫呋喃；TOTT = S-(1-氧負離子基-2-吡啶基)-N,N,N',N'-四甲基硫脒鎘
四氟硼酸鹽。

【0116】 分析方法

【0117】 分離 (IVa) 及其差向異構物之 HPLC 方法 A

固定相	具有手性選擇劑之二氧化矽，3 μm (例如 Chiral Technologies CHIRALPAK® IE-3)
流動相	5.0% v/v 水於 MeOH 中
梯度	等度
偵測	UV，205 nm

【0118】 分離 (Va) 及其差向異構物之 HPLC 方法 B

固定相	具有手性選擇劑之二氧化矽，3 μm (例如 Chiral Technologies CHIRALPAK® IE-3)
流動相 A	庚烷
流動相 B	乙醇 + 0.2% v/v 二乙胺
梯度	80% 流動相 A，20% 流動相 B， 等度
偵測	UV，230 nm

【0119】 分離 (Ia) 及其差向異構物之 HPLC 方法 C

固定相	具有手性選擇劑之二氧化矽，3 μm (例如 Chiral Technologies CHIRALPAK® IC-3)
流動相 A	庚烷
流動相 B	乙醇
梯度	85% 流動相 A，15% 流動相 B， 等度
偵測	UV，230 nm

【0120】 比較實例 6 之 IPC 方法

固定相	Symmetry Shield RP8 4.6x50mm
流動相 A	水/MeCN 95:5，0.1% vol/vol 甲酸
流動相 B	MeCN/水 95:5
梯度	0-100% B，8.6 min 內
偵測	UV，265 nm

【0121】 比較實例 6 之差向異構物偵測方法

固定相	Zorbax RX-Sil , 250 x 4.6mm
流動相 A	正庚烷
流動相 B	2-丙醇
梯度	95%-93% A , 3min 內 , 保持 7min , 93%-40% A , 0.5min 內 , 保持 4.5min
偵測	UV , 264 nm

【0122】 實例 1

【0123】 製備 *Fmoc-Orn(Boc)-Lys(Boc)-OH (IIa)*

【0124】 步驟 1 : *Fmoc-Orn(Boc)-OSu*

【0125】 將 *Fmoc-Orn(Boc)-OH* (50.0 g , 0.11 mol) 、 N-羥基琥珀醯亞胺 (13.9 g , 0.12 mol) 及 THF (200 mL) 裝入至反應容器中。在 20°C 在 2 小時內加入二環己基碳二亞胺 (26.1 g , 0.13 mol) 於 THF (50 mL) 中的溶液。將反應混合物再攪拌 21 小時。濾出沉澱物並以 THF (30 mL) 洗滌兩次。將濾液在 40°C-45°C 濃縮至 125 mL。加入 EtOAc (150 mL) 並將混合物在 40°C-45°C 濃縮至 165 mL。在室溫在 1 小時內加入異丙醇 (500 mL)。將懸浮液在室溫攪拌 10 小時。濾出固體，用異丙醇 (50 mL) 洗滌兩次並在 40°C 乾燥 8 小時，得到呈白色固體狀之 *Fmoc-Orn(Boc)-OSu*。通常，獲得 85% 之產率。

【0126】 步驟 2 : *Fmoc-Orn(Boc)-Lys(Boc)-OH (IIa)*

【0127】 將 *H-Lys(Boc)-OH* (66.0 g , 0.27 mol) 及 THF (960 mL) 裝入至反應容器中。在 20°C 經 1 小時加入雙(三甲基矽烷基)乙醯胺 (79.3 g , 0.39 mol)。將混合物在 40°C-45°C 攪拌 2 小時 (固體應完全溶解) 並冷卻至 20°C-25°C (= 溶液 A)。在另一反應容器中，將 *Fmoc-Orn(Boc)-OSu* (120 g , 0.22 mol) 溶解於 THF (480 mL) 中 (約 30 分鐘) 並將溶液冷卻至 14°C-16°C。在 1-2 小時內加入溶

液 A，保持內部溫度處於最高 15°C。將反應混合物進一步攪拌 5 小時。經 2 小時將反應混合物加入到冷卻至 5°C-10°C 的水 (1200 mL) 中，並將混合物在 5°C-10°C 進一步攪拌 30 分鐘。加入乙酸乙酯 (600 mL)。藉由加入 15% HCl 水溶液 (10-11 g) 將 pH 值調節至 2-3，保持溫度處於 5°C-10°C。分離各相。將有機層用 1.6% NaCl 水溶液 (600 g) 洗滌五次。加入乙酸乙酯 (600 mL) 並將混合物濃縮至 780-820 g。在加入乙酸乙酯 (480 mL) 的情況下重複該操作四次。在最後一次加入後，將混合物濃縮至 960-1000g。將懸浮液加熱至 40°C。經 1 小時加入正庚烷 (1500 mL)。將懸浮液進一步攪拌 1 小時，冷卻至 25°C 並在該溫度下攪拌 3 小時。濾出沉澱物，用正庚烷 (300 mL) 洗滌三次並在 45°C 乾燥，得到呈白色固體之 **IIa**。通常，產率約為 90%。

【0128】 LCMS : 705.35 (M+Na⁺) **實例2** 製備 *N-Me-Trp(Boc)-OAll* 草酸鹽 (**IIIa**)

【0130】 步驟 1 : *N-NBS-Trp-OAll*

【0131】 將 H-N-Trp-OAll 鹽酸鹽 (105.0 g, 374.0 mmol)、2-硝基苯磺酰氯 (83.7 g, 377.8 mmol) 及乙酸乙酯 (1050mL) 裝入至反應容器中，並將混合物冷卻至 0°C-5°C。經 30 分鐘裝入水 (315 mL)。接著經 4 小時裝入 KOH 15% 水溶液 (338.0 g)，保持溫度低於 5°C 且 pH = 8-9。將反應混合物在 0°C-5°C 再攪拌 5 小時，並用 15% HCl 水溶液將 pH 值調節至 5-6。使混合物達到室溫並分離各相。將有機層用水 (260 mL) 洗滌。將雙相混合物經矽藻土拋光過濾。分離各相並將有機相在減壓下濃縮至約 300 g。加入乙酸乙酯 (540 mL) 並將溶液在減壓下濃縮至約 300 g。進行卡耳-費雪滴定且水含量應為 ≤ 0.05% w/w。通常產率為約 98%。

【0132】 步驟2：N-NBS-N-Me-Trp-OAll

【0133】 將 N-NBS-Trp-OAll (600 g, 279.4 mmol)、碳酸鉀 (57.9 g, 418.9 mmol) 及四丁基溴化銨 (9.01 g, 27.1 mmol) 的 20% 溶液裝入至反應容器中。在室溫在 30 分鐘內加入碘甲烷 (47.6 g, 335.4 mmol)。將反應混合物在 30°C-35°C 攪拌 15 小時，接著冷卻至 0°C-5°C。經 1 小時加入水 (480 mL)，並將雙相混合物攪拌 30 分鐘。分離各相並將有機層用 5% NaCl 水溶液 (240 mL) 洗滌兩次。將有機層在減壓下濃縮至 200-230 g。加入乙酸乙酯 (300 mL) 並將溶液濃縮至 200-230 g。再次重複該操作。進行卡耳-費雪滴定且水含量應 ≤ 為 0.05% w/w。進行微濾以去除鹽。通常產率為約 97%-98%，且測定為 22.5 – 23.0% w/w。

【0134】 步驟3：N-NBS-N-Me-Trp(Boc)-OAll

【0135】 將 22.8% w/w 於乙酸乙酯中之 N-NBS-N-Me-Trp-OAll (529 g, 272.0 mmol)、乙酸乙酯 (200 mL) 及 DMAP (6.65 g, 54.4 mmol) 裝入至反應容器中。將反應混合物加熱至 27°C 並經 1.5 小時加入溶解於乙酸乙酯 (64.5 mL) 中的二碳酸二三級丁酯 (71.2 g, 326.2 mmol)。將反應混合物在 27°C 再攪拌 2 小時，接著加熱至 70°C 並經 2 小時冷卻至 30°C。將反應混合物在 40°C-45°C 在減壓下濃縮至約 305 g 並冷卻至室溫。在 1 小時內裝入甲醇 (845 mL) 並將混合物攪拌 3 小時。濾出沉澱物，用甲醇 (100 mL) 洗滌三次，並在 45°C 在減壓下乾燥 6 小時，得到 133 g (90%) 的呈淡黃色油狀物之 N-NBS-N-Me-Trp(Boc)-OAll。純化：將所獲得之黃色油狀物在 70°C 溶解於乙酸乙酯 (789 mL) 中並在 2 小時內冷卻至 30°C。將混合物在減壓下在 40°C 濃縮至約 277 g 並將所獲得之懸浮液冷卻至 20°C-25°C。在 1 小時內加入甲醇 (931 mL) 並將懸浮液進一步攪

拌 3 小時。濾出沉澱物，用甲醇 (67 mL) 洗滌三次並在 45°C 在減壓下乾燥 6 小時，得到 127.7 g (96%) 的呈淡黃色固體狀之 N-NBS-N-Me-Trp(Boc)-OAll。

【0136】 步驟 4 : N-Me-Trp(Boc)-OAll 草酸鹽 (IIIa)

【0137】 將 N-NBS-N-Me-Trp(Boc)-OAll (171 g, 314.6 mmol) 及 DMF (684 mL) 裝入至反應容器中且將系統惰性化並冷卻至 -5°C。經 30 分鐘在 -5°C-0°C 加入苯硫酚鹽 (65.0 g, 491.8 mmol)。將反應混合物於 -5°C 下攪拌 4 小時。加入三級丁基甲基醚 (1.03 L)，隨後在 -5°C-0°C 加入水 (1.28 L) (通常需要 30-60 分鐘)。接著使反應混合物達到 20°C 並攪拌 2 小時。將各層分開。將有機層用水 (513 mL) 洗滌三次，並在 < 35°C 在減壓下濃縮至 264 g。加入丙酮 (850 mL)。將溶液拋光過濾。將溶液冷卻至 7°C 並加入草酸二水合物 (39.2 g, 310.9 mmol) 於丙酮 (342 mL) 中的溶液。將混合物在 7°C 攪拌 2 小時。濾出沉澱物，用丙酮 (375 mL) 洗滌三次並在 35°C 在減壓下乾燥 3 小時，得到 130 g (92%) 的呈淡黃色固體狀之 N-Me-Trp(Boc)-OAll。

【0138】 LCMS : 359.19 (M+H⁺)

【0139】 實例 3

【0140】 製備 3-[(2S)-3-烯丙基氧基-2-[[[(2S)-6-(三級丁氧基羰基胺基)-2-[[[(2S)-5-(三級丁氧基羰基胺基)-2-(9H-芴-9-基甲氧基羰基胺基)戊醯基]胺基]己醯基]-甲基-胺基]-3-側氧-丙基]吡啶-1-甲酸三級丁酯 (IVa)

【0141】 將 H-N-Me-Trp(Boc)-OAll 草酸鹽 (IIIa 草酸鹽, 150 g, 334.5 mmol) 及三級丁基甲基醚 (1.1 kg) 裝入至反應器中並在 5 分鐘內加入水 (1.95 kg) 隨後加入 28% NaOH 水溶液 (119.5 kg) (輕微的氣體釋放)。將雙相繫統在室溫攪拌 60 分鐘並分離各相。將有機相用水 (750 g) 洗滌，在減壓下蒸發並在高

真空下乾燥。將殘餘物溶解於正庚烷 (513 g) 中並將溶液完全蒸發。將殘餘物溶解於正庚烷 (257 g) 中並將所獲得之溶液放在一邊 (溶液 A)。將 Fmoc-Orn(Boc)-Lys(Boc)-OH (IIa, 228.5 g, 334.6 mmol) 及三級丁基甲基醚 (1.1 kg) 裝入至反應器中。加入 HOAt (22.75 g, 167.2 mmol) 並用三級丁基甲基醚 (50 g) 沖洗漏斗。加入二甲基乙醯胺 (155 g) 並用三級丁基甲基醚 (100 g) 沖洗加料漏斗。將混合物冷卻至 0°C-5°C，並在 10 分鐘內加入二異丙基碳二亞胺 (44.5 g, 352.6 mmol)。用三級丁基甲基醚 (200 g) 沖洗加料漏斗。在 -2°C-2°C 攪拌反應混合物 120 分鐘。經 30 分鐘加入溶液 A，並用正庚烷 (68 g) 沖洗加料管線。繼續進行攪拌 40 分鐘。將反應混合物在 180-240 分鐘內升溫至室溫，並再攪拌 15 小時。在 $T \leq 25^{\circ}\text{C}$ 下，在 30 分鐘內加入檸檬酸 (103 g) 及水 (1.95 kg) 之溶液。用水 (200 g) 沖洗滴液漏斗。將萃取混合物攪拌 90 分鐘，經由玻璃過濾器過濾，並將反應器用正庚烷 (298 g) 沖洗，且將濾餅用三級丁基甲基醚 (340 g) 及正庚烷 (157 g) 之混合物洗滌。將雙相濾液再攪拌 10 分鐘，且接著分離各相。將有機層用 NaHCO_3 (56.5 g) 及水 (1.25 kg) 之溶液洗滌，並用甲醇 (871 g) 及水 (1.1 kg) 之混合物洗滌三次。將有機層在減壓下濃縮至約 900 mL 之體積 (溶液變得更粘稠)。加入 DMSO (2.43 kg) 並將溶液在 $< 40^{\circ}\text{C}$ 在高真空下乾燥 60-120 分鐘。產率被認為係 100%，且溶液按原樣用於下一步驟 (約 12.3% w/w 溶液)。手性純度 (方法 A ; a/a %) : LLL : 97.2% ; LLD : 未偵測到 ; LDL : 2.80% ; DLL : 未偵測到

【0142】 實例 4

【0143】 製備 3-[(2S)-3-烯丙基氧基-2-[[[(2S)-6-(三級丁氧基羰基胺基)-2-[[[(2S)-5-(三級丁氧基羰基胺基)-2-(9H-芴-9-基甲氧基羰基胺基)戊酰基]胺基]己酰基]-甲基-胺基]-3-側氧-丙基]吡啶-1-甲酸三級丁酯 (IVa)

【0144】 將 H-N-Me-Trp(Boc)-OAll 草酸鹽 (IIIa 草酸鹽，80 g，178.4 mmol) 及三級丁基甲基醚 (587 g) 裝入至反應器中並在 5 分鐘內加入水 (1.04 kg) 隨後加入 30% NaOH 水溶液 (59.5 g) (輕微的氣體釋放)。將雙相繫統在室溫攪拌 60 分鐘並分離各相。將有機相用水 (400 g) 洗滌，在減壓下蒸發並在高真空下乾燥。將殘餘物溶解於庚烷 (275 g) 中並在減壓下完全蒸發，得到呈黃色油狀物狀之 H-N-MeTrp(Boc)OAll (IIIa，64.6 g，100%)。

【0145】 向反應容器裝入 Fmoc-Orn(Boc)-Lys(Boc)-OH (IIa，20.5 g，30.0 mmol)、2-羥基吡啶-N-氧化物 (「HOPO」，1.67 g，15 mmol) 及 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮 (「DMI」，64.9 g)。在溶解完成後，加入 H-N-Me-Trp(Boc)-OAll (IIIa，11.1 g，30.9 mmol) 於三級丁基甲基醚 (40 g) 中之溶液。將反應混合物用三級丁基甲基醚 (91 g) 稀釋。經 20 分鐘加入二異丙基碳二亞胺 (「DIC」，4.17 g，33 mmol) 於三級丁基甲基醚 (11.0 g) 中之溶液。用三級丁基甲基醚 (10.0 g) 沖洗滴液漏斗並在室溫繼續進行攪拌 22 小時。向反應混合物中加入正庚烷 (47.0 g)，隨後在 10 分鐘內加入檸檬酸 (11.53 g，60 mmol) 於水 (220 g) 中之溶液。將混合物攪拌 1 小時。濾出沉澱物。將濾餅用三級丁基甲基醚 (57 g) 及正庚烷 (18 g) 之混合物洗滌。分離濾液的各相。將有機層用檸檬酸 (11.5 g，60 mmol) 於水 (220 g) 中之溶液、碳酸氫鈉 (2.5 g) 於水 (47.5 g) 中之溶液洗滌，並用甲醇 (79 g) 與水 (100 g) 之混合物洗滌三次。將有機相在減壓下濃縮並在高

真空下乾燥，得到呈油狀物狀之 **IVa** (29.3 g, 95.6%)。手性純度(方法 A ; *a/a* %) : LLL : 98.8% ; LLD : 未偵測到 ; LDL : 1.2% ; DLL : 未偵測到

【0146】 實例5

【0147】 替代性製備 3-[(2*S*)-3-烯丙基氧基-2-[[*(2S)*-6-(三級丁氧基羰基胺基)-2-[[*(2S)*-5-(三級丁氧基羰基胺基)-2-(9*H*-芴-9-基甲氧基羰基胺基)戊醯基]胺基]己醯基]-甲基-胺基]-3-側氧-丙基]吡啶-1-甲酸三級丁酯 (**IVa**)

【0148】 將 H-N-Me-Trp(Boc)-OAll 草酸鹽 (**IIIa** 草酸鹽, 150 g, 334.5 mmol) 及三級丁基甲基醚 (1.1 kg) 裝入至反應器中並在 5 分鐘內加入水 (1.95 kg) 隨後加入 28% NaOH 水溶液 (119.5 g) (輕微的氣體釋放)。將雙相繫統在室溫攪拌 60 分鐘並分離各相。將有機相用水 (750 g) 洗滌，在減壓下蒸發並在高真空下乾燥。將殘餘物溶解於庚烷 (513 g) 中並在減壓下完全蒸發。將殘餘物溶解於庚烷 (356 g) 中 (= 溶液 A)。

【0149】 向反應容器中裝入 Fmoc-Orn(Boc)-Lys(Boc)-OH (**IIa**, 228.0 g, 334.5 mmol)、1-羥基-7-氮雜苯並三唑 (22.8 g, 167.1 mmol)、二甲基乙醯胺 (155 g) 及三級丁基甲基醚 (1.25 kg)。向冷卻至 0°C 之所獲得懸浮液中加入二異丙基碳二亞胺 (44.5g, 352.6 mmol) 及三級丁基甲基醚 (200 g)。將反應混合物於 0°C 下攪拌 2 小時。在 30 分鐘內加入溶液 A。將加料漏斗用正庚烷 (68 g) 沖洗。將反應混合物攪拌 40 分鐘，接著在 3.5 小時內升溫至 22°C，並在該溫度下攪拌 16 小時。在 30 分鐘內加入檸檬酸 (103 g, 536 mmol) 於水 (2.15 kg) 中之溶液。將反應混合物攪拌 90 分鐘，用庚烷 (297 g) 稀釋並過濾。用三級丁基甲基醚 (340 g) 及庚烷 (157 g) 之混合物洗滌沉澱物。分離濾液的各相。將有機層用碳酸氫鈉 (56.5 g) 於水 (1.25 kg) 中之溶液洗滌，接著用甲醇 (871 g) 與水

(1.1 kg) 之混合物洗滌 3 次。將有機相在減壓下濃縮至約 900 mL 之體積，用 DMSO (2.43 kg) 稀釋並在高真空下乾燥，得到呈 12.3%wt 於 DMSO 中之溶液形式的 **IVa**。手性純度(方法 A ; a/a %) : LLL : 97.2% ; LLD : 未偵測到 ; LDL : 2.8% ; DLL : 未偵測到

【0150】 比較實例6

【0151】 表 1 顯示了胺 **IIIa** 與羧酸 **IIa** 之偶合的反應條件的篩選 (亦參見上述實例 4 及實例 5)。

【0152】 表 1

實驗編號	試劑 (1.5 eq)	鹼 (3 eq)	溶劑 (20 相對體積)	反應條件	最終 IPC，產物面積 %	差向異構物之 LLL/LLD 比率
1	HATU	DIPEA	DCM/DMF 3/1	0°C，20 相對體積	65.2	56.9/43.1
2	TBTU	DIPEA	DCM/DMF 3/1	0°C，20 相對體積	45.3	52.7/47.3
3	T3P	NMM	EtOAc/DCM	室溫，10 相對體積	93.0	56.3/43.7
4	T3P	NMM	EtOAc/DCM	0°C，20 相對體積	75.9	59.5/40.5
5	T3P	吡啶	EtOAc/DCM	0°C，20 相對體積	69.9	61.0/39.0
6	HATU	DIPEA	DCM/DMF 3/1	0°C 1h-室溫，20 相對體積	64.8	57.1/42.9
7	TBTU	DIPEA	DCM/DMF 3/1	0°C 1h-室溫，20 相對體積	41.8	52.3/43.7
8	EDCI/HOBt	-	DCM	0°C 1h-室溫，20 相對體積	59.2	57.1/42.9
9	EDCI/HOAt	-	DCM	0°C 1h-室溫，20 相對體積	90.3	87.0/13.0
10	DIC/HOBt	-	DCM	0°C 1h-室溫，20 相對體積	72.5	83.6/16.4
11	DIC/HOAt	-	DCM	0°C 1h-室溫，20 相對體積	88.2	97.7/2.3
12	EDCI/Oxyma		DCM	0°C 10 min-室溫，20 相對體積	40.4	71.3/28.7

13	PyBroP	DIPEA	DCM/DMF 3/1	0°C 1h-室溫， 20 相對體積	形成的產物 極少	
14	TOTT	DIPEA	DCM/DMF 3/1	0°C 1h-室溫， 20 相對體積	76.9	69.9/30.1
15	DMTMM	NMM	DCM/DMF 3/1	0°C 1h-室溫， 20 相對體積	54.9	63.4/36.6
16	BOP-Cl	NMM	DCM/DMF 3/1	0°C 1h-室溫， 20 相對體積	29.5	54.3/45.7
17	DIC/HODhat		DCM	0°C 1h-室溫， 20 相對體積	77.7	98.9/1.1
18	DIC/HOSu	-	DCM	0°C 1h-室溫， 20 相對體積	形成的產物 極少	
19	DIC/Oxyma	-	DCM	0°C 1h-室溫， 20 相對體積	77.1	78.2/21.8
20	DIC/2-羥基 吡啶	-	DCM/DMF	0°C 1h-室溫， 20 相對體積	51.9	57/43
21	DIC/HOBt	吡啶	DCM	0°C 1h-室溫， 20 相對體積	65.6	87.3/16.6
22	DIC/HOBt	吡啶	DMF	0°C 10 min-室 溫，20 相對 體積	29.7	48.5/51.5 (干 涉峰)
23	COMU	DIPEA	DMF	0°C 10 min-室 溫，20 相對 體積	80.0	58.3/41.7
24	DIC/6-Cl- HOBt	-	DCM	0°C 1h-室溫， 20 相對體積	72.9	91.2/8.8

【0153】 實例7

【0154】 3-[(2S)-3-烯丙基氧基-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-胺基-5-(三級丁氧基羰基胺基)戊醯基]胺基]-6-(三級丁氧基羰基胺基)己醯基]-甲基-胺基]-3-側氧-丙基]吡啶-1-甲酸三級丁酯 (Va)

【0155】 將來自實例 5 之 3-[(2S)-3-烯丙基氧基-2-[[[(2S)-6-(三級丁氧基羰基胺基)-2-[[[(2S)-5-(三級丁氧基羰基胺基)-2-(9H-芴-9-基甲氧基羰基胺基)戊醯基]胺基]己醯基]-甲基-胺基]-3-側氧-丙基]吡啶-1-甲酸三級丁酯於 DMSO 中之溶液 (IVa，2.43 kg，334.2 mmol) 裝入至反應器中。加入 N-乙醯基-半胱胺酸 (71.0 g，435.1 mmol，1.3 eq.) 並用 DMSO (100 g) 沖洗加料漏斗。加入三級戊

胺 (75.8 g, 869.0 mmol, 2.6 eq.) (輕微放熱) 並用 DMSO (85 g) 沖洗加料漏斗。將反應混合物在 19°C-21°C 攪拌 90 分鐘並逐滴加入乙酸 (52.18 g, 869.0 mmol, 2.6 eq.) 於水 (680 g) 中之溶液, 保持 $T \leq 22^\circ\text{C}$ (放熱)。將淬滅的反應混合物加入到 KHCO_3 (87.0 g, 869.0 mmol, 2.6 eq.) 於水 (2.91 kg) 及三級丁基甲基醚 (2.0 kg) 中之溶液中, 保持溫度 $\leq 25^\circ\text{C}$ 。在攪拌 30 分鐘後, 分離各相。將有機層用 K_2CO_3 (92.4 g, 668.5 mmol, 2.0 eq.) 於水 (2.84 kg) 中之溶液並用水 (1.7 kg) 洗滌。將有機相在減壓下濃縮至 870 mL 之體積。加入甲苯 (865 g) 並將溶液濃縮至 870 mL 並用甲苯 (216.2 g) 稀釋。基於溶液 (31.86% w/w) 測定之產率為 93.6%。手性純度(方法 B ; α/α %) : LLL : 97.42% ; LLD : 未偵測到 ; LDL : 2.58% ; DLL : 未偵測到

【0156】 實例 8

【0157】 替代性製備 3-[(2S)-3-烯丙基氧基-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-胺基-5-(三級丁氧基羰基胺基)戊醯基]胺基]-6-(三級丁氧基羰基胺基)己醯基]-甲基-胺基]-3-側氧-丙基]吡啶-1-甲酸三級丁酯 (Va)

【0158】 在室溫向反應容器中裝入 Fmoc-Orn(Boc)-Lys(Boc)-N(Me)-Trp(Boc)-OAll (IVa, 177.2 g, 173.2 mmol) 及 1093 mL DMSO 之溶液。加入 N-乙醯基-半胱胺酸 (36.7 g, 1.3 eq.) 並用 DMSO (100 mL) 沖洗漏斗。攪拌反應混合物直至固體完全溶解。經 30-60 分鐘加入三級丁胺 (32.9 g, 2.6 eq.) 於 DMSO (47 mL) 中之溶液, 保持溫度在 18°C - 22°C 。將反應混合物在 18°C - 22°C 攪拌 90 分鐘。加入三級丁基甲基醚 (1400 mL)。將混合物冷卻至 10°C - 15°C 。逐滴加入乙酸 (27.1 g, 2.6 eq.) 於水 (354 mL) 中之溶液, 保持溫度低於 20°C 。將淬滅的反應混合物攪拌 30 分鐘並加入碳酸氫鉀 (38.0 g, 2.2 eq.) 於水 (1220 mL) 中之

溶液，保持溫度低於 20°C。在攪拌 30 分鐘後，分離各相。將有機層用碳酸鉀 (47.6 g, 2.0 eq.) 於水 (1452 mL) 中之溶液洗滌，接著用水 (708 mL) 洗滌。將有機層經 MgSO₄ (104 g) 乾燥。濾出固體並用三級丁基甲基醚 (138 mL) 洗滌。將濾液濃縮至約 2.0 體積。將殘餘物用三級丁基甲基醚 (416 mL) 稀釋並加入正庚烷 (416 mL) (= 溶液 A)。將溶液冷卻至 0°C-5°C。在 5°C-10°C 製備磷酸 (85%, 8.45 g, 0.43 eq.) 於三級丁基甲基醚 (138.5 ml) 中之溶液並冷卻至 0°C-5°C。將磷酸溶液加入到溶液 A 中，保持溫度在 0°C-5°C (約 1-1.5 h)。將懸浮液在 0°C-5°C 再攪拌兩小時。緩慢加入冷的正庚烷 (3050 mL) 並在 0°C-5°C 繼續進行攪拌 1 小時。濾出沉澱物，用冷的正庚烷 (277 mL) 洗滌並在 25°C 在減壓下乾燥，得到呈淡黃色固體狀之 Orn(Boc)-Lys(Boc)-N(Me)-Trp(Boc)-OAll 半磷酸鹽 (Va) (112.0 g, 76.2%，經兩步驟)。

【0159】 實例 9

【0160】 3-[(2S)-3-烯丙基氧基-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[2-[3-溴-2-[(9H-芴-9-基甲氧基羰基胺基)甲基]苯基]硫基-3-吡啶基]甲基胺基]-5-(三級丁氧基羰基胺基)戊醯基]胺基]-6-(三級丁氧基羰基胺基)己醯基]-甲基-胺基]-3-側氧-丙基]吡啶-1-甲酸三級丁酯 (VIIa)

【0161】 將溶解於甲苯 (447.3 g, 656.3g 溶液) 中之 3-[(2S)-3-烯丙基氧基-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-胺基-5-(三級丁氧基羰基胺基)戊醯基]胺基]-6-(三級丁氧基羰基胺基)己醯基]-甲基-胺基]-3-酮基-丙基]吡啶-1-羧酸三級丁酯 (Va, 209 g, 260.9 mmol, 1.0 eq.) 裝入至反應容器中並將溶液用甲苯 (1.11 kg, 1.28 L) 稀釋，得到黃色澄清溶液。在室溫加入 N-[2-溴-6-[(3-甲醯基-2-吡啶基)硫代]苄基]胺基甲酸 9H-芴-9-基甲酯 (142.32 g, 260.9 mmol, 1 eq.) 並將加料漏斗用甲苯

(144.52 mL) 沖洗。這提供淡黃色懸浮液。在室溫加入乙酸 (34.47 g, 574.05 mmol, 2.2 eq.) 並用甲苯 (24.12 mL) 沖洗漏斗。在 $T_i = 45^\circ\text{C}$ - 50°C 及 100-150 毫巴下，經約 2 小時蒸餾去除 836 mL 甲苯 (共沸除水)。在 45°C 左右，懸浮液變成溶液。在室溫加入乙酸 (15.67 g, 260.9 mmol, 1.0 eq.)，隨後加入三乙醯氧基硼氫化鈉 (110.6 g, 521.86 mmol, 2.0 eq.)。將加料漏斗用甲苯 (836 mL) 沖洗。將反應混合物於 40°C 下攪拌 3 小時。隨後，經 15 分鐘將反應混合物加入到碳酸氫鈉 (131.52 g, 1565.58 mmol, 6 eq) 及水 (1.92 L) 之溶液中。在添加期間，觀察到氣體逸出及起泡。將萃取混合物加熱至 50°C 並攪拌 40 分鐘 (氣體逸出及起泡； $\text{pH} = 7$)，接著在不攪拌的情況下在室溫放置過夜。將各層分開。將有機層用水 (1.28 L) 洗滌。將有機相在減壓下濃縮並在高真空下在 40°C 乾燥 4 小時，得到呈黃色泡沫狀之標題化合物 **VIIa** (371 g)。產率視為 100%，用於下一步。

【0162】 實例10

【0163】 (2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[2-[2-(*胺基甲基*)-3-溴-苯基] 硫基-3-吡啶基] 甲基胺基]-5-(三級丁氧基羰基胺基)戊醯基] 胺基]-6-(三級丁氧基羰基胺基)己醯基]-甲基-胺基]-3-(1-三級丁氧基羰基吡啶-3-基)丙酸 (**IXa**)

【0164】 將於乙腈 (1.1 L) 中之 3-[(2S)-3-烯丙基氧基-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[2-[3-溴-2-[(9H-芴-9-基甲氧基羰基胺基) 甲基] 苯基] 硫代]-3-吡啶基] 甲基胺基]-5-(三級丁氧基羰基胺基)戊醯基] 胺基]-6-(三級丁氧基羰基胺基)己醯基]-甲基-胺基]-3-酮基-丙基]吡啶-1-羧酸三級丁酯 (**VIIa**, 347.15 g, 0.261 mol) 裝入至反應容器中。在室溫加入二乙胺 (95.42 g, 1.3 mol, 5.0 eq.) 並用乙腈 (28 mL) 沖洗加料漏斗。在室溫加入肆(三苯基膦)鈦 (1.51 g, 0.001 mol, 0.005 eq.) (輕微放

熱) 並用乙腈 (68 mL) 沖洗加料漏斗。將反應混合物於室溫攪拌 45 分鐘。加入 *N*-乙醯基-半胱胺酸 (51.1 g, 0.313 mol, 1.2 eq.)，將加料漏斗用乙腈 (435.1 mL) 沖洗，並將反應混合物在 50°C 攪拌 2.5 小時。將反應混合物在室溫進一步攪拌過夜。加入二環己胺 (61.51 g, 0.339 mol, 1.3 eq.) 並用乙腈 (28mL) 沖洗加料漏斗。將反應混合物在室溫攪拌 1 小時 (約 10 分鐘後，溶液變成懸浮液)。在 Ti max 35°C / 180-160 毫巴及恆定體積乙腈 (2.26 L) 下，藉由共沸蒸餾去除二乙胺。濾出反應混合物，用乙腈 (1.1 L) 洗滌反應器及濾餅。在 40°C 在減壓下蒸發濾液並在高真空下乾燥殘餘物 2 小時。

【0165】 實例 11

【0166】 替代性製備 (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-[[2-[2-(胺基甲基)-3-溴-苯基]硫基-3-吡啶基]甲基胺基]-5-(三級丁氧基羰基胺基)戊醯基]胺基]-6-(三級丁氧基羰基胺基)己醯基]-甲基-胺基]-3-(1-三級丁氧基羰基吡啶-3-基)丙酸 (**IXa**)

【0167】 將粗 3-[(2*S*)-3-烯丙基氧基-2-[[[(2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-[[2-[3-溴-2-[(9*H*-蒽-9-基甲氧基羰基胺基)甲基]苯基]硫基-3-吡啶基]甲基胺基]-5-(三級丁氧基羰基胺基)戊醯基]胺基]-6-(三級丁氧基羰基胺基)己醯基]-甲基-胺基]-3-側氧-丙基]吡啶-1-甲酸三級丁酯 (**VIIa**, 43.6 g, 31.2 mmol) 溶解於乙腈 (211.6 g) 中。將溶液在減壓下濃縮至 100-110 mL 之體積並用乙腈 (218.0 g) 稀釋。加入二乙胺 (22.8 g, 10.0 eq.) 並用乙腈 (4.2 g) 沖洗加料漏斗。加入肆(三苯基膦)鈾 (180.4 mg, 0.005 eq.) 並用乙腈 (2.1 g) 沖洗漏斗。將反應混合物於室溫攪拌 1.5 小時。加入 *N*-乙醯基-半胱胺酸 (6.1 g, 1.2 eq.)。將漏斗用乙腈 (4.2 g) 沖洗並將反應混合物在室溫攪拌 3 小時。加入二環己胺 (7.4 g, 1.3 eq.) 並用乙腈 (4.2 g) 沖洗轉移管線。在加入乙腈 (218.0 g) 的情況下，在 45°C 在減壓下以恆定體積蒸餾反應混

合物。將所形成之懸浮液冷卻至室溫並在室溫攪拌 1 小時，經 3 小時冷卻至 0°C 並在 0°C 攪拌 10 小時。濾出沉澱物，用冷乙腈 (54.5 g) 洗滌，並在減壓下蒸發濾液並在高真空下乾燥。殘餘物按原樣使用，並假定下一步的產率為 100%。

【0168】 實例 12

【0169】 3-[[[(11*S*,14*S*,17*S*)-22-溴-14-[4-(三級丁氧基羰基胺基)丁基]-11-[3-(三級丁氧基羰基胺基)丙基]-16-甲基-12,15,18-三側氧-2-噻4,10,13,16,19-五氮雜三環[19.4.0.03,8]二十五烷-1(25),3,5,7,21,23-六烯-17-基]甲基]吡啶-1-甲酸三級丁酯 (**Ia**)

【0170】 在室溫將 1-羥基苯并三唑水合物 (79.92 g，0.522 mol，4.0 eq.)、1-(3-二甲基胺基丙基)-3-乙基碳二亞胺鹽酸鹽 (100.05 g，0.522 mol，4.0 eq.) 及二氯甲烷 (1.07 L) 裝入至反應器中 (吸熱 Ti 13°C)。懸浮液慢慢形成溶液。在 4 小時內在室溫加入 (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-[[2-[[2-(胺基甲基)-3-溴-苯基]硫代]-3-吡啶基]甲基胺基]-5-(三級丁氧基羰基胺基)戊醯基]胺基]-6-(三級丁氧基羰基胺基)己醯基]-甲基-胺基]-3-(1-三級丁氧基羰基吡啶-3-基)丙酸 (**IXa**，139.36 g，0.130 mol) 於二氯甲烷 (695 mL) 中之溶液。將加料漏斗用二氯甲烷 (92.8 mL) 沖洗。將反應混合物在室溫再攪拌 30 分鐘。在 30 分鐘內加入碳酸氫鈉 (48.95 g，0.583 mol，4.47 eq.) 於水 (670.0 mL) 中之溶液 (氣體逸出)，並繼續進行攪拌 30 至 40 分鐘。分離各相。將有機層用碳酸氫鈉 (48.95 g，0.583 mol，4.47 eq.) 於水 (670.0 mL) 中之溶液洗滌兩次，接著用水 (670.0 mL) 洗滌兩次。在 25°C-35°C/700-600 毫巴將有機相濃縮至 479 mL 之體積。在蒸餾期間，晶體開始沉澱。在恆定體積及 48°C-52°C/600-300 毫巴下，將溶劑換成乙酸乙酯 (1.1 L)。

將所獲得之細懸浮液在 30 分鐘內冷卻至室溫並在室溫再攪拌一小時。在 60 分鐘內加入正庚烷 (349.15 mL)，並將懸浮液在室溫攪拌過夜。濾出沉澱物並用乙酸乙酯 (157.3 mL) 及正庚烷 (157.3 mL) 之混合物洗滌濾餅。將粉末在 50°C 在高真空下乾燥，得到呈米色粉末狀之標題化合物 **Ia** (92.8 g，67.7%)。手性純度 (方法 C；a/a %)：0.02% DLL；99.18% LLL；0.52% LDL；0.29% LLD。

【0171】將該產物進一步純化：將所獲得之化合物 **Ia** (90.63g) 在室溫溶解於二氯甲烷 (406 mL) 中並在木炭墊上過濾。用二氯甲烷 (362 mL) 稀釋濾液。將濾液在減壓下濃縮至 447 mL 之體積。加入乙酸乙酯 (555 mL)，並在減壓及 32°C-65°C 之內部溫度下以恆定體積 (1002 mL) 將溶劑與乙酸乙酯 (1590 mL) 交換。在 60°C-65°C 在減壓下蒸餾去除乙酸乙酯 (394 mL)。將橙棕色懸浮液緩慢冷卻至室溫 (0.15K/min) 並老化 16 小時。在 45 分鐘內加入正庚烷 (203 mL)，並將懸浮液攪拌兩小時。濾出沉澱物，用乙酸乙酯 (270 mL) 及正庚烷 (89 mL) 之混合物洗滌 (分兩份，緩慢過濾) 並在 60°C 在高真空下乾燥，得到呈白色粉末狀之 **Ia** (62.26 g，61%)。手性純度 (方法 C；a/a %)：100%

【0172】實例 13

【0173】3-[(2S)-3-烯丙基氧基-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-胺基-5-(三級丁氧基羰基胺基)戊醯基]胺基]-6-(三級丁氧基羰基胺基)己醯基]-甲基-胺基]-3-側氧-丙基]吡啶-1-甲酸三級丁酯 (**Va**)

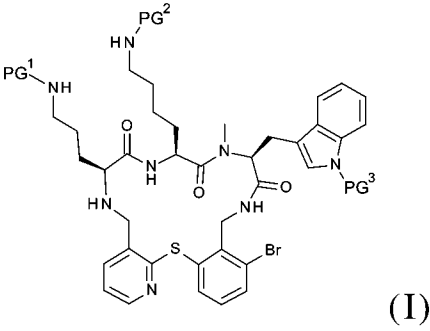
【0174】將 3-[(2S)-3-烯丙基氧基-2-[[[(2S)-6-(三級丁氧基羰基胺基)-2-[[[(2S)-5-(三級丁氧基羰基胺基)-2-(9H-芴-9-基甲氧基羰基胺基)戊醯基]胺基]己醯基]-甲基-胺基]-3-側氧-丙基]吡啶-1-甲酸三級丁酯 (**IVa**，19.5 g，19.1 mmol，1 eq.) 於 MeCN (210 mL) 中之溶液裝入至反應器中。裝入三級戊胺 (5.32 g，61

mmol, 3.2 eq.) 及 N-乙醯基-半胱胺酸 (4.04 g, 24.8 mmol, 1.3 eq.) 與 (DBF-N-乙醯半胱胺酸加合物三級戊胺鹽之) 晶種於 MeCN (15 mL) 中之懸浮液。用 MeCN (15 mL) 將加料漏斗沖入反應器中。將反應混合物在室溫攪拌 20h (IPC：大部分被去保護)，接著在 50°C 攪拌 7h (完全去保護並且主要為 N-乙醯基-半胱胺酸-DBF 加合物)。將反應混合物冷卻至室溫並過濾以去除大部分 N-乙醯基-半胱胺酸-DBF 加合物。將濾餅用 MeCN (100 mL) 洗滌。將濾液在減壓 (50°C 300-60 毫巴) 下濃縮。將殘餘物復溶於 Me-THF (250 mL) 中並依次用 K₂CO₃ (25 g) 於水 (225 g) 中之溶液及 NaCl (28 g) 於水 (200 mL) 中之溶液洗滌兩次。將溶液在減壓 (50°C, 350-15 毫巴) 下濃縮至乾燥，得到產物 (14.8g, 呈油狀物)，粗產率為 97% (藉由 LC 測得在 230 nm 下為 85a%)。

【發明申請專利範圍】

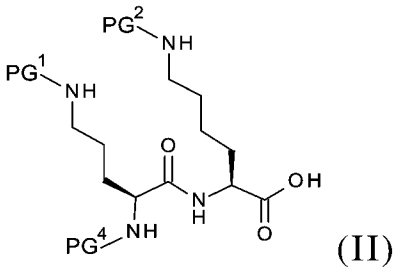
【請求項1】

一種製造式 (I) 化合物或其鹽之方法，

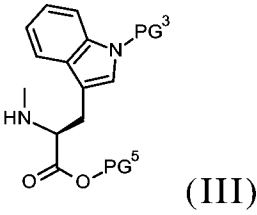


該方法包含：

(a) 使用選自以下之試劑，使式 (II) 羧酸



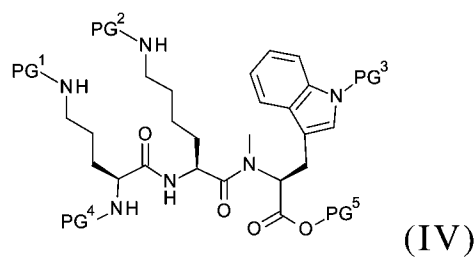
與式 (III) 二級胺



進行反應：

- (i) HOAt 及 DIC ；
- (ii) HODhat 及 DIC ；
- (iii) HOPO 及 DIC ；
- (iv) HOPO 及 DCC ；以及
- (v) HOPO 及 EDC ；

以形成式 (IV) 化合物



其中 PG¹、PG²、PG³ 及 PG⁴ 為獨立地選自 BOC、Adoc、Moz 及 Fmoc 中的胺基保護基團，且 PG⁵ 為選自烯丙基及 9-苄基甲基中的羧酸保護基團。

【請求項2】

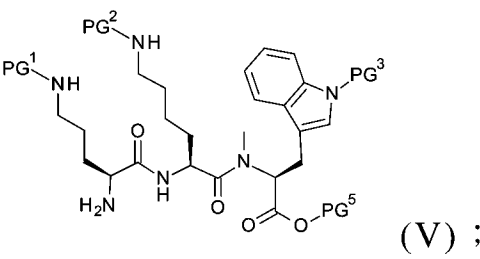
如請求項 1 之方法，其中該方法係在選自以下之溶劑中進行：

- (i) 三級丁基甲基醚、正庚烷及二甲基乙醯胺之混合物；
- (ii) 含有或不含有 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮的乙酸異丙酯；
- (iii) 含有或不含有 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮的三級丁基甲基醚；
- (iv) 含有或不含有 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮的二氯甲烷；
- (v) 含有或不含有 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮的 THF；
- (vi) 含有或不含有 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮的 2-甲基-THF；
- (vii) 含有或不含有 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮的甲苯；以及
- (viii) 乙腈。

【請求項3】

如請求項 1 或 2 中任一項之方法，其進一步包含：

(b1) 使該式 (IV) 化合物與 N-乙醯半胱胺酸及 tAmNH₂ 或 tBuNH₂ 進行反應，其中 PG⁴ 為 Fmoc，以形成式 (V) 化合物：



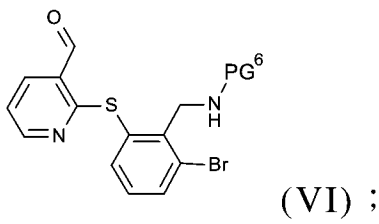
其中 PG¹、PG² 及 PG³ 為獨立地選自 BOC、Adoc、Moz 及 Fmoc 中的胺基保護基團，且 PG⁵ 為選自烯丙基及 9-苄基甲基中的羧酸保護基團；以及

(b2) 以鹼性水溶液洗滌在 (b1) 中所獲得的反應混合物。

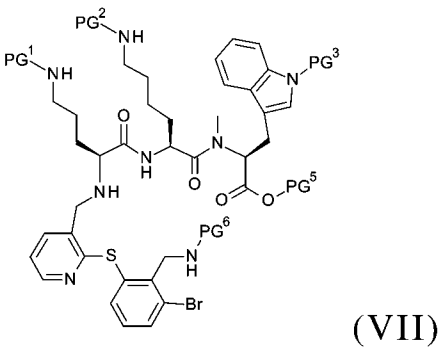
【請求項4】

如請求項 3 之方法，其進一步包含：

(c) 使該式 (V) 化合物與式 (VI) 化合物：



在 (i) 選自 NaBH₃CN 及 NaBH(OAc)₃ 中的還原劑；以及 (ii) 選自乙酸及丙酸中的羧酸的存在下進行反應，其中 PG⁶ 為選自 BOC、Adoc、Moz 及 Fmoc 中的胺基保護基團；以形成式 (VII) 化合物：

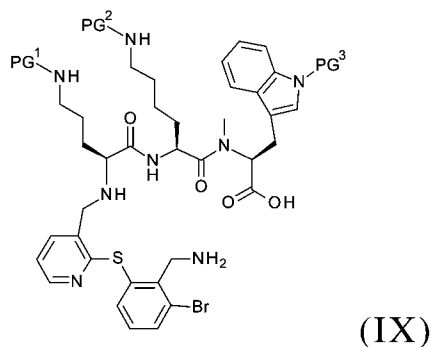


其中 PG¹、PG²、PG³ 及 PG⁶ 為獨立地選自 BOC、Adoc、Moz 及 Fmoc 中的胺基保護基團，且 PG⁵ 為選自烯丙基及 9-苄基甲基中的羧酸保護基團。

【請求項5】

如請求項 4 之方法，其進一步包含：

(d) 使該式 (VII) 化合物與過渡金屬催化劑在二級胺的存在下進行反應，其中 PG^5 為烯丙基基團，以形成式 (IX) 化合物：



其中 PG^1 、 PG^2 及 PG^3 為獨立地選自 BOC、Adoc、Moz 及 Fmoc 中的胺基保護基團。

【請求項6】

如請求項 5 之方法，其中該二級胺為 Et_2NH 且該過渡金屬催化劑為 $(PPh_3)_4Pd$ 。

【請求項7】

如請求項 5 或 6 之方法，其中步驟 (d) 係在乙腈中進行且進一步包含藉由以下步驟處理 (work up) 從步驟 (d) 獲得的反應混合物：

- (d2) 將 N-乙醯半胱胺酸添加至從步驟 (d) 獲得的該反應混合物；
- (d3) 將 Cy_2NH 添加至從步驟 (d2) 獲得的反應混合物；
- (d4) 蒸餾去除來自步驟 (d) 的該二級胺；以及
- (d5) 過濾從步驟 (d4) 獲得的反應混合物。

【請求項8】

如請求項 5 至 7 中任一項之方法，其進一步包含：

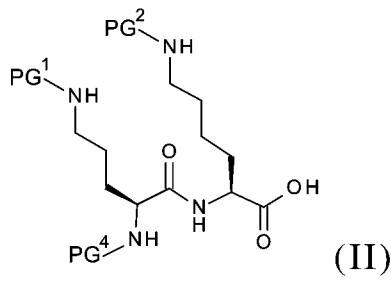
(e) 使該式 (IX) 化合物與以下進行反應：

- (i) HOBt 及 EDCI 之混合物；
- (ii) DIC 及 oxyma 之混合物；
- (iii) COMU；
- (iv) 2,4,6-三氯-1,3,5-三吡 (TCT)；或
- (v) 4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三吡-2-基)-4-甲基-嗎啉鎘氯化物 (DMTMM)；

以形成式 (I) 化合物。

【請求項9】

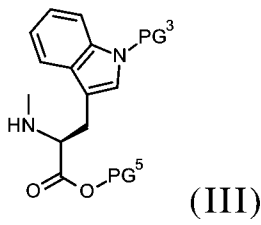
一種式 (II) 化合物，



或其鹽，其中 PG¹、PG² 及 PG⁴ 為獨立地選自 BOC、Adoc、Moz 及 Fmoc 中的胺基保護基團。

【請求項10】

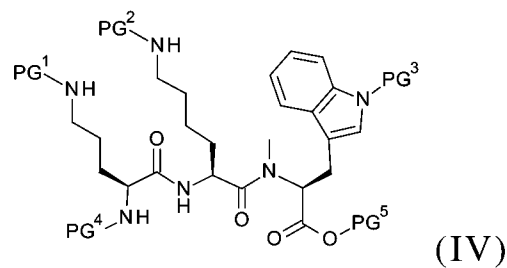
一種式 (III) 化合物，



或其鹽，其中 PG³ 為選自 BOC、Adoc、Moz 及 Fmoc 中的胺基保護基團，且 PG⁵ 為選自烯丙基及 9-芴基甲基中的羧酸保護基團。

【請求項11】

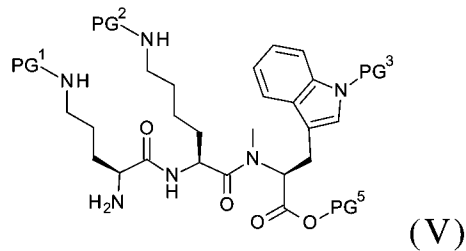
一種式 (IV) 化合物，



或其鹽，其中 PG¹、PG²、PG³ 及 PG⁴ 為獨立地選自 BOC、Adoc、Moz 及 Fmoc 中的胺基保護基團，且 PG⁵ 為選自烯丙基及 9-芴基甲基中的羧酸保護基團。

【請求項12】

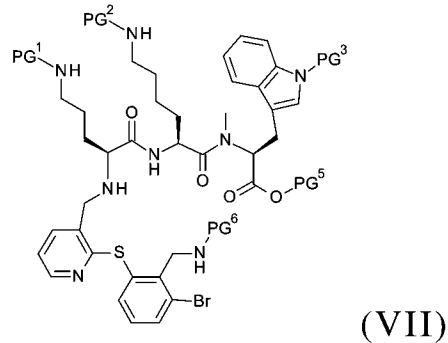
一種式 (V) 化合物，



或其鹽，其中 PG¹、PG² 及 PG³ 為獨立地選自 BOC、Adoc、Moz 及 Fmoc 中的胺基保護基團，且 PG⁵ 為選自烯丙基及 9-芴基甲基中的羧酸保護基團。

【請求項13】

一種式 (VII) 化合物，

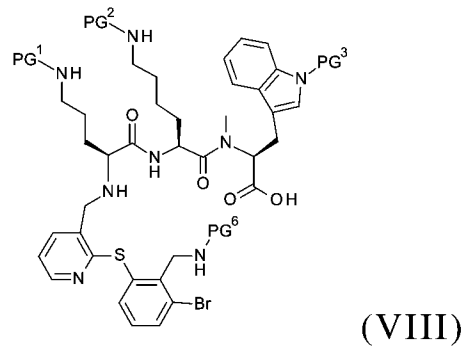


或其鹽，其中 PG¹、PG²、PG³ 及 PG⁶ 為獨立地選自 BOC、Adoc、Moz 及 Fmoc 中的胺基保護基團，且 PG⁵ 為選自烯丙基及 9-芴基甲基中的羧酸保護基團。

基中的羧酸保護基團。

【請求項14】

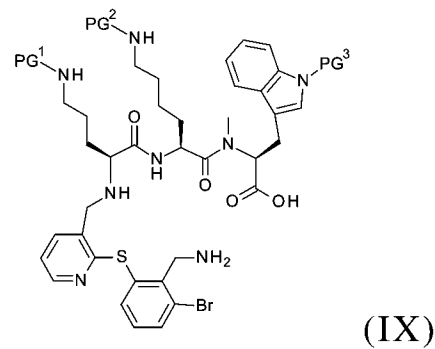
一種式 (VIII) 化合物，



或其鹽，其中 PG¹、PG² 及 PG³ 及 PG⁶ 為獨立地選自 BOC、Adoc、Moz 及 Fmoc 中的胺基保護基團。

【請求項15】

一種式 (IX) 化合物，



或其鹽，其中 PG¹、PG² 及 PG³ 為獨立地選自 BOC、Adoc、Moz 及 Fmoc 中的胺基保護基團。

【請求項16】

如請求項 1 之方法或如請求項 11 之式 (IV) 化合物，其中 PG¹、PG² 及 PG³ 為 BOC；PG⁴ 為 Fmoc；且 PG⁵ 為烯丙基。

【請求項17】

如請求項 3 之方法或如請求項 12 之式 (V) 化合物，其中 PG¹、PG²

及 PG³ 為 BOC；且 PG⁵ 為烯丙基。

【請求項18】

如請求項 4 之方法或如請求項 13 之式 (VII) 化合物，其中 PG¹、PG² 及 PG³ 為 BOC；PG⁵ 為烯丙基；且 PG⁶ 為 Fmoc。

【請求項19】

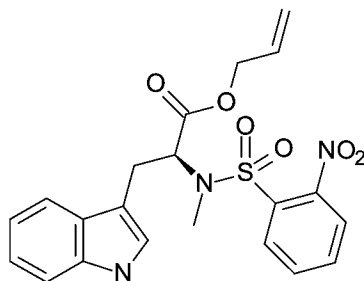
如請求項 6 之方法或如請求項 14 之式 (VIII) 化合物，其中 PG¹、PG² 及 PG³ 為 BOC；且 PG⁶ 為 Fmoc。

【請求項20】

如請求項 7 之方法或如請求項 15 之式 (IX) 化合物，其中 PG¹、PG² 及 PG³ 為 BOC。

【請求項21】

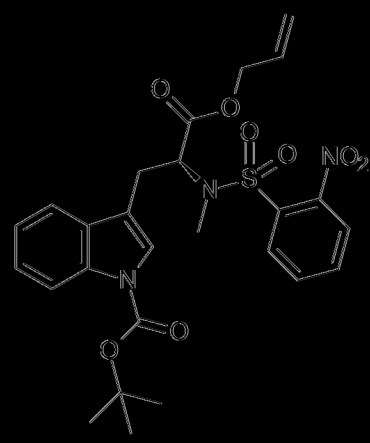
一種化合物，其為 N-NBS-N-Me-Trp-OAll



或其鹽。

【請求項22】

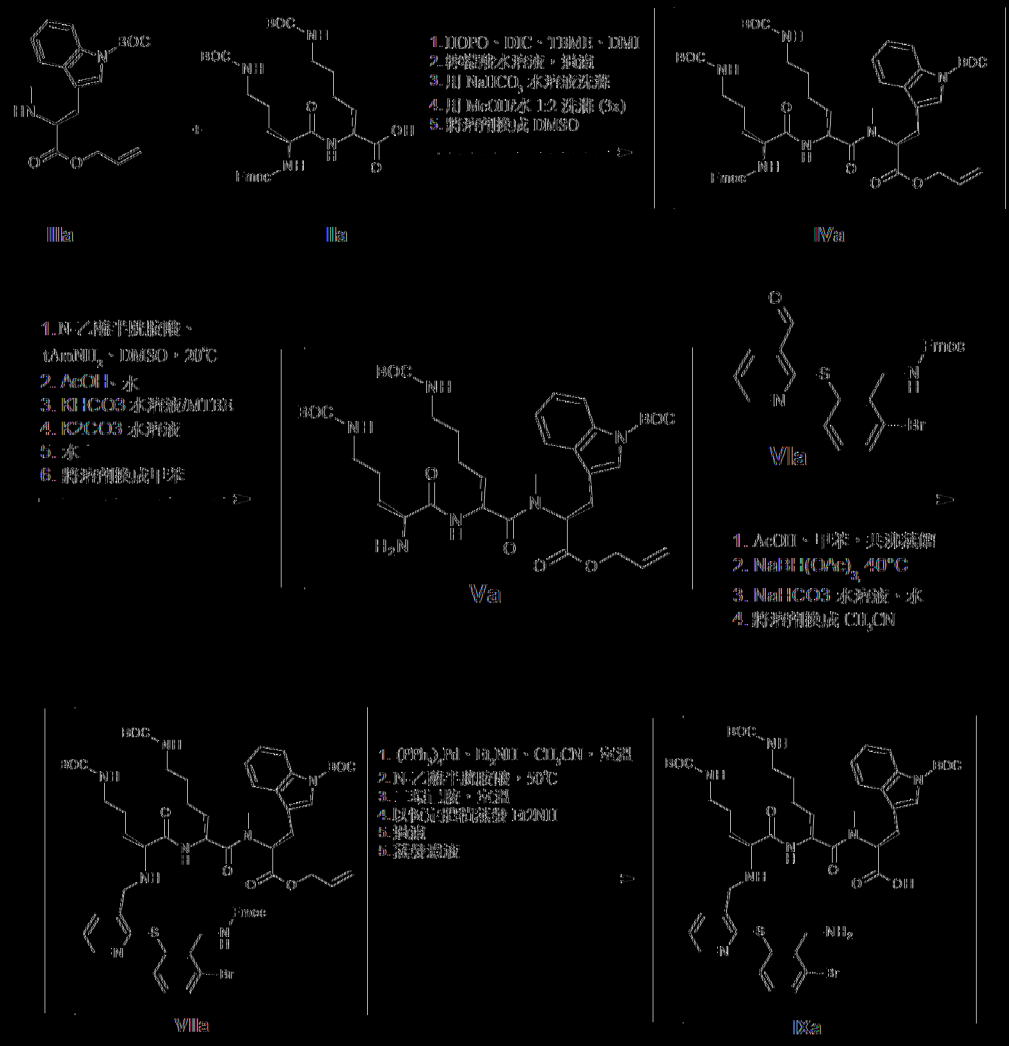
一種化合物，其為 N-NBS-N-Me-Trp(Boc)-OAll

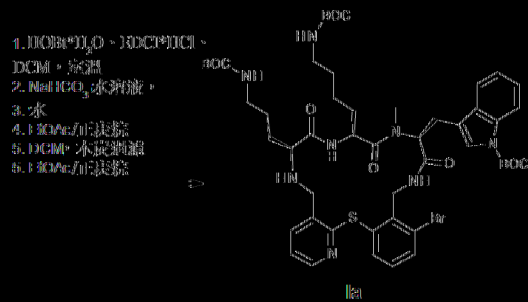


或其鹽。

〔請求項23〕

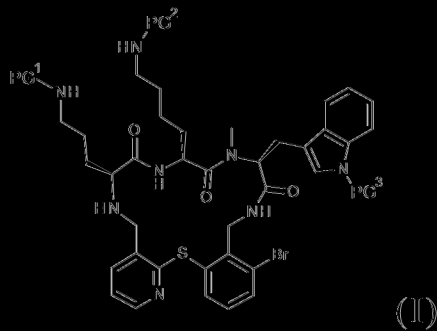
如請求項 1 至 8 及 16 至 20 中任一項之方法，其為：





[(請求項24)]

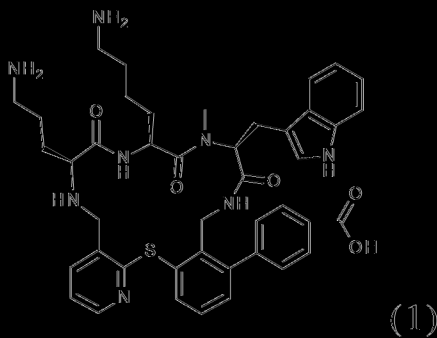
一種式 (II) 化合物或其鹽，



其係如請求項 1 至 8 或 16 至 21 中任一項之方法所製造，其中
PG¹、PG² 及 PG³ 為胺基保護基團。

[(請求項25)]

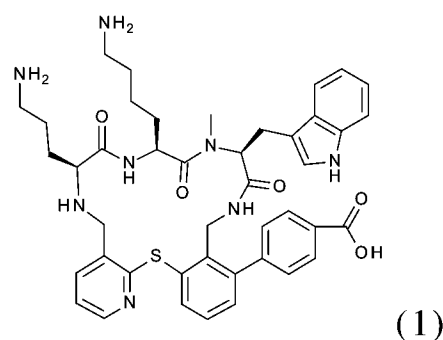
一種製造式 (1) 化合物或其鹽之方法，



該方法包含如請求項 1 至 8 或 16 至 21 中任一項之方法。

[(請求項26)]

一種如請求項 1 至 8 或 16 或 21 中任一項之方法在製造式 (1) 化合物



或其鹽中之用途。

【請求項27】

一種從包含 Fmoc 保護之胺的化合物中去除 Fmoc 保護基團之方法，其包含：

- (a) 使該包含 Fmoc 保護之胺的化合物與鹼進行反應；
- (b) 將 N-乙醯半胱胺酸添加至從步驟 (a) 獲得的反應混合物；
- (c) 只要步驟 (a) 中的該鹼不為 Cy_2NH 或三級戊胺，則將選自 Cy_2NH 及三級戊胺中的鹼添加至從步驟 (b) 獲得的反應混合物；
- (d) 視情況蒸餾去除來自步驟 (a) 的該鹼；以及
- (e) 過濾從步驟 (b)、(c) 或 (d) 獲得的反應混合物。

【請求項28】

如請求項 27 之方法，其中該方法係在作為溶劑的乙腈中進行。

【請求項29】

如請求項 27 或 28 中任一項之方法，其中用於步驟 (a) 中的該鹼為二乙胺。

【請求項30】

如請求項 27 至 29 中任一項之方法，其中相對於步驟 (a) 中包含 Fmoc 保護之胺的化合物使用 ≥ 10 當量之鹼。

【請求項31】

如請求項 30 之方法，其中步驟 (a) 至 (c) 係在室溫下進行。

【請求項32】

如請求項 27 至 31 中任一項之方法，其中用於步驟 (c) 中的該鹼為 Cy_2NH 。

【請求項33】

如請求項 27 至 32 中任一項之方法，其包含步驟 (d)，即蒸餾去除來自步驟 (a) 的該鹼。

【請求項34】

如請求項 27 至 29、32 及 33 中任一項之方法，其中在步驟 (b) 中獲得的反應混合物經加熱至 30°C 以回流。

【請求項35】

如請求項 34 之方法，其中在步驟 (b) 中獲得的該反應混合物經加熱至 30°C 至 70°C 。

【請求項36】

如請求項 35 之方法，其中在步驟 (b) 中獲得的該反應混合物經加熱至 40°C 至 60°C 。

【請求項37】

如請求項 36 之方法，其中在步驟 (b) 中獲得的該反應混合物經加熱至 50°C 。

【請求項38】

如請求項 27 至 37 中任一項之方法，其中該包含 Fmoc 保護之胺的化合物進一步包含至少一個羧酸部分。

【請求項39】

如前文所述之本發明。