

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：PS 146883

※ 申請日期：PS. 12. 14

※ IPC 分類：

C07D 498/18 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

西羅莫司(SIROLIMUS)之四唑衍生物之單槽合成方法

ONE POT SYNTHESIS OF TETRAZOLE DERIVATIVES OF
SIROLIMUS

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

美商亞培公司

ABBOTT LABORATORIES

代表人：(中文/英文)

羅伯特 戴比維丁

DEBERARDINE, ROBERT

住居所或營業所地址：(中文/英文)

美國伊利諾州亞培公園市亞培公園路100號

100 ABBOTT PARK ROAD, ABBOTT PARK, ILLINOIS 60064-3500,

U. S. A.

國 籍：(中文/英文)

美國 U.S.A.

三、發明人：(共 6 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 馬德普 德哈
DHAON, MADHUP
2. 蕭啟奈
HSIAO, CHI-NUNG
3. 蘇柏西 帕特爾
PATEL, SUBHASH
4. 彼得 邦可
BONK, PETER
5. 珊傑 奇伯卡
CHEMBURKAR, SANJAY
6. 陳揚
CHEN, YONG

國 籍：(中文/英文)

1. 美國 U.S.A.
2. 美國 U.S.A.
3. 美國 U.S.A.
4. 美國 U.S.A.
5. 美國 U.S.A.
6. 美國 U.S.A.

四、聲明事項：

主張專利法第二十二條第二項 第一款或 第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國；2005年12月14日；11/300,671

2.

無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 專利合作條約；2006年12月12日；PCT/US06/61909

2.

主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

主張專利法第三十條生物材料：

須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

五、中文發明摘要：

本發明係關於一種大規模獲得左他羅莫司(zotarolimus)及其他雷帕黴素(rapamycin)衍生物之單步驟單槽方法，其可改良目前可用的合成方法。在一實施例中，使乾燥雷帕黴素溶於乙酸異丙酯中。於冷卻且添加2,6-二甲基吡啶(2,6-Lutidine)後，在-30°C下緩慢添加三氟甲磺酸酐。藉由過濾去除鹽。添加四唑，隨後添加三級鹼二異丙基乙胺。於在室溫下培育後，濃縮該產物並藉由一矽膠管柱使用THF/庚烷作為溶離液進行純化。收集該產物，濃縮並使用丙酮/庚烷管柱進行純化。濃縮該等含產物之溶離份。使該產物溶於t-BME中並用庚烷使其沉澱。將該等固體溶於丙酮中，用丁基化羥基甲苯處理並濃縮該溶液。用丙酮重複該製程2次以去除溶劑。在乾燥前添加至少一種穩定劑，例如0.5%的BHT。

六、英文發明摘要：

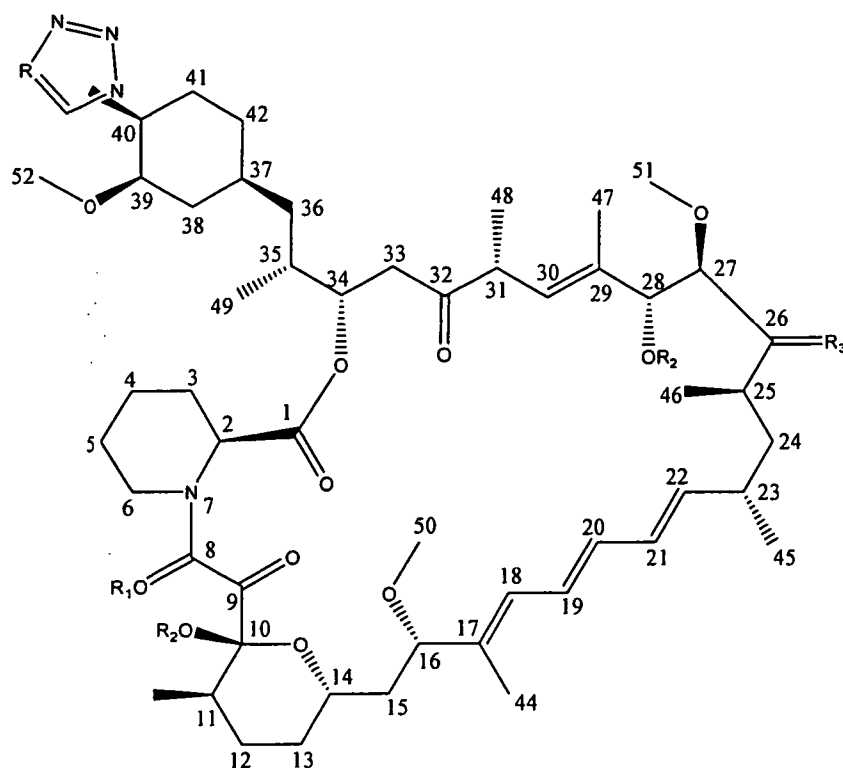
七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(1)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

- | | |
|-----|-------------------------------------|
| 100 | DCM及甲苯，加入IPAc |
| 105 | 共沸乾燥雷帕黴素 |
| 110 | 存於IPAc中之雷帕黴素 |
| 115 | 加入二甲基吡啶，冷卻至-30℃，加入Tf ₂ O |
| 120 | 過濾鹽 |
| 125 | 用IPAc洗滌 |
| 130 | 加入四唑，加入DIEA |
| 135 | 置換反應 |
| 140 | 室溫濃縮且在矽膠管柱上純化 |
| 145 | 濃縮溶離份，在正庚烷/丙酮管柱上純化 |
| 150 | 濃縮溶離份，溶於第三-BME中 |
| 155 | 過濾產物，濃縮，使用丙酮 |
| 160 | 分離/乾燥 |

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：



九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於合成雷帕黴素類似物之新穎方法。該等類似物用於抗增殖及免疫調節應用中。

【先前技術】

介紹

西羅莫司 (*Sirolimus*)

在 *moai* 之俯觀下，1964年加拿大探險隊在污垢中挖掘發現了產生強有力的免疫抑制、抗真菌及抗細胞增殖分子之真菌。自 Easter Island 至加拿大實驗室，該真菌到了 Suren Sehgal 的手上，他在 1972 年闡明瞭真菌吸水鏈黴菌 (*Streptomyces hygroscopicus*) 之純淨化合物的性質，但該發現被放棄，此係公司優先權的受害者。1987年 Sehgal 恢復研究並開發出作為免疫抑制劑之化合物。今天，雷帕黴素 (以 Rapa Nui 命名，由此名字 Easter Island (復活節島) 土著人知道了其家園) 用來降低器官移植之風險及血管支架的副反應，且作為抗-腫瘤藥物正在進行研究。

雷帕黴素 (亦稱為西羅莫司) 係在活體外及活體內皆抑制真菌生長尤其抗白色念珠菌 (*Candida albicans*) 之大環三烯抗生素 (Baker 等人，1978; Sehgal, 1975; Sehgal, 1976; Sehgal 等人，1975; Vezina 等人，1975)。已證明單獨之西羅莫司 (Surendra, 1989) 或與溶鏈菌素之組合 (Eng, 1983) 具有抗-腫瘤活性。1977年，已證明在變應性腦脊髓炎 (多發性硬化症模型)、佐劑關節炎及類風濕性關節炎之實驗模型中

西羅莫司作為免疫抑制劑非常有效(Martel等人, 1977)。西羅莫司亦有效抑制IgE-樣抗體之形成(Martel等人, 1977)。下文描述其結構(VI)。

今天更熟知為左他羅莫司之ABT-578[40-表-(1-四唑基)-雷帕黴素]係衍生自西羅莫司的半合成大環內酯三烯抗生素。左他羅莫司係類似於其前體左他羅莫司之T-細胞淋巴球增殖有效抑制劑。已發現左他羅莫司在塗覆心血管支架尤其藥物-溶離血管支架(DES's)以最大程度降低再狹窄症方面有特殊應用(Mollison等人, 2003)。左他羅莫司以兩種異構體形式存在, 即主要吡喃(10位置處6-員異構體; 1)及次要氧雜環庚烷異構體(9位置處7員異構體; 2), 二者皆為N-1異構體(Mollison, 2000)。

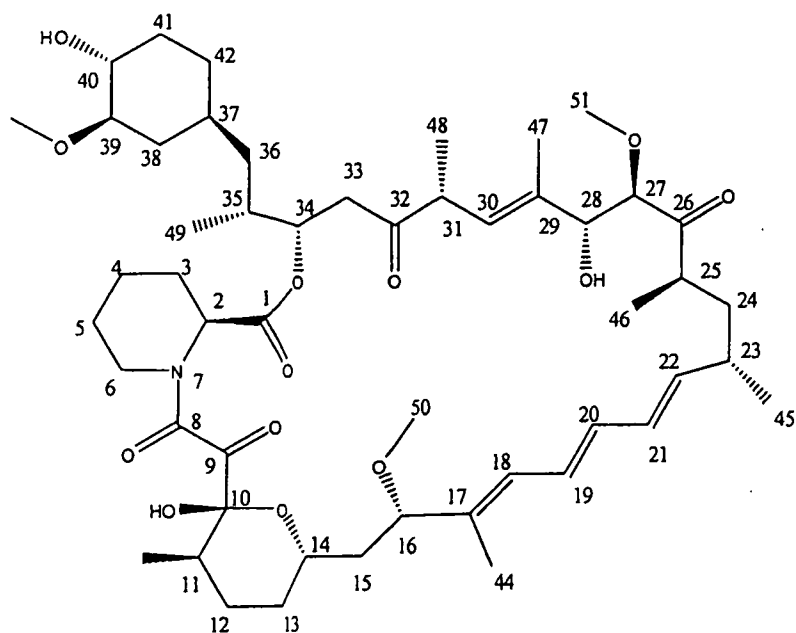
吾人已嘗試雷帕黴素之其他化學修飾。該等包括製備雷帕黴素之單-及二-酯衍生物(Caufield, 1992)、雷帕黴素之27-肱(Failli, 1992a); 雷帕黴素之40-氧代類似物(Caufield, 1991); 二環雷帕黴素(Kao, 1992a); 雷帕黴素二聚體(Kao, 1992b); 雷帕黴素之甲矽烷醚(Failli, 1992b)及芳基磺酸酯及胺基磺酸酯(Failli, 1993)。

除其抗真菌、免疫抑制及抗腫瘤活性外, 西羅莫司亦降低動物模型中新內膜增殖以及人類再狹窄之速率。西羅莫司亦呈現抗炎作用, 該特徵支持可選擇其作為治療類風濕性關節炎之試劑。用西羅莫司類似物(例如依維莫司(everolimus)且尤其左他羅莫司)塗覆之血管支架在臨床試驗中防止再狹窄非常有效。

血管支架及其他可植入醫療裝置

血管支架用來治療由於各種疾病或病況尤其動脈粥樣硬化疾病造成之導管或管道直徑之嚴重減小，且通常於血管成形術後使用。儘管血管支架通常使用於動脈中，但其亦使用於其他結構中，包括靜脈、膽管、食管、氣管、大支氣管、輸尿管及尿道。血管支架係英國牙醫 Charles Stent(1845至1901)之發明。

儘管血管支架在治療有害管腔變窄方面非常有效，但在一種具有醫療諷刺意味的情況下，亦存在再次產生用其來治療之病況之風險。血管支架可能招致管腔內厚內皮組織--新內膜之發展。儘管新內膜發展程度有所不同，但其可生長而堵塞血管管腔，一種類型的再狹窄。

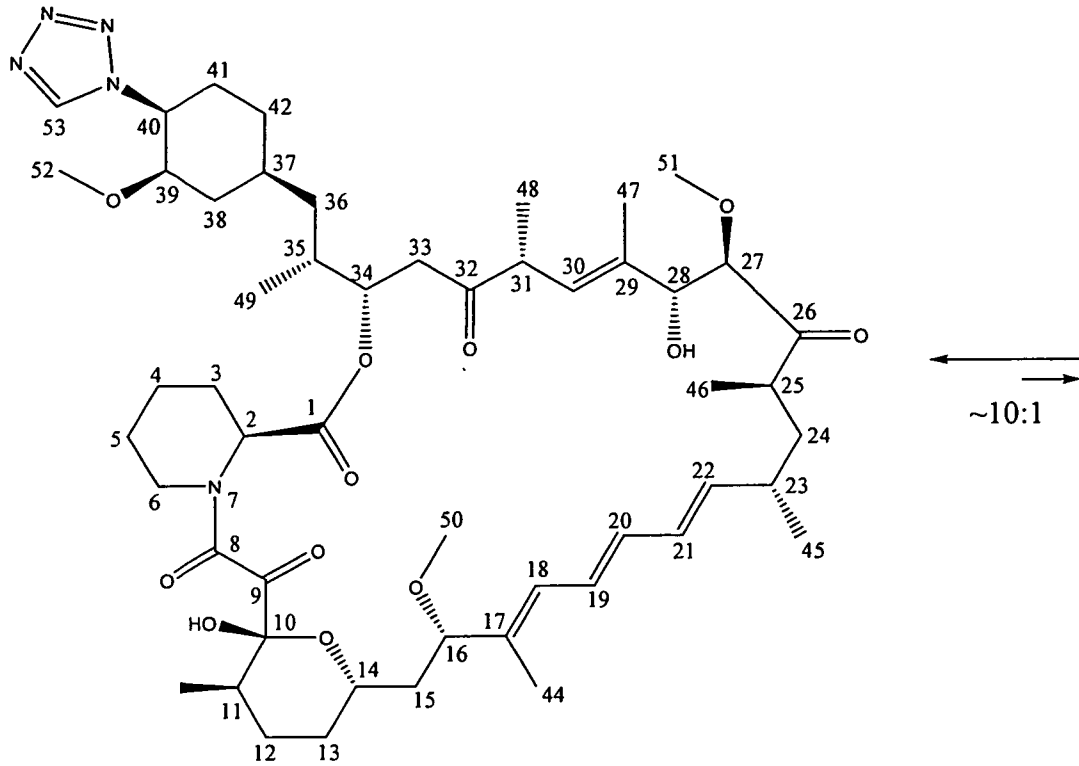


(VI)

西羅莫司(雷帕黴素)

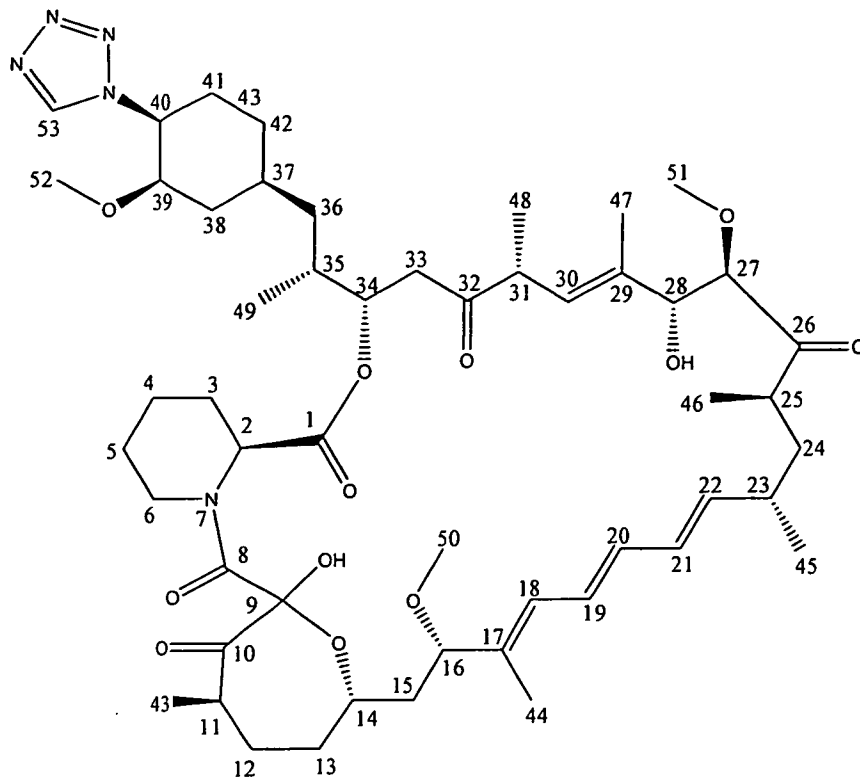
反應圖 1

ABT-578(左他羅莫司)之異構體



(Ia)

吡喃 1(N-1 異構體)



(Ib)

氧雜環庚烷 2

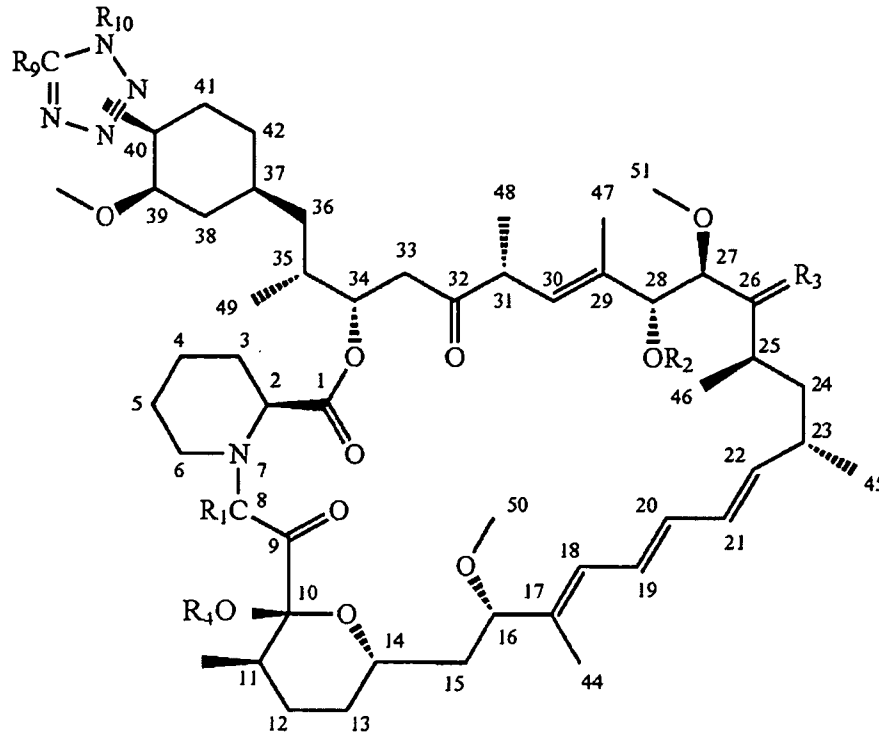
左他羅莫司之先前合成方法

Mollison 提出數種方法自西羅莫司產生左他羅莫司 (Mollison, 2000)。舉例而言，藉由形成三氟甲磺酸鹽活化 C-40 羥基西羅莫司，且然後藉由管柱層析純化該三氟甲磺酸鹽。在三氟甲磺酸鹽純化期間，某些經活化中間體恢復為西羅莫司及其差向異構體即表-西羅莫司，此乃因在層析期間存在水。然後在第二步驟中使該經純化三氟甲磺酸鹽與四唑反應以產生西羅莫司之 40-表-四唑衍生物，即左他羅莫司。然後藉由管柱層析純化該粗產物。然而，即使採用該純化，最終產物仍可能含有西羅莫司及表-西羅莫司雜質。

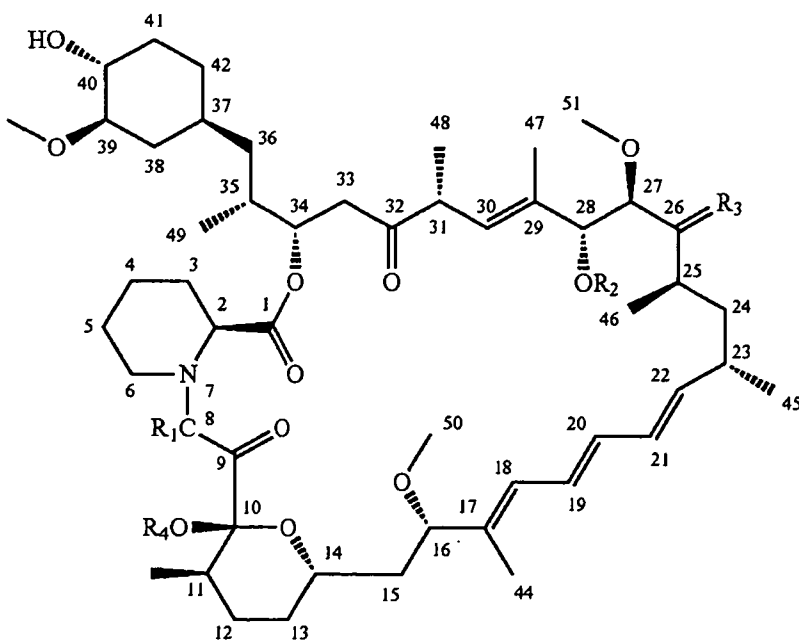
【發明內容】

本發明提供於單槽中製備雷帕黴素衍生物之方法，且提供由此等方法所製備包括抗氧化劑之組合物。

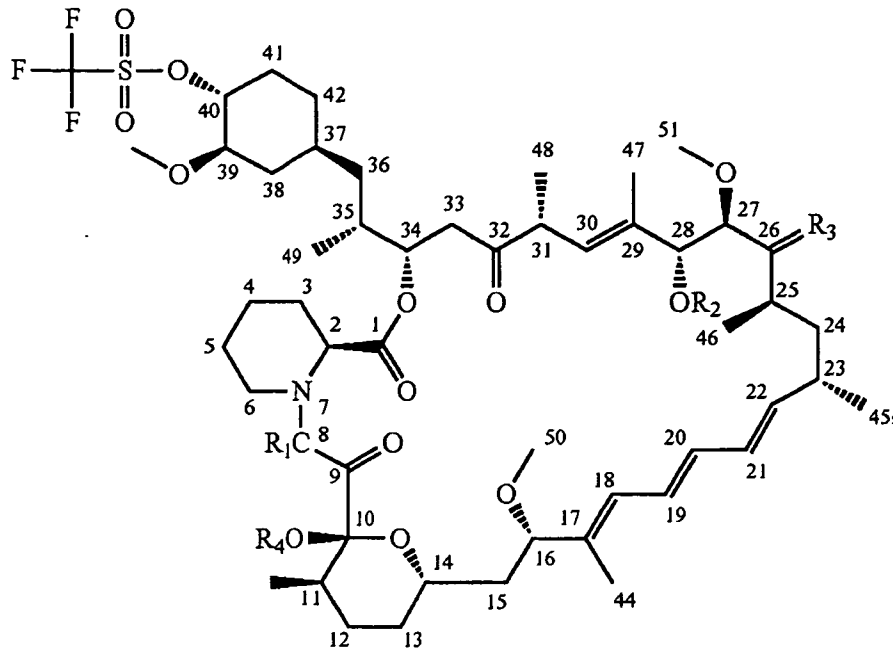
在第一態樣中，本發明提供製備式I之分子之方法：



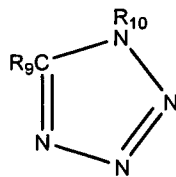
其中在第一步驟(a)中使式II之分子



與三氟甲磺酸酐反應以產生式 III 之分子：



且然後在第二步驟 (b) 中使式 III 之分子與式 IV 之分子反應：



其中

R_1 係選自由 =O (H, H) 及 (H, OH) 組成之群；

R_2 及 R_5 獨立選自由 H、 $-C(=O)R_6$ 、 $-C(=O)OR_6$ 、 $-C(=O)NHR_6$ 及 $-C(=S)OR_6$ 組成之群；

R_3 係選自由 =O 及 OR_5 組成之群；或者 R_2 及 R_3 可一起形成式 $A-C(R_7)(R_8)-O-B$ 之部分，其中 A 係一鍵結，其連接至鍵結於碳 28 之氧，且 B 係一鍵結，其連接至如上所定義之碳 26；

R_4 係選自由 H 及 C_1 - C_4 烷基組成之群；

R_6 係選自由 C_1 - C_{10} 烷基、 C_3 - C_6 環烷基、芳基及雜環基團組成之群；

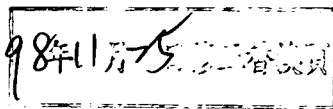
R_7 及 R_8 獨立選自由 H、 C_1 - C_6 烷基組成之群，或 R_7 及 R_8 一起為 =O；

R_9 及 R_{10} 獨立選自由下列基團組成之群：H、烯基、烯基環烯基、烯基環烷基、烷基、烷基環烯基、烷基環烷基、炔基、芳烷基、芳基、環烯基、環烷基、環烷基烷基、環烷基環烷基、環烯基烷基、雜環基、氮雜、醯胺、銨、氧雜、硫雜、磺醯基、亞磺醯基、磺醯胺、磷醯基、氧磷基、磷基、磷、酮、酯、醇、胺基甲酸酯、脲、硫代羰基、硼酸根基、硼烷、硼氮基、甲矽烷基、甲矽烷氧基、矽氮基及其組合。

該方法之步驟(a)係在非親核鹼(例如 2,6-二甲基吡啶或二異丙基乙胺)存在下實施。步驟(a)亦在一溶劑(例如乙酸異丙酯或二氯甲烷)中實施。在某些實施例中，在步驟(b)之前或期間二氯甲烷可替換為乙酸異丙酯。

在由式 IV 所表示之分子中， R_{10} 可係 H，且 R_9 係 H、甲基或苯基。在某些實施例中， R_9 及 R_{10} 皆為 H。

步驟(b)亦在一溶劑(例如非質子溶劑)存在下實施；該非質子溶劑可係(例如)全氟己烷、 α,α,α -三氟甲苯、戊烷、己烷、環己烷、甲基環己烷、十氫化萘、四氯化碳、二氧雜環己烷、氟三氯甲烷、苯、甲苯、三乙胺、二硫化碳、二異丙醚、二乙醚、第三-丁基甲基醚、氯仿、乙酸乙



酯、1,2-二甲氧基乙烷、2-甲氧基乙醚、四氫呋喃、1,2-二甲氧基乙烷、二氯甲烷、吡啶、2-丁酮、丙酮、六甲基磷醯胺、N-甲基吡咯啉酮、硝基甲烷、二甲基甲醯胺、乙腈、環丁砜、二甲基亞砜、二異丙基乙胺、乙酸異丙酯、二氯甲烷、二甲胺、N,N-二甲基甲醯胺或碳酸丙二酯。在某些實施例中，步驟(b)係在二異丙基乙胺與乙酸異丙酯、二氯甲烷、1,2-二甲氧基乙烷、四氫呋喃、乙腈、二甲胺或N,N-二甲基甲醯胺存在下實施。在其他實施例中，步驟(b)係於二異丙基乙胺與乙酸異丙酯或二氯甲烷中實施。

在一具體實施例中，在由式II表示的分子中， R_1 係=O， R_2 係H， R_3 係=O且 R_4 係H。

在另一態樣中，左他羅莫司係藉由本發明新穎方法自雷帕黴素提供。

在另一態樣中，本發明提供由本發明方法所製備之分子與抗氧化劑組合之組合物。此等抗氧化劑包括3,5-二-第三丁基-4-羥基甲苯、DL- α -生育酚、沒食子酸丙酯、棕櫚酸抗壞血酸酯、3-第三-丁基-4-羥基苯甲醚或2-第三-丁基-4-羥基苯甲醚及富馬酸。在一實施例中，該抗氧化劑係3,5-二-第三丁基-4-羥基甲苯。

在另一態樣中，本發明提供由本發明方法所製備之左他羅莫司用抗氧化劑(例如3,5-二-第三丁基-4-羥基甲苯、DL- α -生育酚、沒食子酸丙酯、棕櫚酸抗壞血酸酯、3-第三-丁基-4-羥基苯甲醚或2-第三-丁基-4-羥基苯甲醚及富馬

酸)調配之組合物。在一實施例中，該抗氧化劑係3,5-二-第三丁基-4-羥基甲苯。

本發明提供一種製備西羅莫司在C-40位置之四唑類似物之單槽方法，該方法產生左他羅莫司，實際上消除先前方法之西羅莫司及表-西羅莫司雜質並提出一種製備該藥物的更為有效方法。在該方法中，在非親核鹼如2,6-二甲基吡啶或其他經取代之吡啶如2,6-二-第三-丁基吡啶或2,4,6-三甲基吡啶、吡啶或Hunig's鹼二異丙基乙胺(DIEA)存在下於作為溶劑之乙酸異丙酯(IPAc)或二氯甲烷(DCM)中產生三氟甲磺酸鹽。在三氟甲磺酸鹽形成期間，當使用IPAc作為溶劑時，可過濾該等鹽，且在DIEA存在下使該三氟甲磺酸鹽溶液與四唑反應。在三氟甲磺酸鹽形成期間，當使用DCM作為溶劑時，則可將該溶劑換為IPAc。隨後，與四唑之 S_N2 反應係使用DIEA作為鹼於IPAc及四唑中實施。去除溶劑後，藉由管柱層析用THF/庚烷隨後以庚烷/丙酮對該粗產物實施純化。可藉由用第三-丁基甲基醚(t-BME)/庚烷處理來分離呈固體之經純化產物。如此所得之左他羅莫司在室溫下不穩定，但可藉由添加抗氧化劑(例如BHT(2,6-二-第三-丁基-4-甲基苯酚、丁基化羥基甲苯)、2,6-二-第三-丁基-4-乙基苯酚(DEP)、2,6-二-第三-丁基-4-甲氧基苯酚(DMP))而使其穩定。

該單槽方法之某些顯著優點包括：

1. 消除三氟甲磺酸鹽之純化，其在先前方法中係最終產物中雜質的重要來源；

2. 藉由用 THF:庚烷純化該方法之粗產物，進一步降低在 S_N2 反應期間所形成的西羅莫司及表-西羅莫司副產物含量；
3. 在該 S_N2 反應中使用可容易回收及再使用之非質子溶劑，從而減少由先前方法所招致之成本及環境問題；
4. 藉由溶於 t-BME 並添加庚烷或藉由逆添加步驟容易分離及純化該產物；
5. 藉由添加抗氧化劑容易穩定該潔淨產物；及
6. 藉由於乙腈或乙腈：水中凍乾而容易分離。

定義

"前藥"係指在活體內迅速轉化為母體化合物之化合物，例如藉由在血液中水解。現有全面討論(Higuchi及Stella, 1987; Roche, 1987)。

"醫藥上可接受之前藥"係指本發明化合物之彼等前藥，該等前藥在可靠的醫學判斷範圍內適用於接觸人類或低等動物之組織而無不適當毒性、刺激及過敏性反應，係與合理利益/風險比相稱且對其預期用途非常有效，可能時亦指本發明化合物之兩性離子形式。尤佳之本發明醫藥上可接受之前藥係本發明化合物之C-31羥基之前藥酯。

"前藥酯"係指在生理條件下水解之數種酯形成基團中的任何一種。前藥酯基團之實例包括醯基、乙醯基、新戊醯基、新戊醯基氧基甲基、乙醯氧基甲基、酞基、甲氧基甲基、二氫節基及諸如此類，以及衍生自天然或非天然存在的胺基酸與本發明化合物之C-31羥基偶合之酯基團。

"治療物質"係指當以適宜劑量適宜地投予患者時對該患者具有有益作用之任何物質。

當任一取代基或變項(例如,芳基、烷氧基、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^5 、 R^6 等)在式中出现一次以上時,則每次出現時之此變項或取代基定義皆與所有其他次出現時之其定義無關,除非另有說明。本發明化合物組成中存在取代基及/或變項之組合僅當此等組合產生穩定化合物時方可容許。

在諸如 R^1 之取代基定義中使用括號之名稱(例如,(H,OR⁶))意欲反映有關原子之兩種化合價上的取代基。本發明並不限於特定異構體且圓括號中部分之順序不表明特定構型。

"醯氧基"係指-OC(O)-(烷基)及-OC(O)-(芳基)。

單獨或組合中之"烯基"係指具有一個或多個雙鍵之烷基。此等烯基之實例包括(但不限於)乙烯基、丙烯基、1-丁烯基、順-2-丁烯基、反-2-丁烯基、異-丁烯基、順-2-戊烯基、反-2-戊烯基、3-甲基-1-丁烯基、2,3-二甲基-2-丁烯基、1-戊烯基、1-己烯基、1-辛烯基、癸烯基、十二碳烯基、十四碳烯基、十六碳烯基、順-及反-9-十八碳烯基、1,3-戊二烯基、2,4-戊二烯基、2,3-戊二烯基、1,3-己二烯基、2,4-己二烯基、5,8,11,14-二十碳四烯基及9,12,15-十八碳三烯基。

"烷氧基"係指連接於氧之烷基。

單獨或組合中之"烷基"係指含有自1個至約22個碳原子、自約1個至約18個碳原子或自約1個至約12個碳原子之

直鏈或支鏈烷基。此等基團之實例包括(但不限於)甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、第二-丁基、第三-丁基、戊基、異戊基、己基、辛基、壬基、癸基、十二烷基、十四烷基、十六烷基、十八烷基及二十烷基。

"烷基環烯基"及"烯基環烯基"係指由如上所定義烷基或烯基取代之如上所定義的環烯基。烷基環烯基及烯基環烯基之實例包括(但不限於)1-甲基-2-環戊基、1-己基-2-環戊烯基、1-乙基-2-環己烯基、1-丁基-2-環己烯基、1-(9-十八烯基)-2-環己烯基及1-(2-戊烯基)-2-環己烯基。

"烷基環烷基"及"烯基環烷基"係指由如上所定義烷基或烯基取代之如上所定義的環烷基。烷基環烷基及烯基環烷基之實例包括(但不限於)2-乙基環丁基、1-甲基環戊基、1-己基環戊基、1-甲基環己基、1-(9-十八烯基)環戊基及1-(9-十八烯基)環己基。

單獨或組合中之"炔基"係指具有一個或多個三鍵之烷基。此等炔基之實例包括(但不限於)乙炔基、丙炔基(炔丙基)、1-丁炔基、1-辛炔基、9-十八炔基、1,3-戊二炔基、2,4-戊二炔基、1,3-己二炔基及2,4-己二炔基。

"胺基"係指 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{N}(\text{烷基})_2$ 、 $-\text{NH}(\text{烷基})$ 、 $-\text{N}(\text{芳基})_2$ 及 $-\text{NH}(\text{芳基})$ 。

單獨或組合中之"芳烷基"係指其中一個氫原子由如上所定義芳基取代之如上所定義的烷基或環烷基，例如苄基、2-苯基乙基及諸如此類。

單獨或組合中之"芳基"係指視情況可帶有一個或多個選

自烷基、環烷基、環烯基、芳基、雜環、烷氧基芳基、烷芳基、烷氧基、鹵素、羥基、胺、氰基、硝基、烷硫基、苯氧基、醚、三氟甲基及諸如此類之取代基之苯基或萘基，例如苯基、對-甲苯基、4-甲氧基苯基、4-(第三-丁氧基)苯基、4-氟苯基、4-氯苯基、4-羥基苯基、1-萘基、2-萘基及諸如此類。

單獨或組合中之"環烯基"係指具有一個或多個雙鍵之環烷基。環烯基之實例包括(但不限於)環戊烯基、環己烯基、環辛烯基、環戊二烯基、環己二烯基及環辛二烯基。

"環烯基烷基"係指由如上所定義環烯基取代之如上所定義的烷基。環烯基烷基之實例包括(但不限於)2-環己烯-1-基甲基、1-環戊烯-1-基甲基、2-(1-環己烯-1-基)乙基、3-(1-環戊烯-1-基)丙基、1-(1-環己烯-1-基)戊基、1-(1-環戊烯-1-基)己基、6-(1-環己烯-1-基)己基、1-(1-環戊烯-1-基)壬基及1-(1-環己烯-1-基)壬基。

單獨或組合中之"環烷基"係指含自3個至約10個、較佳自3個至約8個且最佳自3個至約6個碳原子之環烷基。此等環烷基之實例包括(但不限於)環丙基、環丁基、環戊基、環己基、環庚基、環辛基及全氫萘基。

"環烷基烷基"係指由如上所定義環烷基取代之如上所定義的烷基。環烷基烷基之實例包括(但不限於)環己基甲基、環戊基甲基、(4-異丙基環己基)甲基、(4-第三-丁基-環己基)甲基、3-環己基丙基、2-環己基甲基戊基、3-環戊基甲基己基、1-(4-辛戊基環己基)甲基己基及1-(4-異丙基

環己基)甲基庚基。

"環烷基環烷基"係指由如上所定義另一環烷基取代之如上所定義的環烷基。環烷基環烷基之實例包括(但不限於)環己基環戊基及環己基環己基。

"鹵素"包括氟-、氯-、溴-及碘-。

"雜環"包括穩定5-員至7-員單-或二環或穩定7-員至10-員二環雜環，其可係飽和或不飽和的且由碳原子及自1個至3個獨立選自由N、O及S組成之群之雜原子組成，且其中該等氮及硫雜原子可被氧化且該氮雜原子可四級化，並且雜環包括其中雜環稠合至苯環之任一二環基團。可在產生穩定結構之任一雜原子或碳原子處連接該雜環。雜環成員之實例包括六氫吡啶基(piperidyl)、六氫吡啶基(piperidinyl)、六氫吡嗪基、嘓啶基、嗒嗪基、噁唑基、呋喃基及噻吩基。該雜環可以使連接於雜原子之碳原子不直接由雜原子、由1至4個可係C₁-C₆烷基、芳基、羥基、C₁-C₆烷氧基、醯氧基、胺基、N-醯胺基、硝基及鹵素之成員取代之方式經取代。

"雜環"指環中含至少一除碳以外的其他種類原子之環結構。最常見的其他種類原子包括氮、氧及硫。雜環之實例包括(但不限於)吡咯啶基、六氫吡啶基、咪唑啶基、四氫呋喃基、四氫噻吩基、呋喃基、噻吩基、吡啶基(pyridyl)、喹啉基、異喹啉基、嗒嗪基、吡嗪基、吡嗪基、咪唑基、噁唑基、噻唑基、吡唑基、吡啶基(pyridinyl)、苯并噁二唑基、苯并噻二唑基、三唑基及四

唑基。

"酮"指 $-C(O)-$ 。

"N-醯胺基"指 $-NHC(O)-$ (烷基)及 $-NHC(O)-$ (芳基)。

"含氮雜環"係指其中該環之2個碳及1個氮亦係十五員大環配體之一部分的環結構。可包含自約2個至約20個或自約4個至約10個碳原子之環10結構可經取代或未經取代，部分或完全不飽和或飽和，且亦可在不為該十五員大環配體之一部分之環的部分中包含氮、氧及/或硫原子。

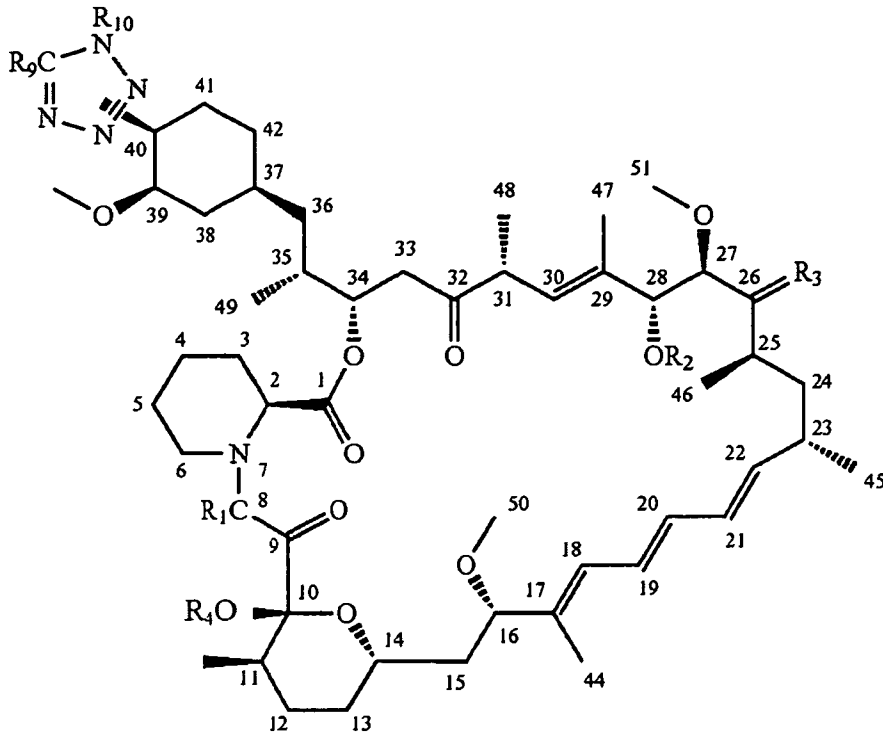
"飽和、部分飽和或不飽和環"指其中該環之2個碳亦為該十五員大環配體之一部分的稠合環結構。該環結構可包含自約3個至約20個碳原子或自約5個至約10個碳原子，且亦可包含一個或多個除碳以外的其他種類原子。最常見的其他種類原子包括氮、氧及硫。該環結構亦可包含一個以上環。

"飽和、部分飽和或不飽和環結構"指其中該環之一個碳亦為該十五員大環配體之一部分的環結構。該環結構可包含自約3個至約20個或自約5個至約10個碳原子且亦可包含氮、氧及/或硫原子。

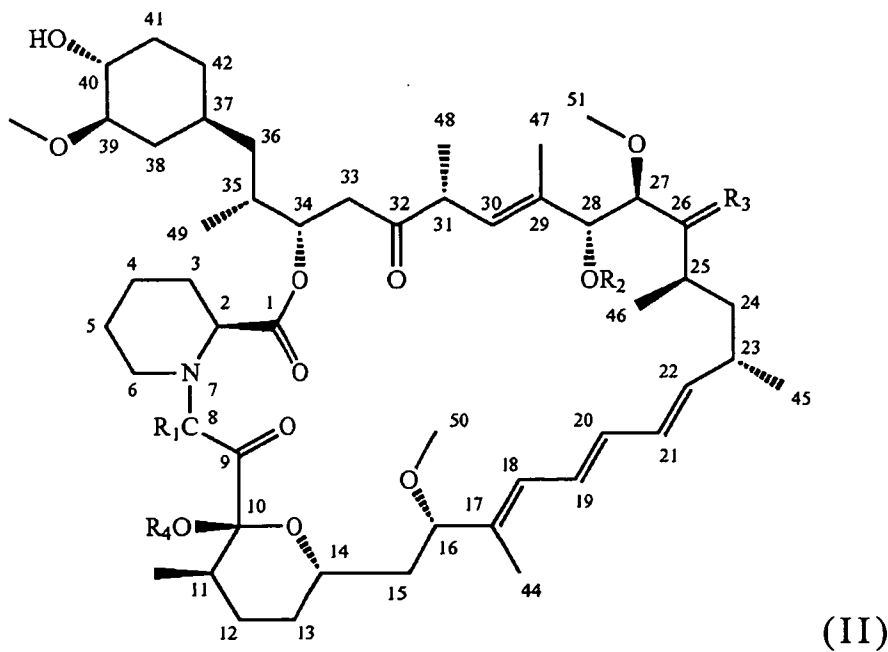
【實施方式】

為製備式I之分子：

101年8月17日修正替換頁



使式II之分子：



其中

R₁係=O(H, H)或(H, OH)；

R₂及R₅獨立係H、-C(=O)R₆、-C(=O)OR₆、-C(=O)NHR₆

101.8.17

或 $-C(=S)OR_6$ ；

R_3 係 $=O$ 或 OR_5 ； 或者 R_2 及 R_3 可一起形成式 $A-C(R_7)(R_8)-O-B$ 之部分， 其中 A 係一鍵結， 其連接至鍵結於碳 28 之氧， 且 B 係一鍵結， 其連接至如上所定義之碳 26 ；

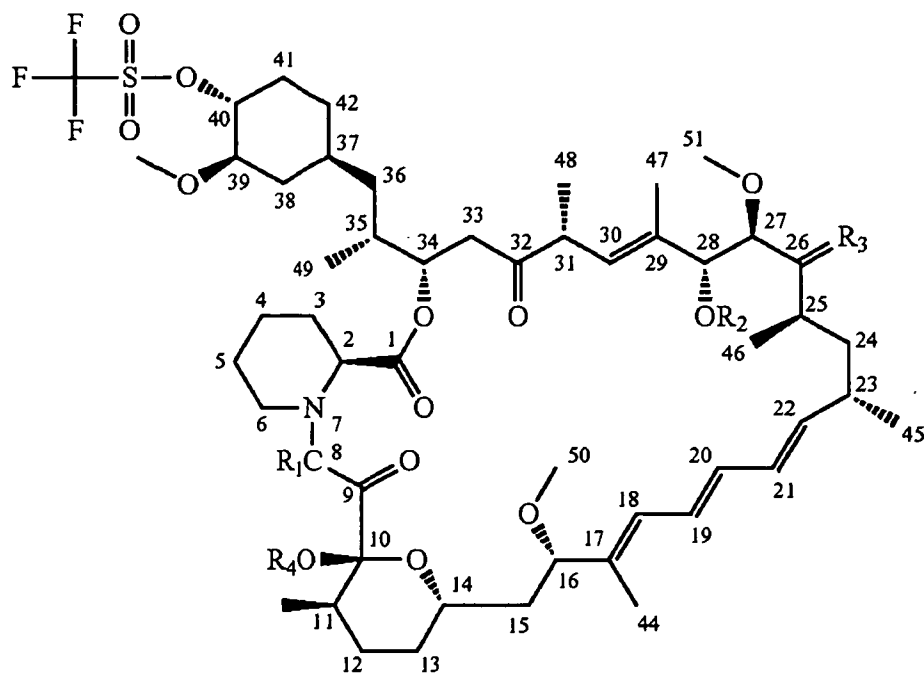
R_4 係 H 或 C_1-C_4 烷基 ；

R_6 係 C_1-C_{10} 烷基、 C_3-C_6 環烷基、 芳基或雜環基團 ；

R_7 及 R_8 獨立係 H 、 C_1-C_6 烷基， 或者 R_7 及 R_8 一起為 $=O$ ；

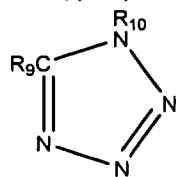
與三氟甲磺酸酐反應以產生式 III 之分子， 完成步驟

(a) ；



(III) ；

然後使其與式 IV 之分子反應 ；



(IV)

其中

R_9 及 R_{10} 獨立係H、烯基、烯基環烯基、烯基環烷基、烷基、烷基環烯基、烷基環烷基、炔基、芳烷基、芳基、環烯基、環烷基、環烷基烷基、環烷基環烷基、環烯基烷基、雜環基、氮雜、醯胺、銨、氧雜、硫雜、磺醯基、亞磺醯基、磺醯胺、磷醯基、氧磷基、磷基、鏷、酮、酯、醇、胺基甲酸酯、脲、硫代羰基、硼酸根基、硼烷、硼氮基、甲矽烷基、甲矽烷氧基、矽氮基或其組合。

且完成步驟(b)。

步驟(a)

在式II之分子中， R_1 較佳係O， R_2 較佳係H， R_3 較佳係O且 R_4 較佳係H。

鹼 步驟(a)係在非親核鹼較佳在2,6-二甲基吡啶或二異丙基乙胺存在下實施。

溶劑 該步驟亦係在一溶劑(例如乙酸異丙酯或二氯甲烷)存在下實施。若該溶劑係二氯甲烷，則在步驟(b)之前或期間可將其替換成乙酸異丙酯。

步驟(b)

在式IV之分子中， R_{10} 較佳係H，且 R_9 係選自由H、甲基及苯基組成之群之一個基團，且更佳地 R_9 及 R_{10} 皆為H。

溶劑 步驟(b)亦在一溶劑較佳在非質子溶劑存在下實施。非質子溶劑之實例包括全氟己烷、 α,α,α -三氟甲苯、戊烷、己烷、環己烷、甲基環己烷、十氫化萘、四氯化碳、二氧雜環己烷、氟三氯甲烷、苯、甲苯、三乙胺、二硫化碳、二異丙醚、二乙醚、第三-丁基甲基醚、氯仿、

98年11月 修正替換頁

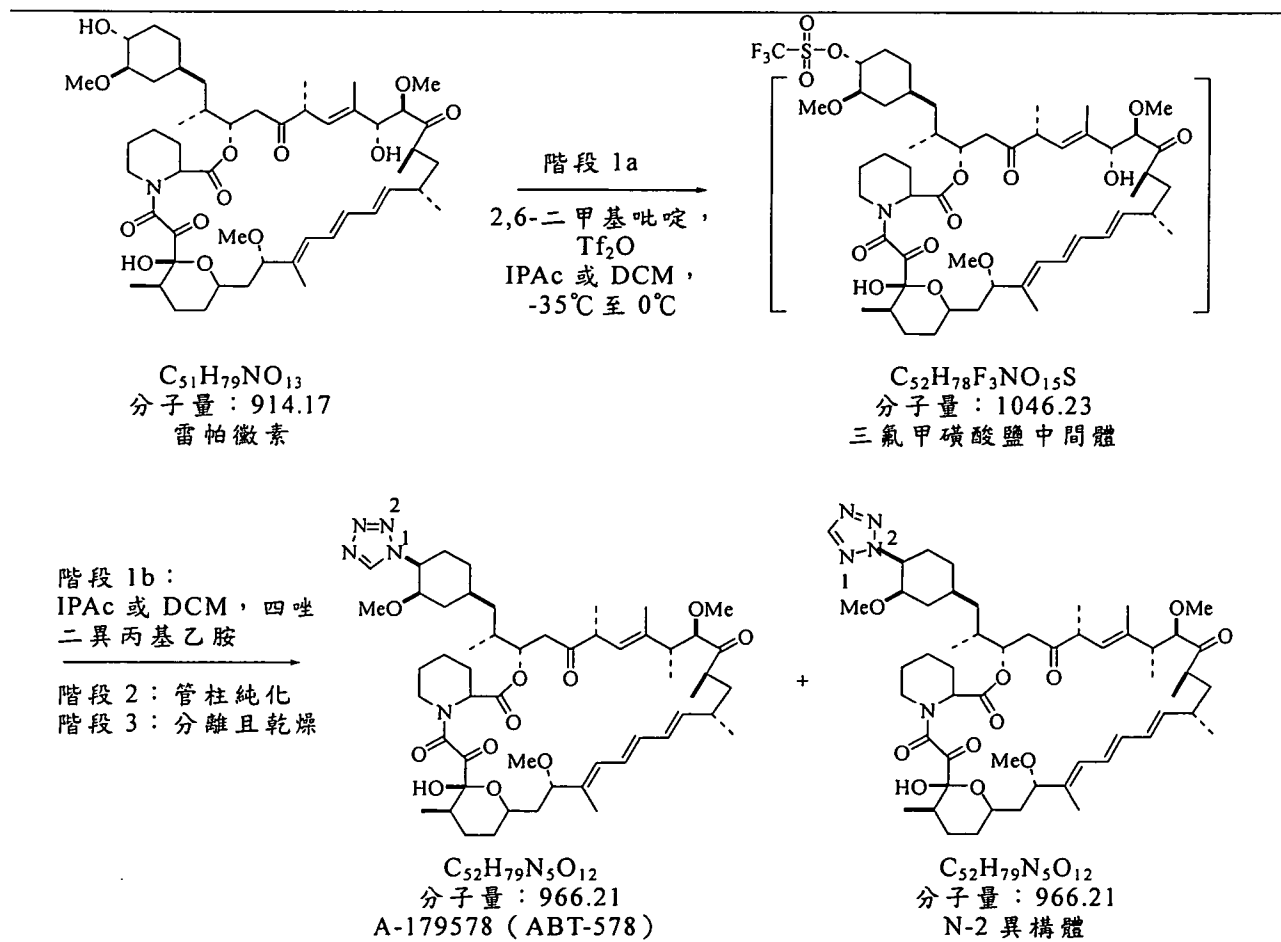
乙酸乙酯、1,2-二甲氧基乙烷、2-甲氧基乙醚、四氫呋喃、1,2-二甲氧基乙烷、二氯甲烷、吡啶、2-丁酮、丙酮、六甲基磷醯胺、N-甲基吡咯啉酮、硝基甲烷、二甲基甲醯胺、乙腈、環丁砜、二甲基亞砜、二異丙基乙胺、乙酸異丙酯、二氯甲烷、二甲胺、N,N-二甲基甲醯胺及碳酸丙二酯。可使用其他非質子溶劑。較佳之非質子溶劑包括二異丙基乙胺、乙酸異丙酯、二氯甲烷、1,2-二甲氧基乙烷、四氫呋喃、乙腈、二甲胺及N,N-二甲基甲醯胺；最佳者係二異丙基乙胺與乙酸異丙酯或二氯甲烷。

反應圖2表示本發明較佳實施例之概要；圖1顯示概述製備左他羅莫司之單槽方法中之步驟之流程圖。在第一實施例中，將西羅莫司(購得或如(Paiva等人，1991; Sehgal等人，1975; Vezina等人，1975)中所述而製備)溶於DCM：甲苯(例如1:2)中100。將該反應混合物濃縮至乾燥狀態105，且較佳使用DCM：甲苯再重複該共沸乾燥製程105 1次至5次，更佳2次至4次，最佳2次。將該所得發泡固體溶於IPAc中110，且然後添加2,6-二甲基吡啶115。使該溶液冷卻至-30°C 115。然後將三氟甲磺酸酐緩慢添加至該溶液中115。於攪拌該反應混合物後，在氮氣下過濾該溶液。用IPAc洗滌125該等經回收鹽120。向該等鹽中添加1-H-四唑及DIEA 130。在室溫(例如22至25°C)下攪拌該反應混合物135並然後進行濃縮。使用(例如)矽膠管柱且使用(例如)1:1 THF：庚烷來溶離而純化該粗反應混合物140。監

測該等溶離份以得到N-1異構體(其溶離較N-2異構體慢)，彙聚並進行濃縮形成油。使該油溶於最少量DCM中且將該溶液裝載於填充有(例如)65:35庚烷：丙酮之矽膠管柱上145。用(例如)65:35庚烷：丙酮溶離該管柱，監測該等溶離份以得到純產物，彙聚並進行濃縮150。

反應圖2

合成左他羅莫司之單槽方法之概要



然後將該經純化產物溶於第三-BME中，且然後緩慢添加正庚烷以形成沉澱，同時劇烈攪拌該溶液150。在 5°C 至 10°C 下攪拌該等沉澱固體，過濾，再次用庚烷洗滌並在漏斗上用氮氣乾燥。使該產物溶於丙酮中並用BHT進行處理

155。使該溶液濃縮，溶於丙酮中且然後濃縮至乾燥狀態。然後在真空下於47°C乾燥該產物160。

在第二較佳實施例中，其流程圖示於圖2中，將西羅莫司溶於DCM中200, 205。然後添加2,6-二甲基吡啶，使該溶液冷卻至-30°C並緩慢添加三氟甲磺酸酐210。使該反應混合物215混合並添加四唑，隨後添加DIEA 220。使該反應混合物在約25°C下培育225，且然後裝載於(例如)於1:1 THF：正庚烷(v/v)中製備之矽膠管柱上230。用1:1 THF：正庚烷純化該粗反應混合物。收集包含該產物之溶離份並進行濃縮235。使該等濃縮固體溶於最少量DCM中並裝載於填充有(例如)70:30正庚烷：丙酮之矽膠管柱上240。溶離該管柱，並濃縮含純產物之溶離份245。使該經純化產物溶於第三-BME中並緩慢添加至正庚烷中250。過濾該等沉澱固體，用正庚烷洗滌並進行乾燥255。將BHT添加至該等固體中，且將該等固體溶於丙酮中，過濾並進行濃縮260。用丙酮處理該殘餘物2次260且每次皆使其濃縮至乾燥狀態。然後在真空下乾燥該產物260。

在第三實施例中，將西羅莫司(雷帕黴素)溶於二氯甲烷中。添加2,6-二甲基吡啶，且使該溶液冷卻至-30°C。緩慢添加三氟甲磺酸酐。於攪拌該反應後，使該溶液溫熱至10°C。濃縮該反應溶液並將該殘餘物溶於IPAC中。添加1-H-四唑，隨後添加DIEA，且在22至25°C下攪拌該反應混合物。然後濃縮該溶液，且在用(例如)1:1 THF：庚烷溶離之矽膠管柱上進行純化。收集包含N-1異構體之溶離份，彙

聚並進行濃縮。使該所得油溶於最少量DCM中並裝載於填充有(例如)65:35庚烷：丙酮之矽膠管柱上。用庚烷：丙酮溶離該管柱，並濃縮包含該純產物之該等溶離份。使該濃縮物溶於第三-BME中並緩慢添加至正庚烷中，同時加以劇烈攪拌。然後在5至10°C下攪拌該沉澱不超過1小時，過濾，用庚烷洗滌並在漏斗用氮氣乾燥。將BHT添加至該等固體中，且使該混合物溶於丙酮中。然後使該溶液通過一過濾器並進行濃縮。再用丙酮處理該殘餘物2次，且每次皆濃縮至乾燥狀態。在真空下於50°C乾燥該最終產物。

在本發明方法中可對不同試劑加以替代以實施本發明。例如，2,6-二-第三-丁基吡啶及DIEA可替代2,6-二甲基吡啶以製備三氟甲磺酸鹽。在該步驟可使用其他鹼，包括吡啶、其他經取代之吡啶例如2,6-二-第三-丁基吡啶或2,4,6-三甲基吡啶及4-二甲基氨基吡啶(DMAP)、N-甲基嗎啉及其他為熟習此項技術者所易知者。在本發明方法中亦可使用各種不同溶劑、鹼(不是DIEA)及親核劑(不是四唑)。實例提供於下文表1中。

表1

各種不同鹼中S_N2置換反應

反應條件	注釋
IPAc/DIEA	有利於生成N-1異構體
DCM/DIEA	異構體N-1:N-2之比率相同
IPAc/DIEA	1/2當量DIEA，反應緩慢
DME/DIEA	類似於IPAc
THF/DIEA	類似於IPAc
二氧雜環己烷/DIEA	與IPAc相同

ACN/DIEA	反應緩慢，比率低
DMA/DIEA	分解
DMF/DIEA	分解
IPAc/Lut	反應極慢，分解
IPAc/TEA	緩慢，異構體N-1:N-2之比率相同
IPAc/NMM	反應緩慢，有利於生成N-2異構體
THF/TEA	低N-1:N-2比率
IPAc/DBU	多相反應，有利於生成N-2異構體
IPAc/K ₂ CO ₃	多相反應，有利於生成N-2異構體
IPAc/DMAP	多相反應
IPAc/無鹼	三氟甲磺酸鹽分解
THF/KOtBu	多相，緩慢，有利於生成N-2異構體，分解
IPAc/DIEA	33°C下加熱，反應速率升高

鹼及溶劑。強鹼(例如1,8-二氮雜雙環[5.4.0]十一碳-7-烯(DBU)、碳酸鉀(K₂CO₃)、4-二甲基胺基吡啶(DMAP)及第三丁醇鉀(KOtBu)大量分解且通常有利於N-2異構體形成且因此並非首選。較弱鹼(例如二甲基吡啶、TEA及NMM)減緩S_N2反應且以約1:1比率形成N-1及N-2異構體二者。非質子溶劑(例如IPAc、DME、二氧雜環己烷及THF)性能好，有利於生成N-1異構體且為較佳。使用DCM以約1:1比率得到異構體。非質子極性溶劑諸如DMA及DMF導致該反應產物分解。

溫度。可藉由加熱加速該反應，儘管通常可觀察到分解。然而，該反應通常在4小時內或更快時間內完成；因此可儘早處理該反應混合物，最大程度減少降解。加速該S_N2置換反應之較佳溫度包括20°C至35°C，較佳22°C至33°C，更佳25°C至33°C，且最佳28°C至30°C。

替代親核劑。一般而言，5-經取代之四唑可替代四唑。舉例而言，當取代四唑時5-甲基四唑及5-苯基四唑較佳。5-經取代之四唑較佳，此乃因其有利於產生N-2異構體。

抗氧化劑。為穩定由該單槽方法製備之左他羅莫司，可使用抗氧化劑。其可以至約1重量%、更佳自0.05%至0.75%且在3,5-二-第三丁基-4-羥基甲苯(BHT)之情形中以0.5%存在於組合物中。抗氧化劑之實例包括3,5-二-第三丁基-4-羥基甲苯、DL- α -生育酚、沒食子酸丙酯、棕櫚酸抗壞血酸酯、3-第三-丁基-4-羥基苯甲醚或2-第三-丁基-4-羥基苯甲醚及富馬酸。較佳地，該抗氧化劑係BHT。

實例

實例1 使用過濾之二氯甲烷-甲苯乙酸異丙酯單槽製程(1)

在該實例中，使用二氯甲烷、甲苯及乙酸異丙酯以單槽製程自雷帕黴素製備左他羅莫司；然後純化該製劑，濃縮並進行乾燥。然後該經純化產物藉由得自COSY、ROESY、TOCSY、HSQC及HMBC之其 ^1H 、 ^{13}C NMR共振光譜表徵。

將雷帕黴素(10克)溶於二氯甲烷(DCM, 25毫升)及甲苯(50毫升)中。將該反應混合物濃縮至乾燥狀態。用DCM/甲苯重複該共沸乾燥製程2次。將該發泡固體溶於乙酸異丙酯(IPAc, 65毫升)中，並添加2,6-二甲基吡啶(3.2毫升)。在乙腈乾燥冰浴中使溶液冷卻至 -30°C ，並在10分鐘內緩慢添加三氟甲磺酸酐(2.8毫升)。攪拌該反應混合物30分

鐘，且然後在氮氣氛下過濾。用 IPAc(10 毫升)洗滌該等鹽。添加 1-H-四唑(2.3 克)，隨後添加二異丙基乙胺(DIEA, 7.4 毫升)。在室溫下攪拌該反應混合物 6 小時，且然後進行濃縮。在用 1:1 THF/庚烷溶離之矽膠管柱(350 克)上純化該粗反應混合物。收集較遲溶離的含產物之溶離份(主要 N-1 異構體)並進行濃縮。使該濃縮油溶於最少量 DCM 中並裝載於填充有 65:35 庚烷：丙酮之矽膠管柱上。用 65:35 庚烷：丙酮溶離該管柱，並濃縮含純產物之溶離份。

然後使該經純化產物溶於第三-丁基甲基醚(第三-BME, 13.5 克)中，且緩慢添加正庚烷(53 克)同時加以劇烈攪拌。在 5 至 10°C 下攪拌該等沉澱固體 2 小時，過濾，用庚烷洗滌並在漏斗上用氮氣乾燥以得到 3.2 克濕產物。將該等固體(1.0 克)溶於丙酮(10 毫升)中並用 2,6-二-第三-丁基-4-乙基苯酚(DEP, 0.2%)進行處理。使該溶液濃縮，溶於丙酮(10 毫升)中並濃縮至乾燥狀態。在真空下於 47°C 乾燥該產物 18 小時，得到 0.83 克左他羅莫司。該產物由得自其 COSY、ROESY、TOCSY、HSQC 及 HMBC 之其 ^1H 、 ^{13}C NMR 共振光譜表徵。

^1H -NMR (DMSO- d_6 , 括號中位置): ppm 0.73 (Me, 43); 0.81 (Me, 49); 0.84 (Me, 46); 0.89 (Me, 48); 0.98 (Me, 45); 1.41, 1.05 (CH₂, 24); 1.18, 1.10 (CH₂, 36); 1.52 (CH, 37); 1.53 (CH₂, 12 & 42); 1.59, 1.30 (CH₂, 5); 1.41, 1.67 (CH₂, 4); 1.11, 1.73 (CH₂, 38); 1.21, 1.83 (CH₂, 15); 1.21, 1.83

(CH₂, 13); 1.62 (Me, 44); 1.73 (Me, 47); 1.76 (CH, 35); 1.60, 2.09 (CH₂, 3); 1.93, 2.21 (CH₂, 41); 2.05 (CH, 11); 2.22 (CH, 23); 2.47 (CH, 25); 2.40, 2.77 (CH₂, 33); 3.06 (OCH₃, 50); 3.16 (OCH₃, 51); 3.22, 3.44 (CH₂, 6); 3.29 (OCH₃, 52); 3.29 (CH, 31); 3.60 (CH, 39), 3.62 (CH, 16); 3.89 (CH, 27); 4.01 (CH, 14); 4.02 (CH, 28); 4.95 (CH, 2); 5.02 (CH, 34); 5.10 (=CH, 30); 5.17 (CH, 40); 5.24 (OH, 28); 5.46 (=CH, 22); 6.09 (=CH, 18); 6.15 (=CH, 21); 6.21 (=CH, 20); 6.42 (=CH, 19); 6.42 (OH, 10), 9.30 (CH, 53)。

¹³C NMR (DMSO-d₆, 括號中位置) : ppm 10.4 (Me, 44); 13.1 (Me, 47); 13.6 (Me, 46); 14.5 (Me, 49); 15.5 (Me, 43 & 48); 20.3 (CH₂, 4); 21.6 (Me, 45); 24.4 (CH₂, 4); 26.2 (CH₂, 12); 26.4 (CH₂, 3); 26.8 (CH₂, 41); 27.2 (CH₂, 42); 29.6 (CH₂, 13); 31.6 (CH₂, 38), 31.7 (CH, 37); 32.9 (CH, 35); 34.8 (CH, 11); 35.2 (CH, 23); 38.2 (CH₂, 36); 39.1 (CH, 25); 39.4 (CH₂, 33); 39.6 (CH₂, 24), 40.0 (CH₂, 15); 43.4 (CH₂, 6); 45.2 (CH, 31); 50.6 (CH, 2); 55.4 (OCH₃, 50); 55.8 (OCH₃, 52); 57.0 (OCH₃, 52); 55.9 (CH, 40); 66.2 (CH, 14); 73.4 (CH, 34); 75.6 (CH, 28); 77.4 (CH, 39); 82.3 (CH, 16); 85.7 (CH, 27); 99.0 (CH, 10); 125.3 (=CH, 30); 127.0 (=CH, 18 & 19); 130.4 (=CH, 21); 132.2 (=CH, 20); 137.2 (=CMe, 29); 137.7 (=CMe, 17); 139.2 (=CH, 22); 144.6 (CH, 53); 167.0 (C=O, 8); 169.1 (C=O, 1); 199.0 (C=O, 9); 207.5 (C=O, 32); 210.7 (C=O, 26)。

實例2：二氯甲烷-乙酸異丙酯單槽製程(2)

在該實例中，使用二氯甲烷及乙酸異丙酯以單槽製程自雷帕黴素製備左他羅莫司。然後純化該化合物，濃縮並進行乾燥。

將雷帕黴素(10克)溶於二氯甲烷(DCM, 100克)中。添加2,6-二甲基吡啶(2.92克)。在乙腈乾燥冰浴中使該溶液冷卻至-30°C，並在10分鐘內緩慢添加三氟甲磺酸酐(4.62毫升)。攪拌該反應混合物20分鐘，且然後使其在15分鐘內溫熱至10°C。然後濃縮該反應溶液。將該殘餘物溶於IPAc(55克)中。然後添加1-H-四唑(2.68克)，隨後添加二異丙基乙胺(DIEA, 7.08克)。使該反應混合物在室溫下攪拌6小時且然後進行濃縮。在用1:1 THF:庚烷溶離之矽膠管柱(360克)上純化該粗反應混合物。收集較遲溶離的含產物之溶離份(主要N-1)並進行濃縮。使該濃縮油溶於最少量DCM中並裝載於填充有65:35庚烷:丙酮之矽膠管柱(180克)上。然後用65:35庚烷:丙酮溶離該管柱並濃縮含純產物之溶離份。

使該純化產物溶於第三-丁基甲基醚(第三-BME, 23克)中且緩慢添加至正庚烷(80克)中同時加以劇烈攪拌。在5至10°C下攪拌該等沉澱固體不超過1小時，過濾，用庚烷洗滌並在漏斗上用氮氣乾燥。將BHT(0.015克)添加至該等固體中。將該等固體溶於丙酮(20克)中，使其經過一過濾器並進行濃縮。用丙酮處理該殘餘物2次(20克)，且每次皆濃縮至乾燥狀態。然後在真空下於至多50°C乾燥該產物18小

時以得到2.9克左他羅莫司。

實例3：二氯甲烷單槽製程(3)

在該實例中，使用二氯甲烷以單槽製程自雷帕黴素製備左他羅莫司。然後使該化合物純化，濃縮並以實例2中所述之方式進行乾燥。

將雷帕黴素(7.5克)溶於DCM(30克)中。添加2,6-二甲基吡啶(1.76克)。在乙腈乾燥冰浴中使溶液冷卻至 -30°C ，並在10分鐘內緩慢添加三氟甲磺酸酐(2.89克)。攪拌該反應混合物20分鐘，且然後分析雷帕黴素之存在以測定在該反應中消耗量。添加1-H-四唑(1.44克)，隨後添加DIEA(5.29克)。在室溫下攪拌該反應混合物6小時，且然後直接裝載於以1:1 THF：正庚烷(v/v)製備之矽膠(270克)管柱上。用1:1 THF：正庚烷純化該粗反應混合物。收集較遲溶離的含產物之該等溶離份並進行濃縮。使該等濃縮固體溶於最少量DCM中並裝載於填充有70:30正庚烷：丙酮之矽膠管柱(135克)上。用70:30正庚烷：丙酮溶離該管柱並濃縮如藉由薄層層析(TLC)標識之含純產物的溶離份。

使該經純化產物溶於第三-BME(9克)中，且在 $10\pm 10^{\circ}\text{C}$ 下緩慢添加至正庚烷(36克)中同時加以劇烈攪拌。在5至 10°C 下攪拌該等沉澱固體不超過1小時，過濾，用正庚烷洗滌並在漏斗上用氮氣乾燥。將BHT(0.006克)添加至該等固體中。將該等固體溶於丙酮(20克)中，使其經過一過濾器並進行濃縮。用丙酮處理該殘餘物2次(每次20克)且每次皆濃縮至乾燥狀態。在真空下於至多 50°C 乾燥該產物不超過18

小時以得到2.5克左他羅莫司。

當在步驟1a中在作為非親核劑之2,6-二-第三-丁基吡啶或2,4,6-三甲基吡啶(2,3,5-三甲基吡啶)存在下使用雷帕黴素實施時上述製程得到可接受純度之左他羅莫司，但收率較低。

實例4：藉由單槽合成方法製備之左他羅莫司之高壓液相層析(HPLC)純化

在該實例中，藉助本發明單槽合成方法(使用DCM)自雷帕黴素製備左他羅莫司，且然後藉助HPLC使其經受另外一輪純化。

將雷帕黴素(3.75克)溶於二氯甲烷(DCM, 15克)中。然後添加2,6-二甲基吡啶(0.88克)。在乙腈乾燥冰浴中使該溶液冷卻至 -30°C ，並在10分鐘內緩慢添加三氟甲磺酸酐(1.45克)。攪拌該反應混合物20分鐘，且然後添加1-H-四唑(0.72克)，隨後添加DIEA(2.65克)。在 25°C 下攪拌該反應混合物6小時，且然後直接裝載於以70:30正庚烷：丙酮製備之矽膠(115克)管柱上。用70:30正庚烷：丙酮純化該粗反應混合物。收集含產物之該等溶離份並進行濃縮。

使該等濃縮固體溶於乙腈-水中並裝載於C-18 TechniKrom管柱(5公分 \times 25公分)上，並用含0.1% BHT之64:36乙腈-水進行溶離。藉由反相(RP)-HPLC分析溶離份，且彙聚產物溶離份並進行濃縮以去除乙腈。用乙酸乙酯或乙酸異丙酯提取該產物，乾燥(硫酸鈉)並進行濃縮。

將該經純化產物溶於第三-BME(4.5克)中，且在約 10°C

下緩慢添加至正庚烷(18克)中同時加以劇烈攪拌。在5至10°C下攪拌該等沉澱固體不超過1小時，過濾，用正庚烷洗滌並在漏斗上用氮氣乾燥。將BHT(0.005克)添加至該等固體中。將該等固體溶於丙酮(20克)中，使其經過一過濾器並進行濃縮。用丙酮處理該殘餘物2次(20克)，且每次皆濃縮至乾燥狀態。在真空下於至多50°C乾燥該產物不超過18小時以得到1.2克高品質左他羅莫司。

實例5：藉由單槽合成方法製備之左他羅莫司之穩定性分析

該實例表明可使用抗氧化劑穩定由本發明方法製備之左他羅莫司。

由該等單槽方法所製備之若干左他羅莫司隨時間會損失相當大的效能。該效能損失在溫度升高時有所升高，但在雜質分佈圖中無明顯變化。表2給出在不同時間間隔及溫度條件下大量左他羅莫司之效能。舉例而言，即使在密封容器中於室溫下(25°C)，經3個月效能由95.1%降低至69.8%。當在40°C下貯存時，該損失在密封容器中加劇-僅經2個月即由96.0%降低至37.4%。

隨後研究揭示該效能損失係由於分子的氧化降解，此可產生多種降解產物。使用苯類抗氧化劑及標識BHT作為適宜化合物實施穩定性研究以防止該氧化。表3及4給出在不同濃度(由% w/w表示)及溫度下使用BHT之穩定性數據。舉例而言，在40°C下，經過約3個月0.5% BHT可使效能由初始96.5%保持至最終效能95.9%，然而當在類似條件下不存在BHT時，僅在2個月後效能即已由96%暴降至37.4%。

表 2

左他羅莫司之穩定性數據(溫度錶明貯存狀況；%效能)

合成後時間	5°C(密封)	25°C(密封)	25°C(未密封)	40°C(密封)
初始	95.7	95.1	95.5	96.0
2週	98.2	95.7	98.0	81.1
1個月	95.0	88.8	91.6	61.9
2個月	95.4	81.6	87.1	37.4
3個月	95.1	69.8	75.5	終止

表 3

在 4°C 下使用不同濃度 BHT 之左他羅莫司穩定性

BHT	0.0%	0.1%	0.2%	0.5%	1.0%
0週	97.2	96.7	96.3	96.5	95.9
2週	95.2	96.7	96.7	96.5	96.3
4週	96.4	97.3	97.5	96.2	96.6
6週	96.6	96.8	96.9	95.7	96.1
8週	97.5	96.9	96.9	96.9	96.9
12週	95.9	96.8	96.8	--	95.5

表 4

在 40°C 下使用不同濃度 BHT 之左他羅莫司穩定性

BHT (w/w)	0.1%	0.2%	0.5%	1.0%
0週	96.7	96.3	96.5	95.9
2週	96.5	96.6	96.1	95.4
4週	96.9	97.2	96.4	96.4
6週	96.1	97.1	95.7	95.6
8週	96.2	97.0	96.1	96.5
12週	95.6	--	95.9	95.8

該等穩定性研究證實為保持左他羅莫司之純度、效能及穩定性，添加抗氧化劑如BHT極為重要。

實例6：左他羅莫司平衡異構體之分離及表徵

C-18或苯基管柱上左他羅莫司之反相分析表明較早溶離之主要異構體係6-員吡喃形式而非7-員氧雜環庚烷(2)異構體，次要組份氧雜環庚烷異構體3至4分鐘後溶離出來。於正相HPLC(矽膠-YMC有限公司；Kyoto, Japan)上，該等兩種形式並無基線分離；然而氧雜環庚烷形式在吡喃形式溶離出來之前一刻溶離出來。

為證實該平衡，藉由在pH 4下於反相苯基管柱上之左他羅莫司之多次HPLC注射分離每種形式。然後以不同間隔重新注射每種經分離形式以研究其平衡。該研究表明該吡喃形式在3至4天後達到平衡狀態，而該氧雜環庚烷形式(次要組份)甚至在約6天後仍未完全平衡。在該研究期間，形成某些開環酸。表5中(含緩衝液)及表6中(不含緩衝液)所示該研究之結果清楚地表明該等兩種形式處於平衡中，其中該吡喃形式在熱力學上更穩定。

亦在非緩衝條件下於乙腈/水之溶劑混合物中實施研究。在C-18 Altima管柱(Alltech Associates公司；Deerfield, IL)上使用存於水中之66%乙腈於非緩衝媒介中實施左他羅莫司之多次注射。收集該等吡喃及氧雜環庚烷形式。以不同間隔將該等形式重新注射至C-18管柱上以研究平衡比率。表4及5中所述之該等數據表明兩種異構體之間之平衡較為迅速且在約7至8小時內完成。該等觀察證實左他羅莫

司以約 10:1 吡喃 (1) : 氧雜環庚烷 (2) 形式之平衡混合物存在。

表 5

在 pH 4 緩衝液中左他羅莫司之吡喃及氧雜環庚烷形式之平衡研究

吡喃(P)		氧雜環庚烷(P-應為"O"??)	
時間	比率P/O	時間	比率P/O
1.5小時	99:1.	0.5小時	1:99
3.5小時	98:2.	3.5小時	18:82
5.5小時	97:3.	5.5小時	27:71
7.5小時	96:4	7.5小時	36:63
50小時	92:8	50小時	70:28
5天	90:9	5天	83:16
6天時比率	9.8:1	6天時比率	6.6:1

表 6

不含緩衝液時左他羅莫司之吡喃及氧雜環庚烷形式之平衡研究

吡喃(P)		氧雜環庚烷(O)	
時間	比率P/O	時間	比率P/O
2小時	90:9	1.5小時	26:70
3.5小時	88:9	3.5小時	80:17
5小時	87:9	5小時	87:10
8小時	86:9	7小時	88:9
8小時比率	9.8:1	7小時比率	10:1

應瞭解先前詳細闡述及隨附實例僅具闡釋性且不應視為限制本發明之範圍，該範圍僅由隨附申請專利範圍及其等效項界定。對所揭示實施例之各種變化及修改將為彼等熟

習此項技術者所易知。在不背離本發明精神及其範圍情況下可作出包括(但不限於)與本發明化學結構、取代基、衍生物、中間體、合成方法、調配物及/或使用方法有關之彼等之此等變化及修改。

除非另有說明，否則所有參考文獻之全文皆以引用方式併入本文中。

參考文獻

Baker, H., A. Sidorowicz, S.N. Sehgal, and C. Vezina. 1978. Rapamycin (AY-22, 989), a new antifungal antibiotic. III. In vitro and in vivo evaluation. J Antibiot (Tokyo) 31:539-45。

Caufield. US Patent No. 5,023,262. 1991. Hydrogenated Rapamycin Derivatives。

Caufield. WO 92/05179. 1992. Carboxylic Acid Esters of Rapamycin。

Eng. US Patent No. 4,401,653. 1983. Combination of Rapamycin and Picibanil for the Treatment of Tumors。

Failli. EPO 467606. 1992a. Rapamycin Derivatives。

Failli. US Patent No. 5,120,842. 1992b. Silyl Ethers of Rapamycin。

Failli. US Patent No. 5,177,203. 1993. Rapamycin 42-Sulfonates and 42-(N-Carboalkoxy) Sulfamates Useful as Immunosuppressive Agents。

Higuchi, T., and V. Stella. 1987. Pro-drugs as Novel

Delivery systems °

Hughes, P., J. Musser, M. Conklin, and R. Russo. 1992. The isolation, synthesis and characterization of an isomeric form of rapamycin. *Tetrahedron Ltrrs.* 33:4739-4742 °

Kao. US Patent No. 5,120,725. 1992a. Bicyclic Rapamycins °

Kao. US Patent No. 5,120,727. 1992b. Rapamycin Dimers °

Martel, R.R., J. Klicius, and S. Galet. 1977. Inhibition of the immune response by rapamycin, a new antifungal antibiotic. *Can J Physiol Pharmacol.* 55:48-51 °

Mollison, K. US Patent No. 6,015,815. 2000. Tetrazole-containing rapamycin analogs with shortened half-lives °

Mollison, K., A. LeCaptain, S. Burke, K. Cromack, P. Tarcha, Y. -C.J. Chen, and J. Toner. US Patent Application Publication 20030129215. 2003. Medical devices containing rapamycin analogs °

Paiva, N.L., A.L. Demain, and M.F. Roberts. 1991. Incorporation of acetate, propionate, and methionine into rapamycin by *Streptomyces hygroscopicus*. *J Nat Prod.* 54:167-77 °

Roche, E. 1987. *Bioreversible Carriers in Drug Design.* American Pharmaceutical Association and Pergamon Press °

Sehgal, S.N. US Patent No. 3,929,992. 1975. Rapamycin

and Process of Preparation .

Sehgal, S.N. US Patent No. 3,993,749. 1976. Rapamycin and Process of Preparation .

Sehgal, S.N., H. Baker, and C. Vezina. 1975. Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. II. Fermentation, isolation and characterization. J Antibiot (Tokyo). 28:727-32 .

Surendra. US Patent No. 4,885,171. 1989. Use of Rapamycin in Treatment of Certain Tumors .

Vezina, C., A. Kudelski, and S.N. Sehgal. 1975. Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. I. Taxonomy of the producing streptomycete and isolation of the active principle. J Antibiot (Tokyo). 28:721-6 .

【圖式簡單說明】

圖 1 顯示本發明製備左他羅莫司之單槽方法之實施例的流程圖。

圖 2 顯示本發明製備左他羅莫司之單槽方法之實施例的流程圖。

【主要元件符號說明】

100	DCM及甲苯，加入IPAc
105	共沸乾燥雷帕黴素
110	存於IPAc中之雷帕黴素
115	加入二甲基吡啶，冷卻至-30°C，加入Tf ₂ O
120	過濾鹽

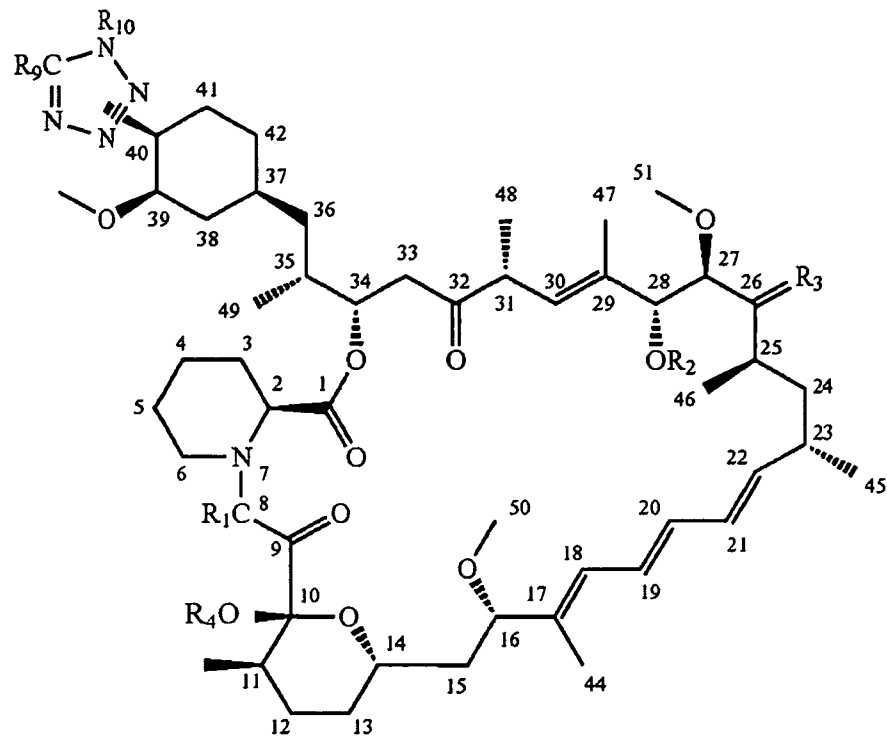
- 125 用 IPAc 洗滌
- 130 加入四唑，加入 DIEA
- 135 置換反應
- 140 室溫濃縮且在矽膠管柱上純化
- 145 濃縮溶離份，在正庚烷/丙酮管柱上純化
- 150 濃縮溶離份，溶於第三-BME中
- 155 過濾產物，濃縮，使用丙酮
- 160 分離/乾燥
- 200 加入 DCM
- 205 燒瓶中雷帕黴素
- 210 加入二甲基吡啶，冷卻至 -30°C ，加入 Tf_2O
- 215 存於 DCM 中之三氟甲磺酸鹽
- 220 加入四唑，加入 DIEA
- 225 在 25°C 置換反應
- 230 裝載於第一個矽膠管柱上
- 235 濃縮溶離份
- 240 裝載於第二個矽膠管柱上
- 245 濃縮溶離份
- 250 溶於第三-BME中，且沉澱
- 255 過濾
- 260 濃縮，分離且乾燥



十、申請專利範圍：

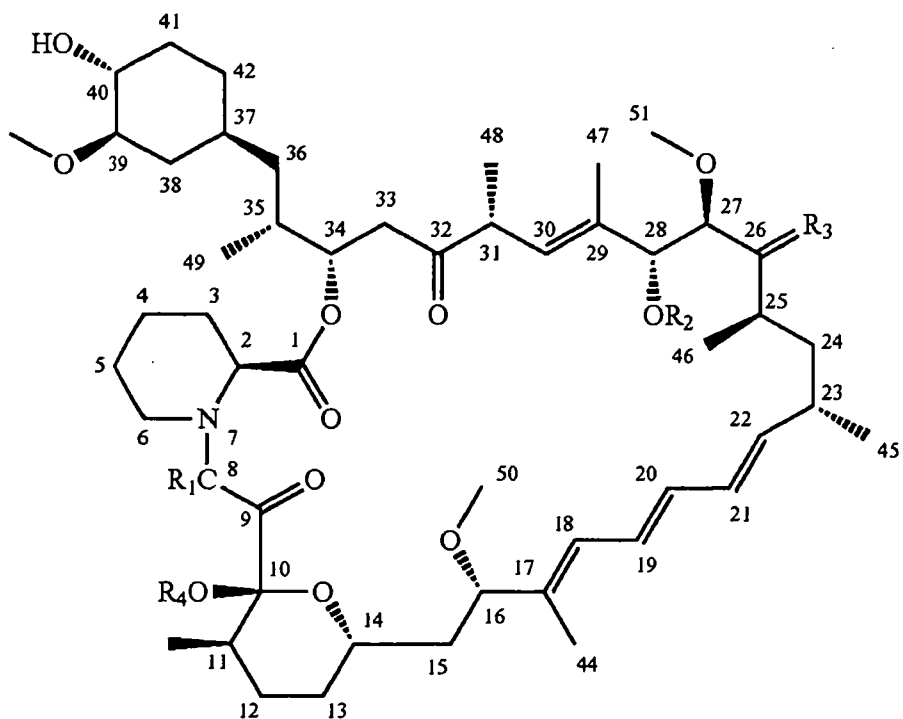
101年8月17日修正

1. 一種製備式I之分子之方法，

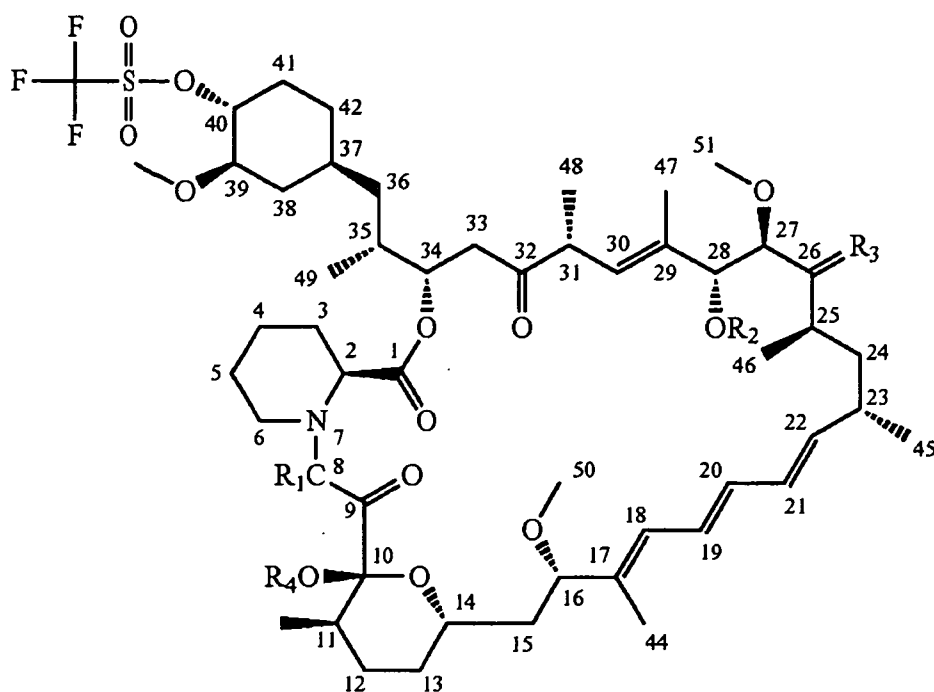


其包括：

(a) 使式II之分子：

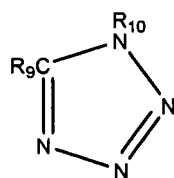


與三氟甲磺酸酐反應以產生式III之分子：



且

(b) 使該式III之分子與式IV之分子反應：



其中

R_1 係 =O 或 (H, OH)；

R_2 及 R_5 獨立選自由 H、 $-C(=O)R_6$ 、 $-C(=O)OR_6$ 、 $-C(=O)NHR_6$ 及 $-C(=S)OR_6$ 組成之群；

R_3 係選自由 =O 及 OR_5 組成之群；或者 R_2 及 R_3 可一起形成式 $A-C(R_7)(R_8)-O-B$ 之部分，其中 A 係一鍵結，其連接至鍵結於碳 28 之氧，且 B 係一鍵結，其連接至如上所定義之碳 26；

R_4 係選自由 H 及 C_1-C_4 烷基組成之群；

R₆係選自由C₁-C₁₀烷基、C₃-C₆環烷基、芳基及雜環基團組成之群；

R₇及R₈獨立選自由H、C₁-C₆烷基組成之群，或R₇及R₈一起為=O；

R₉及R₁₀獨立選自由H、烯基、烯基環烯基、烯基環烷基、烷基、烷基環烯基、烷基環烷基、炔基、芳烷基、芳基、環烯基、環烷基、環烷基烷基、環烷基環烷基、環烯基烷基、雜環基、氮雜、醯胺、銨、氧雜、硫雜、磺醯基、亞磺醯基、磺醯胺、磷醯基、氧磷基、磷基、磷、酮、酯、醇、胺基甲酸酯、脲、硫代羰基、硼酸根基、硼烷、硼氮基、甲矽烷基、甲矽烷氧基、矽氮基及其組合，

其中該方法係於單槽中實施。

2. 如請求項1之方法，其中步驟(a)係在非親核鹼存在下實施。
3. 如請求項2之方法，其中該非親核鹼包括經取代之吡啶、二異丙基乙胺或吡啶。
4. 如請求項3之方法，其中該經取代之吡啶包括2,6-二甲基吡啶、2,6-二-第三-丁基吡啶或2,4,6-三甲基吡啶。
5. 如請求項2之方法，其中步驟(a)係在一溶劑存在下實施。
6. 如請求項5之方法，其中該溶劑包括乙酸異丙酯或二氯甲烷。
7. 如請求項5之方法，其中該溶劑包括二氯甲烷，其在步

驟(b)之前或期間替換為乙酸異丙酯。

8. 如請求項1之方法，其中 R_{10} 係H，且 R_9 係選自由H、甲基及苯基組成之群之一個基團。
9. 如請求項1之方法，其中 R_9 及 R_{10} 皆為H。
10. 如請求項1之方法，其中步驟(b)係在一溶劑存在下實施。
11. 如請求項10之方法，其中該溶劑包括非質子溶劑。
12. 如請求項11之方法，其中該非質子溶劑包括全氟己烷、 α,α,α -三氟甲苯、戊烷、己烷、環己烷、甲基環己烷、十氫化萘、四氯化碳、二氧雜環己烷、氟三氯甲烷、苯、甲苯、三乙胺、二硫化碳、二異丙醚、二乙醚、第三-丁基甲基醚、氯仿、乙酸乙酯、1,2-二甲氧基乙烷、2-甲氧基乙醚、四氫呋喃、1,2-二甲氧基乙烷、二氯甲烷、吡啶、2-丁酮、丙酮、六甲基磷醯胺、N-甲基吡咯啉酮、硝基甲烷、二甲基甲醯胺、乙腈、環丁砜、二甲基亞砜、二異丙基乙胺、乙酸異丙酯、二氯甲烷、N,N-二甲基甲醯胺或碳酸丙二酯。
13. 如請求項1之方法，其中步驟(b)係在二異丙基乙胺及選自由乙酸異丙酯、二氯甲烷、1,2-二甲氧基乙烷、四氫呋喃及乙腈組成之群之溶劑存在下實施。
14. 如請求項1之方法，其中步驟(b)係在二異丙基乙胺與乙酸異丙酯或二氯甲烷存在下實施。
15. 如請求項1之方法，其中

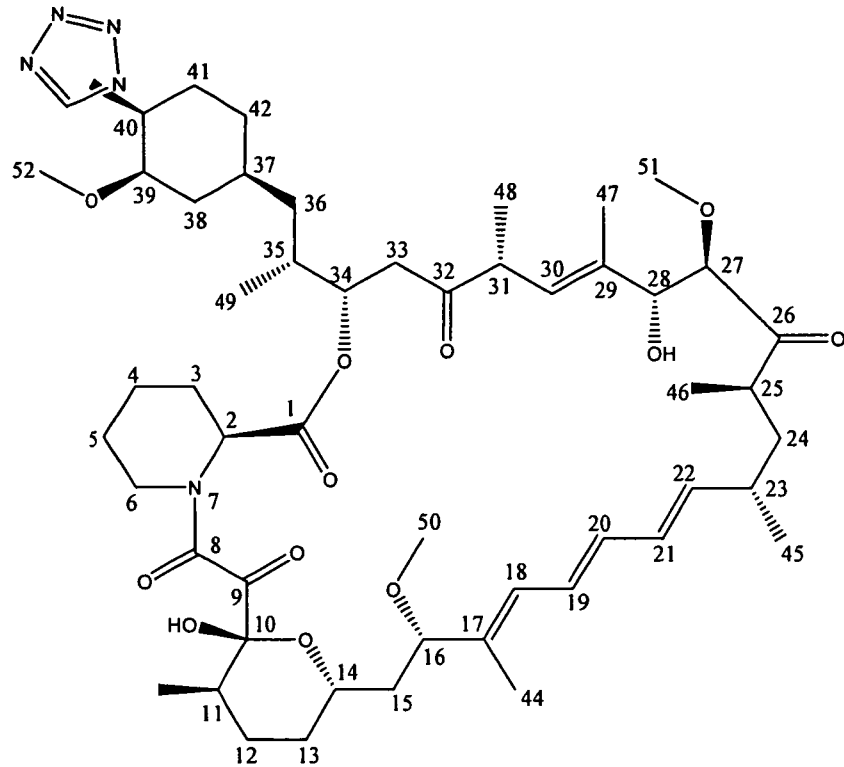
R_1 係=O

R_2 係H

R_3 係 =O 及

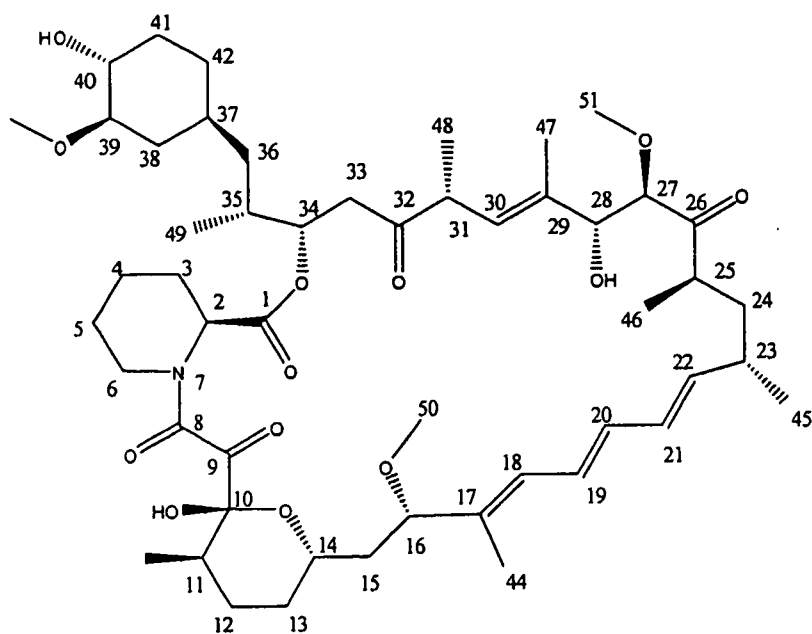
R_4 係 H。

16. 一種製備式 V 之分子之方法，

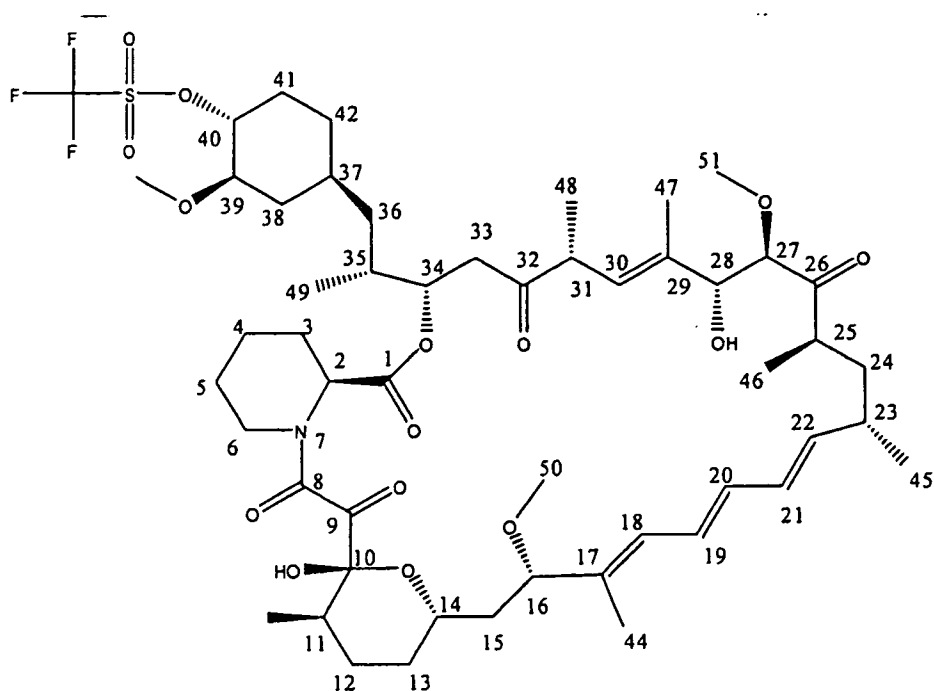


其包括：

(a) 使式 VI 之分子：

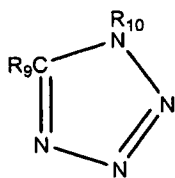


與三氟甲磺酸酐反應以產生式VII之分子：



且

(b) 使該式VII之分子與式IV之分子反應：



其中

R_9 及 R_{10} 獨立選自由下列組成之群：H、烯基、烯基環烯基、烯基環烷基、烷基、烷基環烯基、烷基環烷基、炔基、芳烷基、芳基、環烯基、環烷基、環烷基烷基、環烷基環烷基、環烯基烷基、雜環基、氮雜、醯胺、銨、氧雜、硫雜、磺醯基、亞磺醯基、磺醯胺、磷醯基、氧磷基、磷基、鏷、酮、酯、醇、胺基甲酸酯、脲、硫代羰基、硼酸根基、硼烷、硼氮基、甲矽烷基、甲矽烷氧基、矽氮基及其組合，

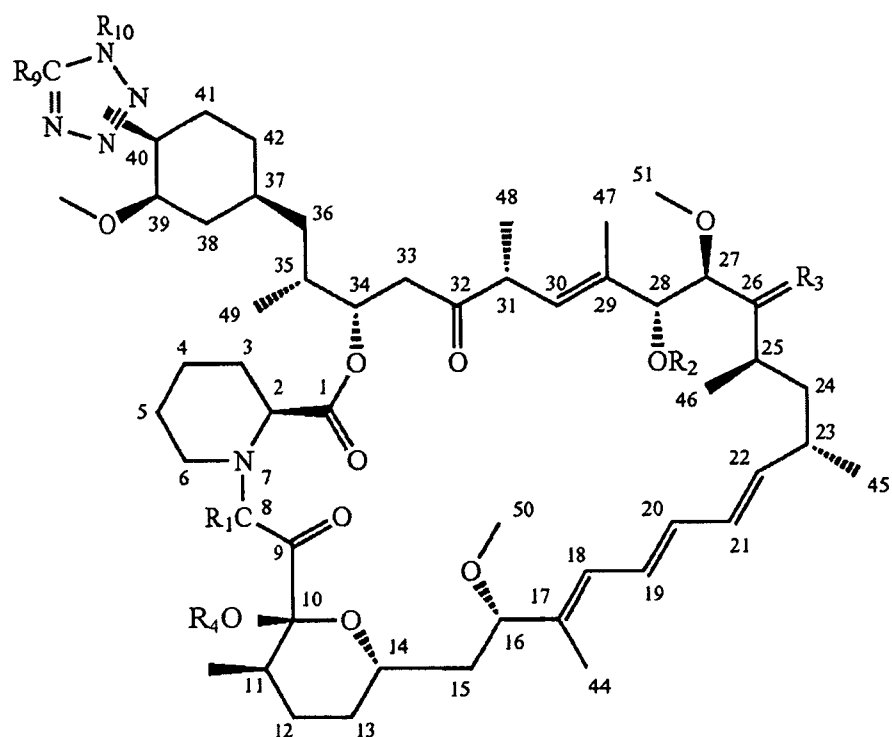
其中該方法係於單槽中實施。

17. 如請求項16之方法，其中步驟(a)係在非親核鹼存在下實施。
18. 如請求項17之方法，其中該非親核鹼包括經取代之吡啶、二異丙基乙胺或吡啶。
19. 如請求項18之方法，其中該經取代之吡啶包括2,6-二甲基吡啶、2,6-二-第三-丁基吡啶或2,4,6-三甲基吡啶。
20. 如請求項18之方法，其中步驟(a)係在一溶劑存在下實施。
21. 如請求項20之方法，其中該溶劑包括乙酸異丙酯或二氯甲烷。
22. 如請求項20之方法，其中該溶劑包括二氯甲烷且在步驟(b)之前或期間可與乙酸異丙酯互換。
23. 如請求項16之方法，其中 R_{10} 係H，且 R_9 係選自由H、甲基及苯基組成之群。
24. 如請求項16之方法，其中 R_9 及 R_{10} 皆為H。
25. 如請求項16之方法，其中步驟(b)係在一溶劑存在下實施。
26. 如請求項25之方法，其中該溶劑包括非質子溶劑。
27. 如請求項26之方法，其中該非質子溶劑包括全氟己烷、 α,α,α -三氟甲苯、戊烷、己烷、環己烷、甲基環己烷、十氫化萘、四氯化碳、二氧雜環己烷、氟三氯甲烷、苯、甲苯、三乙胺、二硫化碳、二異丙醚、二乙醚、第三-丁基甲基醚、氯仿、乙酸乙酯、1,2-二甲氧基乙烷、

2-甲氧基乙醚、四氫呋喃、1,2-二甲氧基乙烷、二氯甲烷、吡啶、2-丁酮、丙酮、六甲基磷醯胺、N-甲基吡咯啉酮、硝基甲烷、二甲基甲醯胺、乙腈、環丁砜、二甲基亞砜、二異丙基乙胺、乙酸異丙酯、二氯甲烷、N,N-二甲基甲醯胺或碳酸丙二酯。

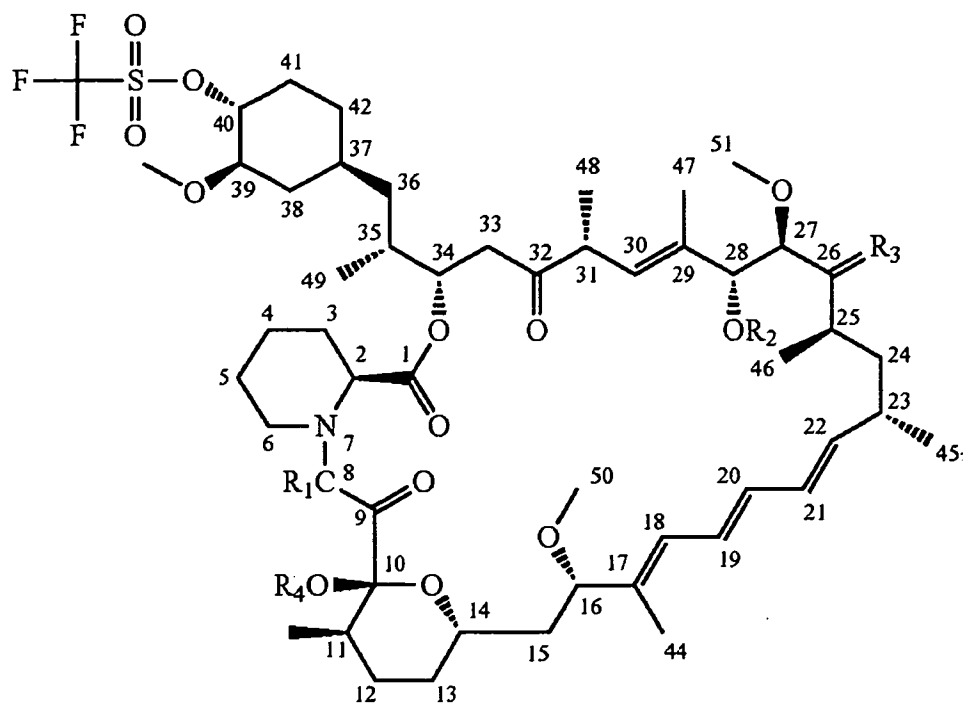
28. 如請求項16之方法，其中步驟(b)係在二異丙基乙胺與乙酸異丙酯或二氯甲烷存在下實施。

29. 一種製備式I之分子之方法，



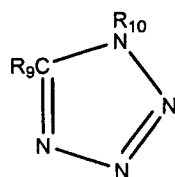
其包括：

使式III之分子：



與式 IV 之

分子反應：



及提供抗氧化劑，

其中 R_1 係 =O 或 (H, OH)；

R_2 及 R_5 獨立選自由 H、 $-C(=O)R_6$ 、 $-C(=O)OR_6$ 、 $-C(=O)NHR_6$ 及 $-C(=S)OR_6$ 組成之群；

R_3 係選自由 =O 及 OR_5 組成之群；或者 R_2 及 R_3 可一起形成式 $A-C(R_7)(R_8)-O-B$ 之部分，其中 A 係一鍵結，其連接至鍵結於碳 28 之氧，且 B 係一鍵結，其連接至如上所定義之碳 26；

R_4 係選自由 H 及 C_1-C_4 烷基組成之群；

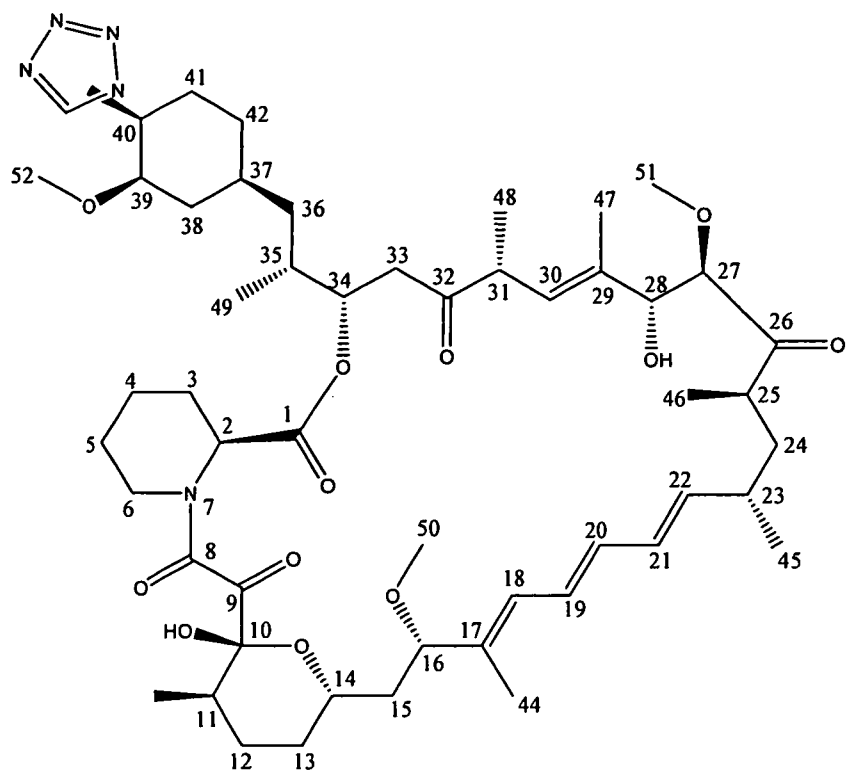
R_6 係選自由 C_1-C_{10} 烷基、 C_3-C_6 環烷基、芳基及雜環基

團組成之群；

R_7 及 R_8 獨立選自由H、 C_1 - C_6 烷基組成之群，或 R_7 及 R_8 一起為=O；

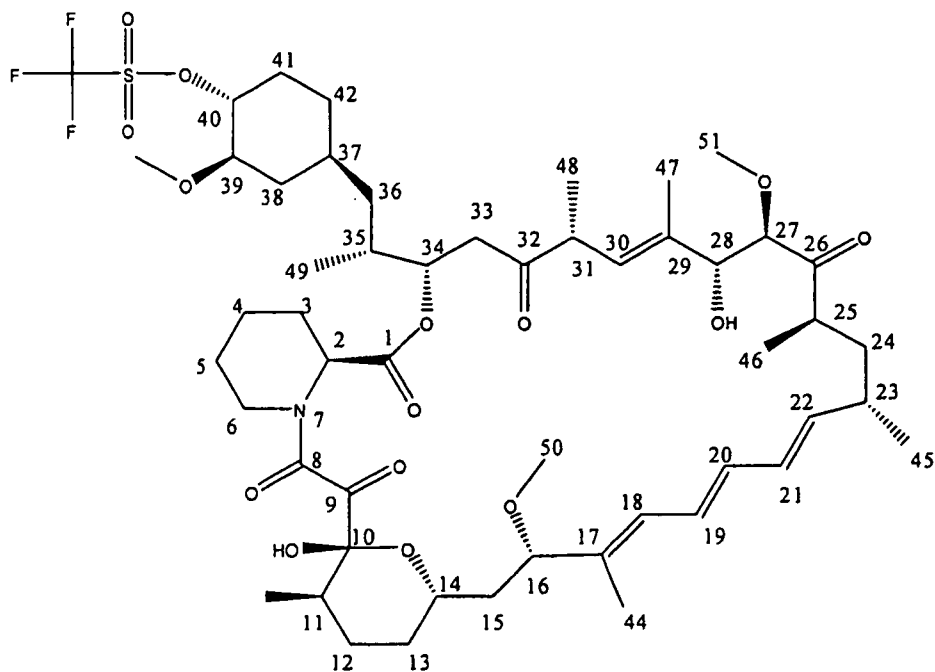
R_9 及 R_{10} 獨立選自由下列組成之群：H、烯基、烯基環烯基、烯基環烷基、烷基、烷基環烯基、烷基環烷基、炔基、芳烷基、芳基、環烯基、環烷基、環烷基烷基、環烷基環烷基、環烯基烷基、雜環基、氮雜、醯胺、銨、氧雜、硫雜、磺醯基、亞磺醯基、磺醯胺、磷醯基、氧磷基、磷基、磷、酮、酯、醇、胺基甲酸酯、脲、硫代羰基、硼酸根基、硼烷、硼氮基、甲矽烷基、甲矽烷氧基、矽氮基及其組合。

30. 如請求項29之方法，其係在三乙胺、二異丙基乙胺、吡啶、N-甲基咪唑或4-二甲胺基吡啶存在下用式IV之分子而實施。
31. 如請求項29之方法，其中 R_{10} 係H，且 R_9 係選自由H、甲基及苯基組成之群。
32. 如請求項29之方法，其中 R_9 及 R_{10} 皆為H。
33. 如請求項29之方法，其中該抗氧化劑係選自由3,5-二-第三丁基-4-羥基甲苯、DL- α -生育酚、沒食子酸丙酯、棕櫚酸抗壞血酸酯、3-第三-丁基-4-羥基苯甲醚、2-第三-丁基-4-羥基苯甲醚、富馬酸、2,6-二-第三-丁基-4-乙基苯酚及2,6-二-第三-丁基-4-甲氧基苯酚所組成之群。
34. 一種製備式V之分子之方法，

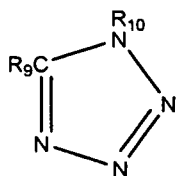


其包括：

使式VI之分子：



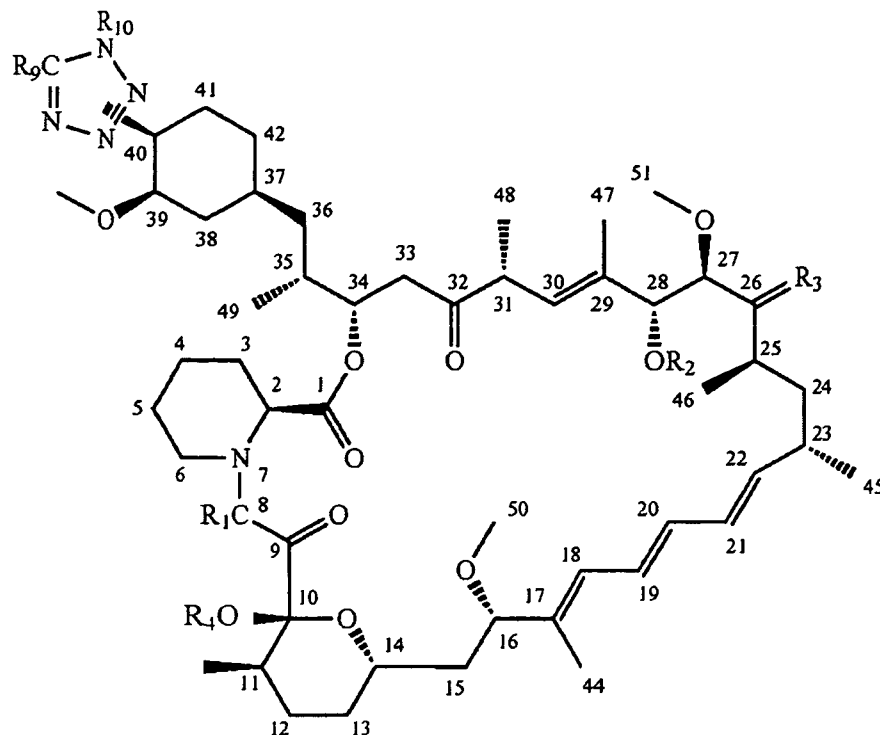
與式IV之分子反應：



及提供抗氧化劑，

其中R₉及R₁₀獨立選自由下列組成之群：H、烯基、烯基環烯基、烯基環烷基、烷基、烷基環烯基、烷基環烷基、炔基、芳烷基、芳基、環烯基、環烷基、環烷基烷基、環烷基環烷基、環烯基烷基、雜環基、氮雜、醯胺、銨、氧雜、硫雜、磺醯基、亞磺醯基、磺醯胺、磷醯基、氧磷基、磷基、磷、酮、酯、醇、胺基甲酸酯、脲、硫代羰基、硼酸根基、硼烷、硼氮基、甲矽烷基、甲矽烷氧基、矽氮基及其組合。

35. 如請求項34之方法，其係在三乙胺、二異丙基乙胺、吡啶、N-甲基咪唑或4-二甲胺基吡啶存在下用該式IV之分子而實施。
36. 如請求項34之方法，其中R₁₀係H，且R₉係選自由H、甲基及苯基組成之群。
37. 如請求項34之方法，其中R₉及R₁₀皆為H。
38. 如請求項34之方法，其中該抗氧化劑係選自由3,5-二-第三丁基-4-羥基甲苯、DL- α -生育酚、沒食子酸丙酯、棕櫚酸抗壞血酸酯、3-第三-丁基-4-羥基苯甲醚、2-第三-丁基-4-羥基苯甲醚、富馬酸、2,6-二-第三-丁基-4-乙基苯酚及2,6-二-第三-丁基-4-甲氧基苯酚所組成之群。
39. 一種組合物，包括式I之分子：



及抗氧化劑，

其中

R_1 係 =O 或 (H, OH)；

R_2 及 R_5 獨立選自由 H、 $-C(=O)R_6$ 、 $-C(=O)OR_6$ 、 $-C(=O)NHR_6$ 及 $-C(=S)OR_6$ 組成之群；

R_3 係選自由 =O 及 OR_5 組成之群；或者 R_2 及 R_3 可一起形成式 $A-C(R_7)(R_8)-O-B$ 之部分，其中 A 係一鍵結，其連接至鍵結於碳 28 之氧，且 B 係一鍵結，其連接至如上所定義之碳 26；

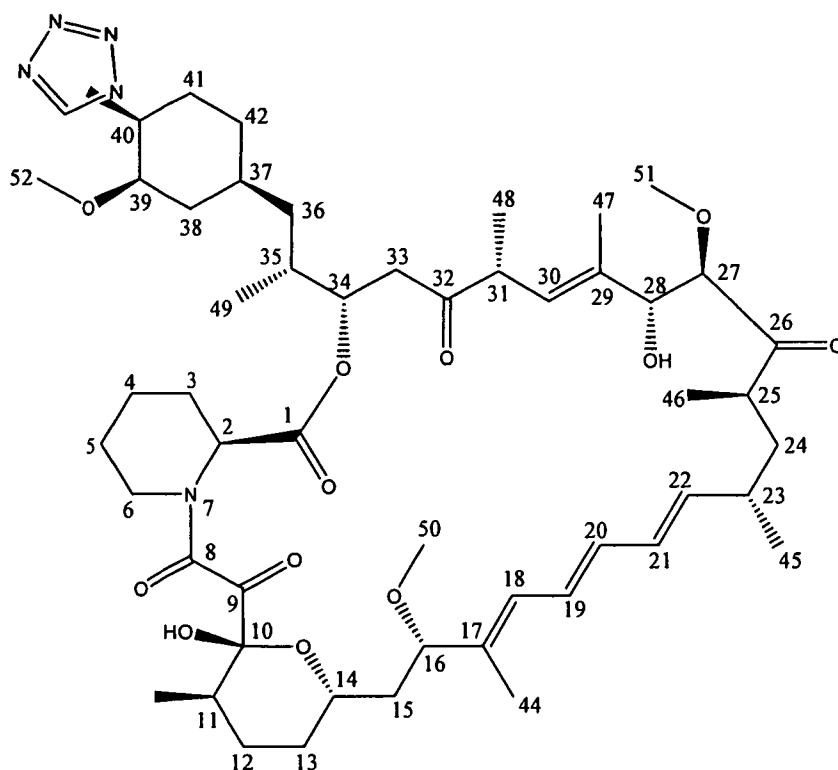
R_4 係選自由 H 及 C_1-C_4 烷基組成之群；

R_6 係選自由 C_1-C_{10} 烷基、 C_3-C_6 環烷基、芳基及雜環基團組成之群；

R_7 及 R_8 獨立選自由 H、 C_1-C_6 烷基組成之群，或 R_7 及 R_8 一起為 =O。

40. 如請求項39之組合物，其中該抗氧化劑包括3,5-二-第三丁基-4-羥基甲苯、DL- α -生育酚、沒食子酸丙酯、棕櫚酸抗壞血酸酯、3-第三-丁基-4-羥基苯甲醚、2-第三-丁基-4-羥基苯甲醚或富馬酸或其組合。

41. 一種組合物，包括式V之分子：



及抗氧化劑。

42. 如請求項41之組合物，其中該抗氧化劑包括3,5-二-第三丁基-4-羥基甲苯、DL- α -生育酚、沒食子酸丙酯、棕櫚酸抗壞血酸酯、3-第三-丁基-4-羥基苯甲醚、2-第三-丁基-4-羥基苯甲醚、富馬酸、2,6-二-第三-丁基-4-乙基苯酚、2,6-二-第三-丁基-4-甲氧基苯酚或其組合。



十一、圖式：

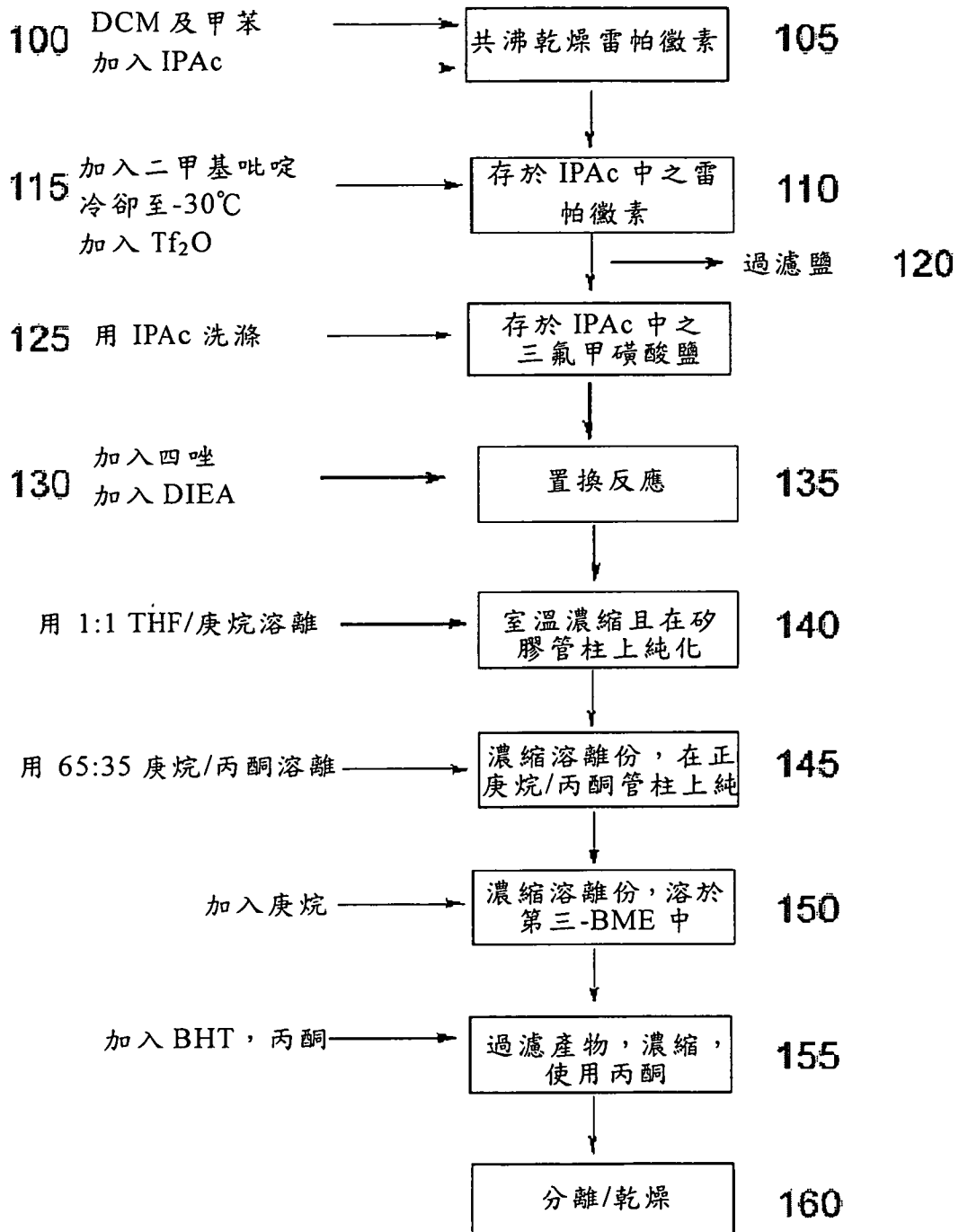
ABT-578 製程流程圖 I

圖 1

ABT-578製程流程圖II

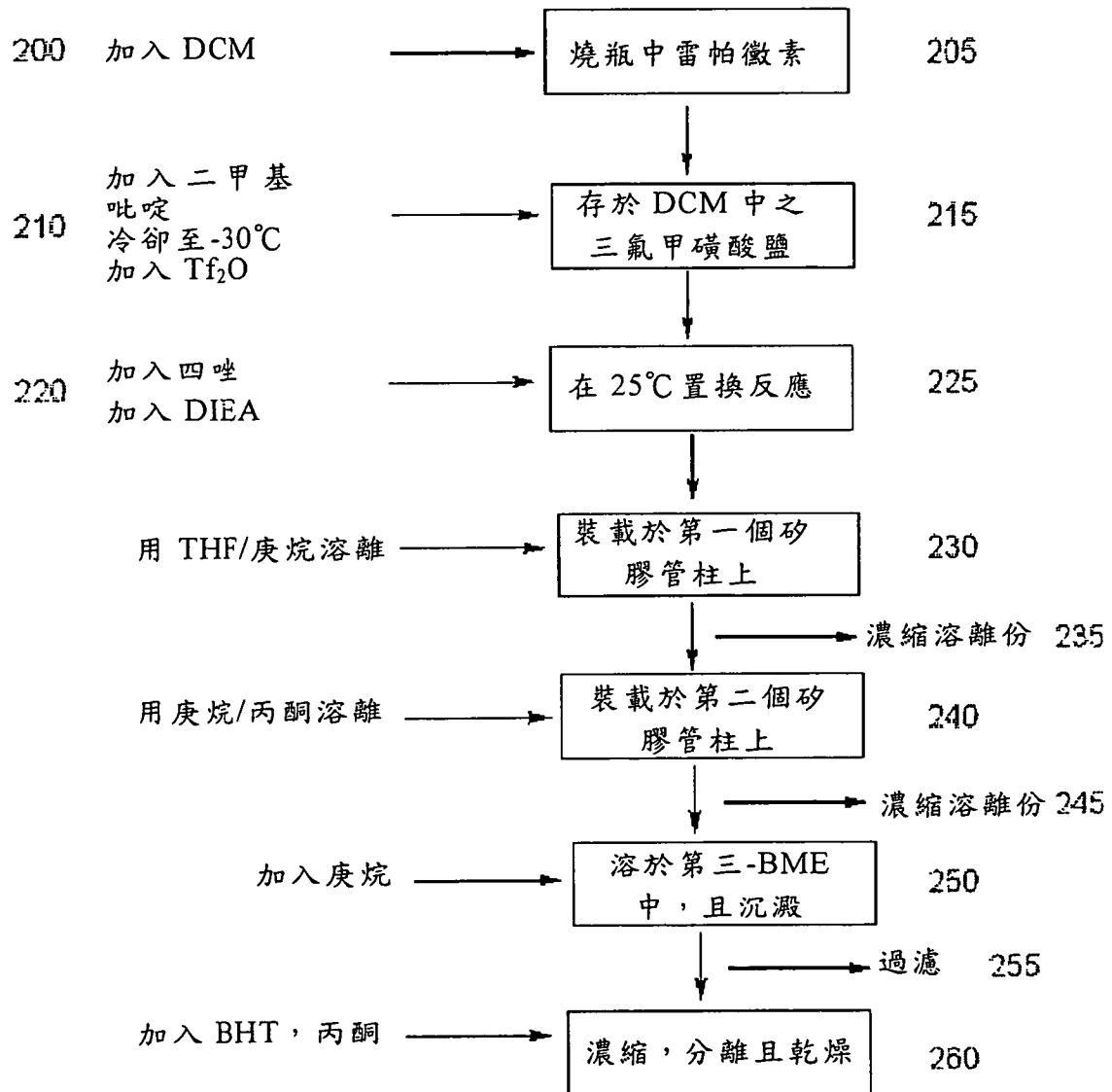


圖 2