



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I851781 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 08 月 11 日

(21)申請案號：109126142

(22)申請日：中華民國 109 (2020) 年 08 月 03 日

(51)Int. Cl. : C07C231/12 (2006.01)

(30)優先權：2019/08/05 歐洲專利局 19189993.9

(71)申請人：法國商尼可斯股份有限公司 (法國) NICOX S.A. (FR)
法國

(72)發明人：歐米瑞特 尼可萊塔 ALMIRANTE, NICOLETTA (IT)

(74)代理人：賴經臣；宿希成

(56)參考文獻：

WO 2009/136281A1

審查人員：謝敏哲

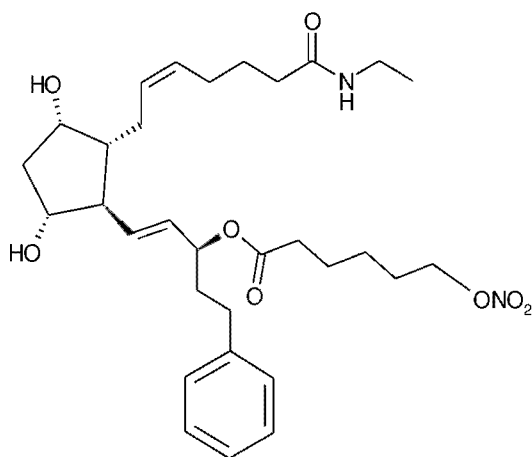
申請專利範圍項數：13 項 圖式數：0 共 38 頁

(54)名稱

製備一氧化氮供體型前列腺素類似物之方法

(57)摘要

本發明係關於一種製備式(I)之己酸, 6-(硝氧基)-, (1S,2E)-3-[(1R,2R,3S,5R)-2-[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基-2-庚烯-1-基]-3,5-二羥基環戊基]-1-(2-苯基乙基)-2-丙烯-1-基酯之方法。



(I)

根據本發明，化合物(I)可經由使呈

酮

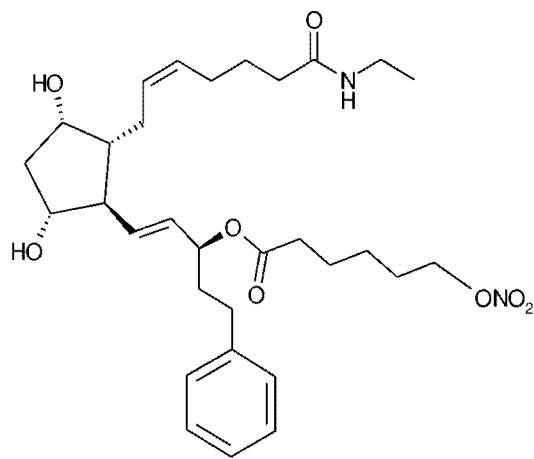
酸酯保護形式之比馬前列素(bimatoprost)與具高化學純度的 6-(硝氧基)己醯氯偶合及移除

酮

酸酯保護基來以高純度有效率地製備。

高化學純度的 6-(硝氧基)己醯氯係自具高化學純度的 6-(硝氧基)己酸製備。本發明亦關於一種用來製備及純化 6-(硝氧基)己酸之方法。

The present invention relates to a process for preparing the hexanoic acid, 6-(nitrooxy)-, (1S,2E)-3-[(1R, 2R,3S,5R)-2-[(2Z)-7-(ethylamino)-7-oxo-2-hepten-1-yl]-3,5-dihydroxycyclopentyl]-1-(2-phenylethyl)-2-propen-1-yl ester of formula (I).

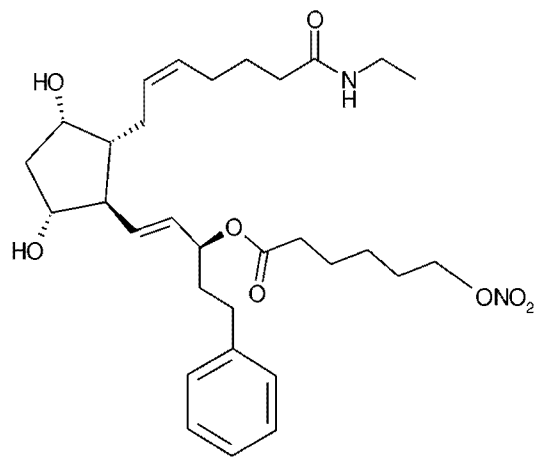


(I)

In accordance with the present invention, the compound (I) can be efficiently prepared with high purity by coupling bimatoprost in a boronate protected form with 6-(nitrooxy)hexanoyl chloride having a high chemical purity and removing the boronate protecting group.

The high chemical pure 6-(nitrooxy)hexanoyl chloride is prepared from 6-(nitrooxy)hexanoic acid having a high chemical purity. The invention also relates to a process for the preparation and purification of 6-(nitrooxy) hexanoic acid.

特徵化學式：



(I)



公告本

I851781

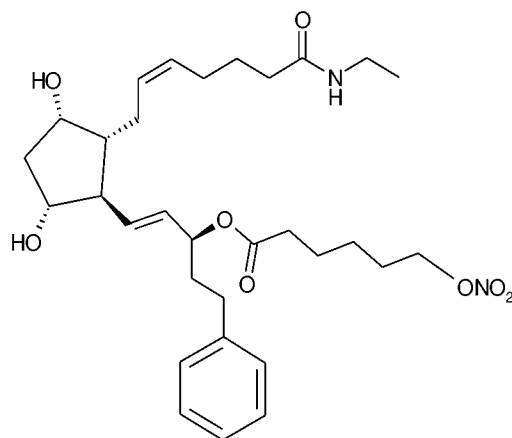
【發明摘要】

【中文發明名稱】 製備一氧化氮供體型前列腺素類似物之方法

【英文發明名稱】 PROCESS FOR THE PREPARATION OF A NITRIC OXIDE DONATING PROSTAGLANDIN ANALOGUE

【中文】

本發明係關於一種製備式(I)之己酸，6-(硝氧基)-，(1S,2E)-3-[(1R,2R,3S,5R)-2-[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基-2-庚烯-1-基]-3,5-二羥基環戊基]-1-(2-苯基乙基)-2-丙烯-1-基酯之方法。



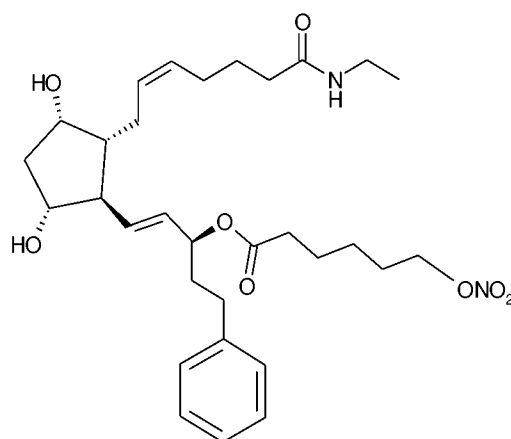
(I)

根據本發明，化合物(I)可經由使呈酞酸酯保護形式之比馬前列素(bimatoprost)與具高化學純度的6-(硝氧基)己醯氯偶合及移除酞酸酯保護基來以高純度有效率地製備。

高化學純度的6-(硝氧基)己醯氯係自具高化學純度的6-(硝氧基)己酸製備。本發明亦關於一種用來製備及純化6-(硝氧基)己酸之方法。

【英文】

The present invention relates to a process for preparing the hexanoic acid, 6-(nitrooxy)-, (1S,2E)-3-[(1R,2R,3S,5R)-2-[(2Z)-7-(ethylamino)-7-oxo-2-hepten-1-yl]-3,5-dihydroxycyclopentyl]-1-(2-phenylethyl)-2-propen-1-yl ester of formula (I).



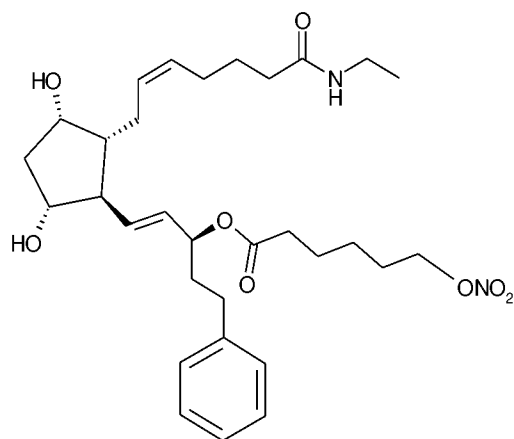
(I)

In accordance with the present invention, the compound (I) can be efficiently prepared with high purity by coupling bimatoprost in a boronate protected form with 6-(nitrooxy)hexanoyl chloride having an high chemical purity and removing the boronate protecting group.

The high chemical pure 6-(nitrooxy)hexanoyl chloride is prepared from 6-(nitrooxy)hexanoic acid having a high chemical purity. The invention also relates to a process for the preparation and purification of 6-(nitrooxy) hexanoic acid.

【指定代表圖】 無

【特徵化學式】



(I)

【發明說明書】

【中文發明名稱】 製備一氧化氮供體型前列腺素類似物之方法

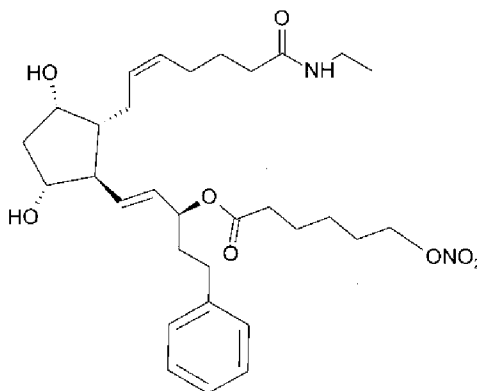
【英文發明名稱】 PROCESS FOR THE PREPARATION OF A
NITRIC OXIDE DONATING PROSTAGLANDIN ANALOGUE

【技術領域】

【0001】 本發明係關於適用於大規模製備式(I)之己酸，6-(硝氧基)-，(1S,2E)-3-[(1R,2R,3S,5R)-2-[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基-2-庚烯-1-基]-3,5-二羥基環戊基]-1-(2-苯基乙基)-2-丙烯-1-基酯之改良方法，其容許獲得具高化學純度的該產物。本發明亦描述高純度6-(硝氧基)己酸(VIIa)之製備，該物質係關鍵的合成中間體。

【先前技術】

【0002】 式(I)之己酸，6-(硝氧基)-，(1S,2E)-3-[(1R,2R,3S,5R)-2-[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基-2-庚烯-1-基]-3,5-二羥基環戊基]-1-(2-苯基乙基)-2-丙烯-1-基酯



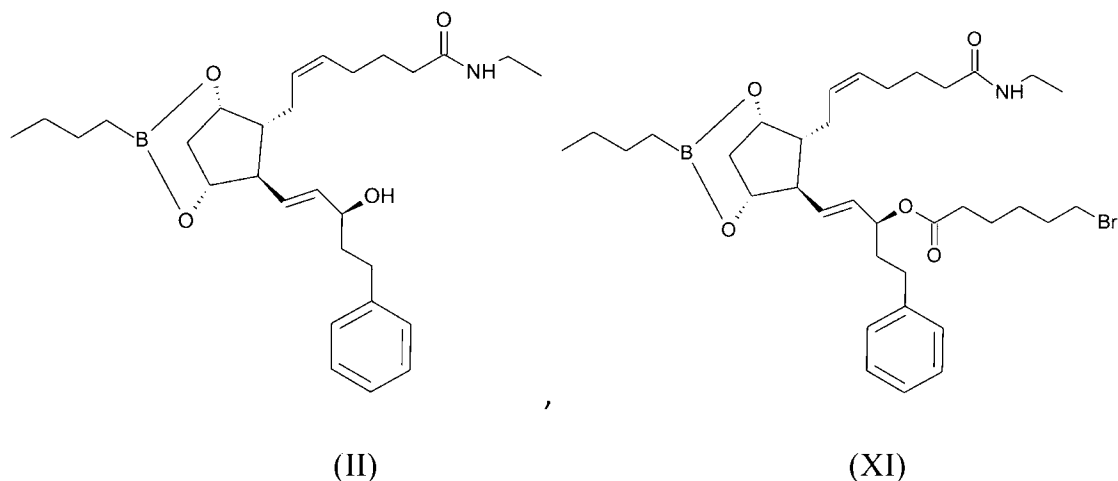
(I)

係經證實有效作為IOP降低劑的前列腺素類似物(Impagnatiello F, Toris CB, Batugo M, Prasanna G, Borghi V, Bastia E, Ongini E, Krauss AHP; Invest Ophthalmol Vis Sci. 2015; 56:6558-64)。

【0003】 WO 2009/136281中揭示一種製備式(I)化合物之方法。

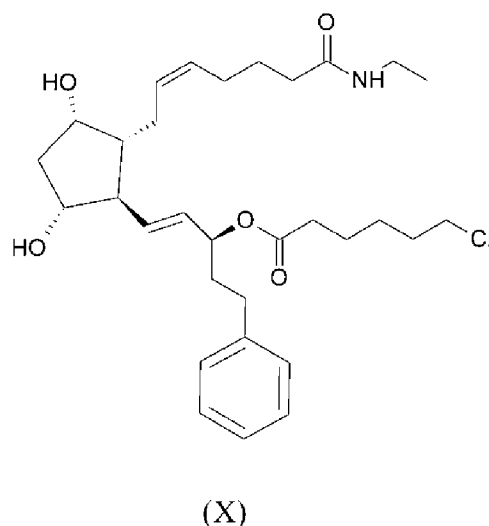
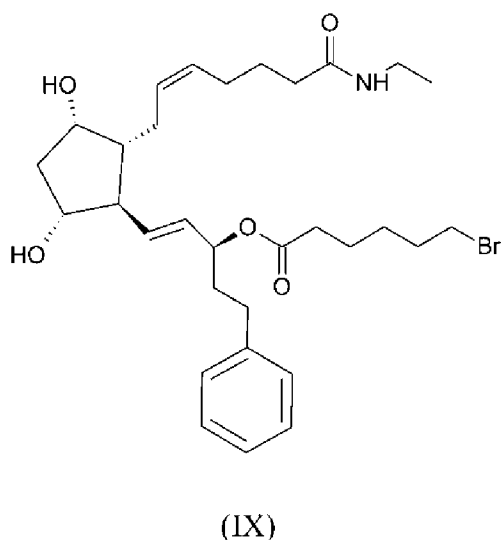
【0004】 WO 2009/136281明確揭示化合物(I)之合成及大致揭示比馬前列素(bimatoprost)之15-烷基硝酸酯之製備。

【0005】 WO 2009/136281揭示式(I)化合物之合成(實施例B-1)，其係經由使呈酮酸酯保護形式之比馬前列素(化合物(II))與6-溴己醯氯反應得到呈酮酸酯保護形式之比馬前列素之15-(6-溴己醯基)酯(化合物(XI))，其經由在乙腈中之硝酸銀轉變為硝酸鹽衍生物及在逆相層析下去保護／純化得到式(I)化合物。



【0006】 以上合成的主要缺點係在酯化反應中使用超過等莫耳量的6-溴己醯氯，其呈現關於潛在誘突變性的結構警示，及在最後步驟中，使用硝酸銀，其於廢水中產生大量銀鹽。此方法的另一主要缺點係形成雜質及諸如比馬前列素之15-(6-溴己醯基)酯(化合物(IX))及比馬前列素之15-(6-氯己醯基)酯(化合物(X))的副產物，其即使於多次純化後仍難以

移除，因其與化合物(I)具有類似的於層析中之極性、類似的親油性及／或溶解度。此外，預測化合物(X)對於細菌活體外誘突變性為陽性。移除此等雜質需要重複純化，其進一步降低產率及提高於商業規模上的製造成本。



【0007】 根據WO 2009/136281中揭示之程序，比馬前列素之15-(6-溴己醯基)酯(化合物(IX))係源自化合物(XI)與硝酸銀之不完全反應，於移除醯酸酯保護後的雜質。比馬前列素之15-(6-氯己醯基)酯(化合物(X))係經由呈醯酸酯保護形式之比馬前列素之15-(6-溴己醯基)酯(化合物(XI))之溴原子與於酯化步驟期間形成之4-二甲基胺基吡啶鹽酸鹽之游離氯陰離子之間的鹵素交換反應所形成的副產物。呈醯酸酯保護形式之比馬前列素之15-(6-氯己醯基)酯(XIa)(流程3)不與硝酸銀反應，及於移除保護基後，得到化合物(X)。

【0008】 WO 2009/136281亦揭示用來製備15-醯基烷基硝酸酯比馬前列素衍生物之替代方法(實施例N-1及O-1)。合成包括使呈醯酸酯保護形式之比馬前列素(式(II)化合物)與硝酸酯-烷基羧酸氯化物在負載於

樹脂(PS-DMAP)上之4-二甲基胺基吡啶(DMAP)的存在下反應，隨後再移除酞酸酯保護基及使用矽膠層析純化。

【0009】 以上方法避免使用6-溴己醯氯及自終產物移除銀鹽。然而，此方法呈現另一主要缺點，亦即使用負載於樹脂上之4-二甲基胺基吡啶，其使得該方法不適用於商業規模放大並且昂貴。此外，於兩連續步驟中以相對於式(II)化合物之高過量添加硝酸酯-烷基羧酸氯化物，實際上烷基羧酸氯化物係以約2至4當量之量添加。

【0010】 WO 2009/136281亦揭示用來製備15-醯基烷基硝酸酯比馬前列素衍生物之另一方法(實施例Q1)。在此方法中，化合物係經由在4-二甲基胺基吡啶之存在下利用過量硝酸酯-烷基-(對硝基苯基)羧酸酯酯化呈酞酸酯保護形式之比馬前列素(II)來獲得。

【0011】 使用層析方法移除未反應的硝酸酯-烷基-(對硝基苯基)羧酸酯及以與式(I)化合物之等莫耳量形成之副產物對硝基酚係此方法的主要缺點。

【0012】 WO 2016/155906揭示氟前列醇(fluprostenol)之15-硝氧基衍生物且其報告氟前列醇異丙基酯之15-硝氧基己基酯的合成。該化合物係經由使呈酞酸酯保護形式之氟前列醇異丙基酯與(4-硝基苯基)-6-硝氧基己酸酯於4-二甲基胺基吡啶過量之存在下反應來製備得。

【0013】 如以上所報告，藉由層析方法移除未反應的硝酸酯-烷基-(對硝基苯基)羧酸酯，及尤其移除對硝基酚副產物係此方法的主要缺點。

【0014】 於本發明之相關日期之前提出申請及之後公開之EP 3 530 649 A1揭示一種用來製備己酸，6-(硝氧基)，(1S,2E)-3-

[(1R,2R,3S,5R)-2-[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基-2-庚烯-1-基]-3,5-二羥基環戊基]-1-(2-苯基乙基)-2-丙烯-1-基酯(化合物(I))之方法。化合物(I)係經由使呈酞酸酯保護形式之比馬前列素與6-(硝氧基)己醯氯偶合及移除酞酸酯保護基來製備。6-(硝氧基)己醯氯中間體係製備自6-(硝氧基)己酸，該6-(硝氧基)己酸係藉由2-己內酯之開環反應及隨後於二氯甲烷中利用HNO₃及H₂SO₄之混合物硝化6-羥基己酸鉀鹽來製備。6-(硝氧基)己酸係未經純化即用來製備對應的醯基氯。

【0015】過去數年中，各種法規機構已於活性醫藥成分(API；Active Pharmaceutical Ingredients)中強調純度要求及雜質鑑定。目前，將任何雜質視為除了藥物物質之外，可能影響醫藥產品之效力及安全性的有機材料。因此，各雜質的鑑定及雜質的定量，尤其彼等帶有針對誘突變性之結構警示者，已成為強制法規要求。此外，由於產品意欲用於醫藥用途，因此可用於合成活性成分之工業上可接受試劑、溶劑、觸媒等的範圍係受限於彼等具有醫藥工業接受度者。

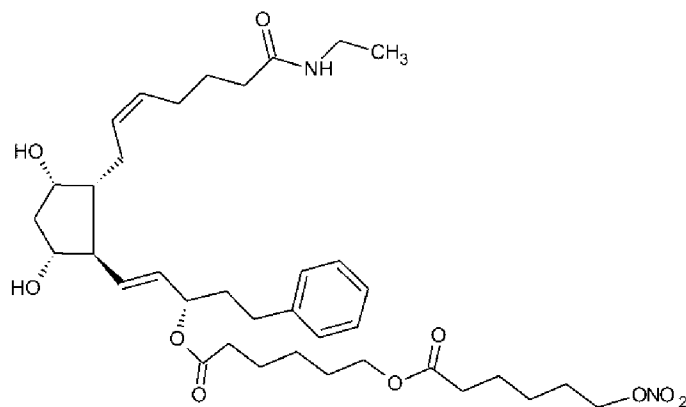
【0016】式(I)化合物係油，且由於其無法結晶，因而其之大規模量的純化困難，因此，雜質的存在係大規模生產的關鍵問題。由於雜質的主要來源係合成的中間體及副產物，因此中間體的純度及反應條件的控制係獲得具有醫藥可接受純度之終產品的重要要求。

【0017】總言之，用來製備式(I)化合物之先前技藝方法具有一些缺點；例如，使用6-溴己醯氯及反應條件導致形成根據如由管理機構所要求之基於統計之方法及根據基於專家規則之方法經預測對細菌活體外誘突變性為陽性的副產物比馬前列素之15-(6-氯己醯基)酯(化合物(X))；

使用硝酸銀來製備中間體硝酸酯-烷基羧酸氯化物或用來硝化呈酞酸酯保護形式之比馬前列素之15-(6-溴己醯基)酯(化合物(XI))導致管理大量的硝酸銀廢水，此外，活性藥物成分中之金屬含量必須滿足特定接受標準。

【0018】 因此，有需要發展一種以良好產率提供高純度己酸，6-(硝氧基)-，(1S,2E)-3-[(1R,2R,3S,5R)-2-[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基-2-庚烯-1-基]-3,5-二羥基環戊基]-1-(2-苯基乙基)-2-丙烯-1-基酯(化合物(I))之工業上可行的方法。

【0019】 化合物(I)可以下列方式有效率地製備得：使呈酞酸酯保護形式之比馬前列素(化合物(II))與6-(硝氧基)己醯氯偶合，6-(硝氧基)己醯氯係經由己內酯與鹼金屬氫氧化物溶液之開環反應製備得，隨後使用HNO₃及H₂SO₄之混合物硝化6-羥基己酸鹼金屬鹽，獲致6-(硝氧基)己酸，將其轉變為6-(硝氧基)己醯氯；6-(硝氧基)己酸及6-(硝氧基)己醯氯係未經進一步純化而使用。然而，由本申請人進行的實驗顯示使用此方法製備的化合物(I)包含「二聚物雜質」比馬前列素之6-{[6-(硝氧基)己醯基]氧基}己酸酯(化合物(XII))

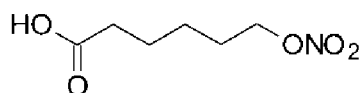


(XII)

【0025】 本發明提供一種適用於大規模生產之方法，其容許以良好產率來獲得己酸，6-(硝氧基)-，(1S,2E)-3-[(1R,2R,3S,5R)-2-[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基-2-庚烯-1-基]-3,5-二羥基環戊基]-1-(2-苯基乙基)-2-丙烯-1-基酯(化合物(I))，其包含低於安全水平之量的預測基因毒性雜質比馬前列素之15-(6-氯己醯基)酯(X)及低於0.1% w/w之量的「二聚物雜質」比馬前列素之6-{[6-(硝氧基)己醯基]氧基}己酸酯(化合物(XII))。

【0026】 「安全水平量」係根據用於慢性治療之 $1.5 \mu\text{g}/\text{天}$ 之毒理關切閾值(TTC；Threshold of Toxicological Concern)可接受攝取來計算。

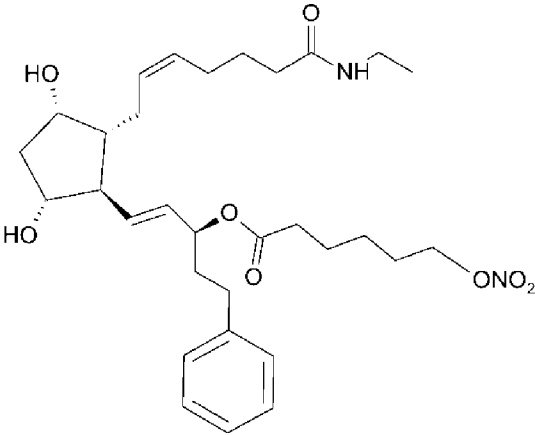
【0027】 此外，本發明係關於一種用來製備式(VIIa)之高純度6-(硝氧基)己酸中間體的方法。



(VIIa)

【發明內容】

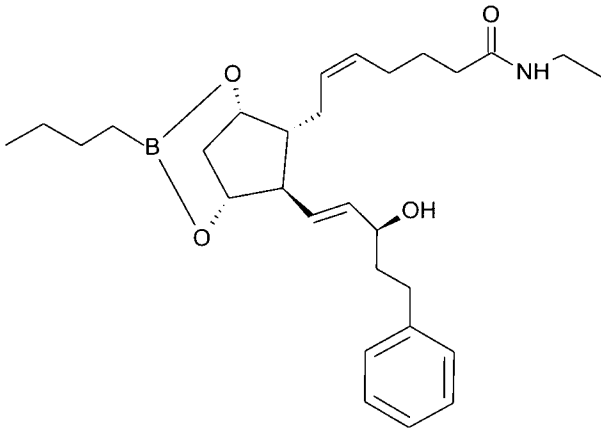
【0028】 本發明之目的係一種製備式(I)之己酸，6-(硝氧基)-，(1S,2E)-3-[(1R,2R,3S,5R)-2-[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基-2-庚烯-1-基]-3,5-二羥基環戊基]-1-(2-苯基乙基)-2-丙烯-1-基酯之方法：



(I)

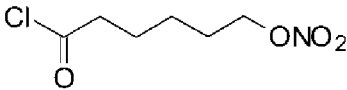
該方法包括以下步驟：

1) 使化合物(II)：



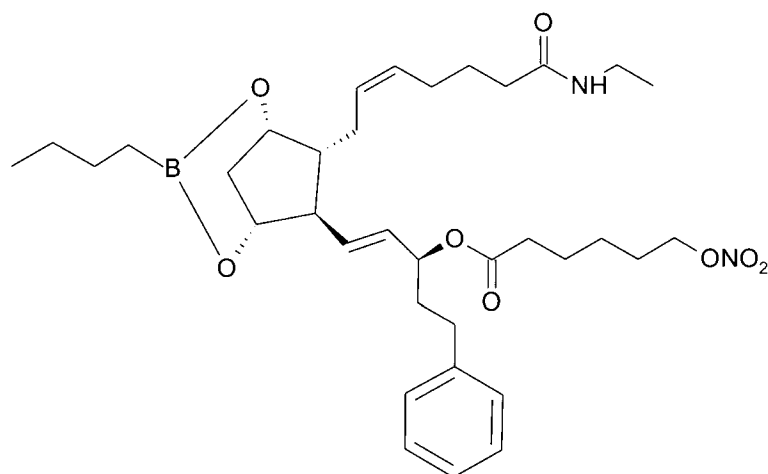
(II)

與6-(硝氧基)己醯氯(IVa)



(IVa)

在呈游離形式之4-二甲基胺基吡啶之存在下反應，得到化合物(III)



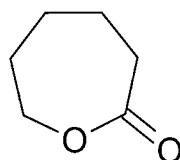
(III)

2) 移除化合物(III)之酮酸酯保護基，得到式(I)化合物；

3) 純化化合物(I)；

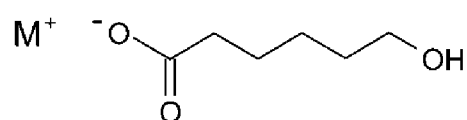
其中該方法之特徵在於6-(硝氧基)己醯氯(化合物(IVa))係經由包含以下步驟的方法來製備：

4) 使2-己內酯(V)：



(V)

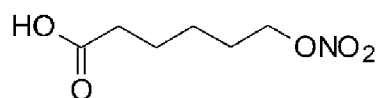
與選自KOH、NaOH、及LiOH之無機鹼反應，獲得式(VI)之6-羥基己酸鹽：



(VI)

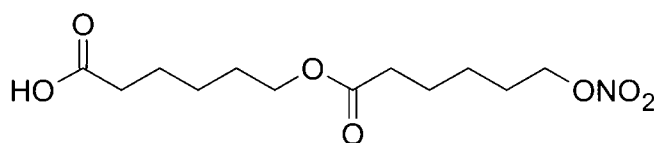
其中M係K、Na或Li。

5) 利用 HNO_3 及 H_2SO_4 之混合物硝化式(VI)化合物，獲得6-(硝氧基)己酸(VIIa)



(VIIa)

所得產物(VIIa)可包含1% w/w之量的副產物6-{[6-(硝氧基)己醯基]氧基}己酸(VIIb)



(VIIb)

6) 經由逆相層析使用甲酸水溶液($\text{H}_2\text{O} + \text{HCOOH}$)及乙腈作為溶離劑來純化硝化混合物；而獲得具有低於HPLC偵測極限($<0.05\%$)之化合物(VIIb)含量的純的式(VIIa)之6-(硝氧基)己酸

7) 使純的6-(硝氧基)己酸(VIIa)與氯化劑反應來獲得6-(硝氧基)己醯氯(IVa)。

【0029】 較佳地，於步驟7)中獲得之6-(硝氧基)己醯氯係未經進一步純化即直接與步驟1)中之式(II)化合物反應。

【0030】 步驟1)係在 0°C 至室溫範圍內之溫度下進行，且較佳地，其在較佳選自甲基第三丁基醚、N,N-二甲基甲醯胺或二氯甲烷之非質子性有機溶劑中進行。最佳地，有機溶劑係甲基第三丁基醚。呈游離形式之4-二甲基胺基吡啶(DMAP)意謂DMAP未結合至樹脂。

【0031】 化合物(II)對6-(硝氧基)己醯氯(IVa)之莫耳比較佳地在1:1.4至1:1.6之範圍內。

【0032】 化合物(II)對4-二甲基胺基吡啶之莫耳比較佳地在1:2.0至1:2.4之範圍內。

【0033】 在步驟2)中，酮酸酯保護基之移除較佳使用甲醇在17°C至24°C之溫度下進行。

【0034】 在步驟4)中，所使用的無機鹼較佳為氫氧化鉀。

【0035】 步驟4)較佳係在選自甲醇、乙醇或異丙醇之溶劑中進行，最佳為甲醇。

【0036】 步驟5)及7)係在二氯甲烷中進行。

【0037】 在步驟6)中，甲酸水溶液($\text{H}_2\text{O} + \text{HCOOH}$)之濃度為0.1%。較佳地，純的式(VIIa)之6-(硝氧基)己酸係經由使用 CH_2Cl_2 萃取含有化合物(VIIa)之溶離份，使用 MgSO_4 乾燥及蒸發溶劑來獲得。

【0038】 步驟7)中使用的較佳氯化劑為草醯氯。

【0039】 化合物(II)係經由使比馬前列素與丁基酮酸反應來獲得。較佳地，反應係在作為溶劑之甲基第三丁基醚中進行。

【0040】 本發明之再一目的係一種說明於下文且描繪於流程1(於流程中報告之步驟的參考編號與以上報告的彼等對應)中之用來製備化合物(VIIa)之方法，該方法包括：

步驟4) 使2-己內酯(V)與氫氧化鉀於甲醇中反應，而獲得6-羥基己酸鉀鹽(式(VI)化合物，其中M係鉀)；

步驟5) 較佳地在約5°C至10°C，較佳10°C之溫度下，使6-羥基己酸鉀鹽與HNO₃及H₂SO₄之混合物於二氯甲烷中反應，獲得粗製6-(硝氧基)己酸(VIIa)，其包含副產物6-{[6-(硝氧基)己醯基]氧基}己酸(VIIb)；

步驟6) 利用逆相層析(例如C18，25 μ - Standard Type Flash Cartridge)，較佳使用90:10至75:25之H₂O+HCOOH 0.1% / 乙腈作為溶離劑來純化含有6-(硝氧基)己酸(VIIa)及6-{[6-(硝氧基)己醯基]氧基}己酸(VIIb)之粗製混合物，及使用CH₂Cl₂萃取含有化合物(VIIa)之溶離份，而獲得含有低於HPLC偵測極限(<0.05%)之量的副產物6-{[6-(硝氧基)己醯基]氧基}己酸(VIIb)之純的6-(硝氧基)己酸(VIIa)。

【0041】 於以上步驟6)中獲得之純化合物(VIIa)可使用於步驟7)中，經由使純的6-(硝氧基)己酸與草醯氯反應以獲得6-(硝氧基)己醯氯(IVa)，其未經進一步純化即使用於如前所述用來獲得式(I)化合物的方法中。

【0042】 一種製備式(I)化合物之較佳方法描繪於流程2中，該較佳方法包括以下步驟：

步驟1a) 使比馬前列素與丁基醯酸(1.1-1.8當量)於甲基第三丁基醚(MTBE)中在約40°C之溫度下反應，然後經由共沸蒸餾移除水以獲得比馬前列素醯酸酯(II)；

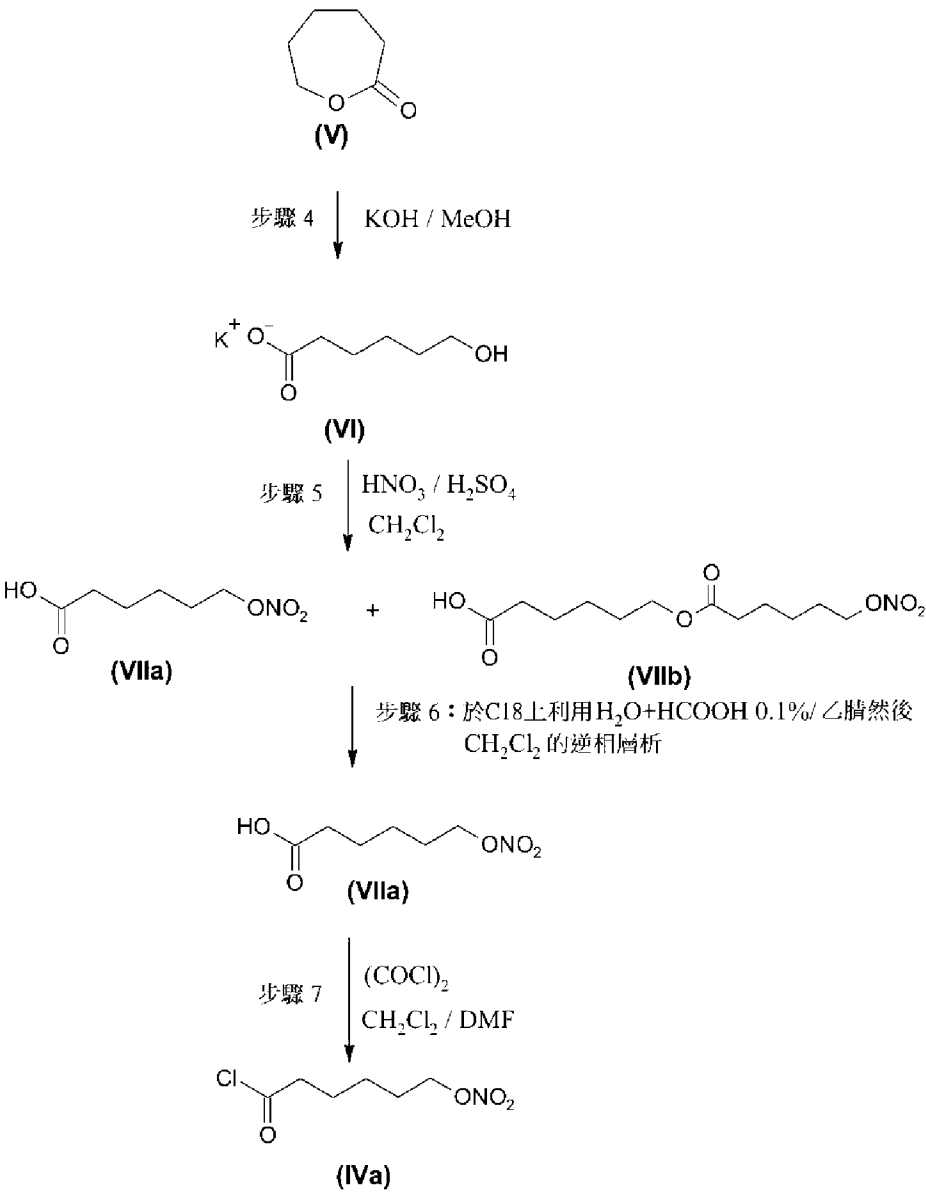
步驟1) 使比馬前列素醯酸酯(II)與6-(硝氧基)己醯氯(IVa) (1.4-1.6當量)於甲基第三丁基醚中在4-二甲基胺基吡啶(2.0-2.4當量)之存在下在0°C至約室溫範圍內之溫度下反應，以獲得(1S,2E)-3-{(6R,7R)-3-丁基-7[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基庚-2-烯-1-基]-2,4-二氧雜-3-硼雜雙

環[3.2.1]辛-6-基}-1-(2-苯基乙基)-丙-2-烯-1-基 6-(硝氧基)己酸酯(III)；

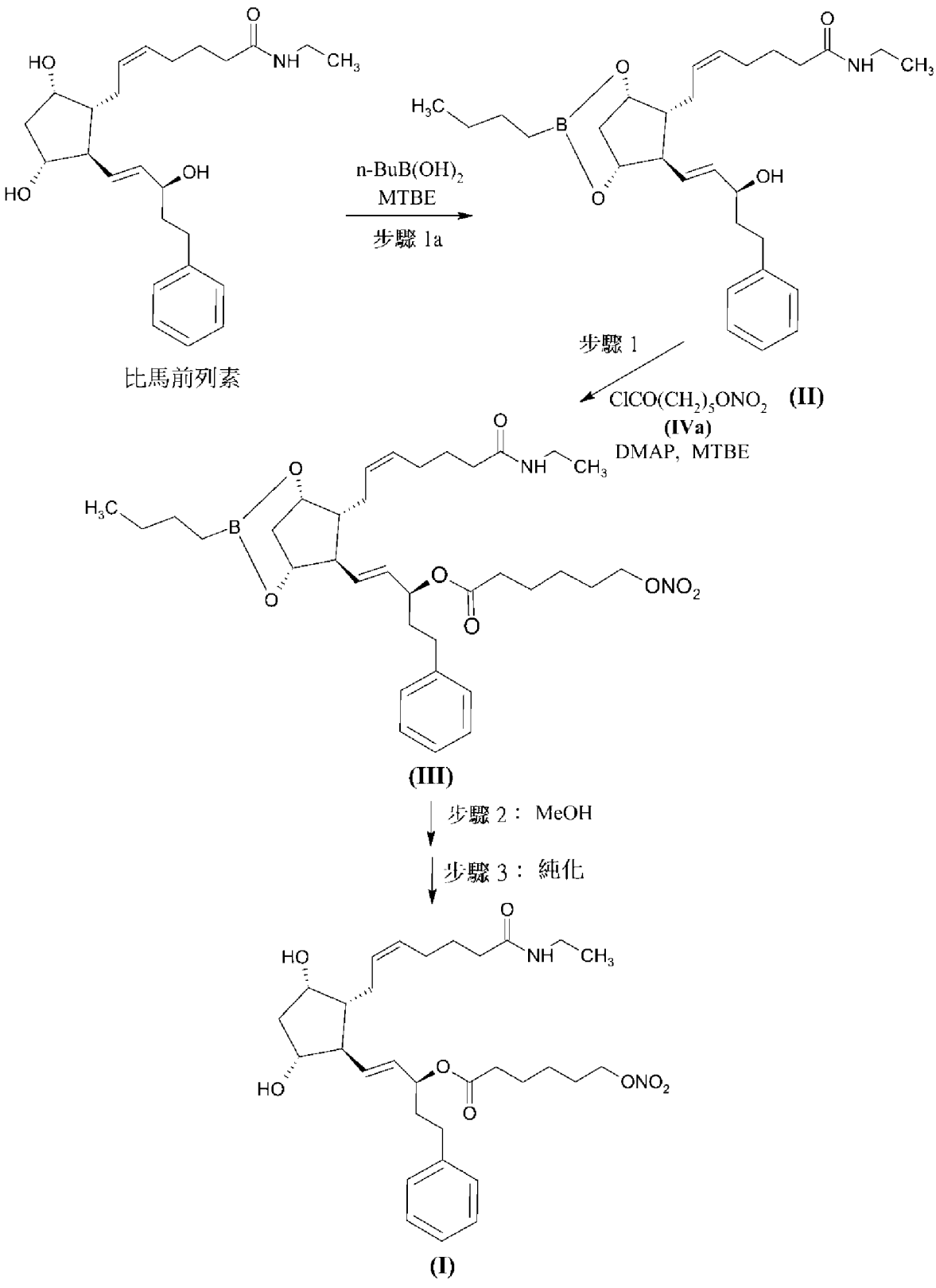
步驟2) 使(1S,2E)-3-{(6R,7R)-3-丁基-7[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基庚-2-烯-1-基]-2,4-二氧雜-3-硼雜雙環[3.2.1]辛-6-基}-1-(2-苯基乙基)-丙-2-烯-1-基 6-(硝氧基)己酸酯(III)與甲醇於室溫下反應以移除保護基及獲得粗製己酸, 6-(硝氧基)-, (1S,2E)-3-[(1R,2R,3S,5R)-2-[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基-2-庚烯-1-基]-3,5-二羥基環戊基]-1-(2-苯基乙基)-2-丙烯-1-基酯(I)；粗製反應混合物之HPLC定量分析偵測到約70%之化合物(I)含量、約0.12%之量的比馬前列素之15-(6-氯己醯基)酯(化合物(X))及低於0.05%之HPLC偵測極限之量的二聚物雜質比馬前列素之6-{[6-(硝氧基)己醯基]氧基}己酸酯(化合物(XII))(參見表1)。

步驟3) 經由層析純化步驟2之粗反應混合物，以獲得具有高於98%之化學純度的己酸, 6-(硝氧基)-, (1S,2E)-3-[(1R,2R,3S,5R)-2-[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基-2-庚烯-1-基]-3,5-二羥基環戊基]-1-(2-苯基乙基)-2-丙烯-1-基酯(I)、約0.12%之量的比馬前列素之15-(6-氯己醯基)酯(化合物(X))及低於0.05%之HPLC偵測極限之量的二聚物雜質比馬前列素之6-{[6-(硝氧基)己醯基]氧基}己酸酯(化合物(XII))。

流程 1

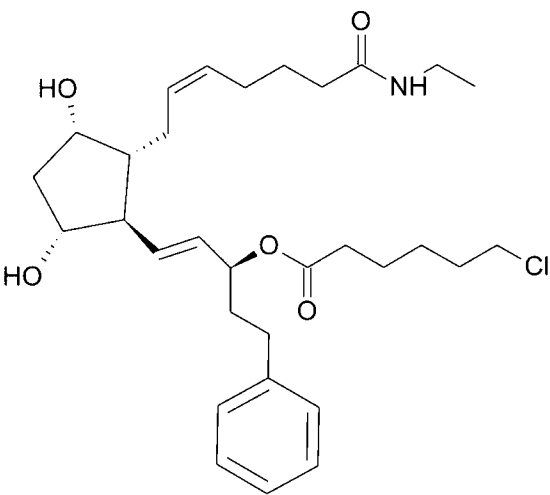


流程 2



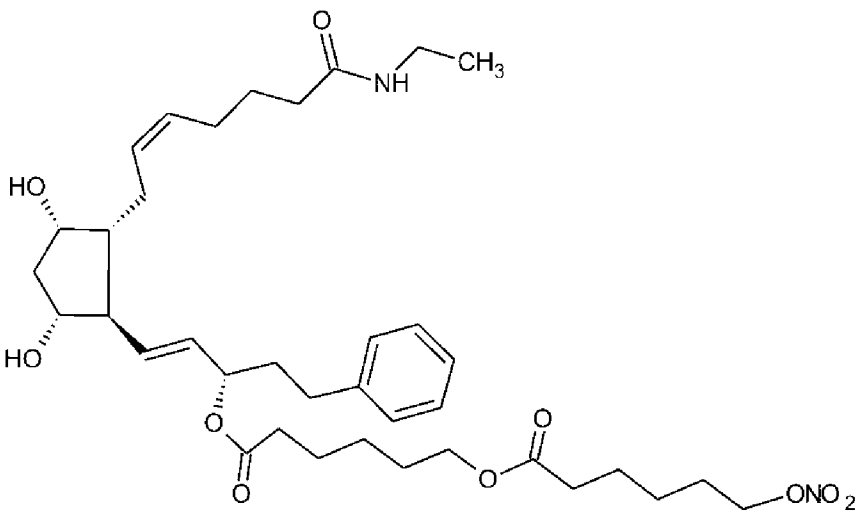
【0043】 本發明方法步驟之實驗程序詳細描述於下。

【0044】 本發明之再一目的係式(I)之己酸, 6-(硝氧基)-, (1S,2E)-3-[(1R,2R,3S,5R)-2-[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基-2-庚烯-1-基]-3,5-二羥基環戊基]-1-(2-苯基乙基)-2-丙烯-1-基酯, 其具有高於98%之化學純度且含有約0.12%之量的比馬前列素之15-(6-氯己醯基)酯(化合物(X))



(X)

及低於0.05%之量的比馬前列素之6-{[6-(硝氧基)己醯基]氧基}己酸酯(化合物(XII))



(XII)

【0045】 本發明之另一目的係一種醫藥調配物，其包含式(I)之己酸，6-(硝氧基)-，(1S,2E)-3-[(1R,2R,3S,5R)-2-[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基-2-庚烯-1-基]-3,5-二羥基環戊基]-1-(2-苯基乙基)-2-丙烯-1-基酯及至少一醫藥上可接受之賦形劑，其中己酸，6-(硝氧基)-，(1S,2E)-3-[(1R,2R,3S,5R)-2-[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基-2-庚烯-1-基]-3,5-二羥基環戊基]-1-(2-苯基乙基)-2-丙烯-1-基酯具有高於98%之化學純度，且含有約0.12%之量的比馬前列素之15-(6-氯己醯基)酯(化合物(X))及低於0.05%之量的二聚物雜質比馬前列素之6-{[6-(硝氧基)己醯基]氧基}己酸酯(化合物(XII))。

【0046】

一般合成

6-(硝氧基)己醯氯(IVa)之製備

所有步驟係於氮氣氛圍下進行。

【0047】

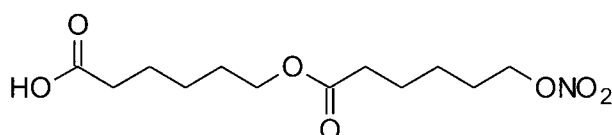
6-羥基己酸鉀鹽(化合物(VI))之製備

將氫氧化鉀(1當量)於甲醇中之溶液逐滴添加至2-己內酯(1當量)於甲醇中之溶液；於添加結束後將混合物於約5℃至20℃下冷卻及於15℃至20℃下攪拌約5小時；移除溶劑(溫度等於或低於40℃)，將粗產物於甲基第三丁基醚中製漿，過濾6-羥基己酸鉀鹽，用甲基第三丁基醚洗滌及乾燥。以95%產率及98.5%之純度獲得6-羥基己酸鉀鹽(VI) (¹H-NMR及HCl分析)。

【0048】

6-(硝氧基)己酸(化合物(VIIa))之製備

在氮氣下於約30分鐘內將6-羥基己酸鉀鹽(VI) (1當量)逐份添加至冷卻於0℃至5℃下之二氯甲烷中之HNO₃ (4.6當量)及H₂SO₄ (3.1當量)之混合物，同時保持溫度低於10℃；將所得混合物於0℃至10℃下攪拌2-3小時，藉由¹H-NMR分析監測反應終點；使混合物於0℃至5℃之溫度下冷卻及於約20分鐘內逐滴添加飽和氯化鈉水溶液。將反應混合物保持於低於10℃之溫度下；使有機層經無水硫酸鈉乾燥，移除溶劑而以86-88%產率及96.2% HPLC純度得到6-(硝氧基)己酸(VIIa)。主要雜質係二聚物化合物6-{[6-(硝氧基)己醯基]氧基}己酸(化合物(VIIb)) (約1%)。



(VIIb)

【0049】 將粗6-(硝氧基)己酸(化合物(VIIa))(1當量)負載於Purezza®-SpheraPlus Flash Cartridges - C18, 25 μ - Standard Type Flash Cartridge, 48 g上，及使用90:10至75:25之H₂O+HCOOH 0.1% / 乙腈溶離。收集含有化合物(VIIa)之溶離份及使用CH₂Cl₂萃取並乾燥，蒸發溶劑，而以80-90%產率得到純的6-(硝氧基)己酸。化合物(VIIa)之HPLC純度為99%及化合物(VIIb)之含量低於0.05%。

【0050】

6-(硝氧基)己醯氯(化合物(IVa))之製備

將N,N-二甲基甲醯胺及草醯氯逐滴添加至6-(硝氧基)己酸於二氯甲烷中之溶液，維持0℃至5℃之溶液溫度持續1小時，然後將混合物於15℃

至30℃下攪拌24小時；蒸發除去溶劑，而以88-97% w/w產率獲得6-(硝氧基)己醯氯，其未經進一步純化即使用。

【0051】

己酸，6-(硝氧基)-，(1S,2E)-3-[(1R,2R,3S,5R)-2-[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基-2-庚烯-1-基]-3,5-二羥基環戊基]-1-(2-苯基乙基)-2-丙烯-1-基酯(化合物(I))之製備

所有步驟係於氮氣氛圍下進行。

【0052】 將比馬前列素添加至甲基第三丁基醚，及將所得溶液冷卻至約15℃至18℃；接著一份式地添加正丁基酮酸(1.11-1.18當量)及將混合物於40℃下攪拌約1-1.5小時。經由¹H NMR分析監測反應終點；使反應混合物冷卻至約20℃至25℃，過濾及經由在等於或低於40℃之溫度下共沸蒸餾甲基第三丁基醚來移除生成的水，直至水含量低於或等於0.25%，而得到粗製比馬前列素酮酸酯(化合物(II))，其未經進一步純化即使用於下一步驟中。

【0053】 將粗製比馬前列素酮酸酯(化合物(II))添加至甲基第三丁基醚及使所得溶液冷卻至約0℃至5℃，添加4-二甲基胺基吡啶(約2.1-2.3當量)，逐滴添加溶解於甲基第三丁基醚中之6-(硝氧基)己醯氯(IVa)(1.5當量)，維持混合物之溫度於約0℃至5℃。於添加後，將混合物於約0℃至5℃下攪拌至多4小時然後過夜直至15℃至20℃；藉由HPLC分析監測反應終點；藉由標準處理方法(一處理實例描述於實施例1中)分離(1S,2E)-3-[(6R,7R)-3-丁基-7[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基庚-2-烯-1-

基]-2,4-二氧雜-3-硼雜雙環[3.2.1]辛-6-基}-1-(2-苯基乙基)-丙-2-烯-1-基-6-(硝氧基)己酸酯(化合物(III))；

【0054】 將(1S,2E)-3-{(6R,7R)-3-丁基-7[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基庚-2-烯-1-基]-2,4-二氧雜-3-硼雜雙環[3.2.1]辛-6-基}-1-(2-苯基乙基)-丙-2-烯-1-基-6-(硝氧基)己酸酯(化合物(III))溶解於甲醇中及將所得溶液於17°C至25°C下攪拌約18小時；利用¹H NMR監測化合物(III)之轉變為化合物(I)。在反應停止的情況中，將混合物蒸發及再溶解於新鮮甲醇中直至完全轉變為止。然後將反應混合物於真空中在低於40°C之溫度下濃縮及經由標準處理方法分離粗製己酸，6-(硝氧基)-，(1S,2E)-3-[(1R,2R,3S,5R)-2-[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基-2-庚烯-1-基]-3,5-二羥基環戊基]-1-(2-苯基乙基)-2-丙烯-1-基酯(化合物(I))。

【0055】 粗製反應混合物之HPLC定量分析偵測到約70%之化合物(I)之含量、約0.12%之量的比馬前列素之15-(6-氯己醯基)酯(化合物(X))及低於0.05%之HPLC偵測極限之量的二聚物雜質(化合物(XII))(參見表1)。

【0056】 利用管柱層析使用矽膠管柱及二氯甲烷和甲醇之混合溶劑純化粗製反應混合物，以關於比馬前列素高於60% w/w之總產率得到化合物(I)。

【0057】 化合物(I)的HPLC定量分析純度係高於98%，比馬前列素之15-(6-氯己醯基)酯(化合物(X))之量係低於0.15%及二聚物雜質(化合物(XII))之含量係低於0.05%。

【0058】 本發明之方法以高產率及高純度提供己酸，6-(硝氧基)-，(1S,2E)-3-[(1R,2R,3S,5R)-2-[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基-2-庚烯-1-基]-3,5-二羥基環戊基]-1-(2-苯基乙基)-2-丙烯-1-基酯(I)，且具有減少量的副產物，尤其是(S,E)-1-((1R,2R,3S,5R)-2-((Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基庚-2-烯基)-3,5-二羥基環戊基)-5-苯基戊-1-烯-3-基6-氯己酸酯(化合物(X))(其經預測對於細菌活體外誘突變性為陽性)，及比馬前列素之6-{[6-(硝氧基)己醯基]氧基}己酸酯(化合物(XII))。

【0059】 以上優點使本發明方法成為可容易轉移至工業規模之具成本效益的方法。

【實施方式】

【0060】

實驗實施例

以下描述的所有合成步驟係於氮氣氛圍下進行。

【0061】

實施例1

己酸，6-(硝氧基)-，(1S,2E)-3-[(1R,2R,3S,5R)-2-[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基-2-庚烯-1-基]-3,5-二羥基環戊基]-1-(2-苯基乙基)-2-丙烯-1-基酯(化合物(I))之合成

6-(硝氧基)己醯氯(化合物(IV))之合成

步驟1：6-羥基己酸鉀鹽(化合物(VI))之合成

於15℃至20℃在冷卻下製備氫氧化鉀(1.98 g，1當量)於甲醇(10 ml)中之溶液且於5℃至20℃下於0.5小時內添加至3.65 g之2-己內酯(1

當量)於甲醇(6 ml)中之溶液。將混合物於15°C至20°C下攪拌4.5小時。將反應混合物於真空中(在等於或低於40°C之溫度下)濃縮得到粗製6-羥基己酸鉀鹽(6.10 g)。將粗製物於20°C至25°C下於甲基第三丁基醚(10 ml)中重新製漿4小時，過濾，用甲基第三丁基醚(2x25 ml)洗滌及於真空中(在等於或低於40°C之溫度下)乾燥，而以93.7%產率得到6-羥基己酸鉀鹽(5.16 g)。熔點208°C。

【0062】 步驟2：6-(硝氧基)己酸(化合物(VIIa))之合成

在0°C至5°C之溫度下於14分鐘內將發煙HNO₃ (4.6當量)添加至濃H₂SO₄ (3.1當量)，然後在0°C至5°C之溫度下於12分鐘內添加CH₂Cl₂ (20 ml)。將6-羥基己酸鉀鹽(10.13 g, 1當量)於低於10°C之溫度下於28分鐘內逐份地添加。將混合物於0°C至10°C下攪拌2.2小時及經由¹H-NMR監測反應顯示99.9%轉化。將混合物冷卻至0°C至5°C及在等於或低於10°C之溫度下於17分鐘內謹慎地添加飽和氯化鈉水溶液。於過濾後，將有機層傾析，經硫酸鈉乾燥及於真空中(在等於或低於40°C之溫度下)濃縮，而以96.2% HPLC純度得到9.15 g之6-(硝氧基)己酸(87.7%產率)及0.75%之6-{[6-(硝氧基)己醯基]氧基}己酸(化合物(VIIb))之含量。

【0063】 步驟3：含有6-{[6-(硝氧基)己醯基]氧基}己酸(化合物(VIIb))之粗製6-(硝氧基)己酸(化合物(VIIa))之純化

將1.5 g於步驟2中獲得之粗製6-(硝氧基)己酸(VIIa)負載於Purezza®-Sphera^{Plus} Flash Cartridges - C18, 25 μ - Standard Type Flash Cartridge, 48 g上，及使用90:10至75:25之H₂O+HCOOH 0.1% / 乙腈溶離。收集以78:22溶離之含有化合物(VIIa)之溶離份，然後使用

CH₂Cl₂ (3x150mL)萃取，經硫酸鈉乾燥及於真空中在低於40℃之溫度下濃縮，得到具有>99.5%之HPLC純度的6-(硝氧基)己酸1.04 g (69%產率)及化合物(VIIb)之量< 0.05%。

【0064】 步驟4：6-(硝氧基)己醯氯(化合物(IVa))之合成

將6-(硝氧基)己酸(2.61 g, 1當量)溶解於二氯甲烷(15 ml)中及於氮氣下冷卻至0℃至5℃。然後於0℃至5℃下於34分鐘內添加N,N-二甲基甲醯胺(0.16 ml)及草醯氯(1.93 g)。將反應混合物於0℃至5℃下攪拌3.5小時然後於15℃至20℃下攪拌14小時。然後將反應混合物於真空中(溫度等於或低於40℃)濃縮及與二氯甲烷共蒸發而以97%產率得到6-(硝氧基)己醯氯(化合物(IVa))(2.8g)。

【0065】 步驟5：(Z)-7-[(1S,5R,6R,7R)-3-丁基-6-[(E,3S)-3-羥基-5-苯基-戊-1-烯基]-2,4-二氧雜-3-硼雜雙環[3.2.1]辛-7-基]-N-乙基-庚-5-烯醯胺(化合物(II))之合成

將比馬前列素(2.3 g, 1當量)溶解於甲基第三丁基醚(30 ml)中及添加丁基酞酸(0.62 g, 1.13當量)。將混合物加熱至40℃持續1小時。利用¹H NMR監測反應直至轉化率>97%。

【0066】 將反應混合物用甲基第三丁基醚(10 ml)沖洗及將混合物於約40℃之溫度下在真空中加熱進行共沸蒸餾。持續利用甲基第三丁基醚沖洗及共沸蒸餾直至(Z)-7-[(1S,5R,6R,7R)-3-丁基-6-[(E,3S)-3-羥基-5-苯基-戊-1-烯基]-2,4-二氧雜-3-硼雜雙環[3.2.1]辛-7-基]-N-乙基-庚-5-烯醯胺(化合物(II))之水含量等於或低於0.25%。以定量產率(2.84 g)獲得化合物(II)。

【0067】 步驟6：(1S,2E)-3-{(6R,7R)-3-丁基-7[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基庚-2-烯-1-基]-2,4-二氧雜-3-硼雜雙環[3.2.1]辛-6-基}-1-(2-苯基乙基)-丙-2-烯-1-基 6-(硝氧基)己酸酯(化合物(III))之合成

將(Z)-7-[(1S,5R,6R,7R)-3-丁基-6-[(E,3S)-3-羥基-5-苯基-戊-1-烯基]-2,4-二氧雜-3-硼雜雙環[3.2.1]辛-7-基]-N-乙基-庚-5-烯醯胺(化合物(II))(3.21 g, 1當量)溶解於甲基第三丁基醚(30 ml)中並冷卻至0℃至5℃。一份式地添加4-二甲基胺基吡啶(1.85 g, 2.27當量)。在0℃至5℃下於1小時內逐滴添加6-(硝氧基)己醯氯(化合物(IVa)) (1.96, 1.5當量)於甲基第三丁基醚(5 ml)中之溶液。於在0℃至5℃下攪拌24分鐘，及在15℃至20℃下攪拌14.5小時後，使反應混合物於0℃至5℃下冷卻及在15℃之最高溫度下於20分鐘內添加去離子水。

【0068】 將混合物攪拌5分鐘。將水層棄置。將有機層用1N鹽酸溶液然後用去離子水及最後用鹽水洗滌。

【0069】 使有機層經硫酸鈉乾燥及於真空中濃縮得到(1S,2E)-3-{(6R,7R)-3-丁基-7[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基庚-2-烯-1-基]-2,4-二氧雜-3-硼雜雙環[3.2.1]辛-6-基}-1-(2-苯基乙基)-丙-2-烯-1-基 6-(硝氧基)己酸酯(化合物(III)) (4.1 g, 94%產率)。

【0070】 步驟7：己酸，6-(硝氧基)-, (1S,2E)-3-[(1R,2R,3S,5R)-2-[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基-2-庚烯-1-基]-3,5-二羥基環戊基]-1-(2-苯基乙基)-2-丙烯-1-基酯(I) (化合物(I))之合成。

【0071】 將(1S,2E)-3-{(6R,7R)-3-丁基-7[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基庚-2-烯-1-基]-2,4-二氧雜-3-硼雜雙環[3.2.1]辛-6-基}-1-(2-苯

基乙基)-丙-2-烯-1-基 6-(硝氧基)己酸酯(化合物(III)) (4 g粗製物，1當量)溶解於甲醇(30 ml)中及將所得溶液於室溫下攪拌24小時，利用¹H-NMR監測反應。然後於真空中在35℃至40℃下移除甲醇。將殘餘物溶解於甲基第三丁基醚中及用去離子水及接著用鹽水洗滌。使有機層經硫酸鈉乾燥及於真空中在低於40℃之溫度下濃縮以得到粗製反應混合物(3.8 g)，其於HPLC(%面積)逆相定量分析後顯示混合物中化合物(I)之量為73%，比馬前列素之15-(6-氯己醯基)酯(化合物(X))之含量為0.11%及二聚物雜質比馬前列素之6-{[6-(硝氧基)己醯基]氧基}己酸酯(化合物(XII))之含量低於0.05% (參見表1)。

【0072】 使殘餘物於矽膠管柱上利用二氯甲烷／甲醇95:5作為溶離劑進行層析。利用TLC監測溶離份及僅將純溶離份混合及於真空中在等於或低於40℃之溫度下濃縮得到具有HPLC純度 > 98%之化合物(I)，比馬前列素之15-(6-氯己醯基)酯(化合物(X))之含量為0.11%及二聚物雜質比馬前列素之6-{[6-(硝氧基)己醯基]氧基}己酸酯(化合物(XII))之含量低於0.05%。

【0073】

實施例2 (比較例)

己酸，6-(硝氧基)-，(1S,2E)-3-[(1R,2R,3S,5R)-2-[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基-2-庚烯-1-基]-3,5-二羥基環戊基]-1-(2-苯基乙基)-2-丙烯-1-基酯(化合物(I))之合成(根據揭示於WO 2009/136281中之程序(以下流程3))

步驟A：(Z)-7-[(1S,5R,6R,7R)-3-丁基-6-[((E,3S)-3-羥基-5-苯基-戊-1-烯基)-2,4-二氧雜-3-硼雜雙環[3.2.1]辛-7-基]-N-乙基-庚-5-烯醯胺(化合物(II))之製備

將丁基酮酸(1.129當量)添加至比馬前列素(1 g, 1當量)於二氯甲烷(16 ml)中之溶液。將混合物加熱至40℃持續1小時，利用¹H-NMR監測反應進度。於減壓下移除溶劑2小時。添加二氯甲烷(16 ml)及將混合物加熱至40℃持續再多一小時。於壓力下移除溶劑40分鐘。添加二氯甲烷(16 ml)及將混合物加熱至40℃持續16小時。蒸發溶劑及將粗產物於高真空中在40℃下乾燥3小時，以定量產率得到化合物(II)，其未經任何進一步純化即使用於下一步驟中。

【0074】 MS：m/z = 438 [M+H]⁺

【0075】 步驟B：(S,E)-1-((1S,5R,6R,7S)-3-丁基-7-((Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基庚-2-烯-1-基)-2,4-二氧雜-3-硼雜雙環[3.2.1]辛-6-基)-5-苯基戊-1-烯-3-基 6-溴己酸酯(化合物(XI))之合成。

【0076】 將4-二甲基胺基吡啶(1.1當量)及6-溴己醯氯(1.15當量)添加至經冷卻至0-5℃之化合物(II) (0.8 g, 1當量)於二氯甲烷(15.3 ml)中之溶液。將混合物於0℃至5℃下攪拌0.5小時及於20℃至25℃下攪拌16小時。

【0077】 添加4-二甲基胺基吡啶(0.25當量)及6-溴己醯氯(0.25當量)及將混合物再多攪拌19小時。利用¹H-NMR監測反應直至完全轉化。將混合物用二氯甲烷(15.3 ml)稀釋及將有機溶液用去離子水(6.25 ml)及鹽水(6.25 ml)洗滌。使有機相經Na₂SO₄乾燥及於真空中濃縮，得到呈

淺黃色油狀之化合物(XI)(經計算為定量產率)，其未經進一步純化即使用於下一步驟中。

【0078】 步驟C：己酸，6-(硝氧基)-，(1S,2E)-3-[(1R,2R,3S,5R)-2-[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基-2-庚烯-1-基]-3,5-二羥基環戊基]-1-(2-苯基乙基)-2-丙烯-1-基酯(化合物(I))之合成

將硝酸銀(3.72當量)添加至化合物(VIII) (0.8 g, 1當量)於乙腈(9.4 ml)中之溶液。將混合物於20℃至25℃下攪拌18小時。於DMSO中利用¹H-NMR監測轉化率。

【0079】 添加硝酸銀(0.5當量)及將混合物再多攪拌20小時，直至HPLC分析顯示99.7%轉化率。

【0080】 將混合物於Whatman過濾器上過濾。將濾液於真空中濃縮。將殘餘物溶解於乙酸乙酯(30 ml)中。將有機相用去離子水(5 ml)及鹽水(5 ml)洗滌。於經Na₂SO₄乾燥後，使層於真空中濃縮。將殘餘物於矽膠管柱上利用二氯甲烷／甲醇95:5作為溶離劑進行層析。利用TLC監測溶離份，將純溶離份混合及於真空中在等於或低於40℃之溫度下濃縮，連同4.27%比馬前列素以86%總產率得到化合物(I)。

【0081】 HPLC(%面積)逆相定量分析顯示於層析後化合物(I)之純度為77%及比馬前列素之15-(6-氯己醯基)酯(化合物(X))之含量為8.34%。

表1：HPLC定量分析				
實施例	含量(%)			
	化合物(I) (%)	雜質(XII) %	雜質(X) %	比馬前列素 %
1	73 [#]	<0.05%	0.11	0
2	77 [*]	n.a	8.34	4.27

#：實施例1之步驟7之粗製反應混合物中之化合物(I)的量

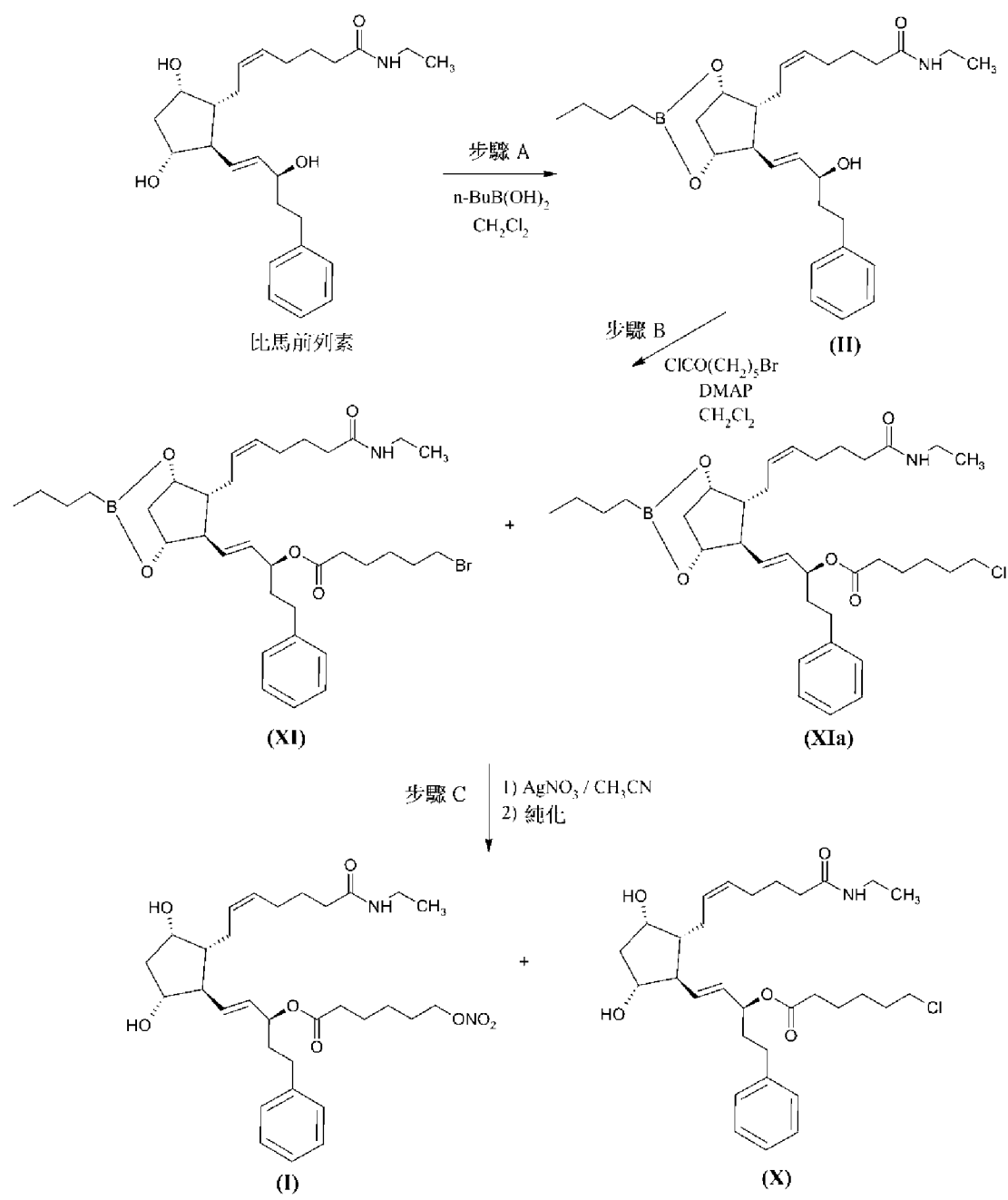
*：化合物於步驟C結束時於矽膠上進行層析

【0082】 表1報告根據本發明之方法(實施例1)及根據WO 2009/136281中揭示之方法(實施例2)之化合物(I)之HPLC定量分析及於製備化合物(I)期間形成之主要雜質的結果。

【0083】 化合物(X)係經預測對細菌活體外誘突變性為陽性之比馬前列素之15-(6-氯己醯基)酯。結果顯示本發明之方法提供具有0.11%之化合物(X)含量及低於0.05%之偵測極限之「二聚物雜質」比馬前列素之6-{[6-(硝氧基)己醯基]氧基}己酸酯(化合物(XII))之含量的化合物(I)。先前技藝中揭示之方法產生具有較低化學純度及8.34%之化合物(X)含量的化合物(I)，亦即較本發明方法中所生成之化合物(X)之量高超過30倍。

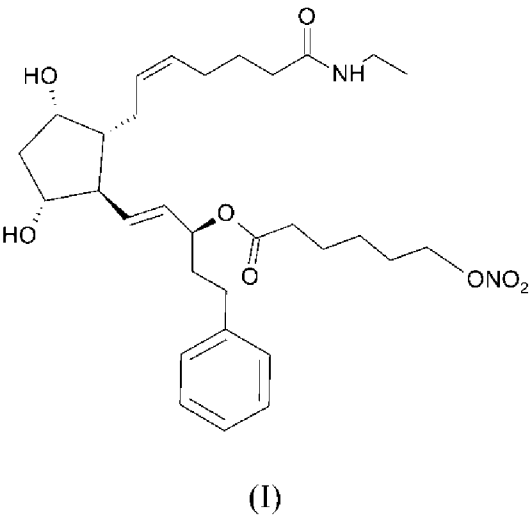
【0084】 結果顯示本發明之方法呈現超越先前技藝中描述之方法的改良。

流程 3



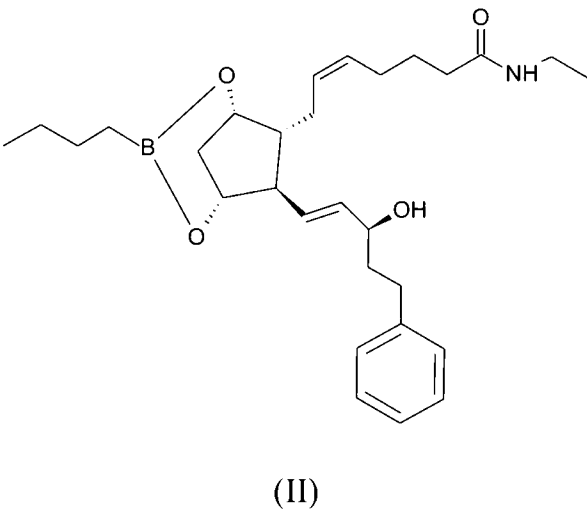
【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種製備式(I)之己酸，6-(硝氧基)-，(1S,2E)-3-[(1R,2R,3S,5R)-2-[(2Z)-7-(乙基胺基)-7-側氧基-2-庚烯-1-基]-3,5-二羥基環戊基]-1-(2-苯基乙基)-2-丙烯-1-基酯之方法，

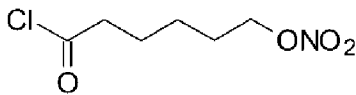


該方法包括以下步驟：

1) 使化合物(II)：

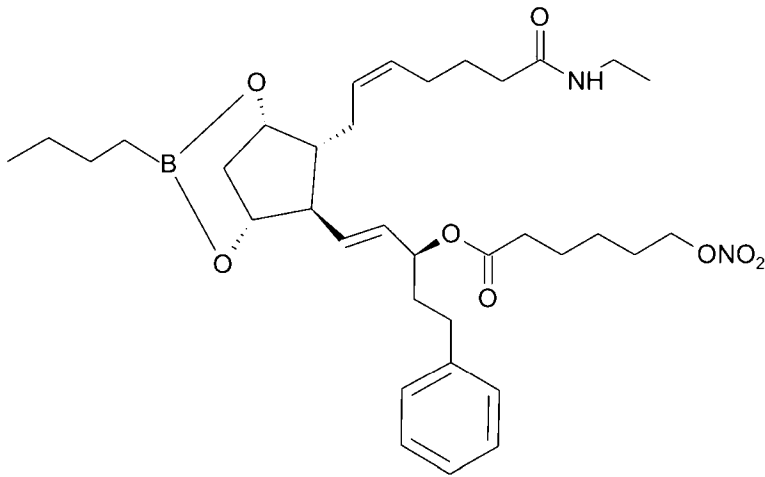


與6-(硝氧基)己醯氯(IVa)



(IVa)

在呈游離形式之4-二甲基氨基吡啶之存在下反應，得到化合物(III)



(III)

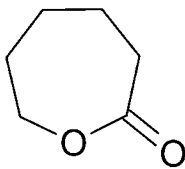
2) 移除化合物(III)之酮酸酯保護基，得到式(I)化合物；

3) 純化化合物(I)；

該方法之特徵在於

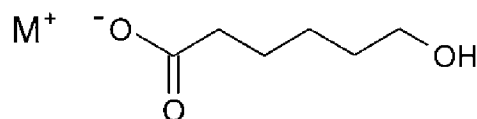
該6-(硝氧基)己醯氯(IVa)係藉由包含以下步驟的方法來製備：

4) 使2-己內酯(V)



(V)

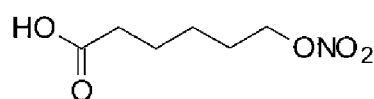
與選自KOH、NaOH、及LiOH之無機鹼反應，獲得式(VI)之6-羥基己
酸鹽



(VI)

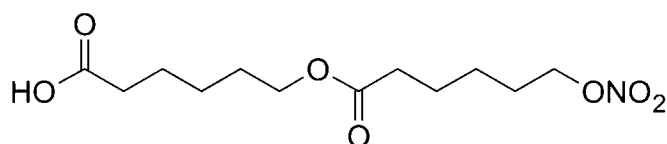
其中M係K、Na或Li；

5) 利用HNO₃及H₂SO₄之混合物硝化式(VI)化合物，獲得6-(硝氧基)己酸(VIIa)；



(VIIa)

6) 經由逆相層析使用甲酸水溶液(H₂O+HCOOH)及乙腈作為溶離劑來純化硝化混合物，而獲得具有低於HPLC偵測極限(<0.05%)之含量之6- {[6-(硝氧基)己醯基]氧基}己酸(化合物(VIIb))之純的式(VIIa)之6-(硝氧基)己酸；及



(VIIb)

7) 使該純的6-(硝氧基)己酸(VIIa)與氯化劑反應來獲得6-(硝氧基)己醯氯(IVa)。

【請求項2】 如請求項1之方法，其中，步驟1)係在0℃至室溫範圍內之溫度下在非質子性有機溶劑中進行。

【請求項3】 如請求項2之方法，其中，該非質子性有機溶劑係甲基第三丁基醚。

【請求項4】 如請求項1至3中任一項之方法，其中，在步驟1)中，化合物(II)對6-(硝氧基)己醯氯(IVa)之莫耳比係自1:1.4至1:1.6，及化合物(II)對4-二甲基胺基吡啶之莫耳比係自1:2.0至1:2.4。

【請求項5】 如請求項1至3中任一項之方法，其中，在步驟4)中，該無機鹼係氫氧化鉀。

【請求項6】 如請求項1至3中任一項之方法，其中，步驟4)係在選自甲醇、乙醇或異丙醇之溶劑中進行。

【請求項7】 如請求項6之方法，其中，該溶劑為甲醇。

【請求項8】 如請求項1至3中任一項之方法，其中，步驟5)係在二氯甲烷中進行。

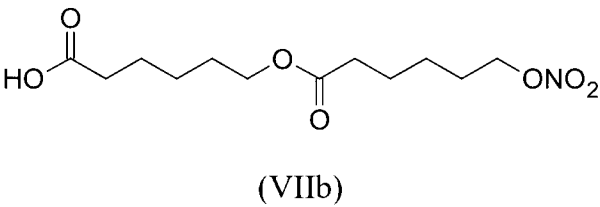
【請求項9】 如請求項1至3中任一項之方法，其中，在步驟6)中，甲酸水溶液($\text{H}_2\text{O} + \text{HCOOH}$)之濃度為0.1% w/w。

【請求項10】 如請求項1至3中任一項之方法，其中，在步驟6)中，使用 CH_2Cl_2 萃取含有化合物(VIIa)之層析溶離份，乾燥及蒸發溶劑。

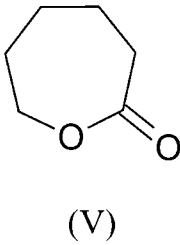
【請求項11】 如請求項1至3中任一項之方法，其中，步驟7)係於二氯甲烷中進行及該氯化劑為草醯氯。

【請求項12】 如請求項1至3中任一項之方法，其中，於步驟7)中獲得之該6-(硝氧基)己醯氯係未經進一步純化即使用。

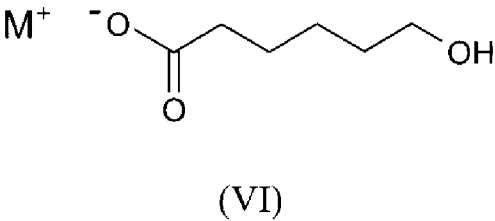
【請求項13】 一種用來製備具有99%之純度及低於0.05%之{[6-(硝氧基)己醯基]氧基}己酸(化合物(VIIb))之含量的6-(硝氧基)己酸(化合物(VIIa))之方法，該方法包括以下步驟：



4) 使2-己內酯(V)



與KOH於甲醇中反應，獲得式(VI)之6-羥基己酸鹽



其中M係K；

5) 在二氯甲烷中在5℃至10℃之溫度下，利用HNO₃及H₂SO₄之混合物硝化該式(VI)化合物；

6) 利用逆相層析，使用0.1%甲酸水溶液及乙腈作為溶離劑來純化該硝化混合物，隨後使用二氯甲烷萃取溶離份，而獲得該6-(硝氧基)己酸

(VIIa)

