



(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 201021855 A1

(43)公開日：中華民國 99 (2010) 年 06 月 16 日

(21)申請案號：098138404

(22)申請日：中華民國 98 (2009) 年 11 月 12 日

(51)Int. Cl.：

A61K9/19 (2006.01)

A61K31/662 (2006.01)

A61K31/506 (2006.01)

C07F9/6509 (2006.01)

C07D403/04 (2006.01)

(30)優先權：2008/11/13

美國

61/114,144

(71)申請人：太景生物科技股份有限公司 (中華民國) TAIGEN BIOTECHNOLOGY CO., LTD.
(TW)

臺北市內湖區新明路 138 號 7 樓

(72)發明人：嚴啟峰 YEN, CHI FENG (TW)；程宏遠 YUAN, JUDY (US)；金其新 KING, CHI-HSIN RICHARD (US)

(74)代理人：惲軼群；陳文郎

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：27 項 圖式數：0 共 46 頁

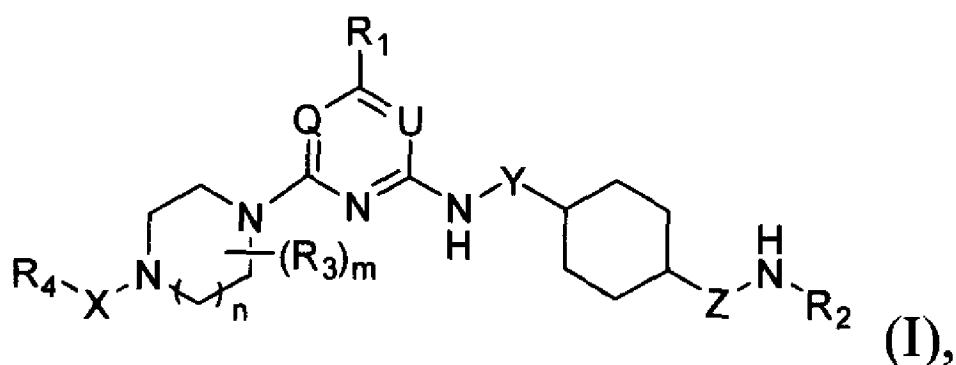
(54)名稱

凍乾製劑

LYOPHILIZATION FORMULATION

(57)摘要

本發明涉及一種含本說明書中所述的嘓啖化合物的凍乾製劑的藥學套組。還公開了製備這種凍乾製劑的凍乾方法。





(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 201021855 A1

(43)公開日：中華民國 99 (2010) 年 06 月 16 日

(21)申請案號：098138404

(22)申請日：中華民國 98 (2009) 年 11 月 12 日

(51)Int. Cl.：

A61K9/19 (2006.01)

A61K31/662 (2006.01)

A61K31/506 (2006.01)

C07F9/6509 (2006.01)

C07D403/04 (2006.01)

(30)優先權：2008/11/13

美國

61/114,144

(71)申請人：太景生物科技股份有限公司 (中華民國) TAIGEN BIOTECHNOLOGY CO., LTD.
(TW)

臺北市內湖區新明路 138 號 7 樓

(72)發明人：嚴啟峰 YEN, CHI FENG (TW)；程宏遠 YUAN, JUDY (US)；金其新 KING, CHI-HSIN RICHARD (US)

(74)代理人：惲軼群；陳文郎

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：27 項 圖式數：0 共 46 頁

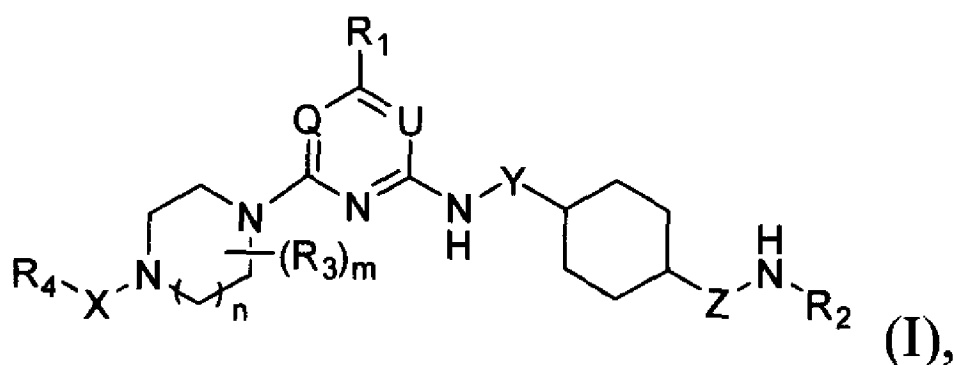
(54)名稱

凍乾製劑

LYOPHILIZATION FORMULATION

(57)摘要

本發明涉及一種含本說明書中所述的嘓啖化合物的凍乾製劑的藥學套組。還公開了製備這種凍乾製劑的凍乾方法。



六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係有關於凍乾製劑。

【先前技術】

發明背景

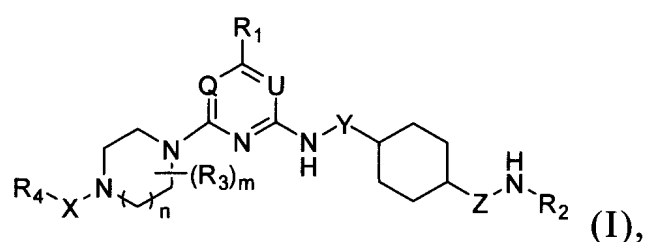
一些在水溶液中的活性藥物組分在儲存期間不穩定，容易分解。因此需要能滿足保存限期要求的合適製劑。

【發明內容】

發明概要

本發明是基於以下出人意料的發現，即，與嘧啶化合物本身相比，在一些製劑中的藥物活性的嘧啶化合物的吸濕性更低，穩定性更高。

一個方面，本發明涉及一種藥學套組，該藥學套組包括密封的容器和設置在該容器中的藥物活性化合物的凍乾製劑，該化合物具有通式(I)：

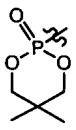
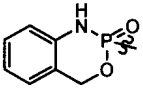


其中，Q和U各自獨立地是CH或N，前提是，Q和U中至少一個是N；X、Y和Z各自獨立地是：C₁₋₅亞烷基或不存在；m是0、1、2、3、4或5；n是0、1或2；R₁是H、C₁-C₁₀烷基、C₃-C₂₀環烷基、C₃-C₂₀雜環烷基、芳基、雜芳基、鹵素、CN、OR_a、COOR_a、OC(O)R_a、C(O)R_a、C(O)NR_aR_b或NR_aR_b；

R_2 是 C_1 - C_{10} 烷基、 C_3 - C_{20} 環烷基、 C_3 - C_{20} 雜環烷基、芳基、雜芳基或 C_1 - C_{10} 烷基，任選被 C_1 - C_{10} 烷基、 C_3 - C_{20} 環烷基、 C_3 - C_{20} 雜環烷基或 $N(R_cR_d)$ 取代；各 R_3 基團獨立地是 C_1 - C_{10} 烷基、 C_3 - C_{20} 環烷基、 C_3 - C_{20} 雜環烷基、芳基、雜芳基、鹵素、CN、 OR_e 、 $COOR_e$ 、 $OC(O)R_e$ 、 $C(O)R_e$ 、 $C(O)NR_eR_f$ 或 NR_eR_f ；或者， $(R_3)_m$ 是與它所結合的環上的兩個碳原子相連的 C_{1-5} 亞烷基或者是與它所結合的環上的一個碳原子相連的 C_{2-8} 亞烷基； R_4 是 $P(=O)(OR_g)(OR_i)$ 、 $P(=O)(NHR_g)(OR_i)$ 、 $P(=O)(NR_g)(NR_i)$ 、 $S(=O)_2OR_g$ 或 $S(=O)_2R_g$ ；其中， R_a 、 R_b 、 R_c 、 R_d 、 R_e 、 R_f 、 R_g 和 R_i 各自獨立地是H、 C_1 - C_{10} 烷基、 C_3 - C_{20} 環烷基、 C_3 - C_{20} 雜環烷基、芳基、雜芳基或 $-C(O)R$ ， R 是H、 C_1 - C_{10} 烷基、 C_3 - C_{20} 環烷基、 C_3 - C_{20} 雜環烷基、芳基或雜芳基；或者， R_a 和 R_b 連接一起形成 C_{2-8} 亞烷基， R_c 和 R_d 相連一起形成 C_{2-8} 亞烷基， R_e 和 R_f 相連一起形成 C_{2-8} 亞烷基或者 R_g 和 R_i 相連一起形成 C_{1-5} 亞烷基。

上述化合物的亞組的特徵在於：U是N；X是 $-CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 或 $-CH_2CH_2CH_2-$ ；Y是 $-CH_2$ 或不存在；Z是 $-CH_2-$ ；m是0、1或2；n是1或2； R_1 是 NH_2 ； R_2 是 C_{1-5} 烷基取代的 $N(R_cR_d)$ ，如 $-CH_2CH_2-N(R_cR_d)$ 或 $-CH_2CH_2CH_2-N(R_cR_d)$ ，其中 R_c 是H， R_d 是 C_1 - C_{10} 烷基、 C_3 - C_{20} 環烷基、 C_3 - C_{20} 雜環烷基、芳基或雜芳基或者， R_c 和 R_d 相連一起形成 C_{4-6} 亞烷基； R_3 是 C_1 - C_3 烷基、 C_3 - C_8 環烷基、 C_3 - C_8 雜環烷基、芳基、雜芳基、鹵素、CN、 OR_e 或 $C(O)NR_eR_f$ ；或者 R_3 是與它所結合的環上的兩個碳原子相連的 C_{1-2} 亞烷基或是與它所結合的

環上的一個碳原子相連的C₂₋₅亞烷基；R₄是P(=O)(OH)₂、

P(=O)(OH)(OCH₂CH₃)、P(=O)(OCH₂CH₃)₂、、、
S(=O)₂OH、S(=O)₂CH₃或S(=O)₂Ph。

術語“烷基”表示飽和或不飽和的直鏈或支鏈烴部分，如-CH₃、-CH₂-CH=CH₂或支鏈-C₃H₇。術語“亞烷基”表示飽和或不飽和的直鏈或支鏈的二價烴基，如-CH₂-、-CH₂CH₂-、-CH₂CH₂CH₂-或-CH=CH-。術語“環烷基”表示飽和或不飽和的非芳族的單環、二環、三環或四環的烴部分，如環己基、環己烯-3-基或金剛烷基。術語“雜環烷基”表示飽和或不飽和的非芳族的單環、二環、三環或四環部分，該部分基於一個或多個環雜原子(如，N、O或S)，如4-四氫吡喃基或4-吡喃基。術語“芳基”表示有一個或多個芳環的烴部分。芳基部分的例子包括：苯基(Ph)、亞苯基、萘基、亞萘基、茚基、蒽基和菲基。術語“雜芳基”表示包含一個或多個具有至少一個雜原子(例如N、O或S)的芳環的部分。雜芳基部分的例子包括：呋喃基、亞呋喃基、茚基、吡咯基、噻吩基、噁唑基、咪唑基、噻唑基、吡啶基、嘧啶基、喹啉基、喹啉基、異喹啉基和吲哚基。

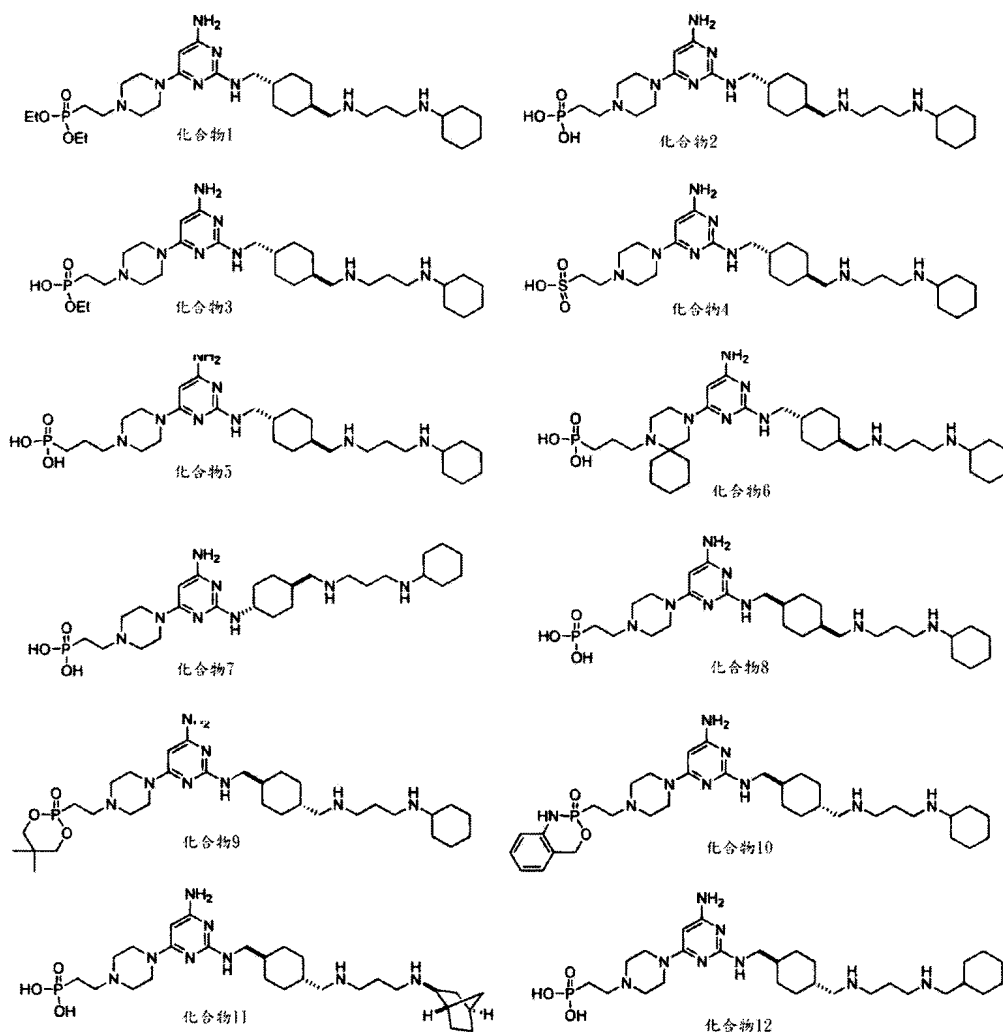
除非另外說明，本文所述的烷基、亞烷基、環烷基、雜環烷基、芳基和雜芳基同時包括取代的和未取代的部分。環烷基、雜環烷基、芳基和雜芳基上可能的取代基包括，但不限於：C₁-C₁₀烷基、C₂-C₁₀烯基、C₂-C₁₀炔基、C₃-C₂₀環烷基、C₃-C₂₀環烯基、C₃-C₂₀雜環烷基、C₃-C₂₀雜環烯基、

C₁-C₁₀烷氧基、芳基、芳氧基、雜芳基、雜芳氧基、氨基、C₁-C₁₀烷基氨基、C₁-C₂₀二烷基氨基、芳基氨基、二芳基氨基、羥基、鹵素、硫代、C₁-C₁₀烷硫基、芳硫基、C₁-C₁₀烷基磺醯基、芳基磺醯基、醯基氨基、氨基醯基、氨基硫代醯基、脒基、胍基、脲基、氰基、硝基、醯基、硫代醯基、羧基和羧酸酯基。另一方面，烷基和亞烷基上可能的取代基包括上述所有的取代基，但是C₁-C₁₀烷基、C₂-C₁₀烯基和C₂-C₁₀炔基除外。環烷基、雜環烷基、芳基和雜芳基也可以相互稠合。

上述化合物包括這些化合物本身，如果可能的話，還可包括這些化合物的鹽、前藥和溶劑合物。例如，鹽可以是陰離子與上述式之一的化合物上帶正電荷的基團(例如氨基)形成的鹽。合適的陰離子包括氯離子、溴離子、碘離子、硫酸根、硝酸根、磷酸根、檸檬酸根、甲磺酸根、三氟乙酸根、乙酸根、蘋果酸根、甲苯磺酸根、酒石酸根、富馬酸根、谷氨酸根、葡糖醛酸根、乳酸根、戊二酸根和馬來酸根。類似地，可以由陽離子與上述式之一的化合物上的帶負電荷的基團(例如羧酸根)形成鹽。合適的陽離子包括鈉離子、鉀離子、鎂離子、鈣離子和銨離子，例如四甲基銨離子。化合物還可包括含有季氮原子的鹽。除非另外指出，為簡化計算，本文所述化合物的重量指化合物的遊離形式之重量。前藥的例子包括酯和其他藥學上可接受的衍生物，它們在給予目標的時候，能夠得到活性化合物。溶劑合物表示活性化合物與藥學上可接受的溶劑之間形成

的絡合物。藥學上可接受的溶劑的例子包括水、乙醇、異丙醇、乙酸乙酯、乙酸和乙醇胺。

下面列出用於本發明的組合物的示例性的嘧啶化合物：



在上述藥學套組中的凍乾製劑還包含填充劑、張力調節劑(tonicity adjuster)，或者兩種都存在。作為例子，組合物包含甘露醇或右旋糖苷作為填充劑，氯化鈉作為張力調節劑。所述化合物，填充劑和張力調節劑的重量比可以為1至25：10至50：0.01至6，或者1至50：0.01至50：0.01至0.9。

在另一個方面，本發明涉及製備上述凍乾製劑的方法。該方法包括提供含通式(I)的化合物的水溶液；將該溶

液冷卻至-80°C至-10°C；將在-80°C至-10°C的溶液抽真空15-100小時，然後在-9°C至35°C之間抽真空10-200小時。

任選地，該水溶液還包含填充劑、張力調節劑或者同時包含填充劑和張力調節劑。作為例子，所述溶液包含通式(I)的化合物、甘露醇或右旋糖苷(作為填充劑)，和/或氯化鈉或甘油(作為張力調節劑)，所述化合物、甘露醇/右旋糖苷、氯化鈉/甘油的濃度分別為1-25毫克/毫升，10-50毫克/毫升和0.01-6毫克/毫升，或者1-50毫克/毫升，0.01-50毫克/毫升和0.01-0.9毫克/毫升。

通式(I)的化合物能有效抑制SDF-1和趨化因子受體(如CXCR4受體)之間的結合。參見美國專利申請序列號12/263,671。因此，在另一個方面，本發明涉及所述藥學套組在治療與CXCR4/SDF-1途徑例如炎症疾病或免疫疾病，發育疾病或退行性疾病，組織損害或癌症相關病症的用途，所述藥學套組包含這些藥物活性化合物之一的凍乾製劑。

所述凍乾製劑在製造用於上述治療的藥物中的應用也在本發明範圍之內。

炎症疾病表現為局部或全身性、急性或慢性炎症。例子包括：視網膜病變(例如，糖尿病視網膜病和增殖性視網膜病)，炎症皮膚病(例如，皮炎、濕疹、特應性皮炎、過敏性接觸性皮炎、蕁麻疹、壞死性血管炎、皮膚血管炎、超敏感性血管炎、嗜酸性肌炎、多肌炎、皮肌炎和嗜酸性筋膜炎)，炎症腸病(例如，克羅恩氏病和潰瘍性結腸炎)，超敏

感性肺病(例如，超敏感性肺炎、嗜酸性肺炎、遲髮型超敏反應、間質性肺病(ILD)、特發性肺纖維化和與類風濕性關節炎相關的ILD)、黃斑水腫，哮喘和過敏性鼻炎。

免疫疾病表現為免疫系統的反應過度或反應低下。例子包括但不限於：自身免疫病(例如，類風濕性關節炎、銀屑病關節炎、系統性紅斑狼瘡、重症肌無力、I型糖尿病、腎小球腎炎、自身免疫性甲狀腺炎、強直性脊柱炎、全身性硬皮病和多發性硬化)、急性和慢性炎性疾病(例如，全身過敏反應或超敏反應、藥物變態反應、昆蟲螫傷變態反應、移植物排斥，包括同種異體移植物排斥和移植物抗宿主病)、舍葛蘭(Sjogren)綜合症和人體免疫缺陷病毒感染。

發育異常是可導致功能缺失或功能增益的生長或分化相關病症。變性疾病通常是指朝功能較低或較少形式的組織變化。發育異常或變性疾病的例子包括：年齡相關的黃斑變性、角膜新血管形成、虹膜新血管形成、脊髓性肌萎縮、迪謝內肌營養不良、帕金森病和阿耳茨海默病。組織損傷可以是以下原因引起的：氧化應激(例如，中風或心肌梗塞中的缺血-再灌注)，補體啟動，移植物排斥，化學物質(例如，酒精誘導的肝損傷或癌症療法中的粘膜組織損傷)，病毒感染(例如，與丙型肝炎感染有關的腎小球損傷)和機械力(例如，運動損傷)。組織損傷的例子包括：腦損傷、神經損傷、心臟損傷、肝損害、骨骼肌損傷、腎損害、胰臟損傷、肺損傷、皮膚損傷、四肢缺血、無症狀缺血、心肌缺血和胃腸道損傷。

癌症是一類細胞群具有自發生長能力的疾病，即表現為快速增殖的細胞生長、有時是腫瘤轉移的異常狀態或病症。癌症的例子包括但不限於：癌和肉瘤，例如白血病、肉瘤、骨肉瘤、淋巴瘤、黑色素瘤、卵巢癌、皮膚癌、睪丸癌、胃癌、胰腺癌、腎癌、乳腺癌、前列腺癌、結腸直腸癌、頭頸癌、腦癌、食道癌、膀胱癌、腎上腺皮質癌、肺癌、支氣管癌症、子宮內膜癌、鼻咽癌、宮頸癌或肝癌、結腸癌、腎癌、甲狀腺癌、造血系統癌症以及原發部位未知的癌症。

上述組合物在生產用於上述治療的藥劑的應用也在本發明範圍之內。

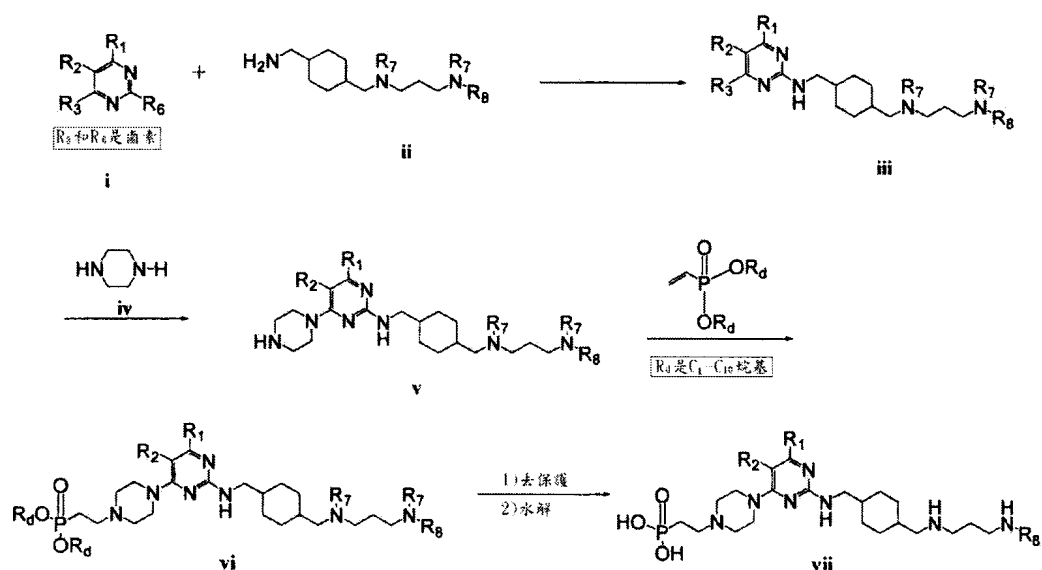
下面對本發明的一個或多個實施方式進行了詳細描述。由說明書和權利要求書可以顯而易見地看出本發明地其他特徵、目標和優點。

【實施方式】

較佳實施例之詳細說明

用於本發明的通式(I)的化合物可以採用本領域已知的方法製備。以下方案I顯示合成特定示例化合物的合成路線。含兩個鹵素基團的嘧啶化合物(i)(R_3 和 R_6 是鹵素)與氨基化合物(ii)選擇性反應，產生2-氨基嘧啶化合物(iii)，該化合物與呱嗪化合物(iv)偶合，形成6-呱嗪基-2-氨基嘧啶化合物(v)。對化合物(v)進一步修飾，獲得所需的磷酸酯化合物(vi)或磷酸(phosphonic acid)(vii)。合成的該化合物可以通過如柱層析法、高壓液相色譜或重結晶的方法進行純化。

方案I



方案1所示的合成路線可以用各種方式改進，以製備通式(I)的其他化合物。例如，可以使用化合物(ii)之外的氨基化合物，或者哌嗪化合物(iv)可以被咪唑烷或二氮雜萘化合物替代。

上述方法中使用的化學試劑或可以商購或者採用本領域已知的方法製備。上述方法還包括在進行上面具體描述的步驟之前或者最後進行的步驟，即添加或去除合適的保護基，以最終合成化合物。此外，可以按照其他順序進行各合成步驟，以得到所需化合物。用於合成可應用的化合物的合成化學轉化和保護基方法(保護和去保護)為本領域已知，並包括例如在以下文獻中所述的那些方法：R. Larock, Comprehensive Organic Transformations(綜合有機轉化)，VCH出版社(VCH Publishers) (1989)；T.W. Greene和 P.G.M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis(有

機合成保護基)，第二版，約翰威利父子公司(John Wiley and Sons) (1991)；L. Fieser和M. Fieser，Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis(有機合成試劑)，約翰威利父子公司(1994)；以及L. Paquette等，Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis(有機合成百科全書和試劑)，約翰威利父子公司(1995)以及它的後續版本。

通式(I)的化合物可包含非芳族雙鍵以及一個或多個不對稱中心。因此，所述化合物可以是外消旋物和外消旋混合物、單一對映體、單獨非對映體、非對映體混合物、以及順-或反-異構體形式。可預期所有的異構體形式。

為實施本發明，可以製備包含預定濃度的通式(I)的化合物的水溶液。填充劑提供了最終固體產品體積，並可產生具有良好機械性質的晶體結構。填充劑的例子包括：甘露醇、蔗糖、葡萄糖、葡聚糖和右旋糖苷。化合物與填充劑的濃度分別為1-25毫克/毫升和10-50毫克/毫升，或者1-50毫克/毫升和0.01-50毫克/毫升。還可以使用填充劑來控制溶液的重量克分子滲透濃度，以獲得接近等滲的溶液。需要時，所述溶液還可以包含張力調節劑，以進一步改善溶液的重量克分子滲透濃度。張力調節劑的例子包括：蔗糖、甘氨酸、甘油、氯化鈉、氯化鉀、溴化鈉和溴化鉀。優選的重量克分子滲透濃度為250-300毫摩爾/公斤。在一個實例中，水溶液含5毫克/毫升所述化合物，30毫克/毫升甘露醇和3毫克/毫升氯化鈉。

該溶液還包含一種或多種組分，如緩衝劑和穩定劑。

緩衝劑用來穩定溶液的pH。緩衝劑的例子包括：乙酸鹽、檸檬酸鹽、酒石酸鹽、乳酸鹽、琥珀酸鹽、蘋果酸鹽和磷酸鹽。穩定劑可以是形成無定形糖玻璃因此能使溶液中化合物穩定的物質。穩定劑的例子包括：蔗糖、海藻糖、葡萄糖、乳糖和麥芽糖。

所有這些組分可以在製備溶液的任意階段加入。提供預期效應的組分的適當濃度能方便地理解並可以通過常規方法確定。

可以將溶液過濾以去除顆粒和微生物。因此可獲得清澈和無菌的溶液。過濾用膜的孔徑在0.1-10微米範圍，例如0.22微米。

可能需要改變溶液的pH至使化合物最穩定的值。用來改變pH的試劑可以是有機或無機的酸或堿，例如HCl、乙酸、氫氧化鈉或氨水。

為製備藥學套組，可以將溶液轉移至容器，例如小瓶中的預定體積，然後對溶液進行凍乾處理。或者，可以將大體積的溶液凍乾，然後將預定量的凍乾製劑放置在一容器中。

凍乾處理包括三個步驟：冷凍、初級乾燥和二次乾燥。

在冷凍步驟中，用10分鐘至5小時將溶液的溫度降低至低溫(如-40°C至-50°C)。由一部分溶液形成純的冰晶體。這會使剩餘溶液的濃度和粘度增大，使溶液不能進行結晶。最後，這種高度濃縮且粘稠的溶液固化產生晶體-無定形混合相。

在初級乾燥步驟中，冷凍溶液中的冰通過昇華去除。例如，昇華可以在10-655微巴(μbar)和 -20°C 至 -50°C 的溫度條件下進行15-100小時。應注意，優選將產物保持在固態，以保留冷凍期間形成的結構。

在二次乾燥步驟中，升高溫度(如， -9°C 至 35°C 之間)或者降低壓力，以除去殘留的結合水。該階段可持續10-200小時以提供具有所需殘留水分的固態製劑。

可將由此獲得的凍乾製劑儲存以備以後使用。優在包含凍乾製劑的容器中充入惰性氣體(如氮氣)並密封，以進一步防止降解和被微生物污染。

通過給藥需要治療的物件有效量的包含在藥學套組中的凍乾製劑，可以使用藥學套組治療病症。

如本文所用，術語“治療”定義為給予物件有效量的凍乾製劑，所述物件患有與CXCR4/SDF-1途徑相關的疾病，具有這種疾病的症狀，或者具有易受這種疾病的傾向，其目的是治癒、緩解、減輕、治療或改善這種疾病，這種疾病的症狀、或者易受這種疾病的傾向。術語“有效量”表示使得被治療的物件獲得治療效果所需的凍乾製劑的量。

為治療與CXCR4/SDF-1途徑相關的疾病，本發明的組合物可以腸道外給藥、口服給藥、鼻內給藥、直腸給藥、局部給藥或向頰給藥。術語“腸道外”表示皮下注射、皮內注射、靜脈注射、肌內注射、關節內注射、動脈內注射、滑膜內注射、胸骨內注射、鞘內注射、損傷區注射或顱內注射，以及任何合適的輸注技術。

無菌可注射組合物可以通過將本發明的藥學套組中的凍乾製劑與可接受的無毒腸道外給藥的稀釋劑或溶劑例如水或者1,3-丁二醇混合形成溶液或懸浮液製備。此外，通常使用不揮發性油作為溶劑或懸浮介質(例如合成的單甘油酯或二甘油酯)。脂肪酸，例如油酸及其甘油酯衍生物可用來製備可注射藥品，例如可使用藥學上可接受的天然油類，例如橄欖油或蓖麻油，特別是它們的聚氧乙烯化形式。這些油溶液或懸浮液還可包含長鏈醇稀釋劑或分散劑、羧甲基纖維素或類似的分散劑。其他常用的表面活性劑，例如吐溫(Tween)或司盤(Span)或通常用於生產藥學上可接受的固體、液體或者其他劑型的其他類似的乳化劑或生物利用度促進劑，也可用於配製目的。

包含在藥學套組中的凍乾製劑也可以口服給予病人。此外，凍乾製劑可以進一步加工形成任何可以接受的口服劑型，包括膠囊、片劑、乳液和水性懸浮液、分散體和溶液。對於片劑，常用的載體包括乳糖和玉米澱粉。通常還可以在本發明的組合物中加入潤滑劑，例如硬脂酸鎂。對於膠囊形式的口服給藥，可用的稀釋劑包括乳糖和乾燥的玉米澱粉。當水懸浮液或乳液口服給藥時，可以將活性成分懸浮或溶解在與乳化劑或懸浮劑合併的油相中。如果需要，可以加入某些甜味劑、香料或著色劑。

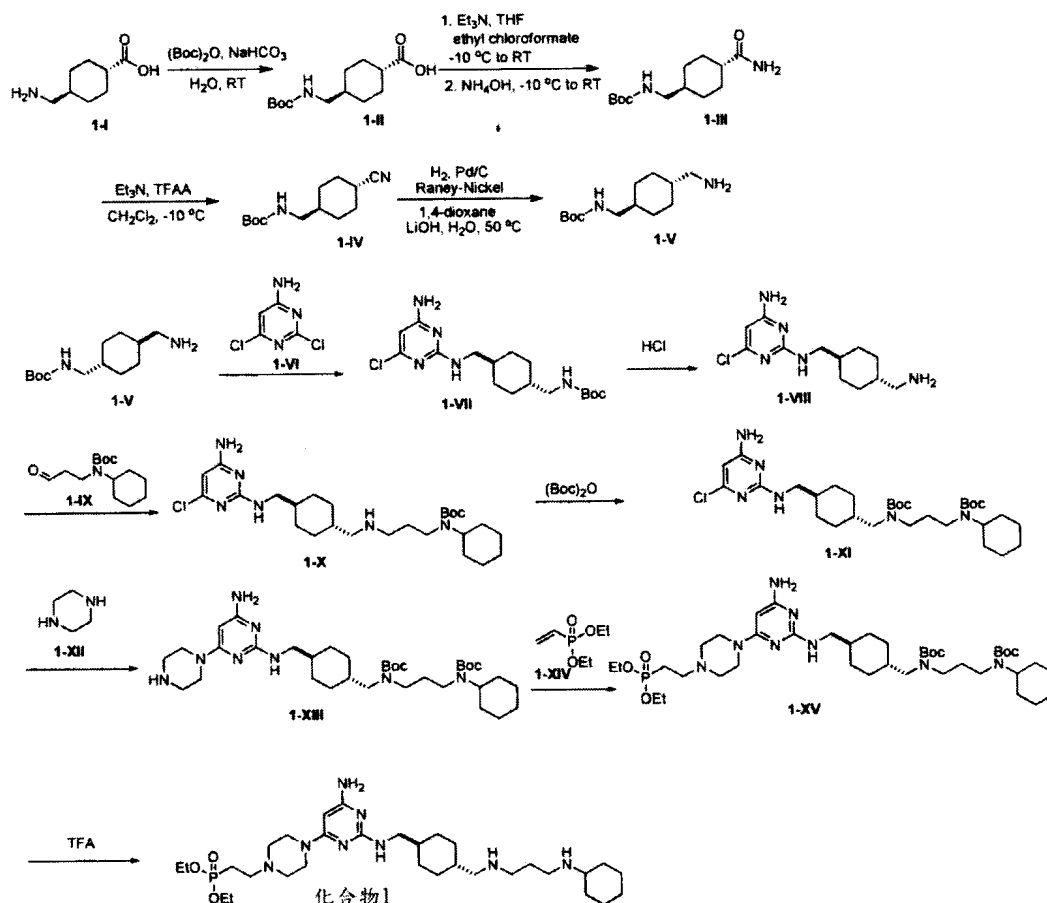
眼用滴劑或軟膏也可以按照本發明的方法製備和使用。

我們相信，基於本文的描述，無需另外的工作便可實施本發明。因此以下實施例僅僅是說明性的，不會對說明

書的其他部分構成限制。本文引用的所有出版物的全文都全部以引用的方式納入本文。

化學合成

(1) 製備化合物1



在反式-4-氨基甲基-環己烷甲酸(化合物1-I，2.0公斤，12.7摩爾)和碳酸氫鈉(2.67公斤，31.8摩爾)的溶液中加入水(10.0升)和 $(\text{Boc})_2\text{O}$ (3.33公斤，15.3摩爾)。環境溫度下攪拌該反應混合物18小時。水層用濃鹽酸(2.95升， $\text{pH} = 2$)酸化後過濾。收集所得固體，用水洗滌三次(15升)，在烘箱(60°C)中乾燥，獲得反式-4-(叔丁氧基羰基氨基-甲基)-環己烷甲酸(化合物1-II，3.17公斤，97%)，為白色固體。 $R_f = 0.58$ (EtOAc)。LC-MS m/e 280($\text{M} + \text{Na}^+$)。 ^1H NMR(300 MHz，

CDCl_3) δ 4.58(brs, 1H), 2.98(t, $J = 6.3$ Hz, 2H), 2.25(td, $J = 12, 3.3$ Hz, 1H), 2.04(d, $J = 11.1$ Hz, 2H), 1.83(d, $J = 11.1$ Hz, 2H), 1.44(s, 9H), 1.35-1.50(m, 3H), 0.89-1.03(m, 2H)。 ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 181.31、156.08, 79.12、46.41、42.99, 37.57, 29.47, 28.29, 27.96。 M.p. 134.8-135.0 °C。

將化合物1-II(1.0公斤, 3.89摩爾)在THF(5升)的懸浮液於10°C冷卻, 在低於10°C下加入三乙胺(1.076升, 7.78摩爾)和氯甲酸乙酯(0.441升, 4.47摩爾)。環境溫度下攪拌該反應混合物3小時。然後於10°C再次將反應混合物冷卻, 並在低於10°C溫度加入 NH_4OH (3.6升, 23.34摩爾)。環境溫度下攪拌該反應混合物18小時後過濾。收集固體, 並用水洗滌三次(10升)並且在烘箱(60°C)中乾燥, 獲得反式-4-(叔丁氧基羰基-氨基-甲基)-環己烷羧酸鹽胺(化合物1-III, 0.8公斤, 80%), 為白色固體。 $R_f=0.23$ (EtOAc)。 LC-MS m/e 279, $M+\text{Na}^+$ 。 ^1H NMR(300 MHz, CD_3OD) δ 6.63(brs, 1H), 2.89(t, $J = 6.3$ Hz, 2H), 2.16(td, $J = 12.2, 3.3$ Hz, 1H), 1.80-1.89(m, 4H), 1.43(s, 9H), 1.37-1.51(m, 3H), 0.90-1.05(m, 2H)。 ^{13}C NMR(75 MHz, CD_3OD) δ 182.26, 158.85, 79.97, 47.65, 46.02、39.28, 31.11、30.41、28.93。 M.p. 221.6-222.0 °C。

將化合物1-III(1.2公斤, 4.68摩爾)在 CH_2Cl_2 (8升)的懸浮液於10°C冷卻, 在低於10°C下加入三乙胺(1.3升, 9.36摩爾)和三氟乙酸酐(0.717升, 5.16摩爾)。環境溫度下攪拌該反應混合物3小時。然後加入水(2.0升), 分離有機層, 並用

水(3.0升)洗滌兩次。然後使有機層通過矽膠並濃縮。得到的油用二氯甲烷結晶。晶體用己烷洗滌，獲得反式-(4-氰基-環己基甲基)-氨基甲酸叔丁酯(化合物1-IV，0.95公斤，85%)，為白色晶體。 $R_f = 0.78(\text{EtOAc})$ 。LC-MS m/e 261、 $M+\text{Na}^+$ 。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ 4.58(brs, 1H), 2.96(t, $J = 6.3$ Hz, 2H), 2.36(td, $J = 12$ 、3.3 Hz, 1H), 2.12(dd, $J = 13.3$ 、3.3 Hz, 2H), 1.83(dd, $J = 13.8$, 2.7 Hz, 2H), 1.42(s, 9H), 1.47-1.63(m, 3H), 0.88-1.02(m, 2H)。 ^{13}C NMR(75 MHz, CDCl_3) δ 155.96, 122.41, 79.09, 45.89, 36.92, 29.06, 28.80, 28.25, 28.00。M.p. 100.4-100.6°C。

將化合物1-IV(1.0公斤，4.196摩爾)溶解於1,4-二氧己環(8.0升)和水(2.0升)的混合物中。在該反應混合物中加入一水合氫氧化鋰(0.314公斤，4.191)、拉尼鎳(0.4公斤，2.334摩爾)和10%鈀碳(0.46公斤，0.216摩爾)作為50%的水懸液。於50°C 氫氣氛下攪拌反應混合物20小時。過濾去除催化劑和真空除去溶劑後，加入水(1.0升)和 CH_2Cl_2 (0.3升)的混合物。相分離後，有機相用水洗滌(1.0升)並濃縮獲得反式-(4-氨基甲基-環己基甲基)-氨基甲酸叔丁酯(化合物1-V，0.97公斤，95%)，為淡黃色粘稠油狀物。 $R_f = 0.20(\text{MeOH}/\text{EtOAc} = 9/1)$ 。LC-MS m/e 243、 $M+\text{H}^+$ 。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ 4.67(brs, 1H), 2.93(t, $J = 6.3$ Hz, 2H), 2.48(d, $J = 6.3$ Hz, 2H), 1.73-1.78 (m, 4H), 1.40(s, 9H), 1.35(brs, 3H), 1.19-1.21(m, 1H), 0.77-0.97(m, 4H)。 ^{13}C NMR(75 MHz, CDCl_3) δ 155.85, 78.33, 48.27, 46.38, 40.80, 38.19, 29.87,

29.76, 28.07。

化合物1-V(806克)和 Et_3N (1010克, 3當量)的1-戊醇(2.7升)溶液於 90°C 和化合物1-VI(540克, 1當量)反應15小時。TLC顯示反應完成。

於 25°C , 將乙酸乙酯(1.5升)加入反應混合物中。攪拌該溶液1小時。過濾 Et_3NHCl 鹽。然後, 於 50°C 將濾液真空濃縮至1.5升(原體積的1/6)。然後, 在該濃縮溶液中加入二乙醚(2.5升), 25°C 過濾後獲得所需產物1-VII(841克, 產率為68%)。

將4N HCl /1,4-二氧己環(2.7升)溶液加入中間體1-VII(841克)的 MeOH (8.1升)溶液中反應, 並於 25°C 攪拌15小時。TLC顯示反應完成。在 50°C 將該混合物真空濃縮至1.5升(原體積的1/7)。然後, 在該溶液中緩慢加入二乙醚(5升), 形成1-VIII的鹽酸鹽(774克), 過濾並真空(<10 托)乾燥。為進行中和, 於 25°C , 在1-VIII的鹽酸鹽的 MeOH (17升)溶液中加入 K_2CO_3 (2.5公斤, 8當量)。在同樣溫度下攪拌混合物3小時($\text{pH}>12$), 然後過濾(估計濾液中1-VIII的量為504克)。

於 $0-10^\circ\text{C}$, 在1-VIII的濾液中加入醛1-IX(581克, 以1-VII的摩爾數為基準為1.0當量)。於 $0-10^\circ\text{C}$ 攪拌反應3小時。TLC顯示反應完成。然後, 在低於 10°C 加入 NaBH_4 (81克, 以1-VII的摩爾數為基準為1.0當量), 於 $10-15^\circ\text{C}$ 攪拌溶液1小時。將該溶液濃縮得到殘餘物, 該殘餘物然後用 CH_2Cl_2 (15升)處理。混合物用飽和 NH_4Cl 水溶液(300毫升)

洗滌，用水(1.2L)稀釋。將 CH_2Cl_2 層濃縮，殘餘物通過矽膠層析純化(短柱， EtOAc 為用於除去其他組分的流動相； $\text{MeOH}/28\% \text{NH}_4\text{OH}=97/3$ 為用於收集1-X的流動相)，獲得粗1-X(841克)。

然後，於 25°C ，將 Et_3N (167克，1當量)和 Boc_2O (360克，1當量)加入1-X(841克)在 CH_2Cl_2 (8.4升)的溶液中。 25°C 攪拌混合物15小時。由TLC顯示反應完成後，將溶液濃縮，並在形成的殘餘物中加入 EtOAc (5升)。在 50°C 和低壓條件下將該溶液濃縮至3升(原體積的1/2)。然後，在濃縮溶液中加入正己烷(3升)。於 50°C 通過晶種形成固體產物，過濾和蒸發後獲得粗產物1-XI(600克，產率為60%)。

25°C ，向化合物1-XI(120.0克)和哌嗪(1-XII，50.0克，3當量)的1-戊醇(360毫升)溶液中加入 Et_3N (60.0克，3.0當量)。在 120°C 攪拌混合物8小時。在 25°C ，在反應混合物中加入乙酸乙酯(480毫升)。攪拌該溶液1小時。過濾 Et_3NHCl 鹽，將溶液濃縮，並通過矽膠純化($\text{EtOAc}/\text{MeOH}=2:8$)，獲得1-XIII(96克)，產率為74%。

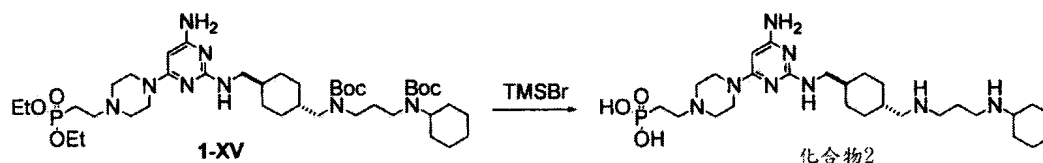
於 25°C ，在1-XIII(120克)的 MeOH (2.4升)溶液中加入乙烯基膦酸二乙酯(1-XIV，45克，1.5當量)。於 65°C 攪拌混合物24小時。TLC和HPLC顯示反應完成。將溶液濃縮並通過矽膠進行純化($\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2 = 8/92$)，通過HPLC分析產物的純度後，獲得87克1-XV(產率為53%，純度 $>98\%$ ，每一種雜質 $<1\%$)。

將20% $\text{TFA}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 溶液(36毫升)加入到中間體

1-XV(1.8克)在 CH_2Cl_2 (5毫升)的溶液中。室溫下攪拌反應混合物15小時，並通過除去溶劑使溶液濃縮，獲得化合物1的三氟乙酸鹽(1.3克)。

CI-MS($\text{M}^+ + 1$): 623.1

(2) 製備化合物2



按照實施例1中所述製備中間體1-XV。

於10-15°C用1小時在1-XV(300克)的 CH_2Cl_2 溶液(1800毫升)中加入TMSBr(450克，8當量)。25°C攪拌該混合物15小時。於40°C下將該溶液上真空濃縮以除去TMSBr和溶劑。在該混合物中加入 CH_2Cl_2 以溶解殘余物。真空條件下再次除去TMSBr和溶劑，真空(<1托)乾燥3小時後獲得360克粗固體。然後，將該粗固體用7.5升IPA/MeOH (9/1)洗滌，過濾並在25°C下真空(<1托)乾燥3小時後，獲得化合物2(280克)。通過EtOH結晶獲得化合物2的氫溴化物鹽(190克)。

CI-MS($\text{M}^+ + 1$): 567.0。

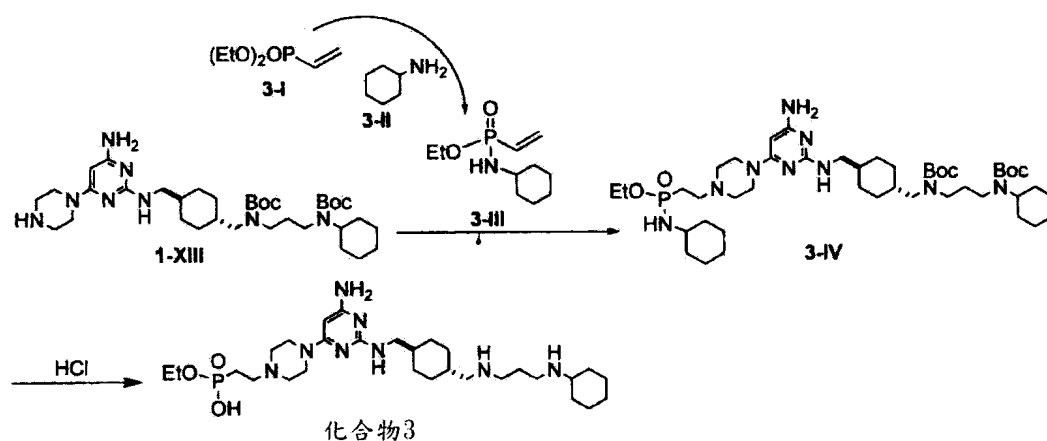
將化合物2的氫溴化物鹽(5.27克)溶在20毫升水中，用濃氨水(pH=9-10)進行處理，混合物真空蒸發。將水(30毫升)中殘余物施加於Dowex 50WX8 (H^+ 形式，100-200目)的柱(100毫升，4.5×8釐米)，並洗脫(洗脫速率6毫升/分鐘)。用水(2000 毫升)和0.2M氨水进行洗脱。将有UV吸收的氨洗脱液蒸發至干，获得化合物2的氨鹽(2.41克)。

CI-MS($M^+ + 1$): 567.3。

將化合物2的鹽(1.5克)溶解在水(8毫升)中，用濃氨水(pH=11)進行鹼化，將該混合物溶液應用於Dowex 1X2(乙酸鹽形式，100-200目)的柱(75毫升，3×14釐米)，並洗脫(洗脫速率3毫升/分鐘)。用水(900毫升)然後用0.1M乙酸進行洗脫。將有UV吸收的乙酸洗脫液蒸發，殘余物與水(5×50毫升)共蒸餾，獲得化合物2(1.44克)。

CI-MS($M^+ + 1$): 567.4。

(3) 製備化合物 3



在製備化合物1的過程中獲得中間體1-XIII。

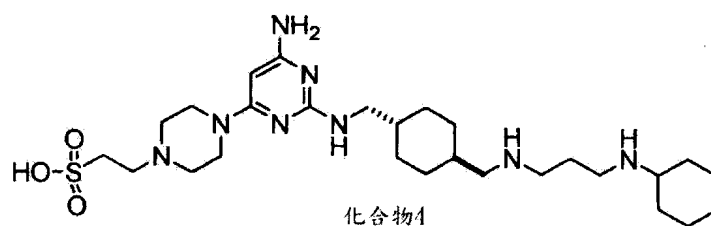
向乙烯基膦酸二乙酯(3-I, 4克)的 CH_2Cl_2 (120毫升)溶液中加入草酰氯(15.5克, 5當量), 於 30°C 攪拌混合物36小時。混合物在旋轉蒸發器中在真空濃縮, 定量獲得相應的氯化膦(phosphochloridate), 將該化合物加入環己胺(3-II, 5.3克, 2.2當量)、 CH_2Cl_2 (40毫升)和 Et_3N (6.2克, 2.5當量)的混合物中。 35°C 攪拌混合物36小時, 然後用水洗滌。將有機層乾燥(MgSO_4), 過濾和蒸發, 獲得棕色油狀物3-III(4.7克, 產率為85%)。

將化合物3-III(505毫克)加入中間體1-XIII(500毫克)的MeOH(4毫升)溶液。於45°C攪拌溶液24小時。將溶液濃縮，殘餘物通過矽膠柱層析純化(EtOAc/MeOH=4:1)，獲得中間體3-IV(420毫克)，產率為63%。

將HCl的醚(5毫升)溶液加入中間體3-IV(420毫克)在CH₂Cl₂(1.0毫升)的溶液中。室溫攪拌反應混合物12小時，通過除去溶劑進行濃縮。所得殘餘物用醚洗滌，獲得化合物3的鹽酸鹽(214毫克)。

CI-MS(M⁺+1): 595.1。

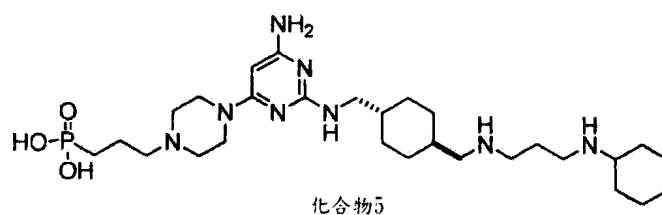
(4) 製備化合物4



按照實施例2中所述的相同方式製備化合物4，除了在45°C，在DMF中的Et₃N存在下使用2-溴代乙磺酸鈉代替乙烯基膦酸二乙酯。通過鹽酸使氨基-保護基去保護，獲得化合物4的鹽酸鹽。

CI-MS(M⁺+1): 567.3

(5) 製備化合物5

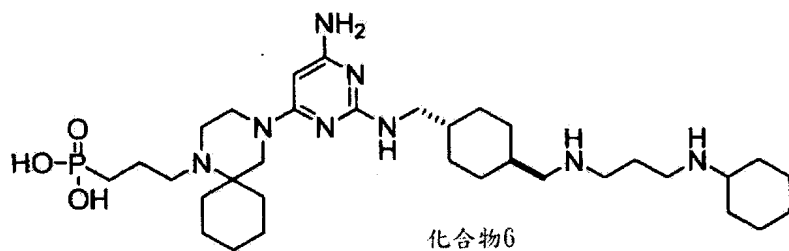


按照實施例2中所述的相同方式製備化合物5，除了在

CH₃CN中的K₂CO₃存在下使用1-溴丙基膦酸二乙酯代替乙
烯基膦酸二乙酯。

$$\text{CI-MS}(\text{M}^+ + 1) : 581.4$$

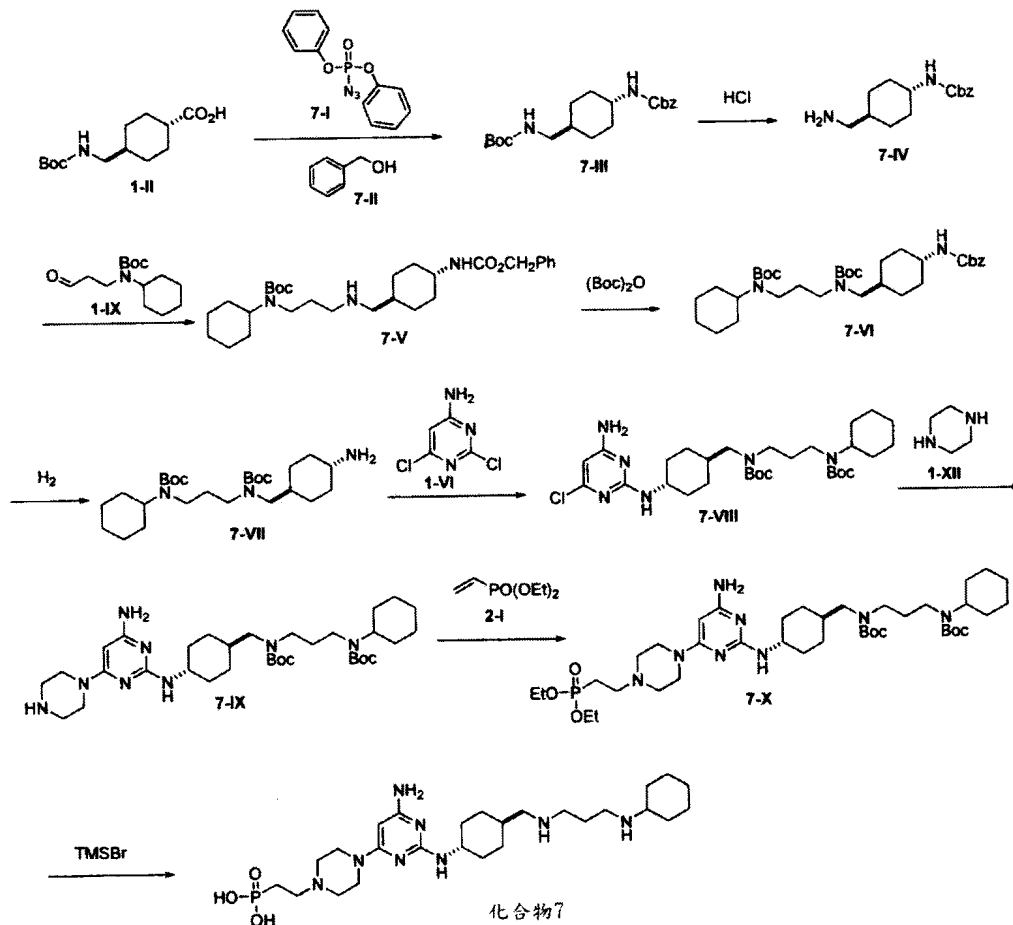
(6) 製備化合物6



按照實施例5中所述的相同方式製備化合物6，除了使
用1,4-二氮雜-螺[5.5]十一烷的二鹽酸鹽代替呱嗪。

$$\text{CI-MS}(\text{M}^+ + 1) : 649.5$$

(7) 製備化合物7



按照實施例1所述製備中間體1-II。

於25°C用1小時向中間體1-II(31.9克)在甲苯(150毫升)的懸浮液中加入疊氮磷酸二苯酯((phosphorazidic acid diphenyl ester)(7-I, 32.4克)和Et₃N(11.9克)。於80°C下攪拌反應混合物3小時，然後冷卻至25°C。加入苯甲醇(7-II, 20克)後，於80°C下再攪拌反應混合物3小時，並加熱至120°C後過夜。然後濃縮並再次溶解於EtOAc和H₂O。收集有機層。水層用EtOAc萃取。合併的有機層用2.5N HCl、飽和NaHCO₃水溶液和鹽水洗滌，用無水MgSO₄乾燥，過濾，並濃縮。獲得的殘餘物通過矽膠柱層析純化(EtOAc/己烷 = 1:2)獲得中間體7-III(35克)，產率為79%。

將4N HCl/1,4-二氧己環(210毫升)溶液加入中間體7-III(35克)的MeOH(350毫升)溶液反應，並於室溫攪拌過夜。加入醚(700毫升)後，將溶液過濾。固體真空乾燥。室溫用10分鐘向該固體在CH₃CN和異丙醇的懸浮液中加入K₂CO₃。加入水後，室溫攪拌該反應混合物2小時，過濾，在無水MgSO₄上乾燥，並濃縮。形成的殘餘物通過矽膠柱層析純化(使用CH₂Cl₂和MeOH作為洗脫液)，獲得中間體7-IV(19克)，產率為76%。

將中間體1-IX(21克)加入中間體7-IV(19克)的CH₂Cl₂(570毫升)溶液中。於25°C下攪拌該混合物2小時。然後，25°C加入NaBH(OAc)₃(23克)過夜。將該溶液濃縮後，在形成的殘餘物中加入飽和NaHCO₃水溶液。然後，該混合物用CH₂Cl₂萃取。將溶液濃縮，殘餘物通過矽膠柱層析純

化(使用EtOAc和MeOH作為洗脫液)，獲得中間體7-V(23.9克)，產率為66%。

Boc₂O(11.4克)和中間體7-V(23.9克)在CH₂Cl₂(200毫升)溶液中於25°C下加入Et₃N(5.8毫升)反應過夜。然後將該溶液濃縮，形成的殘餘物通過矽膠柱層析純化(使用EtOAc和己烷作為洗脫液)，獲得中間體7-VI(22克)，產率為77%。將10%Pd/C(2.2克)加入中間體7-VI(22克)在MeOH(44毫升)的懸浮液中。在氫氣氛環境溫度下攪拌混合物過夜，將該混合物過濾和濃縮。通過矽膠柱層析純化(使用EtOAc和MeOH作為洗脫液)，獲得中間體7-VII(16.5克)，產率為97%。

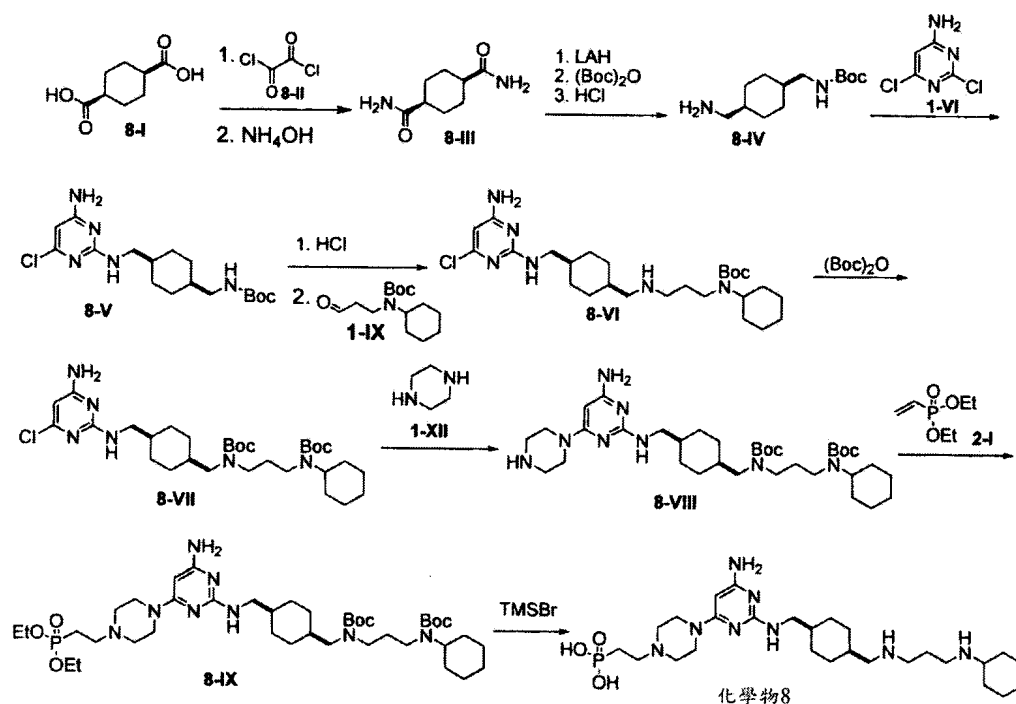
中間體7-VII(16.5克)和Et₃N(4.4毫升)的1-戊醇(75毫升)溶液與2,4-二氯-6-氨基嘧啶(1-VI，21克)於120°C下反應過夜。然後除去溶劑，殘餘物通過矽膠柱層析純化(使用EtOAc和己烷作為洗脫液)，獲得中間體7-VIII (16.2克)，產率為77%。

中間體7-VIII(16.2克)和呱嗪(1-XII，11.7克)的1-戊醇(32毫升)溶液中加入Et₃N(3.3毫升)，於120°C下反應過夜。將溶液濃縮後，殘餘物用水處理，用CH₂Cl₂萃取。收集有機層並濃縮。將獲得的殘餘物通過矽膠柱層析純化(使用EtOAc/MeOH至28% NH₄OH/MeOH作為洗脫液)，獲得中間體7-IX(13.2克)，產率為75%。

按照實施例3所述，用7-IX與乙烯基膦酸二乙酯(2-I)反應，獲得化合物7的氫溴酸鹽。

CI-MS(M⁺+1): 553.3

(8) 製備化合物8



於 0°C 在順-1,4-環己烷二羧酸(**8-I**，10克)的THF(100毫升)溶液中加入草酰氯(**8-II**，15.5克)，然後加入DMF(幾滴)。室溫攪拌混合物15小時。將溶液濃縮，殘餘物溶解於THF(100毫升)。將該混合物溶液加入氫氧化銨(80毫升)並攪拌1小時。將溶液濃縮並過濾，獲得粗產物**8-III**(7.7克)。

於 0°C ，將化合物**8-III**(7.7克)的THF(200毫升)溶液緩慢加入 LiAlH_4 (8.6克)的THF(200毫升)溶液。與 65°C 攪拌混合物溶液15小時。室溫下加入 $\text{NaSO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ，並攪拌1小時。將形成的混合物過濾，獲得濾液，並濃縮。將殘餘物溶解於 CH_2Cl_2 (100毫升)。室溫加入 Et_3N (27克)和 $(\text{Boc})_2\text{O}$ (10克)。攪拌該溶液15小時，然後濃縮獲得形成的殘餘物。在形成的殘餘物中加入醚。過濾並真空乾燥，獲得固體粗產物**8-IV**(8.8克)。

化合物 8-IV(1.1 克)和 Et_3N (1.7 克)的 1-戊醇(10 毫升)溶液與 2,4-二氯-6-氨基嘧啶(1-VI, 910 毫克)於 90°C 下反應 15 小時。TLC 顯示反應完成。與 25°C 在反應混合物中加入乙酸乙酯(10 毫升)。攪拌該溶液 1 小時。除去 Et_3NHCl 鹽。將濾液濃縮，通過矽膠純化(EtOAc /己烷=1:2)，獲得所需產物 8-V(1.1 克，產率為 65%)。

將 4N HCl /1,4-二氧己環(10 毫升)溶液加入中間體 8-V(1.1 克)的 MeOH (10 毫升)溶液反應，並於 25°C 攪拌 15 小時。TLC 顯示反應完成。將混合物濃縮，過濾並且上真空(<10 托)乾燥。在 25°C 下鹽酸鹽的 MeOH 溶液(20 毫升)中加入 K_2CO_3 (3.2 克)進行中和反應。同樣溫度下攪拌混合物 3 小時($\text{pH}>12$)後過濾。在 $0-10^\circ\text{C}$ ，在濾液中加入醛 1-IX (759 毫克)。於 $0-10^\circ\text{C}$ 攪拌反應 3 小時。TLC 顯示反應完成。然後，在低於 10°C 加入 NaBH_4 (112 毫克)，於 $10-15^\circ\text{C}$ 攪拌溶液 1 小時。將該溶液濃縮得到殘餘物，該殘餘物用 CH_2Cl_2 (10 毫升)處理。混合物用飽和 NH_4Cl (水溶液)溶液洗滌。將 CH_2Cl_2 層濃縮，殘餘物通過矽膠層析純化($\text{MeOH}/28\% \text{NH}_4\text{OH} = 97/3$)，獲得中間體 8-VI(1.0 克，產率為 66%)。

於 25°C ，將 Et_3N (600 毫克)和 Boc_2O (428 毫克)加入 8-VI(1.0 克)的 CH_2Cl_2 (10 毫升)溶液。 25°C 攪拌該混合物 15 小時。TLC 顯示反應完成。將溶液濃縮，並通過矽膠層析純化(EtOAc /己烷=1:1)，獲得中間體 8-VII(720 毫克，產率為 60%)。

在 25°C 向化合物 8-VII(720 毫克)和 哌嗪(1-XII, 1.22 克)

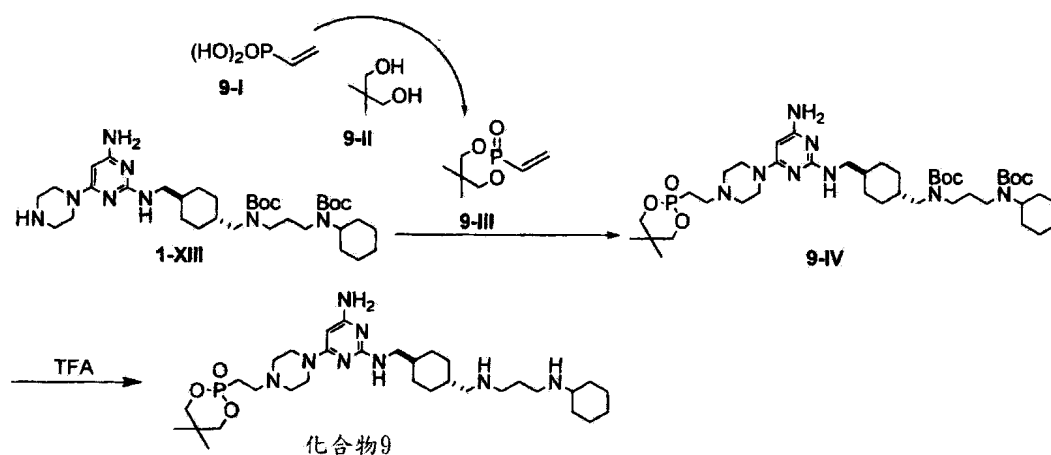
的1-戊醇(10毫升)溶液中加入 Et_3N (1.43克)。於 120°C 攪拌混合物24小時。TLC顯示反應完成。 25°C 加入乙酸乙酯(20毫升)。攪拌該溶液1小時。除去 $\text{Et}_3\text{N}\cdot\text{HCl}$ 鹽，將溶液濃縮並通過矽膠進行純化($\text{EtOAc}/\text{MeOH} = 2:8$)，獲得8-VIII(537毫克)，產率為69%。

在 25°C 向8-VIII(537毫克)的 MeOH (11毫升)溶液中加入乙烯基膦酸二乙酯(2-I，201毫克)。於 65°C 攪拌混合物24小時。TLC和HPLC顯示反應完成。將溶液濃縮並通過矽膠進行純化($\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2=1:9$)，得到8-IX(380毫克)，產率為57%。

於 $10\text{--}15^\circ\text{C}$ 用1小時向8-IX(210毫克)的 CH_2Cl_2 (5毫升)溶液中加入 TMSBr (312毫克)。 25°C 攪拌該混合物15小時。 40°C 下將該溶液真空濃縮除去 TMSBr 和溶劑，然後，加入 CH_2Cl_2 以溶解殘餘物。然後在真空條件下進一步除去 TMSBr 和溶劑，分四次加入 CH_2Cl_2 。將該溶液濃縮，得到化合物8的氫溴酸鹽(190毫克)。

CI-MS(M^++1): 566.9

(9) 製備化合物9



按照實施例1所述製備中間體1-XIII。

在0°C，向乙烯基膦酸(9-I，550毫克)在無水CH₂Cl₂(17毫升)的溶液中緩慢加入草鹼氯(3.9克)和DMF(0.4毫升)。將該混合物回流3小時，濃縮後定量獲得相應的氯化膦。於-70°C，將該氯化膦加入到2,2-二甲基-1,3-丙二醇(9-II，530毫克)、無水CH₂Cl₂(17毫升)和Et₃N(3.1克)的混合物中。該混合物緩慢加熱至室溫並攪拌15小時。然後用水洗滌。有機層用(MgSO₄)乾燥，過濾和蒸發。殘餘物通過矽膠柱層析純化(EtOAc/MeOH=9:1)，獲得9-III(65毫克，產率為7%)，為棕色油狀物。

將化合物9-III(65毫克)加入到中間體1-XIII(202毫克)在MeOH(4毫升)的溶液中。於65°C攪拌該溶液24小時。將溶液濃縮，殘餘物通過矽膠柱層析純化(CH₂Cl₂/MeOH=9:1)，獲得中間體9-IV(147毫克)，產率為48%。

將20% TFA/CH₂Cl₂(3毫升)溶液加入到中間體9-IV(147毫克)在CH₂Cl₂(2.0毫升)的溶液中。室溫下攪拌反應混合物12小時，濃縮獲得化合物9的三氟乙酸鹽(267毫克)。

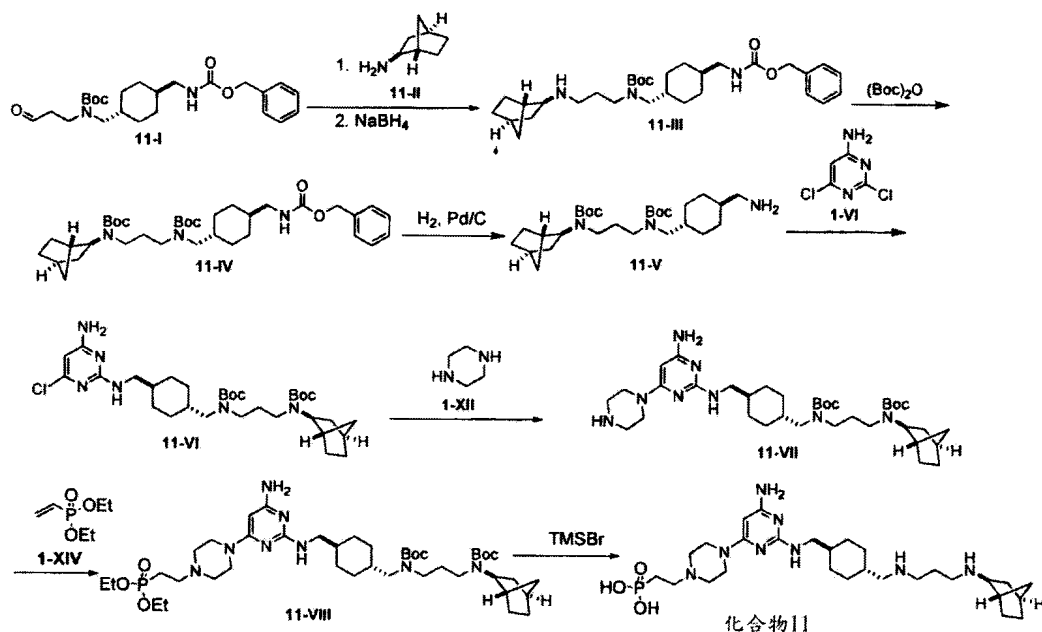
CI-MS(M⁺+1): 635.4

(10) 製備化合物10

按照與實施例9所述相同的方式製備化合物10，除了使用2-氨基苯甲醇替代2,2-二甲基-1,3-丙二醇。

CI-MS(M⁺+1): 654.4

(11) 製備化合物11



於0℃，攪拌11-I(1000毫克)和外-2-氨基降冰片烷(11-II，257毫克)的MeOH(10毫升)溶液3小時。然後，於0℃用1小時加入NaBH₄(87.5毫克)。將溶液濃縮，用NH₄Cl(水溶液)猝滅，用CH₂Cl₂萃取。將有機層合併，用MgSO₄乾燥，濃縮後獲得殘餘物，該殘餘物通過矽膠層析純化(MeOH/28% NH₄OH = 97/3)，獲得中間體11-III (1000毫克，產率為82%)。

於25℃，攪拌中間體11-III(1000毫克)、Et₃N(210毫克)和Boc₂O(455毫克)的CH₂Cl₂(10毫升)溶液15小時。將溶液濃縮，並通過矽膠層析純化(EtOAc/己烷 = 1/1)，獲得中間體11-IV(907毫克，產率為76%)。

於25℃，在H₂(氣球)下攪拌中間體11-IV(907毫克)和Pd/C(20毫克)的MeOH(10毫升)溶液18小時。溶液通過矽藻土(celite)柱過濾獲得濾液，除去MeOH，獲得中間體11-V(740毫克)。

將 Et_3N (454毫克)加入中間體11-V(740毫克)和2,4-二氯-6-氨基嘧啶(1-VI, 246毫克)的1-戊醇(10毫升)溶液中。於 120°C 攪拌反應混合物15小時，並真空濃縮。形成的殘餘物通過矽膠層析純化($\text{EtOAc}/\text{己烷}=1/2$)，獲得中間體11-VI(420毫克，產率為45%)。

於 25°C ，向化合物11-VI(1.7克)和呱嗪(1-XII, 1.4克，6當量)的1-戊醇(30毫升)溶液中加入 Et_3N (1.66克，6.0當量)。於 120°C 攪拌混合物15小時。將溶液濃縮並通過矽膠進行純化($\text{EtOAc}/\text{MeOH}=8:2$)，獲得11-VII(1.5克)，產率為82%。

於 25°C ，在11-VII(1.5克)的 MeOH (30毫升)溶液中加入乙烯基膦酸二乙酯(1-XIV, 0.556克，1.5當量)。於 65°C 攪拌混合物24小時。TLC和HPLC顯示反應完成。將溶液濃縮並通過矽膠進行純化($\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2 = 8/92$)，得到1.1克11-VIII，產率為59%。

於 $10-15^\circ\text{C}$ 用1小時向11-VIII(1.0克)的 CH_2Cl_2 (5毫升)溶液中加入 TMSBr (1.46克，8當量)。於 25°C 攪拌該混合物15小時。將該溶液濃縮，在 40°C 下真空除去 TMSBr 和溶劑。在該混合物中加入 CH_2Cl_2 以溶解殘餘物。再次於真空除去 TMSBr 和溶劑，獲得粗固體，該固體用 $\text{IPA}/\text{MeOH}(9/1)$ 洗滌，過濾並於 25°C 下真空(<1 托)乾燥3小時後獲得化合物11。在 EtOH 中結晶，得到化合物11的氫溴酸鹽(530毫克)。

CI-MS($\text{M}++1$): 579.4

(12) 製備化合物12

按照於實施例11所述相同的方式製備化合物12，除了

使用環己基六甲基四胺(cyclohexylmethanamine)代替外-2-氨基降冰片烷。

CI-MS($M^+ + 1$): 581.4

凍乾

(1) 製備水溶液

在一個玻璃燒杯中，將3.00克甘露醇和0.7622克測試化合物(為HBr鹽形式)溶解於少於100毫升的0.2%(w/v)NaCl溶液中。將該溶液移至100毫升的容量瓶中。燒杯用0.2% NaCl溶液沖洗，將該溶液轉移到該容量瓶中。用0.2% NaCl溶液將容量瓶中溶液的體積調節至100毫升。因此，製備的溶液含有5毫克/毫升測試化合物(遊離碱)、3%(w/v)甘露醇和0.2%(w/v)NaCl。製成的溶液首先預過濾，然後通過已滅菌的0.22微米Millipore Durapore™微濾器過濾。這種無菌-過濾的溶液用於凍乾。

按照類似的方式，製備含5毫克/毫升測試化合物、3%(w/v)甘露醇和0.3% (w/v) NaCl的溶液以及含5毫克/毫升測試化合物、3%(w/v)甘露醇和0.4%(w/v)NaCl的溶液。

(2) 溶液凍乾

將溶液轉移至小瓶中。將這些小瓶冷卻至20°C並達到平衡。用20分鐘進一步冷卻至5°C，並保持該溫度30分鐘。然後用180分鐘冷卻至-45°C，並保持該溫度保持4小時。在小瓶上施加133微巴真空。真空下用60分鐘使小瓶的溫度升高至-38°C，並保持6小時。然後，於-29°C保持真空5小時，-27°C保持真空15小時。

保持133微巴真空條件的同時，使小瓶的溫度在60分鐘內升高至-3℃。6小時後，在60分鐘內使溫度升高至5℃。小瓶在48微巴真空條件下保持99小時，然後在氮氣下密封。

(3) 凍乾組合物的按照比例增加製備

製備2升含5毫克/毫升測試化合物、3%(w/v)甘露醇和0.2%(w/v)NaCl的溶液。將該溶液通過Millipak 20、0.22微米PVDF濾器過濾。將該溶液轉移至10毫升Schott 1型透明玻璃小瓶中，並按照下面表中列出的條件進行凍乾：

	溫度	壓力	時間
冷卻	20℃	常壓	N/A
冷卻	5℃	常壓	50分鐘
冷卻	5℃至-45℃	常壓	3小時
冷凍	-45℃	常壓	6小時
乾燥	-45℃至-38℃	133微巴	1小時
乾燥	-38℃	133微巴	3小時
乾燥	-38℃至-29℃	133微巴	2小時
乾燥	-29℃	133微巴	5小時
乾燥	-29℃至-27℃	133微巴	2小時
乾燥	-27℃	133微巴	20小時
乾燥	-27℃至-3℃	133微巴	1小時
乾燥	-3℃	133微巴	3小時
乾燥	-3℃至12℃	133微巴	1小時
乾燥	12℃	133微巴	12小時
乾燥	12℃至5℃	133微巴	0.5小時
乾燥	5℃	48微巴	99小時

在氮氣下，用Helvoet Omniflex Rubber Lyo-塞子將小瓶密封。

穩定性研究

將小瓶在5℃/環境相對濕度，25℃/60%相對濕度，或

40°C /75%相對濕度條件下儲存1個月、2個月、3個月或6個月。與凍乾後立刻得到的結果相比，儲存了1個月、2個月、3個月和6個月的組合物在其化合物含量、水分含量、外觀和pH方面的變化很小或者沒有變化。即使增加其重溶的時間但依然很短，即約30-40秒。

其他實施方式

說明書中所揭示的所有特徵可以以任意的組合方式結合。說明書中所揭示的各種特徵可以被起到相同、等價或類似目的的特徵代替。因此，除非另外說明，所揭示的各種特徵僅僅是一系列等價或類似特徵的一個例子。

通過以上說明，本領域技術人員可以很容易地確定本發明的主要特徵，同時可以在不背離本發明的精神和範圍的前提下，對本發明進行各種改變和改良，以使其適用於各種應用和條件。因此，其他的實施方式也在所附權利要求書的範圍之內。

【圖式簡單說明】

(無)

【主要元件符號說明】

(無)

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：98138404

※申請日：98.11.12

※IPC 分類：

A61K 9/19 (2006.01)

A61K 31/662 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

C07F 9/6509 (2006.01)

C07D 403/04 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

凍乾製劑

LYOPHILIZATION FORMULATION

二、中文發明摘要：

本發明涉及一種含本說明書中所述的嘧啶化合物的凍乾製劑的藥學套組。還公開了製備這種凍乾製劑的凍乾方法。

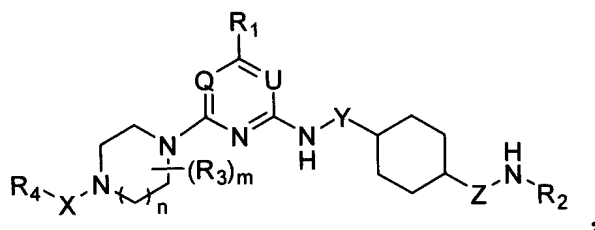
三、英文發明摘要：

This invention relates to a pharmaceutical kit containing a lyophilized preparation of a pyrimidine compound described in the specification. Also disclosed is a lyophilization process for making this preparation.

七、申請專利範圍：

1. 一種藥學套組，該藥學套組包含：

下列通式的化合物的凍乾製劑：



其中，

Q和U各自獨立地是CH或N，前提是，Q和U中至少一個是N；

X、Y和Z各自獨立地是C₁₋₅亞烷基或被消除；

m為0、1、2、3、4或5；

n為0、1或2；

R₁是H、C₁-C₁₀烷基、C₃-C₂₀環烷基、C₃-C₂₀雜環烷基、芳基、雜芳基、鹵素、CN、OR_a、COOR_a、OC(O)R_a、C(O)R_a、C(O)NR_aR_b或NR_aR_b；

R₂是C₁-C₁₀烷基、C₃-C₂₀環烷基、C₃-C₂₀雜環烷基、芳基、雜芳基或C₁-C₁₀烷基，可任選地被C₁-C₁₀烷基、C₃-C₂₀環烷基、C₃-C₂₀雜環烷基或N(R_cR_d)取代；

R₃各自獨立地是C₁-C₁₀烷基、C₃-C₂₀環烷基、C₃-C₂₀雜環烷基、芳基、雜芳基、鹵素、CN、OR_e、COOR_e、OC(O)R_e、C(O)R_e、C(O)NR_eR_f或NR_eR_f；或者(R₃)_m是與它所結合的環上的兩個碳原子相連的C₁₋₅亞烷基或者是與它所結合的環上的一個碳原子相連的C₂₋₈亞烷基；和

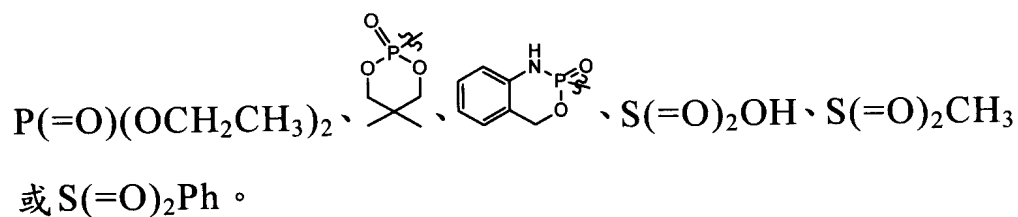
R_4 是 $P(=O)(OR_g)(OR_i)$ 、 $P(=O)(NHR_g)(OR_i)$ 、 $P(=O)(NR_g)(NR_i)$ 、 $S(=O)_2OR_g$ 或 $S(=O)_2R_g$ ；

其中， R_a 、 R_b 、 R_c 、 R_d 、 R_e 、 R_f 、 R_g 和 R_i 各自獨立地是 H、 C_1 - C_{10} 烷基、 C_3 - C_{20} 環烷基、 C_3 - C_{20} 雜環烷基、芳基、雜芳基或 $-C(O)R$ ， R 是 H、 C_1 - C_{10} 烷基、 C_3 - C_{20} 環烷基、 C_3 - C_{20} 雜環烷基、芳基或雜芳基；或者， R_a 和 R_b 相連一起形成 C_{2-8} 亞烷基， R_c 和 R_d 相連一起形成 C_{2-8} 亞烷基， R_e 和 R_f 相連一起形成 C_{2-8} 亞烷基，或者 R_g 和 R_i 相連一起形成 C_{1-5} 亞烷基；和

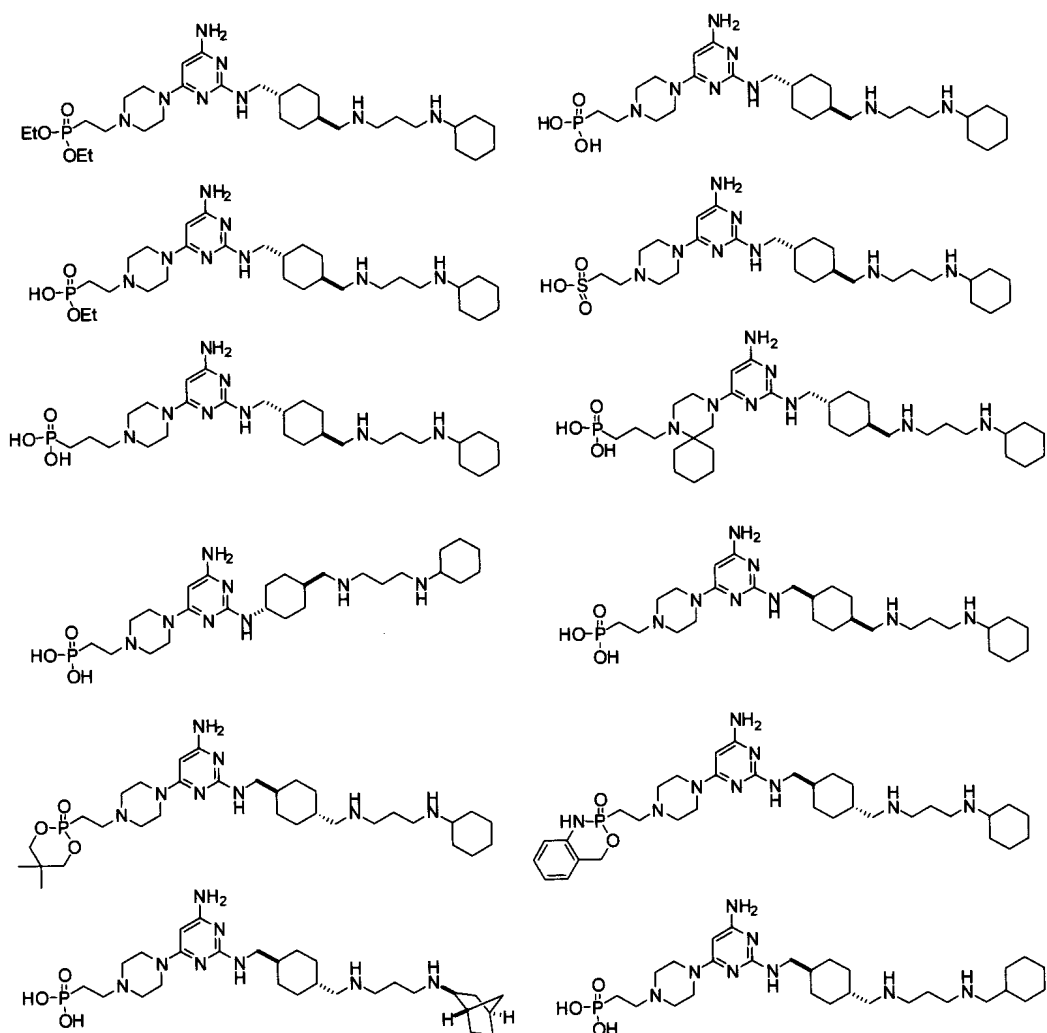
密封容器；

其中凍乾製劑設置在該密封容器中。

2. 如申請專利範圍第1項之藥學套組，其中 Q 是 CH 或 N 及 U 是 N。
3. 如申請專利範圍第1項之藥學套組，其中 X 是 $-CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 或 $-CH_2CH_2CH_2-$ ， Y 是 $-CH_2$ 或被消除， Z 是 $-CH_2-$ 。
4. 如申請專利範圍第1項之藥學套組，其中 R_1 是 NH_2 ； R_2 是 C_{1-5} 烷基取代的 $N(R_cR_d)$ ； m 為 0、1 或 2； n 為 1 或 2； R_3 是 C_1 - C_3 烷基、 C_3 - C_8 環烷基、 C_3 - C_8 雜環烷基、芳基、雜芳基、鹵素、CN、 OR_e 或 $C(O)NR_eR_f$ ；或者， R_3 是與它所結合的環上的兩個碳原子相連的 C_{1-2} 亞烷基或是與它所結合的環上的一個碳原子相連的 C_{2-5} 亞烷基。
5. 如申請專利範圍第1項之藥學套組，其中 R_4 是 $P(=O)(OH)_2$ 、 $P(=O)(OH)(OCH_2CH_3)$ 、



6. 如申請專利範圍第1項之藥學套組，其中該凍乾的化合物是以下所示化合物之一：

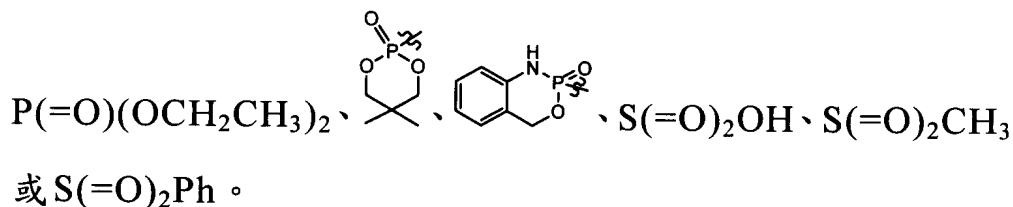


7. 如申請專利範圍第1項之藥學套組，進一步包含填充劑。
8. 如申請專利範圍第7項之藥學套組，其中該藥學套組不含張力調節劑。
9. 如申請專利範圍第7項之藥學套組，其中該藥學套組不含氯化鈉。

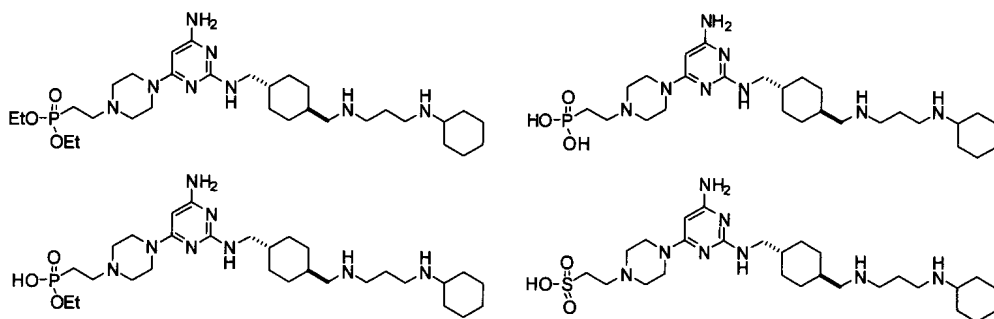
10. 如申請專利範圍第7項之藥學套組，其中該填充劑是甘露醇或右旋糖苷。

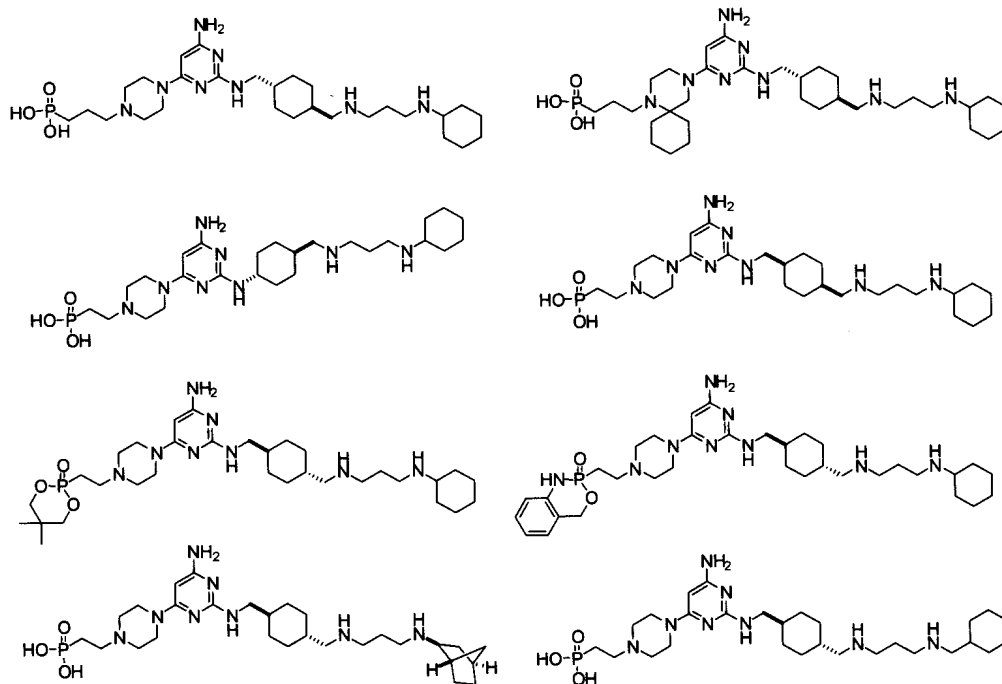
11. 如申請專利範圍第10項之藥學套組，其中， m 為0、1或2； n 為1或2； Q 是CH或N， U 是N； X 是 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 或 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ； Y 是 $-\text{CH}_2$ 或被消除， Z 是 $-\text{CH}_2-$ ； R_1 是 NH_2 ； R_2 是 C_{1-5} 烷基取代的 $\text{N}(\text{R}_c\text{R}_d)$ ； R_3 是 C_1-C_3 烷基、 C_3-C_8 環烷基、 C_3-C_8 雜環烷基、芳基、雜芳基、鹵素、 CN 、 OR_e 或 $\text{C}(\text{O})\text{NR}_e\text{R}_f$ ；或者， R_3 是與它所結合的環上的兩個碳原子相連的 C_{1-2} 亞烷基或者是與它所結合的環上的一個碳原子相連的 C_{2-5} 亞烷基。

12. 如申請專利範圍第11項之藥學套組，其中， R_4 是
 $\text{P}(=\text{O})(\text{OH})_2$ 、 $\text{P}(=\text{O})(\text{OH})(\text{OCH}_2\text{CH}_3)$ 、



13. 如申請專利範圍第12項之藥學套組，其中該凍乾的化合物是以下所示化合物之一：





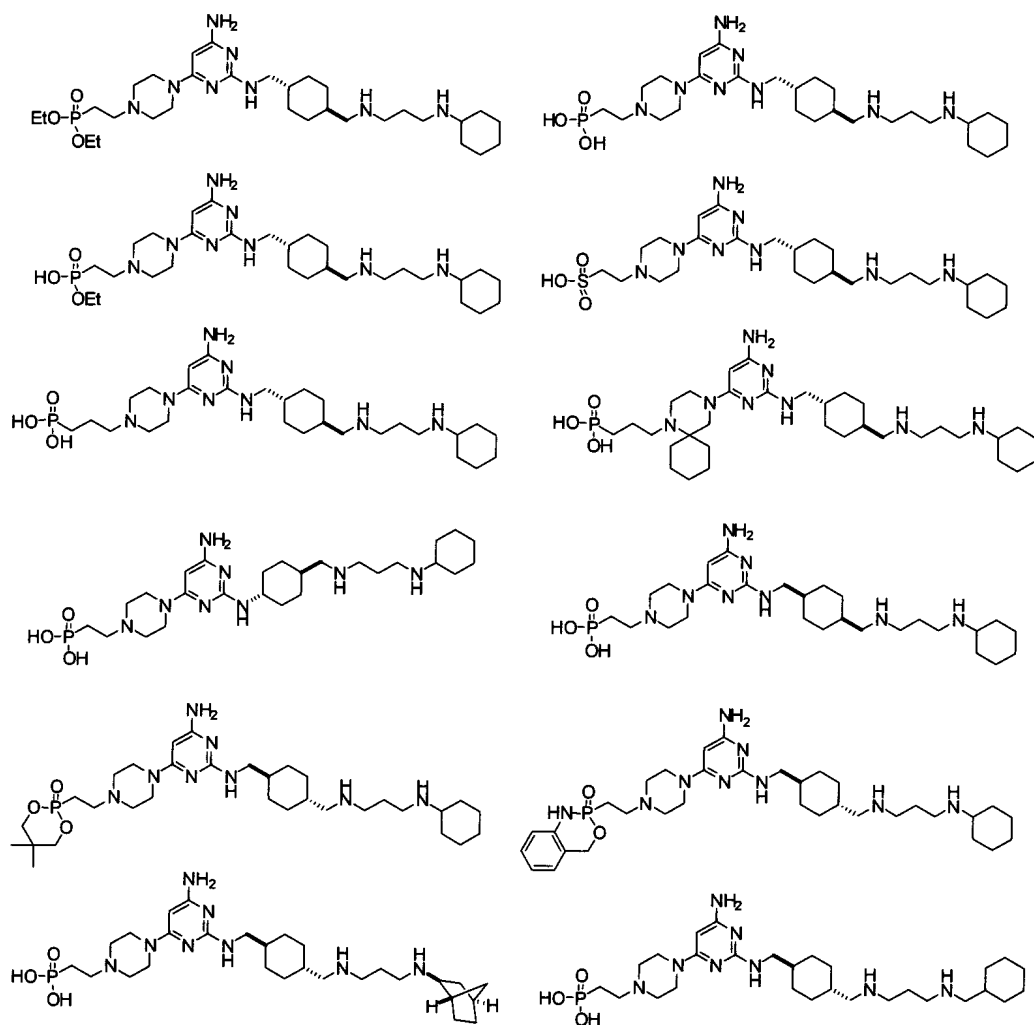
14. 如申請專利範圍第1項之藥學套組，進一步包含張力調節劑。

15. 如申請專利範圍第14項之藥學套組，其中張力調節劑是氯化鈉。

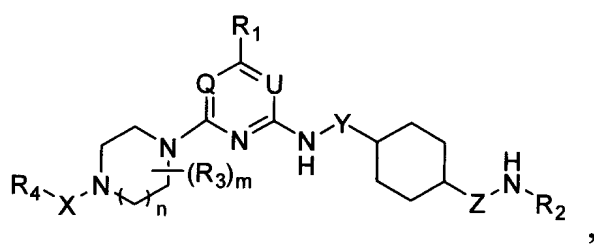
16. 如申請專利範圍第1項之藥學套組，進一步包含填充劑和張力調節劑，其中該化合物、填充劑和張力調節劑的重量比為1-25：10-50：0.01-6。

17. 如申請專利範圍第1項之藥學套組，進一步包含填充劑和張力調節劑，其中該化合物、填充劑和張力調節劑的重量比為1-50：0.01-50：0.01-0.9。

18. 如申請專利範圍第17項之藥學套組，其中該凍乾的化合物是以下所示化合物之一：



19. 一種製備具以下通式的化合物的凍乾製劑的方法：



其中，

Q和U各自獨立地是CH或N，前提是，Q和U中至少一個是N；

X、Y和Z各自獨立地是C₁₋₅亞烷基或被消除；

m為0、1、2、3、4或5；

n 為 0、1 或 2；

R_1 是 H、 C_1 - C_{10} 烷基、 C_3 - C_{20} 環烷基、 C_3 - C_{20} 雜環烷基、芳基、雜芳基、鹵素、CN、 OR_a 、 $COOR_a$ 、 $OC(O)R_a$ 、 $C(O)R_a$ 、 $C(O)NR_aR_b$ 或 NR_aR_b ；

R_2 是 C_1 - C_{10} 烷基、 C_3 - C_{20} 環烷基、 C_3 - C_{20} 雜環烷基、芳基、雜芳基或 C_1 - C_{10} 烷基，或任選地被 C_1 - C_{10} 烷基、 C_3 - C_{20} 環烷基、 C_3 - C_{20} 雜環烷基或 $N(R_cR_d)$ 取代；

R_3 各自獨立地是 C_1 - C_{10} 烷基、 C_3 - C_{20} 環烷基、 C_3 - C_{20} 雜環烷基、芳基、雜芳基、鹵素、CN、 OR_e 、 $COOR_e$ 、 $OC(O)R_e$ 、 $C(O)R_e$ 、 $C(O)NR_eR_f$ 或 NR_eR_f ；或者 $(R_3)_m$ 是與它所結合的環上的兩個碳原子相連的 C_{1-5} 亞烷基或者是與它所結合的環上的一個碳原子相連的 C_{2-8} 亞烷基；和

R_4 是 $P(=O)(OR_g)(OR_i)$ ， $P(=O)(NHR_g)(OR_i)$ ， $P(=O)(NR_g)(NR_i)$ ， $S(=O)_2OR_g$ 或 $S(=O)_2R_g$ ；

其中， R_a 、 R_b 、 R_c 、 R_d 、 R_e 、 R_f 、 R_g 和 R_i 各自獨立地是 H、 C_1 - C_{10} 烷基、 C_3 - C_{20} 環烷基、 C_3 - C_{20} 雜環烷基、芳基、雜芳基或 $-C(O)R$ ， R 是 H、 C_1 - C_{10} 烷基、 C_3 - C_{20} 環烷基、 C_3 - C_{20} 雜環烷基、芳基或雜芳基；或者， R_a 和 R_b 相連一起形成 C_{2-8} 亞烷基， R_c 和 R_d 相連一起形成 C_{2-8} 亞烷基， R_e 和 R_f 相連一起形成 C_{2-8} 亞烷基，或 R_g 和 R_i 相連一起形成 C_{1-5} 亞烷基；

該方法包括：

提供含有該化合物的水溶液；

將該溶液冷卻至 -80°C 和 -10°C 之間；和

將-80°C和-10°C之間的冷卻溶液抽真空15-100小時，然後在-9°C和35°C之間抽真空10-200小時。

20. 如申請專利範圍第19項之方法，其中該水溶液進一步包含填充劑。
21. 如申請專利範圍第19項之方法，其中該水溶液進一步包含張力調節劑。
22. 如申請專利範圍第19項之方法，其中該水溶液進一步包含填充劑和張力調節劑。
23. 如申請專利範圍第22項之方法，其中該填充劑是甘露醇或右旋糖苷，且該張力調節劑是氯化鈉。
24. 如申請專利範圍第23項之方法，其中，在進行冷卻步驟之前，該水溶液包含1-50毫克/毫升的基於其遊離鹼形式的化合物、0.01-50毫克/毫升甘露醇或右旋糖苷和0.01-6毫克/毫升氯化鈉。
25. 如申請專利範圍第19項之方法，其中，在進行冷卻步驟之前，該水溶液藉由微過濾進行滅菌。
26. 一種藉由申請專利範圍第19項之方法所製得的凍乾製劑。
27. 一種藉由申請專利範圍第25項之方法所製得的凍乾製劑。

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 () 圖。(無)

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：