



(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 I801438 B

(45)公告日：中華民國 112 (2023) 年 05 月 11 日

(21)申請案號：107136676

(22)申請日：中華民國 107 (2018) 年 10 月 18 日

(51)Int. Cl. : A61K31/04 (2006.01)

C07H15/226 (2006.01)

(30)優先權：2017/10/19 美國

62/574,544

(71)申請人：中國大陸商軒竹（北京）醫藥科技有限公司（中國大陸）XUANZHU (BEIJING)
BIOPHARMACEUTICAL LIMITED (CN)

中國大陸

(72)發明人：崔德 瑞莎 TREND, RAISSA (US)；德潘 麥可 DAPPEN, MICHAEL (US)；漢瑞
克里斯多福 E HENRY, CHRISTOPHER E. (US)；古德布魯 亞當 亞倫
GOLDBLUM, ADAM AARON (US)；艾基 詹姆士 布萊德里 AGGEN, JAMES
BRADLEY (US)；孟多卡 瑞卡多 飛利浦 德 吉瑟斯 貢卡維斯 MENDONCA,
RICARDO FILIPE DE JESUS GONCALVES (PT)；賽丁哈 喬歐 卡路斯 菲爾
考 SARDINHA, JOAO CARLOS FALCAO (PT)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

TW 201000467A

WO 2010/132770A1

WO 2010/132777A2

WO 2010/147836A1

WO 2011/143497A1

WO 2014/145713A2

審查人員：蔡榮哲

申請專利範圍項數：21 項 圖式數：9 共 186 頁

(54)名稱

抗菌胺基糖苷類似物之合成

(57)摘要

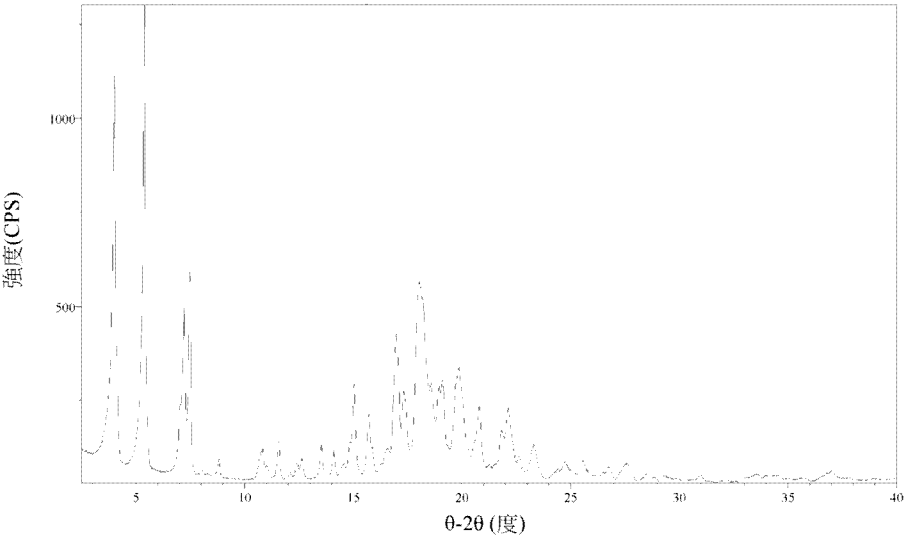
本發明係關於用於製備抗菌胺基糖苷化合物之新穎方法，以及適用於此方法之相關中間物及其晶體形式。

The present disclosure relates to novel methods for preparing antibacterial aminoglycoside compounds, as well as to related intermediates, and crystal forms thereof, useful in such methods.

指定代表圖：

I801438

TW I801438 B



【圖1】



I801438

【發明摘要】

【中文發明名稱】

抗菌胺基糖苷類似物之合成

【英文發明名稱】

SYNTHESIS OF ANTIBACTERIAL AMINOGLYCOSIDE
ANALOGS

【中文】

本發明係關於用於製備抗菌胺基糖苷化合物之新穎方法，以及適用於此方法之相關中間物及其晶體形式。

【英文】

The present disclosure relates to novel methods for preparing antibacterial aminoglycoside compounds, as well as to related intermediates, and crystal forms thereof, useful in such methods.

【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

抗菌胺基糖苷類似物之合成

【英文發明名稱】

SYNTHESIS OF ANTIBACTERIAL AMINOGLYCOSIDE
ANALOGS

【技術領域】

【0001】本發明係關於用於製備抗菌胺基糖苷化合物之新穎方法，以及適用於此類方法之相關中間物及中間物之晶體形式。

【先前技術】

【0002】至少30%的所有住院患者現接受一或多種用抗生素進行之療程，且已治癒數百萬潛在致死性感染。此等藥劑變成執業醫師可使用之藥劑中的誤用度最高之部分。然而，廣泛使用抗菌劑之一個結果為出現抗生素抗性病原體，其又產生不斷增長的對新藥物之需求。

【0003】當首次測試新藥劑之抗微生物活性時，通常定義敏感性及抗性之模式。不幸的是，此活性範圍隨後可以顯著程度變化，因為微生物演變一系列巧妙變化，使得其可在抗生素之存在下存活。耐藥性之機制在各微生物之間及在各藥物之間不同。

【0004】用於研發新穎胺基糖苷抗生素之工作係針對引起西索米星(sisomicin)及新黴素(neomycin)類似物在6'-及N-1位置處經修飾之多重耐藥性革蘭氏陰性細菌(gram-negative bacteria)來進行。已知用於1-N位置之選擇性功能化之某些合成技術。通常使用保護基在多步驟程序中實現1-N位置之選擇性修飾。首先，藉由形成具有二價金屬離子(通常鋅、鎳、銅或

鈷)之過渡金屬錯合物來阻斷胺基糖苷骨架之1-N及3''N位置。接著，使用標準氮保護基保護所有其他位置(6'-2'-及3-N)(通常，此等胺為以胺基甲酸酯或乙酸酯形式受保護)。在保護6'-2'-及3-N位置之情況小，移除過渡金屬錯合物且以高選擇性修飾1-N位置。此時，6'-2'-及3-N位置通常受保護且唯一剩餘的游離胺為二級3''胺，其在典型醯化或烷基化反應中與1-N胺相比反應更慢。

【0005】相比之下，6'-N位置之選擇性功能化仍為難以解決之問題。6'-N針對多種反應條件為反應性最高的位置且先前方法依賴於此相對較高反應性以功能化或保護6'-N胺。然而，6'-N與其他位置(特定言之，2'-、3-及1-N)之間的反應性差異並不大。因此，嘗試直接功能化6'-N位置由於形成異構副產物及過度反應副產物(雙功能化或三功能化胺基糖苷衍生物)而複雜化。副產物之大量形成需要實施純化程序，其使得6'-N功能化胺基糖苷衍生物生產時間及成本顯著增加，諸如美國專利案第8,383,596號；第8,822,424號；第9,266,919號；第9,688,711號；及美國公開案第2012-0214759號中所描述。

【0006】為了加快藥物探索及研發過程，需要用於合成胺基糖苷抗生素之新方法以提供一系列可潛在地成為用於治療細菌感染之新藥物之化合物。本發明可滿足此等需求且提供其他相關優點。

【發明內容】

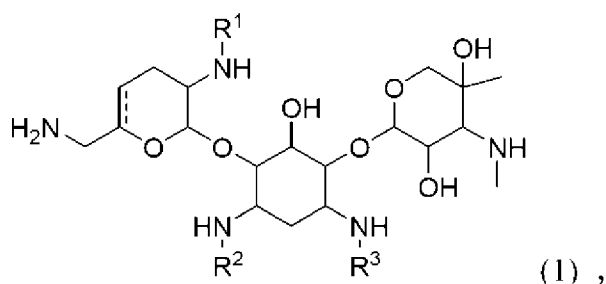
【0007】簡言之，本發明係關於用於製備抗菌胺基糖苷化合物之新穎方法以及該等新穎方法中使用之新穎中間物及某些中間物之晶體形式。

【0008】本發明提供用於大規模、可以商業規模再現且具有良好產率之製備式(9)化合物(其包括普拉唑黴素(plazomicin))之方法。此等方法包含

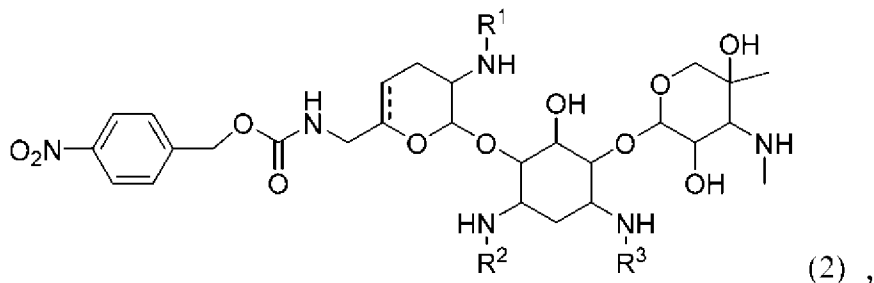
可提供經由新穎的反應條件組合之實驗及研發而獲得之新穎中間化合物之反應。該等方法亦可包含某些中間物之結晶。意外的是，此等特定中間物之結晶有助於改良純化(例如減少雜質)，且與先前純化方法相比可簡化純化。

【0009】本發明之一個態樣係關於一種用於製備式(2)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之方法，其包含：

(a)使式(1)化合物：



或其對映異構體，或其非對映異構體與1-[[[(對硝基苯甲基)氧基]羰基]-1H-苯并三唑(PNZ-Bt)接觸，以形成式(2)化合物：

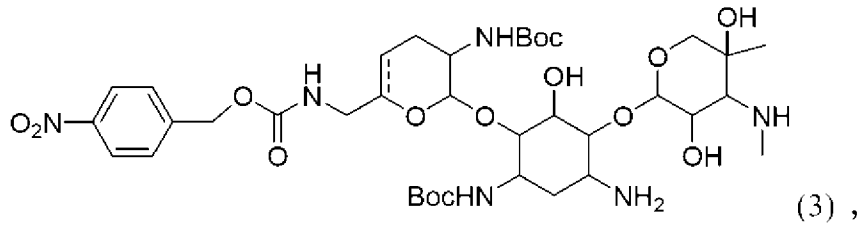


或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體；其中==為單鍵或雙鍵；R¹為H或C₁-C₃烷基；R²為H或C₁-C₃烷基；且R³為H或C₁-C₃烷基。在某些此類實施例中，步驟(a)係在選自由以下組成之群之溶劑存在下進行：二氯甲烷、甲醇及其組合。在一些實施例中，PNZ-Bt針對式(1)化合物，或其對映異構體，或其非對映異構體以約1.0至1.2莫耳當量存在。

【0010】在上文及下文之一些實施例中，==為單鍵或雙鍵。在上文及

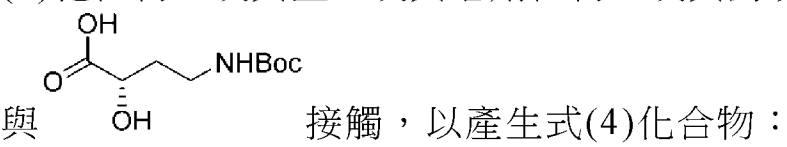
下文之一些實施例中， $\equiv$ 為單鍵。在上文及下文之一些實施例中， $\equiv$ 為雙鍵。在上文及下文之一些實施例中， R^1 、 R^2 或 R^3 為H。

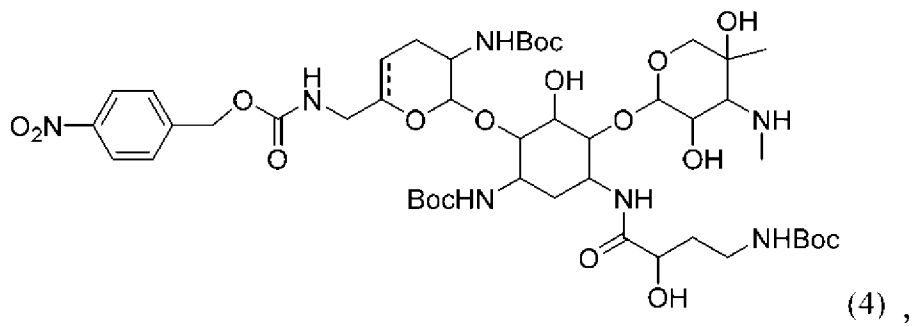
【0011】本發明之另一態樣係關於一種方法，其進一步包含步驟(b1)或(b2)：(b1)其中當 R^1 、 R^2 及 R^3 為H時，使式(2)化合物與Boc保護基試劑接觸，得到式(3)化合物：



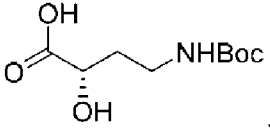
或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體；或(b2)其中當 R^1 、 R^2 或 R^3 獨立地為 C_1 - C_3 烷基時，首先移除該 C_1 - C_3 烷基，且接著使式(2)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與Boc保護基試劑接觸，得到式(3)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。在某些此類實施例中，Boc保護基試劑為 Boc_2O 或Boc-ONb。在一些實施例中，在路易斯酸(Lewis acid)存在下進行步驟(b1)或(b2)。在某些此類實施例中，路易斯酸為 $Zn(OAc)_2$ 、 $ZnCl_2$ 或 $Zn(OPiv)_2$ 。在一些實施例中，路易斯酸包含銅離子或鎳離子。在一些實施例中，在三乙胺存在下進行步驟(b1)或(b2)。在某些實施例中，在甲醇存在下進行步驟(b1)或(b2)。

【0012】本發明之一個態樣係關於一種方法，其進一步包含：(c)使式(3)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體

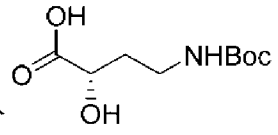




或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。在某些此類實施例中，在活化劑及肽偶合劑存在下進行步驟(c)。在某些此類實施例中，活化劑為HOBt。在某些此類實施例中，活化劑相對於



以約0.05至1.0莫耳當量存在。在一些實施例中，肽偶合劑

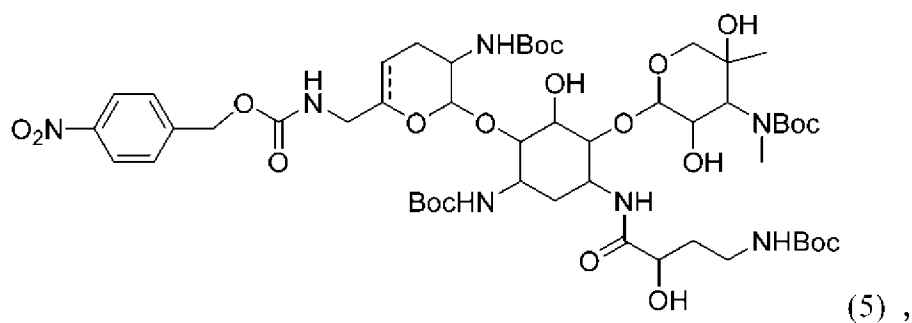


為EDAC或PyBOP。在某些此類實施例中，肽偶合劑相對於以約1.0至1.4莫耳當量存在。

【0013】 在一些實施例中，在酸性條件下進行步驟(c)。在某些此類實施例中，酸性條件為約4與7之間的pH值。在某些此類實施例中，酸性條件為約pH 5。

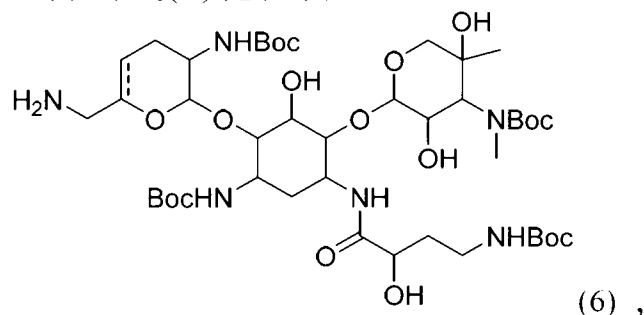
【0014】 本發明之一個態樣係關於一種方法，其進一步包含製備式(4)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之結晶形式。在一些實施例中，該方法進一步包含分離式(4)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

【0015】 本發明之另一態樣係關於一種方法，其進一步包含：(d)使式(4)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與Boc保護基試劑接觸，得到式(5)之化合物：



或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。在某些此類實施例中，Boc保護基試劑為Boc₂O。在一些實施例中，在醇存在下進行步驟(d)。在某些此類實施例中，醇為甲醇。在一些實施例中，在至多約60°C之溫度下進行步驟(d)。

【0016】本發明之一個態樣係關於一種方法，其進一步包含：(e)使式(5)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與PNZ去保護劑接觸，得到式(6)化合物：

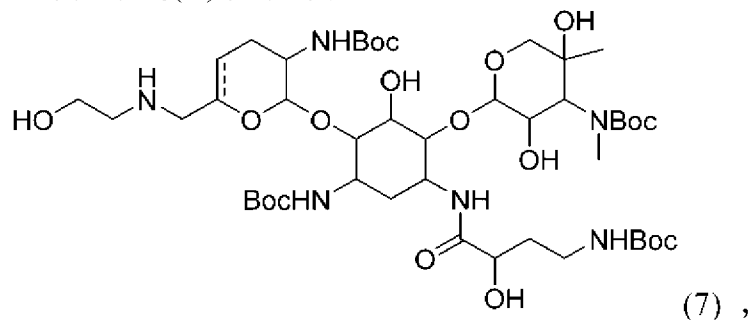


或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。在某些此類實施例中，PNZ去保護劑為連二亞硫磺酸鈉。

【0017】本發明之另一態樣係關於一種方法，其進一步包含製備式(6)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之結晶形式。在一些實施例中，該方法進一步包含分離式(6)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

【0018】在一些實施例中，該方法進一步包含(f)使式(6)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與HO-CH₂-CH₂-LG¹接觸，

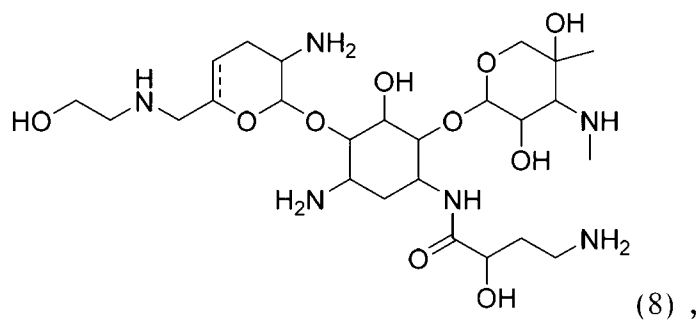
其中LG¹為脫離基，得到式(7)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。在某些此類實施例中，脫離基為碘。在一些實施例中，HO—CH₂—CH₂—LG¹相對於式(6)化合物以約1.0至1.5莫耳當量存在。在一些實施例中，在實質上不含水之條件下進行步驟(f)。在某些實施例中，在選自由以下組成之群之溶劑存在下進行步驟(f)：乙腈、丙酮及其組合。在一些實施例中，在NaHCO₃存在下進行步驟(f)。在某些實施例中，在約30℃至40℃之溫度下進行步驟(f)。在一些實施例中，步驟(f)進一步包含向反應混合物中添加1,4-二氮雜雙環[2.2.2]辛烷(DABCO)。

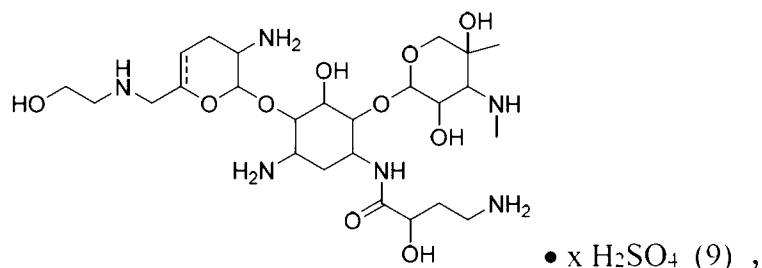
【0019】本發明之一個態樣係關於一種方法，其進一步包含製備式(7)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之結晶形式。本發明之另一態樣係關於一種方法，其進一步包含分離式(7)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

【0020】本發明之另一態樣係關於一種方法，其進一步包含：(g)使式(7)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與Boc移除劑接觸，得到式(8)化合物：



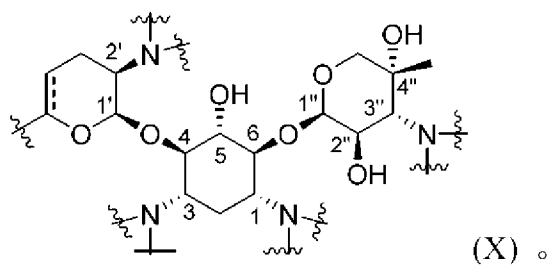
或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。在步驟(g)之一些實施例中，Boc移除劑為TFA，藉此產生式(8)化合物，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之三氟乙酸鹽。在一些實施例中，該方法進一步包含移出三氟乙酸鹽，得到式(8)化合物，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

【0021】本發明之一個態樣係關於一種方法，其進一步包含：(h)用酸進行鹽形成，得到式(8)化合物，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之鹽。在一些實施例中，步驟(h)中之酸為硫酸，藉此產生式(9)化合物之硫酸鹽：

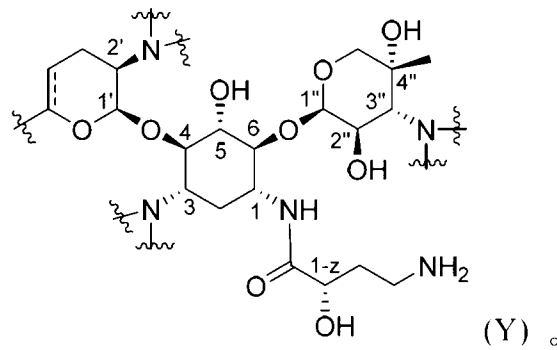


或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體，其中x為1至5。

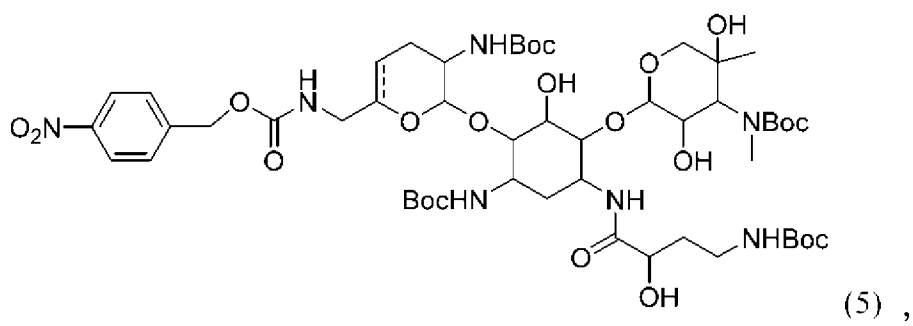
【0022】在以下或前述內容中之任一者之一些實施例中，式(1)-(3)中之碳原子1、3、4、5、6、1'、2'、1''、2''、3''及4''處之立體化學與式(X)中相同地指示，其中 ~ 指示與氫或一個部分之連接點：



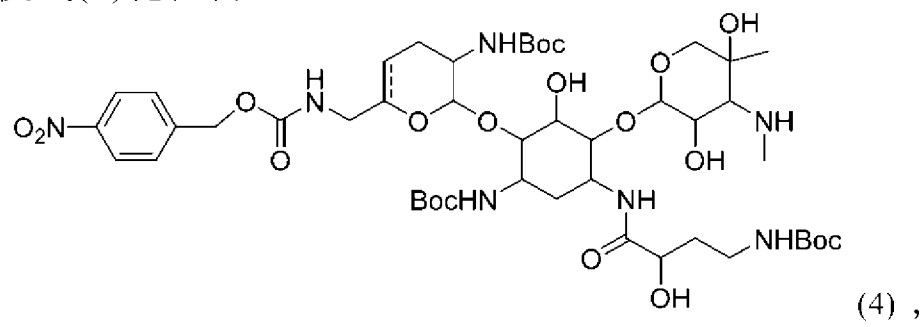
【0023】在以下或前述內容中之任一者之一些實施例中，式(4)-(9)中之碳原子1、3、4、5、6、1'、2'、1''、2''、3''、4''及1-z處之立體化學與式(Y)中相同地指示，其中 ~~~ 指示與氫或一個部分之連接點：



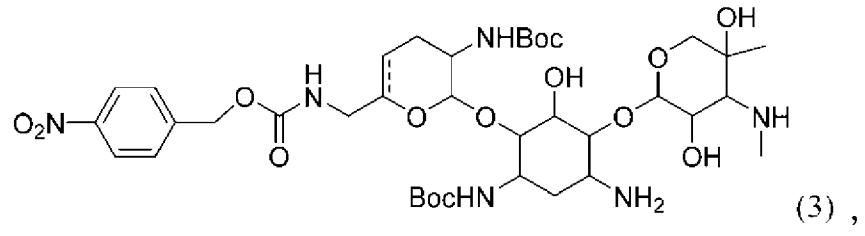
【0024】本發明之一個態樣係關於一種方法，其係用於製備式(5)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體，該方法包含：(a)使式(4)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與Boc保護基試劑接觸，其中 $\equiv$ 為單鍵或雙鍵。在一些實施例中，式(4)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體係藉由使式(3)化合物：

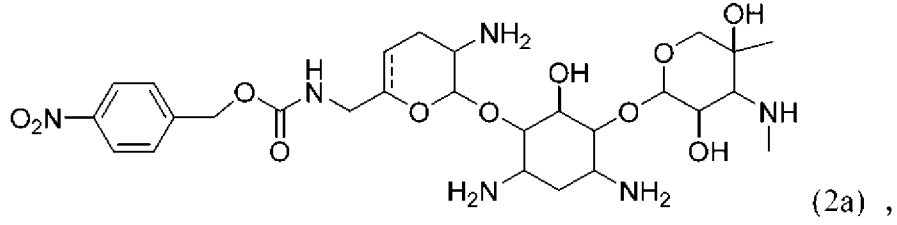


或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與

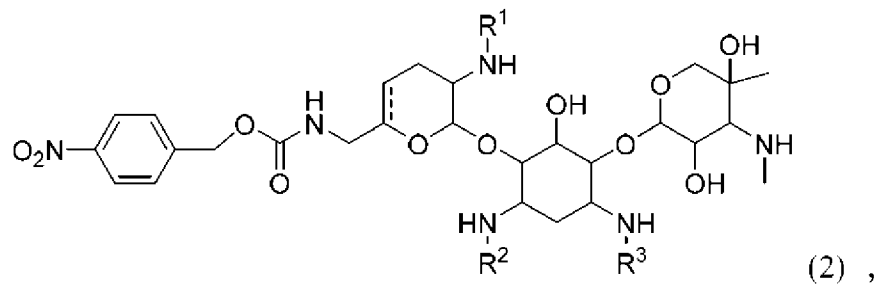
接觸來製備。

The chemical structure shown is a chiral auxiliary, specifically a 1,3-diol with an NHBoc group and an amino group, which is used in the synthesis of compound (3).

【0025】在其他實施例中，式(3)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體係藉由以下步驟製備：(b1)使式(2a)化合物：



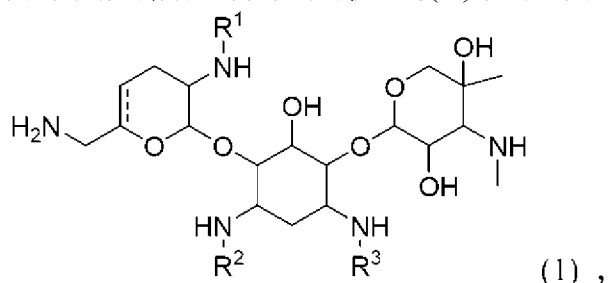
或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與Boc保護基試劑接觸；或(b2)移除式(2)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體中之C₁-C₃烷基：



其中R¹為H或C₁-C₃烷基；R²為H或C₁-C₃烷基；且R³為H或C₁-C₃烷基，

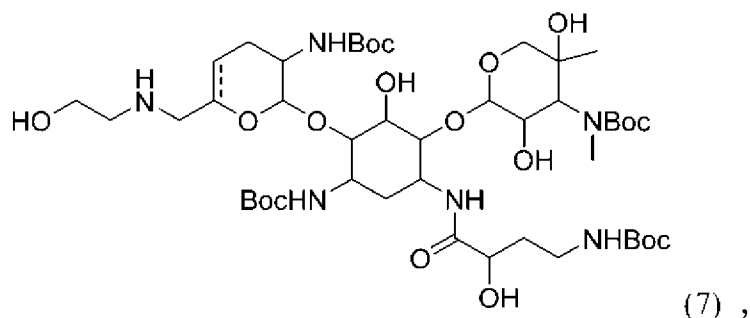
且其中 R^1 、 R^2 或 R^3 中之一或多者獨立地為 C_1 - C_3 烷基；及接著使式(2)化合物與Boc保護基試劑接觸。

【0026】在一些實施例中，式(2)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體係藉由使式(1)化合物：

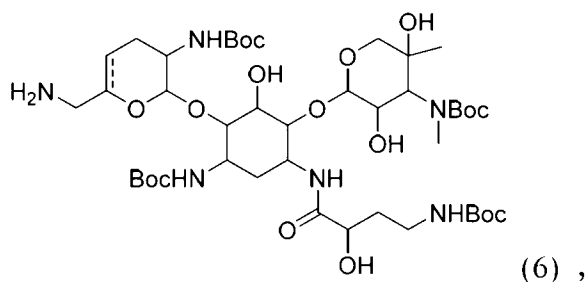


或其對映異構體，或其非對映異構體與1-[(對硝基苯甲基)氧基]羰基}-1H-苯并三唑(PNZ-Bt)接觸來製備。在某些實施例中，步驟(a)、(b1)或(b2)中之Boc保護基試劑為 Boc_2O 。在一些實施例中，在醇存在下進行步驟(a)、(b1)或(b2)。在某些此類實施例中，醇為甲醇。在一些實施例中，在至多約 $60^\circ C$ 之溫度下進行步驟(a)、(b1)或(b2)。

【0027】本發明之一個態樣係關於一種方法，其係用於製備式(7)化合物：

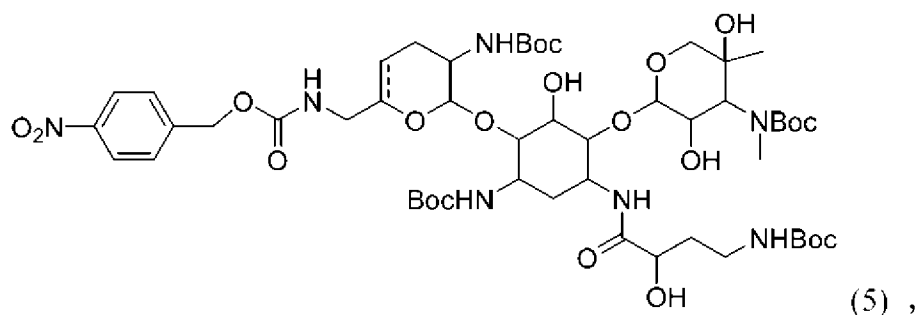


或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體，該方法包含：(f)使式(6)化合物



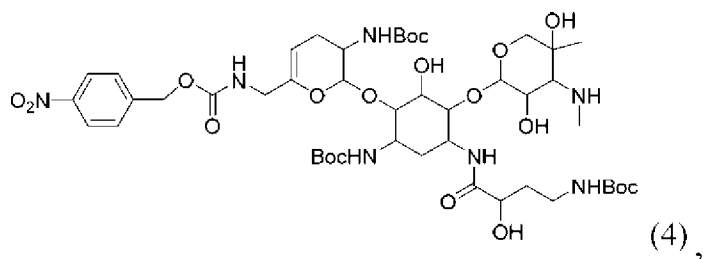
或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與 $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{LG}^1$ 接觸，其中 LG^1 為脫離基，且其中 --- 為單鍵或雙鍵。在某些此類實施例中，脫離基為碘。在一些實施例中， $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{LG}^1$ 相對於式(6)化合物以約1.0至1.5莫耳當量存在。在一些實施例中，在實質上不含水之條件下進行步驟(f)。在某些實施例中，在選自由以下組成之群之溶劑存在下進行步驟(f)：乙腈、丙酮及其組合。在一些實施例中，在 NaHCO_3 存在下進行步驟(f)。在一些實施例中，在約30°C至40°C之溫度下進行步驟(f)。在一些實施例中，步驟(f)進一步包含向反應混合物中添加1,4-二氮雜雙環[2.2.2]辛烷(DABCO)。

【0028】本發明之另一態樣係關於一種方法，其中式(6)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體係藉由使式(5)化合物：

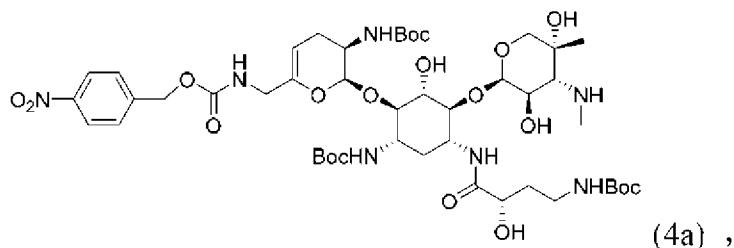


或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與PNZ去保護劑接觸來製備。

【0029】本發明之一個態樣係關於式(4)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。在某些此類實施例中，式(4)化合物具有下式：



或其鹽，或其溶劑合物。

【0030】本發明之另一態樣係關於結晶((2S,3R)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-6-((((4-硝基苯甲基)氧基)羰基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-吡喃-3-基)胺基甲酸第三丁酯，式(4a)，或其溶劑合物。

【0031】本發明之一個態樣係關於一種用於製備結晶((2S,3R)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-6-((((4-硝基苯甲基)氧基)羰基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-吡喃-3-基)胺基甲酸第三丁酯，式(4a)，或其溶劑合物之方法，其包含：

- (a) 用乙腈處理式(4a)，或其鹽，或其溶劑合物，以產生溶液；
- (b) 加熱來自步驟(a)之溶液；

- (c) 向步驟(b)之經加熱之溶液中添加水；
- (d) 冷卻來自步驟(c)之溶液；
- (e) 用晶種裝填來自步驟(d)之溶液；及
- (f) 分離所得固體，得到結晶式(4a)或其溶劑合物。

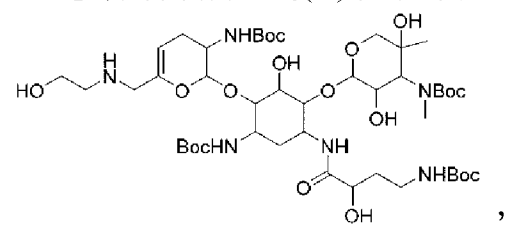
【0032】本發明之另一態樣係關於結晶((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(6a)，或其溶劑合物。

【0033】本發明之一個態樣係關於一種用於製備結晶((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(6a)，或其溶劑合物之方法，其包含：

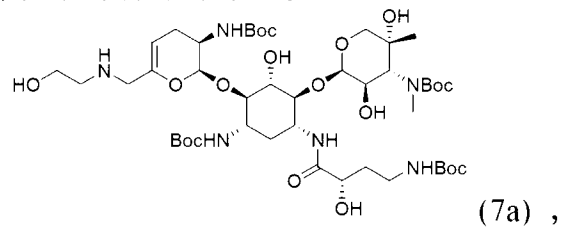
- (a) 用乙酸異丙酯(IPAc)處理式(6)，或其鹽，或其溶劑合物，以產生溶液；
- (b) 向步驟(a)之溶液中添加水以產生混合物；
- (c) 向來自步驟(b)之混合物中添加二氯甲烷以產生混合物；
- (d) 用晶種裝填來自步驟(c)之混合物；
- (e) 分離所得固體，得到結晶式(6a)，或其溶劑合物。

在某些此類實施例中，在低溫下進行步驟(d)。

【0034】本發明之另一態樣係關於式(7)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。在某些此類實施例中，式(7)化合物具有下式：



或其鹽，或其溶劑合物。

【0035】本發明之一個態樣係關於結晶((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-(((2-羥基乙基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(7a)，或其溶劑合物。

【0036】本發明之另一態樣係關於一種用於製備結晶((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-(((2-羥基乙基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(7a)，或其溶劑合物之方法，其包含：

- (a) 用乙酸異丙酯(IPAc)處理式(7a)，或其鹽，或其溶劑合物，以產生溶液；
- (b) 向步驟(a)之溶液中添加乙腈以產生混合物；
- (c) 用晶種裝填來自步驟(b)之混合物；
- (d) 分離所得固體，得到結晶式(7a)，或其溶劑合物。

【0037】本發明之細節闡述於以下隨附說明中。現描述說明性方法及材料，但類似或等效於本文中所描述之方法及材料的方法及材料亦可用於實踐或測試本發明。本發明之其他特徵、目標及優點將由說明書及申請專利範圍變得顯而易見。除非上下文清楚地另外指示，否則在說明書及申請專利範圍中，單數形式亦包括複數。除非另外定義，否則本文中所用之所有技術及科學術語皆具有與一般熟習此項技術者通常所理解相同的含義。本說明書中所引用之所有專利案及公開案皆以全文引用之方式併入本文中。

【0038】本文中所描述之各實施例可單獨或與任何一或多個其他實施例組合使用。

【圖式簡單說明】

【0039】藉由參考隨附圖式說明本發明之各種態樣。

【0040】圖1描繪化合物4a之XRPD譜圖。

【0041】圖2描繪化合物4a之TGA概況。

【0042】圖3描繪化合物4a之DSC概況。

【0043】圖4描繪化合物6a之XRPD譜圖。

【0044】圖5描繪化合物6a之TGA概況。

【0045】圖6描繪化合物6a之DSC概況。

【0046】圖7描繪化合物7a之XRPD譜圖。

【0047】圖8描繪化合物7a之TGA概況。

【0048】圖9描繪化合物7a之DSC概況。

【實施方式】

相關申請案之交叉參考

【0049】本申請案主張2017年10月19日申請之美國臨時申請案第62/574,544號之權利；其內容以全文引用之方式併入本文中。

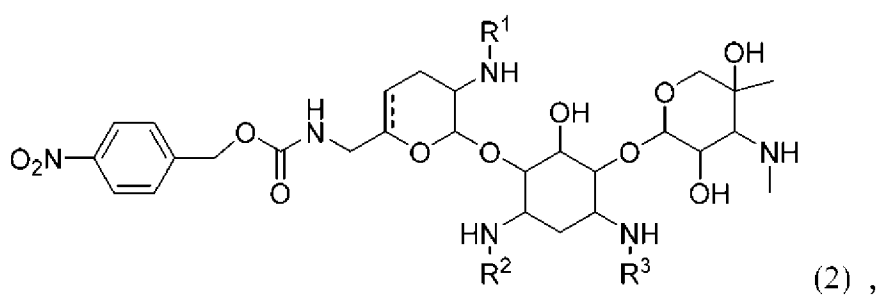
政府利益之表述

【0050】本發明係在政府支持下，使用來自生物醫學高級研究及發展局(Biomedical Advanced Research and Development Authority)，預備及反應助理秘書辦公室(Office of the Assistant Secretary for Preparedness and Response)，部長辦公室(Office of the Secretary)，衛生與人力資源服務部(Department of Health and Human Services)之聯邦基金，在合同號HHSO100201000046C下進行。政府具有本發明之某些權利。

【0051】本發明係關於用於製備抗菌胺基糖苷化合物之新穎方法，以及適用於此類方法之相關中間物及特定中間物之某些晶體形式。

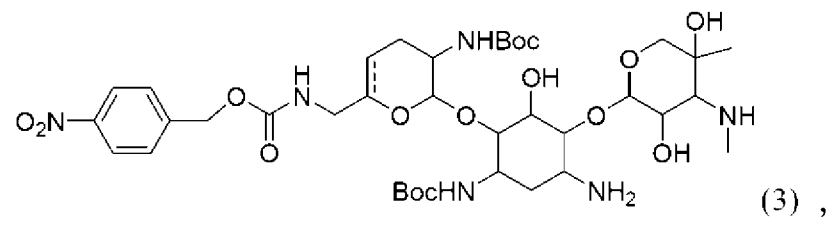
【0052】如上文所論述，本發明提供用於大規模及可以商業規模再現的具有良好產率之製備式(9)化合物(其包括硫酸普拉唑黴素)之方法。該等方法包含可提供某些新穎中間化合物之反應及條件之組合。在特定實施例中，該等方法亦包括某些中間物之結晶，其中結晶意外地有助於純化過程(例如，藉由清除雜質且藉此降低雜質含量)，因此亦提供與先前純化過程相比更簡單的純化。

【0053】在一個態樣中，本發明係關於一種方法，其係用於製備式(2) 化合物：



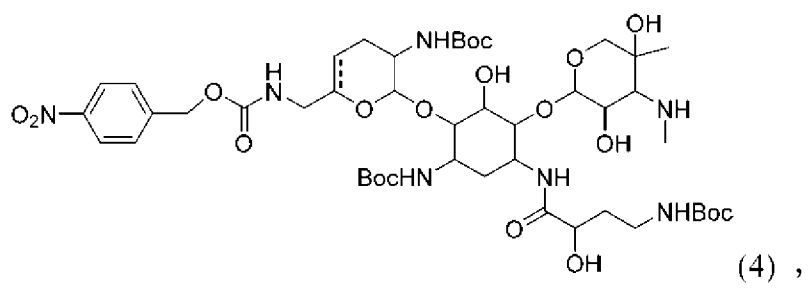
或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體；其中 == 為單鍵或雙鍵；R¹為H或C₁-C₃烷基；R²為H或C₁-C₃烷基；且R³為H或C₁-C₃烷基。

【0054】在另一態樣中，本發明係關於一種方法，其係用於製備式(3) 化合物：



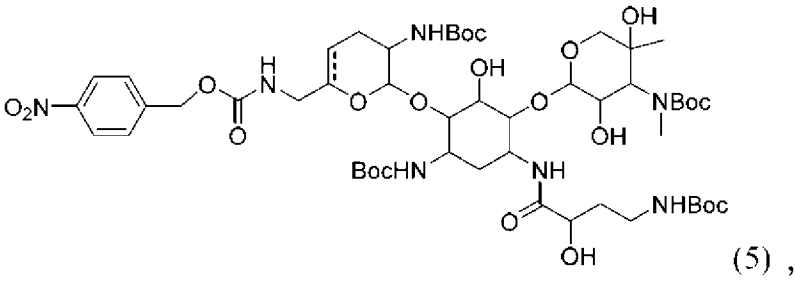
或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體，其中 == 為單鍵或雙鍵。

【0055】在一個態樣中，本發明係關於一種方法，其係用於製備式(4) 化合物：



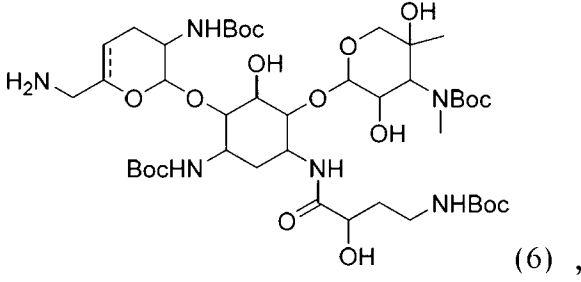
或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體，其中 == 為單鍵或雙鍵。

【0056】在另一態樣中，本發明係關於一種方法，其係用於製備式(5) 化合物：



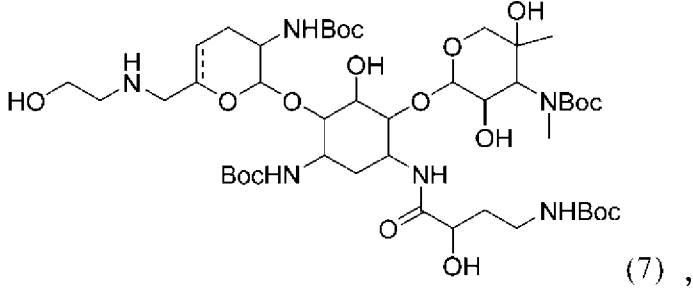
或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體，其中 == 為單鍵或雙鍵。

【0057】在一個態樣中，本發明係關於一種方法，其係用於製備式(6) 化合物：



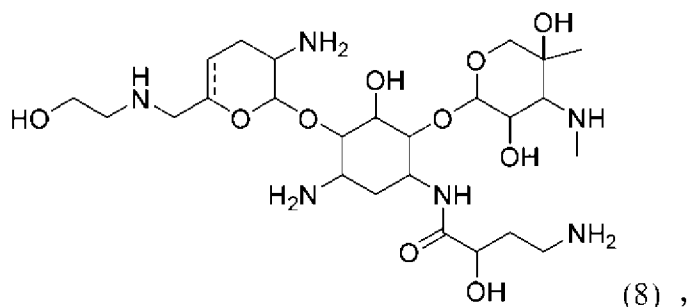
或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體，其中 == 為單鍵或雙鍵。

【0058】在另一態樣中，本發明係關於一種方法，其係用於製備式(7) 化合物：



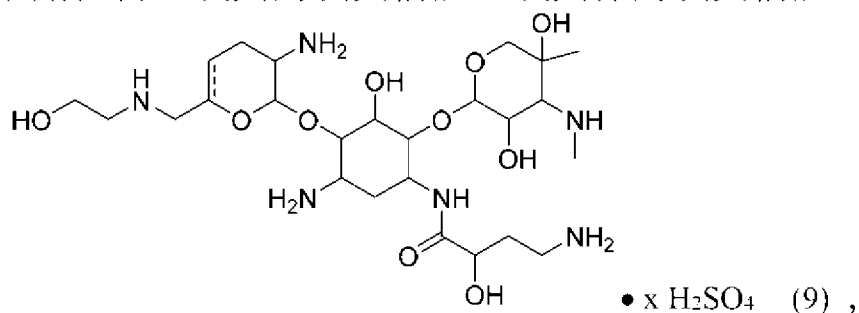
或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體，其中 == 為單鍵或雙鍵。

【0059】 在一些態樣中，本發明係關於一種方法，其係用於製備式(8)化合物：



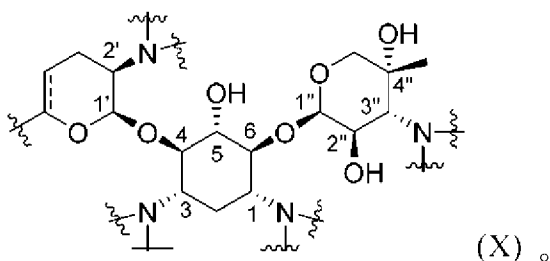
或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體，其中 $\equiv$ 為單鍵或雙鍵。

【0060】 在另一態樣中，本發明係關於一種方法，其係用於製備式(9)化合物，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之硫酸鹽：



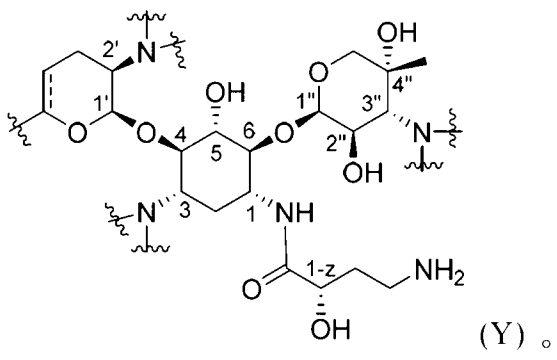
其中x為1至5且其中 $\equiv$ 為單鍵或雙鍵。

【0061】 在一些實施例中，式(1)-(3)中之碳原子1、3、4、5、6、1'、2'、1''、2''、3''及4''處之立體化學係如式(X)中所指示，其中 $\sim$ 指示與氫或一個部分之連接點：

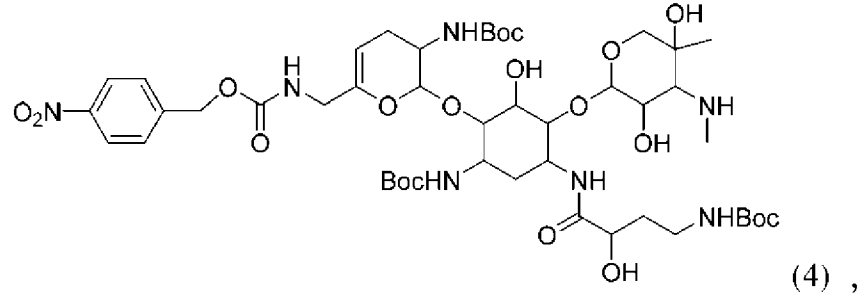


【0062】 在一些實施例中，式(4)-(9)中之碳原子1、3、4、5、6、1'、2'、1''、2''、3''、4''及1-z處之立體化學係如式(Y)中所指示，其中 $\sim$ 指示

與氫或一個部分之連接點：

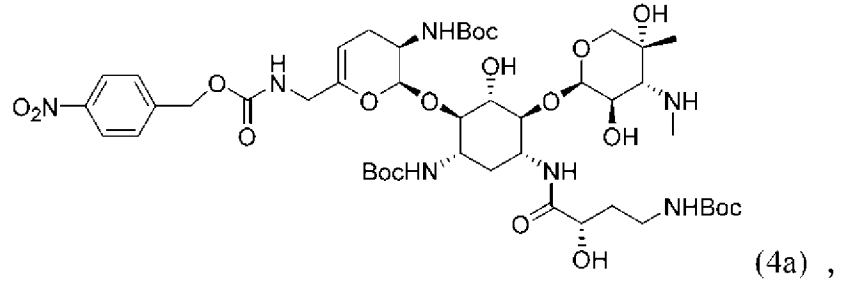


【0063】在一個態樣中，本發明係關於式(4)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

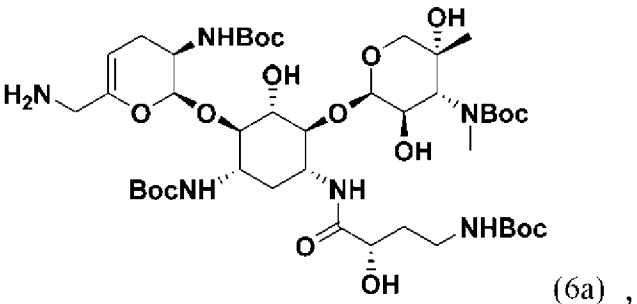
【0064】在一些實施例中，式(4)化合物具有下式：



或其鹽，或其溶劑合物。

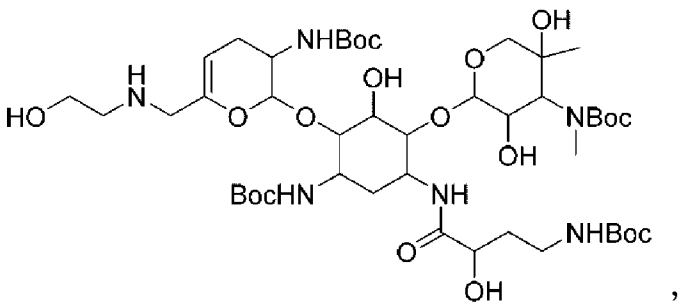
【0065】在 一 些 實 施 例 中 ， 本 發 明 亦 係 關 於 結 晶 ((2S,3R)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲 基-4-(甲 基 胺 基)四 氫-2H-哌 喃-2-基)氧 基)-2-羥 基 環 己 基)氧 基)-6-((((4-硝基苯甲基)氧基)羰基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-哌喃-3-基)胺基甲酸第三丁酯，式(4a)，或其溶劑合物。

【0066】在一些實施例中，本發明亦係關於結晶((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(6a)：



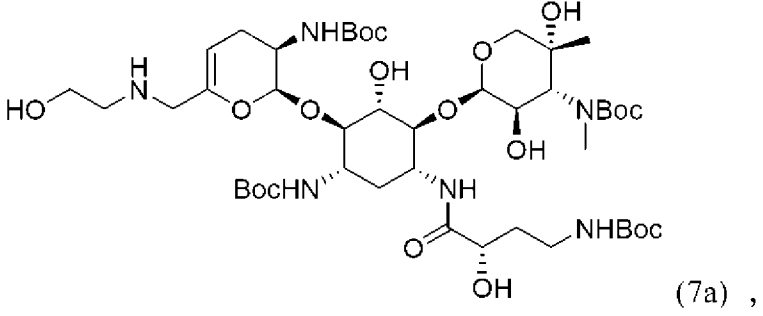
或其溶劑合物。

【0067】在一個態樣中，本發明係關於式(7)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

【0068】在一些實施例中，式(7)化合物具有下式：



或其鹽，或其溶劑合物。

【0069】在 一 些 實 施 例 中，本 發 明 係 關 於 結 晶 ((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-(((2-羥基乙基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-哌喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(7a)，或其溶劑合物。

術語及縮寫

【0070】如本發明中所使用，冠詞「一」可指一個或超過一個(亦即，至少一個)該冠詞之語法目標。作為實例，「一個元件」意謂一個元件或超過一個元件。

【0071】如本發明中所使用，除非另外規定，否則「及/或」可意謂「及」或「或」。

【0072】如本文中所使用， $\equiv$ 可指單鍵或雙鍵。

【0073】「烷基」可指直鏈或分支鏈飽和烴。 C_1 - C_3 烷基含有1至3個碳原子。 C_1 - C_3 烷基之實例包括(但不限於)甲基、乙基及丙基。

【0074】「Boc保護基試劑」可指可用於在胺基上安置Boc保護基之試劑。Boc保護基試劑之實例包括(但不限於)Boc酸酐(Boc_2O)、N-第三丁氧基羰基咪唑、2-(第三丁氧基羰基氧基亞胺基)-2-苯乙腈、2-(第三丁氧基羰基硫)-4,6-二甲基嘧啶、1-第三丁氧基羰基-1,2,4-三唑、碳酸第三丁酯苯酯、N-(第三丁氧基羰基)鄰苯二甲醯亞胺、2,4,5-三氯苯基碳酸第三丁酯及((4R,7S)-1,3-二側氧基-1,3,3a,4,7,7a-六氫-2H-4,7-甲橋異吲哚-2-基)碳酸第三丁酯(Boc-ONb)。

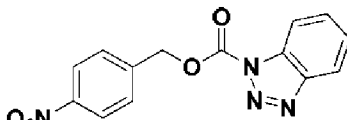
【0075】「Boc移除劑」可指可用於使胺基上之Boc保護基裂解之試

劑。Boc移除劑之實例包括(但不限於)TFA、磷酸水溶液、甲烷磺酸(MSA或MsOH)、 SnCl_4 、HCl/二噁烷及HCl/MeOH。Boc移除劑之其他實例包括HCl、 H_2SO_4 及PTSA (對甲苯磺酸或對甲基苯磺酸)。

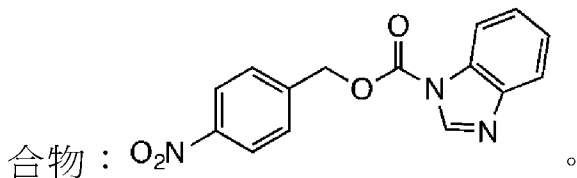
【0076】「路易斯酸」可指可收納來自供體化合物之電子對之化合物或離子物質。路易斯酸之實例包括(但不限於) $\text{Zn}(\text{OAc})_2$ 、 ZnCl_2 、 $\text{Zn}(\text{OPiv})_2$ 。此外，其他金屬陽離子(諸如銅及鎳陽離子)可從當路易斯酸。

【0077】「PNZ保護基試劑」可指可用於在胺基上安置對硝基苯甲氧基羰基保護基之試劑。PNZ保護基試劑之實例可包括(但不限於)1-{[(對硝基苯甲基)氧基]羰基}-1H-苯并三唑及1H-苯并[d]咪唑-1-甲酸4-硝基苯甲酯。

【0078】術語「1-{[(對硝基苯甲基)氧基]羰基}-1H-苯并三唑」或「PNZ-Bt」可指下式之化合物：



【0079】術語「1H-苯并[d]咪唑-1-甲酸4-硝基苯甲酯」可指下式之化合物：



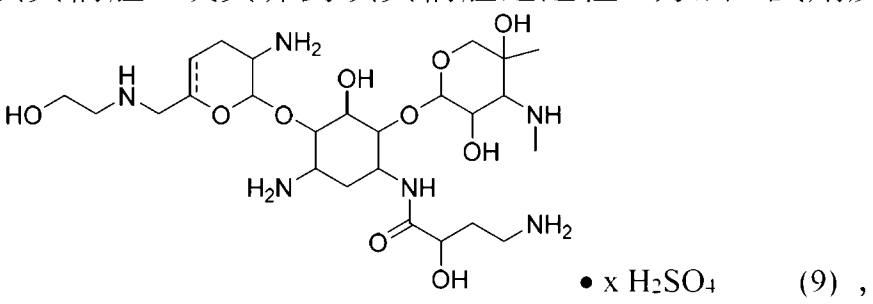
【0080】「PNZ去保護劑」可指可用於使胺基上之對硝基苯甲氧基羰基保護基裂解之試劑。PNZ去保護劑之實例可包括(但不限於)連二亞硫磺酸鈉及用 H_2 及Pd/C或 PtO_2 進行之氫化。

【0081】如本文中所使用，術語「保護基」可指不穩定化學部分，其在此項技術中已知可在合成程序期間保護反應性基團(包括(但不限於)羥基及胺基)以避免不合需要的反應。由保護基保護之羥基及胺基在本文中分別稱為「受保護之羥基」及「受保護之胺基」。在其他反應性位點處之反應期間，通常針對保護位點選擇性及/或正交性使用保護基且接著可移除以按

原樣餘留未受保護之基團或可用於其他反應。如此項技術中已知，保護基通常描述於Greene及Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 第3版, John Wiley & Sons, New York (1999)中。可將基團以前驅體形式選擇性地併入本文中描述之胺基糖苷中。舉例而言，可將胺基以疊氮基形式置放於本文中所描述之化合物中，該疊氮基可在合成中之所需點處以化學方式轉化成胺基。通常，基團受保護或以前驅體形式存在，其將對在適合的時間修飾母體分子之其他區域以用於轉化成其最終基團之反應呈惰性。此外，代表性保護基或前驅體基團論述於Agrawal等人編, *Protocols for Oligonucleotide Conjugates*, Humana Press; New Jersey, 1994; 第26卷第1-72頁中。「羥基保護基」之實例包括(但不限於)第三丁基、第三氧基甲基、甲氧基甲基、四氫吡喃基、1-乙氧基乙基、1-(2-氯乙氧基)乙基、2-三甲基矽烷基乙基、對氯苯基、2,4-二硝基苯基、苯甲基、2,6-二氯苯甲基、二苯甲基、對硝基苯甲基、三苯甲基、三甲基矽烷基、三乙基矽烷基、第三丁基二甲基矽烷基、第三丁基二苯基矽烷基(TBDPS)、三苯基矽烷基、苯甲醯基甲酸酯、乙酸酯、氯乙酸酯、三氯乙酸酯、三氟乙酸酯、新戊酸酯、苯甲酸酯、對苯基苯甲酸酯、碳酸9-苄基甲酯、甲磺酸酯及甲苯磺酸酯。「胺基保護基」之實例包括(但不限於)2-三甲基矽烷基乙氧羰基(Teoc)、1-甲基-1-(4-聯苯基)乙氧羰基(Bpoc)、第三丁氧基羰基(Boc)、烯丙氧基羰基(Alloc)、9-苄基甲氧基羰基(Fmoc)、苯甲氧羰基(Cbz)、對硝基苯甲氧基羰基(PNZ)、甲醯基、乙醯基、三鹵基乙醯基(例如三氟乙醯基)、苯甲醯基、硝基苯基乙醯基、2-硝基苯磺醯基、鄰苯二醯亞胺基及二硫雜丁二醯基。

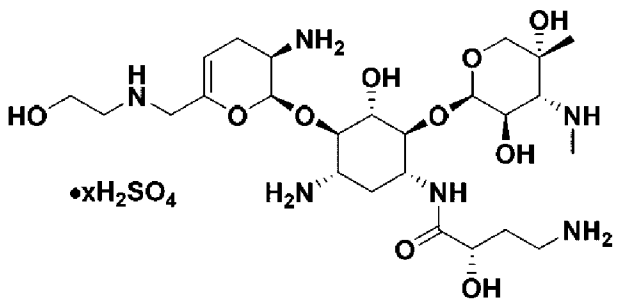
製備式(9)化合物及其中間物：

【0082】本發明包括用於合成具有以下結構之式(9)化合物，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之過程、方法、試劑及中間物：



其中==為單鍵或雙鍵且其中x為1至5。

【0083】在一些實施例中，式(9)化合物為硫酸普拉唑黴素，其具有以下結構：



硫酸普拉唑黴素，
或其溶劑合物，其中x為1至5。

【0084】硫酸普拉唑黴素亦可稱為硫酸(2''R,3''R,4''R,5''R)-2''-[(1S,2S,3R,4S,6R)-4-胺基-6-[(2'''S)-4'''-胺基-2'''-羥基丁醯胺基)胺基]-3-[(2'S,3'R)-3'-胺基-6'-((2-羥基乙基胺基)甲基)-3',4'-二氫-2H-吡喃-2'-基氧基]-2-羥基環己基氧基]-5''-甲基-4''-(甲基胺基)四氫-2H-吡喃-3'',5''-二醇。普拉唑黴素亦可稱為：

- 6'-(羥基乙基)-1-(HABA)-西索米星；
- 6'-(2-羥基-乙基)-1-(4-胺基-2(S)-羥基-丁醯基)-西索米星；
- (2S)-4-胺基-N-[(1R,2S,3S,4R,5S)-5-胺基-4-[[[(2S,3R)-3-胺基-6-[(2-羥基乙基胺基)甲基]-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基]氧基]-2-[(2R,3R,4R,5R)-3,5-

二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)噁烷-2-基]氧基-3-羥基環己基]-2-羥基丁醯胺；

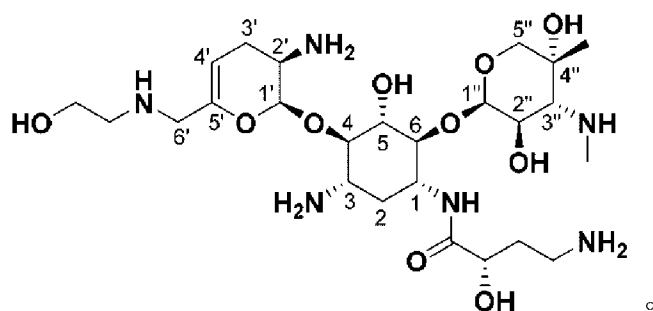
丁醯胺，4-胺基-N-[(1R,2S,3S,4R,5S)-5-胺基-4-[[[(2S,3R)-3-胺基-3,4-二氫-6-[[[(2-羥基乙基)胺基]甲基]-2H-哌喃-2-基]氧基]-2-[[3-脫氧-4-C-甲基-3-(甲基胺基)-β-L-阿糖哌喃糖基]氧基]-3-羥基環己基]-2-羥基-,(2S)-；

D-鏈黴胺，O-2-胺基-2,3,4,6-四去氧基-6-[(2-羥基乙基)胺基]-a -D-丙三氧基-己-4-烯并哌喃糖基-(1→4)-O-[3-脫氧-4-C-甲基-3-(甲基胺基)-b-L-阿糖哌喃糖基-(1→6)]-N1-[(2S)-4-胺基-2-羥基-1-側氧基丁基]-2-脫氧-；

O-2-胺基-2,3,4,6-四去氧基-6-[(2-羥基乙基)胺基]-a-D-丙三氧基至己-4-烯并哌喃糖基-(1→4)-O-[3-脫氧-4-C-甲基-3-(甲基胺基)-b-L-阿糖哌喃糖基-(1→6)]-N1-[(2S)-4-胺基-2-羥基-1-側氧基丁基]-2-脫氧-D-鏈黴胺；及

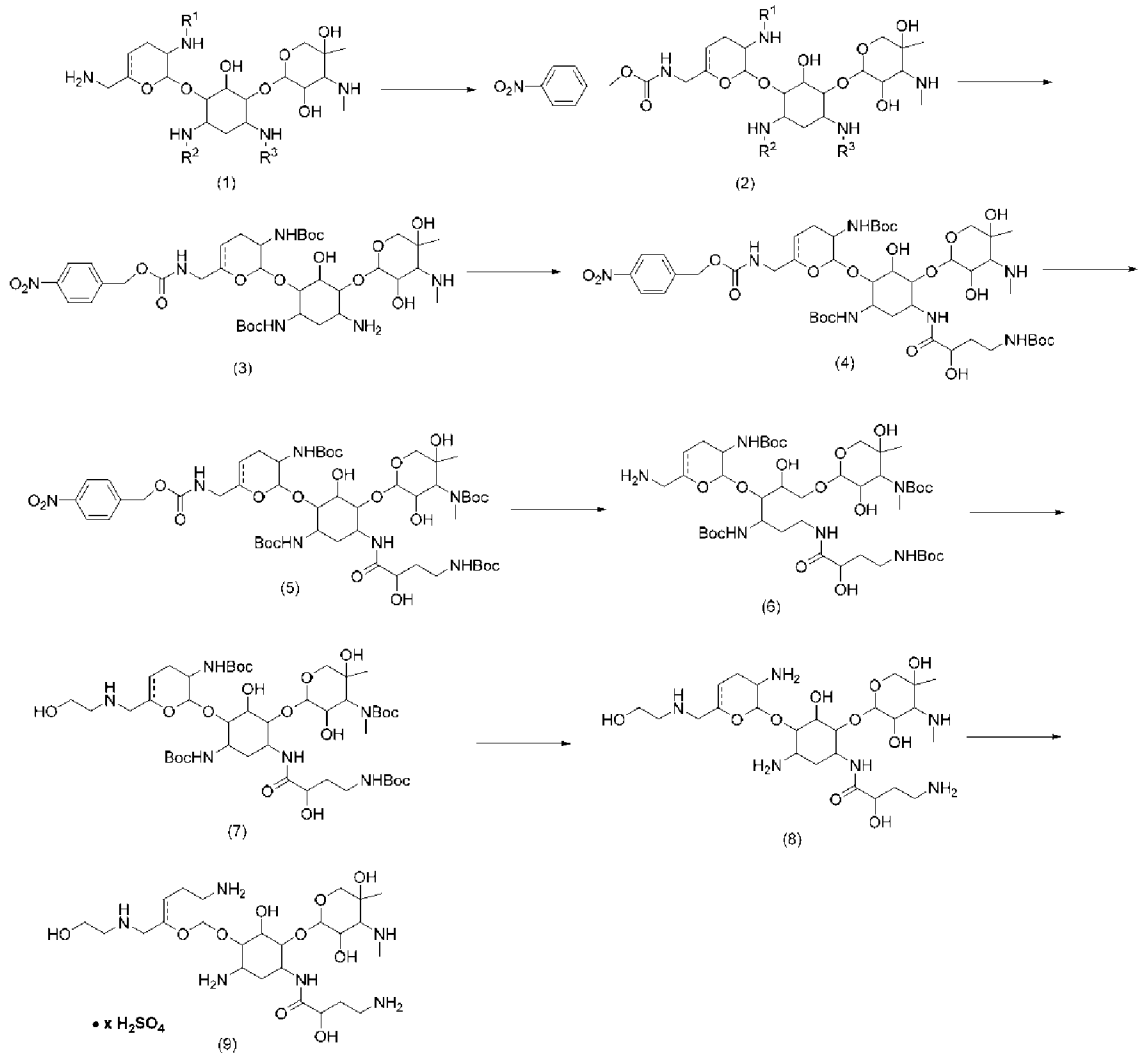
(2S)-4-胺基-N-[(1R,2S,3S,4R,5S)-5-胺基-4-{[(2S,3R)-3-胺基-6-{[(2-羥基乙基)胺基]甲基-3,4-二氫-2H-哌喃-2-基]氧基-2-[[3-脫氧-4-C-甲基-3-(甲基胺基)-β-L-阿糖哌喃糖基]氧基-3-羥基環己基]-2-羥基丁醯胺}。]

【0085】普拉唑黴素之習知原子編號展示如下：



【0086】一種用於製備式(9)化合物及在製備式(9)化合物時獲得之某些中間物的方法說明於以下流程1中且更詳細地論述於本文中。

流程1



【0087】如上文所指出，本發明提供用於製備式(9)化合物(其包括硫酸普拉唑黴素)之方法，其不僅可以商業量規模化，且亦能夠在各批次之間可靠地再現此類商業規模且其亦具有良好產率。因此，本文中所描述之合成方法及純化過程概述可規模化、經濟上有利的用於製備式(9)化合物及其中間物之方法，其不依賴於製備期間昂貴及/或複雜的步驟，因此使得此方法尤其適於大規模生產抗生素。

【0088】該方法包含可經由反應條件及步驟之組合產率新穎中間化合

物之反應。舉例而言，6'-N位置之選擇性功能化具有挑戰性。然而，如本發明中所描述，如本文中所描述之由式(6)化合物產生式(7)化合物之反應意外地產生單烷基化產物，而在正常情形下，期望此類反應將引起過度烷基化。

【0089】該等方法亦可包含某些中間物之結晶。如本文中所描述，某些中間物之結晶有助於純化過程(例如減少雜質)及與先前純化過程相比簡化純化過程。舉例而言，先前純化過程包括沈澱，其可提供經分離之化合物之較差純度及/或特性。沈澱步驟亦可降低產率且引起批次間雜質含量之更大可變性。如本文所描述，結晶可用於清除雜質。此外，儘管需要大量工作以最初測定適合的結晶條件，但在測定結晶條件後，該方法為簡單及可再現的。舉例而言，可自前一輪結晶收集晶體之樣品以用作未來結晶之晶種。如下文所論述，式(4)、(6)及(7)之化合物可結晶。

【0090】本文中所描述之化合物及製備化合物之方法可包括本文中所描述之化合物之鹽。代表性鹽包括(但不限於)例如水溶性及非水溶性鹽，諸如乙酸鹽、胺苊磺酸鹽(4,4-二胺基苊-2,2-二磺酸鹽)、苯磺酸鹽、苯甲酸鹽、碳酸氫鹽、硫酸氫鹽、酒石酸氫鹽、硼酸鹽、溴化物、丁酸鹽、鈣鹽、乙二胺四乙酸鈣、樟腦磺酸鹽、碳酸鹽、氯化物、檸檬酸鹽、克拉維酸鹽(clavulariate)、二鹽酸鹽、乙二胺四乙酸鹽、乙二磺酸鹽、依託酸鹽(estolate)、乙磺酸鹽、反丁烯二酸鹽、葡庚糖酸鹽、葡糖酸鹽、麩胺酸鹽、乙內醯胺苯肼酸鹽、六氟磷酸鹽、己基間苯二酚酸鹽、海卓胺鹽(hydrabamine)、氫溴酸鹽、鹽酸鹽、羥基萘甲酸鹽、碘化物、羥乙磺酸鹽(sethionate)、乳酸鹽、乳糖酸鹽、月桂酸鹽、鎂鹽、蘋果酸鹽、順丁烯二酸鹽、杏仁酸鹽、甲磺酸鹽、甲基溴化物、甲基硝酸鹽、甲基磺酸鹽、半

乳糖二酸鹽、萘磺酸鹽、硝酸鹽、N-甲基葡萄糖胺銨鹽、3-羥基-2-萘甲酸鹽、油酸鹽、草酸鹽、棕櫚酸鹽、雙羥萘酸鹽(1,1-亞甲基-雙-2-羥基-3-萘甲酸鹽，恩波酸鹽(einbonate))、泛酸鹽、磷酸鹽/二磷酸鹽、苦味酸鹽、多聚半乳糖醛酸鹽、丙酸鹽、對甲苯磺酸鹽、水楊酸鹽、硬脂酸鹽、次乙酸鹽、丁二酸鹽、硫酸鹽、磺基水楊酸鹽、蘇拉酸鹽(suramate)、丹寧酸鹽、酒石酸鹽、茶氯酸鹽、甲苯磺酸鹽、三乙基碘化物及戊酸鹽。

【0091】鹽亦可包括酸加成鹽。「酸加成鹽」可指保持游離鹼之生物有效性及特性的鹽，其在生物學或其他方面無不良反應，且由以下形成：無機酸，諸如(但不限於)鹽酸、氫溴酸、硫酸、硝酸、磷酸及其類似物)；及有機酸，諸如(但不限於)乙酸、2,2-二氯乙酸、己二酸、褐藻酸、抗壞血酸、天冬胺酸、苯磺酸、苯甲酸、4-乙醯胺基苯甲酸、樟腦酸、樟腦-10-磺酸、癸酸、己酸、辛酸、碳酸、肉桂酸、檸檬酸、環己胺磺酸、十二烷基硫酸、乙烷-1,2-二磺酸、乙烷磺酸、2-羥基乙烷磺酸、甲酸、反丁烯二酸、半乳糖二酸、龍膽酸、葡糖庚酸、葡萄糖酸、葡糖醛酸、麩胺酸、戊二酸、2-側氧基-戊二酸、甘油磷酸、乙醇酸、馬尿酸、異丁酸、乳酸、乳糖酸、月桂酸、順丁烯二酸、蘋果酸、丙二酸、杏仁酸、甲烷磺酸、黏液酸、萘-1,5-二磺酸、萘-2-磺酸、1-羥基-2-萘甲酸、菸鹼酸、油酸、乳清酸、草酸、棕櫚酸、雙羥萘酸、丙酸、焦麩胺酸、丙酮酸、水楊酸、4-胺基水楊酸、癸二酸、硬脂酸、丁二酸、酒石酸、硫氰酸、對甲苯磺酸、三氟乙酸、十一碳烯酸及其類似物。

【0092】本文中所描述之化合物及製備該等化合物之方法可包括本文中所描述之化合物之溶劑合物。術語「溶劑合物」可指由溶質及溶劑形成之可變化學計量之複合物。在本發明中，此類溶劑不干擾溶質之生物活性。

適合的溶劑之實例可包括(但不限於)水、MeOH、EtOH及AcOH。其中水為溶劑分子之溶劑合物典型地稱為水合物。水合物可包括含有化學計量之量之水的組合物以及含有可變量之水的組合物。

【0093】熟習此項技術者將認識到，本文中所描述之化合物中之任一者中是否存在立體異構中心及製備該等化合物之方法。因此，本發明包括兩種可能的立體異構體(除非本文中指定立體化學)，且不僅包括外消旋化合物，而且亦包括個別對映異構體及/或非對映異構體。此外，熟習此項技術者將認識到本文中所描述之化合物中是否存在位置或幾何異構體。因此，本發明包括所有可能的位置或幾何異構體(除非本文中指定異構體)。在本文中展示之結構中，當未指定任何特定對掌性原子之立體化學或未指定幾何或位置異構體時，則涵蓋所有立體異構體及幾何或位置異構體且包括於本文中所描述之化合物及製備該等化合物之方法中。當指定立體化學或幾何或位置異構體時，則由此指定及定義該立體化學或幾何或位置異構體。

【0094】術語「立體異構體」可指化合物之集合，其具有相同原子數目及類型且在此等原子之間共有相同鍵連接性，但在三維結構方面不同。術語「立體異構體」可指此化合物集合之任何成員。舉例而言，立體異構體可為對映異構體或非對映異構體。本文中所描述之化合物及製備該等化合物之方法可包括立體異構體。

【0095】術語「對映異構體」可指一對立體異構體，其為彼此之不可重疊的鏡像。術語「對映異構體」可指此對立體異構體之單一成員。術語「外消旋」可指一對對映異構體之1:1混合物。本文中所描述之化合物及製備化合物之方法可包括對映異構體。本文中揭示之各化合物可包括所有符

合化合物之通式結構之對映異構體(除非本文中指定對映異構體)。化合物可呈外消旋或對映異構性純形式，或立體化學方面之任何其他形式(除非本文中指定立體化學)。在一些實施例中，化合物為(S)-對映異構體。在其他實施例中，化合物為(R)-對映異構體。在其他實施例中，化合物為(+)或(-)對映異構體。在一些實施例中，本文中所描述之化合物可經增濃以主要提供本文中所描述之化合物之一種對映異構體。對映異構性增濃混合物可包含例如至少60莫耳%之一種對映異構體，或更佳至少75、80、85、90、95、96、97、98、99、99.5或甚至100莫耳%。在一些實施例中，一種對映異構體增濃之本文中所描述之化合物可實質上不含另一種對映異構體，其中實質上不含意謂與例如化合物混合物中之另一種對映異構體之量相比，所述物質占小於10%，或小於5%，或小於4%，或小於3%，或小於2%，或小於1%。舉例而言，若化合物混合物含有98公克第一對映異構體及2公克第二對映異構體，則其將稱為含有98莫耳%之第一對映異構體及僅2%之第二對映異構體。

【0096】術語「非對映異構體」可指無法藉由圍繞單鍵旋轉而重疊之立體異構體之集合。舉例而言，順式及反式雙鍵、雙環系統上之內取代及外取代及含有多個具有不同相對組態之立體對稱中心之化合物視為非對映異構體。術語「非對映異構體」可指此化合物集合之任何成員。在所呈現之一些實例中，合成途徑可產生單一非對映異構體或非對映異構體之混合物。本文中所描述之化合物及製備化合物之方法可包括非對映異構體。在一些實施例中，本文中所描述之化合物可經增濃以主要提供本文中所描述之化合物之一種非對映異構體。非對映異構性增濃混合物可包含例如至少60莫耳%之一種非對映異構體，或更佳至少75、99、95、96、97、98、99

或甚至100莫耳%。

【0097】此外，本文中所描述之化合物及製造化合物之方法包括所有幾何及位置異構體。舉例而言，若本文中所描述之化合物合併有雙鍵或稠合環，則順式及反式形式以及混合物可涵蓋於本發明之範疇內。若化合物含有雙鍵，則取代基可呈E或Z組態(除非本文中指定組態)。若化合物含有經雙取代之環烷基，則環烷基取代基可具有順式或反式組態(除非本文中指定組態)。

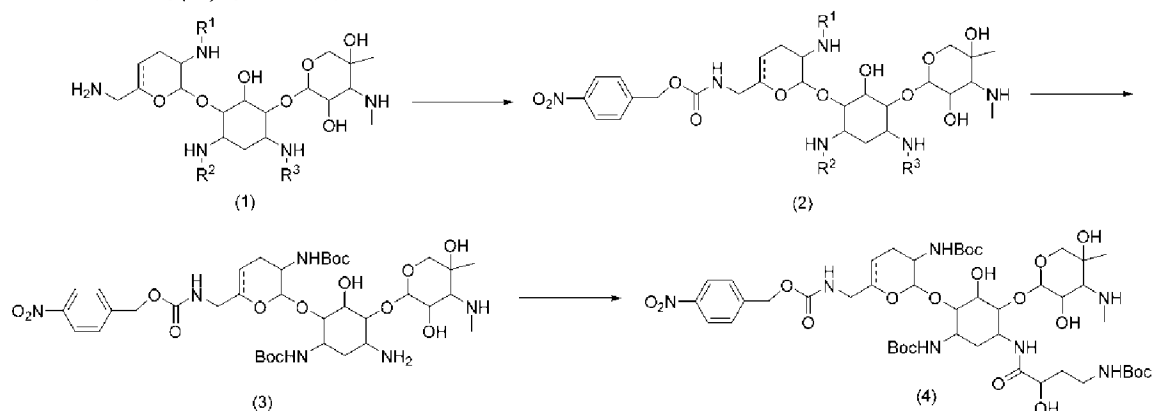
【0098】本文中所描述之化合物可進一步包括所有經同位素標記之化合物。「同位素」或「輻射標記」化合物為其中一或多個原子由具有與通常在自然界中發現(即，天然存在)之原子質量或質量數不同的原子質量或質量數之原子置換或取代之化合物。舉例而言，在一些實施例中，在本文中所描述之化合物中，氫原子可由一或多個氘或氚置換或取代。本發明之某些經同位素標記之化合物，例如合併有放射性同位素之化合物，可適用於藥物及/或受質組織分佈研究。鑒於易於合併及完善的偵測手段，放射性同位素氘，亦即 ^3H ，及碳14，亦即 ^{14}C ，尤其適用於此目的。用較重同位素進行之取代(諸如氘，亦即 ^2H)可產生由更大的代謝穩定性產生之某些治療優勢，例如增加之活體內半衰期或降低之劑量需求，且因此在某些情況下可為較佳的。可併入本文中所描述之化合物中之適合的同位素可包括(但不限於) ^2H (亦寫成D (用於氘))、 ^3H (亦寫成T (用於氚))、 ^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{13}N 、 ^{15}N 、 ^{15}O 、 ^{17}O 、 ^{18}O 、 ^{18}F 、 ^{35}S 、 ^{36}Cl 、 ^{82}Br 、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 、 ^{77}Br 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 及 ^{131}I 。用正電子發射同位素(諸如 ^{11}C 、 ^{18}F 、 ^{15}O 及 ^{13}N)進行之取代可適用於正電子發射斷層攝影法(PET)研究。

【0099】具有本文中所描述之化學式中之任一者之化合物可藉由此項

技術中已知之有機合成方法製備，如由以下合成流程及實例以及本文中提供之指導所部分闡述。在下文所描述之流程中，應理解，在必要時，可根據本文中提供之指導，根據一般原理或化學方法使用敏感性或反應性基團之保護基。可根據標準有機合成方法(T. W. Greene及P. G. M. Wuts, 「Protective Groups in Organic Synthesis,」第三版, Wiley, New York 1999)操作保護基。可基於本文中提供之詳細教示，使用熟習此項技術者容易顯而易見之方法在化合物合成之便利階段移除此等基團。選擇方法以及反應條件及其執行次序應與本發明一致。

【0100】以下流程2-5亦說明式(9)化合物及其中間物之合成。

流程2：合成式(4)化合物



【0101】流程2展示式(4)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之合成。在流程2中，R¹為H或C₁-C₃烷基；R²為H或C₁-C₃烷基；且R³為H或C₁-C₃烷基；且—為單鍵或雙鍵。

合成式(2)化合物

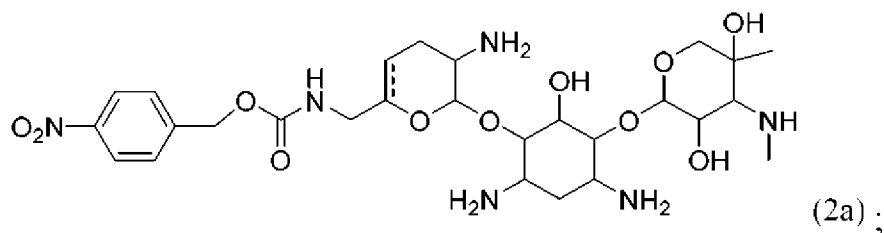
【0102】繼續參考流程2，在一些實施例中，在至多約60℃之溫度下進行流程2中詳細說明之反應。可使式(1)化合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與PNZ保護基試劑接觸以形成式(2)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。在一些實施例中，PNZ保護

基試劑係選自1-{[(對硝基苯甲基)氧基]羰基}-1*H*-苯并三唑(PNZ-Bt)及1*H*-苯并[d]咪唑-1-甲酸4-硝基苯甲酯。在一些實施例中，PNZ保護基試劑為PNZ-Bt。

【0103】在某些此類實施例中，針對式(1)化合物，或其對映異構體，或其非對映異構體，PNZ保護基試劑可以約1.0至1.2莫耳當量存在於反應物中。在一些實施例中，式(1)化合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與PNZ保護基試劑之間的反應可在選自由以下組成之群之溶劑存在下進行：二氯甲烷、醇及其組合。在某些此類實施例中，醇為甲醇。當 R^1 、 R^2 及/或 R^3 為H時，甲醇之存在可增加反應之選擇性。在其他實施例中，式(1)化合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與PNZ保護基試劑之間的反應可在選自由以下組成之群之溶劑存在下進行：二氯甲烷、乙醇及其組合。

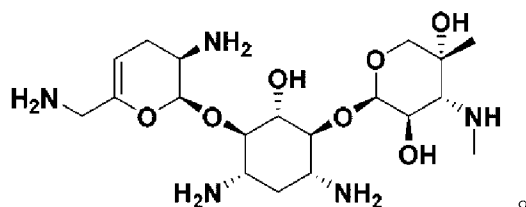
【0104】在一些實施例中，式(2)化合物可未經實質性純化即用於下一反應中。

【0105】在某些實施例中，式(1)化合物，或其對映異構體，或其非對映異構體中之 R^1 、 R^2 及 R^3 為H。在某些此類實施例中，式(2)化合物為式(2a)化合物：

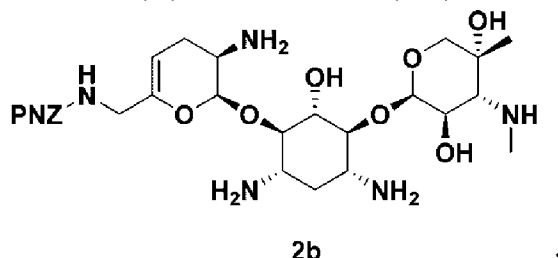


或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。在某些實施例中，==為雙鍵。

【0106】在一些實施例中，與PNZ保護基試劑接觸之式(1)化合物可為西索米星游離鹼(下文中展示)：



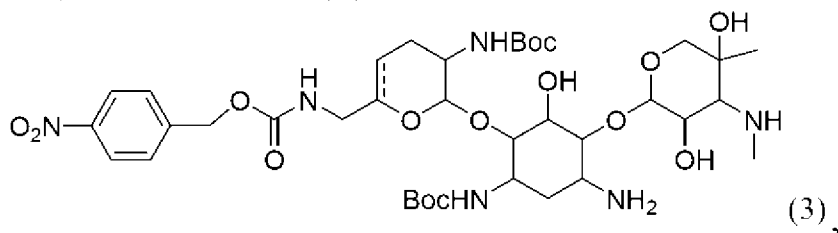
在某些此類實施例中，式(2)化合物為式(2b)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物。

合成式(3)化合物

【0107】繼續參考流程2，式(3)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體可由式(2)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體合成。在某些此類實施例中， $\equiv$ 為雙鍵。

【0108】當 R^1 、 R^2 及 R^3 為H時，可使式(2)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與Boc (第三丁氧基羰基)保護基試劑接觸，得到式(3)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。在其他實施例中，當 R^1 、 R^2 或 R^3 中之一或多者獨立地為 C_1 - C_3 烷基時，移除一或多個 C_1 - C_3 烷基且可使式(2)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與Boc保護基試劑接觸，得到式(3)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映

異構體。

【0109】在一些實施例中，Boc保護基試劑為二碳酸二-第三丁酯、*N*-(第三丁氧基羰氧基)-5-降冰片烯至內-2,3-二甲醯亞胺、*N*-第三丁氧基羰基咪唑、2-(第三丁氧基羰基氧基亞胺基)-2-苯乙腈、2-(第三丁氧基羰基硫)-4,6-二甲基嘧啶、1-第三丁氧基羰基-1,2,4-三唑、碳酸第三丁酯苯酯、*N*-(第三丁氧基羰氧基)鄰苯二甲醯亞胺或2,4,5-三氯苯基碳酸第三丁酯。在一些實施例中，Boc保護基試劑為Boc₂O (Boc酸酐；二碳酸二-第三丁酯)或Boc-ONb (*N*-(第三丁氧基羰氧基)-5-降冰片烯-內-2,3-二甲醯亞胺)。在某些此類實施例中，Boc保護基試劑為Boc₂O。在某些此類實施例中，Boc保護基試劑為Boc-ONb。

【0110】式(2)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與Boc保護基試劑之間的反應可在路易斯酸存在下進行。在某些此類實施例中，路易斯酸為Zn(OAc)₂、ZnCl₂或Zn(OPiv)₂。或者，式(2)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與Boc保護基試劑之間的反應亦可在包含銅離子或鎳離子之路易斯酸存在下進行。

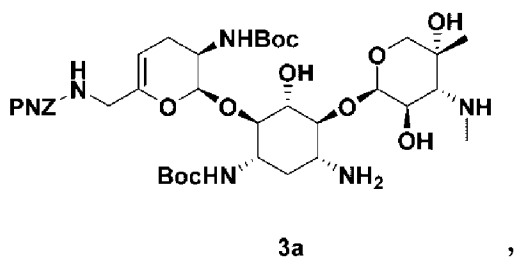
【0111】此外，式(2)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與Boc保護基試劑之間的反應可在胺存在下進行。在一些實施例中，胺為1,8-二氮雜雙環[5.4.0]十一-7-烯(DBU)、吡啶、哌啶、4-二甲胺基吡啶(DMAP)、2,6-二甲基吡啶、二甲基苯胺、*N*-甲基吡啶酮、*N*-二異丙基乙胺、*N*-甲基咪唑、*N*-乙基二甲基胺、三甲胺或三乙胺。在一些實施例中，胺為三乙胺。

【0112】此外，式(2)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構

體，或其非對映異構體與Boc保護基試劑之間的反應可在醇存在下進行。
在某些此類實施例中，醇為甲醇。

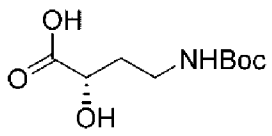
【0113】 在一些實施例中，式(3)化合物可未經實質性純化即用於下一反應中。

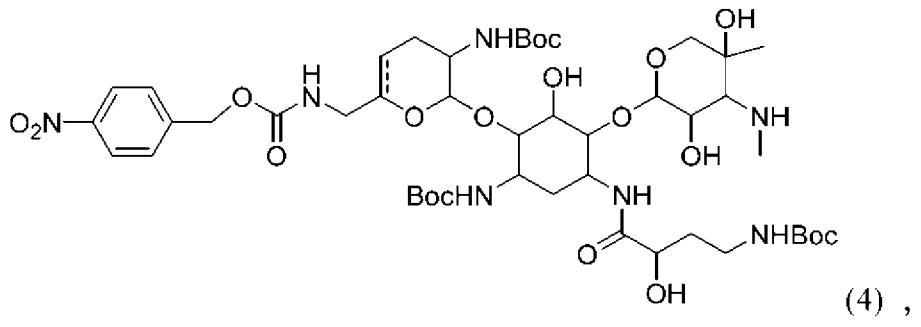
【0114】 在一些實施例中，式(3)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體可為式(3a)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物，其係藉由使式(2b)化合物，或其鹽，或其溶劑合物與Boc保護基試劑接觸來合成。

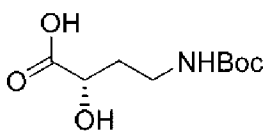
合成式(4)化合物

【0115】 繼續參考流程2，可使式(3)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與  接觸，得到式(4)化合物：

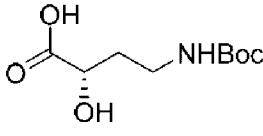


或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。在某些此類實施例中，==為雙鍵。

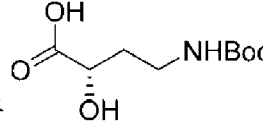
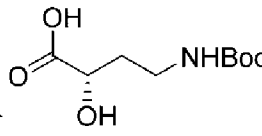
【0116】 式(3)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或

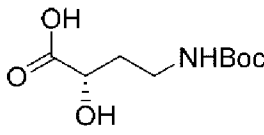
其非對映異構體與  之間的反應可在活化劑及肽偶合劑存在下進行。

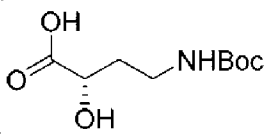
【0117】活化劑係指將羧酸基之羰基轉化成對親核攻擊更敏感之基團之試劑。在一些實施例中，活化劑為HATU、HOObt、HOSu、HOAt、DMAP、BOP、PyBOP、PyBrOP、PyAOP、PyOxim、DEPBT、TBTU、HBTU、HCTU、HDMC、COMU、CDI或HOBt。在某些此類實施例中，活化劑為

HOBt。在一些實施例中，針對 ，活化劑以約0.05至1.0莫耳當量存在。

【0118】在一些實施例中，肽偶合劑為DCC、EDC、DIC、WSC、EDAC或PyBOP。在一些實施例中，肽偶合劑為EDAC或PyBOP。在某些此類實

施例中，肽偶合劑為EDAC。在一些實施例中，針對 ，肽偶合劑以約1.0至1.4莫耳當量存在。在某些此類實施例中，針對 ，肽偶合劑以約1.0；1.1；1.2；1.3；或1.4莫耳當量存在。

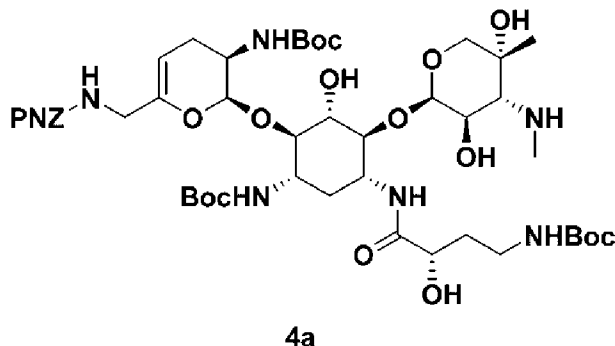
【0119】式(3)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與  之間的反應可在酸性條件下進行。在某些此類實施例中，酸性條件為約4與7之間的pH值。在某些此類實施例中，酸性條件為約pH 5。

【0120】式(3)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與  之間的反應可在醇存在下進行。在某些此

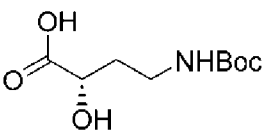
第 39 頁(發明說明書)

類實施例中，醇為甲醇。

【0121】式(4)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體可為式(4a)化合物：



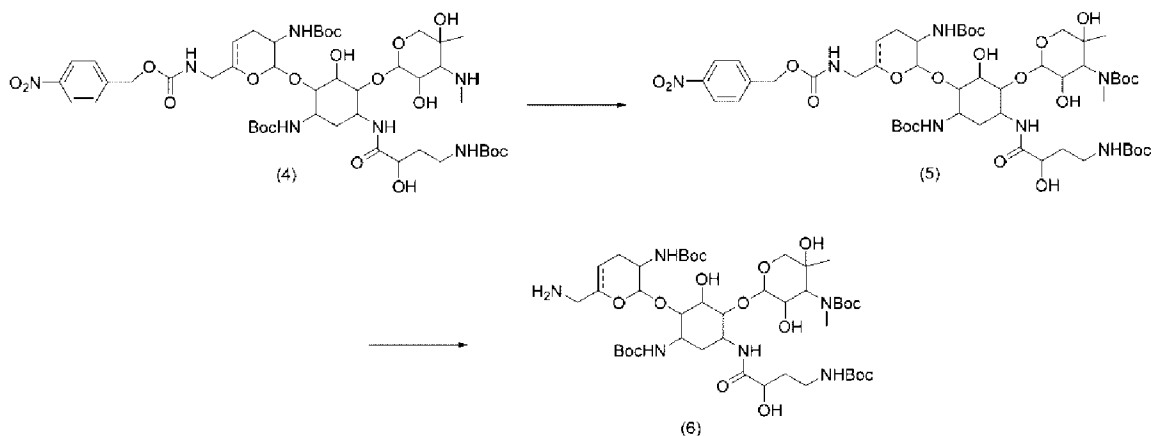
或其鹽，或其溶劑合物，其係藉由使式(3a)化合物，或其鹽，或其溶

劑合物與  接觸來合成。

【0122】本發明亦提供一種方法，其包含製備式(4)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之結晶形式。本發明亦提供一種方法，其包含分離式(4)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體，例如以下實例1中所描述。

【0123】如本文中所提及，在特定條件下，某些結晶步驟可藉由清除雜質來幫助純化。並且，在建立結晶條件後，與先前純化方法相比，使用結晶作為一種純化手段可產生良好的產率及較低的批次間雜質可變性。

流程3：合成式(6)化合物



【0124】流程3展示式(6)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之合成。 $\equiv$ 為單鍵或雙鍵。

合成式(5)化合物

【0125】繼續參考流程3，可使式(4)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與Boc保護基試劑接觸，得到式(5)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。在某些此類實施例中， $\equiv$ 為雙鍵。

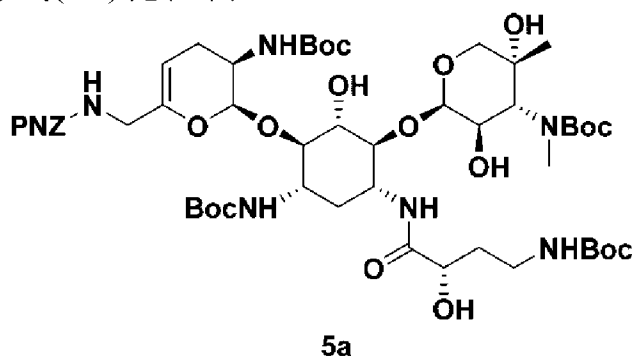
【0126】可用於此轉型作用之標準Boc保護基試劑包括(但不限於)N-第三丁氧基羰基咪唑、2-(第三丁氧基羰基氧基亞胺基)-2-苯乙腈、2-(第三丁氧基羰基硫)-4,6-二甲基嘧啶、1-第三丁氧基羰基-1,2,4-三唑、碳酸第三丁酯苯酯、N-(第三丁氧基羰基)鄰苯二甲酰亞胺、2,4,5-三氯苯基碳酸第三丁酯、 Boc_2O 及Boc-ONb。在一些實施例中，Boc保護基試劑為 Boc_2O 。

【0127】在一些實施例中，式(4)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與Boc保護基試劑之間的反應可在至多約60°C之溫度下進行。在一些實施例中，式(4)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與Boc保護基試劑之間的反應可在醇存在下進行。在某些此類實施例中，醇為甲醇或乙醇。在某些此類實施例中，醇為甲醇。在式(4)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映

異構體，或其非對映異構體與Boc保護基試劑之間的反應中使用醇可有助於與下一個反應之適配。

【0128】在一些實施例中，式(5)化合物可未經實質性純化即用於下一反應中。

【0129】式(5)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體可為式(5a)化合物：



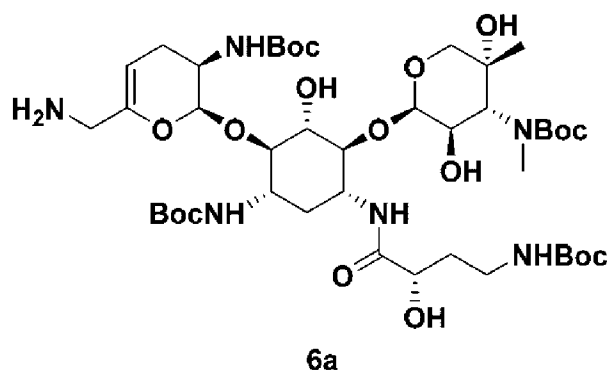
或其鹽，或其溶劑合物，其係藉由使式(4a)化合物，或其鹽，或其溶劑合物與Boc保護基試劑接觸來合成。

合成式(6)化合物

【0130】繼續參考流程3，可使式(5)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與Boc保護基試劑接觸，得到式(6)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。在某些此類實施例中，==為雙鍵。

【0131】在一些實施例中，PNZ去保護試劑為連二亞硫磺酸鈉。在其他實施例中，PNZ去保護反應可用H₂及催化劑(諸如Pd/C或PtO₂)氫化。連二亞硫磺酸鈉對於需要氫化之去保護反應可為有利的，因為其可更易於以較大規模使用、可具有化學選擇性及更少的危害，且可無需使用特殊設備。

【0132】式(6)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體可為式(6a)化合物：

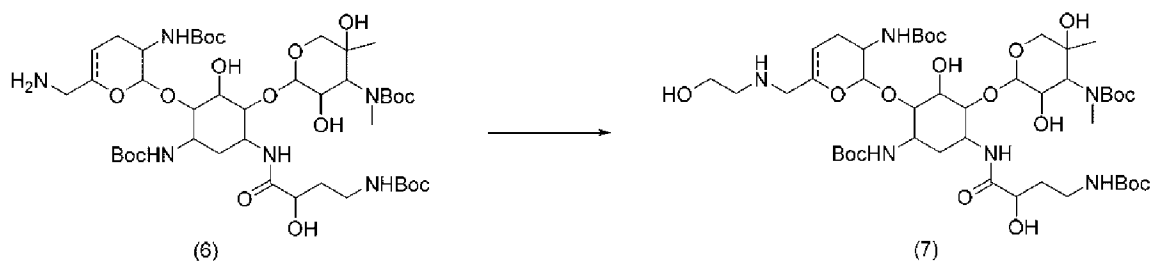


或其鹽，或其溶劑合物，其係藉由使式(5a)化合物，或其鹽，或其溶劑合物與PNZ去保護劑接觸來合成。

【0133】本發明亦提供一種方法，其係用於製備式(6)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之結晶形式。本發明亦提供一種方法，其包含分離式(6)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體，例如以下實例2中所描述。

【0134】因此，如先前所述，與先前純化方法相比，此結晶可有助於純化過程(例如減少雜質)及簡化純化過程，藉此潛在地引起整個過程之更大的再現性。

流程4：合成式(7)化合物



【0135】流程4展示式(7)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之合成。==為單鍵或雙鍵。在一些實施例中，==為雙鍵。

【0136】意外的是，由式(6)化合物產生式(7)化合物之反應與烷基化有關。在正常情形下，一級胺，諸如式(6)化合物上之基團，具有烷基化超過

一次之趨勢。因此，意外的是，式(7)化合物包含二級胺(例如用 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 烷基化一次)。如下文所論述，反應條件，包括溶劑選擇及防止過度烷基化之試劑之使用，可提供適合位點處之單烷基化。

合成式(7)化合物

【0137】繼續參考流程4，可使式(6)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與 $\text{HO}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{LG}^1$ 接觸，其中 LG^1 為脫離基，得到式(7)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。在某些此類實施例中，脫離基為碘、溴或氯。在某些此類實施例中，脫離基為碘。在一些實施例中，針對式(6)化合物， $\text{HO}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{LG}^1$ 以約1.0至1.5莫耳當量存在。

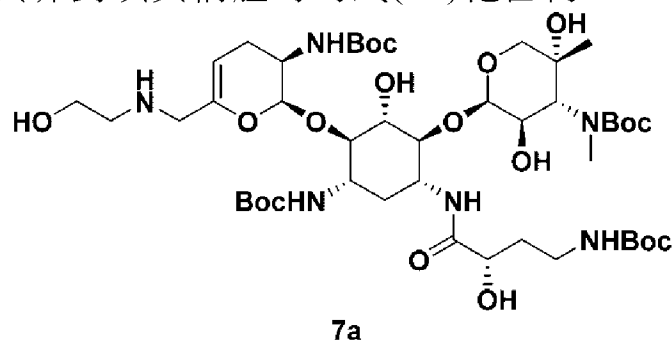
【0138】式(6)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與 $\text{HO}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{LG}^1$ 之間的反應可在實質上不含水之條件下進行。在一些實施例中，式(6)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與 $\text{HO}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{LG}^1$ 之間的反應可在選自由以下組成之群之溶劑存在下進行：乙腈、丙酮及其組合。丙酮可有助於反應之選擇性，促進單烷基化。乙腈可用於藉由共沸來移除水。

【0139】在一些實施例中，式(6)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與 $\text{HO}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{LG}^1$ 之間的反應可在 NaHCO_3 、碳酸鋰、碳酸鈉、碳酸鉀、碳酸銫、硫酸鈉、DIPEA、磷酸鈉、原甲酸三甲酯及六甲基二矽烷存在下進行。在某些此類實施例中，在 NaHCO_3 存在下進行反應。在一些實施例中，式(6)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與 $\text{HO}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{LG}^1$ 之間的反應可在約 30°C 至 40°C 之溫度下進行。在某些此類實施例中，該溫度為約 35°C 。溫度高於 50°C

可引起形成二烷基化副產物。

【0140】式(6)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與 $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{LG}^1$ 之間的反應可藉由向反應混合物中添加1,4-二氮雜雙環[2.2.2]辛烷(DABCO)來淬滅。DABCO可用於實質上停止反應及防止過度烷基化。或者，式(6)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與 $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{LG}^1$ 之間的反應亦可藉由添加1-丙胺、哌啶、二乙胺、N-乙基二甲基胺、三乙胺、DBU、MeOH、碳酸鹽緩衝液、二甲基胺、半胱胺酸、二乙醇胺或NaOH來淬滅。

【0141】在一些實施例中，式(7)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體可為式(7a)化合物：

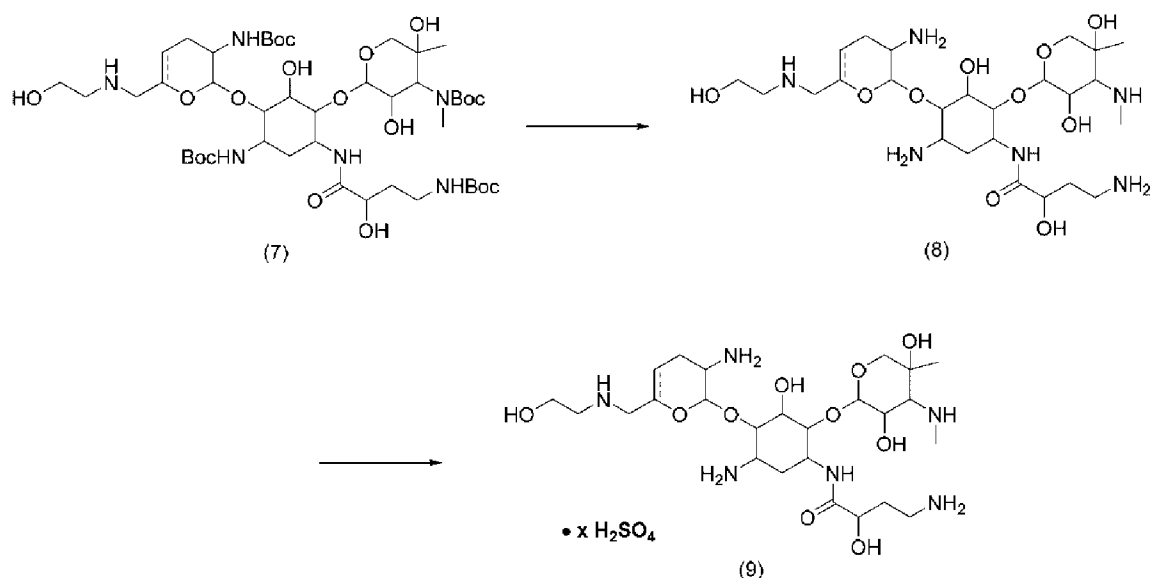


或其鹽，或其溶劑合物，其係藉由使式(6a)化合物，或其鹽，或其溶劑合物與 $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{LG}^1$ 接觸來合成。

【0142】本發明亦提供一種方法，其係用於製備式(7)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之結晶形式。本發明亦提供一種方法，其包含分離式(7)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體，例如以下實例3中所描述。

【0143】與先前純化方法相比，此結晶可有助於純化過程(例如減少雜質)及簡化純化。結晶亦可用於清除雜質。

流程5：合成式(9)化合物



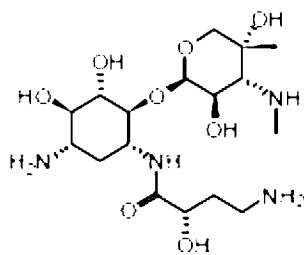
【0144】流程5展示式(9)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之合成。 $\equiv$ 為單鍵或雙鍵且x為1至5。在一些實施例中， $\equiv$ 為雙鍵。在一些實施例中，x為2至3。

合成式(8)化合物

【0145】繼續參考流程5，可使式(7)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與Boc移除劑接觸，得到式(8)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。在一些實施例中，Boc移除劑為TFA、MsOH (甲烷磺酸或 $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$)、PTSA (對甲苯磺酸或對甲基苯磺酸)、 H_2SO_4 或HCl。在一些實施例中，Boc移除劑為TFA或MsOH。在一些實施例中，Boc移除劑為TFA、 H_2SO_4 或HCl。

【0146】在一些實施例中，Boc移除劑為TFA，藉此產生式(8)化合物，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之三氟乙酸鹽。因為去保護反應需要為無水的，因此通常將TFA用於此轉型作用。

【0147】移除Boc基團之步驟可引起受質水解且緊接在反應之後(例如在任何純化)存在化合物(IMP-1)。



(IMP-1)

在某些實施例中，移除Boc基團之步驟不會引起實質性水解且使反應之後(例如，在任何純化之前)存在之化合物(IMP-1)最小化。在某些實施例中，可藉由HPLC測定化合物(IMP-1)之存在或量。在某些實施例中，緊接在反應之後(例如，在任何純化之前)，化合物IMP-1可以0至7%，諸如約0、0.2、0.4、0.6、0.8、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5或7%之量存在。當IMP-1之量為0%時，此量指示指定雜質可以低於由熟習此項技術者已知及常規使用之典型分析方法(例如，HPLC)偵測之含量的含量存在。

【0148】在某些實施例中，酸為TFA或MsOH且緊接在反應之後(例如，在任何純化之前)，化合物IMP-1之量可為約0至7%。在一些實例中，酸為TFA或MsOH且緊接在反應之後(例如，在任何純化之前)，化合物IMP-1之量可為約0至2.5%。在一些實例中，酸為TFA且緊接在反應之後(例如，在任何純化之前)，化合物IMP-1之量可為約0至2.5%，諸如約0、0.2、0.4、0.6、0.8、1、1.5、2或2.5%。在一些實例中，酸為MsOH且緊接在反應之後(例如，在任何純化之前)，化合物IMP-1之量可為約0.2至2.5%，諸如約0.2、0.4、0.6、0.8、1、1.5、2或2.5%。

【0149】在一些實例中，酸為HCl且緊接在反應之後(例如，在任何純化之前)，化合物IMP-1之量可為約0至1%，諸如約0、0.2、0.4、0.6、0.8或1%。

【0150】在一些實例中，酸為H₂SO₄，且緊接反應在之後(例如，在任

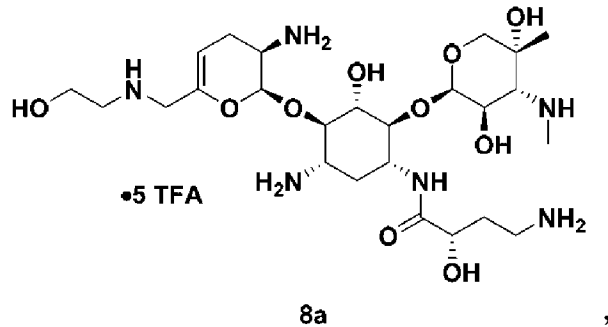
何純化之前)，化合物IMP-1之量可為約0至7%，諸如約0、0.2、0.4、0.6、0.8、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5或7%。

【0151】當式(7)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與各種Boc移除劑接觸時，取決於Boc移除劑之一致性，IMP-1之量可變化。下表展示來自式(7)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與各種BOC移除劑之反應的IMP-1之量。

	HCl	TFA	MsOH	H ₂ SO ₄
IMP-1之量	0% 0.81%	0% 0.80%	0% 2.50%	0% 4.61% 6.61% 3.80% 5.52% 0.74% (來自各種反應條件)

【0152】在一些實施例中，式(8)化合物可未經實質性純化即用於下一反應中。

【0153】在一些實施例中，式(8)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體可為式(8a)化合物：



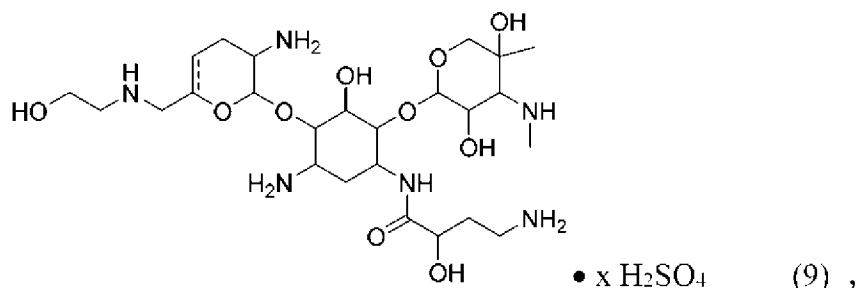
或其溶劑合物，其係藉由使式(7a)化合物，或其鹽，或其溶劑合物與Boc移除劑接觸來合成。

合成式(9)化合物

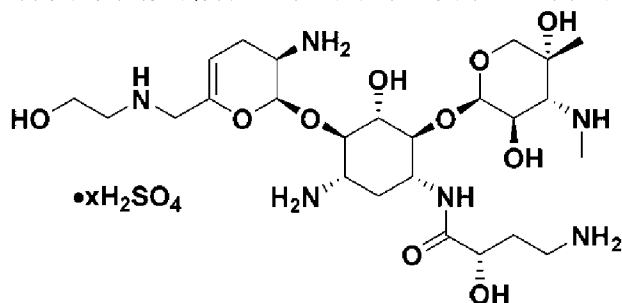
【0154】可用酸進行鹽形成，得到式(8)化合物，或其溶劑合物，或其

對映異構體，或其非對映異構體之鹽。若式(8)化合物已經為鹽，諸如三氟乙酸鹽，則可移除鹽以在形成不同鹽之前得到式(8)化合物，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

【0155】在一些實施例中，鹽形成步驟中之酸為硫酸，藉此產生式(9)化合物之硫酸鹽，



或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體，其中x為1至5。在一些實施例中，x為2至3。與其他鹽相比，式(9)化合物之硫酸鹽可具有經改良之穩定性。在一些實施例中，式(9)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體可為硫酸普拉唑黴素：



硫酸普拉唑黴素

或其溶劑合物，其係藉由用式(8a)化合物，或其鹽，或其溶劑合物進行鹽形成來合成，其中x為1至5。在一些實施例中，x為2至3。

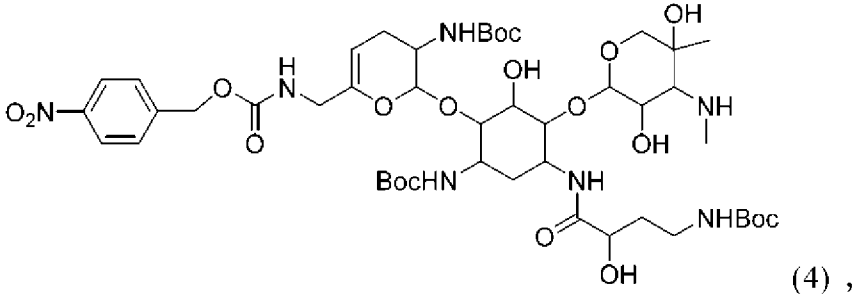
結晶化合物以及其製備及表徵：

【0156】在一個態樣中，本發明係關於合成過程中之中間物，其可用於合成式(9)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對

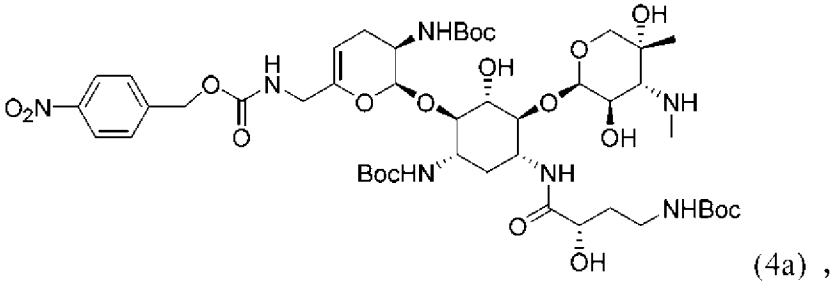
映異構體。此等中間物可呈結晶形式。本發明提供用於在合成過程中製造結晶中間物之方法，其可用於合成式(9)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。本發明之結晶中間物可由X射線粉末繞射(XRPD)、差示掃描熱量測定(DSC)及熱解重量分析(TGA)表徵。收集XRPD、DSC及TGA資料之方法以及本發明之結晶中間物之特性在以下實例中進一步說明。

化合物4及4a

【0157】 在一些實施例中，式(9)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之合成中之中間物為式(4)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。在某些此類實施例中，式(4)化合物具有下式：



或其鹽，或其溶劑合物。在某些此類實施例中，式(4a)化合物為結晶
((2S,3R)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三
丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-
甲 基-4-(甲 基 胺 基)四 氫-2H-哌 喃-2-基)氧 基)-2-羥 基 環 己 基)氧
基)-6-((((4-硝基苯甲基)氧基)羰基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-哌喃-3-基)

胺基甲酸第三丁酯或其溶劑合物。

【0158】在一些實施例中，藉由XRPD圖表徵結晶((2S,3R)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-6-((((4-硝基苯甲基)氧基)羰基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-哌喃-3-基)胺基甲酸第三丁酯或其溶劑合物，其中峰位置與圖1中所展示實質上一致。

【0159】在一些實施例中，藉由圖2中展示之TGA跡線表徵結晶((2S,3R)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-6-((((4-硝基苯甲基)氧基)羰基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-哌喃-3-基)胺基甲酸第三丁酯或其溶劑合物。在一些實施例中，藉由圖3中之DSC概況表徵結晶((2S,3R)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-6-((((4-硝基苯甲基)氧基)羰基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-哌喃-3-基)胺基甲酸第三丁酯或其溶劑合物。

【0160】本發明提供一種用於製備結晶((2S,3R)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-6-((((4-硝基苯甲基)氧基)羰基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-哌喃-3-基)

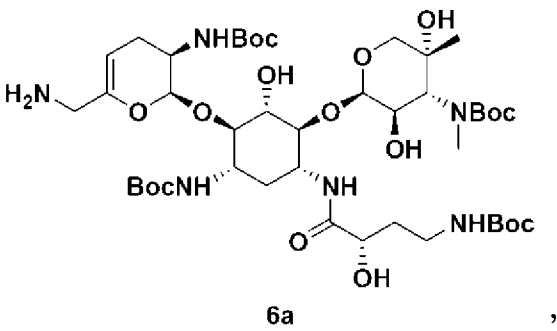
胺基甲酸第三丁酯，式(4a)，或其溶劑合物之方法，其包含：

- (a) 用乙腈處理式(4a)，或其鹽，或其溶劑合物，以產生溶液；
- (b) 加熱來自步驟(a)之溶液；
- (c) 向步驟(b)之經加熱之溶液中添加水；
- (d) 冷卻來自步驟(c)之溶液；
- (e) 用晶種裝填來自步驟(d)之溶液；及
- (f) 分離所得固體，得到結晶式(4a)或其溶劑合物。

【0161】在用於製備結晶((2S,3R)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-6-((((4-硝基苯甲基)氧基)羰基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-吡喃-3-基)胺基甲酸第三丁酯之方法之一些實施例中，在 $75\pm 3^{\circ}\text{C}$ 下用具有1.5%去離子(DI)水之乙腈進行接種接著進行冷卻可用於結晶。此外，可在 $65\pm 3^{\circ}\text{C}$ 或 $70\pm 3^{\circ}\text{C}$ 下進行結晶，接著進行冷卻。在一些實施例中，可使用1-丙醇(具有或不具有去離子(DI)水)代替乙腈以用於((2S,3R)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-6-((((4-硝基苯甲基)氧基)羰基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-吡喃-3-基)胺基甲酸第三丁酯之結晶。所篩檢之結晶條件概述於實例1及表5中。

化合物6a

【0162】在一些實施例中，式(9)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之合成中之中間物為式(6a)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物。在某些此類實施例中，本發明提供結晶((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(6a)，或其溶劑合物。

【0163】在一些實施例中，藉由XRPD圖表徵結晶((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯或其溶劑合物，其中峰位置與圖4及表1中所展示實質上一致。在一些實施例中，在XRPD圖中，針對繞射角存在約±0.2° 2θ之可變性，例如表1中所描繪。

表1：結晶式(6a)化合物之XRPD資料

2θ
5.37
6.10
10.66
12.17
13.08
14.00
15.00
16.65

2θ
17.65
18.31
18.55
20.06
20.61
21.41
22.99
24.21

【0164】在某些實施例中，藉由X射線粉末繞射中在約6.10、10.66、12.17、17.65及18.55度處的一或多個2θ值表徵結晶((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯或其溶劑合物，其中在XRPD圖中存在針對繞射角之約±0.2° 2θ之可變性。

【0165】在一些實施例中，藉由圖5中所展示之TGA跡線表徵結晶((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯或其溶劑合物。結晶((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯或其溶劑合物之DSC中之主要放熱事件在231.8℃之左極限溫度及-52.9 kJ/kg之能量下發生(圖6)。

【0166】 本發明提供一種用於製備結晶((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(6a)，或其溶劑合物之方法，其包含：

- (a) 用乙酸異丙酯(IPAc)處理式(6)，或其鹽，或其溶劑合物，以產生溶液；
- (b) 向步驟(a)之溶液中添加水，以產生混合物；
- (c) 向來自步驟(b)之混合物中添加二氯甲烷以產生混合物；
- (d) 用晶種裝填來自步驟(c)之混合物；
- (e) 分離所得固體，得到結晶式(6a)，或其溶劑合物。

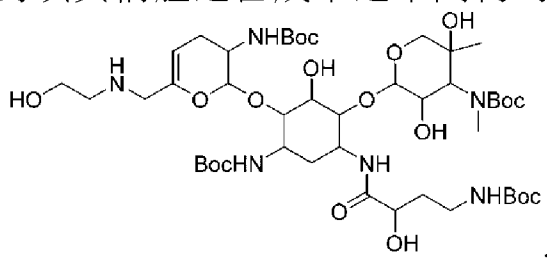
【0167】 在一些實施例中，在低溫下進行步驟(d)。在一些實施例中，在約15-25℃，諸如約15-20℃或約20-25℃下進行步驟(d)。

【0168】 在用於製備結晶((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯之方法之一些實施例中，可使用具有1%水之二氯甲烷/乙酸異丙酯(50/50 v/v)、具有2%水之乙酸異丙酯/二氯甲烷(71/29 v/v)或具有8%水之乙酸異丙酯/二氯甲烷(71/29 v/v)。在某些此類實施例中，可使用具有1%水之二氯甲烷/乙酸異丙酯(50/50 v/v)。無需乙酸異丙酯用於結晶，但可以萃取溶劑

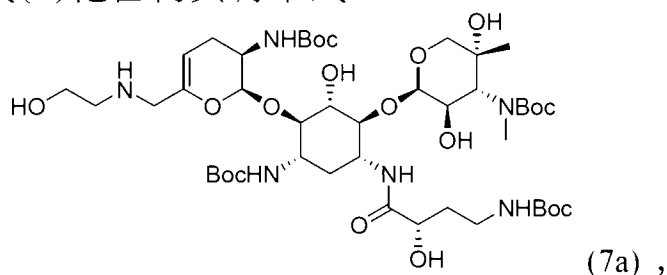
之形式存在。當由具有1%水之二氯甲烷/乙酸異丙酯(50/50 v/v)以作為黏性固體形式分離固體時，過濾可更容易，且自由具有2%及8%水之乙酸異丙酯/二氯甲烷(71/29 v/v)分離之固體觀測到一些潮解。此外，由具有1%水之二氯甲烷/乙酸異丙酯(50/50 v/v)分離之物質為結晶。然而，由具有2%水之乙酸異丙酯/二氯甲烷(71/29 v/v)分離之物質為無序的，且由具有8%水之乙酸異丙酯/二氯甲烷(71/29 v/v)分離之物質可含有少量x射線非晶形物質。所篩檢之結晶條件概述於實例2中。

化合物7及7a

【0169】 在一些實施例中，式(9)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之合成中之中間物為式(7)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。在某些此類實施例中，式(7)化合物具有下式：



或其鹽，或其溶劑合物。在某些此類實施例中，式(7a)化合物為結晶
 ((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-(((2-羥基乙基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基

四氫-2H-哌喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯或其溶劑合物。

【0170】在 一 些 實 施 例 中 ， 藉 由XRPD圖 表 徵 結 晶 ((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第 三 丁 氧 基 羰 基)胺 基)-6-((S)-4-((第 三 丁 氧 基 羰 基)胺 基)-2-羥 基 丁 醯 胺 基)-3-(((2S,3R)-3-((第 三 丁 氧 基 羰 基)胺 基)-6-(((2-羥 基 乙 基)胺 基)甲 基)-3,4-二 氫-2H-哌喃-2-基)氧 基)-2-羥 基 環 己 基)氧 基)-3,5-二 羥 基-5-甲 基 四 氫-2H-哌喃-4-基)(甲 基)胺 基 甲 酸 第 三 丁 酯 或 其 溶 劑 合 物，其中峰位置與 圖7及表2中所展示實質上一致。在一些實施例中，在XRPD圖中，針對繞 射角存在約±0.2° 2θ之可變性，例如表2中所描繪。

表2：結晶式(7a)化合物之XRPD資料

2θ
5.17
5.45
7.39
10.28
10.85
11.87
12.17
13.58
13.97
14.76
16.28
17.22
17.79
18.51
19.08
20.58
20.98
21.75
22.18
23.02
23.91
25.90
27.85
31.75
36.00
37.78

【0171】在某些實施例中，藉由X射線粉末繞射中之約5.17、7.39、10.85及12.17度的一或多個2 θ 值表徵結晶((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-(((2-羥基乙基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯或其溶劑合物，其中針對XRPD圖中繞射角有約 $\pm 0.2^\circ$ 2 θ 之可變性。

【0172】在一些實施例中，藉由圖8中所示之TGA跡線表徵結晶((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-(((2-羥基乙基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯或其溶劑合物。結晶((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-(((2-羥基乙基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯或其溶劑合物之DSC概況示於圖9中。

【0173】本發明提供一種用於製備結晶((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-(((2-羥基乙基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-

二羥基-5-甲基四氫-2H-哌喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(7a)，或其溶劑合物之方法，其包含：

- (a) 用乙酸異丙酯(IPAc)處理式(7a)，或其鹽，或其溶劑合物，以產生溶液；
- (b) 向步驟(a)之溶液中添加乙腈，以產生混合物；
- (c) 晶種加入步驟(b)之混合物中；
- (d) 分離所得固體，得到結晶式(7a)，或其溶劑合物。

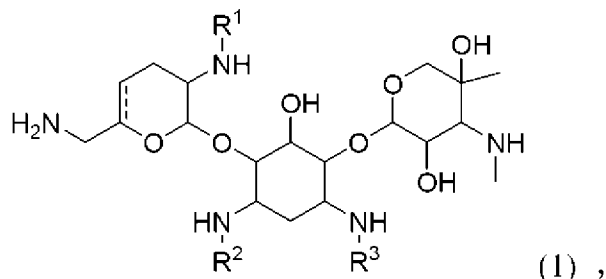
【0174】在 用 於 製 備 結 晶 ((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-(((2-羥基乙基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-哌喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯之方法之一些實施例中，可使用摻雜有0.75-2% w/w水之10% v/v IPAc/ACN及接種。此外，可使用在接種溫度下之長保持時間(例如，在60℃與65℃之間>2小時)及緩慢冷卻勻變(例如自60℃以5-10℃/小時降至0℃)以獲得流動漿料。可使用水含量控制結晶之穩固性。在添加0.5-2%水情況下進行之結晶之可再現性更高，具有恆定回收率(例如，通常超過80%)且可具有純度升級。此程序可實質上清除未反應之式(6a)化合物，五-Boc雜質(例如總共63%清除率)，及二烷基化副產物(例如36%清除率)，且可得到易於過濾及洗滌之固體產物。所篩檢之結晶條件概述於實例3及表7-11中。

例示性實施例

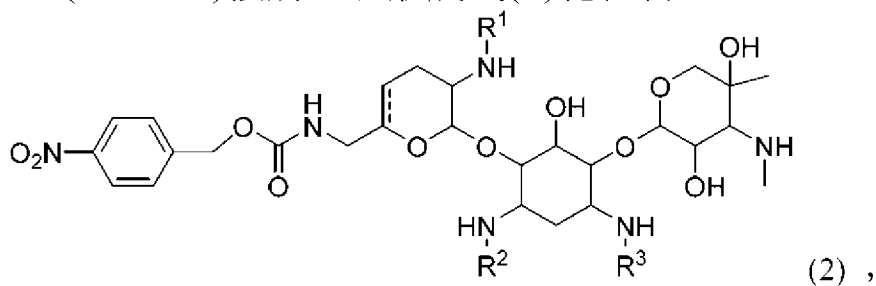
【0175】本發明之一些實施例為實施例I，如下：

【0176】實施例I-1. 一種用於製備式(2)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之方法，其包含：

(a) 使式(1)化合物：



或其對映異構體，或其非對映異構體與1-{[(對硝基苯甲基)氧基]羰基}-1H-苯并三唑(PNZ-Bt)接觸，以形成式(2)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體；

其中==為單鍵或雙鍵；

R¹為H或C₁-C₃烷基；

R²為H或C₁-C₃烷基；及

R³為H或C₁-C₃烷基。

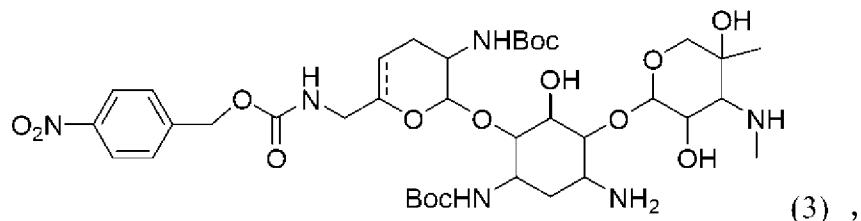
【0177】實施例I-2. 如實施例I-1之方法，其中在選自由以下組成之群之溶劑存在下進行步驟(a)：二氯甲烷、甲醇及其組合。

【0178】實施例I-3. 如實施例I-1或I-2之方法，其中針對式(1)化合物，或其對映異構體，或其非對映異構體，PNZ-Bt以約1.0至1.2莫耳當量存在。

【0179】實施例I-4. 如實施例I-1至I-3中任一項之方法，其進一步包

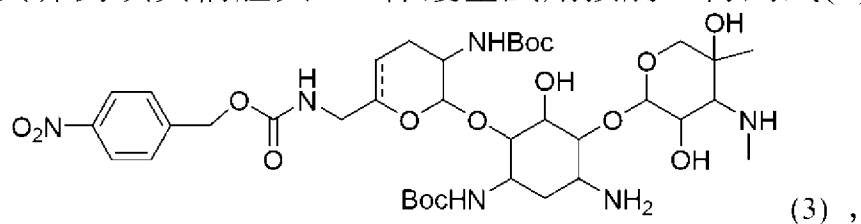
含步驟(b1)或(b2)：

(b1) 其中當 R^1 、 R^2 及 R^3 為H時，使式(2)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與Boc保護基試劑接觸，得到式(3)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體；或

(b2) 其中當 R^1 、 R^2 或 R^3 中之一或多者獨立地為 C_1 - C_3 烷基時，首先移除該 C_1 - C_3 烷基，且接著使式(2)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與Boc保護基試劑接觸，得到式(3)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

【0180】實施例I-5. 如實施例I-4之方法，其中Boc保護基試劑為 Boc_2O 或Boc-ONb。

【0181】實施例I-6. 如實施例I-4或I-5之方法，其中在路易斯酸存在下進行步驟(b1)或(b2)。

【0182】實施例I-7. 如實施例I-6之方法，其中路易斯酸為 $Zn(OAc)_2$ 、 $ZnCl_2$ 或 $Zn(OPiv)_2$ 。

【0183】實施例I-8. 如實施例I-6之方法，其中路易斯酸包含銅離子或鎳離子。

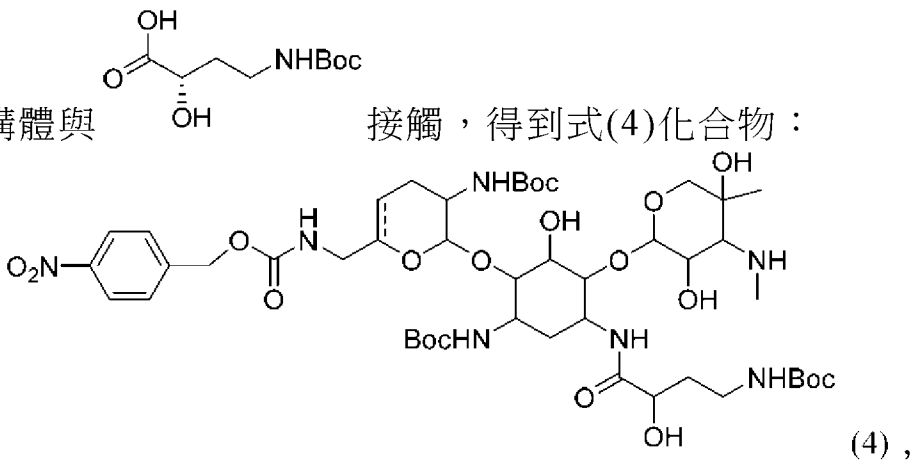
【0184】實施例I-9. 如實施例I-4至I-8中任一項之方法，其中在三乙

胺存在下進行步驟(b1)或(b2)。

【0185】實施例I-10.如實施例I-4至I-8中任一項之方法，其中在甲醇存在下進行步驟(b1)或(b2)。

【0186】實施例I-11.如實施例I-4至I-10中任一項之方法，其進一步包含：

(c) 使式(3)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與

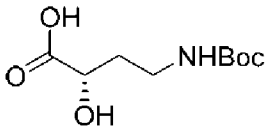


或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

【0187】實施例I-12.如實施例I-11之方法，其中在活化劑及肽偶合劑存在下進行步驟(c)。

【0188】實施例I-13.如實施例I-12之方法，其中活化劑為HOBt。

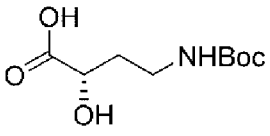
【0189】實施例I-14.如實施例I-13之方法，其中針對



，活化劑以約0.05至1.0莫耳當量存在。

【0190】實施例I-15.如實施例I-12之方法，其中肽偶合劑為EDAC或PyBOP。

【0191】實施例I-16.如實施例I-15之方法，其中針對



，肽偶合劑以約1.0至1.4莫耳當量存在。

【0192】實施例I-17.如實施例I-11至I-16中任一項之方法，其中在酸性條件下進行步驟(c)。

【0193】實施例I-18.如實施例I-17之方法，酸性條件為約4與7之間的pH值。

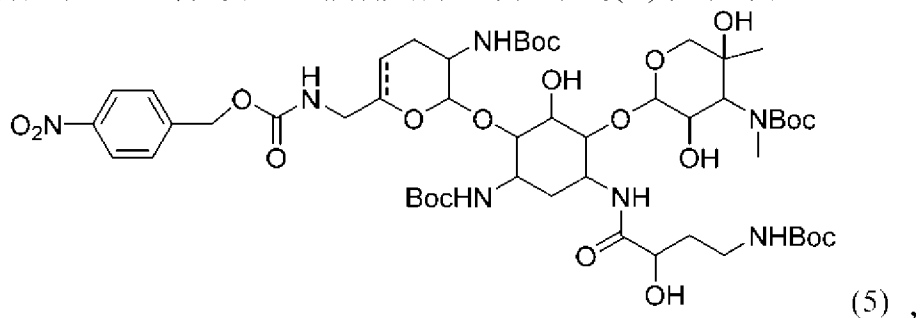
【0194】實施例I-19.如實施例I-17之方法，酸性條件為約pH 5。

【0195】實施例I-20.如實施例I-11至I-19中任一項之方法，其進一步包含製備式(4)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之結晶形式。

【0196】實施例I-21.如實施例I-11至I-20中任一項之方法，其進一步包含分離式(4)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

【0197】實施例I-22.如實施例I-11至I-21中任一項之方法，其進一步包含：

(d) 使式(4)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與Boc保護基試劑接觸，得到式(5)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

【0198】實施例I-23.如實施例I-22之方法，其中Boc保護基試劑為Boc₂O。

【0199】實施例I-24.如實施例I-22或I-23之方法，其中在醇存在下進

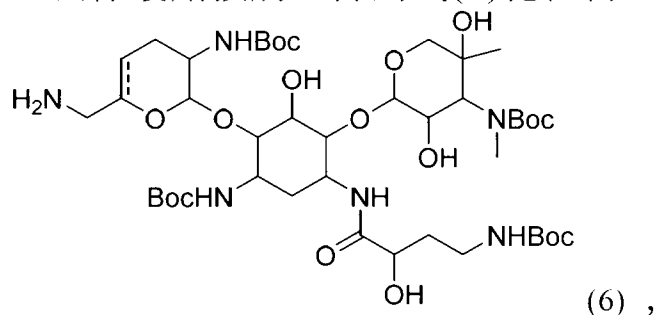
行步驟(d)。

【0200】實施例I-25.如實施例I-24之方法，其中醇為甲醇。

【0201】實施例I-26.如實施例I-22至I-25中任一項之方法，其中在至多約60℃之溫度下進行步驟(d)。

【0202】實施例I-27.如實施例I-22至I-26中任一項之方法，其進一步包含：

(e) 使式(5)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與PNZ去保護劑接觸，得到式(6)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

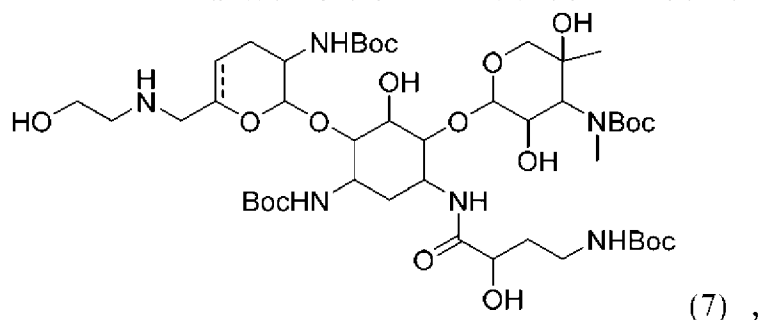
【0203】實施例I-28.如實施例I-27之方法，其中PNZ去保護劑為連二亞硫磺酸鈉。

【0204】實施例I-29.如實施例I-27或I-28之方法，其進一步包含製備式(6)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之結晶形式。

【0205】實施例I-30.如實施例I-27至I-29中任一項之方法，其進一步包含分離式(6)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

【0206】實施例I-31.如實施例I-27至I-30中任一項之方法，其進一步包含：

(f) 使式(6)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與 $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{LG}^1$ 接觸，其中 LG^1 為脫離基，得到式(7)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

【0207】實施例I-32.如實施例I-31之方法，其中脫離基為碘。

【0208】實施例I-33.如實施例I-31之方法，其中針對式(6)化合物， $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{LG}^1$ 以約1.0至1.5莫耳當量存在。

【0209】實施例I-34.如實施例I-31至I-33中任一項之方法，其中在實質上不含水之條件下進行步驟(f)。

【0210】實施例I-35.如實施例I-31至I-34中任一項之方法，其中在選自由以下組成之群之溶劑存在下進行步驟(f)：乙腈、丙酮及其組合。

【0211】實施例I-36.如實施例I-31至I-35中任一項之方法，其中在 NaHCO_3 存在下進行步驟(f)。

【0212】實施例I-37.如實施例I-31至I-36中任一項之方法，其中在約 30°C 至 40°C 之溫度下進行步驟(f)。

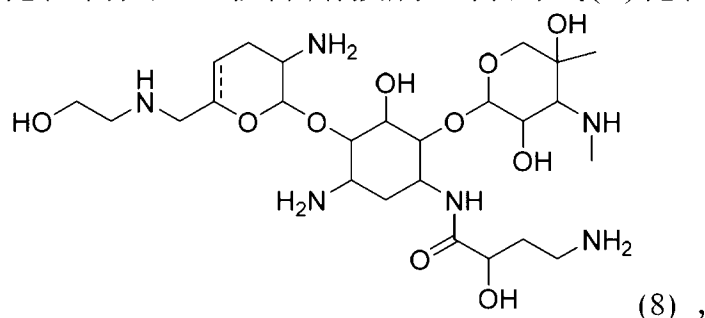
【0213】實施例I-38.如實施例I-31至I-37中任一項之方法，其進一步包含向反應混合物中添加1,4-二氮雜雙環[2.2.2]辛烷(DABCO)。

【0214】實施例I-39.如實施例I-31至I-38中任一項之方法，其進一步包含製備式(7)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之結晶形式。

【0215】實施例I-40.如實施例I-31至I-39中任一項之方法，其進一步包含分離式(7)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

【0216】實施例I-41.如實施例I-31至I-40中任一項之方法，其進一步包含：

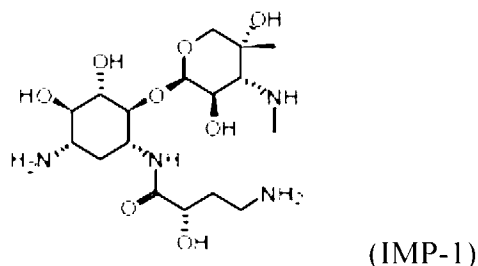
(g) 使式(7)化合物與Boc移除劑接觸，得到式(8)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

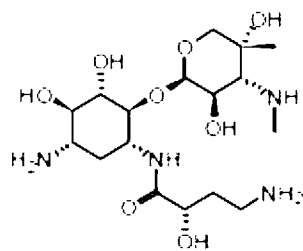
【0217】實施例I-42.如實施例I-41之方法，其中Boc移除劑為TFA，藉此產生式(8)化合物，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之三氟乙酸鹽。

【0218】實施例I-42a. 如實施例I-41或I-42之方法，其中化合物 (IMP-1)



緊接在反應之後(例如，在任何純化之前)以小於7%之量存在。

【0219】實施例I-42b. 如實施例I-41或I-42之方法，其中化合物 (IMP-1)



(IMP-1)

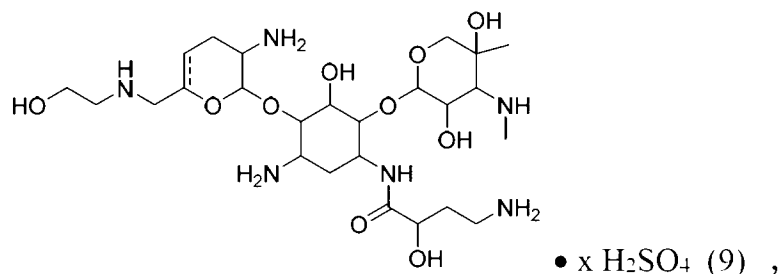
緊接在反應之後(例如，在任何純化之前)以小於2.5%之量存在。

【0220】實施例I-43.如實施例I-42之方法，其進一步包含移除三氟乙酸鹽，得到式(8)化合物，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

【0221】實施例I-44.如實施例I-41或I-43之方法，其進一步包含：

(h) 用酸進行鹽形成，得到式(8)化合物，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之鹽。

【0222】實施例I-45.如實施例I-44之方法，其中步驟(h)中之酸為硫酸，藉此產生式(9)化合物，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之硫酸鹽：



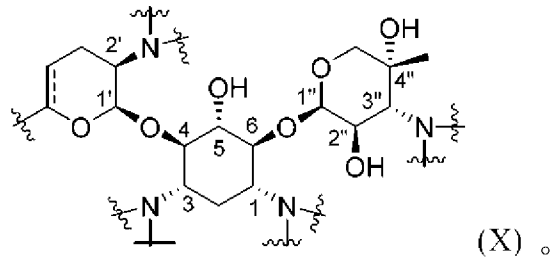
其中x為1至5。

【0223】實施例I-46.如實施例I-1至I-3中任一項之方法，其中R¹、R²或R³為H。

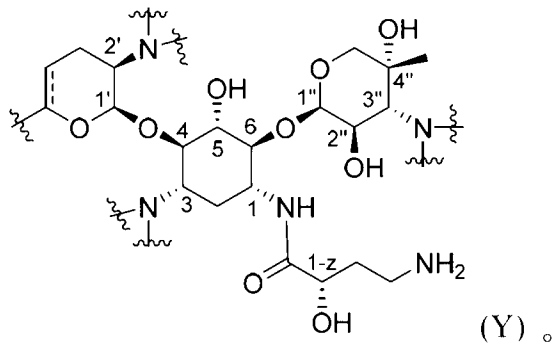
【0224】實施例I-47.如實施例I-1至I-46中任一項之方法，其中==為雙鍵。

【0225】實施例I-48.如實施例I-1至I-10中任一項之方法，其中式

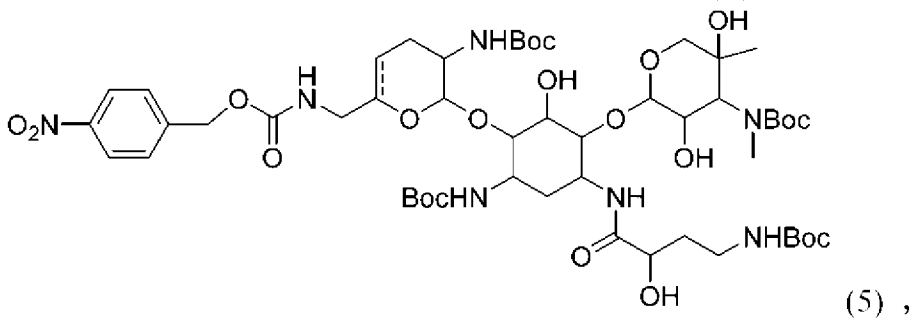
(1)-(3)中之碳原子1、3、4、5、6、1'、2'、1''、2''、3''及4''處之立體化學係如式(X)中所示，其中 ~~~ 指示與氫或一個部分之連接點：



【0226】實施例I-49.如實施例I-11至I-47中任一項之方法，其中式(4)-(9)中之碳原子1、3、4、5、6、1'、2'、1''、2''、3''、4''及1-z處之立體化學係如式(Y)中所示，其中 ~~~ 指示與氫或一個部分之連接點：

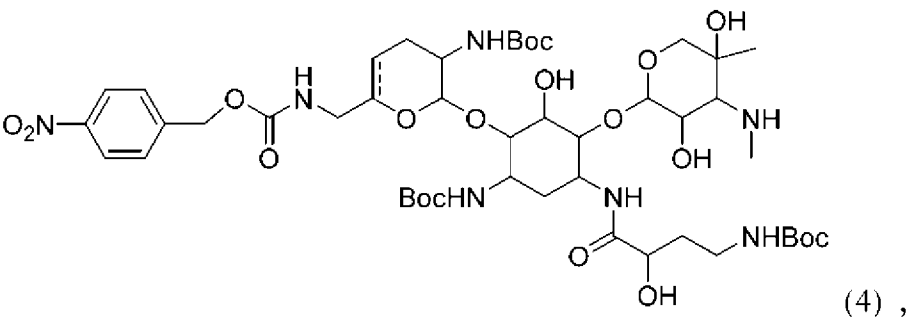


【0227】實施例I-50.一種方法，其係用於製備式(5)化合物：



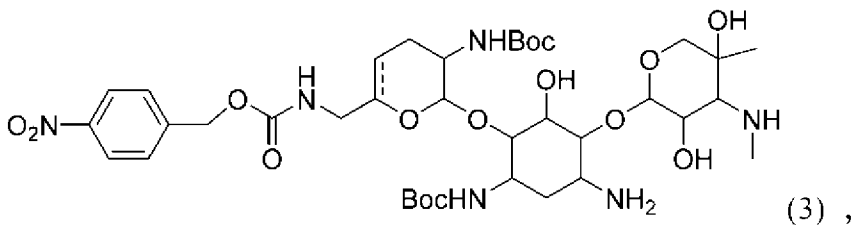
或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體，
該方法包含：

(a) 使式(4)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與Boc保護基試劑接觸，其中==為單鍵或雙鍵。

【0228】實施例I-51.如實施例I-50之方法，其中式(4)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體係藉由使式(3)化合物：



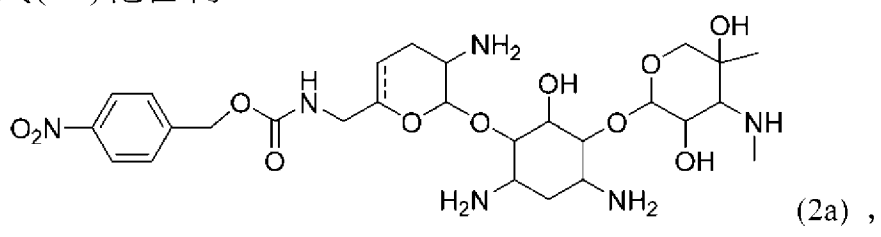
或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與

接觸來製備。

The structure shown is a chiral diol, specifically (2S,3S)-2,3-bis(hydroxymethyl)butane-2,3-diol, which is a common chiral auxiliary in organic synthesis.

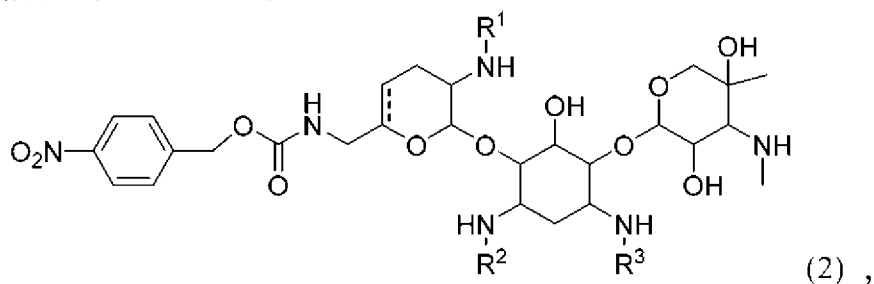
【0229】實施例I-52.如實施例I-51之方法，其中式(3)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體係藉由以下方式製備：

(b1) 使式(2a)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與Boc保護基試劑接觸；或

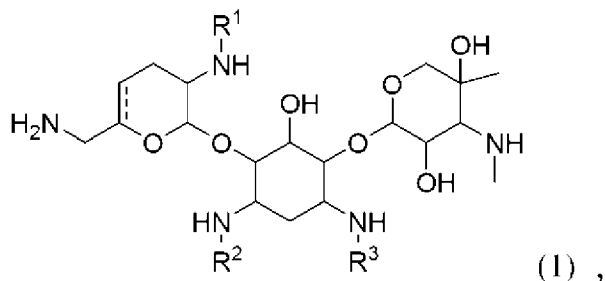
(b2) 移除式(2)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體中之C₁-C₃烷基：



其中R¹為H或C₁-C₃烷基；R²為H或C₁-C₃烷基；且R³為H或C₁-C₃烷基，且其中R¹、R²或R³中之一或多者獨立地為C₁-C₃烷基；及

接著，使式(2)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與Boc保護基試劑接觸。

【0230】實施例I-53.如實施例I-52之方法，其中式(2)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體係藉由使式(1)化合物：



或其對映異構體，或其非對映異構體與1-{[(對硝基苯甲基)氧基]羰基}-1*H*-苯并三唑(PNZ-Bt)接觸來製備。

【0231】實施例I-54.如實施例I-50至I-53中任一項之方法，其中Boc保護基試劑為Boc₂O。

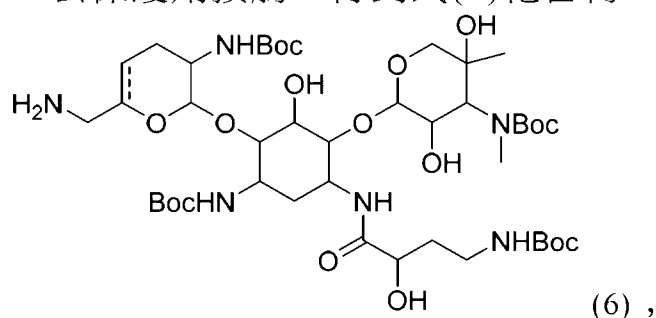
【0232】實施例I-55.如實施例I-50至I-54中任一項之方法，其中在醇存在下進行步驟(a)、(b1)或(b2)。

【0233】實施例I-56.如實施例I-55之方法，其中醇為甲醇。

【0234】實施例I-57.如實施例I-50至I-56中任一項之方法，其中在至多約60℃之溫度下進行步驟(a)、(b1)或(b2)。

【0235】實施例I-58.如實施例I-50至I-57中任一項之方法，其進一步包含：

(e) 使式(5)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與PNZ去保護劑接觸，得到式(6)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

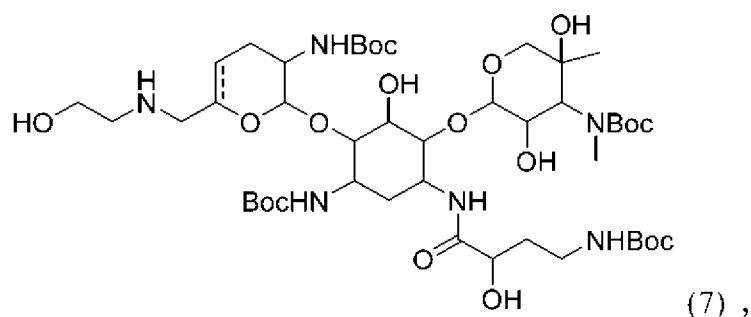
【0236】實施例I-59.如實施例I-58之方法，其中PNZ去保護劑為連二亞硫磺酸鈉。

【0237】實施例I-60.如實施例I-50至I-59中任一項之方法，其進一步包含製備式(6)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之結晶形式。

【0238】實施例I-61.如實施例I-50至I-60中任一項之方法，其進一步包含分離式(6)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

【0239】實施例I-62.如實施例I-50至I-61中任一項之方法，其進一步包含：

(f) 使式(6)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與 $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{LG}^1$ 接觸，其中 LG^1 為脫離基，得到式(7)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

【0240】實施例I-63.如實施例I-62之方法，其中脫離基為碘。

【0241】實施例I-64.如實施例I-62之方法，其中針對式(6)化合物，
 $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{LG}^1$ 以約1.0至1.5莫耳當量存在。

【0242】實施例I-65.如實施例I-62至I-64中任一項之方法，其中在實質上不含水之條件下進行步驟(f)。

【0243】實施例I-66.如實施例I-62至I-65中任一項之方法，其中在選自由以下組成之群之溶劑存在下進行步驟(f)：乙腈、丙酮及其組合。

【0244】實施例I-67.如實施例I-62至I-66中任一項之方法，其中在 NaHCO_3 存在下進行步驟(f)。

【0245】實施例I-68.如實施例I-62至I-67中任一項之方法，其中在約 30°C 至 40°C 之溫度下進行步驟(f)。

【0246】實施例I-69.如實施例I-62至I-68中任一項之方法，其進一步包含向反應混合物中添加1,4-二氮雜雙環[2.2.2]辛烷(DABCO)。

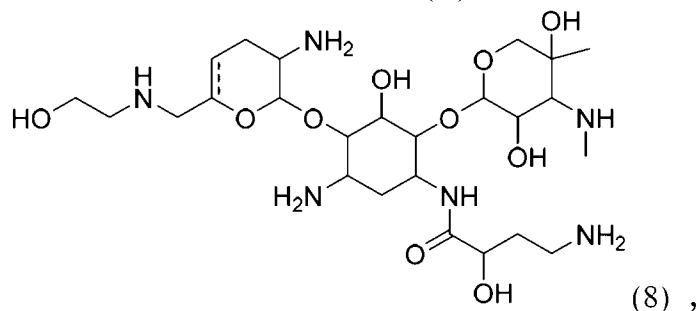
【0247】實施例I-70.如實施例I-62至I-69中任一項之方法，其進一步包含製備式(7)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之結晶形式。

【0248】實施例I-71.如實施例I-62至I-70中任一項之方法，其進一步包含分離式(7)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非

對映異構體。

【0249】實施例I-72.如實施例I-62至I-71中任一項之方法，其進一步包含：

(g) 使式(7)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與Boc移除劑接觸，得到式(8)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

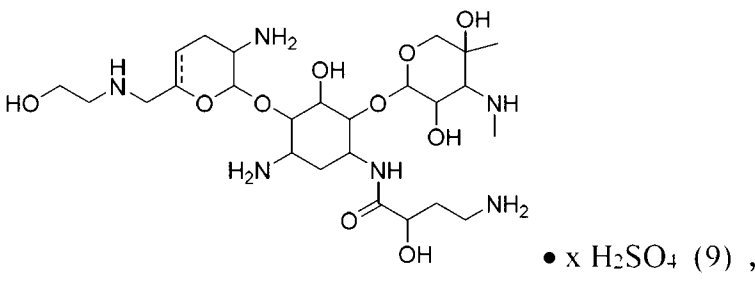
【0250】實施例I-73.如實施例I-72之方法，其中Boc移除劑為TFA，藉此產生式(8)化合物，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之三氟乙酸鹽。

【0251】實施例I-74.如實施例I-73之方法，其進一步包含移除三氟乙酸鹽，得到式(8)化合物，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

【0252】實施例I-75.如實施例I-72或I-74之方法，其進一步包含：

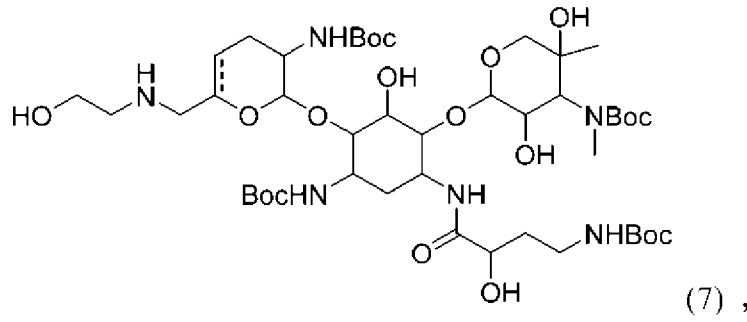
(h) 用酸進行鹽形成，得到式(8)化合物，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之鹽。

【0253】實施例I-76.如實施例I-75之方法，其中步驟(h)中之酸為硫酸，藉此產生式(9)化合物，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之硫酸鹽：

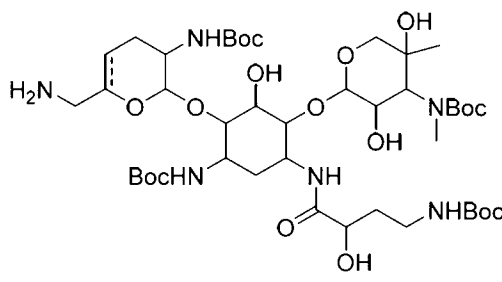


其中x為1至5。

【0254】實施例I-77.一種方法，其係用於製備式(7)化合物：

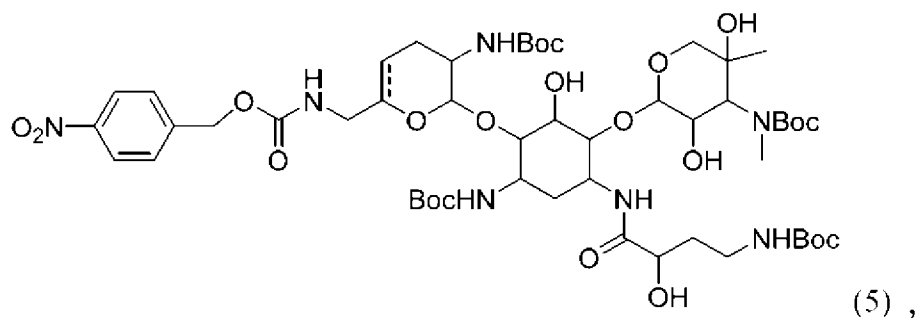


或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體，該方法包含：



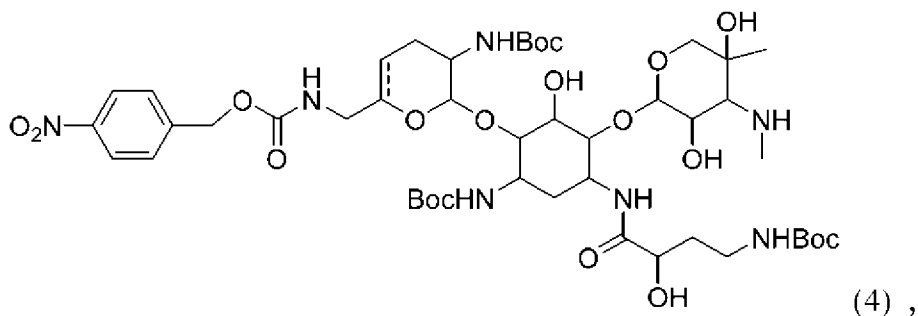
(f) 使式(6)化合物，
其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與HO-CH₂-CH₂-LG¹接觸，其中LG¹為脫離基，且其中==為單鍵或雙鍵。

【0255】實施例I-78.如實施例I-77之方法，其中式(6)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體係藉由使式(5)化合物：



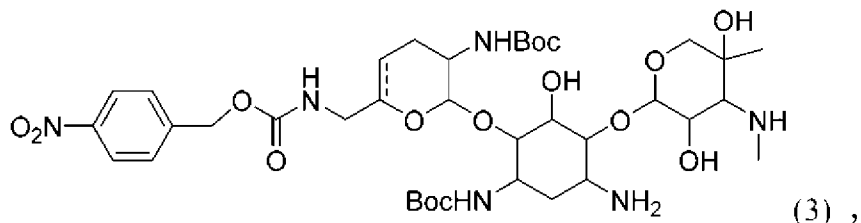
或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與PNZ去保護劑接觸來製備。

【0256】實施例I-79.如實施例I-78之方法，其中式(5)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體係藉由使式(4)化合物：

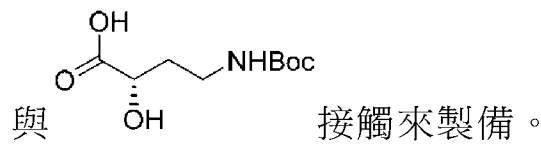


或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與Boc保護基試劑接觸來製備。

【0257】實施例I-80.如實施例I-79之方法，其中式(4)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體係藉由使式(3)化合物：

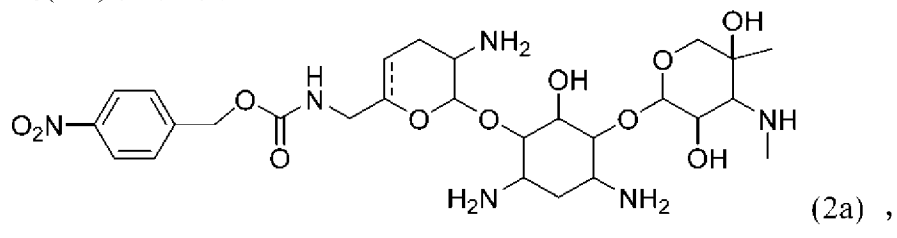


或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體，



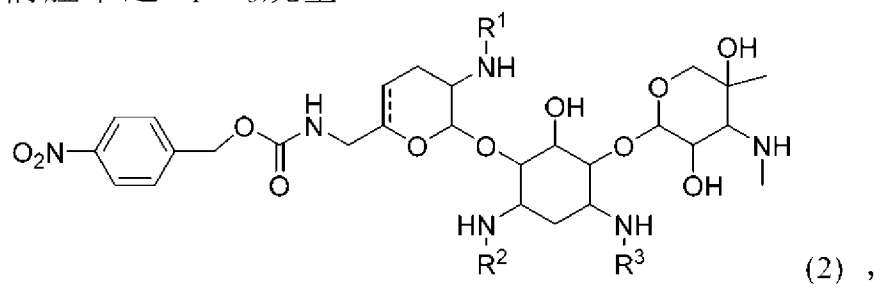
【0258】實施例I-81.如實施例I-80之方法，其中式(3)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體係藉由以下方式製備：

(b1) 使式(2a)化合物：



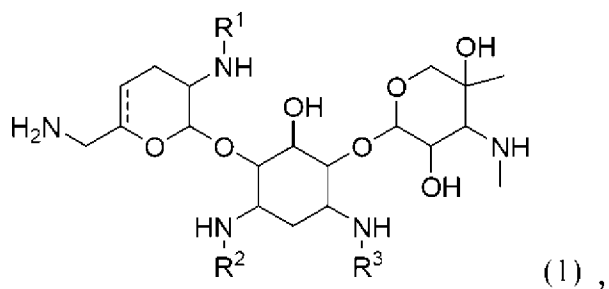
或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與Boc保護基試劑接觸；或

(b2) 移除式(2)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體中之C₁-C₃烷基：



其中R¹為H或C₁-C₃烷基；R²為H或C₁-C₃烷基；且R³為H或C₁-C₃烷基，且其中R¹、R²或R³中之一或多者獨立地為C₁-C₃烷基；及接著使式(2)化合物與Boc保護基試劑接觸。

【0259】實施例I-82.如實施例I-81之方法，其中式(2)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體係藉由使式(1)化合物：



或其對映異構體，或其非對映異構體與1-[(對硝基苯甲基)氧基]羰基}-1*H*-苯并三唑(PNZ-Bt)接觸來製備。

【0260】實施例I-83.如實施例I-77至I-82中任一項之方法，其中脫離基為碘。

【0261】實施例I-84.如實施例I-83之方法，其中針對式(6)化合物，
 $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{LG}^1$ 以約1.0至1.5莫耳當量存在。

【0262】實施例I-85.如實施例I-77至I-84中任一項之方法，其中在實質上不含水之條件下進行步驟(f)。

【0263】實施例I-86.如實施例I-77至I-85中任一項之方法，其中在選自由以下組成之群之溶劑存在下進行步驟(f)：乙腈、丙酮及其組合。

【0264】實施例I-87.如實施例I-77至I-86中任一項之方法，其中在 NaHCO_3 存在下進行步驟(f)。

【0265】實施例I-88.如實施例I-77至I-87中任一項之方法，其中在約30°C至40°C之溫度下進行步驟(f)。

【0266】實施例I-89.如實施例I-77至I-88中任一項之方法，其進一步包含向反應混合物中添加1,4-二氮雜雙環[2.2.2]辛烷(DABCO)。

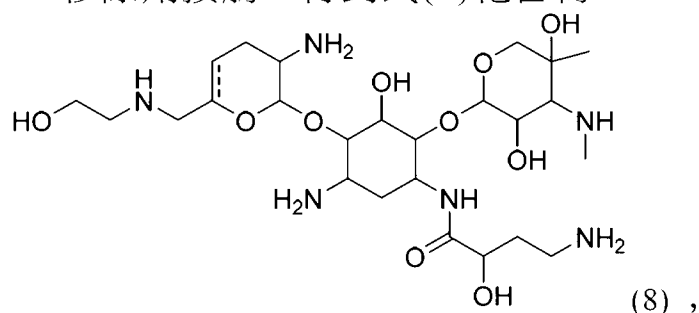
【0267】實施例I-90.如實施例I-77至I-89中任一項之方法，其進一步包含製備式(7)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之結晶形式。

【0268】實施例I-91.如實施例I-77至I-90中任一項之方法，其進一步

包含分離式(7)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

【0269】實施例I-92.如實施例I-77至I-91中任一項之方法，其進一步包含：

(g) 使式(7)化合物，或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體與Boc移除劑接觸，得到式(8)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

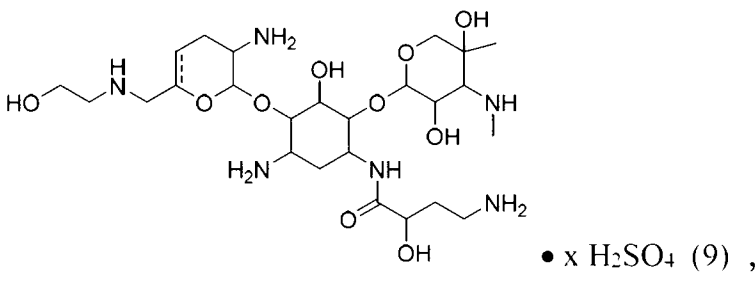
【0270】實施例I-93.如實施例I-92之方法，其中Boc移除劑為TFA，藉此產生式(8)化合物，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之三氟乙酸鹽。

【0271】實施例I-94.如實施例I-93之方法，其進一步包含移除三氟乙酸鹽，得到式(8)化合物，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

【0272】實施例I-95.如實施例I-92或I-94之方法，其進一步包含：

(h) 用酸進行鹽形成，得到式(8)化合物，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之鹽。

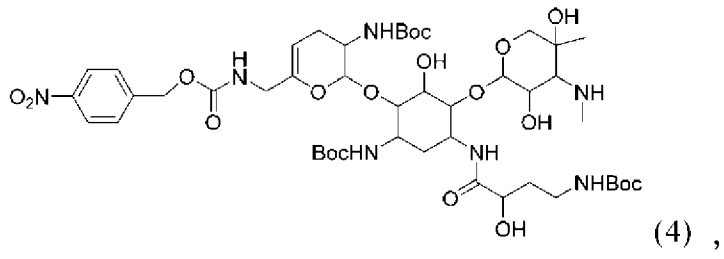
【0273】實施例I-96.如實施例I-95之方法，其中步驟(h)中之酸為硫酸，藉此產生式(9)化合物，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體之硫酸鹽：



其中x為1至5。

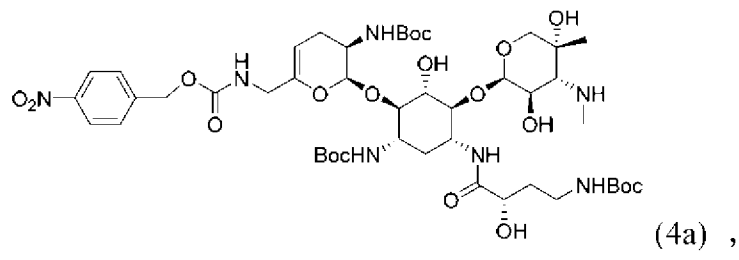
【0274】實施例I-97.如實施例I-50至I-96中任一項之方法，其中==為雙鍵。

【0275】實施例I-98.一種式(4)化合物：



或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

【0276】實施例I-99.如實施例I-98之化合物，其中式(4)化合物具有下式：



或其鹽，或其溶劑合物。

【0277】實施例I-100. 結 晶((2S,3R)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-6-((((4-硝基苯基)氧基)羰基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-吡喃-3-基)胺基甲酸第三丁酯，式(4a)，或其溶劑合物。

【0278】 實施例I-101. 一種用於製備 ((2S,3R)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-6-((((4-硝基苯甲基)氧基)羰基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-哌喃-3-基)胺基甲酸第三丁酯，式(4a)，或其溶劑合物之方法，其包含：

- (a) 用乙腈處理式(4a)，或其鹽，或其溶劑合物，以產生溶液；
- (b) 加熱來自步驟(a)之溶液；
- (c) 向步驟(b)之經加熱之溶液中添加水；
- (d) 冷卻來自步驟(c)之溶液；
- (e) 用晶種裝填來自步驟(d)之溶液；及
- (f) 分離所得固體，得到結晶式(4a)或其溶劑合物。

【0279】 實施例I-102. 結晶 ((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-哌喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(6a)，或其溶劑合物。

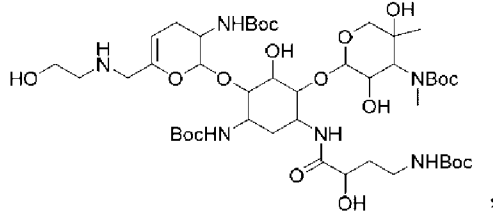
【0280】 實施例I-103. 一種用於製備結晶 ((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-哌喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式

(6a)，或其溶劑合物之方法，其包含：

- (a) 用乙酸異丙酯(IPAc)處理式(6a)，或其鹽，或其溶劑合物，以產生溶液；
- (b) 向步驟(a)之溶液中添加水，以產生混合物；
- (c) 向來自步驟(b)之混合物中添加二氯甲烷以產生混合物；
- (d) 用晶種裝填來自步驟(c)之混合物；
- (e) 分離所得固體，得到結晶式(6a)，或其溶劑合物。

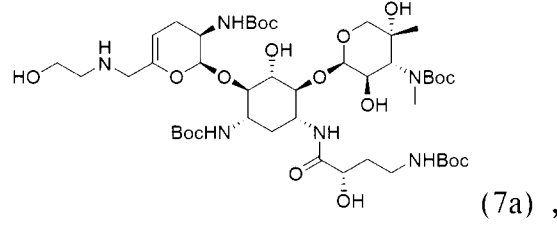
【0281】實施例I-104. 如實施例I-103之方法，其中在低溫下進行步驟(d)。

【0282】實施例I-105. 一種式(7)化合物，



或其鹽，或其溶劑合物，或其對映異構體，或其非對映異構體。

【0283】實施例I-106. 如實施例I-105之化合物，其中式(7)化合物具有下式：



或其鹽，或其溶劑合物。

【0284】實施例I-107. 結晶
((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺

基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-(((2-羥基乙基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(7a)，或其溶劑合物。

【0285】實施例I-108. 一種用於製備結晶(((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-(((2-羥基乙基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(7a)，或其溶劑合物之方法，其包含：

- (a) 用乙酸異丙酯(IPAc)處理式(7a)，或其鹽，或其溶劑合物，以產生溶液；
- (b) 向步驟(a)之溶液中添加乙腈，以產生混合物；
- (c) 用晶種裝填來自步驟(b)之混合物；
- (d) 分離所得固體，得到結晶式(7a)，或其溶劑合物。

實例

【0286】藉由以下實例進一步說明本發明，其不應解釋為將本發明之範疇或精神限於本文中描述之特定程序。應理解，所提供之實例係用於說明某些實施例且不意欲限制本發明之範疇。應進一步理解，可採用多種其他實施例、修改及其等效形式，熟習此項技術者可在不偏離本發明之精神及/或隨附申請專利範圍之範疇的情況下想到該等其他實施例、修改及其等效形式。

【0287】除非另外說明，否則起始組分可獲自諸如Sigma Aldrich、

Lancaster Synthesis, Inc.、Maybridge、Matrix Scientific、TCI及Fluorochem USA等來源或根據熟習此項技術者已知之來源合成(參見例如Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 第5版(Wiley, 2000年12月))或如本文中所述製備。

【0288】西索米星游離鹼為醱酵糖苷且自Zhejiang Zhenyuan Pharmaceutical Co. Ltd.獲得。Boc-(S)-HABA係自Senn Chemicals AG或Porton Fine Chemicals Inc.獲得。PNZ-Bt係自Luxembourg BioTechnologies LTD (KINSY S.L.)或Porton Fine Chemicals Inc.獲得。2-碘乙醇係自Dona Chemicals, Poland獲得。

【0289】除非另外指明，否則下列縮寫具有下列含義，且本文中所使用但未定義之任何其他縮寫具有其通常公認之標準含義：

%a/a：正規化面積百分比

Ac：乙酸

ACN：乙腈

Boc：第三丁氧基羰基

BocO₂：二碳酸二-第三丁酯或Boc酸酐

Boc-ONb：((4R,7S)-1,3-二側氧基-1,3,3a,4,7,7a-六氫-2H-4,7-甲橋異吲哚-2-基)碳酸第三丁酯

DABCO：1,4-二氮雜雙環[2.2.2]辛烷

DBU：1,8-二氮雜雙環[5.4.0]十一-7-烯

DCM：二氯甲烷

DI：去離子水

DIPE：二異丙醚

DIPEA：N,N-二異丙基乙胺

DMF：二甲基甲醯胺

DSC：差示掃描熱量測定

EDAC：*N*-(3-二甲胺基丙基)-*N'*-乙基碳化二亞胺鹽酸鹽

EtOH：乙醇

GC：氣相層析

h或hr：小時

HABA：4-胺基-2-羥基-丁酸

HCl：鹽酸

HOBt：1-羥基苯并三唑水合物

HPLC：高效液相層析

IPA：異丙醇

IPAc：乙酸異丙酯

LC/MS：液相層析/質譜

MeCN：乙腈

MeOH：甲醇

min：分鐘

MTBE：甲基第三丁基醚

NaOH：氫氧化鈉

PNZ-Bt：1-{[(對硝基苯甲基)氧基]羰基}-1*H*-苯并三唑

ppm：百萬分率

PrOH：丙醇

PyBOP：六氟磷酸(苯并三唑-1-基氧基)三吡咯啶鎂

RT或rt：室溫

TBDMS：第三丁基二甲基矽烷基

TEA：三乙胺

TFA：三氟乙酸

TGA：熱解重量分析

THF：四氫呋喃

UPLC：超高效液相層析

UV：紫外線

v/v：體積比

vol或vols：體積

%w/w：重量百分比

wt：重量

XRPD：x射線繞射

Zn(OPiv)₂：特戊酸鋅

X射線繞射

【0290】經由PANalytical X'Pert PRO MPD繞射儀(使用利用Optix長細焦源所產生之入射Cu輻射束)收集XRPD圖案。使用橢圓形階化多層鏡將Cu K α x射線聚焦穿過試樣且到達偵測器上。在分析之前，對矽樣本(NIST SRM 640d)進行分析以檢驗Si 111峰之所觀測位置與NIST認證的位置一致。將樣品之試樣夾在3 μ m厚的膜之間且以透射幾何形狀加以分析。使用射束截捕器、短防散射延伸部分及防散射刀口來使空氣所產生的背景最小化。使用針對入射束及繞射束之索勒狹縫(Soller slits)以使軸向發散變寬降至最低。使用距離試樣240 mm之掃描位置敏感性偵測器(X'Celerator)及資

料收集軟體2.2b版來收集繞射圖案。

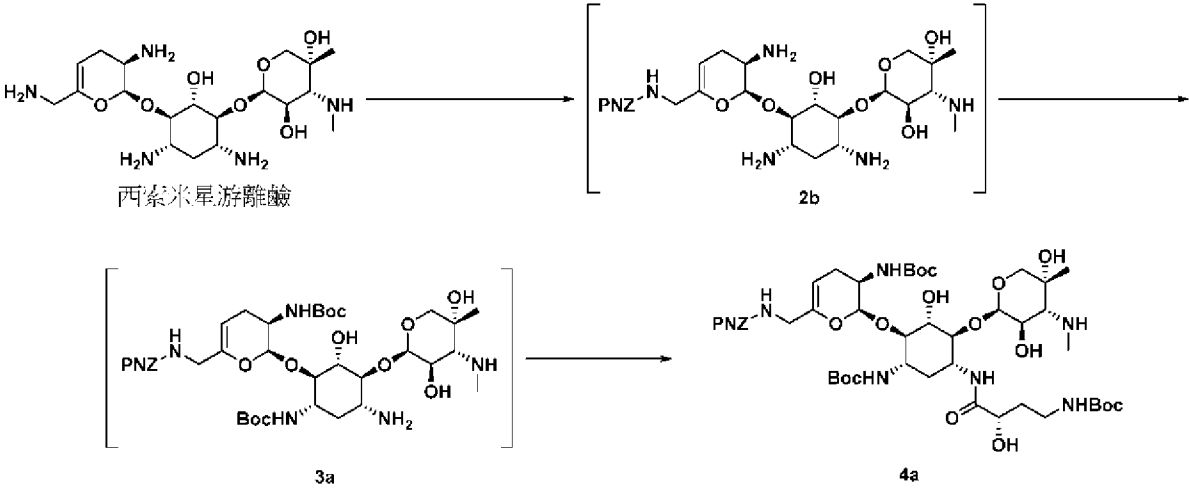
熱分析

【0291】使用TA Instruments DSC，以10℃/分鐘之速率在0℃至300℃之溫度勻變下進行差示掃描熱量測定(DSC)。使用標準鋁盤。

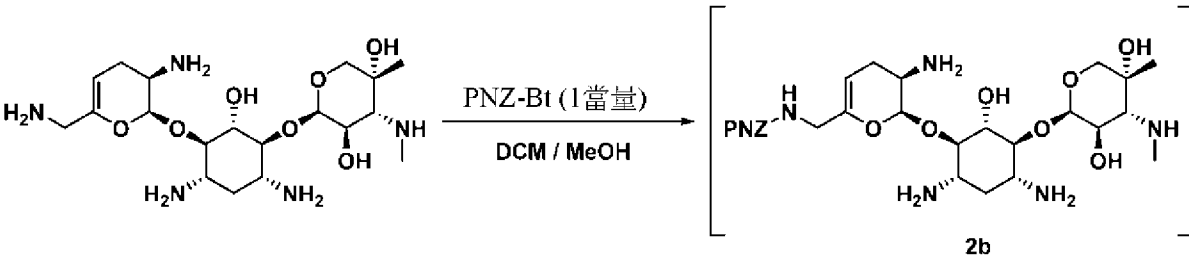
【0292】使用TA Instruments 2950熱重量分析儀進行熱解重量分析(TGA)。使用鎳及AlumeITM進行溫度校準。將各樣品置放於鉑盤中且插入TG爐中。在氮氣吹掃下加熱鍋爐。

實例1-化合物4a之合成方案

【0293】下文詳細描述化合物4a之一般合成方案。



部分1：合成化合物2b



【0294】將西索米星游離鹼(1.0 kg±1%，2.23 mol)裝填至反應器中，接著相繼裝填MeOH (3.96 kg±5%或5 L±5%)及DCM (6.64 kg±5%或5 L±5%)。接著，使溫度穩定在15±5℃且攪拌混合物以實現完全溶解。可使溫度上升至約30℃以幫助溶解。在溶解之後，使混合物冷卻至15±5℃之溫

度。在單獨的混合槽中，使PNZ-Bt [(0.696 kg)±1%，2.33 mol)]溶解於DCM (18.59 kg±5%或14 L±5%)中。將PNZ-Bt溶液經約1至約4小時之時段裝填至反應器中，同時保持批料溫度為15±5℃。當製備PNZ-Bt溶液時，不將裝料槽夾套加熱超過或達到約35℃以促進PNZ-Bt之溶解。無需PNZ-Bt完全溶解。

【0295】用DCM (1.33 kg±5%或1 L±5%)沖洗用於裝填PNZ-Bt溶液之裝填系統且將沖洗液供應至反應器(T_{Batch}=15±5℃)中。在15±5℃下攪拌批料且將內含物取樣以檢驗反應是否完成。當區域中之西索米星含量不超過或等於約2.0%時，如藉由HPLC分析(關於所使用之HPLC方法，參見表3)評估，認為反應完成。在PNZ-Bt裝填完成後約15分鐘至12小時採集第一樣品。在一些實施例中，在PNZ-Bt裝填完成後約30分鐘採集第一樣品。視需要裝填額外的含PNZ-Bt之DCM溶液以完成反應。藉由下式計算所裝填之額外PNZ-Bt之量：裝填量=P1×D1/(100-D1±1%)，其中P1=初始裝填之PNZ-Bt之量(kg)且D1=藉由HPLC偵測之未消耗之西索米星之量(面積百分比)。在反應完成後，在夾套溫度不超過或等於約40℃ (例如10至40℃)之情況下，在真空中濃縮批料直至殘餘體積為5 L±5%。

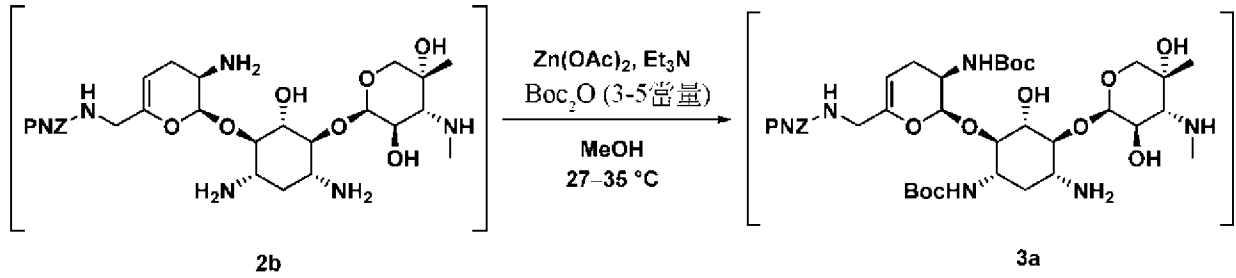
【0296】接著，將MeOH (5.54公斤±5%或7.00 L±5%)裝填至含有化合物**2b**之反應器中。在下一反應(部分2)之前，混合物可在不超過或等於約25℃ (例如0至25℃)之溫度下保持不超過或等於約48小時(例如0至48小時)。

表3：實例1之部分1之HPLC方法

管柱	Waters X-Bridge C18，3.5 μm 150 mm × 4.6 mm		
管柱溫度	40℃		
流動速率	1 mL/min		
偵測波長	210 nm		
移動相	含0.25 M NH ₄ OH之水 含0.25 M NH ₄ OH之甲醇		
梯度	時間(min)	%移動相A	%移動相B

	0.00	85	15
	28.0	15	85
	30.0	15	85
	30.1	85	15
	40.0	85	15
運行時間	40 min		
注射體積	10 µL		

部分2：化合物3a之合成

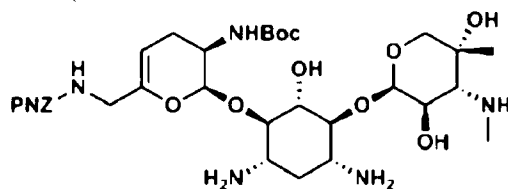


【0297】在部分1結束時，向含有所提及之化合物**2b**之反應器中裝填三乙胺[(1.48 L)±2%或(1.08 kg±2%)]，同時保持批料溫度為約27℃至約35℃ (目標為約33℃)。用MeOH (2.38 kg±5%或3.00 L±5%)沖洗用於裝填三乙胺之裝填系統，且將沖洗液添加至反應混合物中。使批料溫度穩定在約27℃至約35℃ (目標為約33℃)。將 $\text{Zn}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1.63 kg ± 2%)裝填至批料中且用MeOH (2.38 kg±5%或3.00 L±5%)沖洗用於裝填二水合乙酸鋅之裝填系統，且將沖洗液添加至反應混合物中。在約27℃至約35℃ (目標為約33℃)下攪拌混合物約30分鐘至12小時。在某些實施例中，在約27℃至約35℃ (目標為約33℃)下攪拌混合物不超過或等於約60分鐘。

【0298】在單獨的混合槽中，製備 Boc_2O [(2.55 kg)±2%，11.7 mol]於MeOH (1.58 kg±5%或2.00 L±5%)中之溶液。將所製備之 Boc_2O 溶液經約15分鐘至12小時裝填至反應器中，同時保持批料溫度為約27℃至約35℃ (目標為約33℃)。在某些實施例中，將所製備之 Boc_2O 溶液經不超過或等於約1小時裝填至反應器中，同時保持批料溫度為約27℃至約35℃ (目標為約33℃)。用甲醇(0.16 kg±5%或0.20 L±5%)沖洗用於 Boc_2O 溶液之裝填系

統且將沖洗液添加至反應器中。

【0299】批料在約20至40°C之目標溫度下保持約3至24小時且將樣品內含物取樣以檢驗反應是否完成。在某些實施例中，批料在約33°C之目標溫度下保持不超過或等於約5小時且將樣品內含物取樣以檢驗反應是否完成。當藉由HPLC分析(關於所使用之HPLC方法，參見表4)區域中單-Boc-



化合物2b中間物：

相對於化合物3a之含量不

超過或等於約2.0%時，認為反應完成。所採集的用於檢驗反應是否完成之第一樣品係在約15分鐘至12小時之後採集。在某些實施例中，所採集的用於檢驗反應是否完成之第一樣品係在不小於或等於約5小時之後採集且後續樣品(若需要)係以約3小時之間隔採集。在此保持期間之批料溫度不偏離約27-35°C之範圍。在某些實例中，裝填額外的Boc₂O以完成反應。在與上文所製備之Boc₂O溶液中所使用相同的Boc₂O濃度下進行裝填。根據下式計算待裝填之Boc₂O之量：裝填量=P2×2×D2/[100-(2×D20)]±2%，其中：P2=初始裝填之Boc₂O之量(kg)且D2=藉由HPLC獲得之剩餘單-Boc-化合物2b之量(面積百分比)。

【0300】在反應完成後，在不超過或等於約40°C (例如20至40°C)之夾套溫度下，在真空中濃縮反應混合物直至殘餘體積為12 L±5%。以約25% w/w (5.46 kg±5%或6.00 L±5%)裝填氮，同時保持批料溫度為約20°C至約30°C且在此溫度範圍下保持約15分鐘至12小時。在某些實施例中，以約25% w/w (5.46 kg±5%或6.00 L±5%)裝填氮，同時保持批料溫度為約20°C至約30°C且在此溫度範圍下保持不超過或等於約1小時。添加過程為放熱的。

【0301】將DCM (13.28 kg±5%或10.00 L±5%)裝填至批料中且在

25±5°C 下攪拌內含物約12分鐘至12小時。在某些實施例中，將DCM (13.28 kg±5%或10.00 L±5%)裝填至批料中且在25±5°C 下攪拌內含物不超過或等於約30分鐘。使內含物沈降且分離約30分鐘至12小時。在某些實施例中，使內含物沈降且分離至少或等於約45分鐘。將有機相(下部相)轉移至接收器中且排出水相以廢棄。產物呈有機相形式。

【0302】將有機相裝填回反應器中。將在混合槽中混合之約25% w/w 之氨(2.28 kg±5%或2.50 L±5%)及去離子水(2.5 kg±5%或2.5 L±5%)裝填至有機相中且在25±5°C 下攪拌約15分鐘至12小時。在某些實施例中，將在混合槽中混合之約25% w/w之氨(2.28 kg±5%或2.50 L±5%)及去離子水(2.5 kg±5%或2.5 L±5%)裝填至有機相中且在25±5°C 下攪拌不超過或等於約30分鐘。使內含物沈降且分離約30分鐘至12小時。在某些實施例中，使內含物沈降且分離至少或等於約45分鐘。將有機相(下部相)轉移至接收器中且排出水相以廢棄。產物呈有機相形式。

【0303】將有機相裝填回反應器中且向有機相中裝填MeOH (0.79 kg±5%或1.00 L±5%)且在25±5°C 下攪拌約15至約30分鐘。向混合物中裝填去離子水(5.0 kg±5%或5.0 L±5%)且在25±5°C 下攪拌約15分鐘至12小時。在某些實施例中，向混合物中裝填去離子水(5.0 kg±5%或5.0 L±5%)且在25±5°C 下攪拌不超過或等於約30分鐘。使內含物沈降且分離約30分鐘至12小時。在某些實施例中，使內含物沈降且分離至少或等於約1小時。將有機相(下部相)轉移至接收器中且排出水相以廢棄。產物呈有機相形式。

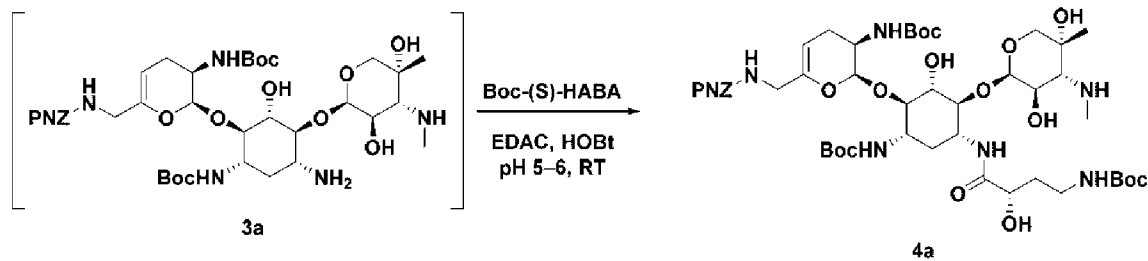
【0304】將有機相裝填回反應器中。向有機相中裝填MeOH (1.98 kg±5%或2.50 L±5%)且在25±5°C 下攪拌約15至約30分鐘。向混合物中裝填去離子水(5.0 kg±5%或5.0 L±5%)且在25±5°C 下攪拌約15分鐘至12小時。

在某些實施例中，向混合物中裝填去離子水(5.0 kg±5%或5.0 L±5%)且在25±5°C下攪拌不超過或等於約30分鐘。使內含物沈降且分離約30分鐘至12小時。在某些實施例中，使內含物沈降且分離至少或等於約2小時。將有機相(下部相)轉移至接收器中且排出水相以廢棄。產物呈有機相形式。在不超過或等於約40°C (例如20至40°C)之夾套溫度下，批料在真空中直至殘餘體積為約9 L±5%。混合物可在不超過或等於約25°C (例如0至25°C)之溫度下保持不超過或等於約48小時(例如0至48小時)。

表4：實例1之部分2及3之HPLC方法

管柱	Waters X-Bridge C18，3.5 μm 150 mm × 4.6 mm		
管柱溫度	40°C		
流動速率	1 mL/min		
偵測波長	274 nm		
移動相	含0.25 M NH ₄ OH之水 含0.25 M NH ₄ OH之甲醇		
梯度	時間(min)	%移動相A	%移動相B
	0	90	10
	5.0	50	50
	35.0	10	90
	40.0	10	90
	40.1	90	10
	45.0	90	10
運行時間	45 min		
注射體積	10 μL		

部分3：合成化合物4a



【0305】將去離子水(0.5 kg±5%或0.5 L±5%)裝填至來自部分2之包含化合物3a之混合物中，保持反應溫度為20±5°C。向反應混合物中裝填Boc-(S)-HABA [(0.512 kg)±2%，2.34 mol]且保持溫度在20±5°C範圍內。

用DCM ($0.27\text{ kg}\pm 5\%$ 或 $0.20\text{ L}\pm 5\%$)沖洗用於裝填Boc-(S)-HABA之裝填系統且將沖洗液添加至反應混合物中。在 $20\pm 5^\circ\text{C}$ 之批料溫度下攪拌混合物。

【0306】裝填單水合1-羥基苯并三唑($\text{HOBt}\cdot\text{H}_2\text{O}$, $0.057\text{ kg}\pm 2\%$, 0.42 mol)，同時保持反應溫度為 $20\pm 5^\circ\text{C}$ 。用DCM ($0.27\text{ kg}\pm 5\%$ 或 $0.2\text{ L}\pm 5\%$)沖洗用於裝填 $\text{HOBt}\cdot\text{H}_2\text{O}$ 之裝填系統且將沖洗液添加至反應混合物中。

【0307】將批料之pH值調節至 5.0 ± 0.2 ，同時保持溫度範圍為 $20\pm 5^\circ\text{C}$ 。藉由添加 2 M HCl 溶液來調節批料pH值(視需要)。在單獨的適合的容器中，藉由向去離子水($6.00\text{ kg}\pm 5\%$ 或 $6.00\text{ L}\pm 5\%$)中添加濃 HCl ($1.392\text{ kg}\pm 5\%$ 或 $1.18\text{ L}\pm 5\%$)來製備所需酸性溶液。pH值調節通常需要裝填約 3.5 至約 4.5 L/kg 。在某些實例中，若pH值下降低於約 4.8 (例如約 5.0 ± 0.2)，則添加 2 M NaOH 溶液(視需要)以使批料pH值在指定的 5.0 ± 0.2 範圍內。在某些實例中，若需要，在適合的容器中由 NaOH ($0.56\text{ kg}\pm 5\%$)及去離子水 ($7.0\text{ kg}\pm 5\%$ 或 $7.0\text{ L}\pm 5\%$)製備鹼性溶液。

【0308】向批料中裝填EDAC [$(0.447\text{ kg})\pm 2\%$, 2.33 mol]，同時保持溫度範圍為 $20\pm 5^\circ\text{C}$ 。用DCM ($0.27\text{ kg}\pm 5\%$ 或 $0.20\text{ L}\pm 5\%$)沖洗用於裝填EDAC之裝填系統且將沖洗液添加至反應混合物中。在 $20\pm 5^\circ\text{C}$ 之反應溫度下攪拌混合物約15分鐘至6小時且取樣以檢測反應是否完成。在某些實施例中，在 $20\pm 5^\circ\text{C}$ 之反應溫度下攪拌混合物不超過或等於約1小時且取樣以檢測反應是否完成。藉由HPLC分析(表4中概述之方法)，當區域中**化合物3a**相對於**化合物4a**之含量不超過或等於約 1.0% 時，可視為反應完成。在每次取樣時檢驗pH值且視需要進行調節，保持pH值在約 4.8 至約 6.0 之間。在某些實例中，若需要，則如上文所描述添加 HCl 或 NaOH 溶液。在約15分鐘至6小時保持時間之後收集第一樣品。在某些實施例中，在約1小時保持時間

之後收集第一樣品。在某些實施例中，以約3小時間隔收集其他樣品。若反應在收集兩份樣品之後未完成，則根據下式裝填額外的EDAC及Boc-(S)-HABA以完成反應：裝填量= $P3 \times D3 / (100 - D3)$ ，其中：P3=初始裝填之EDAC或Boc-(S)-HABA之量(kg)且D3=未消耗之化合物3a之量(a/a%)。

【0309】在完成之後，向反應物中裝填MeOH (1.58 kg±5%或2.00 L±5%)，同時保持反應溫度為20±5℃。接著，向反應物中裝填DCM (15.94 kg±5%或12.00 L±5%)，同時保持批料溫度為20±5℃。接著，向反應物中裝填去離子水(5.0 kg±5%或5.0 L±5%)，同時保持批料溫度為20±5℃。藉由添加2 M NaOH溶液將批料之pH值調節為介於約9.0與約10.0之間(視需要)，同時保持溫度為25±5℃。pH值調節通常需要約3.5至約4.5 L/kg之2 M NaOH裝填。若批料pH值超過10.0，則裝填2 M HCl溶液以實現指定範圍。在約20℃至約38℃之溫度下攪拌混合物約15分鐘至12小時。在某些實施例中，在約20℃至約38℃之溫度下攪拌混合物不超過或等於約30分鐘。接著，使內含物沈降且分離約30分鐘至12小時。在某些實施例中，接著使內含物沈降且分離至少或等於約1小時。將有機相(下部相)轉移至接收器中且排出水相以廢棄。產物呈有機相形式。將有機相回填至反應器中，接著裝填MeOH (2.38 kg±5%或3.00 L±5%)，同時保持批料溫度在約20℃與約38℃之間。接著，向混合物中裝填去離子水(7.0 kg±5%或7.0 L±5%)且在約20℃與約38℃之間的溫度下攪拌約15分鐘至12小時。在某些實施例中，接著向混合物中裝填去離子水(7.0 kg±5%或7.0 L±5%)且在約20℃與約38℃之間的溫度下攪拌不超過或等於約30分鐘。使內含物沈降且分離約30分鐘至12小時。在某些實施例中，使內含物沈降且分離至少或等於約1小時。將有

機相(下部相)轉移至接收器中且排出水相以廢棄。產物呈有機相形式。在不超過或等於約40°C (例如20至40°C)之夾套溫度下，在真空中濃縮批料直至殘餘體積為約10 L±5%。

部分4：化合物4a之結晶

【0310】經約5分鐘至4小時向來自部分3之批料中裝填乙腈(7.87 kg±5%或10.00 L±5%)。在某些實施例中，經不小於或等於約10分鐘向來自部分3之批料中裝填乙腈(7.87 kg±5%或10.00 L±5%)。在不超過或等於約40°C (例如20至40°C)之夾套溫度下，在真空中濃縮混合物，得到約10 L±5%之最終殘餘體積。向批料中裝填乙腈(7.87 kg±5%或10.00 L±5%)且在不超過或等於約40°C (例如20至40°C)之夾套溫度下在真空中濃縮，得到約10 L±5%之最終殘餘體積。接著，裝填乙腈(可變量)以實現約25 L±5%之最終批料體積。反應器之內含物為白色固體之黏稠不透明漿料。

【0311】接著，將批料加熱至回流(約82°C)且保持約5分鐘至12小時。在某些實施例中，接著將批料加熱至回流(約82°C)且保持不超過或等於約15分鐘。在保持週期期間，預期並非全部固體將溶解。向混合物中裝填去離子水(0.375 kg±5%或0.375 L±5%)，同時保持回流。攪拌批料約30至約60分鐘以獲得均勻溶液。若未在約30-60分鐘內獲得均勻溶液，則裝填額外的去離子水(0.125 kg±5%或0.125 L±5%)以溶解剩餘固體。添加更多的水通常對品質具有微小的有利作用，但可引起較低產率。在獲得均勻溶液後，經約15分鐘至12小時使批料冷卻至75±3°C之溫度。在某些實施例中，在獲得均勻溶液後，經不超過或等於約1小時使批料冷卻至75±3°C之溫度。

【0312】用化合物4a晶種(0.01 kg±2%)填充批料，同時保持溫度為75±3°C。用乙腈(0.08 kg±5%或0.10 L±5%)沖洗晶種漿料裝填容器及管線

且將沖洗液添加至批料中。接著攪拌批料約15分鐘至12小時。在某些實施例中，接著攪拌批料不小於或等於約30分鐘。經30分鐘至12小時使批料冷卻至50±5℃之溫度且在適度攪拌下再保持約2-12小時，得到黏稠漿料。在某些實施例中，經不小於或等於約2小時使批料冷卻至50±5℃之溫度且在適度攪拌下再保持約2-12小時，得到黏稠漿料。經約1至24小時使批料冷卻至約-5與約5℃之間的溫度範圍且再保持約4-12小時。在某些實施例中，經不小於或等於約1小時使批料冷卻至約-5與約5℃之間的溫度範圍且再保持約4-12小時。過濾批料且去液體化，且濾餅用0±5℃乙腈(0.79 kg±5%或1.00 L±5%)洗滌且去液體化。

【0313】產物在真空中，在不超過或等於約55℃（例如0至55℃）之溫度下乾燥。當乾燥失重不超過或等於約1% w/w時，認為乾燥完成。產物在乾燥氮氣之吹掃下乾燥。在乾燥之後，產物可用適合的篩分操作去結塊化。自西索米星游離鹼經三個步驟轉化成化合物4a之產率為約65%。

【0314】因為約70%之高產率，至少或等於約88.08%之高純度(在結晶之前，物質之純度為約77.75%)及易於過濾混合物，可選擇在75±3℃下，在具有1.5%去離子水之乙腈中之接種結晶，接著進行冷卻。然而，在選擇在75±3℃下之具有1.5%去離子水之乙腈，接著進行冷卻之前，測試若干結晶程序。此等程序詳細說明於表5中。使用水(約1.5%)與乙腈一起作為共溶劑可降低結晶所需之處理體積。

表5：關於化合物4a測試之結晶條件

溶劑 (v/v)	條件 ^{a, b}	觀測結果
EtOH	20倍體積(在69℃下澄清溶液)。過濾。冷卻至55℃且保持1小時(具有超過液態線之固體之澄清溶液)。刮下固體。保持1小時(稀懸浮液)。緩慢冷卻至室溫。攪拌5天。59%產率。	具有相同形態之不透明聚集體及細粒。

溶劑 (v/v)	條件 ^{a, b}	觀測結果
IPA	20倍體積(在82℃下之稀懸浮液)。過濾。冷卻至55℃且保持1小時(白色漿料)。保持1小時。緩慢冷卻至室溫。攪拌5天。56%產率。	具有相同形態之不透明聚集體及細粒。
2:1 MeOH:水	15倍體積(在61℃下具有輕微混濁度之澄清溶液)。過濾(澄清溶液)。冷卻至55℃且保持1小時(具有超過液態線之固體之澄清溶液)。刮下固體。冷卻至40℃且保持1小時(混濁懸浮液)。緩慢冷卻至室溫。攪拌1天。52%產率，89.07%純度。	緩慢過濾；具有相同形態之不透明聚集體及細粒。
1-PrOH	20倍體積(在75℃下澄清溶液)。過濾。冷卻至55℃且保持1小時(具有超過液態線之固體之澄清溶液)。刮下固體。保持1小時(稀懸浮液)。緩慢冷卻至室溫。攪拌5天。71%產率，92.31%純度。	具有相同形態之不透明聚集體及細粒。
1-PrOH	10倍體積(在89℃下之澄清溶液)。過濾。冷卻至82℃且保持1小時(具有超過液態線之澄清溶液)。刮下固體。用約1重量% 化合物4a 接種。保持1小時(黏稠白色漿料)。緩慢冷卻至室溫。攪拌1天。81%產率，91.22%純度。	緩慢過濾；具有相同形態之不透明聚集體及細粒。
THF	20倍體積2% THF水溶液(在35℃下之澄清溶液)。過濾。蒸餾至約10倍體積。再添加10倍體積之THF。蒸餾至約10倍體積。(具有超過液態線之固體之澄清溶液)。刮下固體且保持在約63℃下(稀懸浮液)。攪拌30分鐘。緩慢冷卻至室溫。攪拌1天。60%產率，90.36%產率。	緩慢過濾；具有相同形態之不透明聚集體及細粒。
1:1 THF:ACN	20倍體積(在65℃下具有輕微混濁度之澄清溶液)。過濾(澄清溶液)。冷卻至55℃且保持1小時(具有超過液態線之固體之澄清溶液)。刮下固體。冷卻至40℃且保持1小時(混濁懸浮液)。緩慢冷卻至室溫。攪拌1天。64%產率。	具有相同形態之不透明聚集體及細粒。
1:1 THF:庚烷	20倍體積THF (在約65℃下之澄清溶液)。過濾。蒸餾至約10倍體積(具有超過液態線之固體之澄清溶液)。刮下固體。用約1重量% 化合物4a 接種。保持0.5小時(稀漿料)。緩慢冷卻至室溫。攪拌2天(白色漿料)。添加10倍體積庚烷(白色漿料)。攪拌1小時。87%產率，90.81%純度。	具有相同形態之不透明聚集體及細粒。
1:1 THF:IPAc	20倍體積THF (在約65℃下之澄清溶液)。過濾。蒸餾至約7倍體積(具有超過	具有相同形態之不透明聚集體及細粒。

溶劑 (v/v)	條件 ^{a, b}	觀測結果
	液態線之固體之澄清溶液)。刮下固體。用約1重量% 化合物4a 接種。保持0.5小時(稀漿料)。緩慢冷卻至室溫。攪拌2天(白色漿料)。添加7倍體積之IPAc (白色漿料)攪拌1小時。76%產率，92.03%純度。	
1:1 THF:IPAc	10倍體積1% THF水溶液(在約54℃下之澄清溶液)。過濾。蒸餾至約5倍體積(具有超過液態線之固體之澄清溶液)。在約63℃下刮下固體。保持0.5小時(黏稠白色漿料)。添加5倍體積之IPAc。攪拌1小時。緩慢冷卻至室溫。攪拌1天(白色漿料)。78%產率。	緩慢過濾；具有相同形態之不透明聚集體及細粒。
2:3 THF:水	20倍體積(在65℃下之稀懸浮液)。過濾(油化)。冷卻至55℃且保持1小時(乳白色懸浮液)。冷卻至40℃且保持1小時。乳白色溶液(在靜置時形成2個層)。緩慢冷卻至室溫。攪拌1天(黏性凝膠及混濁溶液)。音波處理。攪拌5小時。	黏性，膠狀物質。
5% 1-PrOH水溶液	20倍體積5% 1-PrOH水溶液(在54℃下之澄清溶液)。過濾。蒸餾至約10倍體積。冷卻至85℃且接種(溶解)。冷卻至79℃且接種(溶解)。冷卻至71℃且用 化合物4a (稀懸浮液)接種。攪拌30分鐘。緩慢冷卻至室溫。攪拌1天(白色漿料)。50%產率，85.81%純度。	緩慢過濾。聚集體及細粒。
10倍體積1-PrOH	10倍體積1-PrOH (在90℃下之略微混濁溶液)。過濾。冷卻至85℃且接種(溶解)。冷卻至79℃且用 化合物4a (稀懸浮液)接種。攪拌30分鐘。冷卻至71℃且保持30分鐘。緩慢冷卻至室溫。攪拌1天(白色漿料)。53%產率。	緩慢過濾。具有相同形態之聚集體及細粒。
ACN水溶液	在75℃下接種之20倍體積之1% ACN水溶液。在加熱至約80℃之後，過濾混合物且冷卻至指定接種溫度。使用約1重量% 化合物4a 進行接種。使混合物緩慢冷卻至室溫且攪拌隔夜，隨後分離固體。約70%產率，88.08%純度。	具有相同形態之不透明聚集體及細粒。
ACN水溶液	在70℃下接種之20倍體積之1% ACN水溶液。在加熱至約80℃之後，過濾混合物且冷卻至指定接種溫度。使用約1重量% 化合物4a 進行接種。使混合物緩慢冷卻至室溫且攪拌隔夜，隨後分離固體。約69%產率。	具有相同形態之不透明聚集體及細粒。

溶劑 (v/v)	條件 ^{a, b}	觀測結果
ACN水溶液	在65℃下接種之20倍體積之1% ACN水溶液。在加熱至約80℃之後，過濾混合物且冷卻至指定接種溫度。使用約1重量% 化合物4a 進行接種。使混合物緩慢冷卻至室溫且攪拌隔夜，隨後分離固體。約67%產率。	具有相同形態之不透明聚集體及細粒。
ACN水溶液	加熱至75℃之20倍體積之1% ACN水溶液(未接種)。在加熱至約80℃之後，過濾混合物且冷卻至指定接種溫度。使混合物緩慢冷卻至室溫且攪拌隔夜。在約54℃下觀測到沈澱且由初始沈澱產生之漿料之移動性不高。約67%產率，88.96%純度。	具有相同形態之不透明聚集體及細粒。

^a在結晶之前，物質之純度為77.75%。

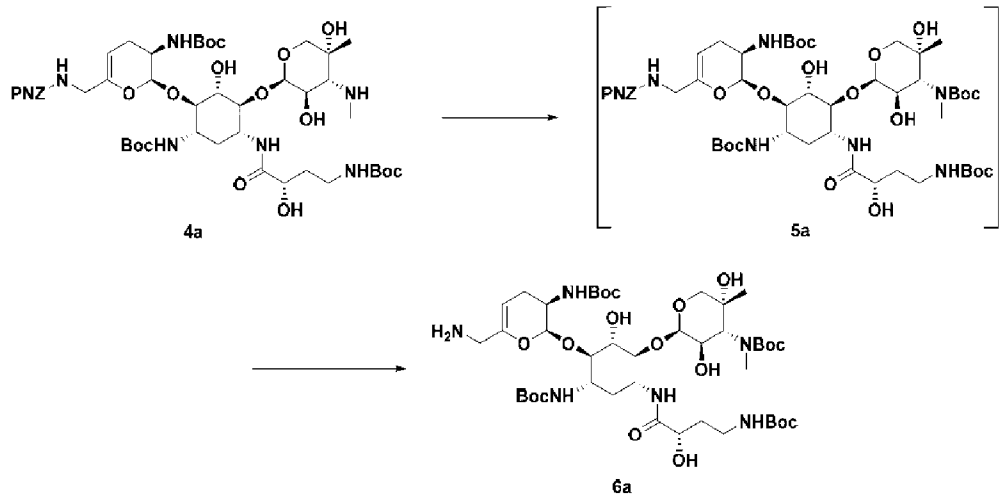
^b所有濃度、溫度、產率(以總質量計)及時間皆以近似值報導。

部分5：化合物4a之表徵資料

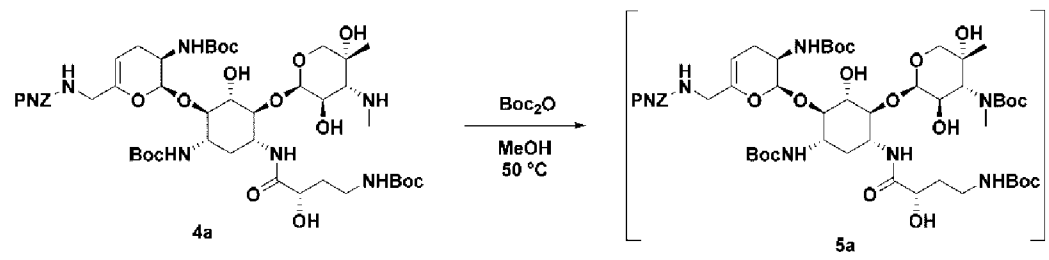
【0315】化合物4a之XRPD譜圖展示於圖1中。化合物4a之TGA與無水/非溶合物質一致，因為自25至189℃僅存在0.1重量%變化，表明低揮發物含量(圖2)。化合物4a之DSC概況展示於圖3中。

實例2-化合物6a之合成方案

【0316】下文詳細描述化合物6a之一般合成方案。



部分1：合成化合物5a



【0317】將化合物**4a** (1.0 kg±1%)及MeOH (7.92 kg±5%或10.00 L±5%)裝填至反應器中。將混合物加熱至50±5℃之溫度。向反應器中添加Boc₂O (0.255 kg±2%)於甲醇(0.20 kg±5%或0.25 L±5%)中之溶液，同時保持該溫度為50±5℃。沖洗用於裝填具有甲醇(0.20 kg±5%或0.25 L±5%)之Boc₂O溶液之裝填系統且將沖洗液添加至反應混合物中，同時保持溫度在50±5℃之間。批料保持在50±5℃下直至反應完成。藉由HPLC (關於所使用之HPLC方法，參見表6)，當區域中**化合物4a**之含量低於或等於約3.0%時，可認為反應完成。在約15分鐘至12小時之反應時間之後收集用於分析之第一樣品。在某些實施例中，在3小時反應時間之後收集用於分析之第一樣品且若需要，以約3小時間隔收集後續樣品。若需要完成反應，則向反應混合物中添加額外的含Boc₂O之甲醇溶液。根據下式計算添加量：裝填量=P1×(A2/[100-A2])±1%，其中：P1=在反應中先前裝填之Boc₂O之量(kg)且A2=最終樣品中未消耗之**化合物4a**之量(a/a%)。

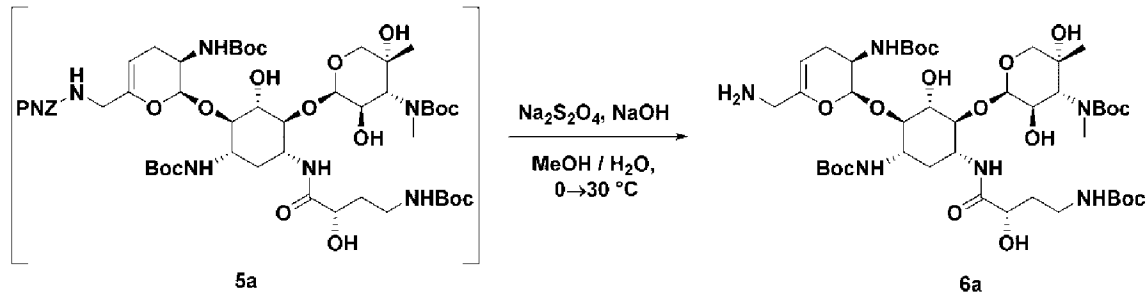
【0318】在反應完成之後，使批料穩定在20±5℃。批料可在此溫度範圍下保持至多約55小時(例如0至55小時)。

表6：用於實例2之部分1及2之HPLC方法

管柱	Waters X-Bridge C18，3.5 μm 150 mm×4.6 mm		
管柱溫度	40℃		
流動速率	1.2 mL/min		
偵測波長	210 nm		
移動相	含0.25 M NH ₄ OH之水 含0.25 M NH ₄ OH之乙腈		
梯度	時間(min)	%移動相A	%移動相B

	0.00	70	30
	28.0	35	65
	30.0	35	65
	30.1	70	30
	40.0	70	30
運行時間	40 min		
注射體積	20 µL		

部分2：合成化合物6a

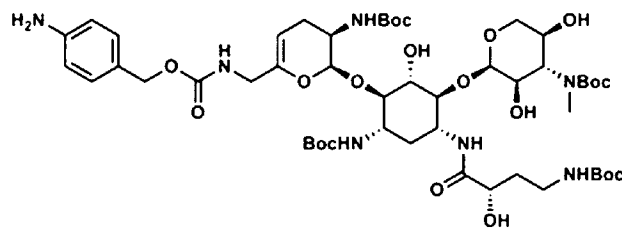


【0319】將去離子水(7.78 kg±5%或7.78 L±5%)裝填至反應器中且添加固體氫氧化鈉(0.39 kg±1%)，接著攪拌直至以肉眼發現溶解。在裝填氫氧化鈉之後及/或在裝填連二亞硫磺酸鈉之後，可裝填一部分去離子水且用於沖洗用於裝填此等材料之裝填裝置。使溫度穩定在約0-5℃。向鹼性水性溶液中添加連二亞硫磺酸鈉(1.196 kg±1%)，同時保持溶液溫度在約0℃與約5℃之間。在添加期間之較高溫度可產生較低產物純度。在約0-5℃下攪拌混合物約5分鐘至12小時。在某些實施例中，在約0-5℃下攪拌混合物不超過或等於約15分鐘。連二亞硫磺酸鹽溶液應在 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 裝填之約0至4小時內使用。在某些實施例中，連二亞硫磺酸鹽溶液應在 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 裝填之約90分鐘內使用。

【0320】經約1-8小時(例如1-4小時)將來自部分1之反應混合物添加至鹼性二硫亞磺酸鈉溶液中，同時保持混合物溫度為低於約-5℃至低於約15℃。在某些實施例中，經約1-4小時將來自部分1之反應混合物添加至鹼性二硫亞磺酸鈉溶液中，同時保持混合物溫度低於約10℃。添加過程為放

熱的且較快的添加過程可產生膠狀固體。用甲醇(0.40 kg±5%或0.50 L±5%)沖洗用於裝填反應混合物之裝填系統且將沖洗液添加至批料中。經約1至4小時之時段將批料加熱至約25°C與約30°C之間的溫度。在某些實施例中，經約2小時之時段將批料加熱至約25°C與約30°C之間的溫度。通常，最大夾套溫度為約25至35°C且保持夾套與批料溫度之間的 ΔT 不超過或等於約10°C (例如0至10°C)。在某些實施例中，最大夾套溫度為約30°C且保持夾套與批料溫度之間的 ΔT 不超過或等於約10°C。在約25-30°C之溫度下攪拌批料直至反應完成。較高反應溫度可產生較高雜質量。

【0321】當藉由HPLC (與表6中所詳細描述相同之方法)發現相對滯



留時間為0.43之峰含量：

低於或等於約

3.0% a/a時，認為反應完成。在某些實施例中，在加熱週期結束時採集第一樣品且以約3小時間隔採集後續樣品。

【0322】在反應完成之後，在約20至40°C之夾套溫度下，在真空中蒸餾混合物直至最終體積為13 L±5%。在某些實施例中，在反應完成之後，在不超過或等於約35°C之夾套溫度下，在真空中蒸餾混合物直至最終體積為13 L±5%。將IPAc (3.49 kg±5%或4.00 L±5%)裝填至批料中，同時保持溫度在約25-40°C之間。接著，將去離子水(7.0 kg±5%或7.0 L±5%)裝填至批料中，同時保持溫度在約25-40°C之間。在約30-40°C之溫度下攪拌混合物約15分鐘至12小時。在某些實施例中，在約30-40°C之溫度下攪拌混合物不小於或等於約20分鐘。鹽無需完全溶解，只要可發生相分離而不存在因為存在一些未溶解的鹽而引起之問題即可。

【0323】停止攪拌且使層分離約30分鐘至12小時。在某些實施例中，停止攪拌且使層分離不小於或等於約1小時。將水相(水相1)轉移至接收器中。將富含產物之有機相(有機相1)轉移至另一接收器中。將IPA_c (1.74 kg±5%或2.00 L±5%)裝填至水相1中，保持溫度在約25-40℃之間。在35±5℃之溫度下攪拌混合物約15分鐘至12小時。在某些實施例中，在約35±5℃之溫度下攪拌混合物不小於或等於約20分鐘。鹽可在低於約30℃下沈澱。停止攪拌且使層分離約30分鐘至12小時。在某些實施例中，停止攪拌且使層分離不小於或等於約1小時。將下部水相(水相2)傳送至廢料中。

【0324】在適合的接收器中合併有機相1及2。藉由在去離子水(6.00 kg±5%或6.00 L±5%)中溶解NaHCO₃ (0.42 kg±5%)來製備約6.5% w/w之碳酸氫鈉水溶液。使此溶液之溫度穩定在25±5℃。將約2至6 L 6.5% w/w NaHCO₃溶液裝填至經合併之有機相中。在某些實施例中，將約3 L 6.5% w/w NaHCO₃溶液裝填至經合併之有機相中。在25±5℃之溫度下攪拌溶液約15分鐘至12小時。在某些實施例中，在約25±5℃之溫度下攪拌溶液不小於或等於約20分鐘。接著，停止攪拌且使層分離約0至48小時。在某些實施例中，停止攪拌且使層分離不小於或等於約1小時。將下部水相傳送至廢料中。有機相(有機相3)可在不超過或等於約25℃ (例如0至25℃)下保持約0至48小時。在某些實施例中，將下部水相傳送至廢料中。有機相(有機相3)可在不超過或等於約25℃下保持至多約24小時。

【0325】將約2至6 L 6.5% w/w NaHCO₃溶液裝填至有機相3中。在某些實施例中，將約3 L 6.5% w/w NaHCO₃溶液裝填至有機相3中。在25±5℃之溫度下攪拌混合物約30分鐘至12小時。在某些實施例中，在約25±5℃之溫度下攪拌混合物不小於或等於約20分鐘。接著，停止攪拌且使層分離

不小於或等於約1小時。將下部水相排放至廢料中。有機相(有機相4)可在不超過或等於約20至25°C下保持至多約24小時。在某些實施例中，有機相(有機相4)可在不超過或等於約25°C下保持至多約24小時。

【0326】在真空中，在不超過或等於約50°C (例如20至50°C之夾套溫度下蒸餾有機相4直至最終體積為3 L $\pm$ 5%。將IPAc (2.62 kg $\pm$ 5%或3.00 L $\pm$ 5%)裝填至批料中。在真空中，在不超過或等於約50°C (例如20至50°C)之夾套溫度下蒸餾混合物直至最終體積為3 L $\pm$ 5%。將IPAc (2.62 kg $\pm$ 5%或3.00 L $\pm$ 5%)裝填至批料中。接著，在真空中，在不超過或等於約50°C (例如20至50°C)之夾套溫度下蒸餾混合物直至最終體積為4.5 L $\pm$ 5%。接著，將去離子水(0.135 kg $\pm$ 5%或0.135 L $\pm$ 5%)裝填至批料中，同時保持溫度在約35-40°C之間。將批料之溫度調節至介於約15與約30°C之間。將DCM (5.98 kg $\pm$ 5%或4.50 L $\pm$ 5%)裝填至批料中，同時保持溫度為約15-30°C。在一些情況下，即使所獲得之**化合物6a**完全溶解，混合物仍為不透明的。

【0327】將**化合物6a**晶種(0.02 kg $\pm$ 2%)裝填至批料溶液中，同時保持溫度為約20-25°C。觀測到結晶，然而，結晶速率可能較慢。在約20-25°C之間的溫度下攪拌混合物約1-2小時且出現漿料。若未觀測到漿料，則使混合物冷卻至約15-20°C之間的溫度且向批料溶液中添加額外的**化合物6a**晶種(0.02 kg $\pm$ 2%)，同時保持溫度為約15-20°C歷時約1至約2小時。接著出現漿料。在接種期間及在接種之後的較低溫度可產生較低純度，但產生較高產率。

【0328】使批料冷卻至約15-25°C且在此溫度範圍下攪拌約18-24小時。經約1至12小時使批料冷卻至約5°C與約-5°C之間的溫度且在攪拌下，在此溫度範圍下保持約6至12小時。在某些實施例中，經約2小時使批料冷

卻至約5°C與約-5°C之間的溫度且在攪拌下，在此溫度範圍下保持約6至12小時。此老化時間對產率而言為重要的。將批料排放至適合的過濾器中且去液體化。濕濾餅用約5°C至-5°C之DCM溶液(1.33 kg±5%或1.00 L±5%)洗滌且接著去液體化。在不超過或等於約45°C (例如0至45°C)下，在真空中乾燥產物。當乾燥失重不超過或等於約1% w/w時，乾燥完成。可在真空中藉由氮氣吹掃來乾燥產物。可在乾燥操作之後篩分產物。自**化合物4a**經由兩個步驟轉化成**化合物6a**之產率為約85%。收縮一些變數，諸如蒸餾之最終體積、DCM量、水含量、接種及老化溫度以及在接種之後的老化時間，可提供具有典型純度結果之典型結晶。水可能對產率具有影響，但似乎與產物品質無關。

*部分3：用於**化合物6a**之結晶條件之最佳化*

【0329】 **化合物6a**於具有約1%水之二氯甲烷/乙酸異丙酯(50/50 v/v)、具有約2%水之乙酸異丙酯/二氯甲烷(71/29 v/v)及具有約8%水之乙酸異丙酯/二氯甲烷(71/29 v/v)中之可溶性呈現對溫度之強依賴性。在高溫下，可在具有約1%水之二氯甲烷/乙酸異丙酯(50/50 v/v)中觀測到有限可溶性，且可在具有約2%水之乙酸異丙酯/二氯甲烷(71/29 v/v)及具有8%水之乙酸異丙酯/二氯甲烷(71/29 v/v)中觀測到中等可溶性。在反應器達到約6-8°C之最低溫度之後出現所有雲點，可能指示在所有條件下之大型介穩態區域寬度。在於具有約1%水之二氯甲烷/乙酸異丙酯(50/50 v/v)中之約7.9 mg/mL之情況下，雲點直至在約6-8°C下約3及8小時時才出現。此等結果可指示在不使用接種之情況下，可預期在主要成核事件(自發性成核)之時序方面之不一致性。此外，成核在高過飽和位準下持續進行，有時引起不良結晶度，諸如溶劑夾雜物之晶體缺陷及/或形成小型粒子。

【0330】藉由真空過濾來分離來自可溶性及介穩態區域寬度測定實驗之各溶劑系統之所選擇之樣品。當自具有約1%水之二氯甲烷/乙酸異丙酯(50/50 v/v)分離固體時，未發現過濾問題。然而，由自具有約2%及約8%水之乙酸異丙酯/二氯甲烷(71/29 v/v)分離之固體觀測到黏性固體及一些潮解。自具有約1%水之二氯甲烷/乙酸異丙酯(50/50 v/v)分離之物質為結晶。自具有約2%水之乙酸異丙酯/二氯甲烷(71/29 v/v)分離之物質為無序的，且自約8%水之乙酸異丙酯/二氯甲烷(71/29 v/v)分離之物質可含有少量x射線非晶形物質。

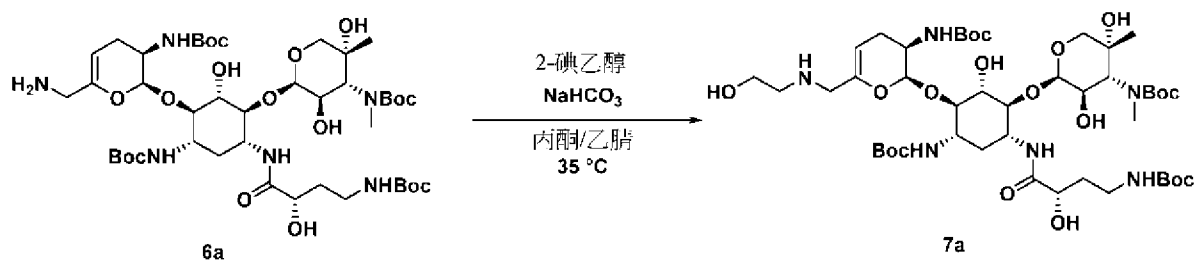
部分4：化合物6a之表徵資料

【0331】化合物6a之XRPD譜圖展示於圖4中且峰位置與表1中所列實質上一致。化合物6a之TGA指示在24.1-78.6℃之間的4.5重量%損失(圖5)。化合物6a之DSC中的主要放熱事件在231.8℃之左極限溫度及-52.9 kJ/kg之能量下發生(圖6)。

實例3：化合物7a之合成方案

【0332】下文詳細描述化合物7a之一般合成方案。

部分1：合成化合物7a



【0333】將化合物6a (1.0 kg±1%)及乙腈(3.94 kg±5%<>5.00 L±5%)裝填至反應器中。在攪拌下，使溫度穩定在約15℃至約30℃之間。溶液可為不透明的。在真空中，在約45℃ (例如20至45℃)之最高溫度下蒸餾混合物直至最終體積為2L±5%。

【0334】採集樣品以用於藉由Karl Fischer測定水含量。若水含量低於或等於約0.30% w/w，則反應進行至下一步驟。否則，將乙腈(2.36 kg±5%<>3.00 L±5%)裝填至反應器中且重複蒸餾直至藉由Karl Fischer測定在蒸餾之後，溶液中之水含量低於或等於約0.30% w/w。

【0335】使反應混合物冷卻至約30℃與約15℃之間的溫度且將丙酮(3.94 kg±5%<>5.00 L±5%)裝填至反應器中。應注意，可在碳酸氫鈉及/或2-碘乙醇進料之後裝填一部分丙酮且用於沖洗用於此等進料之裝填系統。

【0336】將反應混合物加熱至約33℃與約37℃之間的溫度，其中目標為約35℃。向反應器中裝填碳酸氫鈉(0.177 kg±2%)，同時保持反應混合物之溫度在約33℃與約37℃之間，其中目標為約35℃。向反應混合物中裝填2-碘乙醇(0.226 kg±2%<>0.102 L±2%)，同時保持反應混合物之溫度在約33℃與約37℃之間，其中目標為約35℃。在約33℃與約37℃之間的溫度(其中目標為約35℃)下攪拌反應混合物，直至藉由HPLC發現區域中化合物**6a**相對於化合物**7a**之含量低於或等於約2.5%。若需要完成反應，則向反應混合物中添加額外的2-碘乙醇。使用下式計算額外的2-碘乙醇之量(kg)： $[P2 \times D / (100 - D)] \pm 2\%$ ，其中：P2為反應中初始裝填之2-碘乙醇之量(kg)且D為最終過程內對照樣品中藉由HPLC測定之未消耗之化合物**6a**之含量(面積%)。藉由HPLC-UV測定面積百分比：Zorbax SB-CN，3.5 μm，150×4.6 mm，A：25 mM K₂HPO₄；B：乙腈。梯度：25分鐘內5-80% B，保持5分鐘；再平衡5分鐘，流動速率：1.0 mL/min，UV：210 nm，管柱溫度：30℃。

【0337】在完成之後，使反應混合物冷卻至約25℃與約20℃之間的溫度。將1,4-二氮雜雙環[2.2.2]辛烷(DABCO，0.24 kg±2%)裝填至反應混合

物中，同時保持溫度在約20°C與約25°C之間且在此溫度範圍下攪拌直至藉由GC發現2-碘乙醇之含量低於該方法之乾燥失重(<0.003% w/w)。GC方法使用具有0.32 mm內徑之50 cm DB-1管柱。初始烘箱溫度為約70°C，保持約1分鐘，接著以約10°C/分鐘勻變至約250°C。向混合物中添加去離子水(5.00 kg±5%<>5.00 L±5%)，保持溫度在約15°C與約30°C之間。此添加過程為放熱的。添加乙酸異丙酯(4.36 kg±5%<>5.00 L±5%)，同時保持溫度在約15°C與約30°C之間，且在約15°C與約30°C之間的溫度下攪拌混合物約5分鐘至12小時。在某些實施例中，添加乙酸異丙酯(4.36 kg±5%<>5.00 L±5%)，同時保持溫度在約15°C與約30°C之間，且在約15°C與約30°C之間的溫度下攪拌混合物不小於或等於約20分鐘。接著，停止攪拌且使層分離約30分鐘至12小時。在某些實施例中，接著停止攪拌且使層分離至少或等於約30分鐘。排放水相1 (下部相)且將有機相1排放至接收器中。產物呈有機相形式。

【0338】向水相1中添加乙酸異丙酯(2.62 kg±5%<>3.00 L±5%)且在約15°C與約30°C之間的溫度下攪拌混合物約15分鐘至12小時。在某些實施例中，向水相1中添加乙酸異丙酯(2.62 kg±5%<>3.00 L±5%)且在約15°C與約30°C之間的溫度下攪拌混合物不小於或等於約20分鐘。停止攪拌且使層分離至少或等於約30分鐘(例如30分鐘至12小時)。排放水相2 (下部相)以廢棄。將有機相2排放至接收器中。產物呈有機相形式且合併有機相1及2。

【0339】藉由在去離子水(5.80 kg±5%<>5.80 L±5%)中溶解氯化鈉(工業級)(2.00 kg±1%)來製備氯化鈉水溶液。向經合併之有機相中裝填約2至6 L氯化鈉水溶液且在約15°C與約30°C之間的溫度下攪拌混合物約15分鐘至12小時。在某些實施例中，向經合併之有機相中裝填約3 L氯化鈉水溶

液且在約15°C與約30°C之間的溫度下攪拌混合物不小於或等於約20分鐘。停止攪拌且使層分離約15分鐘至12小時。在某些實施例中，停止攪拌且使層分離至少或等於約30分鐘。排放水相3 (下部相)以廢棄。將含有產物之有機相3排放至接收器中。

【0340】向經合併之有機相中裝填約2至6 L氯化鈉水溶液且在約15°C與約30°C之間的溫度下攪拌混合物約15分鐘至12小時。在某些實施例中，向經合併之有機相中裝填約3 L氯化鈉水溶液且在約15°C與約30°C之間的溫度下攪拌混合物不小於或等於約20分鐘。停止攪拌且使層分離至少或等於約30分鐘(例如30分鐘至12小時)。排放水相4 (下部相)以廢棄。將含有產物之有機相4排放至接收器中。

【0341】在真空中，在約20-50°C (例如50°C)之最大夾套溫度下蒸餾有機相直至最終體積為2 L $\pm$ 5%。向混合物中裝填乙腈(8.03 kg $\pm$ 5% $\leftrightarrow$ 10.20 L $\pm$ 5%)且在真空中，在約20-50°C (例如50°C)之最大夾套溫度下蒸餾混合物直至最終體積為7.2 L $\pm$ 5%。向溶液中裝填乙酸異丙酯(0.70 kg $\pm$ 5% $\leftrightarrow$ 0.80 L $\pm$ 5%)及去離子水(0.095 kg $\pm$ 2% $\leftrightarrow$ 0.095 L $\pm$ 2%)且將溶液加熱至約70°C與約80°C之間的溫度以確保**化合物7a**完全溶解。

【0342】使**化合物7a**溶液冷卻至約65°C與約60°C之間的溫度。若在添加晶種之前發生結晶，則可將混合物再次加熱至約70°C與約80°C之間的溫度直至完全溶解。在添加晶種之前，使混合物冷卻至約65°C與約60°C之間的溫度。將**化合物7a**晶種(0.02 kg $\pm$ 5% kg)裝填至**化合物7a**溶液中，同時保持溫度在約60°C與約65°C之間。用乙腈(0.04 kg $\pm$ 5% $\leftrightarrow$ 0.05 L $\pm$ 5%)沖洗用於裝填**化合物7a**晶種之裝填系統且將沖洗液添加至反應混合物中。在約60°C與約65°C之間的溫度下攪拌混合物約4至約6小時。形成極黏稠的懸浮

液。

【0343】經約12小時使混合物冷卻至約5°C與約0°C之間的溫度且在此溫度範圍下攪拌約1至約2小時。目標冷卻速率為約5-10°C/小時。過濾產物且用乙腈(2.83 kg±5%<>3.60 L±5%)洗滌，隨後冷卻至約0°C與約5°C之間的溫度。接著，在真空中，在低於或等於約45°C（例如0至45°C）之溫度下乾燥產物直至乾燥失重小於或等於約1% w/w。藉由氮氣吹掃來乾燥產物。可在乾燥期間或在乾燥之後篩分產物。**化合物7a**之產率為約90%。

部分2：用鹵基乙醇進行之6'胺烷基化之最佳化

【0344】在選擇ACN之共沸蒸餾之前測試6'胺基烷基化之若干條件，接著添加丙酮、2-碘乙醇及碳酸氫鈉，且使用DABCO淬滅反應。

【0345】最初研究兩種方法以藉由鹵基乙醇來烷基化6'胺。在第一種方法中，使用鄰硝基苯磺醯氯(硝基苯磺醯基-Cl)活化6'胺，得到相應6'硝基苯磺酸胺基酯。隨後在具有或不具有TBDMS羥基保護情況下，使用2-碘乙醇或2-溴乙醇進行之硝基苯磺酸酯之烷基化並非最佳的，且藉由溶劑(例如THF、ACN或DMF)、鹼(例如DIPEA或K₂CO₃)及溫度(例如環境至約80°C)之變化產生之改良極小。第二種方法，在環境溫度下，在NaI及Na₂CO₃存在下使用2-溴乙醇引導6'胺烷基化可能提供更完全的轉化及更清潔的粗產物。選擇2-溴乙醇、碘化鈉及碳酸鈉條件以用於進一步評估及研發。

【0346】發現約2與約3莫耳當量之間的2-溴乙醇可改良反應條件，其中在約2當量下形成略微更少的二烷基化副產物。轉化率範圍為約51-68%，其中需要約1-2當量NaI以實現>65%轉化率。然而，發現溴乙醇及碘化鈉為反應混合物中之水之可能的主要貢獻者。反應混合物中之水對於結果並非最佳且可能與較高含量之二烷基化副產物相關。**化合物6a**亦可

能向批料中供應大量水，但此可使用乙腈藉由共沸蒸餾來移除。其他共沸溶劑可能不太有效，諸如乙醇，或較晚地影響產物沈澱(異丙醇)。發現丙酮為用於烷基化反應之可能的較佳溶劑。基於LC/MS證據假設潛在丙酮亞胺物質之中間性，儘管不受理論限制，該等物質可避免過度烷基化。儘管不受理論限制，但可能的是，批料中之水抑制此假設之亞胺形成或使此假設之亞胺去穩定，其使得形成二烷基化副產物。儘管不受理論限制，碳酸鈉作為乾燥劑之作用可為顯著的，因為其與碳酸鋰、碳酸鉀、碳酸銣、碳酸氫鈉、硫酸鈉、磷酸鈉及DIPEA相比產生更高的產率。與約-10℃、約0℃及約23℃相比，約35℃之反應溫度在最小的二烷基化副產物相對量下提供最大的相對轉化程度。越高的反應溫度(例如約50℃)可引起形成越高的二烷基化副產物。

【0347】然而，因為溴乙醇及碘化鈉潛在地為反應混合物中之水之主要貢獻者，引起副產物形成，且用於現場產生2-碘乙醇，因此亦測試2-碘乙醇。與2-碘乙醇相比，溴乙醇亦產生顯著更慢的反應。使用含約1.2莫耳當量之2-碘乙醇之丙酮足以在約35℃下，在約24小時內得到約86%之化合物**7a**產率，僅具有約2%之化合物**6a**及約2.6%之二烷基化雜質。使用約1.1莫耳當量之2-碘乙醇得到約83%之化合物**7a**產率，具有約6.9%化合物**6a**及約1.5%二烷基化雜質，且使用約1.5莫耳當量之2-碘乙醇得到約87%之化合物**7a**產率，具有約1.9%化合物**6a**及約2.3%二烷基化雜質。更長的反應時間(約41或約48小時)可引起化合物**7a**減少，同時不進一步消耗化合物**6a**。測試NaHCO₃作為用於反應之鹼且可優於Na₂CO₃、Na₂SO₄、三甲胺、原甲酸三甲酯及六甲基二矽氮烷。與NaHCO₃及Na₂SO₄相比，Na₂CO₃在反應結束時引起相對較高的最終pH值及較高的二烷基化副產物量，且Na₂SO₄引起經

分離之產物中出現新雜質。DABCO及其他所測試之清除劑(諸如二甲基胺、三甲胺、二乙醇胺、水性氫氧化鈉、DBU、半胱胺酸及MeOH)可為用於過量2-碘乙醇之較佳淬滅劑，展示過程內與經分離之產物含量之間的約63至1030%之二烷基化副產物增加，表明可能並未破壞殘餘2-碘乙醇。

【0348】發現對於使用丙酮、2-碘乙醇及碳酸氫鈉進行之胺烷基化反應，接著用DABCO淬滅反應而言，**化合物6a**於約5倍體積之ACN中之共沸乾燥起良好作用。約5倍體積之丙酮、NaHCO₃及約1.2莫耳當量之2-碘乙醇以及約20至40℃反應溫度之組合條件在少量二烷基化副產物下實現<2%**化合物6a**。在某些實施例中，約5倍體積之丙酮、NaHCO₃及約1.2莫耳當量之2-碘乙醇以及約35℃反應溫度之組合條件在少量二烷基化副產物下實現<2%**化合物6a**。此外，發現使用藉由鹽水進行之簡化處理且不進行酸及鹼萃取來製備之**化合物7a**之品質可優於使用酸及鹼萃取之更繁瑣的處理。又，用鹽水洗滌液置換水洗滌液與莫耳產率增加約15個百分點且不損害產物品質相關。

部分3：用於**化合物7a**之結晶條件之最佳化

【0349】在選擇藉由接種使粗**化合物7a**自摻雜有約0.75-2% w/w水之約8倍體積之10% v/v IPAc/ACN結晶之前測試若干結晶程序(參見表7-11)。此外，在接種溫度下之長保持時間(在約60℃與約65℃之間>2小時)及緩慢冷卻勻變(以約5-10℃/小時自約60℃降至約0℃)可為最佳的，以得到移動漿料。此程序實質上清除未反應之**化合物6a**，一種五-Boc雜質(總共約63%清除率)，及二烷基化副產物(約36%清除率)，且可得到易於過濾及可洗滌之固體產物。來自IPAc/ACN之結晶**化合物7a**之去液體化特性可改良母液中雜質之移除，因為所得產物呈針狀或棒狀晶體形式。相比之下，

用IPAc及正庚烷進行之實驗產生非晶形物質，其緩慢過濾及去液體化，在產物中留下雜質。

表7：化合物7a之早期結晶嘗試(不接種)

規模(g)	溶劑系統	體積	溫度(°C)	起始時間/總時間	回收百分比	化合物7a純度百分比 ^a (化合物6a)
1	ACN	2 ^a	RT	0.4 h/1 h	83	91 (88)
1	ACN	5 ^a	RT	0.5 h/2 h	80	93 (88)
0.5	ACN	10 ^a	RT	1 h/18 h	77	94 (88)
5	ACN	10 ^a	RT	1.5 h/22 h	76	92.5 (87)
1	ACN	10 ^a	RT	0.5 h/17 h	87	98 (92)
1	ACN	10 ^a	RT	1 h/18 h	64	91 (76)
1	ACN	20	RT	2 h/17 h	68	95 (87)

(a) 黏稠、不可攪拌之漿料。添加其他溶劑(通常5倍體積)以實現過濾。

表8：使用不同溶劑/反溶劑組合進行之結晶

質量(g)	溶劑	體積(mL)	溫度(°C)	起始時間/總時間	是否接種是/否	回收率(%)	化合物7a純度百分比(化合物6a)
1	ACN	20	RT	2 h/4 h/15 h	是 ^c	68	96 (87)
1	5:95 IPA/H ₂ O ^a	20	60	48h	漿料	78	91 (87)
1	10:1 ACN/IPAC	11	RT	2/72	是	64	---- (87)
1	1:1 ACN/庚烷 ^b	20 ^a	60 to RT	18 h	否	67	95 (87)
58	ACN	20	RT	6.5/72	是/否 ^d	67	96+ (85)
1	3:1 ACN/H ₂ O	10	RT	-----	是	無固體	----
1	1:1 ACN/DIPE	10 ^a	RT	>2 h/72 h	是	71%	95 (87)
1	1:1 ACN/MTBE	10	RT	18 h	否	54%	96 (87)
1	10:4 ACN/IPAc	14	RT	1.5 h/24 h	否	69	96 (87)
1	3:1 ACN/MTBE ^c	12	RT	2 h/24 h	否	62	---- (87)

(a) 漿料。(b) 乙腈及庚烷在室溫下為不可混溶的。(c) 黏稠、不可攪拌的漿料。添加其他溶劑(通常5倍體積)以實現過濾。(d) 添加固體化合物7a，但不充當晶種。(e) 歷時4小時實現結晶以形成晶體，接著加熱至幾乎

回流以溶解固體。使溶液冷卻至室溫且攪拌15小時，隨後收集固體。當結晶過程緩慢冷卻時，所得產物具有細針狀形態。

表9：使用各種ACN/IPAc溶劑系統進行之大規模接種結晶

規模 (g)	溶劑系統	體積	溫度 (°C)	起始 時間/ 總時 間	是否接種 是/否 負載百分 比	回收率 (%)	化合物7a純度百分比 (化合物6a)
53	3:1 ACN/IPAc	11	RT	4 h/72 h	是	65	>96 (85)
1	3:1 ACN/IPAc	20	40	1 h/24 h	是	61	>96 (86)
10.75	3:1 ACN/IPAc	7.5 (5)	55	2 h/24 h	是	75+	>94 (85)
100	3:1 ACN/IPAc	8 (10)	55	3 h	是	47	95.8 (84)
2	ACN	25	65 to RT	24 h	形成晶種	----	----
52	3:1 ACN/IPAc	10	40-0	1/26	4%	71.5	95 (84)
52	100% ACN	10	40-0	1.5/26	4%	75	95.8 (85)
1	DCM	10	RT-0	24/72	否	50	93 (87)
----	ACN	----	65-RT	3 d	否	na	90
2	ACN	10-25	65-RT	3 h/96	形成晶種	----	----
52.7	9:1 ACN/IPAc	10	40-0	2/26	4%	73.2	95.9 (84.6)
1	ACN	25	RT	3 d	形成晶種	----	----
13.2	ACN	10	40-0	2/24	約4%	76.8	95.5 (84.6)
1.25	ACN	10-25	65-30	3/24	形成晶種	----	----
1.25	ACN	25	RT	漿料	形成晶種	----	----

(a) 於1 L反應器中之固體物質。

表10：在調節至0.5至1%之水含量下之接種結晶

規模 (g)	ACN/ IPAc 體 積 v/v	體 積	溫度 °C	起始時 間/總 時間	晶種負載 (%)	回收率 (%)	化合物7a純度百分比 (化合物6a)
8.2	9:1 ^a	8	55-0	0.5/26	2%	94.3	97.5 (94.8)
63	9:1 ^a	8	55-0	0.5/26	1.6%	81.1	93.1 (84.3)
51	9:1 ^a	9	55-0	0.5/26	2% ^d	82.3	93.9 (85.1)
5	9:1 ^b	8	50-0	0.5	未接種	79	94 (87.2)
48	9:1 ^a	9	70-0 ^d	0.25	1% ^e	94.3	97.1 (95.4)
57	9:1 ^a	9	65-0	0.5	2% ^e	82.5	93.2 (83.6)
56	9:1 ^a	9	65-0	1	2% ^f	81.8	93.4 (83.7)

規模 (g)	ACN/ IPAc 體 積 v/v	體 積	溫度 ℃	起始時 間/總 時間	晶種負載 (%)	回收率 (%)	化合物7a純度百分比 (化合物6a)
52	9:1 ^c	9	65-0	1/26	5%	85.8	95.1 (88.6)

(a) 調節至0.5%之水含量。(b) 調節至1%之水含量。(c) 調節至2.7%之水含量。(d) 三種溫度循環65-40、70-40、70-0；所形成之晶體為「棒狀」。(e) 使用乾燥晶種。(f) 用化合物7a「棒」而非針進行接種。

表11：用ACN-IPAc結晶進行之化合物6a轉化成化合物7a之過程

規模 (g)	比率， v/v	體積	溫度 ℃	起始時間/ 總時間	是否接種 是/否	回收率 (%)	化合物7a純度百 分比(化合物6a)
5	約2:1	約15	RT	1.5 h/16 h	否	64	92.3 (83)
6	10:4	14	RT	約4 h/44 h	否	49	94 (82)
4	9:1	8	40-0	6 h/98 h	是	多種	94 (81)
6.6	9:1 ^a	8	40-0	2.5 h/20 h	2×2%	48.5	94.8 (72)
8.2	9:1 ^a	8	40-RT	0.5 h/22 h	3%	63	93.6 (67)
12	9:1 ^b	約9	50-0	0.25 h/24 h	2%	75	95.2 (81)
30	9:1 ^b	約9	55-0	0.5 h/26 h	2%	65	94.0 (81)
36	9:1 ^b	9	55-0	0.5 h/26 h	2%	71	94.2 (81.5)
10	9:1 ^c	9	60-5	1 h/26 h	2%	58	95.7 (88.0)
41.6	9:1 ^c	約9	約62-2	< 0.5/20 h	2%	82	94.5 (97.5)
30.0	9:1	約9	約62-2	< 0.5/20 h	2%	78	96.0 (98.3)
44.2	9:1 ^d	約9	約62-2	< 0.5/22 h	2%	85	95.4 (98.4)

(a) 調節至約0.3%之水含量。(b) 調節至約0.5%之水含量。(c) 可能歸因於水含量之不當調節之低回收率。(d) 調節至3.5%之水含量。此項目使用鹽水洗滌程序代替酸/鹼處理以針對產物損失及試劑移除進行篩選。表中之其他項目僅使用水洗滌程序代替酸/鹼處理。

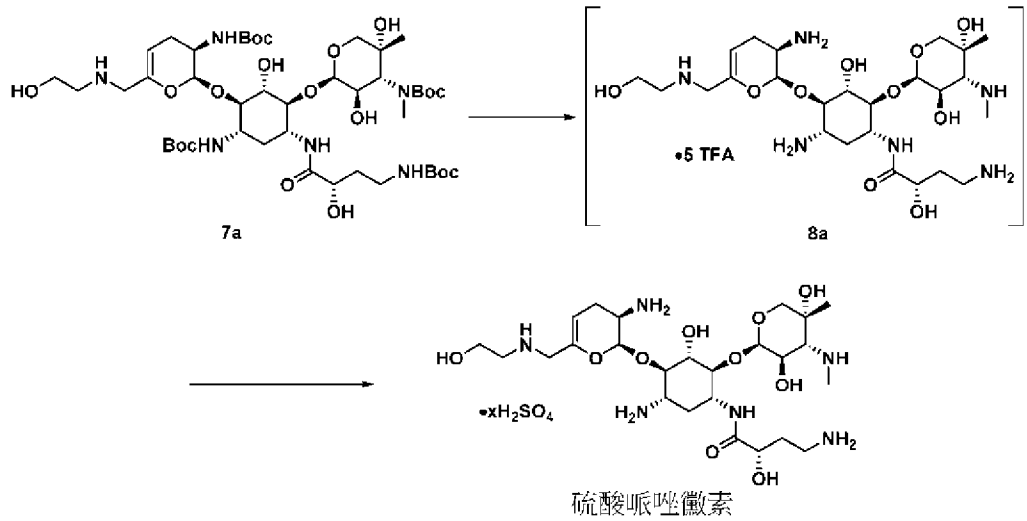
【0350】水含量在控制結晶之穩固性中可為重要的。在約0-2%添加水下存在不同的介穩態區域測定。在約0%添加水(約0.2-0.3%水含量)下之「無水」操作產生寬介穩態區域，澄清點在約55-60℃出現，且濁點在低於環境溫度(約8-15℃)下出現。在添加約0.5-2%水情況下，介穩態區域顯著收縮且澄清點在較高溫度出現。觀測結果表明混合物中之某一水含量(初始為約0.5-1%)可使結晶之可再現性及穩固性更高。在化合物6a轉化成化合物7a

處理期間，在共沸乾燥溶劑自IPA換成ACN之後的卡爾-費歇爾水測定 (Karl-Fischer water determination) 展示溶液幾乎無水(約200 ppm水)，使得在共沸乾燥之後進行的結晶係在極寬的介穩態區域下以無水模式操作。此可引起極慢的去飽和及自發性成核機率增加。在添加約0.5-2%水情況下之結晶之可再現性可更高，且具有恆定回收率(通常大於約80%)及純度升級。

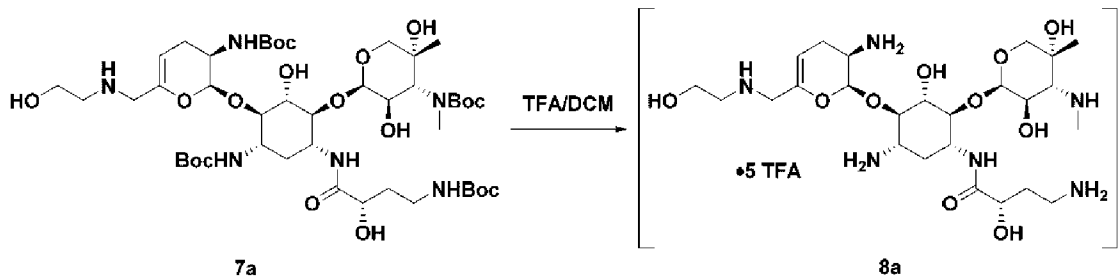
部分4：化合物7a之表徵資料

【0351】化合物7a之XRPD譜圖展示於圖7中且峰位置與表2中所列實質上一致。化合物7a之TGA概況展示於圖8中。化合物7a之DSC概況展示於圖9中。

實例4：合成硫酸普拉唑黴素



部分1：合成化合物8a

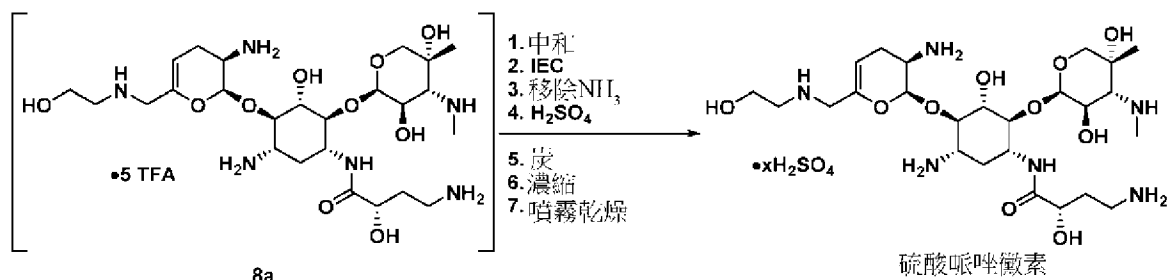


【0352】將化合物7a (1.0 kg±1%，1.00 mol)裝填至反應器中。裝填

二氯甲烷(5.0 L $\pm$ 5%)且使混合物冷卻至約0-5°C。將三氟乙酸(TFA, 3.0 L $\pm$ 5%, 39.5 mol)以保持溫度在約0-5°C之間的速率裝填至混合物中。接著, 將混合物加熱至約20-25°C且攪拌約1-2小時。接著, 在保持反應器夾套溫度為約20至40°C之情況下, 在真空中蒸餾混合物直至最終體積為3 L $\pm$ 5%。在某些實施例中, 接著在保持反應器夾套溫度為約30°C之情況下, 在真空中蒸餾混合物直至最終體積為3 L $\pm$ 5%。接著, 使混合物冷卻至約20-25°C且接著攪拌約1-4小時, 隨後冷卻至約0-10°C。接著, 在保持溫度在約0-10°C之間的情況下, 將所得溶液裝填至裝有水(約2.5 L, 預先冷卻至約0-5°C)之反應器中。

【0353】向反應器中裝填乙酸異丙酯(IPAc, 3.0 L $\pm$ 5%)且攪拌混合物約20-30分鐘, 隨後停止攪拌且使層分離。排出下部水層(水相1)且藉由裝填水(約0.5 L $\pm$ 5%)來萃取有機相兩次, 且攪拌混合物約15分鐘至12小時, 隨後停止攪拌且使層分離。在某些實施例中, 排出下部水層(水相1)且藉由裝填水(約0.5 L $\pm$ 5%)來萃取有機相兩次, 且攪拌混合物約30分鐘, 隨後停止攪拌且使層分離。收集各下部水層(水相2及3)且與水相1合併。接著, 藉由裝填 IPAc (3.0L $\pm$ 5%)來用IPAc洗滌經合併之水相三次以移除TFA且攪拌約20-30分鐘, 隨後停止攪拌且使層分離。排出下部水相層, 且量測pH值以確保pH值>2.0。若pH值 $\leq$ 2.0, 則重複IPAc洗滌直至pH值大於約2.0。

部分2：合成**硫酸普拉唑黴素**



【0354】接著, 來自部分1之水相用水稀釋至最終體積為9.0 L $\pm$ 5%且

用氨水溶液(藉由在水(96 kg±5%)中稀釋約25%氨(4 kg±5%)來製備)處理，直至pH值在約5.8與約6.2之間。量測傳導性以確保傳導性小於或等於約20 mS/cm (例如0至20 mS/cm)。若傳導性超過20 mS/cm，則再添加水以使傳導性小於或等於約20 mS/cm (例如0至20 mS/cm)。

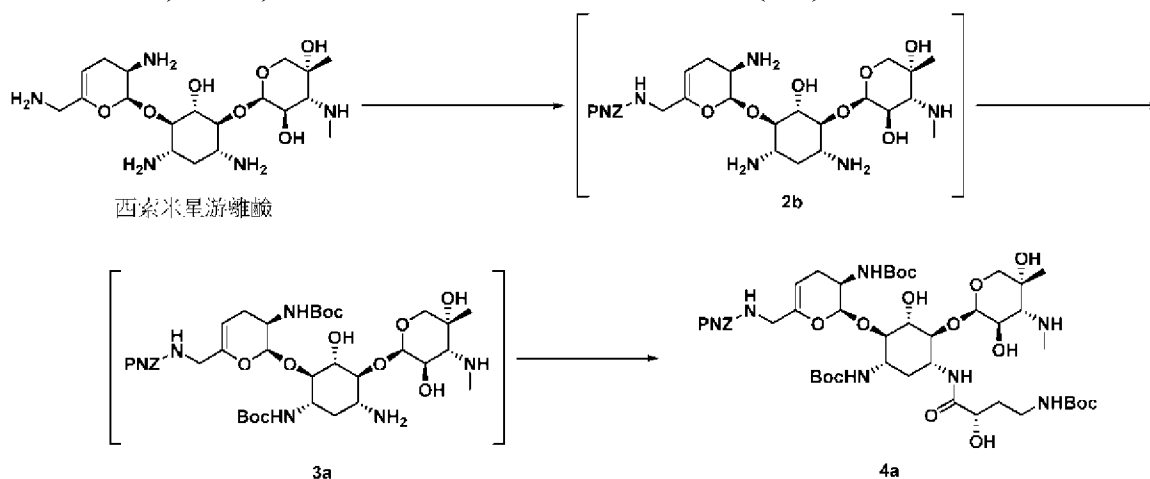
【0355】藉由將溶液裝填至離子交換柱中來藉由離子交換層析純化粗化合物**8a三氟乙酸鹽**溶液，該離子交換柱含有預先轉化成氨形式之Amberlite CG-50 (1型)樹脂(2.17 kg)。管柱用水(1倍管柱體積±5%)溶離以溶離三氟乙酸銨，且接著用氨水溶液(藉由在水(96.0 kg±5%)中稀釋約25%氨(2.0 kg±5%)來製備)溶離。藉由UV吸收來監測層析。收集溶離份且藉由UPLC分析，合併具有大於約95% (以面積計)化合物**8a游離鹼**(不含三氟乙酸鹽之化合物)之溶離份。

【0356】使經合併之層析溶離份通過過濾器(孔隙度≤5微米)且用水(1 L±5%)沖洗過濾器。藉由經由Dow Filmtec XLE薄膜進行奈米過濾來將所得溶液濃縮至最終體積為16L±5%，保持溫度在約0-10℃之間。接著，藉由經由Dow Filmtec XLE薄膜透濾來移除氨。

【0357】使化合物**8a游離鹼**之溶液冷卻至約0-5℃且用硫酸水溶液(藉由使純硫酸(0.51 kg±5%)溶解於去離子水(0.72L±5%)中來製備)處理，直至pH值在約6.0-6.5之間。使所得硫酸普拉唑黴素溶液通過活性碳過濾器(R55SP)且用水洗滌過濾器。

【0358】使用Dow Filmtec XLE薄膜藉由奈米過濾來濃縮溶液，且接著經由0.22微米過濾器過濾。接著，將所得溶液供應至噴霧乾燥器中，保持噴霧乾燥器出口溫度在約60-100℃之間以收集呈非晶形固體形式之硫酸普拉唑黴素。

實例5：用於自西索米星製備(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-哌喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯，式(4a)之實例程序



實例5a

【0359】向配備有頂置式攪拌器之夾套式玻璃反應器中裝填西索米星游離鹼(300.0 g, 0.670 mol, KF=5.65)，接著裝填甲醇(1500 mL)及二氯甲烷(1500 mL)。在溶解之後，使反應溫度穩定在15℃。經三小時向反應器中添加苯并三唑胺基甲酸對硝基苯甲酯(207 g, 0.694 mol, 1.04當量)於二氯甲烷(4200 mL)中之溶液，保持反應溫度為約15℃。藉由用二氯甲烷(300 mL)沖洗來完成添加。在30分鐘之後，對反應物進行取樣且藉由HPLC分析(西索米星消耗量)認定反應完成。粗反應混合物在真空中濃縮至最終體積為1500 mL。向反應混合物中裝填甲醇(4500 mL)且在真空中進行第二次濃縮，達到目標體積4500 mL。

【0360】向反應混合物中加入甲醇(900 mL)且使溫度穩定在27.5℃。依序加入三乙胺(442 mL, 3.189 mol, 4.76當量)及二水合乙酸鋅(487 g,

2.219 mol，3.31當量)且攪拌混合物1小時。經70分鐘向反應溶液中添加預先製備之二碳酸二-第三丁酯(759 g，3.478 mol，5.19當量)於甲醇(600 mL)中之溶液。用甲醇(60 mL)沖洗來完成轉移。在添加之後，在27.5℃攪拌反應物9.5小時，對反應物進行取樣且藉由HPLC分析認定反應完成((((2S,3R)-3-胺基-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-4,6-二胺基-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-哌喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯及單-Boc保護之中間物((((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-4,6-二胺基-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-哌喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯之消耗)。粗反應混合物在真空中濃縮至最終體積為3600 mL。使溫度穩定在20與30℃之間且藉由經1.5小時添加25%氨(1800 mL)來淬滅反應(注意：放熱性添加，控制添加速率以保持反應溫度在20與30℃之間)。添加二氯甲烷(3000 mL)且攪拌兩相混合物20分鐘，隨後停止攪拌且使各層分離。將下部富含產物之有機層(OP1)轉移至接收器中，同時將上部經消耗之水層(AQ1)轉移至廢料中。將OP1轉移回反應器中，向其中加入水(750 mL)及25%氨(750 mL)。藉由攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部富含產物之有機層(OP2)轉移至接收器中，同時將上部水層(AQ2)轉移至廢料中。將OP2轉移回反應器中，向其中加入甲醇(300 mL)及水(1500 mL)。藉由攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部富含產物之有機層(OP3)轉移至接收器中，同時將上部水層(AQ3)轉移至廢料中。將OP3轉移回反應器中，向其中加入甲醇(300 mL)及水(1500 mL)。藉由攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部富含產物之有機層(OP4)轉移至

接收器中，同時將上部水層(AQ4)轉移至廢料中。使最終經洗之有機相(OP4)返回反應器中且在真空中濃縮至體積2700 mL。

【0361】向反應器中添加水(150 mL)、Boc-(S)-HABA (153 g，0.698 mol，1.04當量)及1-羥基苯并三唑(17 g，0.125 mol，0.19當量)。在每次固體裝填(Boc-(S)-HABA及1-羥基苯并三唑)之後，使用二氯甲烷(60 mL)沖洗裝填系統。使用2 M鹽酸(1250 mL)將反應混合物之pH值調節至5.5。在pH值調節之後，向反應混合物中裝填1-乙基-3-(3'-二甲基氨基丙基)碳化二亞胺鹽酸(133 g，0.694 mol，1.03當量)。使用二氯甲烷(60 mL)沖洗固體裝填物。在70分鐘之後，對反應物進行取樣且藉由HPLC認定反應完成((((2S,3R)-2-(((1R,2R,3S,4R,6S)-4-胺基-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-吡喃-6-基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯之消耗量)。向反應混合物中裝填甲醇(600 mL)，接著裝填二氯甲烷(3600 mL)及水(1500 mL)。使用氫氧化鈉(1200 mL)將pH值調節至9.5。藉由攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部富含產物之有機層(OP5)轉移至接收器中，同時將上部水層(AQ5)轉移至廢料中。相繼使OP5及水(2100 mL)返回反應器中。藉由攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部富含產物之有機層(OP6)轉移至接收器中，同時將上部水層(AQ6)轉移至廢料中。使OP6返回反應器中且在真空中濃縮至最終體積為3000 mL。向反應器中裝填乙腈(3000 mL)且在真空中濃縮混合物達到最終目標體積3000 mL。向反應器中裝填乙腈(3000 mL)且在真空中濃縮混合物達到最終目標體積3000 mL。向反應混合物中裝填乙腈(約4500 mL)達到最終目標體積7500 mL。

【0362】將混合物加熱至回流(83℃)且依序添加兩份水(75 mL及38 mL)以產生溶液。使溶液冷卻至75℃，隨後向反應混合物中裝填(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-吡喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯，式(4a)，晶種(3 g，0.0029 mol，0.004當量)。經5小時使新近形成之漿料冷卻至3℃且在0-5℃之間再攪拌4小時。過濾混合物，用乙腈(兩份300 mL)洗滌且在真空中乾燥，得到(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-吡喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯，式(4a)，(345.19 g，50%莫耳產率)。

實例5b

【0363】向配備有頂置式攪拌器之夾套式玻璃反應器中裝填西索米星游離鹼(300.0 g，0.670 mol，1當量，KF=5.65)，接著裝填甲醇(1500 mL)及二氯甲烷(1500 mL)。在溶解之後，使反應溫度穩定在15℃。經三小時向反應器中添加苯并三唑胺基甲酸對硝基苯甲酯(207 g，0.694 mol，1.04當量)於二氯甲烷(4200 mL)中之溶液，保持反應溫度為約15℃。藉由用二氯甲烷(300 mL)沖洗來完成添加。在30分鐘之後，對反應物進行取樣且藉由HPLC分析(西索米星消耗量)認定反應完成。粗反應混合物在真空中濃縮至最終體積為1500 mL。

【0364】向反應混合物中裝填甲醇(4500 mL)且使溫度穩定在20℃。依序裝填三乙胺(498 mL, 3.593 mol, 5.36當量)及二水合乙酸鋅(425 g, 1.935 mol, 2.89當量)且攪拌混合物1小時。經80分鐘向反應溶液中添加預先製備之二碳酸二-第三丁酯(894 g, 4.096 mol, 6.11當量)於甲醇(600 mL)中之溶液。藉由用甲醇(60 mL)沖洗來完成轉移。在添加之後，在20℃下攪拌反應物5小時，對反應物進行取樣且藉由HPLC分析認定反應完成((((2S,3R)-3-胺基-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-4,6-二胺基-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-哌喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯及單-Boc保護之中間物=(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-4,6-二胺基-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-哌喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯之消耗量)。粗反應混合物在真空中濃縮至最終體積為3000 mL。使溫度穩定在20與30℃之間且藉由經1.5小時添加25%氨(1500 mL)來淬滅反應(注意：放熱性添加，控制添加速率以保持反應溫度在20與30℃之間)。添加二氯甲烷(3000 mL)且攪拌兩相混合物，隨後停止攪拌且使層分離。將下部富含產物之有機層(OP1)轉移至接收器中，同時將上部經消耗之水層(AQ1)轉移至廢料中。將OP1轉移回反應器中，向其中裝填水(750 mL)及25%氨(750 mL)。藉由攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部富含產物之有機層(OP2)轉移至接收器中，同時將上部水層(AQ2)轉移至廢料中。將OP2轉移回反應器中，向其中裝填甲醇(225 mL)及水(1500 mL)。藉由攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部富含產物之有機層(OP3)轉移至接收器中，同時將上部水層

(AQ3)轉移至廢料中。將OP3轉移回反應器中，向其中裝填甲醇(225 mL)及水(1500 mL)。藉由攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部富含產物之有機層(OP4)轉移至接收器中，同時將上部水層(AQ4)轉移至廢料中。使最終經洗滌之有機相(OP4)返回反應器中且在真空中濃縮至體積為2700 mL。

【0365】向反應器中添加水(150 mL)、Boc-(S)-HABA (153 g, 0.698 mol, 1.04當量)及1-羥基苯并三唑(17 g, 0.126 mol, 0.19當量)。在每次固體裝填(Boc-(S)-HABA及1-羥基苯并三唑)之後，使用二氯甲烷(60 mL)沖洗裝填系統。使用2 M鹽酸(1098 mL)將反應混合物之pH值調節至6.2。在pH值調節之後，向反應混合物中加入1-乙基-3-(3'-二甲基胺基丙基)碳化二亞胺鹽酸(133 g, 0.694 mol, 1.03當量)。使用二氯甲烷(60 mL)沖洗固體裝填物。在2小時之後，對反應物進行取樣且藉由HPLC認定反應完成((((2S,3R)-2-(((1R,2R,3S,4R,6S)-4-胺基-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-哌喃-6-基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯之消耗量)。向反應混合物中裝填甲醇(525 mL)，接著裝填二氯甲烷(3600 mL)及水(1500 mL)。使用氫氧化鈉(365 mL)將pH值調節至8.5。藉由攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部富含產物之有機層(OP5)轉移至接收器中，同時將上部水層(AQ5)轉移至廢料中。相繼使OP5及水(2100 mL)返回反應器中。藉由攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部富含產物之有機層(OP6)轉移至接收器中，同時將上部水層(AQ6)轉移至廢料中。使OP6返回反應器中且在真空中濃縮至最終體積為3000 mL。向反應器中裝填乙腈(3000 mL)且在真空中濃縮混合物達

到最終目標體積3000 mL。向反應器中裝填乙腈(3000 mL)且在真空中濃縮混合物達到最終目標體積3000 mL。向反應混合物中裝填乙腈(約6000 mL)達到最終目標體積9000 mL。

【0366】將混合物加熱至回流(83℃)且依序添加兩份水(75 mL及38 mL)以產生溶液。使溶液冷卻至75℃，隨後向反應混合物中裝填(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-吡喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯，式(4a)晶種(3 g，0.0029 mol，0.004當量)。經5小時使新近形成之漿料冷卻至3℃且在0-5℃之間再攪拌4小時。過濾混合物，用乙腈(兩份300 mL)洗滌且在真空中乾燥，得到(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-吡喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯，式(4a)，(340.68 g，49%莫耳產率)。

實例5c

【0367】向配備有頂置式攪拌器之夾套式玻璃反應器中裝填西索米星游離鹼(300.0 g，0.670 mol，1當量，KF=5.65)，接著裝填甲醇(1500 mL)及二氯甲烷(1500 mL)。在溶解之後，使反應溫度穩定在15℃。經三小時向反應器中添加苯并三唑胺基甲酸對硝基苯甲酯(189 g，0.664 mol，0.99當量)於二氯甲烷(4200 mL)中之溶液，保持反應溫度為約15℃。藉由用二氯

甲烷(300 mL)沖洗來完成添加。在29分鐘之後，對反應物進行取樣且藉由HPLC分析(西索米星消耗量)認定反應完成。粗反應混合物在真空中濃縮至最終體積為1500 mL。向反應混合物中裝填甲醇(4500 mL)且在真空中進行第二次濃縮，達到目標體積4500 mL。

【0368】向反應混合物中裝填甲醇(900 mL)且使溫度穩定在35°C。依序裝填三乙胺(385 mL, 2.777 mol, 4.14當量)及二水合乙酸鋅(549 g, 2.501 mol, 3.73當量)且攪拌混合物1小時。經60分鐘向反應溶液中添加預先製備之二碳酸二-第三丁酯(620 g, 2.841 mol, 4.24當量)於甲醇(600 mL)中之溶液。藉由用甲醇(60 mL)沖洗來完成轉移。在添加之後，在35°C下攪拌反應物5小時，對反應物進行取樣且藉由HPLC分析認定反應完成(((2S,3R)-3-胺基-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-4,6-二胺基-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-哌喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯及單-Boc保護之中間物=(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-4,6-二胺基-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-哌喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯之消耗量)。粗反應混合物在真空中濃縮至最終體積為4200 mL。使溫度穩定在20與30°C之間且藉由經1小時27分鐘添加25%氨(2100 mL)來淬滅反應(注意：放熱性添加，控制添加速率以保持反應溫度在20與30°C之間)。添加二氯甲烷(3000 mL)且攪拌兩相混合物20分鐘，隨後停止攪拌且使層分離。將下部富含產物之有機層(OP1)轉移至接收器中，同時將上部經消耗之水層(AQ1)轉移至廢料中。將OP1轉移回反應器中，向其中裝填水(750 mL)及25%氨(750 mL)。藉由攪

拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部富含產物之有機層(OP2)轉移至接收器中，同時將上部水層(AQ2)轉移至廢料中。將OP2轉移回反應器中，向其中裝填甲醇(375 mL)及水(1500 mL)。藉由攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部富含產物之有機層(OP3)轉移至接收器中，同時將上部水層(AQ3)轉移至廢料中。將OP3轉移回反應器中，向其中裝填甲醇(375 mL)及水(1500 mL)。藉由攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部富含產物之有機層(OP4)轉移至接收器中，同時將上部水層(AQ4)轉移至廢料中。使最終經洗滌之有機相(OP4)返回反應器中且在真空中濃縮至體積為2700 mL。

【0369】向反應器中添加水(150 mL)、Boc-(S)-HABA (153 g，0.698 mol，1.04當量)及1-羥基苯并三唑(17 g，0.126 mol，0.19當量)。在每次固體裝填(Boc-(S)-HABA及1-羥基苯并三唑)之後，使用二氯甲烷(60 mL)沖洗裝填系統。使用2 M鹽酸(1250 mL)將反應混合物之pH值調節至4.8。在pH值調節之後，向反應混合物中裝填1-乙基-3-(3'-二甲基胺基丙基)碳化二亞胺鹽酸(133 g，0.694 mol，1.03當量)。使用二氯甲烷(60 mL)沖洗固體裝填物。在70分鐘之後，對反應物進行取樣且藉由HPLC認定反應完成((((2S,3R)-2-(((1R,2R,3S,4R,6S)-4-胺基-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-吡喃-6-基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯之消耗量)。向反應混合物中裝填甲醇(675 mL)，接著裝填二氯甲烷(3600 mL)及水(1500 mL)。使用氫氧化鈉(1264 mL)將pH值調節至10.5。藉由攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部富含產物之有機層(OP5)轉移至接收器中，同時將上部水層(AQ5)轉移至

廢料中。相繼使OP5及水(2100 mL)返回反應器中。藉由攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部富含產物之有機層(OP6)轉移至接收器中，同時將上部水層(AQ6)轉移至廢料中。使OP6返回反應器中且在真空中濃縮至最終體積為3000 mL。向反應器中裝填乙腈(3000 mL)且在真空中濃縮混合物達到最終目標體積3000 mL。向反應器中裝填乙腈(3000 mL)且在真空中濃縮混合物達到最終目標體積3000 mL。向反應混合物中裝填乙腈(約3000 mL)達到最終目標體積6000 mL。

【0370】將混合物加熱至回流(83℃)且依序添加兩份水(75 mL及38 mL)以產生溶液。使溶液冷卻至75℃，隨後向反應混合物中裝填(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-吡喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯，式(4a)，晶種(3 g，0.0029 mmol，0.004當量)。經5小時使新近形成之漿料冷卻至3℃且在0-5℃之間再攪拌4小時。過濾混合物，用乙腈(兩份300 mL)洗滌且在真空中乾燥，得到(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-吡喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯，式(4a)，(347.03 g，50%產率)。

實例5d

【0371】向配備有頂置式攪拌器之夾套式玻璃反應器中裝填西索米星

游離鹼(90.0 g, KF=5.65), 接著裝填甲醇(450 mL)及二氯甲烷(450 mL)。在溶解之後, 使反應溫度穩定在15°C。經三小時向反應器中添加苯并三唑胺基甲酸對硝基苯甲酯(62 g)於二氯甲烷(1260 mL)中之溶液, 保持反應溫度為約15°C。藉由用二氯甲烷(90 mL)沖洗來完成添加。在32分鐘之後, 對反應物進行取樣且藉由HPLC分析(西索米星消耗量)認定反應完成。粗反應混合物在真空中濃縮至最終體積為450 mL。

【0372】向反應混合物中裝填甲醇(1350 mL)且反應物在真空中進一步濃縮至最終目標體積1350 mL。向反應混合物中裝填第二份甲醇(270 mL)且使溫度穩定在27.5°C。依序裝填三乙胺(132 mL, 0.952 mol, 4.74當量)及二水合乙酸鋅(146 g, 0.665 mol, 3.31當量)且攪拌混合物1小時。經70分鐘向反應溶液中添加預先製備之二碳酸二-第三丁酯(228 g, 1.045 mol, 5.19當量)於甲醇(180 mL)中之溶液。藉由用甲醇(18 mL)沖洗來完成轉移。在添加之後, 在27.5°C下攪拌反應物13小時, 對反應物進行取樣且藉由HPLC分析認定反應完成(((2S,3R)-3-胺基-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-4,6-二胺基-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-哌喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯及單-Boc保護之中間物=(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-4,6-二胺基-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-哌喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯之消耗量)。粗反應混合物在真空中濃縮至最終體積為1080 mL。使溫度穩定在20與30°C之間且藉由經37分鐘添加25%氨(540 mL)來淬滅反應(注意:放熱性添加, 控制添加速率以保持反應溫度在20與30°C之間)。添

加二氯甲烷(900 mL)且攪拌兩相混合物20分鐘，隨後停止攪拌且使層分離。將下部富含產物之有機層(OP1)轉移至接收器中，同時將上部經消耗之水層(AQ1)轉移至廢料中。將OP1轉移回反應器中，向其中裝填水(225 mL)及25%氨(225 mL)。藉由攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部富含產物之有機層(OP2)轉移至接收器中，同時將上部水層(AQ2)轉移至廢料中。將OP2轉移回反應器中，向其中裝填甲醇(90 mL)及水(450 mL)。藉由攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部富含產物之有機層(OP3)轉移至接收器中，同時將上部水層(AQ3)轉移至廢料中。將OP3轉移回反應器中，向其中裝填甲醇(90 mL)及水(450 mL)。藉由攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部富含產物之有機層(OP4)轉移至接收器中，同時將上部水層(AQ4)轉移至廢料中。使最終經洗滌之有機相(OP4)返回反應器中且在真空中濃縮至體積為810 mL。

【0373】向反應器中添加水(45 mL)、Boc-(S)-HABA (46 g，0.210 mol，1.04當量)及1-羥基苯并三唑(5 g，0.037 mol，0.18當量)。在每次固體裝填(Boc-(S)-HABA及1-羥基苯并三唑)之後，使用二氯甲烷(18 mL)沖洗裝填系統。使用2 M鹽酸(380 mL)將反應混合物之pH值調節至5.5。在pH值調節之後，向反應混合物中裝填1-乙基-3-(3'二甲基氨基丙基)碳化二亞胺鹽酸(40 g，0.209 mol，1.04當量)。使用二氯甲烷(18 mL)沖洗固體裝填物。在2小時40分鐘之後，對反應物進行取樣且藉由HPLC認定反應完成((((2S,3R)-2-(((1R,2R,3S,4R,6S)-4-胺基-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-吡喃-6-基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯之消耗量)。向反應混合物中裝填甲醇(180

mL)，接著裝填二氯甲烷(1080 mL)及水(450 mL)。使用氫氧化鈉(400 mL)將pH值調節至9.5。藉由攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部富含產物之有機層(OP5)轉移至接收器中，同時將上部水層(AQ5)轉移至廢料中。相繼使OP5及水(630 mL)返回反應器中。藉由攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部富含產物之有機層(OP6)轉移至接收器中，同時將上部水層(AQ6)轉移至廢料中。使OP6返回反應器中且在真空中濃縮至最終體積為3000 mL。向反應器中裝填乙腈(900 mL)且在真空中濃縮混合物達到最終目標體積900 mL。向反應器中裝填乙腈(900 mL)且在真空中濃縮混合物達到最終目標體積900 mL。向反應混合物中裝填乙腈(約1350 mL)達到最終目標體積2250 mL。

【0374】將混合物加熱至回流(約80℃)且依序添加兩份水(23 mL及11 mL)以產生溶液。使溶液冷卻至75℃，隨後向反應混合物中裝填(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-吡喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯，式(4a)，晶種(1 g，0.0010 mol，0.005當量)。經5小時使新近形成之漿料冷卻至3℃且在0-5℃之間再攪拌4小時。過濾混合物，用乙腈(兩份300 mL)洗滌且在真空中乾燥，得到(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-吡喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯，式(4a)，(105.43 g，51%莫

耳產率)。

實例5e

【0375】向配備有頂置式攪拌器之夾套式玻璃反應器中裝填西索米星游離鹼(300.0 g, 0.670 mol, 1當量, KF=5.65), 接著裝填甲醇(1500 mL)及二氯甲烷(1500 mL)。在溶解之後, 使反應溫度穩定在15°C。經三小時向反應器中添加苯并三唑胺基甲酸對硝基苯甲酯(226 g, 0.758 mol, 1.13當量)於二氯甲烷(4200 mL)中之溶液, 保持反應溫度為約15°C。藉由用二氯甲烷(300 mL)沖洗來完成添加。在30分鐘之後, 對反應物進行取樣且藉由HPLC分析(西索米星消耗量)認定反應完成。粗反應混合物在真空中濃縮至最終體積為1500 mL。向反應混合物中裝填甲醇(4500 mL)且在真空中進行第二次濃縮, 達到目標體積4500 mL。

【0376】向反應混合物中裝填甲醇(900 mL)且使溫度穩定在20°C。依序裝填三乙胺(498 mL, 3.593 mol, 5.36當量)及二水合乙酸鋅(425 g, 1.936 mol, 2.89當量)且攪拌混合物1小時。經60分鐘向反應溶液中添加預先製備之二碳酸二-第三丁酯(894 g, 4.096 mol, 6.11當量)於甲醇(600 mL)中之溶液。藉由用甲醇(60 mL)沖洗來完成轉移。在添加之後, 在20.0°C下攪拌反應物9小時, 對反應物進行取樣且藉由HPLC分析認定反應完成
(((2S,3R)-3-胺基-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-4,6-二胺基-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-哌喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯及單-Boc保護之中間物=(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-4,6-二胺基-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二

氫-2H-哌喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯之消耗量)。粗反應混合物在真空中濃縮至最終體積為3000 mL。使溫度穩定在20與30°C之間且藉由經109分鐘添加25%氨(1500 mL)來淬滅反應(注意：放熱性添加，控制添加速率以保持反應溫度在20與30°C之間)。添加二氯甲烷(3000 mL)且攪拌兩相混合物20分鐘，隨後停止攪拌且使層分離。將下部富含產物之有機層(OP1)轉移至接收器中，同時將上部經消耗之水層(AQ1)轉移至廢料中。將OP1轉移回反應器中，向其中裝填水(750 mL)及25%氨(750 mL)。藉由攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部富含產物之有機層(OP2)轉移至接收器中，同時將上部水層(AQ2)轉移至廢料中。將OP2轉移回反應器中，向其中裝填甲醇(225 mL)及水(1500 mL)。藉由攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部富含產物之有機層(OP3)轉移至接收器中，同時將上部水層(AQ3)轉移至廢料中。將OP3轉移回反應器中，向其中裝填甲醇(225 mL)及水(1500 mL)。藉由攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部富含產物之有機層(OP4)轉移至接收器中，同時將上部水層(AQ4)轉移至廢料中。使最終經洗滌之有機相(OP4)返回反應器中且在真空中濃縮至體積為2700 mL。

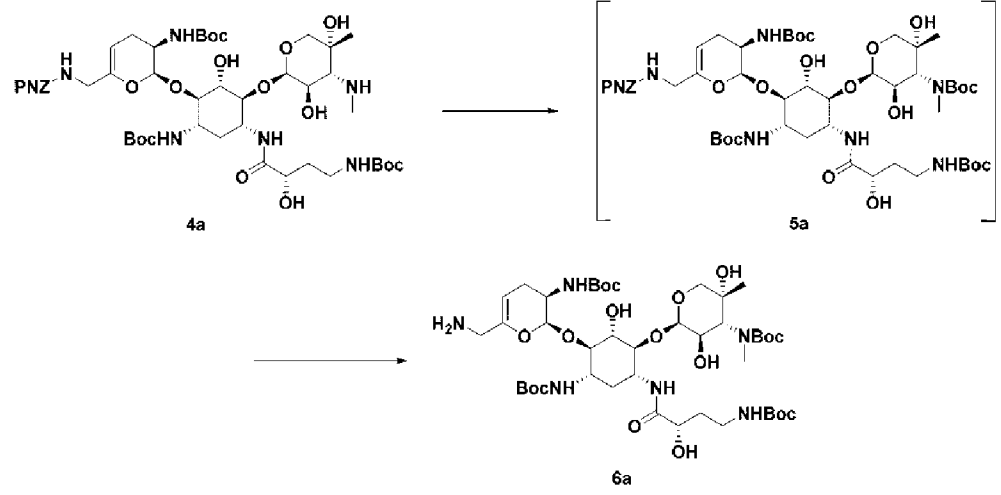
【0377】向反應器中添加水(150 mL)、Boc-(S)-HABA (153 g，0.698 mol，1.04當量)及1-羥基苯并三唑(17 g，0.126 mol，0.19當量)。在每次固體裝填(Boc-(S)-HABA及1-羥基苯并三唑)之後，使用二氯甲烷(60 mL)沖洗裝填系統。使用2 M鹽酸(1122 mL)將反應混合物之pH值調節至6.2。在pH值調節之後，向反應混合物中裝填1-乙基-3-(3'-二甲基胺基丙基)碳化二亞胺鹽酸(133 g，0.694 mol，1.03當量)。使用二氯甲烷(60 mL)沖洗固體裝填物。在4小時之後，對反應物進行取樣且藉由HPLC認定反應完成

(((2S,3R)-2-(((1R,2R,3S,4R,6S)-4-胺基-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-吡喃-6-基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯之消耗量)。向反應混合物中裝填甲醇(525 mL)，接著裝填二氯甲烷(3600 mL)及水(1500 mL)。使用氫氧化鈉(430 mL)將pH值調節至8.5。藉由攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部富含產物之有機層(OP5)轉移至接收器中，同時將上部水層(AQ5)轉移至廢料中。相繼使OP5及水(2100 mL)返回反應器中。藉由攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部富含產物之有機層(OP6)轉移至接收器中，同時將上部水層(AQ6)轉移至廢料中。使OP6返回反應器中且在真空中濃縮至最終體積為3000 mL。向反應器中裝填乙腈(3000 mL)且在真空中濃縮混合物達到最終目標體積3000 mL。向反應器中裝填乙腈(3000 mL)且在真空中濃縮混合物達到最終目標體積3000 mL。向反應混合物中裝填乙腈(約6000 mL)達到最終目標體積9000 mL。

【0378】將混合物加熱至回流(83℃)且依序添加兩份水(75 mL及38 mL)以產生溶液。使溶液冷卻至80℃，隨後向反應混合物中裝填(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-吡喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯，式(4a)，晶種(3 g，0.0029 mol，0.004當量)。經5小時使新近形成之漿料冷卻至3℃且在0-5℃之間再攪拌4小時。過濾混合物，用乙腈(兩份300 mL)洗滌且在真空中乾燥，得到(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺

基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-哌喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯，式(4a)，(364.8 g，53%莫耳產率)。

實例6： 用於自(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-哌喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯，式(4a)製備(((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-哌喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(6a)之實例程序



實例6a

【0379】向配備有頂置式攪拌器之夾套式玻璃反應器(反應器A)中裝

填(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-哌喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯，式(4a)，(320 g，0.311 mol，1當量)。向反應器中裝填甲醇(3200 mL)且使溫度穩定在45與55℃之間(47℃)。經3分鐘向反應溶液中添加預先製備之二碳酸二-第三丁酯(81.60 g，0.374 mol，1.20當量)於甲醇(80 mL)中之溶液。藉由用甲醇(80 mL)沖洗來完成裝填。在3小時之後，對反應物進行取樣且藉由HPLC分析認定反應完成((((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-哌喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯，式(4a)之消耗量)。

【0380】向配備有頂置式攪拌器之第二夾套式玻璃反應器(反應器B)中裝填水(2810 g)及氫氧化鈉(131 g，3.275 mol，10.52當量)。使此鹼性溶液冷卻至10℃。向溶液中裝填二硫亞磺酸鈉(402 g)且使溫度穩定在12.5℃。

【0381】經1小時時段將含有中間物((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((((4-硝基苯甲基)氧基)羰基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-哌喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯之反應混合物轉

移至二硫亞磺酸鈉混合物(反應器B)中，同時保持連二亞硫酸鹽反應混合物之溫度為12.5℃。藉由裝填甲醇(160 mL)來完成轉移。在添加結束時，經3小時時段將反應混合物加熱至20℃。在14小時之後，對反應物進行取樣且藉由HPLC分析認定反應完成(((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-((((4-胺基苯甲基)氧基)羰基)胺基)甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-哌喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯之消耗量)。反應物在35℃之最大夾套溫度下，在真空中濃縮至最終體積4160 mL。向反應混合物中裝填乙酸異丙酯(1280 mL)及水(1920 mL)。藉由在35℃下攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部水層(AP1)及上部有機層(OP1)轉移至接收器中。使AP1返回反應器且再用另一份乙酸異丙酯(640 mL)進一步萃取以產生水層2 (AP2)及有機層(OP2)。將AP2傳送至廢料中，同時在反應器中合併OP2與OP1。用兩份6.5%碳酸氫鈉溶液(2份960 mL)洗滌此富含組合產物之有機溶液。經洗滌之有機相在真空中濃縮至目標體積960 mL。向反應器中裝填乙酸異丙酯(960 mL)且以960 mL之目標體積進行第二次共沸蒸餾。向反應器中裝填另一份乙酸異丙酯(960 mL)且以1120 mL之目標體積進行第三次共沸蒸餾。使溫度穩定在37.5℃且向混合物中裝填水(17 mL)以實現KF為1.5% w/w。向反應器中裝填二氯甲烷(1120 mL)且使溫度穩定在10.7℃。用(((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)

氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(6a)，(6.4 g，0.0067 mol，0.02當量)接種混合物。使用一部分二氯甲烷(32 mL)沖洗晶種。在10℃下攪拌經接種之混合物2小時且經2小時時段冷卻至0℃。再攪拌漿料3.5小時，隨後過濾且用二氯甲烷(320 mL)洗滌。在真空烘箱中乾燥經分離之物質，得到(((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(6a)，(259.66 g，88%莫耳產率)。

實例6b

【0382】向配備有頂置式攪拌器之夾套式玻璃反應器(反應器A)中裝填(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-吡喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯，式(4a)，(320 g，0.311 mol，1當量)。向反應器中裝填甲醇(3200 mL)且使溫度穩定在45與55℃之間(50℃)。經5分鐘向反應溶液中添加預先製備之二碳酸二-第三丁酯(81.60 g，0.374 mol，1.20當量)於甲醇(80 mL)中之溶液。藉由用甲醇(80 mL)沖洗來完成裝填。在5小時之後，向反應溶液中添加另一份預先製備之二碳酸二-第三丁酯(1.92 g)於甲醇(1.9 mL)中之溶液。在1小時之後，對反應物進行取樣且藉由HPLC分析認定反應完成(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁

氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-吡喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯，式(4a)之消耗量)。

【0383】向配備有頂置式攪拌器之第二夾套式玻璃反應器(反應器B)中裝填水(2490 g)及氫氧化鈉(125 g，3.125 mol，10.04當量)。使此鹼性溶液冷卻至5℃。將二硫亞磺酸鈉(383 g，2.200 mol，7.07當量)裝填至溶液中且使溫度穩定在7.5℃。

【0384】經1小時時段將含有中間物((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((((4-硝基苯甲基)氧基)羰基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯之反應混合物轉移至二硫亞磺酸鈉混合物(反應器B)中，同時保持連二亞硫酸鹽反應混合物之溫度為7.5℃。藉由裝填甲醇(160 mL)來完成轉移。在添加結束時，經2小時時段將反應混合物加熱至27.5℃。在7小時之後，對反應物進行取樣且藉由HPLC分析認定反應完成(((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-((((4-胺基苯甲基)氧基)羰基)胺基)甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯之消耗量)。反應物在35℃之最大夾套溫度下，

在真空中濃縮至最終體積4160 mL。向反應混合物中裝填乙酸異丙酯(1280 mL)及水(1920 mL)。藉由在35°C下攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部水層(AP1)及上部有機層(OP1)轉移至接收器中。使AP1返回反應器且再用另一份乙酸異丙酯(640 mL)進一步萃取以產生水層2 (AP2)及有機層(OP2)。將AP2傳送至廢料中，同時在反應器中合併OP2與OP1。用兩份6.5%碳酸氫鈉溶液(2份960 mL)洗滌此富含組合產物之有機溶液。經洗滌之有機相在真空中濃縮至目標體積960 mL。向反應器中裝填乙酸異丙酯(960 mL)且以960 mL之目標體積進行第二次共沸蒸餾。向反應器中裝填另一份乙酸異丙酯(960 mL)且以1440 mL之目標體積進行第三次共沸蒸餾。使溫度穩定在37.5°C且向混合物中裝填水(42 mL)以實現KF為2.9% w/w。向反應器中裝填二氯甲烷(1440 mL)且使溫度穩定在22.5°C。用((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(6a)，(6.4 g，0.0067 mol，0.02當量)接種混合物。使用一部分二氯甲烷(32 mL)沖洗晶種。在22.5°C下攪拌經接種之混合物2小時且經2小時時段冷卻至0°C。再攪拌漿料3.5小時，隨後過濾且用二氯甲烷(320 mL)洗滌。在真空烘箱中乾燥經分離之物質，得到((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式

(6a)，(257.77 g，87%產率)。

實例6c

【0385】向配備有頂置式攪拌器之夾套式玻璃反應器(反應器A)中裝填(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-哌喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯，式(4a)，(320 g，0.311 mol，1當量)。向反應器中裝填甲醇(3200 mL)且使溫度穩定在45與55℃之間(50℃)。經3分鐘向反應溶液中添加預先製備之二碳酸二-第三丁酯(81.60 g，0.394 mol，1.20當量)於甲醇(80 mL)中之溶液。藉由用甲醇(80 mL)沖洗來完成裝填。在3小時之後，對反應物進行取樣且藉由HPLC分析認定反應完成((((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-哌喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯，式(4a)之消耗量)。

【0386】向配備有頂置式攪拌器之第二夾套式玻璃反應器(反應器B)中裝填水(2170 g)及氫氧化鈉(118 g，2.950 mol，9.48當量)。使此鹼性溶液冷卻至0℃。將二硫亞磺酸鈉(364 g，2.091 mol，6.72當量)裝填至溶液中且使溫度穩定在2.5℃。

【0387】經5小時時段將含有中間物((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺

基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((((4-硝基苯甲基)氧基)羰基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯之反應混合物轉移至二硫亞磺酸鈉混合物(反應器B)中，同時保持連二亞硫酸鹽反應混合物之溫度為2.5℃。藉由裝填甲醇(160 mL)來完成轉移。在添加結束時，經1小時時段將反應混合物加熱至35℃。在3小時之後，對反應物進行取樣且藉由HPLC分析認定反應完成(((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-((((4-胺基苯甲基)氧基)羰基)胺基)甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯之消耗量)。反應物在35℃之最大夾套溫度下，在真空中濃縮至最終體積4160 mL。向反應混合物中裝填乙酸異丙酯(1280 mL)及水(1920 mL)。藉由在35℃下攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部水層(AP1)及上部有機層(OP1)轉移至接收器中。使AP1返回反應器且再用另一份乙酸異丙酯(640 mL)進一步萃取以產生水層2 (AP2)及有機層(OP2)。將AP2傳送至廢料中，同時在反應器中合併OP2與OP1。用兩份6.5%碳酸氫鈉溶液(2份960 mL)洗滌此富含組合產物之有機溶液。經洗滌之有機相在真空中濃縮至目標體積960 mL。向反應器中裝填乙酸異丙酯(960 mL)且以960 mL之目標體積進行第二次共沸蒸餾。向反應器中裝填另一份乙酸異丙酯(960 mL)且以1760 mL之目標體積進行第三次共沸蒸餾。使溫度穩定在37.5℃且向混合物中裝填水(71.2 mL)以實現KF為3.9% w/w。向反應器中裝填二氯甲烷(1760 mL)且使溫度穩定在35℃。用

((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-哌喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(6a)，(6.4 g，0.0067 mol，0.02當量)接種混合物。使用一部分二氯甲烷(32 mL)沖洗晶種。在35℃下攪拌經接種之混合物2小時且經2小時時段冷卻至0℃。再攪拌漿料3.5小時，隨後過濾且用二氯甲烷(320 mL)洗滌。在真空烘箱中乾燥經分離之物質，得到((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-哌喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(6a)，(103.5 g，0.109 mol，35%莫耳產率)。

實例6d

【0388】向配備有頂置式攪拌器之夾套式玻璃反應器(反應器A)中裝填(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-哌喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯，式(4a)，(320 g，0.311 mol，1當量)。向反應器中裝填甲醇(3200 mL)且使溫度穩定在45與55℃之間(47℃)。經3分鐘向反應溶液中添加預先製備之二碳酸二-第三丁酯(81.60 g，0.374 mol，1.20當量)於甲醇(80 mL)中之溶液。藉由用甲醇(80 mL)沖洗來完成裝填。在6小時之後，對反應物

進行取樣且藉由HPLC分析認定反應完成((((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-哌喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯，式(4a)之消耗量)。

【0389】向配備有頂置式攪拌器之第二夾套式玻璃反應器(反應器B)中裝填水(2810 g)及氫氧化鈉(131.2 g，3.280 mol，10.54當量)。使此鹼性溶液冷卻至10℃。將二硫亞磺酸鈉(401.9 g，2.308 mol，7.42當量)裝填至溶液中且使溫度穩定在12.5℃。

【0390】經1小時時段將含有中間物(((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((((4-硝基苯甲基)氧基)羰基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-哌喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯之反應混合物轉移至二硫亞磺酸鈉混合物(反應器B)中，同時保持連二亞硫酸鹽反應混合物之溫度為12.5℃。藉由裝填甲醇(160 mL)來完成轉移。在添加結束時，經3小時時段將反應混合物加熱至20℃。在18小時之後，對反應物進行取樣且藉由HPLC分析認定反應完成((((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-((((4-胺基苯甲基)氧基)羰基)胺基)甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-哌喃-4-

基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯之消耗量)。反應物在35°C之最大夾套溫度下，在真空中濃縮至最終體積4160 mL。向反應混合物中裝填乙酸異丙酯(1280 mL)及水(1920 mL)。藉由在35°C下攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部水層(AP1)及上部有機層(OP1)轉移至接收器中。使AP1返回反應器且再用另一份乙酸異丙酯(640 mL)進一步萃取以產生水層2 (AP2)及有機層(OP2)。將AP2傳送至廢料中，同時在反應器中合併OP2與OP1。用兩份6.5%碳酸氫鈉溶液(2份960 mL)洗滌此富含組合產物之有機溶液。經洗滌之有機相在真空中濃縮至目標體積960 mL。向反應器中裝填乙酸異丙酯(960 mL)且以960 mL之目標體積進行第二次共沸蒸餾。向反應器中裝填另一份乙酸異丙酯(960 mL)且以1280 mL之目標體積進行第三次共沸蒸餾。使溫度穩定在37.5°C且向混合物中裝填水(26 mL)以實現KF為2.1% w/w。向反應器中裝填二氯甲烷(1280 mL)且使溫度穩定在15.1°C。用((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(6a)，(6.4 g，0.0067 mol，0.02當量)接種混合物。使用一部分二氯甲烷(32 mL)沖洗晶種。在15°C下攪拌經接種之混合物2小時且經2小時時段冷卻至0°C。再攪拌漿料3.5小時，隨後過濾且用二氯甲烷(320 mL)洗滌。在真空烘箱中乾燥經分離之物質，得到((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)

氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(6a)，(257.5 g，0.271 mol，87%莫耳產率)。

實例6e

【0391】向配備有頂置式攪拌器之夾套式玻璃反應器(反應器A)中裝填(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-吡喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯，式(4a)，(320 g，0.311 mol，1當量)。向反應器中裝填甲醇(3200 mL)且使溫度穩定在45與55°C之間(47°C)。經3分鐘向反應溶液中添加預先製備之二碳酸二-第三丁酯(81.60 g，0.374 mol，1.20當量)於甲醇(80 mL)中之溶液。藉由用甲醇(80 mL)沖洗來完成裝填。在8小時之後，對反應物進行取樣且藉由HPLC分析認定反應完成((((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,4-二氫-2H-吡喃-6-基)甲基)胺基甲酸4-硝基苯甲酯，式(4a)之消耗量)。

【0392】向配備有頂置式攪拌器之第二夾套式玻璃反應器(反應器B)中裝填水(2170 g)及氫氧化鈉(118.4 g，2.960 mol，9.51當量)。使此鹼性溶液冷卻至0°C。將二硫亞磺酸鈉(363.5 g，2.088 mol，6.71當量)裝填至溶液中且使溫度穩定在2.5°C。

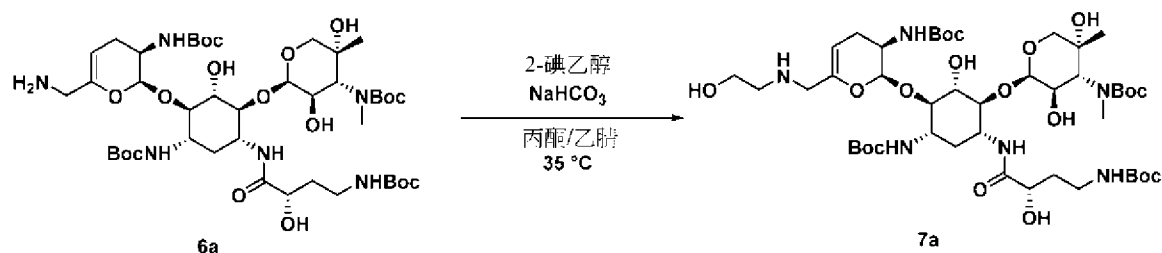
【0393】經5小時時段將含有中間物((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺

基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((((4-硝基苯甲基)氧基)羰基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯之反應混合物轉移至二硫亞磺酸鈉混合物(反應器B)中，同時保持連二亞硫酸鹽反應混合物之溫度為2.5℃。藉由裝填甲醇(160 mL)來完成轉移。在添加結束時，經1小時時段將反應混合物加熱至35℃。在4小時之後，對反應物進行取樣且藉由HPLC分析認定反應完成(((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-((((4-胺基苯甲基)氧基)羰基)胺基)甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯之消耗量)。反應物在35℃之最大夾套溫度下，在真空中濃縮至最終體積4160 mL。向反應混合物中裝填乙酸異丙酯(1280 mL)及水(1920 mL)。藉由在35℃下攪拌來混合各層且接著使其分離，隨後將下部水層(AP1)及上部有機層(OP1)轉移至接收器中。使AP1返回反應器且再用另一份乙酸異丙酯(640 mL)進一步萃取以產生水層2 (AP2)及有機層(OP2)。將AP2傳送至廢料中，同時在反應器中合併OP2與OP1。用兩份6.5%碳酸氫鈉溶液(2份960 mL)洗滌此富含組合產物之有機溶液。經洗滌之有機相在真空中濃縮至目標體積960 mL。向反應器中裝填乙酸異丙酯(960 mL)且以960 mL之目標體積進行第二次共沸蒸餾。向反應器中裝填另一份乙酸異丙酯(960 mL)且以1600 mL之目標體積進行第三次共沸蒸餾。使溫度穩定在37.5℃且向混合物中裝填水(29 mL)以實現KF為3.5% w/w。

向反應器中裝填二氯甲烷(1600 mL)且使溫度穩定在30℃。用((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-哌喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(6a)，(6.4 g，0.0067 mol，0.02當量)接種混合物。使用一部分二氯甲烷(32 mL)沖洗晶種。在30℃下攪拌經接種之混合物2小時且經2小時時段冷卻至0℃。再攪拌漿料3.5小時，隨後過濾且用二氯甲烷(320 mL)洗滌。在真空烘箱中乾燥經分離之物質，得到((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-哌喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(6a)，(259.50 g，0.273 mol，88%莫耳產率)。

實例7：用於自((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-哌喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(6a)製備((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-(((2-羥基乙基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基

四氫-2H-呓喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(7a)之實例程序



實例7a

【0394】向配備有頂置式攪拌器之夾套式玻璃反應器中裝填(((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-呓喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-呓喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(6a)，(250 g，0.263 mol，1當量)。向反應器中裝填乙腈(1250 mL)且使溫度穩定在15與30°C之間(27.4°C)。混合物在真空中濃縮至最終目標體積500 mL。藉由KF針對水含量對溶液進行取樣，所得結果為0.27% w/w。向反應器中裝填另一部份乙腈(750 mL)且以500 mL之目標體積進行第二次共沸蒸餾。針對KF對混合物進行取樣且所得結果為0.08% w/w。使反應溫度穩定在29.9°C且向混合物中裝填丙酮(1250 mL)。加熱反應物且使溫度穩定在40°C。相繼向反應混合物中裝填碳酸氫鈉(44.25 g，0.527 mol，2當量)及2-碘乙醇(65.2 g，29.6 mL，0.379 mol，1.44當量)。在23小時之後，對反應物進行取樣且藉由HPLC分析認定反應完成(((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-呓喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-呓喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式

(6a)之消耗量)。使反應物冷卻至22.7°C且裝填呈固體狀之1,4-二氮雜雙環[2.2.2]辛烷(60.0 g, 0.535 mol, 2.03當量)。藉由GC方法監測2-碘乙醇之分解且在18小時之後,認為此試劑之淬滅完成。向反應混合物中裝填水(1250 mL)及乙酸異丙酯(1250 mL)。攪拌反應器內含物25分鐘且使層分離。在接收器中收集下部水層(AP1)及上部有機層(OP1)。使AP1返回反應器中且裝填第二份乙酸異丙酯(750 mL)。攪拌反應器內含物30分鐘且使層分離。在接收器中收集下部水層(AP2)及上部有機層(OP2)。在反應器中合併OP1及OP2且用兩份飽和氯化鈉溶液(750 mL, 藉由溶解100 g NaCl/290 mL水來製備)萃取。經洗滌之有機相(OP4)在真空中濃縮至目標體積500 mL。向反應器中裝填乙腈(2550 mL)。進行第二次共沸真空蒸餾達到目標體積2050 mL。向混合物中裝填乙酸異丙酯(200 mL)。向混合物中裝填水(35.4 mL)直至KF為2.0%。將反應器內含物加熱至75°C,隨後獲得溶液。使反應混合物冷卻至65°C且用((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-(((2-羥基乙基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯,式(7a), (5 g, 0.0050 mol, 0.02當量)接種。在65°C下保持攪拌8小時,在此期間形成黏稠漿料。混合物經12小時時段自65°C冷卻至2.5°C。過濾漿料且用乙腈(900 mL)洗滌且在真空烘箱中乾燥,得到((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-(((2-羥基乙基)胺基)甲基

基)-3,4-二氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-哌喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(7a)，(203.8 g，0.205 mol，78%產率)。

實例7b

【0395】向配備有頂置式攪拌器之夾套式玻璃反應器中裝填(((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-哌喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(6a)，(250 g，0.263 mol，1當量)。向反應器中裝填乙腈(1250 mL)且使溫度穩定在15與30℃之間(30℃)。混合物在真空中濃縮至最終目標體積500 mL。藉由KF針對水含量對溶液進行取樣，所得結果為0.18% w/w。向反應器中裝填另一部份乙腈(750 mL)且以500 mL之目標體積進行第二次共沸蒸餾。針對KF對混合物進行取樣且所得結果為0.075% w/w。使反應溫度穩定在29.9℃且向混合物中裝填丙酮(1250 mL)。加熱反應物且使溫度穩定在40℃。相繼向反應混合物中裝填碳酸氫鈉(44.25 g，0.527 mol，2.0當量)及2-碘乙醇(56.6 g，25.7 mL，0.329 mol，1.25當量)。在56小時之後，對反應物進行取樣且藉由HPLC分析認定反應完成(((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-哌喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(6a)之消耗量)。使反應物冷卻至22.7℃且裝填呈固體狀之1,4-二氮雜雙環

[2.2.2]辛烷(60.0 g，0.535 mol，2.0當量)。藉由GC方法監測2-碘乙醇之分解且在18小時之後，認為此試劑之淬滅完成。向反應混合物中裝填水(1250 mL)及乙酸異丙酯(1250 mL)。攪拌反應器內含物25分鐘且使層分離。在接收器中收集下部水層(AP1)及上部有機層(OP1)。使AP1返回反應器中且裝填第二份乙酸異丙酯(750 mL)。攪拌反應器內含物30分鐘且使層分離。在接收器中收集下部水層(AP2)及上部有機層(OP2)。在反應器中合併OP1及OP2且用兩份飽和氯化鈉溶液(750 mL，藉由溶解100 g NaCl/290 mL水來製備)萃取。經洗滌之有機相(OP4)在真空中濃縮至目標體積500 mL。向反應器中裝填乙腈(2550 mL)。進行第二次共沸真空蒸餾達到目標體積1800 mL。向混合物中裝填乙酸異丙酯(200 mL)。向混合物中裝填水(22.8 mL)直至KF為1.46%。將反應器內含物加熱至75℃，隨後獲得溶液。使反應混合物冷卻至62.5℃且用((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-(((2-羥基乙基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(7a)，(5 g，0.0050 mol，0.02當量)接種。在62.5℃下保持攪拌5小時，在此期間形成黏稠漿料。混合物經12小時時段自65℃冷卻至2.5℃。過濾漿料且用乙腈(900 mL)洗滌且在真空烘箱中乾燥，得到((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-(((2-羥基乙基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(7a)，(208.1 g，0.220

mol，83%莫耳產率)。

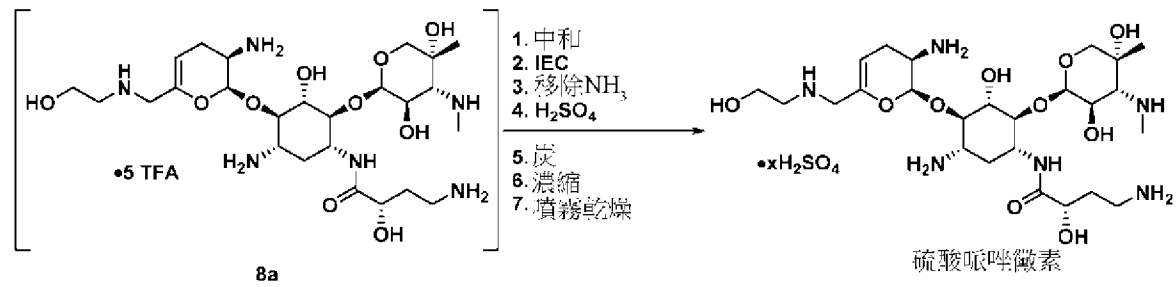
實例7c

【0396】向配備有頂置式攪拌器之夾套式玻璃反應器中裝填(((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(6a)，(250 g，0.263 mol，1當量)。向反應器中裝填乙腈(1250 mL)且使溫度穩定在15與30℃之間(24.3℃)。混合物在真空中濃縮至最終目標體積500 mL。藉由KF針對水含量對溶液進行取樣，所得結果為0.22% w/w。向反應器中裝填另一部份乙腈(750 mL)且以500 mL之目標體積進行第二次共沸蒸餾。針對KF對混合物進行取樣且所得結果為0.097% w/w。使反應溫度穩定在29.9℃且向混合物中裝填丙酮(1250 mL)。加熱反應物且使溫度穩定在29.9℃。相繼向反應混合物中裝填碳酸氫鈉(44.25 g，0.527 mol，2.0當量)及2-碘乙醇(44.4 g，20.14 mL，0.258 mol，0.98當量)。在43小時之後，向反應混合物中添加另一份2-碘乙醇(0.25 mL)。在9.5小時之後，向反應混合物中添加第三份2-碘乙醇(0.3 mL)。再過2小時之後，對反應物進行取樣且藉由HPLC分析認定反應完成(((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(6a)之消耗量)。使反應物冷卻至22.7℃且裝填呈固體狀之1,4-二氮雜雙環

[2.2.2]辛烷(60.0 g , 0.535 mol , 2.03當量)。藉由GC方法監測2-碘乙醇之分解且在10小時之後，認為此試劑之淬滅完成。向反應混合物中裝填水(1250 mL)及乙酸異丙酯(1250 mL)。攪拌反應器內含物25分鐘且使層分離。在接收器中收集下部水層(AP1)及上部有機層(OP1)。使AP1返回反應器中且裝填第二份乙酸異丙酯(750 mL)。攪拌反應器內含物30分鐘且使層分離。在接收器中收集下部水層(AP2)及上部有機層(OP2)。在反應器中合併OP1及OP2且用兩份飽和氯化鈉溶液(750 mL，藉由溶解100 g NaCl/290 mL水來製備)萃取。經洗滌之有機相(OP4)在真空中濃縮至目標體積500 mL。向反應器中裝填乙腈(2550 mL)。進行第二次共沸真空蒸餾達到目標體積1550 mL。向混合物中裝填乙酸異丙酯(200 mL)。向混合物中裝填水(10.7 mL)直至所得KF為0.85%。將反應器內含物加熱至75℃，隨後獲得溶液。使反應混合物冷卻至57℃且用((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-(((2-羥基乙基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-哌喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(7a)，(5 g，0.0050 mol，0.02當量)接種。在57℃下保持攪拌2小時，在此期間形成黏稠漿料。混合物經12小時時段自65℃冷卻至2.5℃。過濾漿料且用乙腈(900 mL)洗滌且在真空烘箱中乾燥，得到((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-(((2-羥基乙基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基

四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(7a)，(218.1 g，0.220 mol，83%莫耳產率)。

實例8：用於自((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-(((2-羥基乙基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(7a)製備普拉唑黴素及CG-50樹脂床再生之實例程序



實例8a

【0397】向配備有頂置式攪拌器之夾套式玻璃反應器(反應器A)中裝填((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-(((2-羥基乙基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(7a)，(150 g，0.151 mol，1當量)及二氯甲烷(750 mL)。在0與5℃之間(0.6℃)攪拌混合物。向反應混合物中緩慢添加三氟乙酸，保持溫度在0與5℃之間[注意：放熱性添加]。在添加結束時，將反應溶液加熱至22.5℃且在該溫度下保持2小時。反應混合物藉由在真空中蒸餾來濃縮至最終目標體積450 mL。經濃縮之反應混合物再在22.5℃下保持2小時，隨後使溫度穩定在0與10℃之間(3.0℃)。

【0398】向配備有頂置式攪拌器之第二夾套式玻璃反應器(反應器B)中裝填水(375 mL)，使其冷卻至0與5°C之間的溫度(2.5°C)。經45分鐘將反應器A之內含物轉移至反應器B之內含物中，保持溫度在0與10°C之間[注意：放熱性添加]。向反應混合物中裝填乙酸異丙酯以產生兩相混合物。經由頂置式攪拌來混合反應器內含物且接著停止攪拌以使層分離。分離下部富含產物之水層(AP1)及上部有機層(OP1)。將OP1轉移回反應器中且向混合物中裝填水(75 mL)。經由頂置式攪拌來混合反應器內含物且接著停止攪拌以使層分離。收集下部富含產物之水層(AP2)及上部有機層(OP2)。使OP2返回反應器且裝填水(75 mL)。經由頂置式攪拌來混合反應器內含物且接著停止攪拌以使層分離。收集下部富含產物之水層(AP3)及上部有機層(OP3)。使三個富含產物之水層(AP1、AP2及AP3)返回反應器且合併。所量測之合併之有機層之pH值為0.15。向經合併之水相中裝填乙酸異丙酯(450)。經由頂置式攪拌來混合反應器內含物且接著停止攪拌以使層分離。收集下部富含產物之水層(AP4)及上部有機層(OP4)。所量測之經合併之AP4之pH值為0.73。使AP4返回反應器。向反應器中裝填乙酸異丙酯(450)。經由頂置式攪拌來混合反應器內含物且接著停止攪拌以使層分離。收集下部富含產物之水層(AP5)及上部有機層(OP5)。所量測之AP5之pH值為1.78。使AP5返回反應器。向反應器中裝填乙酸異丙酯(450)。經由頂置式攪拌來混合反應器內含物且接著停止攪拌以使層分離。收集下部富含產物之水層(AP6)及上部有機層(OP6)。所量測之AP6之pH值為2.95。使AP6返回反應器且使用1%氨溶液(34.7 mL)將pH值調節至介於5.8與6.2之間(最終pH 6.01)。在pH值調節期間，保持溫度在0與10°C之間。向反應混合物中裝填水(約820 mL)直至最終體積為1350 mL。再次量測pH值(5.67)且使

用1%氨溶液(11.7 mL)調節至介於5.8與6.2之間(6.01)。所量測之溶液之導性為15.36 mS/cm。

【0399】將此粗普拉唑黴素溶液裝填至填充有呈銨形式之CG-50樹脂(325.5 g)之XK-50/100管柱中，其中頂部空間填充有水。使管柱溫度穩定在13℃。以下流模式，以10與20 cm/h (約9.2 mL/min)之間的直線流動速率裝填粗物質溶液。在粗物質溶液裝填至樹脂床之後。以下流模式，以10與20 cm/h之間(9.2 mL/min)的直線流動速率裝填水(1倍管柱體積，1620 mL)。在水裝填結束時，向管柱中以下流模式裝填0.43%氨溶液(由86.7 g含25%氨之5 L水製備)，直至普拉唑黴素自管柱溶離，如由在210 nm下之UV吸光度跡線判定。在認為普拉唑黴素溶離完成之後，用5%氨溶液以下流模式進一步洗滌管柱。合併富含產物之溶離份(第36-58號)，得到6520 mL經純化之普拉唑黴素游離鹼溶液。藉由離子層析量測溶液之氨含量為2720 µg/mL，且藉由UPLC量測普拉唑黴素游離鹼濃度為1.17% w/v。使用XLE薄膜，以透濾模式藉由逆滲透來處理溶液，直至氨(µg/mL):普拉唑黴素(% w/v)小於20。處理6倍透濾體積之水以實現此指標。在藉由滲濾過程移除氨期間，保持溫度低於10℃。在氨移除過程之後，使用6 M硫酸溶液(57.5)將經純化之普拉唑黴素溶液之pH值調節至6.0。在pH值調節期間，保持溫度在0與5℃之間。經中和之溶液以72 L/h×m² (18 mL/min)之流動速率通過經預先洗滌之Zetacarbon R55炭濾筒。在過濾之後，用水(1068 mL)洗滌濾筒且合併洗滌液與經過濾之普拉唑黴素溶液。藉由XLE薄膜，以奈米過濾模式使用逆滲透將經合併之濾液及洗滌液濃縮至540 mL。使經濃縮之溶液通過0.22微米過濾器等且使用Buchi實驗室噴霧乾燥器經由噴霧乾燥來分離(89.05 g，0.106 mol，70%莫耳產率)。

實例8b-樹脂之再生

【0400】藉由以下步驟使含有CG-50樹脂(326 g)之XK-50/100管柱再生。以上流模式裝填4%氫氧化鈉溶液(含0.49 kg NaOH之11.8 L水)直至流出物中獲得110 mS/cm之傳導性。接著，以上流模式裝填水直至流出物中獲得1.5 mS/cm之傳導性。以上流模式裝填2%硫酸溶液(由0.10 kg濃硫酸於4.9 L水中製備)直至流出物中獲得mS/cm之傳導性。以上流模式裝填水(4782 mL)直至獲得4.8 mS/cm之最終傳導性。以上流模式裝填2%氨溶液(由400 g 25%氨於9.6 L水中製備)。流出物之最終傳導性為970 μ S/cm (pH 12.04)。使樹脂在不流動情況下沈降1小時。以下流模式(13.1 mL/min)裝填水(3419 mL)。

【0401】藉由施加三氟乙酸氨脈衝來測試樹脂床填充。藉由在水(106 mL)中溶解三氟乙酸銨(1.397 g)來製備三氟乙酸氨溶液。以液體活塞模式在CG-50樹脂床表面之正上方裝填此0.1 M三氟乙酸銨溶液(27.5 mL)。以下流模式裝填水直至可在210 nm下觀測到三氟乙酸銨脈衝之UV吸光度。認為樹脂床經填充且適用於粗普拉唑黴素之純化。

實例8c

【0402】向配備有頂置式攪拌器之夾套式玻璃反應器(反應器A)中裝填((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-(((2-羥基乙基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(7a)，(150 g，0.151 mol，1當量)及二氯甲烷(750 mL)。在0與5℃之間(0.0℃)攪拌混合物。向反應混

合物中緩慢添加三氟乙酸，保持溫度在0與5°C之間[注意：放熱性添加]。在添加結束時，將反應溶液加熱至22.5°C且在該溫度下保持1.5小時。反應混合物藉由在真空中蒸餾來濃縮至最終目標體積450 mL。經濃縮之反應混合物再在22.5°C下保持8小時，隨後使溫度穩定在0與10°C之間(5.0°C)。

【0403】向配備有頂置式攪拌器之第二夾套式玻璃反應器(反應器B)中裝填水(375 mL)，使其冷卻至0與5°C之間的溫度(0.3°C)。經19分鐘將反應器A之內含物轉移至反應器B之內含物中，保持溫度在0與10°C之間[注意：放熱性添加]。向反應混合物中裝填乙酸異丙酯以產生兩相混合物。經由頂置式攪拌來混合反應器內含物且接著停止攪拌以使層分離。分離下部富含產物之水層(AP1)及上部有機層(OP1)。將OP1轉移回反應器中且向混合物中裝填水(75 mL)。經由頂置式攪拌來混合反應器內含物且接著停止攪拌以使層分離。收集下部富含產物之水層(AP2)及上部有機層(OP2)。使OP2返回反應器且裝填水(75 mL)。經由頂置式攪拌來混合反應器內含物且接著停止攪拌以使層分離。收集下部富含產物之水層(AP3)及上部有機層(OP3)。使三個富含產物之水層(AP1、AP2及AP3)返回反應器且合併。所量測之合併之有機層之pH值為0.49。向經合併之水相中裝填乙酸異丙酯(450)。經由頂置式攪拌來混合反應器內含物且接著停止攪拌以使層分離。收集下部富含產物之水層(AP4)及上部有機層(OP4)。所量測之經合併之AP4之pH值為0.85。使AP4返回反應器。向反應器中裝填乙酸異丙酯(450)。經由頂置式攪拌來混合反應器內含物且接著停止攪拌以使層分離。收集下部富含產物之水層(AP5)及上部有機層(OP5)。所量測之AP5之pH值為1.72。使AP5返回反應器。向反應器中裝填乙酸異丙酯(450)。經由頂置式攪拌來混合反應器內含物且接著停止攪拌以使層分離。收集下部富含產

物之水層(AP6)及上部有機層(OP6)。所量測之AP6之pH值為2.86。使AP6返回反應器且使用1%氨溶液(21 mL)將pH值調節至介於5.8與6.2之間(最終pH 5.99)。在pH值調節期間，保持溫度在0與10°C之間。向反應混合物中裝填水(約820 mL)直至最終體積為1350 mL。再次量測pH值(5.54)且使用1%氨溶液(10 mL)調節至介於5.8與6.2之間(6.01)。所量測之溶液之傳導性為14.92 mS/cm。

【0404】將此粗普拉唑黴素溶液裝填至填充有呈銨形式之CG-50樹脂(325.5 g)之XK-50/100管柱中，其中頂部空間填充有水。使管柱溫度穩定在20°C。以下流模式，以10與20 cm/h (約9.2 mL/min)之間的直線流動速率裝填粗物質溶液。在粗物質溶液裝填至樹脂床之後。以下流模式，以10與20 cm/h之間(9.2 mL/min)的直線流動速率裝填水(1倍管柱體積，1620 mL)。在水裝填結束時，向管柱中以下流模式裝填0.50%氨溶液(由102 g含25%氨之5 L水製備)，直至普拉唑黴素自管柱溶離，如由在210 nm下之UV吸光度跡線判定。以38 cm/h (12.4 mL/min)之直線流動速率裝填氨溶液。合併富含產物之溶離份(第34-50號)，得到4800 mL經純化之普拉唑黴素游離鹼溶液。藉由離子層析量測溶液之氨含量為3200 µg/mL，且藉由UPLC量測普拉唑黴素游離鹼濃度為1.52% w/v。使用XLE薄膜，以透濾模式藉由逆滲透來處理溶液，直至氨(µg/mL):普拉唑黴素(% w/v)低於20。處理9倍透濾體積之水以實現此指標。在藉由滲濾過程移除氨期間，保持溫度低於10°C。在氨移除過程之後，使用6 M硫酸溶液(52.5)將經純化之普拉唑黴素溶液之pH值調節至6.47。在pH值調節期間，保持溫度在0與5°C之間。經中和之溶液以72 L/h×m² (15 mL/min)之流動速率通過經預先洗滌之Zetacarbon R55炭濾筒。在過濾之後，用水(1068 mL)洗滌濾筒且合併洗滌液與經過濾

之普拉唑黴素溶液。藉由XLE薄膜，以奈米過濾模式使用逆滲透將經合併之濾液及洗滌液濃縮至540 mL。使經濃縮之溶液通過0.22微米過濾器且使用Buchi實驗室噴霧乾燥器經由噴霧乾燥來分離(88.42 g, 0.106 mol, 70% 莫耳產率)。

實例8d

【0405】向配備有頂置式攪拌器之夾套式玻璃反應器(反應器A)中裝填((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-(((2-羥基乙基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(7a)，(150 g, 0.151 mol, 1當量)及二氯甲烷(750 mL)。在0與5°C之間(0.9°C)攪拌混合物。向反應混合物中緩慢添加三氟乙酸，保持溫度在0與5°C之間[注意：放熱性添加]。在添加結束時，將反應溶液加熱至22.5°C且在該溫度下保持1.5小時。反應混合物藉由在真空中蒸餾來濃縮至最終目標體積450 mL。經濃縮之反應混合物再在22.5°C下保持6小時，隨後使溫度穩定在0與10°C之間(6.5°C)。

【0406】向配備有頂置式攪拌器之第二夾套式玻璃反應器(反應器B)中裝填水(375 mL)，使其冷卻至0與5°C之間的溫度(3.5°C)。經7分鐘將反應器A之內含物轉移至反應器B之內含物中，保持溫度在0與10°C之間[注意：放熱性添加]。向反應混合物中裝填乙酸異丙酯以產生兩相混合物。經由頂置式攪拌來混合反應器內含物且接著停止攪拌以使層分離。分離下部富含產物之水層(AP1)及上部有機層(OP1)。將OP1轉移回反應器中且向混合物中裝填水(75 mL)。經由頂置式攪拌來混合反應器內含物且接著停止攪

拌以使層分離。收集下部富含產物之水層(AP2)及上部有機層(OP2)。使OP2返回反應器且裝填水(75 mL)。經由頂置式攪拌來混合反應器內含物且接著停止攪拌以使層分離。收集下部富含產物之水層(AP3)及上部有機層(OP3)。使三個富含產物之水層(AP1、AP2及AP3)返回反應器且合併。所量測之合併之有機層之pH值為0.47。向經合併之水相中裝填乙酸異丙酯(450)。經由頂置式攪拌來混合反應器內含物且接著停止攪拌以使層分離。收集下部富含產物之水層(AP4)及上部有機層(OP4)。所量測之經合併之AP4之pH值為0.83。使AP4返回反應器。向反應器中裝填乙酸異丙酯(450)。經由頂置式攪拌來混合反應器內含物且接著停止攪拌以使層分離。收集下部富含產物之水層(AP5)及上部有機層(OP5)。所量測之AP5之pH值為1.90。使AP5返回反應器。向反應器中裝填乙酸異丙酯(450)。經由頂置式攪拌來混合反應器內含物且接著停止攪拌以使層分離。收集下部富含產物之水層(AP6)及上部有機層(OP6)。所量測之AP6之pH值為3.1。使AP6返回反應器且使用1%氨溶液(35 mL)將pH值調節至介於5.8與6.2之間(最終pH 6.04)。在pH值調節期間，保持溫度在0與10°C之間。向反應混合物中裝填水(約820 mL)直至最終體積為1350 mL。再次量測pH值(5.83)且使用1%氨溶液(5 mL)調節至介於5.8與6.2之間(6.01)。所量測之溶液之導電性為15.29 mS/cm。

【0407】將此粗普拉唑黴素溶液裝填至填充有呈銨形式之CG-50樹脂(325.5 g)之XK-50/100管柱中，其中頂部空間填充有水。使管柱溫度穩定在27°C。以下流模式，以10與20 cm/h (約9.2 mL/min)之間的直線流動速率裝填粗物質溶液。在粗物質溶液裝填至樹脂床之後。以下流模式，以10與20 cm/h之間(9.2 mL/min)的直線流動速率裝填水(1倍管柱體積，1620

mL)。在水裝填結束時，向管柱中以下流模式裝填0.50%氨溶液(由102 g含25%氨之5 L水製備)，直至普拉唑黴素自管柱溶離，如由在210 nm下之UV吸光度跡線判定。以38 cm/h (12.4 mL/min)之直線流動速率裝填氨溶液。合併富含產物之溶離份(第31-45號)，得到4072 mL經純化之普拉唑黴素游離鹼溶液。藉由離子層析量測溶液之氨含量為4060 µg/mL，且藉由UPLC量測普拉唑黴素游離鹼濃度為1.52% w/v。使用XLE薄膜，以透濾模式藉由逆滲透來處理溶液，直至氨(µg/mL):普拉唑黴素(% w/v)低於20。處理5倍透濾體積之水以實現此指標。在藉由滲濾過程移除氨期間，保持溫度低於10 °C。在氨移除過程之後，使用6 M硫酸溶液(56)將經純化之普拉唑黴素溶液之pH值調節至6.74。在pH值調節期間，保持溫度在0與5°C之間。經中和之溶液以72 L/h×m² (15 mL/min)之流動速率通過經預先洗滌之Zetacarbon R55炭濾筒。在過濾之後，用水(1068 mL)洗滌濾筒且合併洗滌液與經過濾之普拉唑黴素溶液。藉由XLE薄膜，以奈米過濾模式使用逆滲透將經合併之濾液及洗滌液濃縮至540 mL。使經濃縮之溶液通過0.22微米過濾器且使用Buchi實驗室噴霧乾燥器經由噴霧乾燥來分離(95.86 g，0.114 mol，76%產率)。

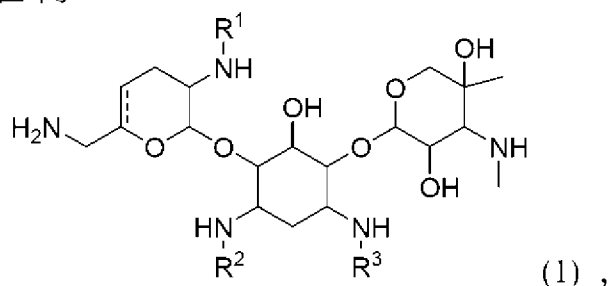
【發明申請專利範圍】

【第1項】

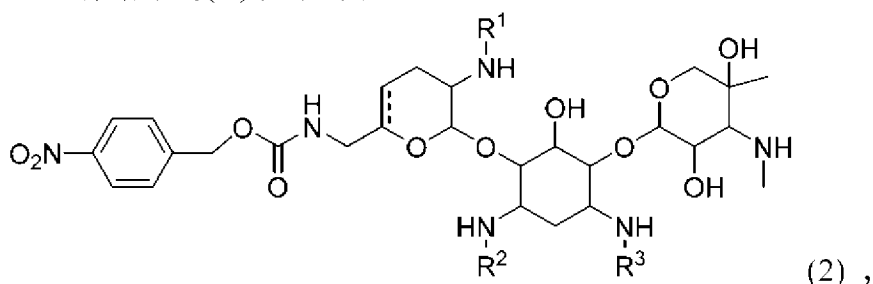
一種用於製備式(2)之普拉唑黴素(plazomicin)中間物化合物或其鹽或其對映異構體之方法，

其包含：

(a) 使式(1)化合物：



或其對映異構體，與1-{[(對-硝基苯甲基)氧基]羰基}-1*H*-苯并三唑(PNZ-Bt)接觸，以形成式(2)化合物：



或其鹽，或其對映異構體；

其中 $\equiv$ 為單鍵或雙鍵；

R^1 為H或C₁-C₃烷基；

R^2 為H或C₁-C₃烷基；及

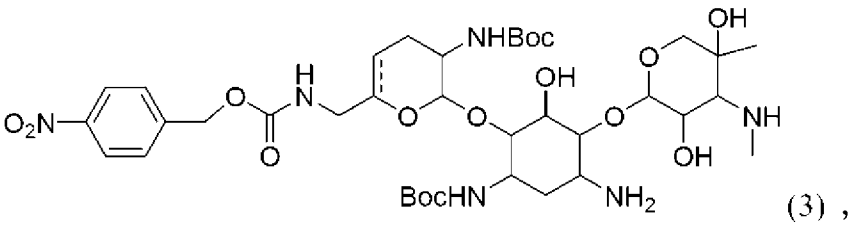
R^3 為H或C₁-C₃烷基。

【第2項】

如請求項1之方法，其進一步包含步驟(b1)或(b2)：

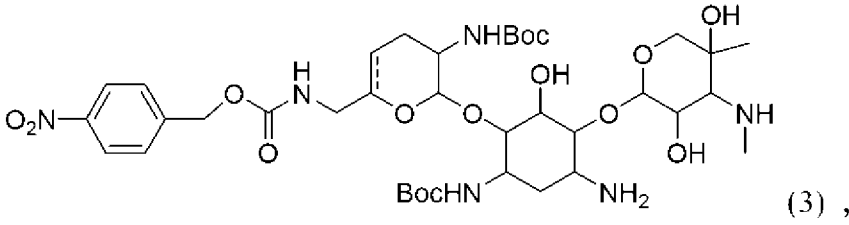
(b1) 其中當 R^1 、 R^2 及 R^3 為H時，使該式(2)化合物與Boc保護基試劑

接觸，得到式(3)化合物：



或其鹽，或其對映異構體；或

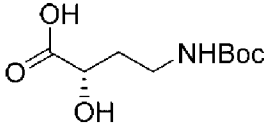
(b2) 其中當R¹、R²或R³中之一或多者獨立地為C₁-C₃烷基時，首先移除該C₁-C₃烷基，且接著使該式(2)化合物，或其鹽，或其對映異構體與Boc保護基試劑接觸，得到式(3)化合物：

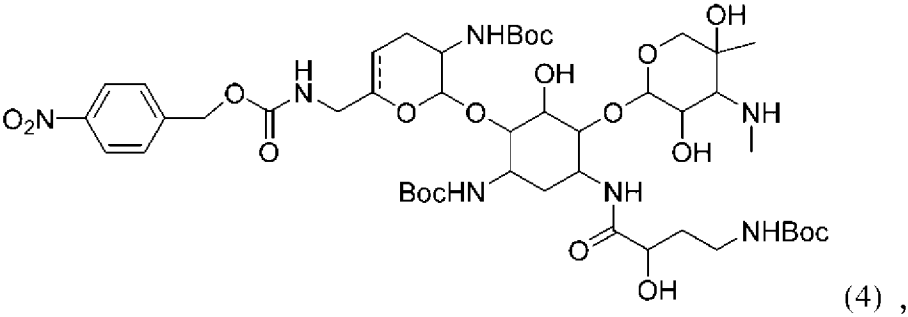


或其鹽，或其對映異構體。

【第3項】

如請求項2之方法，其進一步包含：

(c) 使該式(3)化合物，或其鹽，或其對映異構體與  接觸，得到式(4)化合物：



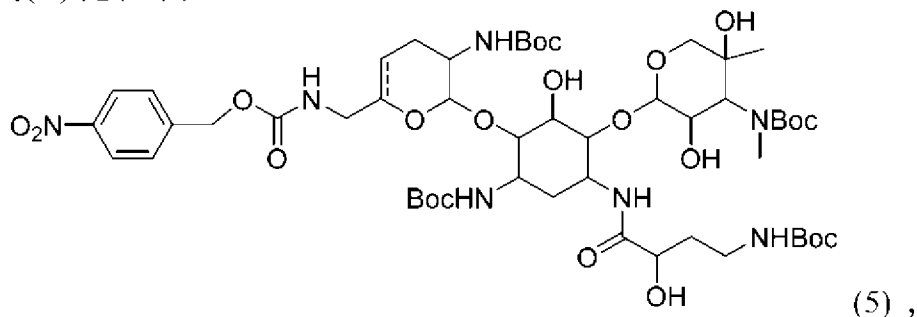
或其鹽，或其對映異構體；任選地，其進一步包含製備式(4)化合物，或其鹽，或其對映異構體之結晶形式；

任選地，其進一步包含分離該式(4)化合物，或其鹽，或其對映異構體。

【第4項】

如請求項3之方法，其進一步包含：

(d) 使該式(4)化合物，或其鹽，或其對映異構體與Boc保護基試劑接觸，得到式(5)化合物：

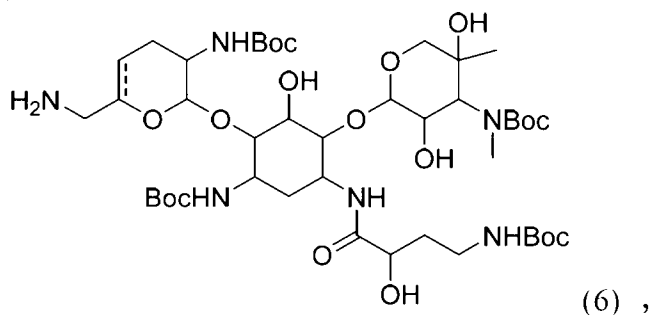


或其鹽，或其對映異構體。

【第5項】

如請求項4之方法，其進一步包含：

(e) 使該式(5)化合物，或其鹽，或其對映異構體與PNZ去保護劑接觸，得到式(6)化合物：



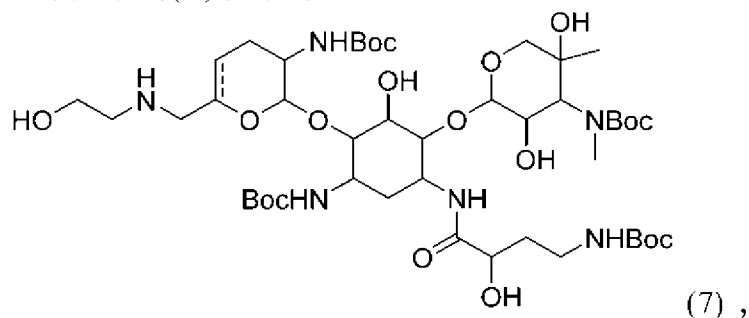
或其鹽，或其對映異構體；任選地，其進一步包含製備式(6)化合物，或其鹽，或其對映異構體之結晶形式；

任選地，其進一步包含分離該式(6)化合物，或其鹽，或其對映異構體。

【第6項】

如請求項5之方法，其進一步包含：

(f) 使該式(6)化合物，或其鹽，或其對映異構體與 $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{LG}^1$ 接觸，其中 LG^1 為脫離基，得到式(7)化合物：



或其鹽，或其對映異構體；

任選地，其進一步包含向反應混合物中添加1,4-二氮雜雙環[2.2.2]辛烷(DABCO)；

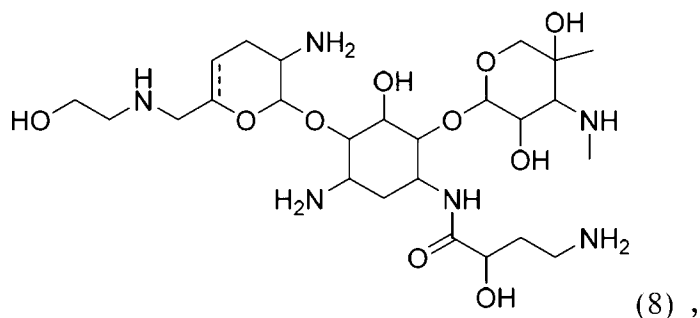
任選地，其進一步包含製備式(7)化合物，或其鹽，或其對映異構體之結晶形式；

任選地，其進一步包含分離該式(7)化合物，或其鹽，或其對映異構體。

【第7項】

如請求項6之方法，其進一步包含：

(g) 使該式(7)化合物，或其鹽，或其對映異構體與Boc移除劑接觸，得到式(8)化合物：



或其鹽，或其對映異構體。

【第8項】

如請求項7之方法，其進一步包含：

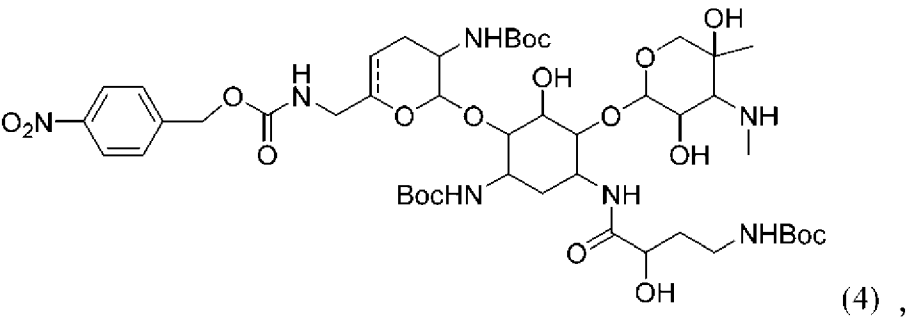
(h) 用酸進行鹽形成，得到式(8)化合物之鹽，或其對映異構體。

【第9項】

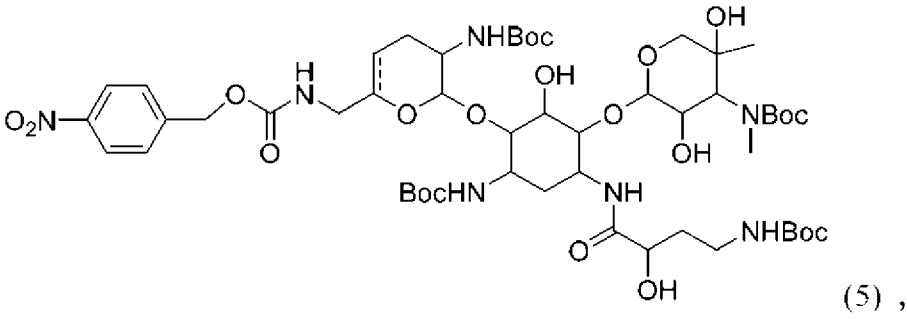
一種用於製備式(5)之普拉唑黴素(plazomicin)中間物化合物或其鹽或其對映異構體之方法，

該方法包含：

(a) 使式(4)化合物：

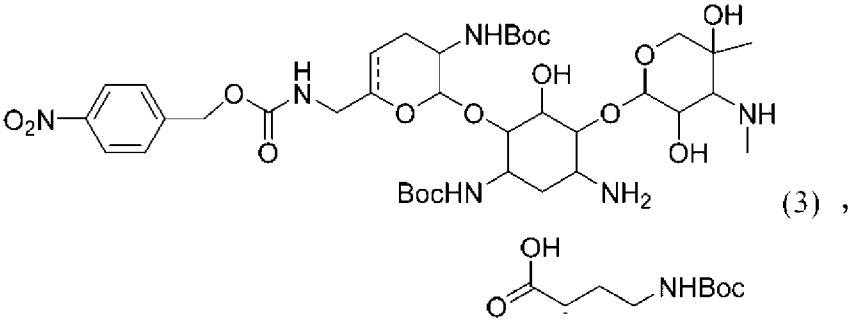


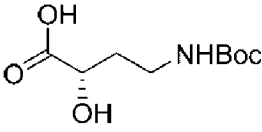
或其鹽，或其對映異構體與Boc保護基試劑接觸來製備式(5)化合物：



或其鹽，或其對映異構體，其中==為單鍵或雙鍵；

任選地，進一步包含：使式(3)化合物：



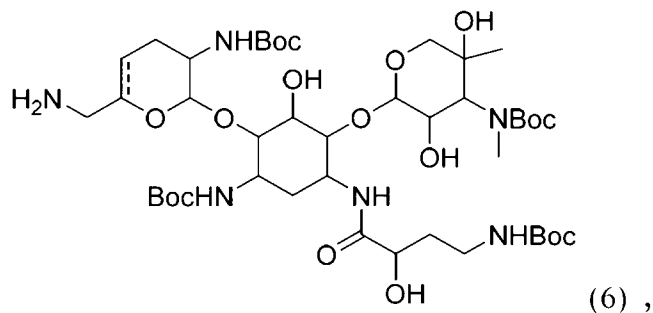
或其鹽，或其對映異構體與接觸來製備式(4)化合物，

或其鹽，或其對映異構體。

【第10項】

如請求項9之方法，其進一步包含：

(e) 使該式(5)化合物，或其鹽，或其對映異構體與PNZ去保護劑接觸，得到式(6)化合物：



或其鹽，或其對映異構體；

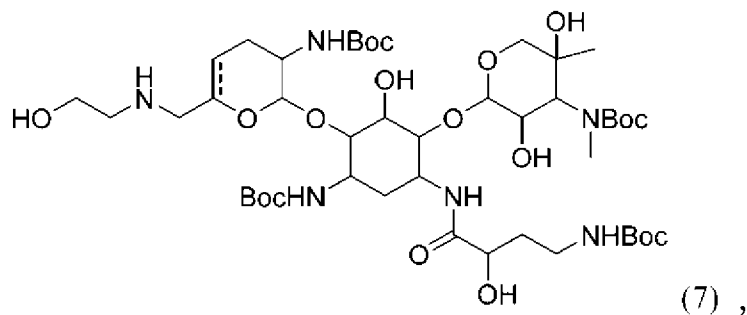
任選地，其進一步包含製備式(6)化合物，或其鹽，或其對映異構體之結晶形式；

任選地，其進一步包含分離該式(6)化合物，或其鹽，或其對映異構體。

【第11項】

如請求項10之方法，其進一步包含：

(f) 使該式(6)化合物與 $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{LG}^1$ 接觸，其中 LG^1 為脫離基，得到式(7)化合物：



或其鹽，或其對映異構體；任選地，其進一步包含向反應混合物中添加1,4-二氮雜雙環[2.2.2]辛烷(DABCO)；

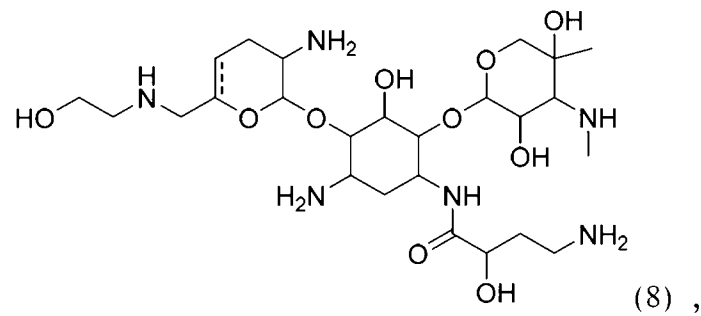
任選地，其進一步包含製備式(7)化合物，或其鹽，或其對映異構體之結晶形式；

任選地，其進一步包含分離該式(7)化合物，或其鹽，或其對映異構體。

【第12項】

如請求項11之方法，其進一步包含：

(g) 使該式(7)化合物，或其鹽，或其對映異構體與Boc移除劑接觸，得到式(8)化合物：



或其鹽，或其對映異構體。

【第13項】

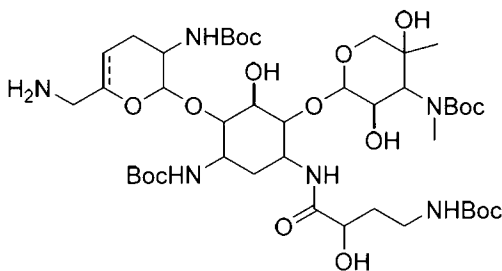
如請求項12之方法，其進一步包含：

(h) 用酸進行鹽形成，得到式(8)化合物之鹽，或其對映異構體。

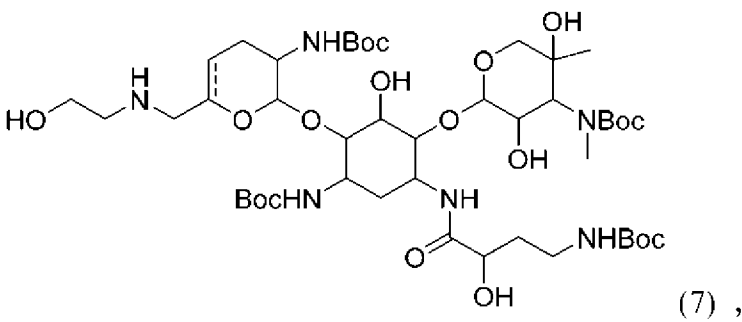
【第14項】

一種用於製備式(7)之普拉唑黴素(plazomicin)中間物化合物或其鹽或其對映異構體之方法，

該方法包含：



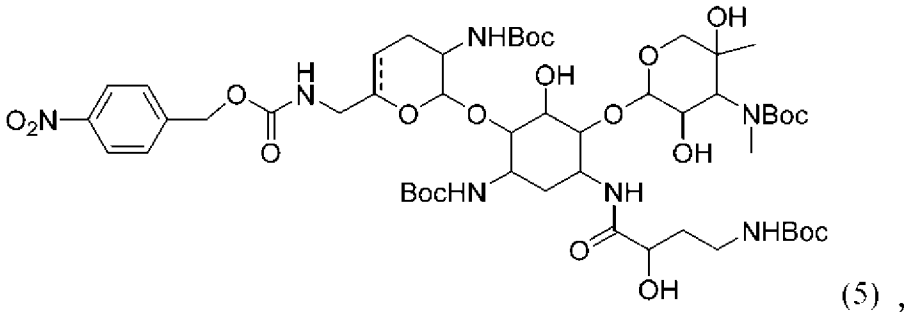
(f) 使式(6)化合物，或其對映異構體與HO-CH₂-CH₂-LG¹接觸，來製備式(7)化合物：



或其鹽，或其對映異構體，其中LG¹為脫離基，且其中==為單鍵或雙鍵；任選地，其進一步包含向反應混合物中添加1,4-二氮雜雙環[2.2.2]辛烷(DABCO)；

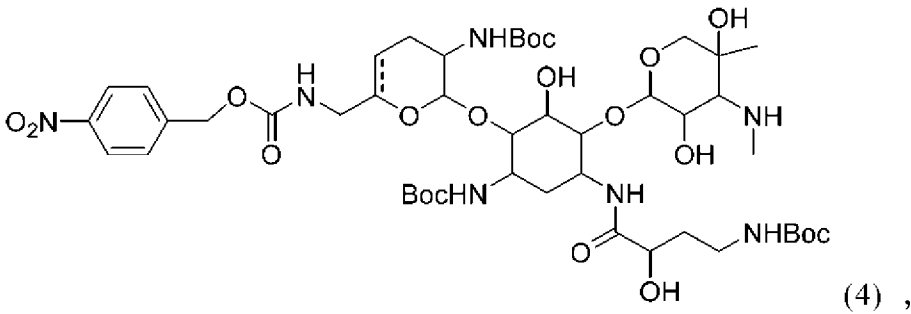
任選地，其進一步包含製備式(7)化合物，或其鹽，或其對映異構體之結晶形式；

任選地，其進一步包含分離該式(7)化合物，或其鹽，或其對映異構體；
任選地，進一步包含：使式(5)化合物：



或其鹽，或其對映異構體與PNZ去保護劑接觸來製備式(6)化合物，或其鹽，或其對映異構體；

任選地，進一步包含：使式(4)化合物：

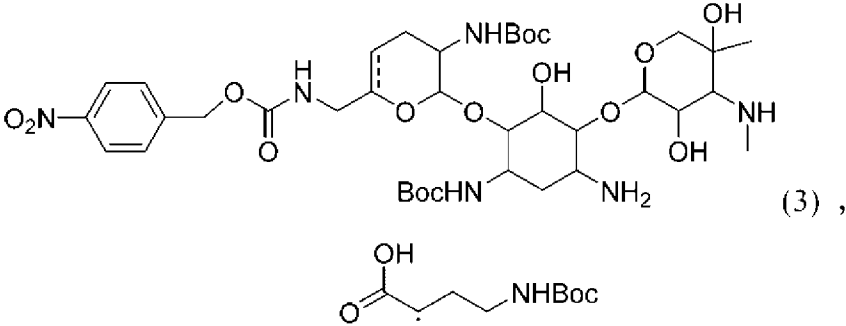


或其鹽，或其對映異構體與Boc保護基試劑接觸來製備式(5)化合物，

或其鹽，或其對映異構體。

【第15項】

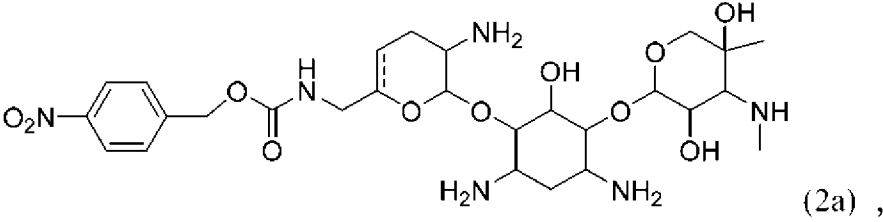
如請求項14之方法，其中，任選地，進一步包含：使式(3)化合物：



或其鹽，或其對映異構體與接觸來製備該式(4)化合物，或其鹽，或其對映異構體；

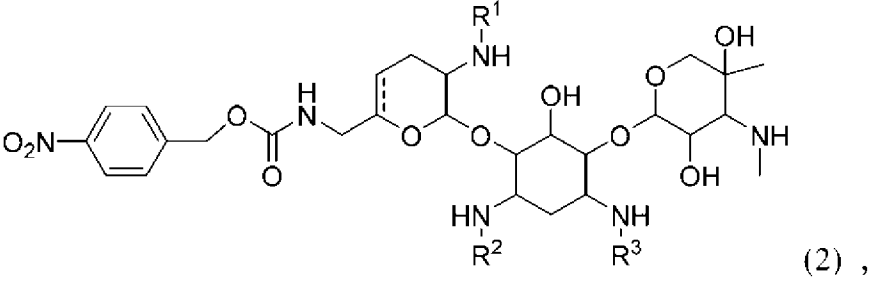
任選地，進一步包含：

(b1) 使式(2a)化合物：



或其鹽，或其對映異構體與Boc保護基試劑接觸；或

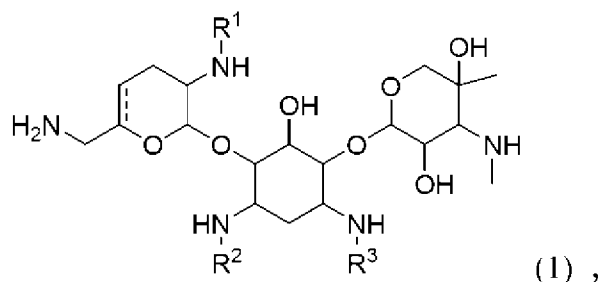
(b2) 移除式(2)化合物，或其鹽，或其對映異構體中之C₁-C₃烷基：



其中R¹為H或C₁-C₃烷基；R²為H或C₁-C₃烷基；且R³為H或C₁-C₃烷基，且其中R¹、R²或R³中之一或多者獨立地為C₁-C₃烷基；及

接著使該式(2)化合物與Boc保護基試劑接觸；來製備該式(3)化合物，或其鹽，或其對映異構體；

任選地，進一步包含：使式(1)化合物：

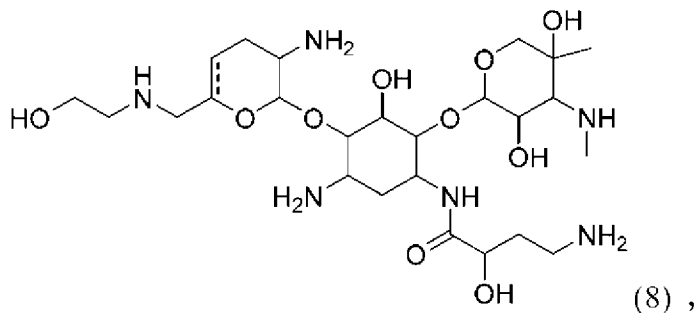


或其對映異構體與1-{[(對-硝基苯甲基)氧基]羰基}-1*H*-苯并三唑(PNZ-Bt)接觸來製備該式(2)化合物，或其鹽，或其對映異構體。

【第16項】

如請求項14至15中任一項之方法，其進一步包含：

(g) 使該式(7)化合物，或其鹽，或其對映異構體與Boc移除劑接觸，得到式(8)化合物：



或其鹽，或其對映異構體。

【第17項】

如請求項16之方法，其進一步包含：

(h) 用酸進行鹽形成，得到式(8)化合物之鹽，或其對映異構體。

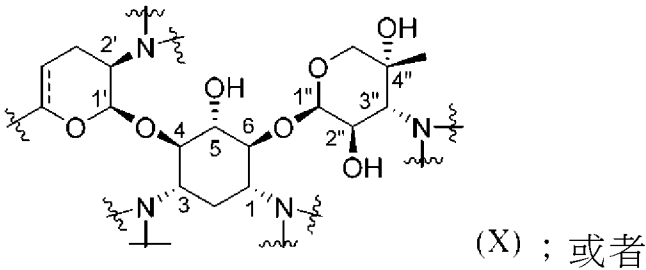
【第18項】

如請求項1至15及17中任一項之方法，其中 $\equiv$ 為雙鍵。

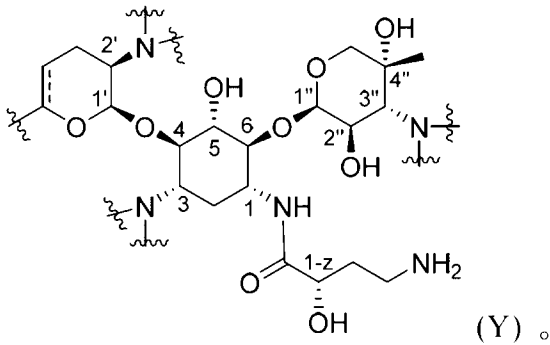
【第19項】

如請求項1至15及17中任一項之方法，其中式(1)-(3)中之碳原子1、3、

4、5、6、1'、2'、1''、2''、3''及4''之立體化學係如式(X)中所示，其中 ~ 指示與氫或一個部分之連接點：



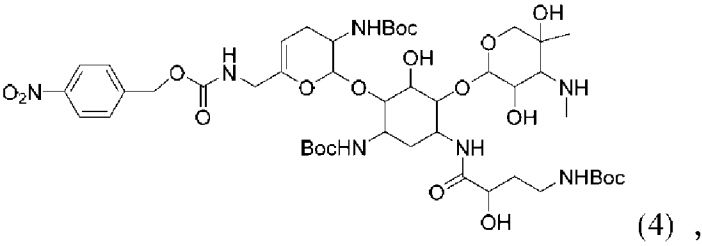
式(4)-(9)中之碳原子1、3、4、5、6、1'、2'、1''、2''、3''、4''及1-z之立體化學係如式(Y)中所示，其中 ~ 指示與氫或一個部分之連接點：



【第20項】

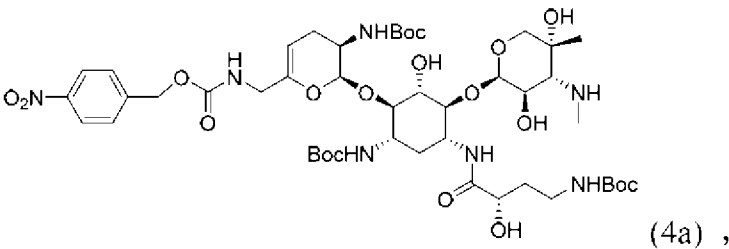
一種普拉唑黴素之中間物，其係選自：

(i)一種式(4)化合物，



或其鹽，或其對映異構體；或者

(ii)一種式(4a)化合物，

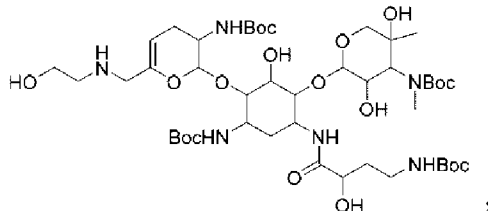


或其鹽；或者

(iii) 一種結晶((2S,3R)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R,4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-呓喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-6-((((4-硝基苯甲基)氧基)羰基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-呓喃-3-基)胺基甲酸第三丁酯，式(4a)；或者

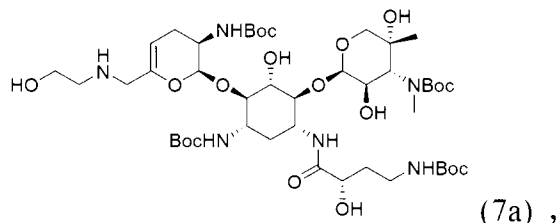
(iv) 一種結晶((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S,3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-呓喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-呓喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(6a)；或者

(v) 一種式(7)化合物：



或其鹽，或其對映異構體；或者

(vi) 一種式(7a)化合物：



或其鹽；或者

(vii) 一種結晶((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-呓喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(8a)；或者

基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-(((2-羥基乙基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-哌喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯，式(7a)。

【第21項】

一種普拉唑黴素中間物之製備方法，其係選自：

(i) 一種用於製備結晶((2S,3R)-2-(((1R,2S,3S,4R,6S)-6-((第三丁氧基羰基)胺基)-4-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2R,3R, 4R,5R)-3,5-二羥基-5-甲基-4-(甲基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-6-((((4-硝基苯甲基)氧基)羰基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-哌喃-3-基)胺基甲酸第三丁酯式(4a)之方法，其包含：

- (a) 用乙腈處理式(4a)，或其鹽，以產生溶液；
- (b) 加熱步驟(a)之溶液；
- (c) 向該步驟(b)之加熱溶液中添加水；
- (d) 冷卻步驟(c)之溶液；
- (e) 晶種加入步驟(d)之溶液中；及
- (f) 分離所得固體，得到結晶式(4a)；或者

(ii) 一種用於製備結晶((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-3-(((2S, 3R)-6-(胺基甲基)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-3,4-二氫-2H-哌喃-2-基)氧基)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-哌喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯式(6a)之方法，其包含：

- (a) 用乙酸異丙酯(IPAc)處理式(6)，或其鹽，以產生溶液；

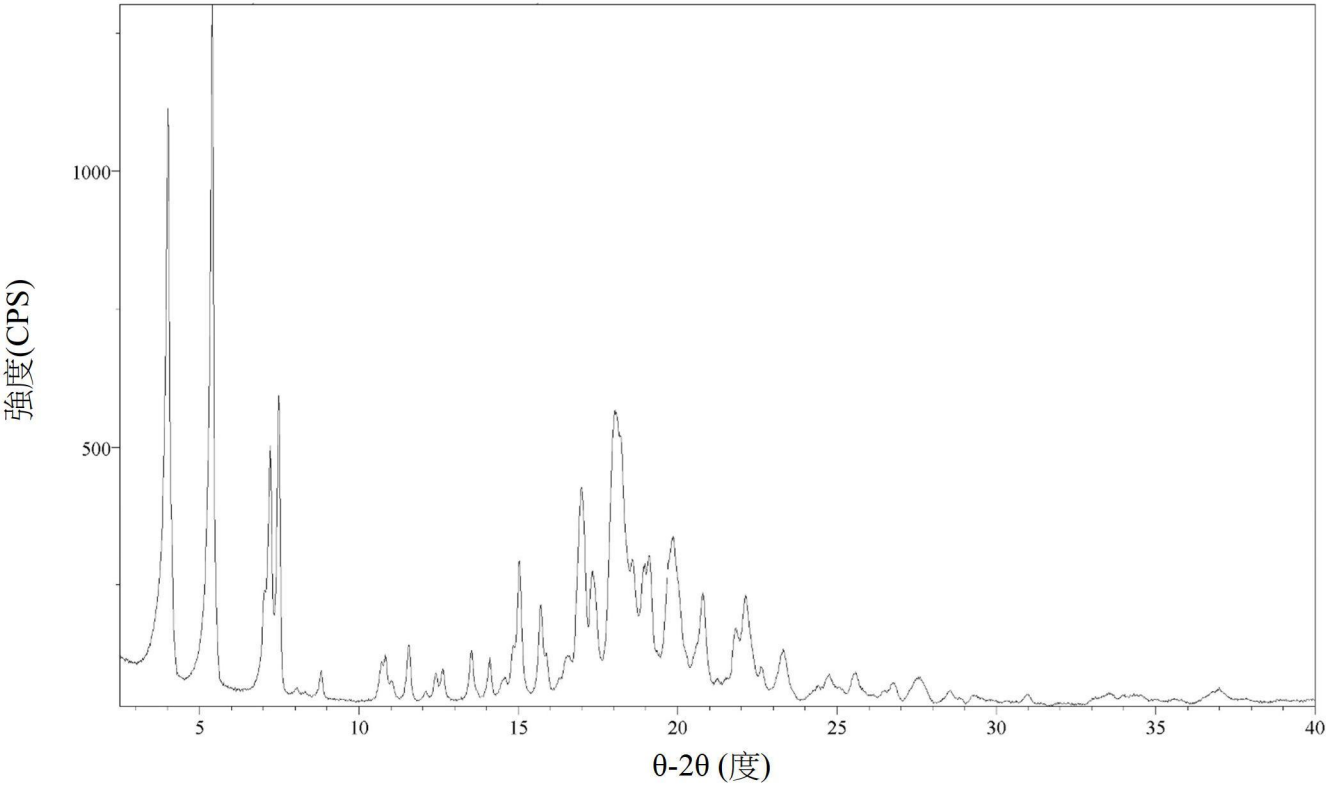
- (b) 向該步驟(a)之溶液中添加水，以產生混合物；
- (c) 向步驟(b)之混合物中添加二氯甲烷以產生混合物；
- (d) 晶種加入步驟(c)之混合物中；
- (e) 分離所得固體，得到結晶式(6a)；

或者

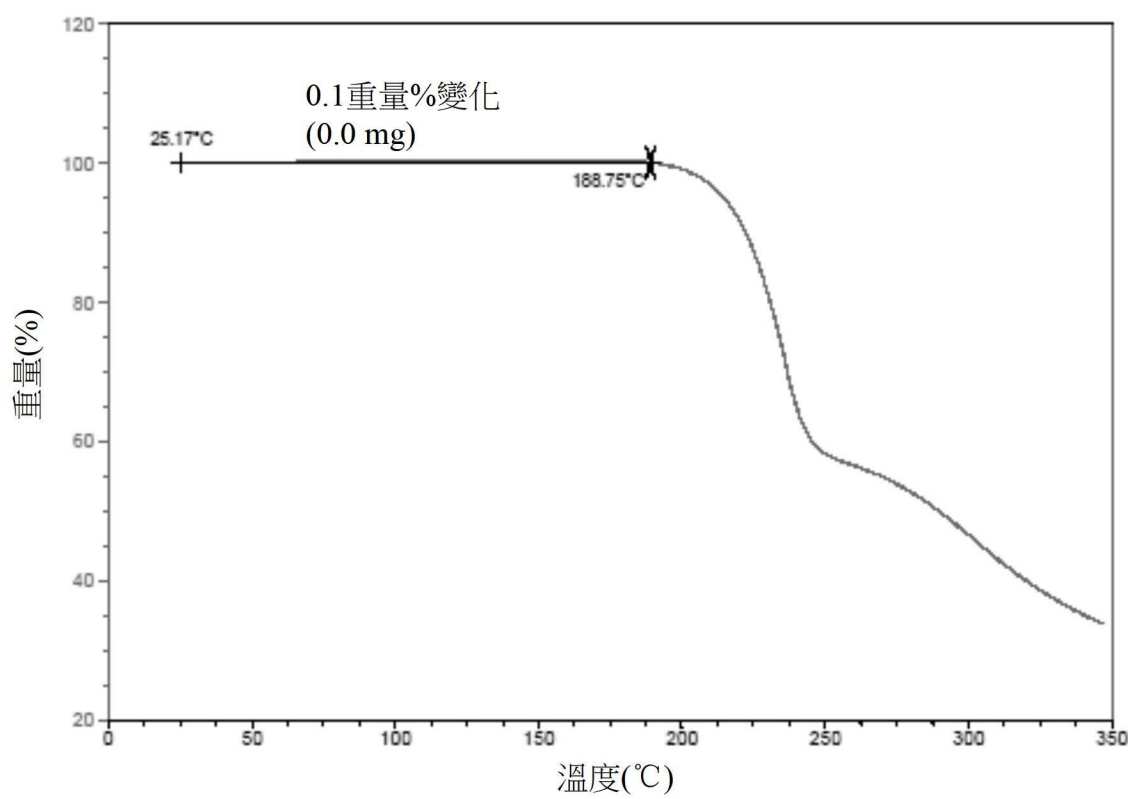
(iii)一種用於製備結晶((2R,3R,4R,5R)-2-(((1S,2S,3R,4S,6R)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-((S)-4-((第三丁氧基羰基)胺基)-2-羥基丁醯胺基)-3-(((2S,3R)-3-((第三丁氧基羰基)胺基)-6-(((2-羥基乙基)胺基)甲基)-3,4-二氫-2H-吡喃-2-基)氧基)-2-羥基環己基)氧基)-3,5-二羥基-5-甲基四氫-2H-吡喃-4-基)(甲基)胺基甲酸第三丁酯式(7a)之方法，其包含：

- (a) 用乙酸異丙酯(IPAc)處理式(7a)，或其鹽，以產生溶液；
- (b) 向該步驟(a)之溶液中添加乙腈，以產生混合物；
- (c) 晶種加入步驟(b)之混合物中；
- (d) 分離所得固體，得到結晶式(7a)。

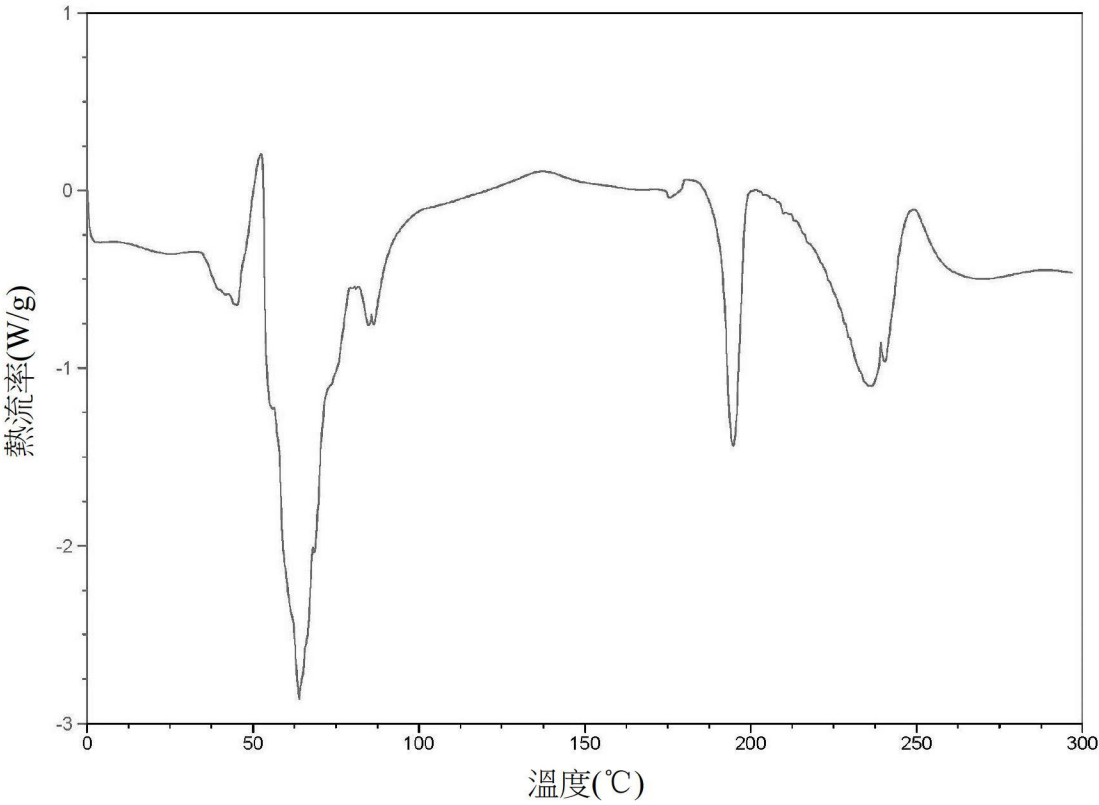
【發明圖式】



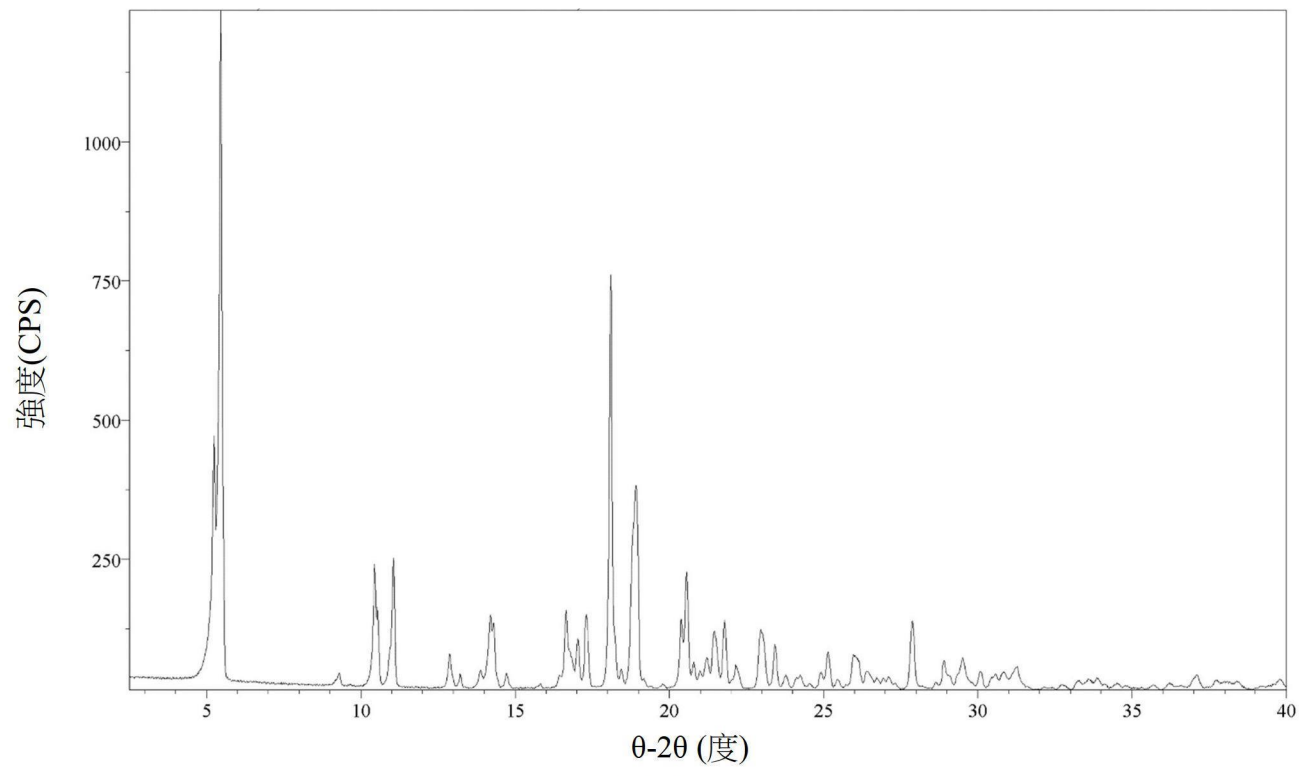
【圖1】



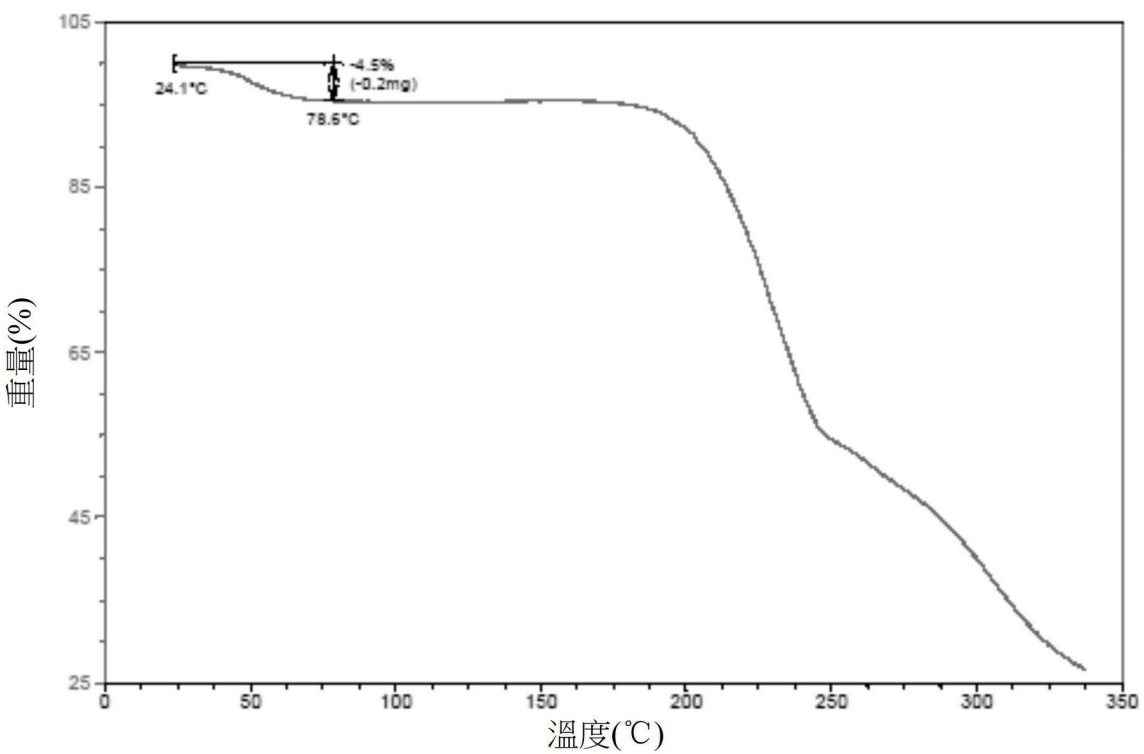
【圖2】



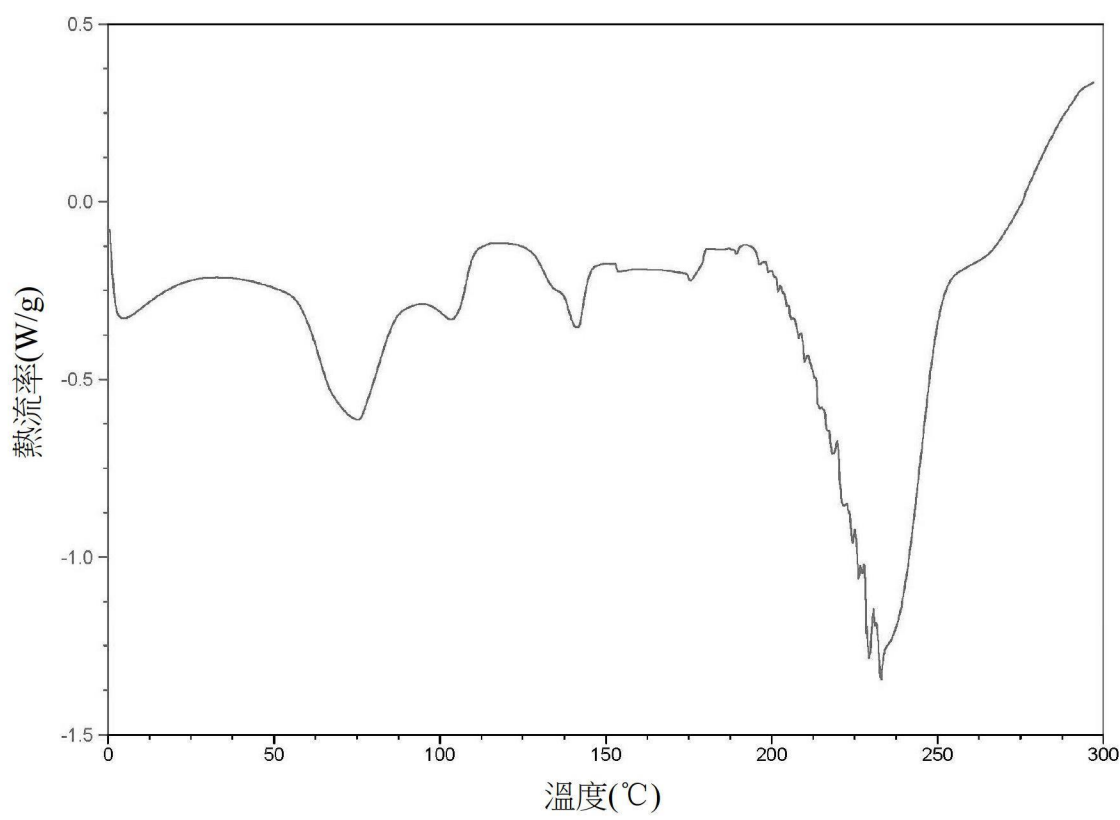
【圖3】



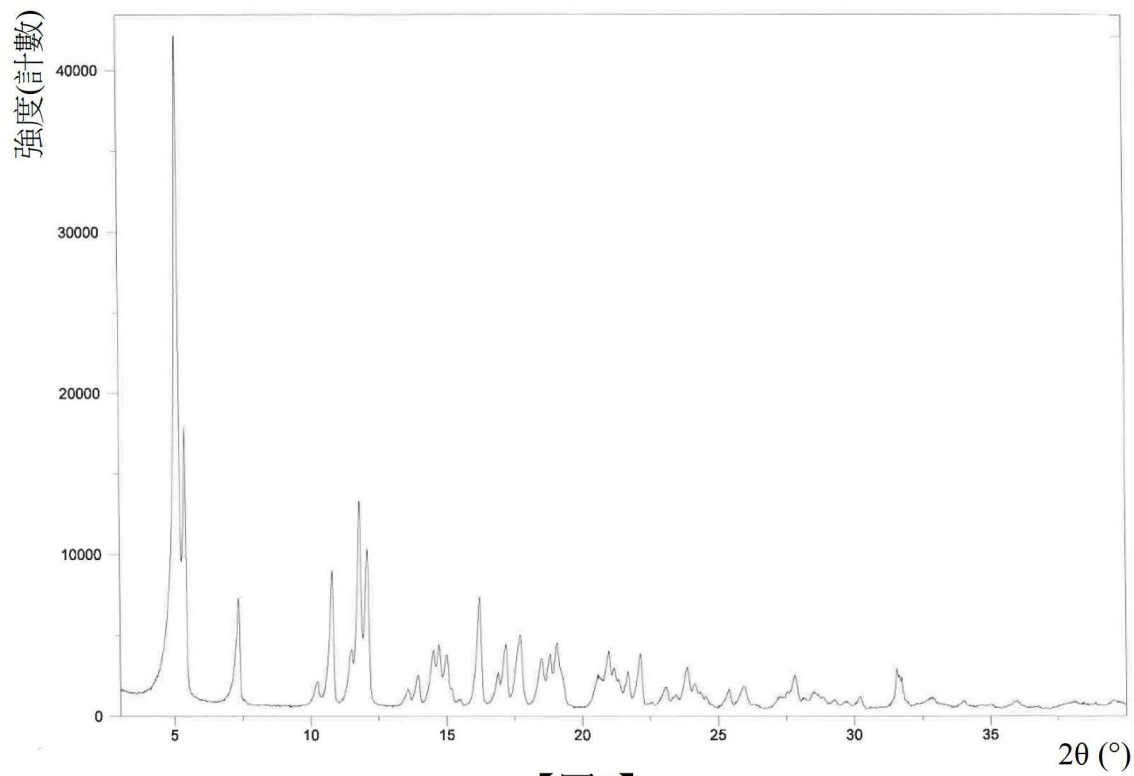
【圖4】



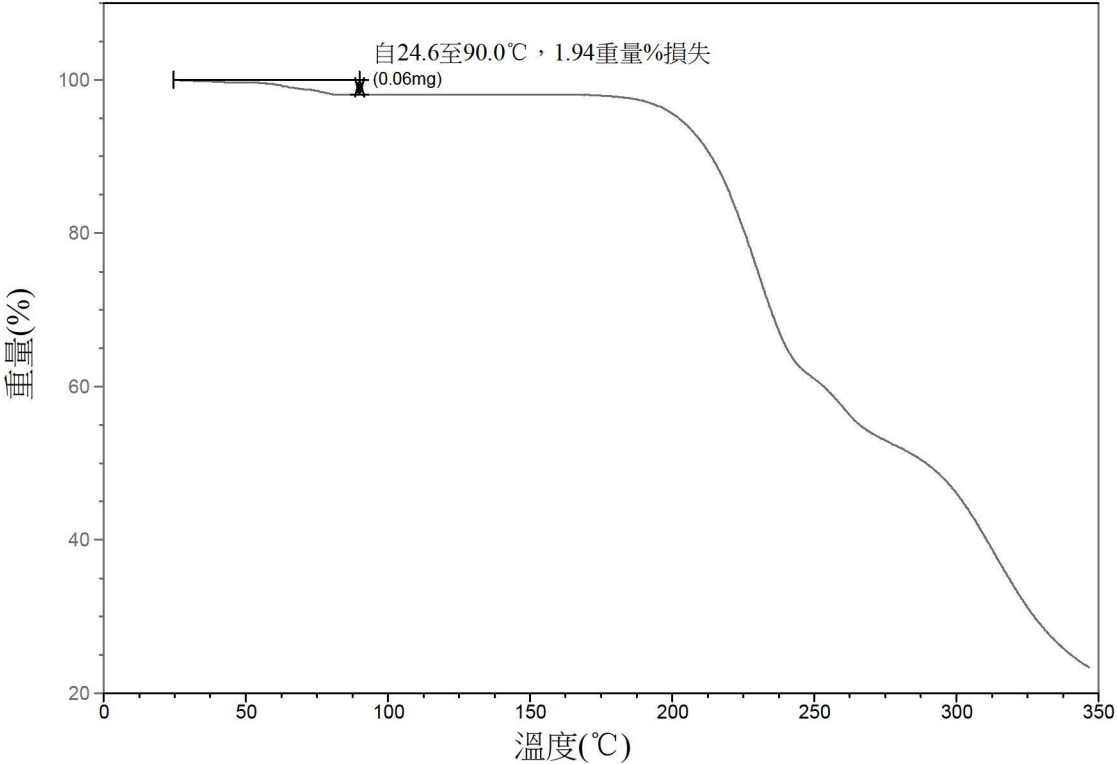
【圖5】



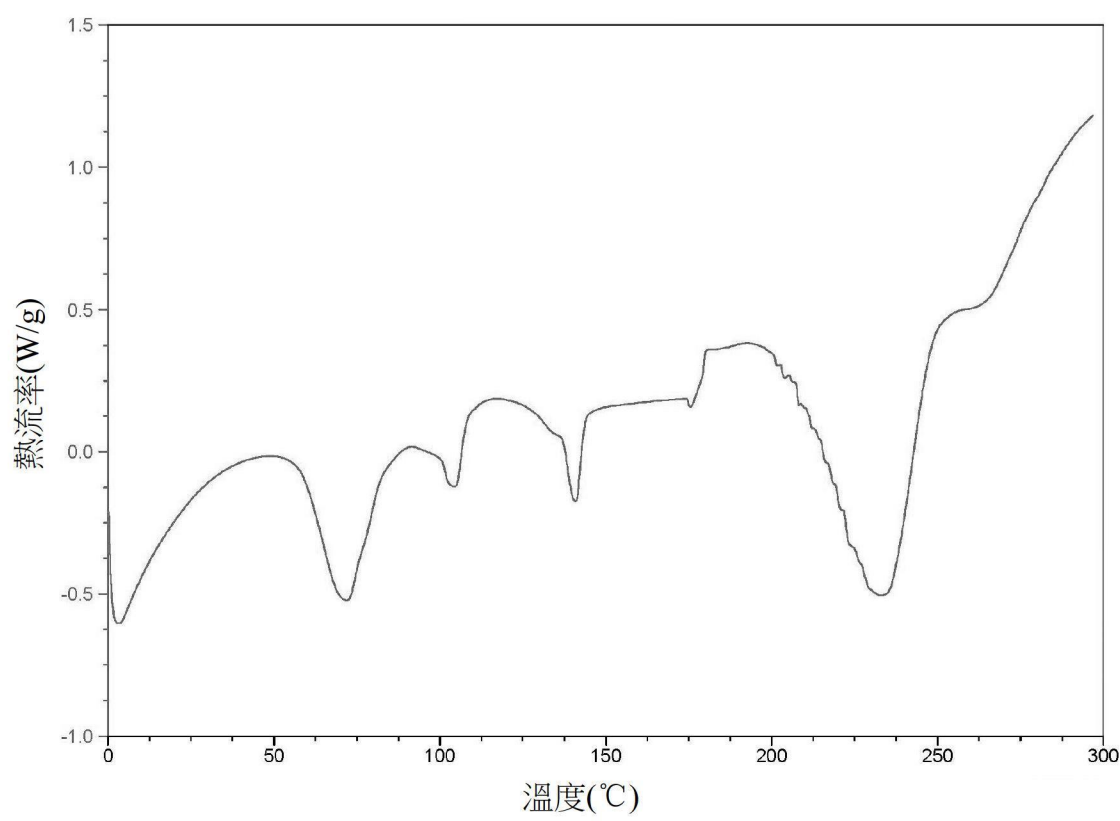
【圖6】



【圖7】



【圖8】



【圖9】

3