



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201408682 A

(43)公開日：中華民國 103 (2014) 年 03 月 01 日

(21)申請案號：101130353

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 08 月 22 日

(51)Int. Cl. : **C07F9/6561 (2006.01)**

(71)申請人：中化合成生技股份有限公司 (中華民國) (TW)

新北市樹林區東興街 1 號

(72)發明人：李光宗 (TW)；董彥士 (TW)；李慈愛 (TW)；施妤璇 (TW)

(74)代理人：黃世興

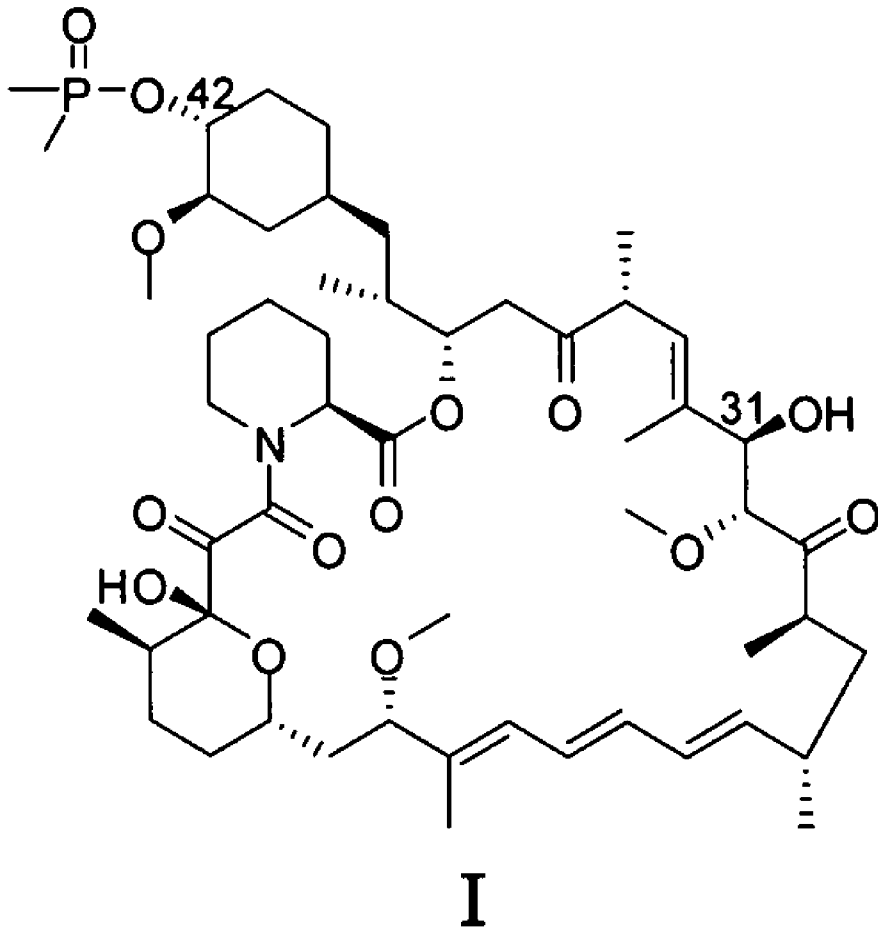
申請實體審查：有 申請專利範圍項數：8 項 圖式數：0 共 26 頁

(54)名稱

高轉化率之 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素的製備方法

(57)摘要

本發明係提供一個高轉化率與無 31,42-雙-二甲基磷酯化合物(III)副產物產生的 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(Ridaforolimus,I)之合成方法。首先以雷帕霉素(Rapamycin,II)為起始物，在鹼性條件下與氯三乙基矽烷反應，先形成雷帕霉素 31,42-雙-三乙基矽烷醚(IV-b)，接著選擇性去保護得到雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(V-b)，兩步驟其轉化率皆高於 98%，而且兩步驟之總產率高於 93%。接著在鹼性下與二甲基氯氧化磷進行磷酯化反應，其轉化率高於 98%，且粗產物純度即有 97%(面積百分比，area%)，說明此反應有極高的轉化率，相當適合工業生產。最後以稀硫酸水溶液進行去保護反應，此反應除了轉化率高於 98%，且反應相當乾淨，42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(I)粗產物的純度達 95%(面積百分比，area%)以上，使分離純化工作相當容易，相當適合工業生產。本方法於製程的每一步驟轉化率皆高於 98%，說明此製程相當適合工業生產。



# 發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：101130353

※申請日：101. 8. 22

※IPC 分類：C07F 9/6561 (2006.01)

一、發明名稱：高轉化率之 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素的製備方法

二、中文發明摘要：

本發明係提供一個高轉化率與無 31,42-雙-二甲基磷酯化合物(III) 副產物產生的 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(Ridaforolimus, I)之合成方法。首先以雷帕霉素(Rapamycin, II)為起始物，在鹼性條件下與氯三乙基矽烷反應，先形成雷帕霉素 31,42-雙-三乙基矽烷醚(IV-b)，接著選擇性去保護得到雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(V-b)，兩步驟其轉化率皆高於 98%，而且兩步驟之總產率高於 93%。接著在鹼性下與二甲基氯氧化磷進行磷酯化反應，其轉化率高於 98%，且粗產物純度即有 97% (面積百分比, area%)，說明此反應有極高的轉化率，相當適合工業生產。最後以稀硫酸水溶液進行去保護反應，此反應除了轉化率高於 98%，且反應相當乾淨，42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(I)粗產物的純度達 95%(面積百分比, area%)以上，使分離純化工作相當容易，相當適合工業生產。本方法於製程的每一步驟轉化率皆高於 98%，說明此製程相當適合工業生產。

三、英文發明摘要：

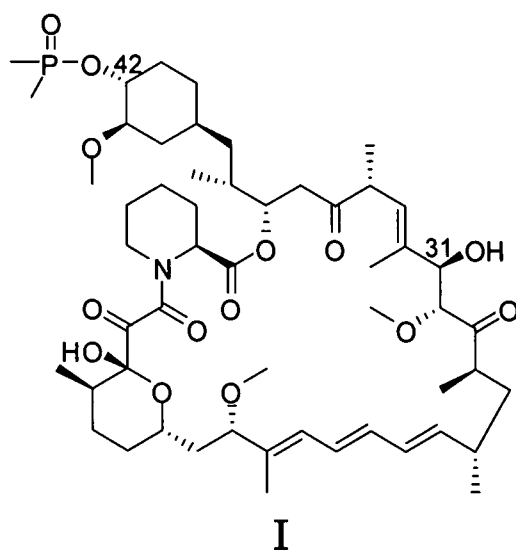
四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 ( ) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

無

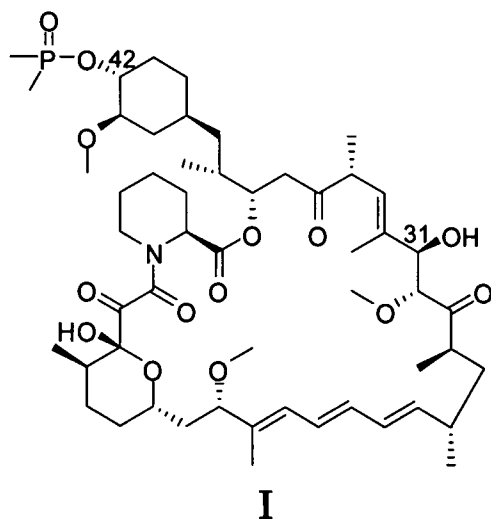
五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：



## 六、發明說明：

## 【發明所屬之技術領域】

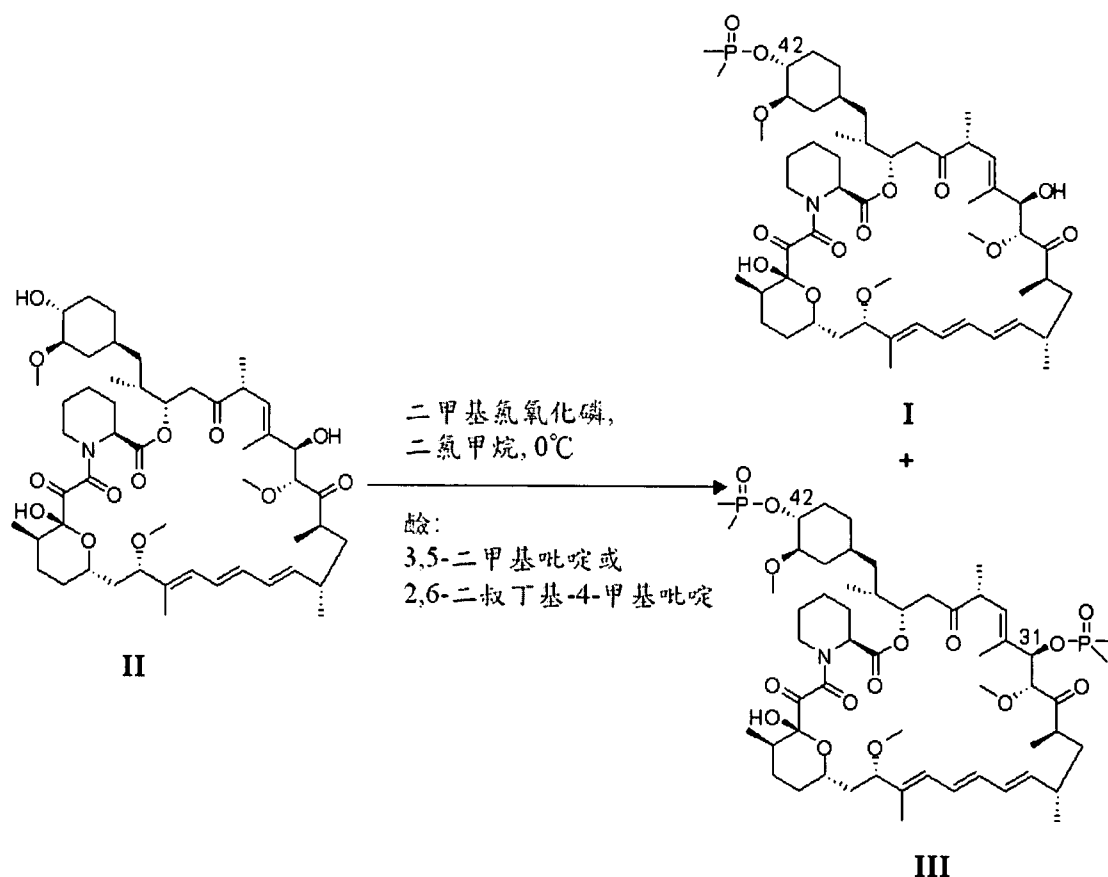
本發明係有關一種製備 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素 (Ridaforolimus, I)如圖一所示的新方法：



圖一

最早 mTOR(mammalian Target of Rapamycin, 雷帕霉素之哺乳類動物細胞的標靶)的被發現是經由對雷帕霉素(Rapamycin, II)這個藥物的研究而來，而 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(I)係為雷帕霉素(II)的衍生物，它也是一種 mTOR(雷帕霉素在哺乳類動物細胞的標靶)抑制劑，可停止細胞分裂，並可能導致癌細胞死亡，其正研究其他時體腫瘤和血液癌症的治療，而且 Merck 在 2011 年針對此化合物用於晚期軟骨組織及骨癌申請新藥許可。

## 【先前技術】



流程圖一

美國專利 7091213 中發表 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(I)的製造方法，如流程圖二所示，係以雷帕霉素(Rapamycin, II)為起始物，在二氯甲烷為溶劑，分別以 2,6-二叔丁基-4-甲基吡啶 (2,6-Di-*tert*-butyl-4-methylpyridine) 或 3,5-二甲基吡啶 (3,5-lutidine) 為鹼之條件下，反應於氮氣系統且為 0°C 下與二甲基氯氧化磷(Dimethylphosphinic chloride, DMP-Cl)進行磷酯化反應，並經由快速快速管柱層析(Flash Chromatography)，以(甲醇/二氯甲烷/乙酸乙酯/正己烷)為(1:10:3:3)之比例的混合溶液為沖提液之分離純化，最後可得於雷帕霉素(II)之 42-羥基位置

進行磷酯化反應的 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(I)。同時此專利內文中也報導此反應會產生雷帕霉素(II)之 42-羥基與 31-羥基位置均進行磷酯化反應之 31,42-雙-二甲基磷酯的化合物(III)副產物產生。

### 【發明內容】

先前技術如美國專利 7091213 中所述及 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(I)的製造方法，如流程圖一所示，且在其實施例所報導，反應於氮氣系統且為 0°C 下以雷帕霉素(II) (0.1g)，在二氯甲烷為溶劑，使用的鹼是 2,6-二叔丁基-4-甲基吡啶為 7.5 當量與二甲基氯氧化磷(DMP-Cl) 5 當量之條件下進行磷酯化反應，反應 3.5 小時，並經由快速管柱層析(Flash Chromatography)，以甲醇:二氯甲烷:乙酸乙酯:正己烷=1:10:3:3 之比例的混合溶液為沖提液之分離純化，最後可得 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(I) 0.092 克。另外報導相似的反應條件而使用的鹼為 3,5-二甲基吡啶(3,5-lutidine) 在 2.2 當量，且二甲基氯氧化磷(DMP-Cl)使用 2 當量之條件下，與雷帕霉素(II)進行磷酯化反應，但內容未說明其轉化率和收率。因此本發明參照此報導之實施例內容，分別嘗試以雷帕霉素(II)為起始物，鹼係為 2,6-二叔丁基-4-甲基吡啶(2,6-Di-*tert*-butyl-4-methylpyridine) 7.5 當量與二甲基氯氧化磷(DMP-Cl) 5 當量之條件下進行磷酯化反應，反應於氮氣系統且為 0°C 下反應 3.5 小時，其轉化率

達>98%，但是 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(I)之粗產物經用高壓液相層析儀(HPLC)，其分析方法為(層析系統 I)，其結果顯示會有 31,42-雙-二甲基磷酯的化合物(III)產生，且 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(I)：31,42-雙-二甲基磷酯的化合物(III) 比例為(96.8：3.2)。另外鹼係為 3,5-二甲基吡啶(3,5-lutidine) 2.2 當量，而 2.0 當量的二甲基氯氧化磷(DMP-Cl)之條件下進行磷酯化反應，反應於氮氣系統且為 0°C 下反應 1.5 小時，其轉化率只有 8.48%，同時會有 31,42-雙-二甲基磷酯的化合物(III)產生，且 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(I)：31,42-雙-二甲基磷酯的化合物(III) 比例為(96.92：2.92)；因此在相同反應條件下增加二甲基氯氧化磷(DMP-Cl)之使用量為 5.0 當量，則尚有 5.75% 之起始物未反應，轉化率達 94.25%，同時 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(I)：31,42-雙-二甲基磷酯的化合物(III) 比例為(98.87：1.14)。

高壓液相層析儀之分析方法(層析系統 I):

管柱:YMC Hydrosphere C18 column, 250× 4.6 mm I.D. S-3  $\mu$  m, 12nm;

管柱溫度: 45°C;洗提液 A: 乙腈(Acetonitrile);洗提液 B: 0.02M 甲酸銨(Ammomium formate)水溶液並以甲酸(formic acid)調至 pH 4.0;

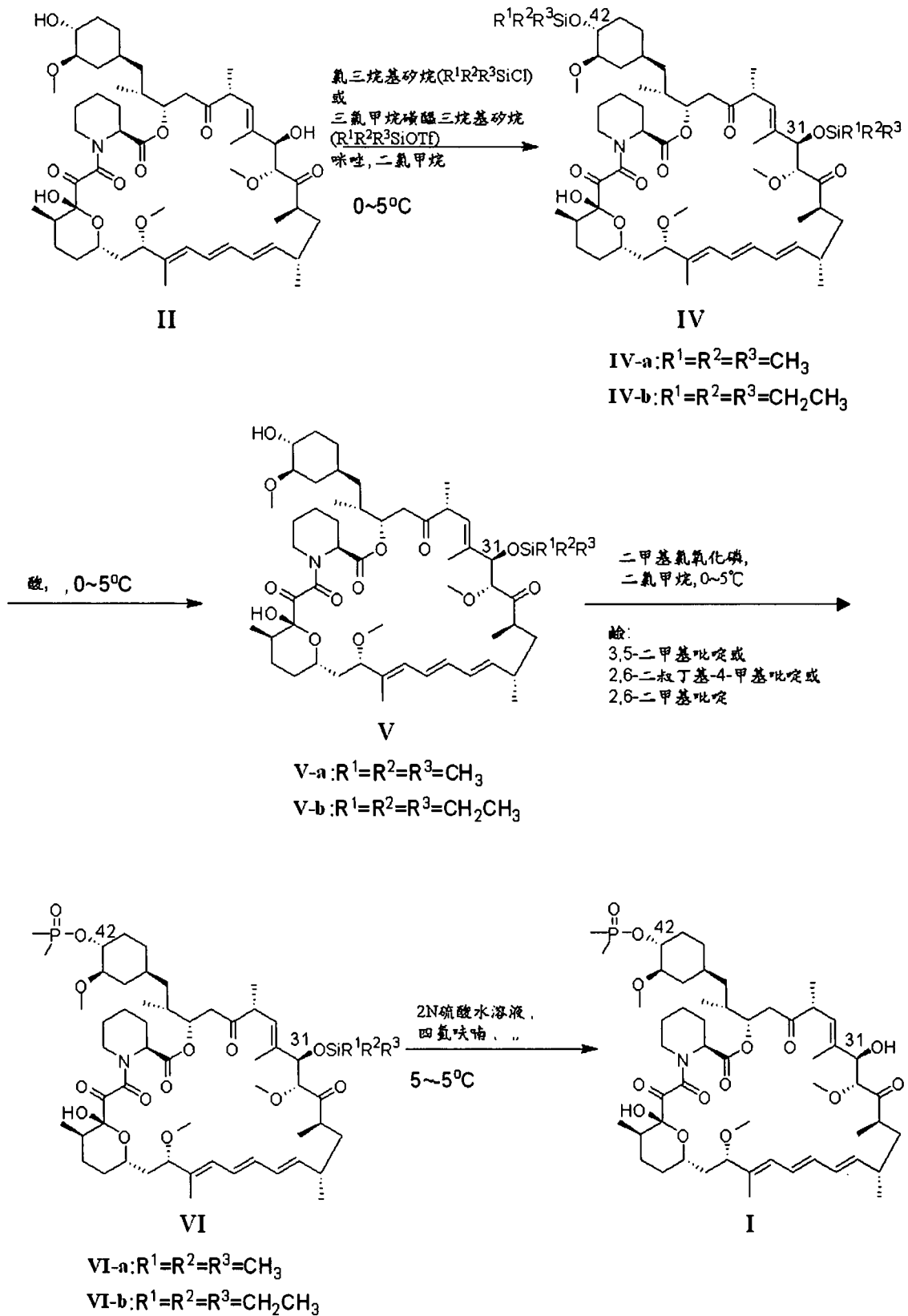


梯度程序(Gradient program):

時間 (分)	洗提液 A (%)	洗提液 B (%)
0	60	40
20	60	40
30	95	5
40	95	5
45	60	40
55	60	40

相對滯留時間(relative retention time, RRT):化合物 VI-a 為 1.0, 化合物 V-a 為 0.958, 化合物 I 為 0.756 和化合物 III 為 0.595 .

先前技術之報導經上述實驗說明，在鹼係為 2,6-二叔丁基-4-甲基吡啶的實驗轉化率才能大於 98%，此實驗除了使用價位高的 2,6-二叔丁基-4-甲基吡啶達 7.5 當量，同時二甲基氯氧化磷的使用量也要 5 當量，另外會有 31,42-雙-二甲基磷酯的化合物(III) 之副產物的產生，會提高純化程序的難度。而鹼使用 3,5-二甲基吡啶，且與報導實施例相同條件下其轉化率小於 10%，也會有 31,42-雙-二甲基磷酯的化合物(III) 之副產物生成，而增加二甲基氯氧化磷(DMP-Cl)之使用量至 5.0 當量，轉化率達 94.25%，但相同的會有 31,42-雙-二甲基磷酯的化合物(III)之副產物生成，會增加純化程序的難度。有鑑於此，本發明係提供一個高轉化率與無 31,42-雙-二甲基磷酯的化合物(III) 之副產物產生的 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(Ridaforolimus, I) 之合成方法，如流程圖二所示。



流程圖二

步驟一與步驟二係以雷帕霉素(Rapamycin, II)為起始物，在咪唑(imidazole)之鹼性條件下，可以與氯三烷基矽烷( $R^1R^2R^3SiCl$ )或三氟甲烷磺醯三烷基矽烷( $R^1R^2R^3SiOSO_2CF_3$ ;  $R^1R^2R^3SiOTf$ )之矽烷化合物反應，先形成雷帕霉素 31,42-雙-三烷基矽烷醚(IV)，接著在酸性條件下選擇性去保護得到雷帕霉素-31-三烷基矽烷醚(V)。

本發明首先以氯三乙基矽烷進行反應先形成雷帕霉素 31,42-雙-三乙基矽烷醚(IV-b)，接著以醋酸水溶液進行選擇性去保護得到雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(V-b)，兩步驟其轉化率皆高於 98%，而且兩步驟之總產率高於 93%。若以氯三甲基矽烷進行反應先形成雷帕霉素 31,42-雙-三甲基矽烷醚(IV-a)，接著直接選擇性去保護得到雷帕霉素-31-三甲基矽烷醚(V-a)，而起始物雷帕霉素(II) (2.5 克)，可得雷帕霉素-31-三甲基矽烷醚(V-a) (2.758 克)，經高壓液相層析儀分析顯示含有 94.5%(於面積百分比)之雷帕霉素-31-三甲基矽烷醚(V-a)但含有 5.5%之雷帕霉素(II)。

步驟三係先以雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(V-b)在於二氯甲烷為溶劑，分別在 3,5-二甲基吡啶(3,5-lutidine)、2,6-二叔丁基-4-甲基吡啶(2,6-Di-*tert*-butyl-4-methylpyridine)或 2,6-二甲基吡啶(2,6-lutidine)為鹼之使用 2.2 當量數的條件下，反應於氮氣系統且為 0°C 下與二甲基氯氧化磷(Dimethylphosphinic chloride, DMP-Cl)之使用不同當量數進行磷酯化反應，反應追蹤係使用

高壓液相層析儀(HPLC)，其分析方法為(層析系統 I)，最後分析可得到 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(VI-b)與起始物的轉化比例之轉化率，結果如表一所示。

表一 使用不同的鹼與使用不同當量數二甲基氯氧化磷之磷酯化反應的轉化率

項次	鹼 (Base)	二甲基氯氧化磷 (當量)	時間 (小 時)	轉化率
1	3,5-二甲基吡啶	3	2	90%
2	3,5-二甲基吡啶	4	2	>98%
3	2,6-二叔丁基-4-甲基吡啶	3	3	<90%
4	2,6-二叔丁基-4-甲基吡啶	4	3	>98%
5	2,6-二甲基吡啶	3	1.5	46%
6	2,6-二甲基吡啶	4	1.5	62%

如表一結果所示，第 1~2 實驗之鹼係為 3,5-二甲基吡啶(3,5-lutidine)在相同的使用量之 2.2 當量，分別使用 3 與 4 當量的二甲基氯氧化磷與起始物雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(V-b)進行磷酯化反應，使用 3 當量的二甲基氯氧化磷的反應其轉化率只有 90%，但是使用 4 當量的二甲基氯氧化磷的反應其轉化率高達 98%。由此可知此方法有極高的轉化率，而且無 31,42-雙-二甲基磷酯的化合物(III)之副產物產生。

如表一結果所示，第 3~4 實驗之鹼係為 2,6-二叔丁基-4-甲基吡啶(2,6-Di-*tert*-butyl-4-methylpyridine)在相同的使用量之 2.2 當量，分別使用 3 與 4 當量的二甲基氯氧化磷與起始物雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(V-b)進行磷酯化反應，使用 3 當量的二甲基氯氧化磷的反應其轉化率只有<90%，但是使用 4 當量

的二甲基氯氧化磷的反應其轉化率高達 98%，而且起始物使用 375 毫克之雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(V-b)在於二氯甲烷為溶劑，最後得到之 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(VI-b)的粗產物分析結果分別是(0.43g, 純度 96.66%)，同時無 31,42-雙-二甲基磷酯的化合物(III)生成，由此可知此方法也有極高的轉化率，而且無 31,42-雙-二甲基磷酯的化合物(III)之副產物產生。

如表一結果所示，第 5~6 實驗之鹼係為 2,6-二甲基吡啶(2,6-lutidine)，在相同的使用量之 2.2 當量 2,6-二甲基吡啶，分別使用 3 與 4 當量的二甲基氯氧化磷與起始物雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(V-b)進行磷酯化反應，其轉化率分別為 46%和 62%，同時無 28,43-雙-二甲基磷酯的化合物(III)生成，4 當量的二甲基氯氧化磷所進行之磷酯化反應，轉化率雖然 62%，相同無 31,42-雙-二甲基磷酯的化合物(III)之副產物產生。

本發明採用雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(V-b)為起始物，如表一所示，無論鹼為 2,6-二叔丁基-4-甲基吡啶或 3,5-二甲基吡啶，使用量只需 2.2 當量，而二甲基氯氧化磷 4 當量的條件下，起始物即可完全轉化成產物，除了顯示有高的轉化率外，同時沒有 31,42-雙-二甲基磷酯的化合物(III)之副產物生成。有鑒於此，本發明選擇較便宜的 3,5-二甲基吡啶做為磷酯化反應之鹼，分別進行雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(V-b)於 1.0 克和 2.0

克，與 4 當量的二甲基氯氧化磷(DMP-Cl)進行磷酯化反應，其反應轉化率皆>98%，證明此反應有其再現性與可行性，最後得到之 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(VI-b)的粗產物分析結果分別是(1.17 克，純度 97.56%)與(2.312 克，純度 97.01%)，說明此反應有極高的轉化率，相當適合工業生產。

若以雷帕霉素-31-三甲基矽烷醚(V-a) 300 毫克在於二氯甲烷為溶劑，3,5-二甲基吡啶(3,5-lutidine)在相同的使用量之 2.2 當量，使用 3 與 4 當量的二甲基氯氧化進行磷酯化反應，則會直接得到 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(I)之粗產物 314 毫克。HPLC 分析顯示含有 81.03%(於面積百分比)之 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(I)、雷帕霉素(II) 5.14%、31,42-雙-二甲基磷酯的化合物(III) 0.54%和 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素-31-三甲基矽烷醚(VI-a)2.5%。說明此反應亦有高轉化率，同時無需進行水解反應即可得到最終產物 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(I)。

最後，42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(VI-b)進行去保護反應，係以四氫呋喃為溶劑，反應控制在 0°C，利用稀硫酸水溶液進 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(VI-b)之去保護反應，相同的此反應具有高轉化率(>98%)，且反應相當乾淨。本發明繼前一步驟所得到的中間體雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(V-b)分別以 1.0 克和 2.0 克進行磷酯化反應，可以得到 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚

(VI-b)的粗產物分別為(1.17 克，純度 97.56%)和(2.312 克，純度 97.01%)。同時繼續進行去保護反應，分別可以得到 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(I) 的粗產物結果分別為( 1.13 克，純度 95.78%)和( 2.34 克，純度 96.66%)，說明此反應有極高的轉化率，而且相當適合工業生產。首先以矽膠管柱層析法分離純化，進行使用雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(V-b)1 克所製備的 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(I)的粗產物( 1.13 克，純度 95.78%)，以(甲醇/二氯甲烷/乙酸乙酯/正己烷= 1:10:3:3)之比例的混合溶液為沖提液之分離純化，最後只得到 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(I)0.35 克，純度 96.62%，說明 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(I)在沖提液含有甲醇一定時間以上會使其化合物(I)壞掉。另外以逆相 C-18 矽膠之製備級液相層析法進行分離純化，純化樣品為雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(V-b) 2 克所製備的 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(I)的粗產物(2.34 克，純度 96.66%)，沖提溶液為乙腈：0.02M 甲酸銨水溶液(以甲酸調至 pH 4.0)為(6：4)，最後得到 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(I) 1.84 克，純度為>99.5%，產率為 95.55%[以 2 克雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(V-b)來計算]。

本方法於製程的每一步驟均有著相當高的轉化率，同時終止反應後的處理也相當的簡便，且在磷酯化反應除了可使用較便宜且較少使用量的鹼 3,5-二甲基吡啶(3,5-lutidine)就可以達

到極高的轉化率和無 31,42-雙-二甲基磷酯的化合物(III)之副產物產生，說明此製程優於先前技術，最後的分離純化工作也相當容易，說明此製程相當適合工業生產。

42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(Ridaforolimus, I)之結構鑑定部份，在氫核磁共振光譜( $^1\text{H-NMR}$ )、磷核磁共振光譜( $^{31}\text{P-NMR}$ )和質譜分析與先前技術報導上所附錄之資料比對，完全吻合，所以確定得到42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(I)。

### 【實施方式】

本發明可由以下諸實施例說明其製程，但本發明之範圍並非侷限在以下所述之實施例：

#### 實施例 1

##### 製備雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(V-b)

取雷帕霉素(II) (10.0克，10.94毫莫耳)置於圓底瓶中，加入二氯甲烷(60毫升)，降溫至 $0-5^{\circ}\text{C}$ ，加入咪唑(3.0克，44.07毫莫耳)，攪拌至全溶，滴加氯三乙基矽烷(6.1克，40.47毫莫耳)，待滴加完畢後持續攪拌，並維持在 $0-5^{\circ}\text{C}$ 下反應3小時，室溫下過濾，並以乙酸乙酯(200毫升)洗滌濾餅，濾液再加入乙酸乙酯(200毫升)，分別以純水(100毫升 $\times 2$ )以及飽和食鹽水(100毫升)進行洗滌，有機層經無水硫酸鈉乾燥、濃縮後，得雷帕霉素-31,42-雙-三乙基矽烷醚(IV-b)，黃色油狀物。加入四氫呋喃(32毫升)，降溫至 $0-5^{\circ}\text{C}$ ，滴加醋酸(98毫升)與純水(52



毫升)之混合液，反應控溫在 $<5^{\circ}\text{C}$ ，反應2.5小時，加入乙酸乙酯(300毫升)，然後控溫在 $<10^{\circ}\text{C}$ 滴加飽和碳酸氫鈉水溶液，直到溶液之pH值至7.0~7.5，靜置使其分層收集有機層，水層再加入乙酸乙酯(300毫升)進行萃取，然後所有有機層分別以純水(150毫升 $\times$ 2)以及飽和食鹽水(100毫升)進行洗滌，有機層經無水硫酸鈉乾燥、濃縮後，得雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(V-b)之粗產物(17.1g)，黃色油狀物。粗產物以管柱色層分析法分離(乙酸乙酯:正己烷= 2:1為沖提液)，得白色固體產物雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(V-b) 10.44g，產率93%。

## 實施例 2

### 製備雷帕霉素-31-三甲基矽烷醚(V-a)

取雷帕霉素(II) (2.5 克，2.73 毫莫耳) 置於圓底瓶中，加入乙酸乙酯(75 毫升)，降溫至  $0-5^{\circ}\text{C}$ ，加入咪唑(0.75 克，10.93 毫莫耳)，攪拌至全溶，滴加氯三甲基矽烷(1.1 克，10.11 毫莫耳)，待滴加完畢後持續攪拌，並維持在  $0-5^{\circ}\text{C}$  下反應 1.5 小時，TLC 進行追蹤(乙酸乙酯:正己烷= 1:5)，已無起始物的吸收，滴加 0.5N 硫酸水溶液(5 毫升)，待滴加完畢後持續攪拌，並維持在  $0-5^{\circ}\text{C}$  下反應 2 小時，TLC 進行追蹤(乙酸乙酯:正己烷= 1:5)，加入乙酸乙酯(200 毫升)，然後有機層分別以飽和食鹽水(100 毫升)、飽和碳酸氫鈉水溶液(100 毫升)、水溶液(100 毫升)兩次和飽和食鹽水(100 毫升)進行洗滌，有機層經無水硫酸鈉

乾燥、濃縮後，得雷帕霉素-31-三甲基矽烷醚 V-a 之粗產物 (2.758 克)。HPLC 分析顯示含有 94.5%(於面積百分比)之雷帕霉素-31-三甲基矽烷醚(V-a)和西羅莫司(II) 5.5%。

### 實施例 3

製備 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(VI-b)

取雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(V-b) (375 毫克，0.365 毫莫耳) 置於氮氣系統的反應瓶中，加入二氯甲烷(3 毫升)，攪拌至全溶，降溫至 0-5°C，滴加 2,6-二叔丁基-4-甲基吡啶(165 毫克，1.096 毫莫耳)與二氯甲烷(1.5 毫升)之混合液，滴加完畢後，接著滴加二甲基氯氧化磷(173 毫克，1.461 毫莫耳)與二氯甲烷(0.5 毫升)之混合液，滴加時間並超過 10 分鐘，待滴加完畢後維持在 0-5°C 下反應 3 小時，滴加乙酸乙酯(50 毫升)，滴加完畢後再加入乙酸乙酯(150 毫升)，然後分別以飽和碳酸氫鈉水溶液(50 毫升)以及飽和食鹽水(100 毫升)進行洗滌，有機層經無水硫酸鈉乾燥、濃縮後，得 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(VI-b)之粗產物 0.430 克，純度為 97.01%。

### 實施例 4

製備 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(VI-b)

取雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(V-b) (200 毫克，0.194 毫莫耳) 置於氮氣系統的反應瓶中，加入二氯甲烷(1 毫升)，攪拌

至全溶，降溫至 0-5°C，滴加 2,6-二甲基吡啶(46 毫克，0.428 毫莫耳)與二氯甲烷(0.5 毫升)之混合液，滴加完畢後，接著滴加二甲基氯氧化磷(92 毫克，0.778 毫莫耳)與二氯甲烷(0.5 毫升)之混合液，滴加時間並超過 10 分鐘，待滴加完畢後維持在 0-5°C 下反應 1.5 小時，反應進行中以 HPLC 分析，滴加乙酸乙酯(40 毫升)，滴加完畢後再加入乙酸乙酯(360 毫升)，然後分別以飽和碳酸氫鈉水溶液(100 毫升)、冰的 0.5N 鹽酸水溶液(100 毫升)、飽和碳酸氫鈉水溶液(100 毫升)以及飽和食鹽水(100 毫升)進行洗滌，有機層經無水硫酸鈉乾燥、濃縮後，得化合物 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(VI-b)：雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(V-b)為(66.43 : 33.57)之粗產物(226 毫克)。

### 實施例 5

以雷帕霉素-31-三甲基矽烷醚(V-a)為起始物製備 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(Ridaforolimus, I)

取雷帕霉素-31-三甲基矽烷醚(V-a) (300 毫克，0.304 毫莫耳)置於氮氣系統的反應瓶中，加入二氯甲烷(2 毫升)，攪拌至全溶，降溫至 0-5°C，滴加 3,5-二甲基吡啶(72 毫克，0.67 毫莫耳)與二氯甲烷(1 毫升)之混合液，滴加時間並超過 5 分鐘，接著滴加二甲基氯氧化磷(144 毫克，1.22 毫莫耳)與二氯甲烷(1 毫升)之混合液，滴加時間並超過 5 分鐘，待滴加完畢後維

持在 0-5°C 下反應 1 小時，反應進行中以 HPLC 分析，滴加乙酸乙酯(40 毫升)，滴加完畢後再加入乙酸乙酯至 300 毫升，然後分別以飽和碳酸氫鈉水溶液(100 毫升)、冰的 0.5N 鹽酸水溶液(100 毫升)、飽和碳酸氫鈉水溶液(100 毫升)以及飽和食鹽水(100 毫升)進行洗滌，有機層經無水硫酸鈉乾燥、濃縮後，得化合物 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(I)之粗產物 314 毫克。HPLC 分析顯示含有 81.03%(面積百分比)之 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(I)、雷帕霉素(II) 5.14%、31,42-雙-二甲基磷酯的化合物(III) 0.54%和 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素-31-三甲基矽烷醚(VI-a)2.5%。

#### 實施例 6

製備 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(VI-b)

取雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(V-b) (2.0 克，1.945 毫莫耳)置於氮氣系統的反應瓶中，加入二氯甲烷(10 毫升)，攪拌至全溶，降溫至 0-5°C，滴加 3,5-二甲基吡啶(458 毫克，4.278 毫莫耳)與二氯甲烷(5 毫升)之混合液，滴加時間並超過 10 分鐘，接著滴加二甲基氯氧化磷(922 毫克，7.779 毫莫耳)與二氯甲烷(5 毫升)之混合液，滴加時間並超過 10 分鐘，待滴加完畢後維持在 0-5°C 下反應 1 小時，反應進行中以 HPLC 分析，待沒有起始物之吸收，滴加乙酸乙酯(50 毫升)，滴加完畢後再加入乙酸乙酯(50 毫升)，然後合併有機層分別以飽和碳酸氫鈉水溶液

(200 毫升)、冰的 0.5N 鹽酸水溶液(200 毫升)、飽和碳酸氫鈉水溶液(200 毫升)以及飽和食鹽水(200 毫升)進行洗滌，有機層經無水硫酸鈉乾燥、濃縮後，得化合物 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(VI-b)之粗產物 2.312 克，純度為 97.01%。

### 實施例 7

製備 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(Ridaforolimus, I)

於反應瓶中製入 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(VI-b) (2.312 克，源自於 1.945 毫莫耳之西羅莫司-28-三乙基矽烷醚)與四氫呋喃(60 毫升)，降溫至 0~-5°C，緩慢滴加 2N 硫酸水溶液(6 毫升)，反應至 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(VI-b) <2%時，加入乙酸乙酯(1000 毫升)，然後有機層分別以飽和食鹽水(300 毫升)、飽和碳酸氫鈉水溶液(200 毫升)以及飽和食鹽水(200 毫升)進行洗滌，有機層經無水硫酸鈉乾燥、濃縮後，得化合物 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(I)之粗產物(2.341 克)。然後以 Lichoprep RP-18 矽膠之製備級液相層析法純化，沖提溶液為乙腈：0.02M 甲酸銨水溶液(以甲酸調至 pH 4.0)為(6：4)進行純化，最後經由乙酸乙酯之萃取、濃縮及乾燥而得到白色發泡固體化合物 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素(I) 1.840 克，純度為 99.48%，產率為 95.55%(以 2.0 克雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚來計算)。<sup>1</sup>H-NMR(400 MHz,

201408682

$\text{CDCl}_3$ )d 4.18(m, 1H), 4.10(m, 1H), 3.05(m, 1H),1.51(m, 6H);

$^{31}\text{P}$ -NMR(161 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )d 53.33; 1012.6 m/z  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

【圖式簡單說明】

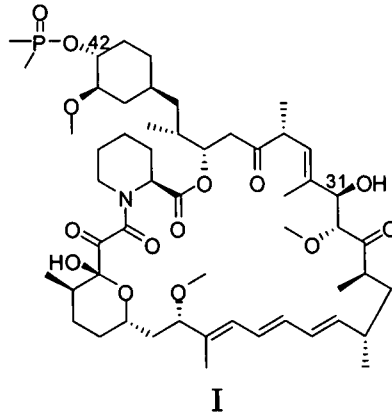
無

【主要元件符號說明】

無

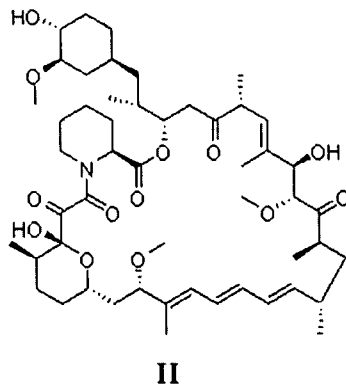
## 七、申請專利範圍：

1. 一種製備結構式如下式所示之 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素 (Ridaforolimus, I) 的方法：

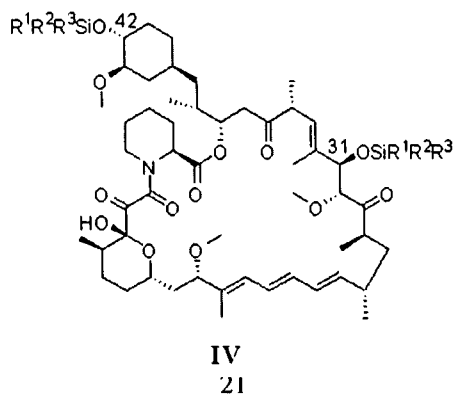


其步驟包括：

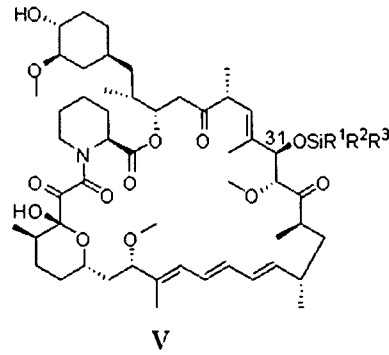
- a. 令如下式(II)雷帕霉素(Rapamycin)



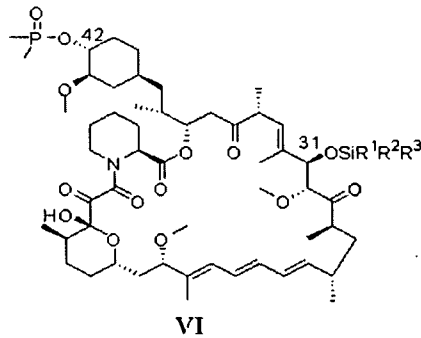
在鹼性條件下與矽烷化合物反應，製得如下式(IV)雷帕霉素 31,42-雙-三烷基矽烷醚；



- b. 令雷帕霉素 31,42-雙-三烷基矽烷醚(IV)在酸性條件下進行選擇性去保護製得如下式(V)雷帕霉素-31-三烷基矽烷醚；



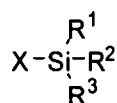
- c. 令雷帕霉素-31-三烷基矽烷醚(V)於鹼性條件下與二甲基氯氧化磷進行磷酯化反應製得如下式(VI)42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素-31-三烷基矽烷醚；



- d. 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素-31-三烷基矽烷醚(VI)在酸性的條件下進行水解反應製得 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素 (Ridaforolimus, I)。
2. 根據申請專利範圍第 1 項之方法，雷帕霉素(Rapamycin, II)在鹼性條件下，與氯三烷基矽烷( $R^1R^2R^3SiCl$ )或三氟甲烷磺醯三烷基矽烷( $R^1R^2R^3SiOSO_2CF_3$ ;  $R^1R^2R^3SiOTf$ )之矽烷化合物反應，製得雷帕霉素 31,42-雙-矽烷醚(IV)，其中矽烷化合物 X 分別為氯(Cl)



之氯三烷基矽烷或三氟甲烷磺醯基(-OSO<sub>2</sub>CFF<sub>3</sub>, -OTf)之三氟甲烷磺醯三烷基矽，而矽烷化合物 R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup> 和 R<sup>3</sup> 各自獨立的為氫、C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub> 的鏈狀烷基、苄基(Benzyl)、苯基或對甲苄基(p-methylbenzyl)但不同時為氫；矽烷化合物結構通式如下所示：



3. 根據申請專利範圍第 1 項之方法，其中雷帕霉素 31,42-雙-三乙基矽烷醚(IV)進行選擇性去保護，所使用之酸為鹽酸、醋酸、硫酸、三氟醋酸或氫氟酸。
4. 根據申請專利範圍第 1 項之方法，雷帕霉素-31-三乙基矽烷醚(V)於鹼性條件下與二甲基氯氧化磷進行磷酯化反應，其磷酯化反應所使用的鹼為 2,6-二叔丁基-4-甲基吡啶(2,6-Di-*tert*-butyl-4-methyl pyridine)、3,5-二甲基吡啶(3,5-lutidine)、2,6-二甲基吡啶(2,6-lutidine)、2,4-二甲基吡啶(2,4-Lutidine)、2,3-二甲基吡啶(2,3-Lutidine)、2,5-二甲基吡啶(2,5-Lutidine)、3,4-二甲基吡啶(3,4-Lutidine)、吡啶(pyridine)或 4-二甲氨基吡啶(4-Dimethylaminopyridine, DMAP)。
5. 根據申請專利範圍第 1 項之方法，其中 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素-31-三烷基矽烷醚(VI)在酸性的條件下進行水解反應，所使用之酸為鹽酸、醋酸、硫酸、四丁基氟化銨、三氟醋酸或氫氟酸。

6. 根據申請專利範圍第 3 項之方法，其中其中雷帕霉素 31,42-雙-三烷基矽烷醚(IV)進行選擇性去保護，所使用之適切溶劑係選自四氫呋喃、二氯甲烷、乙腈、乙酸乙酯、二甲基甲醯胺及水。
7. 根據申請專利範圍第 4 項之方法，其中與二甲基氯氧化磷進行磷酯化反應之適切溶劑係選自四氫呋喃、二氯甲烷、乙腈及二甲基甲醯胺。
8. 根據申請專利範圍第 5 項之方法，其中 42-(二甲基亞磷醯)雷帕霉素-31-三烷基矽烷醚(VI)在酸性的條件下進行水解反應之適切溶劑係選自四氫呋喃、乙酸乙酯、二氯甲烷、乙腈、二甲基甲醯胺及水。