



(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 201620914 A

(43)公開日：中華民國 105 (2016) 年 06 月 16 日

(21)申請案號：104109071

(22)申請日：中華民國 104 (2015) 年 03 月 20 日

(51)Int. Cl.：

C07D491/048(2006.01)

A61K31/4355(2006.01)

A61K31/444 (2006.01)

A61K31/506 (2006.01)

A61P31/14 (2006.01)

(30)優先權：2014/03/21

美國

61/968,763

(71)申請人：必治妥美雅史谷比公司 (美國) BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY (US)

美國

(72)發明人：汪 濤 WANG, TAO (US)；伊士曼 凱爾 J EASTMAN, KYLE J. (US)；張鐘興

ZHANG, ZHONGXING (CN)；帕希拉 凱爾 E PARCELLA, KYLE E. (US)；尹

志偉 YIN, ZHIWEI (US)；卡多 約翰 F KADOW, JOHN F. (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：24 項 圖式數：0 共 189 頁

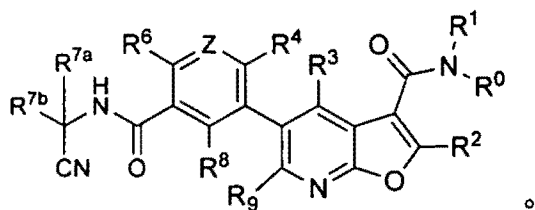
(54)名稱

含有氰基之氮雜苯并呋喃化合物用於治療 C 型肝炎

CYANO CONTAINING AZABENZOFURAN COMPOUNDS FOR THE TREATMENT OF HEPATITIS C

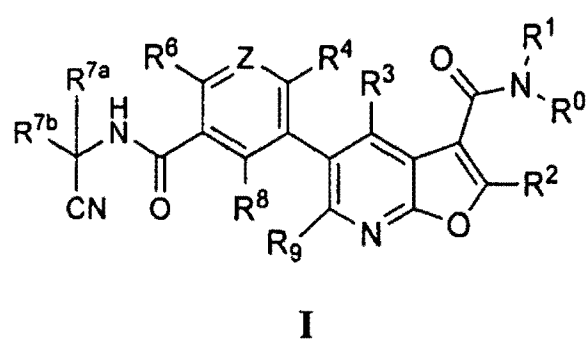
(57)摘要

本文闡述式 I 化合物(包括其鹽)以及使用該等化合物之組合物及方法。該等化合物具有抵抗 C 型肝炎病毒(HCV)之活性且可用於治療感染 HCV 者：

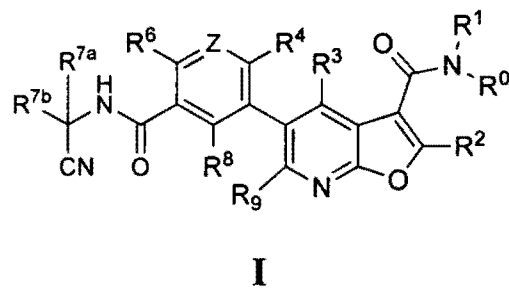


I

Compounds of Formula I, including their salts, as well as compositions and methods of using the compounds are set forth. The compounds have activity against hepatitis C virus (HCV) and may be useful in treating those infected with HCV:



特徵化學式：



201620914

發明摘要

※ 申請案號：104109071

※ 申請日：104.3.20

C07D491/648 (2006.01)

A61K31/4355 (2006.01)

A61K31/444 (2006.01)

※IPC 分類：A61K31/506 (2006.01)

A61P31/14 (2006.01)

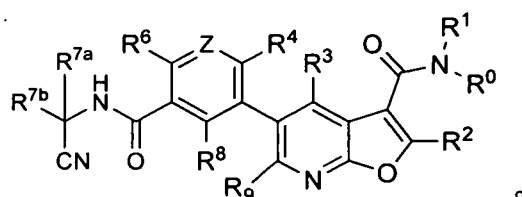
【發明名稱】

含有氰基之氮雜苯并呋喃化合物用於治療C型肝炎

CYANO CONTAINING AZABENZOFURAN COMPOUNDS FOR
THE TREATMENT OF HEPATITIS C

【中文】

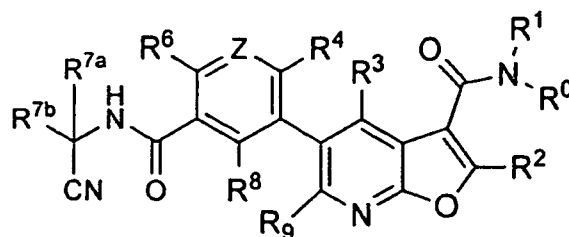
本文闡述式I化合物(包括其鹽)以及使用該等化合物之組合物及方法。該等化合物具有抵抗C型肝炎病毒(HCV)之活性且可用於治療感染HCV者：



I

【英文】

Compounds of Formula I, including their salts, as well as compositions and methods of using the compounds are set forth. The compounds have activity against hepatitis C virus (HCV) and may be useful in treating those infected with HCV:



I

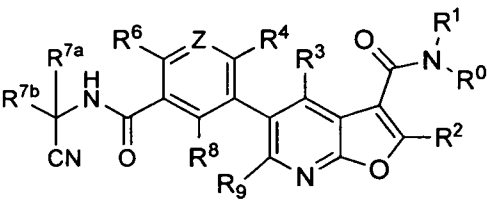
【代表圖】

【本案指定代表圖】：無

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：



I

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

含有氰基之氮雜苯并呋喃化合物用於治療C型肝炎

CYANO CONTAINING AZABENZOFURAN COMPOUNDS FOR
THE TREATMENT OF HEPATITIS C

【技術領域】

本發明係關於新穎化合物(包括其鹽)，該等化合物具有抵抗C型肝炎病毒(HCV)之活性且其可用於治療彼等感染HCV者。本發明亦係關於使用該等化合物之組合物及製備及使用該等化合物之方法。

【先前技術】

C型肝炎病毒(HCV)係主要的人類病原體，據估計其在世界範圍內感染1.7億人，大致為感染1型人類免疫缺陷病毒之數量之五倍。相當一部分該等經HCV感染之個體發展成嚴重的進行性肝病，包括硬化及肝細胞癌(Lauer, G. M.; Walker, B. D. *N. Engl. J. Med.* **2001**, *345*, 41-52)。

HCV係正鏈RNA病毒。基於對所推斷胺基酸序列之比對及5'非轉譯區中之廣泛相似性，已將HCV分類為黃病毒科(Flaviviridae)家族中之單獨屬。黃病毒科家族之所有成員皆具有含有正鏈RNA基因組之有包膜病毒粒子，該基因組經由轉譯單一、不間斷、開放閱讀框來編碼所有已知之病毒特異性蛋白。

在整個HCV基因組之核苷酸及所編碼胺基酸序列內發現大量異質性。已表徵至少6個主要基因型，且已闡述50個以上亞型。HCV之主要基因型在全世界之分佈不同，且儘管對基因型對發病機制及療法之可能效應進行了大量研究，但HCV之基因異質性之臨床重要性仍難

以捉摸。

單鏈HCV RNA基因組之長度為約9500個核苷酸，且具有編碼約3000個胺基酸之單一較大聚蛋白之單一開放閱讀框(ORF)。在所感染細胞中，此多蛋白在多個位點處經細胞及病毒蛋白酶裂解以產生結構及非結構(NS)蛋白。在HCV之情形中，成熟非結構蛋白(NS2、NS3、NS4A、NS4B、NS5A及NS5B)之生成係藉由兩種病毒蛋白酶來實現。相信第一種為金屬蛋白酶且在NS2-NS3結合處裂解；第二種係NS3之N末端區內所含之絲胺酸蛋白酶(亦稱作NS3蛋白酶)且介導NS3下游之所有後續裂解，兩者均在NS3-NS4A裂解位點處呈順式，且對於其餘NS4A-NS4B、NS4B-NS5A、NS5A-NS5B位點呈反式。NS4A蛋白似乎具有多個功能，充當NS3蛋白酶之輔助因子且可能幫助NS3及其他病毒複製酶組份之膜定位。NS3蛋白與NS4A之複合物形成對於處理事件似乎係必需的，從而提高所有位點處之蛋白水解效率。NS3蛋白亦展現核苷三磷酸酶及RNA解旋酶活性。NS5B (亦稱作HCV聚合酶)係HCV複製中所涉及之RNA依賴性RNA聚合酶。「Structural Analysis of the Hepatitis C Virus RNA Polymerase in Complex with Ribonucleotides (Bressanelli ; S.等人, *Journal of Virology* **2002**, 3482-3492 ; 及 Defrancesco及Rice, *Clinics in Liver Disease* **2003**, 7, 211-242)中闡述HCV NS5B蛋白。

當前，最有效之HCV療法採用 α -干擾素與利巴韋林(ribavirin)之組合，此僅在40%之患者中產生持續效能(Poynard, T.等人, *Lancet* **1998**, 352, 1426-1432)。最近臨床結果表明，作為單一療法，聚乙二醇化 α -干擾素優於未經改質之 α -干擾素(Zeuzem, S.等人, *N. Engl. J. Med.* **2000**, 343, 1666-1672)。然而，即使利用涉及聚乙二醇化 α -干擾素與利巴韋林之組合之實驗治療方案，相當一部分患者中之病毒負荷沒有持續降低。因此，業內明確且重要地需要研發治療HCV感染之有

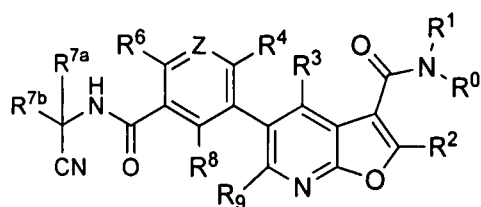
效治療法。

HCV-796 (HCV NS5B抑制劑)已顯示能夠降低患者中之HCV RNA含量。當治療係利用化合物作為單一藥劑時，病毒RNA含量在給藥期間短暫降低且然後反彈，但當與呈干擾素及利巴韋林之形式之照護標準組合時，含量下降得更加猛烈。由於在延長組合方案之給予期間觀察到肝毒性，故暫停對此化合物之研發。US專利7,265,152及相應PCT專利申請案WO2004/041201闡述HCV-796類化合物。已揭示其他化合物；例如參見WO2009/101022以及WO 2012/058125。

因此，業內需要新穎且可有效抵抗C型肝炎之其他化合物。另外，該等化合物對於醫藥用途而言應在(例如)其作用機制、結合、抑制效能、靶標選擇性、溶解性、安全特性或生物利用度中之一或多者方面提供優點。業內亦需要利用該等化合物之新調配物及治療方法。

【發明內容】

本發明之一個態樣係式I化合物，包括其醫藥上可接受之鹽：



I

其中

Z係C-R⁵或N；

R⁰係氫；

R¹係甲基；

R²係獨立地經0至2個鹵基或甲氧基取代或經W-Ar對位取代之苯基；

W係-O-或-NH-；

Ar係苯基或對-鹵苯基；

R^3 係氫、氟或氯；

R^4 、 R^5 及 R^6 獨立地選自氫、鹵基、烷基、鹵烷基、烷氧基及全氘代烷氧基之群；

R^{7a} 、 R^{7b} 各自獨立地選自氫、烷基、環烷基及 Ar^1 之群，或

R^{7a} 與 R^{7b} 一起形成3員至7員碳環；

R^8 係氫，

Ar^1 係苯基、5員雜芳香族環或6員雜芳香族環；

R^9 係選自氫、鹵基、 R^{201} 、 OR^{202} 及 $NR^{203}R^{204}$ 之群；

R^{201} 係烷基、烯基或一個氫至所有氫經氟替代之 C_1 - C_4 烷基；

R^{202} 係 C_1 - C_3 烷基，或一個氫至所有氫經氟替代之 C_1 - C_3 烷基；

R^{203} 係氫；且

R^{204} 係 C_1 - C_3 烷基、 C_1 - C_3 羥基烷基，或係一個氫至所有氫經氟替代之 C_1 - C_3 烷基。

本發明亦係關於醫藥組合物，其包含式I化合物(包括其醫藥上可接受之鹽)及醫藥上可接受之載劑、賦形劑及/或稀釋劑。

另外，本發明提供一或多種治療C型肝炎感染之方法，其包含向患者投與治療有效量之式I化合物。

亦提供一或多種製備式I化合物之方法作為本發明之一部分。

本發明係關於下文所闡述之該等以及其他重要目的。

【圖式簡單說明】

無

【實施方式】

除非上下文另有明確指示，否則單數形式「一(a, an)及「該(the)」包括複數個指示物。

除非在申請案中其他地方另外明確說明，否則本文可使用以下術語，且應具有以下含義：「氫」或「H」係指氫，包括其同位素，例

如氬，其在本文可藉由字母「D」表示。「鹵基」意指氟、氯、溴或碘。「烷基」意指由1至6個碳構成之直鏈或具支鏈烷基。「烯基」意指具有至少一個雙鍵之由2至6個碳構成之直鏈或具支鏈烷基。「環烷基」意指由3至7個碳構成之單環狀環系統。具有經取代烷基部分之「羥基烷基」、「烷氧基」及其他術語包括對於烷基部分而言由1至6個碳原子構成之直鏈及具支鏈異構物。「鹵基」包括利用鹵基定義之取代基中自單鹵基取代至全鹵基取代之所有鹵化異構物，例如，「鹵烷基」及「鹵烷氧基」、「鹵苯基」、「鹵苯氧基」。「芳基」意指具有6至12個碳原子之單環或二環芳香族烴基團，或其中一或兩個環為苯基之二環稠合環系統。二環稠合環系統由稠合至四員至六員芳香族或非芳香族碳環之苯基組成。芳基之代表性實例包括(但不限於)二氫茛基、茛基、萘基、苯基及四氫萘基。「雜芳基」意指具有1至5個獨立地選自氮、氧及硫之雜原子之5員至7員單環或8員至11員二環芳香環系統。括號式及多重括號式術語意欲為熟習此項技術者闡明鍵結關係。例如，諸如((R)烷基)等術語意指進一步經取代基R取代之烷基取代基。藉由化學圖所圖解說明在多環系統(例如二環系統)上之可變位置處鍵結之取代基意欲鍵結至該等取代基經繪製所附加之環。

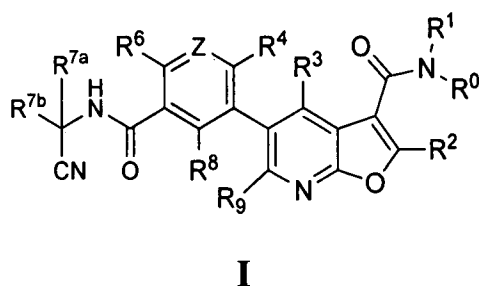
本發明包括化合物之所有醫藥上可接受之鹽形式。醫藥上可接受之鹽係彼等抗衡離子並不顯著有助於化合物之生理活性或毒性且由此用作藥理學等效物者。該等鹽可根據採用市售試劑之常見有機技術製得。一些陰離子鹽形式包括乙酸鹽、醋硬脂酸鹽、苯磺酸鹽、溴化物、樟腦磺酸鹽、氯化物、檸檬酸鹽、富馬酸鹽、葡萄糖醛酸鹽、氫溴酸鹽、鹽酸鹽、氫碘酸鹽、碘化物、乳酸鹽、馬來酸鹽、甲磺酸鹽、硝酸鹽、雙羥萘酸鹽、磷酸鹽、琥珀酸鹽、硫酸鹽、酒石酸鹽、甲苯磺酸鹽及羥萘甲酸鹽。一些陽離子鹽形式包括銨鹽、鋁鹽、苺星青黴素(benzathine)鹽、銻鹽、鈣鹽、膽鹼鹽、二乙胺鹽、二乙醇胺鹽、銻

鹽、鎂鹽、葡甲胺鹽、4-苯基環己胺鹽、六氫吡嗪鹽、鉀鹽、鈉鹽、胺基丁三醇鹽及鋅鹽。

本發明之一些化合物具有不對稱碳原子。本發明包括所有立體異構物形式，包括鏡像異構物及非鏡像異構物以及立體異構物之混合物(例如外消旋物)。一些立體異構物可使用業內已知之方式來製備。可根據業內通常已知之方法將化合物與相關中間體之立體異構物混合物分離為個別異構物。以下方案及表中繪示分子結構中使用楔形線(wedge)或楔形虛線(hash)僅意欲指示相對立體化學，且不應解釋為暗示絕對立體化學指派。

本發明意欲包括出現於本發明化合物中之原子之所有同位素。同位素包括彼等具有相同原子序數但具有不同質量數的原子。概括舉例而言但不加以限制，氫之同位素包括氕及氘。碳之同位素包括 ^{13}C 及 ^{14}C 。同位素標記之本發明化合物通常可藉由熟習此項技術者已知之習用技術來製備，或可藉由與本文所闡述方法類似之方法使用適當同位素標記試劑代替原本採用之未標記試劑來製備。該等化合物可具有多種潛在應用，例如作為測定生物學活性之標準品及試劑。在穩定同位素之情形下，該等化合物可具有有利地改良生物學、藥理學或藥物動力學性質之潛力。

如上所述，本發明係關於一或多種式I化合物，包括其醫藥上可接受之鹽：



其中

Z係C-R⁵或N；

R^0 係氫；

R^1 係甲基；

R^2 係獨立地經0至2個鹵基或甲氧基取代或經W-Ar對位取代之苯基；

W係-O-或-NH-；

Ar係苯基或對-鹵苯基；

R^3 係氫、氟或氯；

R^4 、 R^5 及 R^6 獨立地選自氫、鹵基、烷基、鹵烷基、烷氧基及全氘代烷氧基之群；

R^{7a} 、 R^{7b} 各自獨立地選自氫、烷基、環烷基及 Ar^1 之群，或

R^{7a} 與 R^{7b} 一起形成3員至7員碳環；

R^8 係氫；

Ar^1 係苯基、5員雜芳香族環或6員雜芳香族環；

R^9 係選自氫、鹵基、 R^{201} 、 OR^{202} 及 $NR^{203}R^{204}$ 之群；

R^{201} 係烷基、烯基或一個氫至所有氫經氟替代之 C_1 - C_4 烷基；

R^{202} 係 C_1 - C_3 烷基，或一個氫至所有氫經氟替代之 C_1 - C_3 烷基；

R^{203} 係氫；且

R^{204} 係 C_1 - C_3 烷基、 C_1 - C_3 經基烷基，或係一個氫至所有氫經氟替代之 C_1 - C_3 烷基。

上述式I化合物中較佳者係 R^2 為對-氟苯基。

亦較佳者係 R^3 為氫。

另外，較佳者係 R^4 、 R^5 及 R^6 各自獨立地選自氫、氟、-OCH₃及-OCD₃之群。

另外較佳者係 R^{7a} 係選自氫、甲基、氟甲基及環丙基之群。

亦較佳者係 R^{7b} 係選自氫、甲基、氟甲基、環丙基及 Ar^1 之群。

在某些實施例中，亦較佳者係 R^{7a} 與 R^{7b} 一起形成環丙基或環丁基

環。

另外較佳者係 Ar^1 為苯基或嘧啶基。

亦較佳者係 R^9 為 R^{201} 或 $\text{NR}^{203}\text{R}^{204}$ 。

另外，較佳者係 R^{201} 為 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CF}_3$ 或乙烯基。

亦較佳者係 R^{204} 為 $-\text{CH}_2\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CF}_2\text{CF}_3$ 或 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 。

在本發明之另一實施例中，較佳者係 R^2 為對-氟苯基， R^3 為氫， R^4 、 R^5 及 R^6 各自獨立地選自氫、氟、 $-\text{OCH}_3$ 及 $-\text{OCD}_3$ 之群，

R^{7a} 係選自氫、甲基、氟甲基及環丙基之群，

R^{7a} 係選自氫、甲基、氟甲基、環丙基及 Ar^1 之群，

或 R^{7a} 與 R^{7b} 一起形成環丙基或環丁基環；

Ar^1 係苯基或嘧啶基，

R^9 係 R^{201} 或 $\text{NR}^{203}\text{R}^{204}$ ；

R^{201} 係 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CF}_3$ 或乙烯基；且

R^{204} 係 $-\text{CH}_2\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CF}_2\text{CF}_3$ 或 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 。

在本發明之另一實施例中，較佳者係 R^4 為氫，

R^5 為氫或氟， R^{7b} 選自氫、甲基、氟甲基及環丙基之群，或 R^{7a} 與 R^{7b} 一起形成環丙基或環丁基環；且

R^{201} 係 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CF}_3$ 。

在上述式I化合物之某些實施例中，較佳者係 Z 為 N 。

亦較佳者係其中 Z 係 N 、 R^4 係氫且 R^6 係 $-\text{OCD}_3$ 之化合物。

在上述式I化合物之某些實施例中，較佳者係 Z 係 CR^5 。

其他較佳化合物包括彼等其中 Z 係 CR^5 、 R^4 係氫、 R^5 係氫或氟、 R^6 係氫、氟或 $-\text{OCH}_3$ 者，

R^{7a} 選自氫、甲基、氟甲基或環丙基

R^{7b} 選自氫、甲基、氟甲基或環丙基

或 R^{7a} 與 R^{7b} 一起形成環丙基或環丁基環；且

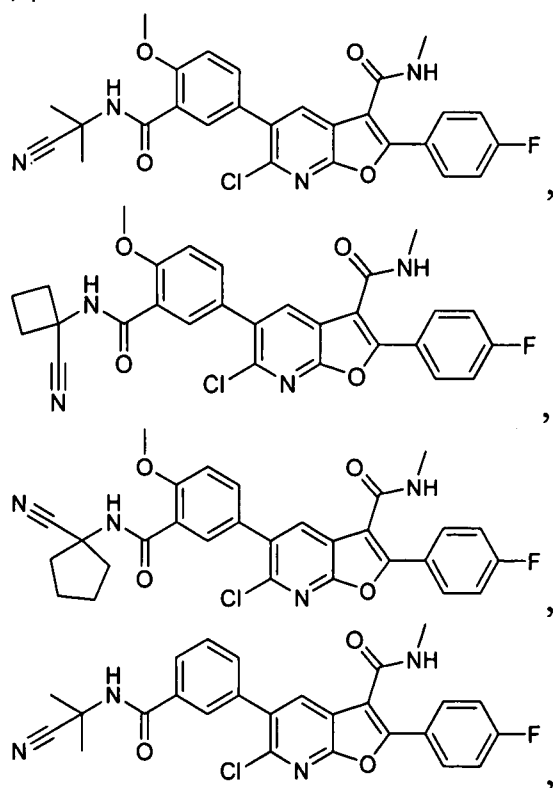
R^{201} 係 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CF}_3$ 。

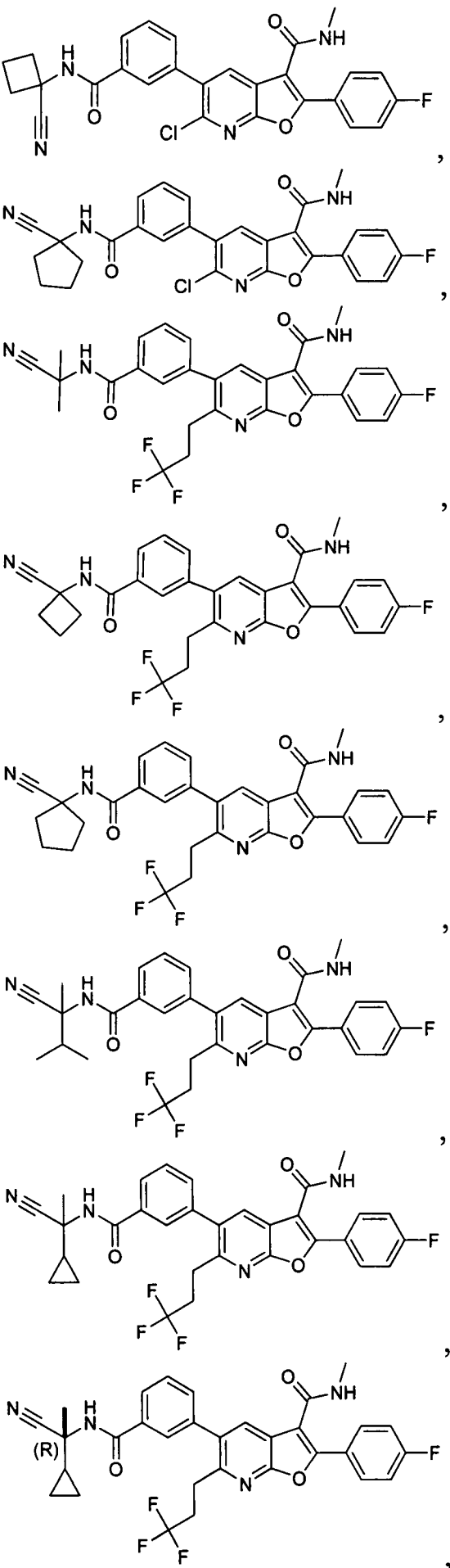
亦較佳者係其中 R^5 係氫、 R^6 係氟、 R^{7a} 係甲基、 R^{7b} 係環丙基且 R^9 係 R^{201} 之式 I 化合物。

其他較佳化合物包括彼等其中化合物係作為如下之單一鏡像異構物存在者：(R)-5-(3-((1-氰基-1-環丙基乙基)胺甲醯基)-4-氟苯基)-2-(4-氟苯基)-N-甲基-6-(3,3,3-三氟丙基)呋喃并[2,3-b]吡啶-3-甲醯胺，或作為如下之其他單一鏡像異構物存在者：(S)-5-(3-((1-氰基-1-環丙基乙基)胺甲醯基)-4-氟苯基)-2-(4-氟苯基)-N-甲基-6-(3,3,3-三氟丙基)呋喃并[2,3-b]吡啶-3-甲醯胺。

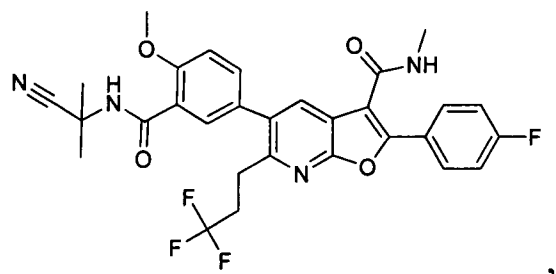
甚至更佳者係來自兩種上述純鏡像異構物之化合物，其中化合物係作為在偏光計中經由標準方法量測光學旋轉時展現負旋轉之單一鏡像異構物存在。

本發明之較佳化合物(包括其醫藥上可接受之鹽)選自以下各項之群：

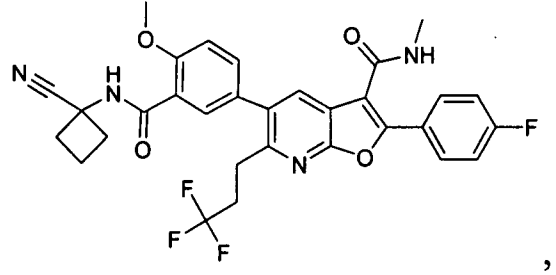




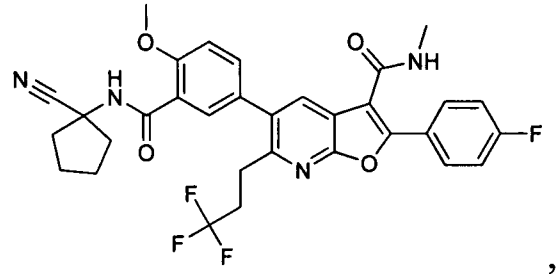




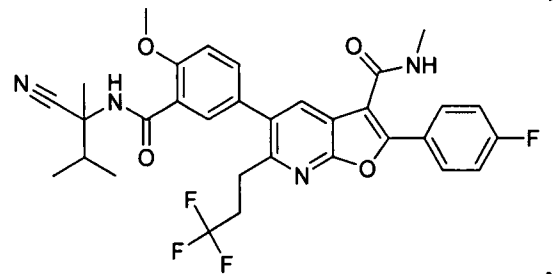
,



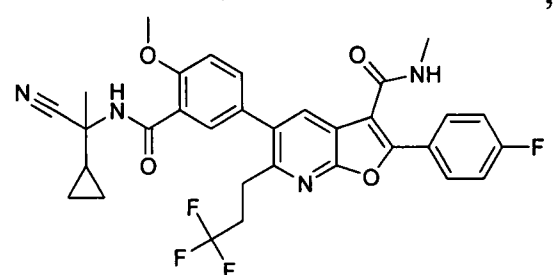
,



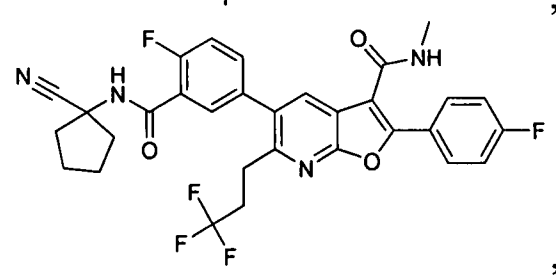
,



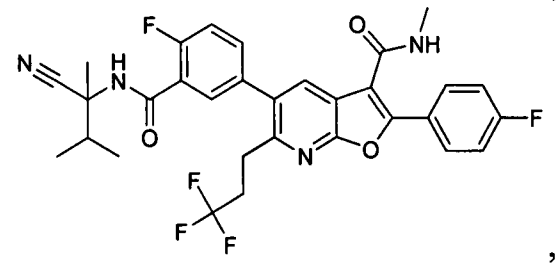
,



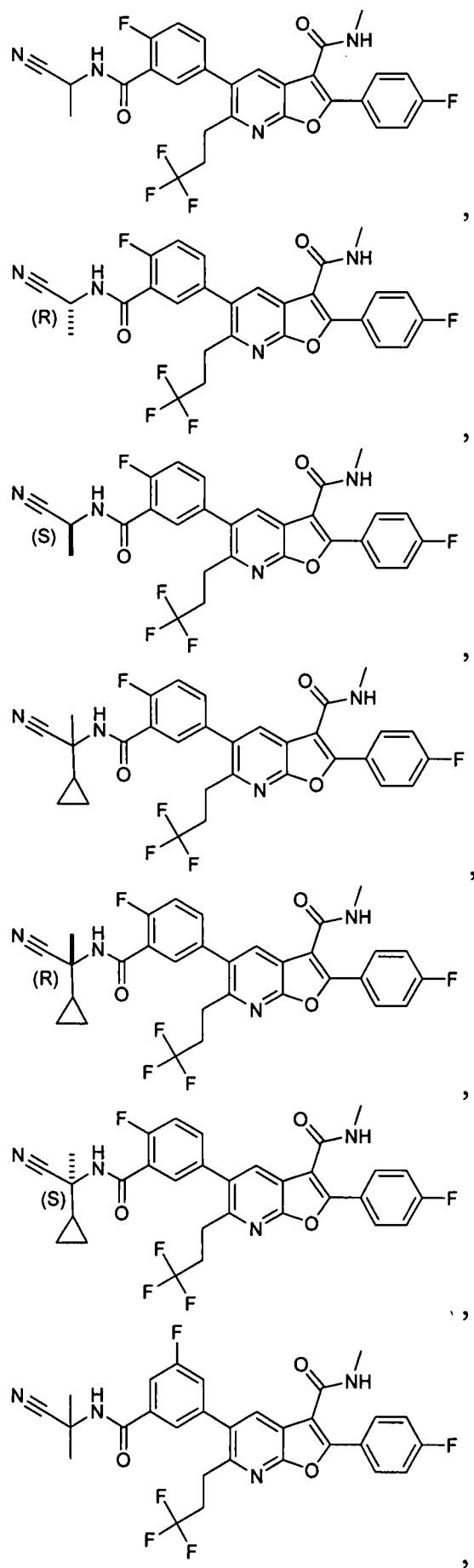
,

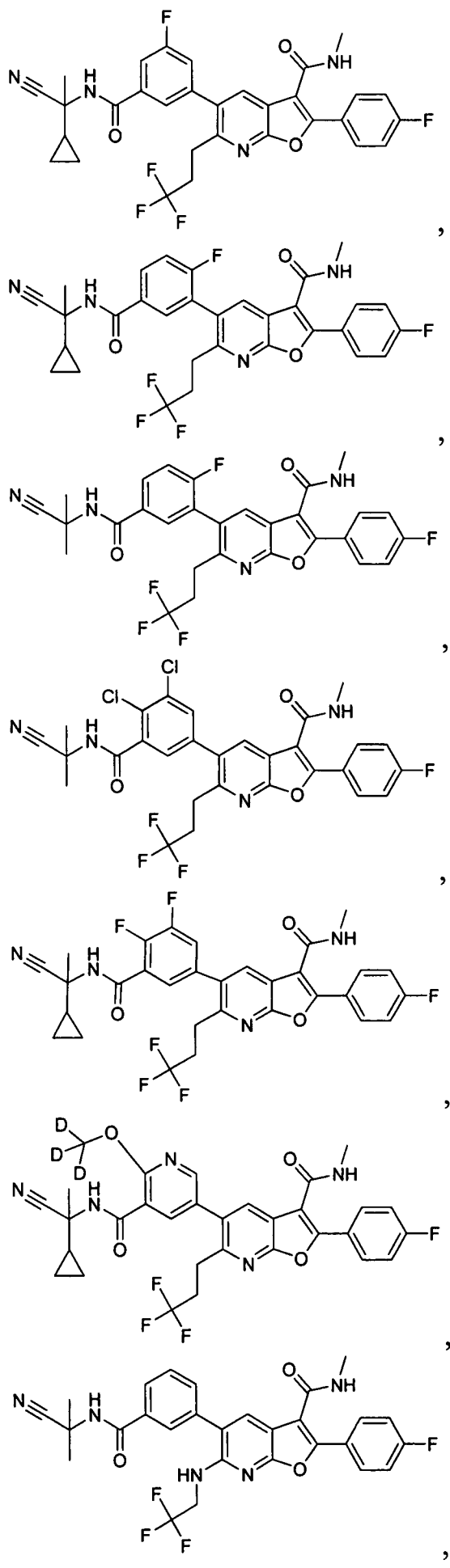


,

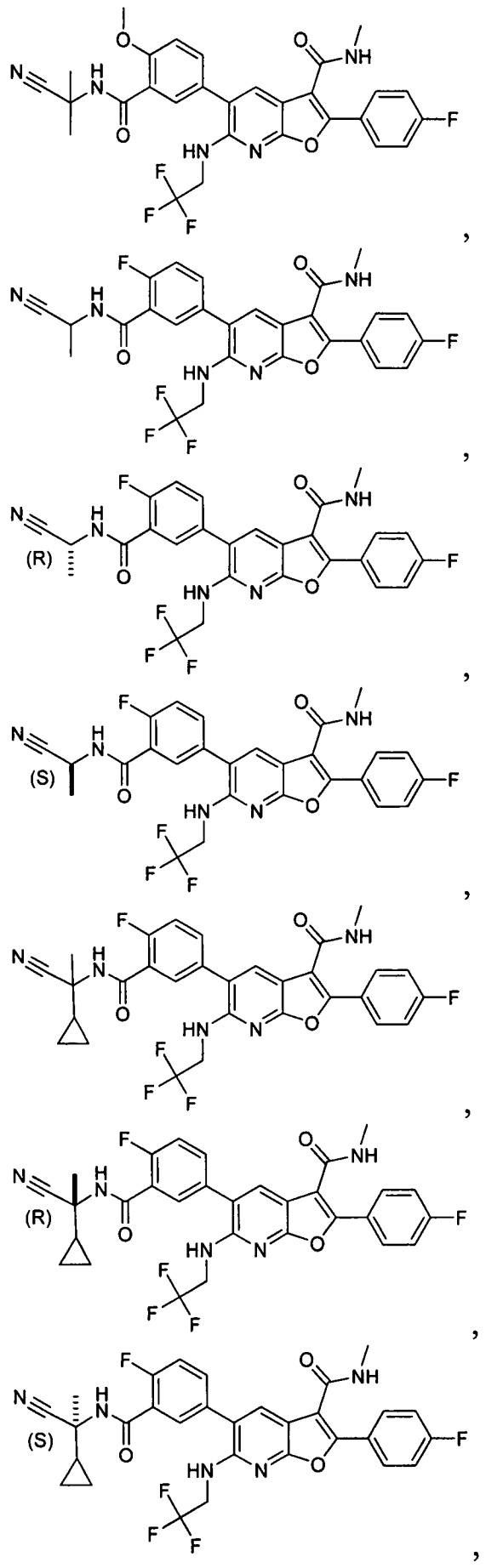


,

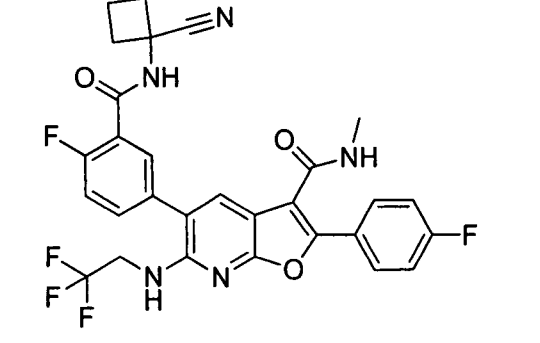
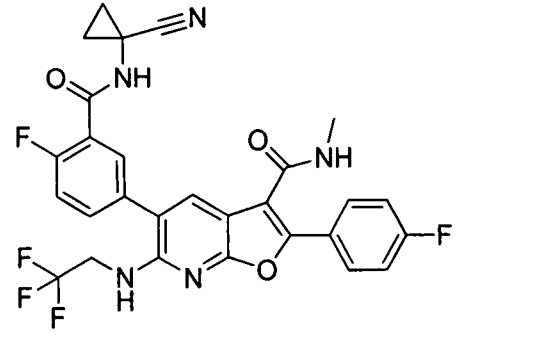
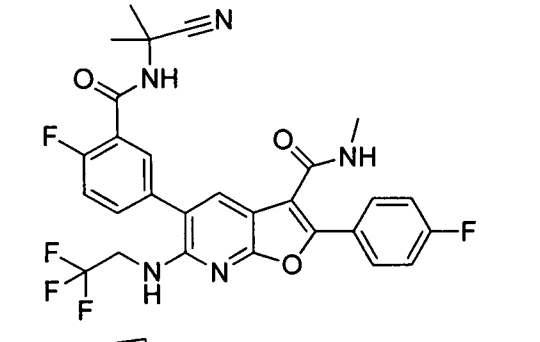
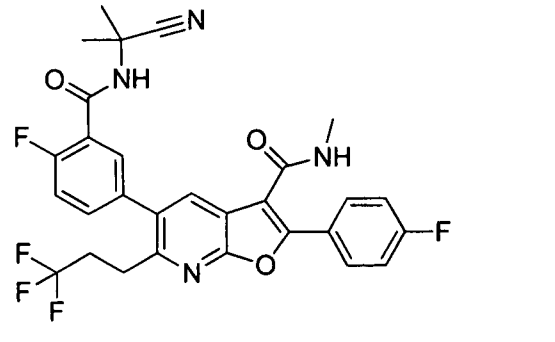
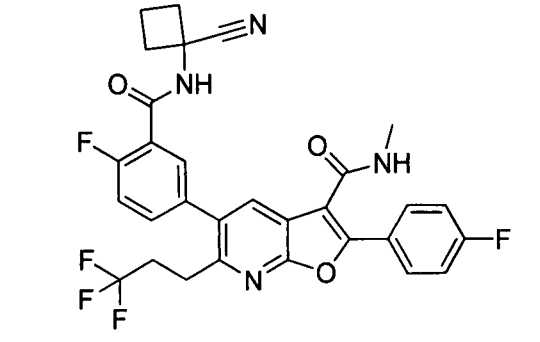
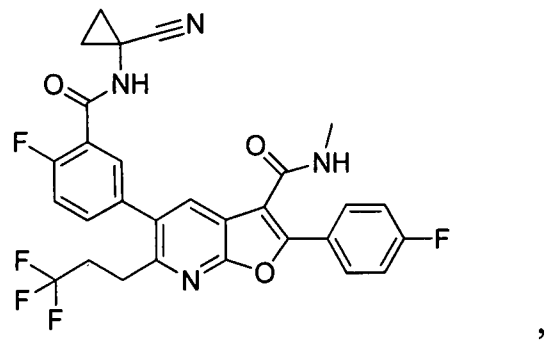
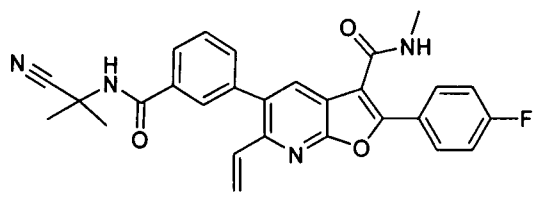
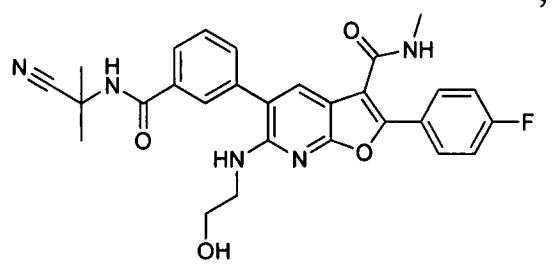
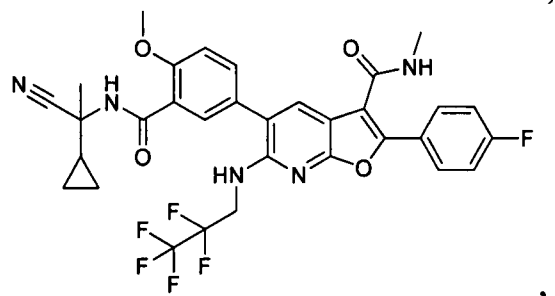
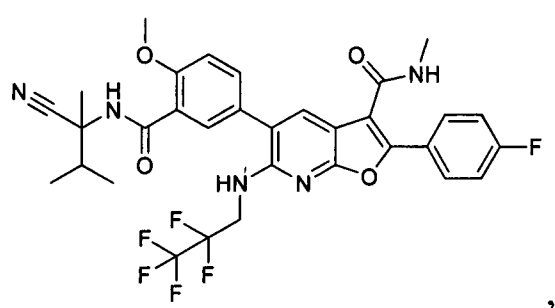


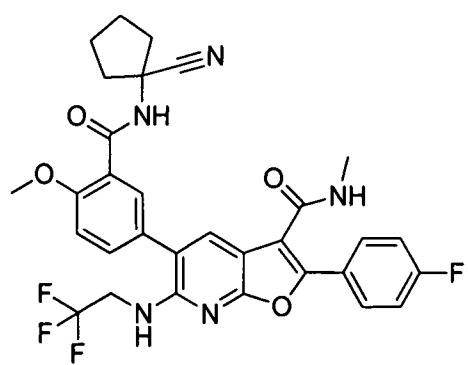
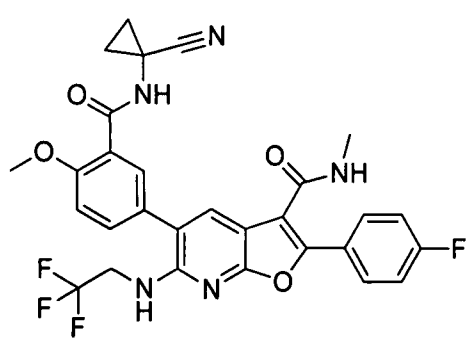
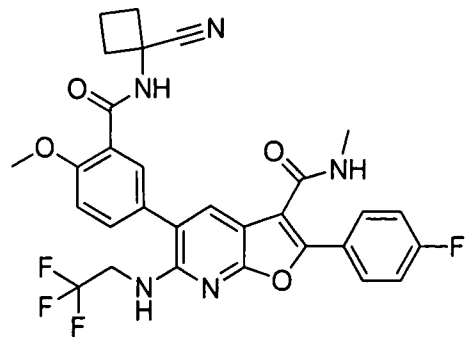
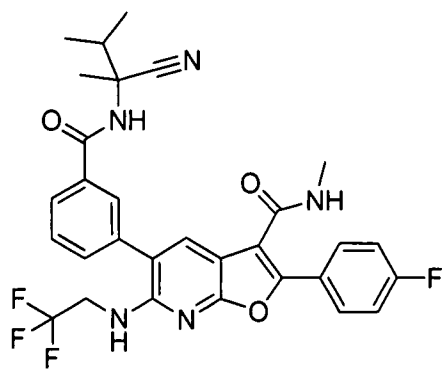
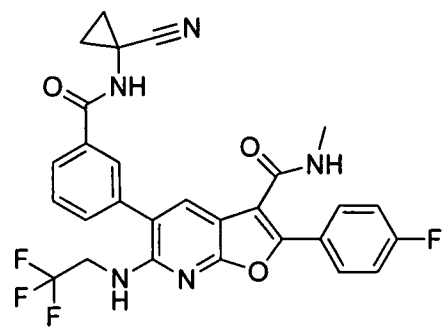
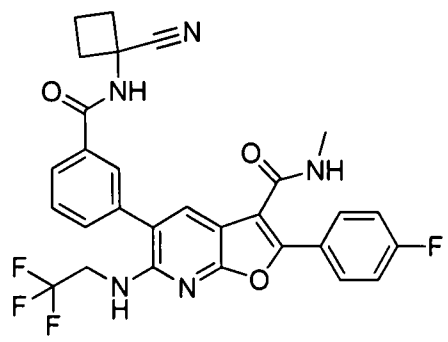
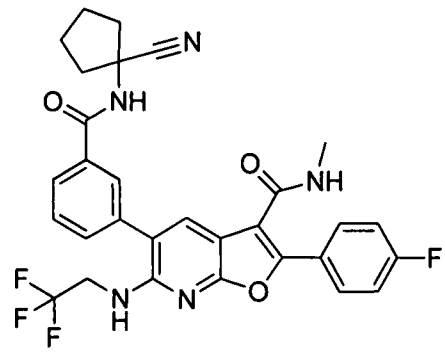
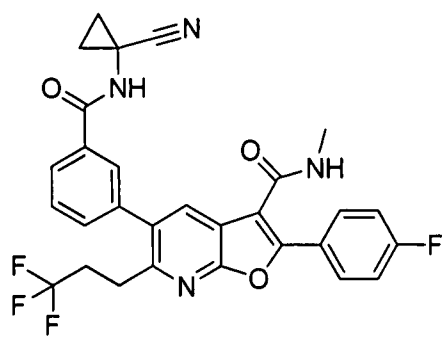
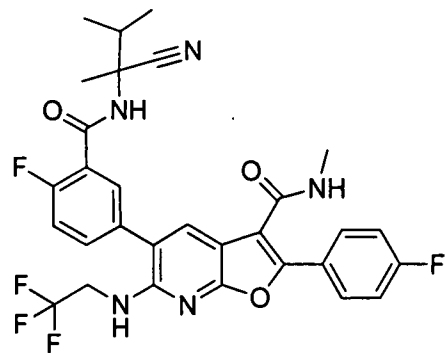
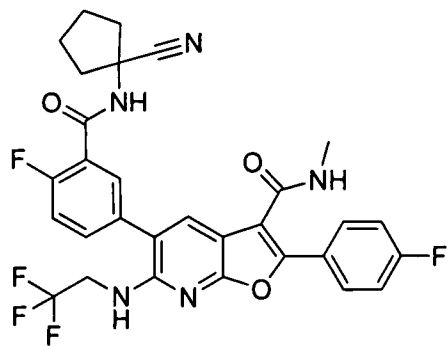


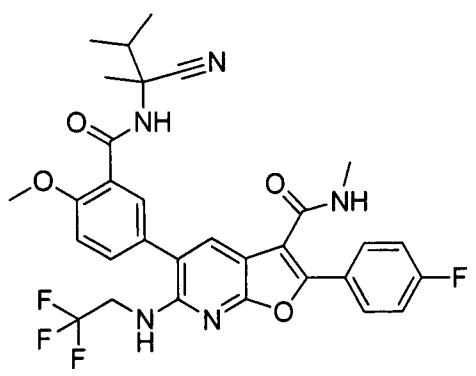




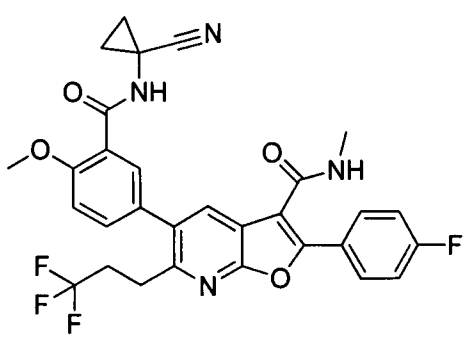




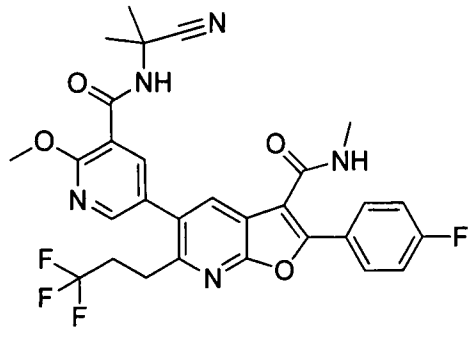




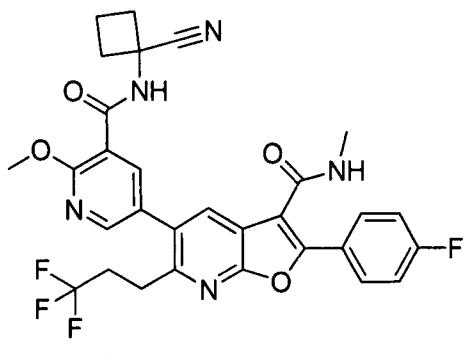
,



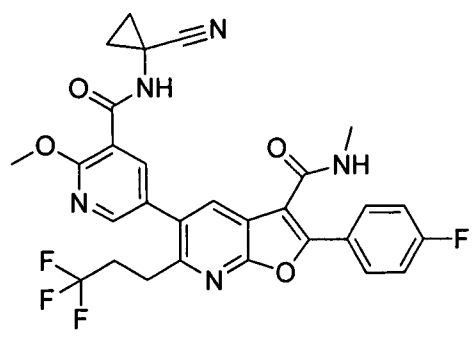
,



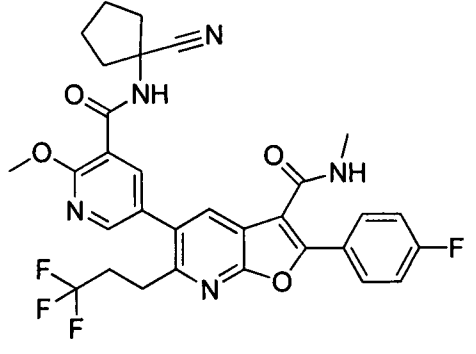
,



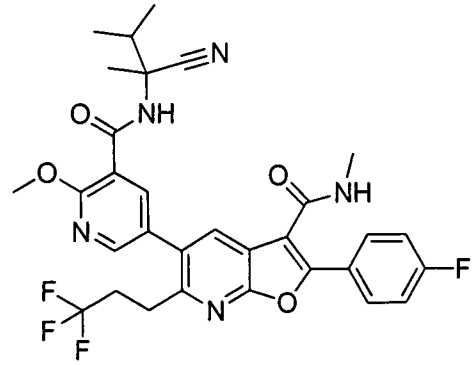
,



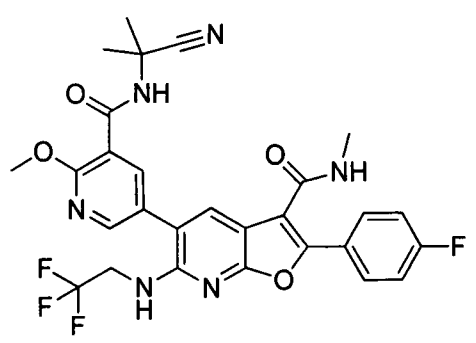
,



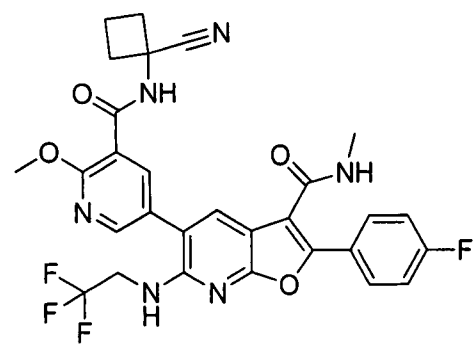
,



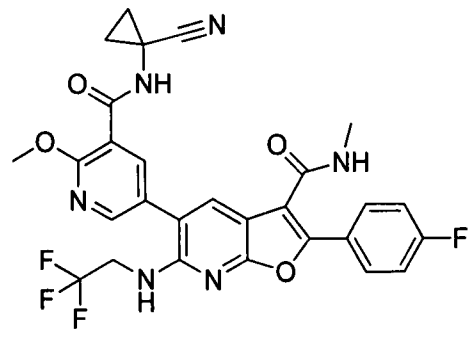
,



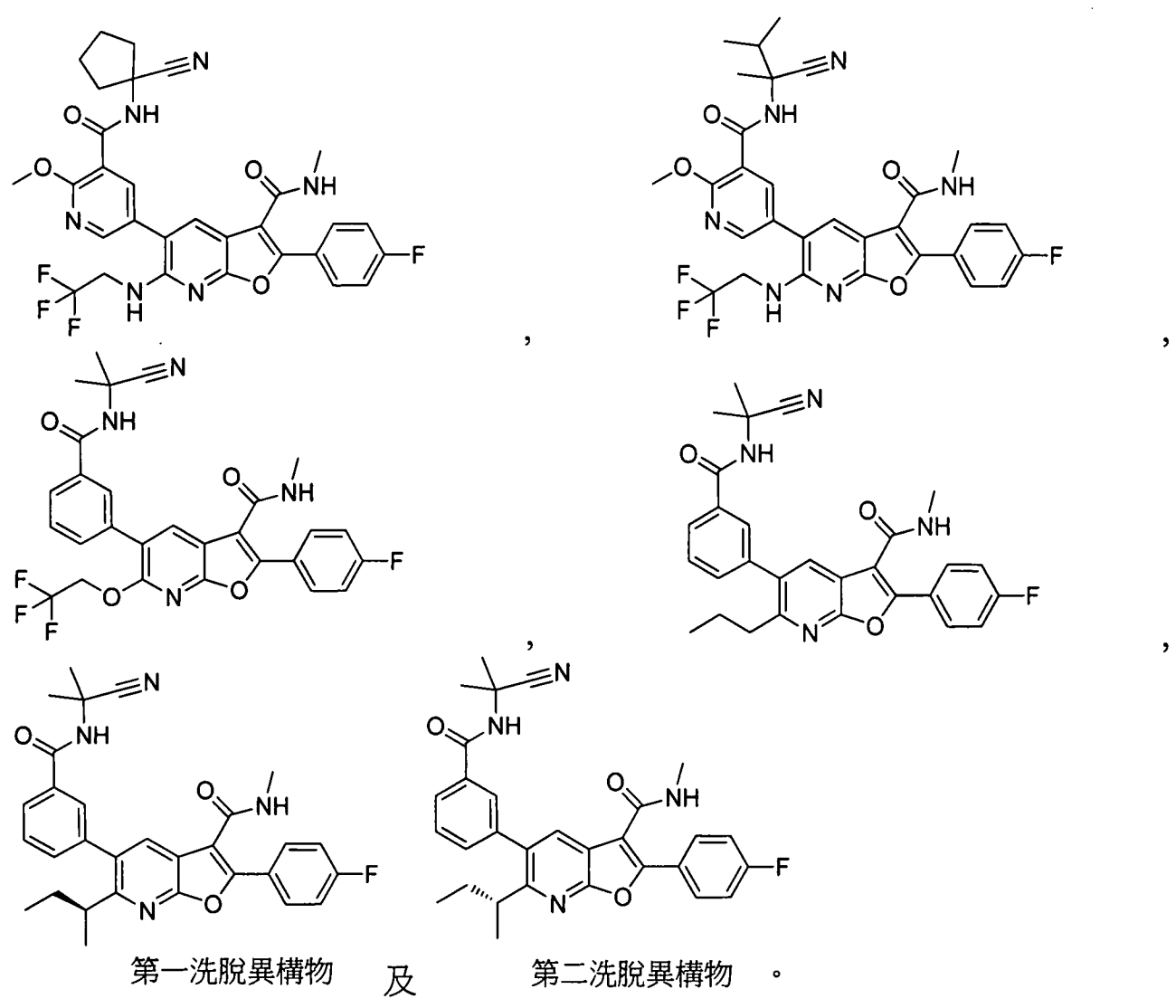
,



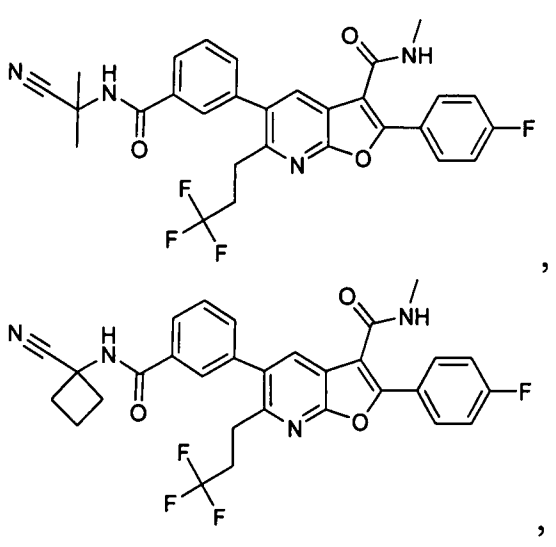
,

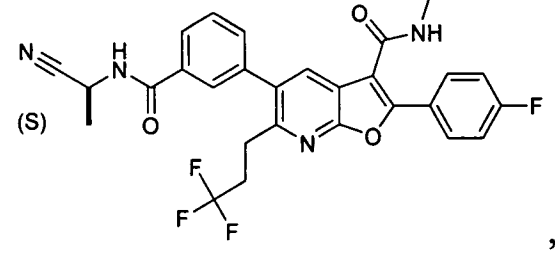
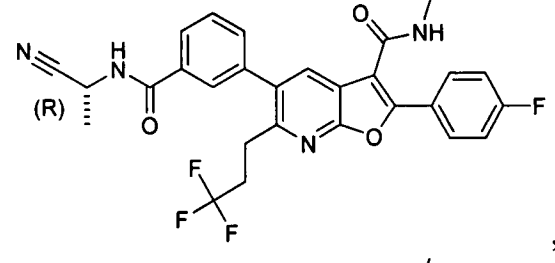
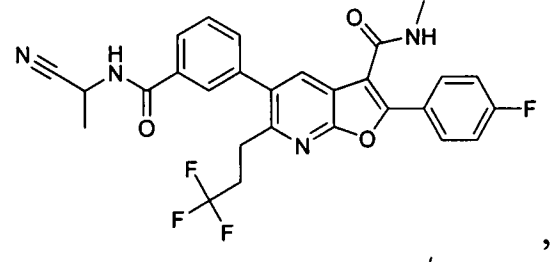
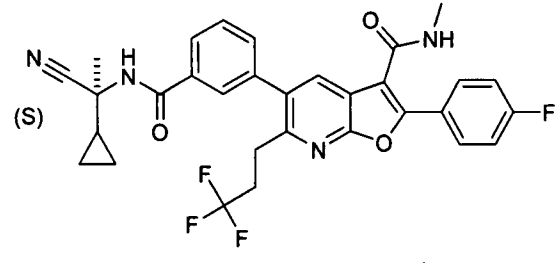
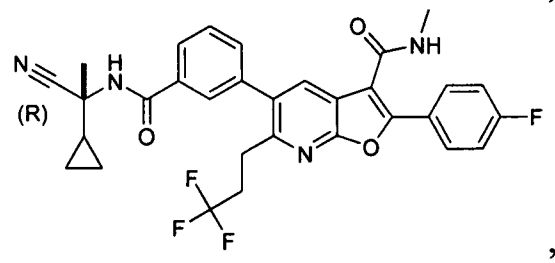
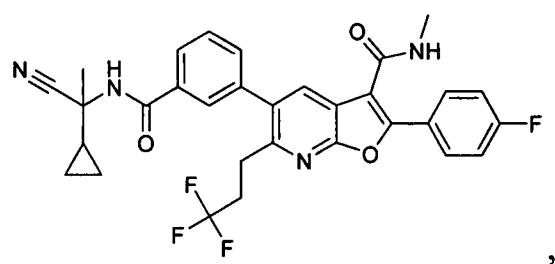
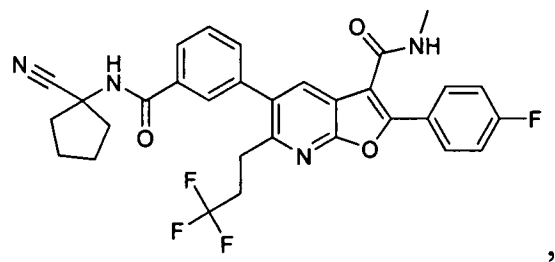


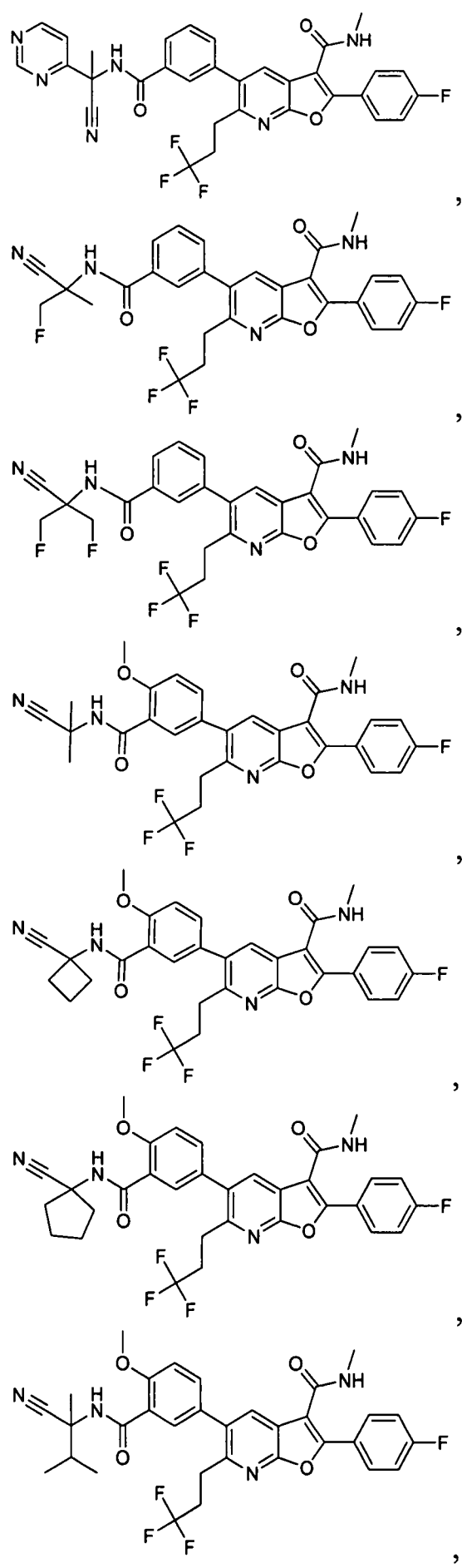
,

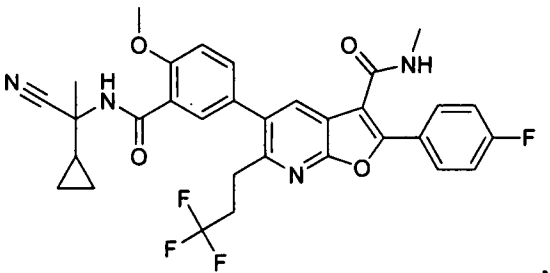


亦較佳者係選自以下各項之群之化合物(包括其醫藥上可接受之鹽)：

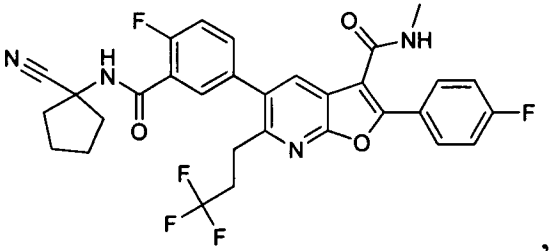




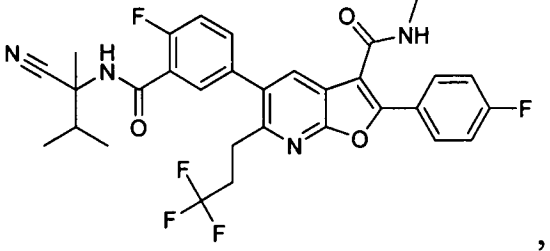




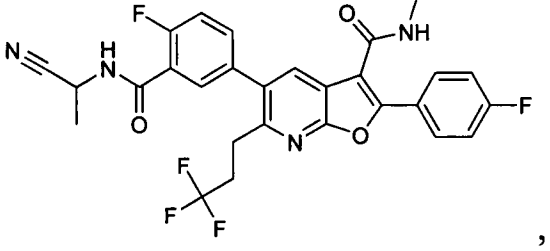
,



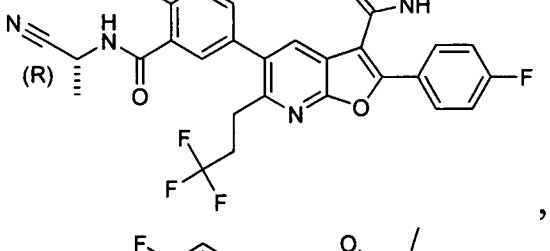
,



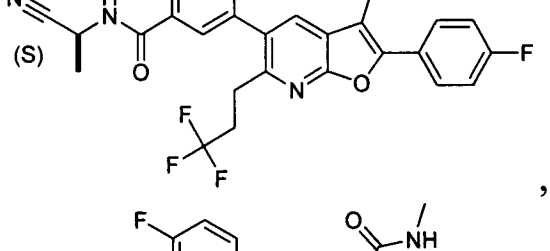
,



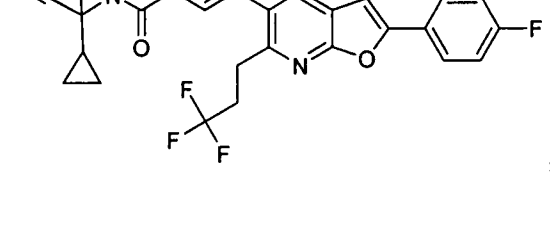
,



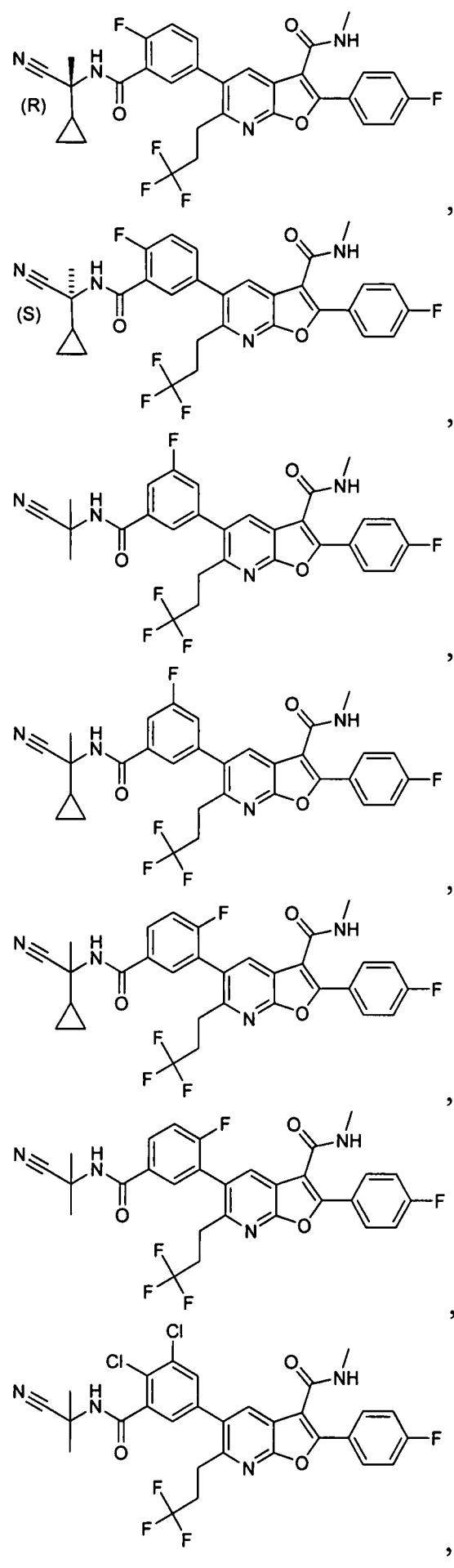
,

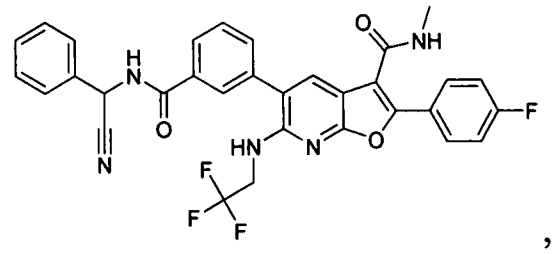
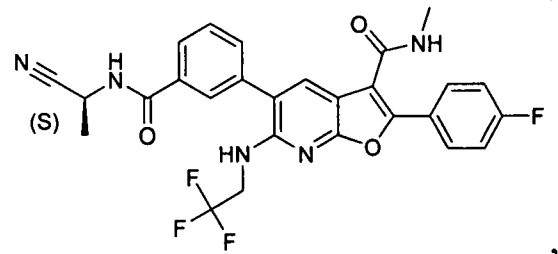
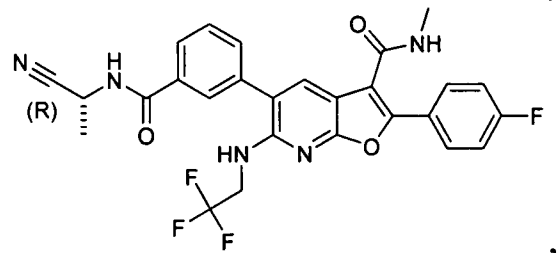
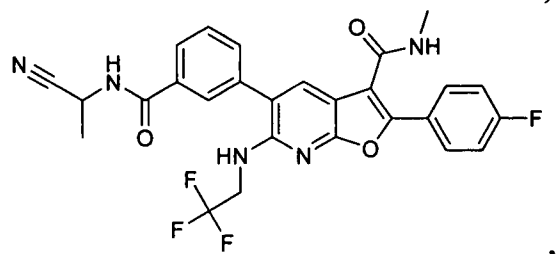
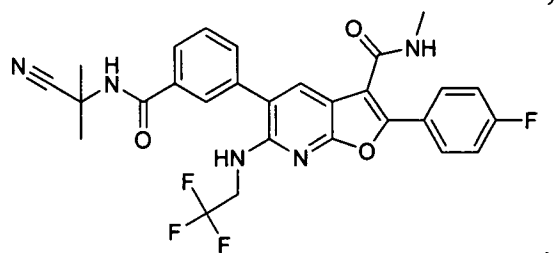
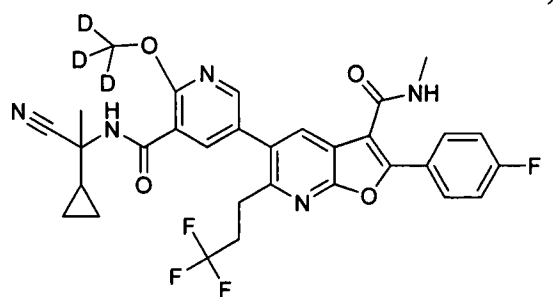


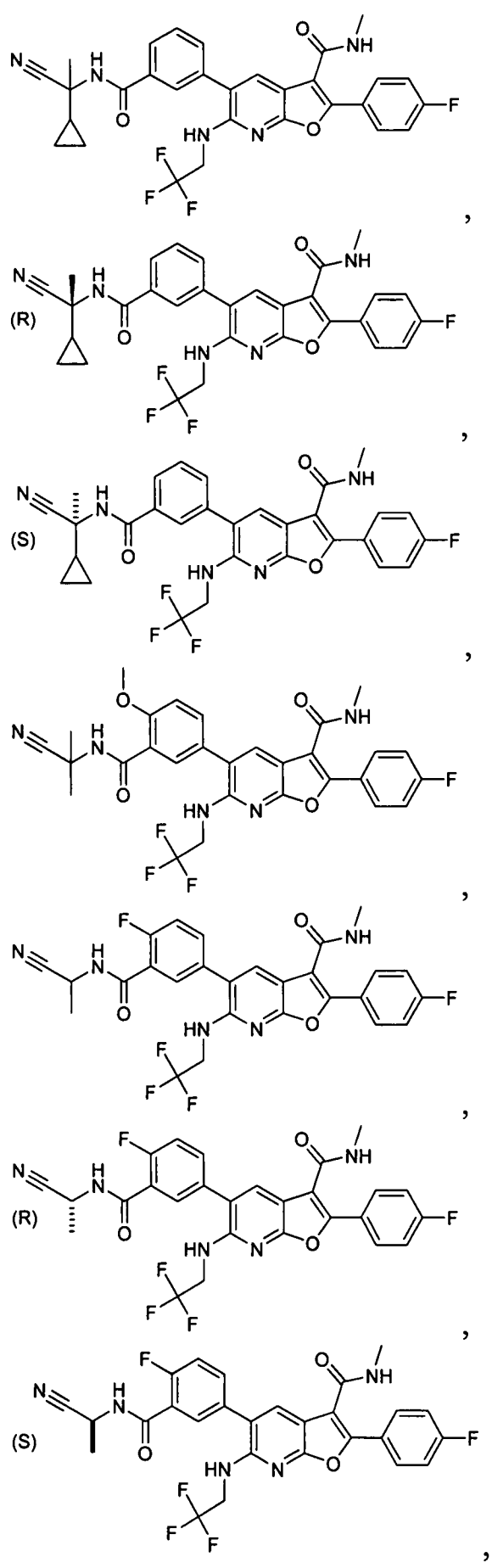
,

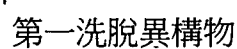


,

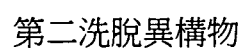




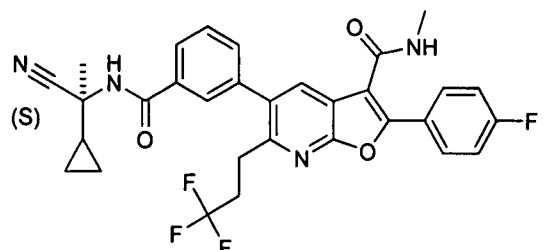
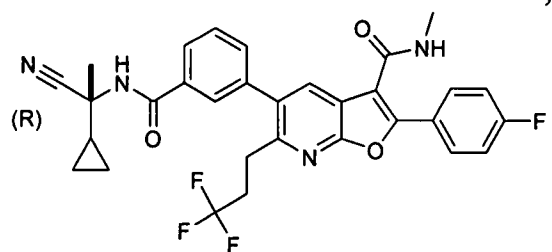
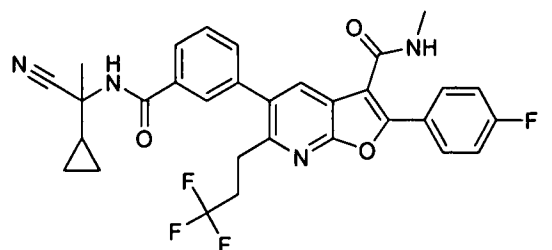
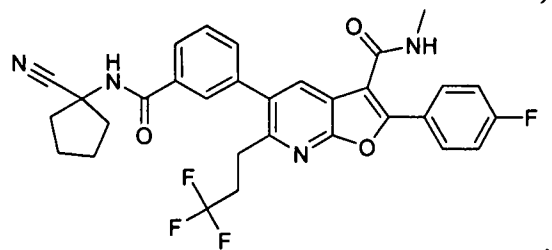
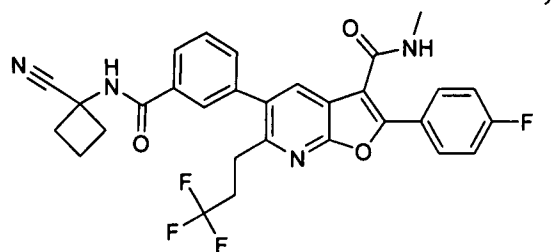
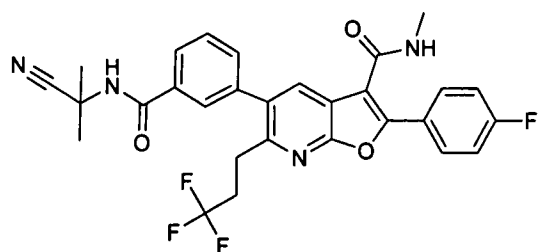


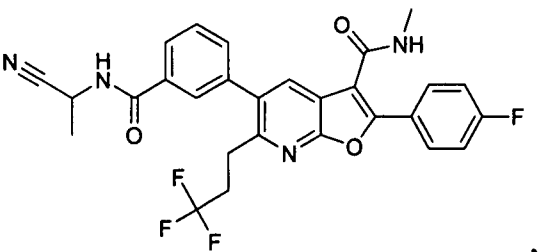


及

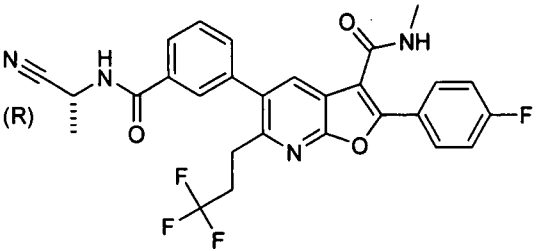


另外較佳者係選自以下各項之群之化合物(包括其醫藥上可接受之鹽)：

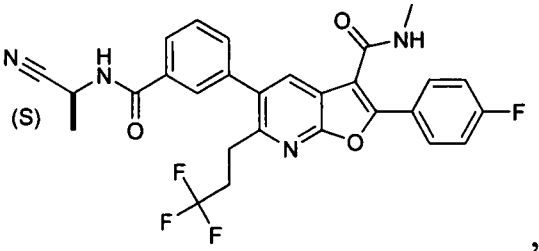




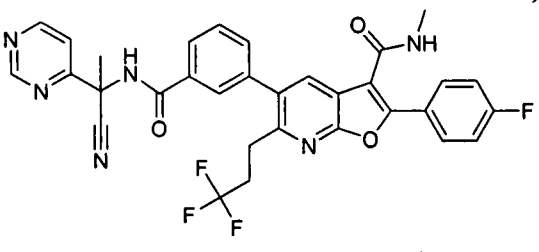
,



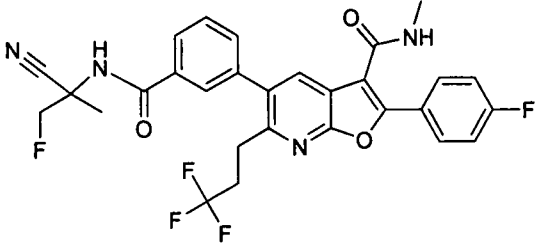
,



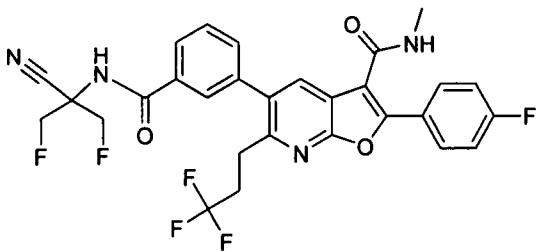
,



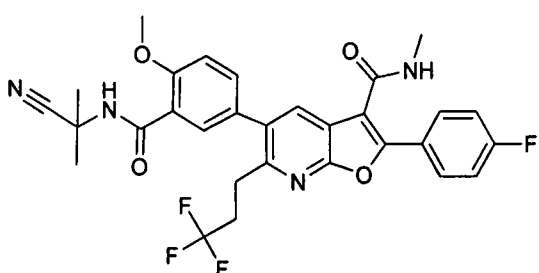
,



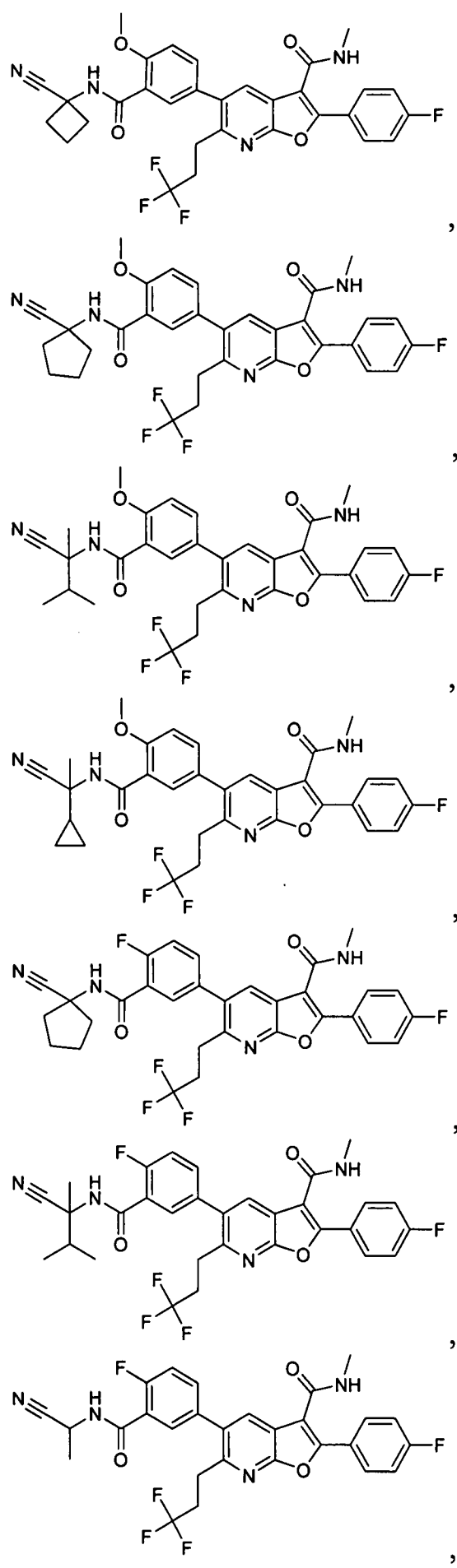
,

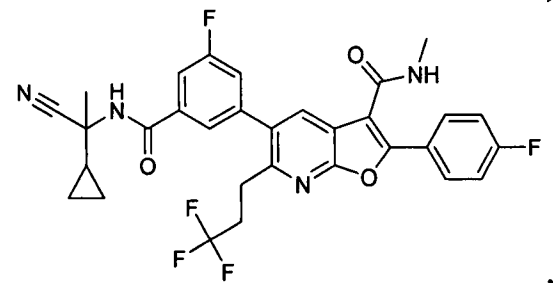


,

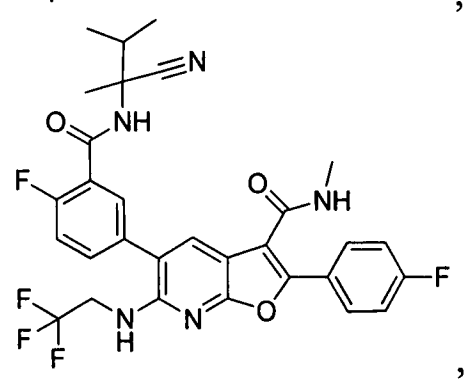
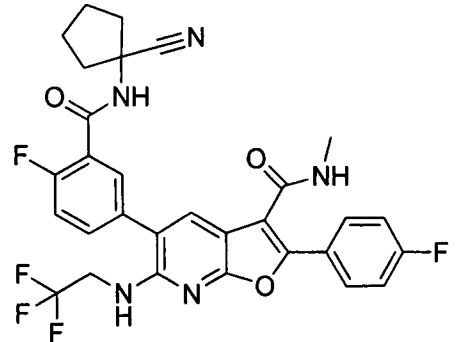
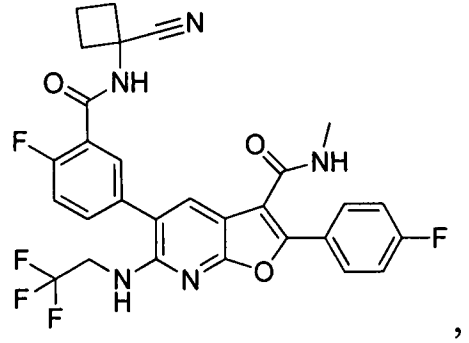
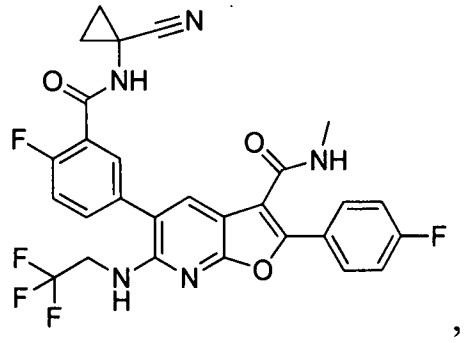
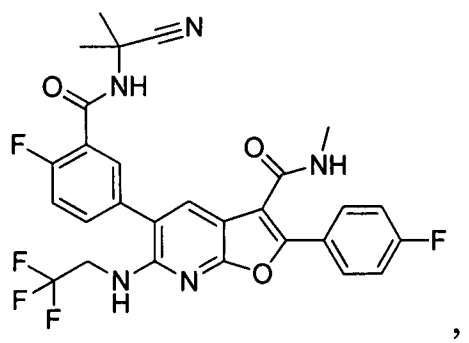


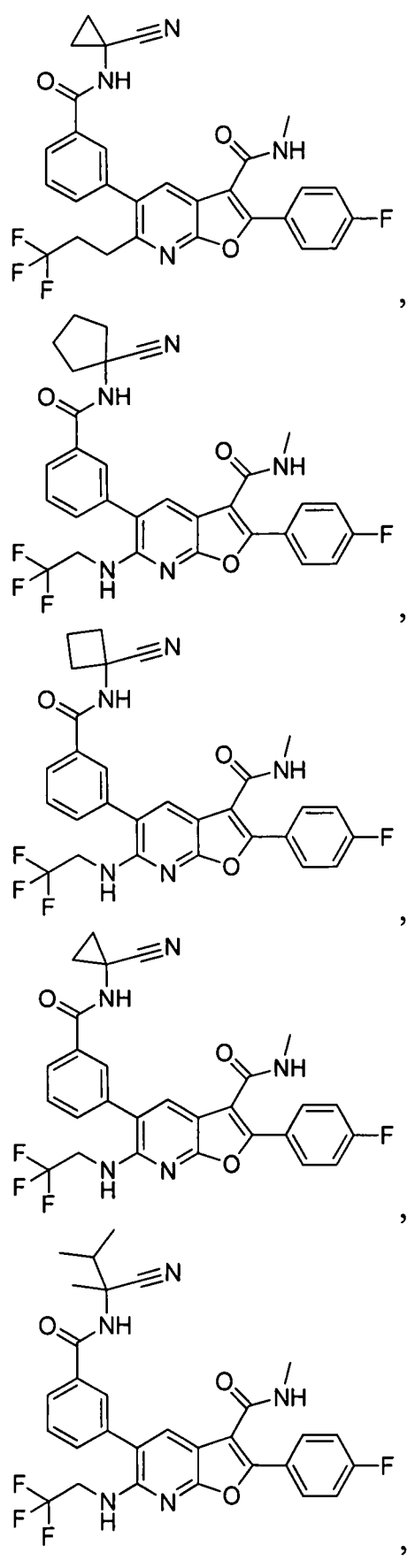
,

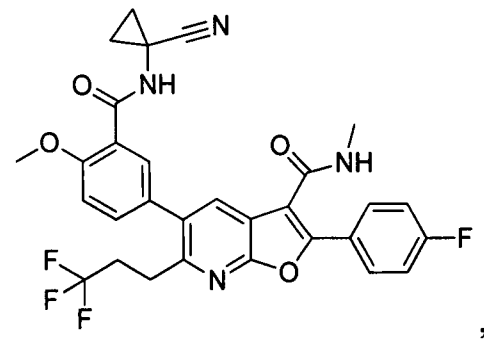
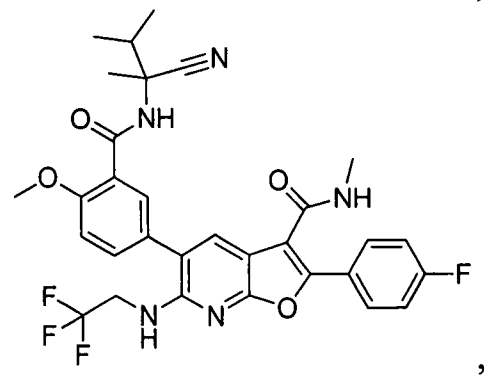
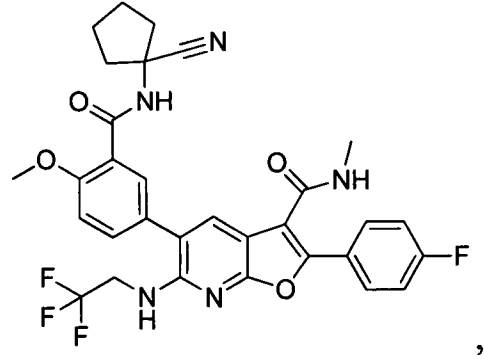
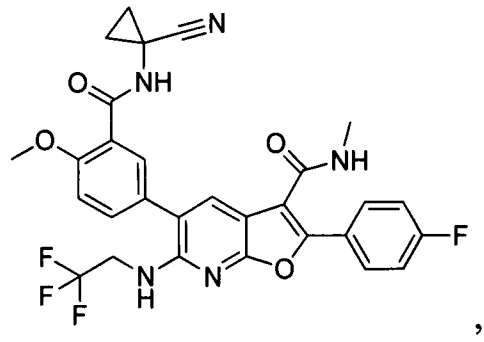
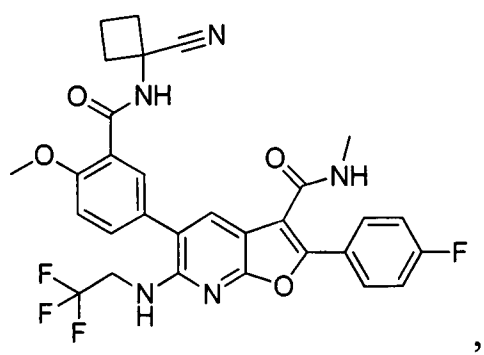




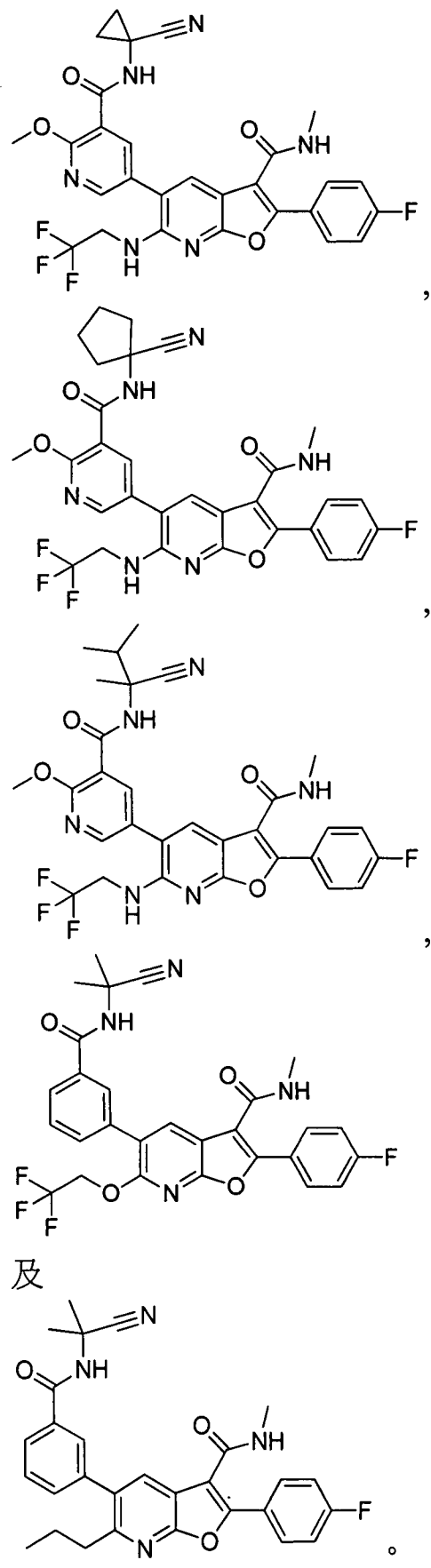




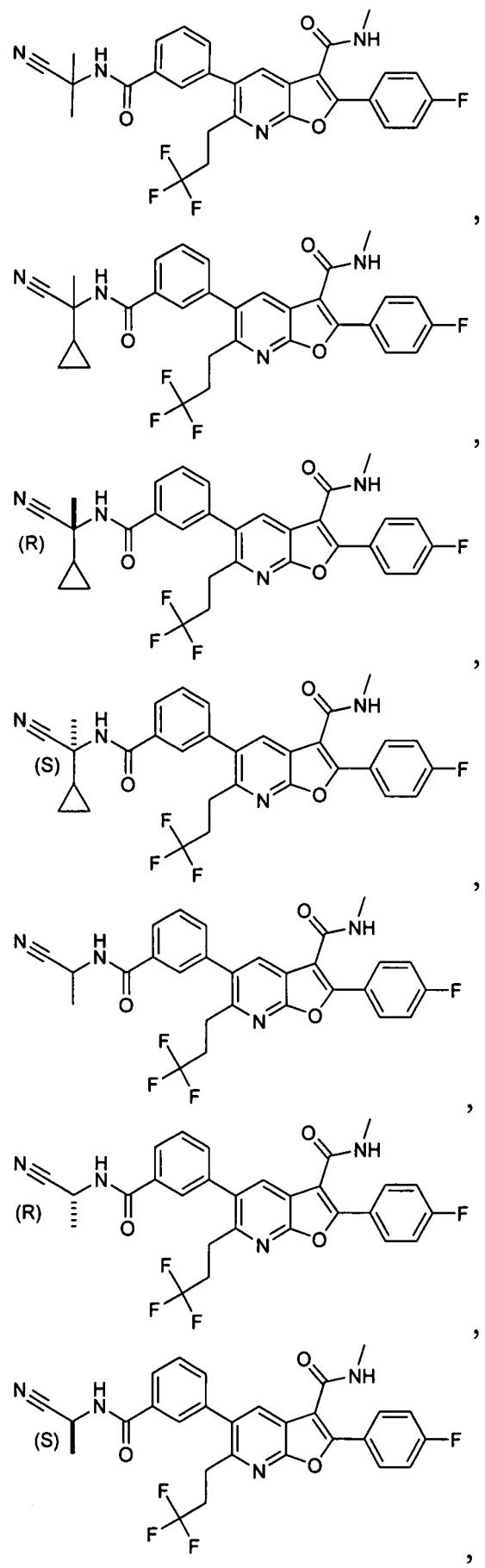




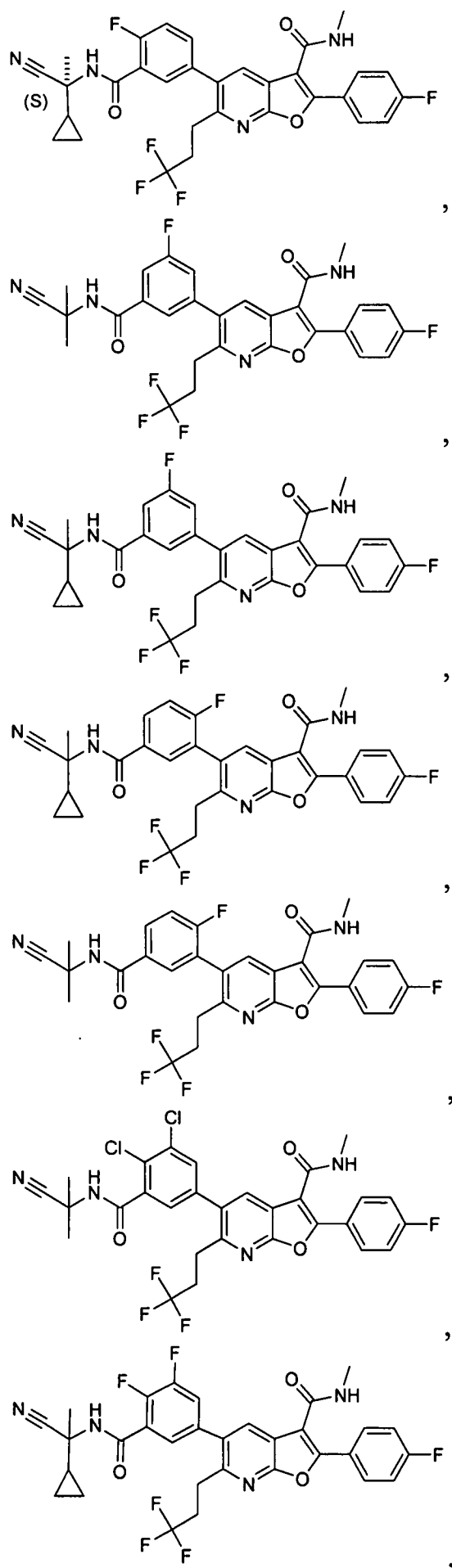


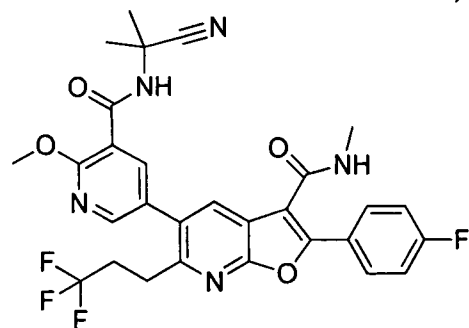
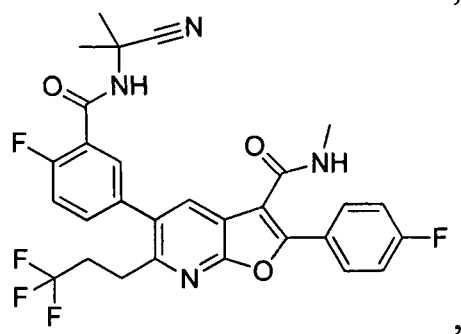
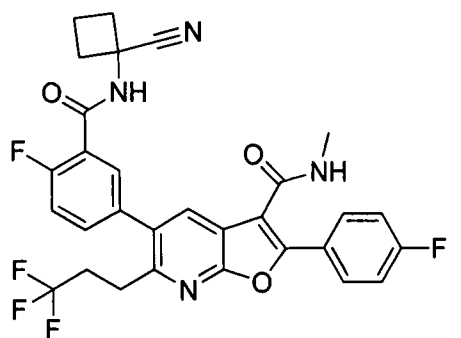


更佳化合物(包括其醫藥上可接受之鹽)選自以下各項之群：

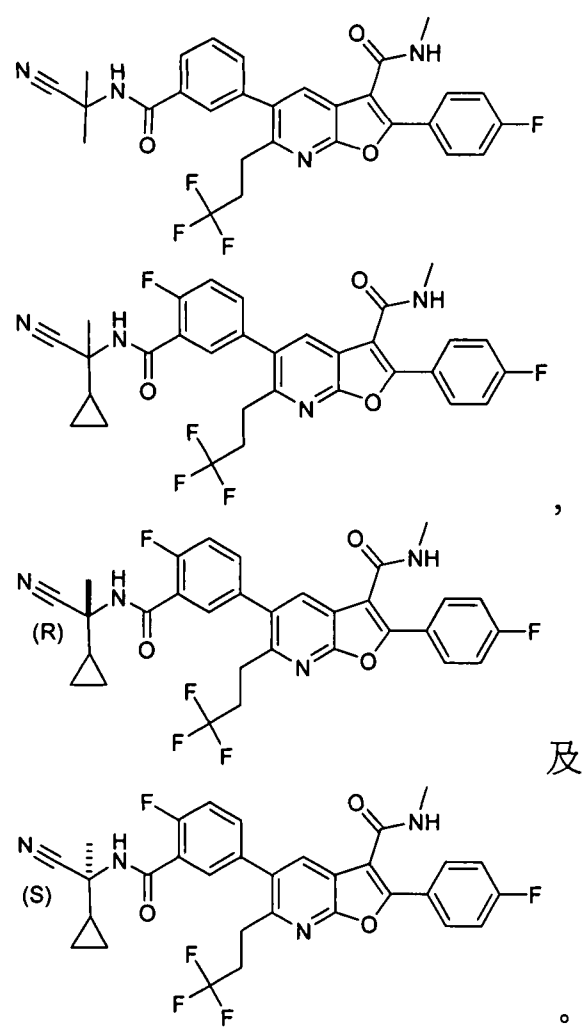




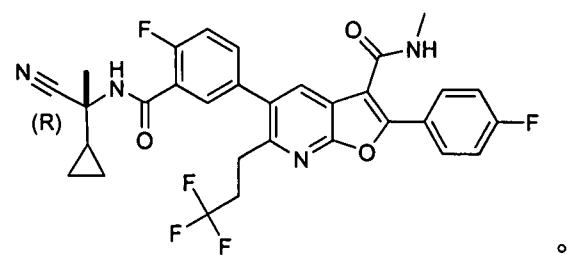


COc1cc2c(cc1C(=O)N3C4(C#N)CCC4C3)c3cc4c(c2)oc(cc34)C(=O)N5C6=CC=C(C=C6)C(F)=C5

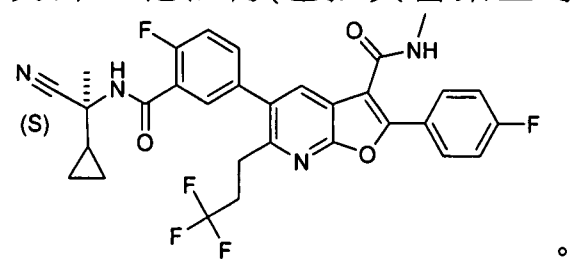
- 42 -



另外較佳者係經鑑別為以下之化合物(包括其醫藥上可接受之鹽)：



另外，化合物(包括其醫藥上可接受之鹽)，其經鑑別為：



醫藥組合物及治療方法

本文所闡述之各個實施例之化合物表明抵抗HCV NS5B之活性，且可用於治療HCV及HCV感染。因此，本發明之另一態樣係包含式I化合物(包括其醫藥上可接受之鹽)及醫藥上可接受之載劑、賦形劑及/或稀釋劑之組合物。

本發明之另一態樣係進一步包含具有抗HCV活性之另一化合物之組合物。

在本發明之另一態樣中，具有抗HCV活性之另一化合物係干擾素或利巴韋林之組合物。本發明另一態樣係其中干擾素係選自干擾素 α 2B、聚乙二醇化干擾素 α 、複合干擾素、干擾素 α 2A、干擾素 λ 及類淋巴母細胞干擾素 τ 。

本發明之另一態樣係其中具有抗HCV活性之另一化合物係環孢素(cyclosporin)之組合物。在本發明另一態樣中，環孢素係環孢素A。

本發明之另一態樣係其中具有抗HCV活性之另一化合物係選自由以下各項組成之群之組合物：介白素2、介白素6、介白素12、增強1型輔助T細胞反應發生之化合物、干擾RNA、反義RNA、咪奎莫特(Imiquimod)、利巴韋林、肉苈5'-單磷酸去氫酶抑制劑、金剛烷胺(amantadine)及金剛烷乙胺。

本發明另一態樣係具有抗HCV活性之另一化合物可有效抑制選自由以下組成之群之靶標之功能之組合物：HCV金屬蛋白酶、HCV絲胺酸蛋白酶、HCV聚合酶、HCV解旋酶、HCV NS4B蛋白、HCV進入、HCV組裝、HCV釋出、HCV NS5A蛋白、IMPDH及用於治療HCV感染之核苷類似物。

本發明之另一態樣係包含式I化合物或其醫藥上可接受之鹽、醫藥上可接受之載劑、干擾素及利巴韋林之組合物。

本發明之另一態樣係抑制HCV複製子之功能之方法，其包含使

HCV複製子與式I化合物或其醫藥上可接受之鹽接觸。

本發明之另一態樣係抑制HCV NS5B蛋白之功能之方法，其包含使HCV NS5B蛋白與式I化合物或其醫藥上可接受之鹽接觸。

本發明之另一態樣係治療患者之HCV感染之方法，其包含向該患者投與治療有效量之式I化合物或其醫藥上可接受之鹽。在另一實施例中，該化合物有效抑制HCV複製子之功能。在另一實施例中，該化合物有效抑制HCV NS5B蛋白之功能。

本發明之另一態樣係治療患者之HCV感染之方法，其包含結合(在之前、在之後或同時)具有抗HCV活性之另一化合物向該患者投與治療有效量之式I化合物，或其醫藥上可接受之鹽。

本發明之另一態樣係其中具有抗HCV活性之另一化合物係干擾素或利巴韋林之方法。

本發明另一態樣係其中干擾素係選自以下各項之方法：干擾素 α 2B、聚乙二醇化干擾素 α 、複合干擾素、干擾素 α 2A、干擾素 λ 及類淋巴母細胞干擾素 τ 。

本發明之另一態樣係其中具有抗HCV活性之另一化合物係環孢素之方法。

本發明另一態樣係其中環孢素係環孢素A之方法。

本發明之另一態樣係其中具有抗HCV活性之另一化合物係選自以下各項之方法：介白素2、介白素6、介白素12、增強1型輔助T細胞反應發生之化合物、干擾RNA、反義RNA、咪奎莫特、利巴韋林、肉苈5'-單磷酸去氫酶抑制劑、金剛烷胺及金剛烷乙胺。

本發明另一態樣係其中具有抗HCV活性之另一化合物有效抑制選自由以下組成之群之靶標之功能之方法：HCV金屬蛋白酶、HCV絲胺酸蛋白酶、HCV聚合酶、HCV解旋酶、HCV NS4B蛋白、HCV進入、HCV組裝、HCV釋出、HCV NS5A蛋白、IMPDH及用於治療HCV

感染之核苷類似物。

本發明之另一態樣係其中具有抗HCV活性之另一化合物有效抑制HCV生命週期中除HCV NS5B蛋白外之靶標之功能之方法。

「治療有效量」意指當施加至HCV感染之個體時提供有意義的患者益處(例如，抑制、改善或治癒藉由HCV感染造成之急性病況及/或抑制、改善或治癒HCV感染本身)所需藥劑之量，如肝炎及HCV感染之領域之從業人員所瞭解。

「患者」意指感染HCV病毒且適於如肝炎及HCV感染之領域中之從業人員所瞭解之療法者。

如肝炎及HCV感染之領域中之從業人員所瞭解使用「治療」、「療法」、「方案」、「HCV感染」及相關術語。

本發明化合物通常係以醫藥組合物給予，其由治療有效量之化合物或其醫藥上可接受之鹽及醫藥上可接受之載劑組成且可含有習用賦形劑。醫藥上可接受之載劑係具有可接受之安全特性之習知載劑。組合物涵蓋所有常見固體及液體形式，包括例如膠囊、錠劑、菱形錠劑(lozenges)及粉末以及液體懸浮液、糖漿、酏劑及溶液。組合物係使用常見調配技術製得，且通常使用習用賦形劑(例如黏合劑及潤濕劑)及媒劑(例如水及醇)用於組合物。參見例如 *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Company, Easton, PA，第17版，1985。

固體組合物通常係以劑量單位調配，且較佳係每劑提供約1 mg至1000 mg活性成份之組合物。劑量之一些實例係1 mg、10 mg、100 mg、250 mg、500 mg及1000 mg。通常，其他藥劑將以類似於臨床上所使用之該類藥劑之單位範圍存在。通常，此單位範圍為0.25 mg/單位至1000 mg/單位。

液體組合物通常在劑量單位範圍內。通常，液體組合物將在1

mg/mL至100 mg/mL之單位劑量範圍內。劑量之一些實例為1 mg/mL、10 mg/mL、25 mg/mL、50 mg/mL及100 mg/mL。通常，其他藥劑將以類似於臨床上所用該類藥劑之單位範圍存在。通常，此單位範圍為1 mg/mL至100 mg/mL。

本發明涵蓋所有習用之投與方式；較佳係經口及非經腸方法。通常，給藥方案將類似於臨床上所使用之其他藥劑。通常，每日劑量將為每日1-100 mg/kg體重。通常，經口方式需要較多化合物且非經腸方式需要較少化合物。然而，特定給藥方案將由醫師使用合理醫學判斷決定。

本發明亦涵蓋以組合療法給出化合物之方法。亦即，可結合但與可用於治療肝炎及HCV感染之其他藥劑分開使用該化合物。在該等組合方法中，通常將結合其他藥劑以每日1-100 mg/kg體重之每日劑量給予該化合物。通常將以治療使用量給予其他藥劑。然而，具體給藥方案將由醫師使用合理醫學判斷來確定。

表1中列示適於組合物及方法之化合物之一些實例。

表1

商標名	生理類別	抑制劑或靶標之類型	來源公司
NIM811		親環素抑制劑	Novartis
日達仙(Zadaxin)		免疫調節劑	Sciclone
蘇沃斯(Suvus)		亞甲基藍	Bioenvision
艾替隆 (Actilon) (CPG10101)		TLR9激動劑	Coley
巴塔布林 (Batabulin) (T67)	抗癌劑	β-微管蛋白抑制劑	Tularik公司, South San Francisco, CA
ISIS 14803	抗病毒	反義	ISIS Pharmaceuticals公司, Carlsbad, CA/Elan Pharmaceuticals 公司, New York, NY

蘇邁曲(Summetrel)	抗病毒	抗病毒	Endo Pharmaceuticals Holdings公司, Chadds Ford, PA
GS-9132 (ACH-806)	抗病毒	HCV抑制劑	Achillion / Gilead
吡唑并嘧啶化合物及鹽 (來自2005年5月26日之 WO-2005047288)	抗病毒	HCV抑制劑	Arrow Therapeutics 有限公司
左旋韋林(Levovirin)	抗病毒	IMPDH抑制劑	Ribapharm公司, Costa Mesa, CA
麥瑞泊地(Merimepodib)(VX-497)	抗病毒	IMPDH抑制劑	Vertex Pharmaceuticals 公司, Cambridge, MA
XTL-6865 (XTL-002)	抗病毒	單株抗體	XTL BioPharmaceuticals 有限公司, Rehovot, Israel
特拉普韋(Telaprevir)(VX-950, LY-570310)	抗病毒	NS3絲胺酸蛋白酶抑制劑	Vertex Pharmaceuticals 公司, Cambridge, MA/ Eli Lilly and CO. Inc., Indianapolis, IN
HCV-796	抗病毒	NS5B複製酶抑制劑	Wyeth / Viropharma
NM-283	抗病毒	NS5B複製酶抑制劑	Idenix / Novartis
GL-59728	抗病毒	NS5B複製酶抑制劑	Gene Labs / Novartis
GL-60667	抗病毒	NS5B複製酶抑制劑	Gene Labs / Novartis
2'C MeA	抗病毒	NS5B複製酶抑制劑	Gilead
PSI 6130	抗病毒	NS5B複製酶抑制劑	Roche
R1626	抗病毒	NS5B複製酶抑制劑	Roche
2'C甲基腺苷	抗病毒	NS5B複製酶抑制劑	Merck

JTK-003	抗病毒	RdRp抑制劑	Japan Tobacco 公司 , Tokyo, Japan
左旋韋林	抗病毒	利巴韋林	ICN Pharmaceuticals, Costa Mesa, CA
利巴韋林	抗病毒	利巴韋林	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
維拉米定	抗病毒	利巴韋林前藥	Ribapharm公司, Costa Mesa, CA
海 塔 酶 (Heptazyme)	抗病毒	核酶	Ribapharm Pharmaceuticals 公司 , Boulder, CO
BILN-2061	抗病毒	絲胺酸蛋白酶抑制劑	Boehringer Ingelheim Pharma KG, Ingelheim, Germany
SCH 503034	抗病毒	絲胺酸蛋白酶抑制劑	Schering Plough
紮達茲(Zadazim)	免疫調節劑	免疫調節劑	SciClone Pharmaceuticals 公司 , San Mateo, CA
昔普蘭(Ceplene)	免疫調節劑	免疫調節劑	Maxim Pharmaceuticals 公司 , San Diego, CA
驍悉(CellCept)	免疫阻抑劑	HCV IgG免疫阻抑劑	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basel, Switzerland
西瓦賽(Civacir)	免疫阻抑劑	HCV IgG免疫阻抑劑	Nabi Biopharmaceuticals 公 司, Boca Raton, FL
白蛋白干擾素 α (Albuferon - α)	干擾素	白蛋白IFN- α 2b	Human Genome Sciences 公 司 , Rockville, MD

干複津A (Infergen A)	干擾素	IFN干擾素 α -1	InterMune Pharmaceuticals 公司 , Brisbane, CA
ω IFN	干擾素	IFN- ω	Intarcia Therapeutics
IFN- β 及EMZ701	干擾素	IFN- β 及EMZ701	Transition Therapeutics 公司, Ontario, Canada
利比(Rebif)	干擾素	IFN- β 1a	Serono, Geneva, Switzerland
羅擾素A (Roferon A)	干擾素	IFN- α 2a	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basel, Switzerland
甘樂能(Intron A)	干擾素	IFN- α 2b	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
甘樂能及日達仙	干擾素	IFN- α 2b/ α 1-胸腺素	RegeneRx Biopharma. 公司, Bethesda, MD/ SciClone Pharmaceuticals 公司 , San Mateo, CA
羅擾能(Rebetron)	干擾素	IFN- α 2b/利巴韋林	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
艾 替 木 (Actimmune)	干擾素	INF- γ	InterMune 公 司 , Brisbane, CA
干擾素- β	干擾素	干擾素- β -1a	Serono
多福仁(Multiferon)	干擾素	長效IFN	Viragen/ Valentis
惠福仁(Wellferon)	干擾素	類淋巴母細胞 IFN- α 1	GlaxoSmithKline plc, Uxbridge, UK
尼福仁(Omniferon)	干擾素	天然IFN- α	Viragen 公 司 , Plantation, FL

派羅欣(Pegasys)	干擾素	PEG化IFN- α 2a	F. Hoffmann-La Roche 有 限 公 司 , Basel, Switzerland
派羅欣及昔普蘭	干擾素	PEG 化 IFN- α 2a/ 免 疫 調節劑	Maxim Pharmaceuticals 公 司 , San Diego, CA
派羅欣及利巴韋林	干擾素	PEG 化 IFN- α 2a/ 利 巴 韋林	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basel, Switzerland
佩 樂 能 (PEG- Intron)	干擾素	PEG化IFN- α 2b	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
佩樂能/利巴韋林	干擾素	PEG 化 IFN- α 2b/ 利 巴 韋林	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
IP-501	肝保護	抗纖維化	Indevus Pharmaceuticals 公 司 , Lexington, MA
IDN-6556	肝保護	半胱天冬酶抑制劑	Idun Pharmaceuticals 公司, San Diego, CA
ITMN-191 (R- 7227)	抗病毒	絲胺酸蛋白酶抑制劑	InterMune Pharmaceuticals 公 司 , Brisbane, CA
GL-59728	抗病毒	NS5B複製酶抑制劑	Genelabs
ANA-971	抗病毒	TLR-7激動劑	Anadys
波 西 普 韋 (Boceprevir)	抗病毒	絲胺酸蛋白酶抑制劑	Schering Plough
TMS-435	抗病毒	絲胺酸蛋白酶抑制劑	Tibotec BVBA, Mechelen, Belgium
BI-201335	抗病毒	絲胺酸蛋白酶抑制劑	Boehringer Ingelheim Pharma KG, Ingelheim,

			Germany
MK-7009	抗病毒	絲胺酸蛋白酶抑制劑	Merck
PF-00868554	抗病毒	複製酶抑制劑	Pfizer
ANA598	抗病毒	非核苷NS5B聚合酶抑制劑	Anadys Pharmaceuticals 公司, San Diego, CA, USA
IDX375	抗病毒	非核苷複製酶抑制劑	Idenix Pharmaceuticals, Cambridge, MA, USA
BILB 1941	抗病毒	NS5B聚合酶抑制劑	Boehringer Ingelheim Canada有限公司R&D, Laval, QC, Canada
PSI-7851	抗病毒	核苷聚合酶抑制劑	Pharmasset, Princeton, NJ, USA
PSI-7977	抗病毒	核苷酸NS5B聚合酶抑制劑	Pharmasset, Princeton, NJ, USA
VCH-759	抗病毒	NS5B聚合酶抑制劑	ViroChem Pharma
VCH-916	抗病毒	NS5B聚合酶抑制劑	ViroChem Pharma
GS-9190	抗病毒	NS5B聚合酶抑制劑	Gilead
Peg-干擾素λ	抗病毒	干擾素	ZymoGetics/Bristol-Myers Squibb

合成方法

該等化合物可藉由業內可獲得之方法以及彼等下文所闡述者製得。一些試劑及中間體可在業內獲得。其他試劑及中間體可藉由業內可獲得之方法使用市售材料製得。用於闡述化合物之合成之變量(例如編號之「R」取代基)僅意欲說明如何製備且不應與申請專利範圍或說明書之其他部分中所使用之變量混淆。方案內所使用之縮寫通常遵循業內所使用之慣例。

方案中所使用之縮寫通常遵循業內所使用之慣例。說明書及實例中所使用之化學縮寫係定義如下：「NaHMDS」為雙(三甲基矽基)鹽

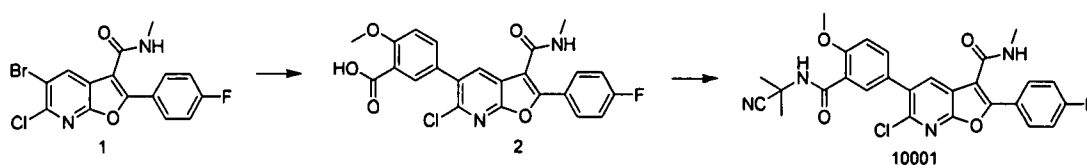
胺鈉；「DMF」為N,N-二甲基甲醯胺；「MeOH」為甲醇；「NBS」為N-溴琥珀醯亞胺；「Ar」為芳基；「TFA」為三氟乙酸；「LAH」為氫化鋁鋰；「DMSO」為二甲基亞砜；「h」為小時；「rt」為室溫或滯留時間(背景將指示)；「min」為分鐘；「EtOAc」為乙酸乙酯；「THF」為四氫呋喃；「EDTA」為乙二胺四乙酸；「Et₂O」為二乙醚；「DMAP」為4-二甲基胺基吡啶；「DCE」為1,2-二氯乙烷；「ACN」為乙腈；「DME」為1,2-二甲氧基乙烷；「HOBt」為1-羥基苯并三唑水合物；「DIEA」為二異丙基乙胺。

對於0000系列中之化合物之部分，在Shimadzu LC-10AS或LC-20AS液相層析儀上使用SPD-10AV或SPD-20A UV-Vis檢測器記錄所有液相層析(LC)數據，且利用用於LC之Micromass Platform以電噴霧模式測定質譜(MS)數據。

HPLC方法(即，化合物分離)。在甲醇(1.2 mL)中稀釋藉由製備型HPLC純化之化合物並使用Shimadzu LC-8A或LC-10A或Dionex APS-3000或Waters Acquity™自動化製備型HPLC系統進行純化。

實例：

化合物10001之製備：



步驟1：向化合物1 (5 g) 5-二羥硼基-2-甲氧基苯甲酸(3.07 g)及Cs₂CO₃ (8.49 g)於二噁烷(120 mL)及水(20 mL)中之混合物中添加Pd(PPh₃)₄ (1.51 g)。用氮吹掃混合物且然後在85°C下加熱16小時。用水稀釋混合物並用1N HCl酸化至pH約3且然後用EtOAc (2 × 150 mL)萃取。合併有機層，用鹽水洗滌，經MgSO₄乾燥並在真空下濃縮。藉由用EtOAc滴定純化殘餘物以得到化合物2。

化合物2	
經計算之MS (MHZ) ⁺	455.1
觀察到的MS (MHZ) ⁺	454.9
滯留時間	1.84 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	30
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3μm

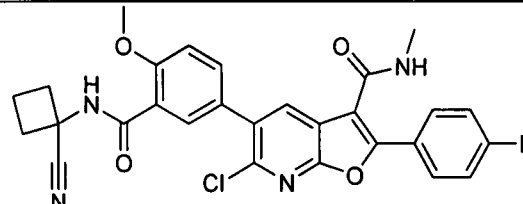
步驟2： 向化合物2 (300 mg)、2-胺基-2-甲基丙腈(66.6 mg)及 HATU (376 mg)於DMF (5 mL)中之溶液中添加iPr₂NEt (0.46 mL)。在室溫下將混合物攪拌4小時。用EtOAc (200 mL)、洗滌水(50 mL)、鹽水(50 mL)稀釋混合物，經MgSO₄乾燥並在真空下濃縮。藉由用EtOAc 滴定純化殘餘物以得到化合物10001。

10001	
經計算之MS (MHZ) ⁺	521.1
觀察到的MS (MHZ) ⁺	521.2
滯留時間	1.85 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	30
最後B%	100
梯度時間	2 min

流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3μm

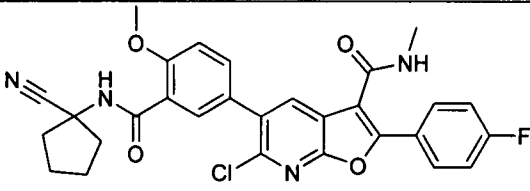
化合物10002之製備：

化合物10002係經由與10001相同之程序使用1-胺基環丁烷甲腈作為起始材料1來製備。

 10002	
經 計 算 之 MS (MHZ) ⁺	533.1
觀 察 到 的 MS (MHZ) ⁺	533.1
滯留時間	1.90 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	30
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3μm

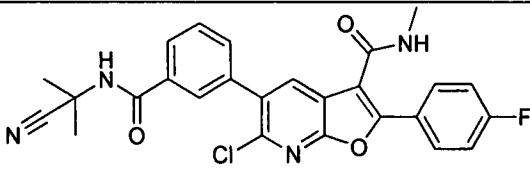
化合物10003之製備：

化合物10003係經由與10001相同之程序使用1-胺基環戊烷甲腈鹽酸鹽作為起始材料1來製備。

 10003	
經 計 算 之 MS (MHZ) ⁺	547.2
觀 察 到 的 MS (MHZ) ⁺	547.1
滯留時間	1.65 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3μm

化合物10004之製備：

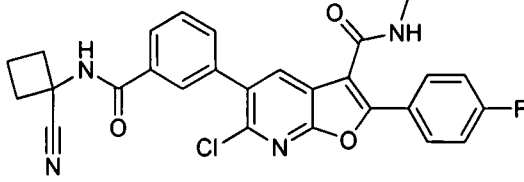
化合物10004係經由與化合物10001相同之程序自化合物1在步驟1
中使用3-二羥硼基-苯甲酸作為起始材料來製備。

 10004	
經 計 算 之 MS (MHZ) ⁺	491.1
觀 察 到 的 MS (MHZ) ⁺	491.1
滯留時間	1.85 min

LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	30
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3μm

化合物10005之製備：

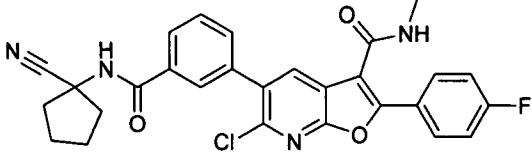
化合物10005係自化合物1經由與化合物10002相同之程序在步驟1中使用3-二羥硼基-苯甲酸作為起始材料來製備。

 10005	
經 計 算 之 MS (MHZ) ⁺	503.1
觀 察 到 的 MS (MHZ) ⁺	503.1
滯留時間	1.89 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	30
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220

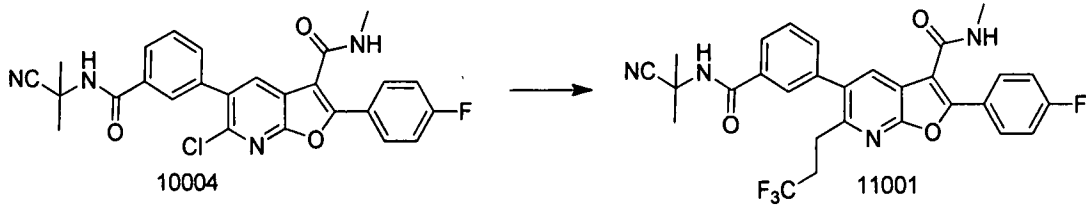
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3μm

化合物10006之製備：

化合物10006係自化合物1經由與化合物10003相同之程序在步驟1中使用3-二羥硼基-苯甲酸作為起始材料來製備。

 10006	
經計算之MS (MHZ) ⁺	517.1
觀察到的MS (MHZ) ⁺	517.1
滯留時間	1.60 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3μm

化合物11001之製備：



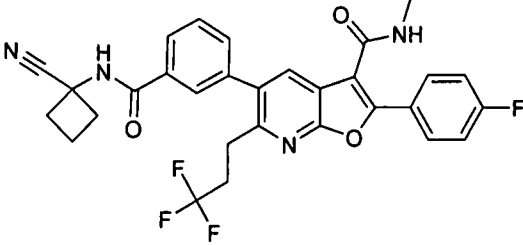
將化合物10004 (30 mg)、CF₃CH₂CH₂BF₃K (43.6 mg)、碳酸銨 (59.7 mg)、二環己基(2',6'-二異丙氧基-[1,1'-聯苯基]-2-基)膦(11.41 mg)及二乙醯氧基鉀(2.74 mg)於甲苯(3 mL)及水(0.3 mL)中之混合物在

80℃ 下加熱16小時。用EtOAc (20 mL)稀釋混合物，用水(20 mL)、鹽水(20 mL)洗滌，經MgSO₄乾燥，並在真空下濃縮。藉由製備型HPLC系統純化殘餘物。

11001	
經計算之MS (MHZ) ⁺	553.2
觀察到的MS (MHZ) ⁺	553.2
滯留時間	1.79 min
LC條件	
溶劑A	5% ACN: 95%水: 10mM乙酸銨
溶劑B	95% ACN: 5%水: 10mM乙酸銨
開始B%	0
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	ACN: 水: 乙酸銨
管柱	Phenomenex LUNA C18, 30×2, 3μ

化合物11002之製備：

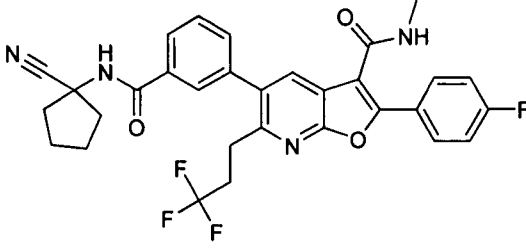
化合物11002係經由與11001相同之程序使用化合物10005作為起始材料來製備。

	
11002	
經計算之MS (MHZ) ⁺	565.2
觀察到的MS (MHZ) ⁺	565.3
滯留時間	1.82 min
LC條件	

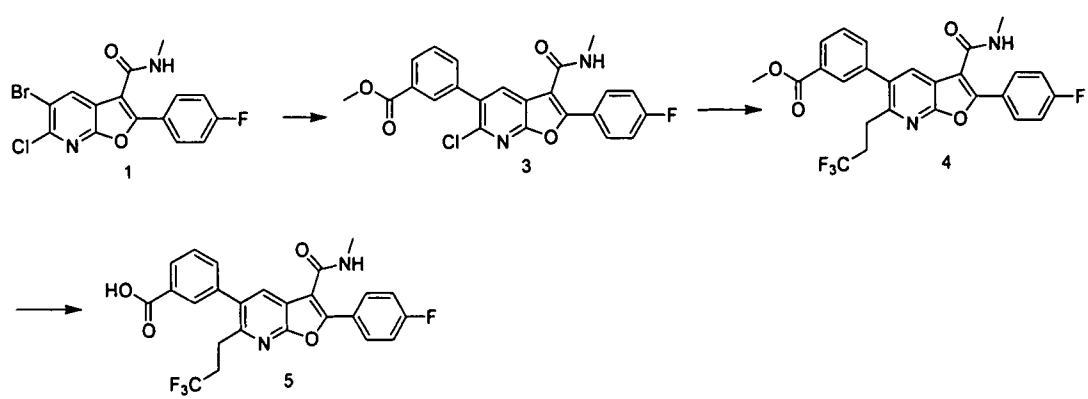
溶劑A	5% ACN: 95%水: 10mM乙酸鉍
溶劑B	95% ACN: 5%水: 10mM乙酸鉍
開始B%	0
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	ACN: 水: 乙酸鉍
管柱	Phenomenex LUNA C18, 30×2, 3μ

化合物11003之製備：

化合物11003係經由與11001相同之程序使用化合物10006作為起始材料來製備。

 11003	
經計算之MS (MHZ) ⁺	579.2
觀察到的MS (MHZ) ⁺	579.2
滯留時間	1.82 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

中間體5之製備：



步驟1：向化合物1 (100 mg)、(3-(甲氧基羰基)苯基)脲酸(46.9 mg)及Cs₂CO₃ (170 mg)於二噁烷(4 mL)及水(1 mL)中之混合物中添加Pd(PPh₃)₄ (30.1 mg)。用氮吹掃混合物且然後在85℃下加熱4小時。用水稀釋混合物且用EtOAc (2 × 10 mL)萃取。合併有機層，用鹽水(2 × 10 mL)洗滌，經MgSO₄乾燥，並在真空下濃縮。藉由用EtOAc滴定純化殘餘物從而得到化合物3。

化合物3	
經計算之MS (MHZ) ⁺	439.1
觀察到的MS (MHZ) ⁺	439.0
滯留時間	1.76 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3μm

步驟2：將化合物3 (1g)、CF₃CH₂CH₂BF₃K (1.63 g)、Cs₂CO₃ (2.23 g)、二環己基(2',6'-二異丙氧基-[1,1'-聯苯基]-2-基)膦(0.43 g)及二乙醯氧基鈹(0.10 g)於甲苯(50 mL)及水(5.0 mL)中之混合物在90℃下加熱16小時。用EtOAc (250 mL)稀釋混合物，用水(100 mL)、鹽水(100 mL)洗滌，經MgSO₄乾燥，並在真空下濃縮。藉由矽膠管柱(己烷: EtOAc = 1:1至1:2)純化殘餘物從而得到化合物4。

化合物4	
經計算之MS (MHZ) ⁺	501.1
觀察到的MS (MHZ) ⁺	501.1
滯留時間	1.88 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

步驟3：將化合物4 (400 mg)及NaOH (4.0 mL, 1N)於THF (30 mL)及水(15 mL)中之混合物在80℃下加熱6小時。藉由1N HCl將混合物酸化至pH約5並用EtOAc (2×50 mL)萃取。合併有機層，用鹽水(2×50 mL)洗滌，經MgSO₄乾燥並在真空下濃縮從而得到化合物5，該化合物係原樣使用。

化合物5	
經計算之MS (MHZ) ⁺	487.1
觀察到的MS (MHZ) ⁺	487.0

滯留時間	1.64 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

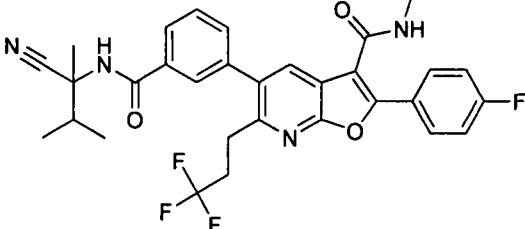
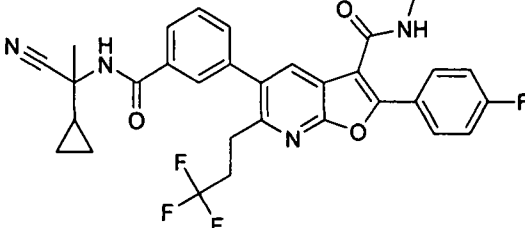
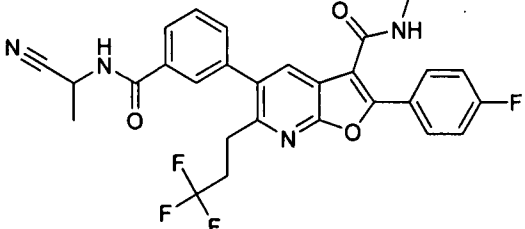
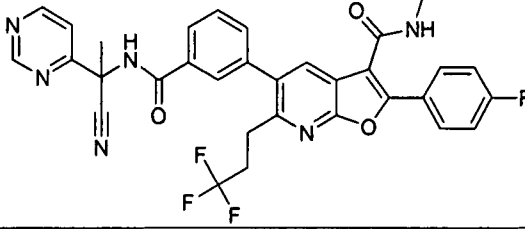
化合物 11004、11005、11008、11011、11012及11013之製備：

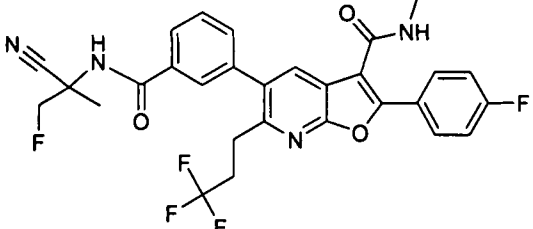
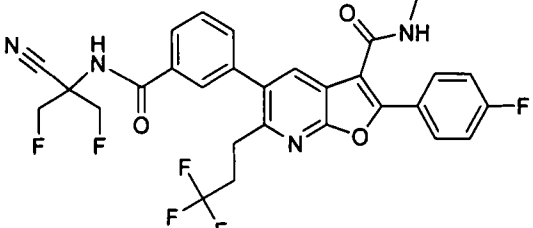
將 $i\text{Pr}_2\text{NEt}$ 或 Et_3N (2 當量) 及 HATU 或 HCTU 或 DEBPT (1.3 當量) 添加至化合物 5 (1 當量) 及胺 (1.3 當量) 於 DMF 或 THF 中之溶液中。將反應物在室溫或 85°C 下攪拌 30 分鐘至 72 小時。藉由製備型 HPLC 系統分離期望之產物。

LC條件A	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

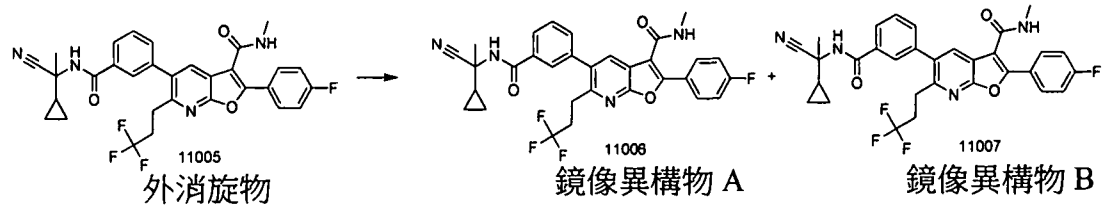
LC條件B	
溶劑A	5% ACN: 95%水: 10mM 乙酸銨

溶劑B	95% ACN: 5%水: 10mM乙酸銨
開始B%	0
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	ACN: 水:乙酸銨
管柱	Phenomenex LUNA C18, 30×2, 3μ

化合物 編號	LC方 法	結構	經計算 之MS (MHZ) ⁺	觀察到 的MS (MHZ) ⁺	滯留時 間 (min)
11004	A		581.2	581.2	1.88
11005	B		579.2	579.3	1.92
11008	A		539.2	539.1	1.67
11011	A		617.2	617.3	1.50

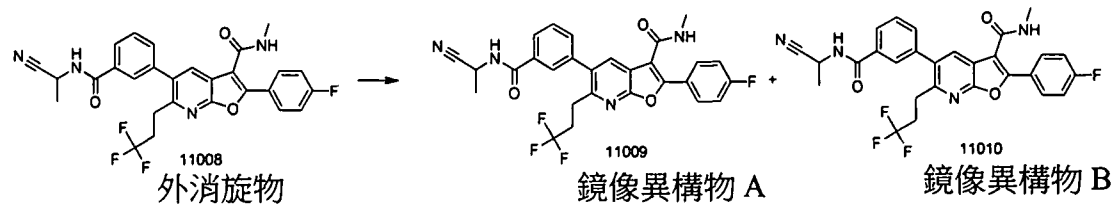
11012	B		571.2	571.4	1.83
11013	B		589.2	589.4	1.86

化合物11006及11007之製備：



化合物11006及11007係自試樣11005分離之兩種鏡像異構物。絕對立體化學未確定。

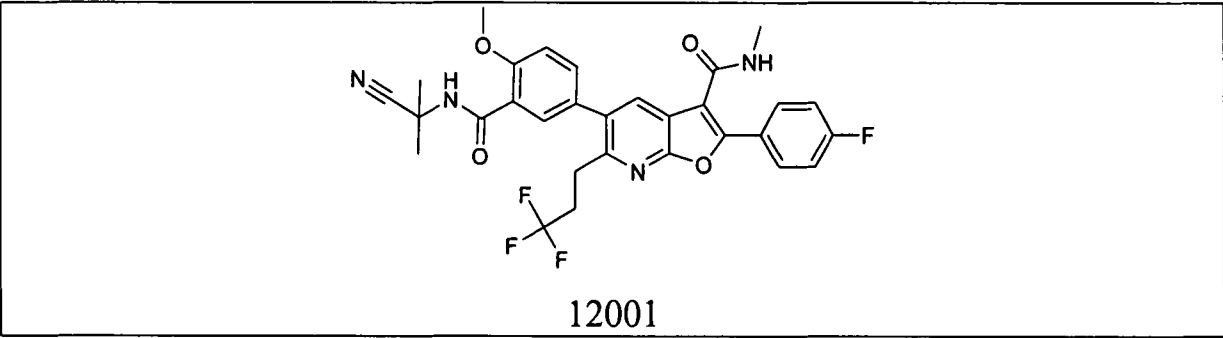
化合物11009及11010之製備：



化合物11009及11010係自試樣11008分離之兩種鏡像異構物。絕對立體化學未確定。

化合物12001之製備：

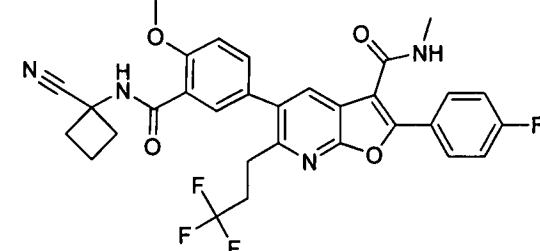
化合物12001係經由與11001相同之程序使用化合物10001作為起始材料來製備。



經計算之MS (MHZ) ⁺	583.2
觀察到的MS (MHZ) ⁺	583.1
滯留時間	1.69 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

化合物12002之製備：

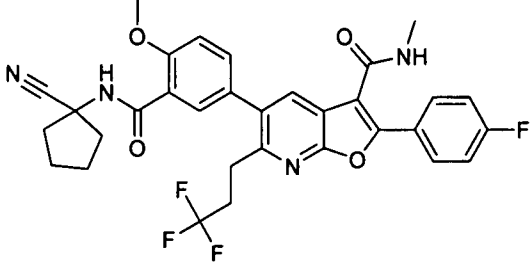
化合物12002係經由與11001相同之程序使用化合物10002作為起始材料來製備。

 12002	
經計算之MS (MHZ) ⁺	595.2
觀察到的MS (MHZ) ⁺	595.3
滯留時間	1.93 min
LC條件	
溶劑A	5% ACN: 95%水: 10mM乙酸銨
溶劑B	95% ACN: 5%水: 10mM乙酸銨
開始B%	0
最後B%	100
梯度時間	2 min

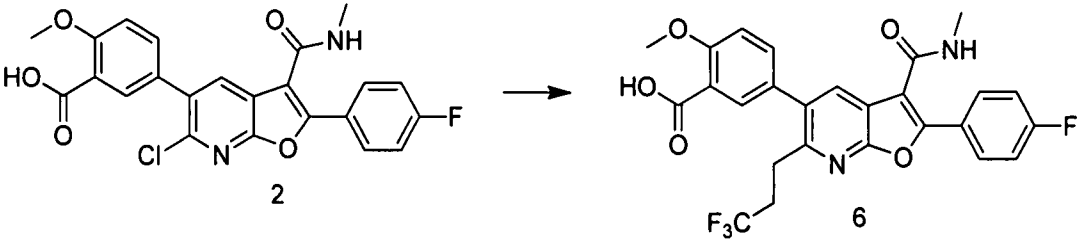
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	ACN: 水:乙酸鉍
管柱	Phenomenex LUNA C18, 30×2, 3μ

化合物12003之製備：

化合物12003係經由與11001相同之程序使用化合物10003作為起始材料來製備。

 12003	
經計算之MS (M-H) ⁺	609.2
觀察到的MS (M-H) ⁺	609.3
滯留時間	1.95 min
LC條件	
溶劑A	5% ACN: 95%水: 10mM乙酸鉍
溶劑B	95% ACN: 5%水: 10mM乙酸鉍
開始B%	0
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	ACN: 水:乙酸鉍
管柱	Phenomenex LUNA C18, 30×2, 3μ

中間體6之製備：



中間體6係經由與11001相同之程序使用中間體2作為起始材料來製備。

化合物6	
經計算之MS (MHZ) ⁺	5 17.1
觀察到的MS (MHZ) ⁺	517.0
滯留時間	1.63 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

化合物12004及12005之製備：

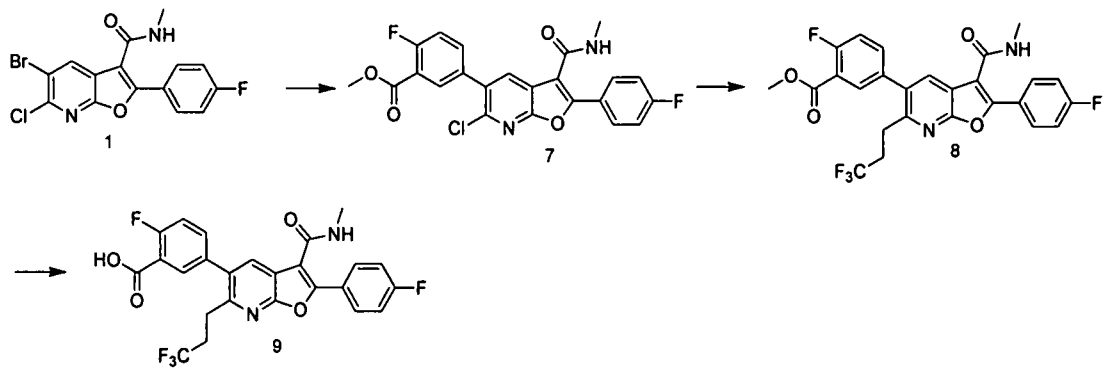
將iPr₂NEt或Et₃N (2當量)及HATU或HCTU或DEBPT (1.3當量)添加至化合物6 (1當量)及胺(1.3當量)於DMF或THF中之溶液中。將反應物在室溫或85℃下攪拌30分鐘至72小時。藉由製備型HPLC系統分離期望之產物。

LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220

溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

化合物 編號	結構	經計算 之MS (MHZ) ⁺	觀察到 的MS (MHZ) ⁺	滯留時 間 (min)
12004		611.2	611.2	1.88
12005		609.2	609.1	1.82

中間體9之製備：



步驟1：向化合物1 (1 g)、(4-氟-3-(甲氧基羰基)苯基)硼酸(0.62 g)及Cs₂CO₃ (1.70 g)於二噁烷(40 mL)及水(4 mL)中之混合物中添加Pd(PPh₃)₄ (0.30 g)。用氮吹掃混合物且然後在85℃下加熱16小時。用水稀釋混合物且然後用EtOAc (2 × 100 mL)萃取。合併有機層，用鹽水(100 mL)洗滌，經MgSO₄乾燥並在真空下濃縮。藉由用EtOAc滴定純化殘餘物從而得到化合物7。

化合物7	
經計算之MS (MHZ) ⁺	457.1

觀察到的MS (MHZ) ⁺	457.0
滯留時間	1.76 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

步驟2：將化合物7 (270 mg)、三氟(3,3,3-三氟丙基)硼酸鉀(422 mg)、碳酸銨(578 mg)、二環己基(2',6'-二異丙氧基-[1,1'-聯苯基]-2-基)膦(110 mg)及二乙醯氧基鈹(26.5 mg)於甲苯(10 mL)及水(1.0 mL)中之混合物在80℃下加熱16小時。用EtOAc (20 mL)稀釋混合物，用水(20 mL)、鹽水(20 mL)洗滌，經MgSO₄乾燥並在真空下濃縮從而得到化合物8，該化合物係原樣使用。

化合物8	
經計算之MS (MHZ) ⁺	519.1
觀察到的MS (MHZ) ⁺	519.1
滯留時間	1.94 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min

波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

步驟3：向化合物8 (50 mg)於丙酮(3 mL)及水(1 mL)中之懸浮液中添加NaOH (1.93 mL, 1N)。將混合物在80℃下加熱4小時。藉由1N HCl將混合物酸化至pH約3。藉由過濾收集沈澱物從而得到化合物9，該化合物係原樣使用。

化合物9	
經計算之MS (MHZ) ⁺	505.1
觀察到的MS (MHZ) ⁺	505.0
滯留時間	1.64 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

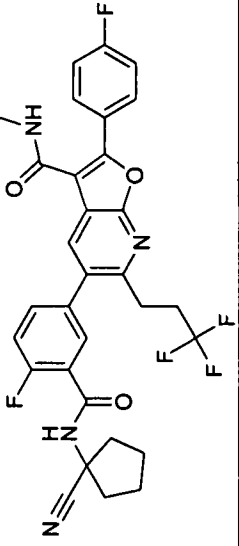
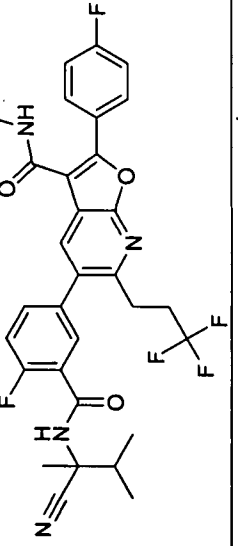
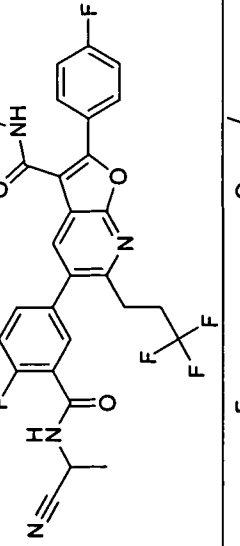
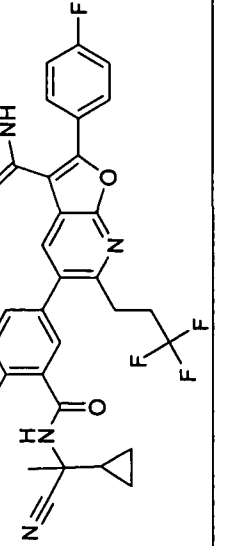
化合物11004、11005、11008、11011、11012及11013之製備：

將iPr₂NEt或Et₃N (2當量)及HATU或HCTU或DEBPT (1.3當量)添加至化合物9 (1當量)及胺(1.3當量)於DMF或THF中之溶液中。將反應物在室溫或85℃下攪拌30分鐘至72小時。藉由製備型HPLC系統分離期望之產物。

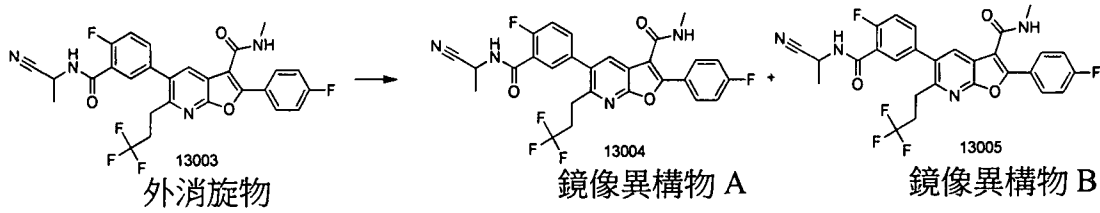
LC條件A	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA

開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

LC條件B	
溶劑A	5% ACN: 95%水: 10mM乙酸銨
溶劑B	95% ACN: 5%水: 10mM乙酸銨
開始B%	0
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	ACN: 水:乙酸銨
管柱	Phenomenex LUNA C18, 30×2, 3μ

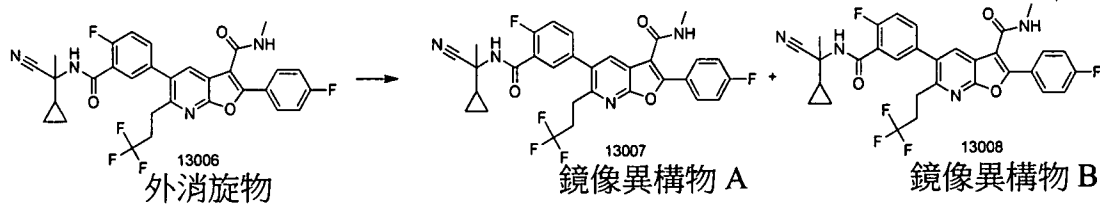
化合物編號	LC方法	結構	所使用之偶合劑/鹼試劑	經計算之MS (MHZ) ⁺	觀察到的MS (MHZ) ⁺	滯留時間 (min)
13001	B		HATU / iPr ₂ NEt	597.2	597.3	1.94
13002	B		HATU / iPr ₂ NEt	599.2	599.3	1.96
13003	A		HATU / iPr ₂ NEt	557.2	557.0	1.57
13006	B		HATU / iPr ₂ NEt	597.2	597.4	1.91

化合物13004及13005之製備：



化合物13004及13005係自試樣13003分離之兩種鏡像異構物。絕對立體化學未確定。

化合物13007及13008之製備：



化合物13007及13008係自試樣13006分離之兩種鏡像異構物。絕對立體化學未確定。

化合物13007及13008之對掌性分離及純度分析：

Chiralcel OD-H製備型管柱，30×250mm, 5 μm

流動相：於150巴CO₂中之10% MeOH (0.1%DEA)

溫度：35℃

流速：70.0 mL/min保持22 min。

在316 nm下實施UV監測

注入：0.5ml約40 mg/mL於1:1 MeOH:CHCl₃中之溶液

滯留時間：15.25分鐘(化合物13007)及17.68分鐘(化合物13008)

使用兩種分析型LC/MS注入來測定最終純度。注入1條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95乙腈：水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5乙腈：水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：50℃；梯度：0%B，0-100% B保持3分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：1 mL/min；檢測：220 nm下之UV。注入2條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95甲

醇:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：50℃；梯度：0%B，0-100% B保持3分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：0.5 mL/min；檢測：220 nm下之UV。

自EtOH與H₂O之混合溶液進一步重結晶化合物13308，從而得到白色固體。

化合物13308之表徵：

a. 光學旋轉

結果： $[\alpha]_d^{20^\circ\text{C}} = -33.48^\circ$ (3.435mg/ml, CHCl₃)

b. 質譜：

質量範圍：m/z 120-1200

電離及模式：電噴霧電離，正離子模式

結果： $\text{ES}^+ = 597.3$

c. 元素分析：組成差異% (Δ) = 實驗 - 理論 (接受準則： $\Delta \leq \pm 0.4$)

結果： $\text{C}_{31}\text{H}_{25}\text{F}_5\text{N}_4\text{O}_3 \cdot 0.06 \text{ H}_2\text{O}$: $\Delta\text{C} = -0.09\%$; $\Delta\text{H} = -0.19\%$;
 $\Delta\text{N} = +0.06\%$

d. 質子譜：

實驗：7.3 mg試樣溶解於600 μl DMSO-d₆中，4次掃描，32K點，在室溫下。¹H化學位移係參考0.0 ppm下之TMS。

¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 9.06 (s, 1H), 8.54 (q, $J=4.4$ Hz, 1H), 8.07 (dd, $J=9.0, 5.5$ Hz, 2H), 7.97 (s, 1H), 7.69 (m, 1H), 7.66 (m, 1H), 7.48 (t, $J=8.5$ Hz, 1H), 7.43 (dd, $J=8.8, 7.3$ Hz, 2H), 3.03 (dd, $J=9.1, 6.6$ Hz, 2H), 2.83 (d, $J=4.7$ Hz, 3H), 2.79 (m, 2H), 1.67 (s, 3H), 1.50 (m, 1H), 0.64 (m, 3H), 0.53 (m, 1H)

e. 碳譜：

實驗：7.3 mg試樣溶解於600 μ l DMSO- d_6 中。碳共振頻率為125.73 MHz。1024次掃描，32K點，在室溫下。 ^{13}C 化學位移係參考0.0 ppm下之TMS。

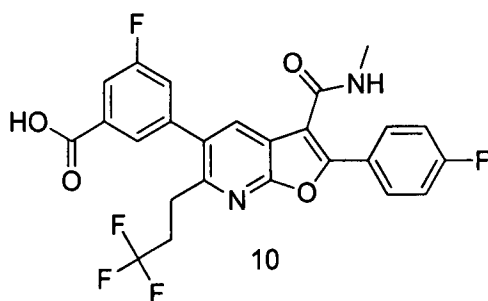
^{13}C NMR (125.73MHz, DMSO- d_6) d 163.4, 162.4, 163.0 (d, $J=248.9$ Hz), 158.8, 158.7 (d, $J=250.7$ Hz), 152.0, 151.4, 135.0 (d, $J=3.6$ Hz), 133.6 (d, $J=8.2$ Hz), 131.9, 131.8, 130.8, 129.9 (d, $J=9.1$ Hz), 127.5 (q, $J=277.0$ Hz), 125.2 (d, $J=2.7$ Hz), 123.9 (d, $J=15.4$ Hz), 118.8, 117.5, 116.4 (d, $J=22.7$ Hz), 116.1 (d, $J=22.7$ Hz), 112.6, 52.2, 31.3 (q, $J=27.3$ Hz), 27.1, 26.2, 23.8, 18.6, 2.9, 1.7。

f. 氟譜

實驗：7.3 mg試樣溶解於600 μ l DMSO- d_6 中，氟共振頻率為470.45 MHz，16次掃描，64K點，在室溫下。 ^{19}F 化學位移係參考0.0 ppm下之 CFCl_3 。

^{19}F NMR (470.45 MHz, DMSO- d_6) d -64.74, -109.85, -115.68。

中間體10之製備：



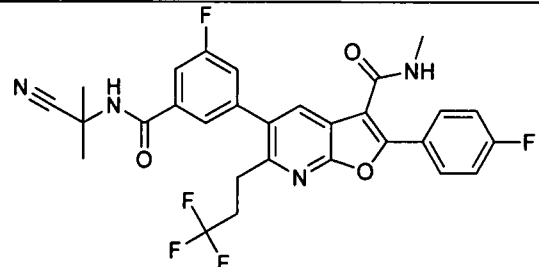
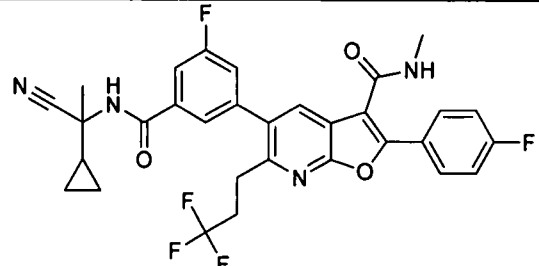
中間體10係經由與中間體9相同之程序在步驟1中使用3-氟-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧雜硼烷-2-基)苯甲酸甲酯作為起始材料來製備。

化合物14001及14002之製備：

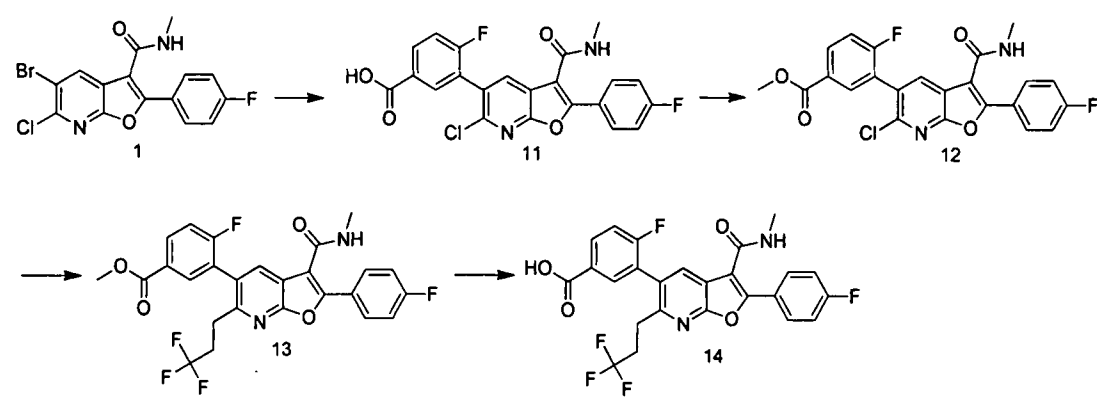
將 $i\text{Pr}_2\text{NEt}$ 或 Et_3N (2當量)及HATU或HCTU或DEBPT (1.3當量)添加至化合物10 (1當量)及胺(1.3當量)於DMF或THF中之溶液中。將反應物在室溫或85 $^{\circ}\text{C}$ 下攪拌30分鐘至72小時。藉由製備型HPLC系統分

離期望之產物。

LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

化合物編號	結構	經計算之MS (MHZ) ⁺	觀察到的MS (MHZ) ⁺	滯留時間 (min)
14001		571.2	571.1	1.89
14002		597.2	597.1	1.98

中間體14之製備：



步驟1：向化合物1 (500 mg)、3-二羥硼基-4-氟苯甲酸(264 mg)及Cs₂CO₃ (849 mg)於DMF (15 mL)及水(1.5 mL)中之混合物中添加Pd(PPh₃)₄ (151 mg)。用氮吹掃混合物且然後在85℃下加熱6小時。用水稀釋混合物且然後用EtOAc (2 × 50 mL)萃取。合併有機層，用鹽水(50 mL)洗滌，並在真空下濃縮。藉由用EtOAc滴定純化殘餘物從而得到化合物11。

化合物11	
經計算之MS (MHZ) ⁺	443.1
觀察到的MS (MHZ) ⁺	442.9
滯留時間	1.67 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

步驟2：將化合物2 (70 mg)、碘甲烷(0.049 mL)及Cs₂CO₃ (103 mg)於MeOH (3 mL)中之混合物在密封管中在80℃下加熱6小時。用MeOH稀釋混合物。藉由過濾移除固體。濃縮濾液從而得到殘餘物，

藉由製備型HPLC系統純化該殘餘物。

化合物12	
經計算之MS (MHZ) ⁺	457.1
觀察到的MS (MHZ) ⁺	456.9
滯留時間	1.91 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

步驟3：將化合物12 (25 mg)、三氟(3,3,3-三氟丙基)硼酸鉀(39.1 mg)、碳酸銨(53.5 mg)、二環己基(2',6'-二異丙氧基-[1,1'-聯苯基]-2-基)膦(10.21 mg)及二乙醯氧基鈹(2.46 mg)於甲苯(2 mL) /水(0.2 mL)中之混合物脫氣並在80°C下加熱16小時。使用EtOAc (10 mL)稀釋混合物，然後用水(10 mL)及鹽水(10 mL)洗滌。分離有機層並在真空下濃縮。藉由用EtOAc滴定純化殘餘物以得到化合物13。

化合物13	
經計算之MS (MHZ) ⁺	519.1
觀察到的MS (MHZ) ⁺	519.0
滯留時間	2.09 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50

最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

步驟4：向化合物13 (15 mg)於THF (3 mL)及水(0.3 mL)中之懸浮液中添加NaOH (0.5 mL, 1N)。將混合物在80℃下加熱4小時。藉由1N HCl將混合物酸化至pH約3。在真空下移除所有溶劑從而得到化合物14，該化合物係原樣使用。

化合物14	
經計算之MS (MHZ) ⁺	505.1
觀察到的MS (MHZ) ⁺	505.0
滯留時間	1.98 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

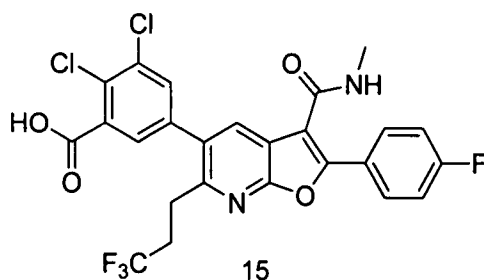
化合物15001及15002之製備：

將iPr₂NEt或Et₃N (2當量)及HATU或HCTU或DEBPT (1.3當量)添加至化合物14 (1當量)及胺(1.3當量)於DMF或THF中之溶液中。將反應物在室溫或85℃下攪拌30分鐘至72小時。藉由製備型HPLC系統分離期望之產物。

LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

化合物 編號	結構	經計算 之MS (MHZ) ⁺	觀察到 的MS (MHZ) ⁺	滯留時 間 (min)
15001	 <chem>CN(C)(C)C#NCC(=O)c1ccc(F)cc1-c2cc3c(cc2Oc4ccc(F)cc4)oc(=O)Nc5cc(F)cc(CF(F)F)cc53</chem>	597.2	597.1	2.00
15002	 <chem>CN(C)(C)C#NCC(=O)c1ccc(F)cc1-c2cc3c(cc2Oc4ccc(F)cc4)oc(=O)Nc5cc(F)cc(CF(F)F)cc53</chem>	571.2	571.1	1.71

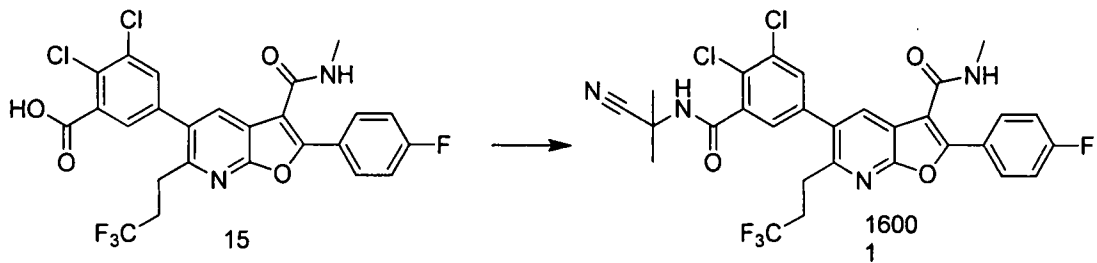
中間體15之製備：



中間體15係經由與中間體9相同之程序在步驟1中使用2,3-二氯-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧雜硼烷-2-基)苯甲酸甲酯作為起始材料來製備。

化合物15	
經計算之MS (MHZ) ⁺	555.0
觀察到的MS (MHZ) ⁺	555.0
滯留時間	1.97 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	60
最後B%	90
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

化合物16001之製備：

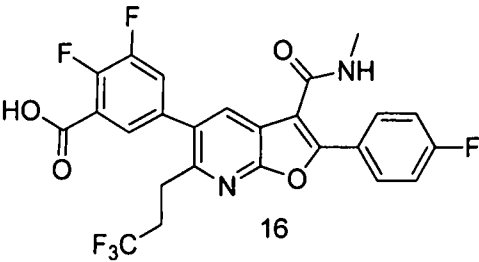


向化合物15 (8 mg)、2-胺基-2-甲基丙腈(2.424 mg, 0.029 mmol)及HATU (8.22 mg, 0.022 mmol)於DMF (1 mL)中之溶液中添加iPr₂NEt (10.06 μl)。在室溫下將混合物攪拌4小時。藉由製備型HPLC系統分離產物。

化合物16001	
經計算之MS (MHZ) ⁺	621.1
觀察到的MS (MHZ) ⁺	621.1
滯留時間	1.59 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA

溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	60
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

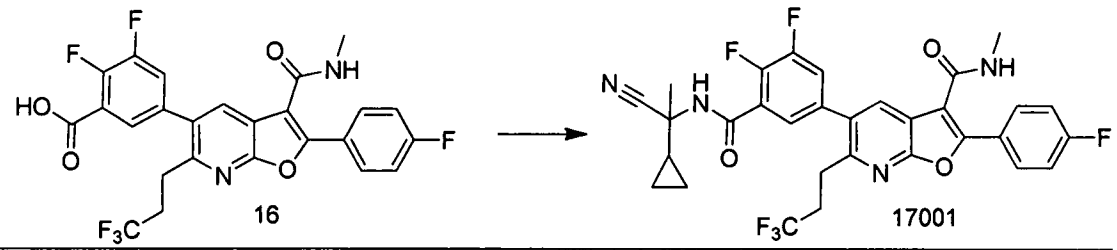
中間體16之製備：



中間體16係經由與中間體9相同之程序在步驟1中使用(3,4-二氟-5-(甲氧基羰基)苯基)硼酸作為起始材料來製備。

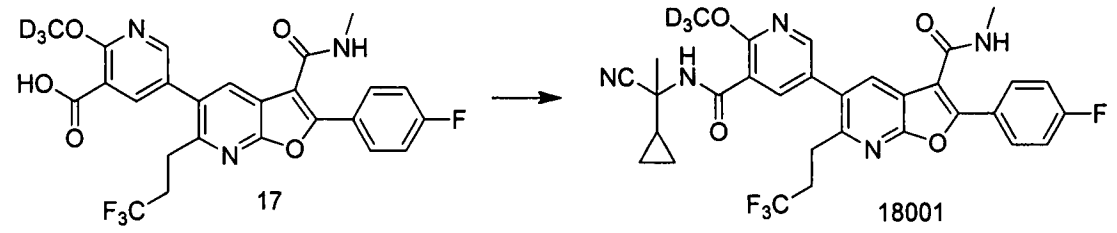
化合物16	
經計算之MS (MHZ) ⁺	523.1
觀察到的MS (MHZ) ⁺	523.4
滯留時間	1.41 min
LC條件	
溶劑A	5% ACN: 95%水: 10mM乙酸銨
溶劑B	95% ACN: 5%水: 10mM乙酸銨
開始B%	0
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	ACN: 水: 乙酸銨
管柱	Phenomenex LUNA C18, 30×2, 3μ

化合物17001之製備：



化合物18001	
經計算之MS (MHZ) ⁺	615.2
觀察到的MS (MHZ) ⁺	615.1
滯留時間	1.84 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

化合物18001之製備：

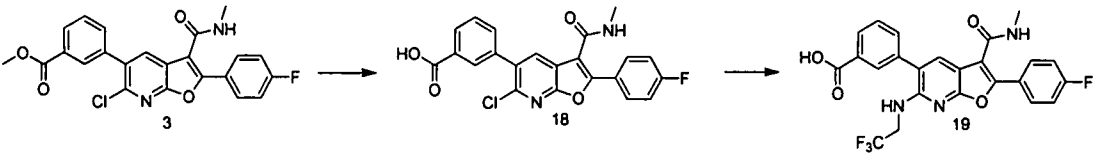


向化合物 17 (15 mg)、2-胺基-2-環丙基丙腈(9.52 mg)及 HATU (16.44 mg)於DMF (1 mL)中之溶液中添加iPr₂NEt (0.02 mL)。在室溫下將混合物攪拌4小時。藉由製備型HPLC系統分離產物。

化合物18001	
經計算之MS (MHZ) ⁺	613.2
觀察到的MS (MHZ) ⁺	613.2

滯留時間	2.00 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

中間體19之製備：



步驟1：將化合物3 (800 mg)及NaOH (9.12 mL,1N)於THF (30 mL)及水(15 mL)中之混合物在80℃下加熱6小時。藉由1N HCl將混合物酸化至pH約5並用EtOAc (2×50 mL)萃取。合併有機層，用鹽水(50 mL)洗滌，經MgSO₄乾燥並在真空下濃縮從而得到化合物18。

化合物18	
經計算之MS (MHZ) ⁺	425.1
觀察到的MS (MHZ) ⁺	425.0
滯留時間	1.49 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min

波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

步驟2：將化合物18 (175 mg)、氯[2-(二環己基膦基)-3,6-二甲氧基-2',4',6'-三-異丙基-1,1'-聯苯基][2-(2-胺基乙基)苯基]鈣(II) (28.2 mg)及2-甲基丁-2-醇鈉(194 mg)於二噁烷(10 mL)中之混合物在90℃下加熱30分鐘。用EtOAc (20 mL)稀釋混合物，用水(20 mL)、鹽水(20 mL)洗滌，經MgSO₄乾燥，並在真空下濃縮。藉由製備型HPLC系統純化殘餘物。

化合物19	
經計算之MS (MHZ) ⁺	488.1
觀察到的MS (MHZ) ⁺	488.0
滯留時間	1.91 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	30
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

化合物20001、20002、20005及20006之製備：

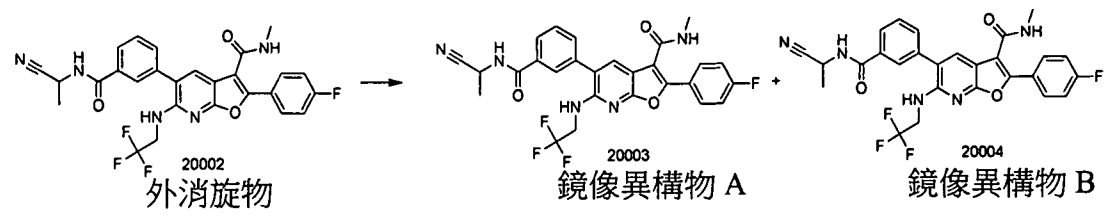
將iPr₂NEt或Et₃N (2當量)及HATU或HCTU或DEBPT (1.3當量)添加至化合物19 (1當量)及胺(1.3當量)於DMF或THF中之溶液中。將反應物在室溫或85℃下攪拌30分鐘至72小時。藉由製備型HPLC系統分離期望之產物。

LC條件A	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

LC條件B	
溶劑A	5% ACN: 95%水: 10mM乙酸銨
溶劑B	95% ACN: 5%水: 10mM乙酸銨
開始B%	0
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	ACN: 水:乙酸銨
管柱	Phenomenex LUNA C18, 30×2, 3μ

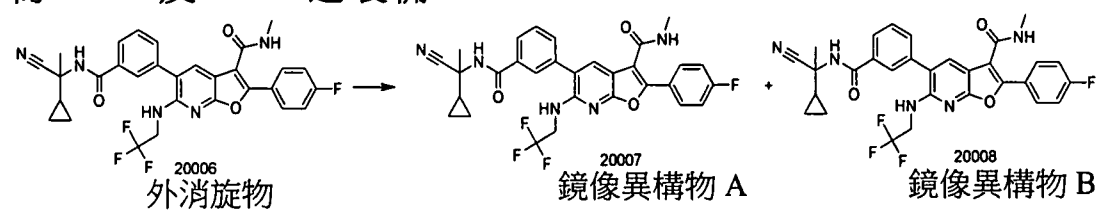
化合物 編號	LC方 法	結構	經計算之 MS (MHZ) ⁺	觀察到的 MS (MHZ) ⁺	滯留時間 (min)
20001	B		554.2	554.3	1.85
20002	A		540.2	540.1	1.59
20005	A		602.2	602.2	1.77
20006	A		580.2	580.1	1.71

化合物20003及20004之製備：



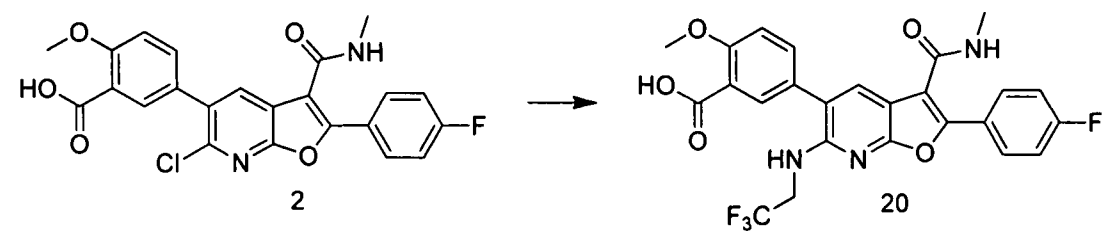
化合物20003及20004係自試樣20002分離之兩種鏡像異構物。絕對立體化學未確定。

化合物20007及20008之製備：



化合物20007及20008係自試樣20006分離之兩種鏡像異構物。絕對立體化學未確定。

中間體20之製備：

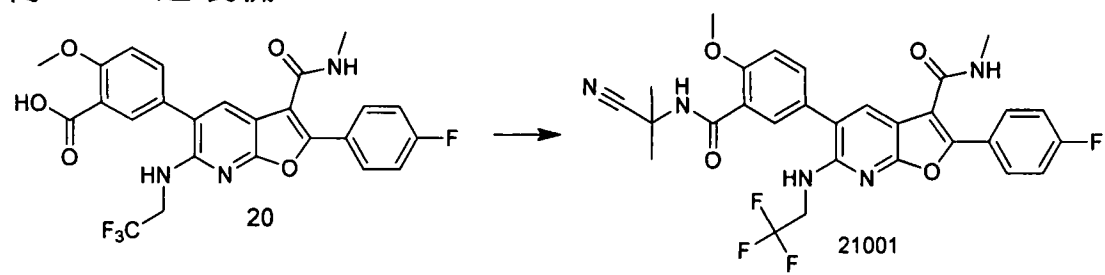


中間體20係經由與中間體19相同之程序自化合物18使用化合物2作為起始材料來製備。

化合物20	
經計算之MS (MHZ) ⁺	518.1
觀察到的MS (MHZ) ⁺	518.0
滯留時間	1.89 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	30
最後B%	100
梯度時間	2 min

流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

化合物21001之製備：



向化合物20 (20 mg)、2-氨基-2-甲基丙腈鹽酸鹽(9.32 mg, 0.077 mmol)及 HATU (22.05 mg)於 DMF (2 mL)中之溶液中添加 iPr₂NEt (0.027 mL)。在室溫下將混合物攪拌4小時。藉由製備型HPLC系統分離產物。

化合物21001	
經計算之MS (MHZ) ⁺	584.2
觀察到的MS (MHZ) ⁺	584.3
滯留時間	1.87 min
LC條件	
溶劑A	5% ACN: 95%水: 10mM乙酸銨
溶劑B	95% ACN: 5%水: 10mM乙酸銨
開始B%	0
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	ACN: 水: 乙酸銨
管柱	Phenomenex LUNA C18, 30×2, 3μ

中間體21之製備：

化合物21	
經 計 算 之 MS (MHZ) ⁺	506.1
觀 察 到 的 MS (MHZ) ⁺	506.0
滯留時間	1.60 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

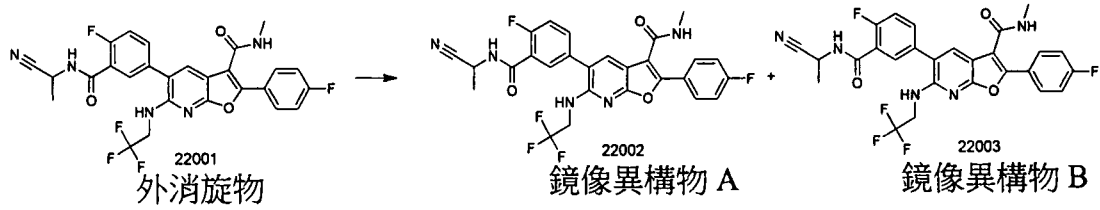
將 $i\text{Pr}_2\text{NEt}$ 或 Et_3N (2 當量) 及 HATU 或 HCTU 或 DEBPT (1.3 當量) 添加至化合物 21 (1 當量) 及胺 (1.3 當量) 於 DMF 或 THF 中之溶液中。將反應物在室溫或 85°C 下攪拌 30 分鐘至 72 小時。藉由製備型 HPLC 系統分離期望之產物。

LC條件	
溶劑A	5% ACN: 95%水: 10mM乙酸銨

溶劑B	95% ACN: 5%水: 10mM乙酸鉍
開始B%	0
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	ACN: 水: 乙酸鉍
管柱	Phenomenex LUNA C18, 30×2, 3μ

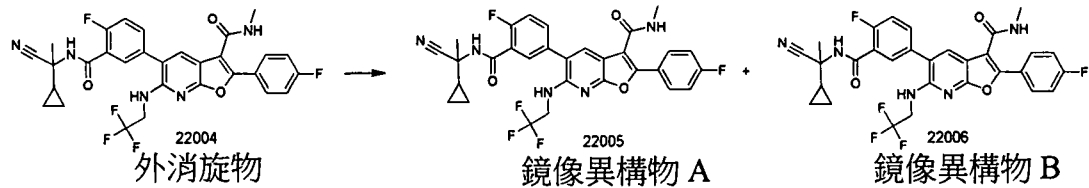
化合物 編號	結構	經計算 之MS (MHZ) ⁺	觀察到 的MS (MHZ) ⁺	滯留時 間 (min)
22001		558.2	558.3	1.77
22004		598.2	598.4	1.86

化合物22002及22003之製備：



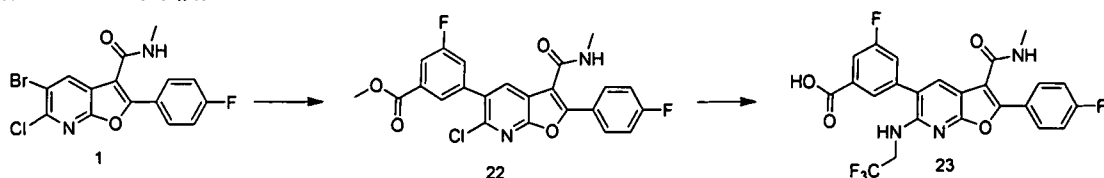
化合物22002及22003係自試樣22001分離之兩種鏡像異構物。絕對立體化學未確定。

化合物22005及22006之製備：



化合物22005及22006係自試樣22004分離之兩種鏡像異構物。絕對立體化學未確定。

中間體23之製備：



步驟1：經由與中間體7相同之程序使用3-氟-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧雜硼烷-2-基)苯甲酸甲酯作為起始材料製備中間體22。

化合物22	
經計算之MS (MHZ) ⁺	457.1
觀察到的MS (MHZ) ⁺	456.9
滯留時間	2.01 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

步驟2：將化合物22 (50 mg)、2,2,2-三氟乙胺(54.2 mg)、氯[2-(二環己基膦基)-3,6-二甲氧基-2',4',6'-三-異丙基-1,1'-聯苯基][2-(2-胺基乙基)苯基]鈾(II) (17.49 mg)及2-甲基丁-2-醇鈉(48.2 mg)於二噁烷(3 mL)中之混合物在65℃下加熱20分鐘。用EtOAc (20 mL)稀釋混合物，用1N HCl (20 mL)及鹽水(20 mL)洗滌。將有機層經MgSO₄乾燥並在真空下濃縮。藉由製備型HPLC系統純化殘餘物從而得到化合物23。

化合物23	
經計算之MS (MHZ) ⁺	506.1
觀察到的MS (MHZ) ⁺	506.0
滯留時間	1.60 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

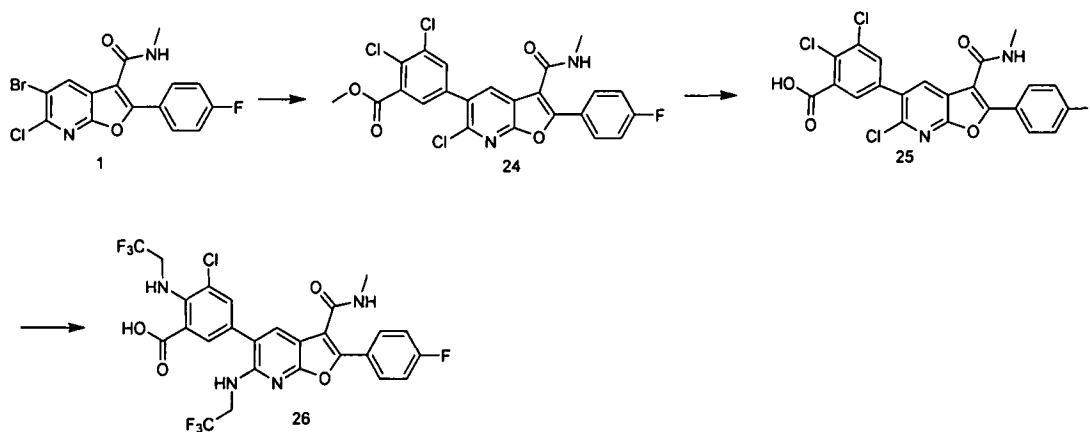
化合物23001及23002之製備：

將iPr₂NEt或Et₃N (2當量)及HATU或HCTU或DEBPT (1.3當量)添加至化合物23 (1當量)及胺(1.3當量)於DMF或THF中之溶液中。將反應物在室溫或85℃下攪拌30分鐘至72小時。藉由製備型HPLC系統分離期望之產物。

LC條件	
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm
管柱	Phenomenex LUNA C18, 30×2, 3μ

化合物 編號	結構	經計算 之MS (MHZ) ⁺	觀察到 的MS (MHZ) ⁺	滯留時 間 (min)
23001	 <chem>CN(C#C)C(=O)c1ccc(cc1)-c2cc3oc(cc3n2)C(=O)NC(=O)c4ccc(NCC(F)(F)F)cc4</chem>	598.2	598.1	1.73
23002	 <chem>CN(C#C)C(=O)c1ccc(cc1)-c2cc3oc(cc3n2)C(=O)NC(=O)c4ccc(NCC(F)(F)F)cc4</chem>	572.2	572.1	1.60

中間體26之製備：



步驟1：經由與中間體7相同之程序使用2,3-二氯-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧雜硼烷-2-基)苯甲酸甲酯作為起始材料製備中間體24。

化合物24	
經計算之MS (MHZ) ⁺	507.0
觀察到的MS (MHZ) ⁺	507.0
滯留時間	2.07 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50

最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

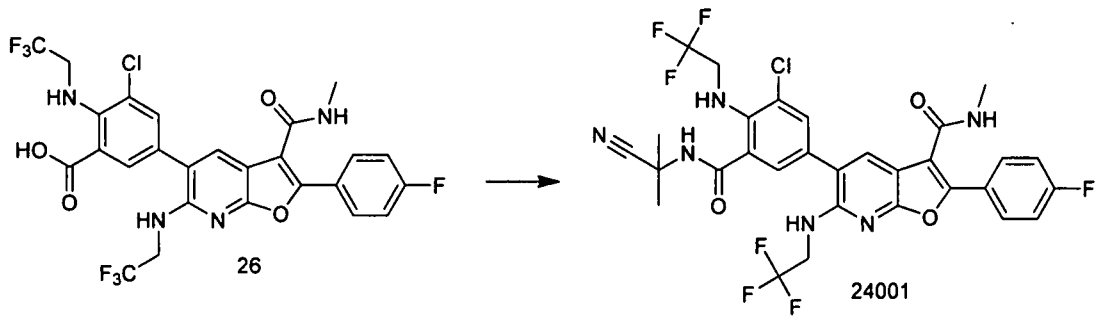
步驟2：向化合物24 (40 mg)於THF (3 mL)及水(1 mL)中之懸浮液中添加NaOH (1 mL, 1 N)。將混合物在80℃下加熱4小時。用1N HCl將混合物酸化至pH約3。藉由過濾收集固體從而得到化合物25。

化合物25	
經計算之MS (MHZ) ⁺	493.0
觀察到的MS (MHZ) ⁺	493.2
滯留時間	1.38 min
LC條件	
溶劑A	5% ACN: 95%水: 10mM乙酸銨
溶劑B	95% ACN: 5%水: 10mM乙酸銨
開始B%	0
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	ACN: 水:乙酸銨
管柱	Phenomenex LUNA C18, 30×2, 3μ

步驟3：將化合物25 (37 mg)、2,2,2-三氟乙胺(37.1 mg)、氯[2-(二環己基磷基)-3,6-二甲氧基-2',4',6'-三-異丙基-1,1'-聯苯基][2-(2-胺基乙基)苯基]鈹(II) (11.97 mg)及2-甲基丁-2-醇鈉(33.0 mg)於二噁烷(5 mL)中之混合物在80℃下加熱20分鐘。用EtOAc (20 mL)稀釋混合物，用1N HCl (20 mL)及鹽水(20 mL)洗滌。將有機層經MgSO₄乾燥並在真空下濃縮。藉由製備型HPLC系統純化殘餘物從而得到化合物26。

化合物26	
經計算之MS (MHZ) ⁺	619.1
觀察到的MS (MHZ) ⁺	619.1
滯留時間	1.69 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

化合物24001之製備：

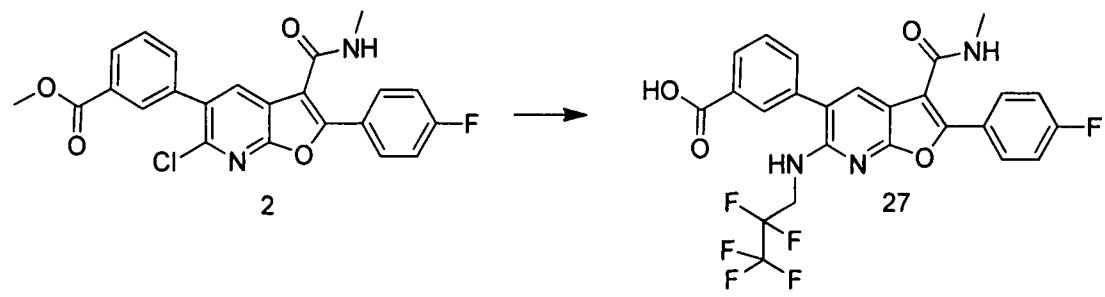


向化合物 26 (15 mg)、2-胺基-2-甲基丙腈(4.08 mg)及 HATU (13.82 mg)於DMF (2 mL)中之溶液中添加iPr₂NEt (0.017 mL)。在室溫下將混合物攪拌4小時。藉由製備型HPLC系統分離產物。

化合物24001	
經計算之MS (MHZ) ⁺	685.2
觀察到的MS (MHZ) ⁺	685.3
滯留時間	1.89 min
LC條件	
溶劑A	5% ACN: 95%水: 10mM乙酸銨
溶劑B	95% ACN: 5%水: 10mM乙酸銨

開始B%	0
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	ACN: 水:乙酸銨
管柱	Phenomenex LUNA C18, 30×2, 3μ

中間體27之製備：



將化合物2 (460 mg)、2,2,3,3,3-五氟丙-1-胺(781 mg)、氯[2-(二環己基膦基)-3,6-二甲氧基-2',4',6'-三-異丙基-1,1'-聯苯基][2-(2-胺基乙基)苯基]鈾(II) (84 mg)及2-甲基丁-2-醇鈉(577 mg)於二噁烷(25 mL)中之混合物在85℃下加熱30分鐘。用EtOAc (100 mL)稀釋混合物，用水(100 mL)及鹽水(100 mL)洗滌，經MgSO₄乾燥，並在真空下濃縮從而得到化合物27。

化合物27	
經計算之MS (MHZ) ⁺	538.1
觀察到的MS (MHZ) ⁺	538.0
滯留時間	1.79 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min

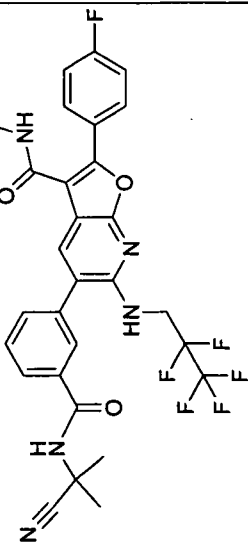
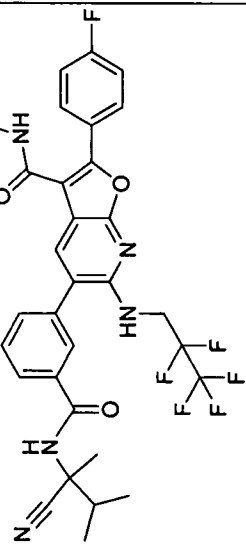
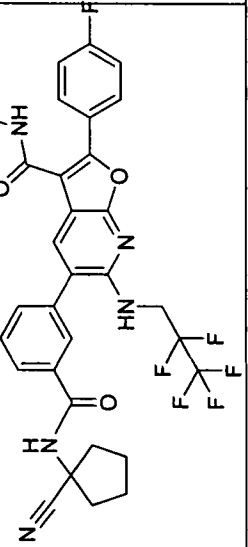
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

化合物30001至30003之製備：

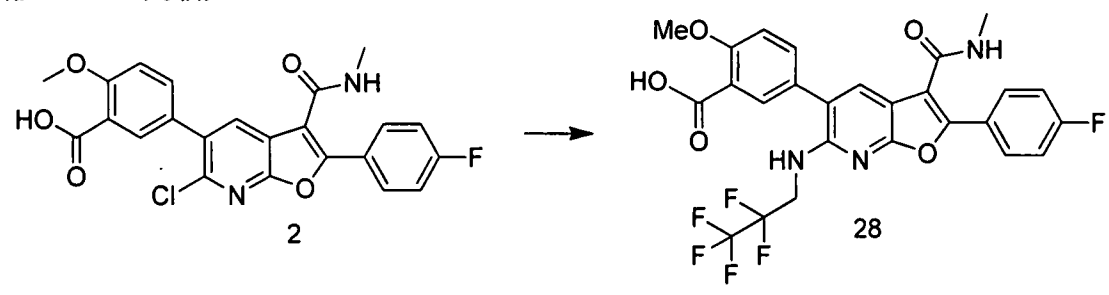
將iPr₂NEt或Et₃N (2當量)及HATU或HCTU或DEBPT (1.3當量)添加至化合物27 (1當量)及胺(1.3當量)於DMF或THF中之溶液中。將反應物在室溫或85℃下攪拌30分鐘至72小時。藉由製備型HPLC系統分離期望之產物。

LC條件A	
溶劑A	5% ACN: 95%水: 10mM乙酸銨
溶劑B	95% ACN: 5%水: 10mM乙酸銨
開始B%	0
最後B%	100
梯度時間	在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	ACN: 水:乙酸銨
管柱	Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子

LC條件B	
溶劑A	5% ACN: 95%水: 10mM乙酸銨
溶劑B	95% ACN: 5%水: 10mM乙酸銨
開始B%	0
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	ACN: 水:乙酸銨
管柱	Phenomenex LUNA C18, 30×2, 3μ

化合物編號	LC方法	結構	經計算之MS (MHZ) ⁺	觀察到的MS (MHZ) ⁺	滯留時間 (min)
30001	B		604.2	604.3	1.84
30002	A		632.2	632.4	3.29
30003	A		630.2	630.4	3.24

中間體28之製備：



中間體28係經由與中間體20相同之程序自化合物2使用2,2,3,3,3-五氟丙-1-胺作為起始材料來製備。

化合物28	
經計算之MS (MHZ) ⁺	568.1
觀察到的MS (MHZ) ⁺	568.1
滯留時間	1.74 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

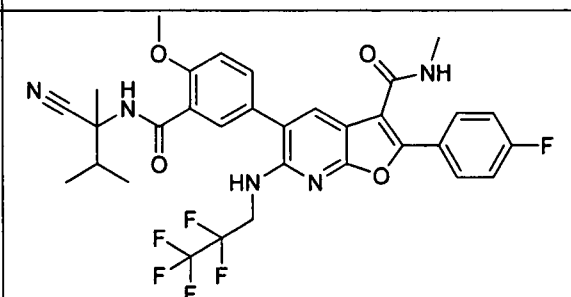
化合物31001及31002之製備：

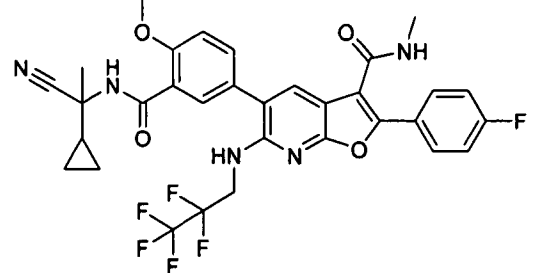
將iPr₂NEt或Et₃N (2當量)及HATU或HCTU或DEBPT (1.3當量)添加至化合物28 (1當量)及胺(1.3當量)於DMF或THF中之溶液中。將反應物在室溫或85℃下攪拌30分鐘至72小時。藉由製備型HPLC系統分離期望之產物。

LC條件A	
溶劑A	5% ACN: 95%水: 10mM乙酸銨
溶劑B	95% ACN: 5%水: 10mM乙酸銨

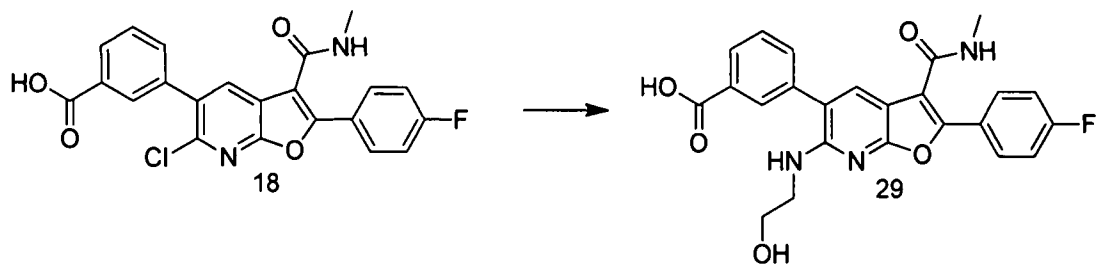
開始B%	0
最後B%	100
梯度時間	在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	ACN: 水:乙酸鉍
管柱	Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 µm粒子

LC條件B	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 µm

化合物 編號	LC 方法	結構	經計算 之MS (MHZ) ⁺	觀察到的MS (MHZ) ⁺	滯留時間 (min)
31001	B		662.2	662.2	1.97

31002	A		660.2	660.3	3.39
-------	---	---	-------	-------	------

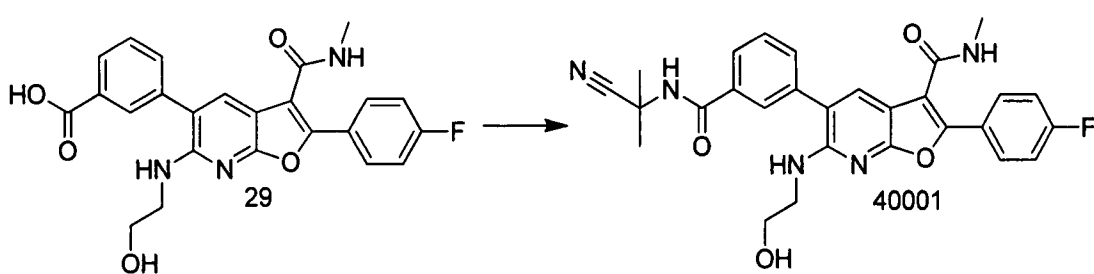
中間體29之製備：



中間體29係經由與中間體19相同之程序自化合物18使用2-胺基乙醇作為起始材料來製備。

化合物29	
經計算之MS (MHZ) ⁺	450.1
觀察到的MS (MHZ) ⁺	450.1
滯留時間	1.88 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	0
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

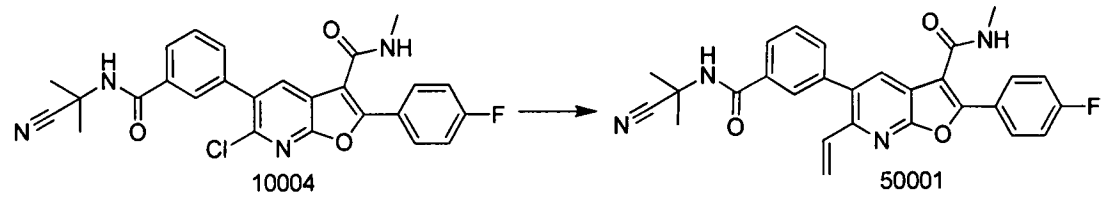
化合物40001之製備：



向化合物 29 (10 mg)、2-胺基-2-甲基丙腈(3.74 mg)及 HATU (12.69 mg)於DMF (1.5 mL)中之溶液中添加*i*Pr₂NEt (0.016 mL)。在室溫下將混合物攪拌4小時。藉由製備型HPLC系統分離產物。

化合物40001	
經計算之MS (MHZ) ⁺	516.2
觀察到的MS (MHZ) ⁺	516.1
滯留時間	1.87 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	0
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

化合物50001之製備：



將化合物 10004 (80 mg)、乙烯基三氟硼酸鉀(76 mg)、碳酸銨 (159 mg)、二環己基(2',6'-二異丙氧基-[1,1'-聯苯基]-2-基)膦(30.4 mg)及二乙醯氧基鉀(7.32 mg)於甲苯(8 mL)及水(0.8 mL)中之混合物在80℃下加熱16小時。用EtOAc (20 mL)稀釋混合物，用水(20 mL)及鹽水

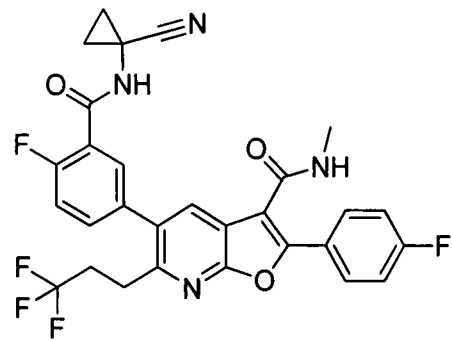
(20 mL)洗滌，經MgSO₄乾燥，並在真空下濃縮。藉由製備型HPLC純化殘餘物。

化合物50001	
經計算之MS (MHZ) ⁺	483.2
觀察到的MS (MHZ) ⁺	483.2
滯留時間	2.49 min
LC條件	
溶劑A	90%水-10%甲醇-0.1% TFA
溶劑B	10%水-90%甲醇-0.1% TFA
開始B%	50
最後B%	100
梯度時間	2 min
流速	1 mL/min
波長	220
溶劑對	水-甲醇- TFA
管柱	PHENOMENEX-LUNA 2.0×30 mm 3 μm

製備化合物K1001-K1003之一般程序

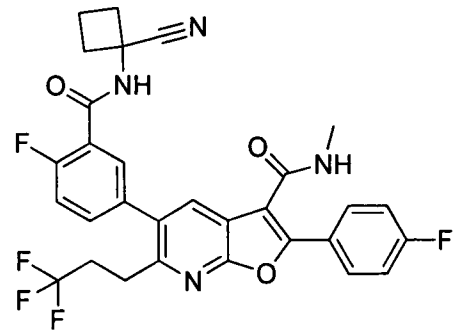
將*i*Pr₂NEt (3當量)及HATU (1.5當量) 添加至2-氟-5-(2-(4-氟苯基)-3-(甲基胺甲醯基)-6-(3,3,3-三氟丙基)呋喃并[2,3-*b*]吡啶-5-基)苯甲酸(1當量)及胺(2當量)於DMF中之溶液中。將反應混合物在室溫下攪拌1小時。經由製備型HPLC純化全部反應混合物從而獲得期望之產物。

化合物K1001



胺親和劑= 1-胺基環丙烷甲腈鹽酸鹽。LCMS：注入1條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：1 mL/min。滯留時間：2.90 min, (M+H)⁺: 569。注入2條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：0.5 mL/min。滯留時間：3.91 min, (M+H)⁺: 569。

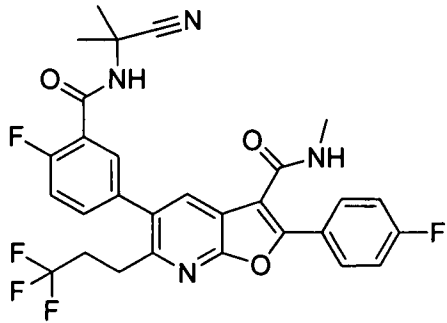
化合物K1002



胺親和劑= 1-胺基環丁烷甲腈鹽酸鹽。注入1條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：1 mL/min。滯留時間：2.11 min, (M+H)⁺: 583。注入2條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：0.5 mL/min。滯留時間：4.01 min, (M-H)⁺: 581。1H NMR (500MHz,

DMSO-d₆) δ 9.43 (s, 1H), 8.54 - 8.48 (m, 1H), 8.06 (dd, J=8.9, 5.5 Hz, 2H), 7.97 (s, 1H), 7.74 - 7.65 (m, 2H), 7.49 (t, J=9.3 Hz, 1H), 7.41 (t, J=8.9 Hz, 2H), 3.05 - 2.97 (m, 2H), 2.85 - 2.64 (m, 7H), 2.47 (d, J=11.3 Hz, 2H), 2.11 - 2.00 (m, 2H)。

化合物K1003



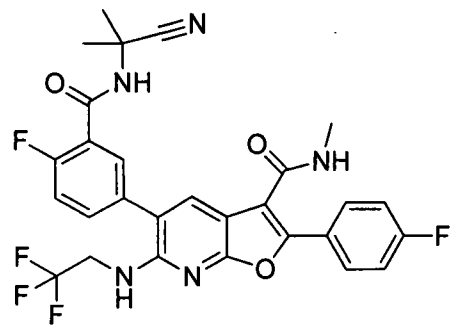
胺親和劑 = 2-胺基-2-甲基丙腈鹽酸鹽。注入1條件：管柱：Waters Acquity UPLC BEH C18, 2.1×50 mm, 1.7 μ m 粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：50℃；梯度：0-100% B保持3分鐘，然後在100% B下保持0.75分鐘；流速：1.11 mL/min。滯留時間：4.06 min, (M+H)⁺: 571。注入2條件：管柱：Waters Acquity UPLC BEH C18, 2.1×50 mm, 1.7 μ m 粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有0.05% TFA)；流動相B：95:5乙腈:水(具有0.1% TFA)；溫度：50℃；梯度：0-100% B保持3分鐘，然後在100% B下保持0.75分鐘；流速：1.11 mL/min。滯留時間：3.08 min, (M+H)⁺: 571。1H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 8.98 (s, 1H), 8.54 - 8.45 (m, 1H), 8.06 (dd, J=8.4, 5.6 Hz, 2H), 7.96 (s, 1H), 7.69 - 7.63 (m, 2H), 7.47 (s, 1H), 7.41 (t, J=8.7 Hz, 2H), 3.06 - 2.98 (m, 2H), 2.85 - 2.72 (m, 5H), 1.73 - 1.65 (m, 6H)。

製備化合物K2001-K2005之一般程序：

將*i*Pr₂NEt (8當量)及HATU (1.5當量)添加至2-氟-5-(2-(4-氟苯基)-3-(甲基胺甲醯基)-6-((2,2,2-三氟乙基)胺基)呋喃并[2,3-*b*]吡啶-5-基)苯

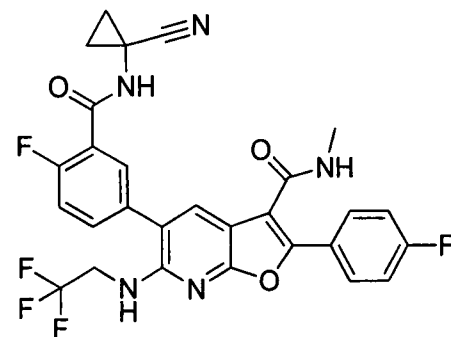
甲酸(1當量)及胺(1當量)於DMF中之溶液中。將反應混合物在室溫下攪拌1小時。經由製備型HPLC純化全部反應混合物從而獲得期望之產物。

化合物K2001



胺親和劑 = 2-胺基-2-甲基丙腈鹽酸鹽。注入1條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：1 mL/min；檢測：220 nm下之UV。滯留時間：2.92 min, (M+H)⁺: 572。注入2條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：0.5 mL/min；檢測：220 nm下之UV。滯留時間：3.86 min, (M+H)⁺: 572。

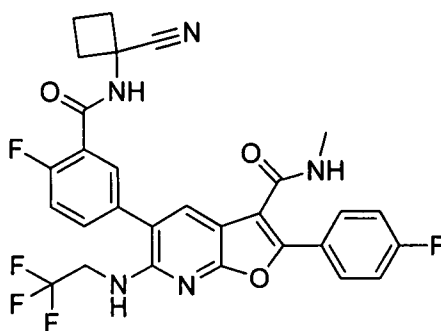
化合物K2002



胺親和劑 = 1-胺基環丙烷甲腈鹽酸鹽。注入1條件：管柱：Waters

BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm 粒子；流動相 A：5:95 乙腈:水(具有 10 mM 乙酸銨)；流動相 B：95:5 乙腈:水(具有 10 mM 乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在 0%B 下保持 0.5 min，0-100% B 保持 4 分鐘，然後在 100% B 下保持 0.5 分鐘；流速：1 mL/min；檢測：220 nm 下之 UV。滯留時間：2.86 min, (M+H)⁺: 570。注入 2 條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm 粒子；流動相 A：5:95 甲醇:水(具有 10 mM 乙酸銨)；流動相 B：95:5 甲醇:水(具有 10 mM 乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在 0%B 下保持 0.5 min，0-100% B 保持 4 分鐘，然後在 100% B 下保持 0.5 分鐘；流速：0.5 mL/min；檢測：220 nm 下之 UV。滯留時間：3.81 min, (M+H)⁺: 570。

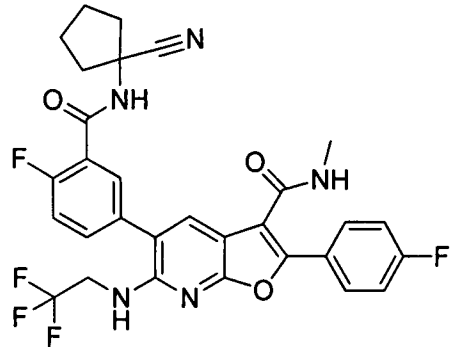
化合物 K2003



胺親和劑 = 1-胺基環丁烷甲腈鹽酸鹽。注入 1 條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm 粒子；流動相 A：5:95 乙腈:水(具有 10 mM 乙酸銨)；流動相 B：95:5 乙腈:水(具有 10 mM 乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在 0%B 下保持 0.5 min，0-100% B 保持 4 分鐘，然後在 100% B 下保持 0.5 分鐘；流速：1 mL/min；檢測：220 nm 下之 UV。滯留時間：2.96 min, (M+H)⁺: 584。注入 2 條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm 粒子；流動相 A：5:95 甲醇:水(具有 10 mM 乙酸銨)；流動相 B：95:5 甲醇:水(具有 10 mM 乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在 0%B 下保持 0.5 min，0-100% B 保持 4 分鐘，然後在 100% B 下保持 0.5 分鐘；流速：0.5 mL/min；檢測：220 nm 下之 UV。滯留時間：

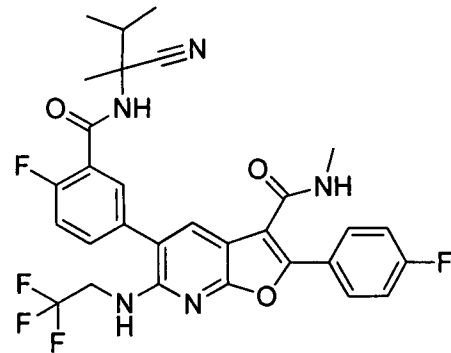
3.90 min, (M+H)⁺: 584。

化合物K2004



胺親和劑= 1-胺基環戊烷甲腈鹽酸鹽。注入1條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：1 mL/min；檢測：220 nm下之UV。滯留時間：3.05 min, (M+H)⁺: 598。注入2條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：0.5 mL/min；檢測：220 nm下之UV。滯留時間：3.98 min, (M+H)⁺: 598。

化合物K2005



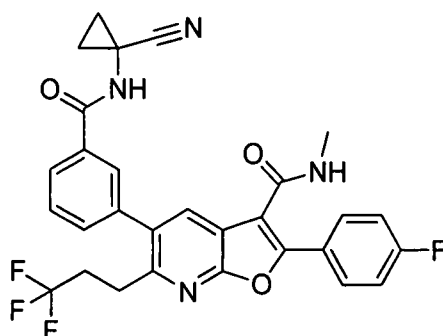
胺親和劑= 2-胺基-2,3-二甲基丁腈。注入1條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有10

mM乙酸銨)；流動相B：95:5乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：1 mL/min；檢測：220 nm下之UV。滯留時間：3.10 min, (M+H)⁺: 600。注入2條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：0.5 mL/min；檢測：220 nm下之UV。滯留時間：4.02 min, (M+H)⁺: 600。

製備化合物K3001之一般程序：

將*i*Pr₂NEt (3當量)及HATU (1.5當量)添加至3-(2-(4-氟苯基)-3-(甲基胺甲醯基)-6-(3,3,3-三氟丙基)呋喃并[2,3-*b*]吡啶-5-基)苯甲酸(1當量)及胺(2當量)於DMF中之溶液中。將反應混合物在室溫下攪拌1小時。經由製備型HPLC純化全部反應混合物從而獲得期望之產物。

化合物K3001



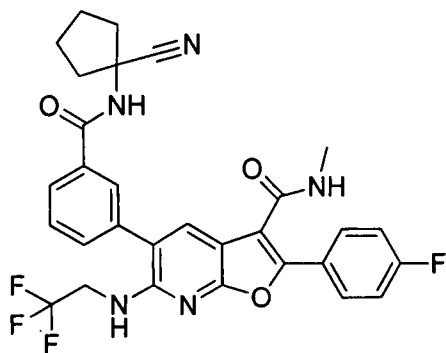
胺親和劑= 1-胺基環丙烷甲腈鹽酸鹽。注入1條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：1 mL/min。滯留時間：2.87 min, (M+H)⁺: 551。注入2條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；

流動相A：5:95甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：0.5 mL/min。滯留時間：3.93 min, (M+H)⁺: 551. 1H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 9.43 (s, 1H), 8.54 - 8.44 (m, 1H), 8.10 - 8.00 (m, 2H), 7.97 (s, 2H), 7.90 (s, 1H), 7.74 - 7.60 (m, 2H), 7.42 (s, 2H), 3.05 - 2.96 (m, 2H), 2.84 - 2.69 (m, 5H), 1.63 - 1.52 (m, 2H), 1.34 - 1.26 (m, 2H)。

製備化合物K4001-K4003之一般程序：

將*i*Pr₂NEt (8當量)及HATU (1.5當量)添加至3-(2-(4-氟苯基)-3-(甲基胺甲醯基)-6-((2,2,2-三氟乙基)胺基)呋喃并[2,3-b]吡啶-5-基)苯甲酸(1當量)及胺(1當量)於DMF中之溶液中。將反應混合物在室溫下攪拌1小時。經由製備型HPLC純化全部反應混合物從而獲得期望之產物。

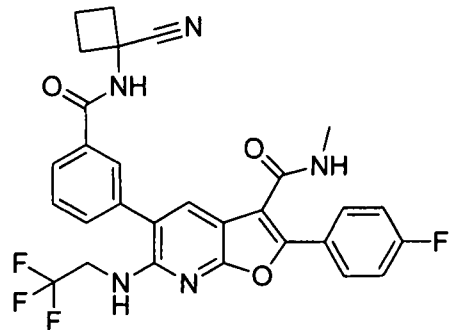
化合物K4001



胺親和劑= 1-胺基環戊烷甲腈鹽酸鹽。注入1條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：1 mL/min；檢測：220 nm下之UV。滯留時間：2.94 min, (M+H)⁺: 580。注入2條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯

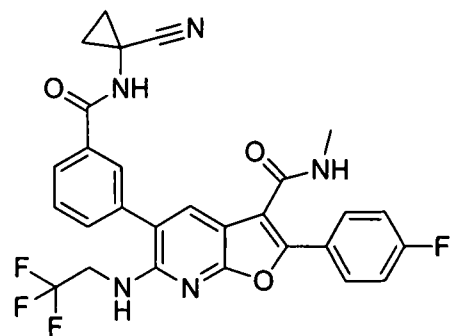
度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：0.5 mL/min；檢測：220 nm下之UV。滯留時間：3.98 min, (M+H)⁺: 580。

化合物K4002



所用胺為1-胺基環丁烷甲腈鹽酸鹽。注入1條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：1 mL/min；檢測：220 nm下之UV。滯留時間：2.86 min, (M+H)⁺: 566。注入2條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：0.5 mL/min；檢測：220 nm下之UV。滯留時間：3.91 min, (M+H)⁺: 566。

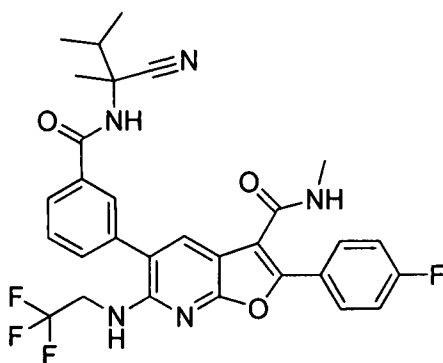
化合物K4003



胺親和劑= 1-胺基環丙烷甲腈鹽酸鹽。注入1條件：管柱：Waters

BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm 粒子；流動相 A：5:95 乙腈:水(具有 10 mM 乙酸銨)；流動相 B：95:5 乙腈:水(具有 10 mM 乙酸銨)；溫度：40 °C；梯度：在 0%B 下保持 0.5 min，0-100% B 保持 4 分鐘，然後在 100% B 下保持 0.5 分鐘；流速：1 mL/min；檢測：220 nm 下之 UV。滯留時間：2.99 min, (M+H)⁺: 552。注入 2 條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm 粒子；流動相 A：5:95 甲醇:水(具有 10 mM 乙酸銨)；流動相 B：95:5 甲醇:水(具有 10 mM 乙酸銨)；溫度：40 °C；梯度：在 0%B 下保持 0.5 min，0-100% B 保持 4 分鐘，然後在 100% B 下保持 0.5 分鐘；流速：0.5 mL/min；檢測：220 nm 下之 UV。滯留時間：3.78 min, (M+H)⁺: 552。

化合物 K4004



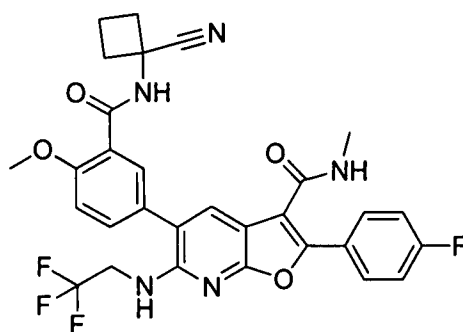
胺親和劑 = 2-胺基-2,3-二甲基丁腈。注入 1 條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm 粒子；流動相 A：5:95 乙腈:水(具有 10 mM 乙酸銨)；流動相 B：95:5 乙腈:水(具有 10 mM 乙酸銨)；溫度：40 °C；梯度：在 0%B 下保持 0.5 min，0-100% B 保持 4 分鐘，然後在 100% B 下保持 0.5 分鐘；流速：1 mL/min；檢測：220 nm 下之 UV。滯留時間：3.18 min, (M+H)⁺: 582。注入 2 條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm 粒子；流動相 A：5:95 甲醇:水(具有 10 mM 乙酸銨)；流動相 B：95:5 甲醇:水(具有 10 mM 乙酸銨)；溫度：40 °C；梯度：在 0%B 下保持 0.5 min，0-100% B 保持 4 分鐘，然後在 100% B 下保持 0.5 分鐘；流速：0.5 mL/min；檢測：220 nm 下之 UV。滯留時間：

3.97 min, (M+H)⁺: 582。

製備化合物K5001-K5004之一般程序：

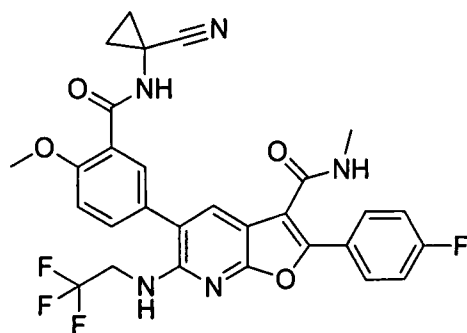
將*i*Pr₂NEt (8當量)及HATU (1.5當量)添加至5-(2-(4-氟苯基)-3-(甲基胺甲醯基)-6-((2,2,2-三氟乙基)胺基)呋喃并[2,3-*b*]吡啶-5-基)-2-甲氧基苯甲酸(1當量)及胺(1當量)於DMF中之溶液中。將反應混合物在室溫下攪拌1小時。經由製備型HPLC純化全部反應混合物從而獲得期望之產物。

化合物K5001



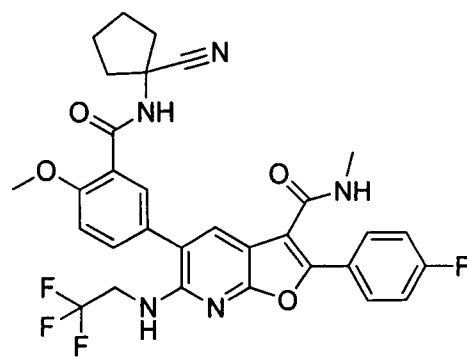
胺親和劑= 1-胺基環丁烷甲腈鹽酸鹽。注入1條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：1 mL/min；檢測：220 nm下之UV。滯留時間：3.15 min, (M+H)⁺: 596。注入2條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：0.5 mL/min；檢測：220 nm下之UV。滯留時間：3.88 min, (M+H)⁺: 596。

化合物K5002



胺親和劑= 1-胺基環丙烷甲腈鹽酸鹽。注入1條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：1 mL/min；檢測：220 nm下之UV。滯留時間：2.91 min, (M+H)⁺: 582。注入2條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：0.5 mL/min；檢測：220 nm下之UV。滯留時間：3.81 min, (M+H)⁺: 582。

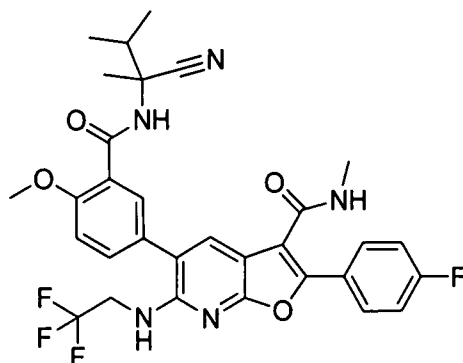
化合物K5003



胺親和劑= 1-胺基環戊烷甲腈鹽酸鹽。注入1條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：1 mL/min；檢測：220 nm下之UV。滯留時

間：3.01 min, (M+H)⁺: 610。注入2條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：0.5 mL/min；檢測：220 nm下之UV。滯留時間：3.98 min, (M+H)⁺: 610。

化合物K5004



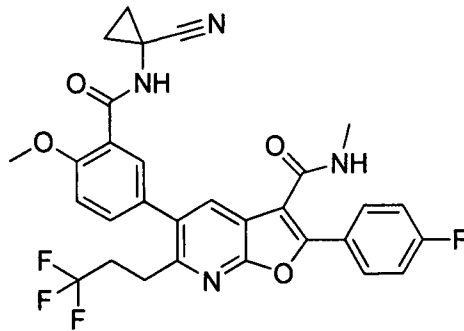
胺親和劑= 2-胺基-2,3-二甲基丁腈。注入1條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：1 mL/min；檢測：220 nm下之UV。滯留時間：3.20 min, (M+H)⁺: 612。注入2條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：0.5 mL/min；檢測：220 nm下之UV。滯留時間：4.03 min, (M+H)⁺: 612。

製備化合物K6001之一般程序：

將*i*Pr₂NEt (8當量)及HATU (1.5當量)添加至5-(2-(4-氟苯基)-3-(氨基甲醯基)-6-(3,3,3-三氟丙基)咪唑并[2,3-*b*]吡啶-5-基)-2-甲氧基苯

甲酸(1當量)及胺(1當量)於DMF中之溶液中。將反應混合物在室溫下攪拌1小時。經由製備型HPLC純化全部反應混合物從而獲得期望之產物。

化合物K6001

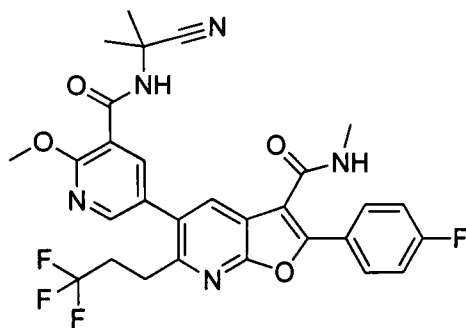


胺親和劑= 1-胺基環丙烷甲腈鹽酸鹽。注入1條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：1 mL/min。滯留時間：2.95 min, (M+H)⁺: 581。注入2條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：0.5 mL/min。滯留時間：3.93 min, (M+H)⁺: 581。

製備化合物K7001-K7005之一般程序：

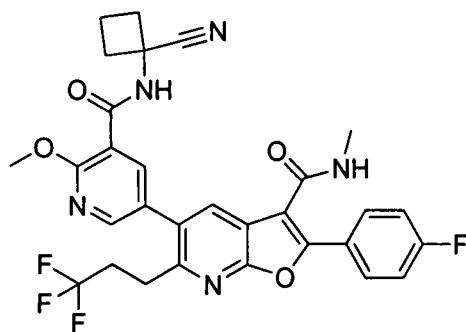
將*i*Pr₂NEt (8當量)及HATU (1.5當量)添加至5-(2-(4-氟苯基)-3-(甲基胺甲醯基)-6-(3,3,3-三氟丙基)咪唑并[2,3-b]吡啶-5-基)-2-甲氧基菸鹼酸(1當量)及胺(1當量)於DMF中之溶液中。將反應混合物在室溫下攪拌1小時。經由製備型HPLC純化全部反應混合物從而獲得期望之產物。

化合物K7001



胺親和劑 = 2-胺基-2-甲基丙腈鹽酸鹽。注入1條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：1 mL/min。滯留時間：3.17 min, (M+H)⁺: 584。注入2條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：0.5 mL/min。滯留時間：4.09 min, (M+H)⁺: 584。

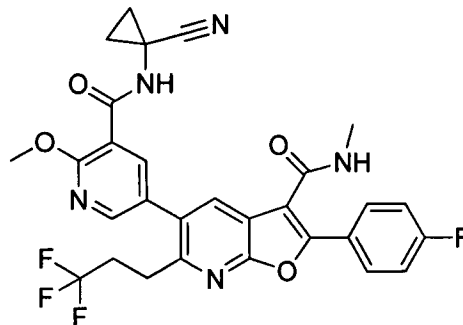
化合物K7002



胺親和劑 = 1-胺基環丁烷甲腈鹽酸鹽。注入1條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：1 mL/min。滯留時間：3.20 min, (M+H)⁺: 596。注入2條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；

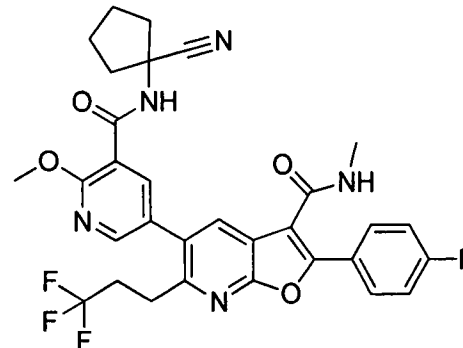
流動相A：5:95甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：0.5 mL/min。滯留時間：4.11 min, (M+H)⁺: 596。

化合物K7003



胺親和劑= 1-胺基環丙烷甲腈鹽酸鹽。注入1條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：1 mL/min。滯留時間：2.94 min, (M+H)⁺: 582。注入2條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：0.5 mL/min。滯留時間：3.99 min, (M+H)⁺: 582。

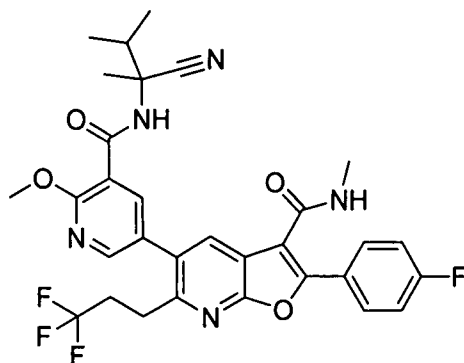
化合物K7004



胺親和劑= 1-胺基環戊烷甲腈鹽酸鹽。注入1條件：管柱：Waters

BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm 粒子；流動相 A：5:95 乙腈:水(具有 10 mM 乙酸銨)；流動相 B：95:5 乙腈:水(具有 10 mM 乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在 0%B 下保持 0.5 min，0-100% B 保持 4 分鐘，然後在 100% B 下保持 0.5 分鐘；流速：1 mL/min。滯留時間：3.18 min, (M+H)⁺: 610。注入 2 條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm 粒子；流動相 A：5:95 甲醇:水(具有 10 mM 乙酸銨)；流動相 B：95:5 甲醇:水(具有 10 mM 乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在 0%B 下保持 0.5 min，0-100% B 保持 4 分鐘，然後在 100% B 下保持 0.5 分鐘；流速：0.5 mL/min。滯留時間：4.16 min, (M+H)⁺: 610。

化合物 K7005

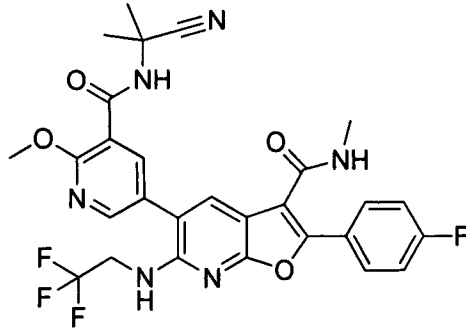


胺親和劑 = 2-胺基-2,3-二甲基丁腈。注入 1 條件：管柱：Waters Acquity UPLC BEH C18, 2.1×50 mm, 1.7 μm 粒子；流動相 A：5:95 乙腈:水(具有 10 mM 乙酸銨)；流動相 B：95:5 乙腈:水(具有 10 mM 乙酸銨)；溫度：50℃；梯度：0-100% B 保持 3 分鐘，然後在 100% B 下保持 0.75 分鐘；流速：1.11 mL/min。滯留時間：3.33 min, (M+H)⁺: 612。注入 2 條件：管柱：Waters Acquity UPLC BEH C18, 2.1×50 mm, 1.7 μm 粒子；流動相 A：5:95 乙腈:水(具有 0.05% TFA)；流動相 B：95:5 乙腈:水(具有 0.1% TFA)；溫度：50℃；梯度：0-100% B 保持 3 分鐘，然後在 100% B 下保持 0.75 分鐘；流速：1.11 mL/min。滯留時間：4.31 min, (M+H)⁺: 612。

製備化合物 K8001-K8005 之一般程序：

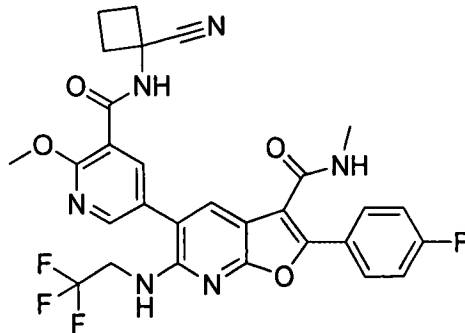
將 $i\text{Pr}_2\text{NEt}$ (8當量)及HATU (1.5當量)添加至5-(2-(4-氟苯基)-3-(甲基胺甲醯基)-6-((2,2,2-三氟乙基)胺基)呋喃并[2,3-b]吡啶-5-基)-2-甲氧基菸鹼酸(1當量)及胺(1當量)於DMF中之溶液中。將反應混合物在室溫下攪拌1小時。經由製備型HPLC純化全部反應混合物從而獲得期望之產物。

化合物K8001



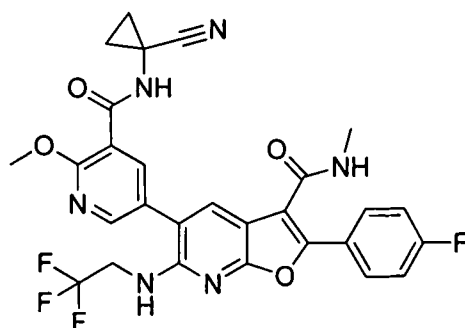
胺親和劑 = 2-胺基-2-甲基丙腈鹽酸鹽。注入1條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm 粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：1 mL/min。滯留時間：2.92 min, $(\text{M}+\text{H})^+$: 585。注入2條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm 粒子；流動相A：5:95甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：0.5 mL/min。滯留時間：3.88 min, $(\text{M}+\text{H})^+$: 585。

化合物K8002



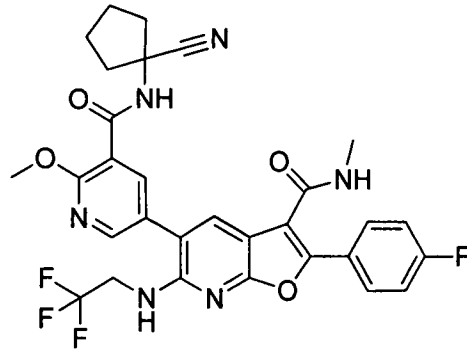
胺親和劑= 1-胺基環丁烷甲腈鹽酸鹽。注入1條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：1 mL/min。滯留時間：3.05 min, (M+H)⁺: 597。注入2條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：0.5 mL/min。滯留時間：3.87 min, (M+H)⁺: 597。

化合物K8003



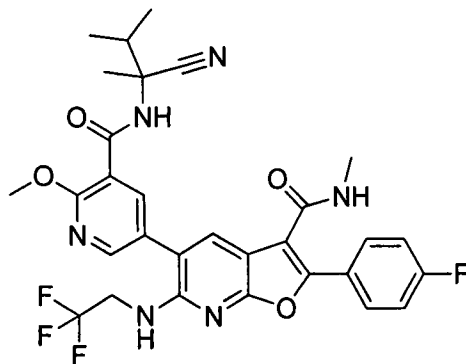
胺親和劑= 1-胺基環丙烷甲腈鹽酸鹽。注入1條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：1 mL/min。滯留時間：2.82 min, (M+H)⁺: 583。注入2條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：0.5 mL/min。滯留時間：3.83 min, (M+H)⁺: 583。

化合物K8004



胺親和劑= 1-胺基環戊烷甲腈鹽酸鹽。注入1條件：管柱：Waters Acquity UPLC BEH C18, 2.1×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：50℃；梯度：0-100% B保持3分鐘，然後在100% B下保持0.75分鐘；流速：1.11 mL/min。滯留時間：3.14 min, (M+H)⁺: 611。注入2條件：管柱：Waters Acquity UPLC BEH C18, 2.1×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有0.05% TFA)；流動相B：95:5乙腈:水(具有0.1% TFA)；溫度：50℃；梯度：0-100% B保持3分鐘，然後在100% B下保持0.75分鐘；流速：1.11 mL/min。滯留時間：4.15 min, (M+H)⁺: 611。

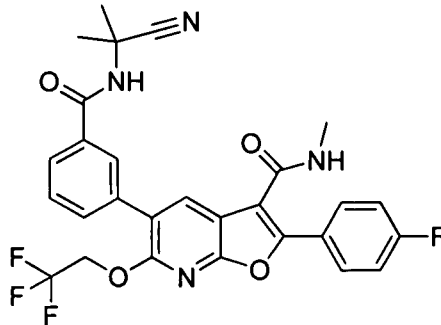
化合物K8005



胺親和劑= 2-胺基-2,3-二甲基丁腈。注入1條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100%

B下保持0.5分鐘；流速：1 mL/min。滯留時間：3.11 min, (M+H)⁺: 613。注入2條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：0.5 mL/min。滯留時間：4.04 min, (M+H)⁺: 613。

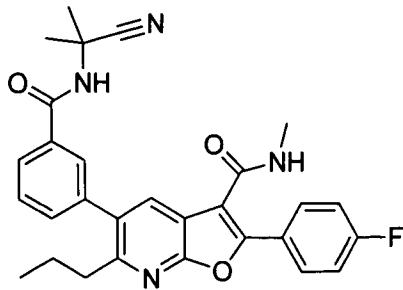
化合物K9001之製備：



在三氟乙醇中合併氯[2-(二環己基膦基)-3,6-二甲氧基-2',4',6'-三異丙基-1,1'-聯苯基][2-(2-胺基乙基)苯基]鈮(II) (4.5 mg, 5.6 μmol)、5-(3-((2-(1,2,4-噁二唑-3-基)丙-2-基)胺甲醯基)苯基)-6-氯-2-(4-氟苯基)-N-甲基呋喃并[2,3-b]吡啶-3-甲醯胺(30 mg, 0.056 mmol)、二-第三丁基(2',4',6'-三異丙基-3-甲氧基-6-甲基-[1,1'-聯苯基]-2-基)膦(2.6 mg, 5.6 μmol)、2-甲基丁-2-醇鈉(30 mg, 0.28 mmol)之混合物並加熱至65℃保持2小時且然後在90℃下保持16小時。藉由製備型反相HPLC在C18管柱上使用適當緩衝之H₂O/CH₃CN梯度純化反應混合物，並濃縮。藉由LCMS及NMR，次要產物符合：5-(3-((2-氰基丙-2-基)胺甲醯基)苯基)-2-(4-氟苯基)-N-甲基-6-(2,2,2-三氟乙氧基)呋喃并[2,3-b]吡啶-3-甲醯胺(1.0 mg, 1.7 μmol, 3.0%產率)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 8.31 - 8.28 (m, 1H), 7.96 - 7.89 (m, 4H), 7.77 - 7.73 (m, 1H), 7.61 - 7.55 (m, 1H), 7.26 - 7.21 (m, 2H), 6.22 - 6.17 (m, 1H), 5.88 - 5.80 (m, 1H), 4.95 - 4.86 (m, 2H), 3.01 (d, J=5.0 Hz, 3H), 1.85 (s, 6H)。LC-MS滯留時間：

1.76 min ; m/z (M+H)⁺: 555 。在配備有 Phenomenex-Luna 3u C18 2.0×30mm管柱之 Shimadzu LC-10AS液相層儀上使用 SPD-10AV UV-Vis檢測器在220 nm之檢測器波長下記錄LC數據。洗脫條件所採用之流速為1 mL/min，梯度為100%溶劑A / 0%溶劑B至0%溶劑A / 100%溶劑B，梯度時間為2 min，保持時間為1 min，且分析時間為3 min，其中溶劑A為10%乙腈 / 90% H₂O / 0.1% 三氟乙酸且溶劑B為10% H₂O / 90%乙腈 / 0.1% 三氟乙酸。使用用於LC之Micromass Platform以電噴霧模式測定MS數據。

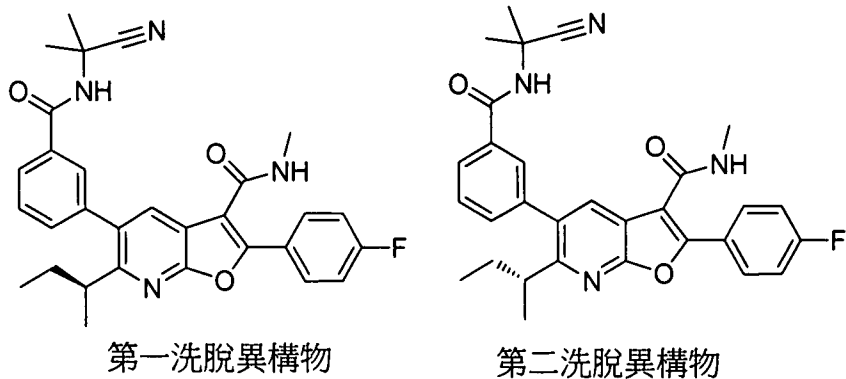
化合物K10001之製備：



在室溫下將Pd/C (9.0 mg, 8.5 μmol)添加至(E)-5-(3-((2-(1,2,4-噁二唑-3-基)丙-2-基)胺甲醯基)苯基)-2-(4-氟苯基)-N-甲基-6-(丙-1-烯-1-基)呋喃并[2,3-b]吡啶-3-甲醯胺(23 mg, 0.043 mmol)於MeOH (853 μl)中之攪拌溶液中。將反應混合物置於帕爾高壓液化器(Parr bomb)中並裝填25 PSI H₂ (g)並將反應混合物攪拌4小時。LCMS指示無轉化。添加Pd/C (9.0 mg, 8.5 μmol)並將反應混合物置於帕爾高壓液化器中並裝填50 PSI H₂ (g)並將反應混合物攪拌16小時。過濾反應混合物並藉由製備型反相HPLC在C18管柱上使用適當緩衝之H₂O/CH₃CN梯度純化，並濃縮從而得到5-(3-((2-氰基丙-2-基)胺甲醯基)苯基)-2-(4-氟苯基)-N-甲基-6-丙基呋喃并[2,3-b]吡啶-3-甲醯胺(2.5 mg, 4.7 μmol, 11 % 產率)，此符合LCMS及NMR。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 8.01 - 7.95 (m, 2H), 7.94 (s, 1H), 7.82 (d, J=7.5 Hz, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.56 - 7.45 (m, 2H), 7.22 (t, J=8.7 Hz, 2H), 6.58 (s, 1H), 6.09 - 6.01 (m, 1H),

2.99 (d, $J=5.0$ Hz, 3H), 2.74 - 2.67 (m, 2H), 1.86 (s, 6H), 1.71 - 1.65 (m, 2H), 0.85 (t, $J=7.4$ Hz, 3H)。LC-MS滯留時間：2.05 min； m/z ($M+H$)⁺: 499。在配備有Phenomenex-Luna 3u C18 2.0×30mm管柱之Shimadzu LC-10AS液相層儀上使用SPD-10AV UV-Vis檢測器在220 nm之檢測器波長下記錄LC數據。洗脫條件所採用之流速為1 mL/min，梯度為100%溶劑A / 0%溶劑B至0%溶劑A / 100%溶劑B，梯度時間為2 min，保持時間為1 min，且分析時間為3 min，其中溶劑A為10%甲醇 / 90% H₂O / 0.1%三氟乙酸且溶劑B為10% H₂O / 90%甲醇 / 0.1% 三氟乙酸。使用用於LC之Micromass Platform以電噴霧模式測定MS數據。

化合物K11001及K11002之製備：



在室溫下將六氟磷酸 2-(3H-[1,2,3] 三唑并 [4,5-b] 吡啶 -3-基)-1,1,3,3-四甲基異脲鎢(V) (45 mg, 0.12 mmol)添加至3-(6-(第二丁基)-2-(4-氟苯基)-3-(甲基胺甲醯基)呋喃并[2,3-b]吡啶-5-基)苯甲酸(35 mg, 0.078 mmol)、N-乙基-N-異丙基丙-2-胺(41 μ l, 0.24 mmol)及2-胺基-2-甲基丙腈鹽酸鹽(11 mg, 0.094 mmol)於DMF (0.8 μ l)中之攪拌溶液中。在室溫下將混合物攪拌30分鐘。經由製備型LC/MS利用以下條件純化全部反應混合物：管柱：XBridge C18, 19×200 mm, 5 μ m粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；梯度：40-80% B保持20分鐘，然後在100% B下保持7分鐘；流速：20 mL/min。合併含有期望之產物之流份並經由離心蒸發乾燥。藉助對掌性分離進一步純化物質。

第一洗脫異構物：產物之產量為8.9 mg，且其純度為100%。使用兩種分析型LC/MS注入測定最終純度。注入1條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：1 mL/min；檢測：220 nm下之UV。滯留時間：2.99 min, (M+H)⁺: 513。注入2條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：0.5 mL/min；檢測：220 nm下之UV。滯留時間：4.04 min, (M+H)⁺: 513。1H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 8.86 (s, 1H), 8.55 - 8.47 (m, 1H), 8.10 - 8.02 (m, 2H), 7.98 - 7.94 (m, 1H), 7.90 (s, 2H), 7.66 - 7.61 (m, 1H), 7.59 - 7.55 (m, 1H), 7.43 - 7.36 (m, 1H), 2.93 - 2.86 (m, 1H), 2.81 (d, J=4.3 Hz, 3H), 1.83 - 1.74 (m, 1H), 1.71 (s, 6H), 1.58 - 1.47 (m, 1H), 1.19 (d, J=6.7 Hz, 3H), 0.65 (s, 3H)。

第二洗脫異構物：產物之產量為9.5 mg，且其純度為100%。使用兩種分析型LC/MS注入測定最終純度。注入1條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5乙腈:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保持0.5分鐘；流速：1 mL/min；檢測：220 nm下之UV。滯留時間：2.99 min, (M+H)⁺: 513。注入2條件：管柱：Waters BEH C18, 2.0×50 mm, 1.7 μm粒子；流動相A：5:95甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；流動相B：95:5甲醇:水(具有10 mM乙酸銨)；溫度：40℃；梯度：在0%B下保持0.5 min，0-100% B保持4分鐘，然後在100% B下保

持0.5分鐘；流速：0.5 mL/min；檢測：220 nm下之UV。滯留時間：4.04 min, (M+H)⁺: 513。1H NMR (500MHz, DMSO-d6) δ 8.82 (s, 1H), 8.50 - 8.45 (m, J=4.3 Hz, 1H), 8.06 (dd, J=8.9, 5.5 Hz, 2H), 7.96 (d, J=7.9 Hz, 1H), 7.92 - 7.85 (m, 2H), 7.67 - 7.60 (m, 1H), 7.60 - 7.54 (m, 1H), 7.41 (t, J=8.9 Hz, 2H), 2.93 - 2.86 (m, 1H), 2.81 (d, J=4.6 Hz, 2H), 1.84 - 1.75 (m, 1H), 1.71 (s, 6H), 1.58 - 1.49 (m, 1H), 1.20 (d, J=6.7 Hz, 3H), 0.66 (t, J=7.3 Hz, 3H)。

生物學方法

化合物證明抵抗HCV NS5B之活性，如在以下HCV RdRp分析中所測定。

HCV NS5B RdRp選殖、表現及純化。將編碼HCV基因型1b (Con1)、胺基酸316自半胱胺酸突變為天冬醯胺酸之基因型1b變體及基因型2a (JFH-1)之NS5B蛋白之cDNA選殖至pET21a表現載體中。各未經標記之蛋白質係以18胺基酸C端截短表現以增強溶解性。使用大腸桿菌(*E. coli*)勝任細胞系BL21(DE3)來表現該蛋白質。使培養物在37°C生長約4小時，直至該等培養物在600 nm之光學密度達到2.0為止。使該等培養物冷卻至20°C，並用1 mM IPTG誘導。添加新鮮胺苄青黴素(ampicillin)至最終濃度為50 µg/mL，且使細胞在20°C生長過夜。

將細胞糰粒(3 L)溶解以供純化，產生15-24 mg經純化之NS5B。溶解緩衝液由以下組成：20 mM Tris-HCl (pH 7.4)、500 mM NaCl、0.5% triton X-100、1 mM DTT、1mM EDTA、20%甘油、0.5 mg/mL溶菌酶、10 mM MgCl₂、15 µg/mL去氧核糖核酸酶I及完全TM蛋白酶抑制劑錠劑(Roche)。在添加溶解緩衝液之後，使用組織均質器再懸浮經冷凍之細胞糰粒。為降低試樣之黏度，溶解物之等份試樣係使用附接至布蘭森超音波處理器(Branson sonicator)之微尖錐(microtip)在

冰上超音波處理。經超音波處理之溶解物在4°C以100,000 × g離心30分鐘，且經0.2 μm過濾單元(Corning)過濾。

使用以下兩個連續層析步驟來純化蛋白質：肝素瓊脂糖凝膠(sepharose) CL-6B及polyU瓊脂糖凝膠4B。層析緩衝液與溶解緩衝液相同，但不含溶菌酶、去氧核糖核酸酶I、MgCl₂或蛋白酶抑制劑，且根據管柱上裝填蛋白質之需求來調整緩衝液之NaCl濃度。用NaCl梯度洗脫各管柱，該NaCl梯度之長度自5個至50個管柱體積變化，視管柱類型而定。在最後的層析步驟之後，基於SDS-PAGE分析，所得酶純度>90%。將酶分成等份並儲存於-80°C。

HCV NS5B RdRp酶分析。以384孔格式使用珠粒上固相均質分析來評價NS5B抑制劑(Wang Y-K, Rigat K, Roberts S及Gao M (2006) Anal Biochem, 359: 106-111)。藉由將引子與珠粒混合於1 ×緩衝液中並在室溫下培育三個小時來將生物素化寡dT₁₂引子捕獲於鏈黴親和素(streptavidin)偶合之成像珠粒(GE, RPNQ0261)上。在離心之後去除未結合之引子。將結合引子之珠粒再懸於3 ×反應混合物(20 mM Hepes緩衝液(pH 7.5)、dT引物偶合珠粒、poly A模板、³H-UTP及RNase抑制劑(Promega N2515))中。在DMSO中以1:3連續稀釋該等化合物，並將其等分至分析板中。向分析板上經稀釋之化合物中添加等體積(5 μL)之水、3 ×反應混合物及於3 ×分析緩衝液(60 mM Hepes緩衝液(pH 7.5)、7.5 mM MgCl₂、7.5 mM KCl、3 mM DTT、0.03 mg/mL BSA、6%甘油)中之酶。384孔分析中各組份之最終濃度：0.36 nM模板、15 nM引子、0.29 μM ³H-UTP (0.3 μCi)、1.6 U/μL RNase抑制劑、7 nM NS5B酶、0.01 mg/mL BSA、1 mM DTT及0.33 μg/μL珠粒、20 mM Hepes緩衝液(pH 7.5)、2.5 mM MgCl₂、2.5 mM KCl及0.1% DMSO。

在30°C下使反應繼續進行24小時，並藉由添加50 mM EDTA (5 μL)來終止。在培育至少15分鐘之後，在Amersham LEADseeker多模

態成像系統上讀取各板。

使用十個不同的[I]來測定化合物之IC₅₀值。使用四參數邏輯公式 $y = A + ((B - A) / (1 + ((C / x)^D)))$ 自抑制計算IC₅₀值，其中A及B分別表示最小抑制%及最大抑制%，C係IC₅₀，D係希爾斜率(hill slope)，且x代表化合物濃度。

細胞系。用於評估化合物之細胞系由組成性表現含有海腎(Renilla)螢光素酶報告基因之基因型1b (Con-1) HCV複製子或在胺基酸316處天冬醯胺代替半胱胺酸之基因型1b (Con-1) HCV複製子或基因型2a (JFH-1)複製子之人類肝細胞源性細胞系(Huh-7)組成。將該等細胞維持於含有10% FBS、100 U/mL青黴素(penicillin)/鏈黴素(streptomycin)及1.0 mg/mL G418之達爾伯克氏改良伊格爾培養基(Dulbecco's modified Eagle medium, DMEM)中。

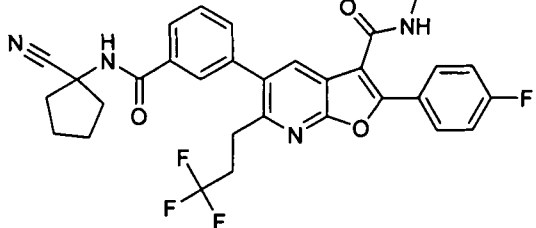
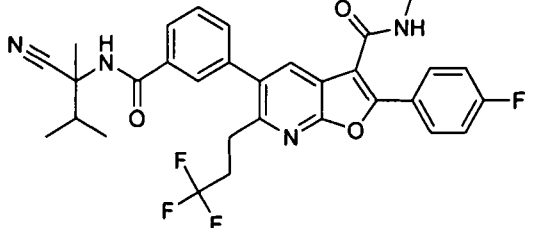
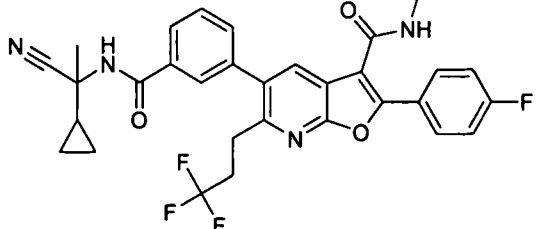
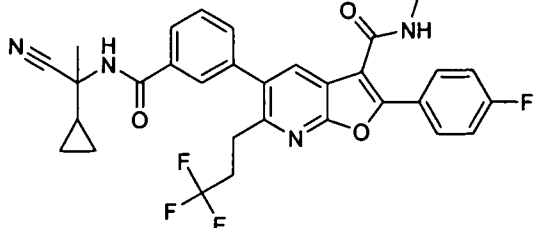
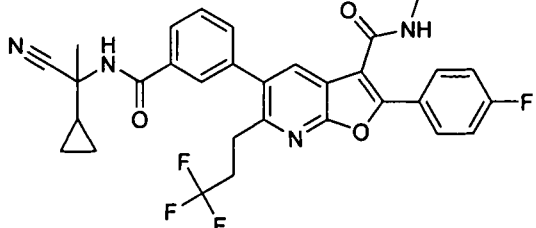
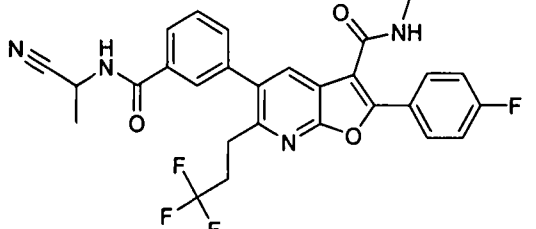
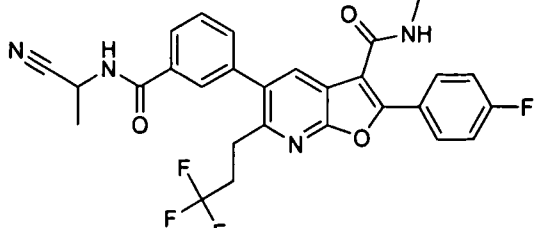
HCV複製子螢光素酶分析。為評估化合物療效，將經滴定之化合物轉移至經無菌384孔組織培養物處理之板中，並用存於含4% FBS之DMEM中之HCV複製子細胞(50 μL，以 2.4×10^3 個細胞/孔之密度)對該等板進行接種(最終DMSO濃度為0.5%)。在37°C下培育3天之後，根據製造商說明使用EnduRen受質(Promega目錄編號E6485)來分析細胞之海腎螢光素酶活性。簡言之，於DMEM中稀釋EnduRen受質且然後將其添加至該等板中直至最終濃度為7.5 μM。在37°C下將該等板培育至少1 h，然後在Viewlux Imager(PerkinElmer)上使用發光程式讀取。使用如上所述之四參數邏輯公式來計算50%有效濃度(EC₅₀)。

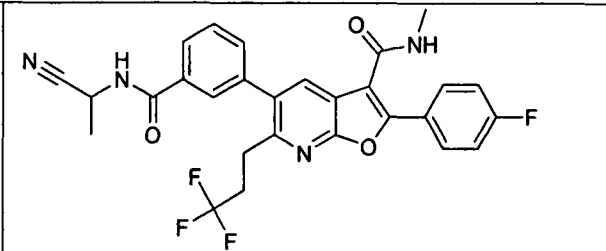
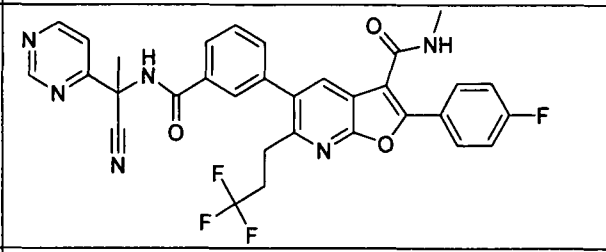
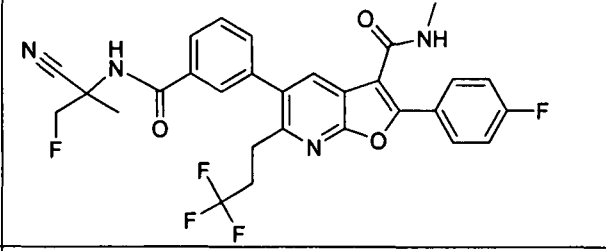
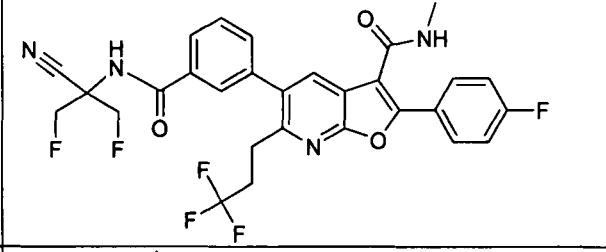
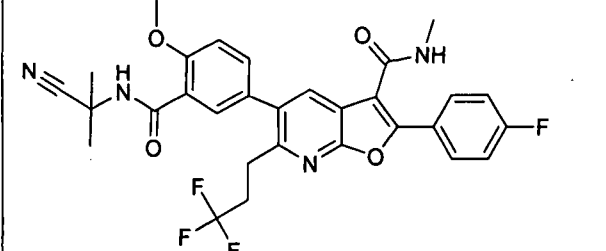
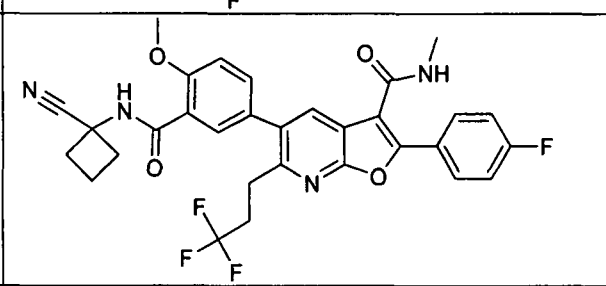
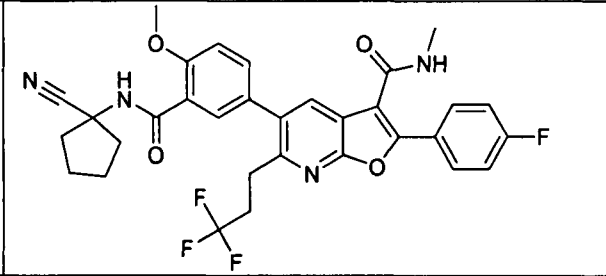
為評價化合物之細胞毒性，向含EnduRen之板中添加Cell Titer-Blue (Promega)，並在37°C下培育至少4 hr。使用Viewlux Imager讀取每一孔之螢光信號。使用四參數邏輯公式來計算所有CC₅₀值。

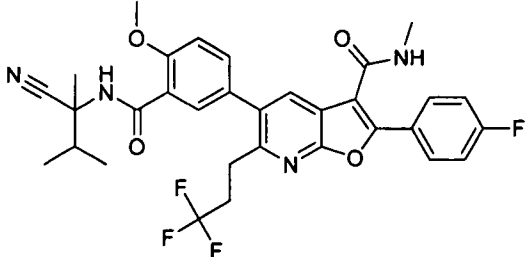
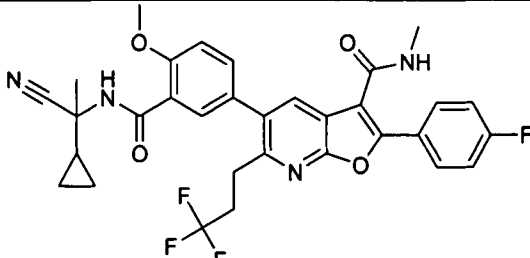
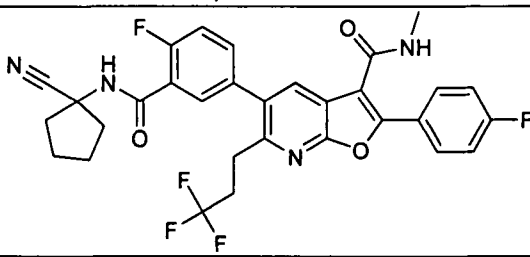
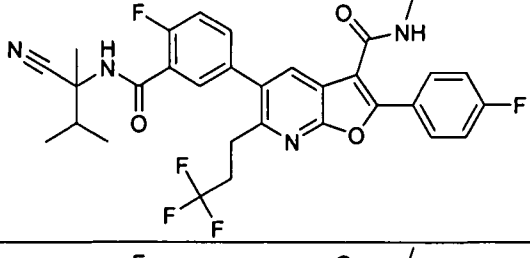
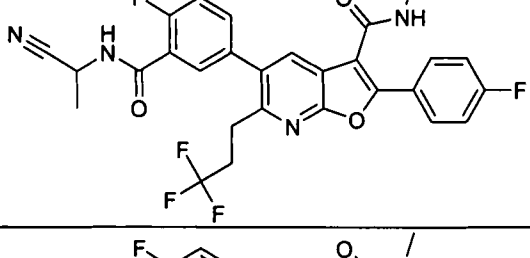
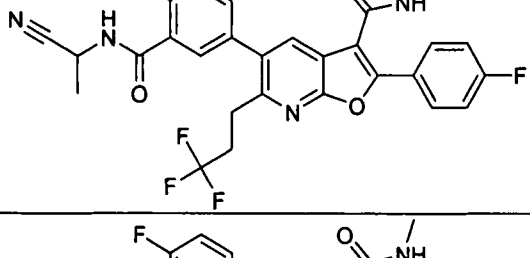
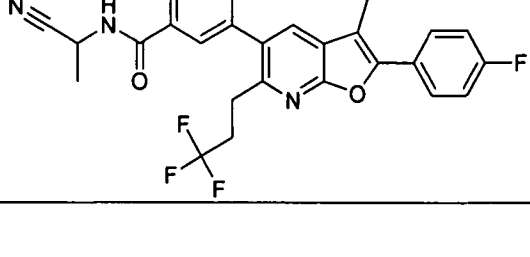
化合物EC₅₀數據經表達為A：< 100 nM；B = 100-1000 nM；C > 1000 nM)。化合物之代表性數據報告於表2中。

表2

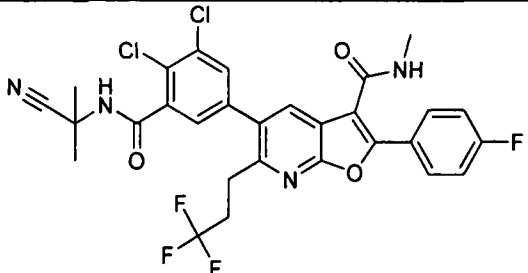
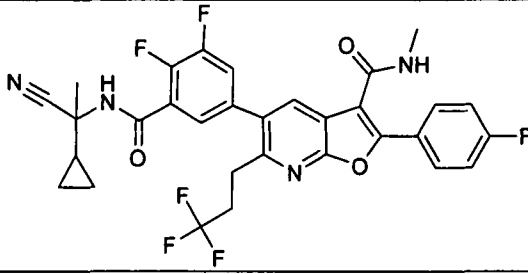
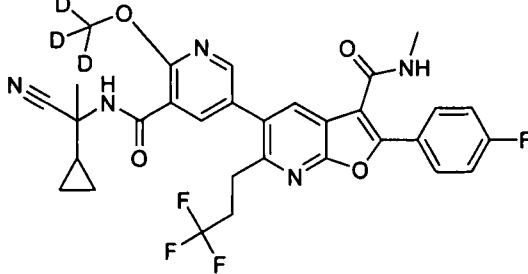
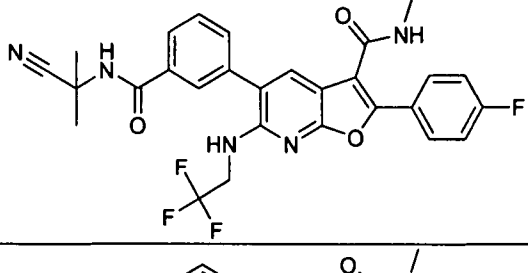
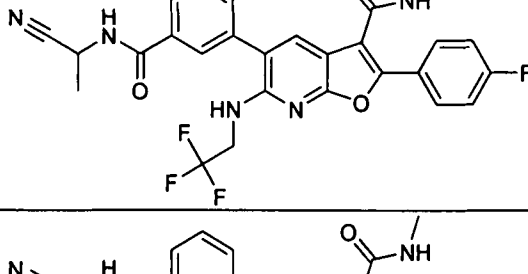
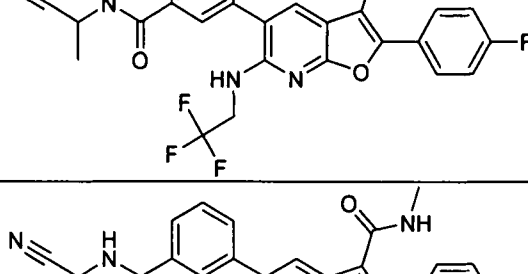
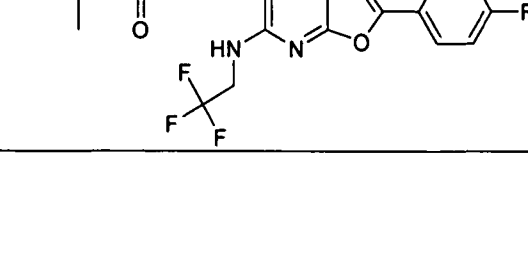
化合物 編號	結構	EC ₅₀ (μM) 1b
10001		0.0738 A
10002		A
10003		A
10004		0.1051 B
10005		A
10006		0.0760 A
11001		A
11002		A

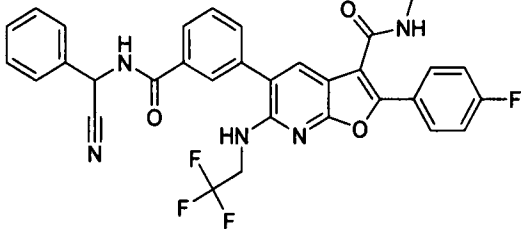
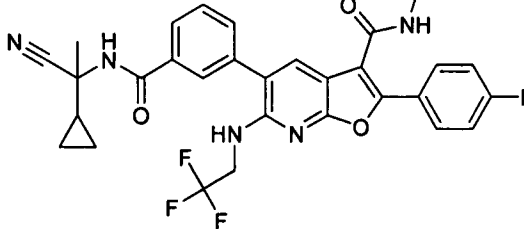
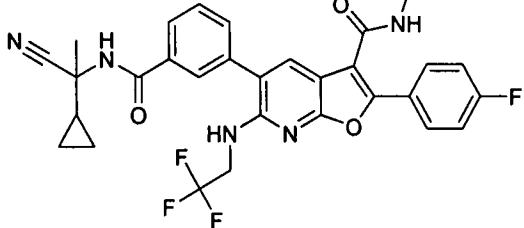
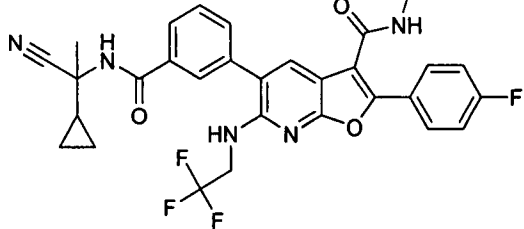
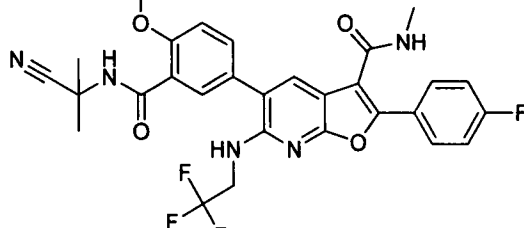
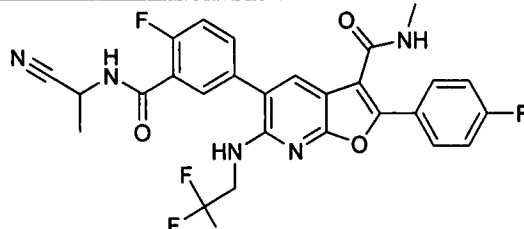
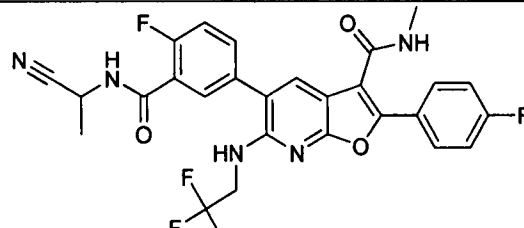
11003		0.0046 A
11004		A
11005		A
11006 對掌性		0.0022 A
11007 對掌性		0.0027 A
11008		A
11009 對掌性		A

11010 對掌性		A
11011		0.0075 A
11012		A
11013		N/A
12001		0.0025 A
12002		A
12003		A

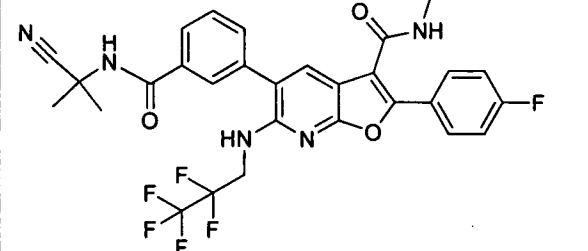
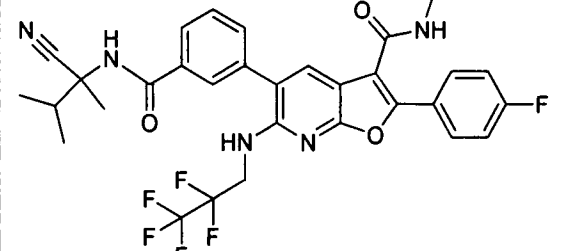
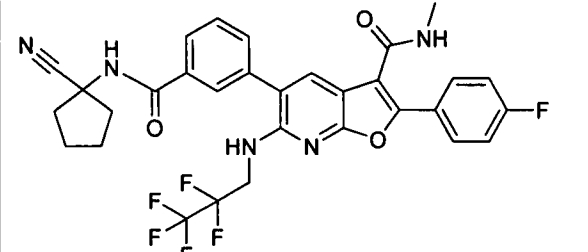
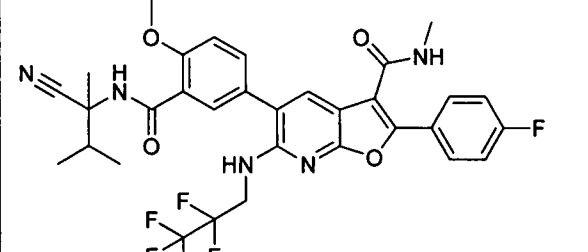
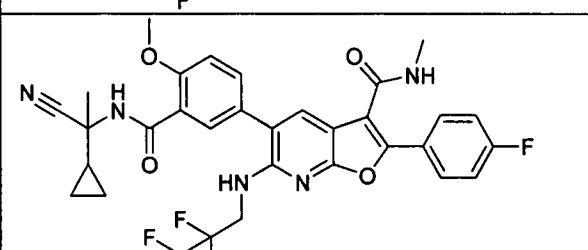
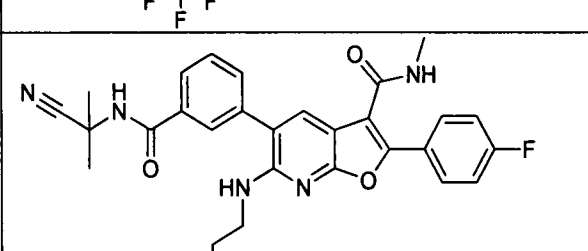
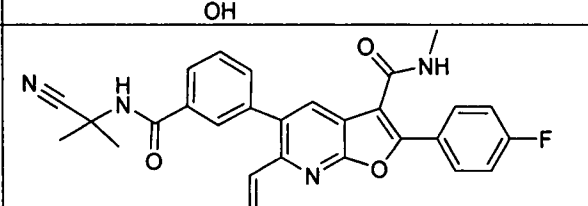
12004		0.0033 A
12005		N/A
13001		N/A
13002		0.0024 A
13003		A
13004 對掌性		A
13005 對掌性		A

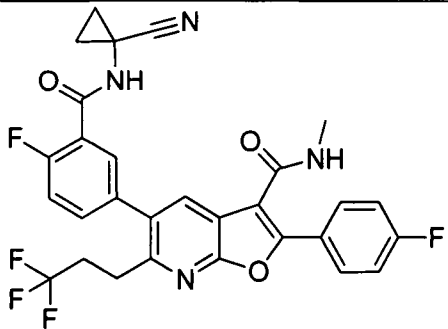
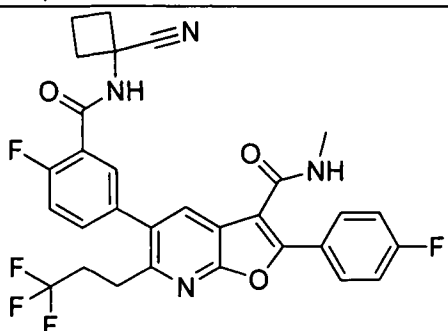
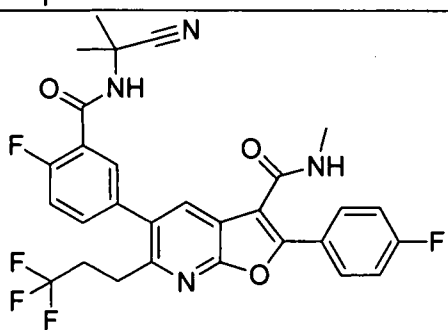
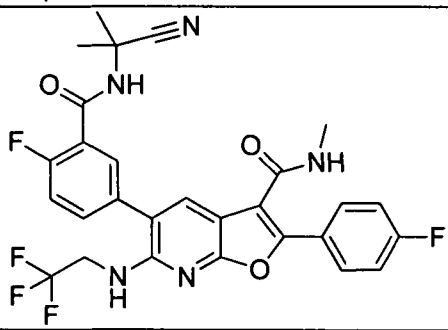
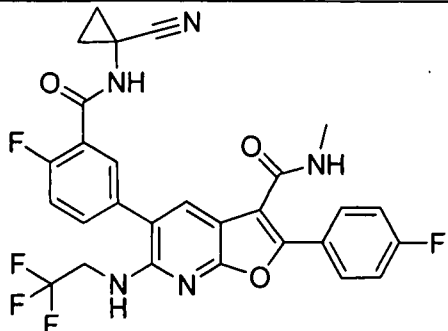
13006		0.0036 A
13007 對掌性		A
13008 對掌性		A
14001		0.0022 A
14002		A
15001		A
15002		0.0042 A

16001		A
17001		0.0018 A
18001		0.0037 A
20001		A
20002		A
20003 對掌性		A
20004 對掌性		A

20005		0.0140 A
20006		0.0031 A
20007 對掌性		A
20008 對掌性		A
21001		A
22001		0.0055 A
22002 對掌性		A

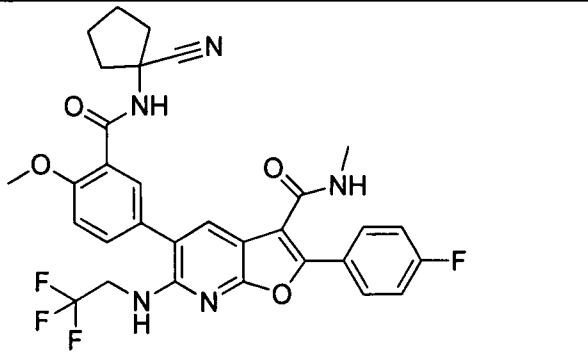
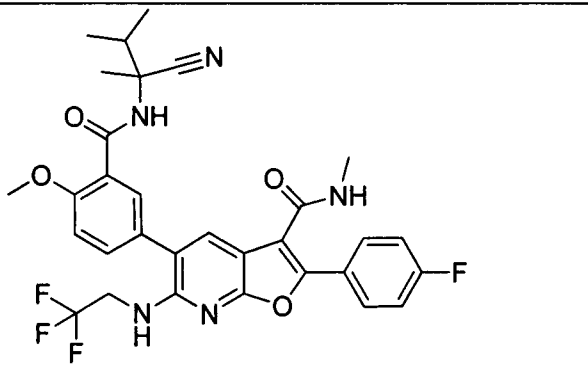
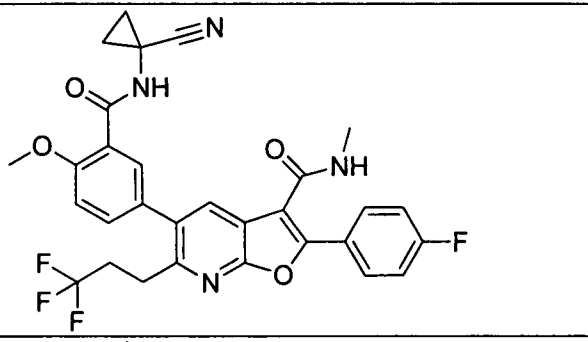
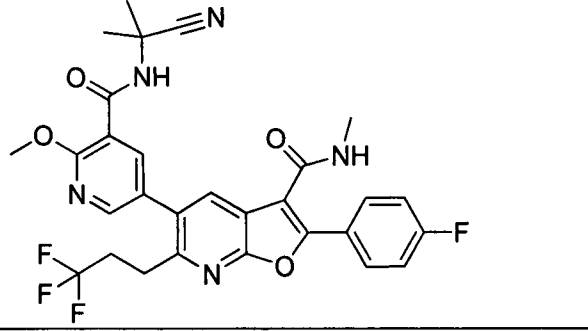
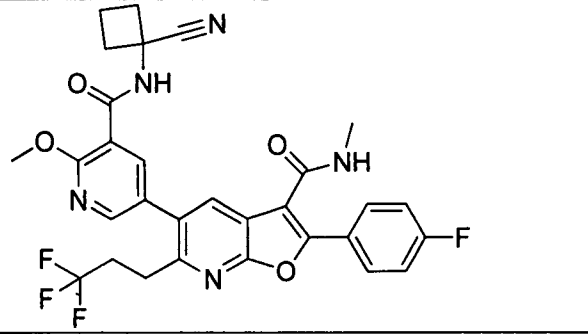
- 139 -

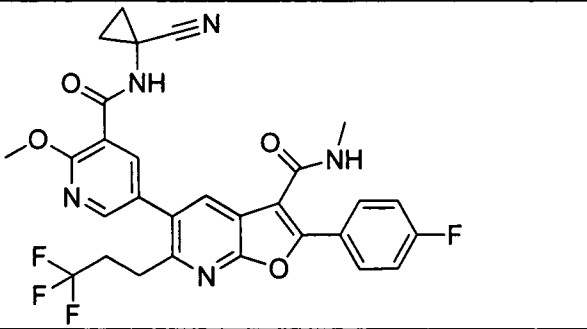
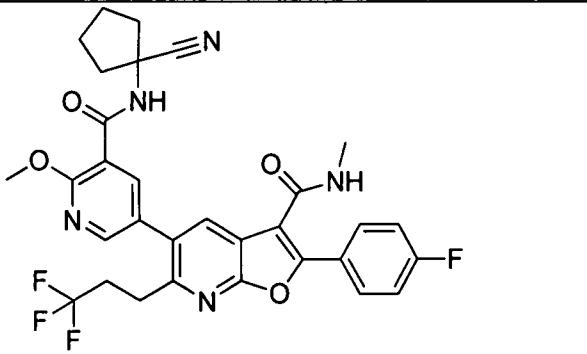
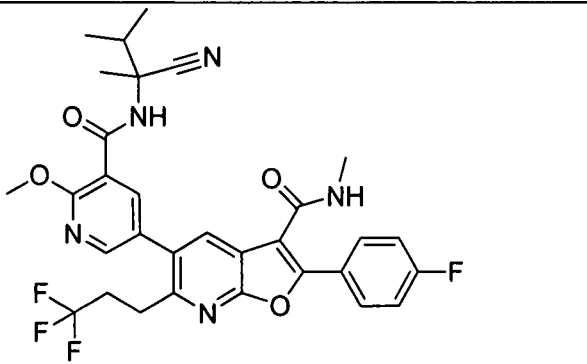
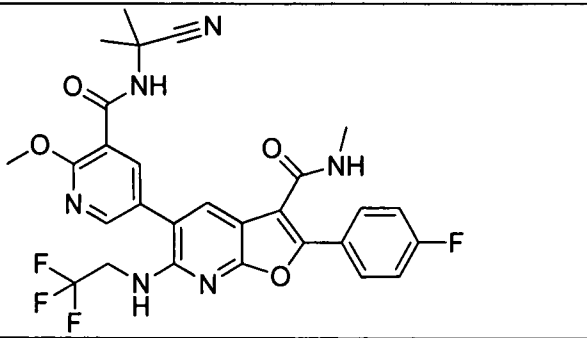
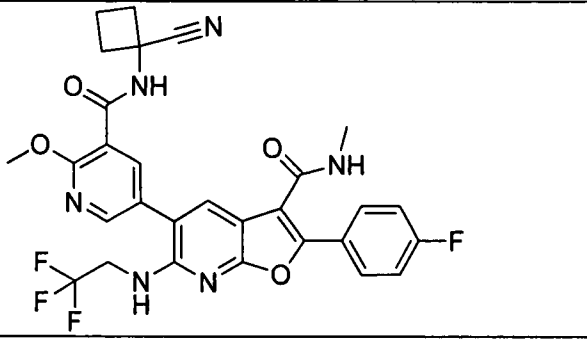
30001		A
30002		0.0394 A
30003		A
31001		A
31002		0.0061 A
40001		A
50001		0.0107 A

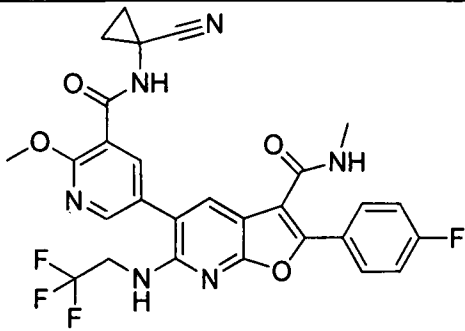
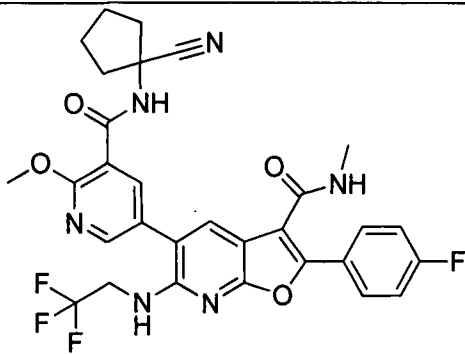
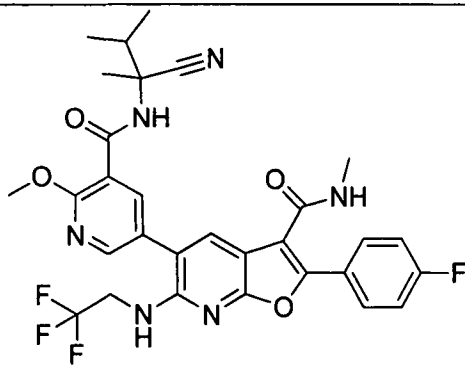
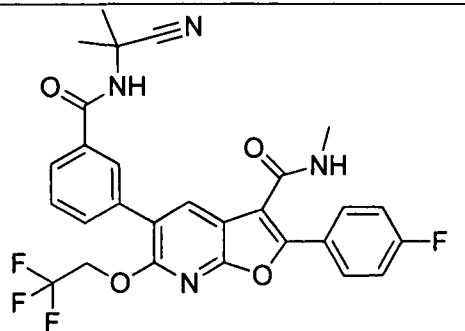
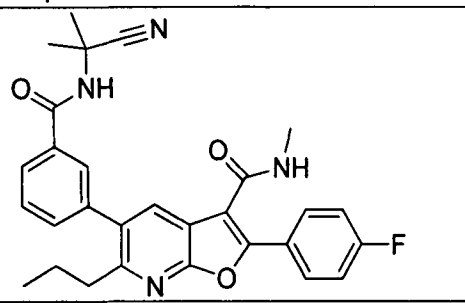
K1001		0.0061 A
K1002		A
K1003		A
K2001		A
K2002		0.0034 A

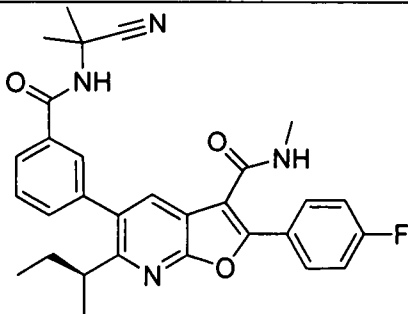
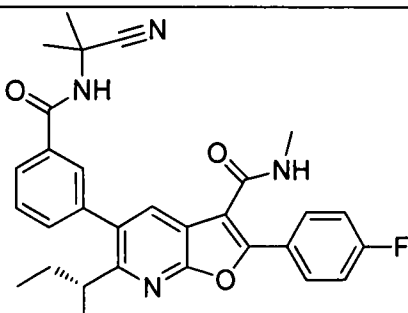
K2003	<chem>CC1(C)C#N1C(=O)Nc2ccc(F)c2-c3nc4c(nc3O4)c5ccc(F)c5C(=O)Nc6ccc(F)c6</chem>	A
K2004	<chem>CC1(C)C#N1C(=O)Nc2ccc(F)c2-c3nc4c(nc3O4)c5ccc(F)c5C(=O)Nc6ccc(F)c6</chem>	A
K2005	<chem>CC1(C)C#N1C(=O)Nc2ccc(F)c2-c3nc4c(nc3O4)c5ccc(F)c5C(=O)Nc6ccc(F)c6</chem>	A
K3001	<chem>CC1(C)C#N1C(=O)Nc2ccc(F)c2-c3nc4c(nc3O4)c5ccc(F)c5C(=O)Nc6ccc(F)c6</chem>	A
K4001	<chem>CC1(C)C#N1C(=O)Nc2ccc(F)c2-c3nc4c(nc3O4)c5ccc(F)c5C(=O)Nc6ccc(F)c6</chem>	A

K4002		A
K4003		0.0043 A
K4004		0.0040 A
K5001		A
K5002		A

K5003		A
K5004		0.0028 A
K6001		A
K7001		A
K7002		A

K7003		A
K7004		A
K7005		0.0028 A
K8001		A
K8002		A

K8003		A
K8004		A
K8005		0.0036 A
K9001		0.0177 uM (代替針對 1a之EC ₅₀) A
K10001		A

K11001	 第一洗脫異構物	0.0133 A
K11002	 第二洗脫異構物	0.0044 A

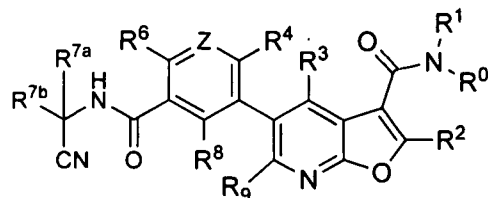
熟習此項技術者將明瞭，本揭示內容並不受限於上述說明性實例，且其可以其他具體形式來實施而不背離其基本屬性。因此，期望將所有態樣中之實例視為說明性的而非限制性的，以隨附申請專利範圍而非上述實例為準，且因此本發明意欲涵蓋屬申請專利範圍之等效內容之含義及範圍內之所有變化。

【符號說明】

無

申請專利範圍

1. 一種式I化合物，包括其醫藥上可接受之鹽：



I

其中

Z係C-R⁵或N；

R⁰係氫；

R¹係甲基；

R²係苯基，獨立地經0至2個鹵基或甲氧基取代或經W-Ar對位取代；

W係-O-或-NH-；

Ar係苯基或對-鹵苯基；

R³係氫、氟或氯；

R⁴、R⁵及R⁶獨立地選自氫、鹵基、烷基、鹵烷基、烷氧基及全氘代烷氧基(perdeuteroalkoxy)之群；

R^{7a}、R^{7b}各獨立地選自氫、烷基、環烷基及Ar¹之群，或

R^{7a}與R^{7b}一起形成3員至7員碳環；

R⁸係氫，

Ar¹係苯基、5員雜芳香族環或6員雜芳香族環；

R⁹係氫、鹵基、R²⁰¹、OR²⁰²、NR²⁰³R²⁰⁴；

R²⁰¹係烷基、烯基，或一個至所有氫經氟替代之C₁-C₄烷基；

R²⁰²係C₁-C₃烷基，或一個至所有氫經氟替代之C₁-C₃烷基；

R²⁰³係氫；及

R^{204} 係 C_1 - C_3 烷基或 C_1 - C_3 經基烷基，或係一個至所有氫經氟替代之 C_1 - C_3 烷基。

2. 如請求項1之化合物，其中：

R^2 係對氟苯基， R^3 係氫， R^4 、 R^5 及 R^6 各獨立地選自氫、氟、 $-OCH_3$ 及 $-OCD_3$ ，

R^{7a} 係選自氫、甲基、氟甲基及環丙基之群；

R^{7a} 係選自氫、甲基、氟甲基、環丙基及 Ar^1 之群，

或 R^{7a} 與 R^{7b} 一起形成環丙基或環丁基環；

Ar^1 係苯基或嘧啶基；

R^9 係 R^{201} 或 $NR^{203}R^{204}$ ；

R^{201} 係 $-CH_2CH_2CF_3$ 或乙烯基；及

R^{204} 係 $-CH_2CF_3$ 、 $-CH_2CF_2CF_3$ 或 $-CH_2CH_2OH$ 。

3. 如請求項2之化合物，其中 R^4 係氫， R^5 係氫或氟，

R^{7b} 係選自氫、甲基、氟甲基及環丙基之群，

或 R^{7a} 與 R^{7b} 一起形成環丙基或環丁基環；及

R^{201} 係 $-CH_2CH_2CF_3$ 。

4. 如請求項2之化合物，其中 Z 係 N 。

5. 如請求項2之化合物，其中 Z 係 CR^5 。

6. 如請求項4之化合物，其中 R^4 係氫且 R^6 係 $-OCD_3$ 。

7. 如請求項1之化合物，其中 R^4 係氫， R^5 係氫或氟

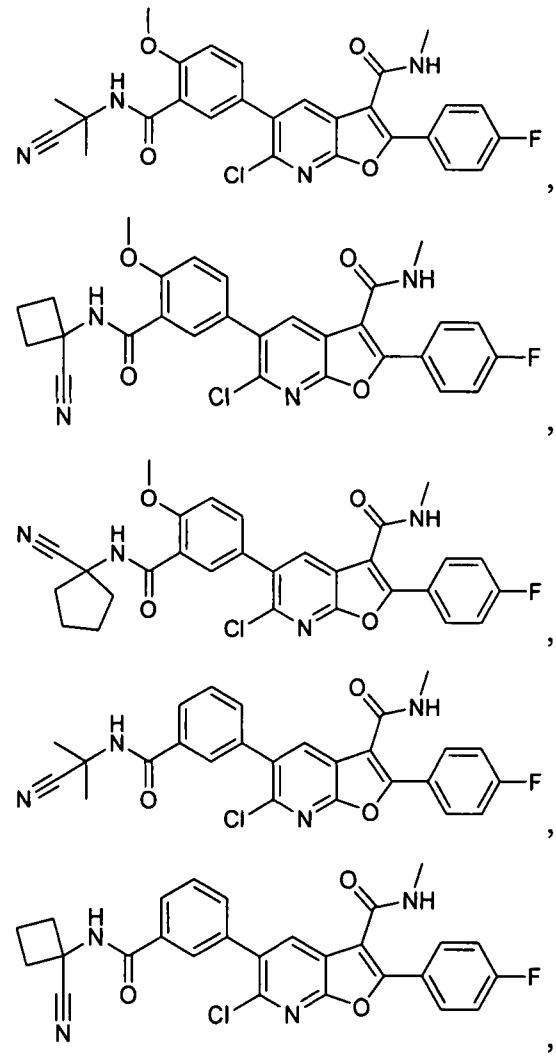
R^6 係氫、氟或 $-OCH_3$ ， R^{7a} 係選自氫、甲基、氟甲基及環丙基之群， R^{7b} 係選自氫、甲基、氟甲基或環丙基，或 R^{7a} 與 R^{7b} 一起形成環丙基或環丁基環；及

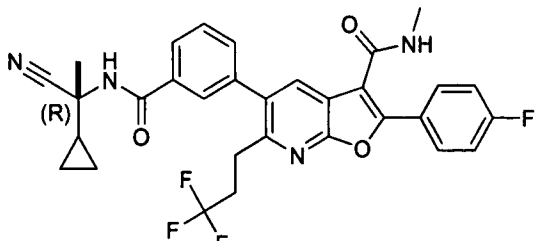
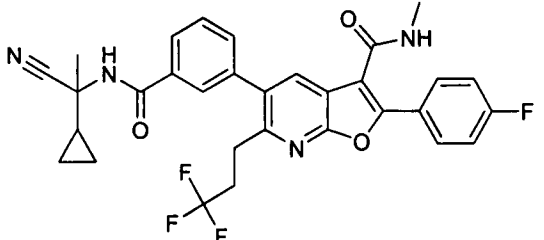
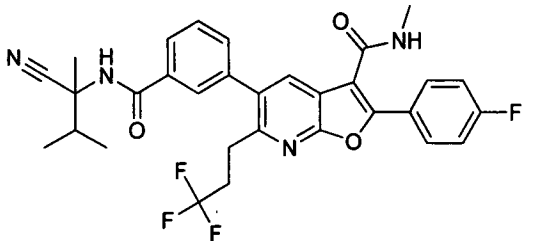
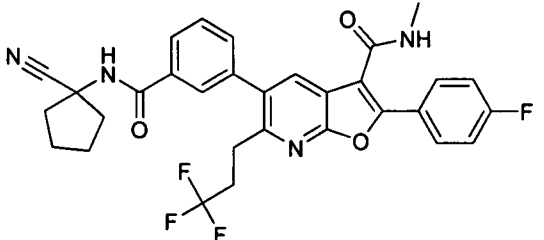
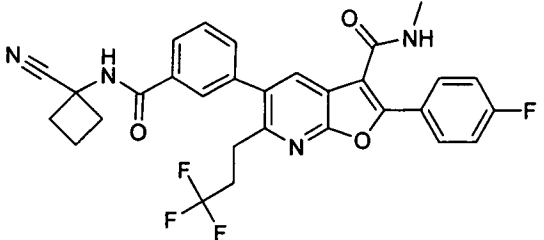
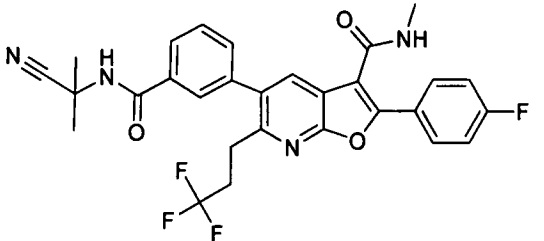
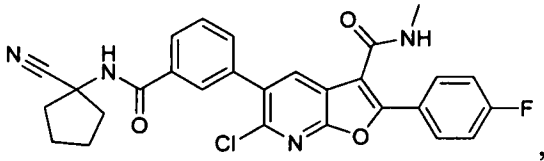
R^{201} 係 $-CH_2CH_2CF_3$ 。

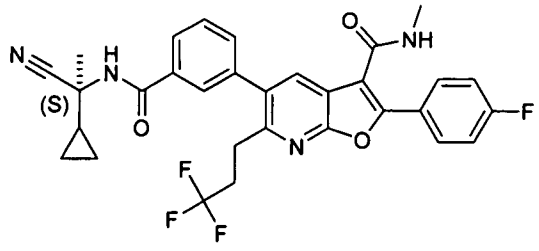
8. 如請求項7之化合物，其中 R^5 係氫， R^6 係氟， R^{7a} 係甲基，

R^{7b} 係環丙基，及 R^9 係 R^{201} 。

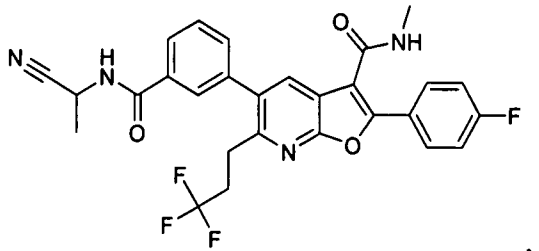
- 9. 一種化合物，其係以單一鏡像異構物存在，其為：(R)-5-(3-((1-氰基-1-環丙基乙基)胺甲醯基)-4-氟苯基)-2-(4-氟苯基)-N-甲基-6-(3,3,3-三氟丙基)呋喃并[2,3-b]吡啶-3-甲醯胺。
- 10. 一種化合物，其係以單一鏡像異構物存在，其為：(S)-5-(3-((1-氰基-1-環丙基乙基)胺甲醯基)-4-氟苯基)-2-(4-氟苯基)-N-甲基-6-(3,3,3-三氟丙基)呋喃并[2,3-b]吡啶-3-甲醯胺。
- 11. 如請求項9或請求項10之化合物，其中該化合物係以單一鏡像異構物存在，其在偏光計中經由標準方法測量光學旋轉時展現負旋轉。
- 12. 一種化合物，包括其醫藥上可接受之鹽，其係選自以下之群：



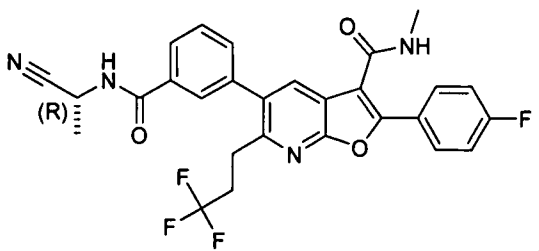




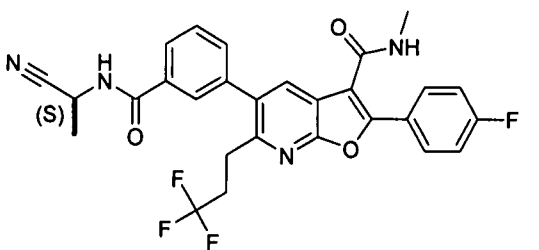
,



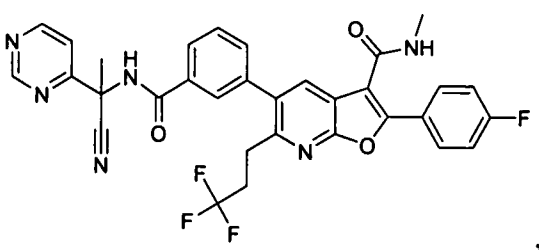
,



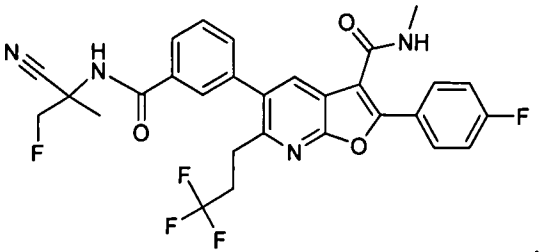
,



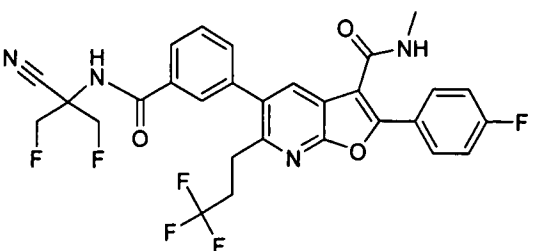
,



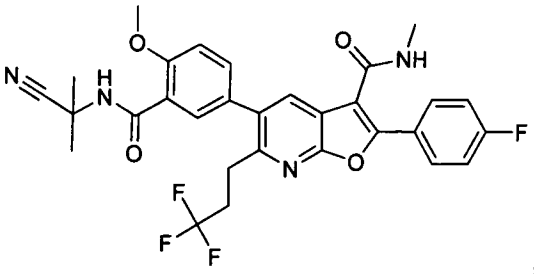
,



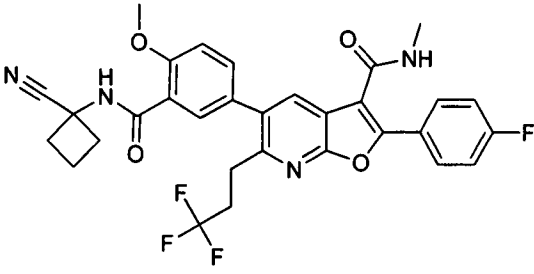
,



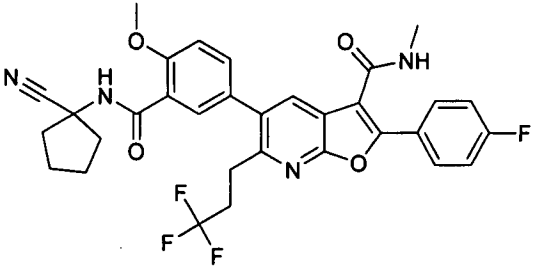
,



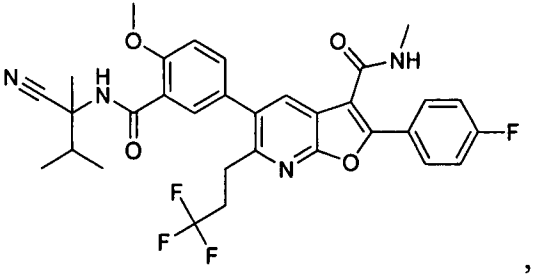
,



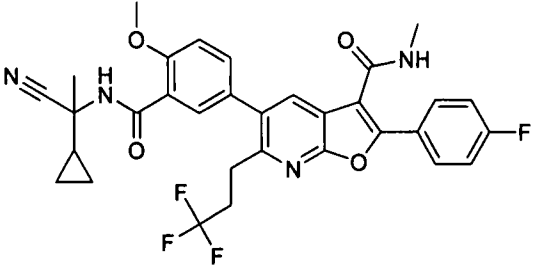
,



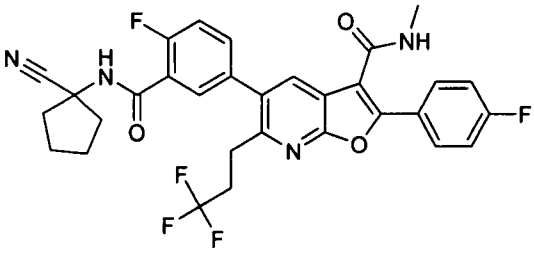
,



,



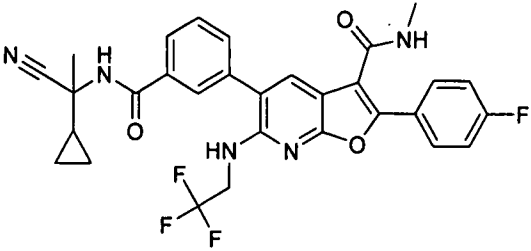
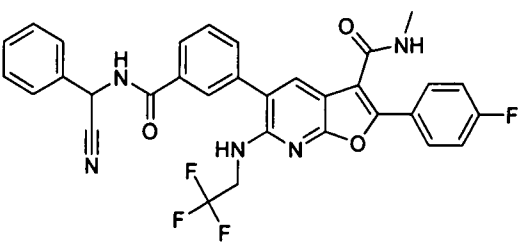
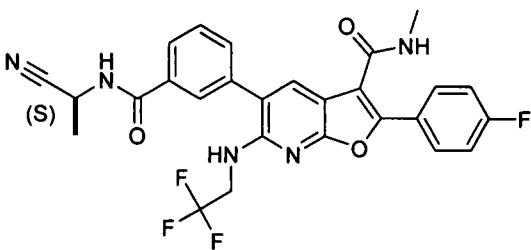
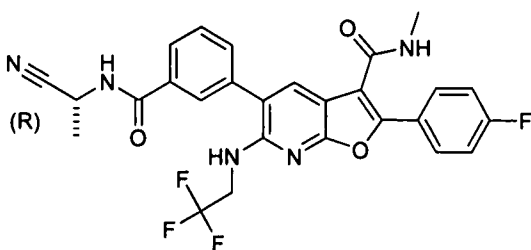
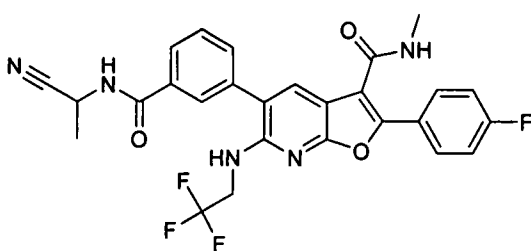
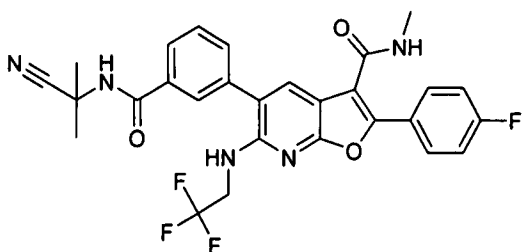
,



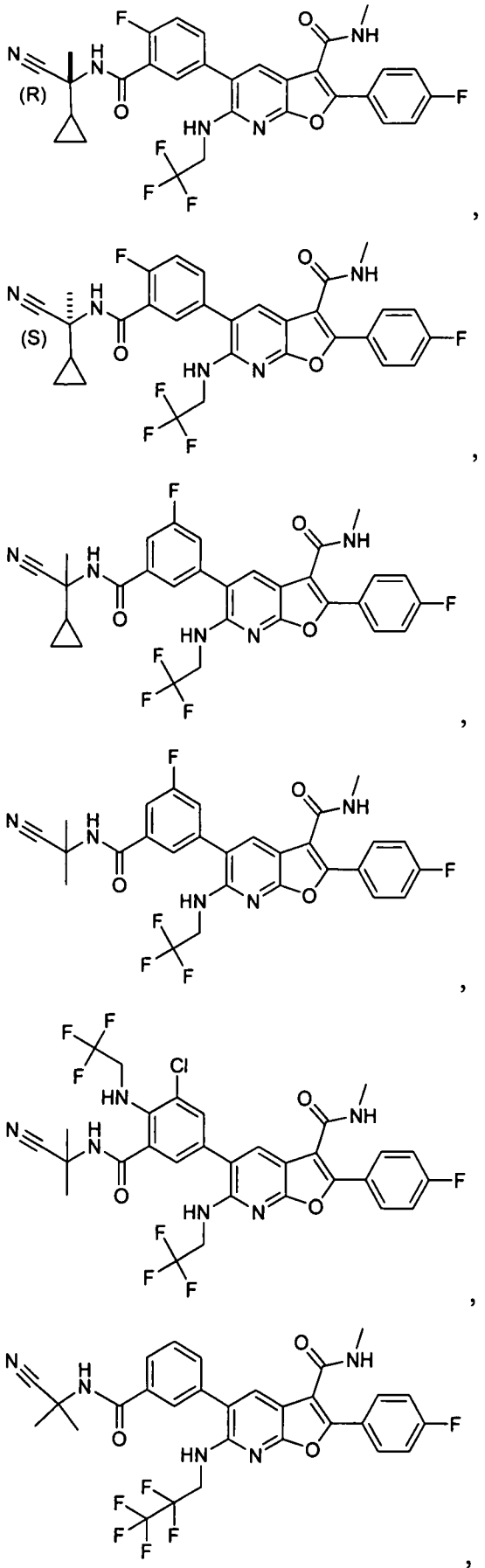
,

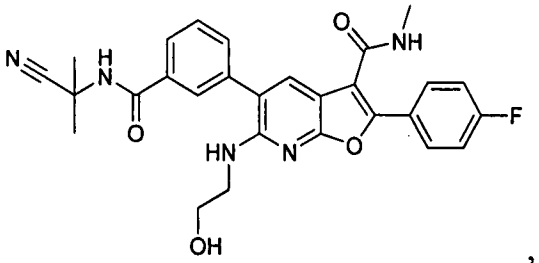
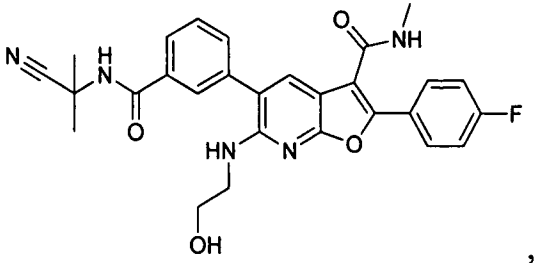
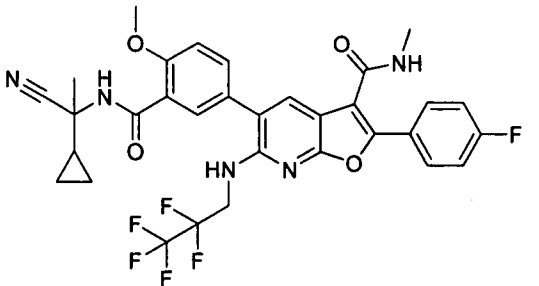
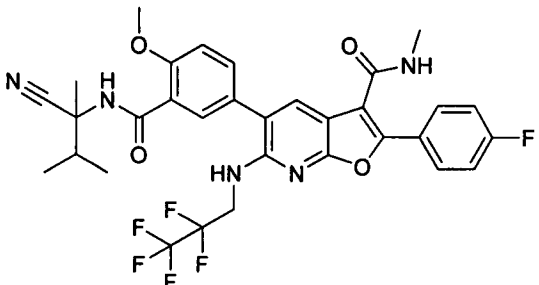
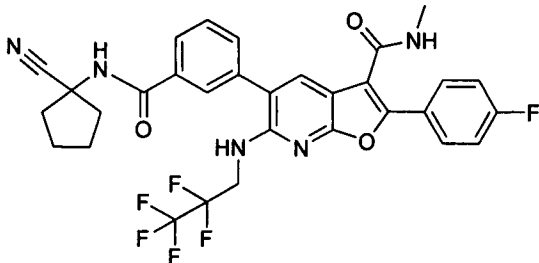
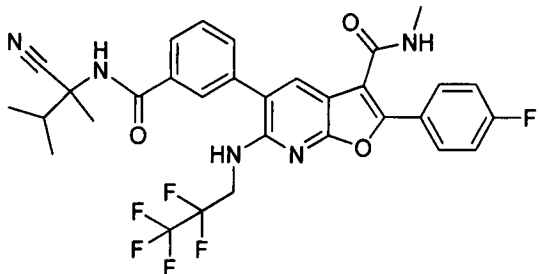


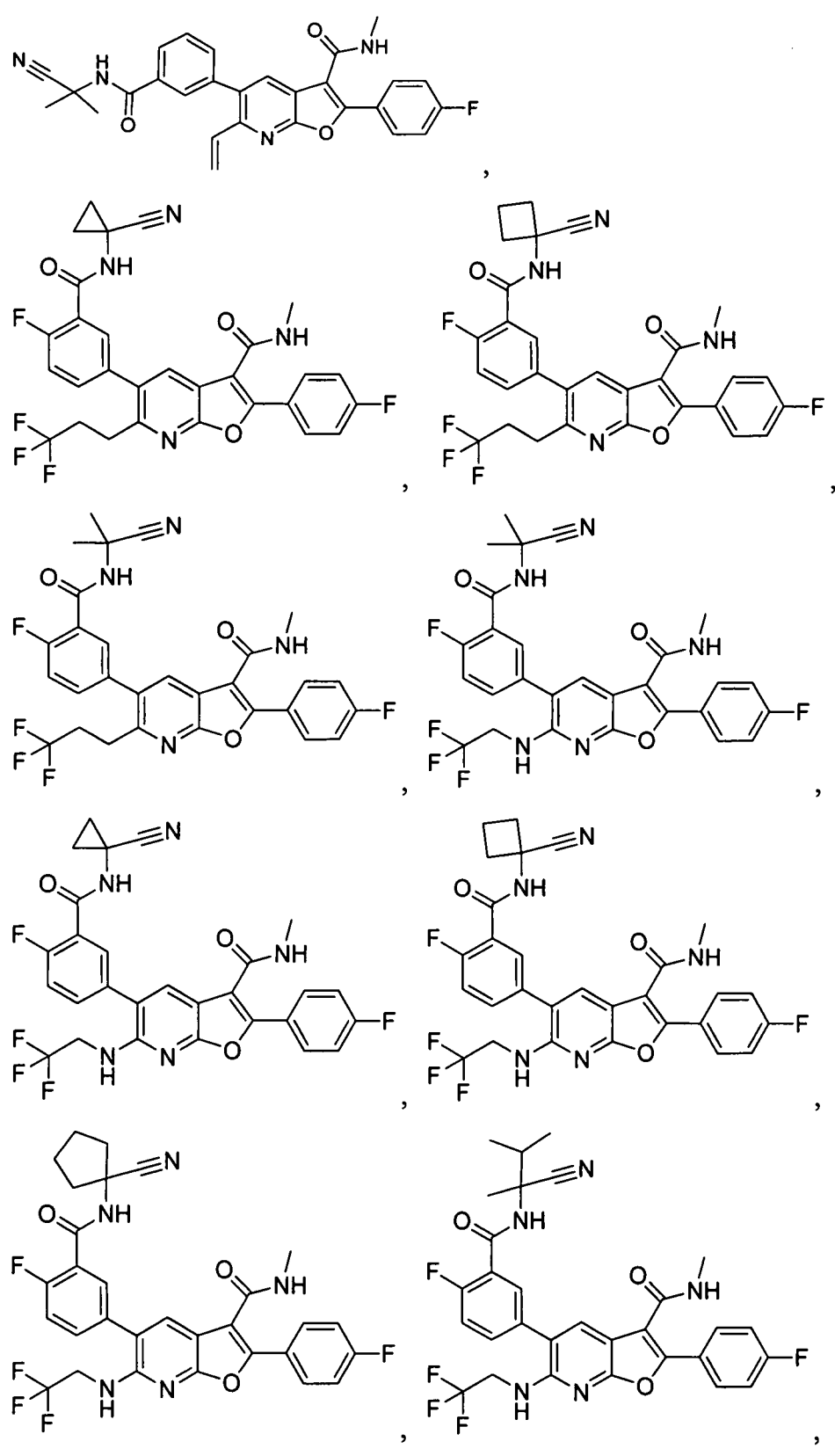


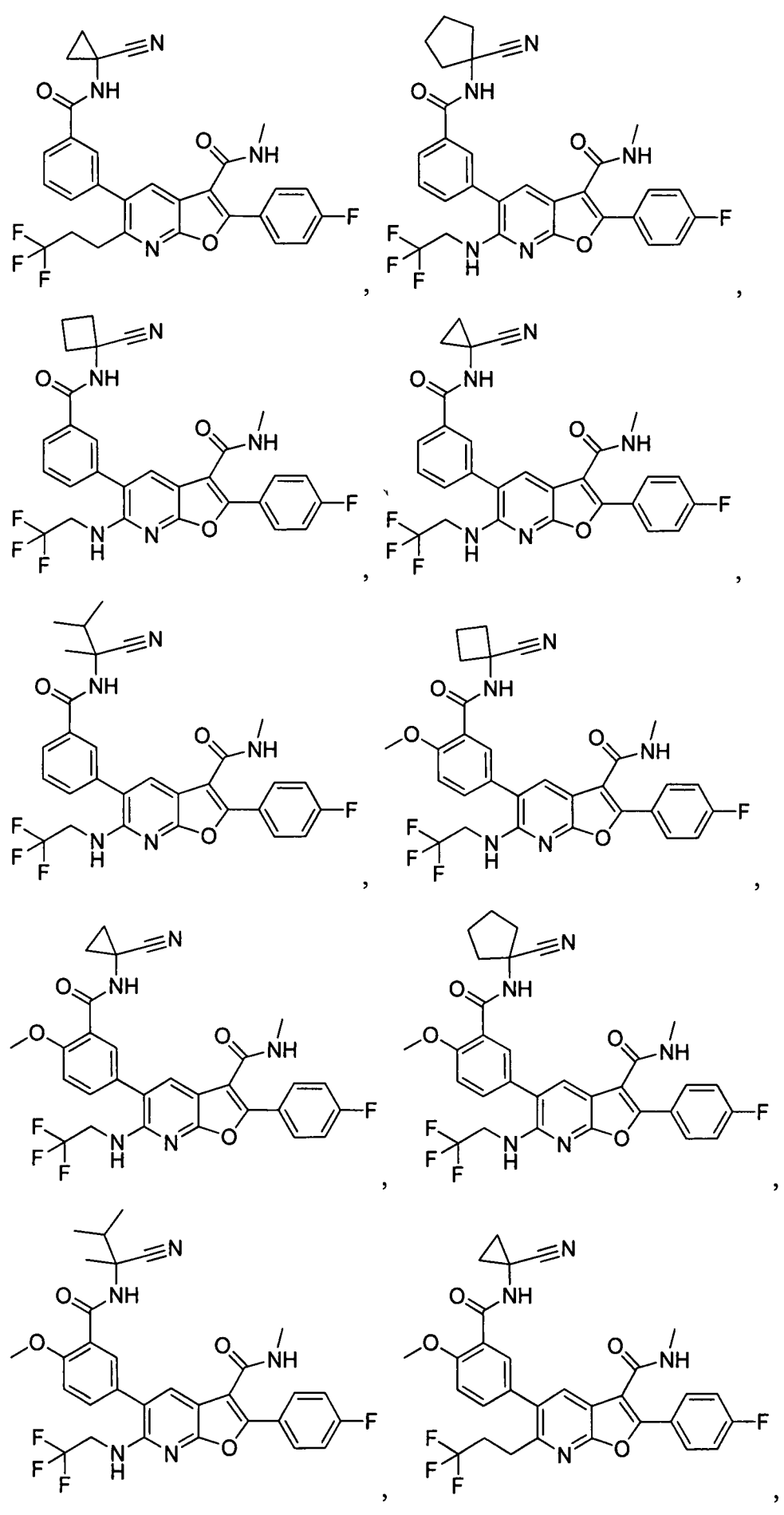


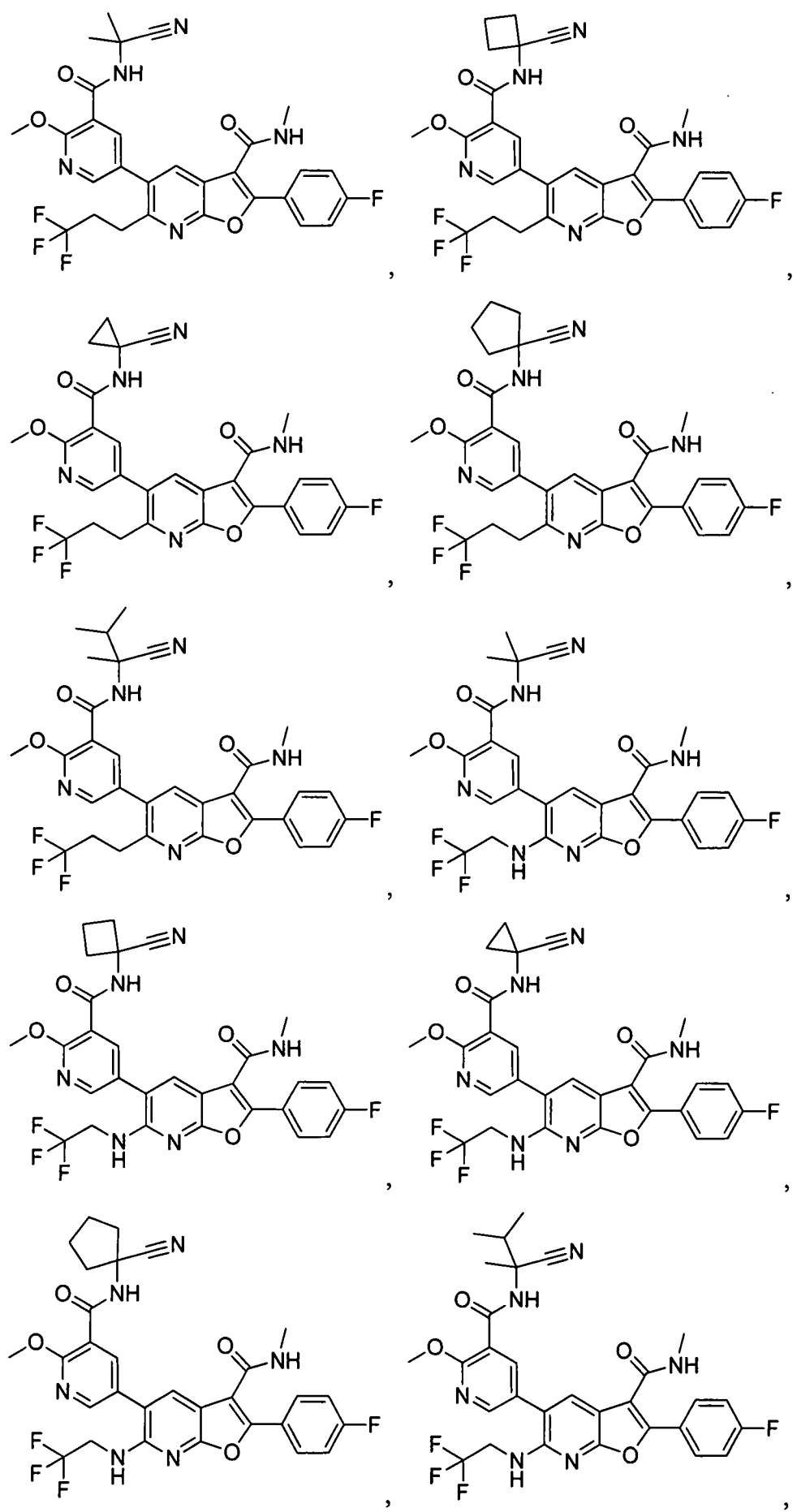


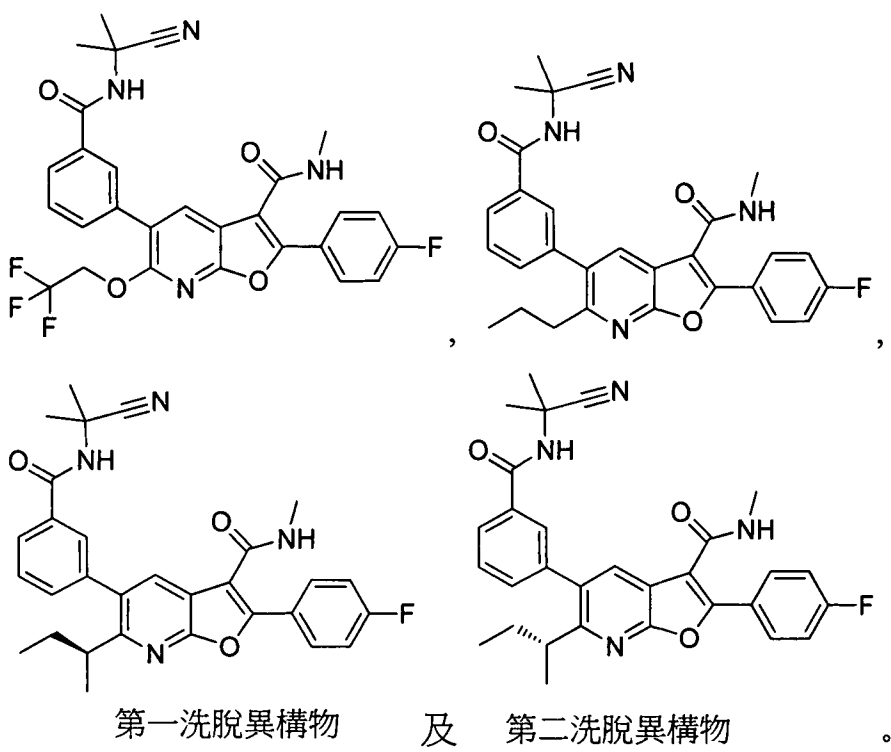




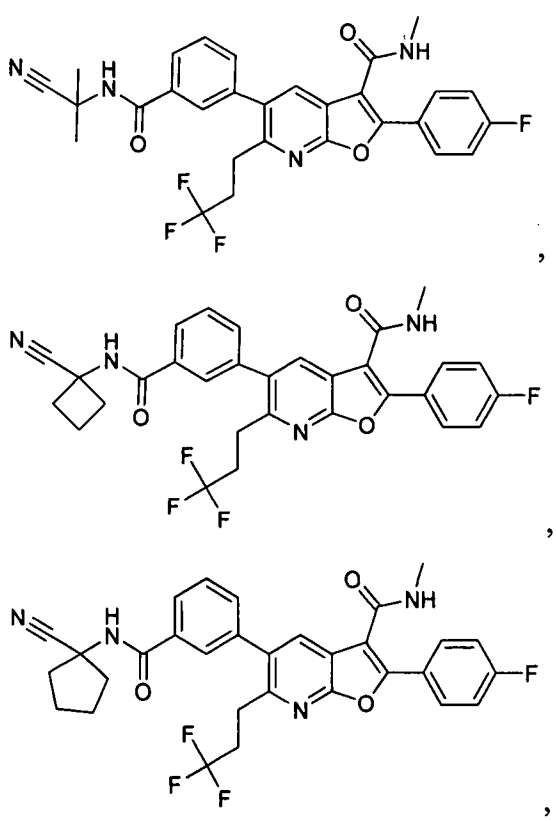


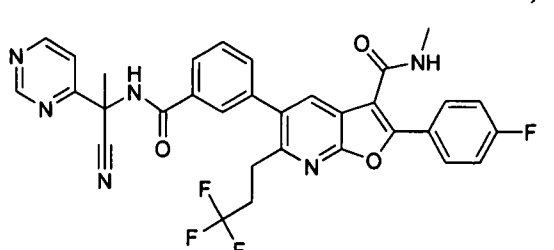
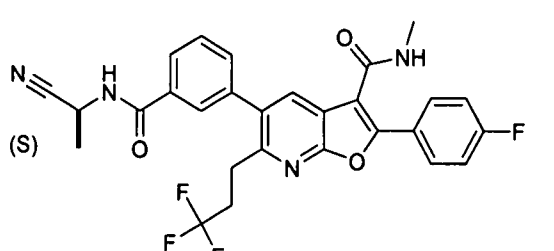
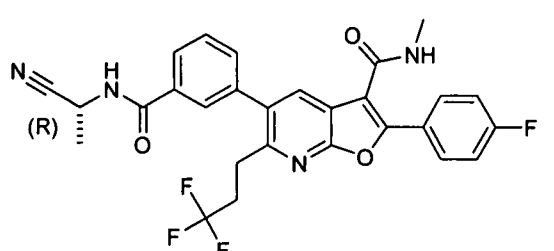
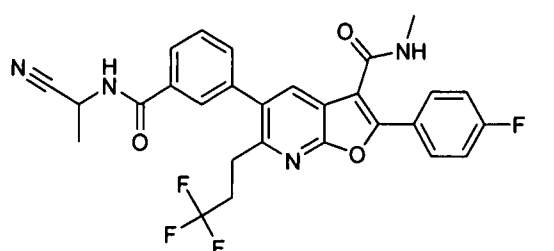
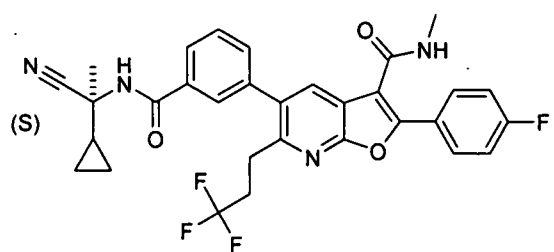
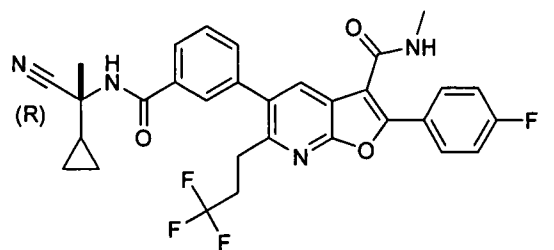


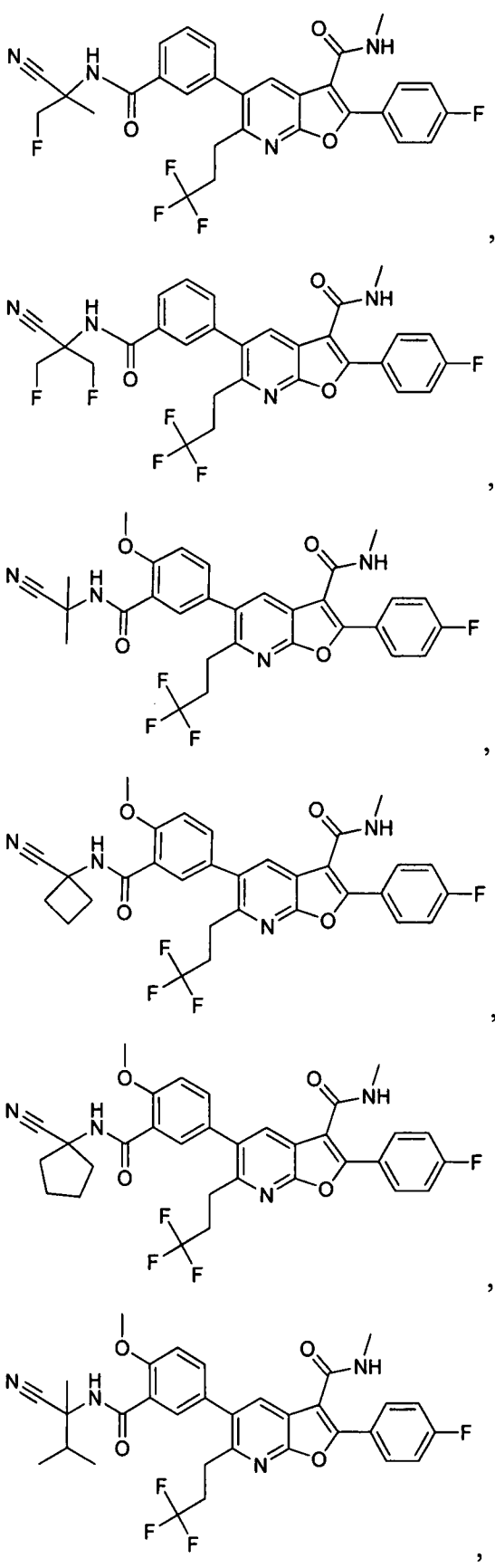


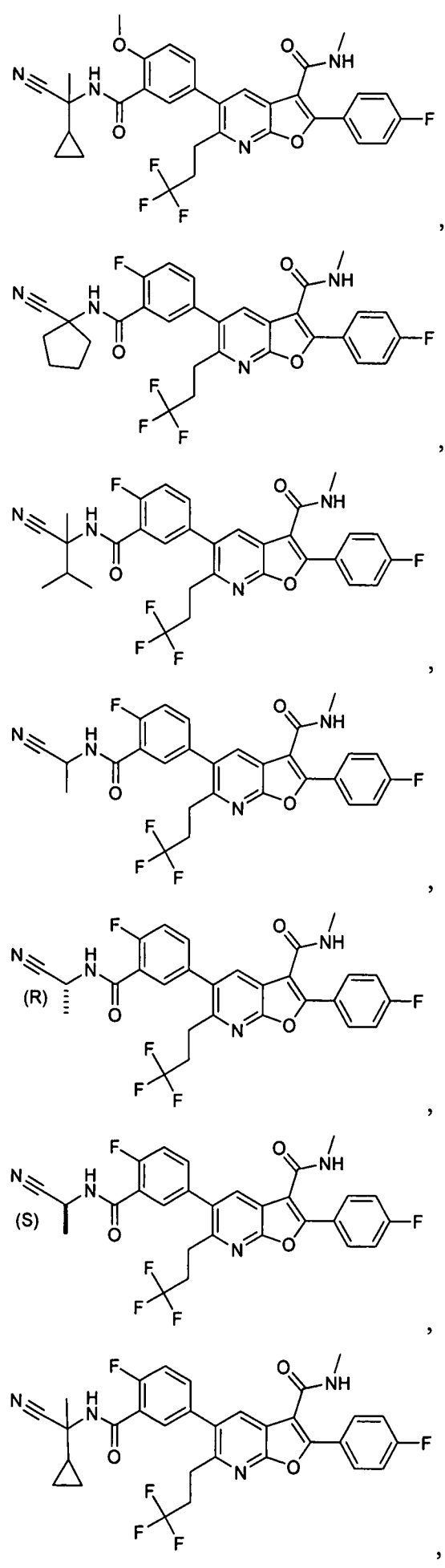


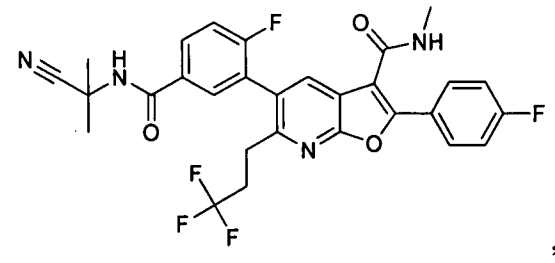
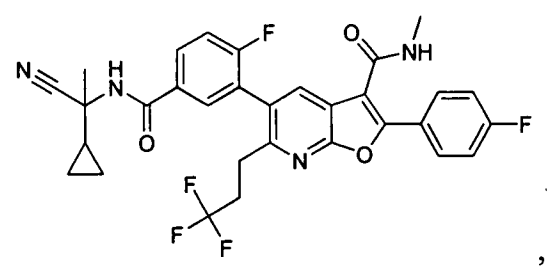
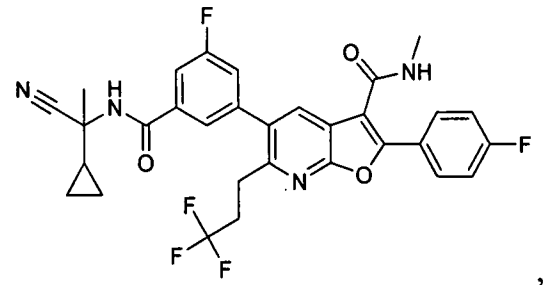
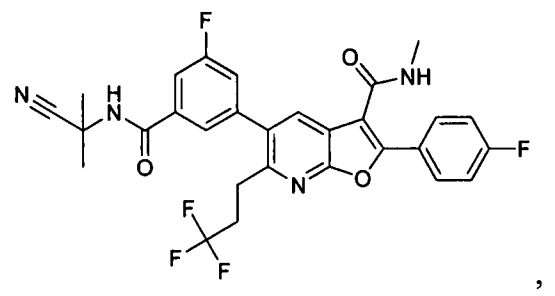
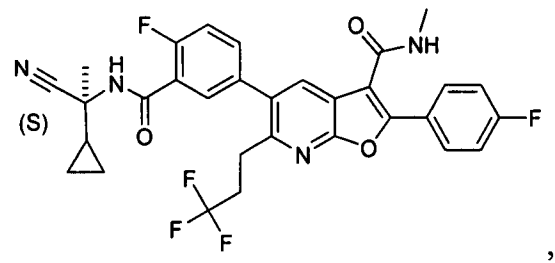
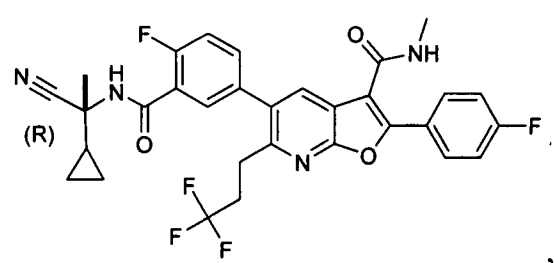
13. 一種化合物，包括其醫藥上可接受之鹽，其係選自以下之群：

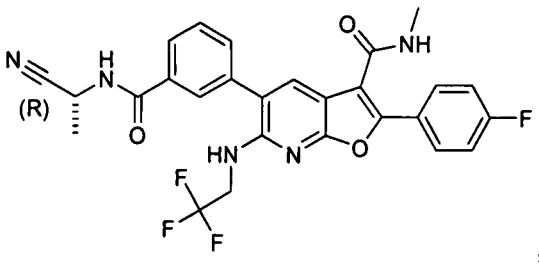
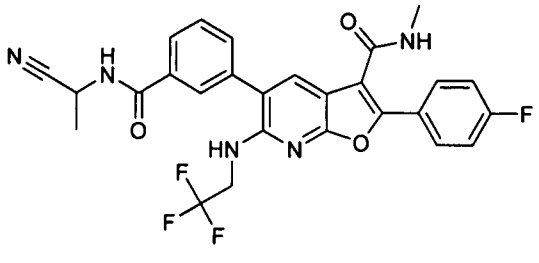
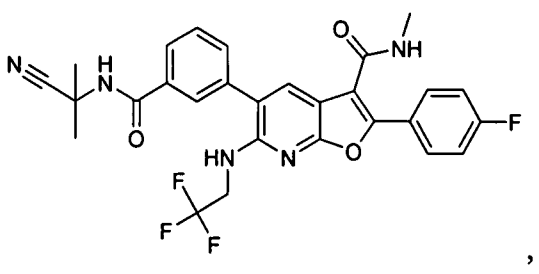
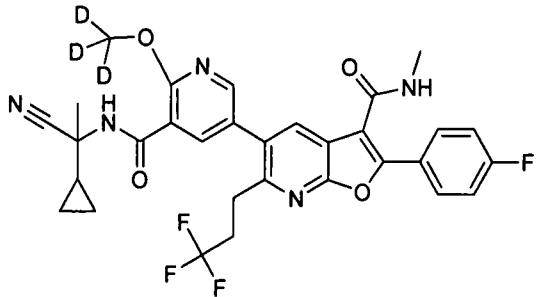
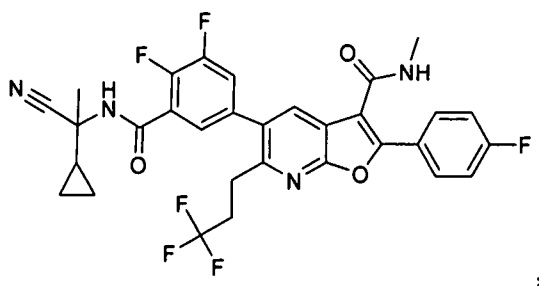
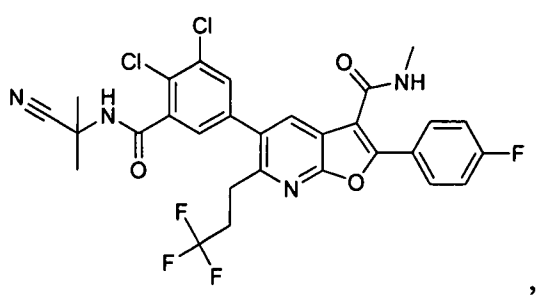


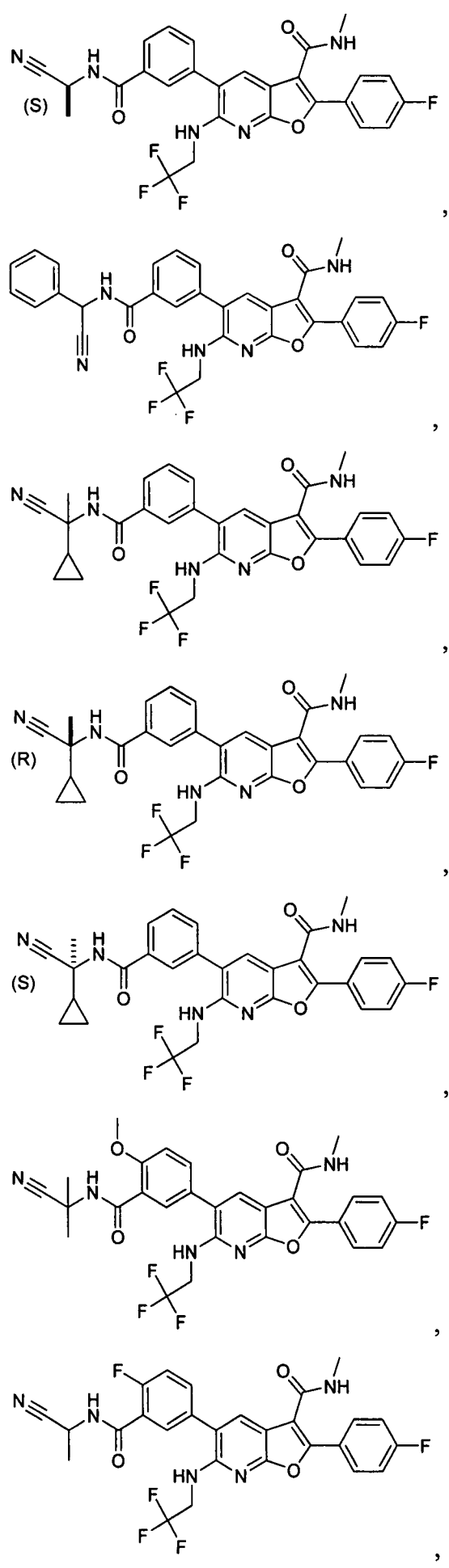


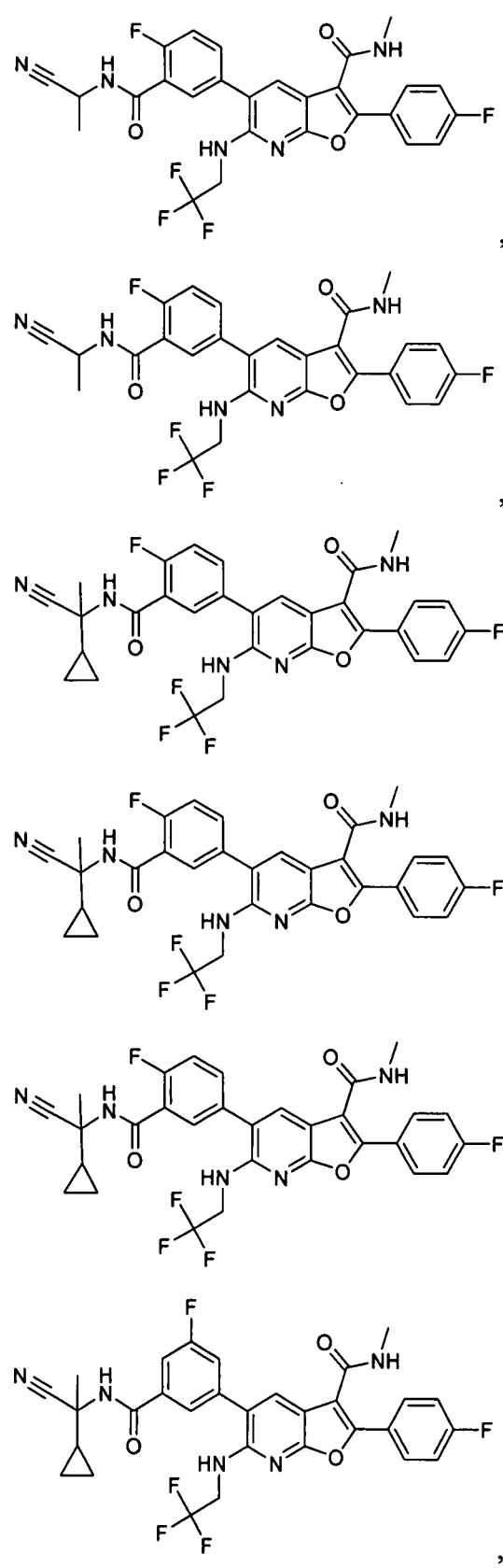


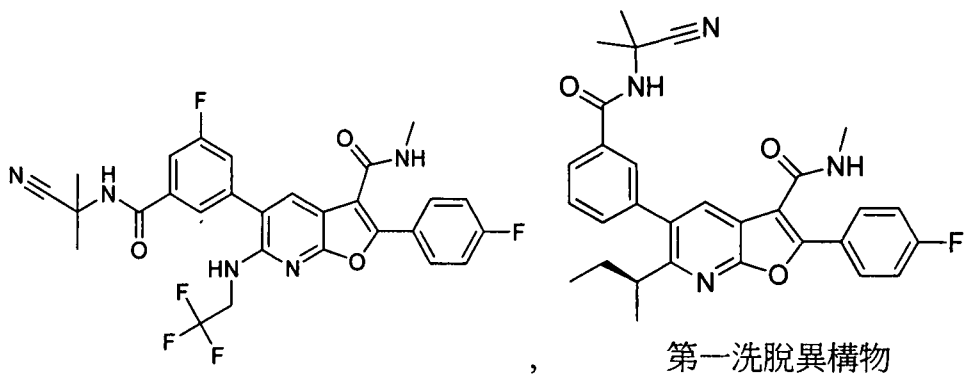




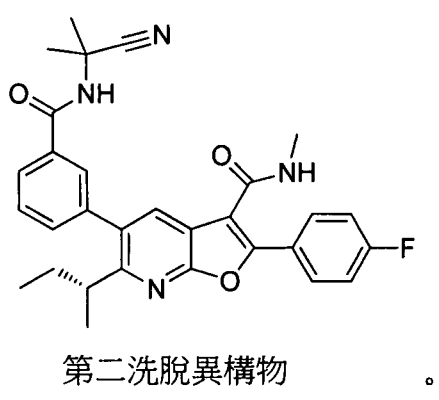




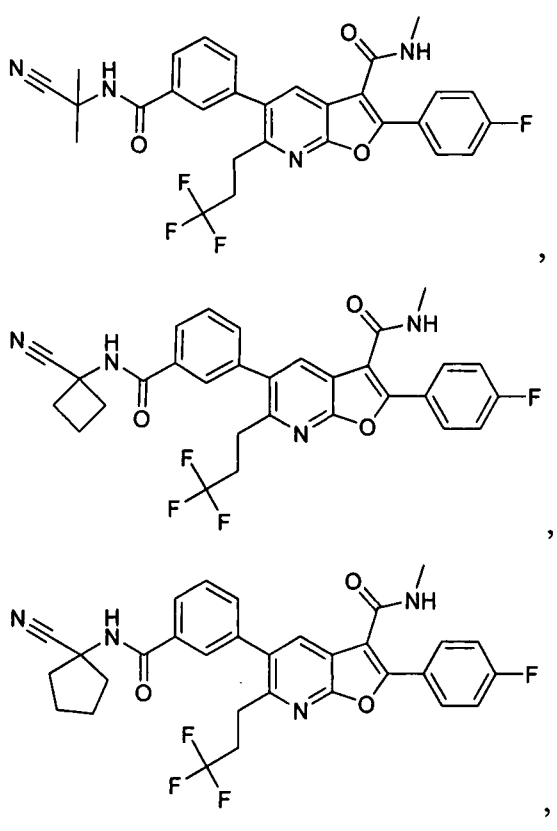


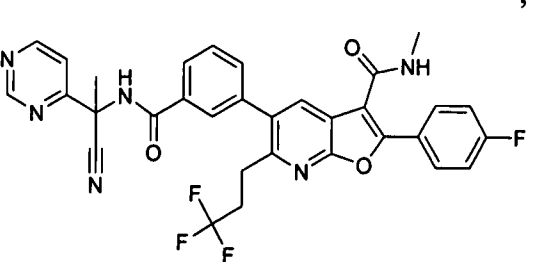
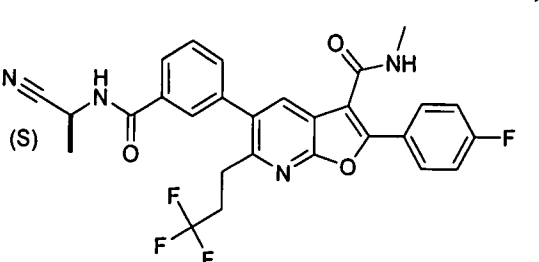
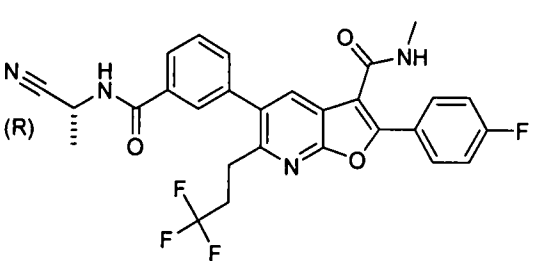
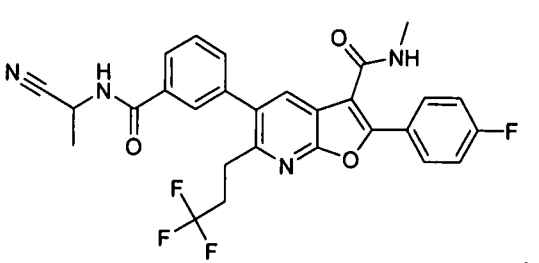
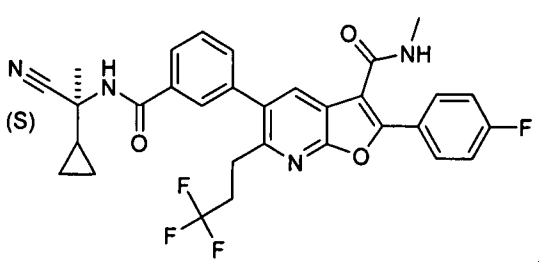
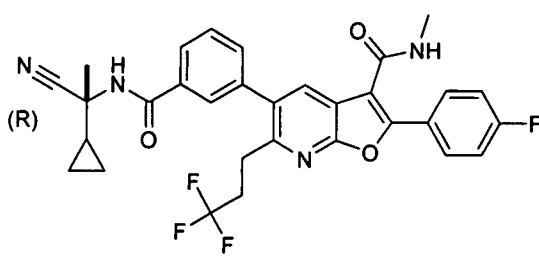
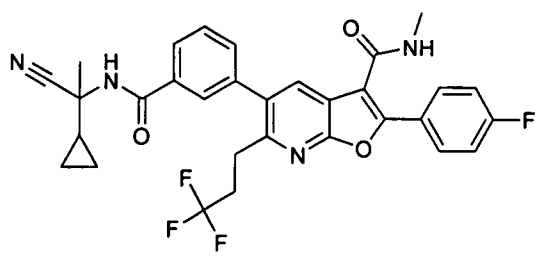


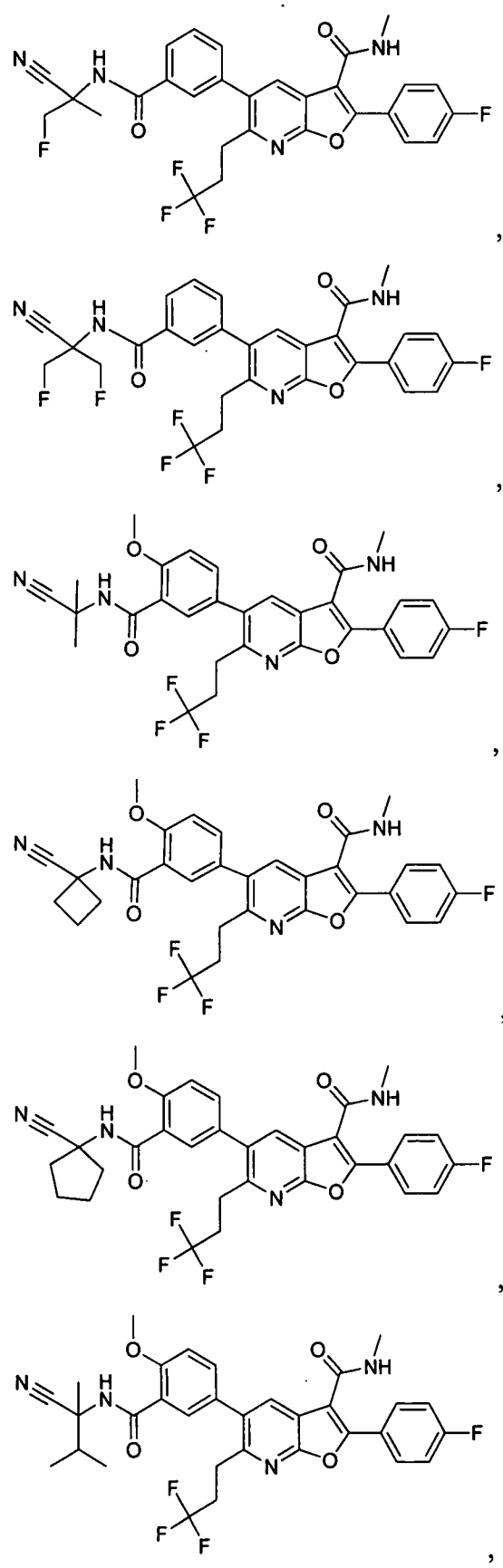
及

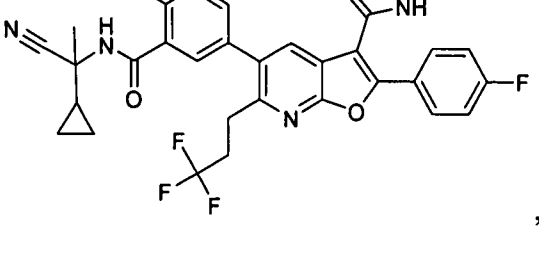
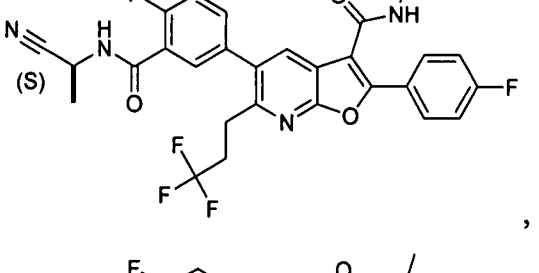
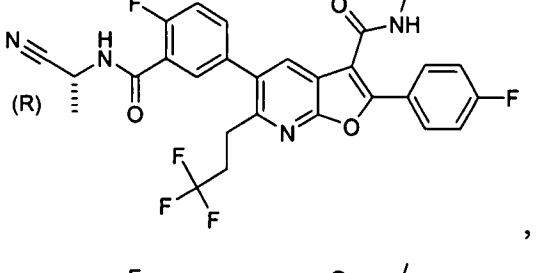
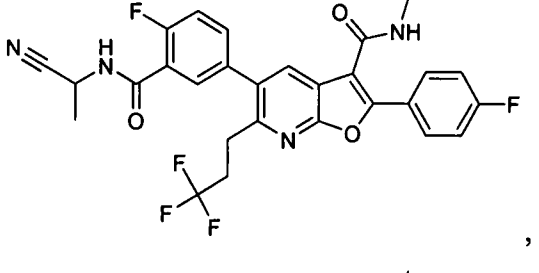
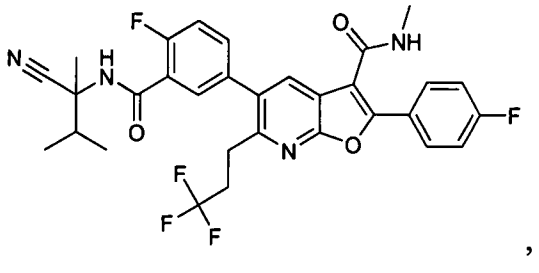
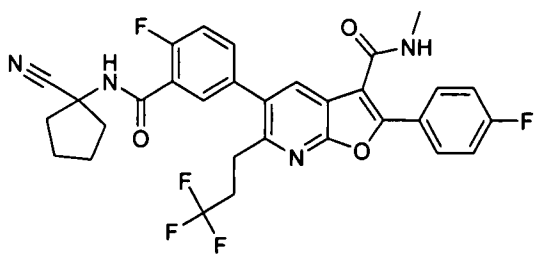
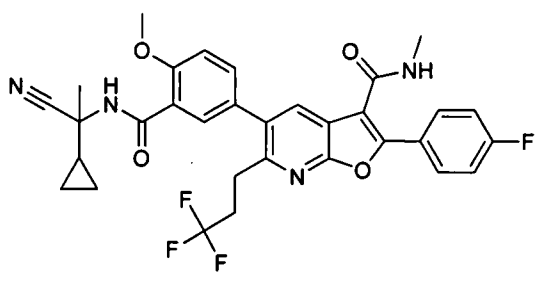


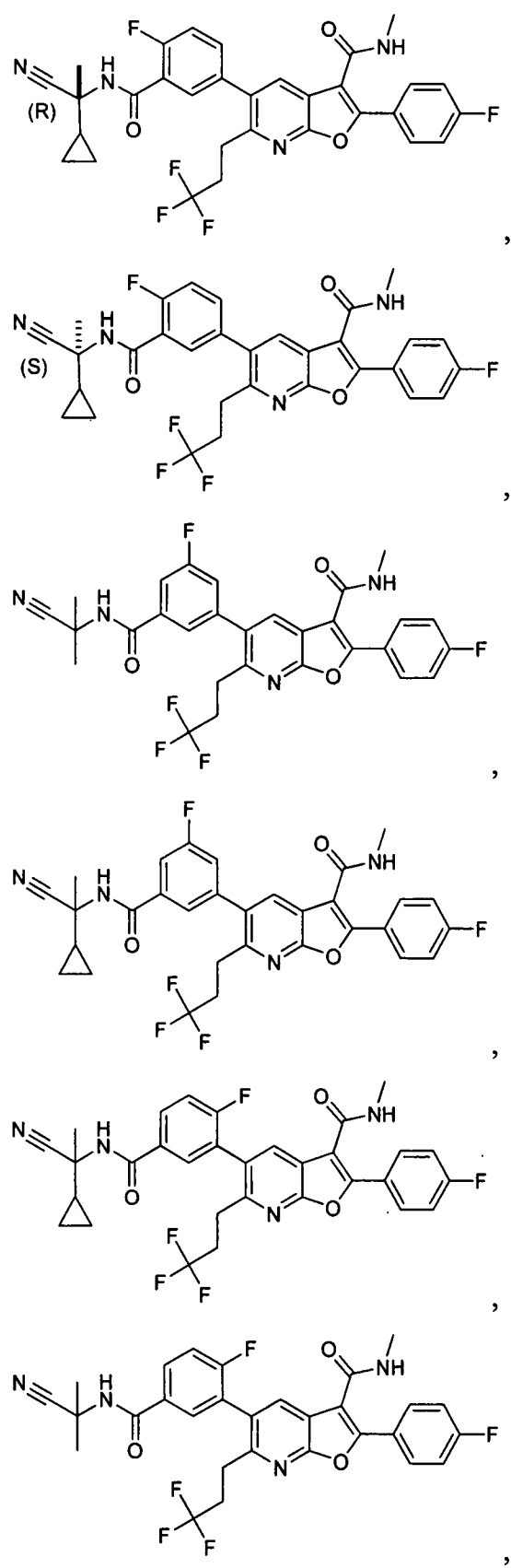
14. 一種化合物，包括其醫藥上可接受之鹽，其係選自以下之群：

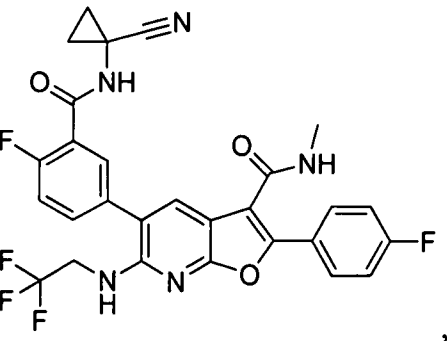
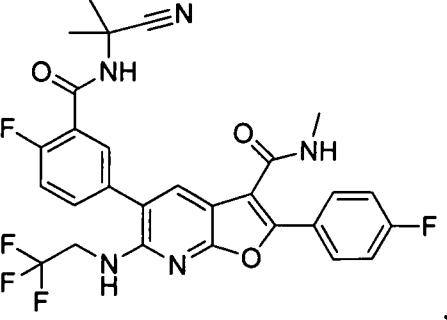
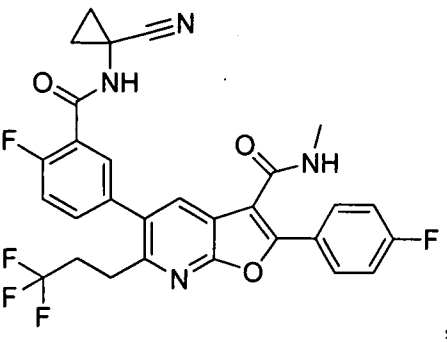
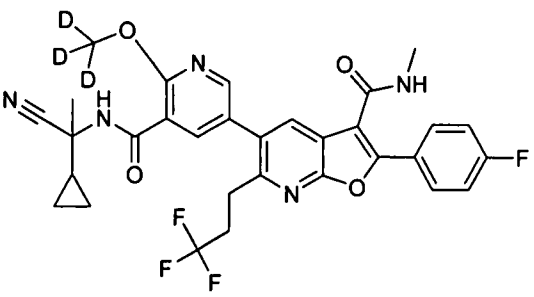
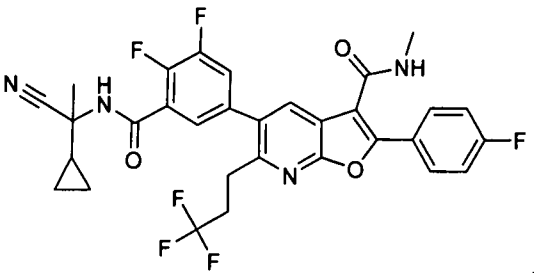
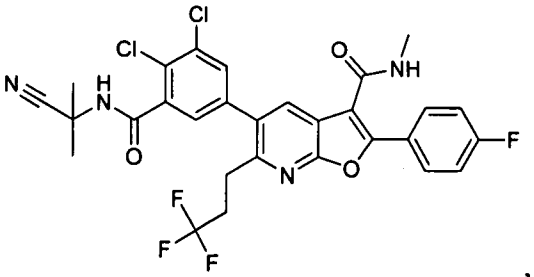


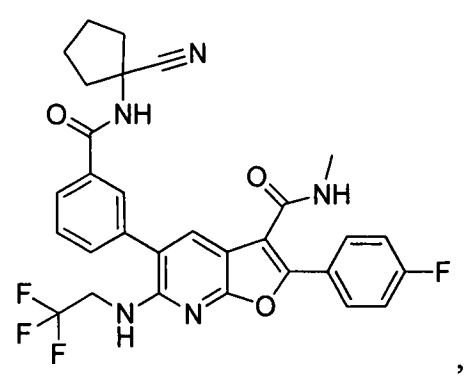
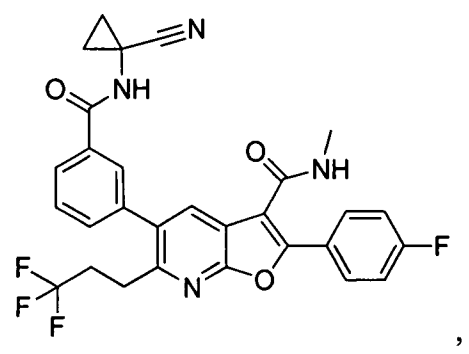
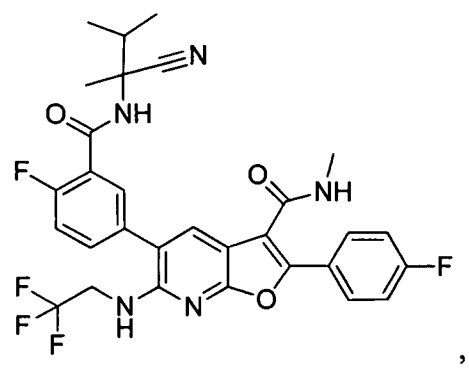
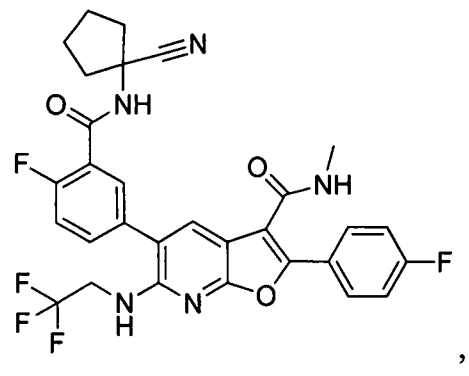
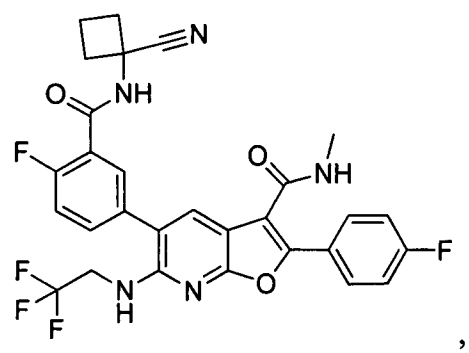


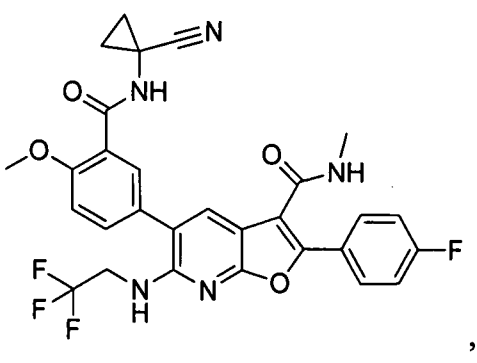
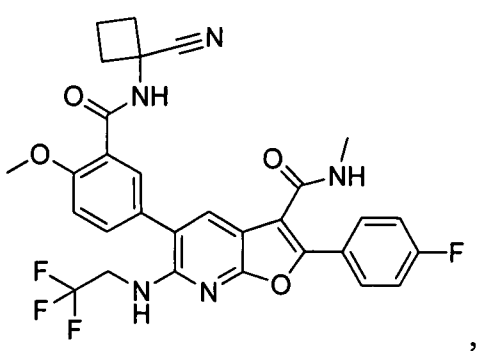
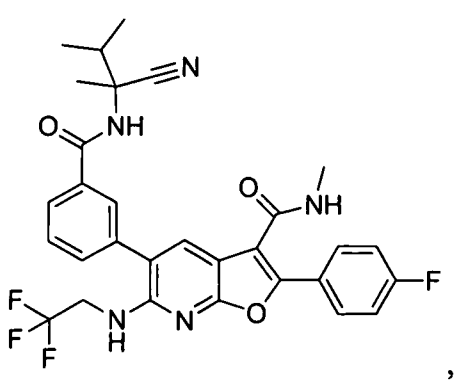
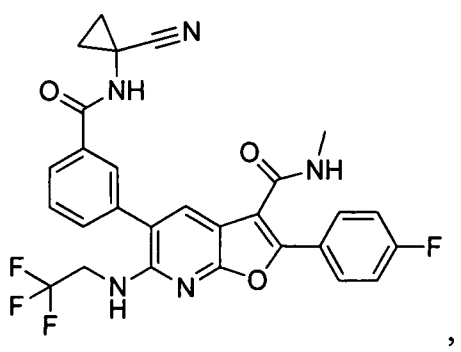
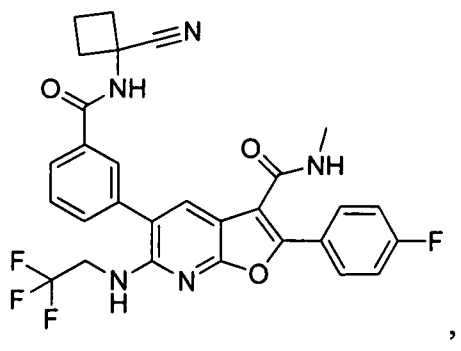


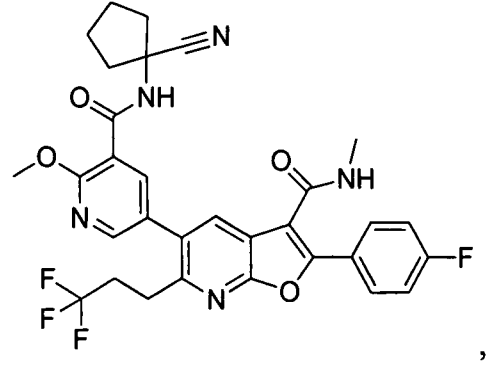
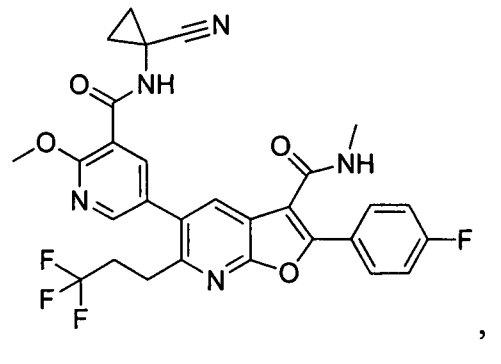
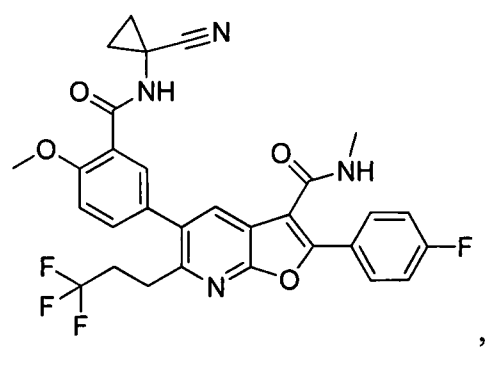
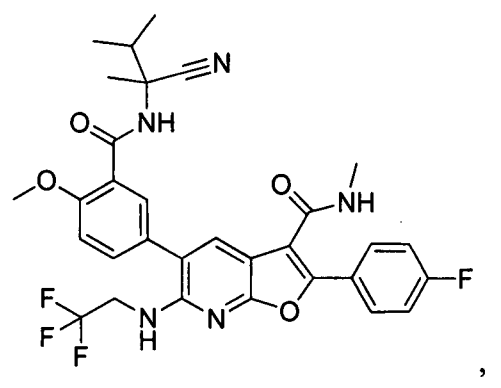
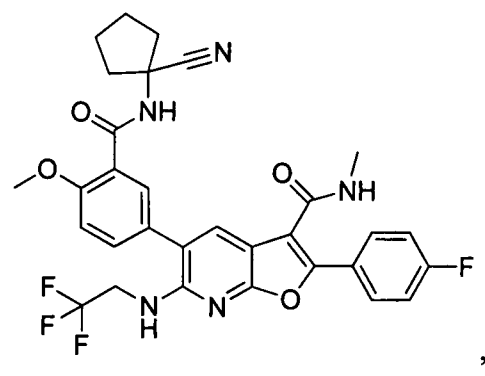


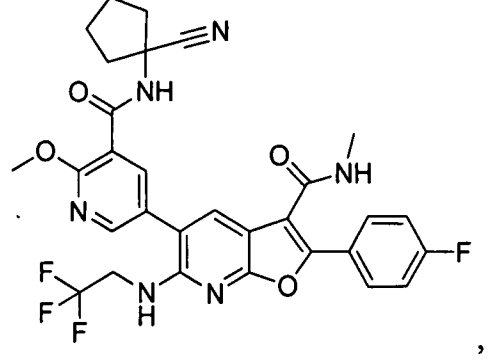
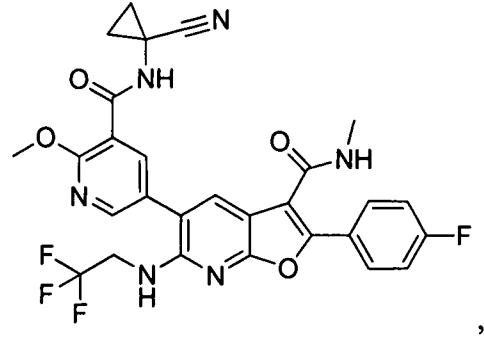
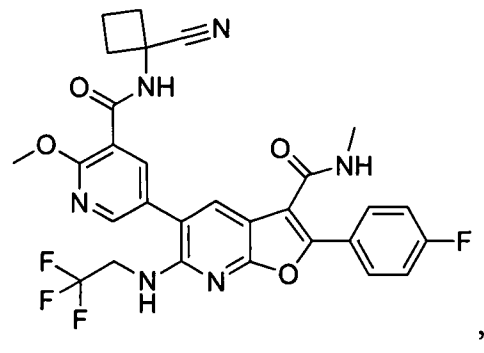
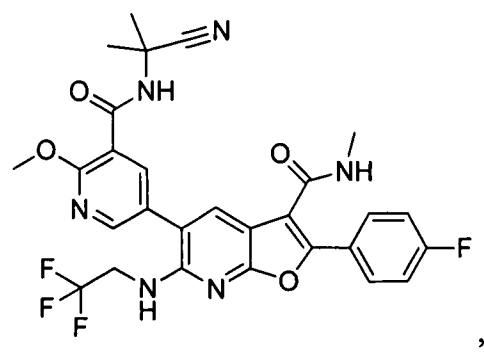
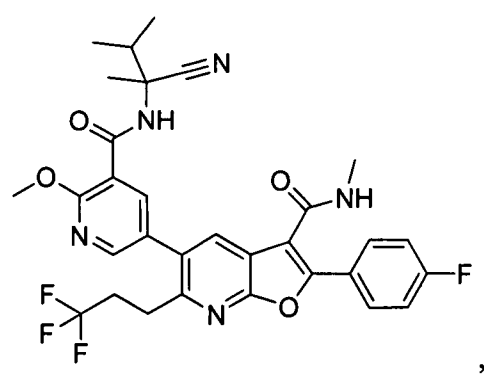


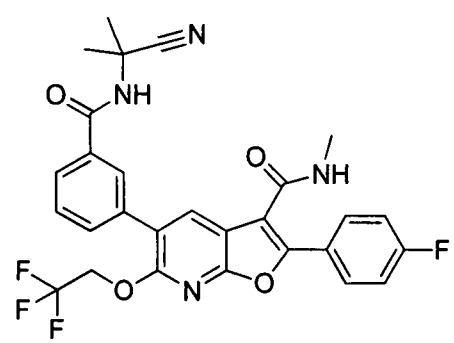
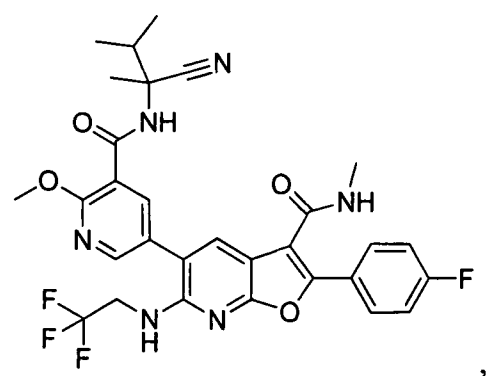




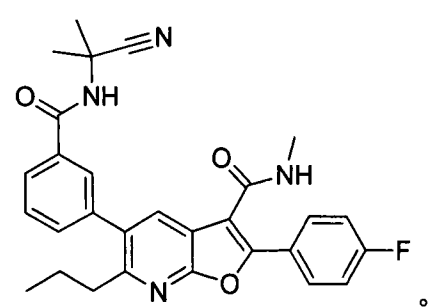




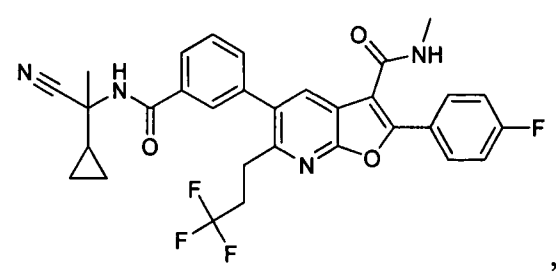
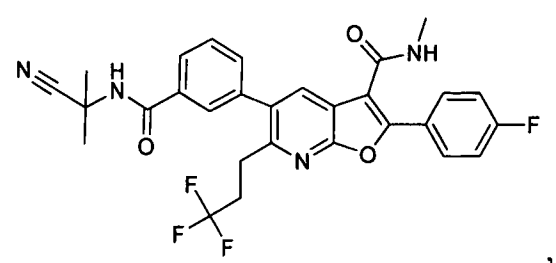


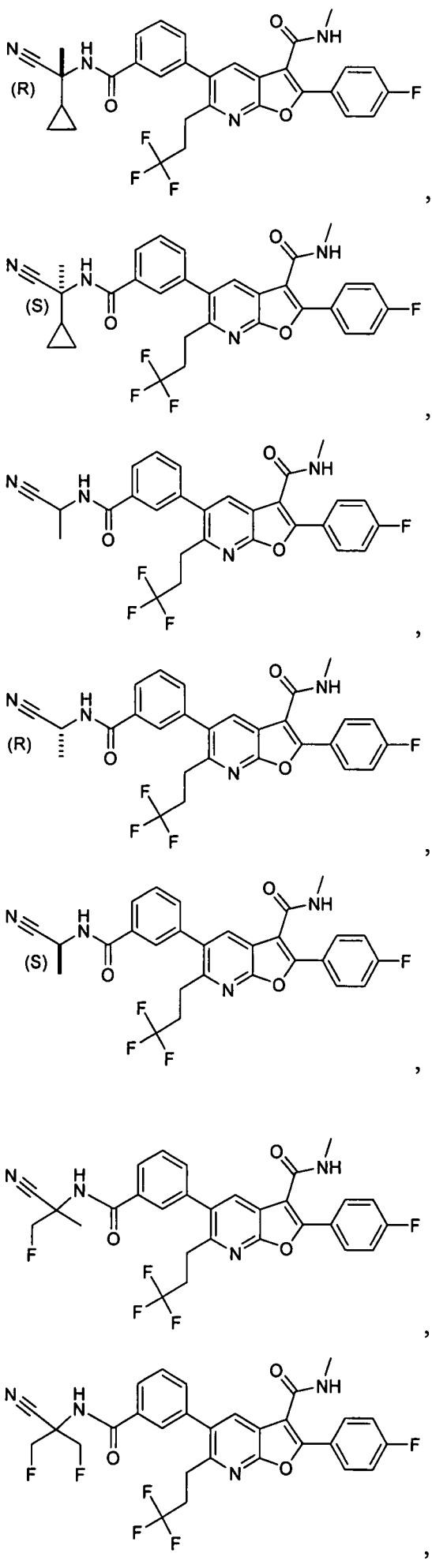


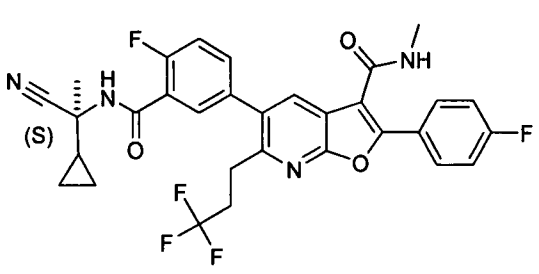
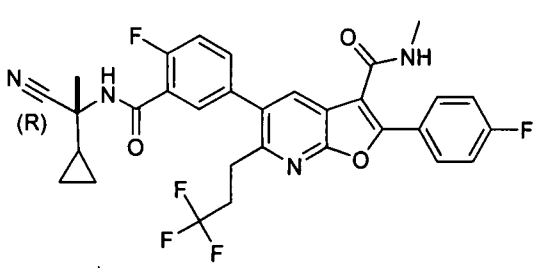
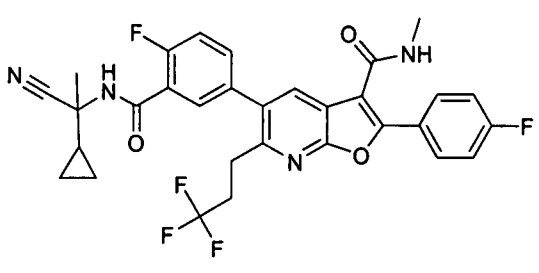
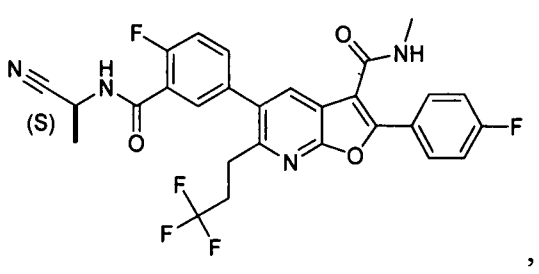
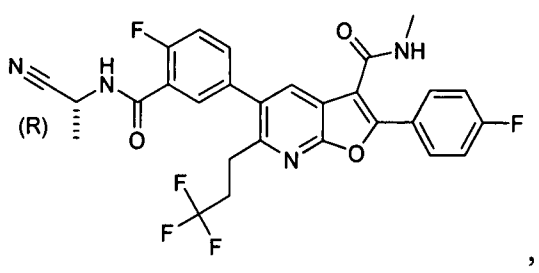
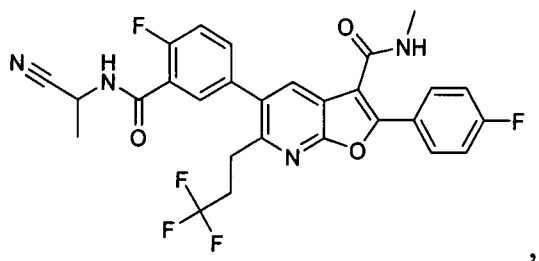
及

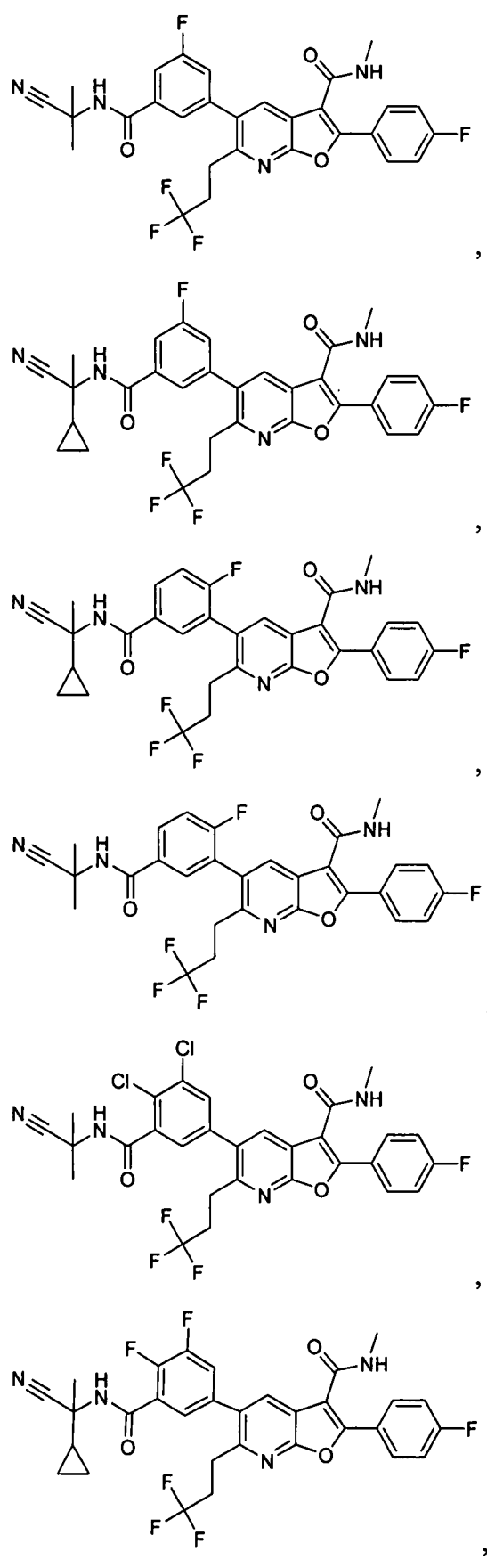


15. 一種化合物，包括其醫藥上可接受之鹽，其係選自以下之群：











及



劑、賦形劑及/或稀釋劑。

19. 一種組合物，其包含如請求項3之化合物及醫藥上可接受之載劑、賦形劑及/或稀釋劑。
20. 一種組合物，其包含如請求項12之化合物及醫藥上可接受之載劑、賦形劑及/或稀釋劑。
21. 一種組合物，其包含如請求項16之化合物及醫藥上可接受之載劑、賦形劑及/或稀釋劑。
22. 一種組合物，其包含如請求項8之化合物及醫藥上可接受之載劑、賦形劑及/或稀釋劑。
23. 一種組合物，其包含如請求項17之化合物及醫藥上可接受之載劑、賦形劑及/或稀釋劑。
24. 一種如請求項1之化合物之用途，其用以製備用於治療C型肝炎感染之醫藥。