



- (21) 申請案號：104113773 (22) 申請日：中華民國 104 (2015) 年 04 月 29 日
- (51) Int. Cl. : C07D495/14 (2006.01) C07B55/00 (2006.01)
C07D309/14 (2006.01) C07D495/04 (2006.01)
- (30) 優先權：2014/04/30 美國 61/986,738
2014/04/30 美國 61/986,789
- (71) 申請人：英塞特公司 (美國) INCYTE CORPORATION (US)
美國
- (72) 發明人：周 家謙 ZHOU, JIACHENG (US)；劉 平里 LIU, PINGLI (US)；陳 世黎 CHEN, SHILI (US)；吳 永忠 WU, YONGZHONG (US)；王 鄧金 WANG, DENGJIN (US)；賈 忠將 JIA, ZHONGJIANG (US)；喬 蕾 QIAO, LEI (US)；法里茲 威廉 FRIETZE, WILLIAM (US)；加亞 麥可 XIA, MICHAEL (US)；戴應瑞 DAI, YINGRUI (CN)
- (74) 代理人：陳長文
- 申請實體審查：無 申請專利範圍項數：84 項 圖式數：15 共 125 頁

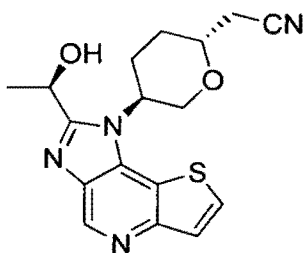
(54) 名稱

製備 JAK1 抑制劑之方法及其新形式

PROCESSES OF PREPARING A JAK1 INHIBITOR AND NEW FORMS THERETO

(57) 摘要

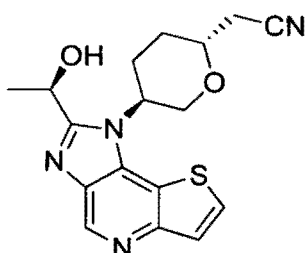
本發明係關於用於製備具有式 Ia 之 JAK1 抑制劑之方法，



Ia

以及該抑制劑之新形式。

This invention relates to processes for preparing a JAK1 inhibitor having Formula Ia:



Ia

as well as new forms of the inhibitor.

指定代表圖：

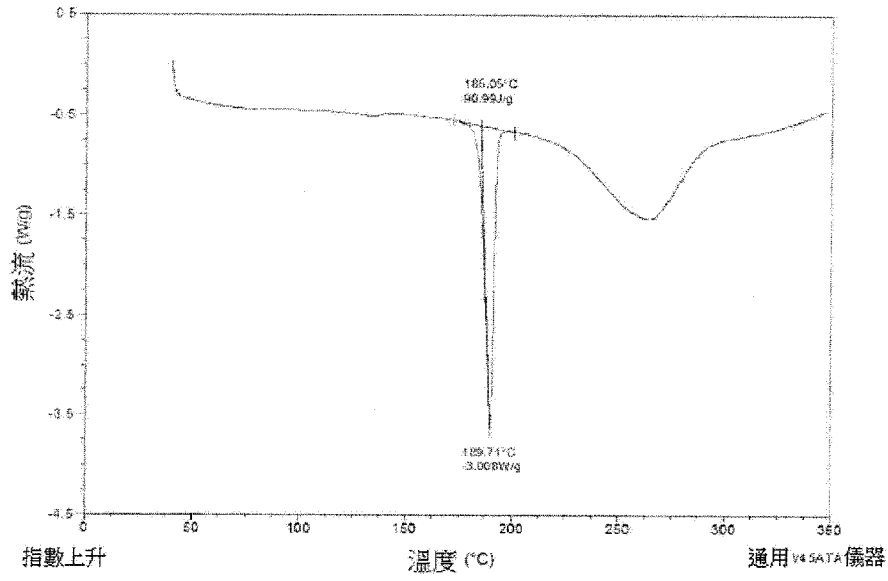
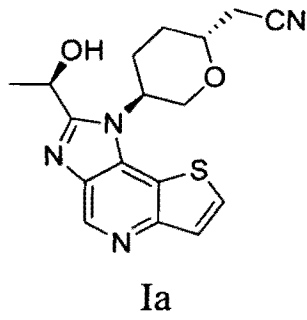


圖 1

特徵化學式：



201625643

發明摘要

※ 申請案號：104113773

※ 申請日：104. 4. 29

※ IPC 分類：

C07D 495/14 (2006.01)

C07B 55/00 (2006.01)

C07D 309/14 (2006.01)

C07D 495/04 (2006.01)

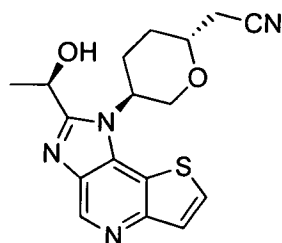
【發明名稱】(中文/英文)

製備 JAK1 抑制劑之方法及其新形式

PROCESSES OF PREPARING A JAK1 INHIBITOR AND NEW FORMS
THERE TO

【中文】

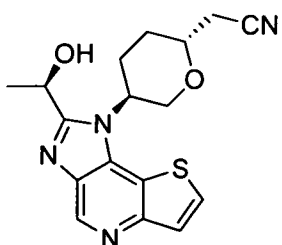
本發明係關於用於製備具有式 Ia 之 JAK1 抑制劑之方法，



Ia

以及該抑制劑之新形式。

【英文】

This invention relates to processes for preparing a JAK1 inhibitor having
Formula Ia:

Ia

as well as new forms of the inhibitor.

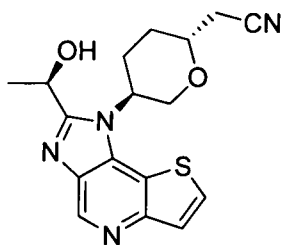
【代表圖】

【本案指定代表圖】：第(1)圖。

【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】：



Ia

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】 (中文/英文)

製備 JAK1 抑制劑之方法及其新形式

PROCESSES OF PREPARING A JAK1 INHIBITOR AND NEW FORMS THERETO

【技術領域】

【0001】 本發明係關於用於製備 JAK1 抑制劑之方法以及該抑制劑之新形式。

【先前技術】

【0002】 蛋白激酶(PK)調控多種生物過程，尤其包括細胞生長、存活、分化、器官形成、形態發生、新血管形成、組織修復及再生。蛋白激酶亦在許多人類疾病(包括癌症)中起特殊作用。細胞因子、低分子量多肽或糖蛋白調控許多涉及對膿毒病之宿主炎性反應的途徑。細胞因子影響細胞分化、增殖及活化，且可調節促發炎性及消炎性反應，從而允許宿主對病原體作出適當反應。許多細胞因子之信號傳導涉及蛋白酪胺酸激酶之 Janus 激酶家族(JAK)及訊號轉導與轉錄活化蛋白(STAT)。存在四種已知的哺乳動物 JAK：JAK1 (Janus 激酶-1)、JAK2、JAK3 (亦稱為白血球 Janus 激酶；JAKL；及 L-JAK)及 TYK2 (蛋白酪胺酸激酶 2)。

【0003】 細胞因子刺激之免疫及發炎反應促進疾病發病：諸如嚴重合併性免疫缺失病(SCID)之發病起因於對免疫系統之抑制，而過度活性或不當免疫/發炎反應促進自體免疫性疾病(例如哮喘、全身性紅斑狼瘡、甲狀腺炎、心肌炎)及諸如硬皮病及骨關節炎之疾病發病(Ortmann, R. A., T. Cheng 等人, (2000) *Arthritis Res* 2(1): 16-32)。

【0004】 JAK 表現缺乏與許多疾病狀態相關。舉例而言，Jak1^{-/-}小鼠在出生時發育不良，無法養育且在圍產期死亡(Rodig, S. J., M. A. Meraz 等人, (1998) *Cell* 93(3): 373-83)。Jak2^{-/-}小鼠胚胎為貧血的且由於不存在定向紅血球生成而在交配後第 12.5 天左右死亡。

【0005】 據信，JAK/STAT 途徑且尤其是所有四種 JAK 在哮喘反應、慢性阻塞性肺病、支氣管炎及下呼吸道之其他相關發炎性疾病的致病機制中起作用。藉由 JAK 傳導信號之多種細胞因子與上呼吸道之發炎性疾病/病狀相關，諸如影響鼻及竇之疾病/病狀(例如鼻炎及竇炎)，無論是否為經典過敏反應。JAK/STAT 途徑亦牽涉眼部發炎性疾病/病狀及慢性過敏反應。

【0006】 JAK/STAT 在癌症中活化可藉由細胞因子刺激(例如 IL-6 或 GM-CSF)或藉由諸如 SOCS (抑制因子或細胞因子信號傳導)或 PIAS (活化 STAT 之蛋白抑制劑)之內源性 JAK 信號傳導抑制因子減少來發生(Boudny, V.及 Kovarik, J., *Neoplasms*. 49:349-355, 2002)。STAT 信號傳導之活化以及其他 JAK 下游途徑(例如 Akt)與許多癌症類型中之不良預後相關(Bowman, T. 等人, *Oncogene* 19:2474-2488, 2000)。藉由 JAK/STAT 進行信號傳導之循環細胞因子之含量升高在惡病質及/或慢性疲勞中起病理性作用。因此，出於超出潛在抗腫瘤活性以外的原因，JAK 抑制可能有益於癌症患者。

【0007】 JAK2 酪胺酸激酶可有益於患有骨髓增生性疾病之患者，例如真性紅血球增多症(PV)、原發性血小板增多症(ET)、髓樣組織化生伴隨骨髓纖維化(MMM) (Levin 等人, *Cancer Cell*, 第 7 卷, 2005: 387-397)。對 JAK2V617F 激酶之抑制減少造血細胞增殖，表明 JAK2 為在患有 PV、ET 及 MMM 之患者中進行藥理學抑制的潛在標靶。

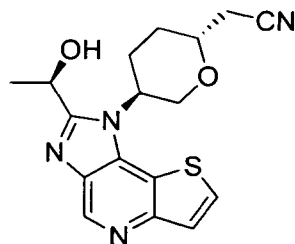
【0008】 對 JAK 之抑制可有益於罹患諸如牛皮癬及皮膚敏感化之皮膚免疫病症的患者。據信牛皮癬之維持依賴於許多發炎性細胞因子以及各種趨化因子及生長因子(JCI, 113:1664-1675)，其中許多種藉由 JAK 進行信號傳導(*Adv Pharmacol.* 2000;47:113-74)。

【0009】 因此，持續需要可抑制諸如 JAK 之激酶的新的或改良的藥劑，以便開發旨在增強或抑制免疫性及發炎性途徑(諸如用於器官移植之免疫抑制劑)之新的且更有效的藥物，以及用於預防及治療自體免疫性疾病、涉及過度活性發炎性反應之疾病(例如濕疹)、過敏、癌症(例如前列腺癌、白血病、多發性骨髓瘤)及由其他療法所致之一些免疫反應(例如皮疹或接觸

性皮炎或腹瀉)的藥劑。本文中所描述之本發明化合物以及其組成物及方法係針對此等需要及其他目的。

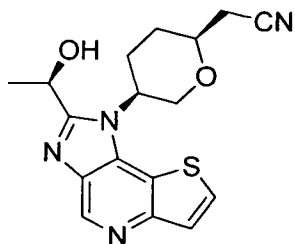
【發明內容】

【0010】 本發明提供製備式 Ia 化合物之方法，



Ia

該方法包括在第一溶劑組分存在下使式 Ib 化合物：



Ib

與強鹼反應。

【0011】 本申請案提供 2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羥基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙腈之無水形式。

【0012】 本申請案亦提供 2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羥基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙腈之單水合物形式。

【0013】 本申請案進一步提供適用於合成式 Ia 化合物之各種中間物。

【圖式簡單說明】

【0014】 圖 1 顯示實例 9 之化合物的 DSC 溫譜圖特徵。

【0015】 圖 2 顯示實例 9 之化合物的 TGA 溫譜圖特徵。

【0016】 圖 3 顯示實例 9 之化合物的 XRPD 圖案特徵。

【0017】 圖 4 顯示實例 10 之化合物的 DSC 溫譜圖特徵。

【0018】 圖 5 顯示實例 10 之化合物的 TGA 溫譜圖特徵。

【0019】 圖 6 顯示實例 10 之化合物的 XRPD 圖案特徵。

【0020】 圖 7 顯示實例 9 之化合物的氣相吸附/脫附等溫線(第 1 循環)特徵。

【0021】 圖 8 顯示實例 9 之化合物的氣相吸附/脫附等溫線(第 4 循環)特徵。

【0022】 圖 9 顯示實例 9 之化合物在動態氣相吸附(DVS)研究前後的 XRPD 圖案疊加。

【0023】 圖 10 顯示實例 9 之化合物在設在 75%相對濕度及 40°C 之濕度室中 5 天之後的 XRPD 圖案特徵。

【0024】 圖 11 顯示實例 9 之化合物在設在 75%相對濕度及 40°C 之濕度室中 5 天之後的 TGA 溫譜圖特徵。

【0025】 圖 12 顯示實例 9 之化合物在設在 75%相對濕度及 40°C 之濕度室中 5 天之後的 DSC 溫譜圖特徵。

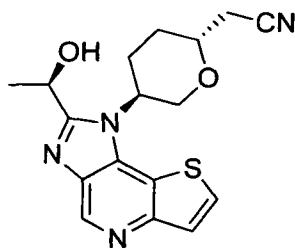
【0026】 圖 13 顯示實例 9 之化合物在設在 90%相對濕度及 30°C 之濕度室中 7 天之後的 XRPD 圖案特徵。

【0027】 圖 14 顯示實例 9 之化合物在設在 90%相對濕度及 30°C 之濕度室中 7 天之後的 TGA 溫譜圖特徵。

【0028】 圖 15 顯示實例 9 之化合物在設在 90%相對濕度及 30°C 之濕度室中 7 天之後的 DSC 溫譜圖特徵。

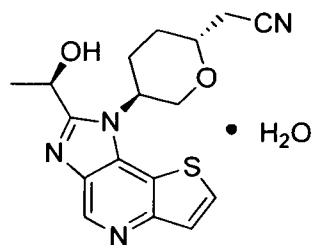
【實施方式】

【0029】 本發明尤其提供用於製造以下化合物之方法及中間物：
2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羥基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙腈，其為式 Ia 化合物：



Ia

以及式 Ia 化合物之新形式。式 Ia 化合物包括該化合物之無水形式及水合形式。舉例而言，本申請案提供式 Ia 化合物之新無水形式及新單水合物形式。單水合物形式具有式 II：



II。

【0030】 本申請提供 2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羥基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙腈之無水形式。

【0031】 在一些實施例中，該無水形式實質上經分離。在一些實施例中，該無水形式為結晶形式。

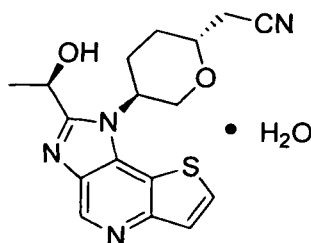
【0032】 在一些實施例中，該無水形式之特徵在於具有在約 185°C 開始之吸熱峰的差示掃描量熱法溫譜圖。在一些實施例中，該無水形式之特徵在於在約 190°C 處具有吸熱峰的差示掃描量熱法(DSC)溫譜圖。在一些實施例中，該無水形式具有實質上如圖 1 中所示之 DSC 溫譜圖。

【0033】 在一些實施例中，該無水形式之特徵在於截至 200°C 具有約 1.25% 重量損失的熱解重量分析(TGA)溫譜圖。在一些實施例中，該無水形式具有實質上如圖 2 中所示之 TGA 溫譜圖。

【0034】 在一些實施例中，就選自約 8.8°、約 10.5°、約 16.3°、約 17.5°、約 19.1°、約 21.2°、約 24.0° 及約 26.4° 之 2θ 而言，該無水形式具有至少一個 XRPD 峰。在一些實施例中，就選自約 8.8°、約 10.5°、約 16.3°、約 17.5°、約 19.1°、約 21.2°、約 24.0° 及約 26.4° 之 2θ 而言，該無水形式具有至少兩個 XRPD 峰。在一些實施例中，就選自約 8.8°、約 10.5°、約 16.3°、約 17.5°、約 19.1°、約 21.2°、約 24.0° 及約 26.4° 之 2θ 而言，該無水形式具有至少三個 XRPD 峰。在一些實施例中，就選自約 8.8°、約 10.5°、約 16.3°、約 17.5°、約 19.1°、約 21.2°、約 24.0° 及約 26.4° 之 2θ 而言，該無水形式具有至少四個 XRPD 峰。在一些實施例中，就選自約 8.8°、約 16.3°、約 19.1°、約 24.0° 及約 26.4° 之 2θ 而言，該無水形式具有至少四個 XRPD 峰。

【0035】 在一些實施例中，該無水形式具有實質上如圖 3 中所示之 XRPD 圖案。在一些實施例中，該無水形式具有實質上如圖 7 中所示之氣相吸附/脫附等溫線。在一些實施例中，該無水形式具有實質上如圖 8 中所示之氣相吸附/脫附等溫線。

【0036】 本申請亦提供 2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羥基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙腈單水合物之單水合物形式，其為式 II 化合物：



II。

【0037】 在一些實施例中，該單水合物形式具有約 5% 之水含量。在一些實施例中，該單水合物形式實質上經分離。在一些實施例中，該單水合物形式為結晶形式。

【0038】 在一些實施例中，該單水合物形式之特徵在於具有在約 69 °C 開始之吸熱峰的 DSC 溫譜圖。在一些實施例中，該單水合物形式之特徵在於在約 106 °C 處具有吸熱峰的 DSC 溫譜圖。

【0039】 在一些實施例中，該單水合物形式之特徵在於具有在約 131 °C 開始之吸熱峰的 DSC 溫譜圖。在一些實施例中，該單水合物形式之特徵在於在約 140 °C 處具有吸熱峰的 DSC 溫譜圖。在一些實施例中，該單水合物形式具有實質上如圖 4 中所示之 DSC 溫譜圖。

【0040】 在一些實施例中，該單水合物形式之特徵在於截至 150 °C 具有約 5% 重量損失的 TGA 溫譜圖。在一些實施例中，該單水合物形式具有實質上如圖 5 中所示之 TGA 溫譜圖。

【0041】 在一些實施例中，就選自約 8.5°、約 8.7°、約 14.6°、約 15.1°、約 19.4°、約 25.1° 及約 26.5° 之 2θ 而言，該單水合物形式具有至少一個 XRPD 峰。在一些實施例中，就選自約 8.5°、約 8.7°、約 14.6°、約 15.1°、約 19.4°、約 25.1° 及約 26.5° 之 2θ 而言，該單水合物形式具有至少兩個 XRPD 峰。在

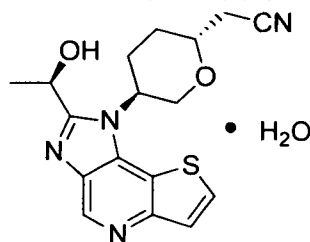
一些實施例中，就選自約 8.5°、約 8.7°、約 14.6°、約 15.1°、約 19.4°、約 25.1°及約 26.5°之 2θ 而言，該單水合物形式具有至少三個 XRPD 峰。在一些實施例中，就選自約 8.5°、約 8.7°、約 14.6°、約 15.1°、約 19.4°、約 25.1°及約 26.5°之 2θ 而言，該單水合物形式具有至少四個 XRPD 峰。在一些實施例中，該單水合物形式具有實質上如圖 6 中所示之 XRPD 圖案。

【0042】 典型地認為反射(峰)之 XRPD 圖案為特定結晶形式之指紋。眾所周知，XRPD 峰之相對強度可廣泛變化，尤其視樣品製備技術、晶體尺寸分佈、所使用之各種過濾器、樣品固定程序及所使用之特定儀器而定。在一些情況下，可觀察觀察到新峰，或現有峰可能消失，視儀器類型或設定而定。如本文中所使用，術語「峰」係指相對高度/強度為最大峰高度/強度之至少約 4%的反射。此外，儀器變化及其他因素可能影響 2θ 值。因而，諸如本文中所報導之峰指定可能變化 \pm 約 0.2°(2θ)，且如本文中之 XRPD 內容中所使用之術語「實質上」及「約」意欲涵蓋上述變化。

【0043】 同樣，與 DSC、TGA 或其他熱實驗相關之溫度讀數可變化約 \pm 3°C，視儀器、特定設定、樣品製備等而定。因此，本文中所報導之具有「實質上」如任何圖中所示之 DSC 溫譜圖的結晶形式或術語「約」應理解為包括此種變化。

【0044】 本申請進一步提供形成 2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羥基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙腈之無水形式的方法，該方法包括：

(i) 將正庚烷添加至第一混合物中，該第一混合物包含式 II 化合物：



II

及第一溶劑組分，其中該第一溶劑組分包含乙酸乙酯。

【0045】 在一些實施例中，該第一溶劑組分進一步包含甲醇。

【0046】 在一些實施例中，該方法進一步包括在(i)之前：

S

(ii) 將該式 II 化合物溶解於甲醇中以形成第二混合物，該第二混合物包含式 Ia 化合物及第二溶劑組分，該第二溶劑組分包含甲醇；

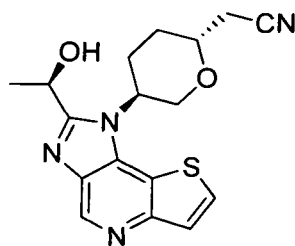
(iii) 對該第二混合物進行精過濾；及

(iv) 向該第二混合物中添加乙酸乙酯以形成該第一混合物。

【0047】 在一些實施例中，該方法進一步包括將該第一混合物加熱至約 60°C 至約 75°C 之溫度。

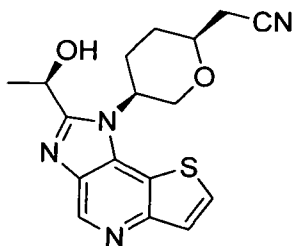
【0048】 在一些實施例中，該方法進一步包括經由蒸餾移除至少一部分乙酸乙酯及甲醇，以形成該第一混合物。

【0049】 本申請案進一步提供製備式 Ia 化合物之方法：



Ia

該方法包括使式 Ib 化合物：



Ib

與強鹼在第一溶劑組分存在下進行反應。

【0050】 在一些實施例中，該強鹼為烷氧化物鹼。

【0051】 在一些實施例中，該強鹼為鹼金屬 C₁₋₆ 烷氧化物。

【0052】 在一些實施例中，該強鹼為第三丁醇鉀。

【0053】 在一些實施例中，該第一溶劑組分包含異丙醇。

【0054】 在一些實施例中，該第一溶劑組分包含異丙醇及四氫呋喃。

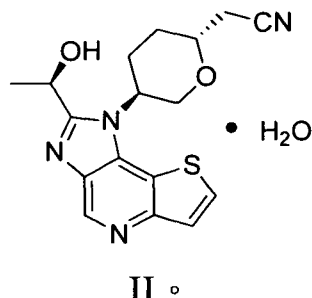
【0055】 在一些實施例中，組成物與強鹼之反應係在約室溫之溫度下進行。

【0056】 在一些實施例中，其中以 1 當量式 Ib 化合物計，使用約 0.05 至約 0.15 當量強鹼。

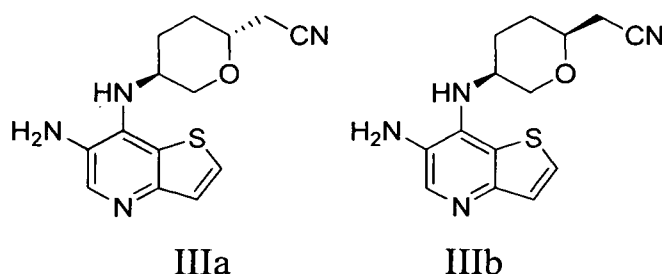
【0057】 在一些實施例中，式 Ib 化合物在該式 Ib 化合物與該強鹼之該反應之前即存在於包含式 Ib 化合物及式 Ia 化合物之組成物中。

【0058】 在一些實施例中，與式 Ib 化合物反應之強鹼稱為第一強鹼。

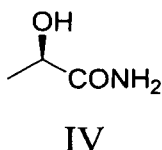
【0059】 在一些實施例中，式 Ia 化合物製備為式 II 化合物：



【0060】 在一些實施例中，該包含式 Ia 化合物及式 Ib 化合物之組成物係藉由如下方法製備，該方法包括使包含式 IIIa 化合物及式 IIIb 化合物之組成物：



與式 IV 化合物：



在 C₁₋₆ 烷基氧鎂試劑及第二溶劑組分存在下進行反應。

【0061】 在一些實施例中，在反應之前，使該式 IV 化合物與該 C₁₋₆ 烷基氧鎂在該第二溶劑組分中反應。

【0062】 在一些實施例中，該反應步驟稱為包含式 IIIa 化合物及式 IIIb 化合物之組成物的反應。

【0063】 在一些實施例中，該 C₁₋₆ 烷基氧鎂試劑為三乙基氧鎂四氟硼酸鹽。

【0064】 在一些實施例中，該第二溶劑組分包含乙醇。

【0065】 在一些實施例中，該第二溶劑組分包含四氫呋喃。

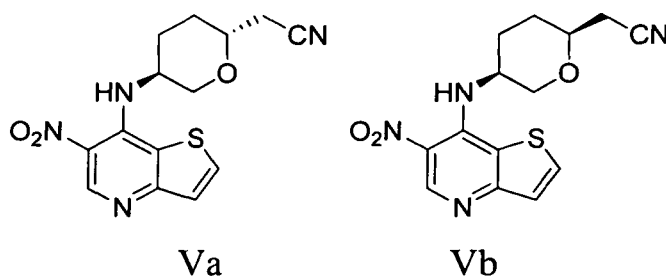
【0066】 在一些實施例中，該第二溶劑組分包含乙醇及四氫呋喃。

【0067】 在一些實施例中，式 IIIa 化合物及式 IIIb 化合物之組成物與式 IV 化合物之反應係在回流溫度下進行。

【0068】 在一些實施例中，以 1 當量組合量之式 IIIa 化合物及式 IIIb 化合物計，使用約 2 至約 4 當量之式 IV 化合物。

【0069】 在一些實施例中，以 1 當量組合量之式 IIIa 化合物及式 IIIb 化合物計，使用約 2 至約 4 當量之烷基氧鎂試劑。

【0070】 在一些實施例中，該包含式 IIIa 化合物及式 IIIb 化合物之組成物係藉由如下方法製備，該方法包括使包含式 Va 化合物及式 Vb 化合物之組成物：



與氫氣在氫化觸媒及第三溶劑組分存在下進行反應。

【0071】 在一些實施例中，該氫化觸媒為鈀/碳。

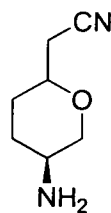
【0072】 在一些實施例中，該第三溶劑組分包含 2,2,2-三氟乙醇。

【0073】 在一些實施例中，該反應係在約 20°C 至約 35°C 之溫度下進行。

【0074】 在一些實施例中，該反應步驟稱為包含式 Va 化合物及式 Vb 化合物之組成物的反應。

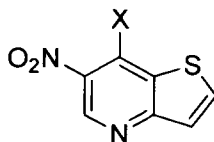
【0075】 在一些實施例中，以式 Va 化合物及式 Vb 化合物之總質量計，使用約 5 重量%至約 15 重量%之氫化觸媒。

【0076】 在一些實施例中，該包含式 Va 化合物及式 Vb 化合物之組成物係藉由如下方法製備，該方法包括使式 VI 化合物：



VI

或其鹽與式 VII 化合物：

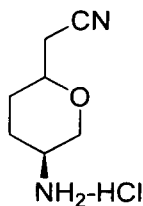


VII

在三級胺鹼及第四溶劑組分存在下進行反應，其中：

X 為鹵基。

【0077】 在一些實施例中，式 VI 化合物或其鹽為式 VIa 之鹽：



VIa。

【0078】 在一些實施例中，X 為氯基。

【0079】 在一些實施例中，該三級胺鹼為 N-乙基-N-異丙基丙-2-胺。

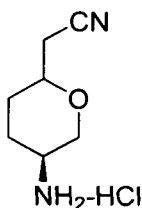
【0080】 在一些實施例中，式 VI 化合物之反應中所存在之三級胺鹼稱為第一三級胺鹼。

【0081】 在一些實施例中，該第四溶劑組分包含 N,N-二甲基甲醯胺。

【0082】 在一些實施例中，該反應係在約 65°C 至約 75°C 之溫度下進行。

【0083】 在一些實施例中，該反應步驟稱為式 VI 化合物之反應。

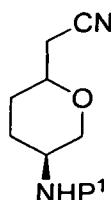
【0084】 在一些實施例中，式 VI 化合物或其鹽為式 VIa 之鹽：



VIa；

該第四溶劑組分包含 N,N-二甲基甲醯胺；
 該三級胺鹼為 N-乙基-N-異丙基丙-2-胺；且
 X 為氯基。

【0085】 本申請案進一步提供製備式 VI 化合物之方法，該方法包括使式 VIII 化合物：



VIII

在去保護條件下反應，以形成式 VI 化合物或其鹽；
 其中 P¹ 為胺保護基。

【0086】 在一些實施例中，P¹ 為第三丁氧基羰基。

【0087】 在一些實施例中，去保護條件包括使式 VIII 化合物與強酸反應。

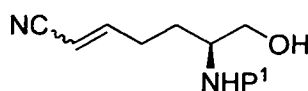
【0088】 在一些實施例中，該強酸為 HCl。

【0089】 在一些實施例中，與式 VIII 化合物反應之強酸稱為第一強酸。

【0090】 在一些實施例中，該反應係在約 0°C 至約 40°C 之溫度下進行。

【0091】 在一些實施例中，該反應步驟稱為式 VIII 化合物之反應。

【0092】 在一些實施例中，式 VIII 化合物係藉由如下方法製備，該方法包括使式 IX 化合物：



IX

在強鹼及第五溶劑組分存在下進行反應，其中 ~~~ 指示順式鍵或反式鍵；且 P¹ 為胺保護基。在一些實施例中，P¹ 為第三丁氧基羰基。

【0093】 在一些實施例中，該強鹼為 C₁₋₆ 烷氧化物鹼。

【0094】 在一些實施例中，該烷氧化物鹼為鹼金屬 C₁₋₆ 烷氧化物。

【0095】 在一些實施例中，該烷氧化物鹼為甲醇鈉。

【0096】 在一些實施例中，該強鹼係以催化量存在。

【0097】 在一些實施例中，以 1 當量式 IX 化合物計，催化量包括約 0.010 至約 0.020 當量強鹼。

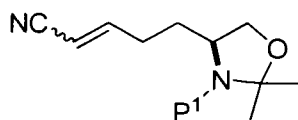
【0098】 在一些實施例中，式 IX 化合物之反應中所存在之強鹼稱為第二強鹼。

【0099】 在一些實施例中，該第五溶劑組分包含四氫呋喃。

【0100】 在一些實施例中，該反應係在約 0°C 至 5°C 之溫度下進行。

【0101】 在一些實施例中，該反應步驟稱為式 IX 化合物之反應。

【0102】 在一些實施例中，式 IX 化合物係藉由如下方法製備，該方法包括使式 X 化合物：



X

在強酸及第六溶劑組分存在下進行反應，其中 \sim 指示順式鍵或反式鍵；且 P^1 為胺保護基。在一些實施例中， P^1 為第三丁氧基羰基。

【0103】 在一些實施例中，該強酸為對甲苯磺酸。

【0104】 在一些實施例中，該強酸係以催化量存在。

【0105】 在一些實施例中，以 1 當量式 X 化合物計，催化量包括約 0.005 至約 0.015 當量強酸。

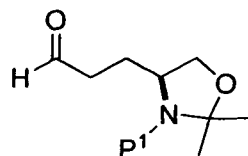
【0106】 在一些實施例中，式 X 化合物之反應中所存在之強酸稱為第二強酸。

【0107】 在一些實施例中，該第六溶劑組分包含甲醇。

【0108】 在一些實施例中，該式 X 化合物在強酸存在下之反應係在約室溫之溫度下進行。

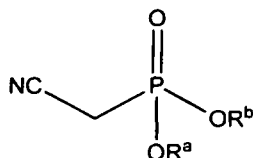
【0109】 在一些實施例中，式 X 化合物係藉由以下方法製備，該方法包括：

(i) 使式 XII 化合物：



XII

與 Wittig 試劑在第七溶劑組分存在下進行反應，其中該 Wittig 試劑係藉由如下方法製備，該方法包括使式 XXI 化合物：



XXI

在強鹼存在下進行反應，其中 R^a 及 R^b 各自獨立地為 C₁₋₆ 烷基；且 P¹ 為胺保護基。在一些實施例中，P¹ 為第三丁氧基羰基。

【0110】 在一些實施例中，在(i)之前，使式 XXI 化合物與該強鹼在該第二溶劑組分中進行反應。

【0111】 在一些實施例中，R^a 及 R^b 各自為乙基。

【0112】 在一些實施例中，該強鹼為第三丁醇鉀。

【0113】 在一些實施例中，式 XXI 化合物之反應中所存在之強鹼稱為鹼。

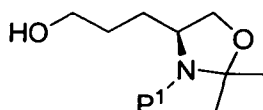
【0114】 在一些實施例中，該第七溶劑組分包含四氫呋喃。

【0115】 在一些實施例中，該反應係在約 0°C 至約 5°C 之溫度下進行。

【0116】 在一些實施例中，該反應步驟稱為式 XII 化合物之反應。

【0117】 在一些實施例中，以 1 當量式 XII 化合物計，使用約 1.0 至約 2.0 當量式 XXI 化合物。

【0118】 在一些實施例中，式 XII 化合物係藉由如下方法製備，該方法包括對式 XIII 化合物進行氧化：



XIII

其中 P¹ 為胺保護基。在一些實施例中，P¹ 為第三丁氧基羰基。

【0119】 在一些實施例中，該氧化包括向式 XIII 化合物中添加第一氧化劑以形成第一混合物。

【0120】 在一些實施例中，該第一氧化劑為 2,2,6,6-四甲基-1-哌啶基氧基自由基(TEMPO)。

【0121】 在一些實施例中，添加該第一氧化劑係在四-N-丁基氯化銨存在下進行。

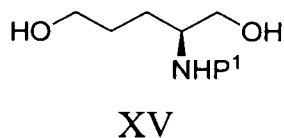
【0122】 在一些實施例中，添加該第一氧化劑係在約室溫之溫度下進行。

【0123】 在一些實施例中，該氧化進一步包括向該第一混合物中添加鹼及第二氧化劑。

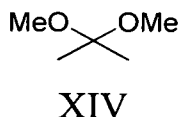
【0124】 在一些實施例中，該第二氧化劑為 N-鹵丁二醯亞胺化合物。

【0125】 在一些實施例中，該第二氧化劑為 N-氯丁二醯亞胺。

【0126】 在一些實施例中，式 XIII 化合物係藉由如下方法製備，該方法包括使式 XV 化合物：



與式 XIV 化合物：

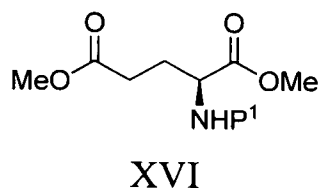


在三氟化硼乙醚合物及第八溶劑組分存在下進行反應，其中 P¹ 為胺保護基。在一些實施例中，P¹ 為第三丁氧基羰基。

【0127】 在一些實施例中，該第八溶劑組分包含丙酮。

【0128】 在一些實施例中，該反應係在約室溫之溫度下進行。

【0129】 在一些實施例中，式 XV 化合物係藉由如下方法製備，該方法包括使式 XVI 化合物：



在還原劑及第九溶劑組分存在下進行反應，其中 P¹ 為胺保護基。在一些實施例中，P¹ 為第三丁氧基羰基。

【0130】 在一些實施例中，該還原劑為硼氫化鋰。

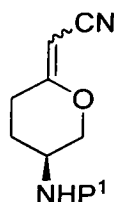
【0131】 在一些實施例中，式 XVI 化合物之反應中所存在之還原劑稱為第一還原劑。

【0132】 在一些實施例中，該第九溶劑組分包含四氫呋喃。

【0133】 在一些實施例中，該反應係在約 0°C 至約 40°C 之溫度下進行。

【0134】 在一些實施例中，該反應步驟稱為式 XVI 化合物之反應。

【0135】 在一些實施例中，式 VIII 化合物係藉由如下方法製備，該方法包括使式 XVII 化合物：



XVII

與氫氣在氫化觸媒及第十溶劑組分存在下進行反應；

其中 P¹ 為胺保護基。

【0136】 式 XVII 中之 ~~~ 基團指示 CN 基團相對於哌喃環中之氧可為 E 或 Z。在一些實施例中，P¹ 為第三丁氧基羰基。

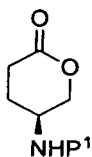
【0137】 在一些實施例中，該氫化觸媒為鈀/碳。

【0138】 在一些實施例中，以式 XVII 化合物之總質量計，使用約 5 重量%至約 15 重量%之氫化觸媒。

【0139】 在一些實施例中，該第十溶劑組分包含甲醇。

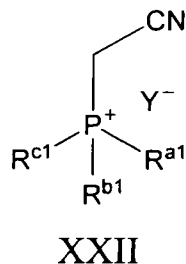
【0140】 在一些實施例中，式 VIII 化合物係藉由以下方式製備：

(i) 使式 XVIII 化合物：



XVIII

與 Wittig 試劑在第十一溶劑組分存在下進行反應，其中該 Wittig 試劑係藉由如下方法製備，該方法包括使式 XXII 化合物：



與強鹼進行反應，其中：

R^{a1} 、 R^{b1} 及 R^{c1} 各自獨立地為 C_{1-6} 烷基；

Y 為鹵離子；且

P^1 為胺保護基。

【0141】 在一些實施例中， P^1 為第三丁氧基羰基。

【0142】 在一些實施例中， Y 為 Cl^- 。

【0143】 在一些實施例中， R^{a1} 、 R^{b1} 及 R^{c1} 各自為甲基。

【0144】 在一些實施例中， R^{a1} 、 R^{b1} 及 R^{c1} 各自為正丁基。

【0145】 在一些實施例中，該強鹼為第三丁醇鉀。

【0146】 在一些實施例中，該強鹼為六甲基二矽疊氮化鋰。

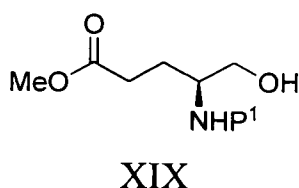
【0147】 在一些實施例中，與式 XXII 化合物反應之強鹼稱為第四強鹼。

【0148】 在一些實施例中，該第十一溶劑組分包含四氫呋喃。

【0149】 在一些實施例中，該第十一溶劑組分包含 N,N -二甲基乙醯胺。

【0150】 在一些實施例中，該第十一溶劑組分包含四氫呋喃及 N,N -二甲基乙醯胺。

【0151】 在一些實施例中，式 XVIII 化合物係由如下方法形成，該方法包括使式 XIX 化合物：



在弱有機酸及第十二溶劑組分存在下進行反應，其中 P^1 為胺保護基。
 在一些實施例中， P^1 為第三丁氧基羰基。

【0152】 在一些實施例中，該弱有機酸為乙酸。

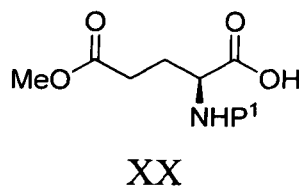
【0153】 在一些實施例中，該第十二溶劑組分包含甲苯。

【0154】 在一些實施例中，該反應係在回流溫度下進行。

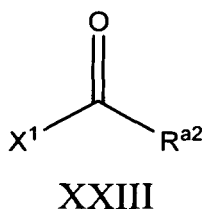
【0155】 在一些實施例中，該反應步驟稱為式 XIX 化合物之反應。

【0156】 在一些實施例中，式 XIX 化合物係由以下方法形成，該方法包括：

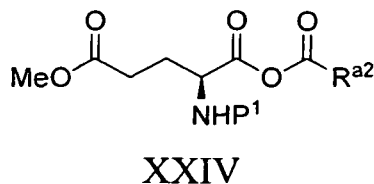
(i) 使式 XX 化合物：



與式 XXIII 化合物：



在胺鹼及第十三溶劑組分存在下進行反應，以形成式 XXIV 化合物：



其中

R^{a2} 為 C_{1-4} 烷氧基；

X^1 為鹵基；且

P^1 為胺保護基。

【0157】 在一些實施例中， P^1 為第三丁氧基羰基。

【0158】 在一些實施例中，式 XXIII 化合物為氯甲酸乙酯。

【0159】 在一些實施例中，胺鹼為 N-甲基嗎啉。

【0160】 在一些實施例中，式 XX 化合物之反應中所存在之胺鹼稱為第二三級胺鹼。

【0161】 在一些實施例中，該第十三溶劑組分包含四氫呋喃。

【0162】 在一些實施例中，該反應係在約 0°C 之溫度下進行。

【0163】 在一些實施例中，該反應步驟稱為式 XX 化合物之反應。

【0164】 在一些實施例中，該方法進一步包括用還原劑還原該式 XXIV 化合物。

【0165】 在一些實施例中，該還原劑為氫化硼鈉。

【0166】 在一些實施例中，將該還原劑溶解於第十四溶劑組分中。

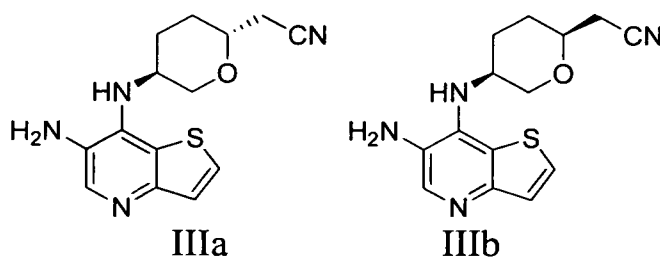
【0167】 在一些實施例中，還原式 XXIV 化合物時所存在之還原劑稱為第二還原劑。

【0168】 在一些實施例中，該第十四溶劑組分包含二甘醇二甲醚。

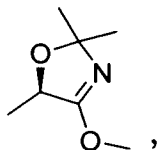
【0169】 在一些實施例中，該還原係在約 70°C 至約 80°C 之溫度下進行。

【0170】 在一些實施例中，該還原步驟稱為式 XXIV 化合物之還原。

【0171】 在一些實施例中，該包含式 Ia 化合物及式 Ib 化合物之組成物係藉由如下方法製備，該方法包括使包含式 IIIa 化合物及式 IIIb 化合物之組成物：



與(R)-4-甲氧基-2,2,5-三甲基-2,5-二氫噁唑：



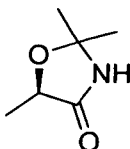
或其鹽進行反應。

【0172】 在一些實施例中，該包含式 IIIa 化合物及式 IIIb 化合物之組成物之該反應係在約 60°C 至約 70°C 之溫度下進行。

【0173】 在一些實施例中，該包含式 IIIa 化合物及式 IIIb 化合物之組成物之反應係在第十五溶劑組分存在下進行。

【0174】 在一些實施例中，該第十五溶劑組分包含甲醇。

【0175】 在一些實施例中，該(*R*)-4-甲氧基-2,2,5-三甲基-2,5-二氫噁唑係藉由使(*R*)-2,2,5-三甲基噁唑啉-4-酮：



與三甲基氧鎗四氟硼酸鹽反應來製備。

【0176】 在一些實施例中，以 1 當量(*R*)-2,2,5-三甲基噁唑啉-4-酮計，使用約 1 當量三甲基氧鎗四氟硼酸鹽。

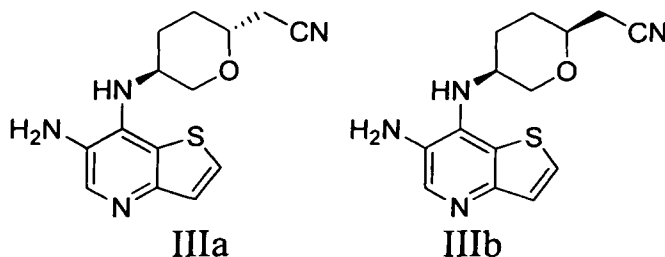
【0177】 在一些實施例中，(*R*)-2,2,5-三甲基噁唑啉-4-酮之該反應係在約室溫下進行。

【0178】 在一些實施例中，(*R*)-2,2,5-三甲基噁唑啉-4-酮之該反應係在第十六溶劑組分存在下進行。

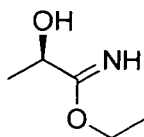
【0179】 在一些實施例中，該第十六溶劑組分包含無水二氯甲烷。

【0180】 在一些實施例中，該使(*R*)-2,2,5-三甲基噁唑啉-4-酮與三甲基氧鎗四氟硼酸鹽反應以形成(*R*)-4-甲氧基-2,2,5-三甲基-2,5-二氫噁唑的步驟及該使(*R*)-4-甲氧基-2,2,5-三甲基-2,5-二氫噁唑與包含式 IIIa 化合物及式 IIIb 化合物之組成物反應的步驟係在同一器皿中在不分離(*R*)-4-甲氧基-2,2,5-三甲基-2,5-二氫噁唑之情況下進行。

【0181】 在一些實施例中，該包含式 Ia 化合物及式 Ib 化合物之組成物係藉由如下方法製備，該方法包括使包含式 IIIa 化合物及式 IIIb 化合物之組成物：



與(*R*)-2-羥基丙亞胺酸乙酯：



進行反應。

【0182】 在一些實施例中，該包含式 IIIa 化合物及式 IIIb 化合物之組成物之該反應係在約 75°C 至約 85°C 之溫度下進行。

【0183】 在一些實施例中，該包含式 IIIa 化合物及式 IIIb 化合物之組成物進一步包含第十七溶劑組分。

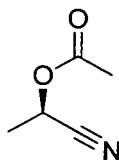
【0184】 在一些實施例中，該第十七溶劑組分包含乙醇。

【0185】 在一些實施例中，在使反應包含式 IIIa 化合物及式 IIIb 化合物之組成物反應之前，將(*R*)-2-羥基丙亞胺酸乙酯溶解於第十八溶劑組分中。

【0186】 在一些實施例中，該第十八溶劑組分包含四氫呋喃。

【0187】 在一些實施例中，在使該包含式 IIIa 化合物及式 IIIb 化合物之組成物進行反應之前，在約 75°C 至約 85°C 之溫度下加熱該包含式 IIIa 化合物、式 IIIb 化合物及該第十七溶劑組分之組成物。

【0188】 在一些實施例中，該(*R*)-2-羥基丙亞胺酸乙酯係藉由使(*R*)-乙酸-1-氰基乙酯：



與乙醇在強酸存在下進行反應來製備。

【0189】 在一些實施例中，(*R*)-乙酸-1-氰基乙酯與乙醇之該反應中所使用之該強酸為氯化氫。

【0190】 在一些實施例中，以 1 當量(*R*)-2-羥基丙亞胺酸乙酯計，使用約 2.9 至約 3.1 當量乙醇。

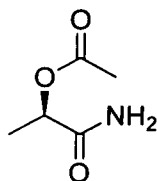
【0191】 在一些實施例中，將(*R*)-乙酸-1-氰基乙酯與乙醇合併以形成乙醇混合物。

【0192】 在一些實施例中，將該強酸添加至該乙醇混合物中以形成另一混合物。

【0193】 在一些實施例中，在約-45°C至約-35°C之溫度下添加該強酸。

【0194】 在一些實施例中，將該強酸添加至該乙醇混合物中以形成另一混合物進一步包括將該另一混合物加熱至室溫。

【0195】 在一些實施例中，該(*R*)-乙酸-1-氨基乙酯係藉由使(*R*)-乙酸-1-氨基-1-側氧基丙-2-酯：



與氰尿酸氯反應而形成。

【0196】 在一些實施例中，以 1 當量(*R*)-乙酸-1-氨基-1-側氧基丙-2-酯計，使用約 0.4 至約 0.5 當量氰尿酸氯。

【0197】 在一些實施例中，在(*R*)-乙酸-1-氨基-1-側氧基丙-2-酯之該反應之前，將(*R*)-乙酸-1-氨基-1-側氧基丙-2-酯與第十九溶劑組分混合。

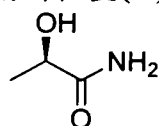
【0198】 在一些實施例中，該第十九溶劑組分包含 *N,N*-二甲基甲酰胺。

【0199】 在一些實施例中，在(*R*)-乙酸-1-氨基-1-側氧基丙-2-酯之該反應之前，將氰尿酸氯溶解於第二十溶劑組分中。

【0200】 在一些實施例中，該第二十溶劑組分包含 2-甲氧基-2-甲基丙烷。

【0201】 在一些實施例中，(*R*)-乙酸-1-氨基-1-側氧基丙-2-酯之該反應係在約室溫下進行。

【0202】 在一些實施例中，該(*R*)-乙酸-1-氨基-1-側氧基丙-2-酯係藉由在第三三級胺鹼存在下用乙醯氯保護(*R*)-2-羥基丙醯胺：



而製備。

【0203】 在一些實施例中，該第三三級胺鹼為 4-甲基嗎啉。

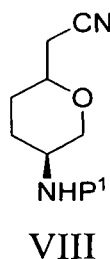
【0204】 在一些實施例中，以 1 當量(*R*)-2-羥基丙醯胺計，使用約 1 至約 1.1 當量乙醯氯。

【0205】 在一些實施例中，該保護係在第二十一溶劑組分存在下進行。

【0206】 在一些實施例中，該第二十一溶劑組分包含四氫呋喃。

【0207】 本申請案進一步提供適用於製備式 Ia 化合物之中間物。

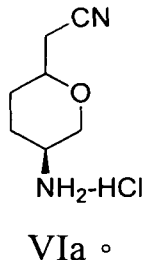
【0208】 因此，本申請案提供式 VIII 化合物：



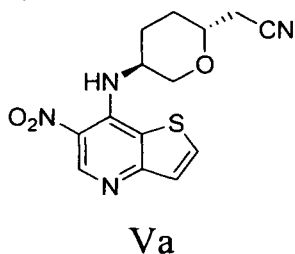
其中 P¹ 為胺保護基。

【0209】 在一些實施例中，P¹ 為第三丁氧基羰基。

【0210】 本申請案亦提供式 VIa 之鹽：

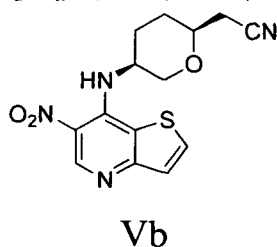


【0211】 本申請案進一步提供式 Va 化合物：



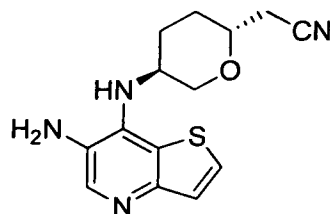
或其鹽。

【0212】 本申請案進一步提供式 Vb 化合物：



或其鹽。

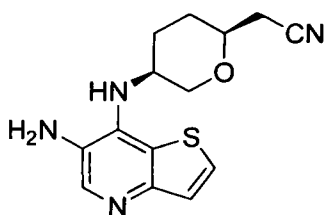
【0213】 本申請案進一步提供式 IIIa 化合物：



IIIa

或其鹽。

【0214】 本申請案進一步提供式 IIIb 化合物：



IIIb

或其鹽。

【0215】 應瞭解，個別實施例之內容中出於明確性目的而描述之某些本發明特徵亦可以組合形式提供於單一實施例中(同時意欲該等實施例可如同多項附屬項中所著加以組合)。相反，單一實施例之內容中出於簡便目的而描述之各種本發明特徵亦可單獨或以任何適合之亞組合形式提供。

【0216】 在本說明書中之各處，於群組或範圍中揭示本發明化合物之取代基。尤其意欲本發明包括該等群組及範圍之成員的各個及每個個別亞組合。舉例而言，術語「C₁₋₆ 烷基」尤其意欲個別地揭示甲基、乙基、C₃ 烷基、C₄ 烷基、C₅ 烷基及 C₆ 烷基。

【0217】 如本文中所使用，術語「Wittig 試劑」係指由式 P(=O)(C₁₋₆ 烷氧基)₂(C₁₋₆ 烷基-CN)之磷酸酯化合物在強鹼(例如第三丁醇鉀)存在下之反應形成的鎘鹽，其中烷氧基及烷基各自具有 1 至 6 個碳。在一些實施例中，術語「Wittig 試劑」係指由鎘鹽(例如氰基甲基(三甲基)氯化磷或三丁基(氰基甲基)氯化磷)在強鹼(例如第三丁醇鉀)存在下之反應形成的鎘鹽。

【0218】 如本文中所使用，單獨或與其他術語組合使用之術語「C_{n-m} 烷基」係指飽和烴基，其可為直鏈或分支鏈，具有 n 至 m 個碳原子。在一

些實施例中，烷基含有 1 至 6 個、1 至 4 個或 1 至 3 個碳原子。烷基部分之實例包括但不限於諸如甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、第二丁基、第三丁基、正戊基、2-甲基-1-丁基、3-戊基、正己基、1,2,2-三甲基丙基及其類似基團之化學基團。

【0219】 如本文中所使用，單獨或與其他術語組合使用之術語「 C_{1-6} 烷氧基」係指具有式-O-烷基之基團，其中該烷基具有 1 至 6 個碳。實例烷氧基包括甲氧基、乙氧基、丙氧基(例如正丙氧基及異丙氧基)、丁氧基(例如正丁氧基、第三丁氧基)及其類似基團。

【0220】 如本文中所使用，術語「 C_{1-6} 烷基氧鎢試劑」係指具有式 $(C_{1-6} \text{ 烷基})_3O^+$ 之陽離子基團的試劑，其中該 C_{1-6} 烷基係指具有 1 至 6 個碳的直鏈或分支鏈烷基。實例 C_{1-6} 烷基氧鎢試劑包括三甲基氧鎢四氟硼酸鹽、三乙基氧鎢四氟硼酸鹽(米爾文試劑)、三乙基氧鎢六氟磷酸鹽、三乙基氧鎢六氟鎂酸鹽及其類似物。相對離子包括但不限於四氟硼酸根、六氟磷酸根及六氟鎂酸根。

【0221】 如本文中本文中所使用，術語「胺基」係指式-NH₂之基團。

【0222】 如本文中所使用，術語「胺鹼」係指經單取代之胺基(亦即，一級胺鹼)、經雙取代之胺基(亦即，二級胺鹼)或經三取代之胺基(亦即，三級胺鹼)。實例經單取代之胺鹼包括甲胺、乙胺、丙胺、丁胺及其類似物。實例經雙取代之胺鹼包括二甲胺、二乙胺、二丙胺、二丁胺、吡咯烷、哌啶、氮雜環庚烷、嗎啉及其類似物。在一些實施例中，三級胺具有式 $N(R')_3$ ，其中各 R' 獨立地為 C_{1-6} 烷基、3 至 10 員環烷基、4 至 10 員雜環烷基、1 至 10 員雜芳基及 5 至 10 員芳基，其中該 3 至 10 員環烷基、4 至 10 員雜環烷基、1 至 10 員雜芳基及 5 至 10 員芳基視情況由 1、2、3、4、5 或 6 個 C_{1-6} 烷基取代。實例三級胺鹼包括三甲胺、三乙胺、三丙胺、三異丙胺、三丁胺、三第三丁胺、N,N-二甲基乙胺、N-乙基-N-甲基丙-2-胺、N-乙基-N-異丙基丙-2-胺、N-甲基嗎啉及其類似物。在一些實施例中，術語「三級胺鹼」係指式 $N(R)_3$ 之基團，其中各 R 獨立地為直鏈或分支鏈 C_{1-6} 烷基。

【0223】 如本文中所使用，單獨或與其他術語組合使用之術語「環烷基」係指非芳族環烴部分，其可視情況含有一或多個伸烯基作為環結構之一部分。在一些實施例中，環烷基為 3 至 10 員環烷基，其為單環或雙環。在一些實施例中，環烷基為 3 至 6 員或 3 至 7 員單環環烷基。例示性環烷基包括 1,2,3,4-四氫-萘、環丙基、環丁基、環戊基、環己基、環庚基、環戊烯基、環己烯基、環己二烯基、環庚三烯基、降冰片基、降菴基(norpinyl)、降菴基(norcarnyl)、金剛烷基及其類似基團。在一些實施例中，環烷基為環丙基、環丁基、環戊基或環己基。

【0224】 如本文中所使用，單獨或與其他術語組合使用之術語「芳基」係指單環或多環(例如具有 2、3 或 4 個稠合環)芳族烴，諸如但不限於苯基、1-萘基、2-萘基、蔥基、菲基及其類似基團。在一些實施例中，芳基為 C₆₋₁₀ 芳基。在一些實施例中，芳基為萘環或苯基環。在一些實施例中，芳基為苯基。

【0225】 如本文中所使用，單獨或與其他術語組合之術語「雜芳基」係指單環或多環(例如 2、3 或 4 個稠合環)芳族烴部分，其具有一或多個選自氮、硫及氧之雜原子環成員。在一些實施例中，雜芳基為 5 至 10 員雜芳基，其為單環或雙環，包含 1 至 9 個碳原子及 1、2、3 或 4 個獨立地選自氮、硫及氧之雜原子環成員。實例雜芳基包括但不限於吡啶、嘧啶、吡嗪、噻嗪、吡咯、吡唑、唑基、噁唑、噻唑、咪唑、呋喃、噻吩、喹啉、異喹啉、吲哚、苯并噻吩、苯并呋喃、苯并異噁唑、咪唑并[1,2-b]噻唑、嘌呤或其類似基團。

【0226】 如本文中所使用，單獨或與其他術語組合使用之術語「雜環烷基」係指非芳族環系統，其可視情況含有一或多個伸烯基或伸炔基作為環結構之一部分，且其具有至少一個獨立地選自氮、硫及氧之雜原子環成員。當雜環烷基含有多於一個雜原子時，雜原子可相同或不同。雜環烷基可包括單環或多環(例如具有 2、3 或 4 個稠合型、螺環狀或橋接型環)環系統。在一些實施例中，雜環烷基為 5 至 10 員雜環烷基，其為單環或雙環，包含 2 至 9 個碳原子及 1、2、3 或 4 個獨立地選自氮、硫及氧之雜原子環

成員。雜環烷基之實例包括 1,2,3,4-四氫-喹啉、氮雜環丁烷、氮雜環庚烷、吡咯啉、哌啉、哌嗪、嗎啉、硫代嗎啉、哌喃及 2-側氧基-1,3-噁唑啉環。

【0227】 如本文中所使用，術語「鹼金屬」包括鋰、鈉及鉀。

【0228】 如本文中所使用，單獨或與其他術語組合使用之「鹵基」或「鹵素」包括氟、氯、溴及碘。

【0229】 實例「N-鹵丁二醯亞胺化合物」包括但不限於 N-氯丁二醯亞胺、N-溴丁二醯亞胺及 N-碘丁二醯亞胺。

【0230】 如本文中所使用，術語「烷氧化物鹼」係指具有式(C₁₋₆ 烷基)O⁻之基團的鹼，其中該 C₁₋₆ 烷基係指具有 1 至 6 個碳的直鏈或分支鏈烷基。實例烷氧化物鹼包括但不限於甲烷氧化物、乙烷氧化物、丙烷氧化物、異丙烷氧化物、正丁烷氧化物、異丁烷氧化物、第三丁烷氧化物及其類似物。

【0231】 如本文中所使用，術語「鹼金屬烷氧化物」係指式 M(O-C₁₋₆ 烷基)之基團，其中 M 係指鹼金屬(例如鋰、鈉或鉀)，且 C₁₋₆ 烷基係指具有 1 至 6 個碳之直鏈或分支鏈烷基。實例鹼金屬烷氧化物包括但不限於甲醇鈉、乙醇鈉、異丙醇鈉、第三丁醇鈉、甲醇鋰、乙醇鋰、甲醇鉀、乙醇鉀、第三丁醇鉀及其類似物。

【0232】 如本文中所使用，術語「氫化觸媒」係指適合於催化氫化反應(亦即，化合物與氫氣之反應)的金屬(例如鈀、鎳或銻)觸媒。實例氫化觸媒包括但不限於鈀/碳、林德拉觸媒(沈積於碳酸鈣或硫酸鋇上之鈀)、威爾金森觸媒、HRuCl(PPh₃)₃、RhCl(PPh₃)₃、[Rh(COD)Cl]₂、[Ir(COD)(PMePh₂)₂]⁺、[Rh(1,5-環辛二烯)(PPh₃)₂]⁺、PtO₂ (亞當氏觸媒)、鈀/碳、鈀黑、林德拉觸媒(沈積於碳酸鈣或硫酸鋇上且經鉛處理之鈀)及其類似物。在一些實施例中，該氫化觸媒為 Nishimura, *Heterogeneous Catalytic Hydrogenation for Organic Synthesis*, 第 1 版, Wiley (2001 年 4 月 17 日)或 Chaloner, *Homogeneous Hydrogenation*, 第 1 版, Springer Netherlands (2010 年 12 月 6 日)中所發現之氫化觸媒，該兩文獻各自以全文引用之方式併入本文中。

【0233】 適當 P¹ 保護基包括但不限於 Wuts 及 Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 第 4 版, John Wiley & Sons: New Jersey, 第 696-887 頁(且特定言之, 第 872-887 頁) (2007)中所描繪之用於胺之保護基, 該文獻係以全文引用之方式併入本文中。實例胺保護基包括但不限於苯甲氧基羰基(Cbz)、2,2,2-三氯乙氧基羰基(Troc)、2-(三甲基矽烷基)乙氧基羰基(Teoc)、2-(4-三氟甲基苯基磺醯基)乙氧基羰基(Tsc)、第三丁氧基羰基(BOC)、1-金剛烷氧基羰基(Adoc)、2-金剛烷基羰基(2-Adoc)、2,4-二甲基戊-3-基氧基羰基(Doc)、環己基氧基羰基(Hoc)、1,1-二甲基-2,2,2-三氯乙氧基羰基(TcBOC)、乙烯基、2-氯乙基、2-苯基磺醯基乙基、烯丙基、苯甲基、2-硝基苯甲基、4-硝基苯甲基、聯苯-4-吡啶基甲基、N',N'-二甲基胍基、甲氧基甲基、第三丁氧基甲基(Bum)、苯甲氧基甲基(BOM)或 2-四氫吡喃基(THP)、三(C₁₋₄ 烷基)矽烷基(例如三(異丙基)矽烷基)、1,1-二乙氧基甲基或 N-三甲基乙醯氧基甲基(POM)。

【0234】 實例氧化劑包括戴斯-馬丁氧化劑、2,2,6,6-四甲基-1-哌啶基氧基自由基(TEMPO)、N-鹵丁二醯亞胺(例如 N-溴丁二醯亞胺、N-氯丁二醯亞胺、N-碘丁二醯亞胺)及其類似物。

【0235】 實例還原劑包括鹼金屬氫硼化物(例如硼氫化鋰、氫化硼鈉、氫化硼鉀等)、鹼金屬鋁氫化物(例如氫化鋰鋁、氫化鈉鋁)、氫氣(例如 H₂/Pd/碳)及其類似物。

【0236】 實例酸可為無機酸或有機酸, 且包括但不限於強酸及弱酸。一些實例酸包括鹽酸、氫溴酸、硫酸、磷酸、對甲苯磺酸、4-硝基苯甲酸、甲烷磺酸、苯磺酸、三氟乙酸及硝酸。一些弱酸包括但不限於乙酸、丙酸、丁酸、苯甲酸、酒石酸、戊酸、己酸、庚酸、辛酸、壬酸及癸酸。

【0237】 一些實例強鹼包括但不限於氫氧化物、烷氧化物、金屬胺化物、金屬氫化物、金屬二烷基胺化物及芳基胺, 其中烷氧化物包括甲基、乙基及第三丁基氧化物之鋰、鈉及鉀鹽; 金屬胺化物包括胺化鈉、胺化鉀及胺化鋰; 金屬氫化物包括氫化鈉、氫化鉀及氫化鋰; 且金屬二烷基胺化

物包括經甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、第三丁基、三甲基矽烷基及環己基取代之醯胺之鋰、鈉及鉀鹽。

【0238】 可發現與諸如水及溶劑之其他物質在一起的所有化合物及其醫藥學上可接受之鹽(例如水合物及溶劑合物)，或可加以分離。

【0239】 在一些實施例中，本發明化合物或其鹽實質上經分離。「實質上經分離」意謂該化合物至少部分地或實質上與形成或偵測到其之環境分離。部分分離可包括例如本發明化合物中富含之組成物。實質性分離可包括以重量計含有至少約 50%、至少約 60%、至少約 70%、至少約 80%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 97%或至少約 99%本發明化合物或其鹽的組成物。用於分離化合物及其鹽之方法為此項技術中之常規方法。

【0240】 如本文中所使用，術語「反應」係如此項技術中已知加以使用且大體上係指使化學試劑以允許其在分子層級上相互作用從而達成化學或物理轉化之方式在一起。在一些實施例中，該反應涉及兩種試劑，其中相對於第一試劑使用一或多當量第二試劑。本文中所描述之方法的反應步驟可歷經一定時間且在適合於製備所鑑別之產物的條件下來進行。

【0241】 本文中所描述之方法的反應可在適合之溶劑中進行，該等溶劑可由熟習有機合成技術者容易地選擇。適合之溶劑在進行反應之溫度下，例如在可介於溶劑之凝固溫度至溶劑之沸騰溫度範圍內之溫度下，可實質上不與起始物質(反應物)、中間物或產物反應。指定反應可在一種溶劑或多於一種溶劑之混合物中進行。視特定反應步驟而定，可選擇適用於特定反應步驟之溶劑。在一些實施例中，可在不存在溶劑之情況下，諸如當至少一種試劑為液體或氣體時進行反應。

【0242】 「溶劑組分」可為一種溶劑或者兩種或更多種溶劑之混合物。

【0243】 如本文中所使用，作為片語「溶劑組分」之字首的「第二」、「第三」、「第四」等係用於區分該溶劑組分與先前或稍後之方法步驟中所使用之其他溶劑組分，且並非指示必須存在多種溶劑。

【0244】 適合之溶劑可包括鹵化溶劑，諸如四氯化碳、溴二氯甲烷、二溴氯甲烷、三溴甲烷、三氯甲烷、溴氯甲烷、二溴甲烷、氯丁烷、二氯甲烷、四氯乙烯、三氯乙烯、1,1,1-三氯乙烷、1,1,2-三氯乙烷、1,1-二氯乙烷、2-氯丙烷、 α,α,α -三氟丁烯、1,2-二氯乙烷、1,2-二溴乙烷、六氟苯、1,2,4-三氯苯、1,2-二氯苯、氯苯、氟苯、其混合物及其類似物。

【0245】 適合之醚溶劑包括：二甲氧基甲烷、四氫呋喃、1,3-二噁烷、1,4-二噁烷、呋喃、乙醚、乙二醇二甲醚、乙二醇二乙醚、二乙二醇二甲醚(二甘醇二甲醚)、二乙二醇二乙醚、三乙二醇二甲醚、苯甲醚、第三丁基甲醚、其混合物及其類似物。

【0246】 適合之質子性溶劑可包括例如且不限於水、甲醇、乙醇、2-硝基乙醇、2-氟乙醇、2,2,2-三氟乙醇、乙二醇、1-丙醇、2-丙醇、2-甲氧基乙醇、1-丁醇、2-丁醇、異丁醇、第三丁醇、2-乙氧基乙醇、二乙二醇、1-戊醇、2-戊醇或 3-戊醇、新戊醇、第三戊醇、二乙二醇單甲醚、二乙二醇單乙醚、環己醇、苯甲醇、苯酚或甘油。

【0247】 適合之非質子性溶劑可包括例如且不限於四氫呋喃(THF)、N,N-二甲基甲醯胺(DMF)、N,N-二甲基乙醯胺(DMA)、1,3-二甲基-3,4,5,6-四氫-2(1H)-嘓啶酮(DMPU)、1,3-二甲基-2-咪唑啶酮(DMI)、N-甲基吡咯啶酮(NMP)、甲醯胺、N-甲基乙醯胺、N-甲基甲醯胺、乙腈、二甲亞砷、丙腈、甲酸乙酯、乙酸甲酯、六氯丙酮、丙酮、乙基甲基酮、乙酸乙酯、環丁砷、N,N-二甲基丙醯胺、四甲基脲、硝基甲烷、硝基苯或六甲基磷醯胺。

【0248】 適合之烴溶劑包括苯、環己烷、戊烷、己烷、甲苯、環庚烷、甲基環己烷、庚烷、乙苯、間二甲苯、鄰二甲苯或對二甲苯、辛烷、節烷、壬烷或萘。

【0249】 本文中所描述之方法之反應可在空氣中或在惰性氛圍下進行。典型地，含有實質上可與空氣反應之試劑或產物的反應可使用熟習此項技術者所熟知的空氣敏感性合成技術進行。

【0250】 在一些實施例中，化合物之製備可包括添加酸或鹼以影響例如對諸如酸加成鹽之鹽形式的所要反應或形成的催化作用。

【0251】 實例酸可為無機酸或有機酸。無機酸包括鹽酸、氫溴酸、硫酸、磷酸及硝酸。有機酸包括甲酸、乙酸、丙酸、丁酸、苯甲酸、4-硝基苯甲酸、甲烷磺酸、對甲苯磺酸、苯磺酸、酒石酸、三氟乙酸、丙炔酸、丁酸、2-丁炔酸、乙烯基乙酸、戊酸、己酸、庚酸、辛酸、壬酸及癸酸。

【0252】 實例鹼包括氫氧化鋰、氫氧化鈉、氫氧化鉀、碳酸鋰、碳酸鈉、碳酸鉀及碳酸氫鈉。一些實例強鹼包括但不限於氫氧化物、烷氧化物、金屬胺化物、金屬氫化物、金屬二烷基胺化物及芳基胺，其中烷氧化物包括甲基、乙基及第三丁基氧化物之鋰、鈉及鉀鹽；金屬胺化物包括胺化鈉、胺化鉀及胺化鋰；金屬氫化物包括氫化鈉、氫化鉀及氫化鋰；且金屬二烷基胺化物包括經甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、第三丁基、三甲基矽烷基及環己基取代之醯胺之鋰、鈉及鉀鹽。

【0253】 在根據本文中所描述之方法製備化合物後，可使用諸如濃縮、過濾、萃取、固相萃取、再結晶、層析及其類似操作之通常分離及純化操作來分離所要產物。

【0254】 如本文中所使用之表述「室溫」在此項技術中應能理解且大體上係指約為進行反應之室內之溫度的溫度(例如反應溫度)，例如約 20°C 至約 30°C 之溫度。

【0255】 本文中所描述之方法之反應可在適當溫度下進行，該等溫度可由熟習此項技術者容易地確定。反應溫度將視例如以下因素而定：試劑及溶劑(若存在)之熔點及沸點；反應熱力學(例如劇烈放熱反應可能需要在降溫下進行)；及反應動力學(例如高活化能障壁可能需要高溫)。

【0256】 本文中所描述之化合物之製備可包括對各種化學基團進行保護及去保護(例如胺基之保護及去保護)。對保護及去保護之需要以及適當保護基之選擇可由熟習此項技術者容易地確定。保護基之化學性質可見於例如 Wuts 及 Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 第 4 版, John Wiley & Sons: New Jersey, (2007) 中，該文獻係以全文引用之方式併入本文

中。對本文中所描述之保護基以及形成及裂解方法之調節可在必要時根據各種取代基進行調節。

【0257】 如本文中所使用，術語「去保護條件」係指適合於使胺保護基裂解之條件。在一些實施例中，去保護條件可包括在強酸存在下、在強鹼存在下、在還原劑存在下或在氧化劑存在下使保護基裂解。胺保護基之去保護可藉由此項技術中已知的用於移除胺之特定保護基的方法來實現，諸如 Wuts 及 Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 第 4 版, John Wiley & Sons: New Jersey, 第 696-887 頁(且特定言之，第 872-887 頁) (2007) 中之方法，該文獻係以全文引用之方式併入本文中。在一些實施例中，該處理包括使經保護之化合物在酸性條件(例如鹽酸或三氟乙酸)下進行反應。在一些實施例中，溫度為約室溫、約 15°C 至約 40°C 之溫度或約 15°C 至約 30°C 之溫度。

【0258】 可根據此項技術中已知的任何適合之方法監測反應。舉例而言，可藉由諸如核磁共振光譜法(例如 ^1H 或 ^{13}C)、紅外光譜法、分光光度法(例如 UV-可見光)、質譜法之光譜手段或藉由諸如高效液相層析法(HPLC)或薄層層析法(TLC)之層析方法監測產物形成。

【0259】 本文中採用片語「醫藥學上可接受」來指化合物、材料、組成物及/或劑型在合理醫學判斷範疇內適合與人類及動物之組織接觸使用而無過度毒性、刺激、過敏反應或其他問題或併發症，與合理效益/風險比相稱。

【0260】 本發明亦包括本文中所描述之化合物之醫藥學上可接受之鹽。如本文中所使用，「醫藥學上可接受之鹽」係指所揭示之化合物的衍生物，其中藉由將現有酸或鹼部分轉化成其鹽形式對母體化合物進行改質。醫藥學上可接受之鹽的實例包括但不限於鹼性殘基(諸如胺)之礦物鹽或有機酸鹽；酸性殘基(諸如羧酸)之鹼金屬鹽或有機鹽；及其類似物。本發明之醫藥學上可接受之鹽包括母體化合物之例如由無毒無機酸或有機酸形成之無毒鹽。本發明之醫藥學上可接受之鹽可藉由習知化學方法由含有鹼性或酸性部分之母體化合物合成。一般而言，此種鹽可藉由使此等化合物之

游離酸或鹼形式與化學計算量之適當鹼或酸在水中或在有機溶劑中或在兩者之混合物中反應來製備；一般而言，如醚、乙酸乙酯、醇(例如甲醇、乙醇、異丙醇或丁醇)或乙腈(ACN)之非水性介質較佳。適合之鹽之清單可見於 *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 第 17 版, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, 第 1418 頁及 *Journal of Pharmaceutical Science*, 66, 2 (1977) 中，該等文獻各自以全文引用之方式併入本文中。在一些實施例中，本文中所描述之化合物包括 N-氧化物形式。

方法

【0261】 式 Ia 化合物 2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羥基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氫-2H-嘧啶-2-基)乙腈為選擇性 JAK1 抑制劑。相對於 JAK2，式 Ia 化合物優先抑制 JAK1 (例如 JAK1/JAK2 IC₅₀ 比>10)。

【0262】 JAK1 在許多細胞因子及生長因子信號傳導路徑中起重要作用，該等信號傳導路徑在失調時可導致或造成疾病狀態。舉例而言，在變形性關節炎中，IL-6 含量升高，已表明其在該疾病具有不利影響(Fonesca, J.E. 等人, *Autoimmunity Reviews*, 8:538-42, 2009)。由於 IL-6 至少部分藉由 JAK1 進行信號傳導，故預期藉由 JAK1 抑制來直接或間接地拮抗 IL-6 將提供臨床效益(Guschin, D., N.等人, *Embo J* 14:1421, 1995；Smolen, J. S.等人, *Lancet* 371:987, 2008)。此外，在一些癌症中，JAK1 突變，從而導致不理想之組成性腫瘤細胞生長及存活(Mullighan CG, *Proc Natl Acad Sci U S A*.106:9414-8, 2009；Flex E.等人, *J Exp Med*. 205:751-8, 2008)。在其他自體免疫性疾病及癌症中，活化 JAK1 之發炎性細胞因子之全身含量升高亦可造成該疾病及/或相關症狀。因此，患有該等疾病之患者可受益於 JAK1 抑制。JAK1 之選擇性抑制劑可為有效的，同時避免不必要且可能不理想之抑制其他 JAK 激酶之作用。

【0263】 JAK1 之選擇性抑制劑(相對於其他 JAK 激酶)與較弱相比可具有多種治療優勢。就對 JAK2 之選擇性而言，許多重要之細胞因子及生長因子藉由 JAK2 進行信號傳導，包括例如紅血球生成素(Epo)及血小板生成素(Tpo) (Parganas E 等人, *Cell*. 93:385-95, 1998)。Epo 為紅血球產生之關鍵

生長因子；因此缺乏 Epo 依賴性信號傳導可導致紅血球數目減少及貧血 (Kaushansky K, NEJM 354:2034-45, 2006)。JAK2 依賴性生長因子之另一實例 Tpo 在控制巨核細胞(即，產生血小板之細胞)之增殖及成熟方面起重要作用(Kaushansky K, NEJM 354:2034-45, 2006)。因此，Tpo 信號傳導減少將減少巨核細胞數目(巨核細胞減少症)且降低循環血小板計數(血小板減少症)。由此可導致不理想及/或不可控制之出血。減少對諸如 JAK3 及 Tyk2 之其他 JAK 之抑制亦可能為理想的，因為缺乏此等激酶之功能型式之人類已顯示受許多疾病困擾，諸如嚴重合併性免疫缺失或高免疫球蛋白 E 症候群 (Minegishi, Y 等人, Immunity 25:745-55, 2006；Macchi P 等人, Nature. 377:65-8, 1995)。因此，就減少副作用(包括免疫抑制、貧血及血小板減少症)而言，對其他 JAK 具有降低之親和力的 JAK1 抑制劑與較弱選擇性抑制劑相比將具有顯著優勢。

【0264】 本發明之另一態樣係關於治療個體(例如患者)之 JAK 相關疾病或病症的方法，該方法係藉由向需要該治療之個體投與治療有效量或劑量之本發明化合物或其醫藥組成物。JAK 相關疾病可包括直接或間接與 JAK 之表現或活性(包括過度表現及/或異常活性水準)相關之任何疾病、病症或病狀。JAK 相關疾病亦可包括可藉由調節 JAK 活性加以預防、改善或治癒之任何疾病、病症或病狀。

【0265】 JAK 抑制劑適用於治療各種 JAK 相關疾病或病症。JAK 相關疾病之實例包括涉及免疫系統之疾病，包括例如器官移植排斥(例如同種異體移植物排斥及移植物對抗宿主疾病)。JAK 相關疾病之其他實例包括自體免疫性疾病，例如多發性硬化、變形性關節炎、青少年關節炎、牛皮癬性關節炎、I 型糖尿病、狼瘡、牛皮癬、發炎性腸病、潰瘍性結腸炎、克羅恩氏病、重症肌無力、免疫球蛋白腎病、心肌炎、自體免疫性甲狀腺病症、慢性阻塞性肺病(COPD)及其類似疾病。在一些實施例中，自體免疫性疾病為自體免疫性大皰性皮膚病，諸如尋常天皰瘡(PV)或大皰性類天皰瘡(BP)。

【0266】 JAK 相關疾病之其他實例包括過敏性病狀，諸如哮喘、食物過敏、濕疹性皮炎、接觸性皮炎、特應性皮炎(特應性濕疹)及鼻炎。JAK

相關疾病之其他實例包括病毒性疾病，諸如埃-巴二氏病毒(EBV)、B 型肝炎、C 型肝炎、HIV、HTLV 1、水痘-帶狀疱疹病毒(VZV)及人乳頭狀瘤病毒 HPV)。

【0267】 JAK 相關疾病之其他實例包括與軟骨翻轉相關之疾病，例如痛風性關節炎、敗血性或傳染性關節炎、反應性關節炎、反射性交感神經營養不良、骨痛退化症、泰齊症候群(Tietze syndrome)、肋關節病、地方性變形性骨關節炎、Mseleni 病、Handigodu 病、由纖維肌痛症引起之退化、全身性紅斑狼瘡、硬皮病或強直性脊椎炎。

【0268】 JAK 相關疾病之其他實例包括先天性軟骨畸形，包括遺傳性軟骨溶解、軟骨發育不良及假性軟骨發育不良(例如小耳症、無耳症及幹骺端軟骨發育不良)。JAK 相關疾病或病狀之其他實例包括皮膚病症，諸如牛皮癬(例如尋常牛皮癬)、特應性皮炎、皮疹、皮膚刺激、皮膚敏感(例如接觸性皮炎或過敏性接觸性皮炎)。舉例而言，某些物質(包括一些藥物)在局部施用時可能導致皮膚敏感。在一些實施例中，共同投與或連續投與至少一種本發明 JAK 抑制劑與引起不需要之敏感的藥劑可有助於治療此種不需要之敏感或皮炎。在一些實施例中，藉由局部投與至少一種本發明 JAK 抑制劑來治療皮膚病症。

【0269】 JAK 相關疾病或病狀之其他實例包括以實性腫瘤為特徵之疾病或病狀(例如前列腺癌、腎癌、肝癌、胰癌、胃癌、乳癌、肺癌、頭頸癌、甲狀腺癌、惡性膠質瘤、卡波西氏肉瘤(Kaposi's sarcoma)、卡斯特曼氏病(Castleman's disease)、子宮平滑肌肉瘤、黑素瘤等)、血液學癌症(例如淋巴瘤、諸如急性淋巴母細胞性白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)之白血病或多發性骨髓瘤)及皮膚癌，諸如皮膚 T 細胞淋巴瘤(CTCL)及皮膚 B 細胞淋巴瘤。實例 CTCL 包括西澤裏症候群(Sezary syndrome)及蕁樣真菌病。

【0270】 JAK 相關疾病或病狀之其他實例包括肺動脈高壓。

【0271】 JAK 相關疾病或病狀之其他實例包括炎症相關之癌症。在一些實施例中，癌症與發炎性腸病相關。在一些實施例中，發炎性腸病為潰瘍性結腸炎。在一些實施例中，發炎性腸病為克羅恩氏病。在一些實施

例中，炎症相關之癌症為結腸炎相關之癌症。在一些實施例中，炎症相關之癌症為結腸癌或結腸直腸癌。在一些實施例中，癌症為胃癌、胃腸道類癌腫瘤、胃腸基質腫瘤(GIST)、腺癌、小腸癌或直腸癌。

【0272】 JAK 相關疾病或病狀之其他實例包括以下各項之表現為特徵之疾病或病狀：JAK2 突變體，諸如在假激酶域中具有至少一個突變之 JAK2 突變體(例如 JAK2V617F)；在假激酶域外具有至少一個突變之 JAK2 突變體；JAK1 突變體；JAK3 突變體；紅血球生成素受體(EPOR)突變體；或 CRLF2 表現失調。

【0273】 JAK 相關疾病可進一步包括骨髓增生性疾病(MPD)，諸如真性紅血球增多症(PV)、原發性血小板增多症(ET)、骨髓纖維化伴隨骨髓組織化生(MMM)、原發性骨髓纖維化(PMF)、慢性粒性白血病(CML)、慢性單核細胞性白血病(CMML)、嗜酸性粒細胞增多症候群(HES)、全身性肥大細胞病(SMCD)及其類似疾病。在一些實施例中，骨髓增生性疾病為骨髓纖維化(例如原發性骨髓纖維化(PMF)或真性紅血球增多症/原發性血小板增多症後骨髓纖維化(PV 後/ET 後 MF))。在一些實施例中，骨髓增生性疾病為原發性血小板增多症後骨髓纖維化(ET 後 MF)。在一些實施例中，骨髓增生性疾病為真性紅血球增多症後骨髓纖維化(PV 後 MF)。

【0274】 JAK 相關疾病進一步包括骨髓發育不良症候群(MDS)。

【0275】 如本文中所使用，骨髓發育不良症候群意欲涵蓋以一或多個主要骨髓細胞系上之無效造血為特徵的異質性及克隆性造血障礙。骨髓發育不良症候群與骨髓衰竭、周圍血液血球減少症及發展急性骨髓性白血病(AML)之傾向相關。此外，可在約 50%患有 MDS 之案例中偵測到克隆性細胞遺傳學異常。1997 年，世界衛生組織(The World Health Organization, WHO)聯合血液病理學學會(Society for Hematopathology, SH)及歐洲血液病理學學會(European Association of Hematopathology, EAHP)對造血系統腫瘤提出新分類(Harris 等人, *J Clin Oncol* 1999;17:3835-3849；Vardiman 等人, *Blood* 2002;100:2292-2302)。對於 MDS，WHO 不僅利用 French-American-British (FAB)分類之形態標準，而且併入可獲得之基因、生物及臨床特徵來定義

MDS 之子集(Bennett 等人, *Br J Haematol* 1982;51:189-199)。2008 年,對 MDS 之 WHO 分類(表 1)進行進一步精化以允許藉由併入新臨床及科學資訊對單譜系發育不良進行精確且與預後相關之再分類(Vardiman 等人, *Blood* 2009;114:937-951 ; Swerdlow 等人, WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 第 4 版. Lyon France: IARC Press; 2008:88-103 ; Bunning 及 Germing, 「Myelodysplastic syndromes/neoplasms」第 5 章, Swerdlow 等人編, WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. (第 4 版): Lyon, France: IARC Press;2008:88-103)。

表 1. 2008 WHO 骨髓發育不良症候群重新分類

亞型	血液	骨髓
單系發育不良性難治性血細胞減少症(RCUD)	單或雙血細胞減少症	1 個細胞系之 $\geq 10\%$ 、 $< 5\%$ 母細胞發育不良
環狀含鐵母細胞性難治性貧血(RARS)	貧血, 無母細胞	$\geq 15\%$ 紅血球前驅體 w/環狀含鐵母細胞, 僅紅血球發育不良, $< 5\%$ 母細胞
多系發育不良性難治性血細胞減少症	血細胞減少症, $< 1 \times 10^9/L$ 單核細胞	≥ 2 個造血系中 $\geq 10\%$ 細胞發育不良, $\pm 15\%$ 環狀含鐵母細胞, $< 5\%$ 母細胞
母細胞過量性難治性貧血-1 (RAEB-1)	血細胞減少症, $\leq 2\%$ 至 4% 母細胞, $< 1 \times 10^9/L$ 單核細胞	單系或多系發育不良, 無棒狀小體, 5% 至 9% 母細胞
母細胞過量性難治性貧血-2 (RAEB-2)	血細胞減少症, $\leq 5\%$ 至 19% 母細胞, $< 1 \times 10^9/L$ 單核細胞	單系或多系發育不良, \pm 棒狀小體, 10% 至 19% 母細胞
未分類骨髓發育不良症候群(MDS-U)	血細胞減少症,	單系或多系發育不良, 但特徵性 MDS 細胞遺傳學, $< 5\%$ 母細胞
與孤立 del(5q)相關之 MDS	貧血, 血小板正常或增加	單系紅血球, 孤立 del(5q), $< 5\%$ 母細胞

【0276】 在一些實施例中,本申請案提供一種在需要治療之患者中治療骨髓發育不良症候群(MDS)之方法,其包括向該患者投與式 Ia 化合物或其醫藥學上可接受之鹽,其中該 MDS 係選自單系發育不良性難治性血細胞減少症(RCUD)、環狀含鐵母細胞性難治性貧血(RARS)、多系發育不良性難治性血細胞減少症、母細胞過量性難治性貧血-1 (RAEB-1)、母細胞過量性難治性貧血-2 (RAEB-2)、未分類骨髓發育不良症候群(MDS-U)及與孤立 del(5q)相關之 MDS。

S

【0277】 在一些實施例中，脊髓發育不良症候群為單系發育不良性難治性血細胞減少症(RCUD)。

【0278】 在一些實施例中，脊髓發育不良症候群為環狀含鐵母細胞性難治性貧血(RARS)。

【0279】 在一些實施例中，脊髓發育不良症候群為多系發育不良性難治性血細胞減少症。

【0280】 在一些實施例中，脊髓發育不良症候群為母細胞過量性難治性貧血-1 (RAEB-1)。

【0281】 在一些實施例中，脊髓發育不良症候群為母細胞過量性難治性貧血-2 (RAEB-2)。

【0282】 在一些實施例中，脊髓發育不良症候群為未分類脊髓發育不良症候群(MDS-U)。

【0283】 在一些實施例中，脊髓發育不良症候群為與孤立 del(5q)相關之脊髓發育不良症候群。

【0284】 在一些實施例中，脊髓發育不良症候群為紅血球生成刺激劑難治癒的。

【0285】 JAK 相關疾病或病狀之其他實例包括藉由投與本發明化合物改善其他藥物之皮膚學副作用。舉例而言，許多藥劑造成不需要之過敏反應，其可體現為痤瘡樣皮疹或相關皮炎。具有該等不理想副作用之藥劑之實例包括抗癌藥，諸如吉非替尼、西妥昔單抗、埃羅替尼及其類似物。本發明化合物可與具有不理想皮膚學副作用之藥劑組合(例如同時或依序)投與全身或局部(例如位於皮炎附近)。在一些實施例中，本發明化合物可與一或多種其他藥物一起投與局部，其中其他藥物在不存在本發明化合物之情況下局部施用時會導致接觸性皮炎、過敏性接觸性敏化或類似皮膚病症。因此，本發明之組成物包括含有本發明化合物及可能導致皮炎、皮膚病症或相關副作用之另一藥劑的局部調配物。

【0286】 其他 JAK 相關疾病包括炎症及發炎性疾病。實例發炎性疾病包括結節病、發炎性眼病(例如虹膜炎、葡萄膜炎、鞏膜炎、結膜炎或相

關疾病)、發炎性呼吸道疾病(例如上呼吸道,包括鼻及竇,諸如鼻炎或竇炎;或下呼吸道,包括支氣管炎、慢性阻塞性肺病及其類似疾病)、發炎性肌病(諸如心肌炎)及其他發炎性疾病。在一些實施例中,炎症性眼病為睪炎。

【0287】 其他 JAK 相關疾病包括局部缺血再灌注損傷或與發炎性缺血性事件相關之疾病或病狀(諸如中風或心跳驟停)、內毒素驅動之疾病狀態(例如旁路手術後併發症或造成慢性心臟衰竭之慢性內毒素狀態)、厭食症、惡病質、疲勞(諸如由癌症引起或與其相關之疲勞)、再狹窄、硬化性皮炎、纖維化、與低血氧或星形細胞膠質化相關之病狀(諸如糖尿病性視網膜病、癌症或神經退化)及其他發炎性疾病,諸如全身性發炎性反應症候群(SIRS)及膿毒性休克。

【0288】 其他 JAK 相關疾病包括痛風及前列腺大小由於例如良性前列腺肥大或良性前列腺增生而增大以及骨吸收病,諸如骨質疏鬆症或骨關節炎、與以下各項相關之骨吸收病:激素不平衡及/或激素療法、自體免疫性疾病(例如骨結節病)或癌症(例如骨髓瘤)。

【0289】 其他 JAK 相關疾病包括乾眼症。如本文中所使用,「乾眼症」意欲涵蓋 Dry Eye Workshop (DEWS)之最近官方報導中所彙總之疾病狀態,其將乾眼症定義為「導致不適、視力障礙及淚膜不穩定伴隨潛在眼表損傷之症狀的多因素性淚液及眼表疾病」。其伴隨有淚膜滲透壓增加及眼表炎症。Lemp, 「The Definition and Classification of Dry Eye Disease: Report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye Workshop」, *The Ocular Surface*, 5(2), 75-92, 2007 年 4 月,該文獻係以全文引用之方式併入本文中。在一些實施例中,乾眼症係選自淚液缺乏型乾眼症(ADDE)或蒸發過強型乾眼症或其適當組合。在一些實施例中,乾眼症為休格倫氏症候群乾眼症(SSDE)。在一些實施例中,乾眼症為非休格倫氏症候群乾眼症(NSSDE)。

【0290】 其他 JAK 相關疾病包括結膜炎、葡萄膜炎(包括慢性葡萄膜炎)、脈絡膜炎、視網膜炎、睫狀體炎、鞏膜炎、表層鞏膜炎或虹膜炎。其

他 JAK 相關疾病包括與病毒感染相關之呼吸功能障礙或衰竭，諸如流感及 SARS。

組合療法

【0291】 一或多種附加藥劑，諸如化學治療劑、消炎劑、類固醇、免疫抑制劑以及 PI3K δ 、mTor、Bcr-Abl、Flt-3、RAF 及 FAK 激酶抑制劑，諸如以全文引用之方式併入本文中之 WO 2006/056399 中所描述者，或其他藥劑，可與本文中所描述之化合物組合使用，用於治療 JAK 相關疾病、病症或病狀。該一或多種附加藥劑可同時或依序投與患者。

【0292】 實例化學治療劑包括蛋白體抑制劑(例如硼替佐米)、沙利度胺、雷利度胺及 DNA 損傷劑，諸如美法侖、阿黴素、環磷醯胺、長春新鹼、依託泊苷、亞硝脲氮芥及其類似物。

【0293】 實例類固醇包括皮質類固醇，諸如地塞米松或強體松。

【0294】 實例 Bcr-Abl 抑制劑包括屬於美國專利第 5,521,184 號、WO 04/005281 及美國序列號 60/578,491 中所揭示之種屬的化合物及其醫藥學上可接受之鹽，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中。

【0295】 實例適合 Flt-3 抑制劑包括如 WO 03/037347、WO 03/099771 及 WO 04/046120 中所揭示之化合物及其醫藥學上可接受之鹽，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中。

【0296】 實例適合 RAF 抑制劑包括如 WO 00/09495 及 WO 05/028444 中所揭示之化合物及其醫藥學上可接受之鹽，該兩文獻均以全文引用之方式併入本文中。

【0297】 實例適合 FAK 抑制劑包括如 WO 04/080980、WO 04/056786、WO 03/024967、WO 01/064655、WO 00/053595 及 WO 01/014402 中所揭示之化合物及其醫藥學上可接受之鹽，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中。

【0298】 在一些實施例中，附加藥劑係選自 IMiD、抗 IL-6 藥劑、抗 TNF- α 藥劑、低甲基化藥劑及生物反應調節劑(BRM)。

【0299】 一般而言，BRM 為由活生物體製造用於治療疾病之物質，其可能天然存在於體內或可在實驗室中製造。BRM 之實例包括 IL-2、干擾素、各種類型群落刺激因子(CSF、GM-CSF、G-CSF)、單株抗體，諸如阿昔單抗、依那西普、英利昔單抗、利妥昔單抗、曲妥珠單抗及高劑量抗壞血酸。

【0300】 在一些實施例，抗 TNF- α 藥劑為英利昔單抗及依那西普。

【0301】 在一些實施例中，低甲基化藥劑為 DNA 甲基轉移酶抑制劑。在一些實施例中，DNA 甲基轉移酶抑制劑係選自 5-氮雜胞苷及地西他濱。

【0302】 一般而言，IMiD 為免疫調節劑。在一些實施例中，IMiD 係選自沙利度胺、來那度胺、泊馬度胺、CC-11006 及 CC-10015。

【0303】 在一些實施例中，附加藥劑係選自抗胸腺細胞球蛋白、重組人類粒細胞群落刺激因子(G-CSF)、粒細胞-單核細胞 CSF (GM-CSF)、紅血球生成刺激劑(ESA)及環孢黴素。

【0304】 在一些實施例中，附加藥劑為附加 JAK 抑制劑。在一些實施例中，附加 JAK 抑制劑為托法替尼或魯索替尼。

【0305】 在一些實施例中，一或多種本發明化合物可與一或多種其他激酶抑制劑組合使用，包括伊馬替尼，尤其是用於治療對伊馬替尼或其他激酶抑制劑具有抗性之患者。

【0306】 在一些實施例中，適合之化學治療劑可選自抗代謝物劑、拓撲異構酶 1 抑制劑、鉑類似物、紫杉烷、蔥環類及 EGFR 抑制劑及其組合。

【0307】 在一些實施例中，抗代謝物劑包括卡培他濱、吉西他濱及氟尿嘧啶(5-FU)。

【0308】 在一些實施例中，紫杉烷包括太平洋紫杉醇、Abraxane® (可注射懸浮液用太平洋紫杉醇蛋白結合粒子)及 Taxotere® (多烯紫杉醇)。

【0309】 在一些實施例中，鉑類似物包括奧沙利鉑、順鉑及卡鉑。

【0310】 在一些實施例中，拓撲異構酶 1 抑制劑包括伊立替康及拓撲替康。

【0311】 在一些實施例中，蔥環類包括阿黴素或阿黴素之脂質體調配物。

【0312】 在一些實施例中，化學治療劑為 FOLFIRINOX (5-FU、甲醯四氫葉酸、伊立替康及奧沙利鉑)。在一些實施例中，化學治療劑為吉西他濱及 Abraxane® (可注射懸浮液用太平洋紫杉醇蛋白結合粒子)。

【0313】 在一些實施例中，本發明之一或多種 JAK 抑制劑可與化學治療劑組合使用，用於治療癌症，諸如多發性骨髓瘤，且與對單獨化學治療劑之反應相比，可在不加重其毒性效應的情況下改良治療反應。舉例而言，用於治療多發性骨髓瘤之附加藥劑之實例可包括而不限於美法侖、美法侖加強體松[MP]、阿黴素、地塞米松及 Velcade (硼替佐米)。用於治療多發性骨髓瘤之其他附加藥劑包括 Bcr-Abl、Flt-3、RAF 及 FAK 激酶抑制劑。加和或協同效應為組合本發明之 JAK 抑制劑與附加藥劑之理想結果。此外，多發性骨髓瘤細胞對諸如地塞米松之藥劑之抗性在用本發明之 JAK 抑制劑治療後為可逆轉的。該等藥劑可與本發明化合物組合於單一或連續劑型中，或該等藥劑可作為單獨劑型同時或依序投與。

【0314】 在一些實施例中，向患者投與諸如地塞米松之皮質類固醇與至少一種 JAK 抑制劑之組合，其中與連續投與相反，地塞米松係間歇性地投與。

【0315】 在一些其他實施例中，本發明之一或多種 JAK 抑制劑與其他治療劑之組合可在骨髓移植或幹細胞之前、期間及/或之後投與患者。

【0316】 在一些實施例中，附加治療劑為醋酸氟輕鬆(Retisert®)或雙甲丙醯龍(AL-2178, Vexol, Alcon)。

【0317】 在一些實施例中，附加治療劑為環孢黴素(Restasis®)。

【0318】 在一些實施例中，附加治療劑為皮質類固醇。在一些實施例中，皮質類固醇為曲安西龍、地塞米松、氟輕鬆、可體松、潑尼松龍或富眼能。

【0319】 在一些實施例中，附加治療劑係選自 Dehydrex™ (Holles Labs)、Civamide (Opko)、透明質酸鈉(Vismed, Lantibio/TRB Chemedica)、

環孢黴素(ST-603, Sirion Therapeutics)、ARG101(T) (睪丸酮, Argentis)、AGR1012(P) (Argentis)、依卡倍特鈉(Senju-Ista)、吉法酯(Santen)、15-(s)-羥基二十碳四烯酸(15(S)-HETE)、西維美林、強力黴素(ALT-0501, Alacritty)、米諾環素、iDestrin™ (NP50301, Nascent Pharmaceuticals)、環孢黴素 A (Nova22007, Novagali)、土黴素(耐久黴素, MOLI1901, Lantibio)、CF101 ((2S,3S,4R,5R)-3,4-二羥基-5-[6-[(3-碘苯基)甲基氨基]嘌呤-9-基]-N-甲基-環氧丁烷-2-胺基甲醯, Can-Fite Biopharma)、沃克洛林(voclosporin) (LX212 或 LX214, Lux Biosciences)、ARG103 (Agentis)、RX-10045 (合成消退素類似物, Resolvix)、DYN15 (Dyanmis Therapeutics)、來格列酮(DE011, Daiichi Sanko)、TB4 (RegeneRx)、OPH-01 (Opthalmis Monaco)、PCS101 (Pericor Science)、REV1-31 (Evolutec)、Lacritin (Senju)、瑞巴匹特(Otsuka-Novartis)、OT-551 (Othera)、PAI-2 (University of Pennsylvania and Temple University)、毛果芸香鹼、他克莫司、吡美莫司(AMS981, Novartis)、依碳氯替潑諾、利妥昔單抗、地誇磷索四鈉 (INS365, Inspire)、KLS-0611 (Kissei Pharmaceuticals)、脫氫表雄固酮、阿那白滯素、依法珠單抗、黴酚酸鈉、依那西普(Embrel®)、羥氯奎、NGX267 (TorreyPines Therapeutics)、托珠單抗、吉西他濱、奧沙利鉑、L-天冬醯胺或沙利度胺。

【0320】 在一些實施例中，附加治療劑為抗血管生成劑、膽鹼激導性促效劑、TRP-1 受體調節劑、鈣離子通道阻斷劑、黏蛋白促分泌劑、MUC1 刺激劑、鈣調磷酸酶抑制劑、皮質類固醇、P2Y2 受體促效劑、毒蕈鹼受體促效劑、mTOR 抑制劑、另一 JAK 抑制劑、Bcr-Abl 激酶抑制劑、Flt-3 激酶抑制劑、RAF 激酶抑制劑及 FAK 激酶抑制劑，諸如 WO 2006/056399 中所描述者，該文獻係以全文引用之方式併入本文中。在一些實施例中，附加治療劑為四環素衍生物(例如米諾環素或強力黴素)。在一些實施例中，附加治療劑結合 FKBP12。

【0321】 在一些實施例中，附加治療劑為烷基化劑或 DNA 交聯劑；抗代謝物/脫甲基劑(例如 5-氟尿嘧啶、卡培他濱或阿紮胞苷)；抗激素療法(例如激素受體拮抗劑、SERM 或芳香酶抑制劑)；有絲分裂抑制劑(例如長春新

鹼或太平洋紫杉醇)；拓撲異構酶(I 或 II)抑制劑(例如米托蒽醌及伊立替康)；細胞凋亡誘導劑(例如 ABT-737)；核酸療法(例如反義或 RNAi)；核受體配位體(例如促效劑及/或拮抗劑：全反式視黃酸或貝沙羅汀)；後生靶向劑，諸如組蛋白脫乙酰酶抑制劑(例如伏立諾他)、低甲基化劑(例如地西他濱)；蛋白質穩定性調節劑，諸如 Hsp90 抑制劑、泛素及/或泛素樣結合或解離分子；或 EGFR 抑制劑(埃羅替尼)。

【0322】 在一些實施例中，附加治療劑為潤眼滴劑(亦稱為「人造淚液」)，其包括但不限於含有聚乙烯醇、羥丙基甲基纖維素、甘油、聚乙二醇(例如 PEG400)或羧甲基纖維素之組成物。人造淚液可藉由補償淚膜之潤濕及潤滑能力下降而輔助治療乾眼症。在一些實施例中，附加治療劑為黏液溶解藥，諸如 N-乙酰基半胱氨酸，其可與黏蛋白相互作用且因此降低淚膜之黏性。

【0323】 在一些實施例中，附加治療劑包括抗生素、抗病毒劑、抗真菌劑、麻醉劑、消炎劑(包括類固醇消炎劑及非類固醇消炎劑)及抗過敏劑。適合之藥劑的實例包括胺基糖苷，諸如阿米卡星、正大黴素、托普黴素、鏈黴素、奈替米星及卡那黴素；氟喹諾酮，諸如環丙沙星、諾氟沙星、氧氟沙星、曲伐沙星、洛美沙星、左氧氟沙星及依諾沙星；萘啶；磺胺；多黏菌素；氯黴素；新黴素；巴母黴素；甲磺酸黏菌素；桿菌肽；萬古黴素；四環素；利福平及其衍生物(「利福平類」)；環絲胺酸； β -內酰胺；頭孢菌素；兩性黴素；氟康唑；5-氟胞嘧啶；遊黴素；黴康唑；酮康唑；皮質類固醇；雙氯芬酸；氟比洛芬；酮咯酸；舒洛芬；色甘酸；洛度沙胺；左卡巴司丁；萘唑啉；安他唑啉；非尼臘明；或氮雜內酯類抗生素。

醫藥調配物及劑型

【0324】 當用作藥物時，本發明化合物可呈醫藥組成物形式投與。此等組成物可用醫藥技術中所熟知的方式製備，且可藉由各種途徑投與，視需要局部治療或全身治療及欲治療之區域而定。投與可為局部(包括經皮、經表皮、經眼及黏膜，包括鼻內、陰道及直腸遞送)、經肺(例如藉由吸入或吹入粉劑或氣霧劑，包括藉由噴霧器；氣管內或鼻內)、經口或非經腸。非

經腸投與包括靜脈內、動脈內、皮下、腹膜內、肌肉內或注射或輸注；或顱內，例如鞘內或心室內投與。非經腸投與可呈單次團注劑量形式，或可例如藉由連續灌注泵。用於局部投與之醫藥組成物及調配物可包括經皮貼片、軟膏、洗液、乳膏、凝膠、滴劑、栓劑、噴霧、液體及粉劑。習知醫藥載劑、水性、粉狀或油性基質、增稠劑及其類似物可能為必需的或理想的。

【0325】 本發明亦包括醫藥組成物，其含有作為活性成分之本發明化合物或其醫藥學上可接受之鹽與一或多種醫藥學上可接受之載劑的組合。在一些實施例中，該組成物適合於局部投與。在製造本發明之組成物時，典型地將活性成分與賦形劑混合，藉由賦形劑稀釋或包裝在呈例如膠囊、香囊、紙張或其他其他容器形式之此種載劑內。當賦形劑充當稀釋劑時，其可為充當活性成分之媒劑、載劑或介質的固體、半固體或液體材料。因而，該等組成物可呈錠劑、丸劑、粉劑、口含錠、香囊、扁囊、酏劑、懸浮液、乳液、溶液、糖漿、氣霧劑(呈固體形式或處於液體介質中)、含有例如至多 10 重量%活性化合物之軟膏、軟明膠膠囊及硬明膠膠囊、栓劑、無菌可注射溶液及無菌包裝粉劑形式。

【0326】 在製備調配物時，活性化合物在與其他成分組合之前可經研磨以獲得適當粒度。若活性化合物實質上不溶，則其可研磨至小於 200 目之粒度。若活性化合物實質上為水溶性的，則可藉由研磨來調節粒度以獲得在調配物中實質上均勻分佈，例如約 40 目。

【0327】 本發明化合物可使用已知研磨程序進行研磨，諸如濕磨，以獲得適合於錠劑形成且適合於其他調配物類型之粒度。本發明化合物之細粉狀(奈米粒子)製劑可藉由此項技術中已知的方法來製備，例如參見國際申請案第 WO 2002/000196 號。

【0328】 適合之賦形劑的一些實例包括乳糖、葡萄糖、蔗糖、山梨醇、甘露醇、澱粉、阿拉伯樹膠、磷酸鈣、海藻酸鹽、黃芪膠、明膠、矽酸鈣、微晶纖維素、聚乙烯吡咯啉酮、纖維素、水、糖漿及甲基纖維素。該等調配物可另外包括：潤滑劑，諸如滑石、硬脂酸鎂及礦物油；潤濕劑；乳化

及懸浮劑；防腐劑，諸如羥基苯甲酸甲酯及羥基苯甲酸丙酯；甜味劑；及調味劑。本發明之組成物可經可以調配以便在藉由使用此項技術中已知的程序投與患者之後獲得活性成分之快速、持續或延遲釋放。

【0329】 在一些實施例中，醫藥組成物包含矽化微晶纖維素(SMCC)及至少一種本文中所描述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽。在一些實施例中，矽化微晶纖維素包含約 98%微晶纖維素及約 2%二氧化矽 w/w。

【0330】 在一些實施例中，該組成物為包含至少一種本文中所描述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及至少一種醫藥學上可接受之載劑的持續釋放組成物。在一些實施例中，該組成物包含至少一種本文中所描述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及至少一種選自微晶纖維素、乳糖單水合物、羥丙基甲基纖維素及聚環氧乙烷之組分。在一些實施例中，該組成物包含至少一種本文中所描述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及微晶纖維素、乳糖單水合物及羥丙基甲基纖維素。在一些實施例中，該組成物包含至少一種本文中所描述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及微晶纖維素、乳糖單水合物及聚環氧乙烷。在一些實施例中，該組成物進一步包含硬脂酸鎂或二氧化矽。在一些實施例中，微晶纖維素為 Avicel PH102™。在一些實施例中，乳糖單水合物為 Fast-flo 316™。在一些實施例中，羥丙基甲基纖維素為羥丙基甲基纖維素 2208 K4M (例如 Methocel K4 M Premier™) 及/或羥丙基甲基纖維素 2208 K100LV (例如 Methocel K00LV™)。在一些實施例中，聚環氧乙烷為聚環氧乙烷 WSR 1105 (例如 Polyox WSR 1105™)。

【0331】 在一些實施例中，使用濕式粒化法來產生該組成物。在一些實施例中，使用乾式粒化法來產生該組成物。

【0332】 該等組成物可調配成單位劑量形式，各劑量含有約 5 至約 1,000 mg (1 g)，更通常約 100 mg 至約 500 mg 活性成分。在一些實施例中，各劑量含有約 10 mg 活性成分。在一些實施例中，各劑量含有約 50 mg 活性成分。在一些實施例中，各劑量含有約 25 mg 活性成分。術語「單位劑量形式」係指適合作為整體劑量用於人類個體及其他哺乳動物的物理離散

單元，各單位含有經計算可產生所要治療效應且與適合之醫藥賦形劑締合之預定量之活性物質。

【0333】 在一些實施例中，本發明之組成物含有約 5 mg 至約 50 mg 活性成分。熟習此項技術者應瞭解，此包括包含約 5 mg 至約 10 mg、約 10 mg 至約 15 mg、約 15 mg 至約 20 mg、約 20 mg 至約 25 mg、約 25 mg 至約 30 mg、約 30 mg 至約 35 mg、約 35 mg 至約 40 mg、約 40 mg 至約 45 mg 或約 45 mg 至約 50 mg 活性成分之化合物或組成物。

【0334】 在一些實施例中，本發明之組成物含有約 50 mg 至約 500 mg 活性成分。熟習此項技術者應瞭解，此包括含有約 50 mg 至約 100 mg、約 100 mg 至約 150 mg、約 150 mg 至約 200 mg、約 200 mg 至約 250 mg、約 250 mg 至約 300 mg、約 350 mg 至約 400 mg 或約 450 mg 至約 500 mg 活性成分之化合物或組成物。

【0335】 在一些實施例中，本發明之組成物含有約 500 mg 至約 1,000 mg 活性成分。熟習此項技術者應瞭解，此包括含有約 500 mg 至約 550 mg、約 550 mg 至約 600 mg、約 600 mg 至約 650 mg、約 650 mg 至約 700 mg、約 700 mg 至約 750 mg、約 750 mg 至約 800 mg、約 800 mg 至約 850 mg、約 850 mg 至約 900 mg、約 900 mg 至約 950 mg 或約 950 mg 至約 1,000 mg 活性成分之化合物或組成物。

【0336】 活性化合物可在較寬劑量範圍內有效且一般以醫藥學有效量投與。然而，應理解，實際投與之化合物之量通常將由醫師根據相關情形決定，包括欲治療之病狀、所選投與途徑、所投與之實際化合物、個別患者之年齡、體重及反應、患者症狀之嚴重程度及其類似因素。

【0337】 為了製備諸如錠劑之固體組成物，將主要活性成分與醫藥賦形劑混合以形成含有本發明化合物之均質混合物的固體預調配組成物。當此等預調配組成物稱為同質時，活性成分典型地均勻分散於組成物中，使得該組成物可容易地再分成相等有效單位劑量形式，諸如錠劑、丸劑及膠囊劑。隨後將此固體預調配物再分成含有例如約 0.1 至約 1000 mg 本發明活性成分之上述類型之單位劑量形式。

【0338】 本發明之錠劑或丸劑可經塗佈或混配以獲得可提供延長作用時間之優勢的劑量形式。舉例而言，錠劑或丸劑可包含內部劑量及外部劑量組分，後者呈處於前者上之封套形式。兩種組分可由腸衣層隔開，該腸衣層用於抵抗在胃中崩解且允許內部組分完整進入十二指腸或延遲釋放。多種物質可用於該等腸衣層或包衣，該等材料包括許多聚合酸及聚合酸與諸如蟲膠、鯨蠟醇及乙酸纖維素之材料的混合物。

【0339】 可併入本發明之化合物及組成物以用於經口或藉由注射投與之液體形式包括水溶液、經適當調味之糖漿、水或油懸浮液及含可食用油(諸如棉籽油、芝麻油、椰子油或花生油)以及酞劑及類似醫藥媒劑之調味乳液。

【0340】 用於吸入或吹入之組成物包括處於醫藥學上可接受之水性或有機溶劑或其混合物中之溶液及懸浮液及粉劑。液體或固體組成物可含有如上文所描述之適合之醫藥學上可接受之賦形劑。在一些實施例中，組成物係藉由口或鼻呼吸途徑投與以獲得局部或全身效應。組成物可藉由使用惰性氣體而霧化。霧化溶液可由霧化裝置直接呼吸，或可將霧化裝置連接於面具帳篷或間歇性正壓呼吸機。溶液、懸浮液或粉末組成物可以適當方式由遞送調配物之裝置經口或鼻投與。

【0341】 局部調配物可含有一或多種習知載劑。在一些實施例中，軟膏可含有水及一或多種選自例如液體石蠟、聚氧乙烯烷基醚、丙二醇、白凡士林及其類似物之疏水性載劑。乳膏之載劑組成物可基於水與甘油及一或多種其他組分(例如單硬脂酸甘油酯、PEG-單硬脂酸甘油酯及鯨蠟基硬脂醇)之組合。凝膠可使用異丙醇及水與其他組分(諸如甘油、羥乙基纖維素及其類似物)之適合組合進行調配。在一些實施例中，局部調配物含有至少約 0.1 wt%、至少約 0.25 wt%、至少約 0.5 wt%、至少約 1 wt%、至少約 2 wt% 或至少約 5 wt% 本發明化合物。局部調配物可適當地包裝於例如 100 g 之管內，視情況關聯有治療所選適應症(例如牛皮癬或其他皮膚病狀)之說明書。

【0342】 投與患者之化合物或組成物之量將視投與何物、投與目的(諸如預防或治療)、患者狀態、投與方式及其類似因素而變化。在治療應用

中，組成物可以足以治癒或至少部分阻滯疾病及其併發症之症狀的量投與已罹患該疾病之患者。有效劑量將視所治療之疾病病狀以及主治臨床醫師視諸如疾病嚴重程度、患者年齡、體重及一般狀況之因素而作出之判斷及其類似因素而定。

【0343】 投與患者之組成物可呈上述醫藥組成物形式。此等組成物可藉由習知滅菌技術進行滅菌，或可進行無菌過濾。水溶液可經包裝以便依原樣使用，或經凍乾，在投與之前將凍乾製劑與無菌水性載劑組合。化合物製劑之 pH 值典型地將在 3 與 11 之間，更佳為 5 至 9 且最佳為 7 至 8。應理解，使用某些前述賦形劑、載劑或穩定劑將形成醫藥鹽。

【0344】 本發明化合物之治療劑量可根據例如進行治療之特定用途、化合物之投與方式、患者之健康狀況及處方醫師之判斷而變化。本發明化合物在醫藥組成物中之比例或濃度可視許多因素而變化，包括劑量、化學特徵(例如疏水性)及投與途徑。舉例而言，本發明化合物可以含有約 0.1% 至約 10% w/v 該化合物之水性生理學緩衝溶液形式提供以用於非經腸投與。一些典型劑量範圍為每天約 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至約 1 g/kg 體重。在一些實施例中，劑量範圍為每天約 0.01 mg/kg 至約 100 mg/kg 體重。劑量有可能視諸如疾病或病症之類型及進展程度、特定患者之總體健康狀態、所選化合物之相對生物學效力、賦形劑配方及其投與途徑之變數而變化。有效劑量可由得自於活體外或動物模型測試系統之劑量反應曲線外推。

【0345】 本發明之組成物可進一步包括一或多種附加醫藥劑，諸如化學治療劑、類固醇、消炎化合物或免疫抑制劑，其實例於上文中列出。

【0346】 在一些實施例中，化合物或其醫藥學上可接受之鹽係作為眼用組成物投與。因此，在一些實施例中，該等方法包括投與該化合物或其醫藥學上可接受之鹽及眼用可接受之載劑。在一些實施例中，眼用組成物為液體組成物、半固體組成物、插入物、膜、微粒或奈米粒子。

【0347】 在一些實施例中，眼用組成物為液體組成物。在一些實施例中，眼用組成物為半固體組成物。在一些實施例中，眼用組成物為局部組成物。局部組成物包括但不限於液體及半固體組成物。在一些實施例中，

眼用組成物為局部組成物。在一些實施例中，局部組成物包含水溶液、水性懸浮液、軟膏或凝膠。在一些實施例中，眼用組成物係局部施用於眼前部、上眼皮下、下眼瞼上及結膜囊中。在一些實施例中，眼用組成物經滅菌。滅菌可藉由已知技術來實現，如對溶液進行滅菌過濾或藉由安瓿中加熱溶液以備使用。本發明之眼用組成物可進一步含有適合於製備眼用調配物之醫藥賦形劑。該等賦形劑之實例為防腐劑、緩衝劑、螯合劑、抗氧化劑及用於調節滲透壓之鹽。

【0348】 如本文中所示使用，術語「眼用可接受之載劑」係指可含有及釋放化合物或其醫藥學上可接受之鹽且與眼睛相容之任何物質。在一些實施例中，眼用可接受之載劑為水或水性溶液或懸浮液，但亦包括油，諸如用於製造軟膏及聚合基質，諸如用於眼部插入物之油類。在一些實施例中，組成物可為包含化合物或其醫藥學上可接受之鹽的水性懸浮液。液體眼用組成物，包括軟膏及懸浮液，可具有適合於所選投與途徑之黏性。在一些實施例中，眼用組成物之黏性在約 1,000 至約 30,000 厘泊範圍內。

【0349】 在一些實施例中，眼用組成物可進一步包含以下各項中之一或多項：界面活性劑、佐劑、緩衝劑、抗氧化劑、張力調節劑、防腐劑(例如 EDTA、BAK (苯紮氯銨)、亞氯酸鈉、過硼酸鈉、聚季銨鹽-1)、增稠劑或黏度調節劑(例如羧甲基纖維素、羥甲基纖維素、聚乙烯醇、聚乙二醇、乙二醇 400、丙二醇羥甲基纖維素、羥丙基瓜耳膠、透明質酸及羥丙基纖維素)及其類似物。調配物中之添加劑可包括但不限於氯化鈉、碳酸氫鈉、山梨酸、對羥基苯甲酸甲酯、對羥基苯甲酸丙酯、洛赫西定、蓖麻油及過硼酸鈉。

【0350】 水性眼用組成物(溶液或懸浮液)一般不含生理學上或眼用有害之組分。在一些實施例中，將經純化之水或去離子水用於組成物中。可藉由添加任何生理學上及眼用可接受之 pH 值調節酸、鹼或緩衝劑將 pH 值調節至約 5.0 至 8.5 範圍內。酸之眼用可接受之實例包括乙酸、硼酸、檸檬酸、乳酸、磷酸、鹽酸及其類似酸，且鹼之實例包括氫氧化鈉、磷酸鈉、硼酸鈉、檸檬酸鈉、乙酸鈉、乳酸鈉、緩血酸胺、三羥甲基胺基甲烷及其

類似物。鹽及緩衝劑包括檸檬酸鹽/葡萄糖、碳酸氫鈉、氯化銨及上述酸與鹼之混合物。

【0351】 在一些實施例中，該方法包括形成或提供與眼睛外表面接觸之治療劑貯庫。貯庫係指不會由淚液或其他眼部清除機制快速移除之治療劑源。由此藉由單次施用允許眼睛外表面上之流體中繼續、持續存在高濃度之治療劑。不希望受任何理論束縛，據信吸收及滲透可視溶解之藥物濃度及外部組織與含藥物之流體的接觸持續時間而定。在藥物藉由眼部流體清除及/或吸收至眼組織中而移除時，再提供藥物，例如自貯庫溶解於補充之眼部流體中。因此，使用貯庫可能更容易促進眼部組織負載更多不溶性治療劑。在一些實施例中，貯庫可保持多達八小時或更久。在一些實施例中，眼用貯庫形式包括但不限於水性聚合物懸浮液、軟膏及固體插入物。

【0352】 在一些實施例中，眼用組成物為軟膏或凝膠。在一些實施例中，眼用組成物為基於油之遞送媒劑。在一些實施例中，該組成物包含石蠟油或羊毛脂基質，其中添加有活性成分(通常 0.1%至 2%)及賦形劑。常用基質可包括但不限於礦物油、石蠟油及其組合。在一些實施例中，軟膏呈帶狀施用於下眼瞼上。

【0353】 在一些實施例中，眼用組成物為眼用插入物。在一些實施例中，眼用插入物為生物學惰性的、軟的、生物可消化的、黏彈性的、在曝露於治療劑之後對滅菌穩定的、抗氣載細菌感染的、生物可消化的、生物相容的及/或黏彈性的。在一些實施例中，插入物包含眼用可接受之基質，例如聚合基質。該基質典型地為聚合物，且該治療劑一般分散於其中或與聚合物基質鍵結。在一些實施例中，治療劑可藉由溶解或共價鍵水解而自該基質中緩慢釋放。在一些實施例中，聚合物為生物可消化的(可溶的)且其溶解速率可控制分散於其中之治療劑的釋放速率。在另一形式中，聚合物基質為諸如藉由水解而分解，從而釋放與其鍵結或分散於其中之治療劑的生物可降解聚合物。在其他實施例中，基質及治療劑可環繞有附加聚合物包衣以進一步控制釋放。在一些實施例中，插入物包含生物可降解聚合物，諸如聚己內酯(PCL)、乙烯/乙酸乙烯酯共聚物(EVA)、聚氰基丙烯酸烷基

酯、聚胺基甲酸酯、耐綸或聚(dl-乳交酯-乙交酯)共聚物(PLGA)或此等物質中任一者之共聚物。在一些實施例中，該治療劑係分散於基質材料中，或分散於聚合之前的用於製造基質材料的單體組成物中。在一些實施例中，治療劑之量為約 0.1%至約 50%或約 2%至約 20%。在其他實施例中，使用生物可降解或生物可消化之聚合物基質，使得無須移除用過的插入物。在生物可降解或生物可消化聚合物降解或溶解時，釋放治療劑。

【0354】 在其他實施例中，眼用插入物包含聚合物，包括但不限於 Wagh 等人, 「Polymers used in ocular dosage form and drug delivery systems」, *Asian J. Pharm.*, 第 12-17 頁(2008 年 1 月)中所描述之聚合物，該文獻係以全文引用之方式併入本文中。在一些實施例中，插入物包含選自聚乙烯吡咯啉酮(PVP)、丙烯酸酯或甲基丙烯酸酯聚合物或共聚物(例如得自 Rohm 或 Degussa 之 Eudragit®家族聚合物)、羥甲基纖維素、聚丙烯酸、聚(醯胺基胺)枝狀物、聚(二甲基矽氧烷)、聚環氧乙烷、聚(丙交酯-乙交酯)共聚物、聚(甲基丙烯酸 2-羥基乙酯)、聚(乙烯醇)或聚(富馬酸伸丙酯)之聚合物。在一些實施例中，插入物包含 Gelfoam® R。在一些實施例中，插入物為 450 kDa 聚丙烯酸-半胱胺酸結合物。

【0355】 在一些實施例中，眼用組成物為眼用膜。適合於該等膜之聚合物包括但不限於 Wagh 等人(如上)中所描述之聚合物。在一些實施例中，該膜為軟接觸式透鏡，諸如由 N,N-二乙基丙烯醯胺與跟乙二醇二甲基丙烯酸酯交聯之甲基丙烯酸之共聚物製成的接觸式透鏡。

【0356】 在一些實施例中，眼用組成物包含微球體或奈米粒子。在一些實施例中，微球體包含明膠。在一些實施例中，將微球體經玻璃體內或視網膜下注入眼後部、脈絡膜空間、鞏膜。在一些實施例中，微球體或奈米粒子包含聚合物，包括但不限於 Wagh 等人(如上)中所描述之聚合物，該文獻係以全文引用之方式併入本文中。在一些實施例中，該聚合物為殼聚糖、諸如聚丙烯酸之聚羧酸、白蛋白粒子、透明質酸酯、聚衣康酸、聚(丁基)氰基丙烯酸酯、聚己內酯、聚(異丁基)己內酯、聚(乳酸-羥基乙酸)共聚物或聚(乳酸)。在一些實施例中，微球體或奈米粒子包含固體脂質粒子。

【0357】 包含一些實施例中，眼用組成物包含離子交換樹脂。在一些實施例中，離子交換樹脂為無機沸石或合成有機樹脂。在一些實施例中，離子交換樹脂包括但不限於 Wagh 等人(如上)中所描述之離子交換樹脂，該文獻係以全文引用之方式併入本文中。在一些實施例中，離子交換樹脂為經部分中和之聚丙烯酸。

【0358】 在一些實施例中，眼用組成物為水性聚合物懸浮液。在一些實施例中，治療劑或聚合物懸浮劑係懸浮於水性介質中。在一些實施例中，水性聚合物懸浮液可經調配以使其在眼中之黏性與其在投與眼中之前所具有的黏性相同或實質上相同。在一些實施例中，其可經調配以使得與淚液接觸後凝膠化增加。

經標記化合物及檢定方法

【0359】 本發明之另一態樣涉及經標記之本發明化合物(經放射標記、經螢光標記等)，其不僅適用於成像技術，而且適用於活體外及活體內檢定，用於對組織樣品(包括人類)中之 JAK 進行定位及定量，及用於藉由抑制經標記化合物之結合來識別 JAK 配位體。因此，本發明包括含有該等經標記化合物之 JAK 檢定。

【0360】 本發明進一步包括經同位素標記之本發明化合物。「經同位素」或「放射標記」之化合物為一或多個原子由原子質量或質量數不同於自然界中通常發現(亦即，天然存在)之原子質量或質量數不同的原子置換或取代的本發明化合物。可併入本發明化合物中之適合放射性核素包括但不限於 ^3H (氚亦寫作 T)、 ^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{13}N 、 ^{15}N 、 ^{15}O 、 ^{17}O 、 ^{18}O 、 ^{18}F 、 ^{35}S 、 ^{36}Cl 、 ^{82}Br 、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 、 ^{77}Br 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 及 ^{131}I 。併入本發明之經放射標記化合物中之放射性核素將視該經放射標記化合物之特定應用而定。舉例而言，對於活體外 JAK 標記及競爭檢定，併入 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{82}Br 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S 或之化合物一般將最適用。對於放射成像應用， ^{11}C 、 ^{18}F 、 ^{125}I 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{131}I 、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 或 ^{77}Br 一般將最適用。

【0361】 應理解，「經放射標記」或「經標記之化合物」為併入至少一種放射性核素之化合物。在一些實施例中，放射性核素係選自由 ^3H 、 ^{14}C 、

^{125}I 、 ^{35}S 及 ^{82}Br 組成之群。在一些實施例中，化合物併入 1、2 或 3 個氬原子。

【0362】 本發明可進一步包括用於將放射性同位素併入本發明化合物中之合成方法。用於將放射性同位素併入有機化合物中之合成方法在此項技術中為熟知的，且熟習此項技術者將容易識別適用於本發明化合物之方法。

【0363】 經標記之本發明化合物可用於篩選檢定以鑑別/評估化合物。舉例而言，可藉由追蹤標記以監測經標記之新合成或鑑別之化合物(亦即，測試化合物)與 JAK 接觸時之濃度變化來評估其結合 JAK 的能力。舉例而言，可評估測試化合物(經標記)減少已知可結合 JAK 之另一化合物(即，標準化合物)之結合的能力。因此，測試化合物與標準化合物競爭結合 JAK 之能力直接與其結合親和力相關。相反，在一些其他篩選檢定中，標準化合物經標記且測試化合物未經標記。因此，監測經標記之標準化合物之濃度以評估標準化合物與測試化合物之間的競爭，且由此確定測試化合物之相對結合親和力。

套組

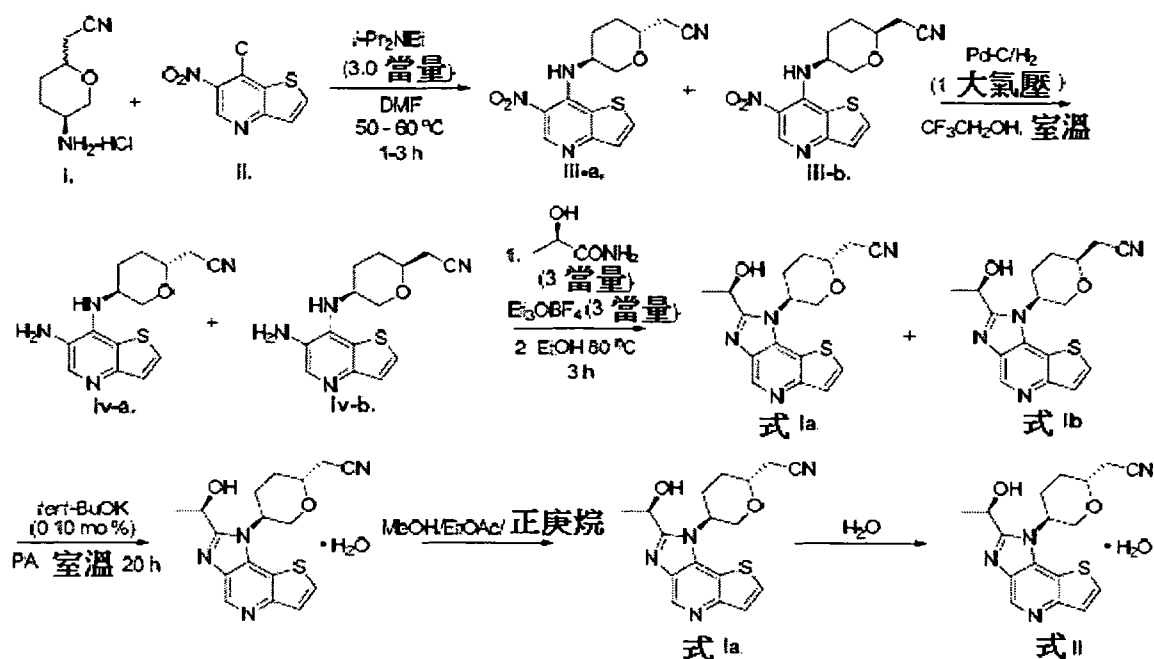
【0364】 本發明亦包括適用於例如治療或預防 JAK 相關疾病或病症(諸如癌症)之醫藥套組，其包括一或多個含有包含治療有效量之本發明化合物之醫藥組成物的容器。如熟習此項技術者應瞭解，該等套組可視需要進一步包括多種習知醫藥套組組分中的一或多種，諸如含一或多種醫藥學上可接受之載劑的容器、附加容器等。套組中亦可包括呈插頁形式或呈標籤形式之說明書，指示欲投與之組分之量、關於投藥之指導及/或關於混合組分之指導。

合成

【0365】 可根據以上實施例且如以下流程 I 至 III 進一步說明來合成式 Ia 化合物。在流程 I 中，(i)與(ii)在胺鹼(例如 N,N-二異丙基乙胺)存在下進行親核性偶合，獲得化合物(iii-a)與化合物(iii-b)之異構混合物。隨後在氫化條件下(例如在氫氣及氫化觸媒(例如鈀/碳)存在下)還原硝基，獲得化合物

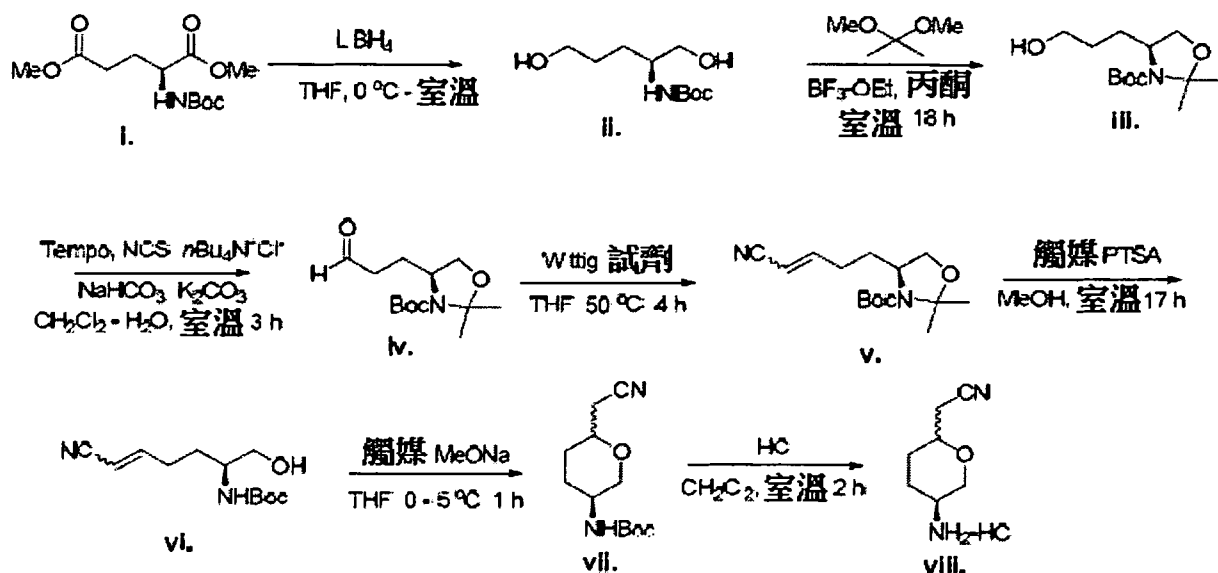
(iv-a)與化合物(iv-b)之異構混合物。(iv-a)及(iv-b)與(R)-(+)-乳醯胺在烷基氧鎂試劑(例如三乙基氧鎂四氟硼酸鹽)存在下偶合且隨後環化,獲得具有式 Ia 及式 Ib 之稠合三環化合物之混合物。隨後在反消旋條件下(例如在強鹼(例如第三丁醇鉀)存在下)反應,產生式 Ia 化合物之單一異構體 2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羥基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙腈,其可視情況水合以形成式 II 之單水合物化合物。

流程 I



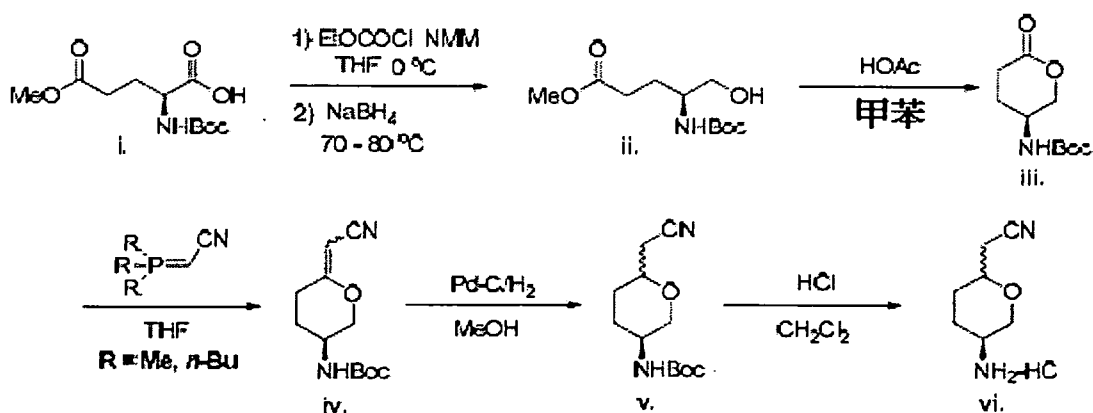
【0366】 在流程 II 中,可藉由使(i)在還原劑(例如硼氫化鋰)存在下反應來獲得經胺保護之二醇(ii),在 2,2-二甲氧基丙烷及三氟化硼乙醚合物存在下進行不對稱保護以形成噁唑啉(iii),從而產生式 VI 化合物。游離醇(iii)在氧化條件下反應,獲得醛(iv),隨後在改進型 Wittig-Horner 條件下(例如在(氰基甲基)膦酸二乙酯及第三丁醇鉀存在下)反應,以形成順式異構體與反式異構體之混合物(v)。在強酸(例如對甲苯磺酸)存在下對(v)進行去保護,獲得化合物(vi),在強鹼(例如甲醇鈉)存在下進行環化,以形成經胺保護之吡喃化合物(vii)。在標準條件下(例如在強酸存在下)進行去保護,獲得胺鹽(viii)。

流程 II



【0367】 在流程 III 中，可產生式 VI 化合物。因此，對羧酸(i)進行不對稱羰基還原，獲得羥基酯化合物(ii)，隨後在弱有機酸(例如乙酸)存在下進行環化，以形成胺基內酯(iii)。使(iii)在改良 Wittig 條件下(例如在氰基甲基(三甲基)氯化磷及第三丁醇鉀存在下或者在三丁基(氰基甲基)氯化磷及第三丁醇鉀存在下)反應，獲得(iv)之順式異構體與反式異構體之混合物。在氫氣及氫化觸媒(例如鈀/碳)存在下對烯烴(iv)進行還原，獲得(v)之 *R* 異構體與 *S* 異構體之混合物。在標準條件下(例如在強酸存在下)對胺進行去保護，獲得胺鹽(vi)。

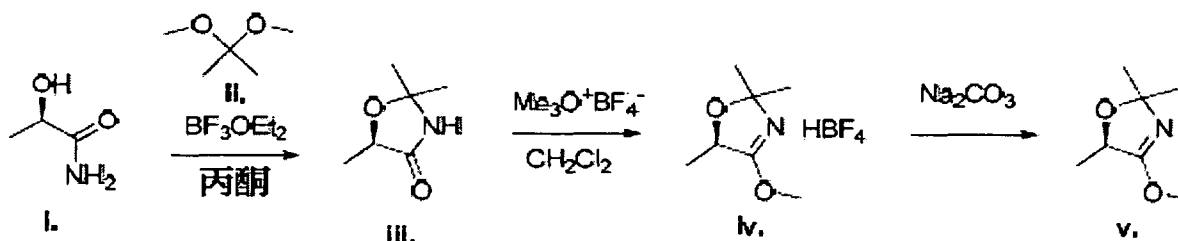
流程 III



【0368】 舉例而言，可根據流程 IV 中所示之方法製備中間物(*R*)-4-甲氧基-2,2,5-三甲基-2,5-二氫噁唑。舉例而言，(*R*)-2-羥基丙醯胺(i)與 2,2-二甲氧基丙烷(ii)在三鹵化硼乙醚合物(例如 $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$)存在下反應，獲得(*R*)-2,2,5-三甲基噁唑啉-4-酮(iii)。使化合物(iii)與甲基化劑(例如 $\text{Me}_3\text{O}^+\text{BF}_4^-$)

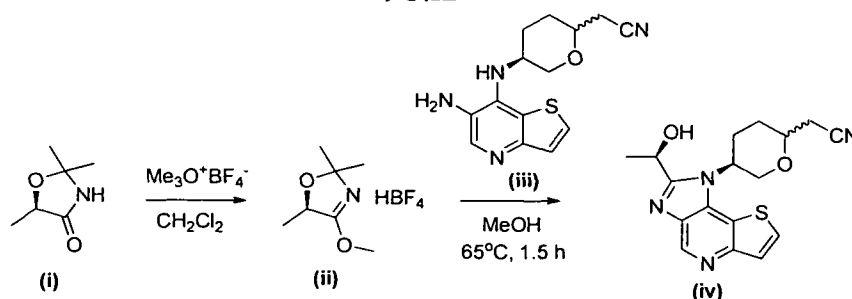
反應，且隨後在鹼(例如碳酸鈉)存在下進行反應，獲得(R)-4-甲氧基-2,2,5-三甲基-2,5-二氫噁唑(v)。

流程 IV



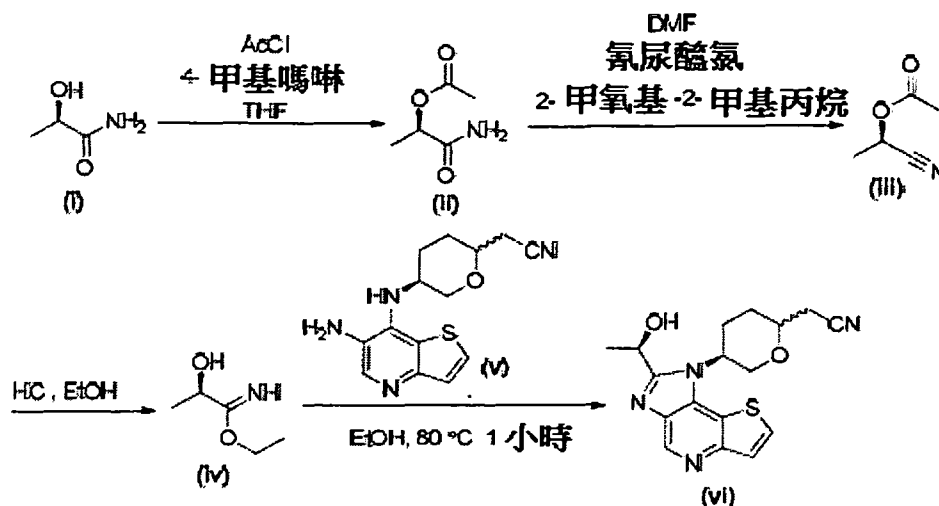
亦可例如根據流程 V 中所示之方法製備式 Ia 化合物與式 Ib 化合物之混合物。首先使(R)-2,2,5-三甲基噁唑啉-4-酮(i)與甲基化劑(例如 $\text{Me}_3\text{O}^+\text{BF}_4^-$)反應，以形成(R)-4-甲氧基-2,2,5-三甲基-2,5-二氫噁唑(ii)，隨後與2-((2R,5S)-5-(6-氨基噻吩并[3,2-b]吡啶-7-基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙腈及2-((2S,5S)-5-(6-氨基噻吩并[3,2-b]吡啶-7-基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙腈之混合物(iii)反應，獲得式 Ia 化合物與式 Ib 化合物之混合物(iv)。

流程 V



【0369】 亦可例如根據流程 VI 中所示之方法製備式 Ia 化合物與式 Ib 化合物之混合物。首先在標準醇保護條件(例如與乙醯氯反應)下保護(R)-2-羥基丙醯胺(i)，以形成(R)-乙酸-1-胺基-1-側氧基-丙-2-酯(ii)，隨後與氰尿酸反應，以形成(R)-乙酸-1-氰基乙酯(iii)。隨後在酸觸媒(例如氯化氫)存在下使(iii)與乙醇反應，獲得(R)-2-羥基丙亞胺酸乙酯(iv)，隨後與2-((2R,5S)-5-(6-氨基噻吩并[3,2-b]吡啶-7-基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙腈與2-((2S,5S)-5-(6-氨基噻吩并[3,2-b]吡啶-7-基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙腈之混合物(v)反應，形成式 Ia 化合物與式 Ib 化合物之混合物(vi)。

流程 VI



實例

【0370】 將藉由特定實例更詳細地描述本發明。以下實例係出於說明之目的而提供且不意欲以任何方式限制本發明。熟習此項技術者應容易地認識到可改變或變更以產生本質上相同之結果的各種不重要參數。

【0371】 在 Waters 質量導向型分餾系統上對所製備之一些化合物進行開放取用製備型 LC-MS 純化。用於操作此等系統之基本設備設定、方案及控制軟體已詳細描述於文獻中。參見例如「Two-Pump At Column Dilution Configuration for Preparative LC-MS」, K. Blom, *J. Combi. Chem.*, 4, 295 (2002); 「Optimizing Preparative LC-MS Configurations and Methods for Parallel Synthesis Purification」, K. Blom, R. Sparks, J. Doughty, G. Everlof, T. Haque, A. Combs, *J. Combi. Chem.*, 5, 670 (2003); 及「Preparative LC-MS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization」, K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, *J. Combi. Chem.*, 6, 874-883 (2004)。典型地以下條件下對所分離之化合物進行分析型液相層析質譜(LCMS)以獲得純度：儀器：Agilent 1100 系列，LC/MSD，管柱：Waters Sunfire™ C₁₈ 5 μm，2.1×5.0 mm，緩衝液：移動相 A：0.025% TFA/水及移動相 B：0.025% TFA/乙腈；梯度 2%至 80% B，3 分鐘，流速 1.5 mL/min。

【0372】 使用差示掃描量熱法(DSC)來分析所製備之一些化合物。典型 DSC 條件如下：

TA 儀器差示掃描量熱儀，Q200 型，具有自動取樣器。溫度範圍：30 °C至 350 °C；溫升速率：10 °C/min；Tzero 鋁樣品盤及蓋；氮氣流 50 mL/min。

【0373】 使用熱解重量分析(TGA)來分析所製備之一些化合物。典型 TGA 條件如下：

TA 儀器熱解重量分析儀，Q500 型。溫度範圍：20°C 至 600°C；溫升速率：20°C/min；氮氣吹掃流：40 mL/min；平衡吹掃流：60 mL/min；樣品吹掃流；鉑樣品盤。

PerkinElmer 熱解重量分析儀，Pyris 1 型。溫度範圍：25°C 至 300°C；溫升速率：10°C/min；氮氣吹掃氣流：60 mL/min；TGA 陶瓷坩堝樣品夾。

【0374】 使用 X 射線粉末繞射(XRPD)來分析所製備之一些化合物。典型 XRPD 條件如下：

Bruker D2 PHASER X 射線粉末繞射儀；X 射線輻射波長：1.05406 Å CuKAI；X 射線功率：30 KV、10 mA；樣品粉末：分散於零背景樣品夾上；一般量測條件：起始角度 5 度；終止角度 60 度；取樣 0.015 度；掃描速度 2 度/分鐘。

Rigaku MiniFlex X 射線粉末繞射儀；X 射線輻射來自於銅 Cu 1.054056 Å，具有 K_β濾光片；X 射線功率：30 KV、15 mA；樣品粉末：分散於零背景樣品夾上。一般量測條件：起始角度 3 度；終止角度 45 度；取樣 0.02 度；掃描速度 2 度/分鐘。

【0375】 使用動態氣相吸附(DVS)來分析所製備之一些化合物。典型 DVS 條件如下：

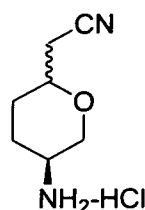
SGA-100 對稱氣相吸附分析儀得自 VTI 公司。在四個循環中以 10%相對濕度(RH)增量完成濕氣吸收概況分析，其中第一吸附自 25%至 95% RH，隨後以 10%增量自 95%至 5% RH 進行解吸。平衡標準為 5 分鐘內 0.0050 wt%，其中最大平衡時間為 180 分鐘；數據記錄間隔：2.00 min 或 0.0100 wt%。所有吸附及解吸均在室溫(25°C)下進行。未應用預乾燥步驟。

【0376】 在濕度室中處理之後分析所製備之一些化合物。典型濕度室條件如下：

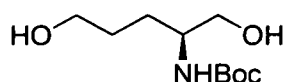
溫度：40°C；相對濕度：75%；時間：5 天。

溫度：30°C；相對濕度：90%；時間：7 天。

實例 1. 2-((2R,5S)-5-氨基四氫-2H-吡喃-2-基)乙腈鹽酸鹽及
2-((2S,5S)-5-氨基四氫-2H-吡喃-2-基)乙腈鹽酸鹽(程序 1)

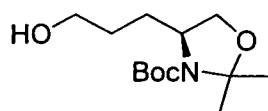


步驟 1. (S)-1,5-二羥基戊-2-基胺基甲酸第三丁酯



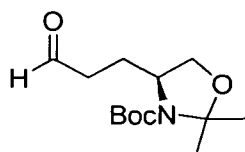
【0377】 在室溫下，在配備頂置式機械攪拌器、熱電偶、回流冷凝器、加料漏斗及氮氣入口之五頸 5 L 圓底燒瓶中置放硼氫化鋰(29.9 g, 1.37 mol, 2.0 當量)。將四氫呋喃(THF, 1.12 L)裝入燒瓶中，同時維持內部溫度低於 40°C。隨後將所得溶液冷卻至 0°C 至 5°C，隨後經多於 50 分鐘之時段經由加料漏斗添加(S)-2-(第三丁氧基羰基胺基)戊二酸二甲酯(189 g, 0.687 mol)於 THF (0.60 L)中之溶液。使所得反應混合物逐漸升溫至室溫且在室溫下攪拌 17 h，且隨後冷卻至 15°C。隨後經 3 h 向反應混合物中逐滴添加甲醇(MeOH, 415 mL)以淬滅殘餘硼氫化鋰。在添加甲醇期間，觀察到劇烈氣體逸出。隨後在減壓下對經淬滅之反應混合物進行濃縮以移除大部分溶劑，且用乙酸乙酯(EtOAc, 350 mL)及水(300 mL)處理殘餘物。在室溫下將所得懸浮液攪拌 15 分鐘，隨後經燒結漏斗進行過濾。分離濾液之兩個相且用 EtOAc (100 mL)萃取水相。用鹽水(150 mL)洗滌所合併之有機相，經無水硫酸鈉乾燥，且在減壓下濃縮，獲得呈白色固體狀之粗製(S)-1,5-二羥基戊-2-基胺基甲酸第三丁酯(135 g, 89.7%)，其不經進一步純化即用於隨後之反應中。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.42 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 4.52 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H), 4.33 (t, *J* = 5.1 Hz, 1H), 3.42 - 3.21 (m, 4H), 3.18 (dt, *J* = 10.5, 6.1 Hz, 1H), 1.54 - 1.44 (m, 1H), 1.41 - 1.28 (m, 11H), 1.22 - 1.16 (m, 1H) ppm。

步驟 2. (S)-4-(3-羥基丙基)-2,2-二甲基噁唑啉-3-甲酸第三丁酯



【0378】 在室溫下，在配備頂置式機械攪拌器、熱電偶、加料漏斗及氮氣入口之五頸 5 L 圓底燒瓶中置放(*S*)-1,5-二羥基戊-2-基胺基甲酸第三丁酯(105 g, 0.479 mol)及丙酮(4.0 L)。隨後在室溫下依序用 2,2-二甲氧基丙烷(64.8 g, 0.622 mol, 1.3 當量)及三氟化硼乙醚合物($\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$, 6.1 mL, 0.048 mol, 0.10 當量)處理該溶液。在室溫下將所得反應混合物攪拌 18 h，隨後添加三乙胺(TEA, 40.0 mL, 0.287 mol, 0.60 當量)。隨後在減壓下濃縮所得混合物以移除大部分溶劑，且用 EtOAc (1000 mL)及水(200 mL)處理殘餘物。分離兩相且用鹽水(200 mL)洗滌有機相，經硫酸鈉乾燥，且在減壓下濃縮。藉由管柱層析(SiO_2 ，用 0 至 50%乙酸乙酯/己烷進行梯度溶離)純化殘餘物，獲得呈無色油狀之(*S*)-4-(3-羥基丙基)-2,2-二甲基噁唑啉-3-甲酸第三丁酯(95.0 g, 76.5%)。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 4.39 (t, $J = 5.1$ Hz, 1H), 3.85 (dd, $J = 8.7, 5.7$ Hz, 1H), 3.72 (s, 1H), 3.66 (dd, $J = 8.8, 1.3$ Hz, 1H), 3.42 - 3.32 (m, 2H), 1.61-1.54 (m, 1H), 1.51 - 1.24 (m, 18H) ppm。

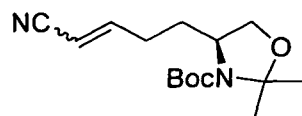
步驟 3. (*S*)-2,2-二甲基-4-(3-側氧基丙基)噁唑啉-3-甲酸第三丁酯



【0379】 在室溫下，在配備頂置式機械攪拌器、熱電偶、加料漏斗及氮氣入口之五頸 5 L 圓底燒瓶中置放(*S*)-4-(3-羥基丙基)-2,2-二甲基噁唑啉-3-甲酸第三丁酯(110.0 g, 0.424 mol)及二氯甲烷(DCM, 1200 mL)。隨後在室溫下用 2,2,6,6-四甲基-1-哌啶基氧基自由基(TEMPO, 6.6 g, 0.042 mol, 0.10 當量)及四正丁基氯化銨(11.8 g, 0.042 mol, 0.10 當量)處理所得溶液，隨後在室溫下向反應混合物中依序添加碳酸氫鈉水溶液(174 g, 2.08 mol, 5.0 當量)及碳酸鉀水溶液(28.7 g, 0.208 mol, 0.50 當量)。在劇烈攪拌所得混合物的同時，在室溫下添加 *N*-氯丁二醯亞胺(69.1 g, 0.518 mol, 1.22 當量)。隨後在室溫下將所得反應混合物再攪拌 3 h，隨後轉移至分離漏斗。分離濾液之兩相且用 DCM (250 mL)萃取水相。用鹽水(2×300 mL)洗滌所合併之有機層，經無水硫酸鈉乾燥，在減壓下濃縮，且在真空下乾燥，獲得呈淺橘色油狀之粗製(*S*)-2,2-二甲基-4-(3-側氧基丙基)噁唑啉-3-甲酸第三丁酯 5

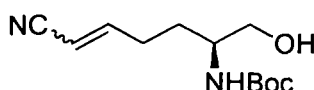
(109.1 g, 100%)，其不經進一步純化即用於隨後之反應中。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.64 (s, 1H), 4.01 - 3.60 (m, 3H), 2.39 (dd, *J* = 10.9, 4.0 Hz, 2H), 1.84 - 1.64 (m, 2H), 1.47-1.38 (m, 15H) ppm。

步驟 4. (*S*)-4-(4-氰基丁-3-烯基)-2,2-二甲基噁唑啉-3-甲酸第三丁酯



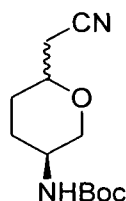
【0380】 在室溫下，在氮氣氛圍下，在配備頂置式機械攪拌器、熱電偶及加料漏斗之三頸 3 L 圓底燒瓶中置放第三丁醇鉀(1 M THF 溶液，1000 mL，1.00 mol，1.11 當量)及四氫呋喃(THF，700 mL)。將溶液冷卻至 0°C 至 5°C，且經由加料漏斗逐滴添加氰基甲基膦酸二乙酯(177.2 g，1.00 mol，1.11 當量)，同時維持內部溫度在 10°C 以下。隨後在室溫下將所得反應混合物攪拌 2 h，且標記為溶液 A 以供用於隨後之反應。在室溫下，在配備頂置式機械攪拌器、熱電偶、加料漏斗及氮氣入口之單獨五頸 12 L 圓底燒瓶中置放 (*S*)-2,2-二甲基-4-(3-側氧基丙基)噁唑啉-3-甲酸第三丁酯(232.0 g，0.901 mol) 及 THF(3500 mL)。將所得溶液冷卻至 0°C 至 5°C，且標記為溶液 B。隨後將溶液 A 逐滴添加至溶液 B 中，同時維持內部溫度在 5°C 以下。使所得反應混合物逐漸升溫至室溫且在室溫下攪拌 1 h。向反應混合物中加入水(500 mL) 且分離兩相。隨後用 EtOAc (2×100 mL)萃取水相。用鹽水(2×100 mL)洗滌所合併之有機相，經無水硫酸鎂乾燥，且在減壓下濃縮。藉由管柱層析 (SiO₂，用 0 至 30%乙酸乙酯/己烷進行梯度溶離)純化殘餘物，獲得呈無色油狀之(*S*)-4-(4-氰基丁-3-烯基)-2,2-二甲基噁唑啉-3-甲酸第三丁酯(179.0 g，70.8%)。 ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.84 (dt, *J* = 16.4, 6.8 Hz, 0.5H), 6.66 (dt, *J* = 10.9, 7.7 Hz, 0.5H), 5.83 - 5.51 (m, 1H), 3.92 - 3.49 (m, 3H), 2.35 - 2.05 (m, 2H), 1.73 - 1.52 (m, 2H), 1.45 - 1.38 (m, 15H)。

步驟 5. (*S*)-6-氰基-1-羥基己-5-烯-2-基胺基甲酸第三丁酯



【0381】 在室溫下，在配備頂置式機械攪拌器、熱電偶、加料漏斗及氮氣入口之五頸 5 L 圓底燒瓶中置放(*S*)-4-(4-氰基丁-3-烯基)-2,2-二甲基噁啶-3-甲酸第三丁酯(179.0 g, 0.638 mol)及甲醇(2000 mL)。將所得無色溶液冷卻至 0°C 至 5°C，隨後用催化量之對甲苯磺酸(PTSA, 12.1 g, 0.064 mol, 0.10 當量)進行處理。使所得反應混合物逐漸升溫至室溫且在室溫下再攪拌 17 h。隨後在室溫下向反應混合物中添加碳酸氫鈉水溶液(100 mL)，且在減壓下將所得混合物濃縮至約 500 mL。隨後用乙酸乙酯(2×500 mL)萃取殘餘物。用鹽水(2×100 mL)洗滌所合併之有機相，經無水硫酸鎂乾燥，在減壓下濃縮，且在真空下乾燥，獲得呈淡粉色油狀之粗製(*S*)-6-氰基-1-羥基己-5-烯-2-基胺基甲酸第三丁酯(144.2 g, 94%)，其不經進一步純化即用於隨後之反應中。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6.72 (dt, *J* = 16.3, 6.9 Hz, 0.5H), 6.53 (dt, *J* = 10.9, 7.6 Hz, 0.5H), 5.51 - 5.08 (m, 1H), 4.73 (s, 1H), 3.83 - 3.34 (m, 3H), 2.49 (dt, *J* = 11.3, 5.9 Hz, 1H), 2.31 (q, *J* = 7.0 Hz, 1H), 1.74-1.57 (m, 3H), 1.44 (s, 9H)。

步驟 6. (*S*)-6-(氰基甲基)四氫-2*H*-吡喃-3-基胺基甲酸第三丁酯(順式異構體與反式異構體之混合物)



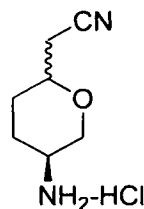
【0382】 在室溫下，在配備頂置式機械攪拌器、熱電偶、加料漏斗及氮氣入口之五頸 5 L 圓底燒瓶中置放(*S*)-6-氰基-1-羥基己-5-烯-2-基胺基甲酸第三丁酯(173.0 g, 0.720 mol)及四氫吡喃(1700 mL)。將溶液冷卻至 0°C 至 5°C，隨後經由加料漏斗逐滴添加甲醇鈉(0.5 M 甲醇溶液, 21.30 mL, 0.011 mol, 0.015 當量)於 THF (90 mL)中之溶液，同時維持內部溫度在 5°C 以下。在 5°C 以下將所得反應混合物再攪拌 1 h，隨後依序向反應混合物中添加鹽水(500 mL)及第三丁基甲醚(TBME, 400 mL)。分離兩相且用 TBME (250 mL) 萃取水相。用鹽水(250 mL)洗滌所合併之有機相，經無水硫酸鎂乾燥，在減壓下濃縮，且在真空下乾燥，獲得呈黏性固體狀之粗製(*S*)-6-(氰基甲基)四

氫-2*H*-哌喃-3-基胺基甲酸第三丁酯(173.0 g, 100%)。所獲得之呈順式異構體與反式異構體之混合物形式之粗產物不經進一步純化即用於隨後之反應中。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.13 (s, 0.5H), 4.25 (s, 0.5H), 4.10 (ddd, *J* = 10.9, 4.7, 2.2 Hz, 0.5H), 3.89 (d, *J* = 12.1 Hz, 0.5H), 3.72 (s, 0.5H), 3.66 - 3.57 (m, 1.5H), 3.56 - 3.49 (m, 0.5H), 3.03 (t, *J* = 10.8 Hz, 0.5H), 2.54 (dd, *J* = 6.0, 2.5 Hz, 2H), 2.19 - 2.08 (m, 0.5H), 2.00 (d, *J* = 13.2 Hz, 0.5H), 1.87 (d, *J* = 13.1 Hz, 0.5H), 1.65 - 1.62 (m, 2H), 1.44 (d, *J* = 6.5 Hz, 9H), 1.38 - 1.24 (m, 0.5H)。

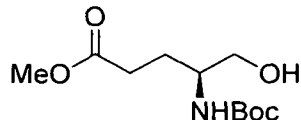
步驟7. 2-((2*R*,5*S*)-5-胺基四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈鹽酸鹽及 2-((2*S*,5*S*)-5-胺基四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈鹽酸鹽(反式異構體與順式異構體之混合物)

【0383】 在室溫下，在配備頂置式機械攪拌器、熱電偶、加料漏斗及氮氣入口之五頸 5 L 圓底燒瓶中置放(*S*)-6-(氨基甲基)四氫-2*H*-哌喃-3-基胺基甲酸第三丁酯(順式異構體與反式異構體之混合物, 173.0 g, 0.720 mol) 及二氯甲烷(1730 mL)。隨後經由加料漏斗用 4.0 M 氯化氫(HCl)於 1,4-二噁烷中之溶液(720 mL, 2.880 mol, 4.0 當量)處理所得溶液。在室溫下將所得反應混合物攪拌 2 h, 隨後添加第三丁基甲醚(TBME, 1000 mL)。在室溫下將所得懸浮液攪拌 30 分鐘。藉由過濾收集所形成之白色固體, 用 TBME (280 mL)洗滌且在真空烘箱中在 50°C 下利用氮氣吹掃進行乾燥, 獲得呈反式異構體與順式異構體之混合物形式的 2-((2*R*,5*S*)-5-胺基四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈鹽酸鹽及 2-((2*S*,5*S*)-5-胺基四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈鹽酸鹽(114.0 g, 89.6%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.31 (s, 3H), 4.03 (ddd, *J* = 10.8, 4.5, 2.2 Hz, 0.5H), 3.92 (d, *J* = 12.6 Hz, 0.5H), 3.71 - 3.58 (m, 1H), 3.51 (ddp, *J* = 8.8, 4.4, 2.1 Hz, 0.5H), 3.36 (s, 0.5H), 3.25 (s, 0.5H), 3.04 (s, 0.5H), 2.87 - 2.56 (m, 2H), 2.08 (d, *J* = 12.7 Hz, 0.5H), 1.98 - 1.72 (m, 1.5H), 1.70 - 1.46 (m, 1.5H), 1.36 (qd, *J* = 13.2, 3.9 Hz, 0.5H) ppm; ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 118.48 (118.33), 72.52 (72.07), 67.75 (67.56), 45.53 (44.36), 28.59 (24.33), 26.78 (24.06), 23.42 (23.14) ppm; 對於 C₇H₁₂N₂O, LCMS 計算值: 140.2 (游離胺), 實驗值: 141 (M⁺ + H); 鹽比率(HCl:游離胺): 1.00。

實例 2. 2-((2R,5S)-5-氨基四氫-2H-吡喃-2-基)乙腈鹽酸鹽及 2-((2S,5S)-5-氨基四氫-2H-吡喃-2-基)乙腈鹽酸鹽(程序 2)

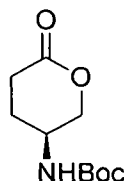


步驟 1. (4S)-4-[(第三丁氧基羰基)胺基]-5-羥基戊酸甲酯



【0384】 在室溫下用 4-甲基嗎啉(17 g, 168.1 mmol, 1.1 當量)處理 (2S)-2-[(第三丁氧基羰基)胺基]-5-甲氧基-5-側氧基戊酸(40.00 g, 153.1 mmol) 於四氫吡喃(600 mL)中之溶液。將所得混合物冷卻至 0°C, 隨後用氯甲酸乙酯(18 g, 165.9 mmol, 1.08 當量)逐滴處理。在 0°C 下將所得反應混合物再攪拌 20 分鐘, 隨後經矽藻土進行過濾。用 THF (50 mL)洗滌矽藻土床, 且將澄清濾液溶液冷卻至 0°C。隨後用固體 NaBH₄ (3.00 g, 79.3 mmol, 0.52 當量)及 NaBH₄ (2.9 g, 76.1 mmol, 0.50 當量)於二甘醇二甲醚(40 mL)中之溶液來處理經冷卻之溶液。在室溫下將所得反應混合物攪拌 3 h, 隨後用 1.0 M HCl 水溶液(100 mL)處理。隨後在室溫下將混合物攪拌 10 分鐘。濾出無機固體且用 EtOAc (100 mL)沖洗。隨後將乙酸乙酯(1100 mL)添加至濾液中, 且在減壓下濃縮所合併之濾液溶液以移除溶劑(1200 mL)。隨後用飽和碳酸氫鈉水溶液(50 mL)及水(2×50 mL)洗滌剩餘混合物。隨後在減壓下濃縮有機相, 獲得粗製(4S)-4-[(第三丁氧基羰基)胺基]-5-羥基戊酸甲酯(37.9 g), 其不經進一步純化即用於隨後之反應中。

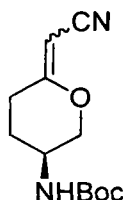
步驟 2. (S)-(6-側氧基四氫-2H-吡喃-3-基)胺基甲酸第三丁酯



【0385】 將粗製(4S)-4-[(第三丁氧基羰基)胺基]-5-羥基戊酸甲酯(37.9 g, 153.1 mmol)於甲苯(600 mL)及乙酸(200 mL)中之溶液加熱至回流後維持 60 分鐘。隨後藉由在大氣壓下共沸蒸餾來移除溶劑。在共沸蒸餾期間, 引

入附加量之甲苯(600 mL)且移除總計 1200 mL 混合溶劑。隨後經 3 h 將殘餘混合物冷卻至室溫且在室溫下攪拌 2 h。藉由過濾收集固體，用正庚烷(100 mL)洗滌，且在減壓下在 40°C 以下乾燥，獲得所要[(3*S*)-6-側氧基四氫-2*H*-哌喃-3-基]胺基甲酸第三丁酯(25 g，兩個步驟之總產率 75%)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.39 (dd, *J* = 11.5, 5.4 Hz, 1H), 4.18 (dd, *J* = 11.4, 4 Hz, 1H), 4.00 (s, 1H), 2.69 - 2.54 (m, 2H), 2.22 (dq, *J* = 13.2, 6.6 Hz, 1H), 1.86 (dq, *J* = 14.6, 7.3 Hz, 1H), 1.43 (s, 9H)；對於 C₁₀H₁₇NO₄，GCMS 計算值: 215.25；實驗值: 215.1。

步驟 3. [(3*S*,6*Z*)-6-(氰基亞甲基)四氫-2*H*-哌喃-3-基]胺基甲酸第三丁酯及[(3*S*,6*E*)-6-(氰基亞甲基)四氫-2*H*-哌喃-3-基]胺基甲酸第三丁酯



方法 A.

【0386】 對氰基甲基(三甲基)氯化磷(8.8 g，58.06 mmol，1.25 當量)於 N,N-二甲基乙醯胺(DMAC，50 ml)中之溶液進行脫氣且冷卻至 0°C。隨後在 0°C 下用 1.0 M 六甲基二矽疊氮化鋰之 THF 溶液(LHMDS，53.4 mL，53.4 mmol，1.15 當量)處理經冷卻之溶液。在 0°C 下將所得混合物攪拌 60 分鐘，隨後在 0°C 下用[(3*S*)-6-側氧基四氫-2*H*-哌喃-3-基]胺基甲酸第三丁酯(10 g，46.46 mmol)於 THF (40 mL)中之溶液處理。在 0°C 下將反應混合物攪拌 2 h，隨後在室溫下攪拌隔夜。隨後用水(100 mL)淬滅反應混合物且分離兩相。用第三丁基甲醚(TBME，2×150 mL)萃取水相。用水(2×150 mL)洗滌所合併之有機相，隨後在減壓下濃縮，獲得呈[(3*S*,6*Z*)-6-(氰基亞甲基)四氫-2*H*-哌喃-3-基]胺基甲酸第三丁酯與[(3*S*,6*E*)-6-(氰基亞甲基)四氫-2*H*-哌喃-3-基]胺基甲酸第三丁酯之混合物形式的粗製所要產物(11 g，99%)，其不經進一步純化及分離即用於隨後之反應中。藉由矽膠管柱層析法(SiO₂，用 0 至 30%第三丁基甲醚(MTBE)/庚烷進行梯度溶離)獲得個別異構體之分析樣品。

【0387】 對於(3*S*,6*E*)-異構體：¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.82 (s, 1H), 4.67 (s, 1H), 4.12 (dd, 1H), 3.93 (m, 1H), 3.81 (dd, 1H), 2.79 (dt, 1H), 2.58 (m, 1H), 2.12 (dt, 1H), 1.69 (dt, 1H), 1.40 (s, 9H)；對於 C₁₂H₁₈N₂O₃，GCMS 計算值: 238.28；實驗值: 238.1。

【0388】 對於(3*S*,6*Z*)-異構體：¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.81 (s, 1H), 4.48 (s, 1H), 4.19 (dt, 1H), 3.95 (m, 2H), 2.48 (m, 2H), 2.09 (m, 1H), 1.58 (m, 1H), 1.40 (s, 9H)；對於 C₁₂H₁₈N₂O₃，GCMS 計算值: 238.28；實驗值: 238.1。

方法 B.

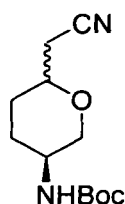
【0389】 在 0°C 下經 5 分鐘用固體第三丁醇鉀(220 g, 1.97 mol)逐份處理三丁基(氰基甲基)氯化磷(593 g, 2.14 mol)於 THF (5.9 L)中之混合物。經 4 h 使所得混合物逐漸升溫至室溫。隨後在室溫下用呈固體狀之(*S*)-(6-側氧基四氫-2*H*-哌喃-3-基)胺基甲酸第三丁酯(184 g, 0.855 mol)處理所得鎊鹽溶液，且在 70°C 下加熱所得反應混合物並且在 70°C 下攪拌 16 h。當 NMR 分析指示起始物質耗盡時，將反應混合物逐漸冷卻至室溫。將所得漿液傾入含有飽和碳酸氫鈉水溶液(5 L)及冰(1000 g)之 50 L 分離漏斗中。添加乙酸乙酯(6 L)且將混合物攪拌 10 分鐘。分離兩層且用 EtOAc (3 L)萃取水層。用飽和氯化鈉水溶液(3×4 L)洗滌所合併之有機層，經硫酸鈉乾燥，且在減壓下濃縮。將所得深色油溶解於 DCM (500 mL)中且藉由管柱層析(SiO₂，用 20%至 40%乙酸乙酯/庚烷進行梯度溶離)加以純化，獲得呈[(3*S*,6*Z*)-6-(氰基亞甲基)四氫-2*H*-哌喃-3-基]胺基甲酸第三丁酯與[(3*S*,6*E*)-6-(氰基亞甲基)四氫-2*H*-哌喃-3-基]胺基甲酸第三丁酯之混合物形式的所要產物(177 g, 87%產率)，其不經進一步純化及分離即用於隨後之反應中。藉由矽膠管柱層析法(SiO₂，用 0 至 30%第三丁基甲醚(TBME)/庚烷進行梯度溶離)獲得兩種異構體之分析樣品。

【0390】 對於(3*S*,6*E*)-異構體：¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.82(s, 1H), 4.67(s, 1H), 4.12(dd, 1H), 3.93(m, 1H), 3.81(dd, 1H), 2.79 (dt, 1H), 2.58 (m,

1H), 2.12(dt, 1H), 1.69(dt, 1H), 1.40 (s, 9H); 對於 $C_{12}H_{18}N_2O_3$, GCMS 計算值: 238.28; 實驗值: 238.1。

【0391】 對於(3*S*,6*Z*)-異構體: 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4.81 (s, 1H), 4.48 (s, 1H), 4.19 (dt, 1H), 3.95 (m, 2H), 2.48 (m, 2H), 2.09 (m, 1H), 1.58 (m, 1H), 1.40 (s, 9H); 對於 $C_{12}H_{18}N_2O_3$, GCMS 計算值: 238.28; 實驗值: 238.1。

步驟 4. [(3*S*,6*S*)-6-(氰基甲基)四氫-2*H*-哌喃-3-基]胺基甲酸第三丁酯及 [(3*S*,6*R*)-6-(氰基甲基)四氫-2*H*-哌喃-3-基]胺基甲酸第三丁酯

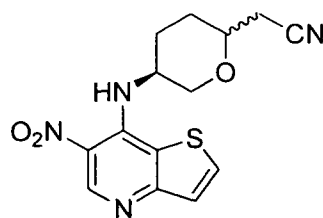


【0392】 在 20 psi 下對[(3*S*,6*Z*)-6-(氰基亞甲基)四氫-2*H*-哌喃-3-基]胺基甲酸第三丁酯及[(3*S*,6*E*)-6-(氰基亞甲基)四氫-2*H*-哌喃-3-基]胺基甲酸第三丁酯(110 g, 0.462 mol)及鈀/碳(10 wt% Pd-C, 50%濕潤, 14 g)於甲醇(1.1 L)中之混合物進行氫化, 直至氫氣吸收停止(4 至 12 h)。使反應混合物經矽藻土(100 g)進行過濾, 且用甲醇(500 mL)洗滌矽藻土床。在減壓下濃縮所合併之濾液, 獲得呈灰白色固體狀之粗還原產物。藉由與甲苯(2×500 mL)及正庚烷(2×500 mL)一起在減壓下進行共沸蒸餾來進一步乾燥粗產物, 以移除殘餘甲醇及水, 獲得呈非對映異構體混合物形式之[(3*S*,6*S*)-6-(氰基甲基)四氫-2*H*-哌喃-3-基]胺基甲酸第三丁酯及[(3*S*,6*R*)-6-(氰基甲基)四氫-2*H*-哌喃-3-基]胺基甲酸第三丁酯(111 g, 幾乎為定量產率), 其不經進一步純化及分離即直接用於隨後之反應中。 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$, 呈兩種非對映異構體之混合物形式) δ 5.15 (br s, 1 H), 4.29 (br s, 1 H), 4.14 - 4.07 (m, 1 H), 3.94 - 3.87 (m, 1 H), 3.77 - 3.44 (m, 5 H), 3.09 - 3.01 (m, 1 H), 2.58 - 2.49 (m, 4 H), 2.18 - 2.09 (m, 1 H), 2.05 - 1.95 (m, 1 H), 1.92 - 1.81 (m, 1 H), 1.76 - 1.51 (m, 5 H), 1.46 (s, 9 H), 1.44 (s, 9 H); 對於 $C_{12}H_{20}N_2O_3$, GCMS 計算值: 240.30; 實驗值: 240.1。

步驟5. 2-((2*S*,5*S*)-5-胺基四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈鹽酸鹽及 2-((2*R*,5*S*)-5-胺基四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈鹽酸鹽

【0393】 經 30 分鐘用 4 M HCl 於 1,4-二噁烷中之溶液(1 L, 3.99 mol, 4.0 當量)逐滴處理[(3*S*,6*S*)-6-(氰基甲基)四氫-2*H*-哌喃-3-基]胺基甲酸第三丁酯及[(3*S*,6*R*)-6-(氰基甲基)四氫-2*H*-哌喃-3-基]胺基甲酸第三丁酯(240 g, 0.999 mol)於二氯甲烷(2.44 L)中之溶液，同時將內部溫度保持在 25°C 以下。在室溫下將所得反應混合物攪拌 3 h。當經過濾樣品之 ¹H NMR 分析指示反應完畢時，向反應混合物中添加第三丁基甲醚(TBME, 675 mL)且在室溫下將所得混合物攪拌 30 分鐘。藉由在氮氣層下過濾來收集所形成之白色固體，用 TBME (600 mL)洗滌且在真空烘箱中在氮氣層下進一步乾燥 16 h，獲得呈順式異構體與反式異構體之混合物形式的 2-((2*S*,5*S*)-5-胺基四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈鹽酸鹽及 2-((2*R*,5*S*)-5-胺基四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈鹽酸鹽 (151.7 g, 86%產率)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) (順式異構體與反式異構體之混合物) δ 8.31 (s, 3H), 4.03 (ddd, *J* = 10.8, 4.5, 2.2 Hz, 0.5H), 3.92 (d, *J* = 12.6 Hz, 0.5H), 3.71 - 3.58 (m, 1H), 3.51 (ddp, *J* = 8.8, 4.4, 2.1 Hz, 0.5H), 3.36 (s, 0.5H), 3.25 (s, 0.5H), 3.04 (s, 0.5H), 2.87 - 2.56 (m, 2H), 2.08 (d, *J* = 12.7 Hz, 0.5H), 1.98 - 1.72 (m, 1.5H), 1.70 - 1.46 (m, 1.5H), 1.36 (qd, *J* = 13.2, 3.9 Hz, 0.5H) ppm; ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 118.48 (118.33), 72.52 (72.07), 67.75 (67.56), 45.53 (44.36), 28.59 (24.33), 26.78 (24.06), 23.42 (23.14) ppm; 對於 C₇H₁₂N₂O, LCMS 計算值: 140.2 (游離胺), 實驗值: 141 (M⁺ + H); 鹽比率(HCl:游離胺): 1.00。

實例 3. 2-((2*R*,5*S*)-5-(6-硝基噻吩并[3,2-*b*]吡啶-7-基胺基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈及 2-((2*S*,5*S*)-5-(6-硝基噻吩并[3,2-*b*]吡啶-7-基胺基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈



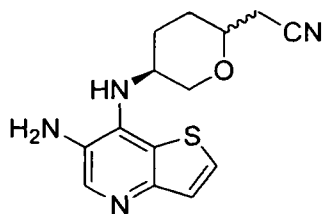
【0394】 在室溫下用二異丙基乙胺(DIPEA, 4897 g, 46.13 mol, 3.84 當量)處理 2-((2*S*,5*S*)-5-胺基四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈鹽酸鹽及 2-((2*R*,5*S*)-5-胺基四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈鹽酸鹽(2464 g, 13.95 mol, 1.16 當量)及 7-氯-6-硝基噻吩并[3,2-*b*]吡啶(2581 g, 12.02 mol)於 *N,N*-二甲基甲醯胺(DMF, 12.3 L)中之混合物。將所得反應混合物加熱至 65°C 至 75°C 後維持 2 至 6 h, 直至 HPLC 顯示反應完畢。在 55°C 以上向反應混合物中添加水(36.9 L)以使粗所要產物沈澱, 且使所得混合物逐漸冷卻至 15°C 至 30°C, 並且在 15°C 至 30°C 下攪拌 1 至 2 h。藉由過濾收集黃色固體, 用水(36.9 L)及正庚烷(30.8 L)洗滌, 且在真空烘箱中在 45°C 至 50°C 下乾燥至恆定重量, 獲得呈 2-((2*R*,5*S*)-5-(6-硝基噻吩并[3,2-*b*]吡啶-7-基胺基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈與 2-((2*S*,5*S*)-5-(6-硝基噻吩并[3,2-*b*]吡啶-7-基胺基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈之混合物形式的粗所要產物(3550 g, 92.8%), 其不經進一步純化及分離即用於隨後之反應中。藉由管柱層析分離(SiO_2 , 用 0 至 50% 乙酸乙酯/庚烷進行梯度溶離)獲得順式異構體及反式異構體之分析樣品。

【0395】 對於(2*R*,5*S*)-異構體: ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 9.09 (s, 1H), 8.87 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 8.35 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 7.53 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 4.32 (ddq, $J = 14.4, 10.1, 4.3$ Hz, 1H), 4.17 (ddd, $J = 10.9, 4.5, 2.2$ Hz, 1H), 3.66 (ddd, $J = 9.2, 6.8, 4.5$ Hz, 1H), 3.52 (t, $J = 10.6$ Hz, 1H), 2.85 (dd, $J = 17.0, 4.4$ Hz, 1H), 2.76 (dd, $J = 17.0, 6.8$ Hz, 1H), 2.28-2.23 (m, 1H), 1.91-1.81 (m, 2H), 1.61 - 1.43 (m, 1H) ppm; ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 159.30, 147.11, 145.78, 136.17, 125.59, 125.47, 118.47, 116.54, 71.79, 70.18, 50.25, 29.95, 29.18, 23.14 ppm; $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$ (MW 318.3), LCMS (EI) m/e 319 ($\text{M}^+ + \text{H}$)。

【0396】 對於(2*S*,5*S*)-異構體: ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 9.69 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 9.14 (s, 1H), 8.37 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 7.54 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 4.49 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 4.03 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H), 3.89 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H), 3.75 (dd, $J = 7.1, 3.6$ Hz, 1H), 2.84 (dd, $J = 17.1, 4.3$ Hz, 1H), 2.71 (dd, $J = 17.1, 7.0$ Hz, 1H), 2.07-2.04 (m, 2H), 1.75 - 1.40 (m, 2H) ppm; ^{13}C NMR (101 MHz,

DMSO- d_6) δ 159.15, 147.26, 145.49, 136.22, 125.56, 125.28, 118.16, 116.77, 72.53, 70.31, 47.99, 27.84, 25.08, 23.65 ppm; $C_{14}H_{14}N_4O_3S$ (MW 318.3), LCMS (EI) m/e 319 ($M^+ + H$)。

實例 4. 2-((2R,5S)-5-(6-胺基噻吩并[3,2-*b*]吡啶-7-基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙腈及 2-((2S,5S)-5-(6-胺基噻吩并[3,2-*b*]吡啶-7-基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙腈



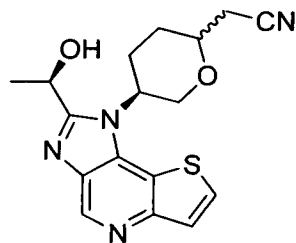
【0397】 在室溫下用鈀/碳(10 wt% Pd-C, 50%濕潤, 200 g)處理 2-((2R,5S)-5-(6-硝基噻吩并[3,2-*b*]吡啶-7-基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙腈及 2-((2S,5S)-5-(6-硝基噻吩并[3,2-*b*]吡啶-7-基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙腈 (2000 g, 6.28 mol)於 2,2,2-三氟乙醇(8.1 L)中之溶液。對所得反應混合物進行脫氣，且用氮氣再填充三次，隨後用氫氣再填充三次。氫化反應在 20°C 至 35°C 與 50 psi 氫氣壓力下進行。當 HPLC 顯示反應完畢時，將壓力降至大氣壓，隨後進行脫氣且用氮氣再填充三次。隨後使混合物經矽藻土(667 g)進行過濾，且用甲醇(8 L)沖洗矽藻土床。隨後在 50°C 以下在減壓下濃縮濾液，獲得呈 2-((2R,5S)-5-(6-胺基噻吩并[3,2-*b*]吡啶-7-基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙腈與 2-((2S,5S)-5-(6-胺基噻吩并[3,2-*b*]吡啶-7-基胺基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙腈之混合物形式的所要粗產物(2242 g)。此混合物係呈含有殘餘溶劑之發泡體形式獲得，不可在矽膠管柱上分離且不經進一步純化即用於隨後之反應中。

【0398】 對於(2R,5S)-異構體： 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.93 (s, 1H), 7.55 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 7.20 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 4.91 (d, $J = 9.7$ Hz, 1H), 4.82 (s, 2H), 4.06 - 3.77 (m, 2H), 3.55 (dtt, $J = 8.7, 4.5, 2.1$ Hz, 1H), 3.24 (t, $J = 10.3$ Hz, 1H), 2.92 - 2.62 (m, 2H), 2.20 - 1.97 (m, 1H), 1.88 - 1.70 (m, 1H), 1.66 - 1.51 (m, 1H), 1.50 - 1.37 (m, 1H) ppm; ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ 150.28, 136.88, 134.86, 128.10, 124.86, 124.82, 118.55, 117.95, 72.14, 71.70,

49.30, 30.79, 29.74, 23.32 ppm ; C₁₄H₁₆N₄OS (MW 288.3), LCMS (EI) *m/e* 289 (M⁺ + H)。

【0399】 對於(2*S*,5*S*)-異構體：¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.01 (s, 1H), 7.59 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 7.22 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 5.09 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 4.76 (s, 2H), 3.99 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 3.87 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H), 3.75 (dd, *J* = 11.7, 2.2 Hz, 1H), 3.66 (dddd, *J* = 10.3, 7.2, 4.4, 2.6 Hz, 1H), 2.85 - 2.62 (m, 2H), 1.86 - 1.69 (m, 2H), 1.63 (qd, *J* = 12.7, 12.2, 4.4 Hz, 1H), 1.52 - 1.44 (m, 1H) ppm ; ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 150.81, 137.91, 135.84, 128.17, 125.36, 124.83, 118.71, 118.61, 72.37, 70.23, 46.81, 27.08, 24.94, 23.44 ppm ; C₁₄H₁₆N₄OS (MW 288.3), LCMS (EI) *m/e* 289 (M⁺ + H)。

實例 5. 2-((2*R*,5*S*)-5-(2-((*R*)-1-羟基乙基)-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈及 2-((2*S*,5*S*)-5-(2-((*R*)-1-羟基乙基)-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈



【0400】 在反應器 A 中，在-10°C 至 0°C 下用 Et₃O·BF₄ (4405 g, 22.96 mol, 3.0 當量)處理(*R*)-(+)-乳醯胺之懸浮液(2045 g, 22.96 mol, 3.0 當量)於 THF (10.1 L)中之懸浮液。隨後在 10°C 以下攪拌反應器 A 中之所得混合物，直至形成澄清溶液。在反應器 B 中，將 2-((2*R*,5*S*)-5-(6-胺基噻吩并[3,2-*b*]吡啶-7-基胺基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈與 2-((2*S*,5*S*)-5-(6-胺基噻吩并[3,2-*b*]吡啶-7-基胺基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈(2207 g, 7.65 mol)於乙醇(66.2 L)中之混合物加熱至回流，以獲得澄清溶液。隨後將反應器 A 中之溶液逐漸添加至反應器 B 中之混合物中，同時將反應器 B 中之混合物維持在回流下。將反應器 B 中之所得反應混合物維持在回流下，直至 HPLC 顯示反應完畢。隨後使反應器 B 中之反應混合物冷卻至 10°C 至 30°C，隨後逐漸添加碳酸氫鈉水溶液(664 g, 7.4 L)。在添加碳酸氫鈉水溶液以調節至 pH 8-9 期間，將內部溫度控制在 35°C 以下。隨後在室溫下將所得混合物再攪拌 30 分鐘，隨

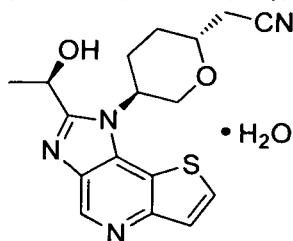
後經矽藻土(1 kg)進行過濾。在過濾之後，用乙醇(5.0 L)沖洗矽藻土床。在減壓下在 60°C 以下濃縮所合併之濾液，且添加二氯甲烷(17.7 L)以溶解殘餘物。隨後用 1 N HCl 水溶液(19.0 L)處理所得 DCM 溶液，以便將水相調節至 pH 1。隨後在室溫下將混合物攪拌 30 分鐘。分離兩相且丟棄 DCM 相。隨後用 DCM (8.6 L)洗滌酸性水相。分離兩相且丟棄 DCM 相。隨後依序用乙酸乙酯(30.6 L)及固體碳酸鈉(540 g)處理酸性水相。在室溫下攪拌所得混合物，直至水相達到 pH 9-10。隨後將正庚烷(60.0 L)添加至混合物中，且在室溫下將所得混合物攪拌至少 1 h。藉由過濾收集固體且用水(8.6 L)及正庚烷(8.6 L)洗滌，隨後溶解於甲醇與 DCM 之混合物中。隨後使所得 MeOH 與 DCM 溶液經矽膠床進行過濾，且用 MeOH 與 DCM 混合物(以體積計 1:9)洗滌矽膠床。在減壓下濃縮所合併之溶液，獲得呈白色發泡體狀之第一批所要產物(1450 g)，即 2-((2*R*,5*S*)-5-(2-((*R*)-1-羥基乙基)-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈與 2-((2*S*,5*S*)-5-(2-((*R*)-1-羥基乙基)-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈之混合物。隨後分離濾液之兩相且用 DCM (2×25.0 L)萃取水相。在減壓下濃縮所合併之有機萃取物，且藉由矽膠管柱層析法(SiO₂，用 0.5%至 7.5% MeOH/DCM 進行梯度溶離)，獲得呈白色發泡體狀之第二批所要產物(515 g；總計 1965 g，75%)，亦呈 2-((2*R*,5*S*)-5-(2-((*R*)-1-羥基乙基)-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈與 2-((2*S*,5*S*)-5-(2-((*R*)-1-羥基乙基)-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈之混合物形式。兩種非對映異構體之混合物不可藉由矽膠管柱層析法加以分離，且不經進一步分離即用於隨後之反應中。

【0401】 對於(2*R*,5*S*)-異構體：¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.00 (s, 1H), 8.03 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 5.96 (s, 1H), 5.22 (s, 1H), 5.11 (s, 1H), 4.31 (t, *J* = 11.0 Hz, 1H), 4.22 - 4.08 (m, 1H), 4.02 (s, 1H), 2.96 (dd, *J* = 17.0, 4.2 Hz, 1H), 2.84 (dd, *J* = 17.0, 6.6 Hz, 1H), 2.65 (qd, *J* = 12.7, 4.3 Hz, 1H), 2.19 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 2.06 (d, *J* = 13.4 Hz, 1H), 1.72 (dd, *J* = 12.6, 3.7 Hz, 1H), 1.66 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H) ppm；¹³C NMR (101 MHz,

DMSO-*d*₆) δ 157.95, 152.11, 141.57, 136.18, 135.24, 127.98, 126.79, 119.08, 116.12, 72.42, 68.87, 62.95, 51.67, 30.39, 28.44, 24.09, 22.36 ppm ; C₁₇H₁₈N₄O₂S (MW 342.4), LCMS (EI) *m/e* 343 (M⁺ + H)。

【0402】 對於(2*S*,5*S*)-異構體：¹H NMR (400 MHz, CD₃CN) δ 8.93 (s, 1H), 7.80 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 7.63 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 5.38 (s, 1H), 5.00 (dq, *J* = 9.4, 4.7 Hz, 1H), 4.43 (dd, *J* = 11.8, 9.3 Hz, 1H), 4.26 (dd, *J* = 8.6, 3.7 Hz, 1H), 4.16 (s, 1H), 4.03 - 3.89 (m, 1H), 3.17 (dd, *J* = 17.1, 8.6 Hz, 1H), 2.87 (dd, *J* = 17.2, 5.4 Hz, 1H), 2.57 (dtd, *J* = 14.8, 10.8, 4.2 Hz, 1H), 2.20 - 1.99 (m, 2H), 1.88-1.82 (m, 1H), 1.73 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H) ppm ; ¹³C NMR (101 MHz, CD₃CN) δ 158.04, 152.88, 142.12, 136.81, 136.46, 127.44, 127.14, 119.04, 116.97, 70.00, 64.83, 64.03, 54.55, 28.06, 25.73, 22.46, 21.94 ppm ; C₁₇H₁₈N₄O₂S (MW 342.4), LCMS (EI) *m/e* 343 (M⁺ + H)。

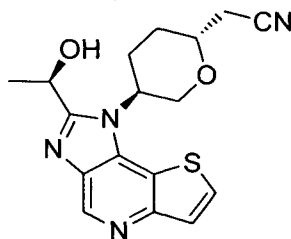
實例 6. 2-((2*R*,5*S*)-5-(2-((*R*)-1-羥基乙基)-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈單水合物(粗產物)



【0403】 在室溫下用 1.0 M 第三丁醇鉀之 THF 溶液(234 mL, 0.234 mol, 0.10 當量)處理 2-((2*R*,5*S*)-5-(2-((*R*)-1-羥基乙基)-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈與 2-((2*S*,5*S*)-5-(2-((*R*)-1-羥基乙基)-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈(800 g, 2.34 mol)於 2-丙醇(IPA, 16 L)中之混合物。在室溫下將所得反應混合物攪拌 20 h。當 HPLC 顯示鹼促進之外消旋反應完畢時,用 0.1 M HCl 水溶液(約 2.4 L)處理反應混合物以調節至 pH 6-7。隨後在減壓下在 50°C 以下濃縮混合物,以部分移除 IPA(約 9.6 L),且在室溫下用水(10.5 L)處理殘餘物。隨後在室溫下將所得混合物攪拌 2 h。藉由過濾收集固體,用 IPA 與水之混合物(2.4 L, 以體積計 1:2)洗滌,且在減壓下在 50°C 以下乾燥至恆定重量,獲得呈白色固體狀之粗製 2-((2*R*,5*S*)-5-(2-((*R*)-1-羥基乙基)-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]

噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈單水合物(657 g, 78%)。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.00 (s, 1H), 8.03 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 5.96 (s, 1H), 5.22 (s, 1H), 5.11 (s, 1H), 4.31 (t, *J* = 11.0 Hz, 1H), 4.22 - 4.08 (m, 1H), 4.02 (s, 1H), 2.96 (dd, *J* = 17.0, 4.2 Hz, 1H), 2.84 (dd, *J* = 17.0, 6.6 Hz, 1H), 2.65 (qd, *J* = 12.7, 4.3 Hz, 1H), 2.19 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 2.06 (d, *J* = 13.4 Hz, 1H), 1.72 (dd, *J* = 12.6, 3.7 Hz, 1H), 1.66 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H) ppm ; ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 157.95, 152.11, 141.57, 136.18, 135.24, 127.98, 126.79, 119.08, 116.12, 72.42, 68.87, 62.95, 51.67, 30.39, 28.44, 24.09, 22.36 ppm ; C₁₇H₁₈N₄O₂S (MW 342.4), LCMS (EI) *m/e* 343 (M⁺ + H) ; 水含量(藉由 KF): 5.15%。

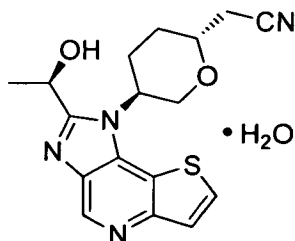
實例 7. 2-((2*R*,5*S*)-5-(2-((*R*)-1-羥基乙基)-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈(無水結晶游離鹼)



【0404】 對 2-((2*R*,5*S*)-5-(2-((*R*)-1-羥基乙基)-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈單水合物(650 g, 1.80 mol)於甲醇(7 L)中之溶液進行精過濾，隨後在大氣壓下濃縮以移除甲醇(5 L)。隨後用乙酸乙酯(8.5 L)處理所得經濃縮之溶液，且繼續進行大氣壓蒸餾以移除溶劑(5.3 L)。隨後在 60°C 至 75°C 下將正庚烷(7.8 L)逐漸添加至殘餘混合物中，並且使所得混合物逐漸冷卻降至室溫且在室溫下攪拌至少 1.5 h。藉由過濾收集固體，用正庚烷(2.0 L)洗滌，且在真空中在 50°C 以下乾燥至恆定重量，獲得呈白色固體狀之無水結晶 2-((2*R*,5*S*)-5-(2-((*R*)-1-羥基乙基)-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈(586 g, 95%)。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.00 (s, 1H), 8.03 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 5.96 (s, 1H), 5.22 (s, 1H), 5.11 (s, 1H), 4.31 (t, *J* = 11.0 Hz, 1H), 4.22 - 4.08 (m, 1H), 4.02 (s, 1H), 2.96 (dd, *J* = 17.0, 4.2 Hz, 1H), 2.84 (dd, *J* = 17.0, 6.6 Hz, 1H), 2.65 (qd, *J* = 12.7, 4.3 Hz, 1H), 2.19 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H),

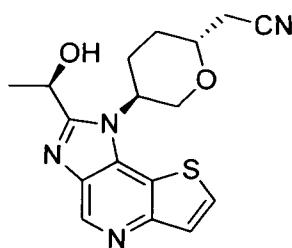
2.06 (d, $J = 13.4$ Hz, 1H), 1.72 (dd, $J = 12.6, 3.7$ Hz, 1H), 1.66 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H) ppm ; ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 157.95, 152.11, 141.57, 136.18, 135.24, 127.98, 126.79, 119.08, 116.12, 72.42, 68.87, 62.95, 51.67, 30.39, 28.44, 24.09, 22.36 ppm ; $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$ (MW 342.4), LCMS (EI) m/e 343 ($\text{M}^+ + \text{H}$) .

實例 8. 2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羥基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙腈單水合物



【0405】 在室溫下將無水結晶 2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羥基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙腈(585 g, 1.71 mol)於水(5.9 L)中之懸浮液攪拌 2 h。當 XRPD 證實無水結晶形式完全轉化成單水合物結晶形式時，藉由過濾收集固體且用水(2.9 L)洗滌。在 20°C 至 50°C 下在真空烘箱中或藉由自過濾器抽真空來乾燥濕濾餅，直至藉由 KF 所分析之水含量為 5+0.3%，獲得呈白色固體狀之結晶 2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羥基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙腈單水合物(602 g, 98%)。 ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 9.00 (s, 1H), 8.03 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 7.69 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 5.96 (s, 1H), 5.22 (s, 1H), 5.11 (s, 1H), 4.31 (t, $J = 11.0$ Hz, 1H), 4.22 - 4.08 (m, 1H), 4.02 (s, 1H), 2.96 (dd, $J = 17.0, 4.2$ Hz, 1H), 2.84 (dd, $J = 17.0, 6.6$ Hz, 1H), 2.65 (qd, $J = 12.7, 4.3$ Hz, 1H), 2.19 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 2.06 (d, $J = 13.4$ Hz, 1H), 1.72 (dd, $J = 12.6, 3.7$ Hz, 1H), 1.66 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H) ppm ; ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 157.95, 152.11, 141.57, 136.18, 135.24, 127.98, 126.79, 119.08, 116.12, 72.42, 68.87, 62.95, 51.67, 30.39, 28.44, 24.09, 22.36 ppm ; 對於 $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2\text{S} \cdot \text{H}_2\text{O}$ ，LCMS 計算值: 342.4, 實驗值: 343 ($\text{M}^+ + \text{H}$) ; 水含量: 5.15%。

實例 9. 2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羥基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙腈(無水結晶游離鹼)



【0406】 對非晶((2*R*,5*S*)-5-{2-[(1*R*)-1-羥基乙基]-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基}四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈(84.5 g, 247 mmol)於甲醇(MeOH, 800 mL)中之溶液進行精過濾且轉移至配備回流冷凝器之五頸 5 L 圓底燒瓶中。使用額外的 200 mL 甲醇洗滌過濾漏斗。向所得甲醇溶液中添加乙酸乙酯(2000 mL)並且經 30 分鐘將所得澄清溶液加熱至 70°C。隨後在大氣壓下蒸餾甲醇與乙酸乙酯之混合物。當所收集之溶劑混合物達到 1700 mL 時再添加 2000 mL 乙酸乙酯且繼續進行大氣壓蒸餾。當所收集之總溶劑混合物達到 4000 mL 時(在約 8 h 內), 燒瓶中之剩餘溶液變渾濁且逐漸形成固體。繼續進行大氣壓蒸餾, 直至所收集之總溶劑混合物達到 4250 mL, 且燒瓶中之剩餘溶劑混合物(主要為乙酸乙酯)為約 750 mL。隨後在約 70°C 下將正庚烷(1150 mL)緩慢添加至燒瓶中(EtOAc:正庚烷為約 1: 1.5), 且使所得混合物逐漸冷卻至室溫。在室溫下將混合物再攪拌 2 至 3 h 以引發結晶。藉由過濾收集固體, 用正庚烷(2×300 mL)洗滌, 且在真空烘箱中在 50°C 下用 N₂ 吹掃進行乾燥, 獲得呈白色無水結晶粉末狀之((2*R*,5*S*)-5-{2-[(1*R*)-1-羥基乙基]-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基}四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈(78.1 g, 92.4%)。

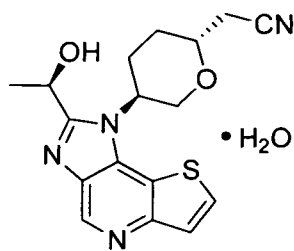
【0407】 C₁₇H₁₈N₄O₂S (MW 342.42), LCMS (EI) *m/e* 343 (M⁺ + H); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.00 (s, 1H), 8.03 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 5.97 (s, 1H), 5.22 (s, 1H), 5.11 (s, 1H), 4.30 (t, *J* = 11.0 Hz, 1H), 4.17 (s, 1H), 4.02 (s, 1H), 2.96 (dd, *J* = 17.0, 4.2 Hz, 1H), 2.86 (dd, *J* = 17.0, 6.6 Hz, 1H), 2.76 - 2.56 (m, 1H), 2.19 (d, *J* = 10.6 Hz, 1H), 2.06 (d, *J* = 13.2 Hz, 1H), 1.72 (dd, *J* = 12.6, 3.7 Hz, 1H), 1.66 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H) ppm; ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 157.95, 152.11, 141.57, 136.18, 135.24, 127.98, 126.79, 119.08, 116.12, 72.42, 68.87, 62.95, 51.67, 30.39, 28.44, 24.09, 22.36 ppm.; 水含量(藉由 KF): 1.15 重量%。圖 1 中所示之 DSC 溫譜圖顯示在 185.05°C 下

開始且在 189.71°C 下達到峰值的一個吸熱事件，其係指化合物熔融。在約 260°C 下之吸熱事件與化合物分解相關。圖 2 中所示之 TGA 溫譜圖顯示截至 200°C 之重量損失為 1.25%。在 200°C 以上之溫度下，由於化合物分解，觀察到顯著重量損失。測定標題化合物之 XRPD 圖案且示於圖 3 中。以下表 2 中提供 2 θ 峰之清單。

表 2

2 θ	d (Å)	淨強度	總強度	相對強度(%)
6.608	13.3654	608	931	2.7
8.802	10.0379	8330	8970	37.6
9.699	9.1114	1560	2280	7.0
10.016	8.8244	2260	3010	10.2
10.574	8.3595	6020	6800	27.2
13.207	6.6983	2970	3870	13.4
14.509	6.1000	1490	2560	6.7
15.092	5.8659	3980	5180	18.0
16.329	5.4241	21900	23300	98.8
16.889	5.2454	1350	2870	6.1
17.554	5.0482	5510	7120	24.9
18.017	4.9194	4010	5680	18.1
19.081	4.6474	11000	12800	49.6
19.726	4.4971	3490	5320	15.8
21.174	4.1927	7880	9770	35.6
21.648	4.1018	2740	4640	12.4
22.466	3.9544	1080	2980	4.9
23.387	3.8007	3290	5160	14.9
24.037	3.6993	12100	13900	54.7
25.096	3.5456	626	2370	2.8
26.204	3.3980	5000	6720	22.6
26.420	3.3708	6510	8220	29.4
26.858	3.3169	1190	2880	5.4
27.681	3.2201	1320	2970	6.0
27.933	3.1916	1200	2830	5.4
29.318	3.0439	1060	2600	4.8
31.169	2.8672	1510	2870	6.8
31.300	2.8555	1560	2910	7.1
33.466	2.6755	607	1730	2.7
35.550	2.5233	826	1820	3.7
40.831	2.2083	501	1450	2.3
41.961	2.1514	966	1920	4.4
44.759	2.0232	618	1520	2.8
51.694	1.7669	229	1020	1.0

實例 10. 2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羥基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙腈單水合物



【0408】 在配備回流冷凝器、熱電偶及磁性攪拌棒之 2 L 圓底燒瓶中加入非晶 2-((2*R*,5*S*)-5-(2-((*R*)-1-羥基乙基)-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基)四氫-2*H*-嘓喃-2-基)乙腈(93.0 g, 272 mmol)及異丙醇(IPA, 1116 mL)。將所得懸浮液加熱至 50°C 至 55°C 以獲得澄清溶液。在 50°C 下藉由過濾漏斗對溶液進行精過濾。使用額外量之異丙醇(IPA, 47 mL)洗滌過濾漏斗。經 30 分鐘向所合併之溶液中添加水(930 mL)，同時將內部溫度維持在 45°C 至 50°C 下。在添加水後逐漸出現白色沈澱物。藉由在真空下用 50°C 水浴進行旋轉蒸發來移除 IPA。在蒸餾期間，添加額外量之水(1209 mL)以便將混合物之總體積保持在約 1500 mL。在真空蒸餾之後，使所得混合物逐漸冷卻至室溫且在室溫下攪拌 1 至 2 h。藉由過濾收集固體，用水(186 mL)洗滌，且在室溫下在過濾漏斗上用外罩真空乾燥 16 h，獲得呈白色結晶粉末狀之 2-((2*R*,5*S*)-5-(2-((*R*)-1-羥基乙基)-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基)四氫-2*H*-嘓喃-2-基)乙腈單水合物(91.6 g, 94%)。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.00 (s, 1H), 8.03 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 5.96 (s, 1H), 5.22 (s, 1H), 5.11 (s, 1H), 4.31 (t, *J* = 11.0 Hz, 1H), 4.22 - 4.08 (m, 1H), 4.02 (s, 1H), 2.96 (dd, *J* = 17.0, 4.2 Hz, 1H), 2.84 (dd, *J* = 17.0, 6.6 Hz, 1H), 2.65 (qd, *J* = 12.7, 4.3 Hz, 1H), 2.19 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 2.06 (d, *J* = 13.4 Hz, 1H), 1.72 (dd, *J* = 12.6, 3.7 Hz, 1H), 1.66 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H) ppm ; ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 157.95, 152.11, 141.57, 136.18, 135.24, 127.98, 126.79, 119.08, 116.12, 72.42, 68.87, 62.95, 51.67, 30.39, 28.44, 24.09, 22.36 ppm ; C₁₇H₁₈N₄O₂S (MW 342.42), LCMS (EI) *m/e* 343 (M⁺ + H)。水含量(藉由 KF): 5.15 重量%。藉由 DSC 測定熔融/分解範圍且示於圖 4 中。DSC 溫譜圖顯示在 69.37°C 開始且在 106.41°C 達到峰值之一個脫水吸熱事件，隨後為在 131.01°C 開始且在 139.99°C 達到峰值之熔融。TGA 溫譜圖(圖 5)顯示截至 150

°C之重量損失為 4.9%，該值對應於單水合物之水含量。在 200°C之後，該化合物開始分解。測定標題化合物之 XRPD 圖案且示於圖 6 中。2θ 峰之清單提供於以下表 3 中。

表 3

2θ	d (Å)	淨強度	總強度	相對強度(%)
8.477	10.4224	28200	28700	91.9
8.678	10.1819	14500	15000	47.3
11.368	7.7776	2600	3320	8.5
13.150	6.7274	564	1320	1.8
13.568	6.5211	162	922	0.5
14.592	6.0656	23400	24300	76.1
15.064	5.8765	21200	22100	69.0
15.789	5.6082	9180	10100	29.9
16.917	5.2369	6130	7140	19.9
17.427	5.0846	3000	4020	9.8
18.599	4.7668	7670	8720	25.0
19.388	4.5747	20300	21400	66.2
20.160	4.4011	4640	5700	15.1
21.091	4.2089	6690	7710	21.8
21.463	4.1368	839	1840	2.7
22.460	3.9554	3070	4150	10.0
22.871	3.8853	1370	2510	4.5
23.366	3.8040	6710	7900	21.8
23.503	3.7822	8550	9750	27.8
24.518	3.6279	706	2000	2.3
25.065	3.5499	29900	31200	97.3
25.674	3.4670	3830	5200	12.4
25.878	3.4401	11100	12500	36.2
26.306	3.3857	12500	13900	40.7
26.547	3.3549	18100	19500	58.9
27.574	3.2323	6810	8210	22.2
28.299	3.1511	717	2100	2.3
28.625	3.1160	3130	4490	10.2
29.200	3.0559	1670	3000	5.4
29.828	2.9930	1100	2370	3.6
30.451	2.9332	3810	5010	12.4
30.715	2.9085	5430	6600	17.7
31.001	2.8823	1830	2960	6.0
31.335	2.8524	1820	2910	5.9
32.496	2.7531	420	1420	1.4
33.388	2.6815	4050	5030	13.2
34.026	2.6327	1220	2180	4.0
34.291	2.6130	861	1800	2.8
35.285	2.5416	724	1630	2.4
35.729	2.5111	1990	2900	6.5
36.639	2.4507	684	1590	2.2
36.931	2.4320	744	1640	2.4

37.470	2.3983	2760	3630	9.0
37.686	2.3850	1160	2020	3.8
39.059	2.3043	567	1430	1.8
39.713	2.2678	767	1680	2.5
40.791	2.2103	908	1870	3.0
41.862	2.1563	2100	3070	6.8
42.406	2.1298	511	1470	1.7
43.684	2.0704	531	1430	1.7
44.647	2.0280	1760	2680	5.7
45.207	2.0042	462	1430	1.5
45.857	1.9773	428	1430	1.4
47.419	1.9157	1510	2540	4.9
47.976	1.8947	1750	2780	5.7
48.744	1.8667	896	1890	2.9
49.480	1.8406	470	1420	1.5
51.479	1.7737	811	1630	2.6
52.307	1.7476	452	1270	1.5
53.685	1.7060	321	1130	1.0

實例 11. 動態氣相吸附

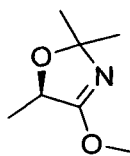
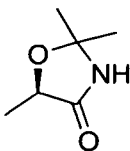
【0409】 對實例 9 之化合物進行動態氣相吸附(DVS)研究以監測吸水性、水合物形成及脫水以及固體形式轉化。在四個循環中以 10%相對濕度(RH)增量完成濕氣吸收概況分析，其中第一吸附自 25%至 95% RH，隨後以 10%增量自 95%至 5% RH 進行解吸。平衡標準如下：5 分鐘內 0.0050 wt%，其中最大平衡時間為 180 分鐘。所有吸附及解吸均在室溫(25°C)下進行。未對樣品應用預乾燥步驟。無水形式之水吸附在 85% RH 以下較緩慢且在 85% RH 以上較快速。XRPD 圖案在 DVS 前後之變化表明固體形式變化。在 DVS 循環 4 之後，無水形式完全轉化成水合形式。在環境儲存條件下，無水形式將緩慢吸收水且轉化成水合形式。自水合物形成無水形式之脫水過程非常緩慢，即使在 5% RH 下。水合形式在較寬濕度條件範圍內具有物理穩定性。氣相吸附/解吸等溫線示於圖 7 及圖 8 中。DVS 前後之 XRPD 圖案疊加示於圖 9 中。

實例 12. 濕度室研究 A

【0410】 將實例 9 之化合物在設定在 40°C 及 75%相對濕度之濕度室中置放 5 天。藉由 XRPD、TGA 及 DSC 分析所得樣品，如圖 10 至圖 12 中所示。基於 XRPD 資料，無水結晶游離鹼轉化成結晶水合物形式。水含量(藉由 KF)為 4.6%且藉由 TGA 觀測到之重量損失為 5.01%。

實例 13. 濕度室研究 B

【0411】 將實例 9 之化合物在設定在 30°C 及 90%相對濕度(RH)之濕度室中置放 7 天。藉由 XRPD、TGA 及 DSC 分析所得樣品，如圖 13 至圖 15 中所示。基於 XRPD，無水結晶游離鹼轉化成結晶水合物形式。30°C/90% RH 樣品之 XRPD 圖案對應於獲自無水結晶游離鹼原料藥之水懸浮液的水合物形式。水含量(藉由 KF)為 4.72%且藉由 TGA 觀測到之重量損失為 5.05%。

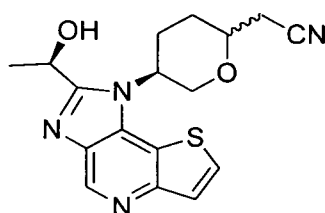
實例 14. (R)-4-甲氧基-2,2,5-三甲基-2,5-二氫噁唑**步驟 1. (R)-2,2,5-三甲基噁唑啉-4-酮**

【0412】 在室溫下向(2R)-2-羥基丙醯胺(30 g, 337 mmol)於丙酮中之溶液中添加 2,2-二甲氧基丙烷(51.8 mL, 421 mmol, 1.25 當量)及三氟化硼乙醚合物(BF₃-Et₂O, 92.13 mL, 16.8 mmol, 0.05 當量)。隨後在室溫下將所得反應混合物攪拌隔夜。當 TLC 指示反應完畢時，在減壓下在 35°C 以下移除溶劑並且將殘餘物添加至甲基第三丁基醚(MTBE, 350 mL)中。用飽和碳酸氫鈉(NaHCO₃)水溶液(15 mL)、固體碳酸氫鈉(NaHCO₃, 4 g)及固體硫酸鈉(Na₂SO₄, 30 g)處理該溶液且在室溫下將所得混合物攪拌 30 分鐘。濾出固體且用甲基第三丁基醚(MTBE, 50 mL)洗滌。分離所合併之濾液之兩相，並且用水(30 mL)洗滌有機相且用硫酸鈉(Na₂SO₄, 20 g)乾燥。在移除乾燥劑之後，在減壓下濃縮濾液且將溶劑換成正己烷以獲得所要產物。藉由過濾收集固體，用正己烷洗滌並且乾燥，得到呈白色結晶固體狀之所要產物 (R)-2,2,5-三甲基噁唑啉-4-酮(42 g, 97%)。¹H NMR (400 MHz, CD₂Cl₂) δ 7.66 (s, 1H), 4.37 (q, *J* = 6.7 Hz, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.44 (s, 3H), 1.36 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H) ppm; ¹³C NMR (101 MHz, CD₂Cl₂) δ 175.58 (s), 90.70 (s), 73.76 (s), 29.97 (s), 28.52 (s), 18.60 (s) ppm。

步驟 2. (*R*)-4-甲氧基-2,2,5-三甲基-2,5-二氫噁唑

【0413】 在室溫下向(*R*)-2,2,5-三甲基噁唑啉-4-酮(20 g, 155 mmol)於二氯甲烷(DCM, 200 mL)中之溶液中添加三甲氧鎢四氟化物($\text{Me}_3\text{O}^+\text{BF}_4^-$, 24.1 g, 155 mmol, 1.0 當量)。在室溫下將所得反應混合物攪拌 6 小時。當 $^1\text{H-NMR}$ 指示反應完畢時, 將反應混合物添加至二氯甲烷(DCM, 100 mL)中且冷卻至 0°C 至 5°C 。隨後用 2 M 碳酸鈉水溶液(Na_2CO_3 , 230 mL)處理所得溶液, 同時將內部溫度維持在 0°C 至 5°C 。分離兩相且用水(2×100 mL)洗滌有機相, 經硫酸鈉(Na_2SO_4 , 50 g)乾燥且在減壓下濃縮, 得到呈黃色油狀之粗製所要產物(*R*)-4-甲氧基-2,2,5-三甲基-2,5-二氫噁唑(19 g, 87%), 其不經進一步純化即可直接用於隨後之反應中。藉由真空蒸餾獲得呈無色油狀之純所要產物(12 g; 在 50 mba 下之沸點為 50°C)。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CD_2Cl_2) δ 4.58 (q, $J = 6.6$ Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 1.41 (s, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.29 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H) ppm; $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CD_2Cl_2) δ 169.80 (s), 103.90 (s), 75.08 (s), 56.46 (s), 30.50 (s), 28.69 (s), 20.07 (s) ppm。

實例 15. 2-((2*R*,5*S*)-5-(2-((*R*)-1-羥基乙基)-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈及 2-((2*S*,5*S*)-5-(2-((*R*)-1-羥基乙基)-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈之替代製備



【0414】 在室溫下向燒瓶中添加(*R*)-2,2,5-三甲基噁唑啉-4-酮(6.7 g, 52 mmol)、三甲氧鎢四氟硼酸鹽($\text{Me}_3\text{O}^+\text{BF}_4^-$, 7.7 g, 52 mmol)及無水二氯甲烷(DCM, 50 mL)。隨後在室溫下將所得混合物攪拌 2 小時。當 $^1\text{H NMR}$ 顯示(*R*)-4-甲氧基-2,2,5-三甲基-2,5-二氫噁唑之形成已完畢時, 在室溫下向反應混合物中加入 2-((2*R*,5*S*)-5-(6-胺基噻吩并[3,2-*b*]吡啶-7-基胺基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈與 2-((2*S*,5*S*)-5-(6-胺基噻吩并[3,2-*b*]吡啶-7-基胺基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈之混合物(實例 4, 5.0 g, 17.3 mmol)。隨後藉由向反應

混合物中添加甲醇並且蒸餾以移除二氯甲烷而將溶劑換成甲醇(80 mL)。隨後將所得反應混合物加熱至 65°C 後維持 1.5 小時。當 HPLC 顯示反應完畢時，在減壓下移除溶劑且用二氯甲烷(80 mL)處理殘餘物。隨後依序用飽和碳酸氫鈉水溶液(NaHCO₃, 10 mL)及固體 NaHCO₃ (11.6 g, 139 mmol)處理所得混合物，隨後在室溫下攪拌 30 min。使混合物經 Na₂SO₄ 乾燥且過濾液體。藉由過濾移除固體且分離濾液之兩相。用水(2×25 mL)洗滌有機相，經 Na₂SO₄ 乾燥並濃縮。隨後將殘餘物溶解於 0.1 M 鹽酸(HCl)水溶液中，且用二氯甲烷(2×20 mL)洗滌所得酸性水溶液。隨後用 NaHCO₃ 中和酸性水溶液，以使粗製所要產物沈澱。藉由過濾收集固體，用水洗滌並且乾燥，得到呈 2-((2*R*,5*S*)-5-(2-((*R*)-1-羥基乙基)-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈與 2-((2*S*,5*S*)-5-(2-((*R*)-1-羥基乙基)-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈之混合物形式的所要產物(5.0 g, 84%產率)。

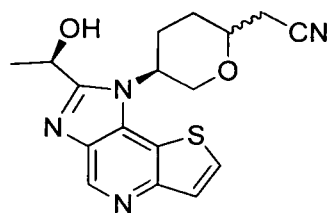
【0415】 兩種對映異構體之混合物不可藉由矽膠管柱層析法分離，且不經進一步分離即直接用於隨後之反應中(參見例如實例 6)。

【0416】 對於(2*R*,5*S*)-異構體：¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.00 (s, 1H), 8.03 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 5.96 (s, 1H), 5.22 (s, 1H), 5.11 (s, 1H), 4.31 (t, *J* = 11.0 Hz, 1H), 4.22 - 4.08 (m, 1H), 4.02 (s, 1H), 2.96 (dd, *J* = 17.0, 4.2 Hz, 1H), 2.84 (dd, *J* = 17.0, 6.6 Hz, 1H), 2.65 (qd, *J* = 12.7, 4.3 Hz, 1H), 2.19 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 2.06 (d, *J* = 13.4 Hz, 1H), 1.72 (dd, *J* = 12.6, 3.7 Hz, 1H), 1.66 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H) ppm; ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 157.95, 152.11, 141.57, 136.18, 135.24, 127.98, 126.79, 119.08, 116.12, 72.42, 68.87, 62.95, 51.67, 30.39, 28.44, 24.09, 22.36 ppm; C₁₇H₁₈N₄O₂S (MW 342.4), LCMS (EI) *m/e* 343 (M⁺ + H)。

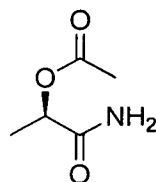
【0417】 對於(2*S*,5*S*)-異構體：¹H NMR (400 MHz, CD₃CN) δ 8.93 (s, 1H), 7.80 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 7.63 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 5.38 (s, 1H), 5.00 (dq, *J* = 9.4, 4.7 Hz, 1H), 4.43 (dd, *J* = 11.8, 9.3 Hz, 1H), 4.26 (dd, *J* = 8.6, 3.7 Hz, 1H), 4.16 (s, 1H), 4.03 - 3.89 (m, 1H), 3.17 (dd, *J* = 17.1, 8.6 Hz, 1H), 2.87 (dd,

$J = 17.2, 5.4$ Hz, 1H), 2.57 (dtd, $J = 14.8, 10.8, 4.2$ Hz, 1H), 2.20 - 1.99 (m, 2H), 1.88-1.82 (m, 1H), 1.73 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H) ppm ; ^{13}C NMR (101 MHz, CD_3CN) δ 158.04, 152.88, 142.12, 136.81, 136.46, 127.44, 127.14, 119.04, 116.97, 70.00, 64.83, 64.03, 54.55, 28.06, 25.73, 22.46, 21.94 ppm ; $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$ (MW 342.4), LCMS (EI) m/e 343 ($\text{M}^+ + \text{H}$) .

實例 16. 2-((2*R*,5*S*)-5-(2-((*R*)-1-羥基乙基)-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈及 2-((2*S*,5*S*)-5-(2-((*R*)-1-羥基乙基)-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈之替代製備

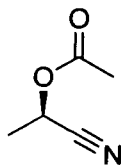


步驟 1. (*R*)-乙酸-1-胺基-1-側氧基丙-2-酯



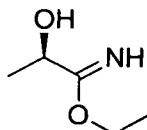
【0418】 在室溫下，在氮氣下向配備回流冷凝器、氮氣入口、熱電偶及磁性攪拌棒之 1 L 三頸圓底燒瓶中加入(*R*)-2-羥基丙醯胺(49.95 g, 543.8 mmol)及四氫呋喃(THF, 300 mL)。藉由冰-水浴將所得黃色溶液冷卻至 0°C 至 5°C，隨後加入乙醯氯(40.60 mL, 571.0 mmol, 1.05 當量)，同時將內部溫度維持在 20°C 以下。在內部溫度降回 5°C 以下之後，加入 4-甲基嗎啉(59.2 mL, 538.0 mmol, 0.99 當量)，同時將內部溫度維持在 10°C 以下。隨後在室溫下將所得反應混合物攪拌 4 小時，隨後過濾混合物以移除固體。用 THF (60 mL)洗滌固體且在減壓下濃縮濾液，獲得呈白色至灰白色固體狀之粗製所要產物(*R*)-乙酸-1-胺基-1-側氧基丙-2-酯(75.0 g, 105.2%)，其不經進一步純化即直接用於下一反應中。 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.42 (s, 1 H), 7.14 (s, 1 H), 4.84 (q, $J = 7.6$ Hz, 1 H), 2.03 (s, 3 H), 1.29 (d, $J = 7.6$ Hz, 3 H) ppm .

步驟 2. (*R*)-乙酸-1-氰基乙酯



【0419】 在氮氣下向配備回流冷凝器、氮氣入口、熱電偶及磁性攪拌棒之 3 L 三頸圓底燒瓶中加入粗製(*R*)-乙酸-1-氨基-1-側氧基丙-2-酯(70.0 g, 533.8 mmol)及 *N,N*-二甲基甲醯胺(DMF, 280 mL)。隨後在室溫下用含氰尿酸氯(44.0 g, 240.0 mmol)之 2-甲氧基-2-甲基丙烷(TBME, 600 mL)處理所得淡黃色溶液。在室溫下將反應混合物攪拌 16 小時。過濾白色固體且用 TBME (800 mL)洗滌。依序用飽和碳酸氫鈉水溶液(NaHCO_3 , 200 mL)、水(4×200 mL)及鹽水(100 mL)洗滌所合併之有機濾液。隨後用無水 MgSO_4 (15 g)乾燥所得有機相, 且在減壓下濃縮, 獲得呈無色至淡黃色油狀之粗製所要產物(*R*)-乙酸-1-氰基乙酯(42.03 g, 69.6%), 其不經進一步純化即直接用於隨後之反應中。 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 5.46 (q, $J = 7.6$ Hz, 1 H), 2.09 (s, 3 H), 1.53 (d, $J = 7.6$ Hz, 3 H) ppm。

步驟 3. (*R*)-2-羥基丙亞胺乙酯



【0420】 在室溫下向配備磁性攪拌棒之 100 mL 圓底燒瓶中加入粗製(*R*)-乙酸-1-氰基乙酯(1.021 g, 8.665 mmol)及乙醇(EtOH, 1.518 mL, 26.0 mmol)。隨後將所得溶液冷卻至 -40°C , 隨後在氯化氫(HCl)氣體中鼓泡 45 秒。隨後使反應混合物逐漸升溫至室溫。在 16 小時之後, 使反應混合物冷卻至 0°C , 隨後依序加入四氫呋喃(THF, 2.0 mL, 25 mmol)及 4-甲基嗎啉(0.865 mL, 7.87 mmol)。藉由過濾移除固體且處於濾液中之粗製所要產物(*R*)-2-羥基丙亞胺酸乙酯不經進一步純化即直接用於隨後之反應中。 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11.14 (s, 1 H), 4.52 - 4.40 (m, 3 H), 1.36 - 1.31 (m, 6 H) ppm。

步驟 4. 2-((2*R*,5*S*)-5-(2-((*R*)-1-羥基乙基)-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈及 2-((2*S*,5*S*)-5-(2-((*R*)-1-羥基乙基)-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈

【0421】 在室溫下，在氮氣下向配備氮氣入口、熱電偶及磁性攪拌棒之三頸 100 mL 圓底燒瓶中加入含 2-((2*R*,5*S*)-5-(6-胺基噻吩并[3,2-*b*]吡啶-7-基胺基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈與 2-((2*S*,5*S*)-5-(6-胺基噻吩并[3,2-*b*]吡啶-7-基胺基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈之混合物(實例 4，0.30 g，1.04 mmol)的乙醇(EtOH，4.0 mL)。隨後將混合物加熱至 80°C 以獲得澄清溶液，隨後在 80 °C 下向乙醇溶液中添加先前步驟中所產生之粗製(*R*)-2-羥基丙亞胺酸乙酯於 THF 中之溶液。當如 HPLC 所指示，1 小時之後反應完畢時，使反應混合物冷卻至室溫。過濾經冷卻之反應混合物且在減壓下濃縮濾液，獲得呈 2-((2*R*,5*S*)-5-(2-((*R*)-1-羥基乙基)-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈與 2-((2*S*,5*S*)-5-(2-((*R*)-1-羥基乙基)-1*H*-咪唑并[4,5-*d*]噻吩并[3,2-*b*]吡啶-1-基)四氫-2*H*-哌喃-2-基)乙腈之混合物形式的粗製所要產物(0.3 g，84%產率)，其不可藉由矽膠管柱層析法分離且不經進一步分離即直接用於隨後之反應中(參見例如實例 6)。

【0422】 對於(2*R*,5*S*)-異構體：¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.00 (s, 1H), 8.03 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 5.96 (s, 1H), 5.22 (s, 1H), 5.11 (s, 1H), 4.31 (t, *J* = 11.0 Hz, 1H), 4.22 - 4.08 (m, 1H), 4.02 (s, 1H), 2.96 (dd, *J* = 17.0, 4.2 Hz, 1H), 2.84 (dd, *J* = 17.0, 6.6 Hz, 1H), 2.65 (qd, *J* = 12.7, 4.3 Hz, 1H), 2.19 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 2.06 (d, *J* = 13.4 Hz, 1H), 1.72 (dd, *J* = 12.6, 3.7 Hz, 1H), 1.66 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H) ppm; ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 157.95, 152.11, 141.57, 136.18, 135.24, 127.98, 126.79, 119.08, 116.12, 72.42, 68.87, 62.95, 51.67, 30.39, 28.44, 24.09, 22.36 ppm; C₁₇H₁₈N₄O₂S (MW 342.4), LCMS (EI) *m/e* 343 (M⁺ + H)。

【0423】 對於(2*S*,5*S*)-異構體：¹H NMR (400 MHz, CD₃CN) δ 8.93 (s, 1H), 7.80 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 7.63 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 5.38 (s, 1H), 5.00 (dq, *J* = 9.4, 4.7 Hz, 1H), 4.43 (dd, *J* = 11.8, 9.3 Hz, 1H), 4.26 (dd, *J* = 8.6, 3.7 Hz, 1H), 4.16 (s, 1H), 4.03 - 3.89 (m, 1H), 3.17 (dd, *J* = 17.1, 8.6 Hz, 1H), 2.87 (dd, *J* = 17.2, 5.4 Hz, 1H), 2.57 (dtd, *J* = 14.8, 10.8, 4.2 Hz, 1H), 2.20 - 1.99 (m, 2H), 1.88-1.82 (m, 1H), 1.73 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H) ppm; ¹³C NMR (101 MHz, CD₃CN)

δ 158.04, 152.88, 142.12, 136.81, 136.46, 127.44, 127.14, 119.04, 116.97, 70.00, 64.83, 64.03, 54.55, 28.06, 25.73, 22.46, 21.94 ppm; C₁₇H₁₈N₄O₂S (MW 342.4), LCMS (EI) *m/e* 343 (M⁺ + H)。

實例 A：活體外 JAK 激酶檢定

【0424】 根據 Park 等人, *Analytical Biochemistry* **1999**, 269, 94-104 中所描述之以下活體外檢定測試本文中之化合物對 JAK 標靶之抑制活性。使用桿狀病毒在昆蟲細胞中表現人類 JAK1 之催化域(a.a. 837-1142)、JAK2 之催化域(a.a. 828-1132)及 JAK3 之催化域(a.a. 781-1124)並且純化。藉由量測生物素標記肽之磷酸化來檢定 JAK1、JAK2 或 JAK3 之催化活性。藉由均質時間解析螢光(HTRF)來偵測磷酸化肽。針對各激酶，在含有處於含 100 mM NaCl、5 mM DTT 及 0.1 mg/mL (0.01%) BSA 之 50 mM Tris (pH 7.8)緩衝液中之該酶、ATP 及 500 nM 肽之 40 μ L 反應物中量測化合物之 IC₅₀。對於 1 mM IC₅₀ 量測，該反應物中之 ATP 濃度為 1 mM。在室溫下進行反應 1 小時，且隨後用 20 μ L 含 45 mM EDTA、300 nM SA-APC、6 nM Eu-Py20 之檢定緩衝液(Perkin Elmer, Boston, MA)終止。與經銷標記之抗體結合 40 分鐘，且在 PHERA 星形培養盤讀數器(BMG, Cary, NC)上量測 HTRF 信號。在實例 A 檢定中在 1 mM ATP 下測試式 Ia 化合物，且發現其在 JAK1 下之 IC₅₀ ≤ 100 nM 且在 JAK2 下之 IC₅₀ ≤ 1000 nM，其中 JAK2/JAK1 比率 > 10。

實例 B：細胞檢定

【0425】 可將依賴於細胞因子且因此依賴於 JAK/STAT 信號轉導以便生長之癌細胞系以 6000 個細胞/孔(96 孔培養盤形式)接種於 RPMI 1640、10% FBS 及 1 nG/mL 適當細胞因子中。可將化合物添加至 DMSO/培養基(最終濃度 0.2% DMSO)中之細胞中，且在 37°C、5% CO₂ 下培育 72 小時。依序使用 CellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assay (Promega)及 TopCount (Perkin Elmer, Boston, MA)定量來評定化合物對細胞活力之效應。使用具有相同檢定讀出值之非 JAK 驅動細胞系來平行量測化合物之潛在脫靶效應。典型地，所有實驗均以一式兩份進行。

【0426】 亦可使用以上細胞系來檢查化合物對 JAK 激酶或潛在下游基質(諸如 STAT 蛋白、Akt、Shp2 或 Erk)之磷酸化的效應。可在隔夜細胞因子饑餓之後進行此等實驗，隨後與化合物一起短暫預培育(2 小時或更短)，且進行細胞因子刺激約 1 小時或更短。隨後自細胞中提取蛋白質，並且使用可區分磷酸化蛋白與總蛋白之抗體，藉由熟習此項技術者所熟知的技術加以分析，包括西方印漬術或 ELISA。此等實驗可利用正常細胞或癌細胞來研究化合物對腫瘤細胞存活生物學或發炎性疾病介質之活性。舉例而言，關於後者，可使用諸如 IL-6、IL-12、IL-23 或 IFN 之細胞因子刺激 JAK 活化，從而引起 STAT 蛋白磷酸化且可能引起轉錄譜(藉由陣列或 qPCR 技術加以評定)或蛋白質(諸如 IL-17)產生及/或分泌。可使用熟習此項技術者常用的技術來量測化合物抑制此等細胞因子介導之效應的能力。為了評定化合物對 JAK2 之效應，可用諸如 GM-CSF 或 Tpo 之 JAK2 依賴性生長因子刺激初代細胞或細胞系，自細胞中提取蛋白質，且使用可區分磷酸化蛋白與總蛋白之抗體，藉由熟習此項技術者所熟知的技術(包括西方印漬術或 ELISA)加以分析。

【0427】 亦可在設計用於評估本文中之化合物對突變 JAK (例如脊髓增生性病變中發現之 JAK2V617F 突變)之效力及活性的細胞模型中對其進行測試。此等實驗通常利用異位表現野生型或突變 JAK 激酶之血液學譜系細胞因子依賴性細胞(例如 BaF/3) (James, C.等人, *Nature* 434:1144-1148; Staerk, J., 等人 *JBC* 280:41893-41899)。終點包括化合物對細胞存活、增殖及磷酸化 JAK、STAT、Akt 或 Erk 蛋白之效應。

【0428】 可評估本文中之某些化合物抑制 T 細胞增殖之活性。此種檢定可被視為第二細胞因子(即 JAK)驅動增殖檢定且亦為免疫抑制或免疫活化抑制之簡單檢定。以下為可以何種方式進行該等實驗之簡要陳述。使用 Ficoll Hypaque 分離法由人類全血樣品製備周圍血液單核細胞(PBMC)，且可藉由淘析由 PBMC 獲得 T 細胞(2000 級分)。可在 37°C 下將新分離之人類 T 細胞以 2×10^6 個細胞/毫升之密度在培養基(補充有 10%胎牛血清、100 U/ml 青黴素、100 μ g/ml 鏈黴素之 RPMI 1640)中維持多達 2 天。對於 IL-2

刺激之細胞增殖分析，首先用植物血球凝集素(PHA)以 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之最終濃度將 T 細胞處理 72 小時。在用 PBS 洗滌一次之後，以 6000 個細胞/孔接種於 96 孔培養盤中且在 100 U/mL 人類 IL-2 (ProSpec-Tany TechnoGene ; Rehovot , Israel)存在下在培養基中用化合物以不同的濃度進行處理。在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下將培養盤培育 72 h 且使用 CellTiter-Glo Luminescent 試劑，按照製造商建議之方案(Promega ; Madison , WI)評定增殖指數。

實例 C：活體內抗腫瘤效力

【0429】 可在人類腫瘤異種移植模型中在免疫受損小鼠中評估本文中之化合物。舉例而言，可使用 INA-6 漿細胞瘤細胞系之致瘤性變異體經皮下接種 SCID 小鼠(Burger, R.等人, *Hematol J.* 2:42-53, 2001)。隨後可將攜帶腫瘤之動物隨機分入藥物處理組或媒劑處理組，且可藉由許多通常途徑(包括經口、經腹膜內或使用可植入泵連續輸注)中之任一種投與化合物之不同劑量。使用測徑規追蹤一定時間內之腫瘤生長。此外，可在開始處理之後的任何時間收集腫瘤樣品以便如上文所描述(實例 B)加以分析，從而評估化合物對 JAK 活性及下游信號傳導途徑之效應。另外，可使用由其他已知激酶驅動(例如 Bcr-Abl)之異種移植腫瘤模型(諸如 K562 腫瘤模型)來評定化合物之選擇性。

實例 D：鼠類皮膚接觸延遲型過敏性反應測試

【0430】 亦可在 T 細胞驅動之鼠類延遲型過敏性測試模型中測試本文中之化合物(抑制 JAK 標靶)的效力。鼠類皮膚接觸延遲型過敏性(DTH)反應被視為臨床接觸性皮炎及其他 T-淋巴細胞介導之皮膚免疫病症(諸如牛皮癬)的有效模型(*Immunol Today.* 1998 年 1 月;19(1):37-44)。鼠類 DTH 與牛皮癬共有多種特徵，包括免疫浸潤、伴隨發炎性細胞因子增加及角質細胞過度增殖。此外，在臨床治療牛皮癬方面有效之許多類別藥劑亦為小鼠中之 DTH 反應之有效抑制劑(*Agents Actions.* 1993 年 1 月;38(1-2):116-21)。

【0431】 在第 0 天及第 1 天，藉由向 Balb/c 小鼠之經剃刮腹部局部投與抗原 2,4-二硝基-氟苯(DNFB)對其進行致敏。在第 5 天，使用工程師用測微計量測耳部之厚度。記錄此量測值且用作基線。隨後藉由局部投與總

計 20 μL (內耳殼上 10 μL 及外耳殼上 10 μL)之 DNFB (濃度 0.2%)對動物之兩耳進行攻擊。在攻擊之後 24 至 72 小時，再次量測耳部。在致敏及攻擊階段中(第-1 天至第 7 天)或在攻擊階段之前或攻擊階段中(通常在第 4 天至第 7 天午後)用測試化合物進行處理。全身或局部(向耳部局部投與處理)投與測試化合物處理(以不同的濃度)。與未經處理之情況相比，耳部腫脹減輕指示測試化合物之效力。引起 20%或更大程度之減輕的化合物被視為有效的。在一些實驗中，對小鼠進行攻擊而非致敏(負對照)。

【0432】 可藉由免疫組織化學分析來證實測試化合物之抑制效應(抑制 JAK-STAT 途徑活化)。JAK-STAT 途徑活化引起功能轉錄因子之形成及移位。此外，免疫細胞流入及角質細胞增殖增加亦將在耳部提供可研究及定量之獨特表達概況。使用與磷酸化 STAT3 (純系 58E12, Cell Signaling Technologies)特異性相互作用之抗體，對經福馬林固定且經石蠟包埋之耳部切片(在 DTH 模型中之攻擊階段之後收集)進行免疫組織化學分析。在比較用 DTH 模型中，用測試化合物、媒劑或地塞米松(臨床上有效之牛皮癬治療)處理小鼠耳部或不進行任何處理。測試化合物及地塞米松均可定性且定量地產生相似轉錄變化，且測試化合物及地塞米松均可減少浸潤細胞數目。全身及局部投與測試化合物均可產生抑制效應，亦即，減少浸潤細胞數目及抑制轉錄變化。

實例 E：活體內消炎活性

【0433】 可在設計用於複製單一或複雜炎症反應之齧齒動物或非齧齒動物模型中評估本文中之化合物。舉例而言，可使用關節炎之齧齒動物模型來評估預防性或治療性給與之化合物的治療潛力。此等模型包括但不限於小鼠或大鼠膠原蛋白誘導型關節炎、大鼠佐劑誘導型關節炎及膠原蛋白抗體誘導型關節炎。自體免疫性疾病，包括但不限於多發性硬化、I 型糖尿病、葡萄膜炎、甲狀腺炎、重症肌無力、免疫球蛋白腎病、心肌炎、氣管敏化(哮喘)、狼瘡或結腸炎，亦可用於評估本文中之化合物的治療潛力。此等模型在研究學會中已充分確立且為熟習此項技術者所熟知(Current Protocols in Immunology, 第 3 卷, Coligan, J.E.等人, Wiley Press; *Methods in*

Molecular Biology: 第 225 卷, Inflammation Protocols., Winyard, P.G. 及 Willoughby, D.A., Humana Press, 2003)。

實例 F：用於治療乾眼症、葡萄膜炎及結膜炎之動物模型

【0434】 可在熟習此項技術者已知的一或多個乾眼症臨床前模型中評估藥劑，包括但不限於兔刀豆凝集素 A (ConA) 淚腺模型、東莨菪鹼小鼠模型(皮下或經皮)、肉毒菌小鼠淚腺模型或引起眼部腺體功能障礙之許多自發性齧齒動物自體免疫性模型(例如 NOD-SCID、MRL/lpr 或 NZB/NZW)中之任一種(Barabino 等人, *Experimental Eye Research* 2004, 79, 613-621；及 Schrader 等人, *Developmental Ophthalmology*, Karger 2008, 41, 298-312，各文獻係以全文引用之方式併入本文中)。此等模型中之終點可包括眼部腺體及眼部(角膜等)之組織病理學及可能包括量測淚液產生之經典 Schirmer 測試或其改進型式(Barabino 等人)。可藉由經由多種投與途徑(例如全身或局部)給藥來評定活性，此舉可在可量測之疾病存在前後開始。

【0435】 可在熟習此項技術者已知的一或多個臨床前葡萄膜炎模型中評估藥劑。此等包括但不限於實驗自體免疫性葡萄膜炎(EAU)及內毒素誘導型葡萄膜炎(EIU)模型。EAU 實驗可在兔、大鼠或小鼠中進行且可包括被動或主動免疫。舉例而言，任何數目之視網膜抗原均可用於使動物對相關免疫原敏感，此後可用同一抗原對動物進行眼部攻擊。EIU 模型更嚴重且包括局部或全身投與亞致死劑量之脂多糖。EIU 及 EAU 模型兩者之終點可尤其包括眼底檢查、組織病理學。Smith 等人已綜述此等模型(*Immunology and Cell Biology* 1998, 76, 497-512，該文獻係以全文引用之方式併入本文中)。可藉由經由多種投與途徑(例如全身或局部)給藥來評定活性，此舉可在可量測之疾病存在前後開始。以上列出之一些模型亦可發展鞏膜炎/鞏膜表層炎、脈絡膜炎、睫狀體炎或虹膜炎，且因此適用於研究化合物用於對此等疾病進行治療性治療之潛在活性。

【0436】 亦可在熟習此項技術者已知的一或多個臨床前結膜炎模型中評估藥劑。此等包括但不限於利用豚鼠、大鼠或小鼠之齧齒動物模型。豚鼠模型包括利用以諸如卵清蛋白之抗原或豚草進行的主動或被動免疫及/

或免疫攻擊方案的模型(綜述於 Groneberg, D.A.等人, *Allergy* 2003, 58, 1101-1113 中, 該文獻係以全文引用之方式併入本文中)。大鼠及小鼠模型與豚鼠模型(亦由 Groneberg 綜述)大體上相似。可藉由經由多種投與途徑(例如全身或局部)給藥來評定活性, 此舉可在可量測之疾病存在前後開始。該等研究之終點可包括例如對諸如結膜之眼部組織的組織學、免疫學、生物化學或分子分析。

實例 G：活體內骨保護

【0437】 可在熟習此項技術者已知的各種骨量減少症、骨質疏鬆症或骨吸收臨床前模型中評估化合物。舉例來說, 可使用切除卵巢之齧齒動物來評估化合物影響骨重建及/或密度之標識及標記物的能力(W.S.S. Jee 及 W. Yao, *J Musculoskel. Nueron. Interact.*, 2001, 1(3), 193-207, 該文獻係以全文引用之方式併入本文中)。或者, 可在療法(例如糖皮質激素)誘導型骨量減少症模型中之對照或經化合物處理之齧齒動物中評估骨密度及結構(Yao 等人, *Arthritis and Rheumatism*, 2008, 58(6), 3485-3497; 及 *id.* 58(11), 1674-1686, 該兩文獻係以全文引用之方式併入本文中)。另外, 可在上述齧齒動物關節炎模型(實例 E)中評估化合物對骨吸收及密度之效應。所有此等模型之終點可能變化, 但通常包括組織學及放射性評定以及骨重建之免疫組織學及適當生物化學標記物。

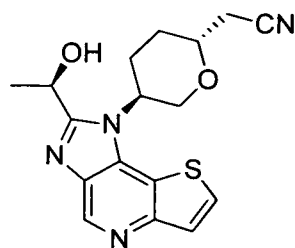
實例 H：S100A9 轉殖基因小鼠模型

【0438】 先前已證明 *S100A9* 轉殖基因小鼠顯示 MDSC 骨髓累積伴隨發展漸進性多譜系血細胞減少症及細胞學發育不良, 與 MDS 相似。此外, 藉由全反式視黃酸治療或活性攜帶基於免疫受體酪胺酸之活化基元(攜帶 ITAM)之連接蛋白(DAP12)干擾 CD33 信號傳導達成 MDSC 早期強制成熟來挽救血液學表型且緩解該疾病。此系統可適用於在臨床前模型中測試 JAK1 抑制對類 MDS 疾病之效應。 *J. Clin. Invest.*, 123(11):4595-4611 (2013)。因此, 藉由經口管飼給與 JAK1 選擇性抑制劑。監測化合物減輕 *S100A9* 轉殖基因小鼠中所觀察到之血細胞減少症及細胞學發育不良的能力。

根據先前描述，對本發明之各種修改以及本文中所描述之修改對於熟習此項技術者將顯而易見。該等修改亦意欲屬於所附申請專利範圍之範疇內。2013年10月31日申請之美國序列號14/068,796係以全文引用之方式併入本文中。本申請案中所引用之各參考文獻，包括所有專利、專利申請案及公開案，係以全文引用之方式併入本文中。

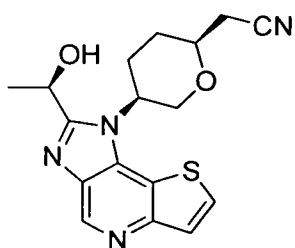
申請專利範圍

1. 一種製備式 Ia 化合物之方法：



Ia

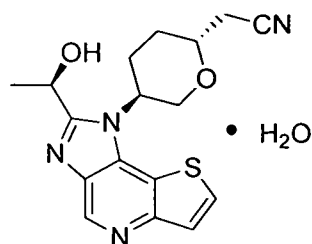
其包括使式 Ib 化合物：



Ib

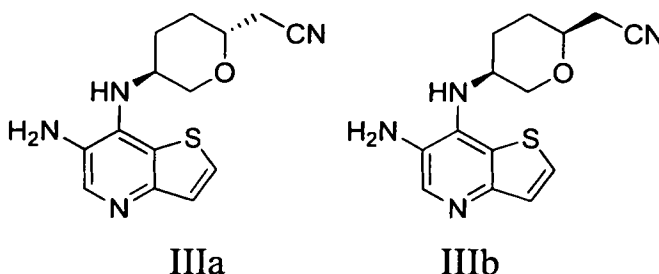
與第一強鹼在第一溶劑組分存在下進行反應。

2. 如申請專利範圍第 1 項之方法，其中該第一強鹼為烷氧化物鹼。
3. 如申請專利範圍第 1 項之方法，其中該第一強鹼為鹼金屬 C₁₋₆ 烷氧化物。
4. 如申請專利範圍第 1 項之方法，其中該第一強鹼為第三丁醇鉀。
5. 如申請專利範圍第 1 項至第 4 項中任一項之方法，其中該式 Ib 化合物在使該式 Ib 化合物與該強鹼進行該反應之前即存在於包含該式 Ib 化合物及該式 Ia 化合物之組成物中。
6. 如申請專利範圍第 1 項至第 5 項中任一項之方法，其中該式 Ia 化合物係製備為式 II 化合物：

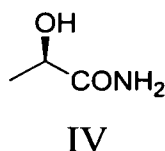


II。

7. 如申請專利範圍第 5 項之方法，其中該包含式 Ia 化合物及式 Ib 化合物之組成物係藉由如下方法製備，該方法包括使包含式 IIIa 化合物及式 IIIb 化合物之組成物：

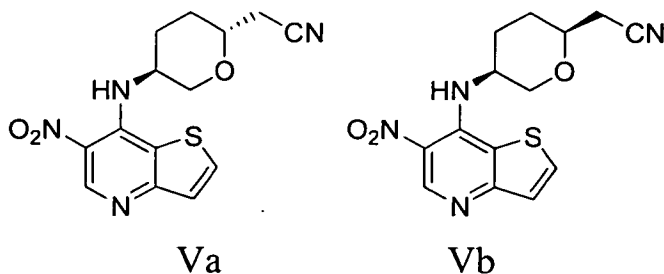


與式 IV 化合物：



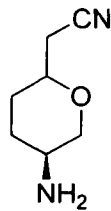
在 C₁₋₆ 烷基氧鎢試劑及第二溶劑組分存在下進行反應。

8. 如申請專利範圍第 7 項之方法，其中在使包含式 IIIa 化合物及式 IIIb 化合物之組成物進行反應之前，使該式 IV 化合物與該 C₁₋₆ 烷基氧鎢試劑在該第二溶劑組分中進行反應。
9. 如申請專利範圍第 7 項至第 8 項中任一項之方法，其中該 C₁₋₆ 烷基氧鎢試劑為三乙基氧鎢四氟硼酸鹽。
10. 如申請專利範圍第 7 項至第 9 項中任一項之方法，其中該包含式 IIIa 化合物及式 IIIb 化合物之組成物係藉由如下方法製備，該方法包括使包含式 Va 化合物及式 Vb 化合物之組成物：



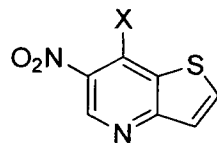
與氫氣在氫化觸媒及第三溶劑組分存在下進行反應。

11. 如申請專利範圍第 10 項之方法，其中該氫化觸媒為鈀/碳。
12. 如申請專利範圍第 10 項至第 11 項中任一項之方法，其中該包含式 Va 化合物及式 Vb 化合物之組成物係藉由如下方法製備，該方法包括使式 VI 化合物：



VI

或其鹽與式 VII 化合物：

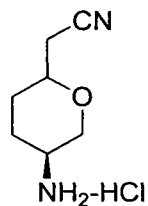


VII

在第一三級胺鹼及第四溶劑組分存在下進行反應，其中：

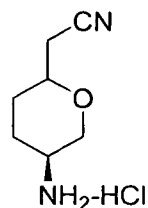
X 為鹵基。

13. 如申請專利範圍第 12 項之方法，其中該式 VI 化合物或其鹽為式 VIa 之鹽：



VIa。

14. 如申請專利範圍第 12 項至第 13 項中任一項之方法，其中 X 為氯基。
15. 如申請專利範圍第 12 項至第 14 項中任一項之方法，其中該第一三級胺鹼為 N-乙基-N-異丙基丙-2-胺。
16. 如申請專利範圍第 12 項至第 15 項中任一項之方法，其中該式 VI 化合物或其鹽為式 VIa 之鹽：



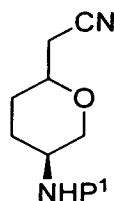
VIa；

該第四溶劑組分包含 N,N-二甲基甲醯胺；

該第一三級胺鹼為 N-乙基-N-異丙基丙-2-胺；且

X 為氯基。

17. 如申請專利範圍第 12 項至第 16 項中任一項之方法，其中該式 VI 化合物或其鹽係藉由如下方法製備，該方法包括使式 VIII 化合物：

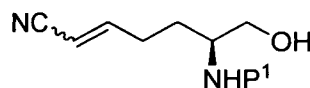


VIII

在去保護條件下進行反應，以形成式 VI 化合物或其鹽；

其中 P¹ 為胺保護基。

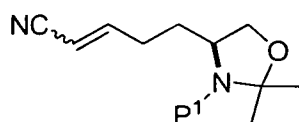
18. 如申請專利範圍第 17 項之方法，其中該等去保護條件包括使式 VIII 化合物與第一強酸反應。
19. 如申請專利範圍第 17 項至第 18 項中任一項之方法，其中該第一強酸為 HCl。
20. 如申請專利範圍第 17 項至第 19 項中任一項之方法，其中 P¹ 為第三丁氧基羰基。
21. 如申請專利範圍第 17 項至第 20 項中任一項之方法，其中該式 VIII 化合物係藉由如下方法製備，該方法包括使式 IX 化合物：



IX

在第二強鹼及第五溶劑組分存在下進行反應，其中 ~~~ 指示順式鍵或反式鍵。

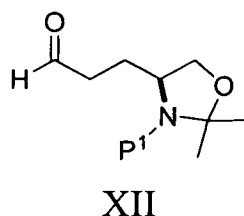
22. 如申請專利範圍第 21 項之方法，其中該第二強鹼為 C₁₋₆ 烷氧化物鹼。
23. 如申請專利範圍第 22 項之方法，其中該烷氧化物鹼為甲醇鈉。
24. 如申請專利範圍第 21 項至第 23 項中任一項之方法，其中該式 IX 化合物係藉由如下方法製備，該方法包括使式 X 化合物：



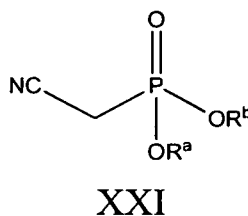
X

在第二強酸及第六溶劑組分存在下進行反應，其中 ~~~ 指示順式鍵或反式鍵。

25. 如申請專利範圍第 24 項之方法，其中該第二強酸為對甲苯磺酸。
26. 如申請專利範圍第 24 項至第 25 項中任一項之方法，其中該式 X 化合物係藉由如下方法製備，該方法包括：
- (i) 使式 XII 化合物：

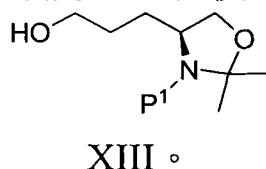


與 Wittig 試劑在第七溶劑組分存在下進行反應，其中該 Wittig 試劑係藉由如下方法製備，該方法包括使式 XXI 化合物：



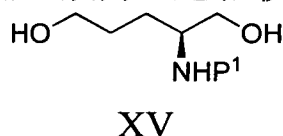
在第三強鹼存在下進行反應，其中 R^a 及 R^b 各自獨立地為 C₁₋₆ 烷基。

27. 如申請專利範圍第 26 項之方法，其中在(i)之前，使該式 XXI 化合物與該第三強鹼在該第七溶劑組分中進行反應。
28. 如申請專利範圍第 26 項至第 27 項中任一項之方法，其中 R^a 及 R^b 各自為乙基。
29. 如申請專利範圍第 27 項至第 28 項中任一項之方法，其中該第三強鹼為第三丁醇鉀。
30. 如申請專利範圍第 26 項至第 29 項中任一項之方法，其中該式 XII 化合物係藉由如下方法製備，該方法包括使式 XIII 化合物氧化：

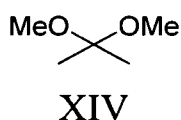


31. 如申請專利範圍第 30 項之方法，其中該氧化包括向式 XIII 化合物中添加第一氧化劑以形成第一混合物。
32. 如申請專利範圍第 31 項之方法，其中該第一氧化劑為 2,2,6,6-四甲基-1-哌啶基氧基自由基(TEMPO)。

33. 如申請專利範圍第 31 項至第 32 項中任一項之方法，其中該添加該第一氧化劑係在四-N-丁基氯化銨存在下進行。
34. 如申請專利範圍第 30 項至第 33 項中任一項之方法，其中該氧化進一步包括向該第一混合物中添加鹼及第二氧化劑。
35. 如申請專利範圍第 34 項之方法，其中該第二氧化劑為 N-鹵丁二醯亞胺化合物。
36. 如申請專利範圍第 34 項之方法，其中該第二氧化劑為 N-氯丁二醯亞胺。
37. 如申請專利範圍第 30 項至第 36 項中任一項之方法，其中該式 XIII 化合物係藉由如下方法製備，該方法包括使式 XV 化合物：

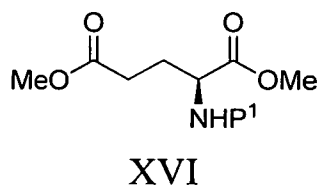


與式 XIV 化合物：



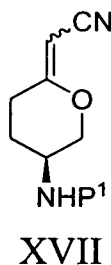
在三氟化硼乙醚合物及第八溶劑組分存在下進行反應。

38. 如申請專利範圍第 37 項之方法，其中該式 XV 化合物係藉由如下方法製備，該方法包括使式 XVI 化合物：



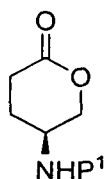
在第一還原劑及第九溶劑組分存在下進行反應。

39. 如申請專利範圍第 38 項之方法，其中該第一還原劑為硼氫化鋰。
40. 如申請專利範圍第 17 項至第 20 項中任一項之方法，其中該式 VIII 化合物係藉由如下方法製備，該方法包括使式 XVII 化合物：



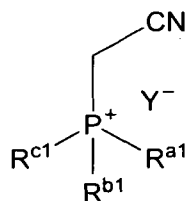
與氫氣在氫化觸媒及第十溶劑組分存在下進行反應。

41. 如申請專利範圍第 40 項之方法，其中該氫化觸媒為鈀/碳。
42. 如申請專利範圍第 40 項至第 41 項中任一項之方法，其中該式 XVII 化合物係藉由以下方式製備：
 - (i) 使式 XVIII 化合物：



XVIII

與 Wittig 試劑在第十一溶劑組分存在下進行反應，其中該 Wittig 試劑係藉由如下方法製備，該方法包括使式 XXII 化合物：



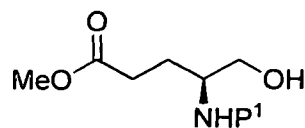
XXII

與第四強鹼進行反應，其中：

R^{a1} 、 R^{b1} 及 R^{c1} 各自獨立地為 C_{1-6} 烷基；

Y 為鹵離子。

43. 如申請專利範圍第 42 項之方法，其中 Y 為 Cl^- 。
44. 如申請專利範圍第 42 項至第 43 項中任一項之方法，其中 R^{a1} 、 R^{b1} 及 R^{c1} 各自為甲基。
45. 如申請專利範圍第 42 項至第 43 項中任一項之方法，其中 R^{a1} 、 R^{b1} 及 R^{c1} 各自為正丁基。
46. 如申請專利範圍第 42 項至第 45 項中任一項之方法，其中該第四強鹼為第三丁醇鉀。
47. 如申請專利範圍第 42 項至第 45 項中任一項之方法，其中該第四強鹼為六甲基二矽疊氮化鋰。
48. 如申請專利範圍第 42 項至第 47 項中任一項之方法，其中該式 XVIII 化合物係由如下方法形成，該方法包括使式 XIX 化合物：

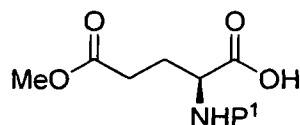


XIX

在弱有機酸及第十二溶劑組分存在下進行反應。

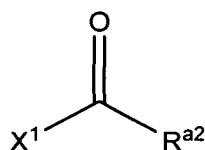
49. 如申請專利範圍第 48 項之方法，其中該弱有機酸為乙酸。
50. 如申請專利範圍第 48 項至第 49 項中任一項之方法，其中該式 XIX 化合物係由如下方法形成，該方法包括：

(1) 使式 XX 化合物：



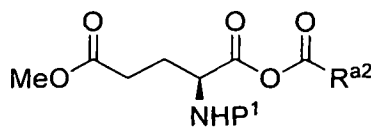
XX

與式 XXIII 化合物：



XXIII

在第二三級胺鹼及第十三溶劑組分存在下進行反應，以形成式 XXIV 化合物：



XXIV

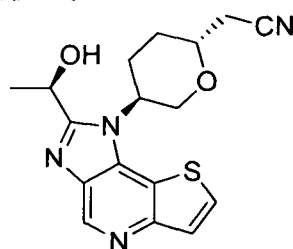
其中

R^{a2} 為 C_{1-4} 烷氧基；

X^1 為鹵基。

51. 如申請專利範圍第 50 項之方法，其中該式 XXIII 化合物為氯甲酸乙酯。
52. 如申請專利範圍第 50 項至第 51 項中任一項之方法，其中該第二三級胺鹼為 N-甲基嗎啉。
53. 如申請專利範圍第 50 項至第 52 項中任一項之方法，其進一步包括用第二還原劑還原該式 XXIV 化合物。
54. 如申請專利範圍第 53 項之方法，其中該第二還原劑為氫化硼鈉。

55. 一種式 Ia 化合物之無水形式：

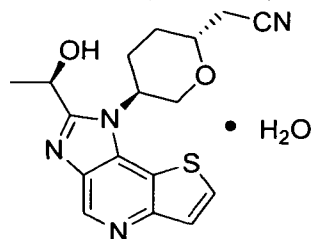


Ia。

56. 如申請專利範圍第 55 項之形式，其中該無水形式為結晶形式。

57. 一種形成如申請專利範圍第 55 項之式 Ia 化合物之無水形式的方法，其包括：

(i) 將正庚烷添加至第一混合物中，該第一混合物包含式 II 化合物：



II

及第一溶劑組分，其中該第一溶劑組分包含乙酸乙酯。

58. 如申請專利範圍第 57 項之方法，其中該第一溶劑組分進一步包含甲醇。

59. 如申請專利範圍第 58 項之方法，其進一步包括在(i)之前：

(ii) 將該式 II 化合物溶解於甲醇中以形成第二混合物，該第二混合物包含式 Ia 化合物及第二溶劑組分，該第二溶劑組分包含甲醇；

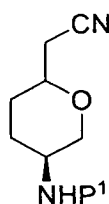
(iii) 對該第二混合物進行精過濾；及

(iv) 向該第二混合物中添加乙酸乙酯以形成該第一混合物。

60. 如申請專利範圍第 58 項至第 59 項中任一項之方法，其進一步包括將該第一混合物加熱至約 60°C 至約 75°C 之溫度。

61. 如申請專利範圍第 58 項至第 60 項中任一項之方法，其包括經由蒸餾移除至少一部分乙酸乙酯及甲醇，以形成該第一混合物。

62. 一種式 VIII 化合物：

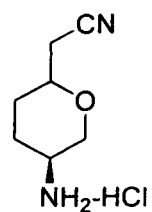


VIII

其中 P¹ 為胺保護基。

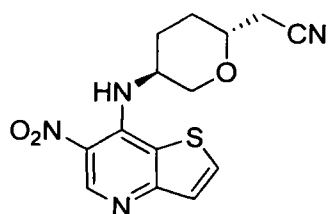
63. 如申請專利範圍第 62 項之化合物，其中 P¹ 為第三丁氧基羰基。

64. 一種式 VIa 化合物：



VIa。

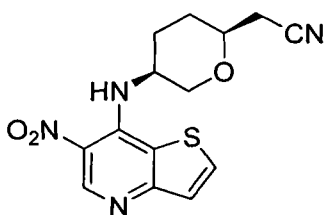
65. 一種式 Va 化合物：



Va

或其鹽。

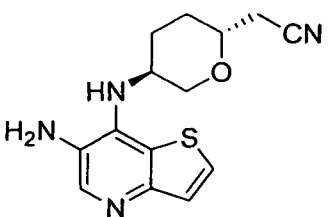
66. 一種式 Vb 化合物：



Vb

或其鹽。

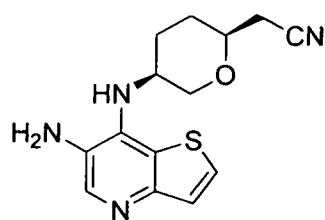
67. 一種式 IIIa 化合物：



IIIa

或其鹽。

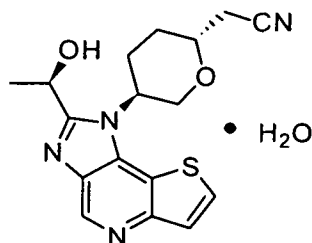
68. 一種式 IIIb 化合物：



IIIb

或其鹽。

69. 一種用於製備式 II 化合物之方法：



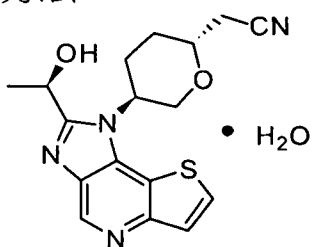
II

其包括使 2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羥基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙腈之無水形式懸浮於包含水之溶劑組分中。

70. 如申請專利範圍第 69 項之方法，其中該懸浮係在約室溫下進行。

71. 如申請專利範圍第 69 項之方法，其中該溶劑組分為水。

72. 一種製備式 II 化合物之方法，



II

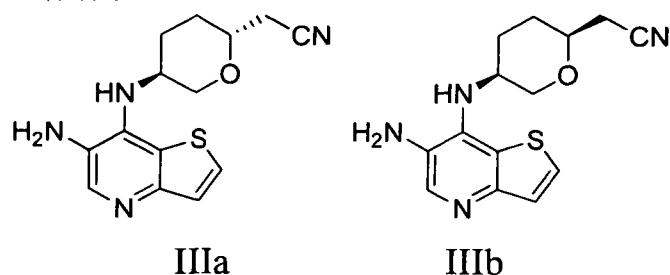
其包括自包含 2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羥基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙腈及包含異丙醇及水之溶劑組分的第一混合物中分離該式 II 化合物。

73. 如申請專利範圍第 72 項之方法，其進一步包括在該分離之前進行以下步驟：

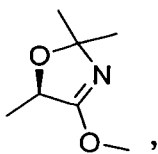
(a) 將 2-((2R,5S)-5-(2-((R)-1-羥基乙基)-1H-咪唑并[4,5-d]噻吩并[3,2-b]吡啶-1-基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙腈溶解於包含異丙醇之溶劑組分中，以形成第二混合物；及

(b) 向該第二混合物中添加水以形成該第一混合物，其中該溶劑組分包含異丙醇及水。

74. 如申請專利範圍第 73 項之方法，其進一步包括在該分離之前自該第一混合物中移除至少一部分該溶劑組分。
75. 如申請專利範圍第 73 項之方法，其中(a)及(b)係在約 40°C 至約 60°C 之溫度下進行。
76. 如申請專利範圍第 5 項之方法，其中該包含式 Ia 化合物及式 Ib 化合物之組成物係藉由如下方法製備，該方法包括使包含式 IIIa 化合物及式 IIIb 化合物之組成物：

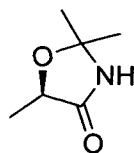


與(*R*)-4-甲氧基-2,2,5-三甲基-2,5-二氫噁唑：



或其鹽進行反應。

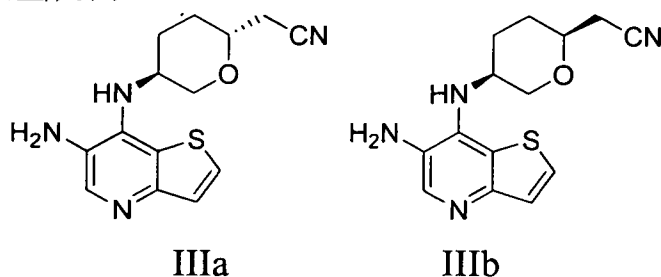
77. 如申請專利範圍第 76 項之方法，其中該(*R*)-4-甲氧基-2,2,5-三甲基-2,5-二氫噁唑係藉由使(*R*)-2,2,5-三甲基噁唑啉-4-酮：



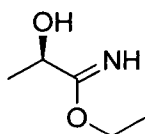
與三甲基氧鎂四氟硼酸鹽反應來製備。

78. 如申請專利範圍第 77 項之方法，其中該使(*R*)-2,2,5-三甲基噁唑啉-4-酮與三甲基氧鎂四氟硼酸鹽反應以形成(*R*)-4-甲氧基-2,2,5-三甲基-2,5-二氫噁唑的步驟及該使(*R*)-4-甲氧基-2,2,5-三甲基-2,5-二氫噁唑與包含式 IIIa 化合物及式 IIIb 化合物之組成物反應的步驟係在同一器皿中在不分離(*R*)-4-甲氧基-2,2,5-三甲基-2,5-二氫噁唑之情況下進行。

79. 如申請專利範圍第 5 項之方法，其中該包含式 Ia 化合物及式 Ib 化合物之組成物係藉由如下方法製備，該方法包括使包含式 IIIa 化合物及式 IIIb 化合物之組成物：

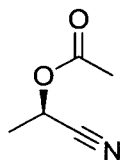


與(*R*)-2-羥基丙亞胺酸乙酯：



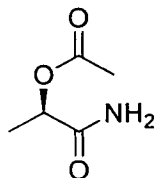
進行反應。

80. 如申請專利範圍第 79 項之方法，其中該(*R*)-2-羥基丙亞胺酸乙酯係藉由使(*R*)-乙酸-1-氰基乙酯：



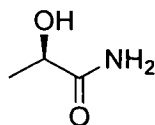
與乙醇在強酸存在下進行反應來製備。

81. 如申請專利範圍第 80 項之方法，其中(*R*)-乙酸-1-氰基乙酯與乙醇之該反應中所使用之該強酸為氯化氫。
82. 如申請專利範圍第 80 項至第 81 項中任一項之方法，其中該(*R*)-乙酸-1-氰基乙酯係藉由使(*R*)-乙酸 1-胺基-1-側氧基丙-2-基酯：



與氰尿酸反應而形成。

83. 如申請專利範圍第 82 項之方法，其中該(*R*)-乙酸-1-胺基-1-側氧基丙-2-基酯係藉由在第三級胺鹼存在下用乙醯氯保護(*R*)-2-羥基丙醯胺：



而製備。

84. 如申請專利範圍第 83 項之方法，其中該第三三級胺鹼為 4-甲基嗎啉。

圖式

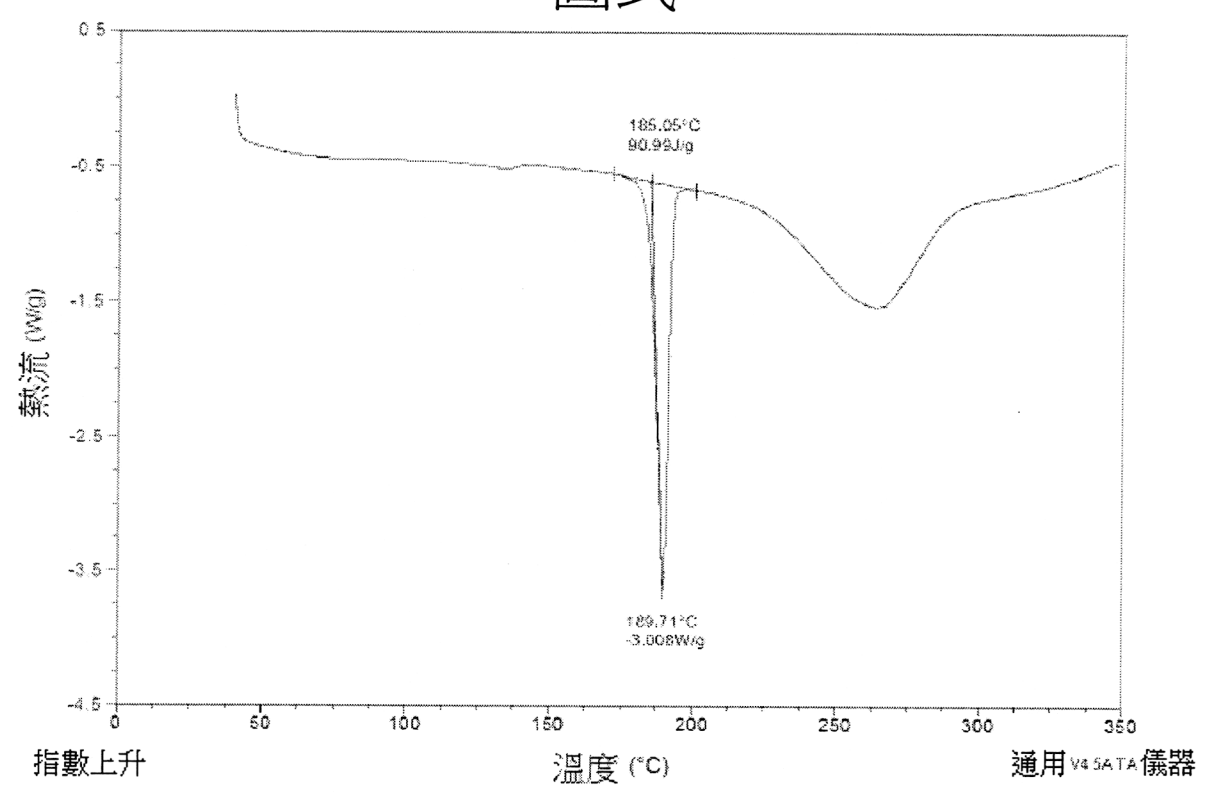


圖 1

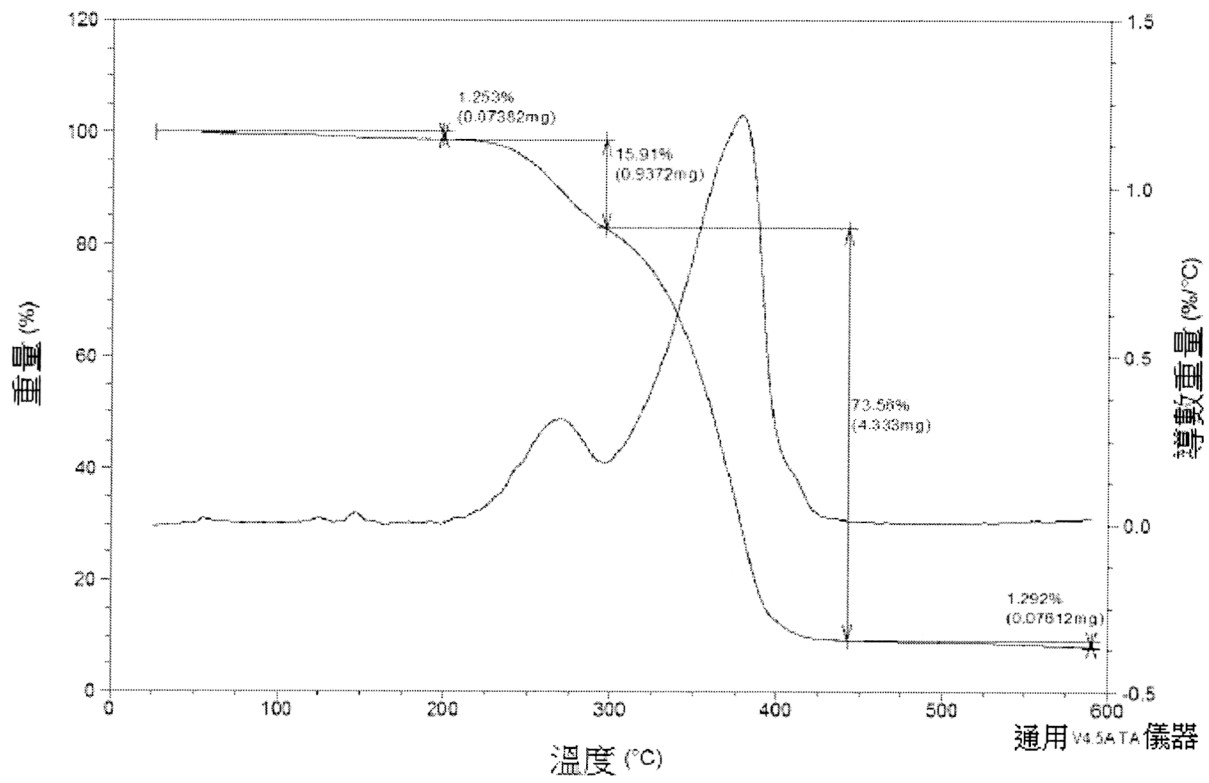


圖 2

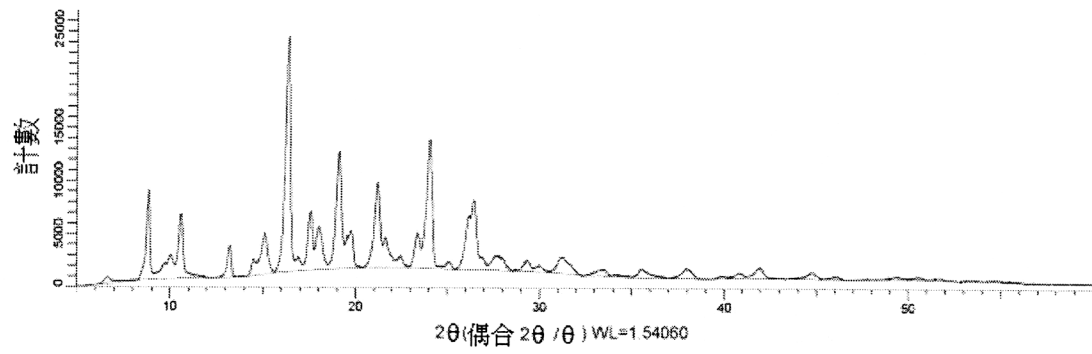


圖 3

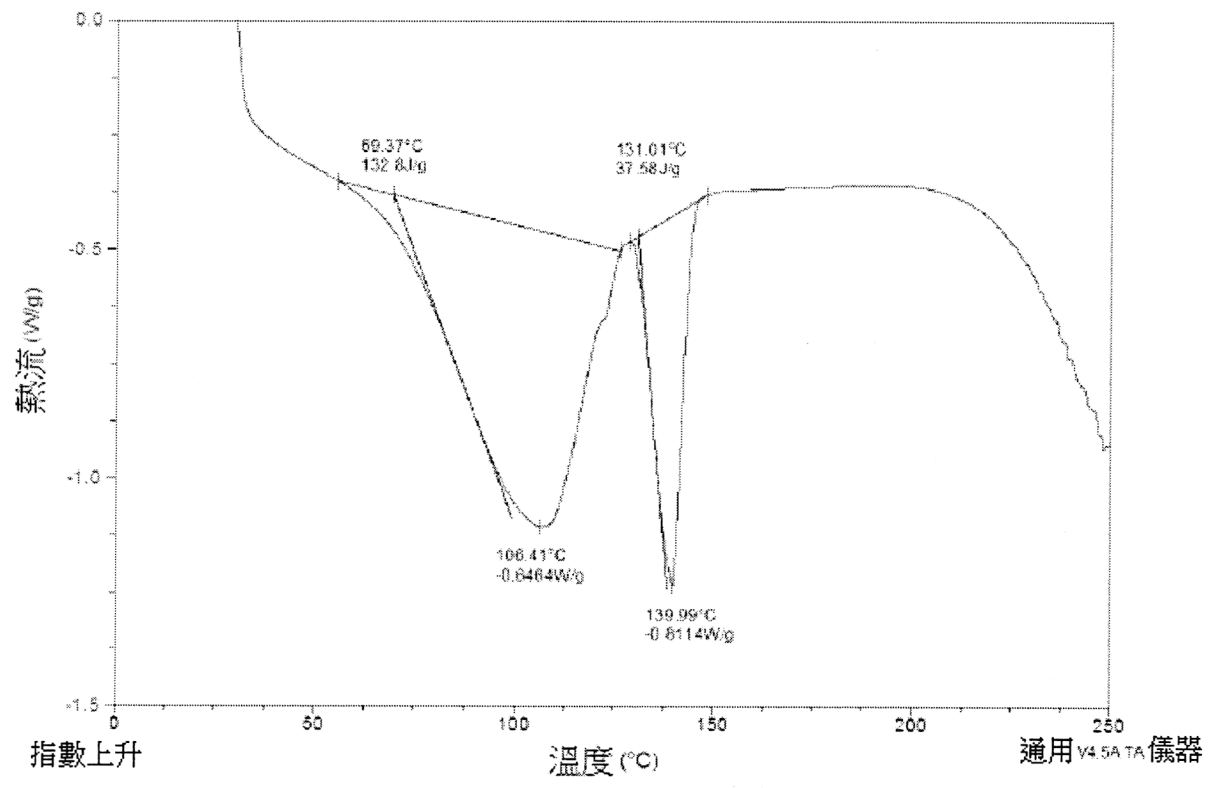


圖 4

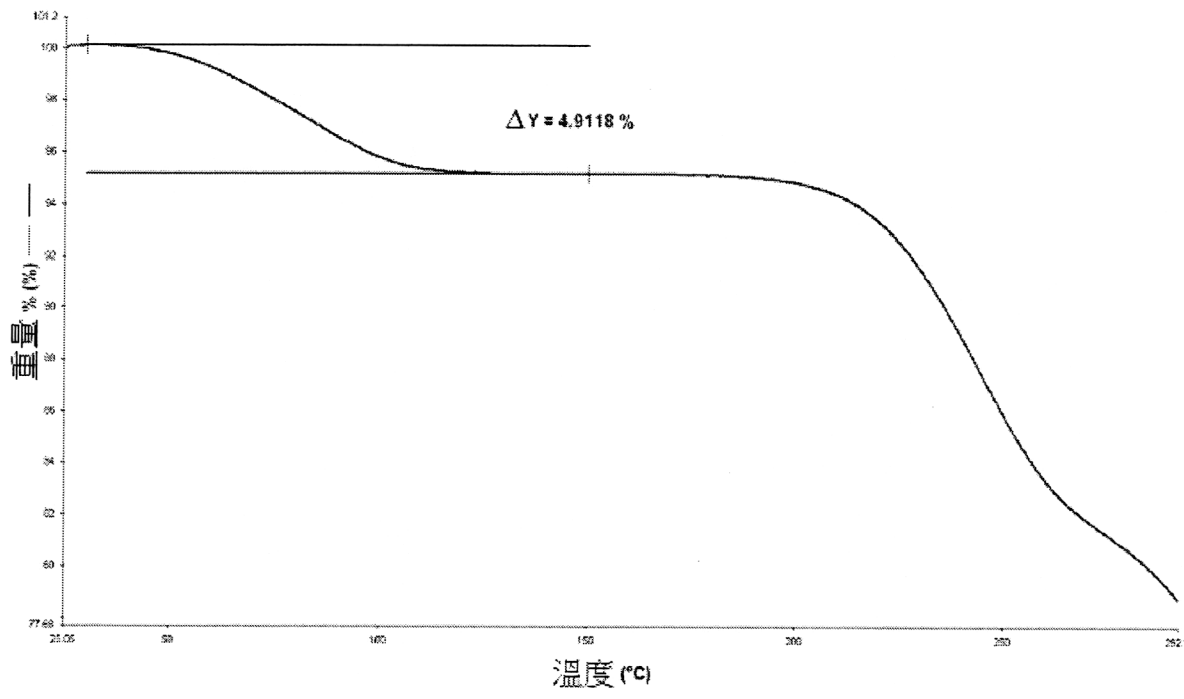


圖 5

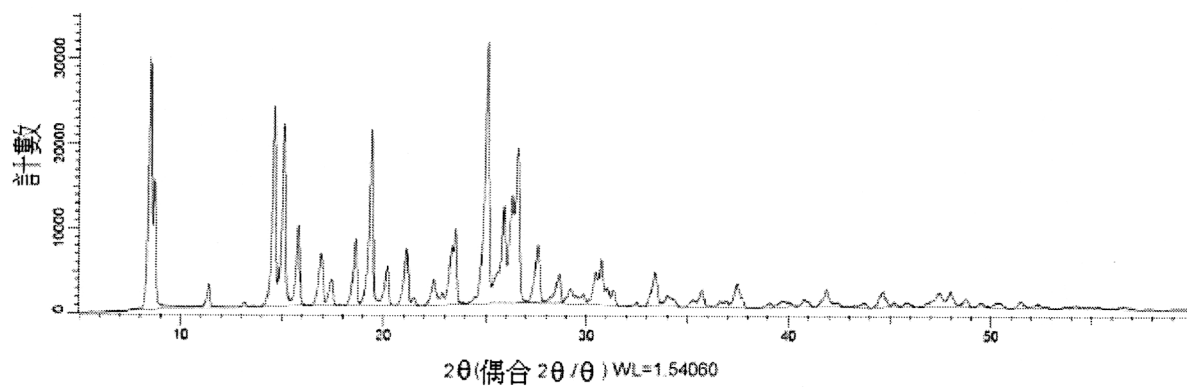


圖 6

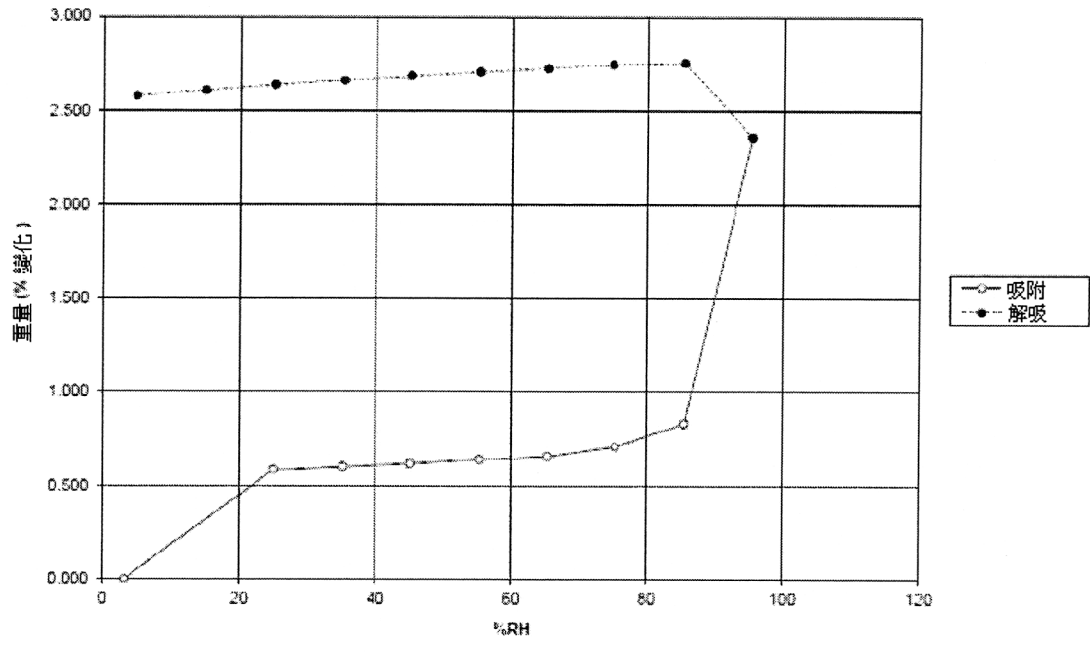


圖 7

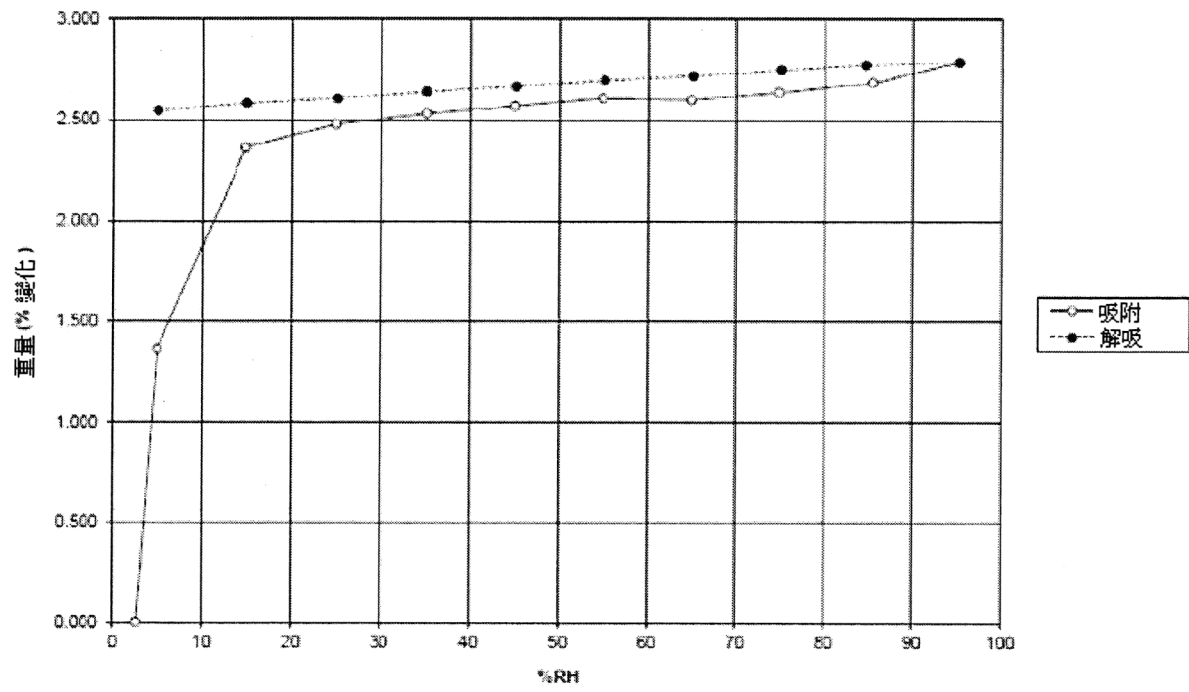


圖 8

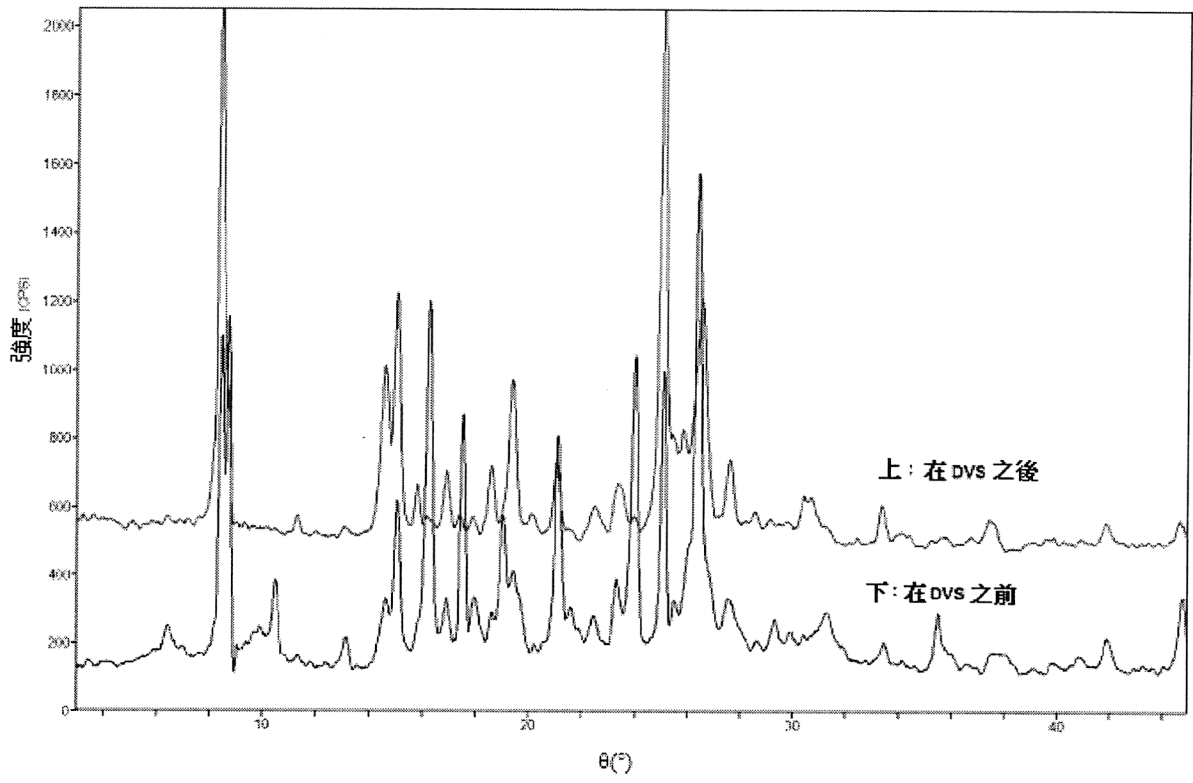


圖 9

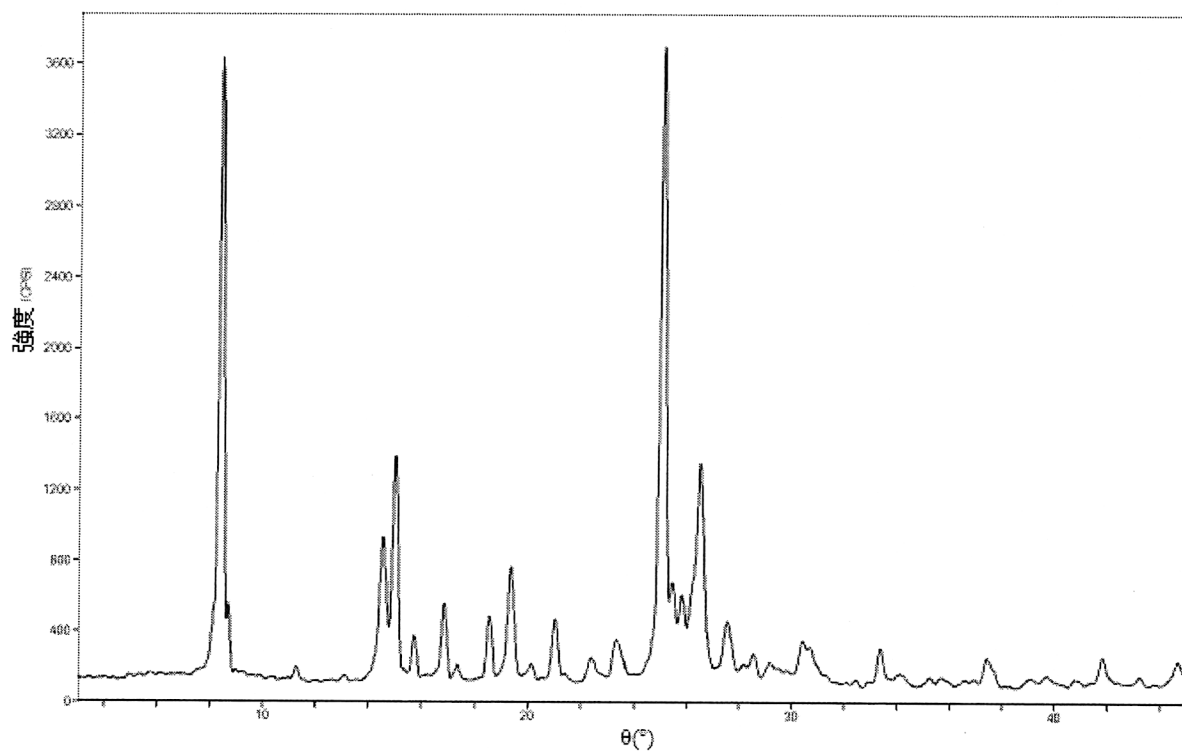


圖 10

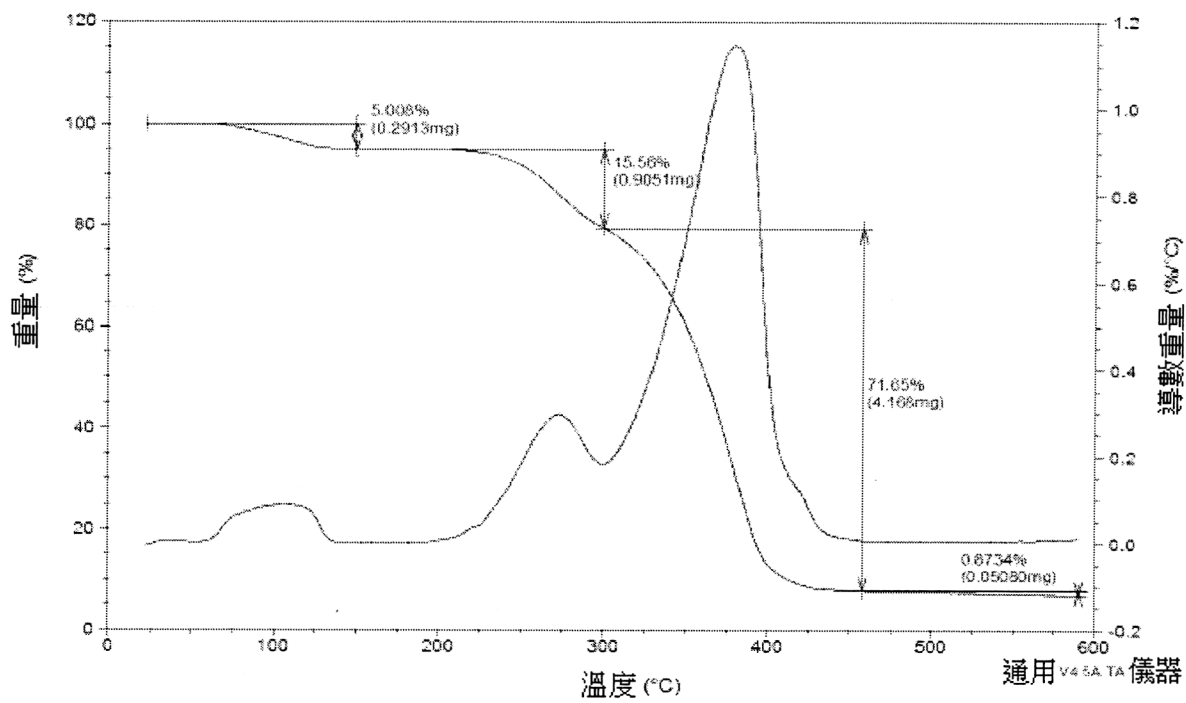


圖 11

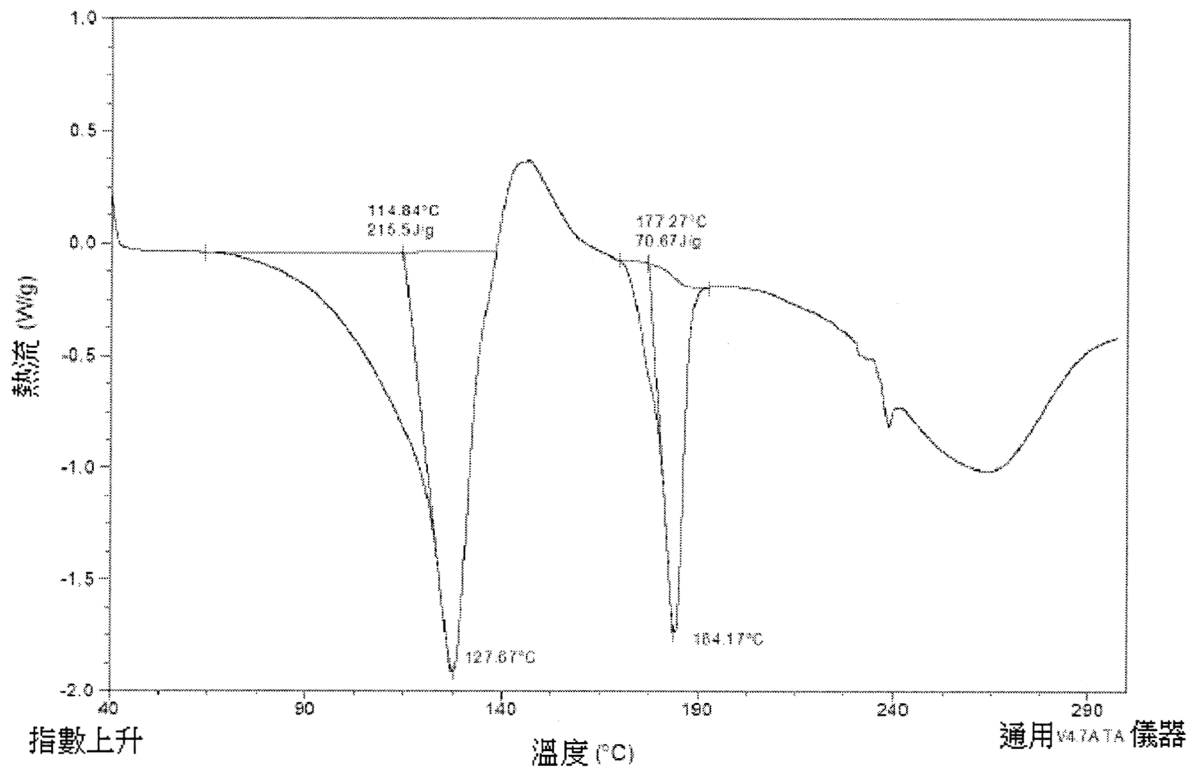


圖 12

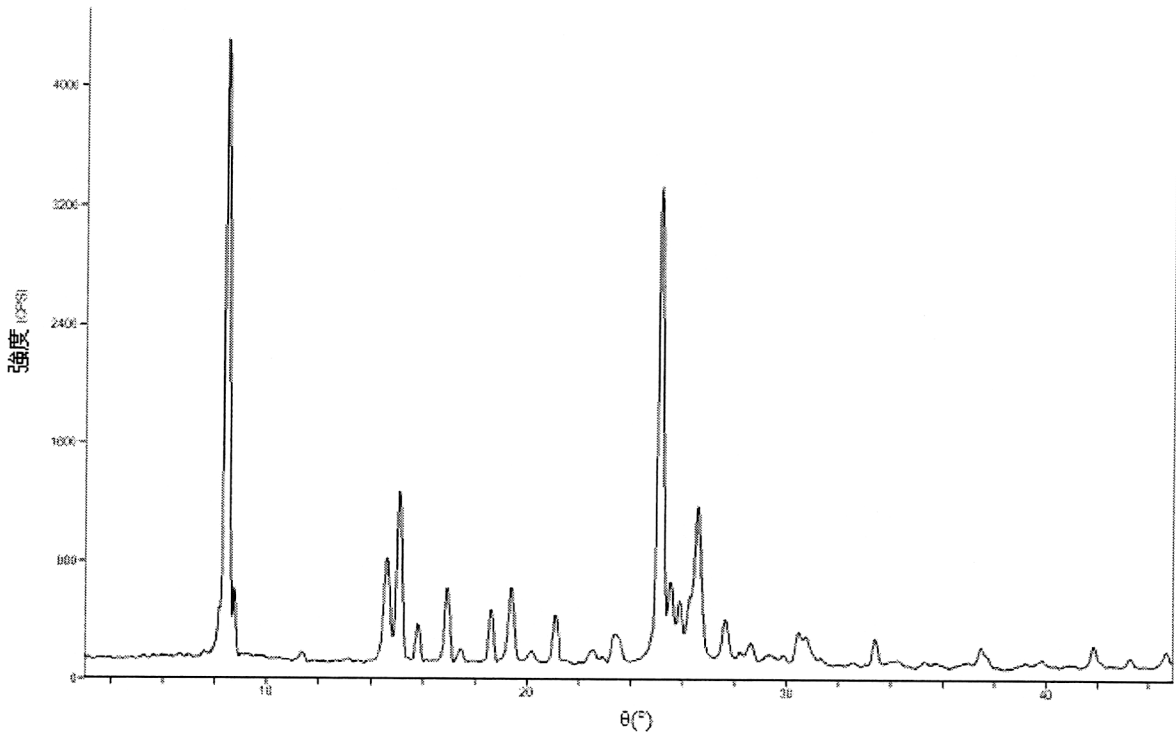


圖 13

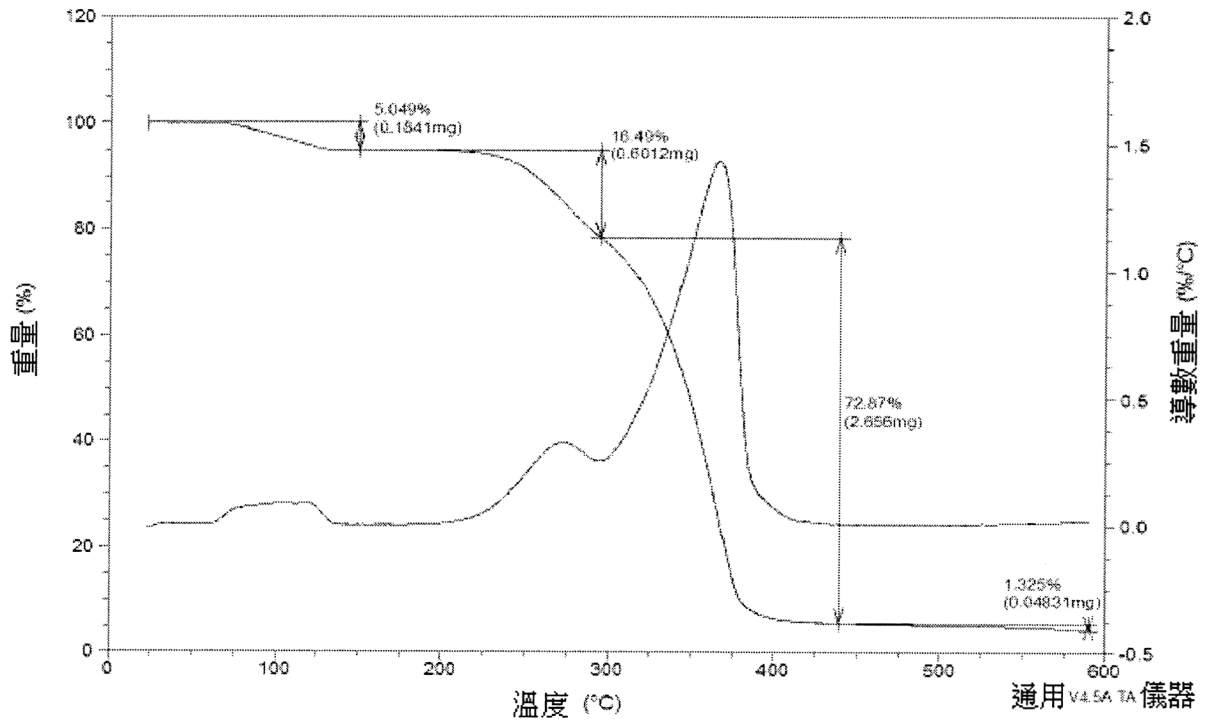


圖 14

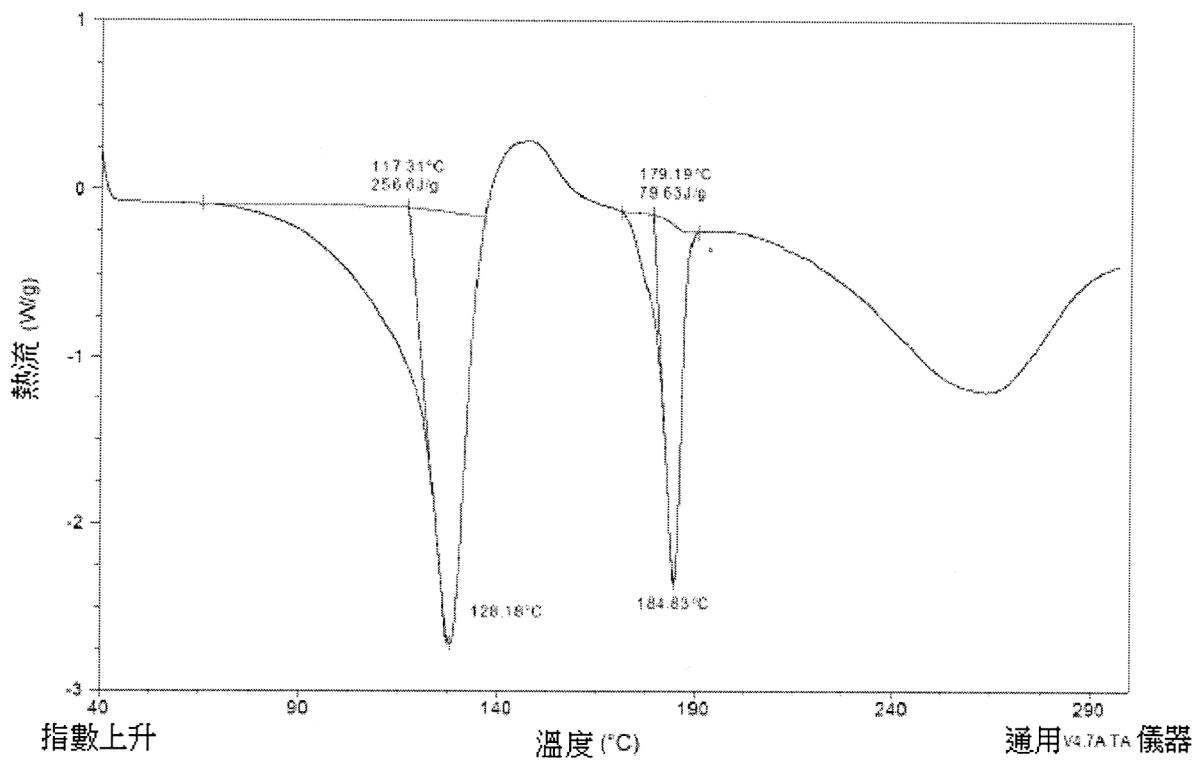


圖 15