



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I776886 B

(45)公告日：中華民國 111 (2022) 年 09 月 11 日

(21)申請案號：107114086

(22)申請日：中華民國 107 (2018) 年 04 月 25 日

(51)Int. Cl. : *A61K31/13 (2006.01)**A61K31/135 (2006.01)**A61K31/145 (2006.01)**A61K31/164 (2006.01)**A61K31/165 (2006.01)**A61K31/41 (2006.01)**A61K31/695 (2006.01)*

(30)優先權：2017/04/26 美國

62/490,280

(71)申請人：美商奈維特製藥公司 (美國) NAVITOR PHARMACEUTICALS, INC. (US)
美國

(72)發明人：薩亞 艾登 SAIAH, EDDINE (US)；維拉蘇克 喬治 VLASUK, GEORGE (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

期刊 Nagamori, Shushi, et al. "Structure-activity relations of leucine derivatives reveal critical moieties for cellular uptake and activation of mTORC1-mediated signaling." Amino Acids 48 .4 2016 1045-1058

期刊 Ignácio, Zuleide M., et al. "New perspectives on the involvement of mTOR in depression as well as in the action of antidepressant drugs." British journal of clinical pharmacology 82 .5 2016 1280-1290

審查人員：陳世芹

申請專利範圍項數：13 項 圖式數：37 共 256 頁

(54)名稱

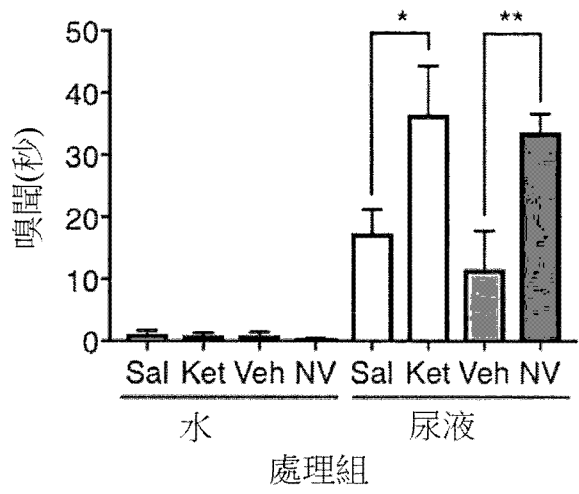
SESTRIN-GATOR2 交互作用之調節劑及其用途

(57)摘要

本發明提供化合物、其組合物及其使用方法。

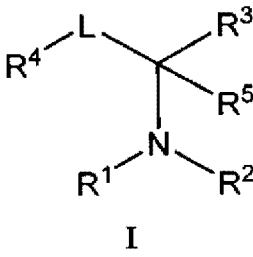
The present invention provides compounds, compositions thereof, and methods of using the same.

指定代表圖：



【圖2】

特徵化學式：





I776886

【發明摘要】

【中文發明名稱】

SESTRIN-GATOR2交互作用之調節劑及其用途

【英文發明名稱】

MODULATORS OF SESTRIN-GATOR2 INTERACTION AND
USES THEREOF

【中文】

本發明提供化合物、其組合物及其使用方法。

【英文】

The present invention provides compounds, compositions thereof, and methods of using the same.

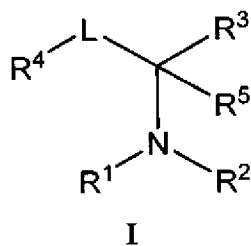
【指定代表圖】

圖2

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】



【發明說明書】

【中文發明名稱】

SESTRIN-GATOR2交互作用之調節劑及其用途

【英文發明名稱】

MODULATORS OF SESTRIN-GATOR2 INTERACTION AND
USES THEREOF

【技術領域】

本發明係關於適用於調節Sestrin-GATOR2交互作用，由此選擇性地間接調節mTORC1活性之化合物及方法。本發明亦提供包含本發明化合物之醫藥學上可接受之組合物及使用該等組合物治療各種病症之方法。

【先前技術】

雷帕黴素複合物1 (mTORC1)蛋白激酶之機理目標為感測多種多樣的環境線索，諸如生長因子、細胞應力及養分及能階之主要生長調節劑。在活化時，mTORC1使受質磷酸化，該等受質增強合限制成代謝過程，諸如mRNA轉譯及脂質合成；且分解代謝過程，諸如自噬。mTORC1失調發生於廣泛範圍之疾病中，尤其包括糖尿病、癲癇症、神經退化、免疫反應、骨骼肌肉生長遏制及癌症(Howell等人, (2013) Biochemical Society transactions 41, 906-912；Kim等人, (2013) Molecules and cells 35, 463-473；Laplane及Sabatini, (2012) Cell 149, 274-293)。

多個上游輸入端(包括生長因子及能階)經由調控Rheb (其為mTORC1之必需活化劑之較小GTP酶)之TSC複合物發信號給mTORC1 (Brugarolas等人, (2004) Genes & Development 18, 2893-2904；Garami等人, (2003) Molecular Cell 11, 1457-1466；Inoki等人, (2003) Genes & Development 17, 1501-1513)。

Development 17, 1829-1834 ; Long 等人, (2005) Current Biology 15, 702-713 ; Sancak 等人, (2008) Science (New York, NY) 320, 1496-1501 ; Saucedo 等人, (2003) Nature cell biology 5, 566-571 ; Stocker 等人, (2003) Nature cell biology 5, 559-565 ; Tee 等人, (2002) Proc Natl Acad Sci U S A 99, 13571-13576)。胺基酸似乎並不會經由TSC-Rheb軸發信號給mTORC1而是經由雜二聚體Rag GTP酶起作用，該等異二聚體Rag GTP酶分別由鍵結至RagC或RagD之RagA或RagB組成(Hirose 等人, (1998) Journal of cell science 111 (Pt 1), 11-21 ; Kim 等人, (2008) Nature cell biology 10, 935-945 ; Nobukuni 等人, (2005) Proc Natl Acad Sci U S A 102, 14238-14243 ; Roccio 等人, (2005) Oncogene 25, 657-664 ; Sancak 等人, (2008) Science (紐約, NY) 320, 1496-1501 ; Schürmann 等人, (1995) The Journal of biological chemistry 270, 28982-28988 ; Sekiguchi 等人, (2001) The Journal of biological chemistry 276, 7246-7257 ; Smith 等人, (2005) The Journal of biological chemistry 280, 18717-18727)。Rag GTP酶控制mTORC1之次細胞定位且胺基酸促進其募集至溶酶體表面，其中亦駐留Rheb GTP酶(Buerger 等人, (2006) Biochemical and Biophysical Research Communications 344, 869-880 ; Dibble 等人, (2012) Molecular cell 47, 535-546 ; Saito 等人, (2005) Journal of Biochemistry 137, 423-430 ; Sancak 等人, (2008) Science (紐約, NY) 320, 1496-1501)。已鑑別出Rag GTP酶之路徑上游之若干正組分。調節劑複合物使Rag GTP酶定位於溶酶體表面且與空泡ATP酶一起促進RagA/B上GDP交換GTP (Bar-Peled 等人, (2012) Cell 150, 1196-1208 ; Sancak 等人, (2010) Cell 141, 290-303 ; Zoncu 等人, (2011)

Science Signaling 334, 678-683)。不同FLCN-FNIP複合物作用於RagC/D且刺激其使GTP水解成GDP (Tsun等人, 2013)。當RagA/B裝載有GTP且RagC/D裝載有GDP時，雜二聚體結合且募集mTORC1至溶酶體表面，其中其可與其活化劑Rheb GTP酶接觸。

近期作品已鑑別出GATOR1多蛋白質複合物為胺基酸感測路徑之主要負調控劑且其缺失使得mTORC1信號傳導對胺基酸不足完全不敏感(Bar-Peled等人, (2013) Science 340, 1100-1106; Panchaud等人, (2013) Science Signaling 6, ra42)。GATOR1由DEPDC5、Nprl2及Nprl3組成，且為RagA/B之GTP酶活化蛋白質(GAP)。具有五個已知次單元(WDR24、WDR59、Mios、Sec13及Seh1L)之GATOR2多蛋白質複合物為GATOR1路徑之正組分且在GATOR1上游或與GATOR1平行，但其分子功能直到最近仍未知(Bar-Peled等人, (2013) Science 340, 1100-1106)。

最近，關於mTORC1路徑之額外資訊已闡明，GATOR2與Sestrin中之一或多者結合鑑別且表明所得Sestrin-GATOR2複合物調控mTORC1之次細胞定位及活性。特定言之，Sestrin-GATOR2錯合物之存在藉由預防mTORC1易位至溶酶體膜來抑制mTORC1路徑且降低mTORC1活性。藉由胺基酸，尤其白胺酸及(在較低程度上)異白胺酸、甲硫胺酸及纈胺酸，對抗GATOR2與Sestrin，且尤其Sestrin1及Sestrin2之交互作用。在白胺酸存在下，GATOR2不與Sestrin1或Sestrin2交互作用且mTORC1能夠遷移至活性之溶酶體膜。Sestrin1及Sestrin2使白胺酸及(在較低程度上)異白胺酸及甲硫胺酸直接結合(Chantranupong等人, (2014) Cell Rep.;9(1):1-8)。需要藉由Sestrin1或Sestrin2結合白胺酸以用於破壞其與GATOR2之交互作用及mTORC1之後續活化。不能結合白胺酸之Sestrin2突變體無法發

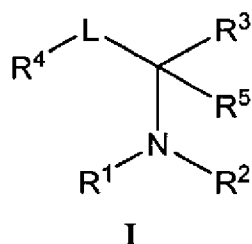
白胺酸存在之信號給mTORC1，且耗乏Sestrin2之細胞及其同源物使得mTORC1對白胺酸之不存在不敏感(Wolfson等人, (2015) Science pii: ab2674 [印刷前電子版])。

Sestrin為不良表徵之分子功能之三種相關蛋白質(Sestrin1、Sestrin2及Sestrin3) (Buckbinder等人, (1994) Proc Natl Acad Sci U S A 91, 10640-10644；Budakov等人, (2002) Cell 134, 451-460；Peeters等人, (2003) Human genetics 112, 573-580)。Sestrin2抑制mTORC1信號傳導且已提出活化TSC之上游AMPK以及與TSC (Budakov及Karin, (2008) Cell 134, 451-460)交互作用，但後續研究發現在AMPK不存在下藉由Sestrin2抑制mTORC1 (Peng等人, (2014) Cell 159(1):122-33)進一步突出GATOR2複合物在響應於Sestrin2，調節mTORC1方面發揮之重要作用。

調節Sestrin-GATOR2複合物表示選擇性地間接調節mTORC1活性之潛在治療目標。

【發明內容】

現已發現本發明化合物及其醫藥學上可接受之組合物作為Sestrin-GATOR2調節劑為有效的。此類化合物具有通式I:



或其醫藥學上可接受之鹽，其中各變量如本文所定義及描述。

本發明化合物及其醫藥學上可接受之組合物適用於治療多種與mTORC1相關之疾病、病症或病況。此類疾病、病症或病況包括糖尿病、癲癇症、神經退化、免疫反應、骨骼肌肉生長遏制及細胞增殖病症(例如

癌症)，諸如本文所描述之彼等者。

【圖式簡單說明】

圖1展示實例A之研究時刻表。雄性史泊格多利大鼠適應環境5天，且在第0天給藥，如**表6**中所描述。給藥後二十四小時(第1天)，進行雌性尿液嗅聞測試(FUST)。在研究第2天(給藥後48小時)，進行運動活性(LMA)評定。大鼠禁食隔夜持續20小時，其後進行新穎遏制餵飼測試(NSFT) (給藥後72小時)。

圖2展示FUST中Ket及NV-5138 (I-90)之作用。所有數據表示為平均值 $\pm$ SEM (n=8/處理組)。* $p<0.05$ 及** $p<0.01$ 指示未配對雙尾史都登氏t試驗(students t-test)之顯著差異。

圖3展示Ket及NV-5138 (I-90)對LMA評定之作用。氯胺酮媒劑(Sal)；NV-5138媒劑(Veh)；氯胺酮(Ket)；NV-5138 (NV)。展示在30分鐘之時間段內紅外光束斷裂之數目。所有數據表示為平均值 $\pm$ SEM (n=8/處理組)。藉由未配對雙尾史都登氏t試驗觀測到群組之間無顯著差異。

圖4展示新穎遏制餵飼測試(NSFT)中Ket及NV-5138 (I-90)之作用。氯胺酮媒劑(Sal)；NV-5138媒劑(Veh)；氯胺酮(Ket)；NV-5138 (NV)。展示餵飼等待時間，以秒為單位。所有數據表示為平均值 $\pm$ SEM (n=8/處理組)。** $p<0.01$ 指示未配對雙尾史都登氏t試驗之顯著差異。

圖5展示實例B之研究時刻表。雄性史泊格多利大鼠適應環境5天，在第0天給藥，如**表7**中所描述。給藥後一小時(第0天+1小時)，處死群組1、2、3及4之大鼠，繼而採集前額葉皮質(PFC)，製備突觸體，且進行WB分析。給藥後二十四小時(第1天)，處死群組5、6、7及8之大鼠，繼而採集PFC，製備突觸體，且進行WB分析。

圖6展示大鼠腦之PFC解剖之示意性圖示。**A)**大鼠腦之背視圖且兩條黑線指示解剖位置以分隔大腦之PFC區域。**B)**大鼠腦之矢狀圖，黑色對角線表示移除嗅球之切口且兩條黑色垂直線代表分隔PFC區域之切口。

圖7展示NV-5138 (I-90)及Ket對給藥投與後一小時由PFC製備之粗突觸體中之pmTOR、pp70S6K及p4E-BP1含量之作用。pmTOR (**A**)、pp70S6K (**B**)及p4E-BP1 (**C**)之倍數變化(標準化以控制Veh或Sal)。用於統計分析之總共n=6中之三個代表性WB展示pmTOR (**A**)、pp70S6K (**B**)及p4E-BP1 (**C**)之上述曲線圖。所有數據為平均值±SEM。*p<0.05、**p<0.01、***p<0.001指示未配對雙尾史都登氏t試驗之顯著差異。

圖8展示Ket及NV-5138 (I-90)對給藥投與後24小時由PFC製備之粗突觸體中之GluR1、突觸蛋白1及PSD95含量之作用。由PFC純化之粗突觸體中之GluR1 (**A**)、突觸蛋白1 (**B**)及PSD95 (**C**) (標準化至相應控制組Sal或Veh)之倍數變化。用於統計分析之總共n=6中之三個代表性WB展示GluR1 (**A**)、突觸蛋白1 (**B**)及PSD95 (**C**)之上述曲線圖。所有數據為平均值±SEM。*p<0.05及**p<0.01指示未配對雙尾史都登氏t試驗(students t-test)之顯著差異。

圖9展示實例C之時刻表研究。雄性史泊格多利大鼠適應環境5天，在第0天給藥，如**表8**中所描述。給藥後一小時(第0天+1小時)，處死群組1及2之大鼠，繼而採集血漿及解剖之大腦區域以用於測定化合物含量及WB分析。

圖10展示解剖之大鼠腦區域之示意性圖示。大鼠腦之矢狀圖，白色箭頭指示針對WB分析解剖之區域。

圖11展示投與後1小時NV-5138 (I-90)對多個大腦區域內pS6含量之

作用。柱狀圖展示與 Veh (在大鼠大腦之各種區域中標準化為1)相比^{S240/244}pS6之倍數變化。在圖上展示用於定量分析之代表性WB。所有數據為平均值±SEM。* $p < 0.05$ 指示未配對雙尾史都登氏t試驗之顯著差異。

圖12展示實例D之時刻表研究。雄性史泊格多利大鼠適應環境5天，在第0天給藥，如表9中所描述。給藥後一小時(第0天+1小時)，處死群組1、2及3之大鼠，採集血漿、大腦及外周組織，繼而處理以用於WB分析。

圖13展示在經口投與之後1小時，Leu及NV-5138 (I-90)對大腦及所選外周器官中之pS6含量之作用。柱狀圖展示標準化至大鼠腦及外周組織腓腸肌(Gastroc)；脛前部肌肉(TA)；附睾脂肪(Epi脂肪)中之Veh之pS6之倍數變化。代表性WB展示於曲線圖上。所有數據為平均值±SEM (n=10/組)。* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$ 、*** $p < 0.001$ 及**** $p < 0.0001$ 指示未配對雙尾史都登氏t試驗之顯著差異。

圖14展示實例E之時刻表研究。在第0天給藥，如表10中所描述。慢性不可預測性應激(CUS)程序在20天前開始且在第5天結束(組3及4，n=14/組)。通常將兩組大鼠(組1及2，n=14/組)圈養25天且用作無應激(NS)組。第一次給藥在第0天。給藥後二十四小時(第1天)，在脫水6小時之後進行蔗糖偏好測試(SPT)。隨後大鼠禁食隔夜持續20小時，其後進行NSFT (給藥後48小時)。在第5天投與Veh或NV-5138之第二劑量，繼而處死24小時，隨後進行大腦採集、突觸體製備及分析。

圖15展示大鼠腦之PFC解剖之示意性圖示。A)大鼠腦之背視圖且兩條黑線指示解剖位置以分隔大腦之PFC區域。B)大鼠腦之矢狀圖，黑色對角線表示移除嗅球之切口且兩條黑色垂直線代表分隔PFC區域之切口。

圖16展示21天前及第0天之NS及CUS大鼠之體重。處理NS及CUS大鼠兩者且每週稱重。所有數據為平均值 $\pm$ SEM (n=14/處理組)。****p<0.0001指示雙向ANOVA繼而杜凱氏多次比較測試之顯著差異。

圖17展示NV-5138 (I-90)對NS及CUS大鼠中之SPT之作用。在NS及CUS程序結束時在第0天用Veh或NV-5138 (160 mg/kg)處理大鼠且給藥後24小時進行SPT。在1小時曝露結束時，展示所有4組(偏好)之1%蔗糖與水之體積比率。所有數據為平均值 $\pm$ SEM (n=14/處理組)。*p<0.05指示雙向ANOVA繼而杜凱氏多次比較測試之顯著差異。

圖18展示NV-5138 (I-90)對NS及CUS大鼠中之NSFT之作用。在NS及CUS程序結束時用Veh或NV-5138處理大鼠且給藥後48小時進行NSFT。柱狀圖展示NSFT中之餵飼等待時間。所有數據展示為平均值 $\pm$ SEM (n=14/處理組)。**p<0.01及****p<0.0001指示雙向ANOVA繼而杜凱氏多次比較測試之顯著差異。

圖19展示NV-5138 (I-90)對由NS及CUS大鼠之PFC製備之突觸體中之GluR1及PSD95之表現之作用。

圖20展示實例F之時刻表研究。在5天環境適應之後，在14天前，將雙側IT插管植入於所有大鼠之PFC中，繼而為2週回收時間段。在第0天，投與測試物品，如研究設計**表11**中所示。

圖21展示PFC中之mTORC1抑制對FST中之經口NV-5138之藥理學功效之作用。藉由經口投與Veh-NV-5138或NV-5138 (160 mg/kg)30分鐘後，藉由IT向大鼠投與Veh-R或R。在經口投與之後進行FST 24小時。所有數據展示為平均值 $\pm$ SEM (n=6-7/處理組)。***p<0.001及****p<0.0001指示單向ANOVA繼而杜凱氏多次比較測試之顯著差異。

圖22展示使用LMA評定之處理之作用。藉由經口投與Veh-NV-5138或NV-5138 (I-90；160 mg/kg)30分鐘後，藉由IT向大鼠投與Veh-R或R。在經口投與之後48小時量測LMA。所有數據展示為平均值 $\pm$ SEM (n=6-7/處理組)。藉由單向ANOVA繼而杜凱氏多次比較測試，在群組之間未觀測到顯著差異。

圖23展示PFC中之mTORC1抑制對經口NV-5138 (I-90)之藥理學功效之作用。藉由經口投與Veh-NV-5138或NV-5138 (160 mg/kg)30分鐘後，藉由IT向大鼠投與Veh-R或R。在經口投與之後72小時，在20小時禁食時間段之後，進行NSFT。柱狀圖展示NFST (A)及食物消耗量(B)。所有數據展示為平均值 $\pm$ SEM (n=6-7/處理組)。*p<0.05指示單向ANOVA繼而杜凱氏多次比較測試之顯著差異。

圖24展示實例G之行為測試之時間研究。雄性史泊格多利大鼠在運送後5天全都適應環境。在第0天，投與測試物品，如研究設計**表12**中所示。在第3天及第7天進行FST且在20小時隔夜禁食之後第10天進行NSFT。

圖25展示給藥後第3天及第7天Ket及NV-5138 (I-90)對FST之作用。柱狀圖展示在給藥後第3天及第7天進行FST。氯胺酮媒劑(Sal)；NV-5138媒劑(Veh)；氯胺酮(Ket)；NV-5138 (NV)。所有數據展示為平均值 $\pm$ SEM。*p<0.05及**p<0.01指示未配對雙尾史都登氏t試驗(students t-test)之顯著差異。

圖26展示給藥後第10天Ket及NV-5138 (I-90)對NSFT之作用。氯胺酮媒劑(Sal)；NV-5138媒劑(Veh)；氯胺酮(Ket)；NV-5138 (NV)。條形圖展示給藥後第10天進行之NSFT(A)及飼養籠食物消耗量(B) (組3、4、5

及6)。所有數據展示為平均值 $\pm$ SEM。藉由未配對雙尾史都登氏t試驗觀測到群組之間無顯著差異。

圖27展示實例H之研究時刻表。雄性史泊格多利大鼠適應環境5天，且在第0天投藥，如**表13**中所描述。給藥後二十四小時(第1天)，處死大鼠，製備大腦切片且記錄EPSC。隨後藉由棘密度及形態之顯微術分析固定切片。

圖28展示5-HT及下丘泌素誘導之EPSC之頻率。柱狀圖展示在PFC中藉由全細胞膜片鉗記錄之給藥之後24小時，神經元中之5-羥基色胺(5-HT)-及下丘泌素(Hcrt)-EPSC。細胞之數目展示衍生自n=8隻大鼠。所有數據表示為平均值 $\pm$ SEM。 $**p<0.01$ 及 $***p<0.001$ 指示未配對雙尾史都登氏t試驗之顯著差異。

圖29展示NV-5138 (I-90)對枝晶形態之作用。**A)**在給藥之後24小時神經生物素標記層V錐體細胞之頂簇之遠端、中間及近端鏈段之較高放大率Z堆疊突起之代表性兩個光子圖像。**B)**分別展示媒劑及NV-5138組之自4及5個動物分離之衍生自n=9個細胞/6-18個圖像/細胞每 μ m棘粗短、細長及蘑菇之定量之柱狀圖。所有數據表示為平均值 $\pm$ SEM。 $*p<0.05$ 指示未配對雙尾史都登氏t試驗之顯著差異。

圖30展示來自給藥後24小時媒劑或NV-5138 (I-90)處理大鼠之切片中之5-HT及Hcrt誘導之EPSC之樣品整個細胞電壓鉗跡線。

圖31展示5-HT及Hcrt誘導之EPSC之累積機率分佈及NV-5138 (I-90)對頻率之作用，但非幅值。

圖32展示實例J之研究時刻表。雄性史泊格多利大鼠適應環境5天。在1天前，大鼠經受預游泳。在第0天開始，大鼠每隔一天接受Ket或Sal持

續7天(第0天至第6天)，或NV-5138一天一次持續7天(第0天至第6天)，如表14中所描述。

圖33展示FST中Ket及NV-5138 (I-90)之作用。NV-5138媒劑(Veh)；生理鹽水(Sal)；氯胺酮(Ket，10 mg/kg)，NV-5138(「NV」；40或80 mg/kg)。

圖34展示LMA中Ket及NV-5138 (I-90)之作用。NV-5138媒劑(Veh)；生理鹽水(Sal)；氯胺酮(Ket，10 mg/kg)，NV-5138(「NV」；40或80 mg/kg)。

圖35展示NSFT及飼養籠餵飼對照組中之Ket及NV-5138 (I-90)之作用。NV-5138媒劑(Veh)；生理鹽水(Sal)；氯胺酮(Ket，10 mg/kg)，NV-5138(「NV」；40或80 mg/kg)。

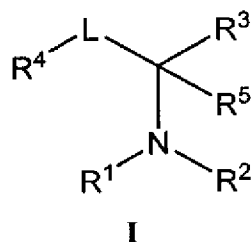
圖36展示相比於狒猴人類威脅測試中之氯二氮環氧化物(1 mg/kg)，Ket (0.3 mg/kg)及NV-5138 (I-90；160 mg/kg)之作用。數據表示為平均值 $\pm$ SEM (n=10/處理組)。相對於相應媒劑群組，藉由單向ANOVA，繼而杜奈特測試，***P<0.001。*指示在此組中給藥之12個動物中之6個觀測到嘔吐。

圖37展示相比於狒猴人類威脅測試之行動對照組中之氯二氮環氧化物(1 mg/kg)Ket (0.3 mg/kg)及NV-5138 (I-90；160 mg/kg)之作用。數據表示為平均值 $\pm$ SEM (n=10/處理組)。相對於相應媒劑群組，藉由單向ANOVA，繼而杜奈特測試，***P<0.001。*指示在此組中給藥之12個動物中之6個觀測到嘔吐。

【實施方式】

1. 本發明之某些實施例之一般描述：

本發明化合物及其組合物用作Sestrin-GATOR2調節劑。在某些實施例中，本發明提供式I化合物：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

R^1 為H或 C_{1-6} 烷基；

R^2 為R、 $-(CH_2)_n$ -苯基、 $-C(O)R$ 、 $-SO_2R$ 或 $-C(O)N(R)_2$ ；

n 為0、1或2；

各R獨立地為氫、-CN或選自以下之視情況經取代之基團：飽和或不飽和 C_{1-6} 脂族基、苯基、4員至7員飽和或部分不飽和單環碳環、具有1至4個雜原子之5員至6員單環雜芳基環或具有1至2個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子之4員至8員飽和或部分飽和雜環；

R^3 為環A、 $-C(O)R$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-C(O)N(R)_2$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_2N(R)_2$ 、 $-S(O)R$ 、 $-S(O)$ 環A、 $-OR$ 或 $-B(OR)_2$ ，其中同一硼上之兩個OR基團與其中間原子結合在一起形成除硼及兩個氧外具有0至3個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子之5員至8員單環飽和或部分不飽和環，或 R^3 及 R^4 結合在一起形成具有0至1個選自氮、氧或硫之雜原子之視情況經取代之5員至6員環；

L為共價鍵或視情況經1至9個氟基取代之直鏈或分支鏈 C_{1-6} 伸烷基鏈；

環A為選自苯基之視情況經取代之環或具有1至4個雜原子獨立地選自氮、氧或硫之視情況經取代之5員至6員雜芳基環；

R^4 為R、 $-CF_3$ 、 $-OR$ 、 $-N(R)_2$ 、 $-Si(R)_3$ 或 $-SR$ ，或 R^3 及 R^4 結合在一起形成具有0至1個選自氮、氧或硫之雜原子之視情況經取代之5員至6員環；且

R^5 為H或 C_{1-4} 烷基。

2. 化合物及定義：

本發明化合物包括在本文中一般描述且藉由本文所揭示之類別、子類及種類進一步說明之彼等化合物。如本文所使用，除非另外指明，否則以下定義應適用。出於本發明之目的，化學元素係根據元素週期表(Periodic Table of the Elements), CAS版本, Handbook of Chemistry and Physics, 第75版來鑑別。另外，有機化學之一般原理描述於「Organic Chemistry」, Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999及「March's Advanced Organic Chemistry」, 第5版, 編者：Smith, M.B. 及March, J., John Wiley & Sons, New York: 2001，其全部內容以引用之方式併入本文中。

如本文所使用，術語「脂族」或「脂族基」意謂完全飽和或含有一或多個不飽和單元之直鏈(亦即，非分支鏈)或分支鏈經取代或未經取代之烴鏈或完全飽和或含有一或多個不飽和單元，但不為芳族之單環烴或雙環烴(在本文中亦稱為「碳環」、「環脂族」或「環烷基」)，其具有分子剩餘部分具有單一連接點。除非另外說明，否則脂族基含有1至6個脂族碳原子。在一些實施例中，脂族基含有1至5個脂族碳原子。在其他實施例中，脂族基含有1至4個脂族碳原子。在另其他實施例中，脂族基含有1至3個脂族碳原子，且在又其他實施例中，脂族基含有1至2個脂族碳原子。在一些實施例中，「環脂族」(或「碳環」或「環烷基」)係指完全飽和或含有

一或多個不飽和單位，但不為芳族之單環 C_3 - C_6 烴，其與分子剩餘部分具有單一連接點。適合的脂族基包括(但不限於)直鏈或分支鏈經取代或未經取代之烷基、烯基、炔基及其雜種，諸如(環烷基)烷基、(環烯基)烷基或(環烷基)烯基。

術語「雜原子」意謂氧、硫、氮、磷或矽中之一或多者(包括氮、硫、磷或矽之任何氧化形式；任何鹼性氮之四級銨化形式；或雜環之可取代氮，例如N (如3,4-二氫-2*H*-吡咯基中)、NH (如吡咯啉基中)或 NR^+ (如經N取代之吡咯啉基中))。

如本文所使用之術語「不飽和」意謂具有一或多個不飽和單元之部分。

如本文所使用，術語「二價 C_{1-8} (或 C_{1-6})飽和或不飽和、直鏈或分支鏈烴鏈」係指如本文所定義為直鏈或分支鏈之二價伸烷基、伸烯基及伸炔基鏈。

術語「伸烷基」係指二價烷基。「伸烷基鏈」為聚亞甲基，亦即- $(CH_2)_n$ -，其中 n 為正整數，較佳為1至6、1至4、1至3、1至2或2至3。經取代之伸烷基鏈為其中一或多個亞甲基氫原子經取代基置換之聚亞甲基。適合的取代基包括下文關於經取代之脂族基所描述之彼等取代基。

術語「伸烯基」係指二價烯基。經取代之伸烯基鏈為含有至少一個雙鍵之聚亞甲基，其中一或多個氫原子經取代基置換。適合的取代基包括下文關於經取代之脂族基所描述之彼等取代基。

術語「鹵素」意謂F、Cl、Br或I。

如在「芳烷基」、「芳烷氧基」或「芳氧基烷基」中單獨使用或作為較大部分的一部分使用之術語「芳基」係指具有總共5至14個環成員之

單環或雙環系統，其中系統中之至少一個環為芳族且其中系統中之各環含有3至7個環成員。術語「芳基」可與術語「芳環」互換使用。在本發明之某些實施例中，「芳基」係指包括(但不限於)苯基、聯苯基、萘基、蒽基及其類似基團之芳環系統，其可帶有一或多個取代基。如本文所使用，在術語「芳基」範疇內亦包括芳環稠合至一或多個非芳族環之基團，諸如二氫茚基、鄰苯二甲醯亞胺基、萘醯亞胺基、啡啶基或四氫萘基及其類似基團。

單獨使用或作為較大部分的一部分使用之術語「雜芳基」及「雜芳-」，例如「雜芳烷基」或「雜芳烷氧基」係指具有5至10個環原子，較佳5、6或9個環原子；具有環狀陣列中共用之6、10或14 π 電子；且除碳原子外具有一至五個雜原子之基團。術語「雜原子」係指氮、氧或硫，且包括氮或硫之任何氧化形式；及鹼性氮之任何四級銨化形式。雜芳基包括(但不限於)噻吩基、呋喃基、吡咯基、咪唑基、吡唑基、三唑基、四唑基、噁唑基、異噁唑基、噁二唑基、嚟唑基、異嚟唑基、嚟二唑基、吡啶基、嘧啶基、嘍啶基、吡嗪基、引哚嗪基、嘌呤基、喹啉基及喋啶基。如本文所使用，術語「雜芳基」及「雜芳-」亦包括雜芳環稠合至一或多個芳基、環脂族或雜環基環之基團，其中自由基或連接點在雜芳環上。非限制性實例包括引哚基、異引哚基、苯并噻吩基、苯并呋喃基、二苯并呋喃基、引唑基、苯并咪唑基、苯并嚟唑基、喹啉基、異喹啉基、吡啶基、酞嗪基、喹啉基、喹啉基、*4H*-喹啉基、呋唑基、吲哚基、啡嗪基、啡嚟嗪基、啡噁嗪基、四氫喹啉基、四氫異喹啉基及吡啶并[2,3-*b*]-1,4-噁嗪-3(*4H*)-酮。雜芳基可為單環或雙環的。術語「雜芳基」可與術語「雜芳基環」、「雜芳基」或「雜芳族」互換使用，該等術語中之任一者包括

視情況經取代之環。術語「雜芳烷基」係指經雜芳基取代之烷基，其中烷基及雜芳基部分獨立地視情況經取代。

如本文所使用，術語「雜環」、「雜環基」、「雜環自由基」及「雜環」可互換使用且係指穩定的5員至7員單環或7員至10員雙環雜環部分，其為飽和或部分不飽和的，且除碳原子以外具有一或多個，較佳一至四個如上文所定義之雜原子。當參考雜環之環原子使用時，術語「氮」包括經取代之氮。舉例而言，在具有0至3個選自氧、硫或氮之雜原子之飽和或部分不飽和環中，氮可為N (如在3,4-二氮-2*H*-吡咯基中)、NH (如在吡咯啉基中)或⁺NR (如在經*N*取代吡咯啉基中)。

雜環可在任何雜原子或碳原子處連接至其側基，從而產生穩定結構，且任何環原子可視情況經取代。此類飽和或部分不飽和雜環基團之實例包括(但不限於)四氫呋喃基、四氫噻吩基吡咯啉基、哌啉基、吡咯啉基、四氫喹啉基、四氫異喹啉基、十氫喹啉基、噁唑啉基、哌嗪基、二氧雜環己烷基、二氧戊環基、二氮呋基、噁氮呋基、噻氮呋基、嗎啉基及吡啶基。術語「雜環(heterocycle)」、「雜環基(heterocyclyl)」、「雜環基環(heterocyclyl ring)」、「雜環基(heterocyclic group)」、「雜環部分(heterocyclic moiety)」及「雜環自由基(heterocyclic radical)」在本文中可互換使用，且亦包括雜環基環稠合至一或多個芳基、雜芳基或環脂族環之基團，諸如吲哚基、3*H*-吲哚基、吡啶基、啡啶基或四氫喹啉基。雜環基可為單環或雙環的。術語「雜環基烷基」係指經雜環基取代之烷基，其中烷基及雜環基部分獨立地視情況經取代。

如本文所使用，術語「部分不飽和」係指包括至少一個雙鍵或三鍵之環部分。如本文所定義，術語「部分不飽和」意欲包涵具有多個不飽和

位點之環，但並不意欲包括芳基或雜芳基部分。

如本文所描述，本發明化合物可含有「視情況經取代之」部分。一般而言，術語「經取代」無論前面是否有術語「視情況」均意謂指定部分之一或多個氫經適合的取代基替換。除非另外指明，否則「視情況經取代之」基團可在基團之各可取代位置處具有適合的取代基，且當任何既定結構中之一個以上位置可經一個以上選自指定基團之取代基取代時，在每一位置處之取代基可相同或不同。本發明所預想之取代基之組合較佳為形成穩定或化學可行的化合物之組合。如本文所使用，術語「穩定」係指化合物在經受允許其生產、偵測及(在某些實施例中)其回收、純化及用於本文所揭示之一或多種目的之條件時不發生實質性改變。

「視情況經取代之」基團之可取代碳原子上之適合的單價取代基獨立地為鹵素； $-(CH_2)_{0-4}R^\circ$ ； $-(CH_2)_{0-4}OR^\circ$ ； $-O(CH_2)_{0-4}R^\circ$ ； $-O-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$ ； $-(CH_2)_{0-4}CH(OR^\circ)_2$ ； $-(CH_2)_{0-4}SR^\circ$ ； $-(CH_2)_{0-4}Ph$ ，其可經 R° 取代； $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}Ph$ ，其可經 R° 取代； $-CH=CHPh$ ，其可經 R° 取代； $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}$ -吡啶基，其可經 R° 取代； $-NO_2$ ； $-CN$ ； $-N_3$ ； $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)_2$ ； $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)R^\circ$ ； $-N(R^\circ)C(S)R^\circ$ ； $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)NR^\circ_2$ ； $-N(R^\circ)C(S)NR^\circ_2$ ； $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)OR^\circ$ ； $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)R^\circ$ ； $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)NR^\circ_2$ ； $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)OR^\circ$ ； $-(CH_2)_{0-4}C(O)R^\circ$ ； $-C(S)R^\circ$ ； $-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$ ； $-(CH_2)_{0-4}C(O)SR^\circ$ ； $-(CH_2)_{0-4}C(O)OSiR^\circ_3$ ； $-(CH_2)_{0-4}OC(O)R^\circ$ ； $-OC(O)(CH_2)_{0-4}SR-$ ； $SC(S)SR^\circ$ ； $-(CH_2)_{0-4}SC(O)R^\circ$ ； $-(CH_2)_{0-4}C(O)NR^\circ_2$ ； $-C(S)NR^\circ_2$ ； $-C(S)SR^\circ$ ； $-SC(S)SR^\circ$ ； $-(CH_2)_{0-4}OC(O)NR^\circ_2$ ； $-C(O)N(OR^\circ)R^\circ$ ； $-C(O)C(O)R^\circ$ ； $-C(O)CH_2C(O)R^\circ$ ； $-C(NOR^\circ)R^\circ$ ； $-(CH_2)_{0-4}SSR^\circ$ ；-

$(\text{CH}_2)_{0-4}\text{S}(\text{O})_2\text{R}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{S}(\text{O})_2\text{OR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{OS}(\text{O})_2\text{R}^\circ$; $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^\circ_2$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{S}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^\circ_2$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{S}(\text{O})_2\text{R}^\circ$; $-\text{N}(\text{OR}^\circ)\text{R}^\circ$; $-\text{C}(\text{NH})\text{NR}^\circ_2$; $-\text{P}(\text{O})_2\text{R}^\circ$; $-\text{P}(\text{O})\text{R}^\circ_2$; $-\text{OP}(\text{O})\text{R}^\circ_2$; $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^\circ)_2$; $-\text{SiR}^\circ_3$; $-(\text{C}_{1-4}\text{直鏈或分支鏈伸烷基})\text{O}-\text{N}(\text{R}^\circ)_2$; 或 $-(\text{C}_{1-4}\text{直鏈或分支鏈伸烷基})\text{C}(\text{O})\text{O}-\text{N}(\text{R}^\circ)_2$, 其中各 R° 可如下文所定義經取代且獨立地為氫、 C_{1-6} 脂族基、 $-\text{CH}_2\text{Ph}$ 、 $-\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}\text{Ph}$ 、 $-\text{CH}_2$ -(5員至6員雜芳基環)或5員至6員飽和、部分不飽和或具有0至4個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子之芳環, 或不管上述定義, 兩個單獨出現之 R° 與其中間原子結合在一起形成3員至12員飽和、部分不飽和或具有0至4個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子之芳基單環或雙環環, 其可如下文所定義經取代。

R° 上之適合的單價取代基(或兩個單獨出現之 R° 與其中間原子一起形成之環)獨立地為鹵素、 $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{R}^\bullet$ 、 $-(\text{鹵基}\text{R}^\bullet)$ 、 $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{OR}^\bullet$ 、 $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{CH}(\text{OR}^\bullet)_2$; $-\text{O}(\text{鹵基}\text{R}^\bullet)$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{N}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{C}(\text{O})\text{R}^\bullet$ 、 $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{C}(\text{O})\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{C}(\text{O})\text{OR}^\bullet$ 、 $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{SR}^\bullet$ 、 $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{SH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{NHR}^\bullet$ 、 $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{NR}^\bullet_2$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{SiR}^\bullet_3$ 、 $-\text{OSiR}^\bullet_3$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{SR}^\bullet$ 、 $-(\text{C}_{1-4}\text{直鏈或分支鏈伸烷基})\text{C}(\text{O})\text{OR}^\bullet$ 或 $-\text{SSR}^\bullet$, 其中各 $\text{R}^\bullet$ 未經取代或在放於「鹵基」之前的情況下僅經一或多種鹵素取代, 且獨立地選自 C_{1-4} 脂族基、 $-\text{CH}_2\text{Ph}$ 、 $-\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}\text{Ph}$ 或具有0至4個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子之5員至6員飽和、部分不飽和或芳環。
 R° 之飽和碳原子上之適合的二價取代基包括 $=\text{O}$ 及 $=\text{S}$ 。

「視情況經取代之」基團之飽和碳原子上之適合的二價取代基包括以下： $=\text{O}$ 、 $=\text{S}$ 、 $=\text{NNR}^*_2$ 、 $=\text{NNHC}(\text{O})\text{R}^*$ 、 $=\text{NNHC}(\text{O})\text{OR}^*$ 、 $=\text{NNHS}(\text{O})_2\text{R}^*$ 、 $=\text{NR}^*$ 、 $=\text{NOR}^*$ 、 $-\text{O}(\text{C}(\text{R}^*_2))_{2-3}\text{O}-$ 或 $-\text{S}(\text{C}(\text{R}^*_2))_{2-3}\text{S}-$, 其

中各單獨出現之 R^* 選自氫、可如下文所定義經取代之 C_{1-6} 脂族基或具有0至4個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子之未經取代之5員至6員飽和、部分不飽和或芳環。鍵結至「視情況經取代之」基團之鄰接可取代碳之適合的二價取代基包括： $-O(CR^*)_{2-3}O-$ ，其中各單獨出現之 R^* 選自氫、可如下所定義經取代之 C_{1-6} 脂族基或具有0至4個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子之未經取代之5員至6員飽和、部分不飽和或芳環。

R^* 之脂族基上之適合的取代基包括鹵素、 $-R^\bullet$ 、 $-(\text{鹵基}R^\bullet)$ 、 $-OH$ 、 $-OR^\bullet$ 、 $-O(\text{鹵基}R^\bullet)$ 、 $-CN$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)OR^\bullet$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR^\bullet$ 、 $-NR^\bullet_2$ 或 $-NO_2$ ，其中各 $R^\bullet$ 未經取代或在放於「鹵基」之前的情況下僅經一或多種鹵素取代，且獨立地為 C_{1-4} 脂族基、 $-CH_2Ph$ 、 $-O(CH_2)_{0-1}Ph$ 或具有0至4個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子之5員至6員飽和、部分不飽和或芳環。

「視情況經取代之」基團之可取代氮氣上之適合的取代基包括 $-R^\dagger$ 、 $-NR^\dagger_2$ 、 $-C(O)R^\dagger$ 、 $-C(O)OR^\dagger$ 、 $-C(O)C(O)R^\dagger$ 、 $-C(O)CH_2C(O)R^\dagger$ 、 $-S(O)_2R^\dagger$ 、 $-S(O)_2NR^\dagger_2$ 、 $-C(S)NR^\dagger_2$ 、 $-C(NH)NR^\dagger_2$ 或 $-N(R^\dagger)S(O)_2R^\dagger$ ；其中各 $R^\dagger$ 獨立地為氫、可如下文所定義經取代之 C_{1-6} 脂族基、未經取代之 $-OPh$ 或具有0至4個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子之未經取代之5員至6員飽和、部分不飽和或芳環，或不管上述定義，兩個單獨出現之 $R^\dagger$ 與其中間原子結合在一起形成具有0至4個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子之未經取代之3員至12員飽和、部分不飽和或芳基單環或雙環環。

$R^\dagger$ 之脂族基上之適合的取代基獨立地為鹵素、 $-R^\bullet$ 、 $-(\text{鹵基}R^\bullet)$ 、 $-OH$ 、 $-OR^\bullet$ 、 $-O(\text{鹵基}R^\bullet)$ 、 $-CN$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)OR^\bullet$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR^\bullet$ 、 $-NR^\bullet_2$ 或 $-NO_2$ ，其中各 $R^\bullet$ 未經取代或在放於「鹵基」之前的情況下僅經一或多種鹵素取代，且獨立地為 C_{1-4} 脂族基、 $-CH_2Ph$ 、 $-O(CH_2)_{0-1}Ph$ 或具

有0至4個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子之5員至6員飽和、部分不飽和或芳環。

如本文所使用，術語「醫藥學上可接受之鹽」係指在合理醫學判斷範疇內適用於與人類及低等動物之組織接觸而無異常毒性、刺激、過敏反應及其類似者且與合理益處/風險比相稱的彼等鹽。醫藥學上可接受之鹽為此項技術中眾所周知的。舉例而言，S. M. Berge 等人在 J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1-19 中詳細描述醫藥學上可接受之鹽，該文獻以引用之方式併入本文中。本發明化合物之醫藥學上可接受之鹽包括衍生自適合的無機及有機酸及鹼之彼等鹽。醫藥學上可接受之無毒性酸加成鹽之實例為胺基與無機酸(諸如氫氯酸、氫溴酸、磷酸、硫酸及過氯酸)或有機酸(諸如乙酸、草酸、順丁烯二酸、酒石酸、檸檬酸、丁二酸或丙二酸)形成之鹽，或藉由使用此項技術中所用之其他方法(諸如離子交換)形成之鹽。其他醫藥學上可接受之鹽包括己二酸鹽、海藻酸鹽、抗壞血酸鹽、天冬胺酸鹽、苯磺酸鹽、苯甲酸鹽、硫酸氫鹽、硼酸鹽、丁酸鹽、樟腦酸鹽、樟腦磺酸鹽、檸檬酸鹽、環戊烷丙酸鹽、二葡萄糖酸鹽、十二烷基硫酸鹽、乙烷磺酸鹽、甲酸鹽、反丁烯二酸鹽、葡庚糖酸鹽、甘油磷酸鹽、葡萄糖酸鹽、半硫酸鹽、庚酸鹽、己酸鹽、氫碘酸鹽、2-羥基-乙烷磺酸鹽、乳糖酸鹽、乳酸鹽、月桂酸鹽、月桂基硫酸鹽、蘋果酸鹽、順丁烯二酸鹽、丙二酸鹽、甲烷磺酸鹽、2-萘磺酸鹽、菸鹼酸鹽、硝酸鹽、油酸鹽、草酸鹽、棕櫚酸鹽、雙羥萘酸鹽、果膠酸鹽、過硫酸鹽、3-苯基丙酸鹽、磷酸鹽、特戊酸鹽、丙酸鹽、硬脂酸鹽、丁二酸鹽、硫酸鹽、酒石酸鹽、硫氰酸鹽、對甲苯磺酸鹽、十一烷酸鹽、戊酸鹽及其類似者。

衍生自適當鹼之鹽包括鹼金屬鹽、鹼土金屬鹽、銨鹽及 $N^+(C_{1-4}\text{烷})$

基)₄鹽。代表性鹼金屬鹽或鹼土金屬鹽包括鈉鹽、鋰鹽、鉀鹽、鈣鹽、鎂鹽及其類似鹽。其他醫藥學上可接受之鹽包括(適當時)無毒性銨、四級銨及使用相對離子(諸如鹵離子、氫氧根、羧酸根、硫酸根、磷酸根、硝酸根、低碳烷基磺酸根及芳基磺酸根)形成之胺陽離子。

除非另外陳述，否則本文所描繪之結構亦意欲包括結構之所有異構(例如對映異構體、非對映異構體及幾何異構(或構形異構))形式；例如各不對稱中心之R及S組態、Z及E雙鍵異構體及Z及E構形異構體。因此，本發明化合物之單一立體化學異構體以及對映異構、非對映異構及幾何異構(或構形異構)混合物處於本發明之範疇內。除非另外陳述，否則本發明化合物之所有互變異構形式均處於本發明之範疇內。另外，除非另外陳述，否則本文所描繪之結構亦意欲包括僅在存在一或多個經同位素增濃之原子的方面不同之化合物。舉例而言，包括氫由氘或氚置換或碳由¹³C或¹⁴C增濃之碳置換、具有本發明結構之化合物處於本發明之範疇內。此類化合物適用作例如分析工具，用作生物分析中之探針，或用作根據本發明之治療劑。

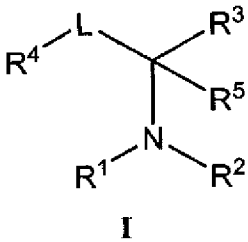
如本文所使用，術語「白胺酸模擬劑」定義為在25 μM下相對於白胺酸，鍵結至GATOR2之Sestrin2之量減少至少約40%之化合物。在某些實施例中，「白胺酸模擬劑」使鍵結至GATOR2之Sestrin2之量減少至少約100%，至少約150%或至少約200%。

如本文所使用，術語「白胺酸拮抗劑」定義為在25 μM下相對於白胺酸，鍵結至GATOR2之Sestrin2之量提高至少約40%之化合物(表示為白胺酸活性之-40%)。在某些實施例中，「白胺酸拮抗劑」使鍵結至GATOR2之Sestrin2之量提高至少約100%，至少約150%，或至少約200%。

如本文所使用，術語「可量測之親和性」及「可量測地抑制」意謂在包含本發明化合物或其組合物及Sestrin2、GATOR2及白胺酸之樣品與包含Sestrin2、GATOR2及白胺酸，在該化合物或其組合物不存在下之等效樣品之間的與GATOR2結合之Sestrin2之可量測變化。

3. 描述例示性實施例：

在某些實施例中，本發明提供式I化合物：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

R^1 為H或 C_{1-6} 烷基；

R^2 為R、 $-(CH_2)_n$ -苯基、 $-C(O)R$ 、 $-SO_2R$ 或 $-C(O)N(R)_2$ ；

n為0、1或2；

各R獨立地為氫、-CN或選自以下之視情況經取代之基團：飽和或不飽和 C_{1-6} 脂族基、苯基、4員至7員飽和或部分不飽和單環碳環、具有1至4個雜原子之5員至6員單環雜芳基環或具有1至2個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子之4員至8員飽和或部分飽和雜環；

R^3 為環A、 $-C(O)R$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-C(O)N(R)_2$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_2N(R)_2$ 、 $-S(O)R$ 、 $-S(O)$ 環A、 $-OR$ 或 $-B(OR)_2$ ，其中同一硼上之兩個OR基團與其中間原子結合在一起形成除硼及兩個氧外具有0至3個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子之5員至8員單環飽和或部分不飽和環，或 R^3 及 R^4 結合在一起形成具有0至1個選自氮、氧或硫之雜原子之視情況經取代之5員至6員環；

L為共價鍵或視情況經1至9個氟基取代之直鏈或分支鏈C₁₋₆伸烷基鏈；

環A為選自苯基之視情況經取代之環或具有1至4個雜原子獨立地選自氮、氧或硫之視情況經取代之5員至6員雜芳基環；

R⁴為R、-CF₃、-OR、-N(R)₂、-Si(R)₃或-SR，或R³及R⁴結合在一起形成具有0至1個選自氮、氧或硫之雜原子之視情況經取代之5員至6員環；且

R⁵為H或C₁₋₄烷基。

在一些實施例中，所提供之式I化合物不為以下表2中描繪之彼等化合物。

如上文一般所定義，R¹為H或C₁₋₆烷基。在一些實施例中，R¹為H。在其他實施例中，R¹為C₁₋₆烷基。在一些實施例中，R¹為甲基。在一些實施例中，R¹為異丁基。在一些實施例中，R¹選自以下表1中描繪之彼等者。在一些實施例中，R¹選自以下表2中描繪之彼等者。

如上文一般所定義，R²為R、-(CH₂)_n-苯基、-C(O)R、-SO₂R或-C(O)N(R)₂。在一些實施例中，R²為R。在一些實施例中，R²為-(CH₂)_n-苯基。在一些實施例中，R²為-C(O)R。在一些實施例中，R²為-SO₂R。在一些實施例中，R²為-C(O)N(R)₂。在一些實施例中，R²為甲基。在一些實施例中，R²為-(CH₂)-苯基。在一些實施例中，R²為-C(O)CH₃。在一些實施例中，R²選自以下表1中描繪之彼等者。在一些實施例中，R²選自以下表2中描繪之彼等者。

如上文一般所定義，n為0、1或2。在一些實施例中，n為0。在一些實施例中，n為1。在一些實施例中，n為2。

如上文一般所定義， R^3 為環A、 $-C(O)R$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-C(O)N(R)_2$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_2N(R)_2$ 、 $-S(O)R$ 、 $-S(O)$ 環A、 $-OR$ 或 $-B(OR)_2$ ，其中同一硼上之兩個 $-OR$ 基團與其中間原子結合在一起形成除硼及兩個氧外具有0至3個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子之5員至8員單環飽和或部分不飽和環，或 R^3 及 R^4 結合在一起形成具有0至1個選自氮、氧或硫之雜原子之視情況經取代之5員至6員環。

在一些實施例中， R^3 為 $-C(O)OH$ 。在一些實施例中， R^3 為 $-C(O)N(R)_2$ 。在一些實施例中， R^3 為 $-SO_3H$ 。在一些實施例中， R^3 為 $-SO_2N(R)_2$ 。在一些實施例中， R^3 為 $-B(OR)_2$ ，其中同一硼上之兩個 $-OR$ 基團與其中間原子結合在一起形成除硼及兩個氧外具有0至3個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子之5員至8員單環飽和、部分不飽和或雜環。在一些實施例中， R^3 及 R^4 結合在一起形成具有0至1個選自氮、氧或硫之雜原子之視情況經取代之5員至6員環。

在一些實施例中， R^3 為環A。如上文一般所定義，環A為選自苯基之視情況經取代之環或具有1至4個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子之視情況經取代之5員至6員雜芳基環。在一些實施例中，環A為視情況經取代之苯基。在一些實施例中，環A為具有1至4個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子之視情況經取代之5員雜芳基環。在一些實施例中，環A為選自咪唑基、異噁唑基、1*H*-吡咯基(例如順丁烯二醯亞胺基)、吡唑基、噁唑基、四唑基、噻唑基及三唑基之視情況經取代之5員雜芳基環。在一些實施例中，環A為具有1至2個氮原子之視情況經取代之6員雜芳基環。在一些實施例中，環A為選自吡啶基及嘧啶基之視情況經取代之6員環。在一些實施例中，環A選自以下表1中描繪之彼等者。

在一些實施例中， R^3 為(頻哪醇根基)硼。在一些實施例中， R^3 選自以下表1中描繪之彼等者。在一些實施例中， R^3 選自以下表2中描繪之彼等者。

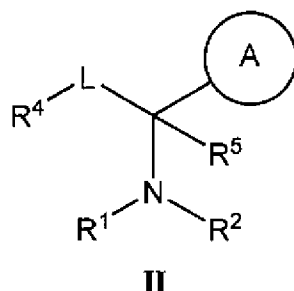
如上文一般所定義，L為共價鍵或視情況經1至4個氟基取代之直鏈或分支鏈 C_{1-6} 伸烷基鏈。在一些實施例中，L為共價鍵。在一些實施例中，L為視情況經1至4個氟基取代之直鏈或分支鏈 C_{1-6} 伸烷基鏈。在一些實施例中，L為亞甲基。在一些實施例中，L為伸正丁基。在一些實施例中，L為伸乙基。在一些實施例中，L為伸正丙基。在一些實施例中，L選自以下表1中描繪之彼等者。在一些實施例中，L選自以下表2中描繪之彼等者。

在一些實施例中，L為視情況經1至4個氟基取代之分支鏈 C_{1-6} 伸烷基鏈。在某些實施例中，L為 $-C(CH_3)_2-$ 。在其他實施例中，L為 $-C(CH_3)(CF_3)-$ 。

如上文一般所定義， R^4 為R、 $-CF_3$ 、 $-OR$ 、 $-N(R)_2$ 、 $-Si(R)_3$ 或 $-SR$ ，或 R^3 及 R^4 結合在一起形成具有0至1個選自氮、氧或硫之雜原子之視情況經取代之5員至6員環。在一些實施例中， R^4 為R。在一些實施例中， R^4 為 $-CF_3$ 。在一些實施例中， R^4 為 $-OR$ 。在一些實施例中， R^4 為 $-N(R)_2$ 。在一些實施例中， R^4 為 $-Si(R)_3$ 。在一些實施例中， R^4 為 $-SR$ 。在一些實施例中， R^4 為異丙基。在一些實施例中， R^4 為第三丁基。在一些實施例中， R^4 為環丙基。在一些實施例中， R^4 為環丁基。在一些實施例中， R^4 為第二丁基。在一些實施例中， R^4 為甲氧基。在一些實施例中， R^4 為甲基亞硫醯基(methylthioyl)。在一些實施例中， R^3 及 R^4 結合在一起形成具有0至1個選自氮、氧或硫之雜原子之視情況經取代之5員至6員環。在一些實施例中， R^4 選自以下表1中描繪之彼等者。在一些實施例中， R^4 選自以下表2中描繪之彼等者。

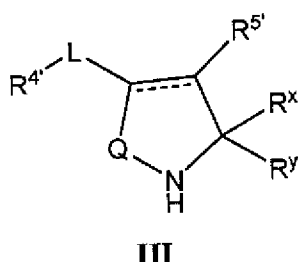
如上文一般所定義， R^5 為H或 C_{1-4} 烷基。在一些實施例中， R^5 為H。在一些實施例中， R^5 為 C_{1-4} 烷基。在一些實施例中， R^5 為甲基。在一些實施例中， R^5 選自以下表1中描繪之彼等者。在一些實施例中， R^5 選自以下表2中描繪之彼等者。

在某些實施例中，本發明提供式II化合物：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中各變量如上文所定義且如本文所提供之實施例中所描述，兩者單獨及以組合形式。

在某些實施例中，本發明提供式III化合物：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

Q為 $-C(R')_2-$ 或 $-NH-$ ；

R^x 及 R^y 中之每一者為氫，或 R^x 及 R^y 結合在一起形成 $=O$ ；

-----為雙鍵或單鍵；

各R獨立地為氫、 $-CN$ 或選自以下之視情況經取代之基團： C_{1-6} 脂族基、苯基、4員至7員飽和或部分不飽和單環碳環、具有1至4個雜原子之5員至6員單環雜芳基環或具有1至2個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子之4員至8員飽和或部分飽和雜環；

各R'獨立地為氫、鹵素、-CN或選自以下之視情況經取代之基團：
C₁₋₆脂族基、苯基、4員至7員飽和或部分不飽和單環碳環、具有1至4個雜原子之5員至6員單環雜芳基環或具有1至2個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子之4員至8員飽和或部分飽和雜環；

L為共價鍵或視情況經1至9個氟基取代之直鏈或分支鏈C₁₋₆伸烷基鏈；

R^{4'}為R、-CF₃、-OR、-N(R)₂、-Si(R)₃或-SR；且

R^{5'}為H、-OR或C₁₋₄烷基。

在一些實施例中，Q為-NH-。在一些實施例中，Q為-CH₂-。在一些實施例中，Q為-CHF-。

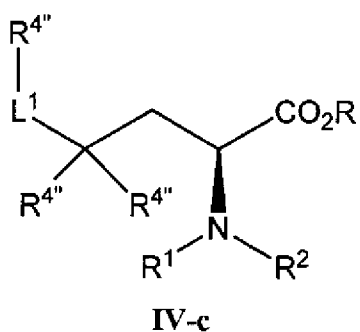
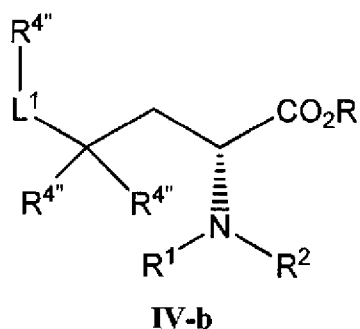
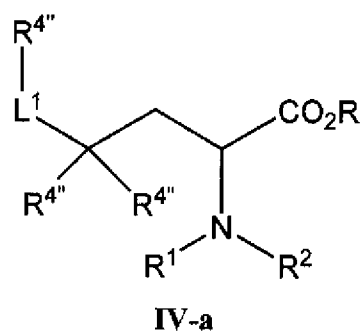
在一些實施例中，L為-CH₂-。

在一些實施例中，各R^x及R^y為氫。在一些實施例中，R^x及R^y結合在一起形成=O。

在一些實施例中，R^{5'}為H。在一些實施例中，R^{5'}為-OH。

在一些實施例中，=====為單鍵。在一些實施例中，=====為雙鍵。

在某些實施例中，本發明提供式IV-a、IV-b或IV-c之化合物：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

R^1 為H或C1-6烷基；

R^2 為R、 $-(CH_2)_n$ -苯基、 $-C(O)R$ 、 $-SO_2R$ 或 $-C(O)N(R)_2$ ；

各 $R^{4''}$ 獨立地為R、鹵素或 $-CF_3$ ；

各R獨立地為氫、 $-CN$ 或選自以下之視情況經取代之基團：飽和或不飽和 C_{1-6} 脂族基、苯基、4員至7員飽和或部分不飽和單環碳環、具有1至4個雜原子之5員至6員單環雜芳基環或具有1至2個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子之4員至8員飽和或部分飽和雜環；且

L^1 為視情況經1至9個氟基取代之共價鍵或直鏈或分支鏈 C_{1-6} 伸烷基鏈。

在一些實施例中， R^1 為H。在一些實施例中， R^1 為 C_{1-6} 烷基。

在一些實施例中， R^1 選自以下表1中描繪之彼等者。

在一些實施例中， R^2 為R。在一些實施例中， R^2 為 $-(CH_2)_n$ -苯基。在一些實施例中， R^2 為 $-C(O)R$ 。

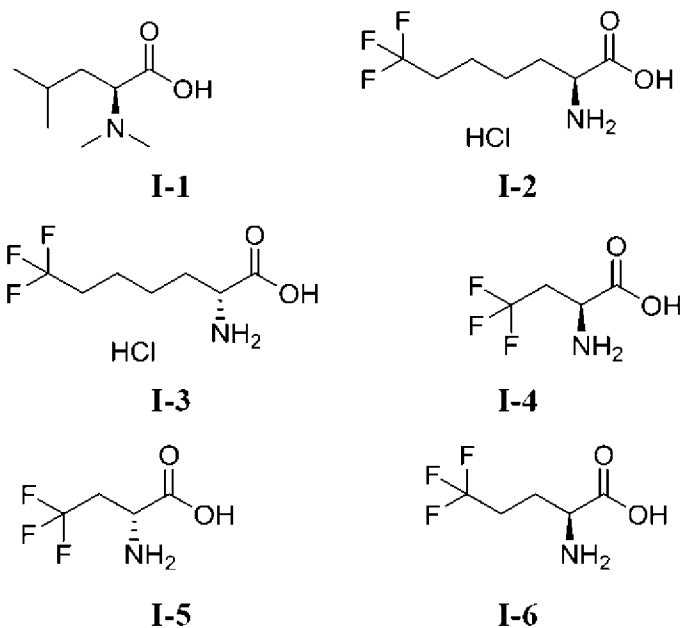
在一些實施例中， R^2 選自以下表1中描繪之彼等者。

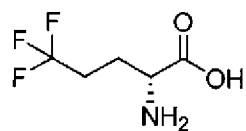
在一些實施例中，各 $R^{4''}$ 獨立地為R、鹵素或 $-CF_3$ 。在一些實施例中， $R^{4''}$ 為R。在一些實施例中， $R^{4''}$ 為鹵素。在一些實施例中， $R^{4''}$ 為 $-CF_3$ 。在一些實施例中， $R^{4''}$ 選自以下表1中描繪之彼等者。

在一些實施例中， L^1 為共價鍵或視情況經1至9個氟基取代之直鏈或分支鏈 C_{1-6} 伸烷基鏈。在一些實施例中， L^1 為共價鍵。在一些實施例中， L^1 為視情況經1至9個氟基取代之直鏈或分支鏈 C_{1-6} 伸烷基鏈。在一些實施例中， L^1 選自以下表1中描繪之彼等者。

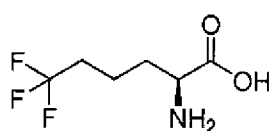
例示性本發明化合物闡述於以下表1中。

表1.例示性化合物

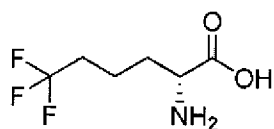




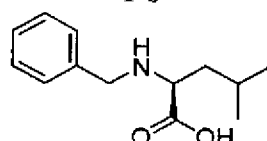
I-7



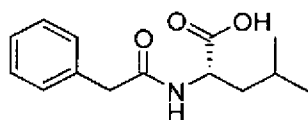
I-8



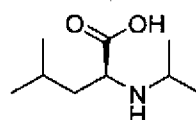
I-9



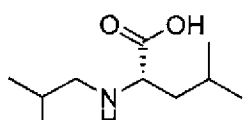
I-11



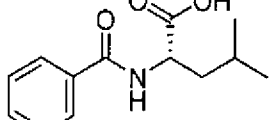
I-12



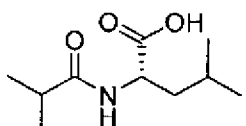
I-13



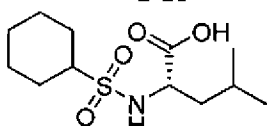
I-14



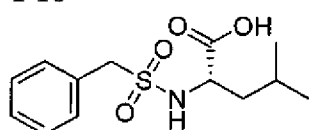
I-15



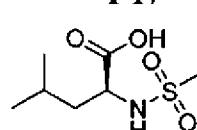
I-16



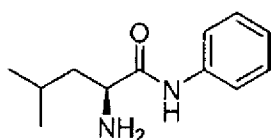
I-17



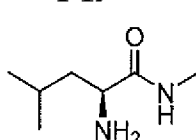
I-18



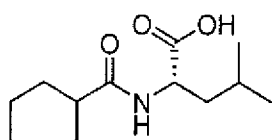
I-19



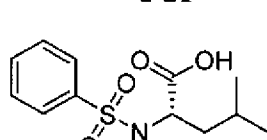
I-20



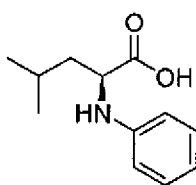
I-21



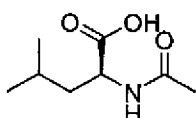
I-22



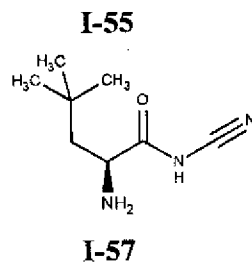
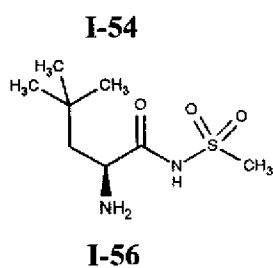
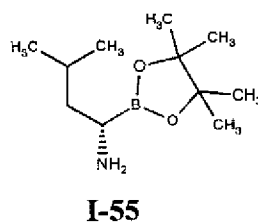
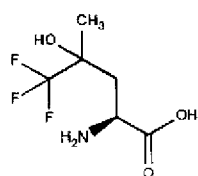
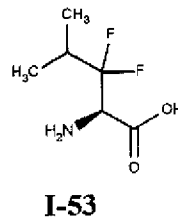
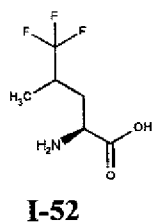
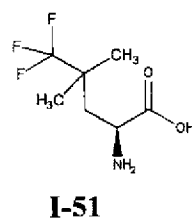
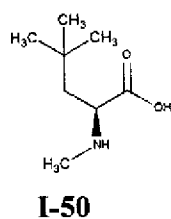
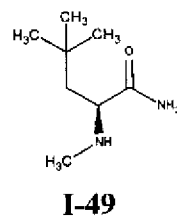
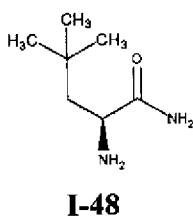
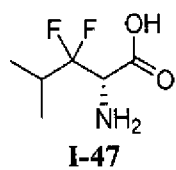
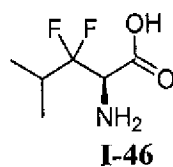
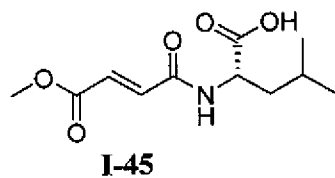
I-25

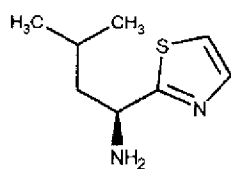


I-26

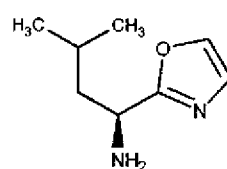


I-36

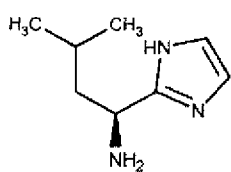




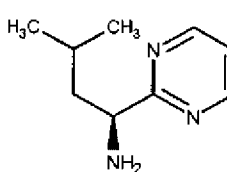
I-58



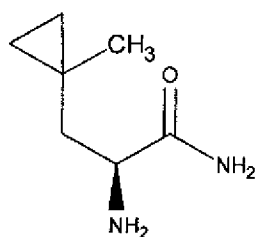
I-59



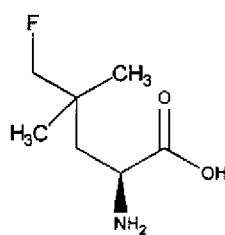
I-60



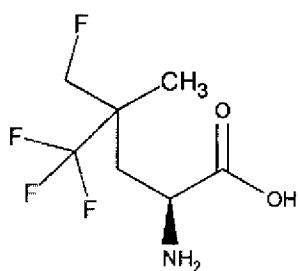
I-61



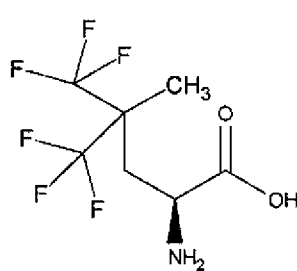
I-62



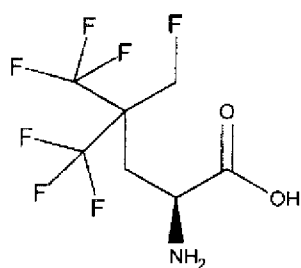
I-63



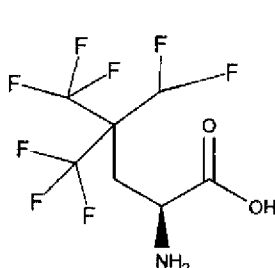
I-64



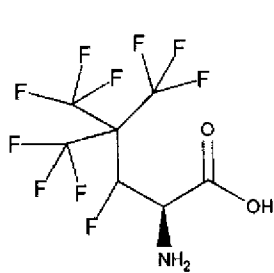
I-65



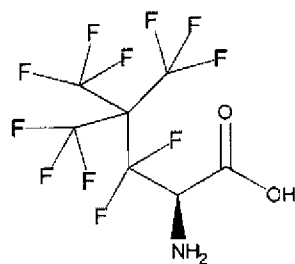
I-66



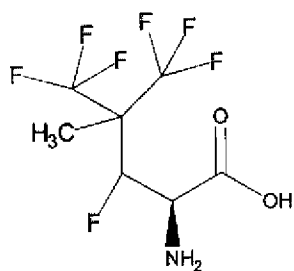
I-67



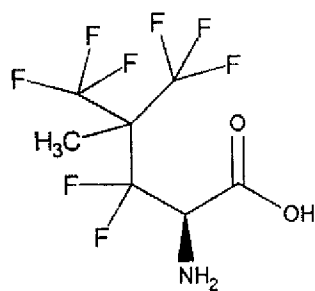
I-68



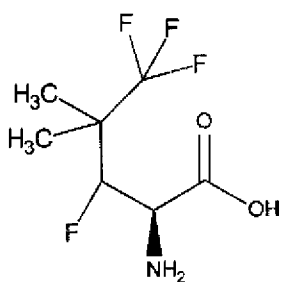
I-69



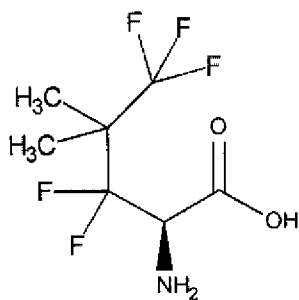
I-70



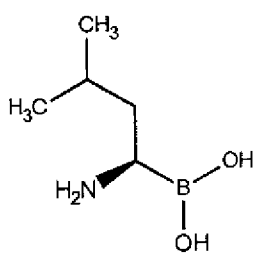
I-71



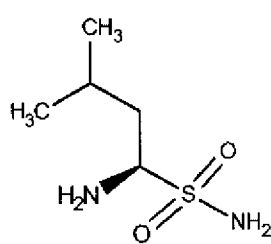
I-72



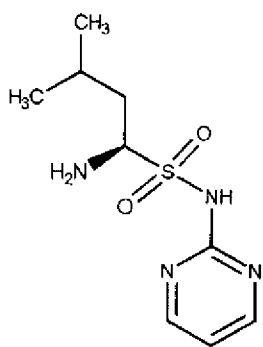
I-73



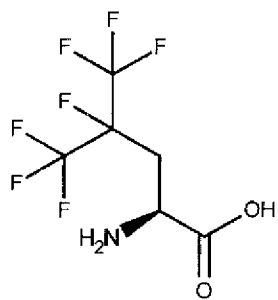
I-74



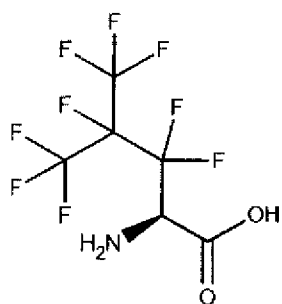
I-75



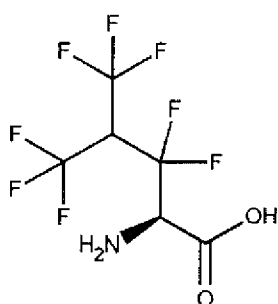
I-76



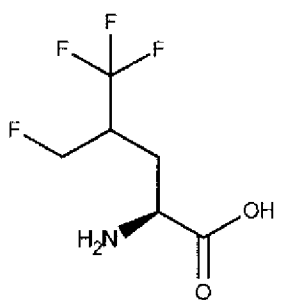
I-77



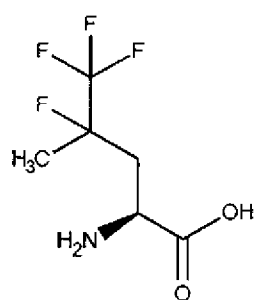
I-78



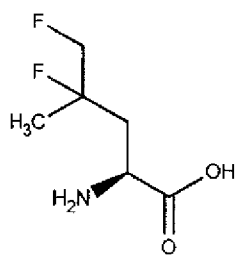
I-79



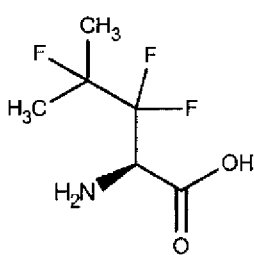
I-80



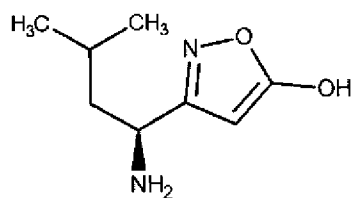
I-81



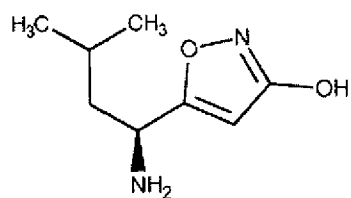
I-82



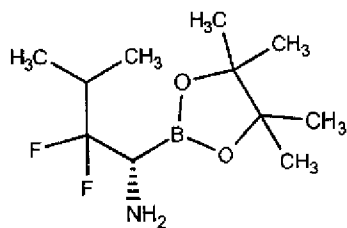
I-83



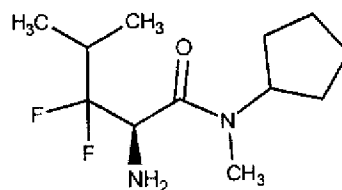
I-84



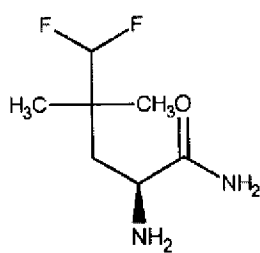
I-85



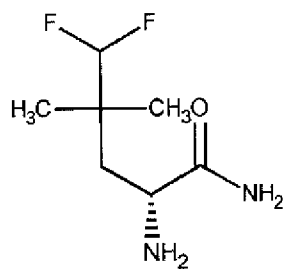
I-86



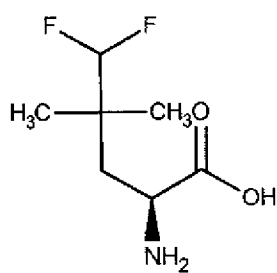
I-87



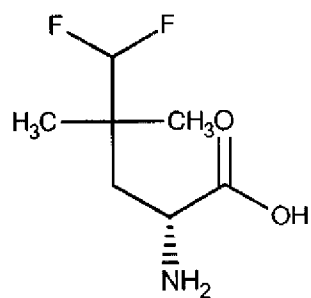
I-88



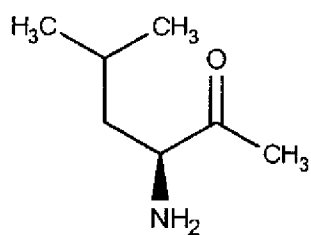
I-89



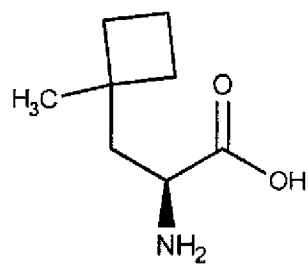
I-90



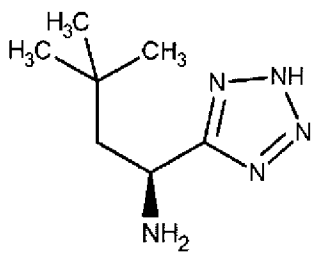
I-91



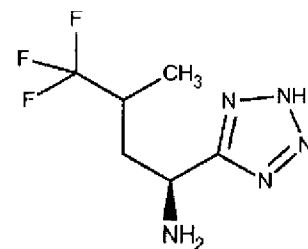
I-92



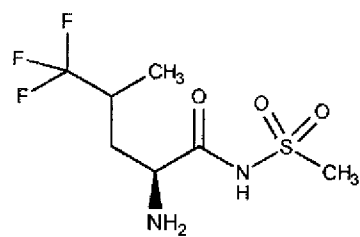
I-93



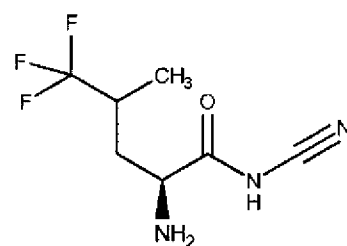
I-94



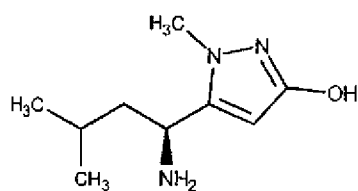
I-95



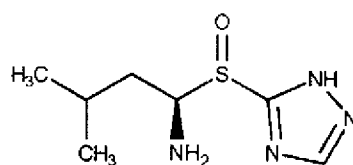
I-96



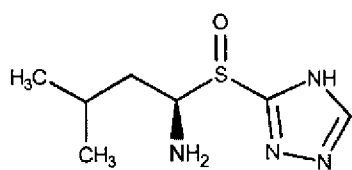
I-97



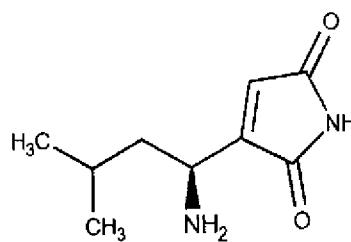
I-98



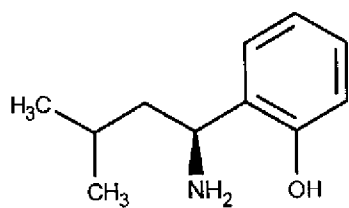
I-99



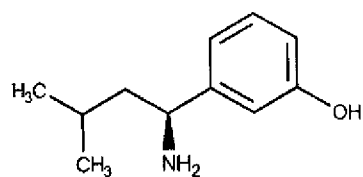
I-100



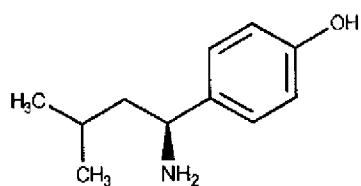
I-101



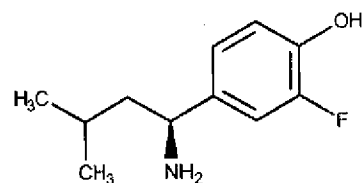
I-102



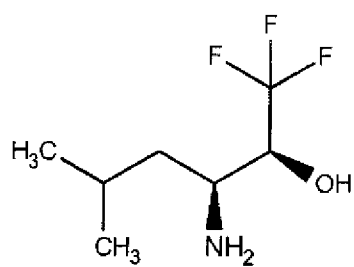
I-103



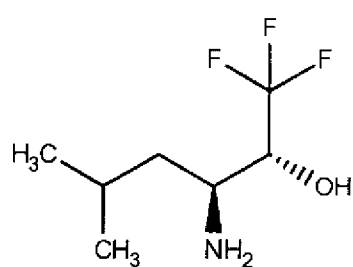
I-104



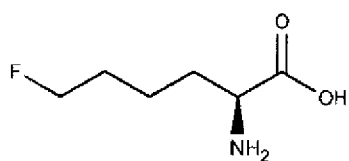
I-105



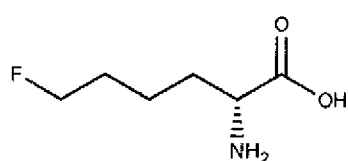
I-106



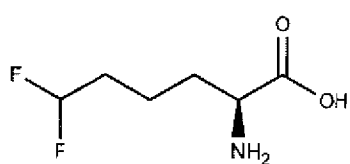
I-107



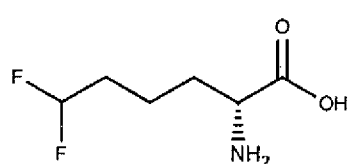
I-108



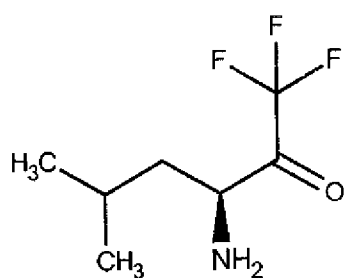
I-109



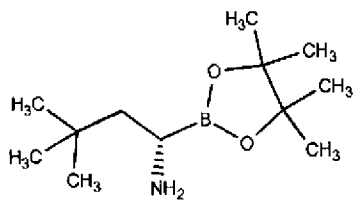
I-110



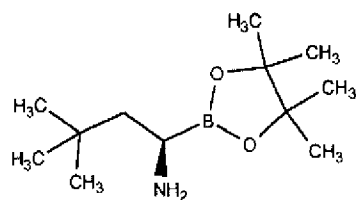
I-111



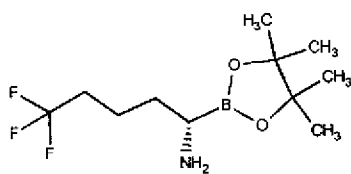
I-113



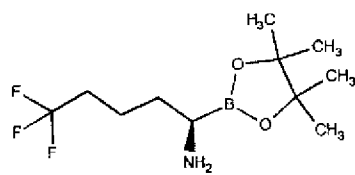
I-114



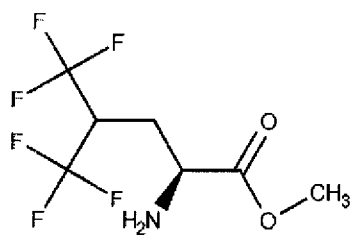
I-115



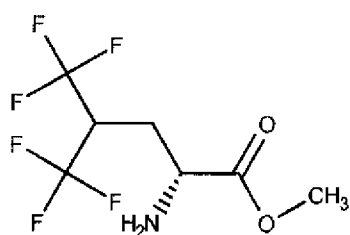
I-116



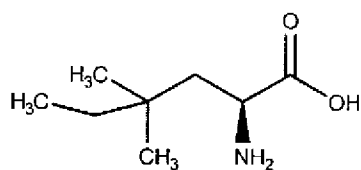
I-117



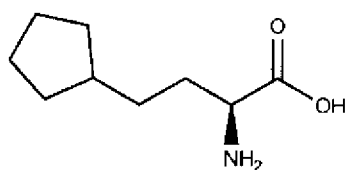
I-118



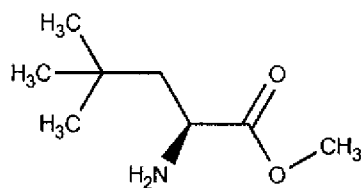
I-119



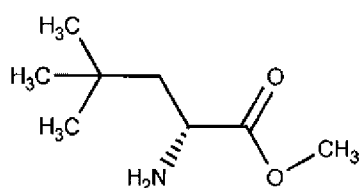
I-120



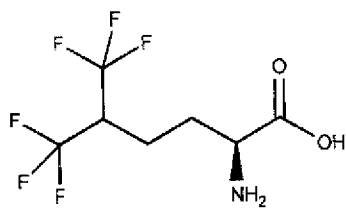
I-121



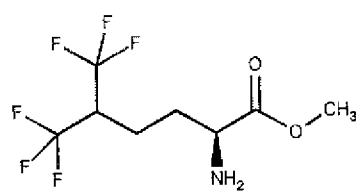
I-122



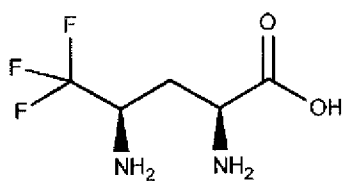
I-123



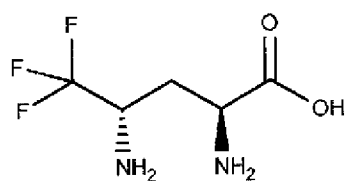
I-124



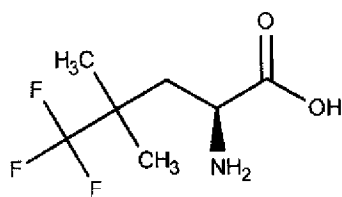
I-125



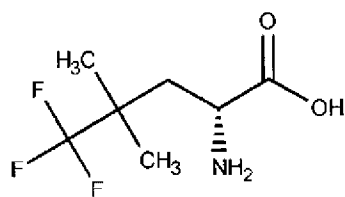
I-126



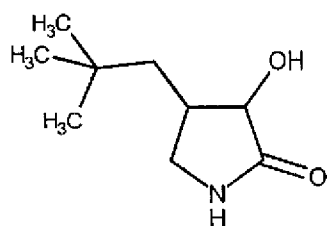
I-127



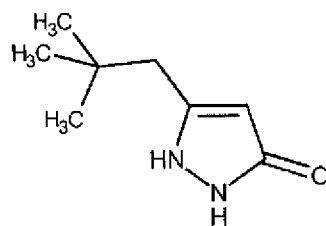
I-128



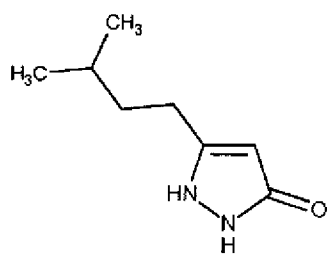
I-129



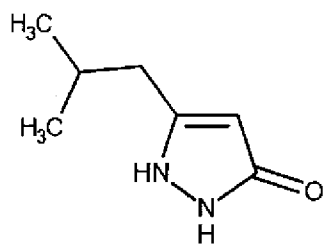
I-130



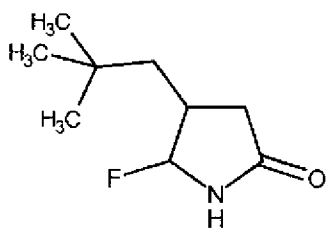
I-131



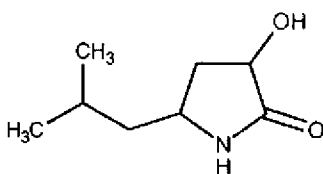
I-132



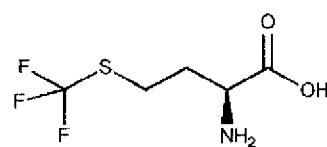
I-133



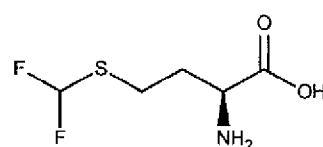
I-134



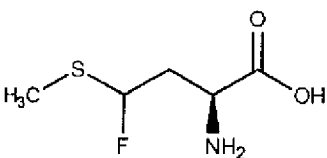
I-135



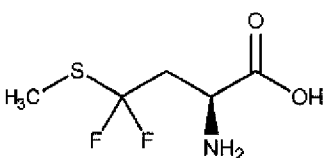
I-136



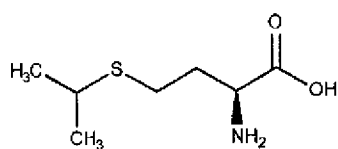
I-137



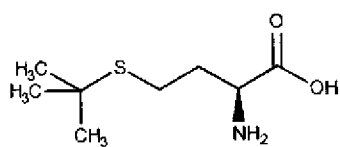
I-138



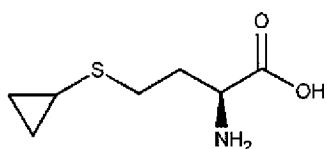
I-139



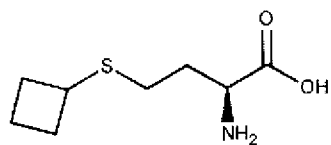
I-140



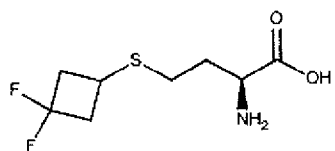
I-141



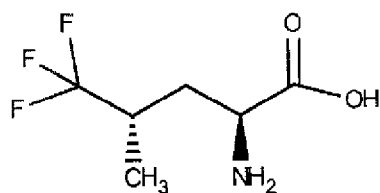
I-142



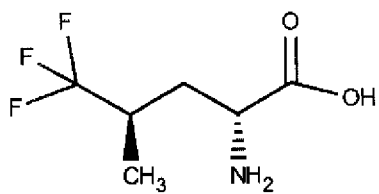
I-143



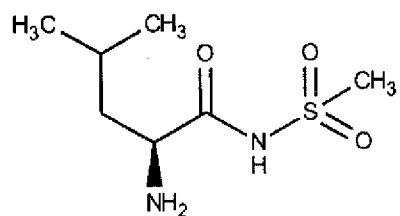
I-144



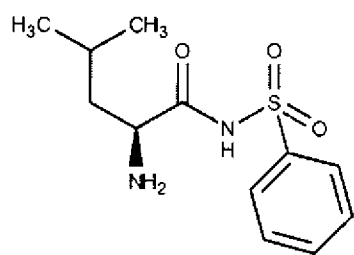
I-145



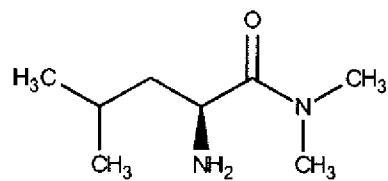
I-146



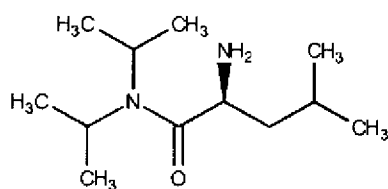
I-147



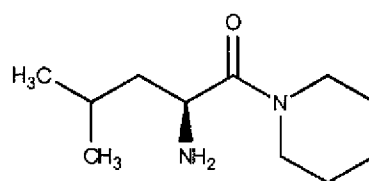
I-148



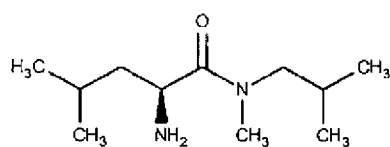
I-149



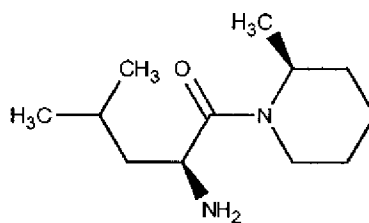
I-150



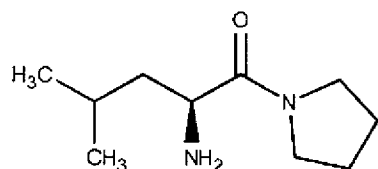
I-151



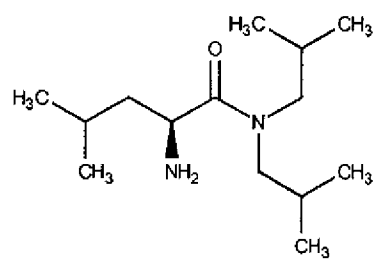
I-152



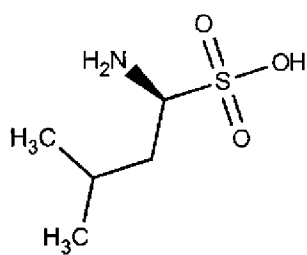
I-153



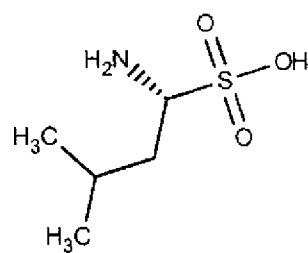
I-154



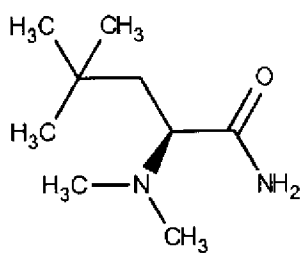
I-155



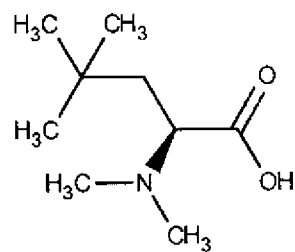
I-156



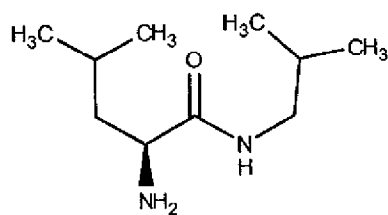
I-157



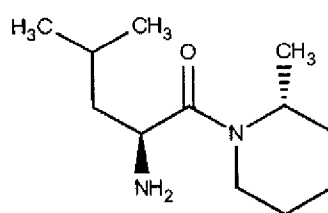
I-158



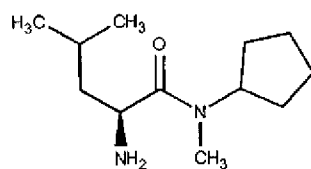
I-159



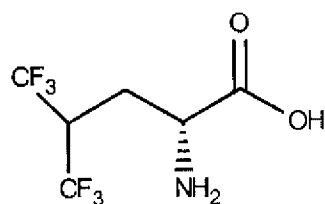
I-160



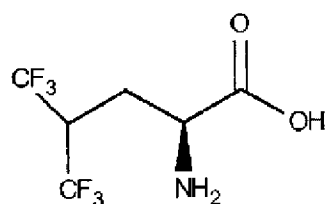
I-161



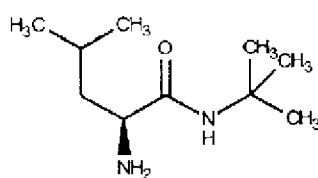
I-162



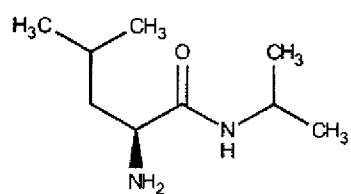
I-163



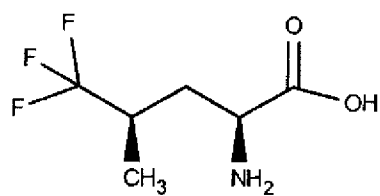
I-164



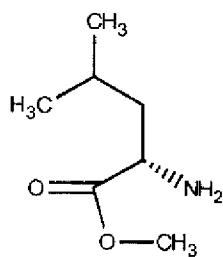
I-165



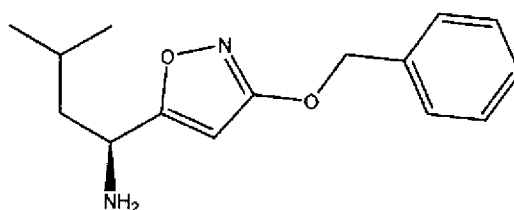
I-166



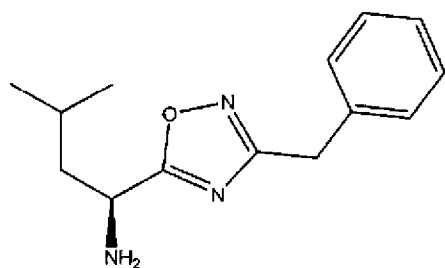
I-167



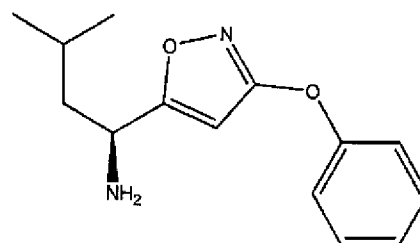
I-168



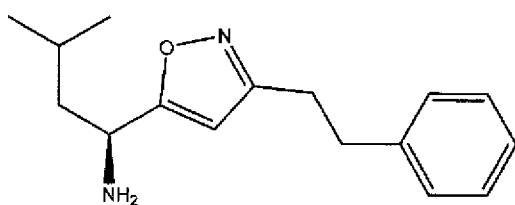
I-169



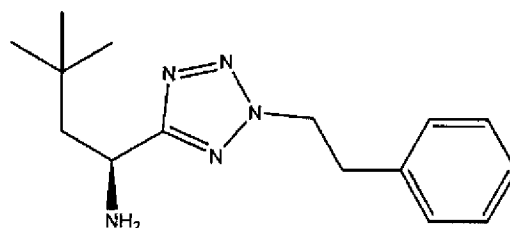
I-170



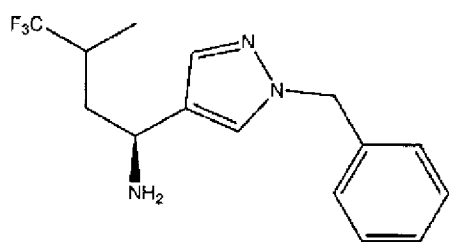
I-171



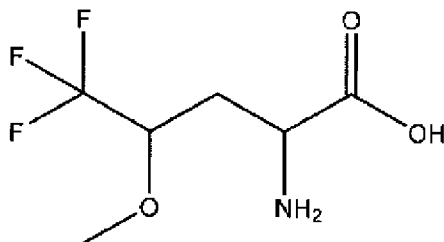
I-172



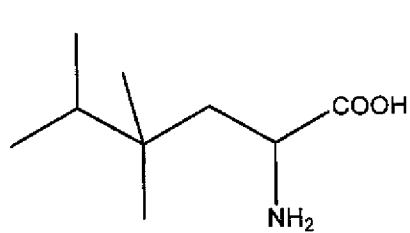
I-173



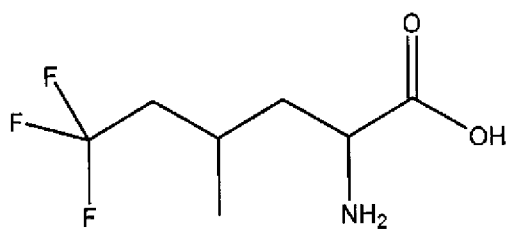
I-174



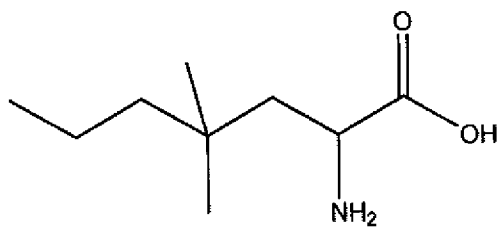
I-175



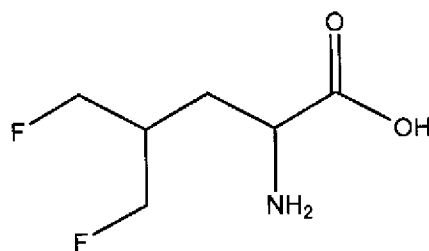
I-176



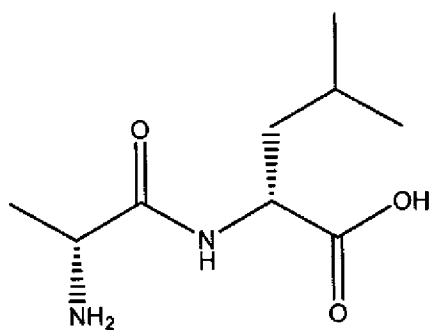
I-177



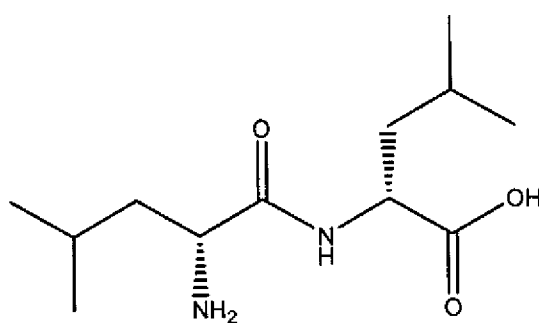
I-178



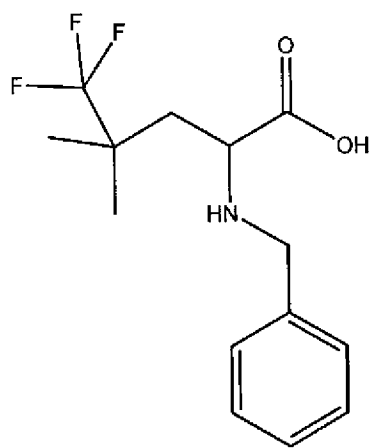
I-179



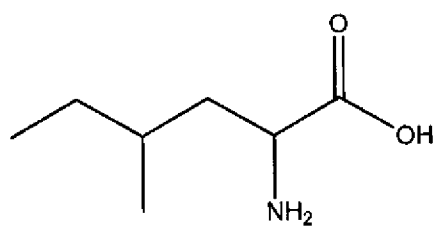
I-180



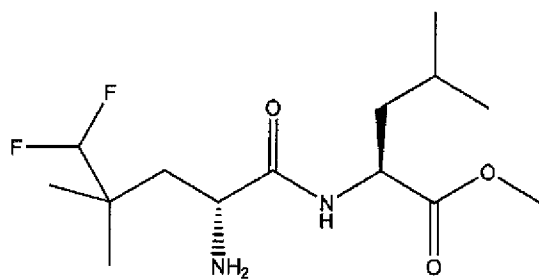
I-181



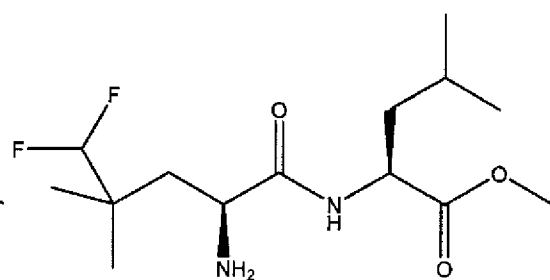
I-182



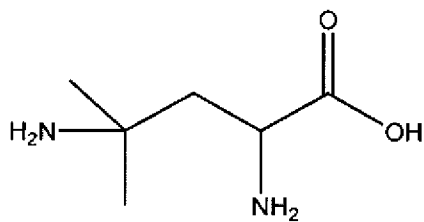
I-183



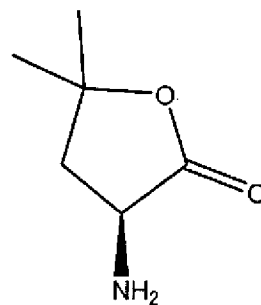
I-184



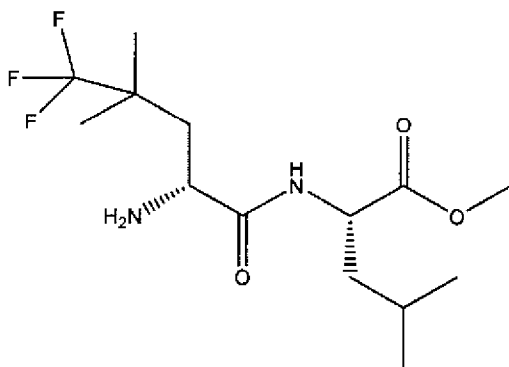
I-185



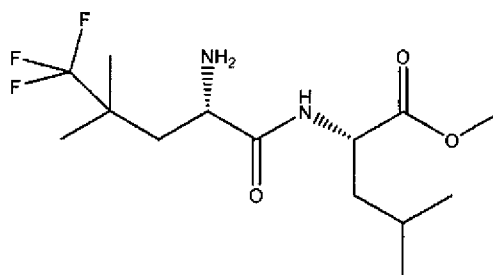
I-186



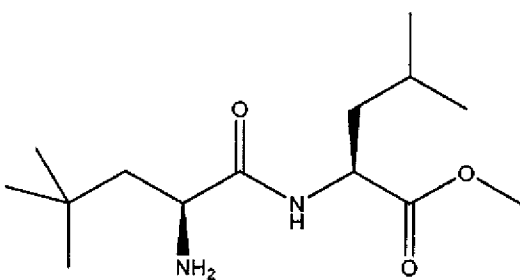
I-187



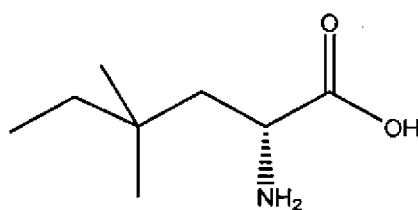
I-188



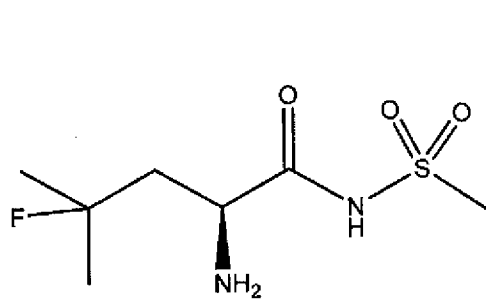
I-189



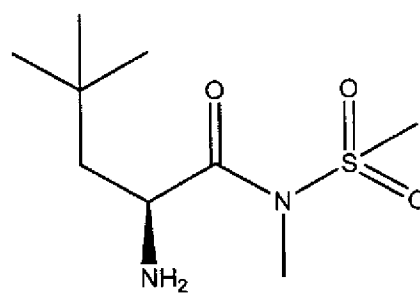
I-190



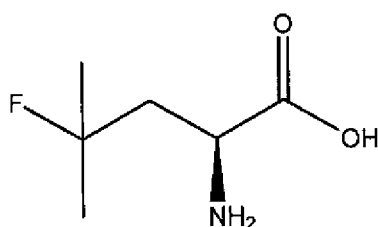
I-191



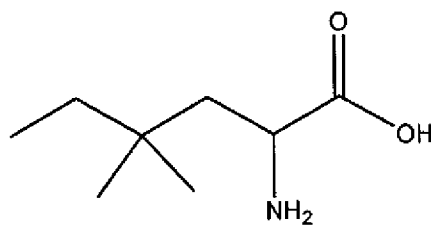
I-192



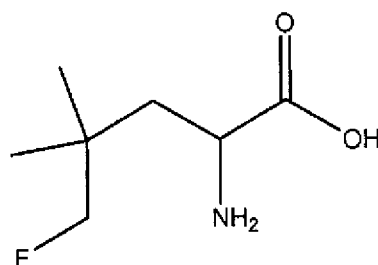
I-193



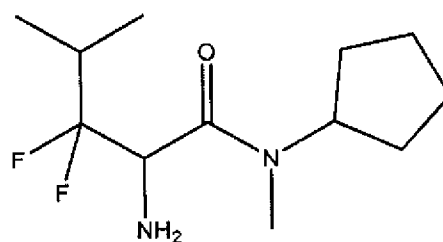
I-194



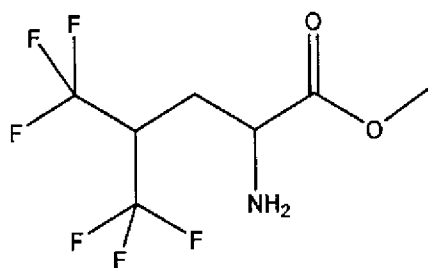
I-195



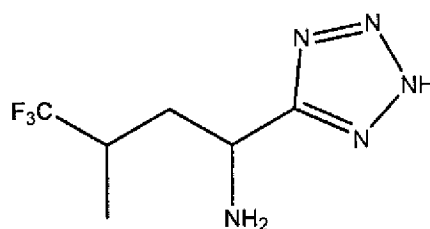
I-196



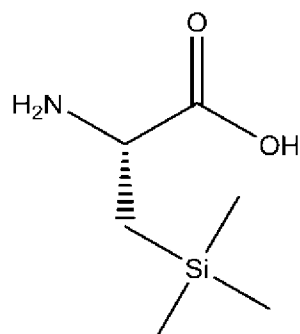
I-197



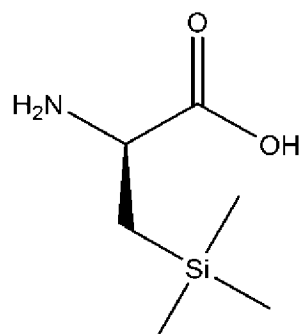
I-198



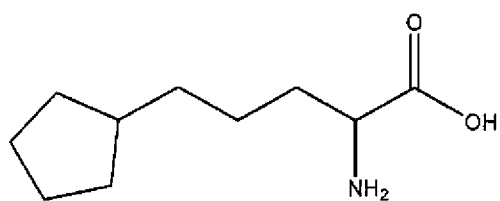
I-199



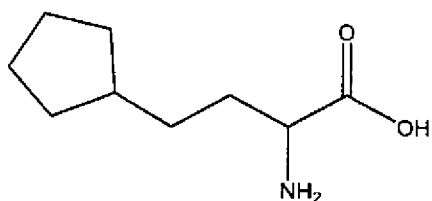
I-200



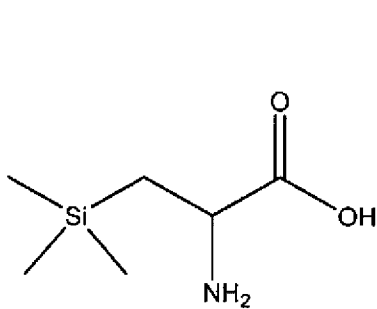
I-201



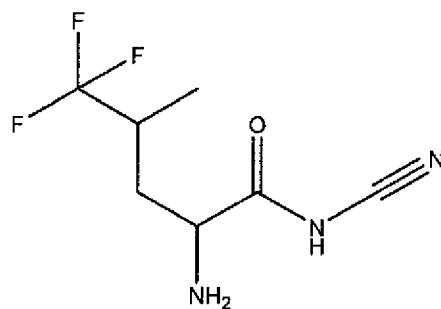
I-202



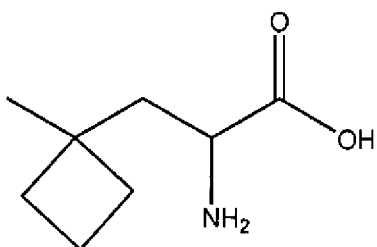
I-203



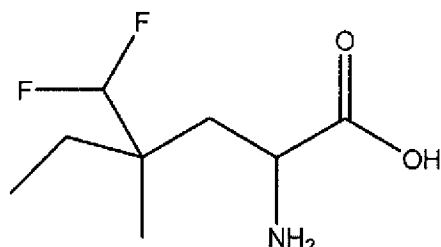
I-204



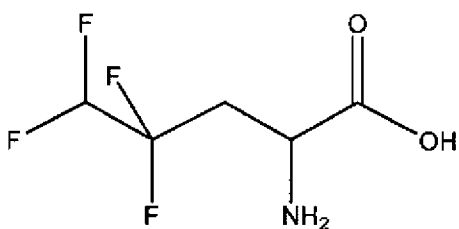
I-205



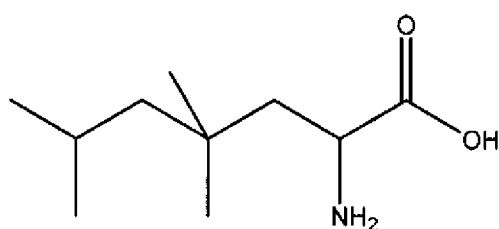
I-206



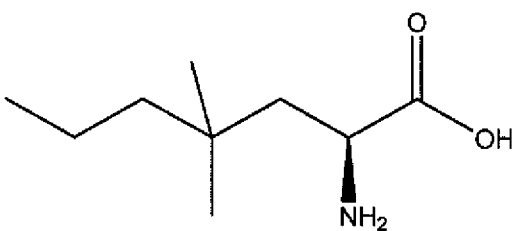
I-207



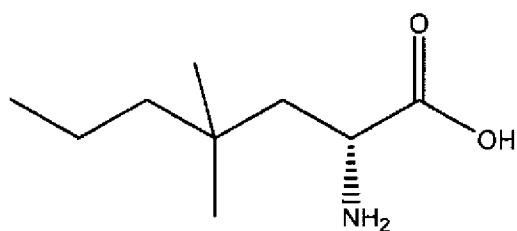
I-208



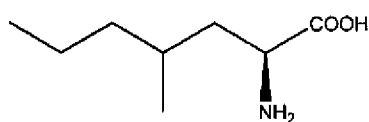
I-209



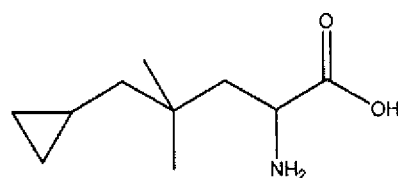
I-210



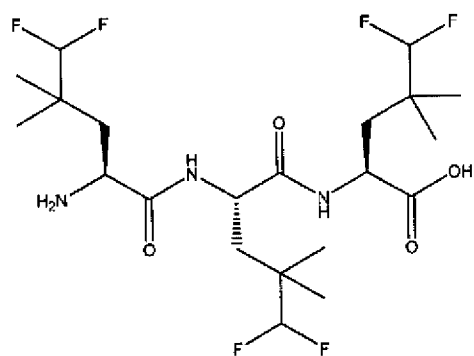
I-211



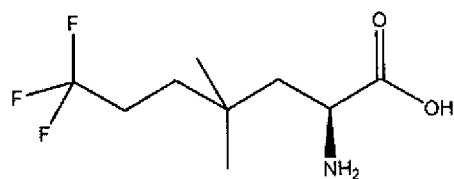
I-212



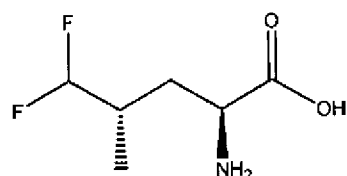
I-213



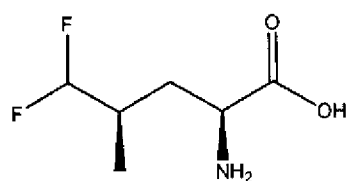
I-214



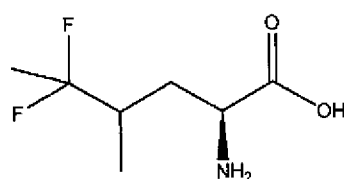
I-215



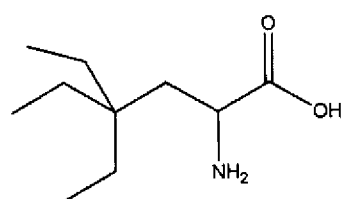
I-216



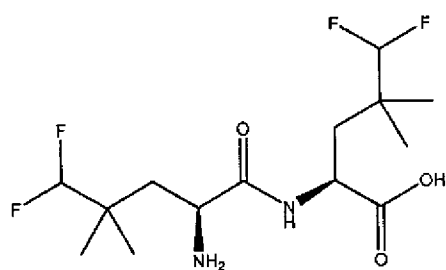
I-217



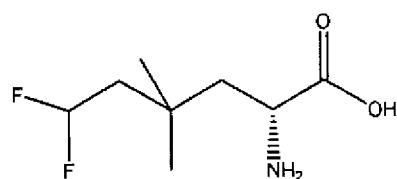
I-218



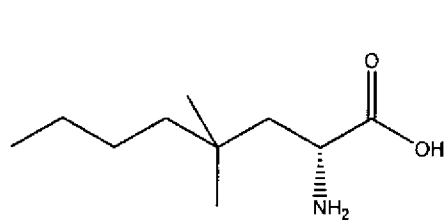
I-219



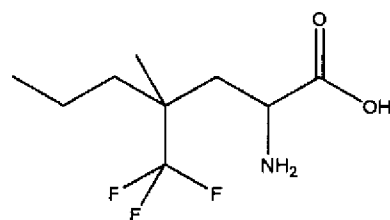
I-220



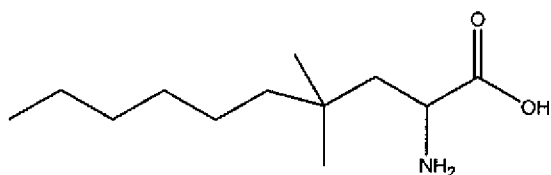
I-221



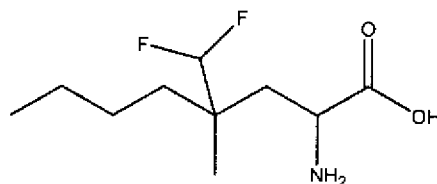
I-222



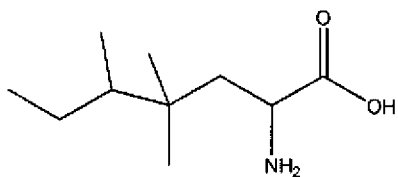
I-223



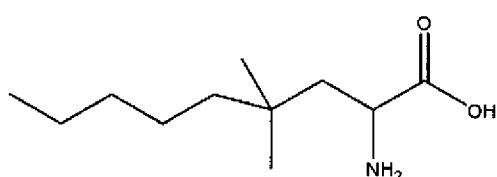
I-224



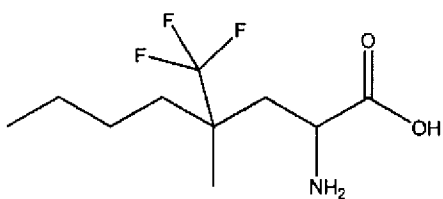
I-225



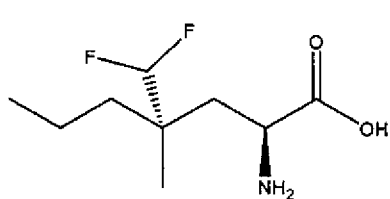
I-226



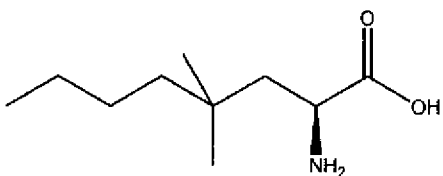
I-227



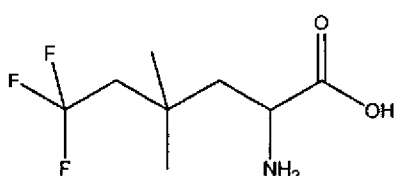
I-228



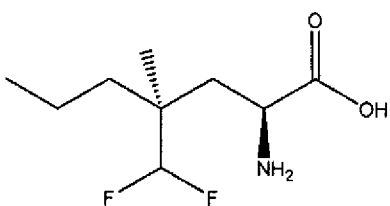
I-229



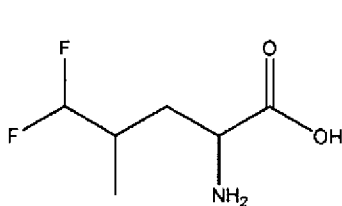
I-230



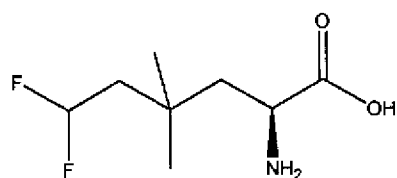
I-231



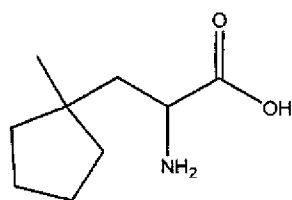
I-232



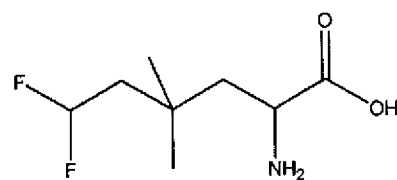
I-233



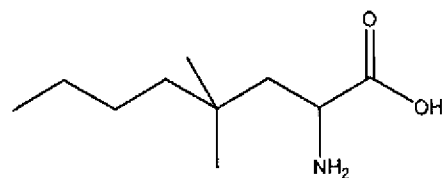
I-234



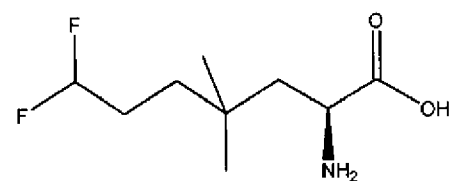
I-235



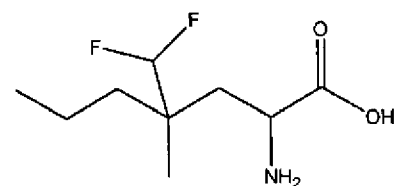
I-236



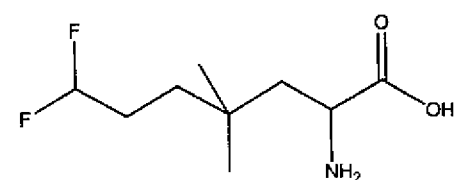
I-237



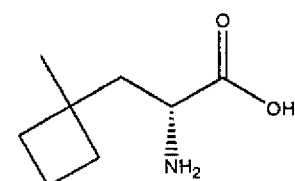
I-238



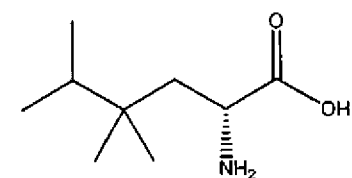
I-239



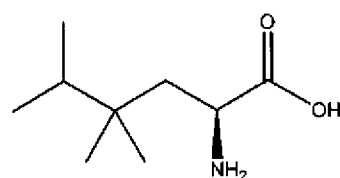
I-240



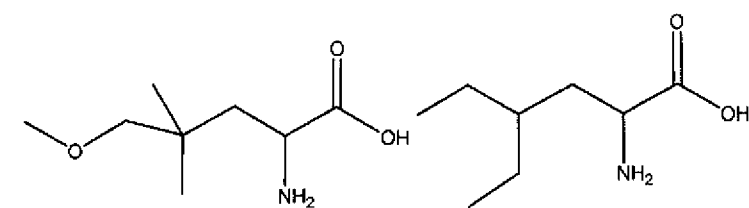
I-241



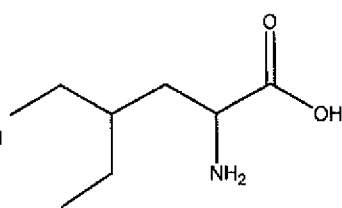
I-242



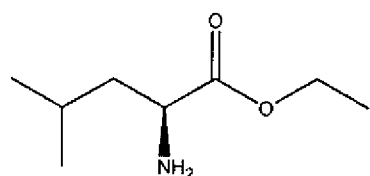
I-243



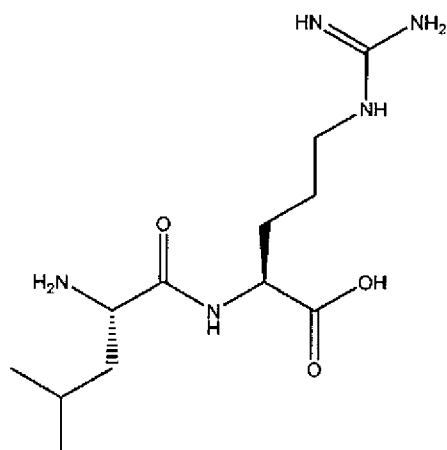
I-244



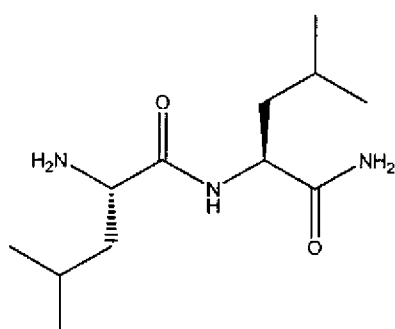
I-245



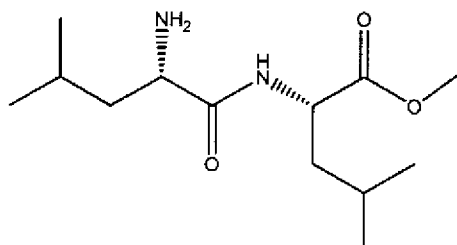
I-246



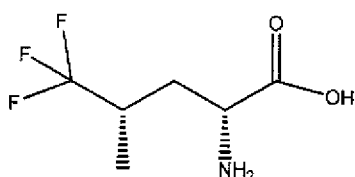
I-247



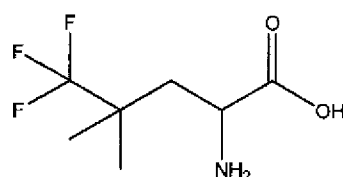
I-248



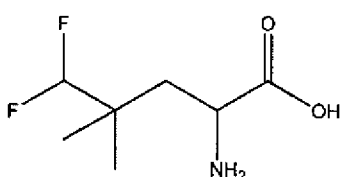
I-249



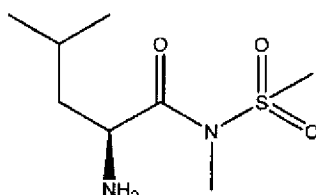
I-250



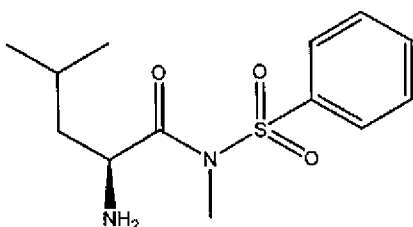
I-251



I-252



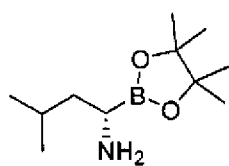
I-253



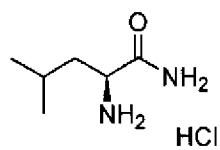
I-254

例示性本發明化合物闡述於以下表2中。

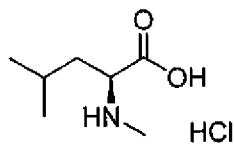
表2.例示性化合物



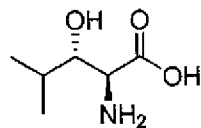
I-10



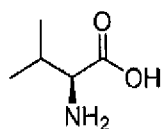
I-23



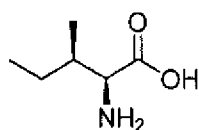
I-24



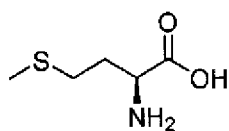
I-27



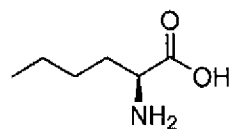
I-28



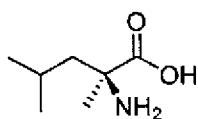
I-29



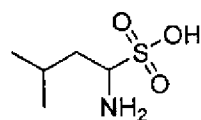
I-30



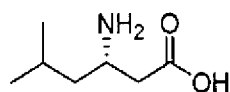
I-31



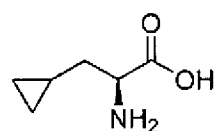
I-32



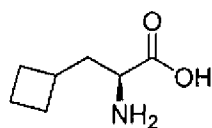
I-33



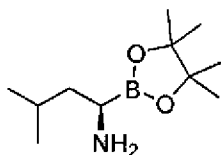
I-34



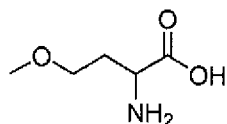
I-35



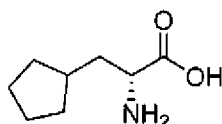
I-37



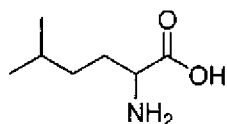
I-38



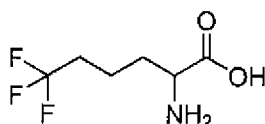
I-39



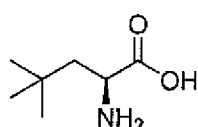
I-40



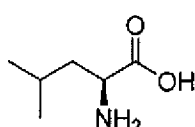
I-41



I-42



I-43



I-44

在一些實施例中，本發明提供上表1中所闡述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽。在一些實施例中，本發明提供上表2中所闡述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽。

4. 使用、調配及投與

醫藥學上可接受之組合物

根據另一實施例，本發明提供一種組合物，其包含本發明化合物或其醫藥學上可接受之衍生物及醫藥學上可接受之載劑、佐劑或媒劑。本發明組合物中之化合物之量為使得能有效地可量測地抑制或活化生物樣品或患者中之Sestrin-GATOR2交互作用。在某些實施例中，本發明組合物中之化合物之量為使得能有效地可量測地抑制或活化生物樣品或患者中之Sestrin-GATOR2交互作用。在某些實施例中，調配本發明組合物以用於向需要此類組合物之患者投與。在一些實施例中，調配本發明組合物以用於向患者經口投與。

如本文所使用，術語「患者」意謂動物，較佳為哺乳動物且最佳為人類。

術語「醫藥學上可接受之載劑、佐劑或媒劑」係指不破壞與其一起調配之化合物之藥理學活性的無毒載劑、佐劑或媒劑。可用於本發明組合物中之醫藥學上可接受之載劑、佐劑或媒劑包括(但不限於)離子交換劑、氧化鋁、硬脂酸鋁、卵磷脂、血清蛋白(諸如人類血清白蛋白)、緩衝物質(諸如磷酸鹽)、甘胺酸、山梨酸、山梨酸鉀、飽和植物脂肪酸之部分甘油酯混合物、水、鹽或電解質(諸如魚精蛋白硫酸鹽、磷酸氫二鈉、磷酸氫鉀、氯化鈉、鋅鹽)、膠態二氧化矽、三矽酸鎂、聚乙烯基吡咯啶酮、基於纖維素之物質、聚乙二醇、羧甲基纖維素鈉、聚丙烯酸酯、蠟、聚乙烯-聚氧丙烯-嵌段聚合物、聚乙二醇及羊毛脂。

本發明組合物可經口、非經腸、藉由吸入噴霧、局部、經直腸、經鼻、經頰、經陰道或藉助於植入式貯器投與。如本文所使用之術語「非經腸」包括皮下、靜脈內、肌肉內、關節內、滑膜內、胸骨內、鞘內、肝內、病灶內及顱內注射或輸注技術。較佳地，組合物經口、腹膜內或靜脈內投與。本發明組合物之無菌可注射形式可為水性或油性懸浮液。此等懸浮液可根據此項技術中已知之技術使用適合的分散劑或濕潤劑及懸浮劑來調配。無菌可注射製劑亦可為於無毒非經腸可接受之稀釋劑或溶劑中之無菌可注射溶液或懸浮液，例如呈於1,3-丁二醇中之溶液形式。在可接受之媒劑及溶劑中，可採用的有水、林格氏溶液(Ringer's solution)及等張氯化鈉溶液。另外，無菌不揮發性油習知用作溶劑或懸浮介質。

出於此目的，可採用任何溫和不揮發性油，包括合成單甘油酯或二甘油酯。諸如油酸之脂肪酸及其甘油酯衍生物適用於製備可注射劑，如天

然醫藥學上可接受之油，諸如橄欖油或蓖麻油，尤其呈其聚氧乙烯化形式。此等油溶液或懸浮液亦可含有長鏈醇稀釋劑或分散劑，諸如羧甲基纖維素或常用於調配醫藥學上可接受之劑型(包括乳液及懸浮液)的類似分散劑。其他常用界面活性劑(諸如Tween、Span及其他乳化劑)或常用於製造醫藥學上可接受之固體、液體或其他劑型之生物可用性增進劑亦可用於調配之目的。

本發明之醫藥學上可接受之組合物可以任何經口可接受之劑型經口投與，包括(但不限於)膠囊、錠劑、水性懸浮液或溶液。在用於經口使用之錠劑之情況下，常用載劑包括乳糖及玉米澱粉。典型地亦添加潤滑劑，諸如硬脂酸鎂。就膠囊形式之經口投與而言，適用的稀釋劑包括乳糖及乾燥玉米澱粉。當為了經口使用需要水性懸浮液時，活性成分與乳化劑及懸浮劑組合。若需要，亦可添加某些甜味劑、調味劑或著色劑。

或者，本發明之醫藥學上可接受之組合物可以用於直腸投與之栓劑形式投與。此等栓劑可藉由將藥劑與適合的非刺激賦形劑混合來製備，該賦形劑在室溫下為固體但在直腸溫度下為液體且因此將在直腸中熔融以釋放藥物。此類材料包括可可脂、蜂蠟及聚乙二醇。

本發明之醫藥學上可接受之組合物亦可局部投與，尤其當治療目標包括藉由局部施用容易達到之區域或器官(包括眼睛、皮膚或低位腸道之疾病)時。容易製備適合的局部調配物用於此等區域或器官中之每一者。

用於低位腸道之局部施用可以直腸栓劑調配物(參見上文)形式或以適合的灌腸調配物形式實現。亦可使用局部經皮貼片。

對於局部施用而言，所提供之醫藥學上可接受之組合物可調配為含有懸浮或溶解於一或多種載劑中之活性組分之適合的軟膏形式。用於本發

明化合物之局部投與的載劑包括(但不限於)礦物油、液體石蠟脂、白石蠟脂、丙二醇、聚氧乙烯、聚氧丙烯化合物、乳化蠟及水。或者，所提供之醫藥學上可接受之組合物可以含有懸浮或溶解於一或多種醫藥學上可接受之載劑中之活性組分之適合的洗劑或乳膏形式調配。適合的載劑包括(但不限於)礦物油、脫水山梨糖醇單硬脂酸酯、聚山梨醇酯60、十六酯蠟、十六醇十八醇、2-辛基十二醇、苯甲醇及水。

對於眼科使用而言，所提供的醫藥學上可接受之組合物可調配為具有或不具有防腐劑(諸如氯苄烷銨)、於等張pH值經調整之無菌生理食鹽水中的微米尺寸化懸浮液，或較佳為於等張pH值經調整之無菌生理食鹽水中的溶液。或者，對於眼科使用而言，醫藥學上可接受之組合物可以軟膏(諸如石蠟脂)形式調配。

本發明之醫藥學上可接受之組合物亦可藉由經鼻氣霧劑或吸入劑來投與。此類組合物根據醫藥調配技術中熟知之技術製備，且可採用苯甲醇或其他適合的防腐劑、增強生物可用性之吸收促進劑、碳氟化合物及/或其他習知溶解劑或分散劑製備為於生理食鹽水中的溶液。

最佳地，調配本發明之醫藥學上可接受之組合物以用於經口投與。此類調配物可在存在或不存在食品之情況下投與。在一些實施例中，本發明之醫藥學上可接受之組合物在不存在食品之情況下投與。在其他實施例中，本發明之醫藥學上可接受之組合物在存在食品之情況下投與。

可與載劑材料組合以產生呈單一劑型之組合物的本發明化合物之量將視所治療之宿主及特定投與模式而變化。較佳地，應調配所提供之組合物以使得可向接受此等組合物之患者投與0.01毫克/公斤體重/天至100毫克/公斤體重/天之間的劑量的抑制劑。

亦應理解，任何特定患者之特定劑量及治療方案將視多種因素而定，該等因素包括所採用之特定化合物之活性、年齡、體重、一般健康、性別、膳食、投與時間、排泄率、藥物組合及治療醫師之判斷及所治療之特定疾病之嚴重強度。組合物中之本發明化合物之量亦視組合物中之特定化合物而定。

化合物及醫藥學上可接受之組合物之用途

本文所描述之化合物及組合物一般適用於抑制或活化 **Sestrin-GATOR2** 交互作用。在一些實施例中，所提供之化合物或其組合物為 **Sestrin-GATOR2** 交互作用之活化劑。

本發明中用作 **Sestrin-GATOR2** 交互作用之抑制劑或活化劑之化合物之活性可活體外、活體內或於細胞株中分析。活體外分析包括測定 **Sestrin-GATOR2** 交互作用之抑制或活化之分析。替代活體外分析對抑制劑或活化劑降低或提高 **Sestrin** 結合至 **GATOR2** 之能力進行定量。用於分析本發明中用作 **Sestrin-GATOR2** 交互作用之抑制劑或活化劑之化合物之詳述條件闡述於以下實例中。

如本文所使用，術語「治療(treatment)」、「治療(treat)」及「治療(treating)」係指逆轉、減輕如本文所描述之疾病或病症或其一或多種症狀，延遲其發作，或抑制其進展。在一些實施例中，可在已出現一或多種症狀之後投與治療。在其他實施例中，治療可在症狀不存在時投與。舉例而言，治療可在症狀發作之前向易感個體投與(例如根據症狀病史及/或根據遺傳性或其他易感性因素)。亦可在症狀已消退之後繼續治療，例如以預防或遲緩其復發。

所提供之化合物為 **Sestrin-GATOR2** 交互作用之抑制劑或活化劑且因

此適用於治療與mTORC1活性相關之一或多種病症。因此，在某些實施例中，本發明提供一種用於治療mTORC1介導之病症的方法，其包含向有需要之患者投與本發明化合物或其醫藥學上可接受之組合物的步驟。

如本文所使用，術語「mTORC1介導之」病症、疾病及/或如本文所使用之病況意謂其中已知mTORC1起作用之任何疾病或其他有害條件。因此，本發明之另一實施例係關於治療其中已知mTORC1起作用之一或多種疾病或減輕其嚴重程度。

在一些實施例中，活化mTORC之方法用於治療或預防抑鬱症。(參見Ignácio等人, (2015) Br J Clin Pharmacol.11月27日)。因此，在一些實施例中，本發明提供一種治療或預防有需要患者之抑鬱症之方法，其包含向該患者投與所提供之化合物或其醫藥學上可接受之組合物之步驟。在一些實施例中，抑鬱症為難治性抑鬱症(「TRD」)。在一些實施例中，難治性抑鬱症對第一線治療具有抗性。在一些實施例中，難治性抑鬱症對第二線治療具有抗性。

在一些實施例中，本發明提供一種治療有需要患者之抑鬱症之方法，其中該患者抑鬱量表評分降低了50%。在一些實施例中，該患者在投與化合物或醫藥學上可接受之組合物不到六週內抑鬱量表評分降低了50%。在一些實施例中，該患者在投與化合物或醫藥學上可接受之組合物不到四週內抑鬱量表評分降低了50%。在一些實施例中，該患者在投與化合物或醫藥學上可接受之組合物兩週內抑鬱量表評分降低了50%。在一些實施例中，該患者在投與化合物或醫藥學上可接受之組合物不到兩週內抑鬱量表評分降低了50%。在一些實施例中，該患者在投與化合物或醫藥學上可接受之組合物一週內抑鬱量表評分降低了50%。在一些實施例中，該

患者在投與化合物或醫藥學上可接受之組合物七天內抑鬱量表評分降低了50%。在一些實施例中，該患者在投與化合物或醫藥學上可接受之組合物六天內抑鬱量表評分降低了50%。在一些實施例中，該患者在投與化合物或醫藥學上可接受之組合物五天內抑鬱量表評分降低了50%。在一些實施例中，該患者在投與化合物或醫藥學上可接受之組合物四天內抑鬱量表評分降低了50%。在一些實施例中，該患者在投與化合物或醫藥學上可接受之組合物三天內抑鬱量表評分降低了50%。在一些實施例中，該患者在投與化合物或醫藥學上可接受之組合物兩天內抑鬱量表評分降低了50%。在一些實施例中，該患者在投與化合物或醫藥學上可接受之組合物一天內抑鬱量表評分降低了50%。在一些實施例中，該患者在投與化合物或醫藥學上可接受之組合物二十四小時內抑鬱量表評分降低了50%。在一些實施例中，抑鬱量表評分選自蒙哥馬利-艾森貝格抑鬱評定量表(Montgomery-Asberg Depression Rating Scale, MADRS)、漢彌爾頓抑鬱評定量表(HAMD-6)、抑鬱症狀自我評定量表之列表(IDS-SR)及臨床總體印象嚴重程度量表(CGI-S)。

在一些實施例中，本發明提供一種治療有需要患者之抑鬱症之方法，其包含向該患者經口投與所提供之化合物或其醫藥學上可接受之組合物之步驟，其中該患者抑鬱量表評分降低與經由i.p.注射投與之氯胺酮相當。在一些實施例中，抑鬱量表評分降低由單次經口投與產生。在一些實施例中，抑鬱量表評分降低由多次經口投與產生。

在一些實施例中，活化mTORC1之方法用於誘發快速起效抗抑鬱活性。因此，在一些實施例中，本發明提供一種在罹患TRD之有需要之患者中引發快速起效抗抑鬱活性之方法，其包含向該患者投與所提供之化合物

或其醫藥學上可接受之組合物之步驟。在一些實施例中，快速起效抗抑鬱活性在投與該化合物或組合物兩週內發生。在一些實施例中，快速起效抗抑鬱活性在投與該化合物或組合物一週內發生。在一些實施例中，快速起效抗抑鬱活性在投與該化合物或組合物七天內發生。在一些實施例中，快速起效抗抑鬱活性在投與該化合物或組合物六天內發生。在一些實施例中，快速起效抗抑鬱活性在投與該化合物或組合物五天內發生。在一些實施例中，快速起效抗抑鬱活性在投與該化合物或組合物四天內發生。在一些實施例中，快速起效抗抑鬱活性在投與該化合物或組合物三天內發生。在一些實施例中，快速起效抗抑鬱活性在投與該化合物或組合物兩天內發生。在一些實施例中，快速起效抗抑鬱活性在投與該化合物或組合物一天內發生。在一些實施例中，快速起效抗抑鬱活性在投與該化合物或組合物不到二十四小時內發生。

在一些實施例中，本發明提供一種在罹患抑鬱症之有需要之患者中引發長效持久抗抑鬱活性之方法，其包含向該患者投與所提供之化合物或其醫藥學上可接受之組合物之步驟。在一些實施例中，有需要之患者罹患 TRD。在一些實施例中，長效持久抗抑鬱活性在單次投與所提供之化合物或其醫藥學上可接受之組合物之後持續至少二十四小時。在一些實施例中，長效持久抗抑鬱活性持續超過一天。在一些實施例中，長效持久抗抑鬱活性持續至少兩天。在一些實施例中，長效持久抗抑鬱活性持續至少三天。在一些實施例中，長效持久抗抑鬱活性持續至少四天。在一些實施例中，長效持久抗抑鬱活性持續至少五天。在一些實施例中，長效持久抗抑鬱活性持續至少六天。在一些實施例中，長效持久抗抑鬱活性持續至少七天。

在一些實施例中，本發明提供一種引發快速起效及長效持久抗抑鬱活性之方法。

在一些實施例中，本發明提供一種在個體中引發積極行為反應之方法，其包含向該個體投與所提供之化合物或其醫藥學上可接受之組合物之步驟。在一些實施例中，積極行為反應與情緒改善相關。在一些實施例中，積極行為反應與焦慮減少相關。在一些實施例中，積極行為反應與情緒改善相對應。在一些實施例中，積極行為反應與抗壓能力改善相關。

在一些實施例中，本發明提供一種在個體中引發快速起效積極行為反應之方法，其包含向該個體投與所提供之化合物或其醫藥學上可接受之組合物之步驟。在一些實施例中，積極行為反應在投與二十四小時內發生。在一些實施例中，積極行為反應在投與一天內發生。在一些實施例中，積極行為反應在投與兩天內發生。在一些實施例中，積極行為反應在投與三天內發生。在一些實施例中，積極行為反應在投與四天內發生。在一些實施例中，積極行為反應在投與五天內發生。在一些實施例中，積極行為反應在投與六天內發生。在一些實施例中，積極行為反應在投與七天內發生。在一些實施例中，積極行為反應在投與一週內發生。

在一些實施例中，本發明提供一種在個體中引發長效持久積極行為反應之方法，其包含向該患者投與所提供之化合物或其醫藥學上可接受之組合物之步驟。在一些實施例中，長效持久積極行為反應持續超過一天。在一些實施例中，長效持久積極行為反應持續至少兩天。在一些實施例中，長效持久積極行為反應持續至少三天。在一些實施例中，長效持久積極行為反應持續至少四天。在一些實施例中，長效持久積極行為反應持續至少五天。在一些實施例中，長效持久積極行為反應持續至少六天。在一

些實施例中，長效持久積極行為反應持續至少七天。

在一些實施例中，本發明提供一種引發快速起效及長效持久積極行為反應之方法。

在一些實施例中，本發明提供一種在有需要之患者中改善及/或逆轉由慢性不可預測的壓力(CUS)引起之行為及突觸缺陷之方法，其包含向該患者投與所提供之化合物或其醫藥學上可接受之組合物之步驟。在一些實施例中，該方法改善及/或逆轉由CUS引起之行為缺陷。在一些實施例中，該方法改善及/或逆轉由CUS引起之突觸缺陷。在一些實施例中，由CUS引起之突觸缺陷為突觸後蛋白質表現減少。在一些實施例中，突觸後蛋白質表現減少為GLUR1或PSD95表現減少。

在一些實施例中，活化mTORC1之方法用於治療或預防自閉症程度。(參見Novarino等人, (2012) Science 10月19日, 338:6105, 第394至397頁)。因此，在一些實施例中，本發明提供一種在有需要之個體中治療或預防一定程度的自閉症之方法，其包含向該個體投與所提供之化合物或其醫藥學上可接受之組合物之步驟。在一些實施例中，自閉症為基因形成之自閉症。

在一些實施例中，本發明提供一種治療有需要之患者之基因形成自閉症之方法，其包含向該患者投與所提供之化合物或其醫藥學上可接受之組合物之步驟。SHANK3單倍劑量不足為Phelan-McDermid症候群(PMDS)之神經特徵之致病因素，包括高危自閉症系列障礙(Bidinosti等人 (2016) Science Reports 351, 1199-1203)。SHANK3缺失型神經元中之mTORC1下調歸因於藉由其激酶、Cdc2類激酶2增強的磷酸化及絲胺酸/蘇胺酸蛋白質磷酸酶2A (PP2A)調節子單元B56b活化(Bidinosti等人

(2016) Science Reports 351, 1199-1203)。SHANK3突變體小鼠展示自閉特點(Yang等人(2012) The Journal of Neuroscience 32, 6525-6541)。具有自閉特點及運動延緩之患者在SLC7A5基因中攜帶有害的同種接合子突變。溶質載體轉運蛋白7a5 (SLC7A5)、定位於血腦障壁(BBB)處之較大中性胺基酸轉運蛋白在維持大腦BCAA之標準含量方面具有必不可少的作用。白胺酸腦室內投與改善成人突變體小鼠之異常行為(Tarlungeanu等人(2016) Cell 167, 1481-1494)。

在一些實施例中，本發明提供一種治療有需要之患者之溶酶體貯積病或病症(「LSD」)之方法，其包含向該患者投與所提供之化合物或其醫藥學上可接受之組合物之步驟。LSD為一組由溶酶體功能缺陷產生之遺傳性代謝障礙。溶酶體貯積病由溶酶體功能障礙引起，通常由於缺乏脂質、糖蛋白(含糖蛋白質)或所謂的黏多醣代謝所需之單一酶。在一些實施例中，本發明提供一種治療有需要之患者之脂質貯積病之方法，其包含向該患者投與所提供之化合物或其醫藥學上可接受之組合物之步驟。在一些實施例中，脂質貯積病選自鞘脂類代謝障礙(例如神經節苷脂貯積病、高歇氏(Gaucher)、尼曼-匹克病(Niemann-Pick disease)或異染性腦白質營養不良)。在一些實施例中，本發明提供一種治療神經節苷脂貯積病(例如泰-薩克斯病或腦白質障礙)之方法。在一些實施例中，本發明提供一種治療有需要之患者之黏多醣貯積症之方法，其包含向該患者投與所提供之化合物或其醫藥學上可接受之組合物之步驟。在一些實施例中，黏多醣貯積症為亨特症候群(Hunter syndrome)或賀勒病(Hurler disease)。

在一些實施例中，本發明提供一種治療有需要之患者之JNCL (貝敦氏病(Batten Disease))之方法，其包含向該患者投與所提供之化合物或其

醫藥學上可接受之組合物之步驟。JNCL由產生非功能蛋白質之CLN3基因之外顯子7及8之缺失引起。Battenin(由CLN3編碼之全長蛋白質)為定位於晚期內體及溶酶體之跨膜蛋白，其中其已展示幫助調節pH、胺基酸平衡及小泡運輸(Pearce等人(1999) *Nature Genetics* 22, 1；Fossale等人(2004) *BMC Neuroscience* 10, 5)，mTOR活化需要自體吞噬所提供之細胞內養分，其在活體外及活體內JNCL模型中歸因於不具有功能性battenin而降低(Cao等人(2006) *Journal of Biological Chemistry* 281, 29)。

在一些實施例中，本發明提供一種治療有需要之患者之胱胺酸症之方法，其包含向該患者投與所提供之化合物或其醫藥學上可接受之組合物之步驟。胱胺酸症為影響具有*CSTN*基因中突變之兩個等位基因之彼等者之體染色體隱性疾病；來自溶酶體之胱胺酸流出物中缺乏溶酶體胱胺酸轉運蛋白cystinosin，使得胱胺酸晶體形成於腎臟上皮小管中及腎功能缺失。研究已展示，不具有*CSTN*及錯誤定位mTOR之細胞中之mTORC1信號傳導缺乏或減少(Ivanova等人(2016) *J Inherit Metab Dis.* 39(3), 457-64；Andrzejewska等人(2016) *J Am Soc Nephrol.* 27(6), 1678-1688e)。此等缺陷可能無法藉由半胱胺修復(Ivanova等人(2016) *J Inherit Metab Dis.* 39(3), 457-64；Andrzejewska等人(2016) *J Am Soc Nephrol.* 27(6), 1678-1688e)。Cystinosin亦已發現結合mTORC1路徑組分v-ATP酶、Rags及調節劑(Andrzejewska等人(2016) *J Am Soc Nephrol.* 27(6), 1678-1688e)。CTNS缺失型細胞展示且提高自噬小體數目且減少伴隨蛋白介導之自體吞噬(Napolitano等人(2015) *EMBO Mol Med.* 7(2), 158-74)。

在一些實施例中，本發明提供一種治療有需要之患者之法布立病(Fabry disease)之方法，其包含向該患者投與所提供之化合物或其醫藥學

上可接受之組合物之步驟。在法布立病中， α -半乳糖缺陷導致醯基鞘醇三己糖脂質之溶酶體積聚。在法布立病細胞模型中，活體外及活體內觀測到降低的mTOR活性及提高的自體吞噬，其中 α -半乳糖被shRNA阻斷(Liebau等人(2013) PLoS 8, e63506)。亦在小鼠大腦中觀測到活性過高自體吞噬，其中 α -半乳糖被基因剔除(Nelson等人(2014) Acta Neuropathologica Communications 2, 20)。

在一些實施例中，本發明提供一種治療有需要之患者之IV型黏脂貯積症(MLIV)之方法，其包含向該患者投與所提供之化合物或其醫藥學上可接受之組合物之步驟。在MLIV中，TRPML1溶酶體Ca (2+)通道之突變造成無序溶酶體膜運輸。果蠅中之MLIV基因剔除導致自體吞噬上調及mTOR活性降低，其兩者均可藉由以基因方法使mTORC1活化或藉由給動物餵飼較高蛋白質飲食逆轉(Wong等人(2012) Curr Biol. 22(17), 1616-1621)。亦在來自MLIV患者之纖維母細胞中觀測到提高的自體吞噬(Vergarajauregui等人(2008) Human Molecular Genetics 17, 2723-2737)。

在一些實施例中，本發明提供一種治療有需要之患者之智力遲鈍之方法，其包含向該患者投與所提供之化合物或其醫藥學上可接受之組合物之步驟。在智人中，塞勒布隆突變(Cereblon mutation)連接至輕度常染色體隱性非症候群智力遲鈍。在小鼠中，延遲之塞勒布隆基因剔除模型、塞勒布隆缺失使AMPK活化，抑制mTOR且減少小腦中之蛋白質轉譯(Lee等人(2014) J Biol Chem. 289, 23343-52；Xu等人(2013) J Biol Chem. 288, 29573-85)。

在一些實施例中，本發明提供一種提高個體中之神經元蛋白質表現

之方法，其包含向該個體投與所提供之化合物或其醫藥學上可接受之組合物之步驟。在一些實施例中，神經元蛋白質表現提高在突觸後神經元中發生。在一些實施例中，神經元蛋白質表現提高包括提高腦衍生神經營養因子(BDNF)之表現。在一些實施例中，神經元蛋白質表現提高包括麩胺酸受體1 (GluR1)之表現提高。在一些實施例中，神經元蛋白質表現提高包括突觸蛋白表現提高。在一些實施例中，神經元蛋白質表現提高包括PSD95表現提高。

在一些實施例中，本發明提供一種提高個體之突觸發生之方法，其包含向該個體投與所提供之化合物或其醫藥學上可接受之組合物之步驟。在一些實施例中，提高的突觸發生涉及突觸重構。在一些實施例中，提高的突觸發生涉及誘導樹枝狀棘。在一些實施例中，誘導樹枝狀棘使得樹枝狀棘密度提高。在一些實施例中，樹枝狀棘為細長棘。在一些實施例中，樹枝狀棘為蘑菇棘。

在一些實施例中，本發明提供一種增強個體之綜觀功能之方法，其包含向該個體投與所提供之化合物或其醫藥學上可接受之組合物之步驟。在一些實施例中，個體之增強的綜觀功能涉及興奮性突觸後電流(EPSC)提高。

本發明之醫藥學上可接受之組合物可視所治療之感染之嚴重程度而經口、經直腸、非經腸、腦池內、陰道內、腹膜內、局部(如藉由散劑、軟膏或滴劑)、經鼻，作為經口或經鼻噴霧或其類似方式向人類及其他動物投與。在某些實施例中，本發明化合物可以每天個體體重約0.01 mg/kg至約50 mg/kg及較佳約1 mg/kg至約25 mg/kg之劑量水準經口或非經腸一日投與一或多次以獲得所需治療效果。

用於經口投與之液體劑型包括(但不限於)醫藥學上可接受之乳液、微乳液、溶液、懸浮液、糖漿及酞劑。除活性化合物之外，液體劑型可含有此項技術中常用之惰性稀釋劑，諸如水或其他溶劑；增溶劑及乳化劑，諸如乙醇、異丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苯甲醇、苯甲酸苯甲酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲醯胺、油(尤其棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄欖油、蓖麻油及芝麻油)、甘油、四氫糠醇、聚乙二醇及脫水山梨糖醇之脂肪酸酯；及其混合物。除惰性稀釋劑之外，經口組合物亦可包括佐劑，諸如濕潤劑、乳化劑及懸浮劑、甜味劑、調味劑及芳香劑。

可根據已知技術使用適合的分散劑或濕潤劑及懸浮劑來調配可注射製劑，例如無菌可注射水性或油性懸浮液。無菌可注射製劑亦可為於無毒性非經腸可接受之稀釋劑或溶劑中之無菌可注射溶液、懸浮液或乳液，例如呈於1,3-丁二醇中之溶液形式。在可接受之媒劑及溶劑中，可採用的有水、林格氏溶液、U.S.P.及等張氯化鈉溶液。另外，無菌不揮發性油習知用作溶劑或懸浮介質。出於此目的，可採用包括合成單甘油酯或二甘油酯之任何溫和的不揮發性油。另外，諸如油酸之脂肪酸用於製備可注射劑。

可例如藉由經由細菌持留過濾器過濾或藉由併入在使用之前可溶解或分散於無菌水或其他無菌可注射介質中之呈無菌固體組合物形式之滅菌劑來將可注射調配物滅菌。

為延長本發明化合物之效果，通常需要減緩來自皮下或肌肉內注射之化合物之吸收。此可藉由使用具有不良水溶性之結晶或非晶形材料之液體懸浮液來實現。化合物之吸收率則視其溶解率而定，溶解率又可能視晶體大小及結晶形式而定。或者，藉由將化合物溶解或懸浮於油媒劑中來實現非經腸投與之化合物之延遲吸收。藉由在諸如聚丙交酯-聚乙交酯之生

物可降解聚合物中形成化合物之微膠囊基質來製造可注射積存形式。視化合物與聚合物之比率及所採用之特定聚合物的性質而定，可控制化合物釋放速率。其他生物可降解聚合物之實例包括聚(原酸酯)及聚(酸酐)。亦藉由將化合物覆埋於與身體組織相容之脂質體或微乳液中來製備儲槽式可注射調配物。

用於經直腸或經陰道投與之組合物較佳為可藉由將本發明化合物與適合的非刺激賦形劑或載劑(諸如可可脂、聚乙二醇)混合而製備之栓劑；或在環境溫度下為固體但在體溫下為液體且因此在直腸或陰道腔中熔融且釋放活性化合物的栓劑蠟。

用於經口投與之固體劑型包括膠囊、錠劑、丸劑、粉劑及粒劑。在此類固體劑型中，活性化合物可與以下各者混合：至少一種惰性、醫藥學上可接受之賦形劑或載劑，諸如檸檬酸鈉或磷酸二鈣；及/或a)填充劑或擴充劑，諸如澱粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇及矽酸；b)黏合劑，諸如羧甲基纖維素、海藻酸鹽、明膠、聚乙烯吡咯啶酮、蔗糖及阿拉伯膠；c)保濕劑，諸如甘油；d)崩解劑，諸如瓊脂-瓊脂，碳酸鈣、馬鈴薯或木薯澱粉、褐藻酸、某些矽酸鹽及碳酸鈉；e)阻溶劑，諸如石蠟；f)吸收促進劑，諸如第四銨化合物；g)濕潤劑，諸如十六醇及單硬脂酸甘油酯；h)吸收劑，諸如高嶺土及膨潤土；及i)潤滑劑，諸如滑石、硬脂酸鈣、硬脂酸鎂、固態聚乙二醇、月桂基硫酸鈉及其混合物。在膠囊、錠劑及丸劑之情況下，劑型亦可包含緩衝劑。

類似類型之固體組合物亦可用作使用諸如乳糖或牛乳糖以及高分子量聚乙二醇及其類似物之賦形劑之軟填充及硬填充明膠膠囊中的填充劑。錠劑、糖衣藥丸、膠囊、丸劑及粒劑之固體劑型可製備有包衣及殼層，諸

如腸溶衣及醫藥調配技術中熟知之其他包衣。其可視情況含有乳濁劑，且亦可具有僅在或優先在腸道之某一部分中釋放或視情況以延遲方式釋放活性成分之組合物。可使用之包埋組合物之實例包括聚合物質及蠟。類似類型之固體組合物亦可用作使用如乳糖以及高分子量聚乙二醇及其類似物之賦形劑之軟及硬填充明膠膠囊中之填充劑。

活性化合物亦可與一或多種如上文所指出之賦形劑一起以微囊封形式存在。錠劑、糖衣藥丸、膠囊、丸劑及粒劑之固體劑型可製備有包衣及殼層，諸如腸溶衣、釋放控制包衣及醫藥調配技術中熟知之其他包衣。在此類固體劑型中，活性化合物可與至少一種惰性稀釋劑(諸如蔗糖、乳糖或澱粉)混雜。如在一般實踐中，此類劑型亦可包含除惰性稀釋劑以外之其他物質，例如製錠潤滑劑及其他製錠助劑，諸如硬脂酸鎂及微晶纖維素。在膠囊、錠劑及丸劑之情況下，劑型亦可包含緩衝劑。其可視情況含有乳濁劑，且亦可具有僅在或優先在腸道之某一部分中釋放或視情況以延遲方式釋放活性成分之組合物。可使用之包埋組合物之實例包括聚合物質及蠟。

用於局部或經皮投與本發明化合物之劑型包括軟膏、糊劑、乳膏、洗劑、凝膠、散劑、溶液、噴霧劑、吸入劑或貼片。活性組分在無菌條件下與醫藥學上可接受之載劑及如可為所需之任何所需防腐劑或緩衝劑混雜。經眼調配物、滴耳劑和滴眼劑亦涵蓋於本發明的範圍內。另外，本發明涵蓋使用經皮貼片，其具有向身體提供控制遞送化合物之附加優點。此類劑型可藉由在適當介質中溶解或分配化合物來製備。亦可使用吸收增進劑來增加化合物通過皮膚之通量。速率可藉由提供速率控制膜抑或藉由將化合物分散於聚合物基質或凝膠中來控制。

根據一個實施例，本發明係關於一種調節Sestrin-GATOR2交互作用，由此選擇性地間接調節生物樣品中之mTORC1活性之方法，其包含使該生物樣品與本發明化合物或包含該化合物之組合物接觸之步驟。

如本文所使用，術語「生物樣品」包括(但不限於)細胞培養物或其提取物；獲自哺乳動物之活組織檢查材料或其提取物；及血液、唾液、尿液、糞便、精液、淚液或其他體液或其提取物。

本發明之另一實施例係關於一種調節Sestrin-GATOR2交互作用，由此選擇性地間接調節患者之mTORC1活性之方法，其包含向該患者投與本發明化合物或包含該化合物之組合物之步驟。

根據另一實施例，本發明係關於一種調節Sestrin-GATOR2交互作用，由此間接選擇性地調節患者之mTORC1活性之方法，其包含向該患者投與本發明化合物或包含該化合物之組合物之步驟。在其他實施例中，本發明提供一種用於治療有需要之患者之mTORC1介導之病症之方法，其包含向該患者投與根據本發明之化合物或其醫藥學上可接受之組合物之步驟。此類病症在本文中詳細描述。

視待治療之特定病況或疾病而定，通常投與以治療該病況之額外治療劑亦可存在於本發明組合物中。如本文所使用，通常經投與以治療特定疾病或病況之額外治療劑被稱為「適於所治療之疾病或病況」。

在一些實施例中，所提供之化合物與抗抑鬱治療劑組合投與。抗抑鬱治療劑已為一般熟習此項技術者所熟知且包括選擇性血清素再吸收抑制劑(「SSRI」，例如舍曲林(sertraline)、草酸依西普蘭(escitalopram)、西它普蘭(citalopram)、氟伏沙明(flvoxamine)、氟西汀(fluxetine)、帕羅西汀(paroxetine))、抗抑鬱劑(例如安非他酮(bupropion)、文拉法辛

(venlafaxine)、米氮平(mirtazapine)、度洛西汀(duloxetine)、阿米曲替林(amitriptyline)、丙咪嗪(imipramine)、司來吉蘭(selegiline)、去甲替林(nortriptyline)、曲唑酮(trazodone)、去甲文拉法辛(desvenlafaxine)及阿立哌唑(aripiprazole)。

在一些實施例中，所提供之化合物與適用於治療一或多種LSD之額外治療劑或方法組合投與。在一些實施例中，所提供之化合物與酶置換療法、化學伴隨蛋白療法、骨髓移植、受質減少療法、 α -L-艾杜糖苷、重組人類N-乙醯基半乳糖胺糖-4-硫酸酯酶(芳基硫酸酯酶B)、鞘脂生物合成抑制劑、N-丁基脫氧基野尻黴素(美格魯特)、疏水性亞胺糖或 α -半乳糖A之抑制劑(例如1-脫氧-半乳野尻黴素)組合投與。

彼等額外藥劑可與含本發明化合物之組合物分開投與，作為多次給藥方案之一部分。或者，彼等藥劑可為單一劑型之一部分，在單一組合物中與本發明化合物一起混合。若作為多次給藥方案之一部分投與，則兩種活性劑可同時、依次或彼此間隔一定時間段(通常彼此間隔在5小時以內)提供。

如本文所使用，術語「組合(combination/combined)」及相關術語係指同時或依次投與根據本發明之治療劑。舉例而言，本發明化合物可與另一治療劑以個別單位劑型或共同呈單一單位劑型同時或依次投與。因此，本發明提供一種包含本發明化合物、其他治療劑及醫藥學上可接受之載劑、佐劑或媒劑之單一單位劑型。

可與載劑物質組合產生單一劑型之本發明化合物及額外治療劑(在包含如上文所描述之額外治療劑之彼等組合物中)的量將視所治療之宿主及特定投與模式而變化。較佳地，應調配本發明組合物以使得可投與0.01毫

克/公斤體重/天至100毫克/公斤體重/天之間的劑量的本發明化合物。

在包含額外治療劑之彼等組合物中，額外治療劑及本發明化合物可協同作用。因此，此類組合物中額外治療劑之量將小於僅利用該治療劑之單一療法中所需之量。在此類組合物中，可投與0.01微克/公斤體重/天至1,000微克/公斤體重/天之間的劑量的額外治療劑。

存在於本發明組合物中之額外治療劑的量將不超過通常將以包含該治療劑作為唯一活性劑之組合物形式投與之量。目前所揭示之組合物中額外治療劑之量較佳將在佔通常存在於包含該藥劑作為唯一治療活性劑之組合物中之量約50%至100%的範圍內。

本發明化合物或其醫藥組合物亦可併入用於包覆可植入醫療裝置的組合物中，該等可植入醫療裝置諸如假肢、人工瓣膜、血管移植物、支架及插管。血管支架例如已用於克服再狹窄(損傷後血管壁再變窄)。然而，使用血管支架或其他可植入裝置之患者具有凝塊形成或血小板活化之風險。可藉由用包含激酶抑制劑之醫藥學上可接受之組合物預包覆該裝置來預防或減輕此等非所需作用。用本發明化合物包覆之可植入裝置為本發明之另一實施例。

範例

如以下實例中所描繪，在某些例示性實施例中，根據以下通用程序來製備化合物。應瞭解，雖然一般方法描繪本發明之某些化合物的合成，但以下一般方法及一般熟習此項技術者已知之其他方法可應用於如本文所描述之所有化合物及此等化合物中之每一者的子類及種類。

實驗部分所用之縮寫清單。

4A MS：4Å分子篩

AcOH：乙酸

ACN：乙腈

Anhyd：無水

Aq：水性

Bn：苯甲基

Boc：第三丁氧基羰基

CbzCl：氯甲酸苄酯

Cbz-OSU：N-(苄氧基羰氧基)丁二醯亞胺

Cu(OAc)₂：乙酸銅(II)

d：天

DAST：三氟化二乙基胺基硫

DBU：1,8-重氮雙環[5.4.0]十一-7-烯

DCE：1,2-二氯乙烷

DCM：二氯甲烷

DEA：二乙胺

DIBAL-H：二異丁基氫化鋁

DIPEA：N,N-二異丙基乙胺

DMA：N,N-二甲基乙醯胺

DMAP：4-二甲胺基吡啶

DMF：N,N-二甲基甲醯胺

DMSO：二甲亞砜

DPPA：二苯基磷醯基疊氮化物

EDC：1-(3-二甲胺基丙基)-3-乙基碳化二亞胺鹽酸鹽

ee：對映異構過量

ESI：電噴霧電離

Et₃N：三乙胺

Et₂O：二乙醚

EtOAc：乙酸乙酯

EtOH：乙醇

Fmoc：苄基甲氧基羰基

Fmoc-OSu：N-(9-苄基甲氧基羰氧基)丁二醯亞胺

h：小時

HATU：1-[雙(二甲基胺基)亞甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎂3-
氧化物六氟磷酸鹽

HCOONH₄：甲酸銨

HPLC：高效液相層析

IBX：2-碘氧基苯甲酸

IPA：異丙醇

KOAc：乙酸鉀

M：莫耳

Me：甲基

MeOH：甲醇

mins：分鐘

mL：毫升

mM：毫莫耳

mmol：毫莫耳

MTBE：甲基第三丁基醚

NaBH_3CN ：氰基硼氫化鈉

Na_2CO_3 ：碳酸鈉

NaHCO_3 ：碳酸氫鈉

NMP：N-甲基吡咯啉

NMR：核磁共振

$^{\circ}\text{C}$ ：攝氏度

PBS：磷酸鹽緩衝鹽水

Pd/C ：鈀/碳

$\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ ：皮爾曼氏催化劑(Pearlman's catalyst)

PE：石油醚

PhNH_2 ：苯胺

PPh_3 ：三苯基膦

Rel：相對

rt：室溫

sat：飽和

SFC：超臨界流體層析

SOCl_2 ：亞硫酰氯

TBAB：溴化四正丁基銨

tBuOK ：第三丁醇鉀

TEA：三乙胺

Tf：三氟甲烷磺酸酯

TfAA：三氟甲磺酸酐

TFA：三氟乙酸

TIPS：三異丙基矽基

THF：四氫呋喃

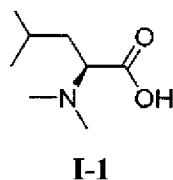
TMSCN：氰化三甲基矽烷

pTSA：對甲苯磺酸

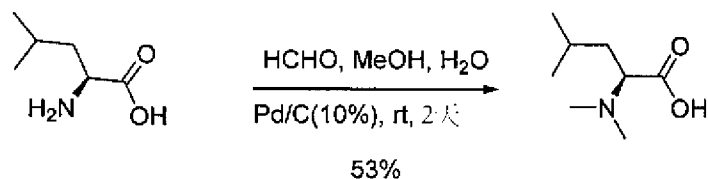
TsOH：對甲苯磺酸

下文描述所提供之化合物之代表性非限制性實例之製備。

實例1：(S)-2-(二甲基氨基)-4-甲基戊酸[I-1].



合成流程：

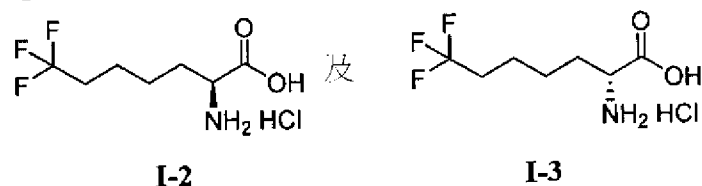


程序及特徵：

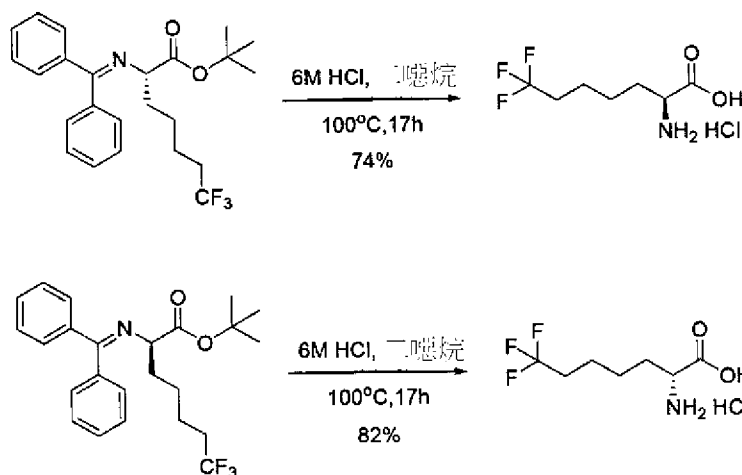
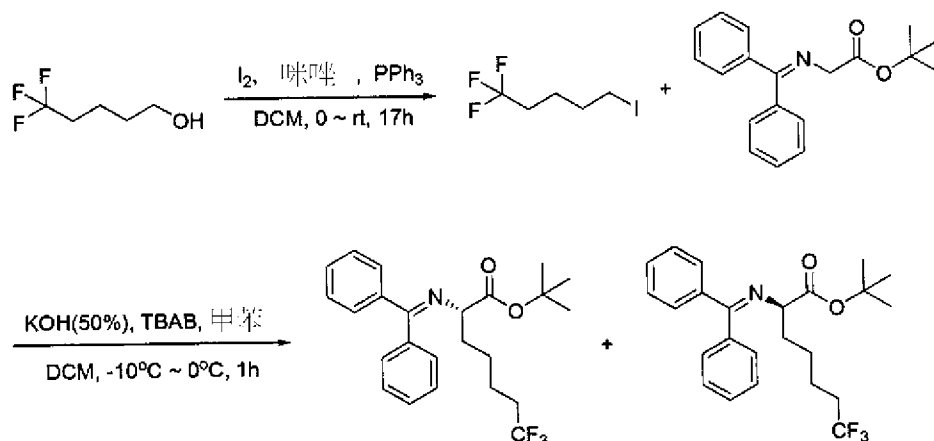
步驟1：(S)-2-(二甲基氨基)-4-甲基戊酸：

將甲醛(38%，24.0 g)及Pd/C (10%，500 mg)添加至(S)-2-胺基-4-甲基戊酸(2.0 g，15.24 mmol)之溶液中，過濾所得溶液(60 mL)。在室溫下使混合物氫化兩天且過濾以移除催化劑。將濾液濃縮至乾燥且將EtOH (30 mL)添加至殘餘物中。攪拌混合物1小時且過濾。濃縮濾液，得到呈白色粉末狀之(S)-2-(二甲基氨基)-4-甲基戊酸(1.3 g，8.16 mmol，53%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 160.2 [M+H]⁺。 ¹H-NMR (400 MHz, MeOD-*d*₄): δ 3.47 (dd, *J* = 4.4 Hz, 10.0 Hz, 1H), 2.85 (s, 6H), 1.89-1.74 (m, 2H), 1.62-1.55 (m, 1H), 1.00 (dd, *J* = 2.8 Hz, 6.8 Hz, 6H)。

實例2及3：(S)-2-胺基-7,7,7-三氟庚酸鹽酸鹽[I-2]及(R)-2-胺基-7,7,7-三氟庚酸鹽酸鹽[I-3].



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：1,1,1-三氟-5-碘戊烷：

在冰浴下，向5,5,5-三氟戊-1-醇(2.0 g，14.0 mmol)、咪唑(1.48 g，21.7 mmol)及PPh₃ (5.5 g，21.0 mmol)於DCM (40 mL)中之溶液中添加I₂ (4.45 g，17.5 mmol)。使混合物升溫至室溫且攪拌隔夜。向上述混合物

中添加Et₂O (50 mL)，且隨後攪拌10分鐘。過濾混合物，且在65℃下蒸發濾液以在大氣壓下移除溶劑，用Et₂O (30 mL)稀釋殘餘物，過濾混合物，且濾液用於下一步驟。

步驟2：(S)-2-(二苯基亞甲基胺基)-7,7,7-三氟庚酸第三丁酯及(R)-2-(二苯基亞甲基胺基)-7,7,7-三氟庚酸第三丁酯：

在-10℃下，向2-(二苯基亞甲基胺基)乙酸第三丁酯(2.0 g，6.78 mmol)及TBAB (109 mg，0.339 mmol)於甲苯(35 mL)及DCM (15 mL)中之溶液中添加KOH (50%，20 mL)，在5分鐘之後，歷經5分鐘逐滴添加1,1,1-三氟-5-碘戊烷於Et₂O (30 mL)中之上述溶液，在-10℃至0℃下攪拌所得混合物1小時。溶液用水(200 mL)稀釋且用EA (100 mL)萃取。有機相用水(100 mL×2)及鹽水(100 mL)洗滌，乾燥(Na₂SO₄)，過濾且在真空中濃縮，藉由層析(二氧化矽，乙酸乙酯/石油醚=1/10)及隨後對掌性製備型HPLC [管柱，R,R-蛾螺-醇4.6×250 mm 5 μm；溶劑，MeOH (0.2% 甲醇氨)]純化粗產物，得到(S)-2-(二苯基亞甲基胺基)-7,7,7-三氟庚酸第三丁酯(200 mg，0.48 mmol，7.1%)及(R)-2-(二苯基亞甲基胺基)-7,7,7-三氟庚酸第三丁酯(200 mg，0.48 mmol，7.1%)。

(S)-2-(二苯基亞甲基胺基)-7,7,7-三氟庚酸第三丁酯(200 mg，0.48 mmol，7.1%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 243.1 [M+H]⁺。 ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8.64 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.43-7.46 (m, 3H), 7.38-7.39 (m, 1H), 7.31-7.34 (m, 2H), 7.15-7.17 (m, 2H), 3.91 (dd, *J* = 5.5 Hz, 7.5 Hz, 1H), 2.00-2.05 (m, 2H), 1.88-1.92 (m, 2H), 1.31-1.52 (m, 13H)。

(R)-2-(二苯基亞甲基胺基)-7,7,7-三氟庚酸第三丁酯(200 mg，0.48 mmol，7.1%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 243.1 [M+H]⁺。 ¹H-NMR (500 MHz,

CDCl₃): δ 8.64 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H), 7.43-7.46 (m, 3H), 7.38-7.39 (m, 1H), 7.31-7.34 (m, 2H), 7.15-7.17 (m, 2H), 3.92 (dd, *J* = 5.5 Hz, 7.5 Hz, 1H), 2.00-2.05 (m, 2H), 1.88-1.92 (m, 2H), 1.31-1.52 (m, 13H) °

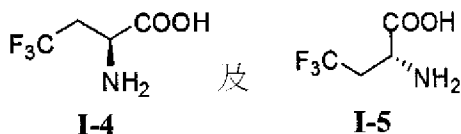
步驟3：(S)-2-胺基-7,7,7-三氟庚酸鹽酸鹽[I-2]：

將(*S*)-2-(二苯基亞甲基胺基)-7,7,7-三氟庚酸第三丁酯(200 mg, 0.48 mmol)於6 M HCl (10 mL)及二噁烷(5 mL)中之溶液加熱至100°C持續17小時。溶液用Et₂O (10 mL×2)萃取，將水相濃縮至乾燥，得到呈白色固體狀之(*S*)-2-胺基-7,7,7-三氟庚酸鹽酸鹽(**I-2**) (82.7 mg, 0.35 mmol, 74%)。ESI-MS (EI+, *m/z*): 200.1 [M+H]⁺。1H NMR (500 MHz, D₂O) δ 3.93 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H), 2.10-2.15 (m, 2H), 1.83-1.90 (m, 2H), 1.40-1.56 (m, 4H)。

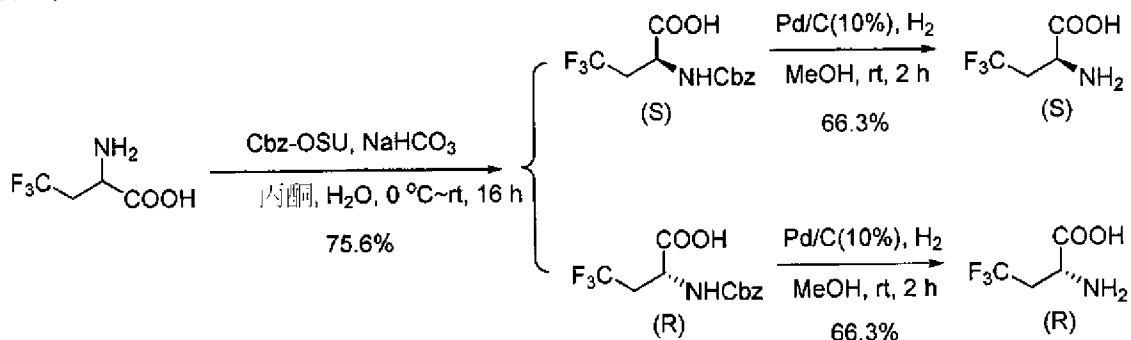
步驟4：(R)-2-胺基-7,7,7-三氟庚酸鹽酸鹽[I-3]：

將(R)-2-(二苯基亞甲基胺基)-7,7,7-三氟庚酸第三丁酯(200 mg , 0.48 mmol)於6 M HCl (10 mL)及二噁烷(5 mL)中之溶液加熱至100℃持續17小時。溶液用Et₂O (10 mL×2)萃取，將水相濃縮至乾燥，得到呈白色固體狀之(R)-2-胺基-7,7,7-三氟庚酸鹽酸鹽(**I-3**) (91.6 mg , 0.39 mmol , 82%)。ESI-MS (EI+, m/z): 200.1 [M+H]⁺。 ¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 3.92 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 2.09 - 2.14 (m, 2H), 1.82 - 1.89 (m, 2H), 1.39 - 1.55 (m, 4H)。

實例4及5：(S)-2-胺基-4,4,4-三氟丁酸[I-4]及(R)-2-胺基-4,4,4-三氟丁酸[I-5].



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：(S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-4,4,4-三氟丁酸及(R)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-4,4,4-三氟丁酸

將N-(苯甲氧基羰氧基)丁二醯亞胺(1.75 g, 7.01 mmol)緩慢添加至2-胺基-4,4,4-三氟丁酸(1.0 g, 6.36 mmol)及 NaHCO_3 (589 mg, 7.01 mmol)於丙酮(60 mL)中之溶液中且在 0°C 下過濾所得溶液(60 mL)。在室溫下攪拌混合物16小時。用 CH_2Cl_2 (2×100 mL)萃取反應混合物且水層用HCl (3 M)酸化至約pH 4, 且隨後用EtOAc (3×150 mL)萃取。有機相經 Na_2SO_4 乾燥且在真空下蒸發溶劑。所得粗產物藉由對掌性製備型HPLC (管柱, AY-H, 4.6×250 mm 5 μm ; 溶劑, EtOH)純化, 得到呈白色固體狀之(S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-4,4,4-三氟丁酸(700 mg, 2.40 mmol, 37.8%)及(R)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-4,4,4-三氟丁酸(700 mg, 2.40 mmol, 37.8%)。ESI-MS (EI+, m/z): 314.0[M+Na]⁺。

(S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-4,4,4-三氟丁酸.¹H-NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ 13.20 (s, 1H), 7.84 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.40-7.30 (m, 5H), 5.06 (s, 2H), 4.31-4.27 (m, 1H), 2.85-2.58 (m, 2H)。

(R)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-4,4,4-三氟丁酸.¹H-NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ 13.21 (s, 1H), 7.85 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.38-7.30 (m, 5H),

5.06 (s, 2H), 4.31-4.27 (m, 1H), 2.83-2.59 (m, 2H)。

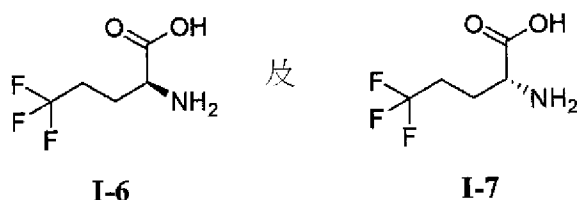
步驟2：(S)-2-胺基-4,4,4-三氟丁酸[I-4].

在室溫下在氫氣氛圍下攪拌(S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-4,4,4-三氟丁酸(700 mg, 2.40 mmol)及Pd/C (10%) (200 mg)於MeOH (50 mL)中之混合物2小時。過濾混合物，且用MeOH (20 mL)洗滌濾餅。濃縮濾液，得到呈白色固體狀之(S)-2-胺基-4,4,4-三氟丁酸(I-4)，(250 mg, 1.59 mmol, 66.3%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 158.1 [M+H]⁺。1H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆ + 1 drop TFA + 1 drop D₂O): δ 4.32 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 3.03-2.82 (m, 2H)。

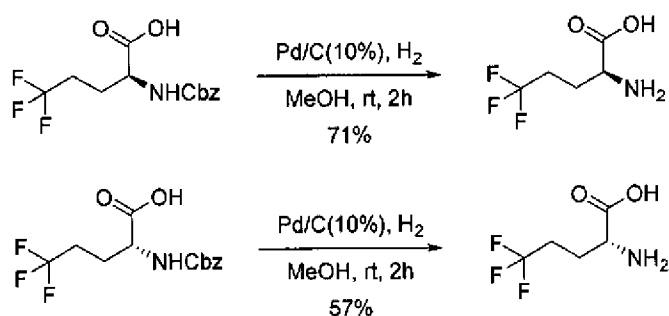
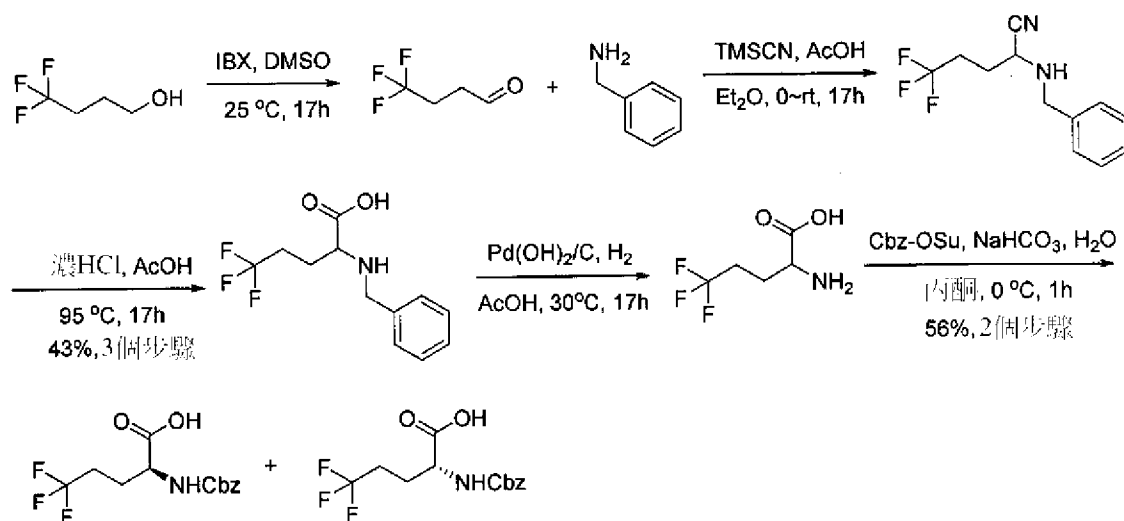
步驟3：(R)-2-胺基-4,4,4-三氟丁酸[I-5].

在室溫下在氫氣氛圍下攪拌(R)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-4,4,4-三氟丁酸(700 mg, 2.40 mmol)及Pd/C (10%) (200 mg)於MeOH (50 mL)中之混合物2小時。過濾混合物，且用MeOH (20 mL)洗滌濾餅。濃縮濾液，得到呈白色固體狀之(R)-2-胺基-4,4,4-三氟丁酸(I-5)，(250 mg, 1.59 mmol, 66.3%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 158.1 [M+H]⁺。1H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆ + 1滴TFA + 1滴D₂O): δ 4.31 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 3.03-2.83 (m, 2H)。

實例6及7：(S)-2-胺基-5,5,5-三氟戊酸[I-6]及(R)-2-胺基-5,5,5-三氟戊酸[I-7].



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：4,4,4-三氟丁醛：

在冰浴下，向4,4,4-三氟丁-1-醇(4.0 g，31.3 mmol)於DMSO (80 mL)中之溶液中添加IBX (13.0 g，46.9 mmol)。使混合物升溫至室溫且攪拌隔夜。將反應混合物倒入水(200 mL)中且用Et₂O (100 mL×2)萃取，有機相用水(100 mL×3)及鹽水(100 mL)洗滌，乾燥(Na₂SO₄)，且溶液用於下一步驟。

步驟2：2-(苯甲基胺基)-5,5,5-三氟戊腈：

在冰浴下，向上述4,4,4-三氟丁醛於Et₂O (200 mL)中之溶液中添加苯甲基胺(4 mL)、AcOH (3.0 mL)及隨後TMSCN (3.5 mL)。使混合物升溫至室溫且攪拌隔夜。溶液用水(200 mL)稀釋且用EtOAc (100 mL)萃取，有機相用水(100 mL×2)及鹽水(100 mL)洗滌，乾燥(Na₂SO₄)，過濾

且在真空中濃縮，得到呈棕色固體狀之2-(苯甲基胺基)-5,5,5-三氟戊腈(6.7 g，粗物質)，其用於下一步驟。ESI-MS (EI+, m/z): 243.1 [M+H]⁺。

步驟3：2-(苯甲基胺基)-5,5,5-三氟戊酸：

將2-(苯甲基胺基)-5,5,5-三氟戊腈(6.7 g，粗物質)於濃HCl(80 mL)及AcOH (30 mL)中之溶液加熱至95°C持續17小時。將溶液濃縮至乾燥，稀釋所得溶液，過濾(100 mL)及ACN(50 mL)，用NaHCO₃飽和溶液將pH調節至3至4，過濾混合物且乾燥，得到呈白色固體狀之2-(苯甲基胺基)-5,5,5-三氟戊酸(3.5 g，13.4 mmol，43%，對於3個步驟)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 262.1 [M+H]⁺。

步驟4：2-胺基-5,5,5-三氟戊酸：

在30°C下攪拌2-(苯甲基胺基)-5,5,5-三氟戊酸(3.3 g，12.6 mmol)及Pd(OH)₂/C (20%，400 mg)於AcOH (60 mL)中之混合物17小時。過濾混合物，且將濾液濃縮至乾燥，得到呈棕色固體狀之2-胺基-5,5,5-三氟戊酸(3.0 g，粗物質)。ESI-MS (EI+, m/z): 172.2 [M+H]⁺。

步驟5：(S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟戊酸及(R)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟戊酸：

在冰浴下，向2-胺基-5,5,5-三氟戊酸(3.0 g，粗物質)於NaHCO₃飽和溶液(100 mL)及丙酮(100 mL)中之溶液中添加Cbz-OSu (3.45 g，13.9 mmol)，在2小時之後，用6 M HCl將混合物調節至pH 3，用EtOAc (50 mL×2)萃取，有機相用水(50 mL)及鹽水(100 mL)洗滌，乾燥(Na₂SO₄)，且在真空中濃縮，藉由層析(二氧化矽，乙酸乙酯/石油醚=1/2)，且隨後對掌性-製備型HPLC [管柱，AY-H 4.6×250mm 5 μm；溶劑，MeOH (0.5%

NH₄OH)]純化粗產物，得到呈白色固體狀之(*S*)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟戊酸(1.50 g，4.92 mmol，28%，2個步驟)及(*R*)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟戊酸(1.50 g，4.92 mmol，28%，對於2個步驟)。

(*S*)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟戊酸(1.50 g，4.92 mmol，28%，對於2個步驟)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 328.0 [M+Na]⁺。 ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ 12.86 (s, 1H), 7.71 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.31-7.39 (m, 5H), 5.05 (s, 2H), 4.05-4.10 (m, 1H), 2.34-2.41 (m, 1H), 2.21-2.29 (m, 1H), 1.84-1.97 (m, 2H)。

(*R*)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟戊酸(1.50 g，4.92 mmol，28%，2個步驟)ESI-MS (EI⁺, m/z): 328.0 [M+Na]⁺。 ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ 12.85 (s, 1H), 7.71 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.30-7.39 (m, 5H), 5.05 (s, 2H), 4.05-4.10 (m, 1H), 2.34-2.41 (m, 1H), 2.21-2.29 (m, 1H), 1.84-1.97 (m, 2H)。

步驟6：(*S*)-2-胺基-5,5,5-三氟戊酸[I-6]：

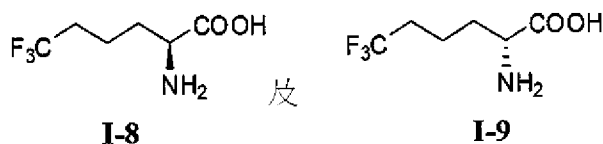
在室溫下在氫氣下攪拌(*S*)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟戊酸(500 mg，1.64 mmol)及Pd/C (10%) (50 mg)於MeOH (20 mL)中之混合物2小時。過濾混合物，且用MeOH (20 mL)洗滌濾餅。濃縮濾液，得到呈白色固體狀之(*S*)-2-胺基-5,5,5-三氟戊酸(**I-6**)，(200 mg，1.17 mmol，71%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 172.1 [M+H]⁺。 ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8.38 (s, 3H), 4.05 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 2.34-2.55 (m, 2H), 1.95-2.09 (m, 2H)。

步驟7：(*R*)-2-胺基-5,5,5-三氟戊酸[I-7]：

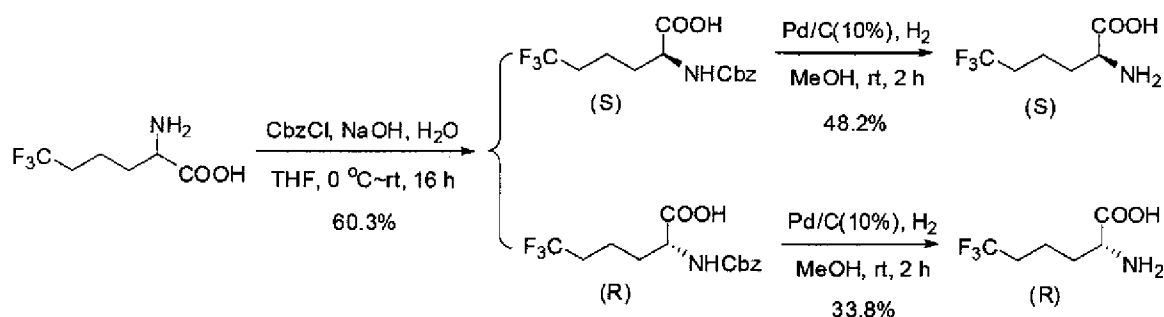
在室溫下在氫氣下攪拌(*R*)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟戊酸

(500 mg, 1.64 mmol)及Pd/C (10%) (50 mg)於MeOH (20 mL)中之混合物2小時。過濾混合物，且用MeOH (20 mL)洗滌濾餅。濃縮濾液，得到呈白色固體狀之(R)-2-胺基-5,5,5-三氟戊酸(I-7)，(160 mg, 0.94 mmol, 57%)。ESI-MS (EI+, m/z): 172.1 [M+H]⁺。1H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8.38 (s, 3H), 4.05 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 2.34-2.55 (m, 2H), 1.95-2.09 (m, 2H)。

實例8及9：(S)-2-胺基-6,6,6-三氟己酸[I-8]及(R)-2-胺基-6,6,6-三氟己酸[I-9]。



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：(S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-6,6,6-三氟己酸及(R)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-6,6,6-三氟己酸

在0°C下，將氯甲酸苯甲酯(554 mg, 3.25 mmol)緩慢添加至2-胺基-6,6,6-三氟己酸(556 mg, 2.5 mmol)及1 M NaOH (25 mL, 25 mmol)於THF (25 mL)中之溶液中，在室溫下攪拌混合物16小時。反應混合物用DCM (2 × 100 mL)萃取且水層用HCl (3 M)酸化至約pH 4，且隨後用EtOAc (3×50 mL)萃取。有機相經Na₂SO₄乾燥且在真空下蒸發溶劑。藉

由對掌性製備型HPLC (管柱：AY-H (250×4.6 mm 5 μm)；移動相：正己烷(0.1% DEA):EtOH (0.1% DEA)=90:10)純化所得粗產物，得到呈白色固體狀之(S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-6,6,6-三氟己酸(232 mg，0.73 mmol，29%)及(R)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-6,6,6-三氟己酸(250 mg，0.78 mmol，31.3%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 342.0 [M+Na]⁺。

(S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-6,6,6-三氟己酸，¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ 12.68 (s, 1H), 7.66 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.38-7.32 (m, 5H), 5.04 (s, 2H), 4.00-3.96 (m, 1H), 2.28-2.19 (m, 2H), 1.80-1.51 (m, 4H)。

(R)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-6,6,6-三氟己酸，¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ 12.68 (s, 1H), 7.67 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.38-7.30 (m, 5H), 5.04 (s, 2H), 4.00-3.96 (m, 1H), 2.33-2.15 (m, 2H), 1.82-1.51 (m, 4H)。

步驟2：(S)-2-胺基-6,6,6-三氟己酸[I-8].

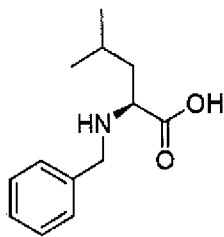
在室溫下在氫氣氛圍下攪拌(S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-6,6,6-三氟己酸(200 mg，0.63 mmol)及Pd/C (10%) (50 mg)於MeOH (20 mL)中之混合物2小時。過濾混合物，且用MeOH (20 mL)洗滌濾餅。濃縮濾液，得到呈白色固體狀之(S)-2-胺基-6,6,6-三氟己酸(**I-8**)，(56.2 mg，0.30 mmol，48.2%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 186.1 [M+H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆ + 1滴TFA + 1滴D₂O): δ 3.99 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 2.32-2.30 (m, 2H), 1.91-1.83 (m, 2H), 1.70-1.57 (m, 2H)。

步驟3：(R)-2-胺基-6,6,6-三氟己酸[I-9].

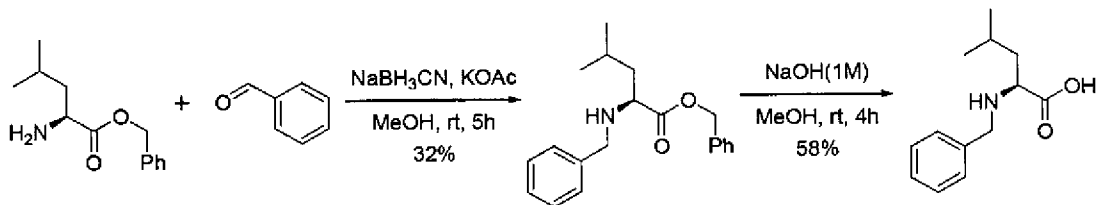
在室溫下在氫氣氛圍下攪拌(R)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-6,6,6-三氟己酸(250 mg，0.78 mmol)及Pd/C (10%) (50 mg)於MeOH (20 mL)中之混合物2小時。過濾混合物，且用MeOH (20 mL)洗滌濾餅。濃縮濾液，得

到呈白色固體狀之(*R*)-2-胺基-6,6,6-三氟己酸(**I-9**), (48.8 mg, 0.26 mmol, 33.8%)。ESI-MS (EI^+ , m/z): 186.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$ + 1 drop TFA + 1 drop D_2O): δ 3.98 (t, $J = 6.5$ Hz, 1H), 3.33-2.28 (m, 2H), 1.93-1.81 (m, 2H), 1.71-1.54 (m, 2H)。

實例11：(*S*)-2-(苯甲基胺基)-4-甲基戊酸[I-11**].**



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：(*S*)-2-(苯甲基胺基)-4-甲基戊酸苯甲酯：

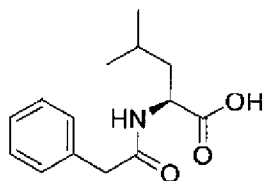
向L-白胺酸苯甲酯對甲苯磺酸鹽(800 mg, 2.0 mmol)於MeOH (30 mL)中之攪拌溶液中添加苯甲醛(0.26 g, 2.4 mmol)及乙酸鉀(0.4 g, 4.1 mmol), 且在室溫下攪拌混合物30分鐘, 隨後添加氰基硼氫化鈉(0.2 g, 3.0 mmol), 在室溫下再攪拌混合物5小時。混合物用 NaHCO_3 飽和溶液(50 mL)淬滅, 用EtOAc (50 mL $\times$ 2)萃取, 用所得溶液洗滌, 過濾(50 mL)及鹽水(50 mL)洗滌。藉由製備型HPLC (Boston C18 21 $\times$ 250 mm 10 μm , 移動相: A: 0.1%三氟乙酸; B: 乙腈)濃縮純化有機相, 得到呈無色油狀之(*S*)-2-(苯甲基胺基)-4-甲基戊酸苯甲酯(200 mg, 0.64 mmol, 32%)。MS (EI^+ , m/z): 312.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, MeOD): δ 7.41~7.49 (m, 10H), 5.34 (dd, $J = 12.0$ Hz, 45.0 Hz, 2H), 4.23 (q, $J =$

12.0 Hz, 2H), 4.07~4.09 (m, 3H), 1.68~1.85 (m, 3H), 0.94 (dd, $J = 8.5$ Hz, 20.5 Hz, 6H)。

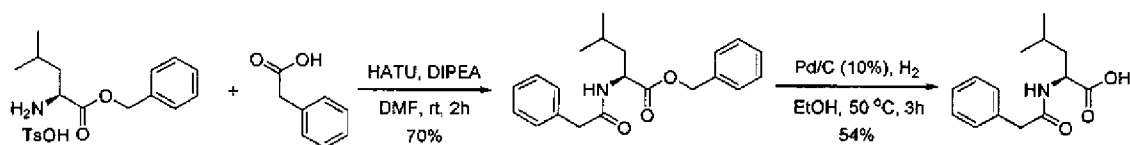
步驟2：(S)-2-(苯甲基胺基)-4-甲基戊酸[I-11]：

向(S)-2-(苯甲基胺基)-4-甲基戊酸苯甲酯(50 mg, 0.16 mmol)於MeOH (5 mL)中之攪拌溶液中添加1 M NaOH (0.5 mL)。在室溫下攪拌反應物4小時。濃縮所得溶液且藉由製備型HPLC (Boston C18 21×250 mm 10 μ m, 移動相：A：0.1%三氟乙酸；B：乙腈)純化殘餘物，得到呈白色固體狀之(S)-2-(苯甲基胺基)-4-甲基戊酸(I-11)，(21 mg, 0.095 mmol, 58%) MS (EI+, m/z): 222.2 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) : δ 9.32 (s, 1H), 7.43~7.50 (m, 5H), 4.17 (dd, $J = 13.0$ Hz, 44.0 Hz, 2H), 3.82 (t, $J = 6.5$ Hz, 1H), 1.68~1.76 (m, 3H), 0.85~0.90 (m, 6H)。

實例12：(S)-4-甲基-2-(2-苯基乙醯胺基)戊酸[I-12]：



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：(S)-4-甲基-2-(2-苯基乙醯胺基)戊酸苯甲酯：

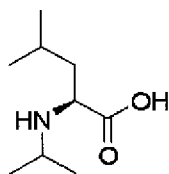
向L-白胺酸苯甲酯對甲苯磺酸鹽(500 mg, 1.27 mmol)、2-苯乙酸(260 mg, 1.91 mmol)及HATU (726 mg, 1.91 mmol)於DMF (10 mL)中之溶液中添加DIPEA (410 mg, 3.18 mmol)且在室溫下攪拌溶液2小時。藉由製備型HPLC (Boston C18 21×250 mm 10 μ m, 移動相：A：0.1%三

氟乙酸；B：乙腈)純化溶液，得到呈白色固體狀之(S)-4-甲基-2-(2-苯基乙醯胺基)戊酸苯甲酯(300 mg，0.88 mmol，70%)。MS (EI+, m/z): 340.2 [M+H]⁺。

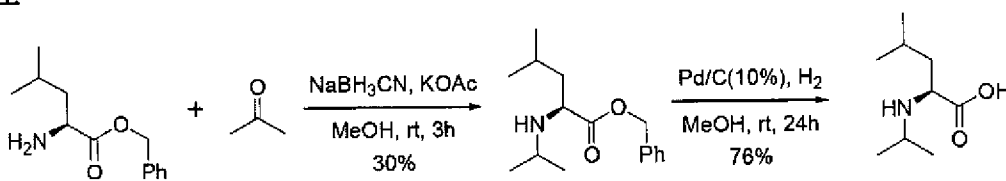
步驟2：(S)-4-甲基-2-(2-苯基乙醯胺基)戊酸[I-12]：

向(S)-4-甲基-2-(2-苯基乙醯胺基)戊酸苯甲酯(250 mg，0.74 mmol)於EtOH (10 mL)中之攪拌溶液中添加催化量之Pd/C (10%，20 mg)。在氫氣氛圍下在50℃下攪拌反應物3小時。過濾並濃縮所得溶液，得到呈白色固體狀之(S)-4-甲基-2-(2-苯基乙醯胺基)戊酸(I-12)，(100 mg，0.40 mmol，54%)。MS (EI+, m/z): 250.2 [M+H]⁺。1H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 7.24-7.32 (m, 5H), 4.44 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 3.58 (s, 2H), 1.64-1.68 (m, 3H), 0.96 (d, J = 6.0 Hz, 3H), 0.91 (d, J = 6.0 Hz, 3H)。

實例13：(S)-2-(異丙胺基)-4-甲基戊酸[I-13]：



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：(S)-2-(異丙胺基)-4-甲基戊酸苯甲酯：

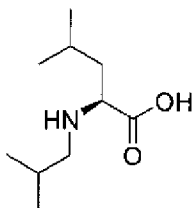
向L-白胺酸苯甲酯對甲苯磺酸鹽(1.0 g，2.53 mmol)於MeOH (30 mL)中之攪拌溶液中添加丙酮(177 mg，3.05 mmol)及乙酸鉀(0.5 g，5.08 mmol)，且在室溫下攪拌混合物30分鐘，隨後添加氰基硼氫化鈉(0.24 g，3.81 mmol)，在室溫下再攪拌混合物3小時。混合物用NaHCO₃飽和溶液

(50 mL)淬滅，用EtOAc (50 mL×2)萃取，用所得溶液洗滌，過濾(50 mL)及鹽水(50 mL)洗滌。藉由製備型HPLC (Boston C18 21×250 mm 10 μ m，移動相：A：0.1%三氟乙酸；B：乙腈)濃縮純化有機相，得到呈無色油狀之(S)-2-(異丙胺基)-4-甲基戊酸苯甲酯(200 mg，0.76 mmol，30%)。MS (EI+, m/z): 264.3 [M+H]⁺。1H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 7.22~7.29 (m, 5H), 5.07 (dd, J = 11.5 Hz, 17.0 Hz, 2H), 3.33(dd, J = 6.5 Hz, 8.5 Hz, 1H), 2.54~2.59 (m, 1H), 1.30~1.48 (m, 3H), 0.72~0.94 (m, 12H)。

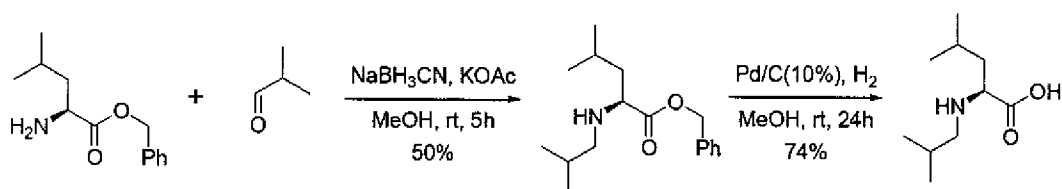
步驟2：(S)-2-(異丙胺基)-4-甲基戊酸[I-13]：

向(S)-2-(異丙胺基)-4-甲基戊酸苯甲酯(200 mg，0.76 mmol)於MeOH (10 mL)中之攪拌溶液中添加催化量之Pd/C (10%，50 mg)。在氫氣氛圍下在室溫下攪拌反應物24小時。過濾所得溶液且濃縮過濾液，得到呈白色固體狀之(S)-2-(異丙胺基)-4-甲基戊酸(I-13)，(100 mg，0.57 mmol，76%)。MS (EI+, m/z): 174.3 [M+H]⁺。1H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 3.56 (dd, J = 6.0 Hz, 8.5 Hz, 1H), 3.33~3.40 (m, 1H), 1.75~1.86 (m, 2H), 1.53~1.58 (m, 1H), 1.31~1.36 (m, 6H), 0.96~1.02 (m, 6H), 3.85 (dd, J = 5.5 Hz, 8.5 Hz, 1H), 2.87 (q, J = 6.0 Hz, 1H), 2.68 (dd, J = 7.5 Hz, 12.0 Hz, 1H), 1.92~1.99 (m, 1H), 1.65~1.78 (m, 3H), 0.88~0.96 (m, 12H)。

實例14：(S)-2-(異丁胺基)-4-甲基戊酸[I-14]：



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：(S)-2-(異丁胺基)-4-甲基戊酸苯甲酯：

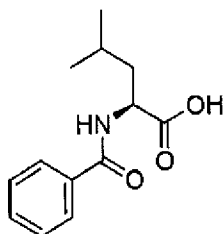
向L-白胺酸苯甲酯對甲苯磺酸鹽(1.0 g，2.53 mmol)於MeOH (30 mL)中之攪拌溶液中添加異丁醛(0.22 g，3.05 mmol)及乙酸鉀(0.5 g，5.08 mmol)，且在室溫下攪拌混合物30分鐘，隨後添加氰基硼氫化鈉(0.24 g，3.81 mmol)。在室溫下再攪拌混合物5小時。混合物用NaHCO₃飽和溶液(50 mL)淬滅，用EtOAc (50 mL×2)萃取，用所得溶液洗滌，過濾(50 mL)及鹽水(50 mL)洗滌。藉由製備型HPLC (Boston C18 21×250 mm 10 μm，移動相：A：0.1%三氟乙酸；B：乙腈)濃縮純化有機相，得到呈無色油狀之(S)-2-(異丁胺基)-4-甲基戊酸苯甲酯(300 mg，1.08 mmol，50%)。MS (EI⁺, m/z): 278.2 [M+H]⁺。1H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆)：δ 9.16 (s, 1H), 9.14 (d, J = 17.5 Hz, 2H), 7.42-7.43 (m, 5H), 5.28 (q, J = 12.0 Hz, 2H), 4.08-4.09 (m, 1H), 2.87-2.89 (m, 1H), 2.65-2.66 (m, 1H), 1.91-1.95 (m, 1H), 1.62~1.71 (m, 3H), 0.88~0.94 (m, 12H)。

步驟2：(S)-2-(異丁胺基)-4-甲基戊酸[I-14]：

向(S)-2-(異丁胺基)-4-甲基戊酸苯甲酯(300 mg，1.08 mmol)於MeOH (10 mL)中之攪拌溶液中添加催化量之Pd/C (10%，50 mg)。在氫氣氛圍下在室溫下攪拌反應物24小時。過濾所得溶液且濃縮過濾液，得到呈白色固體狀之(S)-2-(異丁胺基)-4-甲基戊酸(I-14)，(150 mg，0.8 mmol，74%)。MS (EI⁺, m/z): 188.3 [M+H]⁺。1H-NMR (500 MHz,

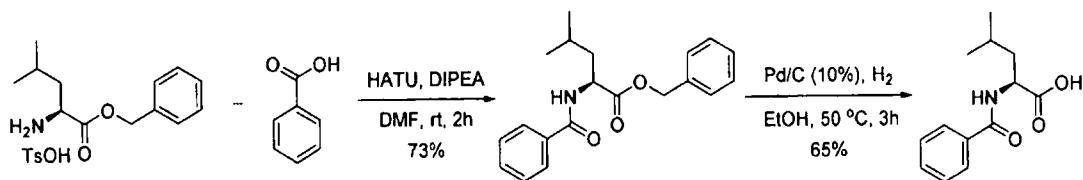
DMSO-d₆): δ 8.82 (s, 2H), 3.85 (dd, J = 5.5 Hz, 8.5 Hz, 1H), 2.87 (q, J = 6.0 Hz, 1H), 2.68 (dd, J = 7.5 Hz, 12.0 Hz, 1H), 1.92~1.99 (m, 1H), 1.65~1.78 (m, 3H), 0.88~0.96 (m, 12H)。

實例15：(S)-2-苯甲醯胺基-4-甲基戊酸[I-15]：



I-15

合成流程：



程序及特徵：

步驟1：(S)-2-苯甲醯胺基-4-甲基戊酸苯甲酯：

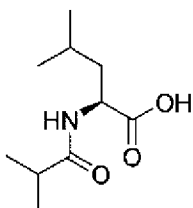
向L-白胺酸苯甲酯對甲苯磺酸鹽(500 mg, 1.27 mmol)、苯甲酸(223 mg, 1.91 mmol)及HATU (726 mg, 1.91 mmol)於DMF (10 mL)中之溶液中添加DIPEA (410 mg, 3.18 mmol)且在室溫下攪拌溶液2小時。藉由製備型HPLC (Boston C18 21×250 mm 10 μ m, 移動相：A：0.1%三氟乙酸；B：乙腈)純化溶液，得到呈白色固體狀之(S)-2-苯甲醯胺基-4-甲基戊酸苯甲酯(300 mg, 0.92 mmol, 73%)。MS (EI+, m/z): 326.2 [M+H]⁺。

步驟2：(S)-2-苯甲醯胺基-4-甲基戊酸[I-15]：

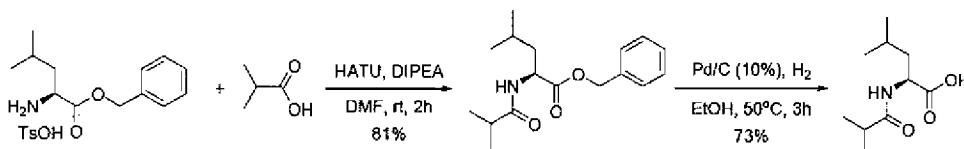
向(S)-2-苯甲醯胺基-4-甲基戊酸苯甲酯(100 mg, 0.46 mmol)於EtOH (10 mL)中之攪拌溶液中添加催化量之Pd/C (10%, 20 mg)。在氫氣氛圍下在50°C下攪拌反應物3小時。過濾並濃縮所得溶液，得到呈白色固

體狀之(S)-2- 苯甲醯胺基-4- 甲基戊酸(I-15) , (100 mg , 0.42 mmol , 65%) 。 MS (EI+, m/z): 236.2 [M+H]⁺ 。 ¹H-NMR (400 MHz, MeOD): δ 7.87 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 7.47-7.57 (m, 3H), 4.69 (dd, J = 4.0 Hz, 11.0 Hz, 1H), 1.75-1.84 (m, 3H), 1.01 (dd, J = 6.5 Hz, 10.5 Hz, 6H) 。

實例16：(S)-2-異丁醯胺基-4-甲基戊酸[I-16]：



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：(S)-2-異丁醯胺基-4-甲基戊酸苯甲酯：

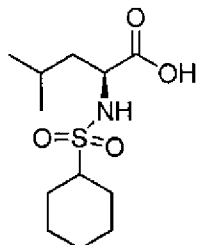
向L-白胺酸苯甲酯對甲苯磺酸鹽(500 mg , 1.27 mmol)、異丁酸(168 mg , 1.91 mmol)及HATU (726 mg , 1.91 mmol)於DMF (10 mL)中之溶液中添加DIPEA (410 mg , 3.18 mmol)且在室溫下攪拌溶液2小時。藉由製備型HPLC (Boston C18 21×250 mm 10 μ m , 移動相：A：0.1%三氟乙酸；B：乙腈)純化溶液，得到呈白色固體狀之(S)-2-異丁醯胺基-4-甲基戊酸苯甲酯(300 mg , 1.03 mmol , 81%)。MS (EI+, m/z): 292.2 [M+H]⁺ 。

步驟2：(S)-2-異丁醯胺基-4-甲基戊酸[I-16]：

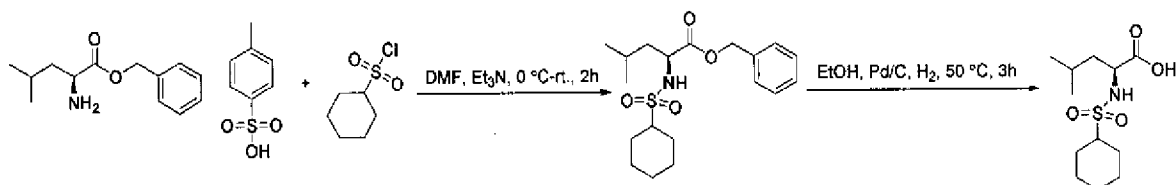
向(S)-2-(環己基甲醯胺基)-4-甲基戊酸苯甲酯(200 mg , 0.69 mmol)於EtOH (10 mL)中之攪拌溶液中添加催化量之Pd/C (10% , 20 mg)。在氫氣氛圍下在50°C下攪拌反應物3小時。過濾並濃縮所得溶液，得到呈白色固體狀之(S)-2-異丁醯胺基-4-甲基戊酸(100 mg , 0.50 mmol , 73%)。MS

(EI+, m/z): 202.2 [M+H]⁺。 ¹H-NMR (400 MHz, MeOD): δ 4.43 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 2.49-2.56 (m, 1H), 1.60-1.74 (m, 3H), 1.12 (dd, J = 2.4 Hz, 6.8 Hz, 6H), 0.96 (dd, J = 6.4 Hz, 16.0 Hz, 6H)。

實例17：(S)-2-(環己烷磺醯胺基)-4-甲基戊酸[I-17]：



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：(S)-2-(環己烷磺醯胺基)-4-甲基戊酸苯甲酯：

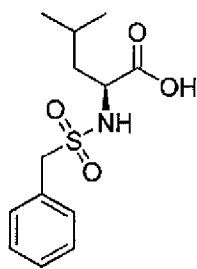
向(S)-2-胺基-4-甲基戊酸苯甲酯4-甲基苯磺酸鹽(500 mg, 1.27 mmol)及Et₃N (642.89 mg, 6.35 mmol)於經冰浴冷卻之DMF (3 mL)中之溶液中添加環己烷磺醯基氯(278.53 mg, 1.52 mmol)。在25°C下攪拌混合物2小時。溶液用乙酸乙酯(10 mL)稀釋，用所得溶液洗滌，過濾(10 mL×3)及鹽水(10 mL)洗滌，用無水硫酸鈉乾燥，過濾並在真空中濃縮。藉由製備型HPLC (Boston C18 21×250 mm 10 μ m, 移動相：A：0.1%三氟乙酸；B：乙腈)純化粗產物，得到呈白色固體狀之(S)-2-(環己烷磺醯胺基)-4-甲基戊酸苯甲酯(200 mg, 0.544 mmol, 98%)。ESI-MS (EI+, m/z): 368.3 [M+H]⁺。 ¹H -NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 7.70 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.38 (t, J = 6.5 Hz, 4H), 7.37 - 7.32 (m, 1H), 5.14 (q, J = 12.5 Hz, 2H), 3.91 (td, J = 5.0 Hz, 9.5 Hz, 1H), 2.69-2.74 (m, 1H), 2.05 (d, J

= 12.5 Hz, 1H), 1.97 (d, J = 12.5 Hz, 1H), 1.74 - 1.67 (m, 2H), 1.57 - 1.51 (m, 2H), 1.50 - 1.44 (m, 1H), 1.36 - 0.99 (m, 5H), 0.87 (dt, J = 10.5 Hz, J = 20.5 Hz, 6H)。

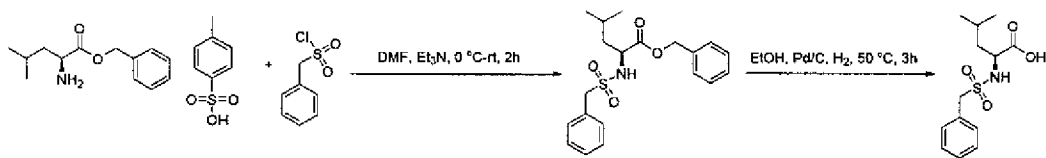
步驟2：(S)-2-(環己烷磺醯胺基)-4-甲基戊酸[I-17]：

向(S)-2-(環己烷磺醯胺基)-4-甲基戊酸苯甲酯(192 mg, 0.552 mmol)於EtOH (3 mL)中之溶液中添加Pd/C (20 mg, 10%)。在50°C下在氫氣下攪拌反應混合物4小時。過濾混合物，且用MeOH (10 mL)洗滌濾餅。濃縮濾液，得到呈白色固體狀之(S)-2-(環己烷磺醯胺基)-4-甲基戊酸(I-17)，(23.3 mg, 0.084 mmol, 100%)。ESI-MS (EI^+ , m/z): 300.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12.75 (s, 1H), 7.47 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 3.76 (td, J = 5.0 Hz, 9.5 Hz, 1H), 2.82 - 2.69 (m, 1H), 2.18 - 1.97 (m, 2H), 1.82 - 1.69 (m, 3H), 1.61 (d, J = 12.5 Hz, 1H), 1.54 - 1.40 (m, 2H), 1.39 - 1.07 (m, 5H), 0.95 - 0.80 (m, 6H)。

實例18：(S)-4-甲基-2-(苯基甲基磺醯胺基)戊酸[I-18]：



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：(S)-4-甲基-2-(苯基甲基磺醯胺基)戊酸苯甲酯：

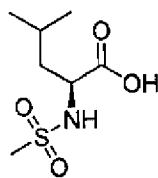
向(S)-2-胺基-4-甲基戊酸苯甲酯4-甲基苯磺酸鹽(500 mg, 1.27

mmol)及Et₃N (642.89 mg, 6.35 mmol)於經冰浴冷卻之DMF (3 mL)中之溶液中添加苯基甲烷磺醯氯(290.71 mg, 1.52 mmol)。在25°C下攪拌混合物2小時。溶液用乙酸乙酯(10 mL)稀釋，用所得溶液洗滌，過濾(10 mL×3)及鹽水(10 mL)洗滌，用無水硫酸鈉乾燥，過濾且在真空中濃縮。藉由製備型HPLC (Boston C18 21×250 mm 10 μm，移動相：A：0.1%三氟乙酸；B：乙腈)純化粗產物，得到呈白色固體狀之(S)-4-甲基-2-(苯基甲基磺醯胺基)戊酸苯甲酯(149 mg, 0.396 mmol, 90%)。ESI-MS (EI+, m/z): 398.0 [M+Na]⁺。 ¹H -NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 7.81 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.52 - 7.18 (m, 9H), 5.15 (s, 2H), 4.28 (dd, J = 13.5 Hz, 44.5 Hz, 2H), 3.87 (dd, J = 8.0 Hz, 15.0 Hz, 1H), 1.57 - 1.15 (m, 4H), 0.82 (dd, J = 4.5 Hz, 6.0 Hz, 6H)。

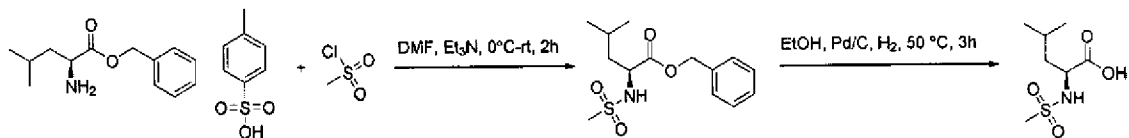
步驟2：(S)-4-甲基-2-(苯基甲基磺醯胺基)戊酸[I-18]：

向(S)-4-甲基-2-(苯基甲基磺醯胺基)戊酸苯甲酯(121 mg, 0.322 mmol)於EtOH (3 mL)中之溶液中添加Pd/C (20 mg, 10%)。在50°C下在氫氣下攪拌此反應混合物4小時。過濾混合物，且用MeOH (10 mL)洗滌濾餅。濃縮濾液，得到呈白色固體狀之(S)-4-甲基-2-(苯基甲基磺醯胺基)戊酸(I-18)，(41.2 mg, 0.144 mmol, 100%)。ESI-MS (EI+, m/z): 308.0 [M+Na]⁺。 ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 12.77 (s, 1H), 7.59 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.47 - 7.25 (m, 5H), 4.30 (dd, J = 13.5 Hz, 37.0 Hz, 2H), 3.75 (dd, J = 7.5 Hz, 15.5 Hz, 1H), 1.65 (dt, J = 6.5 Hz, 13.5 Hz, 1H), 1.45 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 0.85 (dd, J = 1.5 Hz, 6.5 Hz, 6H)。

實例19：(S)-4-甲基-2-(甲基磺醯胺基)戊酸[I-19]：



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：(S)-4-甲基-2-(甲基磺醯胺基)戊酸苯甲酯：

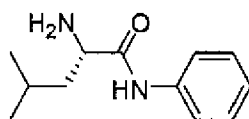
向(S)-2-胺基-4-甲基戊酸苯甲酯4-甲基苯磺酸鹽(500 mg, 1.27 mmol)及Et₃N (642.89 mg, 6.35 mmol)於經冰浴冷卻之DMF (3 mL)中之溶液中添加甲磺醯氯(290.71 mg, 1.52 mmol), 在25°C下攪拌混合物2小時。溶液用乙酸乙酯(10 mL)稀釋, 用所得溶液洗滌, 過濾(10 mL×3)及鹽水(10 mL)洗滌, 用無水硫酸鈉乾燥, 過濾並在真空中濃縮。藉由製備型HPLC (Boston C18 21×250 mm 10 μm, 移動相: A: 0.1%三氟乙酸; B: 乙腈)純化粗產物, 得到呈白色固體狀之(S)-4-甲基-2-(甲基磺醯胺基)戊酸苯甲酯(192 mg, 0.641 mmol, 98%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 323.0 [M+Na]⁺。 ¹H -NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.79 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.42 - 7.36 (m, 4H), 7.37 - 7.32 (m, 1H), 5.16 (s, 2H), 3.97 (td, *J* = 6.0 Hz, 9.0 Hz, 1H), 2.85 (s, 3H), 1.68 (dq, *J* = 6.5 Hz, 13.0 Hz, 1H), 1.54 - 1.46 (m, 2H), 0.91 - 0.82 (m, 6H)。

步驟2：(S)-4-甲基-2-(甲基磺醯胺基)戊酸[I-19]：

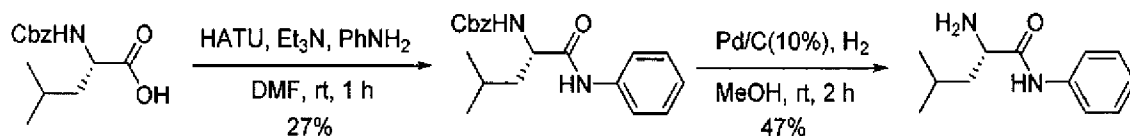
向(S)-4-甲基-2-(甲基磺醯胺基)戊酸苯甲酯(149 mg, 0.497 mmol)於EtOH (3 mL)中之溶液中添加Pd/C (20 mg, 10%)。在50°C下在氫氣氛圍下攪拌此反應混合物4小時。過濾混合物, 且用MeOH (10 mL)洗滌濾

餅。濃縮濾液，得到呈白色固體狀之(S)-4-甲基-2-(甲基磺醯胺基)戊酸(**I-19**)，(31.4 mg，0.150 mmol，100%)。ESI-MS (EI^+ , m/z): 232.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12.82 (s, 1H), 7.56 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 3.82 (dd, $J = 8.0$ Hz, 15.5 Hz, 1H), 2.88 (s, 3H), 1.72 (dt, $J = 6.5$ Hz, 13.0 Hz, 1H), 1.48 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 0.89 (t, $J = 7.0$ Hz, 6H)。

實例20：(S)-2-胺基-4-甲基-N-苯基戊醯胺[I-20]：



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：(S)-4-甲基-1-側氧基-1-(苯基胺基)戊-2-基胺基甲酸苯甲酯：

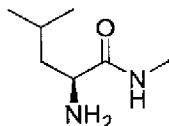
在室溫下，向(S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-4-甲基戊酸(1.0 g，3.77 mmol)於DMF (20 mL)中之溶液中添加苯胺(702 mg，7.55 mmol)、HATU (1.72 g，4.52 mmol)及 Et_3N (1.14 g，11.31 mmol)。在2小時之後，溶液用EtOAc (80 mL)稀釋，用所得溶液洗滌，過濾(80 mL $\times$ 3)及鹽水(80 mL)洗滌，乾燥(Na_2SO_4)，過濾並在真空中濃縮。藉由層析(二氧化矽，乙酸乙酯/石油醚=1/3)純化粗產物，得到呈白色固體狀之(S)-4-甲基-1-側氧基-1-(苯基胺基)戊-2-基胺基甲酸苯甲酯(350 mg，1.03 mmol，27%)。ESI-MS (EI^+ , m/z): 341.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步驟2：(S)-2-胺基-4-甲基-N-苯基戊醯胺[I-20]：

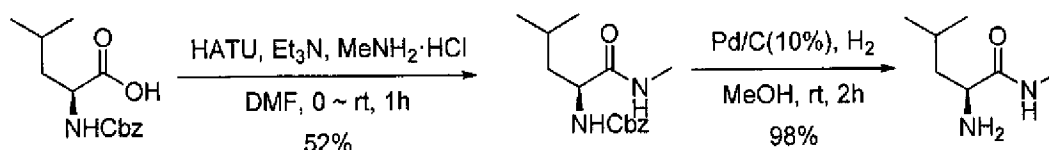
在室溫下在氫氣下攪拌(S)-4-甲基-1-側氧基-1-(苯基胺基)戊-2-基胺

基甲酸苯甲酯(350 mg, 1.03 mmol)及Pd/C (10%, 50 mg)於MeOH (10 mL)中之混合物2小時。過濾混合物，且用MeOH (10 mL)洗滌濾餅。濃縮濾液，得到呈白色固體狀之(S)-2-胺基-4-甲基-N-苯基戊醯胺(I-20)，(100 mg, 0.49 mmol, 47%)。ESI-MS (EI+, m/z): 207.2 [M+H]⁺。1H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ 9.86 (s, 1H), 7.63 (dd, J = 1.0 Hz, 8.5 Hz, 2H), 7.31-7.27 (m, 2H), 7.03 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 3.31 (dd, J = 5.0 Hz, 8.5 Hz, 1H), 1.80-1.71 (m, 1H), 1.50-1.44 (m, 1H), 1.35-1.29 (m, 1H), 0.90 (dd, J = 6.5 Hz, 14.0 Hz, 6H)。

實例21：(S)-2-胺基-N,4-二甲基戊醯胺[I-21]：



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：(S)-4-甲基-1-(甲基胺基)-1-側氧基戊-2-基胺基甲酸苯甲酯：

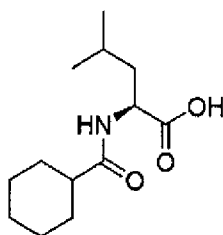
在25℃下，向(S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-4-甲基戊酸(1.0 g, 3.77 mmol)於DMF (20 mL)中之溶液中添加MeNH₂·HCl (509 mg, 7.54 mmol)、HATU (1.72 g, 4.52 mmol)及Et₃N (1.14 g, 11.31 mmol)。在2小時之後，溶液用EtOAc (80 mL)稀釋，用所得溶液洗滌，過濾(80 mL×3)及鹽水(80 mL)洗滌，乾燥(Na₂SO₄)，過濾並在真空中濃縮。藉由層析(二氧化矽，乙酸乙酯/石油醚=1/3)純化粗產物，得到呈無色油狀之(S)-4-甲基-1-(甲基胺基)-1-側氧基戊-2-基胺基甲酸苯甲酯(550 mg, 1.98

mmol, 52%)。ESI-MS (EI+, m/z): 279.2 [M+H]⁺。

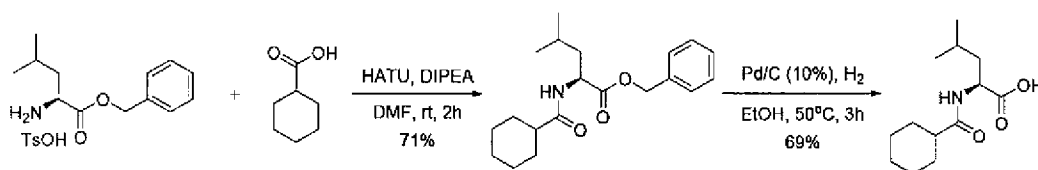
步驟2：(S)-2-胺基-N,4-二甲基戊醯胺[I-21]：

在室溫下在氫氣下攪拌(S)-4-甲基-1-(甲基胺基)-1-側氧基戊-2-基胺基甲酸苯甲酯(300 mg, 1.08 mmol)及Pd/C (10%) (50 mg)於MeOH (10 mL)中之混合物2小時。過濾混合物，且用MeOH (10 mL)洗滌濾餅。濃縮濾液，得到呈無色油狀之(S)-2-胺基-N,4-二甲基戊醯胺(I-21)，(152 mg, 1.05 mmol, 98%)。ESI-MS (EI+, m/z): 145.3 [M+H]⁺。1H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ 7.80 (s, 1H), 3.10 (dd, *J* = 5.0 Hz, 9.0 Hz, 1H), 2.57 (dd, *J* = 3.0 Hz, 5.0 Hz, 3H), 1.81 (s, 2H), 1.66-1.69 (m, 1H), 1.34-1.39 (m, 1H), 1.16-1.22 (m, 1H), 0.81-0.87 (m, 6H)。

實例22：(S)-4-甲基-2-(苯基胺基)戊酸[I-22]：



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：(S)-2-(環己基甲醯胺基)-4-甲基戊酸苯甲酯：

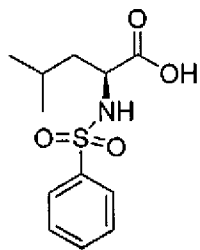
向L-白胺酸苯甲酯對甲苯磺酸鹽(500 mg, 1.27 mmol)、環己甲酸(244 mg, 1.91 mmol)及HATU (726 mg, 1.91 mmol)於DMF (10 mL)中之溶液中添加DIPEA (410 mg, 3.18 mmol)且在室溫下攪拌溶液2小時。藉由製備型HPLC (Boston C18 21×250 mm 10 μm, 移動相：A：0.1%三

氟乙酸；B：乙腈)純化溶液，得到呈白色固體狀之(S)-2-(環己基甲醯胺基)-4-甲基戊酸苯甲酯(300 mg，0.91 mmol，71%)。MS (EI+, m/z): 332.3 [M+H]⁺。

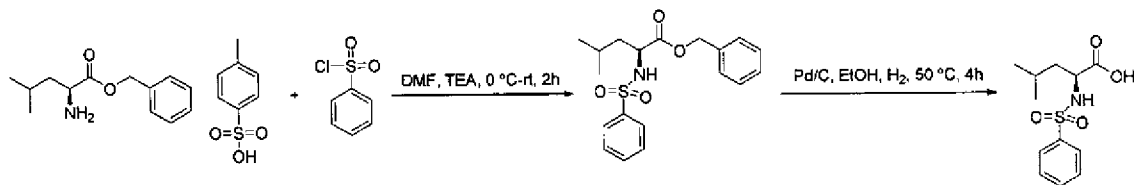
步驟2：(S)-2-(環己基甲醯胺基)-4-甲基戊酸[I-22]：

向(S)-2-(環己基甲醯胺基)-4-甲基戊酸苯甲酯(200 mg，0.60 mmol)於EtOH (10 mL)中之攪拌溶液中添加催化量之Pd/C (10%，20 mg)。在氫氣氛圍下在50℃下攪拌反應物3小時。過濾並濃縮所得溶液，得到呈白色固體狀之(S)-2-(環己基甲醯胺基)-4-甲基戊酸(I-22)，(100 mg，0.41 mmol，69%)。MS (EI+, m/z): 242.3 [M+H]⁺。1H-NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 4.43 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 2.29 (td, *J* = 8.0 Hz, 11.0 Hz, 1H), 1.74-1.85 (m, 4H), 1.63-1.72 (m, 4H), 1.43-1.49 (m, 2H), 1.26-1.36 (m, 3H), 0.96 (dd, *J* = 6.0 Hz, 20.5 Hz, 6H)。

實例25：(S)-4-甲基-2-(苯基磺醯胺基)戊酸[I-25]：



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：(S)-4-甲基-2-(苯基磺醯胺基)戊酸苯甲酯：

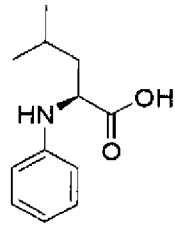
向(S)-2-胺基-4-甲基戊酸苯甲酯4-甲基苯磺酸鹽(300 mg，0.762 mmol)及Et₃N (385.73 mg，3.81 mmol)於經冰浴冷卻之DMF (3 mL)中之

溶液中添加苯磺醯氯(148.12 mg, 0.838 mmol)。在25℃下攪拌混合物2小時。溶液用乙酸乙酯(10 mL)稀釋，用所得溶液洗滌，過濾(10 mL×3)及鹽水(10 mL)洗滌，用無水硫酸鈉乾燥，過濾並在真空中濃縮。粗產物(280 mg，純度：85%，產率：74%)直接用於下一步驟中。ESI-MS (EI+, m/z): 384.1 [M+Na]+。

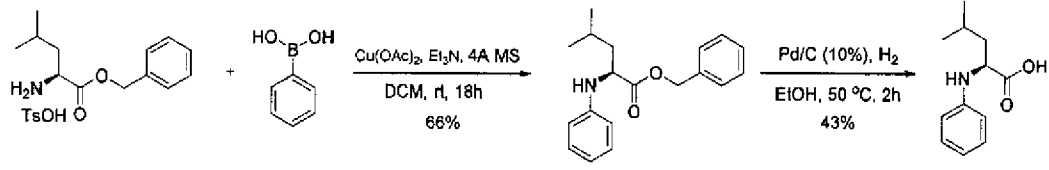
步驟2：(S)-4-甲基-2-(苯基磺醯胺基)戊酸[I-25]：

向(S)-4-甲基-2-(苯基磺醯胺基)戊酸苯甲酯(200 mg, 0.553 mmol)於EtOH (3 mL)中之溶液中添加Pd/C (20 mg, 10%)。在50℃下在氫氣氛圍下攪拌此反應混合物4小時。過濾混合物，且用MeOH (10 mL)洗滌濾餅。濃縮濾液，得到呈白色固體狀之(S)-4-甲基-2-(苯基磺醯胺基)戊酸(I-25)，(63.7 mg, 0.234 mmol, 100%)。ESI-MS (EI+, m/z): 294.0 [M+Na]+。1H- NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 12.61 (s, 1H), 8.16 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.79 - 7.73 (m, 2H), 7.62 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 7.56 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 3.63 (dd, J = 8.5 Hz, 14.5 Hz, 1H), 1.53 (td, J = 6.5 Hz, 13.5Hz, 1H), 1.41 - 1.31 (m, 2H), 0.79 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 0.66 (d, J = 6.5 Hz, 3H)。

實例26：(S)-4-甲基-2-(苯基胺基)戊酸[I-26]：



合成流程：



程序及特徵：

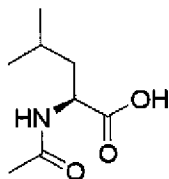
步驟1：(S)-4-甲基-2-(苯基胺基)戊酸苯甲酯：

向L-白胺酸苯甲酯對甲苯磺酸鹽(200 mg, 0.51 mmol)、苯基硼酸(186 mg, 1.52 mmol)及Cu(OAc)₂ (462 mg, 2.54 mmol)於DCM (10 mL)中之混合物中添加4A MS (1.0 g)及Et₃N (155 mg, 1.52 mmol)且在室溫下攪拌混合物18小時。混合物用所得溶液淬滅，過濾(50 mL)，用EtOAc (50 mL×2)萃取，用所得溶液洗滌，過濾(50 mL)及鹽水(50 mL)洗滌。藉由層析(二氧化矽，乙酸乙酯/石油醚=1/20)濃縮純化有機相，得到呈無色油狀之(S)-4-甲基-2-(苯基胺基)戊酸苯甲酯(100 mg, 0.34 mmol, 66%)。MS (EI+, m/z): 298.2 [M+H]⁺。

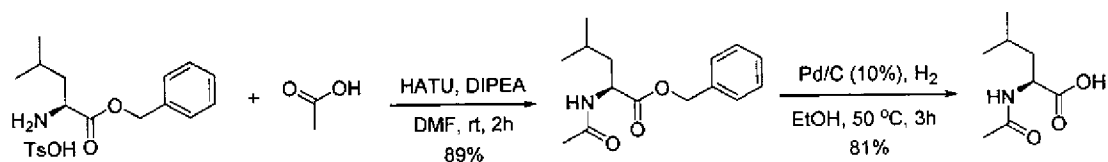
步驟2：(S)-4-甲基-2-(苯基胺基)戊酸[I-26]：

向(S)-4-甲基-2-(苯基胺基)戊酸苯甲酯(100 mg, 0.34 mmol)於EtOH (10 mL)中之攪拌溶液中添加催化量之Pd/C (10%, 20 mg)。在氫氣氛圍下在50℃下攪拌反應物2小時。過濾並濃縮所得溶液，得到呈白色固體狀之(S)-4-甲基-2-(苯基胺基)戊酸(I-26)，(30 mg, 0.15 mmol, 43%)。MS (EI+, m/z): 208.1 [M+H]⁺。1H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.23 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 6.83 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 6.66 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 3.99 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 2.87 (q, J = 6.0 Hz, 1H), 1.72~1.86 (m, 2H), 1.62~1.68 (m, 1H), 0.85~1.03 (m, 6H)。

實例36：(S)-2-乙醯胺基-4-甲基戊酸[I-36]：



合成流程：



程序及特徵：

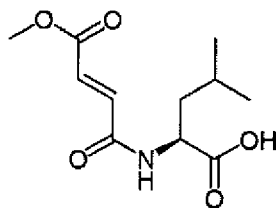
步驟1：(S)-2-乙醯胺基-4-甲基戊酸苯甲酯：

向L-白胺酸苯甲酯對甲苯磺酸鹽(500 mg, 1.27 mmol)、乙酸(114 mg, 1.91 mmol)及HATU (726 mg, 1.91 mmol)於DMF (10 mL)中之溶液中添加DIPEA (410 mg, 3.18 mmol)且在室溫下攪拌溶液2小時。藉由製備型HPLC (Boston C18 21×250 mm 10 μm, 移動相：A：0.1%三氟乙酸；B：乙腈)純化溶液，得到呈白色固體狀之(S)-2-乙醯胺基-4-甲基戊酸苯甲酯(300 mg, 1.14 mmol, 89%)。MS (EI+, m/z): 264.2 [M+H]⁺。

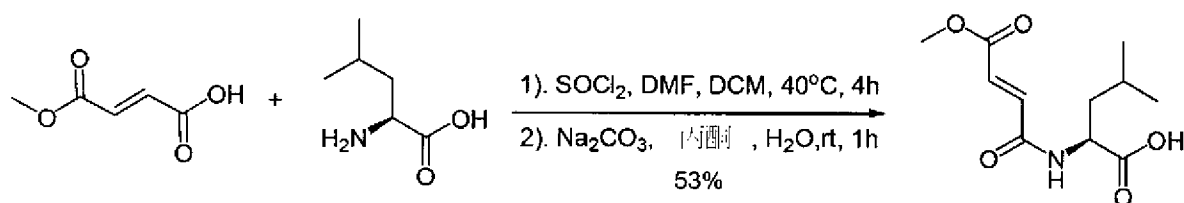
步驟2：(S)-2-乙醯胺基-4-甲基戊酸[I-36]：

向(S)-2-乙醯胺基-4-甲基戊酸苯甲酯(250 mg, 0.74 mmol)於EtOH (10 mL)中之攪拌溶液中添加催化量之Pd/C (10%, 20 mg)。在氫氣氛圍下在50°C下攪拌反應物3小時。過濾並濃縮所得溶液，得到呈白色固體狀之(S)-2-乙醯胺基-4-甲基戊酸(I-36)，(100 mg, 0.57 mmol, 81%)。MS (EI+, m/z): 174.2 [M+H]⁺. ¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 4.43 (dd, *J* = 6.0 Hz, 9.5 Hz, 1H), 2.00 (s, 3H), 1.61-1.73 (m, 3H), 0.97 (dd, *J* = 6.0 Hz, 17.5 Hz, 6H)。

實例45：(S,E)-2-(4-甲氧基-4-側氧基丁-2-烯醯胺基)-4-甲基戊酸[I-45]：



合成流程：

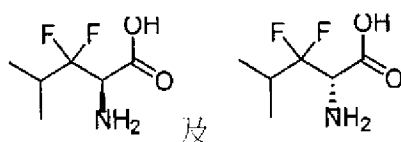


程序及特徵：

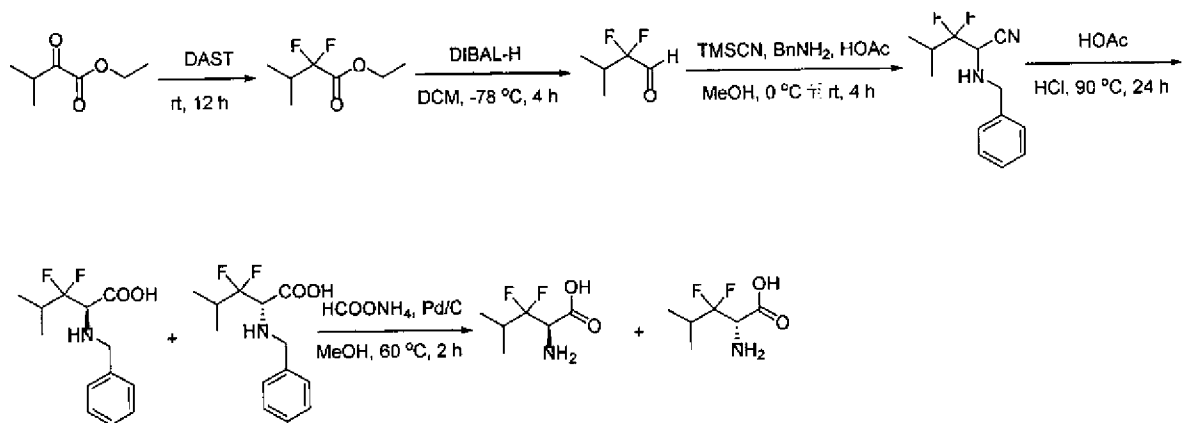
步驟1：(S,E)-2-(4-甲氧基-4-側氧基丁-2-烯醯胺基)-4-甲基戊酸[I-45]：

向(E)-4-甲氧基-4-側氧基丁-2-烯酸(1.0 g, 7.69 mmol)於DCM (30 mL)中之溶液中添加SOCl₂ (1.83 g, 15.38 mmol), 且隨後DMF (0.1 mL)。將溶液加熱至40°C持續4小時。將溶液濃縮至乾燥, 得到油。油用DCM (10 mL)稀釋。逐滴添加(S)-2-胺基-4-甲基戊酸(1.0 g, 7.62 mmol)於經冰浴冷卻之丙酮(20 mL)及Na₂CO₃飽和溶液(20 mL)中之溶液。在1小時之後, 溶液用6 M HCl溶液調節至pH 2, 用EtOAc (40×2)萃取, 用所得溶液洗滌, 過濾(80 mL×3), 及鹽水(80 mL)洗滌, 乾燥(Na₂SO₄), 過濾並在真空中濃縮。藉由層析(二氧化矽, MeOH/DCM = 1/20)純化粗產物, 得到呈黃色油狀之(S,E)-2-(4-甲氧基-4-側氧基丁-2-烯醯胺基)-4-甲基戊酸(I-45), (1.0 g, 4.11 mmol, 53%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 244.2 [M+H]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.32 (d, *J* = 15.2 Hz, 1H), 7.05 (d, *J* = 15.2 Hz, 1H), 6.85-6.89 (m, 2H), 7.30-7.46 (m, 1H), 3.82 (s, 1H), 1.63-1.78 (m, 3H), 0.97 (d, *J* = 4.8 Hz, 6H)。

實例46及47：(R)-2-胺基-3,3-二氟-4-甲基戊酸[I-46]及(S)-2-胺基-3,3-二氟-4-甲基戊酸[I-47]：



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：2,2-二氟-3-甲基丁酸乙酯：

在室溫下攪拌3-甲基-2-側氧基丁酸乙酯(10 g, 0.069 mol)及DAST (16.8 g, 0.10 mol)之混合物12小時。在藉由TLC檢驗之後，將反應混合物逐滴緩慢添加至冷飽和碳酸氫鈉水溶液。混合物用Et₂O (300 mL×2)萃取，且有機層用鹽水洗滌，乾燥且濃縮，得到直接用於下一步驟中之粗2,2-二氟-3-甲基丁酸乙酯(8.3 g)。

步驟2：2,2-二氟-3-甲基丁醛：

在-78 °C下在氬氣下，向粗2,2-二氟-3-甲基丁酸乙酯(8.3 g)於CH₂Cl₂ (200 mL)中之溶液中逐滴添加DIBAL-H於己烷中之溶液(1.0 M, 69 mL, 69.0 mmol)，且在-78 °C下攪拌混合物30分鐘。在藉由TLC檢驗之後，反應物用檸檬酸飽和淬滅且用Et₂O萃取。萃取物用飽和檸檬酸、鹽水洗滌，經Na₂SO₄乾燥，且在減壓下濃縮，得到不經純化即緊接著用於下一步驟中之油性醛2,2-二氟-3-甲基丁醛(4.2 g)。

步驟3：2-(苯甲基胺基)-3,3-二氟-4-甲基戊腈：

使粗2,2-二氟-3-甲基丁醛(4.2 g)於50 mL MeOH中之溶液冷卻至0 °C。在15分鐘時間段內，逐滴添加乙酸(冰，2.1 mL)，溫度維持約0 °C，繼而添加氰化三甲基矽烷(4.2 mL)。將反應混合物升溫至25 °C且攪拌隔夜。將

經過濾之冷所得溶液(200 mL)裝入反應混合物中且用二氯甲烷(2×200 mL)萃取反應混合物。二氯甲烷層用所得溶液洗滌，過濾(2×100 mL)，繼而鹽水(2×50 mL)洗滌。二氯甲烷層經無水硫酸鈉乾燥且在減壓下濃縮，得到不經純化即緊接著用於下一步驟中之粗物質2-(苯甲基胺基)-3,3-二氟-4-甲基戊腈(2.8 g)。ESI-MS (EI+, m/z): 238.2 [M+H]⁺。

步驟4：2-(苯甲基胺基)-3,3-二氟-4-甲基戊酸：

在90℃下攪拌粗物質2-(苯甲基胺基)-3,3-二氟-4-甲基戊腈(2.8 g)於50 mL濃鹽酸及10 mL HOAc中之溶液24小時且濃縮。藉由製備型HPLC純化殘餘物，得到呈白色固體狀之2-(苯甲基胺基)-3,3-二氟-4-甲基戊酸(513 mg)。藉由對掌性HPLC純化純產物，得到(R)-2-(苯甲基胺基)-3,3-二氟-4-甲基戊酸(80 mg)及(S)-2-(苯甲基胺基)-3,3-二氟-4-甲基戊酸(63 mg)，兩者均為白色固體。ESI-MS (EI+, m/z): 258.2 [M+H]⁺。

步驟5-A：(R)-2-胺基-3,3-二氟-4-甲基戊酸[I-46]：

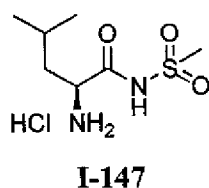
在室溫下，向(R)-2-(苯甲基胺基)-3,3-二氟-4-甲基戊酸(80 mg，0.31 mmol)於20 mL MeOH中之溶液中添加HCOONH₄ (98 mg，1.56 mmol)及Pd/C (100 mg)。在60℃下攪拌混合物2小時。過濾且濃縮反應混合物，得到粗產物，其藉由反相矽膠層析純化，得到呈白色固體狀之(R)-2-胺基-3,3-二氟-4-甲基戊酸(I-46)，(23 mg，44%)；¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 4.27 (dd, J = 24.0, 3.5 Hz, 1 H), 2.55-2.42 (m, 1 H), 1.04 (d, J = 7.0 Hz, 3 H), 0.993 (d, J = 6.5 Hz, 3 H)。

步驟5-B：(S)-2-胺基-3,3-二氟-4-甲基戊酸[I-47]：

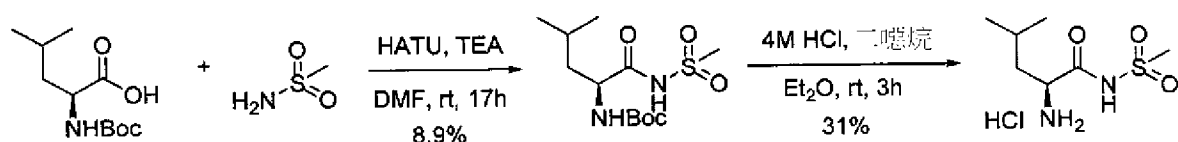
在室溫下，向(S)-2-(苯甲基胺基)-3,3-二氟-4-甲基戊酸(63 mg，0.24 mmol)於15 mL MeOH中之溶液中添加HCOONH₄ (77 mg，1.22 mmol)及

Pd/C (100 mg)。在60°C下攪拌混合物2小時。過濾且濃縮反應混合物，得到粗產物，其藉由反相矽膠層析純化，得到呈白色固體狀之(S)-2-胺基-3,3-二氟-4-甲基戊酸(I-47)，(14 mg, 34%)；¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 4.27 (dd, $J = 24.0, 3.5$ Hz, 1 H), 2.55-2.42 (m, 1 H), 1.04 (d, $J = 7.0$ Hz, 3 H), 0.993 (d, $J = 6.5$ Hz, 3 H)。

實例147：(S)-2-胺基-4-甲基-N-(甲磺醯基)戊醯胺鹽酸鹽[I-147].



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：(S)-4-甲基-1-(甲磺醯胺基)-1-側氧基戊-2-基胺基甲酸第三丁酯：

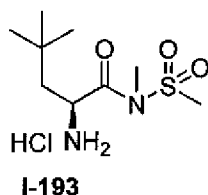
向(S)-2-(第三丁氧羰基胺基)-4-甲基戊酸(1.0 g, 4.32 mmol)、甲磺醯胺(452 mg, 4.75 mmol)及HATU (1.8 g, 4.75 mmol)於DMF (30 mL)中之溶液中添加TEA (1.3 g, 12.9 mmol)且在室溫下攪拌溶液17小時。藉由製備型HPLC (Boston C18 21×250 mm 10 μ m, 移動相：A：0.1%三氟乙酸；B：乙腈)純化溶液，得到呈白色固體狀之(S)-4-甲基-1-(甲磺醯胺基)-1-側氧基戊-2-基胺基甲酸第三丁酯(130 mg, 0.42 mmol, 8.9%)。MS (EI-, m/z): 307.0 $[M-H]^-$ 。

步驟2：(S)-2-胺基-4-甲基-N-(甲磺醯基)戊醯胺鹽酸鹽[I-147]：

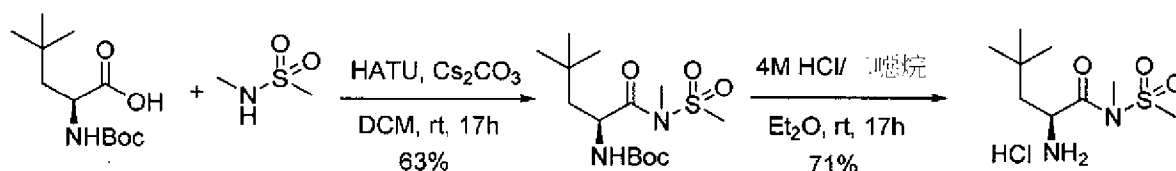
添加(S)-4-甲基-1-(甲磺醯胺基)-1-側氧基戊-2-基胺基甲酸第三丁

酯(130 mg, 0.42 mmol)於Et₂O (15 mL)中之溶液，在室溫下攪拌4 M HCl/二噁烷(5 mL)3小時。過濾固體，得到呈白色固體狀之(S)-2-胺基-4-甲基-N-(甲磺醯基)戊醯胺鹽酸鹽[I-147] (32 mg, 0.13 mmol, 31%)。ESI-MS (EI+, m/z): 209.1 [M+H]⁺。1H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 3.96 (t, *J* = 3.0 Hz, 1H), 3.32 (s, 3H), 1.74-1.79 (m, 3H), 1.02-1.05 (m, 6H)。

實例193：(S)-2-胺基-N,4,4-三甲基-N-(甲磺醯基)戊醯胺鹽酸鹽[I-193]。



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：(S)-4,4-二甲基-1-(N-甲基甲磺醯胺基)-1-側氧基戊-2-基胺基甲酸第三丁酯：

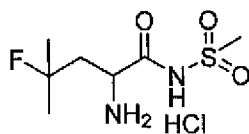
向(S)-2-(第三丁氧羰基胺基)-4,4-二甲基戊酸(500 mg, 1.97 mmol)於DCM (60 mL)中之溶液中添加HATU (900 mg, 2.36 mmol)且在室溫下攪拌2小時。隨後將Cs₂CO₃ (1.92 g, 5.91 mmol)、N-甲基甲磺醯胺(322 mg, 2.95 mmol)添加至混合物中且在室溫下攪拌隔夜。溶液用水(200 mL)稀釋且用DCM (100 mL)萃取。有機相用水(100 mL×2)及鹽水(100 mL)洗滌，乾燥(Na₂SO₄)，過濾且在真空中濃縮，藉由層析(二氧化矽，乙酸乙酯/石油醚=1/5)純化粗產物，得到呈黃色油狀之(S)-4,4-二甲基-1-(N-甲基甲磺醯胺基)-1-側氧基戊-2-基胺基甲酸第三丁酯(420 mg, 1.25 mmol, 63%)。ESI-MS (EI+, m/z): 359.1 [M+Na]⁺。

第 112 頁(發明說明書)

步驟2：(S)-2-胺基-N,4,4-三甲基-N-(甲磺醯基)戊醯胺鹽酸鹽[I-193]：

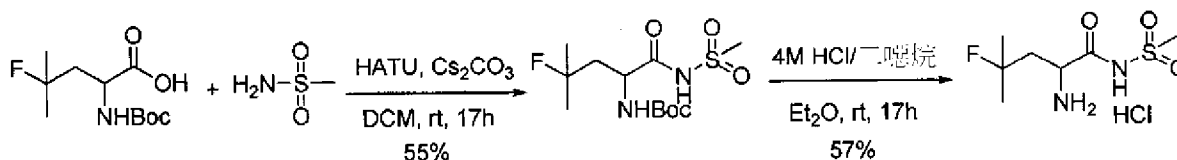
添加(S)-4,4-二甲基-1-(N-甲基甲磺醯胺基)-1-側氧基戊-2-基胺基甲酸第三丁酯(420 mg, 1.25 mmol)於Et₂O (20 mL)中之溶液，在室溫下攪拌4 M HCl/二噁烷(10 mL)17小時。過濾固體，得到呈白色固體狀之(S)-2-胺基-N,4,4-三甲基-N-(甲磺醯基)戊醯胺鹽酸鹽[I-193] (250 mg, 0.13 mmol, 71%)。ESI-MS (EI+, m/z): 237.1 [M+H]⁺。1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.55 (s, 3H), 4.59 (s, 1H), 3.50 (s, 3H), 3.26 (s, 3H), 1.81-1.85 (m, 1H), 1.63-1.67 (m, 1H), 0.95 (s, 9H)。

實例192：2-胺基-4-氟-4-甲基-N-(甲磺醯基)戊醯胺鹽酸鹽[I-192].



I-192

合成流程：



程序及特徵：

步驟1：4-氟-4-甲基-1-(甲磺醯胺基)-1-側氧基戊-2-基胺基甲酸第三丁酯：

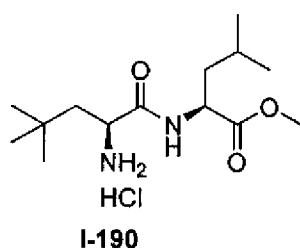
向4-氟-4-甲基-1-(甲磺醯胺基)-1-側氧基戊-2-基胺基甲酸第三丁酯(270 mg, 1.08 mmol)於DCM (50 mL)中之溶液中添加HATU (451 mg, 1.19 mmol)且在室溫下攪拌2小時。隨後將Cs₂CO₃ (1.06 g, 3.24 mmol)、甲磺醯胺(206 mg, 2.17 mmol)添加至混合物中且在室溫下攪拌隔夜。溶液用水(200 mL)稀釋且用DCM (100 mL)萃取。有機相用水(100 mL×2)及鹽水(100 mL)洗滌，乾燥(Na₂SO₄)，過濾且在真空中濃縮，藉由

層析(二氧化矽，乙酸乙酯/石油醚=1/5)純化粗產物，得到呈黃色油狀之(*S*)-4,4-二甲基-1-(*N*-甲基甲磺醯胺基)-1-側氧基戊-2-基胺基甲酸第三丁酯(200 mg，0.6 mmol，55%)。ESI-MS (EI+, *m/z*): 344.1 [*M*+NH₄]⁺。

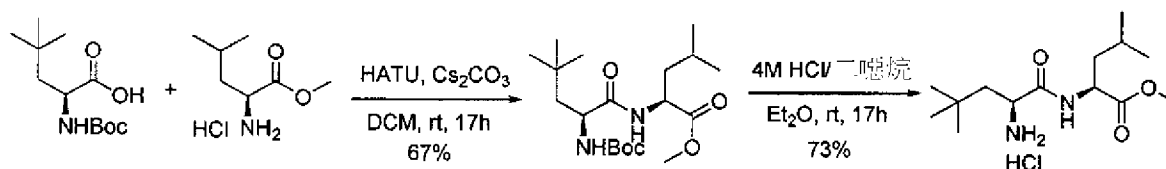
步驟2：2-胺基-4-氟-4-甲基-*N*-(甲磺醯基)戊醯胺鹽酸鹽[I-192]。

添加(*S*)-4,4-二甲基-1-(*N*-甲基甲磺醯胺基)-1-側氧基戊-2-基胺基甲酸第三丁酯(200 mg，0.6 mmol)於Et₂O (20 mL)中之溶液，在室溫下攪拌4 M HCl/二噁烷(10 mL)17小時。過濾固體，得到呈白色固體狀之2-胺基-4-氟-4-甲基-*N*-(甲磺醯基)戊醯胺鹽酸鹽[I-192] (89.8 mg，0.34 mmol，57%)。ESI-MS (EI+, *m/z*): 227.1 [*M*+H]⁺。1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.44 (s, 3H), 4.02 (s, 1H), 3.25 (s, 3H), 2.16-2.25 (m, 1H), 2.03-2.10 (m, 1H), 1.43 (s, 3H), 1.38 (s, 3H)。

實例190：(*S*)-2-((*S*)-2-胺基-4,4-二甲基戊醯胺基)-4-甲基戊酸甲酯鹽酸鹽[I-190]。



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：(*S*)-2-((*S*)-2-(第三丁氧羰基胺基)-4,4-二甲基戊醯胺基)-4-甲基戊酸甲酯：

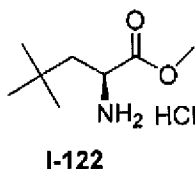
向(*S*)-2-(第三丁氧羰基胺基)-4,4-二甲基戊酸(500 mg，2.0 mmol)於

DCM (80 mL)中之溶液中添加HATU (900 mg, 2.3 mmol)且在室溫下攪拌2小時。隨後將Cs₂CO₃ (1.95 g, 6.0 mmol)、(S)-2-胺基-4-甲基戊酸甲酯鹽酸鹽(555 mg, 3.0 mmol)添加至混合物中且在室溫下攪拌隔夜。溶液用水(200 mL)稀釋且用DCM (100 mL)萃取。有機相用水(100 mL×2)及鹽水(100 mL)洗滌，乾燥(Na₂SO₄)，過濾且在真空中濃縮，藉由層析(二氧化矽，乙酸乙酯/石油醚=1/5)純化粗產物，得到呈白色固體狀之(S)-2-((S)-2-(第三丁氧羰基胺基)-4,4-二甲基戊醯胺基)-4-甲基戊酸甲酯(500 mg, 1.34 mmol, 67%)。ESI-MS (EI+, m/z): 317.2 [M-56]⁺。

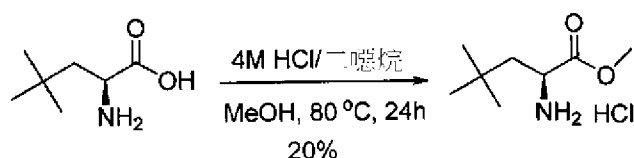
步驟2：(S)-2-((S)-2-胺基-4,4-二甲基戊醯胺基)-4-甲基戊酸甲酯鹽酸鹽 [I-190].

添加(S)-2-((S)-2-(第三丁氧羰基胺基)-4,4-二甲基戊醯胺基)-4-甲基戊酸甲酯(500 mg, 1.34 mmol)於Et₂O (20 mL)中之溶液，在室溫下攪拌4 M HCl/二噁烷(10 mL)17小時。過濾固體，得到呈白色固體狀之(S)-2-((S)-2-胺基-4,4-二甲基戊醯胺基)-4-甲基戊酸甲酯鹽酸鹽[I-190] (300 mg, 0.97 mmol, 73%)。ESI-MS (EI+, m/z): 273.2 [M+H]⁺。1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 9.07-9.09 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 8.42 (s, 3H), 4.29-4.34 (m, 1H), 3.82 (m, 1H), 3.60 (s, 3H), 1.72-1.83 (m, 2H), 1.50-1.62 (m, 3H), 0.86-0.91 (m, 15H)。

實例122：(S)-2-胺基-4,4-二甲基戊酸甲酯鹽酸鹽[I-122].



合成流程：

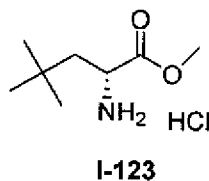


程序及特徵：

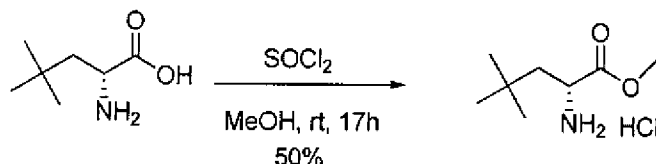
步驟1：(*S*)-2-胺基-4,4-二甲基戊酸甲酯鹽酸鹽[I-122]：

添加(*S*)-2-胺基-4,4-二甲基戊酸(100 mg, 0.69 mmol)於MeOH (10 mL)中之溶液，在80°C下攪拌4 M HCl/二噁烷(10 mL)24小時。濃縮混合物且用Et₂O擊打殘餘物，得到呈白色固體狀之(*S*)-2-胺基-4,4-二甲基戊酸甲酯鹽酸鹽[I-122] (23.6 mg, 0.12 mmol, 20%)。ESI-MS (EI+, *m/z*): 160.1 [M+H]⁺。1H-NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 4.02-4.04 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 1.97-2.02 (m, 1H), 1.64-1.68 (m, 1H), 1.03-1.05 (d, 9H), 。

實例123：(*R*)-2-胺基-4,4-二甲基戊酸甲酯鹽酸鹽[I-123].



合成流程：



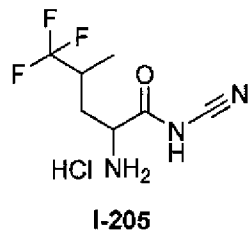
程序及特徵：

步驟1：(*R*)-2-胺基-4,4-二甲基戊酸甲酯鹽酸鹽[I-123]：

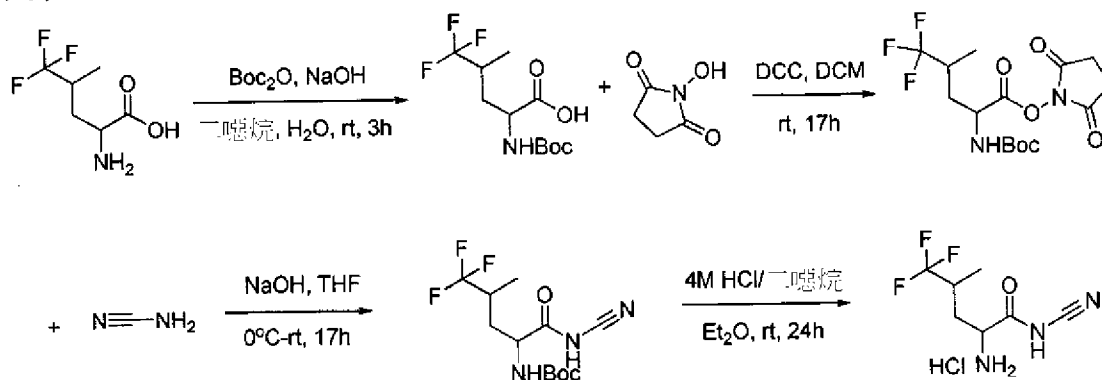
向(*R*)-2-胺基-4,4-二甲基戊酸(50 mg, 0.34 mmol)於乾燥MeOH (10 mL)中之混合物中添加在室溫下攪拌17小時之SOCl₂ (0.5 mL)。濃縮混合物且用Et₂O擊打殘餘物，得到呈白色固體狀之(*R*)-2-胺基-4,4-二甲基戊酸甲酯鹽酸鹽[I-123](34.2 mg, 0.17 mmol, 50%)。ESI-MS (EI+, *m/z*): 160.1 [M+H]⁺。1H-NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 4.02-4.04 (m, 1H),

3.86 (s, 3H), 1.97-2.02 (m, 1H), 1.64-1.68 (m, 1H), 1.03 (s, 9H)。

實例205：2-胺基-N-氰基-5,5,5-三氟-4-甲基戊醯胺鹽酸鹽[I-205].



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：2-(第三丁氧羰基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸：

使2-胺基-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸(250 mg, 1.35 mmol)、Boc₂O (353 mg, 1.62 mmol)、NaOH (80 mg, 2.0 mmol)之混合物溶解於二噁烷(10 mL)及H₂O (2 mL)中。在室溫下攪拌混合物3小時。溶液用水(200 mL)稀釋且用DCM (50 mL)萃取。有機相用水(20 mL×2)及鹽水(10 mL)洗滌，乾燥(Na₂SO₄)，過濾並濃縮，得到呈無色油狀之粗物質2-(第三丁氧羰基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸(385 mg)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 307.9 [M+Na]⁺。

步驟2：2-(第三丁氧羰基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸2,5-二側氧基吡咯啉-1-酯：

使2-(第三丁氧羰基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸(385 mg, 1.35 mmol)、1-羥基吡咯啉-2,5-二酮(197 mg, 1.71 mmol)、DCC (353 mg,

1.71 mmol)之混合物溶解於DCM (15 mL)中。在室溫下攪拌混合物17小時。過濾且濾過物用鹽水(20 mL)洗滌，乾燥(Na_2SO_4)，過濾並濃縮，得到呈白色固體狀之粗物質2-(第三丁氧羰基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸2,5-二側氧基吡咯啉-1-酯(400 mg)。ESI-MS (EI^+ , m/z): 282.9 [$\text{M}-100$] $^+$ 。

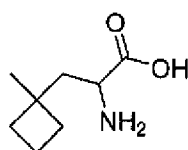
步驟3：1-氟胺基-5,5,5-三氟-4-甲基-1-側氧基戊-2-基胺基甲酸第三丁酯：

使2-(第三丁氧羰基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸2,5-二側氧基吡咯啉-1-酯(300 mg, 0.78 mmol)、氟胺(66 mg, 1.57 mmol)、NaOH (156 mg, 3.9 mmol)之混合物溶解於THF (16 mL)中。在0℃下攪拌混合物0.5小時且在室溫下攪拌17小時。藉由製備型HPLC (Boston C18 21×250 mm 10 μm ，移動相：A：0.1%三氟乙酸；B：乙腈)純化溶液，得到呈白色固體狀之1-氟胺基-5,5,5-三氟-4-甲基-1-側氧基戊-2-基胺基甲酸第三丁酯(45 mg, 0.14 mmol)。MS (EI^+ , m/z): 310.3 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ 。

步驟4：2-胺基-N-氟基-5,5,5-三氟-4-甲基戊醯胺鹽酸鹽[I-205]：

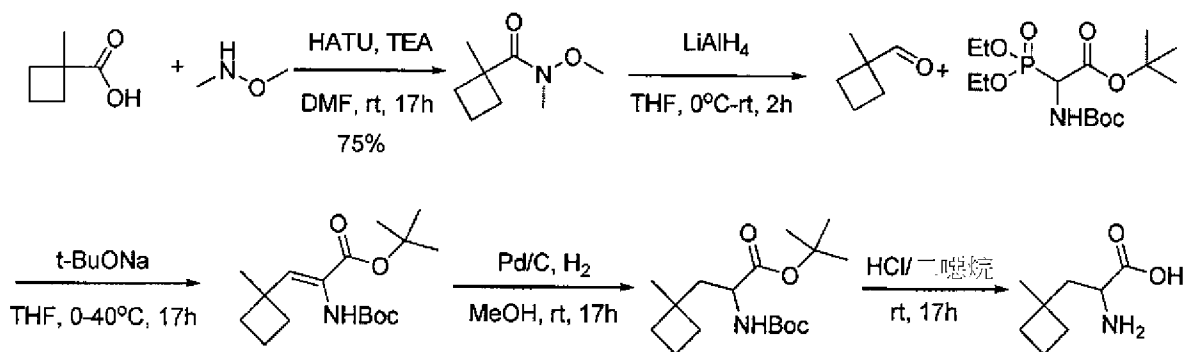
添加1-氟胺基-5,5,5-三氟-4-甲基-1-側氧基戊-2-基胺基甲酸第三丁酯(45 mg, 0.14 mmol)於 Et_2O (20 mL)中之溶液，在室溫下攪拌4 M HCl/二噁烷(10 mL)24小時。藉由製備型HPLC (Boston C18 21×250 mm 10 μm ，移動相：A：0.1%三氟乙酸；B：乙腈)純化溶液，得到呈白色固體狀之2-胺基-N-氟基-5,5,5-三氟-4-甲基戊醯胺鹽酸鹽[I-205] (12.3 mg, 0.05 mmol, 27%)。MS (EI^+ , m/z): 210.1 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ 。1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 4.06-4.09 (m, 1H), 2.43-2.65 (m, 1H), 1.67-1.85 (m, 2H), 1.18-1.22 (m, 3H)。

實例206：2-氨基-3-(1-甲基環丁基)丙酸[I-206].



I-206

合成流程：



程序及特徵：

步驟1：N-甲氧基-N,1-二甲基環丁烷甲醯胺：

向1-甲基環丁烷甲酸(11.6 g, 0.1 mol)、*N,O*-二甲基羥胺鹽酸鹽(19.5 g, 0.2 mol)及HATU (42 g, 0.11 mol)於DMF (300 mL)中之溶液中添加TEA (30.3 g, 0.3 mol)且在室溫下攪拌溶液17小時。溶液用水(600 mL)稀釋且用EtOAc (400 mL×2)萃取。有機相用1 N HCl、飽和NaHCO₃及鹽水(100 mL)洗滌，乾燥(Na₂SO₄)，過濾且在真空中濃縮，得到呈無色油狀之N-甲氧基-N,1-二甲基環丁烷甲醯胺(12.2 g, 0.07 mol, 75%)。

ESI-MS (EI⁺, *m/z*): 158.2 [M+H]⁺。

步驟2：1-甲基環丁烷甲醛：

在0°C下在N₂下，向N-甲氧基-N,1-二甲基環丁烷甲醯胺(2.0 g, 12.7 mmol)於無水THF (20 mL)中之溶液中逐滴添加1 M LiAlH₄ (19 mL, 19 mmol)。使混合物升溫至室溫且攪拌2小時。溶液用飽和賽格涅特鹽(seignette sat)緩慢淬滅且用Et₂O (100 mL)萃取，有機相用水(100 mL×2)

及鹽水(100 mL)洗滌，乾燥(Na_2SO_4)，過濾且用於下一步驟。

步驟3：(Z)-2-(第三丁氧羰基胺基)-3-(1-甲基環丁基)丙烯酸第三丁酯：

在0℃下，向威悌(witting)反應劑(2.15 g，5.86 mmol)於無水THF (80 mL)中之溶液中添加*t*-BuONa (844 mg，8.79 mmol)且攪拌1小時。隨後添加1-甲基環丁烷甲醛之溶液且在室溫下攪拌17小時。溶液用EtOAc (100 mL×2)萃取。有機相用鹽水(100 mL)洗滌，乾燥(Na_2SO_4)，過濾且在真空中濃縮。藉由層析(二氧化矽，乙酸乙酯/石油醚=1/30)純化粗產物，得到呈無色油狀之(Z)-2-(第三丁氧羰基胺基)-3-(1-甲基環丁基)丙烯酸第三丁酯(700 mg，2.2 mmol)。ESI-MS (EI^+ , m/z): 200.2 [$\text{M}-56\times 2$] $^+$ 。

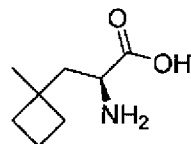
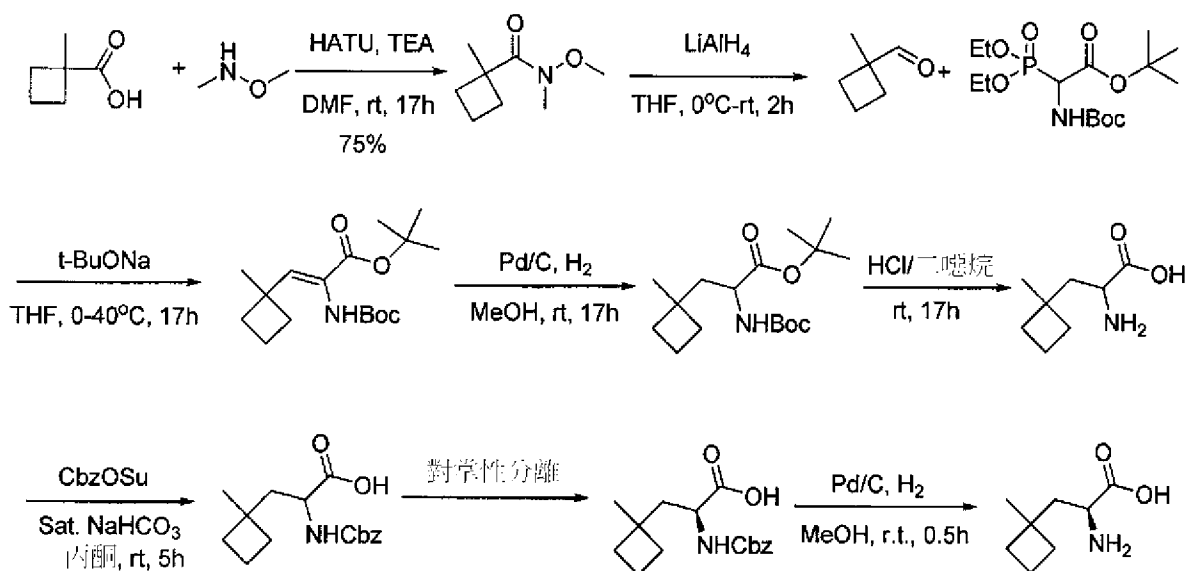
步驟4：2-(第三丁氧羰基胺基)-3-(1-甲基環丁基)丙酸第三丁酯：

在30℃下攪拌(Z)-2-(第三丁氧羰基胺基)-3-(1-甲基環丁基)丙烯酸第三丁酯(700 mg，2.2 mmol)及Pd/C (10%，100 mg)於MeOH (100 mL)中之混合物17小時。過濾混合物，且將濾液濃縮至乾燥，得到呈無色油狀之2-(第三丁氧羰基胺基)-3-(1-甲基環丁基)丙酸第三丁酯(600 mg，粗物質)。ESI-MS (EI^+ , m/z): 158.2 [$\text{M}-156$] $^+$ 。

步驟5：2-胺基-3-(1-甲基環丁基)丙酸[I-206]：

添加2-(第三丁氧羰基胺基)-3-(1-甲基環丁基)丙酸第三丁酯(600 mg，粗物質)於 Et_2O (20 mL)中之溶液，在室溫下攪拌4 *M* HCl/二噁烷 (10 mL)17小時。濃縮溶液，得到2-胺基-3-(1-甲基環丁基)丙酸。MS (EI^+ , m/z): 158.0 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ 。

^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 3.91 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 2.06-2.02 (m, 1H), 1.88-1.64 (m, 7H), 1.15 (s, 3H)。

實例93：S-2-胺基-3-(1-甲基環丁基)丙酸[I-93].**I-93****合成流程：****程序及特徵：**

2-胺基-3-(1-甲基環丁基)丙酸之程序與實例8相同

步驟6：2-(苯甲氧基羰基胺基)-3-(1-甲基環丁基)丙酸：

在室溫下攪拌2-胺基-3-(1-甲基環丁基)丙酸(300 mg，粗物質)、CbzOSu (714 mg，2.8 mmol)於丙酮(10 mL)及飽和NaHCO₃ (3 mL)之混合物中5小時。藉由製備型HPLC (Boston C18 21×250 mm 10 μm，移動相：A：0.1%三氟乙酸；B：乙腈)純化溶液，得到呈白色固體狀之2-(苯甲氧基羰基胺基)-3-(1-甲基環丁基)丙酸(160 mg，0.54 mmol)。MS (EI⁺, m/z): 292.0[M+H]⁺。

步驟7：(S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-3-(1-甲基環丁基)丙酸：

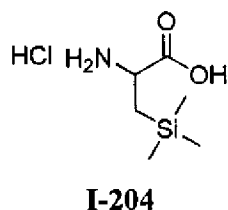
藉由對掌性HPLC純化2-(苯甲氧基羰基胺基)-3-(1-甲基環丁基)丙酸(160 mg，0.54 mmol)，得到呈白色固體狀之(S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-

3-(1-甲基環丁基)丙酸 (50 mg, 0.17 mmol)。MS (EI+, m/z): 292.0[M+H]⁺。

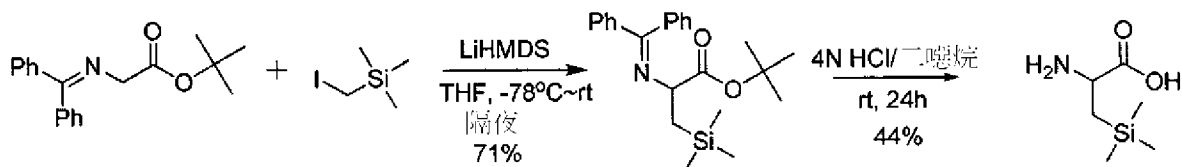
步驟8：(S)-2-胺基-3-(1-甲基環丁基)丙酸[I-93]：

在室溫下攪拌(S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-3-(1-甲基環丁基)丙酸(50 mg, 0.17 mmol)及Pd/C (10%, 10 mg)於MeOH (10 mL)中之混合物1小時。藉由製備型HPLC (Boston C18 21×250 mm 10 μm, 移動相：A：0.1%三氟乙酸；B：乙腈)純化溶液，得到呈白色固體狀之(S)-2-胺基-3-(1-甲基環丁基)丙酸 [I-93] (2 mg, 0.01 mmol)。MS (EI+, m/z): 292.0[M+H]⁺。1H NMR (500 MHz, D₂O) δ 3.76-3.79 (t, 1H), 1.96-2.00 (m, 1H), 1.61-1.86 (m, 7H), 1.11 (s, 3H)。

實例204：2-胺基-3-(三甲基矽烷基)丙酸鹽酸鹽[I-204]



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：2-(二苯基亞甲基胺基)-3-(三甲基矽烷基)丙酸第三丁酯：

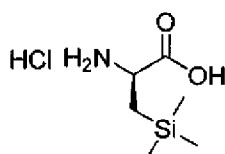
使2-(二苯基亞甲基胺基)乙酸第三丁酯(2.5 g, 8.47 mmol)於THF (20 mL)中之溶液冷卻至-78℃，隨後在N₂下逐滴添加LiHMDS (8.47 mL, 8.47 mmol)。在-78℃下攪拌溶液1小時。逐滴添加(碘甲基)三甲基矽烷(1.8 g, 8.47 mmol)。在-78℃至室溫下攪拌溶液隔夜。溶液藉由鹽水

(25 mL×2)洗滌，乾燥(Na_2SO_4)，濃縮且藉由層析(二氧化矽，乙酸乙酯/石油醚=1/30)純化，得到呈黃色固體狀之2-(二苯基亞甲基胺基)-3-(三甲基矽烷基)丙酸第三丁酯(2.3 g，6.04 mmol，71%)。ESI-MS (EI+, m/z): 382.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步驟2：2-胺基-3-(三甲基矽烷基)丙酸鹽酸鹽[I-204]：

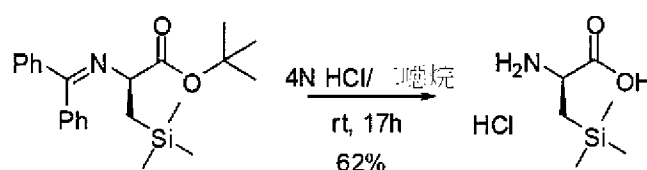
在室溫下攪拌2-(二苯基亞甲基胺基)-3-(三甲基矽烷基)丙酸第三丁酯(500 mg，1.31 mmol)於4 M HCl/二噁烷(6 mL)中之溶液17小時。添加DCM (80 mL)。過濾固體，得到呈白色固體狀之2-胺基-3-(三甲基矽烷基)丙酸鹽酸鹽[I-204] (113 mg，0.57 mmol，44%)。ESI-MS (EI+, m/z): 162.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 13.78 (br, 1H), 8.33 (br, 1H), 3.75 (m, 1H), 1.00-1.14 (m, 2H), 0.06 (s, 9H)。

實例201：(S)-2-胺基-3-(三甲基矽烷基)丙酸鹽酸鹽[I-201].



I-201

合成流程：



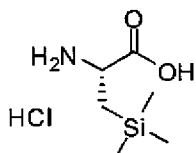
程序及特徵：

步驟1：(S)-2-胺基-3-(三甲基矽烷基)丙酸鹽酸鹽[I-201]：

在室溫下攪拌(S)-2-(二苯基亞甲基胺基)-3-(三甲基矽烷基)丙酸第三丁酯(300 mg，0.79 mmol)於4 M HCl/二噁烷(3 mL)中之溶液17小時。添加DCM (40 mL)。過濾固體，得到呈白色固體狀之(S)-2-胺基-3-(三甲基

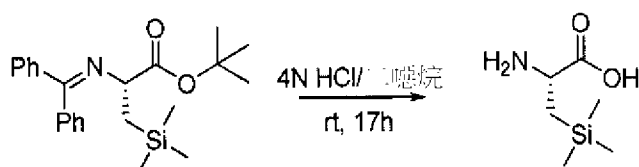
矽烷基)丙酸鹽酸鹽[I-201] (92 mg, 0.47 mmol, 62%)。ESI-MS (EI+, m/z): 162.2 $[M+H]^+$ 。1H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 13.76 (br, 1H), 8.38 (br, 1H), 3.76 (m, 1H), 1.02-1.16 (m, 2H), 0.06 (s, 9H)。

實例200：(R)-2-胺基-3-(三甲基矽烷基)丙酸鹽酸鹽[I-200].



I-200

合成流程：

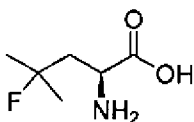


程序及特徵：

步驟1：(R)-2-胺基-3-(三甲基矽烷基)丙酸鹽酸鹽[I-200]：

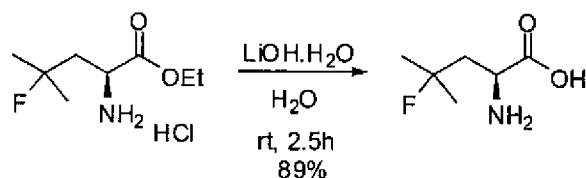
在室溫下攪拌(R)-2-(二苯基亞甲基胺基)-3-(三甲基矽烷基)丙酸第三丁酯(300 mg, 0.79 mmol)於4 M HCl/二噁烷(3 ml)中之溶液17小時。添加DCM (40 mL)。過濾固體，得到呈白色固體狀之(R)-2-胺基-3-(三甲基矽烷基)丙酸鹽酸鹽[I-200] (80 mg, 0.41 mmol, 52%)。ESI-MS (EI+, m/z): 162.2 $[M+H]^+$ 。1H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 13.77 (br, 1H), 8.33 (br, 1H), 3.76 (m, 1H), 1.02-1.14 (m, 2H), 0.06 (s, 9H)。

實例194：(S)-2-胺基-4-氟-4-甲基戊酸[I-194].



I-194

合成流程：

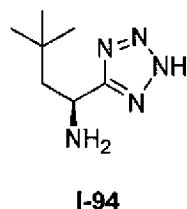


程序及特徵：

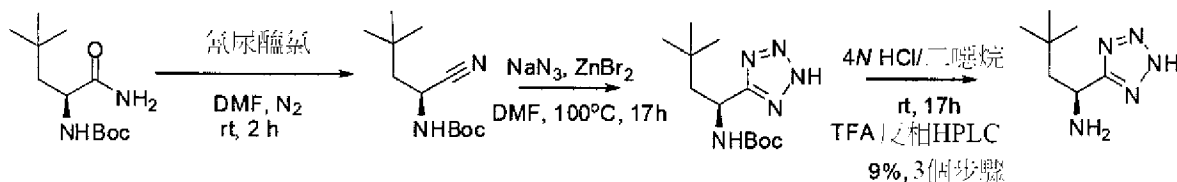
步驟1：(S)-2-胺基-4-氟-4-甲基戊酸[I-194]：

在室溫下攪拌(S)-2-胺基-4-氟-4-甲基戊酸乙酯鹽酸鹽(65 mg, 0.31 mmol)、LiOH.H₂O (29 mg, 0.69 mmol)於H₂O (2 mL)中之混合物2.5小時。隨後，添加1 N HCl以調節pH=3。直接藉由反相HPLC (Boston C18 21×250 mm 10 μm, 移動相：A：0.1%三氟乙酸；B：乙腈)純化混合物，得到呈白色固體狀之(S)-2-胺基-4-氟-4-甲基戊酸[I-194] (40 mg, 0.27 mmol, 87%)。MS (EI+, m/z): 150.3 [M+H]⁺。1H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 8.10 (br, 2H), 3.79 (m, 1H), 2.19-2.26 (m, 1H), 1.97-2.05 (m, 1H), 1.42 (d, J_z=3.5 Hz, 3H), 1.37 (d, J_z=4.0 Hz, 3H)。

實例94：(S)-3,3-二甲基-1-(2H-四唑-5-基)丁-1-胺[I-94].



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：(S)-1-氨基-3,3-二甲基丁基胺基甲酸第三丁酯：

向(S)-1-胺基-4,4-二甲基-1-側氧基戊-2-基胺基甲酸第三丁酯(500 mg, 2.1 mmol)於DMF (10 mL)中之溶液中添加三聚氯化氰(450 mg, 2.5

mmol)且在室溫下攪拌2小時。隨後，混合物藉由鹽水(100 mL)稀釋，用乙酸乙酯(50 mL)萃取，乾燥(Na_2SO_4)且濃縮，得到呈黃色摻雜物狀之粗物質(S)-1-氰基-3,3-二甲基丁基胺基甲酸第三丁酯(500 mg)。ESI-MS (EI+, m/z): 249.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

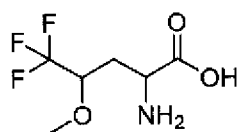
步驟2：(S)-3,3-二甲基-1-(2H-四唑-5-基)丁基胺基甲酸第三丁酯：

在100°C下攪拌(S)-1-氰基-3,3-二甲基丁基胺基甲酸第三丁酯(粗物質 500 mg)、 ZnBr_2 (900 mg, 4.0 mmol)、 NaN_3 (260 mg, 4.0 mmol)於DMF (20 mL)中之混合物17小時。混合物隨後用鹽水(200 mL)稀釋，用乙酸乙酯(60 mL)萃取，乾燥(Na_2SO_4)且濃縮，得到呈黃色摻雜物狀之粗物質(S)-3,3-二甲基-1-(2H-四唑-5-基)丁基胺基甲酸第三丁酯(400 mg)。ESI-MS (EI+, m/z): 214.3 $[\text{M}+\text{H}-56]^+$ 。

步驟3：((S)-3,3-二甲基-1-(2H-四唑-5-基)丁-1-胺[I-94]：

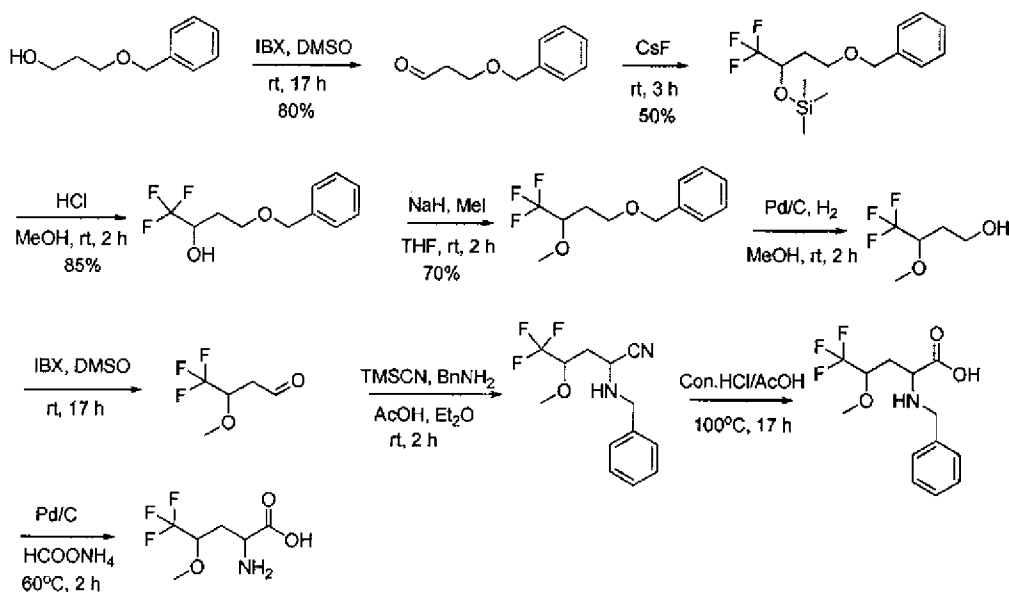
在室溫下攪拌(S)-3,3-二甲基-1-(2H-四唑-5-基)丁基胺基甲酸第三丁酯(粗物質300 mg)於4 M HCl/二噁烷(3.5 mL)中之溶液17小時。隨後，濃縮溶液且直接藉由反相HPLC (Boston C18 21×250 mm 10 μm ，移動相：A：0.1%三氟乙酸；B：乙腈)純化，得到呈白色固體狀之(S)-3,3-二甲基-1-(2H-四唑-5-基)丁-1-胺2,2,2-三氟乙酸鹽[I-94] (30 mg, 0.11 mmol, 9%，對於3個步驟)。MS (EI+, m/z): 170.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.18 (br, 3H), 4.48 (m, 1H), 2.14 (m, 1H), 1.73 (dd, $J_z=3.5, 16.5$ Hz 1H), 0.72 (s, 9H)。

實例175：合成2-胺基-5,5,5-三氟-4-甲氧基戊酸[I-175]：



I-175

合成流程：



程序及特徵：

步驟1：(S)-4-甲基-2-(苯基甲基磺醯胺基)戊酸苯甲酯：

在冰浴下，向3-(苯甲氧基)丙-1-醇(10.0 g，60.24 mmol)於DMSO (100 mL)中之溶液中添加IBX (20.2 g，72.29 mmol)。使混合物升溫至室溫且在此溫度下攪拌17小時。將反應混合物倒入水(300 mL)中且用EA (200 mL×2)萃取，有機相用水(200 mL × 3)及鹽水(100 mL)洗滌，乾燥 (Na₂SO₄)，且濃縮溶液且粗物質藉由SGC純化以獲得淡黃色液體。(8.0 g, 81%)。

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 9.77 (s, 1H), 7.36-7.26 (m, 5H), 4.53 (s, 2 H), 3.8-3.83 (m, 2H), 2.71-2.68 (m, 2H)。

步驟2：(4-(苯甲氧基)-1,1,1-三氟丁-2-基氧基)三甲基矽烷：

在室溫下，向3-(苯甲氧基)丙醛(4.0 g，24.4 mmol)於THF (50 mL)中之溶液中添加三甲基(三氟甲基)矽烷(10.4 g，73.2 mmol)，繼而添加CsF (0.37 g，2.44 mmol)。在室溫下攪拌所得溶液2小時。隨後藉由水 (100 mL)淬滅且用EA (100 mL×2)萃取，有機相用水(100 mL×2)及鹽水

(100 mL)洗滌，乾燥(Na_2SO_4)，過濾並濃縮。藉由ISCO拜泰齊(biotage)純化粗物質以獲得呈無色液體狀之(4-(苯甲氧基)-1,1,1-三氟丁-2-基氧基)三甲基矽烷。(4.5 g, 60%)

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.38-7.29 (m, 5H), 4.51 (t, J = 12 Hz, 2 H), 4.23-4.19 (m, 1H), 3.59-3.57 (m, 2H), 2.04-2.01 (m, 1H), 1.78-1.73 (m, 1H), 0.13 (s, 9H)。

步驟3：4-(苯甲氧基)-1,1,1-三氟丁-2-醇：

在室溫下，攪拌4-(苯甲氧基)-1,1,1-三氟丁-2-醇(4.5 g, 14.7 mmol)於HCl溶液(3 M於MeOH中，50 ml)中之溶液2小時。隨後濃縮且藉由ISCO拜泰齊純化以獲得呈無色液體狀之4-(苯甲氧基)-1,1,1-三氟丁-2-醇(2.75 g, 80%)。

步驟4：((4,4,4-三氟-3-甲氧基丁氧基)甲基)苯：

在 0°C 下，向4-(苯甲氧基)-1,1,1-三氟丁-2-醇(2.75 g, 11.75 mmol)於THF (100 mL)中之溶液中添加t-BuOK (1.58 g, 14.1 mmol)且在此溫度下攪拌30分鐘。隨後添加MeI (2.17 g, 15.28 mmol)且在室溫下再攪拌1小時。反應物藉由水(100 mL)淬滅且用EA (100 ml $\times$ 2)萃取，有機相用水(100 mL $\times$ 2)及鹽水(100 mL)洗滌，乾燥(Na_2SO_4)，過濾並濃縮。藉由ISCO拜泰齊純化粗物質以獲得呈無色液體狀之((4,4,4-三氟-3-甲氧基丁氧基)甲基)苯(2.04 g, 70%)。

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.38-7.29 (m, 5H), 4.53 (t, J = 12 Hz, 2 H), 3.78-3.74 (m, 1H), 3.66-3.57 (m, 2H), 3.5 (s, 3H), 2.03-1.96 (m, 1H), 1.78-1.57 (m, 1H)。

步驟5：4,4,4-三氟-3-甲氧基丁-1-醇：

在室溫下攪拌((4,4,4-三氟-3-甲氧基丁氧基)甲基)苯(2.04 g, 8.23 mmol)及Pd/C (0.5 g)於MeOH (30 mL)中之溶液2小時，隨後過濾並濃縮以獲得呈無色液體狀之4,4,4-三氟-3-甲氧基丁-1-醇。此粗物質直接用於下一步驟。

步驟6：4,4,4-三氟-3-甲氧基丁醛：

在冰浴下，向4,4,4-三氟-3-甲氧基丁-1-醇(1.3 g粗物質，來自最後步驟)於DMSO (20 mL)中之溶液中添加IBX (2.76 g, 9.88 mmol)。使混合物升溫至室溫且在此溫度下攪拌17小時。將反應混合物倒入水(80 mL)中且用Et₂O (80 mL×2)萃取，有機相用水(80 mL×3)及鹽水(80 mL)洗滌，且溶液直接用於下一步驟。

步驟7：2-(苯甲基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲氧基戊腈：

在冰浴下，向上述4,4,4-三氟-3-甲氧基丁醛於Et₂O (160 mL)中之溶液中添加苯甲基胺(2 mL)、AcOH (2.0 mL)及隨後TMSCN (3 mL)。使混合物升溫至室溫且在此溫度下攪拌17小時。溶液用水(200 mL)稀釋且用EA (100 mL)萃取，有機相用水(100 mL×2)及鹽水(100 mL)洗滌，乾燥(Na₂SO₄)，過濾且在真空中濃縮，得到用於下一步驟之呈棕色濃稠油狀之2-(苯甲基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲氧基戊腈(2.0 g，粗物質)。ESI-MS (EI⁺, m/z):

步驟8：2-(苯甲基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲氧基戊酸：

將2-(苯甲基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲氧基戊腈(2.0 g，粗物質)於濃HCl (30 mL)及AcOH (10 mL)中之溶液加熱至100°C持續17小時。將溶液濃縮至乾燥，用H₂O (100 mL)及ACN (50 mL)稀釋，pH用NaHCO₃飽和溶液調節至3-4，過濾混合物且乾燥，得到呈棕色固體狀之2-(苯甲基胺基)-

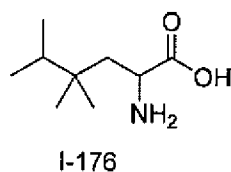
5,5,5-三氟-4-甲氧基戊酸(0.8 g, 35%, 對於4個步驟)。ESI-MS (EI^+ , m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步驟9：2-胺基-5,5,5-三氟-4-甲氧基戊酸[I-175]：

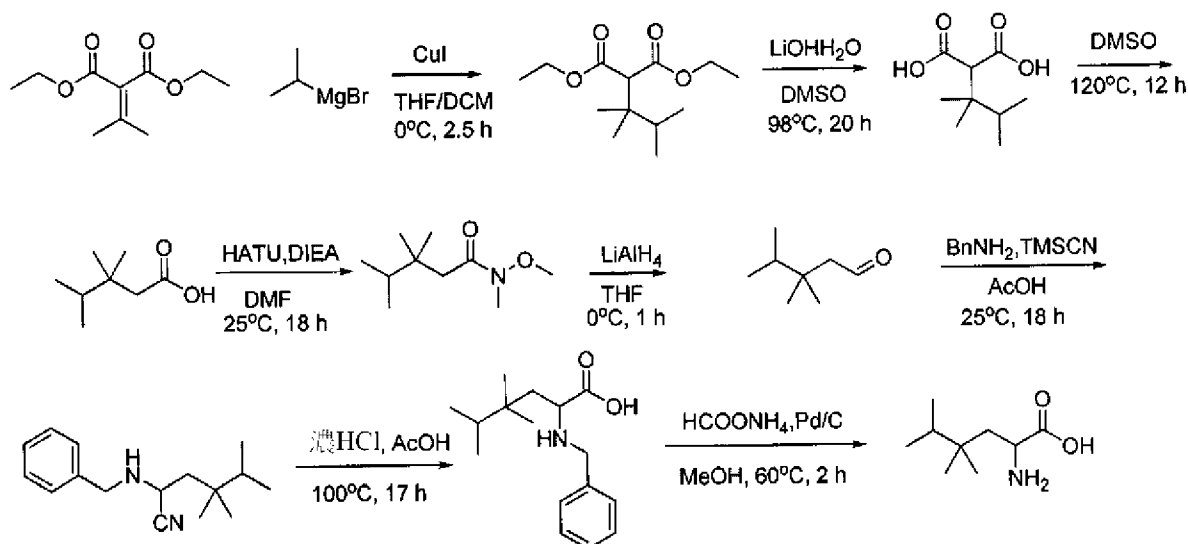
在60°C下攪拌2-(苯甲基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲氧基戊酸(300 mg, 1.03 mmol)及 HCOONH_4 (650 mg, 10.3 mmol)於MeOH (10 mL)中之溶液2小時，隨後過濾並濃縮。藉由反相拜泰齊純化粗物質以獲得呈白色固體狀之2-胺基-5,5,5-三氟-4-甲氧基戊酸[I-175]。

^1H NMR (500 MHz, 甲醇- d_4) δ 4.23-4.19 (m, 1H), 3.96-3.88 (m, 1H), 3.64-3.6 (m, 3H), 2.29-2.22 (m, 1H), 2.04-1.97 (m, 1H)。

實例176：2-胺基-4,4,5-三甲基己酸[I-176]：



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：2-(2,3-二甲基丁-2-基)丙二酸二乙酯：

使2-(丙-2-亞基)丙二酸二乙酯(2 g, 10.0 mmol)於THF (60 mL)中之

溶液冷卻至0℃，繼而碘化銅(I) (2.9 g，15.0 mmol)。在0℃下攪拌混合物0.5小時。隨後在0℃下將異丙基溴化鎂(1 mol/L，30.0 mL，30.0 mmol)逐滴添加至上述混合物中。在0℃下攪拌混合物2小時。混合物用HCl (1 mol/L)淬滅，用EtOAc (60 mL × 2)萃取。分離有機相，用水(100 mL×2)及鹽水(130 mL)洗滌，乾燥(Na₂SO₄)，過濾且在真空中濃縮，得到呈黃色固體狀之2-(2,3-二甲基丁-2-基)丙二酸二乙酯(2.4 g，10.0 mmol，98%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 245.3 [M+H]⁺。

步驟2：2-(2,3-二甲基丁-2-基)丙二酸：

將2-(2,3-二甲基丁-2-基)丙二酸二乙酯乙醯胺(2.4 g，10.0 mmol)及氫氧化鋰水合物(2.1 g，50.0 mmol)於DMSO (50 mL)及水(10 mL)中之混合物加熱至98℃且保持20小時。冷卻混合物，藉由HCl (1 mol/L)酸化，且分配於EtOAc (30 mL)與水(30 mL)之間。分離有機相，用水(50 mL×2)及鹽水(50 mL)洗滌，乾燥(Na₂SO₄)，過濾且在真空中濃縮，得到呈黃色油狀之2-(2,3-二甲基丁-2-基)丙二酸(1.8 g，10.0 mmol，95%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 212.2 [M+H]⁺。

步驟3：3,3,4-三甲基戊酸：

將2-(2,3-二甲基丁-2-基)丙二酸(1.8 g，10.0 mmol)於DMSO (30 mL)中之溶液加熱至120℃且保持12小時。冷卻混合物，且分配於EtOAc (50 mL)與水(60 mL)之間。分離有機相，用水(60 mL×2)及鹽水(60 mL)洗滌，乾燥(Na₂SO₄)，過濾且在真空中濃縮，得到呈黃色油狀之3,3,4-三甲基戊酸(1.4 g，10.0 mmol，95%)。ESI-MS (EI⁻, m/z): 143.2 [M-H]⁺。

步驟4：N-甲氧基-N,3,3,4-四甲基戊醯胺：

在20℃下，向3,3,4-三甲基戊酸(1.4 g，10.0 mmol)於30 mL DMF中之溶液中添加N,O-二甲基羥胺鹽酸鹽(1.2 g，12.0 mmol)，繼而DIEA (3.8 g，30.0 mmol)。隨後添加HATU (5.8 g，15.0 mmol)。在攪拌下將混合物加熱至25℃且保持18小時。反應混合物用水，繼而甲基第三丁基醚(50 mL × 2)淬滅。各相分離，有機層用鹽水(80 mL × 3)洗滌，經Na₂SO₄乾燥，過濾且在真空中濃縮，得到呈褐色油狀之N-甲氧基-N,3,3,4-四甲基戊醯胺(1.5 g，90%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 188.2 [M+H]⁺。

步驟4：3,3,4-三甲基戊醛：

在0℃下，向N-甲氧基-N,3,3,4-四甲基戊醯胺(1.9 g，0.01 mol)於30 mL THF中之溶液中添加LiAlH₄ (1 g，0.03 mol)。在0℃下攪拌混合物1小時。反應混合物用水，繼而甲基第三丁基醚(50 mL × 2)淬滅。各相分離，有機層用鹽水(80 mL × 3)洗滌，經Na₂SO₄乾燥且過濾。濾過物含有直接用於下一步驟中之呈無色溶液狀之3,3,4-三甲基戊醛(1.3 g，95%)。

步驟5：2-(苯甲基胺基)-4,4,5-三甲基己腈：

在冰浴下，向上述3,3,4-三甲基戊醛於甲基第三丁基醚(120 mL)中之溶液中添加苯甲基胺(1.6 mL)、AcOH (1.0 mL)及隨後TMSCN (1.8 mL)。使混合物升溫至25℃且攪拌隔夜。溶液用水(60 mL)稀釋且用EtOAc (30 mL)萃取，有機相用水(50 mL×2)及鹽水(50 mL)洗滌，乾燥(Na₂SO₄)，過濾且在真空中濃縮，得到用於下一步驟之呈褐色油狀之2-(苯甲基胺基)-4,4,5-三甲基己腈(2 g，粗物質)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 245.4 [M+H]⁺。

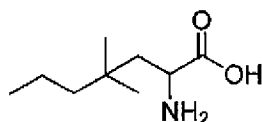
步驟6：2-(苯甲基胺基)-4,4,5-三甲基己酸：

將2-(苯甲基胺基)-4,4,5-三甲基己腈(2 g, 粗物質)於濃HCl (60 mL)及AcOH (10 mL)中之溶液加熱至95°C持續18小時。使溶液冷卻至15°C, 用NaHCO₃飽和溶液將pH調節至3-4, 過濾混合物且乾燥, 得到呈白色固體狀之2-(苯甲基胺基)-4,4,5-三甲基己酸(0.6 g, 2.3 mmol, 30%, 對於3個步驟)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 264.4 [M+H]⁺。

2-胺基-4,4,5-三甲基己酸[I-176]:

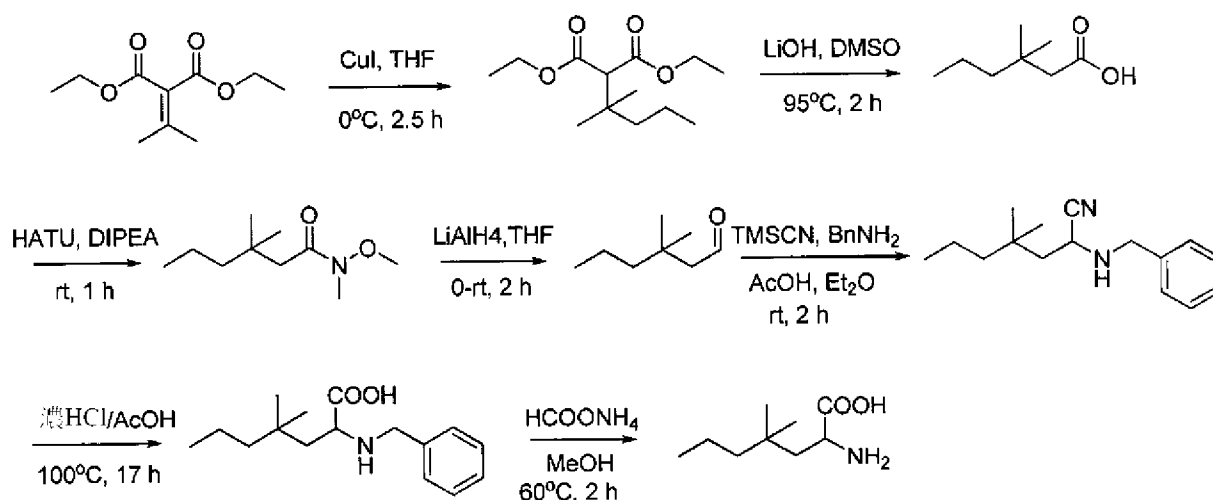
在室溫下, 向2-(苯甲基胺基)-4,4,5-三甲基己酸(78 mg, 0.3 mmol)於8 mL MeOH中之溶液中添加HCOONH₄ (0.13 g, 2.0 mmol)及Pd/C (30 mg)。在60°C下攪拌混合物2小時。過濾且濃縮反應混合物, 得到粗產物, 其藉由反相矽膠層析純化, 得到呈白色固體狀之2-胺基-6,6,6-三氟-4-甲基己酸[I-176] (40 mg, 90%); ESI-MS (EI⁺, m/z): 174.3 [M+H]⁺; ¹H NMR (500 MHz, MeOD) δ 3.56 (dd, J = 7.2, 4.9 Hz, 1H), 2.12 (dd, J = 14.7, 4.9 Hz, 1H), 1.66 - 1.51 (m, 2H), 0.97 (d, J = 14.9 Hz, 6H), 0.92 (dd, J = 6.8, 3.6 Hz, 6H)。

實例178: 2-胺基-4,4-二甲基庚酸[I-178]



I-178

合成流程:

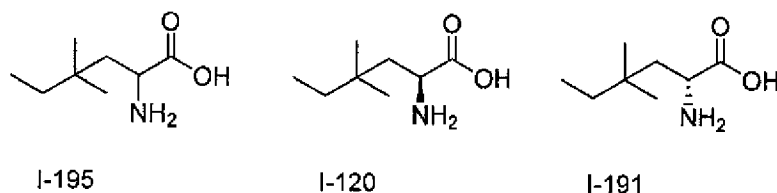


程序及特徵：

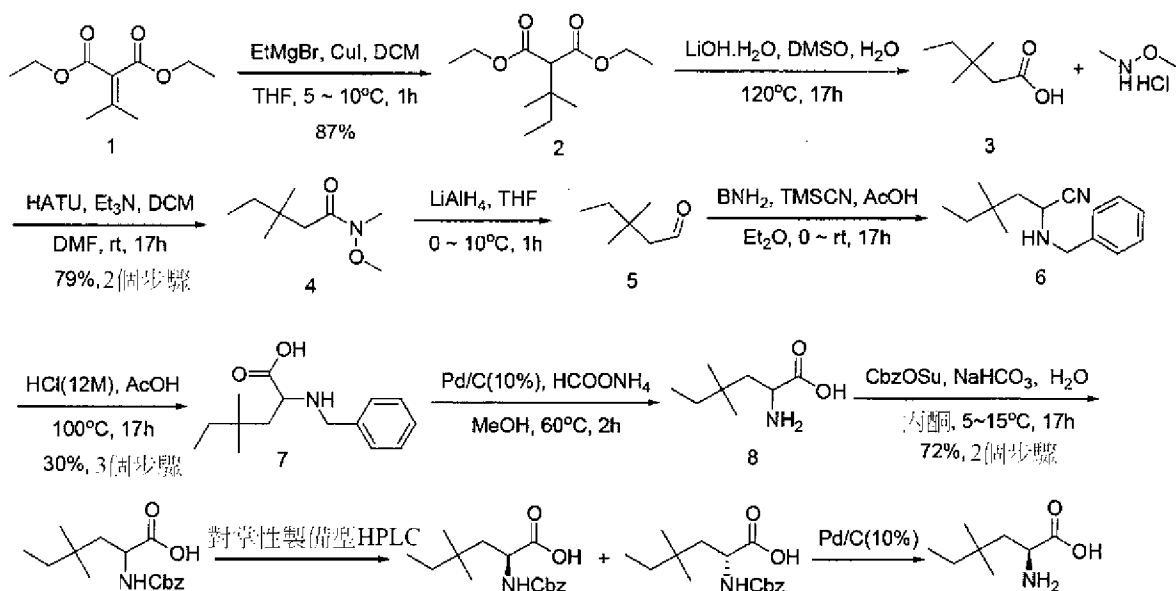
程序與實例176中所使用相同

2-胺基-4,4-二甲基庚酸[I-178]： ^1H NMR (500 MHz, $\text{MeOD-}d_4$) δ 3.77 (t, $J = 6$ Hz, 1H), 2.09-2.05 (m, 1H), 1.6-1.56 (m, 1H), 1.37-1.26 (m, 4H), 1.01-0.92 (m, 9 H)。

實例195：2-胺基-4,4-二甲基己酸[I-195]，**(S)-2-胺基-4,4-二甲基己酸[I-120]**，**(R)-2-胺基-4,4-二甲基己酸[I-191]**。



合成流程：



程序及特徵：

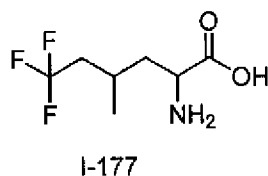
程序與實例176中所使用相同

2-胺基-4,4-二甲基庚酸[I-195]： ^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 3.87 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 1.93 (dd, $J = 15.0$ Hz, $J = 5.5$ Hz, 1H), 1.57 (dd, $J = 15.0$ Hz, $J = 6.5$ Hz, 1H), 1.22-1.26 (m, 2H), 0.86 (d, (dd, $J = 2.0$ Hz, 6H), 0.76 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H)。

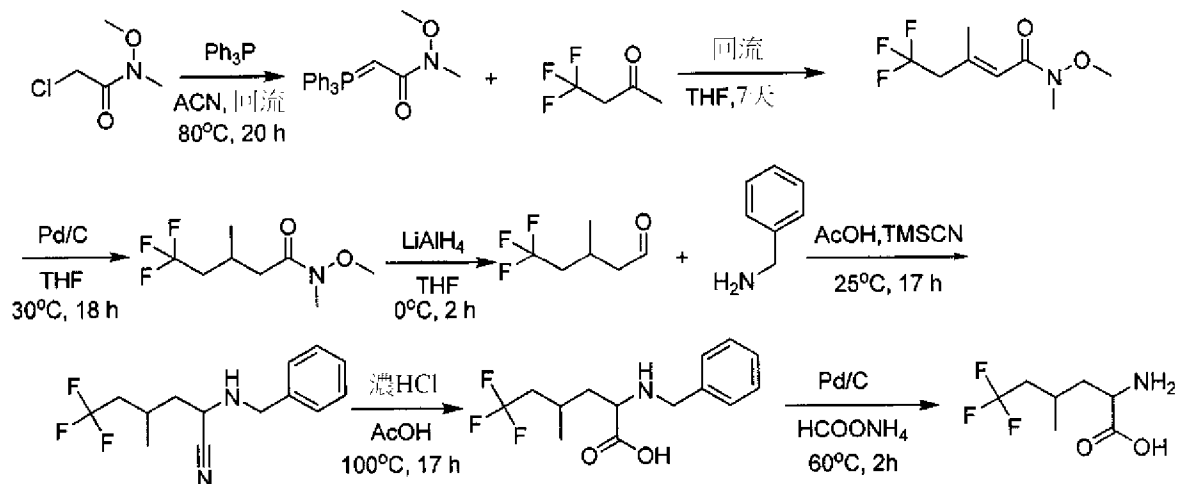
(S)-2-胺基-4,4-二甲基己酸[I-120]： ^1H NMR (500 MHz, $\text{MeOD-}d_4$) δ 3.43 (dd, $J = 7.0$ Hz, $J = 5.0$ Hz, 1H), 1.95 (dd, $J = 15.0$ Hz, $J = 5.0$ Hz, 1H), 1.42 (dd, $J = 15.0$ Hz, $J = 7.0$ Hz, 1H), 1.23-1.28 (m, 2H), 0.87 (d, (dd, $J = 4.5$ Hz, 6H), 0.80 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H)。

(R)-2-胺基-4,4-二甲基己酸[I-191]： ^1H NMR (500 MHz, $\text{MeOD-}d_4$) δ 3.43 (dd, $J = 7.0$ Hz, $J = 5.0$ Hz, 1H), 1.95 (dd, $J = 15.0$ Hz, $J = 5.0$ Hz, 1H), 1.42 (dd, $J = 15.0$ Hz, $J = 7.0$ Hz, 1H), 1.23-1.28 (m, 2H), 0.87 (d, (dd, $J = 4.5$ Hz, 6H), 0.80 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H)。

實例177：2-胺基-6,6,6-三氟-4-甲基己酸[I-177]：



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：N-甲氧基-N-甲基-2-(聯三苯-15-伸磷烷基)乙醯胺：

將(2-氯-N-甲氧基-N-甲基乙醯胺(13.7 g, 0.1 mol)及三苯基膦(26.2 g, 0.1 mol)於乙腈(200 mL)中之混合物加熱至80°C且保持20小時。冷卻且濃縮混合物以在低於40°C下移除溶劑。使殘餘物溶解於二氯甲烷(200 mL)，繼而2 N KOH (100 mL)中。在20°C下攪拌所得混合物1小時。各相分離，有機層用鹽水(200 mL × 3)洗滌，經Na₂SO₄乾燥且過濾。在真空中濃縮濾液，得到呈黃色固體狀之N-甲氧基-N-甲基-2-(聯三苯-15-伸磷烷基)乙醯胺(36 g, 0.1 mol, 98%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 364.4 [M+H]⁺。

步驟2：(E)-5,5,5-三氟-N-甲氧基-N,3-二甲基戊-2-烯醯胺：

將N-甲氧基-N-甲基-2-(聯三苯-15-伸磷烷基)乙醯胺(36.3 g, 0.1 mol)及4,4,4-三氟丁-2-酮(25.2 g, 0.2 mol)於四氫呋喃(500 mL)中之混合物加熱至70°C且保持7天。冷卻且濃縮混合物以在低於40°C下在真空中移除溶劑。藉由用0至35%乙酸乙酯/石油醚溶離之矽膠管柱(200 g, 200至

300目，UV 254 nm)純化殘餘物，得到呈黃色油狀之(E)-5,5,5-三氟-N-甲氧基-N,3-二甲基戊-2-烯醯胺(6 g，0.03 mol，28%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 212.2 [M+H]⁺。

步驟3：5,5,5-三氟-N-甲氧基-N,3-二甲基戊醯胺：

在30℃下攪拌(E)-5,5,5-三氟-N-甲氧基-N,3-二甲基戊-2-烯醯胺(6 g，0.03 mol)及Pd/C (10%，400 mg)於THF (100 mL)中之混合物18小時。過濾混合物，且在真空中將濾液濃縮至乾燥，得到呈黃色油狀之5,5,5-三氟-N-甲氧基-N,3-二甲基戊醯胺(6 g，0.03 mol，98%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 214.2 [M+H]⁺。

步驟4：5,5,5-三氟-3-甲基戊醛：

在0℃下，向5,5,5-三氟-N-甲氧基-N,3-二甲基戊醯胺(6 g，0.03 mol)於100 mL THF中之溶液中添加LiAlH₄ (1 g，0.03 mol)。在0℃下攪拌混合物1小時。反應混合物用水，繼而甲基第三丁基醚(60 mL × 2)淬滅。各相分離，有機層用鹽水(80 mL × 3)洗滌，經Na₂SO₄乾燥且過濾。含有濾過物，得到直接用於下一步驟中之呈無色溶液狀之5,5,5-三氟-3-甲基戊醛(4.5 g，95%)。

步驟5：2-(苯甲基胺基)-6,6,6-三氟-4-甲基己腈：

在冰浴下向上述5,5,5-三氟-3-甲基戊醛於甲基第三丁基醚(200 mL)中之溶液中添加苯甲基胺(5 mL)、AcOH (4.0 mL)及隨後TMSCN (5 mL)。使混合物升溫20℃且攪拌隔夜。溶液用水(100 mL)稀釋且用EtOAc (100 mL)萃取，有機相用水(100 mL×2)及鹽水(100 mL)洗滌，乾燥(Na₂SO₄)，過濾且在真空中濃縮，得到用於下一步驟之呈褐色油狀之2-(苯甲基胺基)-6,6,6-三氟-4-甲基己腈(6 g，粗物質)。ESI-MS (EI⁺, m/z):

271.3 [M+H]⁺。

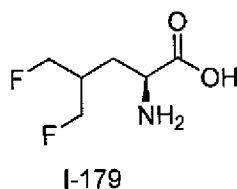
步驟6：2-(苯甲基胺基)-6,6,6-三氟-4-甲基己酸：

將2-(苯甲基胺基)-6,6,6-三氟-4-甲基己腈(3 g，粗物質)於濃HCl (100 mL)及AcOH (20 mL)中之溶液加熱至100℃持續17小時。使溶液冷卻至15℃，用NaHCO₃飽和溶液將pH調節至3-4，過濾混合物且乾燥，得到呈白色固體狀之2-(苯甲基胺基)-6,6,6-三氟-4-甲基己酸(1 g，13.4 mmol，33%，對於3個步驟)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 290.3 [M+H]⁺。

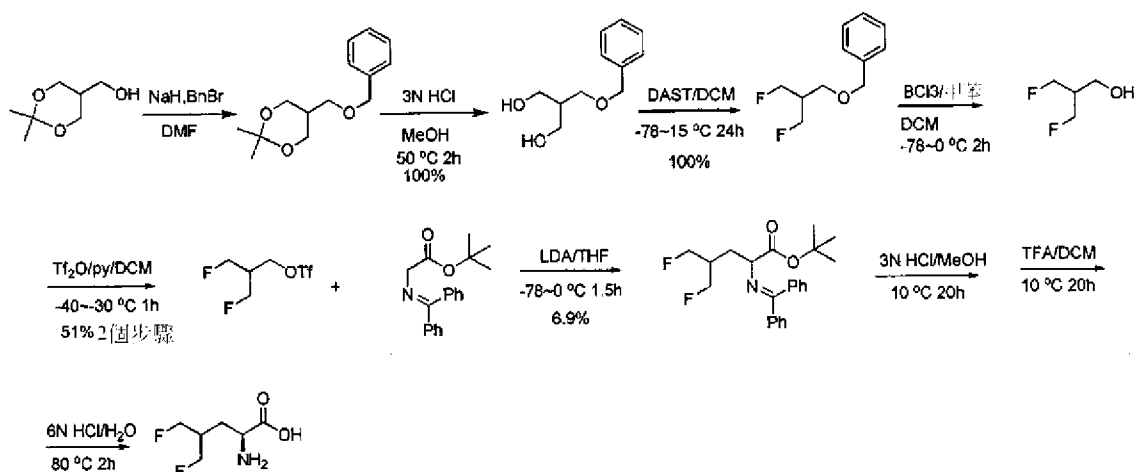
2-胺基-6,6,6-三氟-4-甲基己酸[I-177]：

在室溫下向2-(苯甲基胺基)-6,6,6-三氟-4-甲基己酸(88 mg，0.31 mmol)於8 mL MeOH中之溶液中添加HCOONH₄ (0.13 g，2.0 mmol)及Pd/C (30 mg)。在60℃下攪拌混合物2小時。過濾且濃縮反應混合物，得到粗產物，其藉由反相矽膠層析純化，得到呈白色固體狀之2-胺基-6,6,6-三氟-4-甲基己酸[I-177] (45 mg，84%)；ESI-MS (EI⁺, m/z): 200.2 [M+H]⁺；¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 3.15 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 2.39 - 2.24 (m, 1H), 2.19 - 1.96 (m, 2H), 1.82 - 1.66 (m, 1H), 1.63 - 1.35 (m, 1H), 0.98 (dd, *J* = 16.5, 6.2 Hz, 3H)。

實例179：(S)-2-胺基-5-氟-4-(氟甲基)戊酸[I-179]



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：5-(苯甲氧基甲基)-2,2-二甲基-1,3-二噁烷：

在0℃下向(2,2-二甲基-1,3-二噁烷-5-基)甲醇(0.29 g, 2.0 mmol)於DMF (10 mL)中之溶液中添加NaH (60%於油中, 0.12 g, 3.0 mmol)。在0℃下攪拌混合物0.2小時。隨後添加(溴甲基)苯(0.45 g, 2.6 mmol)。使混合物升溫至10℃持續3小時且保持18小時。反應混合物用冰水，繼而EtOAc (60 mL)淬滅。各相分離，有機層用鹽水(60 mL × 3)洗滌，經Na₂SO₄乾燥且過濾。濃縮濾液且藉由矽膠管柱(20 g, UV 254 nm, 用10%至50% EtOAc/PE溶離)純化殘餘物，得到呈無色油狀之5-(苯甲氧基甲基)-2,2-二甲基-1,3-二噁烷(1)，(0.46 g, 0.2 mol, 95%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 237.3 [M+H]⁺。

步驟2：2-(苯甲氧基甲基)丙烷-1,3-二醇：

向5-(苯甲氧基甲基)-2,2-二甲基-1,3-二噁烷(930 mg, 3.94 mmol)於MeOH (20 mL)中之溶液中添加3 N HCl水溶液(2 mL)。在50℃下攪拌混合物2小時。濃縮反應混合物且用DCM (20 mL)稀釋，藉由鹽水(15 mL)洗滌，乾燥且蒸發，得到粗物質無色油(780 mg, 100%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 197 [M+H]⁺。

步驟3：((3-氟-2-(氟甲基)丙氧基)甲基)苯：

在-78℃下，向2-(苯甲氧基甲基)丙烷-1,3-二醇(780 mg, 3.94 mmol)於DCM (20 mL)中之預先冷卻之溶液中逐滴添加DAST (1.9 g, 11.8 mmol)。在20℃下攪拌混合物24小時。在-78℃下反應混合物藉由NaHCO₃飽和水溶液(10 mL)淬滅。分離DCM相且用鹽水洗滌，藉由MgSO₄乾燥，經由短矽膠墊過濾，且隨後濃縮，得到粗物質無色油(800 mg, 100%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 223 [M+Na]⁺。 ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.37 - 7.28 (m, 5H), 4.65 - 4.57 (m, 2H), 4.55 - 4.48 (m, 4H), 3.57 (d, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.50 - 2.34 (m, 1H)。

步驟4：3-氟-2-(氟甲基)丙-1-醇：

在-78℃下，向((3-氟-2-(氟甲基)丙氧基)甲基)苯(800 mg, 3.94 mmol)於DCM (20 mL)中之預先冷卻之溶液中逐滴添加BCl₃/甲苯(1 M, 6 mL, 6.0 mmol)。在-78至0℃下攪拌混合物2小時。在-78℃下藉由H₂O (0.5 mL)淬滅反應混合物。DCM相藉由MgSO₄乾燥，過濾且溶液(約20 mL)直接用於下一步驟中。

步驟5：三氟甲烷磺酸3-氟-2-(氟甲基)丙酯：

在-40℃下，向3-氟-2-(氟甲基)丙-1-醇之預先冷卻之溶液(8 mL來自步驟4之溶液，1.6 mmol)中逐滴添加py (380 mg, 4.8 mmol)，隨後Tf₂O (1.36 g, 4.8 mmol)。在-30℃下攪拌混合物1小時。在-40℃下藉由鹽水(20 mL)淬滅反應混合物。分離DCM相且藉由MgSO₄乾燥，過濾，且隨後濃縮，得到直接用於下一步驟之粗物質褐色油(200 mg, 51%)。

步驟6：2-(二苯基亞甲基胺基)-5-氟-4-(氟甲基)戊酸第三丁酯：

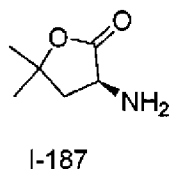
在25分鐘內在-78℃下，向2-(二苯基亞甲基胺基)乙酸第三丁酯(944

mg, 3.2 mmol)於THF (20 mL)中之預先冷卻之溶液中添加LDA (2.5M於THF/甲苯/己烷中, 1.28 mL, 3.2 mmol)。在此溫度下攪拌混合物10分鐘。在-78°C下逐滴添加三氟甲烷磺酸3-氟-2-(氟甲基)丙酯(200 mg, 0.82 mmol)於THF (2 mL)中之溶液。將反應混合物正好放置於冷卻浴上且再攪拌1小時。反應混合物藉由NH₄Cl飽和水溶液(20 mL)淬滅, 用MTBE (30 mL × 2)萃取, 用H₂O、鹽水(各自50 mL)洗滌, 乾燥且濃縮得到粗物質, 其藉由層析(矽膠, PE至5% EA/PE)純化兩次, 得到呈白色固體狀之所需產物(22 mg, 6.9%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 388 [M+H]⁺。 ¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 7.56 - 7.45 (m, 6H), 7.41 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.18 (d, *J* = 6.3 Hz, 2H), 4.50 - 4.17 (m, 4H), 3.91 (dd, *J* = 7.7, 5.5 Hz, 1H), 2.11 - 1.97 (m, 1H), 1.87 (dd, *J* = 12.7, 5.5 Hz, 2H), 1.38 (s, 9H)。

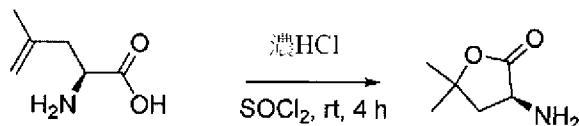
步驟7：(S)-2-胺基-5-氟-4-(氟甲基)戊酸鹽酸鹽：

在室溫下, 攪拌2-(二苯基亞甲基胺基)-5-氟-4-(氟甲基)戊酸第三丁酯(55 mg, 0.14 mmol)於3N HCl/MeOH (2 mL)中之溶液20小時。濃縮反應混合物且藉由Et₂O洗滌, 得到粗物質固體, 使其溶解於DCM/TFA (1:1, 2 mL)中且在室溫下攪拌20小時。蒸發反應混合物且藉由Et₂O洗滌, 得到粗物質固體, 使其溶解於6 N HCl (1 mL)中且在80°C下攪拌2小時。蒸發且凍乾反應混合物, 得到粗產物, 其藉由RP-拜泰齊, 使用3 mM HCl/H₂O純化, 得到呈白色固體狀之所需產物(8.3 mg, 29%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 168 [M+H]⁺。 ¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 7.85 (bs, 3H), 4.48 (dd, *J* = 48.3, 14.2 Hz, 4H), 3.46 - 3.36 (m, 1H), 2.47 - 2.26 (m, 1H), 1.78 (dt, *J* = 14.3, 7.3 Hz, 1H), 1.63 - 1.53 (m, 1H)。

實例187：(S)-3-胺基-5,5-二甲基-二氫呋喃-2(3H)-酮[I-187]：



合成流程：

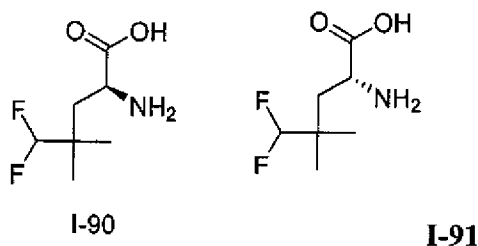


程序及特徵：

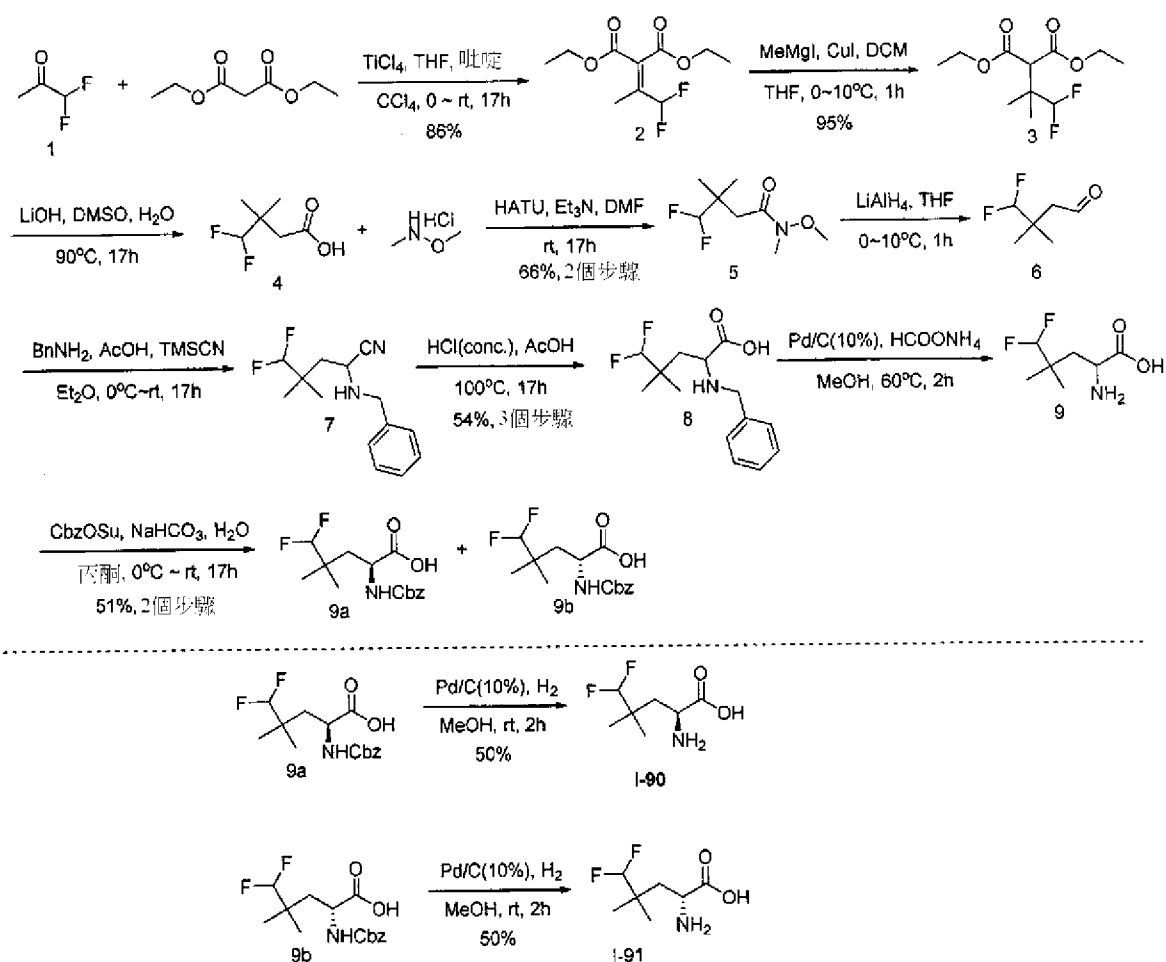
步驟1：(S)-3-胺基-5,5-二甲基-二氫呋喃-2(3H)-酮[I-187]：

向含有(S)-2-胺基-4-甲基戊-4-烯酸(100 mg)之圓底燒瓶中添加濃HCl (1 mL)及SOCl₂ (0.2 mL)。在室溫下攪拌混合物4小時。濃縮反應混合物且藉由Et₂O洗滌，得到粗物質固體，其藉由RP-拜泰齊使用0.025% TFA/H₂O/MeCN純化，得到呈白色固體狀之所需產物(20.2 mg，11.4%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 130.1 [M+H]⁺。 ¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.80 (bs, 3H), 4.58 (dd, *J* = 11.2, 9.3 Hz, 1H), 2.53 - 2.48 (m, 1H), 2.13 (t, *J* = 11.7 Hz, 1H), 1.45 (s, 3H), 1.40 (s, 3H)。

實例90：合成(S)-2-胺基-5,5-二氟-4,4-二甲基戊酸[I-90]：



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：2-(1,1,1-三氟丙-2-亞基)丙二酸二乙酯：

歷經20分鐘，在冰浴下，將 TiCl_4 (65.8 mL, 600 mmol)逐滴添加至 THF (1 L)中，添加 CCl_4 (30 mL)。向混合物中添加丙二酸二乙酯(48.0 g, 300 mmol)及1,1-二氟丙-2-酮(56.4 g, 600 mmol)。使混合物升溫至室溫且攪拌隔夜。歷經20分鐘，在冰浴下逐滴添加吡啶(200 mL)，將反應混合物倒入水(2 L)中，過濾，且濾過物用 EtOAc (500 mL $\times$ 2)萃取，有機相用水(600 mL)、1 M HCl (600 mL $\times$ 2)、水(600 mL)、飽和 NaHCO_3 (600 mL)及鹽水(600 mL)洗滌，乾燥(Na_2SO_4)，過濾且在真空中濃縮且藉由層析(二氧化矽，0%至5%乙酸乙酯/石油醚)純化，得到呈無色液體狀之2-(1,1-二氟丙-2-亞基)丙二酸二乙酯(60.9 g, 258 mmol, 86%)。ESI-

MS (EI⁺, m/z): 237.0 [M+H]⁺。 ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 6.97 (t, *J* = 55.5 Hz, 1H), 4.25-4.33 (m, 4H), 2.03 (s, 3H), 1.29-1.34 (m, 6H)。

步驟2：2-(1,1-二氟-2-甲基丙-2-基)丙二酸二乙酯：

歷經1小時，在-20℃下，向2-(1,1-二氟丙-2-亞基)丙二酸二乙酯(10.0 g，42.3 mmol)及CuI (12.1 g，63.5 mmol)於DCM (100 mL)及THF (25 mL)中之混合物中逐滴添加MeMgI (42.3 mL，130.5 mmol)，將溶液倒入冰水(200 mL)中且經NH₄Cl飽和溶液(100 mL)處理，攪拌混合物30分鐘且過濾，濾過物用DCM (100 mL)萃取，有機相用水(100 mL×2)及鹽水(100 mL)洗滌，乾燥(Na₂SO₄)，過濾且在真空中濃縮，得到用於下一步驟之呈棕色液體狀之2-(1,1-二氟-2-甲基丙-2-基)丙二酸二乙酯(10.1 g，40.2 mmol，95%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 253.1 [M+H]⁺。 ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 6.05 (t, *J* = 57.5 Hz, 1H), 4.17-4.23 (m, 4H), 3.49 (s, 1H), 1.22-1.28 (m, 6H), 1.20 (s, 6H)。

步驟3：4,4-二氟-3,3-二甲基丁酸：

將2-(1,1-二氟-2-甲基丙-2-基)丙二酸二乙酯(6.1 g，24.2 mmol)及LiOH·H₂O (5.1 g，121 mmol)於DMSO (50 mL)及H₂O (0.5 mL)中之混合物加熱至90℃持續17小時。混合物用水(200 mL)稀釋，用DCM (100 mL)萃取，水相用6 M HCl溶液將pH調節至3-4，用DCM (100 mL×2)萃取，乾燥(Na₂SO₄)，過濾且在真空中濃縮，得到呈棕色液體狀之4,4-二氟-3,3-二甲基丁酸(3.6 g，粗物質)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 151.1 [M-H]⁻。

步驟4：4,4-二氟-N-甲氧基-N,3,3-三甲基丁醯胺：

在室溫下攪拌17小時之後，向4,4-二氟-3,3-二甲基丁酸(3.6 g，粗物質)、N,O-二甲基羥胺鹽酸鹽(4.6 g，47.4 mmol)及HATU (10.8 g，28.4

mmol)於DMF (50 mL)中之溶液中添加Et₃N (7.18 g, 71.1 mmol)。過濾混合物，且濾過物用水(200 mL)稀釋，用Et₂O (100 mL×2)萃取，用水(100 mL)、1 M HCl (100 mL)及鹽水(100 mL)洗滌，乾燥(Na₂SO₄)，過濾且在真空中濃縮，得到呈棕色液體狀之4,4-二氟-N-甲氧基-N,3,3-三甲基丁醯胺(3.1 g, 15.9 mmol, 66%, 2個步驟)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 196.0 [M+H]⁺。 ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 5.95 (t, *J* = 57.5 Hz, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.17 (s, 3H), 2.51 (s, 2H), 1.12 (s, 6H)。

步驟5：4,4-二氟-3,3-二甲基丁醛：

在冰浴下，向4,4-二氟-N-甲氧基-N,3,3-三甲基丁醯胺(3.1 g, 15.9 mmol)於THF (80 mL)中之溶液中逐滴添加LiAlH₄ (24 mL, 24 mmol)。在1小時之後，混合物用檸檬酸溶液(100 mL)淬滅，溶液用Et₂O (100 mL×2)萃取，有機相用鹽水(100 mL)洗滌，乾燥(Na₂SO₄)，且溶液用於下一步驟。

步驟6：2-(苯甲基胺基)-5,5-二氟-4,4-二甲基戊腈：

在冰浴下，向4,4-二氟-3,3-二甲基丁醛於Et₂O (200 mL)中之上述溶液中添加苯甲基胺(3 mL)、AcOH (3 mL)及隨後TMSCN (3 mL)，在0至室溫下攪拌溶液17小時，且隨後用EtOAc (100 mL)稀釋。溶液用H₂O (100 mL×2)洗滌，且隨後濃縮，得到呈棕色液體狀之2-(苯甲基胺基)-5,5-二氟-4,4-二甲基戊腈(3.2 g, 粗物質)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 253.0 [M+H]⁺。

步驟7：2-(苯甲基胺基)-5,5-二氟-4,4-二甲基戊酸：

將2-(苯甲基胺基)-5,5-二氟-4,4-二甲基戊腈(1.8 g, 粗物質)於濃HCl (50 mL)及AcOH (10 mL)中之溶液加熱至100℃持續64小時。濃縮混合物

以移除溶劑，用1 M NaOH溶液將pH調節至12，用PE (100 mL)萃取，水相用6 M HCl將pH調節至5-6。形成白色固體，過濾，且濾餅用水(50 mL)洗滌，真空乾燥，得到呈白色固體狀之2-(苯甲基胺基)-5,5-二氟-4,4-二甲基戊酸(1.3 g, 4.80 mmol, 54%, 3個步驟)。ESI-MS (EI^+ , m/z): 272.0

步驟8：2-胺基-5,5-二氟-4,4-二甲基戊酸：

將2-(苯甲基胺基)-5,5-二氟-4,4-二甲基戊酸(1.3 g, 4.80 mmol)、 HCOONH_4 (1.51 g, 24 mmol)及Pd/C (10%, 200 mg)於MeOH (50 mL)中之混合物加熱至60°C持續1小時。過濾混合物，且濃縮濾液，得到呈白色固體狀之2-胺基-5,5-二氟-4,4-二甲基戊酸(1.0 g, 粗物質)。ESI-MS (EI^+ , m/z): 182.0

步驟9：2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5-二氟-4,4-二甲基戊酸

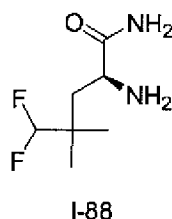
在冰浴下，向2-胺基-5,5-二氟-4,4-二甲基戊酸(1.0 g, 粗物質)及 NaHCO_3 (1.27 g, 14.4 mmol)於丙酮(30 mL)及 H_2O (30 mL)中之溶液中添加CbzOSu (2.39 g, 9.6 mmol)。在攪拌17小時之後，混合物用1 M HCl溶液將pH調節至3-4，且溶液用EtOAc (50 mL×2)萃取，用鹽水(50 mL)洗滌，乾燥(Na_2SO_4)，過濾且在真空中濃縮，藉由反相矽膠層析，且隨後對掌性製備型HPLC [管柱，CC4 4.6×250mm 5 μm ；溶劑，MeOH (0.2% 甲醇氨)]純化粗產物，得到呈兩種無色油狀之(S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5-二氟-4,4-二甲基戊酸(400 mg, 1.27 mmol, 26%, 2個步驟)及(R)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5-二氟-4,4-二甲基戊酸(380 mg, 1.21 mmol, 25%, 2個步驟)。ESI-MS (EI^+ , m/z): 316.0

步驟10：(S)-2-胺基-5,5-二氟-4,4-二甲基戊酸：

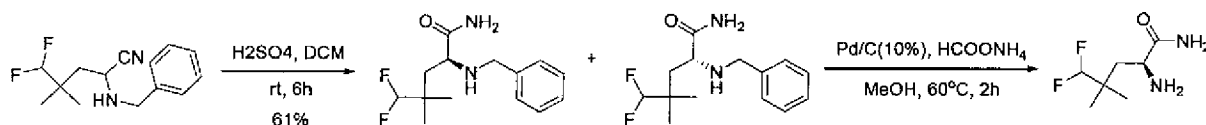
在室溫下，在氫氣下攪拌(S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5-二氟-4,4-二

甲基戊酸(400 mg, 1.27 mmol)及Pd/C (10%, 50 mg)於MeOH (30 mL)中之溶液中2小時，過濾混合物且在真空中濃縮且藉由反相矽膠層析純化，得到(*S*)-2-胺基-5,5-二氟-4,4-二甲基戊酸(115.7 mg, 0.64 mmol, 50%)。ESI-MS (EI^+ , m/z): 182.0 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{MeOD-}d_4$): δ 5.60 (t, $J = 56.5$ Hz, 1H), 3.97 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 2.07 (dd, $J = 15.5$ Hz, $J = 5.5$ Hz, 1H), 1.77 (dd, $J = 15.5$ Hz, $J = 6.5$ Hz, 1H), 0.96 (d, $J = 9.5$ Hz, 6H)。

實例88：合成(*S*)-2-胺基-5,5-二氟-4,4-二甲基戊酸[I-88]：



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：(*S*)-2-(苯甲基胺基)-5,5-二氟-4,4-二甲基戊醯胺：

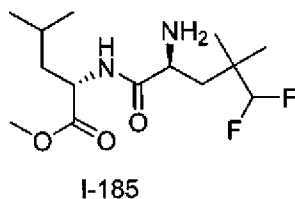
在冰浴下，歷經5分鐘，向2-(苯甲基胺基)-5,5-二氟-4,4-二甲基戊腈(1.2 g, 4.76 mmol)於DCM (20 mL)中之溶液中逐滴添加濃 H_2SO_4 (10 mL)，使混合物升溫至室溫且攪拌6小時。將混合物倒入冰水(100 mL)中，溶液用10% NaOH溶液將PH調節至8至9，且隨後用EtOAc (100 mL $\times$ 2)萃取，有機相用水(100 mL)及鹽水(100 mL)洗滌，乾燥(Na_2SO_4)，過濾且在真空中濃縮且藉由層析(0%至5% MeOH/DCM)，且隨後對掌性製備型HPLC [管柱，CC4 4.6 $\times$ 250mm 5 μm ；溶劑，MeOH (0.2%甲醇氨)]純化，得到呈兩種無色液體狀之(*S*)-2-(苯甲基胺基)-5,5-二

氟-4,4-二甲基戊醯胺(400 mg, 1.48 mmol, 31%)及(*R*)-2-(苯甲基胺基)-5,5-二氟-4,4-二甲基戊醯胺(380 mg, 1.41 mmol, 30%)。ESI-MS (EI^+ , m/z): 253.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

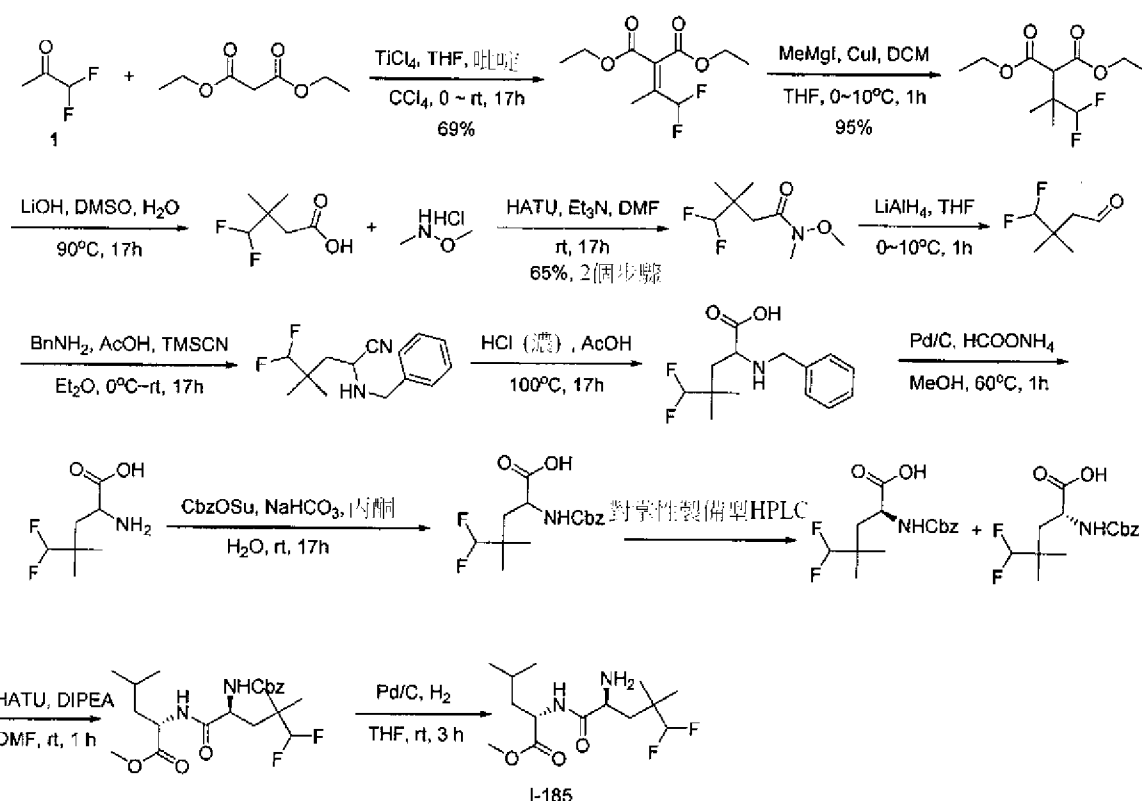
步驟2：(*S*)-2-胺基-5,5-二氟-4,4-二甲基戊醯胺：

將(*S*)-2-(苯甲基胺基)-5,5-二氟-4,4-二甲基戊醯胺(200 mg, 0.74 mmol)、 HCOONH_4 (233 mg, 3.7 mmol)及Pd/C (10%, 40 mg)於MeOH (15 mL)中之混合物加熱至60°C持續1小時。過濾混合物，且濃縮濾液且藉由反相矽膠層析純化，得到呈白色固體狀之(*S*)-2-胺基-5,5-二氟-4,4-二甲基戊醯胺三氟乙酸(128 mg, 0.44 mmol, 59%)。ESI-MS (EI^+ , m/z): 181.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, $\text{MeOD}-d_4$): δ 5.66 (t, $J = 56.5$ Hz, 1H), 3.95 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 5.0$ Hz, 1H), 2.14 (dd, $J = 10.0$ Hz, $J = 8.0$ Hz, 1H), 1.83 (dd, $J = 14.5$ Hz, $J = 5.5$ Hz, 1H), 1.12 (d, $J = 15.0$ Hz, 6H)。

實例185：合成(*S*)-2-((*S*)-2-胺基-5,5-二氟-4,4-二甲基戊醯胺基)-4-甲基戊酸甲酯[I-185]：



合成流程：



程序及特徵：

2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5-二氟-4,4-二甲基戊酸之程序與實例90相同

步驟1：(S)-2-((S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5-二氟-4,4-二甲基戊酸甲酯)-4-甲基戊酸甲酯：

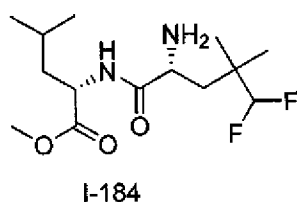
在室溫下，攪拌(S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5-二氟-4,4-二甲基戊酸(150 mg, 0.476 mmol)、HATU (199 mg, 0.524 mmol)、(S)-2-胺基-4-甲基戊酸甲酯鹽酸鹽(104 mg, 0.571 mmol)及DIPEA (123 mg, 0.952 mmol)之溶液1小時，隨後藉由冰水(20 mL)淬滅，用EA (2×30 mL)萃取，乾燥，過濾並濃縮。藉由反相矽膠層析拜泰齊純化粗物質以獲得呈白色固體狀之(S)-2-((S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5-二氟-4,4-二甲基戊酸甲酯)-4-甲基戊酸甲酯(95 mg, 45%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 443.0

步驟2：(S)-2-((S)-2-胺基-5,5-二氟-4,4-二甲基戊酸甲酯)-4-甲基戊酸甲酯：

在室溫下，攪拌(S)-2-((S)-2-(苯甲氧基羰基氨基)-5,5-二氟-4,4-二甲基戊醯胺基)-4-甲基戊酸甲酯(95 mg, 0.215 mmol)及Pd/C (30 mg)於THF (5 mL)中之溶液2小時，隨後過濾，濃縮。藉由反相矽膠層析拜泰齊純化粗物質以獲得呈白色固體狀之(S)-2-((S)-2-胺基-5,5-二氟-4,4-二甲基戊醯胺基)-4-甲基戊酸甲酯(45 mg, 69%)。ESI-MS (EI^+ , m/z): 309.0

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): 9.11 (d, $J = 7$ Hz, 1H), 8.41 (s, 3H), 5.81 (t, $J = 56.5$ Hz, 1H), 4.34-4.31 (m, 1H), 3.89-3.81 (m, 1H), 3.62 (s, 3H), 1.98-1.93 (m, 1H), 1.76-1.73 (m, 1H), 1.65-1.54 (m, 3H), 0.93-0.81 (m, 12H)。

實例184：合成(S)-2-((R)-2-胺基-5,5-二氟-4,4-二甲基戊醯胺基)-4-甲基戊酸甲酯[I-184]：



程序與實例90、185相同。

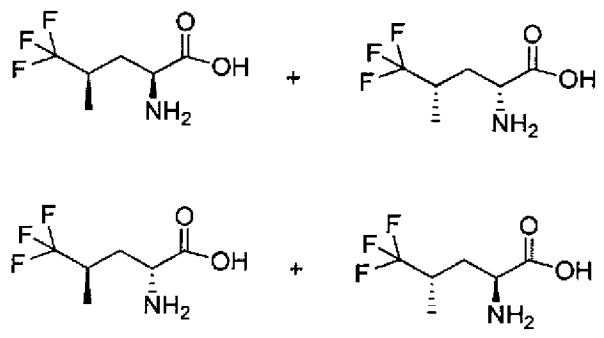
(S)-2-((R)-2-胺基-5,5-二氟-4,4-二甲基戊醯胺基)-4-甲基戊酸甲酯：

ESI-MS (EI^+ , m/z): 309.0

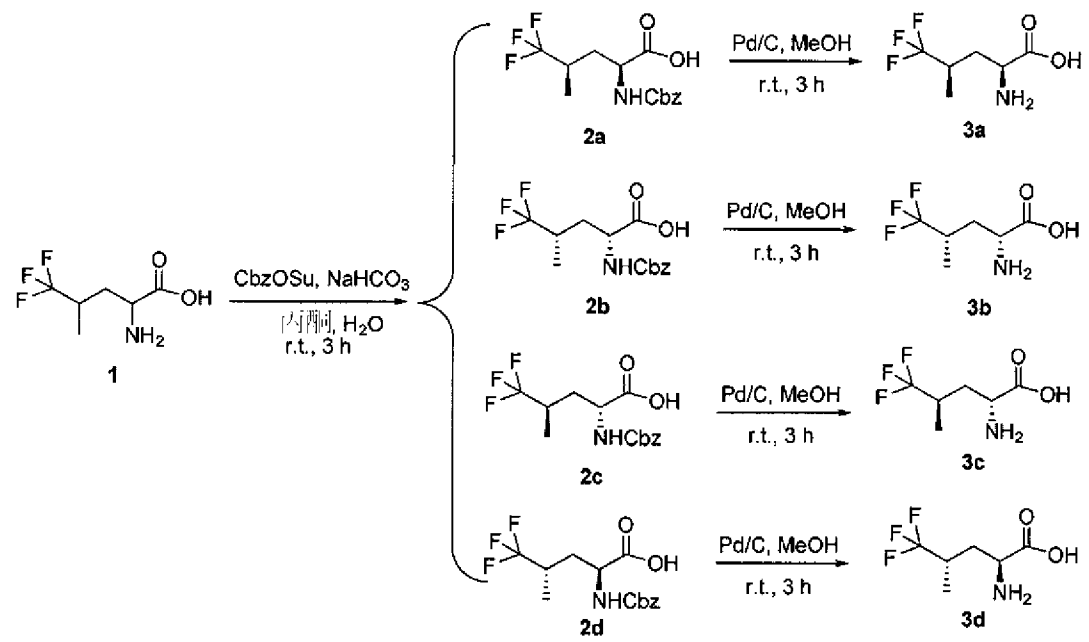
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): 9.18 (d, $J = 7$ Hz, 1H), 8.38 (s, 3H), 5.79 (t, $J = 56.5$ Hz, 1H), 4.37-4.32 (m, 1H), 3.85-3.78 (m, 1H), 3.58 (s, 3H), 1.97-1.92 (m, 1H), 1.77-1.72 (m, 1H), 1.61-1.51 (m, 3H), 0.94-0.82 (m, 12H)。

實例145：合成(2S,4R)-2-胺基-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸、(2R,4S)-2-胺基-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸、(2R,4R)-2-胺基-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸及(2S,4S)-2-胺基-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸：[3d；I-145]；[3c；I-146]；

[3a ; I-167] ; [3b ; I-250]



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：合成(2S,4R)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸、(2R,4S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸、(2R,4R)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸及(2S,4S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸：

向2-胺基-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸(600 mg , 3.2 mmol)於丙酮(10 mL)及NaHCO₃飽和水溶液(10 mL)中之溶液中添加CbzOSu (970 mg , 3.9 mmol)。在室溫下攪拌混合物3小時。隨後添加EtOAc (20 mL)及H₂O (20 mL)，分離水溶液且進一步用EtOAc (2×20 mL)萃取，合併萃取物且藉由

鹽水(20 mL)洗滌，藉由無水Na₂SO₄乾燥，過濾並濃縮，藉由製備型HPLC純化殘餘物，得到呈白色固體狀之2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸(750 mg)。藉由對掌性HPLC純化純產物，得到四個異構體：(2S,4R)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸(150 mg，15%)、(2R,4S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸(40 mg，3.9%)、(2R,4R)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸(50 mg，4.9%)及(2S,4S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸(80 mg，7.8%)，其均為白色固體。ESI-MS (EI⁺, *m/z*): 342.0 [M+Na]⁺。

步驟2-A：合成(2S,4R)-2-胺基-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸：

在室溫下，攪拌(2S,4R)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸(150 mg，0.47 mmol)及Pd/C (75 mg)於MeOH (15 mL)中之溶液3小時。過濾且濃縮反應混合物，得到呈白色固體狀之(2S,4R)-2-胺基-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸(51.7 mg，59%)。ESI-MS (EI⁺, *m/z*): 186.2 [M+H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 3.64-3.60 (m, 1H), 2.77-2.71 (br, 1H), 2.24-2.18 (m, 1H), 1.76-1.69 (m, 1H), 1.25 (d, *J* = 7.0 Hz, 3 H)。

步驟2-B：合成(2R,4S)-2-胺基-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸：

在室溫下，攪拌(2R,4S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸(40 mg，0.12 mmol)及Pd/C (20 mg)於MeOH (4 mL)中之溶液3小時。過濾且濃縮反應混合物，得到呈白色固體狀之(2R,4S)-2-胺基-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸(13.3 mg，60%)。ESI-MS (EI⁺, *m/z*): 186.2 [M+H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 3.51-3.47 (m, 1H), 2.64-2.58 (br, 1H), 2.12-2.06 (m, 1H), 1.63-1.57 (m, 1H), 1.13 (d, *J* = 7.0 Hz, 3 H)。

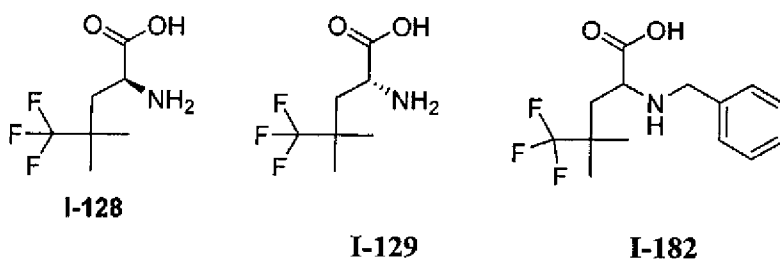
步驟2-C：合成(2R,4R)-2-胺基-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸：

在室溫下，攪拌(2*R*,4*R*)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸(50 mg, 0.16 mmol)及Pd/C (25 mg)於MeOH (5 mL)中之溶液3小時。過濾且濃縮反應混合物，得到呈白色固體狀之(2*R*,4*R*)-2-胺基-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸(18.0 mg, 61%)。ESI-MS (EI⁺, *m/z*): 186.1 [M+H]⁺。 ¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 3.51-3.47 (m, 1H), 2.46-2.44 (br, 1H), 1.95-1.87 (m, 2H), 1.11 (d, *J* = 7.0 Hz, 3 H)。

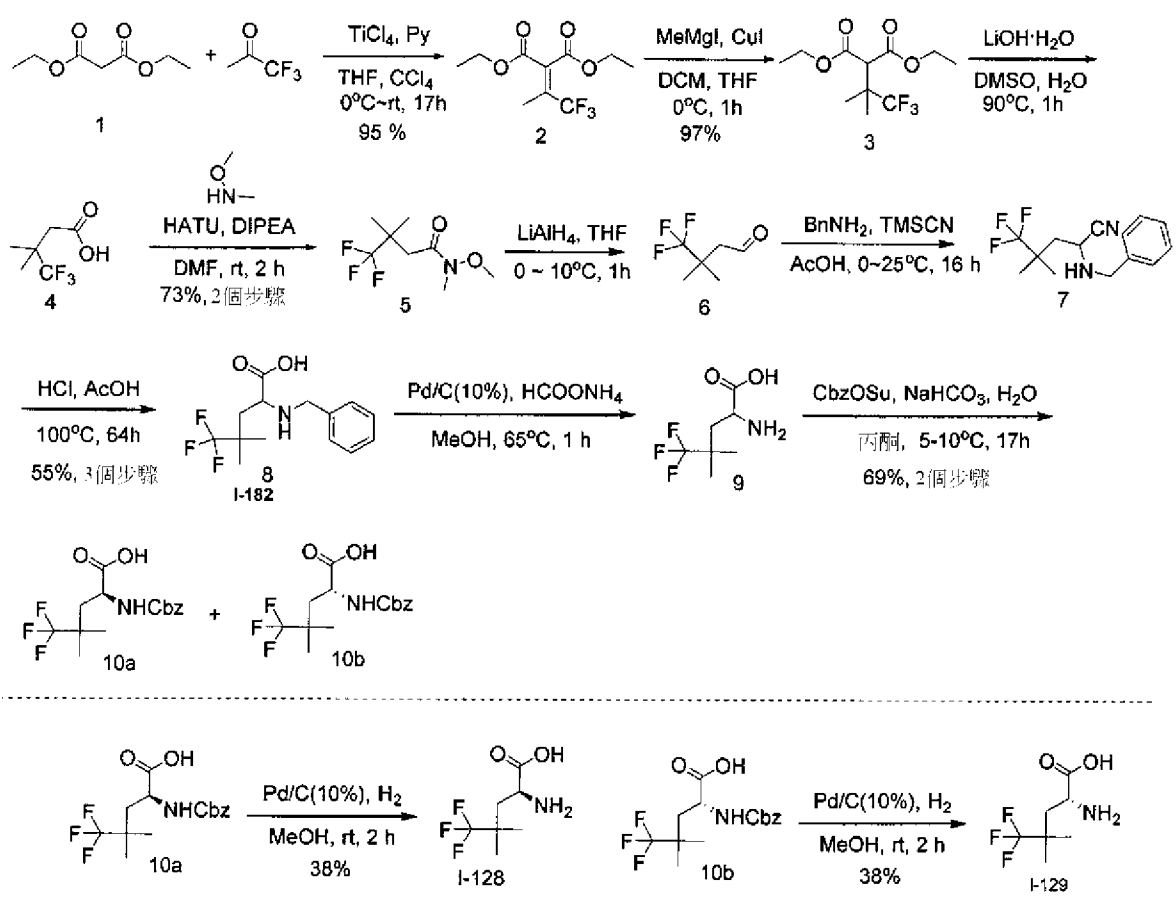
步驟2-D：合成(2*S*,4*S*)-2-胺基-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸：

在室溫下，攪拌(2*S*,4*S*)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸(80 mg, 0.25 mmol)及Pd/C (40 mg)於MeOH (8 mL)中之溶液3小時。過濾且濃縮反應混合物，得到呈白色固體狀之(2*S*,4*S*)-2-胺基-5,5,5-三氟-4-甲基戊酸(38.1 mg, 82%)。ESI-MS (EI⁺, *m/z*): 186.2 [M+H]⁺。 ¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 3.51-3.47 (m, 1H), 2.46-2.44 (br, 1H), 1.95-1.87 (m, 2H), 1.11 (d, *J* = 7.0 Hz, 3 H)。

實例128：(S)-2-胺基-5,5,5-三氟-4,4-二甲基戊酸(I-128)：



合成流程：



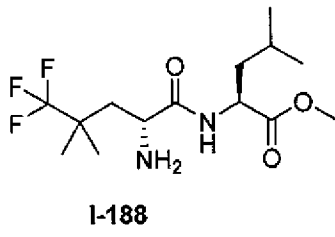
程序及特徵：

所使用之程序與實例187中所使用相同。

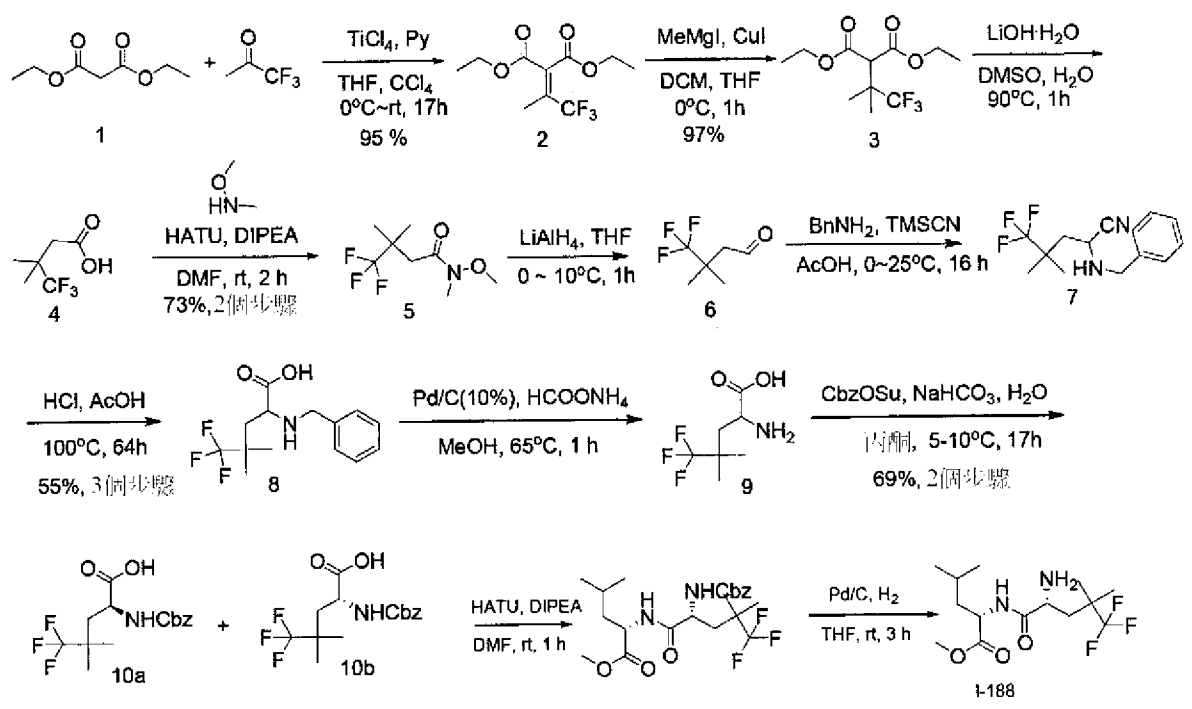
(S)-2-胺基-5,5,5-三氟-4,4-二甲基戊酸：ESI-MS (EI⁺, m/z): 200.1

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 3.94 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 2.23 (dd, J = 15.5 Hz, J = 5.5 Hz, 1H), 1.90 (dd, J = 15.5 Hz, J = 6.0 Hz, 1H), 1.13 (d, J = 8.5 Hz, 6H)。

實例188：(S)-2-((R)-2-胺基-5,5,5-三氟-4,4-二甲基戊酸)胺基)-4-甲基戊酸甲酯[I-188]：



合成流程：



程序及特徵：

2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟-4,4-二甲基戊酸之程序與實例90相同

步驟1：(S)-2-((R)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟-4,4-二甲基戊醯胺基)-4-甲基戊酸甲酯：

在室溫下攪拌(S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-二氟-4,4-二甲基戊酸 (150 mg，0.45 mmol)、HATU (188 mg，0.495 mmol)、(S)-2-胺基-4-甲基戊酸甲酯鹽酸鹽(123 mg，0.675 mmol)及DIPEA (175 mg，1.35 mmol)之溶液1小時，隨後藉由冰水(20 mL)淬滅，用EA (2×30 ml)萃取，乾燥，過濾並濃縮。藉由反相矽膠層析拜泰齊純化粗物質以獲得呈白色固體狀之(S)-2-((S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-二氟-4,4-二甲基戊醯胺基)-4-甲基戊酸甲酯(120 mg，58%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 461.0

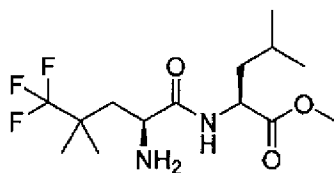
步驟2：(S)-2-((R)-2-胺基-5,5,5-三氟-4,4-二甲基戊醯胺基)-4-甲基戊酸甲酯：

在室溫下攪拌(S)-2-((S)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-二氟-4,4-二甲基戊醯胺基)-4-甲基戊酸甲酯(120 mg，0.26 mmol)及Pd/C (30 mg)於

THF (10 mL)中之溶液2小時，隨後過濾，濃縮。藉由反相矽膠層析拜泰齊純化粗物質以獲得呈白色固體狀之(S)-2-((S)-2-胺基-5,5,5-三氟-4,4-二甲基戊醯胺基)-4-甲基戊酸甲酯(49 mg, 57%)。ESI-MS (EI^+ , m/z): 326.0

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{MeOD-}d_4$): 4.47 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 3.99-3.97 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 2.33-2.28 (m, 1H), 1.95-1.91 (m, 1H), 1.69-1.68 (m, 3H), 1.24-1.17 (m, 6H), 1.00-0.94 (m, 6H)。

實例189：(S)-2-((S)-2-胺基-5,5,5-三氟-4,4-二甲基戊醯胺基)-4-甲基戊酸甲酯[I-189]：



I-189

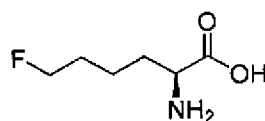
合成流程：

所使用之程序與實例188中所使用相同。

程序及特徵：

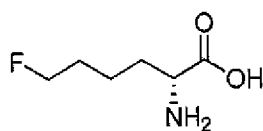
實例189：(S)-2-((S)-2-胺基-5,5,5-三氟-4,4-二甲基戊醯胺基)-4-甲基戊酸甲酯[I-189]： $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{MeOD-}d_4$): 4.52 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 4.02-3.99 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 2.35-2.30 (m, 1H), 1.95-1.91 (m, 1H), 1.78-1.67 (m, 3H), 1.25 (s, 3H), 1.17 (s, 3H), 1.01-0.97 (m, 6H)。

實例108：(S)-2-胺基-6-氟己酸[I-108].



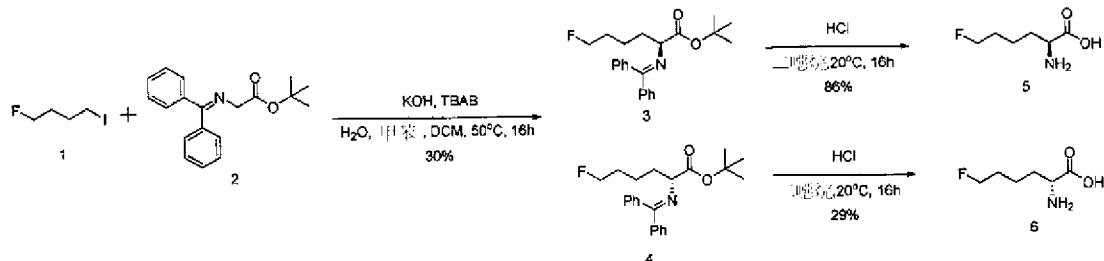
I-108

實例109：(R)-2-胺基-6-氟己酸[I-109].



I-109

合成流程：



程序及特徵：

步驟1：2-(二苯基亞甲基胺基)-6-氟己酸第三丁酯：

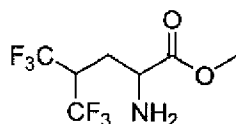
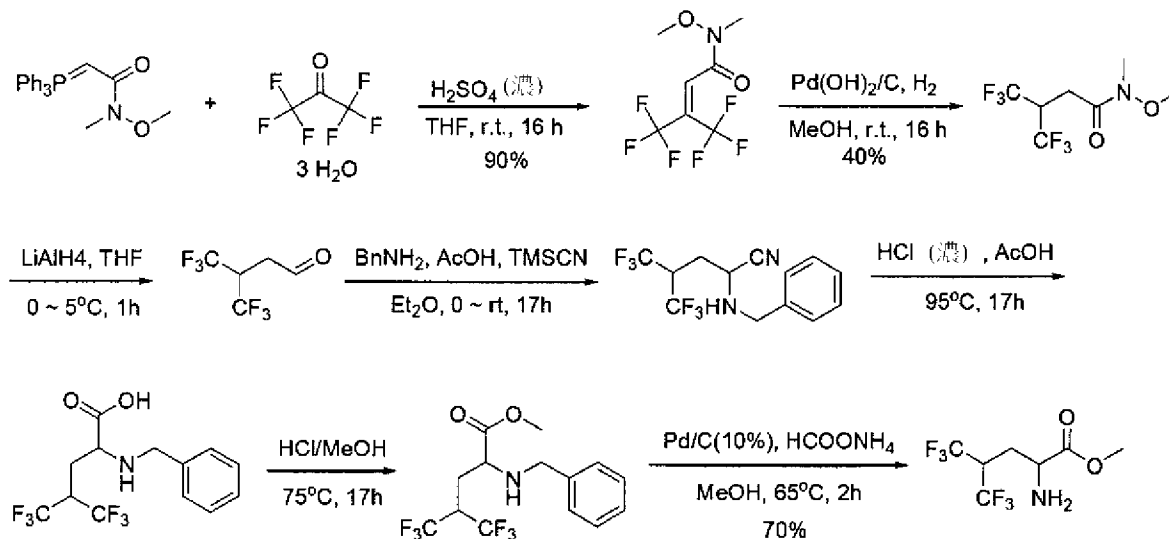
在50℃下攪拌1-氟-4-碘丁烷(2.0 g，9.90 mmol)、2-(二苯基亞甲基胺基)乙酸第三丁酯(2.43 g，8.25 mmol)、TBAB (266 mg，0.83 mmol)及KOH (50%水溶液) (10 mL)於DCM (10 mL)及甲苯(25 mL)中之混合物16小時。藉由SGC (二氧化矽，乙酸乙酯/石油醚=1/5)純化溶液，得到呈無色油狀之2-(二苯基亞甲基胺基)-6-氟己酸第三丁酯(0.91 g，2.47 mmol，30%)。MS (EI+, m/z): 370.2 [M+H]⁺。

步驟2：(S)-2-胺基-6-氟己酸[I-108]：

在室溫下攪拌(S)-2-(二苯基亞甲基胺基)-6-氟己酸第三丁酯(360 mg，0.97 mmol)於二噁烷(10 mL)及HCl (6 M水溶液)中之溶液16小時。混合物用乙醚及水萃取。水層在pH調節至3-4之後用EA萃取。濃縮有機層，得到呈白色固體狀之(S)-2-胺基-6-氟己酸[I-108] (125 mg，0.84 mmol，86%)。ESI-MS (EI+, m/z): 150.3 [M+H]⁺。1H NMR (500 MHz, D2O) δ 4.469 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.351 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 3.950 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 1.904-1.820 (m, 2H), 1.690-1.588 (m, 2H), 1.456-1.388 (m, 2H)。

步驟2：(R)-2-胺基-6-氟己酸[I-109]：

在室溫下攪拌(R)-2-(二苯基亞甲基胺基)-6-氟己酸第三丁酯(300 mg, 0.81 mmol)於二噁烷(10 mL)及HCl (6 M水溶液)中之溶液16小時。混合物用乙醚及水萃取。水層在pH調節至3-4之後用EA萃取。藉由HPLC純化有機層，得到呈白色固體狀之(R)-2-胺基-6-氟己酸[I-109] (35 mg, 0.23 mmol, 29%)。ESI-MS (EI+, m/z): 150.2 [M+H]⁺。1H NMR (500 MHz, D₂O) δ 4.505 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H), 4.410 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H), 3.823 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H), 1.906-1.827 (m, 2H), 1.722-1.639 (m, 2H), 1.485-1.399 (m, 2H)。

實例198：2-胺基-5,5,5-三氟-4-(三氟甲基)戊酸甲酯(I-198)：**I-198****合成流程：****程序及特徵：****步驟1：4,4,4-三氟-N-甲氧基-N-甲基-3-(三氟甲基)丁-2-烯醯胺：**

歷經1小時，向六氟丙酮三水合物(30 g, 136 mmol)之攪拌溶液中緩

慢逐滴添加 H_2SO_4 (100 mL, 濃), 且將氣態六氟丙酮引入*N*-甲氧基-*N*-甲基-2-(三苯基膦烯)-乙醯胺(10 g, 27.5 mmol)於THF (200 mL)之溶液中。在室溫下攪拌混合物16小時。隨後添加石油醚(200 mL), 濾出白色沈澱物。濃縮濾液, 藉由矽膠層析(石油醚/乙酸乙酯=5/1至3/1)純化殘餘物, 得到呈淡色油狀之4,4,4-三氟-*N*-甲氧基-*N*-甲基-3-(三氟甲基)丁-2-烯醯胺(6.2 g, 24.7 mmol, 90%)。ESI-MS (EI^+ , m/z): 252.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 7.15 (s, 1H), 3.67 (s, 3H), 3.26 (s, 3H)。

步驟2：4,4,4-三氟-*N*-甲氧基-*N*-甲基-3-(三氟甲基)丁醯胺：

在室溫下在氬氣氛圍下攪拌4,4,4-三氟-*N*-甲氧基-*N*-甲基-3-(三氟甲基)丁-2-烯醯胺(4.5 g, 17.9 mmol)、 $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (620 mg)於MeOH (100 mL)中之混合物16小時。隨後過濾並濃縮, 得到呈淡色油狀之4,4,4-三氟-*N*-甲氧基-*N*-甲基-3-(三氟甲基)丁醯胺(1.8 g, 7.1 mmol, 40%)。ESI-MS (EI^+ , m/z): 254.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步驟3：4,4,4-三氟-3-(三氟甲基)丁醛：

在冰浴下, 向4,4,4-三氟-*N*-甲氧基-*N*-甲基-3-(三氟甲基)丁醯胺(1.8 g, 7.1 mmol)於THF (50 mL)中之溶液中逐滴添加 LiAlH_4 (8.5 mL, 8.5 mmol), 在1小時之後, 混合物用檸檬酸溶液(100 mL)淬滅, 溶液用 Et_2O (100 mL $\times$ 2)萃取, 有機相用鹽水(100 mL)洗滌, 乾燥(Na_2SO_4), 且溶液用於下一步驟。

步驟4：2-(苯甲基胺基)-5,5,5-三氟-4-(三氟甲基)戊腈：

在冰浴下, 向4,4,4-三氟-3-(三氟甲基)丁醛於 Et_2O (200 mL)中之上述溶液中添加苯甲基胺(2 mL)、AcOH (2 mL)及隨後TMSCN (2 mL), 在0至室溫下攪拌溶液17小時, 且隨後用EtOAc (100 mL)稀釋。溶液用 H_2O

(100 mL×2)洗滌，且隨後濃縮，得到呈棕色液體狀之2-(苯甲基胺基)-5,5,5-三氟-4-(三氟甲基)戊腈(2.1 g，粗物質)。ESI-MS (EI^+ , m/z): 311.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步驟5：2-(苯甲基胺基)-5,5,5-三氟-4-(三氟甲基)戊酸：

將2-(苯甲基胺基)-5,5,5-三氟-4-(三氟甲基)戊腈(2.1 g，粗物質)於濃HCl (50 mL)及AcOH (10 mL)中之溶液加熱至100°C持續40小時。濃縮混合物以移除溶劑，用1 M NaOH溶液將pH調節至12，用PE (100 mL)萃取，用6 M HCl將水相pH調節5-6，形成白色固體，過濾，且用水(50 mL)洗滌濾餅，真空乾燥，得到呈白色固體狀之2-(苯甲基胺基)-5,5,5-三氟-4-(三氟甲基)戊酸(1.0 g，3.0 mmol，42%，3個步驟)。ESI-MS (EI^+ , m/z): 272.0

步驟6：2-(苯甲基胺基)-5,5,5-三氟-4-(三氟甲基)戊酸甲酯：

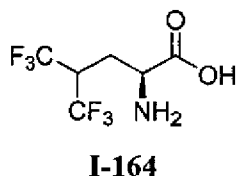
將2-(苯甲基胺基)-5,5,5-三氟-4-(三氟甲基)戊酸(800 mg，2.4 mmol)於HCl/MeOH (50 mL，2 M)中之溶液加熱至75°C持續17小時。濃縮溶液且藉由製備型HPLC (Boston C18 21×250 mm 10 μm 移動相：A：0.1% TFA；B：ACN)純化，得到呈無色油狀之2-(苯甲基胺基)-5,5,5-三氟-4-(三氟甲基)戊酸甲酯(120 mg，0.35 mmol，15%)。ESI-MS (EI^+ , m/z): 344.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步驟7：2-胺基-5,5,5-三氟-4-(三氟甲基)戊酸甲酯三氟乙酸：

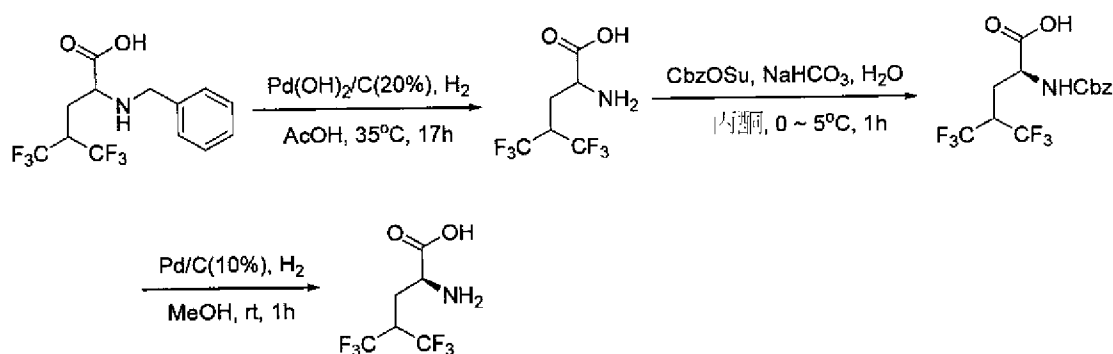
將2-(苯甲基胺基)-5,5,5-三氟-4-(三氟甲基)戊酸甲酯(100 mg，0.30 mmol)、 HCOONH_4 (92 mg，1.5 mmol)及Pd/C (10%，20 mg)於MeOH (10 mL)中之混合物加熱至65°C持續1小時。過濾混合物，且濃縮濾液且藉由反相矽膠層析純化，得到呈白色固體狀之2-胺基-5,5,5-三氟-4-(三氟

甲基)戊酸甲酯三氟乙酸(76 mg, 0.21 mmol, 70%)。ESI-MS (EI^+ , m/z): 254.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H NMR (500 MHz, $\text{MeOD}-d_4$) δ 4.26 (dd, $J = 7.5$ Hz, $J = 6.0$ Hz, 1H), 3.91 (m, 4H), 2.49 (dd, $J = 8.5$ Hz, $J = 5.0$ Hz, 1H), 2.33-2.37 (m, 1H)。

實例164：(*S*)-2-胺基-5,5,5-三氟-4-(三氟甲基)戊酸(**I-164**)：



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：2-胺基-5,5,5-三氟-4-(三氟甲基)戊酸：

在35°C下在氫氣下攪拌2-(苯甲基胺基)-5,5,5-三氟-4-(三氟甲基)戊酸(480 mg, 1.46 mmol)及 $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (20%, 100 mg)於AcOH (15 mL)中之溶液17小時。過濾混合物且在真空中濃縮濾液，得到呈白色固體狀之2-胺基-5,5,5-三氟-4-(三氟甲基)戊酸(460 mg, 粗物質)。ESI-MS (EI^+ , m/z): 240.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步驟2：(*S*)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟-4-(三氟甲基)戊酸：

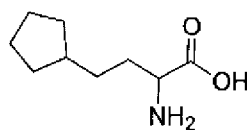
在冰浴下，向2-胺基-5,5,5-三氟-4-(三氟甲基)戊酸(460 mg, 粗物質)及 NaHCO_3 (368 mg, 4.38 mmol)於丙酮(30 mL)及 H_2O (30 mL)中之

溶液中添加CbzOSu (727 mg, 2.92 mmol)。在17小時之後，用1 M HCl溶液將反應混合物pH調節至3-4，且溶液用EtOAc (50 mL×2)萃取，用鹽水(50 mL)洗滌，乾燥(Na_2SO_4)，過濾且在真空中濃縮，藉由反相矽膠層析，且隨後對掌性製備型HPLC [管柱，CC4 4.6×250 mm 5 μm ；溶劑，MeOH (0.2% 甲醇氨)]純化粗產物，得到呈兩種無色油狀之(*S*)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟-4-(三氟甲基)戊酸(27 mg, 0.072 mmol, 5%，2個步驟)及(*R*)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟-4-(三氟甲基)戊酸(22 mg, 0.059 mmol, 4%，2個步驟)。ESI-MS (E^+ , m/z): 396.0 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ 。

步驟3：(*S*)-2-胺基-5,5,5-三氟-4-(三氟甲基)戊酸：

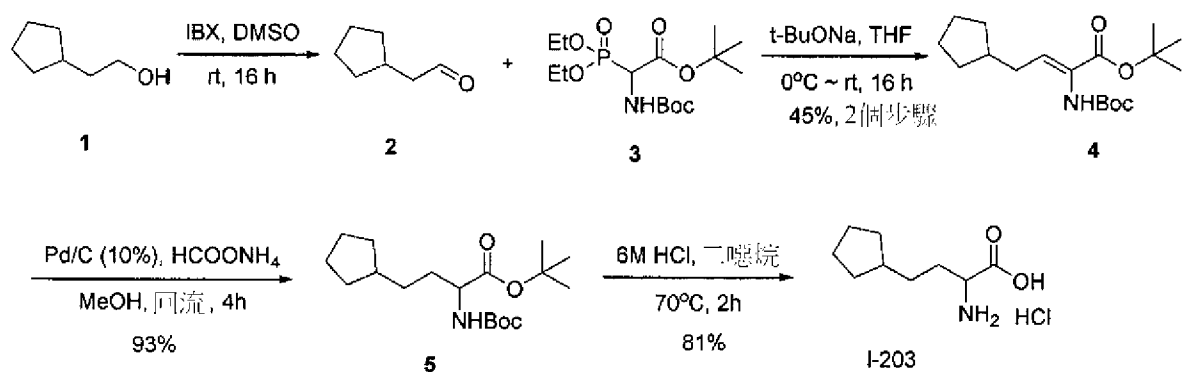
在室溫下，攪拌(*S*)-2-(苯甲氧基羰基胺基)-5,5,5-三氟-4-(三氟甲基)戊酸(27 mg, 0.072 mmol)及Pd/C (10%，5 mg)於MeOH (10 mL)中之混合物1小時。過濾溶液且藉由反相矽膠層析純化，得到呈白色固體狀之(*S*)-2-胺基-5,5,5-三氟-4-(三氟甲基)戊酸[I-164] (8.5 mg, 0.036 mmol, 49%)。MS (EI^+ , m/z): 240.2 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ 。 ^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 3.74-3.80 (m, 2H), 2.88-2.31 (m, 1H), 1.91-2.20 (m, 1H)。

實例203：2-胺基-4-環戊基丁酸[I-203]：



I-203

合成流程：



程序及特徵：

步驟1：2-環戊基乙醛：

在冰浴下，向3-環戊基丙-1-醇(2.0 g，17.5 mmol)於DMSO (40 mL)中之溶液中添加IBX (7.35 g，26.3 mmol)。使混合物升溫至室溫且攪拌隔夜。將反應混合物倒入水(200 mL)中且用Et₂O (100 mL×2)萃取，有機相用水(100 mL×3)及鹽水(100 mL)洗滌，乾燥(Na₂SO₄)，且溶液用於下一步驟。

步驟2：(Z)-2-(第三丁氧羰基胺基)-4-環戊基丁-2-烯酸第三丁酯：

在冰浴下，向威梯反應劑(2.5 g，6.8 mmol)於THF (50 mL)中之溶液中添加NaOt-Bu (785 mg，8.2 mmol)。在1小時之後，添加2-環戊基乙醛於Et₂O (200 mL)中之上述溶液。使混合物升溫至室溫且攪拌隔夜。溶液用水(200 mL)稀釋且用EA (100 mL×2)萃取，有機相用水(100 mL×2)及鹽水(100 mL)洗滌，乾燥(Na₂SO₄)，過濾且在真空中濃縮且藉由層析(二氧化矽，乙酸乙酯/石油醚=1/20)純化，得到呈無色液體狀之(Z)-2-(第三丁氧羰基胺基)-4-環戊基丁-2-烯酸第三丁酯(1.0 g，3.1 mmol，45%，2個步驟)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 326.2 [M+H]⁺。

步驟3：2-(第三丁氧羰基胺基)-4-環戊基丁酸第三丁酯：

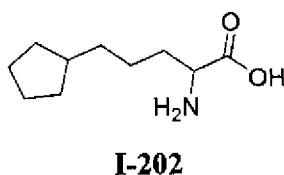
將(Z)-2-(第三丁氧羰基胺基)-4-環戊基丁-2-烯酸第三丁酯(240 mg，0.74 mmol)、HCOONH₄ (233 mg，3.7 mmol)及Pd/C (10%，30 mg)於

MeOH (15 mL)中之混合物加熱至回流持續4小時。過濾並濃縮混合物，用Et₂O (50 mL)稀釋，用水(50 mL)及鹽水(50 mL)洗滌，乾燥(Na₂SO₄)，過濾且在真空中濃縮，得到呈無色液體狀之2-(第三丁氧羰基胺基)-4-環戊基丁酸第三丁酯(224 mg, 0.69 mmol, 93%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 328.2 [M+H]⁺。

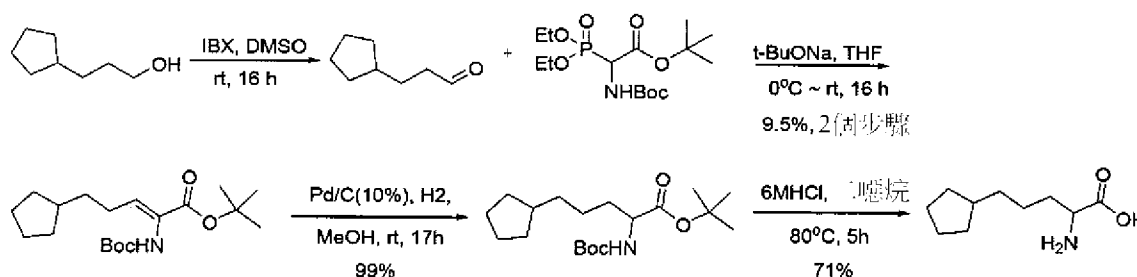
步驟4：2-胺基-4-環戊基丁酸：

將2-(第三丁氧羰基胺基)-4-環戊基丁酸第三丁酯(224 mg, 0.69 mmol)於6 M HCl (20 mL)及二噁烷(10 mL)中之溶液加熱至70°C持續2小時。混合物在真空中濃縮，用水(30 mL)稀釋，用Et₂O (20 mL×2)萃取，且將濾液濃縮至乾燥，得到呈白色固體狀之2-胺基-4-環戊基丁酸(114.9 mg, 0.52 mmol, 81%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 172.3 [M+H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 3.91 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H), 1.82-1.89 (m, 2H), 1.66-1.72 (m, 3H), 1.28-1.52 (m, 6H), 1.00-1.01 (m, 2H)。

實例202：2-胺基-5-環戊基戊酸[I-202]：



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：3-環戊基丙醛：

在冰浴下，向3-環戊基丙-1-醇(1.0 g，7.8 mmol)於DMSO (20 mL)中之溶液中添加IBX (3.28 g，11.7 mmol)。使混合物升溫至室溫且攪拌隔夜。將反應混合物倒入水(100 mL)中且用Et₂O (60 mL×2)萃取，有機相用水(100 mL×3)及鹽水(100 mL)洗滌，乾燥(Na₂SO₄)，且溶液用於下一步驟。

步驟2：(E)-2-(第三丁氧羰基胺基)-5-環戊基戊-2-烯酸第三丁酯：

在冰浴下，向威悌反應劑(500 mg，1.36 mmol)於THF (15 mL)中之溶液中添加NaOt-Bu (157 mg，1.63 mmol)。在1小時之後，添加3-環戊基丙醛於Et₂O (100 mL)中之上述溶液。使混合物升溫至室溫且攪拌隔夜。溶液用水(200 mL)稀釋且用EtOAc (100 mL)萃取，有機相用水(100 mL×2)及鹽水(100 mL)洗滌，乾燥(Na₂SO₄)，過濾且在真空中濃縮且藉由層析(二氧化矽，乙酸乙酯/石油醚=1/20)純化，得到呈無色液體狀之(E)-2-(第三丁氧羰基胺基)-5-環戊基戊-2-烯酸第三丁酯(250 mg，0.74 mmol，9.5%，2個步驟)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 340.2 [M+H]⁺。

步驟3：2-(第三丁氧羰基胺基)-5-環戊基戊酸第三丁酯：

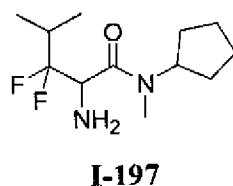
在室溫下，在氫氣下攪拌2-(第三丁氧羰基胺基)-5-環戊基戊-2-烯酸酯(250 mg，0.74 mmol)及Pd/C (10%，30 mg)於MeOH (15 mL)中之混合物17小時。過濾並濃縮混合物，得到呈無色液體狀之2-(第三丁氧羰基胺基)-5-環戊基戊酸第三丁酯(250 mg，0.73 mmol，99%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 342.2 [M+H]⁺。

步驟4：2-胺基-5-環戊基戊酸：

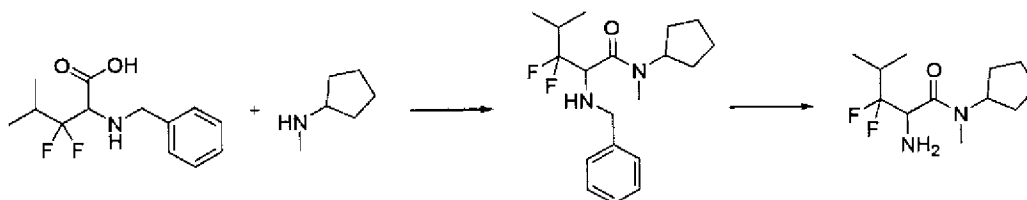
將2-(第三丁氧羰基胺基)-5-環戊基戊酸酯(250 mg，0.73 mmol)於6 M HCl (20 mL)及二噁烷(10 mL)中之溶液加熱至80°C持續5小時。混合物

在真空中濃縮，用水(30 mL)稀釋，用Et₂O (20 mL×2)萃取，且將濾液濃縮至乾燥，得到呈白色固體狀之2-胺基-5-環戊基戊酸(115 mg，0.52 mmol，71%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 186.2 [M+H]⁺。 ¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ 3.84 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H), 1.79-1.84 (m, 2H), 1.61-1.67 (m, 3H), 1.25-1.49 (m, 8H), 0.95-0.99 (m, 2H)。

實例197：合成2-胺基-N-環戊基-3,3-二氟-N,4-二甲基戊醯胺[I-197]：



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：2-(苯甲基胺基)-N-環戊基-3,3-二氟-N,4-二甲基戊醯胺：

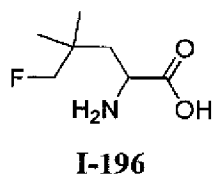
在室溫下攪拌2-(苯甲基胺基)-3,3-二氟-4-甲基戊酸(80 mg，0.31 mmol)、N-甲基環戊胺(62 mg，0.62 mmol)、HATU (141 mg，0.37 mmol)及Et₃N (94 mg，0.93)於DMF (2 mL)中之混合物3小時。藉由製備型HPLC (Boston C18 21×250 mm 10 μm，移動相：A：0.1% TFA；B：ACN)純化混合物，得到呈白色固體狀之2-(苯甲基胺基)-N-環戊基-3,3-二氟-N,4-二甲基戊醯胺(45 mg，0.13 mmol，43%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 339.0

步驟2：2-胺基-N-環戊基-3,3-二氟-N,4-二甲基戊醯胺：

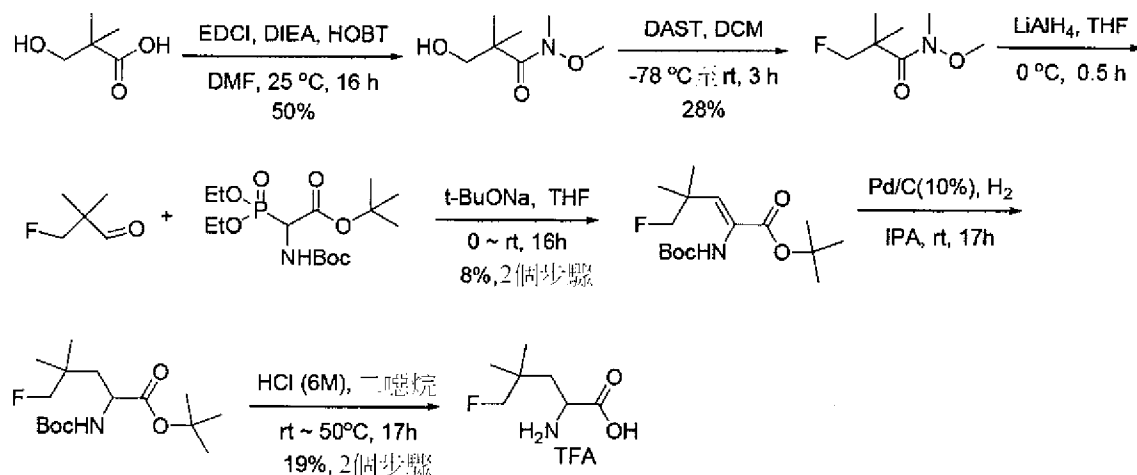
將2-(苯甲基胺基)-N-環戊基-3,3-二氟-N,4-二甲基戊醯胺(45 mg，

0.13 mmol)、 HCOONH_4 (41 mg, 0.65 mmol)及Pd/C (10%, 10 mg)於MeOH (5 mL)中之混合物加熱至60°C持續1小時。過濾混合物，且濃縮濾液且藉由反相矽膠層析純化，得到呈白色固體狀之2-胺基-N-環戊基-3,3-二氟-N,4-二甲基戊醯胺(16.3 mg, 0.066 mmol, 49%)。ESI-MS (EI^+ , m/z): 249.2 ^1H NMR (500 MHz, $\text{MeOD}-d_4$) δ 5.26 (dd, $J = 15.5$ Hz, $J = 6.0$ Hz, 0.5H), 5.08 (dd, $J = 16.5$ Hz, $J = 5.0$ Hz, 1H), 4.28-4.31 (m, 0.5H), 2.97 (d, $J = 48.5$ Hz, 3H), 2.38 (m, 1H), 1.65-1.99 (m, 8H), 11.16 (dt, $J = 6.5$ Hz, $J = 3.0$ Hz, 6H)。

實例196：2-胺基-5-氟-4,4-二甲基戊酸[I-196].



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：3-羥基-N-甲氧基-N,2,2-三甲基丙醯胺：

在室溫下攪拌3-羥基-2,2-二甲基丙酸(10 g, 84.7 mmol)、*N,O*-二甲基羥胺鹽酸鹽(16.4 g, 101.7 mmol)、EDCI (24.4 g, 127.1 mmol)、HOBT (17.2 g, 127.1 mmol)及DIPEA (28 mL, 169.5 mmol)於DMF

(200 mL)中之混合物16小時。反應混合物用EtOAc (200 mL × 3)及水(100 mL)萃取，合併有機層，其用1 N HCl (30 mL × 2)、1 N NaHCO₃ (30 mL×2)及鹽水(50 mL)洗滌，乾燥，濃縮，得到殘餘物，其藉由層析(二氧化矽，乙酸乙酯/石油醚=1/2)純化，得到呈無色油狀之3-羥基-N-甲氧基-N,2,2-三甲基丙醯胺(6.9 g，50%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 162.2 [M+H]⁺。

步驟2：3-氟-N-甲氧基-N,2,2-三甲基丙醯胺：

向3-羥基-N-甲氧基-N,2,2-三甲基丙醯胺(4.5 g，27.9 mmol)於冷卻至-78℃之DCM (40 mL)中之混合物中逐滴添加DAST (7.4 mL，55.9 mmol)。隨後在室溫下攪拌1至2小時，再次冷卻至-78℃，逐滴添加DAST (4 mL，27.9 mmol)。在室溫下再攪拌反應混合物1小時。使反應混合物冷卻至-78℃，緩慢添加飽和NH₄Cl (15 mL)，添加DCM (50 mL)，分離有機層，用飽和NH₄Cl (30 mL)、鹽水(30 mL×2)洗滌，乾燥，濃縮產生殘餘物，其藉由層析(二氧化矽，乙酸乙酯/石油醚=1/4)純化，得到呈無色油狀之3-氟-N-甲氧基-N,2,2-三甲基丙醯胺(1.9 g，28%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 164.2 [M+H]⁺。

步驟3：3-氟-2,2-二甲基丙醛：

向3-氟-N-甲氧基-N,2,2-三甲基丙醯胺(1.0 g，61.3 mmol)於冷卻至0℃之THF (10 mL)中之混合物中逐滴添加LiAlH₄ (6.1 mL，61.3 mmol，1 M於THF中)。隨後在此溫度下攪拌0.5至1小時。緩慢添加飽和NH₄Cl (10 mL)，用Et₂O (20 mL×3)萃取，用水(15 mL×2)及鹽水(15 mL)洗滌，乾燥，直接用於下一步驟。ESI-MS (EI⁺, m/z): 無MS。

步驟4：(Z)-2-(第三丁氧羰基胺基)-5-氟-4,4-二甲基戊-2-烯酸第三丁酯：

在室溫下攪拌3-氟-2,2-二甲基丙醛(約630 mg, 6.1 mmol, 來自上述步驟之Et₂O溶液)、2-(第三丁氧羰基胺基)-2-二乙氧基磷醯基-乙酸第三丁酯(2.25 g, 6.1 mmol)及*t*-BuONa (1.2 g, 12.3 mmol)於THF (15 mL)中之混合物16小時。添加飽和NH₄Cl (15 mL), 用EA (30 mL×3)萃取, 與有機層合併, 用水(15 mL)及鹽水(15 mL)洗滌, 乾燥, 濃縮產生殘餘物, 其藉由層析(二氧化矽, 石油醚至DCM)純化, 得到呈白色固體狀之(Z)-2-(第三丁氧羰基胺基)-5-氟-4,4-二甲基戊-2-烯酸第三丁酯(190 mg, 0.60 mmol, 8%)。ESI-MS (EI⁺, *m/z*): 206 [M-111]⁺。

步驟5：2-(第三丁氧羰基胺基)-5-氟-4,4-二甲基戊酸第三丁酯：

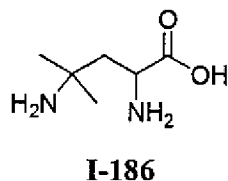
在室溫下在氫氣下攪拌(Z)-2-(第三丁氧羰基胺基)-5-氟-4,4-二甲基戊-2-烯酸第三丁酯(190 mg, 0.60 mmol)及Pd/C (10%, 30 mg)於IPA (15 mL)中之混合物17小時。過濾並濃縮混合物, 得到呈無色液體狀之2-(第三丁氧羰基胺基)-5-氟-4,4-二甲基戊酸第三丁酯(200 mg, 粗物質)。ESI-MS (EI⁺, *m/z*): 342.2 [M+Na]⁺。

步驟6：2-胺基-5-氟-4,4-二甲基戊酸三氟乙酸：

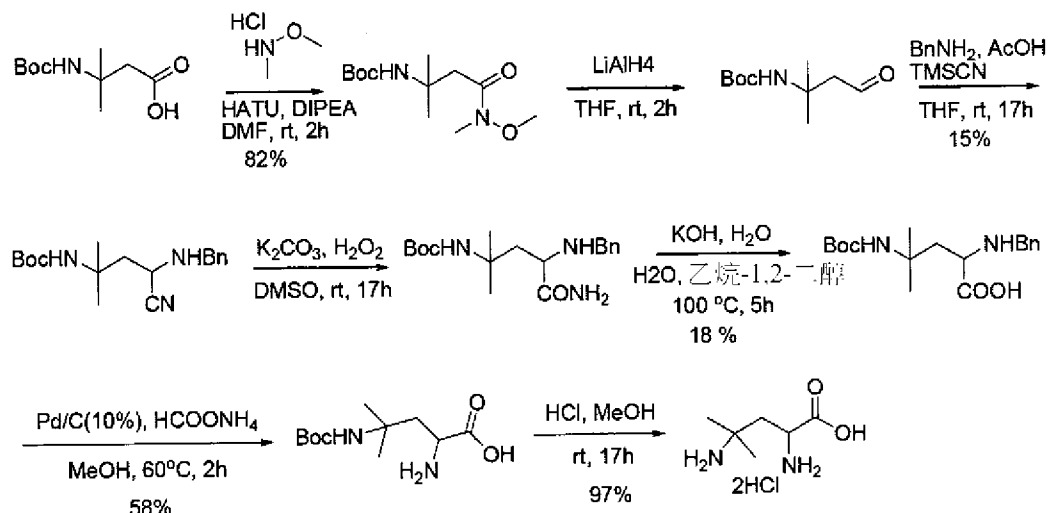
將2-(第三丁氧羰基胺基)-5-氟-4,4-二甲基戊酸第三丁酯(200 mg, 粗物質)於6 M HCl (20 mL)及二噁烷(10 mL)中之溶液加熱至50°C持續17小時。在真空中濃縮混合物, 用水(30 mL)稀釋, 用Et₂O (20 mL×2)萃取, 且在真空中濃縮濾液且藉由反相矽膠層析純化, 得到呈白色固體狀之2-胺基-5-環戊基戊酸三氟乙酸(31.7 mg, 0.11 mmol, 19%)。ESI-MS (EI⁺, *m/z*): 164.2 [M+H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 4.16 (d, *J* = 47.5 Hz, 1H), 3.97 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H), 2.03 (dd, *J* = 15.5 Hz, *J* = 5.5 Hz, 1H), 1.71 (dd, *J* = 15.5 Hz, *J* = 6.0 Hz, 1H), 0.91 (dd, *J* = 15.0 Hz, *J* = 2.0

Hz, 6H)。

實例186：合成2,4-二氨基-4-甲基戊酸[I-186]：



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：4-(甲氧基(甲基)胺基)-2-甲基-4-側氧基丁-2-基胺基甲酸第三丁酯：

向3-(第三丁氧羰基胺基)-3-甲基丁酸(1 g, 4.61 mmol)、*N,O*-二甲基脛胺鹽酸鹽(536 mg, 5.53 mmol)、HATU (2.26 g, 5.99 mmol)於DMF (15 mL)中之溶液中添加DIPEA (1.49 g, 11.53 mmol)。在室溫下攪拌溶液2小時，隨後藉由鹽水(100 mL)稀釋混合物，藉由EtOAc (50 mL×2)萃取。合併有機層，濃縮且藉由層析(二氧化矽，乙酸乙酯/石油醚=1/3)純化，得到呈無色油狀之4-(甲氧基(甲基)胺基)-2-甲基-4-側氧基丁-2-基胺基甲酸第三丁酯(1.0 g, 3.8 mmol, 82%)。ESI-MS (EI^+ , m/z): 261.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步驟2：2-甲基-4-側氧基丁-2-基胺基甲酸第三丁酯：

在室溫下，向4-(甲氧基(甲基)胺基)-2-甲基-4-側氧基丁-2-基胺基甲酸第三丁酯(3.8 g, 14.6 mmol)於THF (50 mL)中之溶液中添加LiAlH₄ (16 mL, 1 M於THF中)。在室溫下攪拌溶液2小時，藉由Na₂SO₄·10H₂O淬滅，過濾且藉由THF洗滌，得到呈黃色溶液狀之2-甲基-4-側氧基丁-2-基胺基甲酸第三丁酯(約14 mmol於110 mL THF中)。MS (EI⁺, m/z): 146.3 [M+H-56]⁺。

步驟3：4-(苯甲基胺基)-4-氰基-2-甲基丁-2-基胺基甲酸第三丁酯：

向2-甲基-4-側氧基丁-2-基胺基甲酸第三丁酯(粗物質，約14 mmol)於110 mL THF中之溶液中添加BnNH₂ (2.2 mL)及AcOH (2.2 mL)。在室溫下攪拌溶液10分鐘。添加TMSCN (2.2 mL)。在室溫下攪拌混合物17小時。隨後，濃縮反應混合物且藉由層析(二氧化矽，乙酸乙酯/石油醚=1/4)，得到呈黃色摻雜物狀之4-(苯甲基胺基)-4-氰基-2-甲基丁-2-基胺基甲酸第三丁酯(670 mg, 2.11 mmol, 15%)。MS (EI⁺, m/z): 318.3 [M+H]⁺。

步驟4：5-胺基-4-(苯甲基胺基)-2-甲基-5-側氧基戊-2-基胺基甲酸第三丁酯：

向4-(苯甲基胺基)-4-氰基-2-甲基丁-2-基胺基甲酸第三丁酯(640 mg, 2.00 mmol)、K₂CO₃ (550 mg, 3.98 mmol)於DMSO (16 mL)中之混合物中添加30% H₂O₂ (0.64 mL, 5.67 mmol)且在室溫下攪拌17小時。隨後，藉由H₂O (200 mL)稀釋反應混合物，藉由EtOAc (100 mL×2)萃取。濃縮經合併之有機層，得到呈黃色摻雜物狀之2-(苯甲基胺基)-4-(第三丁氧羰基胺基)-4-甲基戊酸(粗物質，890 mg)。MS (EI⁺, m/z): 336.0

$[M+H]^+$ 。

步驟5：2-(苯甲基胺基)-4-(第三丁氧羰基胺基)-4-甲基戊酸：

在100℃下攪拌5-胺基-4-(苯甲基胺基)-2-甲基-5-側氧基戊-2-基胺基甲酸第三丁酯(粗物質，890 mg，約2.0 mmol)、KOH (406 mg，7.25 mmol)於乙烷-1,2-二醇(9 mL)及H₂O (9 mL)中之混合物5小時。隨後，藉由鹽水(200 mL)稀釋反應混合物，藉由THF/EA=2:1 (90 mL×5)萃取，合併有機層，濃縮且藉由反相HPLC (Boston C18 21×250 mm 10 μm，移動相：A：0.1%三氟乙酸；B：乙腈)純化，得到呈白色固體狀之2-(苯甲基胺基)-4-(第三丁氧羰基胺基)-4-甲基戊酸(120 mg，0.36 mmol，18%)。MS (EI⁺, m/z): 337.3 $[M+H]^+$ 。

步驟6：2-胺基-4-(第三丁氧羰基胺基)-4-甲基戊酸：

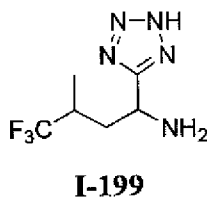
將2-(苯甲基胺基)-4-(第三丁氧羰基胺基)-4-甲基戊酸(140 mg，0.42 mmol)、HCOONH₄ (132 mg，2.1 mmol)及Pd/C (10%，20 mg)於MeOH (15 mL)中之混合物加熱至60℃持續1小時。過濾混合物，且濃縮濾液且藉由反相矽膠層析純化，得到呈白色固體狀之2-胺基-4-(第三丁氧羰基胺基)-4-甲基戊酸(60 mg，0.24 mmol，58%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 247.2

步驟7：2,4-二胺基-4-甲基戊酸：

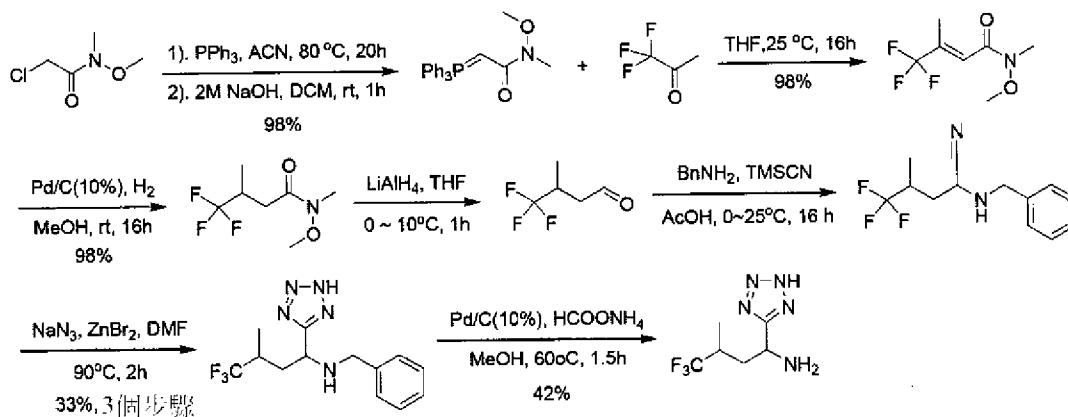
在室溫下攪拌2-胺基-4-(第三丁氧羰基胺基)-4-甲基戊酸(60 mg，0.24 mmol)於6 M HCl (10 mL)及二噁烷(0 mL)中之溶液17小時。在真空中濃縮溶液，得到呈白色固體狀之2,4-二胺基-4-甲基戊酸(51.8 mg，0.236 mmol，97%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 147.1 ¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 4.04 (dd, J = 9.5 Hz, J = 3.5 Hz, 1H), 2.32 (dd, J = 15.0 Hz, J = 9.5 Hz, 1H), 1.94 (dd, J = 15.0 Hz, J = 3.0 Hz, 1H), 1.38 (dd, J = 9.5 Hz,

$J = 5.0 \text{ Hz}$, 6H)。

實例199：合成4,4,4-三氟-3-甲基-1-(2H-四唑-5-基)丁-1-胺[I-199]：



合成流程：



程序及特徵：

步驟1：N-甲氧基-N-甲基-2-(聯三苯-15-伸磷烷基)乙醯胺：

將2-氯-N-甲氧基-N-甲基乙醯胺(13.7 g, 0.1 mol)及三苯基膦(26.2 g, 0.1 mol)於乙腈(200 mL)中之混合物加熱至80°C且保持20小時。冷卻且濃縮混合物以在低於40°C下移除溶劑。使殘餘物溶解於二氯甲烷(200 mL)，繼而2 N KOH (100 mL)中。在20°C下攪拌所得混合物1小時。有機層用鹽水(200 mL × 3)洗滌，經Na₂SO₄乾燥且過濾。在真空中濃縮濾液，得到呈黃色固體狀之N-甲氧基-N-甲基-2-(聯三苯-15-伸磷烷基)乙醯胺(36 g, 0.1 mol, 98%)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 364.4 [M+H]⁺。

步驟2：(E)-4,4,4-三氟-N-甲氧基-N,3-二甲基丁-2-烯醯胺：

將N-甲氧基-N-甲基-2-(聯三苯-15-伸磷烷基)乙醯胺(36.3 g, 0.1 mol)及1,1,1-三氟丙-2-酮(22.4 g, 0.2 mol)於四氫呋喃(500 mL)中之混合

物加熱至20℃且保持20小時。冷卻且濃縮混合物以在低於40℃下在真空中移除溶劑。藉由用0至25%乙酸乙酯/石油醚溶離之矽膠管柱(200 g, 200至300目, UV 254 nm)純化殘餘物, 得到呈黃色油狀之(E)-4,4,4-三氟-N-甲氧基-N,3-二甲基丁-2-烯醯胺(19.5 g, 0.1 mol, 98%)。ESI-MS (EI^+ , m/z): 198.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步驟3：4,4,4-三氟-N-甲氧基-N,3-二甲基丁醯胺：

在26℃下攪拌(E)-4,4,4-三氟-N-甲氧基-N,3-二甲基丁-2-烯醯胺(2 g, 0.01 mol)及Pd/C (10%, 200 mg)於THF (50 mL)中之混合物持續18小時。過濾混合物, 且在真空中將濾液濃縮至乾燥, 得到呈黃色油狀之4,4,4-三氟-N-甲氧基-N,3-二甲基丁醯胺(2 g, 0.01 mol, 98%)。ESI-MS (EI^+ , m/z): 200.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步驟4：4,4,4-三氟-3-甲基丁醛：

在0℃下, 向4,4,4-三氟-N-甲氧基-N,3-二甲基丁醯胺(2 g, 0.01 mol)於40 mL THF中之溶液中添加 LiAlH_4 (0.4 g, 0.01 mol)。在0℃下攪拌混合物1小時。反應混合物用水, 繼而甲基第三丁基醚(30 mL $\times$ 2)淬滅。有機層用鹽水(50 mL $\times$ 3)洗滌, 經 Na_2SO_4 乾燥且過濾。含有濾過物, 得到直接用於下一步驟中之呈無色溶液狀之4,4,4-三氟-3-甲基丁醛(1.4 g, 粗物質)。

步驟5：2-(苯甲基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲基戊腈：

在冰浴下, 向上述4,4,4-三氟-3-甲基丁醛於甲基第三丁基醚(100 mL)中之溶液中添加苯甲基胺(1.5 mL)、AcOH (1.0 mL)及隨後 TMSCN (1.5 mL)。使混合物升溫20℃且攪拌隔夜。溶液用水(30 mL)稀釋且用EtOAc (30 mL)萃取。有機相用水(30 mL $\times$ 2)及鹽水(50 mL)洗滌, 乾燥

(Na₂SO₄)，過濾且在真空中濃縮，得到用於下一步驟之呈褐色油狀之2-(苯甲基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲基戊腈(2.6 g，粗物質)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 257.3 [M+H]⁺。

步驟6：N-苯甲基-4,4,4-三氟-3-甲基-1-(2H-四唑-5-基)丁-1-胺：

向2-(苯甲基胺基)-5,5,5-三氟-4-甲基戊腈(0.3 g，粗物質)於DMF (10 mL)中之溶液中添加NH₄Cl (0.15 g，0.003 mol)，且將NaN₃ (0.21 g，0.003 mol)加熱至95℃持續18小時。使溶液冷卻至15℃且用EtOAc (20 mL)萃取，有機相用水(20 mL×2)及鹽水(20 mL)洗滌，乾燥(Na₂SO₄)，過濾且在真空中濃縮，得到呈白色固體狀之N-苯甲基-4,4,4-三氟-3-甲基-1-(2H-四唑-5-基)丁-1-胺(0.1 g，0.5 mmol，33%，對於3個步驟)。ESI-MS (EI⁺, m/z): 300.3 [M+H]⁺。

4,4,4-三氟-3-甲基-1-(2H-四唑-5-基)丁-1-胺三氟乙酸：

在室溫下，向N-苯甲基-4,4,4-三氟-3-甲基-1-(2H-四唑-5-基)丁-1-胺(160 mg，0.54 mmol)於MeOH (15 mL)中之溶液中添加HCOONH₄ (0.17 g，2.7 mmol)及Pd/C (30 mg)。在60℃下攪拌混合物2小時。過濾且濃縮反應混合物以產生粗產物，其藉由反相矽膠層析純化，得到呈白色固體狀之4,4,4-三氟-3-甲基-1-(2H-四唑-5-基)丁-1-胺三氟乙酸(72.8 mg，0.23 mmol，42%)；ESI-MS (EI⁺, m/z): 210.2 [M+H]⁺；¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 4.67-4.93 (m, 1H), 2.31 - 2.41 (m, 1H), 2.00-2.12 (m, 2H), 0.99 (dd, *J* = 16.8, *J* = 6.4 Hz, 6H)。

實例210西方墨點分析

此篩選分析量測經由自HEK293T細胞穩定地表現FLAG-WDR24之免疫沈澱純化之GATOR2/Sestrin2複合物之活體外測試化合物活性。經由

藉由慢病毒轉導，HEK293T細胞(293T)經工程改造以穩定地表現N端帶標記的FLAG-WDR24。慢病毒藉由慢病毒轉移載體pLJM60與ΔVPR包膜共同轉染及使用XTremeGene 9轉染劑(Roche Diagnostics)使CMV VSV-G將質粒封裝至HEK-293T細胞中產生。在轉染後24小時，將培養基換為補充有30%不活化胚胎血清之杜爾貝科氏修飾伊格爾培養基(Dulbecco's Modified Eagle's media, DMEM)。含有病毒之上清液在轉染之後48及72小時收集且傳送通過0.45 μm過濾器以消除細胞。6孔組織培養培養板中之靶細胞在含有8 μg/mL凝聚胺之培養基中經感染且藉由離心，在2,200 rpm下進行自旋感染1小時。在感染之後二十四小時，移除病毒且選擇具有適當的抗生素之細胞。隨後使細胞於補充有10%胎牛血清及抗生素之DMEM中生長。

為了篩檢白胺酸模擬劑化合物，將表現293T細胞之2,000,000個FLAG-WDR24接種於10 cm組織培養板中。七十二小時後，將細胞放置於不調配有胺基酸且補充有5 mM葡萄糖(-AA RPMI, US Biological Life Sciences)之標準RPMI培養基中持續1小時，隨後於裂解緩衝液中(40 mM HEPES、1% Triton、10 mM β-甘油磷酸鈉、10 mM焦磷酸鈉、2.5 mM MgCl₂及蛋白酶抑制劑)裂解。為了分離FLAG-WDR24/內源性-Sestrin2複合物，在4°C下用30 μl抗標籤樹脂(SIGMA)使體積1 ml之粗物質裂解物(等效於2-4 mg總蛋白質)經受免疫沈澱2小時，於冷裂解緩衝液加0.5 M NaCl中洗滌兩次且再懸浮於1 ml冷胞溶質緩衝液(40 mM HEPES pH 7.4、140 mM KCl、10 mM NaCl、2.5 mM MgCl₂、0.1% TritonX-100)中。隨後以各種濃度將測試化合物或對照物(過濾所得溶液或白胺酸)添加至各免疫沈澱樣品中且在4°C下在旋轉下培育60分鐘。在培育期之後，離

心樣品以使鍵結至抗標籤樹脂之FLAG-WDR24/內源性Sestrin2複合物集結，完全移除上清液且使樹脂再懸浮於SDS-PAGE樣品緩衝液中且沸騰5分鐘。樣品隨後藉由SDS-PAGE處理且用抗FLAG (SIGMA)及抗Sestrin2 (細胞信號傳導技術)抗體進行西方墨點，如L. Chantranupong等人, Cell Reports 9:1-8 (2014)中所描述。

掃描所得西方墨點且使用LI-COR®成像平台定量對應於Sestrin2及FLAG-WDR24之譜帶強度。為了測定各條件之鍵結至GATOR2之Sestrin2之量，Sestrin2之譜帶強度標準化為FLAG-WDR24之譜帶強度。對於每批所測試之化合物，亦進行陰性對照(過濾所得溶液)及陽性對照(白胺酸，25 μ M，SIGMA)。藉由白胺酸耗盡鍵結至FLAG-WDR24之內源性Sestrin2經標準化以代表100%活性。重複分析化合物兩次且各化合物之活性定量為白胺酸活性百分比且取平均值。分析之重複嘗試產生與水相比之白胺酸之平均活性之20%之標準差；因此，重複兩次使鍵結至GATOR2之Sestrin2之量在25 μ M下減少至少40%之測試化合物視為統計顯著的且表徵為白胺酸模擬物。一些化合物提高鍵結至FLAG-WDR24之Sestrin2之量。使鍵結至GATOR2之Sestrin2之量提高超過40%(表示為小於-40%白胺酸活性)之化合物表徵為白胺酸拮抗劑。

實例211.鑑別在Sestrin2及Sestrin2/GATOR2交互作用後模擬或拮抗白胺酸活性之化合物之方法。

介紹

在不足白胺酸含量下Sestrin1及Sestrin2經由GATOR2組分WDR24及Seh1L與GATOR2交互作用。在白胺酸足夠的條件下，白胺酸直接結合誘導Sestrin2與GATOR2解離之Sestrin2。以下方法之目的為鑑別模擬白胺

酸在結合至Sestrin2且分裂Sestrin2/GATOR2方面之作用之化合物。另外，方法鑑別拮抗結合至Sestrin2之白胺酸且預防響應於白胺酸Sestrin2與GATOR2解離之化合物。

方法1 (活體外PPI分析)

此篩選分析量測經由自HEK293T細胞穩定地表現Flag-WDR24之免疫沈澱純化之GATOR2/Sestrin2複合物之活體外化合物活性。經由藉由慢病毒轉導，HEK293T細胞(293T)經工程改造以穩定地表現N端帶標記的Flag-WDR24。慢病毒藉由慢病毒轉移載體pLJM60與ΔVPR包膜共同轉染及使用XTremeGene 9轉染劑使CMV VSV-G將質粒封裝至HEK-293T細胞中產生。在轉染後24小時，將培養基換為補充有30%不活化胚胎血清之杜爾貝科氏修飾伊格爾培養基(DMEM)，含有病毒之上清液在轉染之後48及72小時收集且傳送通過0.45 μm過濾器以消除細胞。6孔組織培養培養板中之靶細胞在含有8 μg/mL凝聚胺之培養基中經感染且藉由離心，在2,200 rpm下進行自旋感染1小時。在感染之後24小時，移除病毒且選擇具有適當的抗生素之細胞。隨後使細胞於補充有10%胎牛血清及抗生素之DMEM中生長。

為了篩檢白胺酸模擬劑化合物，將表現293T細胞之2,000,000個Flag-WDR24接種於10 cm組織培養板中。72小時後，將細胞放置於不調配有胺基酸且補充有5 mM葡萄糖(-AA RPMI，US Biological Life Sciences)之標準RPMI培養基中持續1小時，隨後於裂解緩衝液中(40 mM HEPES、1% Triton、10 mM β-甘油磷酸鈉、10 mM焦磷酸鈉、2.5 mM MgCl₂及蛋白酶抑制劑)裂解。Flag-WDR24/內源性Sestrin2複合物如下分離：在4°C下用30 μl抗標籤樹脂(SIGMA)使體積1 ml之粗物質裂解物(等

效於2-4 mg總蛋白質)經受免疫沈澱(IP) 2小時，於冷裂解緩衝液加0.5 M NaCl中洗滌兩次且再懸浮於1 ml冷胞溶質緩衝液(40 mM HEPES pH 7.4、140 mM KCl、10 mM NaCl、2.5 mM MgCl₂、0.1% TritonX-100)中。隨後在25 μ M之給定濃度下將化合物添加至各樣品中且在4°C下在旋轉下培育30分鐘。在培育期之後，離心樣品以使鍵結至抗標籤樹脂之Flag-WDR24/內源性Sestrin2複合物集結，完全移除上清液且使樹脂再懸浮於十二烷基硫酸鈉-聚丙烯醯胺凝膠電泳(SDS-PAGE)樣品緩衝液中且沸騰5分鐘。隨後藉由SDS-PAGE處理樣品且用抗Flag (SIGMA)及抗Sestrin2 (細胞信號傳導技術)抗體進行西方墨點，如L. Chantranupong等人, Cell Reports 9:1-8 (2014)中所描述。

掃描所得西方墨點且使用LI-COR®成像平台定量對應於Sestrin2及Flag-WDR24之譜帶強度。為了測定各條件之鍵結至GATOR2之Sestrin2之量，Sestrin2之譜帶強度標準化為Flag-WDR24之譜帶強度。對於每批所測試之化合物，亦進行陰性對照(水)及陽性對照(白胺酸，25 μ M，SIGMA)。藉由白胺酸耗盡鍵結至Flag-WDR24之內源性Sestrin2經標準化以代表100%活性。重複分析化合物兩次且各化合物之活性定量為白胺酸活性百分比且取平均值。列出所測試之化合物之定量數據之表呈現於表3中。分析之重複嘗試產生與水相比之白胺酸之平均活性之20%之標準差；因此，重複使鍵結至GATOR2之Sestrin2之量在25 μ M下減少至少40%之測試化合物視為統計顯著的且稱為白胺酸模擬物。一些化合物提高鍵結至Flag-WDR24之Sestrin2之量(展示為表3中之白胺酸之負百分比活性)。展示小於-40%白胺酸活性之化合物亦作為採樣且稱為白胺酸拮抗劑。

方法2 (基於細胞之mTORC1活化)

為了表明鑑別為完整細胞中之白胺酸模擬物之化合物之功效，經由西方墨點法量測響應於白胺酸不足後化合物處理之mTORC1信號傳導。在白胺酸不足後，在添加白胺酸之後當信號傳導量測為10至90分鐘時添加外源性白胺酸使mTORC1活化，如Wang, S., Tsun, Z.等人 Science 347(6218): 188-194 (2015)中所描述。因此，設計類似分析以測試化合物是否鑑別為以類似方式活化mTORC1之白胺酸模擬物。簡言之，將800,000個HEK293T細胞接種於補充有10%胎牛血清及抗生素之DMEM中之6孔板之各孔中。次日，將細胞放置於不具有白胺酸(Thermo Scientific)或血清之經修飾之DMEM中1小時，繼而在給定濃度下添加白胺酸模擬劑(n=3)持續大於10分鐘之一些時間段。細胞隨後裂解，針對SDS-PAGE進行處理且針對mTORC1受質磷酸化S6激酶(Thr389)及磷酸化4EBP1 (Thr37/46) (細胞信號傳導技術)及裝載對照物(β -肌動蛋白，Santa Cruz Biotechnology)，用抗體進行西方墨點法，如Kang, S.A.等人 Science 341(6144): 364-374 (2013)中所描述。使用LI-COR[®]成像平台，對應於磷酸化受質之譜帶之強度隨後標準化為肌動蛋白譜帶。相對於未用化合物處理之白胺酸不足細胞明顯提高mTORC1信號傳導之化合物(史都登氏t試驗， $p < 0.05$)在細胞中視為活性的。作為陽性對照，在100 μ M下將白胺酸添加至白胺酸不足細胞持續60分鐘。

方法3 (基於細胞之mTORC1活化)

為了表明鑑別為白胺酸拮抗劑之化合物之功效或為了測定較弱白胺酸模擬物是否增強完整細胞中之白胺酸活性，重複如上所述之相同範例，但做出以下改變：將細胞放置於白胺酸減DMEM培養基(如方法3中所描述)中持續60分鐘，繼而化合物(n=3)持續大於或等於60分鐘之一些時間

段。在化合物處理之後，用30及100 μM 白胺酸刺激細胞60分鐘。經由西方墨點法量測mTORC1信號傳導，如方法2中所描述。響應於30 μM 或100 μM 之白胺酸，減少mTORC1之標準化磷酸化受質之含量之化合物以統計顯著方式(史都登氏t試驗， $p < 0.05$)於細胞中視為活性的。響應於30 μM 或100 μM 之白胺酸，提高mTORC1之肌動蛋白標準化磷酸化受質之含量之化合物以統計顯著方式(史都登氏t試驗， $p < 0.05$)於細胞中視為白胺酸增強子。作為對照組，白胺酸不足細胞在添加白胺酸之前用水預處理。或者，以上文所描述之相同方式，但無白胺酸不足及刺激，於HEK293T細胞中分析潛在白胺酸拮抗劑。進行西方墨點法以測定基線mTORC1信號傳導是否在充分供應的培養條件下化合物處理後減弱。

方法4

化合物調節細胞中之Sestrin2與GATOR2之間的相互作用之能力藉由重複方法2及3中所描述之分析但經工程改造以穩定地表現接種於10 cm組織培養皿中之Flag-WDR24之HEK293T細胞中量測。內源性Sestrin 2與Flag-WDR24之間的相互作用在化合物處理($n=3$)之後自獲自細胞之裂解物量測，如方法1中所描述。簡言之，為了在細胞處理之後測量鍵結至Flag-WDR24之內源性Sestrin2之量，用抗標籤樹脂進行免疫沈澱且針對SDS-PAGE及西方墨點法處理所得樣品以量測鍵結至Flag-WDR24之內源性Sestrin 2之量。以統計顯著方式(史都登氏t試驗， $p < 0.05$)調節鍵結至GATOR2之Sestrin2之量之化合物作為採樣。

方法5 (基於ALPHALisa細胞之分析)

為了以基於板之格式表明鑑別為完整細胞中之白胺酸模擬物之化合物之功效，經由AlphaLISA量測響應於白胺酸不足後化合物處理之

mTORC1信號傳導。簡言之，將1,000,000個HEK293T細胞接種於補充有10%胎牛血清之DMEM中之T-75細胞培養物燒瓶中。在細胞達到融合度之後，將其放置於不具有白胺酸(Thermo Scientific)、具有10%滲析胎牛血清之經修飾之DMEM中持續1小時。隨後使細胞胰蛋白酶化，且以50,000個細胞/孔重新接種於不具有白胺酸、具有10%滲析胎牛血清之DMEM中之96孔黑色澄清底部培養板中。使細胞黏著於板2小時，繼而以給定濃度添加化合物(n=4)持續大於1小時之一些時間段。在時間點達到之後，使細胞裂解且藉由p-p70 S6K (Thr389) SureFire Ultra AlphaLISA套組，根據製造商的說明進行分析 (http://www.perkinelmer.com/CMSResources/Images/44-176283MAN_SureFire_TGR70S_p70_pT389.pdf)。相對於未經化合物處理之白胺酸步驟細胞，明顯提高mTORC1信號傳導之化合物(史都登氏t試驗， $p < 0.05$)視為mTORC1活化劑。相對於未經化合物處理之白胺酸不足細胞，明顯降低mTORC1信號傳導之化合物(史都登氏t試驗， $p < 0.05$)視為細胞中之抑制劑。作為陽性對照，以100 μ M將白胺酸添加至白胺酸不足細胞中持續等於化合物處理之時間段。

方法6，熱偏移方案(Tm轉換)：

全長密碼子優化人類Sestrin2與His-MBP標籤N端融合且選殖於pMAL6H-C5XT細菌表現載體中。將此載體轉移至大腸桿菌LOBSTR(DE3)細胞(Kerafast)中。在37°C下使細胞生長至0.6 OD，隨後用0.2 mM IPTG在18°C下誘導蛋白質生產12-14小時。藉由在6,000 g下離心收集細胞，再懸浮於裂解緩衝液(50 mM磷酸鉀，pH 8.0，500 mM NaCl、30 mM咪唑、1 mM DTT、10 μ g/ml核酸酶及1 mM PMSF)中且藉由音波處理裂解。藉由在10,000 g下離心20分鐘清除裂解物。經由His標籤之親和

性捕集，繼而離子交換及尺寸排阻層析，Sestrin2蛋白質自可溶性溶離份分離至接近100%純度。對於熱偏移分析，將Sestrin2蛋白質於稀釋緩衝液(10 mM Tris HCl pH 7.4、150 mM NaCl、1 mM DTT、0.1 mM EDTA)中稀釋至2 mg/ml。在進行熱偏移分析之前，將2 μ l Sestrin2蛋白質與8 μ l ROX染料(Thermo Fisher)、1 μ L媒劑或化合物及每孔96孔板14 μ L稀釋緩衝液合併，且在冰上培育1小時以允許化合物結合。熱偏移分析隨後在Agilent MX3005p上進行且各化合物在10 μ M、100 μ M及1000 μ M下重複分析三次。以劑量相關性方式，將與白胺酸一起培育之Sestrin2熔融溫度轉換2.16至11.61攝氏度。基於與媒劑一起培育之Sestrin2之重複熱偏移量測之CV%可變性，2度或更多之正轉換視為統計顯著的。

方法7，間接配位體結合分析(ILBA)

Sestrin2結合至白胺酸或其他配位體在完整細胞中、活體外或在經由用來自細胞信號傳導技術(CST，目錄號8487)之兔單株抗Sestrin2抗體之免疫偵測純化蛋白質之情況下偵測。CST抗體結合至天然(非變性)Sestrin2藉由以使得在白胺酸結合後抗體降低親和性的方式結合白胺酸調節。類似地，天然Sestrin2之CST抗體之親和性在化合物以與白胺酸類似之方式結合至天然後降低。相反地，如藉由熱偏移分析所量測之使Sestrin2去穩定之化合物提高CST抗體對非變性Sestrin2之親和性。因此，產生此間接配位體結合分析(ILBA)之多種格式，其在白胺酸或化合物結合之後量測CST抗Sestrin2抗體之親和性。在一個版本中，用在胺基酸不足1小時時間段之後由人類細胞株產生之粗物質裂解物進行分析(細胞裂解於1% Triton、10 mM β -甘油磷酸酯、10 mM焦磷酸鈉、40 mM HEPES [pH 7.4]、150 mM NaCl及2.5 mM $MgCl_2$ 中)。裂解物隨後與白胺酸或其

他化合物一起在冰上或在室溫下培育1小時。在化合物培育之後，樣品經受CST抗Sestrin2抗體免疫沈澱1.5小時，繼而與蛋白質-A瓊脂糖一起培育30分鐘，如L. Chantranupong等人, Cell Reports 9:1-8 (2014)中所描述。經由離心使瓊脂糖共軛抗體-蛋白質複合物沈澱且用兔多克隆抗Sestrin2抗體(蛋白質Tech，#10795-1-AP)使流過物經受第二輪免疫沈澱以測定相等樣品之間的總Sestrin2蛋白質含量。用免疫沈澱樣品進行SDS-PAGE，繼而來自SIGMA之小鼠單株抗Sestrin2抗體之西方墨點法(目錄號WH0083667M3)。在用來自CST之抗Sestrin2抗體之樣品免疫沈澱之免疫墨點上，但蛋白質Tech抗體之樣品免疫沈澱之免疫墨點上之Sestrin2譜帶無變化，白胺酸結合誘導對應於Sestrin2之譜帶之強度顯著降低50%或更大。此版本分析亦量測藉由與化合物一起培育誘導之Sestrin2之提高的不穩定性。以相同方式進行分析，但使Sestrin2去穩定(如藉由熱偏移分析所量測)之化合物使得對應於使用CST抗體之Sestrin2免疫沈澱之免疫墨點譜帶強度提高。

此分析亦於過度表現N端稠合至Flag標籤之Sestrin2之經培養之人類細胞中進行。在此版本分析中，程序保持相同，但用小鼠抗Flag抗體(#F3165，SIGMA)進行免疫墨點。當不能結合白胺酸之Sestrin2之點突變形式進行ILBA時，未觀測到在白胺酸或 γ -甲基白胺酸結合後CST抗體之親和性降低。

在另一版本分析中，經培養之人類細胞經受胺基酸不足1小時繼而白胺酸或化合物刺激之某一組合。在刺激之後一小時，除了1小時配位體結合步驟之外，如上文所描述裂解及處理細胞。

間接配位體結合分析亦以多孔格式，使用ALPHAisa技術(Perkin

Elmer)進行。此版本分析需要生物素化抗Sestrin2抗體，抗生蛋白鏈菌素供體珠粒(Perkin Elmer)與抗Flag受體珠粒(Perkin Elmer)偶合以用於偵測過度表現之Flag-Sestrin2，或與小鼠抗Sestrin2抗體(SIGMA)及抗小鼠受體珠粒(Perkin Elmer)偶合以用於偵測內源性Sestrin2。

如上文所描述進行分析，但進行以下修改：對於分析之白胺酸或化合物結合部分，使在1小時胺基酸不足之後由暫時或穩定地過度表現人類Flag-Sestrin2細胞產生之粗物質裂解物在裂解緩衝液中稀釋至0.8 mg/ml總蛋白質且排列在諸如96孔板之多孔板中。為了偵測內源性Sestrin2，使粗物質裂解物在裂解緩衝液中稀釋至4 mg/ml總蛋白質。將白胺酸或化合物添加至各孔中且在冰上或在室溫下在輕微攪動下培育板1小時。對於檢測內源性Sestrin2之分析，在配位體結合步驟期間，使生物素化抗Sestrin2抗體(CST)在ALPHAisa免疫分析緩衝液(Perkin Elmer)中稀釋至5 nM，且將5 nM小鼠抗Sestrin2抗體(SIGMA)與抗小鼠受體珠粒之4×坯料(40 µg/ml)合併。對於Flag-Sestrin2之偵測，在免疫分析緩衝液中製備抗標籤受體珠粒之4×坯料(40 µg/ml)。在配位體結合步驟之後，將5 µL裂解物與10 µL生物素化抗Sestrin2抗體、12.5 µL小鼠Sestrin2抗體/抗小鼠受體珠粒混合物或抗Flag受體珠粒及10 µL ALPHAisa免疫分析緩衝液合併且在室溫下培育1小時。最終，在暗處在Envision讀板儀上讀取板之前添加12.5 µL抗生蛋白鏈菌素供體珠粒(160 µg/ml於免疫分析緩衝液中)額外一小時。

亦如所描述進行ALPHAisa分析，但利用在免疫分析緩衝液中經稀釋之3 ng/ml之最終反應物濃度之純化Sestrin2蛋白質。

最終，在裂解之前，在胺基酸不足條件下，用來自經白胺酸或化合

物處理之細胞之裂解物進行ALPHA_{lisa}。在多孔板中進行基於細胞之處理，且每與10 μ L生物素化抗體、12.5 μ L抗體/受體珠粒混合物及12.5 μ L 抗生蛋白鏈菌素供體珠粒混合物組合之ALPHA_{lisa}反應物，使用15 μ L裂解物(1 mg/ml總蛋白質)。

亦用基於捕集之方法，諸如如此項技術中進行之夾層ELISA進行間接配位體結合分析。在一個版本分析中，使用Meso-Scale Discovery (MSD)產生之MULTI-ARRAY®技術進行ILBA。MSD系統基於結合至分析物之抗體之電化學發光偵測。在溶解之前，用表現內源性Sestrin2之粗物質裂解物進行ILBA或活體外或在細胞中進行過度表現Flag-Sestrin2及白胺酸處理。對於內源性Sestrin2之活體外ILBA，製備粗物質裂解物(0.8 mg/ml總蛋白質)且以針對ALPHA_{lisa} ILBA描述相同之方式進行白胺酸結合。在配位體結合完成之後，將來自CST之生物素化抗Sestrin2抗體添加至各孔中直至0.25 μ g/ml之最終濃度且在4°C下在輕微攪動下培育1小時。在以下方法中之一者中實現96孔板之孔中之各樣品之捕集：經抗生蛋白鏈菌素塗佈之MSD培養板或塗佈有來自SIGMA之小鼠抗Sestrin2抗體之裸露的MSD培養板。捕集需要每孔25 μ L樣品，繼而在350 rpm下在震盪下培育1小時。在樣品捕集之後，用具有0.1% Tween (TBS-T)之Tris緩衝生理鹽水洗滌孔三次。若樣品捕獲於抗生蛋白鏈菌素塗佈板上，則隨後在震盪下在350 rpm下將小鼠單株抗Sestrin2抗體(SIGMA)添加至1 μ g/ml之最終濃度中持續1小時。孔再次在TBS-T中洗滌，且在震盪下在350 rpm下以1 μ g/ml之最終濃度添加抗小鼠第二SULFO-TAG抗體(MSD)持續一小時。最終，用TBS-T洗滌孔三次且添加2 $\times$ Read緩衝液(MSD)且緊接著在MSD儀器上讀取板。若在洗滌之後用塗佈有小鼠抗Sestrin2抗體之裸露的培養

板捕獲樣品，則在震盪下以1 µg/ml之最終濃度添加抗生蛋白鏈菌素第二SULFO-TAG抗體(MSD)持續1小時，繼而洗滌且在分析之前與Read緩衝液一起培育。

在另一版本此分析中，分析過度表現Flag-Sestrin2之粗物質裂解物且用小鼠單株抗Flag抗體(SIGMA)，使用如上文所描述之相同基於MSD之方案捕獲或偵測。

對於所有分析，以顯著方式降低對應於Sestrin2之免疫反應性之信號之化合物視為白胺酸模擬物，同時以顯著方式提高信號之化合物視為潛在白胺酸拮抗劑。

表3展示本發明之所選化合物之活性。化合物編號對應於表1及2中之化合物編號。具有表示為「A」之活性之化合物提供相對於≥40%之白胺酸之活性%，具有表示為「B」之活性之化合物提供相對於≤-40%之白胺酸之活性%；具有表示為「C」之活性之化合物提供相對於-40與40%之間的白胺酸之活性%。在指定濃度下，具有表示為「D」之活性之化合物提供相對於0.5至2倍之DMSO對照之偏移，具有表示為「E」之活性之化合物提供相對於2.1-5倍之DMSO之偏移，具有表示為「F」之活性之化合物提供相對於5.1-10倍之DMSO之偏移，且具有表示為「G」之活性之化合物提供相對於10.1至14倍之DMSO之偏移。

相對於白胺酸分析之活性%活性使用分析方法1測定。基於細胞之mTORC1活化分析之活性使用分析方法2測定。

表3.例示性化合物之分析資料

化合物編號	白胺酸活性：活性%	基於細胞之mTORC1活化	基於細胞之mTORC1活化濃度(µM)
I-1	B		
I-2	B		
I-3	B		

化合物編號	白胺酸活性：活性%	基於細胞之 mTORC1活化	基於細胞之mTORC1 活化濃度(μM)
I-4	C		
I-5	B		
I-6	C		
I-7	B		
I-8	B		
I-9	C	E	100
I-10	C	D	30及100
I-11	C		
I-12	C		
I-13	C		
I-14	B		
I-15	C		
I-16	C		
I-17	C		
I-18	C		
I-19	C		
I-20	C		
I-21	C		
I-22	C		
I-23	C	D至F	100
I-24	A		
I-25	C		
I-26	C		
I-27	A		
I-28	C		
I-29	A		
I-30	A		
I-31	A		
I-32	A		
I-33	C		
I-34	C		
I-35	A		
I-36	B		
I-37	A	E至F	100
I-38	C		
I-39	C		
I-40	A		
I-41	A		
I-42	A	D至F	100
I-43	A	D至E	100
I-44	A	D	100
I-45	B		
I-46	C	D	100
I-47	C	D	100
I-48	C		
I-49	C		
I-50	C		

化合物編號	白胺酸活性：活性%	基於細胞之 mTORC1活化	基於細胞之mTORC1 活化濃度(μM)
I-145	A		
I-146	A		
I-147	A		
I-148	A		
I-149	C		
I-150	C		
I-151	C		
I-152	C		
I-153	C		
I-154	C		
I-155	C		
I-156	C		
I-157	B至C		
I-158	C		
I-159	A		
I-160	C		
I-161	C		
I-162	C		
I-163	A		
I-164	A		
I-165	A至C		
I-166	C		
I-167	A	D至F	100
I-168		D至E	100

表4展示基於ALPHALisa細胞之分析(方法5)中之本發明之所選化合物活性。化合物編號對應於表1及2中之化合物編號。表4中列出之化合物為mTORC1活化劑且具有相對於正向白胺酸對照>2倍之活性。

表4.基於ALPHALisa細胞之分析中之例示性化合物活性

化合物編號
I-44
I-43
I-42
I-167
I-253
I-145
I-252
I-251
I-250
I-88
I-56
I-96
I-206

化合物編號
I-122
I-90
I-128
I-195
I-194
I-193
I-93
I-249
I-120
I-190
I-189
I-248
I-247
I-246
I-185
I-183
I-179
I-178
I-177
I-176
I-175
I-207
I-245
I-210
I-244
I-243
I-241
I-240
I-239
I-238
I-237
I-236
I-235
I-234
I-233
I-232
I-231
I-230
I-229
I-228

表5展示熱偏移分析(方法6)中之本發明之所選化合物活性。化合物編號對應於**表1**及**表2**中之化合物編號。**表5**中列出之化合物展現2度或更多之正向偏移。

表5.熱偏移分析中之例示性化合物活性

化合物編號
I-44
I-43
I-42
I-31
I-27
I-4
I-47
I-167
I-164
I-163
I-254
I-253
I-145
I-252
I-251
I-250
I-206
I-122
I-203
I-90
I-201
I-129
I-128
I-196
I-195
I-194
I-93
I-120
I-191
I-179
I-178
I-177
I-176
I-175
I-209
I-208
I-207
I-245
I-210
I-244
I-237
I-235
I-233
I-232
I-231
I-229

活體內測試之一般材料及方法

動物用途：在到達(耶魯大學，New Haven CT)後將體重175-200 g之雄性史泊格多利大白鼠(Charles River Laboratories，Wilmington，MA)群養且在開始實驗研究之前適應環境5天。除了在方案指定禁食期間之外，為大鼠提供隨意食物及水。每日監測動物之臨床症狀。合格的獸醫提供所有啮齒動物程序之監管。所有人員接受耶魯動物護理及使用委員會(IACUC)之訓練。在耶魯大學嚴格根據美國國家衛生研究院IACUC進行所有動物程序且經耶魯動物護理及使用委員會批准。

使用雌性尿液監聽測試之行為分析(FUST)：根據所公佈之程序(Malkesman, O.等人, Biol Psychiatry 67(9): 864-71 (2010))，在給藥後24小時進行FUST。簡言之，在其飼養籠中使大鼠適應浸漬於自來水中之棉簽60分鐘。隨後，使大鼠接觸第2個浸漬於自來水中之棉簽且45分鐘後使其接觸注入11至14週齡發情雌性大鼠之新鮮大鼠尿液之第3個棉簽。對於各動物，歷經5分鐘，對嗅聞棉尖塗覆器所花費的總時間進行定量。

使用運動活性評定(LMA)之行為分析：在裝備有由平行排紅外光束組成之自動化活性計量器中根據所公佈之程序(Warner-Schmidt, J.L. & Duman, R.S. PNAS 104(11): 4647-52 (2007))評估LMA。對於各動物，歷經30分鐘間隔，記錄射束斷裂之數目。

使用新穎遏制餵飼測試(NSFT)之行為分析：如先前所描述進行NSFT (Warner-Schmidt, J.L. & Duman, R.S. PNAS 104(11): 4647-52 (2007))。大鼠在其飼養籠中禁食20小時，且隨後放置於塑膠玻璃開放空間(76.5 cm×76.5 cm×40 cm)中，其中中心具有少量食物。使動物探究開放空間8分鐘且記錄攝食等待時間。

使用蔗糖偏好測試(SPT)之行為分析：使大鼠適應適口的蔗糖1%蔗

糖溶液48小時以避免恐怖症。在第0天結束時大鼠經NV-5138或Veh處理且在第1天投與後24小時進行SPT。對於SPT，大鼠缺水6小時且曝露於具有相等體積1%蔗糖或水之兩個瓶子60分鐘。所消耗之蔗糖水之體積與1小時測試期間消耗之總水之比率如蔗糖偏好所定義(例如1之比率將指示大鼠僅消耗1%蔗糖，同時0.5之比率將指示大鼠喝了等量1%蔗糖及水)。

慢性不可預測壓力(CUS)條件：使大鼠接觸12種不可預測應激源之可變序列，預防如所描述之適應(Li, N.等人, Biol Psychiatry 69(8): 754-61 (2011))。應用以下十二個應激源(每天2次，持續25天)：旋轉籠、開燈、關燈、冷壓力、分離、游泳壓力、剝奪食物及水、濕墊褥、頻閃儀、籠傾斜、氣味曝露及群養。無應激(NS)組中之動物通常在不施加外部應激源之情況下圈養。處理NS及CUS大鼠兩者且每週稱重。

狢猴人類威脅測試(HTT)：歷經較長時間段，定期地藉由人類觀測器之存在刺激狢猴。已知此類慢性刺激提高血漿皮質醇且下丘腦-垂體-腎上腺功能之後續提高對抑鬱症之病理生理學作出貢獻。

實例A：在化合物或氯胺酮之單次給藥之後新穎遏制餵飼及雌性尿液監聽測試之行為改變

研究設計：在5天環境適應時間段之後，將體重在175與200 g之間的三十二(32)個雄性史泊格多利雄性大鼠隨機分組為4個研究組(n=8/處理組)。在研究第0天，分別藉由腹膜內注射(i.p.)，在第1組及第2組中，大鼠接受生理鹽水(Sal)或氯胺酮(Ket)之單次給藥。第3組及第4組中之大鼠分別藉由口服管飼接受NV-5138媒劑 (Veh，0.5%甲基纖維素/0.1% Tween-80)或NV-5138 (160 mg/kg)之單次給藥。所有大鼠在給藥後第1天24小時經受FUST。在給藥之後第2天48小時，所有大鼠之LMA在開放空

間中量測。大鼠隨後禁食20小時且給藥後72小時經受NSFT。研究設計呈現於表6中。測試物品投與之時刻表及3個行為測試概述於圖1中。

製備測試物品：以10 mg/mL之濃度使Ket (Sigma，目錄號K1884)溶解於Sal中。對於第1組及第2組，分別i.p.注射1 ml/kg體積之Sal或Ket。藉由以50 mg/mL之濃度溶解於Veh (0.5%甲基纖維素/0.1% Tween-80)中製備NV-5138 (Navitor，批次號06)。分別藉由口服管飼給第3組及第4組中之研究動物投與基於Veh或NV-5138之動物之重量之給藥體積(3.2 mL/kg)。給藥當天製備測試物品。

結果：第一天FUST之結果概述於圖2中。用Ket處理使雄性大鼠嗅聞雌性尿液所花費之時間之量明顯提高2.1倍(分別在Ket第2組與Sal第1組中， 17.4 ± 3.9 s相比於 36.5 ± 7.9 s， $p<0.05$)。類似地，用NV-5138處理使雄性大鼠嗅聞雌性尿液所花費之時間之量明顯提高2.9倍(分別在NV-5138第4組相比於Veh第3組中， 33.8 ± 2.9 s相比於 11.6 ± 6.2 s， $p<0.01$)。第2天LMA之結果概述於圖3中。對射束斷裂之平均數目進行定量。使用未配對2尾史都登氏t試驗的群組之間的LMA無顯著差異。第3天NSFT之結果概述於圖4中。在相比於第1組(Sal)之第2組(Ket)中觀測到攝食等待時間顯著降低31% ($p<0.01$)。類似地，在相比於第3組(Veh)之第4組(NV)中觀測到攝食等待時間顯著降低36% ($p<0.01$)。

表6：研究設計實例A

組	n	性別	體重(g)	途徑	處理	行為測試
第1組	8	M	175-200	i.p.	Sal	FUST、 LMA及 NSFT
第2組	8	M	175-200	i.p.	Ket (10 mg/kg)	
第3組	8	M	175-200	經口	Veh	
第4組	8	M	175-200	經口	NV-5138 (160 mg/kg)	

實例B：mTORC1信號傳導路徑之NV-5138及氯胺酮投與之單次劑量之比較性作用及衍生自大鼠前額葉皮層之突觸體製劑中之突觸蛋白質表現

研究設計：在5天環境適應時間段之後，將體重在175與200 g之間的四十八(48)個雄性史泊格多利大白鼠隨機分組為8個研究組(n=6/組)。在研究第0天，第3組及第7組中之大鼠接受Sal之單次給藥，同時第4組及第8組接受Ket之單次給藥(10 mg/kg)，各自藉由i.p.注射。第1組及第5組中之大鼠接受Veh之單次給藥，同時第2組及第6組接受NV-5138之單次給藥(160 mg/kg)，各自藉由口服管飼。在給藥之後一小時，第1組至第4組中之大鼠藉由清醒的斷頭術處死且繼而採集PFC。粗突觸體由PFC及三種mTORC1受質(pmTOR、pp70S6K及p4E-BP1)製備，且藉由WB對相應的總蛋白質裝載對照物(mTOR、p70S6K及GAPDH)進行定量。在給藥之後二十四小時，第5組至第8組中之大鼠藉由清醒的斷頭術處死且採集PFC。粗突觸體由PFC及突觸蛋白質(GluR1及PSD95)製備，以及總蛋白質裝載對照物(GAPDH)藉由WB定量。研究設計呈現於表7中。測試物品投與之時刻表及WB之大鼠之處死提供於圖5中。

用於投與之Ket及NV-5138之調配：以10 mg/mL之濃度使Ket (Sigma，目錄號K1884)溶解於Sal中。i.p.注射1 mL/kg體積之藉由以50 mg/mL之濃度溶解於Veh中製備之NV-5138 (Navitor，批次號06)。藉由口服管飼投與基於動物重量之給藥體積(3.2 mL/kg)。給藥當天製備測試物品。

前額葉皮質突觸體製備：解剖所有組(n=6/組)中之大鼠之大腦且在PBS中沖洗。PFC如圖6中所示收集且在4°C下在均勻化緩衝液(0.32 M蔗糖、pH 7.4之20 mM HEPES、1 mM EDTA、5 mM NaF、1 mM NaVO₃及蛋白酶抑制劑混合液(Roche；#19543200))中均質化。在4°C下在2,800 rpm下離心均質物10分鐘，其後移除上清液且在4°C下在12,000 rpm下再

離心10分鐘。使含有粗突觸體之所得集結粒再懸浮於裂解緩衝液(50 mM Tris-HCl (pH 7.5)、150 mM NaCl、1% Triton X-100、0.1% SDS、2 mM EDTA、1 mM NaVO₃、5 mM NaF及蛋白酶抑制劑混合液)中且在冰上在50%幅值下音波處理20秒。藉由布萊德福(Bradford)分析測定蛋白質濃度且將所有樣品與裝載緩衝液(60 mM Tris-HCl pH 6.8、20 mM DTT、2% SDS、10%甘油、5% β-巰基乙醇及0.01%溴酚藍)混合且儲存於-20°C下直至WB分析為止。

西方墨點分析：如先前所描述進行GluR1、PSD95及GAPDH之西方墨點分析。簡言之，將突觸體製劑(15 μg總蛋白質)裝載至用於電泳之10-15% SDS PAGE凝膠中且轉移至轉移緩衝液(10×預混合電泳緩衝液含有25 mM Tris、192 mM甘胺酸，pH 8.3；Bio-Rad)中之聚偏二氟乙烯(PVDF)膜。在室溫下用阻斷緩衝液(2% BSA在PBS-T中(10 mM磷酸酯，pH 7.4、2.7 mM KCl、137 mM NaCl及0.1% Tween-20))堵塞PVDF膜1小時且隨後與第一抗體一起培育：在4°C下隔夜之阻斷緩衝液中之1:1000之兔抗pmTOR (細胞信號傳導；#5536)、1:1000之兔抗mTOR (細胞信號傳導；#2972)、1:1000之兔抗pp70S6K (細胞信號傳導；#9205)、1:1000之兔抗p70S6K (細胞信號傳導；#2708)、1:1000之兔抗p4E-BP1 (細胞信號傳導；#2855)、1:1000之兔抗GluR1 (細胞信號傳導；#13185)、1:1000之兔抗突觸蛋白1 (細胞信號傳導；#5297)、1:1000之兔抗PSD95 (細胞信號傳導；#9644)及1:1000之兔抗GAPDH (細胞信號傳導；#5174)。次日，在PBS-T緩衝液中洗滌膜3次且與1:5000至1:10000之辣根過氧化酶共軛抗小鼠或抗兔二級抗體(Vector Laboratories Inc)一起培育1小時。在用PBS-T緩衝液最終三次洗滌之後，使用增強化學發光偵測譜帶。墨點隨後

在汽提緩衝液(2% SDS、100 mM β-巰基乙醇、50 mM Tris-HCl pH 6.8) 中在50-55℃下培育30分鐘，繼而用PBS-T緩衝液洗滌三次。汽提墨點在阻斷溶液中保持1小時且與針對裝載對照物之相應蛋白質或GAPDH之總含量之初級抗體一起培育。使用NIH Image J軟體進行各蛋白質之磷酸化及總免疫反應性之密度計分析。所得密度計讀數用於產生磷酸化蛋白質與其相應總蛋白質含量或如所指示之GAPDH之比率。所得比率進一步標準化為各蛋白質之Sal或Veh處理對照組。

結果：標準化為對照Veh或Sal之pmTOR、pp70S6K及P4E-BP之WB分析結果概述於圖7中。NV-5138及Ket投與明顯提高投與後1小時由PFC製備之粗突觸體中之pmTOR及p4E-BP1之含量。此外，NV-5138（而非Ket）明顯提高投與後1小時pp70S6K之含量。突觸蛋白質GluR1及突觸蛋白1之WB分析結果概述於圖8中。NV-5138及Ket投與明顯提高投與後24小時由PFC製備之粗突觸體中之GluR1及突觸蛋白1之含量。此外，Ket明顯提高投與後24小時PSD95之含量，同時存在NV-5138投與後表現提高之趨勢。

表7：研究設計實例B

組	n	性別	體重(g)	時間點	途徑	處理	所使用之WB抗體
第1組	6	M	175-200	1小時	經口	Veh	pmTOR、mTOR、pp70S6K、p70S6K、p4E-BP1及GAPDH
第2組	6	M	175-200	1小時	經口	NV-5138 (160 mg/kg)	
第3組	6	M	175-200	1小時	i.p.	Sal	
第4組	6	M	175-200	1小時	i.p.	Ket (10 mg/kg)	
第5組	6	M	175-200	24小時	經口	Veh	GluR1、突觸蛋白1、PSD95及GAPDH
第6組	6	M	175-200	24小時	經口	NV-5138 (160 mg/kg)	
第7組	6	M	175-200	24小時	i.p.	Sal	
第8組	6	M	175-200	24小時	i.p.	Ket (10 mg/kg)	

實例C：NV-5138之單一Roal劑量對大鼠大腦多個區域中之mTORC1信

號傳導路徑之作用

研究設計：在5天環境適應時間段之後，將十(10)個體重在175與200 g之間的雄性大鼠隨機分組為2個研究組(n=5/組)。第1組藉由口服管飼接受Veh之單次投與且第2組藉由口服管飼接受NV-5138之單次投與(160 mg/kg在Veh中製備)。在投與後一小時，藉由清醒的斷頭術處死大鼠，除了藉由顯微切割分離PFC、海馬體、紋狀體、新皮層及小腦之外，收集血漿以用於NV-5138曝露分析。由採集之組織製備總蛋白質萃取物且提交至WB分析，繼而所選擇之mTORC1受質之定量分析。研究設計呈現於表8中。測試物品投與之時刻表及WB大鼠之處死提供於圖9中。

調配NV-5138 (160 mg/ml)：以160 mg/mL之濃度藉由溶解在Veh中製備NV-5138 (Navitor，批次號09)。藉由口服管飼給第2組中之研究動物投與基於動物之重量之給藥體積(10 mL/kg)。給藥當天製備測試物品。

西方墨點分析：裝載突觸體製劑(15 µg總蛋白質)且在NuPAGE 4-12% Bis-Tris凝膠上分離且使用CAPS緩衝液(10 mM 3-(環己基胺基)-1-丙磺酸，12.5% 乙醇 pH=10)轉移至PVDF膜(Immobilon-FL PVDF膜，Millipore)。在轉移之後，在室溫下在奧德賽(Odyssey)阻斷緩衝液(Licor)中培育膜1小時。在阻斷之後，用第一抗體在4℃下培育膜隔夜。所使用之第一抗體為1:1000之兔抗^{S400/440}pS6 (細胞信號傳導；#5364)及奧德賽阻斷緩衝液中之1:10000之小鼠抗α-微管蛋白(Sigma；#T5168)。次日，在1×TBS-Tween (25 mM Tris，pH 7.4、3.0 mM KCl、140 mM NaCl及0.05% Tween-20)中洗滌膜三次且在奧德賽阻斷緩衝液中以1:20000與染料偶合之二次抗體(來自LI-COR之山羊抗小鼠IRdye680及山羊抗兔IRdye800)一起培育30分鐘，隨後在1×TBS-Tween中洗滌三次。使用奧德

賽紅外成像系統(LI-COR Bioscience)定量信號。所得密度計讀數用於產生磷酸化蛋白質與 α -微管蛋白之比率。所得比率進一步標準化為媒劑處理對照組。

前額葉皮質突觸體製劑：給藥後一小時，藉由清醒的斷頭術處死大鼠，收集血漿及大腦。各組(n=5，Veh；n=5，NV)解剖大腦且在PBS中沖洗。如圖10中所示收集PFC、紋狀體、海馬體、新皮層及小腦，且在4°C下在均勻化緩衝液(0.32 M蔗糖、pH 7.4之20 mM HEPES、1 mM EDTA、5 mM NaF、1 mM NaVO₃及蛋白酶抑制劑混合液(Roche；#19543200))中均質化。在2,800 rpm下在4°C下離心勻漿10分鐘，其後移除上清液且在12,000 rpm下在4°C下再離心10分鐘。使所得集結粒再懸浮於裂解緩衝液(50 mM Tris-HCl (pH 7.5)、150 mM NaCl、1% Triton X-100、0.1% SDS、2 mM EDTA、1 mM NaVO₃、5 mM NaF及蛋白酶抑制劑混合液)中且在冰上在50%幅值下音波處理20秒。藉由布萊德福分析測定總蛋白質濃度且將所有樣品與裝載緩衝液(50 mM Tris-HCl pH 6.8、2% SDS、5% 甘油、5% β -巰基乙醇及0.01%溴酚藍)混合且儲存於-20°C下直至WB分析為止。

化合物分析：為了測定血漿中之化合物含量，自在乙腈中含有150 μ L內標物(甲苯磺丁脲)之50 μ L所得組織均質物沈澱蛋白質，繼而在3000 rpm下離心10分鐘。將一百微升所得上清液添加至100 μ L水中，混合孔且在LC-MS/MS系統上使用用於評定化合物含量之以下程序注射：

- Phenomenex LUX纖維素管柱(4.6×150 mm，5 μ m)
- 移動相A-0.1%甲酸水溶液
- 移動相B-含0.1%甲酸之乙腈

- 梯度：
 - 初始- 40% A
 - 2分鐘- 40% A
 - 2.1分鐘- 2% A
 - 3分鐘- 2% A
 - 3.1分鐘- 40% A
 - 4分鐘- 40% A
- 流動速率0.8 mL/min
- 管柱溫度40℃
- Sciex 5500 Triple Quad質譜

結果：暴露於NV-5138之大腦區之結果概述於圖11中。總之，在隨意獲得食物之大鼠中經口投與160 mg/kg NV-5138在大部分但並非所有大腦之主要區域中產生mTORC1之顯著活化。

表8：實例C之研究設計

組	n	性別	體重(g)	途徑	處理	採集之組織	所使用之WB抗體
第1組	5	M	175-200	經口	Veh	血漿、PFC、紋狀體、海馬體、新皮層及小腦	pS6及α-微管蛋白
第2組	5	M	175-200	經口	NV-5138 (160 mg/kg)		

實例D：NV-5138或白胺酸之單一經口劑量對大鼠腦及所選外周器官中之mTORC1信號傳導路徑之作用

研究設計：在5天環境適應時間段之後，將體重在175與200 g之間的三十(30)個雄性大鼠隨機分組為3個研究組(n=10)。藉由口服管飼，如表9中所展示之劑量及圖12中所展示之時刻表投與測試物品。給藥後一小時，藉由清醒的斷頭術處死大鼠，收集血漿、大腦及所選擇之外周組織用於化

合物含量及WB分析。針對WB製備之組織定量mTORC1受質pS6作為mTORC1活性之量度。

製備測試物品：藉由分別以16 mg/mL及100 mg/mL之濃度溶解在Veh (0.5%甲基纖維素/0.1% Tween-80)中製備NV-5138 (Navitor，批次號12)及白胺酸(Leu、Sigma；#L8912)。藉由口服管飼投與基於動物重量之給藥體積(10 mL/kg)。給藥當天製備測試物品。

組織製備：在給藥後一小時，藉由清醒的斷頭術處死大鼠，採集血漿、大腦及外周組織且緊接著冷凍在液氮中。解凍組織且在4°C下使用MP均質器在裂解緩衝液(細胞溶解緩衝液：1% Triton X-100、50 mM HEPES pH 7.4、100 mM NaCl、2 mM EDTA、10 mM β -甘油磷酸鹽、10 mM焦磷酸鈉及每50 mL新鮮1個蛋白酶抑制劑突片)中均質化1分鐘兩次。隨後在冰上在50%幅值下音波處理裂解物20秒。藉由布萊德福分析測定蛋白質濃度且將所有樣品與裝載緩衝液(50 mM Tris-HCl pH 6.8、2% SDS、5%甘油、5% β -巰基乙醇及0.01%溴酚藍)混合且儲存於-20°C下直至WB分析為止。

西方墨點(WB)分析：裝載等量各樣品(15 μ g總蛋白質)且在NuPAGE 4-12% Bis-Tris凝膠上分離且使用CAPS緩衝液(10 mM 3-(環己基胺基)-1-丙磺酸，12.5%乙醇pH =10)轉移至PVDF膜(Immobilon-FL PVDF膜，Millipore)。在轉移之後，在室溫下在奧德賽阻斷緩衝液(Licor)中培育膜1小時。在阻斷之後，用第一抗體在4°C下培育膜隔夜。所使用之第一抗體為1:1000之兔抗S400/440pS6 (細胞信號傳導；#5364)、1:1000之小鼠抗GAPDH (Sigma；#G8795)及奧德賽阻斷緩衝液中之1:10000之小鼠抗 α -微管蛋白(Sigma；#T5168)。次日，在1×TBS-Tween (25 mM Tris，pH

7.4、3.0 mM KCl、140 mM NaCl及0.05% Tween-20)中洗滌膜三次且在奧德賽阻斷緩衝液中以1:20000與染料偶合之二次抗體(來自LI-COR之山羊抗小鼠 IRdye680 及山羊抗兔 IRdye800)一起培育30分鐘，隨後在1×TBS-Tween 中洗滌三次。使用奧德賽紅外成像系統(LI-COR Bioscience)定量信號。所得密度計讀數用於產生磷酸化蛋白質與 α -微管蛋白或GAPDH之比率。所得比率進一步標準化為媒劑處理對照組。

化合物分析：為了測定組織製劑中之化合物含量，將3:1 v:w (μ L:mg)之比率之70%異丙醇添加至組織樣品中，繼而用珠粒攪拌器(Biospec)均勻化。蛋白質自150 μ L含有內標物(甲苯磺丁脲)之乙腈中之50 μ L所得組織均質物沈澱，繼而在3000 rpm下離心10分鐘。將一百微升所得上清液添加至100 μ L水中，混合孔且在LC-MS/MS系統上使用用於評定化合物含量之以下程序注射：

- Phenomenex LUX纖維素管柱(4.6×150 mm，5 μ m)
- 移動相A-0.1%甲酸水溶液
- 移動相B-含0.1%甲酸之乙腈
- 梯度：
 - 初始- 40% A
 - 2分鐘- 40% A
 - 2.1分鐘- 2% A
 - 3分鐘- 2% A
 - 3.1分鐘- 40% A
 - 4分鐘- 40% A
- 流動速率0.8 mL/min

- 管柱溫度40℃
- Sciex 5500 Triple Quad質譜

結果：NV-5138之單次投與對mTORC1活化之結果概述於圖13中。

NV-5138產生mTORC1之顯著活化，如相比於Leu之大鼠腦中提高的pS6含量所示，其中未觀測到活化。相比於大腦處理，Leu及NV-5138明顯提高大鼠腎臟、心臟、脛前部及附睪脂肪中之pS6含量。然而，在用Leu給藥之後睪丸及肝臟中之pS6含量之顯著提高，在NV-5138投與之後僅在睪丸中但非肝臟中觀測到顯著活化。

表9：研究設計實例D

組	N	性別	體重(g)	途徑	處理	採集之組織	所使用之WB抗體
第1組	10	M	175-200	經口	Veh	血漿、大腦、心臟、肺臟、肝臟、腓腸肌脾臟、腎臟、睪丸、眼睛、脛前部、附睪脂肪、胸腺	pS6、α-微管蛋白及GAPDH
第2組	10	M	175-200	經口	Leu (500 mg/kg)		
第3組	10	M	175-200	經口	NV-5138 (160 mg/kg)		

實例E：NV-5138之單次給藥對蔗糖偏好及新穎遏制餵飼測試及突觸蛋白質表現之作用

研究設計：在5天環境適應時間段之後，將體重在175與200 g之間的五十六(56)個雄性大鼠隨機分組為4個研究組(n=14/處理組)。在研究前20天，使兩組大鼠經受CUS 25天且使兩組大鼠圈養，通常充當NS組。在CUS方案之第21天，大鼠藉由口服管飼(第0天)接受Veh或NV-5138 (160 mg/kg)之單次給藥。SPT及NSFT分別進行24及48小時後投與(1天及2天)。在行為測試完成後，在25天CUS方案之後，在第5天投與NV-5138或Veh之第二劑量且藉由清醒的斷頭術處死大鼠24小時。粗突觸體由PFC製備，且藉由WB定量突觸蛋白質、GluR1及PSD95。研究設計呈現於表10

中。測試物品投與、行為測試及WB大鼠之處死之時刻表提供於圖14中。

調配NV-5138 (50 mg/mL)：藉由在Veh中溶解至50 mg/mL之濃度製備NV-5138 (Navitor，批次號07)。藉由口服管飼，以160 mg/kg之最終劑量之10 mL/kg體積，向第2組及第4組中之大鼠投與溶液。向第1組及第3組投與等效體積之Veh。

前額葉皮質突觸體製備：解剖來自第1組(n=8)、第3組(n=7)及第4組(n=7)中之大鼠之大腦且在PBS中沖洗。不進行第2組之組織製備。如圖15中所示收集PFC且在均勻化緩衝液(0.32 M蔗糖、pH 7.4之20 mM HEPES、1 mM EDTA、5 mM NaF、1 mM NaVO₃及蛋白酶抑制劑混合液(Roche；#19543200))中在4℃下均質化。均質物在2,800 rpm下在4℃下離心10分鐘，其後移除上清液且在12,000 rpm下在4℃下再離心10分鐘。使所得集結粒再懸浮於裂解緩衝液(50 mM Tris-HCl (pH 7.5)、150 mM NaCl、1% Triton X-100、0.1% SDS、2 mM EDTA、1 mM NaVO₃、5 mM NaF及蛋白酶抑制劑混合液)中且在冰上在50%幅值下音波處理20秒。藉由布萊德福分析測定蛋白質濃度且將所有樣品與裝載緩衝液(60 mM Tris-HCl pH 6.8、20 mM DTT、2% SDS、10%甘油、5% β-巰基乙醇及0.01%溴酚藍)混合且儲存於-20℃下直至WB分析為止。

西方墨點分析：如先前所描述進行GluR1、PSD95及GAPDH之西方墨點分析(Li, N.等人, Science 329(5994): 959-964 (2010))。簡言之，將突觸體製劑(15 μg蛋白質)裝載至用於電泳之10-15% SDS PAGE凝膠中且轉移至轉移緩衝液(10×預混合電泳緩衝液含有25 mM Tris、192 mM甘胺酸，pH 8.3；Bio-Rad)中之聚偏二氟乙烯(PVDF)膜。在室溫下用阻斷緩衝液(2% BSA在PBS-T中(10 mM磷酸酯，pH 7.4、2.7 mM KCl、137

mM NaCl及0.1% Tween-20))阻斷PVDF膜1小時且隨後與第一抗體一起培育：在4°C下隔夜之阻斷緩衝液中之1:1000之兔抗GluR1 (細胞信號傳導；#13185)、1:1000之兔抗PSD95 (細胞信號傳導；#9644)及1:1000之兔抗GAPDH (細胞信號傳導；#5174)。次日，在PBS-T緩衝液中洗滌膜3次且與1:5000至1:10000之辣根過氧化酶共軛抗小鼠或抗兔二級抗體一起培育1小時。在用PBS-T緩衝液最終三次洗滌之後，使用增強化學發光偵測譜帶。墨點隨後在汽提緩衝液(2% SDS、100 mM β -巰基乙醇、50 mM Tris pH 6.8)中在50-55°C下培育30分鐘，繼而用PBS-T緩衝液洗滌三次。汽提墨點在阻斷溶液中保持1小時且與針對裝載對照物之GAPDH之初級抗體一起培育。使用NIH Image J軟體進行各蛋白質之總免疫反應性之密度計分析。所得密度計讀數用於產生總蛋白質與GAPDH之比率。所得比率進一步標準化為各蛋白質之NS-Veh組。

結果：體重量測結果概述於圖16中。在研究前21天，藉由體重將大鼠隨機分組為4組以使得其平均體重在CUS程序開始時相同。第1組(n=14)及第2組(n=14)圈養在其普通籠具中。自20天前至第0天，使第3組(n=14)及第4組(n=14) (註釋：此等組中之每一者之一個動物在CUS期間)死亡，因此21天前之資料為各組中n=13)。在21天(第1天)之後，無應激(NS)大鼠平均增重180.1 g，同時CUS大鼠與無應激基團相比增重少15%(134.9 g) ($p<0.0001$)。SPT結果概述於圖17中。SPT在第1天(給藥後24小時)進行。在NS大鼠中，Veh及NV-5138組中1%蔗糖與用水量之平均比率相等(分別0.78及0.76)。相比之下，第3組中之大鼠展示0.59之平均1%蔗糖與水比率之蔗糖偏好降低(相比於所有其他組， $p<0.05$)。第4組中之大鼠具有與第2組一致(0.79之比率)之蔗糖溶液偏好。NSFT結果概述於圖18中。在第1組

及第2組中，在NV-5138處理之後48小時，攝食等待時間明顯自596.7±24.7 s降低至430.6±25.3 s ($p<0.01$)。在21天CUS之後，第3組中之大鼠展現與第1組($p<0.01$ ，596.7±24.7 s)相比提高的攝食等待時間(773.9±36.2 s)。相比於第3組(773.9±36.2 s)，在第4組中用NV-5138處理CUS動物明顯使攝食等待時間降低至520.1±40.35 s ($p<0.0001$)。在NSFT之後緊接著在飼養籠餵飼中未觀測到顯著差異，表明食慾降低不為此等結果因素。對飼養籠餵飼無作用。粗突觸體中之GluR1及PSD95之西方墨點分析結果概述於圖19中。相比於第1組($**p<0.01$)，第3組中之GluR1 (A圖)及PSD95 (B圖)之濃度明顯降低($\approx 20\%$)。用NV-5138處理在給藥後24小時產生突觸標記物之標準化($**p<0.01$ (對於GluR1)及 $*p<0.05$ (對於PSD95))。

表10：實例E之研究設計

組	n	性別	體重(g)	途徑	處理(第0天及第5天)	調理	行為測試	活體外終點
第1組	14	M	175-200	經口	Veh	NS	SPT， NSFT	藉由WB之GluR1及PSD95
第2組	14	M	175-200	經口	NV， 160 mg/kg	NS		
第3組	14 ¹	M	175-200	經口	Veh	CUS		
第4組	14 ¹	M	175-200	經口	NV， 160 mg/kg	CUS		

實例F：在大鼠中單次經口投與之後強迫游泳及新穎遏制餵飼測試中之NV-5138之藥理學活性之mTORC1活化依賴性

研究設計：在5天環境適應時間段之後，將體重在175與200 g之間的二十(20)個雄性大鼠隨機分組為3個研究組($n=6-7$ /組)。所有大鼠在給藥之前2週以手術方式在PFC中植入有雙側IT插管。在給藥當天，所有處理組接受雙側IT輸注(0.5 μ L/側)，其含有雷帕黴素(R)媒劑(Veh-R，10% DMSO)或雷帕黴素(R，0.01 nmol/ μ L)，其此前已展示完全抑制mTORC1

活性。在鞘內輸注之後三十分鐘，藉由口服管飼投與NV-5138媒劑(Veh-NV，0.5%甲基纖維素/0.1% Tween-80)或NV-5138 (160 mg/kg)。在經口給藥之後指定時間(FST 24小時(第1天)、LMA 48小時(第2天)及NSFT 72小時(20小時禁食時間段之後第3天))評估各處理組。量測LMA以排除一般運動活性之總體改變。研究設計呈現於**表11**中，其中手術程序時刻表、測試物品投與及行為測試提供於**圖20**中。

製備測試物品：在10% DMSO (Veh-R)溶液中製備雷帕黴素(細胞信號傳導；#9904)直至10 μ M之最終濃度。在藉由口服管飼用NV-5138或Veh-NV處理之前，經由IT輸注30分鐘將R或Veh-R兩側投與(每側0.005 nmol/0.5 μ L)至內側PFC中。藉由以50 mg/mL之濃度溶解於Veh (0.5%甲基纖維素/0.1% Tween-80)中製備NV-5138 (批次號07)。藉由口服管飼給第2組及第3組中之研究動物投與基於動物之重量之給藥體積(3.2 mL/kg)。

手術程序及雷帕黴素投與：大鼠立定定向地於內側PFC (自前囟座標：+3.2 AP， $\pm$ 1.0 ML，自硬腦膜-3.5 DV)中植入有導向插管(22GA)。在戊巴比妥(Nembutal)麻醉下(i.p. 55 mg/kg)進行手術程序。手術後護理在於手術周圍投與卡洛芬(carprofen) (5 mg/kg)且局部投與三重抗生素。在2週恢復期之後，以0.25 μ L/min之速率，用超出導向插管0.5 mm之注射插管(26GA)遞送R (0.01 nmol在1 μ L中用於PFC輸注)或Veh-R30分鐘，之後經口投與NV-5138或Veh-NV。基於表明mTORC1活性之有效及選擇性抑制之前述報導，挑選雷帕黴素之劑量。

結果：FST結果概述於**圖21**中。分別比較Veh-R/Veh-NV組與Veh-R/NV-5138 (自 268 ± 11 s至 144 ± 15 s)，不動時間(此模型中功效之初始量

度)明顯降低46% ($p<0.0001$)。此差異因先前輸注R而消除，此藉由對R/NV-5138與Veh-R/Veh-NV組之間的不動時間無顯著作用及比較Veh-R/NV-5138相比於R/NV-5138之顯著差異來指示($p<0.001$)。LMA評定結果概述於圖22中。處理組之間LMA無顯著差異。新穎遏制餵飼測試結果概述於圖23中。藉由32%比較Veh-R/Veh-NV組(747 ± 68 s)與Veh-R/NV-5138 (510 ± 50 s)，攝食等待時間(此模型中功效之初始量度)明顯降低46% ($p<0.05$)。此差異因先前輸注R而消除，此藉由對R/NV-5138與Veh-R/Veh-NV組之間的攝食等待時間無顯著作用(圖23，A圖)。在NSFT之後緊接著觀測到如藉由總食物消耗量所量測之飼養籠餵飼無顯著差異。

表11：實例F之研究設計

組	n	性格	體重(g)	途徑	處理1	途徑	處理2	行為測試
第1組	7	M	175-200	IT	Veh-R	經口	Veh-NV	FST、 LMA、 NSFT
第2組	7	M	175-200	IT	Veh-R	經口	NV-5138 (160 mg/kg)	
第3組	6	M	175-200	IT	R (0.01 nmol)	經口	NV-5138 (160 mg/kg)	

實例G：在氯胺酮之NV-5138之單次給藥之後強迫游泳測試及新穎遏制餵飼測試之行為改變持續時間

研究設計：在5天環境適應時間段之後，將體重在175與200 g之間的四十八(48)個雄性大鼠隨機分組為6個研究組($n=8$ /組)。所有測試物品之單次給藥在第0天投與且在第3天、第7天及第10天後進行行為測試。第1組及第2組在第0天分別用NV-5138 (160 mg/kg，藉由口服管飼)及Ket (10 mg/kg，藉由i.p.注射)給藥且在第3天經受FST。第3組及第4組中之大鼠分別藉由口服管飼在第0天接受NV-5138媒劑(Veh)或NV-5138 (160 mg/kg)之單次給藥。第5組及第6組中之大鼠分別藉由i.p.注射在第0天接受Ket媒劑(Sal)或Ket (10 mg/kg)之單次給藥。第3組至第6組中之大鼠在第7天經

受FST且在第10天經受NSFT。第3組至第6組中之所有大鼠在NSFT 20小時前一晚禁食。研究設計呈現於表12中。測試物品投與之時刻表及行為測試提供於圖24中。

結果：FST結果概述於圖25中。用Ket處理明顯降低在單次給藥之後3天進行之FST雄性大鼠不動所花費之時間之量，降低31%（分別在Sal第5組與Ket第2組中， 137.9 ± 12.18 s相比於 95.5 ± 7.8 s， $p<0.05$ ）。類似地，用NV-5138處理明顯降低在單次給藥之後3天進行之FST雄性大鼠不動所花費之時間之量，降低39%（分別在Veh第3組與NV-5138第1組中 145.3 ± 16.99 s相比於 87.9 ± 9.0 s， $p<0.05$ ）。Ket明顯降低在單次給藥之後7天進行之FST雄性大鼠不動所花費之時間之量，降低31%（分別在Sal第5組與Ket第6組中， 137.9 ± 12.18 s相比於 95.0 ± 11.1 s， $p<0.05$ ）。類似地，用NV-5138處理明顯降低在單次給藥之後7天進行之FST雄性大鼠不動所花費之時間之量，降低34%（分別在Veh第3組與NV-5138第4組中 145.3 ± 16.99 s相比於 96.0 ± 11.3 s， $p<0.05$ ）。NSFT及飼養籠餵飼對照結果概述於圖26中。在經Sal及Ket處理之大鼠之間或經Veh及NV處理之大鼠之間未觀測到顯著差異。第3組至第6組之間飼養籠食物消耗量無差異。

表12：研究設計實例G

組	n	性別	體重(g)	途徑	處理：	行為測試
第1組	8	M	175-200	經口	NV-5138 (160 mg/kg)	FST第3天
第2組	8	M	175-200	i.p.	Ket 10 mg/kg	
第3組	8	M	175-200	經口	Veh	FST第7天 NSFT第10天
第4組	8	M	175-200	經口	NV-5138 (160 mg/kg)	
第5組	8	M	175-200	i.p.	Sal	
第6組	8	M	175-200	i.p.	Ket 10 mg/kg	

實例H：在NV-5138之單次給藥之後層V錐體神經元之生理學改變

研究設計：在5天環境適應時間段之後，將十六(16)個體重在175與200 g之間的雄性大鼠隨機分組為2個研究組(n=8)。在研究第0天，大鼠藉

由口服管飼接受NV媒劑(Veh, 0.5% 甲基纖維素/0.1% Tween-80)或NV-5138 (160 mg/kg)之單次給藥。在給藥後第1天24小時, 處死大鼠, 且製備大腦切片且進行PFC中之層V錐體神經元之全細胞膜片鉗記錄。研究設計呈現於表13中。測試物品投與之時刻表及生理學分析概述於圖27中。

製備測試物品：藉由以50 mg/mL之濃度溶解於Veh (0.5% 甲基纖維素/0.1% Tween-80)中製備NV-5138 (Navitor, 批次號07)。藉由口服管飼給研究動物投與基於動物之重量之給藥體積(3.2 mL/kg)。給藥當天製備測試物品。

製備大腦切片：根據所公佈之程序(Liu, R.J. 等人, J. Neurosci. 22(21): 9453-9464 (2002))製備大腦切片。簡言之, 根據耶魯動物護理及使用委員會批准之方案, 用氯醛水合物(400 mg/kg, i.p.)麻醉大鼠。在斷頭術之後, 移除快速大腦且放置於冰冷(4°C)人造腦脊髓液(ACSF)中, 其中蔗糖(252 mM)替換為NaCl (蔗糖-ACSF)以防止細胞膨脹。解剖一塊含有PFC之組織且在蔗糖-ACSF中用振盪葉片組織切片機(Leica VT1000S)切割冠狀面切片(400 µm)。在將切片放置於浸沒記錄腔室中之後, 使浴溫度升高至32°C。使已知濃度之藥物溶解於ACSF中, 經由活栓配置以快速流動速率(約4 mL/min)施用, 在7至10秒內到達切片。用95% O₂/5% CO₂平衡標準ACSF (pH =7.35)且含有128 mM NaCl、3 mM KCl、2 mM CaCl₂、2 mM MgSO₄、24 mM NaHCO₃、1.25 mM NaH₂PO₄及10 mM D-葡萄糖。在記錄開始之前允許約1至2小時之恢復時間段。

電生理學記錄：藉由視訊顯微術, 使用Olympus BX50WI顯微鏡(×60 IR透鏡), 用紅外差異干擾對比度(IR/DIC)視訊顯微術(Olympus), 根據所公佈之程序(Lambe, E.K. & Aghajanian, G.K. Neuron 40(1):139-

150 (2003))目測層V中之錐體神經元。藉由使用Flaming-Brown水平拉拔器(模型P-97; Sutter Instruments)自貼片夾具玻璃套管(Warner Instruments)拉伸低電阻貼片吸量管(3-5M Ω)。吸量管填充有以下溶液：115 mM K葡萄糖酸鹽、5 mM KCl、2 mM MgCl₂、2 mM Mg-ATP、2 mM Na₂ATP、10 mM Na₂-磷酸肌酸、0.4 mM Na₂GTP及10 mM HEPES, pH 7.33。將神經生物素(0.3%)添加至移液管溶液中以標記細胞以便後續成像。用Axoclamp-2B放大器(Axon Instruments)進行全細胞記錄。輸出信號在3 KHz下經受低通濾波，經由Cyberamp擴增 $\times 100$ ，在15 kHz下數位化，且藉由使用pClamp 9.2/Digidata 1320軟體(Axon Instruments)獲得。在整個實驗中監測之串聯電阻通常在4與8 M Ω 之間。使串聯電阻誤差降至最低，若串聯電阻上升高於10 Ω ，則丟棄細胞。在夾持接近休止電位(75 mV $\pm$ 5 mV)之連續單一電極電壓-夾具模式(3000 Hz低通濾波器)中研究突觸後電流以使保持電流降至最低。在記錄完成後，將切片轉移至含4%多聚甲醛之0.1 M磷酸鹽緩衝液且在4 $^{\circ}$ C下儲存隔夜。隨後用共軛至Alexa 594 (1:1000; 英傑公司)之抗生蛋白鏈菌素處理切片以用於在標記細胞中進行神經生物素目測。

棘密度分析：前扣帶(Cg1)及前邊緣mPFC (Cg3)之層V內之標記神經元用兩個光子Ti:用於分析之棘密度及形態(810奈米; Mai Tai, Spectra Physics, 山景城(Mountain View), 加利福尼亞州)之藍寶石雷射掃描系統成像，該系統耦合至安裝於Olympus BX50WI顯微鏡上之直接偵測輻射率2000 BioRad雷射掃描器(Zeiss Micromaging, Thornwood, 紐約)，使用60 $\times$ (0.9數值孔徑)水浸沒目標。此包括層V神經元之近端及遠端簇以及棘頂端直徑之總數目且指示棘成熟。頂部簇分支鏈段之長度藉由使用

Neurolucida 10.2 (MicroBrightField)在各Z堆疊之3D基質內測定。用Neurolucida探測器(版本10.2)之Autospine模塊在原始圖像堆疊(2-5個光學部分，相隔1 μm)上進行棘密度及棘頂端直徑分析。在三個區域中取樣棘密度及分段(起脊)：簇端部在其接近軟膜、約軟膜與頂部軀幹分叉點之間的中間位置及恰好分叉點遠端之近端簇樹突時分支。根據總樹枝狀長度、棘密度及分段密度表示結果。根據棘密度，每10 μm 表示結果。

結果：層V錐體細胞之全細胞貼片記錄之結果概述於圖28中。在NV-5138之單次給藥之後，相對於經媒劑處理之大鼠，5-HT及Hcrt誘導之EPSC之頻率明顯提高。每組使用八個大鼠且每個大鼠記錄3至5個細胞。5-HT及Hcrt誘導之EPSC之電壓鉗跡線展示於圖30中。5-HT及Hcrt誘導之EPSC之累積機率分佈及NV-5138之作用展示於圖31中。樹枝狀棘密度及形態分析之結果概述於圖29中。NV-5138之單次給藥揭示總體棘密度顯著提高，其中層V錐體神經元樹突中之「細長」及「蘑菇」棘亞型尤其提高。圖像取自每個動物的1個載玻片，分別來自第1組及第2組之4個經Veh處理之大鼠及5個經NV-5138處理之大鼠。在NV之單次經口投與之後24小時，mPFC層V錐體神經元之頂部樹突之總密度明顯提高。在指定「細長」及「蘑菇」之特定形態樹枝狀棘亞型中注意到顯著提高。NV-5138投與相對於與此前針對氯胺酮觀測到類似(Li, N.等人, Science 329(5994): 959-964 (2010))但不同於使用類似程序之GLYX-13(Liu, R.J.等人, Neuropsychopharmacology 42(6): 1231-42 (2017))之經媒劑處理之大鼠亦明顯提高5-HT及Hcrt誘導之EPSC之頻率。此研究展現，在NV-5138之單一經口投與之後直接mTORC1活化誘導功能樹枝狀棘形成，其涉及提高的突觸信號傳導及其他快速作用抗抑鬱劑之情緒改良。

表13：研究設計實例H

組	n	性別	體重(g)	途徑	處理	生理學分析
第1組	8	M	175-200	經口	Veh	EPSC記錄， 樹枝狀棘密度
第2組	8	M	175-200	經口	NV (160 mg/kg)	

實例I：在化合物之每日給藥或氯胺酮之每隔一天給藥之後強迫游泳及新穎遏制餵飼測試之行為改變

研究設計：在5天環境適應時間段之後，將體重在175與200 g之間的二十四(24)個雄性史泊格多利大白鼠隨機分組為4個研究組(n=6/組)。在研究1天前，大鼠經受預游泳。在研究第0天開始時，第2組中之大鼠各自藉由i.p.注射隔天(第0天、第2天、第4天及第6天)接受Ket (10 mg/kg)之劑量。第1組中之大鼠藉由口服管飼接受每日劑量之Veh持續7天(第0天至第6天)。第3組及第4組中之大鼠各自藉由口服管飼接受NV-5138之每日劑量(40或80 mg/kg)持續7天(第0天至第6天)。所有大鼠在最後一次給藥後24小時在第7天經受FST。在第8天，在最後一次給藥之後48小時，所有大鼠之LMA在開放空間中量測。大鼠隨後禁食20小時且在第9天經受NSFT (最後一次給藥後72小時)。研究設計呈現於**表14**中。測試物品投與之時刻表及行為測試概述於**圖32**中。

製備測試物品：以10 mg/mL之濃度使Ket (Sigma，目錄號K1884)溶解於Sal中。向第2組投與1 mL/kg Ket之注射體積(i.p)。藉由以50 mg/mL之濃度溶解於Veh (0.5%甲基纖維素/0.1% Tween-80)中製備NV-5138。分別藉由口服管飼給第1組、第3組及第4組中之研究動物每日投與基於Veh或NV-5138之動物之重量之給藥體積(3.2 mL/kg)。給藥當天製備測試物品。

結果：第7天FST之結果概述於**圖33**中。第8天LMA之結果概述於**圖34**中。第9天NSFT及飼養籠餵飼對照結果概述於**圖35**中。在80 mg/kg下

在FST及NSFT中觀測到NV-5138之顯著作用。氯胺酮在兩個測試中均產生顯著作用。在LMA或飼養籠餵飼中不可見顯著作用。

表14：實例J之研究設計

組	n	性別	體重(g)	途徑	處理	行為測試
第1組	6	M	175-200	經口	Veh	FST、 LMA及 NSFT
第2組	6	M	175-200	i.p	Ket (10 mg/kg)	
第3組	6	M	175-200	經口	NV-5138 (40 mg/kg)	
第4組	6	M	175-200	經口	NV-5138 (80 mg/kg)	

實例J：狨猴人類威脅測試

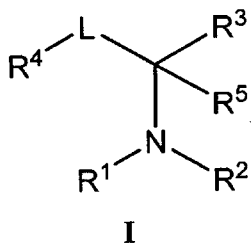
研究設計：將三十六(36)個狨猴(白鬚狨)配對且隨機地分成處理組。在人類威脅測試(HTT)之前二十四小時，動物經煤劑、氯胺酮(0.3 mg/kg；i.m.)或NV-5138 (160 mg/kg；p.o.)處理。第二天，相同動物經煤劑(s.c.)或利眠寧(1 mg/kg；s.c.)處理。隨後歷經兩(2)個分鐘時間段，用人類觀測器之存在監測動物之威脅姿勢次數。歷經相同時間段監測運動活性，如藉由所觀測到之跳躍次數所量測。

結果：動物之威脅姿勢次數概述於圖36中。動物之跳躍次數概述於圖37中。資料確認，在急性投與之後二十四小時，氯胺酮誘導狨猴HTT中之抗焦慮/抗抑鬱類特徵，而無顯著運動活性改變。然而，一半動物(6)產生輕度嘔吐(資料未示出)。NV-5138產生類似的抗焦慮/抗抑鬱類作用，而無運動削弱。重要的是，未觀測到不良作用，諸如嘔吐。利眠寧產生類似結果。

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種式I化合物或其醫藥學上可接受之鹽或包含其之醫藥學上可接受之組合物之用途，其係用於製造治療有需要之患者之難治性抑鬱症之藥物：



其中：

R¹為H；

R²為H；

R³為-C(O)OH；

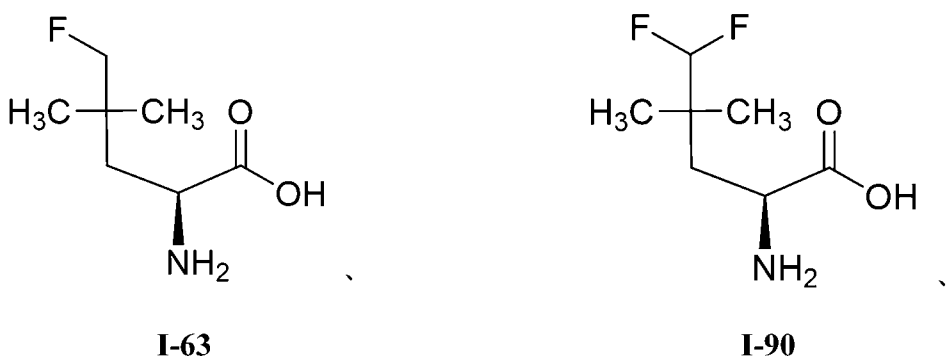
L為 ；

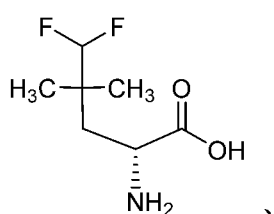
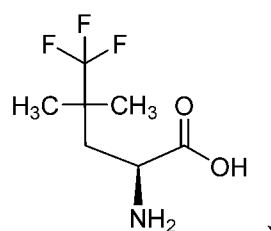
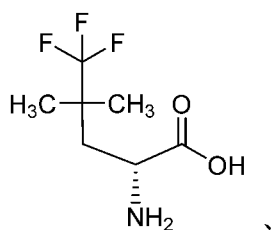
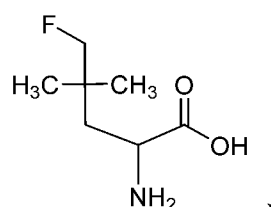
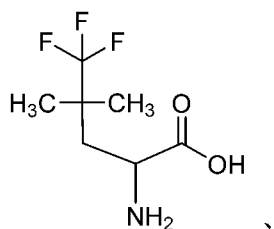
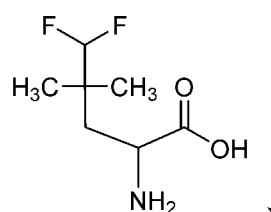
R⁴為-CF₃、-CH₂F或-CHF₂；且

R⁵為H。

【第2項】

如請求項1之用途，其中該化合物係選自：

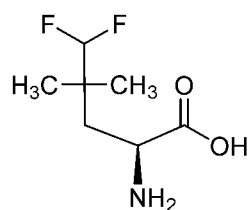


**I-91****I-128****I-129****I-196****I-251****I-252**

或其醫藥學上可接受之鹽。

【第3項】

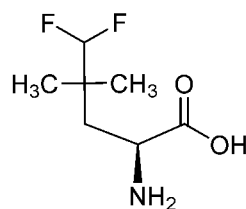
如請求項1之用途，其中該化合物係選自：

**I-90**

或其醫藥學上可接受之鹽。

【第4項】

如請求項1之用途，其中該化合物係選自：

**I-90**。**【第5項】**

如請求項1至4中任一項之用途，其中該醫藥學上可接受之組合物另包含醫藥學上可接受之載劑、佐劑或媒劑。

【第6項】

如請求項1至4中任一項之用途，其中該藥物係與額外治療劑或療法併用。

【第7項】

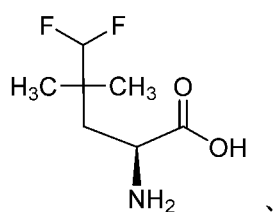
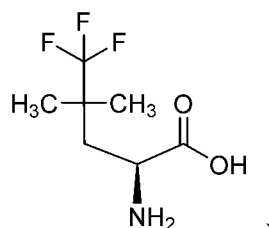
如請求項1至4中任一項之用途，其中該難治性抑鬱症係對第一線治療具有抗性。

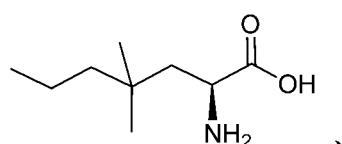
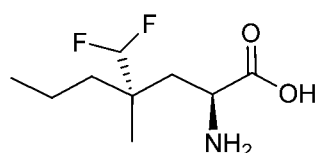
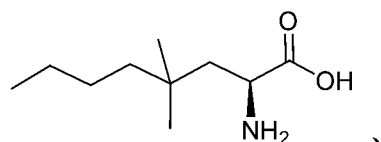
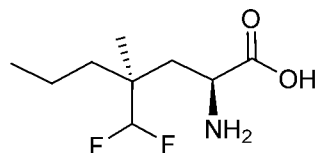
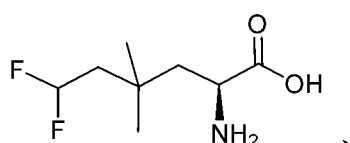
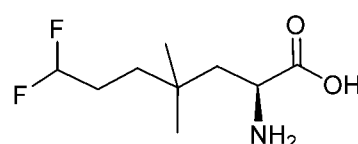
【第8項】

如請求項1至4中任一項之用途，其中該難治性抑鬱症係對第二線治療具有抗性。

【第9項】

一種化合物或其醫藥學上可接受之鹽或包含其之醫藥學上可接受之組合物之用途，其係用於製造治療有需要之患者之難治性抑鬱症之藥物，該化合物係選自：

**I-90****I-128**

**I-210****I-229****I-230****I-232****I-234****I-238**

。

【第10項】

如請求項9之用途，其中該醫藥學上可接受之組合物另包含醫藥學上可接受之載劑、佐劑或媒劑。

【第11項】

如請求項9或10之用途，其中該藥物係與額外治療劑或療法併用。

【第12項】

如請求項9或10之用途，其中該難治性抑鬱症係對第一線治療具有抗性。

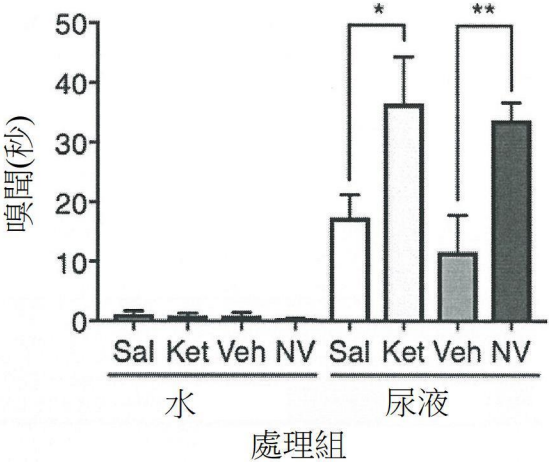
【第13項】

如請求項9或10之用途，其中該難治性抑鬱症係對第二線治療具有抗性。

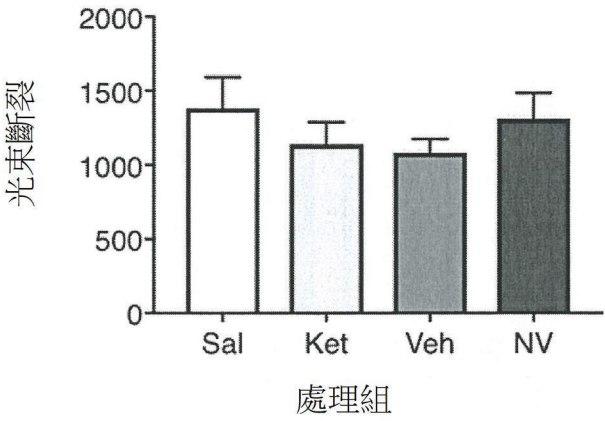
【發明圖式】



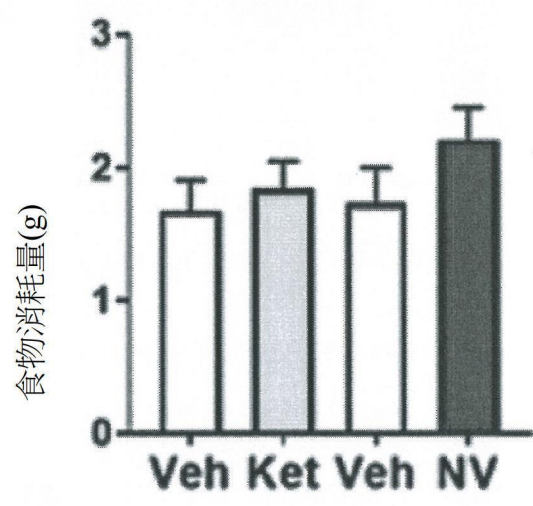
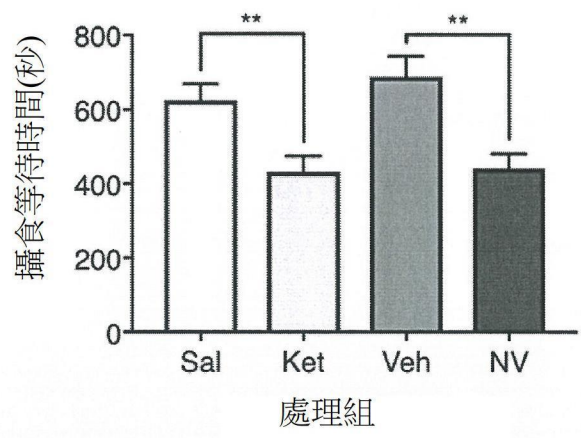
【圖1】



【圖2】



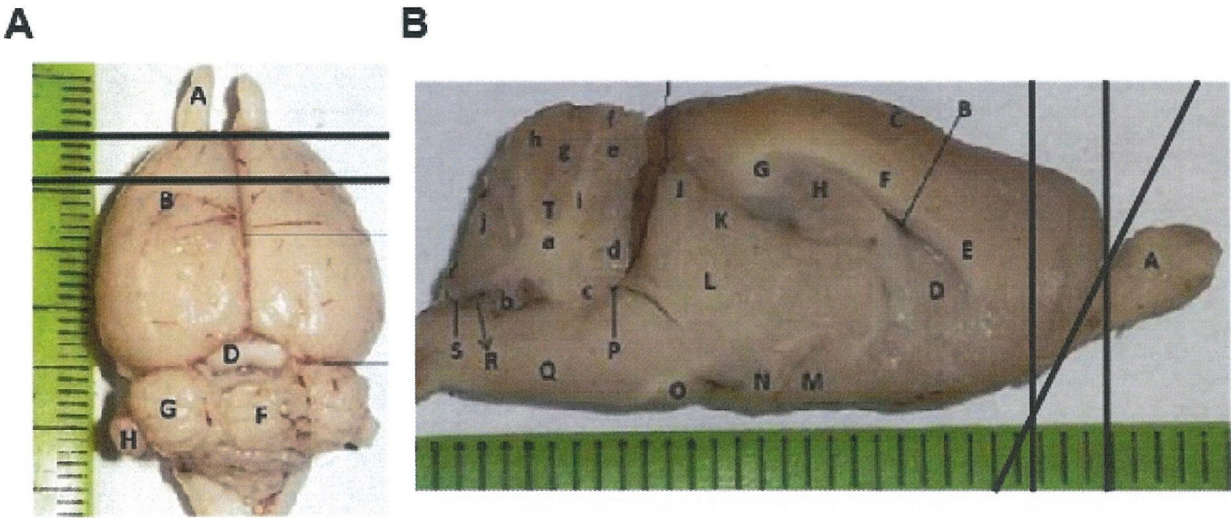
【圖3】



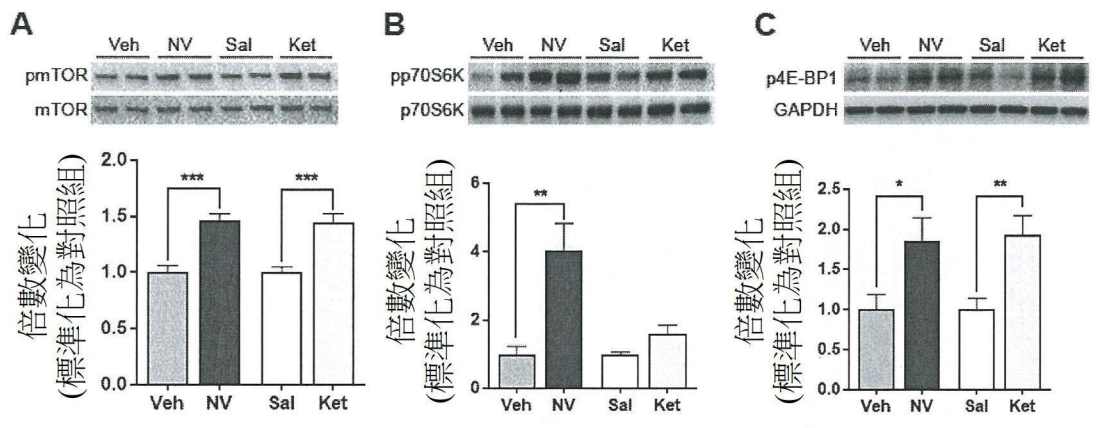
【圖4】



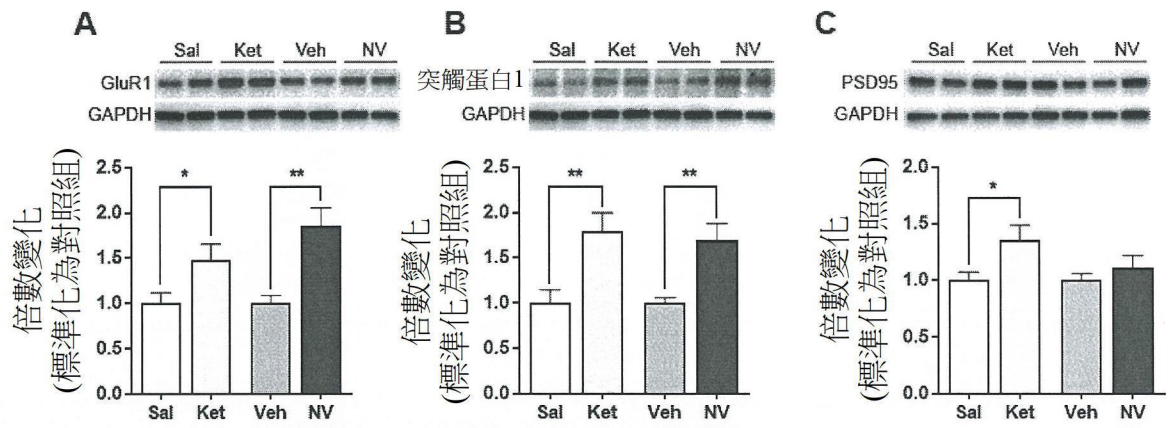
【圖5】



【圖6】



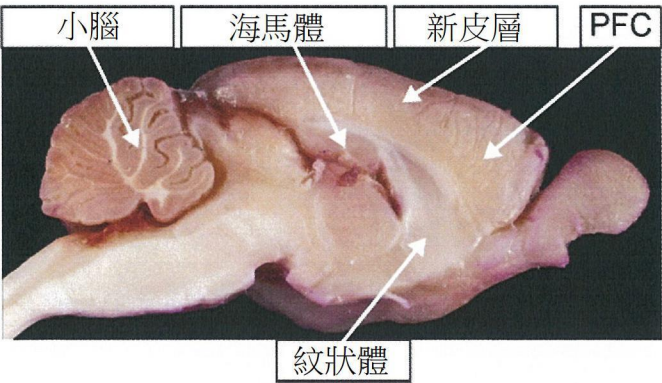
【圖7】



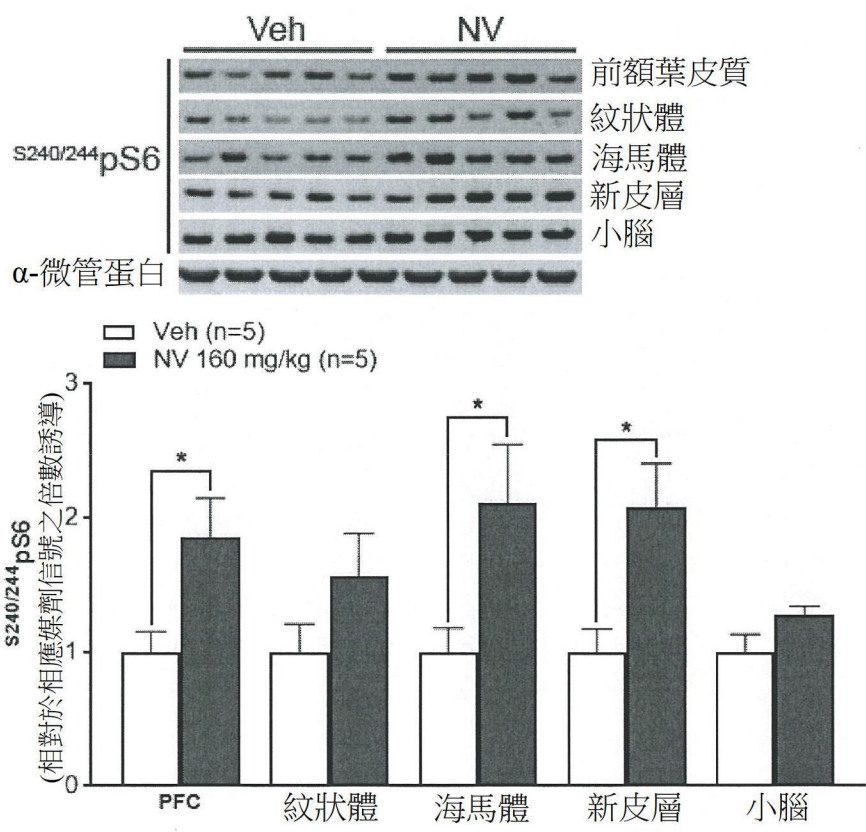
【圖8】



【圖9】



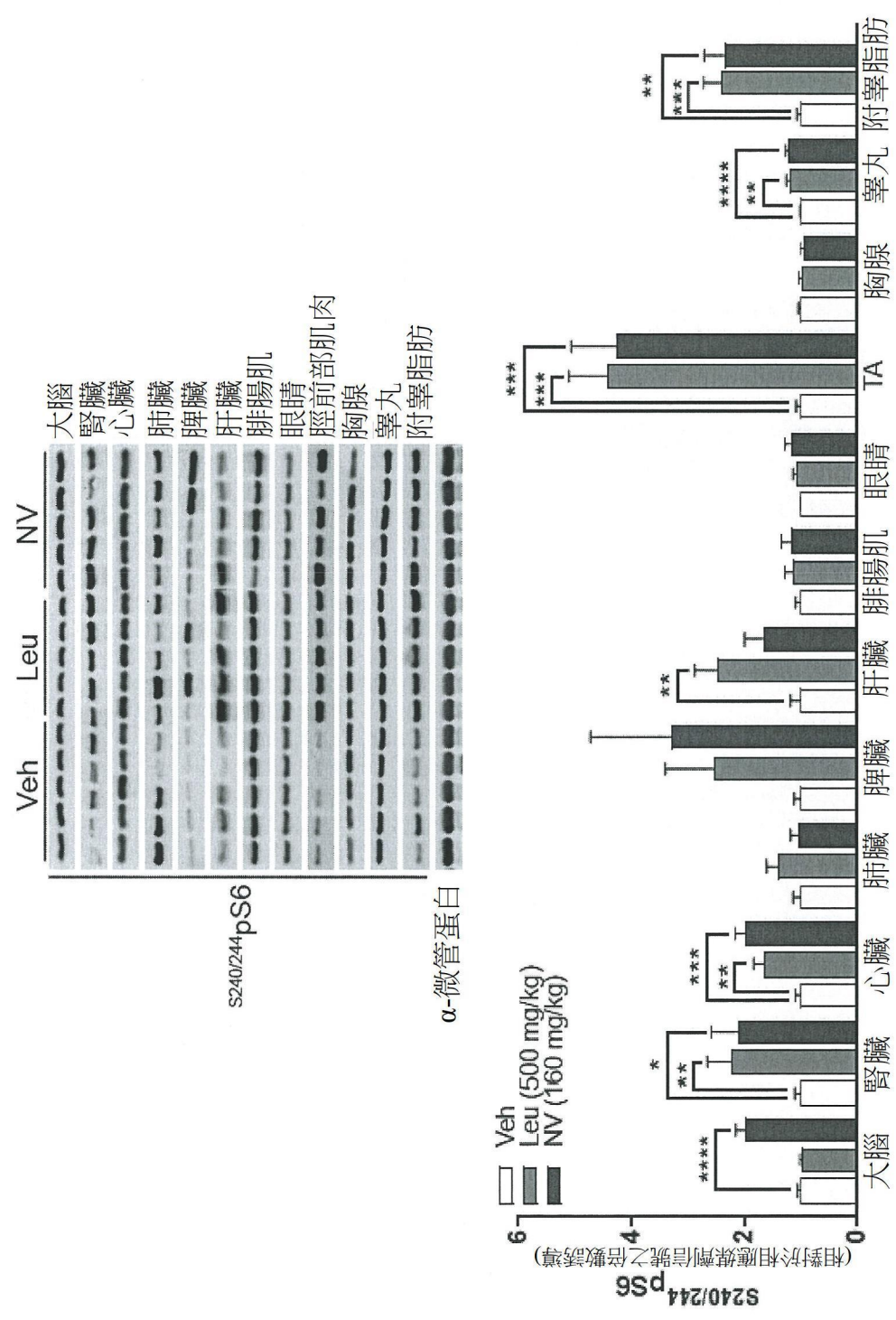
【圖10】



【圖11】



【圖12】

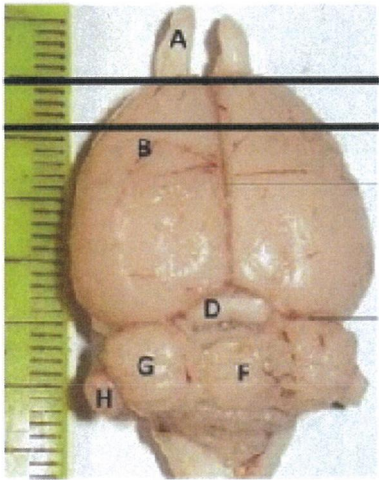


【圖13】

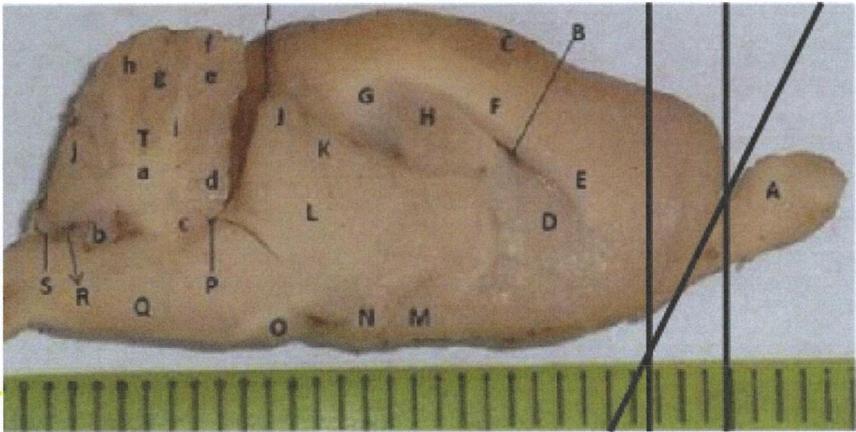


【圖14】

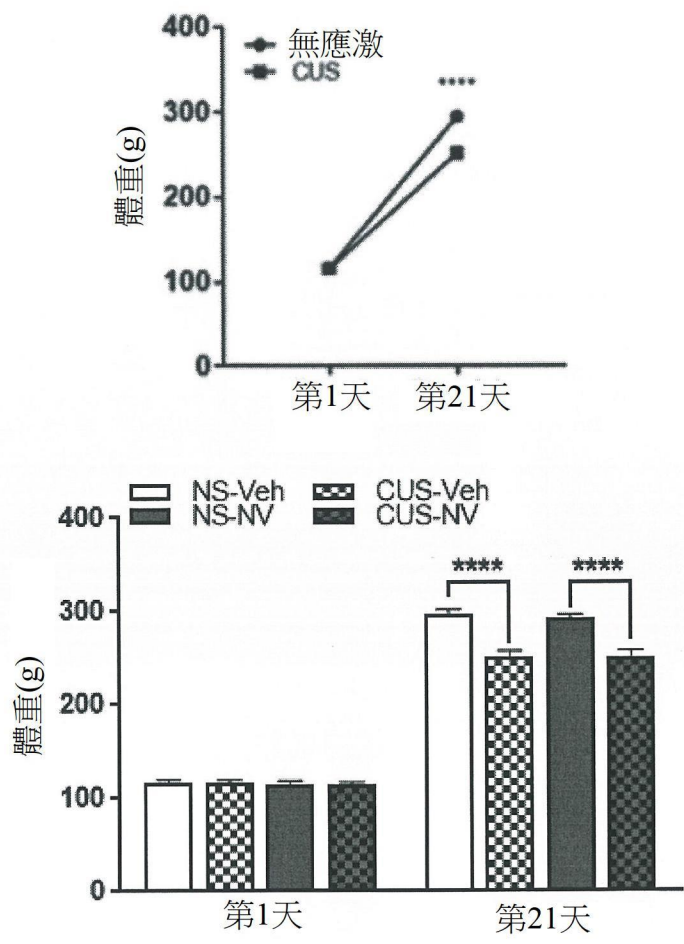
A



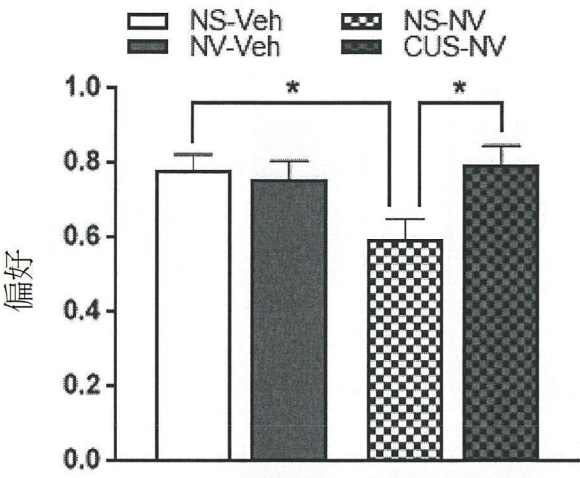
B



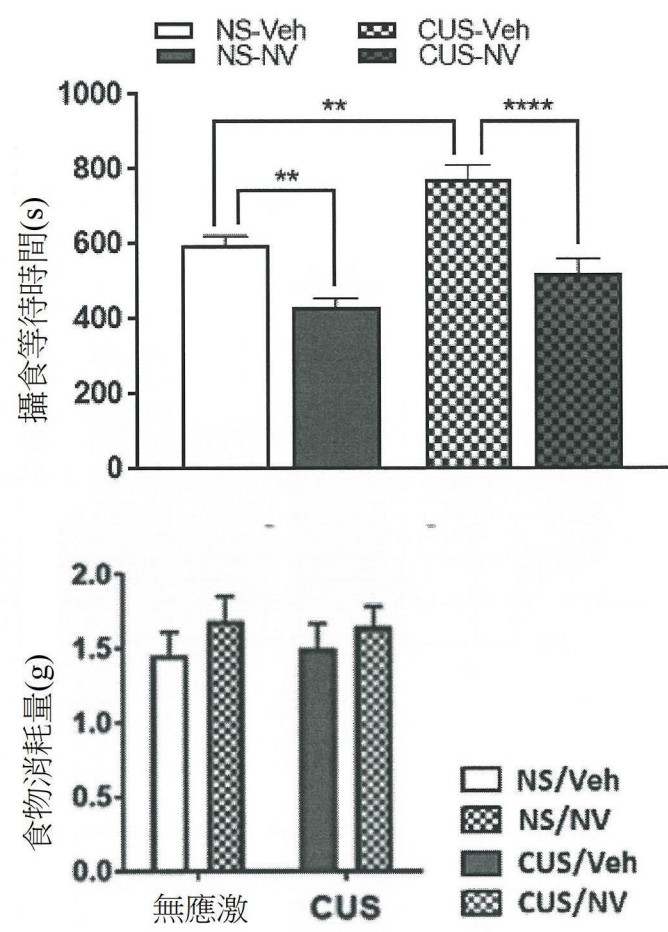
【圖15】



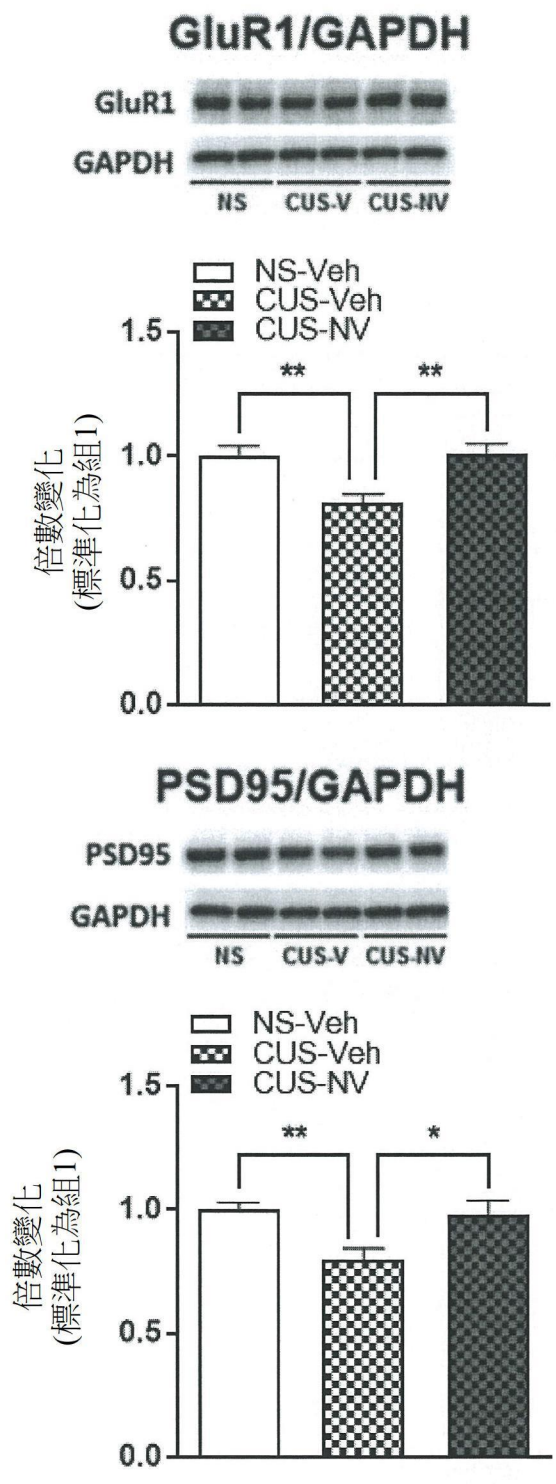
【圖16】



【圖17】



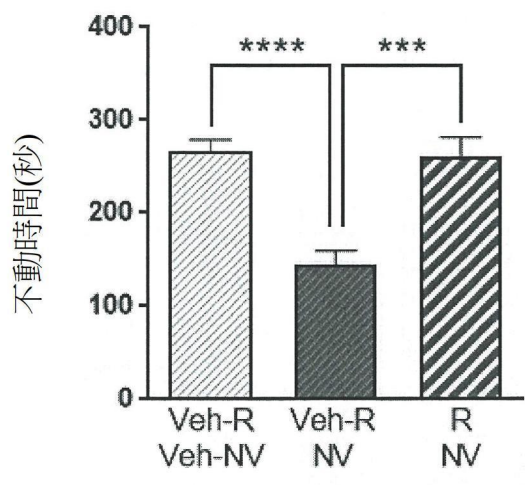
【圖18】



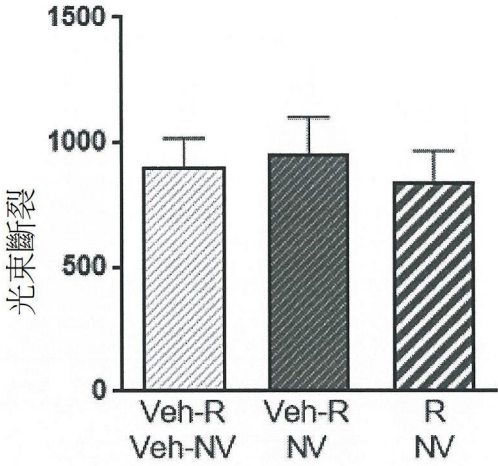
【圖19】



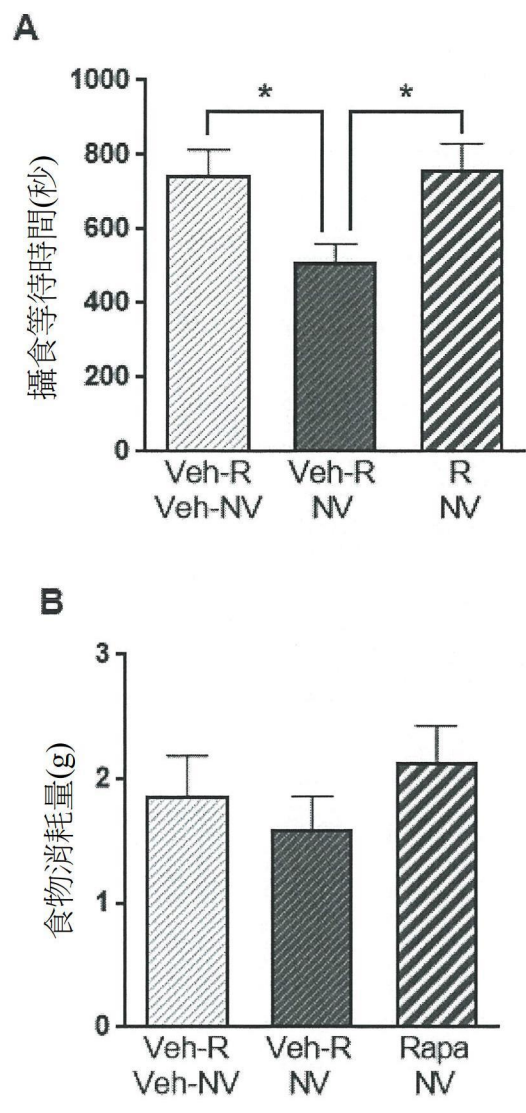
【圖20】



【圖21】



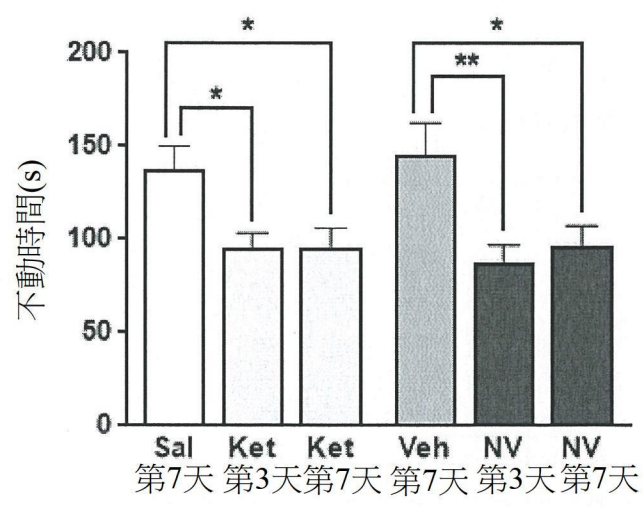
【圖22】



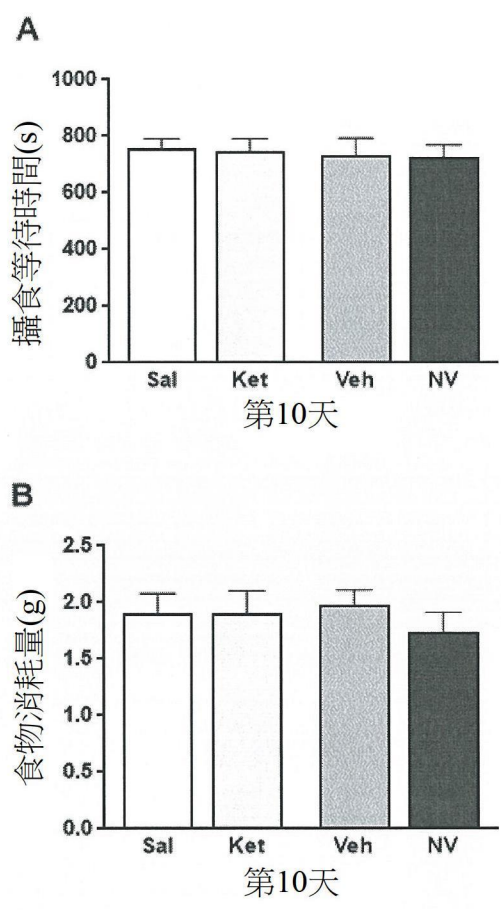
【圖23】



【圖24】



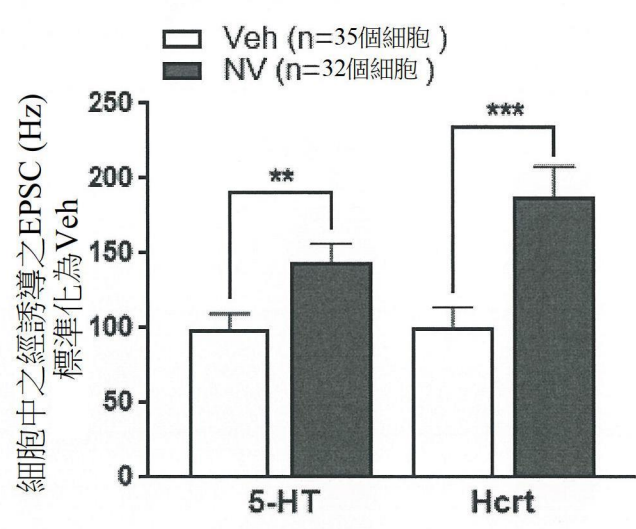
【圖25】



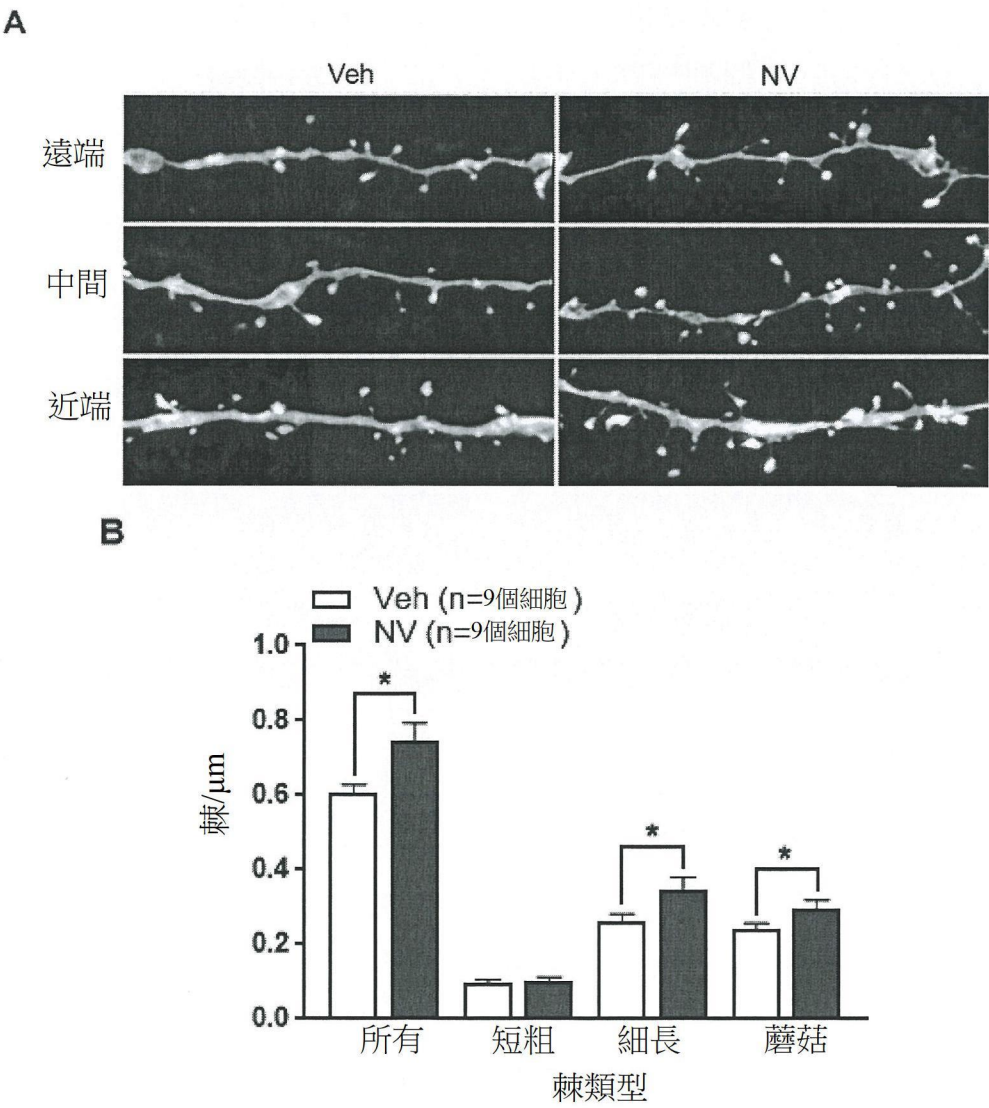
【圖26】



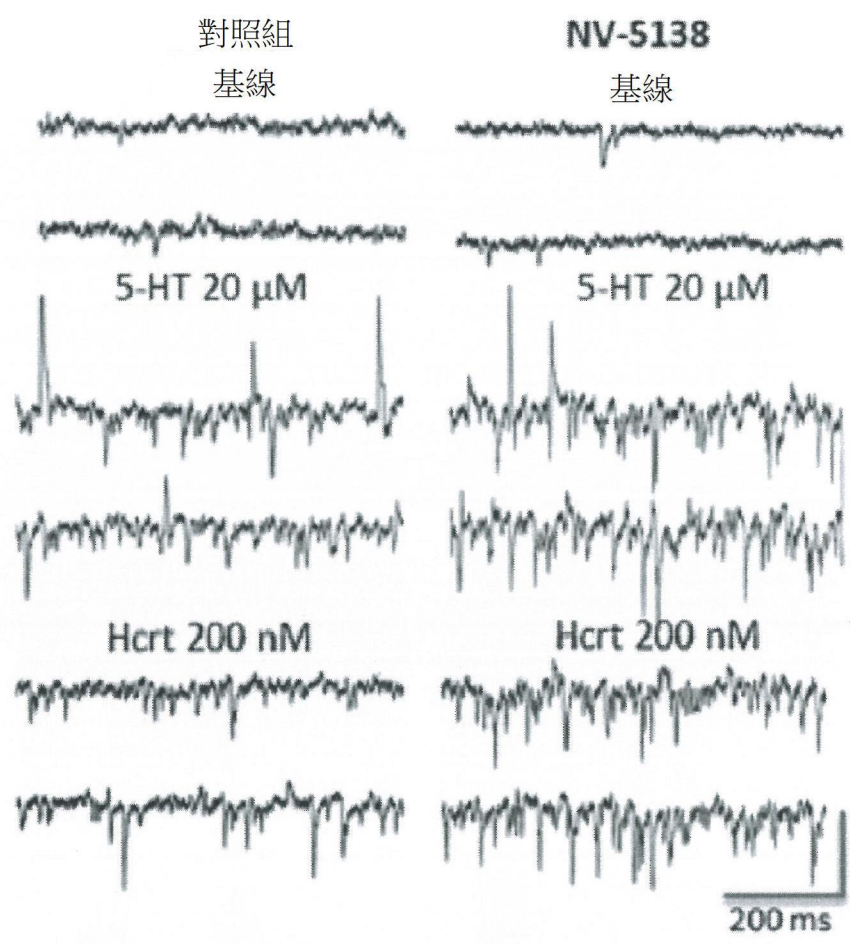
【圖27】



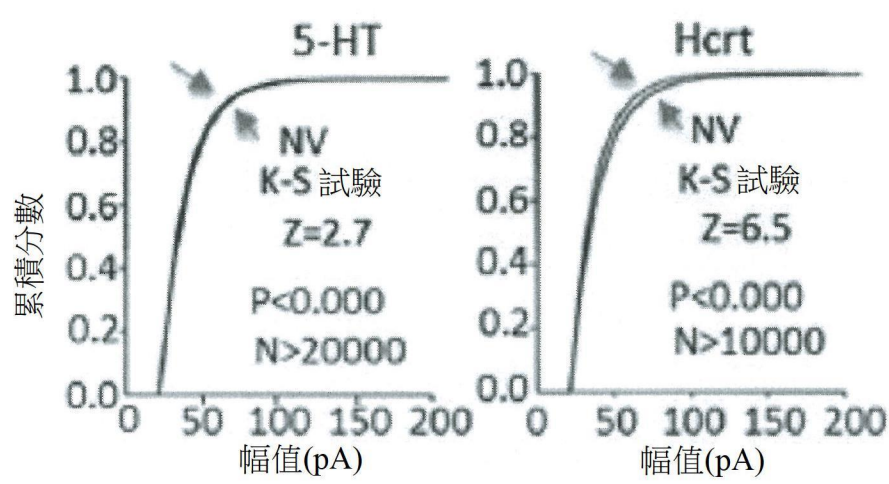
【圖28】



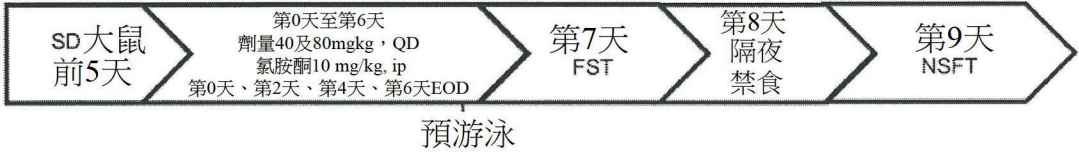
【圖29】



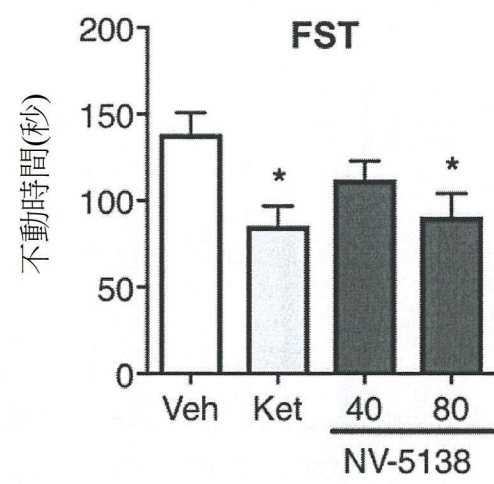
【圖30】



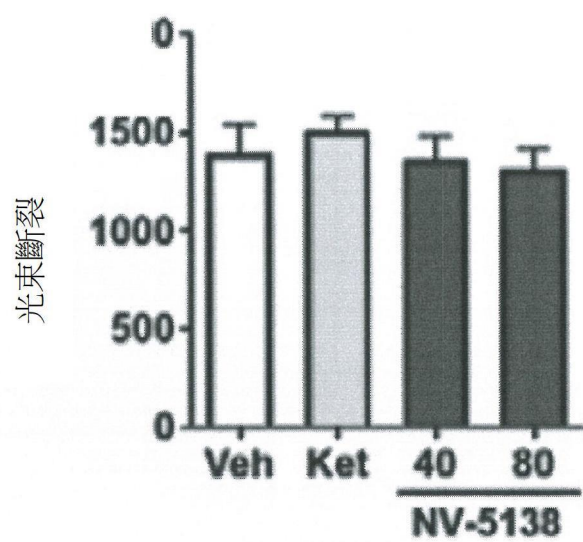
【圖31】



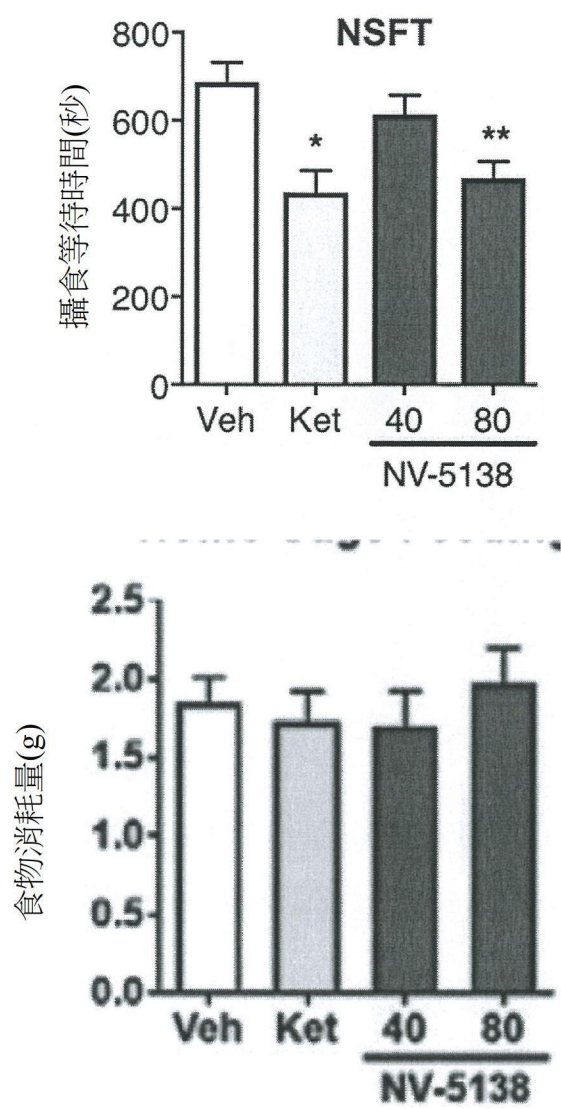
【圖32】



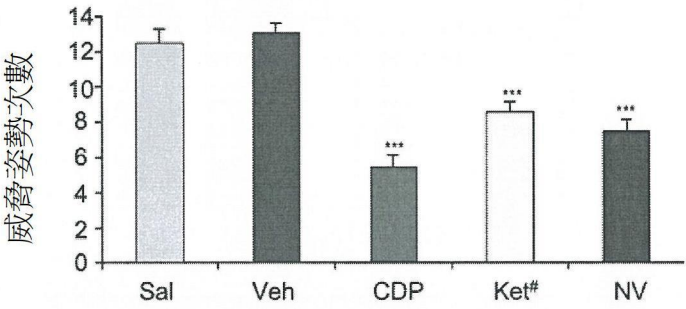
【圖33】



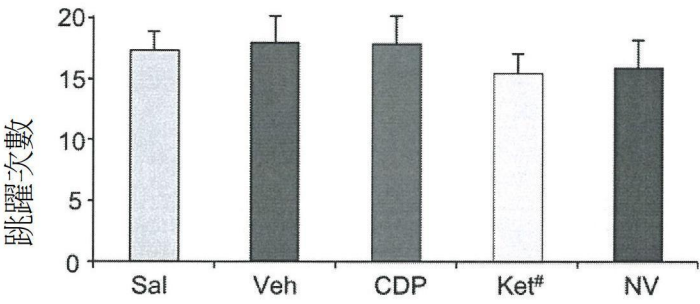
【圖34】



【圖35】



【圖36】



【圖37】