



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201136925 A1

(43)公開日：中華民國 100 (2011) 年 11 月 01 日

(21)申請案號：100113030

(22)申請日：中華民國 100 (2011) 年 04 月 14 日

(51)Int. Cl.：

C07D413/14 (2006.01)

C07D403/12 (2006.01)

A61K31/5377(2006.01)

A61K31/4196(2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2010/04/15 美國

61/324,651

(71)申請人：諾華公司 (瑞士) NOVARTIS AG (CH)

瑞士

(72)發明人：亞布拉姆斯 坦亞 ABRAMS, TINYA (US)；巴山堤 保羅 A BARSANTI, PAUL A. (GB)；丁宇 DING, YU (CA)；杜爾 大衛 DUHL, DAVID (US)；韓宇錫 HAN, WOOSEOK (KR)；胡成 HU, CHENG (CN)；潘越 PAN, YUE (CN)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：37 項 圖式數：0 共 113 頁

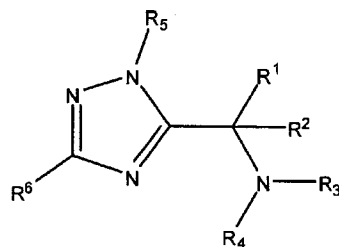
(54)名稱

作為紡錘體驅動蛋白 (KSP) 抑制劑之三唑化合物

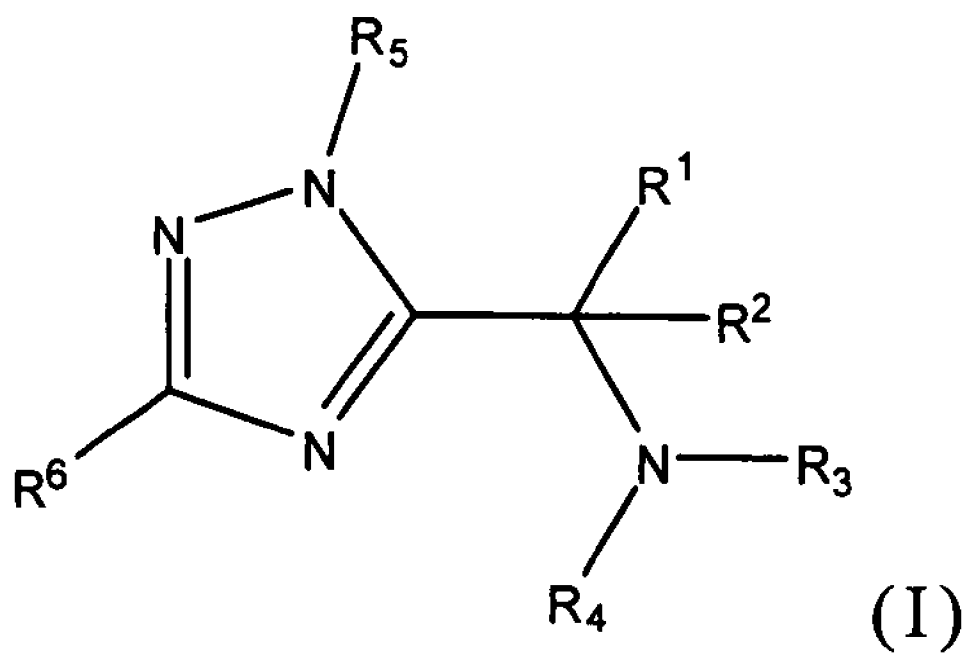
TRIAZOLE COMPOUNDS AS KSP INHIBITORS

(57)摘要

本發明提供式 I 之三唑化合物：



如本文進一步闡述。本發明亦提供包含治療有效量之式 I 化合物之醫藥組合物，及治療哺乳動物患者至少部分地由 KSP 調介的病症之方法，其包含向需要此治療之哺乳動物患者投與治療有效量之式 I 化合物。





(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201136925 A1

(43)公開日：中華民國 100 (2011) 年 11 月 01 日

(21)申請案號：100113030

(22)申請日：中華民國 100 (2011) 年 04 月 14 日

(51)Int. Cl.：

C07D413/14 (2006.01)

C07D403/12 (2006.01)

A61K31/5377(2006.01)

A61K31/4196(2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2010/04/15 美國

61/324,651

(71)申請人：諾華公司 (瑞士) NOVARTIS AG (CH)

瑞士

(72)發明人：亞布拉姆斯 坦亞 ABRAMS, TINYA (US)；巴山堤 保羅 A BARSANTI, PAUL A. (GB)；丁宇 DING, YU (CA)；杜爾 大衛 DUHL, DAVID (US)；韓宇錫 HAN, WOOSEOK (KR)；胡成 HU, CHENG (CN)；潘越 PAN, YUE (CN)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：37 項 圖式數：0 共 113 頁

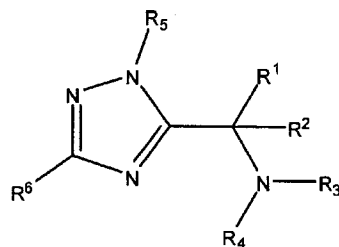
(54)名稱

作為紡錘體驅動蛋白 (KSP) 抑制劑之三唑化合物

TRIAZOLE COMPOUNDS AS KSP INHIBITORS

(57)摘要

本發明提供式 I 之三唑化合物：



如本文進一步闡述。本發明亦提供包含治療有效量之式 I 化合物之醫藥組合物，及治療哺乳動物患者至少部分地由 KSP 調介的病症之方法，其包含向需要此治療之哺乳動物患者投與治療有效量之式 I 化合物。

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明概言之係關於三唑化合物及其醫藥上可接受之鹽、酯或前藥。本發明進一步係關於該等化合物與醫藥上可接受載劑之組合物、該等化合物之用途、其製備及相關中間體。

本申請案根據35 U.S.C. §119(e)主張2010年4月15日提出申請之美國臨時申請案第61/324,651號之權利，其全文以引用的方式併入本文中。

【先前技術】

驅動蛋白係使用三磷酸腺苷結合至微管並產生機械力之馬達蛋白。驅動蛋白之特徵在於馬達結構域具有約350個胺基酸殘基。已經分辨出若干驅動蛋白馬達結構域之晶體結構。

目前，已鑒定出約100個驅動蛋白相關蛋白(KRP)。驅動蛋白涉及各種細胞生物過程，其包括細胞器官及囊泡之運輸、及內質網之維持。若干KRP與有絲分裂紡錘體之微管或直接與染色體相互作用且顯示在細胞週期之有絲分裂階段期間起關鍵作用。癌症治療劑之開發尤其感興趣者係該等有絲分裂KRP。

紡錘體驅動蛋白(KSP)(亦稱為Eg5、HsEg5、KNSL1或KIF11)係若干驅動蛋白樣馬達蛋白中之一者，該等馬達蛋白定位於有絲分裂紡錘體且習知為雙極有絲分裂紡錘體之形成及/或功能所需。

在1995年，使用針對KSP之C-末端的抗體來消耗KSP展示可阻止有絲分裂中之海拉細胞(HeLa cell)具有單星形微管陣列(Blangy等人，Cell 83:1159-1169, 1995)。bimC及cut7基因(認為該等係KSP之同源物)中之突變致使構巢麴菌(*Aspergillus nidulans*) (Enos, A.P.及N.R. Morris, Cell 60:1019-1027, 1990)及稷酒裂殖酵母菌(*Schizosaccharomyces pombe*) (Hagan, I.及M. Yanagida, Nature 347:563-566, 1990)中之中心體分離失敗。利用ATRA(全反式視黃酸)處理細胞(此在蛋白質層面上上降低KSP表現)或使用反義寡核苷酸消耗在KSP DAN-G胰臟癌細胞中展示明顯的生長抑制，此表明KSP可能涉及全反式視黃酸之抗增殖活動(Kaiser, A.等人，J. Biol. Chem. 274, 18925-18931, 1999)。令人感興趣的是，有爪蟾蝾極光(*Xenopus laevis* Aurora)相關蛋白激酶pEg2展示結合及磷酸化XlEg5 (Giet, R.等人，J. Biol. Chem. 274:15005-15013, 1999)。癌症藥物開發所感興趣者係極光相關激酶(Aurora-related kinase)之可能受質。舉例而言，Aurora 1及2激酶在蛋白質和RNA層面上過表現且在結腸癌患者中該等基因會擴增。

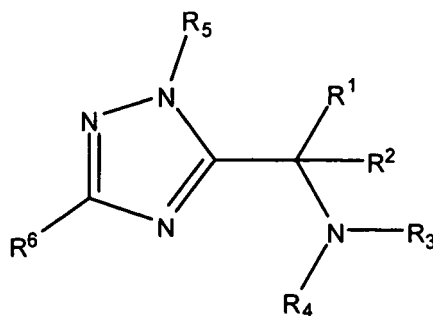
KSP之第一細胞可滲透小分子抑制劑「毛曼斯托(monastrol)」已顯示阻止細胞具有單極紡錘體，而不會如習用化學治療劑(例如紫杉烷及長春花生物鹼)一樣影響微管聚合(Mayer, T.U.等人，Science 286:971-974, 1999)。在基於表型之篩選中將毛曼斯托鑒定為抑制劑，且此暗示此化合物可作為抗癌藥物開發的先導。經測定此抑制相對於

三磷酸腺苷並不具競爭性且快速可逆(DeBonis, S.等人, Biochemistry, 42:338-349, 2003 ; Kapoor, T.M.等人, J. Cell Biol., 150:975-988, 2000)。

鑒於經改良化學治療劑之重要性，業內需要為KSP及KSP相關蛋白質之有效活體內抑制劑的KSP抑制劑。

【發明內容】

在一個實施例中，本發明係關於經取代三唑化合物及其醫藥上可接受之鹽、酯或前藥、其製備、醫藥組合物及用於治療KSP介導之疾病的用途，其中該等化合物由以下通式代表：



其中：

R^1 可選自 C_{1-6} 烷氧基- C_{1-4} 烷基、 C_{1-6} 直鏈烷基、 C_{3-6} 支鏈烷基、及 $-C_{3-6}$ 環烷基；

R^2 選自 H 及 C_{1-6} 直鏈烷基；

R^3 代表經 $-(CH_2)_{0-3}$ 取代或未經取代之吡咯啉基或視情況經取代之 C_{3-5} 烷基；

R^4 選自 $-C(O)-CH_2OH$ 、 $-C(O)-$ 四氫呋喃、 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、 $-C(O)-$ 未經取代之嗎啉基、及經最多三個烷基取代之 $-C(O)-$ 嗎啉基；

R^5 選自經取代或未經取代之苄基，其中取代基選自 Cl、

F、Br及I；且

R^6 選自經最多三個鹵素原子取代之苯基。

在該等式I化合物之某些實施例中：

R^1 選自 C_{1-6} 直鏈烷基、 C_{3-6} 支鏈烷基、及 $-C_{3-6}$ 環烷基；

R^2 選自 H及 C_{1-6} 直鏈烷基；

R^3 代表經 $-(CH_2)_{0-3}$ 取代或未經取代之吡咯啉基；

R^4 選自 $-C(O)-CH_2OH$ 、 $-C(O)-$ 四氫呋喃、 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、 $-C(O)-$ 未經取代之嗎啉基、及經最多三個烷基取代之 $-C(O)-$ 嗎啉基；

R^5 選自經取代或未經取代之苄基，其中取代基選自 Cl、F、Br及I；且

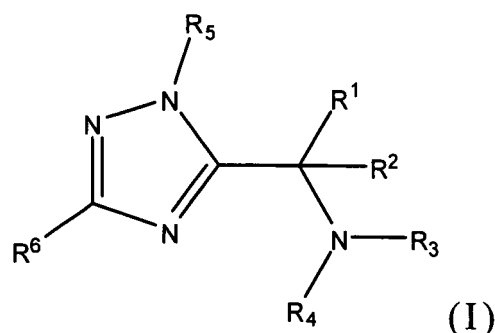
R^6 選自經最多三個鹵素原子取代之苯基。

在其他實施例中， R^1 為 C_{1-6} 烷氧基- C_{1-4} 烷基，例如甲氧基-經取代 C_{1-4} 烷基及2-甲氧基-2-丙基。

本發明亦提供製備及使用該等化合物之方法、及含有該等化合物之醫藥組合物，如本文進一步闡述。

【實施方式】

本發明化合物包括彼等具有式(I)者或其醫藥上可接受之鹽、酯或前藥：



其中：

R^1 選自 C_{1-6} 烷氧基- C_{1-4} 烷基、 C_{1-6} 直鏈烷基、 C_{3-6} 支鏈烷基、及 C_{3-6} 環烷基；

R^2 選自 H 及 C_{1-6} 直鏈烷基；

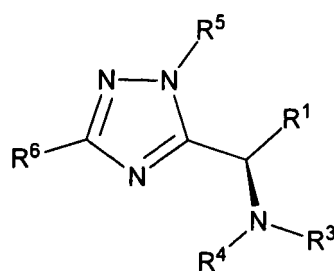
R^3 代表經 $-(CH_2)_{0-3}$ - 取代或未經取代之吡咯啉基，例如 $-CH_2$ -吡咯啉基；

R^4 選自 $-C(O)-CH_2OH$ 、 $-C(O)$ -四氫呋喃、 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、 $-C(O)$ -未經取代之嗎啉基、及經最多三個烷基取代之 $-C(O)$ -嗎啉基；

R^5 選自經取代或未經取代之苄基，其中取代基選自 Cl、F、Br 及 I；且

R^6 選自經最多三個鹵素原子取代之苯基。

在式 I 化合物中， R^1 通常係支鏈烷基或烷氧基烷基，且 R^2 通常係 H。在較佳實施例中，式 I 化合物可為以下異構體：



在該等化合物中， R^5 通常為苄基，其視情況在該苄基之苯基環上經最多 3 個鹵素原子取代。 R^5 可未經取代；當其經取代時，其經常經一個或兩個氟原子取代。

R^6 通常為視情況經取代苯基環；在一些實施例中，其為經 1-2 個鹵基取代之苯基。在較佳實施例中， R^6 為氟苯基

或二氟苯基、具體而言2,5-二氟苯基。

在該等式I化合物的某些實施例中， R^1 選自 C_{1-6} 直鏈烷基、 C_{3-6} 支鏈烷基、及 $-C_{3-6}$ 環烷基。

本發明之特定實施例提供式I化合物，其中：

R^1 選自 C_{1-6} 烷氧基- C_{1-4} 烷基，較佳經甲氧基-取代之 C_{1-4} 烷基；

R^2 代表H；

R^3 代表 $-(CH_2)_{1-3}$ -經取代吡咯啉基；

R^4 選自 $-C(O)$ -四氫呋喃、 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、經最多三個烷基取代之 $-C(O)$ -嗎啉基；

R^5 代表苄基或經最多兩個氟原子取代之苄基；且

R^6 選自經最多兩個鹵素原子取代之苯基。

本發明之進一步較佳實施例提供式I化合物，

其中：

R^1 選自 C_{3-6} 支鏈烷基；

R^2 代表H；

R^3 代表 $-(CH_2)_{1-3}$ -經取代吡咯啉基；

R^4 選自 $-C(O)$ -四氫呋喃、 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、經最多三個烷基取代之 $-C(O)$ -嗎啉基；

R^5 代表苄基或經最多兩個氟原子取代之苄基；且

R^6 選自經最多兩個鹵素原子取代之苯基。

本發明之進一步較佳實施例提供式I化合物，

其中：

R^1 代表第三丁基；

R^3 代表 $-(CH_2)-$ 氟-吡咯啉基；

R^4 選自 $-C(O)-$ 四氫呋喃、 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、 $-C(O)-$ 2,6-二甲基嗎啉基；

R^5 代表苄基或經一個氟原子取代之苄基；且

R^6 選自經最多兩個氟原子取代之苯基。

本發明之進一步較佳實施例提供式I化合物，

其中：

R^1 代表甲氧基- C_{1-4} 烷基；

R^3 代表 $-(CH_2)-$ 氟-吡咯啉基；

R^4 選自 $-C(O)-$ 四氫呋喃、 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、 $-C(O)-$ 2,6-二甲基嗎啉基；

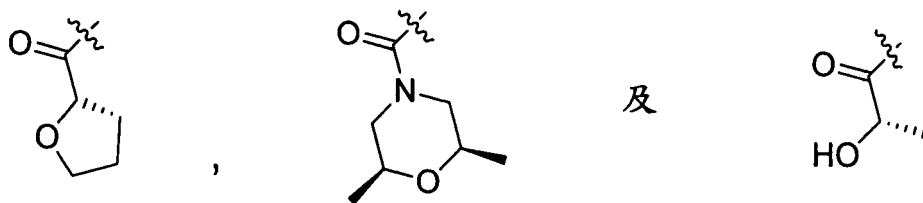
R^5 代表苄基或經一個氟原子取代之苄基；且

R^6 選自經最多兩個氟原子取代之苯基。

另一較佳實施例提供式I化合物，其中：

R^3 代表 $-(CH_2)_{1-3}-$ 氟-吡咯啉基；且

R^4 代表 $-C(O)-2-$ 四氫呋喃、 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、 $-C(O)-$ 2,6-二甲基嗎啉基。在尤其較佳實施例中， R^4 選自：

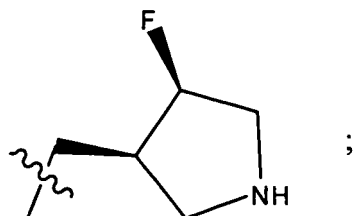


該等 R^4 基團可為外消旋的或具有光學活性；在較佳實施例中， R^4 為具有本文所描述絕對立體化學之光學活性基團。通常，其為一種對映異構體且實質上不含其相對對映

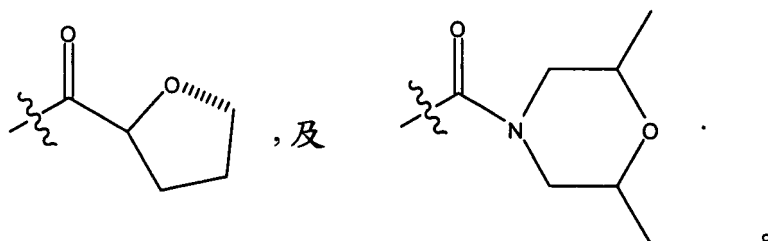
異構體，即， R^4 基團具有至少90%且經常至少95%之對映異構體過量。

本發明之再一較佳實施例提供式I化合物，其中：

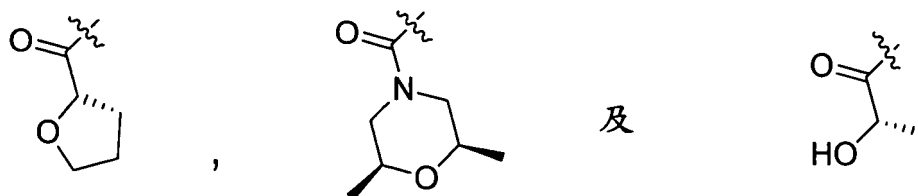
R^3 代表((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基



R^4 選自 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、及

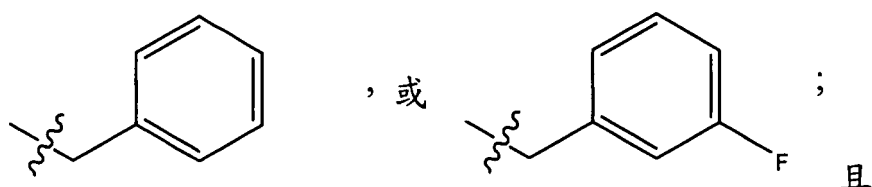


在尤其較佳實施例中， R^4 選自：

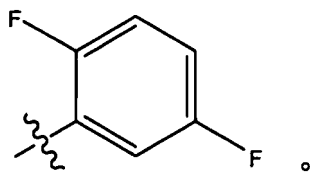


本發明之又一較佳實施例提供式I化合物，其中：

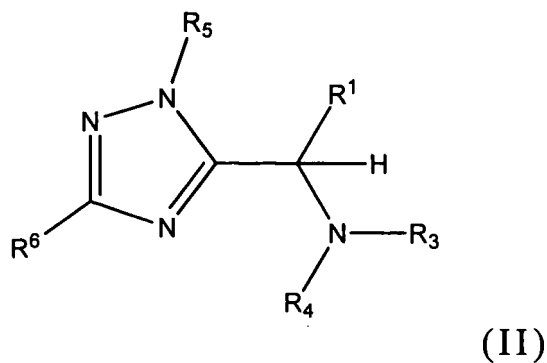
R^5 代表



R^6 係



在另一實施例中，本發明提供式II化合物：



其中：

R^1 可選自 C_{1-6} 烷氧基- C_{1-4} 烷基、 C_{1-6} 直鏈烷基、 C_{3-6} 支鏈烷基、及 $-C_{3-6}$ 環烷基；

R^3 代表 $-(CH_2)_{0-3}$ -經取代或未經取代之吡咯啉基或經最多三個選自胺基及鹵基之基團取代之 C_{3-5} 烷基；

R^4 選自 $-C(O)-CH_2OH$ 、 $-C(O)-$ 四氫呋喃、 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、 $-C(O)-$ 未經取代之嗎啉基、及經最多三個烷基取代之 $-C(O)-$ 嗎啉基；

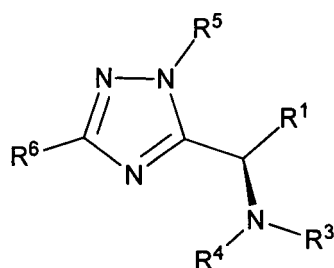
R^5 選自經取代或未經取代之苄基，其中取代基選自 Cl、F、Br 及 I (較佳 F)；且

R^6 選自經最多三個鹵素原子、較佳 F 或 Cl 或二者取代之苯基。

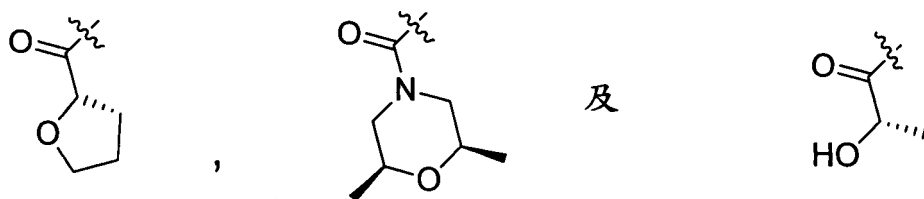
在式 II 化合物中，其中 R^5 或 R^6 經取代，較佳取代基係 F 及 Cl。

在式 II 化合物中， R^1 通常係經烷氧基(例如甲氧基)取代之支鏈烷基，且 R^2 通常係 H。在較佳實施例中，式 II 化合

物可為具有所示絕對立體化學之此異構體：

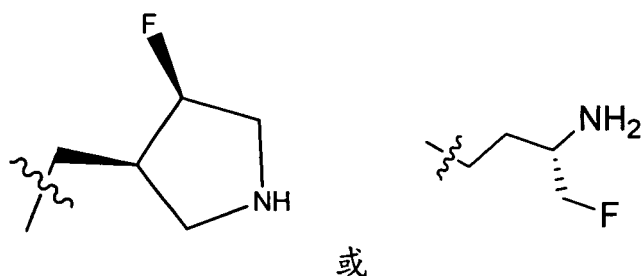


在式II化合物之尤其較佳實施例中， R^4 選自：



較佳地，該等基團具有光學活性且具有所示之絕對立體化學。

本發明之再一較佳實施例提供式II化合物，其中 R^3 代表



該等 R^3 基團可為外消旋或具有光學活性；在較佳實施例中， R^3 為具有本文所描述絕對立體化學之光學活性基團。通常，其為一種對映異構體且實質上不含其相對對映異構體，即，該 R^3 基團具有至少90%且經常至少95%之對映異構體過量。

在式II化合物中， R^5 經常為苄基，其視情況在該苄基之苯基環上經最多3個鹵素原子取代。 R^5 可未經取代；當其

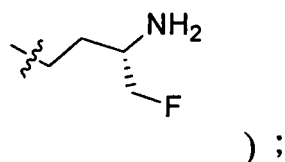
經取代時，其經常經一個或兩個氟原子取代。

在式II化合物中， R^6 通常為視情況經取代苯基環；在一些實施例中，其為經1-2個鹵基取代之苯基。在較佳實施例中， R^6 為氟苯基或二氟苯基、具體而言2,5-二氟苯基。

在該等式II化合物的某些實施例中，

R^1 選自 C_{1-6} 烷氧基- C_{1-4} 烷基、 C_{3-6} 支鏈烷基、及 C_{3-6} 環烷基；

R^3 代表 $-(CH_2)_{0-3}$ -經取代吡咯啉基(例如((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)或 $-CH_2-CH_2-CH(NH_2)-CH_2F$ (其較佳為



R^4 選自 $-C(O)-CH_2OH$ 、 $-C(O)$ -四氫呋喃、 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、 $-C(O)$ -未經取代之嗎啉基、及經最多三個烷基取代之 $-C(O)$ -嗎啉基；

R^5 選自經取代或未經取代之苄基，其中取代基選自Cl、F、Br及I；且

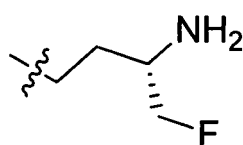
R^6 選自經最多三個鹵素原子取代之苯基。

在式II化合物之某些實施例中， R^1 為甲氧基-經取代 C_{1-4} 烷基。在該等化合物之較佳實施例中， R^1 為2-甲氧基-2-丙基。

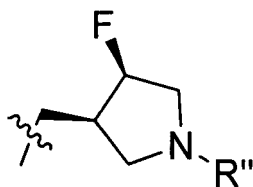
在式II化合物中， R^3 可含有經取代吡咯啉基；例如，其可代表經 $-(CH_2)_{1-2}$ -取代之吡咯啉基，例如((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基。吡咯啉基可在環之任一位置處、通常在

碳原子處附接，且當將環氮原子計為1位時較佳在3位處附接。吡咯啉基可經諸如鹵基、低碳數烷基及低碳數烷氧基等基團取代。較佳地，吡咯啉基環在環碳原子上經至少一個鹵基、一般而言F取代；此外，其視情況經低碳數烷基、通常Me或Et取代，且視情況該低碳數烷基在N上。

在上述式II化合物之任一者的較佳實施例中， R^3 代表 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{CH}_2\text{F}$ ，例如

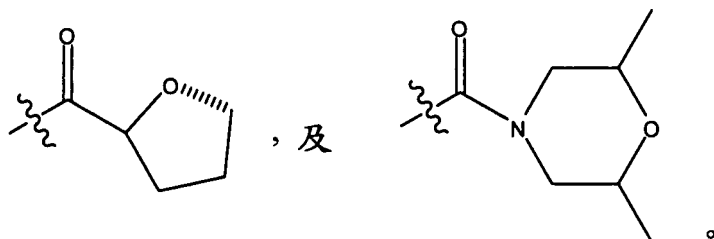


或經 $-(\text{CH}_2)_{1-2}$ -取代之吡咯啉基，其中該經基團 $-(\text{CH}_2)_{1-2}$ -取代之吡咯啉基可為(例如)：

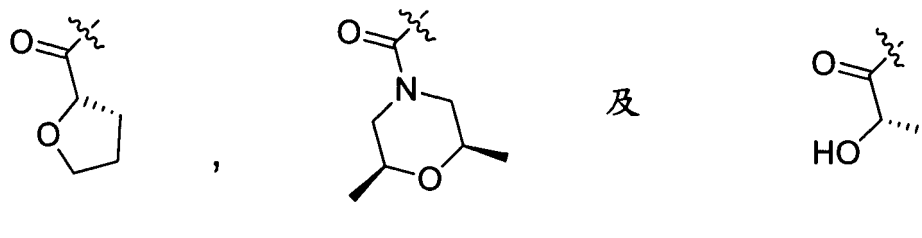


其中 R'' 為H、Me、Et、異丙基或正丙基。較佳地，吡咯啉基具有此處所示之絕對立體化學構型，即，其為((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基，其中 R'' 為H、Me、Et、異丙基或正丙基。

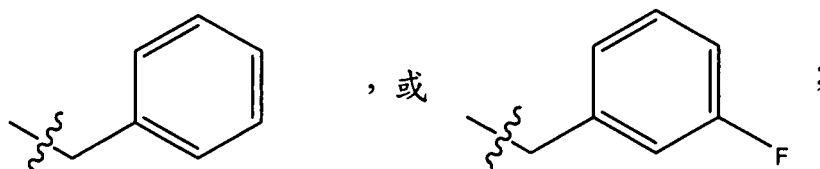
在式II化合物之較佳實施例中， R^4 選自 $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{OH}$ 、



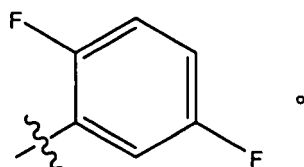
在該等化合物之尤其較佳實施例中， R^4 選自：



在該等化合物中亦較佳地， R^5 代表



且在一些該等實施例中， R^6 為



本發明之尤其較佳實施例提供選自以下之式I或II之化合物：

N-((R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)-2,6-二甲基嗎啉-4-甲醯胺；

N-((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)-2,6-二甲基嗎啉-4-甲醯胺；

(S)-N-((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-

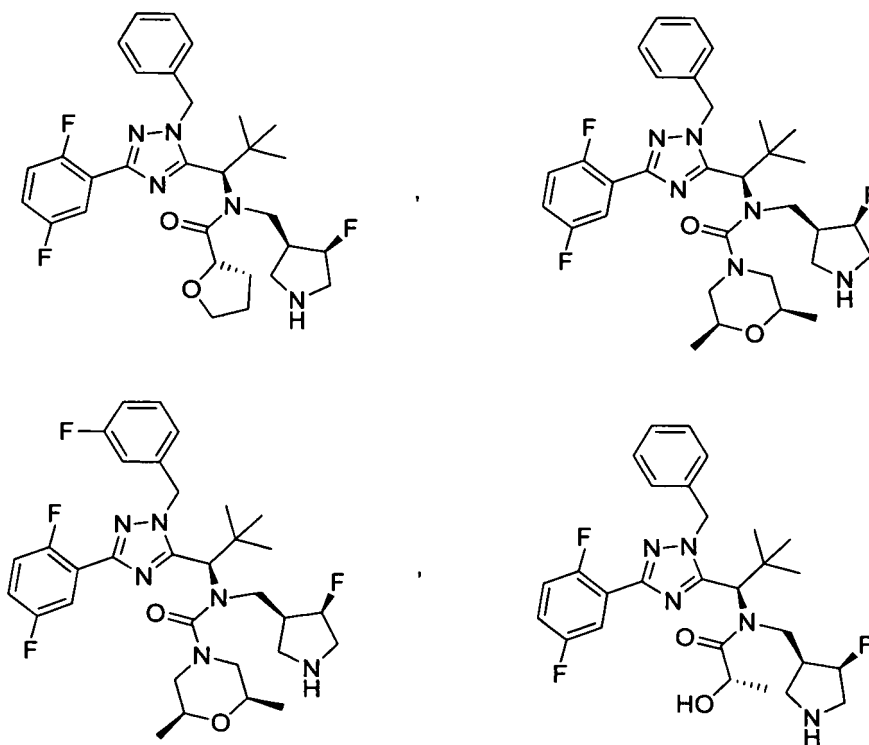
基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)四氫呋喃-2-甲醯胺；

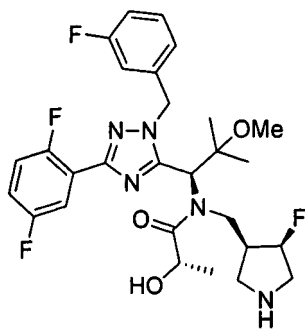
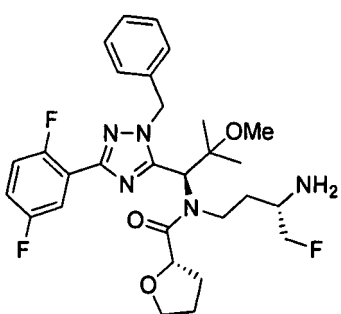
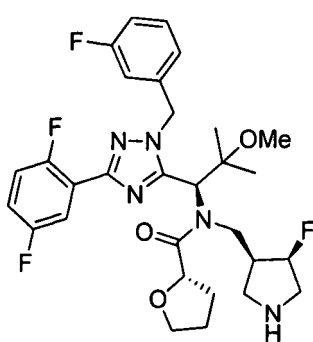
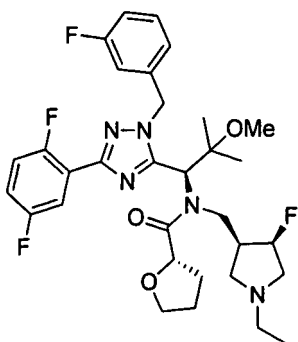
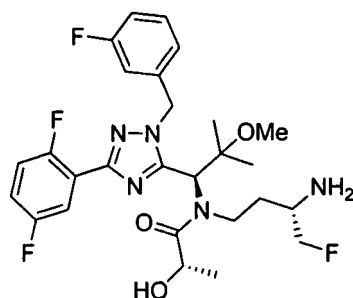
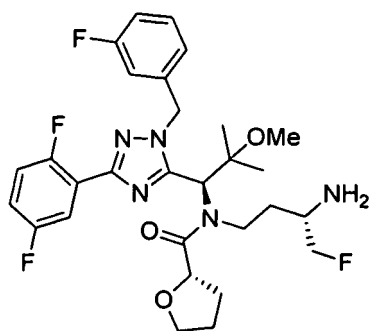
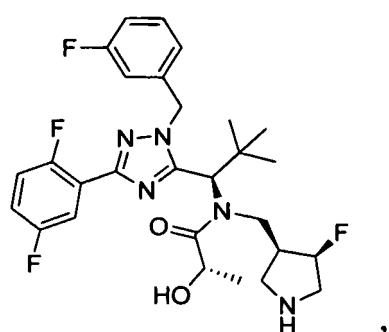
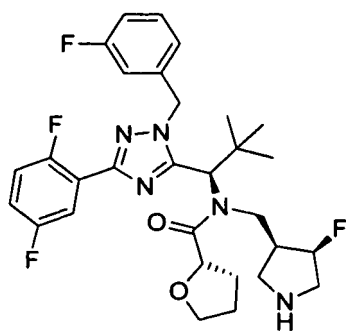
(S)-N-((R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)四氫呋喃-2-甲醯胺；

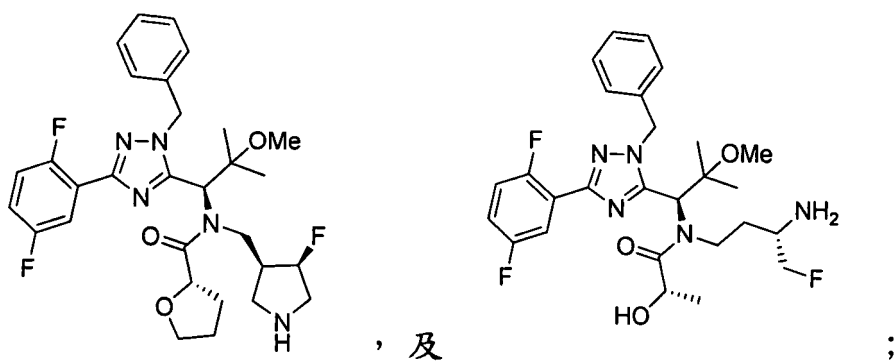
(S)-N-((R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)-2-羥基丙醯胺；及

(S)-N-((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)-2-羥基丙醯胺。

本發明之另一尤其較佳實施例提供選自以下之式I或II之化合物：







及該等化合物之醫藥上可接受之鹽。

本發明之另一態樣提供醫藥組合物，其包含治療有效量之式I或II化合物(包括以上所揭示該等化合物之實施例中之任一者)及醫藥上可接受之載劑。本發明此態樣之較佳實施例提供進一步包含至少一種治療癌症之額外藥劑的組合物。在另一較佳實施例中提供額外藥劑，其中用於治療癌症之該額外藥劑選自由以下組成之群：伊立替康(irinotecan)、托泊替康(topotecan)、吉西他濱(gemcitabine)、伊馬替尼(imatinib)、曲妥珠單抗(trastuzumab)、5-氟尿嘧啶、甲醯四氫葉酸(leucovorin)、卡鉑(carboplatin)、順鉑(cisplatin)、多西他賽(docetaxel)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、替紫他濱(tezacitabine)、環磷醯胺、長春花生物鹼(vinca alkaloid)、蒽環類抗生素(anthracycline)、利妥昔單抗(rituximab)及曲妥珠單抗。

本發明再一態樣提供治療哺乳動物患者至少部分地由KSP調介之病症之方法，其包含向需要此治療之哺乳動物患者投與治療有效量之組合物，該組合物包含式I或II之化合物(包括以上所揭示該等化合物之實施例中之任一者)。

較佳實施例提供治療哺乳動物患者至少部分地由KSP調介之病症之方法，其包含向需要此治療之哺乳動物患者投與治療有效量之組合物，該組合物包含以上所揭示式I或II之化合物之實施例中任一者之化合物、及至少一種用於治療癌症之額外藥劑。本發明此態樣之較佳實施例提供治療哺乳動物患者至少部分地由KSP調介之病症的方法，其中該病症係細胞增殖性疾病；較佳地該細胞增殖性疾病係癌症。

本發明此態樣之其他較佳實施例提供治療以上所揭示細胞增殖性疾病之方法，其中該細胞增殖性疾病係選自由以下組成之群之癌症：肺及支氣管癌、前列腺癌、乳癌、胰臟癌、結腸及直腸癌、甲狀腺癌、胃癌、肝及肝內膽管癌、腎臟及腎盂癌、膀胱癌、子宮體癌、子宮頸癌、卵巢癌、多發性骨髓瘤、食道癌、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、淋巴細胞性白血病、骨髓性白血病、腦癌、口腔及咽癌、喉癌、小腸癌、非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin lymphoma)、黑素瘤、及絨毛狀結腸腺瘤。

本發明此態樣之另一較佳實施例提供一種方法，其中用於治療癌症之額外藥劑選自由以下組成之群：伊立替康、托泊替康、吉西他濱、伊馬替尼、曲妥珠單抗、5-氟尿嘧啶、甲醯四氫葉酸、卡鉑、順鉑、多西他賽、太平洋紫杉醇、替紮他濱、環磷醯胺、長春花生物鹼、蔥環類抗生素、利妥昔單抗及曲妥珠單抗。

本態樣之尤其較佳實施例提供抑制哺乳動物患者中之

KSP之方法，其中該方法包含向該患者投與有效抑制KSP量之本文所述實施例中任一者之式I或II之化合物。在一些實施例中，該方法採用以上所闡述之式I或II之化合物；例如，式I化合物，其中：

R^1 選自 C_{1-6} 直鏈烷基、 C_{3-6} 支鏈烷基、及 $-C_{3-6}$ 環烷基；

R^2 選自 H 及 C_{1-6} 直鏈烷基；

R^3 代表 $-(CH_2)_{0-3}$ 經取代或未經取代之吡咯啉基；

R^4 選自 $-C(O)-CH_2OH$ 、 $-C(O)-$ 四氫呋喃、 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、 $-C(O)-$ 未經取代之嗎啉基、及經最多三個烷基取代之 $-C(O)-$ 嗎啉基；

R^5 選自經取代或未經取代之苺基，其中取代基選自 Cl、F、Br 及 I；且

R^6 選自經最多三個鹵素原子取代之苺基。

此方法之患者一般而言係人類，且通常在開始該等方法之前已經診斷需要該治療。

另一較佳實施例提供一種方法，其包含向患者投與有效抑制KSP量之以上所述實施例中任一者之式I或II之化合物。在一些實施例中，方法使用式I化合物，其中：

R^1 選自 C_{3-6} 支鏈烷基；

R^2 代表 H；

R^3 代表 $-(CH_2)_{1-3}$ -經取代吡咯啉基；

R^4 選自 $-C(O)-$ 四氫呋喃、 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、經最多三個烷基取代之 $-C(O)-$ 嗎啉基；

R^5 代表苺基或經至少兩個氟原子取代之苺基；且

R^6 選自經最多兩個鹵素原子取代之苯基。

另一尤其較佳實施例提供一種，其包含投與式 I 化合物，其中：

R^1 代表第三丁基；

R^3 代表 $-(CH_2)-$ 氟 - 吡咯啶基；

R^4 選自 $-C(O)-$ 四氫呋喃、 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、 $-C(O)-2,6-$ 二甲基嗎啉基；

R^5 代表苄基或經一個氟原子取代之苄基；且

R^6 選自經最多兩個氟原子取代之苯基。

再一較佳實施例提供一種方法，其包含投與式 II 化合物，其中：

R^1 代表 2-甲氧基-2-丙基；

R^3 代表 $-(CH_2)-$ 氟 - 吡咯啶基或 $-CH_2-CH_2-CH(NH_2)-CH_2F$ ；

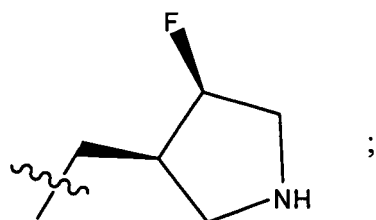
R^4 選自 $-C(O)-$ 四氫呋喃、 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、 $-C(O)-2,6-$ 二甲基嗎啉基；

R^5 代表苄基或經一個氟原子取代之苄基；且

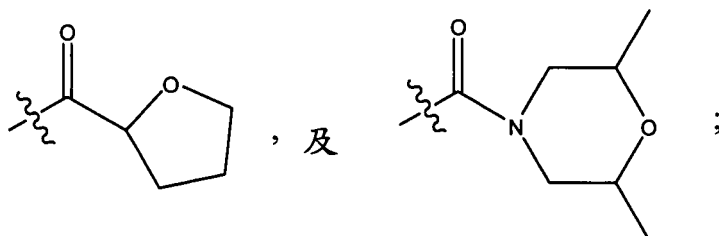
R^6 選自經最多兩個氟原子取代之苯基。

再一尤其較佳實施例提供投與式 I 或 II 之化合物以治療諸如癌症等病狀之方法。該方法可使用以上所述實施例中任一者之化合物，其包括式 I 或 II 之化合物，其中：

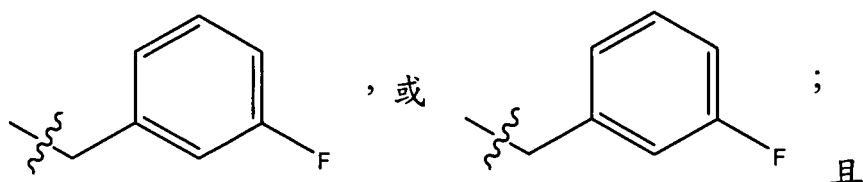
R^3 代表



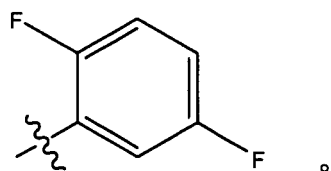
R^4 選自 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、



R^5 代表



R^6 係



以上所述治療方法之特定較佳實施例提供抑制哺乳動物患者中之KSP的方法，其中該方法包含向患者投與有效抑制KSP量之選自以下之式I化合物：

N-((R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)-2,6-二甲基嗎啉-4-甲鹽胺；

N-((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)-2,6-

二甲基嗎啉-4-甲醯胺；

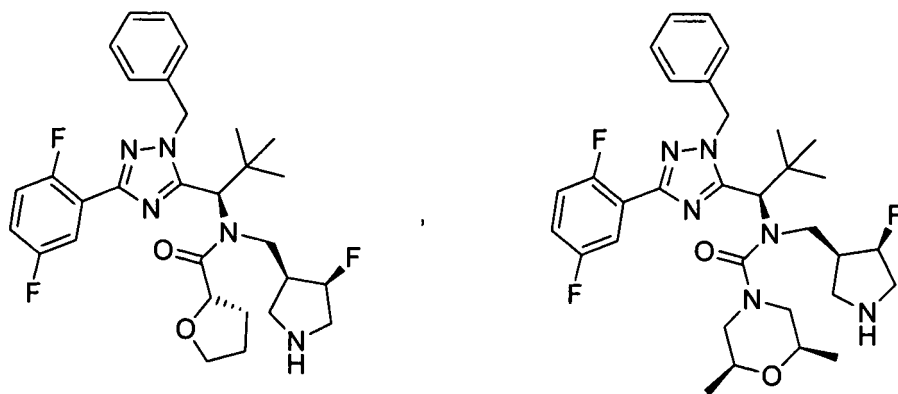
(S)-N-((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)四氫呋喃-2-甲醯胺；

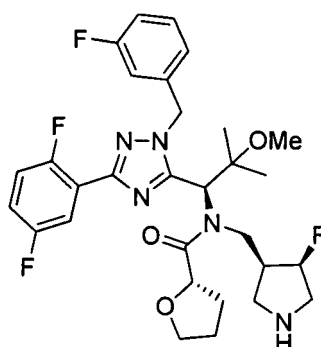
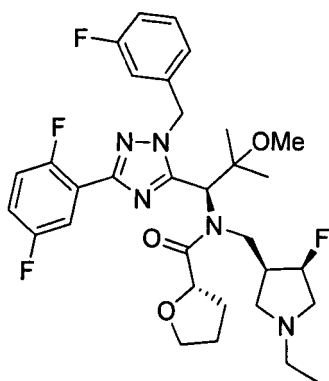
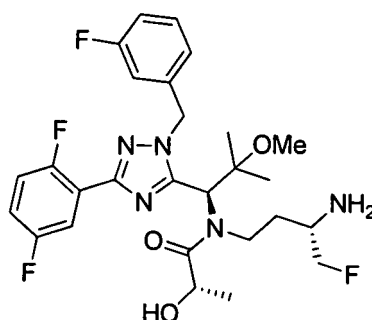
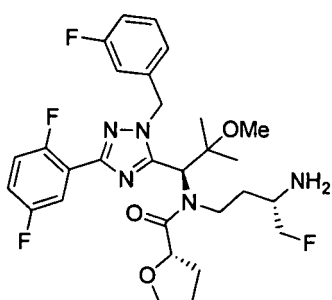
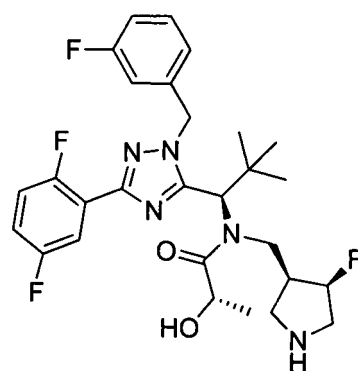
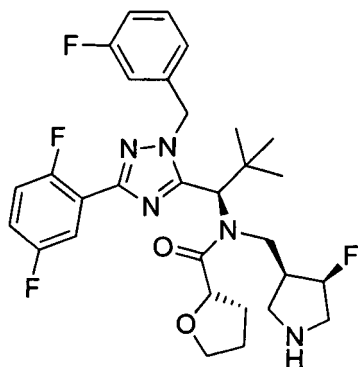
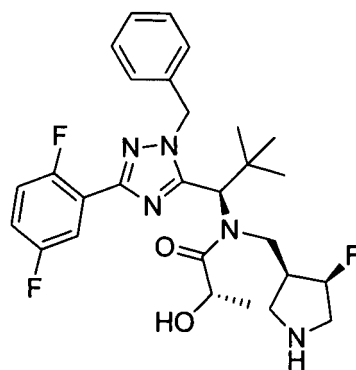
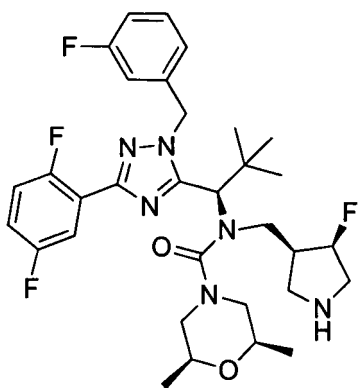
(S)-N-((R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)四氫呋喃-2-甲醯胺；

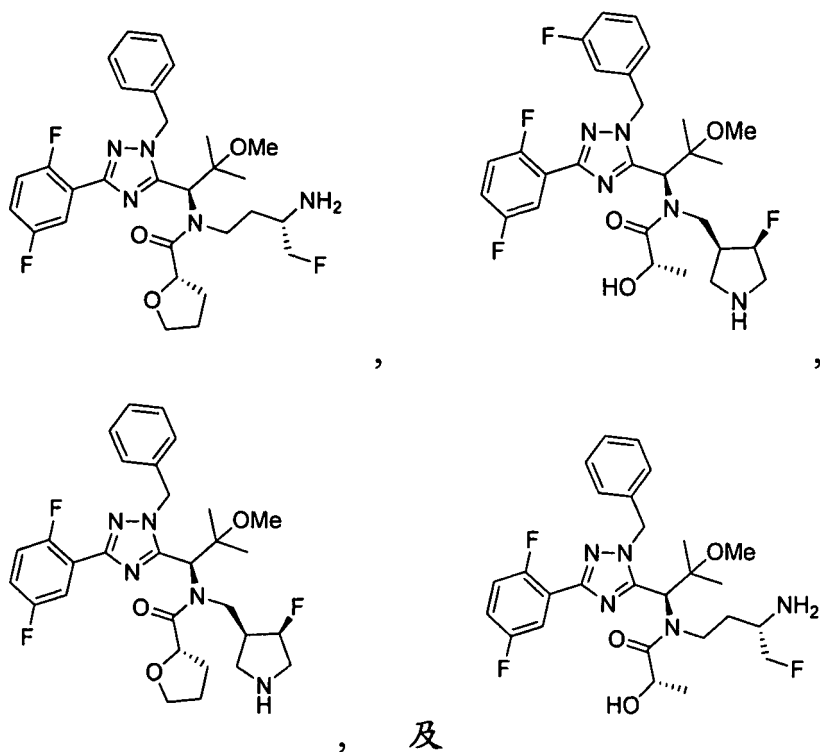
(S)-N-((R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)-2-羥基丙醯胺；及

(S)-N-((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)-2-羥基丙醯胺。

另一特定較佳實施例提供提供抑制哺乳動物患者中之KSP之方法，其中該方法包含向患者投與有效抑制KSP量之選自以下之式I或II之化合物：

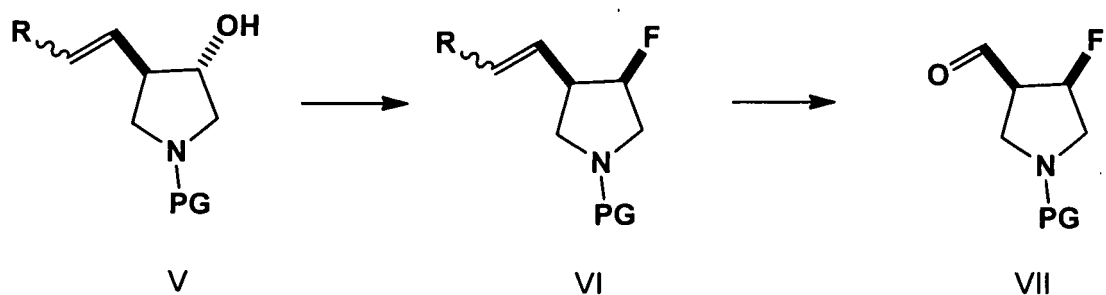






或該等化合物中之一者之醫藥上可接受之鹽。

在另一態樣中，本發明提供製備某些式I或II之化合物之方法及用於其製備之關鍵中間體。本文之方案2描述一種製備化合物之較佳吡咯啉環部分(例如以上所描述者)之此方法。製備此氟化吡咯啉之合成方法包含將式V之反式-3,4-二取代吡咯啉氟化，以提供式VI之順式-氟化乙烯基吡咯啉化合物，並將式VI之化合物的烯烴氧化，提供式VII之醛，如以下所示：



該等轉化可針對外消旋化合物或利用光學活性化合物實

施；在一些實施例中，式V或VI或VII之化合物具有光學活性且具有本文所示之絕對立體化學，其中對映異構體過量為至少90%。在式V-VII之化合物中，R為H或視情況經取代之C1-C6烷基或芳基，且PG代表適用於脂肪族氮原子之保護基團。在一些實施例中，R為H，且式V化合物可自經保護3-吡咯啉(參見方案2中之化合物2.3)之環氧化物藉由該環氧化物與例如格式試劑(Grignard reagent)反應來製備。式V之反式-羥基可使用任一適宜試劑轉化成式VI中之順式-氟基團，該試劑提供S_N2交換以達成對掌性中心之反轉。在一些實施例中，此使用存於惰性溶劑中之氟化物源及活化羥基以使其變成適宜離去基團之試劑來實現。例如，諸如三烷基胺三氫氟酸鹽(例如，Et₃N-三氫氟酸鹽)或HF-吡啶等氟化物鹽可連同烷基或芳基磺醯氟(例如C1-C6全氟烷基磺醯氟)一起對反應條件呈惰性之適宜溶劑中使用，以在立體化學反轉的同時將羥基轉化成F。

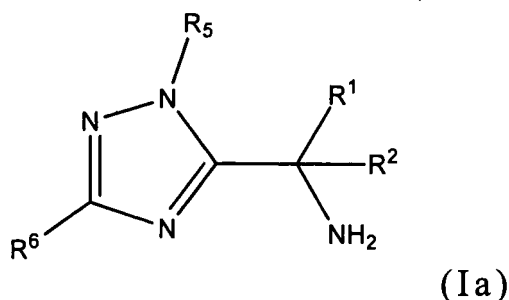
可使用各種習用方法(例如用四氧化鐵及偏過碘酸鈉處理或使用臭氧)將式VI化合物中之插烯基團(vinylogous group)氧化成醛，以提供式VII化合物。用於此轉化之方法已為此項技術習知。

然後可藉由各種方法將式VII化合物併入式I化合物中，該等方法包括本文所闡述之還原胺化反應；或此項技術中已知供該等醛及適於期望靶化合物之親核碳基團使用之各種親核加成條件。在一個實施例中，經由還原胺化將式VII化合物附接至式I化合物(如方案3中所示)，以提供式Ib

化合物，如以下所圖解說明。式I化合物(其中 R^3 為H)若包括諸如游離胺或羥基等需要保護之基團，則其視情況經保護。

用於該等反應及中間體之適宜保護基團(PG)包括醯胺(例如，甲醯胺、乙醯胺、三氯乙醯胺)及胺基甲酸酯(例如，胺基甲酸甲基酯、胺基甲酸乙基酯、胺基甲酸三氯乙基酯、胺基甲酸第三丁基酯或胺基甲酸苄基酯)。醯胺及胺基甲酸酯具有通式 $-C(O)-L-A$ ，其中L為鍵(對於醯胺而言)或 $-O-$ (對於胺基甲酸酯而言)，且A係視情況經取代烷基(C1-6較佳)或芳基(較佳苯基)；或當L為鍵時，A可為H。

在一些實施例中，此方法進一步包含利用式Ia化合物還原胺化式VII化合物：



其中：

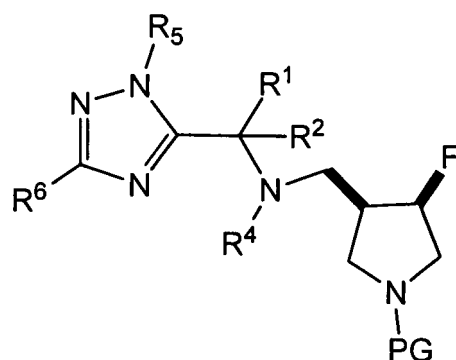
R^1 選自 C_{1-6} 烷氧基- C_{1-4} 烷基、 C_{1-6} 直鏈烷基、 C_{3-6} 支鏈烷基、及 $-C_{3-6}$ 環烷基；

R^2 選自H及 C_{1-6} 直鏈烷基；

R^5 選自經取代或未經取代之苄基，其中取代基選自Cl、F、Br及I；且

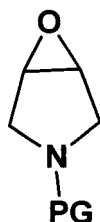
R^6 選自經最多三個鹵素原子取代之苯基；

以提供式Ib化合物：



(Ib)。

在一些實施例中，任一上述合成方法進一步包含自式IV之環氧化物合成式V化合物，

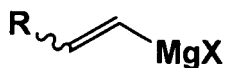


(IV)

其藉由利用下式之有機金屬試劑使該環氧化物開環



其中R為H或視情況經取代之烷基或芳基，且M為選自Li、MgX及ZnX之金屬集團，其中X為鹵素；以提供式V化合物。對於此步驟，較佳有機金屬試劑係：



其中X為Cl、Br或I。

因此，本發明提供上述式VI及VII之新穎中間體、以及使用該等中間體製備式Ia或Ib化合物之方法。

該等方法中所用及由其產生之化合物可為外消旋的，或具有至少一個對掌性中心之化合物中之任一者可視需要分

離成單一對映異構體或單一非對映異構體。在本發明中，有時較佳將式V或VI化合物之兩種對映異構體分離，以使用單一對映異構體製備式I或Ib化合物。在一些實施例中，式V或VI化合物以外消旋形式製得，且然後藉由對掌性層析或其他習用方式分離，以提供光學活性化合物，較佳基本上不含其對映異構體。在較佳實施例中，式V或VI化合物具有光學活性且具有本文所描述之特定絕對立體化學。在一些該等實施例中，其基本上不含相對對映異構體。

本發明之代表性化合物

本發明範圍內之特定化合物例示於試驗部分中之表1中。

B. 定義及概述

如上文所討論，本發明部分地關於新的經取代三唑化合物。

應瞭解，本文所用之術語僅用於闡述具體實施例的目的而並非意欲限制本發明之範圍。必須注意，除非上下文中明確地另有說明，否則此處及申請專利範圍中所用單數形式「一」及「該」包括複數個指示物。在本說明書及隨附申請專利範圍中，將提及經定義具有以下含義之大量術語：

本文所用術語「烷基」或「直鏈烷基」係指具有1至6個碳原子且更佳1至3個碳原子之單價飽和脂肪族烴基。此術語由諸如甲基、乙基、正丙基、正戊基及諸如此類之基團例示。

本文所用術語「支鏈烷基」係指具有3至6個碳原子之單價飽和支鏈烷基。此術語由諸如異丁基、異丙基、第三丁基、及諸如此類之基團例示。

「環烷基」係指具有3至6個碳原子且其中三個或更多碳原子彼此連接以形成環狀結構之烷基。闡釋性實例包括環丙基、環丁基、環戊基及環己基。

本文所用「烷氧基烷基」係指經至少一個烷氧基取代之烷基。若未另外說明，則烷氧基烷基在該烷氧基中包含最多10個碳原子，且在該烷基中不含最多10個碳原子。其藉助該烷基附接至基本分子。在一些情況下，根據烷氧基及/或烷基中之碳原子數闡述該等基團，例如C₁₋₆烷氧基-C₁₋₄烷基係指具有1-4個碳原子且經C1-C6烷氧基取代之烷基。適宜烷氧基烷基包括甲氧基甲基；甲氧基乙基；乙氧基甲基；乙氧基乙基；甲氧基丙基；及甲氧基-異丙基(2-甲氧基-2-丙基)。

「鹵基」或「鹵素」係指氟、氯、溴及/或碘且較佳為氟或氯。

本文所用「生物活性」係指在實例12-14中任一者所描述分析中任一者所測試且如其至少一個實例中所定義之抑制濃度。

本文所用術語「醫藥上可接受之鹽」係指式(I)或(II)化合物之無毒酸或鹼土金屬鹽。該等鹽可在最終分離及純化式(I)及(II)之化合物期間原位製得或藉由單獨地使鹼或酸官能團分別與適宜有機或無機酸或鹼反應製得。代表性鹽

包括(但不限於)以下：乙酸鹽、己二酸鹽、藻酸鹽、檸檬酸鹽、天冬胺酸鹽、苯甲酸鹽、苯磺酸鹽、硫酸氫鹽、丁酸鹽、樟腦酸鹽、樟腦磺酸鹽、二葡萄糖酸鹽、環戊丙酸鹽、十二烷基硫酸鹽、乙烷磺酸鹽、葡庚酸鹽、甘油磷酸鹽、半硫酸鹽、庚酸鹽、己酸鹽、富馬酸鹽、鹽酸鹽、氫溴酸鹽、氫碘酸鹽、2-羥基乙烷磺酸鹽、乳酸鹽、馬來酸鹽、甲烷磺酸鹽、菸鹼酸鹽、2-萘磺酸鹽、草酸鹽、雙羥萘酸鹽、果膠酸鹽、過硫酸鹽、3-苯基丙酸鹽、苦味酸鹽、新戊酸鹽、丙酸鹽、琥珀酸鹽、硫酸鹽、酒石酸鹽、硫氰酸鹽、對甲苯磺酸鹽及十一烷酸鹽。而且，鹼性含氮基團可用諸如下列試劑四級銨化：烷基鹵化物，例如甲基、乙基、丙基及丁基氯化物、溴化物及碘化物；硫酸二烷基酯，例如硫酸二甲酯、硫酸二乙酯、硫酸二丁酯及硫酸二戊酯；長鏈鹵化物，例如癸基、月桂基、肉豆蔻基及硬脂基氯化物、溴化物及碘化物；芳烷基鹵化物，例如苄基溴及苯乙基溴及其他。藉此得到水或油溶性或可分散產物。

可用於形成醫藥上可接受的酸加成鹽的酸的實例包括無機酸(例如，氫氯酸、硫酸及磷酸)及有機酸(例如，草酸、馬來酸、甲烷磺酸、琥珀酸及檸檬酸)。鹼加成鹽可在式(I)或(II)化合物的最後分離及純化期間原位製備或者單獨地藉由羧酸部分與適宜鹼(例如醫藥上可接受金屬陽離子之氫氧化物、碳酸鹽或碳酸氫鹽)或與氮或有機一級、二級或三級胺反應來製備。醫藥上可接受之鹽包括(但不限

於)基於鹼金屬及鹼土金屬(例如鈉、鋰、鉀、鈣、鎂、鋁鹽及諸如此類)之陽離子,以及包括(但不限於)銨、四甲基銨、四乙基銨、甲基胺、二甲基胺、三甲基胺、三乙基胺、乙基胺及諸如此類之銨、四級銨及胺陽離子。其他可用於形成鹼加成鹽之代表性有機胺包括二乙胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、六氫吡啶及諸如此類。

本文所用術語「醫藥上可接受之酯」係指在體內水解之酯且包括在人體內斷裂以留下母體化合物、其鹽或醫藥活性代謝物者。適宜酯基團包括(例如)衍生自醫藥上可接受之脂肪族羧酸(尤其鏈烷酸、鏈烯酸、環烷酸及烷二酸)者,其中每一烷基或烯基部分有利地具有不超過6個碳原子。具體酯之代表性實例包括(但不限於)甲酸酯、乙酸酯、丙酸酯、丁酸酯、丙烯酸酯及乙基琥珀酸酯。

本文所用術語「醫藥上可接受之前藥」係指在可靠的醫學判斷範圍內適用於接觸人類及低等動物之組織而無過度的毒性、刺激、過敏反應及諸如此類,並與合理的利益/風險比相稱且對其預期用途而言有效之本發明化合物之前藥、以及(若可能)本發明化合物之兩性離子形式。術語「前藥」係指可(例如)藉由在血液中水解在活體內迅速轉化產生上式母體化合物或醫藥活性代謝物之化合物。討論提供於T. Higuchi及V. Stella之PRO-DRUGS AS NOVEL DELIVERY SYSTEMS (A.C.S. Symposium Series之第14卷)及Edward B. Roche編輯之BIOREVERSIBLE CARRIERS IN DRUG DESIGN (American Pharmaceutical Association and

Pergamon Press, 1987)中，二者皆以引用的方式併入本文中。

本文所用「抗癌劑」或「用於治療癌症之藥劑」係指包括(僅舉例說明)以下之藥劑：誘導細胞凋亡的藥劑；多核苷酸(例如，核酶)；多肽(例如，酶)；藥物；生物模擬物；生物鹼；烷基化試劑；抗腫瘤抗生素；抗代謝物；激素；鉑化合物；可與抗癌藥物、毒素及/或放射性核素結合之單株抗體；生物反應調節劑(例如，干擾素及介白素等)；授受免疫療法藥劑；造血生長因子；誘導腫瘤細胞分化之藥劑(例如，全反視黃酸)；基因療法試劑；反義療法試劑及核苷酸；腫瘤疫苗；血管生成抑制劑；及諸如此類。許多其他藥劑肯定在熟悉此項技術者之範圍內。

應瞭解，在以上所定義之所有經取代基團中，藉由定義自身具有其他取代基之取代基所獲得之聚合物不欲包括在本文中。在該等情況下，該等取代基之最大數量係3。舉例而言，具有兩個其他經取代芳基之經取代芳基的系列取代限於-經取代芳基-(經取代芳基)-經取代芳基。

同樣，應瞭解以上定義皆不欲包括不允許取代模式(例如，甲基經5個氟基團取代或羥基位於乙烯系或乙炔系不飽和之 α 位)。該等不允許取代模式已為熟習此項技術者所熟知。

本發明化合物可由於化合物中存在一或多個不對稱或對掌性中心而展示立體異構現象。本發明涵蓋各種立體異構體及其混合物。某些本發明化合物包含不對稱取代之碳原

子。該等不對稱取代之碳原子可使本發明化合物包含在具體不對稱取代之碳原子處呈現立體異構之立體異構體混合物或單一立體異構體。因此，本發明化合物之外消旋混合物、非對映異構體混合物、單一對映異構體以及單一非對映異構體皆包括在本發明內。本文所用術語「S」及「R」構型如由IUPAC 1974「RECOMMENDATIONS FOR SECTION E, FUNDAMENTAL STEREOCHEMISTRY」Pure Appl. Chem. 45:13-30, 1976所定義。期望對映異構體可自市售對掌性起始材料藉由此項技術中習知之方法進行對掌性合成獲得，或可自對映異構體之混合物藉由使用已知技術分離出期望對映異構體來獲得。

本發明化合物亦可展示幾何異構。幾何異構體包括本發明具有烯基或烯基部分之化合物的順式及反式形式。本發明包括個別幾何異構體及立體異構體及其混合物。

C. 化合物製備

本發明化合物可自現有起始材料使用以下一般方法及程序來製備。除非另有說明，否則起始材料係市售品且已為此項技術習知。應瞭解，其中給出典型或較佳製程條件（即，反應溫度、時間、反應物之莫耳比率、溶劑、壓力），除非另有說明，否則亦可使用其他製程條件。最佳反應條件可隨所用具體反應物或溶劑而變化，但該等條件可由熟習此項技術者藉由常規最優化程序來確定。

此外，如熟習此項技術者所瞭解，可能需要習用保護基團以防止某些官能團發生不期望反應。用於各種官能團之

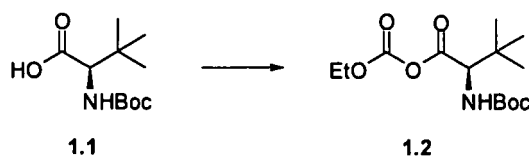
適宜保護基團以及用於保護及去保護特定官能團之適宜條件已為此項技術所熟知。舉例而言，許多保護基團闡述於 T. W. Greene 及 G. M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, 第 2 版, Wiley, New York, 1991 及本文所引用參考文獻中。

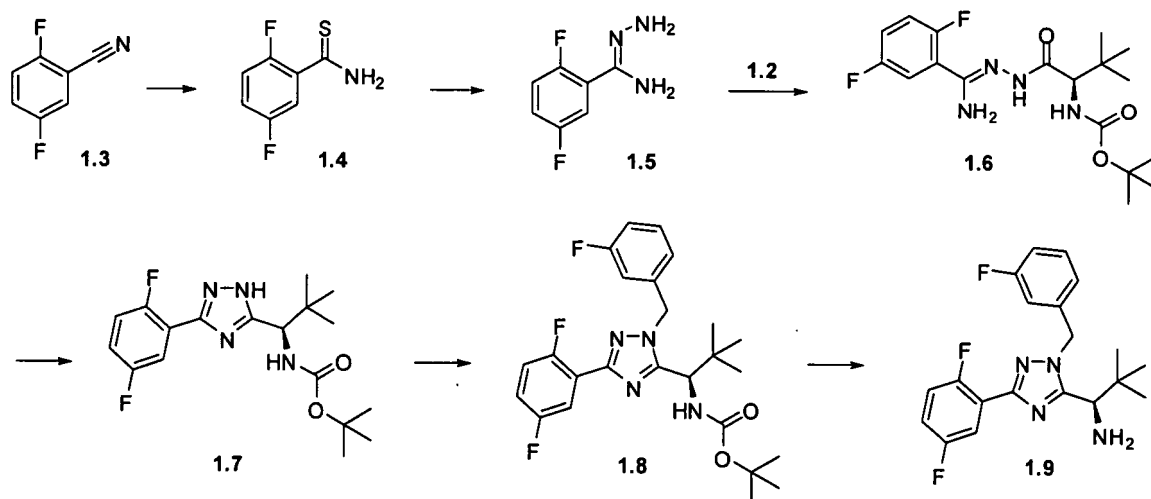
而且，本發明之化合物可含有一或多個對掌性中心。因此，若需要，則該等化合物可以純淨立體異構體形式(即，以個別對映異構體或非對映異構體形式)或以富含立體異構體之混合物形式製備或分離。除非另有說明，否則所有該等立體異構體(及富含其之混合物)皆包括在本發明範圍內。純淨立體異構體(或富含其之混合物)可使用(例如)此項技術習知之光學活性起始材料或立體選擇性試劑來製備。另一選擇為，可使用(例如)對掌性管柱層析、對掌性拆分劑及諸如此類來分離該等化合物之外消旋混合物。

本發明化合物可藉由此項技術中已知且本文進一步闡述之方法製備。舉例而言，製備式(I)化合物之方法闡述於公開申請案PCT/US2007/084154 (WO 2008/063912)中。本文提供適於製備式(I)化合物之額外合成方法之實例。

製備式I之某些KSP抑制劑之實例展示於以下方案1中。

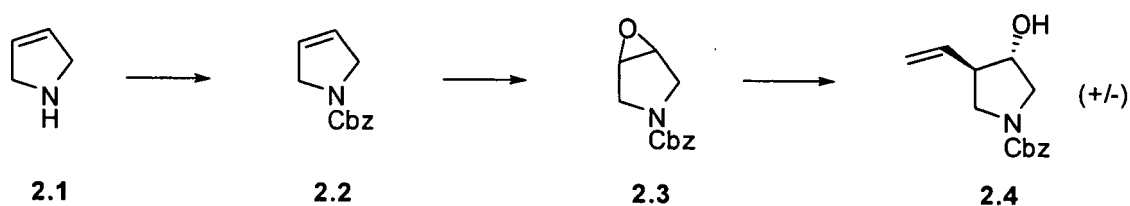
方案 1

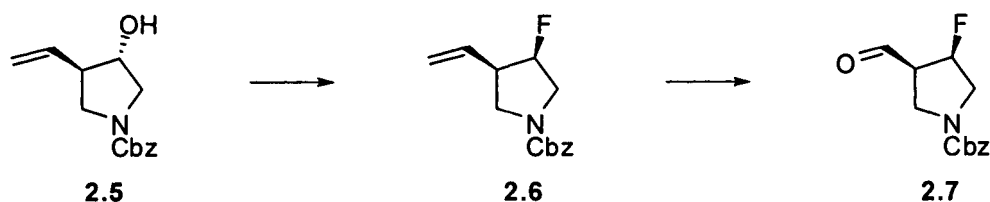




將丁基甘胺酸 1.1 用氯甲酸乙基酯處理，形成混合酸酐 1.2。將苯甲腈 1.3 用硫化銨處理以形成硫代醯胺 1.4，然後將其用肼處理以形成式 1.5 之醯肼。醯肼 1.5 與 1.2 及三乙胺反應，獲得胺基甲酸酯 1.6。隨後胺基甲酸酯 1.6 與乙酸銨 (NH_4OAc) 一起在二甲苯中回流，獲得三唑 1.7。1.7 與氟化苄基溴 ((2-氟苯基)甲基溴或(3-氟苯基)甲基溴)及 Cs_2CO_3 於二甲基甲醯胺中反應，獲得 1.8 及其區域異構體(自管柱層析分離)。將 1.8 用三氟乙酸處理，獲得 1.8 之 TFA 鹽，其然後在逐步滴加 NaOH /甲醇溶液滴定时可轉化成其游離鹼。在使用苄基溴而非氟化苄基溴之類似製備中，以高產率及高純度 (>97%，如藉由 HPLC 所測定) 及高光學活性 (>99% e.e.) 自 1.1 及 1.3 形成 1.8。

方案 2

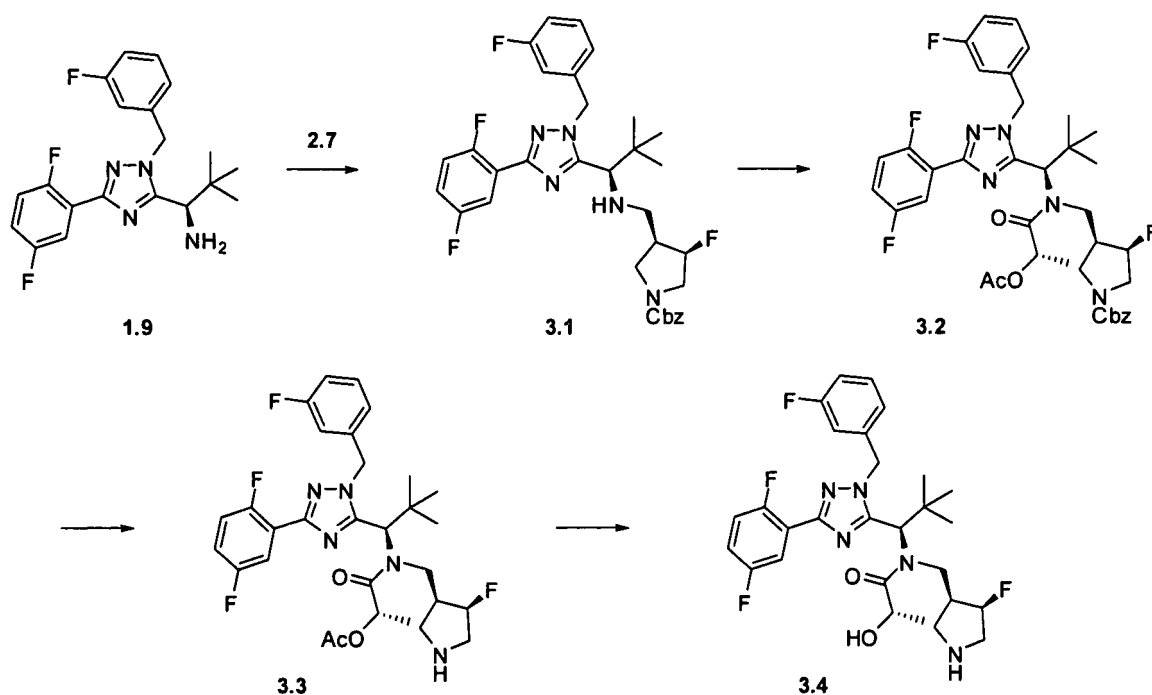




單一對映異構體

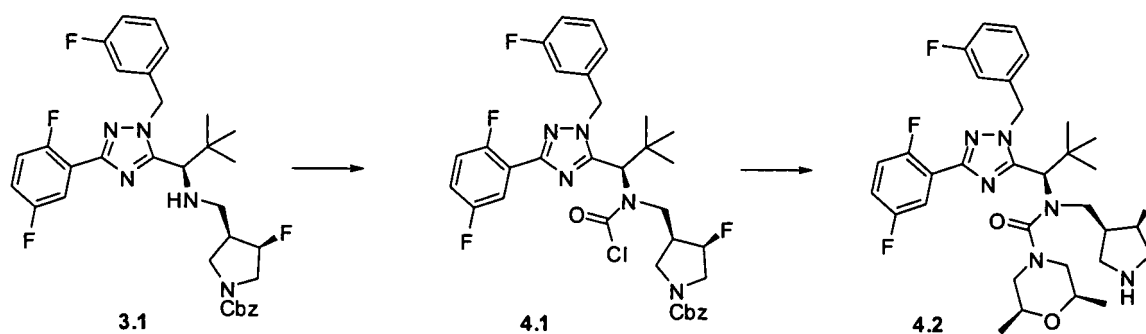
化合物 1.9 可在還原胺化條件下與醛 2.7 反應，獲得二級胺 3.1，然後其可經醯化以提供式 (I) 化合物。方案 2 闡釋醛 2.7 之製備，其可用於還原胺化步驟中以製備式 I 化合物、具體而言式 Ia 化合物。環狀胺 2.1 經 Cbz 基團保護而獲得化合物 2.2。自化合物 2.2 之 MCPBA 環氧化獲得環氧化物 2.3。環氧化物藉由與乙烯基溴化鎂及溴化銅反應獲得醇 2.4 的外消旋混合物。藉由對掌性管柱層析獲得呈單一對映異構體之醇 2.5。使醇 2.5 經受氟化條件，獲得乙烯基氟吡咯啉 2.6。隨後使乙烯基氟吡咯啉 2.6 經受二羥基化/氧化斷裂，獲得醛 2.7。

方案 3



附接氟吡咯啉部分之後，使用已知醃化劑及條件來醃化非環狀胺以獲得式(I)化合物，此後將吡咯啉環之氮上的保護基團及/或醃化部分之保護基團脫除保護。方案3闡釋還原胺化以提供二級胺3.1。將胺3.1醃化，隨後脫除Cbz基團並移除游離羥基上之保護基團，提供化合物3.4。用於吡咯啉環氮之適宜保護基團係(例如)可藉由氫解去除之胺基甲酸苄基酯及可利用諸如叁甲基甲矽烷基碘化物或酸等試劑選擇性去除之胺基甲酸第三丁基酯。

方案4



方案4代表自二級胺3.1形成脲之一般描述。二級胺3.1與光氣或三光氣反應，獲得氯化化合物4.1，其直接與胺反應，獲得式(I)之脲化合物，此後脫除吡咯啉環之氮上的保護基團。方案4闡釋將二級胺3.1氯羰基化獲得化合物4.1，其立即與嗎啉反應，隨後去除Cbz基團，獲得化合物4.2。

應注意，此分子中對掌性中心之絕對立體化學係基於已知起始材料或中間體之對掌性來鑑別。HPLC及nmr數據支持以上製程提供呈單一異構體之化合物的結論。

用於醃化步驟之適宜醃化劑及酸包括具有適當結構之醃基鹵化物、酸酐及酸(參見式I)。適宜醃胺偶合條件包括使

用各種醯胺偶合試劑以形成醯胺鍵，例如碳化二亞胺類N-N'-二環己基碳化二亞胺(DCC)、N-N'-二異丙基碳化二亞胺(DIPCDI)及1-乙基-3-(3'-二甲基胺基丙基)碳化二亞胺(EDCI)。碳化二亞胺可與添加劑組合使用，例如二甲基胺基吡啶(DMAP)或苯并三唑(例如7-氮雜-1-羥基苯并三唑(HOAt)、1-羥基苯并三唑(HOBt)及6-氯-1-羥基苯并三唑(Cl-HOBt))；用於該醯胺鍵形成之條件已為此項技術習知。

醯胺偶合試劑亦包括基於銨及鎘之試劑。銨鹽包括N-[(二甲基胺基)-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶-1-基亞甲基]-N-甲基甲烷亞胺鎘六氟磷酸鹽N-氧化物(HATU)、N-[(1H-苯并三唑-1-基)(二甲基胺基)亞甲基]-N-甲基甲烷亞胺鎘六氟磷酸鹽N-氧化物(HBTU)、N-[(1H-6-氯苯并三唑-1-基)(二甲基胺基)亞甲基]-N-甲基甲烷亞胺鎘六氟磷酸鹽N-氧化物(HCTU)、N-[(1H-苯并三唑-1-基)(二甲基胺基)亞甲基]-N-甲基甲烷亞胺鎘四氟硼酸鹽N-氧化物(TBTU)、基N-[(1H-6-氯苯并三唑-1-基)(二甲基胺基)亞甲基]-N-甲基甲烷亞胺鎘四氟硼酸鹽N-氧化物(TCTU)。鎘鹽包括苯并三唑-1-基-氧基-叁-(二甲基胺基)-鎘六氟磷酸鹽(BOP)、7-氮雜苯并三唑-1-基-N-氧基-叁(N-吡咯啉基)鎘六氟磷酸鹽(PyAOP)及苯并三唑-1-基-N-氧基-叁(N-吡咯啉基)鎘六氟磷酸鹽(PyBOP)。

醯胺形成步驟可在諸如二甲基甲醯胺(DMF)等極性溶劑中實施且亦可包括諸如二異丙基乙胺(DIEA)或二甲基胺基

吡啶(DMAP)等有機鹼。

藉由以上所列舉方法中之一者製備以下表1中之化合物。表I亦提供各個實例之IC50值。

D. 醫藥調配物

當作為醫藥使用時，本發明化合物通常以醫藥組合物之形式投與。該等組合物可藉由包括經口、非經腸、經皮膚、局部、經直腸、及經鼻內在內的多種途徑投與。該等化合物作為(例如)可注射及口服組合物二者皆有效。該等組合物係以醫藥技術中習知之方式製備且包含至少一種活性化合物。

本發明亦包括醫藥組合物，其含有一或多種上述本發明化合物作為活性成份連同醫藥上可接受之載劑。在製備本發明組合物時，通常將活性成份與賦形劑混合，藉由賦形劑稀釋或囊封於可為膠囊、藥囊、紙或其他容器形式之載劑中。所採用賦形劑通常係適於投與給人類個體或其他哺乳動物之賦形劑。當該賦形劑用做稀釋劑時，其可為固體、半固體或液體材料，其對活性成份起媒劑、載劑或介質作用。因此，該等組合物可呈錠劑、丸劑、散劑、菱形錠劑、藥囊、藥丸、酏劑、懸浮液、乳液、溶液、糖漿、氣溶膠(作為固體或存於液體介質中)、軟膏(包含例如高達10重量%活性化合物)、軟及硬明膠膠囊、栓劑、無菌可注射溶液及無菌包裝的粉末之形式。

在製備調配物時，可能需要將活性化合物碾磨以在與其他成份組合之前提供適宜粒徑。若活性化合物實質上不

溶，則通常將其碾磨至粒徑小於200網目。若活性化合物實質上可溶於水，則通常藉由碾磨調節粒徑以在調配物中提供實質上均勻分佈，例如約40網目。

適宜賦形劑之一些實例包括乳糖、葡萄糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露醇、澱粉、阿拉伯膠(gum acacia)、磷酸鈣、藻酸鹽、黃蓍膠、明膠、矽酸鈣、微晶纖維素、聚乙烯基吡咯啉酮、纖維素、無菌水、糖漿及甲基纖維素。該等調配物可另外包括：潤滑劑，例如滑石粉、硬脂酸鎂及礦物油；潤濕劑；乳化及懸浮劑；防腐劑，例如羥基苯甲酸甲酯及羥基苯甲酸丙酯；增甜劑；及矯味劑。本發明之組合物可藉由採用此項技術中習知之程序調配以便在投與給患者後提供活性成份之快速、持久或延遲釋放。

活性組份(亦即，本發明化合物)在醫藥組合物及其單位劑型中之數量可端視具體應用、具體化合物之效能及期望濃度在寬範圍內改變或調介。

該等組合物較佳調配成單位劑型，每一劑量含有約1至約500 mg、通常約5至約100 mg、有時約10至約30 mg活性成份。術語「單位劑型」係指適於作為單位劑量供人類個體及其他哺乳動物使用之物理離散單位，每一單位含有經計算以產生期望治療效果之預定數量的活性物質以及適宜醫藥賦形劑。較佳地，上述本發明化合物係以不超過醫藥組合物的約20重量%、更佳不超過約15重量%使用，其中剩餘部分為醫藥上惰性載劑。

活性化合物在寬劑量範圍內有效且通常以醫藥或治療有

效量投與。然而，應瞭解，化合物之實際投與量將由醫生根據相關情況決定，其包括欲治療之病狀、所治療病狀之嚴重程度、所選投與途徑、實際投與的化合物、個別患者之年齡、重量及反應、患者症狀之嚴重程度及諸如此類。

在用於治療或對抗哺乳動物癌症之治療用途中，化合物或其醫藥組合物應藉由任一適宜途徑(例如經口、經局部、經皮膚及/或非經腸)以一定劑量投與以在正治療之哺乳動物中獲得並維持活性組份的治療有效濃度(亦即，數量)或血液含量。通常，活性組份之該治療有效量劑量(亦即，有效劑量)應在約0.1至約100、更佳約1.0至約50 mg/公斤體重/天之範圍內。

為製備諸如錠劑等固體組合物，將主要活性成份與醫藥賦形劑混合以形成包含本發明化合物之均勻混合物的固體預調配組合物。當提及該等預調配組合物呈均相時，意指活性成份係均勻分散於整個組合物中，以便可容易地將組合物再分成相等地有效單位劑型，例如，錠劑、丸劑及膠囊。然後，將此固體預調配物再分成上述類型之單位劑型，其包含(例如)0.1至約500 mg本發明活性成份。

本發明之錠劑或丸劑可經包覆或者複合以提供具有持久作用優點之劑型。舉例而言，錠劑或藥丸可包含內部劑量組份及外部劑量組份，後者為前者之包膜形式。該兩種組份可藉由腸溶性層分開，該腸溶性層用以抵抗胃內的分解作用並允許內部組份完整地進入十二指腸或延遲釋放。該等腸溶性層或包衣可使用多種材料，該等材料包括大量聚

合酸及聚合酸與諸如蟲膠、十六烷醇及乙酸纖維素等材料之混合物。

可納入本發明新穎組合物用於經口或藉由注射投與之液體形式包括水溶液、適當矯味之糖漿、水性或油性懸浮液及利用可食用油(例如玉米油、棉籽油、芝麻油、椰子油或花生油)矯味之乳液以及酞劑及類似醫藥媒劑。

供吸入或吹入用之組合物包括存於醫藥上可接受之水性或有機溶劑、或其混合物中之溶液及懸浮液、及粉末。該等液體或固體組合物可含有上文所述醫藥上可接受之適當賦形劑。該等組合物較佳藉由口或鼻呼吸途徑投與以獲得局部或全身效果。存於較佳醫藥上可接受溶劑中之組合物可藉由使用惰性氣體霧化。經霧化溶液可直接自霧化裝置吸入或可將該霧化裝置附裝至面罩帷罩或間歇式正壓呼吸機。溶液、懸浮液或粉末組合物可較佳經口或經鼻自以適當方式遞送調配物之裝置投與。

以下調配物實例闡釋本發明之代表性醫藥組合物。

調配物實例1

製備含有以下成份的硬明膠膠囊：

成份	數量 (mg/膠囊)
活性成份	30.0
澱粉	305.0
硬脂酸鎂	5.0

將以上成份混合並以340 mg的量填充於硬明膠膠囊中。

調配物實例2

用以下成份製備錠劑調配物：

成份	數量 (mg/錠劑)
活性成份	25.0
微晶纖維素	200.0
膠狀二氧化矽	10.0
硬脂酸	5.0

將該等組份摻合併壓製成錠劑，每片重 240 mg。

調配物實例 3

製備含有以下組份之乾燥粉末吸入器調配物：

成份	重量%
活性成份	5
乳糖	95

將活性成份與乳糖混合並將混合物添加於乾燥粉末吸入器具中。

調配物實例 4

如下製備每片含 30 mg 活性成份之錠劑：

成份	數量 (mg/錠劑)
活性成份	30.0 mg
澱粉	45.0 mg
微晶纖維素	35.0 mg
聚乙基吡咯啉酮(作為存於無菌 水中之10%溶液)	4.0 mg
羧甲基澱粉鈉	4.5 mg
硬脂酸鎂	0.5 mg
滑石粉	1.0 mg
總量	120 mg

使活性成份、澱粉及纖維素穿過 20 號網目美國篩 (U.S.

sieve)並充分混合。將聚乙烯基吡咯啉酮溶液與所得粉末混合，然後使其穿過16網目美國篩。將如此製得之顆粒在50℃至60℃下乾燥並使其穿過16網目美國篩。然後將預先穿過30網目美國篩之羧甲基澱粉鈉、硬脂酸鎂及滑石粉添加於顆粒中，混合後，在製錠機上壓製，得到每片重120 mg之錠劑。

調配物實例5

如下製得每粒含40 mg醫藥之膠囊：

成份	數量 (mg/膠囊)
活性成份	40.0 mg
澱粉	109.0 mg
硬脂酸鎂	1.0 mg
總量	150.0 mg

將活性成份、澱粉及硬脂酸鎂摻合，使其穿過20號網目美國篩，並以150 mg的量填充於硬明膠膠囊中。

調配物實例6

如下製得每個包含25 mg活性成份之栓劑：

成份	數量
活性成份	25 mg
飽和脂肪酸甘油酯達	2,000 mg

使活性成份穿過60網目美國篩，並懸浮於預先用最少所需熱量熔化之飽和飽和脂肪酸甘油酯中。然後將混合物傾倒於標稱2.0 g容量之栓劑模具中並使其冷卻。

調配物實例7

如下製得每5.0 mL劑量含50 mg醫藥之懸浮液：

成份	量
活性成份	50.0 mg
黃原膠	4.0 mg
羧甲基纖維素鈉(11%)/微晶纖維素(89%)	50.0 mg
蔗糖	1.75 mg
苯甲酸鈉	10.0 mg
矯味劑及著色劑	適量
純淨水達	5.0 mL

將活性成份、蔗糖及黃原膠摻合，使其穿過10號網目美國篩，且然後與預先製得之微晶纖維素與羧甲基纖維素鈉之水溶液混合。將苯甲酸鈉、矯味劑及著色劑用一些水稀釋，並邊添加邊攪拌。然後添加足量的水以得到所需體積。

調配物實例8

成份	數量 (mg/膠囊)
活性成份	15.0 mg
澱粉	407.0 mg
硬脂酸鎂	3.0 mg
總量	425.0 mg

將活性成份、澱粉及硬脂酸鎂摻合，使其穿過20號網目美國篩，並以425.0 mg的量填充於硬明膠膠囊中。

調配物實例9

可如下製備皮下用調配物：

成份	數量
活性成份	5.0 mg
玉米油	1.0 mL

調配物實例10

可如下製備局部用調配物：

成份	數量
活性成份	1-10 g
乳化蠟	30 mg
液體石蠟	20 mg
白色軟石蠟	達100 g

將白色軟石蠟加熱至熔化。納入液體石蠟及乳化蠟並攪拌至溶解。添加活性成份並繼續攪拌至分散。然後該混合物冷卻直至成固體。

調配物實例 11

可如下製備靜脈內調配物之闡釋性實例：

成份	數量
活性成份	250 mg
等滲鹽水	1000 mL

本發明方法中所用另一較佳調配物使用經皮遞送裝置(「貼片」)。該等經皮貼片可用於以控制量提供本發明化合物之連續或不連續輸注。用於遞送醫藥試劑之構造及經皮貼片之用途已為此項技術習知。參見(例如)1991年6月11日頒發之美國專利第5,023,252號，其以引用方式併入本文中。該等貼片可經構造用於持續、脈衝或按需遞送醫藥試劑。

通常，期望或需要將該醫藥組合物直接或間接引入大腦中。直接技術通常涉及將藥物遞送導管放置於宿主腦室系統中以繞過血腦障壁。美國專利第5,011,472號中揭示一種用於將生物學因子輸送至身體的特定解剖學區域之此可植

入遞藥系統，該專利案以引用的方式併入本文中。

通常較佳之間接技術一般涉及藉由將親水性藥物轉變成脂溶性藥物來調配組合物以提供藥物潛伏化作用。潛伏化作用通常藉助阻斷藥物上存在之羥基、羰基、硫酸根及一級胺基團來使得藥物更易溶於脂質中且更易穿過血腦障壁。或者，可藉由動脈內輸注可迅速打開血腦障壁的高滲溶液來增強親水性藥物之遞送。

用於本發明之其他適宜調配物可在 Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, PA, 第17版(1985)中找到。

E. 劑量及投與

如上所提及，本文所述化合物適用於許多上述藥物遞送系統。此外，為增強所投與化合物之活體內血清半衰期，化合物可經囊封，引入脂質體之腔中，製成膠體，或者可使用其他提供該化合物經延長血清半衰期之習用技術。有許多方法適用於製備脂質體，如闡述於(例如)Szoka等人之美國專利第4,235,871號、第4,501,728號及第4,837,028號中者，其各自以引用的方式併入本文中。

本發明化合物用於抑制或治療至少部分地由KSP活性調介之病症。在一個態樣中，該至少部分地由KSP調介之病症係細胞性增殖病症。術語「細胞性增殖病症」或「細胞增殖病症」係指包括(例如)癌症、腫瘤、增生、再狹窄、心臟肥大、免疫病症及炎症。本發明提供治療需要治療的人類或哺乳動物個體的方法，該方法包括向該個體投與治

療有效量的式I或II之化合物，其單獨或與其他抗癌劑組合投與。

本發明的化合物可用於在活體外或活體內抑制癌細胞生長。術語「癌症」係指包括(例如)以下之癌症疾病：肺癌及支氣管癌、前列腺癌、乳癌、胰臟癌、結腸及直腸癌、甲狀腺癌、胃癌、肝癌及肝內膽管癌、腎臟及腎盂癌、膀胱癌、子宮體癌、子宮頸癌、卵巢癌、多發性骨髓瘤、食道癌、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、淋巴細胞性白血病、骨髓性白血病、腦癌、口腔及咽癌、喉癌、小腸癌、非霍奇金氏淋巴瘤、黑素瘤及絨毛狀結腸腺瘤。

癌症亦包括選自由癌、腺癌、肉瘤及血液惡性腫瘤組成之群之腫瘤或贅生物。

此外，癌症類型可選自由以下組成之群：實體腫瘤/惡性腫瘤之生長、黏液及圓細胞癌、局部晚期腫瘤、人類軟組織癌、癌症轉移、鱗狀細胞癌、食道鱗狀細胞癌、口腔癌、皮膚T細胞淋巴瘤、霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)、非霍奇金氏淋巴瘤、腎上腺皮質癌、產生ACTH的腫瘤、非小細胞癌、乳癌、胃腸癌、泌尿系癌、女性生殖道惡性腫瘤、男性生殖道惡性腫瘤、腎癌、腦癌、骨癌、皮膚癌、甲狀腺癌、視網膜母細胞瘤、神經母細胞瘤、腹膜滲出液、惡性胸膜滲出液、間皮瘤、維爾姆斯腫瘤(Wilms's tumor)、膽囊癌、滋養層腫瘤、血管外皮細胞瘤、及卡波西肉瘤(Kaposi's sarcoma)。

本發明之化合物或組合物可藉由適宜途徑(例如經口、

靜脈內、非經腸、經皮、局部、經直腸、或經鼻內)投與給哺乳動物。

哺乳動物包括(例如)人類及其他靈長類動物、寵物或伴侶動物(例如狗及貓)、實驗室動物(例如大鼠、小鼠及兔子)及家畜(例如馬、豬、綿羊及牛)。

腫瘤或贅生物包括組織細胞之生長，其中該等細胞之增殖不受控制且是進行性的。一些該等生長係良性的，但其他的稱為「惡性」且可導致有機體死亡。惡性贅生物或「癌症」不同於良性生長，此乃因其除展示侵襲性細胞增殖以外，其可侵略周圍組織並轉移。此外，惡性贅生物之特徵在於其相對於彼此及周圍組織展示分化及組織化之較大損失(較大「去分化」)。此性質稱為「退行發育」。

具有期望生物活性之化合物可視需要經修飾以提供期望性質，例如改良之藥理性質(例如，活體內穩定性、生物利用度)、或在診斷應用中檢測之能力。穩定性可以各種方式進行分析，例如藉由量測在與肽酶或人類血漿或血清一起培育期間化合物之半衰期。

出於診斷目的，可將各種標記連接至該等化合物，其可直接或間接提供可檢測信號。因此，本發明化合物及/或組合物可以各種方式修飾用於各種最終目的，同時仍保持生物活性。此外，可引入多個反應性位點用於連接至粒子、固體受質、大分子、及諸如此類。

經標記化合物可用於各種活體內或活體外應用。可採用各種標記，例如放射性核素(例如， γ 放射性同位素，例如

銻-99或銻-111)、螢光劑(例如,螢光素)、酶、酶受質、酶輔因子、酶抑制劑、化學發光化合物、生物發光化合物及諸如此類。熟悉此項技術者應習知其他用於結合至錯合物之適宜標記,或應能夠使用常規試驗確定該等標記。該等標記之結合係使用熟悉此項技術者通用之標準技術達成。

本發明之醫藥組合物適用於各種藥物遞送系統。用於本發明之適宜調配物係在 Remington's Pharmaceutical Sciences, Mace Publishing公司, Philadelphia, Pa.,第17版(1985)中找到。

投與給患者之量將視所投與藥物、投與目的(例如預防或治療)、患者之狀況、投與方式等而有所不同。在治療應用中,將組合物以足以治癒或至少部分地阻止疾病及其併發症之發展或症狀之量投與給已患疾病之患者。足以達成此目的之量定義為「治療有效劑量」。有效用於此用途之量將取決於所治療疾病狀況以及臨床主治醫師依照諸如疾病、病症或病狀之嚴重程度、患者之年齡、體重及綜合情況等因素所作出的判斷。

投與給患者之化合物通常呈上述醫藥組合物之形式。該等組合物可藉由習用滅菌技術滅菌,或可經無菌過濾。所得水溶液可經包裝以按原樣使用或凍乾,投與前將此凍乾製劑與無菌水性載劑組合。該化合物製劑之pH通常將介於約3與11之間、更佳約5至9且最佳約7至8。應瞭解,將使用某些上述賦形劑、載劑或穩定劑以形成醫藥鹽。

本發明化合物及/或組合物之治療劑量將視(例如)所進行治療之具體用途、化合物之投與方式、患者之健康狀況和狀態及處方醫師的判斷而不同。舉例而言，對於口服投與而言，劑量通常將介於約5 μg 至約50 mg/公斤體重/天之間、較佳約1 mg至約10 mg/公斤體重/天。或者，對於靜脈內投與而言，劑量通常將介於約5 μg 至約50 mg/公斤體重之間、較佳約500 μg 至約5000 μg /公斤體重。預期替代投與途徑包括(但不限於)鼻內、經皮、吸入、經皮下及經肌內。有效劑量可根據自活體外或動物模型測試系統獲得之劑量反應曲線外推獲得。

通常，本發明之化合物及/或組合物應藉由任一投與起類似效用藥劑之可接受方式以治療有效量投與。該等化合物之毒性及治療效能可在細胞培養或實驗動物中藉由標準醫藥程序來測定，例如測定LD₅₀(導致群體中的50%死亡的劑量)及ED₅₀(對群體中的50%治療有效的劑量)。毒性與治療效果間之劑量比為治療指數且其可表示為比率LD₅₀/ED₅₀。展示大治療指數之化合物較佳。

自細胞培養分析及動物研究所獲得之數據可用於調配適用於人類的劑量範圍。該等化合物之劑量較佳位於具有極低或沒有毒性之循環濃度(包括ED₅₀)範圍內。該劑量可視所採用劑型及所用投與途徑在此範圍內變化。對於本發明方法中所用任一化合物及/或組合物而言，皆可根據細胞培養分析來初步估計治療有效劑量。可在動物模型中調配劑量以達成循環血漿濃度範圍，其包括在細胞培養中所測

定之 IC_{50} (達成活性之半數最大抑制之測試化合物濃度)。該資訊可用以更準確地確定可供人類用之劑量。血漿含量可藉由(例如)高效液相層析來量測。

提供以下合成及生物學實例以闡釋性說明本發明，且無論如何不能將其理解為限制本發明之範圍。

實例

參照以下實例，使用本文所闡述之方法或此項技術中習知之其他方法合成本發明化合物。應瞭解，可使用本文所闡述之方法或此項技術中習知之其他方法來製備或分析未製備或分析之化合物。

藉由高效液相層析(HPLC)使用具有2690分離模組(Separation Module)之Waters Millenium層析系統(Milford, MA)來表徵化合物及/或中間體。分析管柱係自Alltech(Deerfield, IL)購得之Alltima C-18反相，4.6×250 mm。使用梯度溶析，通常以5%乙腈/95%水開始並在40分鐘內進行到100%乙腈。所有溶劑含有0.1%三氟乙酸(TFA)。藉由紫外光(UV)吸收在220或254奈米處檢測化合物。HPLC溶劑係自Burdick及Jackson(Muskegan, MI)或Fisher Scientific(Pittsburgh, PA)購得。在一些情形中，藉由薄層層析(TLC)使用背面為玻璃或塑膠之矽膠板(例如，Baker-Flex Silica Gel 1B2-F柔性薄板)評估純度。TLC結果可在紫外光下以目測方式或藉由採用習知碘蒸氣或其他各種染色技術而容易地檢測。

質譜分析係在兩種LC/MS儀器中之一者上實施：Waters

系統 (Alliance HT HPLC 及 Micromass ZQ 質譜儀；管柱：Eclipse XDB-C18，2.1×50 mm；溶劑系統：5-95% (或 35-95%、或 65-95% 或 95-95%) 存於水中且含有 0.05% TFA 之乙腈；流速 0.8 mL/min；分子量範圍 500-1500；錐電壓 20 V；管柱溫度 40°C) 或 Hewlett Packard 系統 (1100 系列 HPLC；管柱：Eclipse XDB-C18, 2.1×50 mm；溶劑系統：1-95% 存於水中且含有 0.05% TFA 之乙腈同；流速 0.4 mL/min；分子量範圍 150-850；錐電壓 50 V；管柱溫度 30°C)。所有質量報告為質子化母體離子之質量。

GC/MS 分析係在 Hewlett Packard 儀器上實施 (HP6890 系列氣體層析連同質量選擇性檢測器 5973；注射器體積：1 mL；初始管柱溫度：50°C；最終管柱溫度：250°C；斜坡時間：20 分鐘；氣體流速：1 mL/min；管柱：5% 苯基甲基矽氧烷，型號 HP 190915-443，尺寸：30.0 m×25 m×0.25 m)。

使用 Varian 300 MHz NMR (Palo Alto, CA) 對一些化合物實施核磁共振 (NMR) 分析。光譜參考物為 TMS 或已知化學位移的溶劑。一些化合物樣品係在高溫 (例如，75°C) 下運行以促使增加樣品溶解性。

一些本發明化合物之純度係藉由元素分析 (Desert Analytics, Tucson, AZ) 來評估。

使用實驗室裝置 Mel-Temp 設備 (Holliston, MA) 測定熔點。

製備型分離係使用 Flash 40 層析系統及 KP-Sil, 60A

(Biotage, Charlottesville, VA)、或藉由急驟管柱層析使用矽膠(230-400網目)填料、或藉由HPLC使用C-18反相管柱來實施。用於Flash 40 Biotage系統及急驟管柱層析之典型溶劑係二氯甲烷、甲醇、EtOAc、己烷、丙酮、水性羥基胺及三乙胺。用於反相HPLC之典型溶劑為不同濃度之乙腈及水溶液與0.1%三氟乙酸。

除非另有說明，否則所有溫度皆以攝氏溫度表示。而且，在該等實例及其他地方中，縮寫具有以下含義：

AcOH	= 乙酸
aq.	= 水性
ATP	= 三磷酸腺苷
Boc	= 第三-丁基氧基羰基
BSA	= 牛血清白蛋白
CAM	= 鉬酸銨
DCM	= 二氯甲烷
DIAD	= 偶氮二甲酸二異丙酯
DIBAL	= 二異丁基氫化鋁
DIEA	= 二異丙基乙基胺
DIPEA	= 二異丙基乙基胺
DMAP	= 二甲基胺基吡啶
DMF	= 二甲基甲醯胺
DMSO	= 二甲亞砜
DTT	= 二硫蘇糖醇

eq.	= 當量
Et ₂ O	= 二乙醚
Et ₃ N	= 三乙胺
EtOAc	= 乙酸乙酯
EtOH	= 乙醇
g	= 克
h	= 小時
HPLC	= 高效液相層析
L	= 公升
LC/MS	= 液相層析/質譜法
M	= 莫耳濃度
m	= 米
m/z	= 質量/電荷比
MeNH ₂	= 甲胺
mg	= 毫克
min	= 分鐘
mL	= 毫升
mm	= 毫米
mM	= 毫莫耳濃度
mmol	= 毫莫耳
mol	= 莫耳
N	= 正常
nm	= 奈米
nM	= 毫微莫耳濃度

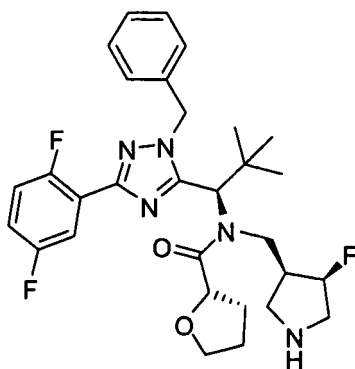
NMR	= 核磁共振
PPh ₃	= 三苯基膦
PhCF ₃	= 三氟甲基苯
psi	= 磅/平方英寸
RT	= 室溫
sat.	= 飽和
TEA	= 三乙胺
THF	= 四氫呋喃
TFA	= 三氟乙酸
TLC	= 薄層層析
TMS	= 三甲基甲矽烷基
TMSCl	= 三甲基氯矽烷
μg	= 微克
μL	= 微升
μM	= 微莫耳濃度

Uplc=超高效液相層析

實例 1

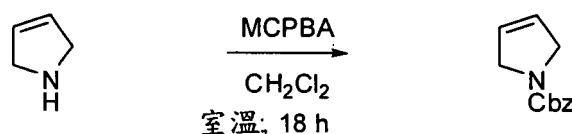
(S)-N-((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)

四氫呋喃-2-甲醯胺



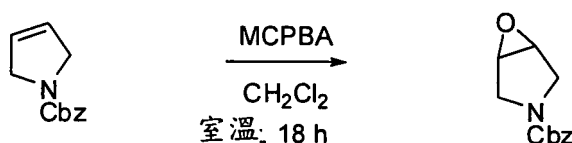
程序

2,5-二氫-1H-吡咯之 Cbz 保護



向 2,5-二氫-1H-吡咯 (30 g, 434 mmol, 96%, 自 Alfa Aesar 購得) 存於二噁烷中之溶液 (1000 mL, 0.43 M 溶液) 中添加 CbzOSu (130 g, 521 mmol)。於室溫下攪拌 18 h 之後，將反應混合物濃縮至約 300 mL，用 1000 mL EtOAc 稀釋。將有機層用水及鹽水洗滌，經無水 Na_2SO_4 乾燥，過濾並在真空中濃縮。藉由急驟管柱層析，以 91% 產率 (80.0 g) 獲得呈無色油狀物之期望 2,5-二氫-1H-吡咯-1-甲酸苄基酯。R_f=0.6 (30% EtOAc 存於己烷中)。¹H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.32 (5H, m), 5.80 (2H, m), 5.77 (2H, s), 4.22 (4H, m)。LC/MS (uplc): MH^+ 204.2, 160.1 (-44), 0.86 min。

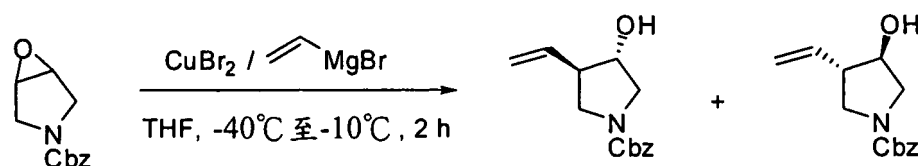
2,5-二氫-1H-吡咯-1-甲酸苄基酯之環氧化



向 2,5-二氫-1H-吡咯-1-甲酸苄基酯 (33 g, 163 mmol; 90%, 自 Aldrich 購得) 存於二氯甲烷中之溶液 (540 mL, 0.3 M 溶液) 中添加 MCPBA (44 g, 340 mmol, 77%, 自 Aldrich 購得)。將反應混合物於室溫下攪拌 18 h 之後，添加 500 mL 飽和 Na_2CO_3 水溶液並將所得混合物於室溫下攪拌 1 h。將有機層分離，用水及鹽水洗滌，經無水 Na_2SO_4 乾燥，過濾

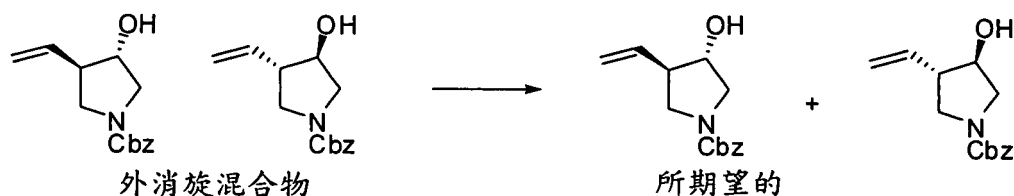
並在真空中濃縮。藉由急驟管柱層析，以83%產率(29.5 g)獲得呈黃色油狀物之期望產物。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 3.38 (2H, m), 3.68 (2H, m), 3.87 (2H, m), 5.11 (2H, s), 7.33 (5H, m)。LC/MS (uplc): MH⁺ 220.0, 0.69 min。

6-氧雜-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-3-甲酸苄基酯之開環



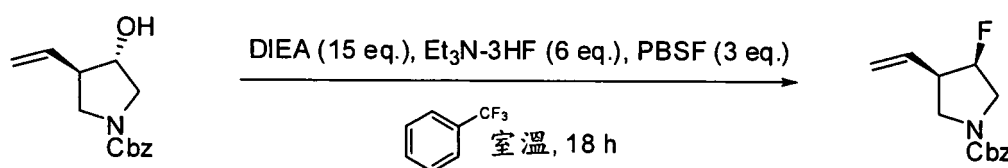
於40℃下向6-氧雜-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-3-甲酸苄基酯(28.5 g, 130 mmol)及CuBr·SMe₂ (26.7 g, 130 mmol)存於無水THF中之溶液(260 mL, 0.5 M溶液)中緩慢添加乙烯基溴化鎂(520 mL, 存於THF中之1.0 M溶液)。然後將反應混合物升溫至-20℃並持續2 h。用飽和NH₄Cl水溶液(200 mL)萃取之後，將反應混合物用EtOAc (500 mL)萃取。將有機層用水及鹽水洗滌，經無水Na₂SO₄乾燥，過濾並在真空中濃縮。藉由急驟管柱層析，以48%產率(15.5 g)獲得呈黃色油狀物之反式-(±)-3-羥基-4-乙烯基吡咯啉-1-甲酸苄基酯之期望外消旋混合物。R_f=0.2(30% EtOAc存於己烷中)。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 2.71 (1H, m), 3.28 (2H, m), 3.72 (2H, m), 4.11 (1H, m), 5.14 (2H, s), 5.16-5.23 (2H, m), 5.69 (1H, m), 7.33 (5H, m)。LC/MS (uplc): MH⁺ 248.0, 0.78 min。

反式-(±)-3-羥基-4-乙烯基吡咯啉-1-甲酸苄基酯之拆分



藉由使用對掌性 HPLC (Chiralpak AD-H 庚烷 : EtOH : MeOH, 8:1:1) 來拆分反式-(±)-3-羥基-4-乙烯基吡咯啉-1-甲酸苄基酯之外消旋混合物 (14 g)。以 92% 回收率獲得期望對映異構富集之 (3S,4R)-3-羥基-4-乙烯基吡咯啉-1-甲酸苄基酯 (6.7 min; 6.3 g, >99.5% ee) 及不期望之 (3R,4S)-3-羥基-4-乙烯基吡咯啉-1-甲酸苄基酯 (9.3 min; 6.7 g, 99.5% ee)。

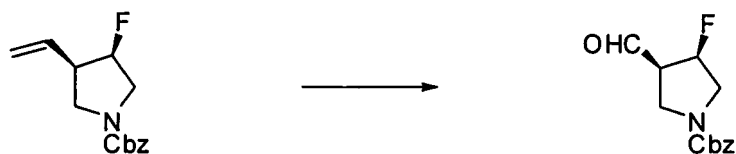
(3S,4R)-3-羥基-4-乙烯基吡咯啉-1-甲酸苄基酯之氟化



向 (3S,4R)-3-羥基-4-乙烯基吡咯啉-1-甲酸苄基酯 (5.0 g, 20.2 mmol) 存於 PhCF₃ 中之溶液 (81 mL, 0.25 M 溶液) 中添加 N,N-二異丙基乙胺 (53 mL, 303 mmol)、三乙胺三氫氟酸鹽 (19.8 mL, 121 mmol) 及全氟-1-丁烷磺醯氟 (PBSF, 3.6 mL, 20.2 mmol)。將反應混合物於室溫下攪拌。在 60 及 120 分鐘之後，添加額外的全氟-1-丁烷磺醯氟 (3.6 mL, 20.2 mmol)。18 小時之後，將反應混合物轉移至分液漏斗並用 50 mL 1.0 N HCl 洗滌兩次 (小心！產生大量的熱)，用飽和 NaHCO₃ 水溶液洗滌兩次，並用 H₂O 及鹽水洗滌一次。有機相經無水 Na₂SO₄ 乾燥，過濾並濃縮以提供粗製褐色油狀

物。藉由急驟管柱層析(SiO_2 , 10%-30% EtOAc存於己烷中), 以81%產率(4.1 g)獲得呈黃色油狀物之純(3R,4R)-3-氟-4-乙基吡咯啉-1-甲酸苄基酯。 $R_f=0.55$ (存於己烷中之30% EtOAc)。 ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.37-7.25 (5H, m), 5.9 (1H, m), 5.24 (2H, m), 5.14 (2H, m), 5.03 (1H, dt, $J=52.8, 3.2$ Hz), 3.9-3.5 (3H, m), 3.53 (1H, m), 2.83 (1H, m)。 ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz): δ 154.7, 154.6, 136.6, 131.89, 131.83, 128.48, 128.02, 127.94, 119.00, 118.94, 95.23, 94.47, 93.42, 92.67, 66.99, 66.94, 53.16, 52.94, 52.83, 52.60, 48.17, 48.02, 47.91, 47.83, 47.2, 47.1。
LC/MS (uplc): MH^+ 250.0, 0.93 min。

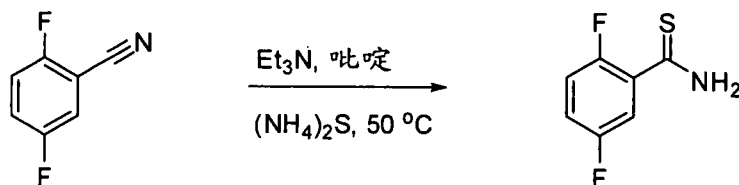
乙基氟吡咯啉之氧化斷裂



向(3R,4R)-3-氟-4-乙基吡咯啉-1-甲酸苄基酯(1.78 g, 7.15 mmol)存於 CH_3OH 及 H_2O 中之溶液(2:1, 30 mL, 0.2 M 溶液)中添加 OsO_4 存於 H_2O 中之溶液(3 mL 4% w/v 溶液, 0.5 mmol)。然後一次性添加 NaIO_4 (4.6 g, 21.5 mmol)並將所得混合物於室溫下攪拌。2小時之後, 將混合物過濾以去除沉澱之白色固體且濾餅用EtOAc洗滌。將濾液在真空中濃縮, 以去除大部分有機溶劑。將殘餘物用三份EtOAc萃取, 且合併的有機層經無水 Na_2SO_4 乾燥, 過濾並濃縮。未經進一步純化即將粗製(3R,4S)-3-氟-4-甲醯基吡咯啉-1-

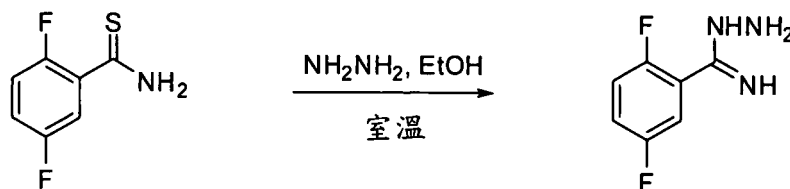
甲酸苄基酯用於下一步驟中。LC/MS (uplc): MH^+ 208.2 (-44), 252.0, 0.69 min。

2,5-二氟硫代苯甲醯胺之合成



將2,5-二氟苯甲腈(25 g, 180 mmol)存於吡啶(90 mL)中之攪拌溶液用存於水中之20 wt%硫化銨(67.4 mL, 198 mmol)及三乙胺(27.4 mL, 198 mmol)處理。將反應混合物於50°C下攪拌5 hr, 直至反應完成為止。當冷卻至室溫後, 用冷水稀釋混合物並用EtOAc萃取。將有機層分離, 然後用H₂O (x3)、鹽水(x3)洗滌, 隨後經無水Na₂SO₄乾燥, 過濾並在減壓下蒸發, 以獲得粗製產物。在矽膠管柱上純化(20% EtOAc存於己烷中), 獲得呈黃色固體之2,5-二氟硫代苯甲醯胺(31.0 g, 99%)。¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.12 (m, 2H), 7.90 (br, 2H), 8.08 (m, 1H)。LC/MS (uplc): MH^+ 174.0, 0.64 min。

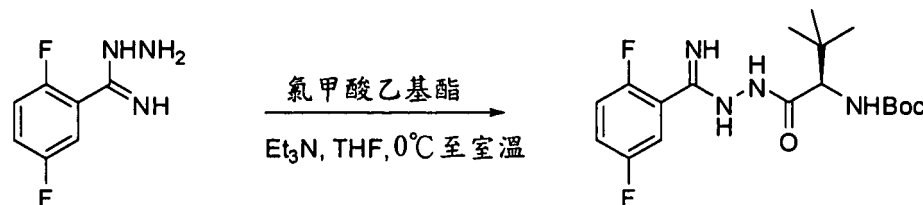
2,5-二氟苯甲醯亞胺基肼之合成



向2,5-二氟硫代苯甲醯胺(22.5 g, 129.7 mmol)存於EtOH(150 mL)中之攪拌溶液中添加肼(6.1 mL, 194.5 mmol)。於室溫下攪拌30 min之後, 藉由LC/MS確認反應完成且沉澱

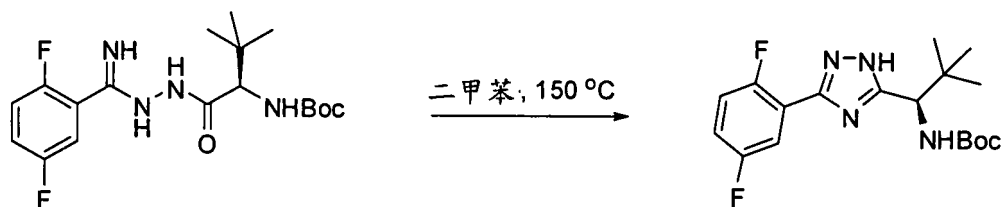
出白色固體。將沉澱過濾並用己烷洗滌，獲得2,5-二氟苯甲醯亞胺基醯肼(5.52 g, 94%)。

2,5-二氟苯甲醯亞胺基醯肼之醯化



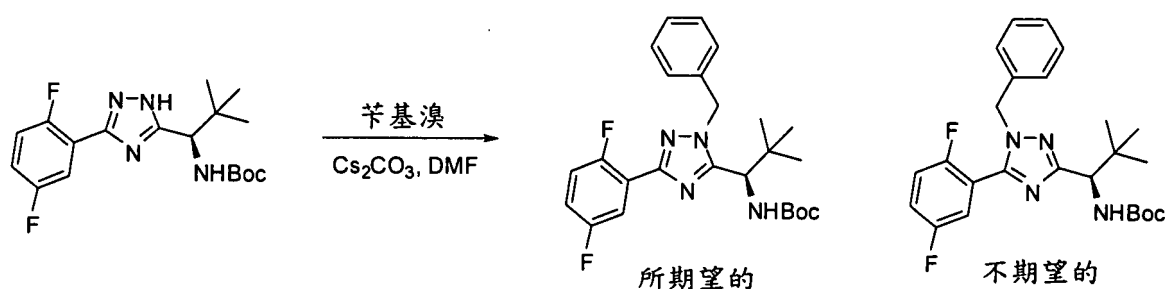
藉由於 -5°C 至 0°C 下添加存於無水THF (65 mL, 0.5 M)中之氯甲酸乙基酯(3.41 mL, 35.6 mmol)、 Et_3N (6.8 mL, 48.6 mmol)將N-Boc-D-第三丁基甘胺酸(7.5 g, 32.4 mmol)轉化成混合酸酐。將混合物於 -5°C 下攪拌30 min。將所得固體濾出並添加額外的無水THF洗滌沉澱。然後於 -5°C 下將所得反應溶液添加於2,5-二氟本甲醯亞胺基醯肼(5.53 g, 32.4 mmol)之THF溶液中。然後將反應逐漸升溫至室溫並攪拌過夜。反應完成後，使混合物在EtOAc與 H_2O 之間分配。將有機層分離並用 H_2O 、鹽水洗滌，然後經無水 Na_2SO_4 乾燥，過濾並在減壓下蒸發，以獲得粗製產物，將其於矽膠管柱上純化(50% EtOAc存於己烷中)，獲得(R)-1-(2-((2,5-二氟苯基)(亞胺基)甲基)肼基)-3,3-二甲基-1-側氧基丁-2-基胺基甲酸第三丁基酯(67%)。Rf=0.4 (50% EtOAc存於己烷中)。LC/MS (uplc): MH^+ 385.3, 0.65 min。

(R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基胺基甲酸第三丁基酯之合成



將(R)-1-(2-((2,5-二氟苯基)(亞胺基)甲基)肼基)-3,3-二甲基-1-側氧基丁-2-基胺基甲酸第三丁基酯(8.35 g, 21.7 mmol)溶於二甲苯(200 mL)中。配備迪安-斯脫克分水器(Dean-Stark trap)並將反應混合物加熱至150°C。反應完成之後，使混合物冷卻至室溫，然後在EtOAc與飽和NaHCO₃水溶液之間分配。將有機層分離，然後用飽和NaHCO₃水溶液、H₂O及鹽水洗滌，然後經Na₂SO₄乾燥，過濾並在減壓下蒸發，以獲得(R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基胺基甲酸第三丁基酯(7.81 g, 98%)，其未經進一步純化即用於下一步驟。LC/MS (uplc): MH⁺ 367.2, 0.98 min。

(R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基胺基甲酸第三丁基酯利用苄基溴之烷基化

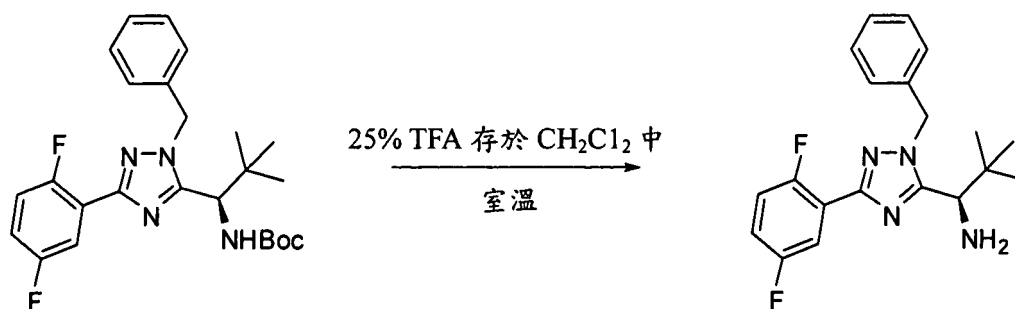


向(R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基胺基甲酸第三丁基酯(5.89 g, 16.1 mmol)及Cs₂CO₃(10.5 g, 32.2 mmol)存於DMF(46 mL, 0.35 M)中之懸浮液中添加苄基溴(2.11 mL, 17.7 mmol)。將有機層分離

並用 H₂O、鹽水洗滌之後，則經 Na₂SO₄ 乾燥，過濾並在真空中蒸發，以獲得 (R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基-胺基甲酸第三丁基酯。在矽膠管柱 (0% 至 100% EtOAc 存於己烷中，3.25 g, 44.3%) 上獲得期望區域異構體。藉由 ¹H NMR nOe 試驗確認結構。

對於期望異構體 ((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基胺基甲酸第三丁基酯) 而言：晶體，LC/MS (uplc): MH⁺ 457.2, 1.36 min。 ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.78 (m, 1H), 7.29-7.39 (m, 5H), 7.00-7.18 (m, 2H), 5.53 (s, 2H), 5.20 (d, 2H), 4.83 (m, 2H), 1.41 (s, 9 H), 0.91 (s, 9H)。對於不期望異構體 ((R)-1-(1-苄基-5-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-3-基)-2,2-二甲基丙基胺基甲酸第三丁基酯) 而言：無色油狀物，LC/MS (uplc): MH⁺ 457.2, 1.25 min。 ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.25 (m, 5H), 7.15 (m, 2H), 7.05 (m, 1H), 5.45 (d, 2H), 5.28 (s, 2H), 4.85 (d, 2H), 1.43 (s, 9H), 0.97 (s, 9H)。

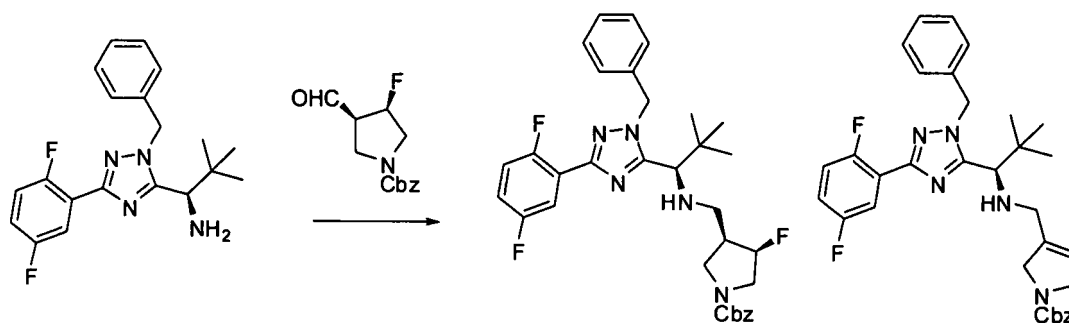
(R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基胺基甲酸第三丁基酯之去保護



用存於 CH₂Cl₂ (30 ml) 中之 TFA (10 mL) 處理 (R)-1-(1-苄

基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基胺基甲酸第三丁基酯(3.25 g, 7.13 mmol)。反應完成後，將反應在真空中濃縮且然後在EtOAc與飽和NaHCO₃水溶液之間分配。將有機物分離出，然後用H₂O、鹽水洗滌，然後經Na₂SO₄乾燥，過濾並在減壓下蒸發，以獲得(R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙-1-胺(2.32 g, 91%)，其未經進一步純化直接用於下一步驟。LC/MS (uplc): MH⁺ 357.1, 0.82 min。

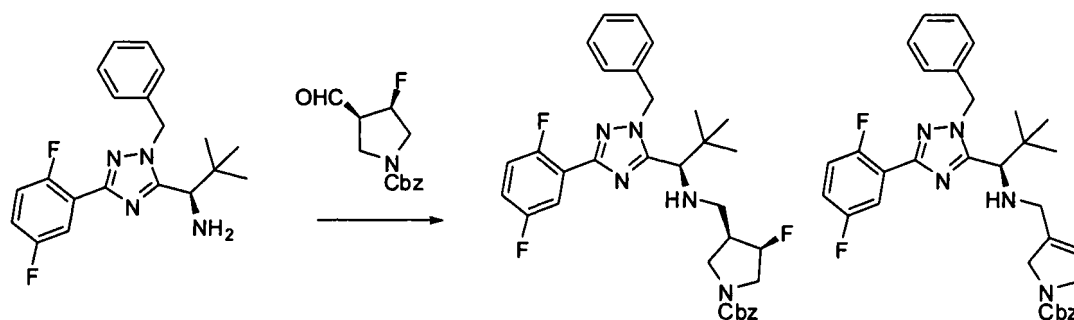
還原烷基化



向(R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙-1-胺(2.55 g, 7.15 mmol)存於CH₂Cl₂ (59 mL)中之溶液中添加存於CH₂Cl₂ (10 mL)中之粗製(3R,4S)-3-氟-4-甲醯基吡咯啉-1-甲酸苄基酯(自1.4當量(3R,4R)-3-氟-4-乙烯基吡咯啉-1-甲酸苄基酯獲得)及NaBH(OAc)₃ (2.3 g, 10.7 mmol)。然後將反應混合物於室溫下攪拌16 h。用飽和NaHCO₃水溶液驟冷後，將反應混合物用EtOAc萃取。將有機層用水及鹽水洗滌，經無水Na₂SO₄乾燥，過濾並濃縮。粗製還原胺化產物受到HF消除烯烴產物之污染，該烯烴產物不能在二氧化矽管柱層析或製備型反向HPLC上分離出。因此，將粗製混合物(3.0 g)溶於丙酮及水(5:1, 120

mL)。向此反應混合物中添加4-甲基嗎啉N-氧化物(715 mg, 6.1 mmol)及OsO₄ (2.15 mL 4% w/v溶液)，然後將其於室溫下攪拌整個週末。在真空中去除丙酮之後，將剩餘水性層用EtOAc萃取。將有機層用水及鹽水洗滌，經無水Na₂SO₄乾燥，過濾並濃縮。在二氧化矽管柱層析(35%至80% EtOAc存於己烷中，1.5 g, 35%)上獲得期望(3R,4R)-3-(((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基胺基)甲基)-4-氟吡咯啉-1-甲酸苄基酯。LC/MS (uplc) MH⁺ 592.3, 0.97 min。

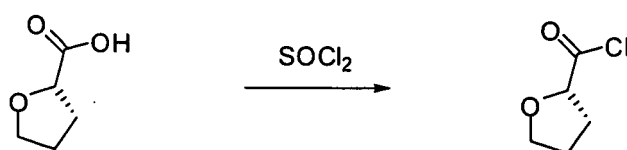
還原烷基化



向(R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙-1-胺(2.55 g, 7.15 mmol)存於CH₂Cl₂ (59 mL)中之溶液中添加存於CH₂Cl₂ (10 mL)中之粗製(3R,4S)-3-氟-4-甲醯基吡咯啉-1-甲酸苄基酯(自1.4當量(3R,4R)-3-氟-4-乙烯基吡咯啉-1-甲酸苄基酯獲得)及NaBH(OAc)₃ (2.3 g, 10.7 mmol)。然後將反應混合物於室溫下攪拌16 h。用飽和NaHCO₃水溶液驟冷後，將反應混合物用EtOAc萃取。將有機層用水及鹽水洗滌，經無水Na₂SO₄乾燥，過濾並濃縮。粗製還原胺化產物受到HF消除烯烴產物之污染，該烯烴產物不能在二氧化矽管柱層析或製備型反向HPLC上分

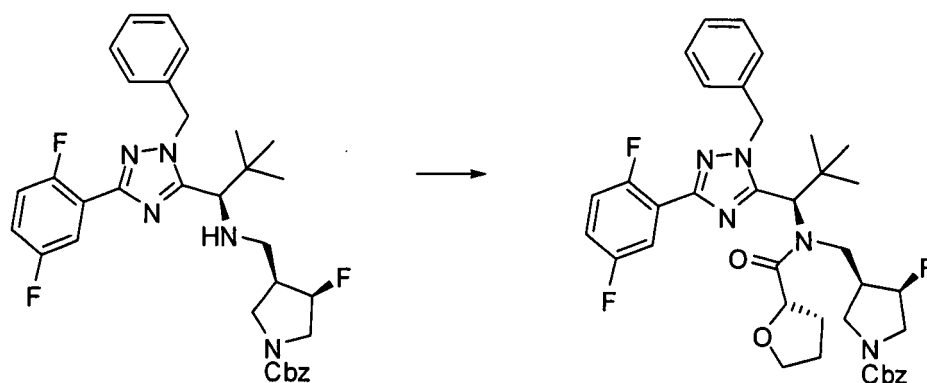
離出。因此，將粗製混合物(3.0 g)溶於丙酮及水(5:1, 120 mL)。向此反應混合物中添加4-甲基嗎啉N-氧化物(715 mg, 6.1 mmol)及OsO₄(2.15 mL 4% w/v溶液)，然後將其於室溫下攪拌整個週末。在真空中去除丙酮之後，將剩餘水性層用EtOAc萃取。將有機層用水及鹽水洗滌，經無水Na₂SO₄乾燥，過濾並濃縮。在二氧化矽管柱層析(35%至80% EtOAc存於己烷中，1.5 g, 35%)上獲得期望(3R,4R)-3-(((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基胺基)甲基)-4-氟吡咯啉-1-甲酸苄基酯。LC/MS (uplc) MH⁺ 592.3, 0.97 min。

鹽酸之製備



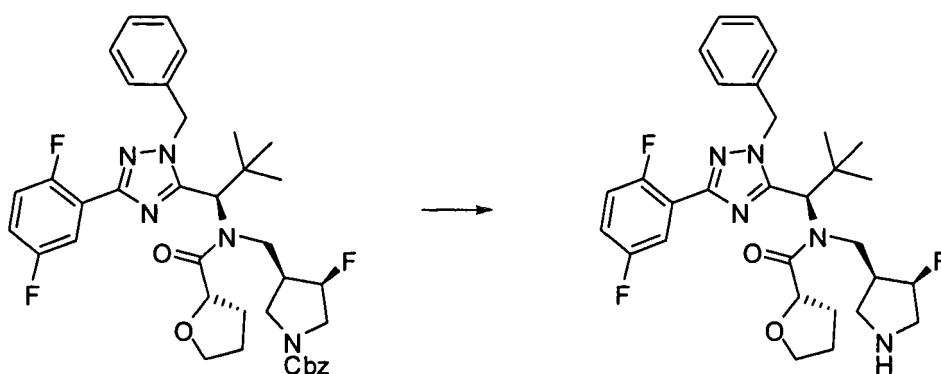
用SOCl₂ (15 mL)溶解(S)-四氫呋喃-2-甲酸(5.1 g, 44 mmol)。將反應混合物回流30 min。在真空中去除揮發性物質之後，將粗製(S)-四氫呋喃-2-甲鹽酸(6.0 g, >99%)用於下一步驟。

鹽胺鍵形成



於室溫下向(3R,4R)-3-(((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基胺基)甲基)-4-氟吡咯啉-1-甲酸苄基酯(500 mg, 0.845 mmol)存於二氯甲烷中之溶液(8.5 mL, 0.1 M溶液)中添加三乙胺(236 μ L, 1.69 mmol)。然後在2 min內逐滴添加粗製(S)-四氫呋喃-2-甲醯氯(227 mg, 1.69 mmol)。將所得溶液於室溫下攪拌過夜。反應混合物用H₂O驟冷並用EtOAc萃取。有機層經無水硫酸鈉乾燥並過濾。在真空中去除揮發性有機物質之後，在急驟管柱層析(產率：N/A；0%-100% EtOAc存於己烷中)上純化期望3R,4R)-3-(((S)-N-((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)四氫呋喃-2-甲醯胺基)甲基)-4-氟吡咯啉-1-甲酸苄基酯。LC/MS (uplc): MH⁺ 690.5, 1.35 min。

去保護

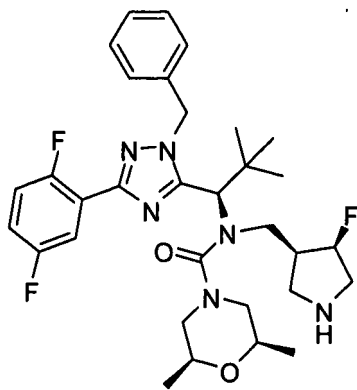


在乾燥N₂氣氛下向(3R,4R)-3-(((S)-N-((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)四氫呋喃-2-甲醯胺基)甲基)-4-氟吡咯啉-1-甲酸苄基酯(583 mg, 0.845 mmol)存於經脫氣EtOAc中之溶液(8 mL, 0.1 M溶液)

中添加Pd/C (899 mg, 10 wt%)。用氫氣吹掃之後，將配備有氫氣球之反應混合物於室溫下攪拌過夜。反應混合物藉助矽藻土[®]墊過濾，將該墊用EtOAc洗滌。在真空中去除揮發性有機濾液以獲得粗製產物，藉由製備型反向HPLC將其純化。合併之產物部分用飽和NaHCO₃溶液中中和，然後用EtOAc萃取。有機層經無水硫酸鈉乾燥，過濾並在真空中濃縮。然後將乾燥產物溶於乙腈及水(1:1比率)中並凍乾48 h。以27.9%產率(131 mg)獲得呈游離胺形式之白色粉狀(S)-N-((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3S,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)四氫呋喃-2-甲醯胺。¹H NMR (CD₃Cl, 400 MHz): δ 7.82 (1H, m), 7.53 (2H, m), 7.35-7.27 (3H, m), 7.14 (1H, m), 7.06 (1H, m), 6.14 (1H, s), 5.45 (2H, m), 4.85 (2H, m), 4.72 (1H, m), 4.21 (1H, m), 3.97 (1H, m), 3.83 (1H, m), 3.02 (1H, m), 2.80 (1H, m), 2.33-1.80 (6H, m), 1.25 (1H, s), 1.01 (1H, m), 0.99 (9H, s)。LC/MS (uplc): MH⁺ 556.4, 0.99 min。

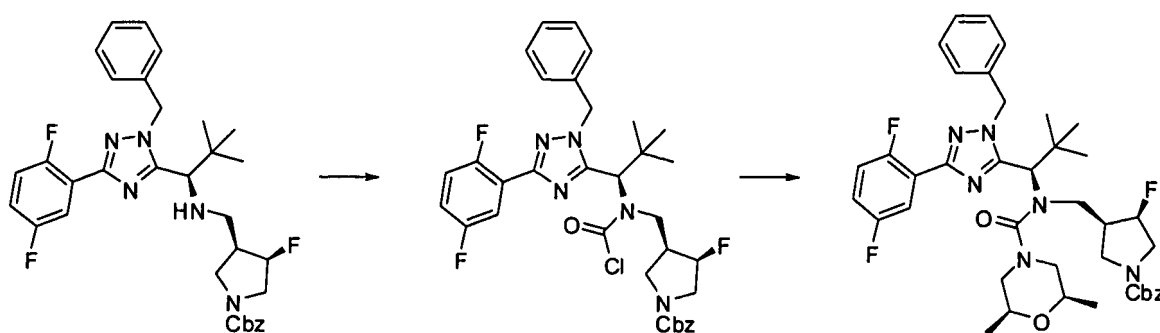
實例2

N-((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)-2,6-二甲基嗎啉-4-甲醯胺



程序

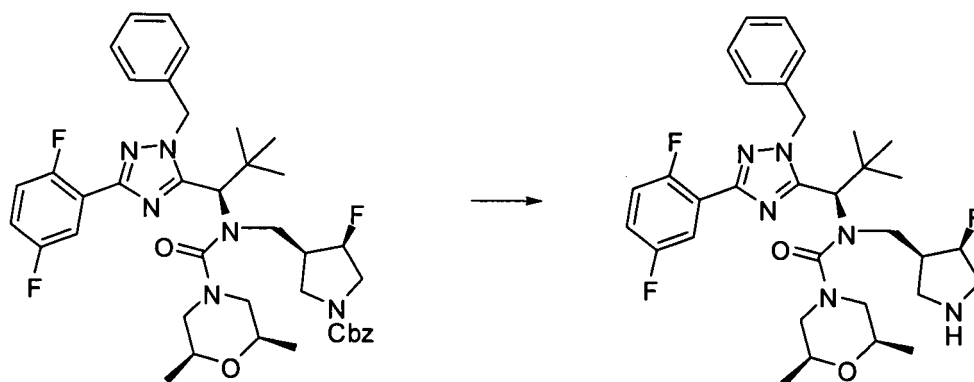
脲形成



於室溫下向 (3R,4R)-3-(((R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基胺基)甲基)-4-氟吡咯啉-1-甲酸苄基酯 (110 mg, 0.186 mmol) 存於二氯甲烷中之溶液 (1.9 mL, 0.1 M 溶液) 中添加三乙胺 (78 μ L, 0.558 mmol), 隨後添加存於甲苯中之 20% 光氣 (66 mg, 0.223 mmol)。將所得溶液於室溫下攪 15 min 拌之後 (對於 (3S,4R)-3-((((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)(氯羰基)胺基)甲基)-4-氟吡咯啉-1-甲酸苄基酯而言, LC/MS (uplc): MH^+ 654.3, 1.37 min), 添加 2,6-二甲基嗎啉 (64 mg, 0.558 mmol) 並於 40°C 下加熱過夜 (在密封管中)。反應混合物用 H_2O 驟冷並用 EtOAc 萃取。有機層用 $NaHCO_3$ 溶液及鹽水洗滌, 經無水硫酸鈉

乾燥，過濾並濃縮。在真空中去除揮發性有機物質之後，在製備型反相 HPLC 上純化粗製產物。合併之產物部分用飽和 NaHCO_3 溶液中和，然後用 EtOAc 萃取。有機層經污水硫酸鈉乾燥，過濾並在真空中濃縮，以獲得期望 (3R,4R)-3-(((2S,6R)-N-((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-2,6-二甲基嗎啉-4-甲醯胺基)甲基)-4-氟吡咯啉-1-甲酸苄基酯 (91 mg, 66.7%，經 2 個步驟)。LC/MS (uplc): MH^+ 733.5, 1.41 min。

去保護

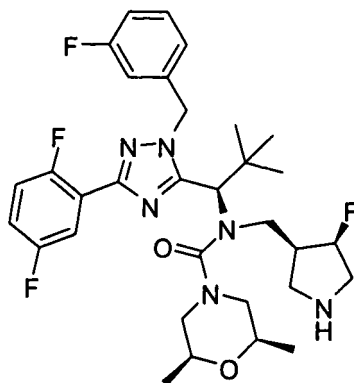


在乾燥 N_2 氣氛下向 (3R,4R)-3-(((2S,6R)-N-((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-2,6-二甲基嗎啉-4-甲醯胺基)甲基)-4-氟吡咯啉-1-甲酸苄基酯 (91 mg, 0.124 mmol) 存於經脫氣乙醇中之溶液 (12 mL, 0.1 M 溶液) 中添加 Pd/C (2.64 mg, 10 wt%)。用氫氣吹掃之後，將配備有氫氣球之反應混合物於室溫下攪拌 45 min。反應混合物藉助矽藻土[®]墊過濾，將該墊用 EtOAc 洗滌。在真空中去除揮發性有機濾液以獲得粗製產物，藉由製備型反向 HPLC 將其純化。合併之產物部分用飽和

NaHCO₃ 溶液中中和，然後用 EtOAc 萃取。有機層經無水硫酸鈉乾燥，過濾並在真空中濃縮。然後將乾燥產物溶於乙腈及水(1:1比率)中並凍乾 48 h。以 94% 產率(70 mg)獲得呈游離胺形式之白色粉狀(2S,6R)-N-((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3S,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)-2,6-二甲基嗎啉-4-甲醯胺。¹H NMR (CD₃Cl, 300 MHz): δ 7.83 (1H, m), 7.52 (2H, m), 7.34-7.27 (3H, m), 7.08 (1H, m), 7.04 (1H, m), 5.94 (2H, m), 5.41 (1H, s), 3.92-3.62 (3H, m), 3.60-3.45 (3H, m), 3.17-2.58 (3H, m), 2.57-2.37 (1H, m), 2.35-2.04 (2H, m), 1.85 (2H, m), 1.20 (6H, s), 0.9 (1H, m), 0.8 (9H, s)。LC/MS (uplc): MH⁺ 599.5, 1.06 min。

實例 3

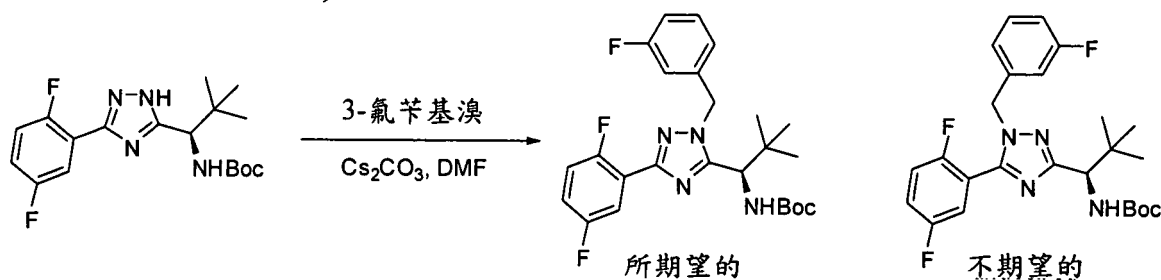
N-((R)-1-(3-(2,5-二氟苄基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)-2,6-二甲基嗎啉-4-甲醯胺



程序

(R)-1-(3-(2,5-二氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲

基丙基胺基甲酸第三丁基酯利用 3-氟苄基溴之烷基化 (針對 CHIR782903)

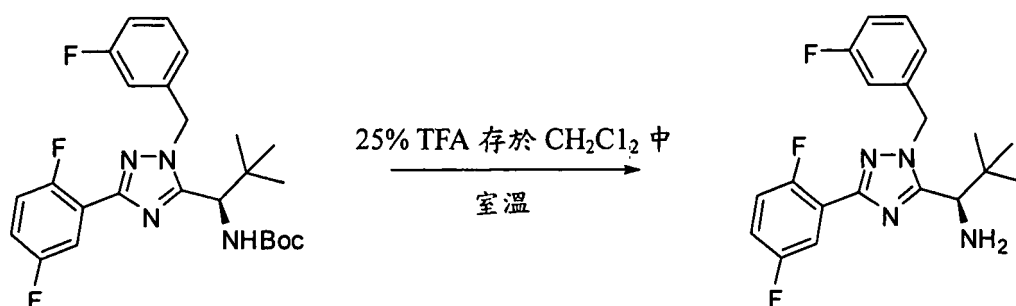


向 (R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基胺基甲酸第三丁基酯 (5.89 g, 16.1 mmol) 及 Cs_2CO_3 (10.5 g, 32.2 mmol) 存於 DMF (46 mL, 0.35 M) 中之攪拌懸浮液中添加 3-氟苄基溴 (2.17 mL, 17.7 mmol)。反應完成後，使混合物在 EtOAc 與 H_2O 之間分配。將有機層分離並用 H_2O 、鹽水洗滌，然後經 Na_2SO_4 乾燥，過濾並在真空中蒸發，獲得 (R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基胺基甲酸第三丁基酯。藉由矽膠管柱 (0% 至 100% EtOAc 存於己烷中，5.05 g, 66.2%) 獲得期望的具有較小極性之區域異構體。

對於期望異構體 (R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基胺基甲酸第三丁基酯：LC/MS (uplc) 475.2, 1.35 min。對於不期望異構體 (R)-1-(5-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-3-基)-2,2-二甲基丙基胺基甲酸第三丁基酯。LC/MS (uplc) MH^+ 475.2, 1.24 min。

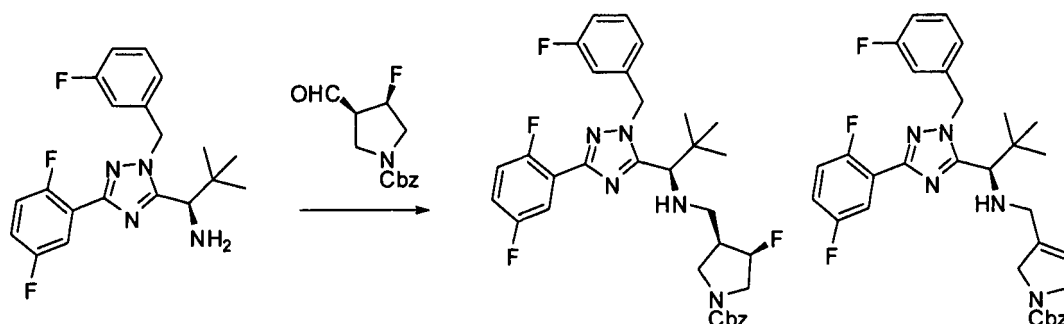
(R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基胺基甲酸第三丁基酯之去保護 (針對

CHIR782903)



用存於 CH_2Cl_2 (30 ml) 中之 TFA (10 mL) 處理 (R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基胺基甲酸第三丁基酯 (5.05 g, 10.7 mmol)。反應完成後，將反應在真空中濃縮且然後在 EtOAc 與飽和 NaHCO_3 水溶液之間分配。將有機物分離出，然後用 H_2O 、鹽水洗滌，然後經乾燥 Na_2SO_4 ，過濾並在減壓下蒸發，獲得 (R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙-1-胺 (2.55 g, 64%)，其未經進一步純化直接用於下一步驟。LC/MS (uplc) MH^+ 375.1, 0.83 min。

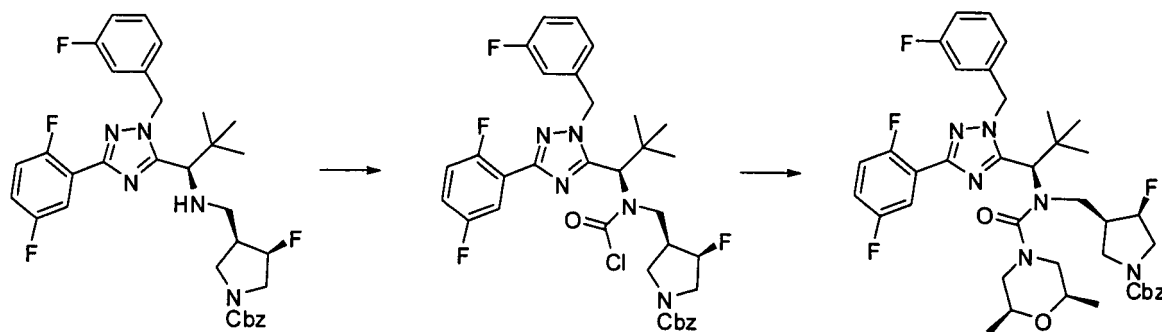
還原烷基化



向 (R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙-1-胺 (2.55 g, 6.8 mmol) 存於 CH_2Cl_2 (58 mL) 中之溶液中添加存於 CH_2Cl_2 (10 mL) 中之粗製 (3R,4S)-3-氟-4-甲醯基吡咯啉-1-甲酸苄基酯 (自 1.4 當量 (3R,4R)-3-

氟-4-乙炔基吡咯啉-1-甲酸苄基酯獲得)及 $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (2.2 g, 10.2 mmol)。然後將反應混合物於室溫下攪拌16 h。用飽和 NaHCO_3 水溶液驟冷後，將反應混合物用 EtOAc 萃取。將有機層用水及鹽水洗滌，經無水 Na_2SO_4 乾燥，過濾並濃縮。粗製還原胺化產物受到 HF 消除烯烴產物之污染，該烯烴產物不能在二氧化矽管柱層析或製備型反向HPLC上分離出。因此，將粗製混合物(2.89 g)溶於丙酮及水(5:1, 120 mL)。向此反應混合物中添加4-甲基嗎啉 N -氧化物(667 mg, 5.7 mmol)及 OsO_4 (1.51 mL 4% w/v溶液)，然後將其於室溫下攪拌整個週末。在真空中去除丙酮之後，將剩餘水性層用 EtOAc 萃取。將有機層用水及鹽水洗滌，經無水 Na_2SO_4 乾燥，過濾並濃縮。在二氧化矽管柱層析(40%至90% EtOAc 存於己烷中，2.16 g, 52%)上獲得期望(3R,4R)-3-(((R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基胺基)甲基)-4-氟吡咯啉-1-甲酸苄基酯。LC/MS (uplc): MH^+ 610.2, 0.99 min。

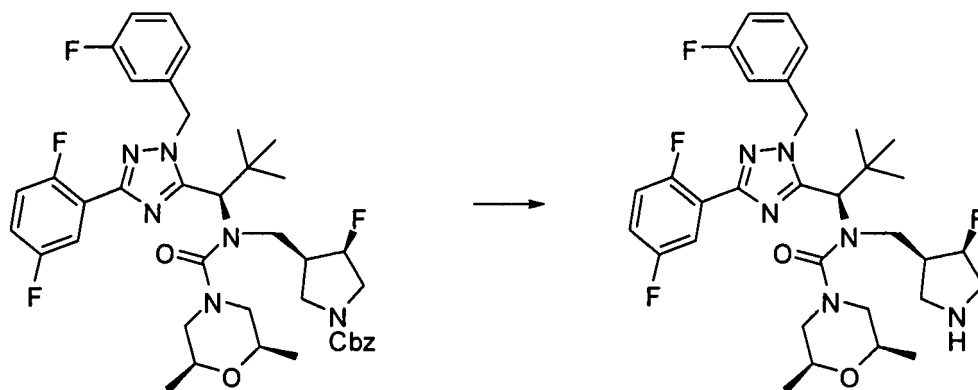
脲形成



於室溫下向(3R,4R)-3-(((R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基胺基)甲基)-4-

氟吡咯啉-1-甲酸苄基酯(30 mg, 0.049 mmol)存於二氯甲烷中之溶液(450 μ L, 0.1 M溶液)中添加三乙胺(20.6 μ L, 0.148 mmol), 隨後添加存於甲苯中之20%光氣(6.2 μ L, 0.059 mmol)。將所得溶液於室溫下攪拌15 min之後(對於(3S,4R)-3-(((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)(氯羰基)胺基)甲基)-4-氟吡咯啉-1-甲酸苄基酯而言, LC/MS (uplc): MH^+ 654.3, 1.37 min), 添加2,6-二甲基嗎啉(64 mg, 0.558 mmol)並於室溫下攪拌15 min。反應混合物用 H_2O 驟冷並用EtOAc萃取。有機層用 $NaHCO_3$ 溶液及鹽水洗滌, 經無水硫酸鈉乾燥, 過濾並濃縮。在真空中去除揮發性有機物質之後, 在製備型反相HPLC上純化粗製產物。合併之產物部分用飽和 $NaHCO_3$ 溶液中和, 然後用EtOAc萃取。有機層經無水硫酸鈉乾燥, 過濾並在真空中濃縮, 獲得期望(3R,4R)-3-(((2S,6R)-N-((R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-2,6-二甲基嗎啉-4-甲醯胺基)甲基)-4-氟吡咯啉-1-甲酸苄基酯(30 mg, 81%, 經2個步驟)。LC/MS (uplc): MH^+ 751.5, 1.39 min。

去保護

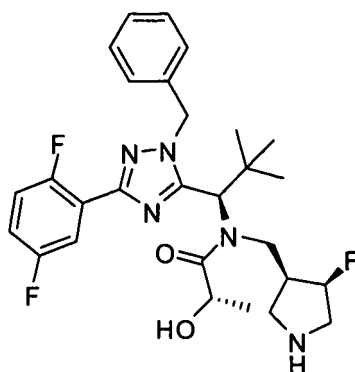


在乾燥 N₂ 氣氛下向 (3R,4R)-3-(((2S,6R)-N-((R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-2,6-二甲基嗎啉-4-甲醯胺基)甲基)-4-氟吡咯啉-1-甲酸苄基酯 (35 mg, 0.047 mmol) 存於經脫氣乙醇中之溶液 (10 mL, 4.7 mM 溶液) 中添加 Pd/C (0.99 mg, 10 wt%)。用氫氣吹掃之後，將配備有氫氣球之反應混合物於室溫下攪拌過夜。反應混合物藉助矽藻土[®] 墊過濾，將該墊用 EtOAc 洗滌。在真空中去除揮發性有機濾液以獲得粗製產物，藉由製備型反向 HPLC 將其純化。合併之產物部分用飽和 NaHCO₃ 溶液中和，然後用 EtOAc 萃取。有機層經無水硫酸鈉乾燥，過濾並在真空中濃縮。然後將乾燥產物溶於乙腈及水 (1:1 比率) 中並凍乾 48 h。以 63% 產率 (18 mg) 獲得呈游離胺形式之白色粉狀 (2S,6R)-N-((R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3S,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)-2,6-二甲基嗎啉-4-甲醯胺。¹H NMR (CD₃Cl, 300 MHz): δ 7.84 (1H, m), 7.32-6.95 (6H, m), 5.79 (2H, m), 5.36 (1H, s), 4.58 (1H, m), 3.91-3.72 (3H, m), 3.65-3.50 (3H, m), 3.04 (1H, m), 2.97-2.65 (2H, m), 2.53 (1H, m), 2.36 (1H, m), 2.18 (1H, m), 1.20 (6H, s), 0.9 (1H, m), 0.84 (9H, s)。LC/MS (uplc): MH⁺ 617.5, 1.06 min。

實例 4

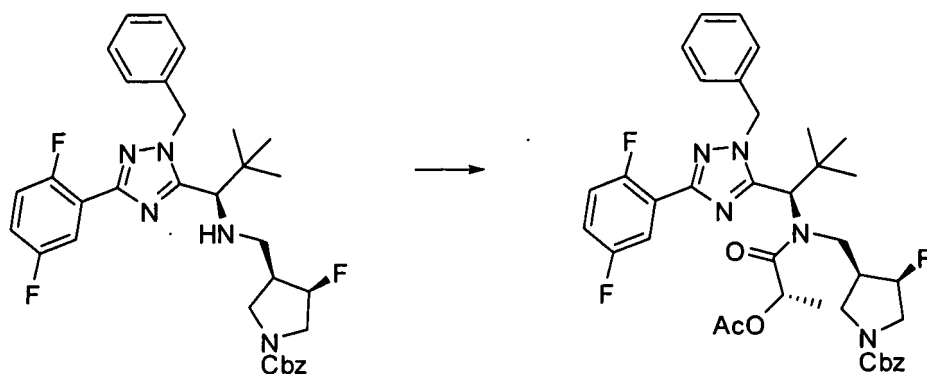
(S)-N-((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)-

2-羥基丙醯胺



程序

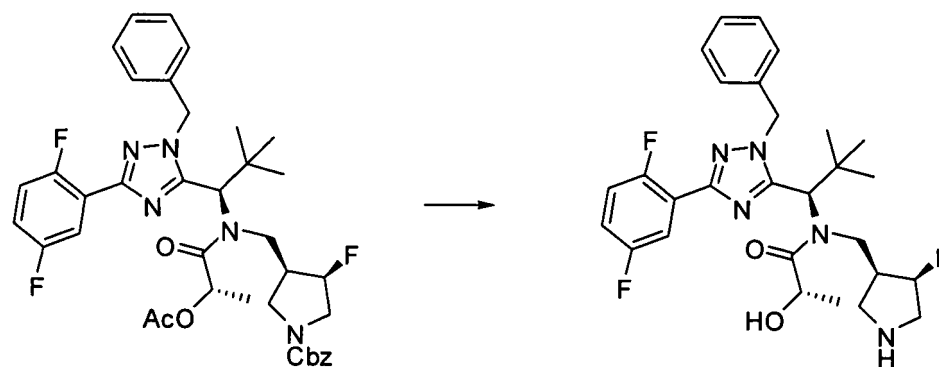
醯胺鍵形成



於室溫下向(3R,4R)-3-(((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基胺基)甲基)-4-氟吡咯啉-1-甲酸苄基酯(1.5 g, 2.53 mmol)存於二氯甲烷中之溶液(25 mL, 0.1 M溶液)中添加三乙胺(458 μ L, 3.29 mmol)。然後在2 min內逐滴添加(S)-乙酸1-氯-1-側氧基丙-2-基酯(416 μ L, 3.29 mmol)。將所得溶液於室溫下攪拌過夜。反應混合物用H₂O驟冷並用EtOAc萃取。有機層經無水硫酸鈉乾燥並過濾。在真空中去除揮發性有機物質之後，在急驟管柱層析(0%至100%，EtOAc存於己烷中)上純化期望(3R,4R)-3-(((S)-2-乙醯氧基-N-((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟

苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-丙醯胺基)甲基)-4-氟吡咯啉-1-甲酸苄基酯。LC/MS (uplc): MH^+ 706.5, 1.34 min。

整體去保護

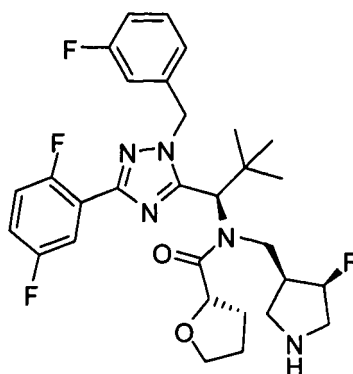


在乾燥 N_2 氣氛下向 (3R,4R)-3-(((S)-2-乙醯氧基-N-((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)丙醯胺基)甲基)-4-氟吡咯啉-1-甲酸苄基酯 (1.78 g, 2.53 mmol) 存於經脫氣 EtOAc 中之溶液 (25 mL, 0.1 M 溶液) 中添加 Pd/C (178 mg, 10 wt%)。用氫氣吹掃之後，將配備有氫氣球之反應混合物於室溫下攪拌過夜。反應混合物藉助矽藻土[®]墊過濾，將該墊用 EtOAc 洗滌。在真空中去除揮發性有機濾液，獲得粗製胺 (LC/MS (uplc): MH^+ 572.4, 1.11 min)。然後，將粗製產物溶於 MeOH (168 mL, 0.015 M 溶液) 中，隨後添加無水碳酸鉀 (3.5 g, 25 mmol)。然後將反應於室溫下攪拌 15 min。藉由過濾去除白色沉澱之後，將有機濾液在真空中濃縮。藉由製備型反相 HPLC 純化粗製產物。合併之產物部分用飽和 $NaHCO_3$ 溶液中和，然後將其用 EtOAc (200 mL) 萃取。有機層經無水硫酸鈉乾燥，過濾並在真空中濃縮。然後將乾燥產物溶於乙腈及水 (1:1

比率)中並凍乾48 h。以65.5%產率(876 mg, 經3個步驟)獲得呈游離胺形式之白色粉狀(S)-N-((R)-1-(1-(3-氟苄基)-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3S,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)-2-羥基丙醯胺。¹H NMR (CD₃Cl, 400 MHz): δ 7.82 (1H, m), 7.52 (2H, m), 7.34-7.25 (3H, m), 7.16 (1H, m), 7.07 (1H, m), 6.09 (1H, s), 5.44 (2H, s), 4.61 (2H, m), 4.39 (1H, m), 3.78 (1H, m), 3.60 (1H, m), 2.92 (1H, m), 2.56 (1H, m), 2.16 (2H, m), 1.44 (3H, m), 1.22 (1H, m), 0.99 (9H, s), 0.42 (1H, m)。LC/MS (uplc): MH⁺ 530.3, 1.05 min。

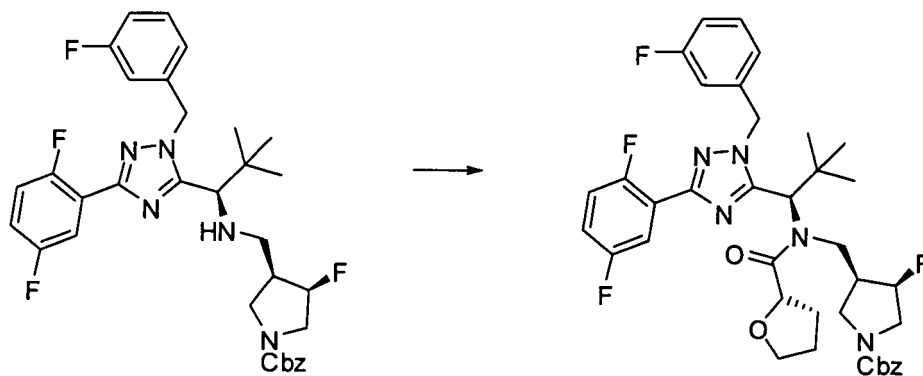
實例5

(S)-N-((R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)四氫呋喃-2-甲醯胺



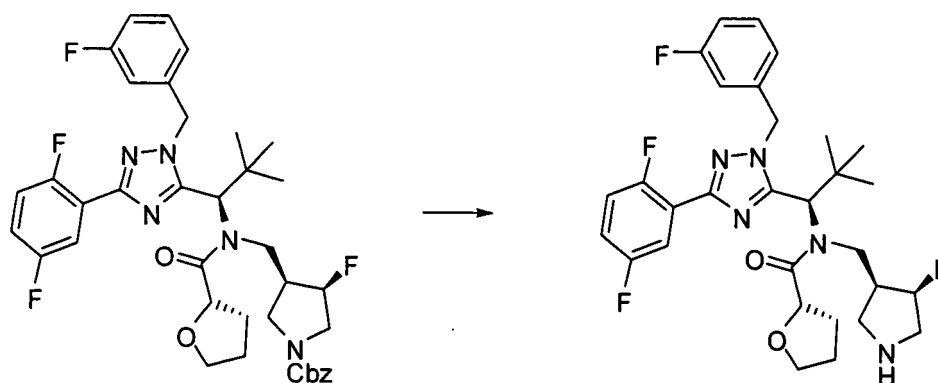
程序

醯胺鍵形成



於室溫下向(3R,4R)-3-(((R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基胺基)甲基)-4-氟吡咯啉-1-甲酸苄基酯(500 mg, 0.82 mmol)存於二氯甲烷中之溶液(4 mL, 0.2 M溶液)中添加三乙胺(229 μ L, 1.64 mmol)。然後在2 min內逐滴添加(S)-四氫呋喃-2-甲醯氯(221 mg, 1.64 mmol)。將所得溶液於室溫下攪拌過夜。反應混合物用H₂O驟冷並用EtOAc萃取。有機層經無水硫酸鈉乾燥並過濾。在真空中去除揮發性有機物質之後，在急驟管柱層析(產率N/A；0%至100%，EtOAc存於己烷中)上純化期望(3R,4R)-3-(((S)-N-((R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)四氫呋喃-2-甲醯胺基)甲基)-4-氟吡咯啉-1-甲酸苄基酯。LC/MS (uplc): MH⁺ 708.4, 1.35 min。

去保護

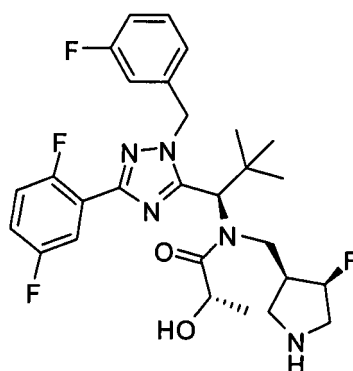


在乾燥 N₂ 氣氛下向 (3R,4R)-3-(((S)-N-((R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)四氫呋喃-2-甲醯胺基)甲基)-4-氟吡咯啶-1-甲酸苄基酯 (580 mg, 0.82 mmol) 存於經脫氣 EtOAc 中之溶液 (80 mL, 0.1 M 溶液) 中添加 Pd/C (873 mg, 10 wt%)。用氫氣吹掃之後，將配備有氫氣球之反應混合物於室溫下攪拌過夜。反應混合物藉助矽藻土[®]墊過濾，將該墊用 EtOAc 洗滌。在真空中去除揮發性有機濾液以獲得粗製產物，藉由製備型反向 HPLC 將其純化。合併之產物部分用飽和 NaHCO₃ 溶液中，然後用 EtOAc 萃取。有機層經無水硫酸鈉乾燥，過濾並在真空中濃縮。然後將乾燥產物溶於乙腈及水 (1:1 比率) 中並凍乾 48 h。以 10.4% 產率 (48.9 mg) 獲得呈游離胺形式之白色粉狀 (S)-N-((R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3S,4R)-4-氟吡咯啶-3-基)甲基)四氫呋喃-2-甲醯胺。¹H NMR (CD₃Cl, 400 MHz): δ 7.82 (1H, m), 7.34-7.25 (3H, m), 7.22 (1H, m), 7.15 (1H, m), 7.07 (1H, m), 6.98 (1H, m), 6.10 (1H, s), 5.44 (2H, m), 4.86 (2H, m), 4.19 (1H, m), 3.96 (1H, m), 3.86 (2H, m), 3.05 (1H, m), 3.05 (1H, m), 2.37-1.70 (2H, m), 1.35-1.02 (5H, m), 0.99 (9H, s)。LC/MS (uplc): MH⁺ 574.4, 0.98 min。

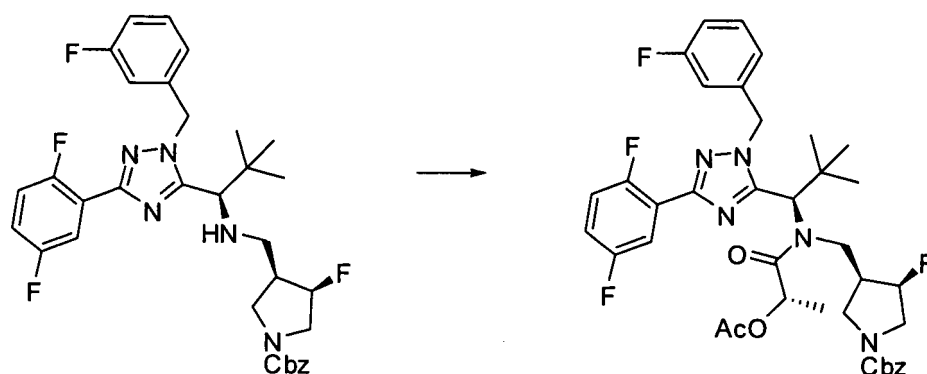
實例 6

(S)-N-((R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3R,4R)-4-氟吡咯啶-3-

基)甲基)-2-羥基丙醯胺



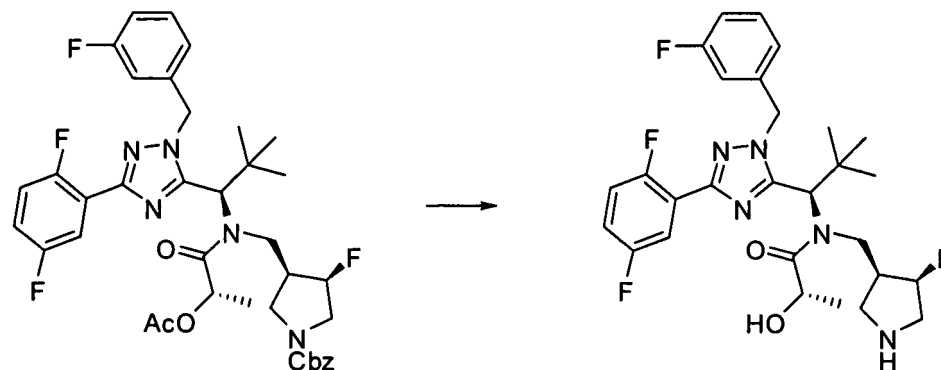
醯胺鍵形成



於室溫下向(3R,4R)-3-(((R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基胺基)甲基)-4-氟吡咯啉-1-甲酸苄基酯(1.48 g, 2.43 mmol)存於二氯甲烷中之溶液(25 mL, 0.1 M溶液)中添加三乙胺(440 μ L, 3.16 mmol)。然後在2 min內逐滴添加(S)-乙酸1-氯-1-側氧基丙-2-基酯(400 μ L, 3.16 mmol)。將所得溶液於室溫下攪拌過夜。反應混合物用H₂O驟冷並用EtOAc萃取。有機層經無水硫酸鈉乾燥並過濾。在真空中去除揮發性有機物質之後,藉由急驟管柱層析(0%-100% EtOAc存於己烷中)純化(3R,4R)-3-(((S)-2-乙醯氧基-N-((R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)丙醯胺

基)甲基)-4-氟吡咯啉-1-甲酸苄基酯。LC/MS (uplc) MH^+
724.4, 1.34 min。

整體去保護



在乾燥 N_2 氣氛下向 (3R,4R)-3-(((S)-2-乙醯氧基-N-((R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)丙醯胺基)甲基)-4-氟吡咯啉-1-甲酸苄基酯 (2.24 g, 3.09 mmol) 存於經脫氣 EtOAc 中之溶液 (25 mL, 0.1 M 溶液) 中添加 Pd/C (224 mg, 10 wt%)。用氫氣吹掃之後，將配備有氫氣球之反應混合物於室溫下攪拌過夜。反應混合物藉助矽藻土[®]墊過濾，將該墊用 EtOAc 洗滌。在真空中去除揮發性有機濾液，獲得粗製胺。然後，將粗製產物溶於 MeOH (200 mL, 0.015 M 溶液) 中，隨後添加無水碳酸鉀 (4.2 g, 30.9 mmol)。然後將反應於室溫下攪拌 15 min。藉由過濾去除白色沉澱之後，將有機濾液在真空中濃縮。藉由製備型反相 HPLC 純化粗製產物。合併之產物部分用飽和 NaHCO_3 溶液中和，然後將其用 EtOAc (200 mL) 萃取。有機層經無水硫酸鈉乾燥，過濾並在真空中濃縮。然後將乾燥產物溶於乙腈及水 (1:1 比率) 中並凍乾 48 h。以 57% 產率 (962 mg，經 3 個步驟) 獲得呈游離胺之白色粉狀 (S)-N-

((R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3S,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)-2-羥基丙醯胺。¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ 7.81 (1H, m), 7.40-7.16 (5H, m), 7.06 (1H, m), 6.12 (1H, s), 5.44 (2H, m), 4.77 (2H, m), 3.87 (1H, m), 2.82 (2H, m), 2.28 (1H, m), 2.17 (1H, m), 1.95 (1H, m), 1.43 (3H, m), 1.22 (1H, m), 0.91 (9H, s)。LC/MS (uplc): MH⁺ 548.3, 0.94 min。

實例 7

測定 KSP 活性之分析

此實例提供在活體外測定 KSP 活性之代表性活體外分析。自牛腦獲得之經純化微管係自 Cytoskeleton 公司 (Denver, Colorado, USA) 購得。人類 KSP 之馬達結構域 (Eg 5, KNSL1) 經選殖，表現並純化至大於 95% 均質性。Biomol Green 係自 BIOMOL 國際有限公司 (Plymouth Meeting, Pennsylvania, USA) 購得。將微管於 37°C 下迅速解凍 10 分鐘，然後進行稀釋。將微管及 KSP 馬達蛋白 (亦即，KSP 馬達結構域) 稀釋於分析緩衝液 (20 mM Tris-HCl (pH 7.5)、1 mM MgCl₂、10 mM DTT 及 0.125% BSA) 中至最終濃度為 50 μ g/mL 微管及 3 nM KSP。

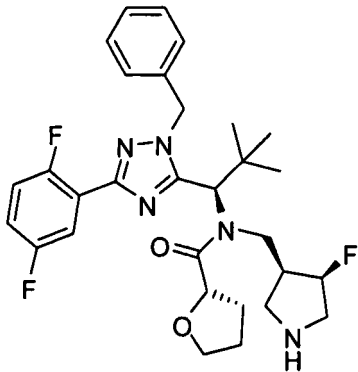
向含 1.25 微升抑制劑或存於 DMSO 中之測試化合物 (或在對照情況下僅 DMSO) 之測試板 (96-孔半區板) 之各孔中添加 25 μ L ATP 溶液 (將 ATP 於分析緩衝液中稀釋至濃度為 250 μ M) 及 25 μ L 上述微管/KSP 溶液。將該等板於室溫下培育 2

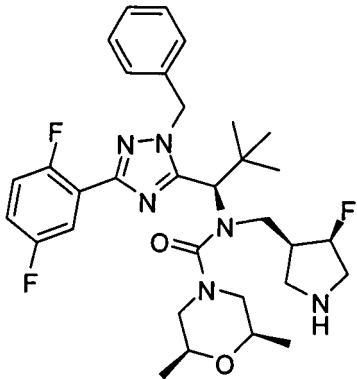
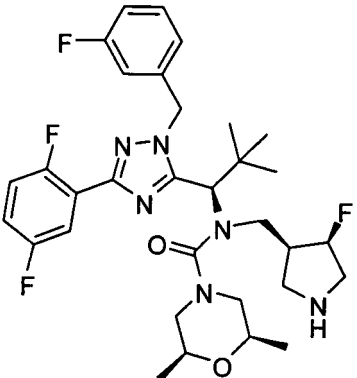
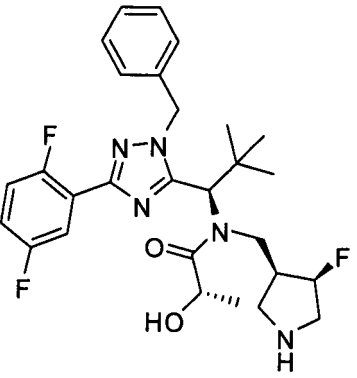
小時。培育後，向各孔中添加65 μL Biomol Green(一種檢測無機磷酸鹽釋放之基於孔雀綠之染料)及0.015% Tween 20。將該等板再培育15-20分鐘，然後使用Molecular Devices分光光度計測定650奈米下之吸收。於650奈米下之吸收量對應於樣品中KSP活性之量。然後根據在各濃度下在650奈米下吸收之降低經由非線性回歸，使用用於Excel之XLFit或GraphPad Software公司之Prism數據分析軟體測定各抑制劑或測試化合物之 IC_{50} 。

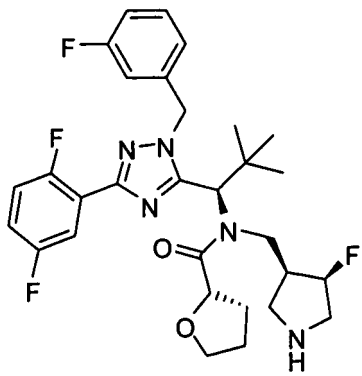
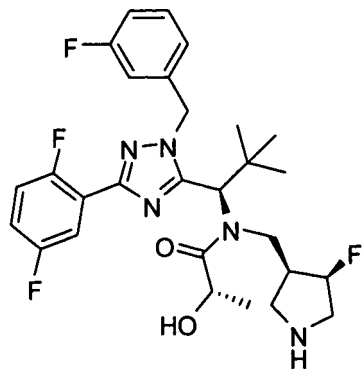
本發明之較佳化合物具有生物活性，如由在實例7所闡述之分析方案中小於約1 mM之 IC_{50} 所量測，其中較佳實施例具有小於約25 μM 之生物活性，其中尤其較佳實施例具有小於約1000 nM之生物活性，且其中最佳實施例具有小於約100 nM之生物活性。

表1列舉代表本發明之闡釋性實例之結構、 IC_{50} 值、質譜數據及保留時間。

表 1

化合物 編號	結構	生物活性(IC_{50})	保留時間(min)	質量(MH^+)	方法
1		0.96 nM	0.99	556.4	LC/MS (uplc)

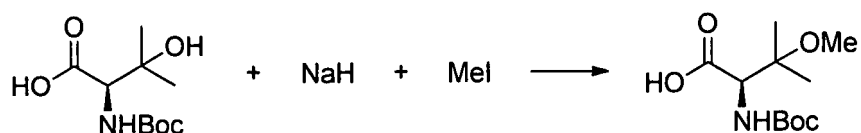
化合物 編號	結構	生物活性(IC ₅₀)	保留時間(min)	質量 (MH ⁺)	方法
2		0.83 nM	1.06	599.5	LC/MS (uplc)
3		0.74 nM	1.06	617.5	LC/MS (uplc)
4		0.60 nM	1.05	530.3	LC/MS (uplc)

化合物 編號	結構	生物活性(IC ₅₀)	保留時間(min)	質量(MH ⁺)	方法
5		1.46 nM	0.98	574.4	LC/MS (uplc)
6		0.83 nM	0.94	548.3	LC/MS (uplc)

本發明之額外化合物在下表2中。該等化合物係類似於以上所述來製備，且在R¹中納入烷氧基。該等化合物之含烷氧基部分可如以下示例中所闡釋製得。

實例9

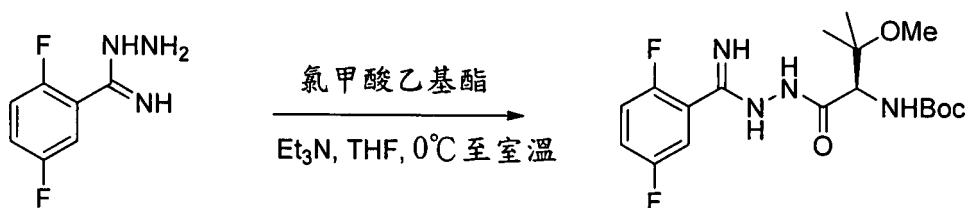
(R)-2-((第三丁氧基羰基)胺基)-3-羥基-3-甲基丁酸之甲基化



於0℃下向於礦物油中之氫化鈉懸浮液(60%wt) (3.86 g, 96 mmol)存於無水THF (60 mL)中之溶液緩慢添加存於THF

(50 mL)中之(R)-2-((第三丁氧基羰基)胺基)-3-羥基-3-甲基丁酸(7.5 g, 32.2 mmol)。於室溫下攪拌1 h之後，添加碘甲烷(4.31 mL, 38.6 mmol)。將反應混合物於室溫下攪拌過夜。用水驟冷後，將反應混合物藉由醚萃取。藉由添加6 N HCl將水性層酸化至pH=3，然後藉由EtOAc萃取。有機層用鹽水洗滌，經無水Na₂SO₄乾燥，藉助布氏漏斗(Buchner funnel)過濾並濃縮，獲得粗製(R)-2-((第三丁氧基羰基)胺基)-3-甲氧基-3-甲基丁酸(7 g, 28.3 mmol, 88%)，其未經進一步純化即用於下一步反應。LC/MS (uplc): MH⁺ 160.1, 0.68 min。

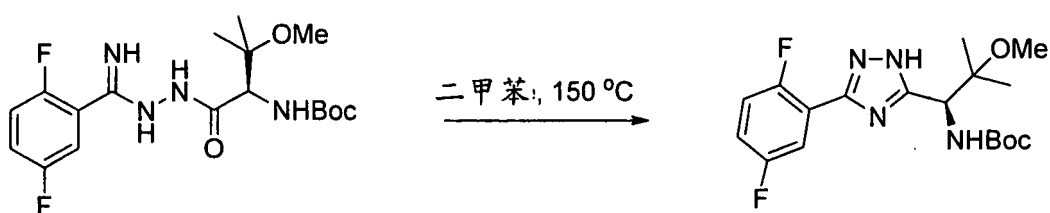
2,5-二氟苯甲醯亞胺基醯肼之醯化



藉由於-5℃至0℃下添加Et₃N (3.38 mL, 24.26 mmol)、氯甲酸乙基酯(1.931 g, 17.79 mmol)存於無水THF (32.4 mL, 0.5 M)中之將粗製(R)-2-((第三丁氧基羰基)胺基)-3-甲氧基-3-甲基丁酸(4 g, 16.2 mmol)轉化成混合酸酐。將混合物於-5℃下攪拌30 min。將所得固體濾除並添加額外的無水THF洗滌沉澱。然後於-5℃下將所得反應溶液添加至2,5-二氟苯甲醯亞胺基醯肼(2.77 g, 16.18 mmol)之THF溶液中。然後將反應逐漸升溫至室溫並攪拌過夜。反應完成後，使混合物在EtOAc與H₂O之間分配。將有機層分離並用H₂O、

鹽水洗滌，然後經無水 Na_2SO_4 乾燥，過濾並在減壓下蒸發，以獲得粗製產物，將其在矽膠管柱上(50% EtOAc存於己烷中)純化，獲得(R)-(1-(2-((2,5-二氟苯基)(亞胺基)甲基)肼基)-3-甲氧基-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)胺基甲酸第三丁基酯(1 g, 15%)。LC/MS (uplc): MH^+ 401.2, 0.61 min。

(S)-(1-(3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2-甲氧基-2-甲基丙基)胺基甲酸第三丁基酯之合成



將(R)-1-(2-((2,5-二氟苯基)(亞胺基)甲基)肼基)-3,3-二甲基-1-側氧基丁-2-基胺基甲酸第三丁基酯(1.0 g, 2.497 mmol)溶於二甲苯(8 mL)中。配備迪安-斯脫克分水器並將反應混合物加熱至160°C。反應完成之後，使混合物冷卻至室溫，然後使其在EtOAc與飽和 NaHCO_3 水溶液之間分配。將有機層分離，然後用飽和 NaHCO_3 水溶液、 H_2O 及鹽水洗滌，然後經 Na_2SO_4 乾燥，過濾並在減壓下蒸發，獲得(S)-(1-(3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2-甲氧基-2-甲基丙基)胺基甲酸第三丁基酯(0.97 g, 98%)，其未經進一步純化即用於下一步驟。LC/MS (uplc): MH^+ 383.2, 0.9 min。

表 2

化合物 編號	分子結構	KSP IC ₅₀ (μM)	LCMS/ Rt (min)	MH ⁺
7		0.00123	0.86	578.2
8		0.00149	0.82	552.3
9		0.04941	0.92	618.3
10		0.0009	0.88	590.2

化合物 編號	分子結構	KSP IC ₅₀ (μM)	LCMS/ Rt (min)	MH ⁺
11		0.0014	0.86	560.4
12		0.00087	0.85	564.4
13		0.00069	0.89	572.4
14		0.00234	0.82	534.4

此處提供此類代表性化合物之NMR數據：

化合物編號	¹ H NMR數據
7	¹ H NMR (CD ₃ OD, 400 MHz) δ 7.87 - 7.73 (m, 1H), 7.45 - 7.31 (m, 1H), 7.32 - 7.11 (m, 4H), 7.11 - 6.95 (m, 1H), 6.2 (s, 1H), 5.61 - 5.29 (m, 2H), 4.81 - 4.69 (m, 1H), 4.51 - 4.3 (m, 1H), 4.29 - 3.97 (m, 3H), 3.95 - 3.80 (m, 1H), 3.75 - 3.61 (m, 1H), 3.16 (s, 3H), 2.38 - 2.21 (m, 1H), 2.17 - 1.81 (m, 3H), 1.80 - 1.66 (m, 1H), 1.26 - 1.16 (m, 1H), 1.15 (s, 3H), 1.05 (s, 3H), 0.94 - 0.73 (m, 1H)
8	¹ H NMR (CD ₃ OD, 400 MHz) δ 7.85 - 7.71 (m, 1H), 7.45 - 7.32 (m, 1H), 7.31 - 7.14 (m, 4H), 7.11 - 7.00 (m, 1H), 6.2 (s, 1H), 5.63 - 5.34 (m, 2H), 5.6 - 5.3 (m, 2H), 4.62 - 4.40 (m, 2H), 4.38 - 4.23 (m, 1H), 4.21 - 3.98 (m, 2H), 3.69 - 3.55 (m, 1H), 3.23 - 3.09 (m, 3H), 2.05 - 1.94 (m, 1H), 1.76 - 1.56 (m, 1H), 1.50 - 1.37 (m, 1H), 1.26 - 1.15 (m, 2H), 1.14 (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 0.90 - 0.74 (m, 1H)
10	¹ H NMR (CD ₃ OD, 400 MHz) δ 7.8 (m, 1H), 7.4 (m, 1H), 7.34 - 7.14 (m, 4H), 7.09 (m, 1H), 6.2 (s, 1H), 5.67 - 5.39 (m, 2H), 4.78 (m, 1H), 4.36 - 3.99 (m, 3H), 3.99 - 3.80 (m, 1H), 3.55 - 3.37 (m, 1H), 3.38 - 3.32 (m, 1H), 3.12 (s, 3H), 2.87 - 2.69 (m, 1H), 2.55 - 2.22 (m, 2H), 2.22 - 2.04 (m, 2H), 2.04 - 1.79 (m, 2H), 1.46 - 1.31 (m, 1H), 1.28 - 1.10 (m, 4H), 1.10 - 0.93 (m, 3H)
14	¹ H NMR (CD ₃ Cl, 400 MHz): δ 7.80 - 7.68 (m, 1H), 7.4-7.26 (s, 4H), 7.22 - 6.97 (m, 3H), 6.10 - 5.97 (s, 1H), 5.56 - 5.25 (m, 2H), 4.68 (m, 1H), 4.30 - 3.89 (m, 3H), 3.86 - 3.51 (m, 1H), 3.2-3.1 (m, 1H), 3.07 (s, 3H), 1.58 - 1.43 (m, 2H), 1.35 (d, 3H), 1.25 (m, 1H), 1.05 (s, 3H), 0.94 (s, 3H), 0.5 (m, 1H)

實例 8

在用 KSP 抑制劑處理之腫瘤細胞系中細胞增殖之抑制

將細胞以約 500 個細胞 / 96 孔板之孔的密度鋪於 96 孔板中並使其生長 24 小時。然後將細胞用不同濃度的化合物處理

72小時。然後，添加100 µl CellTiter-Glo®溶液。CellTiter-Glo®分析量測細胞溶解之後孔中所存在ATP之量；所釋放ATP用於包括酶螢光素酶及其受質螢光素在內之酶反應中。所發射光之量與ATP之量成比例，ATP之量進而與孔中活細胞之數目成比例。(參見Promega產品目錄編號G7573, CellTiter-Glo®發光細胞可行性分析)。然後將細胞於黑暗中培育30分鐘。使用Wallac Trilux板讀取器測定各孔之發光量，將發光量與每一孔細胞之數目相關聯。該等孔中僅接收DMSO (0.5%)之活細胞數目作為0%抑制之指示，而沒有細胞之孔作為100%細胞生長抑制。以圖表方式根據對數轉換後之劑量值對在72小時持續化合物暴露下之細胞計數(%對照)之S形劑量-反應曲線測定導致50%生長抑制之化合物濃度(GI₅₀)。

所用細胞系列示於以下。

如上所述實施細胞增殖分析。

癌症細胞系

Colo 205 – 結腸癌

RPMI 1640+10% FBS+1% L-麩醯胺酸+1% P/S+1% NaPyr.+Hepes
+4.5 g/L葡萄糖+1% NaBicarb.

MDA 435-乳癌-高met

EMEM+10% FBS+1% P/S+1% L-麩醯胺酸+1% NEAA+1% NaPyr+
1%維他命

HCT-15及HCT116-結腸癌

RPMI 1640+10% FBS+1% L-麩醯胺酸+1% P/S

抗藥性細胞系

KB3.1-結腸上皮癌；親本細胞系

Iscove's+10% FBS+1% L-麩醯胺酸+1% P/S

KBV1 -p-糖蛋白相關之抗多藥性細胞系

RPMI 1640+10% FBS+1% L-麩醯胺酸+1% P/S+0.2 $\mu\text{g/mL}$ 長春鹼
(Vinblastine)

KB8.5 - p-糖蛋白相關之抗多藥性細胞系

DMEM+10% FBS+1% L-麩醯胺酸+1% P/S+10 ng/mL 秋水仙鹼
(Colchicine)

本發明之較佳化合物具有生物活性，如由在所述分析方案中 GI_{50} 小於約 1 mM 所量測，其中一些實施例具有小於約 25 μM 之生物活性，其中其他實施例具有小於約 1000 nM 之生物活性，且再其他實施例具有小於約 100 nM 之 GI_{50} 。

實例 9

選殖軟瓊脂分析方案

將人類癌細胞以 3×10^5 個細胞/孔之密度鋪於 6 孔板中。第二天，向各孔中添加某一濃度之感興趣化合物。培育 24 及 48 小時後，收穫細胞，洗滌並計數。使用 Multimek 96 機器人執行以下步驟。然後，以 500 個活細胞/孔鋪於 96 孔板中，該孔板塗佈有 PolyHema 以防止細胞附著於孔底部。將瓊脂糖 (3% 原液) 熔融，稀釋於溫熱培養基中並添加至細胞中至最終濃度為 0.5%。該軟瓊脂固化後，將板於 37°C 下培育 6 天。添加阿爾瑪藍 (Alamar Blue) 染料並將板再培育 6 小時。在板讀取器上量測且認為與軟瓊脂中所形成菌落之數目相關聯。癌細胞能夠在瓊脂上生長且因此將展示光學密度增加。降低的光學密度讀數意味著癌細胞被抑制。預計本發明化合物將展示光學密度降低。

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：100113030

※申請日：100.4.14

※IPC 分類：C07D; A61K

一、發明名稱：(中文/英文)

作為紡錘體驅動蛋白(KSP)抑制劑之三唑化合物

TRIAZOLE COMPOUNDS AS KSP INHIBITORS

C07D 413/14 (2006.01)

C07D 403/12 (2006.01)

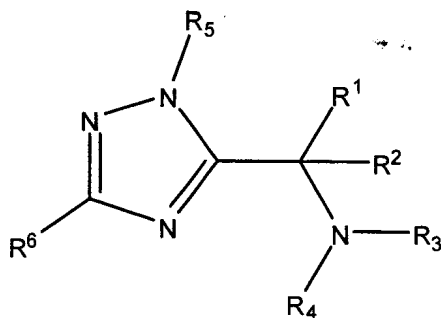
A61K 31/5377 (2006.01)

二、中文發明摘要：

本發明提供式I之三唑化合物：

A61K 31/4196 (2006.01)

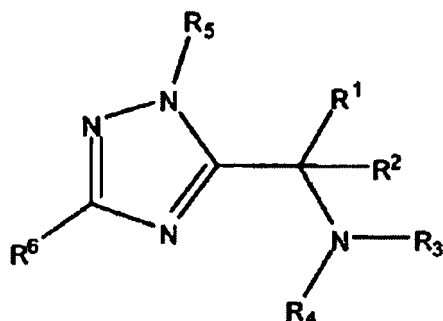
A61P 35/00 (2006.01)



如本文進一步闡述。本發明亦提供包含治療有效量之式I化合物之醫藥組合物，及治療哺乳動物患者至少部分地由KSP調介的病徵之方法，其包含向需要此治療之哺乳動物患者投與治療有效量之式I化合物。

三、英文發明摘要：

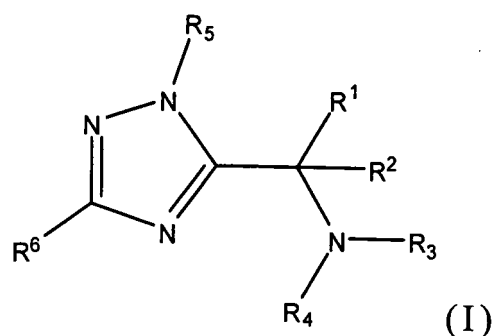
The present invention provides triazole compounds of Formula I:



as further described herein. The invention also provides a pharmaceutical composition comprising a therapeutically effective amount of a compound of Formula I, and a method of treating a disorder mediated, at least in part, by KSP in a mammalian patient comprising administering to a mammalian patient in need of such treatment a therapeutically effective amount of a compound of Formula I.

七、申請專利範圍：

1. 一種式I化合物，



其中：

R^1 選自 C_{1-6} 烷氧基- C_{1-4} 烷基、 C_{1-6} 直鏈烷基、 C_{3-6} 支鏈烷基、及 $-C_{3-6}$ 環烷基；

R^2 選自 H 及 C_{1-6} 直鏈烷基；

R^3 代表經 $-(CH_2)_{0-3}$ 取代或未經取代之吡咯啉基；

R^4 選自 $-C(O)-CH_2OH$ 、 $-C(O)-$ 四氫呋喃、 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、 $-C(O)-$ 未經取代之嗎啉基、及經最多三個烷基取代之 $-C(O)-$ 嗎啉基；

R^5 選自經取代或未經取代之苄基，其中取代基選自 Cl、F、Br 及 I；且

R^6 選自經最多三個鹵素原子取代之苯基。

2. 如請求項 1 之化合物，其中 R^1 選自 C_{1-6} 直鏈烷基、 C_{3-6} 支鏈烷基、及 $-C_{3-6}$ 環烷基。

3. 如請求項 1 之化合物，其中 R^1 為 C_{1-6} 烷氧基- C_{1-4} 烷基。

4. 如請求項 1 之化合物，其中：

R^1 選自 C_{3-6} 支鏈烷基；

R^2 代表 H；

R^3 代表經 $-(CH_2)_{1-3}$ -取代之吡咯啉基；

R^4 選自 $-C(O)$ -四氫呋喃、 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、經最多三個烷基取代之 $-C(O)$ -嗎啉基；

R^5 代表苺基或經最多兩個氟原子取代之苺基；且

R^6 選自經最多兩個鹵素原子取代之苺基。

5. 如請求項2之化合物，其中：

R^1 代表第三丁基；

R^3 代表 $-(CH_2)$ -氟-吡咯啉基；

R^4 選自 $-C(O)$ -四氫呋喃、 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、 $-C(O)$ -2,6-二甲基嗎啉基；

R^5 代表苺基或經一個氟原子取代之苺基；且

R^6 選自經最多兩個氟原子取代之苺基。

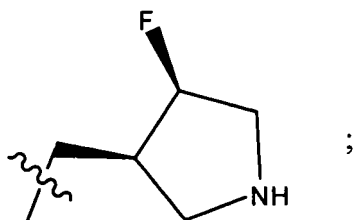
6. 如請求項4或5之化合物，其中：

R^3 代表 $-CH_{2-3}$ -氟-吡咯啉基；且

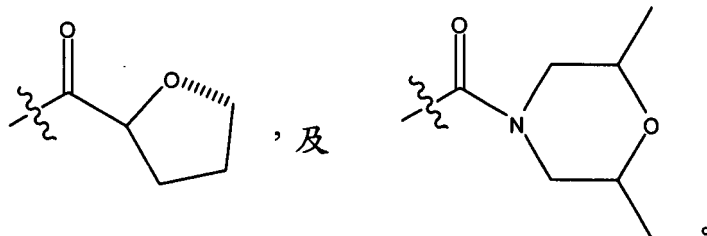
R^4 代表 $-C(O)$ -2-四氫呋喃、 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、 $-C(O)$ -2,6-二甲基嗎啉基。

7. 如請求項6之化合物，其中：

R^3 代表

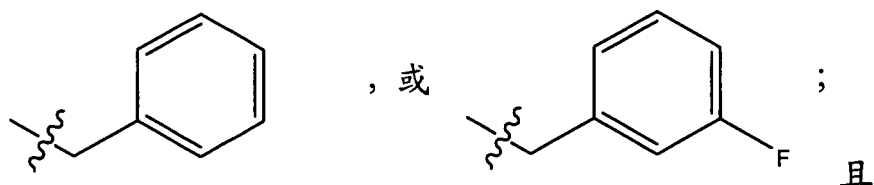


R^4 選自 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、及

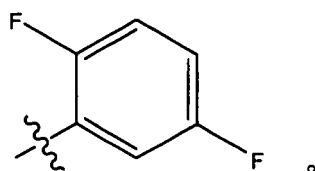


8. 如請求項7之化合物，其中：

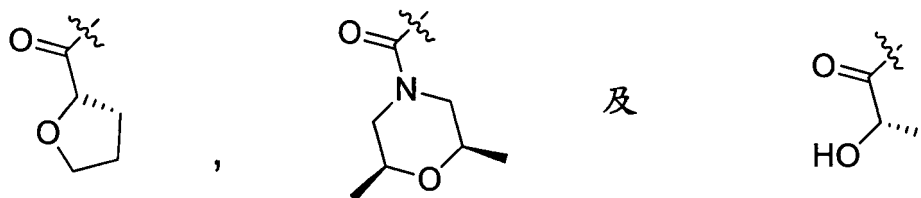
R^5 代表



R^6 係



9. 如請求項1至5中任一項之化合物，其中 R^4 選自：



10. 如請求項1之化合物，其選自：

N-((R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)-2,6-二甲基嗎啉-4-甲醯胺；

N-((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)-2,6-二甲基嗎啉-4-甲醯胺；

(S)-N-((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-

5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)四氫呋喃-2-甲醯胺；

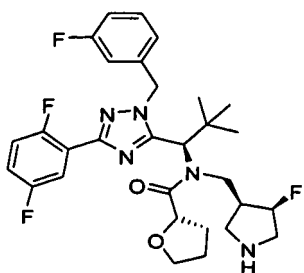
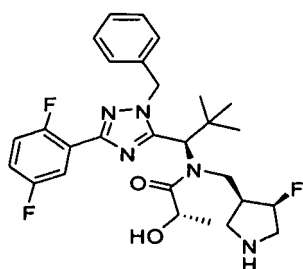
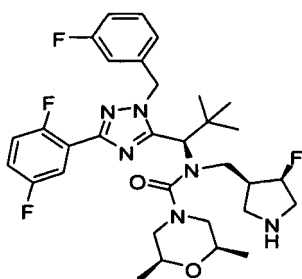
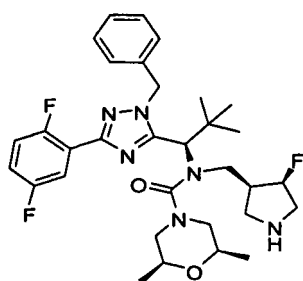
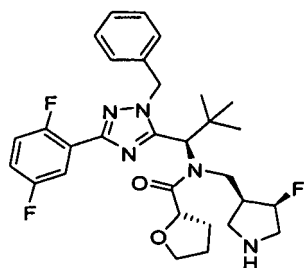
(S)-N-((R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)四氫呋喃-2-甲醯胺；

(S)-N-((R)-1-(3-(2,5-二氟苯基)-1-(3-氟苄基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)-2-羥基丙醯胺；及

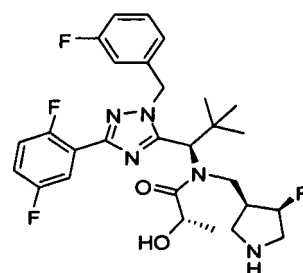
(S)-N-((R)-1-(1-苄基-3-(2,5-二氟苯基)-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,2-二甲基丙基)-N-(((3R,4R)-4-氟吡咯啉-3-基)甲基)-2-羥基丙醯胺；

及該等化合物中任一者之醫藥上可接受之鹽。

11. 一種式I化合物，其選自

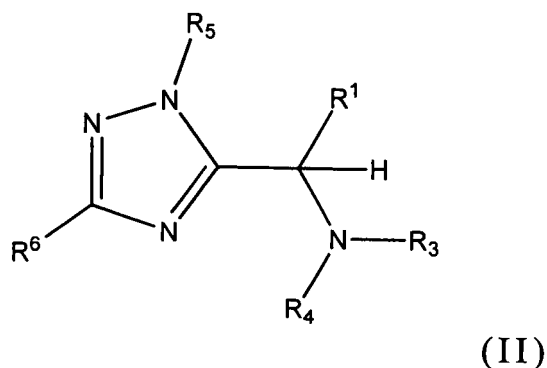


及



及該等化合物之醫藥上可接受之鹽。

12. 一種式(II)化合物，



其中：

R^1 選自 C_{1-6} 烷氧基- C_{1-4} 烷基、 C_{1-6} 直鏈烷基、 C_{3-6} 鏈烷基、及 $-C_{3-6}$ 環烷基；

R^3 代表經 $-(CH_2)_{0-3}$ -取代或未經取代之吡咯啉基或經最多三個選自胺基及鹵基之基團取代之 C_{3-5} 烷基；

R^4 選自 $-C(O)-CH_2OH$ 、 $-C(O)$ -四氫呋喃、 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、 $-C(O)$ -未經取代之嗎啉基、及經最多三個烷基取代之 $-C(O)$ -嗎啉基；

R^5 選自經取代或未經取代之苄基，其中取代基選自 Cl、F、Br 及 I；且

R^6 選自經最多三個鹵素原子取代之苯基。

13. 如請求項 12 之化合物，其中：

R^1 選自 C_{1-6} 烷氧基- C_{1-4} 烷基、 C_{3-6} 支鏈烷基、及 C_{3-6} 環烷基；

R^3 代表經 $-(CH_2)_{0-3}$ -取代之吡咯啉基或 $-CH_2-CH_2-CH(NH_2)-CH_2F$ ；

R^4 選自 $-C(O)-CH_2OH$ 、 $-C(O)-$ 四氫呋喃、 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、 $-C(O)-$ 未經取代之嗎啉基、及經最多三個烷基取代之 $-C(O)-$ 嗎啉基；

R^5 選自經取代或未經取代之苄基，其中該等取代基選自 Cl、F、Br 及 I；且

R^6 選自經最多三個鹵素原子取代之苯基。

14. 如請求項 12 或 13 之化合物，其中 R^1 為經甲氧基-取代 C_{1-4} 烷基。

15. 如請求項 14 之化合物，其中 R^1 為 2-甲氧基-2-丙基。

16. 如請求項 12 或 13 之化合物，其中：

R^2 代表 H；

R^3 代表經 $-(CH_2)_{1-3}-$ 取代之吡咯啉基或 $-CH_2-CH_2-CH(NH_2)-CH_2F$ ；

R^4 選自 $-C(O)-$ 四氫呋喃、 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、及經最多三個烷基取代之 $-C(O)-$ 嗎啉基；

R^5 代表苄基或經最多兩個氟原子取代之苄基；且

R^6 選自經最多兩個鹵素原子取代之苯基。

17. 如請求項 16 之化合物，其中：

R^1 代表 2-甲氧基-2-丙基；

R^3 代表 $-(CH_2)-$ 氟-吡咯啉基或 $-CH_2-CH_2-CH(NH_2)-CH_2F$ ；

R^4 選自 $-C(O)-$ 四氫呋喃、 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、及 $-C(O)-2,6-$ 二甲基嗎啉基；

R^5 代表苄基或經一個氟原子取代之苄基；且

R^6 選自經最多兩個氟原子取代之苯基。

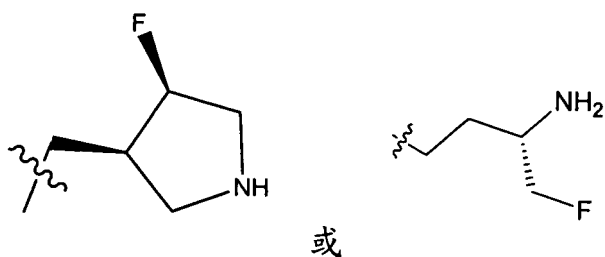
18. 如請求項17之化合物，其中：

R^3 代表 $-(CH_2)_{1-3}$ - 氟 - 吡咯啉基 或 $-CH_2-CH_2-CH(NH_2)-CH_2F$ ；且

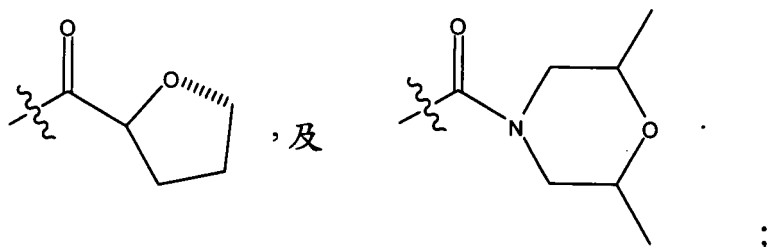
R^4 代表 $-C(O)-2$ - 四氫呋喃、 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、及 $-C(O)-2,6$ -二甲基嗎啉基。

19. 如請求項18之化合物，其中：

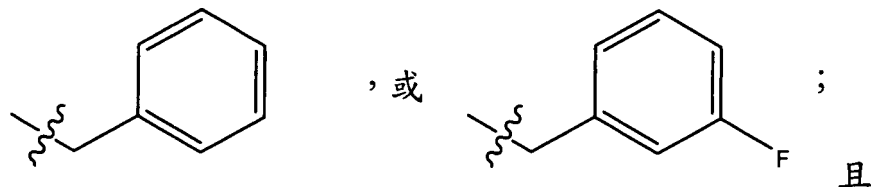
R^3 代表



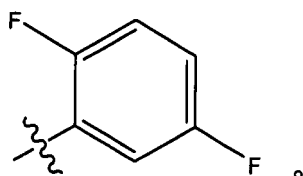
R^4 選自 $-C(O)-CH(CH_3)-OH$ 、



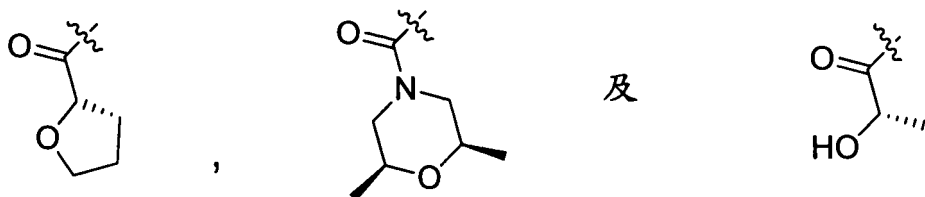
R^5 係



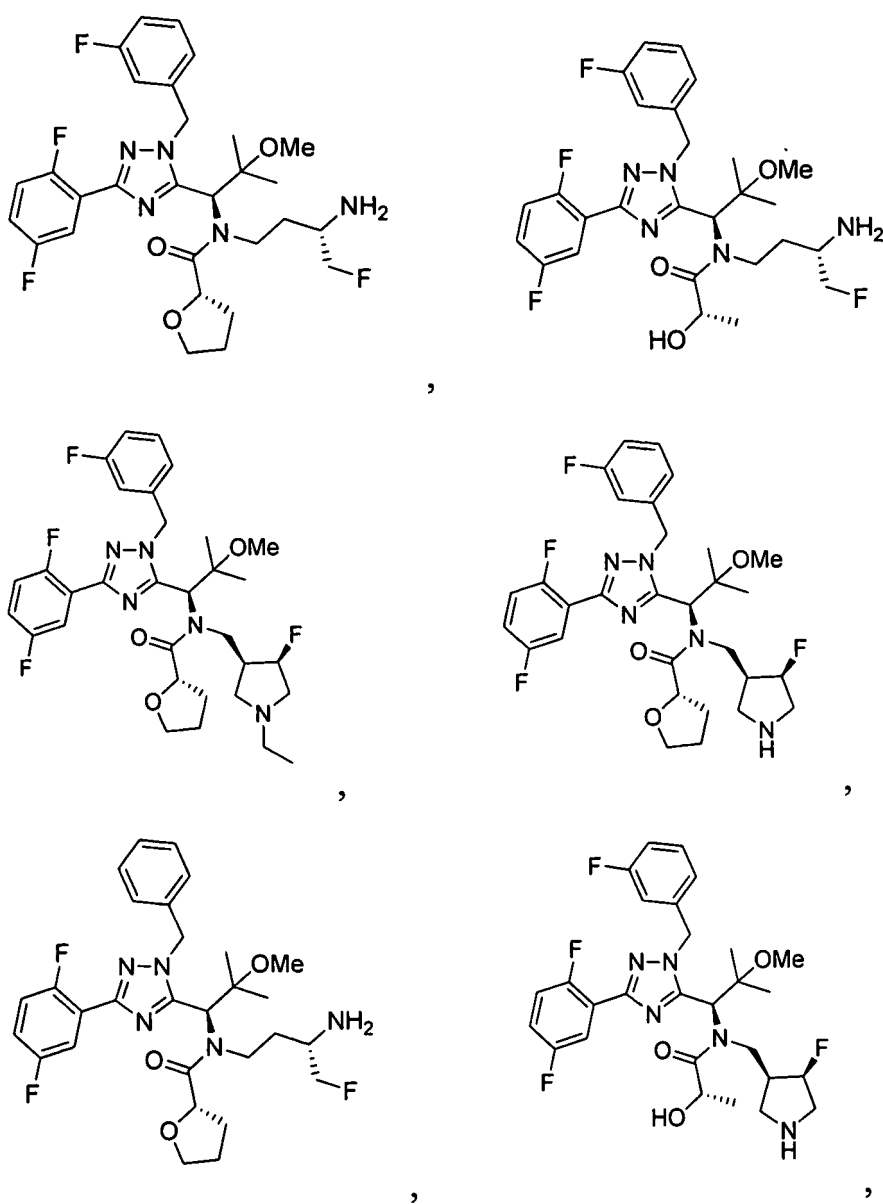
R^6 係

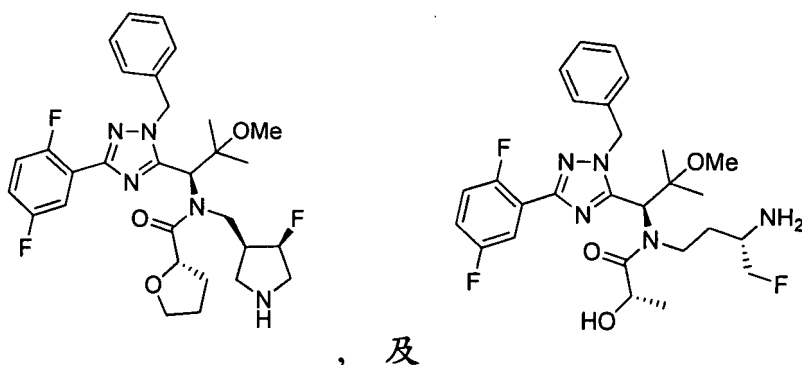


20. 如請求項12或13之化合物，其中R⁴選自：



21. 如請求項12之化合物，其中該化合物係選自由下列組成之群：





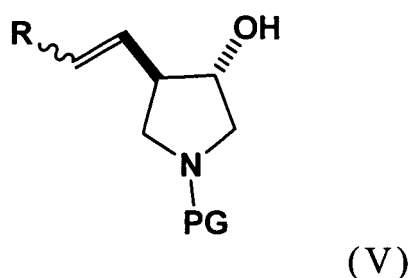
及其醫藥上可接受之鹽。

22. 一種醫藥組合物，其包含治療有效量之如請求項1至21中任一項之化合物及醫藥上可接受之載劑。
23. 如請求項22之組合物，其進一步包含至少一種治療癌症之額外藥劑。
24. 如請求項23之組合物，其中該治療癌症之額外藥劑選自由以下組成之群：伊立替康 (irinotecan)、托泊替康 (topotecan)、吉西他濱 (gemcitabine)、伊馬替尼 (imatinib)、曲妥珠單抗 (trastuzumab)、5-氟尿嘧啶、甲醯四氫葉酸 (leucovorin)、卡鉑 (carboplatin)、順鉑 (cisplatin)、多西他賽 (docetaxel)、太平洋紫杉醇 (paclitaxel)、替紫他濱 (tezacitabine)、環磷醯胺、長春花生物鹼 (vinca alkaloid)、蒽環類抗生素 (anthracycline)、利妥昔單抗 (rituximab) 及曲妥珠單抗。
25. 一種如請求項1至21中任一項之化合物或如請求項23或24之醫藥組合物之用途，其用於製造用於治療哺乳動物患者至少部分地由KSP調介之病症之醫藥。
26. 如請求項25之用途，其中該病症係細胞增殖性疾病。
27. 如請求項26之用途，其中該細胞增殖性疾病係癌症。

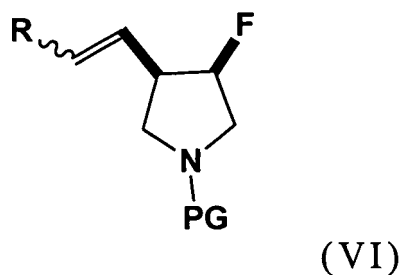
28. 如請求項27之用途，其中該癌症選自由以下組成之群：
肺及支氣管癌、前列腺癌、乳癌、胰臟癌、結腸及直腸癌、甲狀腺癌、胃癌、肝及肝內膽管癌、腎臟及腎盂癌、膀胱癌、子宮體癌、子宮頸癌、卵巢癌、多發性骨髓瘤、食道癌、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、淋巴細胞性白血病、骨髓性白血病、腦癌、口腔及咽癌、喉癌、小腸癌、非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin lymphoma)、黑素瘤、及絨毛狀結腸腺瘤。
29. 如請求項28之用途，其中該治療癌症之額外藥劑選自由以下組成之群：伊立替康、托泊替康、吉西他濱、伊馬替尼、曲妥珠單抗、5-氟尿嘧啶、甲醯四氫葉酸、卡鉑、順鉑、多西他賽、太平洋紫杉醇、替紮他濱、環磷醯胺、長春花生物鹼、蔥環類抗生素、利妥昔單抗、及曲妥珠單抗。
30. 一種如請求項1至21中任一項之化合物之用途，其用於製造用於抑制哺乳動物患者中之KSP之醫藥。
31. 如請求項1至5、10、11、12及13中任一項之化合物，其用於療法中。
32. 如請求項31之化合物，其中該化合物用於治療細胞增殖性病徵。
33. 如請求項32之化合物，其中該細胞增殖性病徵係選自由以下組成之群之癌症：肺及支氣管癌、前列腺癌、乳癌、胰臟癌、結腸及直腸癌、甲狀腺癌、胃癌、肝及肝內膽管癌、腎臟及腎盂癌、膀胱癌、子宮體癌、子宮頸

癌、卵巢癌、多發性骨髓瘤、食道癌、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、淋巴細胞性白血病、骨髓性白血病、腦癌、口腔及咽癌、喉癌、小腸癌、非霍奇金氏淋巴瘤、黑素瘤、及絨毛狀結腸腺瘤。

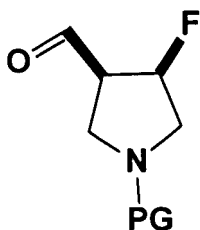
34. 一種製備氟化吡咯啉之方法，該方法包含使式V之反式-3,4-二取代經保護吡咯啉



與氟化試劑反應，提供式VI化合物：

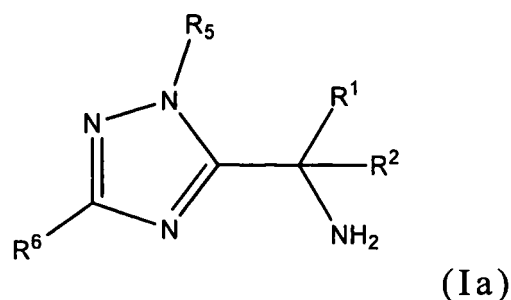


及將該式VI化合物氧化成式VII之醛：



其中PG代表保護基團，且R選自H及視情況經取代之烷基或芳基。

35. 如請求項34之方法，其進一步包含利用式Ia化合物還原胺化該式VII化合物：



其中：

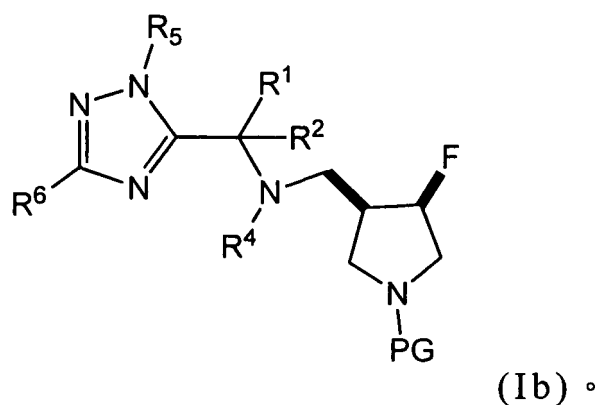
R¹選自 C₁₋₆烷氧基-C₁₋₄烷基、C₁₋₆直鏈烷基、C₃₋₆支鏈烷基、及-C₃₋₆環烷基；

R²選自 H及 C₁₋₆直鏈烷基；

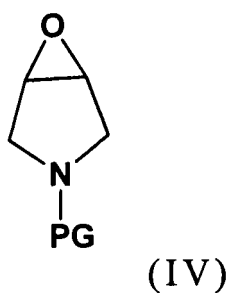
R⁵選自經取代或未經取代之苄基，其中取代基選自 Cl、F、Br及 I；且

R⁶選自經最多三個鹵素原子取代之苯基；

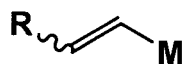
以提供式 Ib 化合物：



36. 如請求項 34 之方法，其進一步包含自式 (IV) 之環氧化物合成該式 (V) 化合物，

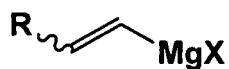


其係藉由利用下式之有機金屬試劑使該環氧化物開環來達成



其中 R 為 H 或視情況經取代之烷基或芳基，且 M 係選自 Li、MgX 及 ZnX 之金屬基團，其中 X 為鹵素。

37. 如請求項 36 之方法，其中該有機金屬試劑係



其中 X 為 Cl、Br 或 I。

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：(無)

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：