



(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 201542550 A

(43)公開日：中華民國 104 (2015) 年 11 月 16 日

(21)申請案號：103130281

(22)申請日：中華民國 103 (2014) 年 09 月 02 日

(51)Int. Cl.：

C07D487/04 (2006.01)

A61K31/519 (2006.01)

A61P25/00 (2006.01)

(30)優先權：2013/09/06

美國

61/874,395

(71)申請人：雷西肯製藥股份有限公司(美國) LEXICON PHARMACEUTICALS, INC. (US)
美國

(72)發明人：畢映枝 BI, YINGZHI (US)；蓋爾德彥麥可華特 GARDYAN, MICHAEL WALTER (US)；葛林麥可亞倫 GREEN, MICHAEL ALAN (US)；古米葛德溫 KUMI, GODWIN (GH)；張玉蓮 ZHANG, YULIAN (US)

(74)代理人：蔡坤財；李世章

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：51 項 圖式數：1 共 80 頁

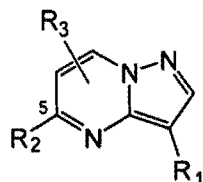
(54)名稱

吡唑并[1,5-a]嘧啶基化合物、包含彼之組合物以及使用彼之方法

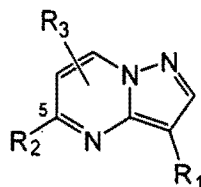
PYRAZOLO[1,5-A]PYRIMIDINE-BASED COMPOUNDS, COMPOSITIONS COMPRISING THEM, AND METHODS OF THEIR USE

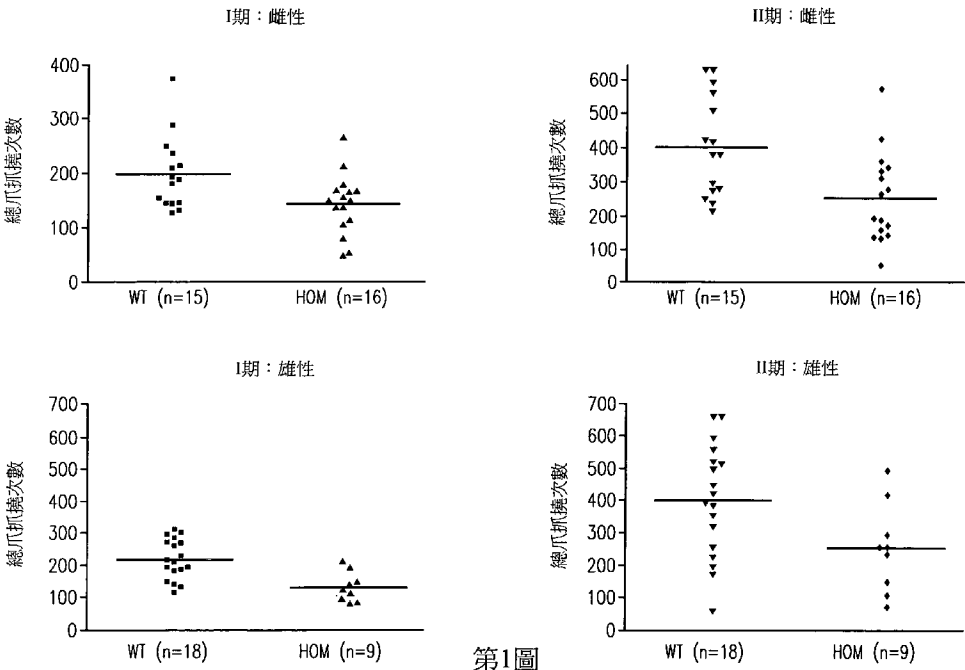
(57)摘要

本發明揭示具有以下化學式之吡唑并[1,5-a]嘧啶基化合物：

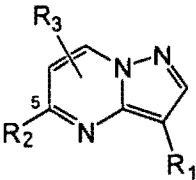
其中 R₁、R₂ 及 R₃ 如本文中所定義。本發明亦揭示包含該等化合物之組合物及其使用方法，以治療、管控及/或預防由適配器關聯激酶 1 活性介導之疾病或病症。

Pyrazolo[1,5-a]pyrimidine-based compounds of the formula:

are disclosed, wherein R₁, R₂ and R₃ are defined herein. Compositions comprising the compounds and methods of their use to treat, manage and/or prevent diseases and disorders mediated by adaptor associated kinase 1 activity are also disclosed.



第1圖



發明摘要

※ 申請案號：103130281

※ 申請日：2014 年 9 月 2 日

C07D487/04 (2006.01)

※IPC 分類：A61K31/519 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

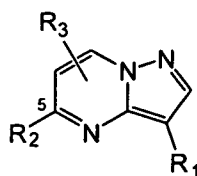
【發明名稱】（中文/英文）

吡唑并[1,5-a]嘧啶基化合物、包含彼之組合物以及使用彼之方法

PYRAZOLO[1,5-a]PYRIMIDINE-BASED COMPOUNDS, COMPOSITIONS COMPRISING THEM, AND METHODS OF THEIR USE

【中文】

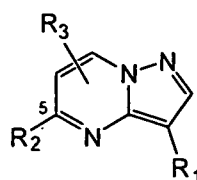
本發明揭示具有以下化學式之吡唑并[1,5-a]嘧啶基化合物：



其中 R_1 、 R_2 及 R_3 如本文中所定義。本發明亦揭示包含該等化合物之組合物及其使用方法，以治療、管控及/或預防由適配器關聯激酶 1 活性介導之疾病或病症。

【英文】

Pyrazolo[1,5-a]pyrimidine-based compounds of the formula:



are disclosed, wherein R_1 , R_2 and R_3 are defined herein. Compositions comprising the compounds and methods of their use to treat, manage and/or prevent diseases and disorders mediated by mediated by adaptor associated kinase 1 activity are also disclosed.

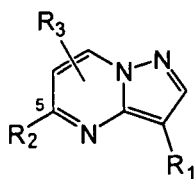
【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（ 1 ）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：



發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

吡唑并[1,5-a]嘧啶基化合物、包含彼之組合物以及使用彼之方法

PYRAZOLO[1,5-a]PYRIMIDINE-BASED COMPOUNDS,
COMPOSITIONS COMPRISING THEM, AND METHODS
OF THEIR USE

【技術領域】

【0001】 本發明係針對吡唑并[1,5-a]嘧啶基化合物、包含彼之組合物以及使用彼之方法，該等化合物用作適配器關聯激酶 1(adaptor associated kinase 1; AAK1)之抑制劑。

【先前技術】

【0002】 適配器關聯激酶 1(AAK1)係絲胺酸/蘇胺酸激酶之 Ark1/Prk1 家族中的成員。AAK1 mRNA 以短與長兩種剪接形式存在。長形式佔多數，且在腦及心臟中高水準表現 (Henderson 與 Conner, *Mol. Biol. Cell.* 2007, 18, 2698-2706)。AAK1 突觸體製備中富集，並與內噬結構共定位在所培養的細胞中。AAK1 調節網格蛋白被膜的胞吞作用，此調節是在突觸小泡再循環及受體介導的胞吞作用中的重要過程。AAK1 與 AP2 複合物相關聯，AP2 複合物為異源四聚體，其將受體貨物結合到該網格蛋白被膜。網格蛋白與 AAK1 之結合促進 AAK1 激酶活性 (Conner 等人, *Traffic*

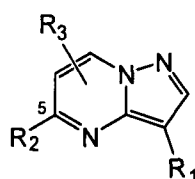
2003, 4, 885-890; Jackson 等人, *J. Cell. Biol.* 2003, 163, 231-236)。AAK1 磷酸化 AP-2 的 mu-2 亞基, 結合到運貨受體上的含酪氨酸的分揀基序 (Ricotta 等人, *J. Cell Bio.* 2002, 156, 791-795; Conner 和 Schmid, *J. Cell Bio.* 2002, 156, 921-929)。受體攝取不必需實施 Mu2 磷酸化, 但磷酸化增強了內化效率 (Motely 等人, *Mol. Biol. Cell.* 2006, 17, 5298-5308)。

【0003】 AAK1 已經被確認為 PC12 細胞內的神經調節蛋白-1(Neuregulin-1)/ErbB4 訊號傳導之抑制劑。經由利用激酶抑制劑 K252a 之治療 (抑制 AAK1 激酶活性) 的 RNA 干擾介導的基因靜默或治療所致的 AAK1 表現缺失導致由神經調節蛋白-1 誘導的軸突生長增強。該等治療導致 ErbB4 之表現增強及 ErbB4 在質膜內或質膜附近之積聚 (Kuai 等人, *Chemistry and Biology* 2011, 18, 891-906)。NRG1 及 ErbB4 被公認為精神分裂症之易感性基因 (Buonanno, *Brain Res. Bull.* 2010, 83, 122-131)。兩種基因中的 SNP 與多種精神分裂症內表型相關聯 (Greenwood 等人, *Am. J. Psychiatry* 2011, 168, 930-946)。Neuregulin 1 及 ErbB4 KO 小鼠模型已展示出與精神分裂症相關之形態變化及行為表型 (Jaaro-Peled 等人, *Schizophrenia Bulletin* 2010, 36, 301-313; Wen 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010, 107, 1211-1216)。此外, AAK1 基因之內含子中的單核苷酸多形態與帕金森氏症發病年齡相關聯 (Latourelle 等人, *BMC Med. Genet.* 2009, 10, 98)。該等結果表明, 對 AAK1 活性之抑制可應用於精神分裂症、

精神分裂症中的認知缺陷、帕金森氏症、躁鬱症及阿茲海默症之治療。

【發明內容】

【0004】 本發明係部分針對 AAK1 抑制劑，該 AAK1 抑制劑具有以下化學式：



及上述化合物之醫藥學上可接受之鹽，其中：R₁ 為 R_{1A} 或經可選取代的 C₁₋₁₂ 烴基或 2-12 員雜肼基(heterocarbyl)，該可選取代係用一或更多個 R_{1A} 取代；各個 R_{1A} 獨立為 -OR_{1C}、-N(R_{1C})₂、-C(O)R_{1C}、-C(O)OR_{1C}、-C(O)N(R_{1C})₂、-N(R_{1C})C(O)OR_{1C}、氰基、鹵基，或可選取代 C₁₋₁₂ 烴基或 2-12 員雜肼基，該可選取代係用一或更多個 R_{1B} 取代；各個 R_{1B} 獨立為 -OR_{1C}、-N(R_{1C})₂、-C(O)R_{1C}、-C(O)OR_{1C}、-C(O)N(R_{1C})₂、-N(R_{1C})C(O)OR_{1C}、氰基或鹵基；各個 R_{1C} 獨立為氫或可選取代 C₁₋₁₂ 烴基或 2-12 員雜肼基，該可選取代係用氰基、鹵基或烴基中的一或更多者取代；R₂ 為藉由碳原子中的一者結合至 C5 的可選取代 C₁₋₁₂ 烴基或 2-12 員雜肼基，該可選取代係用一或更多個 R_{2C} 取代；各個 R_{2C} 獨立為 -OR_{2D}、-N(R_{2D})₂、-C(O)R_{2D}、-C(O)OR_{2D}、-C(O)N(R_{2D})₂、-N(R_{2D})C(O)OR_{2D}、氰基、鹵基、氧基或可選取代 C₁₋₁₂ 烴基或 2-12 員雜肼基，該可選取代係用一或更多個胺基、氰基、鹵基、烴基或 R_{2D} 取代；各個 R_{2D} 獨立為氫或可選取代 C₁₋₁₂ 烴基或 2-12 員雜肼基，該可選取代係用一或更多個胺基、氰基、鹵基或烴基取代；及

R₃ 爲氫或 C₁₋₆ 烷基，該 C₁₋₆ 烷基用一或更多個氰基、鹵基或羥基可選取代。

【0005】 本發明之一個實施例含有包含本文所揭示之化合物（亦即，本發明之化合物）醫藥組合物及劑型。

【0006】 本發明之另一實施例含有在活體外及活體內抑制適配器關聯激酶 1(AAK1)之方法，該等方法包含將 AAK1 與本發明之化合物接觸。

【0007】 另一實施例含有治療及管控由 AAK1 活性介導之疾病及病症的方法。鹹信此種疾病及病症之實例包括阿茲海默症、躁鬱症、疼痛、帕金森氏症及精神分裂症（包括精神分裂症中的認知缺陷）。

【圖式簡單說明】

【0008】 第 1 圖圖示本發明之態樣，該圖展示使用 AAK1 純合子(-/-)基因剔除小鼠及野生型(+/-)同胞仔在福馬林疼痛模型中獲取之結果。AAK1 純合子(-/-)基因剔除小鼠展示出與野生型(+/-)同胞仔相比之急性疼痛反應及持續性疼痛反應兩者明顯減輕。

【實施方式】

【0009】 本發明部分地基於對 AAK1 基因剔除小鼠展現高疼痛耐受性之發現。彼發現促進了研究，該研究最終導致 AAK1 抑制劑、包含彼之組合物及使用彼之方法之發現。

【0010】 5.1. 定義

【0011】 除非另有指示，否則用語「本發明之化合物」、「本揭示案之化合物」及類似者係指本文所揭示之化合物。

【0012】 除非另有指示，否則術語「烴基」意指脂族或脂環部分，該部分具有全碳主鏈且由碳原子及氫原子組成。烴基之實例包括具有 1-20 個、1-12 個、1-6 個及 1-4 個碳原子之彼等烴基(分別稱為 C_{1-20} 烴基、 C_{1-12} 烴基、 C_{1-6} 烴基及 C_{1-4} 烴基)。特定實例包括烷基、烯基、炔基、芳基、苄基、環烷基、環烯基、環烷基烷基、環烯基烷基、萘基、苯基及苯乙基。

【0013】 烷基部分之實例包括具有 1-20 個、1-12 個、1-6 個、1-4 個及 1-3 個碳原子之直鏈及支鏈部分(分別稱為 C_{1-20} 烷基、 C_{1-12} 烷基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-4} 烷基及 C_{1-3} 烷基)。特定實例包括甲基、乙基、丙基、異丙基、正丁基、第三丁基、異丁基、戊基、己基、異己基、庚基、4,4-二甲基戊基、辛基、2,2,4-三甲基戊基、壬基、癸基、十一烷基及十二烷基。

【0014】 烯基部分之實例包括直鏈及支鏈 C_{2-20} 、 C_{2-12} 及 C_{2-6} 烯基。特定實例包括乙烯基、烯丙基、1-丁烯基、2-丁烯基、異丁烯基、1-戊烯基、2-戊烯基、3-甲基-1-丁烯基、2-甲基-2-丁烯基、2,3-二甲基-2-丁烯基、1-己烯基、2-己烯基、3-己烯基、1-庚烯基、2-庚烯基、3-庚烯基、1-辛烯基、2-辛烯基、3-辛烯基、1-壬烯基、2-壬烯基、3-壬烯基、1-癸烯基、2-癸烯基及 3-癸烯基。

【0015】 炔基部分之實例包括直鏈及支鏈 C_{2-20} 、 C_{2-12} 及 C_{2-6} 炔基。特定實例包括乙炔基及 2-丙炔基(炔丙基)。

【0016】 芳基部分之實例包括蔥基、萵基、葑基、茛滿、茛基、萘基、苯基及菲基。

【0017】 環烷基部分之實例包括 C_{3-12} 、 C_{3-7} 、 C_{4-6} 及 C_6 環烷

基。特定實例包括環丙基、環丁基、環戊基、環己基及金剛烷基。

【0018】 除非另有指示，否則術語「鹵基」含有氟基、氯基、溴基及碘基。

【0019】 除非另有指示，否則術語「雜肱基」係指具有由一或更多個碳原子及一或更多個雜原子組成之主鏈的部分。特定雜原子為氮、氧及硫。雜肱基部分可視為烴基部分，其中至少一個碳原子、CH、CH₂ 或 CH₃ 基團用一或更多個雜原子及必要數目之氫原子替換以滿足原子價。雜肱基之實例包括 2-20、2-12、2-8、2-6 及 2-4 員雜肱基部分，其中數字範圍係指該部分中之碳、氮、氧及/或硫原子數目之總和。因此，術語「2-12 員雜肱基」係指具有總共 2-12 個碳、氮、氧及/或硫原子的雜肱基部分。特定雜肱基部分包括直鏈及支鏈雜烷基、雜烯基及雜炔基，以及雜環及雜芳基。

【0020】 雜烷基部分之實例包括 2-8 員、2-6 員及 2-4 員雜烷基部分。特定實例包括烷氧基、醯基（例如，甲醯基、乙醯基、苯甲醯基）、烷基胺基（例如，二-(C₁₋₃-烷基)胺基）、芳基胺基、芳基肼基、胺基甲酸酯、碳醯胺基、烷基羰基、芳基羰基、胺基羰基、烷基胺基羰基、烷基硫基、芳基硫基、烷基亞磺醯基、芳基亞磺醯基、烷基磺醯基、芳基磺醯基、烷基磺醯基胺基及芳基磺醯基胺基。

【0021】 除非另有指示，否則術語「雜環」係指環狀（單環或多環）雜肱基部分，該部分可為芳族基、部分芳族基或非芳族基。雜環包括雜芳基。實例包括 4-10 員、4-7 員、6 員及

5 員雜環。特定實例包括苯并[1,3]間二氧雜戊烯基、2,3-二羥-苯并[1,4]二氧嗪基、口辛啉基、呋喃基、乙內醯脲基、嗎啉基、氧環丁烷基、環氧乙基、六氫吡嗪基、六氫吡啶基、吡咯烷酮基、吡咯啉基、四氫呋喃基、四氫呋喃基、四氫吡啶基、四氫嘧啶基、四氫噻吩基、四氫噻喃基及戊丙醯胺基。由於術語「雜環」係指環，該環單獨存在且不含有諸如噁唑烷酮及咪唑啉酮之部分：此等部分視為經取代之雜環，亦即用氧基取代之雜環。

【0022】 雜芳基部分之實例包括吡啶基、苯并咪唑基、苯并呋喃基、苯并異噻唑基、苯并異噁唑基、苯并噻唑啉基、苯并噻唑基、苯并噁唑基、呋喃基、咪唑基、吡啶基、異噻唑基、異噁唑基、噁二唑基、噁唑基、呋喃基、吡嗪基、吡啶基、吡啶基、噻吩基、吡啶基、嘧啶基、嘧啶基、吡咯基、噻唑啉基、噻啉基、四唑基、噻唑基及三嗪基。

【0023】 除非另有指示，否則術語「包括(include)」與「包括但不限於」同義，且術語「包括(includes)」與「包括但不限定於」同義。類似地，術語「諸如」與術語「諸如但不限於」同義。

【0024】 除非另有指示，否則術語「管控(manage)」、「管控(managing)」及「管控(management)」含有預防特定疾病或病症在已患該疾病或病症之患者身上復發及/或加長已罹患該疾病或病症之患者的病癥緩解時間之意。該等術語含有調節疾病或病症之閾值、發展及/或持續時間，或改變患者對疾病或病症的反應方式之意。

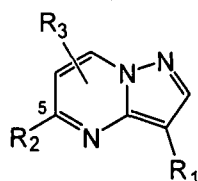
【0025】 除非另有指示，否則化合物之「治療有效劑量」係指在疾病或病症之治療或管理中足以產生治療效果之劑量或足以延遲或最小化與該疾病或病症相關的一或更多個症狀之劑量。化合物之「治療有效劑量」意指在單獨使用或配合其他治療使用之情況下的治療劑之劑量，該劑量可在疾病或病症之治療或管控中產生治療效果。術語「治療有效劑量」可含有改進整體治療、減輕或避免疾病或病症之症狀或病因或者增強另一治療劑之治療功效之劑量之意。

【0026】 除非另有指示，否則術語「治療(treat)」、「治療(treating)」及「治療(treatment)」涵蓋患者正患特定疾病或病症時發生之動作，該動作將減輕該疾病或病症之嚴重程度或者阻礙或減緩疾病或病症之進展。

【0027】 除非另有指示，否則一系列名詞前的一或更多個形容詞係經組織用於修飾每個名詞。舉例而言，用語「可選取代烷基、芳基或雜芳基」與「可選取代烷基、可選取代芳基或可選取代雜芳基」同義。

【0028】 5.2. 化合物

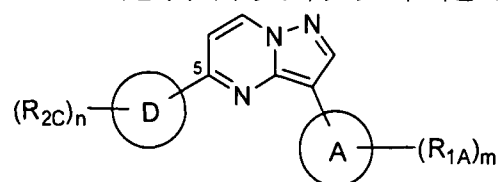
【0029】 本發明含有具有以下化學式之化合物：



及上述化合物中之醫藥學上可接受之鹽，其中： R_1 為 R_{1A} 或可選取代 C_{1-12} 烴基或 2-12 員雜肱基，該可選取代係用一或更多個 R_{1A} 取代；各個 R_{1A} 獨立為 $-OR_{1C}$ 、 $-N(R_{1C})_2$ 、 $-C(O)R_{1C}$ 、 $-C(O)OR_{1C}$ 、 $-C(O)N(R_{1C})_2$ 、 $-N(R_{1C})C(O)OR_{1C}$ 、氰基、鹵基，

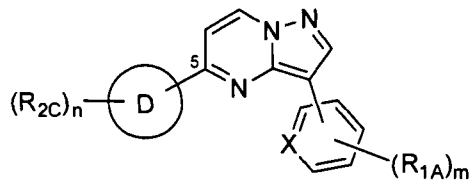
或可選取代 C_{1-12} 烴基或 2-12 員雜肼基，該可選取代係用一或更多個 R_{1B} 取代；各個 R_{1B} 獨立為 $-OR_{1C}$ 、 $-N(R_{1C})_2$ 、 $-C(O)R_{1C}$ 、 $-C(O)OR_{1C}$ 、 $-C(O)N(R_{1C})_2$ 、 $-N(R_{1C})C(O)OR_{1C}$ 、氰基或鹵基；各個 R_{1C} 獨立為氫或可選取代 C_{1-12} 烴基或 2-12 員雜肼基，該可選取代係用氰基、鹵基或羥基中的一或更多者取代； R_2 為藉由碳原子中的一者結合至 C5 的可選取代 C_{1-12} 烴基或 2-12 員雜肼基，該可選取代係用一或更多個 R_{2C} 取代；各個 R_{2C} 獨立為 $-OR_{2D}$ 、 $-N(R_{2D})_2$ 、 $-C(O)R_{2D}$ 、 $-C(O)OR_{2D}$ 、 $-C(O)N(R_{2D})_2$ 、 $-N(R_{2D})C(O)OR_{2D}$ 、氰基、鹵基、氧基或可選取代 C_{1-12} 烴基或 2-12 員雜肼基，該可選取代係用一或更多個胺基、氰基、鹵基、羥基或 R_{2D} 取代；各個 R_{2D} 獨立為氫或可選取代 C_{1-12} 烴基或 2-12 員雜肼基，該可選取代係用一或更多個胺基、氰基、鹵基或羥基取代；及 R_3 為氫或 C_{1-6} 烷基，該 C_{1-6} 烷基用一或更多個氰基、鹵基或羥基可選取代。術語「C5」係指在上文描述之核心結構上標記有「5」之碳原子。

【0030】 本發明之一些化合物具有以下化學式：



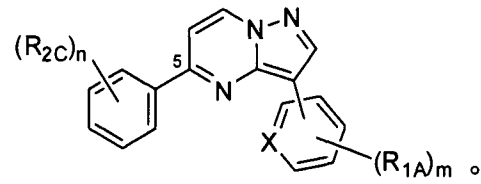
其中：A 為環狀 C_{1-12} 烴基或 4-7 員雜環；D 為藉由碳原子中的一者結合至 C5 的環狀 C_{1-12} 烴基或 4-7 員雜環；n 為 1-3；及 m 為 0-3。

【0031】 一些化合物具有以下化學式：

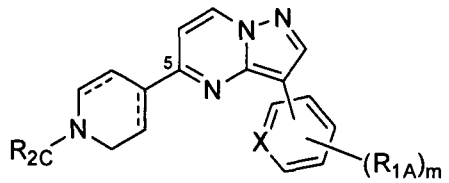


其中 X 為 CH 或 N。

【0032】 一些化合物具有以下化學式：

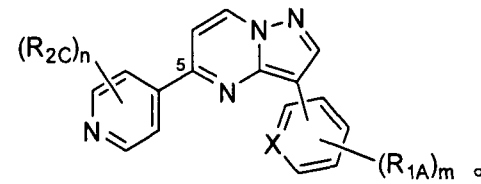


【0033】 一些化合物具有以下化學式：

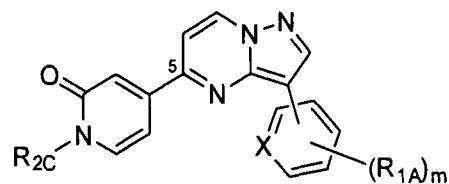


其中： R_{2C} 為 $-C(O)R_{2D}$ 、 $-C(O)OR_{2D}$ 或可選取代 C_{1-12} 烴基或 2-12 員雜肱基，該可選取代係用一或更多個胺基、氰基、鹵基、
烴基或 R_{2D} 取代。

【0034】 一些化合物具有以下化學式：

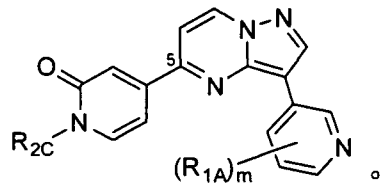


【0035】 一些化合物具有以下化學式：

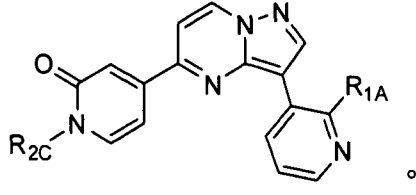


其中： R_{2C} 為 $-C(O)R_{2D}$ 、 $-C(O)OR_{2D}$ 或可選取代 C_{1-12} 烴基或 2-12 員雜肱基，該可選取代係用一或更多個胺基、氰基、鹵基、
烴基或 R_{2D} 取代。

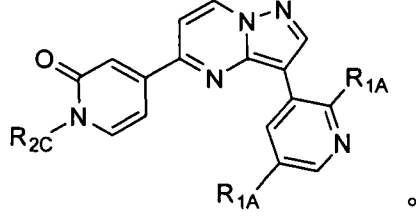
【0036】 一些化合物具有以下化學式：



【0037】 一些化合物具有以下化學式：



【0038】 一些化合物具有以下化學式：



【0039】 參考本文中所揭示之各種化學式，本發明之實施例含有化合物，其中該等化合物滿足以下條件之一或更多者：

- 【0040】 - D 為呋嗪基或吡咯啉基
- 【0041】 - n 為 2
- 【0042】 - m 為 1
- 【0043】 - A 為吡啶基、噻吩基或咪唑基
- 【0044】 - R₁ 為 R_{1A}
- 【0045】 - R₁ 為可選取代 C₁₋₁₂ 烴基
- 【0046】 - R₁ 為可選取代苯基
- 【0047】 - R₁ 為可選取代 2-12 員雜肱基（例如，2-8 員雜肱基、2-6 員雜肱基、2-6 員雜肱基）
- 【0048】 - R₁ 為可選取代吡啶基、噻吩基或咪唑基
- 【0049】 - R_{1A} 為鹵基
- 【0050】 - R_{1A} 為 -OR_{1C}、-N(R_{1C})₂、-C(O)R_{1C}、-C(O)OR_{1C}

或 $-C(O)N(R_{1C})_2$

【0051】 - R_{1A} 為 $-OR_{1C}$

【0052】 - R_{1B} 為 $-N(R_{1C})_2$ 、 $-OR_{1C}$ 、鹵基

【0053】 - R_{1C} 為氫

【0054】 - R_{1C} 為 C_{1-12} 烴基（例如， C_{1-6} 烴基、 C_{1-4} 烴基，諸如甲基、乙基、丙基）

【0055】 - R_2 為 6 員雜環

【0056】 - R_2 為 C_{1-6} 烴基

【0057】 - R_{2C} 為 C_{1-12} 烴基

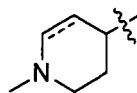
【0058】 - R_{2D} 為鹵基

【0059】 - R_{2D} 為可選取代 C_{1-12} 烴基，該可選取代係用胺基、氰基、鹵基、羥基中的一或更多者取代

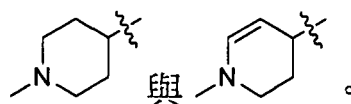
【0060】 - R_{2D} 為 2-12 員雜肼基，該雜肼基包含至少一個氮原子

【0061】 - R_3 為氫

【0062】 在本文圖示之結構中，由實線及虛線描繪之鍵合為單鍵或雙鍵。因此，部分



含有以下兩者：



【0063】 本發明之化合物可具有一或更多個不對稱中心。除非另有指示，否則本發明含有化合物之所有立體異構體，以及該等立體異構體之混合物。化合物之個別立體異構體可由

市售之含有對掌中心的起始物質合成製備，或藉由製備鏡像異構產物之混合物，然後實施分離（例如，轉化至非鏡像異構體之混合物，然後實施分離或再結晶）、層析技術，或在對掌層析柱上直接分離鏡像異構體來製備。特定立體化學特性之起始化合物可為市售，或藉由該項技術中已知的技術製成及分解。

【0064】 本揭示案之某些化合物亦可存在於可分離之不同穩定構形形式中。由於圍繞不對稱單鍵之旋轉受到例如位阻或環應力之限制而造成的扭轉不對稱可容許分離不同的構象異構體。本揭示案包括該等化合物之各個構形異構體及各個構形異構體的混合物。

【0065】 本揭示案旨在包括本發明之化合物內所出現原子之所有同位素。同位素包括具有相同原子序數但不同質量數之彼等原子。藉由一般實例（但無限制），氫之同位素包括氕及氘。碳之同位素包括 ^{13}C 及 ^{14}C 。本發明之同位素標記化合物大體可藉由熟習此項技術者已知的習知技術來製備，或藉由與本文所描述之方法類似之過程，使用適宜同位素標記試劑代替所採用之無標記試劑來製備。此類化合物可具有各種潛在用途，例如，在決定生物活性時用作標準及試劑。在穩定同位素之情況下，此類化合物可具有有利修改生物學、藥理學或藥物動力學特性之潛能。

【0066】 本揭示案之化合物可作為醫藥學上可接受之鹽存在。本文中所使用之術語「醫藥學上可接受之鹽」表示本揭示案之化合物的鹽或兩性離子形式，該等形式之化合物具有

水溶性或油溶性，或水分散性或油分散性；在充足理由之醫學判定範疇中，該等形式之化合物適合用於接觸患者的人體組織而不含與同等效益/風險比相應之過高毒性、刺激性、過敏反應或其他問題或併發癥；且可有效用於所欲用途。該等鹽可在化合物之最終分離及提純期間或單獨藉由使適宜氮原子與適宜酸反應來製備。代表性酸加成鹽包括乙酸鹽、己二酸鹽、海藻酸鹽、檸檬酸鹽、天冬胺酸鹽、苯甲酸鹽、苯磺酸鹽、酸式硫酸鹽、丁酸鹽、樟腦酸鹽、樟腦磺酸鹽；二葡萄糖酸鹽、二羥溴酸鹽、二羥氯酸鹽、二羥碘酸鹽、甘油磷酸鹽、半硫酸鹽、庚酸鹽、己酸鹽、甲酸鹽、反丁烯二酸鹽、羥氯酸鹽、羥溴酸鹽、羥碘酸鹽、2-羥乙基磺酸鹽、乳酸鹽、順丁烯二酸鹽、均三甲苯磺酸鹽、甲磺酸鹽、伸萘基磺酸鹽、菸鹼酸鹽、2-萘磺酸鹽、草酸鹽、巴莫酸鹽、果膠酸鹽、過氧硫酸鹽、3-苯基丙酸鹽、苦味酸鹽、特戊酸鹽、丙酸鹽、琥珀酸鹽、酒石酸鹽、三氯乙酸鹽、三氟乙酸鹽、磷酸鹽、麩胺酸鹽、酸式碳酸鹽、對甲苯磺酸鹽及十一烷酸鹽。可使用以形成醫藥學上可接受之加成鹽的酸之實例包括無機酸（諸如鹽酸、羥溴酸、硫酸及磷酸）及有機酸（諸如草酸、順丁烯二酸、丁二酸及檸檬酸）。

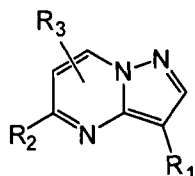
【0067】 藉由使羧基團與適宜鹼（諸如金屬陽離子之氫氧化物、碳酸鹽或酸式碳酸鹽）反應，或與氨或有機一級胺、二級胺或三級胺反應，鹼加成鹽可在化合物之最終分離及提純期間製備。醫藥學上可接受之鹽的陽離子包括鋰、鈉、鉀、鈣、鎂及鋁，以及無毒季胺陽離子，諸如銨、四甲銨、四乙

銨、甲胺、二甲胺、三甲胺、三乙胺、二乙胺、乙胺、三丁胺、吡啶、N,N-二甲苯胺、N-甲吡啶、N-甲嗎啉、二環己胺、丙胺卡因、二苄基胺、N,N-二苄基苯乙胺及 N,N'-二苄基乙二胺。可用於形成鹼加成鹽之其他代表性有機胺包括乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、吡啶及吡嗪。

【0068】 本發明之特定化合物利用 IC_{50} 抑制 AAK1，該 IC_{50} 經下文實例所描述之 P81 濾板檢定量測為低於 0.1、0.01 或 0.001 μM 。本發明之特定化合物利用 IC_{50} 抑制 AAK1，該 IC_{50} 經下文實例所描述之基於 HEK281 細胞之檢定量測為低於 0.1、0.01 或 0.001 μM 。

【0069】 5.3. 合成方法

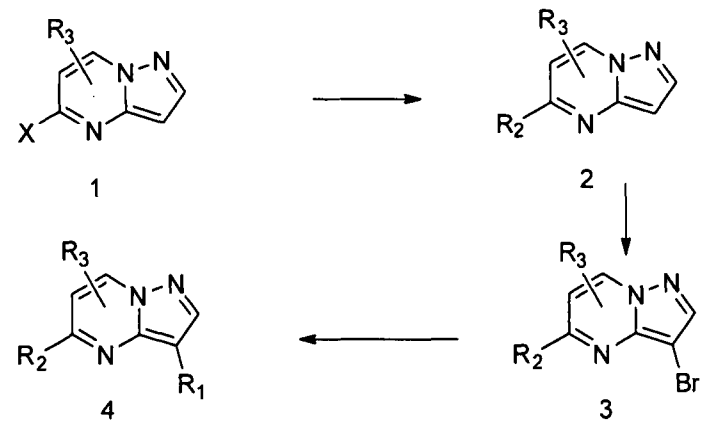
【0070】 本發明之化合物（亦即，本文所揭示之化合物）可使用下文所描述之方法製備，及使用熟習有機化學之技術者已知之方法製備。特定化合物具有以下通式：



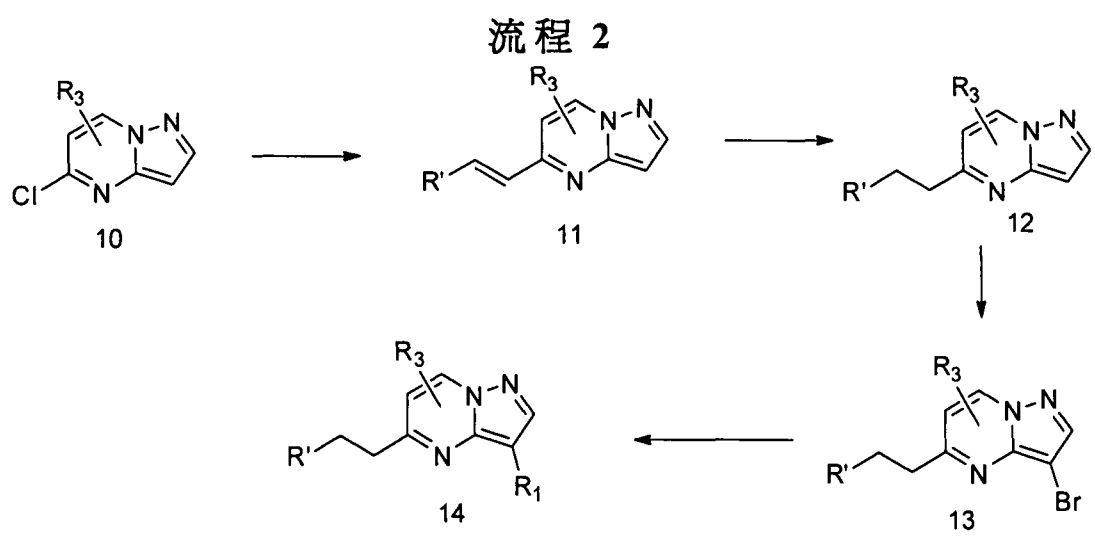
其中 R_1 、 R_2 及 R_3 如本文所定義，並包括彼之鹽。該等化合物可藉由下文所列出之方法來製備。

【0071】 具有上圖所示之化學式之化合物可藉由下文所列出之方法來製備。流程 1 圖示用於製備本發明之化合物的途徑，其中 R_2 為芳基（包括雜芳基及吡啶酮類似物）。此處，化合物 1 與適宜硼酸或硼酯 $[R_3B(OR)_2]$ 之鈴木耦合提供 2。溴化 2 以提供中間物 3。第二次鈴木耦合提供化合物 4。

流程 1



【0072】 流程 2 圖示用於製備本發明之化合物的途徑，其中 R₂ 為烴基及 R' 為 R_{2C}、R_{2D} 或上述之前驅物。此處，化合物 10 與適宜硼酸、硼酯 R₃B(OR)₂ 或烯烴之鈴木耦合、赫克耦合或其他耦合提供 11。11 中的烯烴還原提供化合物 12。溴化 12 以提供中間物 13。第二次鈴木耦合提供化合物 14。



【0073】 5.4. 使用方法

【0074】 本發明之一個實施例含有在活體外及活體內抑制適配器關聯激酶 1 (AAK1) 之方法，該等方法包含將 AAK1 與本發明之化合物接觸。

【0075】 另一實施例含有治療及管控由 AAK1 活性介導之疾病及病症的方法。由 AAK1 活性介導之疾病及病症具有至少一個癥狀，該等疾病及病症之嚴重度或表現受 AAK1 活性影

響。誠信此種疾病及病症之實例包括阿茲海默症、躁鬱症、疼痛、帕金森氏症及精神分裂症（包括精神分裂症中的認知缺陷）。特定方法包含向需要接受治療之患者（人類或其他哺乳動物）施用治療或預防有效劑量之 AAK1 抑制劑（例如，本文所揭示之化合物）。

【0076】 本發明之另一實施例含有一種治療或管控疾病或病症之方法，該方法包含向需要接受治療之患者施用治療或預防有效劑量之 AAK1 抑制劑，其中該疾病或病症為阿茲海默症、躁鬱症、疼痛、帕金森氏症或精神分裂症（包括精神分裂症中的認知缺陷）。特定類型之疼痛包括慢性疼痛、急性疼痛及神經性疼痛。特定類型之神經性疼痛包括肌肉纖維疼痛及周邊神經病變（例如，糖尿病性神經病變）。

【0077】 當本發明之化合物用於治療或管控疾病或病症時，最佳情況係作為醫藥組合物之部分施用，該醫藥組合物包含一或更多個醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。

【0078】 醫藥組合物或調配物可以單位劑型呈現，該等單位劑型在每單位劑量內含有預定劑量之活性成份。在針對疾病之預防及治療的單藥療法時，本揭示案之化合物之典型給藥劑量水平處於每日約 0.01 與約 250 毫克/公斤（「mg/kg」）體重之間，較佳地處於每日約 0.05 與約 100 mg/kg 體重之間。通常，每日施用本揭示案之醫藥組合物約 1 次至約 5 次，或者採用連續輸液。此給藥方法可用於長期或急性療法。可與載劑物質化合以產生單次劑型之活性成份劑量將取決於所治療之病癥、病癥之嚴重度、給藥時間、給藥途徑、所採用化

合物之排泄速率、治療持續時間，及患者之年齡、性別、體重及病癥而變化。較佳單位劑量調配物係含有活性成份之每日劑量或子劑量（如上文所敘述）或上述劑量之適宜片段的彼等調配物。治療初始時可給予實質上少於化合物的最佳劑量之較少劑量。此後，可少量遞增劑量，直至在該情況下達到最佳效果為止。大體而言，以將大體產生療效且不引起任何有害或不利之副作用的濃度水平下施用化合物最為理想。

【0079】 可與一或更多種額外治療劑或預防劑組合施用本發明之化合物。舉例而言，當治療疼痛時，可能的額外藥劑包括免疫抑制劑及消炎劑。

【0080】 適合用於本發明之方法及組合物之免疫抑製劑包括技術中已知的彼等抑製劑。實例包括胺喋呤、硫唑嘌呤、環孢黴素 A、D-青黴胺、金鹽、羥化氯喹、來氟米特、甲胺喋呤、二甲胺四環素、雷帕黴素、硫氮磺胺吡啶、他克莫司 (FK506)，及該等抑製劑之醫藥學上可接受之鹽。特定免疫抑制劑為甲胺喋呤。

【0081】 額外實例包括抗 TNF 抗體，諸如阿達木單抗、塞妥珠單抗、依那西普及英夫利西單抗。其他實例包括介白素-1 阻斷劑，諸如阿那白滯素。其他實例包括抗 B 細胞 (CD20) 抗體，諸如利妥昔單抗。其他實例包括 T 細胞活化阻斷劑，諸如阿巴西普。

【0082】 額外實例包括肌苷單磷酸脫氫酶抑制劑，諸如黴酚酸嗎啉乙酯 (CellCept®) 及黴酚酸 (Myfortic®)。

【0083】 適合用於本發明之方法及組合物之消炎藥包括技術

中已知的彼等消炎藥。實例包括糖皮質素及 NSAID。

【0084】 糖皮質素之實例包括醛固酮、倍氯米松、倍他米松、可的松、去氧皮質酮、地塞米松、氟氫可的松、氫化可的松、甲潑尼龍、潑尼龍、潑尼松、曲安西龍，及該等糖皮質素之醫藥學上可接受之鹽。

【0085】 NSAID 之實例包括水楊酸酯（例如，阿司匹靈、阿洛潑林、貝諾酯、膽鹼水楊酸鎂、二氟尼柳、費塞爾胺、水楊酸甲酯、水楊酸鎂、雙水楊酸酯，及該等水楊酸酯之醫藥學上可接受之鹽）、芳基烷酸（例如，雙氯芬酸、乙醯氯芬酸、阿西美辛、溴芬酸、依託度酸、吲哚美辛、萘丁美酮、舒林酸、托美丁，及該等芳基烷酸之醫藥學上可接受之鹽）、芳基丙酸（例如，伊布洛芬、卡洛芬、芬布芬、非諾洛芬、氟比洛芬、酮洛芬、酮咯酸、洛索洛芬、萘普生、奧沙普秦、噻洛芬酸、舒洛，及該等芳基丙酸之醫藥學上可接受之鹽）、芳基鄰胺基苯甲酸（例如，甲氯芬那酸、甲芬那酸，及該等芳基鄰胺基苯甲酸之醫藥學上可接受之鹽）、吡唑啉衍生物（例如，阿紫丙酮、安乃近、羥基保泰松、苯基保泰松、磺吡酮，及該等衍生物之醫藥學上可接受之鹽）、昔康類（例如，氯諾昔康、美洛昔康、吡羅昔康、替諾昔康，及該等昔康類之醫藥學上可接受之鹽）、COX-2 抑制劑（例如，塞來昔布、依託昔布、羅美昔布、帕瑞昔布、羅非昔布、伐地昔布，及該等抑制劑之醫藥學上可接受之鹽）及磺基苯胺類（例如，尼美舒利及該等磺基胺本之醫藥學上可接受之鹽）。

【0086】 用於治療疼痛之其他藥劑（包括但不限於神經性疼

痛及發炎性疼痛) 包括以下藥劑：諸如普瑞巴林、利多卡因、度洛西汀、加巴噴丁、卡巴咪嗪、辣椒鹼及其他血清素/去甲腎上腺素/多巴胺再攝取抑制劑，及鴉片劑（諸如奧施康定、嗎啡鹼及可待因）。

【0087】 在治療由諸如糖尿病、感染（例如，帶狀疱疹或 HIV 感染）或癌癥之已知疾病或病癥引發的疼痛時，可與專用於該原發疾病或病癥之一或更多種額外治療劑或預防劑組合施用本發明之化合物。舉例而言，當用於治療糖尿病性神經病變時，可與一或更多種抗糖尿病藥劑、降血糖藥劑、降血脂/降脂藥劑、抗肥胖藥劑、抗高血壓藥劑及食慾抑制劑組合施用本發明之化合物。抗糖尿病藥劑之實例包括雙胍類（例如，二甲雙胍、苯乙雙胍）、葡萄糖苷酶抑制劑（例如，醣祿、米格列醇）、胰島素類（包括胰島素分泌促進劑及胰島素敏化劑）、美格替耐（例如，諾和隆）、磺醯脲素類（例如，格列美脲、格列本脲、格列齊特、氯磺丙脲及格列吡嗪）、雙胍/格列本脲組合（例如，庫魯泛斯(Glucovance)）、噻唑烷二酮類（例如，曲格列酮、羅格列酮及吡格列酮）、PPAR- α 促效劑、PPAR- γ 促效劑、PPAR α/γ 雙促效劑、糖原磷酸化酶抑制劑、脂肪酸結合蛋白(aP2) 抑制劑、胰高血糖素類肽-1(GLP-1)或 GLP-1 受體之其他促效劑、二肽基肽酶 IV(DPP4) 抑制劑，及鈉葡萄糖共轉運體 2(SGLT2 抑制劑（例如，達格列淨、坎格列淨及 LX-4211）。

【0088】 5.5. 醫藥組合物

【0089】 醫藥調配物可經調適藉由任何適宜路徑給藥，例

如，藉由口服（包括口腔或舌下）、直腸、鼻腔、局部（包括口腔、舌下或經皮）、陰道或腸胃外（包括皮下、皮內、肌內、關節內、滑膜內、胸骨內、鞘內、病灶內、靜脈內或真皮內注射或輸液）路徑。此類調配物可藉由製藥技術中已知之任何方法來製備，例如，藉由使活性成份與一或多種載劑或賦形劑發生締合。口服給藥或藉由注射給藥較佳。

【0090】 針對口服給藥調適之醫藥調配物可呈現為諸如膠囊或錠劑之離散單元；粉劑或顆粒劑；水性或非水液體中的溶液或懸浮液；食用泡沫或打發泡沫；或水包油液體乳液或油包水乳液。

【0091】 舉例而言，對於錠劑或膠囊形式之口服給藥，活性藥物組份可與醫藥學上可接受之口服無毒惰性載劑（諸如乙醇、甘油、水及類似物）組合。可藉由以下步驟製備粉劑：將化合物粉碎至適合顆粒細度，及與類似方式粉碎的醫藥載體（諸如澱粉或甘露醇之類的可食用的碳水化合物）混合成。亦可存在調味劑、防腐劑、離散劑及著色劑。

【0092】 如上文所描述，藉由製備粉末混合物及填充入成型的明膠鞘殼中製造膠囊。在填充操作之前，可將諸如矽膠、滑石粉、硬脂酸鎂、硬脂酸鈣或固態聚乙二醇之助流劑及潤滑劑添加至粉末混合物中。亦可添加諸如瓊脂、碳酸鈣或碳酸鈉之崩解劑或助溶劑，以便改良在患者消化膠囊時藥劑之可用性。

【0093】 此外，當期望或需要時，亦可將適合黏合劑、潤滑劑、崩解劑及著色劑併入混合物中。適合黏合劑包括澱粉、

凝膠、諸如葡萄糖或 β -乳糖之天然糖分、玉米甜味劑、諸如阿拉伯膠、黃耆膠或海藻酸鈉之天然膠及合成膠、羧甲基纖維素、聚乙二醇及類似物。該等劑型中所使用之潤滑劑包括油酸鈉、氯化鈉及類似物。粉碎劑包括但不限於澱粉、甲基纖維素、瓊脂、膨潤土、三仙膠及類似物。舉例而言，錠劑係藉由以下步驟調配而成：製備粉末混合物，製粒或壓片，添加潤滑劑及崩解劑，及壓製成錠劑。藉由以下步驟製備粉末混合物：如上文所描述，將適當粉碎之化合物與稀釋液或基質混合，及選擇性地與諸如羧甲基纖維素之黏合劑、藻酸鹽、凝膠或聚乙烯吡咯啉酮、諸如石蠟之溶液阻滯劑、諸如季鹽之再吸收促進劑及/或諸如膨潤土、高嶺土或二磷酸鈣之吸收劑混合。藉由以下步驟將粉末混合物製粒：用諸如糖漿、澱粉糊、紅菱沸石漿劑或纖維素溶液或聚合物材料溶液之黏合劑潤濕，及加壓過篩。作為製粒之替代方法，可將粉末混合物穿過壓錠機，及結果為不完全成型壓片碎成顆粒。可藉由添加硬脂酸、硬脂酸鹽、滑石粉或礦物油之手段潤滑顆粒以防止黏在錠劑成型模具上。隨後將經潤滑之混合物壓縮製成錠劑。本揭示案之化合物亦可與自由流動之惰性載體組合，並直接壓縮製成錠劑，無需經歷製粒或壓片步驟。可提供由蟲膠密封包衣、糖衣或聚合物材料包衣及石蠟拋光包衣組成之透明或不透明保護包衣。可向該等包衣添加著色劑，以區別不同單位劑量。

【0094】 諸如藥水、糖漿及酒劑之口服液可以劑量單位形式來製備，使得給定份量含有預定量的化合物。可藉由在適宜

調味之水性溶液中溶解化合物製備糖漿，而經由使用無毒媒劑製備酒劑。亦可添加諸如乙氧基化異硬脂基醇及聚氧乙烯山梨糖醚之助溶劑及乳化劑、防腐劑、調味添加劑（諸如薄荷油或天然甜味劑之或者糖精或其他人工甜味劑）類似物。

【0095】 在適宜情況下，口服給藥之劑量單位調配物可裝入微型膠囊中。亦可例如藉由塗覆或將顆粒物質嵌埋在聚合物、蠟或類似物中製備調配物以延長或保持釋放時間。

【0096】 亦可以脂質體輸送系統（諸如單層小微脂粒、單層小微脂粒及多層小微脂粒）形式施用具有化學式(I)之化合物及其醫藥學上可接受之鹽。脂質體可由各種磷脂質形成，該等磷脂質諸如膽固醇、硬脂胺或磷脂醯膽鹼。

【0097】 亦可藉由使用單株抗體作為單個載體輸送具有化學式(I)之化合物及其醫藥學上可接受之鹽，該等化合物分子耦合至該等單株抗體。該等化合物亦可與可溶性聚合物耦合作為可靶向藥物載體。此類聚合物可包括聚乙烯吡咯啉酮、吡喃共聚物、聚羥丙基甲基丙酸烯胺酚、聚羥乙基天冬胰島素胺酚或聚氧化乙烯聚離胺酸，該等聚合物由十六醯基殘基取代。此外，該等化合物可耦合至一類可生物降解聚合物，該類聚合物可用於實現藥物之控釋，例如，聚乳酸、聚(ϵ -己內酯)、聚羥丁酸、聚原酸酯、聚縮醛、聚二羥呱喃、聚氰基丙烯酸酯及水凝膠之交聯或兩性嵌段共聚物。

【0098】 調適用於經皮給藥之醫藥調配物可呈現為離散貼片，該等貼片之目的為與接受治療者之表皮保持長時間的緊密接觸。舉例而言，活性成份可經由離子導入療法自貼劑輸

送給患者，如 *Pharmaceutical Research* 1986，3(6)，318 中大體描述。

【0099】 調適用於局部給藥之醫藥調配物可調配為軟膏劑、乳膏劑、懸浮液、洗液、粉末、溶液、糊劑、凝膠劑、噴霧劑、氣溶膠或油脂。

【0100】 調適用於直腸給藥之醫藥調配物可呈現為栓劑或灌腸劑。

【0101】 調適用於鼻腔給藥之醫藥調配物（其中載體為固體）包括粗粉末，該粉末之粒徑例如處於 20 至 500 微米範圍內，採用吸入鼻粉之方式施用該調配物（亦即，經由鼻腔從舉至鼻部附近之粉末容器中快速吸入鼻粉）。作為鼻腔噴霧劑或鼻腔滴劑給藥之適宜調配物（其中載體為液體）包括活性成份之水性溶液或油溶液。

【0102】 調適用於吸入給藥之醫藥調配物包括細粒塵或細粒霧，該等塵、霧可經由各類定量加壓氣溶膠、霧化器或吹入器產生。

【0103】 調適用於陰道給藥之醫藥調配物可呈現為陰道栓劑、棉塞、乳膏劑、凝膠劑、糊劑、泡沫劑或噴霧調配物。

【0104】 調適用於腸胃外給藥之醫藥調配物包括水性及非水性無菌注射溶液，該等溶液可含有抗氧化劑、緩衝劑、抑菌劑及等滲液(soutes)，該等等滲液可使得該等調配物與接受治療之目標患者的血液等滲；及水性及非水性無菌懸浮液，該等懸浮液可包括懸浮劑及增稠劑。該等調配物可盛放於單位劑量容器或多劑量容器中，例如，盛放於密封安瓶及小瓶中，

且該等調配物可儲存在冷凍乾燥（凍乾）之條件下，僅需在使用前添加無菌液體載體（例如，添加注射用水）即可。可由無菌粉末、顆粒及錠劑製備即用注射溶液及懸浮液。

【0105】 應理解，除上文所特定論及之成份外，該等調配物可包括所論述之調配物類型之相關技術中習知的其他藥劑，例如，適於口服給藥之調配物可包括調味劑。

【0106】 5.6. 實例

【0107】 可藉由以下實例理解本發明之某些態樣。

【0108】 5.6.1. AAK1 基因剔除小鼠

【0109】 用於 AAK1 基因阻斷之純合子小鼠(-/-)係藉由兩種方法製備：基因捕獲及同源重組。

【0110】 基因捕獲係一種隨機插入誘變之方法，該方法將報導體基因或可選標記物基因之 DNA 編碼片段用作誘變劑。基因捕獲載體經設計以用允許細胞剪接機制將載體編碼外顯子剪接至細胞 mRNA 之方式整合至內含子或基因中。通常，基因捕獲載體含有可選標記物序列，該序列在強剪接受體序列之後，但先於啟動子。因此，當此類載體整合至基因中時，細胞剪接設備將外顯子自己捕獲基因剪接至可選標記物序列之 5'末端。通常，此類可選標記物基因僅在基因之編碼載體整合至內含子中時表現。隨後，藉由選擇可在選擇性培養中生存之細胞來識別所得基因捕獲事件。

【0111】 胚胎幹細胞（自鼠科品系 A129 衍生之 Lex-1 細胞）係藉由涉及將基因工程處理之載體序列中的至少一部分插入目的基因中之過程而發生突變，突變之胚胎幹細胞經顯微注

射至胚囊內，隨後將該等胚囊導入假孕母體中，並使用既定方法形成胚胎。例如，請參看「Mouse Mutagenesis」，1998，Zambrowicz 等人編輯，Lexicon Press，The Woodlands，TX。隨後，所得嵌合動物經繁殖以繁育出後代，該等後代能夠實現等位基因之生殖系傳遞，且該等位基因在目的基因中含有經工程處理之突變。

【0112】 亦藉由同源重組培育出 AAK1 基因阻斷小鼠。在此情況下，藉由該項技術中已知的方法移除鼠類 AAK1 基因(請參看 GenBank 登錄號 NM_177762)之第二編碼外顯子。例如，請參看美國專利案第 5,487,992 號、第 5,627,059 號及第 5,789,215 號。

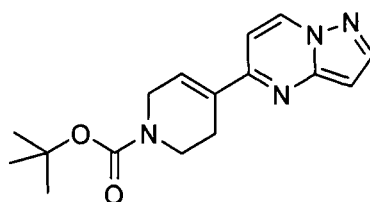
【0113】 結合 AAK1 基因阻斷的雜合雜合小鼠(+/-)及野生型(+/-)同胞仔研究 AAK1 基因阻斷的純合子小鼠(-/-)。在此分析中，小鼠經受醫學處理，該處理使用了設計用於評估哺乳類動物受試者之主要器官系統之功能的整套醫學診斷程序。結合雜合(+/-)及野生型(+/-)同胞仔研究純合子(-/-)「基因剔除」小鼠。AAK1 基因阻斷由南方分析證實。藉由 RT-PCR 在鼠腦、脊髓、眼、胸腺、脾臟、肺、腎、肝、骨骼肌、骨、胃、小腸及結腸、心臟、脂肪、哮喘疾病肺、LPS 肝、血液、帶狀心臟、主動脈樹、前列腺及乳腺(5 周大未交配，成年未交配，12 DPC，產後 3 天(泌乳)，斷奶後 3 天(早復舊)及斷奶後 7 天(晚復舊))中偵測 AAK1 鼠類同源物之表現。

【0114】 使用福馬林爪測試來測試 AAK1 純合子(-/-)及野生型(+/-)同胞仔，以便評估急性及持續性傷痛刺激反應。在該

等測試中，使用自動傷痛刺激分析器（購自聖地亞哥市加利福尼亞大學 Ozaki 實驗室）。測試開始 30 分鐘前，在每個小鼠左後爪周圍放置金屬條。30 分鐘馴化期後，在左側後爪脊背表面皮下注射 20 μ l 之 5% 福馬林。將小鼠單獨放入圓筒腔室內 45 分鐘。電腦經由電磁場記錄每分鐘的抓撓次數、I 期內的總抓撓次數（急性期=前 8 分鐘）及 II 期內的總抓撓次數（持續期=20-40 分鐘期間）。請參看 Yaksh TL、Ozaki G、McCumber D、Rathbun M、Svensson C、Malkmus S、Yaksh MC 之「An automated flinch detecting system for use in the formalin nociceptive bioassay」，*J Appl Physiol.*，2001；90:2386-402。

【0115】 如第 1 圖中所示，使用純合子(-/-)雌性小鼠(n=16)、野生型雌性(n=15)、純合子(-/-)雄性小鼠(n=9)及野生型雄性小鼠(n=18)獲得 1 期及 2 期之資料。在所有群組及兩個時期內，AAK1 純合子(-/-)小鼠展示出比野生型(+/-)同胞仔明顯更少的爪抓撓記錄次數。

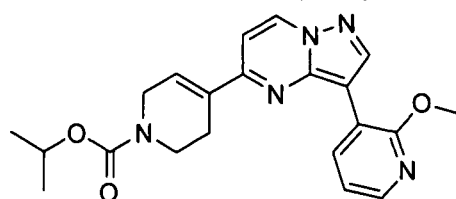
【0116】 5.6.2. 第三丁基 4-(吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-5,6-二氫吡啶-1(2H)-羧酸酯之合成



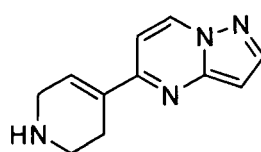
【0117】 在 4 ml DME 及 2 ml 水中溶解 5-氯基吡啶并[1,5-a]嘧啶(307 mg, 2 mmol)。添加第三丁基 4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊烷-2-基)-5,6-二氫吡啶-1(2H)-羧酸酯(650 mg, 2.2

mmol)、碳酸鈉(421 mg, 4 mmol)及 Pd(dppf)Cl₂:DCM (164 mg, 0.2 mmol), 並在 150°C 下的密封管中微波攪拌該反應 15 分鐘。冷卻反應混合物及經由矽藻土過濾, 用乙酸乙酯洗滌, 及濃縮反應混合物。自製備型 HPLC 獲得純產物。¹H NMR (400 MHz, 甲醇-d₄) δ ppm 1.52 (s, 9 H) 2.71-2.76 (m, 2 H) 3.66 (t, J=5.68 Hz, 2 H) 4.20 (br. s., 2 H) 6.63 (d, J=2.27 Hz, 1 H) 6.82 (br. s., 1 H) 7.28 (d, J=7.58 Hz, 1 H) 8.10 (d, J=2.27 Hz, 1 H) 8.75 (d, J=7.58 Hz, 1 H). LRMS (ESI) m/z 301.0 [(M+H)]⁺, C₁₆H₂₀N₄O₂ 的分析計算值: 300.4。

【0118】 5.6.3. 異丙基 4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-5,6-二氫吡啶-1(2H)-羧酸酯之合成



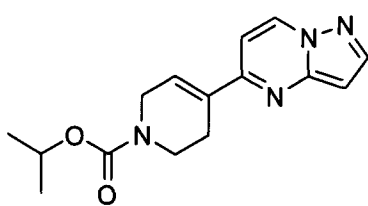
【0119】 A 部分. 5-(1,2,3,6-四氫吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶



【0120】 向 MeOH (30 ml)中的第三丁基 4-(吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-5,6-二氫吡啶-1(2H)-羧酸酯(2.4 g, 8 mmol)溶液添加乙醯氯(5.7 ml)。在室溫下攪拌所得混合物隔夜。濃縮混合物以提供標題化合物(1.9 g)。自製備型 HPLC 獲得分析樣本作爲甲酸鹽。¹H NMR (400 MHz, 甲醇-d₄) δ ppm 3.00 (ddt, J=6.06, 4.04, 2.02, 2.02 Hz, 2 H) 3.48 (t, J=6.19 Hz, 2 H) 3.95 - 3.98 (m,

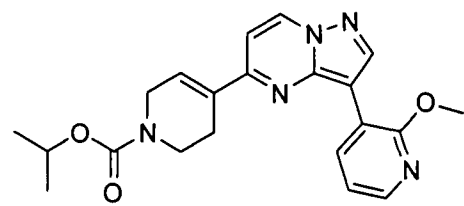
2 H) 6.68 (d, J=2.27 Hz, 1 H) 6.88 (dt, J=3.54, 1.77 Hz, 1 H) 7.34 (d, J=7.58 Hz, 1 H) 8.15 (d, J=2.27 Hz, 1 H) 8.53 (br. s., 0.5 H) 8.84 (d, J=7.58 Hz, 1 H). LRMS (ESI) m/z 201.0 [(M+H)]⁺, C₁₁H₁₂N₄ 的分析計算值：200.25。

【0121】 B 部分. 異丙基 4-(吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-5,6-二氫吡啶-1(2H)-羧酸酯



【0122】 在室溫下攪拌 DCM (50 ml)中的 5-(1,2,3,6-四氫吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶(1.9 g, 8 mmol)、異丙基氯甲酸酯(甲苯中 1 M, 9.6 ml, 9.6 mmol)及 TEA (3.2 ml, 24 mmol)之混合物隔夜。用水洗滌、乾燥及濃縮該混合物。殘餘物經歷 ISCO 以提供異丙基氨基甲酸酯(1.3 g)。

【0123】 C 部分. 異丙基 4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-5,6-二氫吡啶-1(2H)-羧酸酯

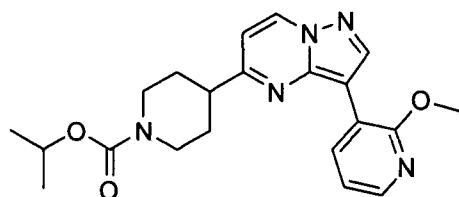


【0124】 在室溫下攪拌 AcOH (20 ml)中的異丙基 4-(吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-5,6-二氫吡啶-1(2H)-羧酸酯(1.2 g, 4.2 mmol)及 Br₂ (0.32 ml, 6.3 mmol)之混合物 2 小時。濃縮該混合物以提供 2.5 g 棕色油。

【0125】 在 90℃ 下攪拌上文棕色油、DME (20 ml)中的(2-甲氧基吡啶-3-基)硼酸(851 mg, 5 mmol)、碳酸鈉(1.33 g, 12.6

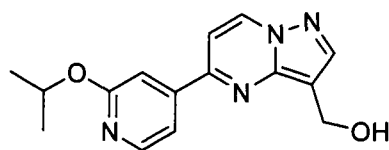
mmol)及 $\text{Pd(dppf)Cl}_2\text{:DCM}$ (343 mg, 0.42 mmol)及水(10 ml)之混合物隔夜。將反應冷卻、過濾及濃縮。殘餘物經歷 ISCO，隨後經歷製備型 HPLC 以提供標題化合物。 ^1H NMR (400 MHz, 甲醇- d_4) δ ppm 1.32 (d, $J=6.32$ Hz, 6 H) 2.81 (br. s., 2 H) 3.73 (t, $J=5.56$ Hz, 2 H) 4.10 (s, 3 H) 4.26 (br. s., 2 H) 4.96 (m, 1 H) 6.90 (br. s., 1 H) 7.08 (dd, $J=7.58, 5.05$ Hz, 1 H) 7.34 (d, $J=7.58$ Hz, 1 H) 8.04 (dd, $J=5.05, 1.77$ Hz, 1 H) 8.71 (s, 1 H) 8.76 (d, $J=7.58$ Hz, 1 H) 8.95 (dd, $J=7.58, 1.77$ Hz, 1 H). LRMS (ESI) m/z 394.1 $[(\text{M}+\text{H})]^+$, $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_3$ 的分析計算值：393.45。

【0126】 5.6.4. 異丙基 4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-1-羧酸鹽之合成



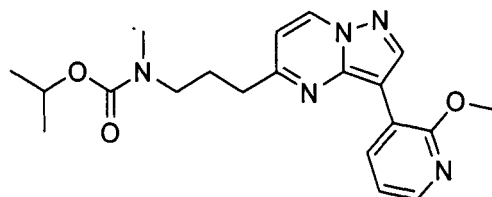
【0127】 異丙基 4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-5,6-二氫吡啶-1(2H)-羧酸酯經歷用 MeOH 中 5% Pd/C 氫化以提供標題化合物。 ^1H NMR (400 MHz, 甲醇- d_4) δ ppm 1.30 (d, $J=6.32$ Hz, 6 H) 1.76 - 1.87 (m, 2 H) 2.05-2.08 (m, 2 H) 2.97 - 3.14 (m, 3 H) 4.09 (s, 3 H) 4.27-4.31 (m, 2 H) 4.92 (m, 1 H) 7.04 (d, $J=7.07$ Hz, 1 H) 7.08 (dd, $J=7.58, 1.77$ Hz, 1 H) 8.04 (dd, $J=4.93, 1.89$ Hz, 1 H) 8.74 (s, 1 H) 8.82 (d, $J=7.07$ Hz, 1 H) 8.96 (dd, $J=7.58, 1.77$ Hz, 1 H). LRMS (ESI) m/z 396.1 $[(\text{M}+\text{H})]^+$, $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_3$ 的分析計算值：395.46。

【0128】 5.6.5. (5-(2-異丙氧基吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-3-基)甲醇之合成

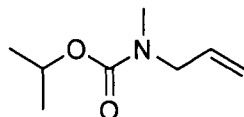


【0129】 在 3 ml 乙腈及 1.5 ml 水中溶解(5-氯基吡啶并[1,5-a]嘧啶-3-基)甲醇(600 mg, 3.9 mmol)。添加 2-異丙氧基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊烷-2-基)吡啶(1g, 3.9 mmol)、碳酸鉀(1.07 g, 7.8 mmol)及 Pd(dppf)Cl₂:DCM (319 mg, 0.39 mmol)，並在 120°C 的密封管中用微波攪拌該反應 12 分鐘。將反應冷卻，經由矽藻土過濾，及在真空中縮小體積。在島津中性相製備物上對反應提純，經凍乾以獲得 96 mg 產物。¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.21 (d, J=7.3 Hz, 1H), 8.33 (d, J=5.6 Hz, 1H), 8.27 (s, 1H), 7.74 (dd, J=5.4, 1.4 Hz, 1H), 7.71 (d, J=7.3 Hz, 1H), 7.54 (d, J=0.8 Hz, 1H), 5.28 - 5.40 (m, 1H), 5.03 (s, 1H), 4.75 (d, J=5.3 Hz, 2H), 1.34 (d, J=6.1 Hz, 6H) LRMS (ESI) m/z 285 [(M+H)]⁺, C₁₅H₁₆N₄O₂ 的分析計算值: 284.32。

【0130】 5.6.6. 異丙基(3-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)丙基)(甲基)胺基甲酸酯之合成

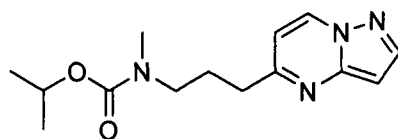


【0131】 A 部分. 異丙基烯丙基(甲基)胺基甲酸酯



【0132】 向 20 mL EtOAc 中的 213 mg (3.00 mmol) N-甲基丙-2-烯-1-胺添加 3.6 mL (3.6 mmol) 異丙基氯甲酸酯 (1M 甲苯溶液)，然後添加 0.83 mL (6.00 mmol) 三乙胺。在室溫下攪拌此混合物 1 小時。將該混合物用 EtOAc 稀釋，用 5 mL 水中止，用鹽水洗滌，以 MgSO_4 乾燥，在旋轉蒸發器上濃縮及轉入下一步驟，無需進一步提純。產出率假定為理論型。

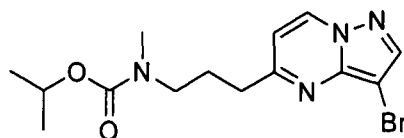
【0133】 B 部分. 異丙基甲基(3-(吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)丙基)胺基甲酸酯



【0134】 向在 0°C 下溶解於 10 mL THF 中的 3 mmol 異丙基烯丙基(甲基)胺基甲酸酯添加 7.8 mL (3.9 mmol) 9-BBN (0.5 M THF 溶液) 及所得混合物。將溫度保持 0°C 達 0.25 小時，及隨後加熱至 60°C 歷經 2.5 小時。向此混合物添加 554 mg (3.6 mmol) 5-氯基吡啶并[1,5-a]嘧啶、828 mg (6.00 mmol) K_2CO_3 、346 mg (0.3 mmol) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ 、20 mL THF、4 mL 水及 1 mL DMF。使所得混合物回流(65°C)隔夜。將該混合物冷卻至室溫，用 EtOAc 稀釋，用鹽水洗滌，以 MgSO_4 乾燥，在旋轉蒸發器上濃縮及在 ISCO 上提純以獲得 483 mg 所欲產物 (兩個步驟產出率 58%)。 ^1H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 1.23 (d, $J=6.06$ Hz, 6 H) 2.05 (quin, $J=7.26$ Hz, 2 H) 2.81 - 2.99 (m, 5 H) 3.39 (br. s., 2 H) 4.91 (dt, $J=12.06, 5.97$ Hz, 1 H) 6.59 (d, $J=1.77$ Hz, 1 H) 6.72 (br. s., 1 H) 8.09 (d, $J=2.27$ Hz, 1 H) 8.57 (d, $J=7.33$ Hz, 1 H). LRMS (ESI) m/z 277 $[(\text{M}+\text{H})]^+$,

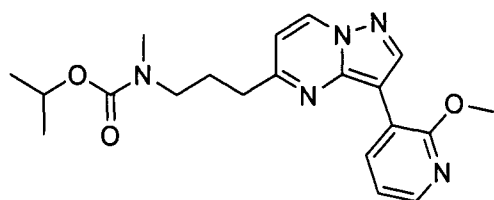
$C_{14}H_{20}N_4O_2$ 的分析計算值：276。

【0135】 C 部分. 異丙基(3-(溴基吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)丙基)(甲基)胺基甲酸酯



【0136】 向室溫下溶解於 10 mL AcOH 中的 276 mg (1.00 mmol)異丙基甲基(3-(吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)丙基)胺基甲酸酯添加 77 μ L (1.50 mmol)溴，並在室溫下攪拌所得溶劑。在 0.25 小時後，LCMS 指示該反應已完成。將該反應濃縮以在旋轉蒸發器上乾燥，及隨後用 EtOAc 稀釋。隨後用水性 Na_2CO_3 洗滌此混合物，以 $MgSO_4$ 乾燥，及再次在旋轉蒸發器上濃縮。在 ISCO 上對粗混合物提純，用 20-100% EtOAc/hex 溶離，以獲得 241 mg (68%)所欲產物。LRMS (ESI) m/z 355 $[(M+H)]^+$, (357 處偶極)， $C_{14}H_{19}BrN_4O_2$ 的分析計算值：354。

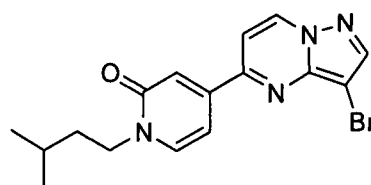
【0137】 D 部分. 異丙基(3-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)丙基)(甲基)胺基甲酸酯



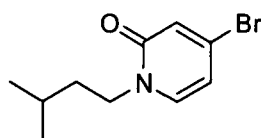
【0138】 向可微波小瓶中的 100 mg (0.28 mmol)異丙基(3-(3-溴基吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)丙基)(甲基)胺基甲酸酯添加 86 mg (0.563 mmol)之(2-甲氧基吡啶-3-基)硼酸，然後添加 178 mg (0.84 mmol) K_3PO_4 、32 mg (0.03 mmol) $Pd(PPh_3)_4$ 、3 mL MeCN 及 1.5 mL 水。隨後在 140°C 下將此混合物微波 0.5 小時。隨後將混合物用 EtOAc 稀釋，用鹽水洗滌，以 $MgSO_4$ 乾

燥，濃縮及在製備型 HPLC 上提純，以獲得所欲產物。¹H NMR (400 MHz, 氘仿-d) δ ppm 1.24 (br. s., 6 H) 2.12 (quin, J=7.14 Hz, 2 H) 2.92 (t, J=7.45 Hz, 5 H) 3.43 (t, J=6.82 Hz, 2 H) 4.12 (s, 3 H) 4.86 - 5.00 (m, 1 H) 6.76 (br. s., 1 H) 7.04 (dd, J=7.45, 4.93 Hz, 1 H) 8.10 (dd, J=4.93, 1.89 Hz, 1 H) 8.60 (d, J=7.07 Hz, 1 H) 8.79 (s, 1 H) 8.88 (d, J=7.07 Hz, 1 H). LRMS (ESI) m/z 384 [(M+H)]⁺, C₂₀H₂₅N₅O₃ 的分析計算值：383。

【0139】 5.6.7. 4-(3-溴基吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-異戊基吡啶-2(1H)-酮之合成

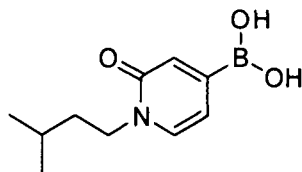


【0140】 A 部分. 4-溴基-1-異戊基吡啶-2(1H)-酮



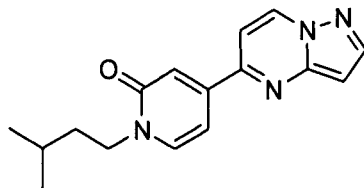
【0141】 在氮下於乾燥 DMF 中溶解 4-溴基-2-羥基吡啶(600 mg, 3.4 mmol)。添加油中的氫化鈉(165 mg, 4.1 mmol)，並攪拌 30 分鐘。添加溴化鋰，並攪拌 1 小時。添加 1-溴基-3-甲基丁烷(870 μ L, 6.8 mmol)，並攪拌隔夜。在真空中將反應縮減體積及溶解於 DCM 中。用水、1N NaOH 洗滌此混合物，隨後以硫酸鎂乾燥，過濾及在真空中縮減體積，以獲得下一步驟使用之 840 mg 粗產物。LRMS (ESI) m/z 245 [(M+H)]⁺, C₁₀H₁₄BrNO 的分析計算值：244.13。

【0142】 B 部分. (1-異戊基-2-氧基-1,2-二氫吡啶-4-基)硼酸



【0143】 在氮下於 10 mL 乾燥 DMF 中溶解 4-溴基-1-異戊基吡啶-2(1H)-酮(840 mg, 3.4 mmol)。添加雙(頻哪醇合)二硼烷(1.3 g, 5.1 mmol)、乙酸鉀(1.01 g, 10.2 mmol)及 Pd(dppf)Cl₂ 二氯甲烷(281 mg, 0.34 mmol)，將反應加熱至 85°C，並攪拌隔夜。將反應冷卻至室溫及經由具有 DCM 的矽藻土過濾。在真空中將反應縮減體積，在 1N NaOH 中溶解，及用 DCM 洗滌。隨後用 1N HCl 使水性層變成酸性及用 DCM 萃取。以硫酸鎂乾燥 DCM 層，過濾及在真空中縮減體積，以產出 600 mg 粗產物供下一步驟中使用。 LRMS (ESI) m/z 210 [(M+H)]⁺，C₁₀H₁₆BNO₃ 的分析計算值：209.05。

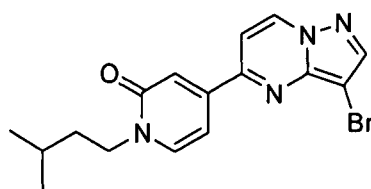
【0144】 C 部分. 1-異戊基-4-(吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-2(1H)-酮



【0145】 在 20 mL 乙腈及 10 mL 水中溶解 6-氯基-咪唑并[1,2-b]嗒嗪(400 mg, 2.6 mmol)。添加(1-異戊基-2-氧基-1,2-二氫吡啶-4-基)硼酸 (654 mg, 3.1 mmol)、碳酸鉀(721 mg, 5.2 mmol)及 Pd(dppf)Cl₂ 二氯甲烷(197 mg, 0.26 mmol)，並在 85 °C 下將反應混合物攪拌 2 小時。將反應冷卻至室溫，經由具有 DCM 的矽藻土塞過濾，及在真空中縮減體積。隨後，使殘餘物通過使用 DCM 的矽石塞，在真空中乾燥，以獲得 646 mg

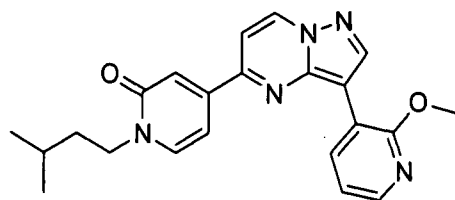
粗產物供繼續下一步驟使用。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆)
 δ 9.19-9.26 (m, 1H), 8.30 (d, J=2.27 Hz, 1H), 7.85 (d, J=7.07 Hz, 1H), 7.67 (d, J=7.58 Hz, 1H), 7.20 (d, J=2.02 Hz, 1H), 7.01 (dd, J=2.02, 7.07 Hz, 1H), 6.85 (dd, J=0.63, 2.40 Hz, 1H), 3.91 - 3.99 (m, 2H), 1.48-1.65 (m, 3H), 0.94 (d, J=6.32 Hz, 6H)
 LRMS (ESI) m/z 283 [(M+H)]⁺, C₁₆H₁₈N₄O 的分析計算值：282.35。

【0146】 D 部分. 4-(3-溴基吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-異戊基吡啶-2(1H)-酮



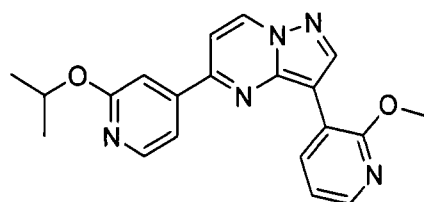
【0147】 在乙腈中溶解 1-異戊基-4-(吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-2(1H)-酮(646 mg, 2.3 mmol)。添加 N-溴基琥珀醯亞胺(400 mg, 2.3 mmol)，並將反應攪拌 4 小時。隨後在真空中脫去反應及在乙酸乙酯中溶解，並用水、1N NaOH、鹽水及水洗滌該反應。將有機層以硫酸鎂乾燥，過濾及在真空中縮減體積，以獲得進一步反應中使用之 653 mg 粗產物。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.28 (d, J=7.33 Hz, 1H), 8.46 (s, 1H), 7.88 (d, J=7.33 Hz, 1H), 7.77 (d, J=7.58 Hz, 1H), 7.25 (d, J=2.02 Hz, 1H), 7.03 (dd, J=1.89, 7.20 Hz, 1H), 3.93 - 3.99 (m, 2H), 1.53 - 1.63 (m, 3H), 0.94 (d, J=6.32 Hz, 6H). LRMS (ESI) m/z 361/363 [(M+H)]⁺, C₁₆H₁₇BrN₄O 的分析計算值：361.24。

【0148】 5.6.8. 1-異戊基-4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-2(1H)-酮之合成

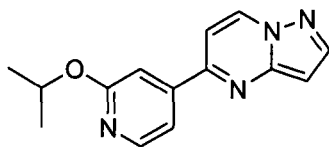


【0149】 在密封管中的 2 mL 二噁烷及 1 mL 水中溶解 4-(3-溴基吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-異戊基吡啶-2(1H)-酮(150 mg, 0.41 mmol)、2-甲氧基吡啶-3-硼酸(127 mg, 0.82 mmol)、碳酸鉀(172 mg, 1.23 mmol)、Pd(OAc)₂ (2 mg, 0.0082 mmol)及 x-Phos (8 mg, 0.0164 mmol)，並在 85℃ 下加熱 2 小時。隨後將反應冷卻至室溫，經由具有乙腈及 DCM 的矽藻土塞過濾，在真空中縮減體積。在島津中性相製備物上提純，經凍乾以獲得 56 mg 產物。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.31 (d, J=7.58 Hz, 1H), 8.88 (dd, J=1.77, 7.58 Hz, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.13 (dd, J=1.77, 4.80 Hz, 1H), 7.89 (d, J=7.07 Hz, 1H), 7.78 (d, J=7.33 Hz, 1H), 7.27 (d, J=1.77 Hz, 1H), 7.20 (dd, J=4.80, 7.58 Hz, 1H), 7.07 (dd, J=2.02, 7.07 Hz, 1H), 4.04 (s, 3H), 3.97 (t, J=7.20 Hz, 2H), 1.58 (t, J=6.44 Hz, 3H), 0.95 (d, J=6.32 Hz, 6H). LRMS (ESI) m/z 390 [(M+H)]⁺, C₂₂H₂₃N₅O₂ 的分析計算值：389.46。

【0150】 5.6.9. 5-(2-異丙氧基吡啶-4-基)-3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶之合成

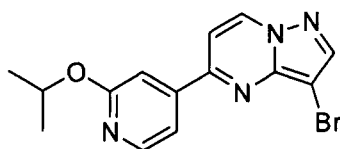


【0151】 A 部分. 5-(2-異丙氧基吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶



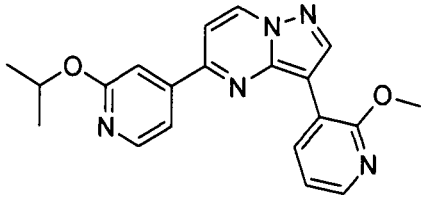
【0152】 在 3 ml 乙腈及 1.5 ml 水中溶解 5-氨基吡啶并[1,5-a]嘧啶(500 mg, 3.25 mmol)。添加 2-異丙氧基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊烷-2-基)吡啶(1g, 3.9 mmol)、碳酸鉀(902 mg, 6.5 mmol)及 Pd(dppf)Cl₂:DCM (267 mg, 0.325 mmol), 並在 120 °C 下於密封管中用微波攪拌該反應 12 分鐘。將反應冷卻, 經由矽藻土過濾, 經由乙酸乙酯洗滌, 及在真空中縮減體積。在 1:1 乙酸乙酯:己烷中溶解反應及經由矽藻土塞過濾。收集濾液, 在真空中乾燥, 以獲得在下一步驟中使用之 740 mg 粗產物。LRMS (ESI) m/z 255 [(M+H)]⁺, C₁₄H₁₄N₄O 的分析計算值: 254.2。

【0153】 B 部分. 3-溴基-5-(2-異丙氧基吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶



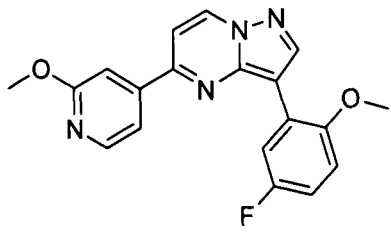
【0154】 在乙腈中溶解 5-(2-異丙氧基吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶(740 mg, 2.9 mmol)及添加 N-溴基琥珀醯亞胺(570 mg, 3.19 mmol), 並在室溫下攪拌 4 小時。在真空中將反應脫去, 隨後溶解於乙酸乙酯中, 並用鹽水、1N NaOH 及水洗滌, 以硫酸鎂乾燥, 過濾, 在真空中縮減體積, 以獲得在下一步驟中使用之 970 mg 粗產物。LRMS (ESI) m/z 334 [(M+H)]⁺, C₁₄H₁₃BrN₄O 的分析計算值: 333.2。

【0155】 C 部分. 5-(2-異丙氧基吡啶-4-基)-3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶



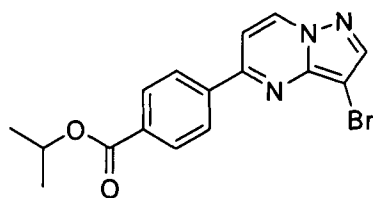
【0156】 使用上文在實例 5.6.8 中所描述之鈴木耦合程序製備標題化合物。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) 9.34 (d, $J=7.33$ Hz, 1H), 8.91 (dd, $J=1.89$, 7.45 Hz, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.34-8.41 (m, 1H), 8.13 (dd, $J=1.89$, 4.93 Hz, 1H), 7.85 (d, $J=7.33$ Hz, 1H), 7.80 (dd, $J=1.52$, 5.31 Hz, 1H), 7.56 (d, $J=0.76$ Hz, 1H), 7.23 (dd, $J=4.93$, 7.45 Hz, 1H), 5.35 (t, $J=6.19$ Hz, 1H), 4.04 (s, 3H), 1.36 (d, $J=6.06$ Hz, 6H). LRMS (ESI) m/z 362 $[(M+H)]^+$, $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_2$ 的分析計算值：361.4。

【0157】 5.6.10. 3-(5-氟基-2-甲氧基苯基)-5-(2-甲氧基吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶之合成

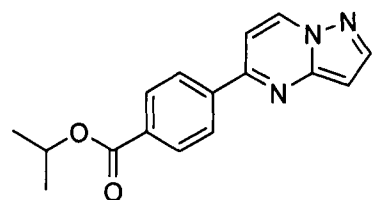


【0158】 如實例 5.6.9 所描述的製備標題化合物。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3.93 (s, 3 H) 3.95 (s, 3 H) 7.09 - 7.18 (m, 2 H) 7.63 (s, 1 H) 7.79 - 7.86 (m, 2 H) 8.37 - 8.42 (m, 2 H) 8.84 (s, 1 H) 9.34 (d, $J=7.33$ Hz, 1 H). LRMS (ESI) m/z 351.1 $[(M+H)]^+$, $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{FN}_4\text{O}_2$ 的分析計算值：350.35。

【0159】 5.6.11. 異丙基 4-(3-溴基吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)苯甲酸酯之合成

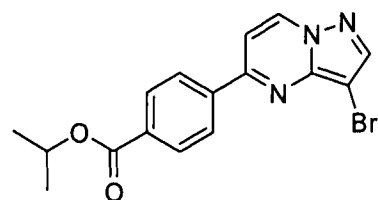


【0160】 A 部分. 異丙基 4-(吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)苯甲酸酯



【0161】 使用三乙胺作為基質實施實例 5.6.8 中所描述之鈴木耦合程序，以獲得所欲產物，產出率為 99%。 ^1H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 1.42 (d, $J=6.32$ Hz, 6 H) 5.31 (dt, $J=12.44$, 6.28 Hz, 1 H) 6.79 (d, $J=2.02$ Hz, 1 H) 7.33 (d, $J=7.33$ Hz, 1 H) 8.14-8.23 (m, 5 H) 8.77 (dd, $J=7.33$, 0.51 Hz, 1 H).

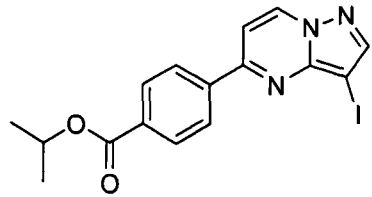
【0162】 B 部分. 異丙基 4-(3-溴基吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)苯甲酸酯



【0163】 使用上文在實例 5.6.6 中的 C 部分所描述之溴化程序以獲得標題化合物。 ^1H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 1.43 (d, $J=6.32$ Hz, 7 H) 5.32 (quin, $J=6.25$ Hz, 1 H) 7.38 (d, $J=7.33$ Hz, 1 H) 8.16 - 8.27 (m, 5 H) 8.72 (d, $J=7.33$ Hz, 1 H). LRMS (ESI) m/z 360 ($\text{M}+\text{H}^+$), (362 處偶極), $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{BrN}_3\text{O}_2$ 的分析計算值：359。

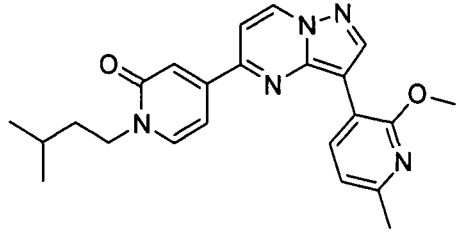
【0164】 5.6.12. 異丙基 4-(3-碘基吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)

苯甲酸酯之合成



【0165】 向溶解於 3 mL DMF 中的 100 mg (0.356 mmol) 異丙基 4-(咪唑并[1,2-b]嗒嗪-6-基)苯甲酸酯添加 88 mg (0.391 mmol) NIS。在室溫下攪拌所得混合物隔夜。將混合物用 EtOAc 稀釋、用水及隨後用鹽水洗滌兩次，以 MgSO_4 乾燥，濃縮及在用 10-80% EtOAc/己烷溶離之 ISCO 上的 12 公克柱體上提純，以獲得 131 mg 所欲產物(產出率為 90%)。 ^1H NMR (400 MHz, 氯仿- d) δ ppm 1.43 (d, $J=6.32$ Hz, 6 H) 5.31 (quin, $J=6.25$ Hz, 1 H) 7.38 (d, $J=7.58$ Hz, 1 H) 8.15 - 8.33 (m, 5 H) 8.73 (d, $J=7.33$ Hz, 1 H). LRMS (ESI) m/z 408 $[(M+H)]^+$, $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{IN}_3\text{O}_2$ 的分析計算值：407。

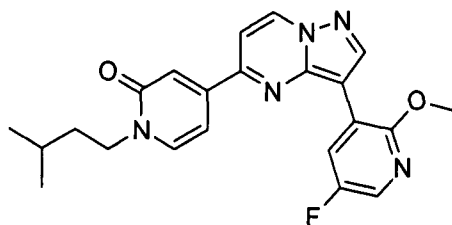
【0166】 5.6.13. 1-異戊基-4-(3-(2-甲氧基-6-甲基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-2(1H)-酮之合成



【0167】 如實例 5.6.8 所描述的製備標題化合物。 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.28 (d, $J=7.58$ Hz, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.73 (d, $J=7.58$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J=7.33$ Hz, 1H), 7.75 (d, $J=7.33$ Hz, 1H), 7.25 (d, $J=2.02$ Hz, 1H), 6.99 - 7.08 (m, 2H), 4.02 (s, 3H), 3.97 (t, $J=7.20$ Hz, 2H), 2.46 (s, 3H), 1.58 (t,

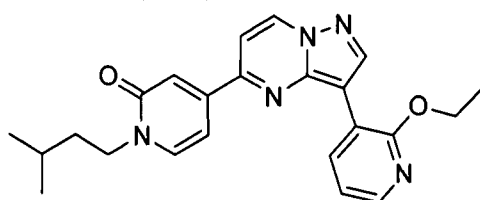
$J=6.57$ Hz, 3H), 0.94 (d, $J=6.06$ Hz, 6H) LRMS (ESI) m/z 404 $[(M+H)]^+$, $C_{23}H_{25}N_5O_2$ 的分析計算值: 403.5。

【0168】 5.6.14. 4-(3-(5-氟基-2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-異戊基吡啶-2(1H)-酮之合成



【0169】 如實例 5.6.8 所描述的製備標題化合物。 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.36 (d, $J=7.33$ Hz, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.85 (dd, $J=3.03, 10.11$ Hz, 1H), 8.11 (d, $J=2.78$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J=7.07$ Hz, 1H), 7.83 (d, $J=7.33$ Hz, 1H), 7.28 (d, $J=1.77$ Hz, 1H), 7.04 (dd, $J=2.15, 7.20$ Hz, 1H), 4.05 (s, 3H), 3.89 - 4.02 (m, 2H), 1.58 (t, $J=6.06$ Hz, 3H), 0.95 (d, $J=6.06$ Hz, 6H) LRMS (ESI) m/z 408 $[(M+H)]^+$, $C_{22}H_{22}FN_5O_2$ 的分析計算值: 407.4。

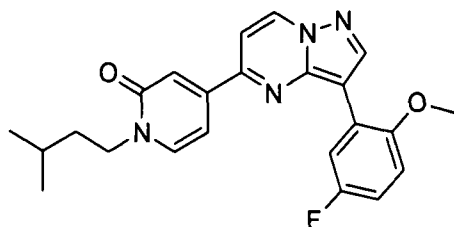
【0170】 5.6.15. 4-(3-(2-乙氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-異戊基吡啶-2(1H)-酮之合成



【0171】 如實例 5.6.8 所描述的製備標題化合物。 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.31 (d, $J=7.58$ Hz, 1H), 8.83 - 8.88 (m, 2H), 8.11 (dd, $J=1.89, 4.93$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J=7.07$ Hz, 1H), 7.78 (d, $J=7.33$ Hz, 1H), 7.27 (d, $J=2.02$ Hz, 1H), 7.16-7.20 (m, 1H), 7.07 (dd, $J=2.02, 7.07$ Hz, 1H), 4.49 (q, $J=7.07$ Hz, 2H), 3.97 (t, $J=7.20$ Hz, 2H), 3.29 (br. s., 1H), 1.58 (t, $J=6.32$ Hz,

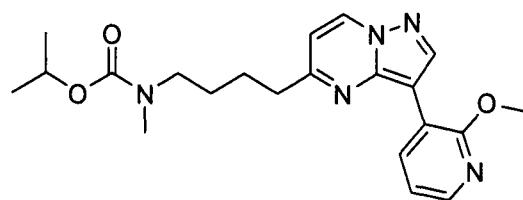
3H), 1.45 (t, J=7.07 Hz, 3H), 0.94 (d, J=6.06 Hz, 6H) LRMS (ESI) m/z 403 [(M+H)]⁺, C₂₃H₂₅N₅O₂ 的分析計算值: 403.49。

【0172】 5.6.16. 4-(3-(5-氟基-2-甲氧基苯基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-異戊基吡啶-2(1H)-酮之合成

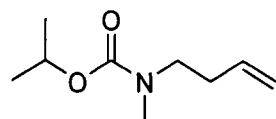


【0173】 如實例 5.6.8 所描述的製備標題化合物。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.25-9.35 (m, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.31-8.42 (m, 1H), 7.89-7.98 (m, 1H), 7.72 - 7.81 (m, 1H), 7.23 - 7.31 (m, 1H), 7.08 - 7.21 (m, 2H), 6.94 - 7.06 (m, 1H), 3.94 - 4.01 (m, 2H), 3.93 (s, 3H), 1.48 - 1.63 (m, 3H), 0.94 (d, J=6.32 Hz, 6H) (ESI) m/z 407 [(M+H)]⁺, C₂₃H₂₃FN₄O₂ 的分析計算值: 406.4。

【0174】 5.6.17. 異丙基(4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-基)丁基)(甲基)胺基甲酸酯之合成

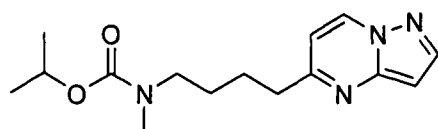


【0175】 A 部分. 異丙基丁-3-烯-1-基(甲基)胺基甲酸酯



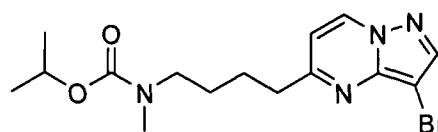
【0176】 從 N-甲基丁-3-烯-1-胺開始，遵循異丙基烯丙基(甲基)胺基甲酸酯之合成程序（實例 5.6.6 中的 A 部分）以獲得標題化合物。

【0177】 B 部分. 異丙基甲基(4-(吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-基)丁基)胺基甲酸酯



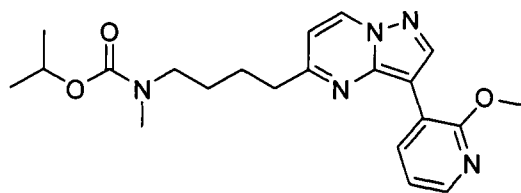
【0178】 遵循實例 5.6.6 中的 B 部分所描述之程序以獲得標題化合物。 ^1H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 1.24 (d, $J=5.81$ Hz, 6 H) 1.57 - 1.67 (m, 2 H) 1.78 - 1.86 (m, 2 H) 2.88 (t, $J=7.58$ Hz, 5 H) 3.32 (br. s., 2 H) 4.92 (dt, $J=12.38, 6.19$ Hz, 1 H) 6.59 (d, $J=1.52$ Hz, 1 H) 6.70 (d, $J=7.07$ Hz, 1 H) 8.09 (d, $J=2.27$ Hz, 1 H) 8.58 (d, $J=7.07$ Hz, 1 H). LRMS (ESI) m/z 291 $[(M+H)]^+$, $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_2$ 的分析計算值: 290。

【0179】 C 部分. 異丙基(4-(3-溴基吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-基)丁基)(甲基)胺基甲酸酯



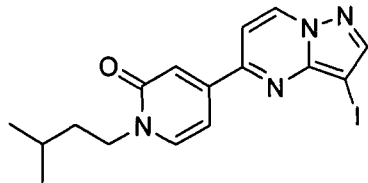
【0180】 遵循實例 5.6.6 中的 C 部分所描述之溴化程序以獲得標題化合物。 ^1H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 1.25 (d, $J=6.06$ Hz, 6 H) 1.63 - 1.68 (m, 2 H) 1.77 - 1.85 (m, 2 H) 2.92 (dd, $J=15.66, 7.83$ Hz, 5 H) 3.33 (br. s., 2 H) 4.92 (dt, $J=12.19, 5.91$ Hz, 1 H) 6.70 - 6.82 (m, 1 H) 8.07 (s, 1 H) 8.52 (d, $J=7.07$ Hz, 1 H). LRMS (ESI) m/z 369 $[(M+H)]^+$, (371 處偶極), $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{BrN}_4\text{O}_2$ 的分析計算值: 368。

【0181】 D 部分. 異丙基(4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-基)丁基)(甲基)胺基甲酸酯



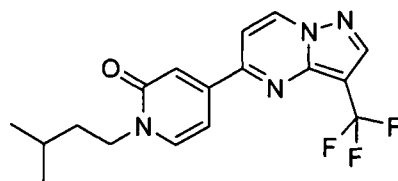
【0182】 使用實例 5.6.6 中的 D 部分所描述之鈴木程序以獲得標題化合物。 ¹H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 1.20 - 1.30 (m, 6 H) 1.63 - 1.74 (m, 2 H) 1.81 - 1.91 (m, 2 H) 2.84 - 2.99 (m, 5 H) 3.35 (br. s., 2 H) 4.12 (s, 3 H) 4.92 (dt, J=12.44, 6.28 Hz, 1 H) 6.75 (d, J=7.07 Hz, 1 H) 7.05 (dd, J=7.58, 4.80 Hz, 1 H) 8.10 (dd, J=4.93, 1.89 Hz, 1 H) 8.60 (d, J=7.07 Hz, 1 H) 8.79 (s, 1 H) 8.89 (d, J=7.33 Hz, 1 H). LRMS (ESI) m/z 398 [(M+H)]⁺, C₂₁H₂₇N₅O₃ 的分析計算值：397。

【0183】 5.6.18. 4-(3-碘基吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-異戊基吡啶-2(1H)-酮之合成



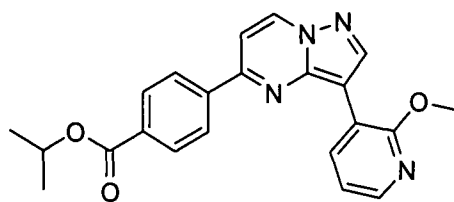
【0184】 遵循實例 5.6.12 中所描述之碘化程序以產生標題化合物，產出率為 87%。 ¹H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 1.02 (d, J=6.32 Hz, 6 H) 1.66 - 1.74 (m, 3 H) 4.00 - 4.07 (m, 2 H) 7.14 - 7.21 (m, 2 H) 7.26 (s, 1 H) 7.43 (d, J=7.07 Hz, 1 H) 8.21 (s, 1 H) 8.73 (d, J=7.33 Hz, 1 H). LRMS (ESI) m/z 409 [(M+H)]⁺, C₁₆H₁₇IN₄O 的分析計算值：408。

【0185】 5.6.19. 1-異戊基-4-(3-(三氟甲基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-2(1H)-酮之合成



【0186】 向溶解於 5 mL DMF 中的 123 mg (0.301 mmol) 4-(3-碘基吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-異戊基吡啶-2(1H)-酮添加 94 mg (0.301 mmol) 三氟甲基(1,10-啡啉)銅，CAS# 1300746-79-5。將此混合物加熱至 40℃，並攪拌兩天。隨後將混合物用 EtOAc 稀釋，用鹽水洗滌，以 MgSO₄ 乾燥，濃縮及在製備型 HPLC 上提純，以獲得標題化合物，產出率為 18%。¹H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 1.02 (d, J=6.32 Hz, 6 H) 1.65 - 1.75 (m, 3 H) 4.00 - 4.07 (m, 2 H) 7.14 (dd, J=7.07, 2.02 Hz, 1 H) 7.20 (d, J=2.02 Hz, 1 H) 7.44 (dd, J=7.20, 3.41 Hz, 2 H) 8.38 (s, 1 H) 8.82 (d, J=7.33 Hz, 1 H). LRMS (ESI) m/z 351 [(M+H)]⁺, C₁₇H₁₇F₃N₄O 的分析計算值：350。

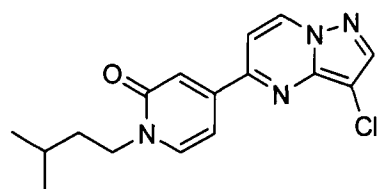
【0187】 5.6.20. 異丙基 4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)苯甲酸酯之合成



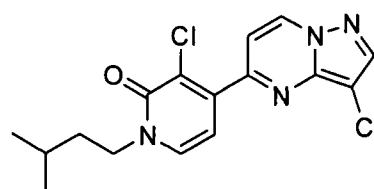
【0188】 遵循實例 5.6.6 中的 D 部分所描述之鈴木程序以獲得標題化合物。¹H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 1.41 - 1.46 (m, 6 H) 4.14 (s, 3 H) 5.26 - 5.39 (m, 1 H) 7.10 (dd, J=7.45, 4.93 Hz, 1 H) 7.38 (d, J=7.33 Hz, 1 H) 8.14 (dd, J=4.80, 1.77 Hz, 1 H) 8.20 - 8.26 (m, 4 H) 8.78 (d, J=7.33 Hz, 1 H) 8.87 (s, 1 H) 8.99 (dd, J=7.45, 1.89 Hz, 1 H). LRMS (ESI) m/z 389

$[(M+H)]^+$, $C_{22}H_{20}N_4O_3$ 的分析計算值：388。

【0189】 5.6.21. 4-(3-氯基吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-異戊基吡啶-2(1H)-酮與 3-氯基-4-(3-氯基吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-異戊基吡啶-2(1H)-酮之合成



A



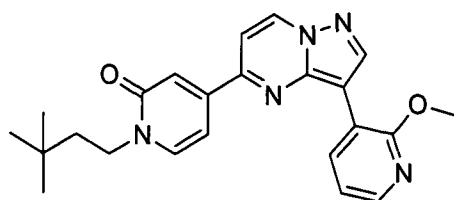
B

【0190】 在乙腈中溶解 1-(3-甲基-丁基)-4-吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-基-1H-吡啶-2-酮(940 mg, 3.33 mmol)。添加 N-氯基琥珀醯亞胺(445 mg, 6.6 mmol)，並在 40°C 下攪拌該反應隔夜。隨後在真空中將反應混合物脫去及在島津中性製備物上提純以在凍乾後獲得兩種產物。

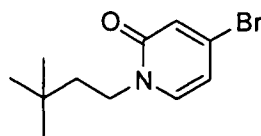
【0191】 A. 獲得 19 mg。 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.26 (d, $J=7.58$ Hz, 1H), 8.46 (s, 1H), 7.88 (d, $J=7.33$ Hz, 1H), 7.77 (d, $J=7.58$ Hz, 1H), 7.25 (d, $J=1.77$ Hz, 1H), 7.03 (dd, $J=2.15$, 7.20 Hz, 1H), 3.91 - 3.99 (m, 2H), 1.53 - 1.63 (m, 3H), 0.91 - 0.96 (m, 6H). LRMS (ESI) m/z 317 $[(M+H)]^+$, $C_{16}H_{17}ClN_4O$ 的分析計算值：316.7。

【0192】 B. 獲得 112 mg。 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.23 - 9.31 (m, 1H), 8.47 - 8.51 (m, 1H), 7.90 (d, $J=7.07$ Hz, 1H), 7.42 (d, $J=7.33$ Hz, 1H), 6.53 (d, $J=6.82$ Hz, 1H), 3.95 - 4.07 (m, 2H), 1.55 - 1.65 (m, 3H), 0.91 - 0.98 (m, 6H). LRMS (ESI) m/z 351 $[(M+H)]^+$, $C_{16}H_{16}Cl_2N_4O$ 的分析計算值：351.2。

【0193】 5.6.22. 1-(3,3-二甲基丁基)-4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-2(1H)-酮之合成

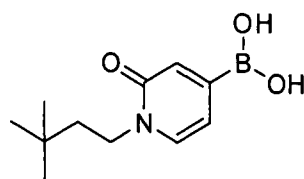


【0194】 A 部分. 4-溴基-1-(3,3-二甲基丁基)吡啶-2(1H)-酮



【0195】 在氮下於乾燥 DMF 中溶解 4-溴基-2-羥基吡啶(600 mg, 3.4 mmol)。添加油中的氫化鈉(165 mg, 4.1 mmol)，並攪拌 30 分鐘。添加溴化鋰，並攪拌 1 小時。添加 1-溴基-3-甲基丁烷(870 μ L, 6.8 mmol)，並將所得混合物攪拌 3 天。在真空中將反應混合物縮減體積及溶解於 DCM 中。用水、1N NaOH 洗滌此混合物，隨後以硫酸鎂乾燥，過濾及在真空中縮減體積，以獲得下一步驟使用之 860 mg 粗產物。LRMS (ESI) m/z 258/260 $[(M+H)]^+$ ， $C_{11}H_{16}BrNO$ 的分析計算值：258.16。

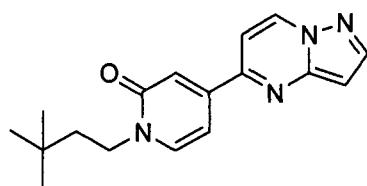
【0196】 B 部分. (1-(3,3-二甲基丁基)-2-氧基-1,2-二氫吡啶-4-基)b 硼酸



【0197】 在氮下於 10 mL 乾燥 DMF 中溶解 4-溴基-1-(3,3-二甲基丁基)吡啶-2(1H)-酮(860 mg, 3.3 mmol)。添加雙(頻哪醇合)二硼烷(1.26 g, 5 mmol)、乙酸鉀(985 mg, 10 mmol)及 $Pd(dppf)Cl_2$ 二氯甲烷(272 mg, 0.33 mmol)，將反應加熱至 85

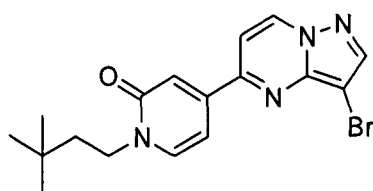
℃，並攪拌隔夜。將反應冷卻至室溫及經由具有 DCM 的矽藻土過濾。在真空中將反應縮減體積，在 1N NaOH 中溶解，及用 DCM 洗滌。隨後用 1N HCl 使水性層變成酸性及用 DCM 萃取。以硫酸鎂乾燥 DCM 層，過濾及在真空中縮減體積，以產出 740 mg 粗產物供進一步反應中使用。 LRMS (ESI) m/z 224 $[(M+H)]^+$ ， $C_{11}H_{18}BNO_3$ 的分析計算值：223.08。

【0198】 C 部分. 1-(3,3-二甲基丁基)-4-(吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-2(1H)-酮



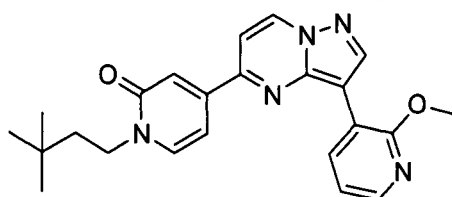
【0199】 在 20 mL 乙腈及 10 mL 水中溶解 6-氯基-咪唑并[1,2-b]嘧嗪(420mg, 2.74 mmol)。添加(1-(3,3-二甲基丁基)-2-氧基-1,2-二氫吡啶-4-基)硼酸(740 mg, 3.3 mmol)、碳酸鉀(755 mg, 5.48 mmol)及 $Pd(dppf)Cl_2$ 二氯甲烷(224 mg, 0.274 mmol)，並在 85℃ 下將反應攪拌 2 小時。將反應冷卻至室溫，經由具有 DCM 的矽藻土塞過濾，及在真空中縮減體積。使殘餘物通過使用 DCM 的矽石塞，在真空中乾燥，以獲得 438 mg 粗產物供繼續下一步驟使用。 LRMS (ESI) m/z 297 $[(M+H)]^+$ ， $C_{17}H_{20}N_4O$ 的分析計算值：296.38。

【0200】 D 部分. 4-(3-溴基吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-(3,3-二甲基丁基)吡啶-2(1H)-酮



【0201】 在乙腈中溶解 1-(3,3-二甲基丁基)-4-(吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-2(1H)-酮(438 mg, 1.48 mmol)。添加 N-溴基琥珀醯亞胺(263 mg, 1.48 mmol)，並將反應攪拌 4 小時。隨後在真空中脫去反應混合物及在乙酸乙酯中溶解，並用水、1N NaOH、鹽水及水洗滌該反應混合物。將有機層以硫酸鎂乾燥，過濾及在真空中縮減體積，以獲得進一步反應中使用之 522 mg 粗產物。LRMS (ESI) m/z 375/377 $[(M+H)]^+$ ， $C_{17}H_{19}BrN_4O$ 的分析計算值：375.27。

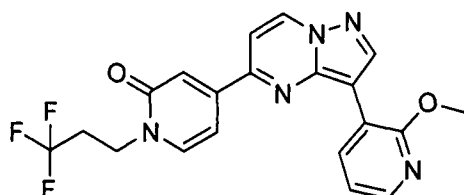
【0202】 部分 E. 1-(3,3-二甲基丁基)-4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-2(1H)-酮



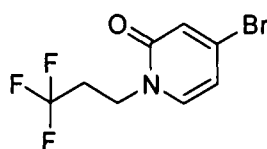
【0203】 在密封管中的 2 mL 二噁烷及 1 mL 水中溶解 4-(3-溴基-吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-(3-甲基-丁基)-1H-吡啶-2-酮(150 mg, 0.4 mmol)、2-甲氧基吡啶-3-硼酸(122 mg, 0.8 mmol)、碳酸鉀(165 mg, 1.2 mmol)、 $Pd(OAc)_2$ (2 mg, 0.08 mmol) 及 x-Phos (8 mg, 0.16 mmol)，並在 85°C 下加熱 2 小時。隨後將反應冷卻至室溫，經由具有乙腈及 DCM 的矽藻土塞過濾，在真空中縮減體積。在島津中性相製備物上提純，經凍乾以獲得 26 mg 產物。 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 9.31 (d, $J=7.33$ Hz, 1H), 8.83 (s, 2H), 8.11 - 8.15 (m, 1H), 7.91 (d, $J=7.07$ Hz, 1H), 7.78 (d, $J=7.33$ Hz, 1H), 7.25 (d, $J=2.02$ Hz, 1H), 7.16 - 7.22 (m, 1H), 7.04 - 7.09 (m, 1H), 4.04 (s, 5H), 1.50

- 1.60 (m, 2H), 0.98 (s, 9H). LRMS (ESI) m/z 404 [(M+H)]⁺, C₂₃H₂₅N₅O₂ 的分析計算值：403.49。

【0204】 5.6.23. 4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-(3,3,3-三氟丙基)吡啶-2(1H)-酮之合成

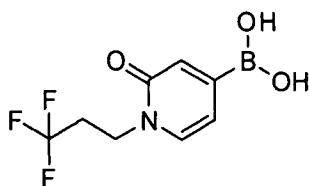


【0205】 A 部分. 4-溴基-1-(3,3,3-三氟丙基)吡啶-2(1H)-酮



【0206】 在密封管中的 THF 中溶解 4-溴基-2-羥基吡啶(400 mg, 2.3 mmol)、1-碘基-3,3,3-三氟丙烷(3 g, 13.8 mmol)及碳酸鉀(3.17 g, 23 mmol)，並在 80℃ 下攪拌隔夜。將反應在真空中縮減體積，並在具有己烷及乙酸乙酯 5-100%的 ISCO 矽石柱上提純。在真空中將產物片段縮減體積以獲得 445 mg 產物。LRMS (ESI) m/z 270/272 [(M+H)]⁺, C₈H₇BrF₃NO 的分析計算值：270.05。

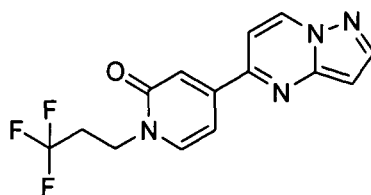
【0207】 B 部分. (2-氧基-1-(3,3,3-三氟丙基)-1,2-二氫吡啶-4-yl)硼酸



【0208】 在氮下於二噁烷中溶解 4-溴基-1-(3,3,3-三氟丙基)吡啶-2(1H)-酮(445 mg, 1.65 mmol)。添加雙(頻哪醇合)二硼烷(627 mg, 2.48 mmol)、乙酸鉀(242 mg, 2.48 mmol)、Pd₂(dba)₃

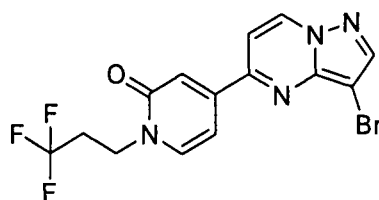
(10 mg, 0.0165 mmol)及三苯基膦(9 mg, 0.033 mmol)，並將反應混合物加熱至 85°C 及攪拌 4 小時。將反應混合物冷卻至室溫及經由具有 DCM 的矽藻土過濾。在真空中將此縮減體積以產出 500 mg 粗產物，供進一步反應中使用。 LRMS (ESI) m/z 235 [(M+H)]⁺，C₈H₉BF₃NO₃ 的分析計算值：234.97。

【0209】 C 部分. 4-(吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-(3,3,3-三氟丙基)吡啶-2(1H)-酮



【0210】 在 20 mL 乙腈及 10 mL 水中溶解 6-氨基-咪唑并[1,2-b]嗒嗪(243 mg, 0.766 mmol)。添加(2-氧基-1-(3,3,3-三氟丙基)-1,2-二氫吡啶-4-基)硼酸(500 mg, 0.766 mmol)、碳酸鉀(653 mg, 2.3 mmol)及 Pd(dppf)Cl₂ 二氯甲烷(13 mg, 0.00766 mmol)，並在 85°C 下將反應攪拌 2 小時。將反應冷卻至室溫，經由具有 DCM 的矽藻土塞過濾，及在真空中縮減體積，以獲得 260 mg 粗產物供繼續下一步驟使用。 LRMS (ESI) m/z 309[(M+H)]⁺，C₁₄H₁₁F₃N₄O 的分析計算值：308.27。

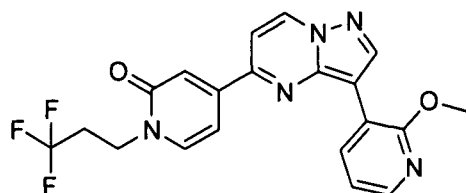
【0211】 D 部分. 4-(3-溴基吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-(3,3,3-三氟丙基)吡啶-2(1H)-酮



【0212】 在乙腈中溶解 4-(吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-(3,3,3-三氟丙基)吡啶-2(1H)-酮(260 mg, 0.84 mmol)。添加 N-溴基琥

珀醯亞胺 (151 mg, 0.84 mmol)，並將反應攪拌 4 小時。隨後在真空中脫去反應及在乙酸乙酯中溶解，並用水、1N NaOH、鹽水及水洗滌該反應。將有機層以硫酸鎂乾燥，過濾及在真空中縮減體積，在具有己烷：乙酸乙酯 5-100% 的 Isco 矽石柱上提純，在真空中將產物片段縮減體積以獲得在進一步反應中使用之 70 mg 產物。LRMS (ESI) m/z 387/389 $[(M+H)]^+$ ， $C_{14}H_{10}BrF_3N_4O$ 的分析計算值：387.1。

【0213】 部分 E. 4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-(3,3,3-三氟丙基)吡啶-2(1H)-酮

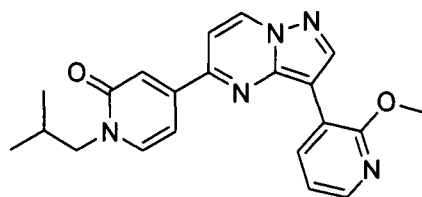


【0214】 在密封管中的 4 mL 二噁烷及 1 mL 水中溶解 4-(3-溴基吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-(3,3,3-三氟丙基)吡啶-2(1H)-酮 (70 mg, 0.18 mmol)、2-甲氧基吡啶-3-硼酸 (55 mg, 0.36 mmol)、三乙胺 (151 μ L, 1.08 mmol) 及 Pd132 (4 mg, 0.0054 mmol)，並在 85°C 下加熱 2 小時。隨後將反應冷卻至室溫，經由具有乙腈及 DCM 的矽藻土塞過濾，在真空中縮減體積。用乙腈使產物再結晶，且該反應物經乾燥獲得 47 mg 產物。

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ d 9.34 (d, $J=7.33$ Hz, 1H), 8.88 (dd, $J=1.89, 7.45$ Hz, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.13 (dd, $J=1.89, 4.93$ Hz, 1H), 7.93 (d, $J=7.07$ Hz, 1H), 7.81 (d, $J=7.33$ Hz, 1H), 7.33 (d, $J=1.77$ Hz, 1H), 7.21 (dd, $J=4.80, 7.58$ Hz, 1H), 7.12 (dd, $J=2.02, 7.07$ Hz, 1H), 4.22 (t, $J=6.82$ Hz, 2H), 4.04 (s, 3H),

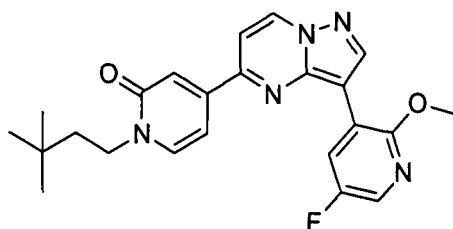
2.80 (d, $J=11.37$ Hz, 2H) LRMS (ESI) m/z 416 $[(M+H)]^+$, $C_{20}H_{16}F_3N_5O_2$ 的分析計算值：415.3。

【0215】 5.6.24. 1-異丁基-4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-2(1H)-酮之合成



【0216】 使用實例 5.6.23 中所描述之程序獲得標題化合物。
 1H NMR (DMSO- d_6) δ : 9.33 (d, $J=7.3$ Hz, 1H), 8.90 (dd, $J=7.5$, 1.9 Hz, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.13 (dd, $J=4.9$, 1.9 Hz, 1H), 7.85 (d, $J=7.1$ Hz, 1H), 7.80 (d, $J=7.3$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), 7.21 (dd, $J=7.5$, 4.9 Hz, 1H), 7.08 (dd, $J=7.2$, 2.1 Hz, 1H), 4.04 (s, 3H), 3.79 (d, $J=7.3$ Hz, 2H), 1.98 - 2.19 (m, 1H), 0.86 - 0.94 (m, 6H) LRMS (ESI) m/z 376 $[(M+H)]^+$, $C_{21}H_{21}N_5O_2$ 的分析計算值：375.43。

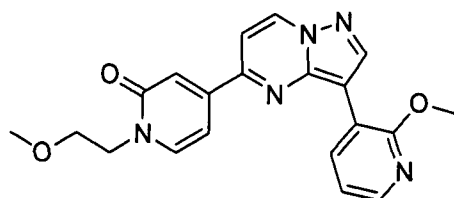
【0217】 5.6.25. 1-(3,3-二甲基丁基)-4-(3-(5-氟基-2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-2(1H)-酮之合成



【0218】 使用實例 5.6.23 中所描述之程序獲得標題化合物。
 1H NMR (DMSO- d_6) δ : 9.37 (d, $J=7.3$ Hz, 1H), 8.91 (s, 1H), 8.81 - 8.89 (m, 1H), 8.12 (d, $J=3.0$ Hz, 1H), 7.99 (d, $J=7.3$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J=7.3$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), 6.96 - 7.10 (m, 1H), 4.06 (s, 3H), 3.87 - 4.02 (m, 2H), 1.51 - 1.64 (m, 2H),

0.99 (s, 9H) LRMS (ESI) m/z 422 [(M+H)]⁺, C₂₃H₂₄FN₅O₂ 的分析計算值: 421.48。

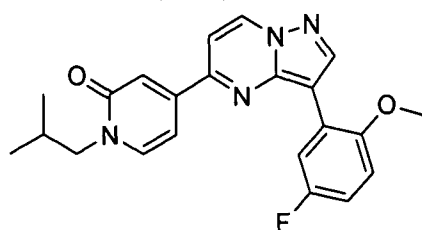
【0219】 5.6.26. 1-(2-甲氧基乙基)-4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-2(1H)-酮之合成



【0220】 使用實例 5.6.23 中所描述之程序獲得標題化合物。

¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.31 (d, J=7.6 Hz, 1H), 8.89 (dd, J=7.6, 1.8 Hz, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.13 (dd, J=4.8, 1.8 Hz, 1H), 7.79 (dd, J=13.0, 7.2 Hz, 2H), 7.28 (d, J=1.8 Hz, 1H), 7.21 (dd, J=7.5, 4.9 Hz, 1H), 7.06 (dd, J=7.2, 1.9 Hz, 1H), 4.14 (t, J=5.3 Hz, 2H), 4.04 (s, 3H), 3.63 (t, J=5.3 Hz, 2H), 3.27 (s, 3H) LRMS (ESI) m/z 378 [(M+H)]⁺, C₂₀H₁₉N₅O₃ 的分析計算值: 377.41。

【0221】 5.6.27. 4-(3-(5-氟基-2-甲氧基苯基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-異丁基吡啶-2(1H)-酮之合成

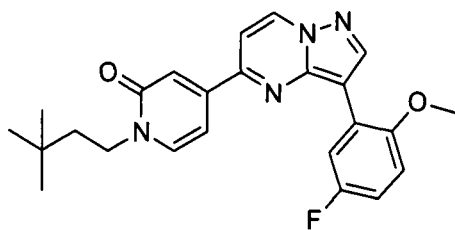


【0222】 使用實例 5.6.23 中所描述之程序獲得標題化合物。

¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.30 (d, J=7.3 Hz, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.36 (dd, J=10.6, 3.0 Hz, 1H), 7.88 (d, J=7.3 Hz, 1H), 7.78 (d, J=7.3 Hz, 1H), 7.28 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.07 - 7.20 (m, 2H), 7.02 (dd, J=7.2, 1.9 Hz, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.78 (d, J=7.6 Hz, 2H), 2.13 (s, 1H), 0.90 (d, J=6.8 Hz, 6H). LRMS (ESI) m/z

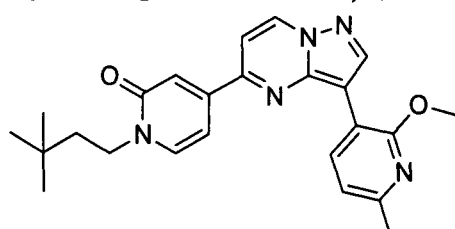
393 [(M+H)]⁺, C₂₂H₂₁FN₄O₂ 的分析計算值：392.44。

【0223】 1-(3,3-二甲基丁基)-4-(3-(5-氟基-2-甲氧基苯基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-2(1H)-酮之合成



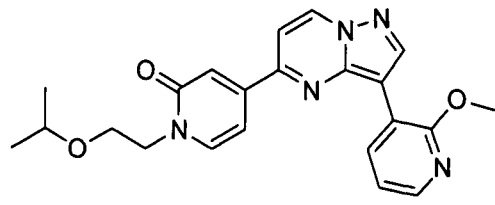
【0224】 使用實例 5.6.23 中所描述之程序獲得標題化合物。
¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.29 (d, J=7.3 Hz, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.32 - 8.41 (m, 1H), 7.92 - 7.99 (m, 1H), 7.74 - 7.81 (m, 1H), 7.25 (d, J=1.8 Hz, 1H), 7.08 - 7.20 (m, 2H), 6.98 - 7.06 (m, 1H), 3.93 (s, 5H), 1.47 - 1.64 (m, 2H), 0.98 (s, 9H) LRMS (ESI) m/z 421 [(M+H)]⁺, C₂₄H₂₅FN₄O₂ 的分析計算值：420.49。

【0225】 5.6.28. 1-(3,3-二甲基丁基)-4-(3-(2-甲氧基-6-甲基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-2(1H)-酮之合成



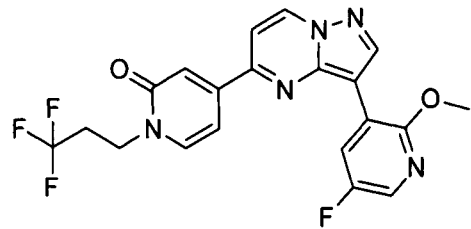
【0226】 使用實例 5.6.23 中所描述之程序獲得標題化合物。
¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.28 (d, J=7.6 Hz, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.73 (d, J=7.6 Hz, 1H), 7.90 (d, J=7.1 Hz, 1H), 7.75 (d, J=7.3 Hz, 1H), 7.24 (d, J=1.8 Hz, 1H), 7.00 - 7.07 (m, 2H), 4.02 (s, 3H), 3.92 - 4.00 (m, 2H), 2.46 (s, 3H), 1.50 - 1.61 (m, 2H), 0.98 (s, 9H) LRMS (ESI) m/z 418 [(M+H)]⁺, C₂₄H₂₇N₅O₂ 的分析計算值：417.52。

【0227】 5.6.29. 1-(2-異丙氧基乙基)-4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-2(1H)-酮之合成



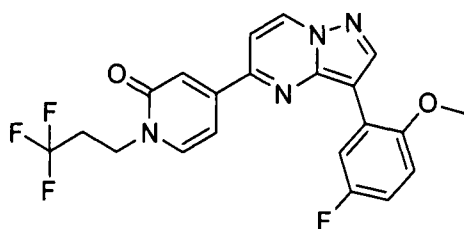
【0228】 使用實例 5.6.23 中所描述之程序獲得標題化合物。
¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.32 (d, J=7.3 Hz, 1H), 8.89 (dd, J=7.5, 1.9 Hz, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.13 (dd, J=4.9, 1.9 Hz, 1H), 7.80 (t, J=6.9 Hz, 2H), 7.29 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.21 (dd, J=7.6, 4.8 Hz, 1H), 7.07 (dd, J=7.1, 2.0 Hz, 1H), 4.09 (t, J=5.4 Hz, 2H), 4.04 (s, 3H), 3.65 (t, J=5.4 Hz, 2H), 3.49 - 3.60 (m, 1H), 1.05 (d, J=6.1 Hz, 6H) LRMS (ESI) m/z 406 [(M+H)]⁺, C₂₂H₂₃N₅O₃ 的分析計算值：405.46。

【0229】 5.6.30. 4-(3-(5-氟基-2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-(3,3,3-三氟丙基)吡啶-2(1H)-酮之合成



【0230】 使用實例 5.6.23 中所描述之程序獲得標題化合物。
¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.35 (d, J=7.33 Hz, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.81 (dd, J=3.03, 9.85 Hz, 1H), 8.08 (d, J=3.03 Hz, 1H), 7.97 (d, J=7.07 Hz, 1H), 7.82 (d, J=7.33 Hz, 1H), 7.31 (d, J=1.77 Hz, 1H), 7.05 (dd, J=1.89, 7.20 Hz, 1H), 4.21 (t, J=6.95 Hz, 2H), 4.04 (s, 3H), 2.72 - 2.90 (m, 2H) LRMS (ESI) m/z 434 [(M+H)]⁺, C₂₀H₁₅F₄N₅O₂ 的分析計算值：433.37。

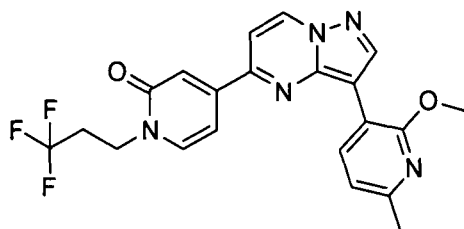
【0231】 5.6.31. 4-(3-(5-氟基-2-甲氧基苯基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-(3,3,3-三氟丙基)吡啶-2(1H)-酮之合成



【0232】 使用實例 5.6.23 中所描述之程序獲得標題化合物。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.32 (d, $J=7.58$ Hz, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.36 (dd, $J=3.03, 10.61$ Hz, 1H), 7.97 (d, $J=7.07$ Hz, 1H), 7.80 (d, $J=7.33$ Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.09 - 7.23 (m, 2H), 7.06 (dd, $J=1.77, 7.07$ Hz, 1H), 4.21 (t, $J=6.95$ Hz, 2H), 3.93 (s, 3H), 2.71 - 2.89 (m, 2H) LRMS (ESI) m/z 443.3 $[(M+H)]^+$, $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{F}_4\text{N}_4\text{O}_2$ 的分析計算值：432。

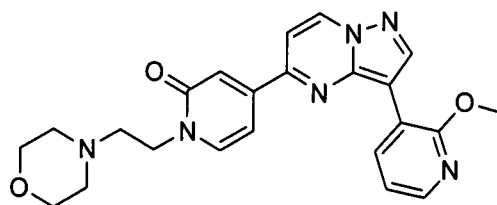
【0233】 5.6.32. 4-(3-(2-甲氧基-6-甲基吡啶-3-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-(3,3,3-三氟丙基)吡啶-2(1H)-酮之合成



【0234】 使用實例 5.6.23 中所描述之程序獲得標題化合物。

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 9.28 (d, $J=7.3$ Hz, 1H), 8.77 (s, 1H), 8.72 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.91 (d, $J=7.3$ Hz, 1H), 7.75 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), 7.08 (dd, $J=7.1, 2.0$ Hz, 1H), 7.03 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 4.21 (t, $J=6.9$ Hz, 2H), 4.01 (s, 3H), 2.72 - 2.88 (m, 2H), 2.45 (s, 3H) LRMS (ESI) m/z 430 $[(M+H)]^+$, $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_2$ 的分析計算值：429.3。

【0235】 5.6.33. 4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-(2-嗎啉基乙基)吡啶-2(1H)-酮之合成



【0236】 使用實例 5.6.23 中所描述之程序獲得標題化合物。
¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.31 (d, J=7.28 Hz, 1H), 8.88 (dd, J=1.76, 7.53 Hz, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.13 (dd, J=1.88, 4.89 Hz, 1H), 7.86 (d, J=7.28 Hz, 1H), 7.78 (d, J=7.53 Hz, 1H), 7.27 (d, J=2.01 Hz, 1H), 7.21 (dd, J=4.77, 7.53 Hz, 1H), 7.07 (dd, J=2.13, 7.15 Hz, 1H), 4.07 (t, J=6.27 Hz, 2H), 4.04 (s, 3H), 3.49 - 3.61 (m, 4H), 2.61 (t, J=6.40 Hz, 2H), 2.46 (d, J=4.27 Hz, 4H) LRMS (ESI) m/z 433 [(M+H)]⁺, C₂₃H₂₄N₆O₃ 的分析計算值：432.49。

【0237】 5.6.34. P81 濾板檢定

【0238】 使用 Mutiprobe (PerkinElmer) 及 Biomek FX (Beckman Coulter) 將化合物連續稀釋至 Labcyte LDV 板 (Labcyte, 產品編號#LP-0200) 中, 使得最高化合物濃度為 96 μM。隨後使用 ECHO 550 移液器 (Labcyte) 將化合物插入 (每孔 75 nL) Greiner 384 孔反應板 (Greiner, #781076) 中。隨後, 將總共 12 μl 反應緩衝液 (IMAP 緩衝液, 含有 Tween 及 DTT, 購自 Molecular Devices) 添加至柱 1 及 13 之各個孔, 以便實施陰性對照, 並將 12 μl 2X AAK1 (0.2 nM 完整長度之人體蛋白, NCBI 登錄號 NP_055726.2) 添加至剩餘孔。隨

後在室溫下用化合物將酶預培養 10 分鐘。在添加 Minitrak (PerkinElmer)之 12 μ l 基質混合物後開始反應，該混合物含有 2X Mu2 (0.2 μ M，完整長度之人體蛋白)、2x 冷 ATP (2 μ M) 及 1.3 μ Ci 熱 33 P-ATP。使反應在室溫下繼續一小時。同時，將 Millipore 384 孔 P81 濾板 (Millipore，產品編號 #MZPHN0W10) 置於平板墊圈上 (Zoom ZW，購自 Titertek)，並用 50 μ l 1%磷酸預濕。隨後在向各個孔添加 24 μ l 2%磷酸後停止激酶反應，及隨後使用 Minitrak 自各個孔內轉移 40 μ l 至預濕的 Millipore 384 孔 P81 濾板中。在 P81 板內在室溫下培育反應混合物 10 分鐘，然後使用 Zoom 濾洗器用 100 μ l/孔之 1%磷酸洗滌五次。密封各個濾板底部，然後向各個孔添加 20 μ l Microscint 40，用 Flashplate 蓋密封板頂部，及隨後等待一小時，直至 TopCount (PerkinElmer)上出現讀數。

【0239】 5.6.35. 基於 HEK281 細胞之檢定

【0240】 在含有 DMEM(Gibco，產品編號 #11965)、10% FBS (SAFC Biosciences，產品編號 #12103C)、1X GPS (麩醯胺酸、盤尼西林及鏈黴素) 之培養基中培養 HEK293F 細胞。第一天，將細胞塗於 10 cm 培養皿上，使得細胞在轉染時長滿~80%。在轉染時，大約一千兩百萬個細胞位於 10 cm 培養皿內。第二天，用 48 μ g DNA 及 144 μ l Lipofectamine 2000 (Invitrogen，產品編號 #11668-019) 轉染各個培養皿。DNA 由含有 3 μ g AAK1/HA/pIRES (完整長度人類蛋白，NCBI 登錄號 NP_055726.2)、45 μ g Flag/AP2MI/pcDNA (完整長度人類蛋白) 及 1.5 ml OPTI-MEM 之混合物 (每個 10 cm 培養皿)

組成。Lipofectamine 2000 由含有 144 μ l Lipofectamine 2000 及 1.5 ml OPTI-MEM 之混合物（每個 10cm 培養皿）組成。將每種混合物移送至單個 15 ml 試管內，並在室溫下培育 5 分鐘，及隨後將兩種混合物組合，並在室溫下培育 20 分鐘。隨後自各個 10 cm 板內吸出生長培養基，並用 10 ml DMEM+10% FBS（無 GPS）置換。最後，將 3 ml DNA/Lipofectamine 混合物添加至各個 10 cm 培養皿中，並輕柔混合，然後在 37°C 及 5% CO₂ 下培育孔板隔夜。

【0241】 第三天，以 1000 倍最終濃度在 100% DMSO 中稀釋化合物，然後經 3 次連續稀釋，獲得共 5 個測試濃度。每個 10 cm 培養皿測試四種化合物。隨後將一微升之每種化合物稀釋液吸移至深孔、96 孔板中，然後向各個孔添加 500 μ l DMEM + 0.5% FBS，獲得每種化合物之 2 倍最終濃度。藉由簡單吸移使細胞在 10 cm 培養皿內再次懸浮（在此點處 HEK293 細胞可輕易脫離孔板），及隨後移送至 50 ml 圓錐管中，並在 1000 rpm 轉速之離心作用下經過 5 分鐘形成顆粒。隨後使細胞顆粒在每個 10 cm 培養皿之 2.75 ml DMEM + 0.5% FBS 中再次懸浮，並將 100 μ l 之細胞懸浮液移送至 96 孔 TC 板的各個孔中。最後，將於 DMEM + 0.5% FBS 中所稀釋的 100 μ l 之 2 倍濃度化合物添加至含有細胞懸浮物之孔中，以達到 1 倍最終濃度。隨後在 37°C 及 5% CO₂ 下培育孔板 3 小時，然後將細胞懸浮液從各個孔移送至 12 管 PCR 條帶。PCR 條帶以 1000 rpm 轉速在尖架中旋轉 5 分鐘，以使細胞粒化，及隨後藉由吸移管來移除培養基，無需干擾細胞顆粒。

【0242】 爲準備西方墨點分析，使細胞顆粒在 40 μ l 1X LDS-PAGE 樣本緩衝液（Invitrogen，產品編號#NP0008）+2X Halt 磷酸酶及蛋白酶抑制劑混合液（Thermo Scientific，產品編號#1861284）中再次懸浮，然後用設置爲 5 之微尖聲波處理器對每份混合液實施 8-10 秒之聲波處理。向每份樣本添加 5 μ l 10X NuPage 樣本還原劑（含 50 mM DTT），然後用 PCR 機器在 70°C 下加熱變性 10 分鐘。將每份樣本共 10 μ l 注入 4-20% Tris-Glycine Criterion 26 孔凝膠（Biorad，產品編號#345-0034）之各個洞內以獲取磷 μ 2 墨點，及將 10 μ l 注入 4-12% Bis-Tris（+MES 緩衝液）NuPAGE 26 孔凝膠（Invitrogen，產品編號#WG1403BX10）之每個洞內，以獲取 μ 2 墨點。爲了對照，將 2 ng 磷 μ 2 或 20 ng μ 2/Flag 蛋白注入各個凝膠之最後孔內。在 SDS-PAGE 後，使用 iBlot 將各個凝膠上的樣本移送至 PVDF 薄膜，及在 TBST+5%牛乳中封閉薄膜一小時，然後用 TBST 洗滌 3 次，每次 5-10 分鐘。在 TBST+5% BSA 中，用兔抗-磷 μ 2(1:5000；一種兔多株抗體，由 New England Peptide 製造，且在 Lexicon 實施親和純化) 探測標準凝膠，反之，則在 TBST+5%牛乳中用小鼠抗 Flag（1:500；Sigma，產品編號#F1804）探測 NuPAGE 凝膠，並在搖桿上在 4°C 下將該等主要抗體培養隔夜。

【0243】 第四天，用 TBST 洗滌西方墨點 3 次，每次 5-10 分鐘，在 TBST+5%牛乳及在室溫下用抗兔-HRP（1:2000；BioRad，產品編號#170-6515）或抗小鼠-HRP(1:2000；Biorad，產品編號#170-6516）探測達 1 小時，用 TBST 洗滌 3 次，每

次 10 分鐘，並用 ECL 試劑（GE Healthcare，產品編號 #RPN2132）在 Versadoc 上顯色。最後，設置照相機，每 30 秒拍攝一次，共拍攝 10 分鐘，並保存無飽和訊號之各個墨點之最佳影像（當訊號為飽和時，則該等墨點帶將以紅色突出顯示）。在各個墨點帶上執行體積分析，以獲得密度值。可藉由先正規化至總 Mu2 表現水平再與 0%及 100%對照物比較來計算各個樣本之抑制百分比。隨後使用 Excel 適用軟體計算 IC₅₀ 值。

【0244】 5.6.36. 活體外資料

【0245】 下文表 1 中提供針對本發明之各種化合物獲得之活體外資料，其中「MW」表示分子重量，「P81 檢定」係指上文所描述之 P81 濾板檢定，「CBA」係指上文所描述之基於 HEK281 細胞之分析，「--」表示未獲得給定檢定之結果；「*」表示小於或等於 1.0 μM；「**」表示小於或等於 0.1 μM 的一值；及「***」表示小於或等於 0.01 μM。

表 1

化合物	MW	CBA IC ₅₀ μM	P81 IC ₅₀ μM
第三丁基 4-(吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-基)-5,6-二氫吡啶-1(2H)-羧酸酯	300.4	**	--
5-(1,2,3,6-四氫吡啶-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶	200.2	>0.3	--
異丙基 4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-基)-5,6-二氫吡啶-1(2H)-羧酸酯	393.4	***	***
異丙基 4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-1-羧酸酯	395.5	***	>0.3

3-(5-氟基-2-甲氧基苯基)-5-(2-甲氧基吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶	350.3	***	*
(5-(2-異丙氧基吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-3-基)甲醇	284.3	>0.3	--
異丙基甲基(3-(吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)丙基)胺基甲酸酯	276.3	>0.3	>0.1
異丙基(3-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)丙基)(甲基)胺基甲酸酯	383.4	**	--
5-(2-異丙氧基吡啶-4-基)-3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶	361.4	***	**
1-異戊基-4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-2(1H)-酮	389.5	***	***
4-(3-溴基吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-異戊基吡啶-2(1H)-酮	361.2	***	***
1-異戊基-4-(吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-2(1H)-酮	282.3	**	--
異丙基 4-(吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)苯甲酸酯	281.3	*	--
異丙基 4-(3-溴基吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)苯甲酸酯	360.2	**	--
異丙基 4-(3-碘基吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)苯甲酸酯	407.2	**	--
1-異戊基-4-(3-(2-甲氧基-6-甲基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-2(1H)-酮	403.5	***	***
4-(3-(5-氟基-2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-異戊基吡啶-2(1H)-酮	407.4	***	***
4-(3-(2-乙氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-異戊基吡啶-2(1H)-酮	403.5	***	***
4-(3-(5-氟基-2-甲氧基苯基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-異戊基吡啶-2(1H)-酮	406.5	***	***
異丙基(4-(3-溴基吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)丁基)(甲基)胺基甲酸酯	369.3	>0.3	--

異丙基(4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)丁基)(甲基)胺基甲酸酯	397.5	**	--
4-(3-碘基吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-異戊基吡啶-2(1H)-酮	408.2	***	***
1-異戊基-4-(3-(三氟甲基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-2(1H)-酮	350.3	**	--
異丙基 4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)苯甲酸酯	388.4	***	--
4-(3-氯基吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-異戊基吡啶-2(1H)-酮	316.8	***	**
3-氯基-4-(3-氯基吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-異戊基吡啶-2(1H)-酮	351.2	**	--
4-(3-溴基吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-(3,3-二甲基丁基)吡啶-2(1H)-酮	375.3	**	--
1-(3,3-二甲基丁基)-4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-2(1H)-酮	403.5	***	***
4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-(3,3,3-三氟丙基)吡啶-2(1H)-酮	415.4	***	***
1-異丁基-4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-2(1H)-酮	375.4	***	***
1-(3,3-二甲基丁基)-4-(3-(5-氟基-2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-2(1H)-酮	421.5	***	***
1-(2-甲氧基乙基)-4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-2(1H)-酮	377.4	***	***
4-(3-(5-氟基-2-甲氧基苯基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-異丁基吡啶-2(1H)-酮	392.4	***	***
1-(3,3-二甲基丁基)-4-(3-(5-氟基-2-甲氧基苯基)吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-2(1H)-酮	420.5	***	***

1-(3,3-二甲基丁基)-4-(3-(2-甲氧基-6-甲基吡啶-3-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-2(1H)-酮	417.5	--	--
1-(2-異丙氧基乙基)-4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-基)吡啶-2(1H)-酮	405.4	***	**
4-(3-(5-氟基-2-甲氧基吡啶-3-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-(3,3,3-三氟丙基)吡啶-2(1H)-酮	433.4	***	***
4-(3-(5-氟基-2-甲氧基苯基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-(3,3,3-三氟丙基)吡啶-2(1H)-酮	432.4	***	**
4-(3-(2-甲氧基-6-甲基嘧啶-3-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-(3,3,3-三氟丙基)吡啶-2(1H)-酮	429.4	***	**
4-(3-(2-甲氧基吡啶-3-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-基)-1-(2-嗎啉基乙基)吡啶-2(1H)-酮	432.5	***	***

【0246】 上文所引用之所有專利公開案（例如，專利案及專利申請案）以引用之方式全部併入本文中。

【0247】 【符號說明】

無

【生物材料寄存】

國內寄存資訊【請依寄存機構、日期、號碼順序註記】

無

國外寄存資訊【請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記】

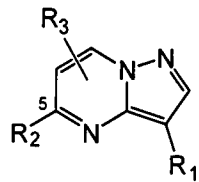
無

【序列表】(請換頁單獨記載)

無

申請專利範圍

1. 一種抑制適配器關聯激酶 1(AAK1)活性之方法，該方法包含使 AAK1 與一化合物或該化合物醫藥學上可接受之一鹽接觸之步驟，該化合物具有以下化學式：



其中：

R₁ 為 R_{1A} 或可選取代 C₁₋₁₂ 烴基或 2-12 員雜肼基 (heterocarbyl)，該可選取代係用一或更多個 R_{1A} 取代；

各個 R_{1A} 獨立為 -OR_{1C}、-N(R_{1C})₂、-C(O)R_{1C}、-C(O)OR_{1C}、-C(O)N(R_{1C})₂、-N(R_{1C})C(O)OR_{1C}、氰基、鹵基，或可選取代 C₁₋₁₂ 烴基或 2-12 員雜肼基，該可選取代係用一或更多個 R_{1B} 取代；

各個 R_{1B} 獨立為 -OR_{1C}、-N(R_{1C})₂、-C(O)R_{1C}、-C(O)OR_{1C}、-C(O)N(R_{1C})₂、-N(R_{1C})C(O)OR_{1C}、氰基或鹵基；

各個 R_{1C} 獨立為氫或可選取代 C₁₋₁₂ 烴基或 2-12 員雜肼基，該可選取代係用氰基、鹵基或烴基中的一或更多者取代；

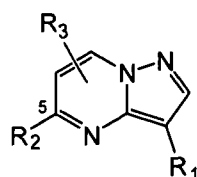
R₂ 為藉由碳原子中的一者結合至 C5 的可選取代 C₁₋₁₂ 烴基或 2-12 員雜肼基，該可選取代係用一或更多個 R_{2C} 取代；

各個 R_{2C} 獨立為 -OR_{2D}、-N(R_{2D})₂、-C(O)R_{2D}、-C(O)OR_{2D}、-C(O)N(R_{2D})₂、-N(R_{2D})C(O)OR_{2D}、氰基、鹵基、氧基或可選取代 C₁₋₁₂ 烴基或 2-12 員雜肼基，該可選取代係用一或更多個胺基、氰基、鹵基、烴基或 R_{2D} 取代；

各個 R_{2D} 獨立為氫或可選取代 C_{1-12} 烴基或 2-12 員雜肼基，該可選取代係用一或更多個胺基、氰基、鹵基或羥基取代；以及

• R_3 為氫或 C_{1-6} 烷基，該 C_{1-6} 烷基用一或更多個氰基、鹵基或羥基可選取代。

2. 一種化合物或該化合物醫藥學上可接受的鹽之用途，該化合物或該化合物醫藥學上可接受的鹽用在製造用於治療或管控由 AAK1 活性介導之一疾病或病症之一藥劑，該化合物具有以下化學式：



其中：

R_1 為 R_{1A} 或可選取代 C_{1-12} 烴基或 2-12 員雜肼基，該可選取代係用一或更多個 R_{1A} 取代；

各個 R_{1A} 獨立為 $-OR_{1C}$ 、 $-N(R_{1C})_2$ 、 $-C(O)R_{1C}$ 、 $-C(O)OR_{1C}$ 、 $-C(O)N(R_{1C})_2$ 、 $-N(R_{1C})C(O)OR_{1C}$ 、氰基、鹵基，或可選取代 C_{1-12} 烴基或 2-12 員雜肼基，該可選取代係用一或更多個 R_{1B} 取代；

各個 R_{1B} 獨立為 $-OR_{1C}$ 、 $-N(R_{1C})_2$ 、 $-C(O)R_{1C}$ 、 $-C(O)OR_{1C}$ 、 $-C(O)N(R_{1C})_2$ 、 $-N(R_{1C})C(O)OR_{1C}$ 、氰基或鹵基；

各個 R_{1C} 獨立為氫或可選取代 C_{1-12} 烴基或 2-12 員雜肼基，該可選取代係用一或更多個氰基、鹵基或羥基取代；

R_2 為藉由碳原子中的一者結合至 C5 的可選取代 C_{1-12} 烴基或 2-12 員雜肼基，該可選取代係用一或更多個 R_{2C} 取代；

各個 R_{2C} 獨立為 $-OR_{2D}$ 、 $-N(R_{2D})_2$ 、 $-C(O)R_{2D}$ 、 $-C(O)OR_{2D}$ 、 $-C(O)N(R_{2D})_2$ 、 $-N(R_{2D})C(O)OR_{2D}$ 、氰基、鹵基、氧基或可選取代 C_{1-12} 烴基或 2-12 員雜肼基，該可選取代係用一或更多個胺基、氰基、鹵基、羥基或 R_{2D} 取代；

各個 R_{2D} 獨立為氫或可選取代 C_{1-12} 烴基或 2-12 員雜肼基，該可選取代係用一或更多個胺基、氰基、鹵基或羥基取代；以及

R_3 為氫或 C_{1-6} 烷基，該 C_{1-6} 烷基用氰基、鹵基或羥基中的一或更多者可選取代。

3. 如請求項 2 所述之用途，其中該疾病或病症為阿茲海默症、躁鬱症、疼痛、帕金森氏症或精神分裂症。

4. 如請求項 3 所述之用途，其中該疼痛為神經性疼痛。

5. 如請求項 4 所述之用途，其中該神經性疼痛為肌肉纖維疼痛或周邊神經病變（例如，糖尿病性神經病變）。

6. 如請求項 1 所述之方法或請求項 2 所述之用途，其中 R_1 為 R_{1A} 。

7. 如請求項 1 所述之方法或請求項 2 所述之用途，其中 R_1 爲可選取代 C_{1-12} 烴基。

8. 如請求項 1 所述之方法或請求項 2 所述之用途，其中 R_1 爲可選取代苯基。

9. 如請求項 1 所述之方法或請求項 2 所述之用途，其中 R_1 爲可選取代 2-12 員雜肱基（例如，2-8 員雜肱基、2-6 員雜肱基、2-6 員雜肱基）。

10. 如請求項 1 所述之方法或請求項 2 所述之用途，其中 R_1 爲可選取代吡啶基、噻吩基或咪唑基。

11. 如請求項 1 所述之方法或請求項 2 所述之用途，其中 R_{1A} 爲鹵基。

12. 如請求項 1 所述之方法或請求項 2 所述之用途，其中 R_{1A} 爲 $-OR_{1C}$ 、 $-N(R_{1C})_2$ 、 $-C(O)R_{1C}$ 、 $-C(O)OR_{1C}$ 或 $-C(O)N(R_{1C})_2$ 。

13. 如請求項 1 所述之方法或請求項 2 所述之用途，其中 R_{1A} 爲 $-OR_{1C}$ 。

14. 如請求項 1 所述之方法或請求項 2 所述之用途，其中 R_{1B} 爲 $-N(R_{1C})_2$ 、 $-OR_{1C}$ 、鹵基。

15. 如請求項 1 所述之方法或請求項 2 所述之用途，其中 R_{1C} 爲氫。

16. 如請求項 1 所述之方法或請求項 2 所述之用途，其中 R_{1C} 爲 C_{1-12} 烴基（例如， C_{1-6} 烴基、 C_{1-4} 烴基，諸如甲基、乙基、丙基）。

17. 如請求項 1 所述之方法或請求項 2 所述之用途，其中 R_2 爲 6 員雜環。

18. 如請求項 1 所述之方法或請求項 2 所述之用途，其中 R_2 爲 C_{1-6} 烴基。

19. 如請求項 1 所述之方法或請求項 2 所述之用途，其中 R_{2C} 爲 C_{1-12} 烴基。

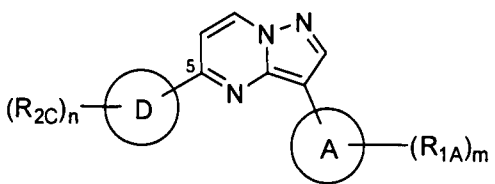
20. 如請求項 1 所述之方法或請求項 2 所述之用途，其中 R_{2D} 爲鹵基。

21. 如請求項 1 所述之方法或請求項 2 所述之用途，其中至少一個 R_{2D} 爲可選取代 C_{1-12} 烴基，該可選取代係用胺基、氰基、鹵基、羥基中的一或更多者取代。

22. 如請求項 1 所述之方法或請求項 2 所述之用途，其中 R_{2D} 為 2-12 員雜肼基，該 2-12 員雜肼基包含至少一個氮原子。

23. 如請求項 1 所述之方法或請求項 2 所述之用途，其中 R_3 為氫。

24. 如請求項 1 所述之方法或請求項 2 所述之用途，其中該化合物具有以下化學式：



或該化合物醫藥學上可接受之一鹽，其中：

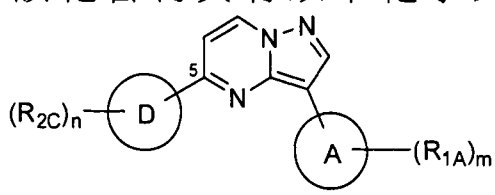
A 為環狀 C_{1-12} 烴基或 4-7 員雜環；

D 為藉由碳原子中的一者結合至 C5 的環狀 C_{1-12} 烴基或 4-7 員雜環；

n 為 1-3；以及

m 為 0-3。

25. 一種化合物，該化合物具有以下化學式：



或該化合物醫藥學上可接受之一鹽，其中：

A 為環狀 C_{1-12} 烴基或 4-7 員雜環；

D 為藉由碳原子中的一者結合至 C5 的環狀 C₁₋₁₂ 烴基或 4-7 員雜環；

各個 R_{1A} 獨立為 -OR_{1C}、-N(R_{1C})₂、-C(O)R_{1C}、-C(O)OR_{1C}、-C(O)N(R_{1C})₂、-N(R_{1C})C(O)OR_{1C}、氰基、鹵基，或可選取代 C₁₋₁₂ 烴基或 2-12 員雜肼基，該可選取代係用一或更多個 R_{1B} 取代；

各個 R_{1B} 獨立為 -OR_{1C}、-N(R_{1C})₂、-C(O)R_{1C}、-C(O)OR_{1C}、-C(O)N(R_{1C})₂、-N(R_{1C})C(O)OR_{1C}、氰基或鹵基；

各個 R_{1C} 獨立為氫或可選取代 C₁₋₁₂ 烴基或 2-12 員雜肼基，該可選取代係用氰基、鹵基或羥基中的一或更多者取代；

各個 R_{2C} 獨立為 -OR_{2D}、-N(R_{2D})₂、-C(O)R_{2D}、-C(O)OR_{2D}、-C(O)N(R_{2D})₂、-N(R_{2D})C(O)OR_{2D}、氰基、鹵基、氧基或可選取代 C₁₋₁₂ 烴基或 2-12 員雜肼基，該可選取代係用一或更多個胺基、氰基、鹵基、羥基或 R_{2D} 取代；

各個 R_{2D} 獨立為氫或可選取代 C₁₋₁₂ 烴基或 2-12 員雜肼基，該可選取代係用胺基、氰基、鹵基、羥基中的一或更多者取代；

n 為 1-3；以及

m 為 0-3。

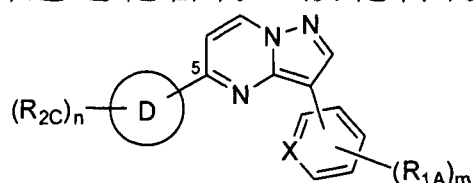
26. 如請求項 25 所述之化合物，其中 D 為呱嗪基或吡咯啉基。

27. 如請求項 25 所述之化合物，其中 n 為 2。

28. 如請求項 25 所述之化合物，其中 m 為 1。

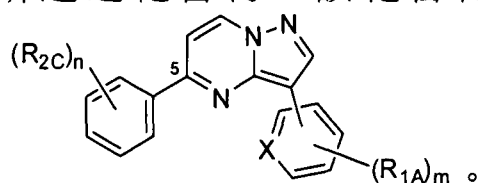
29. 如請求項 25 所述之化合物，其中 A 為吡啶基、噻吩基或咪唑基。

30. 如請求項 25 所述之化合物，該化合物具有以下化學式：

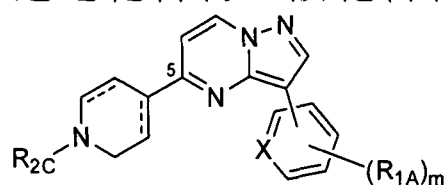


其中 X 為 CH 或 N 。

31. 如請求項 30 所述之化合物，該化合物具有以下化學式：

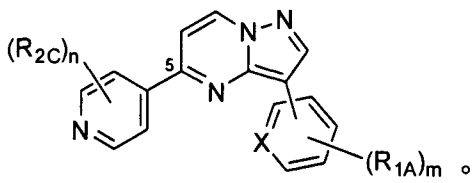


32. 如請求項 30 所述之化合物，該化合物具有以下化學式：

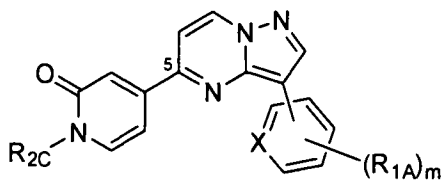


其中 R_{2C} 為 $-C(O)R_{2D}$ 、 $-C(O)OR_{2D}$ 或可選取代 C_{1-12} 烴基或 2-12 員雜肱基，該可選取代係用一或更多個胺基、氰基、鹵基、羥基或 R_{2D} 取代。

33. 如請求項 30 所述之化合物，該化合物具有以下化學式：



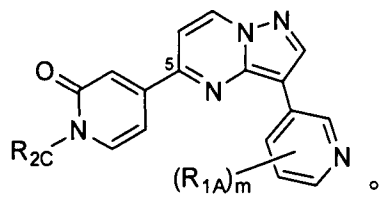
34. 如請求項 30 所述之化合物，該化合物具有以下化學式：



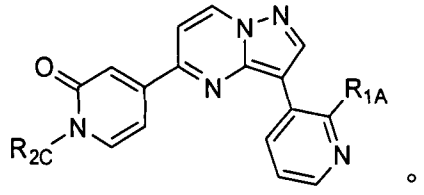
其中 R_{2C} 為 -C(O)R_{2D}、-C(O)OR_{2D} 或可選取代 C₁₋₁₂ 烴基或 2-12 員雜肱基，該可選取代係用一或更多個胺基、氰基、鹵基、羥基或 R_{2D} 取代。

35. 如請求項 25 至 34 中任一項所述之化合物，其中 X 為 N 及 m 為 1 或 2。

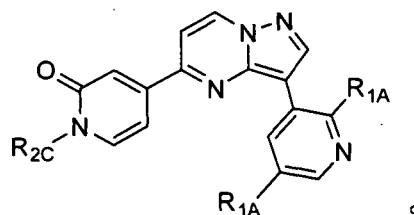
36. 如請求項 34 所述之化合物，該化合物具有以下化學式：



37. 如請求項 36 所述之化合物，該化合物具有以下化學式：



38. 如請求項 37 所述之化合物，該化合物具有以下化學式：



39. 如請求項 25 所述之化合物，其中至少一個 R_{1A} 為鹵基。
40. 如請求項 25 所述之化合物，其中至少一個 R_{1A} 為 $-OR_{1C}$ 。
41. 如請求項 40 所述之化合物，其中 R_{1C} 為可選取代 C_{1-12} 烴基（例如， C_{1-6} 烴基、 C_{1-4} 烴基）。
42. 如請求項 25 所述之化合物，其中 R_{2C} 為可選取代 C_{1-6} 烴基。
43. 如請求項 25 所述之化合物，其中各個 R_{2D} 獨立為氫或 C_{1-12} 烴基（例如， C_{1-6} 烴基、 C_{1-4} 烴基）。
44. 如請求項 25 所述之化合物，其中至少一個 R_{2D} 為可選取代 C_{1-12} 烴基，該可選取代係用胺基、氰基、鹵基、烴基中的一或更多者取代。
45. 如請求項 25 所述之化合物，其中 R_{2D} 為 2-12 員雜肱基，該 2-12 員雜肱基包含至少一個氮原子。

46. 一種醫藥組合物，該醫藥組合物包含如請求項 25 至 45 中任一項所述之化合物及一醫藥學上可接受之賦形劑或稀釋液。

47. 一種抑制 AAK1 活性之方法，該方法包含使 AAK1 與如請求項 25 至 45 中任一項所述之化合物接觸的步驟。

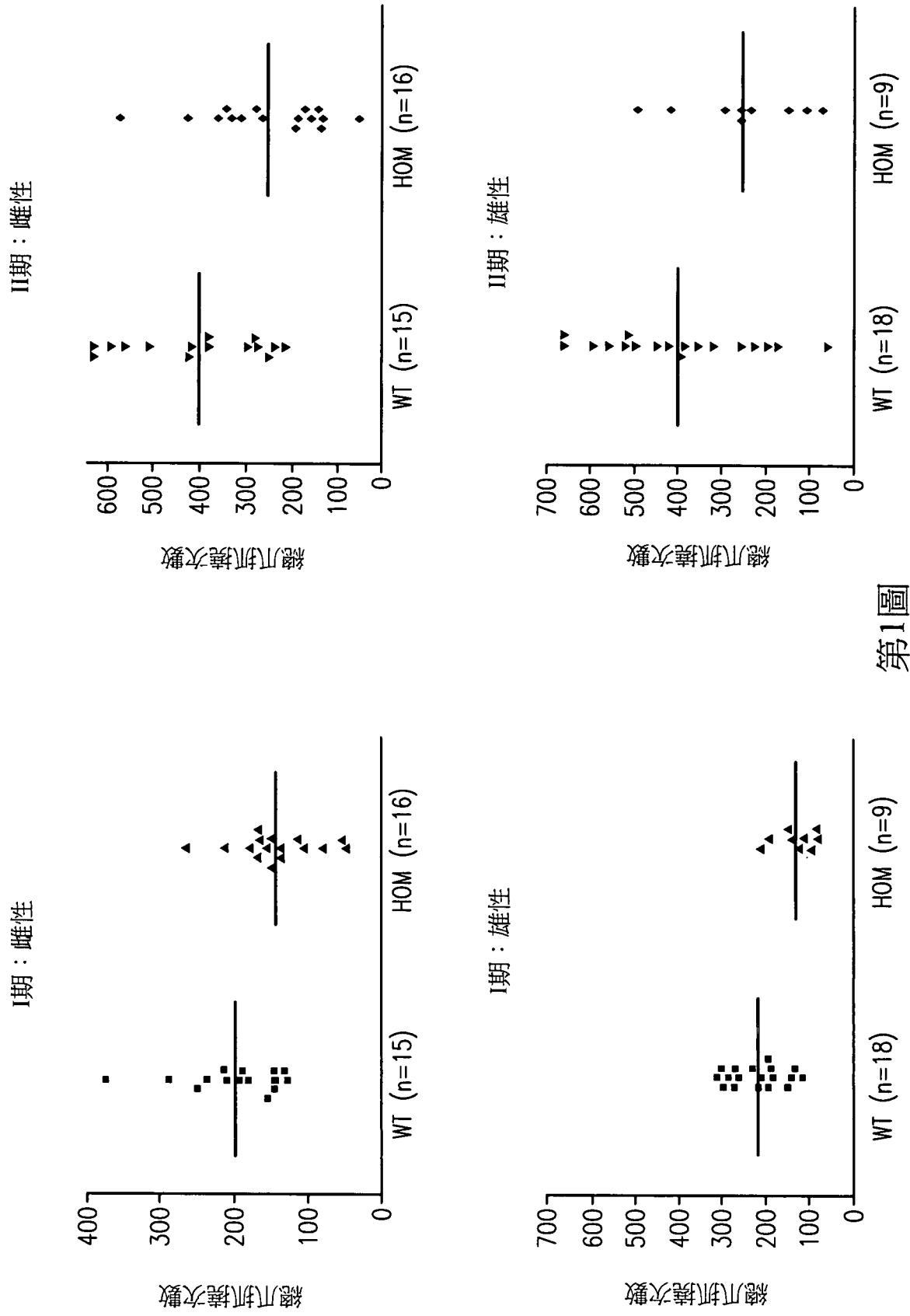
48. 一種如請求項 25 至 45 中任一項所述之化合物或如請求項 46 所述之醫藥組合物的用途，該如請求項 25 至 45 中任一項所述之化合物或如請求項 46 所述之醫藥組合物用在製造用於治療或管控由 AAK1 活性介導之一疾病或病症之一藥劑。

49. 如請求項 48 所述之用途，其中該疾病或病症為阿茲海默症、躁鬱症、疼痛、帕金森氏症或精神分裂症。

50. 如請求項 49 所述之用途，其中該疼痛為神經性疼痛。

51. 如請求項 51 所述之用途，其中該神經性疼痛為肌肉纖維疼痛或周邊神經病變（例如，糖尿病性神經病變）。

圖式



第1圖