



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I716107 B

(45)公告日：中華民國 110 (2021) 年 01 月 11 日

(21)申請案號：108133388

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 09 月 17 日

(51)Int. Cl. : C07D417/14 (2006.01)

C07D471/04 (2006.01)

C07D487/04 (2006.01)

A61P25/28 (2006.01)

(30)優先權：2018/09/26 美國

62/736,588

(71)申請人：美商美國禮來大藥廠(美國) ELI LILLY AND COMPANY (US)

美國

(72)發明人：卓菲斯 尼可拉斯 賈桂琳 法蘭西斯 DREYFUS, NICOLAS JACQUES FRANCOIS

(FR)；羅培茲 荷西 艾德瓦多 LOPEZ, JOSE EDUARDO (US)；維尼洛斯基 里

奧納多 賴利 二世 WINNEROSKI, LEONARD LARRY, JR (US)；沃利 艾瑞克

麥克 WOERLY, ERIC MICHAEL (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

US 2017/0298082A1

WO 2018/109198A1

審查人員：謝敏哲

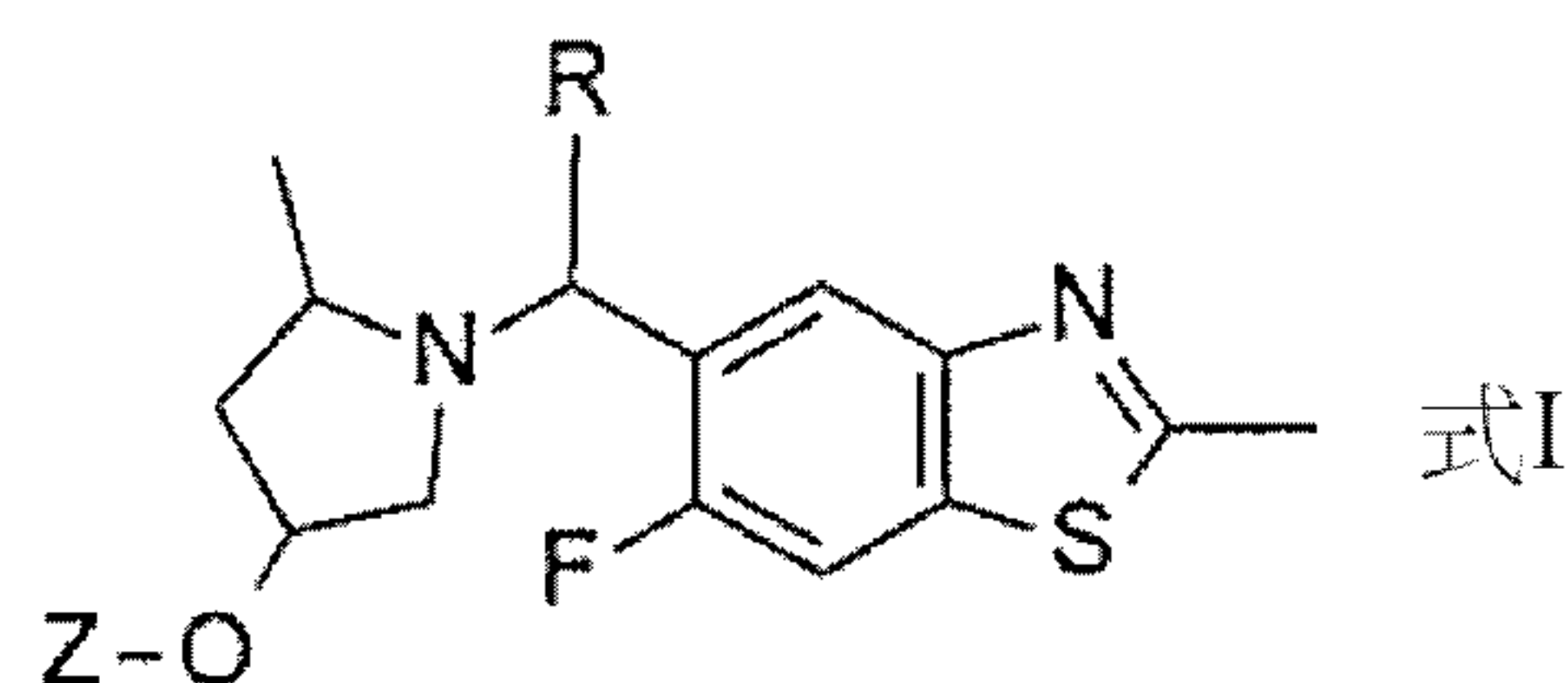
申請專利範圍項數：19 項 圖式數：0 共 55 頁

(54)名稱

6-氟-2-甲基苯并[D]噻唑-5-基化合物

(57)摘要

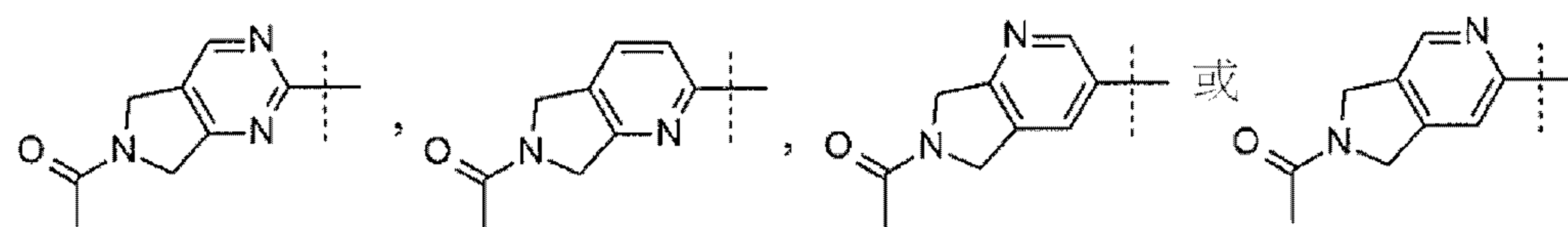
本發明提供式 I 化合物，



其中

R 係氫或甲基；且

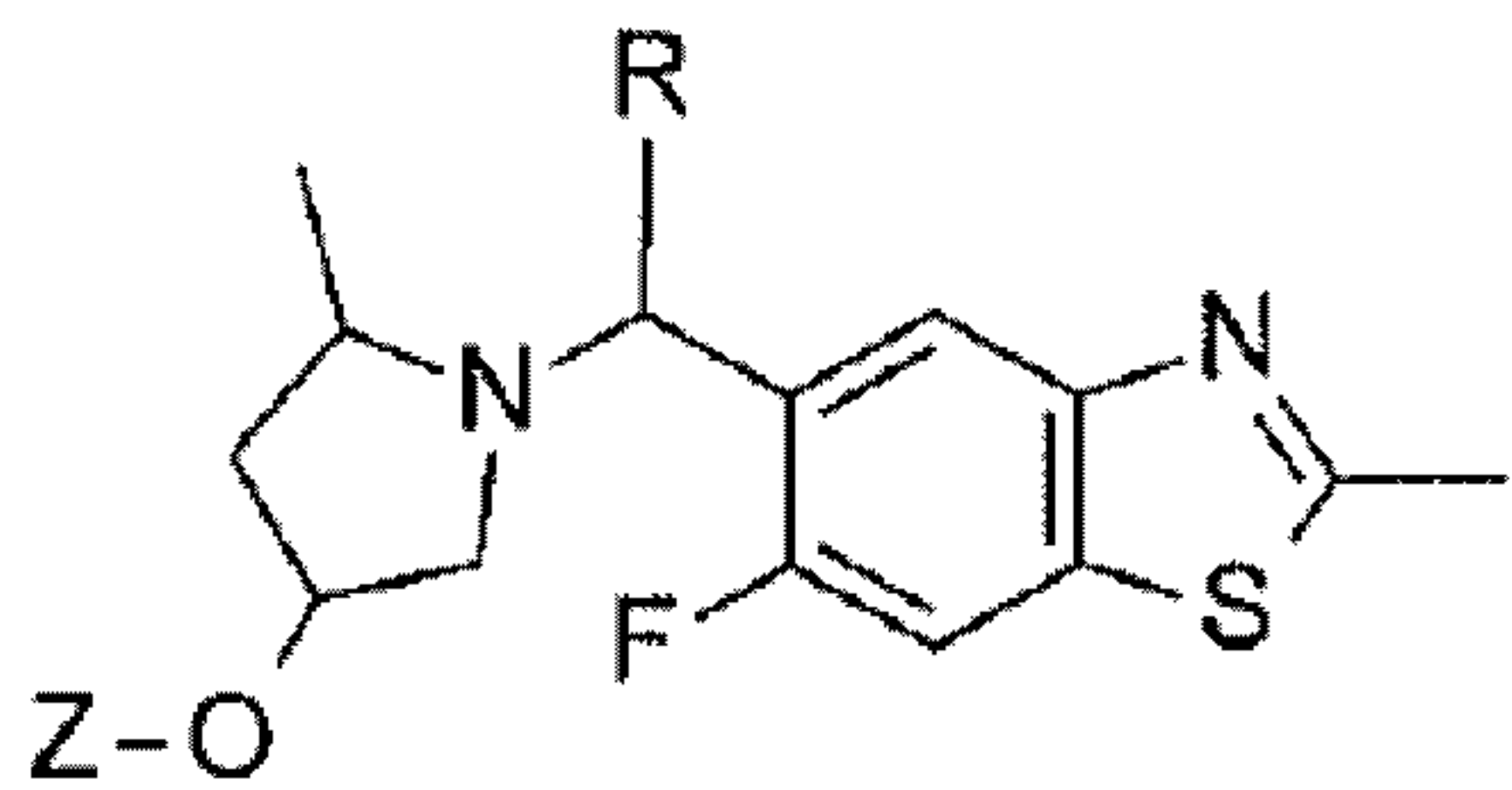
Z 係：



；

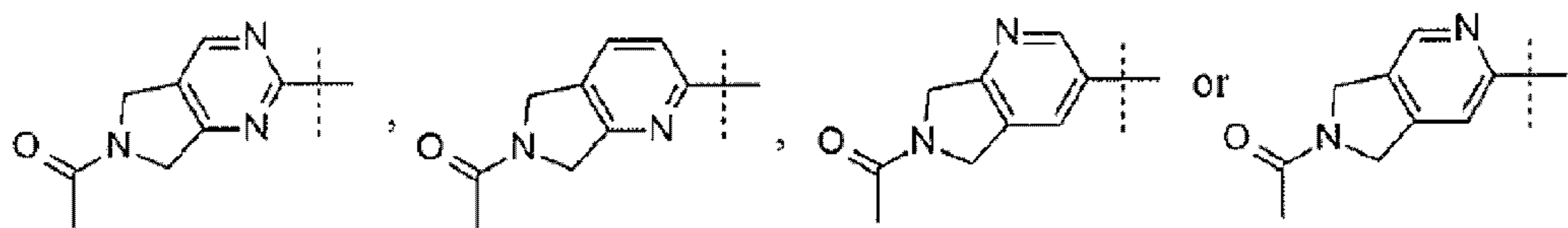
或其醫藥上可接受之鹽，及式 I 化合物用於治療諸如阿茲海默氏病(Alzheimer's disease)等神經退化性疾病之用途。

The present invention provides a compound of Formula I:



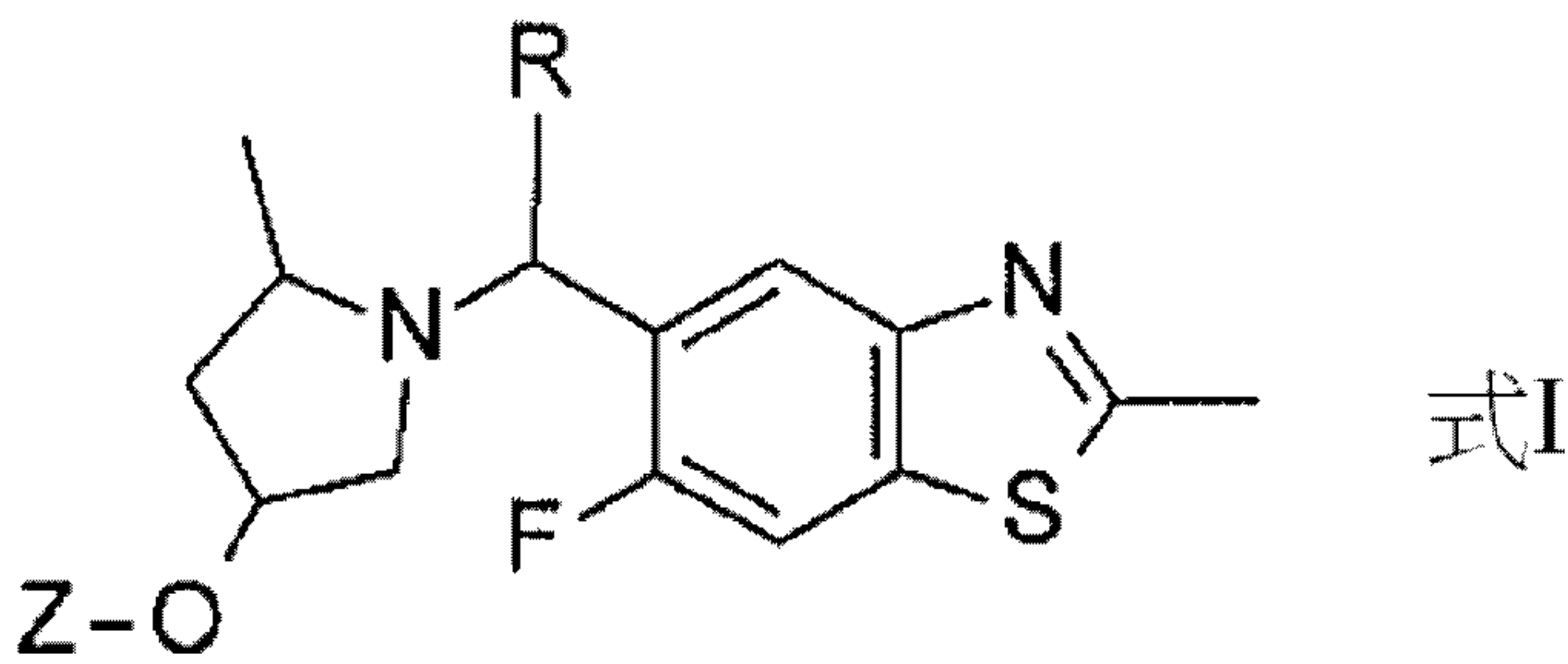
Formula I

wherein
R is hydrogen or methyl; and
Z is:



;
or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and the use of compounds of Formula I for treating neurodegenerative diseases, such as Alzheimer’s disease.

特徵化學式：





公告本

I716107

【發明摘要】

【中文發明名稱】

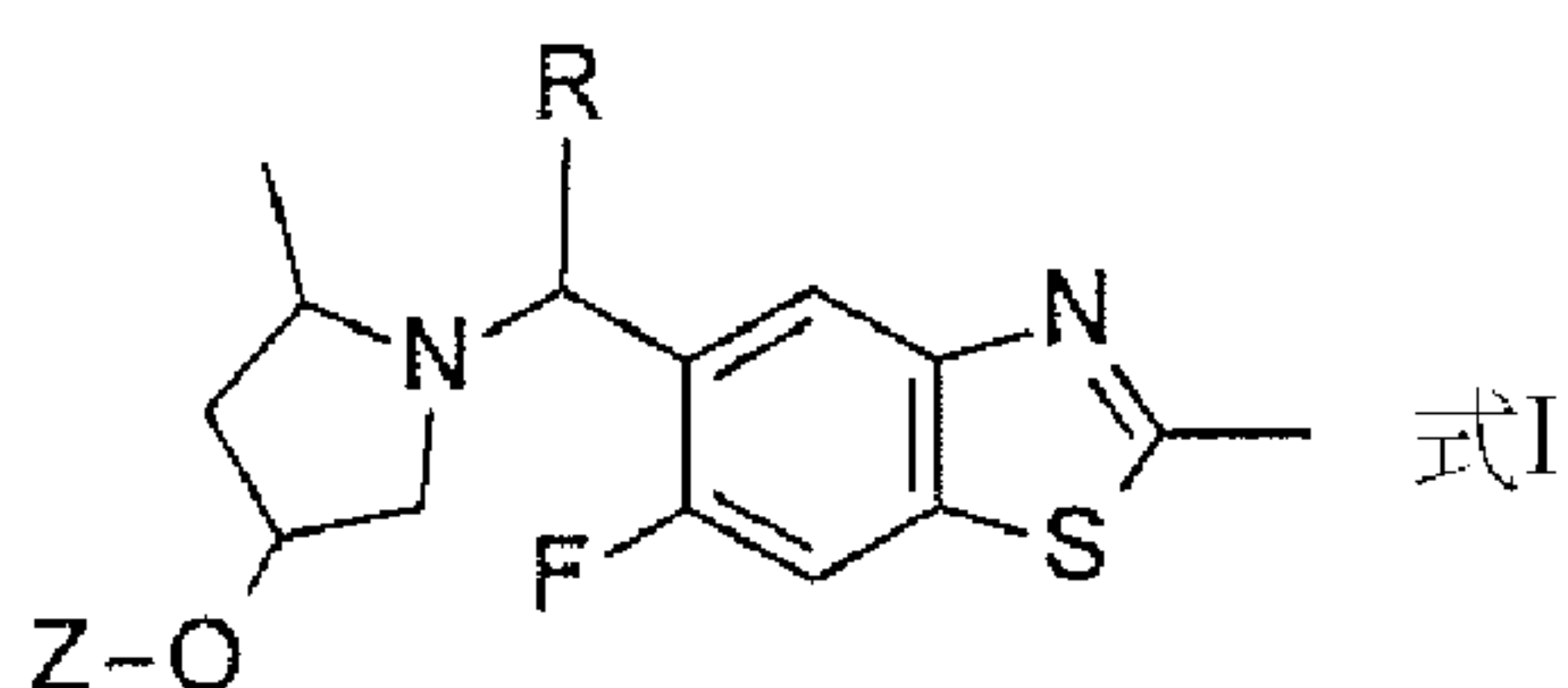
6-氟-2-甲基苯并[D]噻唑-5-基化合物

【英文發明名稱】

6-FLUORO-2-METHYLBENZO[D]THIAZOL-5-YL COMPOUNDS

【中文】

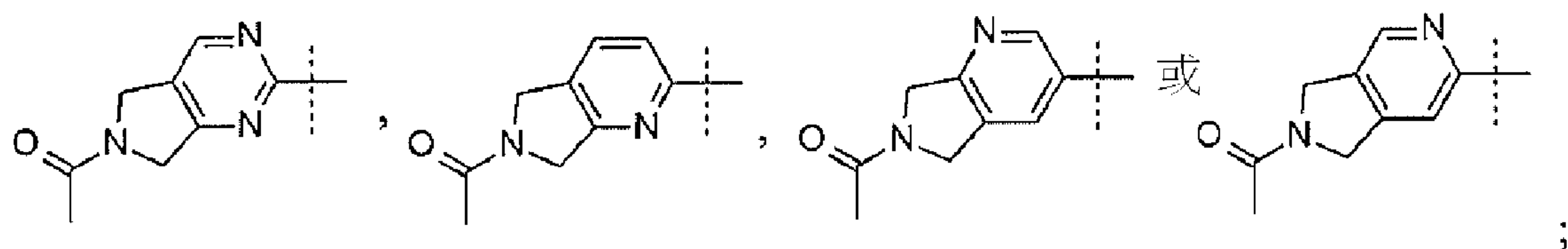
本發明提供式I化合物，



其中

R係氫或甲基；且

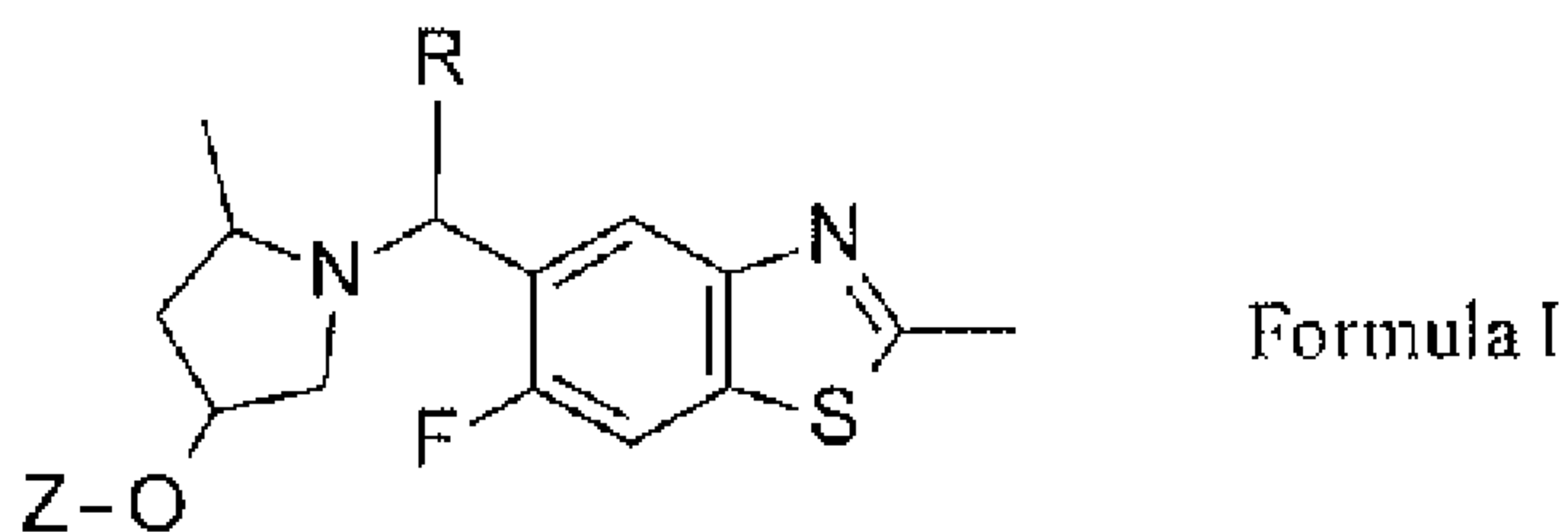
Z係：



或其醫藥上可接受之鹽，及式I化合物用於治療諸如阿茲海默氏病 (Alzheimer's disease)等神經退化性疾病之用途。

【英文】

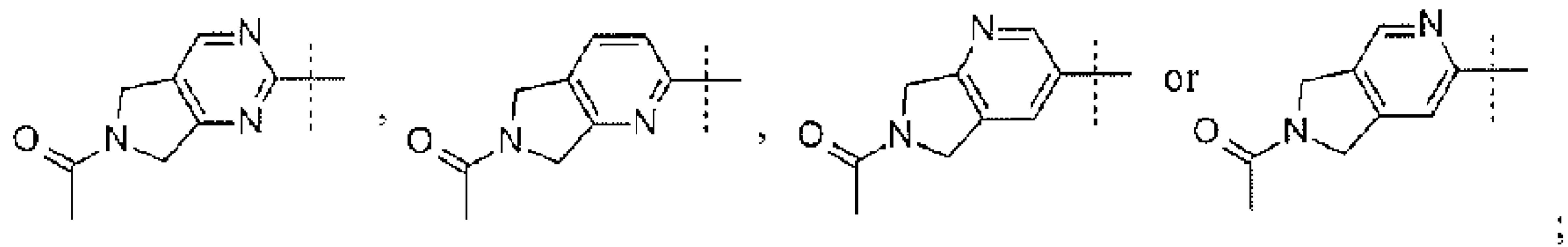
The present invention provides a compound of Formula I:



wherein

R is hydrogen or methyl; and

Z is:



or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and the use of compounds of Formula I for treating neurodegenerative diseases, such as Alzheimer's disease.

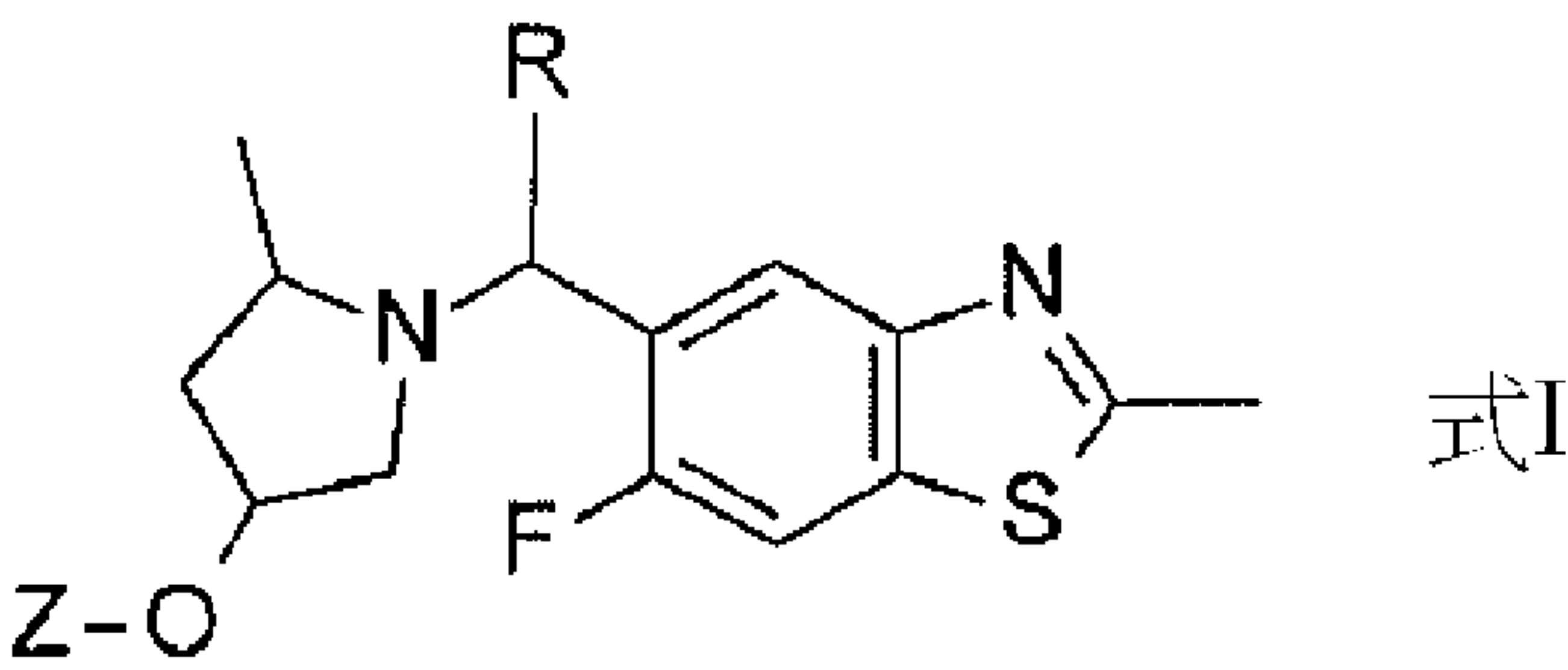
【指定代表圖】

無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】



【發明說明書】

【中文發明名稱】

6-氟-2-甲基苯并[D]噻唑-5-基化合物

【英文發明名稱】

6-FLUORO-2-METHYLBENZO[D]THIAZOL-5-YL COMPOUNDS

【技術領域】

【0001】 本申請案根據35 U.S.C. §119(e)主張2018年9月26日提出申請之美國臨時申請案第62/736,588號之權益；其揭示內容係以引用的方式併入本文中。

【0002】 本發明係關於新穎6-氟-2-甲基苯并[d]噻唑-5-基化合物、包含該等化合物之醫藥組合物、使用該等化合物治療諸如阿茲海默氏病(Alzheimer's disease, AD)等神經退化性病徵之方法及可用於合成該等化合物之中間體及製程。

【先前技術】

【0003】 本發明屬於治療AD、進行性核上性麻痺(PSP)及涉及tau介導之神經退化之其他疾病及病徵(統稱為tau蛋白病變)之領域。

【0004】 AD係在世界範圍內影響數百萬患者之毀滅性神經退化性病徵。鑒於市場上目前批准之藥劑僅為患者提供瞬時症狀益處，業內對AD之治療存在明顯未滿足之需要。

【0005】 微管相關蛋白tau寡聚化為諸如成對螺旋絲(PHF)及直的或扭曲絲等絲狀結構，其產生神經原纖維纏結(NFT)及神經氈細絲(NT)，此係AD及其他tau蛋白病變之定義性病理學特徵之一。已發現患有AD之個體的腦中NFT之數量與疾病之嚴重程度緊密相關，此表明tau在神經元功

能障礙及神經退化中具有關鍵作用(Nelson等人，*J Neuropathol Exp Neurol.*, **71**(5), 362-381(2012))。已顯示tau病理學與PSP之疾病持續時間相關，此乃因病程更具侵襲性之病例的tau負荷高於進展緩慢之病例。(Williams等人，*Brain*, **130**, 1566-76 (2007))。

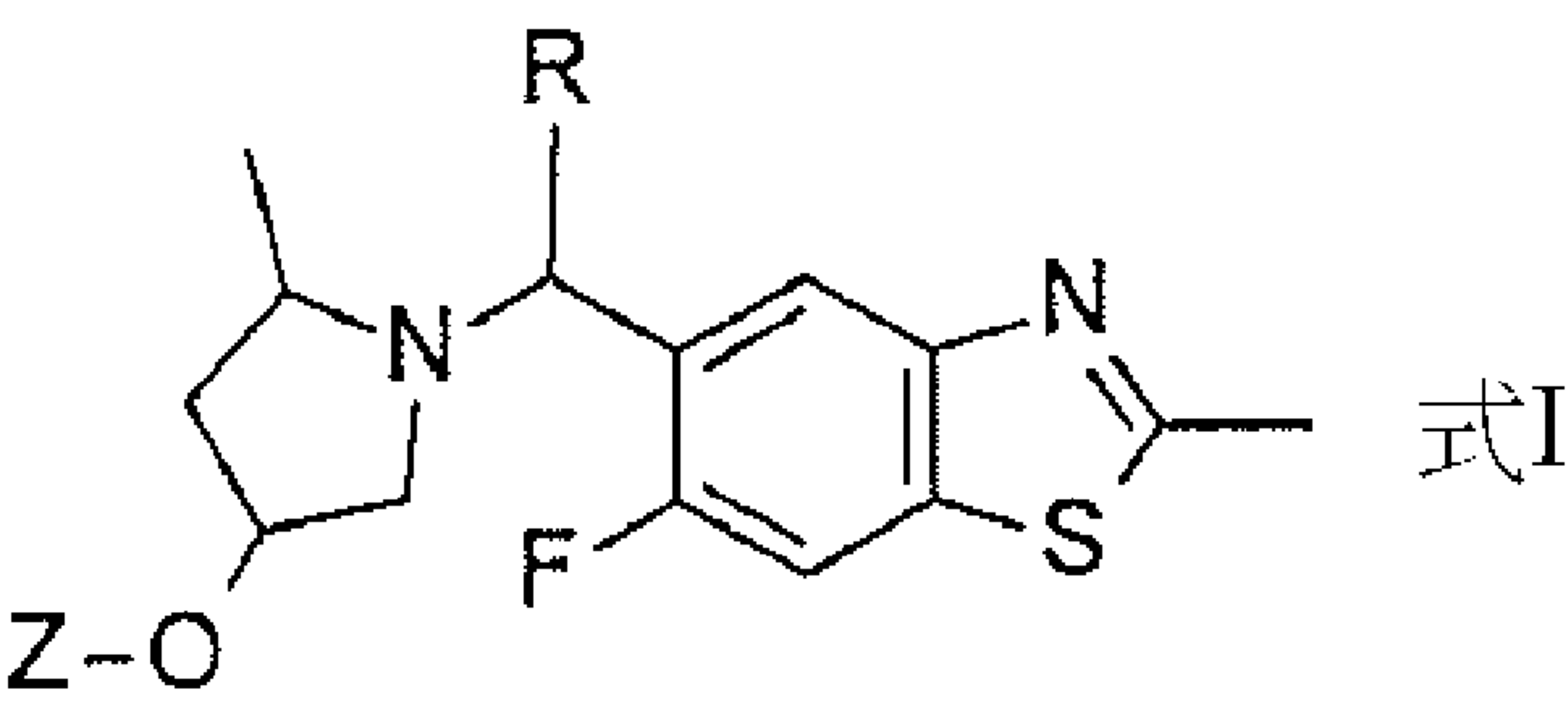
【0006】 先前研究(Yuzwa等人，*Nat Chem Biol*, **4**(8), 483-490 (2008))支持*O-GlcNAcase* (OGA)抑制劑限制tau過度磷酸化且聚集成病理性tau以供治療AD及tau介導之相關神經退化病症之治療潛能。最近，OGA抑制劑Thiamet-G與JNPL3 tau小鼠模型中之運動神經元損失減緩有關(Yuzwa等人，*Nat Chem Biol*, **8**, 393-399 (2012))且與Tg4510 tau小鼠模型中之tau病理學及營養不良性神經突降低有關(Graham等人，*Neuropharmacology*, **79**, 307-313 (2014))。因此，認為OGA抑制劑係降低tau之高度磷酸化病理性形式之累積之可行治療方法。

【0007】 US 2017/0298082揭示可用於治療諸如AD等tau蛋白病變之某些糖苷酶抑制劑。WO 2018/109198 A1及WO 2018/109202 A1揭示可用於治療諸如AD及PSP等tau蛋白病變之某些OGA抑制劑。

【發明內容】

【0008】 期望具有腦滲透性之OGA抑制劑為諸如AD及PSP等tau介導之神經退化病症提供治療。本發明提供作為OGA之強效抑制劑之某些新穎化合物。另外，本發明提供作為OGA之強效抑制劑且具有足夠滲透腦之潛能以有效治療諸如AD及PSP等tau蛋白病變之某些新穎化合物。

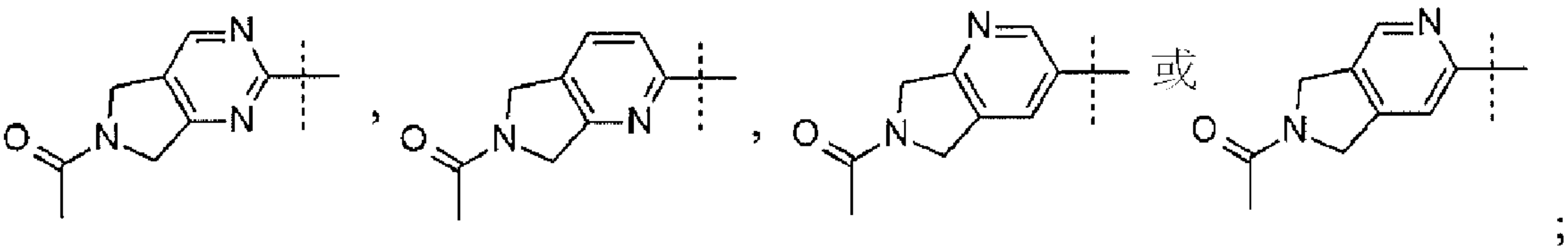
【0009】 因此，本發明提供式I化合物：



其中

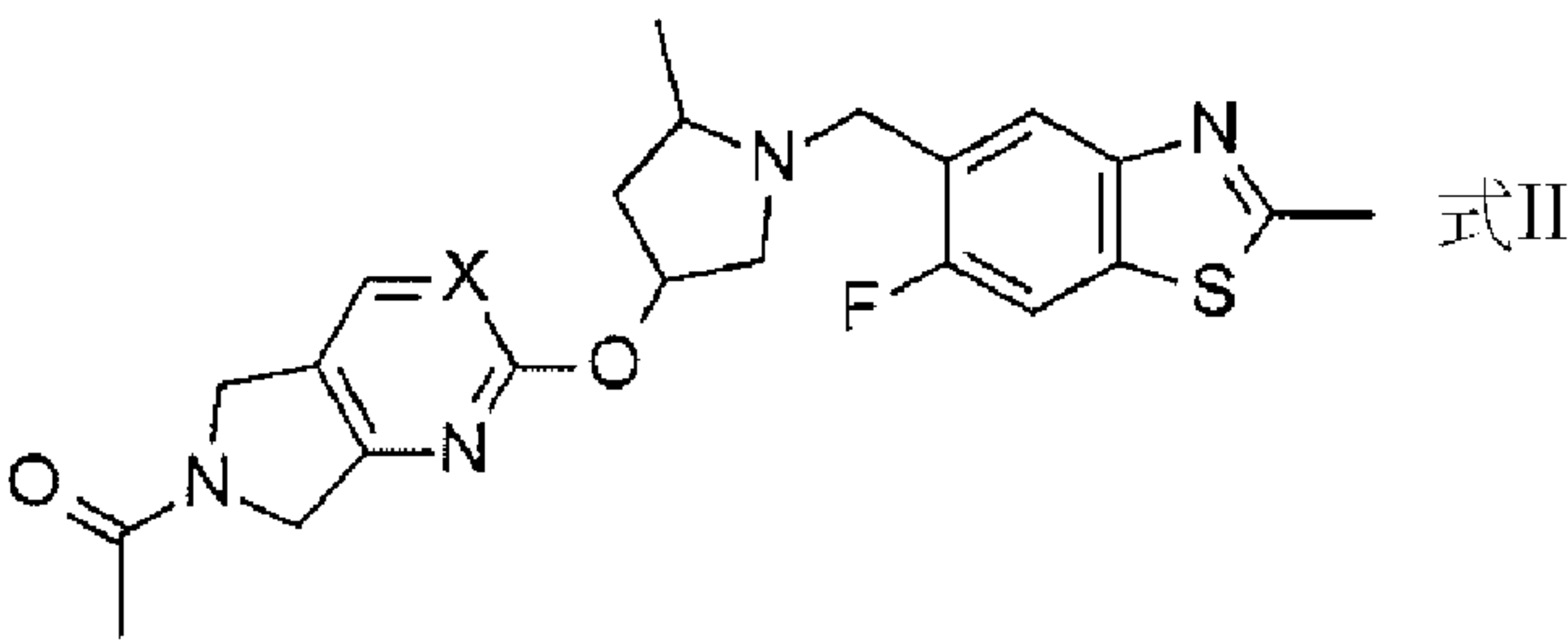
R係氫或甲基；且

Z係：



或其醫藥上可接受之鹽。

【0010】 本發明亦提供式II化合物：



其中X係N或CH，

或其醫藥上可接受之鹽。

【0011】 本發明亦提供治療需要此治療之患者之阿茲海默氏病之方法，其包含向該患者投與有效量之式I或II之化合物或其醫藥上可接受之鹽。

【0012】 本發明進一步提供防止需要此治療之患者之輕度認識損害進展成阿茲海默氏病之方法，其包含向該患者投與有效量之式I或II之化合物或其醫藥上可接受之鹽。

【0013】 本發明亦提供治療需要此治療之患者之進行性核上性麻痺之方法，其包含向該患者投與有效量之式I或II之化合物或其醫藥上可接受之鹽。本發明亦提供治療患者之tau介導之神經退化性病徵之方法，其包含向需要此治療之患者投與有效量之式I或II之化合物或其醫藥上可接受之鹽。

【0014】 此外，本發明提供式I或II之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其用於療法中，特定而言用於治療阿茲海默氏病或用於防止輕度認知損害進展成阿茲海默氏病。另外，本發明提供式I或II之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其用於治療進行性核上性麻痺。本發明亦提供式I或II之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其用於治療tau介導之神經退化性病徵。

【0015】 甚至此外，本發明提供式I或II之化合物或其醫藥上可接受之鹽之用途，其用於製造用於治療阿茲海默氏病或用於防止輕度認知損害進展成阿茲海默氏病之藥劑。另外，本發明提供式I或II之化合物或其醫藥上可接受之鹽之用途，其用於製造用於治療進行性核上性麻痺之藥劑。本發明亦提供式I或II之化合物或其醫藥上可接受之鹽之用途，其用於製造用於治療tau介導之神經退化性病徵之藥劑。

【0016】 本發明進一步提供醫藥組合物，其包含式I或II之化合物或其醫藥上可接受之鹽與一或多種醫藥上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。本發明進一步提供用於製備醫藥組合物之製程，其包含將式I或II之化合物或其醫藥上可接受之鹽與一或多種醫藥上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑混合。

【實施方式】

【0017】 已基於臨床表現及患者展現輕度認知損害隨時間進展成阿

茲海默氏病，將輕度認知損害定義為與阿茲海默氏病相關之失智症的潛在前驅期。術語「防止輕度認知損害進展成阿茲海默氏病」包括遏制、減緩、停止或逆轉患者之輕度認知損害進展成阿茲海默氏病。

【0018】如本文所使用，術語「治療(treating或to treat)」包括遏制、減緩、停止或逆轉現存症狀或病症之進展或嚴重程度。

【0019】如本文所使用，術語「患者」係指人類。

【0020】如本文所使用，術語「有效量」係指本發明之化合物或其醫藥上可接受之鹽在以單一劑量或多個劑量向患者投與時在診斷或治療下在患者中提供期望效應之量或劑量。

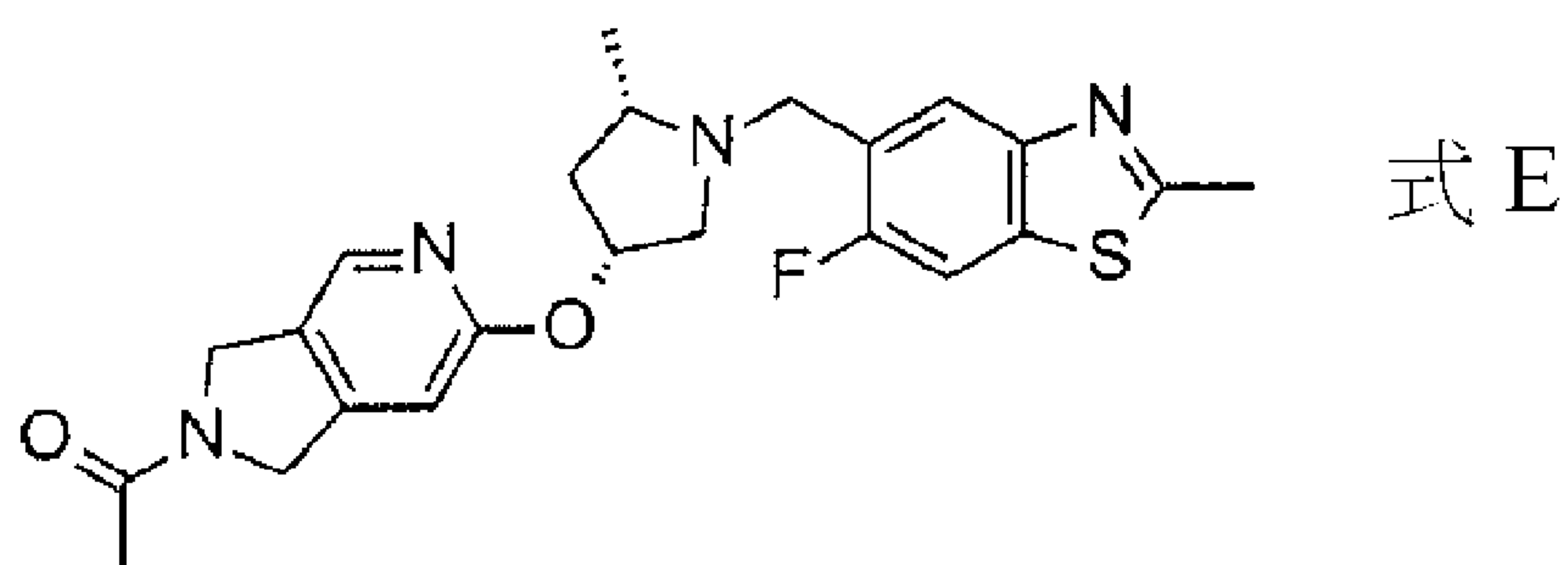
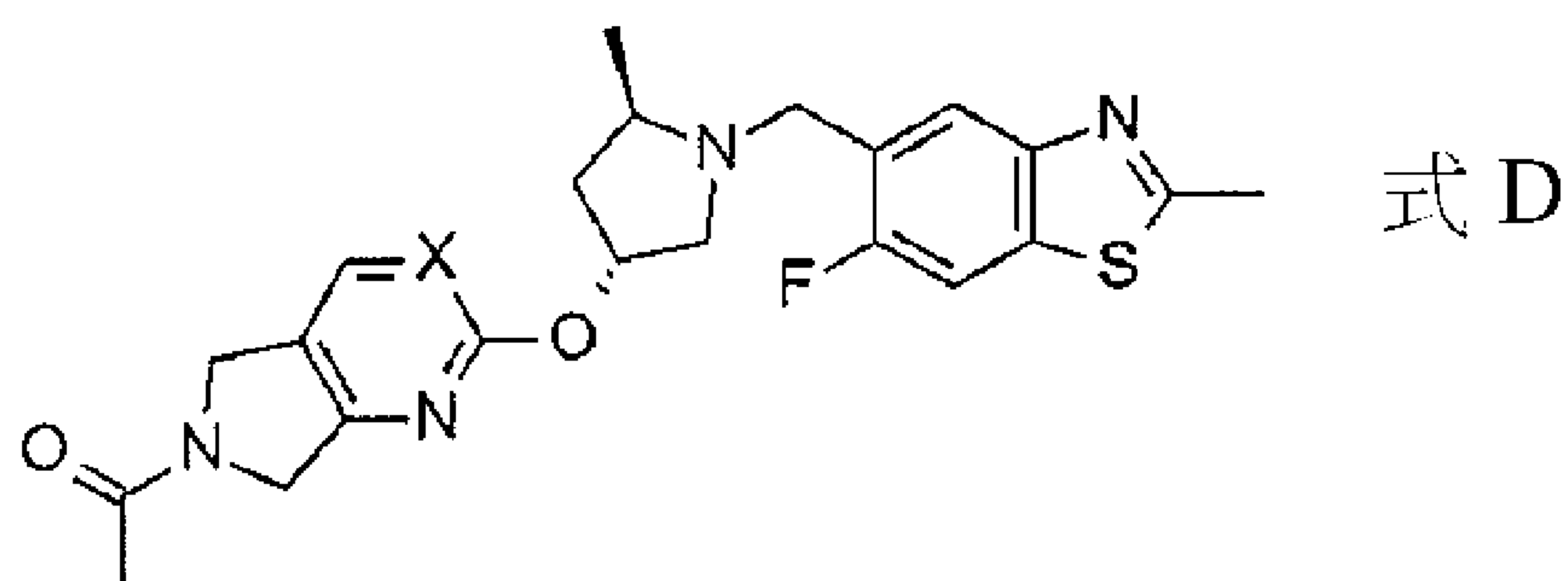
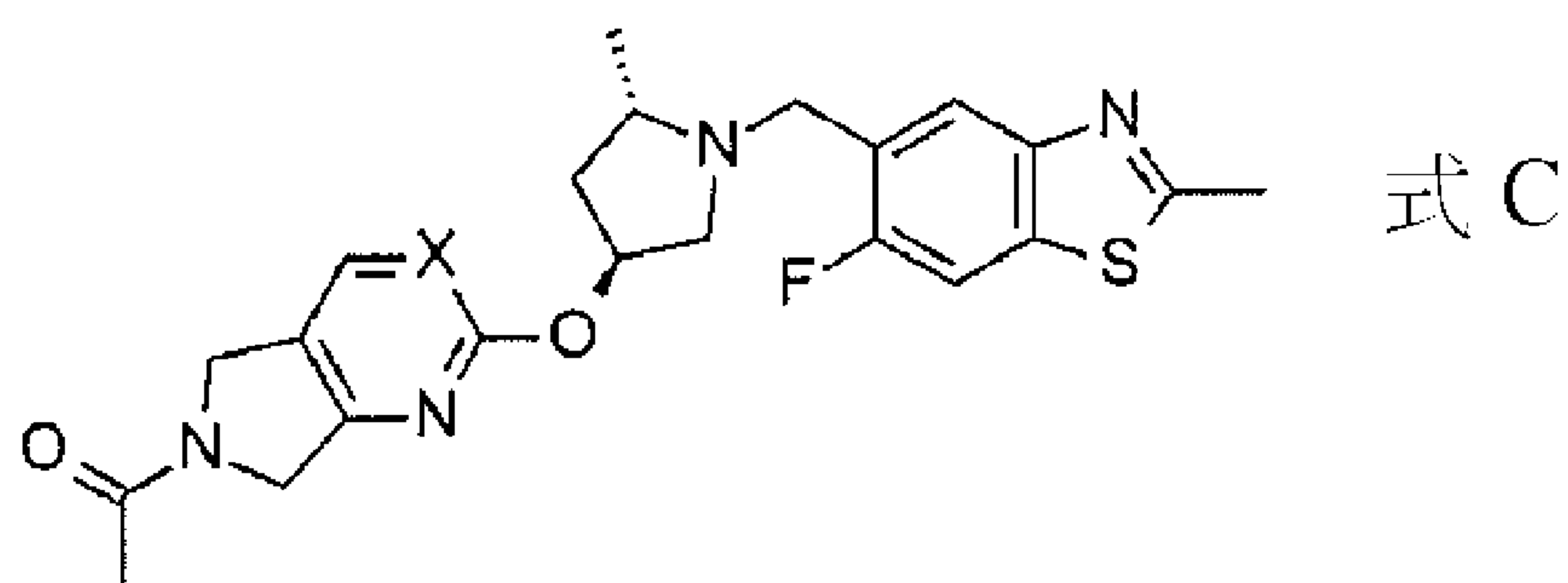
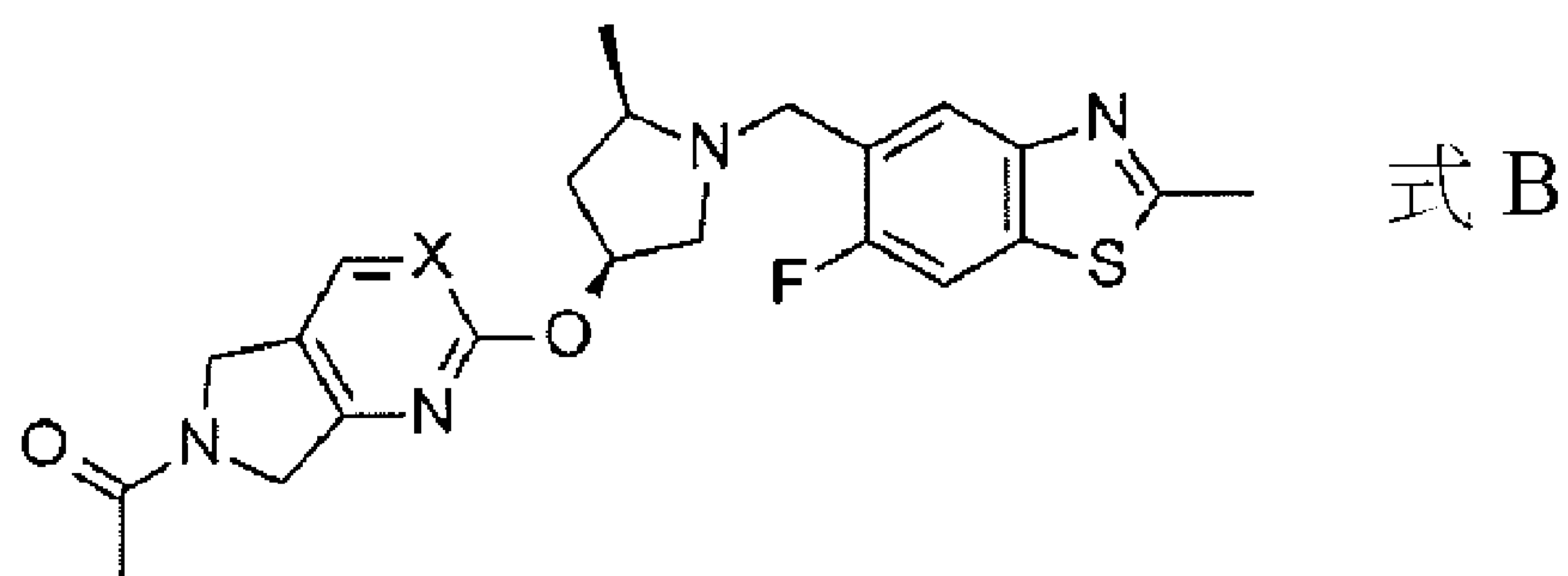
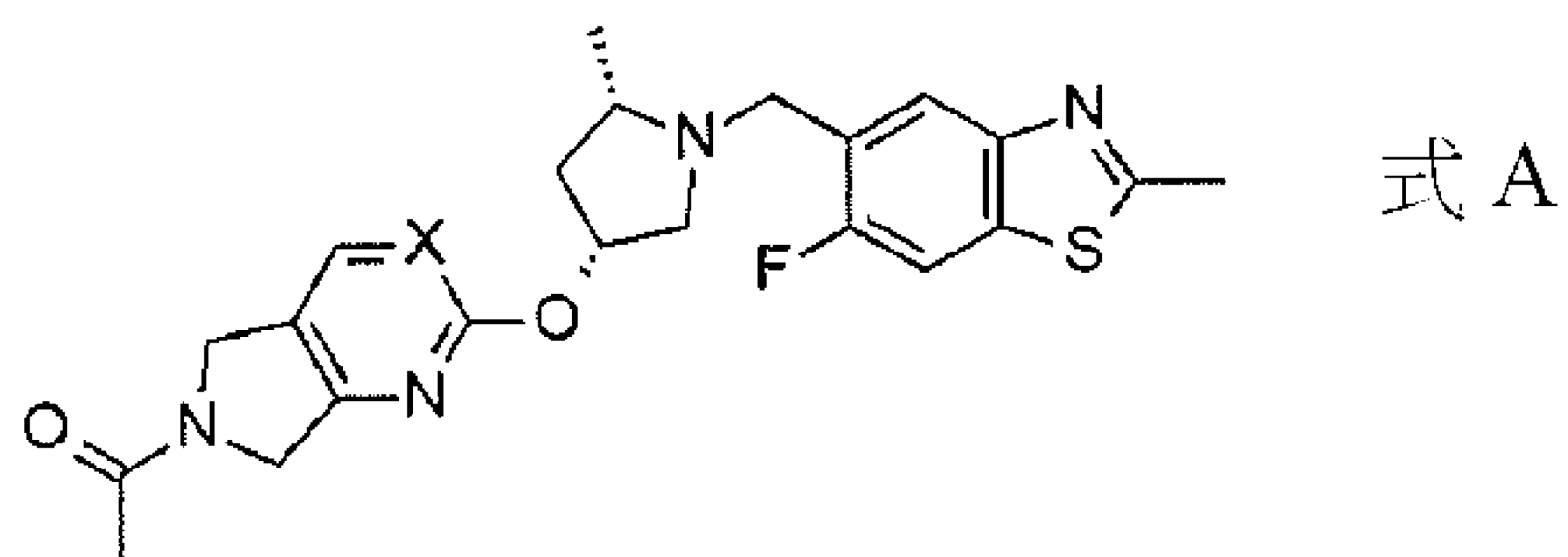
【0021】熟習此項技術者可藉由使用已知技術及藉由觀察在類似情況下所獲得之結果確定有效量。在確定針對患者之有效量中，需考慮多個因素，包括(但不限於)：患者之物種；其體型大小、年齡及一般健康狀況；所涉及之具體疾病或病症；疾病或病症之累及程度或嚴重程度；個別患者之反應；所投與之特定化合物；投與模式；所投與製劑之生物利用度特性；所選劑量方案；伴隨藥劑之使用；及其他相關情況。本發明化合物之每日劑量在約0.1 mg/kg體重至約15 mg/kg體重之範圍內係有效的。

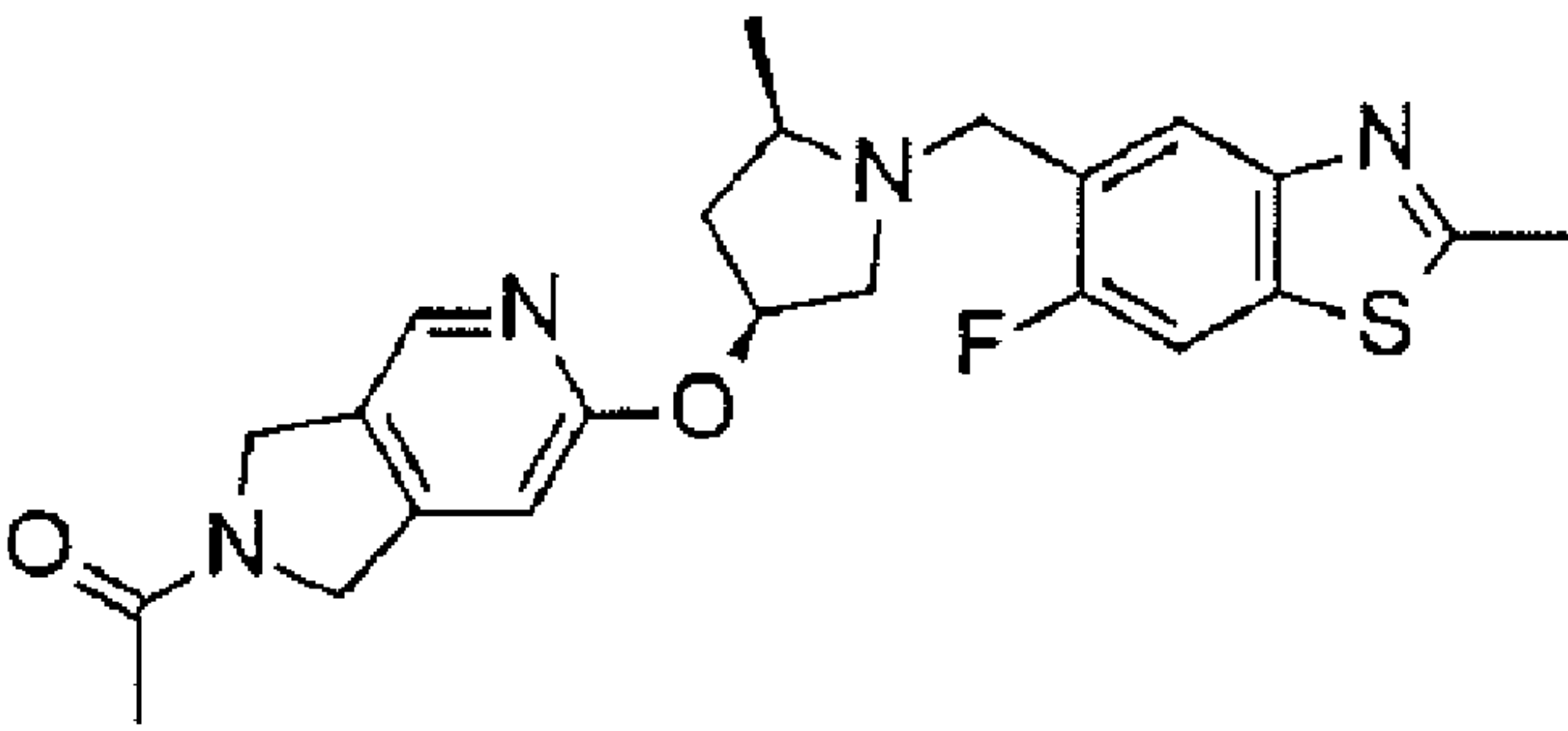
【0022】將本發明之化合物調配為可藉由使得該化合物生物可利用之任一途徑投與之醫藥組合物。較佳地，此等組合物用於經口投與。此等醫藥組合物及其製備製程為業內所熟知(例如，參見Remington: The Science and Practice of Pharmacy，L.V. Allen編輯，第22版，Pharmaceutical Press, 2012)。

【0023】式I化合物及其醫藥上可接受之鹽尤其可用於本發明之治療方法中，其中某些構形較佳。本發明化合物之以下列表闡述此等構形。應

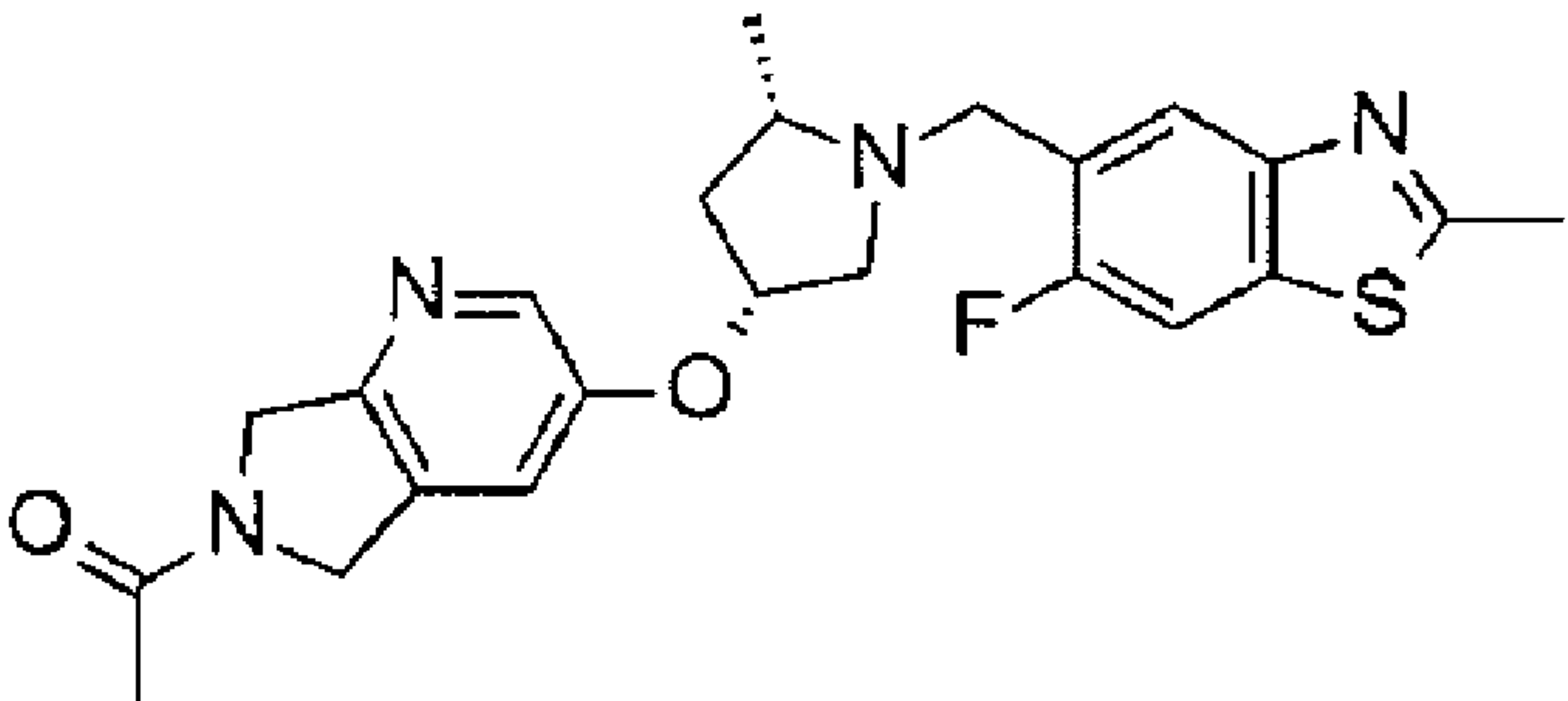
理解，該等偏好適用於本發明之治療方法及化合物二者。

【0024】 本發明之化合物包括：

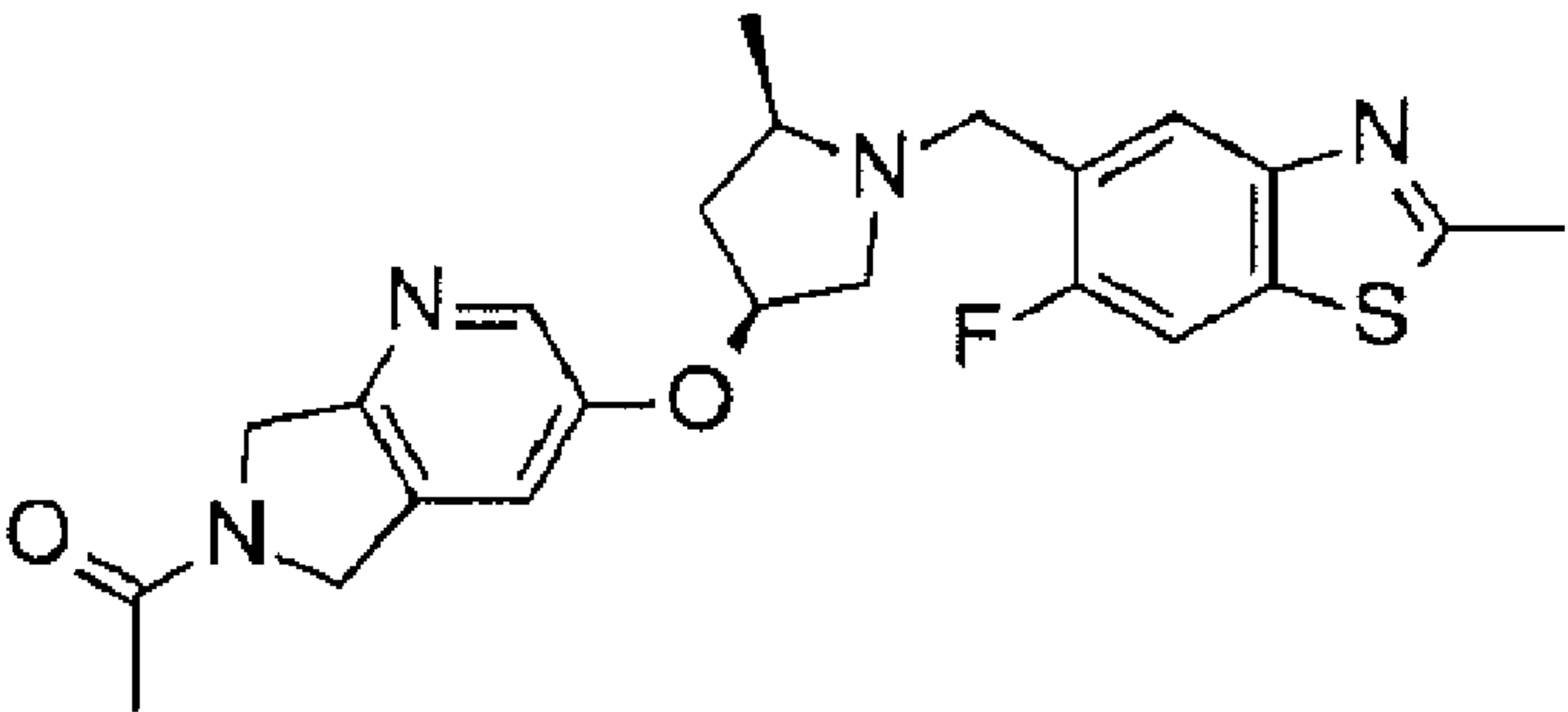




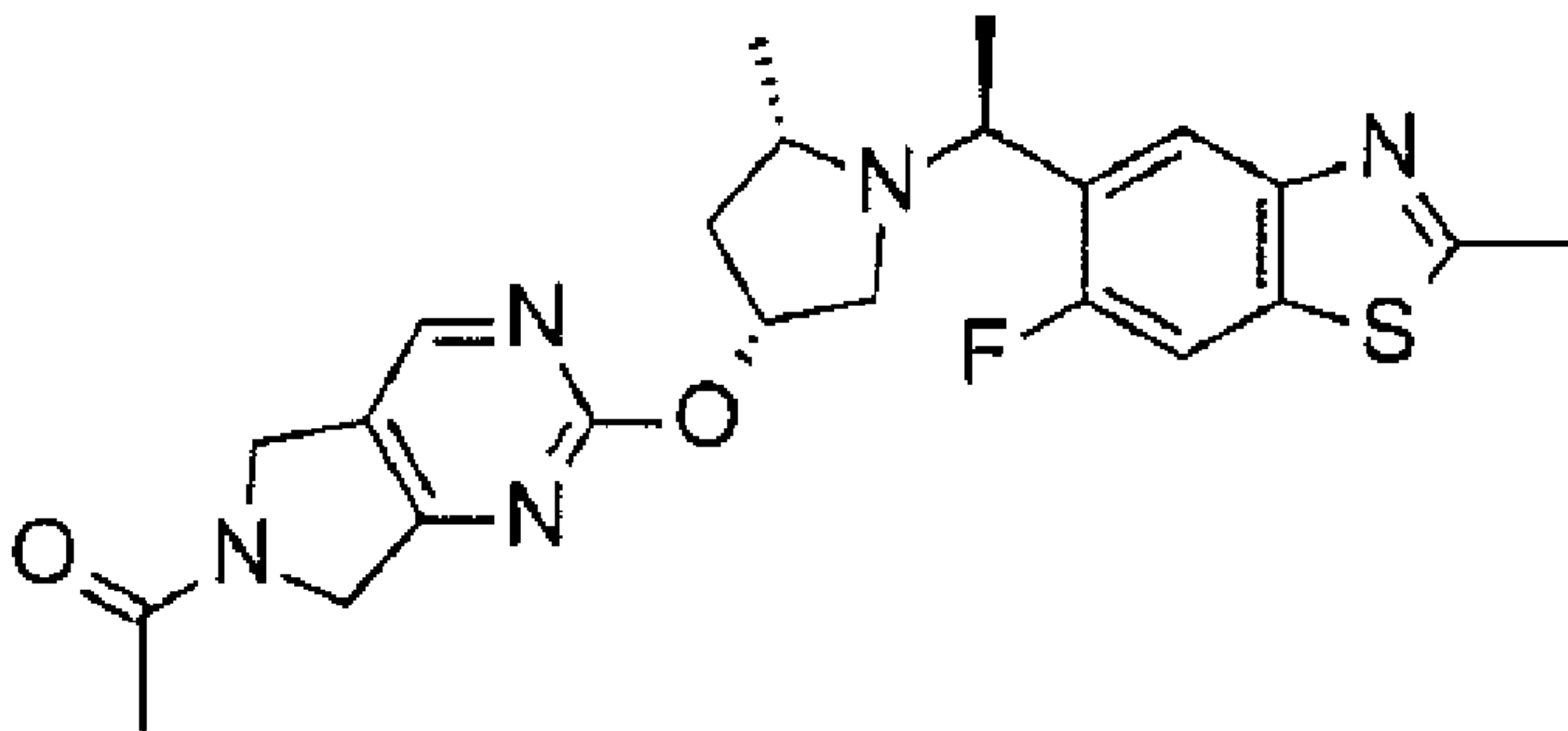
式 F



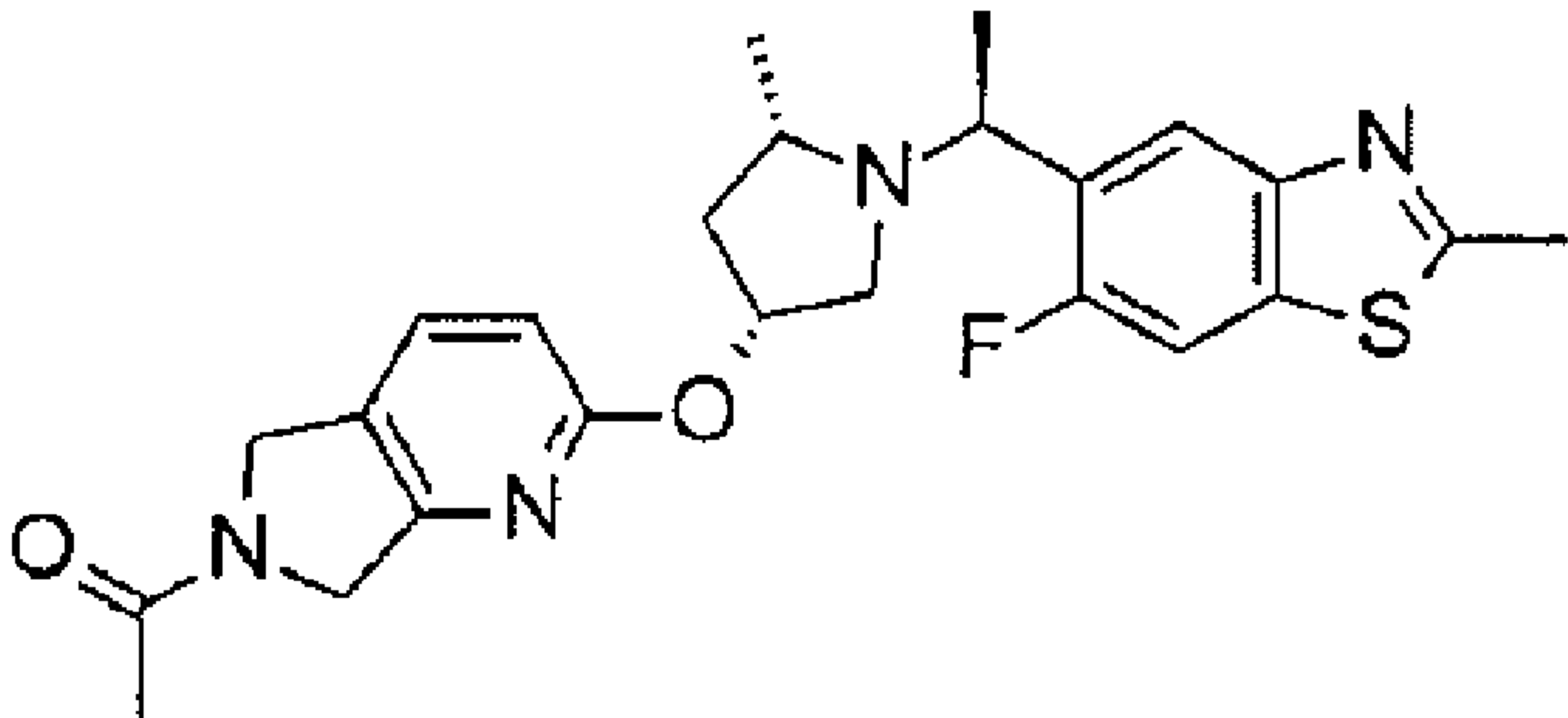
式 G



式 H



式 J

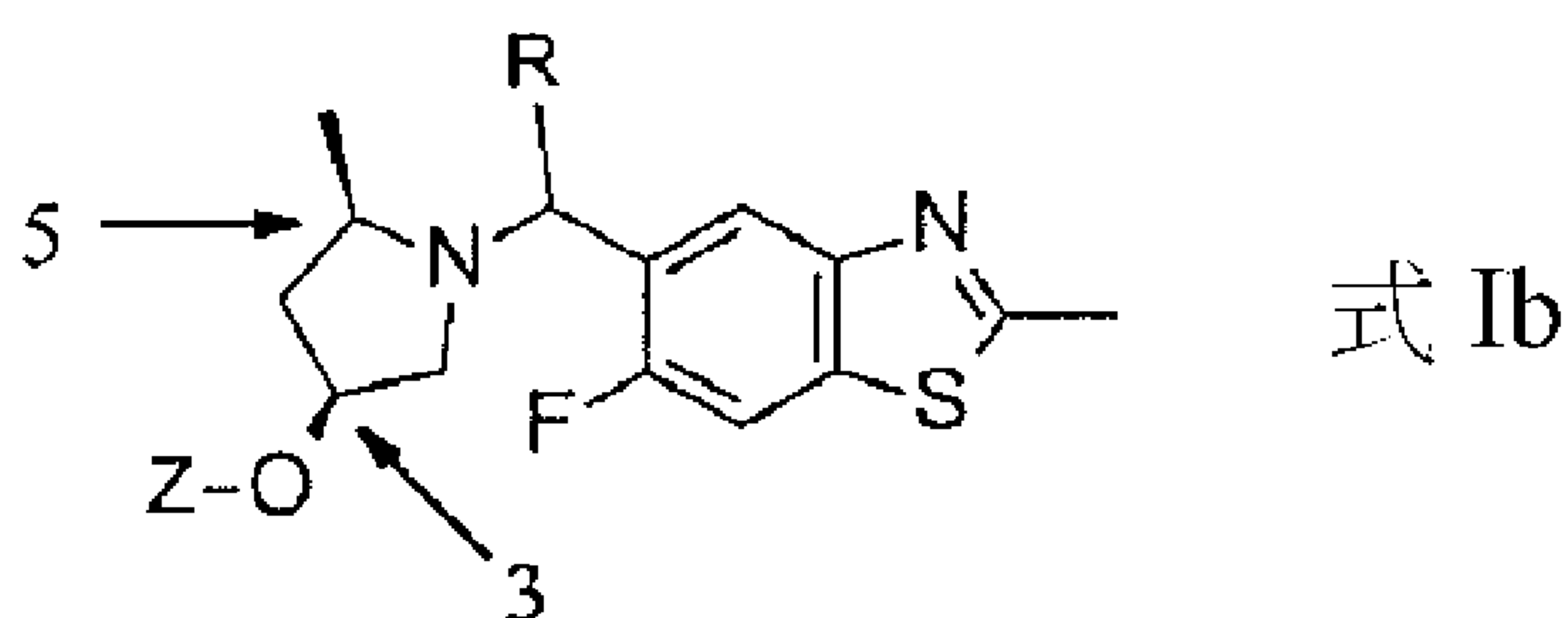
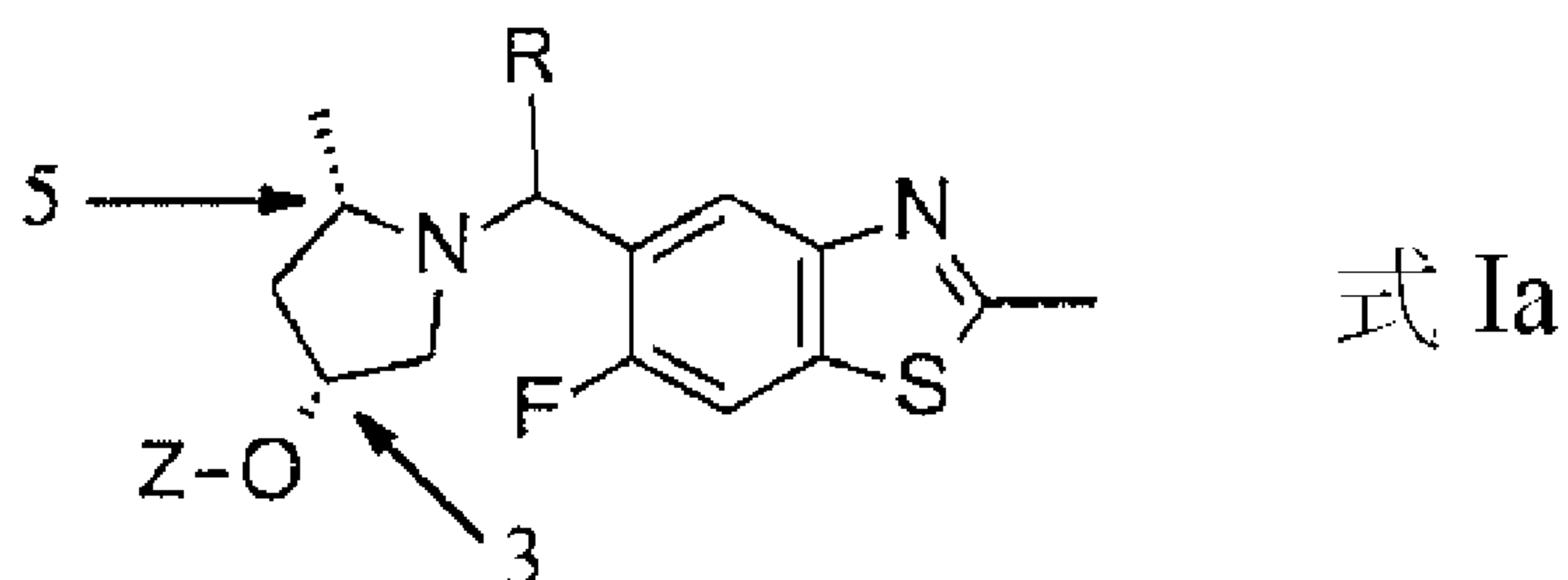


式 K

其中X係N或CH；
及其醫藥上可接受之鹽。

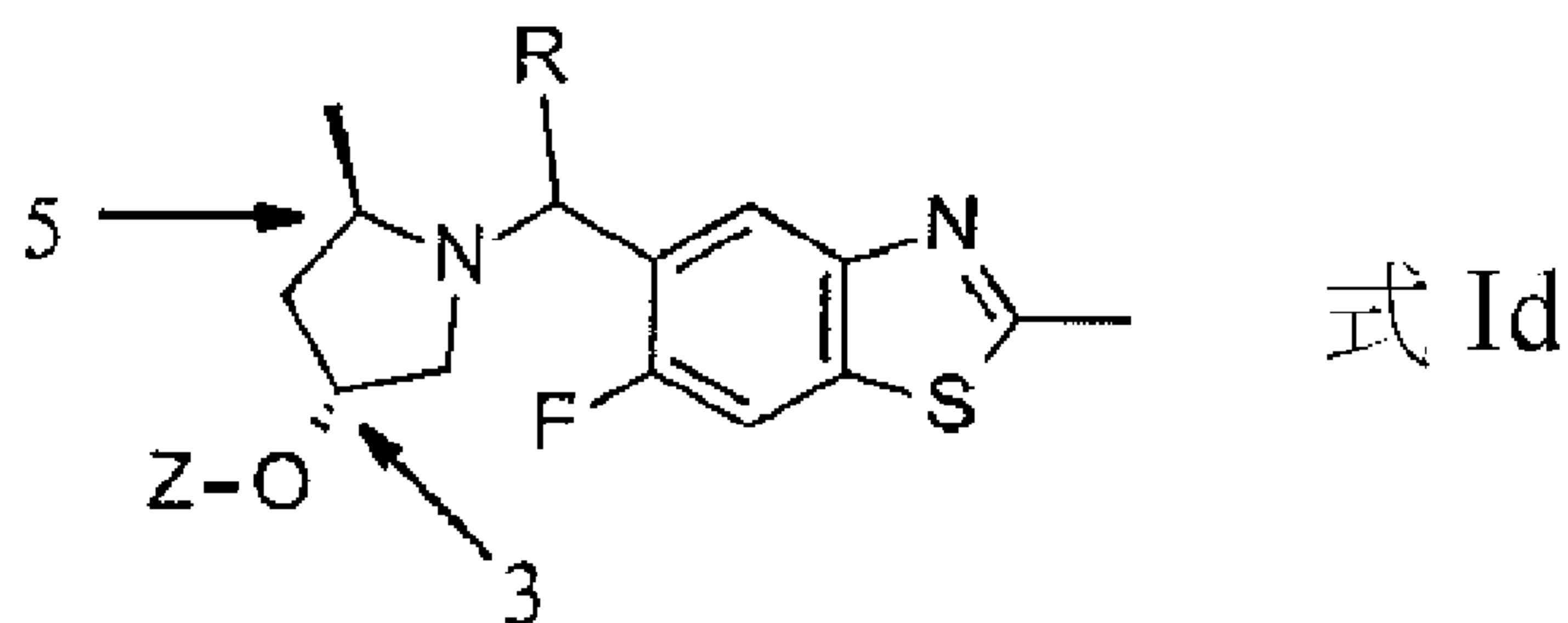
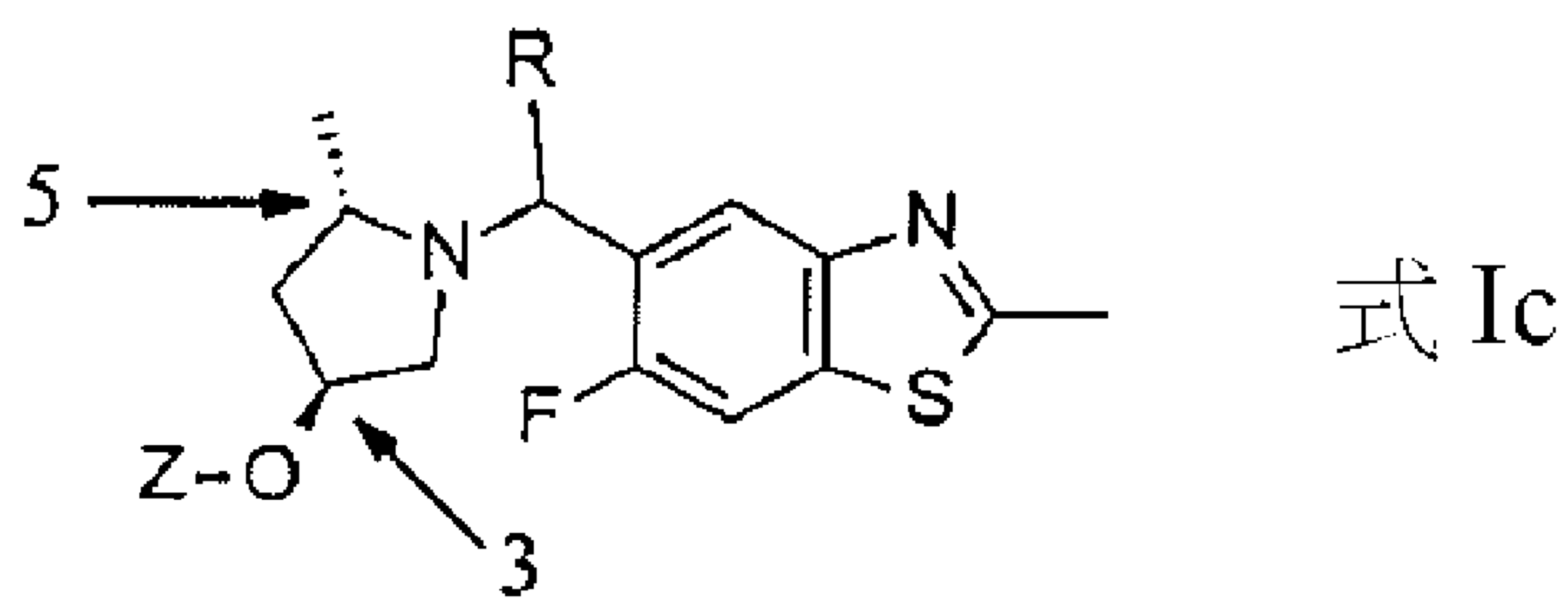
【0025】 其中吡咯啉環上之甲基及氧取代基呈順式或反式構形之式I化合物或其醫藥上可接受之鹽包括在本發明之範圍內，其中順式構形較佳。舉例而言，熟習此項技術者應瞭解，吡咯啉環上位置5處之甲基相對於位置3處之氧係呈順式構形，如以下方案A中所示：

方案A



【0026】 另外，熟習此項技術者應瞭解，吡咯啉環上位置5處之甲基相對於位置3處之氧係呈反式構形，如以下方案B中所示：

方案B



較佳地，當R係甲基時，該甲基可呈(R)-構形或呈(S)-構形，且尤佳地，當R係甲基時，該甲基係呈(S)-構形。

儘管本發明涵蓋所有個別鏡像異構物及非鏡像異構物以及該等化合物之鏡像異構物之混合物(包括外消旋物)，但式Ia化合物及其醫藥上可接受之鹽係較佳的。

熟習此項技術者可藉由諸如以下等方法在合成本發明化合物中之任一便捷點分離或拆分個別鏡像異構物：選擇性結晶技術、手性層析(例如，參見J. Jacques等人，「*Enantiomers, Racemates, and Resolutions*」，John Wiley and Sons, Inc., 1981 以及 E.L. Eliel 及 S.H. Wilen，「*Stereochemistry of Organic Compounds*」，Wiley-Interscience, 1994) 或超臨界流體層析(SFC) (例如，參見T. A. Berger; 「*Supercritical Fluid Chromatography Primer*,」 Agilent Technologies，2015年7月)。

本發明化合物之醫藥上可接受之鹽可(例如)藉由使本發明化合物之適當游離鹼與適當醫藥上可接受之酸於適宜溶劑中在為業內所熟知之標準條件下反應來形成。例如，參見Gould, P.L.，「Salt selection for basic

drugs,」 *International Journal of Pharmaceutics*, **33**: 201-217 (1986) ; Bastin, R.J. 等人, 「Salt Selection and Optimization Procedures for Pharmaceutical New Chemical Entities」, *Organic Process Research and Development*, **4**: 427-435 (2000) ; 及 Berge, S.M. 等人, 「Pharmaceutical Salts,」 *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **66**: 1-19, (1977)。

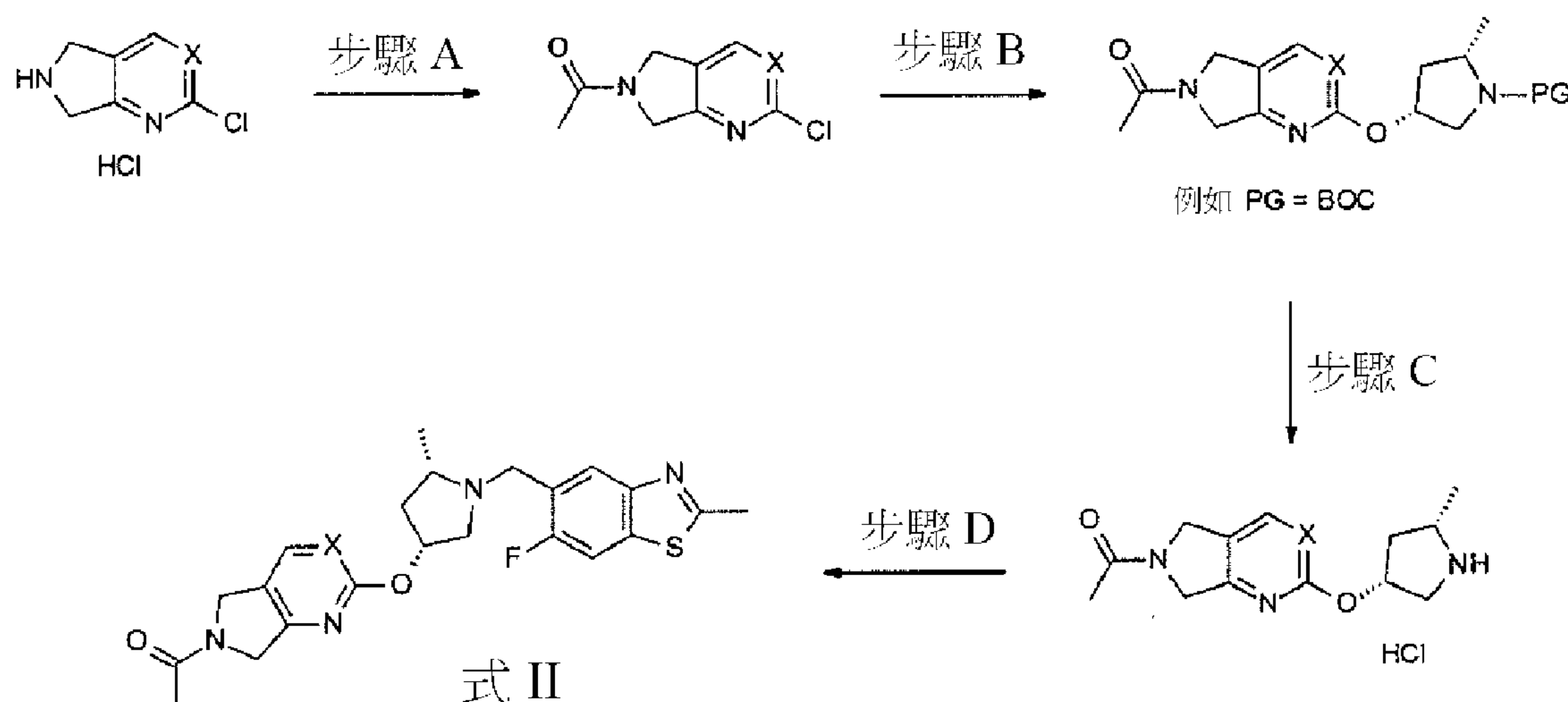
本發明之化合物或其鹽可藉由熟習此項技術者已知之多種程序來製備, 其中一些在下文方案、製備及實例中予以說明。下文方案中每一步驟之產物可藉由業內熟知之習用方法回收, 包括萃取、蒸發、沈澱、層析、過濾、研磨及結晶。在下文方案中, 除非另有指示, 否則所有取代基均如先前所定義。熟習此項技術者可容易地獲得試劑及起始材料。在不限制本發明之範圍之情形下, 提供以下方案、製備及實例來進一步說明本發明。另外, 熟習此項技術者瞭解, 式I化合物可藉由使用可由熟習此項技術者製備之具有相應期望立體化學構形之起始材料或中間體來製備。

某些縮寫定義如下: 「ACN」係指乙腈; 「Ac」係指乙醯基; 「AcOH」係指乙酸; 「Ac₂O」係指乙酸酐; 「BOC」係指第三丁氧基羰基; 「CBz」係指羰基苄基氧基; 「DCM」係指二氯甲烷(methylene chloride 或 dichloromethane); 「DIPEA」係指二異丙基乙胺; 「DMEA」係指二甲基乙胺; 「DMF」係指N,N-二甲基甲醯胺; 「DMSO」係指二甲亞砜; 「dppf」係指二苯基膦基二茂鐵; 「EDTA」係指乙二胺四乙酸; 「ES/MS」係指電噴霧質譜; 「EtOAc」係指乙酸乙酯; 「EtOH」係指乙醇(ethanol或ethyl alcohol); 「h」係指小時(hour或hours); 「IPA」係指異丙醇(isopropanol 或 isopropyl alcohol);

「JohnPhos」係指2-(二-第三丁基膦基)聯苯；「KO-*t*-Bu」係指第三丁醇鉀；「Me」係指甲基；「min」係指分鐘(minute或minutes)；「MTBE」：係指甲基第三丁基醚；「NADP」係指β-菸鹼醯胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二鈉鹽；「NaO-*t*-Bu」係指第三丁醇鈉；「OAc」係指乙酸酯或乙醯氧基；「RT」係指室溫；「TEA」係指三乙胺；「TFA」係指三氟乙酸；「THF」係指四氫呋喃；「TMEDA」係指四甲基乙二胺；「Tris」係指參(羥基甲基)胺基甲烷或2-胺基-2-(羥基甲基)丙烷-1,3-二醇；「 $[\alpha]_D^{20}$ 」係指在20℃及589 nm下之比旋光度，其中c係以g/mL計之濃度。

【0027】

方案1



方案1圖解說明式II化合物之合成。在方案1之步驟A中，可在熟習此項技術者所熟知之眾多種醯化劑下，使適當2-氯-6,7-二氫-5H-吡咯并嘧啶鹽酸鹽(X = N)或2-氯-6,7-二氫-5H-吡咯并吡啶鹽酸鹽(X = CH)之吡咯并-氮醯化。舉例而言，可將約1當量之2-氯-6,7-二氫-5H-吡咯并[3,4-d]嘧啶鹽酸鹽(X = N)或2-氯-6,7-二氫-5H-吡咯并[3,4-b]吡啶鹽酸鹽(X = CH)溶

解於適當有機溶劑(例如DCM)中，添加約4當量之適宜非親核鹼(例如TEA、吡啶或DIPEA)，且在室溫下添加約1.1當量之乙醯氯達約15小時至20小時來逐滴處理混合物。所得反應產物可藉由業內所熟知之技術(例如萃取及層析)來分離。舉例而言，可利用適宜溫和鹼性水溶液(例如NaHCO₃、Cs₂CO₃或KHCO₃)使醯化反應淬滅，可利用適宜有機溶劑(例如DCM)萃取所得雙相，且可依序利用水、飽和NaCl水溶液洗滌合併之有機萃取物，經適宜乾燥劑(例如Na₂SO₄或MgSO₄)乾燥，過濾，且將濾液在減壓下濃縮。可藉由二氧化矽上之急速層析，使用極性及非極性有機溶劑之適宜混合物(例如於己烷中之EtOAc或丙酮)純化所得殘餘物，以獲得方案1步驟A之期望醯化產物。

在方案1之步驟B中，利用經適當N保護之市售羥基吡咯啶進行親核芳香族取代為業內所熟知。熟習此項技術者應認識到，可視去除便利性需要使用各種各樣之親核穩定性N保護基團，例如Boc、CBz、苄基或甲基。舉例而言，可在約0℃至約室溫下利用約2當量之適宜強鹼(例如NaH、KO-*t*-Bu或NaO-*t*-Bu)於適宜極性溶劑(例如THF、DMF、1,4-二噁烷或DMSO)中處理約1當量之經適當N保護之4-羥基-2-甲基吡咯啶。可在約0℃至約室溫下添加約1.2當量之方案1步驟A之期望醯化產物，且將所得混合物在約室溫下攪拌約12-24小時。所得反應產物可藉由業內所熟知之技術(例如萃取及層析)來分離。舉例而言，可利用水稀釋反應混合物，利用適當有機溶劑(例如DCM或EtOAc)萃取，且可依序利用水、飽和NaCl水溶液洗滌合併之有機萃取物，經適宜乾燥劑(例如Na₂SO₄或MgSO₄)乾燥，過濾，且將濾液在減壓下濃縮。可藉由二氧化矽上之急速層析，使用極性及非極性有機溶劑之適宜混合物(例如於己烷中之EtOAc

或丙酮)純化所得殘餘物，以獲得方案1步驟B之期望產物。熟習此項技術者應認識到，市售羥基吡咯啉之不同異構物(例如順式或反式)將產生方案1步驟B之產物之不同異構物。

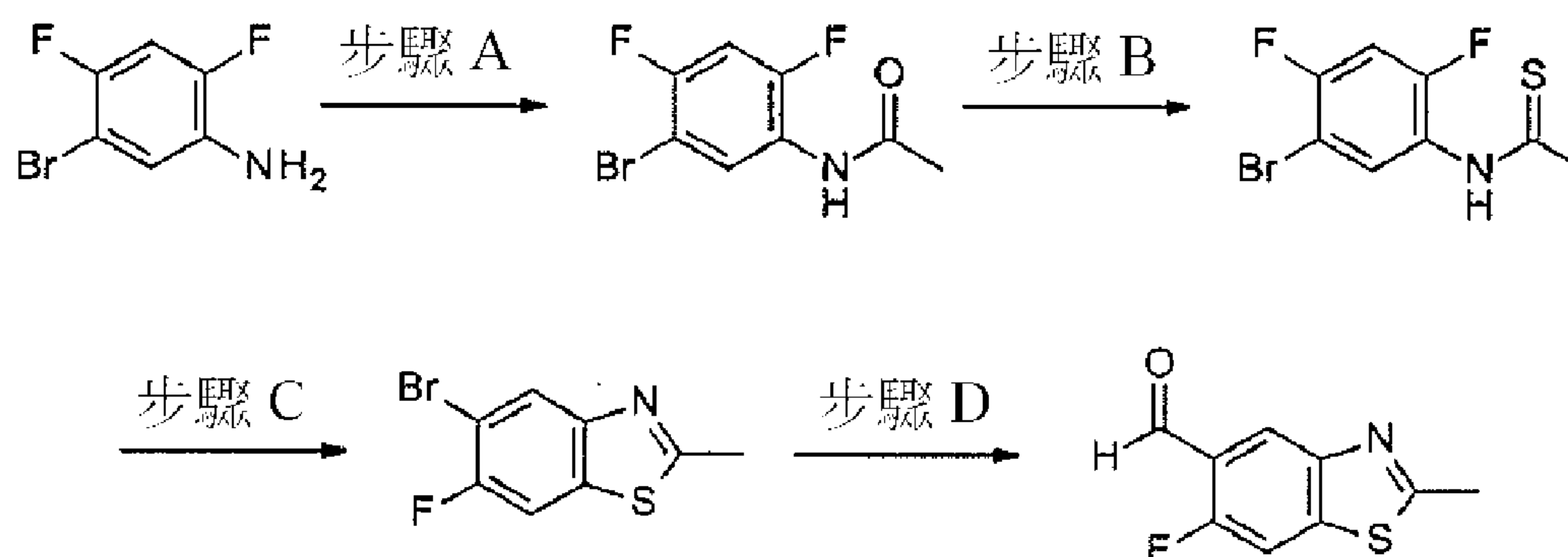
在方案1之步驟C中，熟習此項技術者應認識到，保護基團之去除可在一系列為業內所熟知之條件下完成。舉例而言，可將其中PG = BOC之方案1步驟B之產物溶解於適宜有機溶劑(例如DCM)中，且利用適當酸(例如溶解於有機溶劑(例如Et₂O、1,4-二噁烷)中之HCl或TFA)處理，且將所得反應混合物在約室溫至約80°C下攪拌約30分鐘至8小時。所得反應產物可藉由業內所熟知之技術(例如蒸發)來分離。舉例而言，可使反應混合物在減壓下經受濃縮以獲得方案1步驟C之產物之HCl鹽。

在方案1之步驟D中，N-C鍵形成可在業內所熟知之多種方法下完成，包括親核置換鹵代烷、過渡金屬催化或在還原胺化條件下。舉例而言，可將約1當量之適當經取代醛(例如6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑-5-甲醛)及約1當量之去保護吡咯啉鹽酸鹽(方案1步驟C之產物)溶解於適宜有機溶劑(例如DCM)中，且可利用約2.5-2.75當量之非親核鹼(例如DIPEA或TEA)將所得溶液處理約30分鐘至約1小時。可添加約3當量之適宜硼氫化物還原劑(例如硼氫化鈉、三(乙醯氧基)硼氫化鈉或氰基硼氫化鈉)，且將所得混合物在約室溫下攪拌約12小時至24小時。所得反應產物可藉由業內所熟知之技術(例如萃取及管柱層析)來分離。舉例而言，可利用飽和溫和鹼性水溶液(例如NaHCO₃)緩慢萃取反應混合物。可利用適宜有機溶劑(例如DCM或EtOAc)萃取所得混合物，且可依序利用水、飽和NaCl水溶液洗滌合併之有機萃取物，經適宜乾燥劑(例如Na₂SO₄或MgSO₄)乾燥，過濾，且將濾液在減壓下濃縮。可藉由二氧化矽上之急速層析，使用極性

及非極性有機溶劑之適宜混合物(例如於己烷中之EtOAc或丙酮或於DCM或EtOAc中之甲醇)純化所得殘餘物，以獲得式II化合物。

【0028】

方案2



方案2圖解說明必需6-氟-2-甲基-1,3-苯并噁唑-5-甲醛之製備。在方案2之步驟A中，熟習此項技術者應認識到，可藉由利用適宜醯化試劑(例如Ac₂O或AcCl)在室溫下處理並加熱至約60℃使5-溴-2,4-二氟苯胺醯化，以獲得醯化苯胺。舉例而言，可將約1當量之5-溴-2,4-二氟苯胺添加至約11當量之Ac₂O中，且將所得混合物在攪拌下加熱至約60℃持續約10分鐘。將所得混合物在減壓下濃縮，於庚烷中攪動，且藉由過濾收集所得固體以獲得方案2步驟A之產物N-(5-溴-2,4-二氟-苯基)乙醯胺。

在方案2之步驟B中，可在業內所熟知之多種條件(例如利用元素硫、勞森試劑(Lawesson's Reagent)或二硫代磷酸銨)下於適宜有機溶劑中使醯胺轉化成硫醯胺。更具體而言，可於ACN中利用約0.5當量之吡啶-1-鎘-1-基-[吡啶-1-鎘-1-基(硫離子基)硫代磷醯基]硫基-硫離子基-硫酮-磷烷處理約1當量之N-(5-溴-2,4-二氟-苯基)乙醯胺(例如，參見*J. Org. Chem.* **2011**, 76, 1546-1553)，且在85℃下攪拌過夜。將反應混合物在減壓下濃縮，將所得殘餘物溶解於EtOAc中，且可利用飽和NaCl水溶液洗滌混合

物，經 Na_2SO_4 乾燥，過濾，且將濾液在減壓下濃縮以獲得呈粗製油狀物之方案2步驟B之產物N-(5-溴-2,4-二氟-苯基)硫代乙醯胺，其適於不經額外純化即使用。

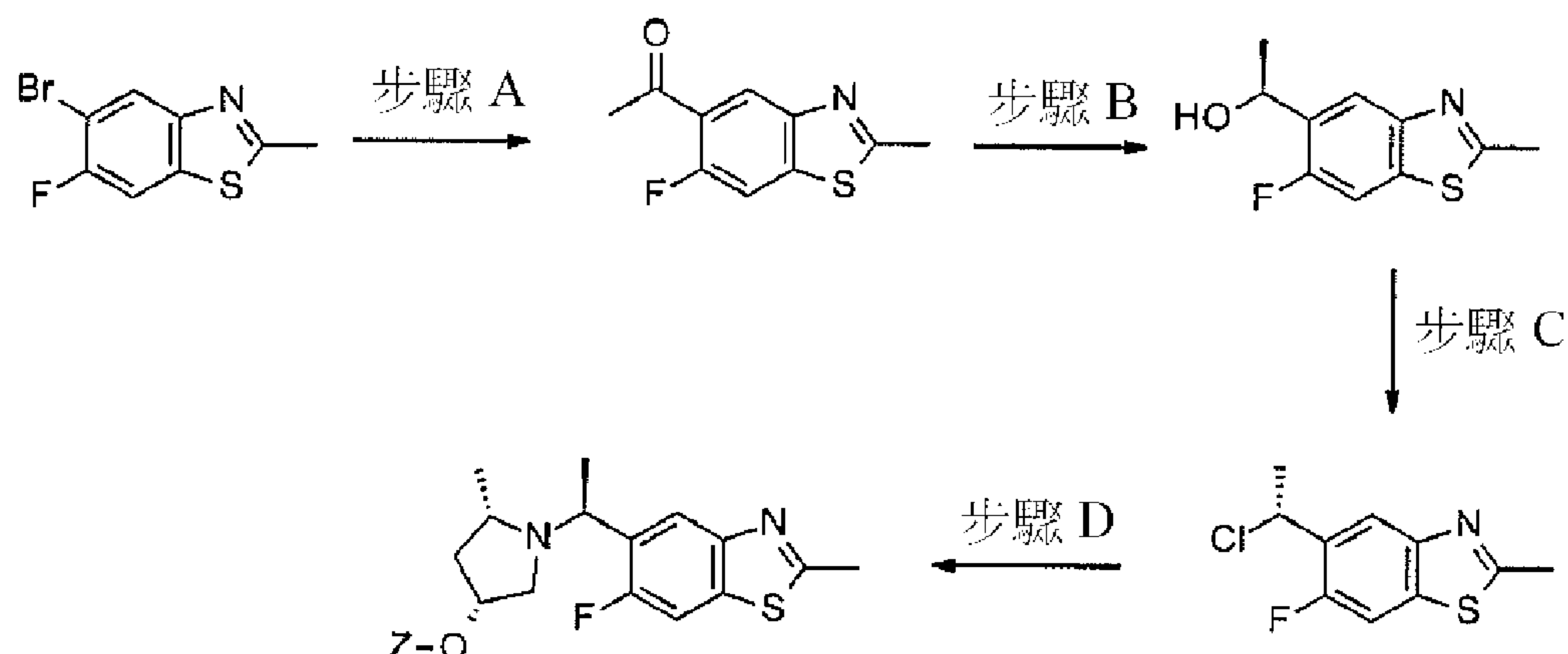
在方案2之步驟C中，熟習此項技術者可認識到，可藉由添加適當鹼(例如 NaH 、 Cs_2CO_3 或 $\text{NaO}-t\text{-Bu}$)於極性非質子溶劑(例如DMF、DMSO或ACN)中使N-(5-溴-2,4-二氟-苯基)硫代乙醯胺環化成苯并噻唑。更具體而言，可利用略微過量之於DMF中之 $\text{NaO}-t\text{-Bu}$ 處理約1當量之硫醯胺並在攪拌下加熱至約 40°C 過夜。可利用熟習此項技術者常用之萃取技術來分離產物。舉例而言，可將經濃縮之反應混合物溶解於EtOAc中，用 H_2O 及飽和 NaCl 水溶液洗滌，經 MgSO_4 乾燥，過濾並濃縮以提供方案2步驟C之苯并噻唑產物。

在方案2之步驟D中，如業內所充分闡述，使用一系列鈀觸媒(包括 PdCl_2 、 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ 或 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$)、配體(包括 PPh_3 、 PBu_3 、dppf或JohnPhos)及羰基源(例如 CO 、 CO/H_2 、 HCOOLi 、 HCOOK)，於極性非質子溶劑(例如ACN、DMSO或DMF)中可使苯并噻唑在攜載溴之位點經歷羰基化。更具體而言，可將約2當量之 HCOOK 添加至含有溶解於適宜極性溶劑(例如DMF)中之約0.05-0.15當量之 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ 、約0.05-0.15當量之適宜膦配體(例如JohnPhos)、約1.2當量之1,1,3,3-四甲基丁基異腓及約1當量之5-溴-6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑之反應混合物。可將反應混合物加熱至約 65°C ，攪拌過夜，冷卻至室溫，且可利用業內所熟知之技術分離並純化鈀介導反應之粗製醛產物。舉例而言，可將殘餘物溶解於EtOAc中，依序利用飽和 Na_2CO_3 水溶液及飽和 NaCl 水溶液洗滌，且使用矽膠層析利用適宜有機溶劑之混合物(例如庚烷:EtOAc)梯度進行純化，以獲得期望之方

案2步驟D之產物羰基化苯并噻唑。

【0029】

方案3



式I：R=甲基

在方案3之步驟A中，將5-溴-6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑與約0.03當量之於適宜溶劑(例如乙二醇)中之適宜鈹觸媒(例如[1,3-雙(二苯基膦基)丙烷]二氯化鈹(II))及約3當量之三甲胺在氮下合併。將約5當量之1-乙炔基氧基丁烷添加至混合物，且將反應在約100°C下加熱約18小時。在冷卻至室溫之後，利用過量HCl水溶液處理反應，且使用業內所熟知之標準萃取技術分離出產物1-(6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑-5-基)乙酮。

在方案3之步驟B中，於高壓釜中，使用催化量之(R)-Rucy-xylBinap (CAS編號1384974-38-2)及約0.04當量之第三丁醇鉀於適宜溶劑(例如甲苯)中使1-(6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑-5-基)乙酮轉化成(1S)-1-(6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑-5-基)乙醇。使高壓釜冷卻至約-10°C，且用氫裝填至約450 psi並攪拌約4.5小時。然後使反應升溫至室溫並攪拌約15小時，然後濃縮，且藉由業內所熟知之技術(例如急速層析)分離出步驟B之產物。

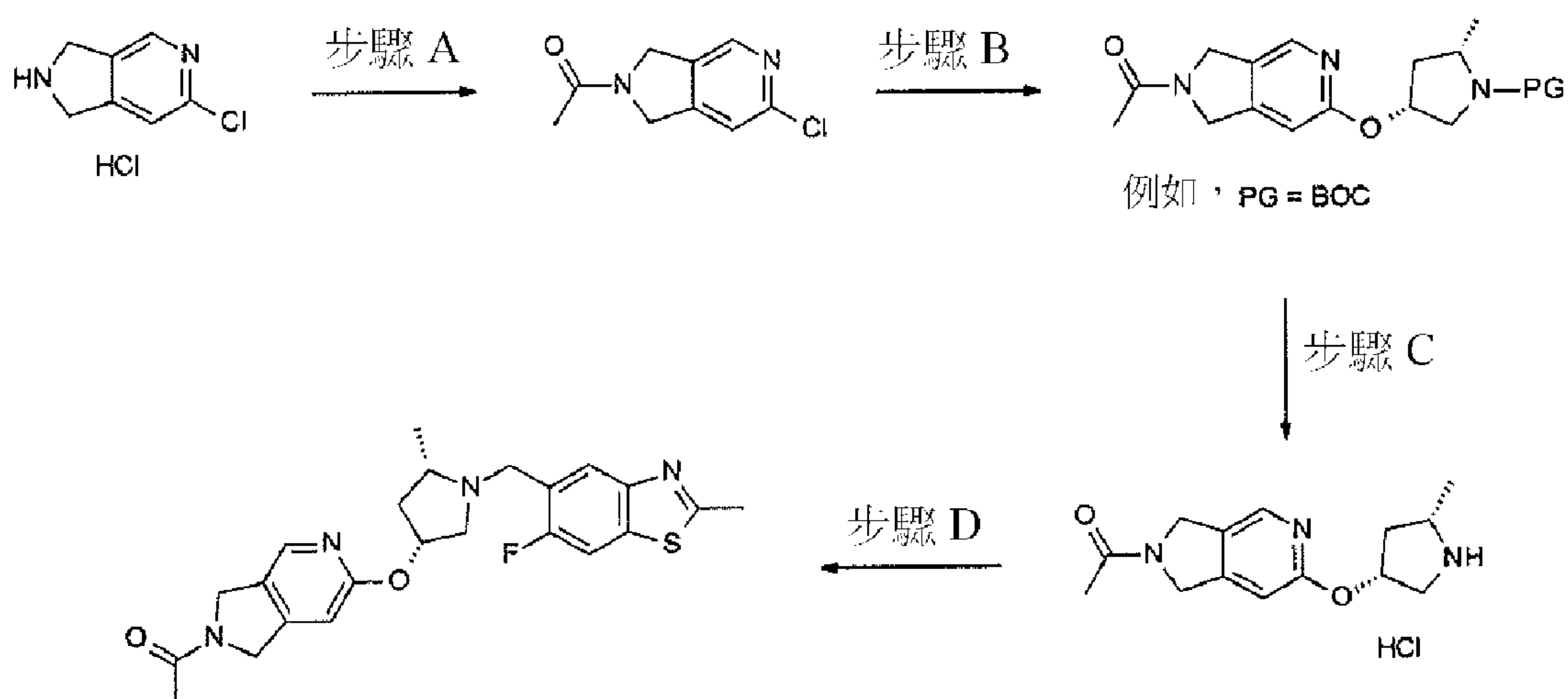
在方案3之步驟C中，將(S)-1-(6-氟-2-甲基苯并[d]噻唑-5-基)乙-1-醇溶解於適宜溶劑(例如二噁烷)中，且利用約0.5當量之1-甲醯基吡咯啉及約

2.5當量之苯甲醯氯處理。在室溫下攪拌約36小時之後，使反應混合物冷卻至約0℃，用乙酸乙酯稀釋且將約1.5當量之N,N-二甲基乙二胺逐滴添加至混合物。然後使混合物升溫至室溫，添加至過量之飽和檸檬酸水溶液中，且藉由標準萃取技術分離出期望產物5-[(1R)-1-氯乙基]-6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑，之後經由急速層析進行純化。

在方案3之步驟D中，將經適當取代之吡咯啶溶解於適宜溶劑(例如乙腈)中，利用約0.8當量之5-[(1R)-1-氯乙基]-6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑及過量碳酸鉀處理，且在約68℃下攪拌約21小時。然後在業內所熟知之條件下分離並純化其中R係甲基之式I產物。

【0030】

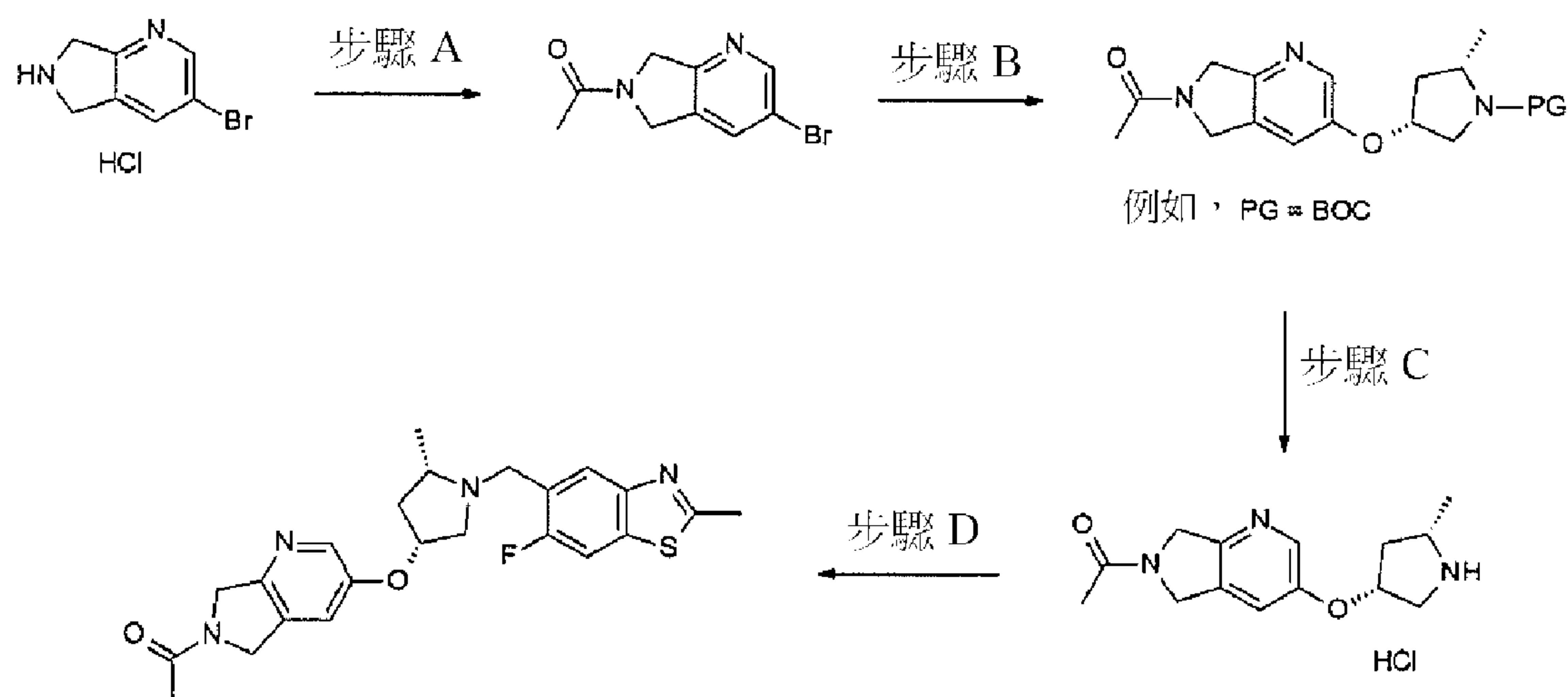
方案4



在方案4中，步驟A至D係以基本上類似於上文在方案1之步驟A至D中所闡述彼等之方式來實施。

【0031】

方案5



在方案5中，步驟A至D係以基本上類似於上文在方案1之步驟A至D中所闡述彼等之方式來實施。

【0032】

製備及實例

以下製備及實例進一步說明本發明且代表本發明化合物之典型合成。試劑及起始材料可容易地獲得或可由熟習此項技術者容易地合成。應理解，製備及實例係以說明而非限制方式來陳述，且熟習此項技術者可進行各種修改。

在AGILENT[®] HP1100液相層析系統上實施LC-ES/MS。電噴霧質譜量測(以正離子及/或負離子模式獲取)係在介接至HP1100 HPLC之質量選擇性檢測器四極質譜儀上實施。LC-MS條件(低pH)：管柱：PHENOMENEX[®] GEMINI[®] NX C18 2.1 × 50 mm 3.0 μm；梯度：在3分鐘內5%-100% B，然後100% B持續0.75分鐘；管柱溫度：50°C +/-10°C；流速：1.2 mL/min；溶劑A：含有0.1% HCOOH之去離子水；溶劑B：含有0.1%甲酸之ACN；波長214 nm。替代LC-MS條件(高pH)：管柱：XTERRA[®] MS C18管柱2.1×50 mm，3.5 μm；梯度：5%之溶劑A持續0.25分鐘，在3分鐘內5%至100%梯度之溶劑B及100%之溶劑B持續0.5

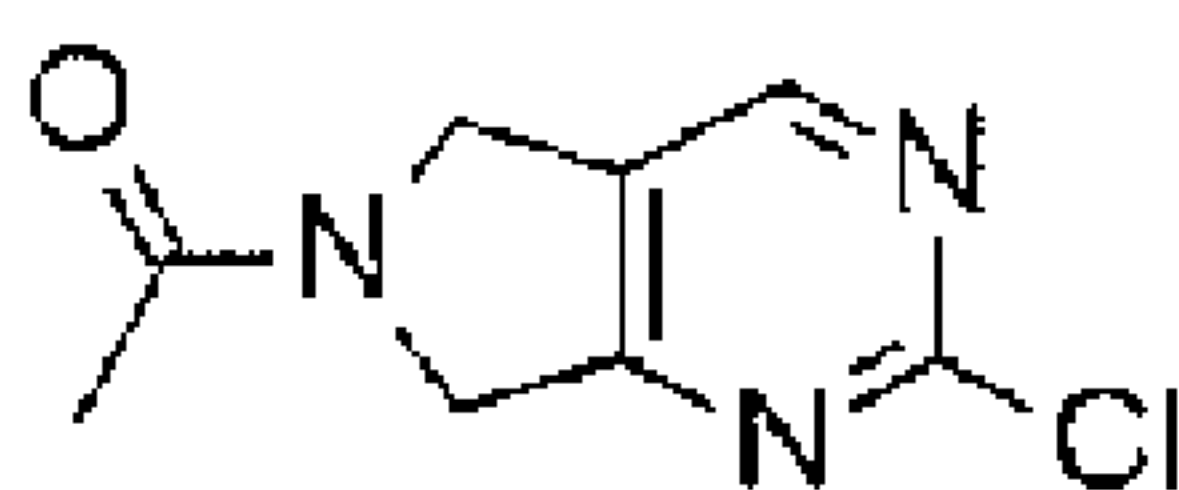
分鐘或在3分鐘內10%至100%之溶劑B及100%之溶劑B持續0.75分鐘；管柱溫度：50°C +/-10°C；流速：1.2 mL/min；溶劑A：10 mM NH₄HCO₃ pH 9；溶劑B：ACN；波長：214 nm。

NMR光譜係在Bruker AVIII HD 400 MHz NMR光譜儀上實施，使用殘餘溶劑[CDCl₃, 7.26 ppm; (CD₃)₂SO, 2.05 ppm]作為參考標準，作為CDCl₃或DMSO溶液以ppm報告獲得。在報告峰多重性時，可使用以下縮寫：s (單峰)、d (雙重峰)、t (三重峰)、q (四重峰)、m (多重峰)、br-s (寬單峰)、dd (雙重峰之雙重峰)、dt (三重峰之雙重峰)。偶合常數(J)在報告時係以赫茲(Hz)報告。

【0033】

製備1

1-(2-氯-5,7-二氫-6H-吡咯并[3,4-d]嘓啶-6-基)乙-1-酮



方案1，步驟A (X=N)：向0°C之2-氯-6,7-二氫-5H-吡咯并[3,4-d]嘓啶HCl (10.4 g, 54.2 mmol)於DCM (250 mL)中之溶液逐滴添加TEA (37 mL, 265 mmol)及乙醯氯(5.2 mL, 73 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌19小時。用DCM (50 mL)及飽和NaHCO₃水溶液(200 mL)稀釋該反應混合物。用DCM (2 × 100 mL)萃取水層。將合併之有機萃取物用飽和NaCl水溶液洗滌，經MgSO₄乾燥，過濾並在減壓下濃縮。將所得殘餘物溶解於DCM中，吸附至矽藻土上，且經由矽膠上之急速層析利用於己烷中之50%-100%丙酮梯度進行溶析來純化，以在溶劑蒸發期望之層析部分後獲得標題化合物(5.17 g，48%產率)。ES/MS *m/z*: 198 (M+H)。

【0034】

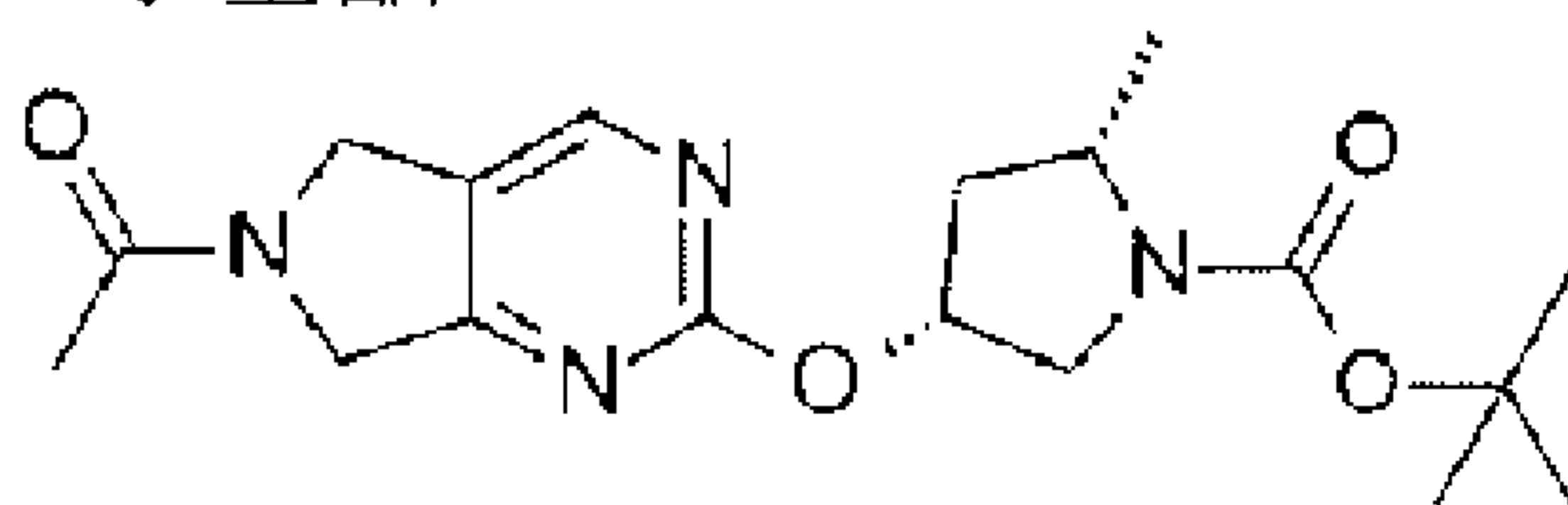
製備1之替代程序

利用研鉢及研杵將2-氯-6,7-二氫-5H-吡咯并[3,4-d]嘧啶鹽酸鹽(32.0 g, 167 mmol；參見WO17/071636)研磨成細粉。將粉末轉移至燒瓶中，且在室溫下添加DCM (320 mL)及吡啶(35.0 mL, 433 mmol)。於冰-水浴中劇烈攪拌反應混合物，且經10分鐘逐滴添加乙醯氯(15.5 mL, 217 mmol)，在添加期間維持內部溫度低於10°C。將反應混合物在室溫下劇烈攪拌2小時，然後於冰-水浴中攪拌，且經5分鐘添加2 M HCl水溶液(320 mL)，在添加期間維持內部溫度低於15°C。將混合物在室溫下攪拌10分鐘，且經由短的矽藻土墊過濾，用DCM (50 mL)及水(50 mL)洗滌。將濾液轉移至分液漏斗中並分離各層。用DCM (3 × 300 mL)萃取水層，且使合併之有機層經Na₂SO₄乾燥並在減壓下濃縮。將所得殘餘物懸浮於50%環戊基-甲基醚/庚烷(300 mL)中，且將混合物在50°C加熱塊中劇烈攪拌30分鐘。將混合物在室溫下攪拌30分鐘並過濾。將過濾出之固體在真空下在40°C下乾燥過夜以獲得呈淡棕色固體之標題化合物(29.38 g, 88%產率)。ES/MS *m/z*: 198 (M+H)。

【0035】

製備2

(2S,4R)-4-((6-乙醯基-6,7-二氫-5H-吡咯并[3,4-d]嘧啶-2-基)氧基)-2-甲基吡咯啉-1-甲酸第三丁基酯



方案1，步驟B (X = N)：在0°C下向(2S,4R)-4-羥基-2-甲基-吡咯啉-

1-甲酸第三丁基酯(2.07 g, 10.3 mmol)及THF (20 mL)之溶液一次性添加於礦物油中之60%質量NaH (0.83 g, 20.7 mmol)，且將混合物攪拌25分鐘。添加1-(2-氯-5,7-二氫-6H-吡咯并[3,4-d]嘧啶-6-基)乙-1-酮(2.5 g, 12.7 mmol)及額外之THF (5 mL)，經45分鐘使混合物緩慢升溫至室溫，且將混合物在室溫下攪拌19小時。用水(75 mL)及EtOAc (75 mL)稀釋反應混合物。用EtOAc (2 × 50 mL)萃取水層，且使合併之有機萃取物經MgSO₄乾燥，過濾並在減壓下濃縮。將所得殘餘物溶解於DCM中，且經由矽膠上之急速層析利用於己烷中之50%-90%丙酮梯度進行溶析來純化，以在溶劑蒸發期望之層析部分後獲得標題化合物(3.07 g，82%產率)。ES/MS *m/z*: 307 (M+H-C₄H₉)。

【0036】

製備2之替代程序

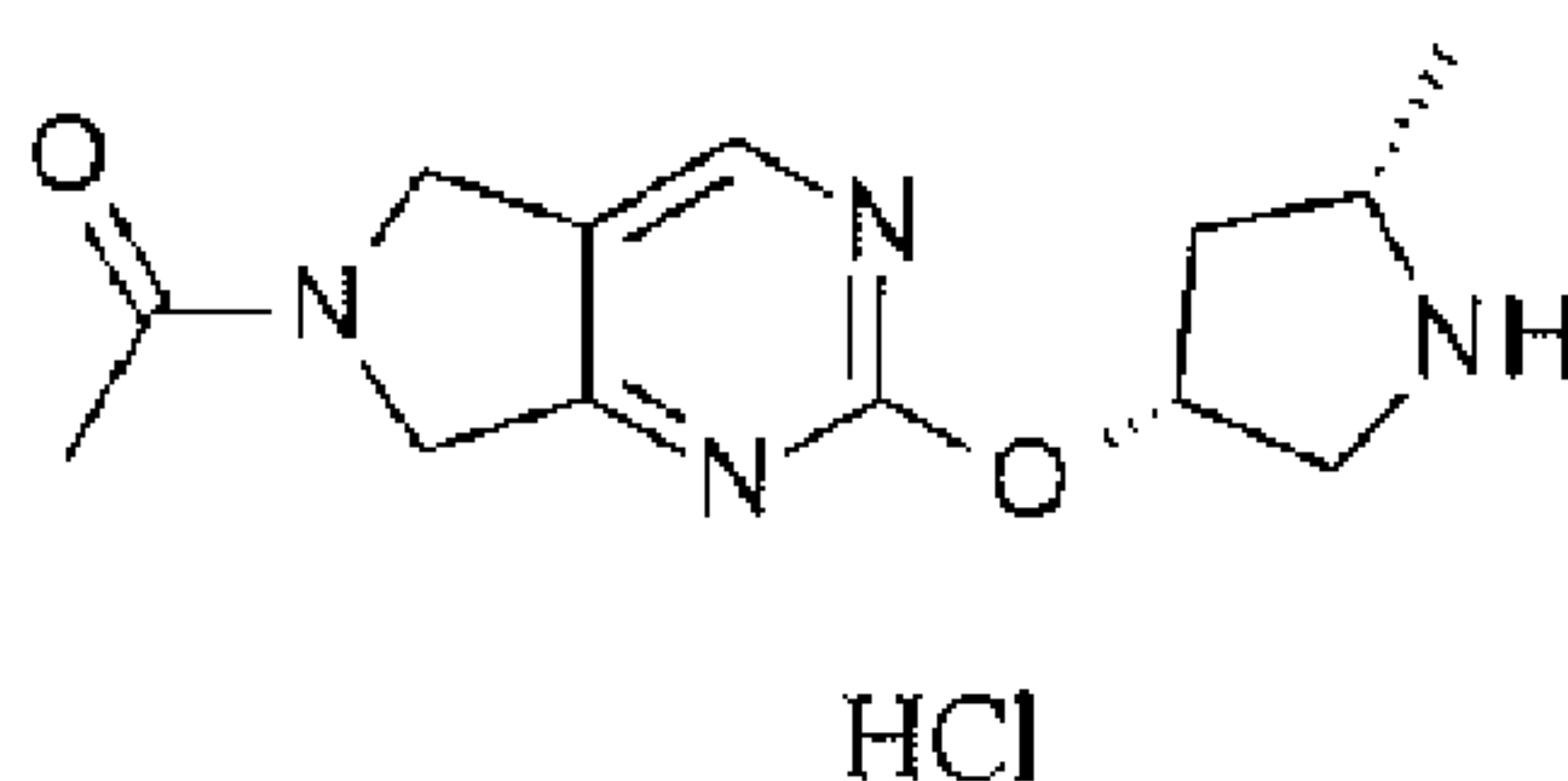
在室溫下向燒瓶中添加於礦物油中之60% NaH (5.37 g, 134 mmol)及THF (54 mL)。將燒瓶於冰-水浴中攪拌，且經5分鐘添加(2S,4R)-4-羥基-2-甲基-吡咯啉-1-甲酸第三丁基酯(13.5 g, 67.1 mmol，參見J. Med. Chem. 1988, 31, 1598-1611)於THF (54 mL)中之溶液，在添加期間維持內部溫度低於10℃。將反應混合物在室溫下攪拌大約15分鐘且隨後於41℃加熱塊中攪拌大約10分鐘。利用蠕動幫浦經1小時向該混合物逐滴添加1-(2-氯-5,7-二氫-6H-吡咯并[3,4-d]嘧啶-6-基)乙-1-酮(20.1 g, 101 mmol)於THF (297 mL)中之漿液。將反應混合物在40℃加熱塊中攪拌過夜，於冰-水浴中冷卻至0℃，且經5分鐘添加飽和NH₄Cl水溶液(120 mL)。添加2-甲基四氫呋喃(10 mL)。將混合物在室溫下攪拌5分鐘，轉移至分液漏斗中，且分離各層。用2-甲基四氫呋喃(130 mL)萃取水層且使合併之有機萃

取物經 Na_2SO_4 乾燥，過濾並將濾液在減壓下濃縮，以得到呈深紅色/棕色油狀物之標題化合物(35.2g，>99%產率)。ES/MS m/z : 385 (M+Na)。

【0037】

製備3

1-(2-(((3R,5S)-5-甲基吡咯啉-3-基)氧基)-5,7-二氫-6H-吡咯并[3,4-d]嘧啶-6-基)乙-1-酮鹽酸鹽

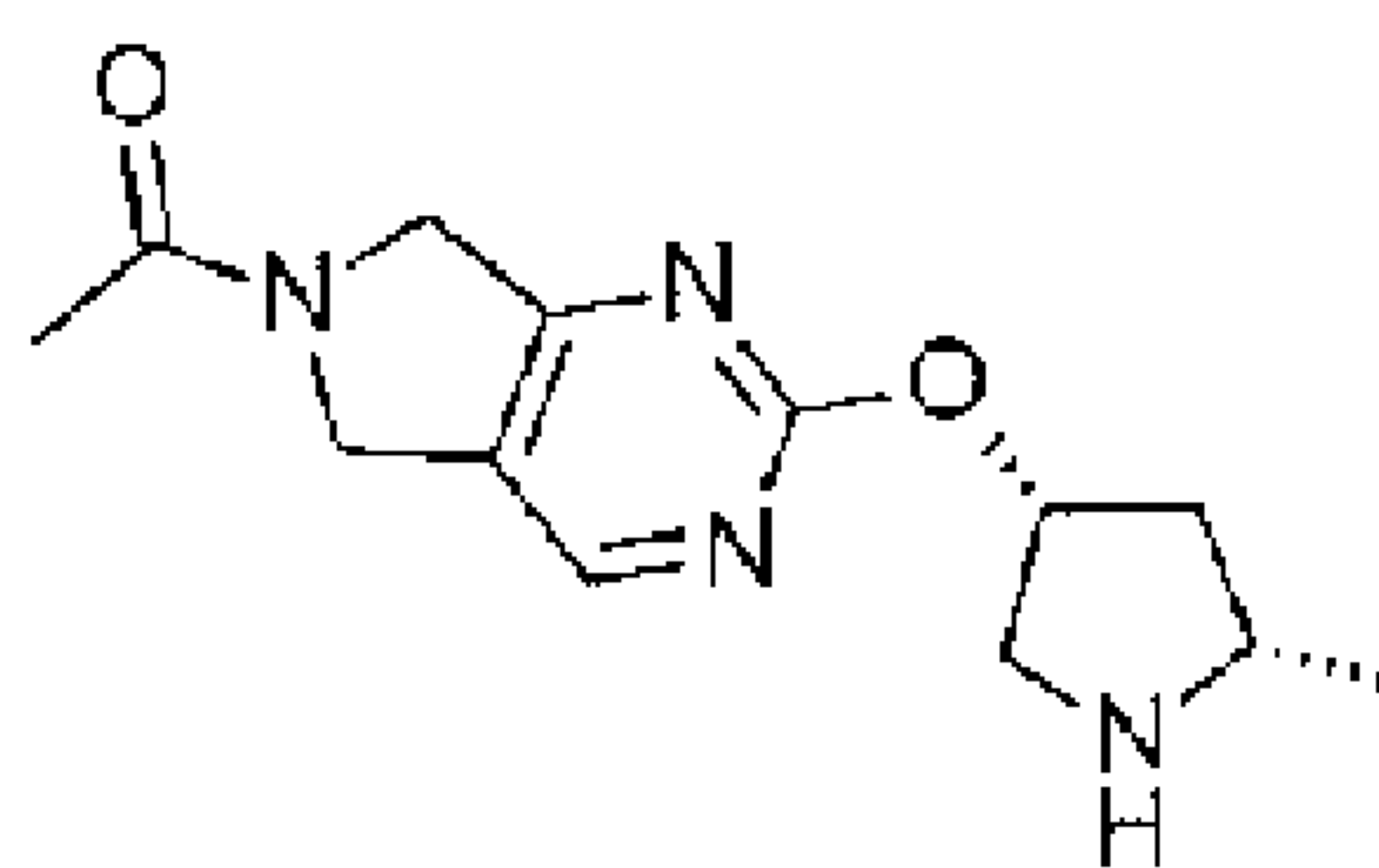


方案1，步驟C (X = N)：向(2S,4R)-4-((6-乙醯基-6,7-二氫-5H-吡咯并[3,4-d]嘧啶-2-基)氧基)-2-甲基吡咯啉-1-甲酸第三丁基酯(1.8 g, 5 mmol)於DCM (25 mL)中之溶液添加於1,4-二噁烷中之4 M HCl溶液(6.2 mL, 25 mmol)。將所得混合物在室溫下攪拌4小時。將所得懸浮液在減壓下濃縮，且將所得殘餘物置於真空下1小時以獲得標題化合物(1.48 g，>99%產率)。ES/MS m/z : 263 (M+H)。

【0038】

製備4

1-(2-(((3R,5S)-5-甲基吡咯啉-3-基)氧基)-5,7-二氫-6H-吡咯并[3,4-d]嘧啶-6-基)乙-1-酮



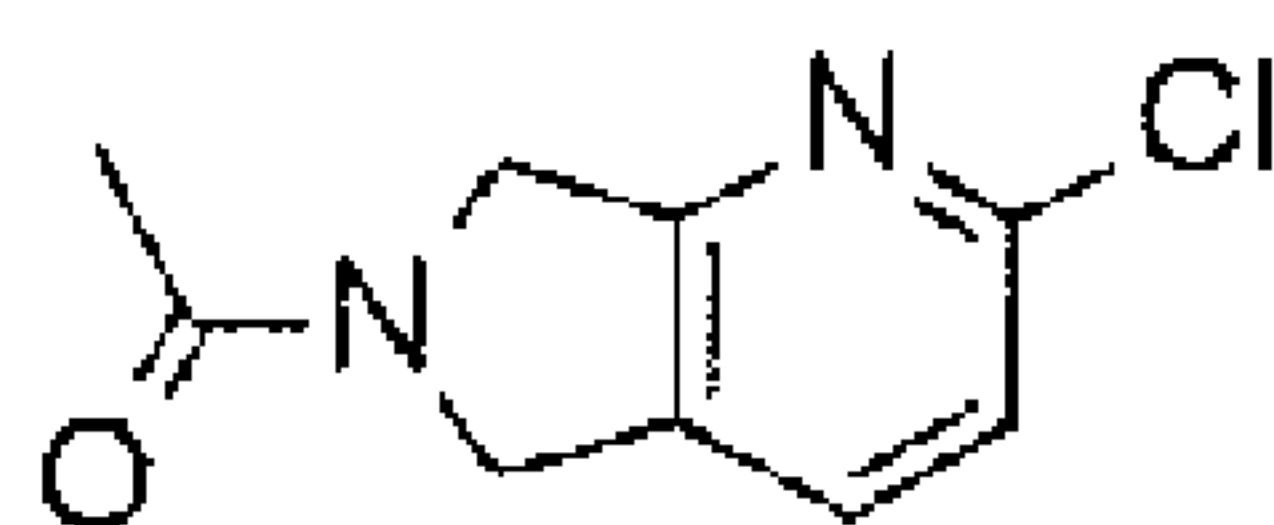
向燒瓶中添加(2S,4R)-4-[(6-乙醯基-5,7-二氫吡咯并[3,4-d]嘧啶-2-

基)氧基]-2-甲基-吡咯啉-1-甲酸第三丁基酯(35.23 g, 67.1 mmol)及乙酸異丙酯(176 mL)。於冰-水浴中攪拌反應混合物(內部溫度10°C)，且經5分鐘逐滴添加5 M HCl水溶液(176 mL, 880 mmol)，在添加期間維持內部溫度低於15°C。將反應混合物在室溫下攪拌1小時，將該混合物轉移至含有乙酸乙酯(5 mL)及水(5 mL)之分液漏斗中，且分離各層。於冰-水浴中冷卻水層，且添加DCM (180 mL)及水(180 mL)。劇烈攪拌混合物且經5分鐘添加固體磷酸鉀一水合物(185 g, 803.37 mmol)。將混合物在室溫下攪拌5分鐘，穿過短的矽藻土墊，用DCM (50 mL)及水(50 mL)洗滌，且分離各層。向水層添加固體磷酸鉀一水合物(23.2 g, 101 mmol)，將混合物在室溫下攪拌5分鐘，且用DCM (3 × 180 mL)萃取該混合物。使合併之有機層經Na₂SO₄乾燥並在減壓下濃縮，以得到呈棕色泡沫狀固體之標題化合物(18.23 g, 67%產率)。ES/MS *m/z*: 263 (M+H)。

【0039】

製備5

1-(2-氯-5,7-二氫-6H-吡咯并[3,4-b]吡啶-6-基)乙-1-酮



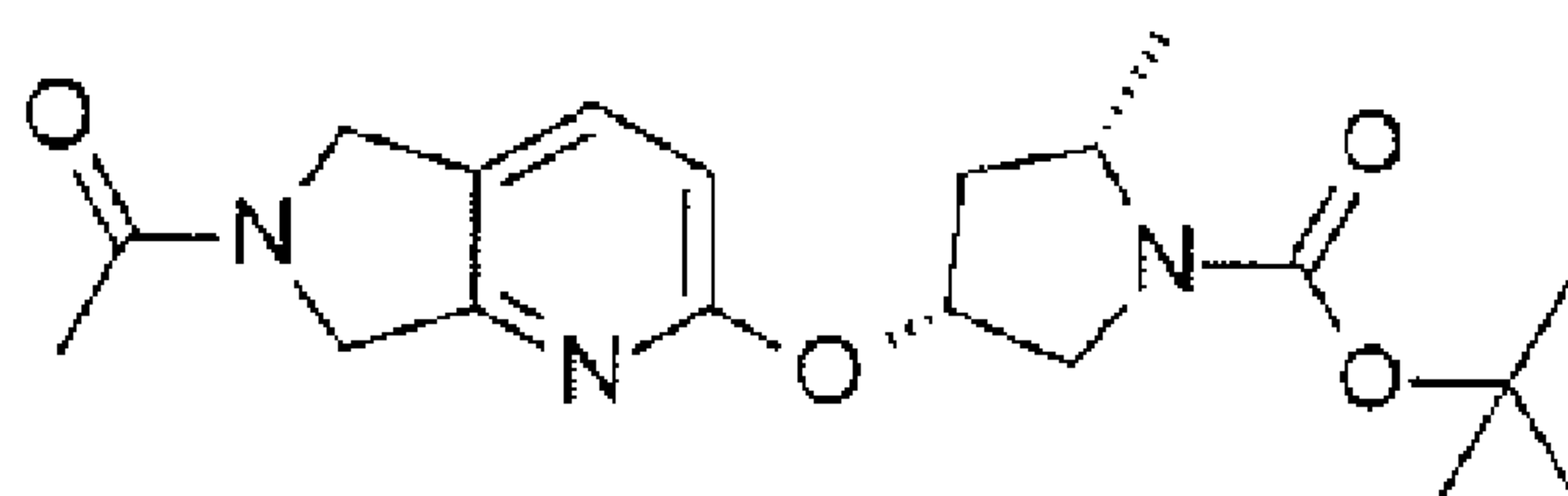
方案1，步驟A (X = CH)：向0°C之2-氯-6,7-二氫-5H-吡咯并[3,4-b]吡啶鹽酸鹽(1.0 g, 5.2 mmol)於DCM (13 mL)中之溶液逐滴添加DIPEA (3.6 mL, 21 mmol)及乙醯氯(0.4 mL, 6 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌24小時。用DCM (20 mL)及飽和NaHCO₃水溶液(30 mL)稀釋所得混合物。用DCM (2 × 30 mL)萃取水層。使合併之有機萃取物經MgSO₄乾燥，過濾並在減壓下濃縮。將所得殘餘物溶解於DCM中，吸附至矽藻土上，

且經由矽膠上之急速層析利用於己烷中之50%-100%丙酮梯度進行溶析來純化，以在溶劑蒸發期望之層析部分後獲得標題化合物(0.95 g，92%產率)。ES/MS m/z : 197 (M+H)。

【0040】

製備6

(2S,4R)-4-((6-乙醯基-6,7-二氫-5H-吡咯并[3,4-b]吡啶-2-基)氧基)-2-甲基吡咯啉-1-甲酸第三丁基酯

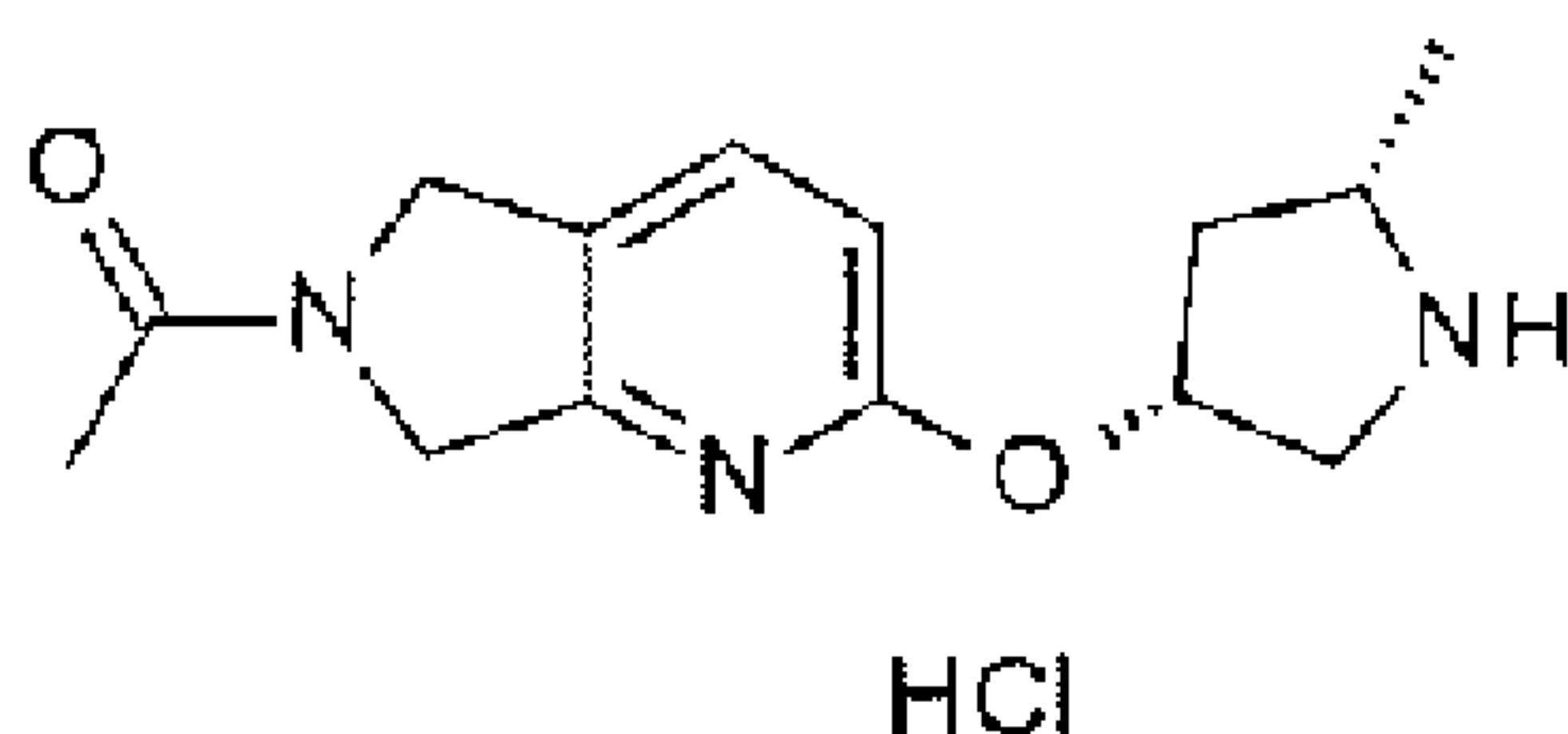


方案1，步驟B (X = CH)：在室溫下向(2S,4R)-4-羥基-2-甲基-吡咯啉-1-甲酸第三丁基酯(0.41 g, 2.03 mmol)、1-(2-氯-5,7-二氫-6H-吡咯并[3,4-b]吡啶-6-基)乙-1-酮(0.47 g, 2.36 mmol)及THF (8 mL)之溶液逐份添加KO-*t*-Bu (0.45 g, 4 mmol)，且將混合物在50℃下攪拌4.5小時。用水(50 mL)及EtOAc (50 mL)稀釋反應混合物。用EtOAc (2 × 50 mL)萃取水層，且使合併之有機萃取物經MgSO₄乾燥，過濾並在減壓下濃縮。將所得殘餘物溶解於DCM中，且經由矽膠上之急速層析利用於己烷中之40%-100%丙酮梯度進行溶析來純化，以在溶劑蒸發期望之層析部分後獲得標題化合物(0.34 g，47%產率)。ES/MS m/z : 262 (M+H-C₄H₉)。

【0041】

製備7

1-(2-(((3R,5S)-5-甲基吡咯啉-3-基)氧基)-5,7-二氫-6H-吡咯并[3,4-b]吡啶-6-基)乙-1-酮鹽酸鹽

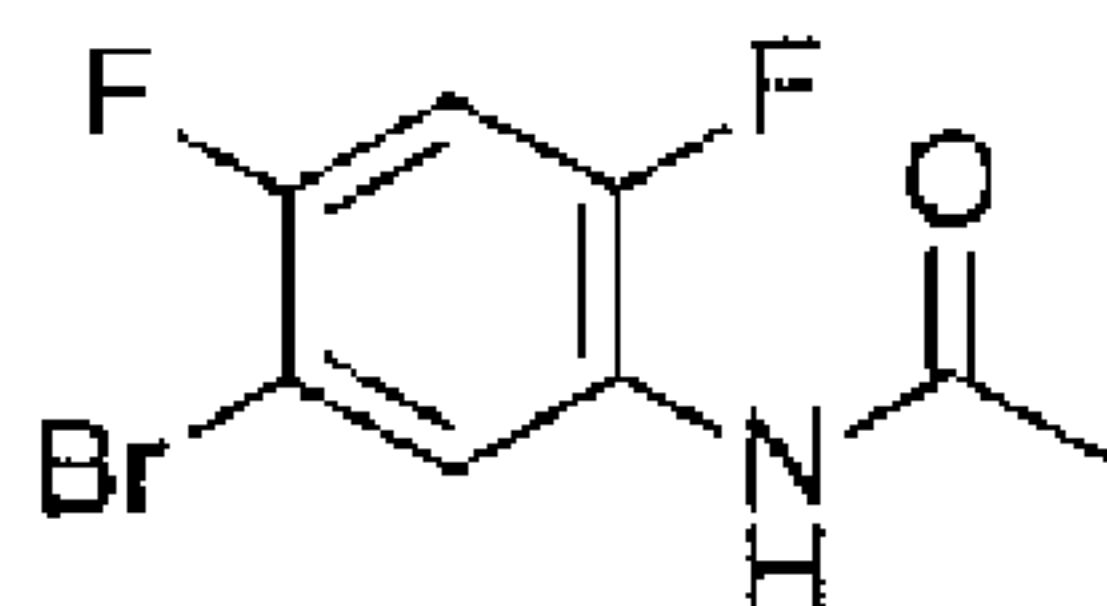


方案1，步驟C (X = CH)：向(2S,4R)-4-((6-乙醯基-6,7-二氫-5H-吡咯并[3,4-b]吡啶-2-基)氧基)-2-甲基吡咯啶-1-甲酸第三丁基酯(0.34 g, 0.94 mmol)於DCM (5.0 mL)中之溶液添加於1,4-二噁烷中之4 M HCl溶液(1.2 mL, 4.8 mmol)。將所得混合物在室溫下攪拌3小時。將所得懸浮液在減壓下濃縮，且將所得殘餘物置於真空下1小時以獲得標題化合物(0.28 g, >99%產率)。ES/MS m/z : 262 (M+H)。

【0042】

製備8

N-(5-溴-2,4-二氟-苯基)乙醯胺

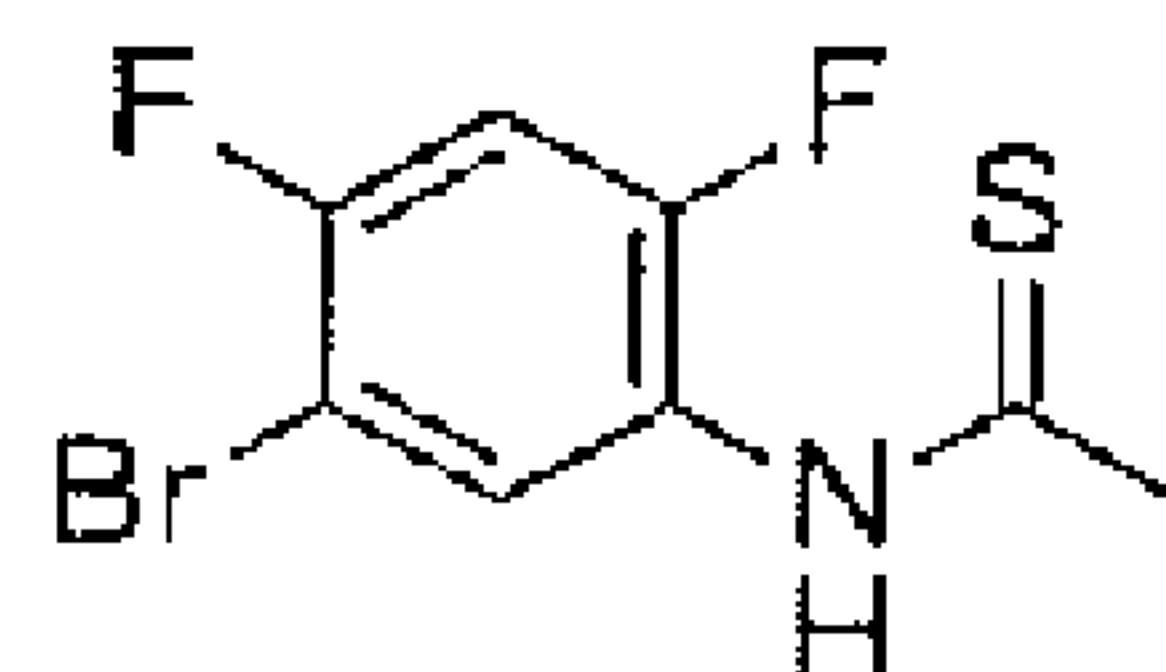


方案2，步驟A：於加熱塊中在約61°C (內部溫度60°C)攪拌下向燒瓶中添加Ac₂O (389 mL)。經30分鐘向燒瓶中逐份添加5-溴-2,4-二氟苯胺(77.7 g, 374 mmol)，在添加期間維持內部溫度低於65°C。將反應混合物於加熱塊中在約61°C下攪拌10分鐘，且冷卻至室溫以得到殘餘物，將其自甲苯(4 × 200 mL)濃縮以得到淡棕色/粉色固體。將所濃縮固體懸浮於庚烷(80 mL)中，且於50°C水浴中將混合物在旋轉蒸發器上在大氣壓下攪動15分鐘，冷卻至室溫並過濾。收集過濾出之固體並在真空下在40°C下乾燥2小時以獲得呈灰白色固體之標題化合物(89.6 g, 95%產率)。ES/MS m/z : 250 (M+H)。

【0043】

製備9

N-(5-溴-2,4-二氟-苯基)硫代乙醯胺

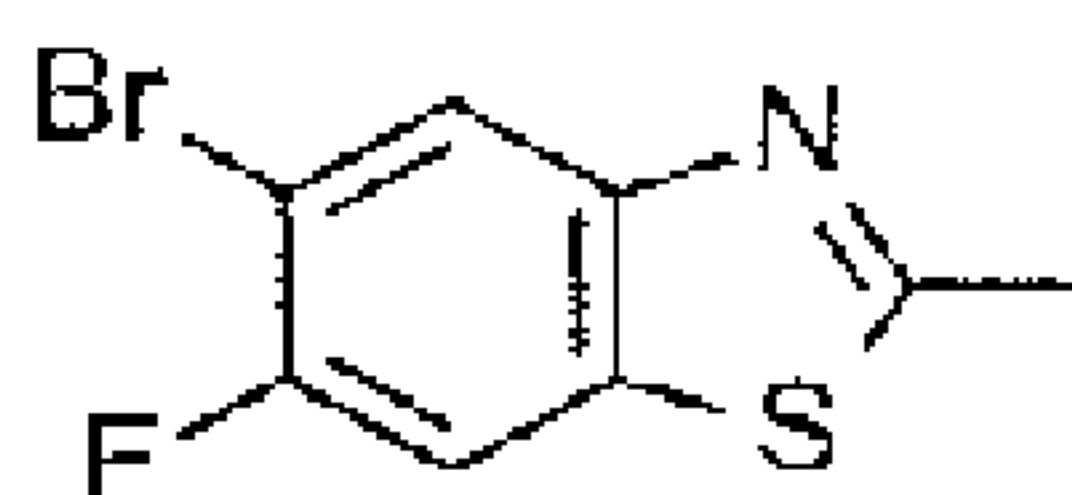


方案2，步驟B：在室溫下向N-(5-溴-2,4-二氟-苯基)乙醯胺(89.6 g, 358 mmol)於無水ACN (896 mL)中之溶液添加吡啶-1-鎢-1-基-[吡啶-1-鎢-1-基(硫離子基)硫代磷醯基]硫基-硫離子基-硫酮-磷烷(68.2 g, 179 mmol, *J. Org. Chem.* **2011**, 76, 1546-1553)。將漿液於85℃加熱塊中攪拌過夜(內部溫度80℃)，冷卻至室溫，且傾倒至冰(200 g)及飽和NaCl水溶液(700 mL)之混合物中。用EtOAc (900 mL)稀釋混合物，在室溫下攪拌10分鐘，分離各層，且另外用EtOAc (900 mL)萃取水層。將合併之有機萃取物用飽和NaCl水溶液(900 mL)洗滌，經Na₂SO₄乾燥，且在減壓下濃縮以得到呈深棕色油狀物之標題化合物，將其在室溫下溶解於DMF (953 mL)中，且不經額外純化即使用。

【0044】

製備10

5-溴-6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑



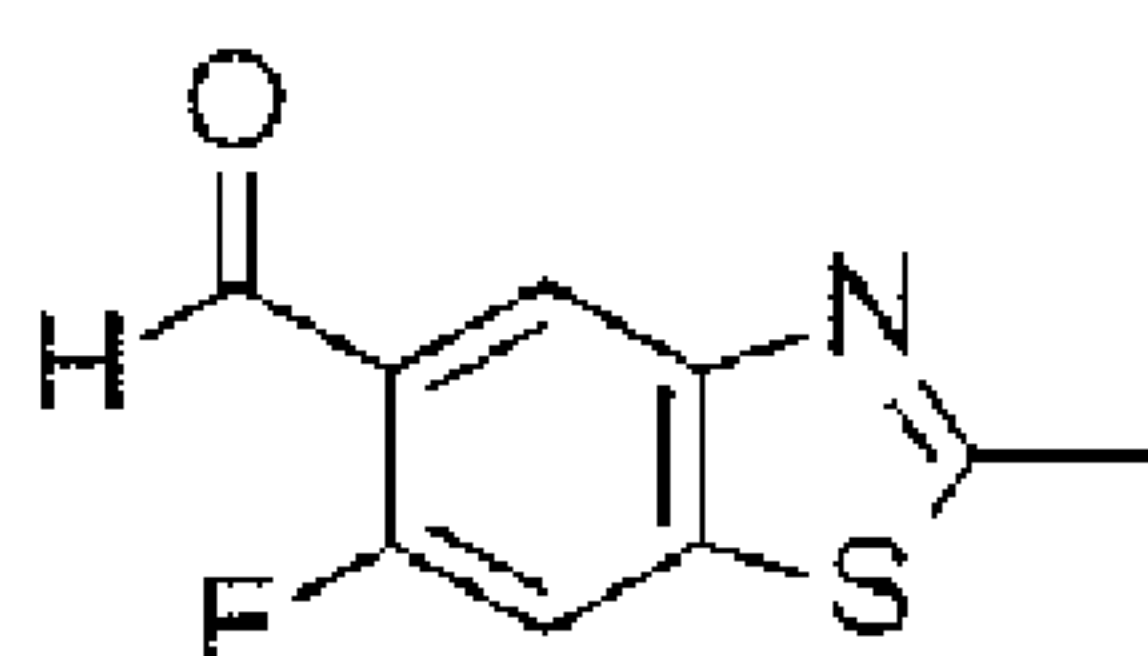
方案2，步驟C：在攪拌下經20分鐘向N-(5-溴-2,4-二氟-苯基)硫代乙醯胺之DMF溶液逐份添加NaO-*t*-Bu (42.6 g, 430 mmol)，維持內部溫度低於30℃。將反應混合物在室溫下攪拌5分鐘，在42℃加熱塊(內部溫度40

°C)中攪拌過夜，且冷卻至室溫。將反應混合物經5分鐘逐滴添加至冰(250 g)及H₂O (700 mL)之混合物，維持內部溫度低於20°C。將混合物在室溫下攪拌10分鐘並過濾。將過濾出之固體在真空下在40°C下乾燥過夜，且懸浮於50% MeOH/H₂O (480 mL)中。將混合物在45°C加熱塊中攪拌15分鐘，冷卻至室溫並過濾。將過濾出之固體在真空下在40°C下乾燥72小時以得到淡棕色固體。將材料與EtOAc (700 mL)合併，且將混合物在室溫下攪拌10分鐘，添加H₂O (700 mL)，且分離各層。用EtOAc (700 mL)萃取水層，然後將合併之有機萃取物用飽和NaCl水溶液(700 mL)洗滌，經MgSO₄乾燥，且在減壓下濃縮以得到呈棕色固體之標題化合物(62.7 g，71%產率)。¹H NMR (d₆-DMSO) δ: 2.82 (s, 3H), 7.57 (m, 1H), 8.12 (m, 1H)。

【0045】

製備11

6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑-5-甲醛



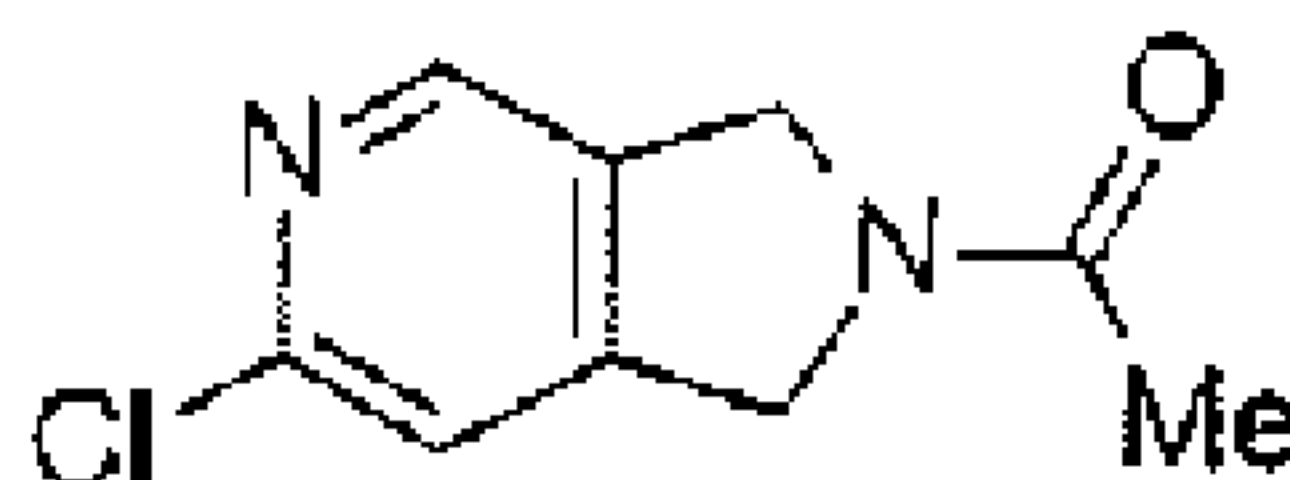
方案2，步驟D：在室溫下在攪拌下將於DMF (1009 mL)中之5-溴-6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑(100.9 g, 410 mmol)用N₂吹掃5分鐘。添加甲酸鉀(52.3 g, 615.0 mmol)、乙酸鈣(II) (2.82 g, 12.30 mmol)、2-(二-第三丁基膦基)聯苯(5.19 g, 17.2 mmol)及1,1,3,3-四甲基丁基異腈(90.8 mL, 492.0 mmol)，且在室溫下在攪拌下將混合物用N₂吹掃30分鐘。將反應混合物在65°C之內部溫度下攪拌過夜，冷卻至20°C-25°C，且經30分鐘逐滴添加2 M HCl水溶液(820 mL)，維持內部溫度低於30°C。將所得混合物在20°C-

25℃下攪拌2小時且用EtOAc (1.5 L)及H₂O (1 L)稀釋。分離各層，且將有機層用10% N-乙醯基-半胱胺酸水溶液(2 × 1 L)、飽和Na₂CO₃水溶液(750 mL × 2)及飽和NaCl水溶液(750 mL)洗滌；使有機萃取物經MgSO₄乾燥並在減壓下濃縮以提供第一批粗製材料。用EtOAc (1 L，然後500 mL)進一步萃取來自第一次萃取之HCl水溶液層，且將合併之有機萃取物用飽和NaCl水溶液(500 mL)洗滌，經MgSO₄乾燥，且在減壓下濃縮以提供第二批粗製材料。然後用EtOAc (1 L，然後500 mL)萃取合併之N-乙醯基-半胱胺酸水溶液層，且將合併之有機萃取物依序用飽和Na₂CO₃水溶液(500 mL)及飽和NaCl水溶液(500 mL)洗滌；使合併之有機萃取物經MgSO₄乾燥並在減壓下濃縮以提供第三批粗製材料。將該三批粗製材料合併於MTBE (250 mL)及庚烷(250 mL)中，且將所得漿液在室溫下攪拌20分鐘。將所得沈澱物過濾且用庚烷(250 mL)洗滌。將過濾出之固體在真空下在45℃下乾燥以得到第一批產物。將濾液濃縮，且藉由二氧化矽上之管柱層析利用0%-100% EtOAc/庚烷梯度進行溶析來純化殘餘物。將含有產物之部分合併且濃縮至大約400 mL之體積，將所得漿液在室溫下攪拌15分鐘，過濾，且用庚烷(200 mL)洗滌過濾出之固體以得到第二批產物。將第一及第二批產物與庚烷(500 mL)合併，在室溫下漿化，過濾，且用庚烷(250 mL)洗滌過濾出之固體。將過濾出之固體在真空下在45℃下乾燥過夜以得到標題化合物(63.5 g，79%產率)。ES/MS *m/z*: 196 (M+H)。

【0046】

製備12

1-(6-氯-1,3-二氫吡咯并[3,4-c]吡啶-2-基)乙酮



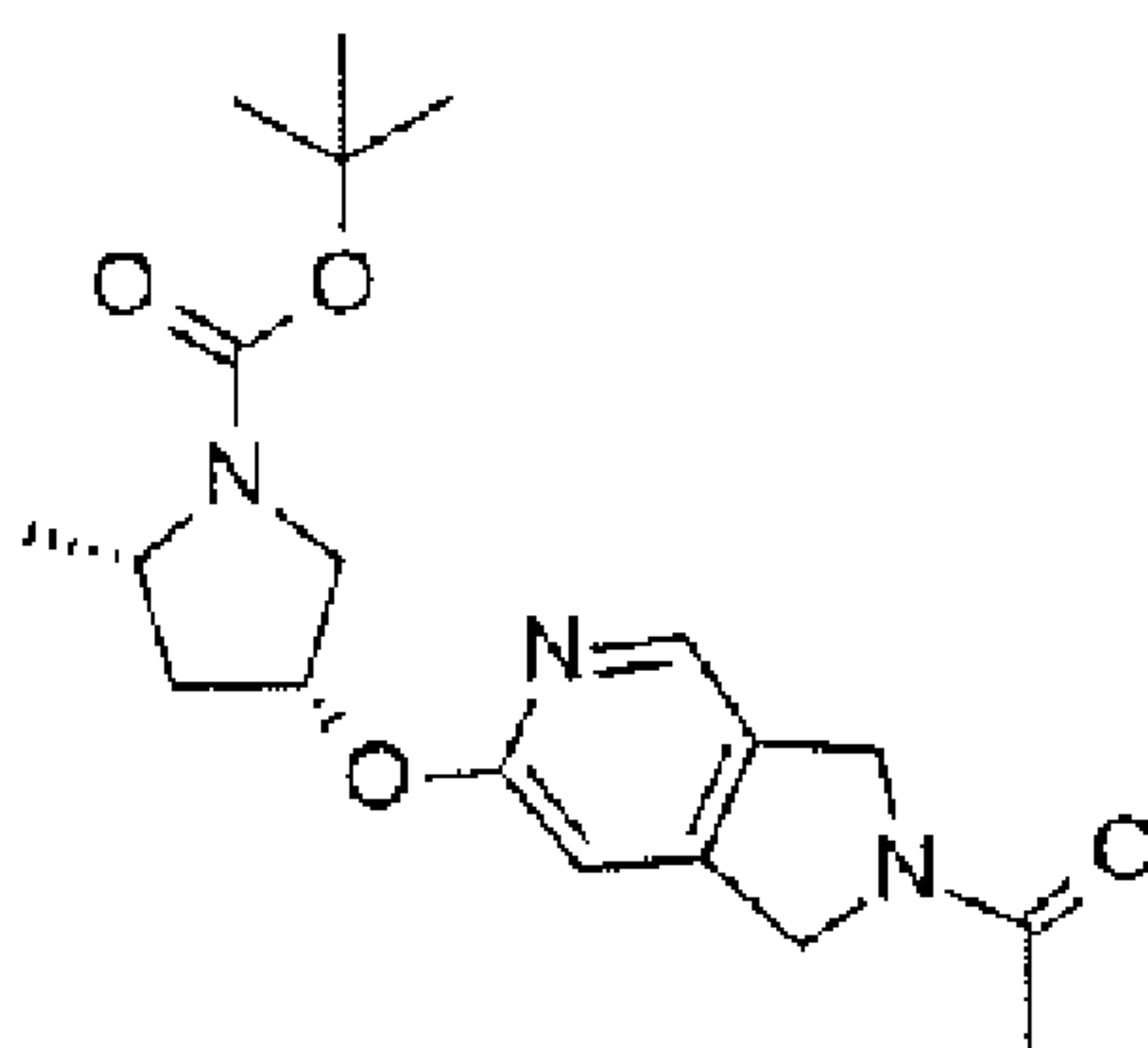
第 28 頁(發明說明書)

方案4，步驟A：向閃爍小瓶中添加6-氯-2,3-二氫-1H-吡咯并[3,4-c]吡啶;鹽酸鹽(1.6g, 8.4 mmol)、二氯甲烷(21 mL)及*N,N*-二異丙基乙胺(6 mL, 34 mmol)。將混合物加蓋，於冰浴中冷卻至0℃且逐滴添加乙醯氯(0.7 mL, 10 mmol)。將反應混合物自冰浴移除且在室溫下攪拌24小時。添加飽和碳酸氫鈉水溶液(20 mL)及水(5mL)並攪拌5分鐘。去除有機層。用二氯甲烷(2 × 10 mL)萃取水層。使合併之有機相經硫酸鎂乾燥，過濾並在減壓下濃縮。將殘餘物溶解於二氯甲烷中，裝載於二氧化矽柱上且經由急速層析利用己烷:丙酮[60:40至0:100]進行溶析來純化，以得到標題化合物1-(6-氯-1,3-二氫吡咯并[3,4-c]吡啶-2-基)乙酮(1.51 g, 7.7 mmol, 91%產率)。ES/MS *m/z*: 197 (M+H)。

【0047】

製備13

(2*S*,4*R*)-4-[(2-乙醯基-1,3-二氫吡咯并[3,4-c]吡啶-6-基)氧基]-2-甲基-吡咯啉-1-甲酸第三丁基酯



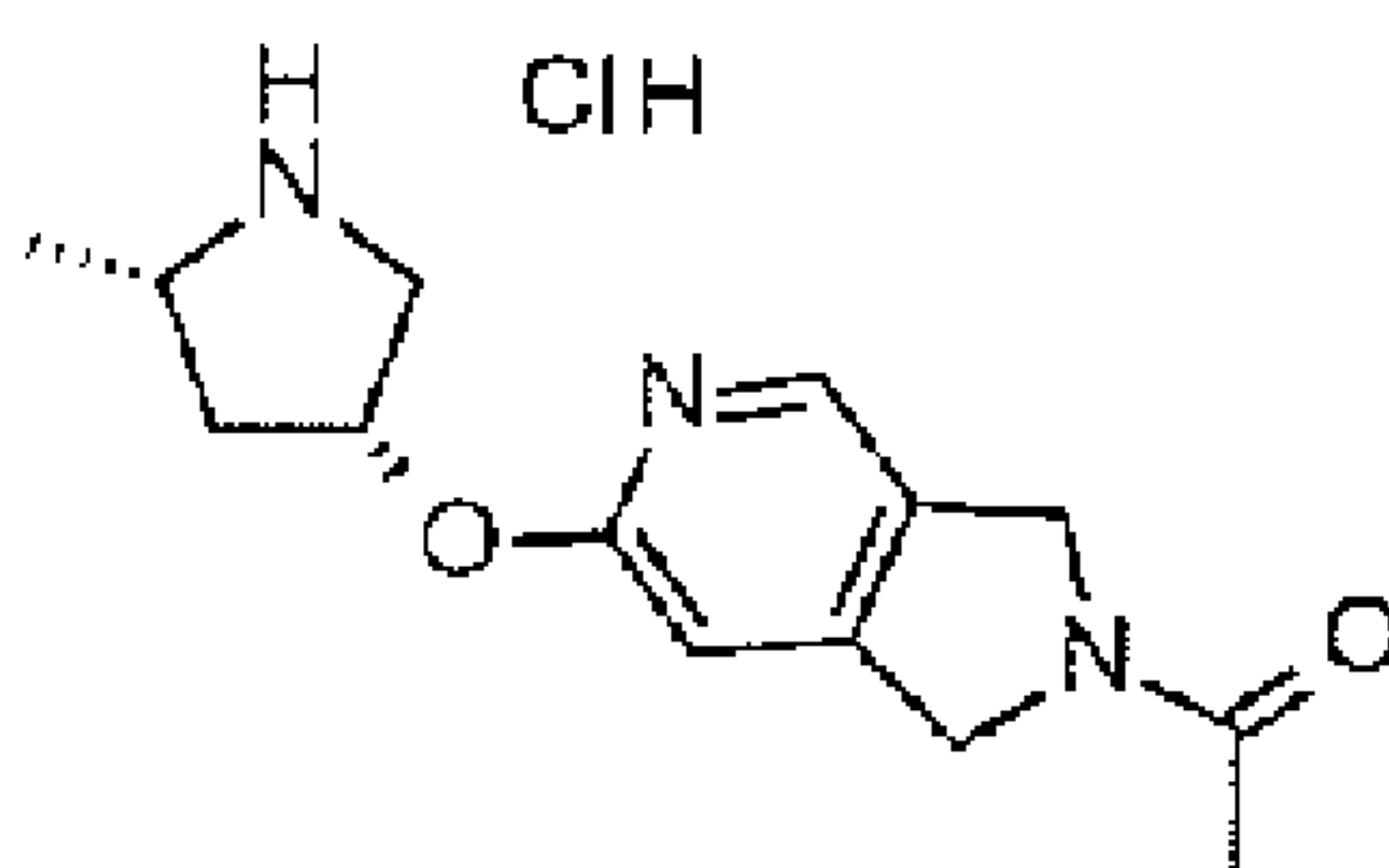
方案4，步驟B：向閃爍小瓶中添加(2*S*,4*R*)-4-羥基-2-甲基-吡咯啉-1-甲酸第三丁基酯(0.3 g, 1.49 mmol)、1-(6-氯-1,3-二氫吡咯并[3,4-c]吡啶-2-基)乙酮(0.35 g, 1.78 mmol)及四氫呋喃(6 mL)。將混合物在室溫下攪拌以得到白色懸浮液。逐份添加第三丁醇鉀(0.35 g, 3.09 mmol)。將混

合物加蓋且在45℃下加熱5小時。將混合物傾倒至含有水(30 mL)及乙酸乙酯(30 mL)之分液漏斗中。分離有機層並用乙酸乙酯(2×30 mL)萃取水相。使合併之有機相經硫酸鎂乾燥，過濾並在減壓下濃縮。經由急速層析純化殘餘物以得到標題化合物(2S,4R)-4-[(2-乙醯基-1,3-二氫吡咯并[3,4-c]吡啶-6-基)氧基]-2-甲基-吡咯啉-1-甲酸第三丁基酯(0.121 g, 0.334 mmol, 22%產率)。ES/MS m/z : 306 (M+H-C₄H₉)。

【0048】

製備14

1-[6-[(3R,5S)-5-甲基吡咯啉-3-基]氧基-1,3-二氫吡咯并[3,4-c]吡啶-2-基]乙酮;鹽酸鹽

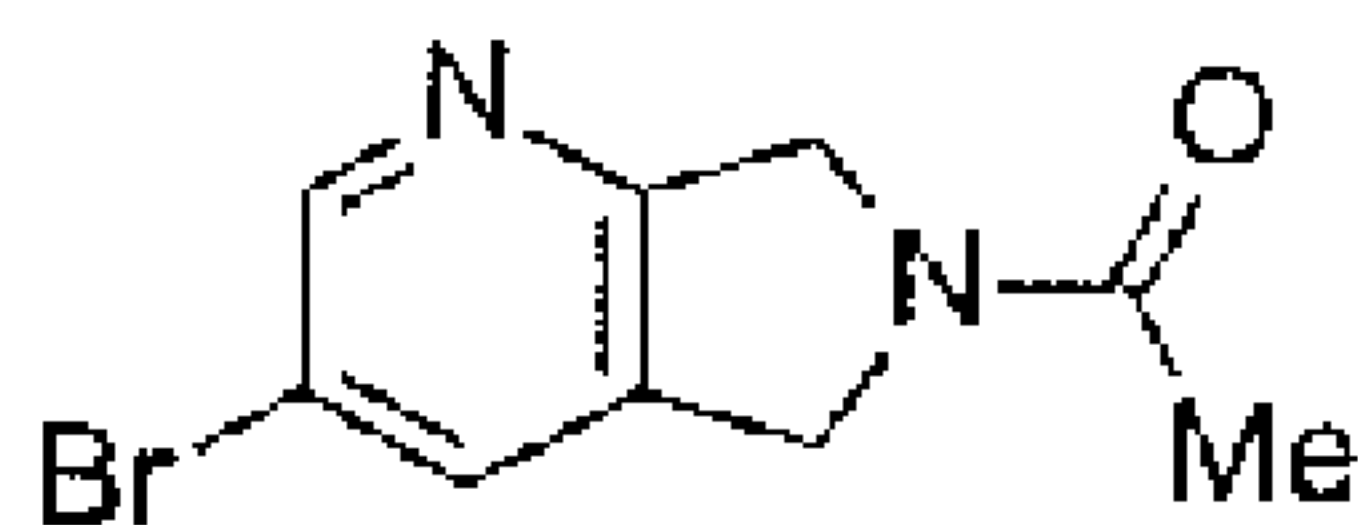


方案4，步驟C：向(2S,4R)-4-[(2-乙醯基-1,3-二氫吡咯并[3,4-c]吡啶-6-基)氧基]-2-甲基-吡咯啉-1-甲酸第三丁基酯(0.120 g, 0.332 mmol)於二氯甲烷(3 mL)中之溶液添加於1,4-二噁烷中之鹽酸(0.4 mL, 2 mmol, 4 M溶液)。將混合物在室溫下攪拌3小時。將懸浮液在減壓下濃縮且將殘餘物置於真空下1小時以得到1-[6-[(3R,5S)-5-甲基吡咯啉-3-基]氧基-1,3-二氫吡咯并[3,4-c]吡啶-2-基]乙酮;鹽酸鹽(0.099 g, 0.299 mmol, 100%產率)。MS m/z : 262 (M+H)。

【0049】

製備15

1-(3-溴-5,7-二氫吡咯并[3,4-b]吡啶-6-基)乙酮

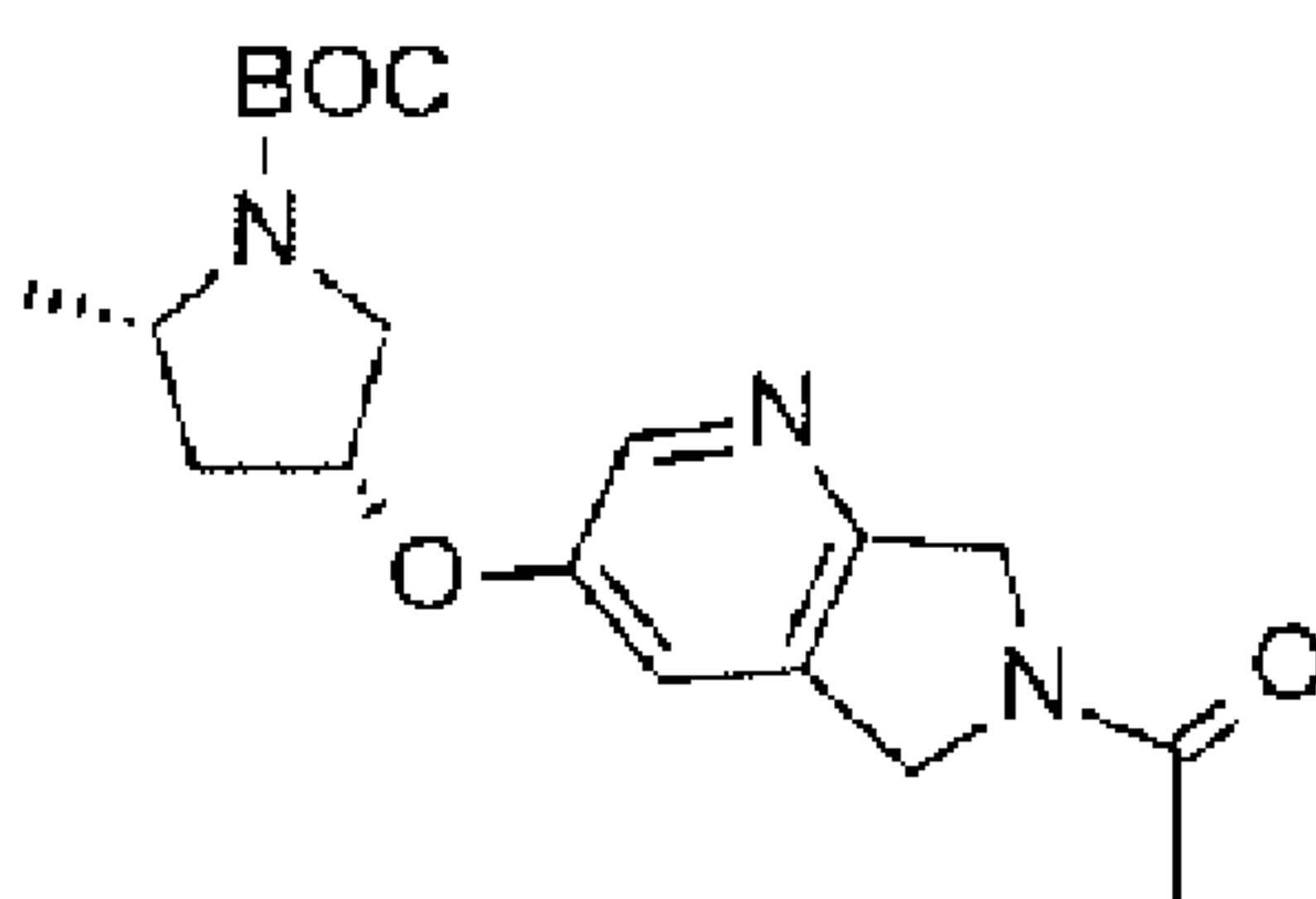


方案5，步驟A：向0℃之3-溴-6,7-二氫-5H-吡咯并[3,4-b]吡啶；鹽酸鹽(0.52 g, 2.2 mmol)於二氯甲烷(6 mL)中之溶液逐滴添加*N,N*-二異丙基乙胺(1.5 mL, 8.6 mmol)及乙醯氯(0.2 mL, 3 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌24小時。添加飽和碳酸氫鈉水溶液(15 mL)並攪拌5分鐘且去除有機層。用二氯甲烷(2 × 25 mL)萃取水層。使合併之有機相經硫酸鎂乾燥，過濾並在減壓下濃縮。將殘餘物溶解於二氯甲烷中，吸附至矽藻土上，且經由急速層析(矽膠)利用己烷:丙酮[50:50至0:100]進行溶析來純化，以得到1-(3-溴-5,7-二氫吡咯并[3,4-b]吡啶-6-基)乙酮(0.440 g, 1.8 mmol, 83%產率)。ES/MS *m/z*: 241及243 (M及M+2)。

【0050】

製備16

(2*S*,4*R*)-4-[(6-乙醯基-5,7-二氫吡咯并[3,4-b]吡啶-3-基)氧基]-2-甲基-吡咯啉-1-甲酸第三丁基酯



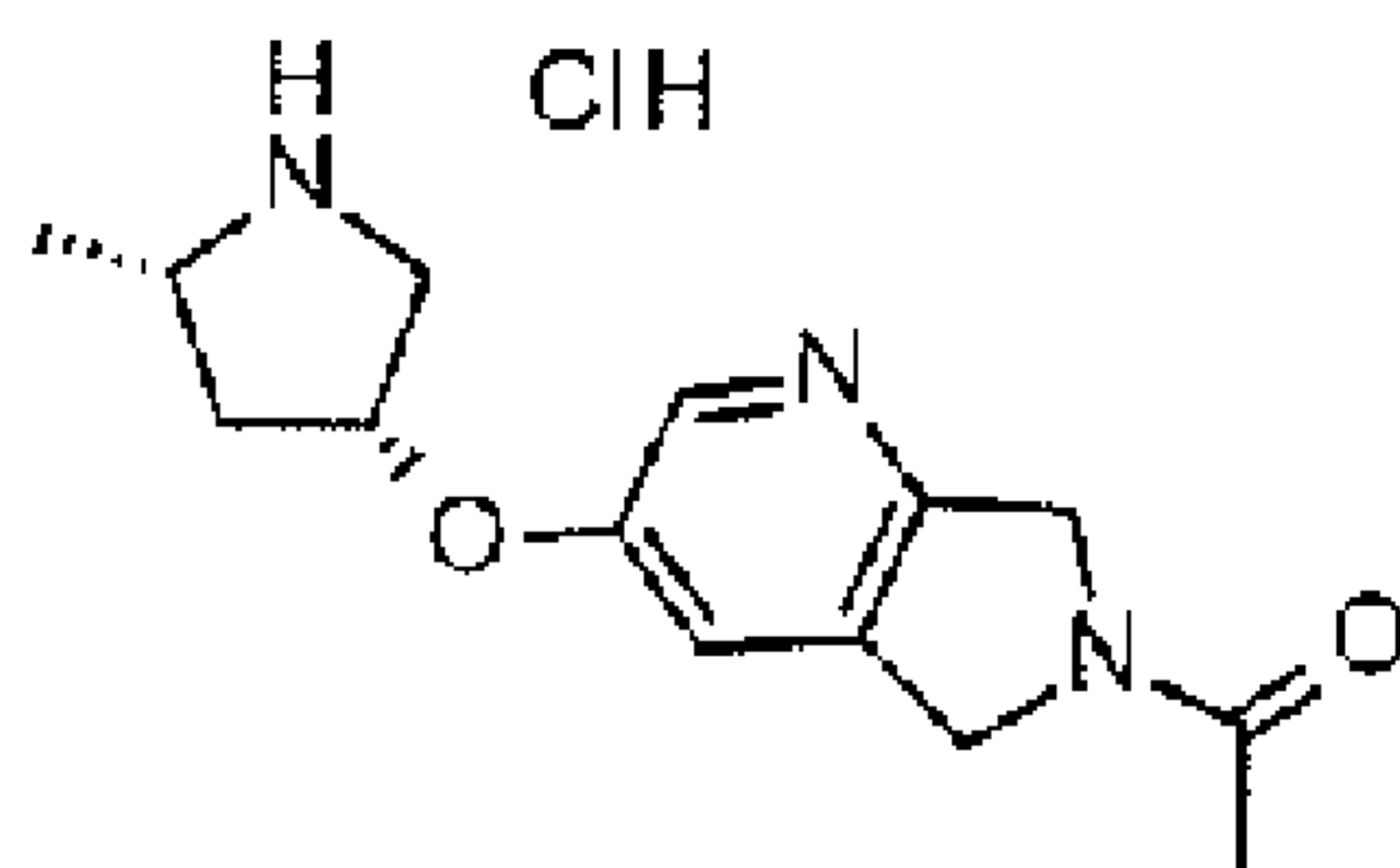
方案5，步驟B：向含有(2*S*,4*R*)-4-羥基-2-甲基-吡咯啉-1-甲酸第三丁基酯(0.399 g, 1.98 mmol)、1-(3-溴-5,7-二氫吡咯并[3,4-b]吡啶-6-基)乙酮(0.300 g, 1.24 mmol)、碳酸鉀(1.22 g, 3.74 mmol)及甲烷磺酸根基(2-二-第三丁基膦基-3,4,5,6-四甲基-2',4',6'-三-異丙基聯苯)(2'-胺基-1,1'-

聯苯-2-基)鈹(II) (0.28 g, 0.33 mmol)之閃爍小瓶中添加甲苯(12 mL)，且將混合物加蓋並在75℃下加熱72小時。使反應混合物冷卻且經由矽藻土使用丙酮沖洗進行過濾。將濾液在減壓下濃縮。使殘餘物吸收於二氯甲烷中，且經由急速層析(矽膠)利用己烷:丙酮[1:1至0:1]進行溶析來純化，以得到(2S,4R)-4-[(6-乙醯基-5,7-二氫吡咯并[3,4-b]吡啶-3-基)氧基]-2-甲基-吡咯啶-1-甲酸第三丁基酯(0.109 g，0.301 mmol，24%產率)。ES/MS m/z : 306 (M+H-C₄H₉)。

【0051】

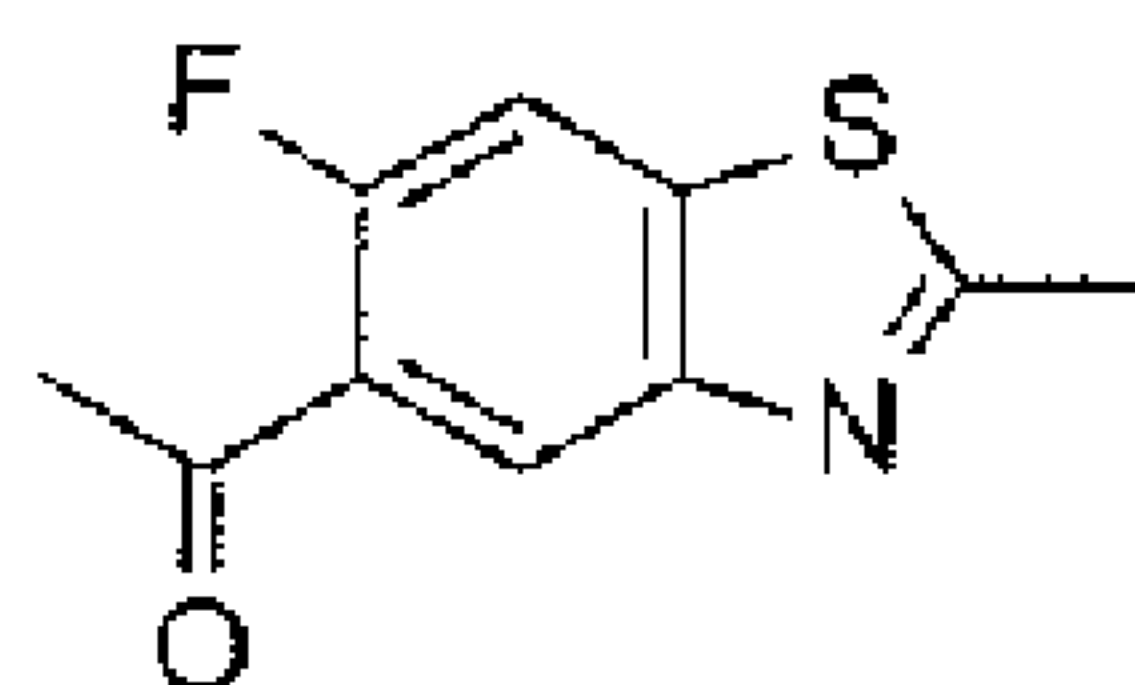
製備17

1-[3-[(3R,5S)-5-甲基吡咯啶-3-基]氧基-5,7-二氫吡咯并[3,4-b]吡啶-6-基]乙酮;鹽酸鹽



方案5，步驟C：向(2S,4R)-4-[(6-乙醯基-5,7-二氫吡咯并[3,4-b]吡啶-3-基)氧基]-2-甲基-吡咯啶-1-甲酸第三丁基酯(0.108 g, 0.299 mmol)於二氯甲烷(3 mL)中之溶液添加於1,4-二噁烷中之鹽酸(0.4 mL，2 mmol，4 M溶液)。將混合物在室溫下攪拌2.5小時。將懸浮液在減壓下濃縮且將殘餘物置於真空下1小時以得到1-[3-[(3R,5S)-5-甲基吡咯啶-3-基]氧基-5,7-二氫吡咯并[3,4-b]吡啶-6-基]乙酮;鹽酸鹽(0.089 g，0.299 mmol，100%產率)。MS m/z : 262 (M+H)。

【0052】

製備18**1-(6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑-5-基)乙酮**

方案3，步驟A：利用氮吹掃含有5-溴-6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑(30.6 g, 124 mmol)及[1,3-雙(二苯基膦基)丙烷]二氯化鈣(II) (2.32 g, 3.85 mmole)之燒瓶，且添加乙二醇(240 mL)及三甲胺(50 mL, 359 mmol)以及1-乙烯基氧基丁烷(80 mL, 618 mmol)。將反應在100°C下加熱18小時。使反應冷卻至室溫且添加2.5 M HCl水溶液(500 mL, 1.300 mol)並攪拌1小時。添加乙酸乙酯(400 mL)且去除有機層。用EtOAc (2× 225 mL)萃取水層。使合併之有機層經硫酸鎂乾燥，過濾並濃縮。將粗產物懸浮於65:35之水:MeOH中，過濾漿液，且使固體乾燥以提供標題化合物1-(6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑-5-基)乙酮(16.7 g, 79.8 mmol, 64%產率)。ES/MS *m/z*: 210 (M+H)。

1-(6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑-5-基)乙酮之替代製備

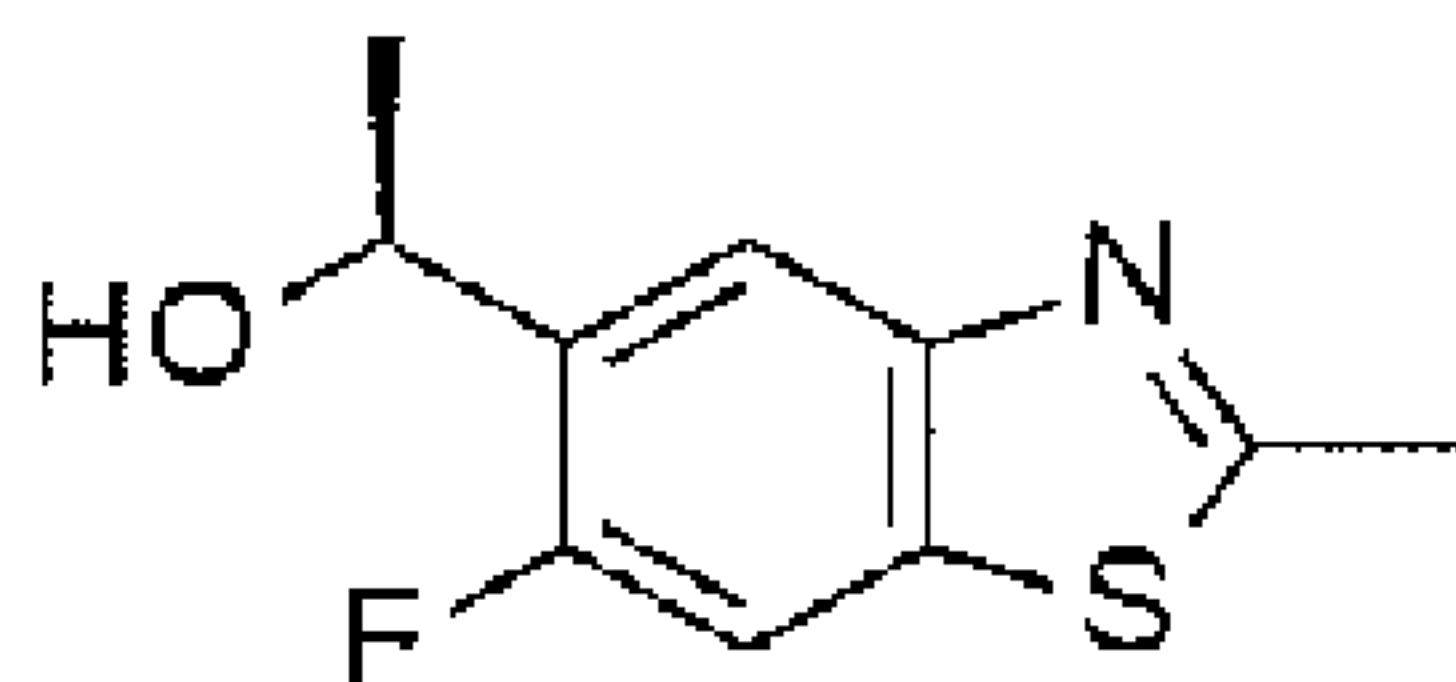
在室溫下在N₂下向燒瓶中添加5-溴-6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑(72.0 g, 293 mmol)、1,3-雙(二苯基膦基)丙烷(2.41 g, 5.85 mmol)及乙酸鈣(II) (0.657 g, 2.93 mmol)。向該燒瓶中添加乙二醇(720 mL)、1-乙烯基氧基丁烷(189 mL, 1460 mmol)及三乙胺(124 mL, 878 mmol)。在攪拌下在室溫下使N₂鼓泡穿過反應混合物30分鐘，然後將反應混合物在裝有冷凝器之115°C加熱塊(內部溫度98°C)中攪拌過夜。將反應混合物冷卻至室溫，且在冰-水浴冷卻下經15分鐘傾倒至2 M HCl水溶液(576 mL)及冰(50 g)之混合物中，在添加期間維持內部溫度低於20°C。將混合物在室溫下攪拌5

分鐘，然後在41℃加熱塊中攪拌30分鐘(內部溫度40℃)。用EtOAc (500 mL)稀釋反應混合物且將混合物在室溫下攪拌10分鐘，然後經由矽藻土過濾。將濾液轉移至分液漏斗中並分離各層。用EtOAc (500 mL)萃取水層，然後將合併之有機層用飽和NaCl水溶液(500 mL)洗滌，經Na₂SO₄乾燥並濃縮。將所得殘餘物懸浮於35% MeOH/水(162 mL)中，且於45℃水浴中將混合物在旋轉蒸發器上劇烈攪動30分鐘，然後冷卻至室溫並過濾。將過濾出之固體在真空下在40℃下乾燥過夜以得到呈棕色固體之標題化合物(57.48 g，93%產率)。ES/MS *m/z*: 210 (M+H)

【0053】

製備19

(1S)-1-(6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑-5-基)乙醇



方案3，步驟B：向高壓釜中添加1-(6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑-5-基)乙醇(16.7 g, 79.8 mmol)及(R)-Rucy-xylBinap (CAS編號1384974-38-2) (0.465 g, 0.385 mmol)及於第三丁醇中之1 M第三丁醇鉀溶液(3.5 mL, 3.5 mmol)及甲苯(240 mL)。使高壓釜冷卻至-10℃且用氫裝填至450 psi並在500 rpm下攪拌4.5小時。使反應升溫至室溫並攪拌15小時。將反應混合物濃縮。經由急速層析(矽膠)利用於己烷中之0%-40% EtOAc梯度進行溶析來純化殘餘物，以得到(1S)-1-(6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑-5-基)乙醇(15.8 g, 74.8 mmol, 94%產率)。ES/MS *m/z*: 212 (M+H)。[α]_D²⁰ = -38.6 ° (c = 0.2, MeOH)。

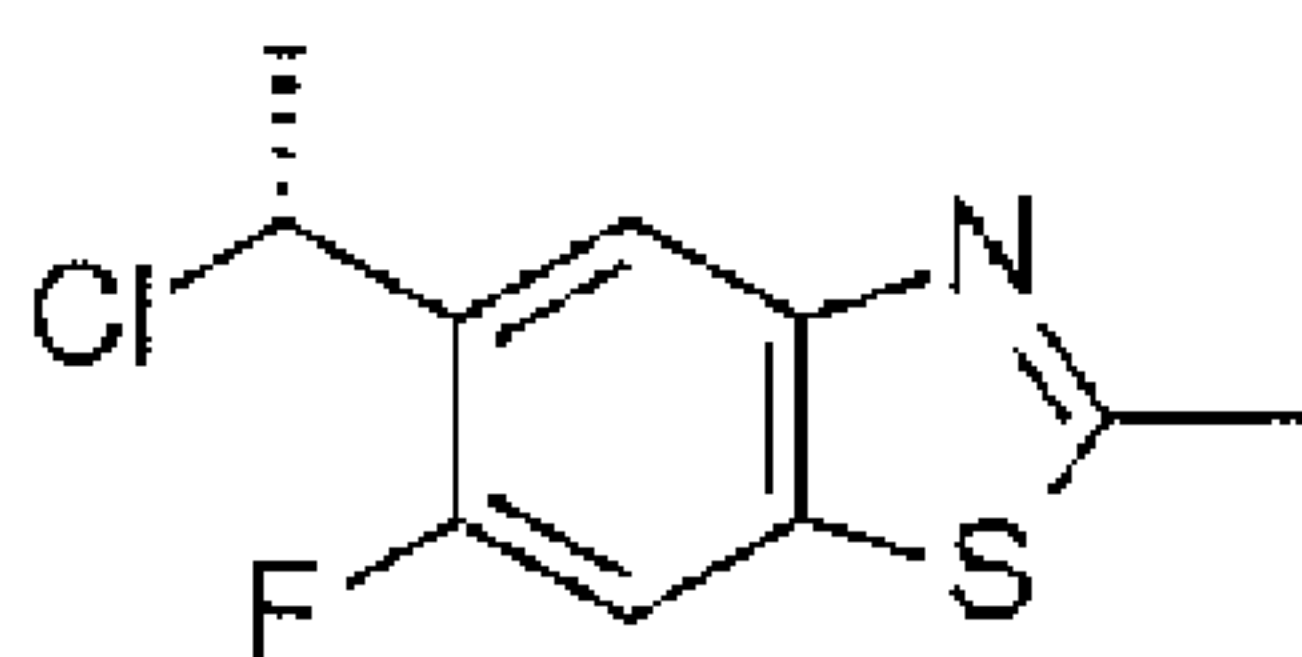
(1S)-1-(6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑-5-基)乙醇之替代製備

在室溫下向燒瓶中添加1-(6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑-5-基)乙酮(50.1 g, 239 mmol)、2-丙醇(311 mL)、pH 7磷酸鉀緩衝水溶液(0.1 M, 752 mL)、KRED-P3-C12 (5.51 g; Codexis酮還原酶(KRED), 凍乾酶粉末, 羰基還原酶, CAS 編號77106-95-7)、硫酸鎂(0.173 g, 1.44 mmol)及NADP (0.501 g)。將混合物在於空氣中敞口之37°C加熱塊(內部溫度36°C)中攪拌過夜, 然後向該混合物添加KRED-P3-C12 (2.51 g)、硫酸鎂(0.0865 g, 0.718 mmol)及NADP (0.251 g), 且將反應混合物在N₂氣流下在於空氣中敞口之37°C加熱塊(內部溫度36°C)中攪拌過夜。向反應混合物添加2-丙醇(146 mL)、KRED-P3-C12 (2.51 g)、硫酸鎂(0.0865 g, 0.718 mmol)及NADP (0.251 g), 且將反應混合物在N₂氣流下在於空氣中敞口之37°C加熱塊(內部溫度36°C)中攪拌過夜。向反應混合物添加2-丙醇(91.5 mL)、KRED-P3-C12 (0.501 g)、硫酸鎂(0.0288 g, 0.239 mmol)及NADP (0.0501 g), 且將反應混合物在N₂氣流下在於空氣中敞口之37°C加熱塊(內部溫度36°C)中攪拌過夜。用水(400 mL)及EtOAc (400 mL)稀釋反應混合物且經由矽藻土過濾, 用水(100 mL)及EtOAc (100 mL)洗滌。將濾液轉移至分液漏斗中並分離各層。用EtOAc (500 mL)萃取水層, 然後將合併之有機層用水(1 L)洗滌, 經Na₂SO₄乾燥並濃縮以得到呈棕色固體之標題化合物(48.7 g, 96%產率)。旋光度 $[\alpha]_D^{20} = -35^\circ$ (c = 0.2, MeOH)。ES/MS *m/z*: 212 (M+H)。

【0054】

製備20

5-[(1R)-1-氯乙基]-6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑

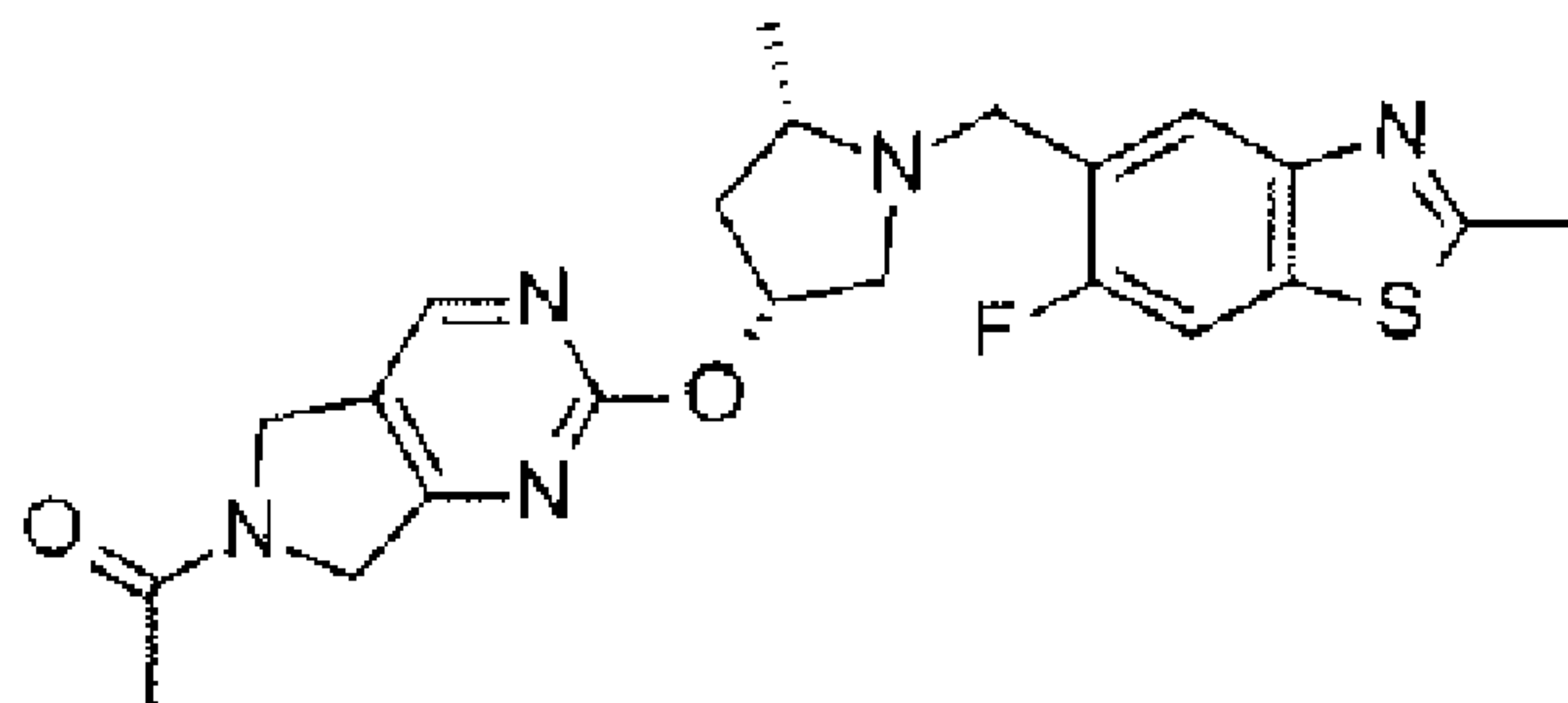


方案3，步驟C：向(S)-1-(6-氟-2-甲基苯并[d]噻唑-5-基)乙-1-醇(15.8 g, 74.8 mmol)於二噁烷(400 mL)中之溶液添加1-甲醯基吡咯啉(3.7 mL, 38 mmol)及苯甲醯氯(22 mL, 187 mmol)。將反應在室溫下攪拌36小時。使反應冷卻至0°C且添加乙酸乙酯(250 mL)，之後逐滴添加N,N-二甲基乙二胺(12 mL, 110 mmol)。使溶液升溫至室溫並攪拌10分鐘。向該溶液添加飽和檸檬酸水溶液(200 mL)。用乙酸乙酯(250 mL)及水(250 mL)稀釋溶液。去除水層並用乙酸乙酯(2 × 125 mL)萃取。將合併之有機層用飽和碳酸鈉水溶液(200 mL)洗滌。用乙酸乙酯(100 mL)反萃取此水性洗液。將合併之有機層用鹽水(100 mL)洗滌且然後經硫酸鎂乾燥，過濾並濃縮。藉由經由急速層析(矽膠)利用己烷:DCM (97:3至50:50)進行溶析來純化殘餘物，以得到5-[(1R)-1-氯乙基]-6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑(13.2 g, 57.6 mmol, 77%產率)。ES/MS m/z : 230 (M+H)。

【0055】

實例1

1-(2-(((3R,5S)-1-((6-氟-2-甲基苯并[d]噻唑-5-基)甲基)-5-甲基吡咯啉-3-基)氧基)-5,7-二氫-6H-吡咯并[3,4-d]嘧啶-6-基)乙-1-酮



方案1，步驟D (X = N)：向6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑-5-甲醛(0.920

g, 4.71 mmol)及1-(2-(((3R,5S)-5-甲基吡咯啉-3-基)氧基)-5,7-二氫-6H-吡咯并[3,4-d]嘧啶-6-基)乙-1-酮鹽酸鹽(1.48 g, 4.95 mmol)於DCM (46 mL)中之溶液添加DIPEA (2.4 mL, 14 mmol)。將所得溶液在室溫下攪拌1小時。向該溶液添加NaBH(OAc)₃ (3.0 g, 14.2 mmol)。將所得溶液在室溫下攪拌16小時。利用飽和NaHCO₃水溶液(10 mL)緩慢淬滅反應混合物並用水(50 mL)稀釋。用DCM (2 × 50 mL)萃取水層。使合併之有機萃取物經MgSO₄乾燥，過濾並在減壓下濃縮。將所得殘餘物溶解於DCM中，且經由矽膠上之急速層析，利用於己烷中之10%-100%丙酮梯度、之後於EtOAc中之等梯度10%甲醇進行溶析來純化，以在溶劑蒸發期望之層析部分後獲得標題化合物(1.68 g, 81%產率)。ES/MS *m/z*: 442 (M+H)； $[\alpha]_D^{20} = +55.3^\circ$ (c = 0.2, MeOH)。

【0056】

實例1之替代程序

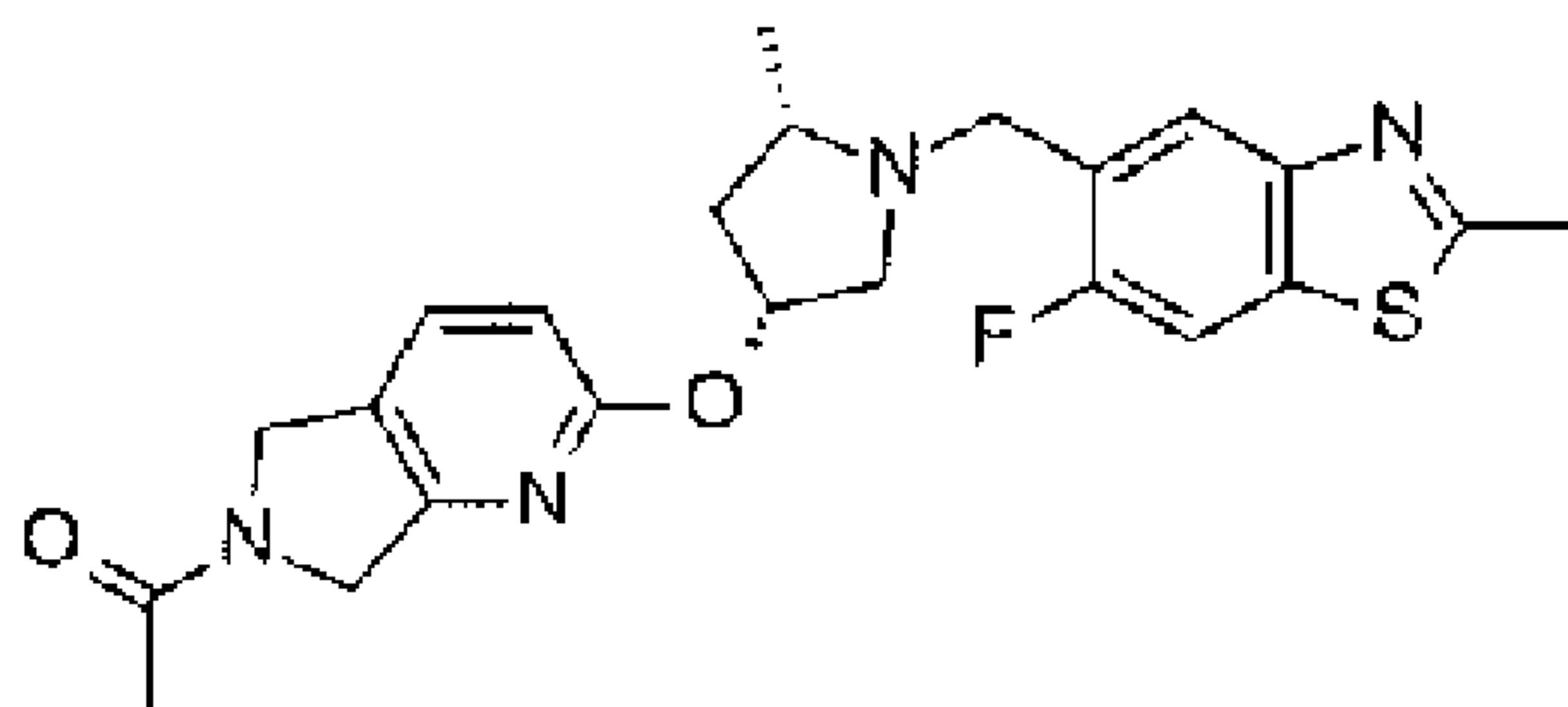
向燒瓶中添加1-(2-(((3R,5S)-5-甲基吡咯啉-3-基)氧基)-5,7-二氫-6H-吡咯并[3,4-d]嘧啶-6-基)乙-1-酮(18.2 g, 45.1 mmol)及DCM (178 mL)。將混合物於冰-水浴(內部溫度5℃)中攪拌且向該混合物添加6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑-5-甲醛(8.9 g, 45.1 mmol)、吡啶(7.3 mL, 90 mmol)及NaBH(OAc)₃ (19.1 g, 90.1 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌過夜(內部溫度20℃)，於冰-水浴中冷卻，且經5分鐘添加10% Na₂CO₃水溶液(130 mL)，在添加期間維持內部溫度低於15℃。將混合物在室溫下劇烈攪拌15分鐘，分離各層，且用DCM (2 × 90 mL)萃取水層。使合併之有機萃取物經Na₂SO₄乾燥，過濾，且將濾液濃縮以得到殘餘物，藉由二氧化矽上之急速層析，使用0%-15%異丙醇/DCM梯度對其進行純化。在減壓下濃縮

含有產物之部分。自庚烷(100 mL)濃縮所得殘餘物以獲得呈乳油色固體之標題化合物(15.64 g, 76%產率)。將固體與純度相似之另外兩批合併，且將合併之材料(19.86 g, 43.65 mmol)在室溫下與EtOAc (149 mL)及庚烷(149 mL)合併。將混合物在45°C加熱塊中劇烈攪拌30分鐘，冷卻至室溫並攪拌15分鐘，且過濾。將過濾出之固體在真空下在40°C下乾燥過夜以得到呈灰白色固體之標題化合物(18.81 g, 96%產率)。ES/MS m/z : 442 (M+H); $[\alpha]_D^{20} = +59.8^\circ$ (c = 0.2, MeOH)。

【0057】

實例2

1-(2-(((3R,5S)-1-((6-氟-2-甲基苯并[d]噻唑-5-基)甲基)-5-甲基吡咯啶-3-基)氧基)-5,7-二氫-6H-吡咯并[3,4-b]吡啶-6-基)乙-1-酮

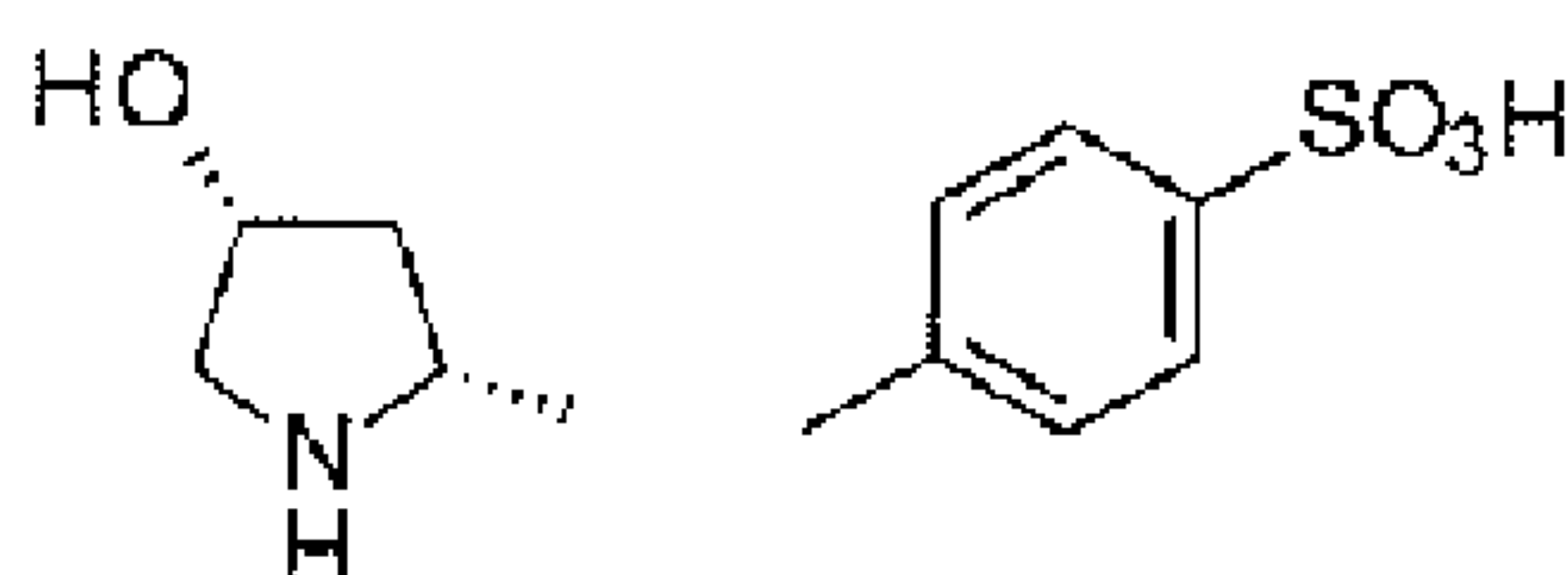


方案1，步驟D (X = CH)：向6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑-5-甲醛(0.19 g, 0.95 mmol)及1-(2-(((3R,5S)-5-甲基吡咯啶-3-基)氧基)-5,7-二氫-6H-吡咯并[3,4-b]吡啶-6-基)乙-1-酮鹽酸鹽(0.28 g, 0.94 mmol)於DCM (9 mL)中之溶液添加DIPEA (0.45 mL, 2.6 mmol)。將所得溶液在室溫下攪拌40分鐘。向該溶液添加NaBH(OAc)₃ (0.65 g, 3.04 mmol)。將所得溶液在室溫下攪拌17小時。利用飽和NaHCO₃水溶液(5 mL)緩慢淬滅反應混合物。用DCM (2 × 5 mL)萃取水層。使合併之有機萃取物經MgSO₄乾燥，過濾並在減壓下濃縮。將所得殘餘物溶解於DCM中，且經由矽膠上之急速層

析利用於己烷中之40%-100%丙酮梯度進行溶析來純化，以在溶劑蒸發期望之層析部分後獲得標題化合物(0.27 g，65%產率)。ES/MS m/z : 441 (M+H)； $[\alpha]_D^{20} = +101.4^\circ$ (c = 0.2, MeOH)。

【0058】

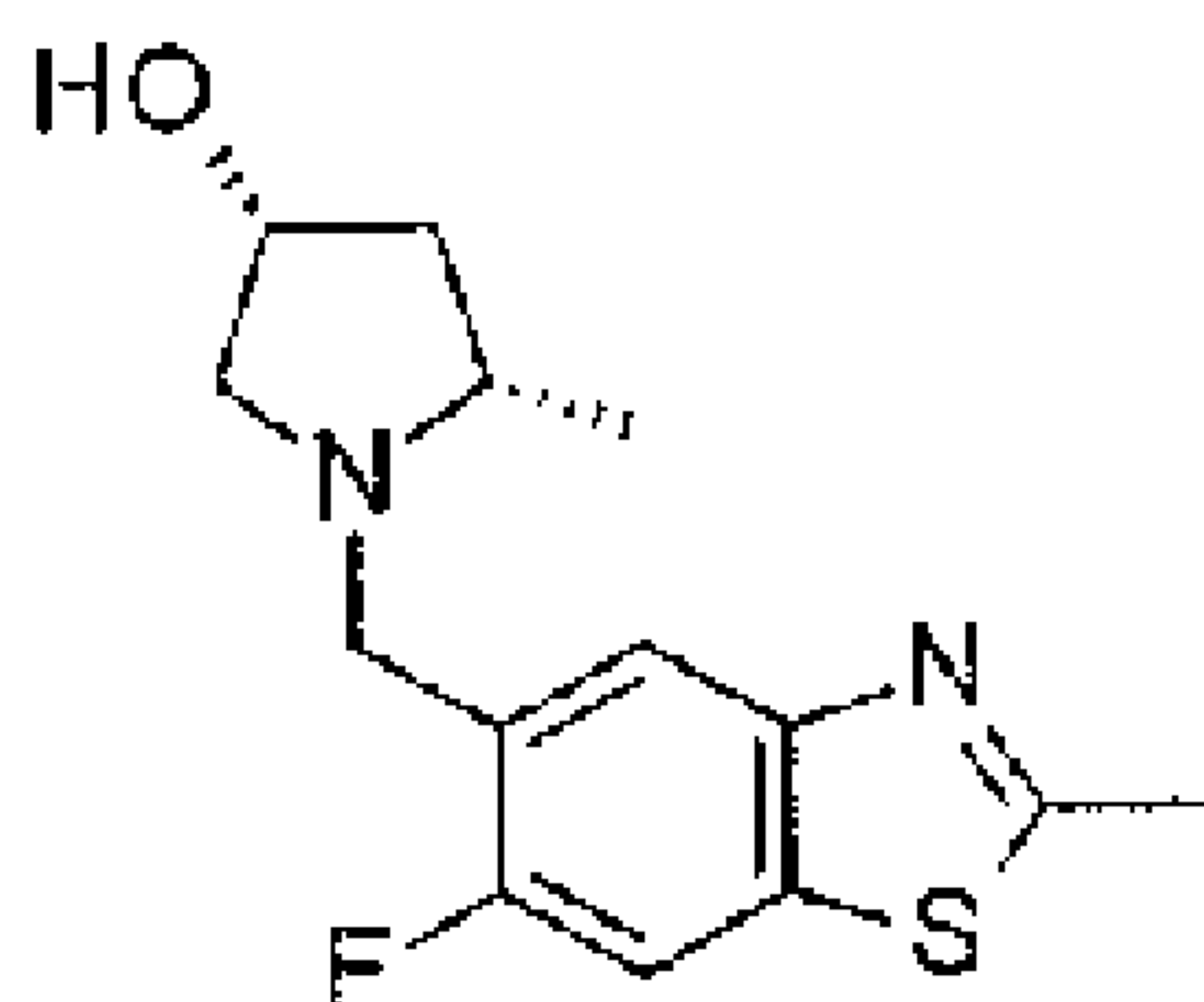
1-(2-(((3R,5S)-1-((6-氟-2-甲基苯并[d]噻唑-5-基)甲基)-5-甲基吡咯啉-3-基)氧基)-5,7-二氫-6H-吡咯并[3,4-b]吡啶-6-基)乙-1-酮之替代製備
4-甲苯磺酸;(3R,5S)-5-甲基吡咯啉-3-醇之製備



在室溫下向燒瓶中添加(2S,4R)-4-羥基-2-甲基-吡咯啉-1-甲酸第三丁基酯(53.0 g, 263 mmol)及2-丙醇(265 mL)。在室溫下(內部溫度20℃)攪拌混合物，且一次性添加對甲苯磺酸一水合物(60.1 g, 316 mmol)。將反應混合物在62℃加熱塊中攪拌過夜，然後冷卻至室溫且濃縮至大約150 mL之總體積。用MTBE (530 mL)稀釋混合物並將混合物在室溫下劇烈攪拌30分鐘，且然後在N₂氣流下過濾。將過濾出之固體在真空下在40℃下乾燥2小時以提供呈白色固體之4-甲苯磺酸;(3R,5S)-5-甲基吡咯啉-3-醇(67.6 g，93%產率)。ES/MS m/z : 102 (M+H)。

【0059】

(3R,5S)-1-[(6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑-5-基)甲基]-5-甲基-吡咯啉-3-醇之製備



在室溫下向燒瓶中添加4-甲苯磺酸;(3R,5S)-5-甲基吡咯啉-3-醇(61.9 g, 226 mmol)、EtOAc (850 mL)及6-氟-2-甲基-1,3-苯并噁唑-5-甲醛(42.5 g, 216 mmol)。於冰-水浴(內部溫度3℃)中攪拌反應混合物且一次性添加三乙胺(60.1 mL, 431 mmol)。於冰-水浴中將反應混合物攪拌30分鐘，然後一次性添加三乙醯氧基硼氫化鈉(91.4 g, 431 mmol)。於冰-水浴中將反應混合物攪拌10分鐘，然後在室溫下攪拌2小時(內部溫度20℃)。於冰-水浴中攪拌反應混合物，且經5分鐘添加15% KHSO₄水溶液(650 mL)，在添加期間維持內部溫度低於15℃。將混合物在室溫下劇烈攪拌1小時，然後添加飽和檸檬酸水溶液(100 mL)且將混合物在室溫下攪拌5分鐘，然後分離各層。用EtOAc (400 mL)洗滌水層，然後於冰-水浴中攪拌水層且在劇烈攪拌下經10分鐘逐份添加固體Na₂CO₃ (80 g)直至pH = 10 (藉由pH試紙量測)。然後用EtOAc (3 ×400 mL)萃取水層。使合併之有機層經Na₂SO₄乾燥並濃縮以得到殘餘物，使用研杵及研鉢將殘餘物壓碎成細粉，然後與25% MTBE/庚烷(280 mL)合併。將混合物在45℃加熱塊中劇烈攪拌1小時，然後在室溫下攪拌1小時，且然後過濾以得到第一批過濾固體。將濾液濃縮，然後將殘餘物與25% MTBE/庚烷(40 mL)合併並將混合物在室溫下劇烈攪拌30分鐘，且然後過濾以得到第二批過濾固體。將第一及第二批過濾固體合併且用刮刀研磨混合物，然後在真空下在室溫下乾燥過夜以提供呈乳油色固體之(3R,5S)-1-[(6-氟-2-甲基-1,3-苯并噁唑-5-基)甲基]-5-甲

基-吡咯啉-3-醇(53.3 g, 87%產率)。ES/MS m/z : 281 (M+H)。

【0060】

最終標題化合物**1-(2-(((3R,5S)-1-((6-氟-2-甲基苯并[d]噻唑-5-基)甲基)-5-甲基吡咯啉-3-基)氧基)-5,7-二氫-6H-吡咯并[3,4-b]吡啶-6-基)乙-1-酮之製備**

在室溫下向燒瓶中添加(3R,5S)-1-[(6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑-5-基)甲基]-5-甲基-吡咯啉-3-醇(26.9 g, 95.0 mmol)、1-(2-氯-5,7-二氫吡咯并[3,4-b]吡啶-6-基)乙酮(22.1 g, 109 mmol)、碳酸鉍(92.8 g, 285 mmol)、MorDalPhos (1.76 g, 3.80 mmol)、(聚鹽亞胺-桂鹽基)氯化鈹(II)二聚體(984 mg, 1.90 mmol)及甲苯(538 mL)。在室溫下使N₂氣鼓泡穿過混合物並攪拌30分鐘，然後將反應混合物在86℃加熱塊中攪拌過夜(內部溫度80℃)。使反應混合物冷卻至室溫且用EtOAc (269 mL)稀釋並添加矽藻土(27 g)。將混合物在室溫下攪拌5分鐘，然後經由矽藻土過濾，用EtOAc (200 mL)洗滌。將濾液濃縮以得到殘餘物，將該殘餘物溶解於EtOAc (100 mL)中且使混合物穿過短的矽膠墊(300 g)，利用EtOAc (2 L)且然後20% IPA/EtOAc (2 L)進行溶析。將IPA/EtOAc部分濃縮以得到殘餘物，使該殘餘物在真空下在室溫下乾燥1小時以得到呈淡棕色泡沫狀物之標題化合物(42.1 g, 88%產率, 88%質量純度)。

將泡沫狀物與純度相似之另一批合併，且將合併之材料(46.0 g, 92.3 mmol)在室溫下與MTBE (230 mL)及庚烷(230 mL)合併。將混合物在45℃加熱塊中劇烈攪拌1小時，然後在室溫下攪拌30分鐘且然後過濾。將過濾出之固體與EtOAc (400 mL)合併且添加SiliaMetS硫醇(40 g)。在室溫下將混合物在旋轉蒸發器上攪動1小時，然後過濾。將濾液濃縮以得到殘

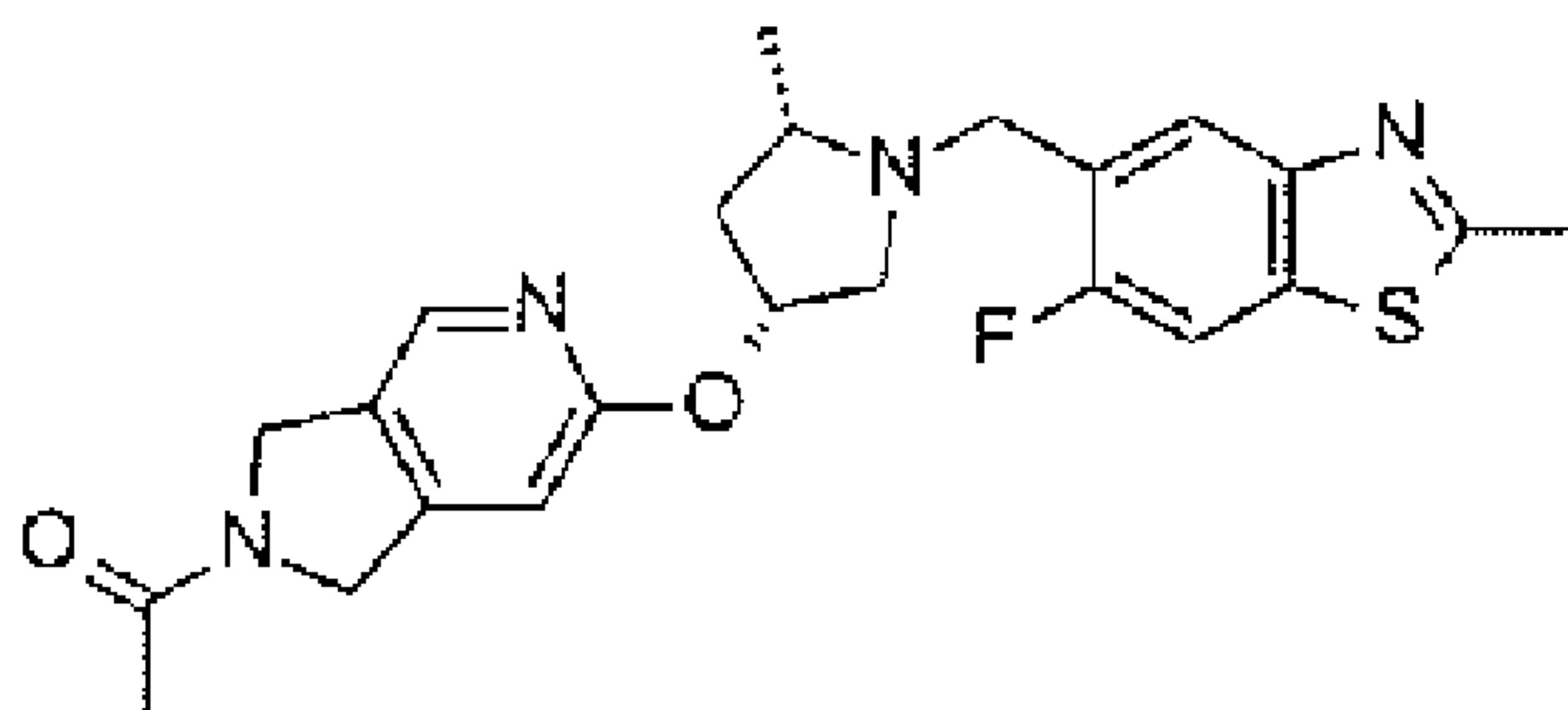
餘物，將該殘餘物與25% EtOAc/庚烷(400 mL)合併，且將混合物在50℃加熱塊中劇烈攪拌1小時，然後在室溫下攪拌10分鐘，然後過濾，保留出第一批濾液。將過濾出之固體與35% EtOAc/庚烷(400 mL)合併，且將混合物在50℃加熱塊中劇烈攪拌1小時，然後在室溫下攪拌10分鐘，然後過濾，保留出第二批濾液。將過濾出之固體與EtOAc (500 mL)及15% KHSO₄水溶液液(500 mL)合併。將混合物在室溫下劇烈攪拌15分鐘，然後轉移至分液漏斗中且分離各層，在有機層中留下碎屑層。用15% KHSO₄水溶液(100 mL)進一步萃取有機層，在有機層中留下碎屑層。將碎屑層自有機層去除且用CH₂Cl₂ (100 mL)及15% KHSO₄水溶液(100 mL)稀釋並分離各層。於冰-水浴中攪拌合併之水層且在攪拌下經5分鐘逐份添加固體Na₂CO₃ (100 g) (藉由pH試紙量測pH為10)。用CH₂Cl₂ (2 × 500 mL)萃取混合物，且使合併之有機層經Na₂SO₄乾燥並濃縮以得到第一批粗產物。將來自過濾之第一及第二批濾液合併並濃縮，然後將殘餘物與EtOAc (100 mL)及15% KHSO₄水溶液(100 mL)合併。將混合物在室溫下劇烈攪拌15分鐘，然後轉移至分液漏斗中並分離各層。於冰-水浴中攪拌水層且在攪拌下經5分鐘逐份添加固體Na₂CO₃ (15 g) (藉由pH試紙量測pH為10)。用CH₂Cl₂ (2 × 100 mL)萃取混合物，且使合併之有機層經Na₂SO₄乾燥並濃縮以得到殘餘物，將該殘餘物與25% EtOAc/庚烷(80 mL)合併且將混合物在50℃加熱塊中劇烈攪拌30分鐘，然後在室溫下攪拌10分鐘，然後過濾以得到第二批粗產物。將該兩批粗產物與25% EtOAc/庚烷(400 mL)合併，且將混合物在50℃加熱塊中劇烈攪拌30分鐘，然後在室溫下攪拌10分鐘，然後過濾。將過濾出之固體在真空下在室溫下乾燥3天以提供呈白色固體之最終標題化合物(37.4 g，90%產率)。ES/MS *m/z*: 441

(M+H)⁺。旋光度 $[\alpha]_{D_{20}} = +104.0^{\circ}$ (c = 0.2, MeOH)。

【0061】

實例3

1-[6-[(3R,5S)-1-[(6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑-5-基)甲基]-5-甲基-吡咯啉-3-基]氧基-1,3-二氫吡咯并[3,4-c]吡啶-2-基]乙酮

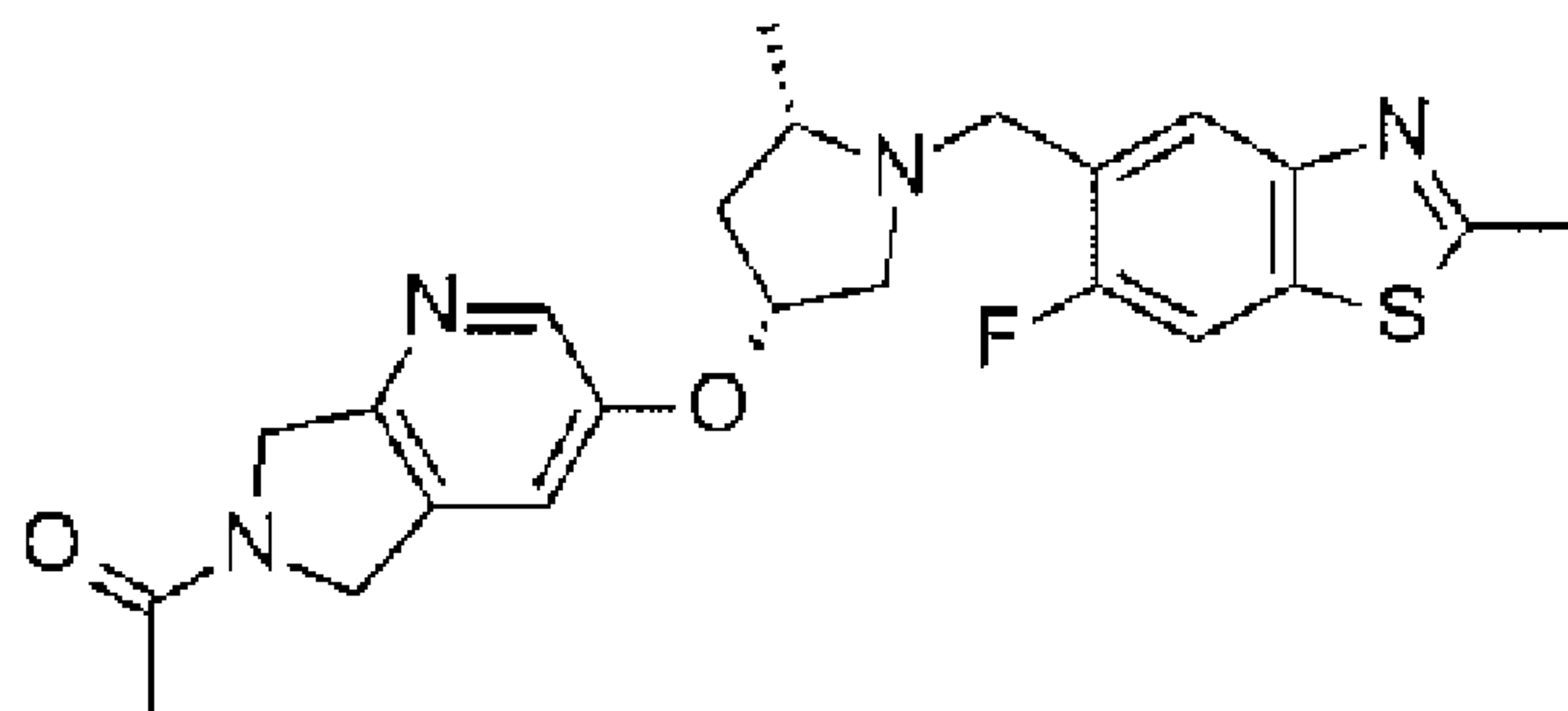


方案4，步驟D：向含有於二氯甲烷(3.5 mL)中之6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑-5-甲醛(0.071 g, 0.363 mmol)及1-[6-[(3R,5S)-5-甲基吡咯啉-3-基]氧基-1,3-二氫吡咯并[3,4-c]吡啶-2-基]乙酮;鹽酸鹽(0.1g, 0.335 mmol)之閃爍小瓶中添加*N,N*-二異丙基乙胺(0.175 mL, 1 mmol)。將溶液在室溫下攪拌且添加三乙醯氧基硼氫化鈉(0.220 g, 1.038 mmol)。將溶液在室溫下攪拌20小時。利用飽和碳酸氫鈉水溶液(3 mL)緩慢淬滅反應。用二氯甲烷(3 × 5 mL)萃取水層。使合併之有機相經硫酸鎂乾燥，過濾並在減壓下濃縮。藉由反相HPLC (溶劑A：10 mM碳酸氫銨水溶液pH=10/ 5% MeOH，溶劑B：乙腈，Phenomenex Kinetex EVO C18，100×30 mm管柱，50℃管柱加熱器)來純化殘餘物以得到1-[6-[(3R,5S)-1-[(6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑-5-基)甲基]-5-甲基-吡咯啉-3-基]氧基-1,3-二氫吡咯并[3,4-c]吡啶-2-基]乙酮(0.089 g，0.203 mmol，56%產率)。ES/MS *m/z*: 441 (M+H)⁺。 $[\alpha]_{D_{20}} = +22.5^{\circ}$ (c = 0.2, MeOH)。

【0062】

實例4

1-[3-[(3R,5S)-1-[(6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑-5-基)甲基]-5-甲基-吡咯啉-3-基]氧基-5,7-二氫吡咯并[3,4-b]吡啶-6-基]乙酮



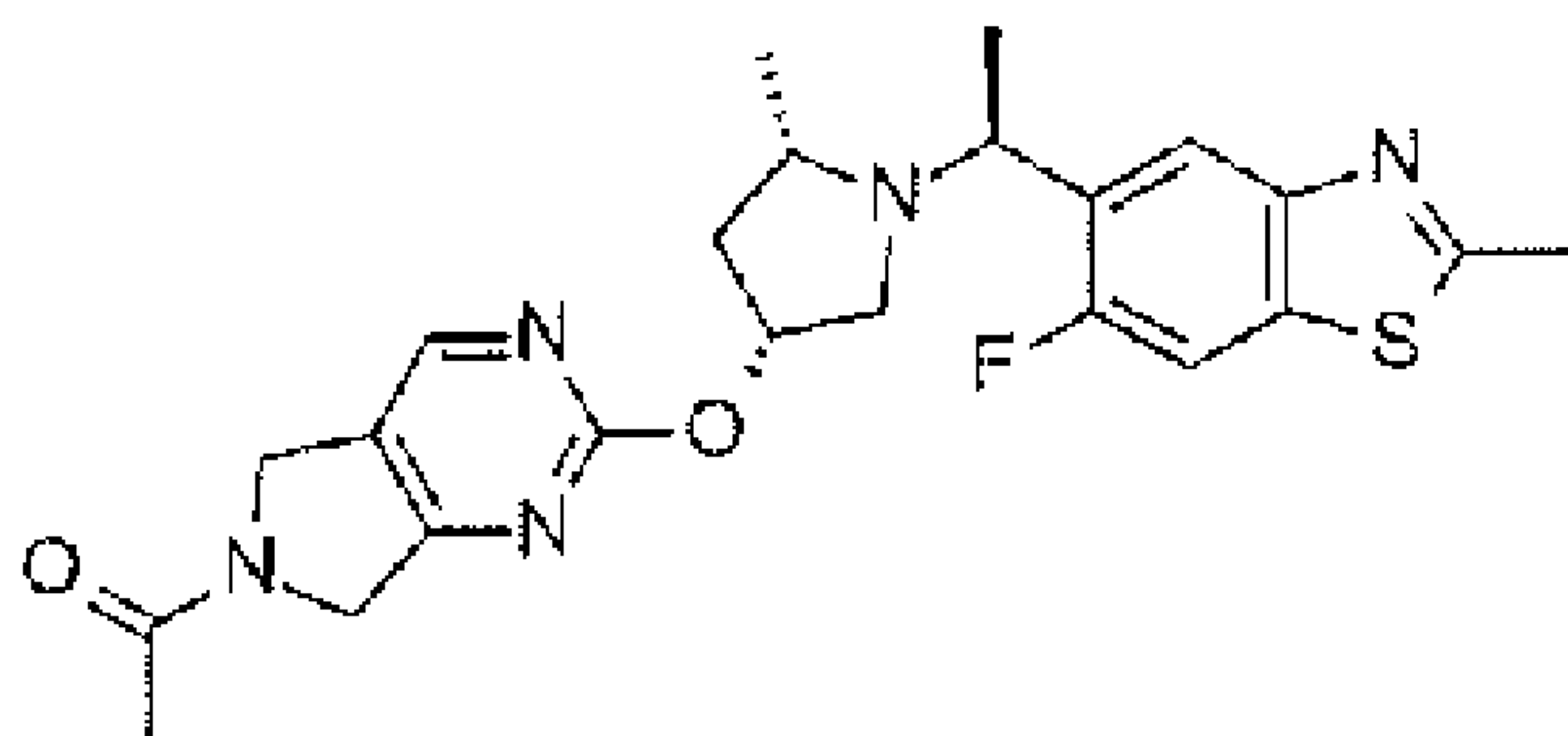
方案5，步驟D：向6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑-5-甲醛(0.057 g, 0.292 mmol)及1-[3-[(3R,5S)-5-甲基吡咯啉-3-基]氧基-5,7-二氫吡咯并[3,4-b]吡啶-6-基]乙酮;鹽酸鹽(0.089 g, 0.299 mmol)於二氯甲烷(3 mL)中之溶液添加*N,N*-二異丙基乙胺(0.15 mL, 0.86 mmol)。將溶液在室溫下攪拌且添加三乙醯氧基硼氫化鈉(0.188 g, 0.877mmol)。將溶液在室溫下攪拌23小時。利用飽和碳酸氫鈉水溶液(5 mL)緩慢淬滅反應。用二氯甲烷(3 × 5 mL)萃取水層。使合併之有機相經硫酸鎂乾燥，過濾並在減壓下濃縮。藉由反相HPLC (溶劑A：10 mM碳酸氫銨水溶液pH=10/ 5% MeOH，溶劑B：乙腈，Phenomenex Kinetex EVO C18，100×30 mm管柱，50℃管柱加熱器)來純化殘餘物以得到1-[3-[(3R,5S)-1-[(6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑-5-基)甲基]-5-甲基-吡咯啉-3-基]氧基-5,7-二氫吡咯并[3,4-b]吡啶-6-基]乙酮(0.055 g，0.125 mmol，43%產率)。MS *m/z*: 441 (M+H)。[α]_D²⁰ = +50.7° (c=0.2, MeOH)。

【0063】

實例5

1-[2-[(3R,5S)-1-[(1S)-1-(6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑-5-基)乙基]-5-甲

基-吡咯啉-3-基]氧基-5,7-二氫吡咯并[3,4-d]嘧啶-6-基]乙酮

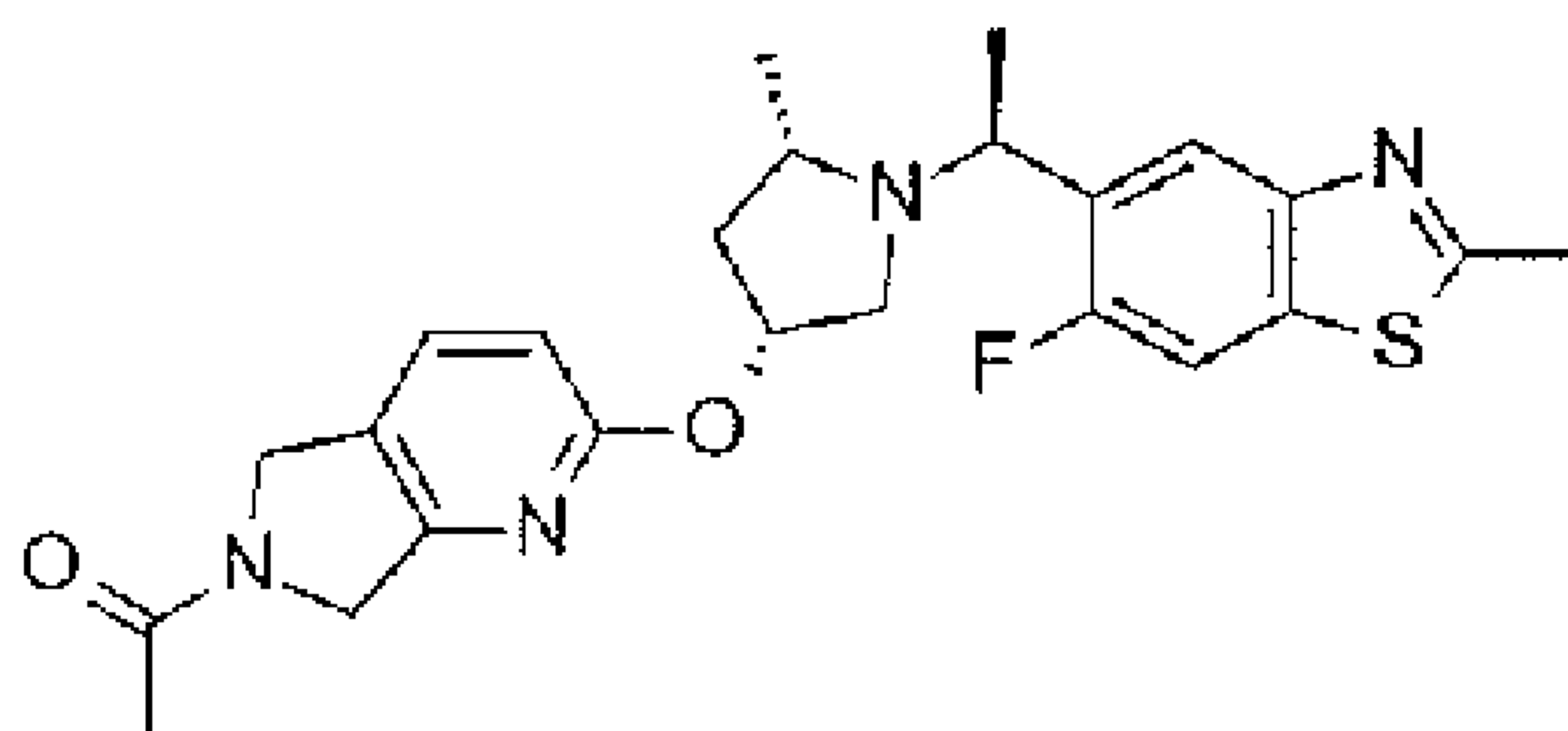


方案3，步驟D：向1-(2-(((3R,5S)-5-甲基吡咯啉-3-基)氧基)-5,7-二氫-6H-吡咯并[3,4-d]嘧啶-6-基)乙-1-酮鹽酸鹽(0.165 g, 0.552 mmol)於乙腈(4.0 mL)中之溶液添加5-[(1R)-1-氯乙基]-6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑(0.097 g, 0.422 mmol)及碳酸鉍(1.4 g, 4.3 mmol)。將懸浮液在68℃下攪拌21小時。使粗製反應冷卻至室溫且經由矽藻土過濾。將濾液濃縮，且經由反相層析在Phenomenex Kinetex EVO C18管柱上利用0.1%甲酸水溶液:MeCN作為移動相來純化。在Chiralcel OD-H管柱上利用40% MeOH (0.2% IPAm)/CO₂作為移動相進一步純化此材料，以得到1-(2-(((3R,5S)-1-((S)-1-(6-氟-2-甲基苯并[d]噻唑-5-基)乙基)-5-甲基吡咯啉-3-基)氧基)-5,7-二氫-6H-吡咯并[3,4-d]嘧啶-6-基)乙-1-酮(0.050 g, 0.110 mmol, 26%產率)。MS *m/z*: 456 (M+H)。[α]_D²⁰ = -13.8° (c = 0.2, MeOH)。

【0064】

實例6

1-[2-[(3R,5S)-1-[(1S)-1-(6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑-5-基)乙基]-5-甲基吡咯啉-3-基]氧基-5,7-二氫吡咯并[3,4-b]吡啶-6-基]乙酮



方案3，步驟D：向1-(2-(((3R,5S)-5-甲基吡咯啉-3-基)氧基)-5,7-二氫-6H-吡咯并[3,4-b]吡啶-6-基)乙-1-酮鹽酸鹽(0.192 g, 0.644 mmol)於乙腈(5.0 mL)中之溶液添加5-[(1R)-1-氯乙基]-6-氟-2-甲基-1,3-苯并噻唑(0.104 g, 0.452 mmol)及碳酸鉀(1.56 g, 4.79 mmol)。將懸浮液在65℃下攪拌17小時。使粗製反應冷卻至室溫且經由矽藻土過濾。將濾液濃縮，且經由急速層析(矽膠)利用己烷:(3:1丙酮:DCM) [60:40至0:100]進行溶析來純化。在Chiralpak AD-H管柱上利用40% MeOH (0.2% IPAm)/CO₂作為移動相進一步純化此材料，以得到1-(2-(((3R,5S)-1-((S)-1-(6-氟-2-甲基苯并[d]噻唑-5-基)乙基)-5-甲基吡咯啉-3-基)氧基)-5,7-二氫-6H-吡咯并[3,4-b]吡啶-6-基)乙-1-酮(0.033 g, 0.073 mmol, 16%產率)。MS *m/z*: 455 (M+H)。[α]_D²⁰ = +19.5 ° (c = 0.2, MeOH)。

【0065】

活體外人類OGA酶分析

OGA酶之產生

將編碼全長人類*O-GlcNAc-β-N-乙醯葡萄糖胺苷酶*(NM_012215)之核苷酸序列插入至具有N末端多組胺酸(HIS)標籤之pFastBac1 (Invitrogen)載體中。根據Bac-to-Bac桿狀病毒表現系統(Invitrogen)方案實施桿狀病毒產生。每公升培養物使用10 mL *P1*病毒以 1.5×10^6 個細胞/mL感染Sf9細胞，且在28℃下培育48小時。使細胞旋轉沉降，用PBS沖洗且將沈澱儲存在-80℃下。

如下純化上文OGA蛋白(His-OGA)：使4 L細胞於200 mL含有50 mM Tris (pH 8.0)、300 mM NaCl、10%甘油、10 mM咪唑、1 mM二硫蘇糖醇(DTT)、0.1% TritonTM X-100、4片蛋白酶抑制劑錠劑(完全不含

EDTA，Roche)之緩衝液中在4°C下溶解45分鐘。然後使此細胞溶解物在4°C下以16500 rpm旋轉40分鐘，且將上清液與6 mL Ni-NTA樹脂(鎳-氮基三乙酸)一起在4°C下培育2小時。

然後將樹脂裝填至管柱上且利用50 mM Tris (pH 8.0)、300 mM NaCl、10%甘油、10 mM咪唑、0.1% TritonTM X-100、1 mM DTT、之後50 mM Tris (pH 8.0)、150 mM NaCl、10 mM咪唑、10%甘油、1 mM DTT進行洗滌。利用50 mM Tris (pH 8.0)、150 mM NaCl、300 mM咪唑、10%甘油、1 mM DTT溶析蛋白質。將合併之含有His-OGA之部分濃縮至6 ml且裝載至Superdex75 (16/60)上。利用50 mM Tris (pH 8.0)、150 mM NaCl、10%甘油、2 mM DTT溶析蛋白質。將含有His-OGA之部分合併且利用BCA (Bradford比色分析)量測蛋白質濃度。

【0066】

OGA酶分析

OGA酶催化自核質蛋白質去除*O-GlcNAc*。為量測此活性，使用螢光黃二-N-乙醯基-β-N-乙醯基-D-葡萄糖胺糖苷(*FD-GlcNAc*，Kim, Eun Ju; Kang, Dae Ook; Love, Dona C.; Hanover, John A. Carbohydrate Research (2006), 341(8), 971-982)作為受質，最終濃度為6.7 μM。此螢光受質在由OGA裂解後變為發螢光的，使得可藉由在535 nm下檢測到之螢光增加(在485 nm下激發)來量測酶活性。

製備分析緩衝液，使其於水(pH 7)中之最終濃度為50 mM H₂NaPO₃-HNa₂PO₃、0.01%牛血清白蛋白及0.01% TritonTM X-100。使用十點濃度反應曲線，將欲測試之化合物稀釋於純二甲亞砜(DMSO)中。反應混合物中之最大化合物濃度為30 μM或1 μM。使適當濃度之化合物與OGA酶一

起預培育30分鐘，之後藉由添加受質開始反應。對於30 μM 或1 μM 最大化合物濃度，最終酶濃度分別為3.24 nM或0.5 nM。使反應在室溫下進行60分鐘。然後，在不終止反應之情形下，讀取螢光。藉由對正規化數據對化合物對數進行作圖且使用四參數邏輯斯諦方程(logistic equation)擬合數據來計算IC₅₀值。

基本上如上文所闡述來測試實例1至6之化合物。

表1.

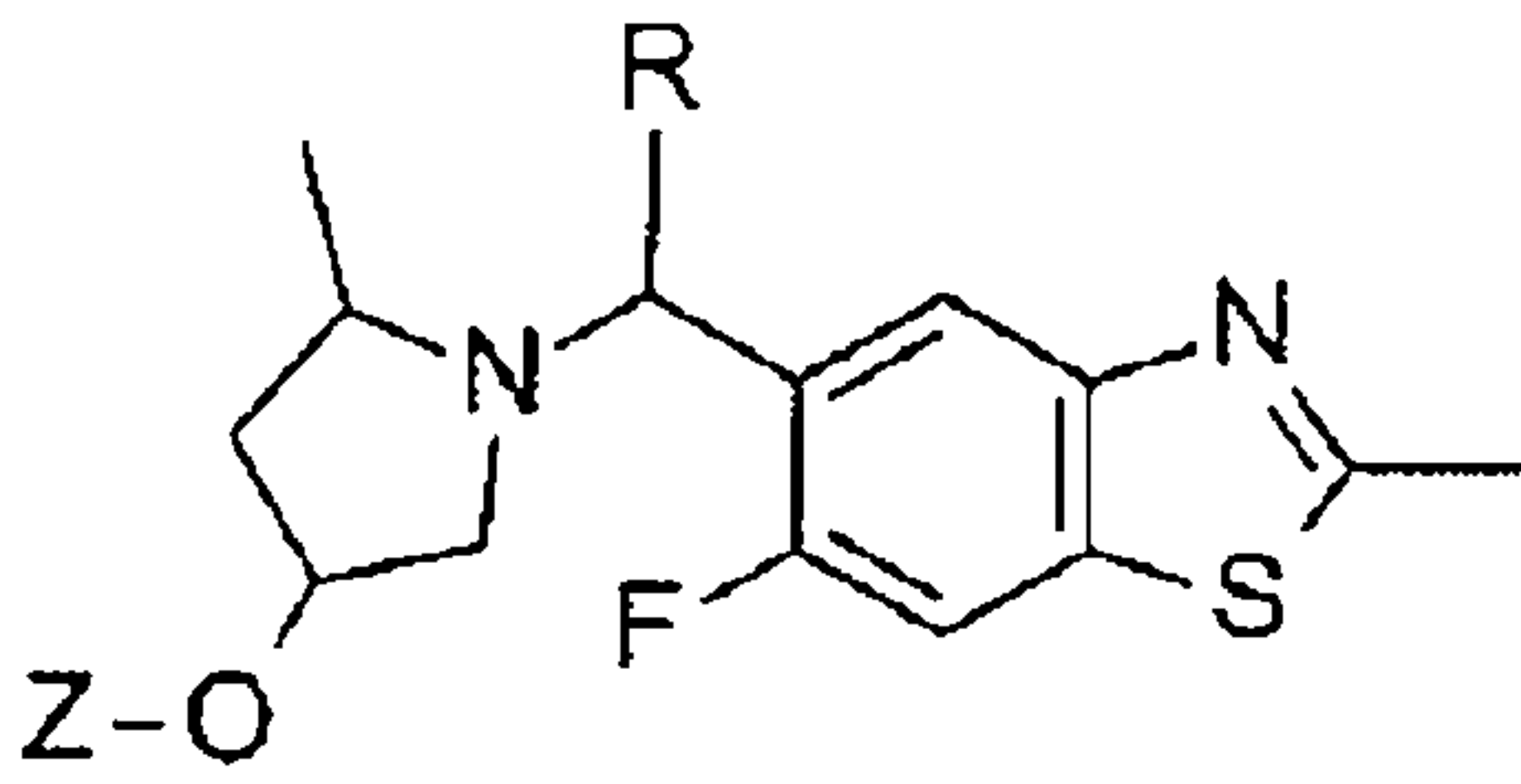
實例	IC ₅₀ (nM)
1	0.465 ± 0.224 (n=5)
2	0.214 ± 0.037 (n=4)
3	0.782 ± 0.087 (n=3)
4	0.592 ± 0.068 (n=2)
5	0.495 ± 0.109 (n=3)
6	0.385 ± 0.088 (n=3)

表1中之結果展現，實例1至6之化合物在活體外抑制OGA酶活性。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

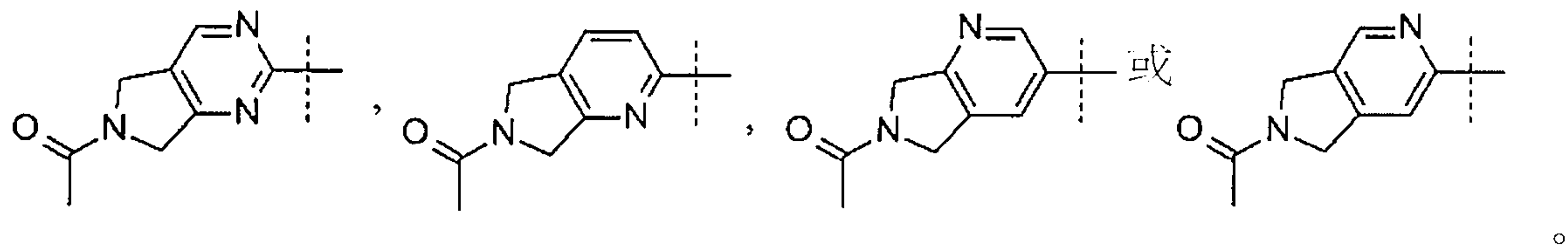
一種下式之化合物或其醫藥上可接受之鹽，



其中

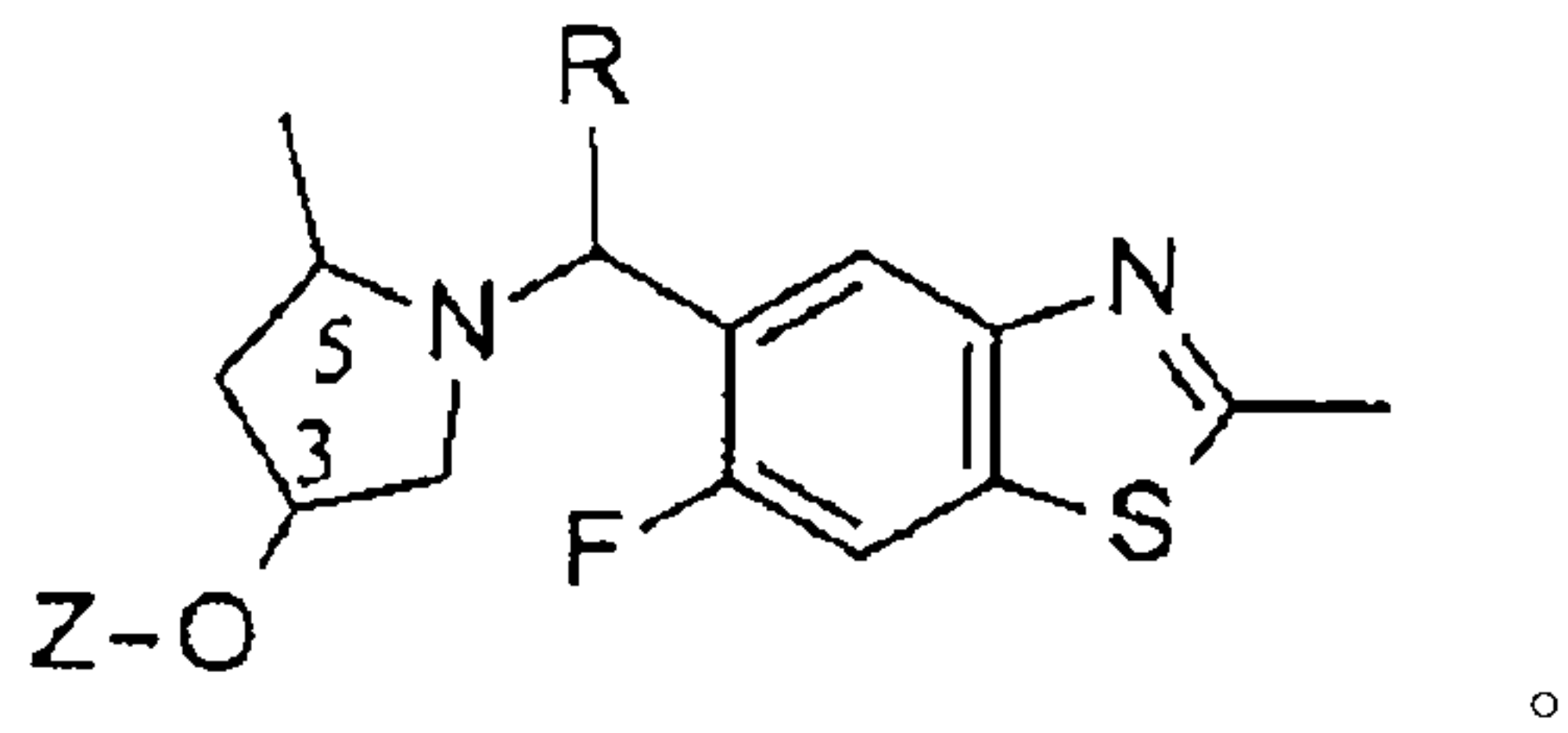
R係氫或甲基；且

Z係：



【請求項2】

如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中吡咯啶環上位置5處之甲基相對於位置3處之氧係呈順式構形：



【請求項3】

如請求項1或2之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中R係甲基。

【請求項4】

如請求項1或2之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中R係氫。

【請求項5】

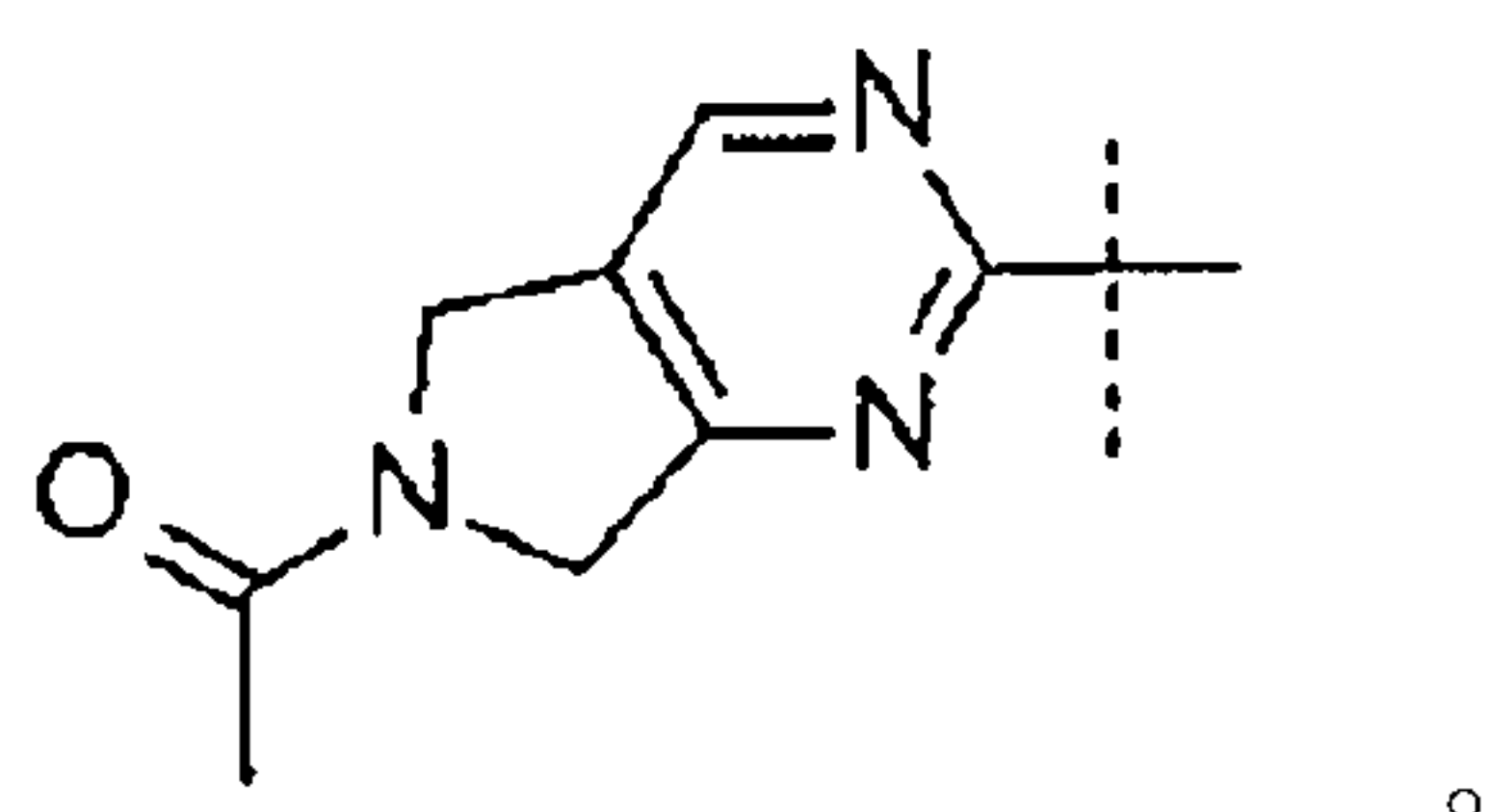
如請求項3之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中R係呈(S)-構形之甲基。

【請求項6】

如請求項3之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中R係呈(R)-構形之甲基。

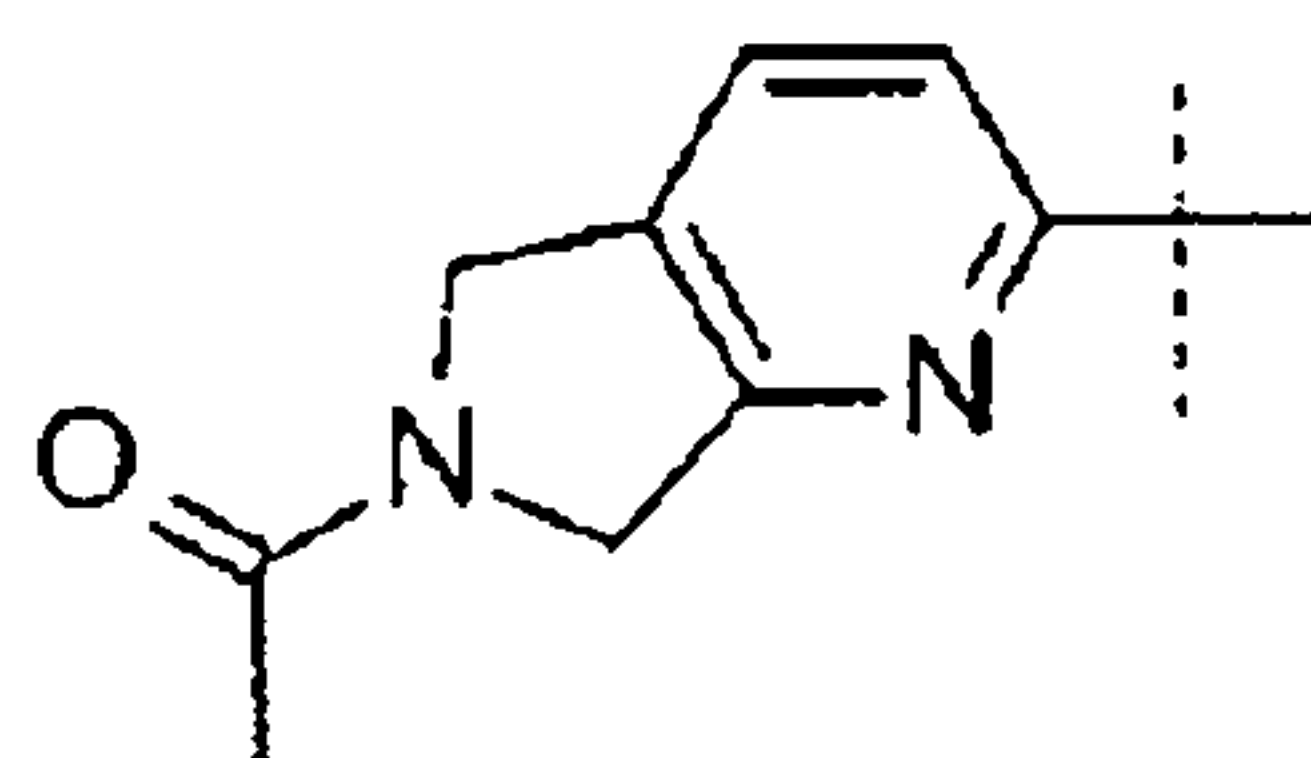
【請求項7】

如請求項1或2之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中Z係：



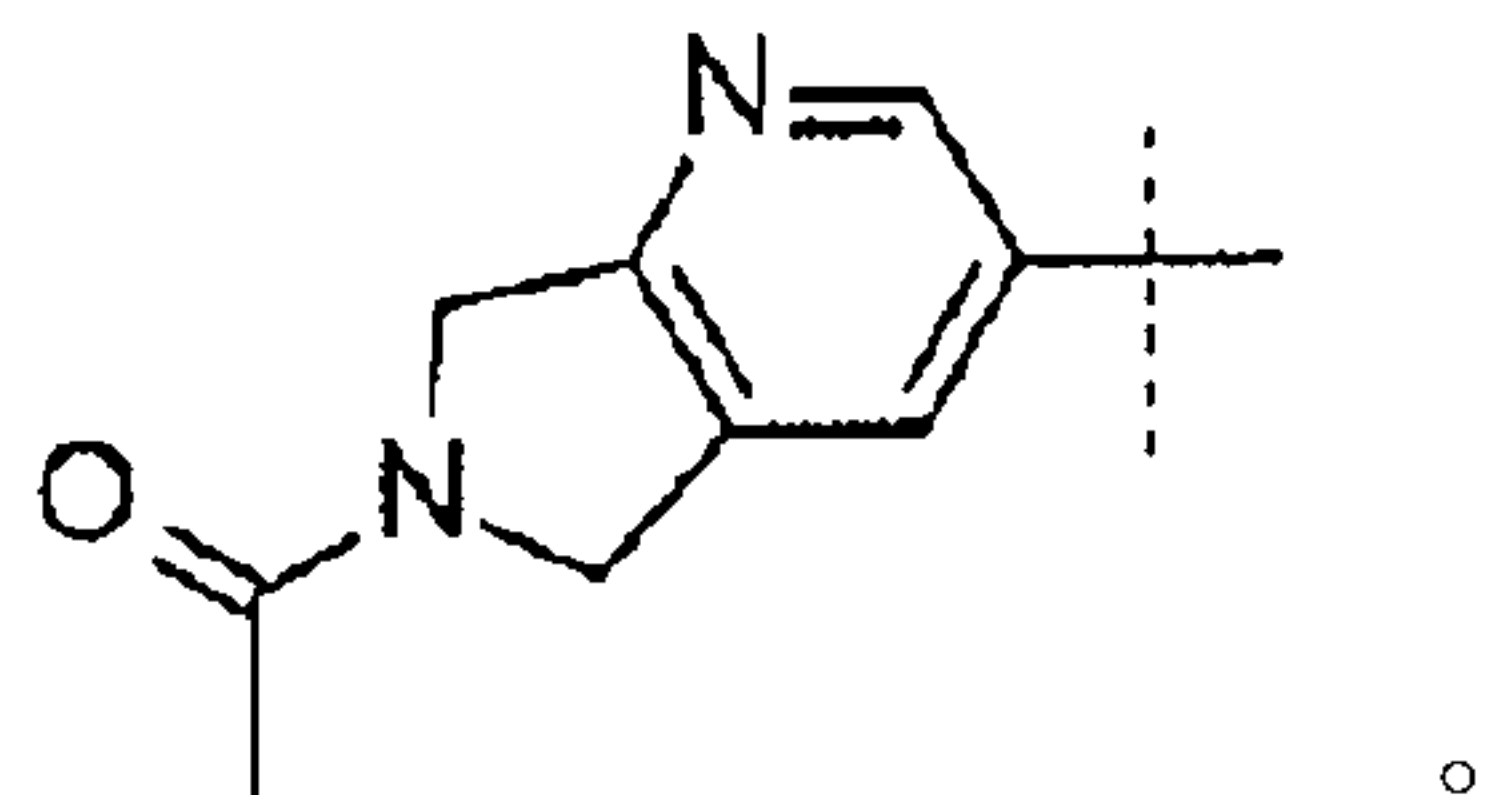
【請求項8】

如請求項1或2之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中Z係：



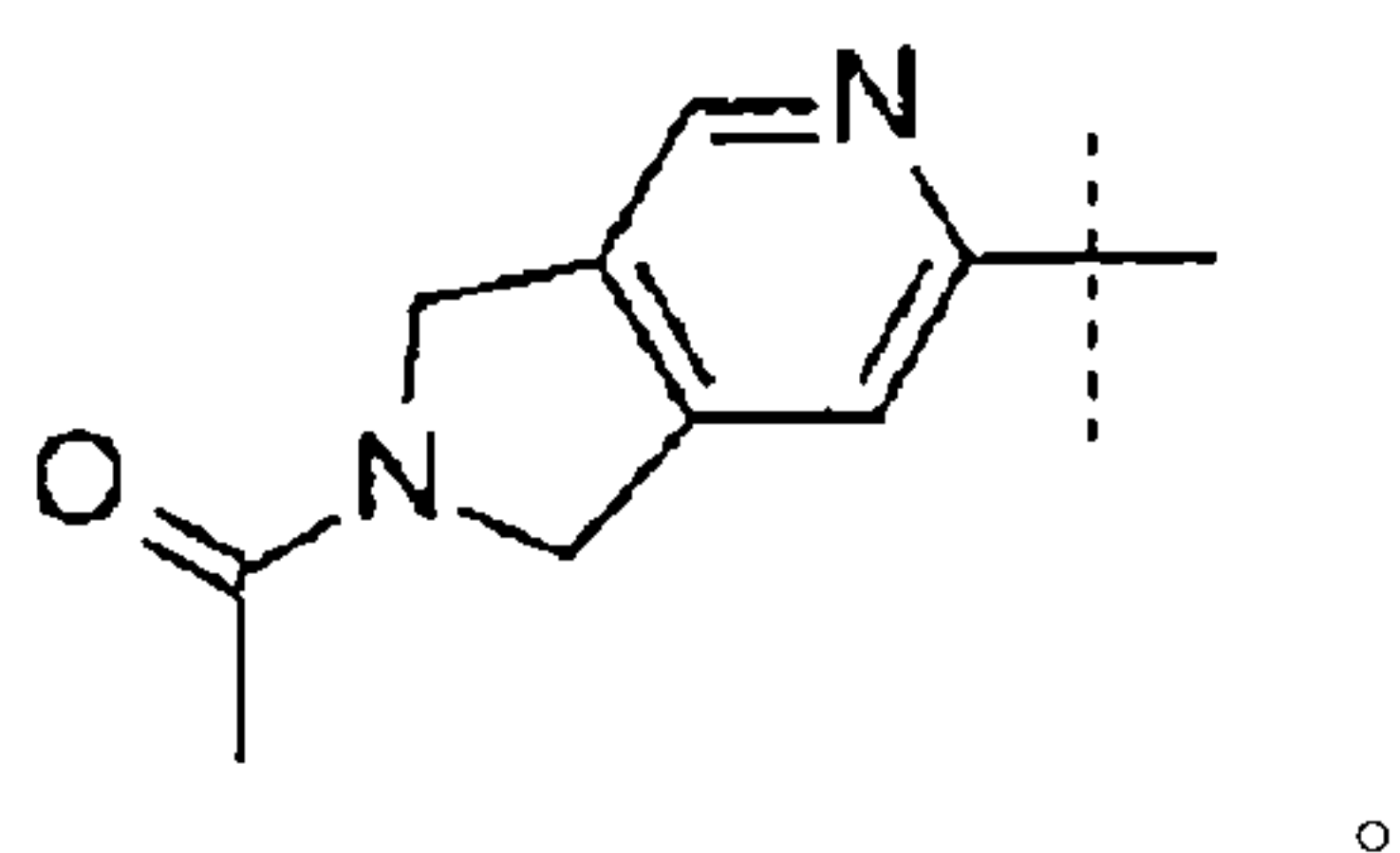
【請求項9】

如請求項1或2之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中Z係：



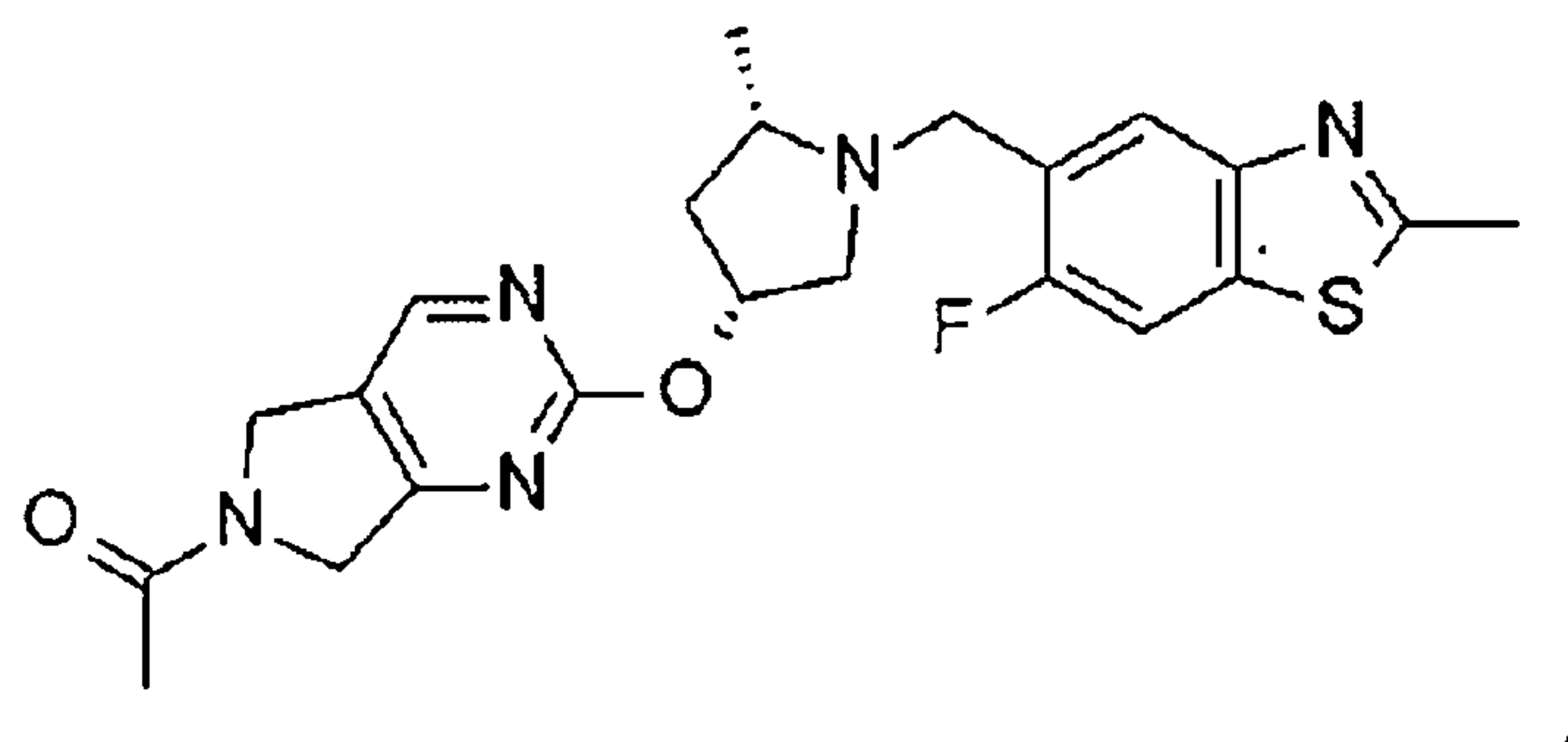
【請求項10】

如請求項1或2之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中Z係：



【請求項11】

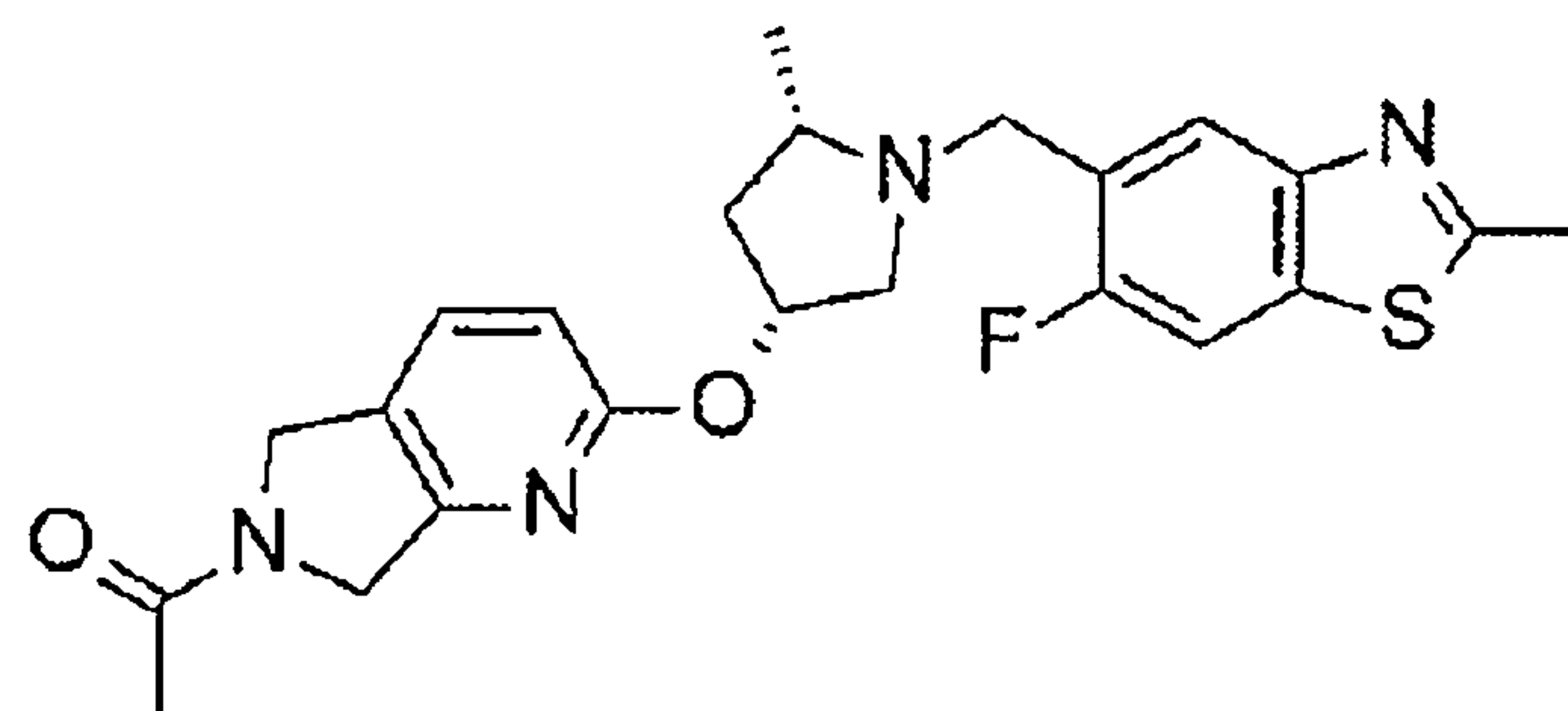
如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其係：



或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項12】

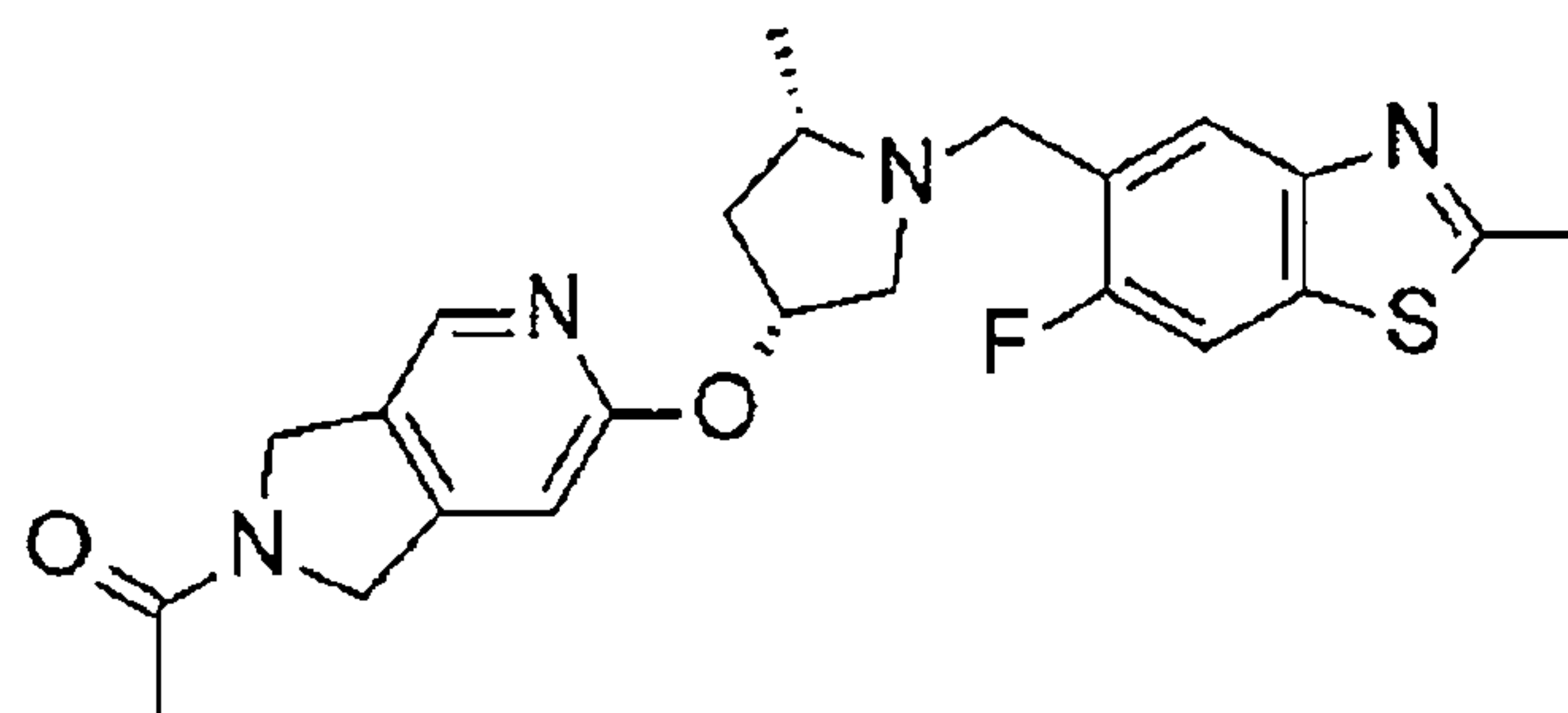
如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其係：



或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項13】

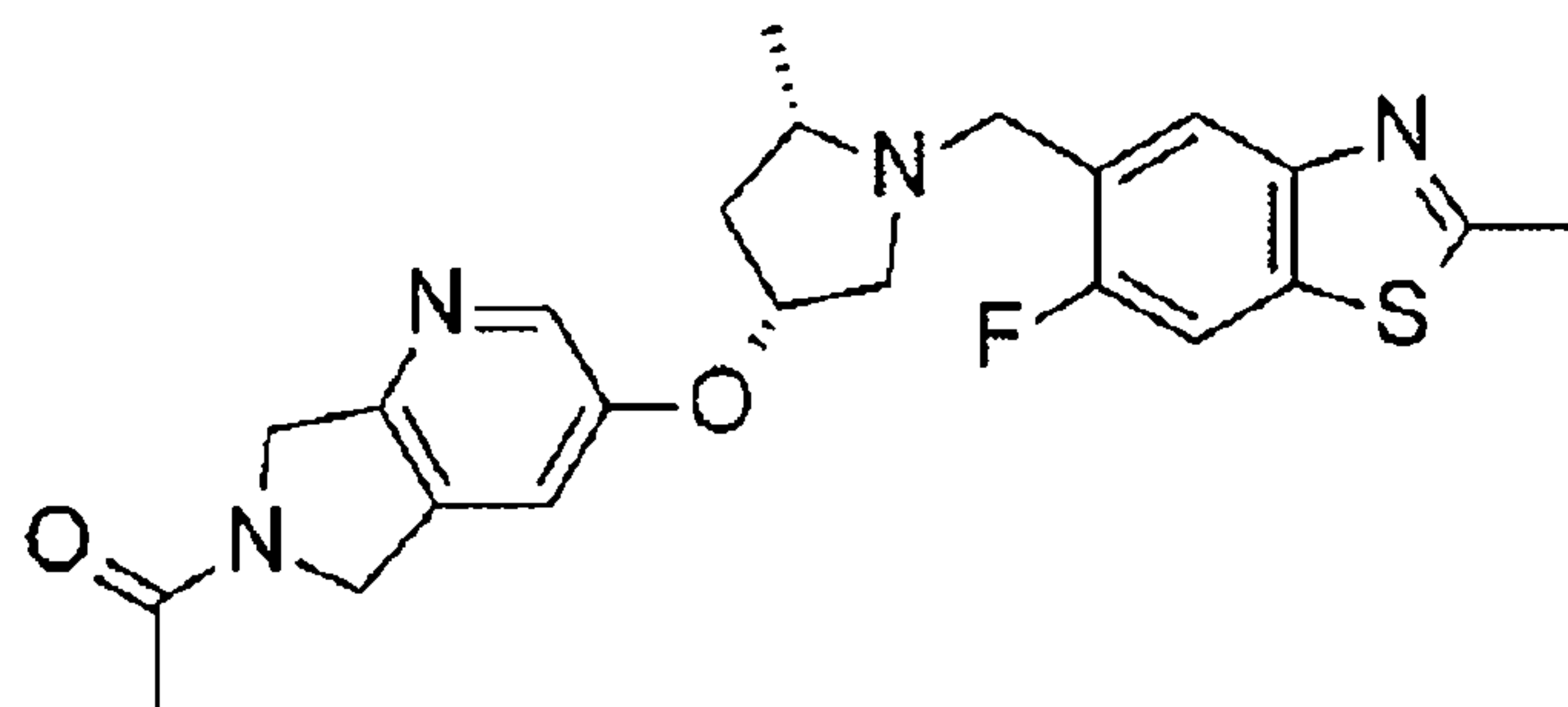
如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其係：



或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項14】

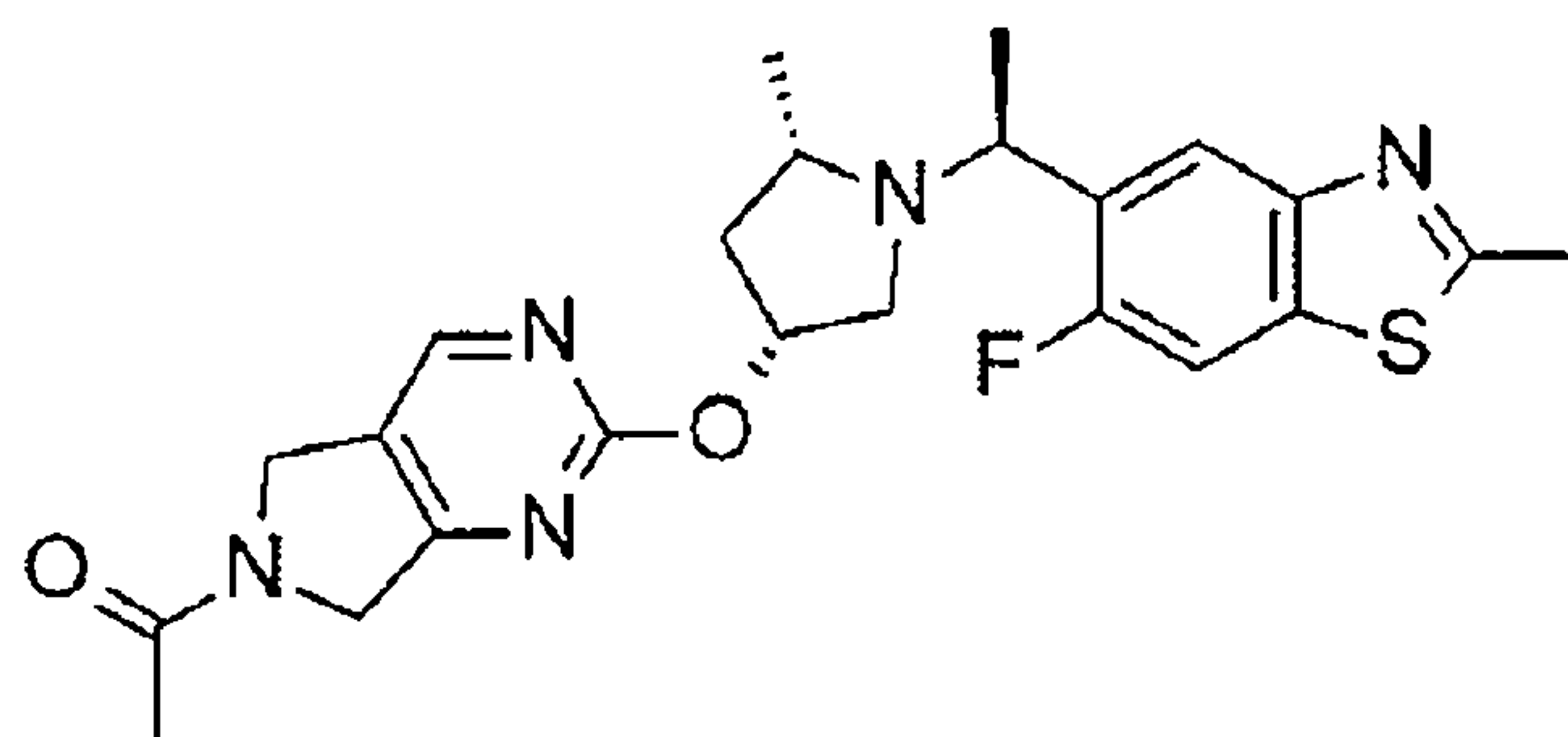
如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其係：



或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項15】

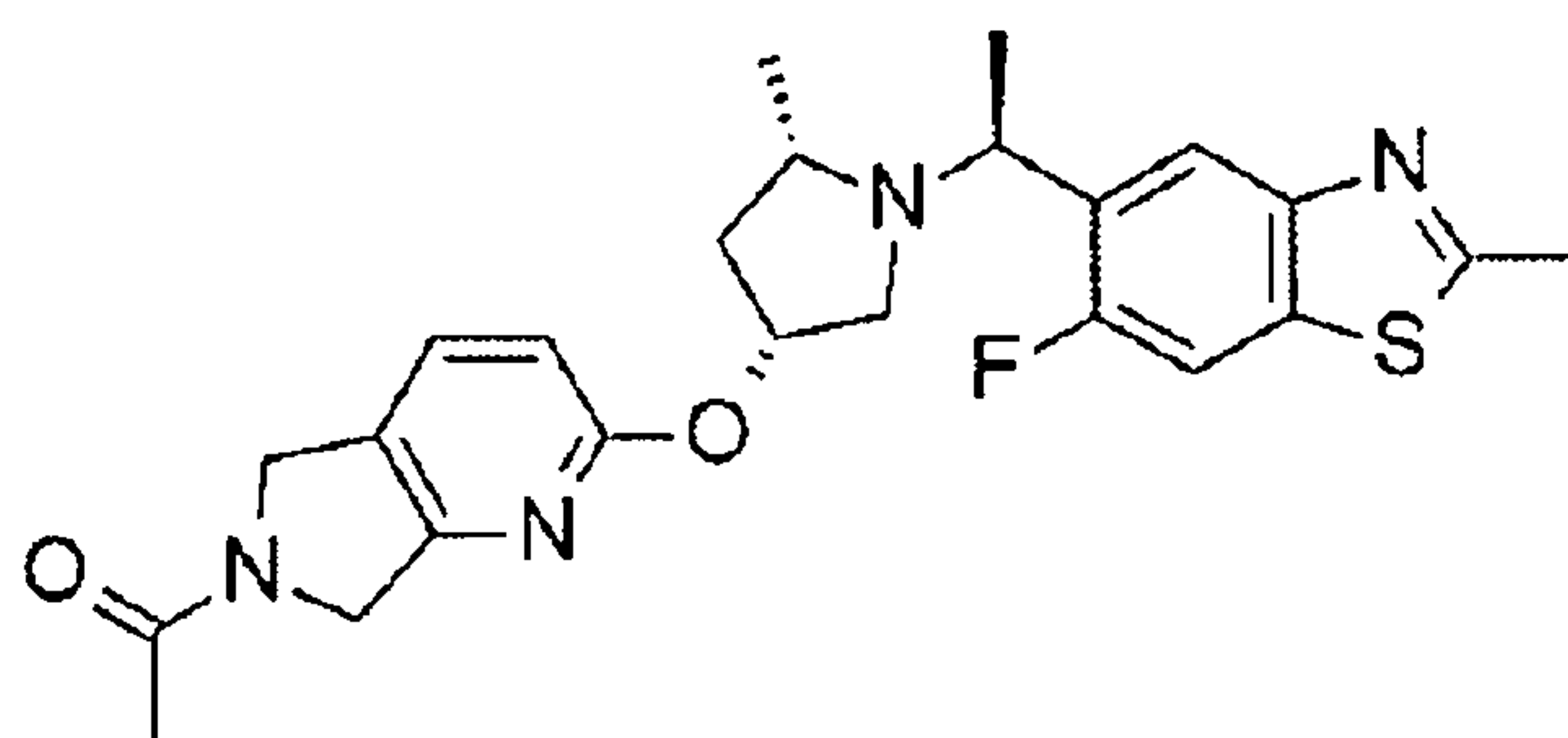
如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其係：



或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項16】

如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其係：



或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項17】

一種如請求項1至16中任一項之化合物或其醫藥上可接受之鹽之用

途，其用於製造用於治療阿茲海默氏病(Alzheimer's disease)之藥劑。

【請求項18】

一種如請求項1至16中任一項之化合物或其醫藥上可接受之鹽之用途，其用於製造用於防止輕度認知損害進展成阿茲海默氏病之藥劑。

【請求項19】

一種如請求項1至16中任一項之化合物或其醫藥上可接受之鹽之用途，其用於製造用於治療進行性核上性麻痺之藥劑。