



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：200930370

(43)公開日：中華民國98(2009)年7月16日

(21)申請案號：097148178

(22)申請日：中華民國97(2008)年12月11日

(51)Int. Cl.：

A61K31/496 (2006.01)

A61K31/4427 (2006.01)

A61K31/4523 (2006.01)

A61K31/5377 (2006.01)

A61K31/551 (2006.01)

C07D403/10 (2006.01)

C07D405/14 (2006.01)

C07D413/14 (2006.01)

A61P19/10 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權主張：2007/12/13

歐洲專利局

07024218.5

(71)申請人：西恩納生物科技公司 SIENA BIOTECH S. P. A.
義大利

(72)發明人：羅塞爾 約翰 湯瑪士 RUSSELL JOHN THOMAS；加爾拉 派里科 默爾 GAL. LA PERICOT MOHR；吉亞科墨 明內托 GIACOMO MINETTO；安內特 科內里亞 巴克 ANNETTE CORNELIA BAKKER；派特羅 費路齊 PIETRO FERRUZZI

(72)代理人：賴經臣；宿希成

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：10 項 圖式數：0 共164 頁

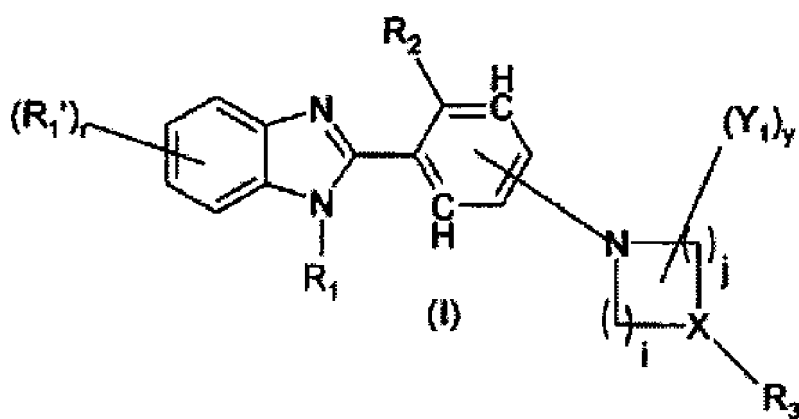
(54)名稱

刺蝟因子(Hedgehog)路徑拮抗劑及其治療上之應用

HEDGEHOG PATHWAY ANTAGONISTS AND THERAPEUTIC APPLICATIONS THEREOF

(57)摘要

調節刺蝟因子(Hedgehog)傳訊路徑之雜環化合物、其醫藥組成物及其治療上之應用。





(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：200930370

(43)公開日：中華民國98(2009)年7月16日

(21)申請案號：097148178

(22)申請日：中華民國97(2008)年12月11日

(51)Int. Cl.：

A61K31/496 (2006.01)

A61K31/4427 (2006.01)

A61K31/4523 (2006.01)

A61K31/5377 (2006.01)

A61K31/551 (2006.01)

C07D403/10 (2006.01)

C07D405/14 (2006.01)

C07D413/14 (2006.01)

A61P19/10 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權主張：2007/12/13

歐洲專利局

07024218.5

(71)申請人：西恩納生物科技公司 SIENA BIOTECH S. P. A.
義大利

(72)發明人：羅塞爾 約翰 湯瑪士 RUSSELL JOHN THOMAS；加爾拉 派里科 默爾 GAL. LA PERICOT MOHR；吉亞科墨 明內托 GIACOMO MINETTO；安內特 科內里亞 巴克 ANNETTE CORNELIA BAKKER；派特羅 費路齊 PIETRO FERRUZZI

(72)代理人：賴經臣；宿希成

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：10 項 圖式數：0 共164 頁

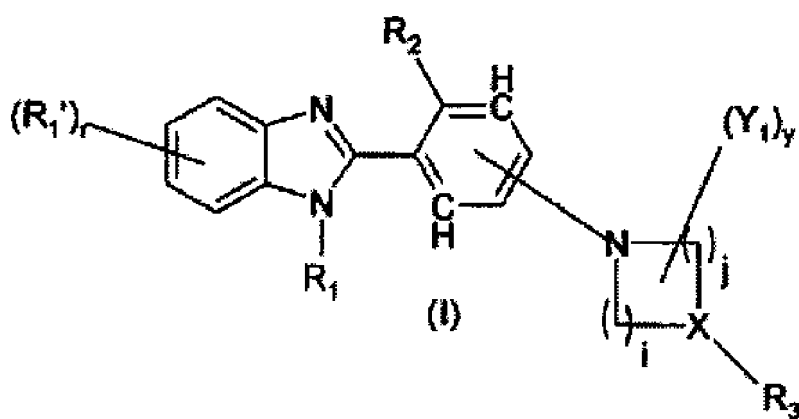
(54)名稱

刺蝟因子(Hedgehog)路徑拮抗劑及其治療上之應用

HEDGEHOG PATHWAY ANTAGONISTS AND THERAPEUTIC APPLICATIONS THEREOF

(57)摘要

調節刺蝟因子(Hedgehog)傳訊路徑之雜環化合物、其醫藥組成物及其治療上之應用。



六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於有機化合物、其醫藥組成物及其用於哺乳動物體之治療上及/或預防上之用途，特別係關於調節刺蝟因子傳訊路徑之雜環化合物。

【先前技術】

45 kDa 人類 Shh 前驅物蛋白質之自體蛋白質分解所產生 20 kDa 之 N 端片段係負責正常刺蝟因子傳訊；及產生涉及自體處理活性 25 kDa 之 C 端片段，其中該 N 端片段係經結合至膽固醇(Lee et al. Science 266 1528-1537 (1994) 及 Bumcrot et al. Mol. Cell Biol. 15 2294-2303 (1995))。

功能正常的刺蝟因子(Hedgehog, Hh)傳訊係經由調控細胞分化與增生而表現出胚胎形態，首次報告於黑腹果蠅(*Drosophila melanogaster*) (Nusslein-Vollhard et al. Roux. Arch. Dev. Biol. 193:267-282 (1984))。分泌 Hh 多肽之細胞反應係藉兩種嵌入膜蛋白 Patched (Ptc)及 Smoothened (Smo)媒介。Hh 結合至十二穿膜蛋白 Ptc，因而逆轉由 Ptc 媒介之七穿膜蛋白質 Smo 之抑制作用。然後此種 Smo 活化作用觸發一系列胞內事件，轉錄因子 Cubitus interruptus (Ci)之安定化及 Ci 依賴型基因的表現達到高峰。此等事件於哺乳動物發育期間及腫瘤發生期間經由多種

蛋白質同系物重演，該等蛋白包括三種不同的 Hh 家族成員 [音蝟因子(Sonic , Shh)、印度刺蝟因子(Indian , Ihh)、及沙漠刺蝟因子(Desert , Dhh)]、兩種 Ptc 蛋白(Ptch1 及 Ptch2)及三種類 Ci 轉錄因子(Gli1、Gli2、及 Gli3)。但 Smo 有單一種脊椎動物同系物經由果蠅、小鼠及斑馬魚之基因分析暗示涉及全部各形式之 Hh 傳訊(Chen et al. PNAS 99(22): 14071-14076 (2002))。

Smo 引發一信號串級，造成 Gli 轉錄因子之活化及其隨後細胞核移位，結果導致標靶基因之轉錄的控制。經由一負回饋迴路，Gli 影響抑制 Hh 路徑之 Ptc 及 Hip1 (刺蝟因子交互作用蛋白 1 (Hip1))之轉錄作用。Hh 路徑活化的喪失控制可能引起某個範圍之癌症的增加，包括腦部癌症，諸如神經管胚細胞瘤(Romer and Curran, Cancer Res 65(12) 4975-4978 (2005))及神經膠母細胞瘤(Bar et al. Stem Cells 25(10):2524-33 (2007))；攝護腺癌(Sanchez et al. PNAS 101(34) 12561-12566 (2004))；胰臟癌(Thayer et al. Nature 423 851-856 (2003))；非小細胞肺癌(Yuan et al. Oncogene 26 1046-1055 (2007))；小細胞肺癌(Watkins et al. Nature 422 313-317 (2003))；乳癌(Kubo et al. Cancer Res 64 6071-6074 (2004))；多種消化道腫瘤(Berman et al. Nature 425 846-851 (2003))；及 (Lees et al. Gastroenterology 129(5) 1696-1710 (2006))；基底細胞

癌(Williams et al. PNAS 100(8) 4616-4621 (2003)); 惡性黑色素瘤(Pons and Quintanilla Clin Trans Oncol. 8(7) 466-474 (2006)); 鱗狀細胞癌(Xuan et al. Mod Pathol. 19(8) 1139-47 (2006)); B-細胞惡性病諸如多發性肌瘤及淋巴瘤(Dierks et al. Nat. Med. 13(8) 944-951 (2007); Peacock et al. PNAS 104(10) 4048-4053 (2007)); 間葉癌諸如軟骨肉瘤(Tiet et al. Am. J. Pathol. 168(1) 321-330 (2006)), 腎臟透明細胞肉瘤(Cutcliffe et al. Clin Cancer Res. 11(22):7986-94 (2005))及橫紋肌肉瘤(Tostar et al. J. Pathol. 208(1) 17-25 (2006)); 慢性骨髓性白血病(Sengupta et al. Leukemia 21(5) 949-955 (2007)); 子宮內膜癌(Feng et al. Clin. Cancer Res. 13(5) 1389-1398 (2007)); 肝細胞癌(Huang et al. Carcinogenesis 27(7) 1334-1340 (2006)); 卵巢瘤(Chen et al. Cancer Sci. 98(1) 68-76 (2007))。

也已經發現 Hh 傳訊調節 ABC 轉運子蛋白多重藥物抗性蛋白-1 (MDR1、ABCB1、P-糖蛋白)及(BCRP、ABCG2)之表現, 以及藉小型干擾性 RNA 靶定擊倒 MDR1 及 BCRP 的表現部分逆轉 Hh-誘導之化學抗性。此說明了 Hh 路徑可為克服 MDR 之標靶且提高化學治療反應(Sims-Mourtada et al Oncogene 26(38) 5674-5679 (2007))。音蝟因子傳訊路徑之阻斷發現可增強 EGFR 抑制劑用於胰癌細胞(Hu et al. Acta

Pharmacol Sin. 28(8) 1224-30 (2007))及攝護腺癌細胞 (Mimeault et al. Int. J Cancer 118(4) 1022-31 (2006)) 之抗增生效果。

刺蝟因子路徑也與化學放射性治療後之腫瘤再度生長有關，以及作為改善輻射線反應的可能標的(Sims-Mourtada et al. Clin. Cancer Res. 12(21) 6565-6572 (2006))；及環巴胺(cyclopamine)為一種刺蝟因子路徑拮抗劑，其可增加太平洋紫杉醇及放射線於 Hh 表現性胰臟癌細胞之胞毒性效果(Shafae et al. Cancer Chemother. Pharmacol. 58(6) 765-70 (2006))。

也曾報告刺蝟因子傳訊路徑之抑制可用於與發炎、上皮細胞增生、組織纖維變性或免疫病症相關聯之一定範圍的疾病的治療(Lamb et al. EP1183040)。曾經報告音蝟因子傳訊的抑制用於大鼠原位小腸移植研究模型可減少慢性排斥且延長同種異體移植片的存活。雖然急性移植物排斥可藉免疫抑制劑控制，慢性排斥係以捐贈者器官血管之動脈硬化為特徵，慢性排斥為長期同種異體移植存活的主要障礙。於大鼠原位小腸移植研究模型中，於抗 Shh 抗體處理後，移植的存活比較免疫球蛋白 G 對照組顯著延長(116 日相較於 77.5 日)。抗 Shh 抗體接受者之腸繫膜中膠原蛋白的沈積及血管梗阻顯著減少(Chen et al. Transplantation 83(10) 1351-1357 (2007)；Lamb et al. EP1183040B1)。

也曾報告 sFRP-1 為 Hh 傳訊之下游標靶基因，於 Hh 路徑活化後，所分泌的皺縮相關蛋白-1 (sFRP-1)之表現升高，對分子鏈路提供對 Wnt 傳訊之抑制效應(He et al. J. Biol. Chem. 281(47)35598-35602 (2006))。如此透過 sFRP-1 拮抗 Hh 路徑，Wnt 傳訊之調節作用提供一種治療某個範圍之疾病諸如骨質疏鬆症(Ai et al. Mol. Cell. Biol. 25(12) 4946-4955 (2005)) 及其它 (Luo et al. Laboratory Investigation, 87, 97-103(2007))之治療方法。

曾經研究多種 Hh 路徑之抑制劑，包括天然產物環巴胺係經由結合至 Smo 之七螺旋區發揮作用。此外，近年來曾經報告多種 Smo 受體之合成小分子拮抗劑：有關綜論部分請參考 Kiselyov Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry 6 445-449 (2006)。

Lubisch 等人揭示一系列 2-苯基-苯并咪唑類用作為 PARP 抑制劑，可有效用於治療多種疾病包括癌症(W02000026192)以及用於化妝品領域(W02001082877)。重複出現的特徵為於苯并咪唑環之第 4-位置存在有胺基甲醯基部分。

Arienti 等人 (W02003032984) 及 Ameriks 等人 (W02004093873 及 US2004214857)揭示一系列 2-苯基-苯并咪唑衍生物用作為檢查點激銼 2 抑制劑可用於癌症之治療，進一步特徵在於苯并咪唑環之第 5-位置經常性以羧酸基、胺基甲醯基或胺基磺醯基取代。

Ohemeng 等人(W09911627 及 US5942532)揭示一系列用作為抗菌劑之 5-羧基鹽亞胺鹽胺-2-苯基-苯并咪唑類化合物。

Mjalli 等人(W02003075921)說明一系列 2-苯基-苯并咪唑衍生物之醫藥上之應用。

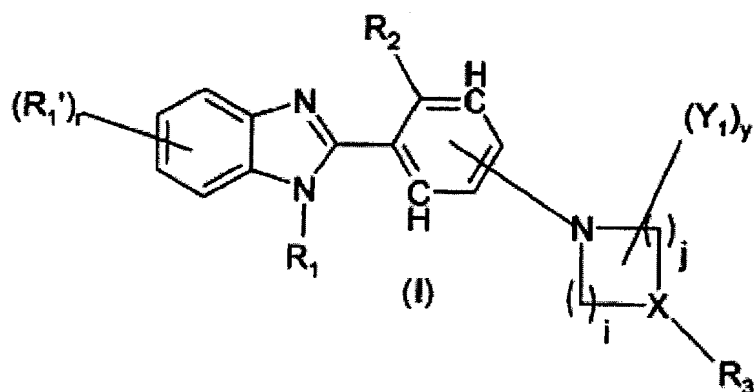
Alekshun 等人(W02004041209 及 W02006073009)揭示一系列具有抗生素活性之 2-苯基-苯并咪唑醇衍生物。

Khaled 等人¹(藥學院公報(開羅大學), 40(1), 7-13, (2002))說明 2-苯基-苯并咪唑類衍生物之合成及降血壓活性,而若干其它 DNA 結合性質係說明於 Kobuta 等人(核酸研究補遺, 2 (第 29 屆核酸化學研討會), 193-194 (2002)及核酸研討會系列, 35 (第 23 屆核酸化學研討會, 1996), 151-152 (1996))。

Guicherit 等人 (W02006050506) , Beachy 等人 (W02003088970)及 Rubin 等人(W02003011219)揭示可用作為刺蝟因子路徑拮抗劑用於多種癌症形式之治療之 2-苯基-苯并咪唑之芳基-及烷基-鹽胺/脲衍生物。

【發明內容】

本發明提供式 I 化合物



其中，當價數及穩定性許可時

R_1 為 H；視需要可經以一個或多個鹵原子取代之線性分支或環狀 (C_1-C_4) 烷基、分支或線性 (C_1-C_4) 烷氧基或一-或二-線性分支或環狀 (C_1-C_6) 烷基胺基；

r 等於 0、1、2 或 3；

當 r 大於 1 時， R_1' 各自分別表示鹵原子；線性、分支或環狀 (C_1-C_4) 烷氧基；視需要可經以線性或分支 (C_1-C_4) 烷氧基、烷基胺基或二烷基胺基取代之線性、分支或環狀 (C_1-C_4) 烷基；

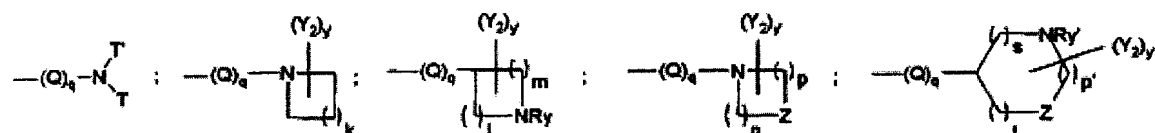
R_2 可為 H、Cl、F 或 Br；

X 可為 N 或 CH；

i 及 j 可為 1、2、或 3， $i+j$ 之和不可超過 5，及當 X 為 N 時 i 及 j 不可為 1；

R_3 可為 H；視需要可經以胺基甲醯基或一個或多個氟原子取代之線性、分支或環狀 (C_1-C_6) 烷基、呋烷基、烷基羰基、烷基磺醯基、呋烷基羰基、烷氧基羰基、烷基胺基羰基、呋烯基、烯基羰基、呋烯基羰基、烯氧基羰基、烯基胺基羰基、

亞烷基、烷氧基亞胺基、羥基、烷氧基、烯氧基；Ar；Ar-
胺基羧基；經以一個或兩個 Ar 取代且視需要可經以一個或
多個氟原子取代之線性或分支(C₁-C₄)烷基、烷基胺基、吡喃
基、呋喃基、烷基羧基、烷氧基羧基或烷基胺基羧基；



Q 為兩個氮原子間或一個氮原子與一個氧原子間未形成直接鍵結且可為羰基；胺基羰基；羰基胺基；亞胺；SO₂；視需要可經以一個或多個氟原子取代之線性或分支(C₁-C₆)烷基，其中一個亞甲基可經以 O、NR_x、羰基或 SO₂ 置換，或其中兩個接續之亞甲基可經以羰基胺基、胺基羰基、磺醯基胺基、胺基磺醯基置換；

Ar 為視需要可經以分別選自於鹵原子、羥基、巰基、胺基、氰基、硝基、胺基甲鹽基、胺基磺鹽基、三鹵甲基、三鹵甲氧基、線性、分支或環狀(C₁-C₄)烷基、羥基烷基、一或二-烷基胺基、烷氧基、烷基羰基、烷氧基羰基、烷基羰基胺基、呋烷基、吡烷基中之一個或多個基團取代之 5 至 10 員芳香環或雜芳香環，且此等取代基中之二者可形成帶有與 Ar 稠合接點之 5 至 8 員環；

R_x 可為 H 或線性、分支或環狀(C₁-C₄)烷基、二鹵烷基或三鹵烷基；

q 可為 0 或 1；

k 可為 1、2、3 或 4；

l、m、n、p、p' 及 s 可分別為 1、2 或 3；

t 可為 0、1 或 2；

l+m、n+p 或 p' +s+t 之和不可超過 5；

T 及 T' 各自分別表示氫；線性、分支或環狀(C₁-C₆)烷基、吡烷基、呋烷基、烯基、吡烯基、呋烯基、其鏈視需要可經以鹵原子、胺基、氰基、羥基、酮基、線性、分支或環狀(C₁-C₃)烷基羰基、烷氧基羰基、烷基羰基胺基、烷基胺基羰基、胺基甲醯基、胍基、烯基羰基、呋烯基羰基、烯氧基羰基、烯基胺基羰基取代；

Z 可為 0、S、SO₂、SO、或 N Ry' ；

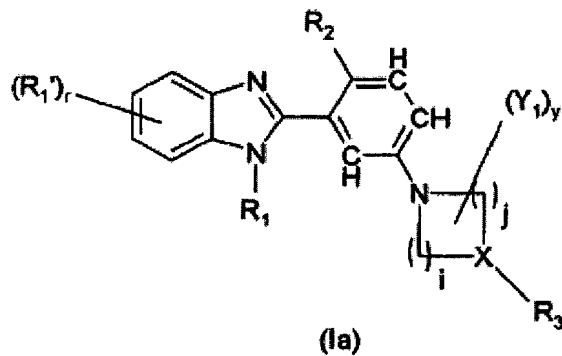
Ry 及 Ry' 分別表示 H；視需要可經以一個或多個氟原子取代之線性、分支或環狀(C₁-C₆)烷基、烷基羰基、烷氧基羰基或烷基胺基羰基；

y 及 y' 分別為 0、1、2 或 3；

Y₁ 及 Y₂ 分別表示鹵原子；羥基；胺基；氰基；硝基；酮基；視需要可經以一個或多個氟原子取代之線性或分支(C₁-C₆)烷基、二鹵烷基、吡烷基、呋烷基、烷基羰基、呋烷基羰基、烷氧基羰基、烷基胺基羰基、烷基羰基胺基、烯基、呋烯基、吡烯基、烯基羰基、呋烯基羰基、烯氧基羰基、烯基胺基羰基、烷基胺基、巰基烷基、烷氧基、烷硫基；其中兩個 Y₂ 基可具有螺接合或稠合接合而形成 5 至 8 員環；

以及排除 2-[4-(4-甲基-哌啶-1-基)-苯基]-1H-苯并咪唑；2-[4-(4-吡啶-2-基-哌啶-1-基)-苯基]-1H-苯并咪唑。

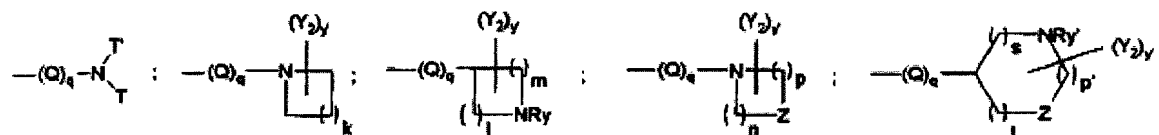
一組較佳化合物為式 Ia 化合物



該等式 Ia 化合物之一個特定具體例為其中

X 為 N；

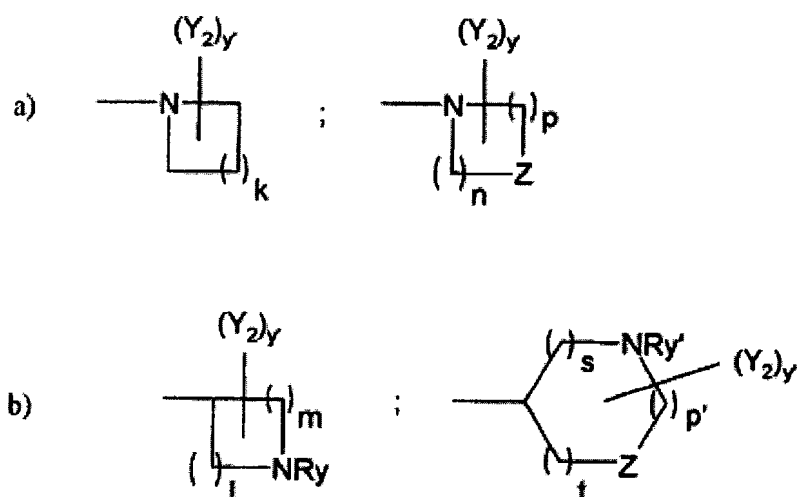
R₃ 為視需要可經以胺基甲醯基或一個或多個氟原子取代之線性分支或環狀(C₁-C₆)烷基、呋烷基、烷基羰基、烷基磺醯基、呋烷基羰基、烷氧基羰基、烷基胺基羰基、呋烯基、烯基羰基、呋烯基羰基、烯氧基羰基或烯基胺基羰基；Ar；Ar-胺基羰基；經以一個或兩個 Ar 取代且視需要可經以一個或多個氟原子取代之線性或分支(C₁-C₄)烷基、烷基胺基、呋烷基、呋烷基、烷基羰基、烷氧基羰基或烷基胺基羰基；



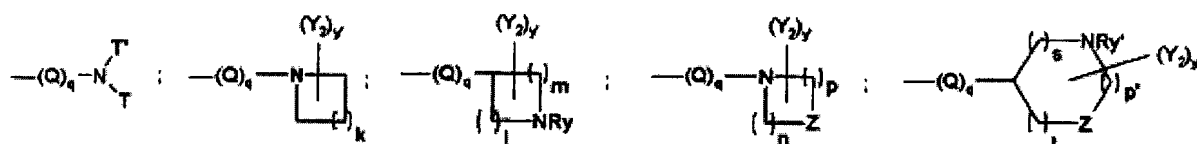
Q 為兩個氮原子間或一個氮原子與一個氧原子間未形成直接鍵結，且可為羰基；胺基羰基；羰基胺基；亞胺；SO₂；視需要可經以一個或多個氟原子取代之線性或分支(C₁-C₆)

烷基，其中一個亞甲基可經以 O、NR_x、羰基或 SO₂ 置換，或其中兩個接續之亞甲基可經以羰基胺基、胺基羰基、磺醯基胺基、胺基磺醯基置換。

於式 Ia 之第二個特定具體例中，X 為 CH。於本發明之一個較佳態樣中，q 為 0 及 R₃ 係選自



另一個較佳具體例係落至式 Ia 下方，後文稱作為 G₁，該組化合物係用於 q 為 1 及 R₃ 為



於 G₁ 中，其中 Q 為羰基；視需要經以一個或多個氟原子取代之線性、分支或環狀(C₁-C₆)烷基、(C₁-C₅)烷基羰基或羰基(C₁-C₅)烷基之該等化合物組成之較佳具體例。

式 I 化合物之代表性組群之藥理活性使用後文說明之兩項試管內檢定分析驗證。根據另一個態樣，因此本發明係關於一種治療癌症或骨質疏鬆症之方法，包含對有需要之個體

較佳為人體投予有效量之式 I 化合物。可使用此種方法治療之癌症類別非限制性地包括非小細胞肺癌；小細胞肺癌；乳癌；卵巢瘤；消化道瘤；腦癌諸如神經管胚細胞瘤及神經膠母細胞瘤；攝護腺癌；胰臟癌；基底細胞癌；惡性黑色素瘤；鱗狀細胞癌；多發性肌瘤；淋巴瘤；間葉癌諸如軟骨肉瘤、腎臟之透明細胞肉瘤及橫紋肌肉瘤；慢性骨髓性白血病；子宮內膜癌；肝細胞癌。

大致上，式 I 化合物可藉該等化合物結合至 Smo 受體而由刺蝟因子路徑之抑制作用獲益之任何疾病、病症或功能異常，且非限制性包括骨質疏鬆症及選自於下列之癌症：非小細胞肺癌；小細胞肺癌；乳癌；卵巢瘤；消化道瘤；腦癌諸如神經管胚細胞瘤及神經膠母細胞瘤；攝護腺癌；胰臟癌；基底細胞癌；惡性黑色素瘤；鱗狀細胞癌；多發性肌瘤；淋巴瘤；間葉癌諸如軟骨肉瘤、腎臟之透明細胞肉瘤及橫紋肌肉瘤；慢性骨髓性白血病；子宮內膜癌；肝細胞癌。

用於治療之化合物劑量例如可依據投藥途徑、疾病之本質及嚴重程度而改變。大致上，於人體可接受之藥理功效可以由 0.01 至 200 毫克/千克之每日劑量獲得。

於又另一個態樣中，本發明係關於一種醫藥組成物含有一種或多種式 I 化合物結合醫藥上可接受之載劑及賦形劑。醫藥組成物可呈固體、半固體或液體製劑劑型，較佳係呈溶液劑、懸浮液劑、散劑、粒劑、錠劑、膠囊劑、糖漿劑、栓劑、

噴霧劑或控制遞送系統等劑型。組成物可藉多種途徑投予，包括經口、穿皮、皮下、靜脈、肌肉、直腸及鼻內投予，且較佳調配為單位劑型。口服單位劑型含有約 1 毫克至約 1000 毫克本發明化合物。

對可呈自由鹼形式之該等化合物，本發明也包括其酸加成鹽，較佳為與醫藥上可接受之酸所形成之鹽。本發明也包括分開的式 I 異構物及非對映異構物或其混合物（例如外消旋混合物）。醫藥組成物之製備原理及方法例如係說明於 Mack Publishing Company, Easton (PA) 出版之 Remington's Pharmaceutical Science。

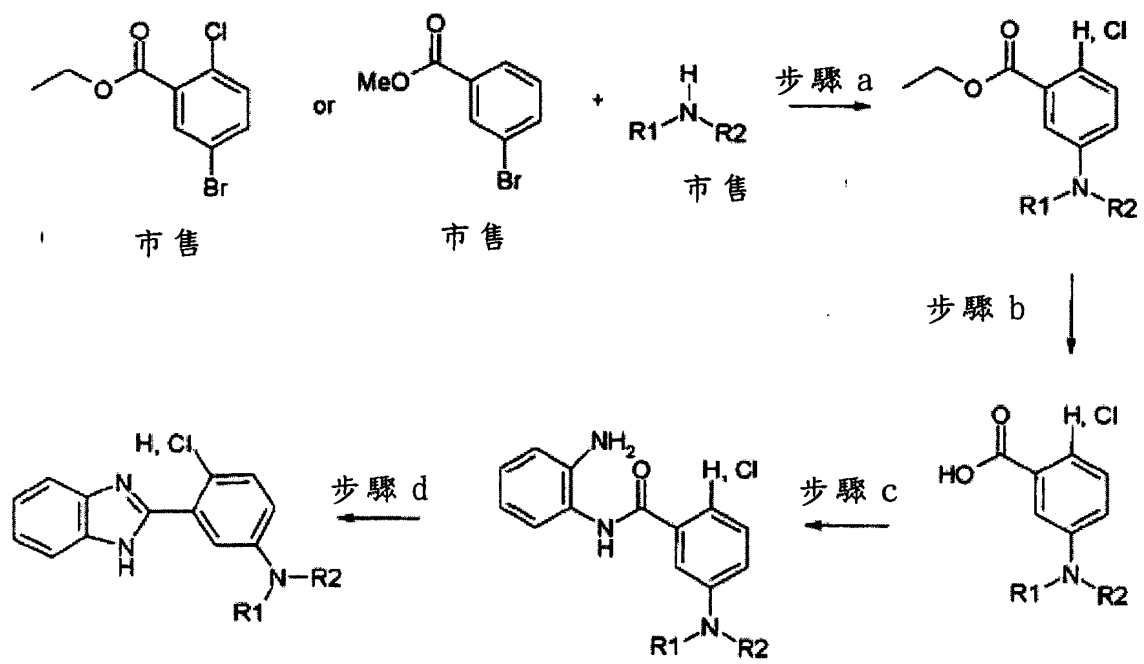
式 I 化合物、其光學異構物或非對映異構物可根據眾所周知之程序純化及分離，該等程序非限制性包括使用對掌性基質之層析術及分段結晶。

【實施方式】

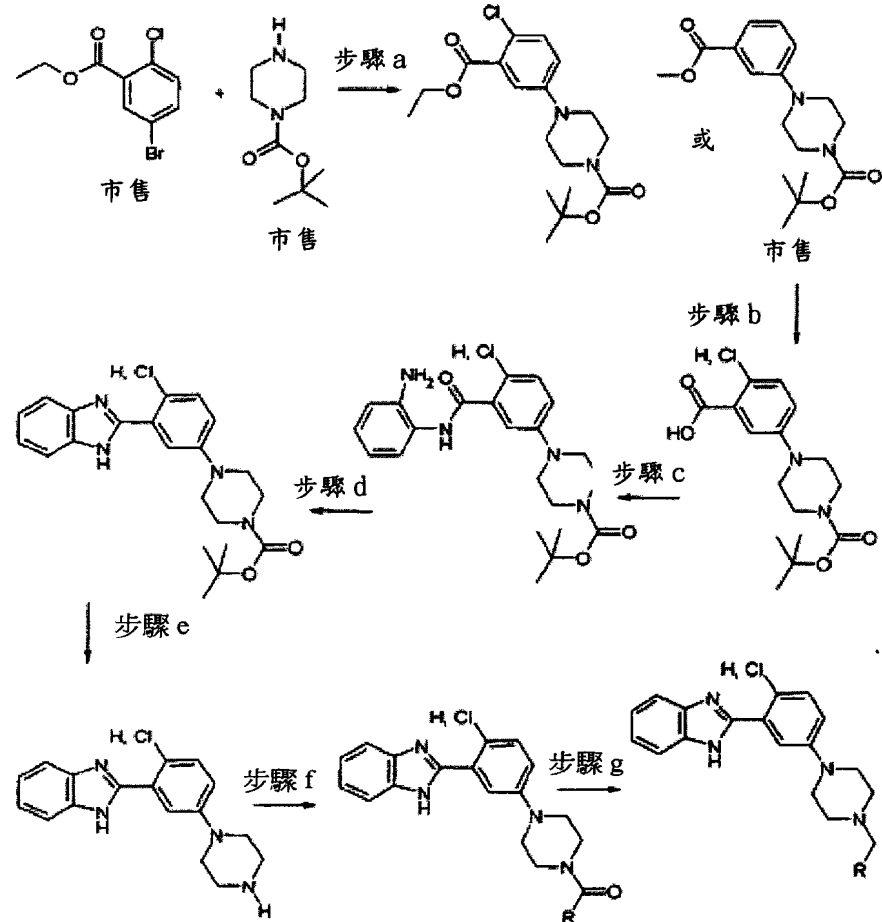
化合物合成及實驗程序

本發明化合物可使用多種合成途徑製備，包括始於市售化合物，藉如下方法 A-Z 所述之合成途徑製備。

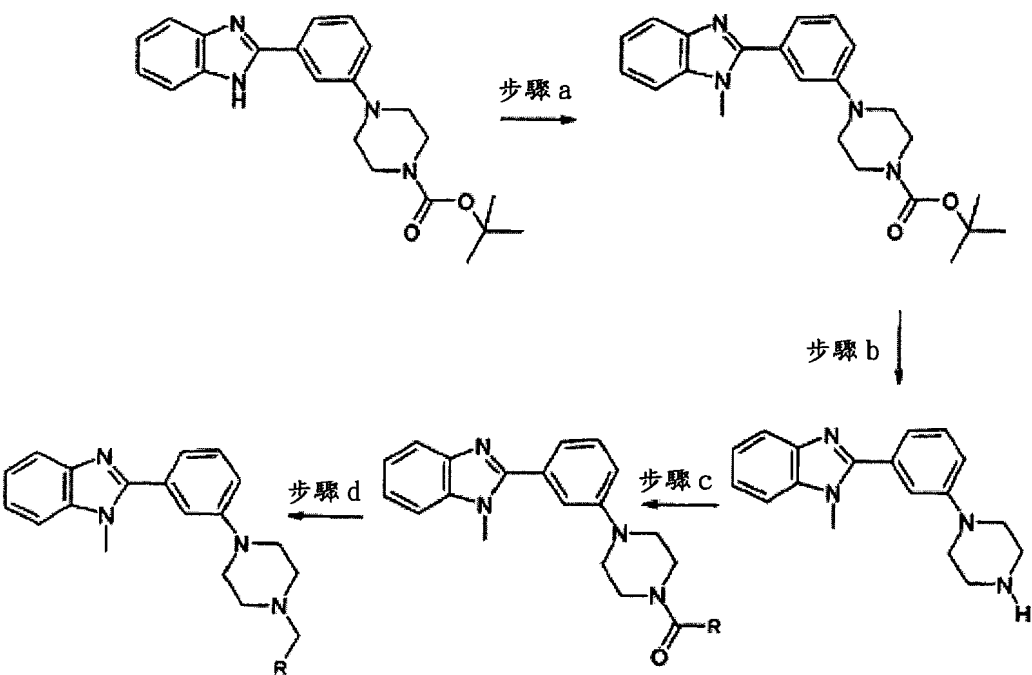
方法 A



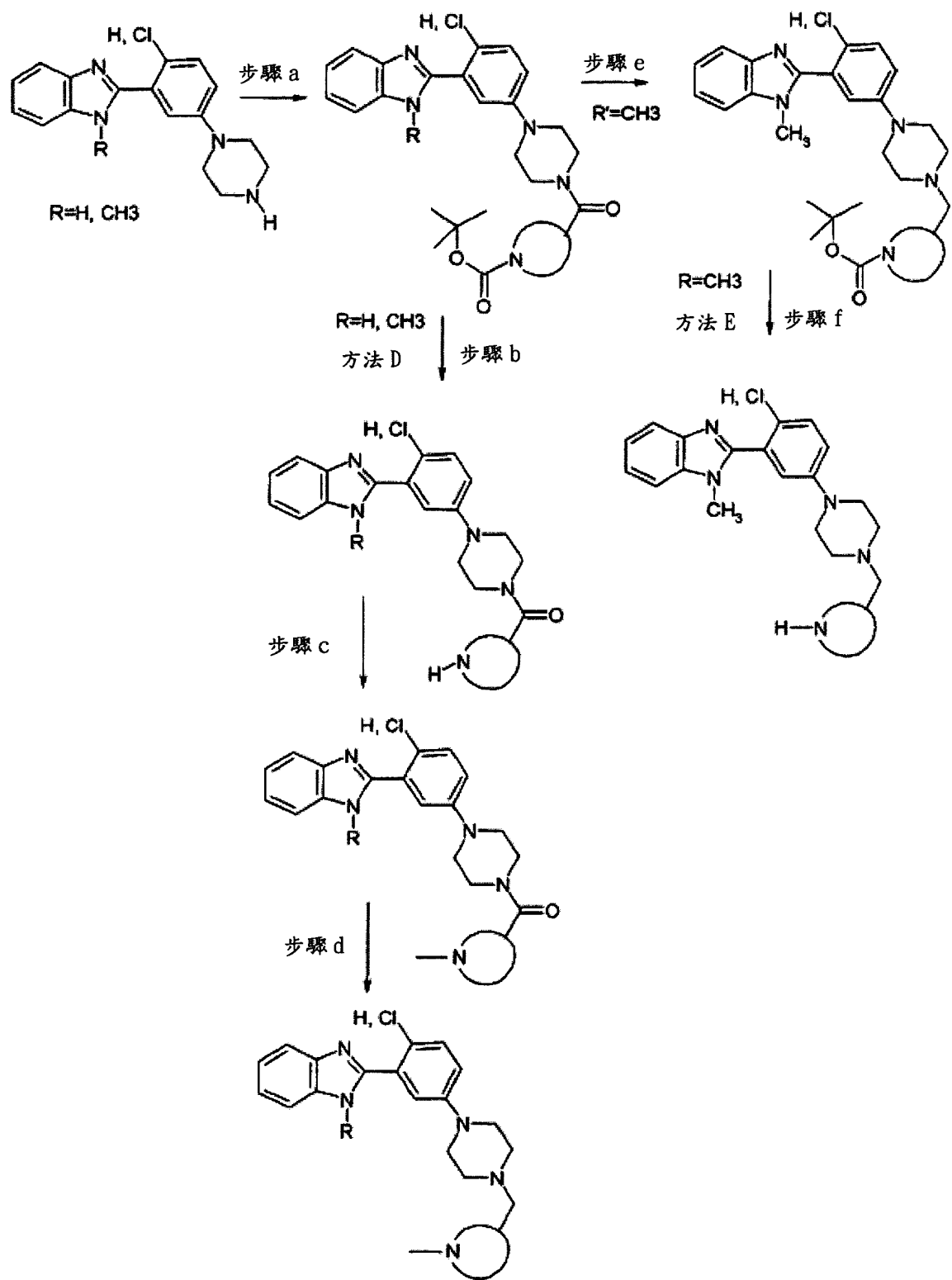
方法 B



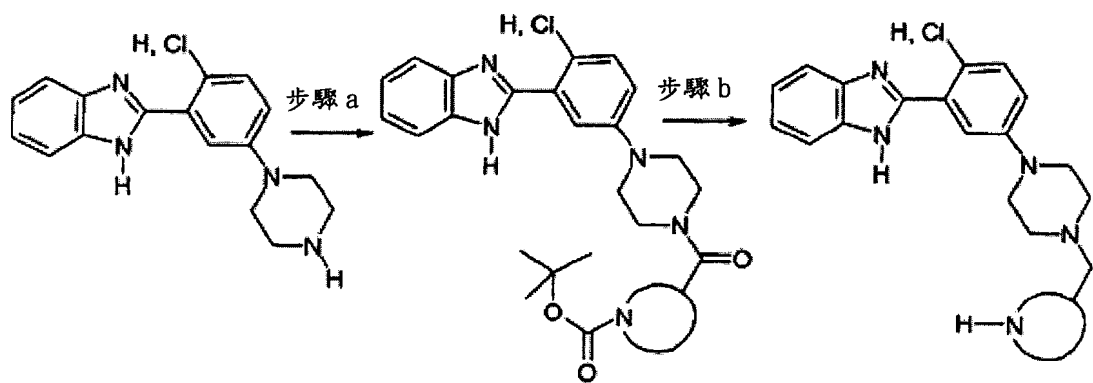
方法 C



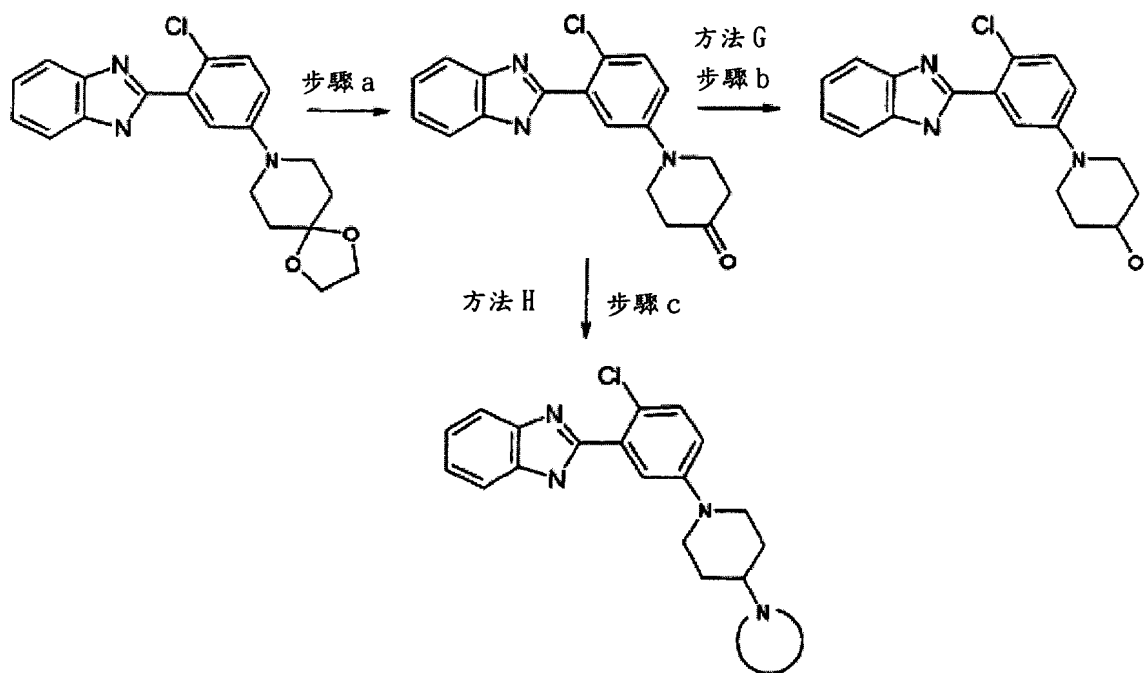
方法 D、E



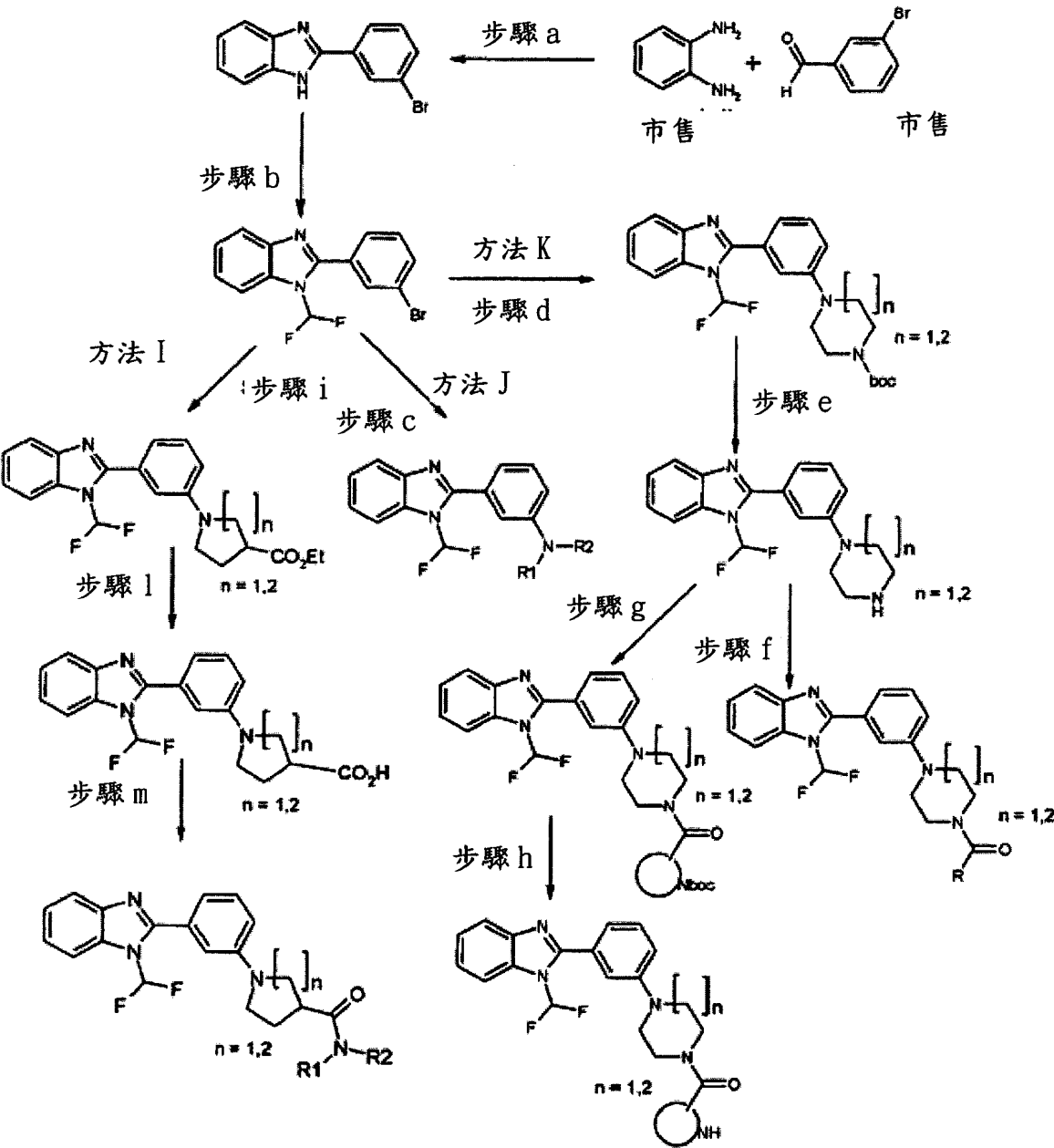
方法 F

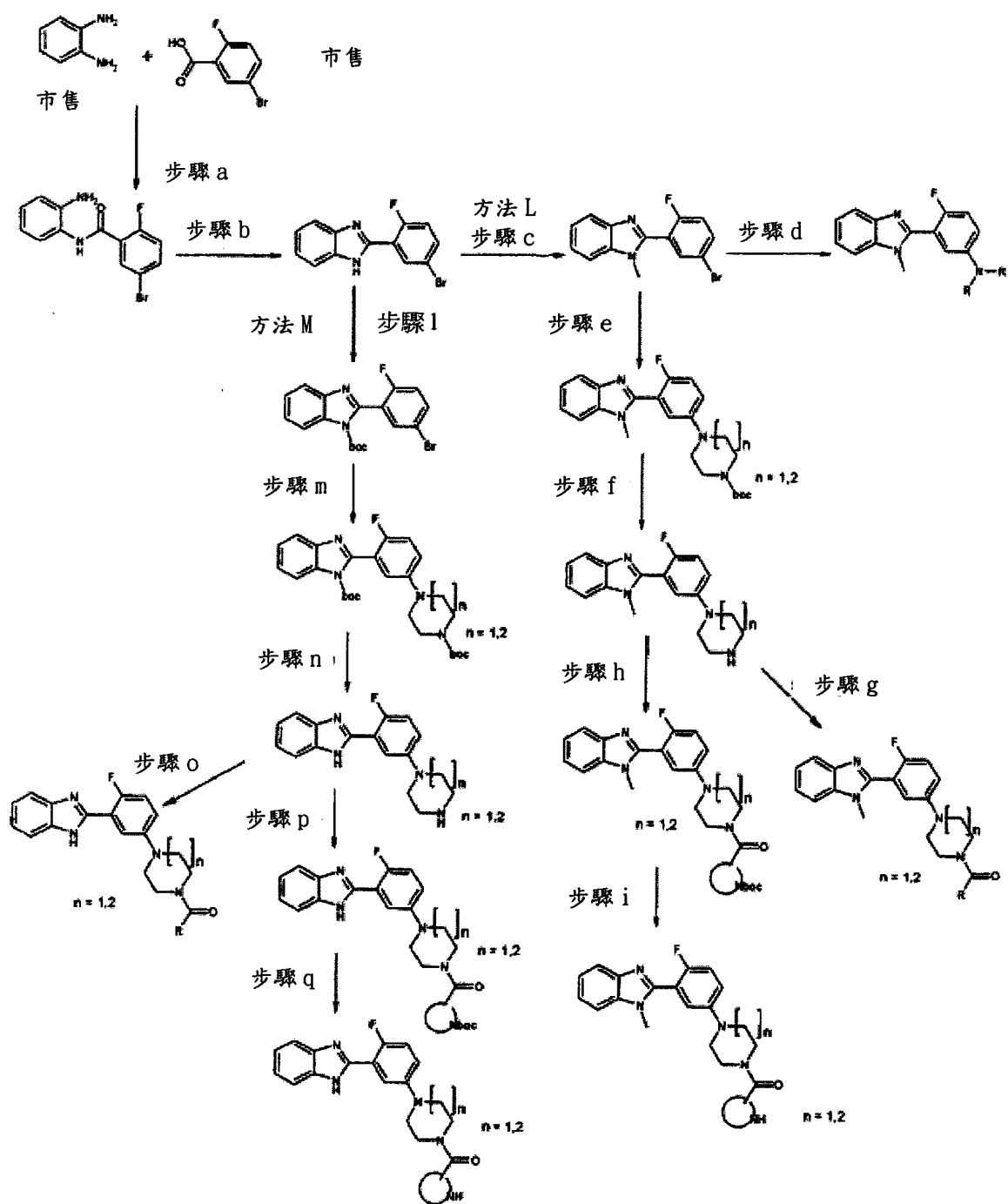


方法 G、H

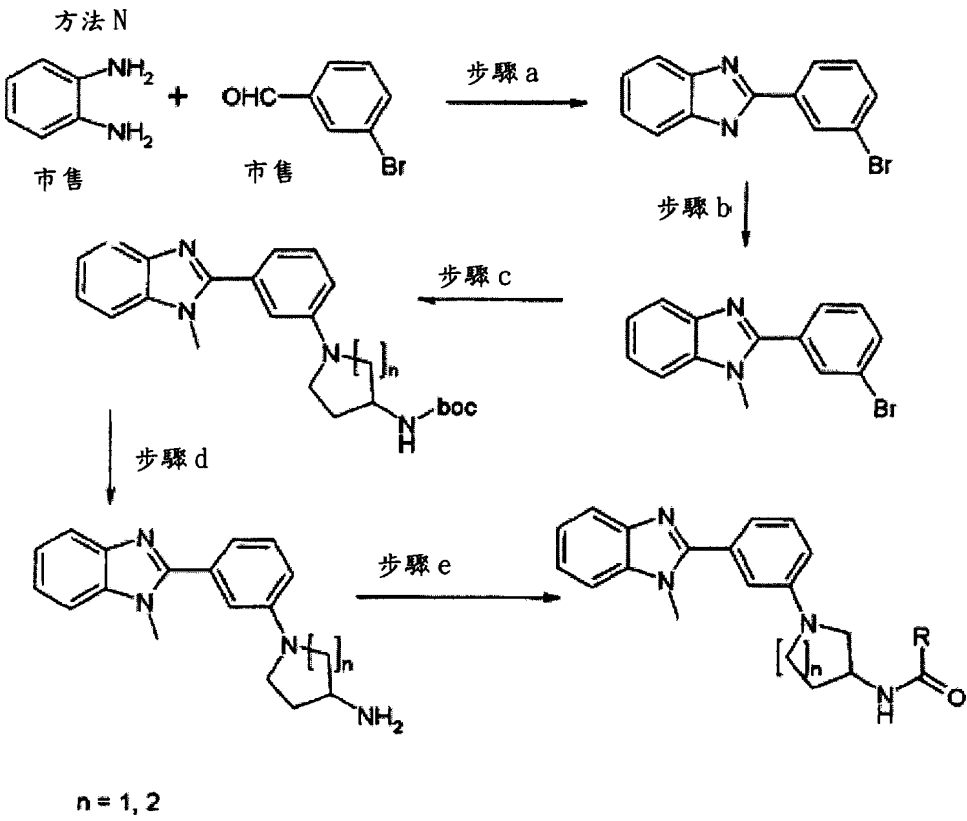
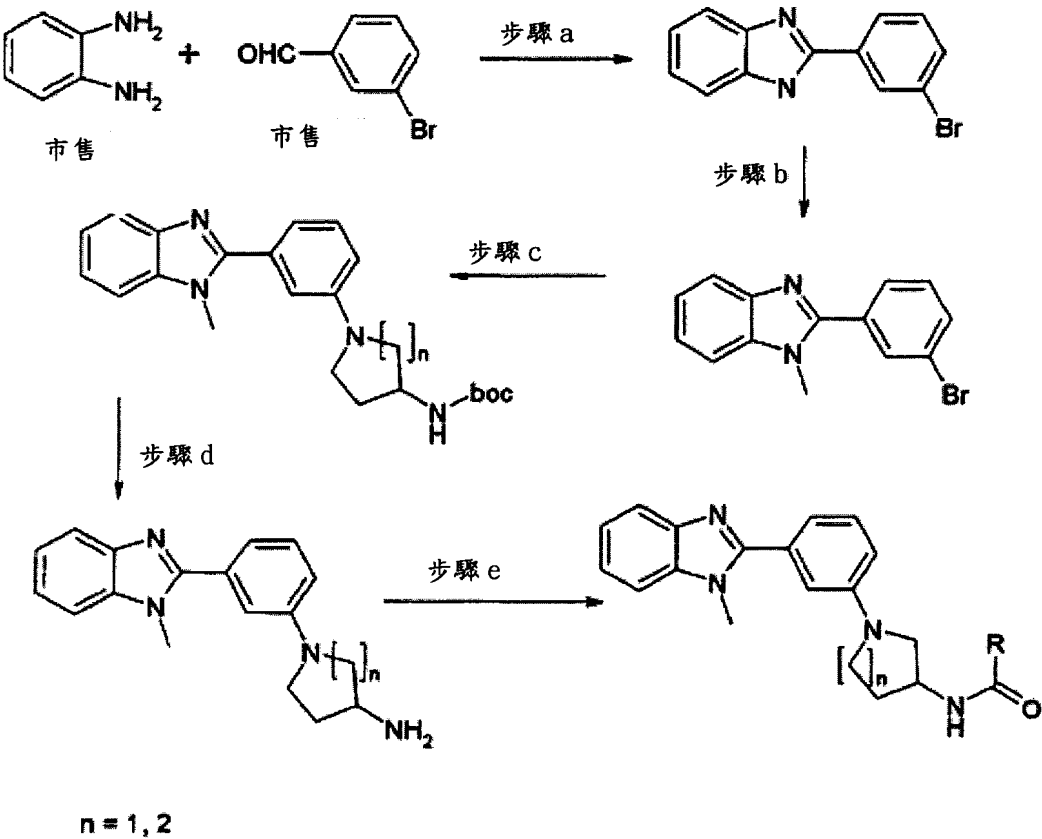


方法 I、J、K

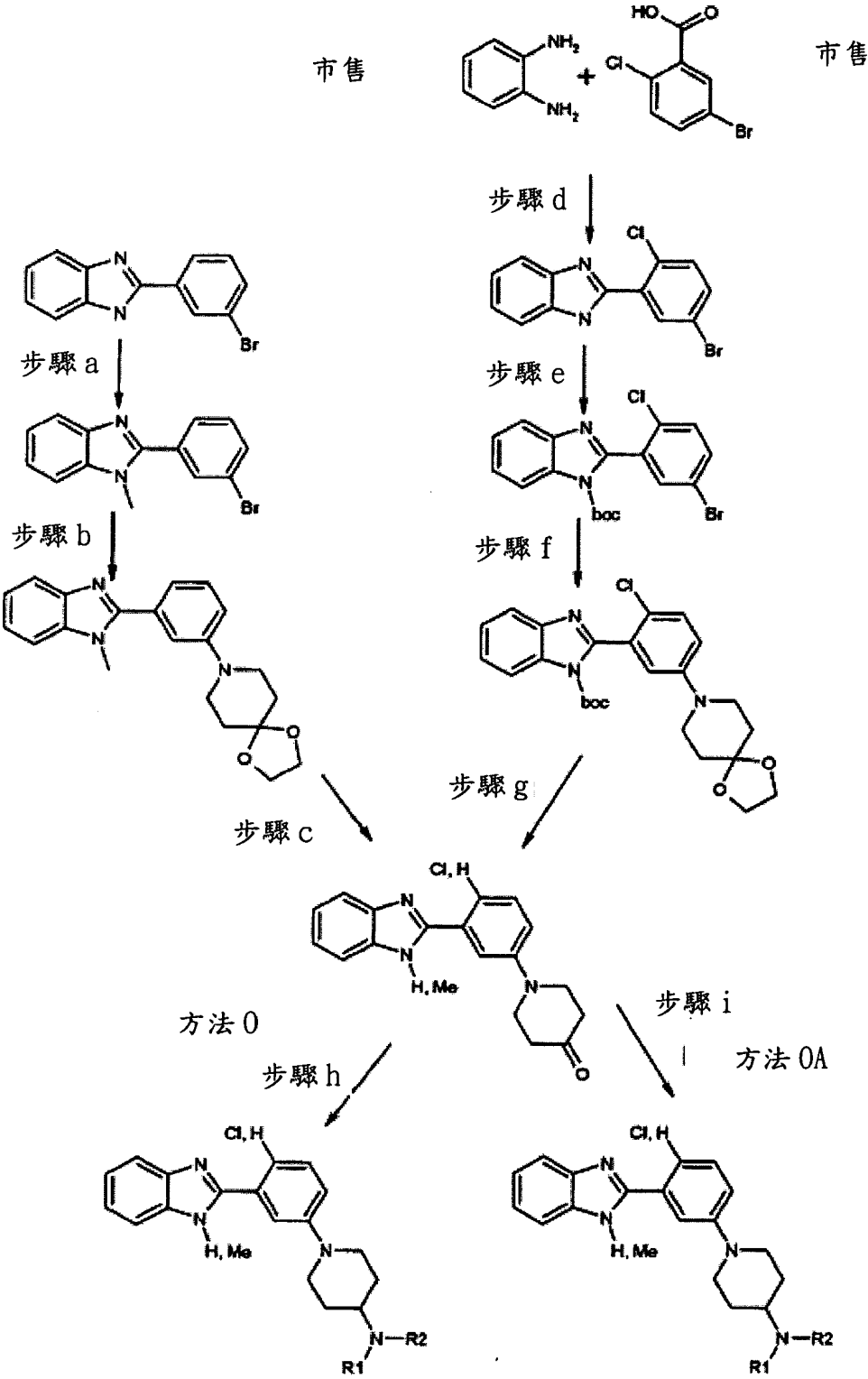




方法 N

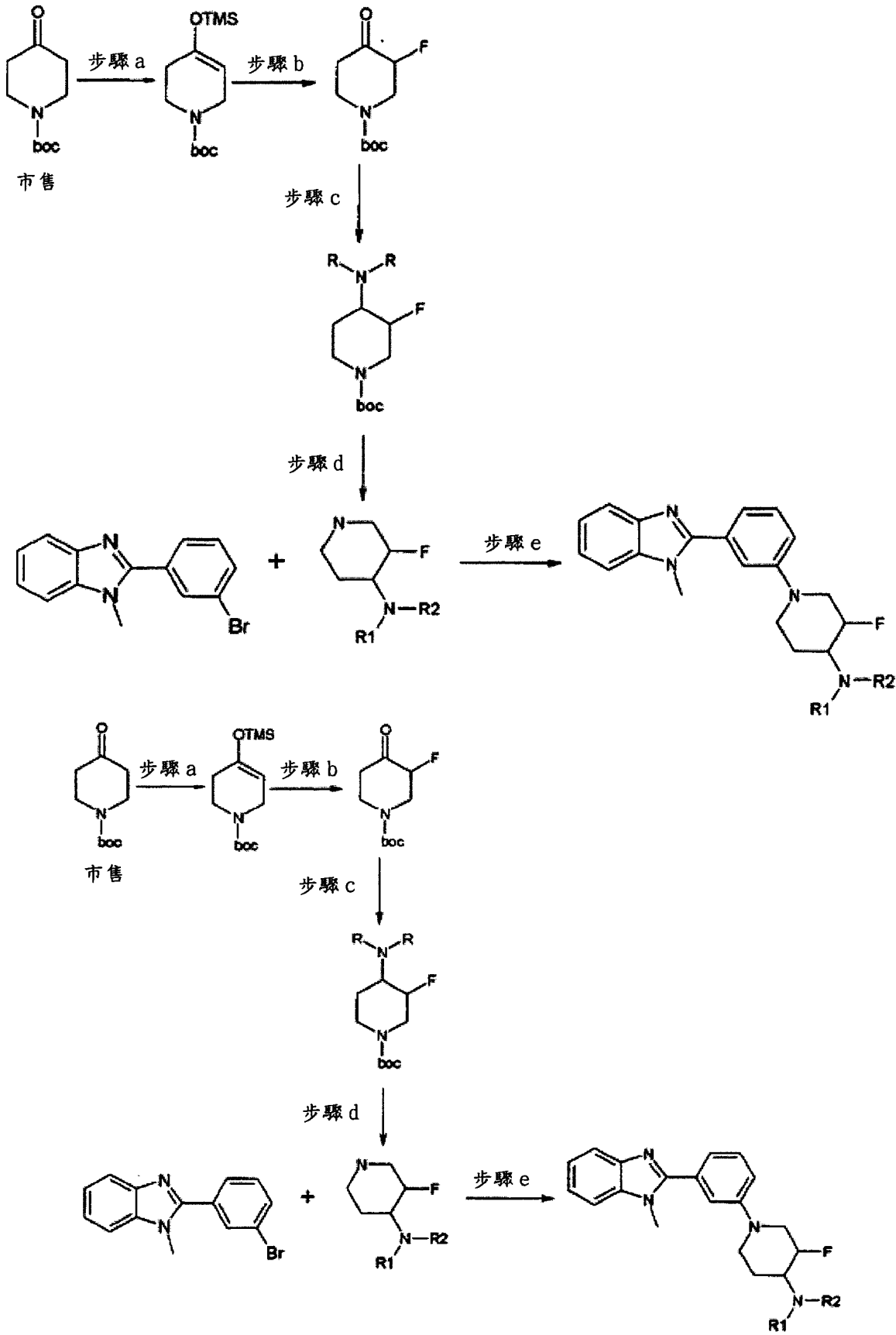


方法 0、0A

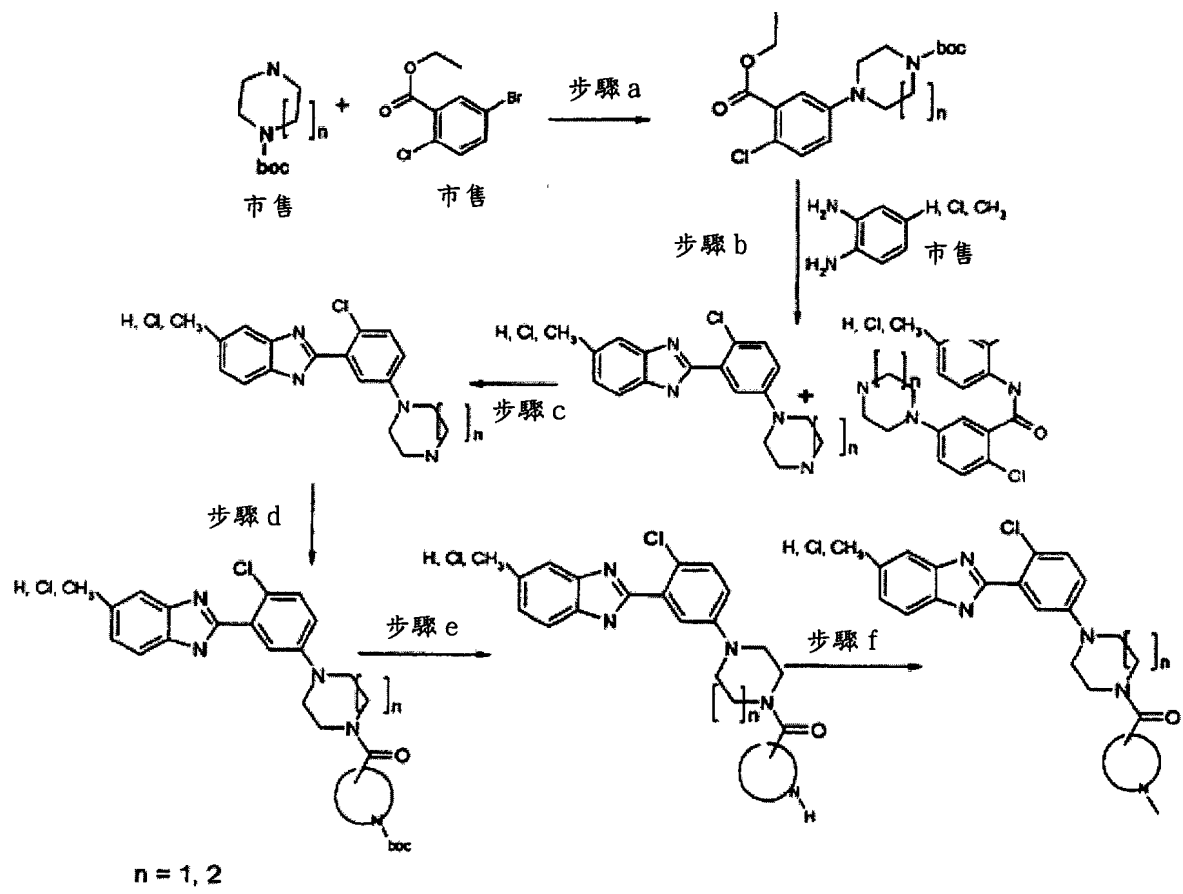


方法 P

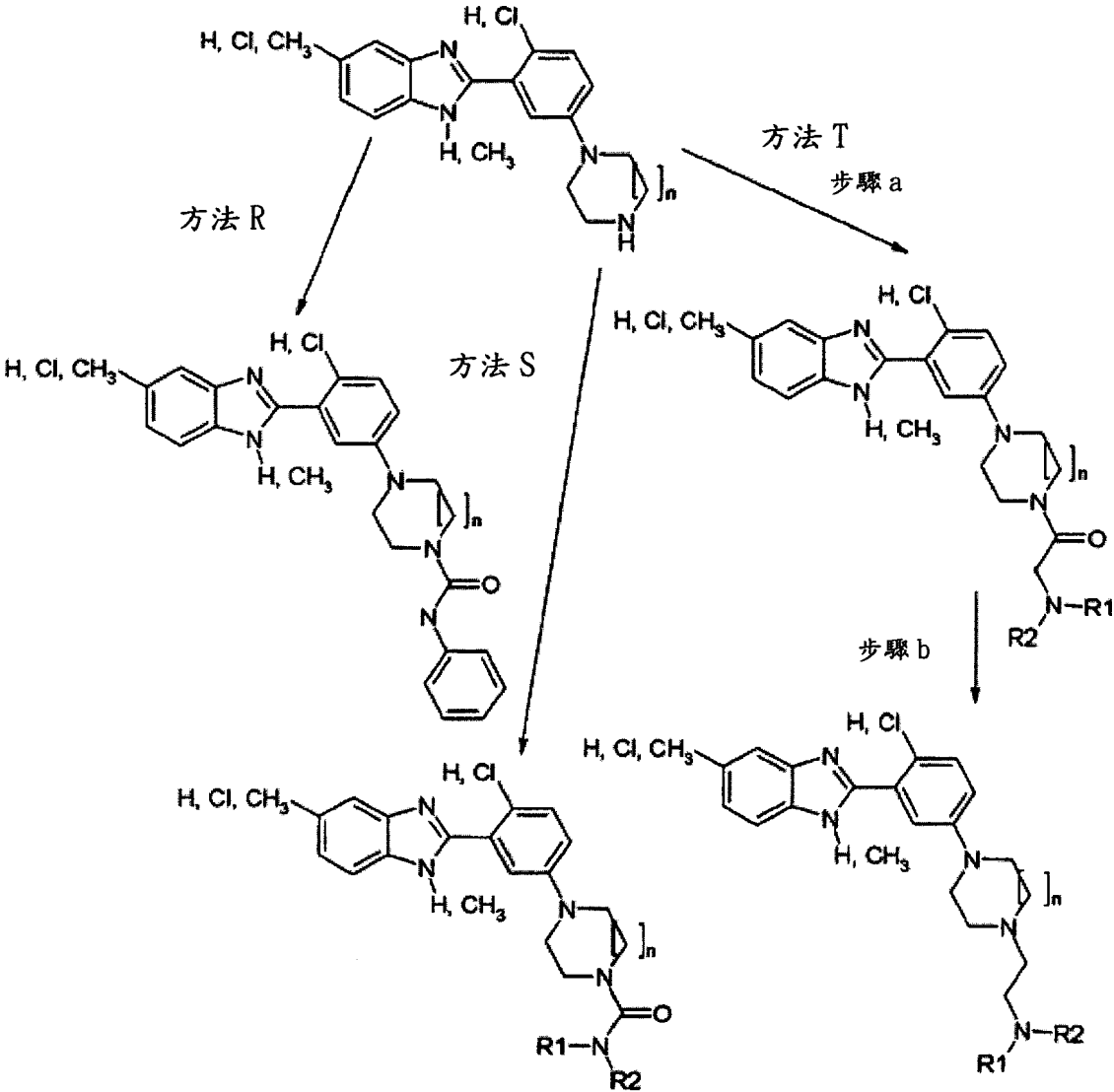
方法 P



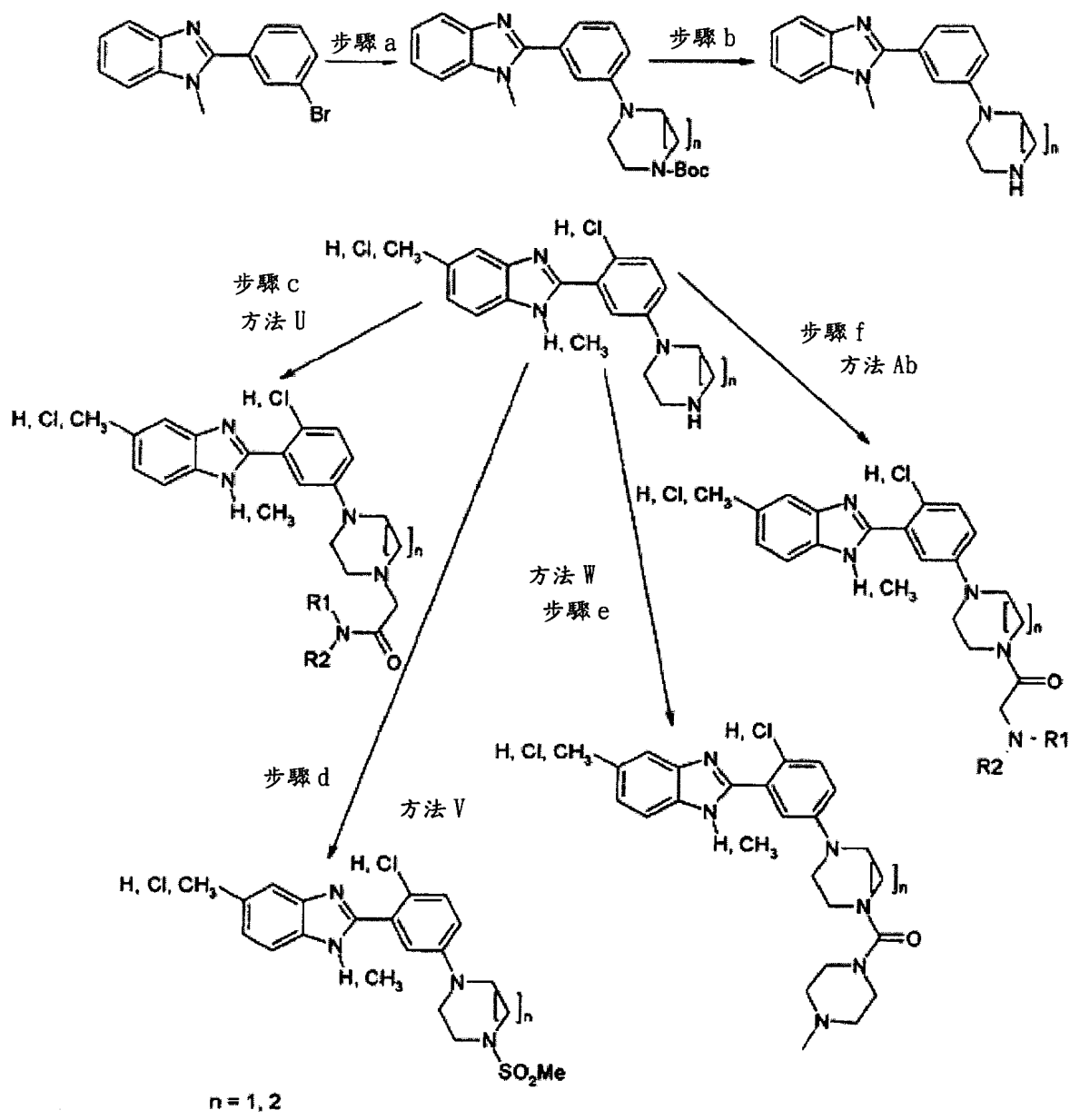
方法 Q



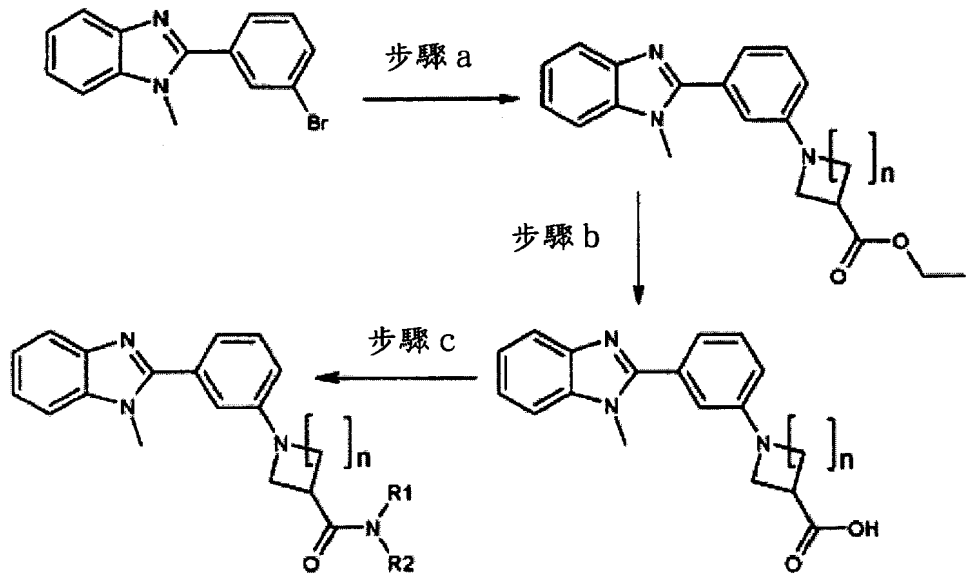
方法 R、S、T



方法 U、V、W、Ab

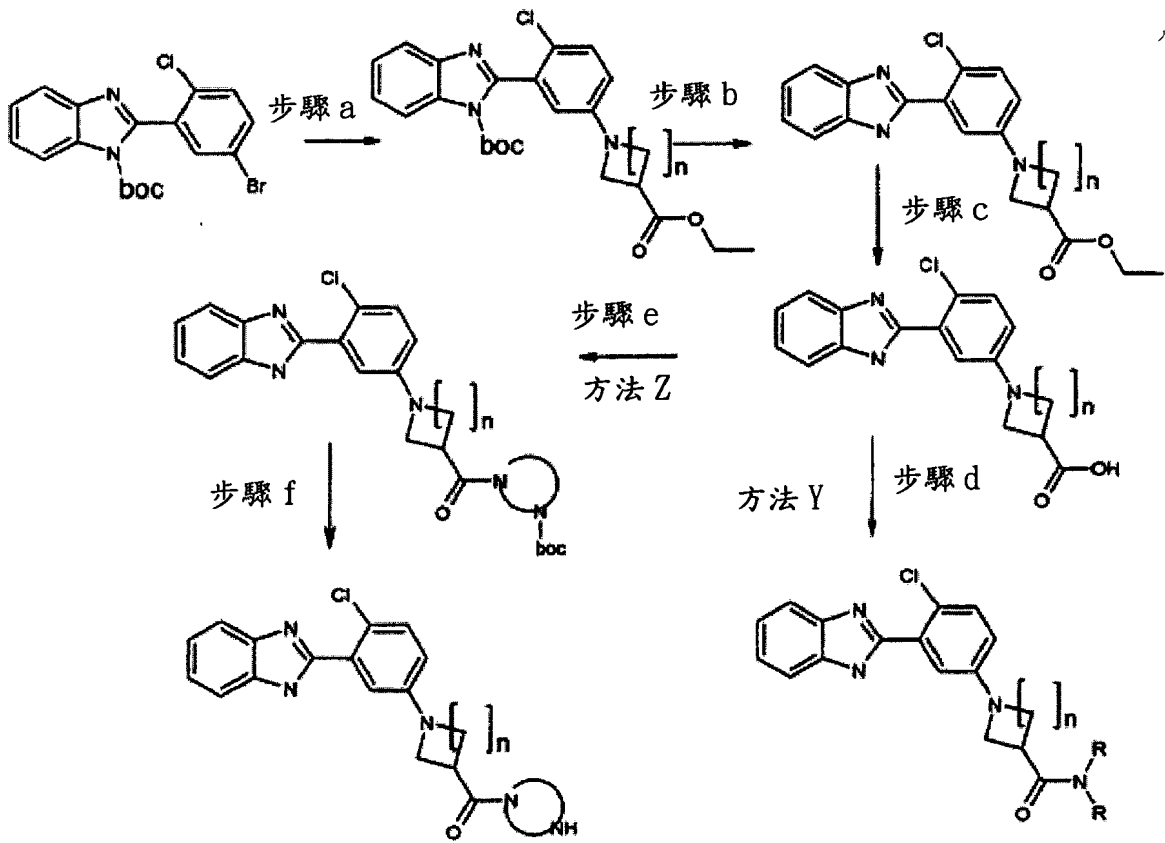


方法 X



n = 1, 2, 3

方法 Y、Z



n = 1, 2, 3

材料及方法

全部反應物及溶劑皆係由市面上獲得。空氣及水分敏感性液體溶液係透過注射器轉移。藉薄層層析術(TLC)及/或液相層析術-質譜術(LC-MS)追蹤反應過程。

全部核磁共振光譜係使用裝配有 PFG ATB 寬頻帶探頭之 Varian Mercury Plus 400 MHz 光譜儀紀錄。

10 分鐘方法係使用 Waters XTERRA MS C₁₈ 3.5 微米 2.1x50 毫米管柱，使用裝配有 Waters Micromass ZQ (ES 離子化) 及 Waters PDA 2996 之 Waters 2795 分離模組操作。

製備性 HPLC 係使用 Supelco Discovery HS C₁₈ 5.0 微米 10x21.2 毫米管柱，使用具有二進制梯度模組 Waters 2525 幫浦且耦接至 Waters Micromass ZQ (ES) 或 Waters 2487 DAD 之 Waters 2767 系統操作。

梯度係使用 0.1% 甲酸/水及 0.1% 甲酸/乙腈以梯度 5/95 至 95/5 於所指示之操作時間操作。

純化係使用二氧化矽凝膠卡匣 isolute flash Si 執行，具有純度高於 95%。

全部 TLC 分析係於二氧化矽凝膠(Merck 60 F254)上執行，斑點係藉於 254 奈米之紫外光觀看及錳酸鉀或水和茚三酮染色而顯示。

微波：個人化學、Emrys 優化器、微波反應器、吸收設定於正常前置攪拌時間 10 秒。

實施例 1：(2-{4-[3-]1H-苯并咪唑-2-基}-4-氯-苯基)-哌啶-1-基}-乙基)-二甲基-胺

2-氯-5-[4-(2 二甲基胺基-乙基)-哌啶-1-基]-苯甲酸乙酯

方法 A-步驟 a- 5-溴-2-氯苯甲酸乙酯(0.80 克, 3.04 毫莫耳), 外消旋-2,2'-貳(二苯基磷基)-1,1'-聯萘(BINAP)(0.19 克, 0.30 毫莫耳), 參(二亞苄基丙酮)二鈀($\text{Pd}_2(\text{dba})_3$)(0.28 克, 0.30 毫莫耳)及碳酸鈉(Cs_2CO_3)(1.39 克, 4.26 毫莫耳)置於許朗克試管內及藉重複氮氣/減壓週期掃除 30 分鐘。然後加入無水甲苯(6 毫升)及 1-(2-二甲基胺基乙基)哌啶(0.55 毫升, 3.65 毫莫耳)。反應混合物於室溫攪拌 10 分鐘, 於 85°C 加熱隔夜及然後冷卻至室溫。溶液以乙酸乙酯(30 毫升)稀釋, 不溶性材料經過濾去除及濾液以飽和食鹽水(15 毫升)洗滌。有機相以硫酸鈉脫水, 過濾及於減壓下濃縮獲得殘餘物, 殘餘物藉急速管柱層析術純化(洗提劑梯度: EtOAc, EtOAc:MeOH/1:1, EtOAc:MeOH:NH₃於 MeOH (2 M)/1:1:0.2)獲得 0.30 克標題化合物(30%)。

¹H-NMR (400 MHz, DMSO): δ 1.28 (3H, t), 2.12 (6H, s), 2.32-2.42 (4H, m), 2.47-2.51 (4H, m), 3.11-3.14 (4H, m), 4.27 (2H, q), 7.06-7.09 (1H, m), 7.18-7.19 (1H, m), 7.30-7.32 (1H, m).

2-氯-5-[4-(2 二甲基胺基-乙基)-哌啶-1-基]-苯甲酸

方法 A-步驟 b- 2-氯-5-[4-(2 二甲基胺基-乙基)-哌啶-1-基]-苯甲酸乙酯(0.46 克, 1.36 毫莫耳)於乙醇(6 毫升)

及 NaOH 10%(2 毫升)之溶液回流加熱隔夜，然後反應混合物冷卻至室溫及於減壓下藉蒸發濃縮有機溶劑。經由逐滴添加 1 N 鹽酸中和所得溶液，然後於減壓下蒸發去除水。所得殘餘物溶解於乙醇(10 毫升)，過濾去除不溶性材料及濾液於室溫於減壓下濃縮，未經額外純化獲得 0.24 克標題化合物(58%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO): δ 2.27 (6H, s), 2.46-2.55 (8H, m),

3.04-3.06 (4H, m), 7.76-7.79 (1H, m), 6.92-6.93 (1H, m), 7.07-7.09 (1H, m).

N-(2-胺基-苯基)-2-氯-5-[4-(2 二甲基胺基-乙基)-哌啶-1-基]-苯醯胺

方法 A-步驟 c-於 2-氯-5-[4-(2 二甲基胺基-乙基)-哌啶-1-基]-苯甲酸(0.40 克，1.29 毫莫耳)於無水 DMF (5 毫升)之溶液內添加 1-(3-二甲基胺基丙基)-3-乙基甲二醯亞胺鹽酸鹽(EDC)(0.25 克，1.29 毫莫耳)，接著添加 1-羥基苯并三唑水合物(1-HOBt)(0.11 克，0.77 毫莫耳)及二甲基吡啶-4-基-胺(DMAP) (0.08 克，0.64 毫莫耳)。於室溫攪拌 3 小時後，加入 1,2-伸苯基二胺(0.21 克，1.93 毫莫耳)，所得混合物於室溫攪拌隔夜。溶液於減壓下蒸發，然後以二氯甲烷(20 毫升)稀釋及以飽和碳酸鈉溶液(2x5 毫升)洗滌。有機層以硫酸鈉脫水，過濾及於減壓下蒸發。所得固體藉急速管柱層析術純化(洗提劑：二氯甲烷：MeOH:NH₃ 於 MeOH (2 M)/9:0.5:0.5)獲得 0.18 克(35%)標題化合物。

¹H-NMR (400 MHz, DMSO): δ 2.13 (6H, m), 2.35-2.41 (4H, m), 2.48-2.53 (4H, m), 3.14-3.18 (4H, m), 4.91 (2H, br s), 6.54-6.59 (1H, m), 6.73-6.75 (1H, m), 6.92-7.00 (2H, m), 7.11-7.12 (1H, m), 7.23-7.25 (1H, m), 7.28-7.33 (1H, m), 9.62 (1H, br s).

(2-{4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-哌啶-1-基}-乙基)-二甲基-胺

方法 A-步驟 d- N-(2-胺基-苯基)-2-氯-5-[4-(2 二甲基胺基-乙基)-哌啶-1-基]-苄醯胺 (0.35 克, 0.87 毫莫耳) 於乙酸(15 毫升)之溶液於 85°C 加熱 7 小時, 然後於減壓下去除溶劑, 殘餘物以乙醚濕磨, 未經進一步純化獲得 0.25 克(75%)標題化合物呈固體。

¹H-NMR (400 MHz, DMSO): δ 2.12 (6H, s), 2.33-2.42 (4H, m), 2.49-2.57 (4H, m), 3.16-3.19 (4H, m), 7.07 (1H, dd), 7.18-7.23 (2H, m), 7.33 (1H, d), 7.38-7.41 (1H, m), 7.52 (1H, d), 7.65-7.67 (1H, m), 12.60 (1H, s). m/z 384 (M+H)⁺, 停留時間 = 0.68.

實施例 2: 4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-羧酸第三丁酯

4-(3-羧基-苯基)-哌啶-1-羧酸第三丁酯

方法 B-步驟 b- 4-(3-乙氧基羰基-苯基)-哌啶-1-羧酸第三丁酯(5.00 克, 14.95 毫莫耳)於乙醇(50 毫升)及 NaOH 10% (20 毫升)之溶液回流 3 小時, 然後反應混合物冷卻至室溫及於減壓下蒸發去除有機溶劑。經由逐滴添加 1 N 鹽酸中和所得溶液及水溶液以乙酸乙酯(3x50 毫升)萃取。組合有機層以硫酸鈉脫水, 過濾及於減壓下濃縮, 未經進一步純化獲

得 3.90 克標題化合物(85%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO): δ 1.40 (9H, s), 3.15-3.18 (4H, m), 3.47-3.49 (4H, m), 7.27-7.29 (1H, m), 7.32-7.37 (1H, m), 7.42-7.44 (1H, m), 7.54 (1H, br s).

4-[3-(2-胺基-苯基胺基甲醯基)-苯基]-哌啶-1-羧酸第三丁酯

方法 B-步驟 c-4-(3-羧基-苯基)-哌啶-1-羧酸第三丁酯 (5.80 克, 18.95 毫莫耳)及 1,1-羰基二咪唑(CDI) (3.07 克, 18.95 毫莫耳)於乙腈(120 毫升)之溶液於室溫攪拌 3 小時,然後加入 1,2-伸苯基二胺(2.25 克, 20.85 毫莫耳)。所得懸浮液回流 3 小時,然後冷卻至室溫及於減壓下去除溶劑。所得殘餘物以二氯甲烷(200 毫升)稀釋,以水(3×40 毫升)洗滌及有機層以硫酸鈉脫水,過濾及於減壓下蒸發。粗產物由乙酸乙酯再結晶獲得 2.99 克(40%)標題化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO): δ 1.40 (9H, m), 3.15-3.17 (4H, m), 3.45-3.47 (4H, m), 4.85 (2H, br s), 6.56-6.60 (1H, m), 6.75-6.77 (1H, m), 6.93-6.97 (1H, m), 7.11-7.14 (2H, m), 7.30-7.34 (1H, m), 7.38-7.40 (1H, m), 7.51 (1H, br s), 9.60 (1H, br s).

4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-羧酸第三丁酯

方法 B-步驟 d- 4-[3-(2-胺基-苯基胺基甲醯基)-苯基]-哌啶-1-羧酸第三丁酯(1.20 克, 3.03 毫莫耳)於乙酸(12 毫升)之溶液於 55°C 加熱隔夜,然後於減壓下去除溶劑。所得固體以乙醚濕磨,未經進一步純化獲得標題化合物呈白色固

體(0.90 克, 79%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO): δ 1.41 (9H, m), 3.19-3.21 (4H, m), 3.48-3.50 (4H, m), 7.05-7.08 (1H, m), 7.17-7.18 (2H, m), 7.35-7.40 (1H, m), 7.51-7.73 (4H, m), 12.80 (1H, br s). m/z 379 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 2.58.

實施例 3：2-(3-哌啶-1-基-苯基)-1H-苯并咪唑二鹽酸鹽

2-(3-哌啶-1-基-苯基)-1H-苯并咪唑二鹽酸鹽

方法 B-步驟 e- 於 4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-羧酸第三丁酯(1.80 克, 4.76 毫莫耳)於甲醇(2 毫升)之溶液內, 加入 2 M 鹽酸於乙醚(8 毫升)及所得混合物於室溫攪拌 6 小時。

然後於減壓下去除溶劑, 所得鹽以乙醚濕磨獲得 1.66 克 (100%)標題化合物呈二鹽酸鹽。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 3.34-3.37 (4H, m), 3.54-3.57 (4H, m), 7.34-7.37 (1H, m), 7.52-7.58 (4H, m), 7.74-7.77 (3H, m). m/z 279 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 0.26.

實施例 4：{4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-

基}-(1-甲基-哌啶-4-基)-甲酮

{4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-基}-(1-甲基-哌啶-4-基)-甲酮

方法 B-步驟 f- 於 1-甲基哌啶-4-羧酸鹽酸鹽(0.13 克, 0.72 毫莫耳)及 N,N-二異丙基乙基胺(DIPEA)(0.16 毫升, 0.72 毫莫耳)於乙腈(8 毫升)之溶液內添加 CDI (0.12 克, 0.72 毫莫耳)及所得懸浮液於室溫攪拌 5 小時。然後加入

2-(3-哌啶-1-基-苯基)-1H-苯并咪唑二鹽酸鹽(0.20 克, 0.57 毫莫耳)及所得溶液於 65°C 加熱隔夜。然後溶液冷卻至室溫及移除溶劑。粗產物再溶解於二氯甲烷(15 毫升)及以攪拌添加飽和碳酸氫鈉溶液(6 毫升)。然後所得沈澱經過濾, 以水(3 毫升)及乙醚(5 毫升)洗滌及於減壓下乾燥獲得 0.20 克(87%)標題化合物。

¹H-NMR (400MHz, CD₃OD): δ 1.80-1.84 (4H, m), 2.19-2.26 (2H, m), 2.35 (3H, s), 2.79-2.83 (1H, m), 2.99-3.02 (2H, m), 3.28-3.33 (4H, m), 3.78-3.79 (4H, m), 7.10-7.15 (1H, m), 7.24-7.27 (2H, m), 7.40-7.44 (1H, m), 7.55-7.59 (3H, m), 7.73-7.74 (1H, m). *m/z* 404 (M+H)⁺; 停留時間 = 1.10.

實施例 5: 2-{3-[4-(1-甲基-哌啶-4-基甲基)-哌啶-1-基]-苯基}-1H-苯并咪唑甲酸鹽

2-{3-[4-(1-甲基-哌啶-4-基甲基)-哌啶-1-基]-苯基}-1H-苯并咪唑

方法 B-步驟 g- 於 {4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-基}-(1-甲基-哌啶-4-基)-甲酮(0.12 克, 0.35 毫莫耳)於無水 THF (4 毫升)之溶液內, 加入硼烷-甲基硫化物錯合物於 THF((CH₃)₂S·BH₃) (0.07 毫升, 0.74 毫莫耳)及所得懸浮液於 60°C 加熱隔夜。然後反應冷卻至室溫, 於減壓下去除溶劑, 及於 100°C 加熱 5 小時前添加 1 N 鹽酸(3 毫升)至殘餘物。然後反應冷卻至室溫, 以 10% NaOH 中和及以二氯甲烷(3×10 毫升)萃取。組合有機層以硫酸鈉脫水, 過濾及於減壓下濃縮獲得殘餘物, 殘餘物藉製備性 HPLC 純化, 獲

得 0.08 克(69%)標題化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CD_3OD): δ 1.55-1.61 (2H, m), 2.01-2.06 (3H, m), 2.63-2.81 (5H, m), 2.94-3.00 (2H, m), 3.09-3.11 (4H, m), 3.43-3.48 (6H, m), 7.08-7.11 (1H, m), 7.26-7.28 (2H, m), 7.38-7.42 (1H, m), 7.57-7.63 (3H, m), 7.70-7.71 (1H, m), 8.36 (3H, s). m/z 390 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 0.21.

實施例 6：4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-羧酸第三丁酯

4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-羧酸第三丁酯

方法 C-步驟 a. - 4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-羧酸第三丁酯(0.83 克, 2.20 毫莫耳)(如方法 B 獲得)與 NaH 60%油(0.11 克, 4.39 毫莫耳)於 THF (10 毫升)之混合物於室溫攪拌 1 小時。加入甲基碘(0.27 毫升, 4.39 毫莫耳)及所得溶液攪拌隔夜。加水(15 毫升)至反應溶液, 然後懸浮液以 1 N 鹽酸中和及以乙酸乙酯(3×40 毫升)萃取。組合有機層經脫水(硫酸鈉)、過濾及於減壓下濃縮。殘餘物以乙醚濕磨及所得固體經過濾, 獲得 0.76 克(88%)標題化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO): δ 1.40 (9H, m), 3.18-3.20 (4H, m), 3.45-3.48 (4H, m), 3.85 (3H, br s), 7.14-7.15 (1H, m), 7.22-7.29 (3H, m), 7.33 (1H, br s), 7.39-7.42 (1H, m), 7.60-7.62 (1H, m), 7.65-7.67 (1H, m). m/z 393 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 2.56.

實施例 7：1-甲基-2-(3-哌啶-1-基-苯基)-1H-苯并咪唑二鹽酸鹽

1-甲基-2-(3-哌啶-1-基-苯基)-1H-苯并咪唑二鹽酸鹽

方法 C-步驟 b- 於 4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-羧酸第三丁酯(1.30 克, 3.32 毫莫耳)於甲醇(4 毫升)之溶液內, 加入 2 M 鹽酸於乙醚(9 毫升)及所得混合物於室溫攪拌 6 小時。

然後於減壓下去除溶劑, 所得鹽以乙醚濕磨獲得 1.21 克 (100%)標題化合物呈二鹽酸鹽。

¹H-NMR (400MHz, CD₃OD): δ 3.42-3.44 (m, 4H), 3.60-3.63 (m, 4H), 4.13 (s, 3H), 7.41-7.48 (m, 2H), 7.53-7.55 (m, 1H), 7.65-7.73 (m, 3H), 7.85-7.88 (m, 1H), 7.97-7.99 (m, 1H). *m/z* 293 (M+H)⁺; 停留時間 = 0.30.

實施例 8: 環丙基-{4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-基}-甲酮環丙基-{4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-基}-甲酮

方法 C-步驟 c-於環丙烷羧酸(0.06 克, 0.68 毫莫耳)於乙腈(8 毫升)之溶液內加入 CDI (0.11 克, 0.68 毫莫耳)及所得懸浮液於室溫攪拌 5 小時。加入 1-甲基-2-(3-哌啶-1-基-苯基)-1H-苯并咪唑二鹽酸鹽(0.20 克, 0.55 毫莫耳)及所得溶液於 65°C 加熱隔夜。然後反應冷卻至室溫, 於減壓下去除溶劑。粗產物再溶解於二氯甲烷(15 毫升)及以飽和碳酸氫鈉溶液(2×3 毫升)洗滌。有機層以硫酸鈉脫水, 過濾及於減壓下濃縮。殘餘物藉急速層析術純化(洗提劑: 環己烷:

乙酸乙酯，梯度由 100%環己烷至 100%乙酸乙酯)獲得 0.17 克(85%)標題化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 0.82-0.84 (2H, m), 0.89-0.91 (2H, m), 1.99-2.00 (1H, m), 3.24-3.28 (2H, m), 3.29-3.35 (2H, m), 3.67-3.78 (2H, m), 3.85 (3H, br s), 3.89-3.95 (2H, m), 7.16-7.22 (1H, m), 7.28-7.35 (3H, m), 7.44 (1H, t), 7.51-7.53 (1H, m), 7.66-7.68 (1H, m). m/z 361 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 1.75.

實施例 9：2-{3-[4-環丙基甲基-哌啶-1-基]-苯基}-1-甲基-1H-苯并咪唑甲酸鹽

2-{3-[4-環丙基甲基-哌啶-1-基]-苯基}-1-甲基-1H-苯并咪唑

方法 C-步驟 d-於環丙基-{4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-基}-甲酮(0.17 克，0.47 毫莫耳)於無水 THF (3.50 毫升)之溶液內加入 $(\text{CH}_3)_2\text{S} \cdot \text{BH}_3$ 於 THF (0.11 毫升，1.18 毫莫耳)及所得懸浮液於 65°C 加熱隔夜。然後反應溶液冷卻至室溫，於減壓下去除溶劑，添加 1 N 鹽酸(3 毫升)至殘餘物隨後於 100°C 加熱 6 小時。反應冷卻至室溫，然後藉逐滴添加 15% NaOH 調整為鹼性及以乙酸乙酯(3×10 毫升萃取。組合有機層以硫酸鈉脫水，過濾及於減壓下濃縮獲得殘餘物，殘餘物藉製備性 HPLC 純化，獲得 0.05 克(32%)標題化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CD_3OD): δ 0.42-0.46 (2H, m), 0.74-0.78 (2H, m),

1.14-1.17 (1H, m), 3.06-3.08 (2H, m), 3.47 (4H, br s), 3.57 (4H, br s), 3.86 (3H, s), 7.21-7.38 (5H, m), 7.47-7.55 (2H, m), 7.68-7.70 (1H, m), 8.33 (2H, s). m/z 347 (M+H)⁺; 停留時間 = 0.65.

實施例 10：3-{4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-
哌啶-1-羰基}-咪啉-4-羧酸第三丁酯
 3-{4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-羰
基}-咪啉-4-羧酸第三丁酯

方法 D、E-步驟 a- 於咪啉-3, 4-二羧酸-4-第三丁酯(0.16 克, 0.71 毫莫耳)於乙腈(8 毫升)之溶液內加入 CDI (0.16 克, 0.71 毫莫耳)及所得懸浮液於室溫攪拌隔夜。加入 1-甲基-2-(3-哌啶-1-基-苯基)-1H-苯并咪唑二鹽酸鹽(0.20 克, 0.55 毫莫耳)(如方法 C 所述獲得)及 DIPEA (0.19 毫升, 1.10 毫莫耳)及所得溶液於 65°C 加熱隔夜。然後溶液冷卻至室溫, 去除溶劑, 粗產物以二氯甲烷(15 毫升)溶解及以飽和碳酸氫鈉溶液(2×3 毫升)洗滌。有機層以硫酸鈉脫水, 過濾及於減壓下濃縮。殘餘物藉急速層析術純化(洗提劑: 梯度由環己烷至環己烷: 乙酸乙酯 2:1)獲得 0.11 克(40%)標題化合物。

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 1.44 (9H, br s), 3.30-3.89 (16H, br m), 4.02-4.18 (2H, m), 7.20-7.26 (2H, m), 7.30-7.37 (3H, m), 7.47 (1H, t), 7.55-7.57 (1H, m), 7.67-7.68 (1H, m). m/z 506 (M+H)⁺; 停留時間 = 2.24.

實施例 11：{4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-
哌啶-1-基}-咪啉-3-基-甲酮鹽酸鹽

{4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-基}-咪
啉-3-基-甲酮

方法 D-步驟 b- 3-{4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-
苯基]-哌啶-1-羰基}-咪啉-4-羧酸第三丁酯(0.15 克, 0.30
毫莫耳)於 2 M 鹽酸於乙醚(3 毫升)之溶液於室溫攪拌隔夜。

沈澱經過濾, 以乙醚洗滌及固體溶解於水(15 毫升)及以
二氯甲烷(2×3 毫升)洗滌。然後有機層以硫酸鈉脫水, 過濾
及於減壓下濃縮, 獲得 0.09 克(79%)標題化合物。

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 2.81 (2H, d), 3.12-3.25 (7H, m),
3.54-3.65 (4H, m), 3.72 (3H, br s), 3.77-3.89 (2H, m), 7.04-7.10 (2H, m),
7.16-7.24 (3H, m), 7.32 (1H, t), 7.38-7.40 (1H, d), 7.56-7.58 (1H, d). *m/z* 406
(M+H)⁺; 停留時間 = 0.52.

實施例 12: {4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌
啶-1-基}-(4-甲基-咪啉-3-基)-甲酮

{4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-
基}-(4-甲基-咪啉-3-基)-甲酮

方法 D-步驟 c- 於{4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-
苯基]-哌啶-1-基}-咪啉-3-基-甲酮(0.08 克, 0.20 毫莫耳)
及三乙醯氧基硼氫化鈉(NaB(OAc)₃H) (0.17 克, 0.79 毫莫
耳)於二氯甲烷(2 毫升)之懸浮液內, 加入甲醛 37% (0.64
毫升, 7.90 毫莫耳)。反應混合物於室溫攪拌隔夜, 以飽和
碳酸鈉溶液(3 毫升)淬熄然後以二氯甲烷(4×2 毫升)萃取。
組合有機層以硫酸鈉脫水, 過濾及於減壓下濃縮, 獲得黃色

油(0.08 克, 97%)。

$^1\text{H-NMR}$ (MHz, CD_3OD): δ 2.24 (3H, s), 2.33-2.39 (1H, m), 2.78-2.82 (1H, m), 3.25-3.28 (2H, m), 3.30-3.32 (2H, m), 3.34-3.37 (1H, m), 3.47-3.52 (1H, m), 3.62-3.68 (1H, m), 3.76-3.85 (4H, m), 3.87 (3H, s), 3.94-3.96 (2H, m), 7.18-7.24 (2H, m), 7.28-7.36 (3H, m), 7.44-7.48 (1H, m), 7.53-7.55 (1H, m), 7.66-7.69 (1H, m). m/z 420 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 1.12.

實施例 13: 1-甲基-2-{3-[4-(4-甲基-咪啉-3-基甲基)-哌啶-1-基]-苯基}-1H-苯并咪唑甲酸鹽

1-甲基-2-{3-[4-(4-甲基-咪啉-3-基甲基)-哌啶-1-基]-苯基}-1H-苯并咪唑

方法 D-步驟 d-於 {4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-基}-(4-甲基-咪啉-3-基)-甲酮(0.06 克, 0.16 毫莫耳)於無水 THF (2 毫升)之溶液內, 於室溫之氮氣氣體下加入氫化鋁鋁(LiAlH_4)(0.02 克, 0.47 毫莫耳)。反應回流加熱 2 小時及又加入 LiAlH_4 (0.01 克, 0.24 毫莫耳)。30 分鐘後溶液冷卻至室溫, 以 10% NaOH (3 毫升)淬熄及然後以二氯甲烷(3×3 毫升)萃取。組合有機層以硫酸鈉脫水, 過濾及於減壓下濃縮。然後粗產物藉製備性 HPLC 純化獲得 0.03 克(41%)標題化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (MHz, CD_3OD): δ 2.49-2.54 (1H, m), 2.66-2.77 (4H, m), 2.88-2.94 (1H, m), 2.96 (3H, s), 3.09-3.16 (1H, s), 3.57-3.63 (1H, m), 3.29-3.43 (6H, m), 3.78-3.86 (1H, m), 3.88 (3H, s), 3.92-3.97 (1H, m), 4.01-4.05 (1H, m), 7.16-7.18 (2H, m), 7.31-7.39 (3H, m), 7.38-7.46 (1H, m), 7.55-7.58 (1H, m), 7.67-7.70 (1H, m), 8.28 (2H, s). m/z 406 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 0.92.

實施例 14：3-{4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-
哌啶-1-基甲基}-咪啉-4-羧酸第三丁酯甲酸鹽

3-{4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-基甲
基}-咪啉-4-羧酸第三丁酯

方法 E-步驟 e- 於 3-{4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-基甲基}-咪啉-4-羧酸第三丁酯 (0.21 克, 0.42 毫莫耳) 於無水 THF (3 毫升) 之溶液內, 於室溫之氮氣氣體下加入氫化鋁鋁 (LiAlH_4) (0.05 克, 1.27 毫莫耳)。反應回流加熱 2 小時。然後溶液冷卻至室溫, 以 15% NaOH 淬熄, 然後以二氯甲烷 (3×10 毫升) 萃取。組合有機層以硫酸鈉脫水, 過濾及於減壓下濃縮。然後粗產物藉製備性 HPLC 純化獲得 0.09 克 (43%) 標題化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CD_3OD): δ 1.48 (9H, s), 3.02-3.25 (6H, m), 3.39-3.46 (6H, m), 3.55-3.59 (1H, m), 3.76-3.90 (6H, m), 4.15-4.35 (1H, m), 7.20-7.24 (2H, m), 7.64-7.41 (3H, m), 7.45-7.49 (1H, m), 7.58-7.60 (1H, m), 7.69-7.71 (1H, m). m/z 492 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 1.45.

實施例 15：1-甲基 2-[3-(4-咪啉-3-基甲基-哌啶-1-基)-
苯基]-1H-苯并咪唑

1-甲基 2-[3-(4-咪啉-3-基甲基-哌啶-1-基)-苯基]-1H-苯
并咪唑

方法 E-步驟 f- 於 3-{4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-基甲基}-咪啉-4-羧酸第三丁酯 (0.07 克, 0.15 毫莫耳) 於二氯甲烷 (1 毫升) 之溶液內加入 2 M 鹽

酸於乙醚(3 毫升)及所得溶液於室溫攪拌 7 小時。

所得沈澱經過濾出，以乙醚洗滌然後藉製備性 HPLC 純化。洗提分以碳酸鉀鹼化以防最終甲醯化及然後於減壓下去除溶劑。然後粗產物以二氯甲烷(15 毫升)回收及有機層以水(3×4 毫升)洗滌，以硫酸鈉脫水，過濾及於減壓下濃縮，獲得 0.02 克(37%)標題化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO): δ 2.11-2.24 (2H, m), 2.48-2.58 (3H, m), 2.71-2.76 (2H, m), 2.83-2.89 (1H, m), 2.98-3.06 (1H, m), 3.19-3.24 (4H, m), 3.28-3.38 (2H, m), 3.62-3.71 (2H, m), 3.86 (3H, s), 7.08-7.12 (1H, m), 7.17-7.30 (4H, m), 7.35-7.40 (1H, m), 7.58-7.67 (2H, m). m/z 392 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$;

停留時間 = 0.77.

實施例 16: (2-{4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-基}-2-酮基-乙基)-胺基甲酸第三丁酯

(2-{4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-基}-2-酮基-乙基)-胺基甲酸第三丁酯

方法 F-步驟 a- 於 N-(第三-丁氧羰基)-甘胺酸(0.13 克, 0.74 毫莫耳)於乙腈(8 毫升)之溶液內加入 CDI (0.12 克, 0.68 毫莫耳)及所得懸浮液於室溫攪拌隔夜。然後加入 2-(3-哌啶-1-基-苯基)-1H-苯并咪唑二鹽酸鹽(0.20 克, 0.57 毫莫耳)(如方法 B 所述獲得)及 DIPEA (0.20 毫升, 1.14 毫莫耳)及所得溶液於 65°C 攪拌隔夜。然後反應冷卻至室溫，移除溶劑，粗產物以二氯甲烷(15 毫升)回收及以飽和碳酸氫鈉溶液(2×3 毫升)洗滌。有機層以硫酸鈉脫水，過濾

及於減壓下濃縮。殘餘物藉急速層析術純化(洗提劑：環己烷：乙酸乙酯/2:1)獲得 0.14 克(56%)標題化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 1.46 (9H, s), 3.29-3.36 (4H, m), 3.69-3.71 (2H, m), 3.67-3.80 (2H, m), 4.00 (2H, s), 7.13-7.16 (1H, m), 7.24-7.27 (2H, m), 7.42 (1H, t), 7.56-7.62 (3H, m), 7.73-7.74 (1H, m). m/z 436 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 2.13.

實施例 17：2-{4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-基}-乙基胺

2-{4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-基}-乙基胺

方法 F-步驟 b- 於(2-{4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-基}-2-酮基-乙基)-胺基甲酸第三丁酯(0.12 克, 0.28 毫莫耳)於無水 THF (3.50 毫升)之溶液內加入 $(\text{CH}_3)_2\text{S} \cdot \text{BH}_3$ 於 THF (0.06 毫升, 0.69 毫莫耳), 所得懸浮液於 65°C 加熱隔夜。然後反應冷卻至室溫, 於減壓下去除溶劑及添加 1 N 鹽酸(3 毫升)至殘餘物隨後於 100°C 加熱 6 小時。反應冷卻至室溫, 然後藉逐滴添加 15%氫氧化鈉調整為鹼性, 所得白色固體經過濾及以水及乙醚洗滌, 獲得 0.06 克(73%)標題化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 2.60-2.70 (6H, m), 2.98-3.01 (2H, m), 3.30-3.34 (6H, m), 7.10 (1H, d), 7.24-7.26 (2H, m), 7.39 (1H, t), 7.52 (1H, d), 7.53-7.60 (2H, m), 7.73 (1H, br s). m/z 322 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 0.22.

實施例 7：1-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-哌啶-4-酮

8-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-1,4-二噁-8-吡-螺
[4.5]癸烷

始於 1,4-二噁-8-吡螺[4.5]癸烷鹽酸鹽，使用如方法 A 所使用之相同程序。

獲得 1.25 克標題化合物(77%，最末步驟)。

¹H-NMR (400MHz, DMSO): δ 1.70 (4H, br s), 3.31-3.34 (4H, m), 3.90 (4H, br s), 7.09-7.12 (1H, m), 7.19-7.21 (2H, m), 7.37-7.40 (2H,m), 7.60 (2H, br s), 12.62 (1H,s).

1-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-哌啶-4-酮

方法 G、H-步驟 a- 於 8-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-1,4-二噁-8-吡-螺[4.5]癸烷(2.00 克, 5.42 毫莫耳)於水(50 毫升)之懸浮液內逐滴加入硫酸(2.50 毫升)，所得溶液於室溫攪拌 72 小時。以碳酸鈉中和溶液，所得油當靜置於水中時固化。沈澱物經過濾及乾燥獲得 1.60 克(90%)標題化合物。

¹H-NMR (400MHz, DMSO): δ 2.43 (4H, t), 3.68 (4H, t), 7.22-7.25 (1H, m), 7.33-7.36 (2H, m), 7.46-7.50 (2H, m), 7.69-7.71 (2H, m).

實施例 18：1-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-哌啶
-4-醇

1-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-哌啶-4-醇

方法 G-步驟 b- 於 1-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-哌啶-4-酮(0.05 克, 0.17 毫莫耳)於甲醇(50 毫升)之懸浮液內加入硼氫化鈉(NaBH₄) (0.01 克, 0.17 毫莫耳)，

所得混合物於室溫攪拌 1 小時及然後以數滴水淬熄。於減壓下去除溶劑，粗產物溶解於乙酸乙酯(5 毫升)及過濾，然後有機相於減壓下蒸發獲得 0.02 克(36%)標題化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO): δ 1.43-1.45 (2H, m), 1.78-1.80 (2H, m), 2.89-2.94 (2H, m), 3.56-3.64 (3H, m), 4.68 (1H, d), 7.06-7.08 (1H, m), 7.18-7.21 (2H, m), 7.33-7.40 (2H, m), 7.52 (1H, d), 7.66 (1H, d), 12.59 (1H, s). m/z 328 (M+H) $^+$; 停留時間 = 1.55.

實施例 19 : 2-[5-(4-吡啶-1-基-哌啶-1-基)-2-氯-苯基]-1H-苯并咪唑

2-[5-(4-吡啶-1-基-哌啶-1-基)-2-氯-苯基]-1H-苯并咪唑

方法 H-步驟 c- 於 1-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-哌啶-4-酮(0.10 克, 0.31 毫莫耳)於二氯甲烷(2 毫升)之懸浮液內加入吡啶(0.05 毫升, 0.46 毫莫耳)。於室溫攪拌 30 分鐘後加入 1 滴乙酸, 1 小時後又加入 1 份吡啶(0.05 毫升, 0.46 毫莫耳), 接著加入三乙鹽氧基硼氫化鈉($\text{NaB}(\text{OAc})_3\text{H}$) (0.10 克, 0.46 毫莫耳)。反應混合物於室溫攪拌隔夜, 然後於減壓下去除溶劑, 粗產物溶解於二氯甲烷(10 毫升)。於該溶液內加入 PS-異氰酸酯樹脂(PS-NCO) (Argonaut, 載荷量 0.93 毫莫耳/克), 然後混合物於室溫振搖隔夜及過濾。於減壓下移除溶劑獲得固體殘餘物, 以乙酸乙酯及乙醚洗滌然後乾燥獲得期望產物(0.07 克, 58%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO): δ 1.45-1.50 (9H, m), 1.74 (2H, d), 2.61-2.74 (6H, m), 3.31 (2H, s), 3.78 (2H, d), 7.06-7.08 (1H, m), 7.20-7.22 (2H, m), 7.33-7.38 (2H, m), 7.52 (1H, d), 7.66 (1H, d), 12.60 (1H, s). m/z 409 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 1.32.

實施例 20: 1-(4-{4-[3-(1-二氟甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-
苯基]-吡啶-1-基}-[1,4]二吡啶-1-基)-乙酮
2-(3-溴-苯基)-1H-苯并咪唑

方法 I、J、K-步驟 a- 鄰-伸苯基二胺(81.8 克, 756.6 毫莫耳)及草酸(3.40 克, 37.8 毫莫耳)完全溶解於先前於 80°C 溫熱之乙醇/水 1:1 (2 升)。然後逐滴添加 3-溴苄醛(44.1 毫升, 378.3 毫莫耳)至該溶液。反應混合物於 70°C 攪拌隔夜至開放大氣埠口二日。固體經過濾出及以甲醇(150 毫升)濕磨獲得產物呈淺黃色固體(27.50 克)。由母液回收 3.8 克產物。總產率 31.30 克(30%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz DMSO): δ 7.24 (2H, m), 7.54 (2H, m), 7.70 (m, 2H), 8.19 (1H, m), 8.37 (1H, t), 13.2 (1H, s). m/z 273 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 8.60.

2-(3-溴-苯基)-1-二氟甲基-1H-苯并咪唑

方法 I、J、K-步驟 b- 於高壓鍋內放置 2-(3-溴-苯基)-1H-苯并咪唑(14.10 克, 51.6 毫莫耳), 50%氫氧化鈉水溶液(8.3 毫升, 154.8 毫莫耳), TEBAC(0.58 克, 2.5 毫莫耳)及 THF (120 毫升)。混合物於室溫攪拌 2 小時, 然後通入氯二氟甲烷至起始物料之轉化完成(2 巴, 約 3 小時)。混合物以 DCM

(100 毫升)稀釋，有機相經傾析及以硫酸鈉脫水。於減壓下蒸發去除溶劑獲得深紅色油，油於二氧化矽 versaflash (1 克產物/30 克二氧化矽)上藉急速層析術純化(洗提劑：環己烷：乙酸乙酯梯度由環己烷 95：乙酸乙酯 5 至環己烷 7：乙酸乙酯 3)獲得 14.30 克標題化合物(86%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz DMSO): δ 7.45(2H, m), 7.59(1H, t); 7.75(1H, m), 7.83(2H, m), 7.95(1H, m), 8.09(1H, s). m/z 323 ($M+H$) $^+$; 停留時間 = 8.60.
1-(4-{4-[3-(1-二氟甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-羰基}-[1,4]二吡啶-1-基)-乙酮

方法 J-步驟 c- 於 2-(3-溴-苯基)-1-二氟甲基-1H-苯并咪唑(0.10 克，0.31 毫莫耳)，碳酸鉍(0.14 克，0.43 毫莫耳)，外消旋-2,2' 貳(二苯基膦基)-1,1'-聯萘(BINAP)(0.007 克，0.01 毫莫耳)及參-(二亞苄基丙酮)-二鈹(0)(0.004 克)置於 7 毫升密封瓶內，藉重複氮氣/真空週期掃除 10 分鐘。加入無水甲苯(0.6 毫升)及 N-乙醯基高哌啶(0.05 毫升，0.37 毫莫耳)及反應混合物於 85°C 以攪拌加熱 24 小時。

反應冷卻至室溫及經 SCX 卡匣(2 克)過濾(洗提劑：DCM/甲醇 1:1)。有機層於減壓下濃縮及藉製備性 HPLC 純化獲得 58 毫克標題化合物(48%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 1.95-2.08 (5H, m), 3.48-3.55 (2H, m), 3.65-3.77 (4H, m), 3.80-3.84 (2H, m), 6.93-6.95 (1H, m), 7.04-7.11 (2H, m), 7.41-7.67 (4H, m), 7.73-7.82 (2H, m). m/z 385 ($M+H$) $^+$; 停留時間 = 3.30.

實施例 21：1-二氟甲基-2-(3-哌啶-1-基-苯基)-1H-苯并咪唑鹽酸鹽

4-[3-(1-二氟甲基-H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-羧酸第三-丁酯

方法 K-步驟 d- 於 2-(3-溴-苯基)-1-二氟甲基-1H-苯并咪唑(1.00 克, 3.10 毫莫耳), 哌啶-1-羧酸第三丁酯(0.75 克, 4.02 毫莫耳)及碳酸鉍(5.04 克, 15.48 毫莫耳)置於無水 250 毫升圓底瓶內及藉重複氮氣/真空週期掃除 30 分鐘, 加入無水甲苯(50 毫升)。同時將乙酸鉍(139 毫克, 0.62 毫莫耳), 及外消旋-2, 2' 貳(二苯基磷基)-1, 1' -聯萘(BINAP)(0.58 克, 0.30 毫莫耳)置於無水 100 毫升圓底瓶內及藉重複氮氣/真空週期掃除 30 分鐘。

加入無水甲苯(50 毫升), 此懸浮液攪拌 10 分鐘隨後添加至第一圓底瓶。反應混合物於氮氣下回流隔夜及冷卻至室溫。混合物經過濾及不溶性物質以乙酸乙酯(3×20 毫升)洗滌。有機溶液於減壓下濃縮及粗產物藉急速層析術純化(洗提劑: 環己烷: 乙酸乙酯梯度由 100%環己烷至環己烷 5: 乙酸乙酯 1)獲得 1.10 克標題化合物(83%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO): δ 1.41 (9H, s), 3.19-3.22 (4H, m), 3.46-3.48 (4H, m), 7.08-7.10 (1H, m), 7.20-7.23 (2H, m), 7.37-7.46 (3H, m), 7.71-7.80 (3H, m).

m/z 429 ($M+H$) $^+$; 停留時間 = 4.53.

1-二氟甲基-2-(3-哌啶-1-基-苯基)-1H-苯并咪唑

方法 K-步驟 e- 於 4-[3-(1-二氟甲基-H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-羧酸第三-丁酯(1.10 克, 2.57 毫莫耳) 於 DCM (2 毫升)之溶液內加入 2 M 鹽酸於乙醚(11 毫升), 所得懸浮液於室溫攪拌隔夜。沈澱經過濾及所得鹽以乙醚 (3x20 毫升)濕磨獲得 1.02 克(100%)標題化合物呈鹽酸鹽。

¹H-NMR (400 MHz, DMSO): δ 3.21 (4H, bs), 3.47-3.50 (4H, m), 7.11-7.20 (1H, m), 7.25-7.30 (2H, m), 7.41-7.51 (3H, m), 7.74-8.02 (3H, m), 9.35 (2H, bs). m/z 329 (M+H)⁺; 停留時間 = 1.77.

實施例 22: 1-{4-[3-(1-二氟甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-基}-2-甲基-丙-1-酮1-{4-[3-(1-二氟甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-基}-2-甲基-丙-1-酮

方法 K-步驟 f- CDI (0.05 克, 0.32 毫莫耳)添加至異丁酸(0.029 克, 0.32 毫莫耳)於乙腈(2.50 毫升)之溶液。所得溶液於室溫攪拌 5 小時。

加入 1-二氟甲基-2-(3-哌啶-1-基-苯基)-1H-苯并咪唑 (0.10 克, 0.27 毫莫耳)及 N,N-二異丙基乙基胺(DIPEA) (0.05 毫升, 0.27 毫莫耳)及反應於 65°C 加熱隔夜。反應冷卻至室溫, 去除溶劑及加入 DCM (3 毫升)。有機溶液以水(2 x2 毫升)洗滌及以飽和碳酸鈉溶液(2x2 毫升)洗滌。有機層於減壓下濃縮及粗產物藉急速層析術純化(洗提劑: 環己

烷：乙酸乙酯梯度由 100%環己烷至環己烷 3：乙酸乙酯 1)
獲得 0.067 克標題化合物(61%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 1.09 (6H, d), 2.77 (1H, 七峰 t),
3.21-3.29 (4H, m), 3.64-3.75 (4H, m), 7.04-7.07 (2H, m), 7.10-7.41 (5H, m),
7.70-7.73 (1H, m), 7.77-7.81 (1H, m). m/z 399 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 $\approx$ 3.68.

實施例 23：4-{4-[3-(1-二氟甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-羧基}-哌啶-1-羧酸第三丁酯

4-{4-[3-(1-二氟甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-羧基}-哌啶-1-羧酸第三丁酯

方法 K-步驟 g- 於 CDI (0.053 克, 0.32 毫莫耳)添加至
哌啶-1, 4-二羧酸一-第三丁酯(0.074 克, 0.32 毫莫耳)於乙
腈(2.50 毫升)之溶液。所得溶液於室溫攪拌 5 小時。

加入 1-二氟甲基-2-(3-哌啶-1-基-苯基)-1H-苯并咪唑
(0.10 克, 0.27 毫莫耳)及 N,N-二異丙基乙基胺(DIPEA)
(0.05 毫升, 0.27 毫莫耳)及反應於 65°C 加熱隔夜。反應冷
卻至室溫, 去除溶劑及加入 DCM (3 毫升)。有機溶液以水(2
x2 毫升)洗滌及以飽和碳酸鈉溶液(2x2 毫升)洗滌。有機層
於減壓下濃縮及粗產物藉急速層析術純化(洗提劑：環己
烷：乙酸乙酯梯度由 100%環己烷至環己烷 3：乙酸乙酯 1)
獲得 0.067 克標題化合物(70%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 1.39 (9H, s), 1.60-1.74 (4H, m), 2.57-2.77 (3H, m), 3.21-3.26 (4H, m), 3.64-3.74 (4H, m), 4.10 (2H, m), 7.04-7.07 (2H, m), 7.11-7.41 (5H, m), 7.71-7.73 (1H, m), 7.78-7.82 (1H, m).
 m/z 540 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 4.25.

實施例 24: {4-[3-(1-二氟甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-基}-哌啶-4-基-甲酮

{4-[3-(1-二氟甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-基}-哌啶-4-基-甲酮

方法 K-步驟 h- 於 4-{4-[3-(1-二氟甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-羰基}-哌啶-1-羧酸第三丁酯(0.075 克, 0.14 毫莫耳)於 DCM (0.5 毫升)之溶液內, 加入 2 M 鹽酸於乙醚(2.5 毫升), 所得懸浮液於室溫攪拌 6 小時。沈澱物經過濾及以乙醚(3×20 毫升)濕磨。固體藉製備性 HPLC 純化。HPLC 洗提分以碳酸鉀中和及濃縮。加入 DCM (5 毫升)及水(5 毫升), 有機相經分離及濃縮獲得 44 毫克標題化合物(72%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 1.82-2.15 (4H, m), 2.72-2.86 (1H, m), 3.09-3.34 (6H, m), 3.48-3.64 (2H, m), 3.63-3.83 (4H, m), 7.09-7.15 (2H, m), 7.29-7.30 (2H, m), 7.37-7.47 (3H, m), 7.75-7.78 (1H, m), 7.81-7.85 (1H, m).
 m/z 440 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 2.03.

實施例 25: 1-[3-(1-二氟甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-4-羧酸乙酯

1-[3-(1-二氟甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-4-羧酸乙酯

方法 I-步驟 i- 遵照方法 K 步驟 d 所述相同程序，但始於哌啶-4-羧酸乙酯而替代哌啶-1-羧酸第三丁酯。定量產率。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 1.26 (3H, t), 1.77-1.87 (2H, m), 2.01-2.05 (2H, m), 2.50-2.57 (1H, m), 2.88-2.94 (2H, m), 3.76-3.81 (2H, m), 4.12-4.17 (2H, q), 7.09-7.11 (1H, m), 7.24-7.26 (1H, m), 7.29-7.30 (1H, m), 7.41-7.81 (6H, m). m/z 400 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 4.25.

實施例 26 : {1-[3-(1-二氟甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-4-基}-(4-甲基-哌啶-1-基)-甲酮

1-[3-(1-二氟甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-4-羧酸

方法 I-步驟 1- 氫氧化鈉粉末(0.24 克，6.02 毫莫耳)添加至 1-[3-(1-二氟甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-4-羧酸乙酯(1.20 克，3.01 毫莫耳)於乙醇:水 3:1 之溶液，反應於 80°C 加熱隔夜。反應冷卻至室溫，於減壓下藉蒸發濃縮有機溶劑。所得溶液藉逐滴添加 6 N 鹽酸中和。淡褐色沈澱物沈澱出，經過濾出及乾燥獲得 0.80 克標題化合物(72%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 1.83-1.93 (2H, m), 2.06-2.11 (2H, m), 2.52-2.59 (1H, m), 3.14-3.17 (2H, m), 3.71-3.76 (2H, m), 7.33-7.35 (1H, m), 7.40-7.42 (2H, m), 7.44-7.78 (6H, m). m/z 372 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 3.25.

{1-[3-(1-二氟甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-4-基}-(4-甲基-哌啶-1-基)-甲酮

方法 I-步驟 m- HATU (0.11 克，0.30 毫莫耳)及二異丙基

乙基胺(DIPEA) (0.09 毫升, 0.54 毫莫耳)添加至 1-[3-(1-二氟甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-4-羧酸(0.10 克, 0.27 毫莫耳)於二氯甲烷於室溫之懸浮液。反應於 35 °C 攪拌隔夜。反應冷卻至室溫及以飽和碳酸鈉溶液(2×4 毫升)及以水(1×3 毫升)洗滌。有機層於減壓下濃縮及粗產物藉急速層析術純化(洗提劑: 環己烷: 乙酸乙酯梯度由環己烷 1: 乙酸乙酯 1 至 100% 乙酸乙酯及最終使用乙酸乙酯: 2.0 N 氨於甲醇 5: 1)獲得 0.025 克標題化合物(20%)。

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 1.79-1.88 (4H, m), 2.31 (3H, s), 2.39-2.48 (4H, m), 2.80-2.92 (3H, m), 3.60-3.68 (4H, m), 3.85-3.88 (2H, m), 7.08-7.10 (1H, m), 7.20-7.25 (1H, m), 7.28-7.29 (1H, m), 7.40-7.81 (6H, m).
m/z 454 (M+H)⁺; 停留時間 = 2.00.

實施例 27: {4-[4-氟-3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-基}-吡咯啉-1-基-甲酮

N-(2-胺基-苯基)-5-溴-2-氟-苄醯胺

方法 L、M-步驟 a- 5-溴-2-氟-苯甲酸(4.96 克, 22.6 毫莫耳), 苯-1,2-二胺(4.90 克, 45.3 毫莫耳), 1-(3-二甲基胺基丙基)-3-乙基甲二醯亞胺鹽酸鹽(EDC) (5.21 克, 27.2 毫莫耳), 1-羥基苯并三唑水合物(1-HOBt) (3.67 克, 27.2 毫莫耳)及二甲基-吡啶-4-基-胺(DMAP) (0.03 克, 0.2 毫莫耳)置於 100 毫升圓底瓶。加入無水 DMF (60 毫升)及反應於室溫攪拌隔夜。於減壓下去除溶劑, 然後粗產物以 DCM (15 毫升)及 0.4 M 碳酸鈉溶液(15 毫升)稀釋。形成白色沈澱經

過濾出及再度以 DCM (10 毫升)洗滌及乾燥，獲得 4.96 克標題化合物。收集溶液，有機相由水相分離及於減壓下濃縮：形成額外沈澱，經過濾出，以 DCM (3 毫升)洗滌獲得額外 0.68 克期望化合物。總產率 81%。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO): δ 4.84-5.14 (2H, m), 6.54-6.59 (1H, m), 6.73-6.76 (1H, m), 6.93-6.97 (1H, m), 7.21-7.24 (1H, m), 7.31-7.35 (1H, m), 7.72-7.76 (1H, m), 9.62-9.64 (1H, m). m/z 308/310 ($M+H$) $^+$; 停留時間 = 1.87.

2-(5-溴-2-氟-苯基)-1H-苯并咪唑

方法 L、M-步驟 b- N-(2-胺基-苯基)-5-溴-2-氟-苄醯胺 (5.64 克, 18.3 毫莫耳)於乙酸(20 毫升)之懸浮液於 60°C 加熱。30 分鐘後，懸浮液變成溶液，任其放置隔夜。於減壓下去除溶劑，殘餘物以 DCM (10 毫升)濕磨及過濾出。沈澱以 DCM (3×10 毫升)洗滌及乾燥獲得 4.76 克標題化合物 (89%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO): δ 7.24-7.27 (2H, m), 7.43-7.48 (1H, m), 7.63-7.66 (2H, m), 7.72-7.76 (1H, m), 8.33-8.35 (1H, m). m/z 290/292 ($M+H$) $^+$; 停留時間 = 1.85.

2-(5-溴-2-氟-苯基)-1-甲基-1H-苯并咪唑

方法 L-步驟 c- 氫化鈉 60%於礦油之懸浮液(0.61 克, 25.5 毫莫耳)添加至 2-(5-溴-2-氟-苯基)-1H-苯并咪唑(3.70 克, 12.76 毫莫耳)於無水 THF (100 毫升)之溶液，反應於室溫攪拌 30 分鐘，隨後加入甲基碘(1.19 毫升, 19.1 毫莫耳)。讓反應攪拌 2 小時，然後以水(20 毫升)淬熄。溶液經

濃縮然後加入乙酸乙酯(30 毫升)。有機溶液經分離，以食鹽水(10 毫升)洗滌，以硫酸鈉脫水及於減壓下濃縮，獲得 3.80 克(97%)期望化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 3.76 (3H, s), 7.31-7.42 (3H, m), 7.59-7.61 (1H, m), 7.70-7.72 (1H, m), 7.78-7.82 (1H, m), 7.85-7.87 (1H, m). m/z 304/306 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 1.80.

{4-[4-氟-3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-基}-吡咯啉-1-基-甲酮

方法 L-步驟 d- 遵照方法 J 步驟 c 所述相同程序但始於 2-(5-溴-2-氟-苯基)-1-甲基-1H-苯并咪唑及哌啶-1-基-吡咯啉-1-基-甲酮。反應混合物粗產物藉製備性 HPLC 純化獲得 0.06 克標題化合物(44%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 1.82-1.89 (4H, m), 3.20-3.23 (4H, m), 3.40-3.42 (4H, m), 3.44-3.47 (4H, m), 3.77-3.78 (3H, m), 7.20-7.22 (1H, m), 7.24-7.26 (2H, m), 7.31-7.40 (2H, m), 7.57-7.59 (1H, m), 7.69-7.71 (1H, m). m/z 408 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 2.32.

實施例 28: 4-[4-氟-3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-羧酸第三-丁酯

4-[4-氟-3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-羧酸第三-丁酯

方法 L-步驟 e- 2-(5-溴-2-氟-苯基)-1-甲基-1H-苯并咪唑(2.10 克, 6.9 毫莫耳), 哌啶-1-羧酸第三-丁酯(1.16 克, 8.3 毫莫耳), 碳酸鉍(3.14 克, 9.6 毫莫耳), 外消旋-2, 2' -

貳(二苯基磷基)-1,1'-聯萘(BINAP)(0.17 克, 0.28 毫莫耳)及參-(二亞苄基丙酮)二鈹(0)(0.06 克, 0.07 毫莫耳)置於徐朗克試管內及藉重複氮氣/真空週期掃除 10 分鐘。加入無水甲苯(13 毫升)及反應於 85°C 攪拌 24 小時。反應冷卻至室溫, 以乙酸乙酯(20 毫升)稀釋及以水(10 毫升)洗滌。有機層以硫酸鈉脫水及於減壓下濃縮。反應混合物粗產物藉急速層析術純化(洗提劑: 環己烷: 乙酸乙酯梯度由 100%環己烷至環己烷 2: 乙酸乙酯 1)獲得 1.14 克起始物料及 0.70 克標題化合物(54%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 1.47 (9H, s), 3.14-3.17 (4H, m), 3.57-3.59 (4H, m), 7.20-7.26 (3H, m), 7.30-7.39 (2H, m), 7.56-7.58 (1H, m), 7.68-7.71 (1H, m). m/z 411 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 1.90.

實施例 29: 2-二甲基胺基-1-{4-[4-氟-3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-基}-乙酮

2-(2-氟-5-哌啶-1-基-苯基)-1-甲基-1H-苯并咪唑

方法 L-步驟 f- 於 4-[4-氟-3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-羧酸第三-丁酯(0.86 克, 1.71 毫莫耳)於 DCM (2.0 毫升)之溶液內加入 2.0 M 鹽酸於乙醚(10 毫升), 所得懸浮液於室溫攪拌隔夜。沈澱經過濾出及以乙醚(3x15 毫升)濕磨獲得標題化合物(定量產率)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO): δ 3.22-3.25 (4H, m), 3.44-3.47 (4H, m), 3.94 (3H, s), 7.43-7.53 (3H, m), 7.60-7.67 (2H, m), 7.87-7.89 (1H, m), 8.01-8.03 (1H, m), 9.42 (2H, m). m/z 311 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 分裂峰。

2-二甲基氨基-1-{4-[4-氟-3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-基}-乙酮

方法 L-步驟 g- 方法 L-步驟 h 所使用之相同程序。

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 2.30 (6H, s), 3.18-3.25 (6H, m), 3.74-3.78 (7H, m), 7.21-7.28 (3H, m), 7.31-7.40 (2H, m), 7.57-7.59 (1H, m), 7.69-7.71 (1H, m). m/z 396 (M+H)⁺; 停留時間 = 分裂峰。

實施例 30 : (S)-2-{4-[4-氟-3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-羧基}-吡咯啉-1-羧酸第三丁酯

(S)-2-{4-[4-氟-3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-羧基}-吡咯啉-1-羧酸第三丁酯

方法 L-步驟 h- CDI (0.05 克, 0.31 毫莫耳)添加至 N-Boc-L-脯氨酸(0.07 克, 0.31 毫莫耳)於乙腈(2.50 毫升)之溶液。所得溶液於室溫攪拌 6 小時。

2-(2-氟-5-哌啶-1-基-苯基)-1-甲基-1H-苯并咪唑(0.10 克, 0.26 毫莫耳)及 N,N-二異丙基乙基胺(DIPEA) (0.09 毫升, 0.52 毫莫耳)添加至其中及反應於 65°C 加熱隔夜。反應冷卻至室溫, 於減壓下去除溶劑, 加入 DCM (3 毫升)。有機溶液以水(2×2 毫升)洗滌及以飽和碳酸鈉溶液(2×2 毫升)洗滌。有機層於減壓下濃縮及粗產物藉急速層析術純化(洗提劑: 環己烷: 乙酸乙酯梯度由環己烷 2: 乙酸乙酯 1 至 100% 乙酸乙酯)獲得 0.067 克標題化合物(51%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 1.40-1.45 (9H, m), 1.82-1.97 (3H, m), 2.23-2.36 (1H, m), 3.15-3.29 (4H, m), 3.42-3.57 (2H, m), 3.69-3.85 (7H, m), 4.72-4.77 (1H, m), 7.22-7.29 (3H, m), 7.31-7.40 (2H, m), 7.57-7.59 (1H, m), 7.69-7.71 (1H, m). m/z 508 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 2.63.

實施例 31 : {4-[4-氟-3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-基}-(S)-吡咯啉-2-基-甲酮鹽酸鹽

{4-[4-氟-3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-基}-(S)-吡咯啉-2-基-甲酮

方法 L-步驟 i- 於(S)-2-{4-[4-氟-3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-1-羧基}-吡咯啉-1-羧酸第三丁酯 (0.05 克, 0.10 毫莫耳)於 DCM (0.5 毫升)之溶液內加入 2 M 鹽酸於乙醚(2.0 毫升), 所得懸浮液於室溫攪拌隔夜。反應於減壓下濃縮及然後加水(4.0 毫升), 混合物再度濃縮獲得 0.04 克標題化合物呈鹽酸鹽(86%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 1.85-2.04 (4H, m), 2.42-2.51 (1H, m), 3.60-3.81 (4H, m), 3.98-3.99 (3H, m), 3.23-3.36 (5H, m), 4.60-4.69 (1H, m), 7.32-7.44 (3H, m), 7.62-7.68 (2H, m), 7.77-7.80 (1H, m), 7.89-7.93 (1H, m). m/z 408 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 分裂峰。

實施例 32 : 1-{4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氟-苯基]-哌啶-1-基}-2-二甲基胺基-乙酮

2-(5-溴-2-氟-苯基)-苯并咪唑-1-羧酸第三-丁酯

方法 M-步驟 1- NaH 60%於礦油分散液(0.70 克, 17.34 毫莫耳)於氮下於室溫添加至 2-(5-溴-2-氟-苯基)-1H-苯并咪唑(3.87 克, 13.3 毫莫耳)於無水 THF (140 毫升)之溶

液。10 分鐘後，加入二碳酸二-第三-丁酯(0.30 克，13.3 毫莫耳)於無水 THF (50 毫升)之溶液及任其反應 30 小時。加水(40 毫升)及反應於減壓下濃縮。添加乙酸乙酯(30 毫升)及有機層經分離。水層以乙酸乙酯(2×10 毫升)洗滌。有機層經收集，以硫酸鈉脫水及於減壓下濃縮。反應混合物粗產物藉急速層析術純化(洗提劑：環己烷：乙酸乙酯梯度由 100%環己烷至環己烷 10：乙酸乙酯 1)獲得 4.7 克標題化合物(90%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 1.44 (9H, s), 7.23-7.27 (1H, m), 7.41-7.50 (2H, m), 7.73-7.77 (2H, m), 7.84-7.86 (1H, m), 8.10-8.12 (1H, m). m/z 392 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 2.88.

2-[5-(4-第三-丁氧基羰基-哌啶-1-基)-2-氟-苯基]-苯并咪唑-1-羧酸第三-丁酯

方法 M-步驟 m- 2-(5-溴-2-氟-苯基)-苯并咪唑-1-羧酸第三-丁酯(2.52 克，6.5 毫莫耳)，哌啶-1-羧酸第三-丁酯(1.56 克，8.40 毫莫耳)及碳酸鉍(10.50 克，32.20 毫莫耳)置於無水 500 毫升圓底瓶內於氮氣下及加入無水甲苯(140 毫升)。同時，乙酸鉍(0.29 克，1.30 毫莫耳)及 BINAP (1.20 克，1.93 毫莫耳)置於無水 250 毫升圓底瓶內於氮氣下及加入無水甲苯(140 毫升)。10 分鐘後，含 BINAP 及乙酸鉍之懸浮液添加至 500 毫升圓底瓶內。反應混合物於 85°C 於氮下加熱隔夜及冷卻至室溫。混合物經過濾，不溶性材料以乙酸

乙酯(3×20 毫升)洗滌。有機溶液於減壓下濃縮，粗產物藉急速層析術純化(洗提劑：環己烷：乙酸乙酯梯度由 100%環己烷至環己烷 4：乙酸乙酯 1)獲得 2.48 克標題化合物(76%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO): δ 1.36 (9H, s), 3.08-3.10 (4H, m), 3.43-3.46 (4H, m), 7.12-7.18 (1H, m), 7.20-7.25 (2H, m), 7.38-7.47 (2H, m), 7.76-7.78 (1H, m), 7.97-7.99 (1H, m). m/z 497 ($M+H$) $^+$; 停留時間 = 2.93.

2-(2-氟-5-哌吡-1-基-苯基)-1H-苯并咪唑

方法 M-步驟 n- 於 2-[5-(4-第三-丁氧基羰基-哌吡-1-基)-2-氟-苯基]-苯并咪唑-1-羧酸第三-丁酯(0.45 克, 0.91 毫莫耳)於 DCM (1.0 毫升)之溶液內加入 2 M 鹽酸於乙醚(8.0 毫升)及所得懸浮液於室溫攪拌隔夜。又加入 2 M 鹽酸於乙醚(5.0 毫升)及讓反應攪拌 24 小時。沈澱物經過濾出及以乙醚(3×15 毫升)濕磨，獲得 0.21 克標題化合物(55%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO): δ 3.26 (4H, bs), 3.49-3.51 (4H, m), 7.36-7.40 (1H, m), 7.45-7.53 (3H, m), 7.80-7.84 (2H, m), 7.91-7.93 (1H, m), 9.28 (2H, bs). m/z 297 ($M+H$) $^+$; 停留時間 = 分裂峰。

1-{4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氟-苯基]-哌吡-1-基}-2-二甲基氨基-乙酮

方法 M-步驟 o- CDI (0.052 克, 0.32 毫莫耳)添加至 N,N-二甲基甘胺酸(0.033 克, 0.32 毫莫耳)於乙腈(2.50 毫升)之溶液。所得溶液於室溫攪拌 5 小時。然後加入 2-(2-氟-5-哌吡-1-基-苯基)-1H-苯并咪唑(0.10 克, 0.27 毫莫耳)及

N,N-二異丙基乙基胺(DIPEA) (0.11 毫升, 0.6 毫莫耳)及反應於 65°C 加熱隔夜。反應冷卻至室溫及於減壓下去除溶劑。DCM (2 毫升)添加至粗產物, 有機溶液以水(2×4 毫升)洗滌及以飽和碳酸鈉溶液(2×4 毫升)洗滌及濃縮。反應混合物粗產物藉急速層析術純化(洗提劑: MeOH: AcOEt 梯度由 100% AcOEt 至 MeOH 0.6: AcOEt 4)獲得 0.049 克標題化合物(43%)。

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 2.33 (6H, s), 3.22-3.29 (4H, m), 3.29 (2H, s), 3.77-3.79 (4H, m), 7.16-7.24 (2H, m), 7.26-7.31 (2H, m), 7.59-7.70 (2H, bp), 7.75-7.77 (1H, m). m/z 382 (M+H)⁺; 停留時間=分裂峰。

實施例 33: 4-{4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氟-苯基]-哌啶-1-基}-哌啶-4-基-甲酮

4-{4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氟-苯基]-哌啶-1-羧基}-哌啶-1-羧酸第三-丁酯

方法 M-步驟 p- CDI (0.047 克, 0.29 毫莫耳)添加至哌啶-1, 4-二羧酸一-第三-丁酯(0.07 克, 0.29 毫莫耳)於乙腈(2.50 毫升)之溶液。所得溶液於室溫攪拌 5 小時。然後加入 2-(2-氟-5-哌啶-1-基-苯基)-1H-苯并咪唑(0.10 克, 0.27 毫莫耳)及 DIPEA (0.05 毫升, 0.26 毫莫耳)及反應於 65°C 加熱隔夜。反應冷卻至室溫及於減壓下去除溶劑。DCM (2 毫升)添加至粗產物, 有機溶液以水(2×4 毫升)洗滌及以飽和碳酸鈉溶液(2×4 毫升)洗滌及濃縮。反應混合物粗產物

藉急速層析術純化(洗提劑：環己烷：乙酸乙酯梯度由 100% 環己烷至 100%乙酸乙酯)獲得 0.08 克標題化合物(60%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 1.45 (9H, s), 1.55-1.66 (2H, m), 1.72-1.76 (2H, m), 2.82-3.00 (3H, m), 3.21-3.31 (4H, m), 3.77-3.83 (4H, m), 4.07-4.17 (2H, m), 7.17-7.24 (2H, m), 7.26-7.31 (2H, m), 7.55-7.72 (2H, m), 7.75-7.78 (1H, m).

4-{4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氟-苯基]-哌啶-1-基}-哌啶-4-基-甲酮

方法 M-步驟 q- 於 4-{4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氟-苯基]-哌啶-1-羧基}-哌啶-1-羧酸第三-丁酯(0.08 克, 0.16 毫莫耳)於 DCM (1 毫升)之溶液內加入 2 M 鹽酸於乙醚 (3.0 毫升)及所得懸浮液於室溫攪拌 3 日。反應於減壓下濃縮, 加水(8 毫升)及溶液於減壓下濃縮。固體藉製備性 HPLC 純化。HPLC 洗提分以碳酸鉀中和及濃縮。加入 DCM (5 毫升)及水(5 毫升), 有機相經分離及濃縮獲得 44 毫克標題化合物(72%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 1.70-1.80 (4H, m), 2.73-2.80 (2H, m), 2.91-2.98 (1H, m), 3.13-3.17 (2H, m), 3.20-3.28 (4H, m), 7.15-7.32 (2H, m), 7.26-7.31 (2H, m), 7.62-7.65 (2H, m), 7.75-7.77 (1H, m). m/z 408 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 分裂峰。

實施例 34: 2-乙氧基-N-{1-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-4-基}-乙醯胺

2-(3-溴苯基)-1H-苯并咪唑

方法 N-步驟 a- 鄰-伸苯基二胺(81.8 克, 756.6 毫莫耳)

及草酸(3.4 克, 37.8 毫莫耳)完全溶解於先前溫熱於 80°C 之乙醇-水/1:1 (2 升)。然後逐滴添加 3-溴苄醛(44.10 毫升, 378.30 毫莫耳)至溶液。反應混合物於 70°C 於大氣下攪拌隔夜。當日後固體經過濾出及以甲醇(150 毫升)濕磨, 獲得產物呈淡黃色固體(27.50 克)。由母液回收 3.8 克。總產率 31.30 克(30%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz DMSO): δ 7.24 (2H, m), 7.54 (2H, m), 7.70 (m, 2H), 8.19 (1H, m), 8.37 (1H, t), 13.2 (1H, s). m/z 273 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 8.60.

2-(3-溴-苯基)-1-甲基-1H-苯并咪唑

方法 N-步驟 b- 2-(3-溴苯基)-1H-苯并咪唑(7.8 克, 28.6 毫莫耳)完全溶解於無水 THF (300 毫升), 然後分成數份添加 NaH 60% m/m (1.49 克, 37.2 毫莫耳)至該澄清黃色溶液。淺褐色懸浮液於室溫攪拌 1 小時, 然後逐滴加入甲基碘(2.5 毫升, 40.0 毫莫耳)。反應混合物於室溫攪拌隔夜。反應以水(300 毫升)淬熄及以乙酸乙酯(2×450 毫升)萃取。有機萃取物以硫酸鈉脫水, 過濾及蒸發, 獲得標題化合物呈褐黃色固體(7.4 克, 70%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz DMSO): δ 3.90 (3H, s), 7.30 (2H, m), 7.55 (1H, t), 7.64 (1H, d), 7.70 (1H, d), 7.77 (1H, m), 7.88 (1H, m), 8.05 (1H, m). $m/z=287[\text{M}+\text{H}]^+$, 停留時間 = 7.70

{1-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-4-基}-胺基甲酸第三-丁酯

方法 N-步驟 c- 於氫氣氣體下經乾燥的四頸圓底瓶內，放置 BINAP (5.85 克，9.4 毫莫耳) 及 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (1.41 克，6.3 毫莫耳)。混合物於氫氣回流下攪拌 10 分鐘然後加入 300 毫升無水甲苯。同時於另一個於氫氣氣體下乾燥之四頸圓底瓶內，放置先前溶解於 300 毫升無水甲苯之 2-(3-溴-苯基)-1-甲基-1H-苯并咪唑 (9.0 克，31.3 毫莫耳)，4-N-BOC-胺基哌啶 (8.18 克，40.7 毫莫耳) 及碳酸鉍 (50.99 克，156.5 毫莫耳)。混合物攪拌約 10 分鐘然後第一燒瓶內容物加入第二燒瓶內。反應於回流溫度攪拌隔夜。冷卻至室溫後，懸浮液於有矽藻土襯墊之古屈氏坩堝上過濾。澄清溶液於減壓下蒸發，殘餘物藉 MTBE 濕磨獲得 7.1 克 (55%) 純產物呈灰白色固體。

$^1\text{H-NMR}(\text{DMSO})$: 1.39(s, 9H); 1.49(m, 2H); 1.82(m, 2H); 2.83(m, 2H); 3.44(bs, 1H); 3.75(m, 2H); 3.87(s, 3H); 6.86(d, 1H); 7.11-7.67(m, 8H).
 $m/z=407 [\text{M}+\text{H}]^+$; 停留時間 = 8.02

1-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-4-基}胺鹽
 酸鹽

方法 N-步驟 d- 於 {1-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-4-基}-胺基甲酸第三-丁酯 (2.00 克，4.93 毫莫耳) 於二氯甲烷 (2 毫升) 及甲醇 (1 毫升) 之混合物內，加入 2 M 鹽酸於乙醚 (25 毫升) 及所得混合物於室溫攪拌隔夜。

過濾出固體，於減壓下乾燥及再度溶解於水 (50 毫升) 及以二氯甲烷 (3×10 毫升) 洗滌。於減壓下去除水獲得 1.48 克

(89%)標題化合物呈鹽酸鹽。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO): δ 1.67-1.77 (2H, m), 2.01-2.04 (2H, m), 2.95-3.00 (2H, m), 3.19-3.26 (1H, m), 3.89-3.95 (2H, m), 4.05 (3H, s), 7.36-7.44 (2H, m), 7.55-7.68 (4H, m), 7.86-7.89 (1H, m), 8.04-8.07 (1H, m), 8.41 (3H, bs). $m/z=307$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; 停留時間 = 0.17

2-乙氧基-N-{1-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-4-基}-乙醯胺

方法 N-步驟 e- 於乙氧基乙酸(0.05 毫升, 0.49 毫莫耳)於乙腈(3 毫升)之溶液內加入 CDI 作為備用溶液(0.80 克, 0.49 毫莫耳)及所得懸浮液於室溫攪拌 3 小時。加入 1-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-4-基胺鹽酸鹽(0.13 克, 0.41 毫莫耳)及 DIPEA (0.07 毫升, 0.41 毫莫耳), 所得溶液於 70°C 加熱隔夜。然後反應冷卻至室溫, 於減壓下去除溶劑。粗產物再溶解於二氯甲烷(4 毫升)及以飽和碳酸鈉溶液(2 毫升)及水(2 毫升)洗滌。有機層以硫酸鈉脫水, 過濾及於減壓下濃縮。殘餘物藉急速層析術純化(洗提劑: 二氯甲烷: 甲醇, 梯度由 100%二氯甲烷至 95%二氯甲烷: 5%甲醇)獲得 0.70 克標題化合物(44%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 1.17 (3H, t), 1.51-1.61 (2H, m), 1.96-2.00 (2H, m), 2.89-2.95 (2H, m), 3.50 (2H, q), 3.67-3.71 (2H, m), 3.81 (3H, s), 3.86 (2H, s), 3.91-4.01 (1H, m), 6.44-6.46 (1H, m), 6.99-7.01 (1H, m), 7.05-7.07 (1H, m), 7.23-7.35 (5H, m), 7.77-7.80 (1H, m). $m/z=393$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; 停留時間 = 1.67

實施例 35: 4-氟-1'-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯

基]-[1,4']聯哌啶2-(3-溴苯基)-1-甲基-1H-苯并咪唑

方法 0、0a-步驟 a- 2-(3-溴苯基)-1H-苯并咪唑(如方法 N 步驟 a 所述)(7.8 克, 28.6 毫莫耳)完全溶解於無水 THF (300 毫升), 然後分成數份添加 NaH 60% m/m (1.49 克, 37.2 毫莫耳)至澄清黃色溶液。淺褐色懸浮液於室溫攪拌 1 小時, 然後逐滴加入甲基碘(2.5 毫升, 40.0 毫莫耳)。反應混合物於室溫攪拌隔夜。反應以水(300 毫升)淬熄, 及以乙酸乙酯(2×450 毫升)萃取。有機萃取物以硫酸鎂脫水, 過濾及蒸發, 獲得 7.4 克標題化合物呈褐黃色固體(70%)。

¹H-NMR (400 MHz DMSO): δ 3.90 (3H, s), 7.30 (2H, m), 7.55 (1H, t), 7.64 (1H, d), 7.70 (1H, d), 7.77 (1H, m), 7.88 (1H, m), 8.05 (1H, m). m/z 287 (M+H)⁺; 停留時間 = 7.70.

8-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-1,4-二噁-8-吡-螺[4,5]癸烷

方法 0、0a-步驟 b- 於裝配有磁力攪拌器且於氫氣氣體下乾燥之四頸圓底瓶內, 放置 BINAP (3.7 克, 5.9 毫莫耳, 0.3 當量)及 Pd(OAc)₂ (0.9 克, 3.9 毫莫耳, 0.2 當量)且置於氫氣回流下 15 分鐘。同時, 於裝配有磁力攪拌器、回流冷凝器且於氫氣氣體下乾燥之四頸圓底瓶內, 2-(3-溴苯基)-1-甲基-1H-苯并咪唑(5.6 克, 19.5 毫莫耳, 1 當量)溶解於無水甲苯(300 毫升), 然後 1,4-二噁-8-吡螺[4.5]癸烷

(3.3 毫升, 25.4 毫莫耳, 1.3 當量), 碳酸鉍(31.8 克, 97.5 毫莫耳, 5 當量)及催化劑懸浮液添加至該溶液。反應混合物於回流溫度攪拌隔夜, 藉 LC-MS 檢查轉換率。讓懸浮液冷卻至室溫然後於帶有矽藻土襯墊之古屈氏坩堝上過濾。蒸發去除溶劑獲得 16.0 克紅褐色油, 油於二氧化矽 versafash (1 克產物/30 克二氧化矽)上藉由 Cy:MTBE=85:15 至 Cy:MTBE=15:85 洗提, 以自動急速層析術純化, 獲得 2.3 克純質產物呈黃色油(34%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz DMSO): δ 1.70-1.73 (4H, m), 3.34-3.37 (4H, m), 3.84 (3H, s), 3.90 (4H, m), 7.11-7.39 (6H, m), 7.57-7.58 (1H, m), 7.64-7.65 (1H, m). m/z 350 ($M+H$) $^+$; 停留時間 = 6.73.

1-[3-(1-甲基-1H-苯并[d]咪唑-2-基)苯基]哌啶-4-酮

方法 0、0a-步驟 c- 8-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-1,4-二噁-8-吡-螺[4,5]癸烷(2.30 克, 6.60 毫莫耳)溶解於 120 毫升 THF。溶液以氯化鈉-冰浴於 0°C 冷卻, 然後加入 6 M 鹽酸(18 毫升, 108 毫莫耳)。藉 HPLC/MS 監視反應之進行, 於室溫攪拌至轉化完成。溶液於減壓下濃縮, 然後以氫氧化鈉 2 M (80 毫升)中和及最終以乙酸乙酯(3x150 毫升)萃取。有機萃取物共同匯集, 以硫酸鎂脫水, 過濾及蒸發獲得 2 克澄清產物呈淺黃色固體(92%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz DMSO): δ 2.46(4H, t), 3.70(4H, t), 3.88(3H, s), 7.20-7.6 (8H, m). m/z 306 ($M+H$) $^+$; 停留時間 = 5.90.

2-(5-溴-2-氯苯基)-1H-苯并咪唑

方法 0、0a-步驟 d

於裝配有磁力攪拌器之一頸圓底瓶內放置 5-溴-2-氯苯甲酸(70.0 克, 297.3 毫莫耳), 鄰-伸苯基二胺(64.3 克, 594.6 毫莫耳)及甲磺酸(140 毫升)及加熱至 170°C 俾便溶解固體。系統於此溫度攪拌 5 小時然後任其達到室溫。藍色固體以氫氧化鈉 35% (200 毫升)處理, 獲得紫色懸浮液(pH 5), 經過濾及以氫氧化鈉 0.5 M (2 升)及水(2 升)洗滌。產物於減壓下乾燥(60°C), 獲得 61.6 克純質紫色固體(67%)。

m/z 307/309 ($M+H$)⁺; 停留時間=8.73。

2-(5-溴-2-氯苯基)-1H-苯并咪唑-1-羧酸第三-丁酯

方法 0、0a-步驟 e- 於裝配有磁力攪拌器之三頸圓底瓶內, 2-(5-溴-2-氯苯基)-1H-苯并咪唑(30.7 克, 99.8 毫莫耳)懸浮於 THF (1 升)。然後加入 50%氫氧化鈉(72.0 克, 598 毫莫耳)。懸浮液於室溫於攪拌下放置 1 小時。(BOC)₂O (37.0 克, 169.7 毫莫耳)溶解於 THF (200 毫升)及添加至反應混合物。反應攪拌隔夜。於減壓下蒸發去除溶劑。所得殘餘物以水(500 毫升)稀釋, 過濾及於減壓下乾燥(60°C)獲得 39.8 克褐色固體(98%)。

m/z 407/409 ($M+H$)⁺; 停留時間=10.14。

2-[2-氯-5-(1,4-二噁-8-吡-螺[4,5]癸-8-基)-苯基]-苯并咪唑-1-羧酸第三-丁酯

方法 0、0a-步驟 f- 於裝配有磁力攪拌器且於氫氣氣體下

乾燥之四頸圓底瓶內，放置 BINAP (13.8 克，22.1 毫莫耳) 及 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (3.3 克，14.7 毫莫耳) 且於氫氣下回流 15 分鐘。同時於裝配有磁力攪拌器、回流冷凝器且於氫氣氣體下乾燥之四頸圓底瓶內，2-(5-溴-2-氯苯基)-1H-苯并咪唑-1-羧酸第三-丁酯 (30.0 克，73.6 毫莫耳) 溶解於無水甲苯 (1 升)，然後 1,4-二噁-8-吡-螺[4,5]癸烷 (12.3 毫升，95.7 毫莫耳)，碳酸鉍 (119.9 克，368.0 毫莫耳) 及催化劑懸浮液添加至該溶液。反應混合物於 80°C 攪拌 30 小時，藉 LC-MS 檢查轉換率。讓懸浮液冷卻至室溫然後於帶有矽藻土襯墊之古屈氏坩堝上過濾。蒸發去除溶劑獲得 64.5 克褐色油，其未經進一步純化即用於次一步驟。

m/z 471/473 ($M+H$)⁺；停留時間 = 9.70。

1-[3-(1H-苯并[d]咪唑-2-基)-4-氯苯基]哌啶-4-酮

方法 0、0a-步驟 g- 於裝配有磁力攪拌器之四頸圓底瓶內，2-[2-氯-5-(1,4-二噁-8-吡-螺[4,5]癸-8-基)-苯基]-苯并咪唑-1-羧酸第三-丁酯 (59.5 克，93.9 毫莫耳，1 當量) 溶解於 THF (250 毫升)，然後加入 4 M 鹽酸 (1.2 升，4695 毫莫耳)。系統於室溫攪拌隔夜。褐色懸浮液經過濾，以冷水 (500 毫升) 洗滌固體，此固體為得自前一步驟之催化劑。母液於減壓下濃縮來沈澱其它固體，固體經過濾出。酸性水相 (1.7 升) 以冰-氯化鈉浴冷卻至 0°C 及然後以 4 M 氫氧化鈉 (1.8 升) 調整為鹼性。固體經過濾，以水 (600 毫升) 洗滌及

於減壓下乾燥(60°C)獲得純質 22.8 克產物呈淺灰色固體(75%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz DMSO): δ 2.45 (4H, t), 3.70(4H, t), 7.17-7.64 (7H, m), 12.85(1H, bs). m/z 426/428 ($M+H$) $^+$; 停留時間 = 6.97.

4-氟-1' -[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-[1,4']
聯吡啶

方法 0-步驟 h- 三乙醯氧基硼氫化鈉(0.10 克, 0.49 毫莫耳)添加至 1-[3-(1H-苯并[d]咪唑-2-基)-4-氯苯基]吡啶-4-酮(0.1 克, 0.33 毫莫耳)及 4-氟吡啶鹽酸鹽(0.07 克, 0.49 毫莫耳)於二氯乙烷(2.50 毫升)之混合物。反應於室溫放置 18 小時。反應以 DCM (4 毫升)稀釋, 及以碳酸鈉飽和溶液(4 毫升)洗滌。有機層經濃縮及粗產物經 SCX 卡匣(2 克)過濾(洗提劑: 首先為 10 毫升 DCM:MeOH 1:1 然後為 10 毫升 2.0 N 氨於甲醇溶液)。氨溶液經濃縮及粗產物藉急速層析術純化(洗提劑: 乙酸乙酯 2.0 N 氨於甲醇溶液, 梯度由 100%乙酸乙酯至乙酸乙酯 10:2.0 N 氨於甲醇溶液 1)獲得 0.06 克標題化合物(48%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 1.67-1.73 (2H, m), 1.86-2.06 (6H, m), 2.61-2.71 (3H, m), 2.77-2.89 (4H, m), 3.89-3.93 (5H, m), 4.61-4.77 (1H, m), 7.17-7.19 (2H, m), 7.28-7.37, (3H, m), 7.41-7.45 (1H, m), 7.54-7.56 (1H, m), 7.66-7.68 (1H, m). m/z 393 ($M+H$) $^+$; 停留時間 = 分裂峰。

實施例 36 : 1' -[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯
基]-[1,4']聯吡啶

1'-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-[1,4']聯哌啶

方法 0a-步驟 i- 1-[3-(1-甲基-1H-苯并[d]咪唑-2-基)苯基]哌啶-4-酮(0.06 克, 0.2 毫莫耳)及哌啶(0.034 克, 0.4 毫莫耳)與三乙基胺(27 微升, 0.2 毫莫耳)及分子篩(0.5 克)於甲醇(5 毫升)加熱至 40°C 16 小時。加入氰基硼氫化鈉(0.025 克, 0.4 毫莫耳)及氯化鋅(0.027 克, 0.2 毫莫耳), 反應又加熱 16 小時, 反應混合物經蒸發, 殘餘物分溶於 1 N 氫氧化鈉(2 毫升)及二氯甲烷(4 毫升)。有機層經分離, 蒸發及藉製備性 HPLC 純化。

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 1.56 (1H, bs), 1.84-1.98 (7H, m), 2.20-2.23 (2H, m), 2.89-2.94 (2H, m), 3.04 (2H, bs), 3.36-3.43 (1H, m), 3.56 (2H, bs), 3.94 (3H, s), 4.02-4.05 (2H, m), 7.23-7.26 (2H, m), 7.37-7.45 (3H, m), 7.47-7.51 (1H, m), 7.64-7.66 (1H, m), 7.71-7.73 (1H, m).

m/z 375 (M+H)⁺; 停留時間 = 分裂峰。

實施例 37 : 2-[3-(3-氟-4-咪啉-4-基-哌啶-1-基)-苯基]-1-甲基-1H-苯并咪唑

4-三甲基矽烷氧基-3,6-二氫-2H-吡啶-1-羧酸第三-丁酯

方法 P-步驟 a- 氟三甲基矽烷(1.52 毫升, 12.05 毫莫耳)及無水三乙基胺(3.42 毫升, 24.6 毫莫耳)添加至 4-酮基哌啶-1-羧酸第三-丁酯(2.0 克, 10.04 毫莫耳)於無水 DMF (20 毫升)之經攪拌之溶液內。反應於 80°C 攪拌 16 小時, 然後冷卻至室溫及以正己烷(120 毫升)稀釋。有機溶液以冷碳酸

氫鈉飽和溶液(60 毫升)洗滌，以硫酸鈉脫水及於減壓下濃縮，獲得 2.56 克標題化合物(94%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO): δ 0.00 (9H, s), 1.23 (9H, s), 1.83-1.87 (2H, m), 3.24-3.27 (2H, m), 3.60-3.61 (2H, m), 4.63 (1H, bs). m/z 272 ($M+H$) $^+$; 停留時間 = 2.78.

3-氟-4-酮基-哌啶-1-羧酸第三-丁酯

方法 P-步驟 b- Selectfluor (5.52 克，15.59 毫莫耳)於室溫於氮氣下添加至 4-三甲基矽烷氧基-3,6-二氫-2H-吡啶-1-羧酸第三-丁酯(3.84 克，14.17 毫莫耳)於無水乙腈(150 毫升)之經攪拌之溶液。75 分鐘後反應以乙酸乙酯(500 毫升)稀釋及以氯化鈉稀溶液(300 毫升)然後以鹽水(300 毫升)洗滌。有機層以硫酸鈉脫水及於減壓下濃縮。反應混合物粗產物經中性礬土藉急速層析術純化(洗提劑：環己烷：AcOEt：MeOH 梯度由環己烷：AcOEt 1:1 至環己烷：AcOEt 1:2 至 100% AcOEt 及最終 AcOEt：MeOH 95:5)獲得 2.12 克標題化合物。

3-氟-4-咪啉-4-基-哌啶-1-羧酸第三-丁酯

方法 P-步驟 c- 咪啉(0.71 毫升，8.11 毫莫耳)於氮氣下添加至 3-氟-4-酮基-哌啶-1-羧酸第三-丁酯(1.60 克，7.37 毫莫耳)於二氯乙烷(2 毫升)之經攪拌之溶液。10 分鐘後，分成數份添加三乙醯氧基硼氫化鈉(2.35 克，11.13 毫莫耳)及反應放置 3 小時。添加碳酸鈉飽和溶液(20 毫升)至反應。

有機相經分離及水性溶液以 DCM (3x10 毫升)萃取。有機層經收集，以硫酸鈉脫水及於減壓下濃縮。反應混合物粗產物藉急速層析術純化(洗提劑：環己烷：乙酸乙酯:2.0 N 氨於甲醇溶液梯度由環己烷：乙酸乙酯 2:1 至 100%乙酸乙酯及最終乙酸乙酯:2.0 N 氨於甲醇溶液 10:1)獲得 1.28 克標題化合物(57%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz CD_3OD): δ 1.45 (9H, s), 1.74-1.80 (2H, m), 2.38-2.51 (1H, m), 2.65-2.68 (4H, m), 2.71-3.04 (2H, m), 3.65-3.72 (4H, m), 4.18-4.21 (1H, m), 4.37-4.38 (1H, m), 4.91-5.03 (1H, m). m/z 289 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間=分裂峰。

4-(3-氟-哌啶-4-基)-咪啉

方法 P-步驟 d- 2.0 N 鹽酸於乙醚(15 毫升)添加至 3-氟-4-咪啉-4-基-哌啶-1-羧酸第三-丁酯(1.28 克, 4.44 毫莫耳)於 DCM (2 毫升)之溶液，所得懸浮液於室溫攪拌 4 日。沈澱經過濾及以乙醚(2x5 毫升)濕磨。加入碳酸鈉飽和溶液(10 毫升)及所得溶液於減壓下濃縮。加入乙醇(15 毫升)及過濾出沈澱。

濾液於減壓下濃縮獲得 0.71 克標題化合物(85%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz CD_3OD): δ 1.84-1.94 (2H, m), 2.47-2.60 (1H, m), 2.66-2.68 (4H, m), 2.78-2.86 (1H, m), 2.88-3.02 (1H, m), 3.23-3.28 (1H, m), 3.36-3.44 (1H, m), 3.68-3.71 (4H, m), 5.01-5.14 (1H, m). m/z 189 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 0.17.

2-[3-(3-氟-4-咪啉-4-基-哌啶-1-基)-苯基]-1-甲基-1H-苯并咪唑

方法 P-步驟 e- 4-(3-氯-哌啶-4-基)-咪啉(0.085 克, 0.45 毫莫耳), 2-(3-溴-苯基)-1-甲基-1H-苯并咪唑(述於方法 N 步驟 a、b)(0.10 克, 0.35 毫莫耳), 及碳酸鉍(10.50 克, 32.2 毫莫耳)置於氫氣氣體下之無水密封 7 毫升小瓶內及加入無水甲苯(0.4 毫升)。同時, 乙酸鉍(0.016 克, 0.07 毫莫耳)及 BINAP (0.065 克, 0.10 毫莫耳)於氮下置於另一個無水密封 7 毫升小瓶內及以無水甲苯(0.8 毫升)稀釋。約 20 分鐘後, 所得懸浮液添加至含起始物料之小瓶。

反應混合物於 85°C 加熱 24 小時然後冷卻至室溫及通過 SCX 過濾(洗提劑: 首先為 10 毫升 DCM:MeOH 1:1 然後為 10 毫升 2.0 N 氨於甲醇溶液)。氨溶液於減壓下濃縮及粗產物藉急速層析術純化(洗提劑: MeOH:AcOEt 梯度由 100% AcOEt 至 MeOH:AcOEt 1:4)獲得 0.08 克標題化合物(58%)。

¹H-NMR (400 MHz CD₃OD): δ 1.91-1.95 (1H, m), 2.01-2.11 (1H, m), 2.41-2.54 (1H, m), 2.67-2.75 (4H, m), 2.84-3.04 (2H, m), 3.68-3.76 (4H, m), 3.88 (3H, s), 3.92-3.98 (1H, m), 4.09-4.16 (1H, m), 5.06-5.19 (1H, m). m/z 395 (M+H)⁺; 停留時間 = 0.27

實施例 38: {4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-[1,4]二吡啶-1-基}-1-甲基-哌啶-3-基-甲酮

4-(4-氯-3-乙氧基羰基-苯基)-[1,4]二吡啶-1-羧酸第三-丁酯

方法 Q-步驟 a- [1,4]二吡啶-1-羧酸第三-丁酯(11.5 克, 0.057 毫莫耳), 5-溴-2-氯苯甲酸乙酯(12.5 克, 0.047

毫莫耳), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0.21 克, 1 毫莫耳), 外消旋-2, 2'-貳(二苯基膦基)-1, 1'-聯萘(BINAP) (0.88 克, 1.4 毫莫耳) 及碳酸鉍(21.5 克, 66 毫莫耳)懸浮於甲苯(200 毫升)。反應回流 16 小時然後冷卻至 20°C 。反應混合物倒入水(200 毫升)中及以乙酸乙酯(3×150 毫升)萃取。組合萃取物以食鹽水洗滌, 以硫酸鎂脫水及於減壓下濃縮獲得褐色油, 油藉急速層析術純化(洗提劑: 正己烷: 乙酸乙酯梯度由正己烷: 乙酸乙酯 4:1 至正己烷: 乙酸乙酯 1:1)獲得 17.2 克標題化合物(96%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz CDCl_3): δ 1.37-1.48 (12H, m), 1.96-2.02 (2H, m), 3.22-3.35 (2H, m), 3.50-3.64 (6H, m), 4.39 (2H, q), 6.76-6.78 (1H, m), 7.10-7.11 (1H, m), 7.23-7.26 (1H, m). m/z 383 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 ≈ 7.70 .

2-(2-氯-5-[1, 4]二吡啶-1-基-苯基)-1H-苯并咪唑

方法 Q-步驟 b- 於氮下冷卻至 0°C 之三甲基鋁(2.0 M 於甲苯溶液)(90 毫升, 180 毫莫耳)於甲苯(300 毫升)之溶液內分成數份加入苯-1, 2-二胺(6.5 克, 60 毫莫耳)。溶液於 0°C 攪拌 30 分鐘然後於 $15-20^\circ\text{C}$ 攪拌至甲烷之逸出停止。4-(4-氯-3-乙氧基羰基-苯基)-[1, 4]二吡啶-1-羧酸第三-丁酯(15.2 克, 40 毫莫耳)一次加入所得溶液內。反應加熱至回流 24 小時然後冷卻至 0°C 。小心加水(70 毫升)接著加入甲醇(700 毫升)。過濾出沈澱的固體及濾液於減壓下濃縮。沈澱以熱 $\text{DCM}:\text{MeOH}$ 1:1 (400 毫升)接著以乙酸乙酯(200

毫升)洗滌。溶液於減壓下濃縮。兩份萃取物經組合及藉急速層析術純化(洗提劑: AcOEt:MeOH:NH₃ 梯度由 100% AcOEt 至 AcOEt:MeOH:NH₃ 73:25:2)獲得 9.3 克 2-(2-氯-5-[1,4]二吡啶-1-基-苯基)-1H-苯并咪唑與 N-(2-胺基-苯基)-2-氯二吡啶-1-基-苄醯胺之混合物。

m/z 345 (M+H)⁺; 停留時間 = 3.07; m/z 327 (M+H)⁺; 停留時間 = 4.1。

2-(2-氯-5-[1,4]二吡啶-1-基-苯基)-1H-苯并咪唑

方法 Q-步驟 c- 2-(2-氯-5-[1,4]二吡啶-1-基-苯基)-1H-苯并咪唑與 N-(2-胺基-苯基)-2-氯二吡啶-1-基-苄醯胺之 3:1 混合物(10.1 克)溶解於乙酸(120 毫升),及於 55°C 加熱 16 小時。反應冷卻至 20°C 及於減壓下濃縮。所得褐色油以乙醚濕磨及乾燥。乙酸鹽溶解於 10% MeOH/DCM (100 毫升)及碳酸氫鈉 0.1 M 水溶液(200 毫升)。形成沈澱,攪拌 2 小時然後經過濾及於 60°C 乾燥獲得 7.92 克標題化合物。(二步驟共 61%)。

¹H-NMR (400 MHz DMSO): δ 2.11-2.17 (2H, m), 3.07-3.08 (2H, m), 3.26 (2H, bs), 3.60-3.63 (2H, m), 3.82-3.84 (2H, m), 7.12-7.15, (1H, m), 7.40-7.41 (1H, m), 7.54-7.56 (1H, m), 7.60-7.64 (2H, m), 7.88-7.92 (2H, m), 9.40 (2H, bs). m/z 327 (M+H)⁺; 停留時間 = 4.1.

3-{4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-[1,4]二吡啶-1-羰基}-哌啶-1-羧酸第三-丁酯

方法 Q-步驟 d- 2-(2-氯-5-[1,4]二吡啶-1-基-苯基)-1H-

苯并咪唑(0.25 克, 0.76 毫莫耳), HOBt (0.12 克, 0.86 毫莫耳), NMM (0.5 毫升, 3.9 毫莫耳), 哌啶-1,3-二羧酸 1-第三-丁酯(0.17 克, 0.76 毫莫耳), 及 EDC (0.22 克, 1.16 毫莫耳)溶解於 DCM (8.0 毫升)及於 20°C 攪拌 16 小時。加水(6.0 毫升)。有機層經分離, 於減壓下濃縮, 粗產物藉急速層析術純化(洗提劑: 100%乙酸乙酯)獲得 0.25 克標題化合物(100%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz DMSO): δ 1.28-1.51 (11H, m), 1.56-1.89 (3H, m), 2.01 (1H, m), 2.60-2.71 (3H, m), 3.41-3.76 (7H, m), 3.91-4.03 (3H, m), 6.90-6.95 (1H, m), 7.20-7.30 (3H, m), 7.34-7.37 (1H, m), 7.63 (2H, bs). m/z 536 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 1.85.

{4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-[1,4]二吡啶-1-基}-哌啶-3-基-甲酮

方法 Q-步驟 e- 3-{4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-[1,4]二吡啶-1-羧基}-哌啶-1-羧酸第三-丁酯(0.21 克, 0.39 毫莫耳)溶解於異丙醇(4 毫升)及加入乙醯氯(0.17 毫升, 2.4 毫莫耳)。反應於 40°C 加熱 16 小時, 然後冷卻至室溫及於減壓下濃縮及於 60°C 乾燥, 獲得 0.19 克標題化合物呈二鹽酸鹽(94%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz CD₃OD): δ 1.56-2.07 (6H, m), 3.04-3.25 (5H, m), 3.42-3.54 (1H, m), 3.59-3.87 (6H, m), 3.91-4.08 (1H, m), 7.14-7.20 (1H, m), 7.25-7.31 (1H, m), 7.50-7.56 (1H, m), 7.66-7.71 (2H, m), 7.87-7.92 (2H, m).

m/z 438 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間=分裂峰。

{4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-[1,4]二吡啶-1-

基}-1-甲基-哌啶-3-基-甲酮

方法 Q-步驟 f- {4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-[1,4]二吡啶-1-基}-哌啶-3-基-甲酮(0.18 克, 0.34 毫莫耳)懸浮於 DCM (8 毫升)。加入三乙基胺(0.5 毫升, 3.5 毫莫耳)獲得溶液, 接著加入乙酸(0.5 毫升)及甲醛(37%水性溶液)(0.1 毫升)。加入三乙醯氧基硼氫化鈉(0.14 克, 0.63 毫莫耳)及反應於室溫攪拌 24 小時然後於 40°C 攪拌 4 日。反應混合物濃縮至 4 毫升然後再度加入甲醛(0.1 毫升), 三乙基胺(0.5 毫升, 3.5 毫莫耳), 乙酸(0.5 毫升), 及三乙醯氧基硼氫化鈉(0.14 克, 0.63 毫莫耳), 反應於微波爐中於 100°C 加熱 20 分鐘。以氫氧化鈉 2.0 N 溶液(4 毫升)淬熄反應及攪拌 15 分鐘。有機層經分離及於減壓下濃縮。殘餘物藉急速層析術純化(洗提劑: 正己烷: AcOEt: MeOH: NH₃ 梯度由正己烷: AcOEt 1:1 至 AcOEt: MeOH: NH₃ 80:18:2)獲得 0.07 克標題化合物, 其進一步藉製備性 HPLC 純化獲得 0.02 克標題化合物(13%)。

¹H-NMR (400 MHz CD₃OD): δ 1.37-1.94 (4H, m), 1.98-2.10 (2H, m), 2.56-2.62 (3H, m), 2.68-2.80 (2H, m), 2.98-3.06 (2H, m), 3.44-4.04 (9H, m), 6.90-6.98 (1H, m), 7.14-7.21 (1H, m), 7.28-7.40 (3H, m), 7.63-7.67 (2H, m). m/z 452 (M+H)⁺; 停留時間=分裂峰。

實施例 39: 4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-[1,4]二吡啶-1-羧酸苯醯胺4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-[1,4]二吡啶-1-羧

酸苯醯胺

方法 R- 於 2-(2-氯-5-[1,4]二吡啶-1-基-苯基)-1H-苯并咪唑(方法 Q, 步驟 a、b、c)(0.10 克, 0.30 毫莫耳)於二氯甲烷(4 毫升)之溶液內加入異氰酸苯酯(0.03 毫升, 0.30 毫莫耳), 所得懸浮液於室溫攪拌 16 小時。沈澱物經過濾出, 然後藉急速層析術純化(洗提劑: 乙酸乙酯: 己烷, 1:4)獲得 0.06 克標題化合物(45%)。

¹H-NMR (400 MHz, DMSO): δ 1.89-1.95 (2H, m), 3.39-3.42 (2H, m), 3.56-3.59 (2H, m), 3.64 (4H, bs), 6.88-6.93 (2H, m), 7.16-7.24 (5H, m), 7.33-7.35 (1H, m), 7.38-7.41 (2H, m), 7.52-7.54 (1H, m), 7.67-7.69 (1H, m), 12.56 (1H, s). $m/z=446$ [M+H]⁺; 停留時間 : = 5.87

實施例 40: 4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-[1,4]二吡啶-1-羧酸(2-二甲基胺基-乙基)-醯胺

4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-[1,4]二吡啶-1-羧酸(2-二甲基胺基-乙基)-醯胺

方法 S- 於 N,N-二甲基-乙-1,2-二胺(0.85 克, 0.96 毫莫耳)及三乙基胺(0.50 毫升, 3.84 毫莫耳)於二噁咄之溶液內逐滴加入氯甲酸異丙酯(0.10 毫升, 0.96 毫莫耳), 於室溫攪拌 1 小時後, 加入 2-(2-氯-5-[1,4]二吡啶-1-基-苯基)-1H-苯并咪唑(方法 Q, 步驟 a、b、c)(0.21 克, 0.64 毫莫耳)。所得混合物於微波爐於 150°C 加熱 1 小時。然後於減壓下去除溶劑, 粗產物分溶於二氯甲烷(8 毫升)及水(2 毫升), 有機層經分離及載荷至二氧化矽管柱上進行純化(洗

提劑：EtOAc:MeOH:NH₃，梯度由 80:18:2 至 70:28:2)獲得 279 毫克標題化合物，定量產率。

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 1.97-2.00 (2H, m), 2.85 (6H, s), 2.92-2.95 (1H, m), 3.12-3.15 (1H, m), 3.41-3.46 (4H, m), 3.65-3.74 (6H, m), 6.97-7.00 (1H, m), 7.21-7.22 (1H, m), 7.38-7.41 (3H, m), 7.69-7.72 (2H, m).

m/z=441 [M+H]⁺; 停留時間 = 4.12

實施例 41：1-{4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-[1,4]二吡啶-1-基}-2-二甲基胺基-乙酮

1-{4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-[1,4]二吡啶-1-基}-2-二甲基胺基-乙酮

方法 T-步驟 a- 二甲基甘胺酸(0.78 克，0.76 毫莫耳)，N,N-二異丙基乙基胺(0.20 毫升，1.14 毫莫耳)及鄰-苯并三唑-N,N,N',N'-四甲基-脲鎗-六氟-磷酸鹽(HBTU) (0.32 克，0.84 毫莫耳)於二氯甲烷(20 毫升)之溶液於室溫攪拌 15 分鐘，然後加入 2-(2-氯-5-[1,4]二吡啶-1-基-苯基)-1H-苯并咪唑(方法 Q，步驟 a、b、c) (0.25 克，0.76 毫莫耳)。於室溫攪拌 16 小時後，去除溶劑，粗產物藉急速層析術純化(洗提劑：梯度乙酸乙酯：己烷/50:50 至乙酸乙酯：己烷：NH₃/80:18:2)獲得 0.16 克標題化合物(50%)。

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 1.93-2.04 (2H, m), 2.15 (3H, s), 2.21 (3H, s), 3.07-3.21 (2H, m), 3.45-3.51 (1H, m), 3.54-3.57 (1H, m), 3.63-3.70 (3H, m), 3.76-3.84 (3H, m), 6.90-6.95 (1H, m), 7.20-7.31 (3H, m), 7.33-7.37 (1H, m), 7.64 (2H, bs). m/z=412 [M+H]⁺; 停留時間 = 4.24

實施例 42：(2-{4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯

基]-[1,4]二吡啶-1-基}-乙基)-二甲基-胺基

(2-{4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-[1,4]二吡啶-1-基}-乙基)-二甲基-胺基

方法 T-步驟 b- 於 1-{4-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-[1,4]二吡啶-1-基}-2-二甲基胺基-乙酮(0.13 克, 0.31 毫莫耳)於四氫呋喃(4 毫升)之溶液內,加入 1 M LiAlH₄ (0.31 毫升, 0.31 毫莫耳)及所得混合物於室溫攪拌 72 小時, 然後以水(20 毫升)及 2 N 氫氧化鈉(20 毫升)淬熄。然後反應混合物傾倒通過短柱塞(硫酸鈉), 於減壓下去除溶劑及粗產物藉製備性 HPLC 純化獲得 0.03 克(25%)標題化合物。

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 1.98-2.04 (2H, m), 2.29 (6H, s), 2.53-2.56 (2H, m), 2.66-2.70 (4H, m), 2.85-2.88 (2H, m), 3.55-3.58 (2H, m), 3.61-3.63 (2H, m), 6.86-6.89 (1H, m), 7.16-7.17 (1H, m), 7.26-7.30 (2H, m), 7.32-7.35 (1H, m), 7.63 (2H, bs).

m/z=398 [M+H]⁺; 停留時間 = 4.53.

實施例 43: N,N-二甲基-2-{4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-[1,4]二吡啶-1-基}-乙醯胺

4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-[1,4]二吡啶-1-羧酸第三-丁酯

方法 U、V、W、Ab-步驟 a 於氫氣氣體下乾燥之四頸圓底瓶內放置 BINAP (5.85 克, 9.4 毫莫耳)及 Pd(OAc)₂ (1.41 克, 6.3 毫莫耳)。混合物於氫氣回流下攪拌 10 分鐘, 然後加入 300 毫升無水甲苯。同時於氫氣氣體下乾燥的另一個四

頸圓底瓶內加入 2-(3-溴苯基)-1-甲基-1H-苯并咪唑(述於方法 O、Oa 步驟 a)預先溶解於 300 毫升無水甲苯(9.0 克, 31.3 毫莫耳), 1-BOC-高哌啶(8.0 毫升, 40.7 毫莫耳)及碳酸鉍(50.99 克, 156.5 毫莫耳)。混合物攪拌約 10 分鐘然後第一燒瓶之內容物加入第二燒瓶內。反應於回流溫度攪拌隔夜。冷卻至室溫後, 懸浮液於帶有矽藻土襯墊之古屈氏坩堝上過濾。澄清溶液於減壓下蒸發及殘餘物(25.0 克)於二氧化矽 versaflash(1 克產物/30 克二氧化矽)藉由 Cy:EtOAc=9:1 至 Cy:EtOAc=1:9 洗提而以自動急速層析術純化獲得純質產物呈褐色泡沫體(5.2 克, 41%)。

¹H-NMR(d6 DMSO): 1.26(d, 9H); 1.84(m, 2H); 3.25(m, 2H); 3.61(m, 4H); 3.86(s, 3H); 6.91(dd, 1H) 7.00(t, 1H); 7.10(s, 1H); 7.27(m, 3H); 7.59(d, 1H); 7.67(d, 1H). m/z=407[M+H]⁺; 停留時間 = 8.20 min.

2-(3-[1,4]二吡啶-1-基苯基)-1-甲基-1H-苯并咪唑二鹽酸鹽

方法 U、V、W、Ab-步驟 b- 於 4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-[1,4]二吡啶-1-羧酸第三-丁酯(2.20 克, 5.61 毫莫耳)於甲醇(3 毫升)之混合物內加入 2 M 鹽酸於乙醚(10 毫升), 所得混合物於室溫攪拌 6 小時。然後於減壓下去除溶劑, 所得鹽以乙醚濕磨, 於減壓下過濾及於減壓下乾燥獲得 1.60 克(93%)標題化合物呈氯化物鹽。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO): δ 2.13-2.19 (2H, m), 3.07-3.08 (2H, m), 3.24 (2H, bs), 3.61-3.64 (2H, m), 3.84-3.87 (2H, m), 4.06 (3H, s), 7.14-7.22 (2H, m), 7.33 (1H, bs), 7.49-7.53 (1H, m), 7.62-7.68 (2H, m), 7.86-7.90 (1H, m), 8.04-8.08 (1H, m), 9.54 (2H, bs). $m/z=307[\text{M}+\text{H}]^+$; 停留時間=分裂峰。

N, N-二甲基-2-{4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-[1,4]二吡啶-1-基}-乙醯胺

方法 U-步驟 c- 2-(3-[1,4]二吡啶-1-基苯基)-1-甲基-1H-苯并咪唑(0.30 克, 0.79 毫莫耳), 2-氯-N, N-二甲基-乙醯胺(0.14 克, 1.18 毫莫耳)及三乙基胺(0.44 毫升, 3.20 毫莫耳)於二噁咄(8 毫升)之混合物於 80°C 加熱 16 小時。然後反應冷卻至室溫, 沈澱物經過濾出及有機相於減壓下蒸發。殘餘物藉急速層析術純化(洗提劑: 由 EtOAc 100%至 EtOAc:MeOH:NH₃ 89:10:1)獲得 0.11 克(34%)標題化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD₃OD): δ 1.93-2.04 (2H, m), 2.15 (3H, s), 2.21 (3H, s), 3.07-3.21 (2H, m), 3.45-3.51 (1H, m), 3.54-3.57 (1H, m), 3.63-3.70 (3H, m), 3.76-3.84 (3H, m), 6.90-6.95 (1H, m), 7.20-7.31 (3H, m), 7.33-7.37 (1H, m), 7.64 (2H, bs). $m/z=392[\text{M}+\text{H}]^+$; 停留時間 = 4.87 min.

實施例 44: 2-[3-(4-甲磺醯基-[1,4]二吡啶-1-基)-苯基]-1-甲基-1H-苯并咪唑

2-[3-(4-甲磺醯基-[1,4]二吡啶-1-基)-苯基]-1-甲基-1H-苯并咪唑

方法 V-步驟 d- 於 2-(3-[1,4]二吡啶-1-基苯基)-1-甲基-1H-苯并咪唑(0.18 克, 0.46 毫莫耳)及三乙基胺(0.32 毫

升，2.30 毫莫耳)於二氯甲烷(4 毫升)之溶液內加入甲磺醯氯(0.04 毫升，0.55 毫莫耳)。於室溫攪拌 16 小時後加水(1 毫升)，有機層以硫酸鈉脫水，過濾及於減壓下蒸發。所得粗產物藉急速層析術純化(洗提劑：乙酸乙酯)獲得 0.10 克(54%)標題化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO): δ 1.87-1.91 (2H, m), 2.81 (3H, s), 3.19-3.22 (2H, m), 3.42-3.45 (2H, m), 3.63-3.66 (2H, m), 3.69-3.71 (2H, m), 3.84 (3H, s), 6.91-6.94 (1H, m), 7.00-7.02 (1H, m), 7.09-7.10 (1H, m), 7.20-7.29 (2H, m), 7.32-7.36 (1H, m), 7.57-7.59 (1H, m), 7.65-7.66 (1H, m). $m/z=385$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; 停留時間 = 5.49 min.

實施例 45：{4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-[1,4]二吡啶-1-基}-(4-甲基-哌啶-1-基)-甲酮
{4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-[1,4]二吡啶-1-基}-(4-甲基-哌啶-1-基)-甲酮

方法 W-步驟 e- 於三光氣(0.41 克，0.13 毫莫耳)於二氯甲烷(2 毫升)之溶液內加入 2-(3-[1,4]二吡啶-1-基苯基)-1-甲基-1H-苯并咪唑二鹽酸鹽(0.14 克，0.37 毫莫耳)及 DIPEA (0.11 毫升，0.66 毫莫耳)於二氯甲烷(2 毫升)。於室溫攪拌 15 分鐘後加入 N-甲基-哌啶(0.04 毫升，0.44 毫莫耳)及 DIPEA (0.04 毫升，0.22 毫莫耳)於二氯甲烷(1.5 毫升)之溶液。所得懸浮液於室溫攪拌 10 分鐘。混合物傾倒至飽和碳酸氫鈉溶液(25 毫升)與二氯甲烷(25 毫升)之混合物上，有機層以硫酸鈉脫水，過濾及於減壓下濃縮，獲得殘

餘物，殘餘物藉製備性 HPLC 純化獲得 20 毫克(13%)標題化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 2.02-2.13 (2H, m), 2.89 (3H, s), 3.02-3.58 (10H, m), 3.67-3.72 (4H, m), 3.84-3.86 (2H, m), 4.10 (3H, s), 7.08-7.20 (3H, m), 7.51-7.55 (1H, m), 7.63-7.69 (2H, m), 7.82-7.93 (2H, m).

$m/z=433$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; 停留時間 = 4.75 min.

實施例 46 : 1-{4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-[1,4]二吡啶-1-基}-2-哌啶-1-基-乙酮

1-{4-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-[1,4]二吡啶-1-基}-2-哌啶-1-基-乙酮

方法 Ab-步驟 f- 哌啶-1-基-乙酸(0.12 克, 0.86 毫莫耳)及 1,1-羰基二咪唑(0.14 克, 0.86 毫莫耳)於乙腈(3 毫升)之溶液於室溫攪拌 4 小時，然後加入 2-(3-[1,4]二吡啶-1-基苯基)-1-甲基-1H-苯并咪唑二鹽酸鹽(0.26 克, 0.86 毫莫耳)及三乙基胺(0.24 毫升, 1.71 毫莫耳)於乙腈(2 毫升)之溶液。所得懸浮液於 70°C 加熱隔夜，然後冷卻至室溫及於減壓下去除溶劑。所得殘餘物以二氯甲烷(10 毫升)稀釋，以水(2×3 毫升)洗滌及有機層以硫酸鈉脫水，過濾及於減壓下蒸發。殘餘物藉急速層析術純化(洗提劑：二氯甲烷：甲醇，梯度由 100%二氯甲烷至 95%二氯甲烷：5%甲醇)獲得 0.12 克(32%)標題化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO): δ 1.21-1.46 (7H, m), 1.83-1.97 (2H, m), 2.21-2.31 (4H, m), 2.95-3.02 (2H, m), 3.27-3.30 (2H, m), 3.48-3.70 (5H, m), 3.84-3.85 (3H, m), 6.88-7.01 (2H, m), 7.06-7.11 (1H, m), 7.20-7.35 (3H, m), 7.57-7.61 (1H, m), 7.63-7.66 (1H, m). $m/z=432$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; 停留時間 = 4.64 min.

實施例 47：{1-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-3-基}-(4-甲基-哌啶-1-基)-甲酮

1-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-3-羧酸乙酯

方法 X-步驟 a- 哌啶甲酸乙酯(0.55 克, 3.48 毫莫耳), 2-(3-溴苯基)-1-甲基-1H-苯并咪唑(述於方法 0、0a 步驟 a) (0.50 克, 1.74 毫莫耳), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0.008 克, 0.035 毫莫耳), 外消旋-2, 2'-貳(二苯基磷基)-1, 1'-聯萘(BINAP) (0.78 克, 0.052 毫莫耳)及碳酸鉍(0.78 克, 2.08 毫莫耳)懸浮於甲苯(20 毫升)及以氮氣除氣。反應於微波爐於 150°C 加熱 30 分鐘。反應傾倒入水(200 毫升)中及以乙酸乙酯(100 毫升)萃取。有機層經收集及於減壓下濃縮。反應混合物粗產物藉急速層析術純化(洗提劑：正己烷：乙酸乙酯梯度由 100%正己烷至正己烷：乙酸乙酯 7:3)獲得 0.4 克標題化合物(63%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz CDCl_3): δ 1.28 (3H, s), 1.66-1.77 (2H, m), 1.81-1.89 (1H, m), 2.04-2.07 (1H, m), 2.66-2.73 (1H, m), 2.89-2.96 (1H, m), 3.10-3.16 (1H, m), 3.58-3.62 (1H, m), 3.80-3.84 (1H, m), 3.88 (3H, s),

4.15-4.21 (2H, m), 7.09-7.12 (2H, m), 7.31-7.42 (5H, m), 7.83-7.86 (1H, m).

1-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-3-羧酸

方法 X-步驟 b- 1-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-3-羧酸乙酯(2.0 克, 5.51 毫莫耳)溶解於甲醇:水 5:2 (35 毫升)。加入氫氧化鈉(0.44 克, 11 毫莫耳)及反應於 40°C 加熱 3 小時。反應混合物於減壓下濃縮, 攝取於水中(30 毫升)及以乙酸乙酯(30 毫升)洗滌。水層以濃鹽酸酸化至 pH 5.5。白色固體經過濾出, 以水(20 毫升)及以正己烷(20 毫升)濕磨獲得 1.60 克標題化合物(87%)。

¹H-NMR (400 MHz CD₃OD): δ 1.68-1.77 (2H, m), 1.83-1.88 (1H, m), 2.01-2.06 (1H, m), 2.64-2.71 (1H, m), 2.92-2.99 (1H, m), 3.12-3.17 (1H, m), 3.57-3.60 (1H, m), 3.77-3.81 (1H, m), 3.90 (3H, s), 7.18-7.21 (2H, m), 7.29-7.38 (3H, m), 7.42-7.46 (1H, m), 7.56-7.58 (1H, m), 7.67-7.69 (1H, m). m/z 336 (M+H)⁺; 停留時間 := 3.65.

{1-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-3-基}-(4-甲基-哌啶-1-基)-甲酮

方法 X-步驟 c- 1-[3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-苯基]-哌啶-3-羧酸(0.10 克, 0.30 毫莫耳)添加至二異丙基乙基胺(DIPEA)(89 微升, 0.36 毫莫耳), HBTU (0.12 克, 0.33 毫莫耳), 及 N-甲基-哌啶(0.04 克, 0.36 毫莫耳)於二氯甲烷(4 毫升)之經攪拌之溶液內。反應於 35°C 攪拌隔夜及於減壓下濃縮。反應混合物粗產物經 NH₂ 管柱藉急速層析術純化(洗提劑: 正己烷: 乙酸乙酯梯度由 100%正己烷至 100%乙酸

乙酯)獲得 0.055 克標題化合物(44%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz CD_3OD): δ 1.59-1.69 (1H, m), 1.74-1.86 (2H, m), 1.93-1.96 (1H, m), 2.35 (3H, s), 2.40-2.61 (4H, m), 2.79-2.86 (1H, m), 2.94-3.06 (2H, m), 3.60-3.66 (4H, m), 3.80-3.85 (2H, m), 3.89 (s, 3H), 7.16-7.19 (2H, m), 7.28-7.36 (3H, m), 7.42-7.46 (1H, m), 7.54-7.57 (1H, m), 7.66-7.68 (1H, m). m/z 418 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 4.75.

實施例 48: {1-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-哌啶-4-基}-(4-甲基-哌啶-1-基)-甲酮
2-[2-氯-5-(4-乙氧基羰基-哌啶-1-基)-苯基]-苯并咪唑-1-羧酸第三-丁酯

方法 Y、Z-步驟 a- 異哌啶甲酸乙酯(1.54 克, 9.8 毫莫耳), 2-(5-溴-2-氯苯基)-1H-苯并咪唑-1-羧酸第三-丁酯(述於方法 0、0a, 步驟 d、e)(2.0 克, 4.9 毫莫耳), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0.22 克, 0.98 毫莫耳), 外消旋-2,2'-貳(二苯基膦基)-1,1'-聯萘(BINAP) (0.90 克, 1.47 毫莫耳)及碳酸鉍(8.0 克, 24.5 毫莫耳)懸浮於甲苯(40 毫升)及以氮氣除氣。反應回流至起始物料完全耗盡。反應混合物經過濾出, 以水(200 毫升)洗滌。有機層以乙酸乙酯(100 毫升)萃取及於減壓下濃縮。有機層經收集及於減壓下濃縮。反應混合物粗產物藉急速層析術純化(洗提劑: 正己烷: 乙酸乙酯梯度由 100%正己烷至正己烷: 乙酸乙酯 1:1)獲得 1.6 克標題化合物(67%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz CDCl_3): δ 1.28 (3H, t), 1.40 (9H, s), 1.83-1.94 (2H, m), 2.01-2.09 (2H, m), 2.42-2.49 (1H, m), 2.82-2.88 (2H, m), 3.63-3.68 (2H, m), 4.16 (2H, q), 7.00 (1H, bs), 7.11 (1H, bs), 7.29-7.33 (1H, m), 7.37-7.45 (2H, m), 7.80-7.82 (1H, m), 8.11-8.13 (1H, m). m/z 484 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$;

停留時間 = 8.69.

1-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-哌啶-4-羧酸乙酯

方法 Y、Z-步驟 b- 2-[2-氯-5-(4-乙氧基羰基-哌啶-1-基)-苯基]-苯并咪唑-1-羧酸第三-丁酯(1.98 克, 4.1 毫莫耳)溶解於異丙醇(50 毫升)。逐滴加入乙醯氯(2.1 克, 28.7 毫莫耳)及反應混合物於 40°C 加熱至不再殘留起始物料。反應於減壓下濃縮獲得 2.0 克標題化合物(100%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz DMSO): δ 1.18 (3H, t), 1.60-1.70 (2H, m), 1.89-1.93 (2H, m), 2.53-2.63 (1H, m), 2.92-2.98 (2H, m), 3.79-3.82 (2H, m), 4.07 (2H, q), 7.29-7.32 (1H, m), 7.53-7.64 (4H, m), 7.86-7.91 (2H, m). m/z 384 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 6.59.

1-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-哌啶-4-羧酸

方法 Y、Z-步驟 c- 1-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-哌啶-4-羧酸乙酯(2.0 克, 5.2 毫莫耳)溶解於甲醇:水 3:2 (50 毫升)及加入氫氧化鈉(0.41 克, 10.3 毫莫耳)。反應於 40°C 攪拌至起始物料完全耗盡。反應混合物於減壓下濃縮, 攝取於水中(30 毫升)及以乙酸乙酯(30 毫升)洗滌。水層以濃鹽酸中和, 白色固體經過濾出, 以水(20 毫升)及以乙醚(20 毫升)洗滌獲得 1.2 克標題化合物(82%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz DMSO): δ 1.59-1.69 (2H, m), 1.88-1.92 (2H, m), 2.36-2.43 (1H, m), 2.81-2.87 (2H, m), 3.69-3.72 (2H, m), 7.07-7.10 (1H, m), 7.19-7.23 (2H, m), 7.37-7.40 (2H, m), 7.61 (2H, bs). m/z 356 ($M+H$) $^+$;

停留時間 = 3.66.

{1-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-哌啶-4-基}-(4-甲基-哌啶-1-基)-甲酮

方法 Y-步驟 d- 如方法 X-步驟 c 所述合成但始於 1-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-哌啶-4-羧酸 (0.1 克, 0.28 毫莫耳) 及 1-甲基-哌啶 (37 微升, 0.34 毫莫耳)。獲得 30 毫克 (24%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz CD_3OD): δ 1.78-1.90 (4H, m), 2.32 (3H, s), 2.41-2.50 (4H, m), 2.82-2.89 (3H, m), 3.61-3.66 (4H, m), 3.82-3.85 (2H, m), 7.09-7.12 (1H, m), 7.26-7.30 (2H, m), 7.39-7.41 (2H, m), 7.62-7.64 (2H, m).

m/z 438 ($M+H$) $^+$; 停留時間 = 4.74.

實施例 49: {1-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-哌啶-4-基}-哌啶-1-基-甲酮鹽酸鹽

4-{1-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-哌啶-4-羧基}-哌啶-1-羧酸第三-丁酯

方法 Z-步驟 e- 如方法 X-步驟 c 所述合成但始於 1-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-哌啶-4-羧酸 (0.1 克, 0.28 毫莫耳) 及 哌啶-1-羧酸第三-丁酯 (0.06 克, 0.34 毫莫耳)。(72%)

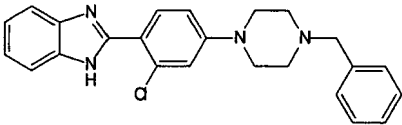
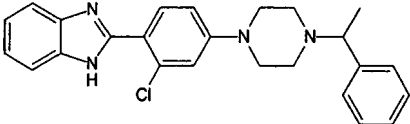
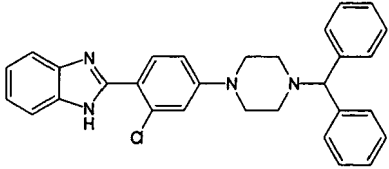
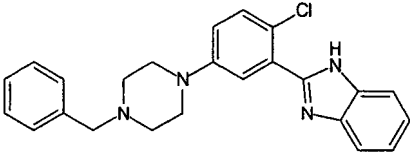
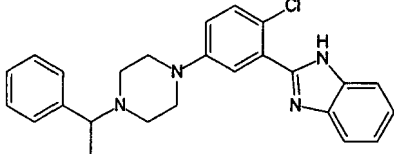
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz CD_3OD): δ 1.47 (9H, s), 1.90-1.91 (4H, m), 2.84-2.90 (3H, m), 3.41-3.63 (8H, m), 3.83-3.88 (2H, m), 7.10-7.13 (1H, m), 7.26-7.31 (2H, m), 7.39-7.41 (2H, m), 7.63 (2H, bs). m/z 524 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 6.32.

{1-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-哌啶-4-基}-哌啶-1-基-甲酮

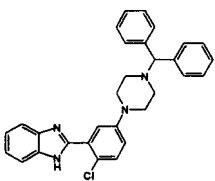
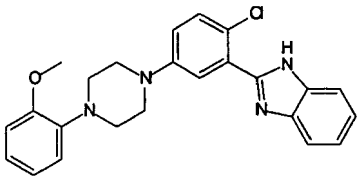
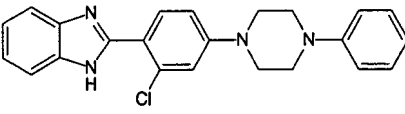
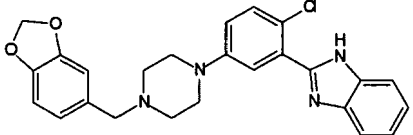
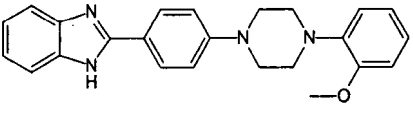
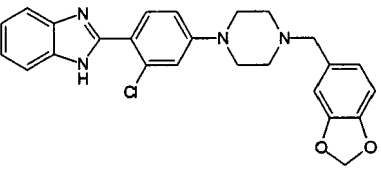
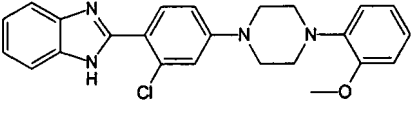
方法 Z-步驟 f- 4-{1-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯-苯基]-哌啶-4-羰基}-哌啶-1-羧酸第三-丁酯(0.05 克, 0.11 毫莫耳)懸浮於異丙醇(4 毫升)。逐滴加入乙醯氯(55 微升, 0.77 毫莫耳)及反應混合物加熱至 40°C 至不再殘留起始物料。反應於減壓下濃縮獲得 0.05 克標題化合物(100%)。

m/z 424 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 停留時間 = 4.10。

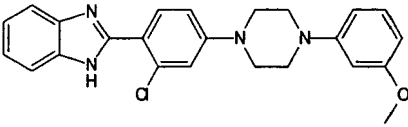
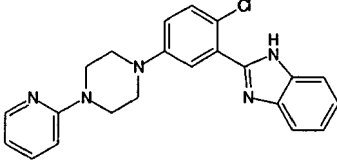
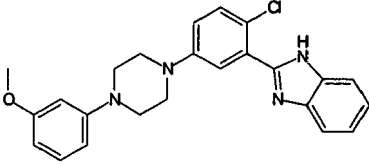
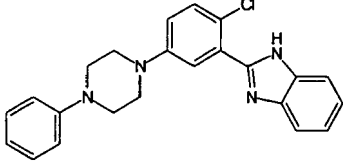
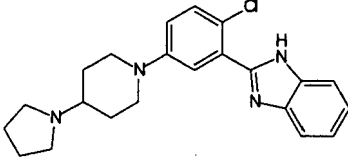
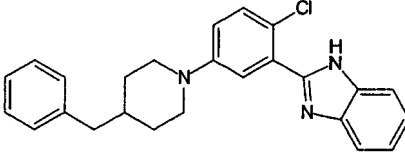
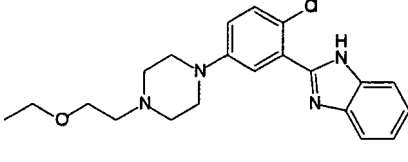
表 1 顯示所合成之化合物之選擇, 該等化合物係根據表中第三欄指示且以前文實施例 1-49 之合成詳細討論之方法製備。

實施例	結構式	方法	M+H	停留時間
50		A	403	1.30
51		A	417	1.38
52		A	479	2.28
53		A	403	1.44
54		A	417	1.58

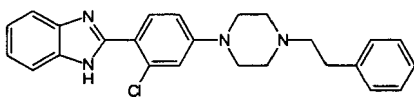
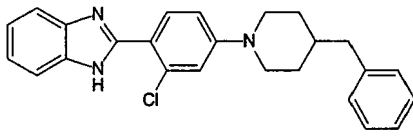
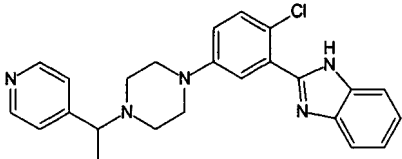
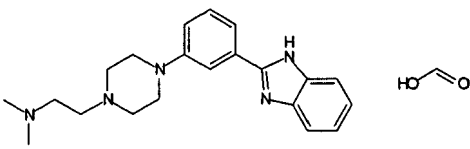
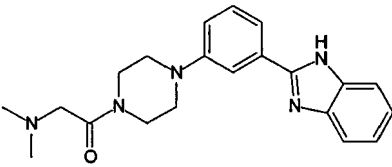
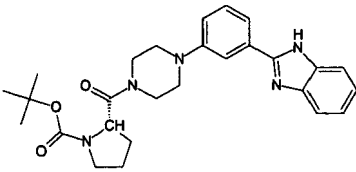
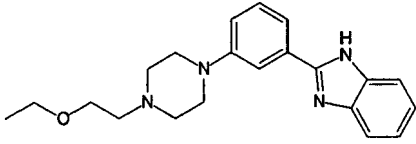
(待續)

55		A	479	2.59
56		A	419	2.66
57		A	389	2.61
58		A	447	1.56
59		A	384	2.12
60		A	447	1.38
61		A	419	2.44

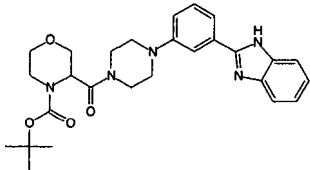
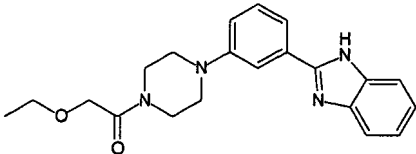
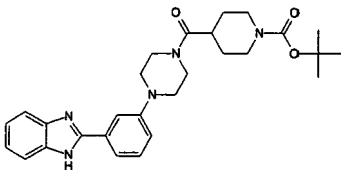
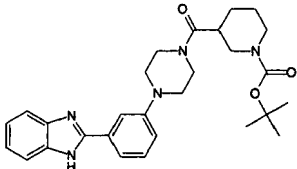
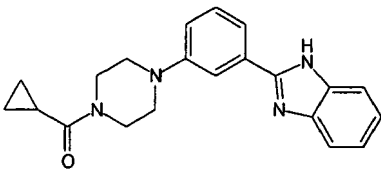
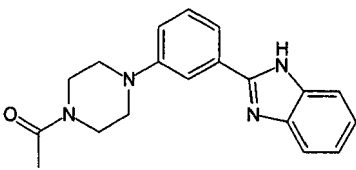
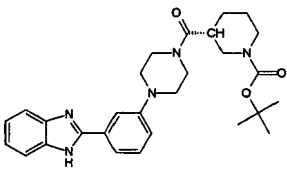
(待續)

62		A	419	2.62
63		A	390	1.44
64		A	419	3.03
65		A	389	2.93
66		A	381	1.07
67		A	402	3.52
68		A	385	1.17

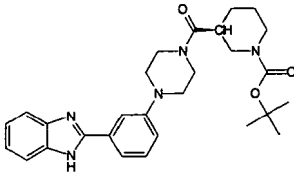
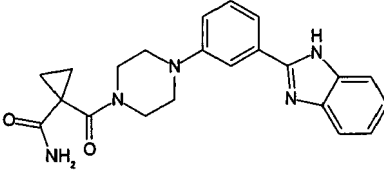
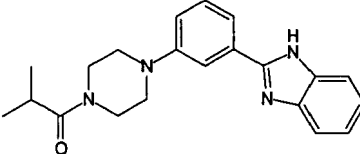
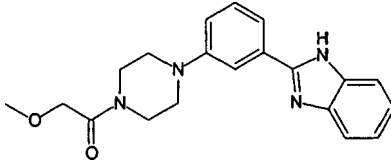
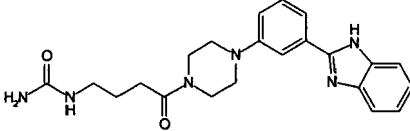
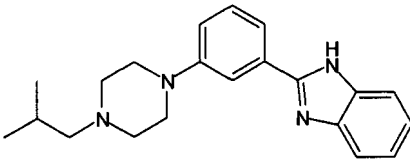
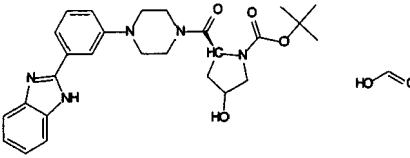
(待續)

69		A	417	1.47
70		A	402	3.13
71		A	418	1.02
72		A	350	溶劑峰
73		B	364	0.79 分裂峰
74		B	476	2.36
75		B	351	1.04 分裂峰

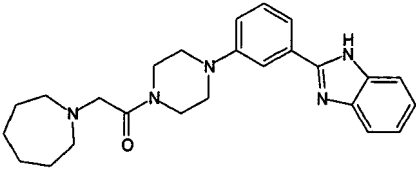
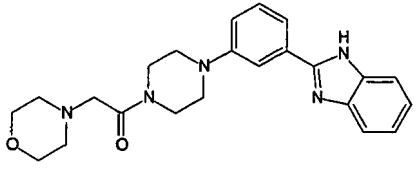
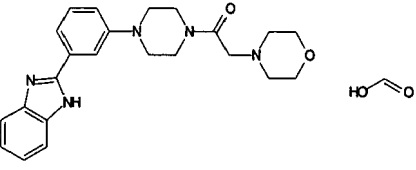
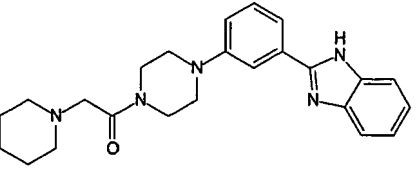
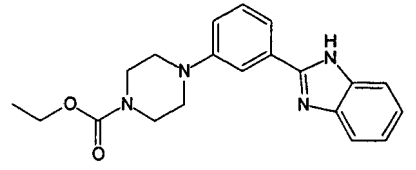
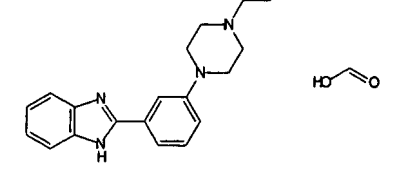
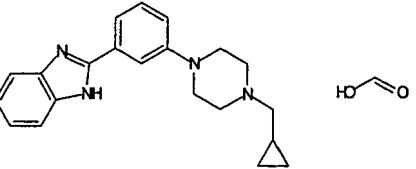
(待續)

76		B	492	2.33
77		B	365	1.79
78		B	490	2.53
79		B	490	2.58
80		B	347	1.83
81		B	321	1.53
82		B	490	2.60

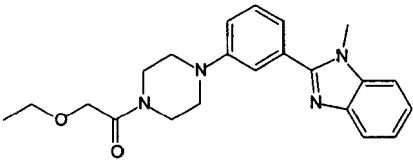
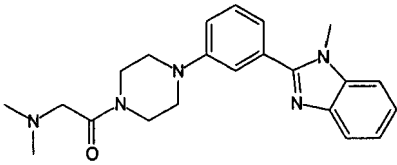
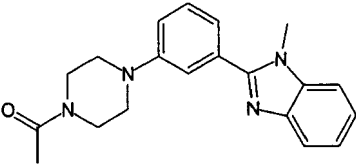
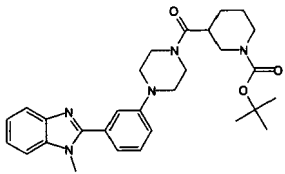
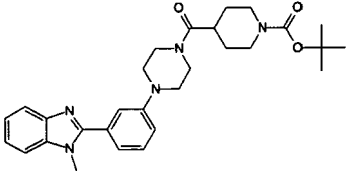
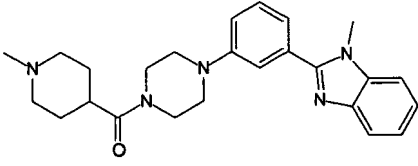
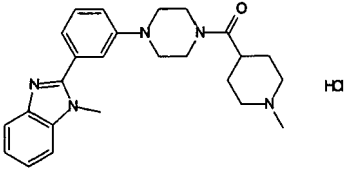
(待續)

83		B	490	2.60
84		B	390	1.55
85		B	349	1.82
86		B	351	1.62
87		B	407	1.45 分裂峰
88		B	335	1.00 分裂峰
89		B	492	1.95

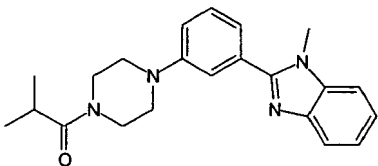
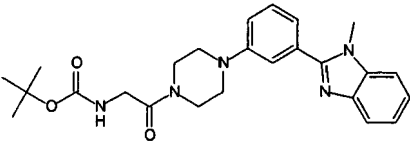
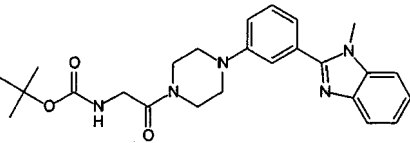
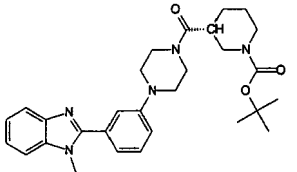
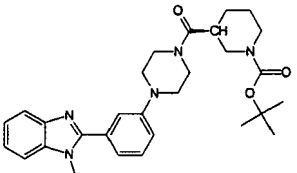
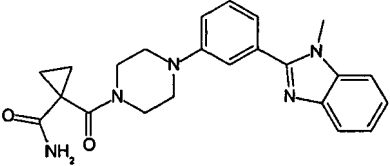
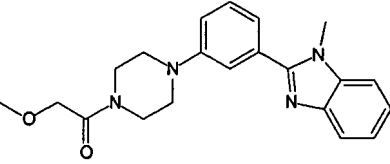
(待續)

90		B	418	1.28 分裂峰
91		B	406	0.83 分裂峰
92		B	406	0.88 分裂峰
93		B	404	1.10 分裂峰
94		B	351	2.04
95		B	307	0.54 分裂峰
96		B	333	0.89 分裂峰

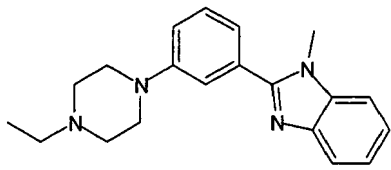
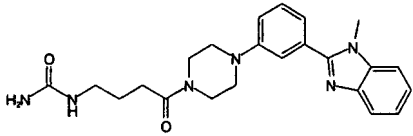
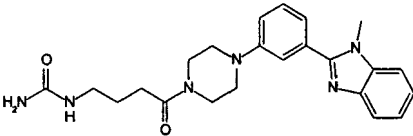
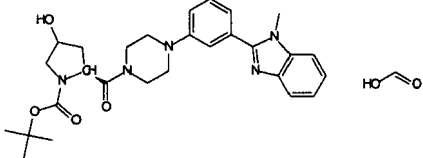
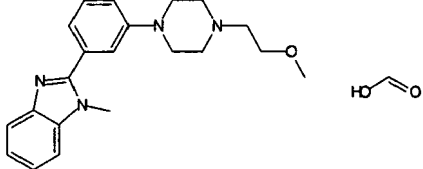
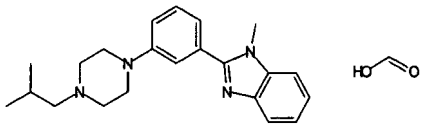
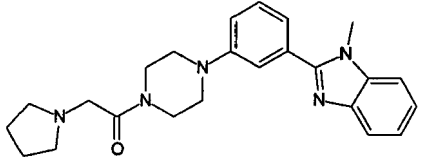
(待續)

97		C	379	1.71
98		C	378	0.64 分裂峰
99		C	335	1.47
100		C	504	2.55
101		C	504	2.50
102		C	418	0.95 分裂峰
103		C	418	0.70 分裂峰

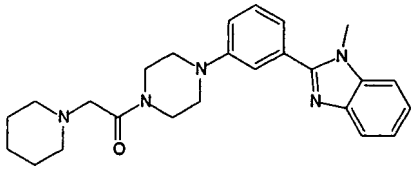
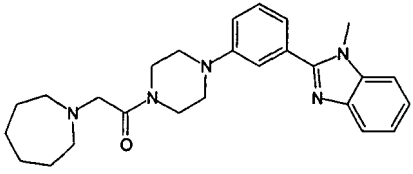
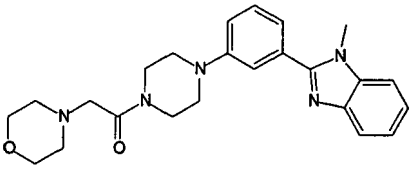
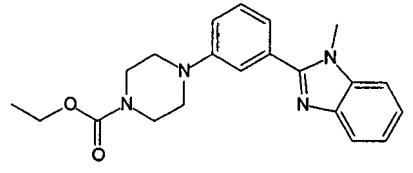
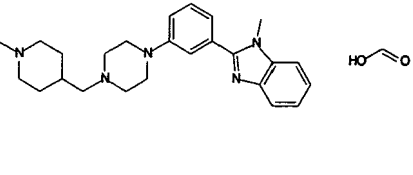
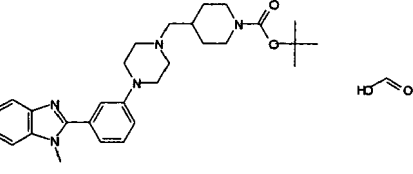
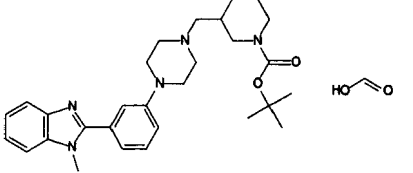
(待續)

104		C	363	1.83
105		C	450	2.10
106		C	450	2.10
107		C	504	2.57
108		C	504	2.57
109		C	404	1.50
110		C	365	1.50

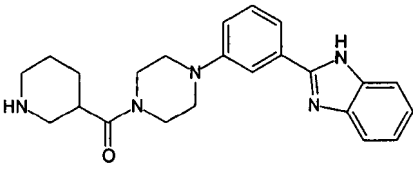
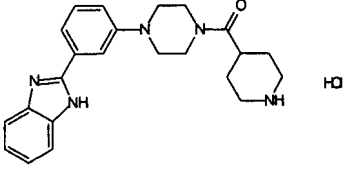
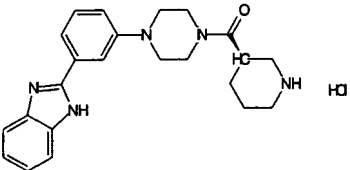
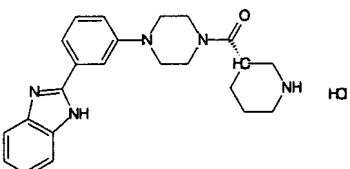
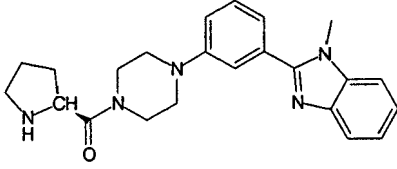
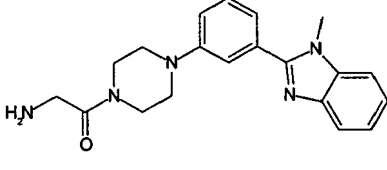
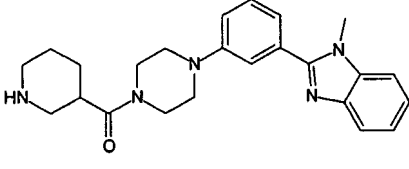
(待續)

111		C	321	溶劑峰
112		C	421	1.39 分裂峰
113		C	421	1.39 分裂峰
114		C	506	2.17
115		C	351	0.44 分裂峰
116		C	349	0.84 分裂峰
117		C	404	0.93 分裂峰

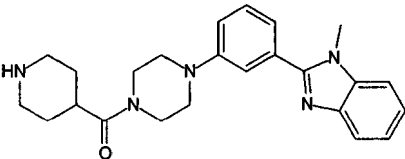
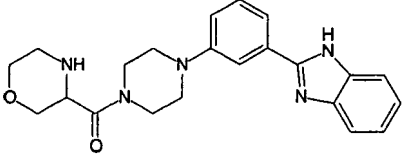
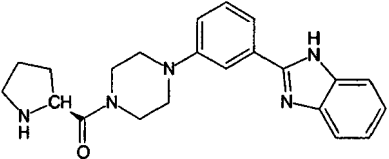
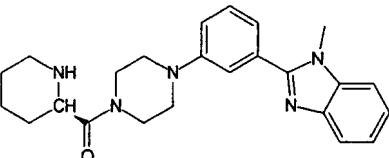
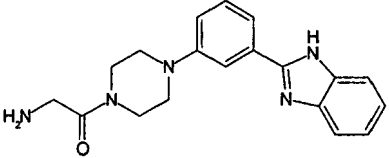
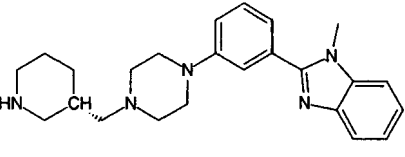
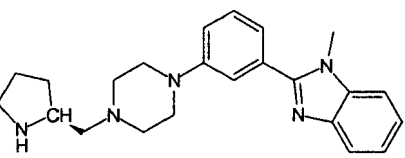
(待續)

118		C	418	1.02 分裂峰
119		C	432	1.17 分裂峰
120		C	420	0.58 分裂峰
121		C	365	1.99
122		C	404	溶劑峰
123		C	490	1.49
124		C	490	1.59

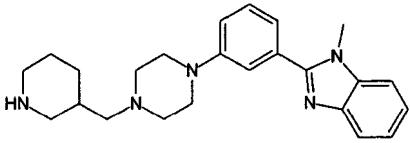
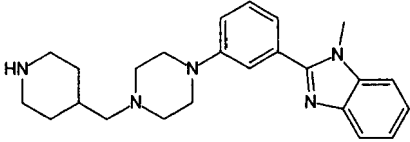
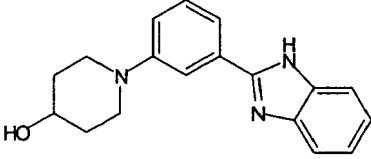
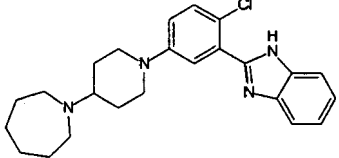
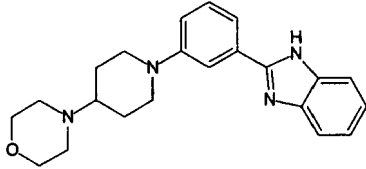
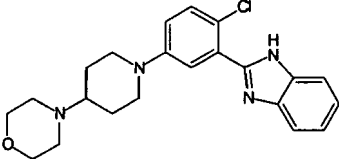
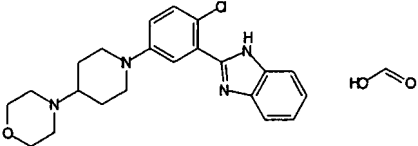
(待續)

125		D	390	1.12 分裂峰
126		D	390	1.07 分裂峰
127		D	390	1.10 分裂峰
128		D	390	1.12 分裂峰
129		D	390	0.80 分裂峰
130		D	350	0.37 分裂峰
131		D	404	0.87 分裂峰

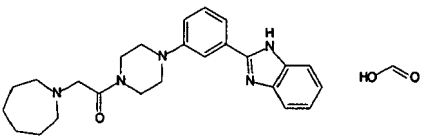
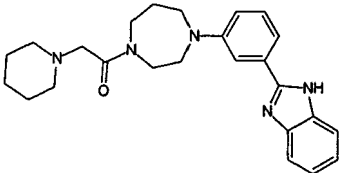
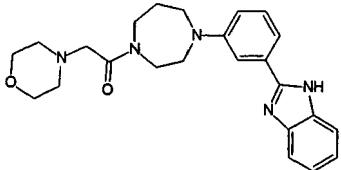
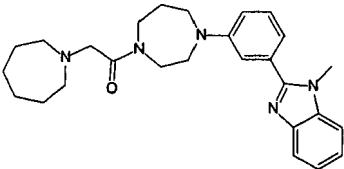
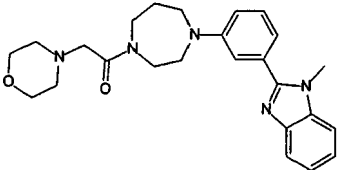
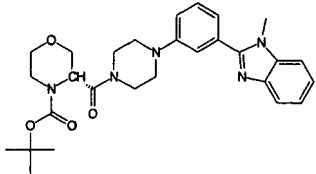
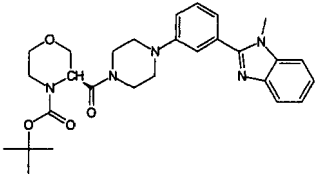
(待續)

132		D	404	0.79 分裂峰
133		D	392	0.87 分裂峰
134		D	376	1.00
135		D	404	1.00 分裂峰
136		D	336	0.64 分裂峰
137		E	390	溶劑峰
138		E	376	0.49 分裂峰

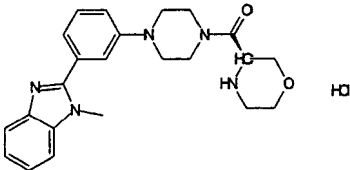
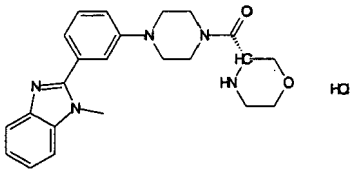
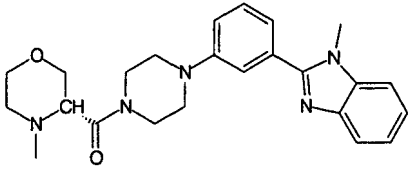
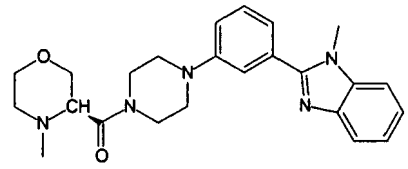
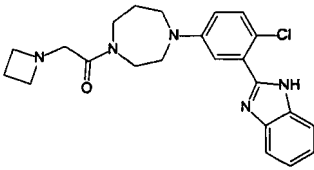
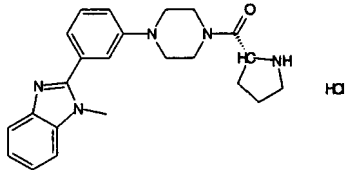
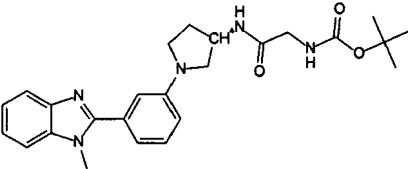
(待續)

139		E	390	溶劑峰
140		E	390	溶劑峰
141		G	294	1.29 分裂峰
142		H	409	1.29 分裂峰
143		H	363	0.72 分裂峰
144		H	397	0.94 分裂峰
145		H	397	0.92 分裂峰

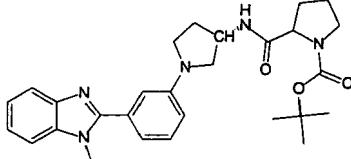
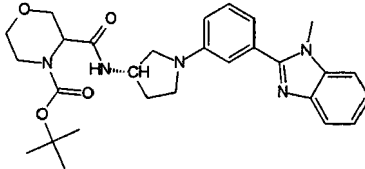
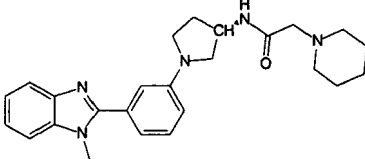
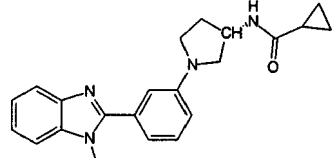
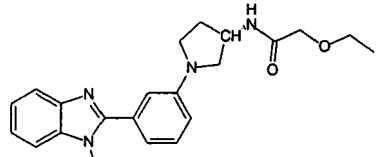
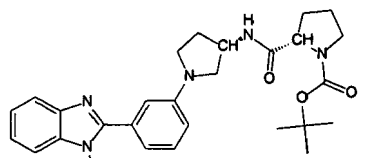
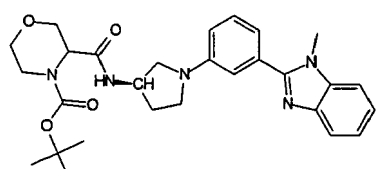
(待續)

146		B	418	1.30
147		B	418	4.49
148		B	420	4.2
149		Ab	446	4.94
150		Ab	434	4.34
151		D	506	2.18
152		D	506	2.17

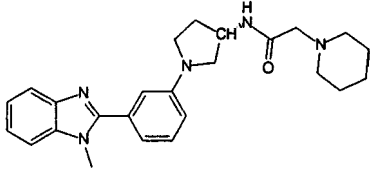
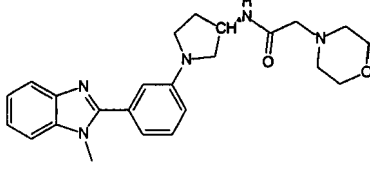
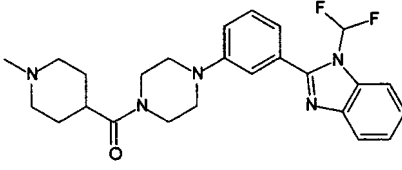
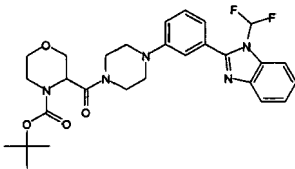
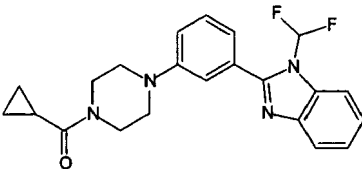
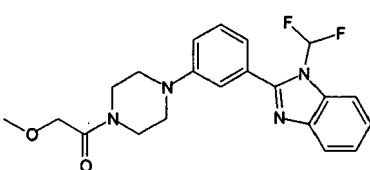
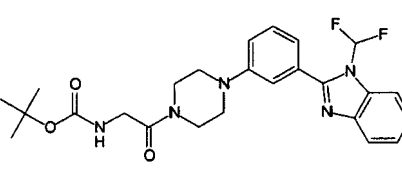
(待續)

153		D	406	4.04
154		D	406	4.04
155		D	420	4.14
156		D	420	4.19
157		T	424	4.2
158		D	390	4.13
159		N	450	2

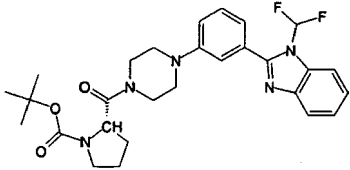
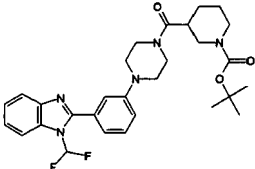
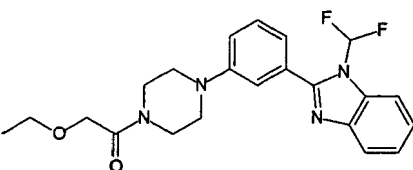
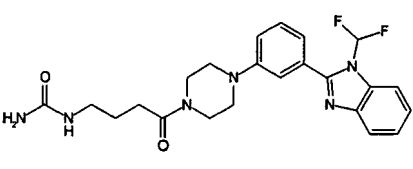
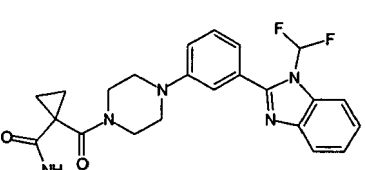
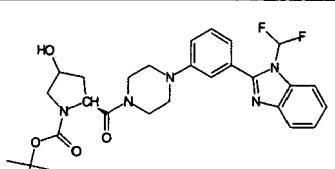
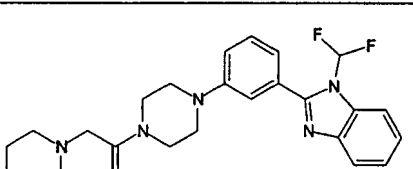
(待續)

160		N	490	2.18
161		N	506	2.2
162		N	418	1.08
163		N	361	1.72
164		N	379	1.77
165		N	490	2.18
166		N	506	2.2

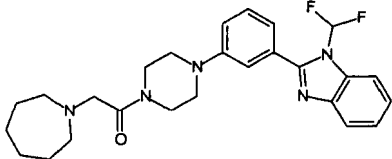
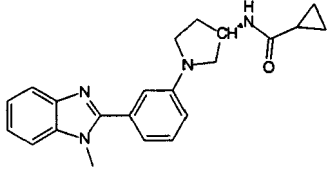
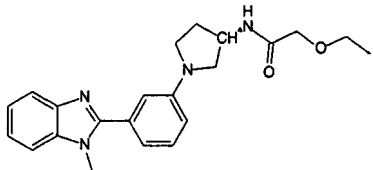
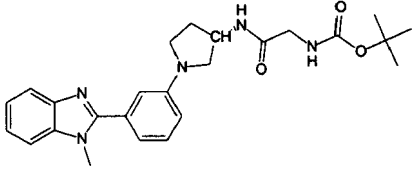
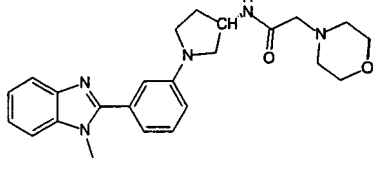
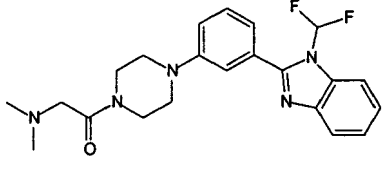
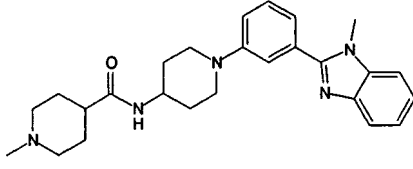
(待續)

167		N	418	1.12
168		N	418	0.98
169		K	454	2.02
170		K	542	3.98
171		K	397	3.57
172		K	401	3.18
173		K	486	3.85

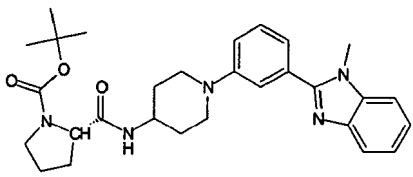
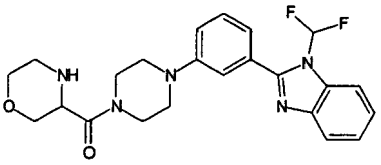
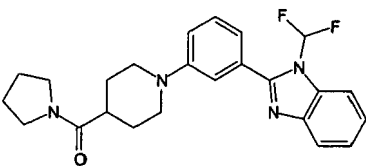
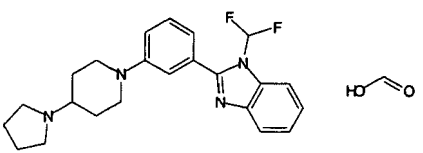
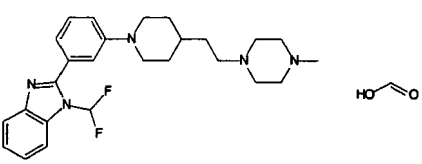
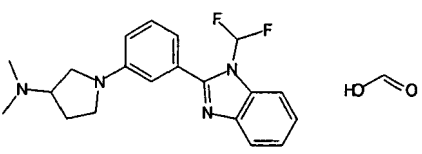
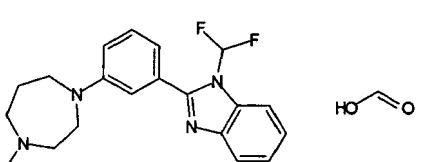
(待續)

174		K	526	4
175		K	540	4.32
176		K	415	3.42
177		K	457	2.88
178		K	440	2.98
179		K	542	3.47
180		K	454	2.08

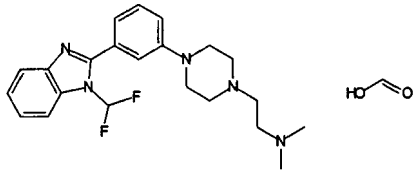
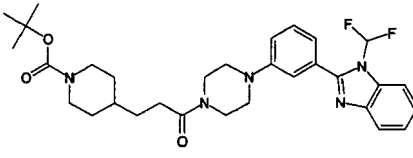
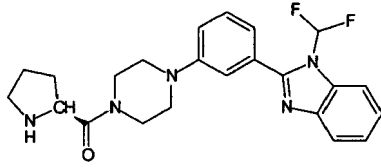
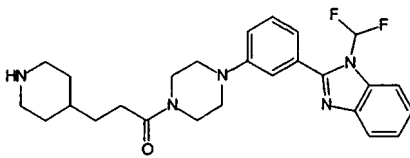
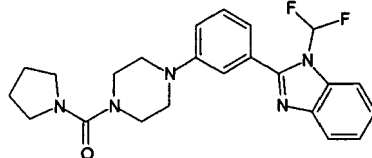
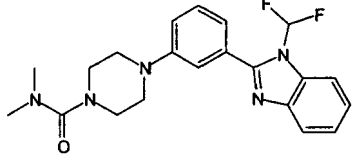
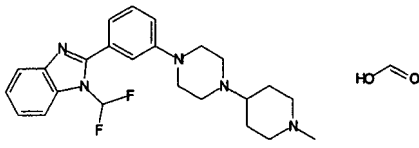
(待續)

181		K	468	2.12
182		N	361	1.73
183		N	379	1.75
184		N	450	2
185		N	420	0.98
186		K	414	1.97
187		N	432	4.42

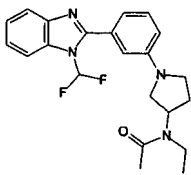
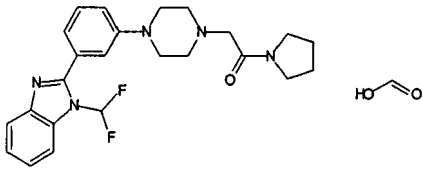
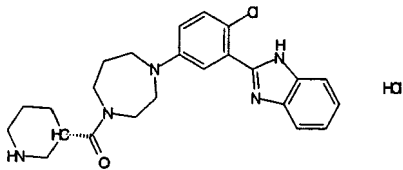
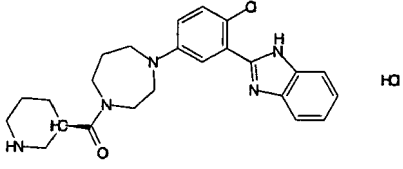
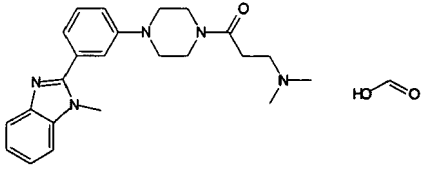
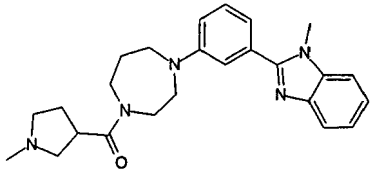
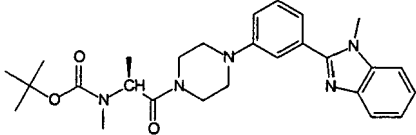
(待續)

188		N	504	2.17
189		K	442	1.97
190		J	425	3.37
191		J	397	1.98
192		J	454	1.57
193		J	357	1.9
194		J	357	1.92

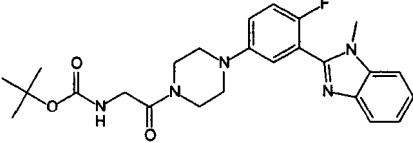
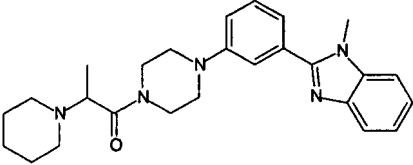
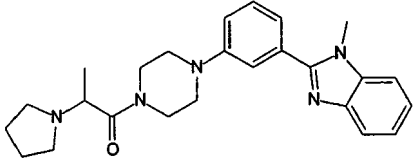
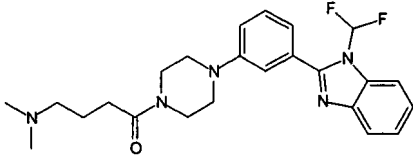
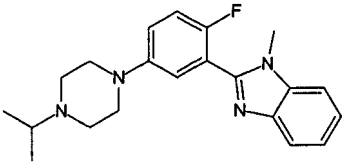
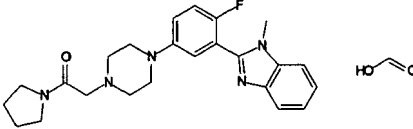
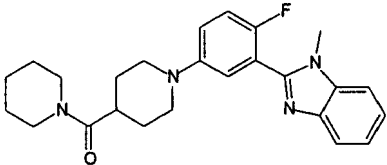
(待續)

195		J	400	1.55
196		K	568	4.52
197		K	426	2.12
198		K	468	2.2
199		J	426	3.75
200		J	400	3.45
201		J	426	1.45

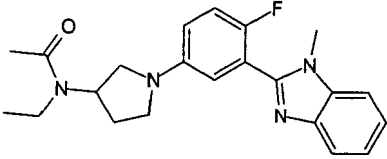
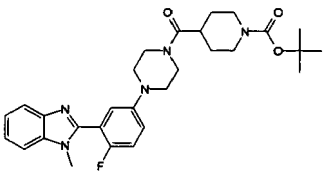
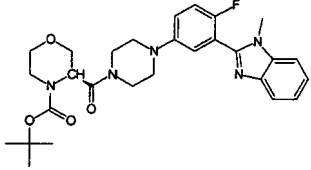
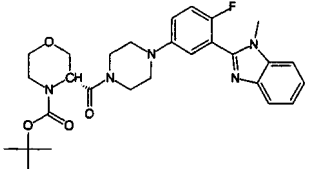
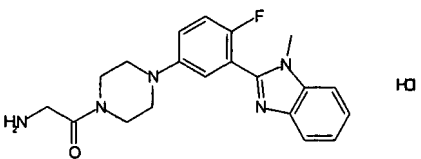
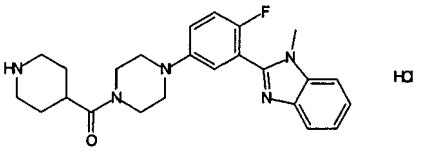
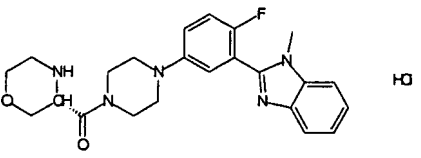
(待續)

202		J	399	3.72
203		J	440	2.08
204		Q	438	1.32
205		Q	438	1.27
206		C	399	0.73
207		Q	418	4.17
208		D	478	2.48

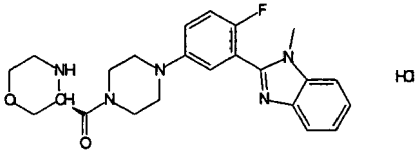
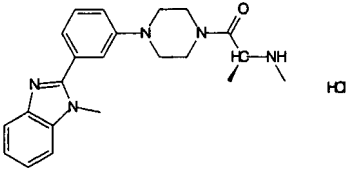
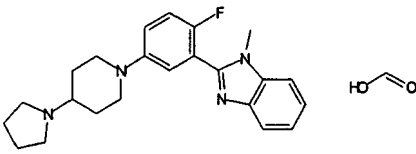
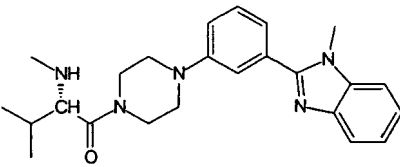
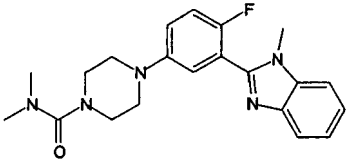
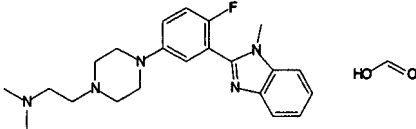
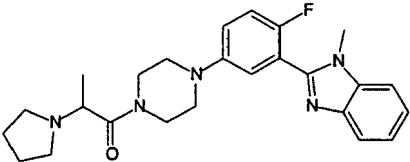
(待續)

209		L	468	2.47
210		C	432	1.03
211		C	418	0.95
212		K	442	2.03
213		L	353	0.87
214		L	422	1.1
215		L	421	2.4

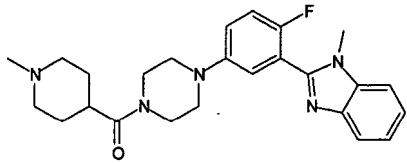
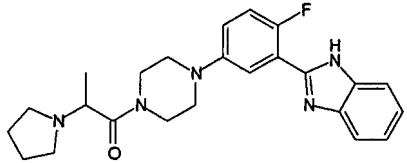
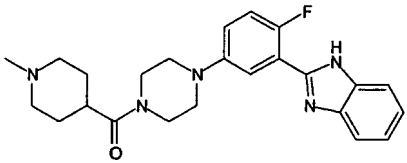
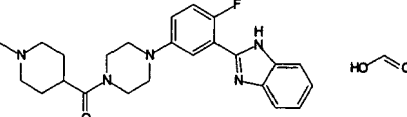
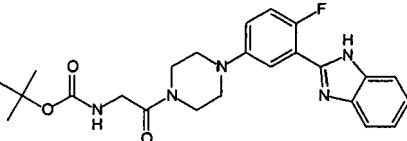
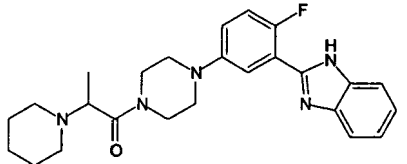
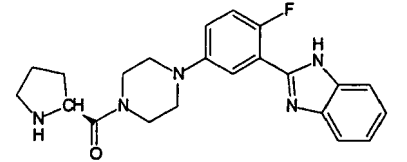
(待續)

216		L	381	2.17
217		L	522	2.9
218		L	524	2.62
219		L	524	2.62
220		L	368	0.95
221		L	422	1.2
222		L	424	1.13

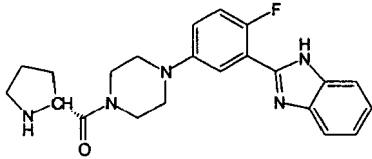
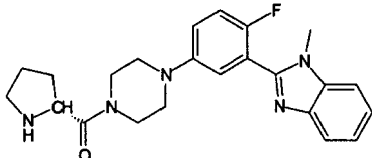
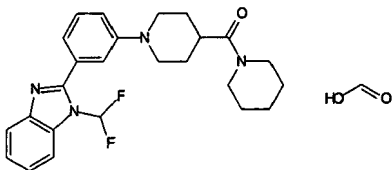
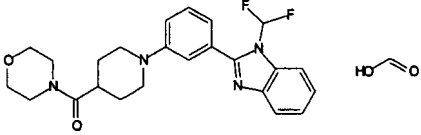
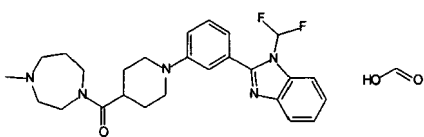
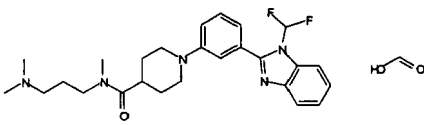
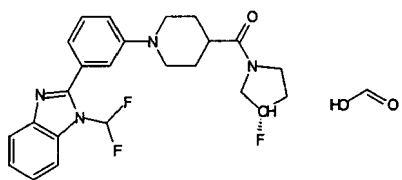
(待續)

223		L	424	1.13
224		L	424	1.13
225		L	379	1.12
226		D	406	1.2
227		L	382	2
228		L	382	0.62
229		L	436	1.27

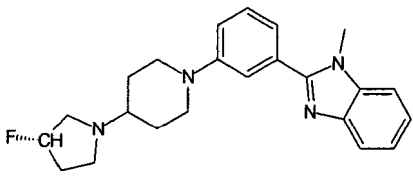
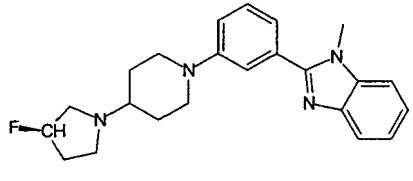
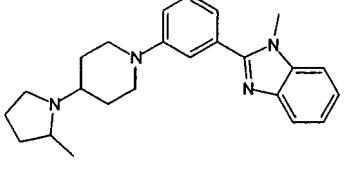
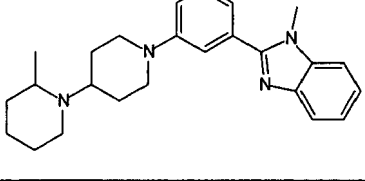
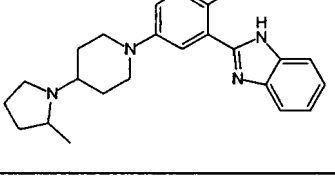
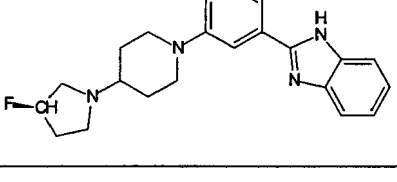
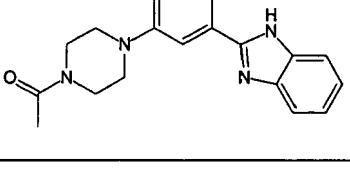
(待續)

230		L	436	1.27
231		M	422	1.22
232		M	422	1.18
233		M	422	1.13
234		M	454	2.38
235		M	436	1.33
236		M	394	1.17

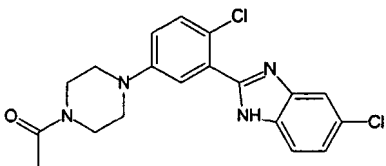
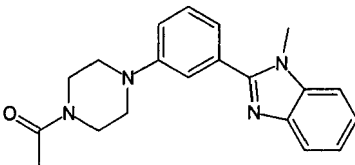
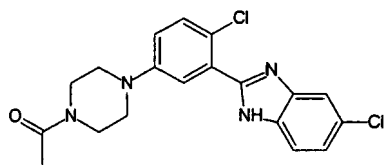
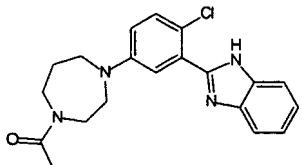
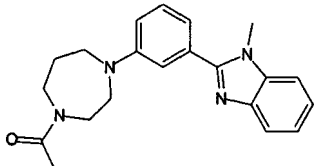
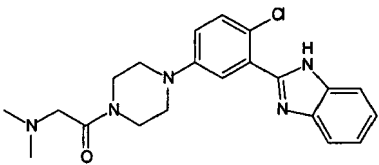
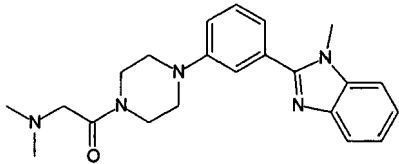
(待續)

237		M	394	1.2
238		L	408	1.22
239		I	439	3.85
240		I	441	3.22
241		I	468	2.02
242		I	470	2.1
243		I	443	3.4

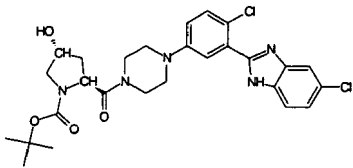
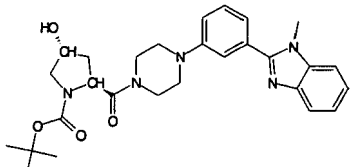
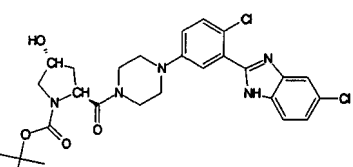
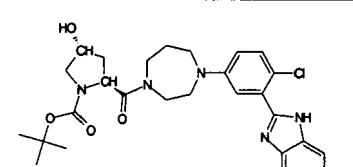
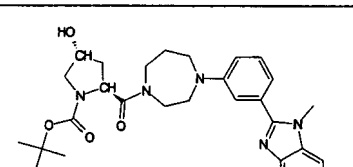
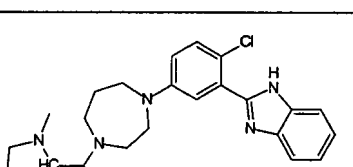
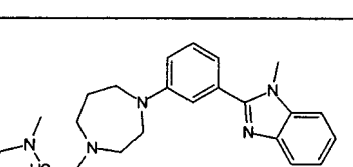
(待續)

244		0	379	0.62
245		0	379	0.65
246		0	375	0.85
247		0	389	1.07
248		0	395	1.22
249		0	399	1.13
250		B	355	4.78

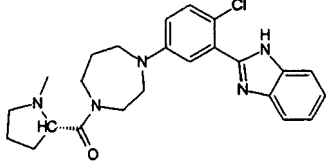
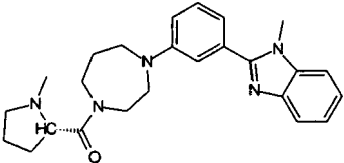
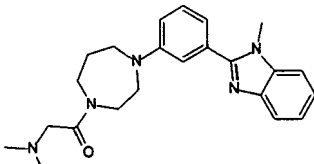
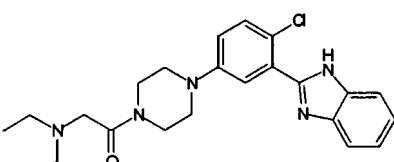
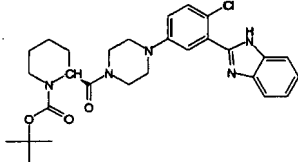
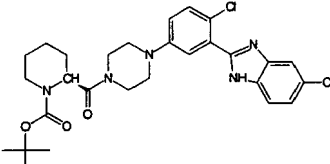
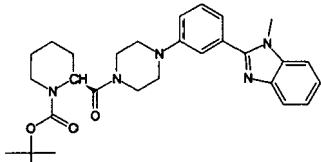
(待續)

251		T	389	5.36
252		C	335	4.73
253		T	389	5.36
254		T	369	4.92
255		T	349	4.87
256		B	398	4.39
257		C	378	4.07

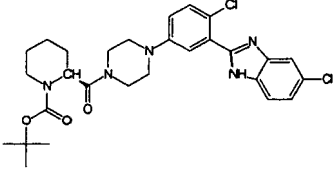
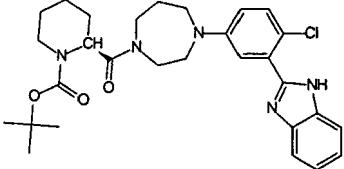
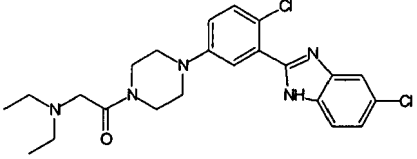
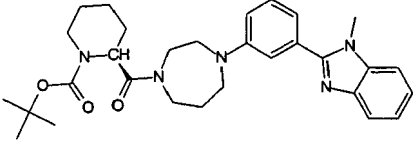
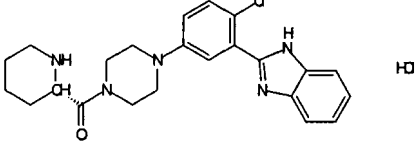
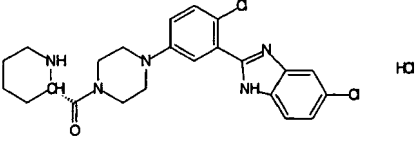
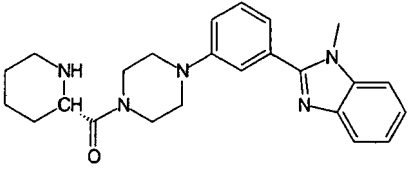
(待續)

258		Q	560	5.51
259		D	506	5.02
260		Q	560	5.51
261		Q	540	5.15
262		Q	520	5.21
263		Q	438	4.19
264		Q	418	4.25

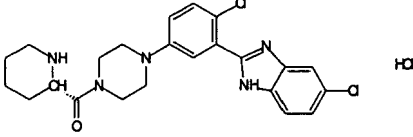
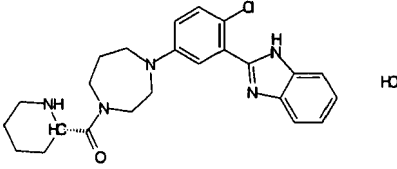
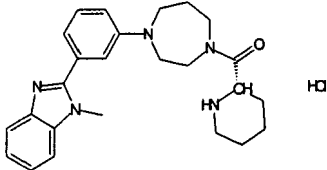
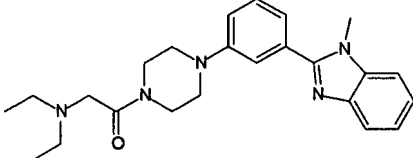
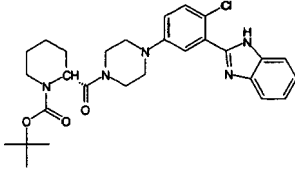
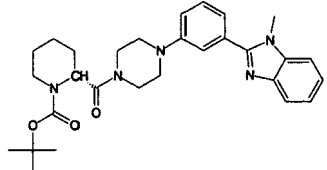
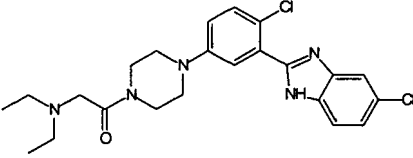
(待續)

265		Q	438	4.2
266		Q	418	4.25
267		T	392	4.25
268		B	426	4.66
269		D	524	6.68
270		Q	558	7.43
271		D	504	6.72

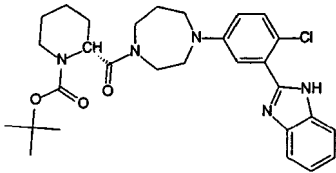
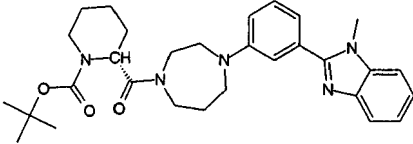
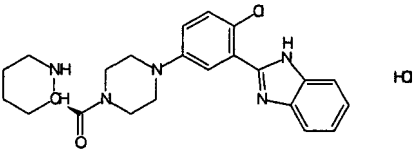
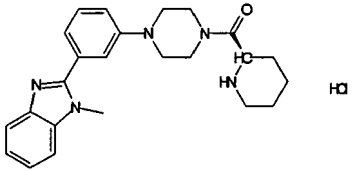
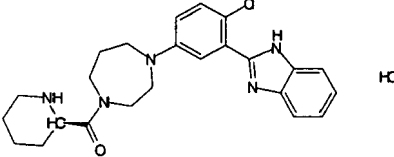
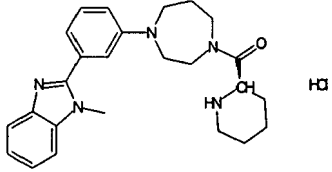
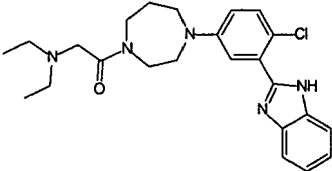
(待續)

272		Q	558	7.43
273		Q	538	6.97
274		T	460	5.22
275		Q	518	7.03
276		D	424	4.04
277		Q	458	4.65
278		D	404	1.00

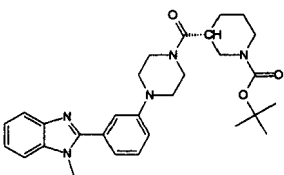
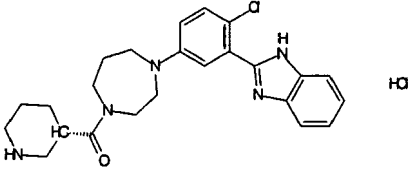
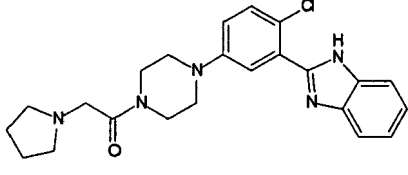
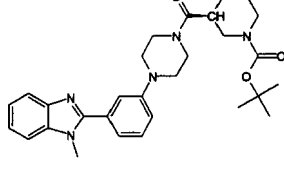
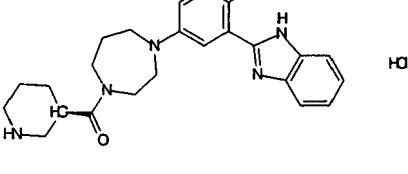
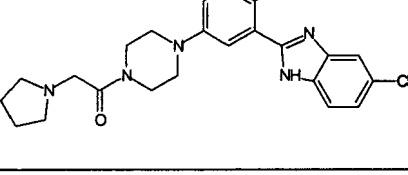
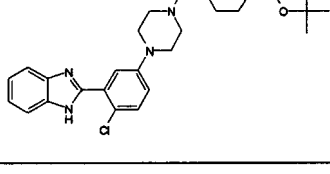
(待續)

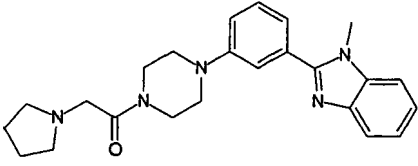
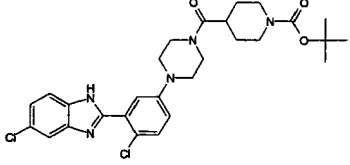
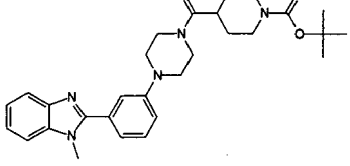
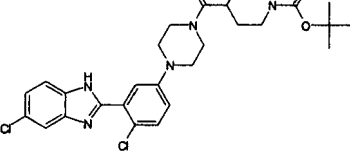
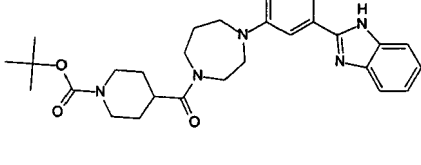
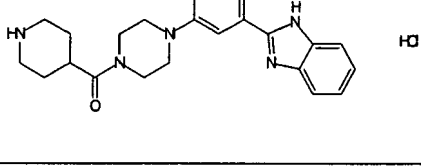
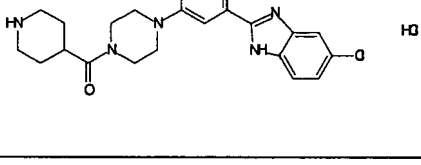
279		Q	458	4.65
280		Q	438	4.24
281		Q	418	4.3
282		C	406	4.31
283		D	524	6.68
284		D	504	6.73
285		T	460	5.22

(待續)

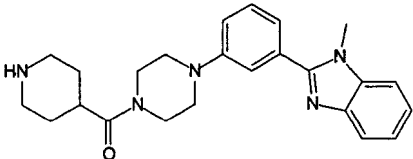
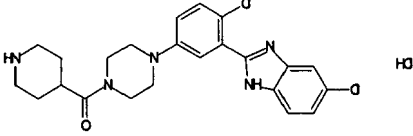
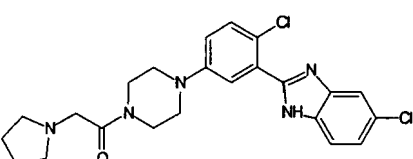
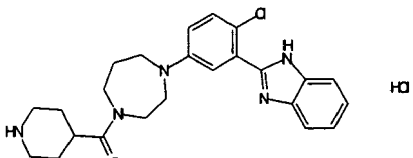
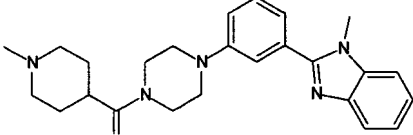
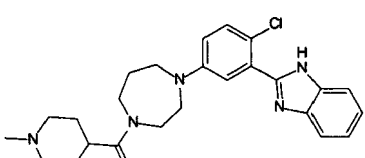
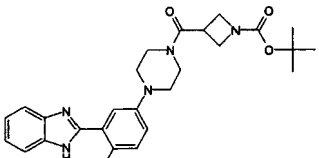
286		Q	538	7.02
287		Q	518	7.04
288		D	424	4.06
289		D	404	4.15
290		Q	438	4.27
291		Q	418	4.3
292		T	440	4.35

(待續)

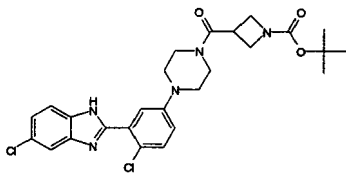
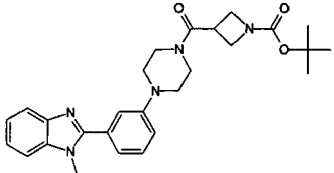
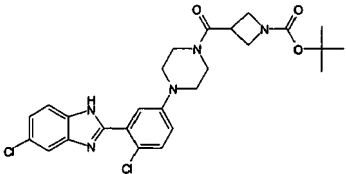
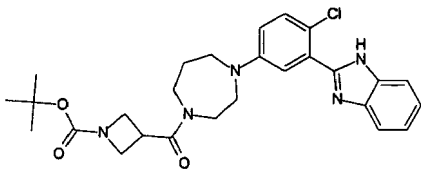
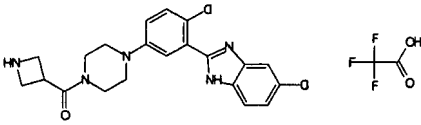
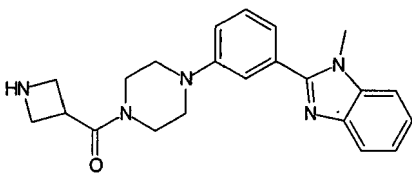
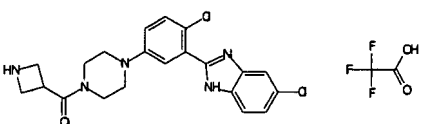
293		D	504	2.57
294		Q	438	1.32
295		B	424	4.34
296		D	504	2.57
297		Q	438	1.27
298		T	458	5.05
299		D	524	6.17

300		C	404	4.18
301		Q	558	6.79
302		C	504	6.18
303		Q	558	6.79
304		Q	538	6.22
305		D	424	3.92
306		Q	458	4.44

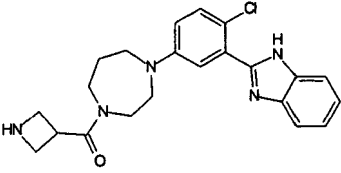
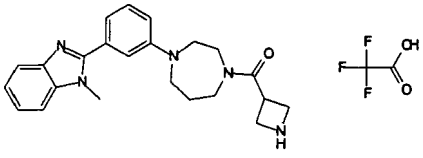
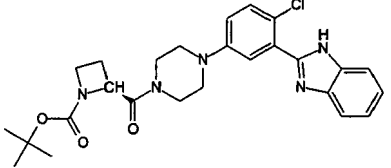
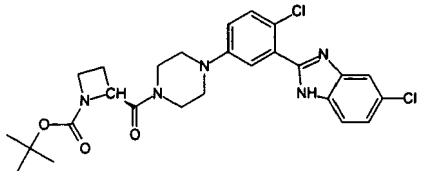
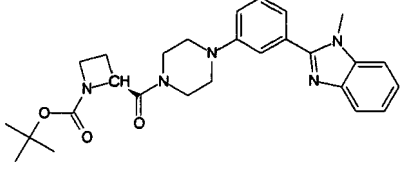
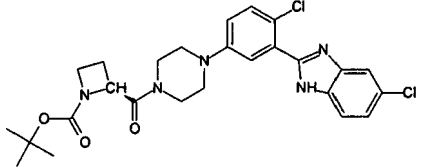
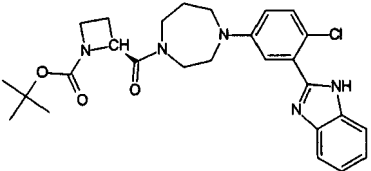
(待續)

307		D	404	0.79
308		Q	458	4.44
309		T	458	5.05
310		Q	438	4.03
311		C	418	4.18
312		T	452	4.19
313		D	496	5.94

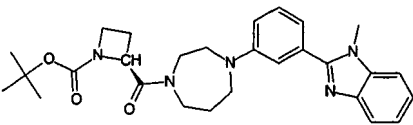
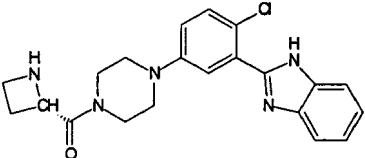
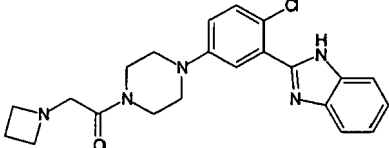
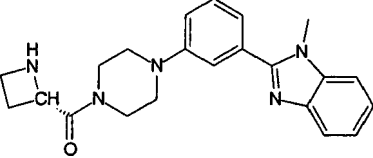
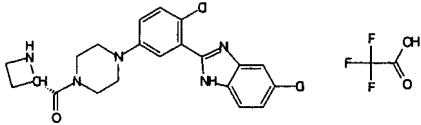
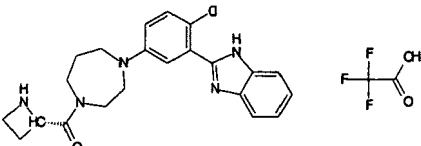
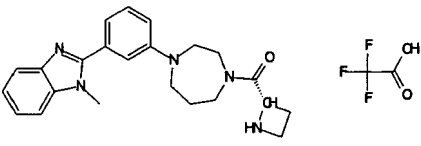
(待續)

314		Q	530	6.53
315		C	476	5.92
316		Q	530	6.53
317		Q	510	5.95
318		Q	430	4.45
319		D	376	3.97
320		Q	430	4.45

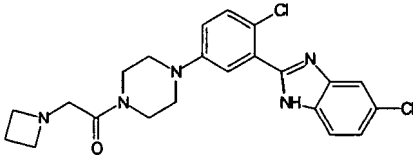
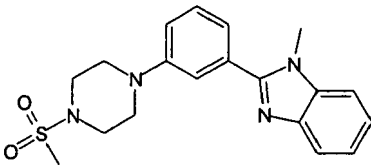
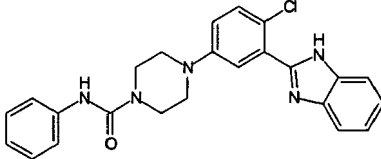
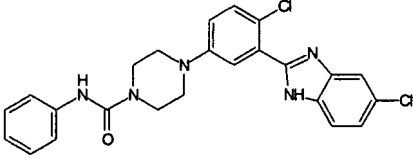
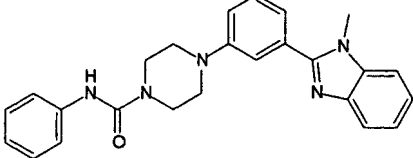
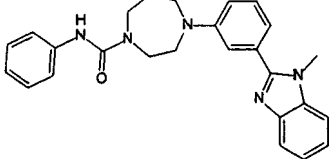
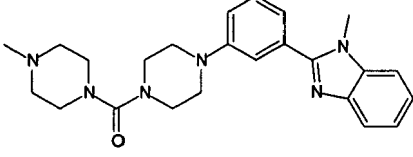
(待續)

321		Q	410	4.07
322		Q	390	4.03
323		D	496	5.73
324		Q	530	6.29
325		D	476	5.67
326		Q	530	6.29
327		Q	510	5.9

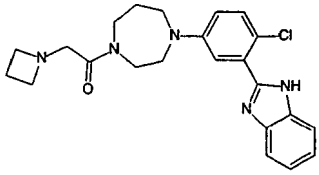
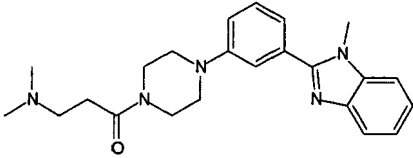
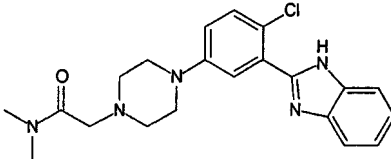
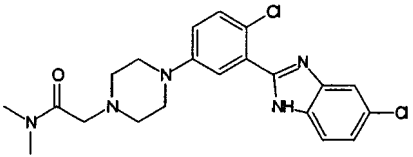
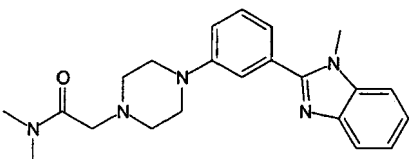
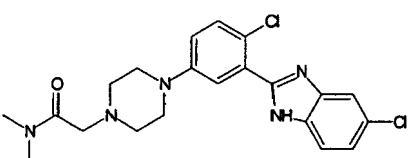
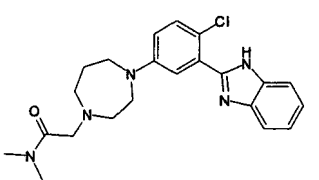
(待續)

328		Q	490	5.96
329		D	396	3.97
330		B	410	4.41
331		D	376	3.97
332		Q	430	4.59
333		Q	410	4.16
334		Q	390	4.17

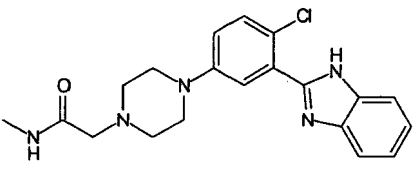
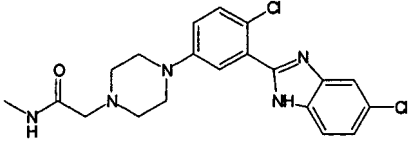
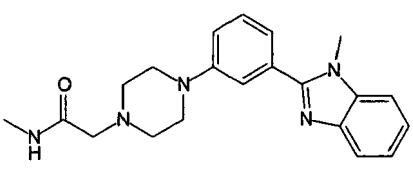
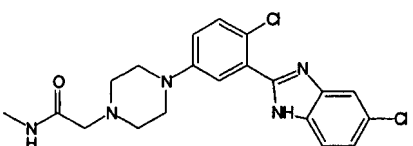
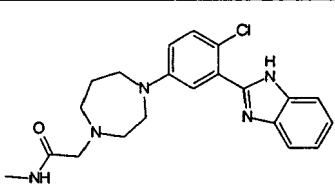
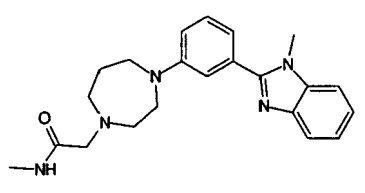
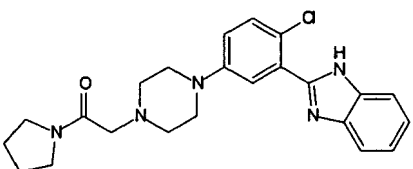
(待續)

335		T	460	4.82
336		V	371	5.34
337		R	432	5.99
338		R	466	6.56
339		R	412	5.82
340		R	426	5.92
341		W	419	4.36

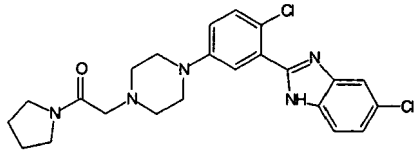
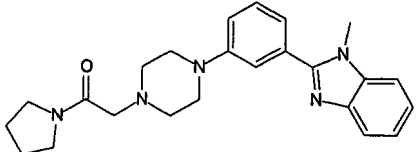
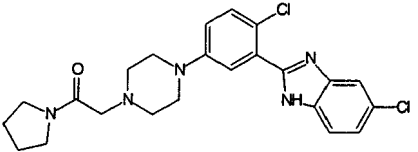
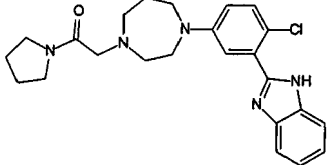
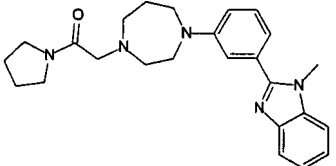
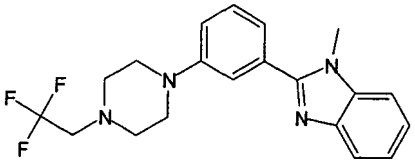
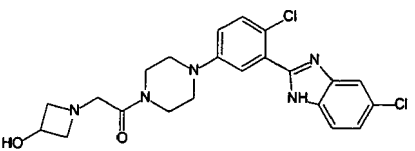
(待續)

342		T	424	4.2
343		C	391	4.03
344		U	398	4.81
345		U	432	5.33
346		U	378	4.7
347		U	432	5.33
348		U	412	4.89

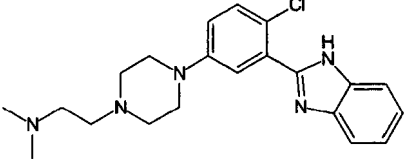
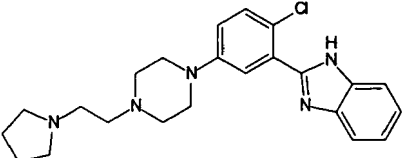
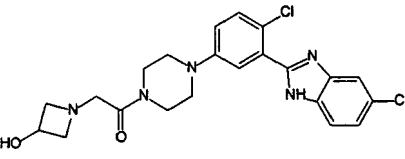
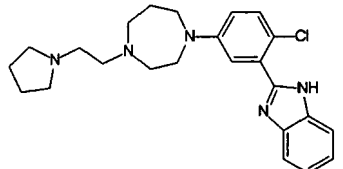
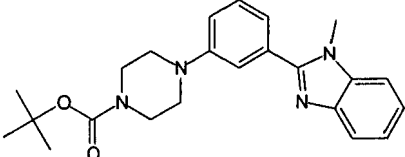
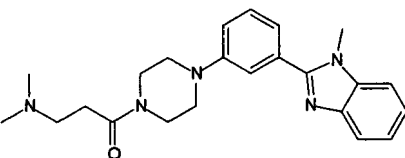
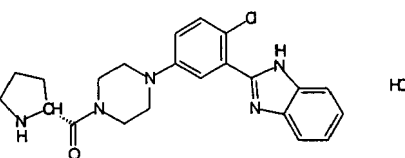
(待續)

349		U	384	4.79
350		U	418	5.26
351		U	364	4.64
352		U	418	5.26
353		U	398	5.08
354		U	378	5.07
355		U	424	5.11

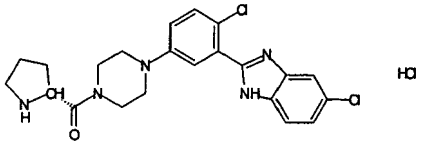
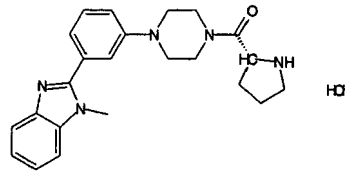
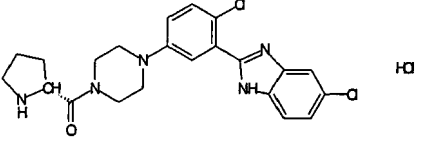
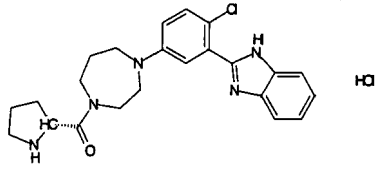
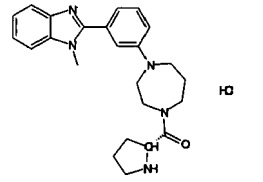
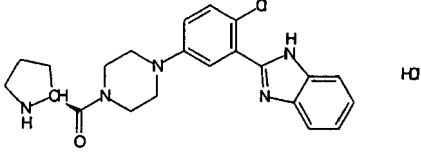
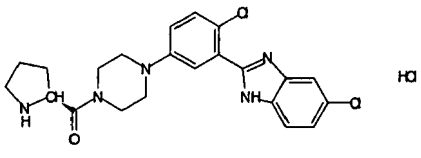
(待續)

356		U	458	5.57
357		U	404	4.96
358		U	458	5.57
359		U	438	5.22
360		U	418	5.21
361		C	375	6.51
362		T	460	4.80

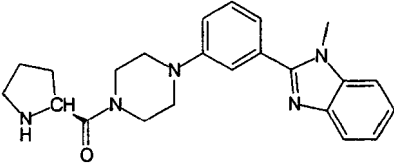
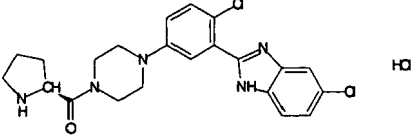
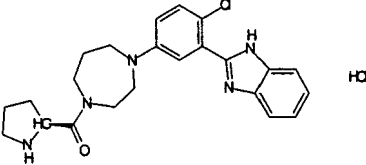
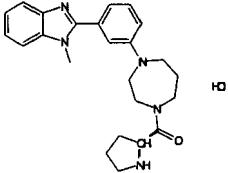
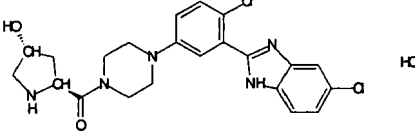
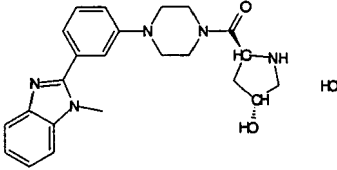
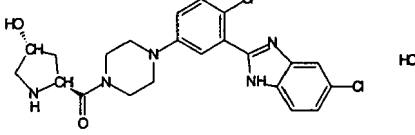
(待續)

363		A	384	4.12
364		T	410	4.30
365		T	460	4.80
366		T	424	4.63
367		C	393	6.77
368		C	391	4.03
369		B	410	4.07

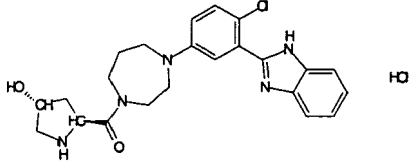
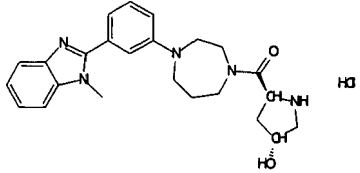
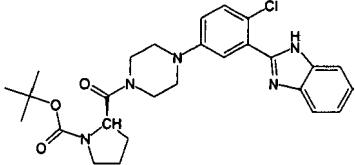
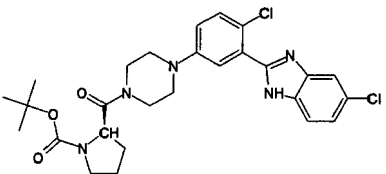
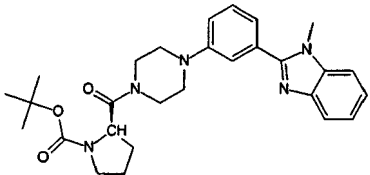
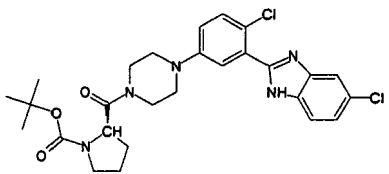
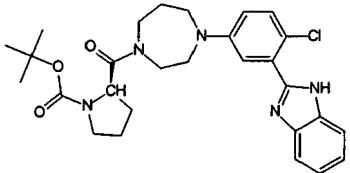
(待續)

370		Q	444	4.54
371		D	390	4.13
372		Q	444	4.54
373		Q	424	4.24
374		Q	404	4.24
375		D	410	4.01
376		Q	444	4.61

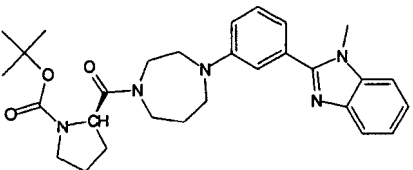
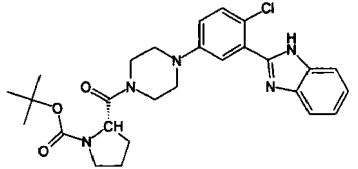
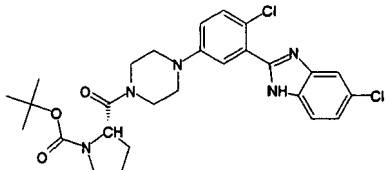
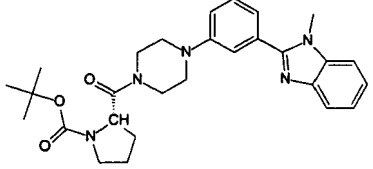
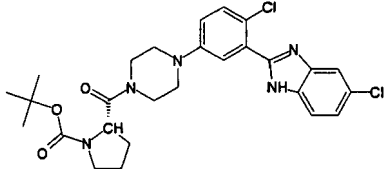
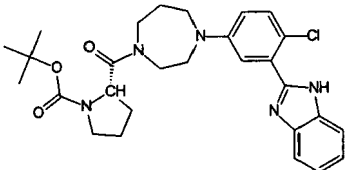
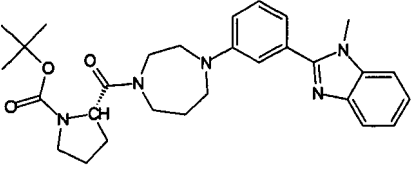
(待續)

377		D	390	1.02
378		Q	444	4.61
379		Q	424	4.19
380		Q	404	4.25
381		Q	460	4.45
382		D	406	3.96
383		Q	460	4.45

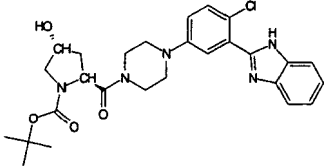
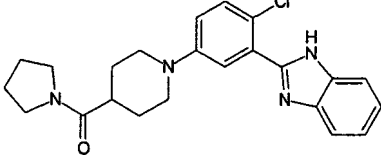
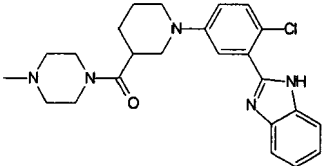
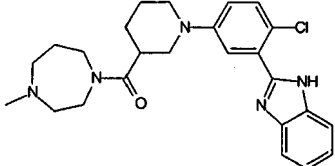
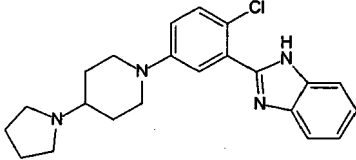
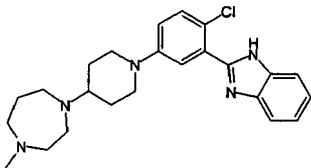
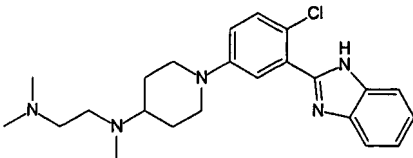
(待續)

384		Q	440	4.07
385		Q	420	4.06
386		D	510	5.88
387		Q	544	6.45
388		D	490	5.85
389		Q	544	6.45
390		Q	524	6.04

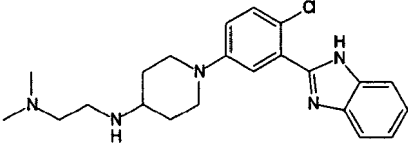
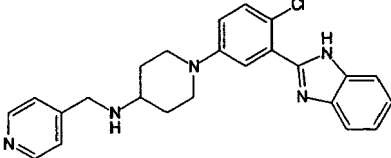
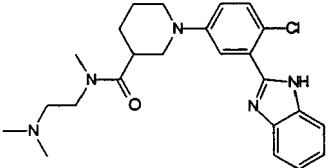
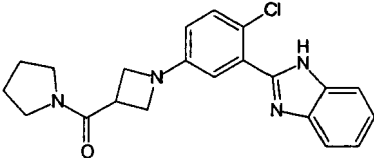
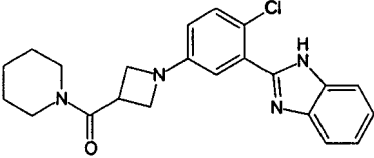
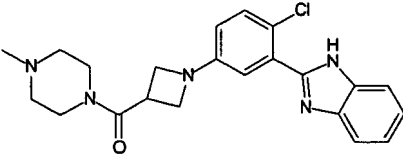
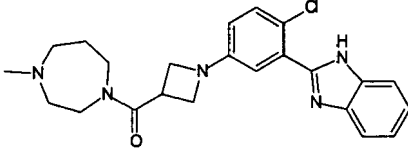
(待續)

391		Q	504	6.04
392		D	510	5.86
393		Q	544	6.46
394		D	490	5.84
395		Q	544	6.46
396		Q	524	6.03
397		Q	504	6.04

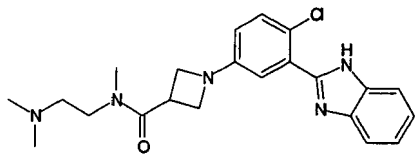
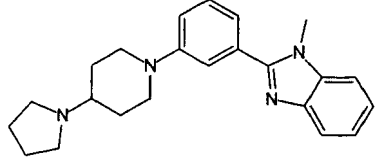
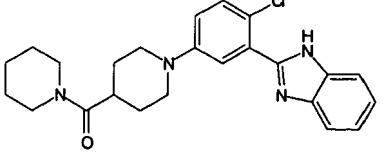
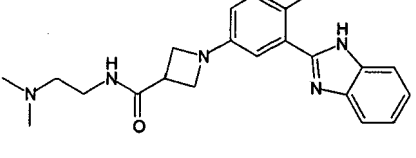
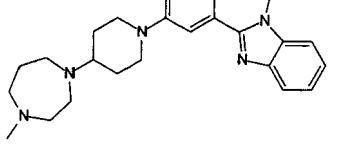
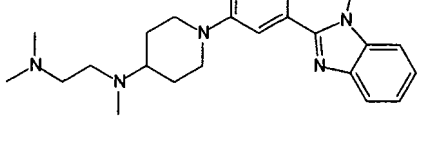
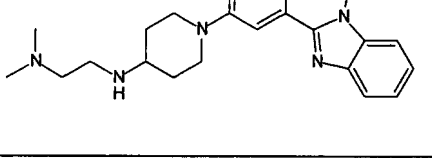
(待續)

398		D	526	4.95
399		Y	409	5.50
400		Y	438	4.89
401		Y	450	4.49
402		A	381	4.65
403		OA	424	4.38
404		OA	412	4.49

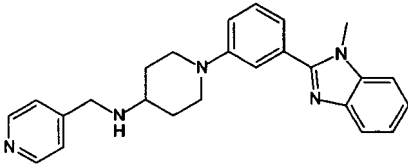
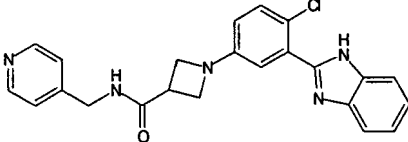
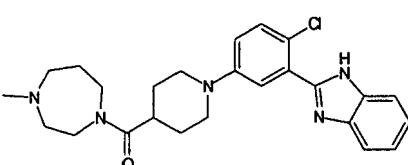
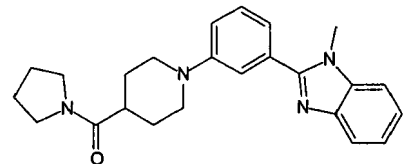
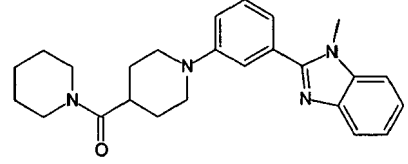
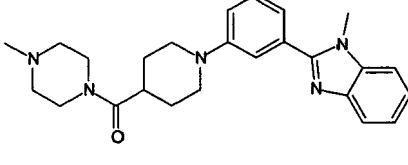
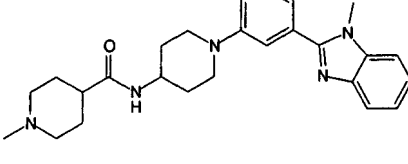
(待續)

405		OA	398	4.38
406		OA	418	4.69
407		Y	440	4.49
408		Y	381	5.14
409		Y	395	5.72
410		Y	410	4.40
411		Y	424	4.13

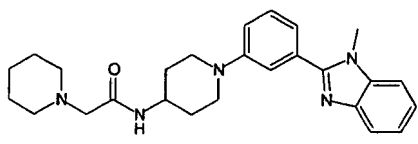
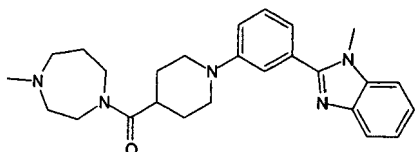
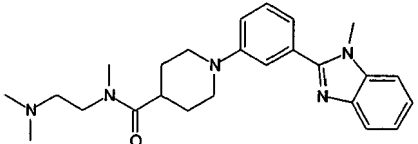
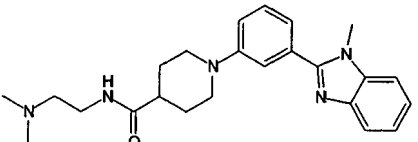
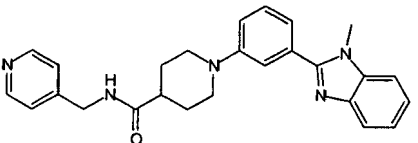
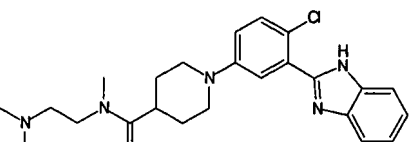
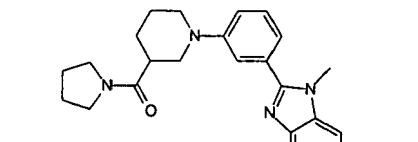
(待續)

412		Y	412	4.10
413		OA	361	4.29
414		Y	423	6.05
415		Y	398	3.96
416		OA	404	4.25
417		OA	392	4.35
418		OA	378	4.12

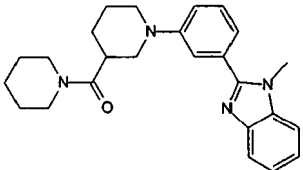
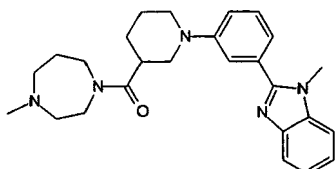
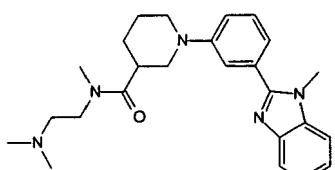
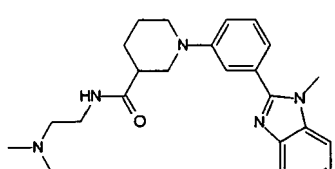
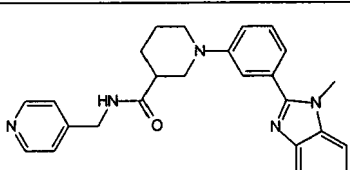
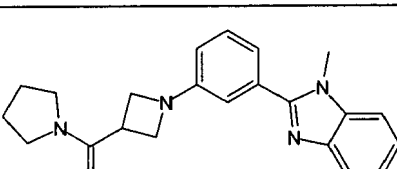
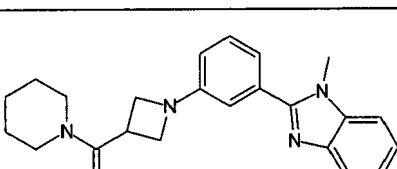
(待續)

419		OA	398	4.54
420		Y	418	4.53
421		Y	452	4.43
422		X	389	5.26
423		X	403	5.85
424		X	418	4.52
425		N	432	4.42

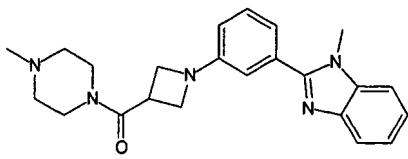
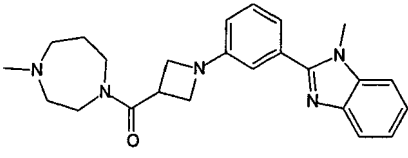
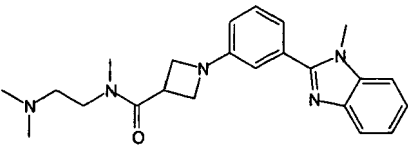
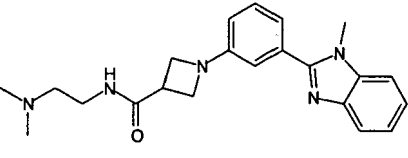
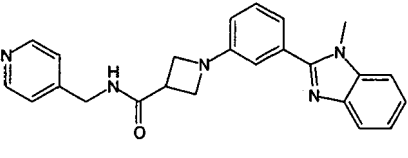
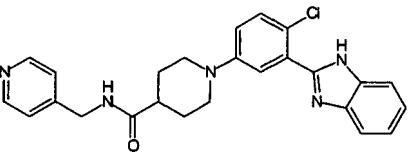
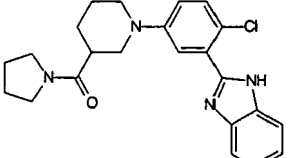
(待續)

426		N	432	4.44
427		X	432	4.26
428		X	420	4.27
429		X	406	4.08
430		X	426	4.65
431		Y	440	4.50
432		X	389	5.48

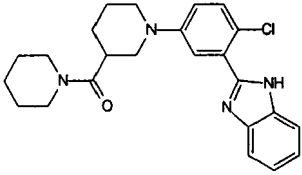
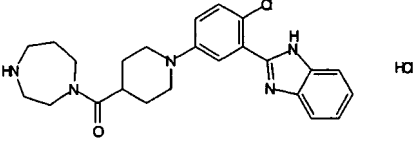
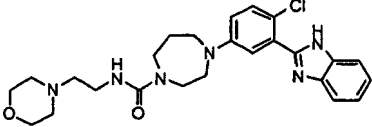
(待續)

433		X	403	6.09
434		X	432	4.83
435		X	420	4.89
436		X	406	4.75
437		X	426	4.91
438		X	361	5.33
439		X	375	5.84

(待續)

440		X	390	4.50
441		X	404	4.27
442		X	392	4.16
443		X	378	3.96
444		X	397	4.67
445		Y	446	5.13
446		Y	409	5.67

(待續)

447		Y	423	6.26
448		S	483	4.54
449		Z	439	4.09

生物活性

Smo 之選殖及穩定的重組 Smo 表現細胞系之生成

人類 Smo 編碼序列使用標準條件藉聚合酶連鎖反應(PCR)擴增。樣板為得自 Origene 公司之 pcMV6-XL5-Smo (型錄號碼 TC122724)。引子對設計如下：

正向引子 (5' GATCGGTACCGGGCTTTTGCTGAGTT 3') 具有 KpnI 限剪位置；

反向引子 (5' GATCGCGGCCCGCCTACTTATCGTCGTCATCCTTGTAATCGAAGTCCGAGTCTGC 3') 具有一 NotI 限剪位置、一停止密碼子、及一 FLAG-編碼序列於 5' 端。

所得擴增子長 2424 bp 且含有完整 Smo 編碼序列、一 FLAG 標籤及兩個限剪位置，於每端各有一個。擴增之以 KpnI 及 NotI 限剪酶雙重剪切，且選出 pcDNA5/FRT 質體 (Invitrogen) 用於選殖。Smo-FLAG 編碼序列之接合及選殖入 pcDNA5/FRT

質體，產生一種質體定名為 pcDNA5/FRT_Smo-FLAG 長 7432 bp。

FlpIN 技術 (Invitrogen) 用於使用 FlpIN293 細胞系 (Invitrogen, RT50-07) 形成穩定表現 Smo-FLAG 細胞系。此細胞系乃衍生自以 pFRT/lacZeo 質體穩定轉染 HEK293 細胞所產生具 zeocin-抗藥性之 FlpIN293 宿主細胞系。FlpIN293 細胞適合形成含有嵌入式 Flp 重組標靶 (FRT) 位置 (Invitrogen) 之穩定哺乳動物細胞系。

以 pcDNA5/FRT_Smo-FLAG 質體轉染 (或於偽轉染細胞之情況下，以空白質體轉染) 係與攜帶 Flp 重組酶之 pOG44 質體之轉染共同進行，該 Flp 重組酶催化宿主細胞之 FRT 位置分別與 pcDNA5/FRT_Smo-FLAG 表現載體或 pcDNA5/FRT 空白載體間之同系重組。Smo-FLAG 表現細胞及偽轉染細胞具有濕黴素 (hygromycin) B 抗藥性且對 β -gal 染色呈陰性。也藉西方墨點分析檢查 Smo 抗原及 FLAG 抗原之表現。生成的二細胞系訂名為 293FlpIN/純株 E-3 指示偽轉染細胞系及 293FlpIN/純株 3-5 指示 Smo-FLAG 轉染的細胞系。

細胞培養條件

細胞維持於含 10% 胎牛血清之 DMEM (皆係得自 Invitrogen)，添加 0.25 毫克 / 毫升濕黴素 B (Invitrogen)。細胞維持於 37°C 於 95% 空氣-5% 二氧化碳充份濕化環境，於解凍後使用高達 22-25 週期。

結合檢定分析發展

化合物與 Smo 受體之交互作用係藉置換結合檢定分析試驗，使用 Smo 受體之螢光配體(Bodipy-Cyclopamine，Toronto Research Chemical Inc，型錄號碼#B674800)作為欲置換之加標記的配體。

為了測定螢光配體之 K_d (達到 50%最大結合之配體濃度) 及 B_{max} (可與生物製劑中之受體特別結合之配體之最大量)，經由從總結合(TB)中扣除非特異性結合(NSB)求出特異性結合(SB)。TB 係經由添加遞增濃度之 Bodipy-Cyclopamine 至細胞測定，NSB 係經由添加遞增濃度之 Bodipy-Cyclopamine 與飽和濃度之經過明確說明之拮抗劑(本例中選用 N-[3-(1H- 苯并咪唑-2-基)-4- 氯苯基]-3,5-二甲氧基-苄醯胺(Rubin et al. W02003011219) 10 μM) 之混合物至細胞測定。對各種濃度之 Bodipy-Cyclopamine，由 TB 中扣除 NSB 值求出 SB。由 SB 曲線，計算 B_{max} 及 K_d 。此種情況下，發現穩定的偽轉染的細胞系純株 E-3 具有 K_d 為 115 nM，而發現穩定的 Smo-FLAG 轉染的細胞系純株 3-5 具有 K_d 為 44.3 nM。 K_i 為可抑制 50% 加標記配體之特異性結合(SB)之未加標記配體之濃度，且對加標記配體之有效使用濃度經校正。 K_i 係遵照 Cheng-Prusoff 方程式計算， $K_i = IC_{50} / [1 + [bodipy-cyclopamine] / K_d]$ 。

以結合檢定分析試驗化合物

以 Burker 腔室計數 293F1pIN/純株 E-3 及 293F1pIN/純株 3-5 細胞，100000 細胞/100 微升 DMEM 1% FBS 轉染兩片 96 孔孔板 (U 字形底，Sigma Aldrich，型錄號碼 #M8185-100EA)。293F1pIN/純株 E-3 細胞用作為內部對照來檢驗 Smo 過度表現 293F1pIN/純株 3-5 細胞螢光 (FLU) 隨時間之變化。

● 對照組及化合物係於 DMEM 1% FBS 製備，添加 100 微升至細胞。全部對照及化合物皆與終濃度 5 nM Bodipy-Cyclopamine 共同培養。

● 化合物溶解於 DMSO (備料 10 mM)，首先於 10 μ M 試驗(單一濃度檢定分析)；各化合物至少重複兩次(於兩片不同孔板)。當 Bodipy-Cyclopamine 被置換高於 30% 臨界值時，化合物再度以濃度-反應檢定分析試驗，試驗產出量為每片孔板 8 種化合物，濃度範圍為：100、10、1、0.5、0.1、0.01、0.05、0.001 及 0.0001 μ M。

至於陰性對照組使用 293F1pIN/純株 3-5 細胞，其中添加 DMSO 稀釋 1:1000 用於單一濃度檢定分析及稀釋 1:100 用於濃度-反應檢定分析。

至於完全置換 Bodipy-Cyclopamine 結合之陽性對照組，使用濃度為 10 μ M 之 N-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯苯基]-3,5-二甲氧基-苄醯胺 (Rubin et al. W02003011219)。

兩片孔板於室溫於振搖平台上避光培養 4 小時。培養後孔板於 1600 rpm 離心 5 分鐘，以含 2% FBS 之 PBS 洗兩次。最後細胞再懸浮於 170 微升洗滌緩衝液，以 FACScalibur HTS 系統(Becton Dickinson)獲得螢光信號。

於各片孔板讀取之始，使用未經處理的且未加標記的 293F1pIN/純株 E-3 細胞設定儀器獲取參數。使用的 HTS 獲取程式為 BD Plate Manager (BD Bioscience)及資料分析係使用 BD CellQuest Pro 軟體(BD Bioscience)進行。

經由重疊陽性對照組與陰性對照組之 FL1-H 直方圖以及設定一個標誌於兩條曲線間之交叉點進行定量。唯有螢光大於所設定之標誌之該等事件才加以量化。然後數值根據陰性對照組(0% Bodipy-Cyclopamine 置換)及陽性對照組(100% Bodipy-Cyclopamine 置換)規度化。

實施例 1-449 化合物當於前述條件下試驗時，全部皆顯示 83 pM 至 31 μ M 間之 K_i 值。

使用鹼性磷酸酶檢定分析試驗化合物

於小鼠中葉細胞系 C3H10T1/2 (Katsuura et al., 1999; Kinto et al., 1997; Murone et al., 1999; Nakamura et al., 1997, Wu et al. 2004) Shh 於試管內已經驗證可誘導鹼性磷酸酶(AP)，AP 為成骨細胞分化之標誌。因此為了分析小分子與刺蝟因子-Gli 傳訊之干擾，於本小鼠細胞系中實施基於 AP 活化之功能檢定分析。AttoPhos 套件組(型

錄號碼 S1000, Promega)之酶基質用於檢測溶液中之 AP。簡言之，應用下列程序。

經聚離胺酸塗覆之透明平底 96 孔孔板(Corning, 型錄號碼 3667)每孔填充 10,000 細胞於 100 微升細胞培養溶液。細胞培養基包含 DMEM (型錄號碼 21969-035)含 1% Glutamax (型錄號碼 35050-038), 1% 青黴素(Penicillin)/鏈黴素(Streptomycin)(型錄號碼 15140-122)及 1% Hepes (15630-056)。全部試劑皆係得自 Invitrogen。孔板於 37 °C 與 5%二氧化碳培養隔夜。然後移出培養基，100 微升含化合物或參考拮抗劑 N-[3-(1H-苯并咪唑-2-基)-4-氯苯基]-3,5-二甲氧基-苄醯胺(Rubin et al. W02003011219)之新鮮培養基添加至各孔。全部化合物及參考溶液含有濃度為 2 μ M 之促效劑 purmorphamine (Sinha et al. Nature Chem. Biol. 2, 29-30 (2005))。化合物於 100 pM 至 50 μ M 範圍重複三次以 10 種濃度試驗。各樣本之 DMSO 終濃度於培養基中調整至 1%。於 5%二氧化碳存在下細胞於 37°C 與化合物溶液共同培養 72 小時。由孔板取出細胞培養基，40 微升 1:5 稀釋之溶解溶液(型錄號碼 E194A, Promega)添加至各孔。然後孔板於振搖器上於暗處培養 20 分鐘。最後，40 微升重新調製的 AttoPhos 酶基質溶液添加至各孔，接著又於振搖器上培養 15 分鐘時間。AttoPhos 酶基質係根據供應商的指示重新調製，但酶基質溶液經常性儲存於-80°C。Safire 2

孔板讀取器(Tecan)用於使用 430 奈米激光波長及 560 奈米發光波長測定樣本之螢光強度變化。

實施例 1-449 化合物當於前述條件試驗時，皆顯示 26 pM 至 42 μ M 範圍間之 IC_{50} 值。

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿)

※申請案號：097148178

※申請日：97/12/11

※IPC 分類：

A61K	31/496	2006.01
A61K	31/4427	2006.01
A61K	31/4523	2006.01
A61K	31/5377	2006.01
A61K	31/551	2006.01
C07D	403/10	2006.01
C07D	405/14	2006.01
C07D	413/14	2006.01
A61P	19/10.	2006.01
A61P	35/00	2006.01

一、發明名稱：(中文/英文)

刺蝟因子(Hedgehog)路徑拮抗劑及其治療上之應用
HEDGEHOG PATHWAY ANTAGONISTS AND
THERAPEUTIC APPLICATIONS THEREOF

二、中文發明摘要：

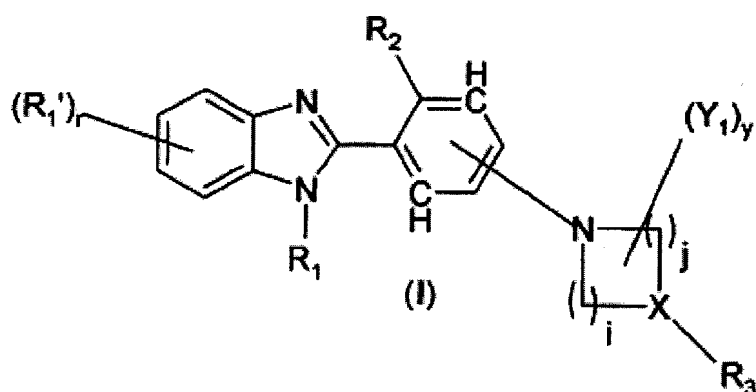
調節刺蝟因子(Hedgehog)傳訊路徑之雜環化合物、其醫藥組成物及其治療上之應用。

三、英文發明摘要：

Heterocyclic compounds that modulate the hedgehog signaling pathway, pharmaceutical composition thereof and their therapeutic applications.

七、申請專利範圍：

1. 一種式 I 化合物



及其醫藥上可接受之鹽，其中，當價數及穩定性許可時

R_1 為 H；視需要可經以一個或多個鹵原子取代之線性、分支或環狀(C_1-C_4)烷基、分支或線性(C_1-C_4)烷氧基或一-或二-線性、分支或環狀(C_1-C_6)烷基胺基；

r 等於 0、1、2 或 3；

當 r 大於 1 時， R_1' 各自分別表示鹵原子；線性、分支或環狀(C_1-C_4)烷氧基；視需要可經以線性或分支(C_1-C_4)烷氧基、烷基胺基或二烷基胺基取代之線性、分支或環狀(C_1-C_4)烷基；

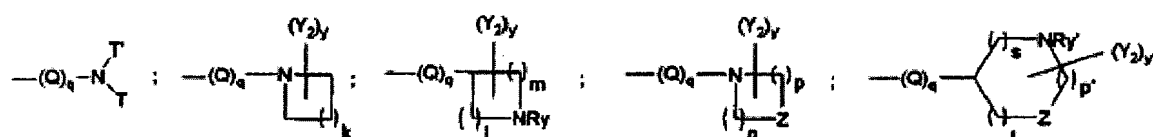
R_2 可為 H、Cl、F 或 Br；

X 可為 N 或 CH；

i 及 j 可為 1、2、或 3， $i+j$ 之和不可超過 5，及當 X 為 N 時 i 及 j 不可為 1；

R_3 可為 H；視需要可經以胺基甲醯基或一個或多個氟原子取代之線性、分支或環狀(C_1-C_6)烷基、呋烷基、烷基羰基、

烷基磺醯基、呋烷基羰基、烷氧基羰基、烷基胺基羰基、呋烯基、烯基羰基、呋烯基羰基、烯氧基羰基、烯基胺基羰基、亞烷基、烷氧基亞胺基、羥基、烷氧基、烯氧基；Ar；Ar-胺基羰基；經以一個或兩個 Ar 取代且視需要可經以一個或多個氟原子取代之線性或分支(C₁-C₄)烷基、烷基胺基、呋烷基、呋烷基、烷基羰基、烷氧基羰基或烷基胺基羰基；



Q 為兩個氮原子間或一個氮原子與一個氧原子間未形成直接鍵結且可為羰基；胺基羰基；羰基胺基；亞胺；SO₂；視需要可經以一個或多個氟原子取代之線性或分支(C₁-C₆)烷基，其中一個亞甲基可經以 O、NR_x、羰基或 SO₂ 置換，或其中兩個接續之亞甲基可經以羰基胺基、胺基羰基、磺醯基胺基、胺基磺醯基置換；

Ar 為視需要可經以分別選自於鹵原子、羥基、巰基、胺基、氰基、硝基、胺基甲醯基、胺基磺醯基、三鹵甲基、三鹵甲氧基、線性、分支或環狀(C₁-C₄)烷基、羥基烷基、一-或二-烷基胺基、烷氧基、烷基羰基、烷氧基羰基、烷基羰基胺基、呋烷基、呋烷基中之一個或多個基團取代之 5 至 10 員芳香環或雜芳香環，且此等取代基中之二者可形成帶有與 Ar 稠合接點之 5 至 8 員環；

R_x 可為 H 或線性、分支或環狀(C₁-C₄)烷基、二鹵烷基或

三鹵烷基；

q 可為 0 或 1；

k 可為 1、2、3 或 4；

l 、 m 、 n 、 p 、 p' 及 s 可分別為 1、2 或 3；

t 可為 0、1 或 2；

$l+m$ 、 $n+p$ 或 $p'+s+t$ 之和不可超過 5；

T 及 T' 各自分別表示氫；線性、分支或環狀(C_1-C_6)烷基、吡烷基、呋烷基、烯基、吡烯基、呋烯基、其鏈視需要可經以鹵原子、胺基、氰基、羥基、酮基、線性、分支或環狀(C_1-C_3)烷基羰基、烷氧基羰基、烷基羰基胺基、烷基胺基羰基、胺基甲醯基、胍基、烯基羰基、呋烯基羰基、烯氧基羰基、烯基胺基羰基取代；

Z 可為 0、S、 SO_2 、SO、或 NRy' ；

Ry 及 Ry' 分別表示 H；視需要可經以一個或多個氟原子取代之線性、分支或環狀(C_1-C_6)烷基、烷基羰基、烷氧基羰基或烷基胺基羰基；

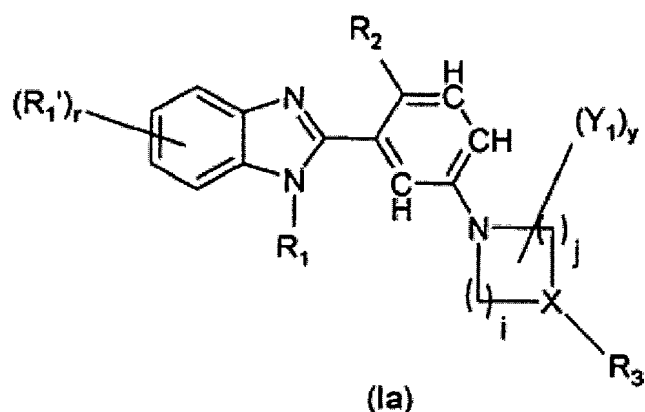
y 及 y' 分別為 0、1、2 或 3；

Y_1 及 Y_2 分別表示鹵原子；羥基；胺基；氰基；硝基；酮基；視需要可經以一個或多個氟原子取代之線性或分支(C_1-C_6)烷基、二鹵烷基、吡烷基、呋烷基、烷基羰基、呋烷基羰基、烷氧基羰基、烷基胺基羰基、烷基羰基胺基、烯基、呋烯基、吡烯基、烯基羰基、呋烯基羰基、烯氧基羰基、烯

基胺基羰基、烷基胺基、巯基烷基、烷氧基、烷硫基；其中兩個 Y_2 基可以螺接合或稠合接合而形成 5 至 8 員環；

以及排除 2-[4-(4-甲基-哌啶-1-基)-苯基]-1H-苯并咪唑；2-[4-(4-吡啶-2-基-哌啶-1-基)-苯基]-1H-苯并咪唑。

2. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其具有式 Ia

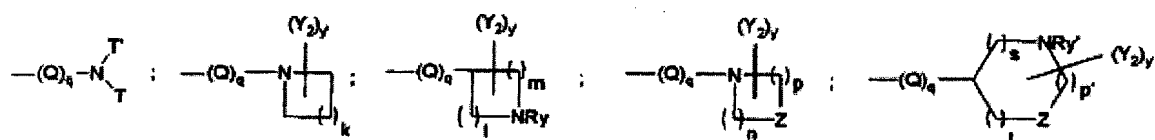


其中， R_1 、 R_1' 、 R_2 、 R_3 、 X 、 Y_1 、 r 、 i 、 j 及 y 係如申請專利範圍第 1 項之說明。

3. 如申請專利範圍第 2 項之化合物，其中，

X 為 N ；

R_3 可為 H ；視需要可經以胺基甲醯基或一個或多個氟原子取代之線性、分支或環狀(C_1 - C_6)烷基、呋烷基、烷基羰基、烷基磺醯基、呋烷基羰基、烷氧基羰基、烷基胺基羰基、呋烯基、烯基羰基、呋烯基羰基、烯氧基羰基或烯基胺基羰基； Ar ； Ar -胺基羰基；經以一個或兩個 Ar 取代且視需要可經以一個或多個氟原子取代之線性或分支(C_1 - C_4)烷基、烷基胺基、呋烷基、呋烷基、烷基羰基、烷氧基羰基或烷基胺基羰基；

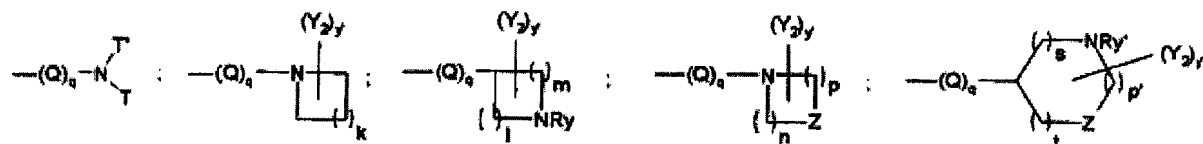


Q 為兩個氮原子間或一個氮原子與一個氧原子間未形成直接鍵結且可為羰基；胺基羰基；羰基胺基；亞胺；SO₂；視需要可經以一個或多個氟原子取代之線性或分支(C₁-C₆)烷基，其中一個亞甲基可經以 O、NR_x、羰基或 SO₂ 置換，或其中兩個接續之亞甲基可經以羰基胺基、胺基羰基、磺醯基胺基、胺基磺醯基置換。

4. 如申請專利範圍第 2 項之化合物，其中，X 為 CH。

5. 如申請專利範圍第 3 或 4 項之化合物，其中，

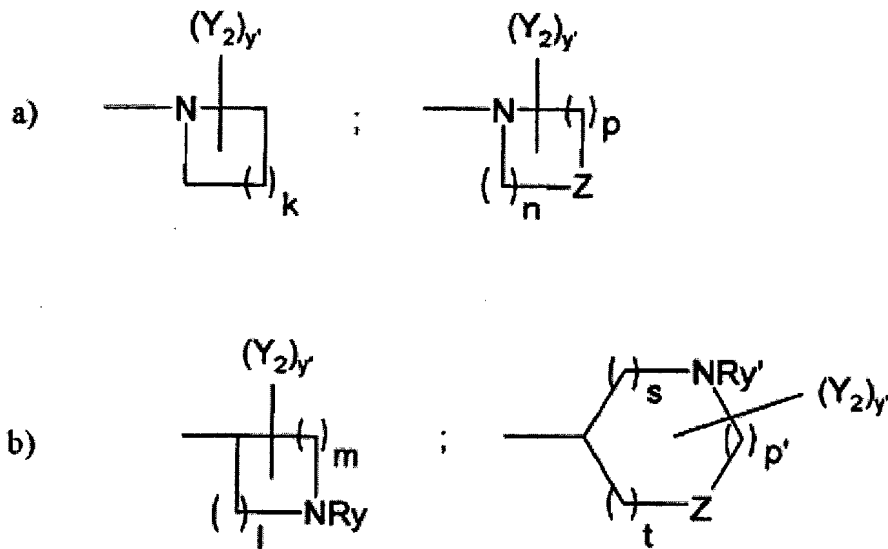
R₃ 為



q 為 1。

6. 如申請專利範圍第 5 項之化合物，其中，q 為 1，及 Q 為羰基；視需要可經以一個或多個氟原子取代之線性、分支或環狀(C₁-C₆)烷基、(C₁-C₅)烷基羰基或羰基(C₁-C₅)烷基。

7. 如申請專利範圍第 4 項之化合物，其中，q 為零，及 R₃ 係選自於



8. 一種醫藥組成物，其含有申請專利範圍第 1 至 7 項中任一項之化合物及藥學上可接受之載劑或賦形劑。

9. 一種利用申請專利範圍第 1 至 7 項中任一項之化合物製備治療或預防骨質疏鬆症或癌症藥物之用途。

10. 如申請專利範圍第 9 項之用途，其係用於治療選自於非小細胞肺癌；小細胞肺癌；乳癌；卵巢瘤；消化道瘤；腦癌；攝護腺癌；胰臟癌；基底細胞癌；惡性黑色素瘤；鱗狀細胞癌；多發性肌瘤；淋巴瘤；間葉癌；慢性骨髓性白血病；子宮內膜癌；肝細胞癌中之癌症。

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：無

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

無

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

