



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I755452 B

(45)公告日：中華民國 111 (2022) 年 02 月 21 日

(21)申請案號：106141156

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 11 月 27 日

(51)Int. Cl. : C07D471/04 (2006.01)

A61K31/519 (2006.01)

A61P11/00 (2006.01)

A61P29/00 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

A61P43/00 (2006.01)

A61P9/10 (2006.01)

(30)優先權：2016/11/28 日本

2016-229973

(71)申請人：日商帝人製藥股份有限公司 (日本) TEIJIN PHARMA LIMITED (JP)

日本

(72)發明人：宮本英俊 MIYAMOTO, HIDETOSHI (JP)；水野剛志 MIZUNO, TSUYOSHI (JP)；  
 鵜木元 UNOKI, GEN (JP)；宮澤佑貴 MIYAZAWA, YUKI (JP)；矢嶋直樹 YAJIMA,  
 NAOKI (JP)

(74)代理人：林志剛

(56)參考文獻：

WO 2004/065378A1

WO 2015/027222A2

審查人員：劉祥音

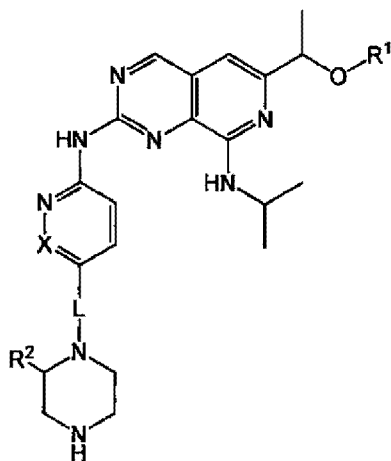
申請專利範圍項數：36 項 圖式數：24 共 89 頁

(54)名稱

吡啶并〔3, 4-d〕嘓啶衍生物或其溶劑合物之結晶

(57)摘要

提供一種具有優異之 CDK4/6 抑制活性的新穎之吡啶并〔3,4-d〕嘓啶衍生物的結晶。 式(I)所示之化合物的結晶。

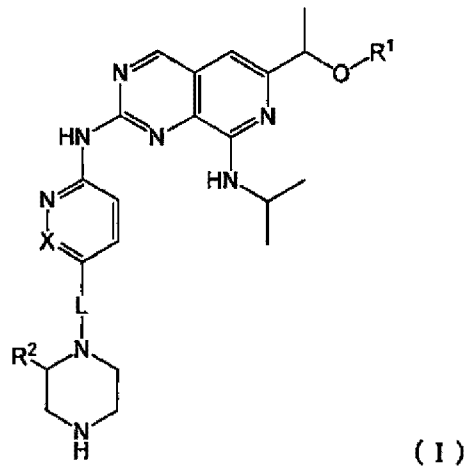


(I)

式中，R<sup>1</sup> 表示氫原子或 C<sub>1-3</sub> 烷基，R<sup>2</sup> 表示氫原子或側氧基，L 表示單鍵或 C<sub>1-3</sub> 伸烷基，X 表示 CH 或 N。

特徵化學式：

式 (I)





I755452

## 【發明摘要】

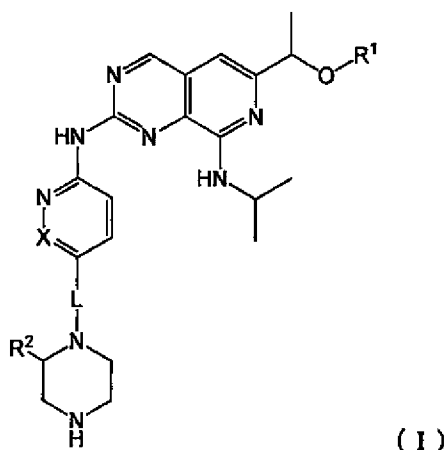
### 【中文發明名稱】

吡啶并〔3，4-d〕嘧啶衍生物或其溶劑合物之結晶

### 【中文】

提供一種具有優異之CDK4/6抑制活性的新穎之吡啶并〔3,4-d〕嘧啶衍生物的結晶。

式(I)所示之化合物的結晶。

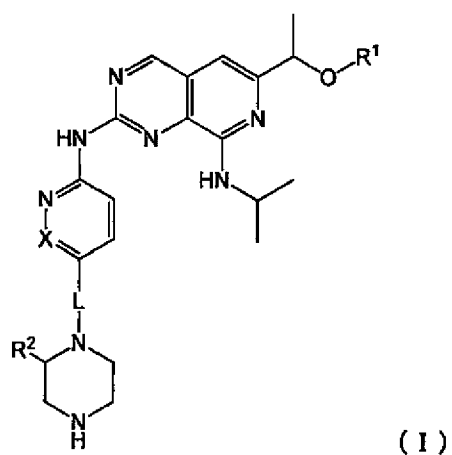


式中，R<sup>1</sup>表示氫原子或C<sub>1-3</sub>烷基，R<sup>2</sup>表示氫原子或側氧基，L表示單鍵或C<sub>1-3</sub>伸烷基，X表示CH或N。

【指定代表圖】無

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】式(I)



(I)

## 【發明說明書】

### 【中文發明名稱】

吡啶并〔3，4-d〕嘧啶衍生物或其溶劑合物之結晶

### 【技術領域】

【0001】本發明係關於一種對於週期蛋白依賴型激酶4及/或週期蛋白依賴型激酶6(以下亦稱為「CDK4/6」)具有抑制活性，對於例如類風濕性關節炎、動脈硬化症、肺纖維化、腦梗塞症及/或癌之預防或治療有用的吡啶并〔3,4-d〕嘧啶衍生物或其溶劑合物的結晶。

### 【先前技術】

【0002】CDK4/6抑制劑可用於用以治療包含癌、心血管障礙、腎臟病、特定之感染症及自我免疫疾病的以異常細胞增殖為原因之各種疾病。期待對例如類風濕性關節炎、動脈硬化症、肺纖維化、腦梗塞症、癌之治療有效。如此之病例中，透過CDK抑制之細胞週期、細胞增殖抑制為有效之事係基於以下技術的見解。

【0003】已知類風濕性關節炎中因滑膜細胞的過度增殖所致之血管翳的形成，而藉由對動物投予CDK4/6抑制劑有改善之事被報導(非專利文獻1)。又，源自類風濕性關節炎病患的滑膜細胞中藉由CDK4-週期蛋白D複合體，亦抑制了MMP3產生，藉由負控制CDK4/6的活性，不僅增

殖，亦抑制MMP3產生之事被報導(非專利文獻2)。

【0004】由以上之點，CDK4/6抑制劑，可期待對於類風濕性關節炎之抑制滑膜細胞增殖效果，同時亦可期待軟骨保護效果。

小鼠之肺纖維化的模式中，腺病毒載體所致之細胞週期抑制蛋白質p21的表現誘導為有效之事被報導(非專利文獻3)。

已知大鼠之腦梗塞模式中，伴隨局部缺血所致之神經細胞死，週期蛋白D1/CDK4水平(level)提升，藉由非選擇性CDK抑制劑之夫拉平度(flavopiridol)的投予，神經細胞死被抑制之事被報導(非專利文獻4)。

【0005】週期蛋白D-CDK4/6-INK4a-Rb路徑，有利於癌的細胞增殖之任一因子的異常，例如機能性p16INK4a的缺失或週期蛋白D1高表現、CDK4高表現、機能性Rb的缺失等在人類的癌中頻繁地被檢出(非專利文獻5)。顯然此等皆為促進由G1期向S期進行的方向之異常，此路徑在癌化或癌細胞之異常增殖中擔任重要的角色。

【0006】CDK4/6抑制劑，特別是對於使CDK4/6激酶活性活性化之基因有異常的腫瘤，例如有週期蛋白D之易位的癌、有週期蛋白D之增幅的癌、有CDK4或CDK6之增幅或過量表現的癌、有p16不活性化的癌可為有效。又，其缺陷對於在招致週期蛋白D存在量增加之週期蛋白D的上流調節因子中有基因異常的癌之治療可為有用，可期待治療效果。

實際上，嘗試合成抑制CDK4/6活性之化合物，該領域中揭示許多化合物，始於乳癌之複數的癌中臨床試驗被實施(非專利文獻6)。

【0007】大部分之急性及嚴重的放射線療法或化學療法的毒性，係通過對幹細胞及前驅細胞的效果。藉由CDK4/6抑制劑而成為休止狀態之造血幹細胞及前驅細胞，由放射線療法或化學療法所致之細胞毒性來防護。抑制劑處理停止後，造血幹細胞及前驅細胞(HSPC)，從一時性的休止期間回復，其後正常地發揮機能，使用CDK4/6抑制劑之化學療法抵抗性，被期待提供顯著的骨髓防護(非專利文獻7)。

【0008】從以上，CDK4/6抑制劑，對於例如類風濕性關節炎、動脈硬化症、肺纖維化、腦梗塞症、癌之治療、骨髓防護為有用，特別是對於類風濕性關節炎、癌之治療、骨髓防護為有效之事被期待。

作為包含CDK4/6之CDK抑制劑，已知專利文獻1及2。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

【0009】

[專利文獻1] 國際公開第2003/062236號

[專利文獻2] 國際公開第2010/020675號

[非專利文獻]

**【 0010】**

[非專利文獻1] Taniguchi, K等, Nature Medicine, 1999年, 第5卷, 760-767頁

[非專利文獻2] Nonomura, Y等, Arthritis & Rheumatology, 2006年7月, 第54卷, 第7號, 2074-83頁

[非專利文獻3] Inoshima, I等, American Journal Physiology: Lung Cellular and Molecular Physiology, 2004年, 第286卷, L727-L733頁

[非專利文獻4] Osuga, H等, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2000年, 第97卷, 10254-10259頁

[非專利文獻5] Weinberg, R, Science, 1991年, 第254卷, 1138-1146頁

[非專利文獻6] Guha, M, Nature Biotechnology, 2013年3月, 第31卷, 第3號, 187頁

[非專利文獻7] Johnson, S等, Journal of Clinical Investigation, 2010年, 第120卷, 第7號, 2528-2536頁

**【發明內容】**

[發明所欲解決之課題]

**【 0011】** 本發明之目的在於提供一種具有優異CDK4/6抑制活性之新穎的吡啶并[3,4-d]嘧啶衍生物或其溶劑合物的結晶。

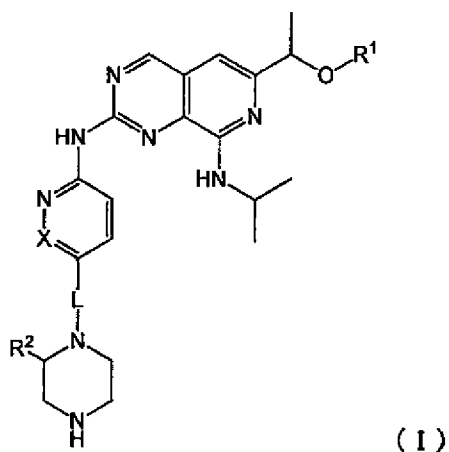
[解決課題之手段]

【0012】本發明者們在上述目的下進行深入研究的結果，發現特定構造之吡啶并[3,4-d]嘧啶衍生物特別具有優異的CDK4/6抑制活性。

進而本發明者們，發現該等化合物之一部分為化學性安穩定，且存在適合作為醫藥原藥之構造的結晶。

【0013】即本發明係式(I)所示之化合物或其溶劑化合物的結晶。

【化1】



【0014】式中，R<sup>1</sup>表示氫原子或C<sub>1-3</sub>烷基，R<sup>2</sup>表示氫原子或側氧基(側氧基時，R<sup>2</sup>以雙鍵鍵結於哌啶環)，L表示單鍵或C<sub>1-3</sub>伸烷基，X表示CH或N。

[發明效果]

【0015】依據本發明，提供一種具有優異之CDK4/6抑制活性，作為例如類風濕性關節炎、動脈硬化症、肺纖維化、腦梗塞症及/或癌之預防藥或治療藥為有用的吡啶

并[3,4-d]嘧啶衍生物或其溶劑合物的結晶。

本發明之結晶，可使用作為醫藥品製造用原體。

### 【圖式簡單說明】

#### 【0016】

[圖1] 圖1為1-(6-((6-((1R)-1-羥基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-吡啶基)哌啶-2-酮之D晶的粉末X射線繞射譜。

[圖2] 圖2為1-(6-((6-((1R)-1-羥基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-吡啶基)哌啶-2-酮之A晶的粉末X射線繞射譜。

[圖3] 圖3為1-(6-((6-((1R)-1-甲氧基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-嗒吡)哌啶之A晶的粉末X射線繞射譜。

[圖4] 圖4為1-(6-((6-((1R)-1-甲氧基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-嗒吡)哌啶之B晶的粉末X射線繞射譜。

[圖5] 圖5為(R)-N8-異丙基-6-(1-甲氧基乙基)-N2-(5-(哌啶-1-基甲基)吡啶-2-基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2,8-二胺之A晶的粉末X射線繞射譜。

[圖6] 圖6為1-(6-((6-((1R)-1-羥基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-吡啶基)哌啶-2-酮之B晶的粉末X射線繞射譜。

[圖7] 圖7為1-(6-((6-((1R)-1-羥基乙基)-8-(異丙胺基)

吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-吡啶基)哌啶-2-酮之二甲基亞砷合物之結晶(C晶)的粉末X射線繞射譜。

[圖 8] 圖 8 為 1-(6-((6-((1R)-1-羥基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-吡啶基)哌啶-2-酮之 I 晶的粉末 X 射線繞射譜。

[圖 9] 圖 9 為 1-(6-((6-((1R)-1-甲氧基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-嗒啶)哌啶之 C 晶的粉末 X 射線繞射譜。

[圖 10] 圖 10 為 1-(6-((6-((1R)-1-羥基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-吡啶基)哌啶-2-酮之 D 晶的紅外線吸收光譜。

[圖 11] 圖 11 為 1-(6-((6-((1R)-1-羥基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-吡啶基)哌啶-2-酮之 A 晶的紅外線吸收光譜。

[圖 12] 圖 12 為 1-(6-((6-((1R)-1-羥基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-吡啶基)哌啶-2-酮之二甲基亞砷合物之結晶(C晶)的紅外線吸收光譜。

[圖 13] 圖 13 為 1-(6-((6-((1R)-1-羥基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-吡啶基)哌啶-2-酮之 I 晶的紅外線吸收光譜。

[圖 14] 圖 14 為 1-(6-((6-((1R)-1-甲氧基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-嗒啶)哌啶之 A 晶的紅外線吸收光譜。

[圖 15] 圖 15 為 1-(6-((6-((1R)-1-甲氧基乙基)-8-(異丙

胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-嗒吡)哌吡之C晶的紅外線吸收光譜。

[圖 16] 圖 16 為 (R)-N8-異丙基-6-(1-甲氧基乙基)-N2-(5-(哌吡-1-基甲基)吡啶-2-基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2,8-二胺之A晶的紅外線吸收光譜。

[圖 17] 圖 17 為 1-(6-((6-((1R)-1-羥基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-吡啶基)哌吡-2-酮之D晶的固體 NMR 譜 ( $^{13}\text{C}$ )，圖 17-1 表示 6500Hz 模式，圖 17-2 表示 14000Hz 模式。

[圖 18] 圖 18 為 1-(6-((6-((1R)-1-羥基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-吡啶基)哌吡-2-酮之D晶的固體 NMR 譜 ( $^{15}\text{N}$ )。

[圖 19] 圖 19 為 1-(6-((6-((1R)-1-羥基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-吡啶基)哌吡-2-酮之A晶的固體 NMR 譜 ( $^{13}\text{C}$ )，圖 19-1 表示 6500Hz 模式，圖 19-2 表示 14000Hz 模式。

[圖 20] 圖 20 為 1-(6-((6-((1R)-1-羥基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-吡啶基)哌吡-2-酮之A晶的固體 NMR 譜 ( $^{15}\text{N}$ )。

[圖 21] 圖 21 為 1-(6-((6-((1R)-1-甲氧基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-嗒吡)哌吡之A晶的固體 NMR 譜 ( $^{13}\text{C}$ )，圖 21-1 表示 6500Hz 模式，圖 21-2 表示 14000Hz 模式。

[圖 22] 圖 22 為 1-(6-((6-((1R)-1-甲氧基乙基)-8-(異丙

胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-嗒吡)哌吡之A晶的固體NMR譜( $^{15}\text{N}$ )。

[圖 23] 圖 23 為 (R)-N8-異丙基-6-(1-甲氧基乙基)-N2-(5-(哌吡-1-基甲基)吡啶-2-基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2,8-二胺之A晶的固體NMR譜( $^{13}\text{C}$ )，圖 23-1 表示 6500Hz 模式，圖 23-2 表示 14000Hz 模式。

[圖 24] 圖 24 為 (R)-N8-異丙基-6-(1-甲氧基乙基)-N2-(5-(哌吡-1-基甲基)吡啶-2-基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2,8-二胺之A晶的固體NMR譜( $^{15}\text{N}$ )。

### 【實施方式】

【0017】本發明之結晶，藉由粉末X射線繞射譜(XRD)、示差掃描熱量分析(DSC)、傅立葉轉換紅外線吸收光譜(以下稱為「紅外線吸收光譜」)及/或固體NMR譜等進行表徵。此等之結晶的粉末X射線繞射(XRD)譜顯示特徵性的圖型，各別的結晶具有特異性的繞射角 $2\theta$ 值。此等之結晶在示差掃描熱量分析(DSC)中，亦分別顯示特徵性的熱行為。此等結晶的紅外線吸收光譜，顯示、特徵性的圖型，各別的結晶顯示特異性的波數的紅外線吸收光譜。此等結晶之 $^{13}\text{C}$ 固體NMR譜顯示特徵性的圖型，各別的結晶具有特異性的化學位移(ppm)。又，此等結晶之 $^{15}\text{N}$ 固體NMR譜顯示特徵性的圖型，各別的結晶具有特異性的化學位移(ppm)。

【0018】本發明雖為前述式(I)所示之化合物的結晶，

但以下記載關於下列3化合物的9結晶作為其適合的實施形態。

1-(6-((6-((1R)-1-羥基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-吡啶基)哌啶-2-酮(以下亦有時表示為「化合物(a)」)。

1-(6-((6-((1R)-1-甲氧基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-嗒啶)哌啶-(以下亦有時表示為「化合物(b)」)。

(R)-N8-異丙基-6-(1-甲氧基乙基)-N2-(5-(哌啶-1-基甲基)吡啶-2-基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2,8-二胺(以下亦有時表示為「化合物(c)」)。

【0019】化合物(a)之D晶，在粉末X射線繞射譜中，於 $2\theta=6.3^\circ$ 、 $6.6^\circ$ 、 $11.6^\circ$ 、 $16.9^\circ$ 及 $20.0^\circ$ 具有特徵性的波峰。又，化合物(a)之D晶，在粉末X射線繞射譜中，具有圖1所示之圖型。

化合物(a)之D晶，在示差掃描熱量分析(DSC)中，具有外推開始點溫度為 $277^\circ\text{C}$ 之吸熱峰。

化合物(a)之D晶，在以KBr錠劑法之紅外線吸收光譜中，於 $703\text{cm}^{-1}$ 、 $896\text{cm}^{-1}$ 及 $3418\text{cm}^{-1}$ 之波數具有特徵性的吸收峰。又，化合物(a)之D晶，顯示圖10所示之紅外線吸收光譜圖表。

化合物(a)之D晶，在 $^{13}\text{C}$ 固體NMR譜中，具有 $136.0\text{ppm}$ 、 $111.2\text{ppm}$ 、 $105.1\text{ppm}$ 、 $101.8\text{ppm}$ 、 $52.7\text{ppm}$ 、 $49.6\text{ppm}$ 、 $42.9\text{ppm}$ 、 $23.8\text{ppm}$ 及 $18.5\text{ppm}$ 之化學位移。又，

化合物(a)之D晶，顯示圖17-1(6500Hz)及圖17-2(14000Hz)所示之 $^{13}\text{C}$ 固體NMR譜圖表。

化合物(a)之D晶，在 $^{15}\text{N}$ 固體NMR譜中，具有248.6ppm、245.7ppm、229.2ppm、214.5ppm、174.3ppm、86.5ppm、54.7ppm及-12.4ppm之化學位移。又，化合物(a)之D晶，顯示圖18所示之 $^{15}\text{N}$ 固體NMR譜圖表。

【0020】化合物(a)之A晶，在粉末X射線繞射譜中，於繞射角 $2\theta=5.3^\circ$ 、 $7.3^\circ$ 、 $10.3^\circ$ 、 $15.1^\circ$ 及 $17.4^\circ$ 具有特徵性的波峰。又，化合物(a)之A晶，在粉末X射線繞射譜中，具有圖2所示之圖型。

化合物(a)之A晶，在示差掃描熱量分析(DSC)中，具有外推開始點溫度為 $277^\circ\text{C}$ 之吸熱峰。

化合物(a)之A晶，在以KBr錠劑法之紅外線吸收光譜中，於 $874\text{cm}^{-1}$ 、 $1330\text{cm}^{-1}$ 及 $3314\text{cm}^{-1}$ 之波數具有吸收峰。又，化合物(a)之A晶，顯示圖11所示之紅外線吸收光譜圖表。

化合物(a)之A晶，在 $^{13}\text{C}$ 固體NMR譜中，具有154.7ppm、138.8ppm、133.6ppm、113.2ppm、101.6ppm、100.4ppm、67.4ppm、51.8ppm、26.6ppm及23.3ppm之化學位移。又，化合物(a)之A晶，顯示圖19-1(6500Hz)及圖19-2(14000Hz)所示之 $^{13}\text{C}$ 固體NMR譜圖表。

化合物(a)之A晶，在 $^{15}\text{N}$ 固體NMR譜中，具有243.6ppm、86.7ppm、56.7ppm及-12.4ppm之化學位移。又，化合物(a)之A晶，顯示圖20所示之 $^{15}\text{N}$ 固體NMR譜圖表。

【0021】化合物(a)之B晶，在粉末X射線繞射譜中，於繞射角 $2\theta=5.3^\circ$ 、 $6.0^\circ$ 、 $6.7^\circ$ 、 $10.4^\circ$ 及 $20.8^\circ$ 具有特徵性的波峰。又，化合物(a)之B晶，在粉末X射線繞射譜中，具有圖6所示之圖型。

化合物(a)之B晶，在示差掃描熱量分析(DSC)中，具有外推開始點溫度為 $271^\circ\text{C}$ 之吸熱峰。

【0022】化合物(a)之C晶，在粉末X射線繞射譜中，於繞射角 $2\theta=6.0^\circ$ 、 $10.0^\circ$ 、 $13.7^\circ$ 、 $20.3^\circ$ 及 $23.0^\circ$ 具有特徵性的波峰。又，化合物(a)之C晶，在粉末X射線繞射譜中，具有圖7所示之圖型。

化合物(a)之C晶，在示差掃描熱量分析(DSC)中，具有外推開始點溫度為 $100^\circ\text{C}$ 及 $278^\circ\text{C}$ 之吸熱峰。

化合物(a)之C晶，在以KBr錠劑法之紅外線吸收光譜中，於 $840\text{cm}^{-1}$ 、 $904\text{cm}^{-1}$ 、 $955\text{cm}^{-1}$ 、 $1490\text{cm}^{-1}$ 及 $3281\text{cm}^{-1}$ 之波數具有吸收峰。又，化合物(a)之C晶，顯示圖12所示之紅外線吸收光譜圖表。

【0023】化合物(a)之I晶，在粉末X射線繞射譜中，於繞射角 $2\theta=5.2^\circ$ 、 $7.2^\circ$ 、 $9.5^\circ$ 、 $14.5^\circ$ 、 $16.5^\circ$ 、 $20.9^\circ$ 、 $25.0^\circ$ 及 $27.9^\circ$ 具有特徵性的波峰。又，化合物(a)之I晶，在粉末X射線繞射譜中，具有圖8所示之圖型。

化合物(a)之I晶，在示差掃描熱量分析(DSC)中，具有外推開始點溫度為 $272^\circ\text{C}$ 之吸熱峰。

化合物(a)之I晶，在以KBr錠劑法之紅外線吸收光譜中，於 $1081\text{cm}^{-1}$ 及 $1260\text{cm}^{-1}$ 之波數具有吸收峰。又，化合

物(a)之I晶，顯示圖13所示之紅外線吸收光譜圖表。

【0024】化合物(b)之A晶，在粉末X射線繞射譜中，於繞射角 $2\theta=5.2^\circ$ 、 $7.6^\circ$ 、 $8.4^\circ$ 、 $10.5^\circ$ 、 $15.2^\circ$ 、 $16.9^\circ$ 、 $20.1^\circ$ 、 $21.0^\circ$ 、 $23.3^\circ$ 及 $26.6^\circ$ 具有特徵性的波峰。又，化合物(b)之A晶，在粉末X射線繞射譜中，具有圖3所示之圖型。

化合物(b)之A晶，在示差掃描熱量分析(DSC)中，具有外推開始點溫度為 $225^\circ\text{C}$ 之吸熱峰。

化合物(b)之A晶，在紅外線吸收光譜中，於 $1369\text{cm}^{-1}$ 、 $1424\text{cm}^{-1}$ 、 $1508\text{cm}^{-1}$ 、 $1545\text{cm}^{-1}$ 及 $1566\text{cm}^{-1}$ 之波數具有吸收峰。又，化合物(b)之A晶，顯示圖14所示之紅外線吸收光譜圖表。

化合物(b)之A晶，在 $^{13}\text{C}$ 固體NMR譜中，具有 $163.4\text{ppm}$ 、 $157.6\text{ppm}$ 、 $155.5\text{ppm}$ 、 $117.8\text{ppm}$ 、 $82.2\text{ppm}$ 、 $56.1\text{ppm}$ 及 $42.3\text{ppm}$ 之化學位移。又，化合物(b)之A晶，顯示圖21-1( $6500\text{Hz}$ )及圖21-2( $14000\text{Hz}$ )所示之 $^{13}\text{C}$ 固體NMR譜圖表。

化合物(b)之A晶，在 $^{15}\text{N}$ 固體NMR譜中，具有 $311.7\text{ppm}$ 、 $232.4\text{ppm}$ 、 $168.5\text{ppm}$ 、 $79.5\text{ppm}$ 、 $53.3\text{ppm}$ 、 $32.9\text{ppm}$ 及 $-4.3\text{ppm}$ 之化學位移。又，化合物(b)之A晶，顯示圖22所示之 $^{15}\text{N}$ 固體NMR譜圖表。

【0025】化合物(b)之B晶，在粉末X射線繞射譜中，於繞射角 $2\theta=5.2^\circ$ 、 $6.6^\circ$ 、 $8.1^\circ$ 、 $15.2^\circ$ 、 $15.9^\circ$ 、 $16.2^\circ$ 、 $18.8^\circ$ 、 $20.5^\circ$ 、 $20.8^\circ$ 及 $21.7^\circ$ 具有特徵性的波峰。又，化合

物(b)之B晶，在粉末X射線繞射譜中，具有圖4所示之圖型。

化合物(b)之B晶，在示差掃描熱量分析(DSC)中，具有外推開始點溫度為221°C之吸熱峰。

【0026】化合物(b)之C晶，在粉末X射線繞射譜中，於繞射角 $2\theta=5.2^\circ$ 、 $7.6^\circ$ 、 $8.4^\circ$ 、 $10.0^\circ$ 、 $10.5^\circ$ 、 $11.9^\circ$ 、 $15.2^\circ$ 、 $17.0^\circ$ 、 $20.9^\circ$ 及 $21.2^\circ$ 具有特徵性的波峰。又，化合物(b)之C晶，在粉末X射線繞射譜中，具有圖9所示之圖型。

化合物(b)之C晶，在示差掃描熱量分析(DSC)中，具有外推開始點溫度為223°C之吸熱峰。

【0027】化合物(b)之C晶，在以KBr錠劑法之紅外線吸收光譜中，於 $1369\text{cm}^{-1}$ 、 $1424\text{cm}^{-1}$ 、 $1507\text{cm}^{-1}$ 、 $1546\text{cm}^{-1}$ 及 $1566\text{cm}^{-1}$ 之波數具有吸收峰。又，化合物(b)之C晶，顯示圖15所示之紅外線吸收光譜圖表。

【0028】化合物(c)之A晶，在粉末X射線繞射譜中，於 $2\theta=4.8$ 、 $7.6$ 、 $8.2$ 、 $9.7$ 、 $15.3$ 、 $16.6$ 、 $19.1$ 、 $19.8$ 、 $22.4$ 及 $26.2^\circ$ 具有特徵性的波峰。又，化合物(c)之A晶，在粉末X射線繞射譜中，具有圖5所示之圖型。

化合物(c)之A晶，在示差掃描熱量分析(DSC)中，具有外推開始點溫度為182°C之吸熱峰。

【0029】化合物(c)之A晶，在以KBr錠劑法之紅外線吸收光譜中，於 $1115\text{cm}^{-1}$ 、 $1446\text{cm}^{-1}$ 、 $1508\text{cm}^{-1}$ 、 $1560\text{cm}^{-1}$ 及 $1601\text{cm}^{-1}$ 之波數具有吸收峰。又，化合物(c)之A

晶，顯示圖16所示之紅外線吸收光譜圖表。

化合物(c)之A晶，在 $^{13}\text{C}$ 固體NMR譜中，具有161.3ppm、150.8ppm、138.9ppm、128.1ppm、109.8ppm、82.7ppm、47.6ppm、42.5ppm、41.5ppm、24.5ppm及21.7ppm之化學位移。又，化合物(c)之A晶，顯示圖23-1(6500Hz)及圖23-2(14000Hz)所示之 $^{13}\text{C}$ 固體NMR譜圖表。

【0030】化合物(c)之A晶，在 $^{15}\text{N}$ 固體NMR譜中，具有242.8ppm、233.8ppm、219.0ppm、171.7ppm、86.9ppm、54.9ppm、11.3ppm及-5.5ppm之化學位移。又，化合物(c)之A晶，顯示圖24所示之 $^{15}\text{N}$ 固體NMR譜圖表。

【0031】此處所謂「特徵性的波峰」係指各個結晶多形之粉末X射線繞射譜中主要被確認出之波峰及固有之波峰的意思。本發明之繞射角所界定之結晶，亦包含確認出上述特徵性的波峰以外之波峰者。

【0032】由於粉末X射線繞射譜中之繞射角 $2\theta$ 的位置及相對強度依據測定條件可能多少會變動，故即使 $2\theta$ 稍微不同時，應適當參照譜全體之圖型認定晶形的同一性，該誤差範圍的結晶亦包含於本發明。作為 $2\theta$ 之誤差，例如，認為為 $\pm 0.5^\circ$ 、 $\pm 0.2^\circ$ 。即，上述繞射角所界定之結晶，亦包含以 $\pm 0.2^\circ$ 至 $\pm 0.5^\circ$ 的範圍相一致者。

又，來自粉末X射線繞射譜之測定條件(例如，裝置)之誤差範圍的結晶亦包含於本發明。

【0033】在示差掃描熱分析(DSC)中，所謂波峰之外推開始點溫度，係指放熱或吸熱峰之開始點的溫度，藉由

外插而且求得之放熱或吸熱開始溫度。示差掃描熱分析(DSC)中之放熱及吸熱峰亦依據測定條件可能多少會變動。作為誤差，例如，認為為 $\pm 5^{\circ}\text{C}$ 、 $\pm 2^{\circ}\text{C}$ 之範圍。即，上述波峰所界定之結晶，亦包含以 $\pm 2^{\circ}\text{C}$ 至 $\pm 5^{\circ}\text{C}$ 的範圍相一致者。

【0034】一般而言，固體NMR譜中之化學位移亦可能產生誤差。作為該誤差，例如，為 $\pm 0.25\text{ppm}$ ，典型的為 $\pm 0.5\text{ppm}$ 之範圍。即，上述化學位移所界定之晶形，亦包含以 $\pm 0.25\text{ppm}$ 至 $\pm 0.5\text{ppm}$ 的範圍相一致者。又，依據旋轉頻率或測定機器的差異，有波峰強度有變化，或波峰出現或消失之情形。

【0035】一般而言，紅外線吸收光譜中之吸收峰亦可能產生誤差。作為該誤差，例如，為 $\pm 2\text{cm}^{-1}$ ，典型的為 $\pm 5\text{cm}^{-1}$ 之範圍。即，上述波數所界定之晶形，亦包含以 $\pm 2\text{cm}^{-1}$ 至 $\pm 5\text{cm}^{-1}$ 的範圍相一致者。

【0036】進而，粉末X射線繞射譜、示差掃描熱分析(DSC)、紅外線吸收光譜、 $^{13}\text{C}$ 固體NMR譜及 $^{15}\text{N}$ 固體NMR譜之任一者，結晶之標準品，例如依據本案實施例記載之方法所得之各結晶的實測值，與本案記載之數值的差，亦可作為測定誤差而被容許。即，藉由該方法所算出之誤差範圍內，繞射角、吸熱及放熱峰、紅外線吸收光譜或 $^{13}\text{C}$ 固體NMR譜及 $^{15}\text{N}$ 固體NMR譜一致的結晶亦包含於本發明之結晶。

## [實施例]

【0037】以下，舉出本揭示之實施例具體說明。惟，以下之實施例並非限定本發明者。例如，以下之實施例所例示之化合物的合成方法、純化方法及結晶化方法，係用以獲得本發明之結晶的方法之例示，本發明之結晶並不限定於僅藉由以下揭示之合成方法、純化方法及結晶化方法獲得的結晶。

【0038】實施例之結晶的化合物及合成時所單離之新穎化合物的構造，藉由使用<sup>1</sup>H-NMR或LC/MS(液相層析儀/質譜儀)質譜法來確認。

【0039】關於<sup>1</sup>H-NMR，使用JEOL JNM-ECZ400S (400MHz)。溶劑為CDCl<sub>3</sub>時，使用四甲基矽烷(0.0ppm)，DMSO-d<sub>6</sub>時使用二甲基亞砷之波峰(2.49ppm)作為標準波峰。關於<sup>1</sup>H-NMR譜(400MHz、DMSO-d<sub>6</sub>、CD<sub>3</sub>OD、或CDCl<sub>3</sub>)，顯示其化學位移(δ：ppm)及耦合常數(J：Hz)。此外，以下之縮寫分別表示下列者。s=singlet、d=doublet、t=triplet、q=quartet、brs=broad singlet、m=multiplet。

【0040】關於LC/MS之結果，顯示各化合物之[M+H]<sup>+</sup>的值(分子量實測值(Obs. MS):即化合物之分子質量[M]附加質子[H]<sup>+</sup>的實測值)。

【0041】實施例之結晶的粉末X射線繞射譜，係以以下之條件來測定。

裝置：Bruker AXS製 D8 DISCOVER With GADDS

CS，線源：Cu·K $\alpha$ ，波長：1.541838( $10^{-10}$ m)，管電壓-管電流：40kv-40mA，入射側平板石墨單色器，準直儀 $\phi$ 300 $\mu$ m，2維PSPC檢測器，掃描3~40°

【0042】實施例之視差掃描熱量，係以以下之條件來測定。

裝置：PerkinElmer製DSC8000，升溫速度：每分10°C，氛圍：氮，樣品盤：鋁，取樣：0.1秒，測定溫度範圍：25~300°C

【0043】實施例之紅外線吸收光譜(KBr法)，依循日本藥局方之一般試驗法所記載之紅外線吸收光譜測定法的溴化鉀錠劑法，係以以下之條件來測定。

裝置：Thermo Fisher Scientific製 AVATAR320 Nicolet iS5，測定範圍：4000~400 $\text{cm}^{-1}$ ，解析度：4 $\text{cm}^{-1}$ ，累計次數：16

【0044】實施例之固體NMR譜，係以以下之條件來測定。

裝置：Bruker製 DSX300WB，測定核： $^{13}\text{C}$ 及 $^{15}\text{N}$ ，脈衝重複時間：5秒，脈衝模式：CP/MAS測定

### 【0045】

#### [實施例1]

本實施例中，說明關於1-(6-((6-((1R)-1-羥基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-吡啶基)哌啶-2-酮(化合物(a))之D晶。

首先，說明關於化合物(a)之合成方法。

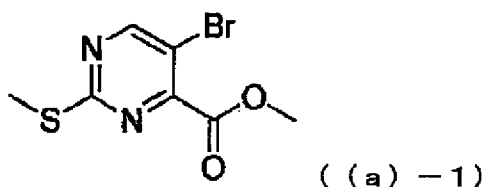
## 【 0046】

<化合物(a)-1之合成>

進行以下之化合物(a)-1所示之甲基 5-溴-2-甲硫基嘧啶-4-羧酸酯之合成。

## 【 0047】

【化2】



【 0048】 將 5-溴-2-(甲硫基)嘧啶-4-羧酸 (110g, 0.44mol) 之甲醇溶液 (1.1L) 一邊攪拌一邊冷卻至 0℃, 滴入亞硫醯氯 (50mL, 0.66mol)。緩慢加熱反應溶液, 加熱回流下使其反應 4 小時。以 LC/MS 與 TLC 確認反應之結束, 將反應溶液於室溫冷卻。減壓下餾去揮發成分, 將殘渣溶解於乙酸乙酯 (1L) 中, 以 10% 碳酸鈉水溶液 (200mL) 洗淨 3 次, 以飽和食鹽水 (200mL) 洗淨 2 次, 以無水硫酸鎂使所得之有機相乾燥, 將固體過濾分別後, 減壓下濃縮濾液。將所得之粗產物以二氧化矽凝膠管柱色層分析進行純化, 得到標題化合物 (88g, 75%)。

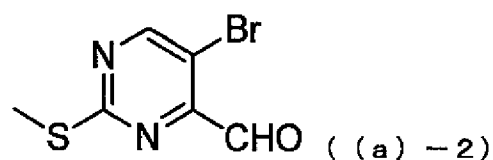
## 【 0049】

<化合物(a)-2之合成>

進行以下之化合物(a)-2所示之 5-溴-2-甲硫基嘧啶-4-甲醛之合成。

## 【 0050】

【化 3】



【 0051】 將化合物(a)-1(25g，95mmol)之THF(四氫呋喃)溶液(375mL)在氮氛圍下冷卻至 $-78^{\circ}\text{C}$ ，進行攪拌。於此溶液中滴入氫化二異丁基鋁(84mL，143mmol，1.7M甲苯溶液)，於 $-78^{\circ}\text{C}$ 攪拌4小時，以TLC確認反應之結束後，於 $-78^{\circ}\text{C}$ 滴入甲醇使反應停止，使反應溶液緩慢升溫至 $0^{\circ}\text{C}$ 。以乙酸乙酯稀釋反應溶液，通過矽藻土進行吸引過濾。將濾液以飽和食鹽水(200mL)洗淨2次，以無水硫酸鎂使所得之有機相乾燥，將固體過濾分別。藉由濃縮濾液，得到標題化合物(25g，粗產物)。此粗產物不進行更進一步地純化而使用於接下來的反應。

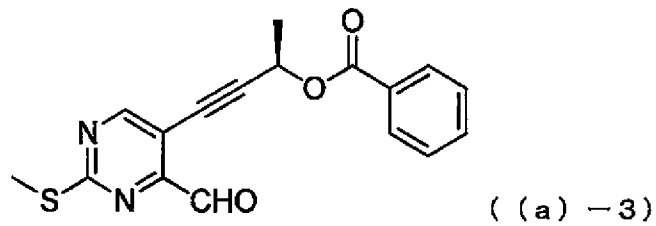
## 【 0052】

&lt;化合物(a)-3之合成&gt;

進行以下之化合物(a)-3所示之(R)-3-(4-甲醯基-2-甲硫基嘓啶-5-基)-1-甲基-2-丙炔基 苯甲酸酯之合成。

## 【 0053】

【化4】



【0054】將  $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$  (7.832g, 11.2mmol)、碘化銅 (2.12g, 11.2mmol) 之 1,4-二噁烷溶液 (60ml) 進行脫氣及氫取代，於室溫添加二異丙基乙胺 (25.29mL, 145.1mmol)。於室溫攪拌此反應溶液 5 分鐘，於室溫添加化合物 (a)-2 與 (5-溴-2-甲硫基嘧啶-4-基) 甲氧基甲醇之混合物 (26.0g, 粗產物) 的 1,4-二噁烷溶液 (50mL) 後，緩慢滴入 (R)-1-甲基-炔丙基苯甲酸酯 (23.3g, 133.9mmol) 的 1,4-二噁烷溶液 (55mL)，於室溫攪拌反應溶液 16 小時。以 LC/MS 追蹤反應的進行，反應結束後，以乙酸乙酯 (400mL) 稀釋反應混合物，通過矽藻土進行吸引過濾，以乙酸乙酯洗淨矽藻土。減壓下濃縮所得之濾液，將所得之粗產物直接使用於接下來的反應。

此外，關於化合物 (a)-2 與 (5-溴-2-甲硫基嘧啶-4-基) 甲氧基甲醇之混合物的合成，記載於參考例 1。

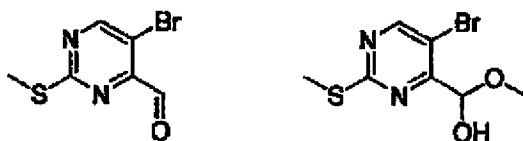
【0055】

(參考例 1)

化合物 (a)-2 與 (5-溴-2-甲硫基嘧啶-4-基) 甲氧基甲醇之混合物的合成

【0056】

【化5】



【0057】將化合物(a)-2(25g, 95mmol)之 THF 溶液(375mL)於氮氛圍下冷卻至 $-78^{\circ}\text{C}$ ，進行攪拌。於此溶液中滴入二異丁基鋁氫化物(84mL, 143mmol, 1.7M 甲苯溶液)，於 $-78^{\circ}\text{C}$ 攪拌4小時，以TLC確認反應之結束後，於 $-78^{\circ}\text{C}$ 滴入甲醇使反應停止，使反應溶液緩慢升溫至 $0^{\circ}\text{C}$ 。以乙酸乙酯稀釋反應溶液，通過矽藻土進行吸引過濾。將濾液以飽和食鹽水(200mL)洗淨2次，以無水硫酸鎂使所得之有機相乾燥，將固體過濾分別。藉由濃縮濾液，得到標題化合物之混合物(25g, 粗產物)。此粗產物不進行更進一步地純化而使用於接下來的反應。

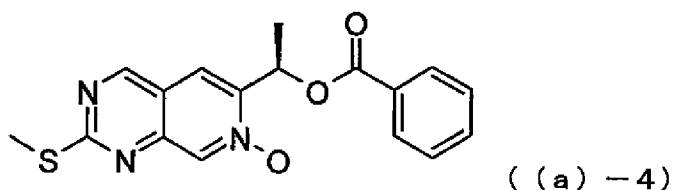
【0058】

&lt;化合物(a)-4之合成&gt;

進行以下之化合物(a)-4所示之(R)-6-(1-(苯甲醯氧基)乙基)-2-(甲硫基)吡啶并[3,4-d]嘓啶-7-氧化物之合成。

【0059】

【化6】



【0060】於室溫在化合物(a)-3(26.0g, 79.8mmol)之乙

醇溶液(260ml)中加入羥基胺·一鹽酸鹽(8.31g, 119.6 mmol)及乙酸鈉(9.81g, 119.6mmol), 於室溫攪拌16小時。於此反應溶液中追加乙醇(250ml), 進而於室溫加入碳酸鉀(27.5g, 199.4mmol)後, 於50℃攪拌3小時。以LC/MS追蹤反應的進行, 反應結束後, 將反應混合物通過矽藻土進行吸引過濾, 以乙酸乙酯(1.0L)及少量之甲醇洗淨矽藻土。減壓下濃縮所得之濾液, 以無水硫酸鎂使所得之有機相乾燥, 將固體過濾分別。將所得之粗產物以二氧化矽凝膠管柱色層分析進行純化, 得到標題之化合物(a)-4(13.0g, 48%)。

【0061】化合物(a)-4之<sup>1</sup>H-NMR譜如下述。

<sup>1</sup>H-NMR(CDC1<sub>3</sub>)δ: 9.04(1H, s), 8.79(1H, s), 8.14 (2H, d, J=7.5Hz), 7.77-7.40(4H, m), 6.66(1H, q, J=6.3Hz), 2.65 (3H, s), 1.79(3H, d, J=6.6Hz)

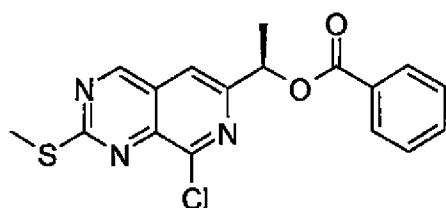
【0062】

<化合物(a)-5之合成>

進行以下之化合物(a)-5所示之(R)-1-(8-氯-2-(甲硫基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-6-基)乙基 苯甲酸酯之合成。

【0063】

【化7】



(a)-5

【0064】氮氛圍下於0℃在化合物(a)-4(8.0g，23.5 mmol)之二氯甲烷溶液(130ml)中滴入亞硫醯氯(51mL，704mmol)，將反應溶液於室溫攪拌16小時。反應之進行以TLC(薄層色層分析)進行追蹤，反應結束後在減壓下濃縮反應溶液，將所得之有機相以氧化鋁管柱色層分析進行純化，得到化合物(a)-5(3.2g，37%)。

【0065】化合物(a)-5之<sup>1</sup>H-NMR之結果如下述。

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>)δ：9.19(1H, s)，8.16-8.12(2H, m)，7.68(1H, s)，7.64-7.58(1H, m)，7.53-7.46(2H, m)，6.27(1H, q, J=6.8Hz)，2.74(3H, s)，1.81(3H, d, J=6.4Hz)

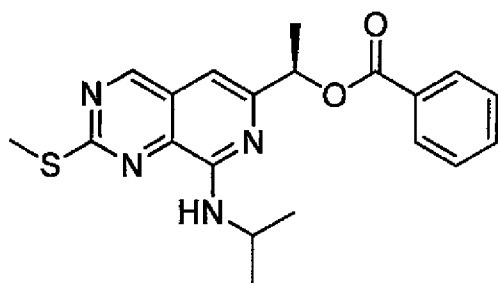
【0066】

<化合物(a)-6>

以下之化合物(a)-6所示之(R)-1-(8-(異丙胺基)-2-(甲基)吡啶并[3,4-d]嘓啶-6-基)乙基 苯甲酸酯之合成

【0067】

【化8】



(a)-6

【0068】將化合物(a)-5(3.06g，8.5mmol)與異丙胺(18mL)之混合物於80℃攪拌1小時後，將反應溶液冷卻至室溫。以水稀釋反應溶液，以乙酸乙酯進行萃取。以食鹽

水洗淨所得之有機相，以無水硫酸鈉使其乾燥。藉由餾去溶劑並將所得之粗產物以二氧化矽凝膠管柱色層分析進行純化，得到標題之化合物(a)-6(1.78g，收率55%)。

【0069】所得之化合物(a)-6之<sup>1</sup>H-NMR之結果如下述。

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>) δ：9.28(1H, s), 8.08(2H, d, J=7.4 Hz), 7.70(1H, t, J=7.4Hz), 7.57(2H, t, J=7.7Hz), 7.05(1H, d, J=8.0Hz), 6.99(1H, s), 5.34(2H, s), 4.32(1H, m), 2.66(3H, s), 1.25(6H, d, J=6.5Hz)

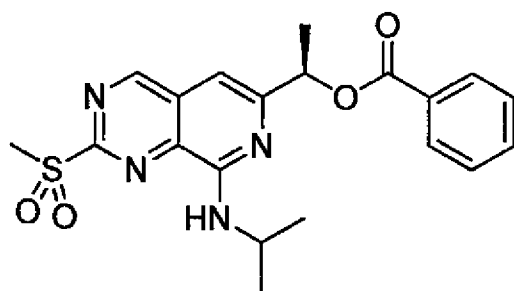
【0070】

<化合物(a)-7之合成>

進行以下之化合物(a)-7所示之(R)-1-(8-(異丙胺基)-2-(甲基磺醯基)吡啶并[3,4-d]嘓啶-6-基)乙基 苯甲酸酯之合成。

【0071】

【化9】



(a)-7

【0072】於0°C在化合物(a)-6(1.78g，4.7mmol)之四氫呋喃(47ml)與水(47ml)之混合溶液中加入Oxone(過氧化一硫酸鉀)(5.72g，9.3mmol)，於室溫攪拌18小時。將反應溶

液以乙酸乙酯進行萃取，以水洗淨所得之有機相後，以無水硫酸鈉使其乾燥。藉由餾去溶劑並將所得之粗產物以二氧化矽凝膠管柱色層分析進行純化，得到標題之化合物 (a)-7(1.61g，收率87%)。

LC/MS：(M+H)<sup>+</sup>=415.0

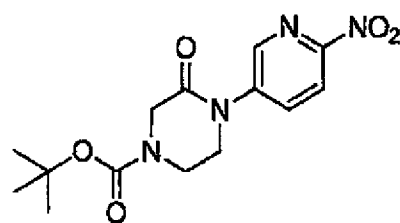
**【0073】**

<化合物(a)-8之合成>

進行以下之化合物(a)-8所示之三級丁基 4-(6-硝基吡啶-3-基)-3-側氧哌啶-1-羧酸酯之合成。

**【0074】**

【化10】



(a)-8

**【0075】** 使 2-硝基-5-溴吡啶(1.01g，5.0mmol)、三級丁基 2-側氧-4-哌啶-羧酸酯(1.00g，5.0mmol)與碳酸銨(3.26g，10.0mmol)懸濁於1,4-二噁烷中，進行30分鐘氮氣起泡。於此懸濁液中，添加 Xantphos(4,5'-雙(二苯基膦基)-9,9'-二甲基二苯并哌喃)(246mg，0.43mmol)與參(二亞苄基丙酮)二鈣(229mg，0.25mmol)，加熱回流下攪拌2小時。將反應溶液於室溫冷卻後，加入水與乙酸乙酯，通過矽藻土進行過濾。分離濾液之有機相，將水相以乙酸乙酯進行萃取。混合所得之有機相，以無水硫酸鈉使其乾燥

後，將固體過濾分別，減壓下進行濃縮。將所得之殘渣以二氧化矽凝膠管柱色層分析進行純化，得到標題之化合物 (a)-8(1.08g, 67%)。

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)\delta$ : 8.67(1H, d,  $J=2.4\text{Hz}$ ), 8.32(1H, d,  $J=8.8\text{Hz}$ ), 8.15(1H, dd,  $J=8.8, 2.4\text{Hz}$ ), 4.33(2H, s), 3.93-3.83(4H, m), 1.51(9H, s)

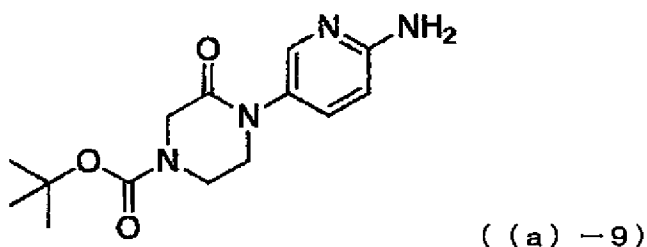
**【0076】**

<化合物(a)-9之合成>

進行以下之化合物(a)-9所示之三級丁基 4-(6-氨基吡啶-3-基)-3-側氧哌啶-1-羧酸酯之合成。

**【0077】**

【化 1 1】



**【0078】** 使化合物(a)-8(1.08g, 3.34mmol)溶解於乙醇(45mL)與 THF(22mL)中。於此溶液中加入鈀碳(108mg)，氫氛圍下攪拌24小時。將反應溶液通過矽藻土進行過濾，減壓下濃縮濾液。將殘渣以二氧化矽凝膠管柱色層分析進行純化得到標題之化合物(a)-9(0.928g, 95%)。

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)\delta$ : 7.99(1H, d,  $J=2.4\text{Hz}$ ), 7.38(1H, dd,  $J=8.8, 2.4\text{Hz}$ ), 6.53(1H, d,  $J=8.8\text{Hz}$ ), 4.50(2H, brs), 4.24(2H, s), 3.78(2H, t,  $J=5.1\text{Hz}$ ), 3.67(2H, t,  $J=5.4\text{Hz}$ ),

1.50(9H, s)

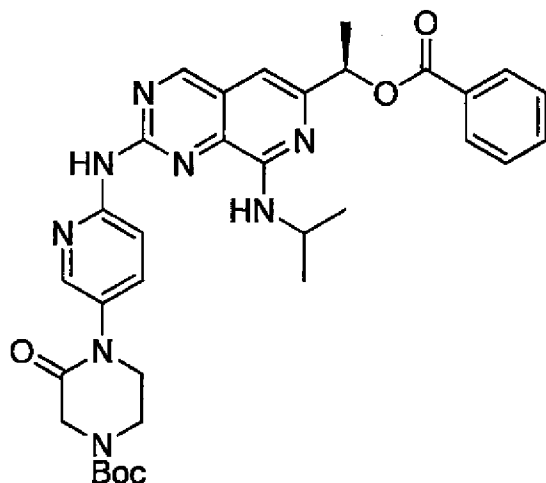
【0079】

<化合物(a)-10之合成>

進行以下之化合物(a)-10所示之三級丁基 (R)-4-(6-((6-(1-(苯甲醯氧基)乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘓啶-2-基)胺基)吡啶-3-基)-3-側氧哌啶-1-羧酸酯之合成。

【0080】

【化12】



((a)-10)

【0081】於 100 °C 在甲苯 (0.375ml) 中將化合物 (a)-7 (62mg, 0.15mmol) 與化合物 (a)-9 (88mg, 0.30mmol) 攪拌 6 日。將反應溶液以二氧化矽凝膠管柱色層分析進行純化得到標題化合物 (0.0092g, 10%)。

<sup>1</sup>H-NMR (DMSO)δ : 10.27(1H, s), 9.27(1H, s), 8.33 (2H, m), 8.07(2H, m), 7.86(1H, m), 7.70(1H, m), 7.58(3H, m), 7.00(1H, s), 6.55(1H, d), 5.98(1H, q), 4.27(1H, m), 4.11(2H, s), 3.74(4H, m), 1.68(3H, d), 1.45(9H, s),

1.30(6H, m)

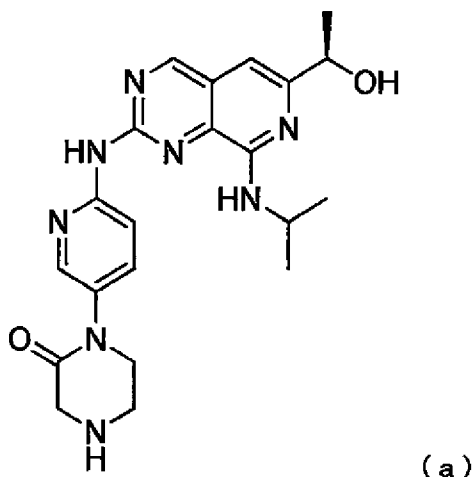
【0082】

<化合物(a)之合成及純化>

進行化合物(a)所示之1-(6-((6-((1R)-1-羥基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘓啶-2-基)胺基)-3-吡啶基)哌啶-2-酮之合成。

【0083】

【化13】



【0084】於室溫在化合物(a)-10(9.2mg, 0.15mmol)之二氯甲烷溶液(0.35ml)中加入三氟乙酸(0.15ml), 攪拌1小時。將反應溶液濃縮乾固後, 加入四氫呋喃(0.15ml)與甲醇(0.15ml), 加入4M氫氧化鋰水溶液(0.018ml)。以甲酸中和反應溶液後, 以二氧化矽凝膠管柱色層分析進行純化得到標題化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO) $\delta$ : 10.16(1H, s), 9.26(1H, s), 8.31(1H, m), 8.29(1H, s), 7.81(1H, m), 7.00(1H, s), 6.42(1H, m), 5.18(1H, d), 4.63(1H, m), 4.27(1H, m), 3.65(2H, m),

3.41(2H, s), 3.05(2H, m), 1.39(3H, d), 1.30(6H, m)

**【 0085】**

<化合物(a)之D晶之製造>

將前述之經以二氧化矽凝膠管柱色層分析進行純化之化合物(a)的溶液進行濃縮而飽和化，使結晶析出。藉此，得到化合物(a)之D晶。

**【 0086】**

<化合物(a)之D晶之評估>

所得之結晶的XRD表示於圖1。於繞射角 $2\theta=6.3^\circ$ 、 $6.6^\circ$ 、 $11.6^\circ$ 、 $16.9^\circ$ 及 $20.0^\circ$ 觀測到波峰。

示差掃描熱量分析(DSC)中之吸熱峰為 $277^\circ\text{C}$ 。

所得之結晶的紅外線吸收光譜(KBr法)表示於圖10。於波數 $703\text{cm}^{-1}$ 、 $896\text{cm}^{-1}$ 及 $3418\text{cm}^{-1}$ 觀測到波峰。

**【 0087】** 所得之結晶的固體NMR譜( $^{13}\text{C}$ )顯示於圖17-1(6500Hz)及圖17-2(14000Hz)。於化學位移136.0ppm、111.2ppm、105.1ppm、101.8ppm、52.7ppm、49.6ppm、42.9ppm、23.8ppm及18.5ppm觀測到波峰。

所得之結晶的固體NMR譜( $^{15}\text{N}$ )表示於圖18。於化學位移248.6ppm、245.7ppm、229.2ppm、214.5ppm、174.3ppm、86.5ppm、54.7ppm及-12.4ppm觀測到波峰。

**【 0088】**

[實施例2]

本實施例中，說明關於1-(6-((6-((1R)-1-羥基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘓啶-2-基)胺基)-3-吡啶基)哌啶-

2-酮(化合物(a))之A晶。

**【0089】**

<化合物(a)之A晶之製造>

化合物(a)之A晶，係改變實施例1所得之化合物(a)之D晶來製造。

具體而言，使D晶懸濁於D晶之5~50倍量的乙醇後，將反應溶液加熱攪拌6小時，接著將反應溶液於0℃攪拌後，瀘取析出物，進行乾燥得到結晶。

此外，溶劑量、加熱時間、攪拌條件、至過濾分別的時間雖然無特別限定，但由於該等之條件對於結晶的收率、化學純度、粒徑、粒度分布等有影響，故視目的組合設定較佳。瀘取可使用通常的方法，例如自然過濾、加壓過濾、減壓過濾、加熱乾燥、減壓加熱乾燥。

**【0090】**

<化合物(a)之A晶之評估>

所得之結晶的XRD表示於圖2。於繞射角 $2\theta=5.3^\circ$ 、 $7.3^\circ$ 、 $10.3^\circ$ 、 $15.1^\circ$ 及 $17.4^\circ$ 觀測到波峰。

示差掃描熱量分析(DSC)中之吸熱峰為 $277^\circ\text{C}$ 。

所得之結晶的紅外線吸收光譜(KBr法)表示於圖11。於 $874\text{cm}^{-1}$ 、 $1330\text{cm}^{-1}$ 及 $3314\text{cm}^{-1}$ 觀測到波峰。

所得之結晶的固體NMR譜( $^{13}\text{C}$ )表示於圖19-1(6500Hz)及圖19-2(14000Hz)。於化學位移 $154.7\text{ppm}$ 、 $138.8\text{ppm}$ 、 $133.6\text{ppm}$ 、 $113.2\text{ppm}$ 、 $101.6\text{ppm}$ 、 $100.4\text{ppm}$ 、 $67.4\text{ppm}$ 、 $51.8\text{ppm}$ 、 $26.6\text{ppm}$ 及 $23.3\text{ppm}$ 觀測到波峰。

所得之結晶的固體 NMR 譜 ( $^{15}\text{N}$ ) 表示於圖 20。於化學位移 243.6ppm、86.7ppm、56.7ppm 及 -12.4ppm 觀測到波峰。

#### 【0091】

[實施例 3]

本實施例中，說明關於 1-(6-((6-((1R)-1-羥基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-吡啶基)哌啶-2-酮(化合物(a))之 B 晶。

#### 【0092】

<化合物(a)之 B 晶之製造>

將實施例 1 中之管柱色層分析中使用的溶劑改成二氯甲烷/甲醇=20/1 將經純化之化合物(a)的溶液進行濃縮而飽和化，使結晶析出。藉此得到化合物(a)之 B 晶。

#### 【0093】

<化合物(a)之 B 晶之評估>

所得之結晶的 XRD 表示於圖 6。於繞射角  $2\theta=5.3^\circ$ 、 $6.0^\circ$ 、 $6.7^\circ$ 、 $10.4^\circ$  及  $20.8^\circ$  觀測到波峰。

示差掃描熱量分析(DSC)中之吸熱峰為  $271^\circ\text{C}$ 。

#### 【0094】

[實施例 4]

<化合物(a)之 C 晶之製造>

於化合物(a)之 D 晶(900mg)中加入二甲基亞砜(5.4mL)，加熱至  $70^\circ\text{C}$ 。將所得之溶液冷卻至  $40^\circ\text{C}$  後，加入乙腈(6.75mL)冷卻至  $15^\circ\text{C}$ ，攪拌 2 小時。將所得之固體

過濾，以乙腈(2.5mL)洗淨後，於40℃進行減壓乾燥，得到二甲基亞砷合物之標題化合物(986mg，92%)。

### 【0095】

<化合物(a)之C晶之評估>

所得之結晶的XRD表示於圖7。於繞射角 $2\theta=6.0^\circ$ 、 $10.0^\circ$ 、 $13.7^\circ$ 、 $20.3^\circ$ 及 $23.0^\circ$ 觀測到波峰。

示差掃描熱量分析中之吸熱峰的外推開始點溫度為 $100^\circ\text{C}$ 及 $278^\circ\text{C}$ 。

所得之結晶的紅外線吸收光譜(KBr法)表示於圖12。於波數 $840\text{cm}^{-1}$ 、 $904\text{cm}^{-1}$ 、 $955\text{cm}^{-1}$ 、 $1490\text{cm}^{-1}$ 及 $3281\text{cm}^{-1}$ 觀測到波峰。

### 【0096】

[實施例5]

<化合物(a)之I晶之製造>

於化合物(a)之A晶(500mg)中加入水(10mL)，於室溫攪拌4日。將所得之固體過濾，於 $30^\circ\text{C}$ 進行減壓乾燥，得到標題化合物(432mg，86%)。

### 【0097】

<化合物(a)之I晶之評估>

所得之結晶的XRD表示於圖8。於繞射角 $2\theta=5.2^\circ$ 、 $7.2^\circ$ 、 $9.5^\circ$ 、 $14.5^\circ$ 、 $16.5^\circ$ 、 $20.9^\circ$ 、 $25.0^\circ$ 及 $27.9^\circ$ 觀測到波峰。

示差掃描熱量分析(DSC)中之吸熱峰為 $272^\circ\text{C}$ 。

所得之結晶的紅外線吸收光譜(KBr法)表示於圖13。

於波數  $1081\text{cm}^{-1}$  及  $1260\text{cm}^{-1}$  觀測到波峰。

**【0098】**

[實施例 6]

本實施例中，說明關於 1-(6-((6-((1R)-1-甲氧基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘓啶-2-基)胺基)-3-嗒吡)哌吡(化合物(b))之A晶。

首先，說明關於化合物(b)之合成方法。

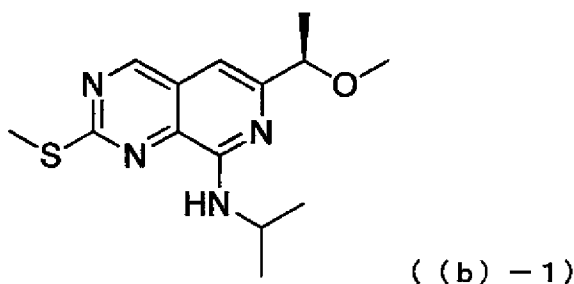
**【0099】**

<化合物(b)-1之合成>

進行以下之化合物(b)-1所示之(R)-N-異丙基-6-(1-甲氧基乙基)-2-(甲硫基)吡啶并[3,4-d]嘓啶-8-胺之合成。

**【0100】**

【化 1 4】



**【0101】** 化合物(b)-1，係藉由與前述化合物(a)-3、化合物(a)-4、化合物(a)-5及化合物(a)-6相同的程序來合成。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- $d_6$ ) $\delta$ : 9.27(7H, s), 6.94(1H, brs), 6.92(1H, s), 4.30-4.23(1H, m), 3.29(3H, s), 2.66(3H, s), 1.38(3H, d,  $J=6.4\text{Hz}$ ), 1.32-1.25(6H, m)

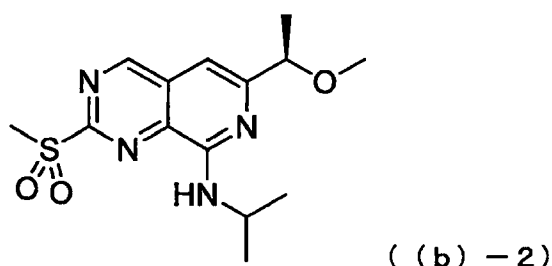
## 【 0102】

<化合物(b)-2之合成>

以下之化合物(b)-2所示之(R)-N-異丙基-6-(1-甲氧基乙基)-2-(甲基磺醯基)吡啶并[3,4-d]嘓啶-8-胺之合成

## 【 0103】

【化15】



【 0104】 於0°C在化合物(b)-1之四氫呋喃(THF)與水的混合溶液中加入Oxone，於室溫攪拌18小時。將反應溶液以乙酸乙酯進行萃取，以水洗淨所得之有機相後，以無水硫酸鈉使其乾燥。藉由餾去溶劑並將所得之粗產物以二氧化矽凝膠管柱色層分析進行純化，得到標題之化合物(b)-2。

LC/MS : (M+H)<sup>+</sup>=325.10

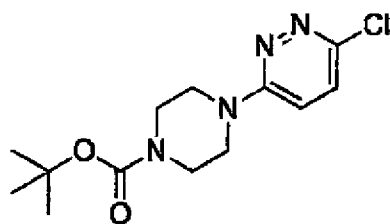
## 【 0105】

<化合物(b)-3之合成>

進行以下之化合物(b)-3所示之三級丁基 4-(6-氯嘓啶-3-基)嘓啶-1-羧酸酯之合成。

## 【 0106】

【化 1 6】



( (b) - 3 )

【0107】使3,6-二氯嗒吡啶-(5.01g, 33.6mmol)與三級丁基哌啶-1-羧酸酯(6.88g, 37.0mmol)溶解於DMF(50mL)中，添加三乙胺(11.7mL, 50.4mmol)，於80℃攪拌整夜。將反應溶液冷卻至室溫，加入水後，以二氯甲烷與甲醇之95：5混合溶液(50mL)進行萃取3次。將混合後之有機相以無水硫酸鎂進行乾燥，將固體過濾分別後，減壓下濃縮濾液。藉由以二乙基醚洗淨所得之粗產物，得到標題之化合物(b)-3(7.0g, 70%)。

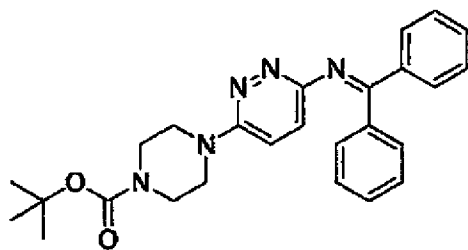
【0108】

&lt;化合物(b)-4之合成&gt;

實施以下之化合物(b)-4所示之三級丁基 4-(6-((二苯基亞甲基)胺基)嗒吡啶-3-基)哌啶-1-羧酸酯之合成。

【0109】

【化 1 7】



( (b) - 4 )

【0110】使化合物(b)-3(59.8mg, 0.20mmol)、二苯甲

酮亞胺 (43.5mg, 0.24mmol)、參(二亞苄基丙酮)二鈮 (9.2mg, 0.010mmol)、BINAP(2,2'-雙(二苯基膦基)-1,1'-聯萘)(12.5mg, 0.020mmol)與碳酸鈉(130.3mg, 0.40mmol)懸濁於甲苯(1.0mL)中，於100℃攪拌整夜。於室溫冷卻後，將反應溶液通過矽藻土進行過濾，以乙酸乙酯洗淨矽藻土。以飽和食鹽水洗淨所得之濾液，以無水硫酸鎂使其乾燥後，將固體過濾分別，減壓下濃縮濾液。將殘渣以二氧化矽凝膠管柱色層分析進行純化，得到標題之化合物 (b)-4(67mg, 76%)。

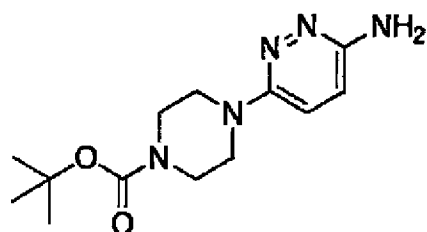
**【0111】**

<化合物(b)-5之合成>

進行以下之化合物(b)-5所示之三級丁基 4-(6-氨基嗒吡啶-3-基)哌啶-1-羧酸酯之合成。

**【0112】**

【化18】



(b)-5

**【0113】** 使化合物(b)-4(67mg, 0.151mmol)溶解於THF(0.76mL)中，加入檸檬酸水溶液(0.378mL, 0.755mmol, 2mol/L)於室溫攪拌整夜。於反應溶液中加入飽和碳酸氫鈉水溶液(5mL)進行中和，以乙酸乙酯(5mL)萃取2次。混合有機相，以無水硫酸鎂使其乾燥，將固體過濾分

別後，減壓下濃縮濾液。藉由以三級丁基甲基醚(5mL)洗淨所得之粗產物，得到標題之化合物(b)-5(0.30g，71%)。

其他，作為本實施例相關連之化合物，6-胺基吡啶-3-甲醛，與三級丁基 4-[(6-胺基吡啶-3-基)甲基]哌啶-1-羧酸酯之合成方法作為參考例顯示於下。

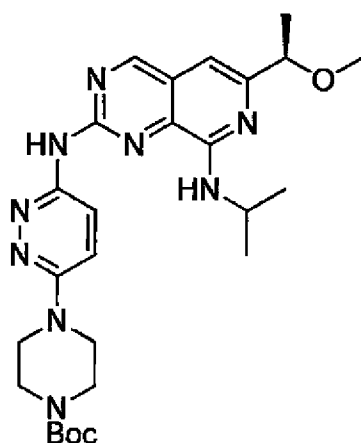
### 【0114】

<化合物(b)-6之合成>

進行化合物(b)-6所示之三級丁基 (R)-4-(6-((8-(異丙胺基)-6-(1-甲氧基乙基)吡啶并[3,4-d]嘓啶-2-基)胺基)嗒啶-3-基)哌啶-1-羧酸酯之合成。

### 【0115】

【化19】



(b)-6

【0116】將實施例1所合成之化合物(a)-5(708mg，2.2mmol)與化合物(b)-5(732mg，2.6mmol)之甲苯溶液(5.5ml)於100℃攪拌3日。回到室溫後，以乙酸乙酯(20ml)與二氯甲烷(100ml)進行稀釋，以飽和食鹽水(90ml)及飽和碳酸氫鈉水溶液(10ml)洗淨後，將經分離之有機相進行濃縮乾

固，以二氧化矽凝膠管柱進行純化，得到標題之化合物 (b)-6(510mg, 45%)。

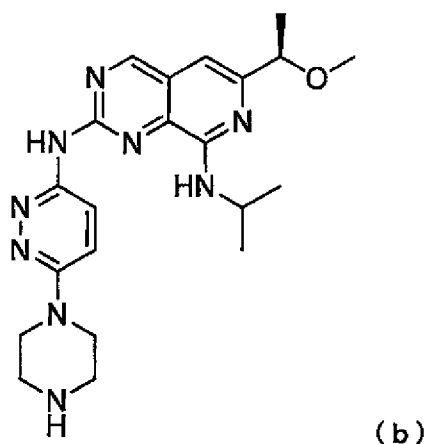
**【0117】**

<化合物(b)之合成>

進行以下之化合物(b)所示之1-(6-((6-((1R)-1-甲氧基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-嗒吡啶)哌啶之合成。

**【0118】**

【化20】



**【0119】** 於室溫在化合物(b)-6(33.2mg, 0.063mmol)之二氯甲烷溶液(0.44ml)中加入三氟乙酸(0.2ml)，於室溫攪拌1小時。將所得之溶液進行濃縮乾固，進而使用HPLC進行分取純化，得到標題化合物(23.8mg, 88%)。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO) $\delta$  : 10.24(1H, s), 9.20(1H, s), 8.16(1H, d), 7.36(1H, d), 6.86(1H, s), 6.35(1H, d), 6.42(1H, m), 4.22(2H, m), 3.43(4H, m), 3.26(4H, m), 2.81(3H, m), 1.37(3H, d), 1.26(6H, m)

**【 0120】**

<化合物(b)之A晶之製造>

得到藉由HPLC分取純化之化合物(b)的TFA鹽(三氟乙酸鹽)。接著將所得之TFA鹽於水-二氯甲烷中進行攪拌。接著，以飽和碳酸氫鈉水溶液將水相調整成pH8~9之弱鹼性，將有機相分離。之後，以飽和食鹽水洗淨，以 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 使其乾燥並將溶劑餾去，得到結晶。

**【 0121】**

<化合物(b)之A晶之評估>

所得之結晶的XRD表示於圖3。於繞射角 $2\theta=5.2^\circ$ 、 $7.6^\circ$ 、 $8.4^\circ$ 、 $10.5^\circ$ 、 $15.2^\circ$ 、 $16.9^\circ$ 、 $20.1^\circ$ 、 $21.0^\circ$ 、 $23.3^\circ$ 及 $26.6^\circ$ 觀測到波峰。

示差掃描熱量分析(DSC)中之吸熱峰為 $225^\circ\text{C}$ 。

所得之結晶的紅外線吸收光譜(KBr法)表示於圖14。於波數 $1369\text{cm}^{-1}$ 、 $1424\text{cm}^{-1}$ 、 $1508\text{cm}^{-1}$ 、 $1545\text{cm}^{-1}$ 及 $1566\text{cm}^{-1}$ 觀測到波峰。

所得之結晶的固體NMR譜( $^{13}\text{C}$ )表示於圖21-1(6500Hz)及圖21-2(14000Hz)。於化學位移 $163.4\text{ppm}$ 、 $157.6\text{ppm}$ 、 $155.5\text{ppm}$ 、 $117.8\text{ppm}$ 、 $82.2\text{ppm}$ 、 $56.1\text{ppm}$ 及 $42.3\text{ppm}$ 觀測到波峰。

所得之結晶的固體NMR譜( $^{15}\text{N}$ )表示於圖22。於化學位移 $311.7\text{ppm}$ 、 $232.4\text{ppm}$ 、 $168.5\text{ppm}$ 、 $79.5\text{ppm}$ 、 $53.3\text{ppm}$ 、 $32.9\text{ppm}$ 及 $-4.3\text{ppm}$ 觀測到波峰。

**【 0122】**

## [實施例 7]

本實施例中，說明關於 1-(6-((6-((1R)-1-甲氧基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘓啶-2-基)胺基)-3-嗒吡)哌吡(化合物(b))之 B 晶。

## 【0123】

## &lt;化合物(b)之 B 晶之製造&gt;

本實施例，係於 A 晶之製造的過程中析出之 TFA 鹽中，加入四氫呋喃(0.15ml)與甲醇(0.15ml)，加入 4M 氫氧化鋰水溶液(0.018ml)。將反應溶液以甲酸中和後，以二氧化矽凝膠管柱色層分析進行純化。將藉此所得之化合物(b)之溶液進行濃縮而飽和化，使結晶析出。藉此，得到化合物(b)之 B 晶。

## 【0124】

## &lt;化合物(b)之 B 晶之評估&gt;

所得之結晶的 XRD 表示於圖 4。於繞射角  $2\theta=5.2^\circ$ 、 $6.6^\circ$ 、 $8.1^\circ$ 、 $15.2^\circ$ 、 $15.9^\circ$ 、 $16.2^\circ$ 、 $18.8^\circ$ 、 $20.5^\circ$ 、 $20.8^\circ$  及  $21.7^\circ$  觀測到波峰。

示差掃描熱量分析(DSC)中之吸熱峰為  $221^\circ\text{C}$ 。

## 【0125】

## [實施例 8]

## &lt;化合物(b)之 C 晶之製造&gt;

於化合物(b)之 C 晶(1.1g)中加入乙醇(11mL)，於室溫攪拌整夜。將所得之固體進行過濾，於  $40^\circ\text{C}$  進行減壓乾燥，得到標題化合物(945mg，86%)。

## 【 0126】

<化合物(b)之C晶之評估>

所得之結晶的XRD表示於圖9。於繞射角 $2\theta=5.2^\circ$ 、 $7.6^\circ$ 、 $8.4^\circ$ 、 $10.0^\circ$ 、 $10.5^\circ$ 、 $11.9^\circ$ 、 $15.2^\circ$ 、 $17.0^\circ$ 、 $20.9^\circ$ 及 $21.2^\circ$ 觀測到波峰。

示差掃描熱量分析(DSC)中之吸熱峰為 $223^\circ\text{C}$ 。

所得之結晶的紅外線吸收光譜(KBr法)表示於圖15。於波數 $1369\text{cm}^{-1}$ 、 $1424\text{cm}^{-1}$ 、 $1507\text{cm}^{-1}$ 、 $1546\text{cm}^{-1}$ 及 $1566\text{cm}^{-1}$ 觀測到波峰。

## 【 0127】

[實施例9]

本實施例中，說明關於(R)-N8-異丙基-6-(1-甲氧基乙基)-N2-(5-(哌啶-1-基甲基)吡啶-2-基)吡啶并[3,4-d]嘓啶-2,8-二胺(化合物(c))之A晶。

首先，說明關於化合物(c)之合成方法。

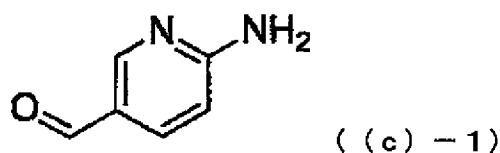
## 【 0128】

<化合物(c)-1之合成>

進行以下之化合物(c)-1所示之6-胺基吡啶-3-甲醛之合成的合成。

## 【 0129】

【化21】



【0130】使6-氨基吡啶-3-甲腈(1.9g, 16mmol)溶解於THF(160mL)，一邊攪拌一邊冷卻至-78℃。於-78℃在此溶液中緩慢滴入氫化二異丁基鋁(106.5mL, 1.5M甲苯溶液)，一邊攪拌一邊升溫至20℃後，繼續攪拌2小時。於反應溶液中加入冰水(100mL)使反應停止，以二氯甲烷(50mL)萃取3次。混合所得之有機相後，以食鹽水(100mL)洗淨1次，以無水硫酸鈉使其乾燥。將固體過濾分別後，將濾液於減壓下進行濃縮，將殘渣以二氧化矽凝膠管柱色層分析進行粗純化，得到標題化合物之粗產物(1.7g)。此粗產物不進行進一步的純化使用於接下來的反應。

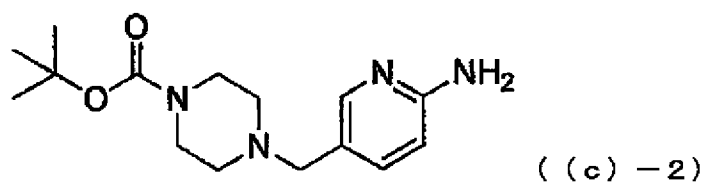
【0131】

<化合物(c)-2之合成>

進行以下之化合物(c)-2所示之三級丁基 4-[(6-氨基吡啶-3-基)甲基]哌啶-1-羧酸酯之合成。

【0132】

【化22】



【0133】使6-氨基吡啶-3-甲腈(1.9g, 16mmol)溶解於THF(160mL)中，一邊攪拌一邊冷卻至-78℃。於-78℃在此溶液中緩慢滴入氫化二異丁基鋁(106.5mL, 1.5M甲苯溶液)，一邊攪拌一邊升溫至20℃後，繼續攪拌2小時。於反

應溶液中加入冰水(100mL)使反應停止，以二氯甲烷(50mL)萃取3次。混合所得之有機相後，以食鹽水(100mL)洗淨1次，以無水硫酸鈉使其乾燥。將固體過濾分別後，將濾液於減壓下進行濃縮，將殘渣以二氧化矽凝膠管柱色層分析進行粗純化，得到標題化合物之粗產物(1.7g)。

【0134】接下來，使所得之粗產物(1.7g，13.9mmol)與三級丁基 哌啶-1-羧酸酯(3.2g，17.2mmol)溶解於二氯甲烷(50mL)中，於室溫攪拌8小時。於此反應溶液中添加三乙醯氧基氫化硼鈉(8.84g，40.9mmol)，於室溫攪拌2小時。反應的進行以LC/MS進行追蹤，反應結束後，加入飽和碳酸鈉水溶液(50mL)使反應停止，以乙酸乙酯(50mL)萃取3次。混合所得之有機相，以食鹽水(100mL)洗淨1次，以無水硫酸鈉使其乾燥。將固體過濾分別後，將濾液於減壓下進行濃縮，將殘渣以二氧化矽凝膠管柱色層分析進行粗純化，得到標題化合物(3.3g，81%)。

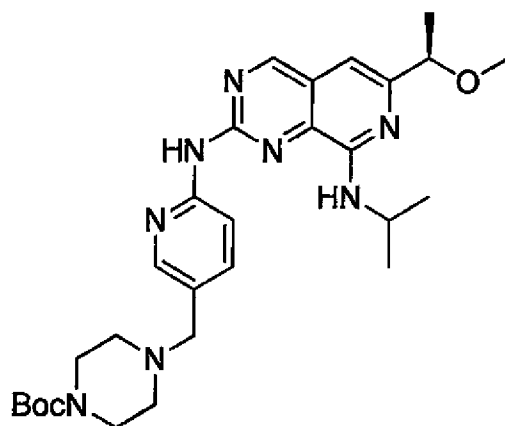
### 【0135】

<化合物(c)-3之合成>

進行以下之化合物(c)-3所示之三級丁基 (R)-4-((6-((8-(異丙胺基)-6-(1-甲氧基乙基)吡啶并[3,4-d]嘓啶-2-基)胺基)吡啶-3-基)甲基)哌啶-1-羧酸酯之合成。

### 【0136】

【化 2 3】



((c) - 3)

【0137】將實施例2所合成之化合物(b)-2及化合物(c)-2以與化合物(b)-6相同的方法合成，進行標題之化合物(c)-3之合成。

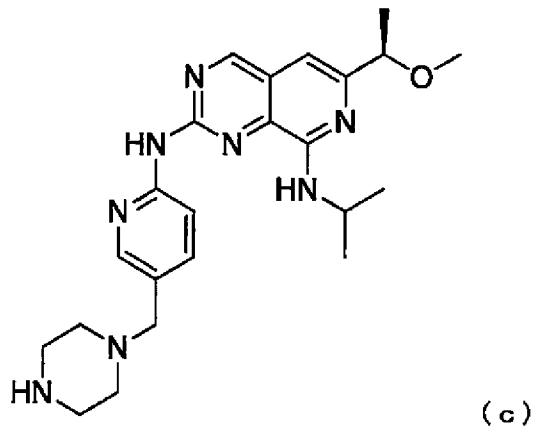
【0138】

<化合物(c)之合成>

以下之化合物(c)所示之(R)-N8-異丙基-6-(1-甲氧基乙基)-N2-(5-(哌啶-1-基甲基)吡啶-2-基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2,8-二胺之合成。

【0139】

【化 2 4】



【0140】使用化合物(c)-3與實施例1之化合物(a)同樣地得到標題化合物。

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$  : 9.04(1H, s), 8.34(1H, d), 8.26(1H, s), 7.74(1H, dd), 6.84(1H, s), 6.14(1H, d), 4.41(1H, m), 4.33(1H, q), 3.49 (2H, s), 3.41(3H, s), 2.91(4H, m), 2.46(4H, br), 1.50(3H, d), 1.36(6H, m)

【0141】

<化合物(c)之A晶之製造>

將藉由HPLC分取純化之化合物(c)的溶液進行濃縮而飽和化，使結晶析出。藉此，得到化合物(c)之A晶。

【0142】

<化合物(c)之A晶之評估>

所得之結晶的XRD表示於圖5。於繞射角 $2\theta=4.8^\circ$ 、 $7.6^\circ$ 、 $8.2^\circ$ 、 $9.7^\circ$ 、 $15.3^\circ$ 、 $16.6^\circ$ 、 $19.1^\circ$ 、 $19.8^\circ$ 、 $22.4^\circ$ 及 $26.2^\circ$ 觀測到波峰。

示差掃描熱量分析(DSC)中之吸熱峰為 $182^\circ\text{C}$ 。

所得之結晶的紅外線吸收光譜(KBr法)表示於圖 16。於波數  $1115\text{cm}^{-1}$ 、 $1446\text{cm}^{-1}$ 、 $1508\text{cm}^{-1}$ 、 $1560\text{cm}^{-1}$  及  $1601\text{cm}^{-1}$  觀測到波峰。

所得之結晶的固體 NMR 譜( $^{13}\text{C}$ )表示於圖 23-1(6500Hz) 及圖 23-2(14000Hz)。於化學位移  $161.3\text{ppm}$ 、 $150.8\text{ppm}$ 、 $138.9\text{ppm}$ 、 $128.1\text{ppm}$ 、 $109.8\text{ppm}$ 、 $82.7\text{ppm}$ 、 $47.6\text{ppm}$ 、 $42.5\text{ppm}$ 、 $41.5\text{ppm}$ 、 $24.5\text{ppm}$  及  $21.7\text{ppm}$  觀測到波峰。

所得之結晶的固體 NMR 譜( $^{15}\text{N}$ )表示於圖 24。於化學位移  $242.8\text{ppm}$ 、 $233.8\text{ppm}$ 、 $219.0\text{ppm}$ 、 $171.7\text{ppm}$ 、 $86.9\text{ppm}$ 、 $54.9\text{ppm}$ 、 $11.3\text{ppm}$  及  $-5.5\text{ppm}$  觀測到波峰。

#### 【0143】

[實施例 10]人類 CDK4/週期蛋白 D3 抑制活性評估

關於化合物 (a)、化合物 (b) 及化合物 (c)，進行人類 CDK4/週期蛋白 D3 抑制活性之評估。

評估係使用由 Carna Biosciences 股份有限公司購入之測定套組(QS S Assist CDK4/Cyclin D3 \_\_FP套組)，測定化合物之 CDK4/週期蛋白 D3 抑制活性。本測定套組係基於分子裝置公司之 IMAP technology，其藉由定量藉由經激酶磷酸化之螢光基質結合於 IMAP 結合試藥所引起之螢光偏光的變化，來測定激酶活性。

【0144】將套組附加的  $10\times$  分析緩衝液或與套組附加物相同組成的自製分析緩衝液於各溶液調製中。將套組附加的  $10\times$  分析緩衝液以純化水進行 10 倍稀釋調製分析緩衝液。分析緩衝液為由  $20\text{mM}$  HEPES(pH7.4)、 $0.01\%$

Tween20及2mM二硫蘇糖醇所構成。試驗化合物溶液，將試驗化合物以二甲基亞砷(DMSO)調製成終濃度之100倍後，以分析緩衝液進行25倍稀釋調製成終濃度之4倍。ATP/基質/Metal溶液，係將套組附加的5×ATP/基質/Metal溶液以分析緩衝液進行5倍稀釋來調製。酵素溶液，係將套組附加的CDK4/週期蛋白 D3以分析緩衝液稀釋成為終濃度之2倍來調製(CDK4/週期蛋白 D3終濃度為12.5~25ng/孔)。檢測試藥，係將5×IMAP結合緩衝液A及5×IMAP結合緩衝液B各別以純化水進行5倍稀釋後，混合成為IMAP結合緩衝液A：IMAP結合緩衝液B=85：15，於其中以成為400倍稀釋之方式添加IMAP結合試藥來調製。

【0145】384孔盤中添加試驗化合物溶液5 $\mu$ L、ATP/基質/Metal溶液5 $\mu$ L，進一步添加酵素溶液或分析緩衝液10 $\mu$ L後，進行混合開始酵素反應。總反應液量為20 $\mu$ L/孔，反應液組成定為20mM HEPES(pH7.4)、0.01% Tween 20、2mM 二硫蘇糖醇、100nM FITC標識胜肽基質(Carna Biosciences)、100 $\mu$ M ATP、1mM氯化鎂、1% DMSO、12.5~25ng/孔CDK4/週期蛋白 D3。於室溫使其反應45分鐘後，各孔中添加檢測試藥60 $\mu$ L，以室溫、遮光條件使其進一步反應30分鐘。接著，使用微量盤讀取器，測定激發波長：485nm、測定波長：535nm下之螢光偏光。

【0146】添加酵素溶液、添加DMSO代替試驗化合物溶液時的酵素活性定為100%，添加分析緩衝液代替酵素溶液、添加DMSO代替試驗化合物溶液時的酵素活性定為

0%，計算試驗化合物之酵素活性抑制率，使其擬合用量反應曲線計算對於CDK4/週期蛋白 D3之50%抑制濃度。

其結果，各化合物之對於CDK4/週期蛋白 D3活性的抑制活性，皆為IC<sub>50</sub>值 < 10nM。

### 【0147】

[實施例11]人類CDK2/週期蛋白 A2抑制活性之評估

關於化合物(a)、化合物(b)及化合物(c)，進行人類CDK2/週期蛋白 A2抑制活性之評估。使用由Carna Biosciences股份有限公司購入之測定套組(QS S Assist CDK2/Cyclin A2\_\_FP套組)，測定化合物之CDK2/週期蛋白 A2抑制活性。本測定套組係基於分子裝置公司之IMAP technology，其藉由定量藉由經激酶磷酸化之螢光基質結合於IMAP結合試藥所引起之螢光偏光的變化，來測定激酶活性。

【0148】將套組附加的10×分析緩衝液以純化水進行10倍稀釋來調製分析緩衝液，使用於各溶液調製中。分析緩衝液為由20mM HEPES(pH7.4)、0.01% Tween20及2mM 二硫蘇糖醇所構成。試驗化合物溶液，係將試驗化合物以二甲基亞砷(DMSO)調製成終濃度之100倍後，以分析緩衝液進行25倍稀釋調製成終濃度之4倍。ATP/基質/Metal溶液，係將套組附加的5×ATP/基質/Metal溶液以分析緩衝液進行5倍稀釋來調製。酵素溶液，係將套組附加的CDK2/週期蛋白 A2以分析緩衝液稀釋成為終濃度之2倍來調製(CDK2/週期蛋白 A2終濃度為2.5ng/孔)。檢測試藥，係將

5×IMAP結合緩衝液A以純化水進行5倍稀釋後，以成為400倍稀釋之方式添加IMAP結合試藥來調製。

【0149】於384孔盤中添加試驗化合物溶液5 $\mu$ L、ATP/基質/Metal溶液5 $\mu$ L，進一步添加酵素溶液或分析緩衝液10 $\mu$ L，進行混合開始酵素反應。總反應液量為20 $\mu$ L/孔，反應液組成定為20mM HEPES(pH7.4)、0.01% Tween 20、2mM 二硫蘇糖醇、100nM FITC標識胜肽基質(Carna Biosciences)、30 $\mu$ M ATP、5mM 氯化鎂、1% DMSO、2.5ng/孔CDK2/週期蛋白 A2。於室溫使其反應60分鐘後，於各孔中添加檢測試藥60 $\mu$ L，以室溫、遮光條件進一步使其反應30分鐘。接著，使用微量盤讀取器，測定激發波長：485nm、測定波長：535nm下之螢光偏光。

【0150】添加酵素溶液，添加DMSO代替添加試驗化合物溶液時之酵素活性定為100%，添加分析緩衝液代替酵素溶液、添加DMSO代替試驗化合物溶液時之酵素活性定為0%，計算試驗化合物之酵素活性抑制率，使其擬合用量反應曲線計算對於CDK2/週期蛋白 A2之50%抑制濃度。

其結果，各化合物之對於CDK2/週期蛋白A2活性的抑制活性為100nM $\leq$ IC<sub>50</sub>值。

### 【0151】

[實施例12]人類CDK6/週期蛋白 D3抑制活性之評估

CDK6/週期蛋白 D3抑制活性之測定，藉由Off-chip Mobility Shift Assay(MSA)法進行。MSA法，係利用因蛋

白質之分子量或電荷的差異而電泳時之移動度不同來分離的方法。激酶活性測定中，藉由將因激酶磷酸化之基質電荷往陰性的變化以電泳之原理進行分離來定量磷酸化的程度，來測定激酶活性。

**【0152】** 將由20mM HEPES(pH7.5)、0.01% Triton X-100、2mM二硫蘇糖醇構成之分析緩衝液使用於各溶液調製中。試驗化合物溶液，將試驗化合物以二甲基亞砷(DMSO)調製成終濃度之100倍後，以分析緩衝液進行25倍稀釋調製成終濃度之4倍。ATP/基質/Metal溶液，調製成終濃度之4倍者。酵素溶液，調製成終濃度之2倍者。酵素濃度，基於酵素活性所致之信號與陽性對照化合物之抑制活性值，設定適當的終濃度。

**【0153】** 於384孔盤中添加試驗化合物溶液5 $\mu$ L、ATP/基質/Metal溶液5 $\mu$ L，進一步添加酵素溶液或分析緩衝液10 $\mu$ L，進行混合開始酵素反應。總反應液量為20 $\mu$ L/孔，反應液組成定為20mM HEPES(pH7.5)、0.01% Triton X-100、2mM 二硫蘇糖醇、1000nM 胜肽基質(DYRKtide-F)、300 $\mu$ M ATP、5mM 氯化鎂、1% DMSO、設定之濃度的CDK6/週期蛋白 D3。於室溫使其反應5小時後，於各孔中添加終止緩衝液(QuickScout Screening Assist MSA；Carna Biosciences公司製)60 $\mu$ L，使反應停止。接著，使用Caliper Life Sciences公司之LabChip3000，將反應溶液中之基質胜肽與磷酸化胜肽分離、定量。激酶反應係以由基質胜肽波峰高度(S)與磷酸化胜肽波峰高度(P)所計算之生

成物比( $P/(P+S)$ )來評估。

【0154】添加酵素溶液、添加DMSO代替試驗化合物溶液時之酵素活性定為100%，添加分析緩衝液代替酵素溶液、添加DMSO代替試驗化合物溶液時之酵素活性定為0%，計算試驗化合物之酵素活性抑制率，使其擬合用量反應曲線計算對於CDK6/週期蛋白 D3之50%抑制濃度。

其結果，各化合物之對於CDK6/週期蛋白 D3活性的抑制活性為 $IC_{50}$ 值 $<10nM$ 。

[產業上之可利用性]

【0155】本發明之化合物(I)之結晶，可使用於作為醫藥品製造用原體。

## 【發明申請專利範圍】

### 【第1項】

一種 1-(6-((6-((1R)-1-羥基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-吡啶基)哌啶-2-酮之結晶，其在粉末 X 射線繞射譜中，於繞射角  $6.3^\circ$ 、 $6.6^\circ$ 、 $11.6^\circ$ 、 $16.9^\circ$  及  $20.0^\circ$  具有波峰。

### 【第2項】

如請求項 1 之結晶，其在示差掃描熱量分析中之吸熱峰的外推開始點溫度為  $277^\circ\text{C}$ 。

### 【第3項】

如請求項 1 之結晶，其在紅外線吸收光譜 (KBr 法) 中，於波數  $703\text{cm}^{-1}$ 、 $896\text{cm}^{-1}$  及  $3418\text{cm}^{-1}$  具有特徵性的吸收峰。

### 【第4項】

如請求項 1 之結晶，其在固體 NMR 譜 ( $^{13}\text{C}$ ) 中，於  $136.0\text{ppm}$ 、 $111.2\text{ppm}$ 、 $105.1\text{ppm}$ 、 $101.8\text{ppm}$ 、 $52.7\text{ppm}$ 、 $49.6\text{ppm}$ 、 $42.9\text{ppm}$ 、 $23.8\text{ppm}$  及  $18.5\text{ppm}$  具有特徵性的波峰。

### 【第5項】

如請求項 1 之結晶，其在固體 NMR 譜 ( $^{15}\text{N}$ ) 中，於  $248.6\text{ppm}$ 、 $245.7\text{ppm}$ 、 $229.2\text{ppm}$ 、 $214.5\text{ppm}$ 、 $174.3\text{ppm}$ 、 $86.5\text{ppm}$ 、 $54.7\text{ppm}$  及  $-12.4\text{ppm}$  具有特徵性的波峰。

### 【第6項】

一種 1-(6-((6-((1R)-1-羥基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并

[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-吡啶基)哌啶-2-酮之結晶，其在粉末 X 射線繞射譜中，於繞射角  $2\theta=5.3^\circ$ 、 $7.3^\circ$ 、 $10.3^\circ$ 、 $15.1^\circ$  及  $17.4^\circ$  具有波峰。

**【第 7 項】**

如請求項 6 之結晶，其在示差掃描熱量分析中之吸熱峰的外推開始點溫度為  $277^\circ\text{C}$ 。

**【第 8 項】**

如請求項 6 之結晶，其在紅外線吸收光譜(KBr法)中，於波數  $874\text{cm}^{-1}$ 、 $1330\text{cm}^{-1}$  及  $3314\text{cm}^{-1}$  具有特徵性的吸收峰。

**【第 9 項】**

如請求項 6 之結晶，其在固體 NMR 譜 ( $^{13}\text{C}$ ) 中，於  $154.7\text{ppm}$ 、 $138.8\text{ppm}$ 、 $133.6\text{ppm}$ 、 $113.2\text{ppm}$ 、 $101.6\text{ppm}$ 、 $100.4\text{ppm}$ 、 $67.4\text{ppm}$ 、 $51.8\text{ppm}$ 、 $26.6\text{ppm}$  及  $23.3\text{ppm}$  具有特徵性的波峰。

**【第 10 項】**

如請求項 6 之結晶，其在固體 NMR 譜 ( $^{15}\text{N}$ ) 中，於  $243.6\text{ppm}$ 、 $86.7\text{ppm}$ 、 $56.7\text{ppm}$  及  $-12.4\text{ppm}$  具有特徵性的波峰。

**【第 11 項】**

一種 1-(6-((6-((1R)-1-羥基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-吡啶基)哌啶-2-酮之結晶，其在粉末 X 射線繞射譜中，於繞射角  $2\theta=5.3^\circ$ 、 $6.0^\circ$ 、 $6.7^\circ$ 、 $10.4^\circ$  及  $20.8^\circ$  具有波峰。

**【第 12 項】**

如請求項 11 之結晶，其在示差掃描熱量分析中之吸熱峰的外推開始點溫度為 271°C。

**【第 13 項】**

一種 1-(6-((6-((1R)-1-羥基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-吡啶基)哌啶-2-酮之結晶或其二甲基亞砷合物之結晶，其在粉末 X 射線繞射譜中，於繞射角  $2\theta=6.0^\circ$ 、 $10.0^\circ$ 、 $13.7^\circ$ 、 $20.3^\circ$  及  $23.0^\circ$  具有波峰。

**【第 14 項】**

如請求項 13 之結晶，其在示差掃描熱量分析中之吸熱峰的外推開始點溫度為 100°C 及 278°C。

**【第 15 項】**

如請求項 13 之結晶，其在紅外線吸收光譜 (KBr 法) 中，於波數  $840\text{cm}^{-1}$ 、 $904\text{cm}^{-1}$ 、 $955\text{cm}^{-1}$ 、 $1490\text{cm}^{-1}$  及  $3281\text{cm}^{-1}$  具有特徵性的吸收峰。

**【第 16 項】**

一種 1-(6-((6-((1R)-1-羥基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-吡啶基)哌啶-2-酮之結晶，其在粉末 X 射線繞射譜中，於繞射角  $2\theta=5.2^\circ$ 、 $7.2^\circ$ 、 $9.5^\circ$ 、 $14.5^\circ$ 、 $16.5^\circ$ 、 $20.9^\circ$ 、 $25.0^\circ$  及  $27.9^\circ$  具有波峰。

**【第 17 項】**

如請求項 16 之結晶，其在示差掃描熱量分析中之吸熱峰的外推開始點溫度為 272°C。

**【第 18 項】**

如請求項 16 之結晶，其在紅外線吸收光譜 (KBr 法) 中，於波數  $1081\text{cm}^{-1}$  及  $1260\text{cm}^{-1}$  具有特徵性的吸收峰。

**【第 19 項】**

一種 1-(6-((6-((1R)-1-甲氧基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-嗒吡)哌吡之結晶，其在粉末 X 射線繞射譜中，於繞射角  $2\theta=5.2^\circ$ 、 $7.6^\circ$ 、 $8.4^\circ$ 、 $10.5^\circ$ 、 $15.2^\circ$ 、 $16.9^\circ$ 、 $20.1^\circ$ 、 $21.0^\circ$ 、 $23.3^\circ$  及  $26.6^\circ$  具有波峰。

**【第 20 項】**

如請求項 19 之結晶，其在示差掃描熱量分析中之吸熱峰的外推開始點溫度為  $225^\circ\text{C}$ 。

**【第 21 項】**

如請求項 19 之結晶，其在紅外線吸收光譜 (KBr 法) 中，於波數  $1369\text{cm}^{-1}$ 、 $1424\text{cm}^{-1}$ 、 $1508\text{cm}^{-1}$ 、 $1545\text{cm}^{-1}$  及  $1566\text{cm}^{-1}$  具有特徵性的吸收峰。

**【第 22 項】**

如請求項 19 之結晶，其在固體 NMR 譜 ( $^{13}\text{C}$ ) 中，於  $163.4\text{ppm}$ 、 $157.6\text{ppm}$ 、 $155.5\text{ppm}$ 、 $117.8\text{ppm}$ 、 $82.2\text{ppm}$ 、 $56.1\text{ppm}$  及  $42.3\text{ppm}$  具有特徵性的波峰。

**【第 23 項】**

如請求項 19 之結晶，其在固體 NMR 譜 ( $^{15}\text{N}$ ) 中，於  $311.7\text{ppm}$ 、 $232.4\text{ppm}$ 、 $168.5\text{ppm}$ 、 $79.5\text{ppm}$ 、 $53.3\text{ppm}$ 、 $32.9\text{ppm}$  及  $-4.3\text{ppm}$  具有特徵性的波峰。

**【第 24 項】**

一種 1-(6-((6-((1R)-1-甲氧基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶

并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-嗒吡)哌吡之結晶，其在粉末 X 射線繞射譜中，於繞射角  $2\theta=5.2^\circ$ 、 $6.6^\circ$ 、 $8.1^\circ$ 、 $15.2^\circ$ 、 $15.9^\circ$ 、 $16.2^\circ$ 、 $18.8^\circ$ 、 $20.5^\circ$ 、 $20.8^\circ$ 及 $21.7^\circ$ 具有波峰。

**【第 25 項】**

如請求項 24 之結晶，其在示差掃描熱量分析中之吸熱峰的外推開始點溫度為  $221^\circ\text{C}$ 。

**【第 26 項】**

一種 1-(6-((6-((1R)-1-甲氧基乙基)-8-(異丙胺基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2-基)胺基)-3-嗒吡)哌吡之結晶，其在粉末 X 射線繞射譜中，於繞射角  $2\theta=5.2^\circ$ 、 $7.6^\circ$ 、 $8.4^\circ$ 、 $10.0^\circ$ 、 $10.5^\circ$ 、 $11.9^\circ$ 、 $15.2^\circ$ 、 $17.0^\circ$ 、 $20.9^\circ$ 及 $21.2^\circ$ 具有波峰。

**【第 27 項】**

如請求項 26 之結晶，其在示差掃描熱量分析中之吸熱峰的外推開始點溫度為  $223^\circ\text{C}$ 。

**【第 28 項】**

如請求項 26 之結晶，其在紅外線吸收光譜 (KBr 法) 中，於波數  $1369\text{cm}^{-1}$ 、 $1424\text{cm}^{-1}$ 、 $1507\text{cm}^{-1}$ 、 $1546\text{cm}^{-1}$ 及 $1566\text{cm}^{-1}$ 具有特徵性的吸收峰。

**【第 29 項】**

一種 (R)-N8-異丙基-6-(1-甲氧基乙基)-N2-(5-(哌吡-1-基甲基)吡啶-2-基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-2,8-二胺之結晶，其在粉末 X 射線繞射譜中，於繞射角  $2\theta=4.8$ 、 $7.6$ 、 $8.2$ 、 $9.7$ 、 $15.3$ 、 $16.6$ 、 $19.1$ 、 $19.8$ 、 $22.4$ 及 $26.2^\circ$ 具有波峰。

**【第 30 項】**

如請求項 29 之結晶，其在示差掃描熱量分析中之吸熱峰的外推開始點溫度為 182°C。

**【第 31 項】**

如請求項 29 之結晶，其在紅外線吸收光譜 (KBr 法) 中，於  $1115\text{cm}^{-1}$ 、 $1446\text{cm}^{-1}$ 、 $1508\text{cm}^{-1}$ 、 $1560\text{cm}^{-1}$  及  $1601\text{cm}^{-1}$  具有特徵性的吸收峰。

**【第 32 項】**

如請求項 29 之結晶，其在固體 NMR 譜 ( $^{13}\text{C}$ ) 中，於 161.3ppm、150.8ppm、138.9ppm、128.1ppm、109.8ppm、82.7ppm、47.6ppm、41.5ppm、42.5ppm、24.5ppm 及 21.7ppm 具有特徵性的波峰。

**【第 33 項】**

如請求項 29 之結晶，其在固體 NMR 譜 ( $^{15}\text{N}$ ) 中，於 242.8ppm、233.8ppm、219.0ppm、171.7ppm、86.9ppm、54.9ppm、11.3ppm 及 -5.5ppm 具有特徵性的波峰。

**【第 34 項】**

一種醫藥組成物，其包含如請求項 1~33 中任一項之結晶及製藥學上容許的載體。

**【第 35 項】**

一種具有 CDK4/6 抑制活性的醫藥組成物，其含有如 1~33 中任一項之結晶作為有效成分。

**【第 36 項】**

一種類風濕性關節炎、動脈硬化症、肺纖維化、腦梗塞症及 / 或 癌之預防藥或治療藥，其含有如請求項 1~33 中

任一項之結晶作為有效成分。

【發明圖式】

圖 1

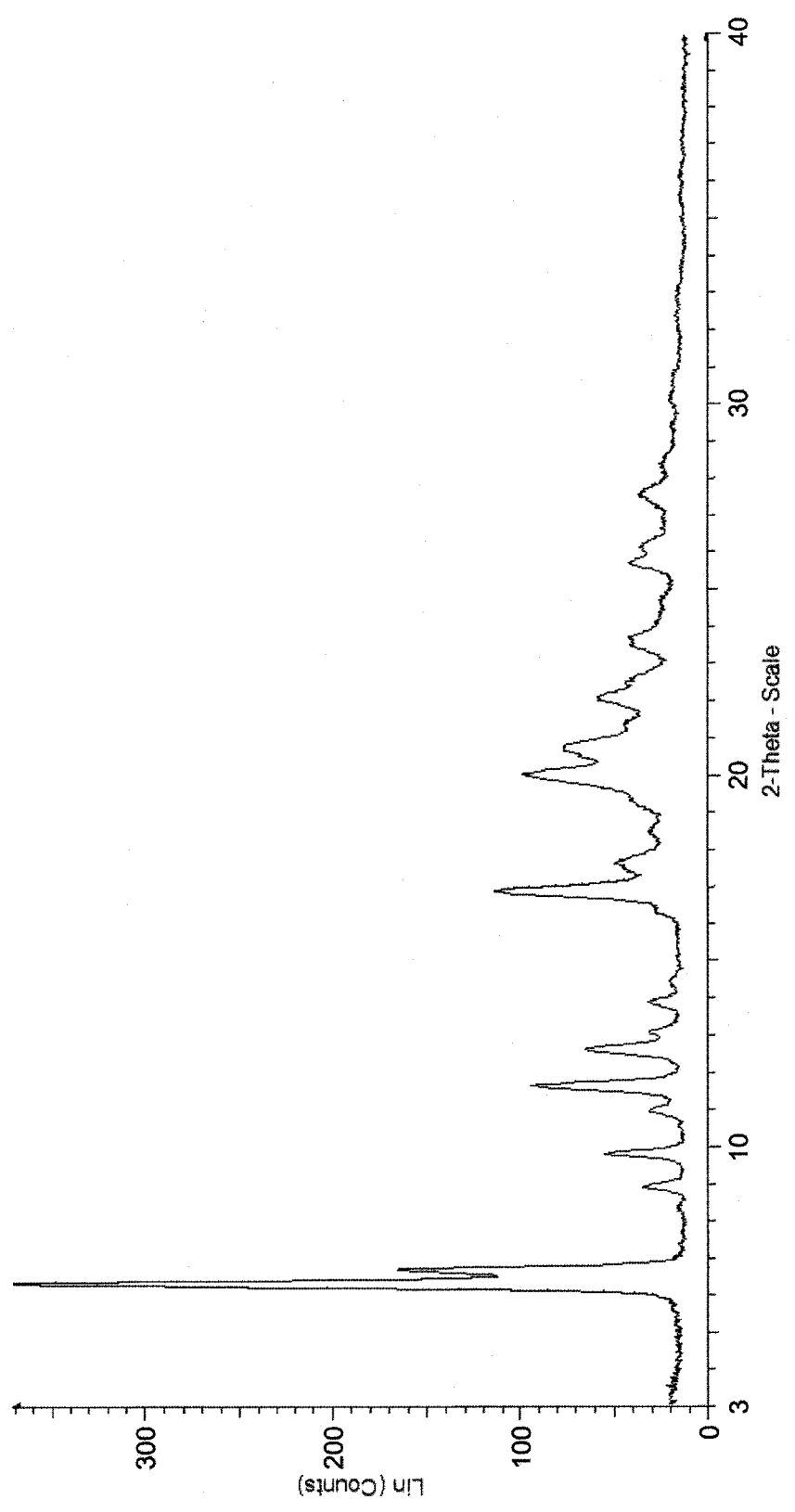


圖 2

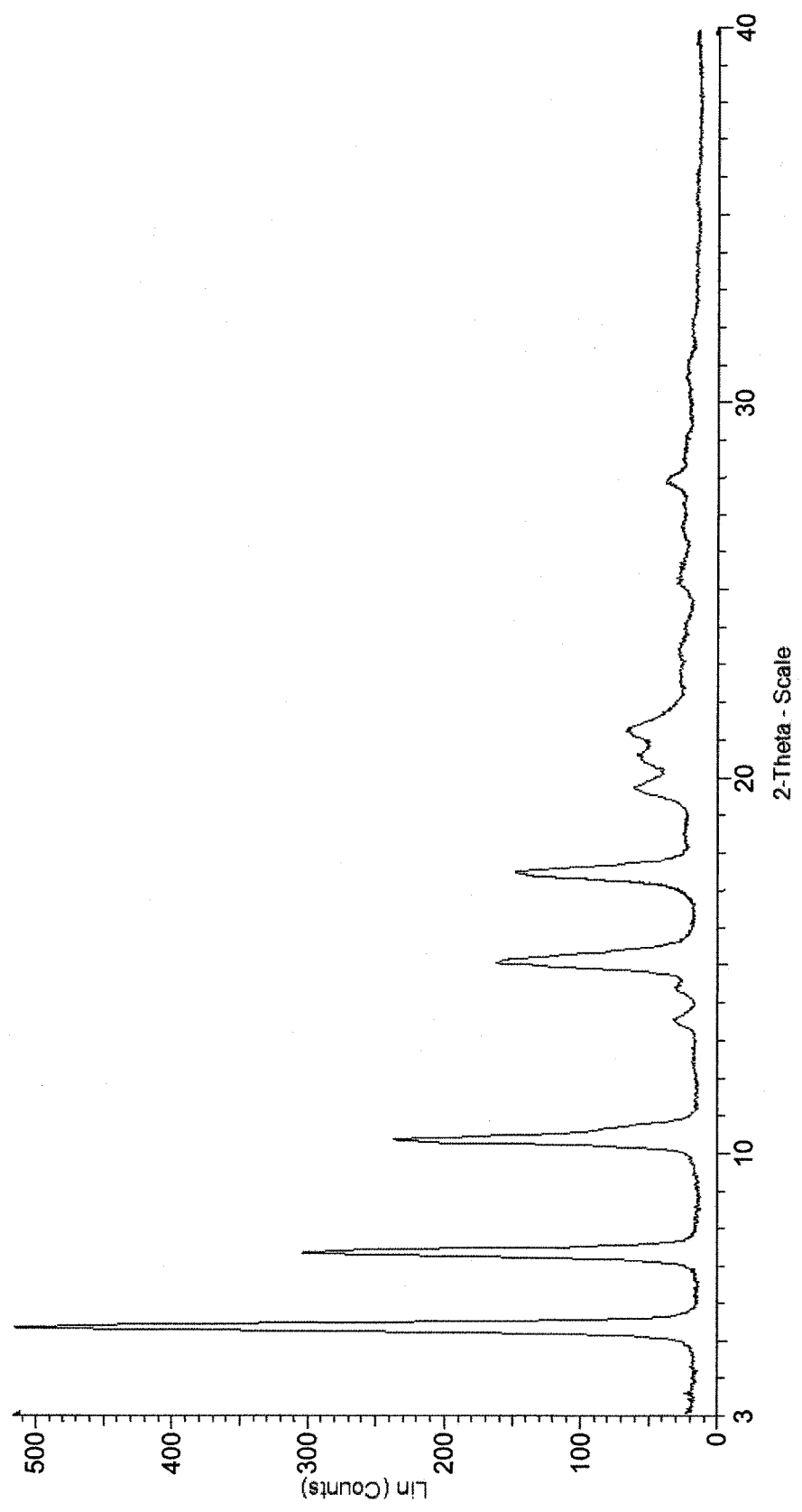


圖 3

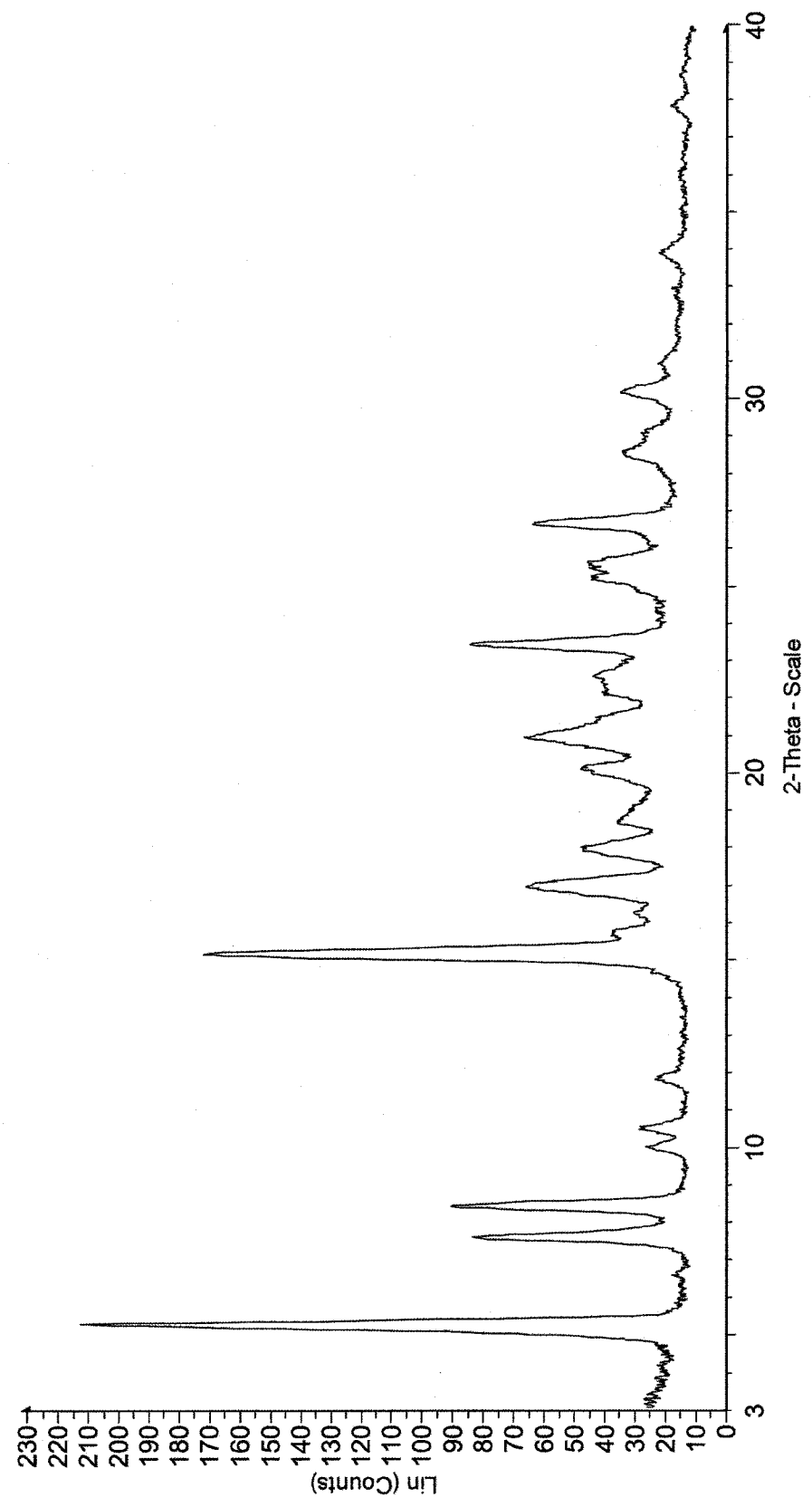


圖 4

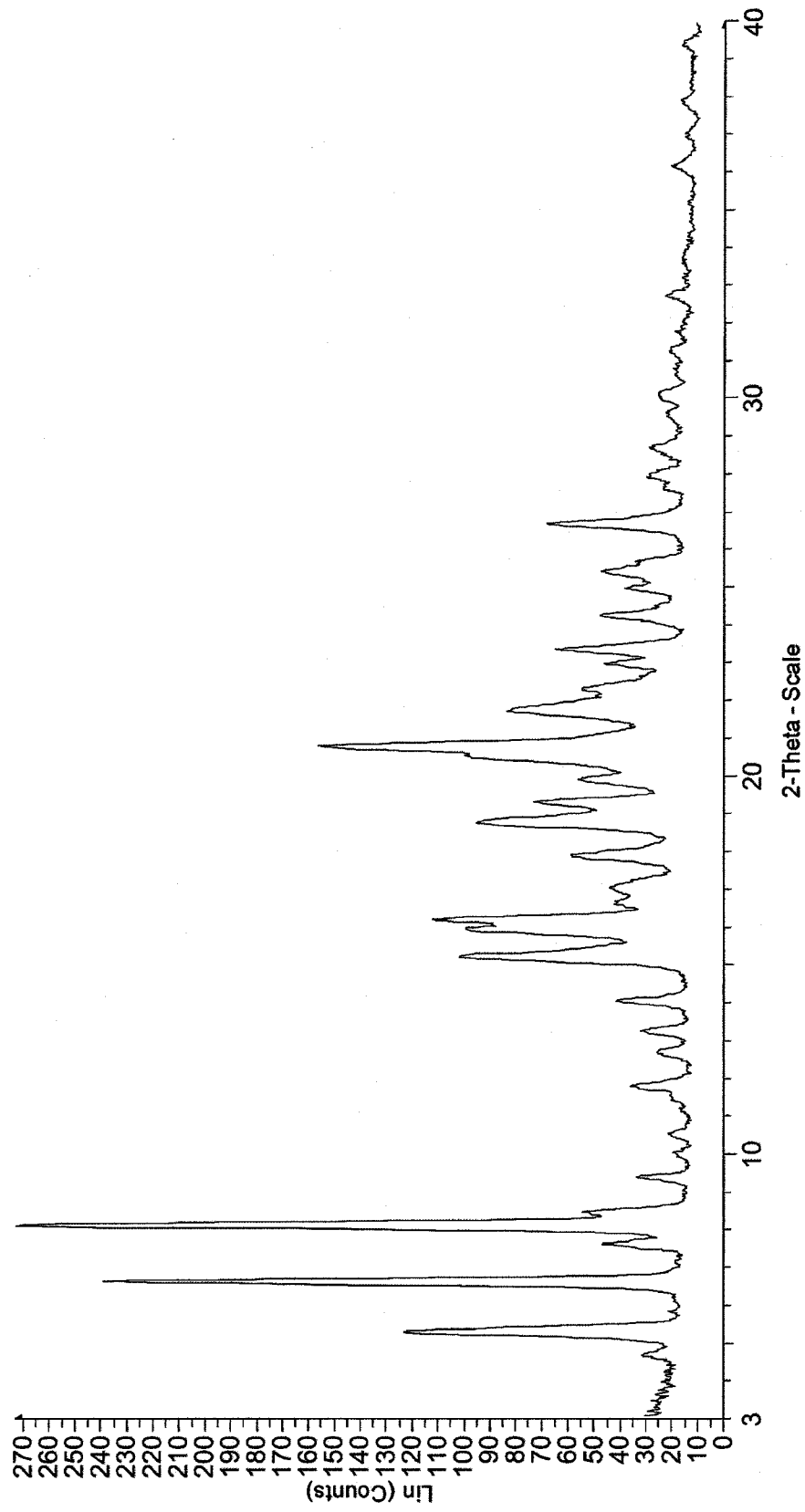


圖 5

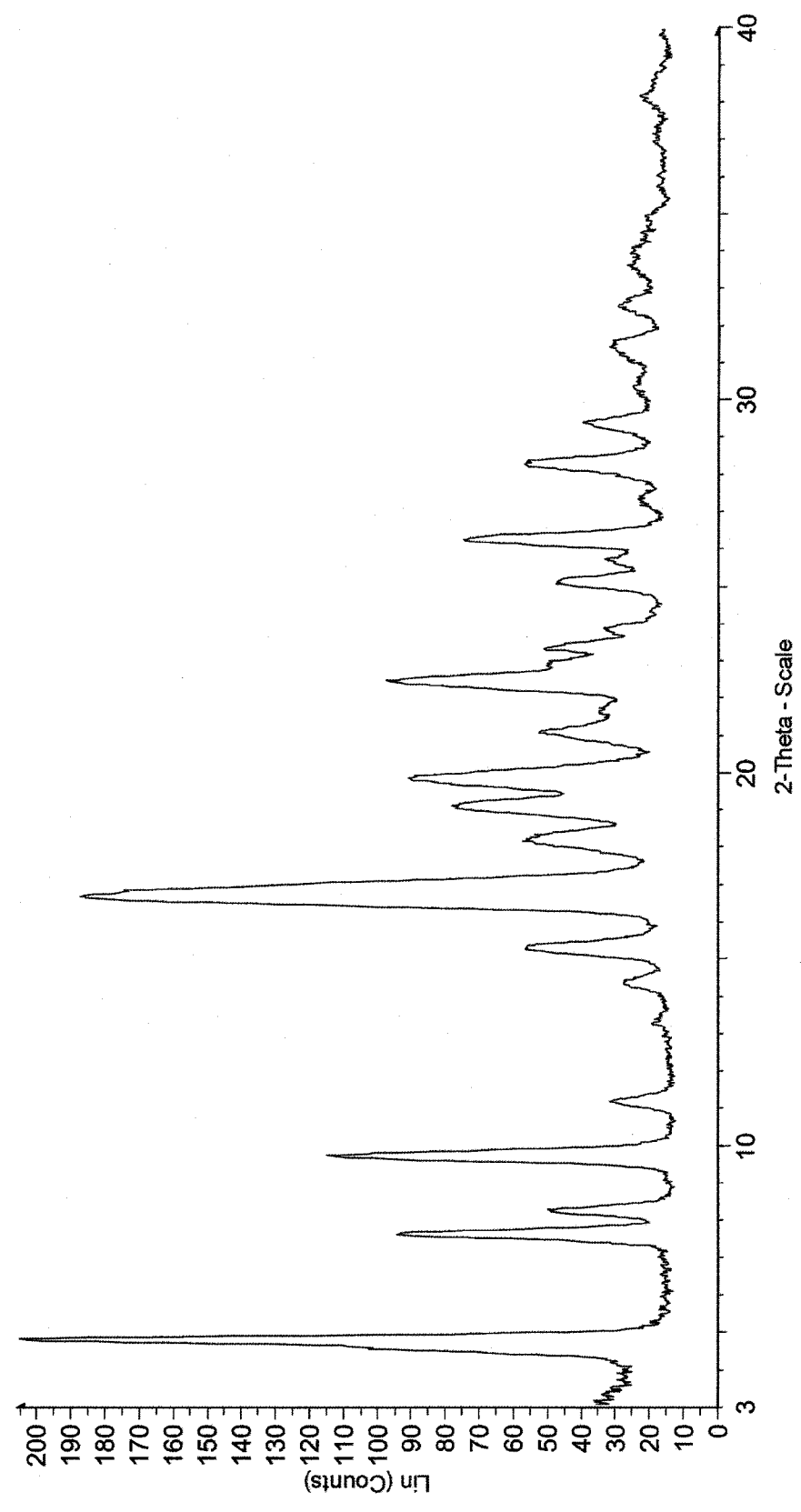


圖 6

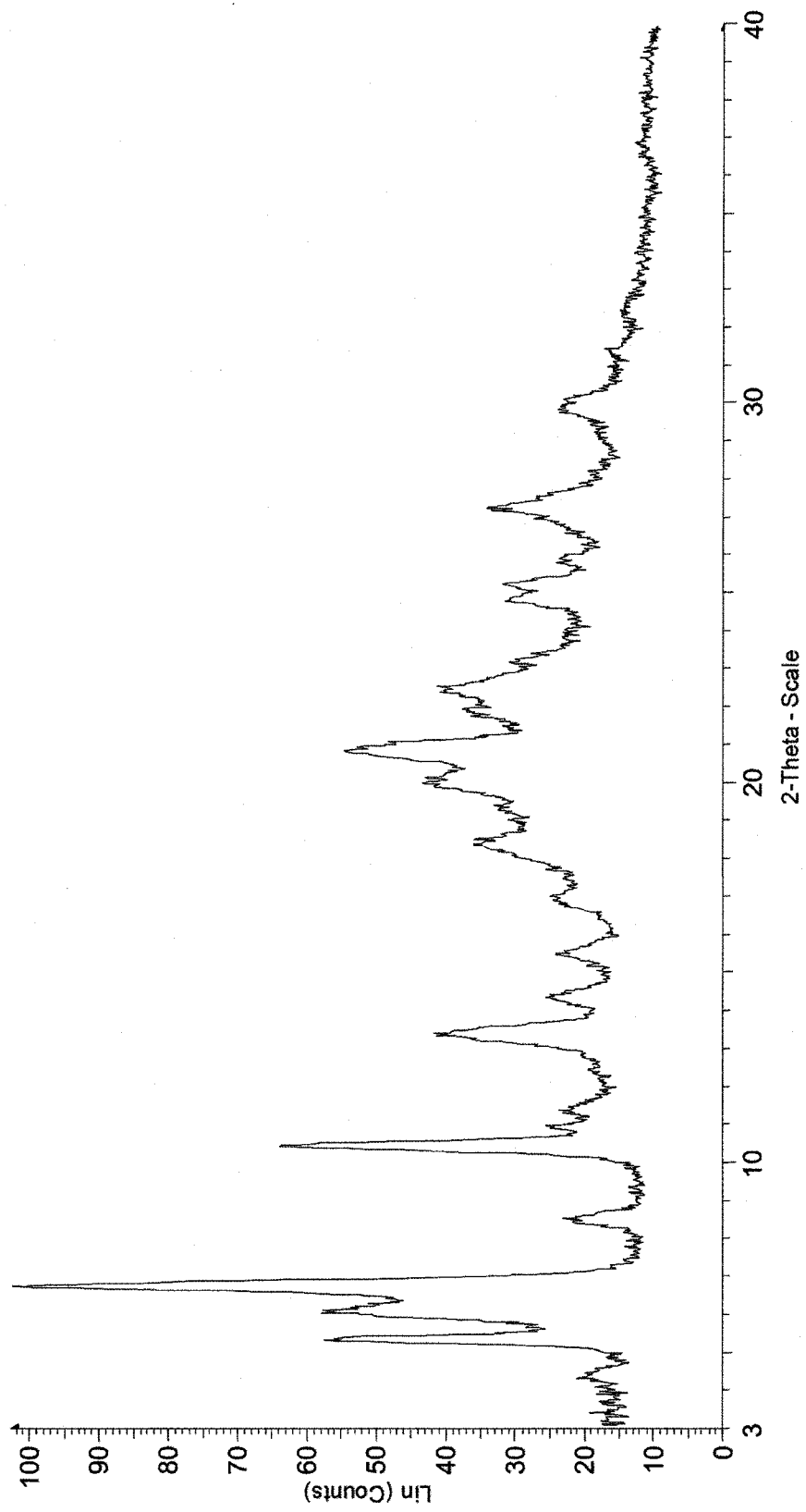


圖 7

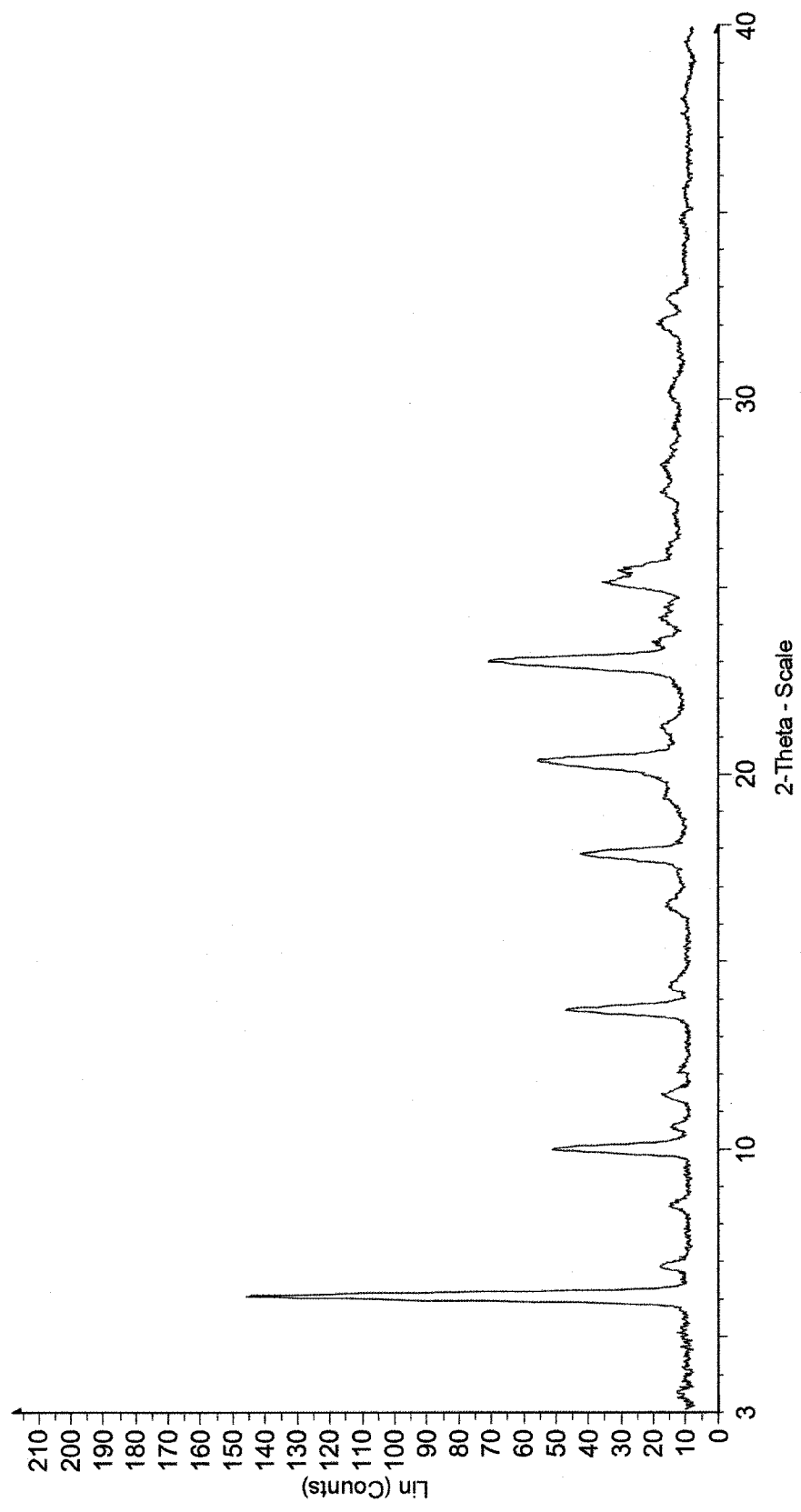


圖 8

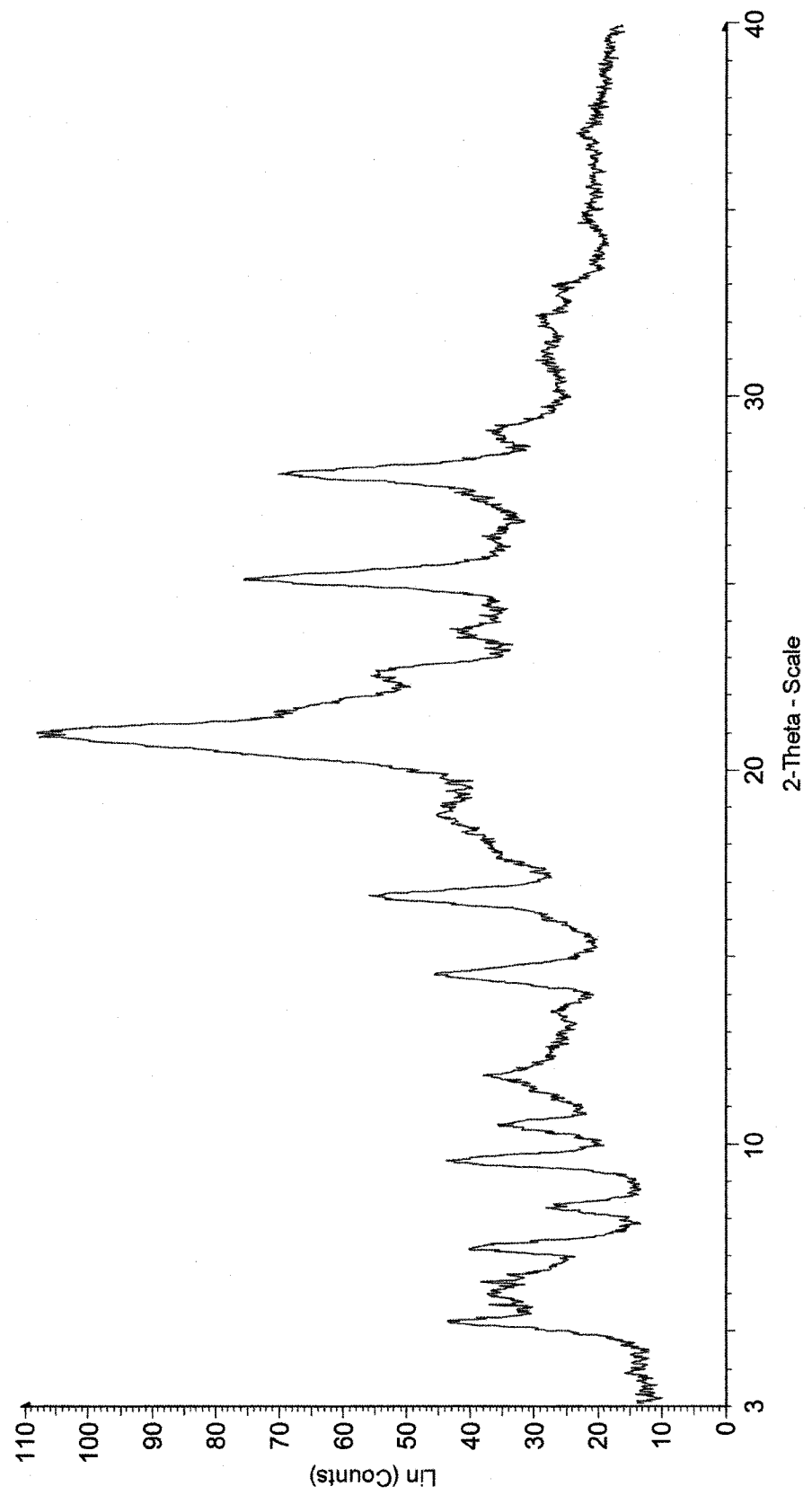


圖 9

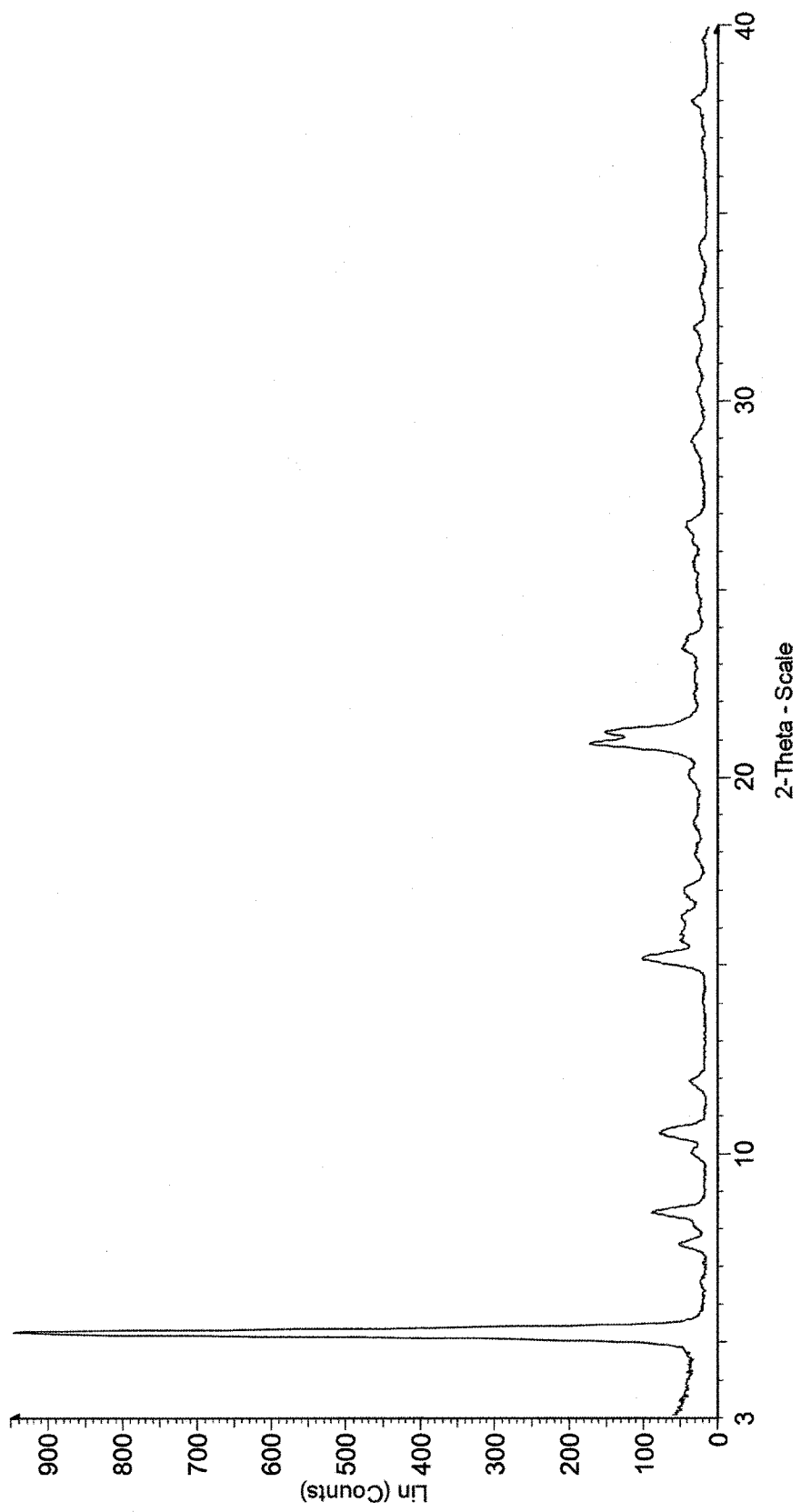


圖 10

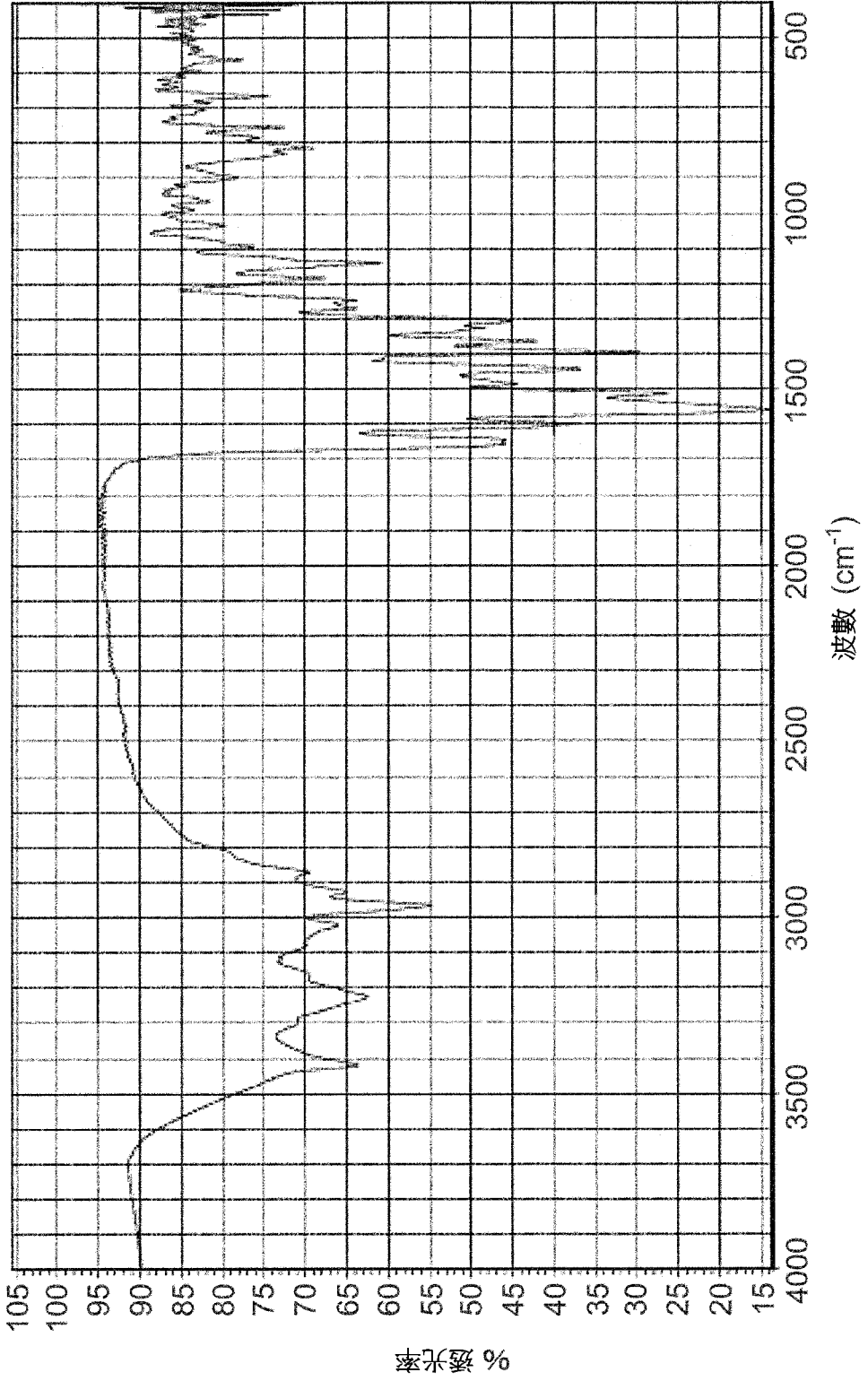


圖 11

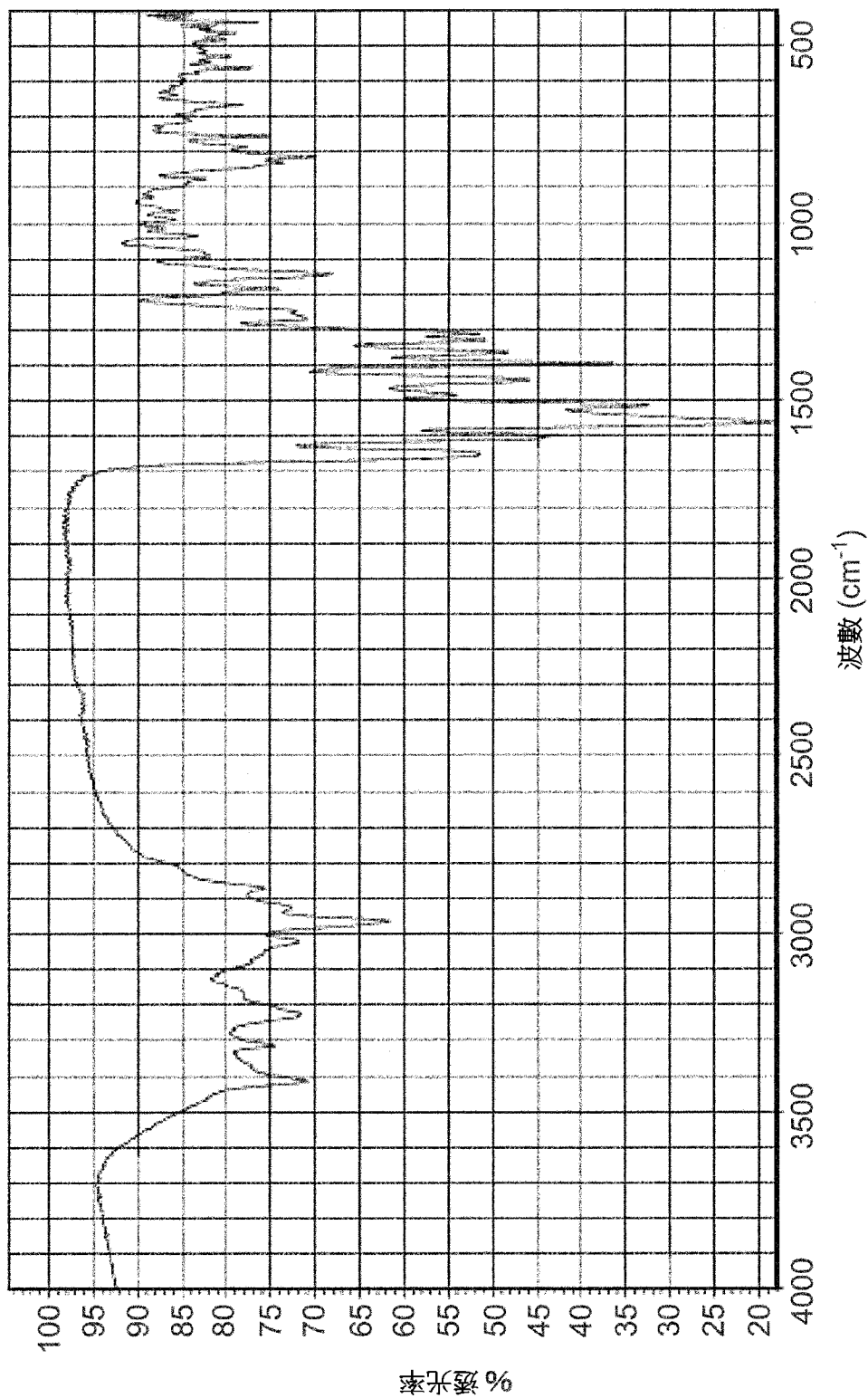


圖 12

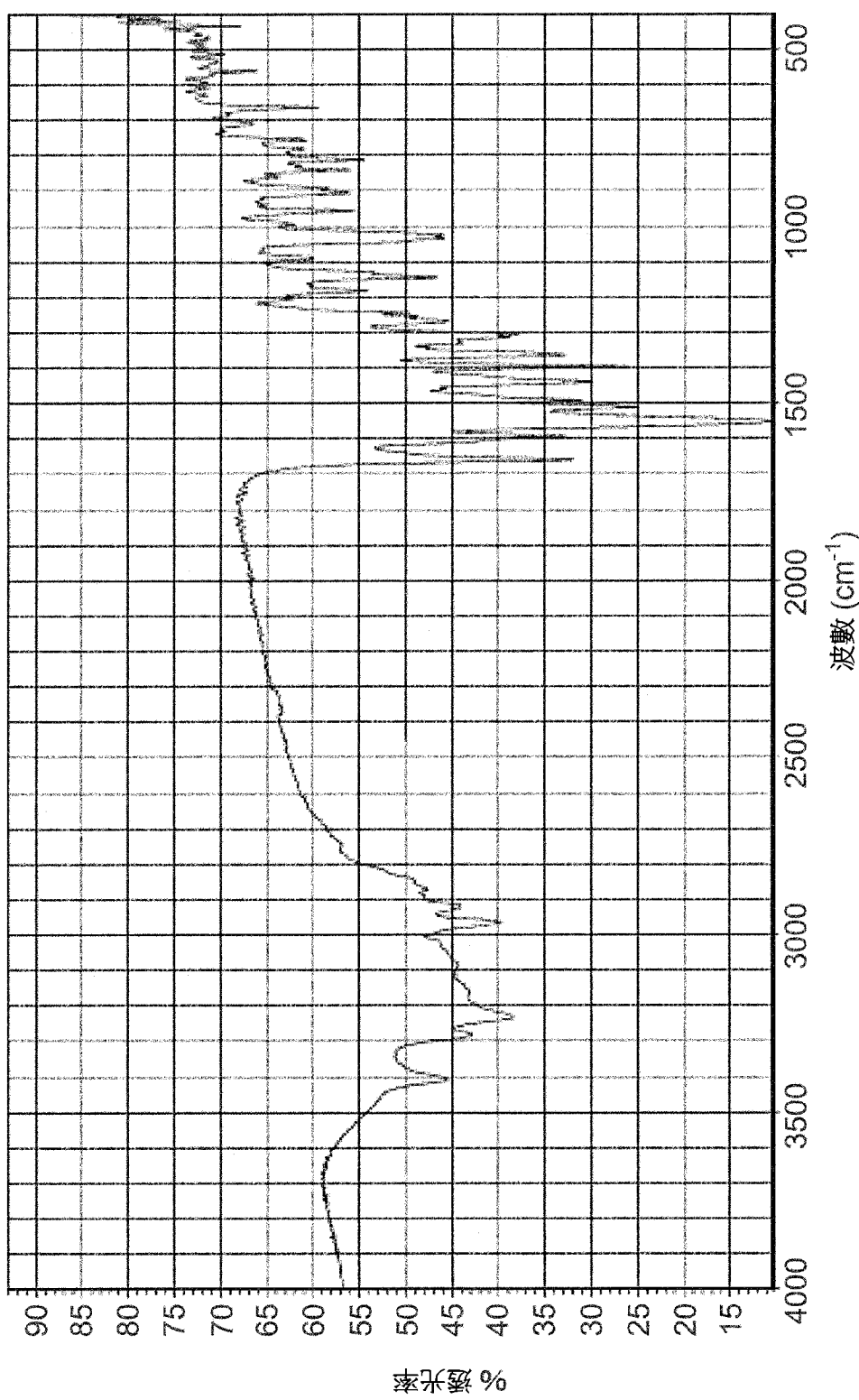


圖 13

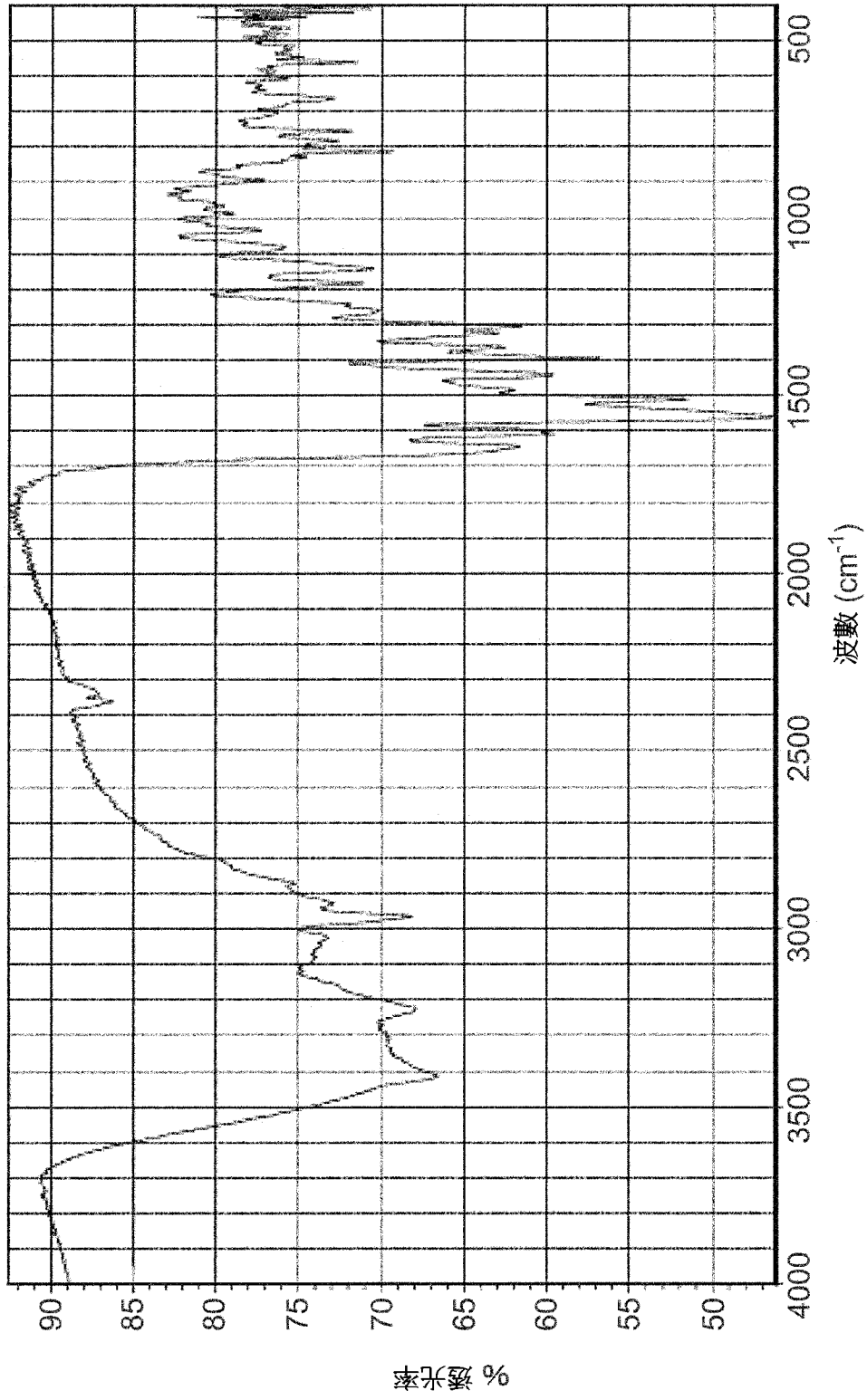


圖 14

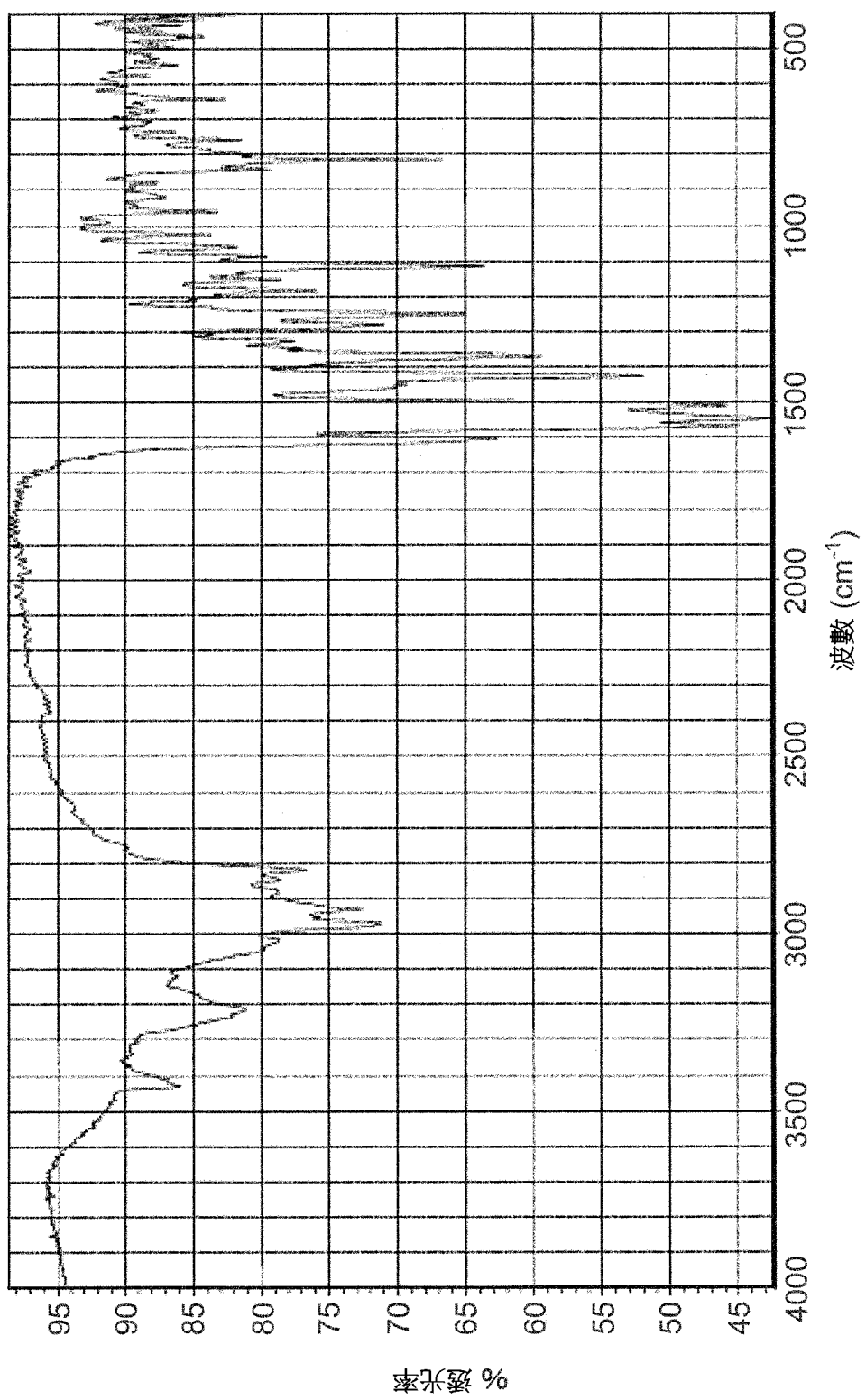


圖 15

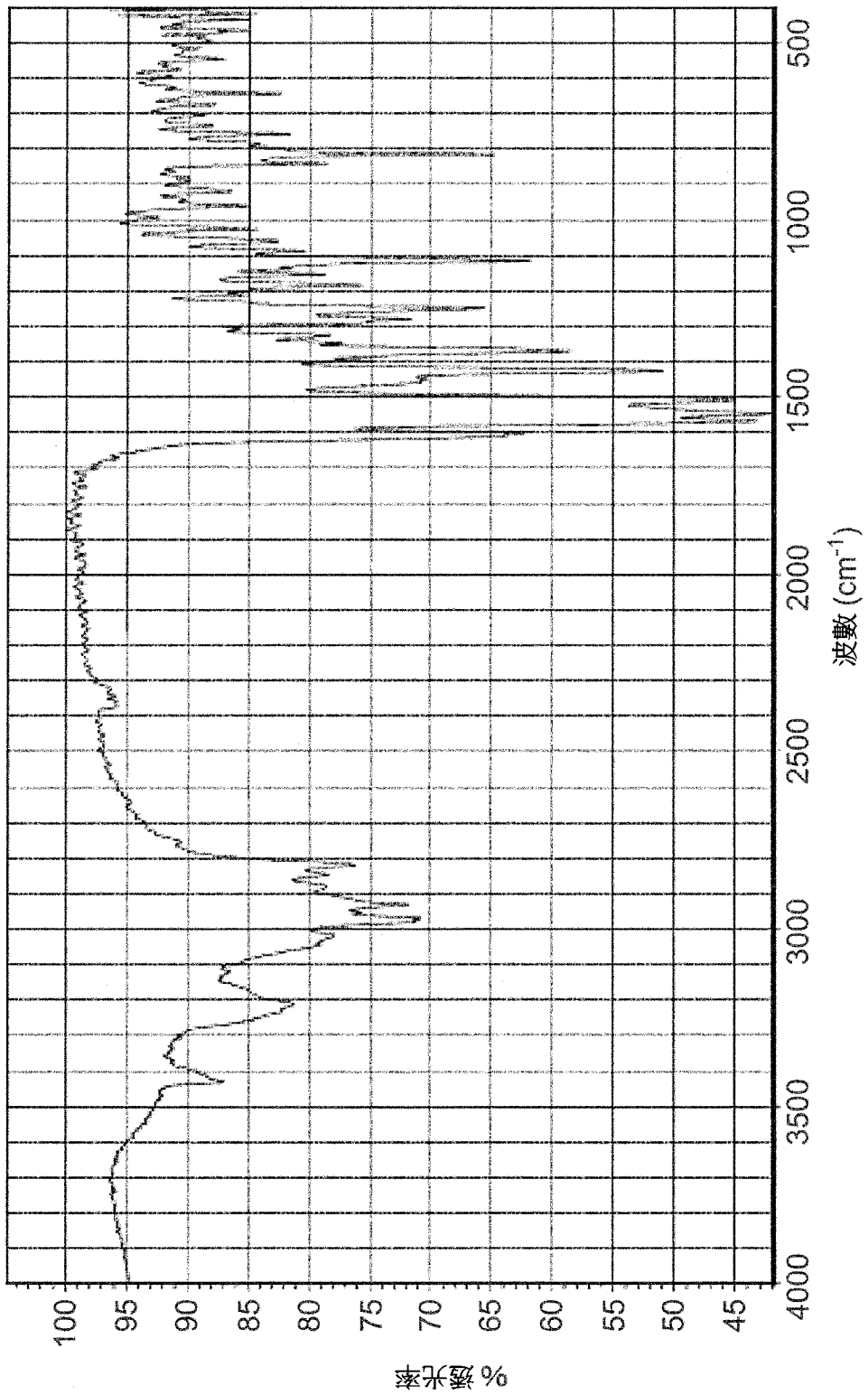
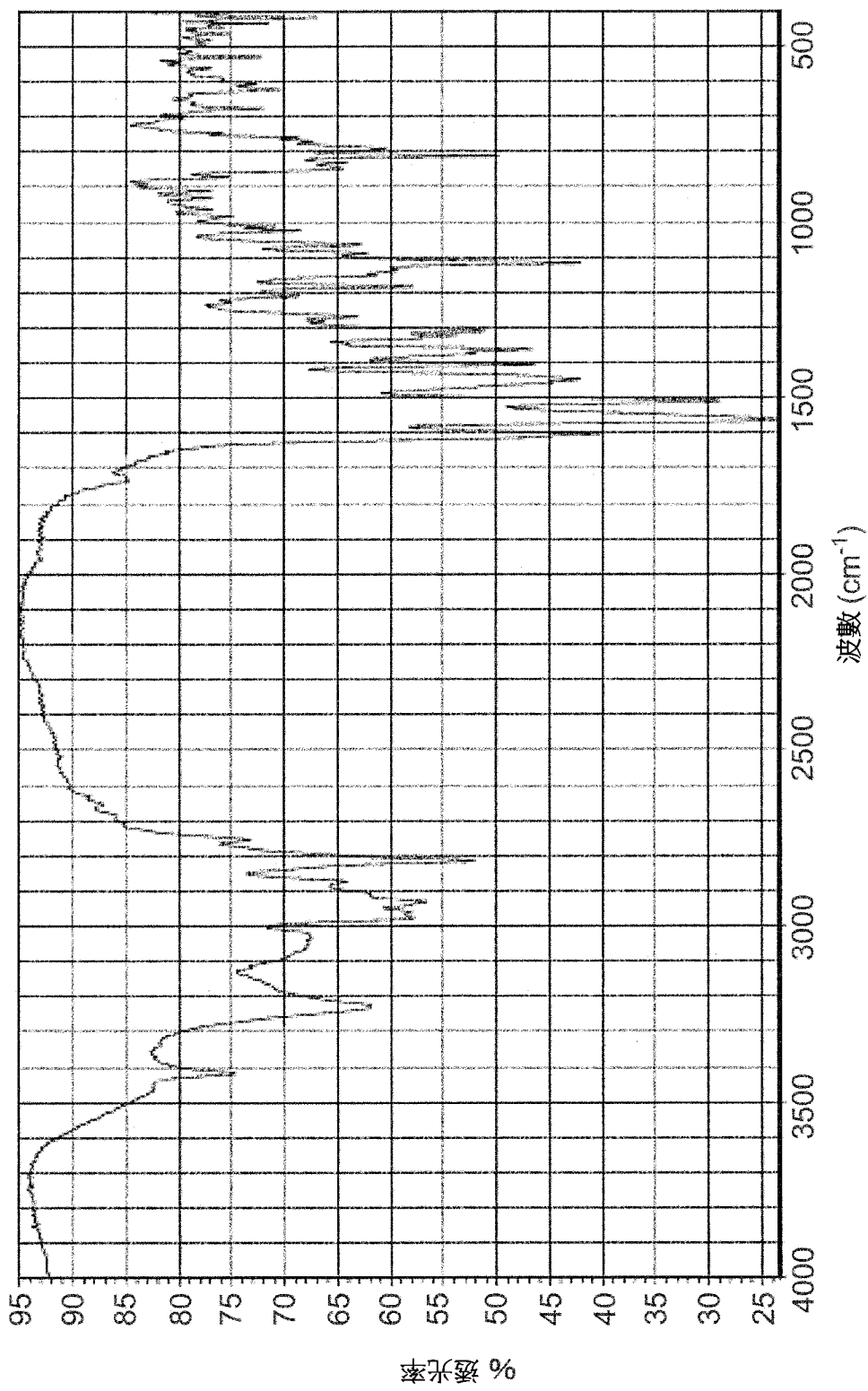


圖 16



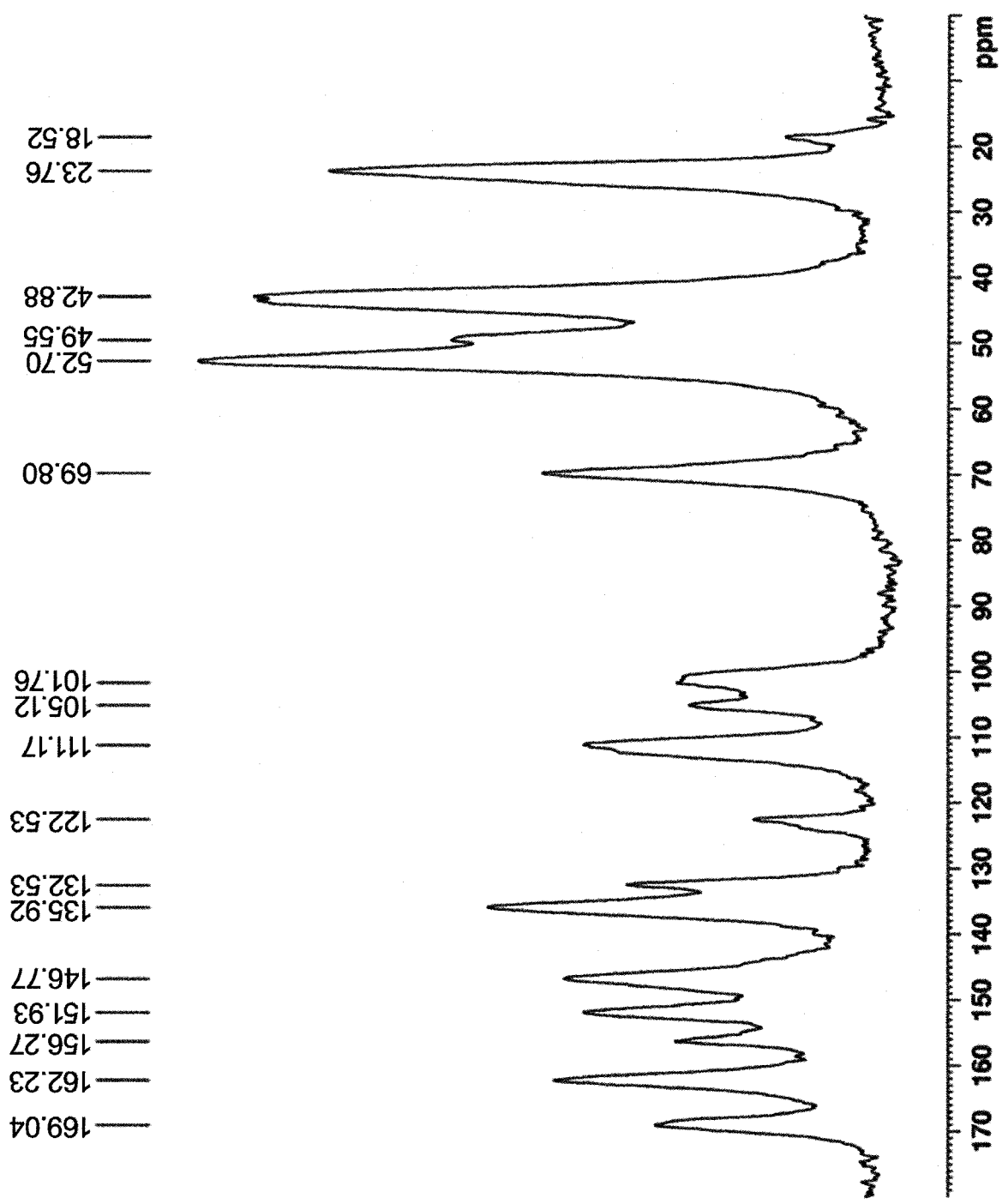
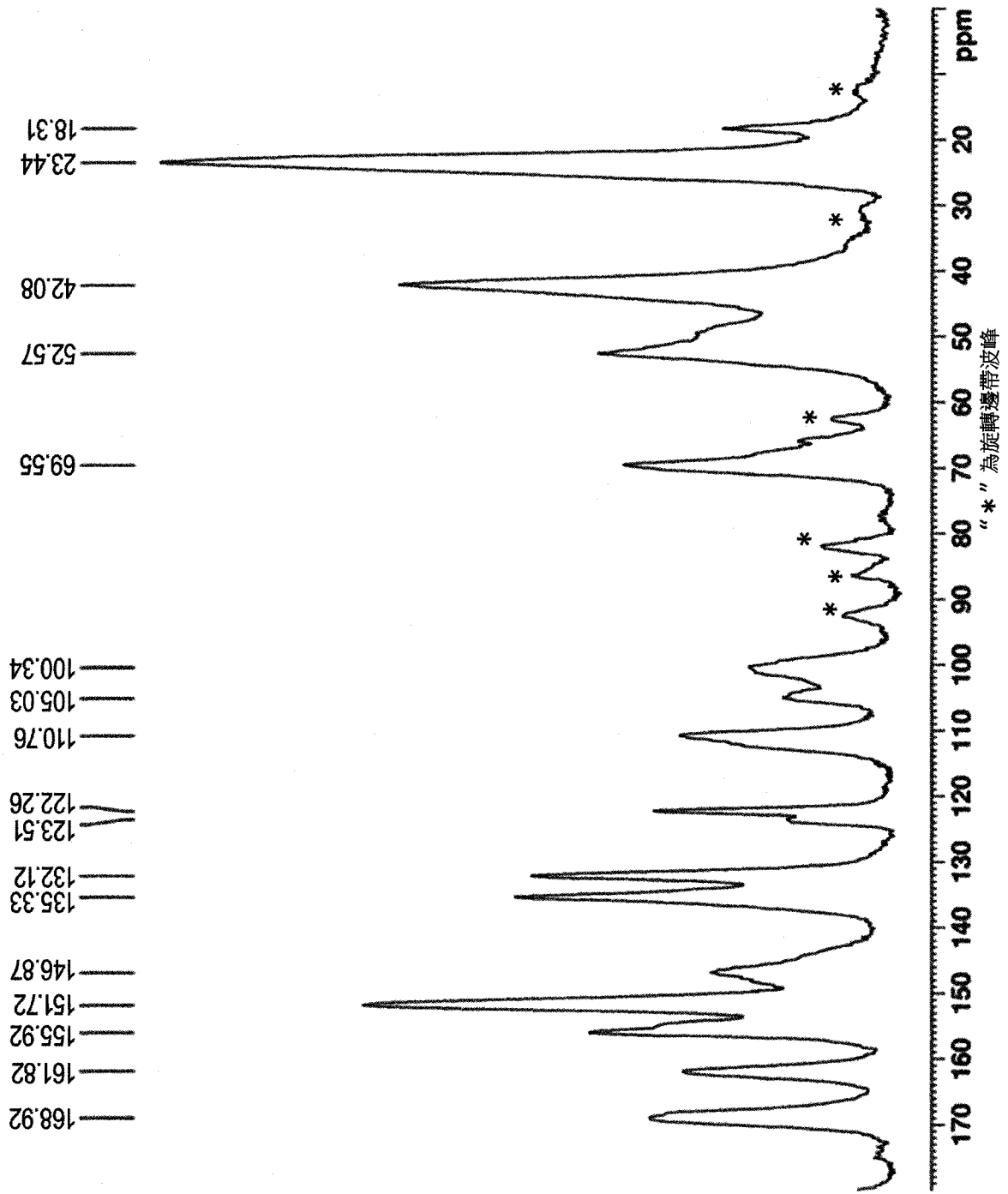


圖 17-1

圖 17-2



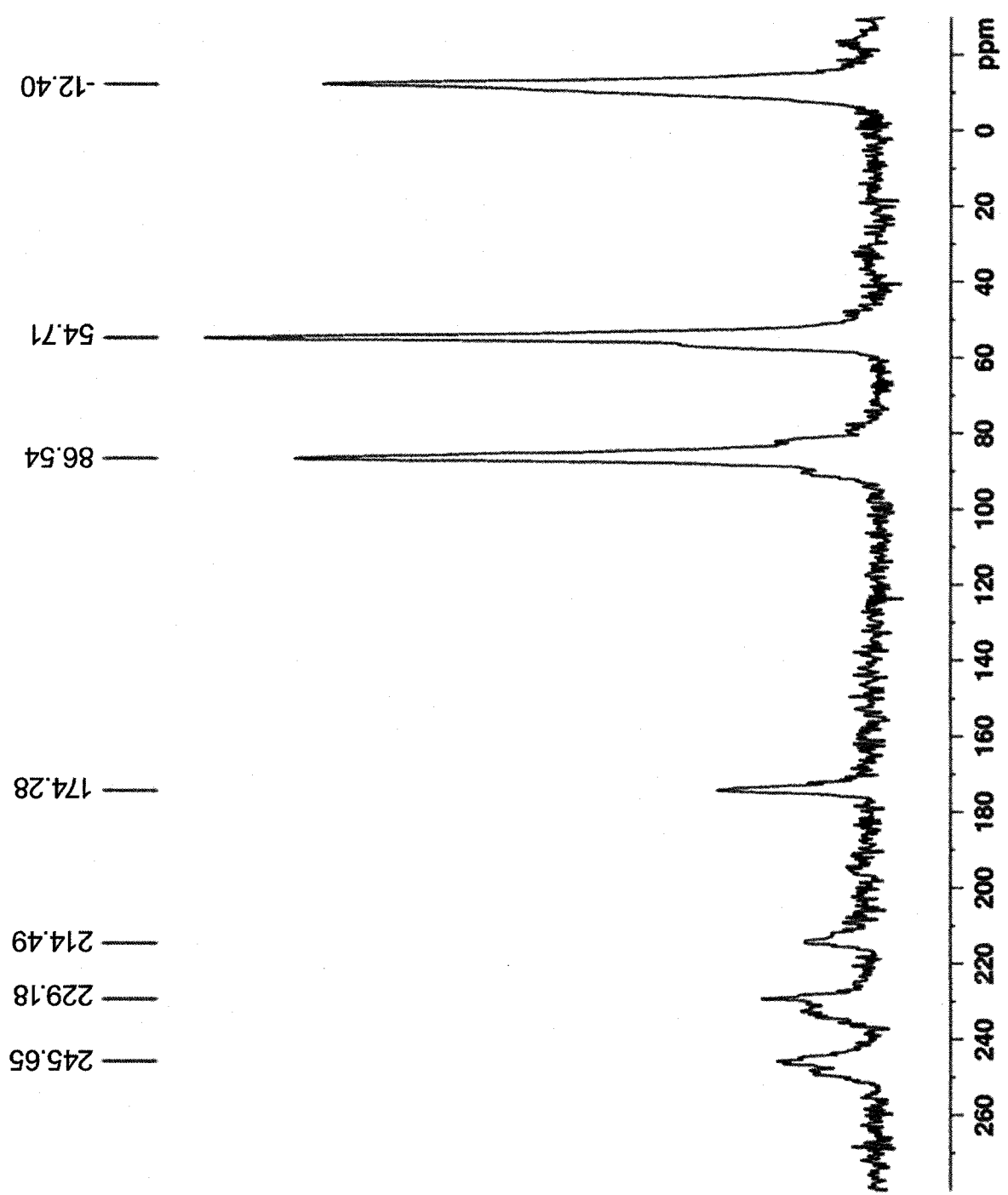


圖 18

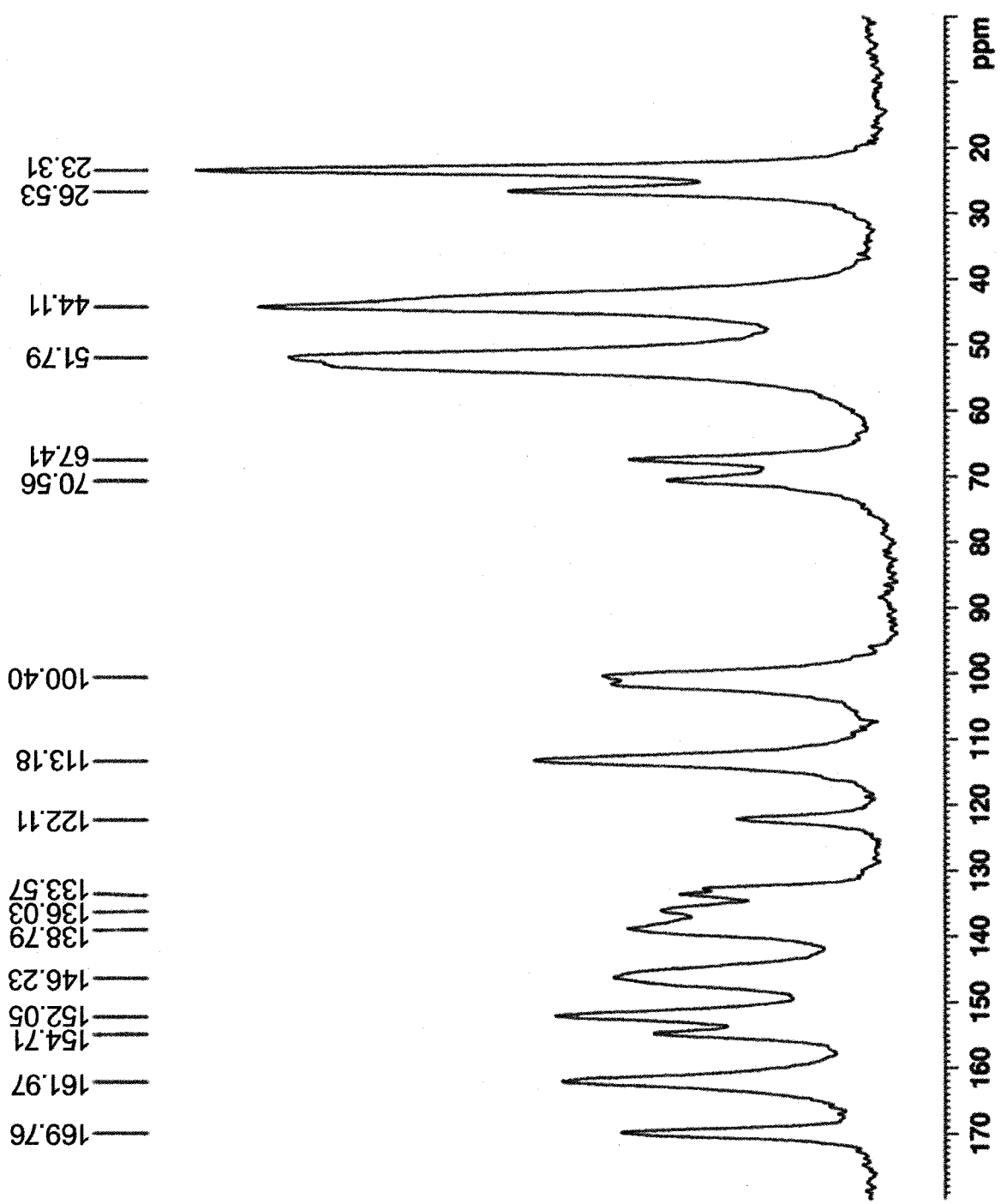


圖 19-1

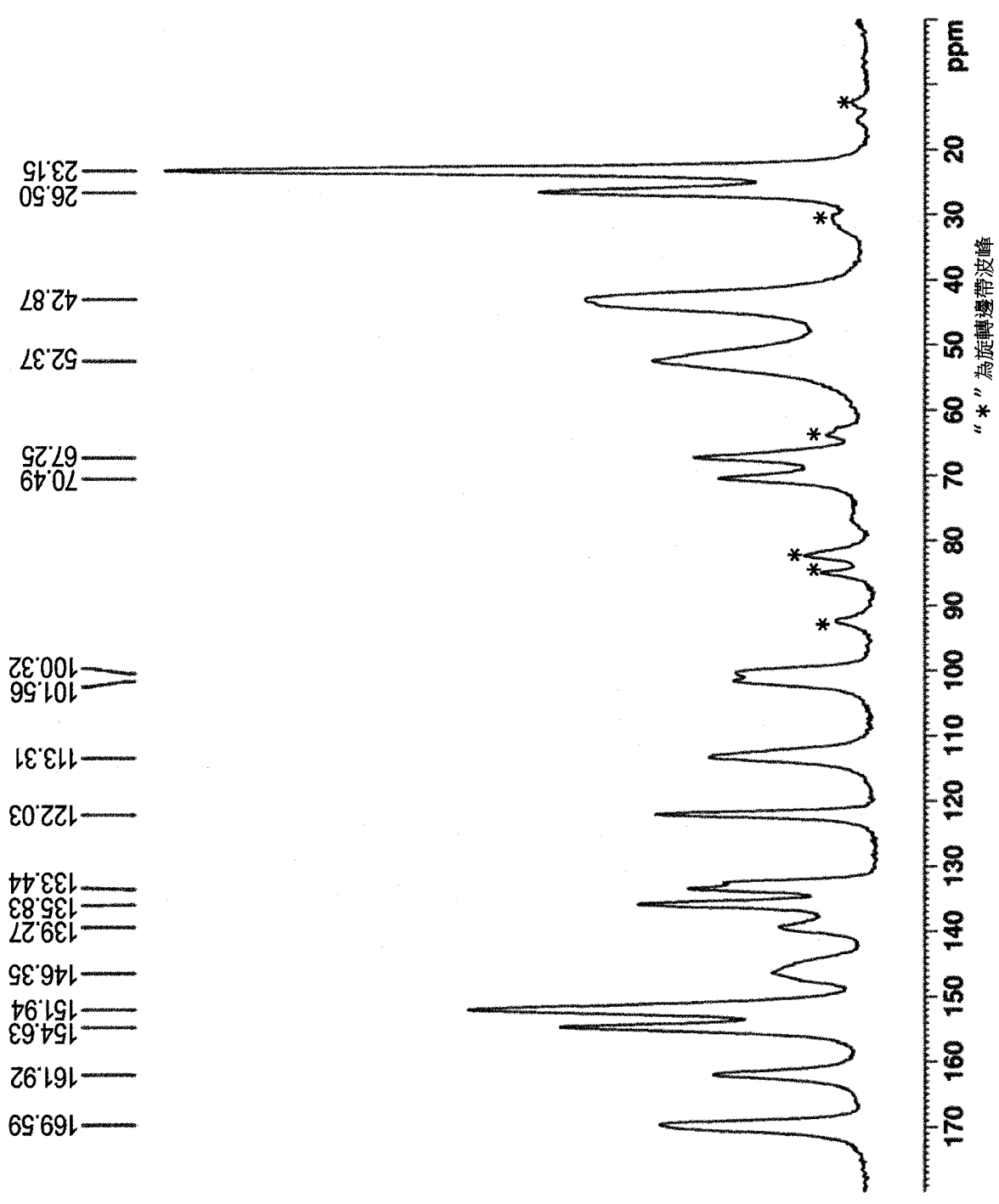


圖 19-2

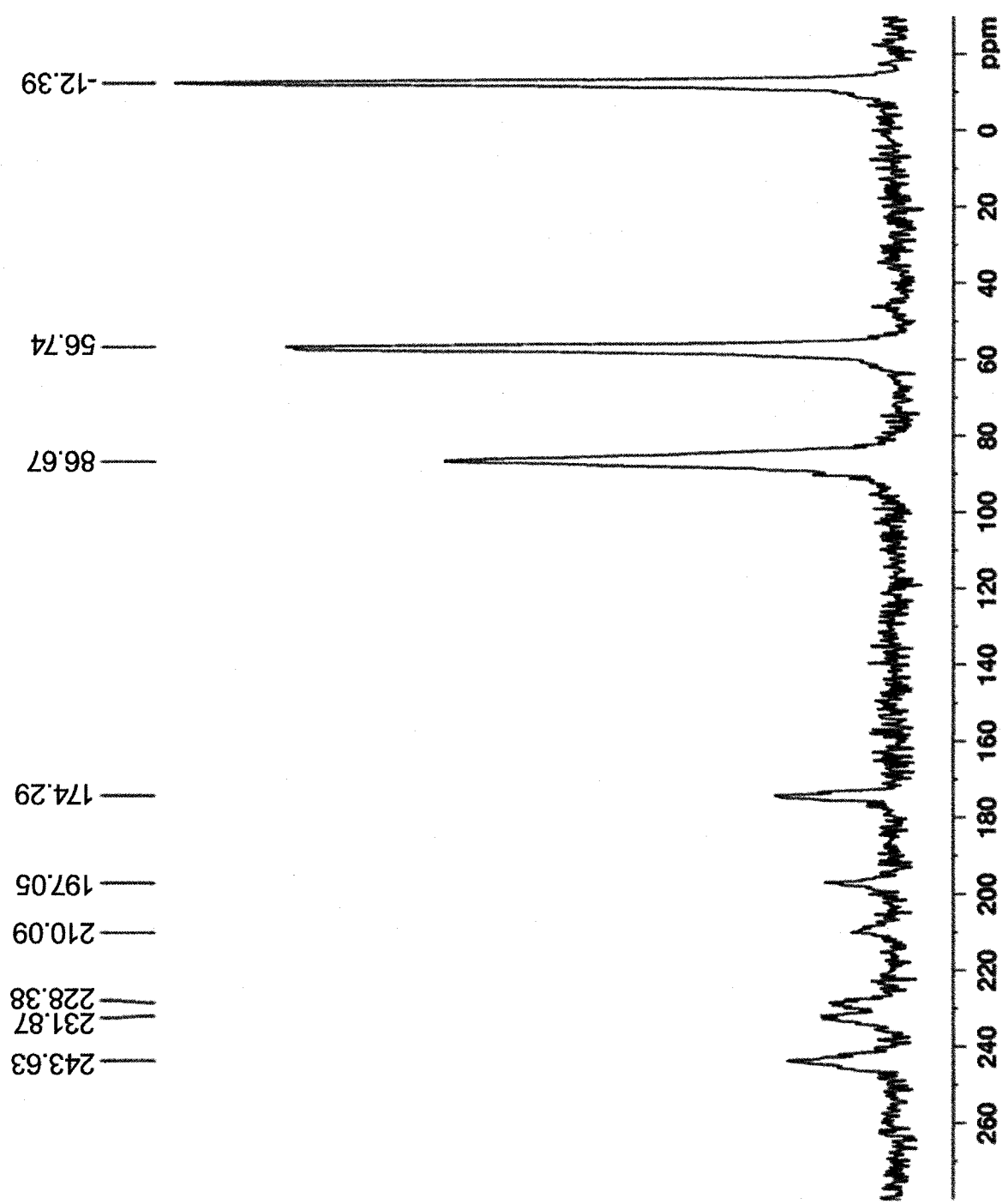


圖 20

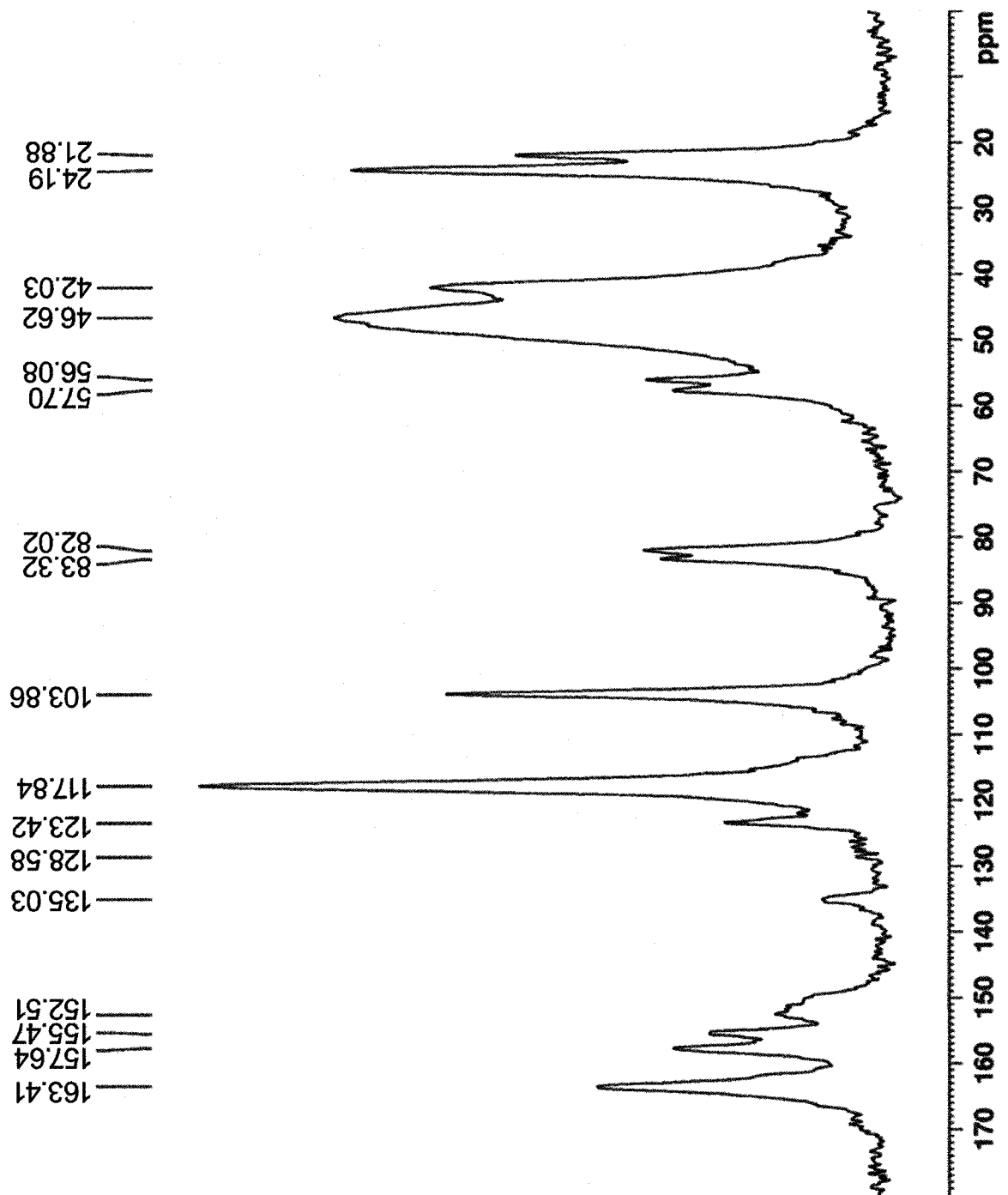
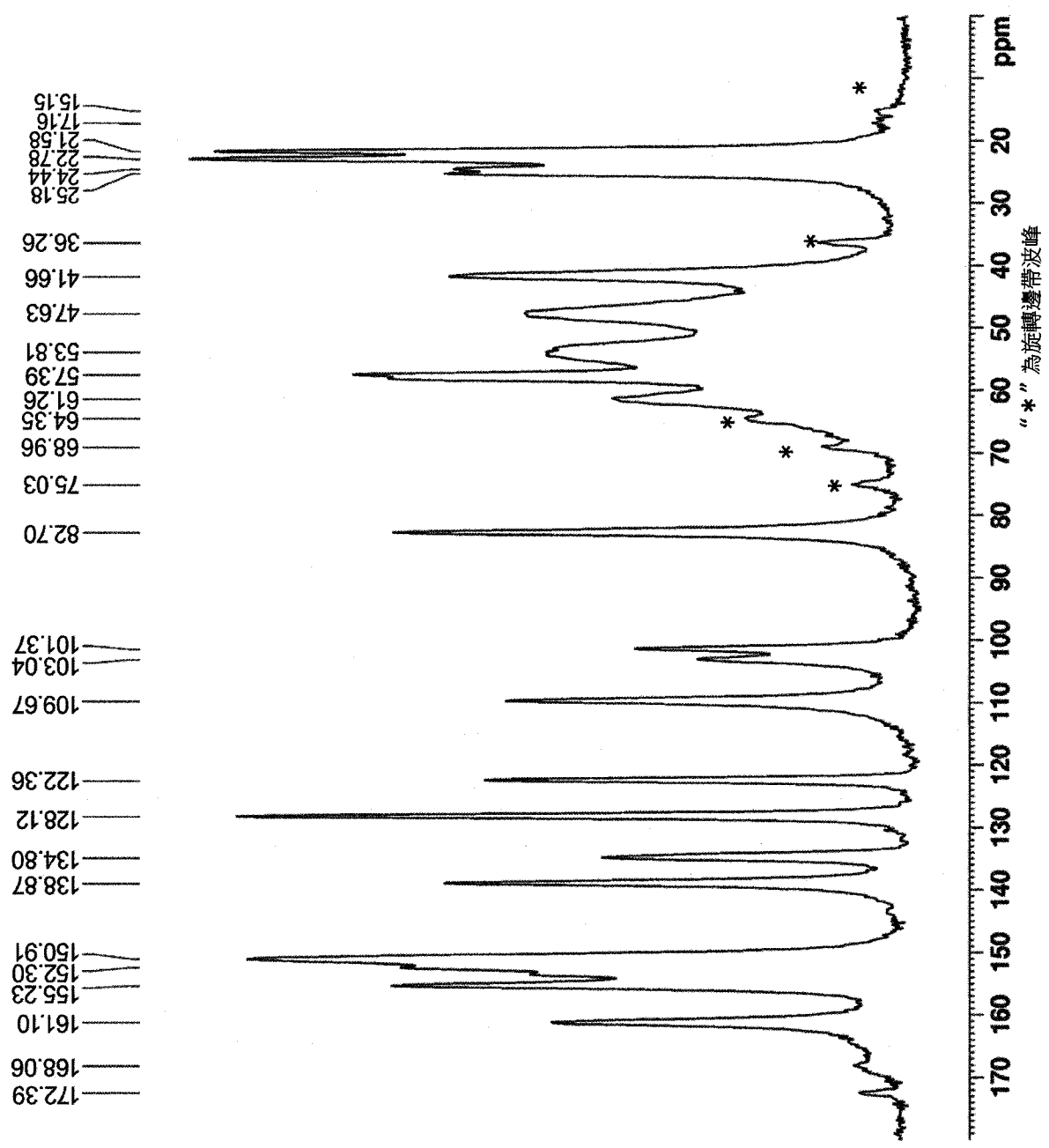


圖 21-1

圖 21-2



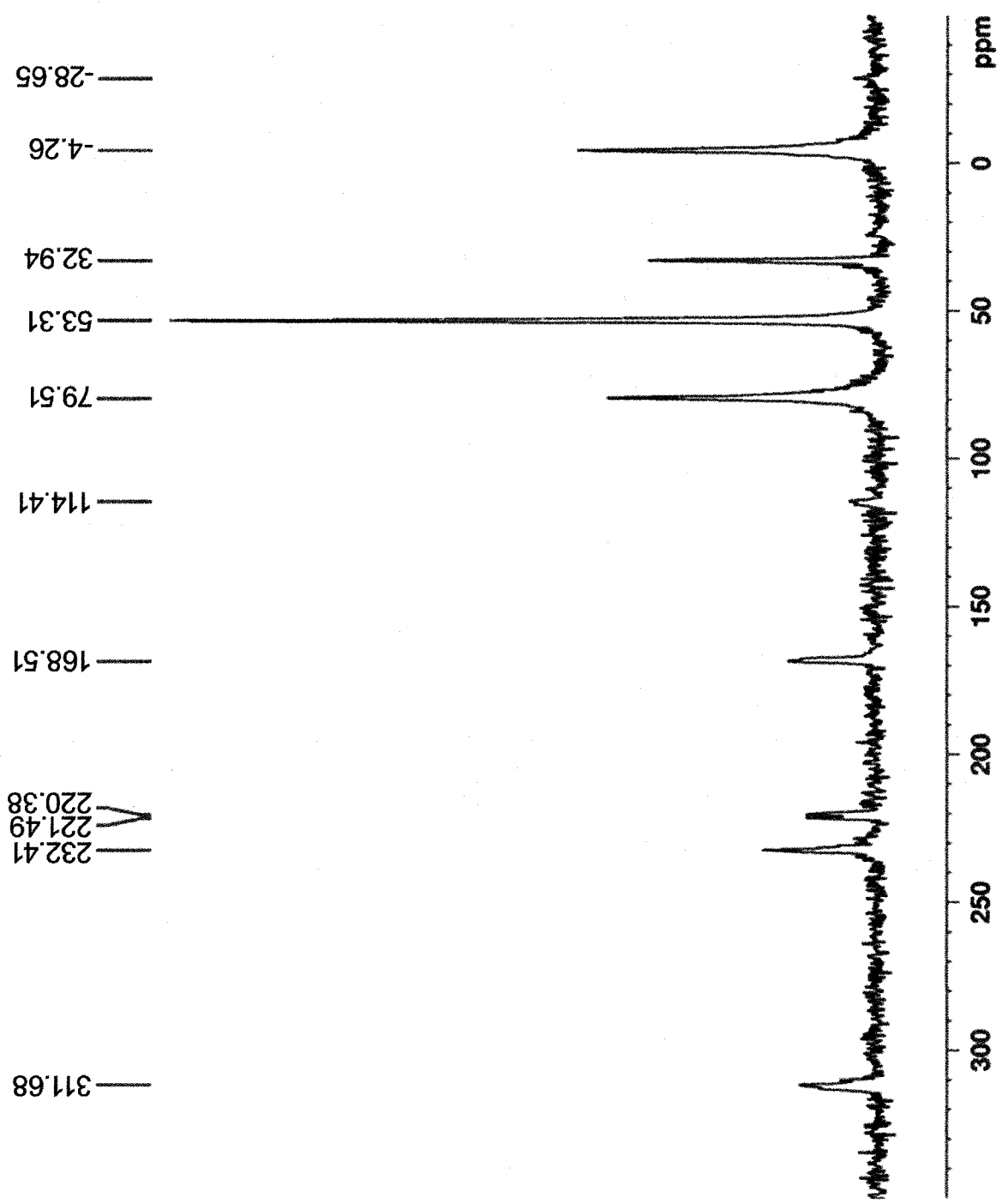


圖 22

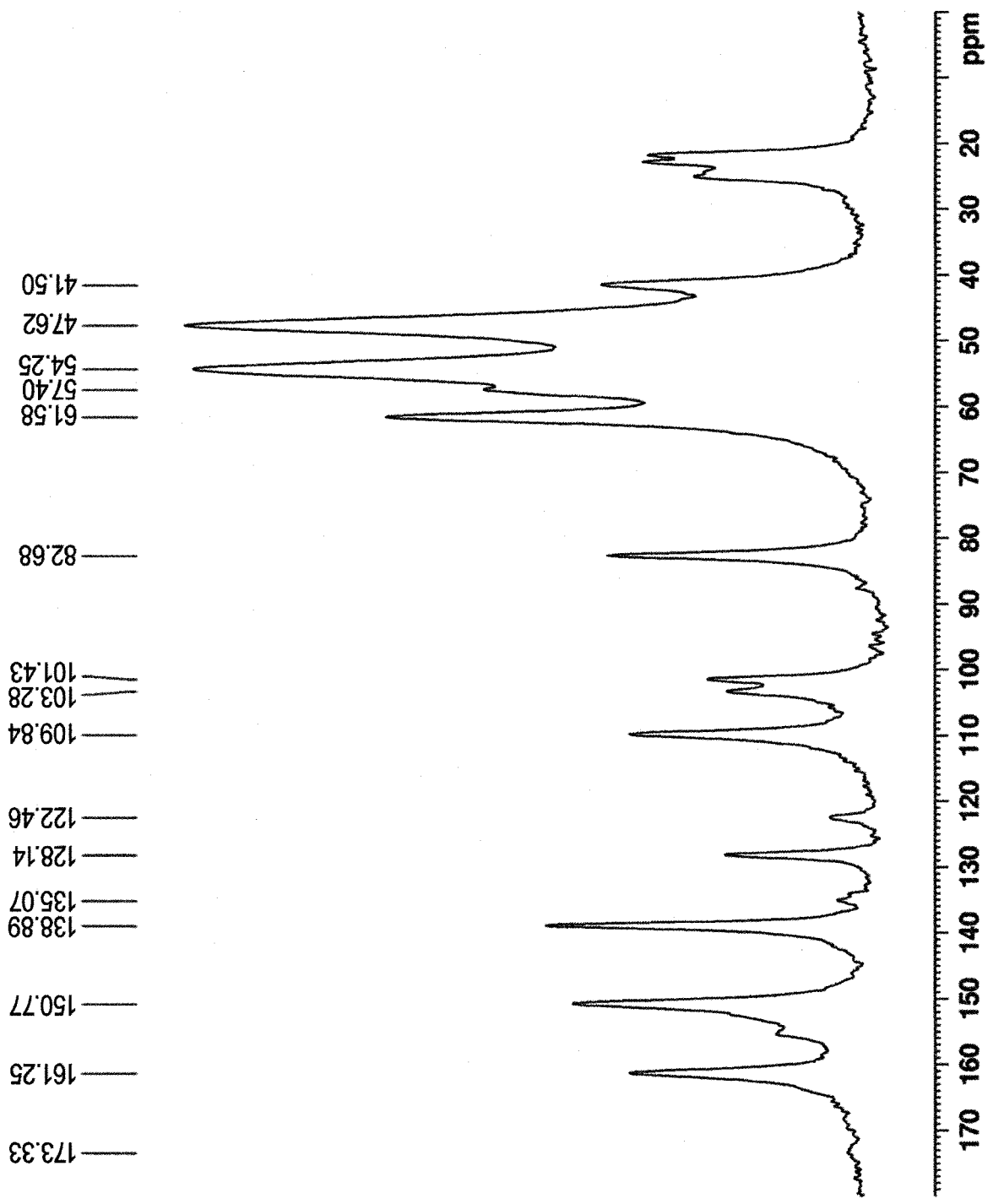
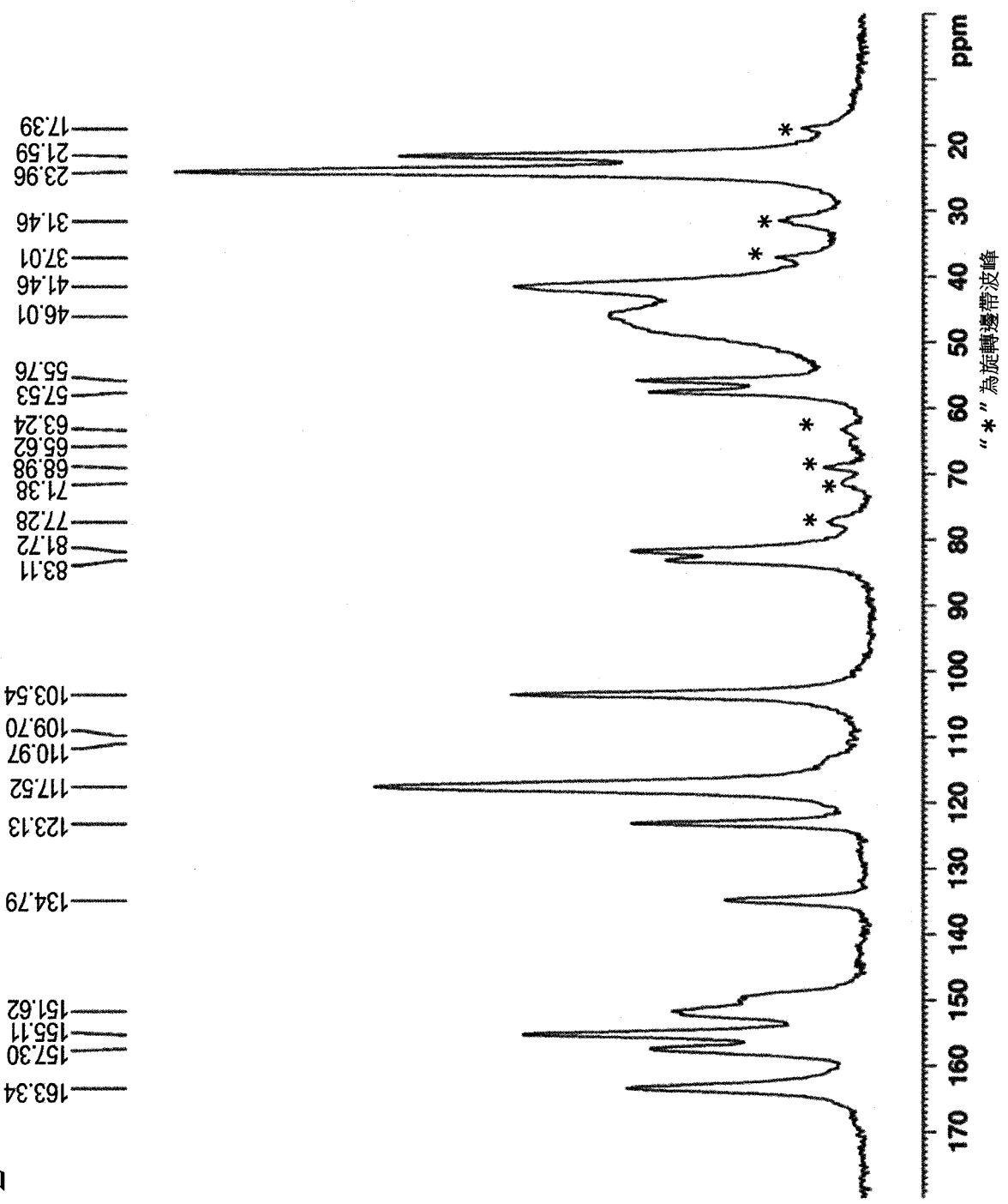


圖 23-1



23-2

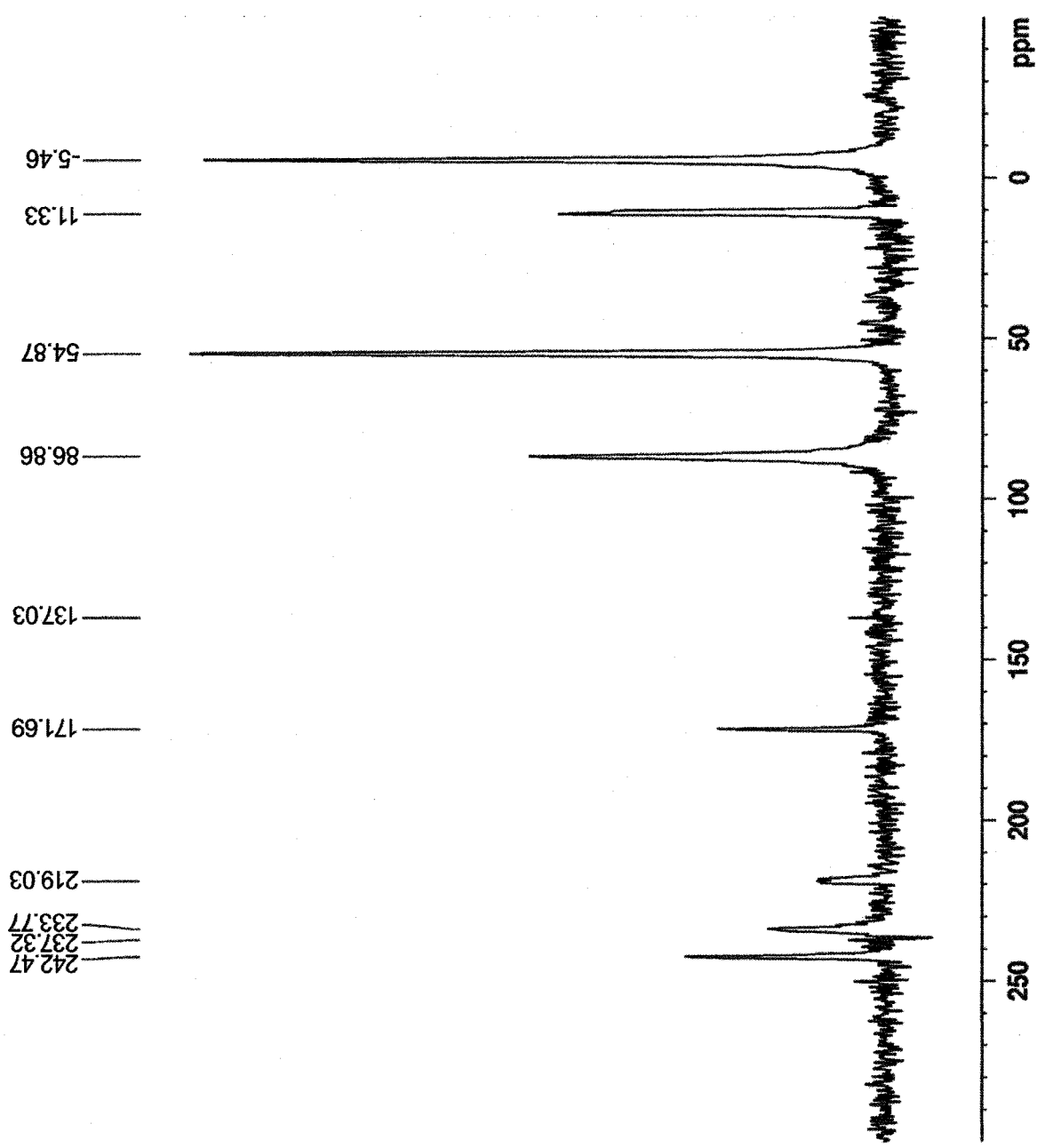


圖 24