



(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 I589574 B

(45)公告日：中華民國 106 (2017) 年 07 月 01 日

(21)申請案號：105110655

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 04 月 01 日

(51)Int. Cl. : C07D401/14 (2006.01)

A61K31/506 (2006.01)

A61P3/04 (2006.01)

A61P3/10 (2006.01)

(30)優先權：2015/04/15

歐洲專利局

15382180.6

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

美國

(72)發明人：加卡 克里司多夫 史坦力 GALKA, CHRISTOPHER STANLEY (US)；漢柏 艾瑞克 詹姆斯 HEMBRE, ERIK JAMES (US)；宏寧史奇米特 尼可拉斯 亞蘭 HONIGSCHMIDT, NICHOLAS ALLAN (US)；馬汀妮茲 葛歐 瑪麗亞 安潔蕾 MARTINEZ-GRAU, MARIA ANGELES (ES)；普萊沙 吉馬 魯諾 PLAZA, GEMA RUANO (ES)；魯必歐 歐慕迪那 RUBIO, ALMUDENA (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

TW 201529073AA

US 2005/0070712A1

WO 2007/079239A2

WO 2013/125732A1

審查人員：方冠岳

申請專利範圍項數：18 項 圖式數：0 共 37 頁

(54)名稱

飢餓素O-醯基轉移酶抑制劑

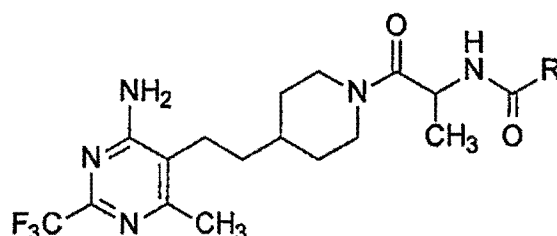
GHRELIN O-ACYL TRANSFERASE INHIBITORS

(57)摘要

本發明提供新穎 GOAT 抑制劑及其鹽及其醫藥組合物。

The present invention provides novel GOAT inhibitors and their salts and pharmaceutical compositions thereof.

特徵化學式：



# 發明摘要

※ 申請案號：105110655

※ 申請日：105- 4 /

※IPC 分類：

C07D 401/4 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

## 【發明名稱】

飢餓素O-醯基轉移酶抑制劑

GHRELIN O-ACYL TRANSFERASE INHIBITORS

## 【中文】

本發明提供新穎GOAT抑制劑及其鹽及其醫藥組合物。

## 【英文】

The present invention provides novel GOAT inhibitors and their salts and pharmaceutical compositions thereof.

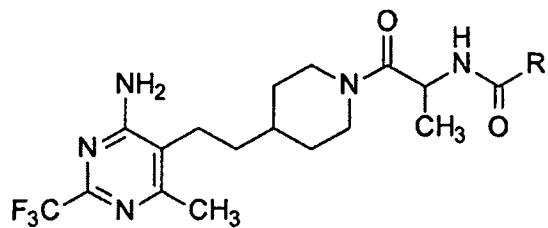
## 【代表圖】

【本案指定代表圖】：(無)。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：



# 發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

## 【發明名稱】

飢餓素O-醯基轉移酶抑制劑

GHRELIN O-ACYL TRANSFERASE INHIBITORS

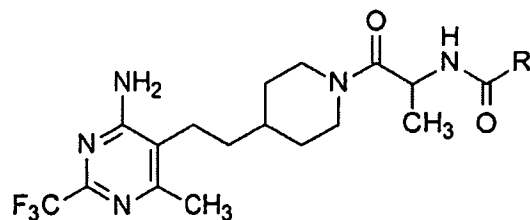
本發明係關於適用於抑制飢餓素O-醯基轉移酶(ghrelin O-acyl transferase, GOAT)之化合物，用於治療與GOAT活性相關的疾病之醫藥組合物及方法。

GOAT屬於膜結合O-醯基轉移酶(MBOAT)酶家族。其藉由將脂肪酸轉移至去醯基飢餓素肽之Ser3殘基而將去醯基-飢餓素(亦稱為未醯化飢餓素或UAG)轉化成生物活性形式(醯基-飢餓素(AG))。已展示醯基-飢餓素增加食物攝入且增加人類及啮齒動物之肥胖症。亦已展示AG注入人體會抑制葡萄糖誘發的胰島素分泌。已展示消除飢餓素基因會增強胰島素釋放以預防或改善餵食高脂肪膳食之ob/ob小鼠之葡萄糖不耐。

小分子GOAT抑制劑已報導在文獻中。參見WO 2013/125732。

然而，肥胖及糖尿病之流行加上肥胖及糖尿病之當前治療的不同有效性及對該等治療之反應使得患者有必要獲得更多治療選項。本發明提供某些作為GOAT抑制劑之新穎化合物。此類新化合物可解決強有效治療肥胖的需求。進一步咸信GOAT抑制劑作為食物及/或鍛煉、經設計以降低體重增加或治療肥胖之其他治療藥劑或程序之佐劑亦可適用於降低體重增加或體重恢復。類似地，GOAT抑制劑可單獨或與2型糖尿病之其他療法組合而用於治療2型糖尿病。

本發明提供一種下式化合物：



其中R係選自視情況經-OH取代之-C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基；-OC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基；吡唑基、噁唑基、噻唑基或噻二唑基，其中吡唑基、噁唑基或噻唑基各自可視情況經-CH<sub>3</sub>取代一至兩次；吡啶基、噻嗪基或吡嗪基，其中各自可視情況經-Cl取代；以及視情況經-OCH<sub>3</sub>取代之苯基；或其醫藥學上可接受之鹽。

本發明提供一種醫藥組合物，其包含本發明化合物、或其醫藥學上可接受之鹽與一或多種醫藥學上可接受之載體、稀釋劑或賦形劑。在另一實施例中，該組合物與一或多種其他治療劑組合使用。

本發明之另一態樣提供降低體重增加或體重恢復或治療2型糖尿病或肥胖之方法，其包含向有需要之患者投與本發明化合物或其醫藥學上可接受之鹽。

本發明亦提供用於治療，尤其用於降低體重增加或體重恢復或治療2型糖尿病或肥胖的本發明化合物或其醫藥學上可接受之鹽。甚至進一步，本發明提供用於降低體重增加或體重恢復或治療2型糖尿病或肥胖的本發明化合物或其醫藥學上可接受之鹽。此外，本發明提供本發明化合物或其醫藥學上可接受之鹽之用途，其用於製造用於降低體重增加或體重恢復或治療2型糖尿病或肥胖之藥劑。

本發明進一步提供一種治療缺血事件之後遺症之方法，其包含向有需要之患者投與本發明化合物或其醫藥學上可接受之鹽。在另一實施例中，缺血事件為心肌缺血或心臟缺血或大腦缺血。

在另一態樣中，本發明提供用於治療，尤其用於治療缺血事件之後遺症的本發明化合物或其醫藥學上可接受之鹽。甚至進一步，本

發明提供用於治療缺血事件之後遺症的本發明化合物或其醫藥學上可接受之鹽。此外，本發明提供本發明化合物或其醫藥學上可接受之鹽的用途，其用於製造用於治療缺血事件之後遺症之藥劑。在另一實施例中，缺血事件為心肌缺血或心臟缺血或大腦缺血。

本發明進一步提供一種治療成癮症之方法，其包含向有需要之患者投與本發明化合物或其醫藥學上可接受之鹽。在另一實施例中，成癮症涉及完成行為，諸如酒精、吸菸、飲食過量或使用違禁藥物。

本發明提供一種改善促進成癮行為之應激後果之方法，其包含向有需要之患者投與本發明化合物或其醫藥學上可接受之鹽。在另一實施例中，成癮行為涉及完成行為，諸如酒精、吸菸、飲食過量或使用違禁藥物。

本發明亦提供一種本發明化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其用於治療，尤其用於治療成癮症。甚至進一步，本發明提供一種本發明化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其用於治療成癮症。此外，本發明提供本發明化合物或其醫藥學上可接受之鹽之用途，其用於製造用於治療成癮症之藥劑。在另一實施例中，成癮症涉及完成行為，諸如酒精、吸菸、飲食過量或使用違禁藥物。

本發明亦提供用於治療，尤其用於減輕促進成癮行為之應激後果的本發明化合物或其醫藥學上可接受之鹽。在另一實施例中，成癮症涉及完成行為，諸如酒精、吸菸、飲食過量或使用違禁藥物。甚至進一步，本發明提供用於減輕促進成癮行為之應激後果的本發明化合物或其醫藥學上可接受之鹽。此外，本發明提供本發明化合物或其醫藥學上可接受之鹽之用途，其用於製造用於減輕促進成癮行為之應激後果之藥劑。在另一實施例中，成癮行為涉及完成行為，諸如酒精、吸菸、飲食過量或使用違禁藥物。

本發明亦包涵適用於合成本發明化合物之中間體及方法。

如本文所使用之術語「治療(treating)」(或「治療(treat)」或「治療(treatment)」)係指限制、減緩、阻止或逆轉現存症狀、病狀或病症之進展或嚴重程度。

如本文所使用，術語「降低體重增加」係指減少患者之體重增加。術語「降低體重恢復」係指使體重減輕之後經歷體重反彈之患者減少體重增加。體重恢復可歸因於停止經由膳食、運動、行為改善或認可之療法所達成之體重減輕之後的反彈作用。如本文所使用之避免可能的體重增加或體重恢復係指由食物攝取或飲食習慣誘發的體重增加或體重恢復，且不指非食物相關的體重增加，諸如歸因於流體積聚、因水滯留、肌肉質量或炎症造成之重量。

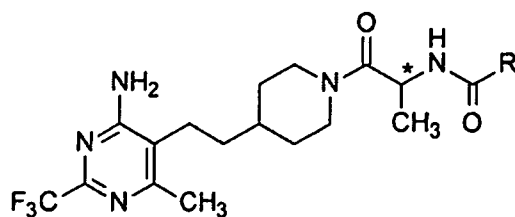
如本文所用之「缺血事件」係指到達器官或身體部位之血液供應不足。血流量降低會減少氧氣供應至受影響的器官或身體部位。缺血事件亦可稱為缺血。習此相關技藝之人士咸了解缺血可能影響身體之不同器官或部分，例如心臟，諸如心肌缺血或心臟缺血，或腦，諸如腦缺血。

如本文所用之「成癮症」描述個體在不顧負面後果下仍展現不能控制的過度不適應行為。與本發明具體相關的為成癮症，其涉及完成行為，諸如酒精攝取、吸菸、飲食過量以及使用違禁藥物。本發明在患有成癮症之個體中使失調之異常的刺激及獎勵神經基質恢復正常。應激通常為成癮症之病因及維持中的促成劑；本發明提供一種改善促進成癮行為之應激後果的方法。

本發明之化合物可反應以形成醫藥學上可接受之鹽。醫藥學上可接受之鹽及製備其之常見方法在此項技術中為人所熟知。參見例如 P. Stahl, 等人. *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use*, 第 2 修訂版 (Wiley-VCH, 2011) ; S.M. Berge, 等人., 「Pharmaceutical Salts」, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 第66卷,

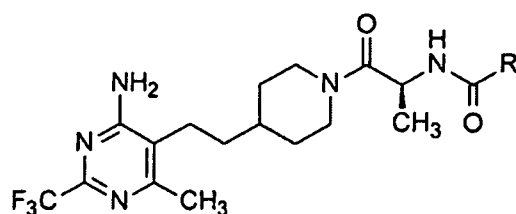
第1期, 1977年1月。

熟練的業內人士將瞭解本發明化合物或其醫藥學上可接受之鹽包含含有至少一個對掌性中心(由以下(I)中\*表示)之核心：



(I)

本發明之較佳化合物由(II)表示：



(II)

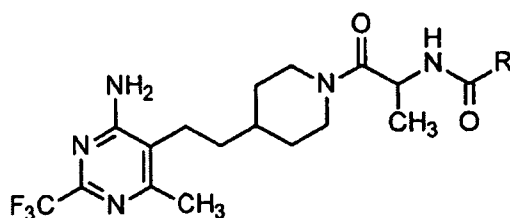
或其醫藥學上可接受之鹽。

熟練的業內人士將瞭解其他對掌性中心可通過選擇某些變量而在本發明化合物中形成。本發明涵蓋所有個別對映異構體或非對映異構體，以及該等化合物之對映異構體及非對映異構體之混合物，包括外消旋體。

熟練的業內人士亦將瞭解，所有對掌性中心之卡恩-英戈爾德-普利洛 (Cahn-Ingold-Prelog)(R)或(S)名稱將視具體化合物之取代模式而改變。單一對映異構體或非對映異構體可以對掌性試劑開始或藉由立體選擇性或立體特異性合成技術製備。或者，單一對映異構體或非對映異構體可藉由標準對掌性層析或結晶技術在本發明之化合物合成中之任何便利點上自混合物中分離。本發明化合物之單一對映異構體為本發明之較佳實施例。

本發明化合物較佳調配為藉由多種途徑投與(諸如經口投與)之醫

藥組合物。該等醫藥組合物及製備該等醫藥組合物之方法在此項技術中為人所熟知。參見例如 *Remington: The Science and Practice of Pharmacy* (A. Gennaro等人編, 第21版, Mack Publishing Co., 2005)。更特別佳為包含由下式表示之本發明化合物的醫藥組合物



其中R係選自視情況經-OH取代之-C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基；-OC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基；吡唑基、噁唑基、噻唑基或噻二唑基，其中吡唑基、噁唑基或噻唑基各自可視情況經-CH<sub>3</sub>取代一至兩次；吡啶基、噻嗪基或吡嗪基，其中各自可視情況經-Cl取代；以及視情況經-OCH<sub>3</sub>取代之苯基；或其醫藥學上可接受之鹽及一或多種醫藥學上可接受之載劑或稀釋劑。

儘管所有本發明之例示化合物均為GOAT抑制劑，但某些類別之化合物較佳。以下段落描述此類較佳類別：

a) R為視情況經-OH取代之-C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基；-OC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基；吡唑基、噁唑基、噻唑基或噻二唑基，其中吡唑基、噁唑基或噻唑基各自可視情況經-CH<sub>3</sub>取代一至兩次；吡啶基、噻嗪基或吡嗪基，其中各自可視情況經-Cl取代；或視情況經-OCH<sub>3</sub>取代之苯基；

b) R為吡唑基、噁唑基、噻唑基或噻二唑基，其中吡唑基、噁唑基或噻唑基各自可視情況經-CH<sub>3</sub>取代一至兩次；吡啶基或吡嗪基，其中各自可視情況經-Cl取代；或視情況經-OCH<sub>3</sub>取代之苯基；

c) R為吡唑基、噁唑基、噻唑基或噻二唑基，其中吡唑基、噁唑基或噻唑基各自可視情況經-CH<sub>3</sub>取代一至兩次；

d) R為吡唑基、噁唑基、噻唑基或噻二唑基，其中吡唑基、噁唑基或噻唑基各自可視情況經-CH<sub>3</sub>取代一至兩次；

e) R為吡啶基、噻吩基或吡嗪基，其中各自可視情況經-Cl取代；

f) R為視情況經-OCH<sub>3</sub>取代之苯基；

g) R為視情況經-OH、-OCH<sub>3</sub>或-OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>取代之-CH<sub>3</sub>；

h) R為視情況經-OH取代之-CH<sub>3</sub>；

i) R為-OCH<sub>3</sub>或-OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>；

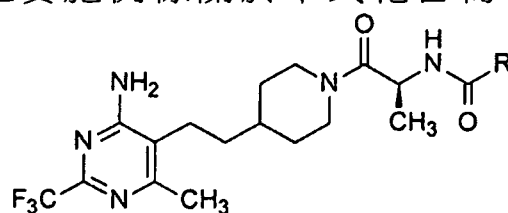
j) R為吡唑基；

k) R為經-CH<sub>3</sub>取代之吡唑基；

l) 本發明化合物為游離鹼；

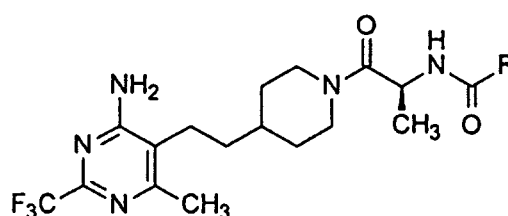
m) 鄰近-NC(O)R之甲基取代基在本發明化合物中為S組態；

本發明之一較佳實施例係關於下式化合物，



其中R係選自視情況經-OH取代之-C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基；-OC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基；吡唑基、噁唑基、噻唑基或噻二唑基，其中吡唑基、噁唑基或噻唑基各自可視情況經-CH<sub>3</sub>取代一至兩次；吡啶基、噻吩基或吡嗪基，其中各自可視情況經-Cl取代；以及視情況經-OCH<sub>3</sub>取代之苯基；或其醫藥學上可接受之鹽。

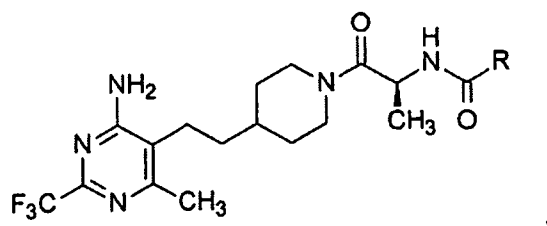
本發明之另一個較佳實施例係關於下式化合物



其中R係選自視情況經-OH取代之-CH<sub>3</sub>；-OCH<sub>3</sub>或-OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>；吡唑基、噁唑基、噻唑基或噻二唑基，其中吡唑基、噁唑基或噻唑基各自

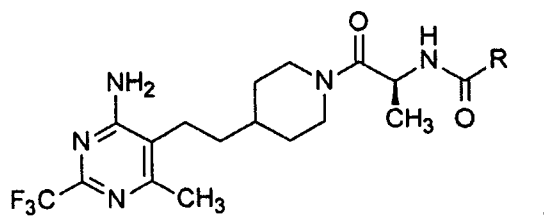
可視情況經-CH<sub>3</sub>取代一至兩次；吡啶基、噻嗪基或吡嗪基，其中各自可視情況經-Cl取代；以及視情況經-OCH<sub>3</sub>取代之苯基；或其醫藥學上可接受之鹽。

本發明之另一個較佳實施例係關於下式化合物



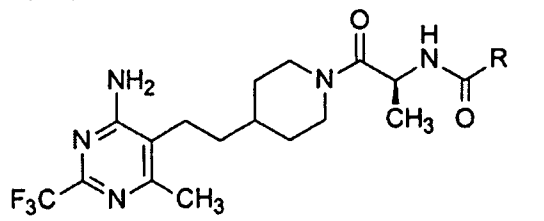
其中R係選自吡唑基、噁唑基、噻唑基或噻二唑基，其中吡唑基、噁唑基或噻唑基各自可視情況經-CH<sub>3</sub>取代一至兩次；吡啶基、噻嗪基或吡嗪基，其中各自可視情況經-Cl取代；以及視情況經-OCH<sub>3</sub>取代之苯基；或其醫藥學上可接受之鹽。

本發明之另一個較佳實施例係關於下式化合物



其中R係選自吡唑基、噁唑基、噻唑基或噻二唑基，其中吡唑基、噁唑基或噻唑基，各自可視情況經-CH<sub>3</sub>取代一至兩次；吡啶基或吡嗪基，其中各自可視情況經-Cl取代；以及視情況經-OCH<sub>3</sub>取代之苯基；或其醫藥學上可接受之鹽。

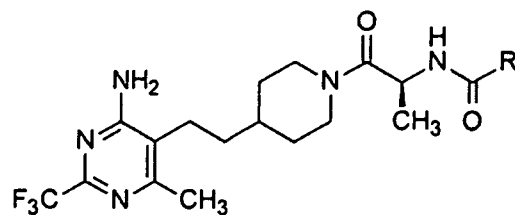
本發明之另一較佳實施例係關於下式化合物，



其中R係選自吡唑基、噁唑基、噻唑基及噻二唑基，其中吡唑基、噁唑基或噻唑基各自可視情況經-CH<sub>3</sub>取代一至兩次；或其醫藥學上可接

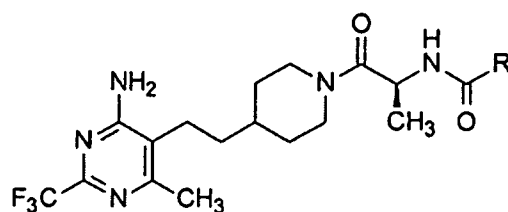
受之鹽。

本發明之另一較佳實施例係關於下式化合物：



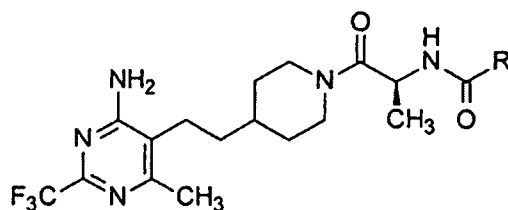
其中R係選自吡啶基、噻嗪基及吡嗪基，其中各自可視情況經-Cl取代；或其醫藥學上可接受之鹽。

本發明之另一個較佳實施例係關於下式化合物



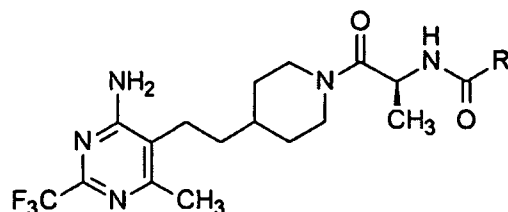
其中R為視情況經-OCH<sub>3</sub>取代之苯基；或其醫藥學上可接受之鹽。

本發明之另一個較佳實施例係關於下式化合物



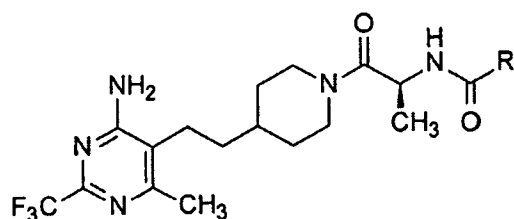
其中R係選自視情況經-OH、-OCH<sub>3</sub>及-OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>取代之-CH<sub>3</sub>；或其醫藥學上可接受之鹽。

本發明之另一個較佳實施例係關於下式化合物



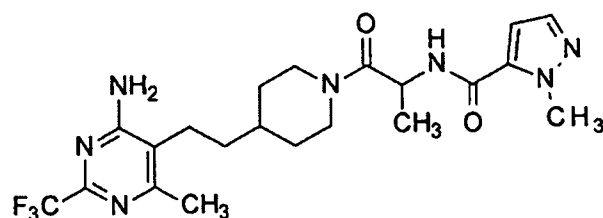
其中R為視情況經-OH取代之-CH<sub>3</sub>；或其醫藥學上可接受之鹽。

本發明之另一個較佳實施例係關於下式化合物



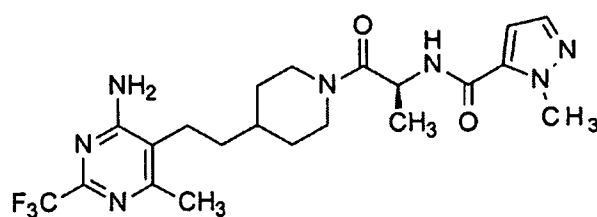
其中R係選自  $-OCH_3$  及  $-OC(CH_3)_3$ ；或其醫藥學上可接受之鹽。

本發明之一尤其較佳實施例係關於下式化合物：



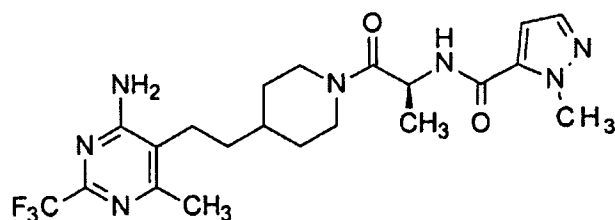
或其醫藥學上可接受之鹽。

本發明之另一尤其較佳實施例係關於下式化合物：



或其醫藥學上可接受之鹽。

本發明之另一尤其較佳實施例係關於下式化合物：



本發明之化合物一般在廣泛劑量範圍內有效。舉例而言，每日劑量落入每公斤體重約0.03 mg至約30 mg範圍內。在一些情況下，可充分大於低於前述範圍下限之劑量含量，而在維持有利益處/風險概況之其他情況下仍可使用更大劑量，且因此以上劑量範圍並不意欲以任何方式限制本發明之範疇。應瞭解，實際上投與之化合物量將由醫師，鑒於相關情況，包括待治療之病症、選擇投藥途徑、投與的實際

化合物、年齡、體重及個體患者之反應及患者症狀嚴重度決定。

在此項技術中熟知，用於治療糖尿病及/或肥胖之試劑可與用於治療糖尿病及/或肥胖之其他試劑組合。本發明化合物或其醫藥學上可接受之鹽可與用於糖尿病或肥胖之其他有效治療共同投與、同時投與或依序投與。在諸如肥胖症治療手術(例如，胃旁路術手術或可調節胃束帶手術)之認可醫學程序之後，本發明之化合物或其醫藥學上可接受之鹽可以單獨或與其他有效治療組合形式同時或依序投與。

本發明化合物或其鹽可利用此項技術中已知的多種程序製備，該等程序中之一些在以下流程、製備及實例中加以說明。各所述途徑之特定合成步驟可以不同方式組合或與不同流程之步驟結合以製備本發明化合物或鹽。以下流程中各步驟之產物可利用此項技術中熟知之常規方法回收，包括萃取、蒸發、沈澱、層析、過濾、濕磨及結晶。在以下流程中，除非另外指明，否則所有取代基均為如先前所定義。試劑及起始材料為一般技術者可容易獲得的。

另外，以下流程中所述之某些中間物可含有一或多個氮保護基。不同保護基在每次出現時視特定反應條件及進行的特定轉化而定可相同或不同。保護及脫除保護基的條件為熟習此項技術者所熟知且描述於文獻中(參見例如「*Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*」，第四版，Peter G. M. Wuts及Theodora W. Greene, John Wiley and Sons, Inc. 2007)。

為清楚起見，在以下流程中，使某些立體化學中心保留未指明且已消除某些取代基，且並不意欲以任何方式限制流程之教示。單一對映異構體或非對映異構體可以對掌性試劑開始或藉由立體選擇性或立體特異性合成技術製備。或者，單一對映異構體或外消旋體可藉由標準對掌性層析或結晶技術在合成本發明化合物之任何方便的時刻利用諸如選擇性結晶技術或對掌性層析之方法自混合物分離(參見例

如，J. Jacques等人，「*Enantiomers, Racemates, and Resolutions*」，John Wiley and Sons, Inc., 1981 及 E.L. Eliel 及 S.H. Wilen, 「*Stereochemistry of Organic Compounds*」，Wiley-Interscience, 1994)。

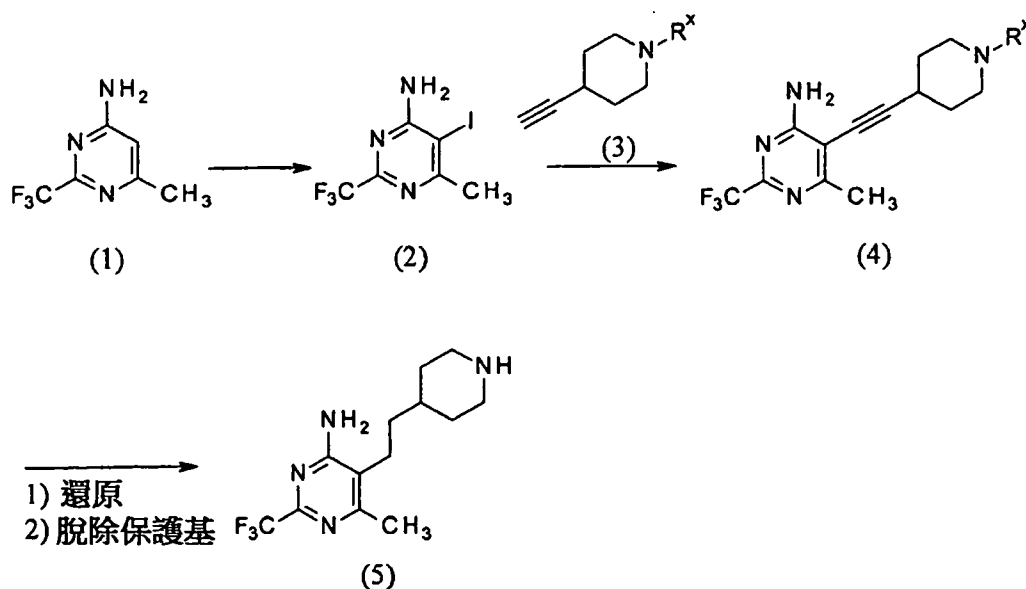
本發明之一些中間物或化合物可具有一或多個對掌性中心。本發明涵蓋所有個別對映異構體或非對映異構體，以及該等化合物之對映異構體及非對映異構體之混合物，包括外消旋體。較佳地，含有至少一個對掌性中心之本發明化合物以單一對映異構體或非對映異構體形式存在。單一對映異構體或非對映異構體可以對掌性試劑開始或藉由立體選擇性或立體特異性合成技術製備。或者，單一對映異構體或非對映異構體可藉由標準對掌性層析或結晶技術自混合物分離。熟練的業內人士將瞭解，在某些情況下對映異構體或非對映異構體之溶離次序可不同，歸因於不同層析管柱及移動相。

某些縮寫定義如下：「ACN」係指乙腈；「BSA」係指牛血清白蛋白；「DCC」係指1,3-二環己基碳化二亞胺；「DCM」係指二氯甲烷；「DIC」係指二異丙基碳化二亞胺；「DIPEA」係指二異丙基乙胺或N-乙基-N-異丙基-丙-2-胺；「DMAP」係指二甲胺基吡啶；「DMF」係指二甲基甲醯胺；「DMSO」係指二甲亞砜；「EDCI」係指1-(3-二甲基胺基丙基)-3-乙基碳化二亞胺鹽酸鹽；「EDTA」係指乙二胺四乙酸；「ee」係指對映異構體過量；「ELISA」係指酶聯免疫分析，「EtOAc」係指乙酸乙酯；「EtOH」係指乙醇(ethanol)或乙醇(ethyl alcohol)；「Ex」係指實例；「FBS」係指胎牛血清；「HATU」係指(二甲基胺基)-N,N-二甲基(3*H*-[1,2,3]三唑并[4,5-*b*]吡啶-3-基氧基)甲亞胺六氟磷酸鹽；「HOAt」係指1-羥基-7-偶氮苯并三唑；「HOBt」係指水合1-羥基苯并三唑；「HBTU」係指2-(1*H*-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基六氟磷酸鹽；「HPLC」係指高效液相層析；「HRP」係指辣根過氧

化酶；「IC<sub>50</sub>」係指藥劑產生該藥劑可能的50%最大抑制反應之濃度；  
 「LC-ES/MS」係指液相層析電噴灑質譜；「min」係指分鐘；  
 「MeOH」係指甲醇(methanol)或甲醇(methyl alcohol)；「MS」係指質譜；  
 「OAc」係指乙酸鹽；「PBS」係指磷酸鹽緩衝鹽水；「PG」係指保護基；  
 「Prep」係指製備；「PYBOP®」係指苯并三唑-1-基氧基三吡咯啶-鎘六氟磷酸鹽；  
 「PYBROP®」係指溴-三-吡咯啶基鎘六氟磷酸鹽；「RT」係指室溫；  
 「SCX」係指強陽離子交換；「SFC」係指超臨界流體層析；  
 「SPE」係指固相萃取；「TFA」係指三氟乙酸；「TMB」係指3,3',5,5'-四甲基聯苯胺；  
 且「T<sub>R</sub>」係指滯留時間。

在以下流程中，除非另外指明，否則所有取代基均為如先前所定義。試劑及起始材料為一般技術者可容易獲得的。其他各者可藉由有機及雜環化學之標準技術(其類似於已知的結構上相似化合物之合成)及隨後製備及實例所述之程序來製備，其包括任何新穎程序。

### 流程1

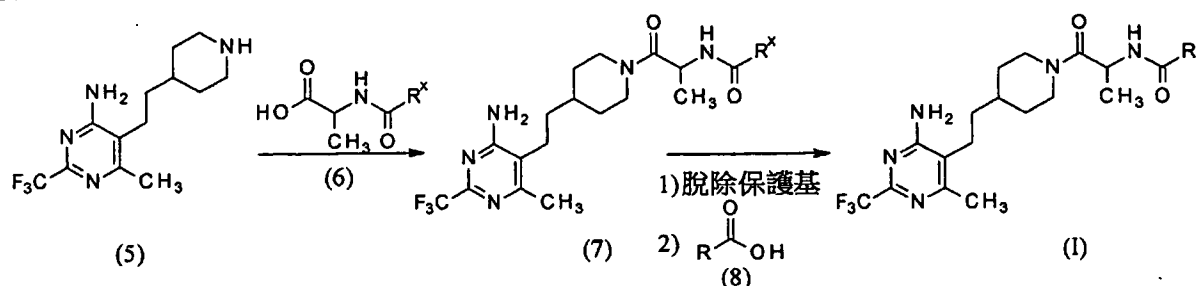


在流程1中，R<sup>x</sup>為適當胺保護基。胺保護基在此項技術中已熟知及瞭解，且可包括胺基甲酸酯及鹽胺。熟習此項技術者將認識到添加及移除該等保護基之替代試劑及程序。

化合物(2)可藉由用鹵化劑(諸如一氯化碘、I<sub>2</sub>或N-碘代丁二醯亞

胺)處理化合物(1)來製備。熟習此項技術者將認識到，存在許多雜芳族鹵化之方法。在另一步驟中，化合物(4)可藉由在標準偶合條件下、使用鈀衍生之有機金屬試劑(諸如  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ 、 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  或  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ )、在催化劑(諸如  $\text{CuI}$ )及鹼(諸如  $\text{Et}_3\text{N}$ 、 $\text{DIPEA}$ 、 $\text{K}_2\text{CO}_3$  或  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ )存在下使化合物(2)與炔(3)偶合來製備。熟習此項技術者將認識到存在衍生自金屬(諸如  $\text{Cu}$  或  $\text{Zn}$ )之替代有機金屬試劑。或者，化合物(3)之相應游離胺可購買且由適當胺保護基保護。化合物(4)藉由在過渡金屬催化劑(諸如氧化鉑)存在下催化氫化而還原。其他氫化催化劑在此項技術中已熟知；例如鈀/碳或銦衍生物已知還原炔烴。熟習此項技術者將認識到，炔還原存在其他方法，包括用含有鈉之乙醇或含有鋅之酸處理。保護基接著可在此項技術中熟知的條件下，諸如在酸性或鹼性條件下移除，得到化合物(5)。

## 流程2



化合物(7)可藉由使化合物(5)與化合物(6)在標準偶合條件下反應來合成。熟習此項技術者將認識到存在多種方法及試劑用於由羧酸與胺反應形成醯胺。化合物(5)與化合物(6)之偶合可在合適的偶合劑及合適的胺鹼(諸如  $\text{DIPEA}$  或三甲胺)存在下實現。偶合試劑包括碳化二亞胺，諸如  $\text{DCC}$ 、 $\text{DIC}$ 、 $\text{EDCI}$ ，及其他偶合試劑，諸如  $\text{HOBt}$  及  $\text{HOAt}$ 。另外，非親核性陰離子之錄或磷鹽(諸如  $\text{HATU}$ 、 $\text{HBTU}$ 、 $\text{PYBOP}^\text{®}$  及  $\text{PYBROP}^\text{®}$ )可用於替代更傳統偶合試劑。可以使用諸如  $\text{DMAP}$  之添加劑促進反應。或者，化合物(5)可使用化合物(6)之經取代之醯基氯在鹼(諸如三乙胺或吡啶)存在下醯基化。

中間物(7)中之保護基R<sup>x</sup>可在此項技術中熟知的條件下，諸如在酸性或鹼性條件下移除。所得胺中間物可與化合物(8)在標準偶合條件(包括先前已在製備化合物(7)中描述之彼等)下反應，得到式(I)化合物。熟練的業內人士將認識到，存在自脫除保護基之化合物(7)製備式(I)化合物的替代方法，包括在有機鹼(諸如三乙胺)存在下與酸氯化物反應或在催化劑(諸如DMAP)存在下與酸酐反應。

在視情況存在之步驟中，式(I)化合物之醫藥學上可接受之鹽可藉由使式(I)之適當游離鹼與醫藥學上可接受之適當酸在標準條件下在適合溶劑中反應形成。另外，此類鹽之形成可與脫除氮保護基同時發生。此類鹽之形成在此項技術中已熟知及瞭解。

## 製備及實例

以下製備及實例進一步說明本發明且代表本發明之化合物之典型合成。試劑及起始材料很容易取得或很容易由習此相關技術者合成。應理解，製備及實例係以說明而非限制之方式闡述，且一般熟習此項技術者可做出各種修改。

本發明之化合物之R或S組態可由諸如X射線分析及與對掌性HPLC滯留時間相關的標準技術測定。以下製備及實例之命名一般使用MDL ACCEL RYS<sup>®</sup> Draw版本4.1中之IUPAC命名特徵進行。

LC-ES/MS在AGILENT<sup>®</sup> HP1100液相層析系統上進行。電噴灑質譜量測(以正離子模式獲取)在界接至HP1100 HPLC之質量選擇性偵測器四極質譜儀上進行。LC-MS條件(低pH)：管柱：PHENOMENEX<sup>®</sup> GEMINI<sup>®</sup> NX C18 2.1×50 mm 3.0 m；梯度：5%-100% B在3 min內，隨後100% B持續0.75 min；管柱溫度：50℃ +/-10℃；流動速率：1 mL/min；溶劑A：具有0.1%甲酸之去離子水；溶劑B：具有0.1%甲酸之ACN。替代LC-MS條件(低pH)：管柱：XTERRA<sup>®</sup> MS C18管柱 2.1×50 mm，3.5 μm；梯度：5%溶劑A持續0.25分鐘，梯度自5%至

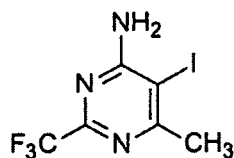
100%溶劑B在3分鐘內及100%溶劑B持續0.5分鐘或10%至100%溶劑B在3分鐘內及在100%溶劑B下持續0.75分鐘；管柱溫度：50°C +/-10°C；流動速率：1 mL/min；溶劑A：10 mM碳酸氫銨pH 9；溶劑B：ACN；波長：214 nm。

所有製備型逆相層析法在裝備有質量選擇性偵測器質譜儀及LEAP<sup>®</sup>自動進樣器/溶離份收集器之AGILENT<sup>®</sup> 1200 LC/MS上進行。高pH方法在75×30 mmPHENOMENEX<sup>®</sup> GEMINI<sup>®</sup>-NX，5μ粒徑管柱，具有10×20 mm保護上運作。流動速率為85 mL/min。溶離劑為含10 mM碳酸氫銨(pH 10)之乙腈。

Waters ZQ質譜儀及29998二極體陣列偵測器用於在超臨界流體層析(SFC)期間獲得質量及UV資料。收集展現正確質量(電噴灑電離)及UV吸光度之材料。

### 製備1

5-碘-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-4-胺

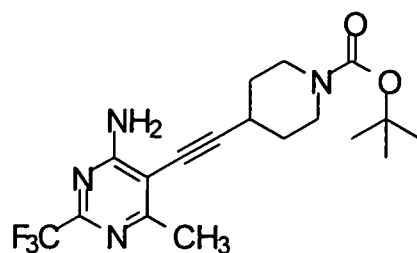


將一氯化碘(4.14 g，23.37 mmol)於DCM (20.1 mL)中之溶液添加至含有6-甲基-2-三氟甲基-嘧啶-4-胺(4.14 g，23.37 mmol)於MeOH (1.4 mL)中之燒瓶中。在室溫下攪拌混合物48小時。在反應完成後，添加10%亞硫酸鈉水溶液(200 mL)。所得混合物用EtOAc (4×100 mL)萃取，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥有機相，過濾且在真空下濃縮，獲得呈淡黃色固體狀之粗標題化合物(7.0 g，99%)。不經另外純化即使用材料。LC-ES/MS *m/z* 303.8 (M+H)。

### 製備2

4-[2-[4-胺基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙炔基]哌啶-1-甲酸第三

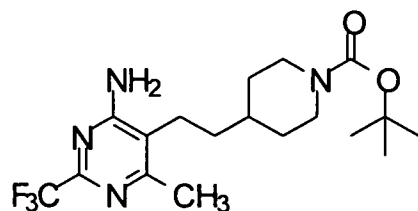
# 丁酯



使 20 mL 微波小瓶中之 5-碘-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-4-胺 (2.05 g, 6.75 mmol)、4-乙炔基-哌啶-1-甲酸第三丁酯 (1.41 g, 6.75 mmol)、氯化雙(三苯基膦)鉀(II) (239 mg, 0.34 mmol) 及碘化銅(I) (130 mg, 0.68 mmol) 在 10 mL DMF 中漿化，且鼓泡氮氣穿過懸浮液持續 5 分鐘。添加三乙胺 (1.88 mL, 13.5 mmol) 且繼續鼓泡氮氣穿過混合物再持續 5 分鐘。在 100°C 下在微波中加熱混合物 60 分鐘。將混合物冷卻至室溫且傾倒至飽和 NaCl 水溶液 (500 mL) 中。用 DCM 萃取，經 MgSO<sub>4</sub> 乾燥有機層，過濾且在真空下濃縮。經由層析經矽膠 (5-35% EtOAc: 己烷經 45 分鐘) 純化所得殘餘物。濃縮經純化溶離份至乾燥，獲得呈淡黃色固體狀之標題化合物 (1.25 g, 48%)。LC-ES/MS *m/z* 385.2 (M+H)。

## 製備 3

4-[2-[4-胺基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]哌啶-1-甲酸第三丁酯

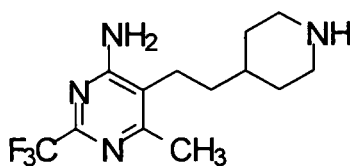


將 4-[2-[4-胺基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙炔基]哌啶-1-甲酸第三丁酯 (6.28 g, 16.34 mmol) 及氧化鉑(IV) (744 mg, 3.27 mmol) 合併於 EtOH (110 mL) 中。或者，抽空且藉助氫氣氣球用氫氣饋入燒瓶，用氫氣填充系統且在室溫下攪拌 18 小時。經由矽藻土過濾混合

物，依序用熱EtOH (30 mL)及2 M NH<sub>3</sub>/MeOH (20 mL)沖洗。在減壓下濃縮溶液，獲得呈白色固體狀之標題化合物(6.15 g，97%)。不經另外純化即使用。LC-ES/MS *m/z* 389.2 (M+H)。

#### 製備4

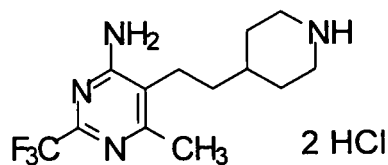
6-甲基-5-[2-(4-哌啶基)乙基]-2-(三氟甲基)嘧啶-4-胺



將4-[2-[4-胺基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]哌啶-1-甲酸第三丁酯(6.07 g，15.63 mmol)溶解於DCM (25 mL)中，且添加TFA (10 mL，132.25 mmol)。在室溫下攪拌溶液4小時。在減壓下濃縮混合物，將所得殘餘物溶解於DCM (15 mL)中，且施加至SCX管柱(50 g)，用DCM (100 mL)、MeOH (100 mL)溶離，且用2 M NH<sub>3</sub>/MeOH (100 mL)溶離所需材料。蒸發甲醇氨溶離份至乾燥，獲得呈灰白色固體狀之標題化合物(4.4 g，97%)。不經另外純化即使用。LC-ES/MS *m/z* 289.2 (M+H)。

#### 製備5

6-甲基-5-[2-(4-哌啶基)乙基]-2-(三氟甲基)嘧啶-4-胺二鹽酸鹽

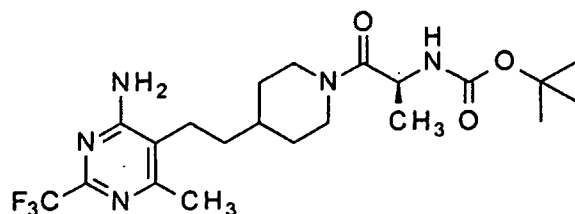


將乙醯氯(180.1 mL)以慢速穩定流形式添加至50℃異丙醇溶液(1.26 L)中，且在50℃下攪拌30分鐘。逐份添加來自製備3之4-[2-[4-胺基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]哌啶-1-甲酸第三丁酯(180.1 g，463.7 mmol)且繼續加熱1.5小時。冷卻至室溫且添加乙醚(3.6 L)。藉由過濾收集固體且用乙醚(2×300 mL)洗滌。在真空烘箱中在50℃下乾燥所得固體隔夜，獲得呈白色自由流動粉末狀之標題化合物(174.0

g, 98%)。不經另外純化即使用。LC-ES/MS  $m/z$  289.2 (M+H)。

### 實例1

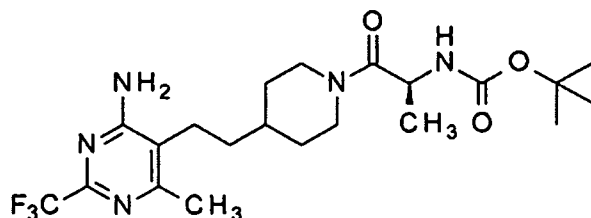
*N*-[(1*S*)-2-[4-[2-[4-胺基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]-1-甲基-2-側氧基-乙基]胺基甲酸第三丁酯



將6-甲基-5-[2-(4-哌啶基)乙基]-2-(三氟甲基)嘧啶-4-胺(3.9 g, 13.53 mmol)溶解於DMF (20 mL)中；添加(2*S*)-2-(第三丁氧基羰基胺基)丙酸(2.8 g, 14.88 mmol)、1-羥基苯并三唑(7.46 g, 54.11 mmol)、1-(3-二甲基胺基丙基)-3-乙基碳化二亞胺鹽酸鹽(2.63 g, 13.53 mmol)及二異丙基乙胺(7.08 mL, 40.58 mmol)。在室溫下攪拌所得混合物隔夜。將反應混合物傾倒至飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(500 mL)中且用DCM萃取。經MgSO<sub>4</sub>乾燥有機相，過濾，在真空下濃縮，且經矽膠藉由層析(10-75% EtOAc:己烷經45分鐘)純化，在溶劑移除之後獲得呈白色發泡體狀之標題化合物(4.66 g, 75%)。LC-ES/MS  $m/z$  460.2 (M+H)。

### 實例1之替代程序

*N*-[(1*S*)-2-[4-[2-[4-胺基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]-1-甲基-2-側氧基-乙基]胺基甲酸第三丁酯

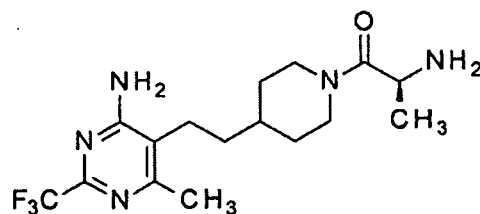


將二異丙基乙胺(308.6 mL, 1770 mmol)添加至6-甲基-5-[2-(4-哌啶基)乙基]-2-(三氟甲基)嘧啶-4-胺二鹽酸鹽(170 g, 442.4 mmol)、(2*S*)-2-(第三丁氧基羰基胺基)丙酸(92.1 g, 486.6 mmol)於DCM (1.6 L)

中之懸浮液中，得到淡黃色懸浮液。在冰浴中冷卻至0℃，且逐份添加(二甲基胺基)-*N,N*-二甲基(3*H*-[1,2,3]三唑并[4,5-*b*]吡啶-3-基氧基)甲亞胺六氟磷酸鹽(167.3 g, 442.4 mmol)。在0℃下攪拌鮮黃色懸浮液30分鐘，且在攪拌下升溫至室溫後持續2小時。在減壓下濃縮至大約1 L，且用EtOAc (1 L)稀釋反應混合物，且用飽和NH<sub>4</sub>Cl水溶液(大約500 mL)分隔；分離有機層，且用EtOAc (2×500 mL)進一步萃取水層。合併有機相，用飽和NH<sub>4</sub>Cl水溶液(4×400 mL)、飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(400 mL)、水(400 mL)、飽和NaCl水溶液(400 mL)洗滌。經MgSO<sub>4</sub>乾燥，過濾且在減壓下濃縮，與異己烷(750 ml)共沸，獲得呈白色發泡體狀之標題化合物(237 g, 99%)，其適用於不經另外純化即使用。LC-ES/MS *m/z* 460.3 (M+H)。對掌性分析(SFC MiniGram<sup>®</sup>, 15% MeOH/CO<sub>2</sub>/0.2%異丙胺, 5 mL/min, 100巴, 35℃, 220 nm)>98%對映異構體過量。

## 製備6

(2*S*)-2-胺基-1-[4-[2-[4-胺基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]丙-1-酮

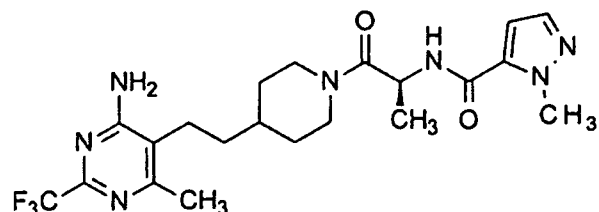


將*N*-[(1*S*)-2-[4-[2-[4-胺基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]-1-甲基-2-側氧基-乙基]胺基甲酸第三丁酯(4.66 g, 10.14 mmol)溶解於DCM (150 mL)中，且添加三氟乙酸(7.67 mL, 101.4 mmol)。在室溫下攪拌所得混合物隔夜。在真空下濃縮溶劑，在DCM (20 mL)中復原殘餘物，且施加至SCX管柱(50 g)，用100 mL DCM、100 mL MeOH溶離，且用2 M NH<sub>3</sub>/MeOH (100 ml)溶離所需材料。蒸

發甲醇氨溶離份至乾燥，獲得呈白色發泡體狀之標題化合物(3.58 g，98%)。不經另外純化即使用。LC-ES/MS  $m/z$  360.2 (M+H)。

## 實例2

*N*-[(1*S*)-2-[4-[2-[4-胺基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]-1-甲基-2-側氧基-乙基]-2-甲基-吡唑-3-甲醯胺



將(2*S*)-2-胺基-1-[4-[2-[4-胺基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]丙-1-酮(560 mg，1.56 mmol)溶解於含有DMF (3 mL)之DCM (20 mL)中；添加1-甲基-1*H*-吡唑-5-甲酸(216 mg，1.71 mmol)、1-羥基苯并三唑(969 mg，6.23 mmol)、1-(3-二甲基胺基丙基)-3-乙基碳化二亞胺鹽酸鹽(303 mg，1.56 mmol)及二異丙基乙胺(1.36 mL，7.8 mmol)。在室溫下攪拌所得混合物隔夜。將反應混合物傾倒至飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(200 mL)中且用DCM萃取。經MgSO<sub>4</sub>乾燥有機相，過濾，在真空下濃縮，且經矽膠藉由層析(0-10% MeOH:DCM經30分鐘)純化，在溶劑移除之後獲得呈白色發泡體狀之標題化合物(665 mg，91%)。LC-ES/MS  $m/z$  468.0 (M+H)。

藉由基本上遵循實例2中所述之程序，使用(2*S*)-2-胺基-1-[4-[2-[4-胺基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]丙-1-酮及適當經取代之羧酸製備下表1中之實例。

表1

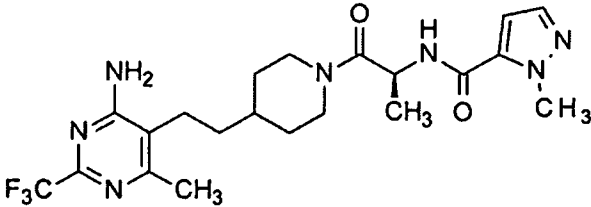
| 實例編號 | 結構 | 名稱                                                                                                 | 產率  | ES/MS $m/z$ (M+H) |
|------|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-------------------|
| 3    |    | <i>N</i> -[(1 <i>S</i> )-2-[4-[2-[4-胺基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]-1-甲基-2-側氧基-乙基]-2-甲基-吡唑-4-甲醯胺 | 58% | 468.3             |

| 實例<br>編號 | 結構 | 名稱                                                                                                                 | 產率  | ES/MS $m/z$<br>(M+H)                                 |
|----------|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|------------------------------------------------------|
| 4        |    | <i>N</i> -[(1 <i>S</i> )-2-[4-[2-[4-氨基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]-1-甲基-2-側氧基-乙基]-3-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-4-甲醯胺     | 43% | 468.3                                                |
| 5        |    | <i>N</i> -[(1 <i>S</i> )-2-[4-[2-[4-氨基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]-1-甲基-2-側氧基-乙基]-1,3-二甲基-吡唑-4-甲醯胺              | 61% | 482.3                                                |
| 6        |    | <i>N</i> -[(1 <i>S</i> )-2-[4-[2-[4-氨基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]-1-甲基-2-側氧基-乙基]-2-甲基-噁唑-4-甲醯胺                 | 10% | 468.6                                                |
| 7        |    | <i>N</i> -[(1 <i>S</i> )-2-[4-[2-[4-氨基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]-1-甲基-2-側氧基-乙基]-2-甲基-噻唑-4-甲醯胺                 | 59% | 484.6                                                |
| 8        |    | <i>N</i> -[(1 <i>S</i> )-2-[4-[2-[4-氨基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]-1-甲基-2-側氧基-乙基]-2-甲基-噻唑-5-甲醯胺                 | 58% | 485.0                                                |
| 9        |    | <i>N</i> -[(1 <i>S</i> )-2-[4-[2-[4-氨基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]-1-甲基-2-側氧基-乙基]噻二唑-4-甲醯胺                      | 64% | 471.6                                                |
| 10       |    | <i>N</i> -[(1 <i>S</i> )-2-[4-[2-[4-氨基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]-1-甲基-2-側氧基-乙基]吡啶-2-甲醯胺                       | 89% | 465.2                                                |
| 11       |    | <i>N</i> -[(1 <i>S</i> )-2-[4-[2-[4-氨基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]-1-甲基-2-側氧基-乙基]吡啶-3-甲醯胺                       | 62% | 465.3                                                |
| 12       |    | <i>N</i> -[(1 <i>S</i> )-2-[4-[2-[4-氨基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]-1-甲基-2-側氧基-乙基]噻嗪-3-甲醯胺                       | 11% | 466.0                                                |
| 13       |    | <i>N</i> -[(1 <i>S</i> )-2-[4-[2-[4-氨基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]-1-甲基-2-側氧基-乙基]吡嗪-2-甲醯胺                       | 67% | 466.2                                                |
| 14       |    | <i>N</i> -[(1 <i>S</i> )-2-[4-[2-[4-氨基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]-1-甲基-2-側氧基-乙基]-1-氯-3-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-4-甲醯胺 | 12% | 500.3/502.3<br>( <sup>35</sup> Cl/ <sup>37</sup> Cl) |

| 實例<br>編號 | 結構 | 名稱                                                                                                | 產率  | ES/MS <i>m/z</i><br>( <i>M</i> + <i>H</i> )          |
|----------|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|------------------------------------------------------|
|          |    | 基]-6-氯-吡嗪-2-甲醯胺                                                                                   |     |                                                      |
| 15       |    | <i>N</i> -[(1 <i>S</i> )-2-[4-[2-[4-胺基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]-1-甲基-2-側氧基-乙基]-3-氯-吡嗪-2-甲醯胺 | 49% | 500.3/502.3<br>( <sup>35</sup> Cl/ <sup>37</sup> Cl) |
| 16       |    | <i>N</i> -[(1 <i>S</i> )-2-[4-[2-[4-胺基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]-1-甲基-2-側氧基-乙基]-4-甲氧基-苯甲醯胺   | 62% | 494.2                                                |
| 17       |    | <i>N</i> -[(1 <i>S</i> )-2-[4-[2-[4-胺基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]-1-甲基-2-側氧基-乙基]-2-甲氧基-苯甲醯胺   | 74% | 494.3                                                |
| 18       |    | <i>N</i> -[(1 <i>S</i> )-2-[4-[2-[4-胺基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]-1-甲基-2-側氧基-乙基]-2-羥基-乙醯胺     | 99% | 418.2                                                |

製備實例2之替代方法

*N*-[(1*S*)-2-[4-[2-[4-胺基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]-1-甲基-2-側氧基-乙基]-2-甲基-吡唑-3-甲醯胺

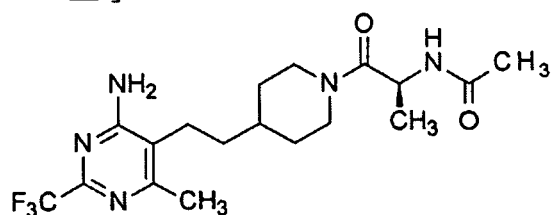


將1-丙烷膦酸酸環酐(410.6 mL，683.9 mmol)之慢速穩定流添加至冰浴中之(2*S*)-2-胺基-1-[4-[2-[4-胺基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]丙-1-酮(168.0 g，342.0 mmol)、1-甲基-1*H*-吡唑-5-甲酸(64.7 g，513.0 mmol)及二異丙基乙胺(244.5 mL，1400 mmol)懸浮於DCM (1.5 L)中之漿料中，維持內部溫度在5-10℃下。經2.5小時在攪拌下升溫至室溫。在減壓下濃縮至大約500 mL，且用EtOAc (2 L)及水(1 L)稀釋所得殘餘物；分離層，用EtOAc (2×400 mL)萃取水層，且用飽和NH<sub>4</sub>Cl (500 mL)、飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(1 L)、水(500 mL)、飽和NaCl水溶液(500 mL)洗滌合併之有機層。經MgSO<sub>4</sub>乾燥有

機層，過濾，在減壓下蒸發。將所得殘餘物溶解於乙酸異丙酯(180 mL)中，用庚烷(1 L)處理，且加熱至70℃後持續4小時，以排出白色粉末。冷卻至室溫，藉由過濾收集固體，依序用9:1庚烷:乙酸異丙酯(100 mL)及庚烷(2×100 mL)洗滌。在真空烘箱中在45℃下乾燥隔夜，獲得呈白色粉末狀之標題化合物(117 g, 73%)。LC-ES/MS  $m/z$  468.0 (M+H)。

### 實例19

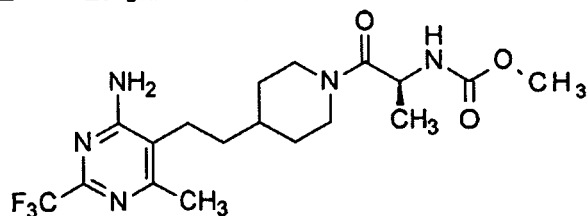
*N*-[(1*S*)-2-[4-[2-[4-胺基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]-1-甲基-2-側氧基-乙基]乙醯胺



藉由基本上遵循實例1中所述之程序，使用(2*S*)-2-胺基-1-[4-[2-[4-胺基-6-氯-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]丙-1-酮(70 mg, 0.19 mmol)、乙酸酐(184.1  $\mu$ L, 1.95 mmol)及DMAP (1.2 mg, 0.01 mmol)於DCM (3.9 mL, 0.05 M)中製備標題化合物(47.7 mg, 67%)。ES/LC-MS  $m/z$  402.2 (M+1)。

### 實例20

*N*-[(1*S*)-2-[4-[2-[4-胺基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]-1-甲基-2-側氧基-乙基]胺基甲酸甲酯

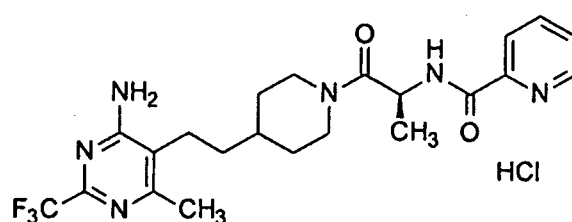


將(2*S*)-2-胺基-1-[4-[2-[4-胺基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]丙-1-酮(43.8 mg, 0.12 mmol)溶解於DCM (3 mL)中，且添加二碳酸二甲酯(22.0  $\mu$ L, 182.8  $\mu$ mol)及吡啶(30  $\mu$ L, 365.6

μmol)。在室溫下攪拌所得混合物隔夜，傾倒至飽和NaCl水溶液(100 mL)中，且用DCM (3×30 mL)萃取。用0.1 N HCl (2×100 mL)、水(100 mL)、飽和NaCl水溶液(100 mL)洗滌合併之有機層，經MgSO<sub>4</sub>乾燥，過濾，且在減壓下濃縮，獲得呈灰白色固體狀之標題化合物(22 mg，43%)。LC-ES/MS *m/z* 418.2 (M+H)。

## 實例21

*N*-[(1*S*)-2-[4-[2-[4-胺基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]-1-甲基-2-側氧基-乙基]吡啶-2-甲醯胺鹽酸鹽



將*N*-[(1*S*)-2-[4-[2-[4-胺基-6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-5-基]乙基]-1-哌啶基]-1-甲基-2-側氧基-乙基]吡啶-2-甲醯胺(69 mg，0.15 mmol)溶解於DCM (1 mL)中，且添加HCl (1 M於二噁烷中，500 mL)。在室溫下攪拌10分鐘，隨後在真空下濃縮。依序用DCM (1 mL)及Et<sub>2</sub>O(2 mL)濕磨所得殘餘物。過濾且收集所得淡黃色固體，獲得標題化合物(74 mg，98%)。LC-ES/MS *m/z* 465.2 (M+H)。

## 分析

GOAT為將UAG轉化成AG之主要酶。欲回顧GOAT及饑餓素之作用，參見：Kristy M. Heppner等人，*The ghrelin O-acyltransferase-ghrelin system: a novel regulator of glucose metabolism*, Current Opinion in Endocrinology, Diabetes & Obesity 2011, 18:50-55；Phillip A. Cole 等人，*Glucose and Weight Control in Mice with a Designed Ghrelin OAcyltransferase Inhibitor*, Science. 2010 年 12 月 17 日；330(6011): 1689-1692. doi:10.1126/science.1196154, Matthias H.

Tschöp等人., *Gastric O-acyl transferase activates hunger signal to the brain*, Proc Natl Acad Sci U S A. 2008年4月29日 ; 105(17): 6213-6214, 及 Jesus Gutierrez, 等人., *Ghrelin octanoylation mediated by an orphan lipid transferase*, Proc Natl Acad Sci U S A., 2008年4月29日, 105 (17): 6320-6325。

在不含GOAT基因小鼠中所觀測到的表型支持GOAT之作用。因此，預期抑制GOAT減少循環AG且提高循環UAG。因此，AG與總饑餓素(UAG + AG)之比率在GOAT抑制劑處理之後降低。

### 活體外無細胞人類GOAT酶分析

將人類GOAT基因(寄存編號：NM\_001100916)次選殖至pAN51桿狀病毒表現載體中。桿狀病毒儲備液遵循由供應商Invitrogen, California, USA提供之Bac-to-Bac方案製備。在2 L錐形瓶中，以每毫升 $1 \times 10^6$ 個細胞之密度將5 ml人類GOAT桿狀病毒儲備液添加至存於HyQ SFX-Insect™培養基(HyClone目錄編號SH30278.02)中之500 mL Sf9細胞中。將含人類GOAT基因感染之Sf9細胞之燒瓶在28°C下、在120 rpm之盤振盪器上置放48小時。在48小時培育之後，在4°C下以 $1,000 \times g$ 使細胞離心10 min。收集細胞集結粒且在冷凍器中、在-80°C下儲存直至準備進一步處理。

### 用於酶分析之GOAT酶之微粒體膜之製備：

將1 g細胞集結粒懸浮於9 mL經冷凍之均質化緩衝液(50 mM Tris-HCl, 250 mM蔗糖，調節至pH 7.5，且經由0.2  $\mu$ m Millipore過濾器無菌過濾)中。將細胞懸浮液轉移至Dounce玻璃均質器。細胞集結粒在冰上經由40次行程而均質化。均質物在Beckman擺桶轉子中、在4°C下以3,000 rpm離心10 min以移除未碎裂細胞。收集上清液且在4°C下以 $40,000 \times g$ 離心1小時。使用Dounce玻璃均質機使所得膜集結粒懸浮於均質化緩衝液中，且在冷凍器中、在-20°C下儲存以用於分析。就

人類GOAT酶膜製劑之長期儲存而言，所懸浮膜在-80℃冷凍器中儲存。

### 人類GOAT酶分析方案：

在DMSO中製備測試化合物以製成0.2 mM儲備溶液。於DMSO中連續稀釋之儲備溶液以在96孔圓底盤中獲得最終化合物濃度範圍為10  $\mu$ M至0.5 nM之十點稀釋度曲線。在分析緩衝液(含有0.02% TWEEN™-20之50 mM Tris, pH 7.5/250 mM蔗糖/1 mg/mL BSA/10 mM EDTA)中製備酶及受質溶液。將經稀釋之化合物(1  $\mu$ L)添加至相應低蛋白質結合384孔盤之列A至N之各孔中。將由人類去醯基-饑餓素-生物素(CPC Scientific Inc., 6.0  $\mu$ M最終濃度)、辛醯基-輔酶A(CoA)(Sigma, 60  $\mu$ M最終濃度)及AG特異性抗體(WO 2006/091381) (1.0  $\mu$ g/mL最終濃度)組成的人類GOAT受質混合物(10  $\mu$ L)添加至化合物中。將已在分析緩衝液(9  $\mu$ L)中製備之GOAT-His/sf9酶製劑添加至含有受質及測試化合物之盤之各孔中，產生0.01  $\mu$ g/mL之最終濃度以起始反應。混合物在室溫下在平緩旋轉振盪器上培育1小時。將4 M胍鹽酸鹽(20  $\mu$ L)添加至所有孔中，混合，且培育3小時以終止反應。

藉由用PBS (40  $\mu$ L) (Invitrogen)阻斷緩衝液中之2%熱不活化FBS阻斷3小時來製備ELISA盤(STREPTAVIDIN SPECTRAPLATE™ 384, Perkin Elmer)。自ELISA盤抽出阻斷緩衝液且將阻斷緩衝液(23  $\mu$ L)添加至行1-24、列A-N中。關於醯基饑餓素標準曲線保留列O及P。將反應混合物(2  $\mu$ L)添加至ELISA盤中。藉由以2.5 pM起始，在含有0.2 M胍鹽酸鹽之阻斷緩衝液中進行連續2倍稀釋來製備10點標準曲線(生物素標記之辛醯基-饑餓素)。在4℃下，在ELISA盤中培育反應混合物或生物素標記之AG標準物隔夜。第二天，用洗滌緩衝液(0.1% TWEEN™-20/PBS, 各洗滌週期中每孔100  $\mu$ L)洗滌盤3次。將AG特異性抗體(WO 2006/091381) (25  $\mu$ L, 於阻斷緩衝液中0.5  $\mu$ g/mL)添加至

各孔中，且在室溫下培育1小時。類似於前一步驟，用洗滌緩衝液洗滌盤3次。添加在阻斷緩衝液中3,000倍稀釋之蛋白G-HRP (25 µL) (Southern Biotech)，且在室溫下培育1小時。如在前述步驟中，之後用洗滌緩衝液洗滌3次。將TMB試劑(25 µL) (Kirkegaard & Perry Laboratories, Inc.)添加至各孔中且使其顯影20分鐘，且用1 M磷酸(每孔25 µL)終止。使用ENVISION®多標記讀盤器在450 nm讀盤。AG含量相對於擬合標準曲線計算且計算抑制百分比。繪製10點抑制曲線，且使用ACTIVITYBASE®(版本7.3.2.1)、用四參數邏輯方程式擬合以獲得IC<sub>50</sub>值。

根據基本上如上文所描述之方案，測試本文中實例之所有化合物且在活體外無細胞人類GOAT酶分析中展現低於1 µM之IC<sub>50</sub>。以下例示的本發明化合物基本上如上文所述測試，且展現如以下表2中所示之以下活性。

表2

| 實例編號 | IC <sub>50</sub> (nM) |
|------|-----------------------|
| 2    | 69.5 ± 0.6 (n=2)      |
| 15   | 55.7 (n=1)            |
| 17   | 420 (n=1)             |
| 18   | 276 (n=1)             |
| 20   | 615 (n=1)             |

表2中資料表明表2之化合物在活體外抑制純化GOAT酶活性。

化合物處理組中AG與總饑餓素之比率改變與媒劑處理組之比率改變的比較反映活體內GOAT酶抑制之程度，這歸因於藉由GOAT酶實現之UAG至AG動態處理。在本文中之活體內藥效學研究中，在媒劑及化合物處理組中，血漿及胃中之AG及UAG含量藉由特定針對此兩種分析物的ELISA量測。各樣品之總饑餓素含量藉由此等ELISA量測、以AG及UAG之總和計算。AG與總饑餓素之比率藉由各樣品中之AG含量除以相同樣品中之總饑餓素含量來定義。計算媒劑處理組中

之AG、UAG含量及AG與總饑餓素之比率且設定為100%。隨後計算化合物處理組中之此等參數之相對改變以測定測試化合物之有效性。

### 關於GOAT抑制劑之活體內劑量依賴性3天BID研究：E

#### 動物及處理：

自Harlan (Indianapolis, IN)購買9週齡之雄性C57BL/6小鼠。將小鼠個別地圈養於具有12小時光/暗循環(2200 h燈)之溫控(24°C)設施中，且允許自由取用標準啮齒動物食物(食物2014, Harlan)及水。通常，使用在研究時為10-13週齡之小鼠。在實驗之第0天，將小鼠隨機分成處理組(N = 7/組)，因此各組具有相似的平均體重。在第1天及第2天，在上午7點及下午7點藉由經口管飼用媒劑(1%羥基乙基纖維素，0.25% TWEEN™ 80，0.05%消泡劑)或在媒劑中製備之呈懸浮液形式的測試化合物以多種劑量處理動物。在第3天，使動物禁食，將其移至潔淨籠具中，且在上午8點藉由經口管飼用媒劑或測試化合物再次給藥。同一天下午1點，藉由斷頭術處死動物以收集血液。關於血液收集及血漿處理之細節，參見下文血液收集及自血漿萃取饑餓素部分。

#### 血液收集：

將大約600  $\mu$ L血液收集至含有600  $\mu$ L (定義為 $V_{\text{防腐劑}}$ )新製防腐劑(4 mM PEFABLOC® [4-(2-胺基乙基)苯磺醯基氟鹽酸鹽]、72 mM NaCl、58 mM NaF、0.032 N鹽酸，pH 3.0)之預稱重EDTA管中，且立即混合。再次將管稱重且保持在冰上。為使用此血液收集程序精確測定各樣品之準確血液體積，各小鼠之血液重量使用以下方程式計算：

血液重量 = (含有血液+防腐劑之管的重量) - (含有防腐劑之管的重量)

血液體積( $V_{\text{血液}}$ ) = (血液重量)/1.06

注意，啮齒動物血液之密度假設為1.06 g/mL。

在血液收集之後15分鐘內，以5000 rpm在4℃下使樣品離心8 min。移出血漿(650 µL)至含1 N鹽酸(65 µL)之5 mL玻璃管中，混合且保持在冰上。

藉由SEP-PAK®管柱進行之饑餓素萃取：

在進行ELISA之前使用SEP-PAK® C<sub>18</sub>管柱自血漿萃取AG及UAG以移除干擾。藉由SEP-PAK® C<sub>18</sub>管柱進行之AG及UAG肽之固相萃取可在真空歧管(Waters Corp)上或使用蠕動泵進行。樣品SEP-PAK®管柱萃取程序獨立地應用於獲自各個別小鼠之血漿樣品。一般萃取方案描述如下。

用於SEP-PAK®管柱萃取之完整方案的所有溶液均應處於冰冷條件下。用99.9% ACN/0.1% TFA (100 mL ACN/0.1 mL TFA溶液中之1 mL)潤濕SEP-PAK®管柱(WAT054960, Waters Corp, Milford MA)。施加壓力以將流速調節至約1 mL/min以自管柱床移除液體，但不允許管柱在任何點變乾。一旦液體自管柱中移除，終止壓力。用3% ACN/0.1% TFA (97 mL水、3 mL ACN、0.1 mL TFA中之1 mL)平衡管柱。施加壓力以將流速調節至約1 mL/min以自管柱床移除液體，但不使管柱變乾。將大約650 µL酸化血漿(定義為 $V_{\text{添加至管柱之血漿}}$ )稀釋至1.4 mL冰冷0.1% TFA。將來自前一步驟之所有經稀釋之酸化血漿裝載至管柱上。施加壓力以將流速調節至約0.5 mL/min以允許樣品穿過管柱且允許饑餓素肽吸收至管柱之樹脂上。不使管柱變乾。用3% ACN/0.1% TFA (97 mL水、3 mL ACN、0.1 mL TFA中之0.9 mL)洗滌。施加壓力以將流速調節至約1 mL/min以自管柱床移除液體，但不使管柱變乾。再重複洗滌兩次。用60% ACN/0.1% TFA (40 mL水、60 mL ACN、0.1 mL TFA中之1 mL)溶離。將收集管放於各管柱下方，施加壓力以調節流速至約0.5 mL/min以推動液體通過管柱且將溶離劑收集至收集管中。立即在乾冰上冷凍樣品。在speed-vac(型號SC110A, Savant)中凍乾樣

品，且儲存在-20℃下直至進行ELISA分析。

#### 關於饑餓素之ELISA分析：

用100  $\mu\text{L}$ 之1  $\mu\text{g/mL}$ 抗體(WO 2005/026211及WO2006/019577)塗佈96孔MULTI-ARRAY® MSD®盤(Meso Scale Discovery, Gaithersburg, MD, 目錄號L15XA-3)，該抗體識別PBS (Invitrogen)中之饑餓素之醯基及未醯化形式之中間區域。輕敲盤之側面以確保孔之覆蓋，用黏合盤密封劑密封，且在室溫下培育隔夜。丟棄內含物且將於PBS (25  $\mu\text{L}$ ) (Thermo Scientific, Rockford, IL, 目錄號37528)中之BLOCKER™酪蛋白添加至各孔中。再密封盤且在室溫下放於盤振盪器上1小時。

在於PBS (針對各樣品為400  $\mu\text{L}$ ，此體積定義為 $V_{\text{復原}}$ )中之BLOCKER™酪蛋白中復原凍乾保存之來自SEP-PAK® C<sub>18</sub>管柱萃取之血漿樣品，用渦旋混合器充分混合且在冰上培育45-60 min。丟棄來自盤之內含物且將25  $\mu\text{L}$ 復原之血漿樣品添加至各孔中。以8000 pg/mL開始且針對8個總濃度進行連續1:4稀釋來製備醯基饑餓素及未醯化饑餓素標準曲線。將製備之標準物一式兩份添加至經阻斷之盤中，在各孔中具有25  $\mu\text{L}$ 。密封盤且在盤振盪器上在室溫下培育2 h。

丟棄盤內含物且用包括0.1% TWEEN™ 20之PBS (150  $\mu\text{L}$ ) (PBS-T)洗滌三次。將用MSD® SULFO-TAG™(Meso Scale Discovery)標記之醯基饑餓素特異性抗體(WO 2006/091381)或未醯化饑餓素特異性抗體(WO 2006/055347)在含有0.05% TWEEN™ 20之0.2× Blocker酪蛋白(稱為二級抗體溶液)中稀釋至0.05  $\mu\text{g/mL}$ 。移除最終洗滌液且添加特異性識別AG或UAG之二級抗體溶液(各孔25  $\mu\text{L}$ )。再密封盤且在盤振盪器上在室溫下培育1小時，隨後用PBS-T (150微升/孔)最後再洗滌3×。

丟棄最終洗液且置換1×MSD®讀取緩衝劑(150微升/孔)。使用MSD® SECTOR® Imager 6000分析器(Meso Scale Discovery)，讀取藉由結合於盤上之電極的MSD® SULFO-TAG™標籤之活化產生的電化學

發光信號。基於藉由MSD<sup>®</sup>軟體產生的各別標準曲線，計算醃基饑餓素或未醃化饑餓素之濃度。藉由所量測之醃基饑餓素或未醃化饑餓素含量乘以稀釋因數來測定各樣品之實際血漿濃度。各血漿樣品之稀釋因數用以下方程式計算。

$$\text{稀釋因數} = \left( \frac{V_{\text{血液}} + V_{\text{防腐劑}}}{V_{\text{血液}}} \right) \times \left( \frac{V_{\text{復原}}}{V_{\text{裝載至管柱之血漿}}} \right)$$

結果：

分別以0.1、0.3、1、3及10 mg/kg投與實例2之化合物3天會減小血漿AG 40%、60%、56%、63%及63%，且增加UAG 2.10、2.22、3.57、3.49及3.78倍(結果列於以下)。當與媒劑處理之對照動物相比時，以0.1、0.3、1、3及10 mg/kg投藥分別導致AG與總饑餓素之比率降低57%、62%、79%、82%及82%。

表3

| 處理        | AG<br>(對照之%)    | UAG<br>(媒劑對照之%) | AG/總饑餓素<br>(媒劑對照之%) |
|-----------|-----------------|-----------------|---------------------|
| 媒劑        | 100 (n=7)       | 100 (n=7)       | 100 (n=7)           |
| 0.1 mg/kg | 60 ± 8 (n=7)    | 210 ± 43 (n=7)  | 43 ± 3 (n=7)        |
| 0.3 mg/kg | 40 ± 10 (n=7)   | 222 ± 54 (n=7)  | 28 ± 1 (n=7)        |
| 1 mg/kg   | 44 ± 6 (n=14)   | 357 ± 30 (n=14) | 21 ± 1 (n=14)       |
| 3 mg/kg   | 37 ± 9.6 (n=14) | 349 ± 41 (n=14) | 18 ± 5 (n=14)       |
| 10 mg/kg  | 37 ± 9.9 (n=7)  | 378 ± 59 (n=7)  | 18 ± 3 (n=7)        |

結果證實實例2之化合物抑制AG產生且提昇循環中之UAG，如活體內GOAT基因剔除小鼠中所展示。

【圖式簡單說明】

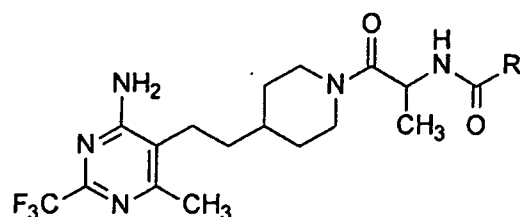
無

【符號說明】

無

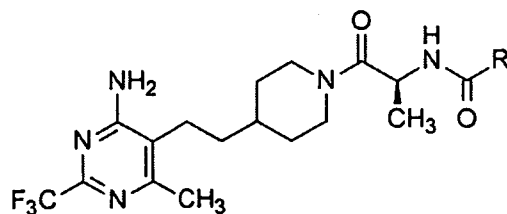
# 申請專利範圍

1. 一種具有下式之化合物，



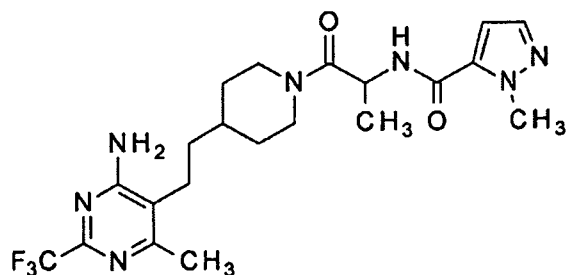
其中R係選自視情況經-OH取代之-C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基；-OC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基；吡唑基、噁唑基、嚟唑基或嚟二唑基，其中吡唑基、噁唑基或嚟唑基各自可視情況經-CH<sub>3</sub>取代一至兩次；吡啶基、噻嗪基或吡嗪基，其中各自可視情況經-Cl取代；以及視情況經-OCH<sub>3</sub>取代之苯基；或其醫藥學上可接受之鹽。

2. 如請求項1之化合物，其中R係選自視情況經-OH取代之-CH<sub>3</sub>；-OCH<sub>3</sub>或-OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>；吡唑基、噁唑基、嚟唑基或嚟二唑基，其中吡唑基、噁唑基或嚟唑基各自可視情況經-CH<sub>3</sub>取代一至兩次；吡啶基、噻嗪基或吡嗪基，其中各自可視情況經-Cl取代；以及視情況經-OCH<sub>3</sub>取代之苯基；或其醫藥學上可接受之鹽。
3. 如請求項1或2之化合物，其中R係選自吡唑基、噁唑基、嚟唑基或嚟二唑基，其中吡唑基、噁唑基或嚟唑基各自可視情況經-CH<sub>3</sub>取代一至兩次；吡啶基或吡嗪基，其中各自可視情況經-Cl取代；以及視情況經-OCH<sub>3</sub>取代之苯基；或其醫藥學上可接受之鹽。
4. 如請求項1或2之化合物，其中帶有甲基取代基之碳原子組態為(S)：



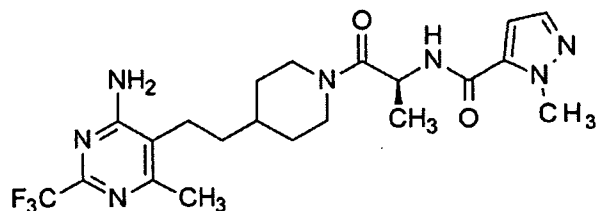
或其醫藥學上可接受之鹽。

5. 如請求項1或2之化合物，其具有下式



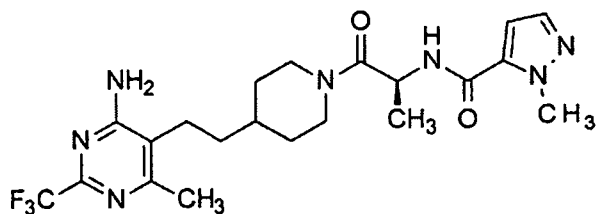
或其醫藥學上可接受之鹽。

6. 如請求項1或2之化合物，其具有下式



或其醫藥學上可接受之鹽。

7. 如請求項1或2之化合物，其具有下式



8. 如請求項1或2之化合物，或其醫藥學上可接受之鹽，其用於治療。
9. 如請求項1或2之化合物，或其醫藥學上可接受之鹽，其用於減少體重增加。
10. 如請求項1或2之化合物，或其醫藥學上可接受之鹽，其用於減少體重恢復。

11. 如請求項1或2之化合物，或其醫藥學上可接受之鹽，其用於治療肥胖。
12. 如請求項1或2之化合物，或其醫藥學上可接受之鹽，其用於治療2型糖尿病。
13. 一種醫藥組合物，其包含如請求項1至7中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，及一或多種醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。
14. 如請求項13之醫藥組合物，其與一或多種其他治療劑組合。
15. 一種如請求項1至7中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽的用途，其用於製造供減少體重增加之藥劑。
16. 一種如請求項1至7中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽的用途，其用於製造供減少體重恢復之藥劑。
17. 一種如請求項1至7中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽的用途，其用於製造供治療2型糖尿病之藥劑。
18. 一種如請求項1至7中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽的用途，其用於製造供治療肥胖之藥劑。