202102501

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本　(11)公開編號：TW 202102501 A

(43)公開日： 中華民國 110 (2021) 年 01 月 16 日

(21)申請案號：109110404　(22)申請日： 中華民國 109 (2020) 年 03 月 27 日

(51)Int. Cl.：　*C07D471/04 (2006.01)*　*A61K31/437 (2006.01)*

A61P29/00 (2006.01)

(30)優先權：2019/03/29　英國　1904373.6

(71)申請人：比利時商葛萊伯格有限公司 (比利時) GALAPAGOS NV　(BE)

比利時

(72)發明人：曼默爾堤　奧斯卡 MAMMOLITI, OSCAR (IT)；傑瑞　海倫　瑪莉 JARY, HELENE MARIE (FR)；歐蘇利克　密斯拉夫 ORSULIC, MISLAV (HR)；維班　迪納那 VRBAN, DENANA (HR)；科麥可　瑪里珍那 KOMAC, MARIJANA (HR)；布萊斯　瑞吉納德　克里斯多夫　薩維爾 BRYS, REGINALD CHRISTOPHE XAVIER (BE)；艾卡里　哈里德 AKKARI, RHALID (FR)

(74)代理人：陳長文

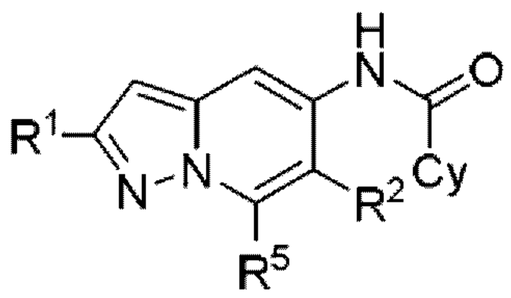
申請實體審查：無　申請專利範圍項數：15 項　圖式數：0　共 220 頁

(54)名稱

用於發炎疾病之治療之新穎化合物及其醫藥組合物

(57)摘要

本發明揭示根據式 I 之化合物：

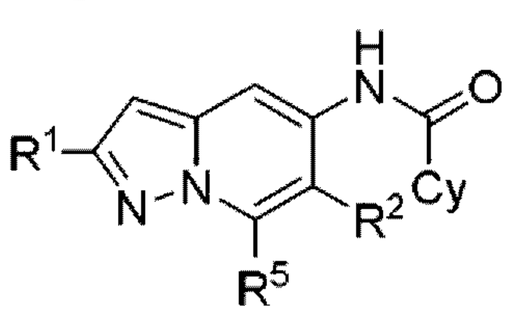


I

其中 R^1、R^2、R^5 及 Cy 如本文所定義。

本發明係關於一種化合物、用於產生該等化合物之方法、包含該等化合物之醫藥組合物、及藉由投與該等化合物預防及/或治療發炎疾病、自體免疫疾病、疼痛、纖維化及/或增生性疾病之方法。

The present invention discloses compounds according to Formula I:

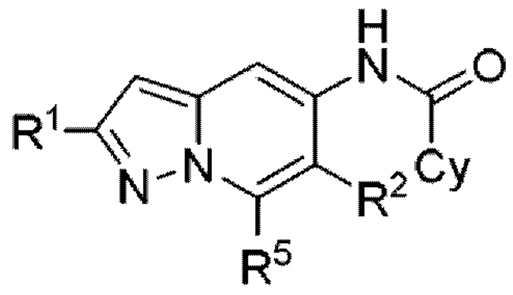


I

Wherein R^1, R^2, $R^5$and Cy are as defined herein.

The present invention relates to compounds, methods for the production of said compounds, pharmaceutical compositions comprising said compounds and methods for the prophylaxis and/or treatment of inflammatory diseases, autoimmune diseases, pain, fibrosis and/or proliferative diseases by administering said compounds.

特徵化學式：



I

202102501

【發明摘要】

【中文發明名稱】

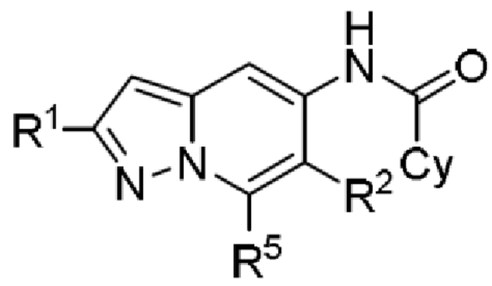
用於發炎疾病之治療之新穎化合物及其醫藥組合物

【英文發明名稱】

NOVEL COMPOUNDS AND PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS THEREOF FOR THE TREATMENT OF INFLAMMATORY DISORDERS

【中文】

本發明揭示根據式I之化合物：



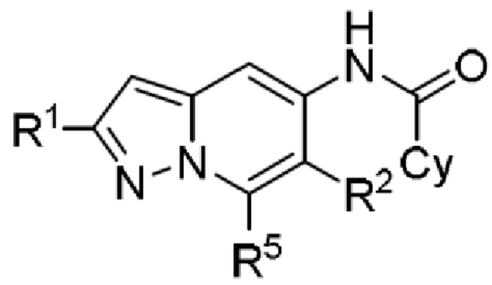
I

其中R^1、R^2、R^5及Cy如本文所定義。

本發明係關於一種化合物、用於產生該等化合物之方法、包含該等化合物之醫藥組合物、及藉由投與該等化合物預防及/或治療發炎疾病、自體免疫疾病、疼痛、纖維化及/或增生性疾病之方法。

【英文】

The present invention discloses compounds according to Formula I:



I

Wherein R^1, R^2, R^5 and Cy are as defined herein.

The present invention relates to compounds, methods for the production of said compounds, pharmaceutical compositions comprising said compounds and methods for the prophylaxis and/or treatment of

inflammatory diseases, autoimmune diseases, pain, fibrosis and/or proliferative diseases by administering said compounds.

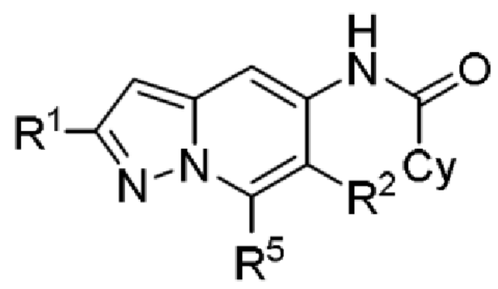
【指定代表圖】

無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】



I

【發明說明書】

【中文發明名稱】

用於發炎疾病之治療之新穎化合物及其醫藥組合物

【英文發明名稱】

NOVEL COMPOUNDS AND PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS THEREOF FOR THE TREATMENT OF INFLAMMATORY DISORDERS

【技術領域】

【0001】 本發明係關於可適用於預防及/或治療發炎疾病、自體免疫疾病、疼痛、纖維化及/或增生性疾病之化合物。特定言之，本發明化合物可抑制介白素-1受體相關激酶(IRAK)，其為參與發炎疾病、自體免疫疾病、疼痛、纖維化及/或增生性疾病之激酶家族，且更特定言之IRAK-4。本發明亦提供用於產生本發明化合物之方法、包含本發明化合物之醫藥組合物、藉由投與本發明化合物預防及/或治療發炎疾病、自體免疫疾病、疼痛、纖維化及/或增生性疾病之方法。

【先前技術】

【0002】 激酶參與細胞生理之許多必需過程，例如蛋白質磷酸化。特定言之，蛋白質及脂質激酶參與細胞之活化、生長、分化及存活。蛋白激酶可在較佳磷酸化酪胺酸殘基之彼等蛋白激酶與較佳磷酸化絲胺酸及/或蘇胺酸殘基之彼等蛋白激酶之間分隔開。

【0003】 多年來，激酶已成長成為研發消炎藥之重要目標(Cohen, 2009)。特定言之，IRAK激酶，且更特定言之IRAK-4已鑑別為在發炎及自體免疫疾病中起作用(Ringwood及Li，2008；Wang等人, 2009)。

【0004】 IRAK在多種細胞類型中表現且介導來自包括介白素-1(IL-

1)及鐸樣受體(TLR)之各種細胞受體之信號。在IRAK家族中，已鑑別出4個成員，亦即IRAK 1-4(Wang等人, 2009)及IRAK-4，家族中之最新成員代表有吸引力的治療目標(Li等人, 2002)。實際上，咸信IRAK-4為在IL-1受體及TLR(除了TLR3)之下游早期活化之關鍵蛋白激酶，其經由IRAK-1及IRAK-2之快速活化起始信號傳導，產生先天性免疫反應。另外，諸如IL-18及IL-33之其他介白素取決於用於信號傳導之IRAK-4。因此，此等細胞介素參與病原性過程(例如纖維化(Li等人, 2014；McHedlidze等人, 2013；Rankin等人, 2010)及異位性皮膚炎(Salimi等人, 2013))之疾病為藉由IRAK-4抑制劑治療之潛在目標疾病。

【0005】 在表現非活性IRAK-4突變之小鼠而非野生型之小鼠中，觀測到對由若干TLR促效劑觸發之敗血性休克之完全抗性以及對IL-1之受損反應。此外，表現非活性IRAK-4突變之小鼠而非野生型之小鼠在自體免疫疾病，諸如類風濕性關節炎(Koziczak-Holbro等人, 2009)及多發性硬化症(Staschke等人, 2009)之若干模型中受到部分保護。有趣的是，已顯示類風濕性關節炎及全身性紅斑性狼瘡症患者之血清以IRAK-4依賴性方式活化漿細胞樣樹突狀細胞(Chiang等人, 2011)。最後，已在罹患使得IRAK-4不活動之遺傳缺陷之兒童中觀察到復發的化膿性細菌感染。由於在攜帶不活化IRAK-4突變之成人中未觀測到此等化膿性感染，因此IRAK-4信號傳導系統就成人先天性免疫之某些態樣而言似乎為冗餘的。

【0006】 先天性免疫系統之信號傳導組分之失調亦逐漸認識是癌症啟動及發展中之重要因素(Rhyasen及Starczynowski, 2015)。實際上，存在證據表明，IL-1在腫瘤細胞生長、血管生成、侵襲、耐藥性及癌轉移中起直接作用(Carmi等人, 2013；Vidal-Vanaclocha等人, 2000)。另外，視

腫瘤細胞情形而定，TLR參與多種腫瘤進展反應。作為IL-1受體及TLR信號傳導之基本介體，IRAK家族激酶代表有前景的癌症藥物目標。另外，已顯示若干癌症類型依賴於MYD88之活化形式，其為TLR及IL-1R之下游的活化IRAK-4的銜接子分子。活化MYD88突變已在例如彌漫性大B細胞淋巴瘤(DLBCL)(Ngo等人, 2011)及在華氏巨球蛋白血症(Waldenstrom macroglobulinemia)(Treon等人, 2012)中鑑別。另一個報導支持IRAK-4在腫瘤學領域，特定言之T細胞急性淋巴母細胞白血病(T-ALL)中的作用(Li等人, 2015)。IRAK-4之藥理學抑制已顯示增強T-ALL對化學治療劑之敏感性。

【0007】 已顯示IL-33在纖維化及過敏性疾病、哮喘且特定言之異位性皮膚炎之發展中起一定作用(Nabe, 2014)。由於此細胞介素經IRAK-4依賴性路徑傳送信號(Kroeger等人, 2009)，因此此等疾病亦可表示IRAK-4抑制劑之目標。

【0008】 最終，已顯示若干種自體發炎疾病取決於IL-1活性，且因此，IL-1阻斷生物製劑展示對此等患者之一些益處。痛風、幼年特發性關節炎、穆-韋二氏病(Muckle-Wells disease)、家族性地中海熱、貝賽特氏症(Behçet's disease)、成人斯蒂爾病(adult onset Still's disease)為此類自體發炎疾病之實例(Dinarello等人, 2012)。

【0009】 用小分子抑制細胞介素信號傳導可幫助減少免疫發炎疾病中之疾病結果(Sundberg等人, 2014)。特定言之，細胞介素可在針對病原體及感染之生物體之防禦中起作用。然而，當研發用於免疫發炎疾病之新穎療法時，一方面選擇參與可在不損害適應性及/或先天性免疫反應之情況下抑制之路徑之目標十分關鍵，因為同時抑制多種細胞介素反應路徑可

使免疫系統過度變弱。然而，難以獲得針對激酶之藥物選擇性(Bain等人, 2003；Fabian等人, 2005)，但其為特別需要的以避免脫靶相關副作用，在慢性治療之情形下尤其如此(Broekman等人, 2011；Dy及Adjei, 2013；Force及Kolaja, 2011)。

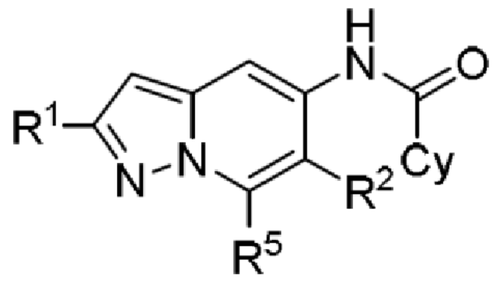
【0010】 特定言之，近年來展示，伴隨使用IL-1阻斷劑(阿那白滯素(Anakinra))及TNFα阻斷劑(依那西普(Etanercept))使得嗜中性白血球減少症及感染之風險增加。(Genovese等人, 2004, 2003)。此發現突出，當研發新穎藥品時選擇性為關鍵要素，且因此將需要研發能夠選擇性調節信號傳導路徑而不影響其他之化合物，特定言之能夠選擇性調節IL-1反應而不影響TNFα信號傳導路徑之化合物。

【0011】 當前療法並不令人滿意且因此仍需要鑑別具有降低之脫靶相關副作用之其他化合物，該等化合物可用於預防及/或治療發炎疾病、自體免疫疾病及/或增生性疾病。

【發明內容】

【0012】 本發明係關於可適用於預防及/或治療發炎疾病、自體免疫疾病、疼痛、纖維化及/或增生性疾病之化合物。特定言之，本發明化合物可抑制參與發炎疾病、自體免疫疾病、疼痛、纖維化及/或增生性疾病之介白素-1受體相關激酶(IRAK)，激酶家族，且更特定言之IRAK-4。本發明亦提供用於產生本發明化合物之方法、包含本發明化合物之醫藥組合物、藉由投與本發明化合物預防及/或治療發炎疾病、自體免疫疾病、疼痛、纖維化及/或增生性疾病之方法。

【0013】 因此，在本發明之一第一態樣中，提供具有式I之本發明化合物：



I

其中

R^1為

a) C_{2-6}烷基，其經獨立選擇之-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基、鹵基或-$S(=O)_2$-C_{1-4}烷基之一或多者取代，或

b) 6員雜環烷基，其包含獨立選擇之S、N或O原子之一或兩者，其中雜環烷基未經取代或經獨立選擇之側氧基、鹵基或C_{1-4}烷基之一或多者取代，其中烷基未經取代或經一或多個鹵基取代；

R^2為

a) C_{1-4}烷氧基，其中烷氧基未經取代或經獨立選擇之鹵基或-OH之一或多者取代，

b) -O-C_{3-4}環烷基，其中環烷基未經取代或經獨立選擇之鹵基或-OH之一或多者取代，或

c) $-C(=O)NR^{3a}R^{3b}$；

Cy為6員雜芳基，其包含1或2個N原子，其經獨立選擇之R^4取代基之一或兩者取代；

各R^{3a}及R^{3b}獨立地選自

a) H，

b) C_{1-4}烷基，其中烷基未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基或C_{3-7}環烷基之一或多者取代，其中環烷基未經取代或經獨立選擇之鹵基之一或多者取代，

c) C_{3-6}環烷基，其中環烷基未經取代或經獨立選擇之側氧基、-

OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或鹵基之一或多者取代，或

d) 4-6員雜環烷基，其包含獨立選擇之N、S或O原子之一或兩者，其中雜環烷基未經取代或經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或鹵基之一或多者取代；

R^{3a}及R^{3b}與其所連接之N原子一起可形成4-6員單環雜環烷基；

各R^4獨立地為

a) 側氧基，

b) -OH，

c) -CN，

d) 鹵基，

e) C_{1-4}烷基，其未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代，

f) C_{1-4}烷氧基，其未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代，或

g) C_{3-7}環烷基，其未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代；及

R^5選自H、鹵基、$-CH_3$或$-CF_3$。

【0014】 在一個態樣中，提供本發明化合物用於預防及/或治療發炎疾病、自體免疫疾病、疼痛、纖維化及/或增生性疾病。在一個特定態樣中，本發明化合物可抑制IRAK激酶家族成員，且更特定言之IRAK-4。

【0015】 在另一態樣中，本發明化合物可展現良好代謝穩定性及良好半衰期，其可產生較低劑量方案。在一特定態樣中，本發明化合物在肝細胞中展示良好穩定性，其可使得肝消除率低。

【0016】 在又一態樣中，本發明化合物可展示良好溶解度，尤其熱力學溶解度，其可產生改良之可製造性。

【0017】 在另一態樣中，本發明化合物可顯示針對IRAK-4之選擇性，其可引起改良之安全及降低之脫靶相關副作用。

【0018】 在另一態樣中，本發明提供醫藥組合物，其包含本發明化合物及醫藥載劑、賦形劑或稀釋劑。在一特定態樣中，醫藥組合物可另外包含適於與本發明化合物組合之其他治療活性成分。在一更特定態樣中，其他治療活性成分為用於預防及/或治療發炎疾病、自體免疫疾病、疼痛、纖維化及/或增生性疾病之藥劑。

【0019】 此外，適用於本文揭示之醫藥組合物及治療方法的本發明化合物在製備及使用時為醫藥學上可接受的。

【0020】 在本發明之另一態樣中，本發明提供一種治療罹患選自此處所列舉之病狀，且尤其發炎疾病、自體免疫疾病、疼痛、纖維化及/或增生性疾病中之病狀的哺乳動物，尤其人類之方法，該方法包含投與有效量之如本文所描述的醫藥組合物或本發明化合物。

【0021】 本發明亦提供醫藥組合物，其包含本發明化合物及用於藥品中之適合的醫藥載劑、賦形劑或稀釋劑。在一特定態樣中，醫藥組合物係用於預防及/或治療發炎疾病、自體免疫疾病、疼痛、纖維化及/或增生性疾病。

【0022】 在額外態樣中，本發明提供使用本文隨後揭示之代表性合成方案及途徑合成本發明化合物之方法。

【0023】 熟習此項技術者考慮隨後實施方式將顯而易知其他目標及優勢。

【實施方式】

定義

【0024】 以下術語意欲具有下文提供之意義且適用於理解本發明之描述及預期範疇。

【0025】 當描述本發明時，其可包括化合物、含有此類化合物之醫藥組合物及使用此類化合物及組合物之方法，除非另有指示，否則以下術語(若存在)具有以下含義。應理解，在本文中描述時，下文定義之任何部分可經多種取代基取代，且各別定義欲將此類經取代之部分包括在其下文所述之其範疇內。除非另外陳述，否則術語「經取代」應如下文所述定義。應進一步理解，術語「基(group)」及「基團(radical)」在本文中使用時可視為可互換的。

【0026】 在本文中，冠詞『一(a及an)』可用於指該冠詞之一個或超過一個(亦即至少一個)文法對象。舉例而言，『類似物』意謂一個類似物或超過一個類似物。

【0027】 『烷基』意謂具有指定數目之碳原子的直鏈或分支鏈脂族烴。特定烷基具有1至6個碳原子或1至4個碳原子。分支鏈意謂一或多個諸如甲基、乙基或丙基之烷基與直鏈烷基鏈連接。特定烷基為甲基(-CH_3)、乙基(-CH_2-CH_3)、正丙基(-CH_2-CH_2-CH_3)、異丙基(-$CH(CH_3)_2$)、正丁基(-CH_2-CH_2-CH_2-CH_3)、第三丁基(-CH_2-$C(CH_3)_3$)、第二丁基 (-$CH(CH_3)$-CH_2-CH_3)、正戊基(-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_3)、正己基(-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_3)及1,2-二甲基丁基(-$CHCH_3$)-$C(CH_3)H$-CH_2-CH_3)。特定烷基具有1至4個碳原子。

【0028】 『烯基』係指具有指定碳原子數之單價烯烴(不飽和)烴

基。特定烯基具有2至8個碳原子，且更特定言之2至6個碳原子，其可為直鏈或分支鏈的且具有至少1個且特定言之1至2個烯烴不飽和位點。特定烯基包括乙烯基(-CH=CH_2)、正丙烯基(-CH_2CH=CH_2)、異丙烯基(-C(CH_3)=CH_2)及其類似基團。

【0029】『伸烷基』係指具有指定碳原子數之二價烯烴基團，特定言之具有1至6個碳原子，且更特定言之1至4個碳原子，其可為直鏈或分支鏈的。此術語由諸如亞甲基(-CH_2-)、伸乙基(-CH_2-CH_2-)或-CH(CH_3)-及其類似基團之基團例示。

【0030】『伸炔基』係指具有指定碳原子數及參鍵數之二價炔烴基團，特定言之具有2至6個碳原子且更特定言之2至4個碳原子，其可為直鏈或分支鏈的。此術語由諸如-C≡C-、-CH_2-C≡C-及-C(CH_3)H-C≡CH-之基團例示。

【0031】『烷氧基』係指基團O-烷基，其中烷基具有指定碳原子數。特定言之，術語係指基團-O-C_{1-6}烷基。特定烷氧基為甲氧基、乙氧基、正丙氧基、異丙氧基、正丁氧基、第三丁氧基、第二丁氧基、正戊氧基、正己氧基及1,2-二甲基丁氧基。特定烷氧基為低碳數烷氧基，亦即具有1至6個碳原子。其他特定烷氧基具有1至4個碳原子。

【0032】『胺基』係指基團-NH_2。

【0033】『芳基』係指藉由自母體芳環系統之單個碳原子移除一個氫原子而衍生之單價芳族烴基。特定言之，芳基係指具有指定碳原子數之單環或稠合多環芳環結構。特定言之，術語包括基團，該基團包括6至10個環成員。特定芳基包括苯基及萘基。

【0034】『環烷基』係指具有指定環原子數之單環、稠合多環、橋

聯多環或螺環非芳族烴基環結構。環烷基可具有3至12個碳原子，特定言之3至10個，且更特定言之3至7個碳原子。此類環烷基包括例如單環結構，諸如環丙基、環丁基、環戊基、環己基及環庚基。

【0035】『氰基』係指基團-CN。

【0036】『鹵基』或『鹵素』係指氟(F)、氯(Cl)、溴(Br)及碘(I)。特定鹵基為氟或氯。

【0037】當用於描述化合物或化合物上存在之基團時，『雜』意謂化合物或基團中之一或多個碳原子已置換為氮、氧或硫雜原子。雜可應用於上文所描述之具有1至4個且特定言之1至3個雜原子，更通常1或2個雜原子(例如單個雜原子)的烴基中之任一者，諸如烷基，例如雜烷基；環烷基，例如雜環烷基；芳基，例如雜芳基；等類似基團。

【0038】『雜芳基』意謂包括一或多個獨立地選自O、N及S之雜原子及指定碳原子數的單環或稠合多環芳環結構。特定言之，芳環結構可具有5至9個環成員。雜芳基可為例如五員或六員單環或由稠合五員及六員環或兩個稠合六員環或作為另一實例兩個稠合五員環形成的稠合雙環結構。各環可含有至多四個通常選自氮、硫及氧之雜原子。雜芳環通常將含有至多4個雜原子，更通常至多3個雜原子，更通常至多2個，例如單個雜原子。在一個實施例中，雜芳環含有至少一個環氮原子。雜芳環中之氮原子可為鹼性的，如咪唑或吡啶之情形中，或基本上非鹼性的，如吲哚或吡咯氮之情形中。一般而言，雜芳基(包括環之任何胺基取代基)中存在之鹼性氮原子數將小於五。

【0039】五員單環雜芳基之實例包括但不限於吡咯基、呋喃基、噻吩基、咪唑基、呋呫基、噁唑基、噁二唑基、噁三唑基、異噁唑基、噻唑

基、異噻唑基、吡唑基、三唑基及四唑基。

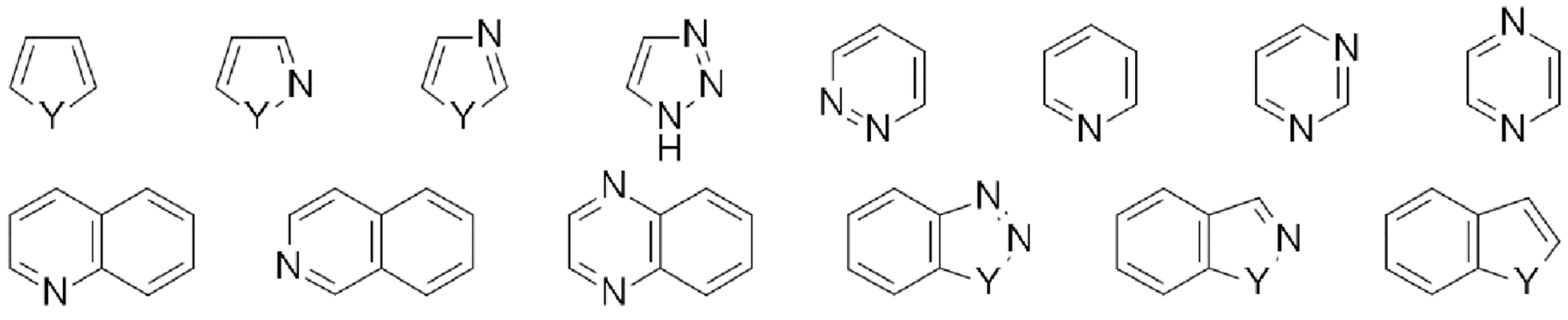
【0040】六員單環雜芳基之實例包括但不限於吡啶基、吡嗪基、噠嗪基、嘧啶基及三嗪基。

【0041】含有五員環稠合至另一五員環之雙環雜芳基之特定實例包括但不限於咪唑并噻唑基及咪唑并咪唑基。

【0042】含有六員環稠合至五員環之雙環雜芳基之特定實例包括但不限於苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并咪唑基、苯并噁唑基、異苯并噁唑基、苯并異噁唑基、苯并噻唑基、苯并異噻唑基、異苯并呋喃基、吲哚基、異吲哚基、吲哚嗪基、嘌呤基(例如腺嘌呤、鳥嘌呤)、吲唑基、吡唑并嘧啶基、三唑并嘧啶基及吡唑并吡啶基。

【0043】含有兩個稠合六員環之雙環雜芳基之特定實例包括但不限於喹啉基、異喹啉基、吡啶并吡啶基、喹喏啉基、喹唑啉基、啐啉基、酞嗪基、喹啶基及喋啶基。特定雜芳基為衍生自噻吩基、吡咯基、苯并噻吩基、苯并呋喃基、苯并呋喃基、吲哚基、吡啶基、喹啉基、咪唑基、噁唑基及吡嗪基之彼等雜芳基。

【0044】代表性雜芳基之實例包括以下：

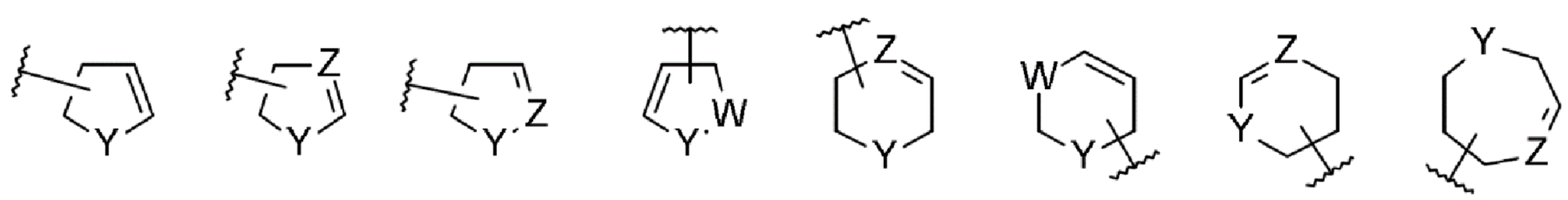


其中各Y係選自>C=O、NH、O及S。

【0045】『雜環烷基』意謂包括一或多個獨立地選自O、N及S之雜原子及指定環原子數的單環、稠合多環、螺環或橋聯多環非芳族完全飽和環結構。雜環烷基環結構可具有4至12個環成員，特定言之4至10個環成

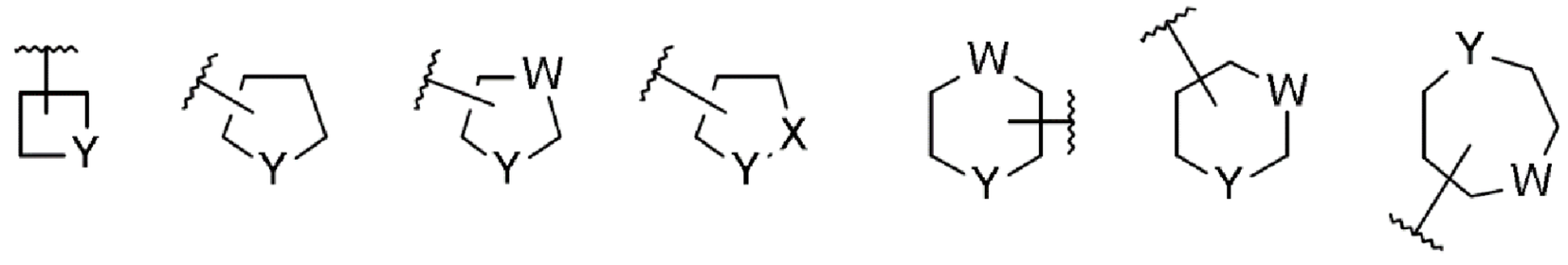
員，且更特定言之4至7個環成員。各環可含有至多四個通常選自氮、硫及氧之雜原子。雜環烷基環通常將含有至多4個雜原子，更通常至多3個雜原子，更通常至多2個，例如單個雜原子。雜環之實例包括但不限於氮雜環丁基、氧雜環丁基、硫雜環丁基、吡咯啶基(例如1-吡咯啶基、2-吡咯啶基及3-吡咯啶基)、四氫呋喃基(例如1-四氫呋喃基、2-四氫呋喃基及3-四氫呋喃基)、四氫噻吩基(例如1-四氫噻吩基、2-四氫噻吩基及3-四氫噻吩基)、哌啶基(例如1-哌啶基、2-哌啶基、3-哌啶基及4-哌啶基)、四氫哌喃基(例如4-四氫哌喃基)、四氫硫代哌喃基(例如4-四氫硫代哌喃基)、嗎啉基、硫代嗎啉基、二噁烷基或哌嗪基。

【0046】 如本文中所使用，術語『雜環烯基』意謂包含至少一個雙鍵之『雜環烷基』。雜環烯基之特定實例展示於以下說明性實例中：



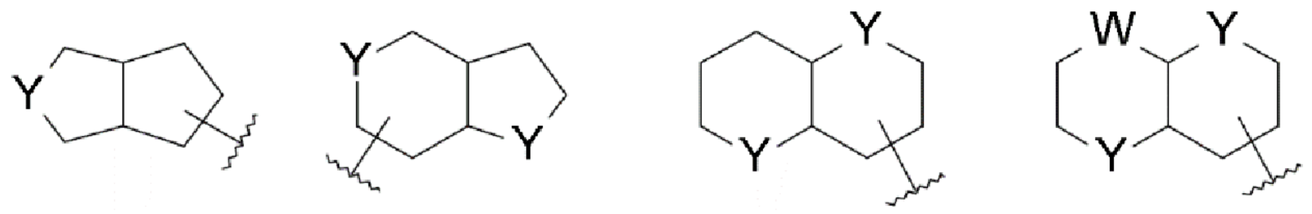
其中各W選自CH_2、NH、O及S；各Y選自NH、O、C(=O)、SO_2及S；且各Z選自N或CH。

【0047】 單環之特定實例展示於以下說明性實例中：



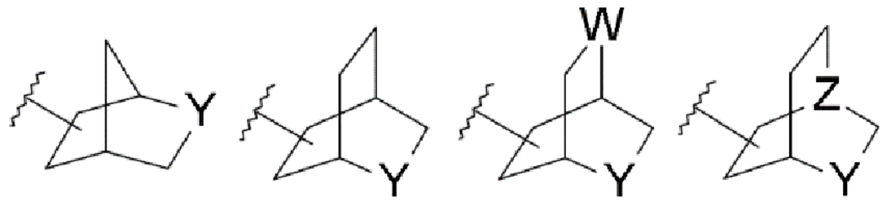
其中各W及Y獨立地選自-CH_2-、-NH-、-O-及-S-。

【0048】 稠合雙環之特定實展示於以下說明性實例中：



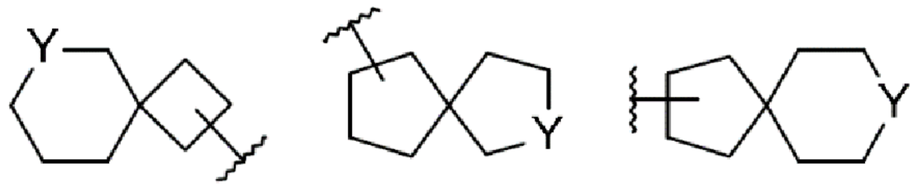
其中各W及Y獨立地選自-CH_2-、-NH-、-O-及-S-。

【0049】 橋連雙環之特定實例展示於以下說明性實例中：



其中各W及Y獨立地選自-CH_2-、-NH-、-O-及-S-，且Z選自N及CH。

【0050】 螺環之特定實展示於以下說明性實例中：



其中各Y係選自-CH_2-、-NH-、-O-及-S-。

【0051】 『羥基』係指基團-OH。

【0052】 『側氧基』係指基團=O。

【0053】 『取代』係指基團中一或多個氫原子各自獨立地經相同或不同取代基置換。

【0054】 『磺基』或『磺酸』係指諸如-SO_3H之基團。

【0055】 『巰基』係指基團-SH。

【0056】 如本文所用，術語『經一或多個……取代』係指一至四個取代基。在一個實施例中，其係指一至三個取代基。在其他實施例中，其係指一或兩個取代基。在另一實施例中，其係指一個取代基。

【0057】 『硫代烷氧基』係指基團-S-烷基，其中該烷基具有指定碳原子數。特定言之，術語係指基團-S-C_{1-6}烷基。特定硫代烷氧基為硫代甲氧基、硫代乙氧基、硫代正丙氧基、硫代異丙氧基、硫代正丁氧基、硫代第三丁氧基、硫代第二丁氧基、硫代正戊氧基、硫代正己氧基及1,2-二甲基硫代丁氧基。特定硫代烷氧基為低碳硫代烷氧基，亦即具有1至6個碳原子。其他特定烷氧基具有1至4個碳原子。

【0058】 一般熟習有機合成技術者將認識到，穩定化學可行雜環(無

論為芳族或非芳族)中之最大雜原子數由環尺寸、不飽和度及雜原子之價數決定。一般而言，只要雜芳環為化學可行及穩定的，雜環就可具有一至四個雜原子。

【0059】『醫藥學上可接受』意謂由聯邦政府或州政府之管理機構或除美國之外的國家的相應機構批准或可由其批准，或列於用於動物，且更特定言之用於人類的美國藥典(U.S. Pharmacopoeia)或其他一般公認藥典中。

【0060】『醫藥學上可接受之鹽』係指醫藥學上可接受且具有母體化合物之所要藥理學活性的本發明化合物之鹽。特定言之，此類鹽無毒性，可為無機或有機酸加成鹽及鹼加成鹽。特定言之，此類鹽包括：(1)與無機酸形成之酸加成鹽，該等無機酸諸如鹽酸、氫溴酸、硫酸、硝酸、磷酸及其類似酸；或與有機酸形成之酸加成鹽，該等有機酸諸如乙酸、丙酸、己酸、環戊丙酸、乙醇酸、丙酮酸、乳酸、丙二酸、丁二酸、蘋果酸、順丁烯二酸、反丁烯二酸、酒石酸、檸檬酸、苯甲酸、3-(4-羥基苯甲醯基)苯甲酸、肉桂酸、杏仁酸、甲磺酸、乙磺酸、1,2-乙烷-二磺酸、2-羥基乙磺酸、苯磺酸、4-氯苯磺酸、2-萘磺酸、4-甲苯磺酸、樟腦磺酸、4-甲基雙環[2.2.2]-辛-2-烯-1-羧酸、葡糖庚酸、3-苯基丙酸、三甲基乙酸、第三丁基乙酸、月桂基硫酸、葡萄糖酸、麩胺酸、羥基萘甲酸、柳酸、硬脂酸、黏康酸及其類似酸；或(2)當存在於母體化合物中之酸性質子經金屬離子(例如鹼金屬離子、鹼土金屬離子或鋁離子)置換時；或與有機鹼(諸如乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、N-甲基還原葡糖胺及其類似物)配位時形成之鹽。鹽進一步包括(僅藉由實例)鈉鹽、鉀鹽、鈣鹽、鎂鹽、銨鹽、四烷基銨鹽及類似鹽；且當化合物含有鹼性官能基時，進一步包括

無毒有機或無機酸之鹽，諸如鹽酸鹽、氫溴酸鹽、酒石酸鹽、甲磺酸鹽、乙酸鹽、順丁烯二酸鹽、乙二酸鹽及類似鹽。術語『醫藥學上可接受之陽離子』係指酸性官能基之可接受的陽離子相對離子。此類陽離子由鈉、鉀、鈣、鎂、銨、四烷基銨陽離子及其類似陽離子例示。

【0061】『醫藥學上可接受之媒劑』係指與本發明化合物一起投與之稀釋劑、佐劑、賦形劑或載劑。

【0062】『前藥』係指具有可裂解之基團且藉由溶劑分解或在生理條件下變成在活體內具有醫藥學活性之本發明化合物的化合物，其包括本發明化合物之衍生物。此類實例包括但不限於膽鹼酯衍生物及其類似物、N-烷基嗎啉酯及其類似物。

【0063】『溶劑合物』係指通常藉由溶劑分解反應與溶劑締合之化合物之形式。此物理性締合包括氫鍵結。習知溶劑包括水、EtOH、乙酸及其類似溶劑。本發明化合物可例如以結晶形式製備且可溶劑化或水合。適合溶劑合物包括醫藥學上可接受之溶劑合物，諸如水合物，且進一步包括化學計量溶劑合物與非化學計量溶劑合物兩者。在某些情況下，溶劑合物將能夠分離，例如在一或多個溶劑分子併入結晶固體之晶格中時。『溶劑合物』涵蓋溶液相及可分離溶劑合物兩者。代表性溶劑合物包括水合物、乙醇合物及甲醇合物。

【0064】『個體』包括人類。術語『人類』、『患者』及『個體』在本文中可互換使用。

【0065】『有效量』意謂當向個體投與以治療疾病時足以實現對疾病之此類治療的本發明化合物之量。「有效量」可視化合物、疾病及其嚴重程度及待治療之個體之年齡、體重等而變化。

【0066】『預防(preventing或prevention)』係指降低獲得或罹患疾病或病症之風險(亦即在疾病發作之前，使該疾病之臨床症狀中之至少一者不在可能暴露於致病原或易患該疾病之個體體內出現)。

【0067】術語『預防(prophylaxis)』與『預防(prevention)』相關，且係指目的為預防而非治療或治癒疾病之措施或程序。預防性措施之非限制性實例可包括投與疫苗；在歸因於(例如)不移動性之血栓症的風險下向住院患者投與低分子量肝素；且在訪問瘧疾為地方性或感染瘧疾之風險較高的地理區域之前投與抗瘧疾劑，諸如氯奎。

【0068】在一個實施例中，『治療(treating或treatment)』任何疾病或病症係指改善疾病或病症(亦即遏制疾病或降低其至少一種臨床症狀之表現、程度或嚴重程度)。在另一實施例中，『治療(treating或treatment)』係指改善至少一個不可由個體辨別之身體參數。在又一實施例中，『治療(treating或treatment)』係指以物理方式(例如，穩定可辨別的症狀)、以生理方式(例如，穩定生理參數)或以兩種方式調節疾病或病症。在另一實施例中，「治療(treating或treatment)」係關於減緩疾病進展。

【0069】如本文所用，術語『過敏性疾病』係指以免疫系統之過敏病症為特徵之病狀群組，包括過敏性氣管疾病(例如哮喘、鼻炎)、異位性皮膚炎、竇炎、濕疹及蕁麻疹以及食物過敏或蟲毒過敏。

【0070】如本文所用，術語『哮喘』如本文所用係指以與任何原因(內因、外因或兩者；過敏性或非過敏性)之氣管收縮相關聯的肺氣流變化為特徵的任何肺部病症。術語哮喘可與一或多個形容詞一起使用以指示病因。

【0071】 如本文所用，術語『一或多種發炎疾病』係指病狀群組，其包括類風濕性關節炎、骨關節炎、幼年特發性關節炎、牛皮癬、牛皮癬性關節炎、僵直性脊椎炎、過敏性氣管疾病(例如哮喘、鼻炎)、慢性阻塞性肺病(COPD)、發炎性腸病(IBD，例如克羅恩氏病(Crohn's disease)、潰瘍性結腸炎)、 大腸急躁症、內毒素驅動之疾病病況(例如，在旁路手術之後的併發症或促成例如慢性心臟衰竭之慢性內毒素病況)、成年發病型斯蒂爾病(Still's disease)、穆-韋二氏症候群(Muckle-Wells syndrome)、家族性冷自體發炎症候群(FCAS)、貝賽特氏症、冷吡啉相關週期症候群(CAPS)、家族性地中海熱(FMF)、痛風、新生兒發作型多系統發炎疾病(NOMID)、施尼茲勒症候群(Schnitzler syndrome)及涉及軟骨，諸如關節之軟骨的相關疾病。特定言之，該術語係指類風濕性關節炎、幼年型特發性關節炎、牛皮癬、骨關節炎、過敏性氣管疾病(例如哮喘)、慢性阻塞性肺病(COPD)及發炎性腸病。更特定言之，該術語係指類風濕性關節炎、幼年特發性關節炎、牛皮癬、慢性阻塞性肺病(COPD)及發炎性腸病。

【0072】 如本文所用，術語『自體免疫疾病』係指以下疾病之群組，包括阻塞性氣管疾病，其包括諸如以下之病狀：COPD、哮喘(例如內源性哮喘、外源性哮喘、塵埃性哮喘、嬰兒哮喘)，尤其慢性或頑固性哮喘(例如遲發性哮喘及氣管過度反應)、支氣管炎(包括支氣管哮喘)、全身性紅斑狼瘡(SLE)、皮膚紅斑狼瘡、狼瘡性腎炎、皮肌炎、休格連氏症候群(Sjögren's syndrome)、多發性硬化症、牛皮癬、乾眼病、I型糖尿病及與其相關之併發症、異位性濕疹(異位性皮膚炎)、化膿性汗腺炎(HS)、甲狀腺炎(橋本氏(Hashimoto's)甲狀腺炎及自體免疫甲狀腺炎)、接觸性皮炎及其他濕疹性皮炎、發炎性腸病(例如克羅恩氏病(Crohn's disease)及潰

瘍性結腸炎)、動脈粥樣硬化及肌肉萎縮性側索硬化。特定言之，該術語係指COPD、哮喘、全身性紅斑狼瘡、I型糖尿病、異位性皮膚炎及發炎性腸病。

【0073】 如本文所用，術語『疼痛』係指特徵為感覺不合意的疾病或病症，該感覺通常由劇烈或損害性刺激引起，且包括但不限於感受傷害性疼痛(例如內臟疼痛及/或體細胞疼痛)、發炎性疼痛(與組織損傷及發炎性細胞浸潤相關)及神經性或功能異常疼痛(由神經系統之損傷或功能異常引起)及/或與本文中所提及之病狀相關或由病狀引起之疼痛。疼痛可為急性或慢性的。特定言之，該術語係指發炎性及/或神經性疼痛。

【0074】 如本文所用，術語『纖維化』係指由於發炎性腸病之全身性硬化症、特發性肺纖維化及其他形式之肺纖維化及間質性肺病、酒精性脂肪變性肝炎、非酒精性脂肪變性肝炎、腎纖維化及結腸纖維化。特定言之，該術語係指硬皮病樣慢性移植物抗宿主疾病。

【0075】 如本文所用，術語『一或多種增生性疾病』係指諸如以下之病況：癌症(例如子宮平滑肌肉瘤或前列腺癌)、骨髓增生病(例如真性多紅血球症、原發性血小板增多症及骨髓纖維化)、白血病(例如急性骨髓白血病、急性及慢性淋巴母細胞白血病)、多發性骨髓瘤、牛皮癬、再狹窄、硬皮病或纖維化。特定言之，該術語係指癌症、白血病、多發性骨髓瘤及牛皮癬。

【0076】 如本文所用，術語『癌症』係指皮膚或身體器官中細胞之惡性或良性生長，該等器官例如但不限於乳房、前列腺、肺、腎臟、胰腺、胃或腸。癌症往往會浸潤至鄰近組織中且擴散(轉移)至遠處器官，例如骨骼、肝臟、肺或腦。如本文所用，術語癌症包括轉移性腫瘤細胞類型

(諸如但不限於黑素瘤、淋巴瘤、白血病、纖維肉瘤、橫紋肌肉瘤及肥大細胞瘤)及組織癌類型(諸如但不限於結腸直腸癌、前列腺癌、小細胞肺癌及非小細胞肺癌、乳癌、胰臟癌、膀胱癌、腎癌、胃癌、神經膠母細胞瘤、原發性肝癌、卵巢癌、前列腺癌及子宮平滑肌肉瘤)。特定言之，術語『癌症』係指急性淋巴母細胞白血病、急性骨髓白血病、腎上腺皮質癌、肛門癌、闌尾癌、星形細胞瘤、非典型畸胎樣/橫紋肌樣瘤、基底細胞癌、膽管癌、膀胱癌、骨癌(骨肉瘤及惡性纖維組織細胞瘤)、腦幹神經膠質瘤、腦瘤、腦及脊髓腫瘤、乳癌、支氣管腫瘤、伯基特淋巴瘤(Burkitt lymphoma)、子宮頸癌、慢性淋巴球性白血病、慢性骨髓性白血病、結腸癌、結腸直腸癌、顱咽管瘤、皮膚T細胞淋巴瘤、胚胎腫瘤、子宮內膜癌、室管膜母細胞瘤、室管膜瘤、食道癌、尤文氏肉瘤腫瘤家族(Ewing sarcoma family of tumors)、眼癌、視網膜母細胞瘤、膽囊癌、胃癌、胃腸道類癌瘤、胃腸道基質腫瘤(GIST)、胃腸道基質細胞瘤、生殖細胞瘤、神經膠質瘤、毛細胞白血病、頭頸癌、肝細胞(肝)癌、霍奇金淋巴瘤(hodgkin lymphoma)、下咽癌、眼內黑素瘤、胰島細胞瘤(內分泌胰腺)、卡波西肉瘤(Kaposi sarcoma)、腎癌、蘭格漢氏細胞組織細胞增多病(Langerhans cell histiocytosis)、喉癌、白血病、急性淋巴母細胞白血病、急性骨髓白血病、慢性淋巴球性白血病、慢性骨髓性白血病、毛細胞白血病、肝癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、伯基特淋巴瘤、皮膚T細胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、淋巴瘤、神經管胚細胞瘤、髓上皮瘤(medulloepithelioma)、黑素瘤、間皮瘤、口腔癌、慢性骨髓性白血病、骨髓白血病、多發性骨髓瘤、鼻咽癌、神經母細胞瘤、非霍奇金淋巴瘤、非小細胞肺癌、口腔癌、口咽癌、骨肉瘤、骨惡性纖維組織細胞

瘤、卵巢癌、卵巢上皮癌、卵巢生殖細胞瘤、卵巢低度惡性潛能腫瘤(ovarian low malignant potential tumor)、胰臟癌、乳頭狀瘤症、副甲狀腺癌、陰莖癌、咽癌、中等分化之松果體實質性腫瘤、松果體母細胞瘤及小腦幕上原始神經外胚層腫瘤(supratentorial primitive neuroectodermal tumor)、垂體瘤、漿細胞贅瘤/多發性骨髓瘤、胸膜肺母細胞瘤、原發性中樞神經系統淋巴瘤、前列腺癌、直腸癌、腎細胞(腎)癌、視網膜母細胞瘤、橫紋肌肉瘤、唾液腺癌、肉瘤、尤文氏肉瘤家族腫瘤、肉瘤、卡波西肉瘤、塞紮里症候群(Sézary syndrome)、皮膚癌、小細胞肺癌、小腸癌、軟組織肉瘤、鱗狀細胞癌、胃癌、小腦幕上原始神經外胚層腫瘤、T細胞淋巴瘤、睾丸癌、喉癌、胸腺瘤及胸腺癌、甲狀腺癌、尿道癌、子宮癌、子宮肉瘤、陰道癌、外陰癌、華氏巨球蛋白血症及威爾姆氏腫瘤(Wilm's tumor)。

【0077】 如本文所使用，術語『白血病』係指血液及血液形成器官之贅生性疾病。此類疾病可引起骨髓及免疫系統功能障礙，其使得主體極易感染及出血。特定言之，術語白血病係指急性骨髓白血病(AML)及急性淋巴母細胞白血病(ALL)及慢性淋巴母細胞白血病(CLL)。

【0078】 『本發明化合物』及等效表述意欲涵蓋如本文所描述之式(e)化合物，若上下文允許，則該表述包括醫藥學上可接受之鹽及溶劑合物(例如水合物)，及醫藥學上可接受之鹽的溶劑合物。類似地，提及中間物，無論是否主張其本身，若上下文允許，則均意謂涵蓋其鹽及溶劑合物。

【0079】 當本文中提及範圍時，例如但不限於C_{1-8}烷基，範圍之引用應視為表示該範圍之各成員。

【0080】 本發明化合物之其他衍生物的酸及酸衍生物形式皆具有活性，但在酸敏感形式中通常提供在哺乳動物生物體中之溶解度、組織相容性或延緩釋放之優勢(Bundgard, H, 1985)。前藥包括此項技術從業人員熟知之酸衍生物，諸如藉由母體酸與適合醇反應製備之酯，或藉由母體酸化合物與經取代或未經取代之胺反應製備之醯胺，或酸酐或混合酸酐。衍生自側接於本發明化合物上之酸性基團之簡單脂族或芳族酯、醯胺及酸酐為尤其適用之前藥。在一些情況下，需要製備雙酯型前藥，諸如(醯氧基)烷基酯或((烷氧羰基)氧基)烷基酯。特定此類前藥為本發明化合物之C_{1-8}烷基、C_{2-8}烯基、視情況經取代之C_{6-10}芳基及(C_{6-10}芳基)-(C_{1-4}烷基)酯。

【0081】 本發明包括本文中所提供之本發明化合物之所有同位素形式，無論係以其中具有給定原子數之所有原子具有在自然界中占主導的質量數(或質量數之混合)的形式(i)(在本文中被稱作「天然同位素形式」)抑或以其中一或多個原子經具有相同原子數但質量數不同於在自然界中占主導的原子之質量數的原子置換的形式(ii)(在本文中被稱作「非天然變化同位素形式」)。應瞭解，原子可以質量數之混合形式天然地存在。術語「非天然變化同位素形式」亦包括如下實施例，其中具有自然界中不常見之質量數的具給定原子數之原子(在本文中被稱作「不常見同位素」)的比例相對於天然存在之原子已增加至例如具有彼原子數之原子的數目的>20%、>50%、>75%、>90%、>95%或>99%之水準(後一實施例稱作「經同位素增濃之變化形式」)。術語「非天然變異同位素形式」亦包括實施例，其中不常見同位素之比例相對於天然存在之同位素已減少。同位素形式可包括放射性形式(亦即其併入放射性同位素)及非放射性形式。放射性形式通常將為經同位素增濃之變化形式。

【0082】 化合物之非天然變化同位素形式可由此在一或多個原子中含有一或多個人造或不常見同位素，諸如氘(^{2}H或D)、碳11 (^{11}C)、碳13 (^{13}C)、碳14 (^{14}C)、氮13 (^{13}N)、氮15 (^{15}N)、氧15 (^{15}O)、氧17 (^{17}O)、氧18 (^{18}O)、磷32 (^{32}P)、硫35 (^{35}S)、氯36 (^{36}Cl)、氯37 (^{37}Cl)、氟18 (^{18}F)、碘123 (^{123}I)、碘125 (^{125}I)或可在一或多個原子中含有與在自然界中占主導的比例相比比例增加之該等同位素。

【0083】 舉例而言，包含放射性同位素之非天然變異同位素形式可用於藥物及/或受質組織分佈研究。放射性同位素氚(亦即^{3}H)及碳14(亦即^{14}C)由於其容易併入及現成偵測手段而尤其適用於此目的。併入氘(亦即^{2}H或D)之非天然變化同位素形式可得到由更大代謝穩定性產生之某些治療優勢，例如延長之活體內半衰期或降低之劑量需求，且因此在一些情況下可為較佳的。此外，可製備併入諸如^{11}C、^{18}F、^{15}O及^{13}N之正電子發射同位素之非天然變異同位素形式且該等非天然變異同位素形式將適用於正電子發射斷層攝影法(PET)研究以檢查受質受體佔有率。

【0084】 亦應理解，具有相同分子式但在原子之鍵結性質或順序或原子之空間排列方面存在不同的化合物稱為『異構體』。原子空間排列不同之異構體稱為『立體異構體』。

【0085】 彼此不為鏡像之立體異構體稱為『非對映異構體』且彼此為不可重疊之鏡像的立體異構體稱為『對映異構體』。當化合物具有不對稱中心時，例如，其與四個不同基團結合時，可能存在一對對映異構體。對映異構體可藉由其不對稱中心之絕對組態表徵且由Cahn及Prelog之R-定序規則及S-定序規則描述，或藉由分子繞偏振光平面旋轉之方式描述且指定為右旋或左旋(亦即，分別為(+)-異構體或(-)-異構體)。對掌性化合物

可以個別對映異構體形式或以其混合物形式存在。含有相等比例之對映異構體之混合物稱為『外消旋混合物』。

【0086】『互變異構體』係指作為特定化合物結構之可互換形式且在氫原子及電子之位移方面存在變化的化合物。因此，兩個結構可經由π電子及原子(通常為H)之移動保持平衡。舉例而言，烯醇與酮為互變異構體，因為其可藉由用酸或鹼處理而快速互相轉化。互變異構之另一實例為同樣藉由用酸或鹼處理形成的苯基硝基甲烷之酸式形式及硝基形式。

【0087】互變異構形式可與所關注化合物之最佳化學反應性及生物活性之達成有關。

【0088】本發明化合物可具有一或多個不對稱中心；此類化合物因此可以個別(R)-立體異構體或(S)-立體異構體形式製備或以其混合物形式製備。

【0089】除非另外指明，否則本說明書及申請專利範圍中之特定化合物的描述或命名意欲包括個別對映異構體及其混合物(外消旋或其他)兩者。用於確定立體化學及分離立體異構體之方法為此項技術中熟知的。

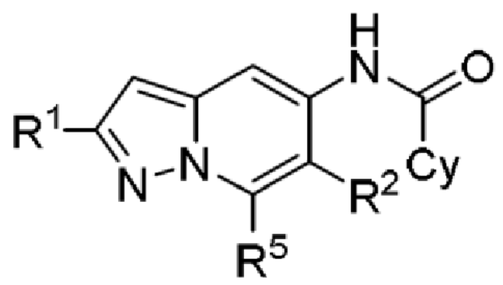
【0090】應瞭解，本發明化合物可代謝產生生物活性代謝物。

本發明

【0091】本發明係關於可適用於預防及/或治療發炎疾病、自體免疫疾病、疼痛、纖維化及/或增生性疾病之化合物。特定言之，本發明化合物可抑制參與發炎疾病、自體免疫疾病、疼痛、纖維化及/或增生性疾病之介白素-1受體相關激酶(IRAK)，激酶家族，且更特定言之IRAK-4。本發明亦提供用於產生本發明化合物之方法、包含本發明化合物之醫藥組合物、藉由投與本發明化合物預防及/或治療發炎疾病、自體免疫疾病、疼

痛、纖維化及/或增生性疾病之方法。

【0092】 因此，在本發明之一第一態樣中，提供具有式I之本發明化合物：



I

其中

R^1為

a) C_{2-6}烷基，其經獨立選擇之-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基、鹵基或-$S(=O)_2$-C_{1-4}烷基之一或多者取代，或

b) 6員雜環烷基，其包含獨立選擇之S、N或O原子之一或兩者，其中雜環烷基未經取代或經獨立選擇之側氧基、鹵基或C_{1-4}烷基之一或多者取代，其中烷基未經取代或經一或多個鹵基取代；

R^2為

a) C_{1-4}烷氧基，其中烷氧基未經取代或經獨立選擇之鹵基或-OH之一或多者取代，

b) -O-C_{3-4}環烷基，其中環烷基未經取代或經獨立選擇之鹵基或-OH之一或多者取代，或

c) -$C(=O)NR^{3a}R^{3b}$；

Cy為6員雜芳基，其包含1或2個N原子，其經獨立選擇之R^4取代基之一或兩者取代；

各R^{3a}及R^{3b}獨立地選自

a) H，

b) C_{1-4}烷基，其中烷基未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH、-

CN、C_{1-4}烷氧基或C_{3-7}環烷基之一或多者取代，其中環烷基未經取代或經獨立選擇之鹵基之一或多者取代，

c) C_{3-6}環烷基，其中環烷基未經取代或經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或鹵基之一或多者取代，或

d) 4-6員雜環烷基，其包含獨立選擇之N、S或O原子之一或兩者，其中雜環烷基未經取代或經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或鹵基之一或多者取代；

R^{3a}及R^{3b}與其所連接之N原子一起可形成4-6員單環雜環烷基；

各R^4獨立地為

a) 側氧基，

b) -OH，

c) -CN，

d) 鹵基，

e) C_{1-4}烷基，其未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代，

f) C_{1-4}烷氧基，其未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代，或

g) C_{3-7}環烷基，其未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代；及

R^5選自H、鹵基、$-CH_3$或$-CF_3$。

【0093】 在一個實施例中，本發明化合物係根據式I，其中R^5為H、F、$-CH_3$或$-CF_3$。

【0094】 在一個實施例中，本發明化合物係根據式I，其中R^5為H。

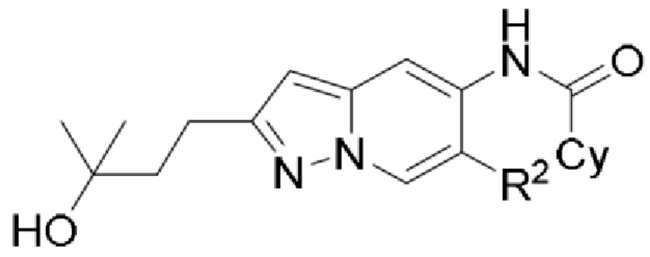
【0095】在一個實施例中，本發明化合物係根據式I，其中R^1為經獨立選擇之-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基、鹵基或-$S(=O)_2$-C_{1-4}烷基之一或多者取代之C_{2-6}烷基。在一特定實施例中，R^1為經一個、兩個或三個獨立選擇之-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基、鹵基或-$S(=O)_2$-C_{1-4}烷基取代之C_{2-6}烷基。在一特定實施例中，R^1為經獨立選擇之-OH、-CN、-OCH_3、F、Cl或-$S(=O)_2CH_3$之一或多者取代之C_{2-6}烷基。在一更特定實施例中，R^1為經一個-OH或-$S(=O)_2CH_3$取代的C_{2-6}烷基。在另一更特定實施例中，R^1為-CH_2-CH_3、-CH_2-CH_2-CH_2-CH_3、-CH_2-CH_2-$CH(CH_3)_2$，其中之每一者經一個-OH或-$S(=O)_2CH_3$取代。在一最特定實施例中，R^1為-CH_2-CH_2-$C(CH_3)_2$-OH。

【0096】在一個實施例中，本發明化合物係根據式I，其中R^1為包含獨立選擇之S、N或O原子之一或兩者的6員雜環烷基。在一個實施例中，R^1為四氫哌喃基、二噁烷基、嗎啉基、哌啶基、哌嗪基、硫代嗎啉基或1,4-氧硫雜環己烷基。在一更特定實施例中，R^1為二噁烷基。

【0097】在一個實施例中，本發明化合物係根據式I之化合物，其中R^1為包含獨立選擇之S、N或O原子之一或兩者的6員雜環烷基，其中雜環烷基經獨立選擇之側氧基、鹵基或C_{1-4}烷基之一或多者取代，其中烷基未經取代或經一或多個鹵基取代。在一特定實施例中，R^1為包含獨立選擇之S、N或O原子之一或兩者之6員雜環烷基，其中雜環烷基經一個、兩個或三個獨立選擇之側氧基、鹵基或C_{1-4}烷基取代，其中烷基未經取代或經一或多個鹵基取代。在另一特定實施例中，R^1為包含獨立選擇之S、N或O原子之一或兩者之6員雜環烷基，其中雜環烷基經一個、兩個或三個獨立選擇之側氧基、F、Cl、-CH_3、-CH_2-CH_3或-CF_3取代。在一更特定實施例

中，R^1為四氫哌喃基、二噁烷基、嗎啉基、哌啶基、哌嗪基、硫代嗎啉基或1,4-氧硫雜環己烷基，其中之每一者經一個、兩個或三個獨立選擇之側氧基、鹵基或C_{1-4}烷基取代，其中烷基未經取代或經一或多個鹵基取代。在另一更特定實施例中，R^1為四氫哌喃基、二噁烷基、嗎啉基、哌啶基、哌嗪基、硫代嗎啉基或1,4-硫代嗎啉基，其中之每一者經一個、兩個或三個獨立選擇之側氧基、F、Cl、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$或$-CF_3$取代。

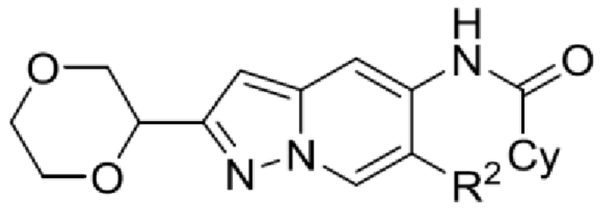
【0098】 在一個實施例中，本發明化合物係根據式IIa：



IIa

其中R^2及Cy如先前所定義。

【0099】 在一個實施例中，本發明化合物係根據式IIb



IIb

其中R^2及Cy如先前所定義。

【0100】 在一個實施例中，本發明化合物係根據式I、IIa或IIb，其中R^2為C_{1-4}烷氧基，其中烷氧基未經取代或經獨立選擇之鹵基或-OH之一或多者取代。在一個特定實施例中，R^2為$-OCH_3$或$-OCH_2CH_3$，其中之每一者未經取代或經獨立選擇之鹵基或-OH之一或多者取代。在一更特定實施例中，R^2為$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$或$-OCF_3$。在一個最特定實施例中，R^2為$-OCH_3$。

【0101】 在一個實施例中，本發明化合物係根據式I、IIa或IIb，其中R^2為$-O-C_{3-4}$環烷基，其中環烷基未經取代或經獨立選擇之鹵基或-OH之

一或多者取代。在一特定實施例中，R^2為-O-環丙基或-O-環丁基，其中之每一者未經取代或經獨立選擇之鹵基或-OH之一或多者取代。在一更特定實施例中，R^2為-O-環丙基。

【0102】 在一個實施例中，本發明化合物係根據式I、IIa或IIb，其中R^2為-C(=O)$NR^{3a}R^{3b}$且各R^{3a}及R^{3b}如先前所描述。在一特定實施例中，R^{3a}為H且R^{3b}為如先前所述。在另一特定實施例中，R^{3a}如先前所描述且R^{3b}為H。在一更特定實施例中，R^{3a}及R^{3b}為H。

【0103】 在一個實施例中，本發明化合物係根據式I、IIa或IIb，其中R^2為-C(=O)$NR^{3a}R^{3b}$，R^{3b}如先前所描述，且R^{3a}為C_{1-4}烷基。在一特定實施例中，R^{3a}為-CH_3、-CH_2-CH_3或-$CH(CH_3)_2$。在一更特定實施例中，R^{3a}為-CH_3。

【0104】 在一個實施例中，本發明化合物係根據式I、IIa或IIb，其中R^2為-C(=O)$NR^{3a}R^{3b}$，R^{3b}如先前所描述，且R^{3a}為C_{1-4}烷基，其中烷基經獨立選擇之鹵基、-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基或C_{3-7}環烷基之一或多者取代，其中環烷基未經取代或經獨立選擇之鹵基之一或多者取代。在一特定實施例中，R^{3a}為-CH_3、-CH_2-CH_3或-$CH(CH_3)_2$，其中之每一者經獨立選擇之鹵基、-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基或C_{3-7}環烷基之一或多者取代，其中環烷基未經取代或經獨立選擇之鹵基之一或多者取代。在一更特定實施例中，R^{3a}為C_{1-4}烷基，其中烷基經獨立選擇之鹵基、-OH、-CN、-OCH_3、環丙基或環丁基之一或多者取代。

【0105】 在一個實施例中，本發明化合物係根據式I、IIa或IIb，其中R^2為-C(=O)$NR^{3a}R^{3b}$，R^{3a}如先前所描述，且R^{3b}為C_{1-4}烷基。在一特定實施例中，R^{3b}為-CH_3、-CH_2-CH_3或-$CH(CH_3)_2$。在一更特定實施例中，

R^{3b}為-CH_3。

【0106】在一個實施例中，本發明化合物係根據式I、IIa或IIb，其中R^2為-C(=O)$NR^{3a}R^{3b}$，R^{3a}如先前所描述，且R^{3b}為C_{1-4}烷基，其中烷基經獨立選擇之鹵基、-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基或C_{3-7}環烷基之一或多者取代，其中環烷基未經取代或經獨立選擇之鹵基之一或多者取代。在一特定實施例中，R^{3b}為-CH_3、-CH_2-CH_3或-$CH(CH_3)_2$，其中之每一者經獨立選擇之鹵基、-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基或C_{3-7}環烷基之一或多者取代，其中環烷基未經取代或經獨立選擇之鹵基之一或多者取代。在一更特定實施例中，R^{3b}為C_{1-4}烷基，其中烷基經獨立選擇之鹵基、-OH、-CN、-OCH_3、環丙基或環丁基之一或多者取代。

【0107】在一個實施例中，本發明化合物係根據式I、IIa或IIb，其中R^2為-C(=O)$NR^{3a}R^{3b}$，R^{3b}如先前所描述，且R^{3a}為C_{3-6}環烷基。在一特定實施例中，R^{3a}為環丙基、環丁基或環戊基。在一更特定實施例中，R^{3a}為環丙基。

【0108】在一個實施例中，本發明化合物係根據式I、IIa或IIb，其中R^2為-C(=O)$NR^{3a}R^{3b}$，R^{3b}如先前所描述，且R^{3a}為C_{3-6}環烷基，其中環烷基經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或鹵基之一或多者取代。在一特定實施例中，R^{3a}為C_{3-6}環烷基，其中環烷基經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、-CH_3、-CH_2-CH_3、-OCH_3、-OCH_2CH_3、F或Cl之一或多者取代。在一更特定實施例中，R^{3a}為環丙基、環丁基或環戊基，其中每一者經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或鹵基之一或多者取代。在另一特定實施例中，R^{3a}為環丙基、環丁基或環戊基，其中每一者經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、-CH_3、-

CH_2CH_3、-OCH_3、-OCH_2CH_3、F或Cl之一或多者取代。

【0109】在一個實施例中，本發明化合物係根據式I、IIa或IIb，其中R^2為-C(=O)$NR^{3a}R^{3b}$，R^{3a}如先前所描述，且R^{3b}為C_{3-6}環烷基。在一特定實施例中，R^{3b}為環丙基、環丁基或環戊基。在一最特定實施例中，R^{3b}為環丙基。

【0110】在一個實施例中，本發明化合物係根據式I、IIa或IIb，其中R^2為-C(=O)$NR^{3a}R^{3b}$，R^{3a}如先前所描述，且R^{3b}為C_{3-6}環烷基，其中環烷基經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或鹵基之一或多者取代。在一特定實施例中，R^{3b}為C_{3-6}環烷基，其中環烷基經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、-CH_3、-CH_2CH_3、-OCH_3、-OCH_2CH_3、F或Cl之一或多者取代。在一更特定實施例中，R^{3b}為環丙基、環丁基或環戊基，其中每一者經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或鹵基之一或多者取代。在另一特定實施例中，R^{3b}為環丙基、環丁基或環戊基，其中每一者經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、-CH_3、-CH_2CH_3、-OCH_3、-OCH_2CH_3、F或Cl之一或多者取代。

【0111】在一個實施例中，本發明化合物係根據式I、IIa或IIb，其中R^2為-C(=O)$NR^{3a}R^{3b}$，R^{3b}如先前所述，且R^{3a}為包含獨立選擇之N、S或O原子之一或兩者之4-6員雜環烷基。在一特定實施例中，R^{3a}為氮雜環丁烷基、氧雜環丁烷基、吡咯啶基、四氫呋喃基、嗎啉基、哌啶基、哌嗪基或硫代嗎啉基。在一最特定實施例中，R^{3a}為氮雜環丁烷基或環氧乙烷基。

【0112】在一個實施例中，本發明化合物係根據式I、IIa或IIb，其中R^2為-C(=O)$NR^{3a}R^{3b}$，R^{3b}如先前所述，且R^{3a}為包含獨立選擇之N、S或

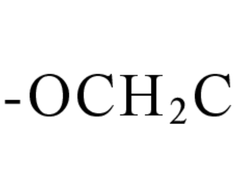
O原子之一或兩者之4-6員雜環烷基，其中雜環烷基經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或鹵基之一或多者取代。在另一特定實施例中，R^{3a}為包含獨立選擇之N、S或O原子之一或兩者之4-6員雜環烷基，其中雜環烷基經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$、F或Cl之一或多者取代。在一更特定實施例中，R^{3a}為氮雜環丁烷基、氧雜環丁烷基、吡咯啶基、四氫呋喃基、嗎啉基、哌啶基、哌嗪基或硫代嗎啉基，其中之每一者經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或鹵基之一或多者取代。在另一更特定實施例中，R^{3a}為氮雜環丁烷基、氧雜環丁烷基、吡咯啶基、四氫呋喃基、嗎啉基、哌啶基、哌嗪基或硫代嗎啉基，其中每一者經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$、F或Cl之一或多者取代。

【0113】在一個實施例中，本發明化合物係根據式I、IIa或IIb，其中R^2為$-C(=O)NR^{3a}R^{3b}$，R^{3a}如先前所述，且R^{3b}為包含獨立選擇之N、S或O原子之一或兩者之4-6員雜環烷基。在一特定實施例中，R^{3b}為氮雜環丁烷基、氧雜環丁烷基、吡咯啶基、四氫呋喃基、嗎啉基、哌啶基、哌嗪基或硫代嗎啉基。在一最特定實施例中，R^{3b}為氮雜環丁烷基或環氧乙烷基。

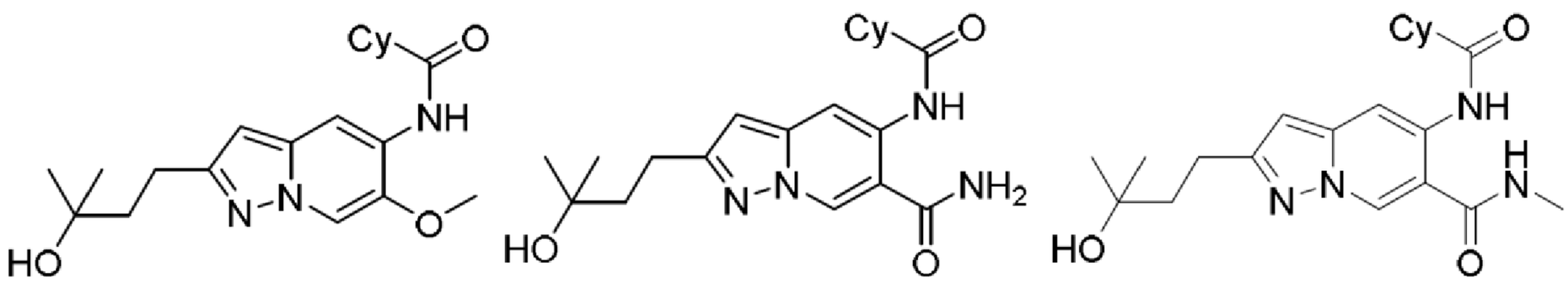
【0114】在一個實施例中，本發明化合物係根據式I、IIa或IIb，其中R^2為$-C(=O)NR^{3a}R^{3b}$，R^{3a}如先前所述，且R^{3b}為包含獨立選擇之N、S或O原子之一或兩者之4-6員雜環烷基，其中雜環烷基經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或鹵基之一或多者取代。在另一特定實施例中，R^{3b}為包含獨立選擇之N、S或O原子之一或兩者之4-6員雜環

烷基，其中雜環烷基經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、-CH_3、-CH_2-CH_3、-OCH_3、-OCH_2CH_3、F或Cl之一或多者取代。在一更特定實施例中，R^{3b}為氮雜環丁烷基、氧雜環丁烷基、吡咯啶基、四氫呋喃基、嗎啉基、哌啶基、哌嗪基或硫代嗎啉基，其中之每一者經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或鹵基之一或多者取代。在另一更特定實施例中，R^{3b}為氮雜環丁烷基、氧雜環丁烷基、吡咯啶基、四氫呋喃基、嗎啉基、哌啶基、哌嗪基或硫代嗎啉基，其中每一者經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、-CH_3、-CH_2-CH_3、-OCH_3、-OCH_2CH_3、F或Cl之一或多者取代。

【0115】在一個實施例中，本發明化合物係根據式I、IIa或IIb，其中R^2為-C(=O)NH_2、-C(=O)$N(CH_3)_2$或-C(=O)$NHCH_3$。在一最特定實施例中，R^2為-C(=O)NH_2。

【0116】在一個實施例中，本發明化合物係根據式I、IIa或IIb，其中R^2為-C(=O)$NR^{3a}R^{3b}$，其中R^{3a}及R^{3b}與其所連接之N原子連在一起可形成4-6員單環雜環烷基。在一特定實施例中，R^2為  。

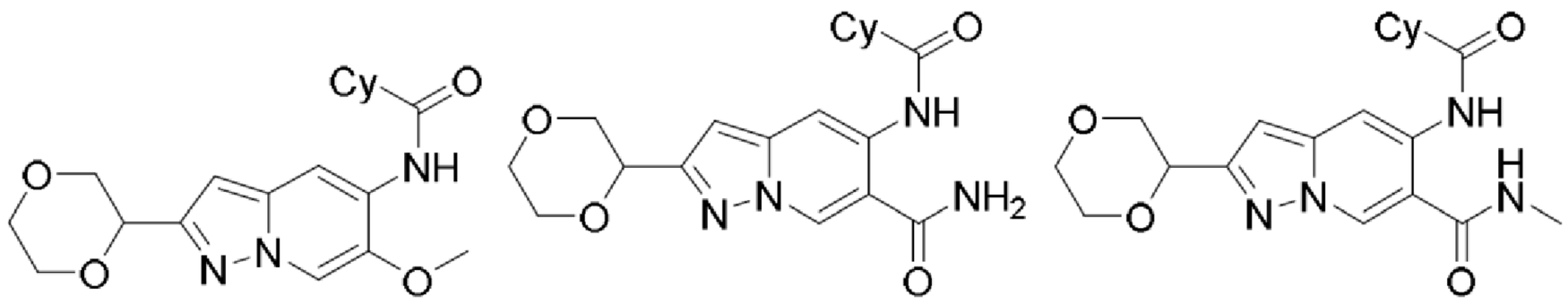
【0117】在一個實施例中，本發明化合物係根據式IIIa、IIIb或IIIc：



IIIa　　IIIb　　IIIc

其中Cy如先前所定義。

【0118】在一個實施例中，本發明化合物係根據式IVa、IVb或IVc



IVa　　IVb　　IVc

其中Cy如先前所定義。

【0119】在一個實施例中，本發明化合物為式I-IVc中任一者，其中Cy為經獨立選擇之R^4取代基之一或兩者取代之包含1或2個N原子的6員雜芳基。在一特定實施例中，Cy為吡啶基或吡嗪基，其中之每一者經獨立選擇之R^4取代基之一或兩者取代。在一更特定實施例中，Cy為經獨立選擇之R^4取代基之一或兩者取代之吡啶基。

【0120】在一個實施例中，本發明化合物為根據式I-IVc中之任一者，其中Cy如先前所定義，其中R^4為側氧基。

【0121】在一個實施例中，本發明化合物係根據式I-IVc中之任一者，其中Cy如先前所定義，其中R^4為-OH。

【0122】在一個實施例中，本發明化合物係根據式I-IVc中之任一者，其中Cy如先前所定義，其中R^4為-CN。

【0123】在一個實施例中，本發明化合物係根據式I-IVc中之任一者，其中Cy如先前所定義，其中R^4為鹵基。在一特定實施例中，R^4為F或Cl。

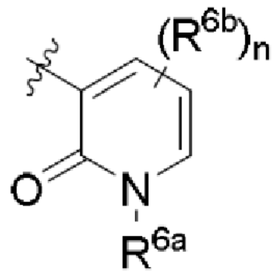
【0124】在一個實施例中，本發明化合物係根據式I-IVc中之任一者，其中Cy如先前所定義，其中R^4為未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代的C_{1-4}烷基。在一特定實施例中，R^4為$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$或$-CH(CH_3)_2$，其中之每一者未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代。

【0125】在一個實施例中，本發明化合物係根據式I-IVc中之任一者，其中Cy如先前所定義，其中R^4為未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代的C_{1-4}烷氧基。在一特定實施例中，R^4為-OCH_3、-OCH_2-CH_3或-$OCH(CH_3)_2$，其中之每一者未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代。在一更特定實施例中，R^4為-OCH_3。

【0126】在一個實施例中，本發明化合物係根據式I-IVc中之任一者，其中Cy如先前所定義，其中R^4為未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代的C_{3-7}環烷基。

【0127】在一個實施例中，本發明化合物係根據式I-IVc中之任一者，其中Cy如先前所定義，其中各R^4基團獨立地選自側氧基、-CN、-OH、F、Cl、-CH_3、-CH_2-CH_3、-$CH(CH_3)_2$、-CF_3、-CHF_3、-CH_2CF_3、-CH_2CN、-CH_2OH、-CH_2CH_2-CN、-O-CH_2-CH_3、環丁基、經獨立選擇之F或-CN之一或兩者取代之環丙基、經獨立選擇之F、-OH或-CN之一或兩者取代之環丁基。

【0128】在一個實施例中，本發明化合物為根據式I-IVc中之任一者，更特定言之式IIIa，其中Cy為：



Cy_1

其中

R^{6a}為

a) C_{1-4}烷基，其未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或

多者取代，或

b) C_{3-7}環烷基，其未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代；

R^{6b}為

a) -OH，

b) -CN，

c) 鹵基，

d) C_{1-4}烷基，其未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代，

e) C_{1-4}烷氧基，其未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代，或

f) C_{3-7}環烷基，其未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代；及

下標n為0、1或2。

【0129】在一個實施例中，本發明化合物係根據式I-IVc中之任一者，更特定言之式IIIa，其中Cy為Cy_1，其中R^{6a}及下標n如先前所定義，且R^{6b}為-CN、-OH、F、Cl、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-CH(CH_3)_2$、$-CF_3$、$-CHF_3$、$-CH_2CF_3$、$-CH_2CN$、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2-CN$、$-OCH_3$、$-OCH_2-CH_3$、環丙基、環丁基、經獨立選擇之F或-CN之一或兩者取代之環丙基、或經獨立選擇之F、-OH或-CN之一或兩者取代之環丁基。在一個特定實施例中，R^{6b}為F、Cl、$-CH_3$、$-CF_3$或$-CHF_2$或$-OCH_3$。在一更特定實施例中，R^{6b}為F。

【0130】在一個實施例中，本發明化合物係根據式I-IVc中之任一

者，更特定言之式IIIa，其中Cy為Cy_1，其中R^{6a}如先前所定義，下標n為1且R^{6b}為-CN、-OH、F、Cl、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-CH(CH_3)_2$、$-CF_3$、$-CHF_3$、$-CH_2CF_3$、$-CH_2CN$、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2-CN$、$-OCH_3$、$-OCH_2-CH_3$、環丙基、環丁基、經獨立選擇之F或-CN之一或兩者取代之環丙基、或經獨立選擇之F、-OH或-CN之一或兩者取代之環丁基。在一個特定實施例中，R^{6b}為F、Cl、$-CH_3$、$-CF_3$或$-CHF_2$或$-OCH_3$。在一更特定實施例中，R^{6b}為F。

【0131】在一個實施例中，本發明化合物係根據式I-IVc中之任一者，更特定言之式IIIa，其中Cy為Cy_1，其中R^{6a}及下標n如先前所定義，且R^{6b}為$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-CH(CH_3)_2$、$-CF_3$、$-CHF_3$、$-CH_2CF_3$、$-CH_2CN$、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2-CN$、環丙基、環丁基、經獨立選擇之F或-CN之一或兩者取代之環丙基、或經獨立選擇之F、-OH或-CN之一或兩者取代之環丁基。在一特定實施例中，R^{6a}為$-CH_3$、$-CF_3$、$-CHF_2$、環丙基或環丁基。在一更特定實施例中，R^{6a}為$-CH_3$或環丙基。在一最特定實施例中，R^{6a}為環丙基。

【0132】在一個實施例中，本發明化合物係根據式I-IVc中之任一者，更特定言之式IIIa，其中Cy為Cy_1，其中R^{6a}如先前所定義，下標n為1且R^{6b}為$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-CH(CH_3)_2$、$-CF_3$、$-CHF_3$、$-CH_2CF_3$、$-CH_2CN$、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2-CN$、環丙基、環丁基、經獨立選擇之F或-CN之一或兩者取代之環丙基、或經獨立選擇之F、-OH或-CN之一或兩者取代之環丁基。在一特定實施例中，R^{6a}為$-CH_3$、$-CF_3$、$-CHF_2$、環丙基或環丁基。在一更特定實施例中，R^{6a}為$-CH_3$或環丙基。在一最特定實施例中，R^{6a}為環丙基。

【0133】在一個實施例中，本發明化合物係根據式I-IVc中之任一者，更特定言之式IIIa，其中Cy為Cy_1，其中R^{6a}如先前所定義，且下標n為0。在一特定實施例中，R^{6a}為-CH_3、-CH_2-CH_3、-$CH(CH_3)_2$、-CF_3、-CHF_3、-CH_2CF_3、-CH_2CN、-CH_2OH、-CH_2CH_2-CN、環丙基、環丁基、經獨立選擇之F或-CN之一或兩者取代之環丙基、或經獨立選擇之F、-OH或-CN之一或兩者取代之環丁基。在一特定實施例中，R^{6a}為-CH_3、-CF_3、-CHF_2、環丙基或環丁基。在一更特定實施例中，R^{6a}為-CH_3或環丙基。在一最特定實施例中，R^{6a}為環丙基。

【0134】在一個實施例中，根據式I之本發明化合物係選自：

1-環丙基-N-[2-(3-羥基-3-甲基丁基)-6-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基吡啶3-甲醯胺，

N-[2-(3-羥基-3-甲基丁基)-6-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-1-甲基-2-側氧基吡啶-3-甲醯胺，

N-[2-(3-羥基-3-甲基丁基)-6-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲醯胺，

2-(3-羥基-3-甲基丁基)-5-[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺，及

2-(3-羥基-3-甲基丁基)-N-甲基-5-[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺。

【0135】在另一實施例中，根據式I之本發明化合物係選自：

1-環丙基-N-[6-甲氧基-2-(2-甲磺醯基乙基)吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺，

1-(二氟甲基)-N-[2-(3-羥基-3-甲基-丁基)-6-甲氧基-吡唑[1,5-a]吡啶-

5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺，

2-(1,1-二側氧基硫雜環己烷-3-基) -N-甲基-5-[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺，

1-(二氟甲基)-N-[6-乙氧基-2-(3-羥基-3-甲基-丁基)吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺，

2-(1-甲基-4-哌啶基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺甲酸鹽，

2-四氫哌喃-4-基-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺，

N-甲基-2-(1-甲基-4-哌啶基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺，

1-環丙基-N-[2-(3-羥基-3-甲基-丁基)-6-甲氧基-7-甲基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺，

N-甲基-2-四氫哌喃-4-基-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺，

5-[[6-(二氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]-N-甲基-2-四氫哌喃-4-基-吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺，

5-[[6-(二氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]-2-四氫哌喃-4-基-吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺，

1-環丙基-N-[6-乙氧基-2-(3-羥基-3-甲基-丁基)吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺，

N-[6-乙氧基-2-(3-羥基-3-甲基-丁基)吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-1-甲基-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺，

5-[[6-(二氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]-2-(3-羥基-3-甲基-丁基)-N-甲基-吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺，

5-[[6-(二氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]-2-(3-羥3-甲基-丁基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺，

1-環丁基-N-[2-(3-羥基-3-甲基-丁基)-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺，

1-環丙基-N-[2-(2-氟-3-羥基-3-甲基-丁基)-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺，

1-環丙基-N-[6-甲氧基-2-[4,4,4-三氘-3-羥基-3-(三氘化甲基)丁基]吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺，

1-環丙基-N-[2-(3-羥基-3-甲基丁基)-6-(三氘化甲氧基)吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基吡啶-3-甲醯胺，

1-環丙基-N-[2-(2-氟-3-羥基-3-甲基-丁基)-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺對映異構體A，及

1-環丙基-N-[2-(2-氟-3-羥基-3-甲基-丁基)-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺對映異構體B。

【0136】 在一個實施例中，本發明化合物為1-環丙基-N-[2-(3-羥基-3-甲基丁基)-6-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基吡啶-3-甲醯胺。

【0137】 在另一實施例中，本發明化合物不為1-環丙基-N-[2-(3-羥基-3-甲基丁基)-6-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基吡啶-3-甲醯胺。

【0138】 在一個實施例中，本發明化合物以天然同位素形式提供。

【0139】 在一個實施例中，本發明化合物以非天然變異同位素形式

提供。在特定實施例中，非天然變異同位素形式為將氘(亦即^{2}H或D)併入的形式，其中在本發明化合物之一或多個原子中的化學結構中指定氫。在一個實施例中，本發明化合物之原子呈不為放射性之同位素形式。在一個實施例中，本發明化合物之一或多個原子呈為放射性之同位素形式。適宜地，放射性同位素為穩定同位素。適宜地，非天然變異同位素形式為醫藥學上可接受之形式。

【0140】 在一個實施例中，提供本發明化合物，其中化合物之單個原子以非天然變異同位素形式存在。在另一實施例中，提供本發明化合物，其中兩個或更多個原子以非天然變異同位素形式存在。

【0141】 非天然同位素變異形式可通常藉由熟習此項技術者已知之習知技術或藉由本文中所描述之方法(例如，類似於隨附實例中描述之製備天然同位素形式之彼等的方法)來製備。因此，非天然同位素變異形式可藉由使用適當同位素變異(或經標記)試劑而非作為實例用於說明性實例中之正常試劑製備。

【0142】 在一個態樣中，根據本文所描述實施例中之任一者之本發明化合物係以游離鹼形式存在。

【0143】 在一個態樣中，根據本文所述實施例中之任一者之本發明化合物為醫藥學上可接受之鹽。

【0144】 在一個態樣中，根據本文所描述實施例中之任一者之本發明化合物為化合物之溶劑合物。

【0145】 在一個態樣中，根據本文所描述實施例中之任一者之本發明化合物為化合物之醫藥學上可接受之鹽的溶劑合物。

【0146】 雖然已在上文大體上單獨列出針對各實施例所指定之基

團，但本發明化合物包括其中上述式以及本文中呈現之其他式中之若干實施例或各實施例係選自針對各變數分別指定之一或多個特定成員或基團之化合物。因此，本發明意欲包括此類實施例之所有組合在其範疇內。

【0147】 雖然各實施例之指定基團已大體上在上文單獨列出，但本發明之化合物可為一或多個變數(例如R基團)係選自根據上文列出之式(e)中之任一者的一或多個實施例的化合物。因此，本發明意欲在其範疇內包括來自所揭示實施例中之任一者之變數的所有組合。

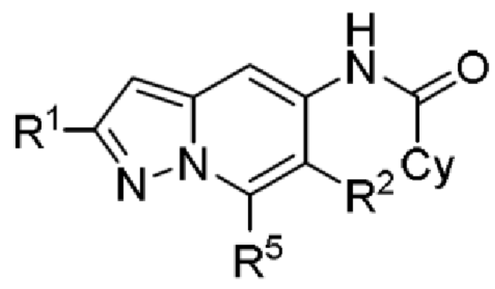
【0148】 或者，本發明亦涵蓋自基團或實施例或其組合排除一或多個指定變數。

【0149】 在某些態樣中，本發明提供上述式之化合物的前藥及衍生物。前藥為本發明化合物之衍生物，其具有代謝可裂解基團且藉由溶劑分解或在生理條件下變成活體內具有醫藥活性之本發明化合物。此類實例包括但不限於膽鹼酯衍生物及其類似物、N-烷基嗎啉酯及其類似物。

【0150】 本發明化合物之其他衍生物的酸及酸衍生物形式皆具有活性，但在酸敏感形式中通常提供在哺乳動物生物體中之溶解度、組織相容性或延緩釋放之優勢(Bundgard,1985)。前藥包括熟習此項技術者熟知之酸衍生物，諸如藉由母體酸與適合醇反應製備之酯，或藉由母體酸化合物與經取代或未經取代之胺反應製備之醯胺，或酸酐或混合酸酐。衍生自側接於本發明化合物上之酸性基團之簡單脂族或芳族酯、醯胺及酸酐為較佳前藥。在一些情況下，需要製備雙酯型前藥，諸如(醯氧基)烷基酯或((烷氧羰基)氧基)烷基酯。本發明化合物之C_1至C_8烷基、C_2-C_8烯基、芳基、C_7-C_{12}經取代芳基及C_7-C_{12}芳基烷基酯尤其適用。

條項

1. 一種式I之化合物：



I

其中

R^1為

a) C_{2-6}烷基，其經獨立選擇之-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基、鹵基或-$S(=O)_2$-C_{1-4}烷基之一或多者取代，或

b) 6員雜環烷基，其包含獨立選擇之S、N或O原子之一或兩者，其中雜環烷基未經取代或經獨立選擇之側氧基、鹵基或C_{1-4}烷基之一或多者取代，其中烷基未經取代或經一或多個鹵基取代；

R^2為

a) C_{1-4}烷氧基，其中烷氧基未經取代或經獨立選擇之鹵基或-OH之一或多者取代，

b) -O-C_{3-4}環烷基，其中環烷基未經取代或經獨立選擇之鹵基或-OH之一或多者取代，或

c) $-C(=O)NR^{3a}R^{3b}$；

Cy為 6員雜芳基，其包含1或2個N原子，其經獨立選擇之R^4取代基之一或兩者取代；

各R^{3a}及R^{3b}獨立地選自

a) H，

b) C_{1-4}烷基，其中烷基未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基或C_{3-7}環烷基之一或多者取代，其中環烷基未經取代或經獨立選擇之鹵基之一或多者取代，

c) C_{3-6}環烷基，其中環烷基未經取代或經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或鹵基之一或多者取代，或

d) 4-6員雜環烷基，其包含獨立選擇之N、S或O原子之一或兩者，其中雜環烷基未經取代或經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或鹵基之一或多者取代；

R^{3a}及R^{3b}與其所連接之N原子一起可形成4-6員單環雜環烷基；

各R^4獨立地為

a) 側氧基，

b) -OH，

c) -CN，

d) 鹵基，

e) C_{1-4}烷基，其未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代，

f) C_{1-4}烷氧基，其未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代，或

g) C_{3-7}環烷基，其未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代；及

R^5選自H、鹵基、$-CH_3$或$-CF_3$；

或其醫藥學上可接受之鹽，或其溶劑合物或其溶劑合物之鹽，或其代謝物。

2. 根據條項1之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^5為H、F、$-CH_3$或$-CF_3$。

3. 根據條項1之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^5為H。

4. 根據條項1、2或3之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^1為經一個、兩個或三個獨立選擇之-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基、鹵基或-$S(=O)_2$-C_{1-4}烷基取代之C_{2-6}烷基。

5. 根據條項1、2或3之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^1為經獨立選擇之-OH、-CN、-OCH_3、F、Cl或-$S(=O)_2CH_3$之一或多者取代之C_{2-6}烷基。

6. 根據條項1、2或3之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^1為-CH_2-CH_3、-CH_2-CH_3、-CH_2-CH_2-CH_2-CH_3、-CH_2-CH_2-$CH(CH_3)_2$，其中之每一者經一個-OH或-$S(=O)_2CH_3$取代。

7. 根據條項1、2或3之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^1為-CH_2-CH_2-$C(CH_3)_2$-OH。

8. 根據條項1、2或3之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^1為包含獨立選擇之S、N或O原子之一或兩者的6員雜環烷基。

9. 根據條項1、2或3之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^1為四氫哌喃基、二噁烷基、嗎啉基、哌啶二基、哌嗪基、硫代嗎啉基或1,4-氧硫雜環已烷基。

10. 根據條項1、2或3之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^1為二噁烷基。

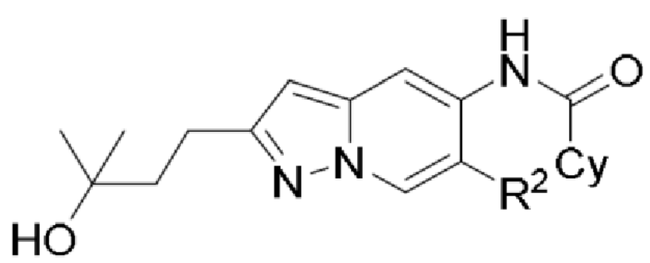
11. 根據條項1、2或3之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^1為包含獨立選擇之S、N或O原子之一或兩者之6員雜環烷基，其中雜環烷基經獨立選擇之側氧基、鹵基或C_{1-4}烷基之一或多者取代，其中烷基未經取代或經一或多個鹵基取代。

12. 根據條項1、2或3之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^1為6

員雜環烷基，其包含獨立選擇之S、N或O原子之一或兩者，其中雜環烷基經一個、兩個或三個獨立選擇之側氧基、F、Cl、-CH_3、-CH_2-CH_3或-CF_3取代。

13. 根據條項1、2或3之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^1為四氫哌喃基、二噁烷基、嗎啉基、哌啶基、哌嗪基、硫代嗎啉基或1,4-硫代嗎啉基，其中之每一者經一個、兩個或三個獨立選擇之側氧基、F、Cl、-CH_3、-CH_2-CH_3或-CF_3取代。

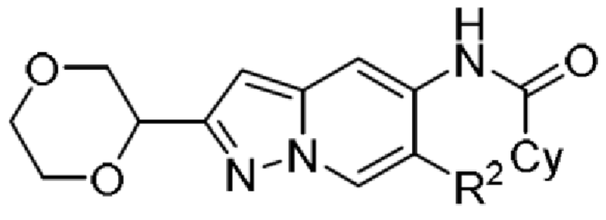
14. 根據條項1之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該化合物係根據式IIa：



IIa

其中R^2及Cy如先前所定義。

15. 根據條項1之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該化合物根據式IIb：



IIb

其中R^2及Cy如先前所定義。

16. 根據條項1至15中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^2為C_{1-4}烷氧基，其中烷氧基未經取代或經獨立選擇之鹵基或-OH之一或多者取代。

17. 根據條項1至15中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^2為-OCH_3或-OCH_2CH_3，其中每一者未經取代或經獨立選擇之鹵基或-

OH之一或多者取代。

18. 根據條項1至15中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^2為-OCH_3、-OCH_2CH_3或-OCF_3。

19. 根據條項1至15中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^2為-O-C_{3-4}環烷基，其中環烷基未經取代或經獨立選擇之鹵基或-OH之一或多者取代。

20. 根據條項1至15中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^2為-O-環丙基或-O-環丁基，其中之每一者未經取代或經獨立選擇之鹵基或-OH之一或多者取代。

21. 根據條項1至15中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^2為-O-環丙基。

22. 根據條項1至15中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^2為-C(=O)$NR^{3a}R^{3b}$。

23. 根據條項22之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3a}為H。

24. 根據條項22之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3a}為C_{1-4}烷基。

25. 根據條項22之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3a}為-CH_3、-CH_2-CH_3或-$CH(CH_3)_2$。

26. 根據條項22之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3a}為C_{1-4}烷基，其中烷基未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基或C_{3-7}環烷基之一或多者取代，其中環烷基未經取代或經獨立選擇之鹵基之一或多者取代。

27. 根據條項22之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3a}為C_{3-6}環

烷基。

28.根據條項22之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3a}為環丙基、環丁基或環戊基。

29.根據條項22之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3a}為環丙基，

30.根據條項22之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3a}為C_{3-6}環烷基，其中環烷基經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或鹵基之一或多者取代。

31.根據條項22之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3a}為C_{3-6}環烷基，其中環烷基經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、$-CH_3$、$-OCH_2CH_3$、$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$、F或Cl之一或多者取代。

32.根據條項22之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3a}為環丙基、環丁基或環戊基，其中之每一者經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$、F或Cl之一或多者取代。

33.根據條項22之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3a}為包含獨立選擇之N、S或O原子之一或兩者的4-6員雜環烷基。

34.根據條項22之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3a}為氮雜環丁烷基、氧雜環丁烷基、吡咯啶基、四氫呋喃基、嗎啉基、哌啶基、哌嗪基或硫代嗎啉基。

35.根據條項22之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3a}為氮雜環丁烷基或環氧乙烷基。

36.根據條項22之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3a}為包含獨立選擇之N、S或O原子之一或兩者的4-6員雜環烷基，其中雜環烷基經

獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或鹵基之一或多者取代。

37.根據條項22之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3a}為包含獨立選擇之N、S或O原子之一或兩者的4-6員雜環烷基，其中雜環烷基經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$、F或Cl之一或多者取代。

38.根據條項22之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3a}為氮雜環丁烷基、氧雜環丁烷基、吡咯啶基、四氫呋喃基、嗎啉基、哌啶基、哌嗪基或硫代嗎啉基，其中之每一者經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基之一或多者取代。

39.根據條項22之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3a}為氮雜環丁烷基、氧雜環丁烷基、吡咯啶基、四氫呋喃基、嗎啉基、哌啶基、哌嗪基或硫代嗎啉基，其中每一者經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$、F或Cl之一或多者取代。

40.根據條項22至39中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3b}為H。

41.根據條項22至39中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3b}為C_{1-4}烷基。

42.根據條項22至39中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3b}為$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$或$-CH(CH_3)_2$。

43.根據條項22至39之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3b}為C_{1-4}烷基，其中烷基未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基或C_{3-7}環烷基之一或多者取代，其中環烷基未經取代或經獨立選擇之鹵

基之一或多者取代。

44. 根據條項22至39中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3b}為C_{3-6}環烷基。

45. 根據條項22至39中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3b}為環丙基、環丁基或環戊基。

46. 根據條項22至39中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3b}為環丙基。

47. 根據條項22至39中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3b}為C_{3-6}環烷基，其中環烷基經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或鹵基之一或多者取代。

48. 根據條項22至39中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3b}為C_{3-6}環烷基，其中環烷基未經取代或經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$、F或Cl之一或多者取代。

49. 根據條項22至39中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3b}為環丙基、環丁基或環戊基，其中每一者經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$、F或Cl之一或多者取代。

50. 根據條項22至39中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3b}為包含獨立選擇之N、S或O原子之一或兩者的4-6員雜環烷基。

51. 根據條項22至39中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3b}為氮雜環丁烷基、氧雜環丁烷基、吡咯啶基、四氫呋喃基、嗎啉基、哌啶基、哌嗪基或硫代嗎啉基。

52. 根據條項22至39中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其

中R^{3b}為氮雜環丁烷基或環氧乙烷基。

53. 根據條項22至39中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3b}為包含獨立選擇之N、S或O原子之一或兩者的4-6員雜環烷基，其中雜環烷基經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或鹵基之一或多者取代。

54. 根據條項22至39中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3b}為包含獨立選擇之N、S或O原子之一或兩者的4-6員雜環烷基，其中雜環烷基經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$、F或Cl之一或多者取代。

55. 根據條項22至39中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3b}為氮雜環丁烷基、氧雜環丁烷基、吡咯啶基、四氫呋喃基、嗎啉基、哌啶基、哌嗪基或硫代嗎啉基，其中每一者經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基之一或多者取代。

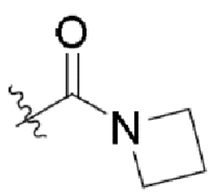
56. 根據條項22至39中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3b}為氮雜環丁烷基、氧雜環丁烷基、吡咯啶基、四氫呋喃基、嗎啉基、哌啶基、哌嗪基或硫代嗎啉基，其中每一者經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$、F或Cl之一或多者取代。

57. 根據條項1至15中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^2為$-C(=O)NH_2$、$-C(=O)N(CH_3)_2$或$-C(=O)NHCH_3$。

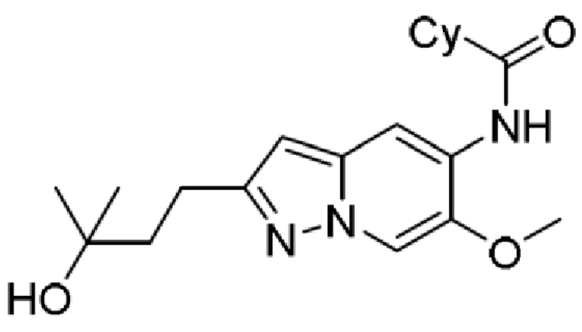
58. 根據條項1至15中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^2為$-C(=O)NH_2$。

59. 根據條項22之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3a}及R^{3b}與

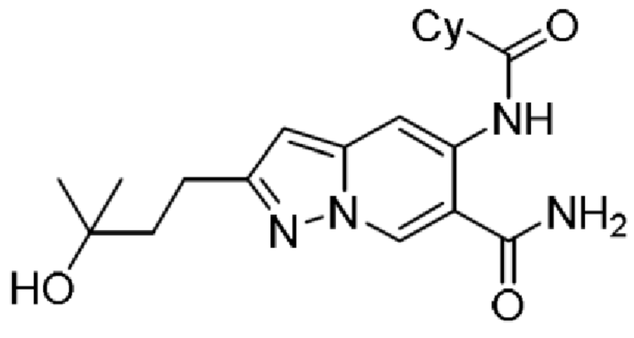
其所連接之N原子一起可形成4-6員單環雜環烷基。

60. 根據條項1至15中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^2為  。

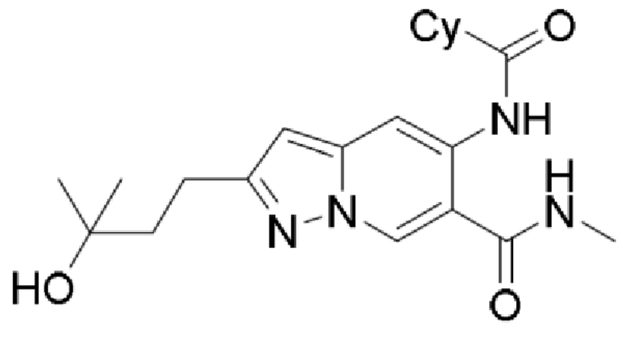
61. 根據條項1之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中本發明化合物係根據式IIIa、IIIb或IIIc：



IIIa、

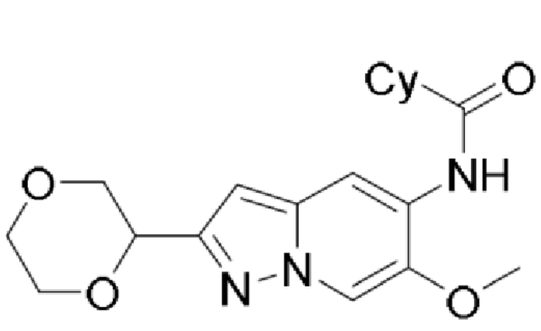


IIIb、

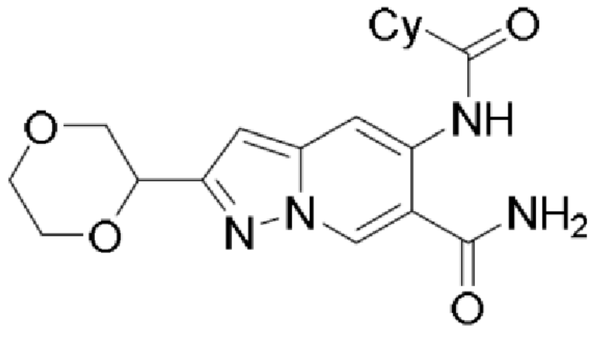


IIIc。

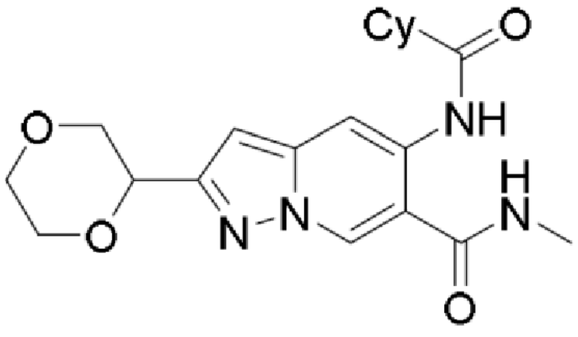
62. 根據條項1之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中本發明化合物為式Iva、IVb或IVc：



IVa、



IVb、



IVc。

63. 根據條項1至62中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中Cy為經獨立選擇之R^4取代基之一或兩者取代之包含1或2個N原子的6員雜芳基。

64. 根據條項1至62中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中Cy為吡啶基或吡嗪基，其中之每一者經獨立選擇之R^4取代基之一或兩者取代。

65. 根據條項1至62中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中Cy為經獨立選擇之R^4取代基之一或兩者取代之吡啶基。

66. 根據條項63、64或65之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^4

為側氧基。

67. 根據條項63、64或65之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^4為-OH。

68. 根據條項63、64或65之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^4為-CN。

69. 根據條項63、64或65之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^4為鹵基。

70. 根據條項63、64或65之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^4為F或Cl。

71. 根據條項63、64或65之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^4為未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代之C_{1-4}烷基。

72. 根據條項63、64或65之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^4為$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$或$-CH(CH_3)_2$，其中每一者未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代。

73. 根據條項63、64或65之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^4為未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代之C_{1-4}烷氧基。

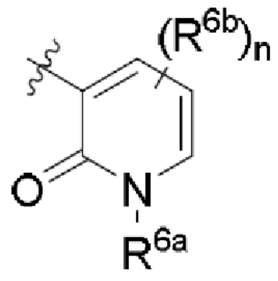
74. 根據條項63、64或65之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^4為$-OCH_3$、$-OCH_2-CH_3$或$-OCH(CH_3)_2$，其中每一者未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代。

75. 根據條項63、64或65之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^4為未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代之C_{3-7}環烷

基。

76. 根據條項63、64或65之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中各R^4獨立地選自側氧基、-OH、-CN、F、Cl、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-CH(CH_3)_2$、$-CF_3$、$-CHF_3$、$-CH_2CF_3$、$-CH_2CN$、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2-CN$、$-O-CH_2-CH_3$、環丙基、環丁基、經獨立選擇之F或-CN之一或兩者取代之環丙基、經獨立選擇之F、-OH或-CN之一或兩者取代之環丁基。

77. 根據條項1、14、15、61或62之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中Cy為：



Cy_1

其中

R^{6a}為

a) C_{1-4}烷基，其未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代，或

b) C_{3-7}環烷基，其未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代；

R^{6b}為

a) -OH，

b) -CN，

c) 鹵基，

d) C_{1-4}烷基，其未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代，

e) C_{1-4}烷氧基，其未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一

或多者取代，或

f) C_{3-7}環烷基，其未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代；及

下標n為0、1或2。

78.根據條項77之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{6b}為-CN、-OH、F、Cl、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-CH(CH_3)_2$、$-CF_3$、$-CHF_3$、$-CH_2CF_3$、$-CH_2CN$、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2-CN$、$-OCH_3$、$-OCH_2-CH_3$、 環丙基、環丁基、經獨立選擇之F或-CN之一或兩者取代之環丙基、經獨立選擇之F、-OH或-CN之一或兩者取代之環丁基。

79.根據條項77之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{6b}為F、Cl、$-CH_3$、$-CF_3$、$-CHF_2$或$-OCH_3$。

80.根據條項77之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{6b}為F。

81.根據條項77至80中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中下標n為1。

82.根據條項77之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中下標n為0。

83.根據條項77至82中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{6a}為$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-CH(CH_3)_2$、$-CF_3$、$-CHF_3$、$-CH_2CF_3$、$-CH_2CN$、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2-CN$、環丙基、環丁基、經獨立選擇之F或-CN之一或兩者取代之環丙基、經獨立選擇之F、-OH或-CN之一或兩者取代之環丁基。

84. 根據條項77至82中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{6a}為$-CH_3$、$-CF_3$、$-CHF_2$、環丙基或環丁基。

85.根據條項77至82中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其

中R^{6a}為-CH_3或環丙基。

86. 根據條項77至82中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{6a}為環丙基。

醫藥組合物

【0151】 當用作醫藥時，本發明化合物通常以醫藥組合物形式投與。此類組合物可以醫藥領域中熟知之方式製備且包含至少一種式I之本發明之活性化合物。一般而言，本發明化合物以醫藥學上有效之量投與。實際上投與之本發明化合物之量通常將由醫師根據相關情況來判定，該等情況包括待治療之病狀、所選投與途徑、投與之實際本發明之化合物、個體患者之年齡、體重及反應，患者症狀之嚴重程度及其類似情況。

【0152】 本發明之醫藥組合物可藉由多種途徑投與，包括經口、經直腸、經皮、皮下、關節內、靜脈內、肌肉內及鼻內。視預期遞送途徑而定，本發明化合物較佳調配為可注射或經口組合物，或均用於經皮投與之油膏、洗劑或貼片。

【0153】 用於經口投與之組合物可採取散裝液體溶液或懸浮液或散裝粉末之形式。然而，組合物更通常以單位劑型存在以有助於精確給藥。術語『單位劑型』係指適用作人類個體及其他哺乳動物之單位劑量的物理離散單元，各單位含有經計算以產生所要治療效果的預定量之活性材料，其與適合醫藥賦形劑、媒劑或載劑結合。典型單位劑型包括液體組合物之預填充、預量測安瓿或注射器或固體組合物情形下之丸劑、錠劑、膠囊或其類似物。在此類組合物中，根據式I之本發明化合物通常為次要組分(約0.1至約50重量%或較佳約1至約40重量%)，其餘部分為有助於形成所需給藥形式之各種媒劑或載劑及加工助劑。

【0154】 適於經口投與之液體形式可包括適合水性或非水性媒劑與緩衝劑、懸浮劑及分散劑、著色劑、調味劑及其類似物。固體形式可包括(例如)以下成分或具有類似性質之本發明化合物中之任一者：黏合劑，諸如微晶纖維素、黃蓍膠或明膠；賦形劑，諸如澱粉或乳糖；崩解劑，諸如褐藻酸、澱粉羥基乙酸鈉(Primogel)或玉米澱粉；潤滑劑，諸如硬脂酸鎂；滑動劑，諸如膠態二氧化矽；甜味劑，諸如蔗糖或糖精；或調味劑，諸如胡椒薄荷或橙味調味劑。

【0155】 可注射組合物通常基於可注射無菌生理食鹽水或磷酸鹽緩衝生理食鹽水或此項技術中已知的其他可注射載劑。如前所述，此類組合物中之根據式I之本發明活性化合物通常為次要組分，通常為約0.05至10重量%，其餘部分為可注射載劑及其類似物。

【0156】 經皮組合物通常調配為含有通常約0.01重量%至約20重量%，較佳約0.1重量%至約20重量%，較佳約0.1重量%至約10重量%且更佳約0.5重量%至約15重量%之量的活性成份之局部軟膏或乳膏。當調配為軟膏時，活性成分通常將與石蠟或水可混溶性軟膏基劑組合。可替代地，活性成分可與例如水包油乳膏基劑在乳膏中調配。此類經皮調配物為此項技術中熟知的且一般包括額外成分以增強活性成分或調配物之真皮穿透穩定性。所有此類已知經皮調配物及成分均包括在本發明範疇內。

【0157】 本發明化合物亦可藉由經皮裝置投與。因此，經皮投與可使用儲集層型或多孔膜型或固體基質類貼片來實現。

【0158】 上文所述之用於可經口投與、可注射或可表面投與組合物之組分僅為代表性的。其他材料以及加工技術及其類似物闡述於Remington's Pharmaceutical Sciences, 第17版, 1985, Mack Publishing

Company, Easton, Pennsylvania之第8部分，其以引用的方式併入本文中。(1985)

【0159】本發明化合物亦可以持續釋放形式投與或自持續釋放藥物遞送系統投與。代表性持續釋放材料之描述可見於Remington's Pharmaceutical Sciences。(1985)

【0160】以下調配實例說明可根據本發明製備之代表性醫藥組合物。然而，本發明不限於以下醫藥組合物。

調配物1-錠劑

【0161】式I之本發明化合物可以乾燥粉末形式與無水明膠黏合劑以約1:2重量比混合。可添加少量硬脂酸鎂作為潤滑劑。混合物可在製錠機中形成為240-270 mg錠劑(每粒錠劑80-90 mg式I之本發明活性化合物)。

調配物2-膠囊

【0162】式I之本發明化合物可以乾燥粉末形式與澱粉稀釋劑以約1:1重量比混合。可將混合物填充至250 mg膠囊(每粒膠囊125 mg式I之本發明活性化合物)。

調配物3-液體

【0163】式I之本發明化合物(125 mg)可與蔗糖(1.75 g)及黃原膠(4 mg)混合，且可將所得混合物摻合，穿過美國篩第10號篩孔，且接著與先前製得之微晶纖維素及羧甲基纖維素鈉溶液(11:89，50 mg)混合於水中。苯甲酸鈉(10 mg)、調味劑及著色劑可用水稀釋且在攪拌下添加。隨後可在攪拌下添加足夠水。隨後可添加更多足夠水以產生5 mL之總體積。

調配物4-錠劑

【0164】式I之本發明化合物可以乾燥粉末形式與無水明膠黏合劑以

約1:2重量比混合。可添加少量硬脂酸鎂作為潤滑劑。混合物可在製錠機中形成為450-900 mg錠劑(每粒錠劑150-300 mg式I之本發明活性化合物)。

調配物5-注射劑

【0165】 式I之本發明化合物可溶解或懸浮於緩衝無菌鹽水可注射水性介質中，達到大約5 mg/mL之濃度。

調配物6-局部

【0166】 硬脂醇(250 g)及白石蠟脂(250 g)可在約75ºC下熔融，且隨後可添加根據式I之本發明化合物(50 g)、對羥基苯甲酸甲酯(0.25 g)、對羥基苯甲酸丙酯(0.15 g)、月桂基硫酸鈉(10 g)及丙二醇(120 g)溶解於水(約370 g)中之混合物，且可攪拌所得混合物直至其凝結。

治療方法

【0167】 在一個實施例中，本發明提供本發明化合物或包含本發明化合物之醫藥組合物，其用於藥品中。在一特定實施例中，本發明提供本發明化合物或包含本發明化合物之醫藥組合物，其用於預防及/或治療發炎疾病、自體免疫疾病、疼痛、纖維化及/或增生性疾病。

【0168】 在另一實施例中，本發明提供本發明化合物或包含本發明化合物之醫藥組合物，其用於製造用以預防及/或治療發炎疾病、自體免疫疾病、疼痛、纖維化及/或增生性疾病之藥物。

【0169】 在額外治療方法態樣中，本發明提供預防及/或治療罹患發炎疾病、自體免疫疾病、疼痛、纖維化及/或增生性疾病之哺乳動物的方法，該等方法包含投與有效量之本文所描述之本發明化合物或一或多種醫藥組合物以供治療或預防該病狀。

【0170】在一個實施例中，本發明提供包含本發明化合物之醫藥組合物及另一治療劑。在一特定實施例中，另一治療劑為用於預防及/或治療發炎疾病、自體免疫疾病、疼痛、纖維化及/或增生性疾病之藥劑。

【0171】在一個實施例中，本發明提供本發明化合物或包含本發明化合物之醫藥組合物，其用於預防及/或治療發炎疾病。在一特定實施例中，發炎疾病係選自類風濕性關節炎、骨關節炎、幼年特發性關節炎、牛皮癬、牛皮癬性關節炎、僵直性脊椎炎、過敏性氣管疾病(例如哮喘、鼻炎)、慢性阻塞性肺病(COPD)、發炎性腸病(例如克羅恩氏病、潰瘍性結腸炎)、內毒素驅動型疾病病況(例如在繞道手術之後的併發症或引起例如慢性心臟衰竭之慢性內毒素病況)及涉及軟骨之相關疾病，諸如關節之軟骨。更特定言之，發炎疾病為類風濕性關節炎、牛皮癬或幼年特發性關節炎。

【0172】在另一實施例中，本發明提供本發明化合物或包含本發明化合物之醫藥組合物，其用於製造用於預防及/或治療發炎疾病之藥劑。在一特定實施例中，發炎疾病係選自類風濕性關節炎、骨關節炎、幼年特發性關節炎、牛皮癬、牛皮癬性關節炎、僵直性脊椎炎、過敏性氣管疾病(例如哮喘、鼻炎)、慢性阻塞性肺病(COPD)、發炎性腸病(例如克羅恩氏病、潰瘍性結腸炎)、內毒素驅動型疾病病況(例如在繞道手術之後的併發症或引起例如慢性心臟衰竭之慢性內毒素病況)及涉及軟骨之相關疾病，諸如關節之軟骨。更特定言之，發炎疾病為類風濕性關節炎、牛皮癬或幼年特發性關節炎。

【0173】在額外治療方法態樣中，本發明提供預防及/或治療罹患發炎疾病之哺乳動物的方法，該等方法包含投與有效量之本文所述之本發明

化合物或一或多種醫藥組合物用於治療或預防該病狀。在一特定實施例中，發炎疾病係選自類風濕性關節炎、骨關節炎、幼年特發性關節炎、牛皮癬、牛皮癬性關節炎、僵直性脊椎炎、過敏性氣管疾病(例如哮喘、鼻炎)、慢性阻塞性肺病(COPD)、發炎性腸病(例如克羅恩氏病、潰瘍性結腸炎)、內毒素驅動型疾病病況(例如在繞道手術之後的併發症或引起例如慢性心臟衰竭之慢性內毒素病況)及涉及軟骨之相關疾病，諸如關節之軟骨。更特定言之，發炎疾病為類風濕性關節炎、牛皮癬或幼年特發性關節炎。

【0174】 在一個實施例中，本發明提供包含本發明化合物之醫藥組合物及另一治療劑。在一特定實施例中，另一治療劑為發炎疾病治療劑。在一特定實施例中，發炎疾病係選自類風濕性關節炎、骨關節炎、幼年特發性關節炎、牛皮癬、牛皮癬性關節炎、僵直性脊椎炎、過敏性氣管疾病(例如哮喘、鼻炎)、慢性阻塞性肺病(COPD)、發炎性腸病(例如克羅恩氏病、潰瘍性結腸炎)、內毒素驅動型疾病病況(例如在繞道手術之後的併發症或引起例如慢性心臟衰竭之慢性內毒素病況)及涉及軟骨之相關疾病，諸如關節之軟骨。更特定言之，發炎疾病為類風濕性關節炎、牛皮癬或幼年特發性關節炎。

【0175】 在一個實施例中，本發明提供本發明化合物或包含本發明化合物之醫藥組合物，其用於預防及/或治療自體免疫疾病。在一特定實施例中，自體免疫疾病係選自阻塞性氣管疾病，其包括諸如以下之病狀：COPD、哮喘(例如內源性哮喘、外源性哮喘、塵埃性哮喘、嬰兒哮喘)，尤其慢性或頑固性哮喘(例如遲發性哮喘及氣管過度反應)、支氣管炎(包括支氣管哮喘)、全身性紅斑狼瘡(SLE)、皮膚紅斑狼瘡、狼瘡性腎炎、皮

肌炎、休格連氏症候群(Sjögren's syndrome)、多發性硬化症、牛皮癬、乾眼病、I型糖尿病及與其相關之併發症、異位性濕疹(異位性皮膚炎)、甲狀腺炎(橋本氏甲狀腺炎及自體免疫甲狀腺炎)、接觸性皮炎及其他濕疹性皮炎、發炎性腸病(例如克羅恩氏病及潰瘍性結腸炎)、動脈粥樣硬化及肌肉萎縮性側索硬化。更特定言之，自體免疫疾病為全身性紅斑狼瘡。

【0176】 在另一實施例中，本發明提供本發明化合物或包含本發明化合物之醫藥組合物，其用於製造用以預防及/或治療自體免疫疾病之藥劑。在一特定實施例中，自體免疫疾病係選自阻塞性氣管疾病，其包括諸如以下之病狀：COPD、哮喘(例如內源性哮喘、外源性哮喘、塵埃性哮喘、嬰兒哮喘)，尤其慢性或頑固性哮喘(例如遲發性哮喘及氣管過度反應)、支氣管炎(包括支氣管哮喘)、全身性紅斑狼瘡(SLE)、皮膚紅斑狼瘡、狼瘡性腎炎、皮肌炎、休格連氏症候群、多發性硬化症、牛皮癬、乾眼病、I型糖尿病及與其相關之併發症、異位性濕疹(異位性皮膚炎)、甲狀腺炎(橋本氏甲狀腺炎及自體免疫甲狀腺炎)、接觸性皮炎及其他濕疹性皮炎、發炎性腸病(例如克羅恩氏病及潰瘍性結腸炎)、動脈粥樣硬化及肌肉萎縮性側索硬化。更特定言之，自體免疫疾病為全身性紅斑狼瘡。

【0177】 在額外治療方法態樣中，本發明提供預防及/或治療罹患自體免疫疾病之哺乳動物的方法，該等方法包含投與有效量之本文所述之本發明化合物或一或多種醫藥組合物用於治療或預防該病狀。在一特定實施例中，自體免疫疾病係選自阻塞性氣管疾病，其包括諸如以下之病狀：COPD、哮喘(例如內源性哮喘、外源性哮喘、塵埃性哮喘、嬰兒哮喘)，尤其慢性或頑固性哮喘(例如遲發性哮喘及氣管過度反應)、支氣管炎(包括支氣管哮喘)、全身性紅斑狼瘡(SLE)、皮膚紅斑狼瘡、狼瘡性腎炎、皮

肌炎、休格連氏症候群、多發性硬化症、牛皮癬、乾眼病、I型糖尿病及與其相關之併發症、異位性濕疹(異位性皮膚炎)、甲狀腺炎(橋本氏甲狀腺炎及自體免疫甲狀腺炎)、接觸性皮炎及其他濕疹性皮炎、發炎性腸病(例如克羅恩氏病及潰瘍性結腸炎)、動脈粥樣硬化及肌肉萎縮性側索硬化。更特定言之，自體免疫疾病為全身性紅斑狼瘡。

【0178】在一個實施例中，本發明提供包含本發明化合物之醫藥組合物及另一治療劑。在一特定實施例中，其他治療劑為自體免疫疾病治療劑。在一特定實施例中，自體免疫疾病係選自阻塞性氣管疾病，其包括諸如以下之病狀：COPD、哮喘(例如內源性哮喘、外源性哮喘、塵埃性哮喘、嬰兒哮喘)，尤其慢性或頑固性哮喘(例如遲發性哮喘及氣管過度反應)、支氣管炎(包括支氣管哮喘)、全身性紅斑狼瘡(SLE)、皮膚紅斑狼瘡、狼瘡性腎炎、皮肌炎、休格連氏症候群、多發性硬化症、牛皮癬、乾眼病、I型糖尿病及與其相關之併發症、異位性濕疹(異位性皮膚炎)、甲狀腺炎(橋本氏甲狀腺炎及自體免疫甲狀腺炎)、接觸性皮炎及其他濕疹性皮炎、發炎性腸病(例如克羅恩氏病及潰瘍性結腸炎)、動脈粥樣硬化及肌肉萎縮性側索硬化。更特定言之，自體免疫疾病為全身性紅斑狼瘡。

【0179】在一個實施例中，本發明提供本發明化合物或包含本發明化合物之醫藥組合物，其用於預防及/或治療疼痛。在特定實施例中，疼痛選自傷害感受性疼痛(例如內臟疼痛及/或軀體疼痛)、發炎性疼痛(與組織損傷及發炎性細胞浸潤相關)及神經性或功能異常疼痛(由神經系統之損傷或功能異常引起)及/或與本文中提及之病狀相關或由其引起之疼痛。更特定言之，疼痛為發炎性及/或神經性疼痛。

【0180】在另一實施例中，本發明提供本發明化合物或包含本發明

化合物之醫藥組合物，用於製造用於預防及/或治療疼痛的藥物。在特定實施例中，疼痛選自傷害感受性疼痛(例如內臟疼痛及/或軀體疼痛)、發炎性疼痛(與組織損傷及發炎性細胞浸潤相關)及神經性或功能異常疼痛(由神經系統之損傷或功能異常引起)及/或與本文中提及之病狀相關或由其引起之疼痛。更特定言之，疼痛為發炎性及/或神經性疼痛。

【0181】 在額外治療方法態樣中，本發明提供預防及/或治療罹患疼痛之哺乳動物的方法，該等方法包含投與有效量之本文所描述之本發明化合物或一或多種醫藥組合物用於治療或預防該病狀。在特定實施例中，疼痛選自傷害感受性疼痛(例如內臟疼痛及/或軀體疼痛)、發炎性疼痛(與組織損傷及發炎性細胞浸潤相關)及神經性或功能異常疼痛(由神經系統之損傷或功能異常引起)及/或與本文中提及之病狀相關或由其引起之疼痛。更特定言之，疼痛為發炎性及/或神經性疼痛。

【0182】 在一個實施例中，本發明提供包含本發明化合物之醫藥組合物及另一治療劑。在一特定實施例中，另一治療劑為疼痛治療劑。在特定實施例中，疼痛選自傷害感受性疼痛(例如內臟疼痛及/或軀體疼痛)、發炎性疼痛(與組織損傷及發炎性細胞浸潤相關)及神經性或功能異常疼痛(由神經系統之損傷或功能異常引起)及/或與本文中提及之病狀相關或由其引起之疼痛。更特定言之，疼痛為發炎性及/或神經性疼痛。

【0183】 在一個實施例中，本發明提供本發明化合物或包含本發明化合物之醫藥組合物，其用於預防及/或治療纖維化。在一特定實施例中，纖維化係選自全身性硬化症、特發性肺纖維化及其他形式之肺纖維化及間質性肺病、酒精性脂肪變性肝炎、非酒精性脂肪變性肝炎、腎纖維化及由於發炎性腸病之結腸纖維化。更特定言之，纖維化為硬皮病樣慢性移

植物抗宿主疾病。

【0184】 在另一實施例中，本發明提供本發明化合物或包含本發明化合物之醫藥組合物，其用於製造用於預防及/或治療纖維化之藥劑。在一特定實施例中，纖維化係選自全身性硬化症、特發性肺纖維化及其他形式之肺纖維化及間質性肺病、酒精性脂肪變性肝炎、非酒精性脂肪變性肝炎、腎纖維化及由於發炎性腸病之結腸纖維化。更特定言之，纖維化為硬皮病樣慢性移植物抗宿主疾病。

【0185】 在治療態樣之額外方法中，本發明提供預防及/或治療罹患纖維化之哺乳動物的方法，該等方法包含投與有效量之本文所描述之本發明化合物或一或多種醫藥組合物用於治療或預防該病狀。在一特定實施例中，纖維化係選自全身性硬化症、特發性肺纖維化及其他形式之肺纖維化及間質性肺病、酒精性脂肪變性肝炎、非酒精性脂肪變性肝炎、腎纖維化及由於發炎性腸病之結腸纖維化。更特定言之，纖維化為硬皮病樣慢性移植物抗宿主疾病。

【0186】 在一個實施例中，本發明提供包含本發明化合物之醫藥組合物及另一治療劑。在一特定實施例中，另一治療劑為纖維化治療劑。在一特定實施例中，纖維化係選自全身性硬化症、特發性肺纖維化及其他形式之肺纖維化及間質性肺病、酒精性脂肪變性肝炎、非酒精性脂肪變性肝炎、腎纖維化及由於發炎性腸病之結腸纖維化。更特定言之，纖維化為硬皮病樣慢性移植物抗宿主疾病。

【0187】 在一個實施例中，本發明提供本發明化合物或包含本發明化合物之醫藥組合物，其用於預防及/或治療增生性疾病。在一特定實施例中，增生性疾病係選自癌症(例如子宮平滑肌肉瘤或前列腺癌)、骨髓增

生病(例如真性紅血球增多症、原發性血小板增多及骨髓纖維化)、白血病(例如急性骨髓白血病、急性及慢性淋巴母細胞白血病)、多發性骨髓瘤、牛皮癬、再狹窄、硬皮病或纖維化。在一特定實施例中，增生性疾病為硬皮病樣慢性移植物抗宿主病(cGvHD)。

【0188】 在另一實施例中，本發明提供本發明化合物或包含本發明化合物之醫藥組合物，其用於製造用以預防及/或治療增生性疾病之藥物。在一特定實施例中，增生性疾病係選自癌症(例如子宮平滑肌肉瘤或前列腺癌)、骨髓增生病(例如真性紅血球增多症、原發性血小板增多及骨髓纖維化)、白血病(例如急性骨髓白血病、急性及慢性淋巴母細胞白血病)、多發性骨髓瘤、牛皮癬、再狹窄、硬皮病或纖維化。在一特定實施例中，增生性疾病為硬皮病樣慢性移植物抗宿主病(cGvHD)。

【0189】 在額外治療方法態樣中，本發明提供預防及/或治療罹患增生性疾病之哺乳動物的方法，該等方法包含投與有效量之本文所描述之本發明化合物或一或多種醫藥組合物用於治療或預防該病狀。在一特定實施例中，增生性疾病係選自癌症(例如子宮平滑肌肉瘤或前列腺癌)、骨髓增生病(例如真性紅血球增多症、原發性血小板增多及骨髓纖維化)、白血病(例如急性骨髓白血病、急性及慢性淋巴母細胞白血病)、多發性骨髓瘤、牛皮癬、再狹窄、硬皮病或纖維化。在一特定實施例中，增生性疾病為硬皮病樣慢性移植物抗宿主病(cGvHD)。

【0190】 在一個實施例中，本發明提供包含本發明化合物之醫藥組合物及另一治療劑。在一特定實施例中，另一治療劑為增生性疾病治療劑。在一特定實施例中，增生性疾病係選自癌症(例如子宮平滑肌肉瘤或前列腺癌)、骨髓增生病(例如真性紅血球增多症、原發性血小板增多及骨

髓纖維化)、白血病(例如急性骨髓白血病、急性及慢性淋巴母細胞白血病)、多發性骨髓瘤、牛皮癬、再狹窄、硬皮病或纖維化。在一特定實施例中，增生性疾病為硬皮病樣慢性移植物抗宿主病(cGvHD)。

【0191】 注射劑量範圍介於約0.1 mg/kg/h至至少10 mg/kg/h，全部持續約1至約120 h且尤其24至96 h。亦可投與約0.1 mg/kg至約10 mg/kg或更多預負載大丸劑以達到充分穩態水準。對於40 kg至80 kg人類患者，最大總劑量預期不超過約1公克/天。

【0192】 對於長期病狀(諸如退化性病狀)之預防及/或治療，治療方案通常延伸歷經多月或多年，因此經口給藥就患者便利性及耐受性而言較佳。就經口給藥而言，每天一至四次(1-4)規律給藥，尤其每天一至三次(1-3)規律給藥，通常每天一至兩次(1-2)規律給藥，且最通常每天一次(1)規律給藥為代表性方案。或者對於作用持續時間較長的藥物，就經口給藥而言，每隔一週一次、每週一次及一天一次為代表性方案。特定言之，給藥方案可為每1-14天，更特定言之1-10天，甚至更特定言之1-7天，且最特定言之1-3天。

【0193】 使用此等給藥模式，各劑量提供約1至約1000 mg本發明化合物，其中特定劑量各提供約10至約500 mg且尤其約30至約250 mg。

【0194】 通常選擇經皮給藥以提供與使用注射給藥所達成的血液濃度相比類似或更低的血液濃度。

【0195】 當用於預防病狀發作時，應通常根據醫師之建議且在醫師之監督下，以上文所述之劑量濃度向在罹患該病狀之風險下的患者投與本發明化合物。處於罹患特定病狀之風險下的患者通常包括具有該病狀之家族病史之彼等患者，或已藉由遺傳測試或篩檢經鑑別為尤其易於罹患該病

狀之彼等患者。

【0196】本發明化合物可作為單獨活性劑投與或可與其他治療劑(包括展現相同或類似治療活性及經測定此類組合投與安全且有效之本發明之其他化合物)組合投與。在特定實施例中，共投與兩種(或兩種以上)藥劑允許顯著降低各待使用藥劑之劑量，由此減輕所見副作用。

【0197】在一個實施例中，本發明化合物或包含本發明化合物之醫藥組合物作為藥劑投與。在一特定實施例中，該醫藥組合物另外包含另一活性成分。

【0198】在一個實施例中，本發明化合物與另一治療劑共投與用於治療及/或預防涉及發炎之疾病，特定藥劑包括但不限於免疫調節劑(例如硫唑嘌呤(azathioprine))、皮質類固醇(例如潑尼龍(prednisolone)或地塞米松(dexamethasone))、環磷醯胺(cyclophosphamide)、環孢素A(cyclosporin A)、他克莫司(tacrolimus)、黴酚酸酯(mycophenolate)、莫非替克(mofetil)、莫羅莫那-CD3 (muromonab-CD3) (OKT3，例如Orthocolone®)、ATG、阿司匹林(aspirin)、乙醯胺苯酚(acetaminophen)、布洛芬(ibuprofen)、萘普生(naproxen)及吡羅昔康(piroxicam)。

【0199】在一個實施例中，本發明之化合物與用於治療及/或預防關節炎(例如類風濕性關節炎)之另一治療劑共投與，特定藥劑包括但不限於鎮痛劑、非類固醇消炎藥(NSAIDS)、類固醇、合成DMARDS (例如但不限於甲胺喋呤(methotrexate)、來氟米特(leflunomide)、柳氮磺胺吡啶(sulfasalazine)、金諾芬(auranofin)、金硫蘋果酸鈉(sodium aurothiomalate)、青黴胺(penicillamine)、氯奎、羥基氯奎、硫唑嘌呤、

托法替尼(tofacitinib)、巴瑞替尼(baricitinib)、福他替尼(fostamatinib)及環孢素)及生物DMARDS (例如但不限於英利昔單抗(infliximab)、依那西普(etanercept)、阿達木單抗(adalimumab)、利妥昔單抗(rituximab)及阿巴西普(abatacept))。

【0200】 在一個實施例中，本發明化合物與另一治療劑共投與以用於治療及/或預防增生性病症，特定藥劑包括但不限於：甲胺喋呤、亞葉酸、阿德力黴素(adriamycin)、潑尼松、博萊黴素(bleomycin)、環磷醯胺、5-氟尿嘧啶、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、多烯紫杉醇(docetaxel)、長春新鹼(vincristine)、長春鹼(vinblastine)、長春瑞濱(vinorelbine)、小紅莓(doxorubicin)、他莫昔芬(tamoxifen)、托瑞米芬(toremifene)、乙酸甲地孕酮、阿那曲唑(anastrozole)、戈舍瑞林(goserelin)、抗HER2單株抗體(例如Herceptin™)、卡培他濱(capecitabine)、雷諾昔酚(raloxifene)鹽酸鹽、EGFR抑制劑(例如，Iressa®、Tarceva™、Erbitux™)、VEGF抑制劑(例如Avastin™)、蛋白酶體抑制劑(例如Velcade™)、Glivec®及hsp90抑制劑(例如17-AAG)。另外，根據式I之本發明化合物可與其他療法組合投與，該等療法包括但不限於放射線療法或手術。在一特定實施例中，增生性病症係選自癌症、骨髓增生性疾病或白血病。

【0201】 在一個實施例中，本發明化合物與用於治療及/或預防自體免疫性疾病之另一治療劑共投與，特定藥劑包括但不限於：糖皮質激素、細胞生長抑制劑(例如嘌呤類似物)、烷基化劑(例如氮芥(環磷醯胺)、亞硝基脲、本發明之鉑化合物及其他)、抗代謝物(例如甲胺喋呤、硫唑嘌呤及巯基嘌呤)、細胞毒性抗生素(例如放線菌素D蒽環黴素、絲裂黴素C、博萊黴素及光神黴素(mithramycin))、抗體(例如抗CD20、抗CD25或抗CD3

(OTK3)單株抗體、Atgam®及Thymoglobuline®)、環孢素、他克莫司(tacrolimus)、雷帕黴素(rapamycin)(西羅莫司(sirolimus))、干擾素(例如IFN-β)、TNF結合蛋白(例如英利昔單抗、依那西普或阿達木單抗)、黴酚酸酯(mycophenolate)、芬戈莫德(fingolimod)及多球殼菌素(myriocin)。

【0202】在一個實施例中，本發明之化合物與用於治療及/或預防移植排斥之另一治療劑共投與，特定藥劑包括但不限於：鈣調神經磷酸酶抑制劑(例如環孢素或他克莫司(FK506))、mTOR抑制劑(例如西羅莫司、依維莫司(everolimus))、抗增生劑(例如硫唑嘌呤、黴酚酸)、皮質類固醇(例如潑尼龍、氫化可的松(hydrocortisone))、抗體(例如單株抗IL-2Rα受體抗體、巴利昔單抗(basiliximab)、達利珠單抗(daclizumab))、多株抗T細胞抗體(例如抗胸腺細胞球蛋白(ATG)、抗淋巴細胞球蛋白(ALG))。

【0203】在一個實施例中，本發明化合物與另一治療劑共投與以用於治療及/或預防哮喘及/或鼻炎及/或COPD，特定藥劑包括但不限於：β2-腎上腺素受體促效劑(例如，沙丁胺醇(salbutamol)、左旋沙丁胺醇(levalbuterol)、特布他林(terbutaline)及比托特羅(bitolterol))、腎上腺素(吸入或錠劑)、抗膽鹼激導性劑(例如異丙托溴銨(ipratropium bromide))、糖皮質激素(經口或吸入)。長效β2-促效劑(例如，沙美特羅(salmeterol)、福莫特羅(formoterol)、班布特羅(bambuterol)及延釋經口沙丁胺醇)、吸入類固醇與長效支氣管擴張劑之組合(例如，氟替卡松(fluticasone)/沙美特羅、布地奈德(budesonide)/福莫特羅)、白三烯拮抗劑與合成抑制劑(例如，孟魯司特(montelukast)、紮魯司特(zafirlukast)及齊留通(zileuton))之組合、介體釋放之抑制劑(例如，色甘酸鹽及酮替芬(ketotifen))、IgE反應之生物調節劑(例如奧馬珠單抗(omalizumab))、抗

組織胺(例如，西替利嗪(ceterizine)、辛那伶(cinnarizine)、菲索芬那定(fexofenadine))及血管收縮劑(例如，氧甲唑啉(oxymethazoline)、賽洛唑啉(xylomethazoline)、萘甲唑林(nafazoline)及曲馬唑啉(tramazoline))。

【0204】另外，本發明化合物可與哮喘及/或COPD之緊急療法組合投與，此類療法包括氧氣或氦氧混合氣投與、霧化沙丁胺醇或特布他林(視情況與抗膽鹼激導性劑(例如異丙托溴銨(ipratropium))組合)、全身性類固醇(經口或靜脈內，例如潑尼松、潑尼松龍、甲基潑尼松龍、地塞米松或氫皮質酮)、靜脈內沙丁胺醇、非特異性β促效劑、注射或吸入劑(例如，腎上腺素、異他林(isoetharine)、異丙腎上腺素、間羥異丙腎上腺素)、抗膽鹼激導性劑(IV或霧化，例如格隆溴銨(glycopyrrolate)、阿托品(atropine)、異丙托溴銨)、甲基黃嘌呤(茶鹼、胺茶鹼、苄胺茶鹼(bamiphylline))、具有支氣管擴張效果之吸入麻醉劑(例如，異氟醚(isoflurane)、氟烷(halothane)、安氟醚(enflurane))、氯胺酮(ketamine)及靜脈內硫酸鎂。

【0205】在一個實施例中，本發明化合物係與用於治療及/或預防發炎性腸病(IBD)之另一治療劑共投與，特定藥劑包括但不限於：糖皮質激素(例如潑尼松、布地奈德)；緩解疾病之合成免疫調節劑(例如甲胺喋呤、來氟米特(leflunomide)、柳氮磺胺吡啶(sulfasalazine)、美沙拉嗪(mesalazine)、硫唑嘌呤、6-巰基嘌呤及環孢素)及緩解疾病之生物免疫調節劑(英利昔單抗、阿達木單抗、利妥昔單抗及阿巴西普)。

【0206】在一個實施例中，本發明化合物與另一治療劑共投與以用於治療及/或預防SLE，特定藥劑包括但不限於：人類單株抗體(貝利單抗(belimumab) (Benlysta))；緩解疾病的抗風濕性藥物(DMARD)，諸如抗

瘧疾藥(例如氯奎寧(plaquenil)、羥基氯奎)、免疫抑制劑(例如甲胺喋呤及硫唑嘌呤)、環磷醯胺及黴酚酸；免疫抑制性藥物及鎮痛劑，諸如非類固醇消炎藥、鴉片劑(例如右旋丙氧吩(dextropropoxyphene)及可待醇(co-codamol))、類鴉片(例如氫可酮(hydrocodone)、氧可酮(oxycodone)、美施康定(MS Contin)或美沙酮(methadone))及芬太尼多瑞吉(fentanyl duragesic)經皮貼片。

【0207】在一個實施例中，本發明化合物與另一治療劑共投與以用於治療及/或預防牛皮癬，特定藥劑包括但不限於：局部治療劑，諸如浴液、保濕霜、含有柏油之藥用乳霜及軟膏、地蒽酚(dithranol) (蒽三酚(anthralin))、皮質類固醇，如去羥米松(desoximetasone) (Topicort™)、氟西奈德(fluocinonide)、維生素D3類似物(例如鈣泊三醇(calcipotriol))、摩洛哥堅果油(argan oil)及類視黃素(依曲替酯(etretinate)、阿曲汀(acitretin)、他紮羅汀(tazarotene))；全身性治療劑，諸如甲胺喋呤、環孢黴素、類視黃素、硫鳥嘌呤、羥基脲、柳氮磺胺吡啶、黴酚酸嗎啉乙酯、硫唑嘌呤、他克莫司、反丁烯二酸酯或生物製劑，諸如Amevive™、Enbrel™、Humira™、Remicade™、Raptiva™及優西努單抗(ustekinumab) (IL-12及IL-23阻斷劑)。另外，本發明之化合物可與其他療法組合投與，該等療法包括但不限於光療法或光化學療法(例如補骨脂素(psoralen)及紫外線A光療法(PUVA))。

【0208】在一個實施例中，本發明化合物與另一治療劑共投與用於治療及/或預防過敏性反應，特定藥劑包括但不限於：抗組織胺(例如西替利嗪、苯海拉明(diphenhydramine)、菲索芬那定、左旋西替利嗪(levocetirizine))、糖皮質激素(例如潑尼松、倍他米松(betamethasone)、

倍氯米松(beclomethasone)、地塞米松)、腎上腺素、茶鹼或抗白三烯劑(例如孟魯司特(montelukast)或紮魯司特(zafirlukast))、抗膽鹼激導性劑及解充血劑。

【0209】 如熟習此項技術者將顯而易見，共投與包括作為同一治療方案之部分向患者遞送兩種或更多種治療劑之任何方式。儘管兩種或更多種藥劑可在單個調配物中同時投與(亦即作為單個醫藥組合物)，此並非必需的。藥劑可在不同調配物中且在不同時間投與。

化學合成程序

總則

【0210】 本發明化合物可使用以下通用方法及程序自容易獲得之起始物質製備。應瞭解，除非另外規定，否則當給定典型或較佳製程條件(亦即反應溫度、時間、反應物之莫耳比、溶劑、壓力等)時，亦可使用其他製程條件。最佳反應條件可隨所用特定反應物或溶劑而變化，但此類條件可由熟習此項技術者藉由常規最佳化程序確定。

【0211】 此外，如熟習此項技術者將顯而易知，習知保護基可為防止某些官能基進行非所要反應所必需的。選擇適用於特定官能基之保護基以及適用於保護及脫除保護基之條件為此項技術中所熟知(Greene, T W; Wuts, P G M;, 1991)。

【0212】 關於製備如上文所定義之本發明化合物及比較實例詳細呈現以下方法。本發明化合物可由熟習有機合成技術者已知或市售起始物質及試劑來製備。

【0213】 除非另外陳述，否則所有試劑均為商品級且未經進一步純化即按原樣使用。在惰性氛圍下進行之反應使用市售無水溶劑。除非另外

說明，否則所有其他情況下均使用試劑級溶劑。管柱層析在矽膠60 (35-70 μm)上進行。使用預先塗佈之矽膠F-254板(0.25 mm厚)進行薄層層析。舉例而言在Bruker DPX 400 NMR光譜儀(400 MHz)或Bruker Advance 300 NMR光譜儀(300 MHz)上記錄^{1}H NMR光譜。^{1}H NMR光譜之化學位移(δ)以相對於作為內部參考之四甲基矽烷(δ 0.00)或適當殘餘溶劑峰，亦即$CHCl_3$ (δ 7.27)之百萬分率(ppm)報導。多峰性以單峰(s)、二重峰(d)、三重峰(t)、四重峰(q)、五重峰(quin)、多重峰(m)及寬峰(br)形式給出。電噴霧MS光譜在Waters平台LC/MS光譜儀上或使用與Waters質量偵測器3100光譜儀耦接之Waters Acquity H-Class UPLC獲得。所用管柱：Waters Acquity UPLC BEH C18 1.7 μm，2.1 mm ID×50 mm L，Waters Acquity UPLC BEH C18 1.7 μm, 2.1 mm ID×30 mm L，或Waters Xterra MS 5 μm C18，100×4.6 mm。方法為使用MeCN/H_2O梯度(含有0.1% TFA或0.1% NH_3之H_2O)或MeOH/H_2O梯度(含有0.05% TFA之H_2O)。使用Biotage引發器進行微波加熱。

表I.實驗部分所用之縮寫清單：

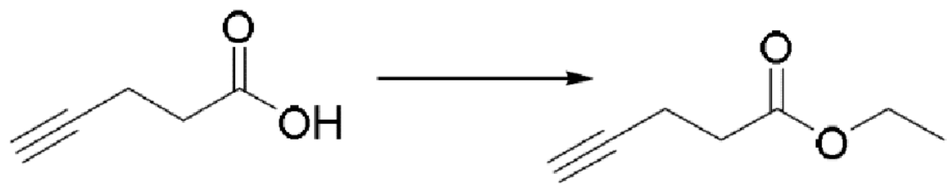
縮寫	定義
AcOH	乙酸
aq.	水溶液
atm	大氣壓
BINAP	(+/-)-2,2'-雙(二苯膦基)-1,1'-聯萘
Boc	第三丁氧基-羰基
br	寬峰信號
BSA	牛血清白蛋白
calc	計算
cpd	化合物
d	二重峰
δ	化學位移
DCM	二氯甲烷
DIPEA	二異丙基乙胺
DMAP	二甲胺基吡啶
DMF	二甲基甲醯胺
DMSO	二甲基亞碸
DTT	二硫蘇糖醇
EDCI	*N*-(3-二甲胺基丙基)-*N*′-乙基碳化二亞胺鹽酸鹽
EDTA	乙二胺四乙酸
eq.	等效
ES-	電噴霧陰性
ES+	電噴霧陽性
Et_2O	二乙醚
EtOAc	乙酸乙酯
EtOH	乙醇
g	公克
h	小時
HATU	1-[雙(二甲胺基)亞甲基]-1H-1,2,3-三 唑 并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化物六氟磷酸酯
HPLC	高效液相層析
Hz	赫茲
Int	中間物
iPrOH	異丙醇
LiOMe	甲醇鋰
LiOtBu	第三丁醇鋰
m	多重峰
MeCN	乙腈
MeOH	甲醇
mg	毫克

縮寫	定義
MgOAc	乙酸鎂
MHz	兆赫茲
min	分鐘
mL	毫升
mmol	毫莫耳
mol	莫耳
MS	質譜分析
MW	分子量
N	常態
$NaBH(OAc)_3$	三乙醯氧基硼氫化鈉
NaOtBu	第三丁醇鈉
NBS	*N*-溴丁二醯亞胺
ND	未測定
NMR	核磁共振
Obs	觀測到
PBS	磷酸鹽緩衝生理食鹽水
PBST	含Tween 20之磷酸鹽緩衝鹽水
$Pd(OAc)_2$	二乙酸鈀
Pd/C	鈀/碳
ppm	百萬分率
q	四重峰
quin	五重峰
r.t.	室溫
s	單峰
sat.	飽和的
SEM	平均值之標準誤差
t	三重峰
TEA	三乙胺
TFA	三氟乙酸
THF	四氫呋喃
UPLC	超效液相層析

本發明化合物之合成製備

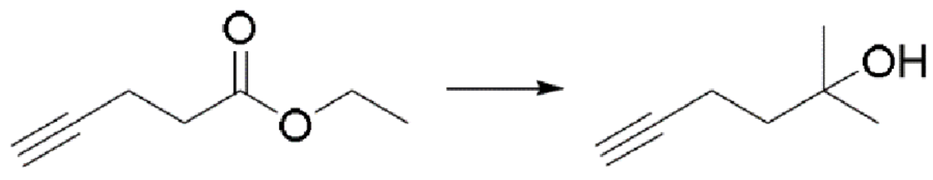
實例1.製備針對說明性本發明化合物之中間物

1.1.　　中間物1:戊-4-炔酸乙酯



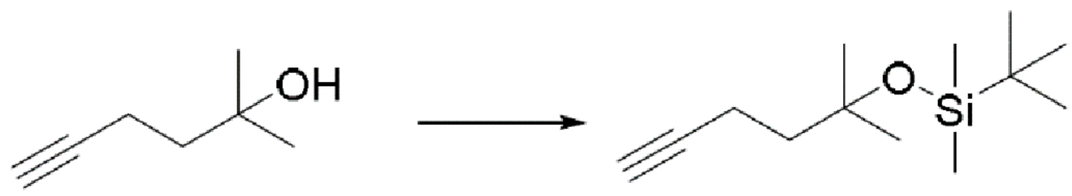
【0214】 將10 mL濃硫酸添加至戊-4-炔酸(10.0 g，102.0 mmol)於EtOH(110 mL)中之溶液中。在室溫下攪拌反應物隔夜。混合物用H_2O(250 mL)及5% 於H_2O中之NaOH(25 mL)稀釋且用Et_2O(3×200 mL)萃取。將有機層乾燥(經由疏水性玻璃料過濾)且濃縮，得到所要產物。

1.2.　　中間物2：2-甲基己-5-炔-2-醇



【0215】 在-78℃下將戊-4-炔酸乙酯(5.00 g，39.6 mmol，1.0當量)於無水Et_2O(24.0 mL)中之溶液逐滴添加至3 M溴化甲基鎂於Et_2O(27.7 mL，83.2 mmol，2.1當量)中之混合物中，稀釋於無水Et_2O(50.0 mL)中。在-78℃下攪拌反應混合物1 h，且隨後使其升溫至室溫持續30 min之時段。混合物用NH_4Cl(飽和溶液，80 mL)及水(20 mL)淬滅且用Et_2O(3×50 mL)萃取。將有機層乾燥且減壓濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至70:30環己烷/EtOAc)純化殘餘物，得到所需產物。

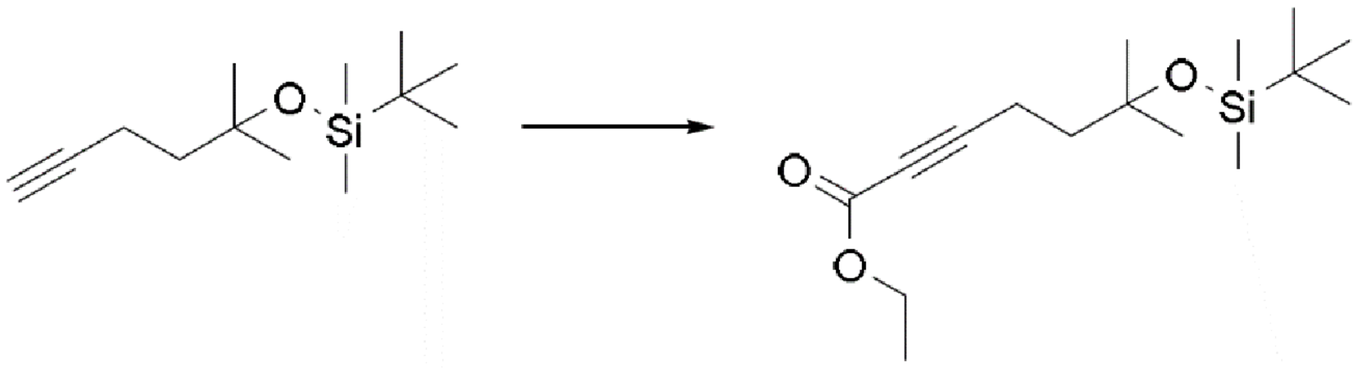
1.3.　　中間物3：第三丁基-(1,1-二甲基戊-4-炔氧基)-二甲基-矽烷



【0216】 將[第三丁基(二甲基)矽烷基]三氟甲烷磺酸酯(5.6 g，21.2 mmol，1.25當量)添加至2-甲基己-5-炔-2-醇(1.9 g，16.9 mmol，1.0當量)及吡啶(3.41 mL，42.3 mmol，2.5當量)於DCM(40 mL)中之溶液中。

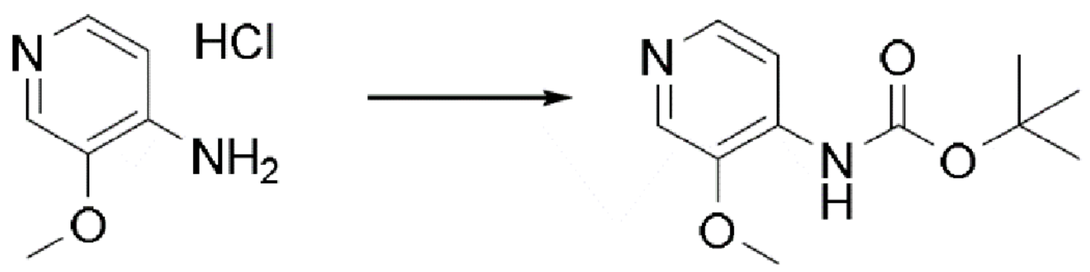
在室溫下攪拌反應混合物2小時。用飽和$NaHCO_3$水溶液處理混合物。混合物用DCM萃取。乾燥(Na_2SO_4)有機層，過濾且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，環己烷)純化殘餘物，得到所需產物。

1.4. 中間物4：6-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-6-甲基-庚-2-炔酸乙酯



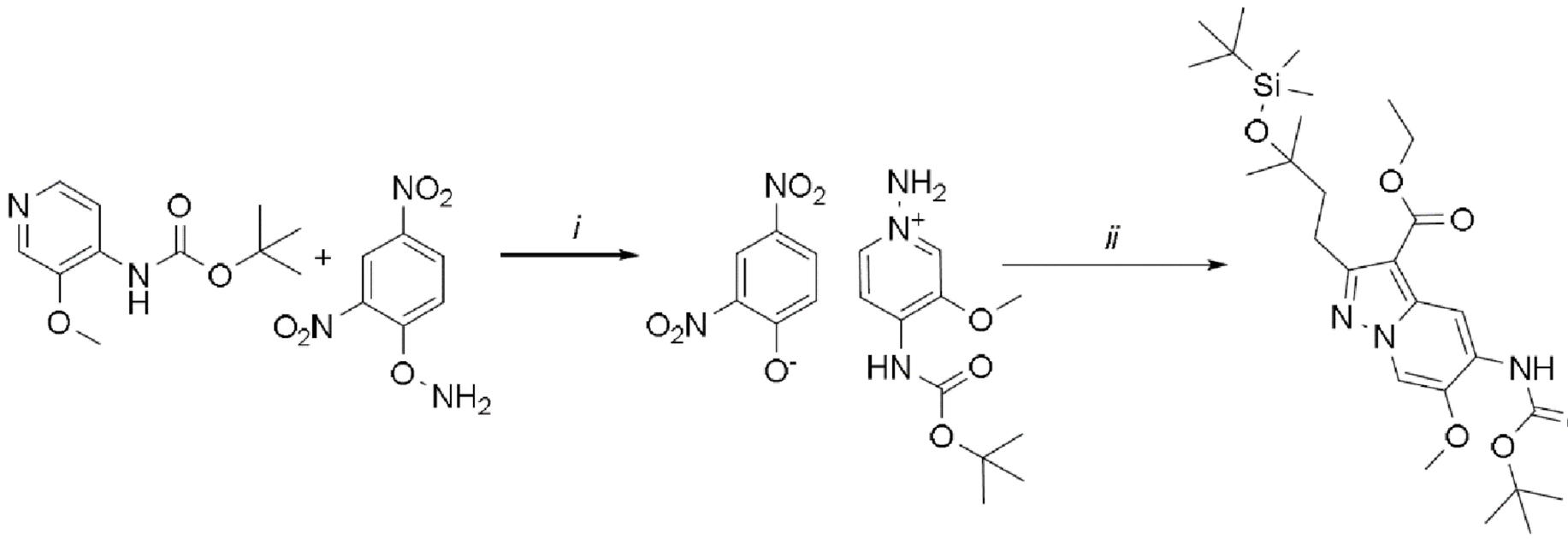
【0217】在-78℃下將於己烷中之2.5 M 正丁基鋰(7.0 mL，17.4 mmol，1.2當量)添加至第三丁基-(1,1-二甲基戊-4-炔氧基)-二甲基-矽烷(3.3 g，14.5 mmol，1.0當量)於無水THF(150 mL)中之溶液中。在-78℃下攪拌混合物1 h且添加氯甲酸乙酯(2.37 g，21.8 mmol，1.5當量)。將所得混合物在-78℃下攪拌1小時且隨後升溫至室溫。淬滅(飽和NH_4Cl水溶液，150 mL)混合物且萃取(Et_2O)。乾燥有機層，且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至80:20環己烷/EtOAc)純化殘餘物，得到所需產物。

1.5. 中間物5：N-(3-甲氧基-4-吡啶基)胺基甲酸第三丁酯



【0218】將DIPEA(4.6 mL，26.2 mmol，2.1當量)及二碳酸二第三丁酯(3.0 g，13.7 mmol，1.1當量)添加至3-甲氧基吡啶-4-胺HCl鹽(2.0 g，12.5 mmol，1.0當量)於THF(15.5 mL)中之溶液中。在室溫下攪拌反應混合物隔夜。混合物用飽和NH_4Cl水溶液處理且萃取(EtOAc)。洗滌(鹽水)有機層，乾燥(Na_2SO_4)且濃縮，得到所需產物。

1.6. 中間物6：5-(第三丁氧基羰基胺基)-2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酸乙酯



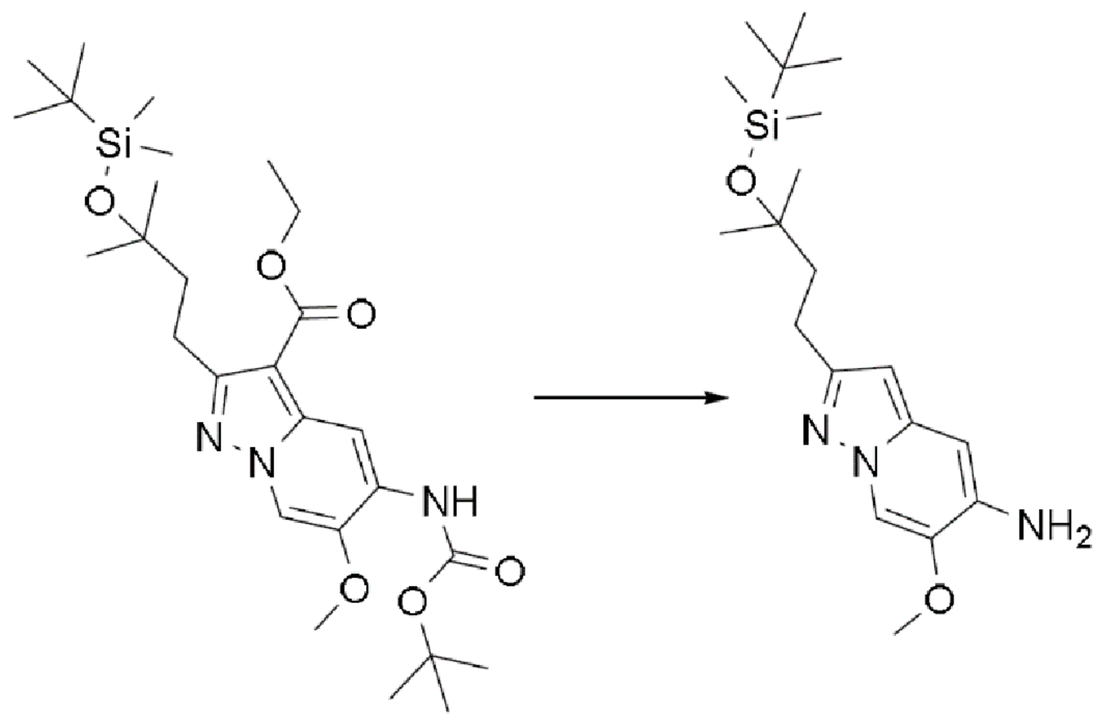
1.6.1. 步驟i(N-(1-胺基-3-甲氧基-吡啶-1-鎓-4-基)胺基甲酸第三丁酯2,4-二硝基酚鹽：

【0219】在50℃下攪拌N-(3-甲氧基-4-吡啶基)胺基甲酸酯(3.46 g，15.4 mmol，1.0當量)及O-(2,4-二硝基苯基)羥胺(6.14 g，30.9 mmol，2.0當量)於MeCN(27 mL)中之混合物隔夜。濃縮混合物，得到所需產物。

1.6.2. 步驟ii，5-(第三丁氧基羰基胺基)-2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酸乙酯：

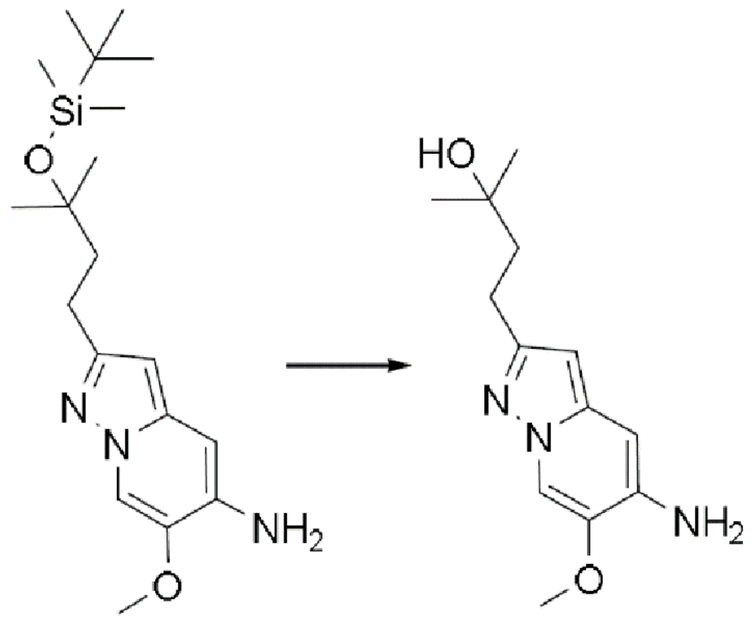
【0220】在室溫下攪拌含有自*步驟i*獲得之2.0 g N-(1-胺基-3-甲氧基-吡啶-1-鎓-4-基)胺基甲酸第三丁酯2,4-二硝基酚鹽及K_2CO_3(1.96 g，14.2 mmol)於DMF(8 mL)中之混合物1 h。將溶解於少量DMF中之6-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-6-甲基庚-2-炔酸乙酯(1.41 g，4.7 mmol)添加至反應混合物中，使其在室溫下攪拌約20小時。再添加0.28 g 6-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-6-甲基庚-2-炔酸乙酯(0.9 mmol)且在室溫下再攪拌混合物20小時。混合物用H_2O稀釋。用EtOAc萃取所得混合物。洗滌(H_2O、鹽水)有機層，乾燥(Na_2SO_4)且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，75:25正己烷/EtOAc)純化殘餘物，得到所需產物。

1.7. 中間物7：2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-胺



【0221】在100℃下攪拌5-(第三丁氧基羰基胺基)-2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酸乙酯(427 mg，0.8 mmol，1.0當量)及LiOH(382 mg，15.9 mmol，20.0當量)於9:1 MeOH/H_2O中之混合物隔夜。反應混合物分溶於EtOAc與H_2O之間。分離兩相且用EtOAc萃取水層。將經合併之有機層乾燥(Na_2SO_4)且濃縮。將殘餘物溶解於甲苯(8.5 mL)中且回流70 min。濃縮混合物且藉由急驟管柱層析(50:50正己烷/EtOAc)純化殘餘物，得到所需產物。

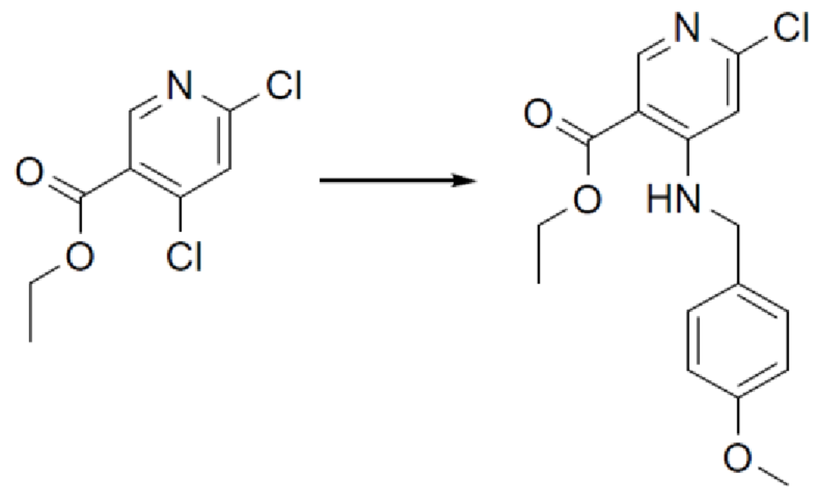
1.8. 中間物8：4-(5-胺基-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇



【0222】在室溫下攪拌2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-胺(409 mg，1.125 mmol，1.0當量)

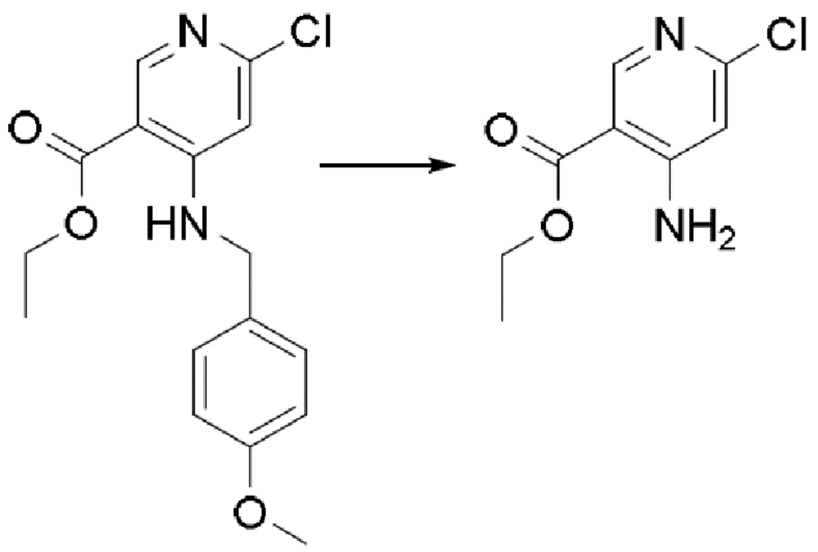
及TFA(1.7 mL，22.5 mmol，20.0當量)於DCM(40 mL)中之混合物16小時。添加甲苯(20 mL)且濃縮混合物。將殘餘物溶解於MeOH(1 mL)中且將混合物裝載於含有陽離子交換吸附劑(SCX)之管柱上。用MeOH洗滌管柱，且使用含於MeOH中之7 N NH_3沖洗管柱來回收產物。濃縮由此獲得之混合物且藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至95:5 DCM/MeOH)純化殘餘物，得到所需產物。

1.9. 中間物9：6-氯-4-[(4-甲氧基苯基)甲胺基]吡啶-3-甲酸乙酯



【0223】在室溫下攪拌4,6-二氯吡啶-3-甲酸乙酯(5.0 g，22.7 mmol，1.0當量)、(4-甲氧基苯基)甲胺(3.12 g，22.7 mmol，1.0當量)及TEA(6.34 mL，45.4 mmol，2.0當量)於DMSO(45 mL)中之混合物48小時。用EtOAc稀釋混合物。洗滌(H_2O、鹽水)所得混合物，乾燥(Na_2SO_4)且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至70:30環己烷/EtOAc)純化殘餘物，得到所需產物。

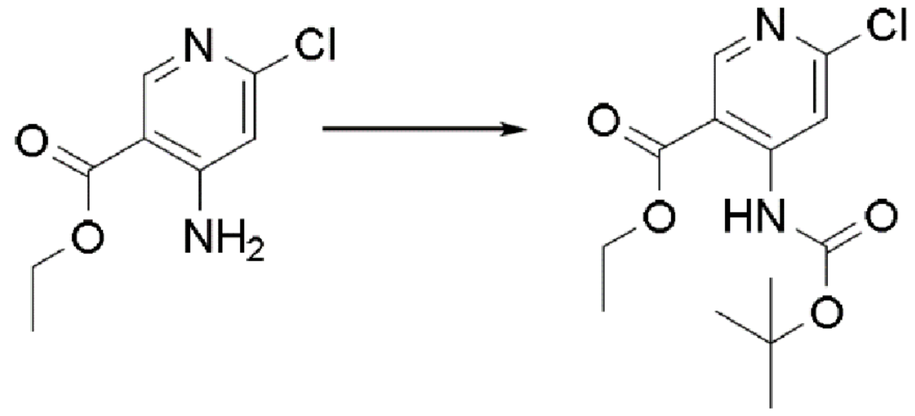
1.10. 中間物10：4-胺基-6-氯-吡啶-3-甲酸乙酯



【0224】在50℃下攪拌4-(5-胺基-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-

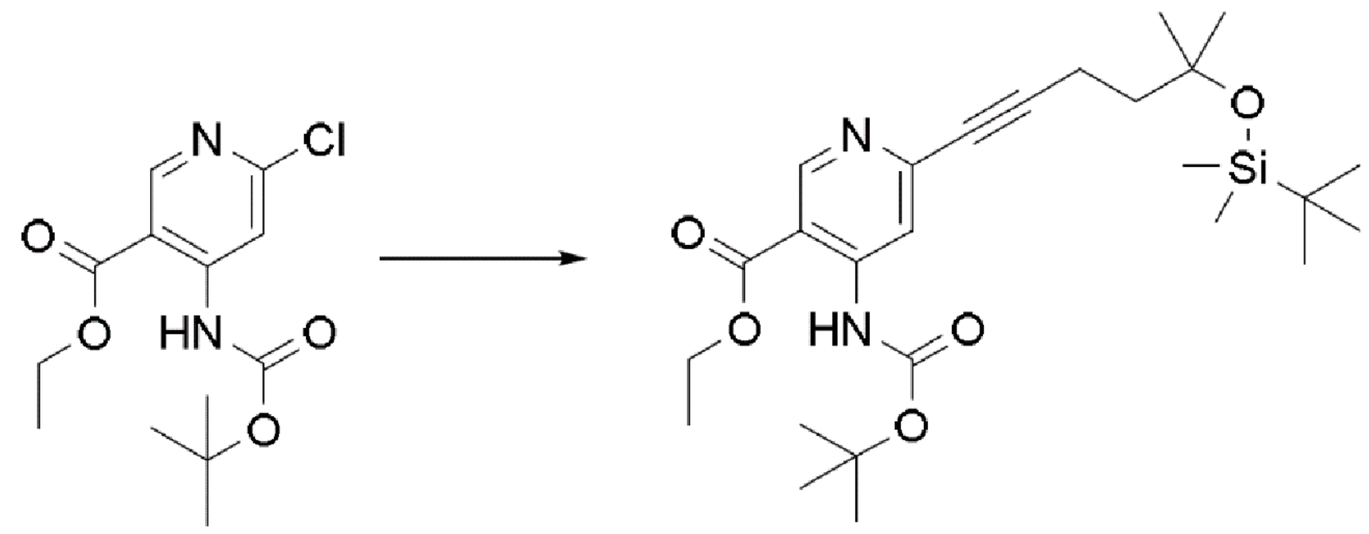
基)-2-甲基-丁-2-醇(5.6 g，17.4 mmol，1.0當量)於TFA(40 mL)中之混合物72小時。使反應混合物冷卻且添加1 M NaOH直至pH為約9。萃取(EtOAc)所得混合物。將有機層乾燥(Na_2SO_4)且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至70:30環己烷/EtOAc)純化殘餘物，得到所需產物。

1.11. 中間物11：4-(第三丁氧基羰基胺基)-6-氯-吡啶-3-甲酸乙酯



【0225】在0℃下將DMAP(0.213 g，1.74 mmol，0.1當量)及碳酸第三丁氧基羰基第三丁酯(4.19 g，19.2 mmol，1.1當量)添加至4-胺基-6-氯-吡啶-3-甲酸乙酯(3.50 g，17.4 mmol，1.0當量)與TEA(9.73 mL，69.8 mmol，4.0當量)之混合物中。在室溫下攪拌混合物4.5小時。用冰淬滅反應物且用H_2O稀釋。萃取(EtOAc)所得混合物。分離兩相且洗滌(鹽水)有機層，乾燥(Na_2SO_4)且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至90:10環己烷/EtOAc)純化殘餘物，得到所需產物。

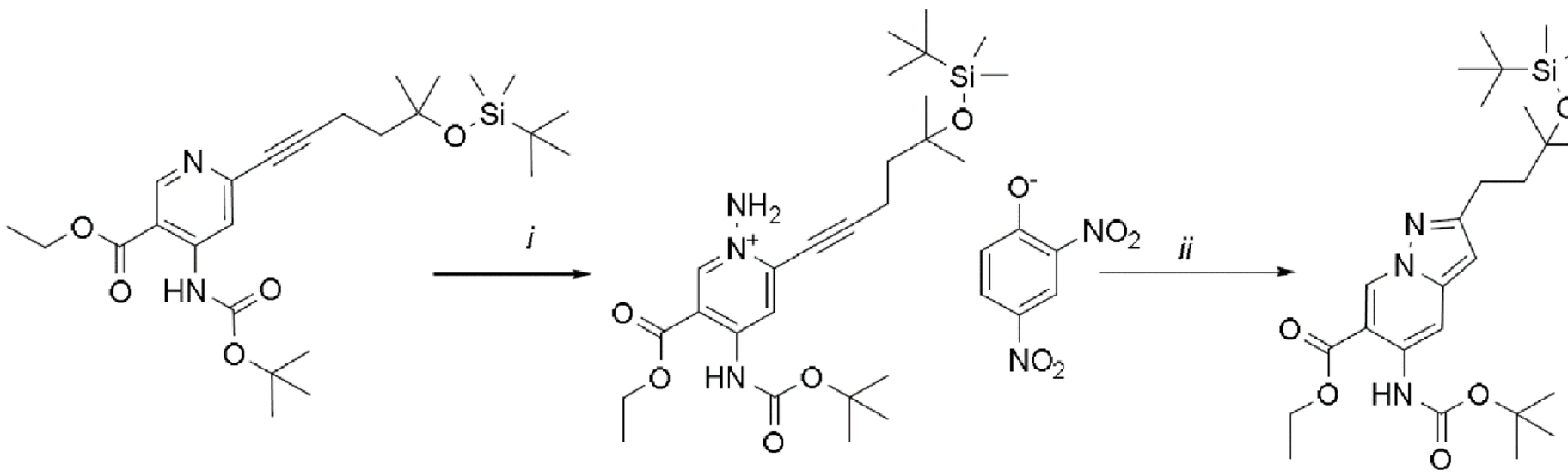
1.12. 中間物12：4-(第三丁氧基羰基胺基)-6-[5-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-5-甲基-己-1-炔基]吡啶-3-甲酸乙酯



【0226】在惰性氛圍下將4-(第三丁氧基羰基胺基)-6-氯-吡啶-3-甲酸乙酯(1.0 g，3.33 mmol，1.0當量)及第三丁基-(1,1-二甲基戊-4-炔氧

基)-二甲基-矽烷(1.13 g，5.0 mmol，1.5當量)於無水DMF(5.0 mL)中之混合物添加至$PdCl_2(PPh_3)_2$ (0.117 g, 0.166 mmol, 0.05當量)、CuI (0.063 g, 0.33 mmol, 0.1當量)及TEA (6.49 mL, 46.6 mmol, 14.0當量)於無水DMF(25 mL)之混合物中。在90℃下攪拌混合物隔夜。在100℃下再攪拌反應混合物2小時。反應混合物用飽和NH_4Cl水溶液淬滅。萃取(EtOAc)所得混合物且分離兩相。洗滌(鹽水)有機層，乾燥(Na_2SO_4)且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至90:10環己烷/EtOAc)純化殘餘物，得到所需產物。

1.13. 中間物13：5-(第三丁氧基羰基胺基)-2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯



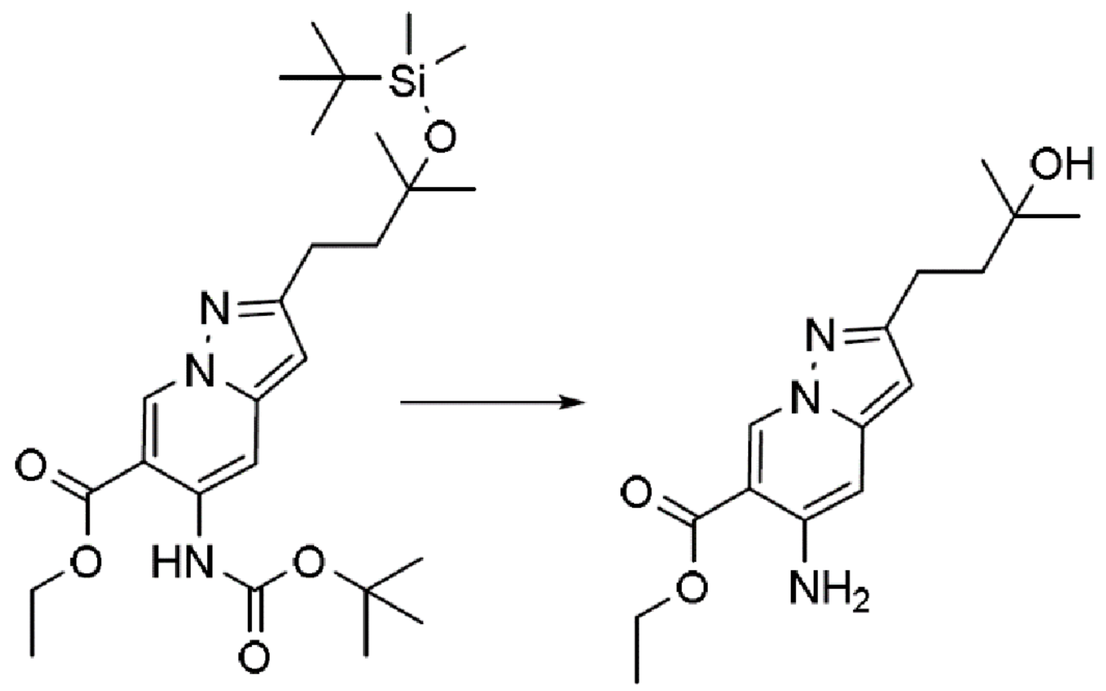
1.13.1. 步驟i (1-胺基-4-(第三丁氧基羰基胺基)-6-[5-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-5-甲基-己-1-炔基]吡啶-1-鎓-3-甲酸乙酯2,4-二硝基酚鹽：

【0227】 在50℃下攪拌4-(第三丁氧基羰基胺基)-6-[5-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-5-甲基-己-1-炔基]吡啶-3-甲酸乙酯(2.23 g，4.54 mmol，1.0當量)及O-(2,4-二硝基苯基)羥胺(1.81 g，9.09 mmol，2.0當量)於1:1 THF/H_2O(20 mL)中之混合物隔夜。濃縮混合物，得到所需產物。

1.13.2. 步驟ii 5-(第三丁氧基羰基胺基)-2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯：

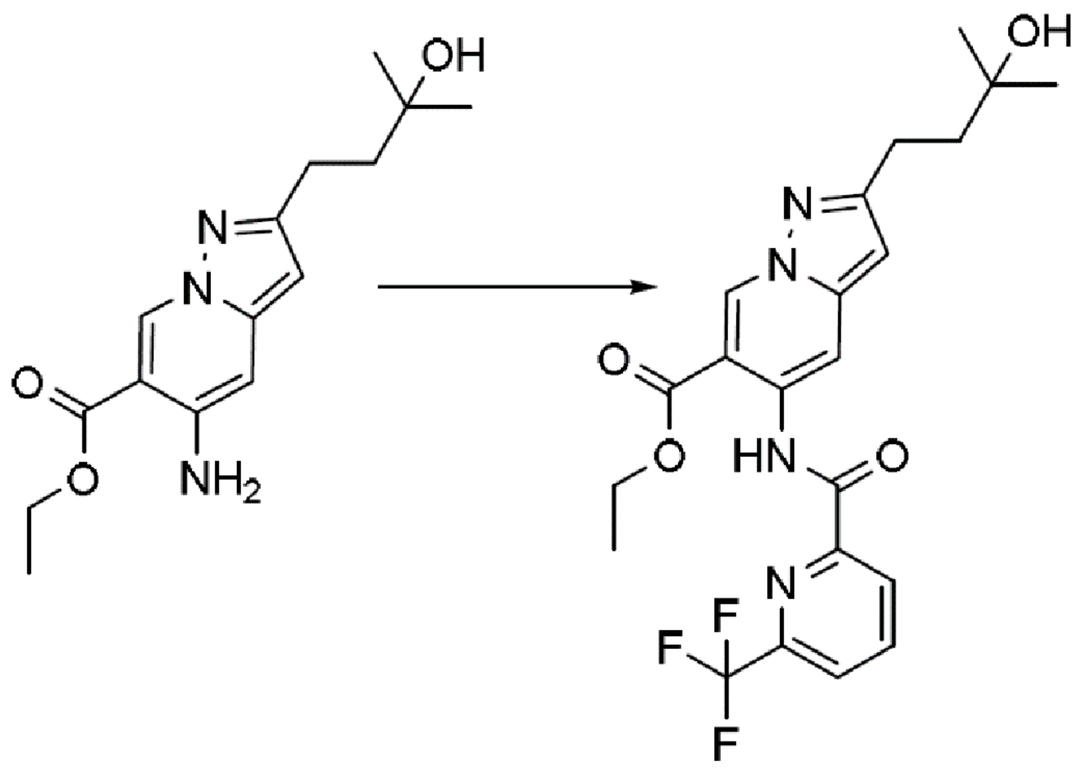
【0228】 在DMF中，攪拌獲自步驟I之(1-胺基-4-(第三丁氧基羰基胺基)-6-[5-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-5-甲基-己-1-炔基]吡啶-1-鎓-3-甲酸乙酯2,4-二硝基酚鹽於DMF(30 mL)中之混合物48小時。混合物用$NaHCO_3$水溶液稀釋且用EtOAc萃取。分離兩相。將有機層乾燥(Na_2SO_4)且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至90:10環己烷/EtOAc)純化殘餘物，得到所需產物。

1.14. 中間物14：5-胺基-2-(3-羥基-3-甲基-丁基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯



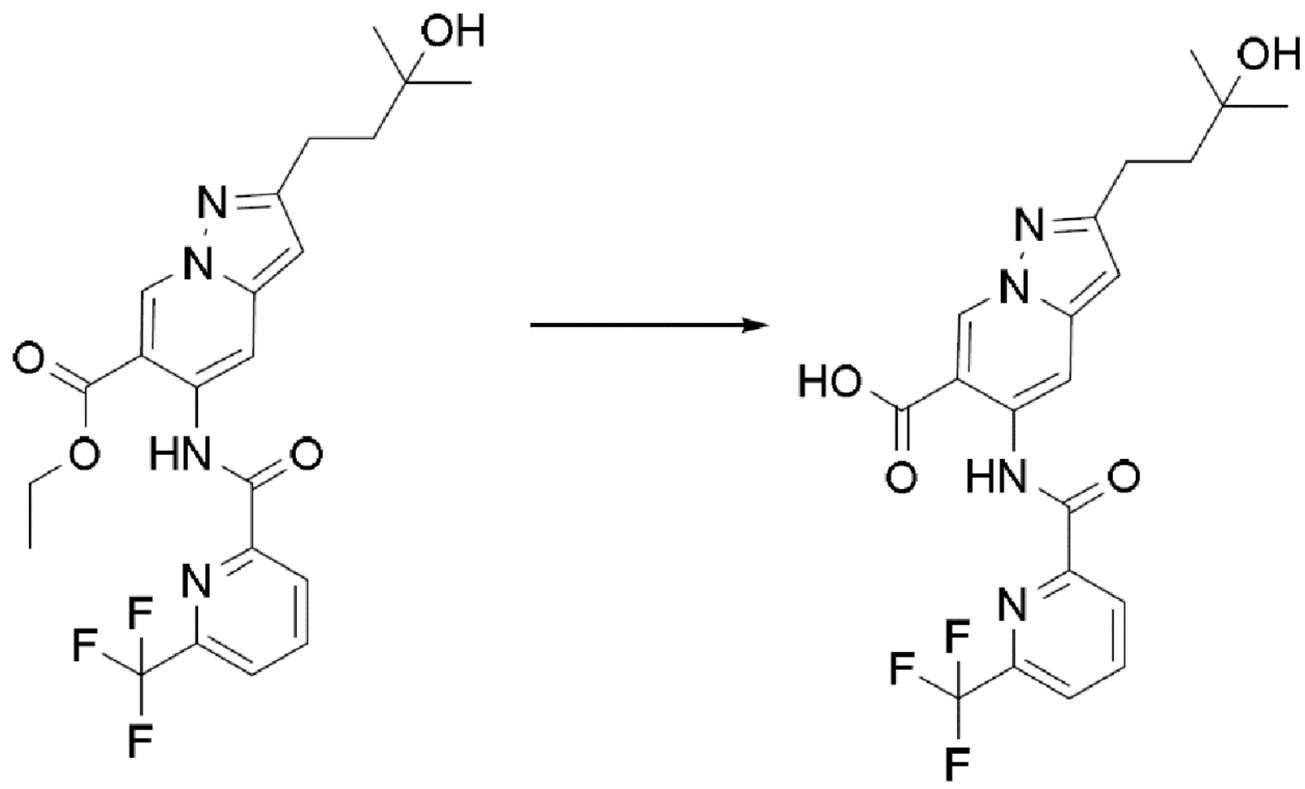
【0229】 在0℃下將TFA(1.36 mL，18.0 mmol，20.0當量)添加至5-(第三丁氧基羰基胺基)-2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯(449 mg，0.89 mmol，1.0當量)於DCM(20 mL)中之溶液中。在室溫下攪拌反應物隔夜。濃縮混合物且將殘餘物裝載於含有陽離子交換吸附劑(SCX)之管柱上。用MeOH洗滌管柱，且藉由用含7 N NH_3之MeOH中沖洗管柱來回收產物。濃縮由此獲得之混合物且藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至0:100 DCM/由90:4:1 DCM/MeOH/NH_4OH構成的三元混合物)純化殘餘物，得到所需產物。

1.15. 中間物15：2-(3-羥基-3-甲基-丁基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯



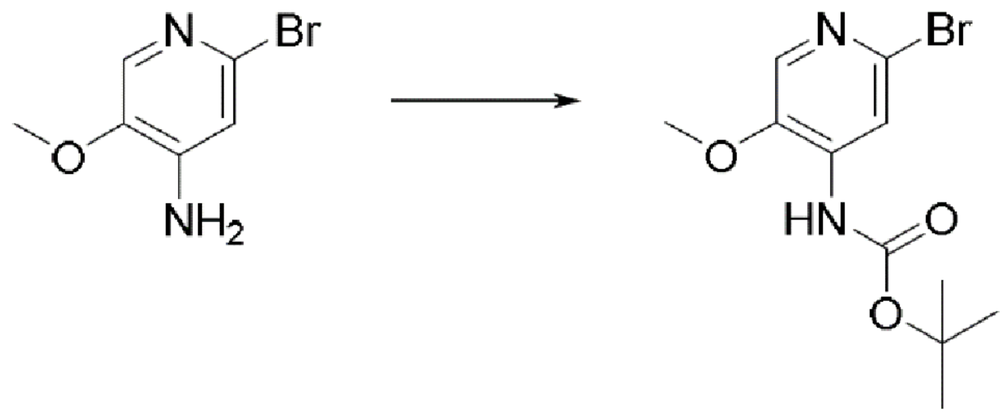
【0230】在室溫下攪拌5-胺基-2-(3-羥基-3-甲基-丁基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯(148.0 mg，0.51 mmol，1.0當量)、DIPEA(0.18 mL，1.02 mmol，2.0當量)、6-(三氟甲基)吡啶-2-甲酸(116 mg，0.61 mmol，1.2當量)及HATU，CAS#148893-10-1 (232 mg, 0.61 mmol, 1.2當量)於DCM (8 mL)中之混合物4小時。再添加0.3當量6-(三氟甲基)吡啶-2-甲酸及0.3當量HATU，CAS#148893-10-1，且在室溫下將混合物再攪拌4小時。將混合物稀釋(DCM)，洗滌(飽和NH_4Cl水溶液，飽和$NaHCO_3$水溶液，鹽水)，乾燥(Na_2SO_4)且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至20:80 DCM/由90:4:1 DCM/MeOH/NH_4OH構成的三元混合物)純化殘餘物，得到所需產物。

1.16. 中間物16：2-(3-羥基-3-甲基-丁基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸



【0231】 在室溫下攪拌2-(3-羥基-3-甲基-丁基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯(184 mg，0.396 mmol，1.0當量)及LiOH(29.0 mg，1.2 mmol，3.0當量)於4:1 THF/H_2O中之混合物5小時。在減壓下移除THF且藉由逐滴添加1 M HCl將水性混合物酸化至pH<5。形成固體，濾出且用H_2O洗滌，得到所需產物。

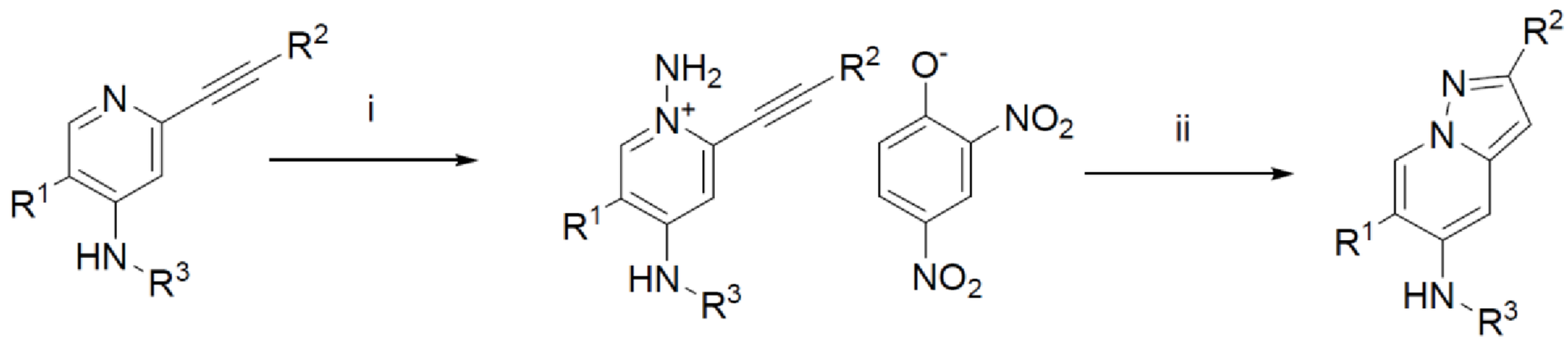
1.17. 中間物17：N-(2-溴-5-甲氧基-4-吡啶基)胺基甲酸第三丁酯



【0232】 將2-溴-5-甲氧基-吡啶-4-胺(175.0 g，由Angene提供，批次G02-16436-2)溶解於EtOAc(2 L)中且添加水(2 L)。分離各層。用EtOAc(2×500 mL)萃取水層。合併之有機層經$MgSO_4$乾燥且蒸發混合物至乾燥。在0℃下在惰性氛圍下在5 L反應器中將含有由此獲得之殘餘物(155.0 g，762 mmol，1.0當量)及TEA(425 mL，3.05 mol，4.0當量)於DCM(1 L)中之溶液添加至含有二碳酸二第三丁酯(216.0 g，990.0 mmol，1.3當量)及DMAP(9.3 g，76.0 mmol，0.1當量)於DCM(2.5 L)中之混合物中。逐滴添加，同時保持溫度低於2℃ (約30-35 min)。在添加之

後，使反應混合物升溫至22℃且保持攪拌隔夜。將混合物轉移至20 L反應器中且藉由添加飽和$NaHCO_3$水溶液(5 L)淬滅。分離各層。用DCM(3×1 L)萃取水層。將經合併之有機層蒸發至乾燥。將殘餘物裝載於矽膠墊(20 cm厚，直徑19 cm)上且用梯度0-30% EtOAc/環己烷溶離超過25 L。收集溶離份，合併且濃縮，得到所需產物。

1.18. 通用方法B：吡啶衍生物之N-胺化且隨後環化成吡唑并[1,5-a]吡啶



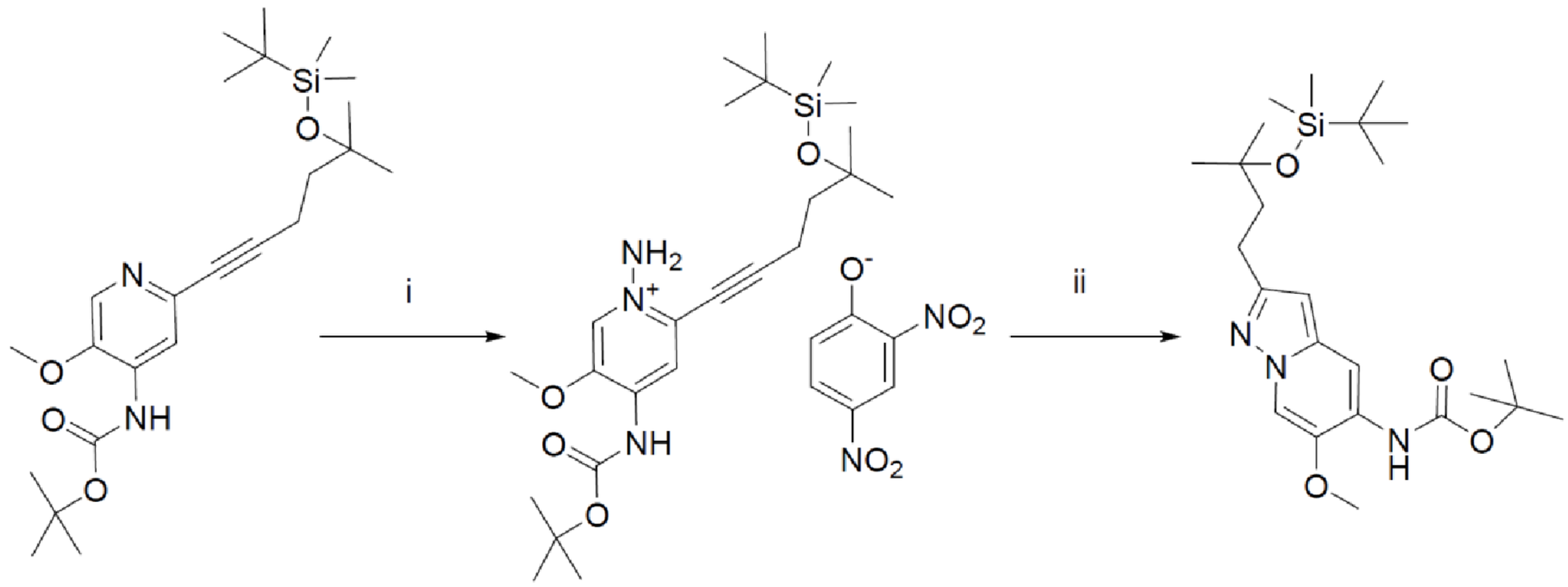
1.18.1. 步驟i：

【0233】將O-(2,4-二硝基苯基)羥胺(2.0當量)逐份添加至吡啶衍生物(1當量)於1:1 THF/H_2O(約0.2 M)中之混合物中。在45至50℃下攪拌混合物16小時。濃縮混合物。

1.18.2. 步驟ii：

【0234】將殘餘物溶解於DMF(0.2 M至0.4 M)中且在90℃下攪拌混合物16小時。將混合物冷卻至室溫且用鹼性水溶液淬滅(飽和$NaHCO_3$或飽和Na_2CO_3)。用EtOAc萃取混合物。分離各層且有機混合物可經歷進一步洗滌。乾燥且濃縮有機層。藉由急驟管柱層析純化殘餘物，得到預期產物。

方法B之示意性實例，合成中間物19：N-[2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]胺基甲酸第三丁酯



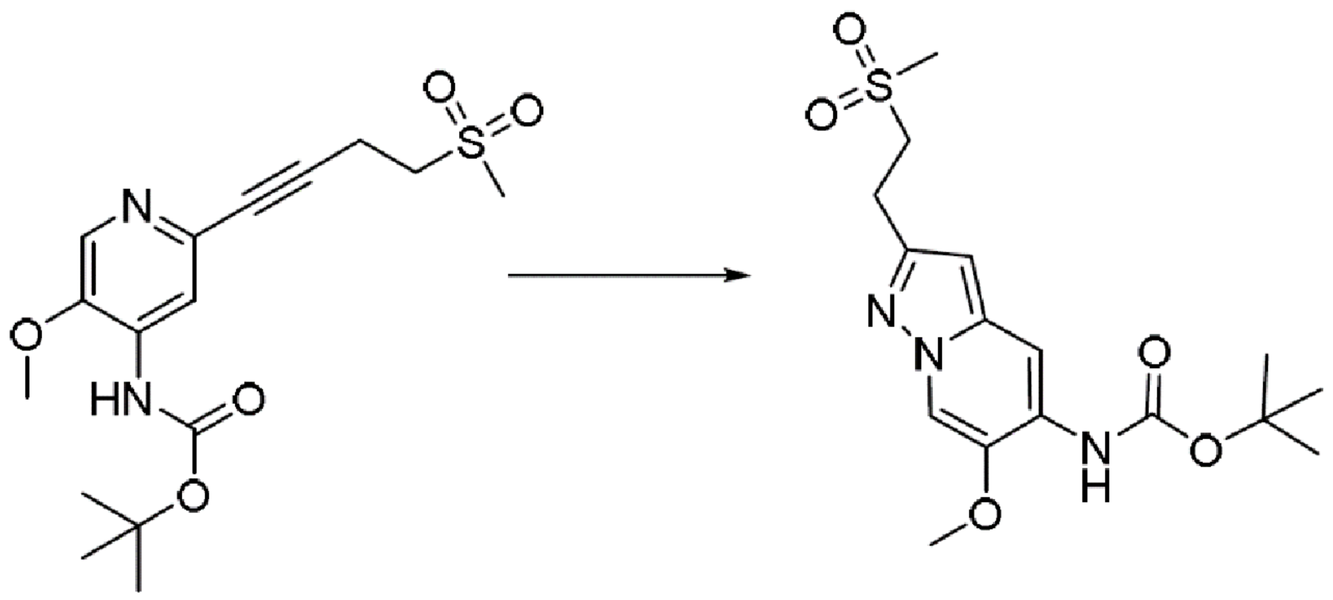
1.18.3. 步驟i：

【0235】 將O-(2,4-二硝基苯基)羥胺(14.0 g，70.3 mmol，2.0當量)逐滴添加至N-[2-[5-(第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-5-甲基-己-1-炔基]-5-甲氧基-4-吡啶基]胺基甲酸酯(16.0 g，34.6 mmol，1.0當量)於1:1 THF/H_2O(240 mL)中之混合物中。在45℃下攪拌所得混合物隔夜且濃縮。

1.18.4. 步驟ii：

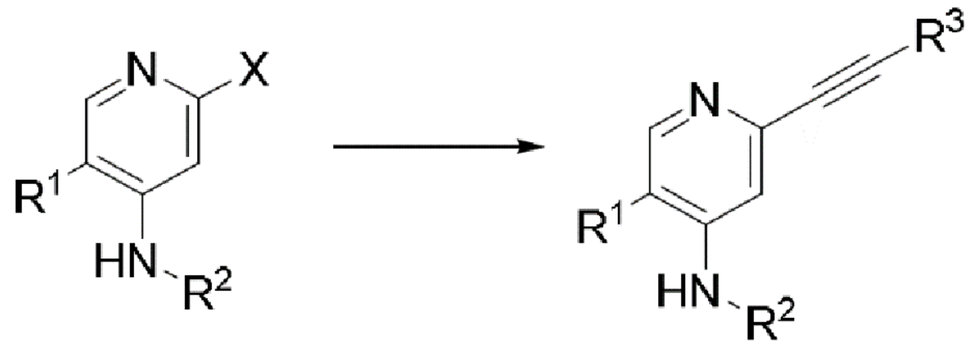
【0236】 將來自*步驟i*之殘餘物溶解於DMF(80 mL)中且在90℃下攪拌所得混合物隔夜。將混合物冷卻至室溫且用飽和Na_2CO_3水溶液淬滅。萃取(EtOAc)所得混合物。分離各層且洗滌(H_2O及鹽水)有機混合物，乾燥($MgSO_4$)且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至80:20 正庚烷/EtOAc)純化殘餘物，得到所需產物。

1.19. 中間物21：N-[6-甲氧基-2-(2-甲磺醯基乙基)吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]胺基甲酸第三丁酯



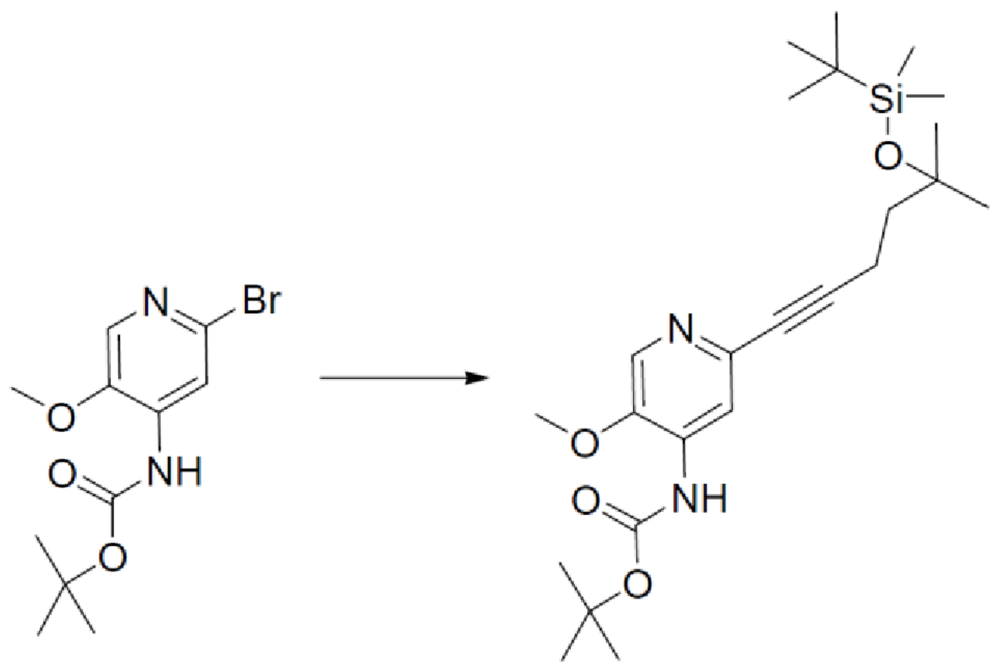
【0237】將O-(2,4-二硝基苯基)羥胺(2.75 g，13.8 mmol，2.0當量)逐滴添加至N-[5-甲氧基-2-(4-甲磺醯-1-炔基)-4-吡啶基]胺基甲酸第三丁酯(2.44 g，6.88 mmol，1.0當量)於4:1 THF/H_2O(250 mL)中之混合物中。在45℃下攪拌所得混合物20小時且用EtOAc稀釋。洗滌所得混合物(H_2O，飽和$NaHCO_3$及鹽水)，乾燥(Na_2SO_4)且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，7:2至2:8正庚烷/EtOAc)純化殘餘物，得到所需產物。

1.20. 通用方法C1：2-鹵基吡啶衍生物與炔烴衍生物之間的薗頭交叉偶合



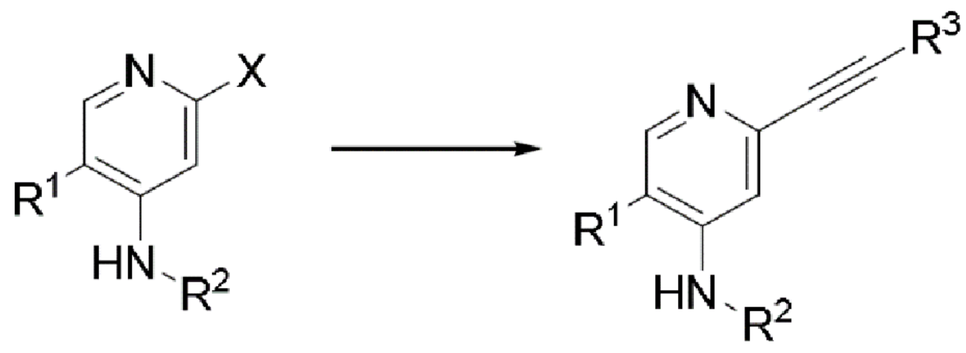
【0238】含有吡啶基鹵化物(1.0當量)、炔烴衍生物(2.0當量)及TEA(14.0當量)於DMF(0.2 M至0.5 M)中之混合物用惰性氣體沖洗。添加CuI(0.2當量)及$PdCl_2(PPh_3)_2$(0.1當量)且所得混合物用惰性氣體沖洗。在95至100℃下攪拌反應物2至16小時。混合物進行水溶液處理及急驟管柱層析，得到所需產物。

方法C1之示意性實例：合成中間物18：N-[2-[5-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-5-甲基-己-1-炔基]-5-甲氧基-4-吡啶基]胺基甲酸酯



【0239】含有N-(2-溴-5-甲氧基-4-吡啶基)胺基甲酸第三丁酯(57.8 g，190.5 mmol，1.0當量)、第三丁基-(1,1-二甲基戊-4-炔氧基)-二甲基-矽烷(107.8 g，381 mmol，2.0當量)及TEA(370 mL，2.65 mol，14.0當量)於DMF(1 L)中之混合物用N_2沖洗。添加CuI(7.7 g，38.0 mmol，0.2當量)及$PdCl_2(PPh_3)_2$(13.4 g，19.1 mmol，0.1當量)且用N_2沖洗所得混合物。在95℃下攪拌反應物2小時。冷卻後，經矽藻土墊過濾混合物。濾液用EtOAc稀釋。洗滌(H_2O及鹽水)所得混合物，乾燥(Na_2SO_4)且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至70:30 正庚烷/EtOAc)純化殘餘物，得到所需產物。

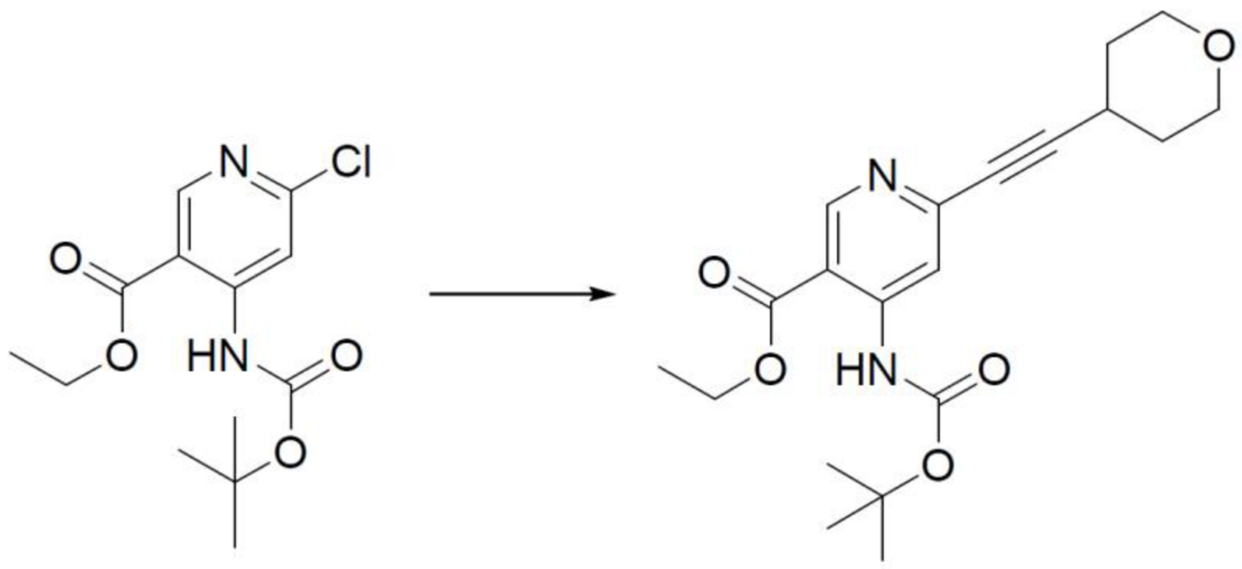
1.21. 通用方法C2：2-鹵基吡啶衍生物與炔烴衍生物之間的薗頭交叉偶合



【0240】在惰性氛圍下攪拌含有CuI(0.2當量)、$PdCl_2(PPh_3)_2$(0.1當量)及TEA(14.0當量)於DMF(0.2至0.5 M)中之混合物。添加吡啶基鹵化物(1.0當量)及炔烴衍生物(1.2至2當量)且在室溫下攪拌所得混合物16小時。混合物進行水溶液處理及急驟管柱層析，得到所需產物。

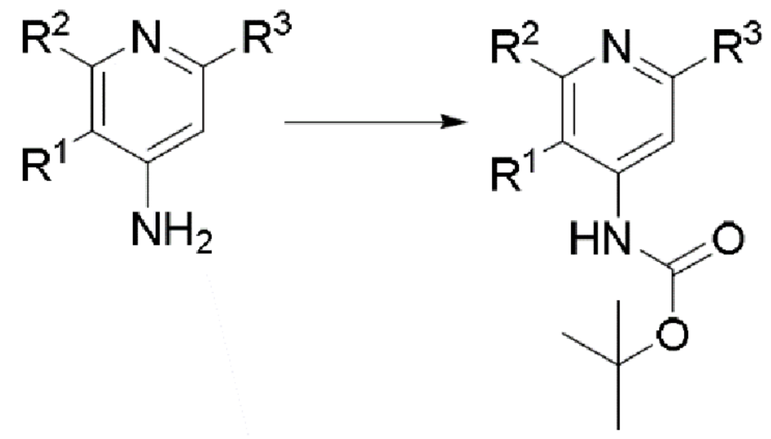
方法C2之示意性實例，合成中間物41：4-(第三丁氧基羰基胺基)-6-(2-四

氫哌喃-4-基乙炔基)吡啶-3-甲酸乙酯



【0241】在Ar氛圍下攪拌$PdCl_2(PPh_3)_2$(0.583 g，0.831 mmol，0.1當 量)、CuI(0.317 g，1.66 mmol，0.2當 量)及TEA(16.2 mL，116.0 mmol，14.0當量)於無水DMF(75.0 mL)中之混合物。添加4-(第三丁氧基羰基胺基)-6-氯-吡啶-3-甲酸乙酯(2.50 g，8.31 mmol，1.0當量)及4-乙炔基四氫-2H-哌喃(1.10 g，9.98 mmol，1.2當量)且在室溫下攪拌混合物約16小時。藉由添加飽和NH_4Cl淬滅反應物。用EtOAc萃取所得混合物。洗滌(鹽水)有機混合物，乾燥(Na_2SO_4)且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，環己烷/EtOAc 100:0至70:30)純化殘餘物，得到所需產物。

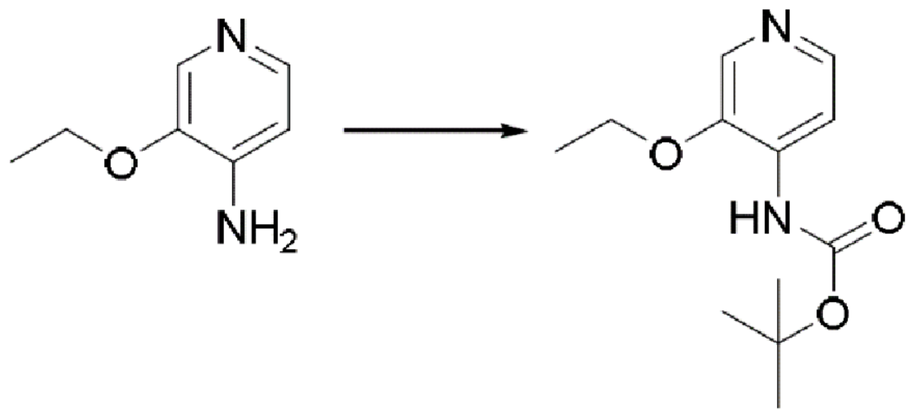
1.22. 通用方法D：對芳胺之N-Boc保護



【0242】在室溫下攪拌含有芳族胺(1.0當量)、二碳酸二第三丁酯(1.1當量)及DIPEA(1.2當量)於THF(0.5-1.5 M)中之混合物16至48小時。混合物進行水溶液處理，得到所需產物。產物可藉由急驟管柱層析進一步純化。

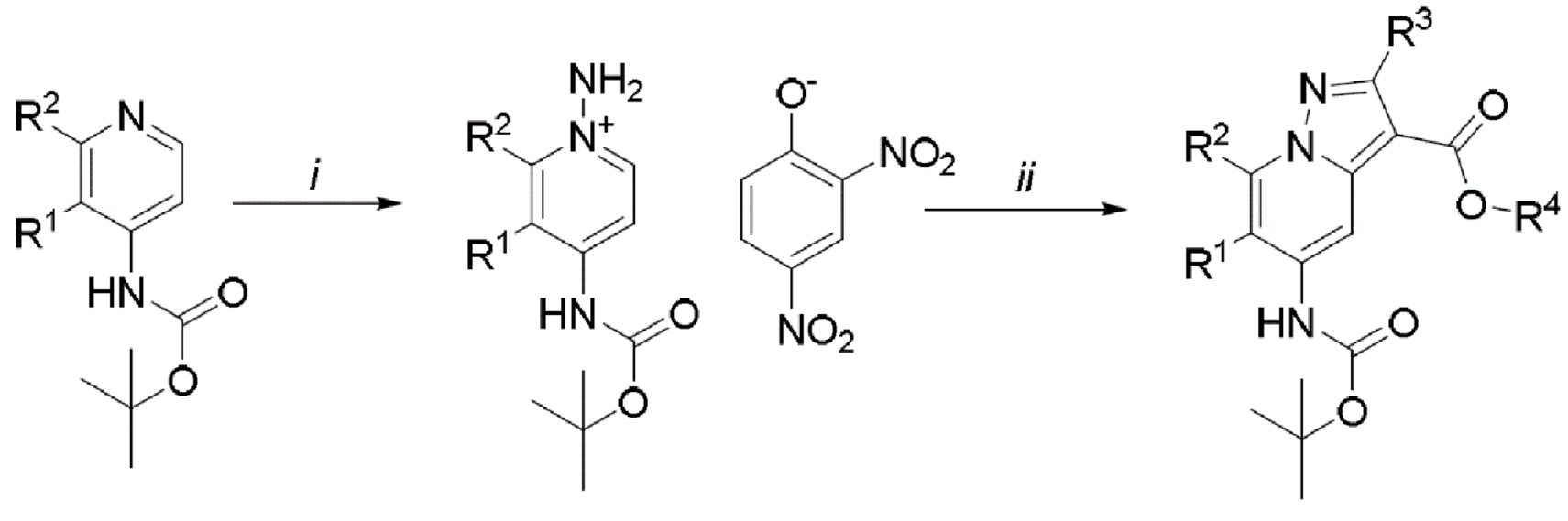
方法D之示意性實例，合成中間物30：N-(3-乙氧基-4-吡啶基)胺基甲酸第

三丁酯



【0243】在室溫下攪拌含有3-乙氧基吡啶-4-胺(5.0 g，36.2 mmol，1.0當量)、二碳酸二第三丁酯(8.69 g，39.8 mmol，1.1當量)及DIPEA(7.6 mL，43.4 mmol，1.2當量)於THF(30 mL)中之混合物17小時。用飽和NH_4Cl淬滅混合物。分離各層且用EtOAc萃取水層。將有機層合併且濃縮。將殘餘物溶解於DCM(50 mL)中且添加$NaHCO_3$飽和溶液(100 mL)。將所得混合物攪拌10 min。分離兩層且乾燥(經由相分離器過濾)有機層且濃縮，得到所需產物。

1.23. 通用方法E：吡啶衍生物之N-胺化，隨後藉由與炔烴衍生物反應形成吡唑并[1,5-a]吡啶



1.23.1. 步驟i：

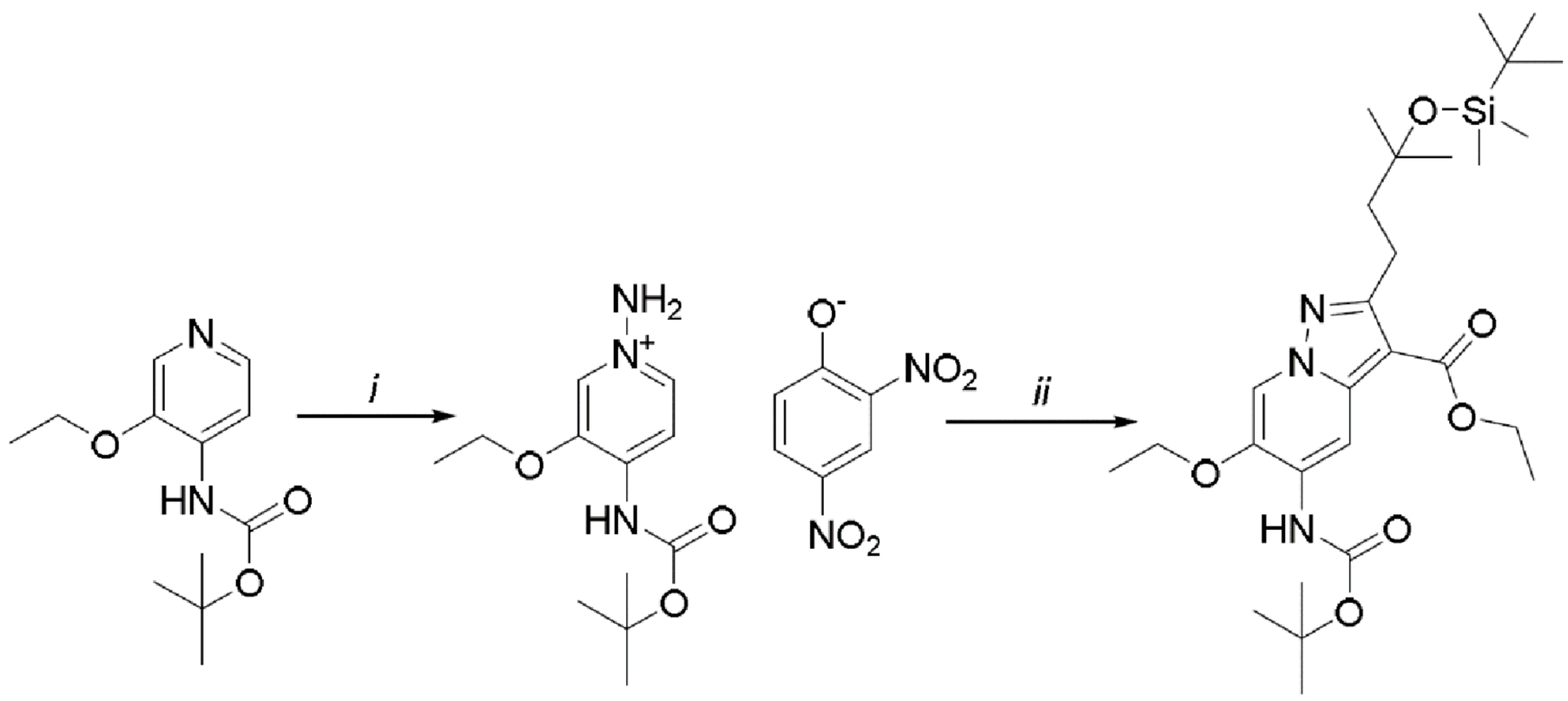
【0244】將O-(2,4-二硝基苯基)羥胺(2.0當量)添加至吡啶衍生物(1當量)於MeCN(約0.5 M)中之混合物中。在50℃下攪拌混合物16小時。濃縮混合物。

1.23.2. 步驟ii：

【0245】將前一步驟中所獲得之殘餘物溶解於DMF(約0.5 M)中。

添加K_2CO_3(3.0當量)且在室溫下攪拌混合物1小時。添加炔烴衍生物(1.05當量)且在室溫下攪拌混合物20至24小時。可添加額外炔烴，且可攪拌混合物額外24小時。混合物進行水溶液處理及急驟管柱層析，得到所需產物。

方法E之示意性實例：合成中間物29：5-(第三丁氧基羰基胺基)-2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-乙氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酸乙酯



1.23.3. 步驟i：

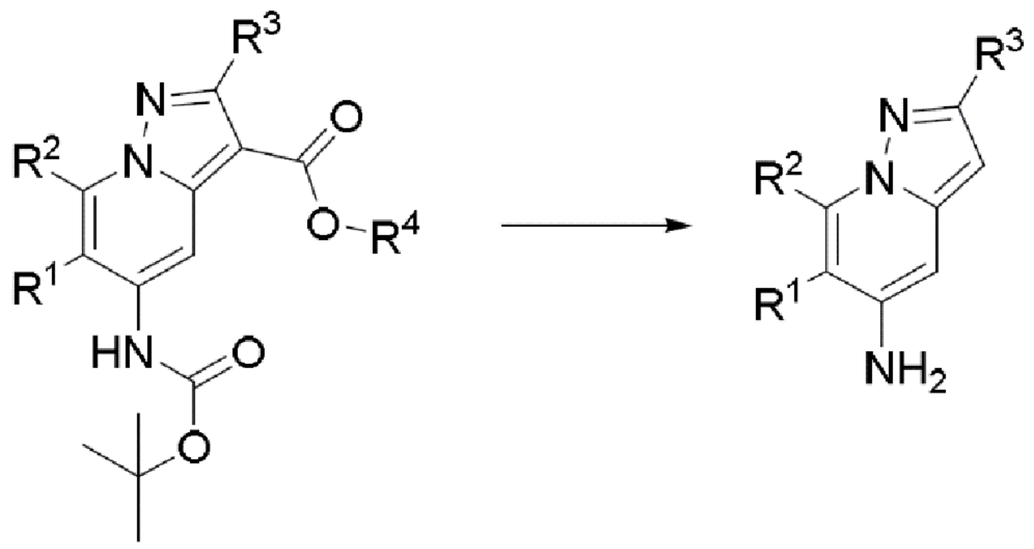
【0246】將O-(2,4-二硝基苯基)羥胺(16.2 g，81.3 mmol，2.0當量)添加至N-(3-乙氧基-4-吡啶基)胺基甲酸第三丁酯(9.69 g，40.7 mmol，1.0當量)於MeCN(70 mL)中之混合物中。在50℃下攪拌混合物隔夜。濃縮混合物。

1.23.4. 步驟ii：

【0247】將獲自*步驟i*之殘餘物溶解於DMF(60 mL)中。添加K_2CO_3(16.7 g，121.0 mmol，3.0當量)且在室溫下攪拌混合物1小時。添加溶解於0.5 mL DMF中之6-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-6-甲基-庚-2-炔酸乙酯(12.7 g，42.4 mmol，1.05當量)且在室溫下攪拌混合物24小時。

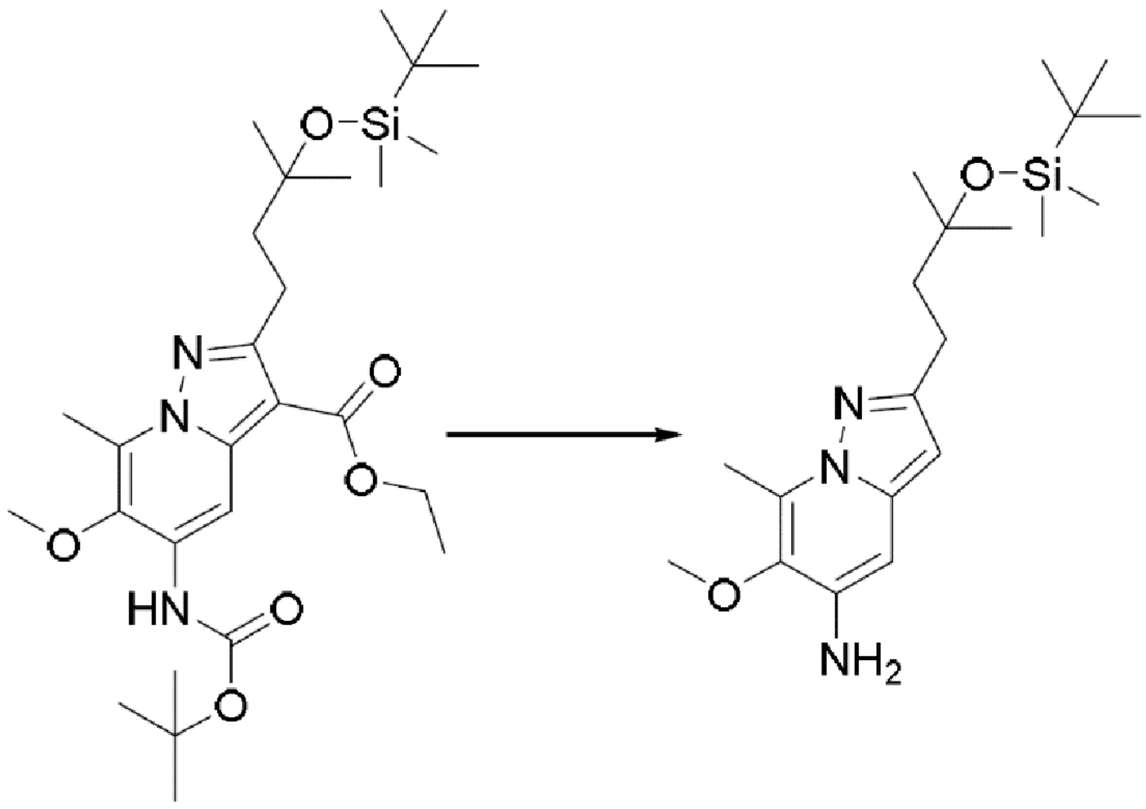
添加額外量之6-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-6-甲基-庚-2-炔酸乙酯(2.7 g，0.22當量)且在室溫下攪拌混合物隔夜。將混合物分溶於H_2O(500 mL)與EtOAc(100 mL)之間。分離兩層且用DCM(3×100 mL)萃取水層。合併有機相，洗滌(H_2O、鹽水)，乾燥(經由相分離器過濾)且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至70:30環己烷/EtOAc)純化殘餘物，得到所需產物。

1.24. 通用方法F：吡唑并[1,5-a]吡啶衍生物之水解、Boc去保護基及去羧基



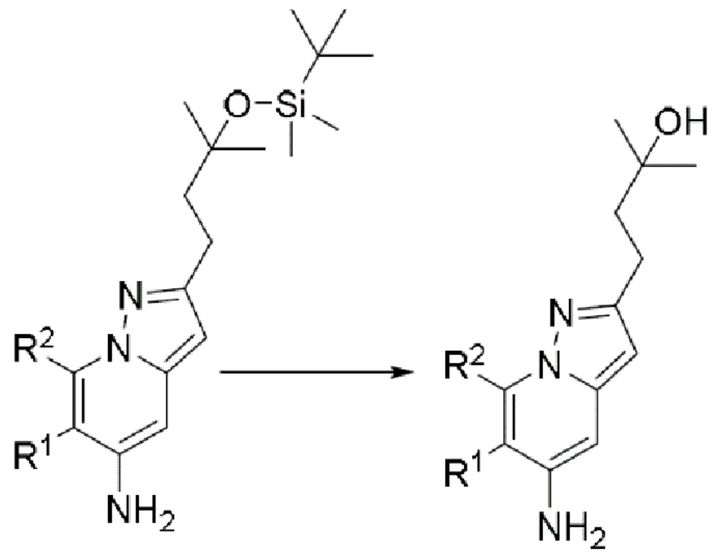
【0248】在100℃下攪拌吡唑并[1,5-a]吡啶衍生物(1.0當量)及LiOH(20.0當量)於9:1 MeOH/H_2O(大致0.1 M)中之混合物16小時。將反應混合物分溶於EtOAc與H_2O之間。分離兩相且用EtOAc萃取水層。乾燥且濃縮經合併之有機層。將殘餘物溶解於甲苯(大致0.1 M)中且在115℃下攪拌2小時至4小時。濃縮混合物且藉由急驟管柱層析純化殘餘物，得到所需產物。

方法F之示意性實例，合成中間物43：2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-甲氧基-7-甲基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-胺



【0249】在100℃下攪拌5-(第三丁氧基羰基胺基)-2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-甲氧基-7-二甲基-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酸乙酯(3.7 g，6.7 mmol，1.0當量)及LiOH(3.22 g，135 mmol，20.0當量)於MeOH(60 mL)/H_2O(7 mL)中之溶液隔夜。反應混合物分溶於EtOAc與H_2O之間。分離兩相且用EtOAc萃取水層。乾燥(經由相分離器過濾)合併之有機層且濃縮。將殘餘物溶解於甲苯(60 mL)中且在115℃下攪拌2小時。濃縮混合物且藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至75:25環己烷/EtOAc)純化殘餘物，得到所需產物。

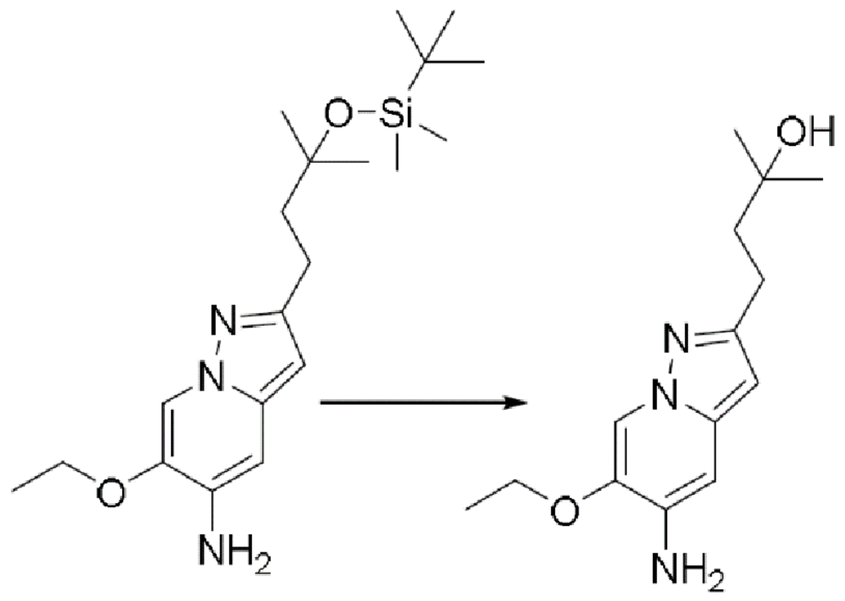
1.25. 通用方法G：藉由使用TBAF移除TBS保護基



【0250】將四-正丁基氟化銨(於THF中之1.0 M溶液，20.0當量)添加至第三丁基(二甲基)矽烷基保護之醇(1.0當量)於THF(約0.05 M)中之溶液中。在80℃下攪拌混合物24小時。濃縮混合物且使殘餘物分溶於DCM與飽和NH_4Cl之間。分離兩層且洗滌(飽和NH_4Cl)有機層，乾燥且濃縮。

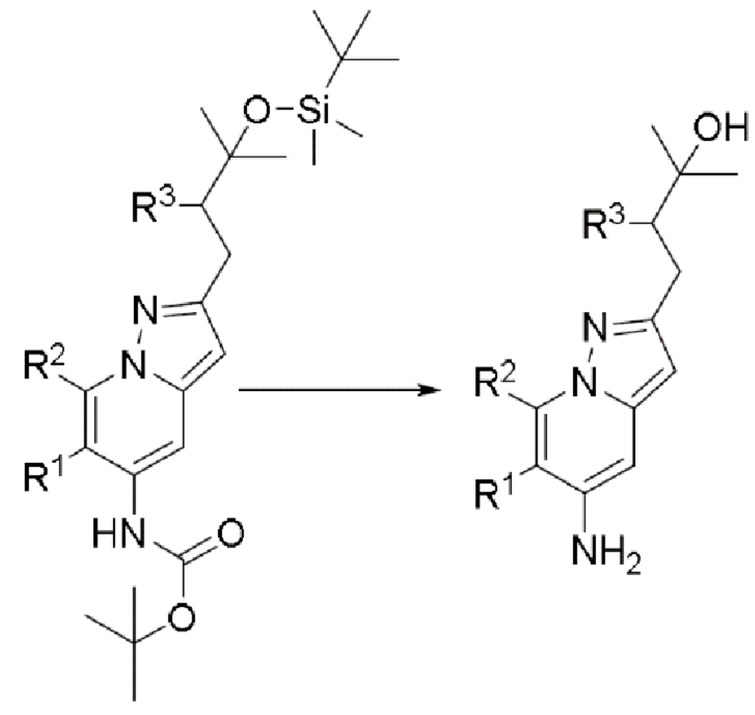
藉由急驟管柱層析純化殘餘物，得到所需產物。

方法G之示意性實例，合成中間物27：4-(5-胺基-6-乙氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇



【0251】將四-氟化正丁基銨(100 mL於THF中之1.0 M溶液，100 mmol，20.0當量)添加至2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-乙氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-胺(1.88 g，5.0 mmol，1.0當量)於THF(85 mL)中之溶液中。在80℃下攪拌混合物24小時。濃縮混合物且使殘餘物分溶於DCM(50 mL)與飽和NH_4Cl(30 mL)之間。分離兩層且洗滌有機層(飽和NH_4Cl，2×30 mL)，乾燥(經由相分離器過濾)且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至0:100環己烷/EtOAc)純化殘餘物，得到所需產物。

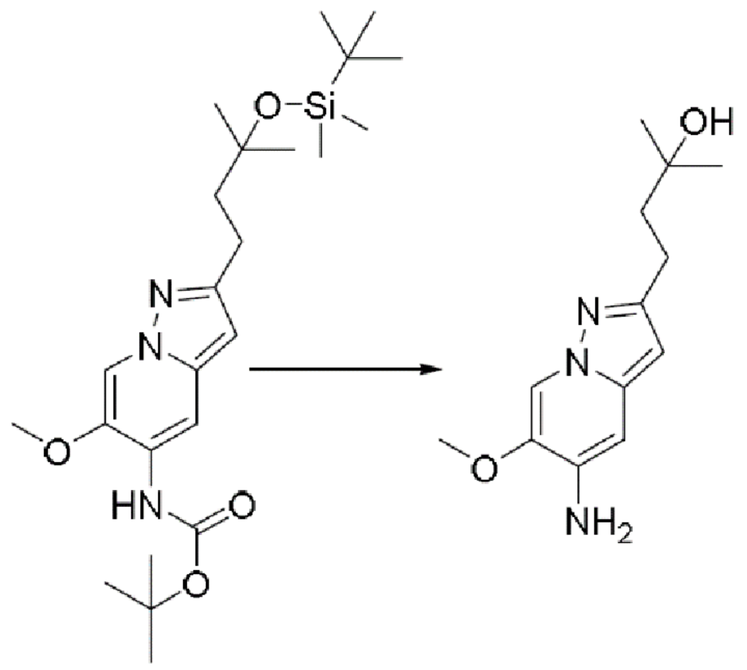
1.26. 通用方法H：同時移除TBS及Boc保護基



【0252】在80℃至90℃下攪拌Boc及TBS保護之起始物質(1.0當量)

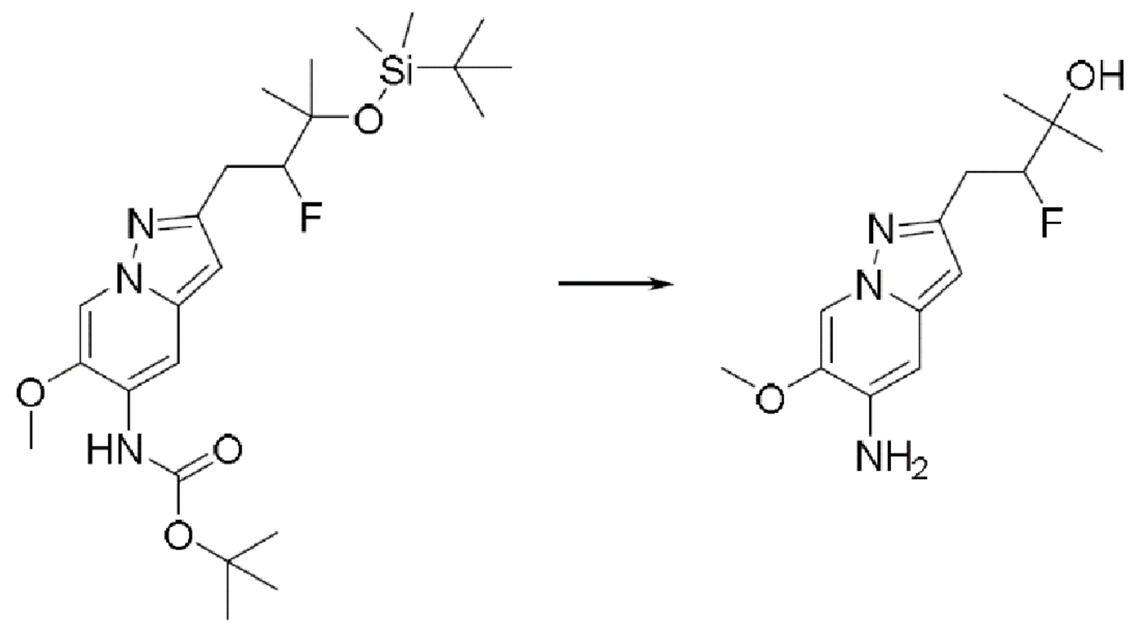
於1:1:1 THF/MeOH/2 M HCl水溶液(0.1 M至0.2 M，大約3至7當量HCl)中之溶液2小時至3小時。在未完全轉化之情況下，再添加2 M HCl水溶液(5當量)且在80℃下再攪拌混合物2小時。在反應完成之後，冷卻混合物且用NaOH中和。用EtOAc萃取混合物。洗滌有機層，乾燥且濃縮。藉由急驟管柱層析或藉由再結晶來純化殘餘物，獲得所需產物。或者，在反應完成之後，濃縮混合物。殘餘物可藉由急驟管柱層析直接純化，獲得所需產物或其可經歷涉及鹼性水溶液之處理水溶液。在後一情況下，乾燥且濃縮有機層。藉由急驟管柱層析或藉由再結晶來純化殘餘物，獲得所需產物。

方法H之示意性實例，中間物8之替代性合成：4-(5-胺基-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇



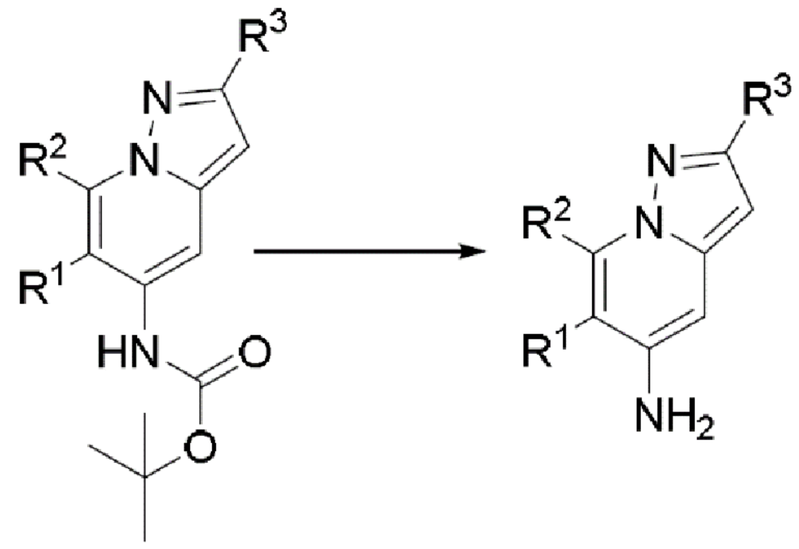
【0253】 在85℃下攪拌N-[2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]胺基甲酸第三丁酯(13.7 g，29.5 mmol，1.0當量)於1:1:1 THF/MeOH/2 M HCl水溶液(204 mL，4.7當量HCl)中之溶液1.5小時。將混合物冷卻至0℃，用2 N NaOH溶液中和直至pH 7-8(70 mL)且用EtOAc(約600 mL，且隨後100 mL)萃取兩次。洗滌(H_2O、鹽水)有機層，乾燥($MgSO_4$)且濃縮。將殘餘物溶解於熱MeCN中(在95℃至100℃下大約250 mL)。將混合物冷卻至室溫且隨後冷卻至0℃。濾出沈澱物且進一步用MeCN洗滌，得到所需產物。

方法H之示意性實例，合成中間物55：4-(5-胺基-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-3-氟-2-甲基-丁-2-醇



【0254】將含HCl之去離子水(2 M) (2 mL，12 mmol，10.4當量)添加至N-[2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-2-氟-3-甲基-丁基]-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]胺基甲酸第三丁酯(556 mg，1.1 mmol，1.0當量)於THF/MeOH(1:1, 4mL)之混合物中之溶液中。在80℃下攪拌反應混合物3小時。再次添加含HCl之去離子水(2 M) (3 mL，18 mmol，15.6當量)且在80℃下再繼續攪拌2小時。在減壓下蒸發揮發物且粗樣品藉由急驟管柱層析純化，用96:4至90:10之DCM/MeOH溶離，得到所需化合物。

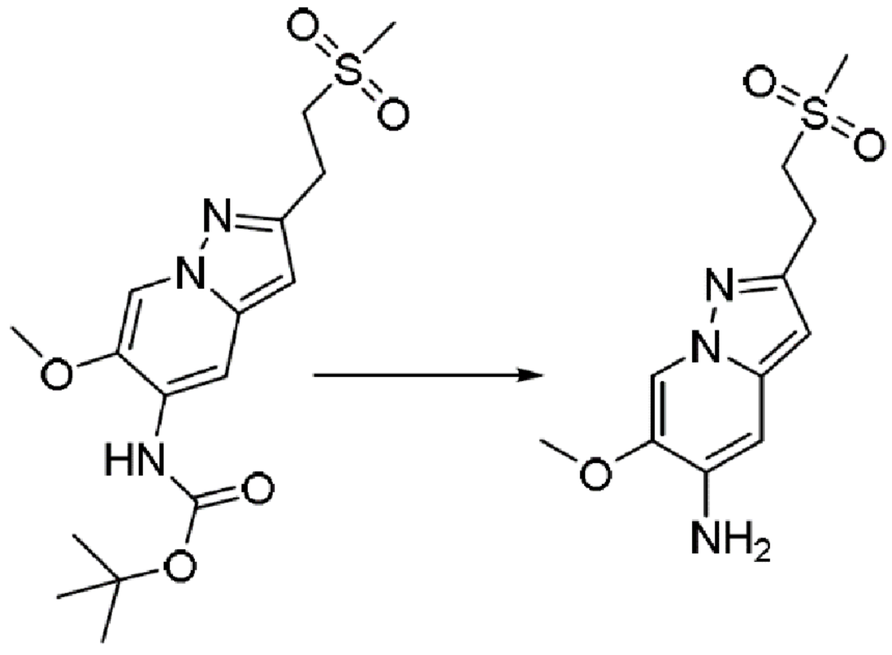
1.27. 通用方法I：移除Boc保護基，獲得吡唑并[1,5-a]吡啶-5-胺衍生物



【0255】在室溫下將經Boc保護之衍生物(1.0當量)於10:1 DCM/TFA(0.05至0.06 M，大約20.0當量)中之溶液攪拌3至16小時。在未完全轉化之情況下，再添加TFA(2.0當量)且在室溫下再攪拌混合物1小時。混合物經稀釋(DCM)且用鹼性水溶液洗滌。分離兩相且洗滌有機層，

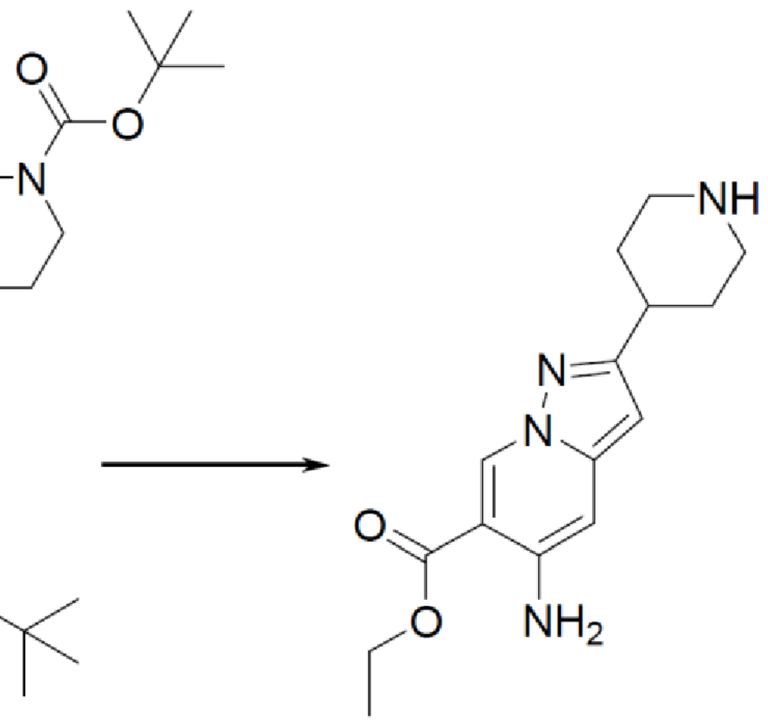
乾燥且濃縮，得到所需產物。或者，將反應混合物吸附於ISOLUTE® SCX管柱上，該管柱用MeOH洗滌且用NH_3/MeOH溶離。濃縮溶離之混合物，得到所需產物。

方法I之示意性實例：合成中間物20：6-甲氧基-2-(2-甲磺醯基乙基)吡唑并[1,5-a]吡啶-5-胺



【0256】將N-[6-甲氧基-2-(2-甲磺醯基乙基)吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]胺基甲酸第三丁酯(1.49 g，4.03 mmol，1.0當量)於10:1 DCM/TFA(66.0 mL，20.0當量)中之溶液在室溫下攪拌3小時。添加0.5 mL TFA(2.0當量)且進一步在室溫下攪拌混合物1小時。稀釋(DCM)混合物且小心地用飽和$NaHCO_3$洗滌。分離兩相且洗滌(鹽水)有機層，乾燥(Na_2SO_4)且濃縮，得到所需產物。

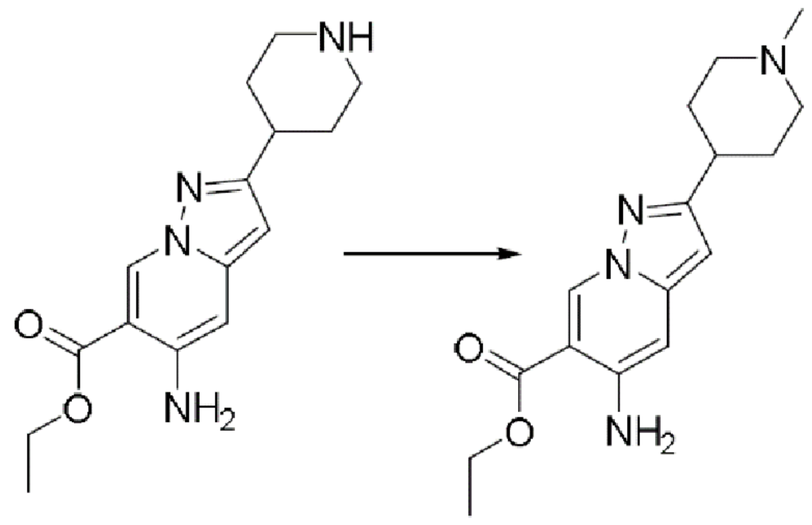
1.28. 中間物34：5-胺基-2-(4-哌啶基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯



【0257】在室溫下攪拌5-(第三丁氧基羰基胺基)-2-(1-第三丁氧基羰

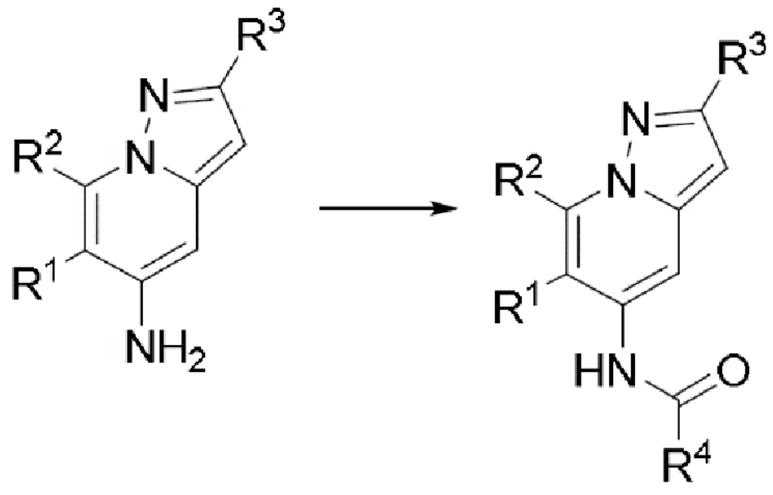
基-4-哌啶基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯(1.35 g，2.76 mmol，1.0當量)於DCM(60 mL)/TFA(4.2 mL，20.0當量)中之溶液16小時。添加1 mL TFA(5.0當量)且再在室溫下攪拌混合物3小時。將反應混合物吸附於ISOLUTE® SCX管柱上，該管柱用MeOH洗滌且用7 N NH_3/MeOH溶離。濃縮經溶離之混合物，得到所需產物。

1.29. 中間物33：5-胺基-2-(1-甲基-4-哌啶基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯



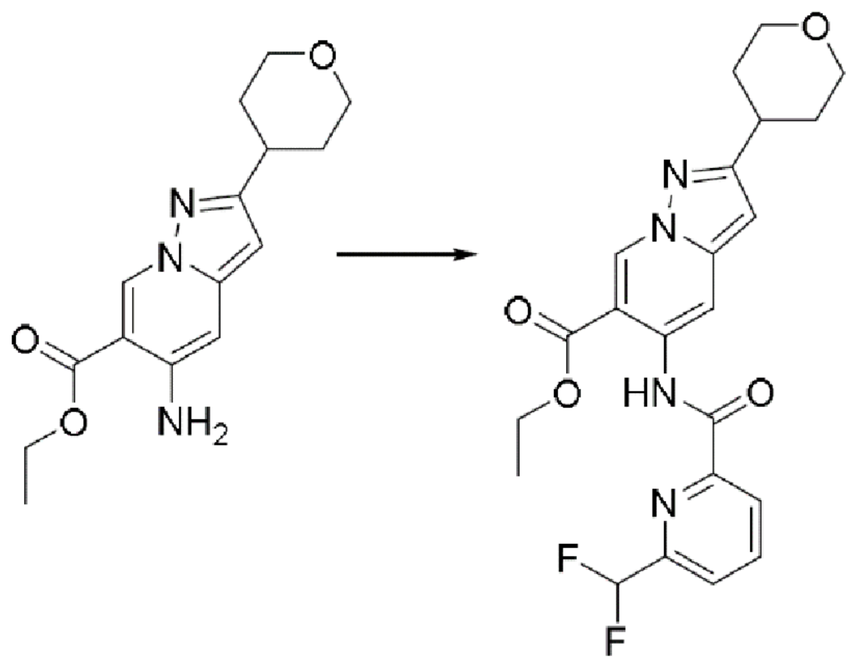
【0258】將甲醛(36%於H_2O中，0.43 mL，5.6 mmol，4.5當量)添加至5-胺基-2-(4-哌啶基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯(360 mg，1.25 mmol，1.0當量)於THF(40 mL)中之混合物中。添加三乙醯氧基硼氫化鈉(1.5 g，7.24 mmol，5.8當量)。在室溫下將混合物攪拌隔夜。混合物用飽和$NaHCO_3$稀釋。用EtOAc萃取所得混合物。分離兩層且洗滌(鹽水)有機層，乾燥(Na_2SO_4)且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至0:100 DCM/[90:4:1 DCM/MeOH/NH_4OH])純化殘餘物，得到所需產物。

1.30. 通用方法J：自吡唑并[1,5-a]吡啶-5-胺衍生物合成醯胺



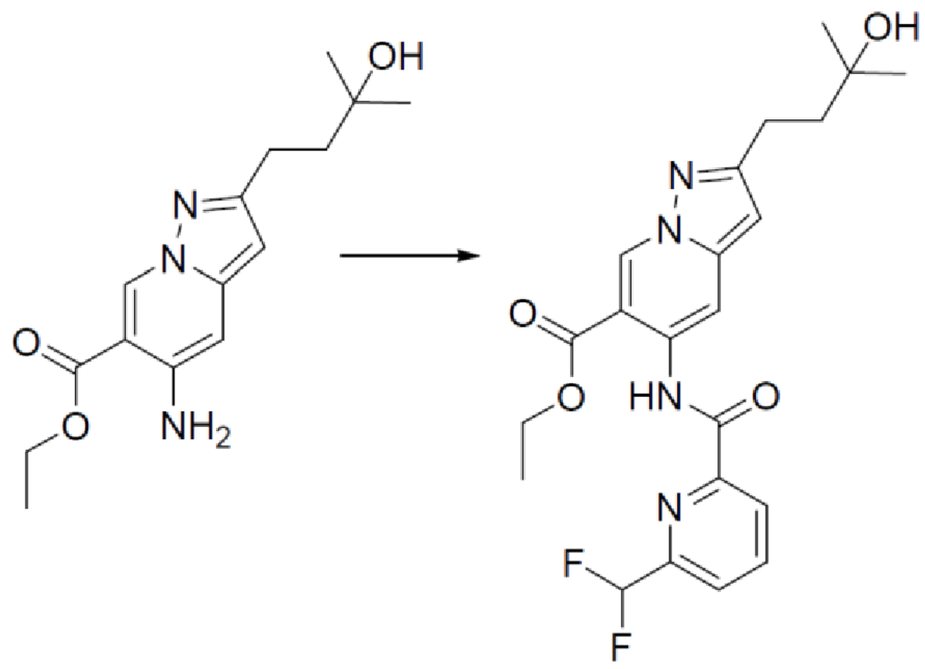
【0259】 將甲酸(1.2當量)及HATU, CAS#148893-10-1 (1.2當量)添加至胺(1.0當量)及DIPEA(2.0當量)於DMF之混合物中。在室溫下攪拌所得混合物5至16小時。將反應混合物逐滴添加至冷卻鹼性溶液(H_2O及飽和$NaHCO_3$水溶液)中且藉由沈澱分離所需產物。

方法J之示意性實例，合成中間物46：5-[[6-(二氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]-2-四氫哌喃-4-基-吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯



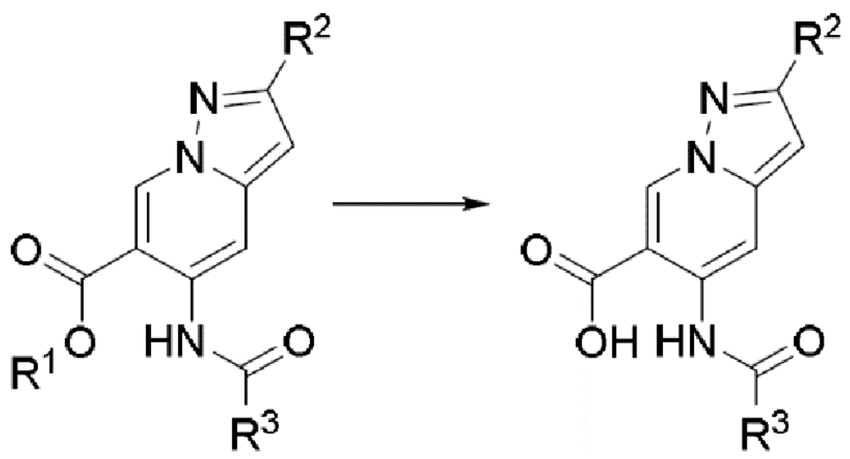
【0260】 將6-(二氟甲基)吡啶-2-甲酸(145 mg，0.838 mmol，1.2當量)及HATU, CAS#148893-10-1(319 mg，0.838 mmol，1.2當量)添加至5-胺基-2-四氫吡喃-4-基-吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯(202 mg，0.698 mmol，1.0當量)及DIPEA (0.243 mL，1.40，2.0當量)於DMF (11 mL)中之混合物中，且在室溫下攪拌所得混合物16小時。將反應混合物逐滴添加至冷卻鹼性溶液(500 mL H_2O及90 mL飽和$NaHCO_3$水溶液)中且藉由沈澱、過濾及乾燥固體來分離所需產物。

1.31. 中間物48：5-[[6-(二氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]-2-(3-羥基-3-甲基丁基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯



【0261】將6-(二氟甲基)吡啶-2-甲酸(135 mg，0.783 mmol，1.2當量)及HATU, CAS#148893-10-1(298 mg，0.783 mmol，1.2當量)添加至5-胺基-2-(3-羥基-3-甲基-丁基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯(190 mg，0.652 mmol，1.0當 量)及DIPEA (0.227 mL，1.30mmol，2.0當 量)於DCM (10 mL)中之混合物中。在室溫下攪拌所得混合物16小時。添加6-(二氟甲基)吡啶-2-甲酸(23 mg，0.13 mmol，0.2當量)及HATU, CAS#148893-10-1 (34 mg, 0.13 mmol, 0.2當量)，且再攪拌混合物4小時。稀釋(DCM)混合物，洗滌(飽和NH_4Cl、飽和$NaHCO_3$及鹽水)，乾燥(Na_2SO_4)且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至0:100 DCM/[90:4:1 DCM/MeOH/NH_4OH])純化殘餘物，得到所需產物。

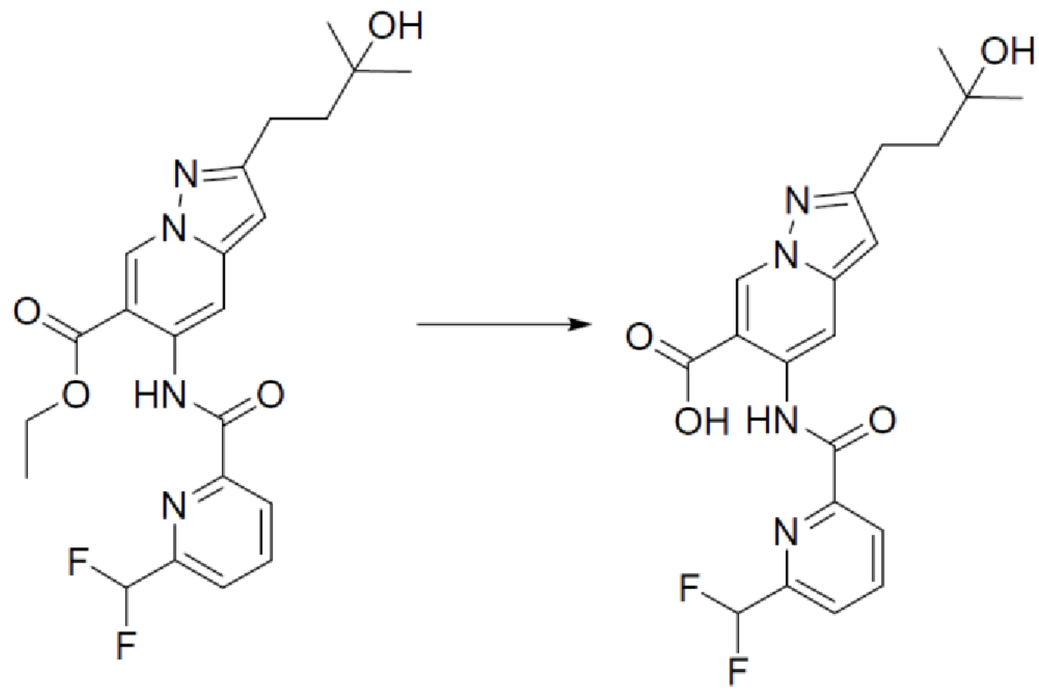
1.32. 通用方法K：吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸酯衍生物之酯水解



【0262】將LiOH(3.0當 量)添 加 至 酯 衍 生 物(1.0當 量)於4:1 THF/H_2O中之混合物中。在室溫下攪拌反應混合物4至24小時。在減壓下移除THF且用1 M HCl將混合物酸化至pH≤5。在形成沈澱物之情況下，過濾出所需產物，用H_2O洗滌且在空氣中乾燥。或者，用有機溶劑萃取酸

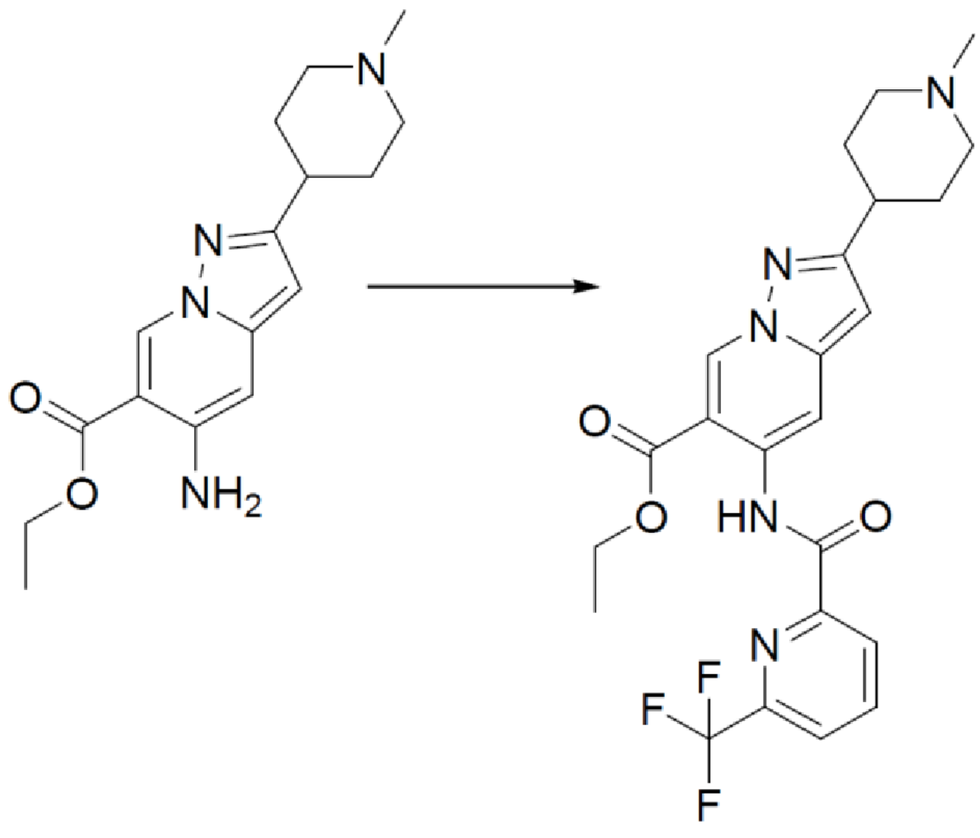
化混合物。洗滌、乾燥且濃縮有機混合物，得到所需產物。

方法K之示意性實例，合成中間物49：5-[[6-(二氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]-2-(3-羥基-3-甲基-丁基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸



【0263】將LiOH(22.0 mg，0.92 mmol，3.0當量)添加至5-[[6-(二氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]-2-(3-羥基-3-甲基-丁基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯(137 mg，0.31 mmol，1.0當量)於4:1 THF/H_2O(10 mL)中之混合物中。在室溫下攪拌混合物4小時。在減壓下移除THF且用1 M HCl將混合物酸化至pH≤5。用EtOAc(3×)萃取混合物。洗滌(鹽水)經合併之有機層，乾燥(Na_2SO_4)且濃縮，得到所需產物。

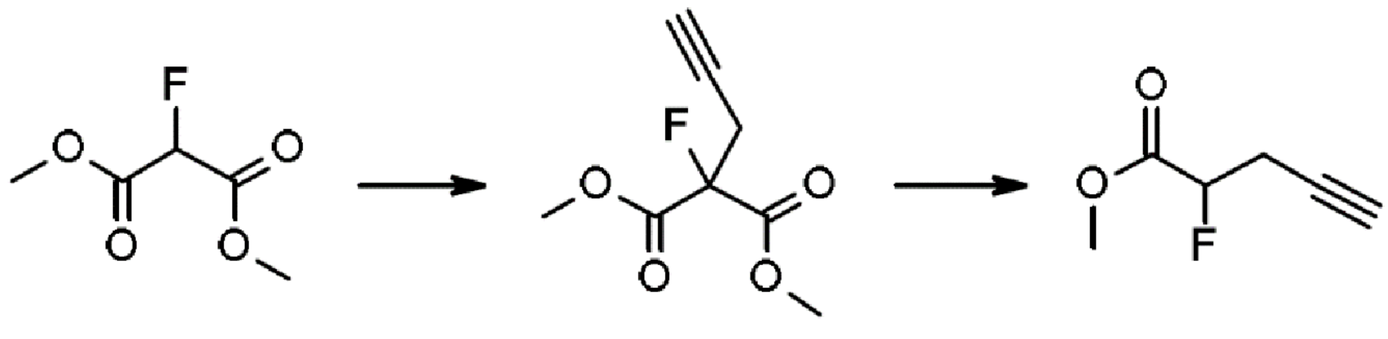
1.33. 中間物32：2-(1-甲基-4-哌啶基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯



【0264】將6-(二氟甲基)吡啶-2-甲酸(93 mg，0.488 mmol，1.2當

量)及HATU, CAS#148893-10-1(186 mg，0.488 mmol，1.2當量)添加至5-胺基-2-(1-甲基-4-哌啶基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯(123 mg，0.407 mmol，1.0當量)及DIPEA (0.142 mL，0.84 mmol，2.1當量)於DMF (7 mL)中之混合物中。在室溫下攪拌所得混合物19小時。添加飽和$NaHCO_3$水溶液(30 mL)且在室溫下攪拌所得混合物10分鐘。用DCM (3×20 mL)萃取混合物。乾燥(經由相分離器過濾)合併之有機層且濃縮。藉由急驟管柱層析(®puriFlash SiO_2管柱，100:0至0:100 DCM/[90:5:0.5 DCM/MeOH/NH_4OH])純化殘餘物，得到所需產物。

1.34. 中間物50：2-氟戊-4-炔酸甲酯

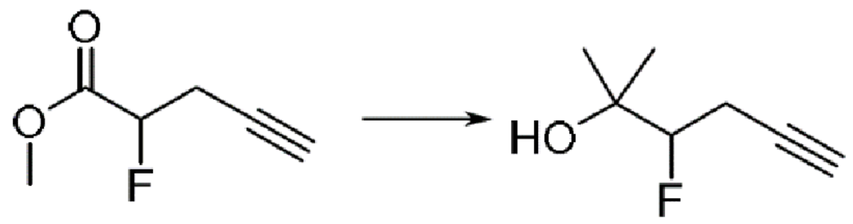


【0265】*步驟i：*將2-氟丙二酸二甲酯(10.0 g，63.3 mmol，1.0當量)於THF(70 mL)中之溶液置於圓底燒瓶中且在氮氣流下在冰浴中冷卻。逐份添加氫化鈉(於礦物油中之60%分散液)(3.8 g，95 mmol，1.5當量)且在低溫下繼續攪拌10分鐘。隨後在室溫下將反應混合物攪拌30分鐘且再次在冰浴中冷卻。歷經5分鐘時段逐滴添加於甲苯中之3-溴丙-1-炔，9.2 M(10 mL，92 mmol，1.5當量)。在低溫下繼續攪拌5分鐘且隨後在室溫下攪拌4小時。在減壓下蒸發揮發物。用水稀釋殘餘物且用EtOAc萃取兩次。合併之有機相經硫酸鈉乾燥，過濾且在減壓下蒸發。

【0266】*步驟ii：*將氯化鋰(3.97 g，93.6 mmol，3.0當量)添加至2-氟-2-丙-2-炔基-丙二酸二甲酯(5.88 g，31.3 mmol，1.0當量)於DMSO/H_2O(40/1.5 mL)中之溶液中。密封小瓶且在110℃下加熱反應混合物1小時。用水(300 mL)/NaCl飽和水溶液(200 mL)之混合物稀釋殘餘

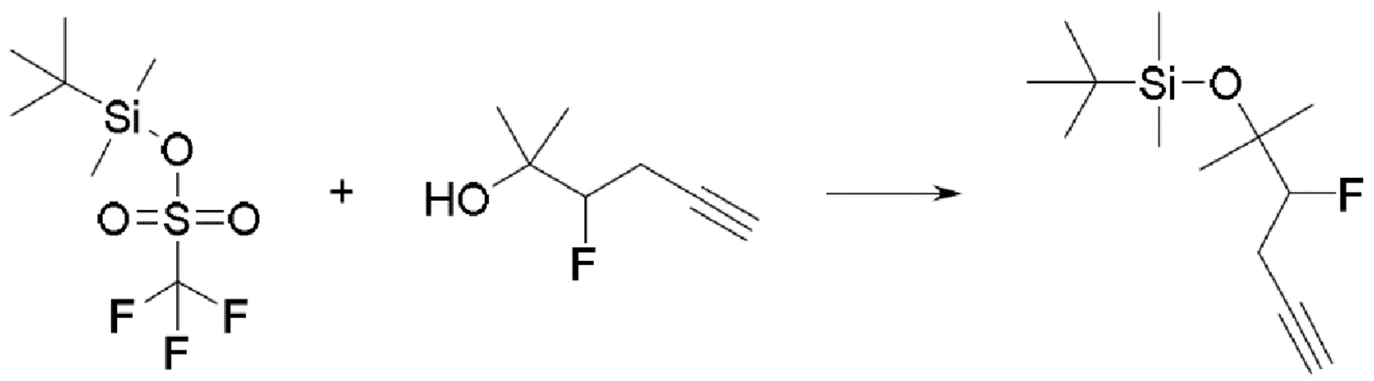
物，且用EtOAc(2×500 mL)萃取兩次。合併之有機相用NaCl飽和水溶液洗滌。有機相經硫酸鈉乾燥，過濾且在減壓下蒸發。藉由急驟管柱層析純化粗樣品，用EtOAc/正庚烷溶離，得到所需產物。

1.35. 中間物51：3-氟-2-甲基-己-5-炔-2-醇



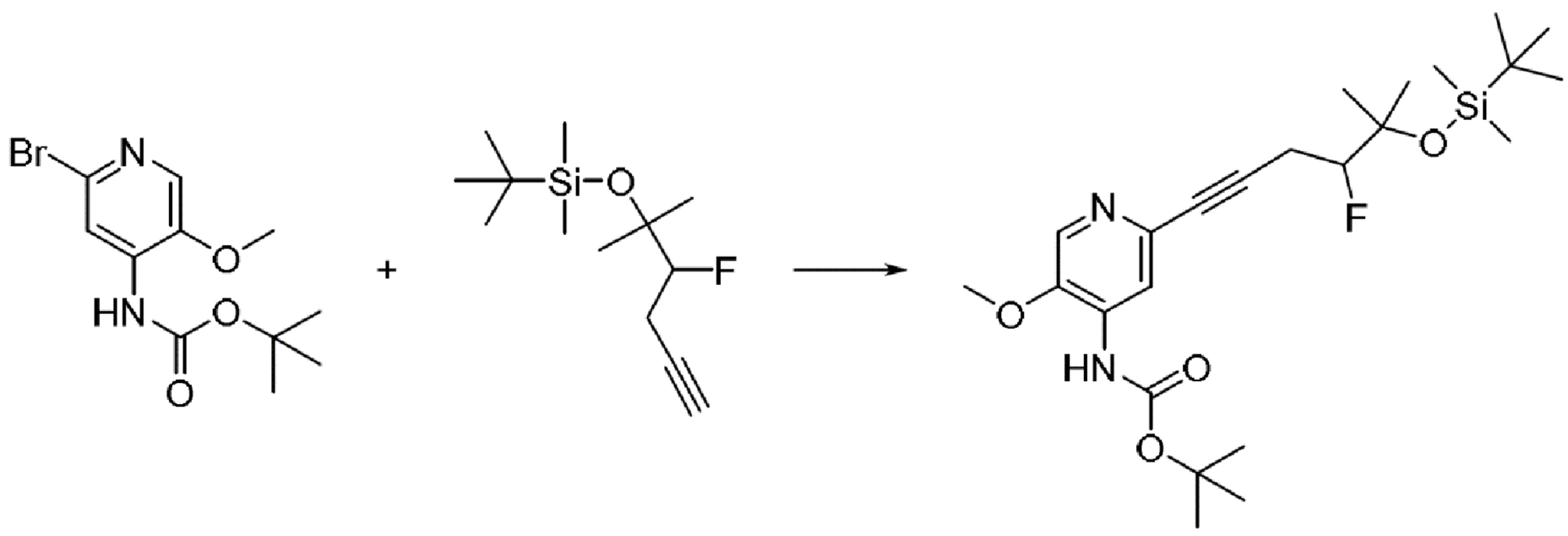
【0267】在室溫下在氮氣氛圍下將2-氟戊-4-炔酸甲酯(200 mg，1.5 mmol，1.0當量)溶解於THF(3 mL)中。溶液在冰浴中冷卻且逐滴添加甲基溴化鎂，3.0 M於Et_2O(1.5 mL，4.5 mmol，2.9當量)中。在5分鐘之後，移除冰浴且在室溫下攪拌溶液2小時。用飽和NH_4Cl水溶液小心地淬滅反應混合物直至獲得澄清溶液為止。用EtOAc稀釋溶液且分離有機相。再次用DCM(2×50 mL)萃取水相。經硫酸鈉乾燥經合併之有機相，在減壓下過濾且蒸發，得到所需產物。

1.36. 中間物52：第三丁基-(2-氟-1,1-二甲基-戊-4-炔氧基)-二甲基-矽烷



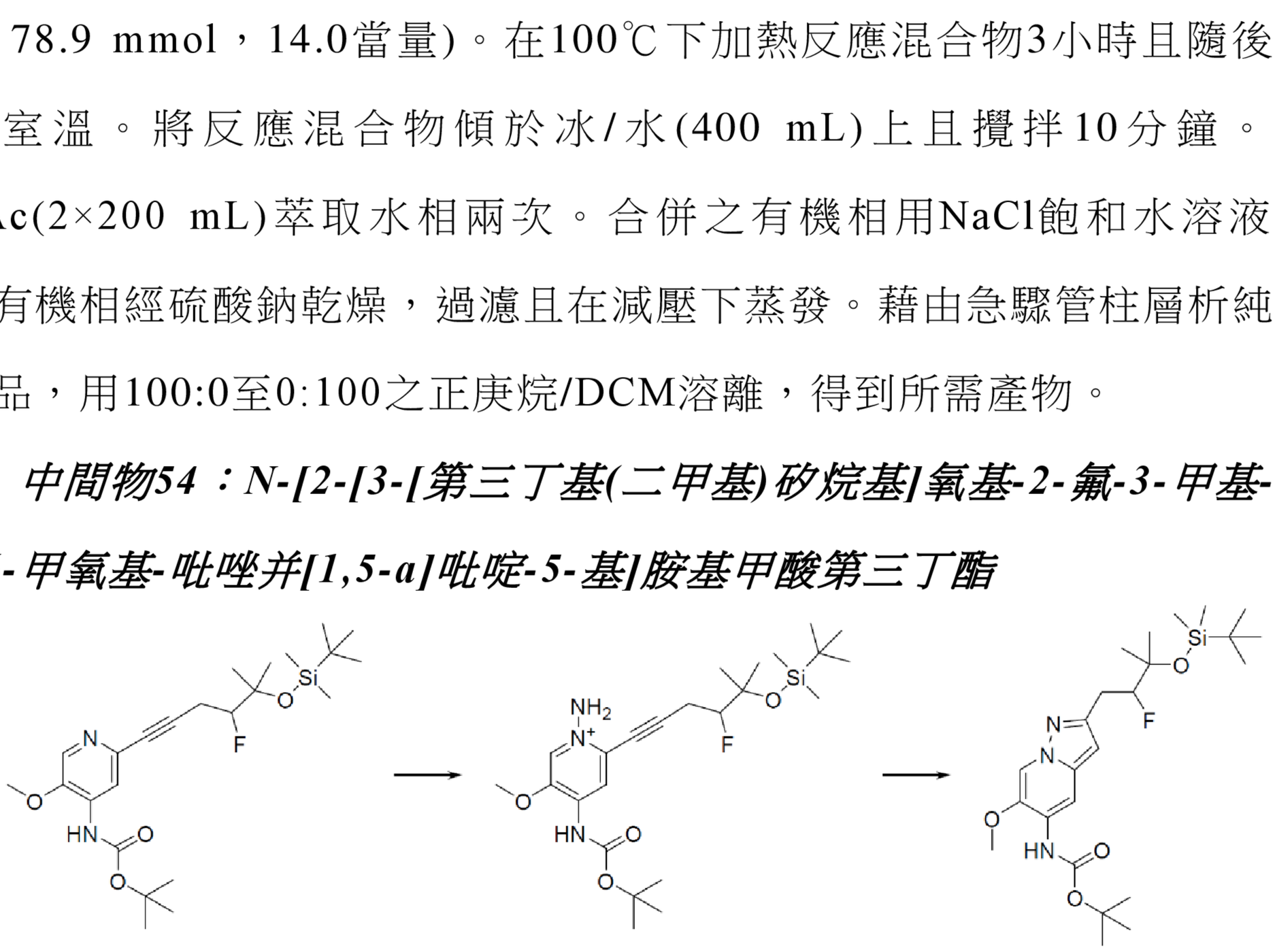
【0268】將[第三丁基(二甲基)矽烷基]三氟甲烷磺酸酯(13.5 g，51.1mmol，2.5當量)逐滴添加至3-氟-2-甲基-己-5-炔-2-醇(2.65 g, 20.4 mmol, 1.0當量)及吡啶(10 mL，124 mmol，6.0當量)於DCM(110 mL)中之冰冷卻溶液中。在10分鐘之後，移除冰浴且在室溫下攪拌溶液20小時。用HCl水溶液(2 N)洗滌溶液且隨後用飽和$NaHCO_3$水溶液洗滌。有機相經硫酸鈉乾燥，過濾且在減壓下蒸發。藉由急驟管柱層析純化粗樣品，用100:0至94:6之正庚烷/DCM溶離，得到所需產物。

1.37. 中間物53：N-[2-[5-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-4-氟-5-甲基-己-1-炔基]-5-甲氧基-4-吡啶基]胺基甲酸第三丁酯



【0269】在密封管中，將第三丁基N-(2-溴-5-甲氧基-4-吡啶基)胺基甲酸酯(1.7 g，5.6 mmol，1.0當量)、第三丁基-(2-氟-1,1-二甲基-戊-4-炔氧基)-二甲基-矽烷(1.4 g，5.7 mmol，1.0當量)、雙(三苯基膦)二氯化鈀(II) (400 mg，0.6 mmol，0.1當量)及碘化銅(230 mg, 1.1 mmol, 0.2當量)懸浮於DMF(35 mL)中。使氮氣鼓泡通過反應混合物5分鐘且添加TEA(11 mL，78.9 mmol，14.0當量)。在100℃下加熱反應混合物3小時且隨後冷卻至室溫。將反應混合物傾於冰/水(400 mL)上且攪拌10分鐘。用EtOAc(2×200 mL)萃取水相兩次。合併之有機相用NaCl飽和水溶液洗滌。有機相經硫酸鈉乾燥，過濾且在減壓下蒸發。藉由急驟管柱層析純化粗樣品，用100:0至0:100之正庚烷/DCM溶離，得到所需產物。

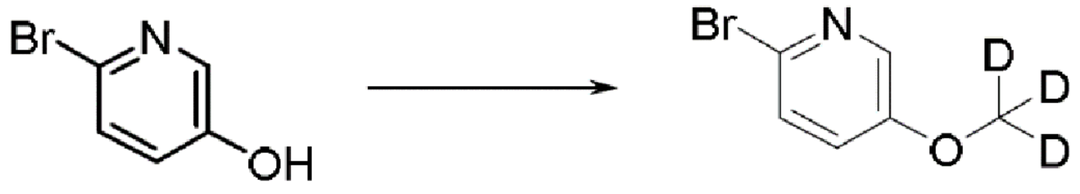
1.38. 中間物54：N-[2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-2-氟-3-甲基-丁基]-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]胺基甲酸第三丁酯



【0270】 將O-二苯基膦醯羥胺(1.68 g, 7.1 mmol, 2.0當量)添加至N-[2-[5-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-4-氟-5-甲基-己-1-炔基]-5-甲氧基-4-吡啶基]胺基甲酸第三丁酯(1.67 g, 3.5 mmol, 1.0當量) 於THF(60 mL)/水(30 mL)中之溶液中。在室溫下攪拌反應混合物20小時。

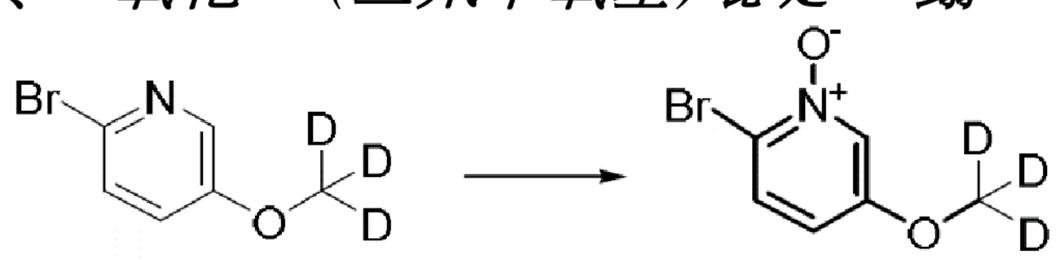
【0271】 *步驟ii*：向先前溶液中添加AcOH(120 mL)且隨後在80℃下加熱4小時。將反應混合物冷卻至室溫且在40℃下在減壓下蒸發揮發物。藉由急驟管柱層析純化粗樣品，用95:5至60:40之正庚烷/EtOAc溶離，得到所需產物。

1.39. 中間物56：2-溴-5-(三氘甲氧基)吡啶



【0272】 在室溫下向6-溴吡啶-3-醇(390 g，2.4 mol，1.0當量)與碳酸銫(1107 g，3.6 mol，1.5當量)於DMF(2000 mL)中之混合物中逐滴添加碘甲烷-d_3(155 mL，2.52 mol，1.08當量)歷經15分鐘。將溫度保持在40℃下且攪拌混合物1小時。將混合物冷卻至室溫且添加至水(6000 mL)與Et_2O(2000 mL)之混合物中。用Et_2O(2000 mL及1500 mL)萃取水層。用鹽水(2×1500 mL)洗滌聚集之有機萃取物。在減壓下將有機層濃縮至乾燥，得到所需產物。

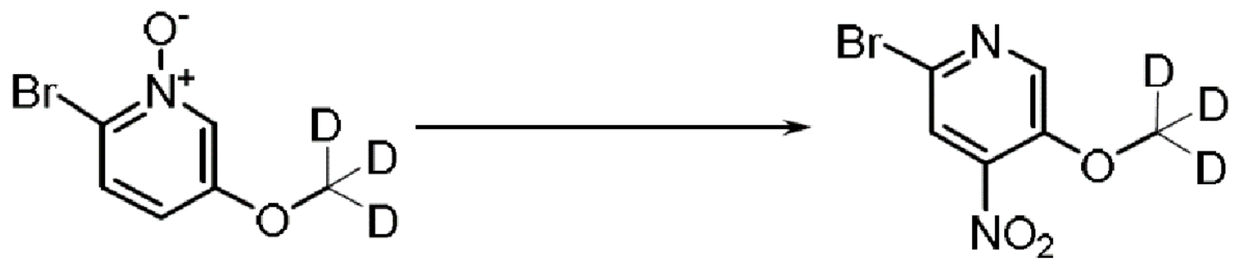
1.40. 中間物57：2-溴-1-氧化-5-(三氘甲氧基)吡啶-1-鎓



【0273】 在5 L反應器中，向2-溴-5-(三氘甲氧基)吡啶(98.0%，406 g，2083 mmol，1.0當量)於1,2-二氯乙烷(4 L)中之溶液中一次性添加3-氯過氧苯甲酸(77.0%，702 g，3131 mmol，1.5當量) (吸熱，溫度下降至10

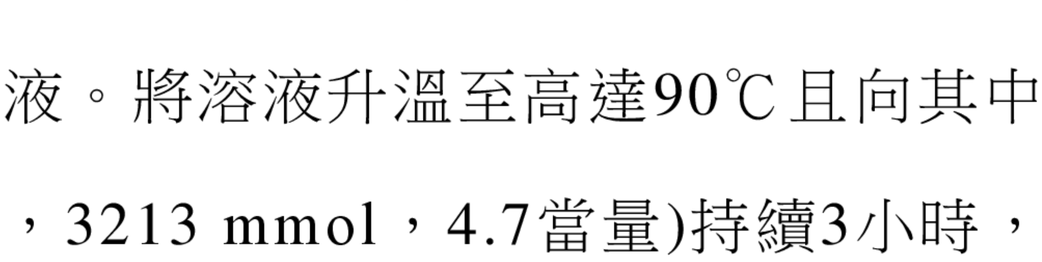
℃)。將混合物升溫至80℃且攪拌2小時。將混合物冷卻至35℃，藉由添加二乙胺(345 mL，3332 mmol，1.5當量)來淬滅且在減壓下濃縮至乾燥。向所得粗產物添加水(2 L)及DCM(3 L)。藉由使用二乙胺將pH調節至10.6。攪拌混合物5分鐘且分離各層。用DCM(1 L)萃取水層。向水層中添加固體NaCl(600 g)且在溶解後用DCM(1 L)萃取。用2 N NaOH水溶液(400 mL)洗滌聚集之有機萃取物且濃縮至乾燥，得到所需產物。

1.41. 中間物58：2-溴-5-甲氧基-4-硝基吡啶



【0274】在配備有溫度計之2公升三頸圓底燒瓶中同時進行實驗。將燒瓶之出口連接至空截留瓶，且隨後連接至2 M NaOH溶液。向燒瓶中添加2-溴-5-(三氘甲氧基)吡啶-1-氧化物(95.0%，149 g，683 mmol，1.0當量)，且隨後添加濃硫酸，96% (456 mL，8204 mmol，12.0當量)。攪拌懸浮液直至獲得溶液。將溶液升溫至高達90℃且向其中逐滴添加硝酸，發煙，90% (149 mL，3213 mmol，4.7當量)持續3小時，同時保持溫度在110-120℃之間。完成後，使溫度降低至60℃且在15分鐘期間將混合物逐滴添加至劇烈攪拌之冷水(4 L)上。使所形成之懸浮液在10℃下攪拌30分鐘，隨後過濾且用水洗滌濾餅。在抽吸下將濾餅保持在漏斗上持續1小時，且隨後在開口板中保持風乾。在經72小時風乾之後，獲得產物。

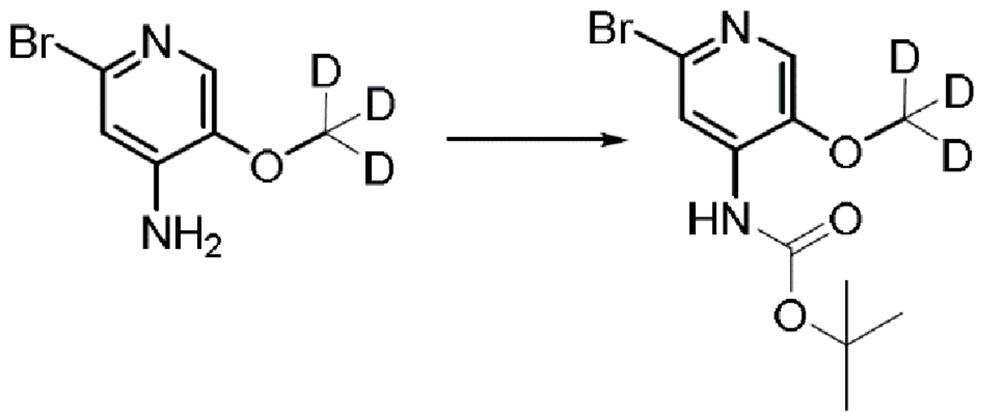
1.42. 中間物59：2-溴-5-(三氘甲氧基)吡啶-4-胺



【0275】在室溫下向2-溴-4-硝基-5-(三氘甲氧基)吡啶(70.0%，230

g，682 mmol，1.0當 量)及 氯 化 銨(40.0 g，748 mmol，1.1當 量)於EtOH，96% (1000 mL)及水(350 mL)之混合物中的懸浮液中一次性添加鐵，粉末(400 g，7163 mmol，10.5當量)。將混合物加熱至80℃且攪拌2小時。將混合物冷卻至室溫且經由矽藻土墊過濾。將濾液濃縮至大約500 mL體積產生懸浮液。經由燒結漏斗過濾懸浮液。用水(2×400 mL)洗滌濾餅且在抽吸下於漏斗上靜置1小時。用3×400 mL DCM洗滌矽藻土墊且將洗滌液濃縮至乾燥。收集粉末及DCM萃取物且藉由管柱層析(梯度溶離0-5% MeOH/DCM)純化，得到所需產物。

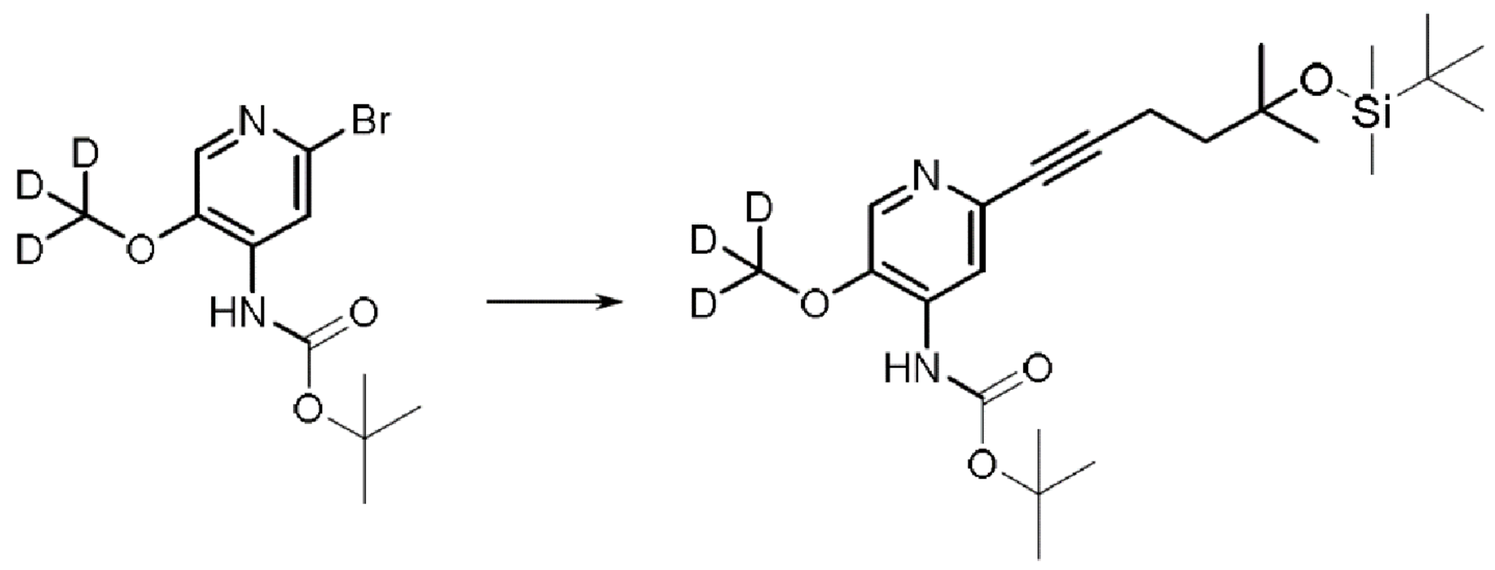
1.43. 中間物60：N-[2-溴-5-(三氘甲氧基)-4-吡啶基]胺基甲酸第三丁酯



【0276】在5 L反應器中，將二碳酸二第三丁酯(74.0 g，339 mmol，13.0當 量)及4-二甲胺基吡啶(3.19 g，26.1 mmol，1.0當 量)於DCM(1 L)中之溶液冷卻至0℃。經1小時向其中添加2-溴-5-(三氘甲氧基)吡啶-4-胺(96.0%，56.0 g，261 mmol，10.0當量)及TEA(106 g，1044 mmol，40.0當量)於DCM(1 L)中之溶液。使混合物升溫至21℃且攪拌16小時。藉由添加飽和$NaHCO_3$水溶液(2 L)淬滅反應物。分離且蒸發有機層。將殘餘物溶解於DCM中且裝載於矽膠墊(15 cm高，19 cm直徑)上。梯度溶離0-2% MeOH/DCM 15 L，得到所需產物與起始物質之混合物。混合物再次參與相同反應：將5 L反應器中的二碳酸二第三丁酯(32.4 g，148 mmol，5.67當量)及4-二甲胺基吡啶(1.39 g，11.4 mmol，0.43當量)於DCM(1 L)中之溶液冷卻至0℃。經1小時向其中逐滴添加2-溴-5-(三氘

甲氧基)吡啶-4-胺(50%純度，47 g，114 mmol，4.36當量)及TEA(46.2 g，456 mmol，17.4當量)於DCM(1 L)中之溶液。使混合物升溫至21℃且保持攪拌隔夜。藉由添加飽和$NaHCO_3$水溶液(2 L)淬滅反應物。分離且蒸發有機層，得到粗產物，將其溶解於DCM中且裝載於矽膠墊(9 cm高，13 cm直徑)上。梯度溶離0-30% EtOAc/環己烷10 L，獲得所需產物。

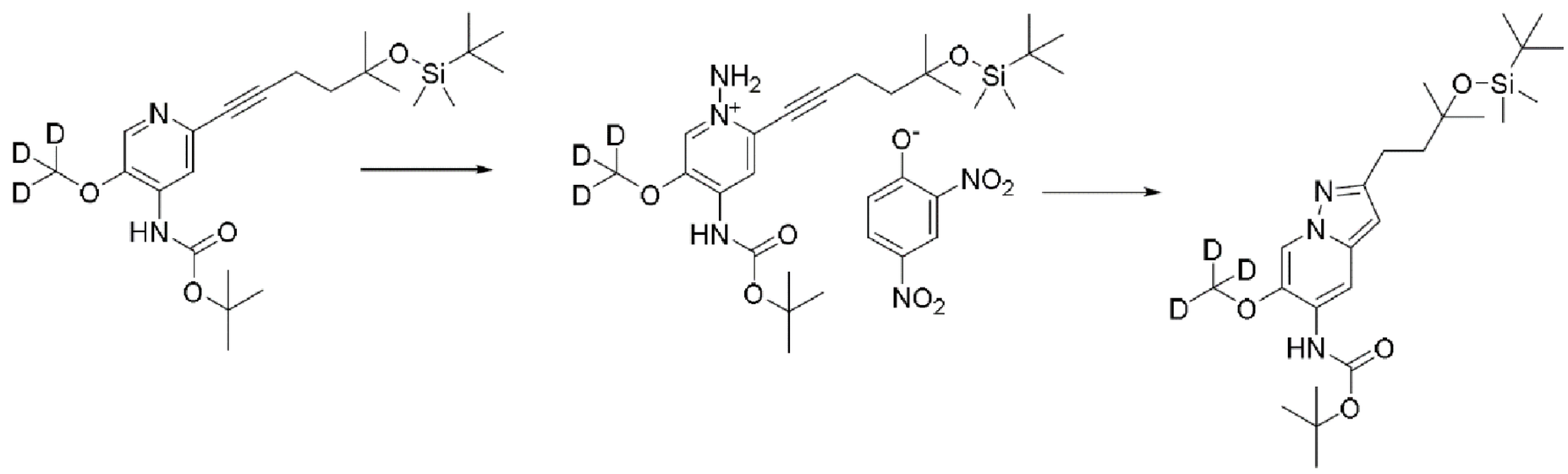
1.44. 中間物61：N-[2-[5-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-5-甲基-己-1-炔基]-5-(三氘甲氧基)-4-吡啶基]胺基甲酸第三丁酯



【0277】 用N_2淨化N-[2-溴-5-(三氘甲氧基)-4-吡啶基]胺基甲酸第三丁酯(6.44 g，21.0 mmol，1.0當量)、雙(三苯膦)二氯化鈀(II) (1.48 g，2.10 mmol，0.1當量)、碘化銅(I) (0.801 g，4.21 mmol，0.2當量)及TEA(41.0 mL，294 mmol，14.0當量)於DMF(100 mL)中之混合物15分鐘。向混合物中添加第三丁基-(1,1-二甲基戊-4-炔氧基)-二甲基-矽烷(80.0%純度，7.14 g，25.2 mmol，1.2當量)於DMF(10 mL)中之溶液且繼續淨化10分鐘。將混合物加熱至90℃且攪拌反應物16小時。將混合物冷卻至室溫且藉由添加飽和NH_4Cl (300 mL)及EtOAc (100 mL)淬滅。用EtOAc (50 mL)萃取水層。用飽和NH_4Cl水溶液(100 mL)且用鹽水(100 mL)洗滌有機萃取物。濃縮有機層且藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至75:25環己烷/EtOAc)純化殘餘物，得到所需產物。

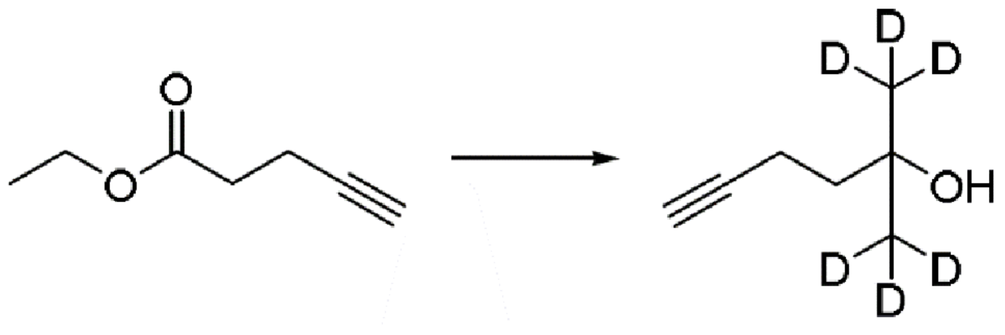
1.45. 中間物62：N-[2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-

(三氘甲氧基)吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]胺基甲酸第三丁酯



【0278】在室溫下，向N-[2-[5-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-5-甲基-己-1-炔基]-5-(三氘甲氧基)-4-吡啶基]胺基甲酸第三丁酯(3.46 g，7.66 mmol，1當量)於MeCN(30 mL)中之懸浮液中一次性添加O-(2,4-二硝基苯基)羥胺(3.07 g，15.4 mmol，2.0當量)。將混合物加熱至50℃且攪拌24小時。將混合物蒸發至乾燥。將DMF(50 mL)添加至殘餘物且在80℃下攪拌混合物16小時。添加飽和$NaHCO_3$水溶液且用EtOAc萃取混合物。洗滌經合併之有機層(飽和NH_4Cl水溶液及鹽水)，乾燥(Na_2SO_4)且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至80:20 EtOAc/環己烷)純化殘餘物，得到所需產物。

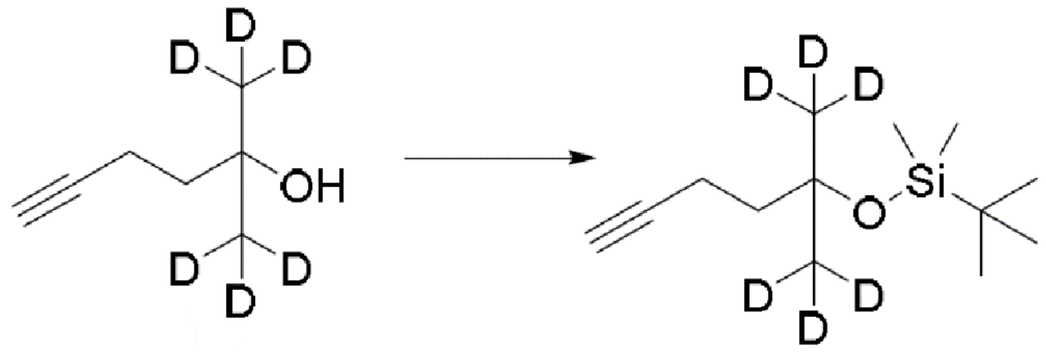
1.46. 中間物64：1,1,1-三氘-2-(三氘甲基)己-5-炔-2-醇



【0279】在室溫下，向含鎂屑(84.3 g，3.47 mol，3.5當量)之Et_2O(1 L)於5 L反應器中之懸浮液中添加一小勺碘。用N_2沖洗混合物。向混合物中逐滴添加三氘(碘)甲烷(430 g，2.97 mol，3.0當量)於Et_2O(1 L)中之溶液歷經20分鐘(注意：放熱)。在回流下攪拌混合物1小時且隨後冷卻至-5℃。逐滴添加戊-4-炔酸乙酯(125 g，0.991 mol，1.0當量)於Et_2O(1

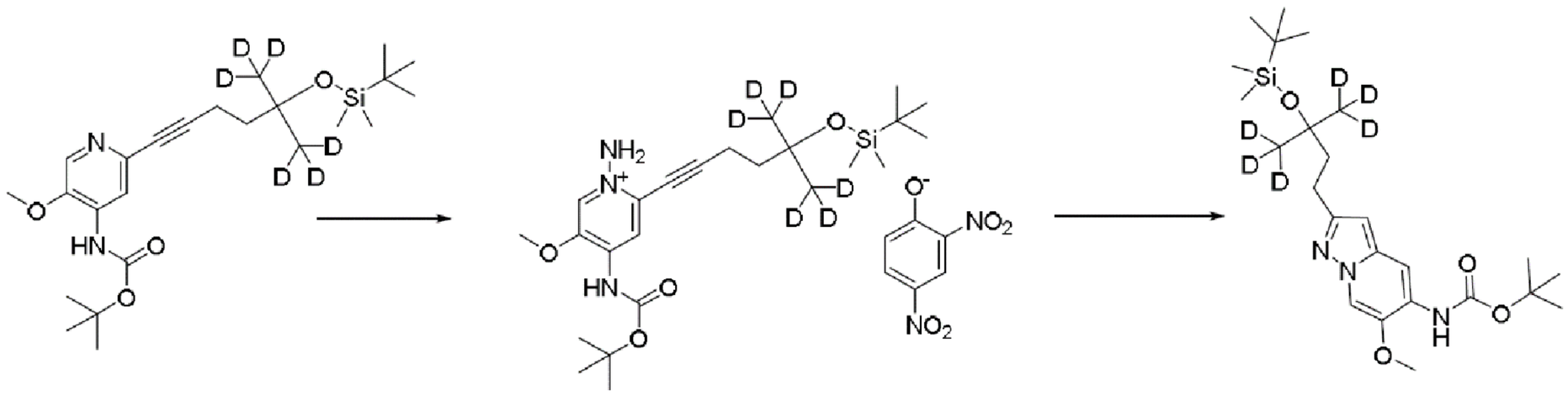
L)中之溶液歷經20分鐘。使混合物升溫至22℃且攪拌2小時。藉由逐滴添加飽和NH_4Cl水溶液(1 L)淬滅反應混合物(注意：放熱)及H_2O(1 L)。分離各層。用Et_2O(1 L)萃取水層。濃縮合併之有機萃取物，得到所需產物。

1.47. 中間物65：1,1-雙(三氘甲基)戊-4-炔氧基-第三丁基-二甲基-矽烷



【0280】在冰浴中在2 L圓底燒瓶中，冷卻1,1,1-三氘-2-(三氘甲基)己-5-炔-2-醇(38.0 g，289 mmol，1.0當量)及吡啶(107 mL，1.33 mol，4.2當量)於DCM(500 mL)中之溶液。逐滴添加[第三丁基(二甲基)矽烷基]三氟甲烷磺酸酯(123 g，465 mmol，1.5當量)歷經30分鐘。使反應物升溫至環境溫度且攪拌16小時。在減壓下濃縮混合物直至移除DCM。將Et_2O(1.5 L)添加至殘餘物中且攪拌所得懸浮液5分鐘。過濾懸浮液且用Et_2O(700 mL)洗滌濾餅。在減壓下將濾液濃縮至乾燥，得到所需產物。

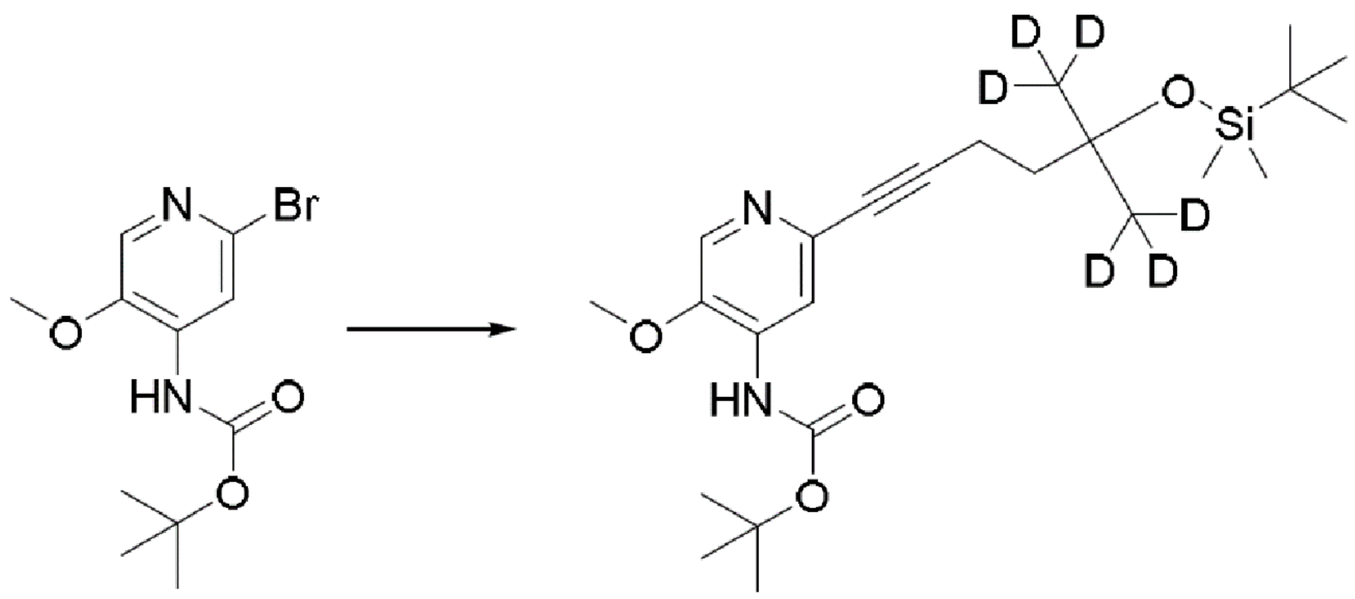
1.48. 中間物67：N-[2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-4,4,4-三氘-3-(三氘甲基)丁基]-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]胺基甲酸第三丁酯



【0281】在室溫下，向N-[2-[5-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-6,6,6-三氘-5-(三氘化甲基)己-1-炔基]-5-甲氧基-4-吡啶基]胺基甲酸第三丁酯(5.80 g，12.8 mmol，1.0當量)於MeCN(60 mL)中之懸浮液中一次性添加O-(2,4-二硝基苯基)羥胺，CAS# 17508-17-7(5.08 g，25.5 mmol，

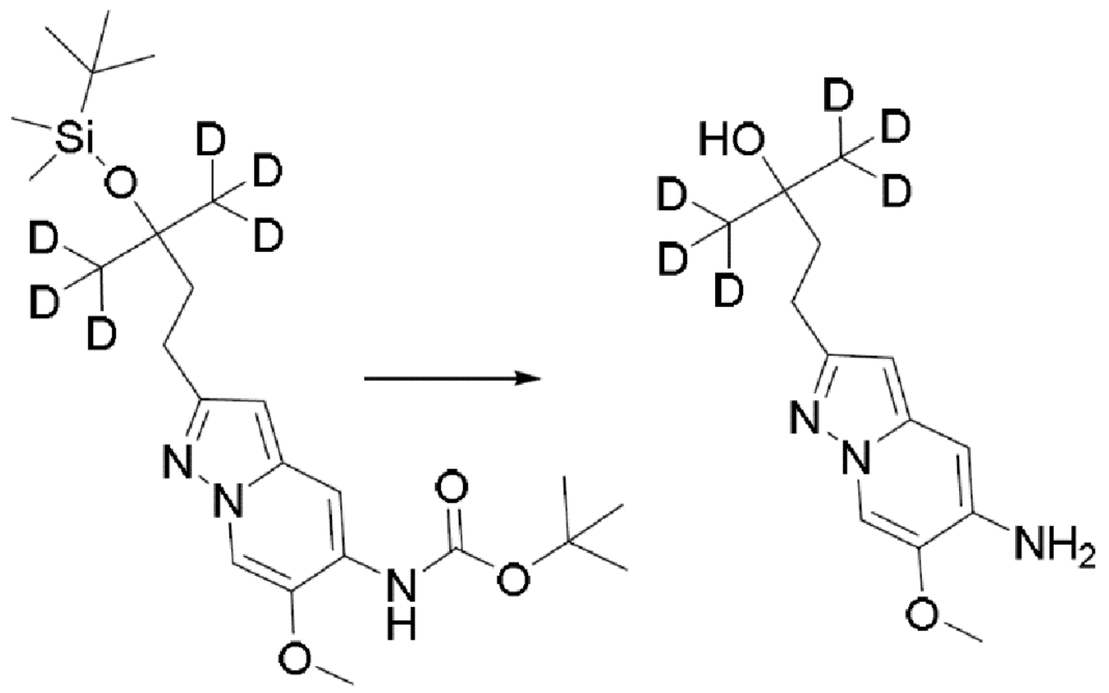
2.0當量)。將所得混合物加熱至50℃且攪拌隔夜。將混合物蒸發至乾燥。將DMF(100 mL)添加至殘餘物中且在80℃下攪拌所得混合物16小時。添加$NaHCO_3$飽和水溶液(300 mL)及EtOAc(200 mL)。過濾混合物且分離構成濾液之兩個層。進一步用EtOAc (100 mL)萃取水層。合併有機層，洗滌(飽和NH_4Cl水溶液及鹽水)，乾燥(Na_2SO_4)且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至80:20 EtOAc/環己烷)純化殘餘物，得到所需產物。

1.49. 中間物66：N-[2-[5-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-6,6,6-三氘-5-(三氘甲基)己-1-炔基]-5-甲氧基-4-吡啶基]胺基甲酸第三丁酯



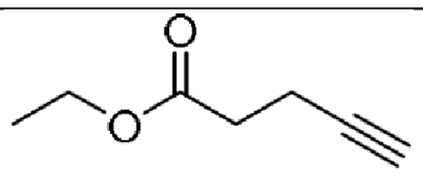
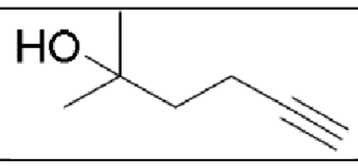
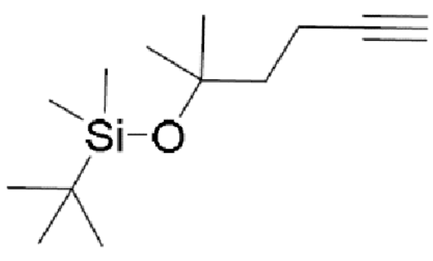
【0282】用N_2沖洗N-[2-溴-5-甲氧基-4-吡啶基]胺基甲酸第三丁酯(89.0 g，294 mmol，1.0當量)、雙(三苯膦)二氯化鈀(II) (20.6 g，29.4 mmol，0.1當量)、碘化銅(I) (11.2 g，57.8 mmol，0.2當量)及TEA(573 mL，4.11 mmol，14.0當量)於DMF(1.5 L)中之混合物15分鐘。將1,1-雙(三氘甲基)戊-4-炔氧基-第三丁基-二甲基-矽烷(115 g，323 mmol，1.1當量)於DMF(500 mL)中之溶液添加至混合物中且繼續沖洗10分鐘。將混合物加熱至90℃且保留反應物以攪拌16小時。將混合物冷卻至室溫且藉由添加飽和NH_4Cl(3000 mL)及EtOAc(1500 mL)淬滅。用EtOAc(700 mL)萃取水層。合併有機層，洗滌(飽和NH_4Cl水溶液，1 L，及鹽水，1 L)且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至70:30環己烷/EtOAc)純化殘餘物，得到所需產物。

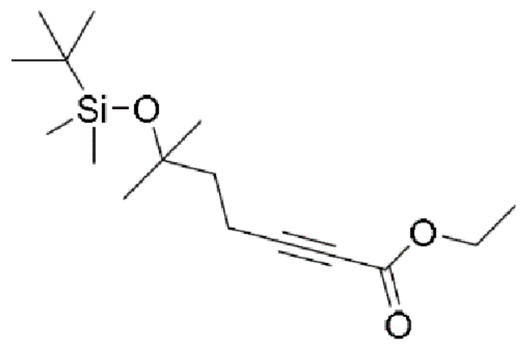
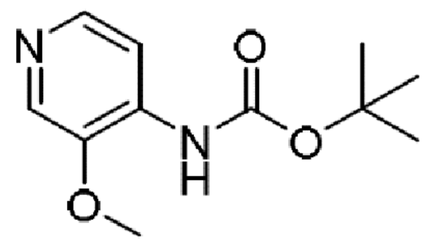
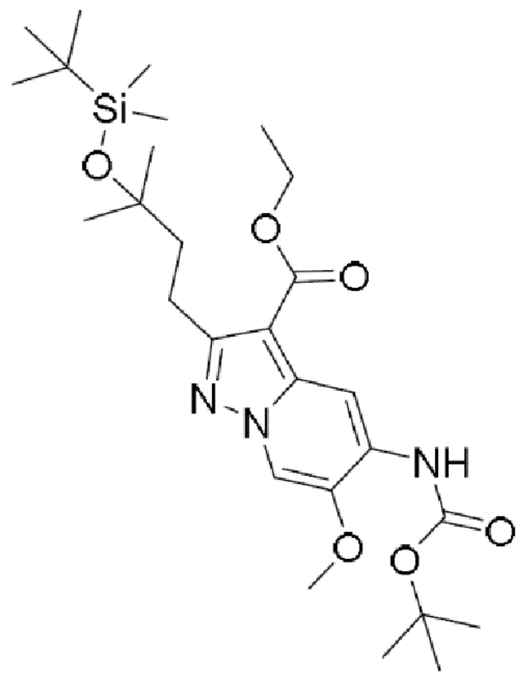
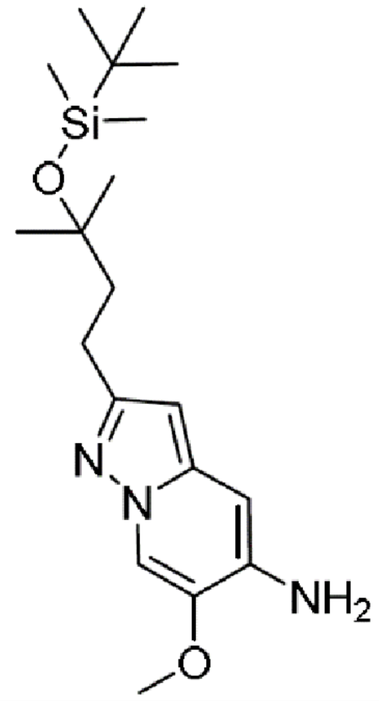
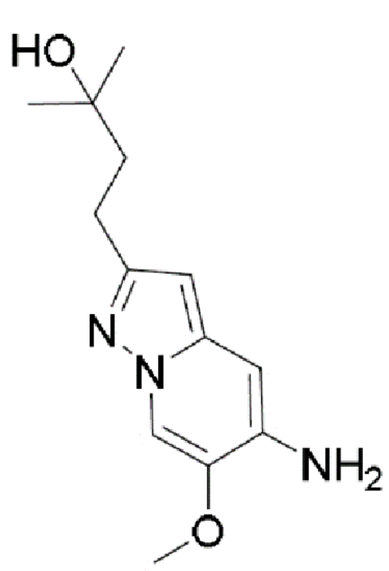
1.50. 中間物68：4-(5-胺基-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-1,1,1-三氘-2-(三氘甲基)丁-2-醇

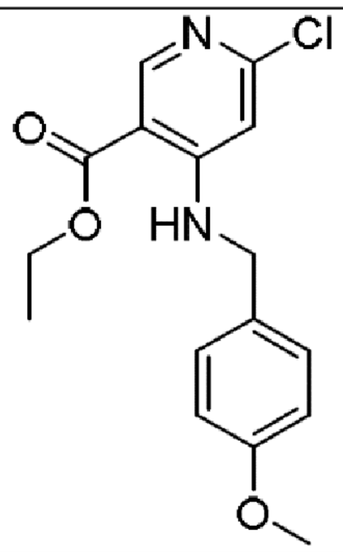
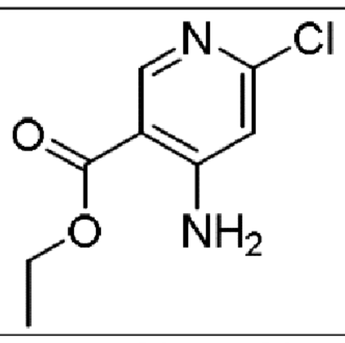
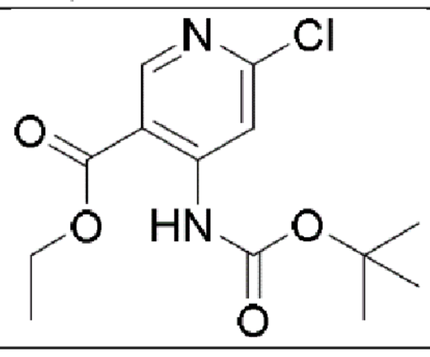
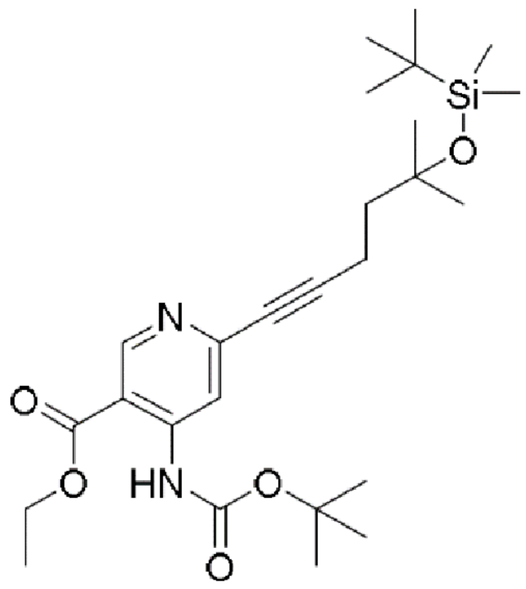
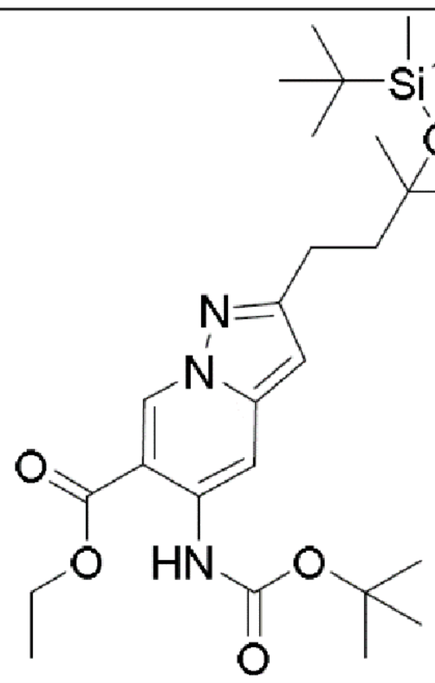


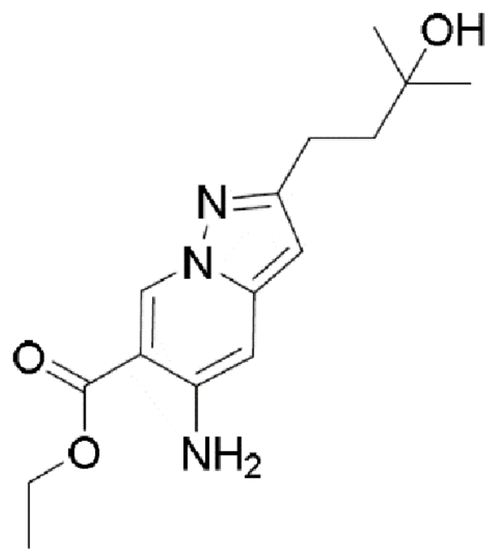
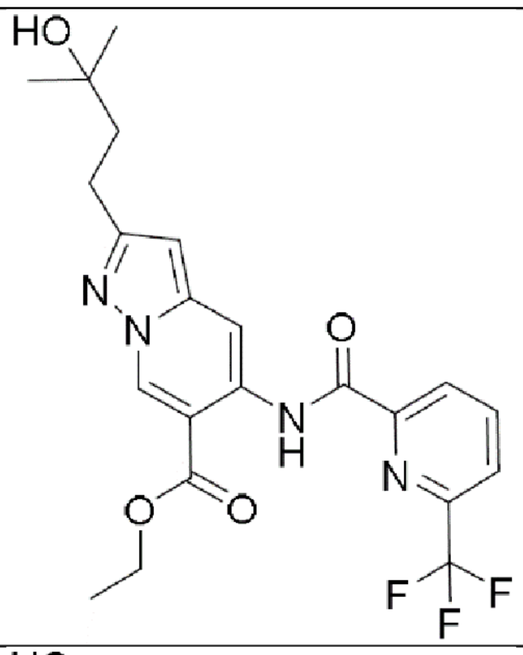
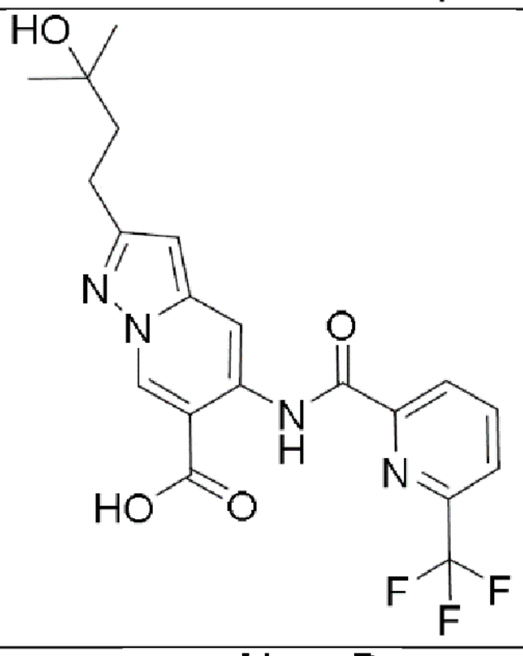
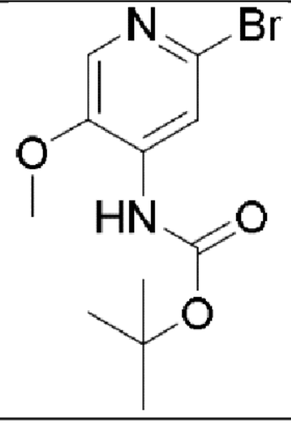
【0283】將2 M HCl水溶液(15 mL)一次性添加至N-[2-[3-(第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-4,4,4-三氘-3-(三氘甲基)丁基]-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]胺基甲酸第三丁酯(2.52 g，5.2 mmol，1.0當量)於MeOH(15 mL)及THF (15 mL)中之混合物中。將所得混合物加熱至90℃且攪拌16小時。添加6 M HCl水溶液(6 mL)且在回流下再攪拌所得混合物4小時。濃縮混合物以移除MeOH及THF。添加DCM(10 mL)且用2 M NaOH水溶液將pH調節至約8。分離兩層且濃縮。將殘餘物懸浮於MeCN(20 mL)中。在回流下攪拌混合物30分鐘。將混合物冷卻至室溫且隨後用冰浴冷卻。攪拌混合物20分鐘且過濾。在漏斗上在抽吸下乾燥由此獲得之固體，得到所需產物。

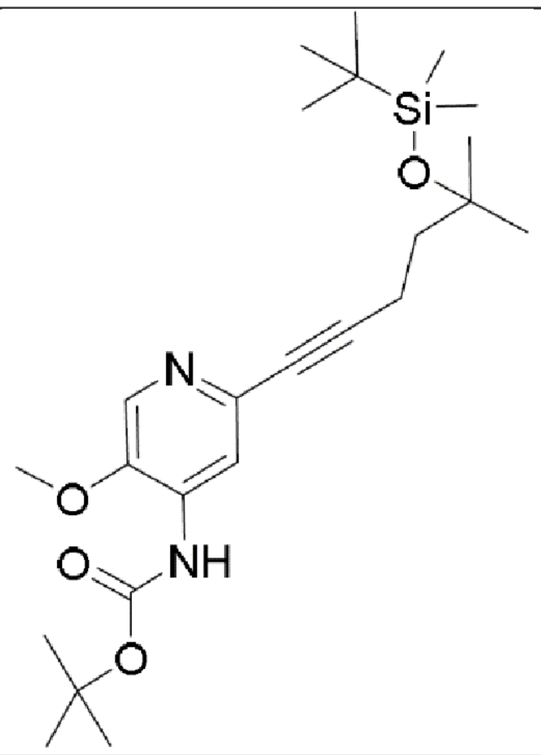
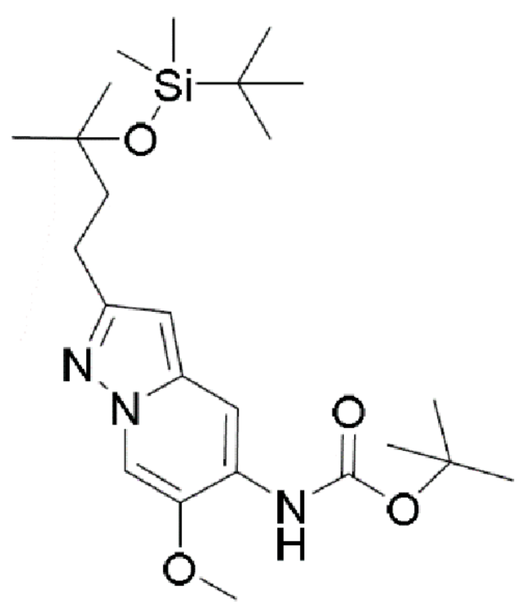
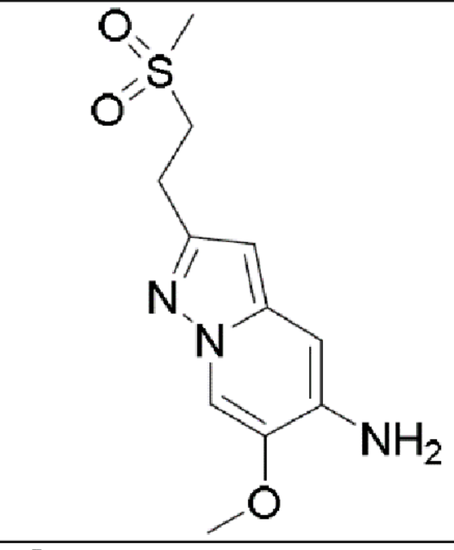
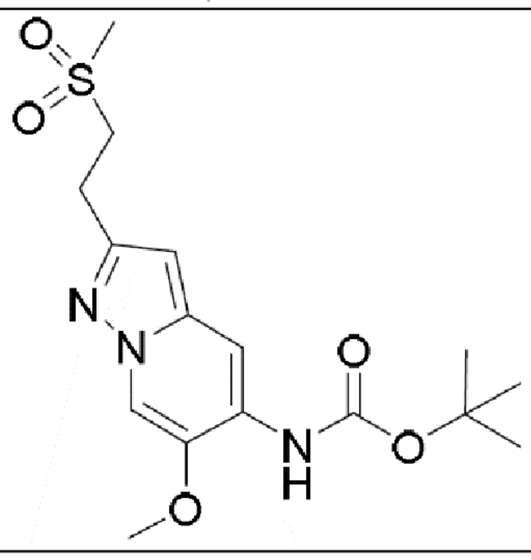
表II.針對說明性本發明化合物之中間物

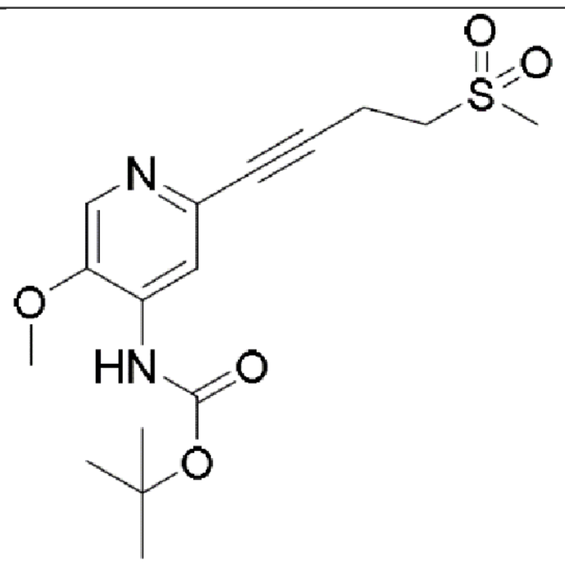
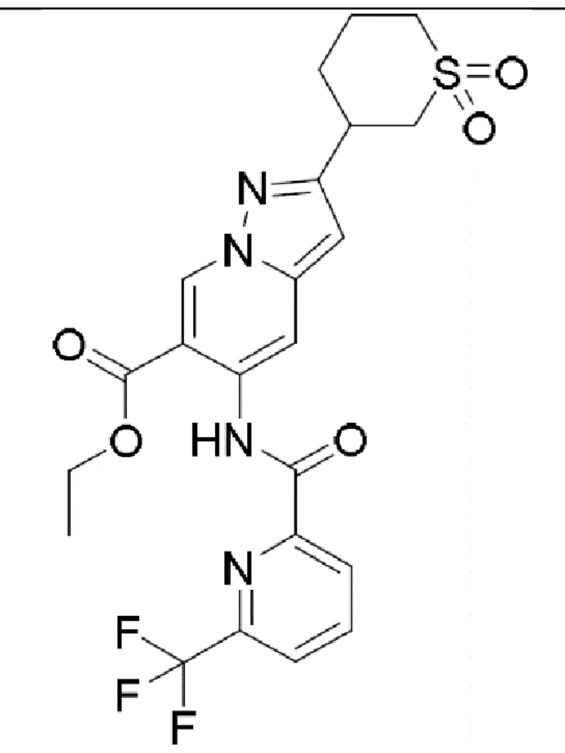
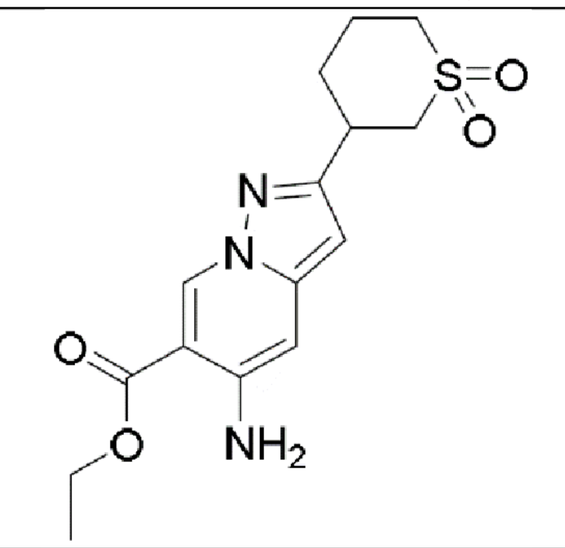
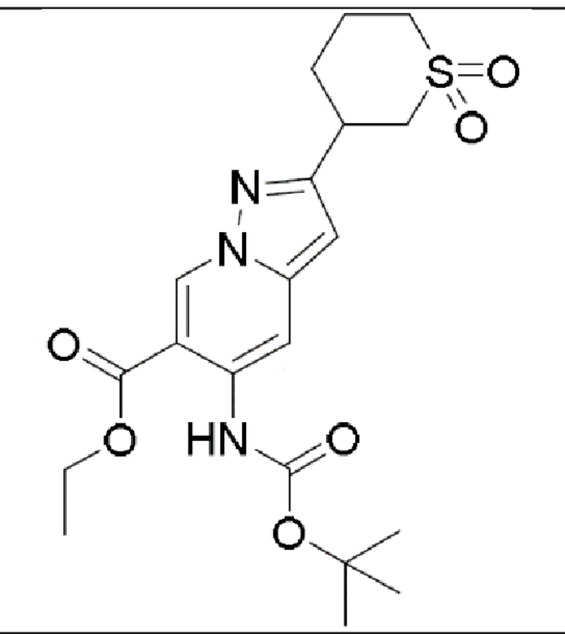
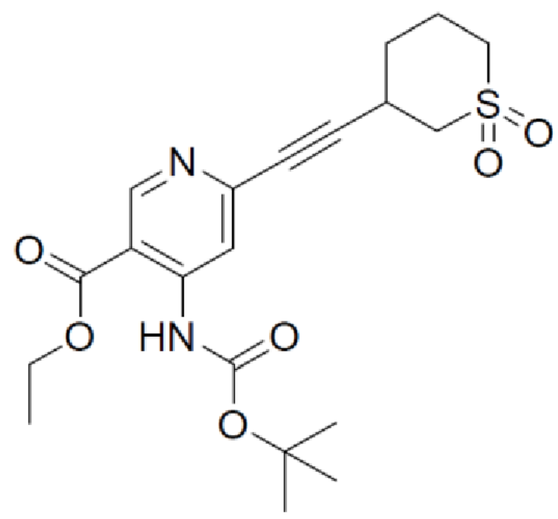
Int	結構	名稱	名稱起始物質	Mtd	MW(calc)	MW(obs)
1		戊-4-炔酸乙酯	戊-4-炔酸	NA	126.2	NA
2		2-甲基己-5-炔-2-醇	戊-4-炔酸乙酯	NA	112.2	NA
3		第三丁基-(1,1-二甲基戊-4-炔氧基)-二甲基-	2-甲基己-5-炔-2-醇	NA	226.4	NA

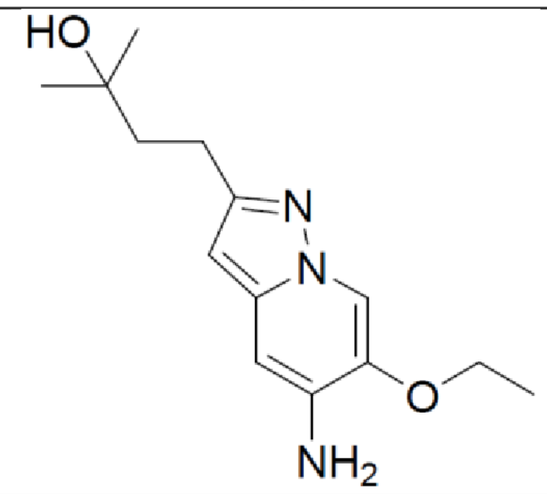
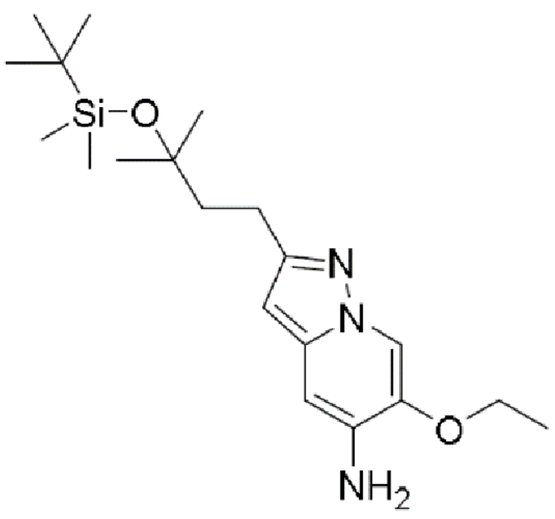
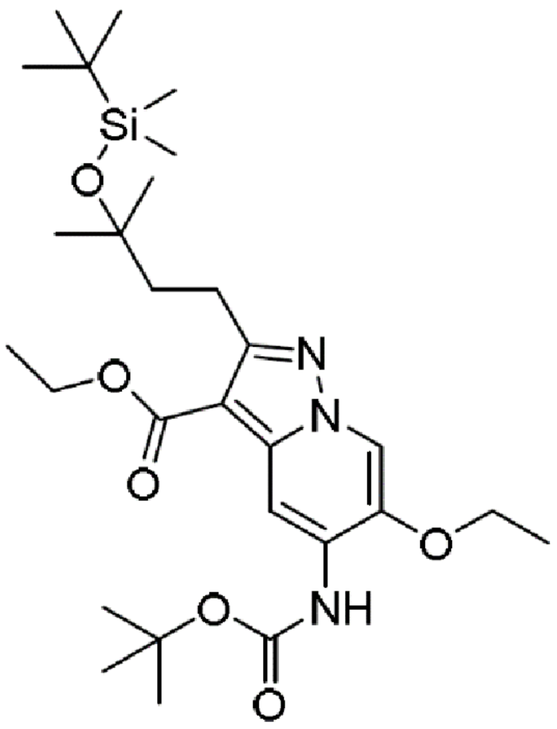
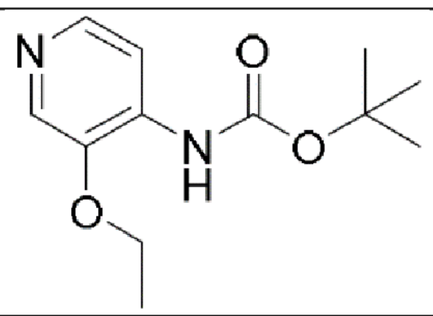
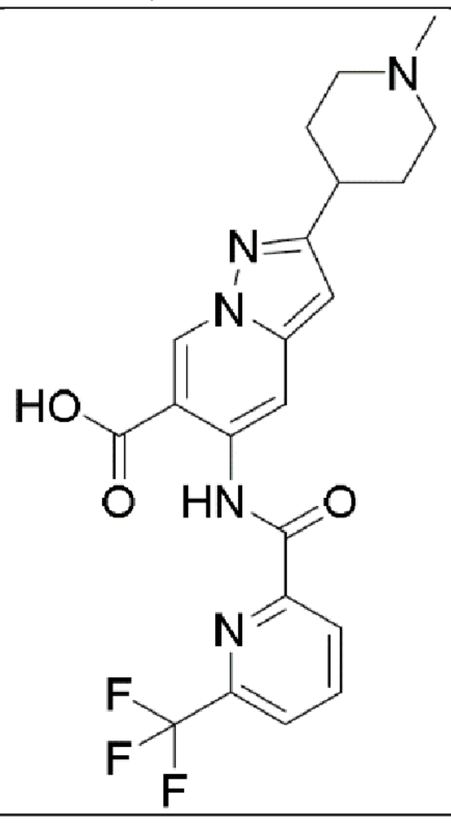
Int	結構	名稱	名稱起始物質	Mtd	MW(calc)	MW(obs)
		矽烷				
4		6-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-6-甲基-庚-2-炔酸乙酯	第三丁基-(1,1-二甲基戊-4-炔氧基)-二甲基-矽烷	NA	298.5	NA
5		N-(3-甲氧基-4-吡啶基)胺基甲酸第三丁酯	3-甲氧基吡啶-4-胺HCl鹽	NA	224.3	225.1
6		5-(第三丁氧基羰基胺基)-2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酸乙酯	N-(3-甲氧基-4-吡啶基)胺基甲酸第三丁酯	NA	535.8	536.2
7		2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-胺	5-(第三丁氧基羰基胺基)-2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酸乙酯	NA	363.6	364.2
8		4-(5-胺基-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-胺 或者 N-[2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-甲氧	NA 或 H	249.3	250.1

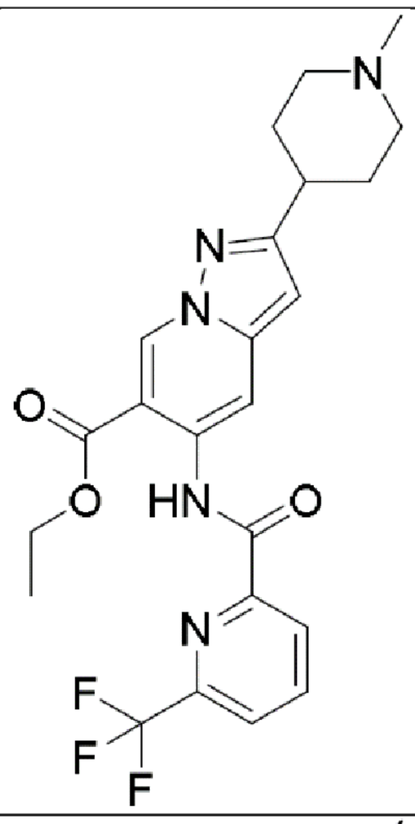
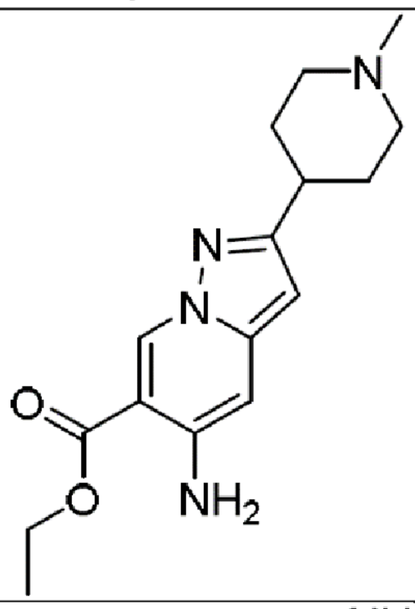
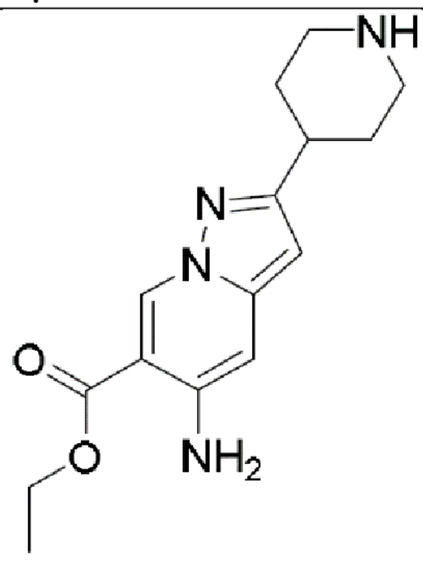
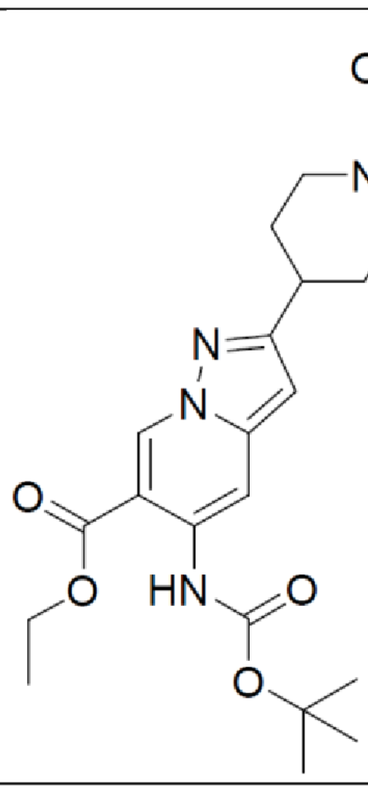
Int	結構	名稱	名稱起始物質	Mtd	MW(calc)	MW(obs)
			基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]胺基甲酸第三丁酯			
9		6-氯-4-[(4-甲氧基苯基)甲胺基]吡啶-3-甲酸乙酯	4,6-二氯吡啶-3-甲酸乙酯	NA	320.8	321.1
10		4-胺基-6-氯-吡啶-3-甲酸乙酯	6-氯-4-[(4-甲氧基苯基)甲胺基]吡啶-3-甲酸乙酯	NA	200.6	201. 0
11		4-(第三丁氧基羰基胺基)-6-氯-吡啶-3-甲酸乙酯	4-胺基-6-氯-吡啶-3-甲酸乙酯	NA	300.7	301.1
12		4-(第三丁氧基羰基胺基)-6-[5-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-5-甲基-己-1-炔基]吡啶-3-甲酸乙酯	4-(第三丁氧基羰基胺基)-6-氯-吡啶-3-甲酸乙酯	NA	490.7	491.2
13		5-(第三丁氧基羰基胺基)-2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	4-(第三丁氧基羰基胺基)-6-[5-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-5-甲基-己-1-炔基]吡啶-3-甲酸乙酯	NA	505.7	506.2

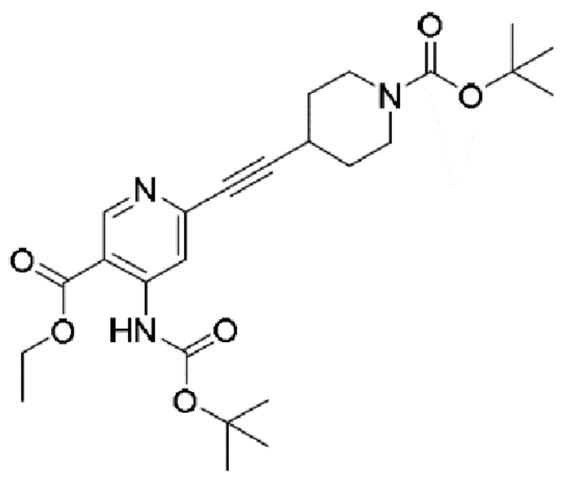
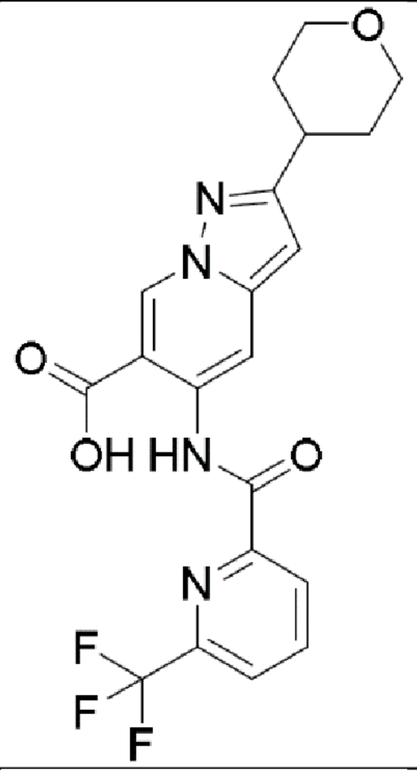
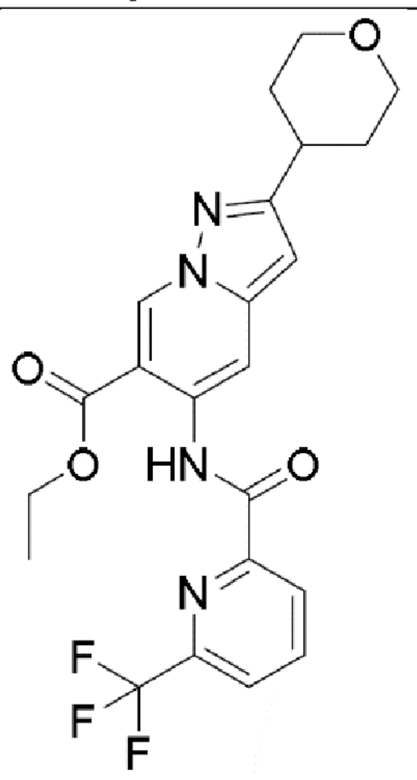
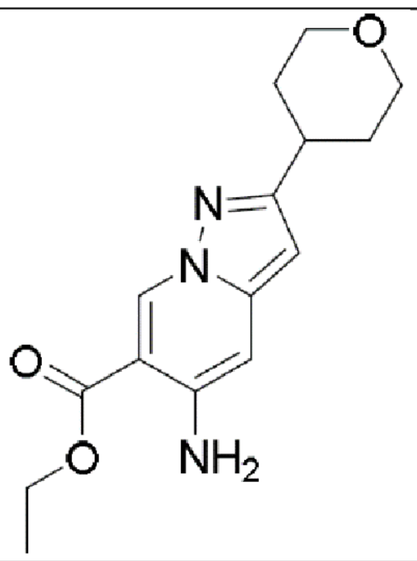
Int	結構	名稱	名稱起始物質	Mtd	MW(calc)	MW(obs)
14		5-胺基-2-(3-羥基-3-甲基-丁基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	5-(第三丁氧基羰基胺基)-2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	NA	291.4	292.1
15		2-(3-羥基-3-甲基-丁基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	5-胺基-2-(3-羥基-3-甲基-丁基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	NA	464.4	465.1
16		2-(3-羥基-3-甲基-丁基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸	2-(3-羥基-3-甲基-丁基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	NA	436.4	437.1
17		N-(2-溴-5-甲氧基-4-吡啶基)胺基甲酸第三丁酯	2-溴-5-甲氧基-吡啶-4-胺	NA	303.2	305.1

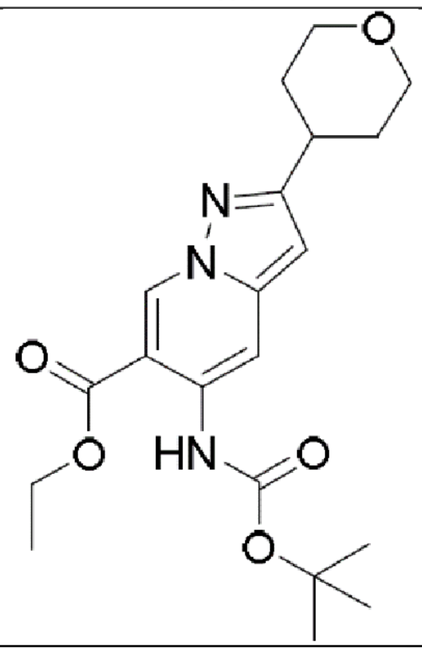
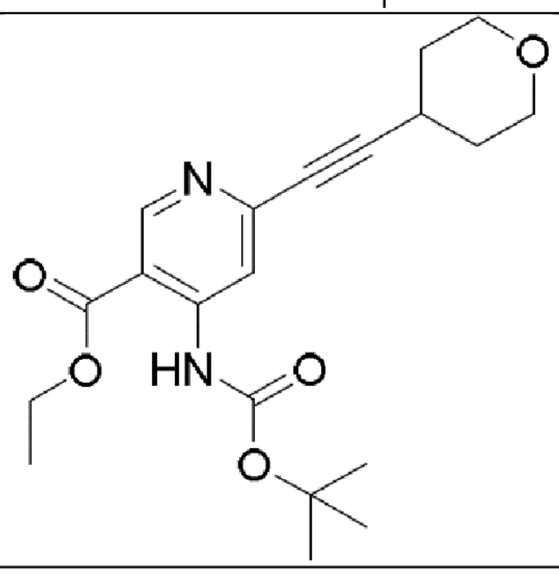
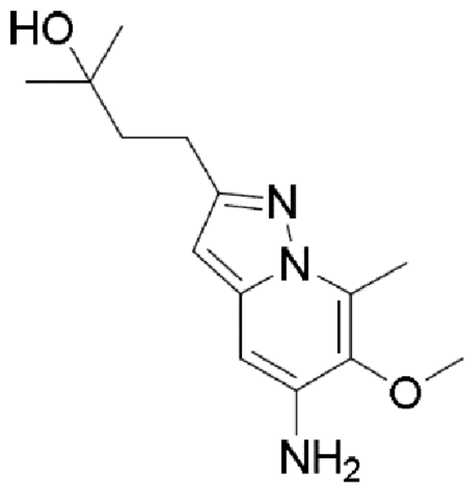
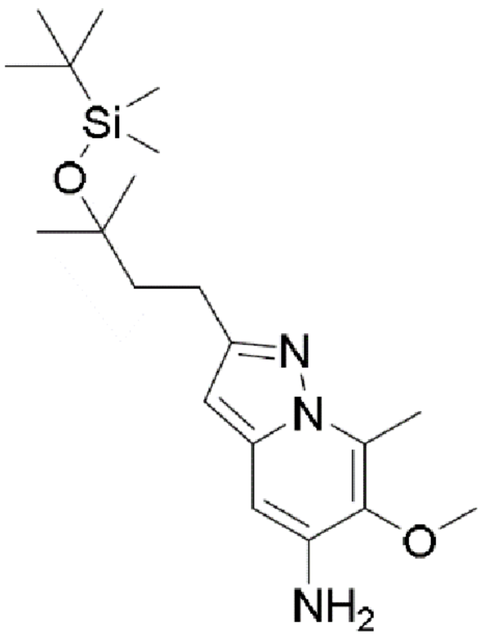
Int	結構	名稱	名稱起始物質	Mtd	MW(calc)	MW(obs)
18		N-[2-[5-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-5-甲基-己-1-炔基]-5-甲氧基-4-吡啶基]胺基甲酸酯	N-(2-溴-5-甲氧基-4-吡啶基)胺基甲酸第三丁酯	C1	448.7	449.2
19		N-[2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]胺基甲酸第三丁酯	N-[2-[5-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-5-甲基-己-1-炔基]-5-甲氧基-4-吡啶基]胺基甲酸酯	B	463.7	464.5
20		6-甲氧基-2-(2-甲磺醯基乙基)吡唑并[1,5-a]吡啶-5-胺	N-[6-甲氧基-2-(2-甲磺醯基乙基)吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]胺基甲酸第三丁酯	I	269.3	270.0
21		N-[6-甲氧基-2-(2-甲磺醯基乙基)吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]胺基甲酸第三丁酯	N-[5-甲氧基-2-(4-甲基磺醯丁-1-炔基)-4-吡啶基]胺基甲酸第三丁酯	NA	369.4	370.4

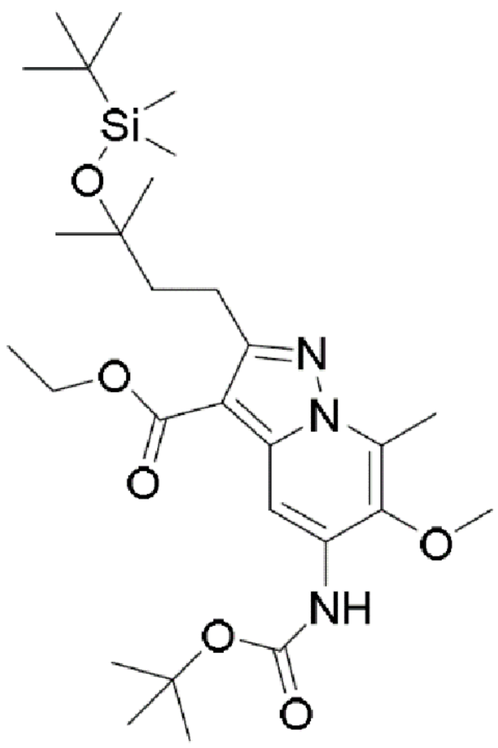
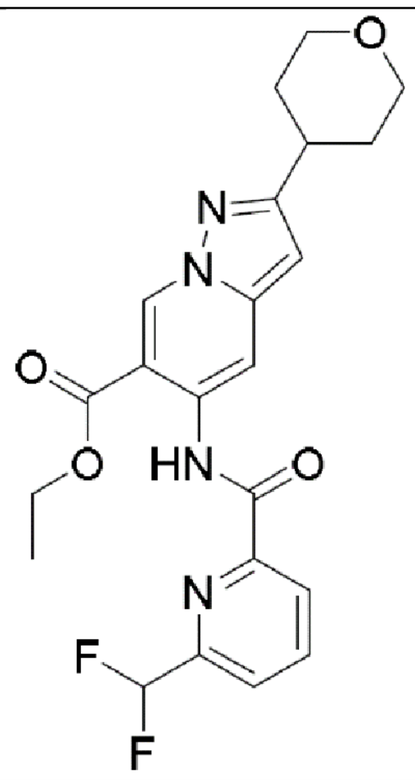
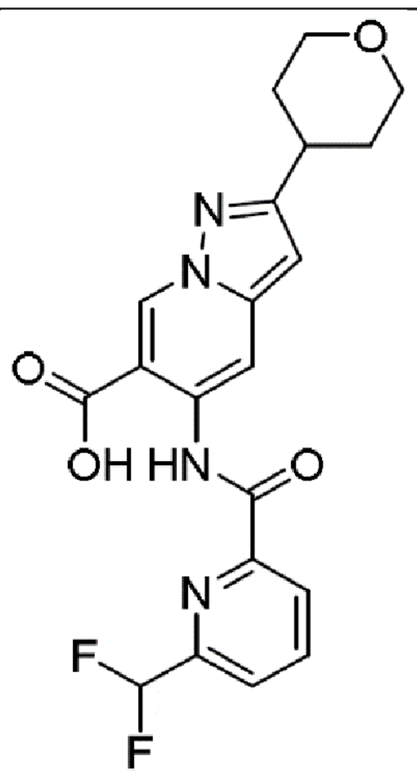
Int	結構	名稱	名稱起始物質	Mtd	MW(calc)	MW(obs)
22		N-[5-甲氧基-2-(4-甲基磺醯丁-1-炔基)-4-吡啶基]胺基甲酸第三丁酯	N-(2-溴-5-甲氧基-4-吡啶基)胺基甲酸第三丁酯	C1	354.4	355.4
23		2-(1,1-二側氧基硫雜環己烷-3-基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	5-胺基-2-(1,1-二側氧基硫雜環己烷-3-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	J	510.5	511.5
24		5-胺基-2-(1,1-二側氧基硫雜環己烷-3-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	5-(第三丁氧基羰基胺基)-2-(1,1-二側氧基硫雜環己烷-3-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	I	337.4	338.6
25		5-(第三丁氧基羰基胺基)-2-(1,1-二側氧基硫雜環己烷-3-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	4-(第三丁氧基羰基胺基)-6-[2-(1,1-二側氧基硫雜環己烷-3-基)乙炔基)]吡啶-3-甲酸乙酯	B	437.5	438.6
26		4-(第三丁氧基羰基胺基)-6-[2-(1,1-二側氧基硫雜環己烷-3-基)乙炔基)]吡啶-3-甲酸乙酯	4-(第三丁氧基羰基胺基)-6-氯-吡啶-3-甲酸乙酯	C2	422.5	423.6

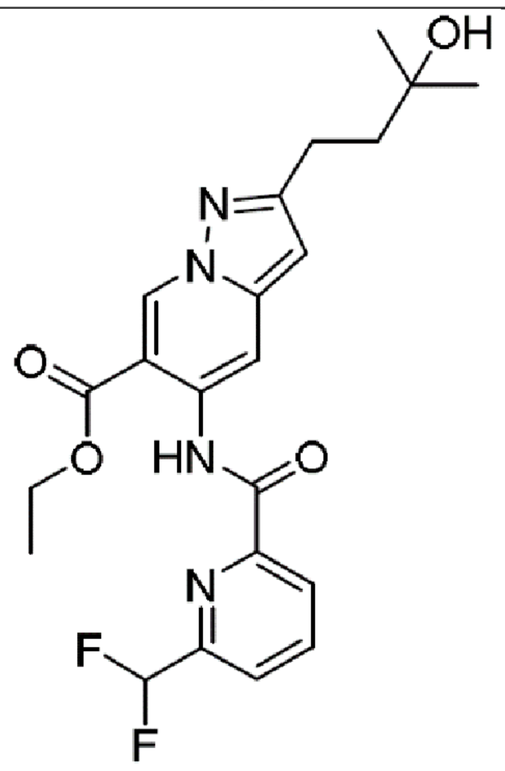
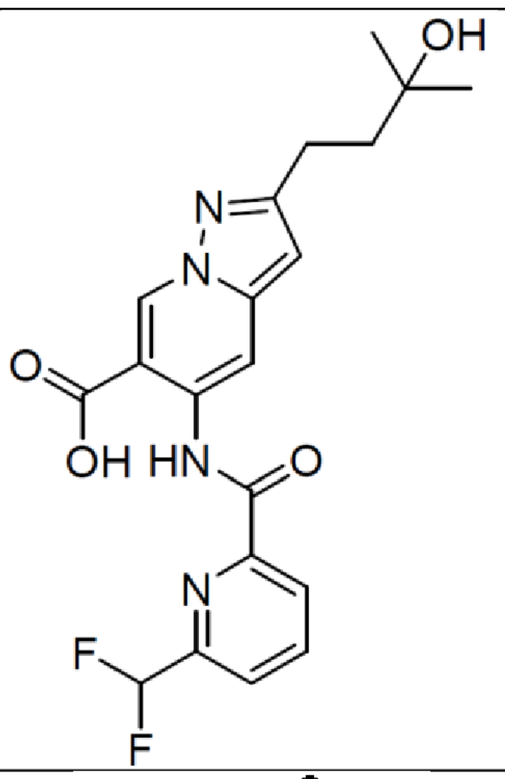
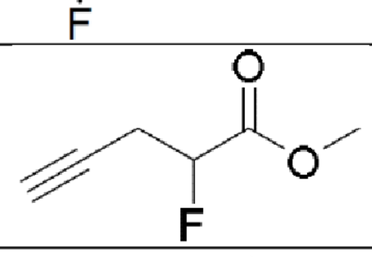
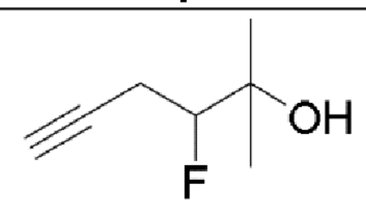
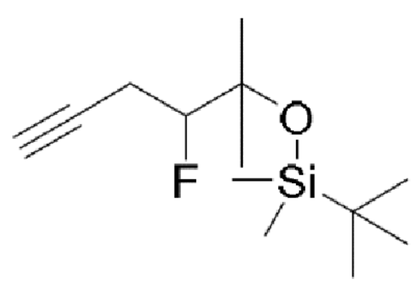
Int	結構	名稱	名稱起始物質	Mtd	MW(calc)	MW(obs)
27		4-(5-胺基-6-乙氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-乙氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-胺	G	263.3	264.6
28		2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-乙氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-胺	5-(第三丁氧基羰基胺基)-2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-乙氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酸乙酯	F	377.6	378.7
29		5-(第三丁氧基羰基胺基)-2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-乙氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酸乙酯	N-(3-乙氧基-4-吡啶基)胺基甲酸第三丁酯	E	549.8	550.7
30		N-(3-乙氧基-4-吡啶基)胺基甲酸第三丁酯	3-乙氧基吡啶-4-胺	D	238.3	239.6
31		2-(1-甲基-4-哌啶基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸	2-(1-甲基-4-哌啶基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	K	447.4	448.5

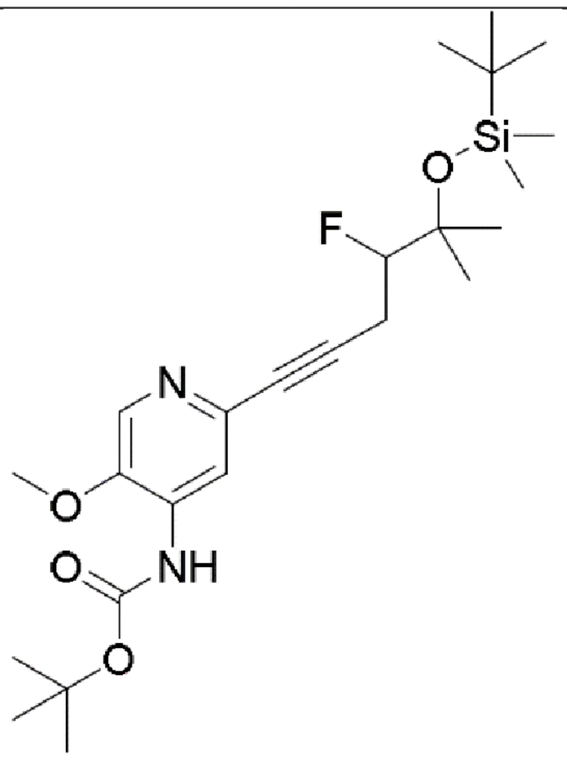
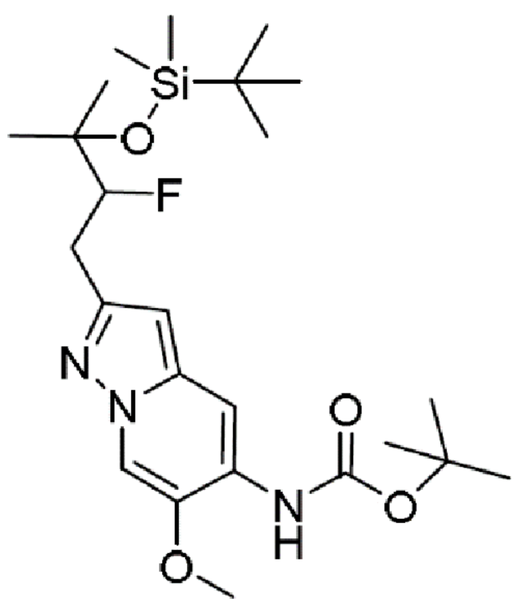
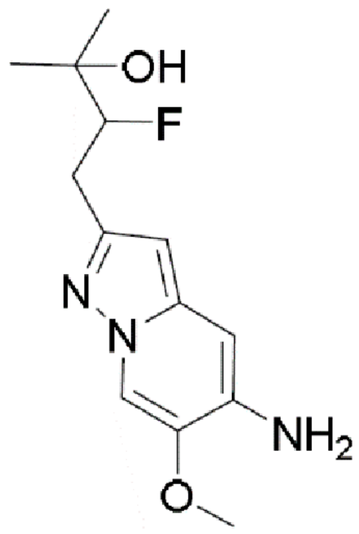
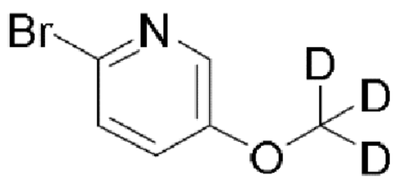
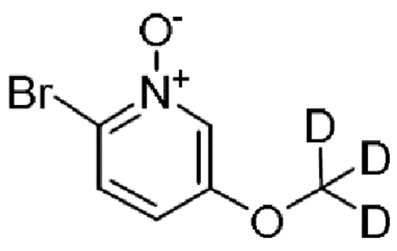
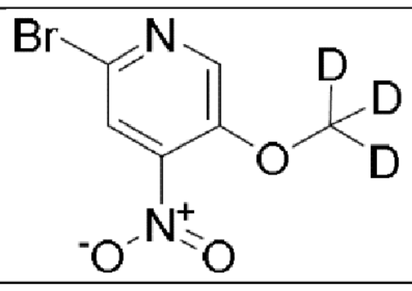
Int	結構	名稱	名稱起始物質	Mtd	MW(calc)	MW(obs)
32		2-(1-甲基-4-哌啶基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	5-胺基-2-(1-甲基-4-哌啶基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	NA	475.5	476.6
33		5-胺基-2-(1-甲基-4-哌啶基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	5-胺基-2-(4-哌啶基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	NA	302.4	303.6
34		5-胺基-2-(4-哌啶基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	5-(第三丁氧基羰基胺基)-2-(1-第三丁氧基羰基-4-哌啶基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	NA	288.3	289.6
35		5-(第三丁氧基羰基胺基)-2-(1-第三丁氧基羰基-4-哌啶基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	4-(第三丁氧基羰基胺基)-6-[2-(1-第三丁氧基羰基-4-哌啶基)乙炔基]吡啶-3-甲酸乙酯	B	488.6	489.6

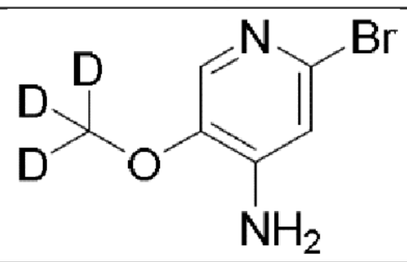
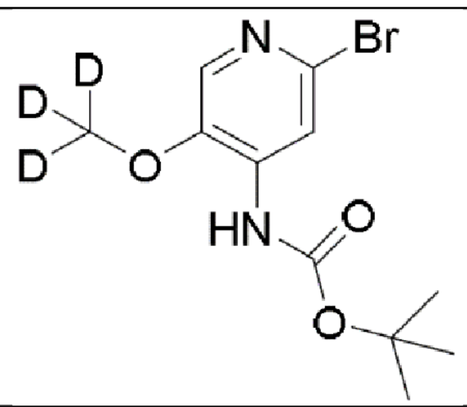
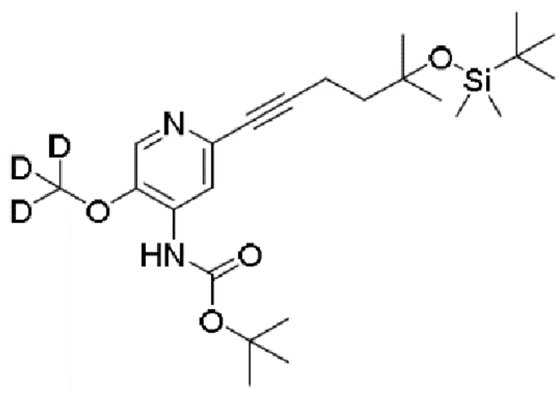
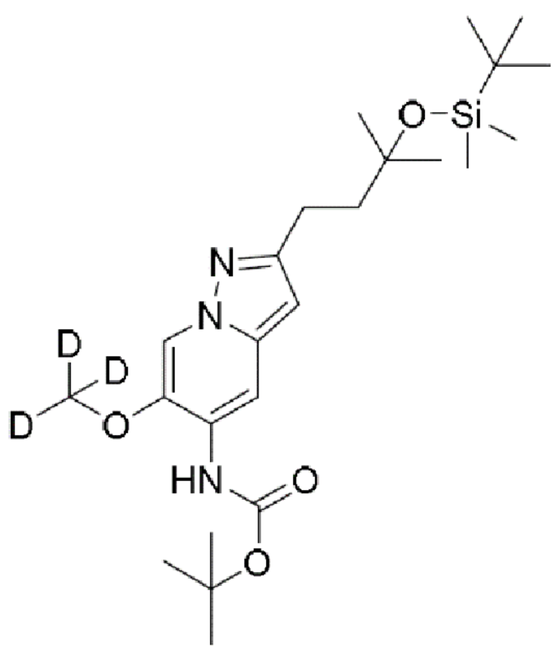
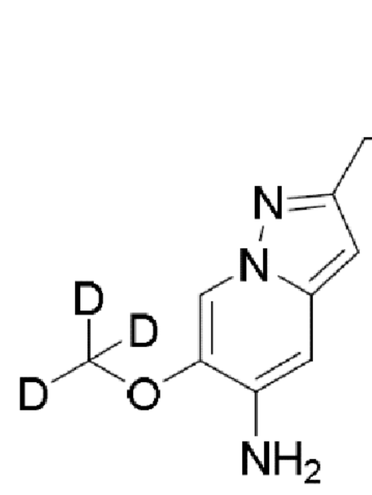
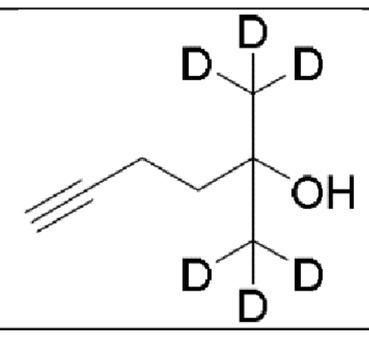
Int	結構	名稱	名稱起始物質	Mtd	MW(calc)	MW(obs)
36		4-(第三丁氧基羰基胺基)-6-[2-(1-第三丁氧基羰基-4-哌啶基)乙炔基]吡啶-3-甲酸乙酯	4-(第三丁氧基羰基胺基)-6-氯-吡啶-3-甲酸乙酯	C2	473.6	474.1
37		2-四氫哌喃-4-基-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸	2-四氫哌喃-4-基-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	K	434.4	435.5
38		2-四氫哌喃-4-基-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	5-胺基-2-四氫哌喃-4-基-吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	J	462.4	463.5
39		5-胺基-2-四氫哌喃-4-基-吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	5-(第三丁氧基羰基胺基)-2-四氫哌喃-4-基-吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	I	289.3	290.6

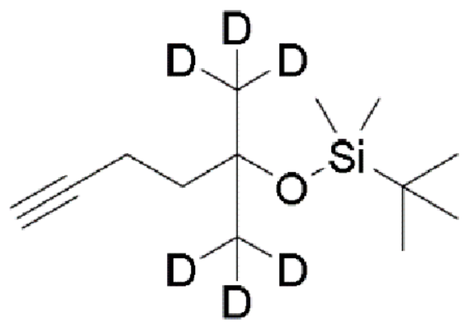
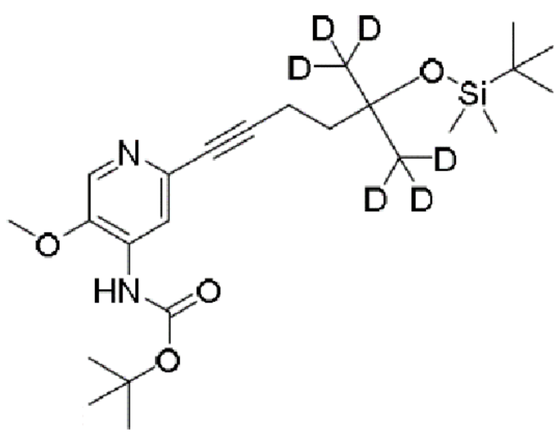
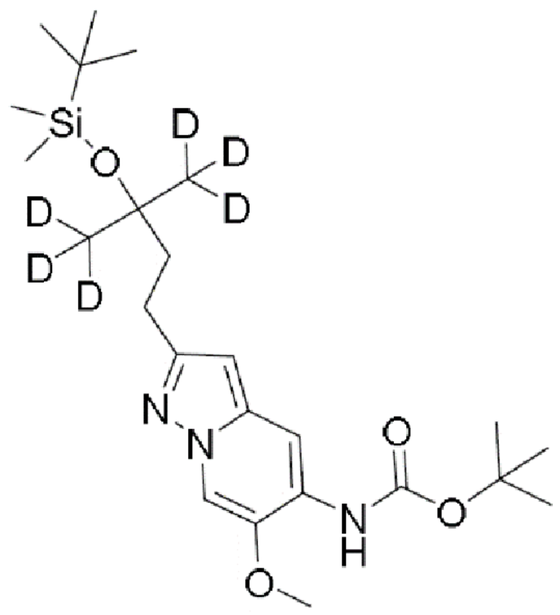
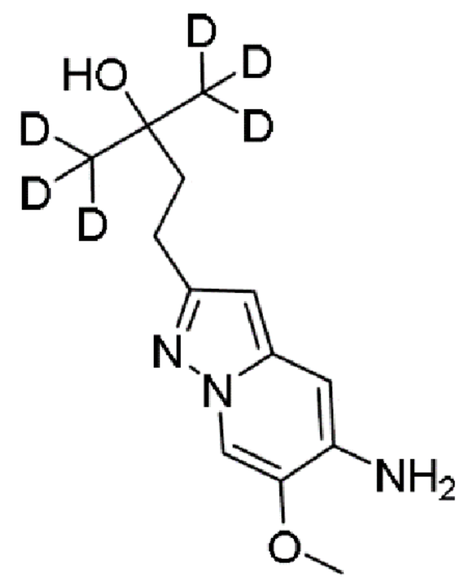
Int	結構	名稱	名稱起始物質	Mtd	MW(calc)	MW(obs)
40		5-(第三丁氧基羰基胺基)-2-四氫哌喃-4-基-吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	4-(第三丁氧基羰基胺基)-6-(2-四氫哌喃-4-基乙炔基)吡啶-3-甲酸乙酯	B	389.4	390.6
41		4-(第三丁氧基羰基胺基)-6-(2-四氫哌喃-4-基乙炔基)吡啶-3-甲酸乙酯	4-(第三丁氧基羰基胺基)-6-氯-吡啶-3-甲酸乙酯	C2	374.4	375.0
42		4-(5-胺基-6-甲氧基-7-甲基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-甲氧基-7-甲基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-胺	G	263.3	264.6
43		2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-甲氧基-7-甲基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-胺	5-(第三丁氧基羰基胺基)-2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-甲氧基-7-甲基-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酸乙酯	F	377.6	378.7

Int	結構	名稱	名稱起始物質	Mtd	MW(calc)	MW(obs)
44		5-(第三丁氧基羰基胺基)-2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-甲氧基-7-甲基-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酸乙酯	N-(3-甲氧基-2-甲基-4-吡啶基)胺基甲酸第三丁酯	E	549.8	548.6
45		N-(3-甲氧基-2-甲基-4-吡啶基)胺基甲酸第三丁酯	3-甲氧基-2-甲基-吡啶-4-胺	D	238.3	239.6
46		5-[[6-(二氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]-2-四氫哌喃-4-基-吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	5-胺基-2-四氫哌喃-4-基-吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	J	444.4	445.6
47		5-[[6-(二氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]-2-四氫哌喃-4-基-吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸	5-[[6-(二氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]-2-四氫哌喃-4-基-吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	K	416.4	417.5

Int	結構	名稱	名稱起始物質	Mtd	MW(calc)	MW(obs)
48		5-[[6-(二氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]-2-(3-羥基-3-甲基-丁基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	5-胺基-2-(3-羥基-3-甲基-丁基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	NA	446.4	447.6
49		5-[[6-(二氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]-2-(3-羥基-3-甲基-丁基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸	5-[[6-(二氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]-2-(3-羥基-3-甲基-丁基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	K	418.4	419.5
50		2-氟戊-4-炔酸甲酯	2-氟丙二酸二甲酯	NA	130.1	NA
51		3-氟-2-甲基-己-5-炔-2-醇	2-氟戊-4-炔酸甲酯	NA	130.2	NA
52		第三丁基-(2-氟-1,1-二甲基-戊-4-炔氧基)-二甲基-矽烷	3-氟-2-甲基-己-5-炔-2-醇	NA	244.4	NA

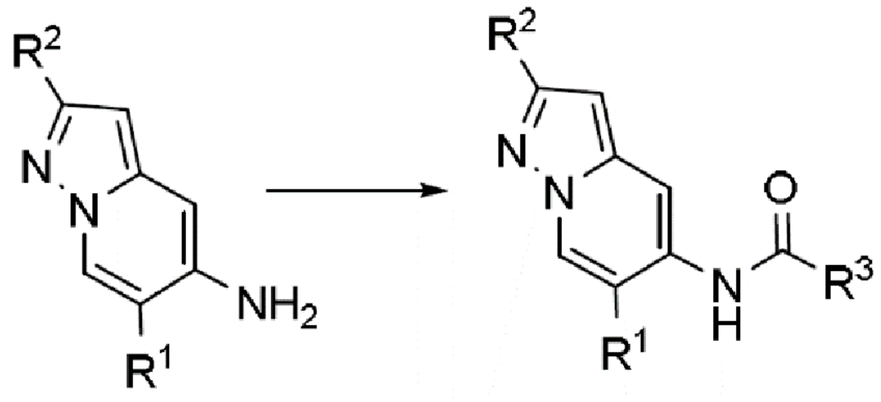
Int	結構	名稱	名稱起始物質	Mtd	MW(calc)	MW(obs)
53		N-[2-[5-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-4-氟-5-甲基-己-1-炔基]-5-甲氧基-4-吡啶基]胺基甲酸第三丁酯	N-(2-溴-5-甲氧基-4-吡啶基)胺基甲酸第三丁酯	NA	466.7	467.2
54		N-[2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-2-氟-3-甲基-丁基]-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]胺基甲酸第三丁酯	N-[2-[5-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-4-氟-5-甲基-己-1-炔基]-5-甲氧基-4-吡啶基]胺基甲酸第三丁酯	NA	481.7	482.1
55		4-(5-胺基-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-3-氟-2-甲基-丁-2-醇	N-[2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-2-氟-3-甲基-丁基]-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]胺基甲酸第三丁酯	H	267.3	268.1
56		2-溴-5-(三氘甲氧基)吡啶	6-溴吡啶-3-醇	NA	191.0	191.0 193.1
57		2-溴-1-氧化-5-(三氘甲氧基)吡啶-1-鎓	2-溴-5-(三氘甲氧基)吡啶	NA	207.0	207.0 209.0
58		2-溴-5-甲氧基-4-硝基吡啶	2-溴-1-氧化-5-(三氘甲氧基)吡啶-1-鎓	NA	236.0	233.9 235.9

Int	結構	名稱	名稱起始物質	Mtd	MW(calc)	MW(obs)
59		2-溴-5-(三氘甲氧基)吡啶-4-胺	2-溴-5-甲氧基-4-硝基吡啶	NA	206.1	206.1 208.1
60		N-[2-溴-5-(三氘甲氧基)-4-吡啶基]胺基甲酸第三丁酯	2-溴-5-(三氘甲氧基)吡啶-4-胺	NA	306.2	306.1 308.1
61		N-[2-[5-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-5-甲基-己-1-炔基]-5-(三氘甲氧基)-4-吡啶基]胺基甲酸第三丁酯	N-[2-溴-5-(三氘甲氧基)-4-吡啶基]胺基甲酸第三丁酯	NA	451.7	452.4
62		N-[2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-(三氘甲氧基)吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]胺基甲酸第三丁酯	N-[2-[5-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-5-甲基-己-1-炔基]-5-(三氘甲氧基)-4-吡啶基]胺基甲酸第三丁酯	NA	466.7	467.4
63		4-[5-胺基-6-(三氘甲氧基)吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基]-2-甲基-丁-2-醇	N-[2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-3-甲基-丁基]-6-(三氘甲氧基)吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]胺基甲酸第三丁酯	H	252.3	253.2
64		1,1,1-三氘-2-(三氘甲基)己-5-炔-2-醇	戊-4-炔酸乙酯	NA	118.2	NA

Int	結構	名稱	名稱起始物質	Mtd	MW(calc)	MW(obs)
65		1,1-雙(三氘甲基)戊-4-炔氧基-第三丁基-二甲基-矽烷	1,1,1-三氘-2-(三氘甲基)己-5-炔-2-醇	NA	232.5	NA
66		N-[2-[5-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-6,6,6-三氘-5-(三氘甲基)己-1-炔基]-5-甲氧基-4-吡啶基]胺基甲酸第三丁酯	N-(2-溴-5-甲氧基-4-吡啶基)胺基甲酸第三丁酯	NA	454.7	455.4
67		N-[2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-4,4,4-三氘-3-(三氘甲基)丁基]-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]胺基甲酸第三丁酯	N-[2-[5-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-6,6,6-三氘-5-(三氘甲基)己-1-炔基]-5-甲氧基-4-吡啶基]胺基甲酸第三丁酯	NA	469.7	470.4
68		4-(5-胺基-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-1,1,1-三氘-2-(三氘甲基)丁-2-醇	N-[2-[3-[第三丁基(二甲基)矽烷基]氧基-4,4,4-三氘-3-(三氘甲基)丁基]-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]胺基甲酸第三丁酯	NA	255.3	256.3

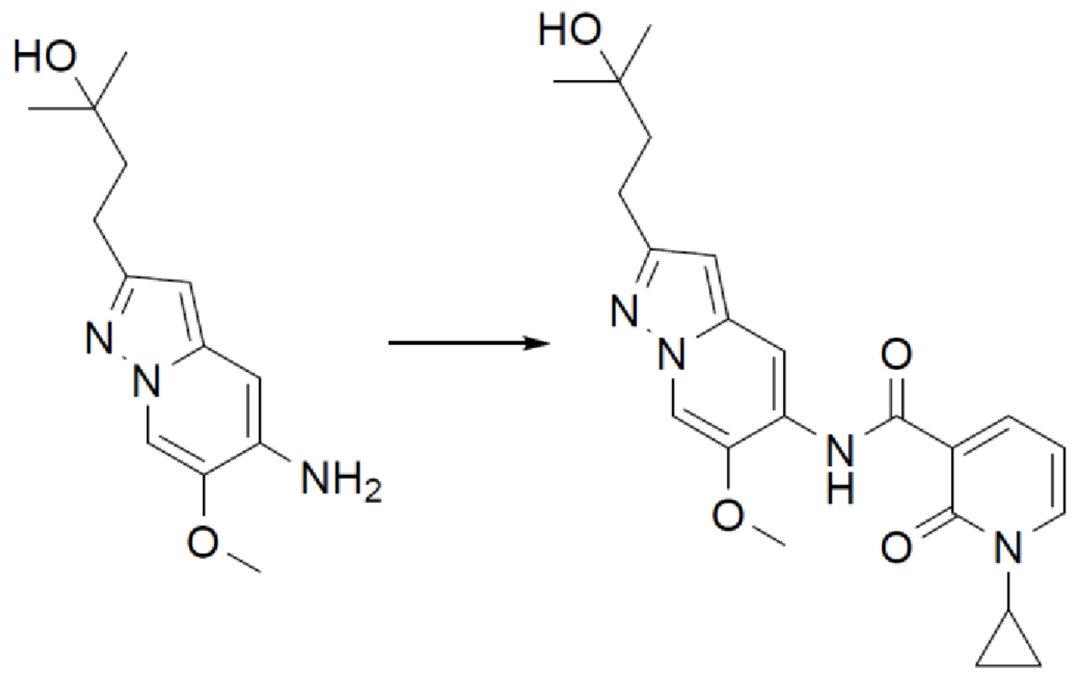
實例2.製備本發明之說明性化合物

2.1. 通用方法A ：醯胺之合成



【0284】在室溫下攪拌胺(1.0當量)、HATU、CAS#148893-10-1(1.2當量)、甲酸(1.2當量)及DIPEA(2.0當量)於DCM中之混合物16至72小時。反應混合物經歷處理水溶液。分離兩個相且乾燥及濃縮有機層。藉由急驟管柱層析或藉由製備型HPLC純化殘餘物。

方法A之示意性實例，合成化合物1：1-環丙基-N-[2-(3-羥基-3-甲基丁基)-6-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基吡啶-3-甲醯胺



【0285】在室溫下攪拌4-(5-胺基-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇(105 mg，0.42 mmol，1.0當量)、1-環丙基-2-側氧基-吡啶-3-甲酸(91 mg，0.51 mmol，1.2當量)、HATU、CAS#148893-10-1(192 mg, 0.51 mmol, 1.2當量)及DIPEA (0.15 mL, 0.84 mmol, 2.0當量)於DCM(16 mL)中之混合物16小時。將飽和$NaHCO_3$水溶液(15 mL)添加至混合物中且在室溫下攪拌所得混合物10分鐘。分離兩相且萃取(DCM)水層。將經合併之有機層乾燥(經由疏水性玻璃料過濾)且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至0:100 DCM/三元混合物，由90:5:0.5 DCM/MeOH/NH_4OH構成)純化殘餘物，得到所需產物。

化合物1之替代性合成：1-環丙基-N-[2-(3-羥基-3-甲基丁基)-6-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基吡啶-3-甲醯胺

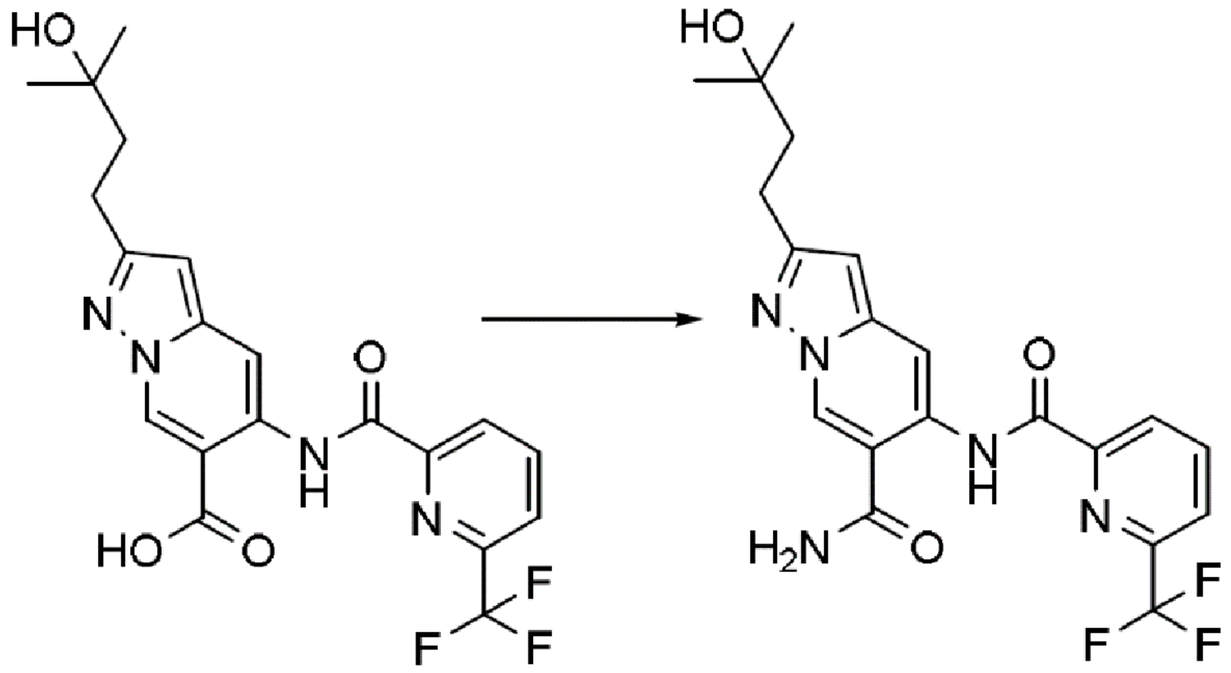
【0286】 將1-環丙基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-3-甲酸(4.63 g，25.8 mmol，1.2當量)、HATU，CAS#148893-10-1(9.83 g，25.8 mmol，1.23當量)及DIPEA ((7.5 mL, 43.1 mmol, 2.0當量)添加至4-(5-胺基-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇(5.37 g，21.5 mmol，1.0當量)於DCM (600 mL)中之混合物中。在室溫下攪拌混合物20小時。用飽和$NaHCO_3$水溶液(300 mL)淬滅反應物且攪拌所得混合物10分鐘。分離兩個層且萃取水層(2×150 mL DCM)。合併有機層，乾燥(經由相分離器過濾)且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至0:100 DCM/三元混合物，由90:5:0.5 DCM/MeOH/NH_4OH構成)純化殘餘物。自不太純溶離份獲得之產物經歷第二急驟管柱層析(SiO_2，100:0至0:100 DCM/三元混合物，由90:5:0.5 DCM/MeOH/NH_4OH構成)。合併含有純度>95%之產物的所有溶離份且濃縮。由此獲得之殘餘物自熱乙腈再結晶，得到所需產物。

化合物1之替代性合成：1-環丙基-N-[2-(3-羥基-3-甲基丁基)-6-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基吡啶-3-甲醯胺

【0287】 在0℃下在N_2下在圓底燒瓶中，將HATU，目錄號148893-10-1(23.0 g，59 mmol，1.1當量)分多份添加至4-(5-胺基-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇(14 g，56 mmol，1.0當量)及1-環丙基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-3-甲酸(11 g, 59 mmol, 1.0 當量)於DCM (220 mL)中之混合物中。添加DIPEA(15 g，20 mL，110 mmol，2.0當量)且在0℃下攪拌反應混合物5分鐘，隨後使反應混合物升溫至室溫且攪拌1小時。反應混合物用飽和$NaHCO_3$溶液(250 mL)淬滅且用200 mL DCM稀

釋。將所得混合物攪拌1小時。濾出不可溶的存在物。用200 mL水洗滌固體且在減壓下乾燥。在傾析之後分離濾液中所含之有機相及水相。用DCM(1×200 mL及1×100 mL)萃取水層。合併之有機層用H_2O(1×400 mL)及鹽水(1×400 mL)洗滌，在相分離器上過濾且濃縮。將殘餘物溶解於200 mL EtOAc及200 mL飽和NH_4Cl溶液中。攪拌所得混合物15分鐘。濾出不可溶的存在物，用2×200 mL水洗滌且在減壓下乾燥。將由此獲得之固體物質合併且溶解於MeCN中。將所得混合物加熱至95至100℃。濾出不可溶物質且將濾液冷卻至0℃。形成沈澱，濾出且在真空下乾燥，得到所需產物。

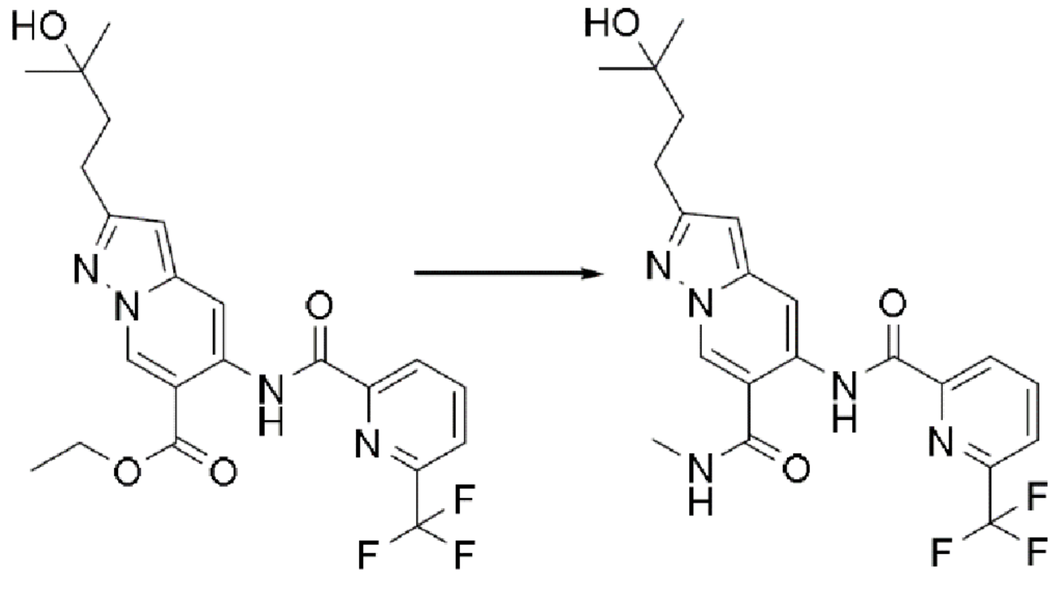
2.2. 合成化合物4：2-(3-羥基-3-甲基丁基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺



【0288】在室溫下攪拌2-(3-羥基-3-甲基-丁基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸(148 mg，0.34 mmol，1.0當量)及HATU，CAS#148893-10-1 (155 mg, 0.41 mmol, 1.2當量)於DCM (2 mL)中之混合物10分鐘。添加DIPEA(0.18 mL，0.68 mmol，2.0當量)及NH_4Cl(54 mg，1.0 mmol，3.0當量)且在室溫下攪拌所得混合物2小時。添加氨水溶液(1 mL)且攪拌所得混合物1.5小時。稀釋(DCM)混合物，洗滌(飽和NH_4Cl水溶液，飽和$NaHCO_3$水溶液，鹽水)，乾燥

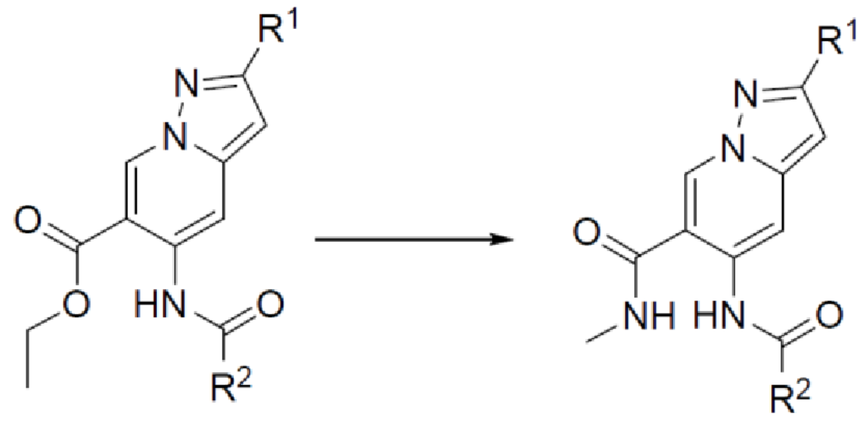
(Na_2SO_4)且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至0:100 DCM/三元混合物，由90:4:1 DCM/MeOH/NH_4OH構成)純化殘餘物。以以下方式進一步純化由此獲得之物質：將物質溶解於由10:1 DCM/DMF(11 mL)及飽和$NaHCO_3$(15 mL)組成之混合物中。分離兩相且在水層中形成沈澱，得到所需產物。

2.3. 合成化合物5：2-(3-羥基-3-甲基丁基)-N-甲基-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺



【0289】在60℃下攪拌2-(3-羥基-3-甲基-丁基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯(50 mg，0.11 mmol，1.0當量)於甲胺(33重量%於無水EtOH中之溶液，1.0 mL)中之混合物16小時。濃縮混合物且藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至20:80 DCM/三元混合物，由90:4:1 DCM/MeOH/NH_4OH構成)純化殘餘物，得到所需產物。

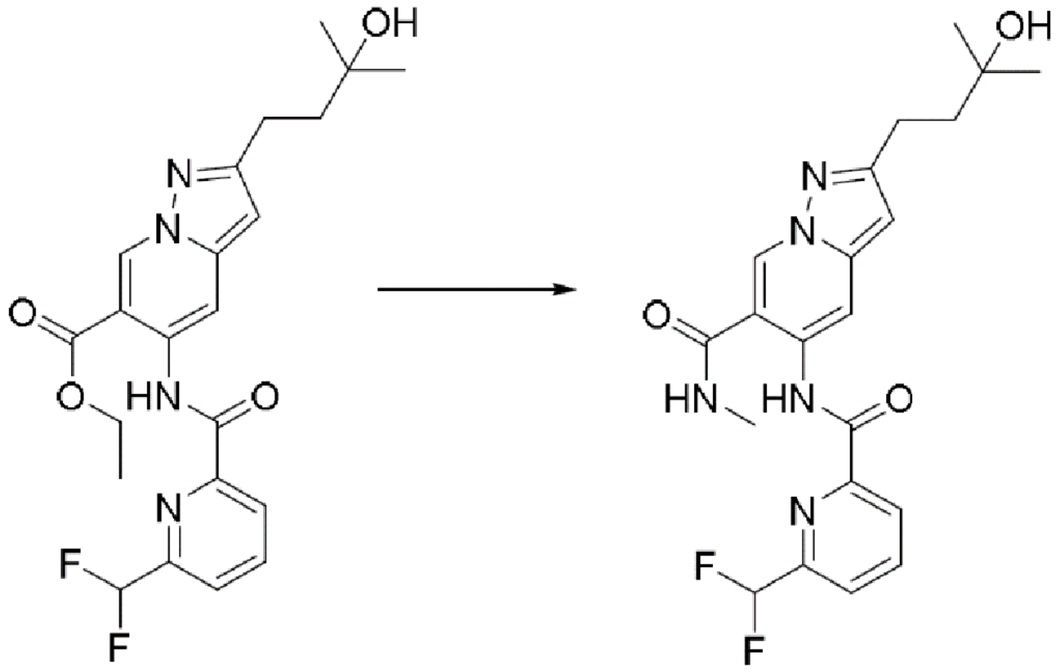
2.4. 通用方法L：藉由酯與甲胺之反應合成醯胺



【0290】在80℃下攪拌酯衍生物(1.0當量)在無水EtOH中之33%重量甲胺(0.06 M至0.12 M)中之混合物4-5小時。在未完全轉化之情況下，可添加含額外33重量%甲胺之無水EtOH(初始量之1/3)且混合物可在60℃

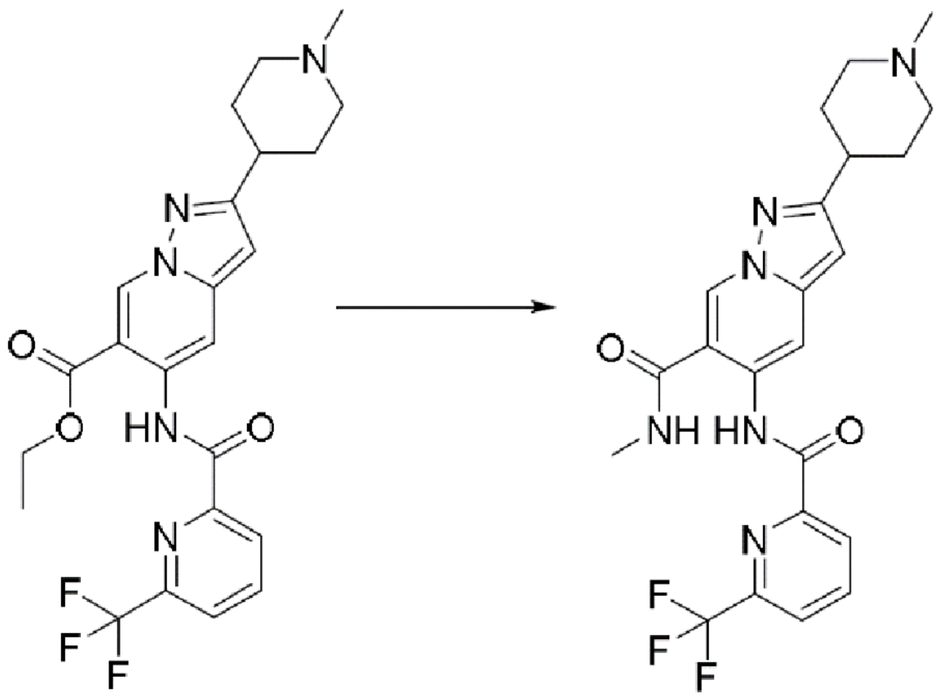
下再攪拌16至72小時。濃縮混合物且藉由急驟管柱層析純化殘餘物，得到所需產物。

方法L之示意性實例：合成化合物19：5-[[6-(二氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]-2-(3-羥基-3-甲基-丁基)-N-甲基-吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺



【0291】 5-[[6-(二氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]-2-(3-羥基-3-甲基-丁基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯(100 mg，0.22 mmol，1.0當量)於33重量%甲胺之無水EtOH溶液(3 mL)中之混合物在80℃下攪拌4小時。濃縮混合物且藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至20:80 DCM/三元混合物，由90:4:1 DCM/MeOH/NH_4OH構成)純化殘餘物，得到所需產物。

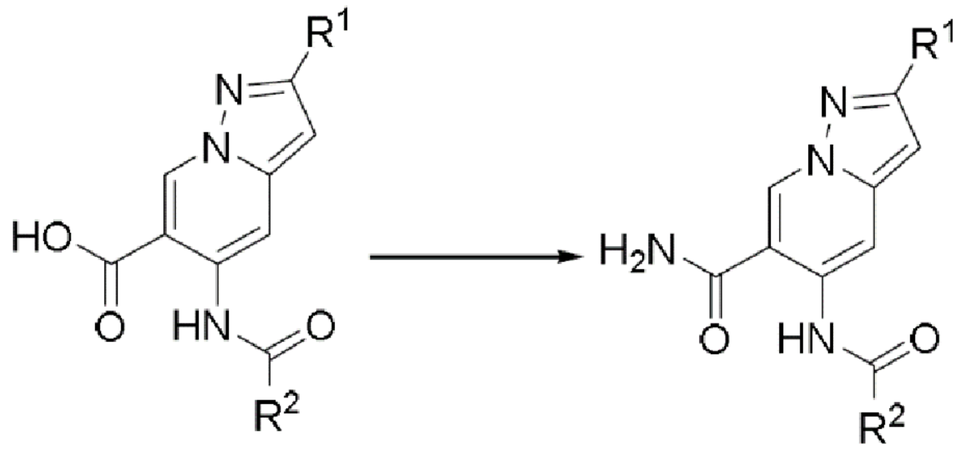
2.5. 合成化合物12：N-甲基-2-(1-甲基-4-哌啶基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺



【0292】 在60℃下攪拌2-(1-甲基-4-哌啶基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯(90 mg，0.189 mmol，1.0當

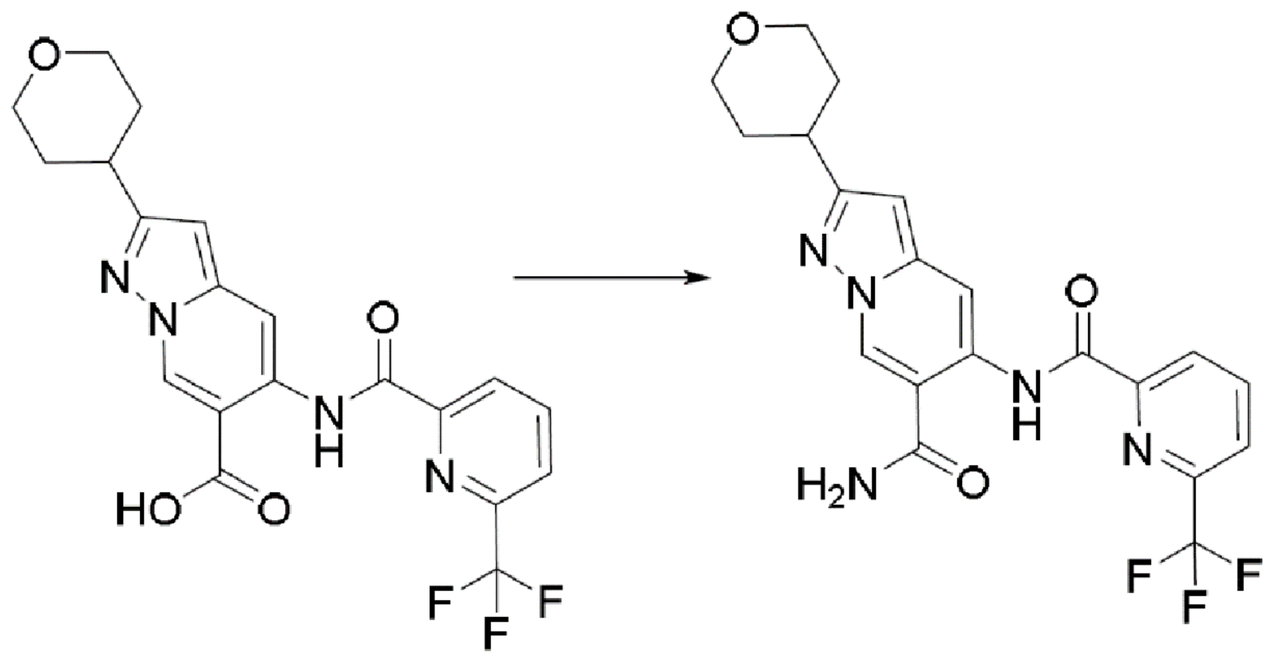
量)於甲胺(33重量%於無水EtOH中之溶液，3.0 mL)中之混合物16小時。濃縮混合物且藉由急驟管柱層析(SiO_2，95:5至0:100 DCM/三元混合物，由90:9:0.5 DCM/MeOH/NH_4OH構成)純化殘餘物，得到所需產物。

2.6. 通用方法M：藉由甲酸與氯化銨反應合成一級醯胺



【0293】在室溫下攪拌HATU、CAS#148893-10-1(1.2當量)及甲酸衍生物(1.0當量)於DCM中之混合物10分鐘。添加DIPEA(2.0當量)及NH_4Cl(3.0當量)。在室溫下攪拌混合物2小時。為提高溶解性，可添加DMF且再攪拌混合物3至4小時。添加氨水且在室溫下攪拌混合物16小時。反應經歷水溶液處理且在處理之後獲得之粗物質藉由急驟管柱層析純化，得到所需產物。

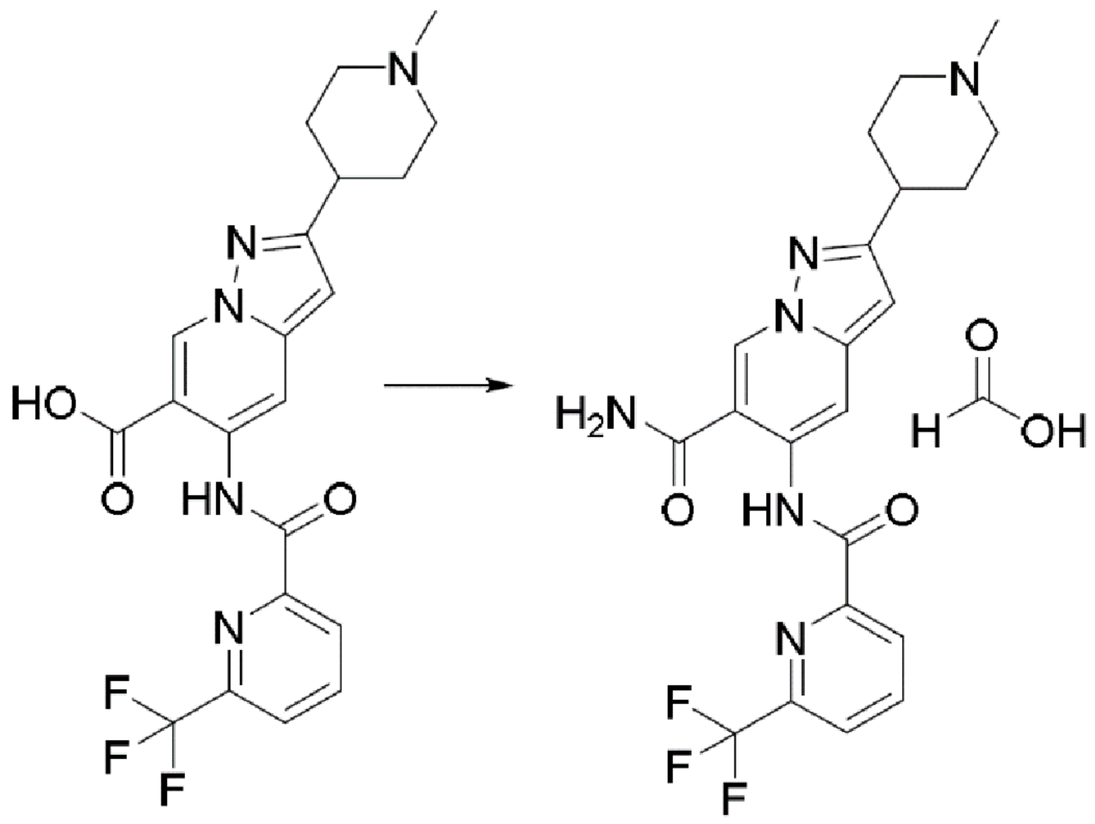
方法M之示意性實例，合成化合物11：2-四氫哌喃-4-基-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺



【0294】在室溫下攪拌2-四氫哌喃-4-基-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸(93 mg，0.21 mmol，1.0當量)及HATU，CAS#148893-10-1 (98 mg, 0.26 mmol, 1.2當量)於DCM (2 mL)

中之混合物10分鐘。添加DIPEA(0.074 mL，0.43 mmol，2.0當量)及NH_4Cl(34 mg，0.64 mmol，3.0當量)且在室溫下攪拌所得混合物2小時。添加DMF(2 mL)且攪拌所得混合物4小時。添加氨水溶液(2 mL)且在室溫下攪拌所得混合物16小時。稀釋(EtOAc)混合物，洗滌(飽和NH_4Cl水溶液、飽和$NaHCO_3$及鹽水)，乾燥(Na_2SO_4)且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至0:100 DCM/三元混合物，由90:4:1 DCM/MeOH/NH_4OH構成)純化殘餘物，得到所需產物。

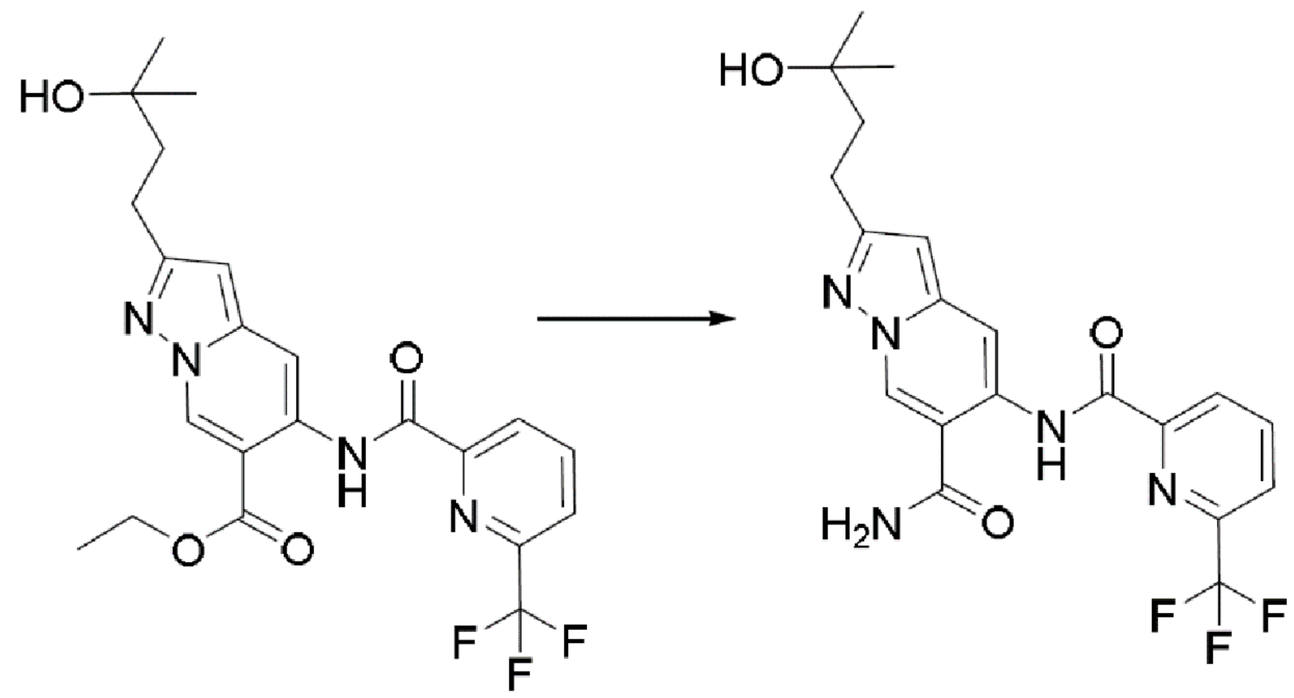
2.7. 合成化合物10：2-(1-甲基-4-哌啶基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺甲酸鹽



【0295】在室溫下攪拌2-(1-甲基-4-哌啶基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸(35 mg，0.078 mmol，1.0當量)及HATU, CAS#148893-10-1 (36 mg, 0.094 mmol, 1.2當量)於DMF (2 mL)中之混合物10分鐘。添加DIPEA(0.030 mL，0.16 mmol，2.0當量)及NH_4Cl(13 mg，0.24 mmol，3.0當量)且在室溫下攪拌所得混合物3小時。添加DMF(3 mL)及DIPEA(2.0當量)且在50℃下攪拌混合物16小時。添加HATU，CAS#148893-10-1 (0.3 當量)且在80℃下攪拌混合物3小時。添加氨水溶液(2 mL)且攪拌混合物16小時。稀釋(EtOAc)混合物，洗滌(飽

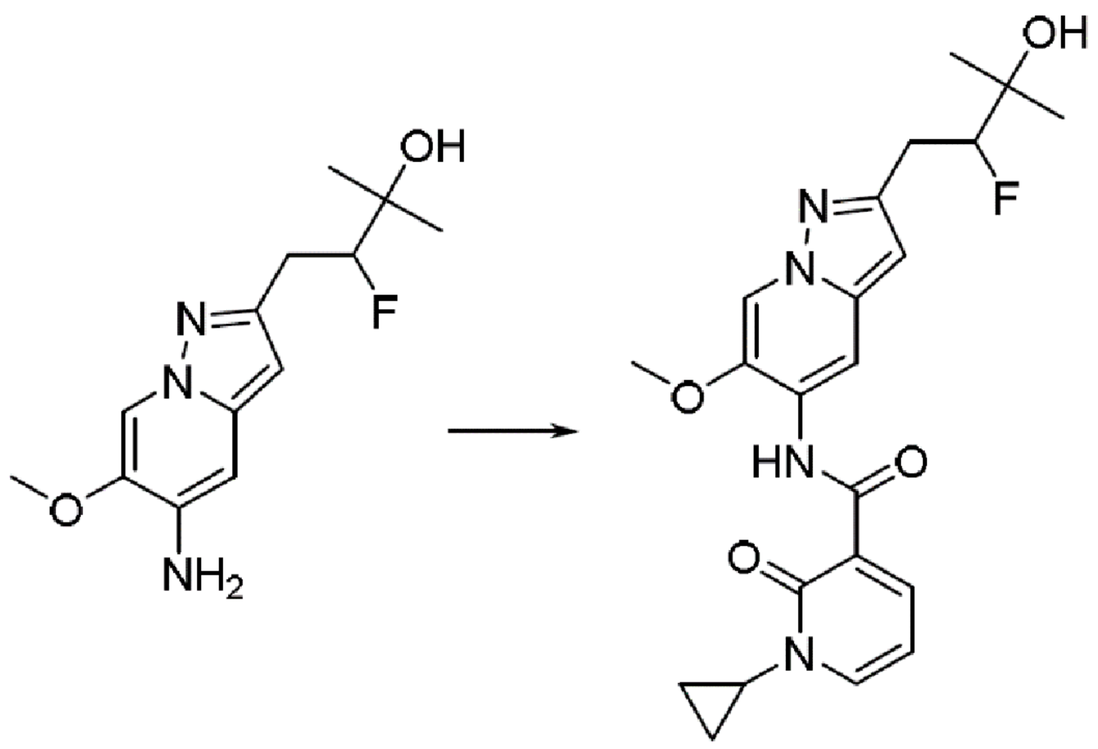
和NH_4Cl水溶液、飽和$NaHCO_3$及鹽水)，乾燥(Na_2SO_4)且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至20:80 DCM/三元混合物，由90:15:1.5 DCM/MeOH/NH_4OH構成)純化殘餘物。藉由製備型HPLC進一步純化由此獲得之物質，得到呈甲酸鹽形式之所需產物。

2.8. 化合物4之替代性合成：2-(3-羥基-3-甲基丁基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺



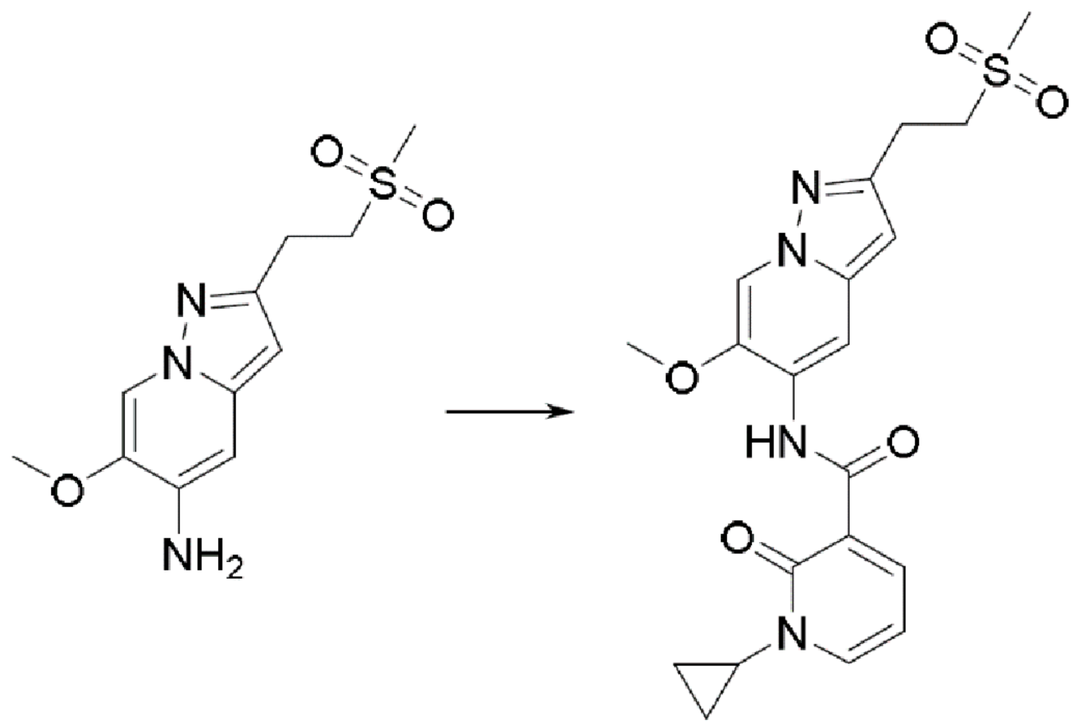
【0296】 將2-(3-羥基-3-甲基-丁基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯(50 mg，0.108 mmol，1.0當量)溶解於含7 N NH_3之MeOH(2 mL)中，且在60℃下攪拌16小時。再添加含7 N NH_3之MeOH(1 mL)且在50℃下攪拌混合物4小時。濃縮混合物且藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至0:100 DCM/三元混合物，由90:4:1 DCM/MeOH/NH_4OH構成)純化殘餘物，得到所需產物。

2.9. 合成化合物22：1-環丙基-N-[2-(2-氟-3-羥基-3-甲基-丁基)-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺



【0297】將4-(5-胺基-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-3-氟-2-甲基-丁-2-醇(220 mg，0.8 mmol，1.0當量)、1-環丙基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-3-甲酸(190 mg，1.0 mmol，1.25當量)懸浮於DCM(20 mL)中。依序添加HATU(415 mg，1 mmol，1.3當量)、DIPEA(430 μL，2.47 mmol，3.0當量)且在室溫下攪拌混合物2小時。溶液用DCM稀釋且依次用飽和NH_4Cl水溶液及飽和$NaHCO_3$水溶液洗滌。將有機相經硫酸鈉乾燥，過濾且減壓濃縮。藉由急驟管柱層析純化粗樣品，用100:0至94:6之DCM/MeOH溶離。

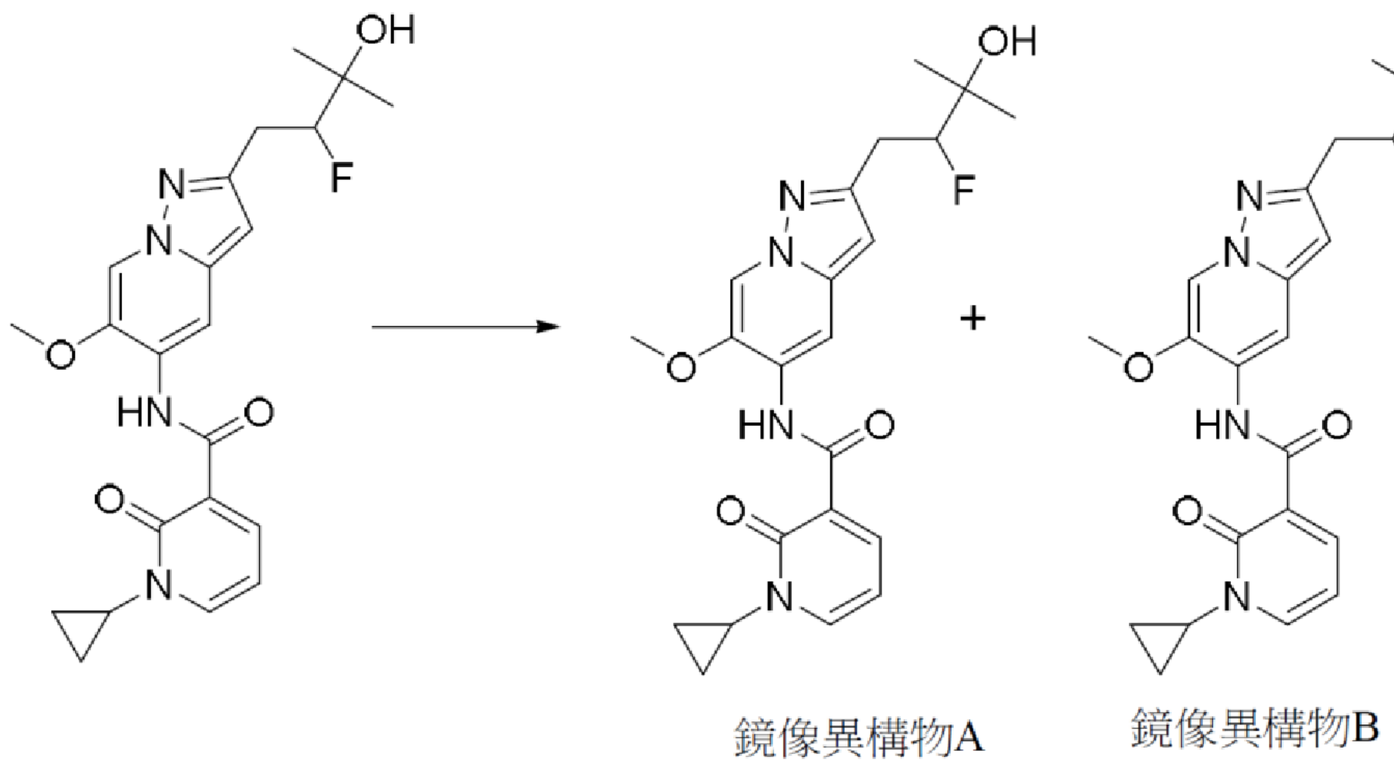
2.10. 合成化合物6：1-環丙基-N-[6-甲氧基-2-(2-甲基磺醯基乙基)吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺



【0298】在0℃下將HATU，CAS#148893-10-1(1.6 g，4.1 mmol，1.1當量)逐份添加至6-甲氧基-2-(2-甲基磺醯基乙基)吡唑并[1,5-a]吡啶-5-

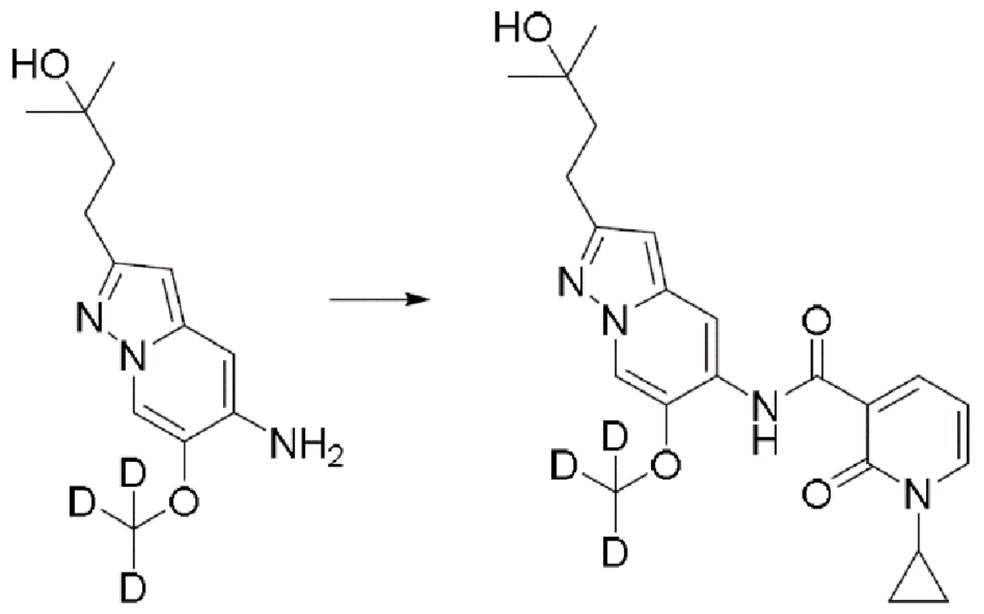
胺(991 mg, 3.68 mmol，1.0當量)及1-環丙基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-3-甲酸(750 mg , 4.06 mmol, 1.1當量)於DCM (100 mL)中之混合物中。添加DIPEA(1.3 mL，7.5 mmol，2.0當量)且在室溫下攪拌反應混合物16小時。反應混合物用DCM(150 mL)稀釋且依序用飽和$NaHCO_3$水溶液、飽和NaCl水溶液洗滌。將有機相經硫酸鈉乾燥，過濾且減壓濃縮。藉由急驟管柱層析純化粗殘餘物，用100:0至95:5之DCM/MeOH溶離，得到所需產物。

2.11. 合成化合物25及26：對掌性分離1-環丙基-N-[2-(2-氟-3-羥基-3-甲基-丁基)-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺



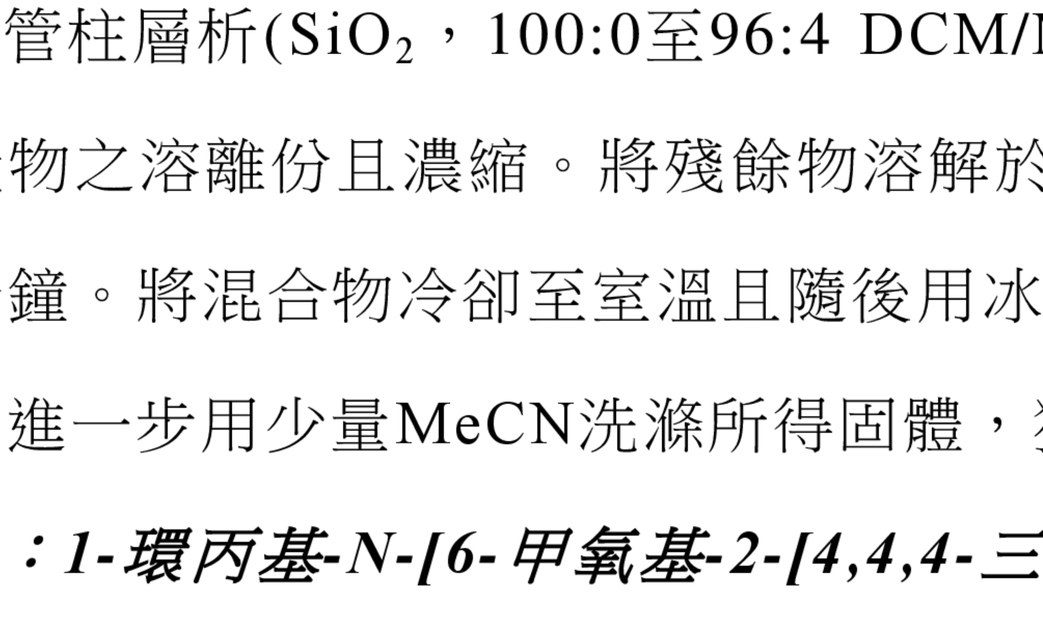
【0299】 129 mg 1-環丙基-N-[2-(2-氟-3-羥基-3-甲基-丁基)-6-甲氧基-吡唑[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺經歷對掌性分離(管柱：Chiralpak IA, 150 mm×4.6 mm, 5 μm；管柱溫度：40℃；流動速率：2 mL/min；溶離劑：50:50異丙醇/CO_2)，得到1-環丙基-N-[2-(2-氟-3-羥基-3-甲基-丁基)-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺之鏡像異構物A(初次洗脫)及鏡像異構物B(第二次洗脫)。

2.12. 合成化合物24：1-環丙基-N-[2-(3-羥基-3-甲基丁基)-6-(三氘甲氧基)吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基吡啶-3-甲醯胺



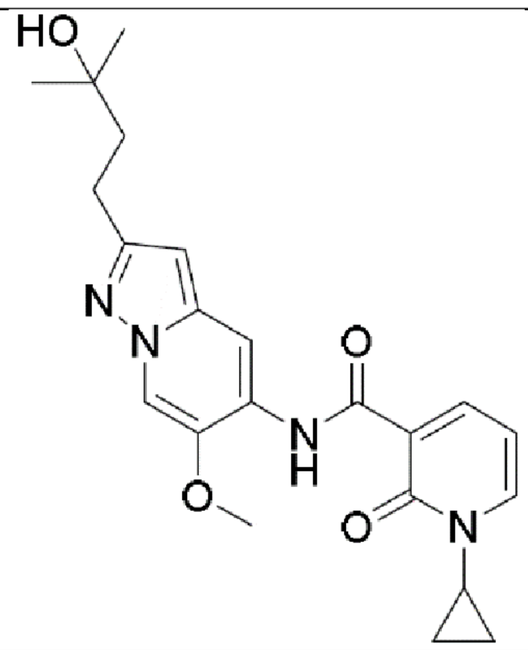
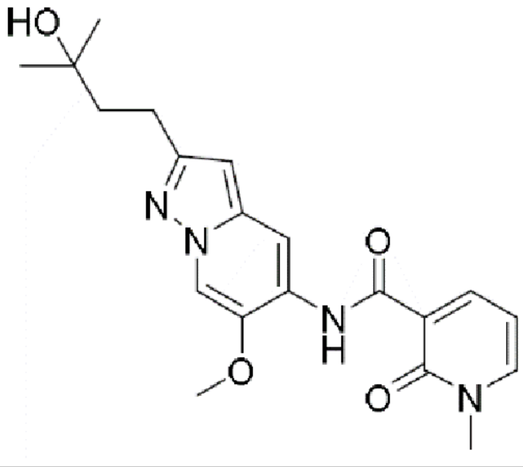
【0300】在室溫下攪拌1-環丙基-2-側氧基-吡啶-3-甲酸(0.441 g，2.46 mmol，0.83當量)及DIPEA(450 μL)於DCM(6 mL)中之混合物30分鐘。添加4-[5-胺基-6-(三氘甲氧基)吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基]-2-甲基-丁-2-醇(518 mg，2.05 mmol，1.0當 量)、HATU，CAS#148893-10-1(1.01g, 2.67mmol, 1.3當量)、DIPEA (0.61mL, 3.58mmol, 1.75當量)及DCM (6 mL)，且在室溫下將所得混合物攪拌18小時。藉由添加飽和$NaHCO_3$水溶液淬滅混合物。用DCM萃取水層。合併之有機層用飽和NH_4Cl水溶液洗滌且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至96:4 DCM/MeOH)純化殘餘物。合併含有所需產物之溶離份且濃縮。將殘餘物溶解於MeCN中。在回流下攪拌混合物30分鐘。將混合物冷卻至室溫且隨後用冰浴冷卻。攪拌混合物15分鐘且過濾。進一步用少量MeCN洗滌所得固體，獲得所需產物。

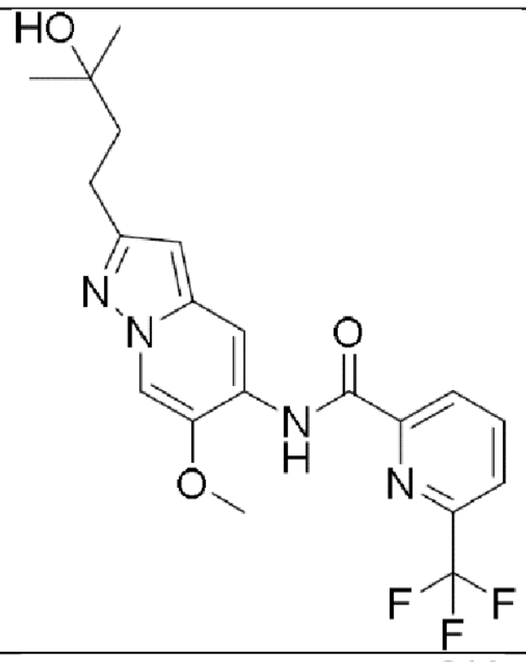
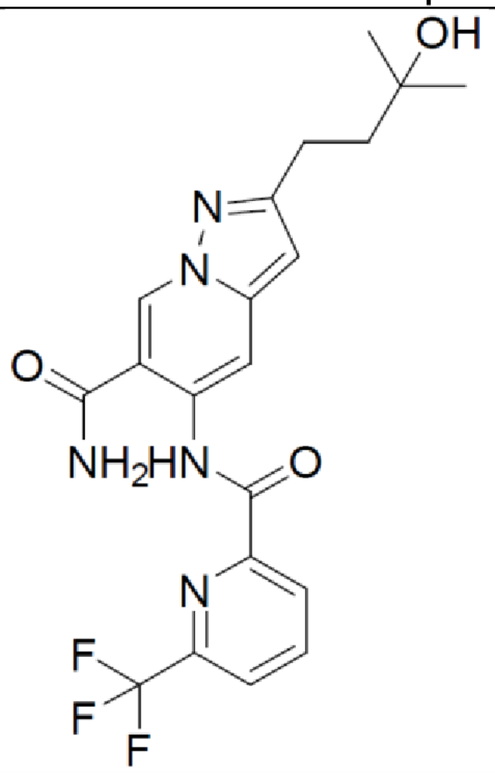
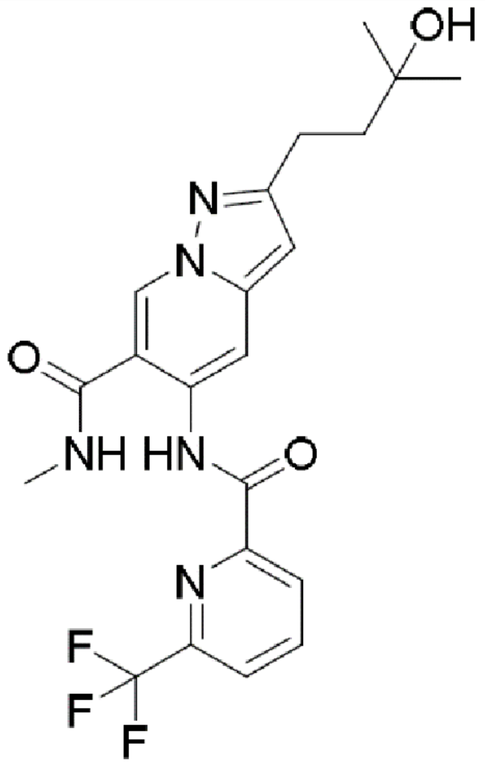
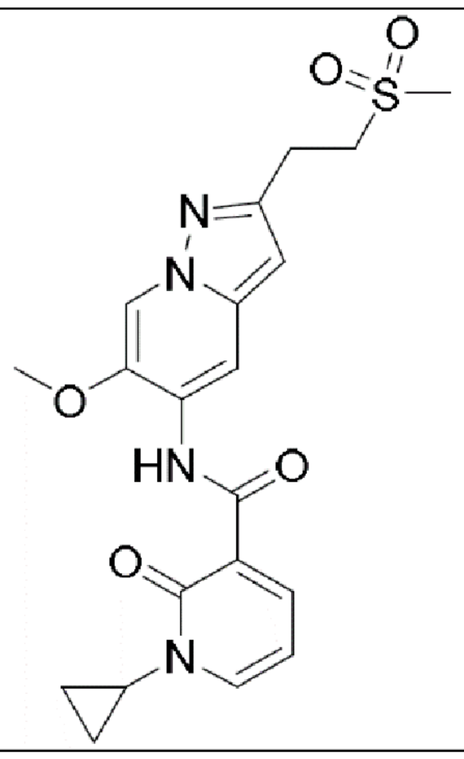
2.13. 合成化合物23：1-環丙基-N-[6-甲氧基-2-[4,4,4-三氘-3-羥基-3-(三氘甲基)丁基]吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺

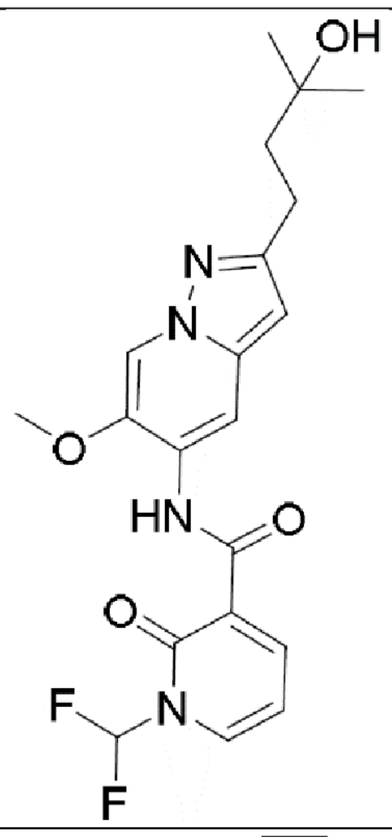
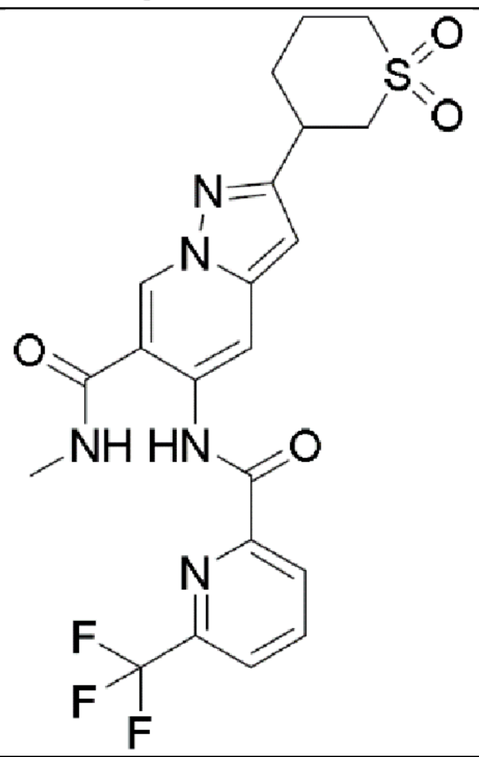
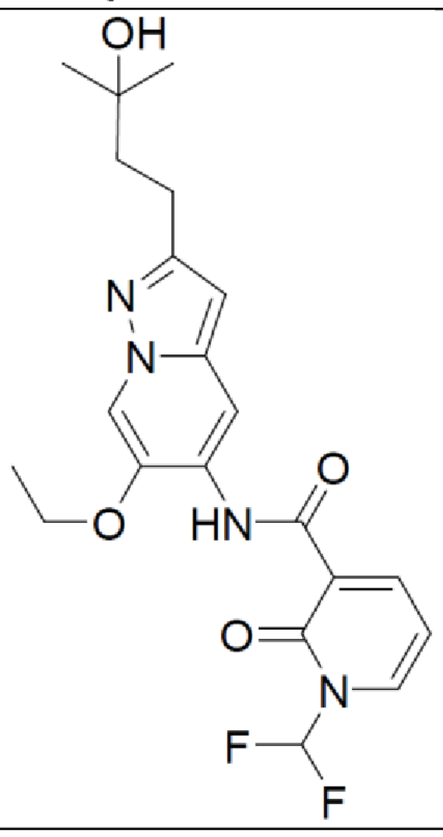


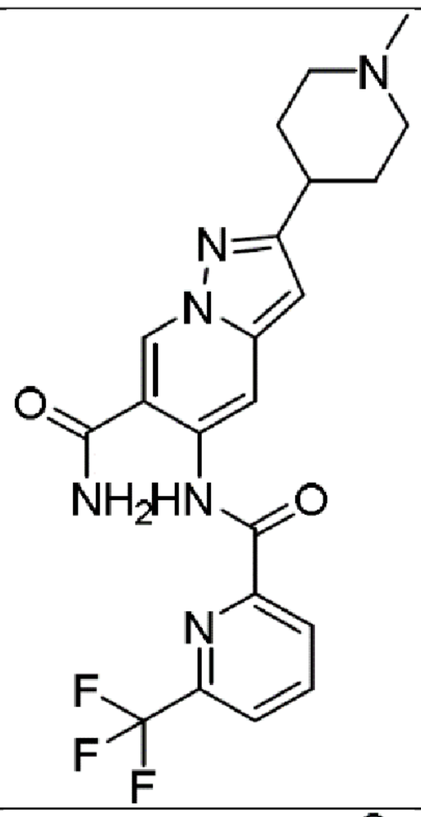
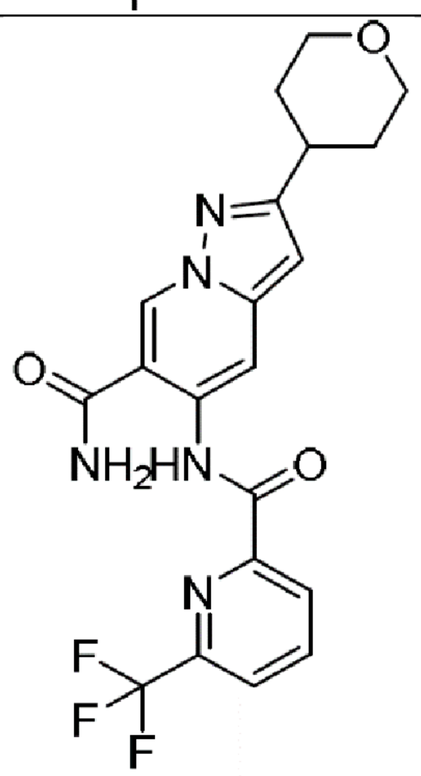
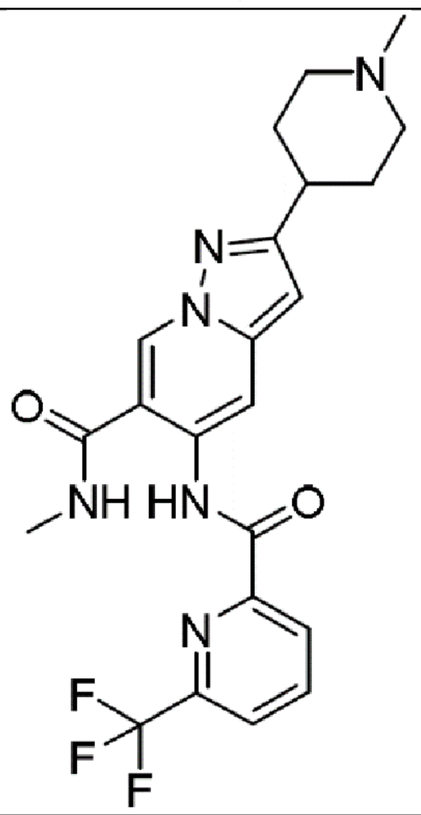
【0301】在室溫下攪拌1-環丙基-2-側氧基-吡啶-3-甲酸(1.27 g，7.08 mmol，1.3當量)及DIPEA(1.2 mL, 7.07 mmol, 1.3當量)於DCM(16 mL)中之混合物30分鐘。添加4-(5-胺基-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-1,1,1-三氘-2-(三氘甲基)丁-2-醇(1.42 g，5.45 mmol，1.0當量)、HATU，CAS#148893-10-1 (2.69 g, 7.08 mmol, 1.3當量)、DIPEA (1.6 mL, 9.4 mmol, 1.7當量)及DCM (16 mL)，且在室溫下攪拌所得混合物隔夜。藉由添加飽和$NaHCO_3$水溶液淬滅混合物。用DCM萃取水層。合併之有機層用飽和NH_4Cl水溶液洗滌且濃縮。藉由急驟管柱層析(SiO_2，100:0至90:10 DCM/MeOH)純化殘餘物。合併含有所需產物之溶離份且濃縮。將殘餘物溶解於MeCN中。在回流下攪拌混合物30分鐘。將混合物冷卻至室溫且隨後用冰浴冷卻。攪拌混合物1小時且過濾。進一步用少量MeCN洗滌所得固體，獲得所需產物。

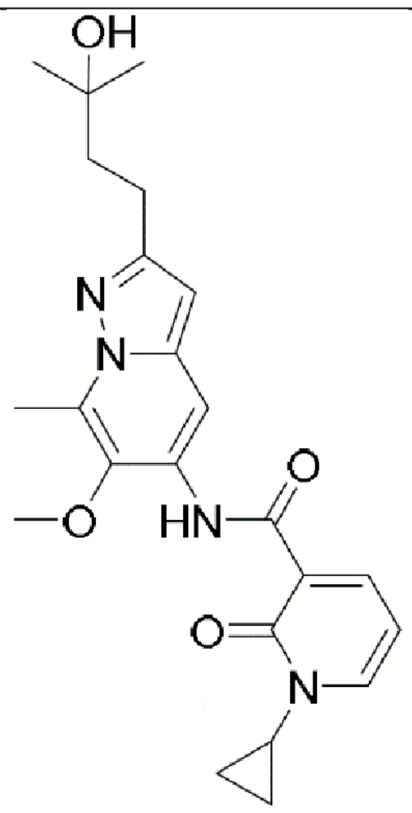
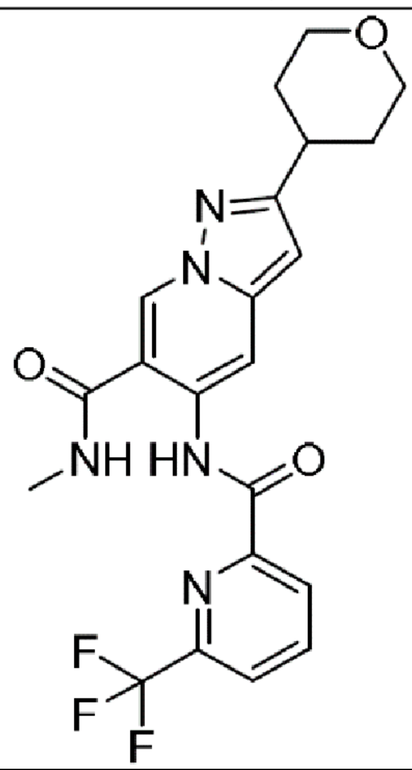
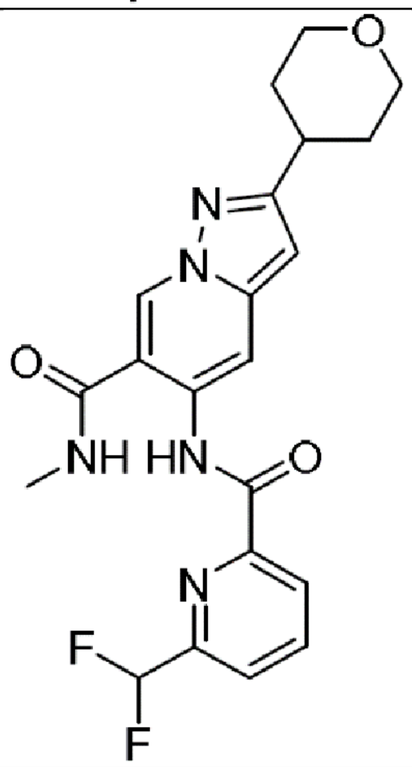
表III.本發明之說明性化合物

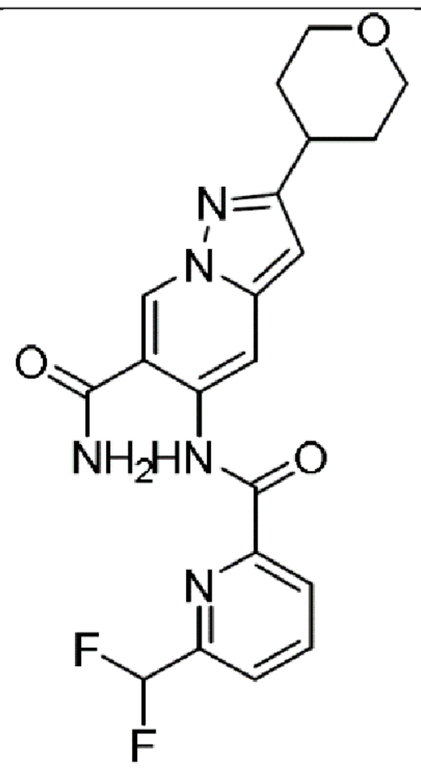
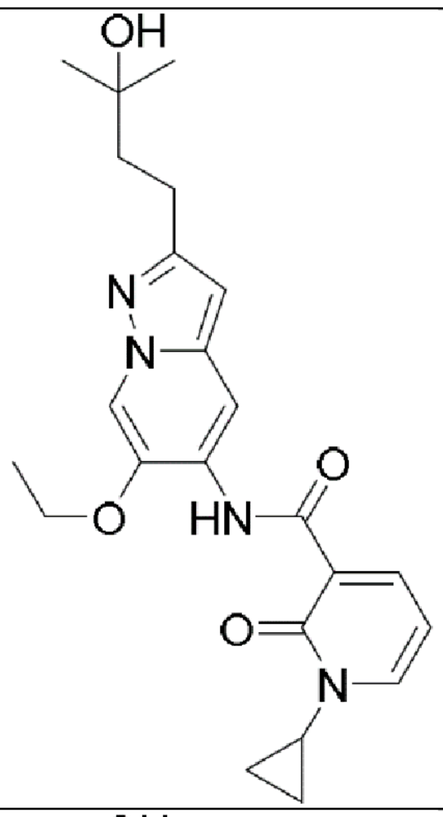
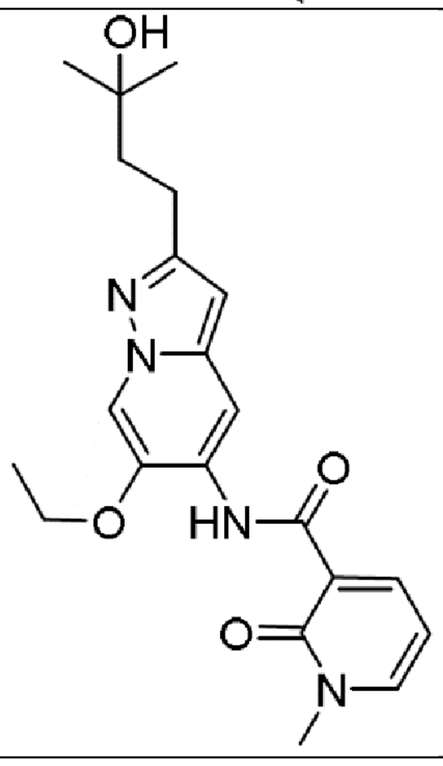
Cpd	結構	名稱	名稱起始物質	Mtd	MW(calc)	MW(obs)
1		1-環丙基-N-[2-(3-羥基-3-甲基丁基)-6-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基吡啶-3-甲醯胺	4-(5-胺基-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	A	410.5	411.1
2		N-[2-(3-羥基-3-甲基丁基)-6-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-1-甲基-2-側氧基吡啶-3-甲醯胺	4-(5-胺基-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	A	384.4	385.1

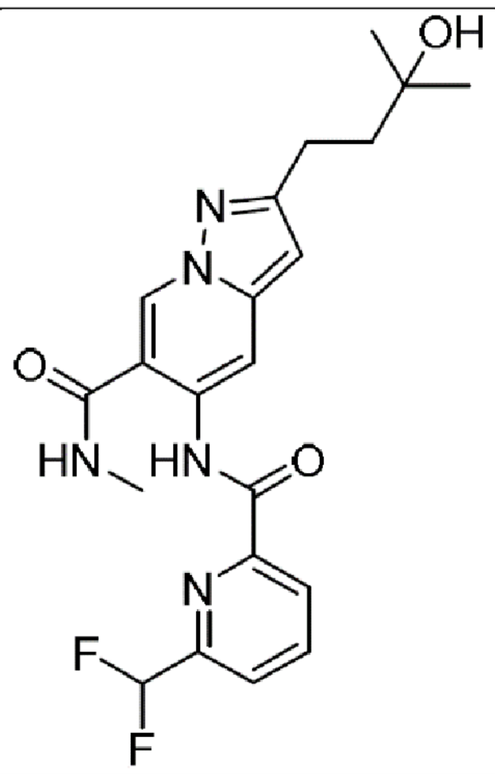
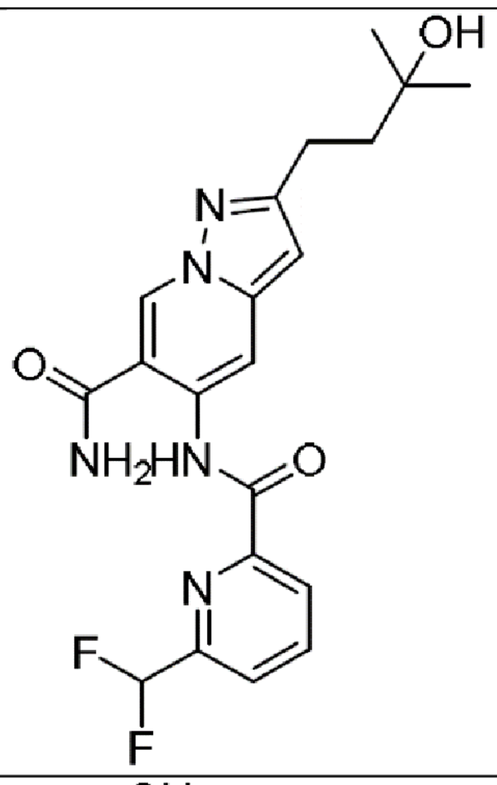
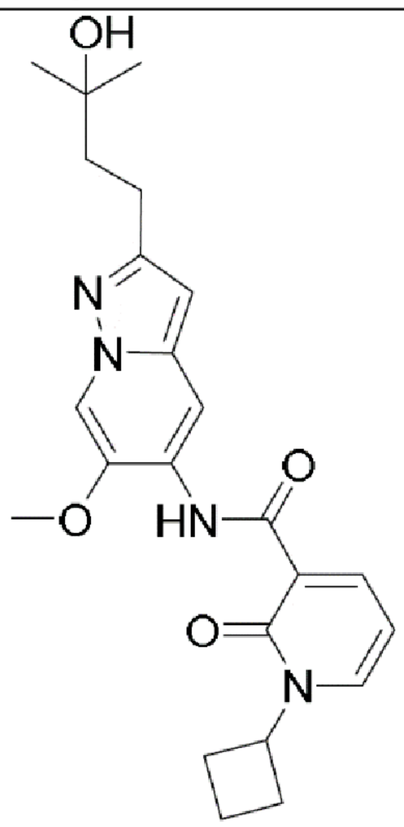
Cpd	結構	名稱	名稱起始物質	Mtd	MW(calc)	MW(obs)
3		N-[2-(3-羥基-3-甲基丁基)-6-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲醯胺	4-(5-胺基-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	A	422.4	423.1
4		2-(3-羥基-3-甲基丁基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺	2-(3-羥基-3-甲基-丁基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	NA	435.4	436.1
5		2-(3-羥基-3-甲基丁基)-N-甲基-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺	2-(3-羥基-3-甲基-丁基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	NA	449.4	450.1
6		1-環丙基-N-[6-甲氧基-2-(2-甲磺醯基乙基)吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺	6-甲氧基-2-(2-甲磺醯基乙基)吡唑并[1,5-a]吡啶-5-胺	NA	430.5	431.1

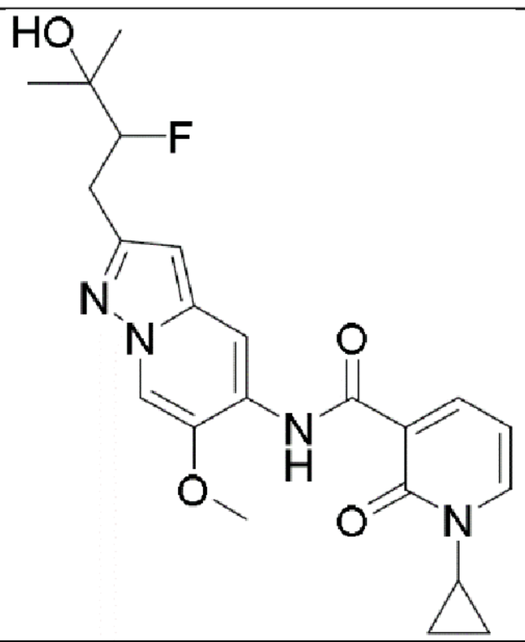
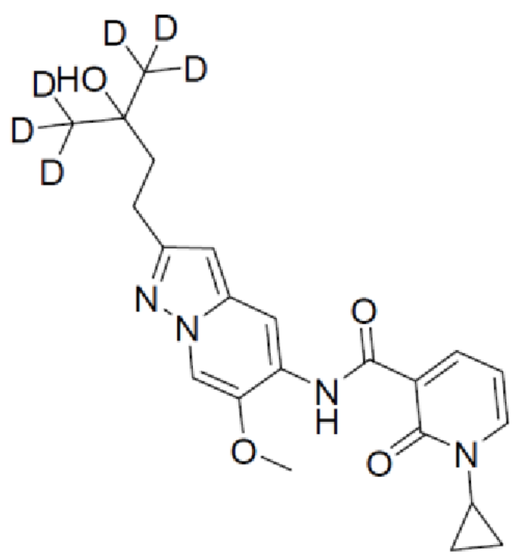
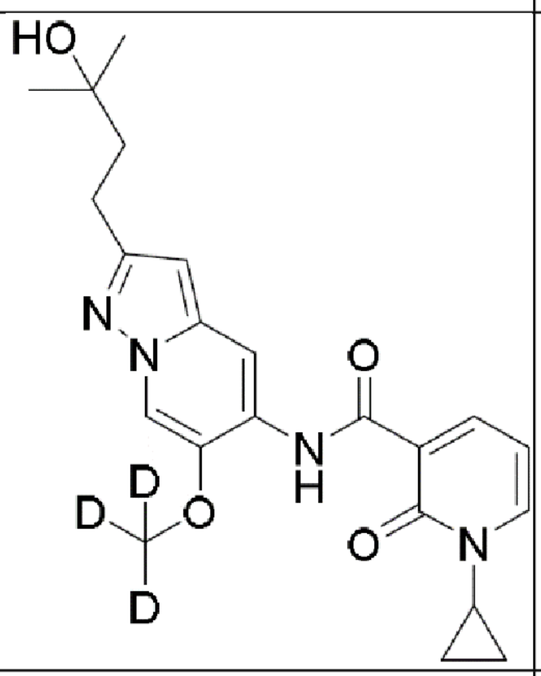
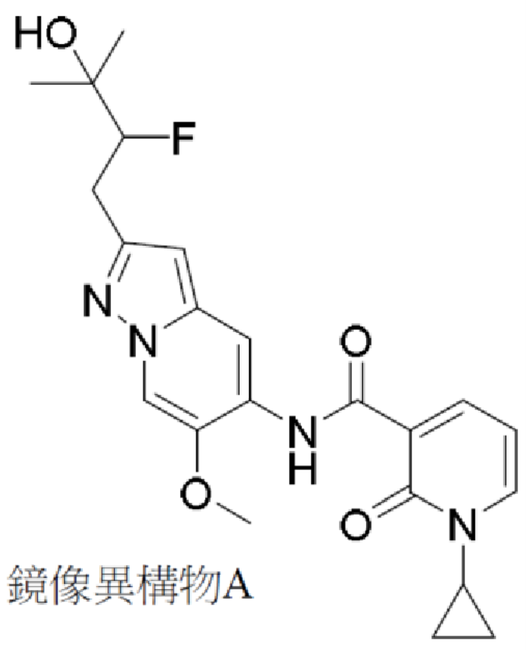
Cpd	結構	名稱	名稱起始物質	Mtd	MW(calc)	MW(obs)
7		1-(二氟甲基)-N-[2-(3-羥基-3-甲基-丁基)-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺	4-(5-胺基-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	A	420.4	421.6
8		2-(1,1-二側氧基硫雜環己烷-3-基)-N-甲基-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺	2-(1,1-二側氧基硫雜環己烷-3-基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	L	495.5	496.5
9		1-(二氟甲基)-N-[6-乙氧基-2-(3-羥基-3-甲基-丁基)吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺	4-(5-胺基-6-乙氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	A	434.4	435.6

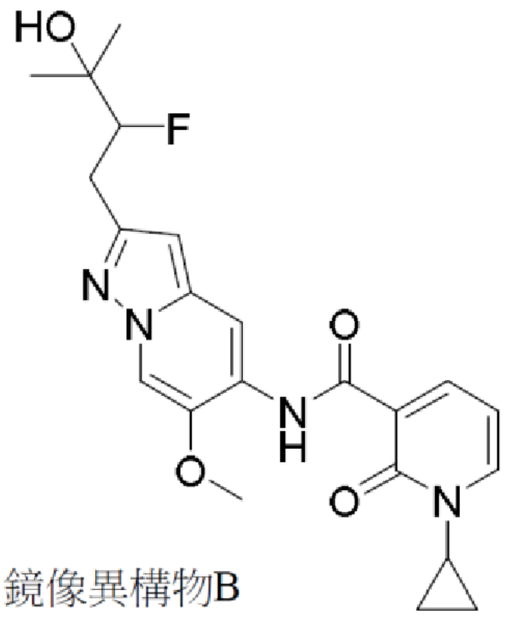
Cpd	結構	名稱	名稱起始物質	Mtd	MW(calc)	MW(obs)
10		2-(1-甲基-4-哌啶基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺甲酸鹽	2-(1-甲基-4-哌啶基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸	NA	446.4	447.6
11		2-四氫哌喃-4-基-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺	2-四氫哌喃-4-基-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸	M	433.4	434.6
12		N-甲基-2-(1-甲基-4-哌啶基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺	2-(1-甲基-4-哌啶基)-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	NA	460.5	461.5

Cpd	結構	名稱	名稱起始物質	Mtd	MW(calc)	MW(obs)
13		1-環丙基-N-[2-(3-羥基-3-甲基-丁基)-6-甲氧基-7-甲基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺	4-(5-胺基-6-甲氧基-7-甲基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	A	424.5	425.7
14		N-甲基-2-四氫哌喃-4-基-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺	2-四氫哌喃-4-基-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	L	447.4	448.6
15		5-[[6-(二氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]-N-甲基-2-四氫哌喃-4-基-吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺	5-[[6-(二氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]-2-四氫哌喃-4-基-吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	L	429.4	430.6

Cpd	結構	名稱	名稱起始物質	Mtd	MW(calc)	MW(obs)
16		5-[[6-(二氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]-2-四氫哌喃-4-基-吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺	5-[[6-(二氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]-2-四氫哌喃-4-基-吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸	M	415.4	416.6
17		1-環丙基-N-[6-乙氧基-2-(3-羥基-3-甲基-丁基)吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺	4-(5-胺基-6-乙氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	A	424.5	425.6
18		N-[6-乙氧基-2-(3-羥基-3-甲基-丁基)吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-1-甲基-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺	4-(5-胺基-6-乙氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	A	398.5	399.6

Cpd	結構	名稱	名稱起始物質	Mtd	MW(calc)	MW(obs)
19		5-[[6-(二氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]-2-(3-羥基-3-甲基-丁基)-N-甲基-吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺	5-[[6-(二氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]-2-(3-羥基-3-甲基-丁基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸乙酯	L	431.4	432.6
20		5-[[6-(二氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]-2-(3-羥基-3-甲基-丁基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲醯胺	5-[[6-(二氟甲基)吡啶-2-羰基]胺基]-2-(3-羥基-3-甲基-丁基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-甲酸	M	417.4	418.6
21		1-環丁基-N-[2-(3-羥基-3-甲基-丁基)-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺	4-(5-胺基-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	A	424.5	425.6

Cpd	結構	名稱	名稱起始物質	Mtd	MW(calc)	MW(obs)
22		1-環丙基-N-[2-(2-氟-3-羥基-3-甲基-丁基)-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺	4-(5-胺基-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-3-氟-2-甲基-丁-2-醇	NA	428.5	429.4
23		1-環丙基-N-[6-甲氧基-2-[4,4,4-三氘-3-羥基-3-(三氘甲基)丁基]吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺	4-(5-胺基-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-1,1,1-三氘-2-(三氘甲基)丁-2-醇	NA	416.5	417.3
24		1-環丙基-N-[2-(3-羥基-3-甲基丁基)-6-(三氘甲氧基)吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基吡啶-3-甲醯胺	4-[5-胺基-6-(三氘甲氧基)吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基]-2-甲基-丁-2-醇	NA	413.5	414.3
25		1-環丙基-N-[2-(2-氟-3-羥基-3-甲基-丁基)-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺對映異構體A	1-環丙基-N-[2-(2-氟-3-羥基-3-甲基-丁基)-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺	NA	428.5	429.1

Cpd	結構	名稱	名稱起始物質	Mtd	MW(calc)	MW(obs)
26	 鏡像異構物B	1-環丙基-N-[2-(2-氟-3-羥基-3-甲基-丁基)-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺對映異構體B	1-環丙基-N-[2-(2-氟-3-羥基-3-甲基-丁基)-6-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-5-基]-2-側氧基-吡啶-3-甲醯胺	NA	428.5	429.1

表IV.本發明之說明性化合物之NMR資料

Cpd.	NMR
1	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.51 (s, 1H), 8.57 (s, 1H), 8.45 (m, 1H), 8.38 (s, 1H), 8.03 (m, 1H), 6.56 (m, 1H), 6.25 (s, 1H), 4.26 (s, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.59 - 3.48 (m, 1H), 2.78 - 2.66 (m, 2H), 1.82 - 1.70 (m, 2H), 1.15 (s, 6H), 1.09 (m, 2H), 0.98 (m, 2H).
2	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.54 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.46 (m, 1H), 8.37 (d, 1H), 8.17 (m, 1H), 6.60 (m, 1H), 6.24 (d, 1H), 4.26 (s, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.63 (s, 3H), 2.78 - 2.66 (m, 2H), 1.82 - 1.70 (m, 2H), 1.15 (s, 6H).
3	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.42 (s, 1H), 8.50 - 8.38 (m, 4H), 8.25 (m, 1H), 6.33 (s, 1H), 4.27 (s, 1H), 3.97 (s, 3H), 2.78 - 2.69 (m, 2H), 1.81 - 1.72 (m, 2H), 1.15 (s, 6H).
4	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 13.45 (s, 1H), 9.22 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.49 - 8.40 (m, 1H), 8.38 (t, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.19 (m, 1H), 7.97 (s, 1H), 6.46 (s, 1H), 4.31 (s, 1H), 2.85 - 2.74 (m, 2H), 1.85 - 1.73 (m, 2H), 1.16 (s, 6H).
5	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.97 (s, 1H), 9.05 (s, 1H), 8.88 - 8.79 (m, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.44 (m, 1H), 8.38 (t, 1H), 8.20 (m, 1H), 6.47 (s, 1H), 4.31 (s, 1H), 2.87 - 2.74 (m, 5H), 1.85 - 1.73 (m, 2H), 1.16 (s, 6H).
6	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.54 (s, 1H), 8.60 (s, 1H), 8.48 - 8.40 (m, 2H), 8.03 (m, 1H), 6.56 (m, 1H), 6.40 (s, 1H), 3.96 (s, 3H), 3.59 - 3.46 (m, 3H), 3.18 - 3.09 (m, 2H), 3.01 (s, 3H), 1.16 - 0.93 (m, 4H).
7	^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 11.86 (s, 1H), 8.59 (m, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 8.26 (m, 1H), 8.05 (t, 1H), 6.79 (t, 1H), 6.27 (s, 1H), 4.25 (s, 1H), 3.93 (s, 3H), 2.75 - 2.68 (m, 2H), 1.79 - 1.72 (m, 2H), 1.14 (s, 5H).
8	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.96 (s, 1H), 9.09 (s, 1H), 8.90 - 8.81 (m, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.47 - 8.31 (m, 2H), 8.19 (m, 1H), 6.60 (s, 1H), 3.49 - 3.36 (m, 2H), 3.24 - 3.05 (m, 2H), 2.81 (d, 3H), 2.13 (t, 2H), 1.97 (q, 1H), 1.74 (d, 1H).
9	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.93 (s, 1H), 8.58 (m, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.38 (s, 1H), 8.29 - 8.16 (m, 1H), 7.90 (t, 1H), 6.77 (t, 1H), 6.25 (s, 1H), 4.25 (s, 1H), 4.15 (q, 2H), 2.76 - 2.64 (m, 2H), 1.80 - 1.68 (m, 2H), 1.45 (t, 3H), 1.13 (s, 6H).
10	^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 13.45 (s, 1H), 9.26 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.44 (d, 1H), 8.38 (t, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 8.19 (m, 1H), 7.96 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 2.87 (d, 2H), 2.74 (m, 1H), 2.22 (s, 3H), 2.07 (m, 2H), 1.99 - 1.93 (m, 2H), 1.75 (m, 2H).
11	^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 13.45 (s, 1H), 9.26 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 8.44 (d,

Cpd.	NMR
	1H), 8.38 (t, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.19 (d, 1H), 7.97 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 3.97 - 3.90 (m, 2H), 3.48 (m, 2H), 3.11 - 2.99 (m, 1H), 1.95 - 1.88 (m, 2H), 1.75 (m, 2H).
12	^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 12.97 (s, 1H), 9.09 (s, 1H), 8.81 (d, 1H), 8.77 (s, 1H), 8.43 (d, 1H), 8.38 (t, 1H), 8.20 (d, 1H), 6.51 (s, 1H), 2.86 - 2.80 (m, 5H), 2.72 (m, 1H), 2.19 (s, 3H), 2.06 - 1.90 (m, 4H), 1.73 (m, 2H).
13	^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 12.61 (s, 1H), 8.50 - 8.43 (m, 2H), 8.03 (m, 1H), 6.57 (t, 1H), 6.34 (s, 1H), 4.28 (s, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.56 (m, 1H), 2.79 - 2.72 (m, 2H), 2.62 (s, 3H), 1.80 - 1.73 (m, 2H), 1.15 (s, 6H), 1.14 - 1.05 (m, 2H), 1.01 - 0.94 (m, 2H).
14	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.97 (s, 1H), 9.09 (s, 1H), 8.79 (d, 2H), 8.47 - 8.31 (m, 2H), 8.19 (m, 1H), 6.53 (s, 1H), 3.92 (m, 2H), 3.47 (m, 2H), 3.04 (m, 1H), 2.81 (d, 3H), 1.90 (m, 2H), 1.83 - 1.64 (m, 2H).
15	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.93 (s, 1H), 9.09 (s, 1H), 8.95 - 8.64 (m, 2H), 8.37 - 8.22 (m, 2H), 7.99 (m, 1H), 7.01 (t, 1H), 6.52 (s, 1H), 3.98 - 3.86 (m, 2H), 3.47 (m, 2H), 3.04 (m, 1H), 2.83 (d, 3H), 1.95 - 1.84 (m, 2H), 1.84 - 1.64 (m, 2H).
16	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 13.38 (s, 1H), 9.24 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.43 - 8.18 (m, 3H), 7.97 (m, 1H), 7.92 (s, 1H), 6.97 (t, 1H), 6.52 (s, 1H), 3.98 - 3.86 (m, 2H), 3.47 (m, 2H), 3.04 (m, 1H), 1.96 - 1.85 (m, 2H), 1.84 - 1.64 (m, 2H).
17	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.58 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.42 (m, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.00 (m, 1H), 6.53 (t, 1H), 6.23 (s, 1H), 4.24 (s, 1H), 4.15 (q, 2H), 3.53 (m, 1H), 2.76 - 2.64 (m, 2H), 1.80 - 1.68 (m, 2H), 1.47 (t, 3H), 1.13 (s, 6H), 1.11 - 0.91 (m, 4H).
18	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.58 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.44 (m, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.15 (m, 1H), 6.57 (m, 1H), 6.22 (s, 1H), 4.24 (s, 1H), 4.14 (q, 2H), 3.61 (s, 3H), 2.76 - 2.64 (m, 2H), 1.80 - 1.68 (m, 2H), 1.46 (t, 3H), 1.13 (s, 6H).
19	^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 12.92 (s, 1H), 9.04 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 8.75 (s, 1H), 8.35 - 8.26 (m, 2H), 7.99 (d, 1H), 7.02 (t, 1H), 6.45 (s, 1H), 4.30 (s, 1H), 2.84 (d, 3H), 2.82 - 2.75 (m, 2H), 1.82 - 1.75 (m, 2H), 1.15 (s, 6H).
20	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 13.37 (s, 1H), 9.19 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 8.36 - 8.22 (m, 3H), 7.97 (m, 1H), 7.91 (s, 1H), 6.98 (t, 1H), 6.44 (s, 1H), 4.29 (s, 1H), 2.84 - 2.72 (m, 2H), 1.84 - 1.72 (m, 2H), 1.14 (s, 6H).
21	^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 12.50 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 8.45 (m, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.24 (m, 1H), 6.65 (t, 1H), 6.24 (s, 1H), 5.19 - 5.09 (m, 1H), 4.25 (s, 1H), 3.92 (s, 3H), 2.75 - 2.68 (m, 2H), 2.47 - 2.37 (m, 2H), 2.36 - 2.24 (m, 2H), 1.90 - 1.72 (m, 4H), 1.14 (s, 6H).
22	^{1}H NMR (400 MHz, 三氯甲烷-d) δ 12.40 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 8.61 (m, 1H), 8.02 (s,1H), 7.63 (m, 1H), 6.47 (t, 1H), 6.32 (s, 1H), 4.74 (m, 1H), 4.01 (s, 3H), 3.52 (m, 1H), 3.27 - 3.10 (m, 2H), 2.41 (s, 1H), 1.56 - 1.42 (m, 2H), 1.37 - 1.20 (m, 6H), 1.02 - 0.93 (m, 2H).
23	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.50 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 8.43 (m, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.02 (m, 1H), 6.60 - 6.49 (m, 1H), 6.23 (s, 1H), 4.22 (s, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.59 - 3.46 (m, 1H), 2.76 - 2.64 (m, 2H), 1.80 - 1.68 (m, 2H), 1.15 - 0.90 (m, 4H).
24	^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 12.51 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.44 (m, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.03 (m, 1H), 6.55 (t, 1H), 6.24 (s, 1H), 4.25 (s, 1H), 3.58 - 3.49 (m, 1H), 2.75 - 2.68 (m, 2H), 1.82 - 1.66 (m, 2H), 1.14 (s, 6H), 1.11 - 1.02 (m, 2H), 1.00 - 0.90 (m, 2H).
25	^{1}H NMR (400 MHz, 三氯甲烷-d) δ 12.31 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.52 (m, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.53 (m, 1H), 6.38 (t, 1H), 6.23 (s, 1H), 4.69 - 4.48 (m, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.42 (m, 1H), 3.17 - 2.99 (m, 2H), 1.25 (m, 6H), 1.23 - 1.10 (m, 3H), 0.93 - 0.85 (m,

Cpd.	NMR
	2H).
26	^{1}H NMR (400 MHz, 三氯甲烷-d) δ 12.31 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.52 (m, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.54 (m, 1H), 6.38 (t, 1H), 6.23 (s, 1H), 4.68 - 4.47 (m, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.43 (m, 1H), 3.17 - 3.06 (m, 1H), 3.04 (d, 1H), 1.25 (m, 6H), 1.22 - 1.15 (m, 3H), 0.93 - 0.83 (m, 2H).

生物實例

實例3.活體外分析

3.1. 人類IRAK-4之磷酸化IC_{50}測定

3.1.1. 分析原理

【0302】 用ADP-Glo激酶分析法(Promega，目錄號V9103)偵測在Km ATP下IRAK4引起的受質RIP140(SEQ ID1)磷酸化，其係一種量測由激酶反應形成之ADP的發光激酶分析法(Zegzouti等人, 2009)。在第二步驟中，使激酶反應終止，且耗盡所有剩餘ATP。在最終步驟中，ADP轉化成ATP，且藉由使用螢光素酶/螢光素反應與發光讀數器來量測此新合成之ATP。發光信號與激酶活性，特定言之激酶抑制性，呈正相關，從而得到降低之發光信號。

3.1.2. 材料

【0303】 對於半自動化分析，陽性對照(100%抑制)之製備係由10 mM星形孢菌素(Staurosporine)儲備混合物(20 μL)於水(3.8 mL)及DMSO(180 μL)中稀釋，因此產生10 μM星形孢菌素之1% DMSO溶液(於激酶反應中進一步稀釋後的最終濃度)。

【0304】 對於自動化分析，不預先稀釋10 mM星形孢菌素儲備液。使用音波分注器(acoustic dispensing)將10 mM星形孢菌素直接點樣於分析盤中，且補充DMSO，以產生如上文所提及之類似最終濃度。

【0305】 對於半自動化分析，陰性對照(0%抑制)之製備係混合水

(3.8 mL)與DMSO(200 μL)，在激酶反應中進一步稀釋之後產生1% DMSO之最終濃度。對於自動化分析，則不進行DMSO之預先稀釋。將100% DMSO直接點樣於分析盤上。

【0306】 藉由混合125 mM TRIS pH 7.5 + 0.05% Triton X-100 + 2.5 mM EGTA (5.27 mL) 之溶液與1M $MgCl_2$ (72 μL)、1M DTT (57.6 μL)及200 mM $MnCl_2$ (360 μL)，製備分析緩衝溶液，其濃度對應於最終(最高稀釋度)分析濃度之5倍。

【0307】 製備酶-受質混合物(25 μM RIP140及0.125 ng/μL IRAK4之緩衝水溶液)，其濃度對應於半自動化方法之最終(最高稀釋度)分析濃度之2.5倍及自動化方法之最終(最高稀釋度)分析濃度之3倍。舉例而言，對於半自動化方法而言，酶-受質混合物之製備係混合水(3999 μL)、分析緩衝溶液(1380 μL)、1 mM RIP140(138 μL-SEQ ID1)及200 ng/mL IRAK 4(3.45 μL Carna Biosciences，09 145)。

【0308】 對於半自動化方法，製備ATP混合物，其濃度對應於半自動化方法之最終(最高稀釋度)分析濃度之2.5倍及自動化方法之最終(最高稀釋度)分析濃度之1.5倍。舉例而言，對於半自動化方法，ATP混合物之製備係混合水(4126 μL)、分析緩衝溶液(1380 μL)及10 mM ATP(13.80 μL)。

3.1.3. 方法

【0309】 以半自動化或完全自動化方式進行分析。ADP偵測之分析體積及培育時間根據所用方法是不同的。

3.1.3.1. 半自動化分析

【0310】 以在水中1/20倍稀釋的2 mM最高濃度起始，化合物用在

100% DMSO中的1/5倍稀釋步驟製備為10點劑量反應之連續稀釋液。將1 μL乾燥轉移至分析盤。

【0311】 在各分析盤上，每種對照添加32個孔(陽性&陰性)，隨後添加2 μL酶受質混合物。

【0312】 藉由在分析盤上添加2 μL稀釋之ATP(最終濃度Km ATP)開始反應。盤在1000 rpm下離心幾秒，隨後在室溫下培育120分鐘。

【0313】 反應停止，且藉由將5 μL ADP-glo試劑(Promega，目錄號V9103)添加至反應來耗盡未消耗之ATP。對應於完全ATP消耗，將盤在1000 rpm下快速離心且在室溫下培育40分鐘。

【0314】 將ADP轉化回ATP，且引入螢光素酶及螢光素，藉由向反應物添加10 μL激酶偵測試劑(Promega，目錄號V9103)來偵測ATP。將盤在1000 rpm下離心幾秒且在室溫下再培育30分鐘。

【0315】 在Envision發光讀取器(Perkin Elmer)上進行發光讀出。

3.1.3.2. 自動化分析

【0316】 對於自動化分析，以2 mM最高濃度起始，化合物用在100% DMSO中的1/5倍稀釋步驟製備為10點劑量反應之連續稀釋液。

【0317】 隨後，將化合物轉移及/或稀釋於分析盤中之DMSO中，達到30 nL之最終體積且添加對照物。

【0318】 對於連續稀釋：10點連續稀釋，1/5倍稀釋步驟，最終最高濃度1% DMSO中20 μM。

【0319】 在各分析盤上，每種對照添加32個孔(陽性&陰性)。

【0320】 將盤移動至HighRes平台，且執行以下步驟：

a) 將1 μL經稀釋之酶/受質混合物分配於各孔中，

b) 藉由在分析盤上添加2 μL稀釋之ATP(最終濃度Km ATP)開始反應，

c) 盤在300 g下離心10秒，密封且隨後在室溫下培育120分鐘。

d) 停止反應且藉由添加3 μL ADP-Glo試劑來耗盡未消耗之ATP。將盤密封且在室溫下培育40分鐘。

e) 將ADP轉化成ATP，且引入螢光素酶及螢光素，藉由向反應物添加6 μL激酶偵測試劑來偵測ATP。將盤密封且在室溫下培育60分鐘。

f) 在Perkin Envision發光讀取器上進行發光讀出。

3.1.4. 資料分析

【0321】 根據遵循對發光讀取器進行之讀出所產生之原始資料，使用下式計算抑制百分比(PIN)：

$$PIN = \frac{(\text{RLUn} - \text{RLU測試化合物})}{\text{RLUn} - \text{RLUp}} \times 100$$

【0322】 其中RLU=相對化學發光光單位(背景減除)，且下標p及n分別係指陽性及陰性對照之基於各盤之平均值。

【0323】 在濃度反應中標繪PIN值且應用4參數非線形回歸(S形)曲線擬合得出IC_{50}值。

***表V.*本發明化合物之活體外人類IRAK-4 ADP-Glo IC_{50}**

半定量評分	IC_{50}範圍
****	0.1 -5 nM
***	>5-10 nM
**	>10-50 nM
*	>50 nM
ND	未測定

Cpd.	IRAK4 IC_{50}
1	****
2	****
3	****
4	****
5	****
6	***
7	***
8	****
9	***
10	ND
11	****
12	****
13	**

Cpd.	IRAK4 IC_{50}
14	***
15	****
16	****
17	****
18	****
19	****
20	****
21	****
22	****
23	****
24	****
25	****
26	**

3.2. 激酶選擇性剖析(寬圖)

【0324】 此分析之目的為確定本發明化合物對所選擇之人類激酶範圍之活性及選擇性，其在抑制時可產生非所要副作用(Dy及Adjei, 2013; Force and Kolaja, 2011)。

【0325】 在輻射量測激酶分析法中以Eurofins Cerep SA (Le Bois L'Evêque, BP 30001, F- 86600 Celle-Lévescault)測定人類激酶之抑制。

【0326】 為測定其IC_{50}，自10 μM(最高濃度)開始以3倍連續稀釋測試10個劑量之化合物。藉由擬合剩餘酶活性%之劑量反應曲線(相對於DMSO對照)來得出IC_{50}值。

3.3. NFκB-報導分析

3.3.1. 分析原理

【0327】 已顯示介白素-1受體相關激酶(IRAK4)活性在LPS及IL-1β觸發活化NFκB依賴性信號傳導之下游起關鍵作用，而顯示IRAK4不為TNFα介導之反應所需(Davidson等人, 2006；Jain等人, 2014)。

【0328】 此分析用於評估在THP1-Lucia NFκB報導分析中本發明化合物對IRAK4依賴性(LPS及IL-1β)及獨立觸發(TNFα)之IRAK4選擇性及

效能。

3.3.2. 分析方案

【0329】按照供應商之推薦，使用分裂週期培養THP-1-Lucia NFκB細胞(Invivogen-5, rue Jean Rodier 31400 Toulouse France - 目錄號thp1-nfkb)，每個週期包含一系列解凍/擴張/接種。所報導之資料使用具有3至9個週期的細胞產生。在實驗當天，對THP-1-Lucia NFκB細胞計數且藉由移液54 μL/孔至384孔盤中，以1,000,000個細胞/毫升之密度將細胞接種於培養基(RPMI 1640 (Gibco, 目錄號52400-025) + 10% FBS (Sigma, 目錄號F7524-500ML)+ 1% P/S (Gibco, 目錄號15140-122))中。其後，將6μL 10×觸發劑溶液以2.5、10及3 ng/mL之最終濃度(對應地LPS、TNFα及IL-1β)添加至所有孔中，但『無觸發劑孔』除外，其中僅添加6 μL培養基。

【0330】在添加觸發劑之後，使用3倍稀釋步驟及將最終DMSO濃度歸一化至所有孔中0.2% DMSO，用8點濃度範圍之數位化合物分配器添加化合物。

【0331】在37℃、5% CO_2下培育24小時之後，每孔收集40 μL上澄液且轉移至新384孔盤，隨後儲存在-20℃下直至進一步使用。

【0332】對於讀數，在冰上解凍上澄液樣品且自各孔轉移5 μL樣品至新384孔盤。將20 μL Quanti-Luc溶液(如由製造商指示，Quanti-Luc粉末(Invivogen, 目錄號rep-qlc1)溶解於中25 ml無菌水中)添加至中各孔中，其後立即使用Envision儀器量測發光。

【0333】為量測LPS/TNFα/IL-1β誘導之NFκB報導活性之抑制，相較於對照組，計算測試至所有濃度的抑制百分比(PIN)值。

【0334】 將未刺激之樣品(無觸發劑/媒劑(0.2% DMSO))用作陰性對照(100%抑制)。使用經刺激之樣品(觸發劑/媒劑)作為陽性對照(0%抑制)。

$$\text{PIN} = \frac{RLU_p - \text{RLU}_{\text{測試化合物}}}{RLU_p - RLU_n} * 100$$

其中RLU=相對光單位(背景減除)，且p及n分別係指陽性及陰性對照之平均值。

【0335】 在濃度反應中標繪PIN值且使用GraphPad Prism軟體，應用4參數非線形回歸(S形)曲線擬合得出EC_{50}值。使用以下限制進行分析：頂部必須小於120且希爾斜率(Hill Slope)等於1。僅計算達到至少40% PIN之化合物的EC_{50}值。

【0336】 舉例而言，當在此分析中測試時，化合物1以7.0(±0.1)之平均pEC_{50}值抑制LPS驅動的NFκB報導活性，且以7.0(±0.1)之平均pEC_{50}值抑制IL-1β驅動的NFκB報導活性，而對TNFα介導的NFκB報導活性未觀測到活性，說明化合物1之IRAK4選擇性。

實例4. ADME分析

4.1. 動力學溶解度

【0337】 自測試化合物於DMSO中之10 mM儲備溶液起始，製備DMSO中之第二濃度3 mM。藉由將200 μL緩衝液添加至2 μL化合物溶液中，在0.1 M磷酸鹽緩衝液pH 7.4中稀釋兩種DMSO濃度。最終化合物濃度為100及30 μM，最終DMSO濃度為1%。一式兩份地進行量測。

【0338】 作為用於沈澱之陽性對照，將芘添加至各96孔盤之邊角點且充當用於校準顯微鏡上之Z軸的參考點。作為陰性對照，將DMSO添加至陽性對照孔之間的管柱上之12個孔。

【0339】 將分析盤密封且在37℃下培育1小時，同時在230 rpm下震盪。

【0340】 隨後在白光顯微鏡下使用尼康顯微鏡(Nikon microscope)掃描盤，得到個別圖片(20×)之沈澱/濃度。

【0341】 目測分析沈澱物：

- 若在100 μM及在30 μM下觀測到沈澱，則產生之資料將為：<30 μM

- 若在100 μM下但未在30 μM下觀測到沈澱，則產生之資料將為：>30 μM

- 若未觀測到沈澱(既不在30 μM亦不在100 μM下)，則產生之資料將為：>100 μM

【0342】 根據此方案量測之溶解度值以μM及μg/mL為單位報導。

4.2. 熱力學溶解度

【0343】 不良溶解度，尤其不良的熱力學溶解度可限制自胃腸道吸收化合物，其轉而可降低口服生物可用性。

【0344】 熱力學溶解度藉由對抗動力學溶解度來研究平衡時飽和溶液的化合物溶解度，其量測介穩定溶液之溶解度，其中可能發生過飽和且提供化合物之實際溶解度之過度評估。(Klein, 2010)

4.2.1. 熱力學溶解度-方案1

【0345】 在8 mL玻璃瓶中，添加1-2 mg化合物乾物質且在室溫(對於緩衝液pH 7.4)或37℃ (對於GI液體)下與合適的緩衝液(進食狀態模擬腸液，FeSSIF或禁食狀態模擬腸液，FaSSIF或禁食狀態模擬胃液，FaSSGF或磷酸鹽緩衝液pH 7.4)一起攪拌24小時。混合物濃度為1 mg/mL。

【0346】 取樣500 μL之體積，在10000 rpm下離心10分鐘且過濾。將樣品一式兩份稀釋於DMSO (F100及F10)中。隨後，將在80/20 H_2O/含有內標(華法林(warfarin))之MeCN中之最終稀釋液(F100)用於LCMS-MS分析。

【0347】 自新近由乾物質製備之DMSO中之200,000 ng/mL儲備液起始製作標準曲線。隨後，藉由使用Tecan自動機製備DMSO中15,000、10,000、2,500、1,000、200及75 ng/mL之連續濃度。

【0348】 製成兩個品質對照樣品：一個為DMSO中之10,000 ng/mL且一個為DMSO中之500 ng/mL，亦自200,000 ng/mL之DMSO工作儲備溶液起始。

【0349】 標準曲線及品質對照於80/20 H_2O/MeCN(具有內標)中稀釋F100且在LC/MS-MS (API4000或API5500)上進行分析。

【0350】 樣品在LC-MS上以0.6 mL/min之流動速率進行分析。移動相A為含0.1%甲酸之水且移動相B為含0.1%甲酸之MeCN。樣品在來自Agilent之Pursuit C18-5μm (2.0×20 mm)管柱上在陽離子或陰離子噴塗下操作。

【0351】 在圖中繪製標準曲線之峰面積，且使用線性或多項式二階等式計算測試化合物之未知濃度。

4.2.2. 熱力學溶解度-方案2

【0352】 在8 mL玻璃瓶中，添加1-2 mg化合物乾物質且在室溫(對於緩衝液pH 7.4)或37℃ (對於GI液體)下與合適的緩衝液(進食狀態模擬腸液，FeSSIF或禁食狀態模擬腸液，FaSSIF或禁食狀態模擬胃液，FaSSGF或磷酸鹽緩衝液pH7.4)一起攪拌24小時。混合物濃度為1 mg/mL。

【0353】 取樣1000 μL之體積，以10000 rpm離心10分鐘，且在培養盤上過濾500 μL上澄液。將樣品一式兩份稀釋於DMSO(F100及F10)中。隨後，將80/20 H_2O/含有內標(華法林)之MeCN中之最終稀釋液(F100)用於LCMS-MS分析。

【0354】 自新近由乾物質製備之DMSO中之40,000 ng/mL儲備液起始製作標準曲線。隨後，製備DMSO中15,000、11,000、6,000、2,500、1,000、375、150及75 ng/mL之連續濃度。

【0355】 製備三個品質對照樣品：DMSO中10,000、1,500及200 ng/mL中之一者，亦起始於40,000 ng/mL之DMSO工作儲備溶液。

【0356】 標準曲線及品質對照在80/20 H_2O/MeCN(具有內標)中稀釋F100且在LC/MS-MS(API4000或API5500)上進行分析。

【0357】 在LC-MS上以0.6 mL/min之流動速率分析樣品。移動相A為含0.1%甲酸之水且移動相B為含0.1%甲酸之90% MeCN及10% H_2O。樣品在來自Agilent之Pursuit C18-5μm (2.0×20 mm)管柱上在陽離子或陰離子噴塗下操作。

【0358】 標準曲線之分析物/內標峰面積比率繪製於圖表中，且使用線性或多項式二階等式計算測試化合物之未知濃度。

【0359】 溶解度值以μg/mL報導。

表VI.本發明之說明性化合物之熱力學溶解度

Cpd #	Tsol FaSSIF(μg/mL)	Tsol FaSSGF (μg/mL)	Tsol FeSSIF(μg/mL)
1	9.47, 39.7, 32.2, 28.8, 11.3	251, 158, 91.8, 193	115, 48.4, 126, 44.1, 83.4
2	10.2	ND	ND
3	0.801	106	27.6
4	0.75	<0.75	6.01
5	2.26	1.96	14.2
6	24.1, 4.06	15.9, 3.62	45.5, 10.8
7	28	>1000	93.9
8	<0.75	<0.75	<0.75
9	3.96	3.82	ND
12	183	>1000	ND
13	1.77	8.45	ND

Cpd #	Tsol FaSSIF(μg/mL)	Tsol FaSSGF (μg/mL)	Tsol FeSSIF(μg/mL)
14	<0.75	<0.75	ND
15	<0.75	<0.75	ND
16	1.29	ND	ND
17	24.6	75.7	81
18	20.6	68.9	84.1
19	12.5	8.26	70.6
20	3.09	1.62	ND
21	16.4	ND	ND
22	14	50.6	75.9
23	16	104	93
24	28.5	200	105
25	20.2	389	59.6
26	34.5	818	52.7

4.3. 血漿蛋白質結合PPB (平衡透析)

【0360】 在開始實驗之前，將透析膜(膜帶，MW截止12-14 kDa，HTDialysis，目錄號#1101)浸沒於去離子水中60分鐘，轉移且置於20% EtOH中隔夜。

【0361】 實驗當天，將化合物於DMSO中之10 mM儲備溶液用DMSO稀釋10倍。將此溶液在新近解凍之人類、大鼠、小鼠或犬血漿(BioReclamation INC)中進一步稀釋，其中最終濃度為5 μM，且最終DMSO濃度為0.5%。

【0362】 自此溶液獲取50 μL等分試樣且基質與用於回收盤之當量體積之PBS匹配。此後，將6體積STOP溶液添加至回收盤中。對於此等回收盤，不進行培育。

【0363】 根據製造商之說明裝配平衡透析裝置(96孔，HTD96b型，HTDialysis，目錄號#1006)。緊接在裝配之後，分別將體積為100 μL之

血漿(外加化合物)置放於孔之一側且將另一100 μL空白組PBS緩衝液添加至另一側。重複兩次測試各化合物。

使用醋丁洛爾(Acebutolol)及尼卡地平(Nicardipine)作為低及極高結合對照，但對於小鼠，將咖啡鹼(Caffeine)代替醋丁洛爾用作低結合劑。若此等對照物之PPB值不在由歷史資料判定之範圍內，則分析無效。

【0364】 盤在37℃下培育4小時，同時在230 rpm下震盪。

【0365】 其後，50 μL等分試樣取自孔及匹配基質(相等體積之具有外加血漿的空白組PBS緩衝液與來自空白組血漿之緩衝隔室之樣品之混合物)之各側。

【0366】 將匹配基質樣品進一步與64體積之STOP溶液(具有華法林作為內標之乙腈)混合。在簡單混合及離心(在+4℃下以2400 rpm離心15分鐘)之後，將上澄液過濾且轉移至新的96孔盤中用於在LC-MS/MS (系統API4000或API5500)上分析。

【0367】 樣品在LC/MS-MS上以0.6 mL/min之流動速率加以分析。移動相A為含0.1%甲酸之水且移動相B為含0.1%甲酸之MeCN。樣品在來自Agilent之Pursuit C18-5μm (2.0×20 mm)管柱上在陽離子或陰離子噴塗下操作。溶劑梯度具有1.2分鐘之總操作時間，其中梯度分佈如下：

時間 (min)	% B
0.0	5
0.2	100
0.8	100
0.9	5
1.2	5

【0368】 使用以下等式確定血漿結合百分比(PPB)：

$$PPB = \frac{(C_{血漿} - C_{緩衝液})}{C_{血漿}} * 100$$

C血漿=血漿中化合物之峰面積/血漿中IS之峰面積

C緩衝液=緩衝液中化合物之峰面積/緩衝液中IS之峰面積

「濃度」為化合物與內標峰面積之間的比率。

【0369】回收率為對照，其允許確保化合物不具有與盤之非特異性結合或其在此等條件下在血漿中不穩定。

$$回收率\% = \frac{(PBS + 血漿) * 100}{回收}$$

其中：

PBS=在4小時之後在PBS隔室中(化合物之峰面積/IS之峰面積的比率)

血漿=在4小時之後在血漿隔室中(化合物之峰面積/IS之峰面積的比率)

回收=回收率=在T0下在孔回收中之化合物的峰面積/在孔回收中之IS之峰面積的比率

【0370】藉由顯微鏡偵測最終測試濃度之化合物於PBS中之溶解度，以指示是否觀測到沈澱。若觀測到沈澱，則未產生PPB資料。

4.4. 肝臟微粒體穩定性

【0371】將化合物於DMSO中之10 mM儲備溶液三倍稀釋於DMSO中。隨後在100 mM磷酸鹽緩衝液(pH 7.4)中將此預稀釋之化合物溶液稀釋至2 μM且在37℃下預溫熱。此化合物稀釋液在37℃下在以300 rpm震盪下與微粒體/輔因子混合物2倍混合。

【0372】最終反應條件為：100 μL培育體積、1 μM測試化合物(n=2)、0.2% DMSO、0.5 mg/mL微粒體(Xeno-Tech)、0.6 U/mL葡萄糖-6-磷酸鹽-去氫酶 (G6PDH, Roche, 10127671001)、3.3 mM $mgCl_2$ (Sigma, M2670)、3.3 mM葡萄糖-6-磷酸鹽 (Sigma, G-7879) 及1.3 mM

NADP+ (Sigma, N-0505)。

【0373】 在300 rpm及37℃下培育30分鐘之後，用600 μL STOP溶液(具有雙氯芬酸之乙腈作為內標)停止反應。對於零點時間點，在添加微粒體混合物之前將600 μL STOP溶液添加至化合物稀釋液中。

【0374】 離心兩個時間點之樣品，過濾且藉由LC-MS/MS分析上澄液。

【0375】 樣品在LC/MS-MS上以0.6 mL/min之流動速率加以分析。移動相A為含0.1%甲酸之H_2O且移動相B為含0.1%甲酸之90% MeCN及10% H_2O。樣品在來自Agilent之Pursuit C18-5μm (2.0×20 mm)管柱上在陽離子或陰離子噴塗下操作。溶劑梯度具有2.2分鐘之總操作時間，其中梯度分佈如下：

時間(min)	% B
0.0	5
0.6	5
1	100
1.9	100
2.0	5
2.2	5

【0376】 儀器反應(峰面積/IS峰面積)參考零時間點樣品(視為100%)以便確定剩餘化合物百分比。

【0377】 將維拉帕米(Verapamil, 1 μM)及華法林(1 μM)分別用作作為不穩定及穩定化合物之參考化合物。若此等對照之微粒體穩定性值不在由歷史資料判定之範圍內，則分析未經驗證。

【0378】 微粒體穩定性之資料表示為30分鐘培育後剩餘之化合物總量之百分比。

【0379】 藉由顯微鏡偵測最終測試濃度之化合物於100 mM緩衝液pH 7.4中之溶解度，以指示是否觀測到沈澱。若觀測到沈澱，則未產生微

粒體穩定性資料。

4.5. S9次細胞片段中之代謝穩定性

【0380】 此分析之目標為藉由測定化合物代謝在S9亞細胞片段中之活體外代謝穩定性來評估藉由醛氧化酶之化合物代謝。

【0381】 首先在DMSO中稀釋化合物於DMSO中之10 mM儲備溶液(40倍)以獲得250 μM濃度。進一步用水(5倍)稀釋此化合物溶液以獲得50 μM化合物工作溶液(以獲得1 μM化合物最終濃度)。在5 mM下於水中製備肼酞嗪(醛氧化酶之選擇性抑制劑) (以獲得100 μM之最終濃度)。藉由在37℃下將10 μL肝臟S9懸浮液(人類、大鼠、小鼠、猴、BD Gentest™，20 mg/mL)添加至86 μL之50 mM磷酸鉀緩衝液(pH 7.4)中來製備培育混合物(2 mg蛋白質/mL之最終濃度)。添加2 μL之5 mM肼酞嗪用於在添加選擇性抑制劑或2 μL水之情況下培育，用於在無抑制劑之情況下培育。在5分鐘預溫熱後，藉由向培育混合物中添加2 μL之50 μM測試化合物開始反應。

【0382】 在0、3、6、12、18及30分鐘培育之後，反應物(50 μL)用含有10 ng/mL華法林之1% AcOH混合物作為分析型內標之150 μL MeCN:MeOH(2:1)終止。將樣品混合、離心且藉由LC-MS/MS分析上澄液。

【0383】 樣品在LC/MS-MS上以0.7 mL/min之流動速率加以分析。移動相A為含0.1%甲酸之水且移動相B為含0.1%甲酸之90%乙腈及10%水。

【0384】 包括酞嗪作為陽性對照。

【0385】 儀器反應(化合物及內標之峰面積比率)參考零時間點樣品

(視為100%)以便確定剩餘化合物百分比。使用GraphPad Prism®軟體將剩餘化合物%之曲線用於測定S9培育中之半衰期及固有清除率。下式用於計算活體外固有清除率(μL/min/mg)：

CL_{int} (μL/min/mg) = 0.693/$t_{1/2}$ (min) * (mL培育物/mg蛋白質) * 1000

【0386】 若S9清除係藉由肼酞嗪抑制，則將測試化合物分類為醛氧化酶之受質。測試化合物之物質特異性清除亦可指示藉由醛氧化酶之代謝。

4.6. 肝細胞之代謝穩定性

【0387】 此分析之目標為測定化合物在不同物種之肝細胞(冷凍保存)中之代謝穩定性。較低肝細胞穩定性可使得形成不合需要之代謝物、高清除率，且因此不合乎需要。

【0388】 藉由量測LC-MS/MS分析之剩餘百分比來評估母體之降低。

【0389】 首先將測試化合物於DMSO中之10 mM儲備溶液稀釋於DMSO中至3 mM，且隨後於經改質之Krebs-Henseleit緩衝液(Sigma，K3753)中稀釋至5 μM。在37℃下在溫和震盪下將此化合物稀釋液添加至彙集的冷凍保存肝細胞(BioreclamationIVT)之懸浮液中。

【0390】 最終反應條件為：1 μM測試化合物、0.03% DMSO、0.5百萬活肝細胞/ml及75 μL培育體積。

【0391】 分別使用睪固酮(1 μM)及7-羥基香豆素(1 μM)作為階段I及階段II代謝反應對照物。

【0392】 在培育0、10、20、45、90、120及180分鐘之後，用含有

100 ng/mL雙氯芬酸作為分析型內標之225 μL MeCN:MeOH(2:1)終止反應。將樣品混合、離心且藉由LC-MS/MS分析上澄液。

【0393】 儀器反應(測試化合物與內標峰面積之比率)參考零時間點樣品(視為100%)以便確定剩餘化合物百分比。

【0394】 使用以下方程式將剩餘化合物百分比之曲線用於測定肝細胞培育中之內部清除率：

$$Cl_{Int} = \frac{Ln(2) * \text{培育體積}}{T^{1}/_{2} * \text{細胞數/培育}} * 1000$$

按比例調整之Cl_{int} [L/h/kg] = Cl_{int} [μL/min/10^6個細胞] * # (10^6) 個細胞/g肝臟 * 60 * ($1/10^6$)

按比例調整之Cl_{int} 未結合 [L/h/kg] = Cl_{int} [L/h/kg] / Fu,inc

其中：藉由以下方程式，fu,inc等於來源於微粒體結合之肝細胞結合(fu，mic)：

$$\text{fu, inc} = \frac{1}{1 + 10^{\frac{\log\left(\frac{1-fu,mic}{fu,mic}\right)-0.06}{1.52}}}$$

表VII.本發明之說明性化合物之肝細胞穩定性

Cpd#	小鼠肝細胞穩定性(在90分鐘剩餘之百分比)	人類肝細胞穩定性(在90分鐘剩餘之百分比)
1	99.45	96.6
2	94.1	100.45
3	10.17	22.8
5	76.25	94.5
7	108.25	ND
8	75.15	107
9	83.65	85.6
12	97.05	ND
13	87.8	98.45
16	51.75	75.95
17	93	87.25

Cpd#	小鼠肝細胞穩定性(在90分鐘剩餘之百分比)	人類肝細胞穩定性(在90分鐘剩餘之百分比)
18	93	90.8
20	80.9	81.65
21	49.45	92.15
22	ND	100.05
23	ND	101.45
24	ND	105
25	ND	97.2
26	ND	97.8

4.7. hERG通道測試

【0395】 此分析之目標為測定測試化合物對人類腎臟(HEK)細胞中所表現之hERG電流(I_{Kr})之活體外作用(評估測試物質對由在人類細胞株中穩定轉染之hERG通道介導的IKr類鉀電流之阻斷概況)。

【0396】 藉由冷攪拌將測試物質溶解於純二甲亞碸(DMSO)中，得到相比於待測試之最高濃度，濃縮333倍之儲備溶液。此儲備溶液用於製備DMSO中之其他儲備溶液。各儲備溶液用於製備含有最終濃度之溶液，最終濃度藉由在細胞外溶液(0.1、1、10及100 μM)中之稀釋來測試。DMSO之最終濃度不超過0.3%。

【0397】 所有調配物均在玻璃容器中製備。

【0398】 若略微乳白色在最高濃度下持續，則測試50 μM(而非100 μM)濃度。

【0399】 將在細胞外溶液中稀釋之DMSO(在最終測試物質溶液中所用之不同濃度下)用作媒劑。

【0400】 細胞外溶液按以下(mM)構成：K-葡糖酸鹽：4 mM/Na-葡糖酸鹽：145 mM/Mg-葡糖酸鹽：2 mM/Ca-葡糖酸鹽：3.5 mM/HEPES：5 mM/葡萄糖：5 mM/甘露醇：20 mM。用NaOH將pH調節至7.40±0.05。

【0401】 用hERG純系(Creacell)穩定轉染人類胚胎腎(HEK293)細胞且將其維持在5% CO_2/95%空氣培育箱中在37℃下。將用於研究之細胞轉移至大約2 mL之實驗腔室，該實驗腔室藉由熱電裝置(Harvard設備：TC-344B型)維持在35±0.5℃之溫度下且安裝在倒置顯微鏡(Olympus：IXl-51型或Leica DMI3000 B)之平台上。細胞連續地與如下構成之台氏(Tyrode's)溶液融合(mM)：NaCl:145/KCl:4/HEPES:5/葡萄糖:5/$CaCl_2$:1/$mgCl_2$:1。

【0402】 使用膜片鉗技術之整個細胞組態量測來自經hERG轉染之細胞的離子電流。藉由立式拉片(Sutter儀器：P30型)自硼矽酸鹽玻璃抽取玻璃吸液管。當填充內部溶液時，吸液管尖端電阻為約1.5至3.5 MΩ，其構成如下(mM)：K-葡糖酸鹽:145/Mg-葡糖酸鹽:1/EGTA:2/HEPES:5/K_2ATP:2。

【0403】 將吸液管連接至膜片鉗放大器(Axon儀器：Multiclamp 700B-1)之輸入級。使用特定Axon儀器軟體(pClamp 9.2.0.或pClamp 10.3.0.2)進行刺激、資料記錄及分析。

【0404】 在細胞膜破裂(進入全細胞模式)之後，使用以下方案每10秒刺激細胞：自-80 mV之保存電位的500 ms脈衝至+10 mV，隨後為500 ms脈衝至-40 mV，在此期間量測尾部電流。

【0405】 一旦電流在對照條件下穩定，在添加測試物質之前(對照)及之後進行記錄。持續監測測試物質對尾部電流之影響直至達到穩態。峰值尾部電流振幅經平均化以用於3個刺激。

【0406】 量測以下參數：

- 電池電容(pF)。

- 峰值尾部電流振幅(pA)。

【0407】 峰值尾部電流量測係使用電池電容作為電池表面之指數來標準化。

【0408】 若電池電容<80 pF、存取電阻<20 MΩ且保持電流>-200 pA，則將電池視為有效的。

【0409】 結果表示為絕對值且表示為相對於對照之變化百分比(尾部電流抑制之百分比)。

【0410】 在4個遞增濃度下在3個經hERG轉染之細胞上研究測試物質。

【0411】 若可能，則自各個別濃度反應曲線測定誘導50%尾部電流抑制(IC_{50})之測試物質的濃度。方程式具有以下形式：

$$y = Min + \frac{Max - Min}{1 + \left(\frac{X}{X50}\right)^{-P}}$$

4.8. CYP抑制

【0412】 此分析之目標為測定測試化合物之抑制電位。藥物間相互作用之主要問題為細胞色素P450抑制。使用針對人類細胞色素P450同功酶CYP1A2、2C9、2C19、2D6及3A4之特異性探針受質在人類肝臟微粒體中測定可逆CYP抑制。

【0413】 在甲醇中製備5 mM測試化合物儲備溶液。此儲備溶液進一步在甲醇中以1:3連續稀釋，且隨後添加至含有50 mM磷酸鉀緩衝液pH 7.4、人類肝臟微粒體(BD Gentest)及探針受質之混合物中。在37℃下預加熱5分鐘之後，藉由添加輔因子混合物(7.65 mg/mL葡萄糖-6-磷酸鹽、1.7 mg/mL NADP、6 U/mL葡萄糖-6-磷酸鹽去氫酶)開始反應，產生在0.137-100 μM(2% MeOH)範圍內之七種最終濃度之測試化合物。

【0414】 人類肝微粒體中CYP抑制之分析條件：

細胞色素P450同功異型物	微粒體(mg/mL)	探針受質	探針代謝物	培育(min)	陽性對照	陰性對照
1A2	0.1	非那西汀(Phenacetin)(35 μM)	乙醯胺酚	10	呋拉茶鹼(Furafylline)	磺胺苯吡唑(Sulphaphenazole)
2C9	0.1	雙氯芬酸(10 μM)	4'-OH-雙氯芬酸	5	磺胺苯吡唑	呋拉茶鹼
2C19	0.25	S-(+)-美芬妥英(Mephenytoin)(30 μM)	4'-OH-美芬妥英	15	噻氯匹定(Ticlopidine)	非那西汀
2D6	0.1	丁呋洛爾(Bufuralol)(10 μM)	OH-丁呋洛爾	10	奎尼丁(Quinidine)	磺胺苯吡唑
3A4	0.1	咪達唑侖(Midazolam)(3 μM)	1'-OH-咪達唑侖	5	酮康唑(Ketoconazole)	磺胺苯吡唑
3A4	0.25	睪固酮(Testosterone)(100 μM)	6β-OH-睪固酮	15	酮康唑	磺胺苯吡唑

【0415】 輔因子混合物組分之最終濃度如下：1.56 mg/ml葡萄糖-6-磷酸鹽、0.34 mg/ml NADP、1.2 U/mL葡萄糖酶-6-磷酸鹽去氫酶。

【0416】 在37℃下培育後，使用150 μL具有內標(對於2C9為華法林，對於所有其他測試同功異構物為雙氯芬酸)之MeCN:MeOH(2:1)溶液終止反應(50 μL之等分試樣)。將樣品離心且藉由LC-MS/MS分析上澄液溶離份。

【0417】 儀器反應(測試化合物與內標峰面積之比率)參考用於溶劑對照之彼等(視為100%)以便確定探針代謝之百分比減少。產生對照活性百分比相對於濃度曲線且使用GraphPad Prism軟體擬合以產生IC_{50}。

4.9. MDCKII-MDR1滲透率

【0418】 MDCKII-MDR1細胞為Madin-Darby犬腎臟上皮細胞，過

度表現人類多重耐藥性(MDR1)基因，編碼P-醣蛋白(P-gp)。細胞獲自Netherlands Cancer Institute且在24孔Millicell®細胞培養插入盤(Millipore, PSRP010R5)中培養3-4天後使用。如下所述進行雙向MDCKII-MDR1滲透率分析。

【0419】在存在及不存在依克立達(Elacridar)，特異性P-gp抑制劑之情況下測試跨膜輸送。此類實驗設置使得能夠測定被動滲透率(具有依克立達)及P-gp對測試化合物輸送之影響(不具有依克立達)。

【0420】將MDCKII-MDR1細胞(3×10^5個細胞/毫升；1.2×10^5個細胞/孔)接種在由DMEM+1% Ala-Gln+1%抗生素/抗黴菌+1%非必需胺基酸+10% FBS組成之平板培養基中之24孔Millicell細胞培養插入盤(Millipore，PSRP010R5)上。細胞置於CO_2培育箱中3-4天。在接種之後24小時更換培養基。在滲透率實驗當天，首先將在依克立達，特異性P-gp抑制劑存在下測試之細胞與含有1% DMSO及最終濃度為2 μM之依克立達的達爾伯克磷酸鹽緩衝鹽水(D-PBS，pH 7.4)一起預培育45分鐘。

【0421】在存在或不存在依克立達(最終濃度：2 μM)之情況下在達爾伯克磷酸鹽緩衝液生理食鹽水(D-PBS, pH 7.4; Sigma, D8662)中製備測試及參考化合物(安普那韋(amprenavir)及雙氯芬酸)，且以10 μM之最終濃度(安普那韋情形中0.5 μM)與1%之最終DMSO濃度添加至Millicell細胞培養盤總成之頂部(400 μL)或底外側(800 μL)腔室中。

【0422】參考化合物安普那韋具有較高被動滲透率但為Pgp之受質，且雙氯芬酸為高度可滲透的且不為Pgp之受質。

【0423】向所有供體緩衝溶液中添加100 μM螢光黃(Sigma, L0259)，以藉由監測螢光黃滲透來評估細胞單層之完整性。螢光黃為旁

細胞輸送路徑之螢光標記且用作內部對照，以驗證分析期間之每一細胞單層的緊密接合完整性。

【0424】 在37℃下同時在定軌振盪器以150 rpm震盪培育1小時後，自頂部及基底腔室獲取等分試樣且添加至在96孔盤中含有分析內標(10 ng/mL華法林)的3體積MeCN:H_2O溶液(2:1)中。亦在實驗開始時自供體溶液取得樣品以獲得初始(Co)濃度。

【0425】 藉由高效液體層析/質譜(LC-MS/MS)量測樣品中化合物之濃度。

【0426】 使用Thermo Scientific Fluoroskan Ascent FL (激發波長：485 nm，量測波長：530 nm)在含有150 μL來自所有接收孔(底外側或頂側)之液體之96孔盤中量測螢光黃。

4.10. 全血分析

4.10.1. 活體外人類IFN α及TNF α釋放抑制(人類全血分析)

【0427】 分析之目標為評估本發明化合物在活體外人類全血環境中之活化TLR/IRAK-4路徑上之活性。鐸樣受體(TLR)為識別多種微生物分子之圖案辨識受體，該等微生物分子稱為病原性相關分子模式(PAMP)。人類TLR7及TLR8識別咪唑并喹啉化合物(例如CL097-CAS n# 1026249-18-2)及單鏈RNA作為其自然配體。TLR之活化引起藉由TLR促效作用處理之細胞產生數種細胞介素(例如IFNα、TNFα、IL-8、IL-6)。細胞介素釋放在此分析中用作讀數且表示所測試化合物對TLR/IRAK-4路徑之抑製程度之量測。應注意，在完全生物體之情形下，存在不依賴於TLR/IRAK-4路徑之此等細胞介素之其他來源，諸如巨噬細胞(在Fcγ受體之活化時，(Yan等人, 2012))或T細胞(在T細胞受體之活化時(Brehm等人,

2005))。

4.10.1.1 實驗設計

【0428】 藉由靜脈穿刺自健康志願者收集血液至肝素鋰中，隨後輕輕地倒置數次以防止凝結且在擺動混合器震盪器上在37℃下培育至少15分鐘。隨後，將100 μL血液分配至聚丙烯96孔微板中且與0.3% DMSO或測試化合物以不同濃度(30至0.01 μM，3倍稀釋，最終得到0.3% DMSO)在37℃下一式兩份預培育15分鐘。在此預培育之後，在37℃下用CL097(自1 mg/mL水溶液中之2 μg/mL；InvivoGen，tlrl-c97)觸發血液持續3小時30分鐘。在4℃下以5000×g離心微管10分鐘且將約40 μL血漿收集至聚苯乙烯96孔盤中。可在觸發之後的30分鐘內新鮮分析血漿，或在-80℃下冷凍。最後，根據製造商之說明書使用針對TNFα及IFNα之AlphaLISA套組在血漿中進行TNFα及IFNα之定量且在Ensight上進行讀取(PerkinElmer)。

4.10.1.2. 資料分析

【0429】 藉由繪製關於y軸上之對數間平均吸光度相對於x軸上之濃度產生標準曲線，且經由該等點進行4-參數邏輯回歸(4PL)。對於各血液樣品，自擬合測定樣品之IFNα濃度。

隨後使用下式將資料表示為各重複實驗之抑制百分比(PIN)：

$$PIN_{樣品1} = \frac{(具有CL097之平均值IFN\alpha - IFN\alpha_{樣品1})*100}{(具有CL097之平均值IFN\alpha - 具有媒劑之平均值IFN\alpha)}$$

具有CL097之平均值IFNα=經CL097觸發之複製樣品之平均值IFNα濃度；$IFN\alpha_{樣品1}$=樣品1之IFNα濃度；具有媒劑之平均值IFNα=經媒劑處理之複製樣品之平均值IFNα濃度。

【0430】 對於各血液樣品，自擬合測定樣品之IFNα濃度。

隨後使用下式將資料表示為各重複實驗之抑制百分比(PIN)：

$PIN_{樣品1}$ = (具有CL097之平均值IFNα- $IFN\alpha_{樣品1}$)*100

(具有CL097之平均值IFNα-具有媒劑之平均值IFNα)

具有CL097之平均值IFNα=經CL097觸發之複製樣品之平均值IFNα濃度；$IFN\alpha_{樣品1}$=樣品1之IFNα濃度；具有媒劑之平均值IFNα=經媒劑處理之複製樣品之平均值IFNα濃度。

【0431】 使用平均值PIN±sem產生pIC_{50}測定之曲線擬合。使用Prism 5.03軟體(GraphPad)導出圖表及pIC_{50}計算。

4.10.1.3. 結果

半定量評分	**IC_{50}範圍**
****	0.1 -500 nM
***	>500-1000 nM
**	>1000 - 5000 nM
*	>5000 nM
ND	未測定

Cpd.	**CL097在人類全血IC_{50}中觸發IFNα釋放**	**CL097在人類全血IC_{50}中觸發TNFα 釋放**
1	****	****
2	***	****
3	**	**
4	**	****
5	**	**
6	***	****
7	**	**
9	**	***
12	**	**
15	*	*
17	**	***

Cpd.	CL097在人類全血IC_{50}中觸發IFNα釋放	CL097在人類全血IC_{50}中觸發TNFα 釋放
18	**	***
19	***	ND
20	**	ND
21	**	**
22	***	****
23	***	****
24	****	****
25	***	***
26	**	**

4.10.2. 活體外小鼠TNFα釋放抑制(小鼠全血分析)

【0432】 分析之目標為評估本發明化合物在活體外小鼠全血環境中之活化TLR/IRAK-4路徑上之活性。鐸樣受體(TLR)為識別多種微生物分子之圖案辨識受體，該等微生物分子稱為病原性相關分子模式(PAMP)。儘管人類TLR7及TLR8均識別咪唑并喹啉化合物(例如CL097)及單鏈RNA作為其天然配位體，但嚙齒動物TLR8需要額外因子，諸如寡聚脫氧核苷酸核苷酸(例如聚(dT))用於活化。

4.10.2.1. 實驗設計

【0433】 Balb/cJ雌性小鼠(7至8週齡)獲自Janvier Labs(France)。

【0434】 將藉由放血獲得之血液收集(約1隻小鼠，用於5個資料點)於肝素化鋰管中且隨後在擺動混合器震盪器上在37℃下培育至少15分鐘。將來自所有小鼠之血液混合至50 mL聚丙烯管中。隨後，將100 μL血液分配至2 mL微管中且與DMSO 0.3%或不同濃度之測試化合物(10至0.01 μM，在DMSO中製備3倍稀釋液)一起在37℃下預培育15分鐘。在此培育之後，在37℃下用CL097(2 μg/mL)及聚(dT)(0.2 μM)或媒劑(蒸餾水)觸發血液3.5小時。在4℃下以5000 g離心微管10分鐘且將約30 μL血漿收集至

聚苯乙烯96孔盘中。可新鮮分析或在-80℃下冷凍血漿。最後，用2.5 μL未稀釋血漿(一式兩份)且根據製造商之說明書使用小鼠TNF-α αLISA套組進行TNFα之定量。在Ensight(PerkinElmer)上進行讀數(光學密度=OD)。

4.10.2.2. 資料分析

【0435】 藉由繪製關於y軸上之對數間平均吸光度相對於x軸上之濃度產生標準曲線，且經由該等點進行4參數邏輯回歸。

【0436】 對於各血液樣品，自擬合測定樣品之TNFα濃度。

隨後使用下式將資料表示為各重複實驗之抑制百分比(PIN)：

$$PIN_{樣品1} = \frac{(具有CL097之平均值IFN\alpha - IFN\alpha_{樣品1})*100}{(具有CL097之平均值IFN\alpha - 具有媒劑之平均值IFN\alpha)}$$

具有CL097之平均值IFNα=經CL097/聚(dT)觸發之複製樣品之平均值IFNα濃度；$IFN\alpha_{樣品1}$=樣品1之IFNα濃度；具有媒劑之平均值IFNα=經媒劑處理之複製樣品之平均值IFNα濃度。

使用平均PIN±sem產生曲線擬合。

【0437】 用Prism 5.03軟體(GraphPad)執行圖表及IC_{50}計算。資料呈現為在24個獨立實驗下獲得之IC_{50}(nM)之平均值。

實例5.活體內分析

5.1. CIA模型

5.1.1. 材料

【0438】 完全弗氏佐劑(CFA)及不完全弗氏佐劑(IFA)購自Difco。牛II型膠原蛋白(CII)、脂多醣(LPS)及恩博(Enbrel)分別獲自Chondrex (Isle d'Abeau, France)；Sigma (P4252, L'Isle d'Abeau, France)、Whyett (25 mg可注射注射器，France) Acros Organics (Palo Alto, CA)。所用其

他全部試劑為試劑級且全部溶劑為分析級。

5.1.2. 動物

【0439】 DBA1/J小鼠(雄性，7-8週齡)獲自Charles River實驗室(France)。將小鼠保持於12小時光/暗循環(07h00-19h00)。溫度維持在22℃下，且任意提供食物及水。

5.1.3. 膠原蛋白誘發之關節炎(CIA)

【0440】 在實驗前一天，用0.05 M AcOH製備CII溶液(2 mg/mL)且在4℃下儲存。僅在免疫之前，在冰水浴中在預先冷卻之玻璃瓶中藉由均質機混合相同體積之佐劑(IFA)及CII。若未形成乳液，可能需要額外佐劑及延長均質化。在第1天，在各小鼠之尾根部皮內注射0.2 mL乳液，在第9天進行第二輔助劑皮內注射(含2 mg/mL CII溶液之CFA 0.1 mL生理食鹽水)。此免疫方法自公開方法(Jou等人, 2005；Sims等人, 2004)修改而來。

5.1.4. 研究設計

【0441】 在小鼠CIA模型中測試化合物之治療效果。將小鼠隨機分成相同組且每組含有10隻小鼠。所有小鼠在第1天經免疫且在第21天增強免疫。陰性對照組用媒劑(MC 0.5%)處理且陽性對照組用恩博(10 mg/kg，3×週，s.c.)處理。相關化合物通常在3個口服劑量下加以測試(p.o.)。在第32天，關於臨床評分進行各組之間的隨機分組，且考慮其組而在治療上對動物進行處理，直至第47天。一週兩次記錄體重及臨床評分。

5.1.5. 關節炎之臨床評估

【0442】 根據(Khachigian, 2006；Lin等人, 2007；Nishida等人,

2004)之方法對關節炎進行評分。四個腳爪中之每一者的腫脹用如下關節炎評分排列：0-無症狀；1-一種類型之關節(諸如踝或腕)的輕度、但確實發紅及腫脹，或明顯發紅及腫脹限於個別足趾，與患病足趾之數目無關；2-兩種或更多種類型之關節的中度發紅及腫脹；3-整個腳爪(包括足趾)之重度發紅及腫脹；4-涉及多個關節之最大限度地發炎肢體(每一動物最大累積臨床關節炎評分為16) (Nishida等人, 2004)。

5.1.5.1. 在關節炎發作後體重之變化(%)

【0443】臨床上，體重減輕與關節炎相關聯((Argilés及López-Soriano, 1998; Rall及Roubenoff, 2004；Shelton等人, 2005；Walsmith等人, 2004)。因此，在關節炎發作後之體重變化可用作非特異性端點以評估治療劑在大鼠模型中之作用。在關節炎發作後之體重變化(%)計算如下：

$$\text{小鼠：}\quad \frac{\text{體重}_{(\text{第6週})}\text{-體重}_{(\text{第5週})}}{\text{體重}_{(\text{第5週})}} \times 100\%$$

5.1.5.2. 放射學

【0444】獲取各個別動物後腳爪之X射線像片。將隨機盲法標識號分配於每一像片，且骨侵蝕之嚴重度由兩個獨立評分者使用如下放射學拉森評分系統(radiological Larsen's score system)加以分級：0-正常，具有完整骨輪廓及正常關節空間；1-輕微異常，其中任一或兩個外蹠骨展示輕微骨侵蝕；2-確定早期異常，其中任意三至五個外蹠骨展示骨侵蝕；3-中度破壞性異常，其中全部外蹠骨以及任一或兩個內蹠骨展示確定骨侵蝕；4-重度破壞性異常，其中全部蹠骨展示確定骨侵蝕且至少一個內蹠骨關節完全侵蝕，部分保留一些骨關節輪廓；5-毀形性異常，無骨輪廓。此評分系統為(Bush等人, 2002；Jou等人, 2005；Salvemini等人, 2001；Sims等人, 2004)之修改。

5.1.5.3. 結果

【0445】 對於各讀數，計算平均值及sem。在完整或處理組之間及在疾病媒劑組中之統計學上顯著之差異用Prism軟體，使用單向ANOVA(針對處理組)，隨後鄧尼特事後測試多重比較進行評估。*: $p < 0.05$、**: $p < 0.01$、 ***: $p < 0.001$相比於疾病媒劑組。

【0446】 當遵循以上方案在3、10及30 mg/kg b.i.d.下測試時，化合物1在臨床評分及骨骼消蝕Larsen評分兩者上顯示統計學上顯著之作用。

5.1.5.4. 穩態PK

【0447】 在第7天，使用肝素鋰作為抗凝劑在如下時間點收集在後眼眶竇處的血液樣品：給藥前、1小時、3小時及6小時。離心全血樣品，且將所得血漿樣品儲存在-20℃下以待分析。各測試化合物之血漿濃度係藉由LC-MS/MS方法加以測定，其中質譜儀以正電噴霧模式加以操作。

5.2. 藉由局部施用咪喹莫特(imiquimod)，一種TLR7/8促效劑誘發之牛皮癬樣表皮增生的鼠類模型.

5.2.1. 材料

【0448】 Aldara® 5%咪喹莫特(imiquimod)乳膏係自MEDA獲得。

【0449】 抗小鼠IL-12/IL-23 p40 FG純化抗體(C17.8)獲自Affymetrix eBioscience(目錄號16-7123-85)。

5.2.2. 動物

【0450】 Balb/cJ小鼠(雌性，18-20 g體重)獲自Janvier Labs(France)。將小鼠保持於12小時光/暗循環(07:00-19:00)。溫度維持在22±2℃下，任意提供食物及水。

5.2.3. 研究設計

【0451】 研究之設計係根據Van der Fits L.等人(van der Fits等人，2009)改寫。

【0452】 在第一天，在用異氟醚之輕度麻醉下對小鼠之兩個耳朵周圍刮毛。

【0453】 將30 mg市售咪喹莫特乳膏(Aldara® 5%乳膏)施用於每個耳朵之內表面及外表面上，持續4個連續日，以1.5 mg活性化合物之每日劑量變換。對照動物接受相同量之凡士林。

【0454】 第1天至第5天，用10或30 mg/kg測試化合物於甲基纖維素0.5%中一天兩次地經口對小鼠給藥，之後施用咪喹莫特(在第5天，僅對小鼠給藥一次，2 h之後安樂死)。

【0455】 在陽性參考組中，動物在第1天及第1天之3天前接受抗小鼠IL-12/IL-23 p40抗體，10 mg/kg之兩次腹膜內注射。

5.2.4. 疾病評估

【0456】 每日使用厚度量規(Mitutoyo，Absolute Digimatic，547-321)量測兩隻耳朵之厚度。在實驗開始及處死時評估體重。在第5天，最後給藥後2小時，處死小鼠。切割耳朵之耳殼，不包括軟骨。稱量耳殼且隨後浸入含有1 mL RNA*later*®溶液之小瓶中以評估基因表現或在福馬林(formalin)中用於組織學。

【0457】 每組存在14隻小鼠。結果表述為平均值±SEM，且使用單向ANOVA隨後鄧尼特氏事後測試對咪喹莫特媒劑組進行統計學分析。

5.2.5. 組織學

【0458】 在處死後，收集耳朵且固定於3.7%甲醛中，隨後包埋於石蠟中。切割2 μm厚的部分且用蘇木精及伊紅染色。藉由影像分析

(SisNcom軟體)量測耳表皮厚度，每隻耳朵以20×放大率擷取6個影像。資料表述為平均值±SEM，且使用單向ANOVA隨後鄧尼特氏事後測試對咪喹莫特媒劑組進行統計學分析。

5.2.6. 基因表現分析

【0459】 自RNA*later*®溶液取出耳朵並在用1.4 mm陶瓷珠粒於Precellys裝置中破碎之後置於Trizol®中。隨後使用NucleoSpin® RNA套組純化總RNA。製備cDNA，且使用SYBR Green技術於ViiA7 即時PCR系統(Applied Biosystems)中藉由來自Qiagen之基因特異性引子進行定量PCR。相對於親環蛋白A管家基因表現水準計算各基因(IL17A、IL1B、IL22、LCN2、S100A8及S100A9)之表現水準。資料表示為相對量之平均值±SEM($RQ=2^{-\Delta C}{}_T$，其中$\Delta C_T=C_T$ 樣品-C_T親環蛋白A)。使用之統計測試為對咪喹莫特媒劑組之ANOVA變異數分析與鄧尼特氏事後測試。

5.3. 藉由皮內注射IL-23誘發之牛皮癬樣表皮增生的鼠類模型.

5.3.1. 材料

【0460】 由e-Bioscience提供不含載體之小鼠重組IL-23 (14-8231, CF)。

5.3.2. 動物

【0461】 Balb/c小鼠(雌性，18-20 g體重)獲自CERJ (France)。將小鼠保持於12小時光/暗循環(07:00-19:00)。溫度維持在22℃下，任意提供食物及水。

5.3.3. 研究設計

【0462】 研究之設計係根據Rizzo HL.等人(Rizzo等人，2011)改寫。

【0463】 在第一天(D1)，將小鼠在兩個耳朵周圍刮毛。

【0464】 對於4個連續日(D1至D4)，小鼠在麻醉下在右耳廓接受每日皮內劑量之小鼠重組IL-23 (1 μg/20 μL於PBS中/0.1% BSA)且在左耳廓接受20 μL PBS/0.1% BSA。

【0465】 D1至D5，在注射IL-23前1小時，用測試化合物(10、30或100 mg/kg，經口，每日一次，於甲基纖維素0.5%中)或用媒劑對小鼠給藥。

5.3.4. 疾病評估

【0466】 每日使用自動測徑規量測兩隻耳朵之厚度。在開始及處死時評估體重。在第五天，在最後給藥後2小時，處死小鼠。切割耳朵之耳殼，不包括軟骨。稱量耳殼且隨後放入含有1 mL RNA*later*®溶液之小瓶中或甲醛中。

【0467】 在D4，同樣僅在給藥(T0)之前及給藥後1 h、3 h、6 h自後眼眶竇處收集血液樣品用於PK剖析。

【0468】 每組存在8隻小鼠。結果表述為平均值±SEM，且使用單向ANOVA隨後鄧尼特氏事後測試對IL-23媒劑組進行統計學分析。

5.3.5. 組織學

【0469】 在處死後，收集耳朵且固定於3.7%甲醛中，隨後包埋於石蠟中。進行2 μm厚的切片且用蘇木精及伊紅染色。藉由影像分析(Sis'Ncom軟體)量測耳表皮厚度，每隻耳朵以放大率×20擷取6個影像。資料表述為平均值±SEM，且使用單向ANOVA隨後鄧尼特氏事後測試對IL-23媒劑組進行統計學分析。

5.3.6. 基因表現分析

【0470】 自RNA*later*®溶液取出一半耳朵並在用1.4 mm陶瓷珠粒於Precellys裝置中破碎之後置於Trizol®中。隨後使用NucleoSpin® RNA套組純化總RNA。製備cDNA，且使用SYBR Green技術於ViiA7 即時PCR系統(Applied Biosystems)中藉由來自Qiagen之基因特異性引子進行定量PCR。相對於親環蛋白A管家基因表現水準計算各基因(IL17A、IL1B、IL22、LCN2、S100A8及S100A9)之表現水準。資料表示為相對量之平均值±SEM($RQ=2^{-\Delta C_T}$，其中$\Delta C_T=C_T$ 樣品-C_T 親環蛋白A)。使用之統計測試為對IL-23媒劑組之ANOVA變異數分析與鄧尼特氏事後測試。

5.4. PK/PD模型：由CL097，特定TLR7/8促效劑誘導之TNFα釋放

【0471】 此分析之目的為測定在投與本發明化合物時活體內IRAK-4依賴性事件之抑制與此化合物之循環濃度含量之間的關係。

5.4.1. 材料

【0472】 自InvivoGen獲得CL097(目錄號tlrl-c97)及聚(dT)(目錄號tlrl-pt17)。

【0473】 AlphaLISA®小鼠TNFα套組獲自Perkin-Elmer(目錄號AL505C)。

5.4.2. 動物

【0474】 *DBA/1J*小鼠(雄性，18-20 g體重)獲自Janvier Labs(France)。將小鼠保持於12小時光/暗循環(07:00-19:00)。溫度維持在22±2℃下，任意提供食物及水。

5.4.3. 研究設計

【0475】 小鼠接受經口劑量之測試化合物。將不接受任何給藥之一組完整動物用作t=0時間點。

【0476】 在給藥後30分鐘、1小時、3小時、8小時或24小時將藉由心內取樣(在異氟醚麻醉下)獲得之兩個血液樣品收集於肝素化鋰管中。一種用於藥物動力學(PK)分析且第二種用於藥力學(PD)標記定量。

5.4.4. 血漿中化合物含量之定量

【0477】 以5000 rpm離心全血樣品10分鐘，且將所得血漿樣品儲存在-20℃下以待分析。各測試化合物之血漿濃度係藉由LC-MS/MS方法測定。

5.4.5. 藥物動力學參數之測定

【0478】 使用WinNonlin® (Pharsight®, United States)計算藥物動力學參數。

5.4.6. PD標記之定量

【0479】 各血液樣品在37℃下用CL097及聚(dT)刺激2小時。隨後，收集血漿且根據製造商之說明書藉由AlphaLISA分析TNFα。

【0480】 每組存在6隻小鼠。結果表示為TNFα濃度(pg/mL)，或相對於t=0時間點之抑制百分比(PIN)。資料呈現為平均值±SEM，且使用單向ANOVA隨後鄧尼特氏事後測試對相對應時間點之媒劑組進行統計學分析。

5.5. 藉由局部施用MC903誘發之異位性皮炎之鼠類防治性模型

5.5.1. 材料

【0481】 自VWR(目錄號AX021233)獲得甲基纖維素0.5%。自Tocris Bioscience(目錄號2700/50)獲得MC903(鈣泊三醇)。自PerkinElmer(目錄號NEV10003)獲得ProSense®680。RNA*later*®係自Ambion(目錄號AM7021)獲得。自Centravet(目錄號IMA004-6827812及

ROM001-6835444)獲　得Imalgene®　1000　(Merial)及Rompun®　2% (Bayer)。

5.5.2. 動物

【0482】 BALB/cN小鼠(雌性，18-20 g體重)或CD1/Swiss小鼠(雌性，24-26 g體重)係自Janvier實驗室(France)獲得。將小鼠保持於12小時光/暗循環(07:00-19:00)。溫度維持在22±2℃下，任意提供食物及水。

5.5.3. 研究設計

【0483】 研究之設計係根據Li M.等人(Li等人，2006)改寫。

【0484】 在第一天(D1)，小鼠藉由腹膜內注射Imalgene及Rompun(7.5%/2.5%；0.1 mL/10 g)麻醉且在兩個耳朵周圍刮毛。

【0485】 截至D1，將20 μL EtOH或2 nmol MC903 (於20 μL EtOH中)局部施用於小鼠之每隻耳朵上持續五個連續日。

【0486】 自D1至D8，向小鼠給藥測試化合物(15或30 mg/kg，*p.o.*，*b.i.d.*於甲基纖維素0.5%中)或地塞米松(5 mg/kg，*p.o.*，*q.d.*於甲基纖維素0.5%中)或媒劑。

5.5.4. 血漿中化合物含量之定量

【0487】 各測試化合物之血漿濃度係藉由LC-MS/MS方法測定，其中質譜儀以正電或負電噴霧模式加以操作。

5.5.5. 藥物動力學參數之測定

【0488】 使用Phoenix® Winnonlin® (Pharsight®, United States)計算藥物動力學參數。

5.5.6. 疾病評估

【0489】 在研究開始、每隔一天及處死時使用厚度規格(Mitutoyo,

絕對飲食, 547-321)量測(在藉由異氟醚吸入誘發麻醉之後)兩隻耳朵之厚度。

【0490】 在研究開始、每隔一天及處死時評估體重。

【0491】 在D4，來自所有組之小鼠接受ProSense® 680探針(0.8 nmol/10 g，IP)。 在D5， 藉 由 腹 膜 內 注 射Imalgene及Rompun(7.5%/2.5%；0.1 mL/10 g)麻醉小鼠。使用活體內分子成像(Bruker In-Vivo Xtreme成像系統，激勵波長：630 nm，發射波長：700 nm，採集時間：5秒)來量測顆粒細胞浸潤。

【0492】 在D8，在最後一次給藥之後2小時，處死小鼠且在經EDTA塗佈之導管上收集全血，且冷凍血漿以供進一步量測(包括循環化合物)。亦在經肝素塗佈之試管中收集血液樣品。

【0493】 收集耳朵之耳殼且稱重。將一隻耳朵縱向切割成兩半。將一半固定於甲醛緩衝液中4%用於組織學；將另一半浸沒於RNA*later*®中以評估基因表現。

【0494】 每組存在8隻小鼠。結果表示為平均值±SEM，且相較於體重之EtOH媒劑組，使用單向ANOVA隨後鄧尼特事後測試對針對耳部厚度及體重之MC903媒劑組進行統計學分析。

5.5.6.1. 結果

【0495】 對於各讀數，計算平均值及sem。用Prism軟體，使用單向ANOVA(針對處理組)隨後鄧尼特多重比較事後測試評估在完整或處理組之間及在疾病媒劑組中之統計學上顯著之差異。*: $p < 0.05$、**: $p < 0.01$、***: $p < 0.001$相較於疾病媒劑組。

【0496】 遵循以上方案以10 mg/kg b.i.d.測試時，化合物1顯示在

D8、顆粒細胞及輔助T細胞浸潤時對耳朵變厚之統計顯著作用。

5.5.7. 組織學

【0497】 在處死後，收集一半耳朵且固定於3.7%甲醛中，隨後包埋於石蠟中。4 μm厚部分藉由免疫組織化學用特異性細胞標記抗體免疫染色：對於T細胞為CD3且對於嗜酸性細胞為EPX。藉由影像分析(CaloPix軟體，TRIBVN Healthcare)來量測每隻小鼠的整個切片的經免疫染色細胞面積。資料表述為平均值±SEM，且使用單向ANOVA隨後鄧尼特氏事後測試對MC903媒劑組進行統計學分析。

5.5.8. 基因表現分析

【0498】 自RNA*later*®溶液取出耳朵並在用1.4 mm陶瓷珠粒於Bertin Instruments Precellys®均質機中破碎之後置於Trizol®中。隨後使用酚/氯仿方案萃取總RNA，且使用RNeasy® 96 QIAcube® HT套組(Qiagen, 目錄號74171)藉由QIAcube純化。製備cDNA，且使用SYBR Green技術於ViiA 7即時PCR系統(Applied Biosystems)中藉由來自Qiagen之基因特異性引子進行定量PCR。相對於HPRT、GAPDH及β-肌動蛋白管家基因表現量計算各基因(IL4、IL5、IL13、TSLP、IL33、ST2、IL25、IL31、IFNγ、IL6、IL10、LCN2、S100A8及S100A9)之表現量。資料表示為相對量之平均值±SEM($RQ=2^{-\Delta C}T$，其中$\Delta C_T=C_T$樣品-平均值(C_T HPRT、C_T GAPDH、C_T β-肌動蛋白)。使用之統計測試為對EtOH/MC903媒劑組之ANOVA變異數分析與鄧尼特氏事後測試。

5.6. 藉由局部施用MC903誘發之異位性皮炎之鼠類治療性模型

5.6.1. 材料

【0499】 自VWR(目錄號AX021233)獲得甲基纖維素0.5%。自

Tocris Bioscience(目錄號2700/50)獲得MC903(鈣泊三醇)。自PerkinElmer(目錄號NEV10003)獲得ProSense® 680。自Ambion獲得(目錄號AM7021)獲得RNA*later*®。自Centravet(目錄號IMA004-6827812及ROM001-6835444)獲得Imalgene® 1000 (Merial)及Rompun® 2% (Bayer)。

5.6.2. 動物

【0500】 BALB/cN小鼠(雌性，18-20 g體重)或CD1/Swiss小鼠(雌性，24-26 g體重)係自Janvier實驗室(France)獲得。將小鼠保持於12小時光/暗循環(07:00-19:00)。溫度維持在22±2℃下，任意提供食物及水。

5.6.3. 研究設計

【0501】 研究之設計係根據Li M.等人(Li等人，2006)改寫。

【0502】 在第一天(D1)，小鼠藉由腹膜內注射Imalgene及Rompun(7.5%/2.5%；0.1 mL/10 g)麻醉且在兩個耳朵周圍刮毛。

【0503】 截至D1，將20 µL EtOH或2 nmol MC903 (於20 µL EtOH中)局部施用於小鼠之每隻耳朵上，直至D9、D11或D15 (除週末期間以外)。

【0504】 自D5，用測試化合物(15或30 mg/kg，*p.o.*，*b.i.d.*於甲基纖維素0.5%中)或地塞米松(5 mg/kg，*p.o.*，*q.d.*於甲基纖維素0.5%中)，或用媒劑對小鼠給藥，直至D10、D12或D16為止。

5.6.4. 血漿中化合物含量之定量

【0505】 各測試化合物之血漿濃度係藉由LC-MS/MS方法測定，其中質譜儀以正電或負電噴霧模式加以操作。

5.6.5. 藥物動力學參數之測定

【0506】 使用Phoenix® WinNonlin® (Pharsight®, United States)計算藥物動力學參數。

5.6.6. 疾病評估

【0507】 在研究開始時、一週三次及處死時使用厚度規格(Mitutoyo,絕對飲食, 547-321)，在施用MC903之前量測(在藉由異氟醚吸入誘發麻醉之後)兩隻耳朵之厚度。

【0508】 在研究開始、一週三次及處死時評估體重。

【0509】 在D8、D10或D11，來自所有組之小鼠接受ProSense® 680探針(0.8 nmol/10 g，IP)。在次日(D9、D11或D12)，藉由腹膜內注射Imalgene及Rompun(7.5%/2.5%；0.1 mL/10 g)麻醉小鼠。使用活體內分子成像(Bruker In-Vivo Xtreme成像系統，激勵波長：630 nm，發射波長：700 nm，採集時間：5秒)來量測顆粒細胞浸潤。

【0510】 在D10、D12或D16，在最後一次給藥之後2小時，處死小鼠且在經EDTA塗佈之導管上收集全血，且冷凍血漿以供進一步量測(包括循環化合物)。

【0511】 收集耳朵之耳殼。將一隻耳朵縱向切割成兩半。將一半固定於甲醛緩衝液中4%用於組織學；將另一半浸沒於RNA*later*®中以評估基因表現。

【0512】 每組存在8隻小鼠。結果表示為平均值±SEM，且相較於體重之EtOH媒劑組，使用單向ANOVA隨後鄧尼特事後測試對針對耳部厚度及體重之MC903媒劑組進行統計學分析。

5.6.7. 組織學

【0513】 在處死後，收集一半耳朵且固定於3.7%甲醛中，隨後包埋

於石蠟中。藉由免疫組織化學用抗CD3抗體對4 μm厚之切片進行免疫染色。藉由影像分析(CaloPix軟體，TRIBVN Healthcare)來量測每隻小鼠的整個切片的經免疫染色細胞面積。資料表述為平均值±SEM，且使用單向ANOVA隨後鄧尼特氏事後測試對MC903媒劑組進行統計學分析。

5.6.8. 基因表現分析

【0514】自RNA*later*®溶液取出耳朵並在用1.4 mm陶瓷珠粒於Bertin Instruments Precellys®均質機中破碎之後置於Trizol®中。隨後使用酚/氯仿方案萃取總RNA，且使用RNeasy® 96 QIAcube® HT套組(Qiagen, 目錄號74171)藉由QIAcube純化。製備cDNA，且使用SYBR Green技術於ViiA 7即時PCR系統(Applied Biosystems)中藉由來自Qiagen之基因特異性引子進行定量PCR。相對於HPRT、GAPDH及β-肌動蛋白管家基因表現量計算各基因(GOI=IL4、IL5、IL13、TSLP、IL33、ST2、IL25、IL31、IFNγ、IL6、IL10、LCN2、S100A8及S100A9)之表現量。

【0515】所有qPCR資料表示為標準化相對量之平均值±SEM(NRQ = 2^(ΔCq GOI)/幾何平均值(2^(ΔCq HPRT), 2^(ΔCq GAPDH), 2^(ΔCq β-肌動蛋白)) 其中ΔCq = Cq平均值- Cq 樣品。使用之統計測試為對EtOH/MC903媒劑組之ANOVA變異數分析與鄧尼特氏事後測試。

5.7. 藉由上表皮施用咪喹莫特誘發之全身性紅斑狼瘡之鼠類模型

5.7.1. 材料

【0516】 Aldara® 5%咪喹莫特乳膏係自MEDA獲得。

【0517】小鼠抗雙鏈DNA抗體ELISA套組係獲自Alpha Diagnostic International (目錄號5120)。小鼠尿白蛋白ELISA套組係獲自Abcam(目錄號ab108792)。尿液肌酐分析套組係獲自Abnova(目錄號KA4344)。

5.7.2. 動物

【0518】 BALB/cJ小鼠(雌性，18-20 g體重)獲自Janvier實驗室(France)。將小鼠保持於12小時光/暗循環(07:00-19:00)。溫度維持在22±2℃下，任意提供食物及水。

5.7.3. 研究設計

【0519】 研究之設計係根據Yokogawa M.等人(Yokogawa等人，2014)改寫。

【0520】 在第一天(D1)，將小鼠在右邊耳朵周圍刮毛。

【0521】 小鼠每週3次於右耳廓上接受上表皮施用1.25 mg咪喹莫特，持續12個連續週(D1至D86)。對照組接受相同量之凡士林。

【0522】 D1至D86，用測試化合物(30 mg/kg，p.o.，q.d.，於甲基纖維素0.5%中)或用媒劑(10 mL/kg)對小鼠給藥。

5.7.4. 疾病評估

【0523】 一週一次使用自動量規(Mitutoyo，Absolute Digimatic，547-321)量測耳朵之厚度。

【0524】 在開始時及一週一次評估體重直至處死為止。屍體解剖時，亦量測脾臟重量。在最後一次給藥之後2小時處死小鼠。

【0525】 在不同時間點(例如在第D28、D56及D84)，將小鼠個別地置於代謝籠中，以進行尿分析且評估蛋白尿(白蛋白與肌酐比)。

【0526】 在不同時間點(例如在D28、D56及D86)收集血清以評估抗雙鏈DNA IgG含量。

【0527】 在D13，同樣僅在給藥(T0)之前及給藥後1小時、3小時及6小時自後眼眶竇處收集血液樣品用於PK剖析。

【0528】 每組存在8-19隻小鼠。結果表述為平均值±SEM，且使用單向ANOVA隨後鄧尼特氏事後測試對咪喹莫特媒劑組進行統計學分析。

5.7.5. 血漿中化合物含量之定量

【0529】 各測試化合物之血漿濃度係藉由LC-MS/MS方法測定，其中質譜儀以正電或負電噴霧模式加以操作。

5.7.6. 藥物動力學參數之測定

【0530】 使用Phoenix® WinNonlin® (Pharsight®, United States)計算藥物動力學參數。

5.7.7. 組織學

【0531】 在處死之後，收集左側腎臟且縱向切成2個部分。一個部分固定於3.7%甲醛中，隨後包埋於石蠟中。製造4 m厚切片且用週期酸-Schiff(PAS)染色或用CD3(T細胞)、CD20(B細胞)及F4/80(巨噬細胞)免疫染色。

5.7.7.1. 病理組織學

【0532】 在各腎小球中，將包括系膜增生、毛細血管內增生、系膜基質擴增及節段性硬化之4種不同讀取結果按照0至2之等級分級，且隨後加總。對於各腎臟，對約50個腎小球進行評分，且隨後求平均，得到一個腎小球病變評分(Yokogawa等人2014)。. 資料表述為平均值±SEM，且使用單向克拉斯卡-瓦立斯測試(Kruskal-Wallis test)隨後鄧尼特氏事後測試對咪喹莫特媒劑組進行統計學分析。

5.7.7.2. 細胞定量

【0533】 對於各細胞類型，以×20之放大率使用影像分析(CaloPix軟體，TRIBVN Healthcare)對完整組織切片進行免疫組織化學分析。資

料表述為平均值±SEM，且使用單向ANOVA隨後鄧尼特氏事後測試對咪喹莫特媒劑組進行統計學分析。

5.7.7.3. 基因表現分析

【0534】 處死時，將左腎之第二部分置於含有1.4 mm陶瓷珠粒之試管中，且用Bertin Instruments Precellys®均質機於1% DTT RLT裂解緩衝液(Qiagen，目錄號79216)中破碎。隨後使用Rneasy® 96 QIAcube® HT套組(Qiagen，目錄號74171)藉由QIAcube純化總RNA。製備cDNA，且使用SYBR Green技術於ViiA 7即時PCR系統(Applied Biosystems)中藉由來自Qiagen之基因特異性引子進行定量PCR。相對於親環蛋白、GAPDH及β-肌動蛋白管家基因表現量計算各相關基因(GOI = CD3、CD68、CD20、OAS1、Mx1、IFIT1、CXCL11及Usp18)之表現量。

【0535】 處死時，將脾臟之三分之一置於含有1.4 mm陶瓷珠粒之試管中，且使用Bertin Instruments Precellys®均質機於Trizol®中破碎。使用酚/氯仿製程萃取總RNA，且隨後使用RNeasy® 96 QIAcube® HT套組(Qiagen, 目錄號74171)藉由QIAcube純化。製備cDNA，且使用SYBR Green技術於ViiA 7即時PCR系統(Applied Biosystems)中藉由來自Qiagen之基因特異性引子進行定量PCR。相對於親環蛋白、GAPDH及β-肌動蛋白管家基因表現量計算各相關基因(GOI =CD20、IRF7、OAS1、Mx1、IFIT1、CXCL11、Usp18、BCL6、CXCL13、CXCR^5、MAF、ICOSL、PDCD1、SH2D1a)之表現量。

【0536】 所有qPCR資料表示為標準化相對量之平均值±SEM (NRQ = 2^(ΔCq GOI)/ 幾何平均值(2^(ΔCq 親環蛋白), 2^(ΔCq GAPDH), 2^(ΔCq β-肌動蛋白)) 其中ΔCq= Cq平均值 - Cq 樣品。使用之統計測試為

對咪喹莫特媒劑組之ANOVA變異數分析與鄧尼特氏事後測試。

5.8. MRL/MpJ-Faslpr/Jmice中之全身性紅斑狼瘡(SLE)模型

【0537】 此研究之目的為評估本發明之測試化合物在全身性紅斑狼瘡(SLE)之治療中之活性。

5.8.1. 材料

【0538】 測試化合物在黑暗中儲存為乾物，且每週使用磁性攪拌在媒劑溶液(甲基纖維素5%水溶液)中調配為懸浮液。所得懸浮液保持在磁性攪拌下避光。

5.8.2. 動物

【0539】 MRL/MpJ小鼠(雌性，20週齡)及MRL/MpJ-Faslpr/J小鼠(雌性，8週齡)獲自Jackson實驗室(USA)。小鼠在第一次處理時為28週齡。

5.8.3. 研究設計

【0540】 在27週齡(研究第0天)，將罹患疾病之小鼠隨機分組並記錄各組動物體重。

【0541】 當動物為28週齡時，在隨機分組之後開始治療且繼續直至在39週齡處死動物為止。

【0542】 每天觀測動物之顯著臨床症狀、發病率及死亡率。

【0543】 基於重量、蛋白尿含量、在屍檢時之組織重量(腎臟、脾及淋巴結)、抗dsDNA Ab、Ig、細胞介素/趨化因子及基因表現量；以及病理組織學及免疫組織化學來評估本發明之測試化合物之活性。

【0544】 對以下組(15隻小鼠/組)進行研究：

組 (n=15)	處理	劑量水準 (mg/kg)	給藥途徑	方案	給藥體積 (mL/kg)[3]	劑量濃度 (mg/mL)
1	非患病媒劑對照	N/A	PO	BID*	5	N/A
2	患病媒劑對照	N/A	PO	BID*	5	N/A
3	DEX陽性對照	1	PO	QD*	10	0.1
4	測試化合物	10	PO	BID*	5	2.0

* BID給藥以大約10-12小時間隔進行-QD給藥以大約24小時間隔進行

基於動物之最新體重每天以mg/kg計算待投與之測試化合物劑量

5.8.4. 指標

【0545】 在第28週開始直至第39週一週一次，自新鮮尿液樣品，使用比色Albustix測試條帶(Siemens目錄號2872A)記錄所有動物之蛋白尿評分。

【0546】 自取樣在1至2分鐘內獲得使顏色與碼標度匹配之所得評分，得到以下指標：

【0547】 在Albustix測試條帶上捕獲尿液且藉由在1與2分鐘之後與瓶子上之彩色碼匹配來測定評分

0 = 無

1 = 1至30 mg/dL

2 = 31至99 mg/dL

3 = 100至299 mg/dL

4 = 300至1999 mg/dL

5 = > 2000 mg/dL

【0548】 對於第28週至第39週之所有動物，一週一次記錄體重。

【0549】 在第27週、第33週及第38週對所有動物採集血液以用於血

液ds DNAAb及Ig。

【0550】 在第29週在以下時間點收集血液用於經測試化合物處理之動物組中之PK分析；給藥前0小時、0.25小時、1小時及6小時。

【0551】 抗dsDNA Ab、Ig、細胞介素/趨化介素及基因表現量；以及在屍檢時之組織病理學及免疫組織化學分析組織重量(腎臟、脾及淋巴結)；抗dsDNA Ab(ELISA(Alpha Diagnostics目錄號5120)；Igs(Luminex BBP, EMD Millipore目錄號 Mouse MGAMMAG-300K)、細胞介素/趨化因子(ELISA)及基因表現量；以及病理組織學及免疫組織化學。

5.8.5. 統計分析

【0552】 基於個別動物原始資料，測定各組之平均值且計算疾病對照之百分比變化。處理組係使用用於所量測之(參數)資料的單因素方差分析(單向ANOVA)與鄧尼特事後或用於所評分之(非參數)資料的克拉斯卡-瓦立斯測試與鄧恩事後分析與疾病對照進行比較。

【0553】 資料報導為1)全部動物，其包括死亡中期之動物及2)僅存活至研究終止之動物(存活動物)。使用Prism 6.0d軟體(GraphPad)進行統計分析。

【0554】 所有測試之顯著性設定在$p<0.05$，且p值經捨入至小數點後三位。使用下式計算抑制百分比：

$$\text{百分比變化} = \frac{\text{平均值[經處理]-平均值 [疾病對照]}}{\text{0-平均值 [疾病對照]}} * 100$$

5.9. 藉由過度表現IL-23誘發之牛皮癬性關節炎的鼠類模型

5.9.1. 材料

【0555】 小鼠IL-23增強之游離型表現載體(EEV)係獲自System Biosciences(目錄號EEV651A-1)。林格氏溶液錠劑係獲自Sigma-

Aldrich(目錄號96724-100TAB)。小鼠IL-23 Quantikine ELISA套組係獲自R&D Systems(目錄號M2300)。ProSense® 680及OsteoSense® 750EX係獲自PerkinElmer(目錄號NEV10003及NEV10053EX)。RNA*later*®係獲自Ambion(目 錄 號AM7021)。Imalgene® 1000 (Merial)及Rompun® 2% (Bayer)係獲自Centravet(目錄號IMA004-6827812及ROM001-6835444)。

5.9.2. 動物

【0556】 B10.RIII小 鼠(雄 性 ，8週 齡)係 獲 自Charles River(France)。將小鼠保持於12小時光/暗循環(07:00-19:00)。將溫度維持在22±2℃下，任意提供食物及水。

5.9.3. 研究設計

【0557】 研究之設計係根據Sherlock JP.等人改寫。

【0558】 在第一天(D1)，小鼠經歷林格氏(Ringer)或林格氏中之IL-23 EEV流體動力注射至尾部靜脈(3 μg/2.1 mL，經4-6秒之時段IV注射)。

【0559】 截至D5，一週兩次對小鼠之臨床症狀評分直至實驗結束為止。

【0560】 在D5，藉由在頷下靜脈中穿刺收集血液以評估血清IL-23濃度。

【0561】 在D9，來自所有組之小鼠接受ProSense® 680探針(0.8 nmol/10 g，IP)。 在D10， 藉 由 腹 膜 內 注 射Imalgene及Rompun(7.5%/2.5%；0.1 mL/10 g)麻醉小鼠。使用活體內分子成像(Bruker In-Vivo Xtreme成像系統，激勵波長：630 nm，發射波長：700 nm，採集時間：5秒)來量測顆粒細胞浸潤。

【0562】 在D11，根據ProSense® 680分子成像及評分進行隨機分

組。

【0563】 截至D12，用測試化合物(30 mg/kg，*p.o.*，*b.i.d.*，於甲基纖維素0.5%中)或用媒劑對小鼠給藥。

【0564】 在D19，在最後給藥之後的時間T0、T1h、T3h及T6h對血液進行取樣。將血漿分離並且保持在20℃下直至生物分析為止。

【0565】 在D36，在最後投與化合物之後2小時，處死所有組中之小鼠。收集以下：

【0566】 立即在Precellys管中速凍左後肢之跟部周圍肌腱韌帶附著點(無皮膚)。在含有RNA*later*®之試管中收集手指。將右後肢立即固定於甲醛緩衝劑4%中以用於組織學評估。在固定之後48小時執行X射線量測。

【0567】 在含有RNA*later*®之管中收集一隻耳朵用於轉錄分析。

【0568】 將全血收集於血清試管中並藉由輕微倒轉8-10次進行混合。凝結之後，血液樣品在1800×g下離心10分鐘。離心之後，將血清儲存在-80℃下。

【0569】 立即在Precellys管中快速冷凍結腸之一部分(1 cm末端結腸)用於轉錄分析。另一部分(1 cm末端結腸)立即固定於甲醛緩衝劑4%中用於進一步組織學分析。

5.9.4. 疾病評估

【0570】 在研究開始、隨後一週兩次及處死時評估體重。

【0571】 每週兩次，對發炎之臨床症狀評分：正常腳爪為0；一個足趾腫脹為1；兩個或兩個以上足趾腫脹為2；整個腳爪腫脹為3。總計所有肢體之評分以產生總評分。

【0572】 在D23，來自所有組之小鼠接受ProSense® 680探針(0.8 nmol/10 g，IP)。 在D24， 藉 由 腹 膜 內 注 射Imalgene及Rompun(7.5%/2.5%；0.1 mL/10 g)麻醉小鼠。使用活體內分子成像(Bruker In-Vivo Xtreme成像系統，激勵波長：630 nm，發射波長：700 nm，採集時間：5秒)來量測顆粒細胞浸潤。

【0573】 在D32，來自所有組之小鼠接受ProSense® 680探針(0.8 nmol/10 g，IP)及OsteoSense® 750EX探針(0.8 nmol/10g ,IP)。在D33，藉由腹膜內注射Imalgene及Rompun(7.5%/2.5%；0.1 mL/10 g)麻醉小鼠。使用活體內分子成像(Bruker In-Vivo Xtreme成像系統；激發波長：630 nm，發射波長：700 nm，獲取時間：ProSense® 680探針5秒；激發波長：720 nm，發射波長：790 nm，獲取時間：OsteoSense® 750EX探針5秒)來量測顆粒細胞浸潤及骨骼重塑。

【0574】 每組存在10隻小鼠。結果表述為平均值±SEM，且使用單向ANOVA隨後鄧尼特氏事後測試對患病媒劑組進行統計學分析，以供針對體重對假媒劑組進行評分及成像分析。

5.10. 鼠類硬皮病樣慢性移植物抗宿主病(cGvHD)

5.10.1. 一般概述

【0575】 在此cGvHD模型中，藉由自B10.D2(H-2d)供體小鼠同種異體移植骨髓細胞及脾細胞而在BALB/c(H-2d)小鼠中誘導纖維化(次要HLA失配)。接受者小鼠罹患類似於患有快速進行性彌漫性皮膚全身性硬化症之患者的發炎驅動之真皮及肺纖維化。(Zerr等人, 2012)

【0576】 僅在硬皮病樣cGvHD之第一臨床症狀發作之後提供治療。

5.10.2. 研究組

【0577】 在此研究中使用每組具有八隻小鼠之以下組

- *同基因型移植，安慰劑處理之對照組：*

同基因型骨髓及脾細胞移植(BALB/c (H-2^{d})→BALB/c (H-2^{d}))。自移植後第21天至第56天施加0.5%溶劑甲基纖維素。

- *媒劑處理之纖維化組：*

同種異體骨髓及脾細胞移植(B10.D2 (H-2d)→BALB/c (H-2d))。自移植後第21天至第56天施加0.5%溶劑甲基纖維素

- *評估由同種異體移植誘發之纖維化之預處理水準之對照組：*

同種異體骨髓及脾細胞移植(B10.D2 (H-2^{d})→BALB/c (H-2^{d}))。在其他組中開始處理之前，在第21天處死。

- *處理組：*

同種異體骨髓及脾細胞移植(B10.D2 (H-2^{d})→BALB/c (H-2^{d}))。在移植後第21天至第56天，以10 mg/kg po bid在0.5%甲基纖維素中施加本發明之測試化合物。

- *陽性對照組：*

同種異體骨髓及脾細胞移植(B10.D2 (H-2^{d})→BALB/c (H-2^{d}))。自移植後第21天至第56天，施加50 mg/kg qd尼達尼布(Nintedanib)。

5.10.3. 穩態PK：

【0578】 在D20，對於接受測試化合物之組，在以下時間點、給藥前、用抗凝血劑Li-肝素1小時、3小時及6小時時，自2個動物之尾部靜脈根據時間點收集血液。

【0579】 將血液樣品保持在冰上且在血液取樣之後1小時內，在+4℃下以約3500×g離心持續10分鐘；在儲存在-20℃下之標記聚丙烯管中轉

移血漿。

5.10.4. 取樣及分析

【0580】 在最後一次給藥後2小時(Tmax+1 h)處死動物，且收集用於皮膚(3 mm穿孔活檢體)、肺、脾及血液之樣品以用於組織學及基因表現分析。

5.10.5. 主要讀數

【0581】 藉由測定皮膚厚度、病變膠原蛋白之定量及針對肌纖維母細胞之染色來分析對皮膚之抗纖維化影響。

在對皮膚纖維化之積極影響之情況下，藉由Ashcroft評分、藉由羥脯胺酸含量及藉由使用SirCol染色定量膠原蛋白覆蓋區域來分析對肺纖維化之影響。

【0582】

5.10.5.1. 結果

【0583】 基於個別動物原始資料，測定各組之平均值且計算疾病對照之百分比變化。處理組係使用用於所量測之(參數)資料的單因素方差分析(單向ANOVA)與鄧尼特事後或用於所評分之(非參數)資料的克拉斯卡-瓦立斯測試與鄧恩事後分析與疾病對照進行比較。

【0584】 當遵循以上方案以10 mg/kg b.i.d.測試時，化合物1展示對皮膚(羥脯胺酸)及肺纖維化(Ashcroft, SirCol)之統計顯著作用。

5.11. MIA大鼠疼痛模型

5.11.1. 分析原理

【0585】 單碘乙酸鹽(MIA)模型已變為由Van der Kraan(Van der Kraan等人, 1989)建立用於模型化大鼠中OA之關節斷裂的標準模型。

【0586】 MIA在嚙齒動物中之關節內注射再現類OA類病變及可經

分析及定量之功能損傷。MIA為甘油醛-3-磷酸酶之抑制劑，中斷細胞糖酵解且最終導致細胞死亡(Van der Kraan等人, 1989)。

【0587】 將由Pitcher等人(Pitcher等人2016)描述之MIA疼痛小鼠模型用以藉由關節內注射MIA引起軟骨細胞死亡來評估測試化合物對觸覺異常疼痛之影響，從而使得軟骨退化及後續軟骨下骨更改，諸如骨贅之外觀(Janusz等人2001)。

【0588】 MIA為最常使用的，特定言之用以測試藥理學藥劑治療疼痛之療效，因為此模型產生可藉由改變MIA劑量分級之可再現、穩定且快速的可塗佈類表型。

5.11.2. 動物

【0589】 雄性史泊格多利(Sprague Dawley)(250-300 g)圈養在22±1℃下且在光控環境(開燈自7 am至8 pm)中，同時隨意獲取食物及水。

5.11.3. 方案

【0590】 發炎性疼痛超敏反應藉由將25 µl 80 mg/ml碘乙酸單鈉(MIA)注射至左膝關節中來誘發。在MIA後3天內動物產生發炎反應。

【0591】 以每天兩次為基礎，自第3天(D3)開始，向處理組投與測試化合物，且繼續直至D28之終止點天數為止。

【0592】 在第3天，獲取負重量測且將動物分級且隨機分入處理組。

【0593】 在測試天數時，在給藥之前評估給藥前異常疼痛，且在給藥2小時之後評估所投與化合物之影響。

【0594】 根據處理組每天向處理組投與測試化合物(一些在MIA後給藥3-7天，且一些在MIA後給藥24-28天)，且在給藥後2小時進行負重量

測。

【0595】 陰性對照組(n=6)為每日經口給與媒劑(甲基纖維素，MC 0.5%)，陽性對照組(n=10)為每日經口給與塞內昔布(Celecoxib)(50 mg/kg)，且測試化合物組(n=10)為在MIA後每日經口給與0.5% MC/Solutol在第3-第7天(發炎性階段)。

【0596】 陰性對照組(n=6)為每日經口給與媒劑(甲基纖維素，MC 0.5%)，陽性對照組(n=10)為每日經口給與普瑞巴林(Pregabalin)(30 mg/kg)，且測試化合物組(n=10)為在MIA後每日經口給與0.5% MC/Solutol在第24-第28天(神經病性階段)。

5.11.4. 穩態PK：

【0597】 在最後處理後之處死時間，對於所有組在以下時間點：T0(給藥前，n=2)、T0.25 h(n=3)、T2h(n=3)及T6h(n=2)，對經處理之2組進行穩態PK血液取樣。

【0598】 在冰上之Li-肝素試管中取樣血液，且隨後在+4℃下離心且在-20℃下冷凍所得血漿以待生物分析。

5.11.5. 觸覺異常疼痛-負重缺乏測試

【0599】 使用負重缺乏測試方法評估動物之先天性(稱為基線)觸覺異常疼痛水準。為了避免測試結果中之假敏感化，在所有基線測試之前對小鼠進行足夠適應時間段及兩個處理程序。另外，基線負重缺乏發生在手術之前最長2天時。

【0600】 在各測試中，針對各小鼠測試損傷之後爪同側(左)。

5.11.1. 資料分析

【0601】 對於各讀數，計算平均值及sem。在完整或處理組之間及

MIA媒劑組中之統計顯著差異用Prism軟體，使用雙向方差分析(針對處理組)，隨後鄧尼特多重比較事後測試來評估。*: $p < 0.05$、**: $p < 0.01$、***: $p < 0.001$相較於MIA媒劑組。

5.11.2. 結果

【0602】 對於負重，在給藥後第5-7天，每天經口5 mg/kg之化合物1顯著逆轉發炎性反應。

【0603】 對於負重，在給藥後第3-7天，每天經口30 mg/kg之化合物1亦顯著逆轉發炎性反應。

【0604】 對於負重，在給藥後第26-28天，每天經口5 mg/kg及每天30 mg/kg之化合物1顯著逆轉發炎性反應。

最終批註

【0605】 熟習此項技術者將瞭解，上文之描述本質上為例示性及說明性的，且意欲說明本發明及其較佳實施例。藉由常規實驗，技術人員將瞭解可作出明顯修改及變化而不背離本發明之精神。在隨附申請專利範圍之範疇內的所有此類修改意欲包括於其中。因此，本發明意欲並非由上述描述，而是由以下申請專利範圍及其等效物定義。

【0606】 本說明書中所引用之所有公開案(包括但不限於專利及專利申請案)均以引用的方式併入本文中，如同各個別公開案特定地且個別地指出就像充分闡述一般以引用的方式併入本文中。

【0607】 應理解，諸如不同化合物之分化細胞滲透能力之因素可造成活體外生物化學分析及細胞分析中化合物活性之間的差異。

【0608】 本申請案中給出及闡述之本發明化合物的至少一些化學名稱可能已藉由使用市售化學命名軟體程式自動產生，且尚未獨立驗證。執

行此功能之代表性程式包括由Open Eye Software, Inc.出售之Lexichem命名工具及由MDL, Inc.出售之Autonom Software工具。在指定化學名稱與描繪結構相異之情形中，應以描繪結構為主。

參考文獻

Argilés, J.M., and López-Soriano, F.J. (1998). Catabolic proinflammatory cytokines. Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care *1*, 245-251.

Bain, J., McLauchlan, H., Elliott, M., and Cohen, P. (2003). The specificities of protein kinase inhibitors: an update. Biochem. J. *371*, 199-204.

Brehm, M.A., Daniels, K.A., and Welsh, R.M. (2005). Rapid Production of TNF-α following TCR Engagement of Naive CD8 T Cells. J. Immunol. *175*, 5043-5049.

Broekman, F., Giovannetti, E., and Peters, G.J. (2011). Tyrosine kinase inhibitors: Multi-targeted or single-targeted? World J. Clin. Oncol. *2*, 80-93.

Bundgaard, H. (1985). Design of prodrugs (Elsevier).

Bush, K.A., Farmer, K.M., Walker, J.S., and Kirkham, B.W. (2002). Reduction of joint inflammation and bone erosion in rat adjuvant arthritis by treatment with interleukin-17 receptor IgG1 Fc fusion protein. Arthritis Rheum. *46*, 802-805.

Carmi, Y., Dotan, S., Rider, P., Kaplanov, I., White, M.R., Baron, R., Abutbul, S., Huszar, M., Dinarello, C.A., Apte, R.N., et al. (2013).

The Role of IL-1β in the Early Tumor Cell-Induced Angiogenic Response. J. Immunol. *190*, 3500-3509.

Chiang, E.Y., Yu, X., and Grogan, J.L. (2011). Immune Complex-Mediated Cell Activation from Systemic Lupus Erythematosus and Rheumatoid Arthritis Patients Elaborate Different Requirements for IRAK1/4 Kinase Activity across Human Cell Types. J. Immunol. *186*, 1279-1288.

Cohen, P. (2009). Targeting protein kinases for the development of anti-inflammatory drugs. Curr. Opin. Cell Biol. *21*, 317-324.

Davidson, D.J., Currie, A.J., Bowdish, D.M.E., Brown, K.L., Rosenberger, C.M., Ma, R.C., Bylund, J., Campsall, P.A., Puel, A., Picard, C., et al. (2006). IRAK-4 mutation (Q293X): rapid detection, and characterisation of defective post-transcriptional TLR/IL-1R responses in human myeloid and non-myeloid cells. J. Immunol. Baltim. Md 1950 *177*, 8202-8211.

Dinarello, C.A., Simon, A., and van der Meer, J.W.M. (2012). Treating inflammation by blocking interleukin-1 in a broad spectrum of diseases. Nat. Rev. Drug Discov. *11*, 633-652.

Dy, G.K., and Adjei, A.A. (2013). Understanding, recognizing, and managing toxicities of targeted anticancer therapies. CA. Cancer J. Clin. *63*, 249-279.

Fabian, M.A., Biggs, W.H., Treiber, D.K., Atteridge, C.E., Azimioara, M.D., Benedetti, M.G., Carter, T.A., Ciceri, P., Edeen, P.T.,

Floyd, M., et al. (2005). A small molecule-kinase interaction map for clinical kinase inhibitors. Nat. Biotechnol. *23*, 329-336.

van der Fits, L., Mourits, S., Voerman, J.S.A., Kant, M., Boon, L., Laman, J.D., Cornelissen, F., Mus, A.-M., Florencia, E., Prens, E.P., et al. (2009). Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Skin Inflammation in Mice Is Mediated via the IL-23/IL-17 Axis. J. Immunol. *182*, 5836-5845.

Force, T., and Kolaja, K.L. (2011). Cardiotoxicity of kinase inhibitors: the prediction and translation of preclinical models to clinical outcomes. Nat. Rev. Drug Discov. *10*, 111-126.

Genovese, M.C., Cohen, S., Moreland, L., Lium, D., Robbins, S., Newmark, R., Bekker, P., and for the 20000223 Study Group (2004). Combination therapy with etanercept and anakinra in the treatment of patients with rheumatoid arthritis who have been treated unsuccessfully with methotrexate. Arthritis Rheum. *50*, 1412-1419.

Jain, A., Kaczanowska, S., and Davila, E. (2014). IL-1 Receptor-Associated Kinase Signaling and Its Role in Inflammation, Cancer Progression, and Therapy Resistance. Front. Immunol. *5*.

Jou, I.-M., Shiau, A.-L., Chen, S.-Y., Wang, C.-R., Shieh, D.-B., Tsai, C.-S., and Wu, C.-L. (2005). Thrombospondin 1 as an effective gene therapeutic strategy in collagen-induced arthritis. Arthritis Rheum. *52*, 339-344.

Khachigian, L.M. (2006). Collagen antibody-induced arthritis. Nat. Protoc. *1*, 2512-2516.

Klein, S. (2010). The Use of Biorelevant Dissolution Media to Forecast the In Vivo Performance of a Drug. AAPS J. *12*, 397-406.

Koziczak-Holbro, M., Littlewood-Evans, A., Pöllinger, B., Kovarik, J., Dawson, J., Zenke, G., Burkhart, C., Müller, M., and Gram, H. (2009). The critical role of kinase activity of interleukin-1 receptor-associated kinase 4 in animal models of joint inflammation. Arthritis Rheum. *60*, 1661-1671.

Kroeger, K.M., Sullivan, B.M., and Locksley, R.M. (2009). IL-18 and IL-33 elicit Th2 cytokines from basophils via a MyD88- and p38α-dependent pathway. J. Leukoc. Biol. *86*, 769-778.

Li, D., Guabiraba, R., Besnard, A.-G., Komai-Koma, M., Jabir, M.S., Zhang, L., Graham, G.J., Kurowska-Stolarska, M., Liew, F.Y., McSharry, C., et al. (2014). IL-33 promotes ST2-dependent lung fibrosis by the induction of alternatively activated macrophages and innate lymphoid cells in mice. J. Allergy Clin. Immunol. *134*, 1422-1432.e11.

Li, M., Hener, P., Zhang, Z., Kato, S., Metzger, D., and Chambon, P. (2006). Topical vitamin D3 and low-calcemic analogs induce thymic stromal lymphopoietin in mouse keratinocytes and trigger an atopic dermatitis. Proc. Natl. Acad. Sci. *103*, 11736-11741.

Li, S., Strelow, A., Fontana, E.J., and Wesche, H. (2002). IRAK-4: A novel member of the IRAK family with the properties of an IRAK-kinase. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *99*, 5567-5572.

Li, Z., Younger, K., Gartenhaus, R., Joseph, A.M., Hu, F., Baer,

M.R., Brown, P., and Davila, E. (2015). Inhibition of IRAK1/4 sensitizes T cell acute lymphoblastic leukemia to chemotherapies. J. Clin. Invest. *125*, 1081-1097.

Lin, H.-S., Hu, C.-Y., Chan, H.-Y., Liew, Y.-Y., Huang, H.-P., Lepescheux, L., Bastianelli, E., Baron, R., Rawadi, G., and Clément-Lacroix, P. (2007). Anti-rheumatic activities of histone deacetylase (HDAC) inhibitors in vivo in collagen-induced arthritis in rodents. Br. J. Pharmacol. *150*, 862-872.

McHedlidze, T., Waldner, M., Zopf, S., Walker, J., Rankin, A.L., Schuchmann, M., Voehringer, D., McKenzie, A.N.J., Neurath, M.F., Pflanz, S., et al. (2013). Interleukin-33-dependent innate lymphoid cells mediate hepatic fibrosis. Immunity *39*, 357-371.

Nabe, T. (2014). Interleukin (IL)-33: New Therapeutic Target for Atopic Diseases. J. Pharmacol. Sci. *126*, 85-91.

Ngo, V.N., Young, R.M., Schmitz, R., Jhavar, S., Xiao, W., Lim, K.-H., Kohlhammer, H., Xu, W., Yang, Y., Zhao, H., et al. (2011). Oncogenically active MYD88 mutations in human lymphoma. Nature *470*, 115-119.

Nishida, K., Komiyama, T., Miyazawa, S., Shen, Z.-N., Furumatsu, T., Doi, H., Yoshida, A., Yamana, J., Yamamura, M., Ninomiya, Y., et al. (2004). Histone deacetylase inhibitor suppression of autoantibody-mediated arthritis in mice via regulation of p16INK4a and p21WAF1/Cip1 expression. Arthritis Rheum. *50*, 3365-3376.

Rall, L.C., and Roubenoff, R. (2004). Rheumatoid cachexia: metabolic abnormalities, mechanisms and interventions. Rheumatology *43*, 1219-1223.

Rankin, A.L., Mumm, J.B., Murphy, E., Turner, S., Yu, N., McClanahan, T.K., Bourne, P.A., Pierce, R.H., Kastelein, R., and Pflanz, S. (2010). IL-33 Induces IL-13-Dependent Cutaneous Fibrosis. J. Immunol. *184*, 1526-1535.

Rhyasen, G.W., and Starczynowski, D.T. (2015). IRAK signalling in cancer. Br. J. Cancer *112*, 232-237.

Ringwood, L., and Li, L. (2008). The involvement of the interleukin-1 Receptor-Associated Kinases (IRAKs) in cellular signaling networks controlling inflammation. Cytokine *42*, 1-7.

Rizzo, H.L., Kagami, S., Phillips, K.G., Kurtz, S.E., Jacques, S.L., and Blauvelt, A. (2011). IL-23-Mediated Psoriasis-Like Epidermal Hyperplasia Is Dependent on IL-17A. J. Immunol. *186*, 1495-1502.

Salimi, M., Barlow, J.L., Saunders, S.P., Xue, L., Gutowska-Owsiak, D., Wang, X., Huang, L.-C., Johnson, D., Scanlon, S.T., McKenzie, A.N.J., et al. (2013). A role for IL-25 and IL-33-driven type-2 innate lymphoid cells in atopic dermatitis. J. Exp. Med. *210*, 2939-2950.

Salvemini, D., Mazzon, E., Dugo, L., Serraino, I., De Sarro, A., Caputi, A.P., and Cuzzocrea, S. (2001). Amelioration of joint disease in a rat model of collagen-induced arthritis by M40403, a superoxide

dismutase mimetic. Arthritis Rheum. *44*, 2909-2921.

Shelton, D.L., Zeller, J., Ho, W.-H., Pons, J., and Rosenthal, A. (2005). Nerve growth factor mediates hyperalgesia and cachexia in auto-immune arthritis. Pain *116*, 8-16.

Sherlock, J.P., Joyce-Shaikh, B., Turner, S.P., Chao, C.-C., Sathe, M., Grein, J., Gorman, D.M., Bowman, E.P., McClanahan, T.K., Yearley, J.H., et al. (2012). IL-23 induces spondyloarthropathy by acting on ROR-γt+ CD3+CD4-CD8- entheseal resident T cells. Nat. Med. *18*, 1069-1076.

Sims, N.A., Green, J.R., Glatt, M., Schlict, S., Martin, T.J., Gillespie, M.T., and Romas, E. (2004). Targeting osteoclasts with zoledronic acid prevents bone destruction in collagen-induced arthritis. Arthritis Rheum. *50*, 2338-2346.

Staschke, K.A., Dong, S., Saha, J., Zhao, J., Brooks, N.A., Hepburn, D.L., Xia, J., Gulen, M.F., Kang, Z., Altuntas, C.Z., et al. (2009). IRAK4 Kinase Activity Is Required for Th17 Differentiation and Th17-Mediated Disease. J. Immunol. *183*, 568-577.

Sundberg, T.B., Xavier, R.J., Schreiber, S.L., and Shamji, A.F. (2014). Small-molecule control of cytokine function: new opportunities for treating immune disorders. Curr. Opin. Chem. Biol. *23*, 23-30.

Treon, S.P., Xu, L., Yang, G., Zhou, Y., Liu, X., Cao, Y., Sheehy, P., Manning, R.J., Patterson, C.J., Tripsas, C., et al. (2012). MYD88 L265P Somatic Mutation in Waldenström's Macroglobulinemia. N. Engl. J.

Med. *367*, 826-833.

Vidal-Vanaclocha, F., Fantuzzi, G., Mendoza, L., Fuentes, A.M., Anasagasti, M.J., Martín, J., Carrascal, T., Walsh, P., Reznikov, L.L., Kim, S.-H., et al. (2000). IL-18 regulates IL-1β-dependent hepatic melanoma metastasis via vascular cell adhesion molecule-1. Proc. Natl. Acad. Sci. *97*, 734-739.

Walsmith, J., Abad, L., Kehayias, J., and Roubenoff, R. (2004). Tumor necrosis factor-alpha production is associated with less body cell mass in women with rheumatoid arthritis. J. Rheumatol. *31*, 23-29.

Wang, Z., Wesche, H., Stevens, T., Walker, N., and Yeh, W.-C. (2009). IRAK-4 Inhibitors for Inflammation. Curr. Top. Med. Chem. *9*, 724-737.

Yan, C., Zhu, M., Staiger, J., Johnson, P.F., and Gao, H. (2012). C5a-regulated CCAAT/Enhancer-binding Proteins β and δ Are Essential in Fcγ Receptor-mediated Inflammatory Cytokine and Chemokine Production in Macrophages. J. Biol. Chem. *287*, 3217-3230.

Yokogawa, M., Takaishi, M., Nakajima, K., Kamijima, R., Fujimoto, C., Kataoka, S., Terada, Y., and Sano, S. (2014). Epicutaneous Application of Toll-like Receptor 7 Agonists Leads to Systemic Autoimmunity in Wild-Type Mice: A New Model of Systemic Lupus Erythematosus. Arthritis Rheumatol. *66*, 694-706.

Zegzouti, H., Zdanovskaia, M., Hsiao, K., and Goueli, S.A. (2009). ADP-Glo: A Bioluminescent and Homogeneous ADP Monitoring Assay

for Kinases. ASSAY Drug Dev. Technol. *7*, 560-572.

Zerr, P., Distler, A., Palumbo-Zerr, K., Tomcik, M., Vollath, S., Dees, C., Egberts, F., Tinazzi, I., Del Galdo, F., Distler, O., et al. (2012). Combined Inhibition of c-Abl and PDGF Receptors for Prevention and Treatment of Murine Sclerodermatous Chronic Graft-versus-Host Disease. Am. J. Pathol. *181*, 1672-1680.

(1985). Remington's pharmaceutical sciences (Easton, Pa: Mack).

(2003). Public statement on the increased risk of serious infection and neutropenia in patients trested concurrently with Kineret (anakinra) and Enbrel (etanercept) (European Medicines Agency).

【序列表】

<110> 比利時商葛萊伯格有限公司(Galapagos NV)

<120> 用於發炎疾病之治療之新穎化合物及其醫藥組合物

<150> GB1904373.6
<151> 2019-03-29

<160> 4

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> RIP140肽

<400> 1

Cys Tyr Gly Val Ala Ser Ser His Leu Lys Thr Leu Leu Lys Lys Ser
1 5 10 15

Lys Val Lys Asp Gln
20

<210> 2
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 組蛋白H3肽

<400> 2

Ala Arg Thr Lys Gln Thr Ala Arg Lys Ser Thr Gly Gly Lys Ala Pro
1 5 10 15

Arg Lys Gln Leu Cys
20

<210> 3
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 組蛋白H1衍生之肽

<400> 3

Gly Gly Gly Pro Ala Thr Pro Lys Lys Ala Lys Lys Leu
1 5 10

<210> 4
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDK肽

<400> 4

Lys Thr Phe Cys Gly Thr Pro Glu Tyr Leu Ala Pro Glu Val Arg Arg
1 5 10 15

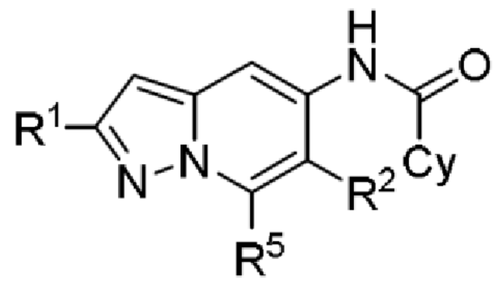
Glu Pro Arg Ile Leu Ser Glu Glu Glu Gln Glu Met Phe Arg Asp Phe
20 25 30

Asp Tyr Ile Ala Asp Trp Cys
35

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種式I之化合物，



I

其中

R^1為

a) C_{2-6}烷基，其經獨立選擇之-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基、鹵基或-$S(=O)_2$-C_{1-4}烷基之一或多者取代，或

b) 6員雜環烷基，其包含獨立選擇之S、N或O原子之一或兩者，該雜環烷基未經取代或經獨立選擇之側氧基、鹵基或C_{1-4}烷基之一或多者取代，該烷基未經取代或經一或多個鹵基取代；

R^2為

a) C_{1-4}烷氧基，該烷氧基未經取代或經獨立選擇之鹵基或-OH之一或多者取代，

b) -O-C_{3-4}環烷基，該環烷基未經取代或經獨立選擇之鹵基或-OH之一或多者取代，或

b) -$C(=O)NR^{3a}R^{3b}$；

Cy為6員雜芳基，其包含1或2個N原子，其經獨立選擇之R^4取代基之一或兩者取代；

各R^{3a}及R^{3b}獨立地選自

a) H，

b) C_{1-4}烷基，該烷基未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH、-CN、

C_{1-4}烷氧基或C_{3-7}環烷基之一或多者取代，該環烷基未經取代或經獨立選擇之鹵基之一或多者取代，

c) C_{3-6}環烷基，該環烷基未經取代或經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或鹵基之一或多者取代，或

d) 4-6員雜環烷基，其包含獨立選擇之N、S或O原子之一或兩者，該雜環烷基未經取代或經獨立選擇之側氧基、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或鹵基之一或多者取代；或

R^{3a}及R^{3b}與其所連接之N原子一起形成4-6員單環雜環烷基；

各R^4獨立地為

a) 側氧基，

b) -OH，

c) -CN，

d) 鹵基，

e) C_{1-4}烷基，其未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代，

f) C_{1-4}烷氧基，其未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代，或

g) C_{3-7}環烷基，其未經取代或經獨立選擇之鹵基、-OH或-CN之一或多者取代；及

R^5選自H、鹵基、$-CH_3$或$-CF_3$；

或其醫藥學上可接受之鹽，或其溶劑合物或溶劑合物之鹽，或其代謝物。

【請求項2】

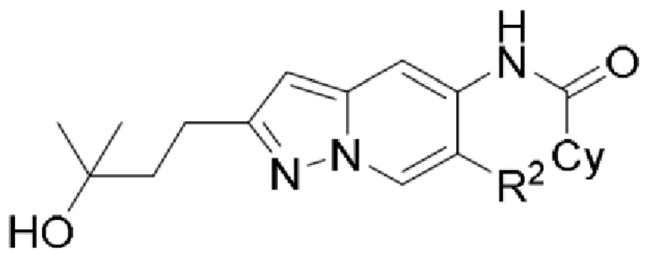
如請求項1之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^1為經獨立選擇之-OH、-CN、-OCH_3、F、Cl或-$S(=O)_2CH_3$之一或多者取代之C_{2-6}烷基。

【請求項3】

如請求項1之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^1為四氫哌喃基、二噁烷基、嗎啉基、哌啶基、哌嗪基、硫代嗎啉基或1,4-氧硫雜環己烷基。

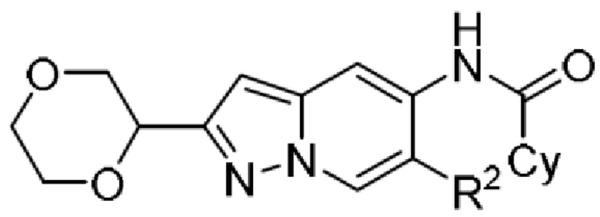
【請求項4】

如請求項1之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該化合物係根據式IIa或IIb：



IIa

、



IIb

。

【請求項5】

如請求項1至4中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^2為-OCH_3或-OCH_2CH_3，其中之每一者未經取代或經獨立選擇之鹵基或-OH之一或多者取代。

【請求項6】

如請求項1至4中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^2為-$C(=O)NR^{3a}R^{3b}$。

【請求項7】

如請求項6之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3a}為H、-CH_3、-CH_2-CH_3或-$CH(CH_3)_2$。

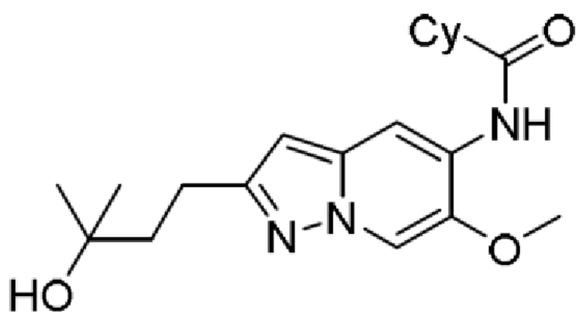
【請求項8】

如請求項6或7之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中R^{3b}為H、-

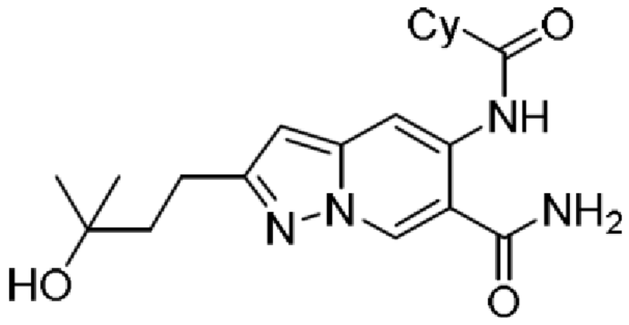
CH_3、$-CH_2-CH_3$或$-CH(CH_3)_2$。

【請求項9】

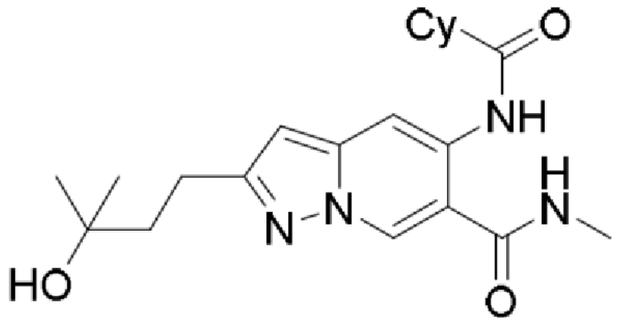
如請求項1之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該化合物係根據式IIIa、IIIb、IIIc、IVa、IVb或IVc：



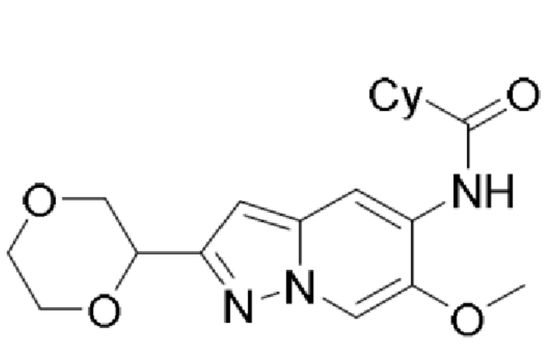
IIIa、



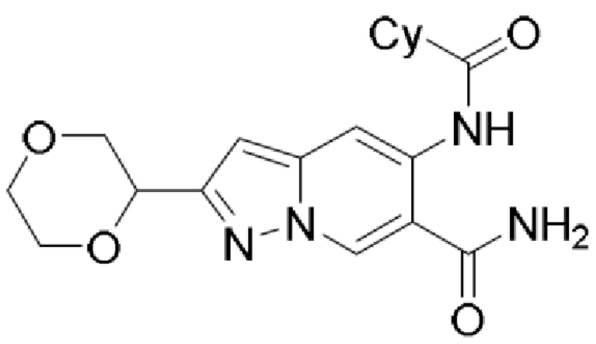
IIIb、



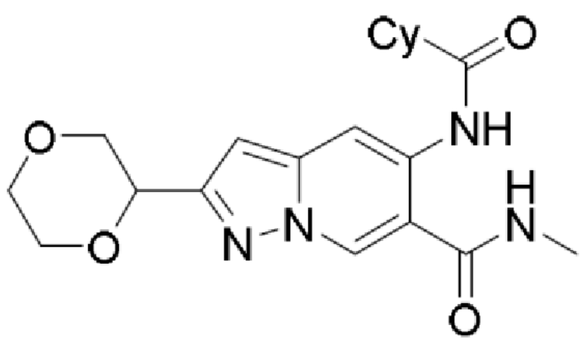
IIIc、



Iva、



IVb、



IVc。

【請求項10】

如請求項1至9中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中Cy為吡啶基或吡嗪基，其中之每一者經獨立選擇之R^4取代基之一或兩者取代。

【請求項11】

如請求項10之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中各R^4獨立地選自側氧基、-OH、-CN、F、Cl、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-CH(CH_3)_2$、$-CF_3$、$-CHF_3$、$-CH_2CF_3$、$-CH_2CN$、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2-CN$、$-O-CH_2-CH_3$、 環丙基、環丁基、經獨立選擇之F或-CN之一或兩者取代之環丙基、經獨立選擇之-F、-OH或-CN之一或兩者取代之環丁基。

【請求項12】

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至11中任一項之化合物及其醫藥學上可接受之載劑。

【請求項13】

如請求項12之醫藥組合物，其進一步包含另一治療劑。

【請求項14】

如請求項1至11中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽、或如請求項12或13之醫藥組合物，其用於藥品中。

【請求項15】

如請求項1至11之化合物或其醫藥學上可接受之鹽或如請求項12或13之醫藥組合物，其用於預防及/或治療發炎疾病、自體免疫疾病、疼痛、纖維化及/或增生性疾病。