



(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 202444700 A

(43) 公開日：中華民國 113 (2024) 年 11 月 16 日

(21) 申請案號：113102816

(22) 申請日：中華民國 113 (2024) 年 01 月 24 日

(51) Int. Cl. :

*C07D401/04 (2006.01)**C07D401/14 (2006.01)**C07D471/14 (2006.01)**C07D487/04 (2006.01)**C07D403/04 (2006.01)**C07D409/14 (2006.01)**A61K31/4439 (2006.01)**A61K31/444 (2006.01)**A61K31/501 (2006.01)**A61K31/519 (2006.01)**A61P25/00 (2006.01)*

(30) 優先權：2023/01/24

美國

63/481,202

(71) 申請人：美商達薩瑪治療公司 (美國) DISARM THERAPEUTICS, INC. (US)

美國

(72) 發明人：波薩納克 陶德 BOSANAC, TODD (US)；布雷利 安德魯 賽門 BREARLEY, ANDREW SIMON (GB)；德芙拉吉 拉杰什 DEVRAJ, RAJESH (US)；修斯 羅伯特 歐文 HUGHES, ROBERT OWEN (GB)；帕勒特 雪莉 安妮 PARROTT, SHELLEY ANNE (GB)

(74) 代理人：陳長文；張哲倫

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：23 項 圖式數：0 共 61 頁

(54) 名稱

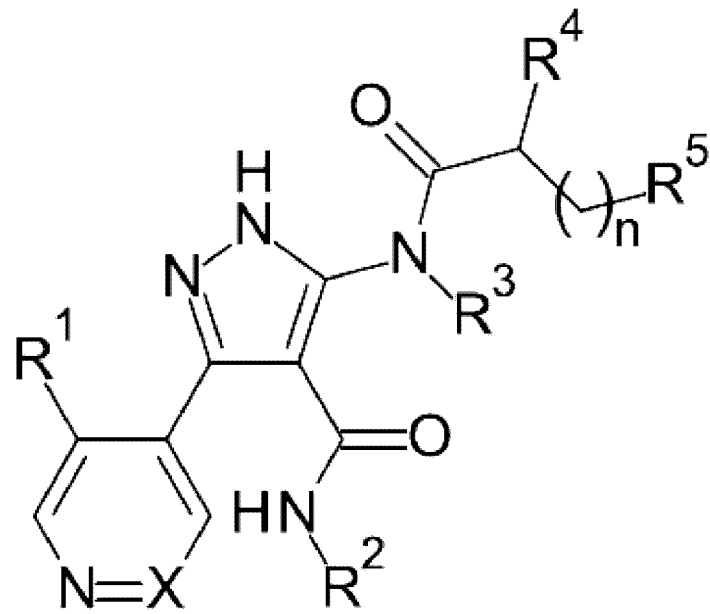
作為 SARM1 抑制劑之經取代 1H-吡唑-4-甲醯胺化物

(57) 摘要

本發明係關於作為 SARM1 抑制劑之新穎經取代 1H-吡唑-4-甲醯胺化合物、包括該等化合物之醫藥組合物及使用該等化合物及組合物治療及預防涉及軸突變性的病理病症之方法。

The present invention relates to novel substituted 1H-pyrazole-4-carboxamide compounds as SARM1 inhibitors, to pharmaceutical compositions comprising the compounds and to methods of using the compounds and compositions to treat and prevent pathological conditions involving axonal degeneration.

特徵化學式：



## 【發明摘要】

### 【中文發明名稱】

作為SARM1抑制劑之經取代1H-吡唑-4-甲醯胺化物

### 【英文發明名稱】

SUBSTITUTED 1H-PYRAZOLE-4-CARBOXAMIDES AS SARM1  
INHIBITORS

### 【中文】

本發明係關於作為SARM1抑制劑之新穎經取代1H-吡唑-4-甲醯胺化合物、包括該等化合物之醫藥組合物及使用該等化合物及組合物治療及預防涉及軸突變性的病理病症之方法。

### 【英文】

The present invention relates to novel substituted 1H-pyrazole-4-carboxamide compounds as SARM1 inhibitors, to pharmaceutical compositions comprising the compounds and to methods of using the compounds and compositions to treat and prevent pathological conditions involving axonal degeneration.

### 【指定代表圖】

無

### 【代表圖之符號簡單說明】

無

### 【特徵化學式】



## 【發明說明書】

### 【中文發明名稱】

作為SARM1抑制劑之經取代1H-吡唑-4-甲醯胺化物

### 【英文發明名稱】

SUBSTITUTED 1H-PYRAZOLE-4-CARBOXAMIDES AS SARM1  
INHIBITORS

### 【技術領域】

【0001】 本發明係關於新穎SARM1抑制劑、包括該等化合物之醫藥組合物及使用該等化合物及組合物治療及預防涉及軸突變性之病理病症之方法。

### 【先前技術】

【0002】 軸突變性係諸如阿茲海默症(Alzheimer's disease)、帕金森氏症(Parkinson's disease)、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症(ALS)、多發性硬化症(MS)、糖尿病性周圍神經病變、化學療法誘導之周圍神經病變、遺傳性神經病變、創傷性腦損傷及青光眼之病理病症之主要特徵。此等病症影響數百萬病患，且在世界範圍造成重大經濟負擔。

【0003】 含無菌 $\alpha$ 及Toll/介白素受體-1 (TIR)模體1 (Sterile Alpha and Toll/Interleukin receptor-1 (TIR) motif-containing 1, SARM1)已識別為損傷誘導之軸突死亡路徑(稱為瓦勒氏變性(Wallerian degeneration))之主要執行者(O'Neill, L.A. & Bowie, A.G., *Nat. Rev. Immunol.*, 2007, 7, 353-364; Osterloh, J.M.等人, *Science*, 2012, 337, 481-484; Gerdt, J.等人, *J. Neurosci.* 33, 2013, 13569-13580)。機制研究揭露，經由軸突損傷或SARM1-TIR域之強制二聚合之SARM1活化促進菸鹼醯胺腺嘌呤二

核苷酸(NAD<sup>+</sup>)之快速耗盡，導致軸突退化(Gerdt, J.等人，*Science*, 2015, 348, 453-457)。SARM1之基因剔除允許在神經橫切之後保留軸突14天或更多天(Osterloh, J.M.等人，*Science*, 2012, 337, 481-484；Gerdt, J.等人，*J. Neurosci.*, 2013, 33, 13569-13580)且改進創傷性腦損傷後小鼠之功能結果(Henninger, N.等人，*Brain* 139, 2016, 1094-1105)。SARM1除了在直接軸突損傷中具有作用以外，在諸如化學療法誘導之周圍神經病變之病症中觀測到之軸突變性亦需要SARM1。SARM1損失阻斷化學療法誘導之周圍神經病變，抑制軸突變性，且增強在化學治療性長春新鹼治療之後產生之疼痛敏感性(Geisler等人，*Brain*, 2016, 139, 3092-3108)。

**【0004】** WO 2021/142006 A1揭示某些適用於抑制SARM1及/或治療及/或預防軸突變性之化合物及方法。

**【0005】** 目前沒有經批准用於治療及/或預防軸突變性之藥物。對用於治療及預防涉及軸突變性之病理病症之具有經改進代謝分佈之有效SARM1抑制劑之需求尚未得到滿足。

#### **【發明內容】**

**【0006】** 本發明提供用於治療及預防涉及軸突變性之病理病症之新穎SARM1抑制劑。此外，本發明提供具有效能增強且代謝清除率降低之新穎SARM1抑制劑。

**【0007】** 因此，本發明提供式I化合物：





式IV。

【0012】 在本發明之一實施例中，X係CH。在另一實施例中，X係N。

【0013】 在本發明之一實施例中，R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>各獨立地選自H、甲基、乙基、正丙基及異丙基。

【0014】 在本發明之一實施例中，n係0或1。在另一實施例中，n係1。

【0015】 在本發明之一實施例中，p係1。

【0016】 在本發明之一實施例中，q係0。在另一實施例中，q係1。

【0017】 在本發明之一實施例中，R<sup>5</sup>係苯基。在另一實施例中，R<sup>5</sup>係經1至3個R<sup>m</sup>取代之苯基。在一另外實施例中，R<sup>5</sup>係含有1至3個選自氧、氮及硫之雜原子之5至6員雜芳基。在又一實施例中，R<sup>5</sup>係含有1至3個選自氧、氮及硫之雜原子及視需要經1至3個R<sup>m</sup>取代之5至6員雜芳基。在另一實施例中，R<sup>5</sup>係含有1至3個氮原子之5至6員雜芳基。在一另外實施例中，R<sup>5</sup>係含有1至3個氮原子及視需要經1至3個R<sup>m</sup>取代之5至6員雜芳基。在又一實施例中，R<sup>5</sup>係吡啶。在另一實施例中，R<sup>5</sup>係經1至3個R<sup>m</sup>取代之吡啶。

【0018】 在本發明之一實施例中，各R<sup>m</sup>獨立地選自F、Cl、Br、I、氰基及三氟甲基。

【0019】 在本發明之一實施例中，R<sup>5</sup>係選自由以下所組成之群：









施例中任一實施例之化合物或其醫藥上可接受之鹽或其醫藥組合物。

**【0024】** 本發明亦提供一種治療或預防病患中選自以下之疾病：肌肉萎縮性脊髓側索硬化症(ALS)、多發性硬化症(MS)、糖尿病性神經病變及化學療法誘導之周圍神經病變，該方法包括向需要此治療之病患投與有效量之根據上述實施例中任一實施例之化合物或其醫藥上可接受之鹽或醫藥組合物。

**【0025】** 本發明提供一種根據上述實施例中任一實施例之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其用於療法。

**【0026】** 此外，本發明提供一種根據上述實施例中任一實施例之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其用於治療或預防與軸突變性相關之疾病。

**【0027】** 此外，本發明提供一種根據上述實施例中任一實施例之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其用於治療或預防選自以下之疾病：肌肉萎縮性脊髓側索硬化症(ALS)、多發性硬化症(MS)、糖尿病性神經病變及化學療法誘導之周圍神經病變。

**【0028】** 本發明提供根據上述實施例中任一實施例之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其用於製造用於治療或預防與軸突變性相關之疾病之藥物之用途。

**【0029】** 此外，本發明提供根據上述實施例中任一實施例之化合物或其醫藥上可接受之鹽於製造用於治療或預防選自以下之疾病之藥物之用途：肌肉萎縮性脊髓側索硬化症(ALS)、多發性硬化症(MS)、糖尿病性神經病變及化學療法誘導之周圍神經病變。

#### **【實施方式】**

**【0030】** 本申請案依35 U.S.C. §119(e)主張2023年1月24日申請之

美國臨時申請案序號63/481,202之權益；該案之揭示內容係以引用之方式併入本文中。

**【0031】** 如本文中所用，單獨使用或作為較大部分之一部分使用之術語「烷基」係指含有一個或多個碳原子之飽和、直鏈或分支鏈烴基。

**【0032】** 如本文中所用，術語「雜芳基」係指含有一個或多個雜原子之環狀芳族基團。

**【0033】** 如本文中所用，術語「雜原子」係指氮、氧或硫，且包含氮或硫之任何氧化形式，及鹼性氮之任何四級化形式。

**【0034】** 如本文中所用，術語「雜環」係指含有碳原子及一個或多個雜原子之環狀飽和基團。

**【0035】** 如本文中所用，術語「病患」係指人類。

**【0036】** 如本文中所用，術語「預防」係指預防疾病發生或在其發病後避免由此產生之併發症。

**【0037】** 如本文中所用，術語「治療」包含減緩、停止或逆轉現有症狀或疾患之進展或嚴重程度。

**【0038】** 如本文中所用，術語「有效量」係指本發明之化合物或其醫藥上可接受之鹽以單或多劑量投與該病患時，在診斷或治療下之病患中提供所需效果之量或劑量。

**【0039】** 本發明之化合物較佳調配為藉由使該化合物生體可用之任何途徑(包含經口及經皮途徑)投與之醫藥組合物。最佳地，此等組合物係用於經口投與。此等醫藥組合物及其製備製程係此項技術中所熟知(參見，例如Remington: The Science and Practice of Pharmacy, A. Adejare, Editor, 第23版, Elsevier Academic Press, 2020)。

【0040】本發明之化合物或其醫藥上可接受之鹽可藉由此項技術中所熟知及理解之方法根據以下製備及實例製備。此等製備及實例之步驟之合適反應條件係此項技術中所熟知，且溶劑及共試劑之適當替代係屬於此項技術。同樣地，熟習此項技術者將瞭解可視需要藉由多種熟知技術分離及/或純化成中間體，且經常可將各種中間體在稍微純化或未經純化之情況下直接用於後續合成步驟中。作為闡述，該等製備及實例之化合物可藉由例如矽膠純化、直接藉由過濾或結晶分離。此外，熟習此項技術者將瞭解，在一些情況下，引入部分之順序並不重要。生產本發明之化合物所需之特定步驟順序取決於所合成之特定化合物、起始化合物及經取代部分之相對傾向，且熟練化學家充分理解。除非另有指定，否則所有取代基均如先前定義，且所有試劑均為此項技術中所熟知及理解。

【0041】某些縮寫如下定義：「AcONa」係指乙酸鈉；「Ar」係指雜芳基或芳基；「DCM」係指二氯甲烷；「DIPEA」係指N,N-二異丙基乙胺；「DMA」係指二甲基乙醯胺；「DMF」係指二甲基甲醯胺；「DIPEA」係指N,N-二異丙基乙胺；「Et<sub>3</sub>N」係指三乙胺；「EtOAc」係指乙酸乙酯；「EtOH」代表乙醇；「EtONa」係指乙醇鈉；HATU係指(1-[雙(二甲胺基)亞甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎂3-氧化物六氟磷酸鹽；「HPLC」係指高效液相層析法；「hr或hrs.」係指小時；「LDA」係指二異丙基醯胺鋰；「LiHMDS」係指雙(三甲基矽基)醯胺鋰；「MeCN」係指乙腈；「MeOH」係指甲醇；「min」係指分鐘；「NBS」係指N-溴代琥珀醯亞胺；「PdCl<sub>2</sub>.dppf」係指1,1'-雙(二苯基膦基)二茂鐵]二氯化鈣(II)；「Prep-HPLC」係指製備型HPLC；「SEM-Cl」係指2-(三甲基矽基)乙氧基氯代甲烷；「TFA」係指三氟乙酸；



氯酸肼之環化得到化合物(5)。在 $R^6$ 為乙基之情況下，化合物(5)在溶劑系統(諸如THF、EtOH及水)中，使用NaOH進行鹼性水解得到化合物(6)顯示於步驟E中。或者，當 $R^6$ 為第三丁基時，步驟E顯示化合物(5)用溶劑(諸如DCM)中之酸(諸如TFA)進行酸性去保護得到化合物(6)。步驟F顯示在溶劑(諸如DMF)中，使用偶合試劑(諸如HATU)及鹼(諸如DIPEA)進行化合物(6)與氯化銨或甲胺鹽酸鹽之醯胺偶合得到化合物(7)。熟習此項技術者將認識到，許多其他醯胺偶合試劑、鹼及溶劑可用於進行該偶合。步驟G顯示在溶劑(諸如DMA)中，使用偶合試劑(諸如HATU)及鹼(諸如DIPEA)進行化合物(7)與芳基丙酸之醯胺偶合得到化合物(8)。熟習此項技術者將認識到，許多其他醯胺偶合試劑、鹼及溶劑可用於進行該偶合。步驟H描繪在溶劑(諸如DCM)中用酸(諸如TFA)對化合物(8)進行酸性去保護得到化合物(9)。

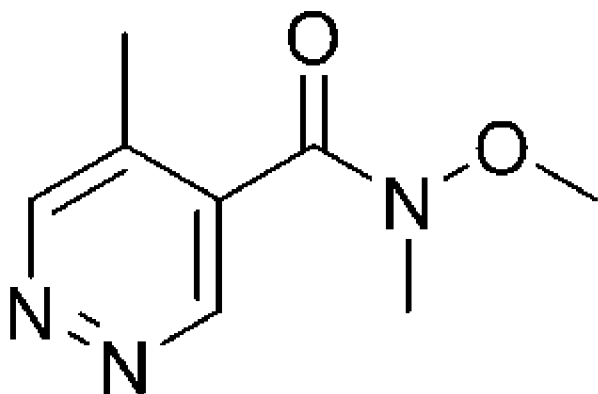
**【0043】**

**方案2**







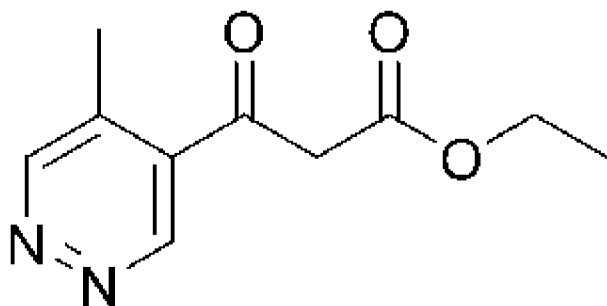


【0047】 在 $-70^{\circ}\text{C}$ 下，將5-甲基咪嗪-4-羧酸乙酯(1.2 g, 7.23 mmol)及N,O-二甲基脛胺鹽酸鹽(1.42 g, 14.46 mmol)在THF (20 mL)中之混合物攪拌5 min。緩慢添加LiHMDS (在THF中1.0 M, 50.6 mL, 50.6 mmol)，且在 $-70^{\circ}\text{C}$ 下攪拌2.0小時。將該反應混合物倒入飽和 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 水溶液(200 mL)中，且用DCM (50 mL  $\times$  3)萃取。合併有機層經 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 乾燥，且在真空中濃縮。將粗材料經由矽膠急速層析法用EtOAc中之3%石油醚溶析來純化，得到呈黃色油之標題化合物(0.94 g, 71.2%)。ES/MS  $m/z = 182$  (M+H)。

### 【0048】

#### 製備2

3-(5-甲基咪嗪-4-基)-3-側氧基-丙酸乙酯

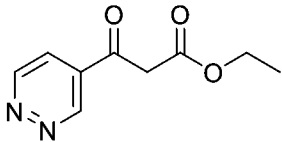


【0049】 在 $-70^{\circ}\text{C}$ 下，向EtOAc (1.37 g, 15.6 mmol)在THF (20 mL)中之混合物緩慢添加LDA (在THF中1M, 15.6 mL)，然後攪拌1.5小

時。緩慢添加THF (8 mL)中之N-甲氧基-N,5-二甲基噁嗪-4-甲醯胺(0.94 g, 5.2 mmol), 且在-70°C下攪拌2.0小時。將該反應混合物倒入飽和NH<sub>4</sub>Cl水溶液(200 mL)中, 且用DCM (50 mL x 3)萃取。合併有機層經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥, 且在真空中濃縮。將粗材料經由矽膠急速層析法用EtOAc中之50%石油醚溶析來純化, 得到呈黃色油之標題化合物(0.53 g, 49.1%)。ES/MS m/z = 209 (M+H)。

【0050】表1中之化合物係以基本上與見於製備2中之方式類似之方式製備。

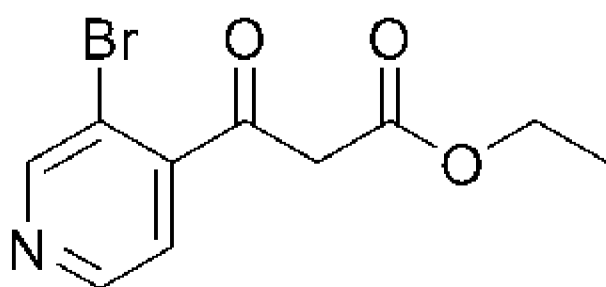
表1

製備編號	化學名稱	結構	ES/MS m/z
3	3-側氧基-3-(噁嗪-4-基)丙酸乙酯		195.0 (M+H)

## 【0051】

## 製備4

3-(3-溴吡啶-4-基)-3-側氧基丙酸乙酯

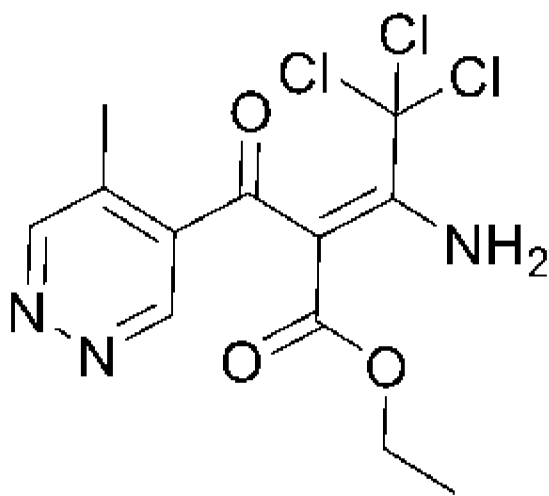


【0052】在-60°C下, 在1小時內將LDA溶液(在THF中1M, 32 mL)緩慢添加至EtOAc (4.2 g, 48 mmol)在THF (80 mL)中之混合物。緩慢添加THF (20 mL)中之3-溴異菸鹼酸甲酯(7.0 g, 32 mmol), 且將該混合物在-60°C下攪拌2.0小時。將飽和NH<sub>4</sub>Cl水溶液(30 mL)添加至該反應混合物中, 且然後用EtOAc (150 mL x 2)萃取。合併有機層經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥,

且在真空中濃縮得到粗產物。將粗產物經由矽膠急速層析法用20:1石油醚:EtOAc溶析來純化，得到呈黃色油之標題化合物(10 g，63%)。ES/MS  $m/z = 274$  (M+H)。

**【0053】****製備5**

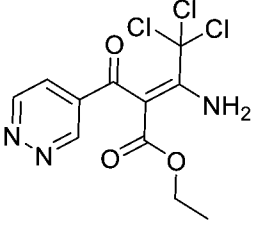
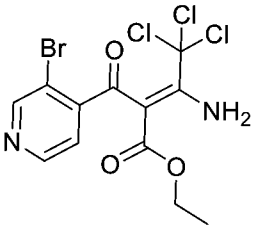
(Z)-3-胺基-4,4,4-三氯-2-(5-甲基噻嗪-4-羰基)丁-2-烯酸乙酯



**【0054】** 向3-(5-甲基噻嗪-4-基)-3-側氧基-丙酸乙酯(530 mg，2.55 mmol)在EtOH (10 mL)中之混合物添加三氯乙腈(404 mg，2.81 mmol)及三水合乙酸鈉(251 mg，3.06 mmol)。將該混合物在環境溫度下攪拌2.0小時。將該反應混合物在真空中濃縮，得到呈黃色油之標題化合物(1.08 g，粗)。ES/MS  $m/z = 352$  (M+H)。

**【0055】** 表2中之化合物係以基本上與見於製備5中之方式類似之方式製備。

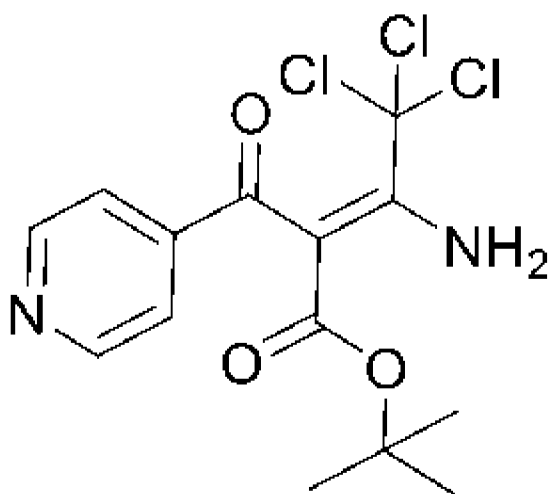
表2

製備編號	化學名稱	結構	ES/MS m/z
6	(Z)-3-胺基-4,4,4-三氯-2-(噁嗪-4-羰基)丁-2-烯酸乙酯		337 (M+H)
7	(Z)-3-胺基-2-(3-溴異菸鹼醯基)-4,4,4-三氯丁-2-烯酸乙酯		419 (M+H)

## 【0056】

## 製備8

(Z)-3-胺基-4,4,4-三氯-2-異菸鹼醯基丁-2-烯酸第三丁酯

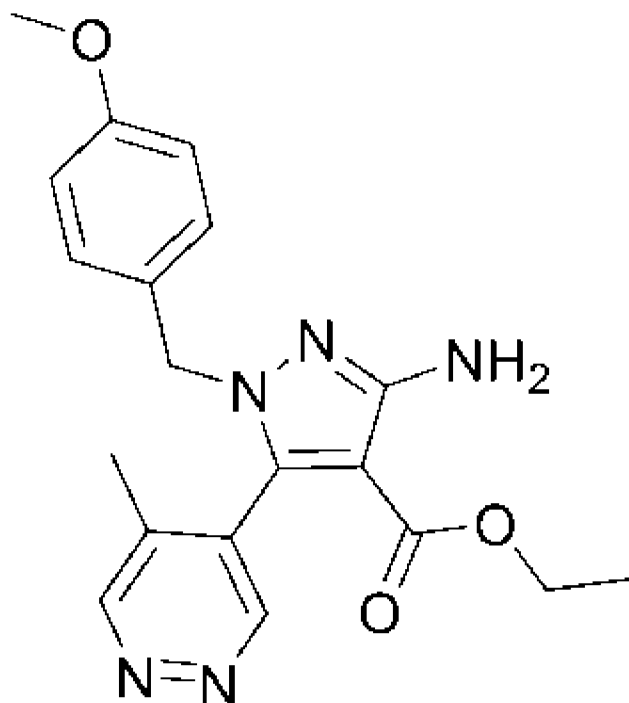


【0057】 向3-側氧基-3-(吡啶-4-基)丙酸第三丁酯(如*Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2015, 25, 3810中所述製備) (29.0 g, 0.13 mol)在EtOH (150 mL)中之混合物添加三氯乙腈(20.0 g, 0.14 mmol)及三水合乙酸鈉(11.5 g, 0.14 mmol)。將該反應在環境溫度下攪拌反應2小時。直接使用該反應混合物，無需進一步處理。ES/MS m/z = 367 (M+H)。

【0058】

## 製備9

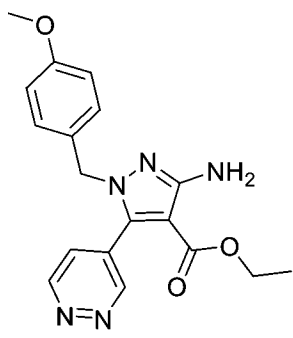
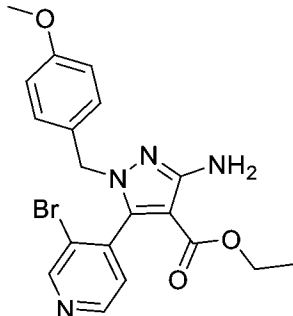
3-胺基-1-(4-甲氧基苄基)-5-(5-甲基噁嗪-4-基)-1H-吡唑-4-羧酸乙酯



【0059】 向(Z)-3-胺基-4,4,4-三氯-2-(5-甲基噁嗪-4-羰基)丁-2-烯酸乙酯(1.08 g, 粗)在EtOH (10 mL)中之混合物添加TEA (0.77 g, 7.6 mmol)及(4-甲氧基苄基)氫氯酸胍(0.58 g, 3.05 mmol)。將該混合物在65 °C下攪拌2小時，然後在真空中濃縮。將粗品經由矽膠急速層析法用EtOAc中之3%石油醚溶析來純化，得到呈黃棕色油之標題化合物(0.54 g, 58.1%)。ES/MS  $m/z = 368$  (M+H)。

【0060】 表3中之化合物係以基本上與見於製備9中之方式類似之方式製備。

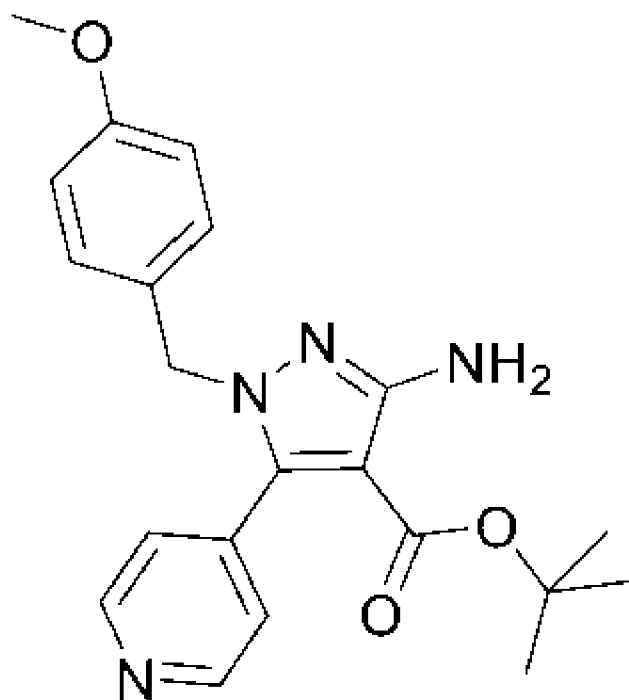
表3

製備編號	化學名稱	結構	ES/MS m/z
10	3-胺基-1-(4-甲氧基苄基)-5-(噻嗪-4-基)-1H-吡唑-4-羧酸乙酯		355 (M+H)
11	3-胺基-5-(3-溴吡啶-4-基)-1-(4-甲氧基苄基)-1H-吡唑-4-羧酸乙酯		431 (M+H)

【0061】

## 製備12

3-胺基-1-(4-甲氧基苄基)-5-(吡啶-4-基)-1H-吡唑-4-羧酸第三丁酯



【0062】 向(Z)-3-胺基-4,4,4-三氯-2-異菸鹼醯基丁-2-烯酸第三丁酯

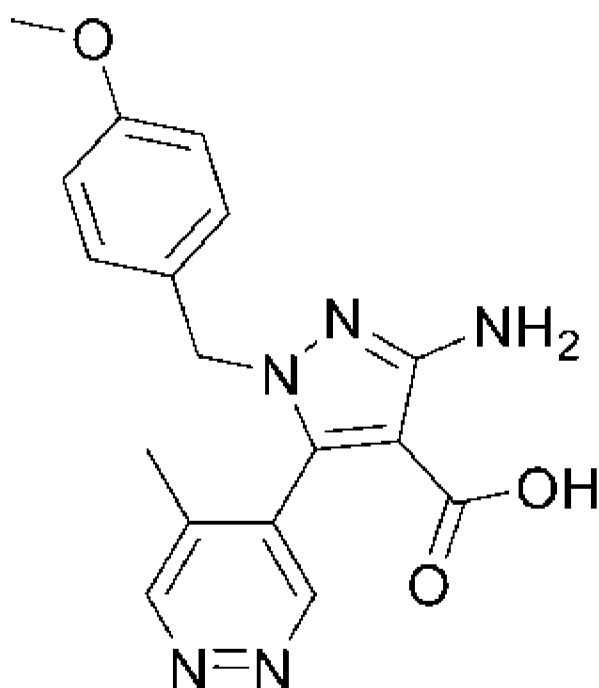
第 23 頁(發明說明書)

之混合物添加(4-甲氧基苄基)氫氰酸脒(30.0 g, 0.16 mol)及TEA (23.4 g, 0.39 mmol)。將該混合物在環境溫度下攪拌2小時。然後過濾該混合物，且將所得固體在真空中乾燥，得到呈白色固體之標題化合物(30.0 g, 60%)。ES/MS  $m/z = 381$  (M+H)。

**【0063】**

**製備13**

3-胺基-1-(4-甲氧基苄基)-5-(5-甲基噁嗪-4-基)-1H-吡唑-4-羧酸

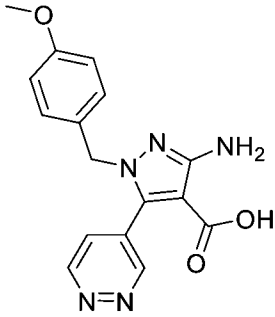


**【0064】** 向3-胺基-1-(4-甲氧基苄基)-5-(5-甲基噁嗪-4-基)-1H-吡唑-4-羧酸乙酯(540 mg, 1.47 mmol)在THF (4mL)、EtOH (4 mL)及水(2 mL)中之混合物添加NaOH (118 mg, 2.94 mmol)。將該混合物在75°C下攪拌4小時。然後將該混合物在真空中濃縮。將該混合物用1M HCl調整為pH = 3至4。將所得漿料過濾，且用20 mL冰水清洗濾餅。獲得呈黃色固體之標題化合物(350 mg, 70.1%)。ES/MS  $m/z = 340$  (M+H)。

**【0065】** 表4中之化合物係以基本上與見於製備13中之方式類似之

方式製備。

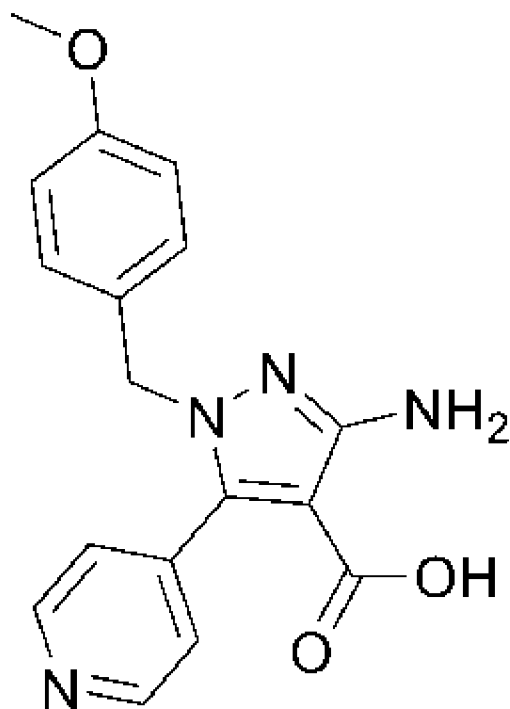
表4

製備編號	化學名稱	結構	ES/MS m/z
14	3-胺基-1-(4-甲氧基苄基)-5-(噁嗪-4-基)-1H-吡唑-4-羧酸		326.7 (M+H)

【0066】

### 製備15

3-胺基-1-(4-甲氧基苄基)-5-(吡啶-4-基)-1H-吡唑-4-羧酸



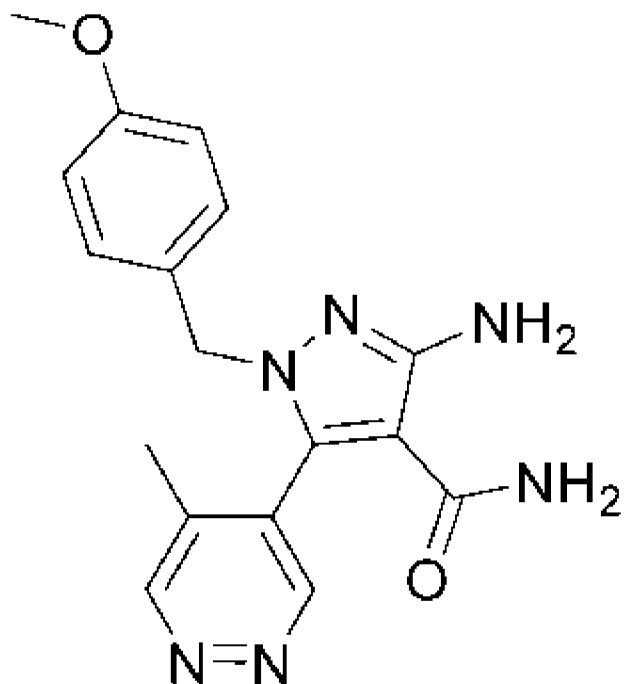
【0067】 向3-胺基-1-(4-甲氧基苄基)-5-(吡啶-4-基)-1H-吡唑-4-羧酸第三丁酯(27.0 g, 0.08 mmol)在DCM (100 mL)中之混合物添加TFA (100 mL)。將該混合物在環境溫度下攪拌3小時。將該反應混合物在真空中濃縮，接著添加水(50 mL)及飽和NaHCO<sub>3</sub> (150 mL)。將所得沉澱物過

濾且在真空中乾燥，得到呈白色固體之標題化合物(12 g, 52%)。ES/MS  $m/z = 325$  (M+H)。

【0068】

**製備16**

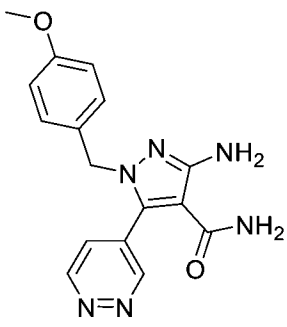
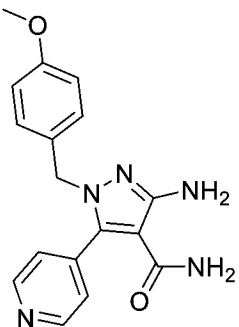
3-胺基-1-(4-甲氧基苄基)-5-(5-甲基噁嗪-4-基)-1H-吡啶-4-甲醯胺



【0069】 在環境溫度下，將3-胺基-1-(4-甲氧基苄基)-5-(5-甲基噁嗪-4-基)-1H-吡啶-4-羧酸(350 mg, 1.03 mmol)、氯化銨(1.09 g, 20.6 mmol)、HATU (783 mg, 2.06 mmol)、DIPEA (399 mg, 3.09 mmol)在DMF (5 mL)中之混合物攪拌4小時。向該反應混合物添加水(30 mL)，用DCM (30 mL×5)萃取。合併有機層經 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 上乾燥，且在真空中濃縮，得到呈棕色油之標題化合物(400 mg, 粗)。ES/MS  $m/z = 339$  (M+H)。

【0070】 表5中之化合物係以基本上與見於製備16中之方式類似之方式製備。

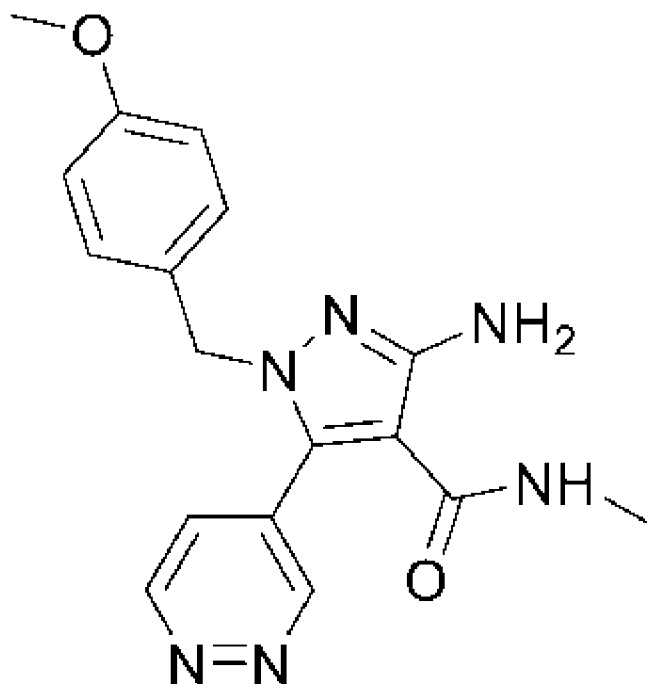
表5

製備編號	化學名稱	結構	ES/MS m/z
17	3-胺基-1-(4-甲氧基苄基)-5-(噻嗪-4-基)-1H-吡唑-4-甲醯胺		325.7 (M+H)
18	3-胺基-1-(4-甲氧基苄基)-5-(吡啶-4-基)-1H-吡唑-4-甲醯胺		324 (M+H)

【0071】

## 製備19

3-胺基-1-(4-甲氧基苄基)-N-甲基-5-(噻嗪-4-基)-1H-吡唑-4-甲醯胺



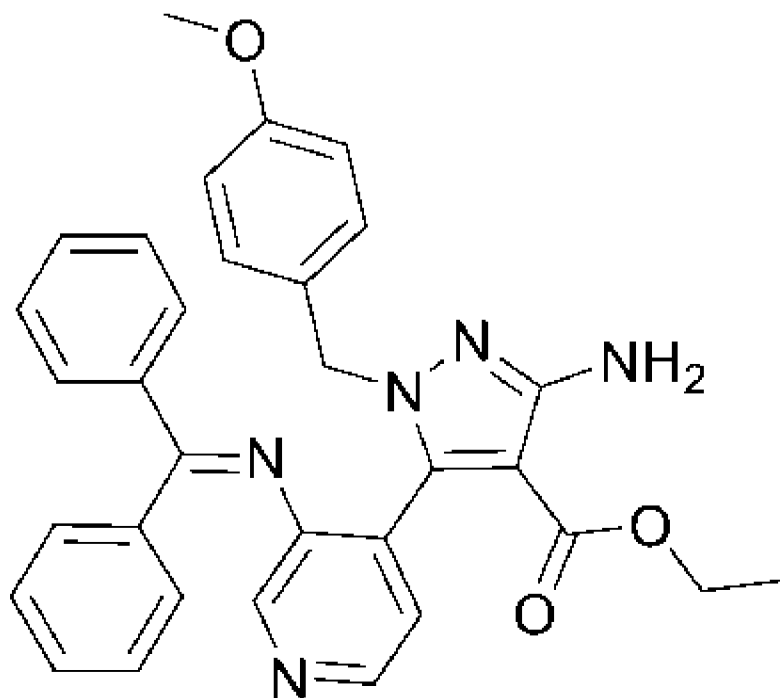
【0072】 向3-胺基-1-(4-甲氧基苄基)-5-(噻嗪-4-基)-1H-吡唑-4-羧

酸(150 mg, 0.5 mmol)、HATU (262 mg, 0.7 mmol)在DMF (3 mL)中之溶液添加甲胺鹽酸鹽(46 mg, 0.7 mmol)及DIPEA (178 mg, 1.4 mmol)。將該反應混合物在環境溫度下攪拌1.5小時。將該混合物用水(10 mL)稀釋，且用EtOAc (20 mL x 3)萃取。合併有機層經濃縮，將粗品經由矽膠急速層析法用石油醚中之0至80% EtOAc溶析來純化，得到呈綠色固體之標題化合物(130 mg, 83.3%)。ES/MS  $m/z = 339.7$  (M+H)。

## 【0073】

## 製備20

3-胺基-5-(3-((二苯基亞甲基)胺基)吡啶-4-基)-1-(4-甲氧基苄基)-1H-吡啶-4-羧酸乙酯

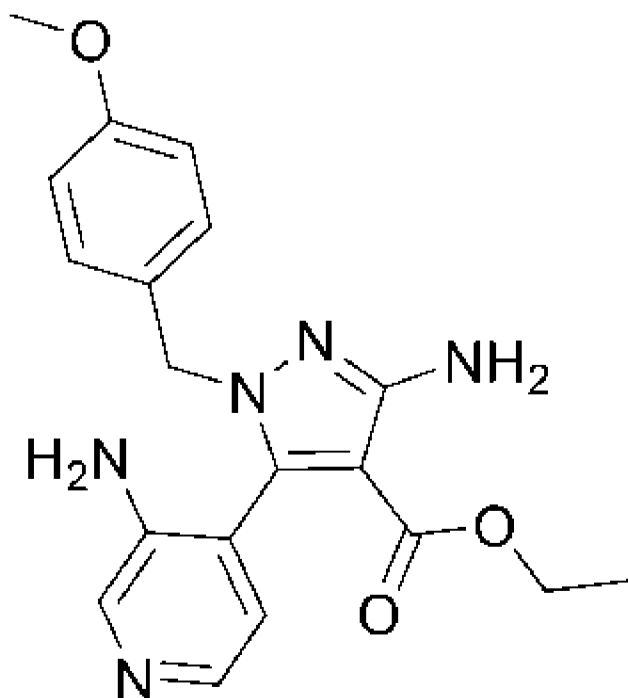


【0074】 將3-胺基-5-(3-溴吡啶-4-基)-1-(4-甲氧基苄基)-1H-吡啶-4-羧酸乙酯(1.5 g, 3.5 mmol)在DMF (10 mL)中之混合物添加Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3.4 g, 10.5 mmol)、二苯基甲亞胺(1.9 g, 10.5 mmol)、(9,9-二甲基-9H-二苯并吡喃-4,5-二基)雙(二苯基磷烷)(202 mg, 0.35 mmol)及

$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  (320 mg, 0.35 mmol)。將該混合物藉由微波在 $110^\circ\text{C}$ 下加熱8小時。然後將水(50 mL)添加該混合物中，且接著用EtOAc (100 mL x 2)萃取。合併有機層經 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 乾燥，且在真空中濃縮。將殘留物經由矽膠急速層析法用20:1石油醚:EtOAc溶析來純化，得到呈黃色固體之標題化合物(500 mg, 27%)。ES/MS  $m/z = 532$  (M+H)。

**【0075】****製備21**

3-胺基-5-(3-胺基吡啶-4-基)-1-(4-甲氧基苄基)-1H-吡唑-4-羧酸乙酯

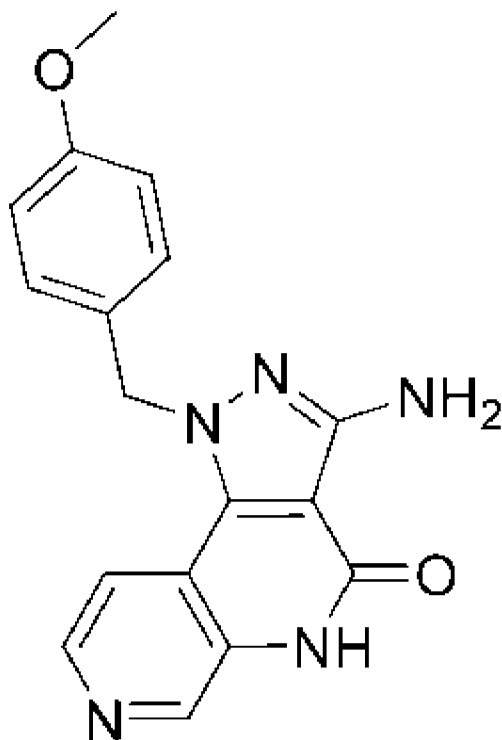


**【0076】** 將TFA (1 mL)添加至3-胺基-5-(3-((二苯基亞甲基)胺基)吡啶-4-基)-1-(4-甲氧基苄基)-1H-吡唑-4-羧酸乙酯(500 mg, 0.94 mmol)在DCM (4 mL)中之混合物中，且在環境溫度下攪拌1小時。將該反應混合物在真空中濃縮。將水(5 mL)及飽和 $\text{NaHCO}_3$  (20 mL)添加至殘留物中，且將所得沉澱物過濾且在真空中乾燥，得到呈白色固體之標題化合物(200 mg, 58%)。ES/MS  $m/z = 368$  (M+H)。

【0077】

## 製備22

3-胺基-1-(4-甲氧基苄基)-1,5-二氫-4H-吡啶并[4,3-c][1,7]萘啶-4-酮

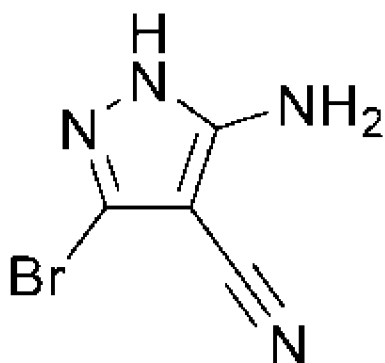


【0078】 將EtONa (110 mg, 1.62 mmol)添加至3-胺基-5-(3-胺基吡啶-4-基)-1-(4-甲氧基苄基)-1H-吡啶-4-羧酸乙酯(200 mg, 0.54 mmol)在EtOH(10 mL)中之混合物中，且在85°C下攪拌4小時。將水(50 mL)添加至該反應混合物中，且用EtOAc (100 mL x 2)萃取。合併有機層經乾燥及在真空中濃縮。向所得殘留物經由矽膠急速層析法用EtOAc中之50%石油醚溶析來純化，得到呈黃色固體之標題化合物(140 mg, 80%)。ES/MS  $m/z = 322 (M+H)$ 。

【0079】

## 製備23

5-胺基-3-溴-1H-吡啶-4-甲腈

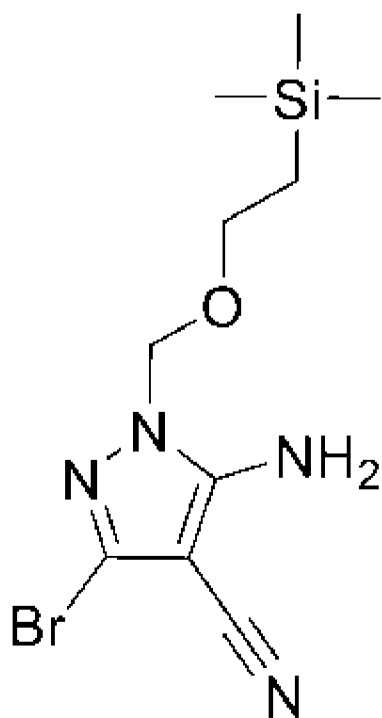


【0080】 將5-胺基-3-溴-1H-吡唑-4-甲腈(6 g, 55.6 mmol)及NBS (11 g, 61.1 mmol)在DMF (50 mL)中之混合物在環境溫度下攪拌過夜。向該反應混合物添加水(200 mL)，用EtOAc (50 mL x 3)萃取。合併有機層經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，且在真空中濃縮。將所得殘留物經由矽膠急速層析法用2:3石油醚:EtOAc溶析來純化，得到呈黃色固體之標題化合物(4.7 g, 45.5%)。ES/MS m/z = 187 (M+H)。

【0081】

#### 製備24

5-胺基-3-溴-1-((2-(三甲基矽基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-甲腈

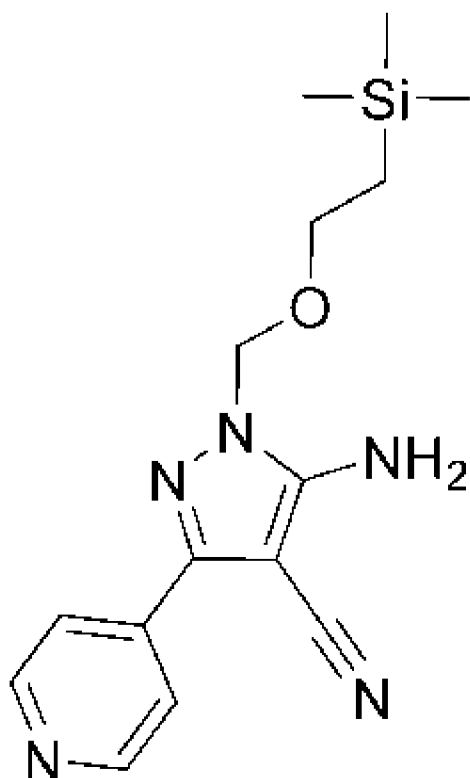


【0082】 在0°C下，向5-胺基-3-溴-1H-吡啶-4-甲腈(4.7 g，25.2 mmol)在DMF (40 mL)中之混合物添加NaH (於礦物油中之60%分散液，1.1 g，27.8 mmol)，然後在0°C下攪拌30 min。在0°C下添加SEM-Cl (5 g，30.3 mmol)，且然後攪拌，同時升溫至環境溫度2小時。向該反應混合物添加水(200 mL)，接著用EtOAc (50 mL x 3)萃取。合併有機層經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，且在真空中濃縮，得到呈黃色固體之標題化合物(6.6 g，83.3%)。ES/MS m/z = 317 (M+H)。

【0083】

### 製備25

5-胺基-3-(吡啶-4-基)-1-((2-(三甲基矽基)乙氧基)甲基)-1H-吡啶-4-甲腈



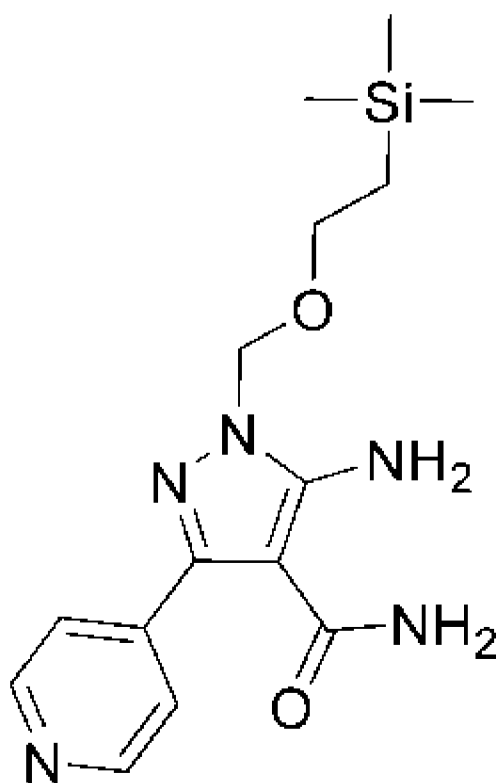
【0084】 將5-胺基-3-溴-1-((2-(三甲基矽基)乙氧基)甲基)-1H-吡啶-4-甲腈(6.6 g，20.9 mmol)、4-吡啶基硼酸(5.1 g，41.8 mmol)、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

(8.7 g, 62.7 mmol)及PdCl<sub>2</sub>.dppf (292 mg, 0.4 mmol)在1,4-二噁烷/水(100 mL / 20 mL)中之混合物在100°C及N<sub>2</sub>下攪拌過夜。將該混合物在真空中濃縮，且將該殘留物經由矽膠急速層析法用2:3石油醚:EtOAc溶析來純化，得到呈黃色固體之標題化合物(5 g, 76%)。ES/MS m/z = 316 (M+H)。

【0085】

### 製備26

5-胺基-3-(吡啶-4-基)-1-((2-(三甲基矽基)乙氧基)甲基)-1H-吡啶-4-甲醯胺



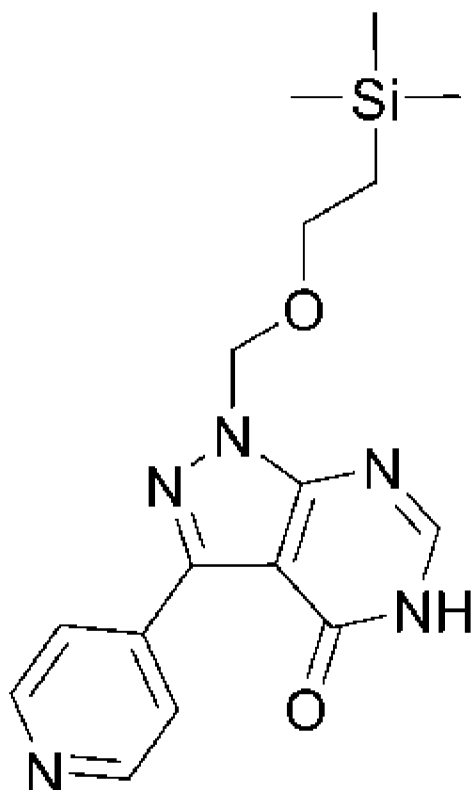
【0086】 將5-胺基-3-(吡啶-4-基)-1-((2-(三甲基矽基)乙氧基)甲基)-1H-吡啶-4-甲腈(4.5 g, 14.3 mmol)與KOH (2.7 g, 71.4 mmol)在EtOH / H<sub>2</sub>O (50 mL / 10 mL)中之混合物在100°C下攪拌過夜。將該反應混合物在真空中濃縮，添加水，且將所得固體過濾且在真空中乾燥，得到呈黃色固

體之標題化合物(3.2 g, 67%)。ES/MS  $m/z = 334$  (M+H)。

【0087】

**製備27**

3-(吡啶-4-基)-1-((2-(三甲基矽基)乙氧基)甲基)-1,5-二氫-4H-吡啶并  
[3,4-d]嘧啶-4-酮



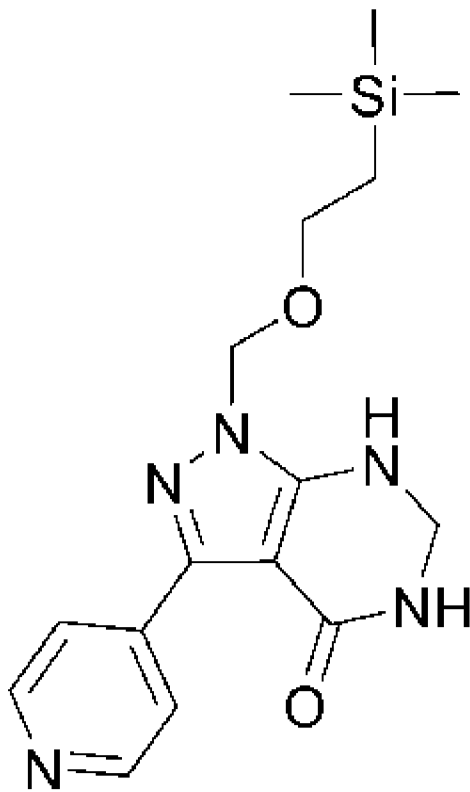
【0088】 將5-胺基-3-(吡啶-4-基)-1-((2-(三甲基矽基)乙氧基)甲基)-1H-吡啶-4-甲醯胺(2 g, 6 mmol)與甲醛(180 mg, 12 mmol)在甲苯(20 mL)中之混合物在130°C下攪拌過夜。將該反應混合物在真空中濃縮，得到呈灰白色固體之標題化合物(2.1 g, 99+%)。ES/MS  $m/z = 344$  (M+H)。

【0089】

**製備28**

3-(吡啶-4-基)-1-((2-(三甲基矽基)乙氧基)甲基)-1,5,6,7-四氫-4H-吡

## 唑并[3,4-d]嘧啶-4-酮

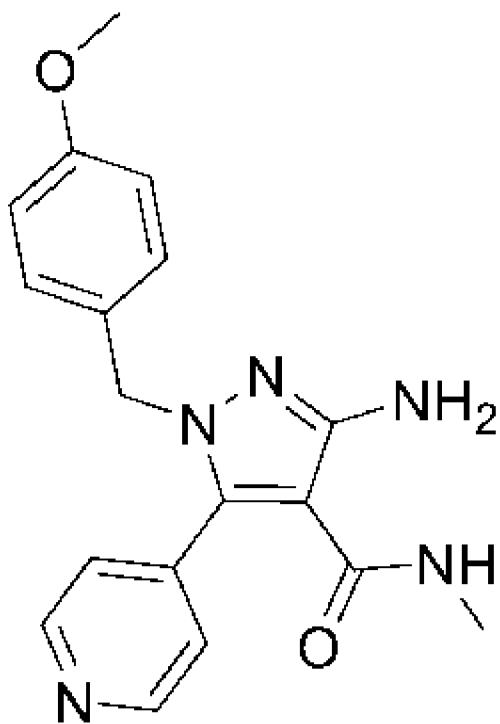


【0090】 向3-(吡啶-4-基)-1-((2-(三甲基矽基)乙氧基)甲基)-1,5-二氫-4H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-酮(2.1 g, 6 mmol)在EtOH (20 mL)中之混合物添加NaBH<sub>4</sub> (1.14 g, 30 mmol)中，將其在環境溫度下攪拌0.5 h。將該混合物在真空中濃縮。將殘留物經由矽膠急速層析法用DCM中之13% MeOH溶析來純化，得到呈灰白色固體之標題化合物(700 mg, 34%)。ES/MS m/z = 346 (M+H)。

【0091】

**製備29**

3-胺基-1-(4-甲氧基苄基)-N-甲基-5-(吡啶-4-基)-1H-吡唑-4-甲醯胺

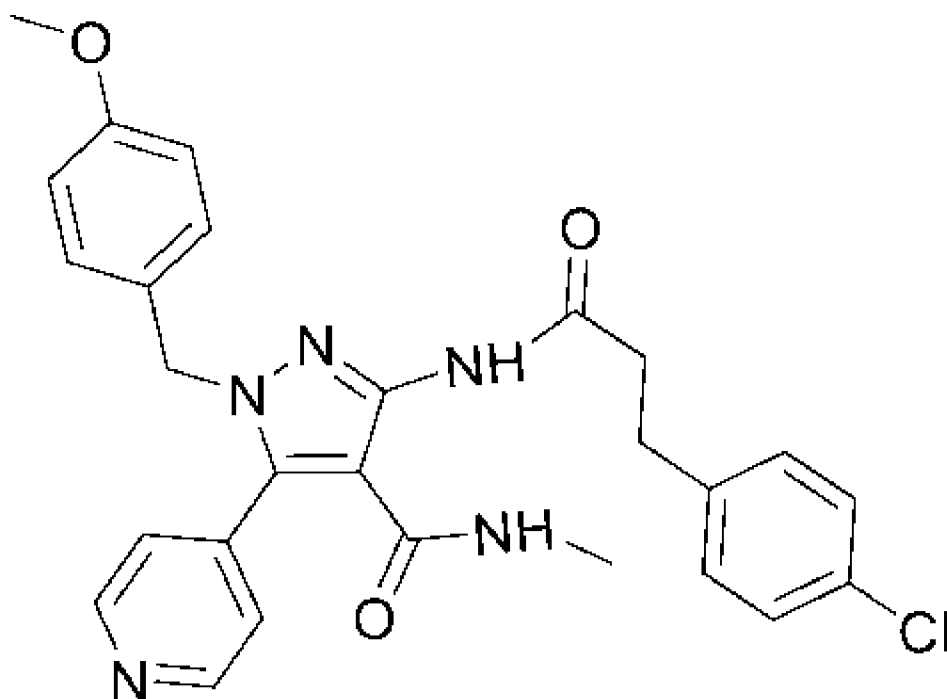


【0092】 將3-胺基-1-[(4-甲氧基苄基)甲基]-5-(4-吡啶基)吡唑-4-羧酸(1.2 g, 3.7 mmol)、甲胺鹽酸鹽(726 mg, 11 mmol)、HATU (1.7 g, 4.4 mmol)及DIPEA (1.4 g, 11 mmol)在DMA (10 mL)中之混合物在環境溫度下攪拌6小時。向該反應混合物中添加水(50 mL)，然後用EtOAc (100 mL x 2)萃取。合併有機層經乾燥且在真空中濃縮得到粗產物，將該粗產物經由矽膠急速層析法用DCM中之10% MeOH溶析來純化，得到呈黃色固體之標題化合物(250 mg, 20%)。ES/MS  $m/z = 338$  (M+H)。

### 【0093】

#### 製備30

3-(3-(4-氯苄基)丙醯胺基)-1-(4-甲氧基苄基)-N-甲基-5-(吡啶-4-基)-1H-吡唑-4-甲醯胺

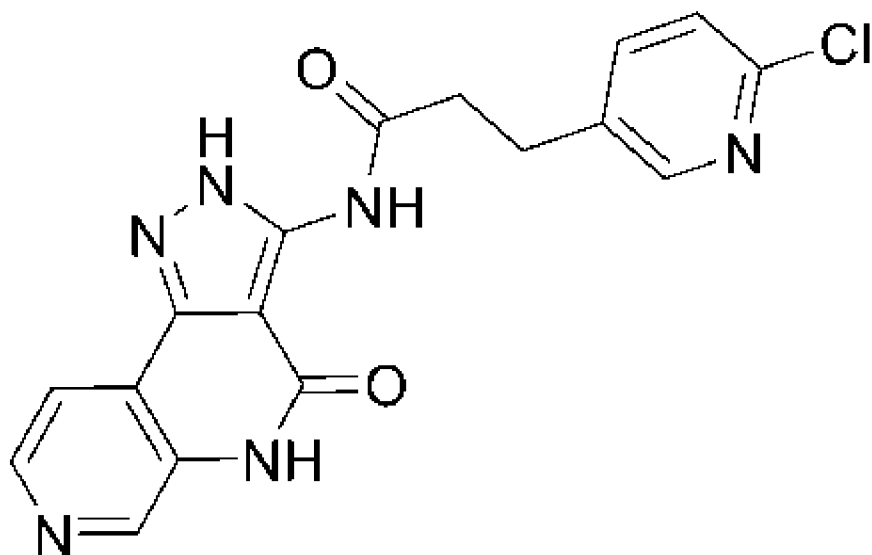


【0094】 將3-胺基-1-(4-甲氧基苄基)-N-甲基-5-(吡啶-4-基)-1H-吡啶-4-甲醯胺 (250 mg, 0.7 mmol)、3-(4-氯苯基)丙酸 (250 mg, 0.7 mmol)、T3P (700 mg, 2.2 mmol)及DIPEA (193 mg, 1.5 mmol)在DMA (6 mL)中之混合物於環境溫度下攪拌3小時。向該反應混合物添加水(10 mL)，用EtOAc (40 mL x 2)萃取。合併有機層經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，且在真空中濃縮，得到粗產物，將該粗產物經由矽膠急速層析法用2:1石油醚:EtOAc溶析來純化，得到呈白色固體之標題化合物(240 mg, 65%)。ES/MS m/z = 504 (M+H)。

【0095】

### 實例1

3-(6-氯吡啶-3-基)-N-(4-側氧基-4,5-二氫-2H-吡啶并[4,3-c][1,7]萘啶-3-基)丙醯胺



【0096】 步驟1：將3-胺基-1-(4-甲氧基苄基)-1,5-二氫-4H-吡啶并[4,3-c][1,7]萘啶-4-酮(1.6 g, 5.0 mmol)、3-(6-氯吡啶-3-基)丙酸(3.7 g, 20 mmol)、T3P (6.4 g, 20 mmol)及DIPEA (2.6 g, 20 mmol)在DMA (20 mL)中之混合物在85°C下攪拌16小時。將水(30 mL)添加至該反應混合物中，且用EtOAc (100 mL x 2)萃取該混合物。合併有機層經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，且在真空中濃縮，得到呈黃色固體之3-(6-氯吡啶-2-基)-N-(5-(3-(6-氯吡啶-2-基)丙醯基)-1-(4-甲氧基苄基)-4-側氧基-4,5-二氫-1H-吡啶并[4,3-c][1,7]萘啶-3-基)丙醯胺(1.5 g, 45%)。ES/MS m/z = 656 (M+H)。

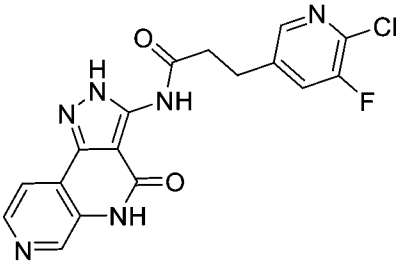
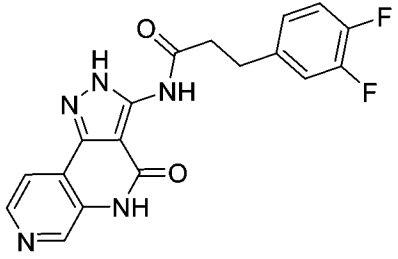
【0097】 步驟2：將3-(6-氯吡啶-2-基)-N-(5-(3-(6-氯吡啶-2-基)丙醯基)-1-(4-甲氧基苄基)-4-側氧基-4,5-二氫-1H-吡啶并[4,3-c][1,7]萘啶-3-基)丙醯胺(1.5 g, 2.3 mmol)及K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (345 mg, 2.5 mmol)在MeOH (20 mL)中之混合物在60°C下攪拌2小時。向該反應混合物中添加水(40 mL)及EtOAc (80 mL)。將所得固體過濾，且將該濾餅在真空中乾燥得到呈黃色固體之3-(6-氯吡啶-2-基)-N-(1-(4-甲氧基苄基)-4-側氧基-4,5-二氫-1H-吡啶并[4,3-c][1,7]萘啶-3-基)丙醯胺(1.0 g, 91%)。ES/MS m/z = 489 (M+H)。

【0098】 步驟3：將TFA (10 mL)添加至3-(6-氯吡啶-2-基)-N-(1-(4-甲氧基苄基)-4-側氧基-4,5-二氫-1H-吡啶并[4,3-c][1,7]萘啶-3-基)丙醯胺 (1.0 g, 2.0 mmol)在DCM (10 mL)中之混合物中，且將該反應混合物在環境溫度下攪拌4小時。將該反應混合物在真空中濃縮，得到粗產物。向該粗產物添加水(2 mL)及飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(8 mL)。將所得沉澱物過濾且在真空中乾燥，得到呈白色固體之標題化合物(668 mg, 88%)。ES/MS m/z = 369 (M+H)。

【0099】 表6中之化合物係以基本上與見於實例1中之方式類似之方式製備。

表6

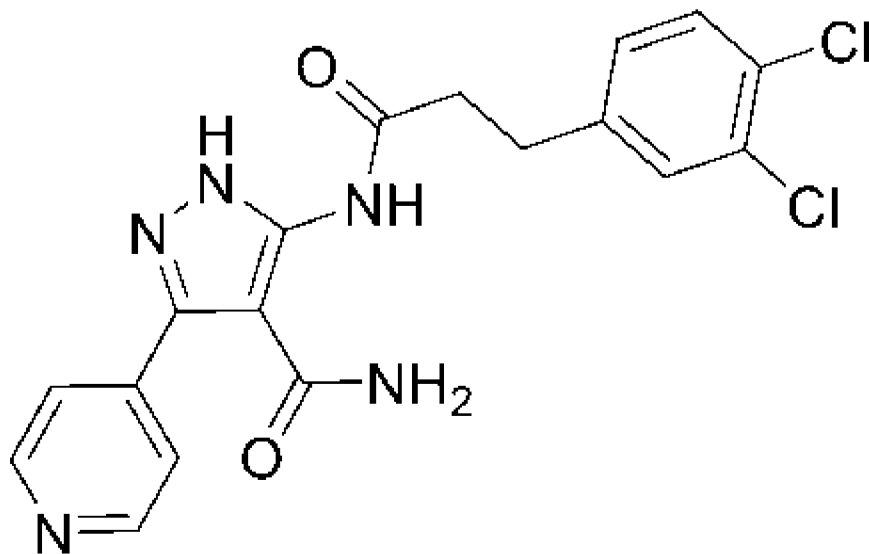
實例編號	化學名稱	結構	ES/MS m/z
2	3-(6-氯吡啶-3-基)-N-(4-側氧基-4,5-二氫-2H-吡啶并[4,3-c][1,7]萘啶-3-基)丙醯胺		353 (M+H)
3	3-(4-氯苯基)-N-(4-側氧基-4,5-二氫-2H-吡啶并[4,3-c][1,7]萘啶-3-基)丙醯胺		368 (M+H)
4	3-(4-氯-3-氟苯基)-N-(4-側氧基-4,5-二氫-2H-吡啶并[4,3-c][1,7]萘啶-3-基)丙醯胺		386 (M+H)

5	3-(6-氯-5-氟-3-吡啶基)-N-(4-側氧基-2,5-二氫吡啶并[4,3-c][1,7]萘啶-3-基)丙醯胺		387 (M+H)
6	3-(3,4-二氟甲基)-N-(4-側氧基-4,5-二氫-2H-吡啶并[4,3-c][1,7]萘啶-3-基)丙醯胺		370 (M+H)

## 【0100】

## 實例7

5-(3-(3,4-二氯苯基)丙醯胺基)-3-(吡啶-4-基)-1H-吡啶-4-甲醯胺



【0101】 步驟1：將3-胺基-1-(4-甲氧基苄基)-5-(吡啶-4-基)-1H-吡啶-4-甲醯胺(200 mg, 0.6 mmol)、3-(3,4-二氯苯基)丙酸(263 mg, 1.2 mmol)、HATU (456 mg, 1.2 mmol)及DIPEA (232 mg, 1.8 mmol)在DMA (4 mL)中之混合物在65°C下攪拌3小時。向該反應混合物添加水(10 mL)，用EtOAc (30 mL x 2)萃取。合併有機層經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，且在真空中濃縮，得到呈黃色固體之3-(3-(3,4-二氯苯基)丙醯胺基)-1-(4-甲氧基苄

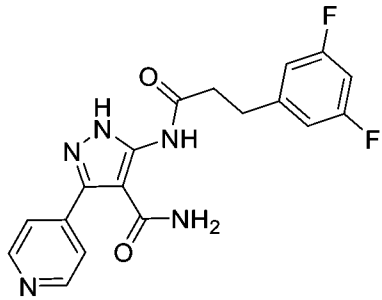
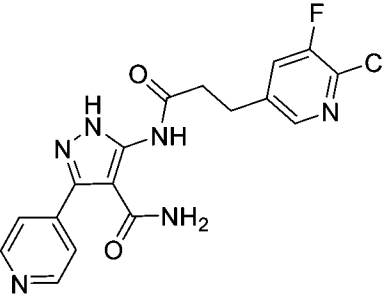
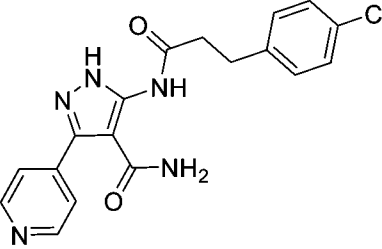
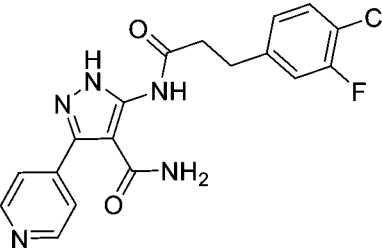
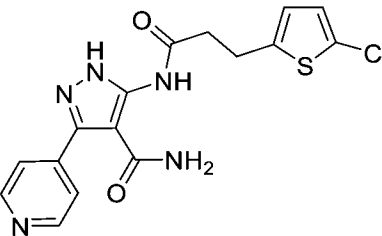
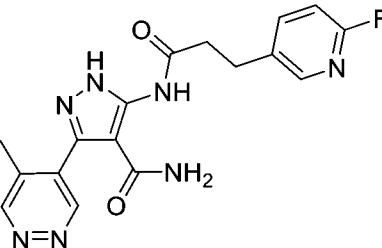
基)-5-(吡啶-4-基)-1H-吡唑-4-甲醯胺(200 mg, 62%)。ES/MS  $m/z = 524$  (M+H)。

【0102】 步驟2：向3-(3-(3,4-二氯苯基)丙醯胺基)-1-(4-甲氧基苄基)-5-(吡啶-4-基)-1H-吡唑-4-甲醯胺(200 mg, 0.38 mmol)在DCM (3 mL)中之混合物中添加TFA (3 mL)，且將該反應在環境溫度下攪拌4小時。將該反應混合物在真空中濃縮。向殘留物中添加水(2 mL)及飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(10 mL)。將所得沉澱物過濾且在真空中乾燥，得到呈白色固體之標題化合物(137 mg, 88%)。ES/MS  $m/z = 404$  (M+H)。

【0103】 表7中之化合物係以基本上與見於實例7中之方式類似之方式製備。

表7

實例編號	化學名稱	結構	ES/MS $m/z$
8	5-(3-(3,4-二氟苯基)丙醯胺基)-3-(吡啶-4-基)-1H-吡唑-4-甲醯胺		372 (M+H)
9	5-(3-(6-氯吡啶-3-基)丙醯胺基)-3-(吡啶-4-基)-1H-吡唑-4-甲醯胺		371 (M+H)
10	5-(3-(4-氟苯基)丙醯胺基)-3-(吡啶-4-基)-1H-吡唑-4-甲醯胺		354 (M+H)

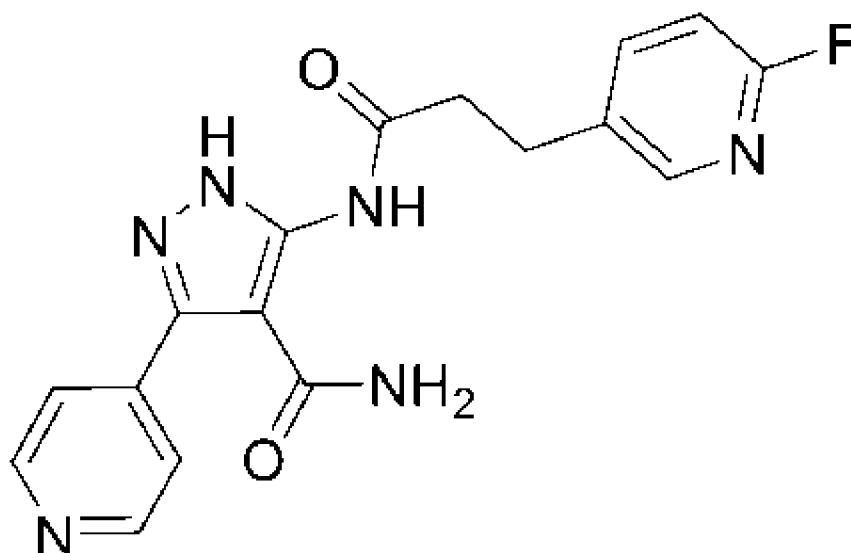
11	5-(3-(3,5-二氟苯基)丙醯胺基)-3-(吡啶-4-基)-1H-吡唑-4-甲醯胺		372 (M+H)
12	5-(3-(6-氯-5-氟吡啶-3-基)丙醯胺基)-3-(吡啶-4-基)-1H-吡唑-4-甲醯胺		389 (M+H)
13	5-(3-(4-氯苯基)丙醯胺基)-3-(吡啶-4-基)-1H-吡唑-4-甲醯胺		370 (M+H)
14	5-(3-(4-氯-3-氟苯基)丙醯胺基)-3-(吡啶-4-基)-1H-吡唑-4-甲醯胺		388 (M+H)
15	5-(3-(5-氯噻吩-3-基)丙醯胺基)-3-(吡啶-4-基)-1H-吡唑-4-甲醯胺		376 (M+H)
16	5-(3-(6-氟吡啶-3-基)丙醯胺基)-3-(5-甲基噻嗪-4-基)-1H-吡唑-4-甲醯胺		370 (M+H)

17	5-(3-(4-氯-3-氟苯基)丙醯胺基)-3-(5-甲基噁嗪-4-基)-1H-吡啶-4-甲醯胺		403 (M+H)
18	5-(3-(6-氟吡啶-3-基)丙醯胺基)-N-甲基-3-(噁嗪-4-基)-1H-吡啶-4-甲醯胺		371 (M+H)
19	5-(3-(6-氟吡啶-3-基)丙醯胺基)-3-(噁嗪-4-基)-1H-吡啶-4-甲醯胺		357 (M+H)
20	5-(3-(6-氯-5-氟吡啶-3-基)丙醯胺基)-3-(噁嗪-4-基)-1H-吡啶-4-甲醯胺		391 (M+H)
21	5-(3-(4-氯-3-氟苯基)丙醯胺基)-3-(噁嗪-4-基)-1H-吡啶-4-甲醯胺		390 (M+H)

## 【0104】

## 實例22

5-(3-(6-氟吡啶-3-基)丙醯胺基)-3-(吡啶-4-基)-1H-吡啶-4-甲醯胺



【0105】 步驟1：將3-胺基-1-(4-甲氧基苄基)-5-(吡啶-4-基)-1H-吡唑-4-羧酸(4.0 g, 12.3 mmol)、(2,4-二甲氧基苄基)甲胺(3.4 g, 18.5 mmol)、HATU (5.6 g, 14.8 mmol)及DIPEA (3.2 g, 24.6 mmol)在DMF (50 mL)中之混合物在環境溫度下攪拌3小時。向該反應混合物添加水(50 mL)，用EtOAc (100 mL x 2)萃取。合併有機層經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，且在真空中濃縮。將殘留物經由矽膠急速層析法用DCM中之10% MeOH溶析來純化，得到呈黃色固體之3-胺基-N-(2,4-二甲氧基苄基)-1-(4-甲氧基苄基)-5-(吡啶-4-基)-1H-吡唑-4-甲醯胺(2.0 g, 35%)。ES/MS m/z = 474 (M+H)。

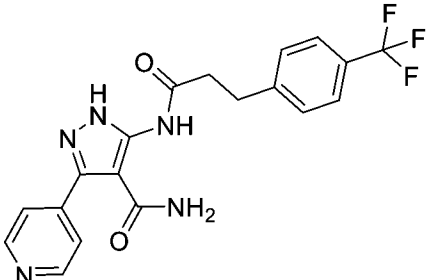
【0106】 步驟2：將3-胺基-N-(2,4-二甲氧基苄基)-1-(4-甲氧基苄基)-5-(吡啶-4-基)-1H-吡唑-4-甲醯胺(100 mg, 0.2 mmol)、3-(6-氟吡啶-3-基)丙酸(68 mg, 0.4 mmol)、T3P (382 mg, 0.6 mmol)及DIPEA (52 mg, 0.4 mmol)在DMA (3 mL)中之混合物在環境溫度下攪拌3小時。將該反應混合物在真空中濃縮。將所得殘留物經由矽膠急速層析法用DCM中之5% MeOH溶析來純化，得到呈白色固體之N-(2,4-二甲氧基苄基)-3-(3-(6-氟吡啶-2-基)丙醯胺基)-1-(4-甲氧基苄基)-5-(吡啶-4-基)-1H-吡唑-4-甲

醯胺(100 mg, 76%)。ES/MS  $m/z = 625$  (M+H)。

【0107】 步驟3：向N-(2,4-二甲氧基苄基)-3-(3-(6-氟吡啶-2-基)丙醯胺基)-1-(4-甲氧基苄基)-5-(吡啶-4-基)-1H-吡啶-4-甲醯胺(100 mg, 0.15 mmol)在DCM (2 mL)中之混合物添加TFA (1 mL)及TfOH (0.2 mL)。將該混合物在環境溫度下攪拌2小時，然後在真空中濃縮。向殘留物添加水(10 mL)及飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(50 mL)，且將該混合物用EtOAc (150 mL x 2)萃取。合併有機層經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，且在真空中濃縮。將所得殘留物藉由製備型HPLC (水:MeCN = 2:3)純化，得到呈白色固體之標題化合物(11 mg, 19%)。ES/MS  $m/z = 355$  (M+H)。

【0108】 表8中之化合物係以基本上與見於實例22中之方式類似之方式製備。

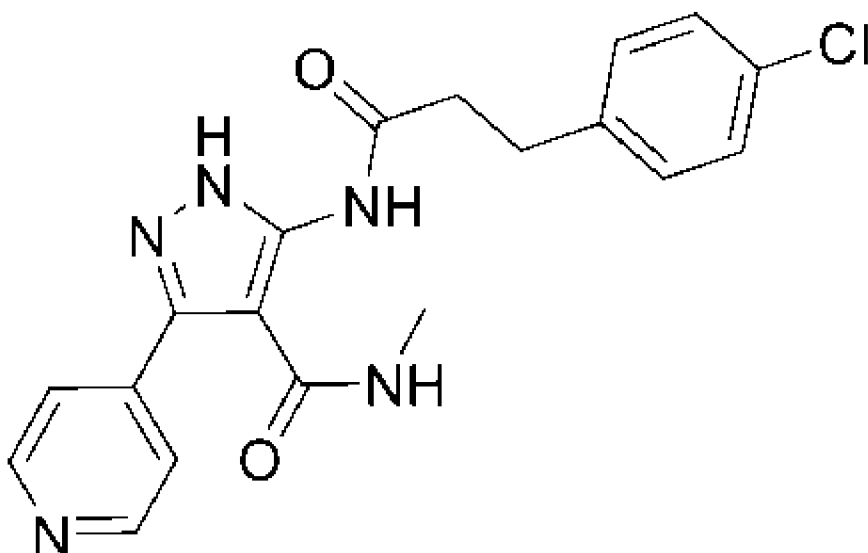
表8

實例編號	化學名稱	結構	ES/MS $m/z$
23	3-(吡啶-4-基)-5-(3-(4-(三氟甲基)苯基)丙醯胺基)-1H-吡啶-4-甲醯胺		404 (M+H)

【0109】

### 實例24

3-(3-(4-氯苯基)丙醯胺基)-N-甲基-5-(吡啶-4-基)-1H-吡啶-4-甲醯胺

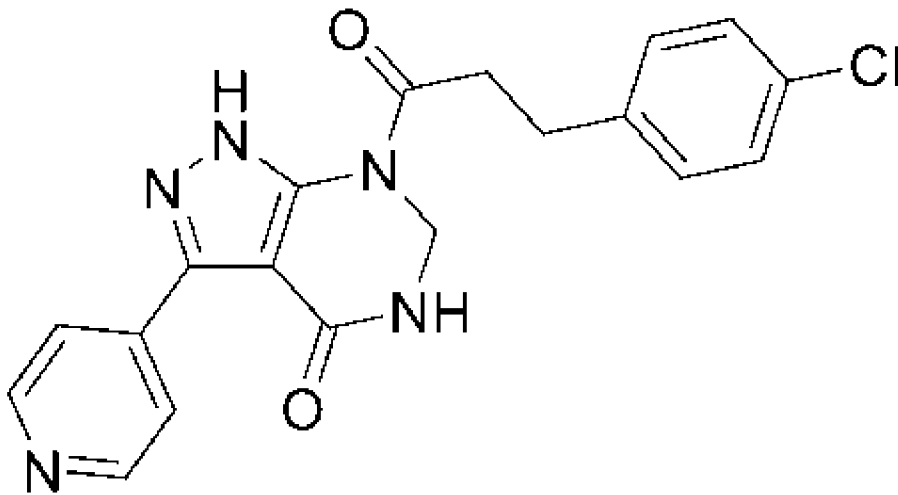


【0110】 向3-(3-(4-氯苯基)丙醯胺基)-1-(4-甲氧基苄基)-N-甲基-5-(吡啶-4-基)-1H-吡啶-4-甲醯胺(240 mg, 0.5 mmol)在DCM (2 mL)中之混合物添加TFA (2 mL)。將該混合物在環境溫度下攪拌2小時，然後在真空中濃縮。向所得殘留物添加水(4 mL)及飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(16 mL)，將其用EtOAc (40 mL x 2)萃取。合併有機層經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，且在真空中濃縮。將該殘留物經由矽膠急速層析法用5:1 DCM: MeOH溶析來純化，得到呈白色固體之標題化合物(80 mg, 44%)。ES/MS m/z = 384 (M+H)。

【0111】

### 實例25

7-(3-(4-氯苯基)丙醯基)-3-(吡啶-4-基)-1,5,6,7-四氫-4H-吡啶并[3,4-d]嘧啶-4-酮



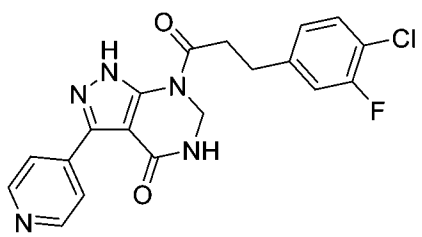
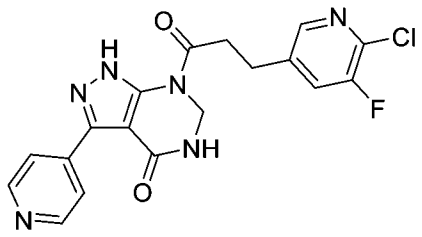
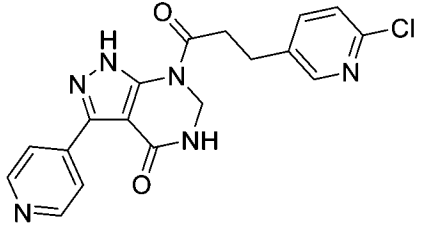
【0112】 步驟1：將3-(吡啶-4-基)-1-((2-(三甲基矽基)乙氧基)甲基)-1,5,6,7-四氫-4H-吡啶并[3,4-d]嘧啶-4-酮(150 mg, 0.4 mmol)、3-(4-氯苯基)丙酸(93 mg, 0.5 mmol)、T3P (226 mg, 0.7 mmol)及DIPEA (0.2 mL)在DMA (5 mL)中之混合物在100°C下攪拌過夜。向該混合物添加飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(30 mL)，然後將其用EtOAc (30 mL x 3)萃取。合併有機層經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，且在真空中濃縮。將殘留物經由矽膠急速層析法用DCM中之3% MeOH溶析來純化，得到呈黃色固體之7-(3-(4-氯苯基)丙醯基)-3-(吡啶-4-基)-1-((2-(三甲基矽基)乙氧基)甲基)-1,5,6,7-四氫-4H-吡啶并[3,4-d]嘧啶-4-酮(140 mg, 63%)。ES/MS m/z = 512 (M+H)。

【0113】 步驟2：向7-(3-(4-氯苯基)丙醯基)-3-(吡啶-4-基)-1-((2-(三甲基矽基)乙氧基)甲基)-1,5,6,7-四氫-4H-吡啶并[3,4-d]嘧啶-4-酮 (140 mg, 0.27 mmol)、TFA (1 mL)及DCM (5 mL)之混合物在環境溫度下攪拌2小時。將該混合物在真空中濃縮。將殘留物藉由製備型HPLC (C18, 10 mMol NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>中之MeCN; 9 min內22至52%, rt = 10.8 min)純化，得到呈白色固體之標題化合物(4.4 mg, 4.2%)。ES/MS m/z = 382 (M+H)。

【0114】 表9中之實例基本上與實例25中所述相同使用適當起始材

料及試劑製備。

表9

實例	化學名稱	結構	ES/MS m/z
26	7-(3-(4-氯-3-氟苯基)丙醯基)-3-(吡啶-4-基)-1,5,6,7-四氫-4H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-酮		400 (M+H)
27	7-(3-(6-氯-5-氟吡啶-3-基)丙醯基)-3-(吡啶-4-基)-1,5,6,7-四氫-4H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-酮		401 (M+H)
28	7-(3-(6-氯吡啶-3-基)丙醯基)-3-(吡啶-4-基)-1,5,6,7-四氫-4H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-酮		383 (M+H)

**【0115】 ARM-SAM-TIR SARM1 IC50分析**

**【0116】** 此描述ARM-SAM-TIR NADase活性分析，及使用該分析測量本發明之化合物阻斷SARM1介導之NAD<sup>+</sup>裂解之功效。該分析以使得表徵本發明之化合物抑制SARM1活性之功效且計算各化合物之IC50值之方式進行優化。該分析利用全長SARM1，其涵蓋ARM、SAM及TIR域。如本文中所示，不含自抑制N端域之此片段之表現產生裂解NAD<sup>+</sup>之組成活性酵素。

**【0117】 ARM-SAM-TIR溶解物(STL)之製備**

**【0118】** 將NRK1-HEK293T細胞以每盤20 x 10<sup>6</sup>個細胞接種至150 cm<sup>2</sup>盤上。第二天，將該等細胞用15 μg ARM-SAM-TIR表現質體(SEQ ID NO: 1，如WO 2019/236879，第77-81頁；段[0310]中所揭示)轉染。

【0119】轉染時，在培養物中補充1 mM NR，以最小化ARM-SAM-TIR過度表現之毒性。轉染後48小時，收集細胞，以1,000 rpm離心(Sorvall ST 16R離心機，Thermo Fisher)集結，且用冷PBS (0.01 M磷酸鹽緩衝鹽水NaCl 0.138 M；KCl 0.0027 M；pH 7.4)清洗。將該等細胞再懸浮於含有蛋白酶抑制劑(Complete™蛋白酶抑制劑混合液，羅氏產物# 11873580001)之PBS中，且藉由音振作用(Branson Sonifer 450，輸出= 3，20次衝程(20 episodes of stroke))製備細胞溶解物。將該等溶解物離心(在4°C下12,000×g 10 min)以移除細胞碎片，且將上清液(含有ARM-SAM-TIR蛋白)在-80°C下儲存，以供後續用於活體外ARM-SAM-TIR NADase分析(參見下文)。蛋白質濃度係藉由二喹啉甲酸(BCA)法測定，且用於標準化溶解物濃度。

【0120】式I化合物之ARM-SAM-TIR IC<sub>50</sub>分析。

【0121】酵素分析係在384孔聚丙烯盤上在杜氏PBS緩衝液(Dulbecco's PBS buffer)中進行，最終分析體積為20 μL。最終濃度為5 μg/mL之ARM-SAM-TIR溶解物用各別化合物以1% DMSO最終分析濃度在室溫下預培養2小時。該反應係藉由添加5 μM最終分析濃度之NAD<sup>+</sup>作為受質開始。2小時環境溫度培養後，將該反應用7.5%三氯乙酸於乙腈中之停止溶液40 μL終止。NAD<sup>+</sup>及ADPR濃度係藉由RapidFire高通量質譜系統(Agilent Technologies，Santa Clara，CA)使用API4000三重四極柱質譜儀(AB Sciex Framingham，MA)進行分析。

【0122】結果如下表10中所示。具有指定為「A」之活性之化合物提供IC<sub>50</sub> < 50 nM；具有指定為「B」之活性之化合物提供IC<sub>50</sub> 51至100 nM；具有指定為「C」之活性之化合物提供IC<sub>50</sub> 101至500 nM；具有指

定為「D」之活性之化合物提供IC<sub>50</sub> 501至1000 nM；具有指定為「E」之活性之化合物提供IC<sub>50</sub> >1000 nM。

表10：hSARM1 IC<sub>50</sub>分析

實例編號	IC <sub>50</sub> (nM)
1	C
2	C
3	A
4	A
5	B
6	A
7	B
8	C
9	C
10	C
11	D
12	C
13	A
14	A
15	C
16	E
17	D
18	E
19	E
20	C
21	B
22	D
23	C
24	C
25	C
26	C
27	E
28	E

【0123】 上表10中所示之結果證實本發明之化合物具有hSARM1抑制活性。







q係0或1；

或其醫藥上可接受之鹽。

**【請求項9】**

如請求項8之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R^1$ 及 $R^2$ 各獨立地選自H、甲基、乙基、正丙基及異丙基。

**【請求項10】**

如請求項1至9中任一項之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中X係CH。

**【請求項11】**

如請求項1至9中任一項之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中X係N。

**【請求項12】**

如請求項1至9中任一項之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中n係1。

**【請求項13】**

如請求項6之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中p係1。

**【請求項14】**

如請求項8之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中q係0。

**【請求項15】**

如請求項1至9中任一項之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R^5$ 係視需要經1至3個 $R^m$ 取代之苯基。

**【請求項16】**

如請求項1至9中任一項之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R^5$ 係









一種如請求項1至19中任一項之化合物或其醫藥上可接受之鹽或如請求項20之醫藥組合物之用途，其係用於製造用於治療或預防病患中與SARM1活化相關的疾病之藥物。

**【請求項23】**

一種如請求項1至19中任一項之化合物或其醫藥上可接受之鹽或如請求項20之醫藥組合物之用途，其係用於製造用於治療或預防病患中選自以下的疾病之藥物：肌肉萎縮性脊髓側索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis；ALS)、多發性硬化症(multiple sclerosis；MS)、糖尿病性神經病變及化學療法誘導之周圍神經病變。