

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：97141220 (由921073885案引)

※ 申請日期：92.4.1

※IPC 分類：A61K31/4045 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

吲哚基順丁烯二醯亞胺衍生物

INDOLYLMALEIMIDE DERIVATIVES

C07D209/64 (2006.01)

C07D403/14 (2006.01)

C07D403/64 (2006.01)

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

瑞士商諾華公司

NOVARTIS AG

代表人：(中文/英文)

1. 漢斯 魯道夫 豪斯
HANS-RUDOLF HAUS

2. 亨里特 布魯諾
HENRIETTE BRUNNER

住居所或營業所地址：(中文/英文)

瑞士巴塞爾市利曲街35號

LICHSTRASSE 35, 4056 BASEL, SWITZERLAND

國 籍：(中文/英文)

瑞士 SWITZERLAND

三、發明人：(共 4 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 尚-皮耶 艾維農
JEAN-PIERRE EVENOU
2. 彼得 馮馬特
PETER VON MATT
3. 尤更 華格內
JURGEN WAGNER
4. 蓋哈德 策奈克
GERHARD ZENKE

國 籍：(中文/英文)

1. 法國 FRANCE
2. 瑞士 SWITZERLAND
3. 德國 GERMANY
4. 德國 GERMANY

四、聲明事項：

☐主張專利法第二十二條第二項☐第一款或☐第二款規定之事實，其實發生日期為： 年 月 日。

☒申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☒有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 英國；2002年04月03日；0207729.5

2. 英國；2003年02月13日；0303323.0

☐無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1.

2.

☐主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☐主張專利法第三十條生物材料：

☐須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☐不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

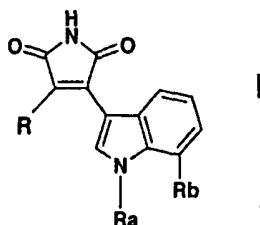
【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一種吡啶基順丁烯二醯亞胺衍生物，其製法及含彼等之醫藥組合物。

【發明內容】

本發明係關於一種吡啶基順丁烯二醯亞胺衍生物，其製法及含彼等之醫藥組合物。

更特別地，本發明提供一種式I化合物

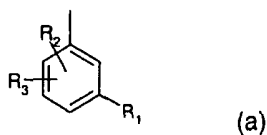


其中

R_a 為 H； CH_3 ； CH_2-CH_3 或異丙基，

R_b 為 H；鹵素； C_{1-6} 烷氧基或 C_{1-6} 烷基，及以下之一

I. R 為式(a)之基團



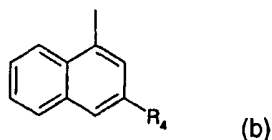
其中

R_1 為六氫吡啶-1-基，其視情況地在3或4位置經 CH_3 取代；或4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基；

R_2 為 Cl；Br； CF_3 或 CH_3 ；及

R_3 為 H ; CH_3 或 CF_3 ; 在 R_3 為 H , R_a 為 H 或 CH_3 , R_b 為 H 及
 R_1 為 4-甲基-1-六氫吡咩基時 , R_2 不為 CH_3 或 Cl ; 或

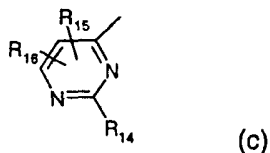
II. R 為式 (b) 之基團



其中

R_4 為 1-六氫吡咩基 , 其在 3 及 / 或 4 位置經 CH_3 取代 ; 或
 4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基 ; 在 R_4 為 4-甲基-1-六氫吡咩基
 時 , R_a 不為 H 或 CH_3 ; 或

III. R 為式 (c) 之殘基



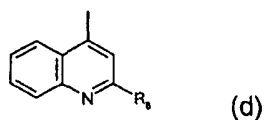
其中

R_{14} 為 1-六氫吡咩基 , 其視情況地在 3 及 / 或 4 位置經 CH_3
 取代 , 或在 3 位置經乙基、苯基- C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基
 $-\text{C}_{1-4}$ 烷基或鹵素- C_{1-4} 烷基取代 ; 或 4,7-二氮螺[2.5]辛
 -7 -基 ;

R_{15} 為鹵素 ; CF_3 或 CH_3 ; 在 R_{16} 為 CH_3 , R_a 為 H 或 CH_3 ,
 R_b 為 H 及 R_{14} 為 4-甲基-1-六氫吡咩基時 , R_{15} 不為 CH_3 ; 及
 R_{16} 為 H ; CH_3 ; CH_2-CH_3 或 CF_3 ; 在 R_{15} 為 Cl , R_a 為 H 或

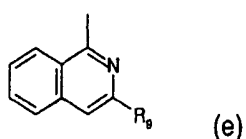
CH_3 ， R_b 為H及 R_{14} 為4-甲基-1-六氫吡啶基時， R_{16} 不為H；或

IV. R為式(d)之基團



其中 R_8 為1-六氫吡啶基、3-甲基-六氫吡啶-1-基或4-苄基-六氫吡啶-1-基；或

V. R為式(e)之基團



其中 R_9 為4,7-二氫螺[2.5]辛-7-基；或六氫吡啶-1-基，其在3位置經甲基或乙基取代，而且視情況地在4位置經甲基取代。

式I化合物可以自由形式或以鹽形式存在，例如，有機或無機酸(例如，氫氯酸、乙酸、三氟乙酸)之加成鹽。

應了解式I化合物可以光學異構物、外消旋物或非立體異構物之形式存在。例如，在六氫吡啶基殘基之3位置帶有取代基之環碳原子為不對稱且可具有R-或S-組態。應了解本發明包含所有鏡像異構物及其混合物。鏡像異構物優於外消旋物。關於呈現所述不對稱碳原子之原料可應用類似之

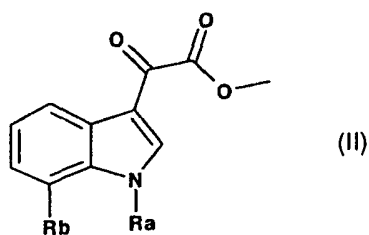
考量。

烷基或烷氧基可為直鏈或分支。苯基- C_{1-4} 烷基較佳為苄基或苯乙基。在 C_{1-4} 烷氧基- C_{1-4} 烷基中，烷氧基部份較佳為甲氧基或乙氧基，及烷基部份較佳為甲基或乙基；適宜之實例為，例如，2-甲氧基乙基。鹵素可為F、Cl、Br或I，較佳為F、Cl或Br。鹵素- C_{1-4} 烷基為其中一或多個H經鹵素（例如，Cl或F）置換之烷基，例如， CH_2Cl 、 CH_2F 或 CF_3 。

R較佳為式(a)、(c)或(e)，較佳為(e)。

在式(a)或(c)之基團中， R_2 或 R_{15} 較佳為各對 R_1 或 R_{14} 為對位。 R_3 較佳為對 R_1 為間位。在式(e)之基團中， R_9 較佳為4,7-二氫螺[2.5]辛-7-基；在 R_9 為在3位置經取代之六氫吡啶基時，其具有R或S組態。

本發明亦包括一種製備式I化合物之方法，此方法包含式II化合物



其中 R_a 與 R_b 如以上所定義，

與式III化合物反應



其中R如以上所定義，

及在需要之處，將以自由形式得到之所得式I化合物轉化成

鹽形式或在適當之處反之。

此方法可在強鹼(例如，t-BuOK)存在下方便地進行，例如，如 WO 02/38561 專利所揭示，此揭示在此併入作為參考，而且如實例所描述。

式 II 與 III 化合物可依照已知方法製備，例如，如 WO 02/38561 專利所揭示，此揭示在此併入作為參考，而且如實例所描述。

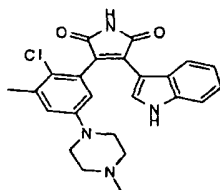
雖然並未特別地敘述原料製造，化合物為已知的，或可如此技藝已知之方法或如下所述類似地製備。

以下實例為本發明之描述而無任何限制。

RT	=	室溫
THF	=	四氫呋喃
FCC	=	急驟管柱層析術
TBAF	=	氟化四丁銨
BINAP	=	2,2'-貳(二苯膦)-1,1'-聯萘
$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$	=	$\text{Pd}(0)$ -貳(二亞苄基丙酮)

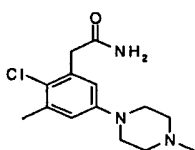
【實施方式】

實例 1： 3-[2-氯-3-甲基-5-(4-甲基-六氫吡啶-1-基)-苯基]-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯-2,5-二酮



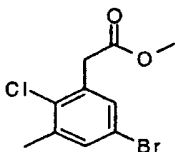
將 2-[2-氯-3-甲基-5-(4-甲基-六氫吡啶-1-基)-苯基]-乙醯胺 (211 毫克, 0.75 毫莫耳) 與 3-吡啶乙醛酸酯 (270 毫克, 1.35 毫莫耳) 溶於 THF (5 毫升)。加入第三 BuOK 於 THF (2.98 毫升, 4 當量) 之 1.0 M 溶液且混合物在 35°C 攪拌過夜。將反應以 AcOEt (20 毫升) 稀釋且以 H₂O (20 毫升) 與鹽水 (10 毫升) 清洗。將有機相以 Na₂SO₄ 乾燥且將溶劑蒸發。殘渣藉 FCC 純化 (AcOEt/AcOH/H₂O 7:1:1) 而提供於其乙酸鹽形式之標題化合物。¹H NMR (DMSO, 400 MHz) δ 2.16 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.32-2.38 (m, 4H), 2.97-3.10 (m, 4H), 6.61 (d, J=8.0 Hz, 1H), 6.71-6.77 (m, 2H), 7.04 (d, J=2.8 Hz, 1H), 7.08 (dd, J=7.4, 7.2 Hz, 1H), 7.41 (d, J=8.2 Hz, 1H), 7.98 (d, J=1.5 Hz, 1H), 11.05 (br s, 1H), 11.90 (br s, 1H); ES-MS: 435 [M+H]⁺。

作為原料之 2-[2-氯-3-甲基-5-(4-甲基-六氫吡啶-1-基)-苯基]-乙醯胺可如下製備：



將 (5-溴-2-氯-3-甲基-苯基)-乙酸甲酯 (2.0 克, 7.2 毫莫耳)、N-甲基六氫吡啶 (960 微升, 8.6 毫莫耳) 與 Cs₂CO₃ (3.3 克, 10.1 毫莫耳) 懸浮在甲苯 (80 毫升) 中。加入 Pd(OAc)₂ (81 毫克, 0.36 毫莫耳) 與 BINAP (224 毫克, 0.36 毫莫耳) 且反應在 100 °C 攪拌過夜。使混合物經矽藻土過濾且將溶劑蒸發。殘渣

藉 FCC 純化 (AcOEt/AcOH/H₂O 60:15:15) 而提供 2-[2-氯-3-甲基-5-(4-甲基-六氫吡咩-1-基)-苯基]-乙酸甲酯。將酯懸浮在 25% 之 NH₄OH (60 毫升) 中。混合物在 RT 攪拌過夜且將沉澱濾出而產生醯胺。¹H NMR (DMSO, 400 MHz) δ 2.20 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 2.40-2.45 (m, 4H), 3.07-3.13 (m, 4H), 3.48 (s, 2H), 6.78 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 6.91 (br s, 1H), 7.34 (br s, 1H)。



將 CuCl₂ (8.0 克, 0.06 莫耳) 與第三丁腈 (8.9 毫升, 0.074 莫耳) 懸浮在乙腈 (60 毫升) 中。在 20°C 逐滴加入 1,1-二氯乙烯。加入溶於乙腈 (60 毫升) 之 5-溴-2-氯-3-甲基-苯基胺 (11.0 克, 0.05 莫耳), 而且反應在 RT 攪拌 3 小時。將混合物倒入 HCl 之 20% 水溶液 (150 毫升) 且將水相以 CH₂Cl₂ 萃取 (2×150 毫升)。將有機相以 Na₂SO₄ 乾燥且將溶劑蒸發。殘渣藉 FCC 純化 (己烷/CH₂Cl₂ 9:1) 而提供 5-溴-2-氯-1-甲基-3-(2,2,2-三氯-乙基)-苯。將中間物再溶於 MeOH (80 毫升) 且加熱至 70°C。逐滴加入 NaOMe 於 MeOH 之 5.4 M 溶液 (28.4 毫升) 且反應在 70°C 攪拌 3 小時。將反應冷卻至 RT 且加入濃 H₂SO₄ (10 毫升)。反應在回流攪拌 1 小時。將混合物以 H₂O (200 毫升) 稀釋且以 CH₂Cl₂ 萃取 (2×200 毫升)。將組合有機相以 Na₂SO₄ 乾燥且將溶劑蒸發。殘渣藉 FCC 純化 (己烷/CH₂Cl₂ 9:1 至 1:1) 而提

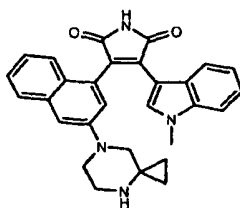
供(5-溴-2-氯-3-甲基-苯基)-乙酸甲酯。 ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 2.26 (s, 3H), 3.61 (s, 3H), 3.63 (s, 2H), 7.15 (s, 1H), 7.21 (s, 1H)。

依照實例1之步驟但是使用適當之原料，可得到其中R為如以下表1所示之式(a)殘基之式I化合物。

表 1

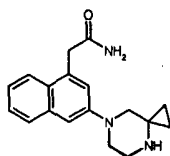
實例	R ₁	R ₂	R ₃	R _a	R _b	M.S. 資料
2	-(4-甲基-六氫吡啶-1-基)	2-CH ₃	3-CH ₃	CH ₃	H	MH ⁺ 429
3	-(4-甲基-六氫吡啶-1-基)	2-CH ₃	3-CH ₃	H	H	MH ⁺ 415
4	-(4-甲基-六氫吡啶-1-基)	2-Cl	3-CH ₃	CH ₃	H	MH ⁺ 449
5	1-六氫吡啶基	2-Cl	3-CH ₃	H	H	MH ⁺ 421
6	1-六氫吡啶基	2-Cl	3-CH ₃	CH ₃	H	MH ⁺ 435
7	3-R-甲基-六氫吡啶-1-基	2-Cl	3-CH ₃	CH ₃	H	MH ⁺ 449
8	3-R-甲基-六氫吡啶-1-基	2-Cl	3-CH ₃	H	H	MH ⁺ 435
9	1-六氫吡啶基	2-Cl	3-CF ₃	CH ₃	H	MH ⁺ 503
10	1-六氫吡啶基	2-Cl	3-CF ₃	H	H	MH ⁺ 489
11	-(4-甲基-六氫吡啶-1-基)	2-Cl	3-CH ₃	H	CH(CH ₃) ₂	MH ⁺ 477
12	-(4-甲基-六氫吡啶-1-基)	2-Cl	3-CH ₃	H	CH ₃	MH ⁺ 449
13	-(4-甲基-六氫吡啶-1-基)	2-Cl	3-CH ₃	H	CH ₂ -CH ₃	MH ⁺ 463
14	-(4-甲基-六氫吡啶-1-基)	2-Cl	3-CH ₃	H	Cl	MH ⁺ 469
15	-(4-甲基-六氫吡啶-1-基)	2-Cl	3-CH ₃	H	F	MH ⁺ 453
16	-(4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基)	2-Cl	H	H	CH ₂ -CH ₃	MH ⁺ 462
17	-(4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基)	2-Cl	H	H	Cl	MH ⁺ 468
18	-(4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基)	2-Cl	H	H	CH ₃	MH ⁺ 447
19	-(4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基)	2-Cl	H	H	H	MH ⁺ 434

實例 20： 3-[3-(4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基)-萘-1-基]-4-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-吡咯-2,5-二酮



將 2-[3-(4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基)-萘-1-基]-乙醯胺(100 毫克, 0.30 毫莫耳)與(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-氧-乙酸甲酯(97 毫克, 0.44 毫莫耳)與無水 THF 共沸三次, 然後溶於無水 THF (3 毫升)。在 RT 經 20 分鐘逐滴加入 KOtBu 於 THF (1.2 毫升) 之 1.0 M 溶液。5 分鐘後, TLC 分析顯示原料完全轉化。藉由添加水 (5 毫升) 以中止反應。將反應以 EtOAc 稀釋且以飽和 NH₄Cl 水溶液清洗 2 次。將水層以 EtOAc 反萃取 2 次。將組合有機層以 Na₂SO₄ 乾燥且將溶劑蒸發。殘渣藉 FCC 純化 (EtOAc/AcOH/H₂O 800:55:45) 而提供標題化合物如其乙醯鹽。將化合物溶於 MeOH/TFA 且將溶劑去除產生標題化合物如其三氟乙醯鹽。¹H NMR (DMSO, 400 MHz) δ 0.95 (m, 4H), 3.39 (br, 4H), 3.49 (br, 2H), 3.86 (s, 3H), 6.16 (d, J=7.9 Hz, 1H), 6.46 (dd, J=6.6/7.9 Hz, 1H), 7.00 (dd, J=6.6/7.9 Hz, 1H), 7.13 (dd, J=7.6/7.6 Hz, 1H), 7.40 (m, 4H), 7.55 (d, J=8.5 Hz, 1H), 7.78 (d, J=7.6 Hz, 1H), 8.14 (s, 1H), 9.10 (br, 2H), 11.17 (s, 1H); ES-MS: 463 [M+H]⁺。

作為原料之 2-[3-(4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基)-萘-1-基]-乙醯胺可如下製備:



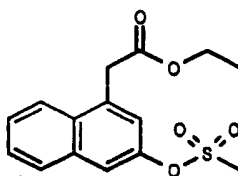
a) 將 2-[3-(4-苄基-4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基)-萘-1-基]-乙醯胺 (280 毫克, 0.73 毫莫耳) 與 HCl 於 MeOH 之 1.25 M 溶液共沸 2 次。將殘渣溶於 EtOH (10 毫升)。加入鈀於木炭上 (10%, 77 毫克), 及在氫大氣 (1 atm) 下將混合物在 RT 攪拌 14 小時及在 50°C 攪拌 2 小時。將混合物過濾及將濾液濃縮。殘渣藉 FCC 純化 (EtOAc/AcOH/H₂O 750:83:68 至 600:150:150) 而產生含 0.7 當量 AcOH 之標題化合物。¹H NMR (DMSO, 400 MHz) δ 0.53 (m, 4H), 1.78 (s, AcOH), 2.93 (ddd, 2H), 3.04 (s, 2H), 3.16 (ddd, 2H), 3.76 (s, 2H), 6.94 (br, 1H), 6.99 (s, 1H), 7.25 (dd, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.35 (dd, J=6.7/7.8, 1H), 7.49 (br, 1H), 7.69 (d, J=7.8, 1H), 7.88 (d, J=10.0, 1H); ES-MS: 296 [M+H]⁺。

b) 2-[3-(4-苄基-4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基)-萘-1-基]-乙醯胺在氫大氣下將 [3-(4-苄基-4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基)-萘-1-基]-乙酸乙酯 (347 毫克, 0.84 毫莫耳) 與甲醯胺 (126 毫克, 2.80 毫莫耳) 溶於 DMF (1 毫升)。將溶液加熱至 105°C, 及在 15 分鐘內逐滴加入 NaOMe (155 微升之於 MeOH 之 5.4 M 溶液, 45 毫克, 0.84 毫莫耳)。在 105°C 30 分鐘後, TLC 分析顯示原料完全消耗。將反應混合物冷卻至 RT, 以水稀釋, 及以 EtOAc 萃取。將 EtOAc 層以水清洗 2 次。去除溶劑及藉 FCC 純化 (EtOAc/MeOH 98:2 至 96:4 至 90:10) 產生標題化合物。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 0.71 (ddd, 2H), 0.89 (ddd, 2H), 3.10 (ddd, 2H), 3.16 (s, 2H), 3.31 (ddd, 2H), 3.93 (s, 2H),

3.99 (s, 2H), 5.33 (br, 1H), 5.42 (br, 1H), 7.11 (s, 1H), 7.23 (d, $J=2.0$, 1H), 7.32 (m, 5H), 7.37 (dd, $J=6.7$ Hz, 1H), 7.45 (dd, $J=6.7$ Hz, 1H), 7.73 (d, $J=8.9$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J=8.9$ Hz, 1H); ES-MS: 386 $[M+H]^+$ 。

c) [3-(4-苄基-4,7-二氫螺[2.5]辛-7-基)-萘-1-基]-乙酸乙酯在氬大氣下將(3-三氟甲磺醯氧基-萘-1-基)-乙酸乙酯(500毫克, 1.38毫莫耳)溶於無水THF(10毫升)。加入4-苄基-4,7-二氫螺[2.5]辛烷(325毫克, 1.61毫莫耳), 繼而加入 K_3PO_4 (410毫克, 1.93毫莫耳)、 $Pd_2(dba)_3$ (62毫克, 0.069毫莫耳)與聯苯-2-基-二第三丁基磷酸酯(21毫克, 0.069毫莫耳)。將反應混合物加熱至 $80^\circ C$ 。4小時後, TLC分析顯示原料完全消耗。將反應混合物冷卻至RT, 過濾及濃縮。殘渣藉FCC純化(己烷/EtOAc 100:0至90:10至80:20至70:30至0:100)提供標題化合物。 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 0.69 (ddd, 2H), 0.86 (ddd, 2H), 1.24 (t, $J=7.0$ Hz, 3H), 3.09 (ddd, 2H), 3.19 (s, 2H), 3.31 (ddd, 2H), 3.93 (s, 2H), 4.02 (s, 2H), 4.17 (q, $J=7.0$ Hz, 2H), 7.08 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.33 (m, 6H), 7.42 (dd, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.71 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J=8.8$ Hz, 1H); ES-MS: 415 $[M+H]^+$ 。

d) (3-三氟甲磺醯氧基-萘-1-基)-乙酸乙酯



在氬大氣下將(3-羥基-萘-1-基)-乙酸乙酯(1.67克, 7.25

毫莫耳)溶於CH₂Cl₂ (20毫升)。加入吡啶(1.17毫升, 1.15克, 14.50毫莫耳), 及將反應混合物冷卻至0°C, 此時逐滴加入三氟甲磺酸酐(1.79毫升, 3.07克, 10.88毫莫耳)。將反應混合物加溫至RT, 及在RT 1小時後, TLC分析顯示原料完全消耗。將反應混合物以EtOAc稀釋及以H₂O清洗2次。將組合有機層以Na₂SO₄乾燥, 將溶劑去除, 及殘渣藉FCC純化(己烷/EtOAc 100:0至97:3至95:5至93:7至90:10)產生標題化合物。¹H NMR (DMSO, 400 MHz) δ 1.19 (t, J=7.2 Hz, 3H), 4.11 (q, J=7.2 Hz, 2H), 4.38 (s, 2H), 7.60 (d, J=3.0 Hz, 1H), 7.70 (m, 2H), 8.03 (m, 1H), 8.12 (m, 2H); ES-MS: 362 [M+H]⁺。

e) (3-羥基-萘-1-基)-乙酸乙酯

將(3-苄氧基-萘-1-基)-乙酸乙酯(2.43克, 7.58毫莫耳)溶於MeOH(50毫升)。加入鈹於木炭上(807毫克), 在氬大氣(1 atm)下將反應混合物在RT攪拌14小時。將反應混合物過濾。濃縮產生純標題化合物。¹H NMR (DMSO, 400 MHz) δ 1.18 (t, J=7.2 Hz, 3H), 4.05 (s, 2H), 4.10 (q, J=7.2 Hz, 2H), 7.04 (d, J=1.8 Hz, 1H), 7.06 (d, J=1.8, 1H), 7.30 (t, J=7.8, 1H), 7.40 (t, J=7.8, 1H), 7.70 (d, J=7.8, 1H), 7.80 (d, J=7.8 Hz, 1H); ES-MS: 230 [M+H]⁺。

f) (3-苄氧基-萘-1-基)-乙酸乙酯

在氬大氣下將3-苄氧基-1-溴-萘(5.64克, 18.01毫莫耳)溶於無水DMF(100毫升)。加入三丁錫基-乙酸乙酯(7.47克, 19.81毫莫耳), 及二氯化[貳(三鄰甲苯膦)]鈹(II)(2.83克,

3.60毫莫耳)與溴化鋅(II)(5.27克, 23.41毫莫耳)。將反應混合物加熱至80°C 3小時。將反應混合物以EtOAc稀釋及以稀鹽水清洗2次(反萃取)。將組合有機層以Na₂SO₄乾燥, 將溶劑去除, 及殘渣藉FCC純化(己烷/EtOAc 100:0至97.5:2.5至95:5至90:10)。仍含錫殘渣之所得油在EtOAc/1 N NaOH之1:1混合物(200毫升)中攪拌1小時。將混合物以EtOAc萃取。將組合有機層以H₂O清洗2次(反萃取), 以Na₂SO₄乾燥及濃縮。殘渣藉FCC純化(己烷/EtOAc 100:0至97:3至95:5至93:7至92:8至90:10)產生標題化合物。¹H NMR (DMSO, 400 MHz) δ 1.18 (t, J=7.2 Hz, 3H), 4.10 (q, J=7.2 Hz, 2H), 4.11 (s, 2H), 5.25 (s, 2H), 7.21 (d, J=3.0 Hz, 1H), 7.41 (m, 8H), 7.53 (d, J=6.6 Hz, 1H), 7.84 (dd, J=7.2 Hz, 1H); ES-MS: 320 [M+H]⁺。

g) 3-苄氧基-1-溴-萘

在氬大氣下將4-溴-萘-2-醇(5.0克, 22.41毫莫耳)溶於無水DMF (50毫升)。加入氫化鈉(986毫克之於礦物油中之60%懸浮, 592毫克, 24.65毫莫耳)且將混合物在50°C攪拌1小時。在冷卻至RT後, 加入溴化苄基(3.46毫升, 4.98克, 29.14毫莫耳)與碘化四丁銨(828毫克, 2.24毫莫耳)。在RT 16小時後, 將反應混合物以EtOAc稀釋。將溶液以半濃縮鹽水清洗2次(反萃取)。將組合有機層以Na₂SO₄乾燥, 將溶劑去除, 及殘渣藉FCC純化(己烷/EtOAc 100:0至95:5至90:10)產生標題化合物。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 5.22 (s, 2H), 7.25 (d, J=1.5 Hz, 1H), 7.45 (m, 7H), 7.64 (d, J=2.4, 1H), 7.75 (d,

$J=7.8$, 1H), 8.17 (d, $J=7.8$, 1H); ES-MS: 312 $[M+H]^+$ 。

依照實例20之步驟，可得到其中R為如表2所示之式(b)殘基之式I化合物。

表 2

實例	R ₄	R _a	M.S. 資料
21	3-R-甲基-六氫吡啶-1-基	CH ₃	MH ⁺ 452
22	-(4,7-二氫螺[2.5]辛-7-基)	CH ₃	MH ⁺ 464
23	-(4,7-二氫螺[2.5]辛-7-基)	H	MH ⁺ 450
24	3-R-甲基-六氫吡啶-1-基	H	MH ⁺ 438
25	3-S-甲基-六氫吡啶-1-基	CH ₃	MH ⁺ 452
26	3-S-甲基-六氫吡啶-1-基	H	MH ⁺ 438
27	4-甲基-3-S-甲基-六氫吡啶-1-基	CH ₃	MH ⁺ 466
28	4-甲基-3-S-甲基-六氫吡啶-1-基	H	MH ⁺ 452

依照以上或 WO 02/38561 專利之實例56揭示之步驟但是使用適當之原料，可得到其中R為如以下表3所示之式(c)殘基之式I化合物。

表 3

實例	R ₁₄	4位置 之R ₁₅	5位置 之R ₁₆	R _a	R _b	M.S. 資料
29	-(4-甲基-六氫吡啶-1-基)	Cl	CH ₃	H	H	MH ⁺ 437
30	-(4-甲基-六氫吡啶-1-基)	Br	H	H	H	MH ⁺ 469
31	-(4-甲基-六氫吡啶-1-基)	Br	CH ₃	H	H	MH ⁺ 483
32	-(4-甲基-六氫吡啶-1-基)	Br	H	CH ₃	H	MH ⁺ 483
33	-(4-甲基-六氫吡啶-1-基)	CF ₃	H	H	H	MH ⁺ 457
34	-(4-甲基-六氫吡啶-1-基)	CF ₃	H	CH ₃	H	MH ⁺ 471
35	3-R-甲基-六氫吡啶-1-基	Cl	CH ₃	H	H	MH ⁺ 437
36	-(4,7-二氫螺[2.5]辛-7-基)	Cl	CH ₃	H	H	MH ⁺ 449
37	1-六氫吡啶基	Cl	CH ₃	H	H	MH ⁺ 423
38	4-甲基-3-R-甲基-六氫吡啶-1-基	Cl	CH ₃	H	H	MH ⁺ 451
39	3-R-甲氧基乙基-六氫吡啶-1-基	Cl	CH ₃	H	H	MH ⁺ 481
40	3-R-乙基-六氫吡啶-1-基	Cl	CH ₃	H	H	MH ⁺ 451
41	3-R-苄基-六氫吡啶-1-基	Cl	CH ₃	H	H	MH ⁺ 514

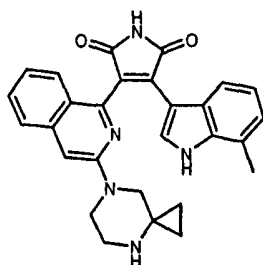
42	3-S-甲基-六氫吡啶-1-基	Cl	CH ₃	H	H	MH ⁺ 437
43	4-甲基-六氫吡啶-1-基	Cl	CH ₃	H	CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	MH ⁺ 479
44	3-CH ₂ F-六氫吡啶-1-基	Cl	CH ₃	H	H	MH ⁺ 453
45	4-甲基-六氫吡啶-1-基	Cl	CH ₃	H	F	MH ⁺ 455
46	4-甲基-六氫吡啶-1-基	Cl	CH ₃	H	CH(CH ₃) ₂	MH ⁺ 479
47	4-甲基-六氫吡啶-1-基	Cl	CH ₃	H	Cl	MH ⁺ 471
48	4-甲基-六氫吡啶-1-基	Cl	CH ₃	H	OCH ₃	MH ⁺ 467
49	4-甲基-六氫吡啶-1-基	Cl	CH ₃	H	CH ₃	MH ⁺ 451
50	4-甲基-六氫吡啶-1-基	Cl	CH ₃	H	CH ₂ -CH ₃	MH ⁺ 465
51	4-甲基-六氫吡啶-1-基	CF ₃	H	H	CH ₂ -CH ₃	MH ⁺ 485
52	4-甲基-六氫吡啶-1-基	CF ₃	H	H	CH ₃	MH ⁺ 471
53	4-甲基-六氫吡啶-1-基	F	H	H	H	MH ⁺ 407
54	4-甲基-六氫吡啶-1-基	F	H	H	CH ₃	MH ⁺ 421
55	4-甲基-六氫吡啶-1-基	F	H	H	CH ₂ -CH ₃	MH ⁺ 435
56	4-甲基-六氫吡啶-1-基	F	CH ₂ -CH ₃	H	CH ₃	MH ⁺ 449
57	4-甲基-六氫吡啶-1-基	F	CH ₂ -CH ₃	H	H	MH ⁺ 435
58	4-甲基-六氫吡啶-1-基	F	CH ₂ -CH ₃	H	CH ₂ -CH ₃	MH ⁺ 463
59	4-甲基-六氫吡啶-1-基	F	CH ₃	H	H	MH ⁺ 421
60	4-甲基-六氫吡啶-1-基	F	CH ₃	H	CH ₃	MH ⁺ 435
61	4-甲基-六氫吡啶-1-基	F	CH ₃	H	CH ₂ -CH ₃	MH ⁺ 449

依照以上或 WO 02/38561 專利之實例 163 揭示之步驟但是使用適當之原料，可得到其中 R 為如以下表 4 所示之式 (d) 殘基之式 I 化合物。

表 4

實例	R ₈	R _a	M.S. 資料
62	3-S-甲基-六氫吡啶-1-基	CH ₃	MH ⁺ 452
63	3-R-甲基-六氫吡啶-1-基	H	MH ⁺ 438
64	3-R-甲基-六氫吡啶-1-基	CH ₃	MH ⁺ 452
65	4-苄基-1-六氫吡啶基	H	MH ⁺ 514
66	4-苄基-1-六氫吡啶基	CH ₃	MH ⁺ 528
67	1-六氫吡啶基	CH ₃	MH ⁺ 438
68	1-六氫吡啶基	H	MH ⁺ 424

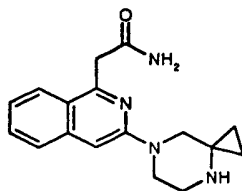
實例 69： 3-[3-(4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基)-異喹啉-1-基]
-4-(7-甲基-1H-吡啶-3-基)-吡咯-2,5-二酮



將 2-[3-(4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基)-異喹啉-1-基]-乙醯胺 (4.95 克, 16.70 毫莫耳) 與 (7-甲基-1H-吡啶-3-基)-氧-乙酸甲酯 (5.44 克, 25.05 毫莫耳) 與無水 THF 共沸兩次。然後加入無水 THF (100 毫升), 及在氬大氣下在 20 分鐘內逐滴加入 KOtBu (於 THF 之 1.0 M 溶液, 50 毫升, 50 毫莫耳)。又 90 分鐘後, TLC 分析顯示原料完全轉化。將反應混合物以 H₂O 稀釋及以 EtOAc 萃取 2 次。將組合有機層以飽和 NH₄Cl 水溶液清洗 2 次 (反萃取), 以 Na₂SO₄ 乾燥及濃縮。藉 FCC 純化 (CH₂Cl₂/MeOH 100:0 至 94:6 至 98:2 至 96:4 至 92:8 至 90:10) 產生標題化合物, 藉 EtOH/AcOH 溶液濃縮將其轉化成其乙酸鹽。¹H NMR (DMSO, 400 MHz) δ 0.26-0.53 (br, 4H), 1.89 (s, 3H, CH₃COOH), 2.36 (s, 3H), 2.80 (br m, 2H), 3.15-3.48 (br m, 2H), 6.14 (d, J=8.2 Hz, 1H), 6.44 (dd, J=8.2/7.4 Hz, 1H), 6.75 (d, J=7.4 Hz, 1H), 7.00 (s, 1H), 7.02 (dd, J=8.2/8.2 Hz, 1H), 7.40 (dd, J=8.2/8.2 Hz, 1H), 7.59 (d, J=8.2 Hz, 1H), 7.63 (d, J=8.2 Hz, 1H), 7.63 (d, J=8.2 Hz, 1H), 7.97 (d, J=2.9 Hz, 1H), 11.04-11.21 (br, 1H), 11.86 (d, J=2.9 Hz, 1H);

ES-MS : 464 $[M+H]^+$ 。

作為原料之2-[3-(4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基)-異喹啉-1-基]乙醯胺可如下製備：



a) 將2-[3-(4-苄基-4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基)-異喹啉-1-基]-乙醯胺(490毫克, 1.27毫莫耳)溶於無水MeOH (5毫升)。加入Pd於木炭上(140毫克)與甲酸銨(200毫克, 3.17毫莫耳)。在回流1小時後($T=75^{\circ}\text{C}$)，加入又一份甲酸銨(200毫克, 3.17毫莫耳)。1小時後，TLC分析顯示原料完全轉化。在過濾及濃縮後，將殘渣溶於 CH_2Cl_2 且以水清洗(加入2 N NaOH成為pH 10)。將有機相以 Na_2SO_4 乾燥且將溶劑去除。藉FCC純化(EtOAc/AcOH/ H_2O 750:83:68至700:110:90至650:130:120至600:150:150)提供標題化合物如其貳乙酸鹽。 ^1H NMR (DMSO, 400 MHz) δ 0.46-0.52 (m, 4H), 2.88 (t, $J=5.5$, 2H), 3.35 (s, 2H), 3.49 (t, $J=5.5$, 2H), 3.94 (s, 2H), 6.77 (s, 1H), 7.00 (br s, 1H), 7.18-7.25 (m, 1H), 7.45-7.56 (m, 2H), 7.60-7.65 (m, 1H), 7.95 (d, $J=9.9$, 1H)。ES-MS : 297 $[M+H]^+$ 。

b) 2-[3-(4-苄基-4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基)-異喹啉-1-基]-乙醯胺

在氬大氣下將[3-(4-苄基-4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基)-異喹啉

-1-基]-乙酸乙酯(700毫克, 1.68毫莫耳)溶於無水DMF。加入甲醯胺(224微升, 254毫克, 5.64毫莫耳), 及將反應混合物加熱至105°C。在此溫度在20分鐘內逐滴加入NaOMe (312微升之於MeOH之5.4 M溶液, 91毫克, 1.68毫莫耳)。在105°C 30分鐘後, TLC分析顯示原料完全消耗。將反應混合物冷卻至RT, 繼而加入水及以EtOAc萃取。將有機層以H₂O清洗(2次), 以Na₂SO₄乾燥及濃縮。殘渣藉FCC純化(己烷/EtOAc 1:1至1:3至0:100至EtOAc/MeOH 98:2)提供標題化合物。¹H NMR (DMSO, 400 MHz) δ 0.68-0.70 (m, 2H), 0.82-0.88 (m, 2H), 3.08 (t, J=4.4, 2H), 3.45 (s, 2H), 3.58 (t, J=4.4, 2H), 3.96 (s, 2H), 4.27 (s, 2H), 5.3-5.5 (br, 1H), 6.55-6.7 (br, 1H), 6.72 (s, 1H), 7.26-7.36 (m, 6H), 7.51 (t, J=8.8, 1H), 7.60 (d, J=9.9, 1H), 8.02 (d, J=9.9, 1H); ES-MS : 387 [M+H]⁺。

c) [3-(4-苄基-4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基)-異喹啉-1-基]-乙酸乙酯

在氬下混合(3-氯-異喹啉-1-基)-乙酸乙酯(2.5克, 10.01毫莫耳)、4-苄基-4,7-二氮螺[2.5]辛烷(2.23克, 11.01毫莫耳)、NaOtBu (1.06克, 11.01毫莫耳)、BINAP (249毫克, 0.40毫莫耳)與乙酸鈹(II)(180毫克, 0.80毫莫耳)。在加入脫氣之無水二噁烷(36毫升)後, 將懸浮液加熱至85°C。在85°C 25分鐘後, HPLC分析顯示71%之轉化率。將混合物冷卻至RT, 以EtOAc稀釋, 及以H₂O與NH₄Cl飽和水溶液清洗(反萃取)。將組合有機層以Na₂SO₄乾燥, 將溶劑去除, 及殘渣藉FCC

純化(己烷/EtOAc 100:0至96:4至93:7至90:10至85:15)提供標題化合物。¹H NMR (DMSO, 400 MHz) δ 0.58-0.61 (m, 2H), 0.70-0.73 (m, 2H), 1.18 (t, J=8.8, 3H), 2.98 (t, J=5.5, 2H), 3.39 (s, 2H), 3.49 (t, J=5.5, 2H), 3.86 (s, 2H), 4.12 (s, 2H), 4.12 (q, J=8.8, 2H), 5.59 (s, 1H), 7.14-7.19 (m, 6H), 7.39 (t, J=8.8, 1H), 7.51 (d, J=9.9, 1H), 7.78 (d, J=9.9, 1H); ES-MS: 417 [M+H]⁺。

d) (3-氯-異喹啉-1-基)-乙酸乙酯

將1,1,1,3,3,3-六甲基-二矽氮烷(27.4毫升, 20.37克, 126.2毫莫耳)溶於無水甲苯(150毫升)。在冷卻至-78°C後, 在20分鐘內緩慢地加入n-BuLi (79毫升之於己烷中之1.6 M溶液, 126.2毫莫耳)。將白色懸浮液在-78°C攪拌15分鐘及在RT攪拌15分鐘, 然後得到透明亮黃色溶液。經插管將此溶液引入含Pd₂(dba)₃ (1.39克, 1.51毫莫耳)與(2'-二環己基膦醯基-聯苯-2-基)-二甲胺(1.25克, 3.18毫莫耳)之第二二頸燒瓶中。在RT攪拌10分鐘後, 將透明暗紅色溶液冷卻至-10°C。在5分鐘內加入乙酸第三丁酯(15.7毫升, 13.5克, 116.1毫莫耳)。在-10°C 10分鐘後, 將1,3-二氯-異喹啉(10.0克, 50.49毫莫耳)一次加入。使暗紅色溶液加溫至RT。在RT 30分鐘後, TLC分析顯示原料完全轉化。使反應混合物通過2公分矽石墊過濾, 將其以EtOAc/MeOH 98:2清洗。濃縮後, 殘渣藉FCC純化(甲苯/CH₂Cl₂ 2:1至甲苯/EtOAc 100:0至99:1至98:2至97:3至96:4至94:6至90:10)提供(3-氯-異喹啉-1-基)-乙酸第三丁酯。將此化合物溶於HCl之飽和乙醇溶液(200

毫升)且回流15分鐘。濃縮提供定量產率之標題化合物。 ^1H NMR (DMSO, 400 MHz) δ 1.17 (t, $J=8.8$, 3H), 4.11 (q, $J=8.8$, 2H), 4.28 (s, 2H), 7.51-7.57 (m, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.61-7.66 (m, 1H), 7.72 (d, $J=8.8$, 1H), 7.98 (d, $J=8.8$, 1H); ES-MS: 250 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

依照實例69之步驟但是使用適當之原料，可得到其中R為如以下表5所示之式(e)殘基之式I化合物。

表 5

實例	R ₉	R _a	R _b	M.S. 資料
70	-(4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基)	CH ₃	H	MH ⁺ 465
71	3-乙基-六氫吡啶-1-基	CH ₃	H	MH ⁺ 467
72	-(4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基)	H	H	MH ⁺ 451
73	3-乙基-1-六氫吡啶基	H	H	MH ⁺ 453
74	3-R-甲基-六氫吡啶-1-基	CH ₃	H	MH ⁺ 453
75	3-R-甲基-六氫吡啶-1-基	H	H	MH ⁺ 439
76	3-S-甲基-六氫吡啶-1-基	CH ₃	H	MH ⁺ 453
77	3-S-甲基-六氫吡啶-1-基	H	H	MH ⁺ 439
78	4-甲基-3-S-甲基-六氫吡啶-1-基	CH ₃	H	MH ⁺ 467
79	4-甲基-3-S-甲基-六氫吡啶-1-基	H	H	MH ⁺ 453
80	4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基	CH ₃	H	MH ⁺ 464
81	4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基	H	F	MH ⁺ 479
82	4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基	CH ₂ -CH ₃	H	MH ⁺ 479
83	4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基	H	CH(CH ₃) ₂	MH ⁺ 495
84	4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基	H	OCH ₃	MH ⁺ 471
85	4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基	CH ₃	CH ₂ -CH ₃	MH ⁺ 451
86	4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基	H	CH ₂ -CH ₃	MH ⁺ 465
87	4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基	CH(CH ₃) ₂	H	MH ⁺ 451
88	4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基	CH ₃	CH ₃	MH ⁺ 479
89	4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基	CH ₃	Cl	MH ⁺ 499
90	4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基	H	Cl	MH ⁺ 485
91	4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基	CH ₂ -CH ₃	CH ₃	MH ⁺ 492
92	3-乙基-六氫吡啶-1-基	CH ₂ -CH ₃	CH ₂ -CH ₃	MH ⁺ 494

*實例80之化合物轉化成為其貳-三氟乙酸鹽或乙酸鹽。

自由形式或醫藥可接受鹽形式之式I化合物呈現有價值之藥理性質，例如，抑制蛋白激酶C (PKC)(例如，如 α 、 β 、 δ 、 ε 、 η 或 θ 活性之PKC異構體)，因抑制T-細胞對細胞活素(例如，IL-2)之增殖回應而抑制T-細胞活化與增殖(例如，抑制T-細胞或細胞活素(例如，IL-2)製造)，例如，如活體外與活體內測試所示，因此顯示可用於治療。

A. 活體外

1. 蛋白激酶C檢驗

依照公開方法(D. Geiges等人之Biochem. Pharmacol. 1997; 53:865-875)測試式I化合物對不同PKC異構體之活性。此檢驗係在已事先以Sigmacote (Sigma SL-2)矽化之96-井聚丙烯微量滴定板(Costar 3794)中實行。反應混合物(50微升)含10微升相關PKC同工酶與25微升測試化合物一起，及15微升含200微克/毫升精蛋白硫酸酯、10 mM $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 、10 μM ATP (Boehringer 519987)、與3750 Bq之 ^{33}P -ATP (Hartmann Analytic SFC301, 110TBq/毫莫耳)於20 mM Tris-緩衝液pH 7.4 + 0.1% BSA之混合溶液。在微量滴定板搖動培育器(Biolabo Scientific Instruments)中在32°C實行培育15分鐘。藉由加入10微升0.5 M Na_2EDTA ，pH 7.4而中止反應，在溫和壓力下將50微升混合物量滴至預濕磷纖維素紙(Whatmann 3698-915)上。以100微升偏移 H_2O 清洗未加入ATP。紙在0.5% H_3PO_4 中清洗2次15分鐘繼而在EtOH中5分鐘。然後將紙乾燥且置於全濾器(Packard 6005219)中，及在Topcount放射性計數器(Packard)中計數前以10微升/井之

Microscint-O (Packard 6013611) 覆蓋。依照上述方法，藉由培育一系列範圍為 1-1000 μM 之抑制劑稀釋液而固定地實行 IC_{50} 測量。 IC_{50} 值係由帶入乙狀曲線之圖表計算。

2. 蛋白激酶 $\text{C}\theta$ 檢驗

在上述檢驗條件下使用人類重組子 $\text{PKC}\theta$ 。在此檢驗中，式 I 化合物呈現具 $\text{IC}_{50} \leq 1 \mu\text{M}$ 之 $\text{PKC}\theta$ 。實例 33 與 69 之化合物在此檢驗中呈現各具 6.8 與 12.1 nM 之 IC_{50} 之 $\text{PKC}\theta$ 。

3. 蛋白激酶 $\text{C}\alpha$ 檢驗

自 Oxford Biomedical Research 得到人類重組子 $\text{PKC}\alpha$ 且在以上 A.1 部份所述檢驗條件下使用。在此檢驗中，式 I 化合物呈現具 $\text{IC}_{50} \leq 1 \mu\text{M}$ 之 $\text{PKC}\theta$ 。實例 29 之化合物在此檢驗中呈現具 4.3 nM 之 IC_{50} 之 $\text{PKC}\alpha$ 。

4. 蛋白激酶 $\text{C}\beta 1$ 檢驗

自 Oxford Biomedical Research 得到人類重組子 $\text{PKC}\beta 1$ 且在以上 A.1 部份所述檢驗條件下使用。在此檢驗中，式 I 化合物呈現具 $\text{IC}_{50} \leq 1 \mu\text{M}$ 之 $\text{PKC}\theta$ 。實例 33 之化合物在此檢驗中呈現具 19.6 nM 之 IC_{50} 之 $\text{PKC}\beta 1$ 。

5. 蛋白激酶 $\text{C}\delta$ 檢驗

自 Oxford Biomedical Research 得到人類重組子 $\text{PKC}\delta$ 且在 A.1 部份所述檢驗條件下使用。在此檢驗中，式 I 化合物呈現具 $\text{IC}_{50} \leq 1 \mu\text{M}$ 之 $\text{PKC}\theta$ 。實例 29 之化合物在此檢驗中呈現具 20 nM 之 IC_{50} 之 $\text{PKC}\delta$ 。

6. 蛋白激酶 $\text{C}\epsilon$ 檢驗

自 Oxford Biomedical Research 得到人類重組子 $\text{PKC}\epsilon$ 且在

A.1部份所述檢驗條件下使用。在此檢驗中，式I化合物呈現具 $IC_{50} \leq 1 \mu M$ 之PKC θ 。實例69之化合物在此檢驗中呈現具18 nM之 IC_{50} 之PKC ϵ 。

7. 蛋白激酶C η 檢驗

自PanVera得到人類重組子PKC η 且在A.1部份所述檢驗條件下使用。在此檢驗中，式I化合物呈現具 $IC_{50} \leq 1 \mu M$ 之PKC θ 。實例29之化合物在此檢驗中呈現具27.4 nM之 IC_{50} 之PKC η 。

8. CD28共模擬檢驗

此檢驗係以Baumann G等人在Transplant.Proc. 1992; 24: 43-8所述之經人類白細胞介素-2-促進子/報告子基因構造轉染之Jurkat細胞實行， β -半乳糖苷報告子基因經螢光素酶基因(de Wet J.等人之Mol. Cell Biol. 1987, 7(2), 725-737)取代。如下以固相偶合抗體或佛波醇肉豆蔻酸酯乙酸酯(PMA)及 Ca^{++} 離子導體離子黴素模擬細胞。在RT將抗體傳導模擬Microlite TM1微量滴定板(Dynatech)每井塗以3微克/毫升山羊抗鼠IgG Fc抗體(Jackson)於55微升磷酸鹽緩衝鹽水(PBS) 3小時。在RT以2%牛血漿白蛋白(BSA)於PBS(每井300微升)培育2小時而去除抗體後將板加蓋。在以每井300微升PBS清洗3次後，加入10奈克/毫升抗T細胞受體抗體(WT31, Becton & Dickinson)與300奈克/毫升抗CD28抗體(15E8)於50微升之2% BSA/PBS作為模擬抗體，而且在4°C培育過夜。最後將板以每井300微升PBS清洗3次。在分離板中製備七份在檢驗介質(含50 μM 2-氫硫基乙醇、100單位/

毫升盤尼西林與100微克/毫升鏈黴素之RPMI 1640/10%胎牛血漿(FCS))中複製之測試化合物三倍連續稀釋液，混合經轉染Jurkat細胞(繁殖體K22 290_H23)及在37°C於5% CO₂中培育30分鐘。然後將100微升含 1×10^5 個細胞之此混合物轉移至塗抗體檢驗板。同時以40奈克/毫升PMA與2 μM離子黴素培育100微升。在37°C於5% CO₂中培育5.5小時後，藉生物發光測量測定螢光素酶含量。將板以500 g離心10分鐘且藉輕彈去除上清液。加入含25 mM Tris-磷酸鹽，pH 7.8、2 mM DTT、2 mM 1,2-二胺基環己烷-N,N,N',N-四乙酸、10% (v/v)甘油與1% (v/v) Triton X-100之溶胞緩衝液(每井20微升)。在RT將板在固定搖動下培育10分鐘。在自動加入每井50微升含20 mM Tricine、1.07 mM (MgCO₃)₄Mg(OH)₂×5H₂O、2.67 mM MgSO₄、0.1 mM EDTA、33.3 mM DTT、270 μM共酶A、470 μM螢光素(Chemie Brunschwig AG)、530 μM ATP，pH 7.8之螢光素酶反應緩衝液後，以生物發光讀取機(芬蘭Helsinki之Labsystem)評定螢光素酶活性。落後時間為0.5秒，總測量時間為1或2秒。低對照值為得自抗T細胞受體-或PMA-模擬細胞之光單位，高對照則得自無任何測試樣品之抗T細胞受體/抗CD28-或PMA/離子黴素-模擬細胞。將所有之值減去低對照。在測試化合物存在下得到之抑制計算為高對照之抑制百分比。在50%抑制所得之測試化合物濃度(IC₅₀)係由劑量回應曲線測定。在此檢驗中，式I化合物呈現具IC₅₀≤1 μM之抗T細胞受體/抗CD28與PMA/離子黴素模擬Jurkat細胞。實例29之化合物在此檢驗中具20

nM之 IC_{50} 。

9. 異源混合淋巴細胞反應(MLR)

依照標準步驟(J. Immunol. Methods., 1973, 2, 279與Meo等人之Immunological Methods, 紐約, Academic Press, 1979, 227-39)實行雙向MLR。簡言之, 在含10% FCS、100單位/毫升盤尼西林、100微克/毫升鏈黴素(瑞士Basel之Gibco BRL)、50 μ M 2-氫硫基乙醇(瑞士Buchs之Fluka)與連續稀釋化合物之RPMI介質中, 培育得自CBA與BALB/c鼠之脾臟細胞(在平底組織培養微量滴定板中每井 1.6×10^5 個得自各菌株之細胞, 總共 3.2×10^5 個)。每種化合物重複地實行七次三倍稀釋步驟。在培育4日後, 加入1 μ Ci 3 H-胸苷。在又5小時培育期間後培養細胞, 及依照標準步驟測定加入之 3 H-胸苷。MLR之背景值(低對照)為僅BALB/c細胞增殖。將所有之值減去低對照。取無任樣品之高對照作為100%增殖。計算樣品之抑制百分比, 及測定50%抑制所需濃度(IC_{50} 值)。在此檢驗中, 實例29之化合物在此檢驗中具28 nM之 IC_{50} 。在人類MLR中測試時, 式I化合物亦呈現在nM範圍之 IC_{50} 值。

10. GSK-3 β 之抑制

GSK-3 β 結合檢驗係在96井聚丙烯板中以50微升反應實行, 各反應含於DMSO(各種濃度)中之20 mM氯化鎂、40 μ M ATP、2 mM DTT、88.5 μ M生物素化且磷酸化CREB-肽基質(生物素-KRREILSRRPS(PO_4)YR-OH; Q. M. Wang等人之J. Biol. Chem. 269, 14566-14574, 1994)、 $[\gamma\text{-}^{33}\text{P}]\text{ATP}$ (1 μ Ci)

與2微升測試化合物。加入15微升之GSK-3 β (各種濃度)且混合物在30℃培育1小時。藉由將25微升混合物轉移至含130微升1.85%磷酸之磷纖維素板而中止反應。在真空下以1.85%磷酸將薄膜中自由放射性核苷洗出(5次)。最後一次清洗後，將板轉移至轉接板且將50微升閃爍混合液(Microscint-20, Packard, 型錄號碼#20-133)各井，及在直立計數器中將放射活性量計數。式I化合物在此檢驗中為活性。亦在其他之標準GSK-3 β 結合檢驗中使用其他之基質(例如，商業可得者)測試式I化合物。

B. 活體內

老鼠心臟移植

使用之菌種組合：Lewis (RT¹單元型)與BN (RT¹單元型)雄鼠。使用吸入性異氟烷將動物麻醉。經下腹靜脈將移植鼠肝素化同時經主動脈放血後，打開胸腔且將心臟快速地冷卻。將主動脈與分離末稍結紮至第一分支且在第一分叉將頭臂幹分開。將左肺動脈結紮及分開且將右側分開但左邊打開。將所有其他之血管解剖、結紮及分開，且將移植體心臟移至冰鹽水中。

藉由將腎下腹主動脈與腹靜脈解剖及十字夾緊而準備受體。移植物係使用10/0單纖維絲縫線，在移植體頭臂幹與受體主動脈間及受體右肺動脈對受體腹靜脈以背對側吻合術移植。將夾子移除，在後腹部將移植物綁緊，以溫鹽水清洗腹部內容且將動物縫合，及使其在加熱燈光下復原。每日經腹壁拍打移植體心臟觸診而監測移植物存活率。在心

跳停止時視為完全排斥。以1至30毫克/公斤每日2次之每日口服劑量施以式I化合物之動物得到移植物存活率增加。

移植物相對宿主模型

將得自 Wistar/F大鼠之脾臟細胞(2×10^7 個)皮下注射至(Wistar/F x Fischer 344) F₁雜種大鼠之右後腳掌中。左腳掌不處理。將動物連續4日(0-3)以測試化合物治療。在第7日去除膈肌淋巴節，及測定兩個對應淋巴節之重量差。比較實驗組之淋巴節重量差與未以測試化合物治療之動物組之對應淋巴節重量差，結果表示成淋巴節放大之抑制(以百分比表示)。在此檢驗中，以30毫克/公斤每日2次之劑量施以實例29之化合物時，得到100%抑制。

因此，式I化合物可用於T淋巴細胞及/或PKC導致疾病之治療及/或預防，例如，器官或組織同種或異種移植之急性或慢性排斥、移植物相對宿主疾病、動脈粥樣硬化、由於血管受傷(如血管成形)造成之血管閉合、狹心症、肥胖、X症候群、損傷葡萄糖容忍度、多囊性卵巢症、高血壓、心臟衰竭、慢性梗塞性肺病、CNS疾病(如阿茲海默爾症或肌萎縮側硬化)、癌症、傳染疾病(如AIDS)、敗血性休克或成人呼吸痛苦徵候群、局部缺血/再灌注傷害(例如，心肌梗塞、中風、腸局部缺血、腎衰竭或出血性休克或外傷休克，例如，腦外傷)。式I化合物亦可用於T細胞導致急性或慢性發炎疾病或自身免疫疾病之治療及/或預防，例如，風濕性關節炎、骨關節炎、系統性紅斑狼瘡、橋本甲狀腺炎、多發性關節炎、重症肌無力、第I或II型糖尿病及其伴隨疾病

(例如，血管病、糖尿病增殖性視網膜病、糖尿病斑點水腫)、腎病、腎病與黎明現象、呼吸疾病(如氣喘或發炎性肺傷害)、發炎性肝傷害、發炎性腎小球傷害、免疫性導致疾病之皮膚徵候、發炎性與過度增殖性皮膚病(如牛皮癬、異位皮膚炎、過敏性接觸皮膚炎、刺激性接觸皮膚炎及其他濕疹性皮膚炎、油性皮脂皮膚炎)、發炎性眼疾(例如，舍格倫症候群、角膜結膜炎或葡萄膜炎)、發炎性腸炎、克倫氏症或潰瘍結腸炎。對於以上之用途，所需劑量當然視施藥模式、治療之特定病況及所需效果而不同。約0.1至約100毫克/公斤體重之每日劑量通常顯示得到令人滿意之結果。在較大型哺乳動物，例如，人類，指示之每日劑量為約0.5毫克至約2000毫克之範圍，例如，其可分成至多一日4次之劑量或以阻滯形式方便地施藥。

式I化合物可藉任何途徑施藥，特別是經腸胃，如口服，例如，藥錠或膠囊之形式，或非經腸胃，例如，可注射溶液或懸浮液之形式，局部性，例如，洗劑、凝膠、軟膏、或乳霜之形式，或為鼻部或栓劑形式。含自由形式或醫藥可接受鹽形式之式I化合物結合至少一種醫藥可接受載劑或稀釋劑之醫藥組合物可藉由混合醫藥可接受載劑或稀釋劑而以習知方式製造。例如，口服施藥之單位劑量形式含約0.1毫克至約500毫克之活性物質。

局部施藥為，例如，對皮膚。局部施藥之其他形式為對眼睛。

式I化合物可以自由形式或醫藥可接受鹽形式施藥，例如

，如上所示。此鹽可以習知方式製備且呈現如自由化合物之相同活性程度。

依照以上，本發明進一步提供：

- 1.1 一種對需要此治療之病患預防或治療T淋巴細胞及/或PKC或GSK-3 β 導致之疾病(例如，如上所示)之方法，此方法包含對該病患施以有效量之式I化合物或其醫藥可接受鹽；
- 1.2 一種對需要此治療之病患預防或治療急性或慢性移植排斥或T細胞導致之發炎性或免疫性疾病(例如，如上所示)之方法，此方法包含對該病患施以有效量之式I化合物或其醫藥可接受鹽；
2. 一種式I化合物，自由形式或醫藥可接受鹽形式，例如，在以上1.1與1.2所示之方法中作為醫藥劑之用途。
3. 一種醫藥組合物，其用於，例如，如以上1.1與1.2之方法，其包含自由形式或醫藥可接受鹽形式之式I化合物結合其醫藥可接受稀釋劑或載劑。
4. 一種式I化合物或其醫藥可接受鹽用於製備用於如以上1.1與1.2之方法之醫藥組合物之用途。

式I化合物可如單獨活性成分或與免疫調節體系之其他藥物或消炎性試劑(例如，用於治療或預防同種或異種移植急性或慢性排斥或發炎性或免疫疾病)一起施藥。例如，其可與以下組合使用：環孢菌素或子囊菌素或其免疫抑制性同系物或衍生物，例如，環孢菌素A、ISA Tx247、FK-506、ABT-281、ASM 981；mTOR抑制劑，例如，雷帕黴素

(rapamycin)、40-O-(2-羥基)乙基雷帕黴素、CCI779、ABT578或雷帕系，例如，AP23573等；皮質類固醇；環磷醯胺；硫唑嘌呤；甲胺嘌呤；具有加速淋巴細胞歸位性質之EDG受體顯效藥，例如，FTY 720或其同系物；里夫諾米德(leflunomide)或其同系物；米若里賓(mizoribine)；黴酚酸；莫飛提爾(mofetil)黴酚酸鹽；15-去氧基史普瓜林(spergualine)或其同系物；免疫抑制性單細胞抗體，例如，白細胞受體之單細胞抗體，例如，MHC、CD2、CD3、CD4、CD 11a/CD18、CD7、CD25、CD 27、B7、CD40、CD45、CD58、CD 137、ICOS、CD150 (SLAM)、OX40、4-1BB或其配位子，例如，CD154；或其他之免疫調節性化合物，例如，具有CTLA4或其突變體之至少一部份細胞外域之重組子結合分子，例如，結合至非CTLA4蛋白序列之CTLA4或其突變體之至少一部份細胞外域，例如，CTLA4Ig(例如，代號ATCC 68629)或其突變體，例如，LEA29Y，或其他黏附分子抑制劑，例如，mAbs或低分子量抑制劑，包括LFA-1對抗劑、選擇素對抗劑與VLA-4對抗劑。在糖尿病治療中，式I化合物亦可與以下一起施藥：抗增殖藥物，例如，化學治療藥物，例如，用於癌症治療者，其包括但不限於芳香酶抑制劑、抗雌激素、拓撲異構酶I抑制劑、拓撲異構酶II抑制劑、微管活性劑、烷化劑、組蛋白去乙醯酶抑制劑、呢酯(farnesyl)轉移酶抑制劑、COX-2抑制劑、MMP抑制劑、mTOR抑制劑、抗腫瘤抗代謝物、普拉丁(platin)化合物、降低蛋白激酶活性之化合物與其他抗血管生成化合物。

物、戈那瑞林(gonadorelin)顯效藥、抗雄激素、班醯胺(bengamides)、貳膦酸鹽、抗增殖性抗體、與提莫若羅米德(temozolomide)，或抗糖尿病藥物、胰島素促分泌劑或胰島素分泌增強劑，例如，磺醯基脲，例如，甲苯磺丁脲(tolbutamide)、氯磺丙脲(chlorpropamide)、妥拉磺脲(tolazamide)、醋磺己脲(acetohexamide)、4-氯-N-[(1-吡咯啉基胺基)羰基]-苯磺醯胺(glycopyramide)、格列本脲(glibenclamide)(優降糖(glyburide))、格列齊特(gliclazide)、1-丁基-3-間胺醯脲(metanilylurea)、磺胺丁脲(carbutamide)、格列波脲(glibonuride)、格列吡嗪(glipizide)、格列喹酮(gliquidone)、格列索克皮得(glisoxepid)、甘丁噻唑(glybuthiazole)、格列丁唑(glibuzole)、甘己醯胺(glyhexamide)、格列嘧啶(glymidine)、甘平醯胺(glypinamide)、芬丁醯胺(phenbutamide)或甲基環己醯胺(tolylcyclamide)，口服促胰島素劑衍生物，例如，短期作用胰島素增強劑，例如，美格里丁尼德(meglitinide)、瑞帕格林尼德(repaglinide)，苯基乙酸衍生物，例如，納德格林尼德(nateglinide)，DPP IV抑制劑，例如，1-{2-[(5-氟基吡啶-2-基)胺基]乙胺基}乙醯基-(2S)-氟基-吡咯啉二氫氯酸鹽、LAF237、GLP-1或GLP-1顯效藥同系物，或胰島素敏感劑，例如，過氧化物酶體增殖劑活化受體Y顯效藥(PPAR γ)，例如，齊格塔酮(glitazone)、非齊格塔酮型，如N-(2-苯甲醯基苯基)-L-酪胺酸同系物，例如，GI-262570，或亞氧基二酮(oxolidinedione)，例如，JTT501，雙重PPAR γ /PPAR α

顯效藥，例如，DRF-554158、NC-2100或NN-622，視網醛衍生物X受體顯效藥或視網醛X (rexinoid)，例如，2-[1-(3,5,5,8,8-五甲基-5,6,7,8-四氫-2-萘基)-環丙基]-吡啶-5-羧酸、4-[(3,5,5,8,8-五甲基-5,6,7,8-四氫-2-萘基)-2-羰基]-苯甲酸、9-順視網酸或其同系物、衍生物或其醫藥可接受鹽。

依照以上，本發明提供進一步態樣：

5. 一種界定以上之方法，其包含將治療有效量之GSK-3 β 、PKC或T細胞活化與增殖抑制劑，例如，自由形式或醫藥可接受鹽形式之式I化合物，與第二藥物物質共同(例如，附帶地或連續地)施藥，該第二藥物物質為免疫抑制性、免疫調節性、消炎性、抗增殖性或抗糖尿病藥物，例如，如上所示。
6. 一種治療組合，例如，套件，其包含a) GSK-3 β 、PKC或T細胞活化與增殖抑制劑，例如，自由形式或醫藥可接受鹽形式之式I化合物，及b)至少一種選自免疫抑制性、免疫調節性、消炎性、抗增殖性或抗糖尿病藥物之第二試劑。成分a)與成分b)可附帶地或連續地使用。此套件可包含其施藥指示。

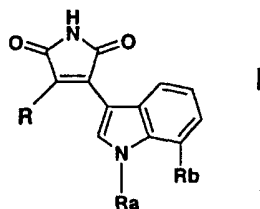
在將GSK-3 β 、PKC或T細胞活化與增殖抑制劑(例如，式I化合物)結合其他免疫抑制性/免疫調節性、消炎性、抗增殖性或抗糖尿病治療劑(例如，用於預防或治療以上指定之急性或慢性移植排斥或發炎性或免疫疾病)施藥時，共同施藥之免疫抑制性/免疫調節性、消炎性、抗增殖性或抗糖尿病

化合物之劑量當然視所使用之共同藥物型式(例如，其是否為類固醇或環孢菌素)、使用之特定藥物、治療之病況等不同。

式I化合物具有令人感興趣之醫藥動力外形及令人感興趣之活體外與活體內活性。

五、中文發明摘要：

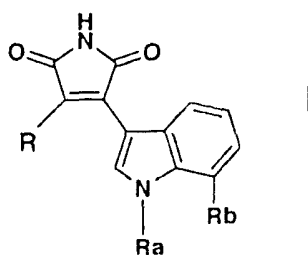
本發明提供式I化合物



其具有令人感興趣之藥理性質。

六、英文發明摘要：

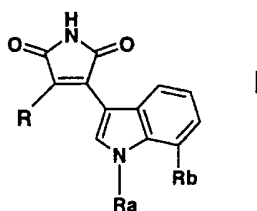
Provided are compounds of formula I



which have interesting pharmacological properties.

十、申請專利範圍：

1. 一種式I化合物或其鹽

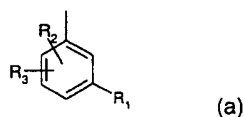


其中

R_a 為 H； CH_3 ； CH_2-CH_3 或異丙基，

R_b 為 H；鹵素； C_{1-6} 烷氧基或 C_{1-6} 烷基，及以下之一

I. R 為式(a)之基團



其中

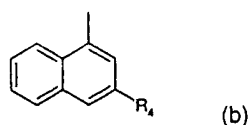
R_1 為六氫吡啶-1-基，其視情況地在 3 或 4 位置經 CH_3 取代；或 4,7-二氫螺[2.5]辛-7-基；

R_2 為 Cl；Br； CF_3 或 CH_3 ；及

R_3 為 H； CH_3 或 CF_3 ；在 R_3 為 H， R_a 為 H 或 CH_3 ， R_b 為 H

及 R_1 為 4-甲基-1-六氫吡啶基時， R_2 不為 CH_3 或 Cl；或

II. R 為式(b)之基團

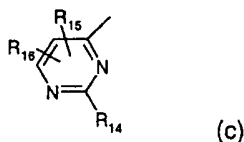


其中

R_4 為六氫吡啶-1-基，其在 3 及 / 或 4 位置經 CH_3 取代；或

4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基；在 R_4 為4-甲基-1-六氮吡啶基時， R_a 不為H或 CH_3 ；或

III. R為式(c)之殘基



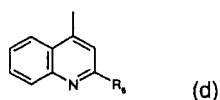
其中

R_{14} 為六氮吡啶-1-基，其視情況地在3及/或4位置經 CH_3 取代，或在3位置經乙基、苯基- C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基- C_{1-4} 烷基或鹵素- C_{1-4} 烷基取代；或4,7-二氮螺[2.5]辛-7-基；

R_{15} 為鹵素； CF_3 或 CH_3 ；在 R_{16} 為 CH_3 或H， R_a 為H或 CH_3 ， R_b 為H及 R_{14} 為4-甲基-1-六氮吡啶基時， R_{15} 不為 CH_3 ；及

R_{16} 為H； CH_3 ； CH_2-CH_3 或 CF_3 ；在 R_{15} 為Cl， R_a 為H或 CH_3 ， R_b 為H及 R_{14} 為4-甲基-1-六氮吡啶基時， R_{16} 不為H；或

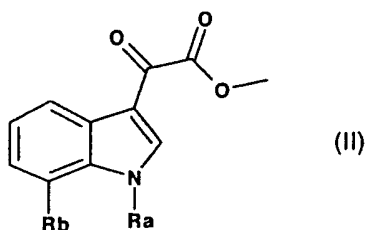
IV. R為式(d)之基團



其中

R_8 為1-六氮吡啶基、3-甲基-六氮吡啶-1-基或4-苄基-六氮吡啶-1-基。

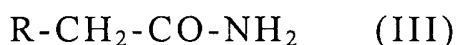
2. 根據申請專利範圍第1項之化合物，其選自3-[4-氯-5-甲基-2-(4-甲基-六氫吡啶-1-基)-嘓啶-4-基]-4-(1H-吡啶-3-基)-吡咯-2,5-二酮與3-(1H-吡啶-3-基)-4-[2-(4-甲基-六氫吡啶-1-基)-4-三氟甲基-嘓啶-4-基]吡咯-2,5-二酮或其鹽。
3. 一種製備根據申請專利範圍第1項之式I化合物之方法，此方法包含



a) 將式II化合物

其中 R_a 與 R_b 如申請專利範圍第1項所定義，

與式III化合物反應



其中 R 如申請專利範圍第1項所定義，

b) 將以自由形式得到之所得式I化合物轉化成鹽形式或在適當之處反之。

4. 一種用於治療或預防器官或組織同種或異種移植之急性或慢性排斥或T細胞導致之發炎或自身免疫疾病之醫藥組合物，其包含根據申請專利範圍第1或2項之式I化合物或其醫藥可接受鹽結合其醫藥可接受稀釋劑或載劑。
5. 一種根據申請專利範圍第4項之組合物，其係用於治療或預防CNS疾病、癌症、傳染疾病、風濕性關節炎、多發性關節炎、第I或II型糖尿病、氣喘、免疫性導致疾病之皮

膚徵候、牛皮癬、發炎性腸炎、克倫氏症或潰瘍結腸炎。

6. 一種根據申請專利範圍第4或5項之組合物，其局部施藥途徑為對皮膚或對眼睛。
7. 一種用於治療或預防器官或組織同種或異種移植之急性或慢性排斥或T細胞導致之發炎或自身免疫疾病之組合，其包含a)根據申請專利範圍第1或2項之式I化合物，其係為自由形式或醫藥可接受鹽形式，及b)至少一種選自免疫抑制性、免疫調節性、消炎性、抗增殖性、化學治療性或抗糖尿病藥物之第二試劑。
8. 一種根據申請專利範圍第7項之組合，其中該第二試劑係選自環孢菌素或其免疫抑制性同系物或衍生物、子囊菌素或其免疫抑制性同系物或衍生物、mTOR抑制劑、皮質類固醇、環磷醯胺、硫唑嘌呤、甲胺喋呤、具有加速淋巴細胞歸位性質之EDG受體顯效藥、里夫諾米德(leflunomide)或其同系物、米若里賓(mizoribine)、黴酚酸、莫飛提爾(mofetil)黴酚酸鹽、15-去氧基史普瓜林(spergualine)或其同系物、免疫抑制性單細胞抗體、免疫調節性化合物與黏附分子抑制劑。
9. 一種根據申請專利範圍第8項之組合，其中第二試劑選自環孢菌素A、ISA Tx247、FK-506、ABT-281、ASM 981、雷帕黴素(rapamycin)、40-O-(2-羥基)乙基雷帕黴素、FTY 720、CTLA4Ig、LFA-1對抗劑、選擇素對抗劑、VLA-4對抗劑與MHC、CD2、CD3、CD4、CD11a/18、CD7、CD25、CD27、B7、CD40、CD45、CD58、CD137、ICOS、CD150、OX40、4-1BB與其配位子之單細胞抗體。

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：(無)

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

