

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：97114003

※申請日期：97.4.17

一、發明名稱：(中文/英文)

A61K 31/437 (2006.01,
A61K 31/519 (2006.01,
C07D 471/04 (2006.01,
C07D 487/04 (2006.01,

三唑并吡啶甲醯胺及三唑并嘧啶甲醯胺衍生物，彼等之製備及在治療上之應用

TRIAZOLOPYRIDINE CARBOXAMIDE AND
TRIAZOLOPYRIMIDINE CARBOXAMIDE DERIVATIVES, THEIR
PREPARATION AND THEIR APPLICATION IN THERAPEUTICS

二、申請人：(共1人)

姓名或名稱：(中文/英文)

法商賽諾菲-安萬特公司
SANOFI-AVENTIS

代表人：(中文/英文)

瑪麗亞 蘇利
SOULEAU, MARIA

住居所或營業所地址：(中文/英文)

法國巴黎市法蘭西大道 174 號
174 AVENUE DE FRANCE, FR-75013 PARIS, FRANCE

國籍：(中文/英文)

法國 FRANCE

三、發明人：(共 2 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 路克 伊凡
EVEN, LUC
2. 克里斯丁 豪奈特
HOORNAERT, CHRISTIAN

國 籍：(中文/英文)

1. 法國 FRANCE
2. 比利時 BELGIUM

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，其事實發生日期為： 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. 法國；2007年04月18日；0702808

2.

☐ 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。

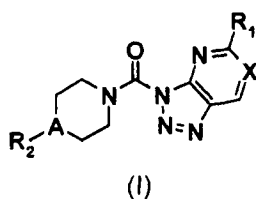
九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於三唑并吡啶甲醯胺及三唑并嘧啶甲醯胺衍生物，彼等之製備及在治療上之應用。

【發明內容】

發明之一標的為對應於式(I)之化合物：



其中：

A及X彼此獨立地表示氮原子或CH基團；

R₁表示視情況經一或多個選自鹵素原子、(C₁-C₆)烷基、鹵基(C₁-C₆)烷基、(C₁-C₆)烷氧基或鹵基(C₁-C₆)烷氧基之基團取代之芳基或雜芳基；且

R₂表示視情況經一或多個選自鹵素原子、甲基、三氟甲基、甲氧基或三氟甲氧基之基團取代之芳基。

式(I)化合物可包含一或多個不對稱碳原子。因此其可以對映異構體或非對映異構體之形式存在。該等對映異構體及非對映異構體以及其混合物(包括外消旋混合物)形成本發明之一部分。

式(I)化合物可以鹼或與酸之加成鹽的形式存在。該等加成鹽形成本發明之一部分。

該等鹽可使用醫藥學上可接受之酸製備，但(例如)可用於純化或分離式(I)化合物的其他酸之鹽亦形成本發明之一

部分。

式(I)化合物亦可以水合物或溶劑合物之形式，主要以與一或多個水分子或與溶劑締合或組合之形式存在。該等水合物及溶劑合物亦形成本發明之一部分。

在本發明之上下文中，應瞭解：

-t及z可取值為1至7之 C_{t-z} ：係指可具有t至z個碳原子之碳基鏈或環，例如 C_{1-3} 可表徵具有1至3個碳原子之碳基鏈；

-鹵素原子：係指氟、氯、溴或碘原子；

-烷基：係指直鏈或支鏈飽和脂族基。作為實例可提及以下基團：甲基、乙基、丙基、異丙基、丁基、異丁基、第三丁基、戊基等；

-鹵烷基：係指一或多個氫原子已經氟原子取代之烷基；

-烷氧基：係指烷基為先前所定義之烷基的-O-烷基；

-鹵烷氧基：係指一或多個氫原子已經鹵素原子取代之烷氧基；

-芳基：係指包含5與14個之間的碳原子之環狀芳族基。作為芳基之實例可提及苯基或萘基；且

-雜芳基：係指包含5或6個碳原子且包含1至4個雜原子(諸如氮、氧或硫)之芳族雜環基。作為雜芳基之實例，可提及吡咯、呋喃、噻吩、吡唑、咪唑、三唑、四唑、噁唑、異噁唑、噁二唑、噻唑、異噻唑、噻二唑、吡啶、嘧啶、吡嗪、噻嗪或三嗪基團。

在諸如以下所定義之各種基團中，當未定義時基團A、X、R₁及R₂具有與以上所述定義相同之定義。

在作為本發明之標的之式(I)化合物中，第一組化合物係由具有以下特徵之化合物形成：

A表示氮原子；且

X表示CH基團。

在作為本發明之標的之式(I)化合物中，第二組化合物係由具有以下特徵之化合物形成：

R₁表示視情況經一或多個選自鹵素原子、(C₁-C₆)烷基、鹵基(C₁-C₆)烷基、(C₁-C₆)烷基或鹵基(C₁-C₆)烷基之基團取代之芳基或雜芳基。

在作為本發明之標的之式(I)化合物中，第三組化合物係由具有以下特徵之化合物形成：

R₁表示視情況經鹵素原子取代之苯基、呋喃、噻吩或萘基團。

諸如上文所定義之1至3組之組合亦形成本發明之一部分。

在作為本發明之標的之式(I)化合物中，尤其可提及以下化合物：

-[5-(2-氯苯基)-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基]-[4-(3-三氟甲基苯基)-哌嗪-1-基]甲酮；

-[5-(3-氯苯基)-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基]-[4-(3-三氟甲基苯基)-哌嗪-1-基]甲酮；

-[5-(4-氯苯基)-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基]-[4-(3-三

氟甲基苯基)-哌嗪-1-基]甲酮；

-(5-呋喃-3-基-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-[4-(3-三氟甲基苯基)-哌嗪-1-基]甲酮；

-(5-噻吩-3-基-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-[4-(3-三氟甲基苯基)-哌嗪-1-基]甲酮；

-(5-萘-2-基-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-[4-(3-三氟甲基-苯基)-哌嗪-1-基]甲酮；

-(5-萘-1-基-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-[4-(3-三氟甲基苯基)-哌嗪-1-基]甲酮。

隨後，應瞭解表述"保護基Pg"意謂使得一方面在合成期間保護諸如羥基或胺之反應性官能基，另一方面在合成結束時可再生完整反應性官能基成為可能之基團。保護基以及保護及去保護方法之實例係於Greene等人之"Protective Groups in Organic Synthesis"，第二版(John Wiley & Sons, Inc., New York)，1991中給出。

隨後，應瞭解表述"離去基"意謂容易經由電子對分離以瓦解異質鍵而自分子上裂解之基團。因此該基團容易在(例如)取代反應中經另一基團置換。該等離去基為(例如)鹵素或活化羥基，諸如甲烷磺酸根、苯磺酸根、對-甲苯磺酸根、三氟甲磺酸根、乙酸根等。離去基之實例以及其製法可參見"Advances in Organic Chemistry", J. March，第3版，Wiley Interscience, 1985，第310-316頁中。

根據本發明，通式(I)之化合物可根據以下流程1中所說明之方法來製備。

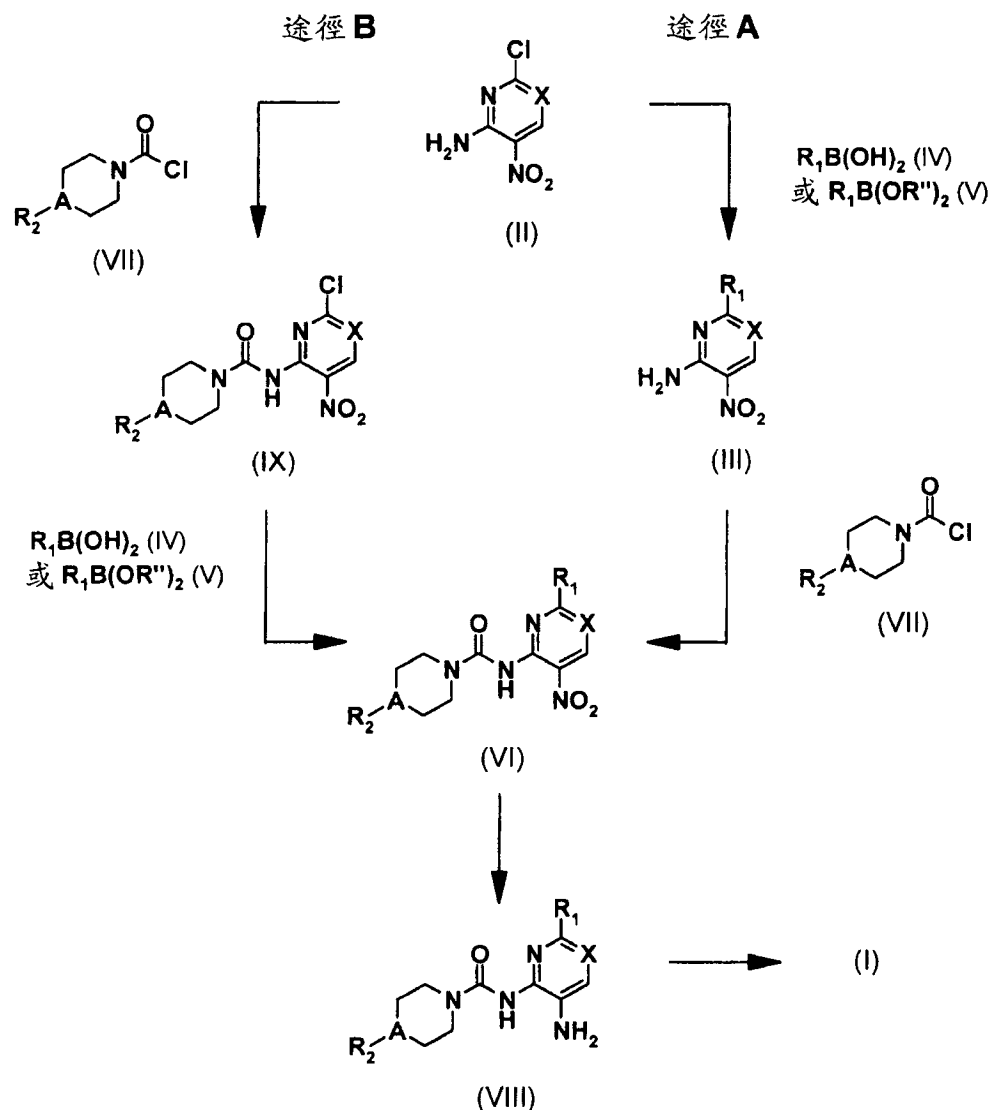
根據途徑 A，在第 1 步驟中，使 X 如上所定義的通式 (II) 之化合物轉化為 X 及 R_1 如上所定義之通式 (III) 之化合物。該轉化係由鈀錯合物催化，與酞酸或各通式 (IV) 或 (V) 之酞酸酯進行偶合反應，其中 R_1 係如先前所定義且 $(OR'')_2$ 表示頻哪醇基團。

在第 2 步驟中，與通式 (VII) 之胺甲鹽氯反應，使 X 及 R_1 如上所定義的通式 (III) 之化合物轉化為 R_1 、 R_2 、X 及 A 如上所定義之通式 (VI) 之化合物。反應係在諸如 N,N-二甲基甲鹽胺或 N-甲基吡咯啉酮之溶劑中在諸如氫化鈉或第三丁醇鉀或第三戊醇鉀之鹼存在下進行。

在第 3 步驟中，藉由硝基還原為胺基，使通式 (VI) 之化合物轉化為通式 (VIII) 之化合物，其中 R_2 、A、 R_1 及 X 如上所定義。該反應可藉由文獻中所述或熟習此項技術者已知之各種方法(諸如在以鈀、鉑或鎳為主之催化劑存在下氫化)及其變化形式來進行。

在第 4 步驟中，藉由重氮化/閉環反應，使通式 (VIII) 之化合物轉化為通式 (I) 之化合物。該反應可在諸如水或四氫呋喃或其混合物之溶劑中，使用亞硝酸鹽/酯(例如於酸性介質之亞硝酸鈉或亞硝酸鉀，或使用亞硝酸異戊酯或亞硝酸第三丁酯)來進行。

流程 1



流程 1 之途徑 B 說明製備式 (I) 化合物之替代方法。

在第 1 步驟中，藉由與如先前所定義之通式 (VII) 胺甲醯氯反應使通式 (II) 之化合物轉化為通式 (IX) 之化合物。在第 2 步驟中，藉由與諸如先前所定義之通式 (IV) 或 (V) 之酞酸或酞酸酯反應使通式 (IX) 化合物轉化為通式 (VI) 化合物。隨後，如先前所說明使通式 (VI) 化合物轉化為通式 (VIII) 化合物且隨後轉化為通式 (I) 之化合物。

通式 (II)、(IV) 及 (V) 之化合物可購得。若通式 (VII) 之胺

甲醯氯不可購得，則其可由文獻中所述或熟習此項技術者已知之任何方法，藉由與光氯、雙光氯或三光氯反應(例如)自相應胺製備。

【實施方式】

以下實例說明本發明之某些化合物的製備。該等實例不限制本發明，而僅用以說明本發明。微量分析、IR及NMR光譜及/或LC-MS確認所得化合物之結構及純度。熔點(MP)以攝氏度指示。

實例1(來自表之第3號化合物)

[5-(4-氯苯基)-[1,2,3]三唑并[4,5-*b*]吡啶-3-基]-[4-(3-三氟甲基苯基)-哌嗪-1-基]甲酮

1.1. 4-(3-三氟甲基苯基)哌嗪-1-甲酸，(6-氯-3-硝基-吡啶-2-基)醯胺

途徑B：

在氬氣氛下，將0.55 g(13.83 mmol)於油中之60%氫化鈉以數份添加至由冰浴冷卻之1 g(5.76 mmol)2-胺基-6-氯-3-硝基吡啶及2 g(6.91 mmol)4-(3-三氟甲基苯基)-1-哌嗪羰基氯(自1-(3-三氟甲基苯基)哌嗪及三光氯製備)於11 ml二甲基甲醯胺中之溶液中。將反應混合物在冰浴溫度下持續攪拌15分鐘，隨後在周圍溫度下攪拌2小時。將其藉由冰浴冷卻且逐滴添加40 ml鹽酸之1 M水溶液。添加40 ml乙酸乙酯且將混合物用力攪拌15分鐘。藉由添加氫氧化鈉之1 M水溶液將其調節至鹼性pH值。傾析有機相，將其用25 ml水及25 ml飽和氯化鈉水溶液洗滌。將其經硫酸鈉乾燥

且蒸發至乾燥。將產物藉由矽膠層析相繼用環己烷與乙酸乙酯之 80/20 及 60/40 混合物溶離來純化。獲得 1.54 g (產率：62%) 呈橘黃色膠狀物形式之產物。

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm) : 8.65 (d, 1H), 7.40-7.75 (m+d, 4H), 7.35 (d, 1H), 3.90 (m, 4H), 3.50 (m, 4H)。

1.2. 4-(3-三氟甲基苯基)哌嗪-1-甲酸[6-(4-氯苯基)-3-硝基吡啶-2-基]醯胺

途徑 B：

在氮氣氛下，將以下物質混合：0.64 g (1.50 mmol) 步驟 1.1 (途徑 B) 中所獲得之 4-(3-三氟甲基苯基)哌嗪-1-甲酸(6-氯-3-硝基-吡啶-2-基)醯胺、0.33 g (2.1 mmol) 4-氯苯醯酸、1.87 ml (3.75 mmol) 碳酸鈉之 2 M 水溶液及於 100 ml 預先脫氣之乙醇/甲苯/水 (v/v : 1/1/0.4) 混合物中之 0.18 g (4.26 mmol) 氯化鋰。添加 0.08 g (0.07 mmol) 肆(三苯基膦)鈹(0)。將混合物在 90°C 下加熱，同時攪拌 8 小時。將其冷卻至周圍溫度，隨後用 50 ml 二氯甲烷及 25 ml 水稀釋。傾析有機相，將其用 25 ml 水及 25 ml 飽和氯化鈉溶液洗滌。將其經硫酸鈉乾燥且蒸發至乾燥。將產物藉由矽膠層析相繼用環己烷與乙酸乙酯之 80/20 及 60/40 混合物溶離來純化。獲得 0.6 g (產率：79%) 呈油狀物形式之產物。

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm) : 8.55 (d, 1H), 8.30 (d, 2H), 8.00 (d, 1H), 7.80 (d, 2H), 7.80 (m, 1H), 7.60 (m, 1H), 7.40 (m, 2H), 7.20 (m, 1H), 3.8 (m, 4H), 3.50 (m, 4H)。

途徑 A：或者，可如下製備 4-(3-三氟甲基苯基)-哌嗪-1-

甲酸[6-(4-氯苯基)-3-硝基吡啶-2-基]鹽胺。

在氮氣氛下，混合以下物質：1 g(5.76 mmol)2-胺基-6-氯-3-硝基吡啶、1.26 g(8.07 mmol)4-氯苯醌酸、7.2 ml(14.4 mmol)碳酸鈉之2 M水溶液及於44 ml預先脫氣之乙醇/甲苯/水(v/v：1/1/0.4)混合物中之0.7 g(16.36 mmol)氯化鋰。添加0.34 g(0.29 mmol)肆(三苯基膦)鈀(0)。將混合物在90℃下加熱，同時攪拌18小時。將其冷卻至周圍溫度，隨後用50 ml二氯甲烷及25 ml水稀釋。傾析有機相，將其用25 ml水及25 ml飽和氯化鈉溶液洗滌。將其經硫酸鈉乾燥且蒸發至乾燥。將產物藉由矽膠層析相繼用二氯甲烷與環己烷之50/50及80/20混合物溶離來純化。獲得0.395 g(產率：27%)呈白色粉末形式之6-(4-氯苯基)-3-硝基吡啶-2-基胺。

LC-MS (m/z)：250 (MH⁺)

¹H NMR (DMSO-d₆, δ ppm)：8.45 (d, 1H), 8.15 (d, 1H), 7.95 (m, 2H), 7.60 (d, 1H), 7.30 (d, 1H), 7.20 (d, 1H)。

如步驟1.1中使用該產物以獲得4-(3-三氟甲基苯基)-哌嗪-1-甲酸[6-(4-氯苯基)-3-硝基吡啶-2-基]鹽胺。

1.3. 4-(3-三氟甲基苯基)哌嗪-1-甲酸[3-胺基-6-(4-氯苯基)吡啶-2-基]鹽胺

在氮化燒瓶中，將0.72 g(1.44 mmol)步驟1.2(途徑A或B)中所獲得之4-(3-三氟甲基苯基)-哌嗪-1-甲酸[6-(4-氯苯基)-3-硝基吡啶-2-基]鹽胺溶解於250 ml乙醇與1.44 ml 1 M鹽酸水溶液(1.44 mmol)之混合物中。添加0.13 g 10%鉑

(0.72 mmol)/木炭。將混合物在氫氣氛中在40 psi(2.5巴)之壓力下攪拌2小時。添加5 ml鹽酸於異丙醇中之5 N溶液，將其經矽藻土過濾且用乙醇洗滌。將濾液蒸發以獲得0.57 g(產率：84%)呈紅色粉末形式之產物。

LC-MS (m/z) : 476 (MH⁺)

¹H NMR (DMSO-d₆, δ ppm) : 7.90 (d, 2H), 7.65 (d, 2H), 7.50 (m, 3H), 7.35 (m, 1H), 7.20 (m, 2H), 7.00 (m, 1H), 3.60 (m, 4H), 3.25 (m, 4H)。

1.4. [5-(4-氯苯基)-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基]-[4-(3-三氟甲基-苯基)哌嗪-1-基]甲酮

在100 ml三頸燒瓶中，將0.55 g(1.17 mmol)步驟1.3中所獲得之4-(3-三氟甲基苯基)-哌嗪-1-甲酸[3-胺基-6-(4-氯苯基)吡啶-2-基]醯胺溶解於由冰浴冷卻之5 ml水與5 ml 37%鹽酸水溶液之混合物中。使用滴液漏斗逐滴添加0.24 g(3.50 mmol)溶解於4 ml水中之亞硝酸鈉。在0℃下將混合物攪拌兩小時。使其在冰浴中靜置1小時隨後過濾固體。將其用10 ml水洗滌3次以獲得米色固體。將其在真空中在五氧化二磷存在下乾燥。將產物藉由矽膠層析相繼環己烷與乙酸乙酯之80/20及60/40混合物溶離來純化。將所獲得之油在戊烷中結晶以獲得0.15 g(產率：26%)呈淺黃色粉末形式之產物。

熔點(℃) : 139-141℃

LC-MS (m/z) : 487 (MH⁺)

IR (KBr, cm⁻¹) : 1718, 1591

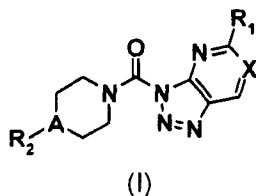
^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm) : 8.80 (d, 1H), 8.25 (dd, 3H), 7.60 (d, 2H), 7.45 (t, 1H), 7.25 (d, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.10 (d, 1H), 3.30-4.00 (m, 8H)。

下表1中說明一些本發明化合物實例之化學結構及物理特性。在該表中：

-在行"鹽"中，"-"表示呈游離鹼形式之化合物，而"HCl"表示呈鹽酸鹽形式之化合物；且

-Ph表示苯基。

表 1



編號	R ₁	R ₂	X	A	鹽	MP(°C)(熔點)
1	2-Cl-Ph	3-CF ₃ -Ph	CH	N	-	69-71
2	3-Cl-Ph	3-CF ₃ -Ph	CH	N	-	102-104
3	4-Cl-Ph	3-CF ₃ -Ph	CH	N	-	139-141
4	呋喃-3-基	3-CF ₃ -Ph	CH	N	-	68-70
5	噻吩-2-基	3-CF ₃ -Ph	CH	N	-	93-95
6	萘-1-基	3-CF ₃ -Ph	CH	N	-	90-92
7	萘-2-基	3-CF ₃ -Ph	CH	N	-	80-82

令人驚奇地，本發明化合物具有對MGL(單鹽基甘油酯脂肪酶)酶之抑制作用。MGL酶催化各種脂肪酸之單酸甘油酯之內因性衍生物之水解(FEBS Letters 1998, 429, 152-156)及尤其2-花生四烯鹽甘油(2-AG)及1(3)-花生四烯鹽甘油(1(3)-AG)之水解(J. Biol. Chem. 1987, 272 (48), 27218-27223 ; Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2002, 99 (16), 10819-

10824 ; Biochem. Pharmacol. 2004, 67, 1381-1387 ; Mol. Pharmacol. 2004, 66 (5), 1260-1264)。2-AG及1-(3)-AG衍生物尤其與大麻鹼受體相互作用(J. Biol. Chem. 1999, 274 (5), 2794-2801 ; J. Biol. Chem. 2000, 275 (1), 605-612 ; British J. Pharmacol. 2001, 134, 664-672)。

本發明化合物阻斷此降解途徑且提高該等衍生物及尤其2-AG及/或1(3)-AG之組織含量。因此，可將其用於預防及治療牽涉2-AG及/或1(3)-AG，尤其及/或由MGL酶代謝之任何其他受質之病狀(Progress Lipid Research 2006, 45, 405-446)。

本發明之化合物亦可另外對FAAH(脂肪酸醯胺水解酶)酶具有抑制作用。FAAH酶(*Chemistry and Physics of Lipids*, (2000), 108, 107-121)催化各種脂肪酸之醯胺及酯之內因性衍生物之水解，諸如*N*-花生四烯醯乙醇胺(大麻素)、*N*-棕櫚醯乙醇胺、*N*-油醯乙醇胺或油醯胺。尤其當與大麻鹼及香草精類受體相互作用時，該等衍生物發揮各種藥理學活性。

本發明化合物阻斷此降解途徑且提高該等內因性物質之組織含量。因此，其可用於預防及治療牽涉內因性大麻鹼及/或由FAAH酶代謝之任何其他受質之病狀。

測試包含量測本發明之化合物對MGL酶之活體外活性。

於放射性酶學試驗中，量測MGL水解2-油醯甘油($[^3\text{H}]2\text{-OG}$)得到之水解產物，以測定抑制活性。對甘油加以標記之 $[^3\text{H}]2\text{-OG}$ 之水解產物為油酸及 $[^3\text{H}]$ 甘油，且MGL酶來源

為小腦及延髓已經移除之小鼠腦勻漿。取出小鼠腦，儲存於-80℃下直至使用或在4℃下使用Precellys均質機，在5000 rpm(Berlin)下在10 mM tris-HCl、150 mM NaCl、1 mM EDTA緩衝液(pH 8)中立即均質化5秒鐘2次。隨後將勻漿之濃度調節至7.5 µg/µl。

在100% DMSO中由20 mM儲備溶液製備化合物之一系列稀釋液。在100% DMSO中製備此系列之第一稀釋液，隨後在酶促反應緩衝液(50 mM磷酸鹽，0.1% BSA)中製備第二稀釋液，從而產生10倍濃縮濃度範圍。將所選濃度之待測試化合物與小鼠腦勻漿製劑一起預培養20分鐘。在酶促反應中DMSO之最終濃度不超過0.1%。

在96孔微定量板中以100 µl之最終反應體積進行MGL活性之檢定。簡言之，將與待測試化合物一起預培養之75 µg蛋白質稀釋於50 mM含有0.1% BSA之磷酸鹽緩衝液中，且在周圍溫度下在含有適量0.027微居里(µCi)/孔(20 Ci/mmol之比活性)之 $[^3\text{H}]$ 2-OG之50 µM 2-OG存在下培養20分鐘。終止反應且將所形成之產物藉由添加100 µl氯仿/甲醇(1/1)之混合物分離。攪拌10分鐘之後，將微定量板在4000 g下離心15分鐘且移除30 µl含有所產生 $[^3\text{H}]$ 甘油之水相之等分試樣且隨後藉由液體閃爍法(Wallac 1450 Microbeta)計數5分鐘。

藉由抑制MGL活性之50%之濃度給出對於MGL之抑制活性。

在該等條件下，最具活性之本發明化合物具有0.001與

0.1 μM 之間的 IC_{50} (抑制MGL之對照酶活性之50%之濃度)。

舉例而言，第3號及第5號化合物分別展示0.002與0.007 μM 之 IC_{50} 。

測試包含量測本發明化合物對FAAH酶之活體外活性。

根據對由FAAH水解大麻素得到之水解產物(乙醇胺[1- ^3H])之量測，以放射性酶學測試量測抑制活性(Life Science (1995), 56, 1999-2005及Journal of Pharmacology and Experimented Therapeutics (1997), 283, 729-734)。對乙醇胺加以標記之[^3H]大麻素之水解產物為花生四烯酸及[^3H]乙醇胺，且FAAH酶來源為小腦及延髓已經移除之小鼠腦勻漿。移除小鼠腦，將其儲存於 -80°C 下直至使用或在 4°C 下使用Precellys機在5000 rpm(Berlin)下在10 mM tris-HCl、150 mM NaCl、1 mM EDTA緩衝液(pH 8)中其立即均質化5秒鐘2次。隨後將勻漿之濃度調節至20 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 之濃度。

在100% DMSO中由20 mM儲備溶液製備化合物之一系列稀釋液。在100% DMSO中製備此系列之第一稀釋液，隨後在酶促反應緩衝液(10 mM tris-HCl, 150 mM NaCl、1 mM EDTA(pH 8)、0.1% BSA)中製備第二稀釋液，從而產生10倍濃縮濃度範圍。將所選濃度之待測試化合物與小鼠腦勻漿製劑一起預培養20分鐘。在酶促反應中DMSO之最終濃度不超過0.1%。

在96孔微定量板中以70 μl 之最終反應體積進行FAAH活

性之檢定。簡言之，將與待測試化合物一起預培養之200 μg 小鼠腦勻漿稀釋於含有0.1% BSA之10 mM tris-HCl、150 mM NaCl、1 mM EDTA(pH 8)中，且在周圍溫度下在含有適量0.01微居里/孔(60 Ci/mmol之比活性)之 $[^3\text{H}]$ -大麻素之10 μM 大麻素存在下培養20分鐘。終止反應且藉由添加且混合140 μl 氯仿/甲醇(2/1)分離所形成之產物。攪拌10分鐘之後，將微定量板在4000 g下離心15分鐘且移除30 μl 含有所產生之 $[^3\text{H}]$ 乙醇胺之水相之等分試樣且隨後藉由液體閃爍法(Wallac 1450 Microbeta)計數5分鐘。

在該等條件下，最具活性之本發明化合物具有0.001與0.1 μM 之間的 IC_{50} (抑制FAAH之對照酶活性之50%之濃度)。

舉例而言，第3號化合物展示0.002 μM 之 IC_{50} 。

因此，顯然本發明化合物對MGL具有選擇性抑制活性或對MGL及FAAH具有混合性抑制活性。

因此，本發明化合物可用於製備藥物，尤其抑制MGL酶或MGL及FAAH酶之藥物。

因此，根據其另一態樣，本發明之一標的為包含式(I)化合物或其與醫藥學上可接受之酸的加成鹽或式(I)化合物之水合物或溶劑合物之藥物。

在治療中，尤其在治療及預防以下疾病中該藥物具有用途：

疼痛，尤其神經型急性或慢性疼痛：偏頭痛、包括與疱疹病毒及糖尿病有關之形式之神經痛；

與發炎性疾病有關之急性或慢性疼痛：關節炎、類風濕性關節炎、骨關節炎、脊椎炎、痛風、血管炎、克羅恩氏病(Crohn's disease)、大腸急躁症；

急性或慢性周邊型疼痛；

眩暈、嘔吐、噁心，尤其化學療法之後；

飲食病症，尤其厭食症及各種性質之惡病質；

代謝症候群及其表現型，包括肥胖症；

血脂異常及其表現型，包括動脈粥樣硬化及冠狀動脈疾病；

神經及精神病理性病狀：顫抖、運動障礙、張力障礙、痙攣、強迫行為、妥瑞症候群(Tourette's syndrome)、所有形式之抑鬱症及任何性質及來源之焦慮症、情緒病症、精神病；

急性及慢性神經退化性疾病：帕金森氏病(Parkinson's disease)、阿茲海默氏病(Alzheimer's disease)、老年性癡呆、亨廷頓氏舞蹈病(Huntington's chorea)、與大腦局部缺血及頭顱及脊髓損傷有關之病變、肌萎縮性側索硬化；

癲癇症；

睡眠病症，包括睡眠呼吸暫停；

心臟血管疾病，尤其高血壓、心律失常、動脈硬化、心臟病發作、心肌局部缺血；

腎缺血；

癌症：良性皮膚腫瘤、乳頭狀瘤及腦瘤、前列腺腫瘤、腦瘤(神經膠母細胞瘤、髓上皮瘤、神經管胚細胞瘤、神

經母細胞瘤、胚胎來源之腫瘤、星形細胞瘤、星形母細胞瘤、室鼓膜瘤、少枝膠質瘤、叢腫瘤、神經上皮瘤、骹腫瘤、室管膜母細胞瘤、惡性脊膜瘤、肉瘤病、惡性黑色素瘤、神經鞘瘤)；

免疫系統病症，尤其自體免疫疾病：牛皮癬、紅斑狼瘡、結締組織之疾病或膠原蛋白疾病、史格倫症候群 (Sjogren's syndrome)、強直性脊椎炎、未分化椎關節炎、白塞氏病 (Behcet's disease)、溶血性自體免疫貧血症、多發性硬化症、肌萎縮性側索硬化、蛋白樣變性 (amylosis)、移植體排斥、影響漿細胞系之疾病；

過敏性疾病：直接或遲發型過敏、過敏性鼻炎或結膜炎、接觸性皮炎；

寄生蟲、病毒或細菌感染性疾病：AIDS、腦膜炎；

發炎性疾病，尤其關節疾病：關節炎、類風濕性關節炎、骨關節炎、脊椎炎、痛風、血管炎、克羅恩氏病、大腸急躁症；

骨質疏鬆症；

眼部病狀：眼高壓、青光眼；

肺部病狀：呼吸道疾病、支氣管痙攣、咳嗽、哮喘、慢性支氣管炎、慢性呼吸道阻塞、肺氣腫；

胃腸疾病：大腸急躁症、發炎性腸病、潰瘍、腹瀉；及尿失禁及膀胱炎。

根據其另一態樣，本發明係關於包含作為活性成分之本發明化合物之醫藥組合物。該等醫藥組合物含有有效劑量

之至少一種本發明化合物或該化合物之醫藥學上可接受之鹽、水合物或溶劑合物，以及至少一種醫藥學上可接受之賦形劑。

該等賦形劑係視所需醫藥形式及投藥方法而定選自熟習此項技術者已知之習知賦形劑。

在用於經口、舌下、皮下、肌肉內、靜脈內、局部(topical、local)、氣管內、鼻內、經皮或直腸投藥之本發明之醫藥組合物中，上式(I)之活性成分或其可選鹽、溶劑合物或水合物可以單劑量投藥形式以與習知醫藥賦形劑之混合物形式投與動物或投與人類以供預防或治療以上病症或疾病。

合適單劑量投藥形式包含經口形式，諸如錠劑、軟質或硬質明膠膠囊、散劑、顆粒劑及口服溶液或懸浮液；用於經舌下、經頰、氣管內、眼內及鼻內投藥及經吸入投藥之形式；用於局部、經皮、皮下、肌肉內或靜脈內投藥之形式；經直腸投藥之形式；及植入物形式。對於局部應用而言，可以乳膏、凝膠、軟膏或洗劑之形式使用本發明之化合物。

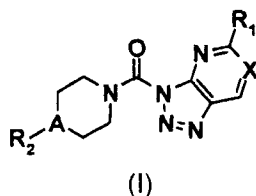
舉例而言，呈錠劑形式之本發明化合物之單劑量投藥形式可包含以下化合物：

本發明之化合物	50.0 mg
甘露糖醇	223.75 mg
交聯羧甲纖維素鈉	6.0 mg
玉米澱粉	15.0 mg
羥丙基甲基纖維素	2.25 mg
硬脂酸鎂	3.0 mg

根據本發明之另一態樣，本發明亦係關於治療上文所說明之病理性病狀之方法，該方法包含向患者投與有效劑量之本發明化合物或其醫藥學上可接受之鹽或水合物或溶劑合物中之一者。

五、中文發明摘要：

本發明係關於通式(I)之三唑并吡啶甲醯胺及三唑并嘧啶甲醯胺衍生物：



其中：

A及X彼此獨立地表示氮原子或CH基團；

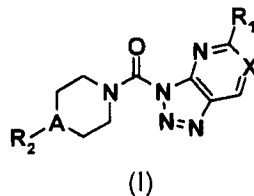
R₁表示視情況經一或多個選自鹵素原子、(C₁-C₆)烷基、鹵基(C₁-C₆)烷基、(C₁-C₆)烷氧基或鹵基(C₁-C₆)烷氧基之基團取代之芳基或雜芳基；且

R₂表示視情況經一或多個選自鹵素原子、甲基、三氟甲基、甲氧基或三氟甲氧基之基團取代之芳基。

本發明係關於製備方法及在治療上之應用。

六、英文發明摘要：

The invention relates to triazolopyridine carboxamide and triazolopyrimidine carboxamide derivatives of general formula (I)



in which:

A and X represent, independently of one another, a nitrogen atom or a CH group;

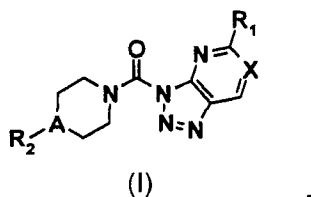
R₁ represents an aryl or heteroaryl group, optionally substituted by one or more groups chosen from a halogen atom, a (C₁-C₆)alkyl, halo(C₁-C₆)alkyl, (C₁-C₆)alkoxy or halo(C₁-C₆)alkoxy group; and

R₂ represents an aryl group, optionally substituted by one or more groups chosen from a halogen atom, a methyl, trifluoromethyl, methoxy or trifluoromethoxy group.

Preparation method and application in therapeutics.

十、申請專利範圍：

1. 一種對應於式(I)之化合物：



其中：

A及X彼此獨立地表示氮原子或CH基團；

R₁表示視情況經一或多個選自鹵素原子、(C₁-C₆)烷基、鹵基(C₁-C₆)烷基、(C₁-C₆)烷氧基或鹵基(C₁-C₆)烷氧基之基團取代之芳基或雜芳基；且

R₂表示視情況經一或多個選自鹵素原子、甲基、三氟甲基、甲氧基或三氟甲氧基之基團取代之芳基，

其鹼或與酸形成之加成鹽之形式，以及其水合物或溶劑合物之形式。

2. 如請求項1之式(I)化合物，其特徵在於：

A表示氮原子；且

X表示CH基團，

其鹼或與酸形成之加成鹽之形式，以及其水合物或溶劑合物之形式。

3. 如請求項1及2中任一項之式(I)化合物，其特徵在於：

R₁表示視情況經一或多個選自鹵素原子、(C₁-C₆)烷基、鹵基(C₁-C₆)烷基、(C₁-C₆)烷氧基或鹵基(C₁-C₆)烷氧基之基團取代之芳基或雜芳基，

其鹼或與酸形成之加成鹽之形式，以及其水合物或溶

劑合物之形式。

4. 如請求項1至3中任一項之式(I)化合物，其特徵在於： R_1 表示視情況經鹵素原子取代之苯基、呋喃基、噻吩基或萘基，

其鹼或與酸形成之加成鹽之形式，以及其水合物或溶劑合物之形式。

5. 如請求項1至4中任一項之式(I)化合物，其特徵在於其係選自：

-[5-(2-氯苯基)-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基]-[4-(3-三氟甲基苯基)-哌嗪-1-基]甲酮；

-[5-(3-氯苯基)-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基]-[4-(3-三氟甲基苯基)-哌嗪-1-基]甲酮；

-[5-(4-氯苯基)-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基]-[4-(3-三氟甲基苯基)-哌嗪-1-基]甲酮；

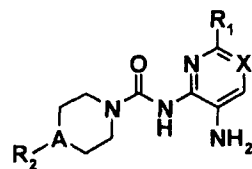
-(5-呋喃-3-基-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-[4-(3-三氟甲基苯基)-哌嗪-1-基]甲酮；

-(5-噻吩-3-基-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-[4-(3-三氟甲基苯基)-哌嗪-1-基]甲酮；

-(5-萘-2-基-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-[4-(3-三氟甲基-苯基)-哌嗪-1-基]甲酮；

-(5-萘-1-基-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-[4-(3-三氟甲基苯基)-哌嗪-1-基]甲酮。

6. 一種製備如請求項1至5中任一項之式(I)化合物之方法，



其特徵在於由通式(VIII)之化合物： (VIII) ，

其中 R_1 、 R_2 、 X 及 A 係如請求項 1 之式 (I) 中所定義，在亞硝酸鹽/酯作用下進行重氮化/閉環反應，轉化為通式 (I) 之化合物。

7. 一種藥物，其特徵在於其包含如請求項 1 至 5 中任一項之式 (I) 化合物或該化合物與醫藥學上可接受之酸的加成鹽或該式 (I) 化合物之水合物或溶劑合物。
8. 一種醫藥組合物，其特徵在於其包含如請求項 1 至 5 中任一項之式 (I) 化合物或該化合物之醫藥上可接受之鹽、水合物或溶劑合物及至少一種醫藥上可接受之賦形劑。
9. 一種如請求項 1 至 5 中任一項之式 (I) 化合物之用途，其係用於製備治療及預防牽涉內因性 2-花生四烯醯甘油 (2-AG) 及 1(3)-花生四烯醯甘油及/或由 MGL 酶代謝之任何其他受質的病狀之藥物。
10. 一種如請求項 1 至 5 中任一項之式 (I) 化合物之用途，其係用於製備治療及預防牽涉內因性大麻素及/或由 FAAH 酶代謝之任何其他受質的病狀之藥物。
11. 一種呈醫藥學上可接受之鹼、水合物或溶劑合物形式之如請求項 1 至 5 中之任一項之式 (I) 化合物之用途，其係用於製備預防或治療以下疾病之藥物：急性或慢性疼痛、眩暈、嘔吐、噁心、飲食病症、代謝症候群、血脂異常、神經及精神病理性病狀、急性或慢性神經退化性疾

病，癲癇症、睡眠障礙、心臟血管疾病、腎缺血、癌症、免疫系統病症、過敏性疾病、寄生蟲感染性疾病、病毒感染性疾病或細菌感染性疾病、發炎性疾病、骨質疏鬆症、眼部病狀、肺部病狀、胃腸疾病、尿失禁及膀胱炎。

12. 如請求項1至5中任一項之式(I)化合物，其醫藥學上可接受之鹼、水合物或溶劑合物形式，其係用以預防或治療以下疾病：急性或慢性疼痛、眩暈、嘔吐、噁心、飲食病症、代謝症候群、血脂異常、神經及精神病理性病狀、急性或慢性神經退化性疾病、癲癇症、睡眠障礙、心臟血管疾病、腎缺血、癌症、免疫系統病症、過敏性疾病、寄生蟲感染性疾病、病毒感染性疾病或細菌感染性疾病、發炎性疾病、骨質疏鬆症、眼部病狀、肺部病狀、胃腸疾病、尿失禁及膀胱炎。

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：