



(21)申請案號：109146917

(22)申請日：中華民國 109 (2020) 年 12 月 30 日

(51)Int. Cl.：

A61K31/519 (2006.01)

A61K31/4985 (2006.01)

A61K31/437 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2020/01/03

美國

62/956,960

(71)申請人：美商英塞特公司 (美國) INCYTE CORPORATION (US)

美國

(72)發明人：王慧 WANG, HUI (CN)；阿爾曼葛羅 朱安 卡洛斯 ALMAGRO, JUAN CARLOS (US)；邦潘 麗貝卡 A BUONPANE, REBECCA A. (US)；卡森 彼得 尼爾斯 CARLSEN, PETER NIELS (US)；黃台生 HUANG, TAISHENG (CN)；李勇 LI, YONG (CN)；林 魯萍 LIN, LUPING (US)；納斯翠 霍拉西奧 G NASTRI, HORACIO G. (US)；祁超 QI, CHAO (CN)；斯圖爾特 肖恩 M STEWART, SHAUN M. (US)；西凱特 普拉瑪德 尤尼克利西南 THEKKAT, PRAMOD UNNIKRIISHNAN (IN)；王曉釗 WANG, XIAOZHAO (CN)；吳亮星 WU, LIANGXING (CN)；姚 文清 YAO, WENQING (US)；周 勁 ZHOU, JING (US)；朱 文育 ZHU, WENYU (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：26 項 圖式數：3 共 149 頁

(54)名稱

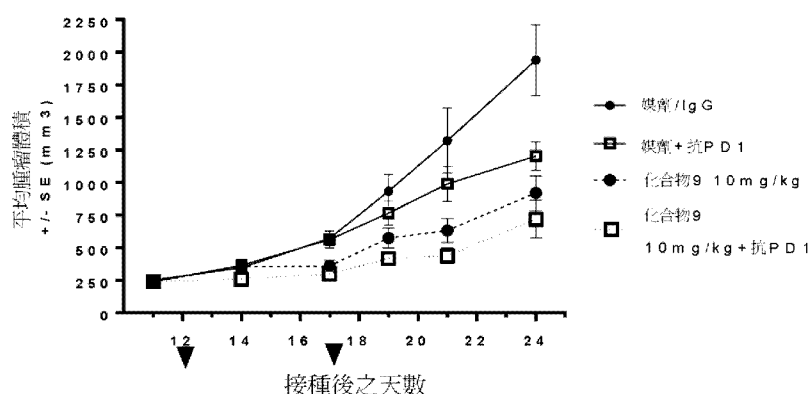
包含 A2A / A2B 及 PD-1 / PD-L1 抑制劑之組合療法

(57)摘要

本申請案提供使用 A2A 及/或 A2B 抑制劑及 PD-1 及/或 PD-L1 抑制劑之組合治療癌症之方法。

The present application provides methods of treating cancer using a combination of an inhibitor of A2A and/or A2B and an inhibitor of PD-1 and/or PD-L1.

指定代表圖：



【圖 3A】



202135824

【發明摘要】

【中文發明名稱】 包含 A2A/A2B 及 PD-1/PD-L1 抑制劑之組合療法

【英文發明名稱】 COMBINATION THERAPY COMPRISING A2A/A2B AND
PD-1/PD-L1 INHIBITORS

【中文】

本申請案提供使用 A2A 及/或 A2B 抑制劑及 PD-1 及/或 PD-L1 抑制劑之組合治療癌症之方法。

【英文】

The present application provides methods of treating cancer using a combination of an inhibitor of A2A and/or A2B and an inhibitor of PD-1 and/or PD-L1.

【指定代表圖】 圖 3A

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 包含 A2A/A2B 及 PD-1/PD-L1 抑制劑之組合療法

【英文發明名稱】 COMBINATION THERAPY COMPRISING A2A/A2B AND PD-1/PD-L1 INHIBITORS

【技術領域】

【0001】 本文揭示包含 A2A/A2B 抑制劑及 PD-1/PD-L1 抑制劑之組合療法及使用該等組合療法治療病症(例如癌症)之方法。

【先前技術】

【0002】 一些癌症患者具有較差的長期預後及/或對此項技術中常用之一或多種類型之治療有抗性。因此，在此難以治療之患者群體中仍然需要具有增加之功效及改良之安全性概況的有效癌症療法。

【發明內容】

【0003】 本申請案尤其提供治療個體癌症之方法，其包括向個體投與：

- (i) A2A/A2B 抑制劑；及
- (ii) PD-1/PD-L1 抑制劑。

【0004】 根據說明書及申請專利範圍，將明了本發明之其他特征、目標及優點。

【圖式簡單說明】

【0005】

圖 1A-1C 顯示在與原代 T 細胞共培養之 CHO-PD-L1 中，化合物 9 與(1A)派姆單抗(pembrolizumab)、(1B)抗體 X 及(1C)化合物 Y 之協同效應(參見實例 1)。

圖 2A-2D 顯示在用 CD3 抗體刺激之 PBMC 中，化合物 9 或化合物 3A 與阿替珠單抗(atezolizumab)之協同效應。

圖 3A-3C 顯示在臨床前 CT26 及 B16-F10 腫瘤模型中化合物 9 及抗 PD1 (針對鼠

類 PD-1 之純系 29F.1A12)之抗腫瘤效應。(3A) 10 mg/kg BID 化合物 9 在 CT26 同基因模型中作為單劑及與抗 PD1 抗體之組合之功效研究。(3B) 10 mg/kg BID 化合物 9 在 CT-26 NSG 異種移植物模型中之功效研究。(3C) 10 mg/kg BID 化合物 9 在 B16 同基因模型中作為單劑及與抗 PD-L1 抗體之組合之功效研究。

【實施方式】

【0006】 本申請案提供治療個體癌症之方法，其包括向個體投與：

(i) A2A/A2B 抑制劑；及

(ii) PD-1/PD-L1 抑制劑。

A2A/A2B 抑制劑

【0007】 腺苷係可經由許多免疫細胞類型調節免疫反應之細胞外信號傳導分子。Drury 及 Szent-György 首次將腺苷識別為冠狀血管緊張性之生理調控劑 (Sachdeva, S.及 Gupta, M. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 2013, 21, 245-253)，然而，直至 1970 年 Sattin 及 Rall 才表明腺苷經由佔據細胞表面上之特定受體來調控細胞功能(Sattin, A.及 Rall, T.W., 1970. *Mol. Pharmacol.* 6, 13-23；Hasko', G.等人，2007, *Pharmacol. Ther.* 113, 264-275)。

【0008】 腺苷在多種其他生理功能中起重要作用。其在連接至三個磷酸基團時參與核酸之合成；其形成細胞能量系統之整體組分 ATP。腺苷可藉由細胞外 ATP 之酶分解產生，或亦可藉由穿過受損質膜自受損神經元及神經膠細胞釋放 (Tautenhahn, M.等人，*Neuropharmacology*, 2012, 62, 1756-1766)。在外周神經系統及在中樞神經系統中，腺苷經由作用於定位於細胞膜上的特定受體產生多種藥理學效應(Matsumoto, T.等人，*Pharmacol. Res.*, 2012, 65, 81-90)。已闡述細胞外腺苷產生的替代途徑。該等途徑包括藉由 CD38、CD203a 及 CD73 之協同作用自菸鹼胺二核苷酸(NAD)而非 ATP 產生腺苷。腺苷之 CD73 非依賴性產生亦可藉由其他磷酸酯(例如鹼性磷酸酶或前列腺特異性磷酸酶)來進行。

【0009】 在人類中存在腺苷受體之四種已知亞型，包括 A1、A2A (ADORA2A)、A2B (ADORA2B)及 A3 受體。A1 及 A2A 係高親和力受體，而 A2B 及 A3 係低親和力受體。腺苷及其促效劑可經由該等受體中之一或多者起作用且可調節腺苷酸環化酶之活性，該酶負責增加環狀 AMP (cAMP)。不同受體對此酶具有差異刺激及抑制效應。細胞內 cAMP 濃度增加可抑制免疫細胞及發炎細胞之活性(Livingston, M.等人，*Inflamm. Res.*, 2004, 53, 171-178)。

【0010】 A2A 腺苷受體可在外周神經系統及 CNS 中進行信號傳導，其中促效劑用作抗發炎藥物且拮抗劑用於神經退化性疾病(Carlsson, J.等人，*J. Med. Chem.*, 2010, 53, 3748-3755)。在大多數細胞類型中，A2A 亞型抑制細胞內鈣水準，而 A2B 加強細胞內鈣水準。A2A 受體通常似乎抑制免疫細胞之發炎反應(Bormann, T.等人，*J. Med. Chem.*, 2009, 52(13), 3994-4006)。

【0011】 A2B 受體在胃腸道、膀胱、肺中及肥大細胞上高表現(Antonioli, L.等人，*Nature Reviews Cancer*, 2013, 13, 842-857)。A2B 受體儘管在結構上與 A2A 受體密切相關且能夠活化腺苷酸環化酶，但其功能不同。假設此亞型可利用除腺苷酸環化酶外之信號轉導系統(Livingston, M.等人，*Inflamm. Res.*, 2004, 53, 171-178)。在所有腺苷受體中，A2B 腺苷受體視為低親和力受體，認為其在生理條件下保持沈默且因細胞外腺苷水準增加而活化(Ryzhov, S.等人，*Neoplasia*, 2008, 10, 987-995)。A2B 腺苷受體之活化可經由活化 Gs 及 Gq 蛋白分別刺激腺苷酸環化酶及磷脂酶 C。亦已闡述與促分裂原活化的蛋白激酶偶合(Bormann, T.等人，*J. Med. Chem.*, 2009, 52(13), 3994-4006)。

【0012】 在免疫系統中，腺苷信號傳導之參與可為保護組織免於過度免疫反應之關鍵調控機制。腺苷可經由許多免疫細胞類型負調節免疫反應，該等免疫細胞類型包括 T 細胞、自然殺手細胞、巨噬細胞、樹突細胞、肥大細胞及骨髓源性抑制細胞(Allard, B.等人，*Current Opinion in Pharmacology*, 2016, 29, 7-16)。

【0013】 在腫瘤中，此途徑經腫瘤微環境劫持且破壞免疫系統之抗腫瘤能力，從而促進癌症進展。在腫瘤微環境中，腺苷主要藉由兩種外核苷酸酶 CD39 及 CD73 自細胞外 ATP 產生。多種細胞類型可藉由表現 CD39 及 CD73 產生腺苷。腫瘤細胞、T 效應細胞、T 調控細胞、腫瘤相關巨噬細胞、骨髓源性抑制細胞 (MDSC)、內皮細胞、癌症相關纖維母細胞(CAF)及間葉基質/幹細胞(MSC)即為此種情況。另外，腫瘤微環境常見之疾患低氧及發炎誘導 CD39 及 CD73 之表現，從而使腺苷產生增加。因此，實體腫瘤中之腺苷水準高於正常生理條件。

【0014】 A2A 主要在淋巴源性細胞(包括 T 效應細胞、T 調控細胞及自然殺手 (NK)細胞)上表現。阻斷 A2A 受體可防止使 T 細胞暫時失活之下游免疫抑制信號。A2B 受體主要在單核球源性細胞(包括樹突細胞、腫瘤相關巨噬細胞、骨髓源性抑制細胞(MDSC)及間葉基質細胞/幹細胞(MSC))上表現。阻斷臨床前模型中之 A2B 受體可抑制腫瘤生長，阻斷轉移，且增加腫瘤抗原之呈遞。

【0015】 就 ADORA2A/ADORA2B (A2A/A2B)阻斷之安全性概況而言，A2A 及 A2B 受體剔除(KO)小鼠皆為活的，此表明無生長異常且為可孕的(Allard, B.等人，*Current Opinion in Pharmacology*, 2016, 29, 7-16)。A2A KO 小鼠展示，僅在用脂多醣(LPS)激發後促發炎細胞介素之水準增加且無基線發炎之證據 (Antonioli, L.等人，*Nature Reviews Cancer*, 2013, 13, 842-857)。A2B KO 小鼠展現正常的血小板、紅血球及白血球計數，但基線發炎(例如 TNF- α 及 IL-6)增加 (Antonioli, L.等人，*Nature Reviews Cancer*, 2013, 13, 842-857)。在 LPS 治療後偵測到 TNF- α 及 IL-6 之產生進一步增加。A2B KO 小鼠亦展現增加的調介發炎以及白血球黏附/滾動之血管黏附分子；增強的肥大細胞活化；增加的 IgE 介導之過敏反應之敏感性及低氧下增加的血管滲漏及嗜中性球流入(Antonioli, L.等人，*Nature Reviews Cancer*, 2013, 13, 842-857)。

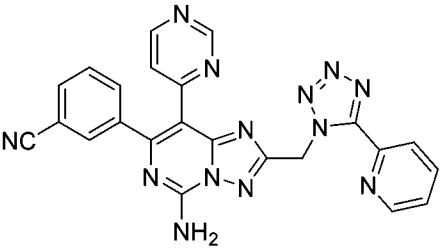
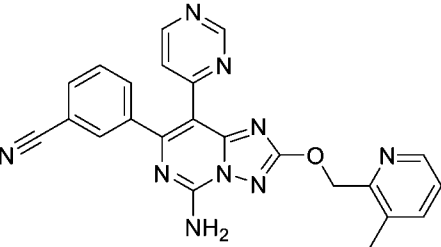
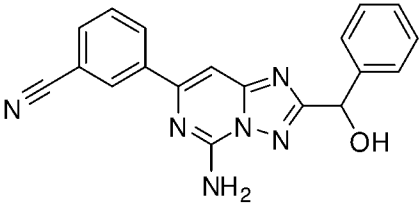
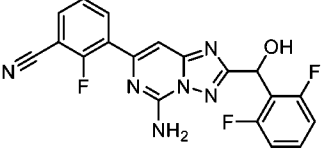
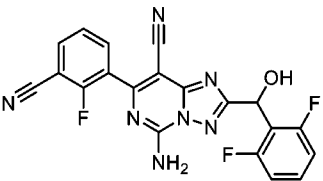
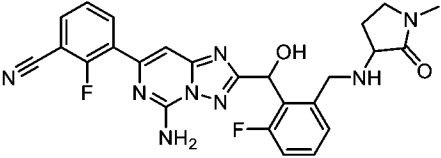
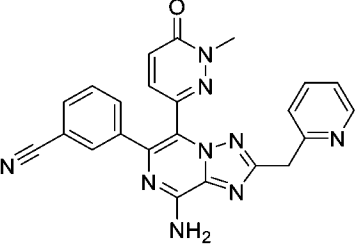
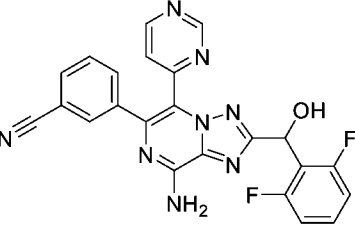
【0016】 腺苷途徑係保護組織免於過度免疫反應之關鍵免疫抑制途徑

(Antonioli, L.等人，*Nature Review Cancer*. 2013, 13, 842-857；*Inflamm. Res.* 2004, 53: 171-178；Allard 等人，*Current Opinion in Pharmacology* 2016, 29:7)。腺苷之免疫抑制活性係經由兩種 G 蛋白偶聯受體(GPCR) (稱為 A2A 及 A2B)來調介；發現兩種受體在許多免疫細胞類型(包括 T 細胞、自然殺手細胞、巨噬細胞、樹突細胞、肥大細胞及骨髓源性抑制細胞)上表現(*Saudi Pharmaceutical Journal*. 2013, 21:245；*Frontiers in Immunology*. 2019, 10:925；*J Clin Invest*. 2017, 127(3):929；*Neoplasia*. 2008, 10: 987；*Neoplasia*. 2013, 15:1400)。由於在腫瘤微環境中觀察到高水準之腺苷產生，已報導免疫系統之抗腫瘤能力受抑制，從而引起癌症進展。

【0017】 在一些實施例中，A2A/A2B 抑制劑係選自表 1 之化合物或其醫藥學上可接受之鹽。

表 1.

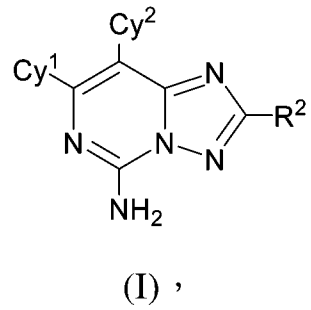
化合物 編號	名稱	結構
1	3-(5-胺基-2-(吡啶-2-基甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈	
2	3-(5-胺基-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈	
3A	3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-2H-四唑-2-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈	

3B	3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-1H-四唑-1-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈	
4	3-(5-胺基-2-((3-甲基吡啶-2-基)甲氧基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈	
5	3-(5-胺基-2-(羥基(苯基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈	
6	3-(5-胺基-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)-2-氟苯甲腈	
7	5-胺基-7-(3-氰基-2-氟苯基)-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-8-甲腈	
8	3-(5-胺基-2-((2-氟-6-(((1-甲基-2-側氧基吡咯啉-3-基)胺基)甲基)苯基)(羥基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)-2-氟苯甲腈	
9	3-(8-胺基-5-(1-甲基-6-側氧基-1,6-二氫嗪啉-3-基)-2-(吡啶-2-基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈	
10	3-(8-胺基-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-5-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈	

11	3-(8-胺基-2-(胺基(2,6-二氟苯基)甲基)-5-(4-甲基噁唑-5-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈	
12	3-(8-胺基-2-((2,6-二氟苯基)(羟基)甲基)-5-(2,6-二甲基吡啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈	
13	3-(4-胺基-2-(吡啶-2-基甲基)-7-(嘧啶-4-基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲腈	
14	3-(4-胺基-2-((3-氟吡啶-2-基)甲基)-7-(嘧啶-4-基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲腈	
15	3-(4-胺基-2-((3-氟吡啶-2-基)甲基)-7-(吡啶-4-基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲腈	
16	3-(4-胺基-7-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-(吡啶-2-基甲基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)-2-氟苯甲腈	
17	7-(1-((5-氯吡啶-3-基)甲基)-1H-吡唑-4-基)-3-甲基-9-戊基-6,9-二氫-5H-吡咯并[3,2-d][1,2,4]三唑并[4,3-a]嘧啶-5-酮	

18	3-甲基-7-(1-((5-甲基吡啶-3-基)甲基)-1H-吡唑-4-基)-9-戊基-6,9-二氫-5H-吡咯并[3,2-d][1,2,4]三唑并[4,3-a]嘧啶-5-酮	
19	3-甲基-9-戊基-7-(1-(噻吩并[3,2-b]吡啶-6-基甲基)-1H-吡唑-4-基)-6,9-二氫-5H-吡咯并[3,2-d][1,2,4]三唑并[4,3-a]嘧啶-5-酮	
20	7-(1-((2-(2-(二甲基氨基)乙醯基)-1,2,3,4-四氫異喹啉-6-基)甲基)-1H-吡唑-4-基)-3-甲基-9-戊基-6,9-二氫-5H-吡咯并[3,2-d][1,2,4]三唑并[4,3-a]嘧啶-5-酮	
21A	3-(2-((5-(1H-吡唑-1-基)-2H-四唑-2-基)甲基)-5-氨基-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈	
21B	3-(2-((5-(1H-吡唑-1-基)-1H-四唑-1-基)甲基)-5-氨基-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈	

【0018】 在一些實施例中，A2A/A2B 抑制劑係式(I)化合物：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中

Cy¹ 係苯基，其經 1 或 2 個獨立地選自鹵基及 CN 之取代基取代；

Cy² 係 5-6 員雜芳基或 4-7 員雜環烷基，其中 Cy² 之 5-6 員雜芳基或 4-7 員雜環烷

基各自視情況經 1 個、2 個或 3 個各自獨立地選自以下之基團取代： C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基、 NH_2 、 $NH(C_{1-3} \text{ 烷基})$ 及 $N(C_{1-3} \text{ 烷基})_2$ ；

R^2 係選自苯基- C_{1-3} 烷基-、 C_{3-7} 環烷基- C_{1-3} 烷基-、(5-7 員雜芳基)- C_{1-3} 烷基-、(4-7 員雜環烷基)- C_{1-3} 烷基-及 OR^{a2} ，其中 R^2 之苯基- C_{1-3} 烷基-、 C_{3-7} 環烷基- C_{1-3} 烷基-、(5-7 員雜芳基)- C_{1-3} 烷基-及(4-7 員雜環烷基)- C_{1-3} 烷基-各自視情況經 1 個、2 個或 3 個經獨立選擇之 R^C 取代基取代；

R^{a2} 係(5-7 員雜芳基)- C_{1-3} 烷基-，其視情況經 1 或 2 個經獨立選擇之 R^C 取代基取代；

每一 R^C 係獨立地選自鹵基、 C_{1-6} 烷基、 C_6 芳基、5-7 員雜芳基、(4-7 員雜環烷基)- C_{1-3} 烷基-、 OR^{a4} 及 $NR^{c4}R^{d4}$ ；且

每一 R^{a4} 、 R^{c4} 及 R^{d4} 係獨立地選自 H 及 C_{1-6} 烷基。

【0019】 在式(I)化合物之一些實施例中， Cy^2 係嘧啶基。

【0020】 在式(I)化合物之一些實施例中， R^2 係選自吡啶-2-基甲基、(2,6-二氟苯基)(羥基)甲基、(5-(吡啶-2-基)-1H-四唑-1-基)甲基、(3-甲基吡啶-2-基)甲氧基及(5-(1H-吡唑-1-基)-1H-四唑-1-基)甲基。

【0021】 在一些實施例中，式(I)化合物或其醫藥學上可接受之鹽係 3-(5-胺基-2-(吡啶-2-基甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽(參見化合物 1，表 1)。

【0022】 在一些實施例中，式(I)化合物或其醫藥學上可接受之鹽係 3-(5-胺基-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽(參見化合物 2，表 1)。

【0023】 在一些實施例中，式(I)化合物或其醫藥學上可接受之鹽係 3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-2H-四唑-2-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽(參見化合物 3A，表 1)。

【0024】 在一些實施例中，式(I)化合物或其醫藥學上可接受之鹽係 3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-1H-四唑-1-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽(參見化合物 3B，表 1)。

【0025】 在一些實施例中，式(I)化合物或其醫藥學上可接受之鹽係 3-(5-胺基-2-((3-甲基吡啶-2-基)甲氧基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽(參見化合物 4，表 1)。

【0026】 在一些實施例中，式(I)化合物或其醫藥學上可接受之鹽係 3-(2-((5-(1H-吡唑-1-基)-2H-四唑-2-基)甲基)-5-胺基-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽(參見化合物 21A，表 1)。

【0027】 在一些實施例中，式(I)化合物或其醫藥學上可接受之鹽係 3-(2-((5-(1H-吡唑-1-基)-1H-四唑-1-基)甲基)-5-胺基-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽(參見化合物 21B，表 1)。

【0028】 在一些實施例中，A2A/A2B 抑制劑係選自：

3-(5-胺基-2-(吡啶-2-基甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；

3-(5-胺基-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；

3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-1H-四唑-1-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；

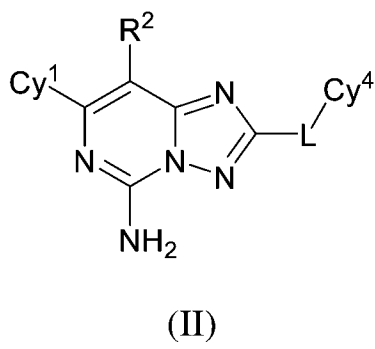
3-(5-胺基-2-((3-甲基吡啶-2-基)甲氧基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；及

3-(2-((5-(1H-吡唑-1-基)-1H-四唑-1-基)甲基)-5-胺基-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽。

【0029】 式(I)化合物之合成及表征可參見 WO2019/168847 及 US 62/891,685，

二者之全文皆以引用方式併入本文中。

【0030】 在一些實施例中，A2A/A2B 抑制劑係式(II)化合物：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中

R²係選自 H 及 CN；

Cy¹係苯基，其經 1 或 2 個獨立地選自鹵基及 CN 之取代基取代；

L 係 C₁₋₃ 伸烷基，其中該伸烷基視情況經 1 個、2 個或 3 個經獨立選擇之 R^{8D} 取代基取代；

Cy⁴係選自苯基、環己基、吡啶基、吡咯啉酮基及咪唑基，其中苯基、環己基、吡啶基、吡咯啉酮基及咪唑基各自視情況經 1 個、2 個或 3 個獨立地選自 R^{8D} 及 R⁸ 之取代基取代；

每一 R⁸ 係獨立地選自鹵基、C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 鹵烷基、C₂₋₄ 烯基、C₂₋₄ 炔基、苯基、C₃₋₇ 環烷基、5-6 員雜芳基、4-7 員雜環烷基、苯基-C₁₋₃ 烷基、C₃₋₇ 環烷基-C₁₋₃ 烷基、(5-6 員雜芳基)-C₁₋₃ 烷基及(4-7 員雜環烷基)-C₁₋₃ 烷基，其中 R⁸ 之 C₁₋₆ 烷基、C₂₋₄ 烯基、C₂₋₄ 炔基、苯基、C₃₋₇ 環烷基、5-6 員雜芳基、4-7 員雜環烷基、苯基-C₁₋₃ 烷基、C₃₋₇ 環烷基-C₁₋₃ 烷基、(5-6 員雜芳基)-C₁₋₃ 烷基及(4-7 員雜環烷基)-C₁₋₃ 烷基各自視情況經 1 個、2 個或 3 個經獨立選擇之 R^{8A} 取代基取代；

每一 R^{8A} 係獨立地選自鹵基、C₁₋₆ 烷基、5-6 員雜芳基、4-7 員雜環烷基、CN、OR^{a81} 及 NR^{c81}R^{d81}，其中 R^{8A} 之 C₁₋₃ 烷基、5-6 員雜芳基及 4-7 員雜環烷基各自視情況經 1 個、2 個或 3 個經獨立選擇之 R^{8B} 取代基取代；

每一 R^{a81} 、 R^{c81} 及 R^{d81} 係獨立地選自 H、 C_{1-6} 烷基及 4-7 員雜環烷基，其中 R^{a81} 、 R^{c81} 及 R^{d81} 之 C_{1-6} 烷基及 4-7 員雜環烷基各自視情況經 1 個、2 個或 3 個經獨立選擇之 R^{8B} 取代基取代；

每一 R^{8B} 係獨立地選自鹵基及 C_{1-3} 烷基；且

每一 R^{8D} 係獨立地選自 OH、CN、鹵基、 C_{1-6} 烷基及 C_{1-6} 鹵烷基。

【0031】 在一些實施例中，式(II)化合物或其醫藥學上可接受之鹽係 3-(5-胺基-2-(羥基(苯基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽(參見化合物 5，表 1)。

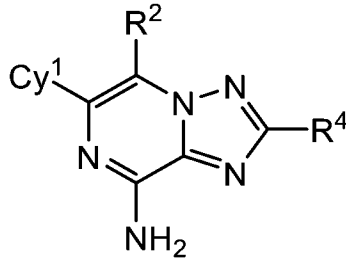
【0032】 在一些實施例中，式(II)化合物或其醫藥學上可接受之鹽係 3-(5-胺基-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)-2-氟苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽(參見化合物 6，表 1)。

【0033】 在一些實施例中，式(II)化合物或其醫藥學上可接受之鹽係 5-胺基-7-(3-氰基-2-氟苯基)-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-8-甲腈或其醫藥學上可接受之鹽(參見化合物 7，表 1)。

【0034】 在一些實施例中，式(II)化合物或其醫藥學上可接受之鹽係 3-(5-胺基-2-((2-氟-6-(((1-甲基-2-側氧基吡咯啶-3-基)胺基)甲基)苯基)(羥基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)-2-氟苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽(參見化合物 8，表 1)。

【0035】 式(II)化合物之合成及表征可參見 WO2019/222677，其全文皆以引用方式併入本文中。

【0036】 在一些實施例中，A2A/A2B 抑制劑係式(III)化合物：



(III)

或其醫藥學上可接受之鹽，其中

Cy¹ 係苯基，其經 1 或 2 個獨立地選自鹵基及 CN 之取代基取代；

R² 係選自 5-6 員雜芳基及 4-7 員雜環烷基，其中 R² 之 5-6 員雜芳基及 4-7 員雜環烷基各自視情況經 1 個、2 個或 3 個經獨立選擇之 R^{2A} 取代基取代；

每一 R^{2A} 係獨立地選自 D、鹵基、C₁₋₆ 烷基及 C₁₋₆ 鹵烷基；

R⁴ 係選自苯基-C₁₋₃ 烷基-、C₃₋₇ 環烷基-C₁₋₃ 烷基-、(5-6 員雜芳基)-C₁₋₃ 烷基-及(4-7 員雜環烷基)-C₁₋₃ 烷基，其中 R⁴ 之苯基-C₁₋₃ 烷基-、C₃₋₇ 環烷基-C₁₋₃ 烷基-、(5-6 員雜芳基)-C₁₋₃ 烷基-及(4-7 員雜環烷基)-C₁₋₃ 烷基-各自視情況經 1 個、2 個或 3 個經獨立選擇之 R^{4A} 取代基取代；

每一 R^{4A} 係獨立地選自鹵基、C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 鹵烷基、CN、OR^{a41} 及 NR^{c41}R^{d41}；
且

每一 R^{a41}、R^{c41} 及 R^{d41} 係獨立地選自 H 及 C₁₋₆ 烷基。

【0037】 在一些實施例中，式(III)化合物或其醫藥學上可接受之鹽係 3-(8-胺基-5-(1-甲基-6-側氧基-1,6-二氫嗪-3-基)-2-(吡啶-2-基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲脒或其醫藥學上可接受之鹽(參見化合物 9，表 1)。

【0038】 在一些實施例中，式(III)化合物或其醫藥學上可接受之鹽係 3-(8-胺基-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-5-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲脒或其醫藥學上可接受之鹽(參見化合物 10，表 1)。

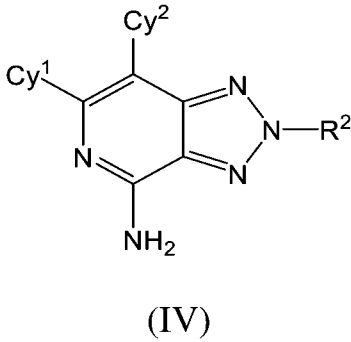
【0039】 在一些實施例中，式(III)化合物或其醫藥學上可接受之鹽係 3-(8-胺基-2-(胺基(2,6-二氟苯基)甲基)-5-(4-甲基噁唑-5-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲脒或其醫藥學上可接受之鹽(參見化合物 11，表 1)。

【0040】 在一些實施例中，式(III)化合物或其醫藥學上可接受之鹽係 3-(8-胺基-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-5-(2,6-二甲基吡啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡

噻-6-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽(參見化合物 12，表 1)。

【0041】 式(III)化合物之合成及表征可參見 PCT/US2019/040496，其全文皆以引用方式併入本文中。

【0042】 在一些實施例中，A2A/A2B 抑制劑係式(IV)化合物：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中

Cy¹ 係苯基，其經 1 或 2 個獨立地選自鹵基及 CN 之取代基取代；

Cy² 係選自 5-6 員雜芳基及 4-7 員雜環烷基，其中 Cy² 之 5-6 員雜芳基及 4-7 員雜環烷基各自視情況經 1 個、2 個或 3 個經獨立選擇之 R⁶ 取代基取代；

每一 R⁶ 係獨立地選自鹵基、C₁-₆ 烷基及 C₁-₆ 鹵烷基；

R² 係苯基-C₁-₃ 烷基-或(5-6 員雜芳基)-C₁-₃ 烷基-，其中 R² 之苯基-C₁-₃ 烷基-及(5-6 員雜芳基)-C₁-₃ 烷基-各自視情況經 1 個、2 個或 3 個經獨立選擇之 R²ᴬ 取代基取代；且

每一 R²ᴬ 係獨立地選自鹵基、C₁-₆ 烷基及 C₁-₆ 鹵烷基。

【0043】 在一些實施例中，式(IV)化合物或其醫藥學上可接受之鹽係 3-(4-胺基-2-(吡啶-2-基甲基)-7-(嘧啶-4-基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽(參見化合物 13，表 1)。

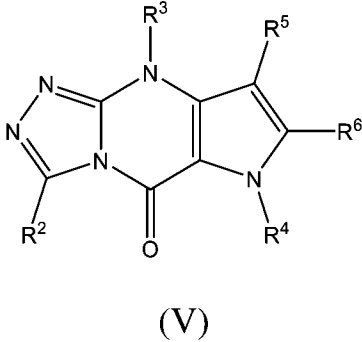
【0044】 在一些實施例中，式(IV)化合物或其醫藥學上可接受之鹽係 3-(4-胺基-2-((3-氟吡啶-2-基)甲基)-7-(嘧啶-4-基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽(參見化合物 14，表 1)。

【0045】 在一些實施例中，式(IV)化合物或其醫藥學上可接受之鹽係 3-(4-胺基-2-((3-氟吡啶-2-基)甲基)-7-(吡啶-4-基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽(參見化合物 15，表 1)。

【0046】 在一些實施例中，式(IV)化合物或其醫藥學上可接受之鹽係 3-(4-胺基-7-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-(吡啶-2-基甲基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)-2-氟苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽(參見化合物 16，表 1)。

【0047】 式(IV)化合物之合成及表征可參見 US 62/798,180，其全文皆以引用方式併入本文中。

【0048】 在一些實施例中，A2A/A2B 抑制劑係式(V)化合物：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中

R²係選自 H、D、鹵基、C₁₋₆烷基及 C₁₋₆鹵烷基；

R³係選自 H 及 C₁₋₆烷基；

R⁴係選自 H 及 C₁₋₆烷基；

R⁵係選自 H、鹵基、CN、C₁₋₆烷基；

R⁶係選自苯基、C₃₋₇環烷基、5-7 員雜芳基及 4-7 員雜環烷基，其中 R⁶之該苯基、該 C₃₋₇環烷基、該 5-7 員雜芳基及該 4-7 員雜環烷基視情況經 1 個、2 個或 3 個經獨立選擇之 R^A取代基取代；

每一 R^A係獨立地選自(5-10 員雜芳基)-C₁₋₃烷基-及(4-10 員雜環烷基)-C₁₋₃烷基-，其中 R^A之(5-10 員雜芳基)-C₁₋₃烷基-及(4-10 員雜環烷基)-C₁₋₃烷基-各自視情況經

1 或 2 個經獨立選擇之 R^B 取代基取代；

每一 R^B 係獨立地選自鹵基、 C_{1-6} 烷基及 $C(O)R^{b26}$ ；

R^{b26} 係獨立地選自 H 及 C_{1-3} 烷基，其中 R^{b26} 之 C_{1-3} 烷基視情況經 1 或 2 個經獨立選擇之 R^C 取代基取代；

每一 R^C 係獨立地選自鹵基、 C_{1-6} 烷基、CN、 OR^{a36} 及 $NR^{c36}R^{d36}$ ；且

每一 R^{a36} 、 R^{c36} 及 R^{d36} 係獨立地選自 H 及 C_{1-6} 烷基。

【0049】 在一些實施例中，式(V)化合物或其醫藥學上可接受之鹽係 7-(1-((5-氯吡啶-3-基)甲基)-1H-吡唑-4-基)-3-甲基-9-戊基-6,9-二氫-5H-吡咯并[3,2-d][1,2,4]三唑并[4,3-a]嘧啶-5-酮或其醫藥學上可接受之鹽(參見化合物 17，表 1)。

【0050】 在一些實施例中，式(V)化合物或其醫藥學上可接受之鹽係 3-甲基-7-(1-((5-甲基吡啶-3-基)甲基)-1H-吡唑-4-基)-9-戊基-6,9-二氫-5H-吡咯并[3,2-d][1,2,4]三唑并[4,3-a]嘧啶-5-酮或其醫藥學上可接受之鹽(參見化合物 18，表 1)。

【0051】 在一些實施例中，式(V)化合物或其醫藥學上可接受之鹽係 3-甲基-9-戊基-7-(1-(噁吩并[3,2-b]吡啶-6-基甲基)-1H-吡唑-4-基)-6,9-二氫-5H-吡咯并[3,2-d][1,2,4]三唑并[4,3-a]嘧啶-5-酮或其醫藥學上可接受之鹽(參見化合物 19，表 1)。

【0052】 在一些實施例中，式(V)化合物或其醫藥學上可接受之鹽係 7-(1-((2-(二甲基胺基)乙醯基)-1,2,3,4-四氫異喹啉-6-基)甲基)-1H-吡唑-4-基)-3-甲基-9-戊基-6,9-二氫-5H-吡咯并[3,2-d][1,2,4]三唑并[4,3-a]嘧啶-5-酮或其醫藥學上可接受之鹽(參見化合物 20，表 1)。

【0053】 式(V)化合物之合成及表征可參見 US-2019-0337957，其全文皆以引用方式併入本文中。

PD-1/PD-L1 抑制劑

【0054】 免疫系統在控制及消滅疾病(例如癌症)方面起重要作用。然而，癌細胞通常產生逃避或抑制免疫系統之策略以有利於其生長。一種該機制係改變在

免疫細胞上表現之共刺激及共抑制分子之表現(Postow 等人, *J. Clinical Oncology* 2015, 1-9)。阻斷抑制性免疫檢查點(例如 PD-1)之信號傳導已證明為有希望且有效之治療方式。

【0055】 程式化死亡-1(「PD-1」,亦稱為「CD279」)係廣泛負調控免疫反應之 T 細胞調控劑之擴展 CD28/CTLA-4 家族之約 31 kD 之 I 型膜蛋白成員(Ishida, Y.等人(1992) *EMBO J.* 11: 3887-3895; 美國專利公開案第 2007/0202100 號; 第 2008/0311117 號; 及第 2009/00110667 號; 美國專利第 6,808,710 號; 第 7,101,550 號; 第 7,488,802 號; 第 7,635,757 號; 及第 7,722,868 號; PCT 公開案第 WO 01/14557 號)。

【0056】 PD-1 係在活化 T 細胞、B 細胞及單核球上表現(Agata, Y.等人(1996) *Int. Immunol.* 8(5):765-772; Yamazaki, T.等人(2002) *J. Immunol.* 169:5538-5545)且在自然殺手(NK) T 細胞中以低水準表現(Nishimura, H.等人(2000) *J. Exp. Med.* 191 :891-898; Martin-Orozco, N.等人(2007) *Semin. Cancer Biol.* 17(4):288-298)。

【0057】 PD-1 之細胞外區域係由與 CTLA-4 中之等效結構域具有 23%一致性之單免疫球蛋白(Ig)V 結構域組成(Martin-Orozco, N.等人(2007) *Semin. Cancer Biol.* 17(4):288-298)。細胞外 IgV 結構域之後為跨膜區及細胞內尾。細胞內尾含有位於基於免疫受體酪胺酸之抑制基元及基於免疫受體酪胺酸之轉換基元中之兩個磷酸化位點,此表明 PD-1 負調控 TCR 信號(Ishida, Y.等人(1992) *EMBO J.* 11 :3887-3895; Blank, C.等人(2006) *Immunol. Immunother.* 56(5):739-745)。

【0058】 PD-1 藉由與 B7-H1 及 B7-DC 結合調介其對免疫系統之抑制(Flies, D.B.等人(2007) *J. Immunother.* 30(3):251-260; 美國專利第 6,803,192 號; 第 7,794,710 號; 美國專利申請公開案第 2005/0059051 號; 第 2009/0055944 號; 第 2009/0274666 號; 第 2009/0313687 號; PCT 公開案第 WO 01/39722 號; 第 WO 02/086083 號)。

【0059】 人類 PD-1 蛋白之胺基酸序列(Genbank 登錄號 NP_005009)係：
 MQIPQAPWPVWVAVLQLGWRPGWFLDSPDRPWNPTFSPALLVVTEGDNA
 TFTCSFSNTSESFVLNWYRMSPSNQTDKLAAPEDRSQPGQDCRFRVTQLPN
 GRDFHMSVVRARRNDSGTLYLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTA
 HPSPSPRPAGQFQTLVVG VVGGLLGSLVLLVWVLAVICSRAARGTIGARRTG
 QPLKEDPSAVPVFSVDYGELDFQWREKTPEPPVPCVPEQTEYATIVFPSGMGT
 SSPARRGSADGPRSAQPLRPEDGHCSWPL (SEQ ID NO:1)。

【0060】 PD-1 具有兩個配位體，PD-L1 及 PD-L2 (Parry 等人，*Mol Cell Biol* 2005, 9543-9553；Latchman 等人，*Nat Immunol* 2001, 2, 261-268)，且其表現模式有所不同。PD-L1 蛋白回應於脂多醣及 GM-CSF 處理在巨噬細胞及樹突細胞上調，且在 T 細胞受體及 B 細胞受體信號傳導後在 T 細胞及 B 細胞上調。PD-L1 亦在幾乎所有的腫瘤細胞上高表現，且表現在 IFN- γ 處理後進一步增加(Iwai 等人，*PNAS* 2002, 99(19):12293-7；Blank 等人，*Cancer Res* 2004, 64(3):1140-5)。實際上，腫瘤 PD-L1 表現狀況已顯示為多個腫瘤類型中之預後(Wang 等人，*Eur J Surg Oncol* 2015；Huang 等人，*Oncol Rep* 2015；Sabatier 等人，*Oncotarget* 2015, 6(7): 5449-5464)。相反，PD-L2 表現更受限且主要由樹突細胞表現(Nakae 等人，*J Immunol* 2006, 177:566-73)。PD-1 與其 T 細胞上之配位體 PD-L1 及 PD-L2 連結遞送抑制 IL-2 及 IFN- γ 產生以及 T 細胞受體活化後誘導之細胞增殖之信號(Carter 等人，*Eur J Immunol* 2002, 32(3):634-43；Freeman 等人，*J Exp Med* 2000, 192(7):1027-34)。機制涉及招募 SHP-2 或 SHP-1 磷酸酶以抑制 T 細胞受體信號傳導，例如 Syk 及 Lck 磷酸化(Sharpe 等人，*Nat Immunol* 2007, 8, 239-245)。PD-1 信號傳導軸之活化亦減弱 PKC- θ 活化環磷酸化，其為活化 NF- κ B 及 AP1 途徑以及細胞介素產生(例如 IL-2、IFN- γ 及 TNF)所必需(Sharpe 等人，*Nat Immunol* 2007, 8, 239-245；Carter 等人，*Eur J Immunol* 2002, 32(3):634-43；Freeman 等人，

J Exp Med 2000, 192(7):1027-34)。

【0061】 來自臨床前動物研究之若干條證據指示，PD-1 及其配位體負調控免疫反應。已顯示 PD-1 缺陷性小鼠罹患狼瘡樣腎絲球腎炎及擴張型心肌病(Nishimura 等人，*Immunity* 1999, 11:141-151；Nishimura 等人，*Science* 2001, 291:319-322)。使用慢性感染之 LCMV 模型已顯示，PD-1/PD-L1 相互作用抑制病毒特異性 CD8 T 細胞之效應功能之活化、擴大及獲取(Barber 等人，*Nature* 2006, 439, 682-7)。總之，該等資料支持阻斷 PD-1 介導之抑制性信號傳導級聯以加強或「拯救」T 細胞反應之治療方法之開發。因此，需要新的阻斷 PD-1/PD-L1 蛋白/蛋白相互作用、且藉此治療個體癌症之方法。

【0062】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係選自以下之化合物：尼沃魯單抗(nivolumab，OPDIVO®、BMS-936558、MDX1106 或 MK-34775)、派姆單抗(KEYTRUDA®、MK-3475、SCH-900475、拉波裡單抗(lambrolizumab)，CAS 登記號 1374853-91-4)、阿替珠單抗(Tecentriq®，CAS 登記號 1380723-44-3)、德瓦魯單抗(durvalumab)、阿維魯單抗(avelumab，Bavencio®)、西米普利單抗(cemiplimab)、AMP-224、AMP-514/MEDI-0680、阿替珠單抗、阿維魯單抗、BGB-A317、BMS936559、德瓦魯單抗、JTX-4014、SHR-1210、匹利珠單抗(pidilizumab，CT-011)、REGN2810、BGB-108、BGB-A317、SHR-1210(HR-301210、SHR1210 或 SHR-1210)、BMS-936559、MPDL3280A、MEDI4736、MSB0010718C、MDX1105-01 及以下專利中所述之一或多種 PD-1/PD-L1 阻斷劑：美國專利第 7,488,802 號、第 7,943,743 號、第 8,008,449 號、第 8,168,757 號、第 8,217,149 號或公開案第 WO 03042402 號、第 WO 2008/156712 號、第 WO 2010/089411 號、第 WO 2010/036959 號、第 WO 2011/066342 號、第 WO 2011/159877 號、第 WO 2011/082400 號、第 WO 2011/161699 號、第 WO 2017/070089 號、第 WO 2017/087777 號、第 WO 2017/106634 號、第 WO 2017/112730 號、第 WO

2017/192961 號、第 WO 2017/205464 號、第 WO 2017/222976 號、第 WO 2018/013789 號、第 WO 2018/04478 號、第 WO 2018/119236 號、第 WO 2018/119266 號、第 WO 2018/119221 號、第 WO 2018/119286 號、第 WO 2018/119263 號、第 WO 2018/119224 號、第 WO 2019/191707 號及第 WO 2019/217821 號，及其任何組合。前述專利、申請案及公開案中每一者之揭示內容之全文皆以引用方式併入本文中。

【0063】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係選自如 WO 2018/119266 中所揭示之化合物，例如

(S)-1-((7-氯-2-(2'-氯-3'-(5-(((2-羥基乙基)胺基)甲基)甲吡啶醯胺基)-2-甲基-[1,1'-聯苯]-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)六氫吡啶-2-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽；

(S)-1-((7-氯-2-(3'-(7-氯-5-(((S)-3-羥基吡咯啶-1-基)甲基)苯并[d]噁唑-2-基)-2,2'-二甲基聯苯-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)吡咯啶-3-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽；

(R)-1-((7-氰基-2-(3'-(3-(((R)-3-羥基吡咯啶-1-基)甲基)-1,7-萘啶-8-基胺基)-2,2'-二甲基聯苯-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)吡咯啶-3-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽；

(S)-1-((2-(2'-氯-3'-(1,5-二甲基-4,5,6,7-四氫-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-2-甲醯胺基)-2-甲基聯苯-3-基)-7-氰基苯并[d]噁唑-5-基)甲基)吡咯啶-3-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽；

(R)-1-((7-氰基-2-(2,2'-二甲基-3'-(4,5,6,7-四氫噻唑并[5,4-c]吡啶-2-基)聯苯-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)吡咯啶-3-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽；

(R)-1-((7-氰基-2-(3'-(5-(2-(二甲基胺基)乙醯基)-5,6-二氫-4H-吡咯并[3,4-d]噻唑-2-基)-2,2'-二甲基聯苯-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)吡咯啶-3-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽；及

1-((7-氰基-2-(3'-(5-(2-(二甲基胺基)乙醯基)-5,6-二氫-4H-吡咯并[3,4-d]噻唑-2-基)-2,2'-二甲基聯苯-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)六氫吡啶-4-甲酸或其醫藥學上

可接受之鹽。

【0064】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係(R)-1-((7-氰基-2-(3'-(3-(((R)-3-羥基吡咯啉-1-基)甲基)-1,7-萘啶-8-基胺基)-2,2'-二甲基聯苯-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)吡咯啉-3-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽。

【0065】 (R)-1-((7-氰基-2-(3'-(3-(((R)-3-羥基吡咯啉-1-基)甲基)-1,7-萘啶-8-基胺基)-2,2'-二甲基聯苯-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)吡咯啉-3-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽在本文中亦稱為化合物 Y。化合物 Y 之合成及表征揭示於 WO 2018/119266 中，其全文皆以引用方式併入本文中。

【0066】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係選自：

(R)-1-((7-氰基-2-(3'-(3-(((R)-3-羥基吡咯啉-1-基)甲基)-1,7-萘啶-8-基胺基)-2,2'-二甲基聯苯-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)吡咯啉-3-甲酸氫溴酸鹽；

(R)-1-((7-氰基-2-(3'-(3-(((R)-3-羥基吡咯啉-1-基)甲基)-1,7-萘啶-8-基胺基)-2,2'-二甲基聯苯-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)吡咯啉-3-甲酸草酸鹽；

(R)-1-((7-氰基-2-(3'-(3-(((R)-3-羥基吡咯啉-1-基)甲基)-1,7-萘啶-8-基胺基)-2,2'-二甲基聯苯-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)吡咯啉-3-甲酸鹽酸鹽；

(R)-1-((7-氰基-2-(3'-(3-(((R)-3-羥基吡咯啉-1-基)甲基)-1,7-萘啶-8-基胺基)-2,2'-二甲基聯苯-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)吡咯啉-3-甲酸 L-酒石酸鹽；

(R)-1-((7-氰基-2-(3'-(3-(((R)-3-羥基吡咯啉-1-基)甲基)-1,7-萘啶-8-基胺基)-2,2'-二甲基聯苯-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)吡咯啉-3-甲酸丙二酸鹽；及

(R)-1-((7-氰基-2-(3'-(3-(((R)-3-羥基吡咯啉-1-基)甲基)-1,7-萘啶-8-基胺基)-2,2'-二甲基聯苯-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)吡咯啉-3-甲酸磷酸鹽。

【0067】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係選自 WO 2018/119224 中所揭示之化合物，例如

(S)-1-((2-(2'-氯-3'-(1,5-二甲基-4,5,6,7-四氫-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-2-甲醯胺基)-2-

甲基聯苯-3-基)-7-氰基苯并[d]噁唑-5-基)甲基)吡咯啉-3-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽；

(R)-1-((2-(2'-氯-3'-(6-異丙基-4,5,6,7-四氫-2H-吡唑并[3,4-c]吡啶-2-基)-2-甲基聯苯-3-基)-7-氰基苯并[d]噁唑-5-基)甲基)吡咯啉-3-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽；

(S)-N-(2-氯-3'-(5-(2-羥基丙基)-1-甲基-4,5,6,7-四氫-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-2-甲醯胺基)-2'-甲基聯苯-3-基)-5-異丙基-1-甲基-4,5,6,7-四氫-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-2-甲醯胺或其醫藥學上可接受之鹽；

順式-4-((2-((2,2'-二氯-3'-(1-甲基-5-(四氫-2H-吡喃-4-基)-4,5,6,7-四氫-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-2-甲醯胺基)-[1,1'-聯苯]-3-基)胺甲醯基)-1-甲基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-基)甲基)環己烷-1-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽；

反式-4-(2-(2-((2,2'-二氯-3'-(5-(2-羥基乙基)-1-甲基-4,5,6,7-四氫-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-2-甲醯胺基)-[1,1'-聯苯]-3-基)胺甲醯基)-1-甲基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-基)乙基)環己烷-1-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽；

反式-4-(2-(2-((2-氯-2'-甲基-3'-(1-甲基-4,5,6,7-四氫-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-2-甲醯胺基)-[1,1'-聯苯]-3-基)胺甲醯基)-1-甲基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-基)乙基)環己烷-1-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽；及

順式-4-((2-(2-氯-3'-(5-(2-(乙基(甲基)胺基)乙醯基)-5,6-二氫-4H-吡咯并[3,4-d]噻唑-2-基)-2'-甲基聯苯-3-基)胺甲醯基)-1-甲基-6,7-二氫-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5(4H)-基)甲基)環己烷-1-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽。

【0068】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係選自 WO 2019/191707 中所揭示之化合物，例如

(R)-1-((7-氰基-2-(3'-(7-((3-羥基吡咯啉-1-基)甲基)-2-甲基吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基胺基)-2,2'-二甲基聯苯-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)六氫吡啶-4-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽；

(R)-1-((7-氰基-2-(3'-(7-(((S)-1-羥基丙-2-基胺基)甲基)-2-甲基吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基胺基)-2,2'-二甲基聯苯-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)吡咯啉-3-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽；

(R)-1-((7-氰基-2-(3'-(2-(二氟甲基)-7-((3-羥基吡咯啉-1-基)甲基)吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基胺基)-2,2'-二甲基聯苯-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)六氫吡啶-4-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽；

(R)-1-((7-氰基-2-(3'-(2-(二氟甲基)-7-((3-羥基吡咯啉-1-基)甲基)吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基胺基)-2,2'-二甲基聯苯-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)-N,N-二甲基六氫吡啶-4-甲醯胺或其醫藥學上可接受之鹽；

(R)-1-((7-氰基-2-(3'-(2-環丙基-7-(((R)-3-羥基吡咯啉-1-基)甲基)吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基胺基)-2,2'-二甲基聯苯-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)吡咯啉-3-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽；及

(R)-1-((7-氰基-2-(3'-(3-(((R)-3-羥基吡咯啉-1-基)甲基)-6-甲基-1,7-萘啶-8-基胺基)-2,2'-二甲基聯苯-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)吡咯啉-3-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽。

【0069】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係選自 WO 2019/217821 中所揭示之化合物，例如

4-(2-(2-((2,2'-二氯-3'-(1-甲基-4,5,6,7-四氫-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-2-甲醯胺基)-[1,1'-聯苯]-3-基)胺甲醯基)-1-甲基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-基)乙基)二環[2.2.1]庚烷-1-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽；

4-(2-(2-((3'-(5-((1H-吡唑-3-基)甲基)-1-甲基-4,5,6,7-四氫-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-2-甲醯胺基)-2,2'-二氯-[1,1'-聯苯]-3-基)胺甲醯基)-1-甲基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-基)乙基)二環[2.2.1]庚烷-1-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽；

(R)-4-(2-(2-((2,2'-二氯-3'-(5-(2-羥基丙基)-1-甲基-4,5,6,7-四氫-1H-咪唑并[4,5-c]吡

啖-2-甲醯胺基)-[1,1'-聯苯]-3-基)胺甲醯基)-1-甲基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-基)乙基)二環[2.2.1]庚烷-1-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽；

4,4'-((((2,2'-二氯-[1,1'-聯苯]-3,3'-二基)雙(氮烷二基))雙(羰基))雙(1-甲基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-2,5-二基))雙(乙烷-2,1-二基))雙(二環[2.2.1]庚烷-1-甲酸)或其醫藥學上可接受之鹽；

4-(2-(2-((2-氯-2'-甲基-3'-(1-甲基-4,5,6,7-四氫-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-2-甲醯胺基)-[1,1'-聯苯]-3-基)胺甲醯基)-1-甲基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-基)乙基)二環[2.2.1]庚烷-1-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽；

4-(2-(2-((2,2'-二甲基-3'-(1-甲基-4,5,6,7-四氫-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-2-甲醯胺基)-[1,1'-聯苯]-3-基)胺甲醯基)-1-甲基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-基)乙基)二環[2.2.1]庚烷-1-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽；及

4-(2-(2-((3'-(5-(反式-4-羧基-4-甲基環己基)-1-甲基-4,5,6,7-四氫-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-2-甲醯胺基)-2,2'-二氯-[1,1'-聯苯]-3-基)胺甲醯基)-1-甲基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-基)乙基)二環[2.2.1]庚烷-1-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽。

- 【0070】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係派姆單抗。
- 【0071】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係尼沃魯單抗。
- 【0072】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係阿替珠單抗。
- 【0073】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係抗體 X。如本文所用之抗體 X 係結合至人類 PD-1 之人類化 IgG4 單株抗體。參見 WO2017019846 中之 hPD-1 mAb 7(1.2)，其全文皆以引用方式併入本文中。下文顯示成熟抗體 X 重鏈及輕鏈之胺基酸序列。可變重鏈(VH)結構域及可變輕鏈(VL)結構域之互補決定區(CDR) 1、2 及 3 以成熟 VL 及 VH 序列之 N 末端至 C 末端之順序顯示且加下劃線並加粗。由下文所列成熟重鏈(SEQ ID NO:2)及成熟輕鏈(SEQ ID NO:3)組成之抗體稱為抗體 X。

成熟抗體 X 重鏈(HC)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSYWMNWVRQAPGQGLEWIG
VIHPSDSETWLDQKFKDRVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREEH
YGTSPFAYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT
CVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKS
RWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG (SEQ ID NO:2)

成熟抗體 X 輕鏈(LC)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVDNYGMSFMNWFQQKPGQPPKLLI
HAASNQGSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYFCQQSKEVPYTFGGG
TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV
TKSFNRGEC (SEQ ID NO:3)

【0074】 抗體 X 之可變重鏈(VH)結構域具有以下胺基酸序列：

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSYWMNWVRQAPGQGLEWIG
VIHPSDSETWLDQKFKDRVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREEH
YGTSPFAYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:4)

【0075】 抗體 X 之可變輕鏈(VL)結構域具有以下胺基酸序列：

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVDNYGMSFMNWFQQKPGQPPKLLI
HAASNQGSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYFCQQSKEVPYTFGGG
TKVEIK (SEQ ID NO:5)

【0076】 下文列出抗體 X 之 VH CDR 之胺基酸序列：

VH CDR1： SYWMN (SEQ ID NO:6)；

VH CDR2： VIHPSDSETWLDQKFKD (SEQ ID NO:7)；

VH CDR3： EHYGTSPFAY (SEQ ID NO:8)

【0077】 下文列出抗體 X 之 VL CDR 之胺基酸序列：

VL CDR1： RASESVDNYGMSFMNW (SEQ ID NO:9)；

VL CDR2： AASNQGS (SEQ ID NO:10)；及

VL CDR3： QQSKEVPYT (SEQ ID NO:11)。

【0078】 如本文所用之「QD」意指每天一次投與個體之劑量。「QOD」意指每隔一天一次投與個體之劑量。「QW」意指每週一次投與個體之劑量。「Q2W」意指每隔一週一次投與個體之劑量。「Q3W」意指每三週一次投與個體之劑量。「Q4W」意指每四週一次投與個體之劑量。

【0079】 如本文所用之「約」在提及可量測值(例如量、劑量、時間長度及諸如此類)時意欲涵蓋 $\pm 10\%$ 之變化。在某些實施例中，「約」可包括與指定值相差 $\pm 5\%$ 、 $\pm 1\%$ 或 $\pm 0.1\%$ 之變化及其之間之任何變化，此乃因該等變化適於實施所揭示之方法。

【0080】 在一些實施例中，本文所揭示之化合物係化合物之(*S*)-鏡像異構物或其醫藥學上可接受之鹽。在一些實施例中，化合物係化合物之(*R*)-鏡像異構物或其醫藥學上可接受之鹽。

【0081】 應進一步了解，為清楚起見闡述於單獨實施例之上下文中之本發明之某些特征亦可組合提供於單個實施例中。相反，為簡潔起見闡述於單個實施例之上下文中之本發明之各個特徵亦可單獨或以任何合適的子組合來提供。

【0082】 術語「*n* 員」(其中 *n* 係整數)通常闡述成環原子之數量為 *n* 之部分中成環原子之數量。舉例而言，六氫吡啶基係 6 員雜環烷基環之實例，吡唑基係 5

員雜芳基環之實例，吡啶基係 6 員雜芳基環之實例，且 1,2,3,4-四氫-萘係 10 員環烷基之實例。

【0083】 如本文所用之片語「視情況取代」意指未經取代或經取代。取代基係經獨立選擇，且取代可處於任一化學可及位置。如本文所用之術語「經取代」意指氫原子被移除且經取代基替代。單個二價取代基(例如側氧基)可替代兩個氫原子。應理解，給定原子處之取代受化合價之限制。

【0084】 如本文所用之片語「每一『變量』係獨立地選自」意指與其中「『變量』在每次出現時係選自」實質上相同。

【0085】 在整個定義中，術語「 C_{n-m} 」指示包括終點之範圍，其中 n 及 m 係整數且指示碳之數量。實例包括 C_{1-3} 、 C_{1-4} 、 C_{1-6} 及諸如此類。

【0086】 如本文所用，單獨使用或與其他術語組合使用之術語「 C_{n-m} 烷基」係指具有 n 至 m 個碳之飽和烴基，其可為直鏈或具支鏈。烷基部分之實例包括(但不限於)諸如以下之化學基團：甲基(Me)、乙基(Et)、正丙基(n -Pr)、異丙基(iPr)、正丁基、第三丁基、異丁基、第二丁基；更高級同系物，例如 2-甲基-1-丁基、正戊基、3-戊基、正己基、1,2,2-三甲基丙基及諸如此類。在一些實施例中，烷基含有 1 至 6 個碳原子、1 至 4 個碳原子、1 至 3 個碳原子或 1 至 2 個碳原子。

【0087】 如本文所用，單獨使用或與其他術語組合使用之術語「 C_{n-m} 烷氧基」係指式-O-烷基之基團，其中烷基具有 n 至 m 個碳。實例烷氧基包括(但不限於)甲氧基、乙氧基、丙氧基(例如正丙氧基及異丙氧基)、丁氧基(例如正丁氧基及第三丁氧基)及諸如此類。

【0088】 如本文所用，單獨使用或與其他術語組合使用之術語「芳基」係指芳族烴基，其可為單環或多環(例如具有 2 個、3 個或 4 個稠合環)。術語「 C_{n-m} 芳基」係指具有 n 至 m 個環碳原子之芳基。芳基包括例如苯基、萘基、蒽基、菲基、二氫茚基、茚基及諸如此類。在一些實施例中，芳基具有 5 至 10 個碳原子。

在一些實施例中，芳基係苯基或萘基。在一些實施例中，芳基係苯基(即 C₆ 芳基)。

【0089】 如本文所用之「鹵基」或「鹵素」係指 F、Cl、Br 或 I。在一些實施例中，鹵基係 F、Cl 或 Br。在一些實施例中，鹵基係 F 或 Cl。在一些實施例中，鹵基係 F。在一些實施例中，鹵基係 Cl。

【0090】 如本文所用，單獨使用或與其他術語組合使用之術語「C_{n-m} 鹵烷基」係指具有 1 個鹵素原子至 2s+1 個鹵素原子之烷基，該等鹵素原子可相同或不同，其中「s」係烷基中之碳原子數，其中烷基具有 n 至 m 個碳原子。在一些實施例中，鹵烷基僅經氟化。在一些實施例中，烷基具有 1 至 6 個、1 至 4 個或 1 至 3 個碳原子。實例鹵烷基包括 CF₃、C₂F₅、CHF₂、CH₂F、CCl₃、CHCl₂、C₂Cl₅ 及諸如此類。

【0091】 如本文所用之「環烷基」係指非芳族環狀烴，包括環化烷基及烯基。環烷基可包括單環或多環(例如具有 2 個稠合環)基團、螺環及橋接環(例如橋接二環烷基)。環烷基之成環碳原子可視情況經側氧基或硫基取代(例如 C(O)或 C(S))。環烷基之定義中亦包括具有一或多個與環烷基環稠合(亦即，具有共同的鍵)之芳香族環的部分，例如環戊烷、環己烷及諸如此類之苯并或噻吩基衍生物。含有稠合芳族環之環烷基可經由任一成環原子(包括稠合芳族環之成環原子)連接。環烷基可具有 3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個或 10 個成環碳(即 C₃₋₁₀)。在一些實施例中，環烷基係 C₃₋₁₀ 單環或二環環烷基。在一些實施例中，環烷基係 C₃₋₇ 單環環烷基。在一些實施例中，環烷基係 C₄₋₇ 單環環烷基。在一些實施例中，環烷基係 C₄₋₁₀ 螺環或橋接環烷基(例如橋接二環烷基)。實例環烷基包括環丙基、環丁基、環戊基、環己基、環庚基、環戊烯基、環己烯基、環己二烯基、環己三烯基、降莖基、降萘基、降薔基、降萘烷基、立方烷、金剛烷、二環[1.1.1]戊基、二環[2.1.1]己基、二環[2.2.1]庚基、二環[3.1.1]庚基、二環[2.2.2]辛基、螺[3.3]庚基及諸如此類。在一些實施例中，環烷基係環丙基、環丁基、環戊基或環己基。

【0092】 如本文所用之「雜芳基」係指具有至少一個選自 N、O、S 及 B 之雜原子環成員之單環或多環(例如具有 2 個稠合環)芳族雜環。在一些實施例中，雜芳基環具有 1 個、2 個、3 個或 4 個獨立地選自 N、O、S 及 B 之雜原子環成員。在一些實施例中，雜芳基部分中之任何成環 N 可為 N-氧化物。在一些實施例中，雜芳基係具有 1 個、2 個、3 個或 4 個獨立地選自 N、O、S 及 B 之雜原子環成員之 5-10 員單環或二環雜芳基。在一些實施例中，雜芳基係具有 1 個、2 個、3 個或 4 個獨立地選自 N、O 及 S 之雜原子環成員之 5-10 員單環或二環雜芳基。在一些實施例中，雜芳基係具有 1 或 2 個獨立地選自 N、O、S 及 B 之雜原子環成員之 5-6 單環雜芳基。在一些實施例中，雜芳基係具有 1 或 2 個獨立地選自 N、O 及 S 之雜原子環成員之 5-6 單環雜芳基。在一些實施例中，雜芳基含有 3 至 10 個、4 至 10 個、5 至 10 個、5 至 7 個、3 至 7 個或 5 至 6 個成環原子。在一些實施例中，雜芳基具有 1 至 4 個成環雜原子、1 至 3 個成環雜原子、1 至 2 個成環雜原子或 1 個成環雜原子。當雜芳基含有一個以上之雜原子環成員時，雜原子可相同或不同。實例雜芳基包括(但不限於)噻吩基(thienyl 或 thiophenyl)、呋喃基(furyl 或 furanyl)、吡咯基、咪唑基、噻唑基、噁唑基、吡唑基、異噻唑基、異噁唑基、1,2,3-三唑基、四唑基、1,2,3-噻二唑基、1,2,3-噁二唑基、1,2,4-三唑基、1,2,4-噻二唑基、1,2,4-噁二唑基、1,3,4-三唑基、1,3,4-噻二唑基、1,3,4-噁二唑基及 1,2-二氫-1,2-氮雜硼雜苯(azaborine)、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、嗒嗪基、唑基、三唑基、噻二唑基、喹啉基、異喹啉基、吡嗪基、苯并噻吩基、苯并呋喃基、苯并異噁唑基、咪唑并[1,2-b]噻唑基、嘌呤基、三嗪基、噻吩并[3,2-b]吡啶基、咪唑并[1,2-a]吡啶基、1,5-萘啶基、1H-吡唑并[4,3-b]吡啶基、三唑并[4,3-a]吡啶基、1H-吡咯并[3,2-b]吡啶基、1H-吡咯并[2,3-b]吡啶基、吡唑并[1,5-a]吡啶基、吡嗪基及諸如此類。

【0093】 如本文所用之「雜環烷基」係指具有至少一個非芳族環(飽和或部分

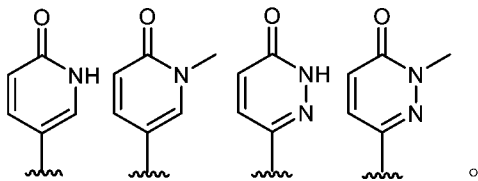
不飽和環)之單環或多環雜環，其中雜環烷基之一或多個成環碳原子經選自 N、O、S 及 B 之雜原子替代，且其中雜環烷基之成環碳原子及雜原子可視情況經一或多個側氧基或硫基取代(例如 C(O)、S(O)、C(S)或 S(O)₂ 等)。當雜環烷基之成環碳原子或雜原子視情況經一或多個側氧基或硫化物取代時，該基團之 O 或 S 不包括在本文所指定成環原子之數量內(例如，1-甲基-6-側氧基-1,6-二氫嗪-3-基係 6 員雜環烷基，其中成環碳原子經側氧基取代，且其中 6 員雜環烷基進一步經甲基取代)。雜環烷基包括單環及多環(例如具有 2 個稠合環)系統。單環及多環 3 至 10 員、4 至 10 員、5 至 10 員、4 至 7 員、5 至 7 員或 5 至 6 員雜環烷基包括在雜環烷基中。雜環烷基亦可包括螺環及橋接環(例如一或多個成環碳原子經獨立地選自 N、O、S 及 B 之雜原子替代之 5 至 10 員橋接二雜環烷基環)。雜環烷基可經由成環碳原子或成環雜原子連接。在一些實施例中，雜環烷基含有 0 至 3 個雙鍵。在一些實施例中，雜環烷基含有 0 至 2 個雙鍵。

【0094】 具有稠合至非芳族雜環(即與非芳族雜環具有共用鍵)之一或多個芳族環之部分亦包括在雜環烷基之定義中，例如六氫吡啶、吗啉、氮呋等之苯并或噻吩基衍生物。含有稠合芳族環之雜環烷基可經由任一成環原子(包括稠合芳族環之成環原子)連接。

【0095】 在一些實施例中，雜環烷基含有 3 至 10 個成環原子、4 至 10 個成環原子、3 至 7 個成環原子或 5 至 6 個成環原子。在一些實施例中，雜環烷基具有 1 至 4 個雜原子、1 至 3 個雜原子、1 至 2 個雜原子或 1 個雜原子。在一些實施例中，雜環烷基係具有 1 或 2 個獨立地選自 N、O、S 及 B 之雜原子且具有一或多個氧化環成員之單環 4-6 員雜環烷基。在一些實施例中，雜環烷基係具有 1 個、2 個、3 個或 4 個獨立地選自 N、O、S 及 B 之雜原子且具有一或多個氧化環成員之單環或二環 5-10 員雜環烷基。在一些實施例中，雜環烷基係具有 1 個、2 個、3 個或 4 個獨立地選自 N、O 及 S 之雜原子且具有一或多個氧化環成員之單環或

二環 5 至 10 員雜環烷基。在一些實施例中，雜環烷基係具有 1 個、2 個、3 個或 4 個獨立地選自 N、O 及 S 之雜原子且具有一或多個氧化環成員之單環 5 至 6 員雜環烷基。

【0096】 實例雜環烷基包括吡咯啉-2-酮(或 2-側氧基吡咯啉基)、1,3-異噁唑啉-2-酮、吡喃基、四氫吡喃、氧雜環丁基、氮雜環丁基、嗎啉基、硫嗎啉基、六氫吡啶基、四氫呋喃基、四氫噻吩基、六氫吡啶基、吡咯啉基、異噁唑啉基、異噻唑啉基、吡啶基、噁唑啉基、噻唑啉基、咪唑啉基、氮雜環庚基、1,2,3,4-四氫異喹啉、苯并氮雜環庚三烯、氮雜二環[3.1.0]己基、二氮雜二環[3.1.0]己基、側氧基二環[2.1.1]己基、氮雜二環[2.2.1]庚基、二氮雜二環[2.2.1]庚基、氮雜二環[3.1.1]庚基、二氮雜二環[3.1.1]庚基、氮雜二環[3.2.1]辛基、二氮雜二環[3.2.1]辛基、側氧基二環[2.2.2]辛基、氮雜二環[2.2.2]辛基、氮雜金剛烷基、二氮雜金剛烷基、側氧基-金剛烷基、氮雜螺[3.3]庚基、二氮雜螺[3.3]庚基、側氧基-氮雜螺[3.3]庚基、氮雜螺[3.4]辛基、二氮雜螺[3.4]辛基、側氧基-氮雜螺[3.4]辛基、氮雜螺[2.5]辛基、二氮雜螺[2.5]辛基、氮雜螺[4.4]壬基、二氮雜螺[4.4]壬基、側氧基-氮雜螺[4.4]壬基、氮雜螺[4.5]癸基、二氮雜螺[4.5]癸基、二氮雜螺[4.4]壬基、側氧基-二氮雜螺[4.4]壬基、側氧基-二氮雜螺[3.4]辛基、側氧基六氫吡咯并[1,2-a]吡嗪基、3-側氧基六氫吡嗪基、側氧基-吡咯啉基、側氧基-吡啶基及諸如此類。舉例而言，雜環烷基包括以下基團(具及不具 N-甲基取代)：



【0097】 如本文所用之「C_{o-p} 環烷基-C_{n-m} 烷基-」係指式環烷基-伸烷基-之基團，其中環烷基具有 o 至 p 個碳原子且伸烷基連接基團具有 n 至 m 個碳原子。

【0098】 如本文所用之「C_{o-p}芳基-C_{n-m}烷基-」係指式芳基-伸烷基-之基團，其中芳基具有 o 至 p 個碳原子且伸烷基連接基團具有 n 至 m 個碳原子。

【0099】 如本文所用之「雜芳基-C_{n-m}烷基-」係指式雜芳基-伸烷基-之基團，其中伸烷基連接基團具有 n 至 m 個碳原子。

【0100】 如本文所用之「雜環烷基-C_{n-m}烷基-」係指式雜環烷基-伸烷基-之基團，其中伸烷基連接基團具有 n 至 m 個碳原子。

【0101】 在某些地方，定義或實施例係指特定環(例如氮雜環丁烷環、吡啶環等)。除非另有指示，否則該等環可連接至任何環成員，條件係不超過原子之化合價。舉例而言，氮雜環丁烷環可在環之任何位置連接，而吡啶-3-基環在 3 位連接。

【0102】 如本文所用，術語「側氧基」係指氧原子(即=O)作為二價取代基，在連接至碳時形成羰基(例如 C=O 或 C(O))或連接至氮或硫雜原子時形成亞硝基、亞磺醯基或磺醯基。

【0103】 如本文所用，術語「獨立地選自」意指每次出現之變量或取代基在每次出現時係獨立地選自適用之清單。

【0104】 本文所述之化合物可為不對稱的(例如，具有一或多個立體中心)。除非另有指示，否則欲指所有立體異構物(諸如鏡像異構物及非鏡像異構物)。本揭示案之含有不對稱取代之碳原子之化合物可以光學活性或外消旋形式分離。如何自光學無活性之起始材料製備光學活性形式之方法已為業內已知，諸如藉由外消旋混合物之拆分或藉由立體選擇性合成。烯烴之許多幾何異構物、C=N 雙鍵及諸如此類亦可存在于本文所述化合物中，且所有該等穩定之異構物皆涵蓋在本發明中。闡述本揭示案之化合物之順式及反式幾何異構物，且其可分離為異構物之混合物或分離為單獨之異構形式。在一些實施例中，化合物具有(*R*)-組態。在一些實施例中，化合物具有(*S*)-組態。本文提供之式(例如式(I)、式(II)等)包括

該等化合物之立體異構物。

【0105】 化合物之外消旋混合物之拆分可藉由此項技術中已知之多種方法中之任一者進行。實例方法包括使用手性拆分酸進行分級重結晶，手性拆分酸係一種光學活性之成鹽有機酸。適用於分級重結晶方法之拆分劑係例如光學活性酸，例如 D 及 L 形式之酒石酸、二乙醯基酒石酸、二苯甲醯酒石酸、扁桃酸、蘋果酸、乳酸或各種光學活性樟腦磺酸(例如 β -樟腦磺酸)。其他適用於分級結晶方法之拆分劑包括立體異構純形式之 α -甲基苄胺(例如，*S* 及 *R* 形式，或非鏡像異構純形式)、2-苯基甘胺醇、降麻黃鹼、麻黃鹼、N-甲基麻黃鹼、環己基乙胺、1,2-二胺基環己烷及諸如此類。

【0106】 外消旋混合物之拆分亦可藉由在填裝光學活性拆分劑(例如，二硝基苯甲醯基苯基甘胺酸)之管柱上溶析來實施。適宜溶析溶劑組成可由熟習此項技術者確定。

【0107】 本文提供之化合物亦包括互變異構形式。互變異構形式由單鍵與毗鄰雙鍵之交換以及伴隨之質子遷移產生。互變異構形式包括質子轉移互變異構物，其為具有相同經驗式及總電荷之異構質子化狀態。質子轉移互變異構物之實例包括酮-烯醇對、醯胺-亞胺酸對、內醯胺-內醯亞胺對、烯胺-亞胺對，及其中質子可佔據雜環系統之兩個或更多個位置之環形形式，例如 1H-及 3H-咪唑、1H-、2H-及 4H-1,2,4-三唑、1H-及 2H-異吡啶、2-羥基吡啶及 2-吡啶酮以及 1H-及 2H-吡唑。互變異構形式可處於平衡或藉由適當之取代空間鎖定成一種形式。

【0108】 所有化合物及其醫藥學上可接受之鹽可與其他物質(例如水及溶劑)一起發現(例如水合物及溶劑合物)，或可分離出來。

【0109】 在一些實施例中，化合物之製備可涉及添加酸或鹼，以影響例如期望反應之催化或鹽形式(例如酸加成鹽)之形成。

【0110】 在一些實施例中，本文提供之化合物或其鹽實質上分離。「實質上分

離」意指化合物至少部分或實質上與其形成或偵測之環境分離。部分分離可包括例如富含本文提供之化合物之組合物。實質上分離可包括含有按重量計至少約 50%、至少約 60%、至少約 70%、至少約 80%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 97%或至少約 99%之本文提供之化合物或其鹽的組合物。分離化合物及其鹽之方法係業內習用的。

【0111】 如本文所用之術語「化合物」意欲包括所述結構之所有立體異構物、幾何異構物、互變異構物及同位素。除非另外指明，否則本文中藉由名稱或結構鑒定為一種特定互變異構形式之化合物意欲包括其他互變異構形式。

【0112】 片語「醫藥學上可接受之」在本文中用於指在合理之醫學判斷範圍內，適用於與人類及動物之組織接觸而沒有過度之毒性、刺激、過敏反應或其他問題或併發症，與合理之效益/風險比相稱之彼等化合物、材料、組合物及/或劑型。

【0113】 本申請案亦包括本文所述之化合物之醫藥學上可接受之鹽。如本文所用之「醫藥學上可接受之鹽」係指所揭示之化合物之衍生物，其中母體化合物藉由將存在之酸或鹼部分轉化為其鹽形式而經修飾。醫藥學上可接受之鹽之實例包括(但不限於)鹼性殘基(諸如胺)之無機或有機酸鹽；酸性殘基(諸如羧酸)之鹼性或有機鹽；及諸如此類。本揭示案之醫藥學上可接受之鹽包括母體化合物之例如由無毒無機酸或有機酸形成之習用無毒鹽。本揭示案之醫藥學上可接受之鹽可藉由習用化學方法由含有鹼性或酸性部分之母體化合物合成。通常，該等鹽可藉由使該等化合物之游離酸或鹼形式與化學計量量之合適鹼或酸在水中或在有機溶劑中或在兩者之混合物中反應來製備；通常，非水性介質如醚、乙酸乙酯、醇(例如甲醇、乙醇、異丙醇或丁醇)或乙腈(ACN)係較佳的。適宜鹽之列表參見 *Remington's Pharmaceutical Sciences*，第 17 版，Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985，第 1418 頁及 *Journal of Pharmaceutical Science*, 66, 2 (1977)，其各自

之全文皆以引用方式併入本文中。

【0114】 本文所述之化合物(包括其鹽)可使用已知之有機合成技術來製備且可根據多種可能合成途徑中之任一者來合成。

【0115】 製備本文所述化合物之反應可在可由熟習有機合成技術者容易選擇之適宜溶劑中實施。適宜溶劑在實施反應之溫度(例如可介於溶劑之冰點至溶劑之沸點範圍內之溫度)下可實質上不與起始材料(反應物)、中間體或產物反應。給定反應可在一種溶劑或一種以上溶劑之混合物中實施。端視具體反應步驟，可由熟習此項技術者選擇適用於具體反應步驟之溶劑。

【0116】 本文所述化合物之製備可涉及多個化學基團之保護及去保護。熟習此項技術者可容易地確定保護及去保護之需要及適宜保護基團之選擇。保護基團之化學可參見例如 T. W. Greene 及 P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 第 3 版, Wiley & Sons, Inc., New York (1999), 其全文皆以引用方式併入本文中。

【0117】 反應可根據此項技術中已知之任一適宜方法來監測。舉例而言，可藉由波譜方法(例如核磁共振譜(例如 ^1H 或 ^{13}C)、紅外光譜、分光光度法(例如 UV 可見光)、質譜)或藉由層析方法(例如高效液相層析(HPLC)、液相層析-質譜(LCMS)或薄層層析(TLC))來監測產物形成。化合物可由熟習此項技術者藉由多種方法來純化，包括高效液相層析(HPLC) (「*Preparative LC-MS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization*」 Karl F. Blom 等人, *J. Comb. Chem.* 2004, 6(6), 874-883, 其全文皆以引用方式併入本文中)及正相二氧化矽層析。

【0118】 本文所述之化合物可調節多種 GPCR (包括例如 A2A/A2B)中之一或多者之活性。術語「調節」欲指增加或降低 A2A/A2B 家族之一或多個成員之活性之能力。因此，本文所述之化合物可用於藉由使 A2A/A2B 與本文所述化合物

或組合物中之任一或多者接觸來調節 A2A/A2B 之方法中。在一些實施例中，本發明之化合物可用作 A2A 及 A2B 中之一或兩者之抑制劑。在其他實施例中，本文所述之化合物可用於藉由投與調節量之本文所述化合物或其醫藥學上可接受之鹽來調節需要調節受體之個體中 A2A/A2B 之活性。在一些實施例中，調節為抑制。

【0119】 鑒於癌細胞生長及存活受多個信號傳導途徑影響，本發明可用於治療特征在於藥物抗性突變體之疾病狀態。另外，在 GPCR 中展現不同偏好之不同 GPCR 抑制劑可以組合使用，該等不同 GPCR 抑制劑調節 GPCR 之活性。此方法可證明藉由靶向多個信號傳導途徑高度有效地治療疾病狀態，降低在細胞中產生藥物抗性之可能性，且降低疾病治療之毒性。

【0120】 本發明化合物結合及/或調節(例如抑制)之 GPCR 包括 A2A/A2B 家族之任一成員。

【0121】 在一些實施例中，使用一種以上之本文所述化合物來抑制一種 GPCR (例如 A2A)之活性。

【0122】 在一些實施例中，使用一種以上之本文所述化合物來抑制一種以上之 GPCR，例如至少兩種 GPCR (例如 A2A 及 A2B)。

【0123】 在一些實施例中，一或多種化合物係與另一 GPCR 拮抗劑組合使用來抑制一種 GPCR (例如 A2A 或 A2B)之活性。

【0124】 本文所述之 A2A/A2B 抑制劑可具有選擇性。「選擇性」意指與至少一種其他 GPCR 相比，化合物分別以較大親和力或效力結合或抑制 GPCR。在一些實施例中，本文所述之化合物係 A2A 或 A2B 之選擇性抑制劑。在一些實施例中，本文所述之化合物係 A2A 之選擇性抑制劑(例如相對於 A2B)。在一些實施例中，本文所述之化合物係 A2B 之選擇性抑制劑(例如相對於 A2A)。在一些實施例中，選擇性可為至少約 2 倍、5 倍、10 倍、至少約 20 倍、至少約 50 倍、至

少約 100 倍、至少約 200 倍、至少約 500 倍或至少約 1000 倍。選擇性可藉由此項技術中之常規方法來量測。在一些實施例中，選擇性可以對每一 GPCR 之生物化學親和力來測試。在一些實施例中，本文所述化合物之選擇性可藉由與具體 A2A/A2B GPCR 活性相關之細胞分析來測定。

【0125】 如本文所用之術語「接觸」係指將所指示部分一起帶入活體外系統或活體內系統中。舉例而言，使 A2A/A2B 與本文所述化合物「接觸」包括將本發明之化合物投與具有 A2A/A2B 之個體或患者(例如人類)，以及例如將本文所述之化合物引入含有含 A2A/A2B 之細胞或經純化製劑之樣品中。

【0126】 如本文所用之術語「個體」或「患者」可互換使用且係指任何動物，包括哺乳動物，較佳小鼠、大鼠、其他嚙齒類動物、兔、狗、貓、豬、牛、綿羊、馬或靈長類動物，且最佳人類。

【0127】 如本文所用之片語「治療有效量」係指引發組織、系統、動物、個體或人類之研究者、獸醫、醫師或其他臨床醫師正尋求之生物或醫學反應的活性化化合物或醫藥劑之量。

【0128】 如本文所用之術語「治療(treating)」或「治療(treatment)」係指以下中之一或多者：(1)預防疾病；例如，預防可能易患疾病、疾患或病症但尚未經歷或展示疾病之病狀或症狀之個體之疾病、疾患或病症；(2)抑制疾病；例如，抑制正在經歷或展示疾病、疾患或病症之病狀或症狀之個體之疾病、疾患或病症(即，阻止病狀及/或症狀之進一步發展)；及(3)改善疾病；例如，改善正在經歷或展示疾病、疾患或病症之病狀或症狀之個體之疾病、疾患或病症(即，逆轉病狀及/或症狀)，例如降低疾病之嚴重程度。在一些實施例中，術語「治療(treating)」或「治療(treatment)」係指抑制或改善疾病。

給藥及投與

【0129】 在一些實施例中，A2A/A2B 抑制劑或其醫藥學上可接受之鹽係以基

於游離鹼約 0.1 mg 至約 1000 mg 之劑量投與個體。在一些實施例中，A2A/A2B 抑制劑或其醫藥學上可接受之鹽係以基於游離鹼約 1 mg 至約 500 mg 之劑量投與個體。在一些實施例中，A2A/A2B 抑制劑或其醫藥學上可接受之鹽係以基於游離鹼約 5 mg 至約 250 mg 之劑量投與個體。在一些實施例中，A2A/A2B 抑制劑或其醫藥學上可接受之鹽係以基於游離鹼約 10 mg 至約 100 mg 之劑量投與個體。

【0130】 在一些實施例中，A2A/A2B 抑制劑或其醫藥學上可接受之鹽係以選自以下之劑量投與個體：基於游離鹼約 0.5 mg、約 1 mg、約 5 mg、約 10 mg、約 15 mg、約 20 mg、約 25 mg、約 30 mg、約 35 mg、約 40 mg、約 45 mg、約 50 mg、約 55 mg、約 60 mg、約 65 mg、約 70 mg、約 75 mg、約 80 mg、約 85 mg、約 90 mg、約 95 mg、約 100 mg、約 105 mg、約 110 mg、約 115 mg、約 120 mg、約 125 mg、約 130 mg、約 135 mg、約 140 mg、約 145 mg、約 150 mg、約 155 mg、約 160 mg、約 165 mg、約 170 mg、約 175 mg、約 180 mg、約 185 mg、約 190 mg、約 195 mg、約 200 mg、約 205 mg、約 210 mg、約 215 mg、約 220 mg、約 225 mg、約 230 mg、約 235 mg、約 240 mg、約 245 mg、約 250 mg、約 255 mg、約 260 mg、約 265 mg、約 270 mg、約 275 mg、約 280 mg、約 285 mg、約 290 mg、約 295 mg、約 300 mg、約 305 mg、約 310 mg、約 315 mg、約 320 mg、約 325 mg、約 330 mg、約 335 mg、約 340 mg、約 345 mg、約 350 mg、約 355 mg、約 360 mg、約 365 mg、約 370 mg、約 375 mg、約 380 mg、約 385 mg、約 390 mg、約 395 mg、約 400 mg、約 405 mg、約 410 mg、約 415 mg、約 420 mg、約 425 mg、約 430 mg、約 435 mg、約 440 mg、約 445 mg、約 450 mg、約 455 mg、約 460 mg、約 465 mg、約 470 mg、約 475 mg、約 480 mg、約 485 mg、約 490 mg、約 495 mg、約 500 mg、約 505 mg、約 510 mg、約 515 mg、約 520 mg、約 525 mg、約 530 mg、約 535 mg、約 540 mg、約 545 mg、約 550 mg、

約 555 mg、約 560 mg、約 565 mg、約 570 mg、約 575 mg、約 580 mg、約 585 mg、約 590 mg、約 595 mg、約 600 mg、約 605 mg、約 610 mg、約 615 mg、約 620 mg、約 625 mg、約 630 mg、約 635 mg、約 640 mg、約 645 mg、約 650 mg、約 655 mg、約 660 mg、約 665 mg、約 670 mg、約 675 mg、約 680 mg、約 685 mg、約 690 mg、約 695 mg、約 700 mg、約 705 mg、約 710 mg、約 715 mg、約 720 mg、約 725 mg、約 730 mg、約 735 mg、約 740 mg、約 745 mg、約 750 mg、約 755 mg、約 760 mg、約 765 mg、約 770 mg、約 775 mg、約 780 mg、約 785 mg、約 790 mg、約 795 mg、約 800 mg、約 805 mg、約 810 mg、約 815 mg、約 820 mg、約 825 mg、約 830 mg、約 835 mg、約 840 mg、約 845 mg、約 850 mg、約 855 mg、約 860 mg、約 865 mg、約 870 mg、約 875 mg、約 880 mg、約 885 mg、約 890 mg、約 895 mg、約 900 mg、約 905 mg、約 910 mg、約 915 mg、約 920 mg、約 925 mg、約 930 mg、約 935 mg、約 940 mg、約 945 mg、約 950 mg、約 955 mg、約 960 mg、約 965 mg、約 970 mg、約 975 mg、約 980 mg、約 985 mg、約 990 mg、約 995 mg 及約 1000 mg。在一些實施例中，A2A/A2B 抑制劑或其醫藥學上可接受之鹽係以基於游離鹼約 0.1 mg 至約 500 mg 範圍內之劑量或其之間之任一劑量值投與個體。在一些實施例中，A2A/A2B 抑制劑或其醫藥學上可接受之鹽係以基於游離鹼約 1 mg 至約 100 mg 範圍內之劑量或其之間之任一劑量值投與個體。

【0131】 在一些實施例中，A2A/A2B 抑制劑或其醫藥學上可接受之鹽係以每天一次、每隔一天、每週一次或其之間之任何時間間隔投與個體。在一些實施例中，A2A/A2B 抑制劑或其醫藥學上可接受之鹽係以每天一次投與個體。在一些實施例中，A2A/A2B 抑制劑或其醫藥學上可接受之鹽係每隔一天投與個體。在一些實施例中，A2A/A2B 抑制劑或其醫藥學上可接受之鹽係以每週一次投與個體。

【0132】 在一些實施例中，每一劑量係以單一的每天一次劑量投與。在一些實施例中，每一劑量係以單一的每天一次口服劑量投與。

【0133】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑或其醫藥學上可接受之鹽係以基於游離鹼約 0.1 mg 至約 1000 mg 之劑量投與個體。在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑或其醫藥學上可接受之鹽係以基於游離鹼約 1 mg 至約 500 mg 之劑量投與個體。在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑或其醫藥學上可接受之鹽係以基於游離鹼約 5 mg 至約 250 mg 之劑量投與個體。在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑或其醫藥學上可接受之鹽係以基於游離鹼約 10 mg 至約 100 mg 之劑量投與個體。

【0134】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑或其醫藥學上可接受之鹽係以選自以下之劑量投與個體：基於游離鹼約 0.5 mg、約 1 mg、約 5 mg、約 10 mg、約 15 mg、約 20 mg、約 25 mg、約 30 mg、約 35 mg、約 40 mg、約 45 mg、約 50 mg、約 55 mg、約 60 mg、約 65 mg、約 70 mg、約 75 mg、約 80 mg、約 85 mg、約 90 mg、約 95 mg、約 100 mg、約 105 mg、約 110 mg、約 115 mg、約 120 mg、約 125 mg、約 130 mg、約 135 mg、約 140 mg、約 145 mg、約 150 mg、約 155 mg、約 160 mg、約 165 mg、約 170 mg、約 175 mg、約 180 mg、約 185 mg、約 190 mg、約 195 mg、約 200 mg、約 205 mg、約 210 mg、約 215 mg、約 220 mg、約 225 mg、約 230 mg、約 235 mg、約 240 mg、約 245 mg、約 250 mg、約 255 mg、約 260 mg、約 265 mg、約 270 mg、約 275 mg、約 280 mg、約 285 mg、約 290 mg、約 295 mg、約 300 mg、約 305 mg、約 310 mg、約 315 mg、約 320 mg、約 325 mg、約 330 mg、約 335 mg、約 340 mg、約 345 mg、約 350 mg、約 355 mg、約 360 mg、約 365 mg、約 370 mg、約 375 mg、約 380 mg、約 385 mg、約 390 mg、約 395 mg、約 400 mg、約 405 mg、約 410 mg、約 415 mg、約 420 mg、約 425 mg、約 430 mg、約 435 mg、約 440 mg、約 445 mg、約 450 mg、

約 455 mg、約 460 mg、約 465 mg、約 470 mg、約 475 mg、約 480 mg、約 485 mg、約 490 mg、約 495 mg、約 500 mg、約 505 mg、約 510 mg、約 515 mg、約 520 mg、約 525 mg、約 530 mg、約 535 mg、約 540 mg、約 545 mg、約 550 mg、約 555 mg、約 560 mg、約 565 mg、約 570 mg、約 575 mg、約 580 mg、約 585 mg、約 590 mg、約 595 mg、約 600 mg、約 605 mg、約 610 mg、約 615 mg、約 620 mg、約 625 mg、約 630 mg、約 635 mg、約 640 mg、約 645 mg、約 650 mg、約 655 mg、約 660 mg、約 665 mg、約 670 mg、約 675 mg、約 680 mg、約 685 mg、約 690 mg、約 695 mg、約 700 mg、約 705 mg、約 710 mg、約 715 mg、約 720 mg、約 725 mg、約 730 mg、約 735 mg、約 740 mg、約 745 mg、約 750 mg、約 755 mg、約 760 mg、約 765 mg、約 770 mg、約 775 mg、約 780 mg、約 785 mg、約 790 mg、約 795 mg、約 800 mg、約 805 mg、約 810 mg、約 815 mg、約 820 mg、約 825 mg、約 830 mg、約 835 mg、約 840 mg、約 845 mg、約 850 mg、約 855 mg、約 860 mg、約 865 mg、約 870 mg、約 875 mg、約 880 mg、約 885 mg、約 890 mg、約 895 mg、約 900 mg、約 905 mg、約 910 mg、約 915 mg、約 920 mg、約 925 mg、約 930 mg、約 935 mg、約 940 mg、約 945 mg、約 950 mg、約 955 mg、約 960 mg、約 965 mg、約 970 mg、約 975 mg、約 980 mg、約 985 mg、約 990 mg、約 995 mg 及約 1000 mg。在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑或其醫藥學上可接受之鹽係以基於游離鹼約 0.1 mg 至約 500 mg 範圍內之劑量或其之間之任一劑量值投與個體。在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑或其醫藥學上可接受之鹽係以基於游離鹼約 1 mg 至約 100 mg 範圍內之劑量或其之間之任一劑量值投與個體。

【0135】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係以約 1 mg/kg 至約 10 mg/kg 之劑量投與個體。在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係以約 2 mg/kg、約 3 mg/kg、約 4 mg/kg、約 5 mg/kg、約 6 mg/kg、約 7 mg/kg、約 8 mg/kg、約 9 mg/kg

或約 10 mg/kg 之劑量投與個體。在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係以約 200 mg 至約 1000 mg 之劑量投與個體。在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係以約 200 mg、約 225 mg、約 250 mg、約 275 mg、約 300 mg、約 325 mg、約 350 mg、約 375 mg、約 400 mg、約 425 mg、約 450 mg、約 475 mg、約 500 mg、約 525 mg、約 550 mg、約 575 mg、約 600 mg、約 625 mg、約 650 mg、約 675 mg、約 700 mg、約 725 mg、約 750 mg、約 775 mg、約 800 mg、約 825 mg、約 850 mg、約 875 mg、約 900 mg、約 925 mg、約 950 mg、約 975 mg 或約 1000 mg 之劑量投與個體。

【0136】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係以每天一次、每隔一天、每週一次或其之間之任何時間間隔投與個體。在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係以每天一次投與個體。在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係每隔一天投與個體。在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係以每週一次投與個體。

【0137】 在一些實施例中，每一劑量係以單一的每天一次劑量投與。在一些實施例中，每一劑量係以單一的每天一次口服劑量投與。

【0138】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係以每兩週、每三週或每四週投與個體。在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係以每月或每季度投與個體。在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係藉由靜脈內投與來投與個體。

【0139】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係以 1 mg/kg Q2W 之劑量投與個體。

【0140】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係以 3 mg/kg Q2W 之劑量投與個體。

【0141】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係以 3 mg/kg Q4W 之劑量投與個體。

【0142】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係以 10 mg/kg Q2W 之劑量投

與個體。

【0143】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係以 10 mg/kg Q4W 之劑量投與個體。

【0144】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係以 200 mg Q3W 之劑量投與個體。

【0145】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係以 250 mg Q3W 之劑量投與個體。

【0146】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係以 375 mg Q3W 之劑量投與個體。

【0147】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係以 500 mg Q4W 之劑量投與個體。

【0148】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係以 750 mg Q4W 之劑量投與個體。

【0149】 在一些實施例中，PD-1/PD-L1 抑制劑係抗體 X。在一些實施例中，抗體 X 係以約 250 mg 至約 850 mg 之劑量投與個體。在一些實施例中，抗體 X 係以約 375 mg 至約 850 mg 之劑量投與個體。在一些實施例中，抗體 X 係以約 450 mg 至約 850 mg 之劑量投與個體。在一些實施例中，抗體 X 係以約 500 mg 至約 750 mg 之劑量投與個體。在一些實施例中，抗體 X 係以約 500 mg 之劑量投與個體。在一些實施例中，抗體 X 係以約 750 mg 之劑量投與個體。在一些實施例中，抗體 X 係以每四週投與個體。在一些實施例中，抗體 X 係藉由靜脈內投與來投與個體。

【0150】 在一些實施例中，抗體 X 係以 1 mg/kg Q2W 之劑量投與個體。

【0151】 在一些實施例中，抗體 X 係以 3 mg/kg Q2W 之劑量投與個體。

【0152】 在一些實施例中，抗體 X 係以 3 mg/kg Q4W 之劑量投與個體。

- 【0153】 在一些實施例中，抗體 X 係以 10 mg/kg Q2W 之劑量投與個體。
- 【0154】 在一些實施例中，抗體 X 係以 10 mg/kg Q4W 之劑量投與個體。
- 【0155】 在一些實施例中，抗體 X 係以 200 mg Q3W 之劑量投與個體。
- 【0156】 在一些實施例中，抗體 X 係以 250 mg Q3W 之劑量投與個體。
- 【0157】 在一些實施例中，抗體 X 係以 375 mg Q3W 之劑量投與個體。
- 【0158】 在一些實施例中，抗體 X 係以 500 mg Q4W 之劑量投與個體。
- 【0159】 在一些實施例中，抗體 X 係以 750 mg Q4W 之劑量投與個體。
- 【0160】 在一些實施例中，本文提供治療個體癌症之方法，其包括向個體投與：

- (i) A2A/A2B 抑制劑，其係 3-(8-胺基-5-(1-甲基-6-側氧基-1,6-二氫嗪-3-基)-2-(吡啶-2-基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；及
- (ii) PD-1/PD-L1 抑制劑，其係抗體 X。

【0161】 在一些實施例中，A2A/A2B 抑制劑係以基於游離鹼約 0.1 mg 至約 500 mg 之劑量投與個體，其中 A2A/A2B 抑制劑係以每天一次或每隔一天投與。

【0162】 在一些實施例中，抗體 X 係以約 100 mg 至約 1000 mg Q4W 之劑量投與個體。

【0163】 在一些實施例中，本文提供治療個體之選自以下之癌症之方法：膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、直腸癌、肛門癌、子宮內膜癌、腎癌、口腔癌、頭頸癌、肝癌、黑色素瘤、間皮瘤、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、非黑色素瘤皮膚癌、卵巢癌、胰臟癌、前列腺癌、肉瘤、甲狀腺癌及默克細胞癌(Merkel cell carcinoma)，其包括向個體投與：

- (i) A2A/A2B 抑制劑，其係 3-(8-胺基-5-(1-甲基-6-側氧基-1,6-二氫嗪-3-基)-2-(吡啶-2-基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之

鹽；及

(ii) PD-1/PD-L1 抑制劑，其係抗體 X；

其中 A2A/A2B 抑制劑係以基於游離鹼約 0.1 mg 至約 500 mg 之劑量投與個體，

其中 A2A/A2B 抑制劑係以每天一次或每隔一天投與；且

抗體 X 係以約 100 mg 至約 1000 mg Q4W 之劑量投與個體。

【0164】 在一些實施例中，抗體 X 係以約 375 mg Q4W 之劑量投與個體。在一些實施例中，抗體 X 係以約 500 mg Q4W 之劑量投與個體。在一些實施例中，抗體 X 係以約 750 mg Q4W 之劑量投與個體。

【0165】 在一些實施例中，本文提供治療個體癌症之方法，其包括向個體投與：

(i) A2A/A2B 抑制劑，其係 3-(8-胺基-5-(1-甲基-6-側氧基-1,6-二氫嗒嗪-3-基)-2-(吡啶-2-基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；及

(ii) PD-1/PD-L1 抑制劑，其係派姆單抗。

【0166】 在一些實施例中，本文提供治療個體之選自以下之癌症之方法：膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、直腸癌、肛門癌、子宮內膜癌、腎癌、口腔癌、頭頸癌、肝癌、黑色素瘤、間皮瘤、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、非黑色素瘤皮膚癌、卵巢癌、胰臟癌、前列腺癌、肉瘤、甲狀腺癌及默克細胞癌，其包括向個體投與：

(i) A2A/A2B 抑制劑，其係 3-(8-胺基-5-(1-甲基-6-側氧基-1,6-二氫嗒嗪-3-基)-2-(吡啶-2-基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；及

(ii) PD-1/PD-L1 抑制劑，其係派姆單抗。

【0167】 在一些實施例中，本文提供治療個體癌症之方法，其包括向個體投

與：

(i) A2A/A2B 抑制劑，其係 3-(8-胺基-5-(1-甲基-6-側氧基-1,6-二氫嗪-3-基)-2-(吡啶-2-基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；及

(ii) PD-1/PD-L1 抑制劑，其係阿替珠單抗。

【0168】 在一些實施例中，本文提供治療個體之選自以下之癌症之方法：膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、直腸癌、肛門癌、子宮內膜癌、腎癌、口腔癌、頭頸癌、肝癌、黑色素瘤、間皮瘤、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、非黑色素瘤皮膚癌、卵巢癌、胰臟癌、前列腺癌、肉瘤、甲狀腺癌及默克細胞癌，其包括向個體投與：

(i) A2A/A2B 抑制劑，其係 3-(8-胺基-5-(1-甲基-6-側氧基-1,6-二氫嗪-3-基)-2-(吡啶-2-基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；及

(ii) PD-1/PD-L1 抑制劑，其係阿替珠單抗。

【0169】 在一些實施例中，本文提供治療個體癌症之方法，其包括向個體投與：

(i) A2A/A2B 抑制劑，其係 3-(8-胺基-5-(1-甲基-6-側氧基-1,6-二氫嗪-3-基)-2-(吡啶-2-基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；及

(ii) PD-1/PD-L1 抑制劑，其係(R)-1-((7-氰基-2-(3'-(3-(((R)-3-羥基吡咯啶-1-基)甲基)-1,7-萘啶-8-基胺基)-2,2'-二甲基聯苯-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)吡咯啶-3-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽(化合物 Y)。

【0170】 在一些實施例中，本文提供治療個體之選自以下之癌症之方法：膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、直腸癌、肛門癌、子宮內膜癌、腎癌、口腔癌、

頭頸癌、肝癌、黑色素瘤、間皮瘤、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、非黑色素瘤皮膚癌、卵巢癌、胰臟癌、前列腺癌、肉瘤、甲狀腺癌及默克細胞癌，其包括向個體投與：

(i) A2A/A2B 抑制劑，其係 3-(8-胺基-5-(1-甲基-6-側氧基-1,6-二氫嗪-3-基)-2-(吡啶-2-基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲脒或其醫藥學上可接受之鹽；及

(ii) PD-1/PD-L1 抑制劑，其係(R)-1-((7-氰基-2-(3'-(3-(((R)-3-羥基吡咯啶-1-基)甲基)-1,7-萘啶-8-基胺基)-2,2'-二甲基聯苯-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)吡咯啶-3-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽(化合物 Y)。

【0171】 在一些實施例中，本文提供治療個體癌症之方法，其包括向個體投與：

(i) A2A/A2B 抑制劑，其係 3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-2H-四唑-2-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲脒或其醫藥學上可接受之鹽；及

(ii) PD-1/PD-L1 抑制劑，其係抗體 X。

【0172】 在一些實施例中，本文提供治療個體癌症之方法，其包括向個體投與：

(i) A2A/A2B 抑制劑，其係 3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-1H-四唑-1-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲脒或其醫藥學上可接受之鹽；及

(ii) PD-1/PD-L1 抑制劑，其係抗體 X。

【0173】 在一些實施例中，A2A/A2B 抑制劑係以基於游離鹼約 0.1 mg 至約 500 mg 之劑量投與個體，其中 A2A/A2B 抑制劑係以每天一次或每隔一天投與。

【0174】 在一些實施例中，抗體 X 係以約 100 mg 至約 1000 mg Q4W 之劑量投與個體。

【0175】 在一些實施例中，本文提供治療個體之選自以下之癌症之方法：膀

膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、直腸癌、肛門癌、子宮內膜癌、腎癌、口腔癌、頭頸癌、肝癌、黑色素瘤、間皮瘤、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、非黑色素瘤皮膚癌、卵巢癌、胰臟癌、前列腺癌、肉瘤、甲狀腺癌及默克細胞癌，其包括向個體投與：

- (i) A2A/A2B 抑制劑，其係 3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-2H-四唑-2-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；及
- (ii) PD-1/PD-L1 抑制劑，其係抗體 X；

其中 A2A/A2B 抑制劑係以基於游離鹼約 0.1 mg 至約 500 mg 之劑量投與個體，其中 A2A/A2B 抑制劑係以每天一次或每隔一天投與；且

抗體 X 係以約 100 mg 至約 1000 mg Q4W 之劑量投與個體。

【0176】 在一些實施例中，本文提供治療個體之選自以下之癌症之方法：膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、直腸癌、肛門癌、子宮內膜癌、腎癌、口腔癌、頭頸癌、肝癌、黑色素瘤、間皮瘤、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、非黑色素瘤皮膚癌、卵巢癌、胰臟癌、前列腺癌、肉瘤、甲狀腺癌及默克細胞癌，其包括向個體投與：

- (i) A2A/A2B 抑制劑，其係 3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-1H-四唑-1-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；及
- (ii) PD-1/PD-L1 抑制劑，其係抗體 X；

其中 A2A/A2B 抑制劑係以基於游離鹼約 0.1 mg 至約 500 mg 之劑量投與個體，其中 A2A/A2B 抑制劑係以每天一次或每隔一天投與；且

抗體 X 係以約 100 mg 至約 1000 mg Q4W 之劑量投與個體。

【0177】 在一些實施例中，抗體 X 係以約 375 mg Q4W 之劑量投與個體。在一些實施例中，抗體 X 係以約 500 mg Q4W 之劑量投與個體。在一些實施例中，抗體 X 係以約 750 mg Q4W 之劑量投與個體。

【0178】 在一些實施例中，本文提供治療個體癌症之方法，其包括向個體投與：

- (i) A2A/A2B 抑制劑，其係 3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-2H-四唑-2-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；及
- (ii) PD-1/PD-L1 抑制劑，其係派姆單抗。

【0179】 在一些實施例中，本文提供治療個體癌症之方法，其包括向個體投與：

- (i) A2A/A2B 抑制劑，其係 3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-1H-四唑-1-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；及
- (ii) PD-1/PD-L1 抑制劑，其係派姆單抗。

【0180】 在一些實施例中，本文提供治療個體之選自以下之癌症之方法：膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、直腸癌、肛門癌、子宮內膜癌、腎癌、口腔癌、頭頸癌、肝癌、黑色素瘤、間皮瘤、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、非黑色素瘤皮膚癌、卵巢癌、胰臟癌、前列腺癌、肉瘤、甲狀腺癌及默克細胞癌，其包括向個體投與：

- (i) A2A/A2B 抑制劑，其係 3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-2H-四唑-2-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；及
- (ii) PD-1/PD-L1 抑制劑，其係派姆單抗。

【0181】 在一些實施例中，本文提供治療個體之選自以下之癌症之方法：膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、直腸癌、肛門癌、子宮內膜癌、腎癌、口腔癌、頭頸癌、肝癌、黑色素瘤、間皮瘤、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、非黑色素瘤皮膚癌、卵巢癌、胰臟癌、前列腺癌、肉瘤、甲狀腺癌及默克細胞癌，其包括向個體投與：

- (i) A2A/A2B 抑制劑，其係 3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-1H-四唑-1-基)甲基)-8-(嘧

啉-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；及

(ii) PD-1/PD-L1 抑制劑，其係派姆單抗。

【0182】 在一些實施例中，本文提供治療個體癌症之方法，其包括向個體投與：

(i) A2A/A2B 抑制劑，其係 3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-2H-四唑-2-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；及

(ii) PD-1/PD-L1 抑制劑，其係阿替珠單抗。

【0183】 在一些實施例中，本文提供治療個體癌症之方法，其包括向個體投與：

(i) A2A/A2B 抑制劑，其係 3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-1H-四唑-1-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；及

(ii) PD-1/PD-L1 抑制劑，其係阿替珠單抗。

【0184】 在一些實施例中，本文提供治療個體之選自以下之癌症之方法：膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、直腸癌、肛門癌、子宮內膜癌、腎癌、口腔癌、頭頸癌、肝癌、黑色素瘤、間皮瘤、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、非黑色素瘤皮膚癌、卵巢癌、胰臟癌、前列腺癌、肉瘤、甲狀腺癌及默克細胞癌，其包括向個體投與：

(i) A2A/A2B 抑制劑，其係 3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-2H-四唑-2-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；及

(ii) PD-1/PD-L1 抑制劑，其係阿替珠單抗。

【0185】 在一些實施例中，本文提供治療個體之選自以下之癌症之方法：膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、直腸癌、肛門癌、子宮內膜癌、腎癌、口腔癌、頭頸癌、肝癌、黑色素瘤、間皮瘤、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、非黑色素瘤皮膚癌、卵巢癌、胰臟癌、前列腺癌、肉瘤、甲狀腺癌及默克細胞癌，其包括向個

體投與：

- (i) A2A/A2B 抑制劑，其係 3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-1H-四唑-1-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；及
- (ii) PD-1/PD-L1 抑制劑，其係阿替珠單抗。

【0186】 在一些實施例中，本文提供治療個體癌症之方法，其包括向個體投與：

- (i) A2A/A2B 抑制劑，其係 3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-2H-四唑-2-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；及
- (ii) PD-1/PD-L1 抑制劑，其係(R)-1-((7-氰基-2-(3'-(3-(((R)-3-羥基吡咯啶-1-基)甲基)-1,7-萘啶-8-基胺基)-2,2'-二甲基聯苯-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)吡咯啶-3-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽(化合物 Y)。

【0187】 在一些實施例中，本文提供治療個體癌症之方法，其包括向個體投與：

- (i) A2A/A2B 抑制劑，其係 3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-1H-四唑-1-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；及
- (ii) PD-1/PD-L1 抑制劑，其係(R)-1-((7-氰基-2-(3'-(3-(((R)-3-羥基吡咯啶-1-基)甲基)-1,7-萘啶-8-基胺基)-2,2'-二甲基聯苯-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)吡咯啶-3-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽(化合物 Y)。

【0188】 在一些實施例中，本文提供治療個體之選自以下之癌症之方法：膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、直腸癌、肛門癌、子宮內膜癌、腎癌、口腔癌、頭頸癌、肝癌、黑色素瘤、間皮瘤、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、非黑色素瘤皮膚癌、卵巢癌、胰臟癌、前列腺癌、肉瘤、甲狀腺癌及默克細胞癌，其包括向個體投與：

- (i) A2A/A2B 抑制劑，其係 3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-2H-四唑-2-基)甲基)-8-(嘧

啖-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；及

(ii) PD-1/PD-L1 抑制劑，其係(R)-1-((7-氰基-2-(3'-(3-(((R)-3-羥基吡咯啶-1-基)甲基)-1,7-萘啶-8-基胺基)-2,2'-二甲基聯苯-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)吡咯啶-3-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽(化合物 Y)。

【0189】 在一些實施例中，本文提供治療個體之選自以下之癌症之方法：膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、直腸癌、肛門癌、子宮內膜癌、腎癌、口腔癌、頭頸癌、肝癌、黑色素瘤、間皮瘤、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、非黑色素瘤皮膚癌、卵巢癌、胰臟癌、前列腺癌、肉瘤、甲狀腺癌及默克細胞癌，其包括向個體投與：

(i) A2A/A2B 抑制劑，其係 3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-1H-四唑-1-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；及

(ii) PD-1/PD-L1 抑制劑，其係(R)-1-((7-氰基-2-(3'-(3-(((R)-3-羥基吡咯啶-1-基)甲基)-1,7-萘啶-8-基胺基)-2,2'-二甲基聯苯-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)吡咯啶-3-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽(化合物 Y)。

【0190】 在一些實施例中，A2A/A2B 抑制劑及 PD-1/PD-L1 抑制劑係同時投與。

【0191】 在一些實施例中，A2A/A2B 抑制劑及 PD-1/PD-L1 抑制劑係依序投與。

【0192】 當 PD-1/PD-L1 抑制劑係抗 PD-1 抗體或其抗原結合片段時，其可藉由多種方法投與個體，例如有需要之個體，例如人類個體。本文所論述之方法及劑量適用於所有抗 PD-1 抗體或其抗原結合片段，包括抗體 X。對於許多應用，投與途徑係以下中之一者：靜脈內注射或輸注(IV)、皮下注射(SC)、腹膜內(IP)或肌內注射。亦可使用關節內遞送。亦可使用其他非經腸投與模式。該等模式之實例包括：動脈內、鞘內、囊內、眶內、心內、真皮內、經氣管、表皮下、關節內、

囊下、蛛網膜下、脊柱內及硬膜外及胸骨內注射。在一些情形下，投與可為口服。

【0193】 抗體或其抗原結合片段之投與途徑及/或模式亦可經調整用於個別情形，例如藉由例如使用斷層攝影成像監測個體，例如以使腫瘤可視化。

【0194】 抗體或其抗原結合片段可以固定劑量或 mg/kg 劑量來投與。劑量亦可經選擇以減少或避免針對抗 PD-1 抗體之抗體產生。調整劑量方案以提供期望反應，例如治療反應或組合治療效應。通常，可使用抗 PD-1 抗體(及視情況第二劑)之劑量以向個體提供生物利用量之劑。舉例而言，可投與 0.1-100 mg/kg、0.5-100 mg/kg、1 mg/kg -100 mg/kg、0.5-20 mg/kg、0.1-10 mg/kg 或 1-10 mg/kg 範圍內之劑量。亦可使用其他劑量。在特定實施例中，向需要用抗 PD-1 抗體治療之個體投與劑量為 1 mg/kg、2 mg/kg、3 mg/kg、4 mg/kg、5 mg/kg、10 mg/kg、15 mg/kg、20 mg/kg、30 mg/kg、35 mg/kg 或 40 mg/kg 之抗體。

【0195】 組合物可包含約 1 mg/mL 至 100 mg/ml 或約 10 mg/mL 至 100 mg/ml 或約 50 至 250 mg/mL 或約 100 至 150 mg/ml 或約 100 至 250 mg/ml 之抗 PD-1 抗體或其抗原結合片段。

【0196】 如本文所用之劑量單位形式或「固定劑量」係指適於作為單位劑量用於欲治療個體之物理離散單位；各單位含有經計算與所需醫藥載劑一起且視情況與另一劑一起產生期望治療效應之預定量之活性化合物。可給予單一或多個劑量。替代地或另外，抗體可經由連續輸注來投與。例示性固定劑量包括 375 mg、500 mg 及 750 mg。

【0197】 抗 PD-1 抗體或其抗原結合片段劑量可在足以涵蓋至少 2 個劑量、3 個劑量、5 個劑量、10 個劑量或更多個劑量之時間段(治療期)內例如以週期性間隔投與，例如每天一次或兩次，或約每週 1 至 4 次，或較佳每週、每兩週(biweekly、every two weeks)、每三週、每月，例如持續約 1 至 12 週，較佳 2 至 8 週，更佳約 3 至 7 週，且甚至更佳持續約 4 週、5 週或 6 週。可影響有效治療個體所需之

劑量及時間之因素包括例如疾病或病症之嚴重程度、調配物、遞送途徑、先前治療、個體之一般健康狀況及/或年齡及所存在之其他疾病。另外，用治療有效量之化合物治療個體可包括單一治療，或較佳可包括一系列治療。

【0198】 醫藥組合物可包括「治療有效量」之本文所述之劑。該等有效量可基於所投與劑之效應或在使用一種以上之劑時各劑之組合效應來確定。劑之治療有效量亦可根據諸如以下之因素而變化：個體之疾病狀態、年齡、性別及體重以及化合物誘發個體中之期望反應(例如改善至少一種病症參數或改善病症之至少一種症狀)之能力。治療有效量亦係其中治療有益效應超過組合物之任何毒性或有害效應之量。

醫藥調配物

【0199】 當作為醫藥使用時，本揭示案之化合物可以醫藥組合物之形式投與。該等組合物可以藥學領域熟知之方式製備，且可藉由多種途徑投與，該等途徑取決於期望局部治療亦或全身治療以及取決於欲治療之區域。投與可為局部投與(包括經皮投與、表皮投與、眼部投與及黏膜投與，包括鼻內遞送、陰道遞送及直腸遞送)、肺部投與(例如藉由吸入或吹入粉末或氣溶膠，包括藉由噴霧器；氣管內或鼻內)、經口或非經腸投與。非經腸投與包括靜脈內投與、動脈內投與、皮下投與、腹膜內投與、肌內投與或注射或輸注；或顱內投與，例如鞘內投與或腦室內投與。非經腸投與可呈單次濃注劑量之形式，或可為例如藉由連續灌注幫浦。用於局部投與之醫藥組合物及調配物可包括透皮貼劑、軟膏、洗劑、乳霜、凝膠、滴劑、栓劑、噴霧劑、液體及粉劑。習用醫藥載劑、水性、粉末或油性基質、增稠劑及諸如此類可為必需的或合意的。

【0200】 本揭示案亦包括醫藥組合物，其含有作為活性成分之本揭示案之化合物或其醫藥學上可接受之鹽與一或多種醫藥學上可接受之載劑(賦形劑)的組合。在一些實施例中，組合物適於局部投與。在製備本揭示案之組合物中，活性

成分通常與賦形劑混合，用賦形劑稀釋或包封在呈例如膠囊、小藥囊、紙或其他容器形式之此類載劑內。當賦形劑用作稀釋劑時，其可為固體、半固體或液體材料，其用作活性成分之媒劑、載劑或介質。因此，組合物可呈錠劑、丸劑、粉劑、菱形錠劑、小藥囊、扁囊劑、酏劑、懸浮液、乳液、溶液、糖漿、氣溶膠(作為固體或在液體介質中)、含有例如高達 10 重量%之活性化合物之軟膏、軟及硬明膠膠囊、栓劑、無菌可注射溶液及無菌包裝之粉劑的形式。

【0201】 在製備調配物時，在與其他成分混合之前，可將活性化合物研磨以提供適宜粒徑。若活性化合物實質上不可溶，則可將其研磨至小於 200 目之粒徑。若活性化合物實質上係水溶性的，則可藉由研磨來調節粒徑，以在調配物中提供實質上均勻之分佈，例如約 40 目。

【0202】 本揭示案之化合物可使用已知之研磨程序(例如濕磨)來研磨，以獲得適合錠劑形成及其他調配物類型之粒徑。本揭示案之化合物之細分(奈米顆粒)製劑可藉由業內已知之方法製備，例如參見國際申請案號 WO2002/000196。

【0203】 適宜賦形劑之一些實例包括乳糖、右旋糖、蔗糖、山梨醇、甘露醇、澱粉、阿拉伯樹膠、磷酸鈣、海藻酸鹽、黃耆膠、明膠、矽酸鈣、微晶纖維素、聚乙烯吡咯啉酮、纖維素、水、糖漿及甲基纖維素。調配物可另外包括：潤滑劑，諸如滑石、硬脂酸鎂及礦物油；潤濕劑；乳化劑及懸浮劑；防腐劑，諸如羥基苯甲酸甲酯及羥基苯甲酸丙酯；甜味劑；及矯味劑。本揭示案之組合物可藉由採用此項技術中已知之程序調配以在投與患者後提供活性成分之快速、持續或延遲釋放。

【0204】 組合物可以單位劑量形式調配。術語「單位劑量形式」係指適於作為單位劑量用於人類個體及其他哺乳動物之物理離散單位，各單位含有經計算以與適宜醫藥賦形劑一起產生期望治療效應之預定量之活性材料。

【0205】 為製備固體組合物(例如錠劑)，將主要活性成分與醫藥賦形劑混合以

形成含有本揭示案化合物之均質混合物之固體預調配組合物。當將該等預調配組合物提及為均質時，活性成分通常均勻分散於整個組合物中，以使得組合物可容易地細分成同樣有效之單位劑量形式，例如錠劑、丸劑及膠囊。然後將此固體預調配物細分成上述類型之單位劑量形式。

【0206】 本揭示案之錠劑或丸劑可經包衣或以其他方式復合以提供具有延長作用的優點之劑量形式。舉例而言，錠劑或丸劑可包含內部劑量組分及外部劑量組分，後者呈在前者上之包膜形式。兩種組分可由腸溶層分開，該腸溶層用於抵抗胃中之崩解且允許內部組分完整地進入十二指腸中或延遲釋放。多種材料可用於該等腸溶層或包衣，該等材料包括多種聚合酸及聚合酸與諸如蟲膠、十六烷醇及乙酸纖維素之材料之混合物。

【0207】 本揭示案之化合物及組合物可摻入其中用於口服或藉由注射投與之液體形式包括水溶液、適當矯味之糖漿、水性或油懸浮液，及具有食用油(諸如棉籽油、芝麻油、椰子油或花生油)之矯味乳液，以及酞劑及類似之醫藥媒劑。

【0208】 用於吸入或吹入之組合物包括在醫藥學上可接受之水性或有機溶劑或其混合物中之溶液及懸浮液，以及粉劑。液體或固體組合物可含有如上文所述之適宜醫藥學上可接受之賦形劑。在一些實施例中，組合物藉由口服或鼻呼吸途徑投與以獲得局部或全身效應。組合物可藉由使用惰性氣體來霧化。霧化溶液可直接自霧化裝置呼吸，或可將霧化裝置連接至面罩、帳篷或間歇正壓呼吸機。溶液、懸浮液或粉末組合物可自以適當方式遞送調配物之裝置經口或經鼻投與。

【0209】 局部調配物可含有一或多種習用載劑。在一些實施例中，軟膏可含有水及一或多種疏水性載劑，該一或多種疏水性載劑選自例如液體石蠟、聚氧乙烷烷基醚、丙二醇、白凡士林及諸如此類。乳霜之載劑組合物可基於水與甘油及一或多種其他組分(例如甘油單硬脂酸酯、PEG-甘油單硬脂酸酯及鯨蠟硬脂醇)之組合。凝膠可使用異丙醇及水適當地與其他組分(例如甘油、羥乙基纖維素及諸

如此類)組合來調配。在一些實施例中，局部調配物含有至少約 0.1 重量%、至少約 0.25 重量%、至少約 0.5 重量%、至少約 1 重量%、至少約 2 重量%或至少約 5 重量%之本揭示案之化合物。局部調配物可適當地包裝在例如 100 g 之管中，該等管視情況地與治療所選適應症(例如牛皮癬或其他皮膚疾患)之說明書相關聯。

【0210】 投與給患者之化合物或組合物之量將根據所投與之物質、投與之目的(諸如預防或治療)、患者之狀態、投與方式及諸如此類而變化。在治療應用中，可以足以治癒或至少部分阻止疾病及其併發症之症狀之量將組合物投與給已經患有疾病之患者。有效劑量將取決於所治療之疾病狀況以及主治臨床醫生之判斷，此取決於諸如疾病之嚴重程度、患者之年齡、體重及一般狀況及諸如此類等因素。

【0211】 投與給患者之組合物可呈上述醫藥組合物之形式。該等組合物可藉由習用滅菌技術滅菌，或者可經無菌過濾。水溶液可經包裝以原樣使用，或經凍乾，凍乾之製劑在投與前與無菌水性載劑合併。化合物製劑之 pH 通常將介於 3 與 11 之間，更佳為 5 至 9 且最佳為 7 至 8。應理解，使用某些上述賦形劑、載劑或穩定劑將導致醫藥鹽之形成。

【0212】 本揭示案之化合物之治療劑量可根據例如進行治療之具體用途、化合物之投與方式、患者之健康及狀況以及處方醫師之判斷而變化。醫藥組合物中本揭示案之化合物之比例或濃度可根據許多因素而變化，該等因素包括劑量、化學特征(例如疏水性)及投與途徑。舉例而言，本揭示案之化合物可以含有約 0.1% 至約 10% w/v 之化合物之水性生理緩衝溶液提供用於非經腸投與。

【0213】 本揭示案之組合物可進一步包括一或多種其他醫藥劑，例如化學治療劑、類固醇、抗發炎化合物或免疫抑制劑，其實例列出於本文中。

【0214】 在某些實施例中，抗 PD-1 抗體可與將保護化合物免於快速釋放之載

劑一起製備，例如控制釋放調配物，包括植入物及微囊封遞送系統。可使用生物可降解之生物相容性聚合物，例如乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、膠原、聚原酸酯及聚乳酸。製備該等調配物之許多方法已申請專利或通常已知。參見例如 *Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems*, J.R. Robinson 編輯，Marcel Dekker, Inc., New York (1978)。

實體腫瘤及癌症

【0215】 可使用本揭示案之治療方法及方案治療之癌症之實例包括(但不限於)骨癌、胰臟癌、皮膚癌、頭頸癌、皮膚或眼內惡性黑色素瘤、子宮癌、卵巢癌、直腸癌、肛區癌、胃癌(stomach cancer)、睪丸癌、子宮癌、輸卵管癌、子宮內膜癌(carcinoma of the endometrium)、子宮內膜癌(endometrial cancer)、子宮頸癌、陰道癌、陰門癌、霍奇金氏病(Hodgkin's Disease)、非霍奇金氏淋巴瘤、食道癌、小腸癌、內分泌系統癌、甲狀腺癌、副甲狀腺癌、腎上腺癌、軟組織肉瘤、尿道癌、陰莖癌、慢性或急性白血病(包括急性類骨髓性白血病、慢性類骨髓性白血病、急性淋巴母細胞性白血病、慢性淋巴球性白血病)、兒童期實體腫瘤、淋巴球性淋巴瘤、膀胱癌、腎或尿道癌、腎盂癌、中樞神經系統(CNS)瘤、原發性 CNS 淋巴瘤、腫瘤血管生成、脊軸腫瘤、腦幹膠質瘤、垂體腺瘤、卡波西氏肉瘤(Kaposi's sarcoma)、表皮樣癌、鱗狀細胞癌、T 細胞淋巴瘤、環境誘發之癌症(包括石棉誘發之癌症)及該等癌症之組合。本揭示案之方法亦可用於治療轉移性癌症，尤其表現 PD-L1 之轉移性癌症。

【0216】 在一些實施例中，可用本揭示案之方法治療之癌症包括黑色素瘤(例如轉移性惡性黑色素瘤)、腎癌(例如透明細胞癌)、前列腺癌(例如激素難治性前列腺腺癌)、乳癌、結腸癌、肺癌(例如非小細胞肺癌及小細胞肺癌)、鱗狀細胞頭頸癌、尿路上皮癌(例如膀胱)及具有高微衛星不穩定性(MSI 高)之癌症。另外，本揭示案包括難治性或復發性惡性病，其生長可使用本揭示案之方法來抑制。

【0217】 在一些實施例中，可使用本揭示案之方法治療之癌症包括(但不限於)實體腫瘤(例如前列腺癌、結腸癌、食管癌、子宮內膜癌、卵巢癌、子宮癌、腎癌、肝癌、胰臟癌、胃癌、乳癌、肺癌、頭頸癌、甲狀腺癌、神經膠母細胞瘤、肉瘤、膀胱癌等)、血液癌(例如淋巴瘤、白血病(例如急性淋巴母細胞性白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、慢性淋巴球性白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML))、瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤(DLBCL)、被套細胞淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(包括再發性或難治性 NHL 及復發性濾泡性 NHL)、霍奇金氏淋巴瘤或多發性骨髓瘤)及該等癌症之組合。

【0218】 在一些實施例中，可使用本揭示案之方法治療之癌症包括(但不限於)膽道癌、膽管癌、三陰性乳癌、橫紋肌肉瘤、小細胞肺癌、平滑肌肉瘤、肝細胞癌、尤恩氏肉瘤(Ewing's sarcoma)、腦癌、腦瘤、星形細胞瘤、神經母細胞瘤、神經纖維瘤、基底細胞癌、軟骨肉瘤、上皮樣肉瘤、眼癌、輸卵管癌、胃腸癌、胃腸基質瘤、毛細胞白血病、腸癌、胰島細胞癌、口腔癌、口癌、喉癌、喉頭癌、唇癌、間皮瘤、頸癌、鼻腔癌、眼癌、眼黑色素瘤、盆腔癌、直腸癌、腎細胞癌、唾腺癌、竇癌、脊柱癌、舌癌、管狀癌、尿道癌及輸尿管癌。

【0219】 在一些實施例中，癌症係選自肺癌(例如非小細胞肺癌)、黑色素瘤、胰臟癌、乳癌、前列腺癌、肝癌、結腸癌、子宮內膜癌、膀胱癌、皮膚癌、子宮癌、卵巢癌、頭頸癌、甲狀腺癌、腎癌、胃癌及肉瘤。在一些實施例中，癌症係選自急性淋巴母細胞性白血病、急性骨髓性白血病、慢性淋巴球性白血病、慢性骨髓性白血病、瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤、被套細胞淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、霍奇金氏淋巴瘤、多發性骨髓瘤、真性多血症、自發性血小板增多、慢性骨髓性白血病、骨髓纖維化、原發性骨髓纖維化、真性多血症/自發性血小板增多後骨髓纖維化、自發性血小板增多後骨髓纖維化及真性多血症後骨髓纖維化。在一些實施例中，癌症係選自黑色素瘤、子宮內膜癌、肺癌、腎細胞癌、尿路上皮癌、

膀胱癌、乳癌及胰臟癌。

【0220】 在一些實施例中，癌症係選自膀胱癌、肺癌(例如非小細胞肺癌(NSCLC)、小細胞肺癌或肺轉移)、黑色素瘤(例如轉移性黑色素瘤)、乳癌、子宮頸癌、卵巢癌、結腸癌、直腸癌、結腸直腸癌、胰臟癌、食管癌、前列腺癌、腎癌、皮膚癌、甲狀腺癌、肝癌、子宮癌、頭頸癌、腎細胞癌、子宮內膜癌、肛門癌、膽道癌、口腔癌、非黑色素瘤皮膚癌及默克細胞癌。

【0221】 在一些實施例中，前列腺癌係轉移性去勢抵抗性前列腺癌瘤(mCRPC)。

【0222】 在一些實施例中，結腸直腸癌係結腸直腸癌瘤(CRC)。

【0223】 在一些實施例中，癌症係肺癌(例如非小細胞肺癌)、黑色素瘤、胰臟癌、乳癌、頭頸鱗狀細胞癌、前列腺癌、肝癌、結腸癌、子宮內膜癌、膀胱癌、皮膚癌、子宮癌、腎癌、胃癌或肉瘤。在一些實施例中，肉瘤係阿金氏腫瘤(Askin's tumor)、葡萄狀肉瘤、軟骨肉瘤、尤恩氏肉瘤、惡性血管內皮瘤、惡性神經鞘瘤、骨肉瘤、腺泡狀軟組織肉瘤、血管肉瘤(angiosarcoma)、葉狀囊性肉瘤、隆突性皮膚纖維肉瘤、硬纖維瘤、結締組織增生性小圓細胞腫瘤、上皮樣肉瘤、骨外軟骨肉瘤、骨外骨肉瘤、纖維肉瘤、胃腸基質瘤(GIST)、血管外皮細胞瘤、血管肉瘤(hemangiosarcoma)、卡波西氏肉瘤、平滑肌肉瘤、脂肪肉瘤、淋巴管肉瘤、淋巴肉瘤、惡性周圍神經鞘瘤(MPNST)、神經纖維肉瘤、橫紋肌肉瘤、滑膜肉瘤或未分化多形性肉瘤。

【0224】 在一些實施例中，癌症係間皮瘤或腎上腺癌。在一些實施例中，疾病或病症係間皮瘤。在一些實施例中，癌症係腎上腺癌。

【0225】 MDSC (骨髓源性抑制細胞)係來自骨髓譜系之免疫細胞之非均質群(源自骨髓幹細胞之細胞家族)。MDSC 在諸如慢性感染及癌症等病理情況下會因造血功能改變而強烈擴增。MDSC 與其他骨髓細胞類型不同，後者具有強免疫抑

制活性而非免疫刺激特性。與其他骨髓細胞相似，MDSC 與其他免疫細胞類型(包括 T 細胞、樹突細胞、巨噬細胞及自然殺手細胞)相互作用以調控其功能。在一些實施例中，本文所述之化合物等可用於與具有高 MDSC 浸潤之癌症組織(例如腫瘤)相關之方法中，包括具有高基底水準之巨噬細胞及/或 MDSC 浸潤之實體腫瘤。在一些實施例中，本文所述之組合療法可用於與具有表現 PD-1 或 PD-L1 之腫瘤或腫瘤浸潤淋巴球(TIL)之癌症組織(例如腫瘤)相關之方法中。

【0226】 在一些實施例中，癌症係頭頸鱗狀細胞癌(HNSCC)、非小細胞肺癌(NSCLC)、結腸直腸癌(例如結腸癌)、黑色素瘤、卵巢癌、膀胱癌、腎細胞癌、肝癌或肝細胞癌。

【0227】 在一些實施例中，癌症係選自膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、直腸癌、肛門癌、子宮內膜癌、腎癌、口腔癌、頭頸癌、肝癌、黑色素瘤、間皮瘤、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、非黑色素瘤皮膚癌、卵巢癌、胰臟癌、前列腺癌、肉瘤、甲狀腺癌及默克細胞癌。

【0228】 在一些實施例中，癌症係選自黑色素瘤、子宮內膜癌、肺癌、腎癌、膀胱癌、乳癌、胰臟癌及結腸癌。

【0229】 在一些實施例中，癌症係選自子宮內膜癌、肛門癌及膽道癌。

【0230】 在一些實施例中，癌症係在腫瘤微環境中展示高腺苷水準之腫瘤。該等腫瘤可藉由基因表現特征來富集，或藉由 CD73 及/或其他鹼性磷酸酶(包括組織非特異性鹼性磷酸酶(即 TNAP 及 PAP))之高表現水準來富集。

【0231】 在一些實施例中，癌症係結腸癌。在一些實施例中，癌症係黑色素瘤。在一些實施例中，癌症係子宮內膜癌。在一些實施例中，子宮內膜癌係子宮內膜樣腺癌。在一些實施例中，癌症係肺癌。在一些實施例中，肺癌係選自非小細胞肺癌及小細胞肺癌。在一些實施例中，癌症係腎細胞癌。在一些實施例中，癌症係尿路上皮癌。在一些實施例中，癌症係膀胱癌。在一些實施例中，癌症係

乳癌。在一些實施例中，乳癌係三陰性乳癌。在一些實施例中，癌症係胰臟癌。在一些實施例中，胰臟癌係胰臟導管腺癌。在一些實施例中，癌症係肉瘤。在一些實施例中，肉瘤係選自阿金氏腫瘤、葡萄狀肉瘤、軟骨肉瘤、尤恩氏肉瘤、惡性血管內皮瘤、惡性神經鞘瘤、骨肉瘤、腺泡狀軟組織肉瘤、血管肉瘤、葉狀囊性肉瘤、隆突性皮膚纖維肉瘤、硬纖維瘤、結締組織增生性小圓細胞腫瘤、上皮樣肉瘤、骨外軟骨肉瘤、骨外骨肉瘤、纖維肉瘤、胃腸基質瘤(GIST)、血管外皮細胞瘤、血管肉瘤、卡波西氏肉瘤、平滑肌肉瘤、脂肪肉瘤、淋巴管肉瘤、淋巴肉瘤、惡性周圍神經鞘瘤(MPNST)、神經纖維肉瘤、橫紋肌肉瘤、滑膜肉瘤及未分化多形性肉瘤。

經標記化合物及分析方法

【0232】 本揭示案進一步包括經同位素標記之本揭示案化合物。「經同位素」或「經放射性標記」之化合物係其中一或多個原子經原子質量或質量數不同於通常在自然界中發現(即天然)之原子質量或質量數的原子替代或取代之本揭示案化合物。可納入本揭示案化合物中之適宜放射性核素包括(但不限於)²H(亦寫為氘，D)、³H(亦寫為氚，T)、¹¹C、¹³C、¹⁴C、¹³N、¹⁵N、¹⁵O、¹⁷O、¹⁸O、¹⁸F、³⁵S、³⁶Cl、⁸²Br、⁷⁵Br、⁷⁶Br、⁷⁷Br、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I及¹³¹I。舉例而言，本揭示案化合物中之一或多個氫原子可經氘原子替代(例如本文所述化合物之烷基之一或多個氫原子可視情況經氘原子取代，例如用-CD₃取代-CH₃)。

【0233】 本文所呈現化合物之一或多個構成原子可經天然或非天然豐度之原子之同位素替代或取代。在一些實施例中，化合物包括至少一個氘原子。在一些實施例中，化合物包括兩個或更多個氘原子。在一些實施例中，化合物包括 1-2、1-3、1-4、1-5 或 1-6 個氘原子。在一些實施例中，化合物中之所有氫原子可經氘原子替代或取代。

【0234】 在一些實施例中，連接至本文所述化合物之碳原子之 1 個、2 個、3

個、4 個、5 個、6 個、7 個或 8 個氫原子視情況經氘原子替代。

【0235】 將同位素納入有機化合物中之合成方法為此項技術中已知 (Deuterium Labeling in Organic Chemistry, Alan F. Thomas (New York, N.Y., Appleton-Century-Crofts, 1971; The Renaissance of H/D Exchange, Jens Atzrodt, Volker Derdau, Thorsten Fey 及 Jochen Zimmermann, Angew Chem. Int. 2007 版, 7744-7765; The Organic Chemistry of Isotopic Labelling, James R. Hanson, Royal Society of Chemistry, 2011)。經同位素標記之化合物可用於各種研究中，例如 NMR 譜、代謝實驗及/或分析。

【0236】 用較重同位素(例如氘)取代可提供源自更大代謝穩定性之某些治療優勢，例如延長的活體內半衰期或減少的劑量需求，且因此在一些情況下可能係較佳的(參見例如 A. Kerekes 等人，*J. Med. Chem.* 2011, 54, 201-210; R. Xu 等人，*J. Label Compd. Radiopharm.* 2015, 58, 308-312)。具體而言，一或多個代謝位點處之取代可提供一或多種治療優勢。

【0237】 納入經放射性標記之本化合物中之放射性核素將端視該經放射性標記之化合物之具體應用而定。舉例而言，對於活體外 A2A/A2B 標記及競爭分析，可使用納入 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{82}Br 、 ^{125}I 、 ^{131}I 或 ^{35}S 之化合物。對於放射性成像應用，可使用 ^{11}C 、 ^{18}F 、 ^{125}I 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{131}I 、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 或 ^{77}Br 。

【0238】 應理解，「經放射性標記」或「經標記化合物」係已納入至少一種放射性核素之化合物。在一些實施例中，放射性核素係選自由 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{125}I 、 ^{35}S 及 ^{82}Br 組成之群。

【0239】 本揭示案可進一步包括用於將放射性同位素納入本揭示案之化合物中之合成方法。將放射性同位素納入有機化合物中之合成方法為此項技術中所熟知，且熟習此項技術者將容易地意識到適用於本揭示案化合物之方法。

產生抗體之方法

【0240】 抗體可在細菌或真核細胞中產生。一些抗體(例如 Fab)可在細菌細胞(例如大腸桿菌(*E. coli*)細胞)中產生。抗體亦可在真核細胞(例如經轉型細胞株(例如 CHO、293E、COS))中產生。另外，抗體(例如 scFv)可在酵母細胞(例如畢赤酵母(*Pichia*) (參見例如 Powers 等人，*J Immunol Methods*. 251:123-35 (2001))、漢遜酵母(*Hansenula*)或啤酒酵母(*Saccharomyces*))中表現。為產生所關注抗體，構築編碼抗體之多核苷酸，將其引入表現載體中，且然後在適宜宿主細胞中表現。使用標準分子生物學技術來製備重組表現載體，轉染宿主細胞，選擇轉型體，培養宿主細胞並回收抗體。

【0241】 若欲在細菌細胞(例如大腸桿菌)中表現抗體，則表現載體應具有允許載體在細菌細胞中擴增之特征。另外，當使用大腸桿菌(例如 JM109、DH5 α 、HB101 或 XL1-Blue)作為宿主時，載體必須具有可允許在大腸桿菌中有效表現之啟動子，例如 lacZ 啟動子(Ward 等人，341:544-546 (1989))、araB 啟動子(Better 等人，*Science*, 240:1041-1043 (1988))或 T7 啟動子。該等載體之實例包括例如 M13 系列載體、pUC 系列載體、pBR322、pBluescript、pCR-Script、pGEX-5X-1 (Pharmacia)、「QIA 表現系統」(QIAGEN)、pEGFP 及 pET (當使用此表現載體時，宿主較佳係表現 T7 RNA 聚合酶之 BL21)。表現載體可含有用於抗體分泌之信號序列。為在大腸桿菌之周質中產生，可使用 *pelB* 信號序列(Lei 等人，*J. Bacteriol.*, 169:4379 (1987))作為用於抗體分泌之信號序列。對於細菌表現，可使用氯化鈣方法或電穿孔方法將表現載體引入細菌細胞中。

【0242】 若欲在動物細胞(例如 CHO、COS 及 NIH3T3 細胞)中表現抗體，則表現載體包括用於在該等細胞中表現所需之啟動子，例如 SV40 啟動子(Mulligan 等人，*Nature*, 277:108 (1979))、MMLV-LTR 啟動子、EF1 α 啟動子(Mizushima 等人，*Nucleic Acids Res.*, 18:5322 (1990))或 CMV 啟動子。除編碼免疫球蛋白或其結構域之核酸序列外，重組表現載體可攜帶其他序列，例如調控載體在宿主細胞

中之複製之序列(例如複製起點)及可選擇標記基因。可選擇標記基因促進其中已引入載體之宿主細胞之選擇(參見例如美國專利第 4,399,216 號、第 4,634,665 號及第 5,179,017 號)。舉例而言，可選擇標記基因通常賦予其中已引入載體之宿主細胞對藥物(例如 G418、潮黴素(hygromycin)或胺甲喋呤(methotrexate))的抗性。含有可選擇標記物之載體之實例包括 pMAM、pDR2、pBK-RSV、pBK-CMV、pOPRSV 及 pOP13。

【0243】 在一個實施例中，抗體係在哺乳動物細胞中產生。用於表現抗體之例示性哺乳動物宿主細胞包括中國倉鼠卵巢細胞(CHO 細胞) (包括 Urlaub 及 Chasin (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-4220 中所述之 *dhfr*-CHO 細胞，與 DHFR 可選擇標記物一起使用，例如如 Kaufman 及 Sharp (1982) *Mol. Biol.* 159:601-621 中所述)、人類胚腎 293 細胞(例如 293、293E、293T)、COS 細胞、NIH3T3 細胞、淋巴球性細胞株(例如 NS0 骨髓瘤細胞及 SP2 細胞)及來自基因轉殖動物(例如基因轉殖哺乳動物)之細胞。舉例而言，細胞係乳房上皮細胞。

【0244】 在用於抗體表現之例示性系統中，藉由磷酸鈣介導之轉染將編碼抗 PD-1 抗體(例如抗體 X)之抗體重鏈及抗體輕鏈之重組表現載體引入 *dhfr* CHO 細胞中。在重組表現載體內，將抗體重鏈及輕鏈基因各自可操作連接至增強子/啟動子調控元件(例如衍生自 SV40、CMV、腺病毒及諸如此類，例如 CMV 增強子/AdMLP 啟動子調控元件或 SV40 增強子/AdMLP 啟動子調控元件)以驅動高水準之基因轉錄。重組表現載體亦攜帶 *DHFR* 基因，其允許使用胺甲喋呤選擇/擴增來選擇已經載體轉染之 CHO 細胞。培養所選轉型宿主細胞以允許表現抗體重鏈及輕鏈且自培養基回收抗體。

【0245】 亦可藉由基因轉殖動物產生抗體。舉例而言，美國專利第 5,849,992 號闡述在基因轉殖哺乳動物之乳腺中表現抗體之方法。構築包括乳特異性啟動子及編碼所關注抗體之核酸以及分泌信號序列之轉殖基因。由該等基因轉殖哺

乳動物之雌性產生之乳包括其中分泌之所關注抗體。抗體可自乳純化，或對於一些應用直接使用。亦提供包含一或多種本文所述核酸之動物。

【0246】 本揭示案之抗體可自宿主細胞之內部或外部(例如培養基)分離且純化為實質上純且均質之抗體。常用於抗體純化之分離及純化方法可用於分離及純化抗體，且並不限於任何特定方法。抗體可藉由適當地選擇及組合例如管柱層析、過濾、超濾、鹽析、溶劑沈澱、溶劑萃取、蒸餾、免疫沈澱、SDS-聚丙烯醯胺凝膠電泳、等電聚焦、透析及重結晶來分離及純化。層析包括例如親和層析、離子交換層析、疏水層析、凝膠過濾、反相層析及吸附層析(*Strategies for Protein Purification and Characterization: A Laboratory Course Manual*. Daniel R. Marshak 等人編輯，Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996)。層析可使用液相層析(例如 HPLC 及 FPLC)來實施。用於親和層析之管柱包括蛋白質 A 管柱及蛋白質 G 管柱。使用蛋白質 A 管柱之管柱之實例包括 Hyper D、POROS 及 Sepharose FF (GE Healthcare Biosciences)。本揭示案亦包括使用該等純化方法高度純化之抗體。

【0247】 抗體(例如抗體 X)可例如藉由製備及表現編碼所列舉胺基酸序列之合成基因、或藉由突變人類生殖系基因以提供編碼所列舉胺基酸序列之基因來製得。另外，此抗體及其他抗 PD-1 抗體可例如使用以下方法中之一或多者來獲得。

【0248】 人類化抗體可藉由用人類 Fv 可變區之等效序列替代不直接參與抗原結合之 Fv 可變區序列來產生。用於產生人類化抗體之一般方法提供於 Morrison, S. L., *Science*, 229:1202-1207 (1985)；Oi 等人，*BioTechniques*, 4:214 (1986)；及 US 5,585,089；US 5,693,761；US 5,693,762；US 5,859,205；及 US 6,407,213 中。彼等方法包括分離、操縱及表現編碼重鏈或輕鏈中之至少一者之免疫球蛋白 Fv 可變區之全部或一部分之核酸序列。該核酸之來源為熟習此項技

術者所熟知且例如可自如上文所述產生針對預定靶之抗體之雜交瘤、自生殖系免疫球蛋白基因或自合成構築體獲得。然後可將編碼人類化抗體之重組 DNA 選殖至適宜表現載體中。

【0249】 例如，人類生殖系序列揭示於 Tomlinson, I.A.等人，*J. Mol. Biol.*, 227:776-798 (1992)；Cook, G. P.等人，*Immunol. Today*, 16: 237-242 (1995)；Chothia, D.等人，*J. Mol. Bio.* 227:799-817 (1992)；及 Tomlinson 等人，*EMBO J.*, 14:4628-4638 (1995)中。V BASE 目錄提供人類免疫球蛋白可變區序列之綜合目錄(由 Tomlinson, I.A.等人，MRC Centre for Protein Engineering, Cambridge, UK 編譯)。該等序列可用作例如框架區及 CDR 之人類序列之來源。亦可使用一致人類框架區，例如如美國專利第 6,300,064 號中所述。

【0250】 亦可使用用於人類化抗體之其他方法。舉例而言，其他方法可解釋抗體之三維結構、三維靠近結合決定簇之框架位置及免疫原性肽序列。參見例如 WO 90/07861；美國專利第 5,693,762 號；第 5,693,761 號；第 5,585,089 號；第 5,530,101 號；及第 6,407,213 號；Tempest 等人(1991) *Biotechnology* 9:266-271。另一方法稱為「人工程化(humaneering)」且闡述於例如 U.S. 2005-008625 中。

【0251】 抗體可包括人類 Fc 區，例如野生型 Fc 區或包括一或多個變化之 Fc 區。在一個實施例中，恆定區經改變(例如經突變)以改進抗體之性質(例如增加或降低以下中之一或多者：Fc 受體結合、抗體糖基化、半胱胺酸殘基之數量、效應細胞功能或補體功能)。舉例而言，人類 IgG1 恆定區可在一或多個殘基(例如殘基 234 及 237 中之一或多者(基於 Kabat 編號))處突變。抗體可在重鏈之 CH2 區中具有降低或改變效應功能(例如 Fc 受體結合及補體活化)之突變。舉例而言，抗體可具有突變，例如美國專利第 5,624,821 號及第 5,648,260 號中所述之彼等突變。抗體亦可具有穩定免疫球蛋白之兩條重鏈之間的二硫鍵之突變，例如 IgG4 之鉸鏈區之突變，如此項技術中所揭示(例如 Angal 等人(1993) *Mol. Immunol.*

30:105-08)。亦參見例如 U.S. 2005-0037000。

【0252】 抗 PD-1 抗體可呈全長抗體之形式，或呈抗 PD-1 抗體之低分子量形式之形式(例如生物活性抗體片段或微小抗體)，例如 Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、Fd、dAb、scFv 及 sc(Fv)₂。本揭示案所涵蓋之其他抗 PD-1 抗體包括含有單一可變鏈(例如 VH 或 VL)之單結構域抗體(sdAb)或其生物活性片段。參見例如 Moller 等人，*J. Biol. Chem.*, 285(49): 38348-38361 (2010)；Harmsen 等人，*Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 77(1):13-22 (2007)；U.S. 2005/0079574 及 Davies 等人(1996) *Protein Eng.*, 9(6):531-7。與完整抗體一樣，sdAb 能夠選擇性結合至特定抗原。sdAb 之分子量僅為 12-15 kDa，遠小於普通抗體且甚至小於 Fab 片段及單鏈可變片段。

【0253】 本文提供包含抗 PD-1 抗體或其抗原結合片段及其一或多種酸性變異體之混合物之組合物，例如，其中酸性變異體之量小於約 80%、70%、60%、60%、50%、40%、30%、30%、20%、10%、5%或 1%。亦提供包含抗 PD-1 抗體或其抗原結合片段之組合物，該抗 PD-1 抗體或其抗原結合片段包含至少一個去醯胺位點，其中組合物之 pH 為約 5.0 至約 6.5，使得例如至少約 90%之抗 PD-1 抗體不去醯胺(即小於約 10%之抗體去醯胺)。在某些實施例中，小於約 5%、3%、2%或 1%之抗體去醯胺。pH 可為 5.0 至 6.0，例如 5.5 或 6.0。在某些實施例中，組合物之 pH 係 5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4 或 6.5。

【0254】 「酸性變異體」係所關注多肽之變異體，其酸性大於(例如如藉由陽離子交換層析所測定)所關注多肽。酸性變異體之實例係去醯胺變異體。

【0255】 多肽分子之「去醯胺」變異體係其中原始多肽之一或多個天冬醯胺殘基已轉化成天冬胺酸、即中性醯胺側鏈已轉化成具有總體酸性特征之殘基之多肽。

【0256】 如本文提及包含抗 PD-1 抗體或其抗原結合片段之組合物所用之術語「混合物」意指存在期望抗 PD-1 抗體或其抗原結合片段及其一或多種酸性變

異體二者。酸性變異體可主要包含去醯胺之抗 PD-1 抗體以及少量其他酸性變異體。

【0257】 在某些實施例中，經突變以消除去醯胺之抗體之結合親和力(K_D)、締合速率(K_D 締合)及/或解離速率(K_D 解離)類似於野生型抗體之結合親和力、締合速率及/或解離速率，例如差別小於約 5 倍、2 倍、1 倍(100%)、50%、30%、20%、10%、5%、3%、2%或 1%。

抗體片段

【0258】 抗體片段(例如 Fab、Fab'、F(ab')₂、Facb 及 Fv)可藉由完整抗體之蛋白水解消化來製備。舉例而言，抗體片段可藉由用酶(例如木瓜酶、胃蛋白酶或胞漿素)處理完整抗體來獲得。完整抗體之木瓜酶消化產生 F(ab)₂ 或 Fab 片段；完整抗體之胃蛋白酶消化產生 F(ab')₂ 或 Fab'；且完整抗體之胞漿素消化產生 Facb 片段。

【0259】 替代地，抗體片段可以重組方式產生。舉例而言，可構築編碼所關注抗體片段之核酸，將其引入表現載體中，且在適宜宿主細胞中表現。參見例如 Co, M.S.等人，*J. Immunol.*, 152:2968-2976 (1994)；Better, M.及 Horwitz, A.H., *Methods in Enzymology*, 178:476-496 (1989)；Plueckthun, A.及 Skerra, A., *Methods in Enzymology*, 178:476-496 (1989)；Lamoyi, E., *Methods in Enzymology*, 121:652-663 (1989)；Rousseaux, J.等人，*Methods in Enzymology*, (1989) 121:663-669 (1989)；及 Bird, R.E.等人，*TIBTECH*, 9:132-137 (1991)。抗體片段可在大腸桿菌中表現及自其分泌，因此可容易地產生大量該等片段。抗體片段可自抗體噬菌體文庫分離。替代地，Fab'-SH 片段可直接自大腸桿菌回收且化學偶合以形成 F(ab)₂ 片段(Carter 等人，*Bio/Technology*, 10:163-167 (1992))。根據另一方法，F(ab')₂ 片段可直接自重組宿主細胞培養物分離。包含補救受體結合抗原決定基殘基之具有延長的活體內半衰期之 Fab 及 F(ab')₂ 片段闡述於美國專利第 5,869,046 號中。

微小抗體

【0260】 抗 PD-1 抗體之微小抗體包括雙價抗體、單鏈(scFv)及單鏈(Fv)₂ (sc(Fv)₂)。

【0261】 「雙價抗體」係藉由基因融合構築之二價微小抗體(參見例如 Holliger, P.等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 90:6444-6448 (1993); EP 404,097; WO 93/11161)。雙價抗體係由兩條多肽鏈構成之二聚體。雙價抗體之每條多肽鏈之 VL 及 VH 結構域係藉由連接體結合。構成連接體之胺基酸殘基之數量可介於 2 至 12 個殘基之間(例如 3-10 個殘基或 5 個或約 5 個殘基)。雙價抗體中多肽之連接體通常太短以致於 VL 及 VH 無法彼此結合。因此,在同一多肽鏈中編碼之 VL 及 VH 無法形成單鏈可變區片段,而是與不同的單鏈可變區片段形成二聚體。因此,雙價抗體具有兩個抗原結合位點。

【0262】 scFv 係藉由用連接體連接 VH 及 VL 獲得之單鏈多肽抗體(參見例如 Huston 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 85:5879-5883 (1988); 及 Plickthun, 「The Pharmacology of onoclonal Antibodies」, 第 113 卷, Resenburt 及 Moore 編輯, Springer Verlag, New York, 第 269-315 頁, (1994))。VH 及 VL 連接之順序不受具體限制,且其可以任一順序排列。排列之實例包括:[VH]連接體[VL];或 [VL]連接體[VH]。scFv 中之 H 鏈 V 區及 L 鏈 V 區可衍生自本文所述之任何抗 PD-1 抗體或其抗原結合片段。

【0263】 sc(Fv)₂ 係其中兩個 VH 及兩個 VL 藉由連接體連接形成單鏈之微小抗體(Hudson 等人, *J. Immunol. Methods*, (1999) 231: 177-189 (1999))。sc(Fv)₂ 可例如藉由用連接體聯結 scFv 來製備。本發明之 sc(Fv)₂ 包括較佳其中兩個 VH 及兩個 VL 以下列順序排列之抗體:自單鏈多肽之 N 末端開始, VH、VL、VH 及 VL ([VH]連接體[VL]連接體[VH]連接體[VL]);然而,兩個 VH 及兩個 VL 之順序並不限於上述排列,且其可以任一順序排列。

雙特異性抗體

【0264】 雙特異性抗體係對至少兩個不同的抗原決定基具有結合特異性之抗體。例示性雙特異性抗體可結合至 PD-1 蛋白之兩個不同的抗原決定基。其他該等抗體可組合 PD-1 結合位點與另一蛋白質之結合位點。雙特異性抗體可製備為全長抗體或其低分子量形式(例如 F(ab')₂ 雙特異性抗體、sc(Fv)₂ 雙特異性抗體、雙價抗體雙特異性抗體)。

【0265】 傳統全長雙特異性抗體之產生係基於兩條免疫球蛋白重鏈-輕鏈對之共表現，其中兩條鏈具有不同特異性(Millstein 等人，*Nature*, 305:537-539 (1983))。在不同方法中，使具有期望結合特異性之抗體可變結構域融合至免疫球蛋白恆定結構域序列。將編碼免疫球蛋白重鏈融合物及(若期望)免疫球蛋白輕鏈之 DNA 插入單獨表現載體中，且共轉染至適宜宿主細胞中。此提供調整三種多肽片段之比例之較大靈活性。然而，當至少兩條多肽鏈以相等比率表現產生高產量時，可將兩條或所有三條多肽鏈之編碼序列插入單個表現載體中。

【0266】 根據美國專利第 5,731,168 號中所述之另一方法，一對抗體分子之間之界面可經改造以使自重組細胞培養物回收之異二聚體之百分比最大化。較佳界面包含 C_{H3} 結構域之至少一部分。在此方法中，來自第一抗體分子之界面之一或多條小胺基酸側鏈經較大側鏈(例如酪胺酸或色胺酸)替代。藉由用較小胺基酸側鏈(例如丙胺酸或蘇胺酸)替代較大胺基酸側鏈在第二抗體分子之界面上產生大小與較大側鏈相同或相似之補償性「空腔」。此提供增加異二聚體相對於其他不期望末端產物(例如同二聚體)之產率的機制。

【0267】 雙特異性抗體包括交聯或「異源結合物」抗體。舉例而言，異源結合物中之一種抗體可偶合至抗生物素蛋白，另一者偶合至生物素。異源結合物抗體可使用任何方便的交聯方法來製得。

【0268】 「雙價抗體」技術提供製造雙特異性抗體片段之替代性機制。片段

包含藉由連接體聯結至 VL 之 VH，該連接體因太短以致於無法在同一鏈上之兩個結構域之間配對。因此，一個片段之 VH 及 VL 結構域被迫與另一片段之互補 VL 及 VH 結構域配對，由此形成兩個抗原結合位點。

多價抗體

【0269】 表現抗體所結合之抗原之細胞對多價抗體之內化(及/或分解代謝)可快於二價抗體。本文所述之抗體可為具有三個或更多個抗原結合位點之多價抗體(例如四價抗體)，其可容易地藉由重組表現編碼抗體多肽鏈之核酸來產生。多價抗體可包含二聚化結構域及三個或更多個抗原結合位點。例示性二聚化結構域包含 Fc 區或鉸鏈區(或由其組成)。多價抗體可包含三個至約八個(例如四個)抗原結合位點(或由其組成)。多價抗體視情況包含至少一條多肽鏈(例如至少兩條多肽鏈)，其中多肽鏈包含兩個或更多個可變結構域。例如，多肽鏈可包含 VD1-(X1)_n-VD2-(X2)_n-Fc，其中 VD1 係第一可變結構域，VD2 係第二可變結構域，Fc 係 Fc 區之多肽鏈，X1 及 X2 表示胺基酸或肽間隔體，且 n 係 0 或 1。

結合抗體

【0270】 本文所揭示之抗體可為結合抗體，其結合至各種分子，包括大分子物質，例如聚合物(例如聚乙二醇(PEG)、經 PEG 修飾之聚乙烯亞胺(PEI) (PEI-PEG)、聚麩胺酸(PGA) (N-(2-羥基丙基)甲基丙烯醯胺(HPMA)共聚物)、透明質酸、放射活性材料(例如 ⁹⁰Y、¹³¹I)、螢光物質、發光物質、半抗原、酶、金屬螯合物、藥物及毒素(例如刺孢黴素(calcheamicin)、假單胞菌(*Pseudomonas*)外毒素 A、蓖麻毒素(例如去醯基化蓖麻毒素 A 鏈))。

【0271】 在一個實施例中，為改良抗 PD-1 抗體之細胞毒性作用且因此改良其治療有效性，使抗體與高毒性物質(包括放射性同位素及細胞毒性劑)結合。該等結合物可將毒性負載選擇性遞送至靶位點(即表現抗體所識別之抗原之細胞)，同時保留抗體未識別之細胞。為使毒性最小化，通常基於具有短血清半衰期之分子

來改造結合物(因此，使用鼠類序列以及 IgG3 或 IgG4 同型)。

【0272】 在某些實施例中，抗 PD-1 抗體或其抗原結合片段用將其在循環中(例如在血液、血清或其他組織中)之穩定及/或滯留改良例如至少 1.5 倍、2 倍、5 倍、10 倍或 50 倍之部分修飾。舉例而言，抗 PD-1 抗體或其抗原結合片段可與聚合物(例如實質上非抗原性聚合物，例如聚環氧烷或聚環氧乙烷)締合(例如結合)。適宜聚合物按重量計變化很大。可使用數量平均分子量介於約 200 至約 35,000 道爾頓(或約 1,000 至約 15,000 及 2,000 至約 12,500)範圍內之聚合物。舉例而言，抗 PD-1 抗體或其抗原結合片段可結合至水溶性聚合物，例如親水性聚乙烯基聚合物，例如聚乙烯醇或聚乙烯吡咯啉酮。該等聚合物之實例包括聚環氧烷均聚物，例如聚乙二醇(PEG)或聚丙二醇、聚氧乙烯化多元醇、其共聚物及其嵌段共聚物，條件係維持嵌段共聚物之水溶性。其他有用的聚合物包括聚氧化烯，例如聚氧化乙烯、聚氧化丙烯以及聚氧化乙烯及聚氧化丙烯之嵌段共聚物；聚甲基丙烯酸酯；卡波姆(carbomer)；及分枝或不分枝多糖。

【0273】 上述結合抗體可藉由對本文所述之抗體或其較低分子量形式實施化學修飾來製備。用於修飾抗體之方法為此項技術中所熟知(例如 US 5057313 及 US 5156840)。

套組

【0274】 本揭示案亦包括可用於例如治療或預防本文所述之 A2A/A2B 相關之疾病或病症之醫藥套組，其包括一或多個含有醫藥組合物之容器，該醫藥組合物包含治療有效量之本揭示案化合物。該等套組可進一步包括(若期望)多種習用醫藥套組組分中之一或多者，例如含有一或多種醫藥學上可接受之載劑之容器、其他容器等，如熟習此項技術者將容易地明了。呈插頁或呈標記形式之指示欲投與組分之量、投與指南及/或混合各組分之指南之說明書亦可包括在套組中。

【0275】 將藉由具體實例更詳細地闡述本發明。提供以下實例用於闡釋性目

的，且並不意欲以任何方式限制本發明。熟習此項技術者將容易地意識到多種非關鍵參數，其可經改變或改進以產生基本上相同之結果。應了解，為清楚起見在單獨實施例之上下文中闡述之本發明之某些特征亦可組合提供於單一實施例中。相反，為簡潔起見在單一實施例之上下文中闡述之本發明之多個特征亦可單獨或以任一適宜子組合提供。

【0276】 除本文所述之彼等修改外，熟習此項技術者根據前述描述將明了本發明之多種修改。該等修改亦意欲屬於所附申請專利範圍之範圍內。本揭示案中所引用之每一參考文獻(包括所有專利、專利申請案及公開案)之全文皆以引用方式併入本文中。

實例

實例 1：活體外 CHO-PD-L1 共培養分析

【0277】 在活體外 CHO-PD-L1 共培養分析中，在 CHO-PD-L1 細胞存在下用 PD-1 抗體處理 T 細胞，並使用腺苷模擬試劑 5'-N-乙基甲醯胺腺苷(NECA)來活化腺苷信號傳導。在該等條件下，化合物 9 可利用抗 PD1 試劑恢復 T 細胞功能。

【0278】 在 2 μ M NECA 處理下，在此系統中測試之抗 PD1 試劑包括：(A)派姆單抗，(B)抗體 X，及(C)化合物 Y，如圖 1 中所顯示。

方案：

【0279】 在第 0 天，將 10,000 個 CHO PDL1+細胞平鋪於板 96 組織培養平底板中之 100ul 不含抗生素之 CHO 培養基中。在第 1 天，將 T 細胞解凍且以 1×10^6 個細胞/ml 重懸浮於 T 細胞培養基中。自 CHO PDL1+細胞板去除培養基且添加 130ul T 細胞培養基。將 198 ul 之 T 細胞培養基以 2 ul 或 1:100 稀釋度添加至化合物板上且然後重懸浮。將來自化合物板之 20 ul 化合物以 1:1000 之最終化合物稀釋度添加至 CHO 細胞板上。將 50 ul T 細胞(50,000 個細胞)添加至含有 CHO 細胞之板上以製造總共 200 ul 之體積且在 37°C 下培育 72hr。培養 3 天後，收集

上清液，使用用於 hIFN γ 及 hIL2 之 ProCartaplex 2 plex 套組(Life Technologies 目錄號 PPX-02)進行 hIFN γ 及 hIL2 細胞介素分析運行(製造商之方案)。在 Flex Map 3D Luminex 多路複用平台上使用 ProCartaplex 套組運行細胞介素分析。

實例 2：活體外混合譜系反應分析

【0280】 在另一活體外分析，即混合譜系反應分析(MLR)中，藉由 CD3 抗體刺激健康供體之 PBMC 且用阿替珠單抗、化合物 9 或化合物 3A 在 10 μ M 腺苷模擬試劑 NECA 下處理(圖 2A-2D)。

方案：

【0281】 在第 0 天，將來自健康供體之 10,000 個 PBMC 與來自另一健康供體之 10,000 個 γ 輻照之 PBMC 共培養。將細胞平鋪於 96 孔組織培養圓底板中之 200ul 補充有 10% FBS 之 RPMI-1640 培養基中，且經或不經 10 μ M NECA、5 ng/ml CD3 抗體(純系 OKT3)及所指示濃度之化合物/抗體處理。將細胞在 37°C 下培育 4 天。藉由 HTRF 套組(Cisbio, 62HIFNGPEH)量測每孔上清液中之 IFN- γ 且第 4 天在 Pherastar FS 讀板儀(BMG Labtech)上偵測螢光信號。

【0282】 化合物 9 在與抗 PD-L1 抗體(即阿替珠單抗)組合時能夠顯著增加 IFN γ 產生(圖 2A-2B)。化合物 3A 在與抗 PD-L1 抗體(即阿替珠單抗)組合時亦能夠顯著增加 IFN γ 產生(圖 2C-2D)。

實例 3：小鼠協同模型中之活體內功效研究

【0283】 在兩種不同模型中評估化合物 9 對腫瘤生長之抑制。已展示，CT-26 鼠類結腸癌在腫瘤微環境中具有高腺苷水準且反映經選擇用於臨床研究之高腺苷腫瘤(Mosely 等人，*Cancer Immunol Res*; 5(1) 2017 年 1 月，第 29-41 頁)。作為單劑，在 10mg/kg BID 下，化合物 9 以相對於媒劑對照 52%之腫瘤生長抑制(TGI)顯著減緩腫瘤生長，且另外顯示與抗 PD-1 抗體組合之加和作用(77% TGI 相對於媒劑) (圖 3A)。相比之下，當將相同方案應用於以 NSG 小鼠為宿主之模型時未

觀察到單劑功效，該等 NSG 小鼠缺少 T 及 NK 細胞，認為化合物 9 經由該等 T 及 NK 細胞發揮其大部分治療作用(圖 3B)。

【0284】 在免疫寒冷(immunologically cold)模型 B16 黑色素瘤模型中進一步評估化合物 9 破壞免疫檢查點抗性之能力。化合物 9 及抗 PD-L1 皆具有中等但不顯著之單劑活性，但在組合時協同產生 54%之腫瘤生長抑制(圖 3C)。該等資料表明，化合物 9 可改變高腺苷腫瘤中之微環境且與其他腫瘤免疫劑協作以驅動有效的抗腫瘤反應。

實例 A：A2A/A2B 抑制劑之活性

I. A2A Tag-lite® HTRF 分析

【0285】 在黑色小體積 384 孔聚苯乙烯板(Greiner 784076-25)中以 10 μ L 之最終體積實施分析。首先將測試化合物在 DMSO 中連續稀釋，並將 100 nl 添加至板孔，之後添加其他反應組分。DMSO 之最終濃度為 1%。將 Tag-lite®腺苷 A2A 標記之細胞(CisBio C1TT1A2A)以 1:5 稀釋至 Tag-lite 緩衝液(CisBio LABMED)中，並以 1200 g 旋轉 5 min。將沉澱物以 10.4 X 初始細胞懸液體積之體積重懸浮於 Tag-lite 緩衝液中，並添加腺苷 A2A 受體紅色拮抗劑螢光配位體(CisBio L0058RED)，其最終濃度為 12.5 nM。將 10 μ L 細胞及配位體混合物添加至分析孔中，並在室溫下培育 45 分鐘，然後在配有 HTRF 337/620/665 光學模組之 PHERAstar FS 讀板儀(BMG Labtech)上讀取。計算螢光配位體之結合百分比；其中 100 nM 之 A2A 拮抗劑對照 ZM 241385 (Tocris 1036)置換配位體 100%，且 1% DMSO 具有 0%置換。將結合%對抑制劑濃度對數之數據擬合至單位點競爭性結合模型(GraphPad Prism 7.02 版)，其中配位體常數= 12.5 nM 且配位體 K_d = 1.85 nM。經由此方法獲得之 K_i 數據顯示於表 2 中。

II. 腺苷 A2B 受體環狀 AMP GS 分析

【0286】 將穩定轉染之表現人類腺苷 A2B 受體之 HEK-293 細胞(Perkin Elmer)

維持在含有 10% FBS 及 100 µg/ml 遺傳黴素(Geneticin)之 MEM 培養基(Life Technologies)中。在分析前 18 至 24 小時，自培養物中去除遺傳黴素。將使用 FRET (螢光共振能量轉移)技術之 cisbio cAMP-GS 動態套組用於量測細胞中之 cAMP 累積。將適當濃度之本揭示案之化合物與白色 96 孔半區板(Perkin Elmer)中之 10000 個細胞/孔混合，且在 RT 下輕輕振盪 30 min。將 12 nM 之促效劑 NECA (R&D Technologies)添加至每個孔，且在 RT 下輕輕振盪 60 min。將偵測試劑 d2 標記之 cAMP (受體)及抗 cAMP 穴狀化合物(供體)添加至每個孔，且在 RT 下輕輕振盪 60 min。在 Pherastar (BMG Labtech)上讀取板，計算螢光比 665/620 且藉由使用 GraphPad Prism 擬合對照%對化合物濃度對數之曲線實施 EC₅₀測定。經由此方法獲得之 EC₅₀數據顯示於表 2 中。

表 2. 下文提供 A_{2A}_Ki 數據(實例 A(I))及 A_{2B}_cAMP_EC₅₀數據(實例 A(II))。

化合物編號	A _{2A} _Ki (nM)	A _{2B} _cAMP_EC ₅₀ (nM)
1	✦	✦
2	✦	✦
3	✦	✦
4	✦	✦
5	✦	✦
6	✦	✦
7	✦	✦
8	✦	✦✦
9	✦	✦
10	✦	✦
11	✦	✦
12	✦	✦✦
13	✦	✦
14	✦	✦
15	✦	✦
16	✦	✦
17	✦	✦✦
18	✦	✦
19	✦	✦
20	✦	✦
21	✦	✦

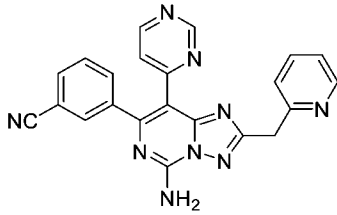
†指示 $A_{2A_K_i}$ 或 $A_{2B_cAMP_EC_{50}} \leq 10 \text{ nM}$,

††指示 $A_{2A_K_i}$ 或 $A_{2B_cAMP_EC_{50}} > 10 \text{ nM}$ 但 $\leq 100 \text{ nM}$,

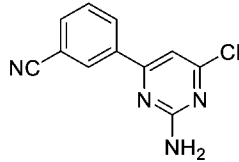
†††指示 $A_{2A_K_i}$ 或 $A_{2B_cAMP_EC_{50}} > 100 \text{ nM}$ 但 $\leq 1 \text{ } \mu\text{M}$,

††††指示 $A_{2A_K_i}$ 或 $A_{2B_cAMP_EC_{50}}$ 大於 $1 \text{ } \mu\text{M}$ 。

實例 A1：3-(5-胺基-2-(吡啶-2-基甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈(化合物 1)之合成

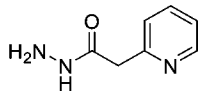


步驟 1：3-(2-胺基-6-氯嘧啶-4-基)苯甲腈



【0287】 將 4,6-二氯嘧啶-2-胺(2.5 g, 15.2 mmol)、(3-氰基苯基)硼酸(2.02 g, 13.7 mmol)、四(三苯基膦)鈣(0) (1.06 g, 0.92 mmol)及碳酸鈉(3.23 g, 30.5 mmol)於 1,4-二噁烷(60 mL)及水(5 mL)中之混合物用氮脫氣，然後將所得混合物在 60°C 下加熱並攪拌兩天。冷卻至室溫(r.t.)後，將混合物濃縮，用水稀釋，且用 DCM (30 mL $\times$ 3)萃取。經 MgSO_4 乾燥合併之有機層，過濾，並濃縮。藉由矽膠管柱上之急速層析純化所得殘餘物，用二氯甲烷中之 8% EtOAc 溶析，以提供期望產物。針對 $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{ClN}_4 (\text{M}+\text{H})^+$ 之 LCMS 計算值：231.0。實驗值：231.0。

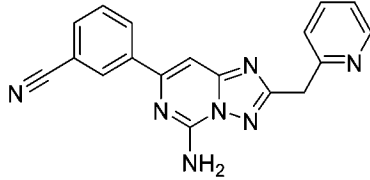
步驟 2：2-(吡啶-2-基)乙醯肼



【0288】 在 r.t. 下，將肼(4.15 mL, 132 mmol)添加至 2-(吡啶-2-基)乙酸甲酯(10 g, 66.2 mmol)之乙醇(66 mL)溶液。將混合物在 85°C 下加熱並攪拌 4 h，且然後冷卻至 r.t.。在靜置時形成白色固體，經由過濾收集該白色固體且不經進一步純化

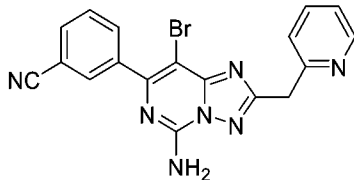
即用於下一步驟中。針對 $C_7H_{10}N_3O$ ($M+H$)⁺之 LCMS 計算值：152.1。實驗值：152.0。

步驟 3：3-(5-胺基-2-(吡啶-2-基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈



【0289】 在 r.t.下，將 2-(吡啶-2-基)乙醯肼(2.62 g, 17.34 mmol)添加至 3-(2-胺基-6-氯嘧啶-4-基)苯甲腈(4.00 g, 17.34 mmol)之乙醇(35 mL)溶液。在回流下加熱且攪拌 2 h 後，將反應混合物冷卻至 r.t.，並濃縮。將所得殘餘物溶解於 *N,O*-雙(三甲基矽基)乙醯胺(20 mL)中並在 120°C下攪拌 7 h。然後將混合物冷卻至 r.t.，傾倒至冰上，並在 r.t.下攪拌 1 h。藉由過濾收集所得固體，且溶解於 20 mL 1 N HCl 溶液中。將所得混合物在 r.t.下攪拌 1 h，過濾，並藉由添加飽和 $NaHCO_3$ 溶液中和水層。藉由過濾收集所得沈澱，並乾燥以獲得棕色固體狀期望產物。針對 $C_{18}H_{14}N_7$ ($M+H$)⁺之 LCMS 計算值：328.1；實驗值 328.1。

步驟 4：3-(5-胺基-8-溴-2-(吡啶-2-基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈



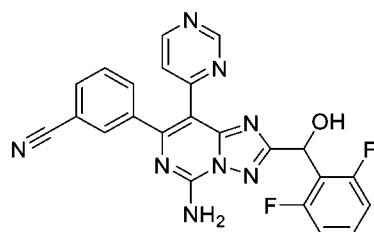
【0290】 向 3-(5-胺基-2-(吡啶-2-基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈(2 g, 6.11 mmol)於 DMF (12 mL)中之混合物中在-30°C下逐份添加 NBS (1.09 g, 6.11 mmol)。將反應混合物緩慢升溫至 0°C，產生均質溶液。在 0°C下攪拌 1 h 後，用飽和 $NaHCO_3$ 溶液稀釋反應混合物且藉由過濾收集所得固體。然後藉由矽膠管柱上之急速層析純化固體，用 DCM 中之 0 至 10% MeOH 溶析，以提供期望產物。針對 $C_{18}H_{13}BrN_7$ ($M+H$)⁺之 LCMS 計算值：406.0；實驗值 406.0。

步驟 5：3-(5-胺基-2-(吡啶-2-基甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-

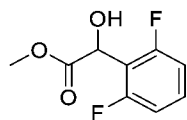
基)苯甲腈

【0291】 將 $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (284 mg, 0.246 mmol) 添加至 4-(三丁基錫烷基)嘧啶(1090 mg, 2.95 mmol)、3-(5-胺基-8-溴-2-(吡啶-2-基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈(1000 mg, 2.46 mmol)及氯化銅(I) (244 mg, 2.46 mmol)於 1,4-二噁烷(12 mL)中之混合物。用 N_2 吹掃反應混合物且在 80°C 下攪拌 7 h。將所得混合物冷卻至 r.t., 濃縮, 用 DCM (50 mL) 稀釋且用飽和 NH_4OH 溶液洗滌。經 Na_2SO_4 乾燥有機層, 濃縮, 並藉由製備型 LC-MS (pH 2, 乙腈/含 TFA 之水)純化, 以提供呈 TFA 鹽形式之產物。針對 $\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{N}_9(\text{M}+\text{H})^+$ 之 LCMS 計算值: 406.2; 實驗值 406.2。
 ^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.95 (s, 1H), 8.83 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 8.59 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 7.96 (m, 1H), 7.88 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 7.82 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.60 - 7.53 (m, 2H), 7.53 - 7.48 (m, 1H), 7.48 - 7.42 (m, 1H), 4.49 (s, 2H)。

實例 A2: 3-(5-胺基-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈(化合物 2)之合成



步驟 1: 2-(2,6-二氟苯基)-2-羥基乙酸甲酯



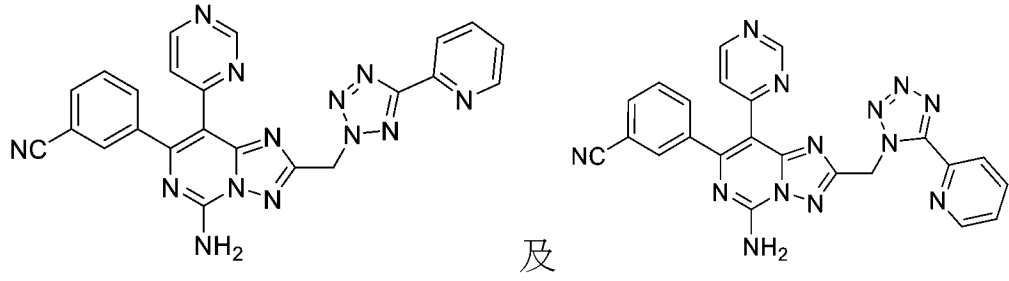
【0292】 在 0°C 下, 將濃硫酸(1.42 mL, 27 mmol)添加至 2,6-二氟苦杏仁酸(5 g, 27 mmol)之甲醇(45 mL)溶液。將混合物在 r.t. 下攪拌 4 h, 然後濃縮。向所得漿液中添加飽和 NaHCO_3 溶液(30 mL)。用 DCM (3×20 mL)萃取所得混合物。用水洗滌合併之有機層, 經 Mg_2SO_4 乾燥, 過濾, 並濃縮, 以提供粗產物, 其未經進一步純化即用於下一步驟中。針對 $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{F}_2\text{NO}_3(\text{M}+\text{H}+\text{MeCN})^+$ 之 LC-MS 計算

值： $m/z = 244.1$ ；實驗值 244.2。

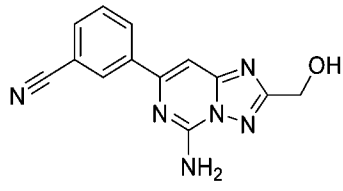
步驟 2：3-(5-胺基-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-*c*]嘧啶-7-基)苯甲腈

【0293】 此化合物係使用與針對實例 A1 所述相似之程序、在步驟 2 中用 2-(2,6-二氟苯基)-2-羥基乙酸甲酯替代 2-(吡啶-2-基)乙酸甲酯來製備。藉由手性 SFC 使用 Phenomenex Lux Cellulose-1 管柱(21.2 × 250mm, 5 μ m 粒徑)分離兩種鏡像異構物，用等梯度移動相 CO₂ 中之 25% MeOH 以 80 mL/分鐘之流量溶析。分離峰 1，且藉由備型 LCMS (pH = 2, MeCN/含 TFA 之水)進一步純化以獲得呈 TFA 鹽形式之期望產物。針對 C₂₃H₁₅F₂N₈O (M+H)⁺之 LC-MS 計算值： $m/z = 457.1$ ；實驗值 457.1。¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.94 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.81 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 7.85 (dd, $J = 5.3, 1.4$ Hz, 1H), 7.81 (dt, $J = 7.4, 1.5$ Hz, 1H), 7.76 (t, $J = 1.7$ Hz, 1H), 7.55 (dt, $J = 7.8, 1.5$ Hz, 1H), 7.49 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.44 (tt, $J = 8.4, 6.4$ Hz, 1H), 7.09 (t, $J = 8.3$ Hz, 2H), 6.27 (s, 1H)。

實例 A3：3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-2H-四唑-2-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-*c*]嘧啶-7-基)苯甲腈(化合物 3A)及 3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-1H-四唑-1-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-*c*]嘧啶-7-基)苯甲腈(化合物 3B)之合成

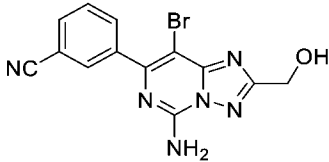


步驟 1：3-(5-胺基-2-(羥基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-*c*]嘧啶-7-基)苯甲腈



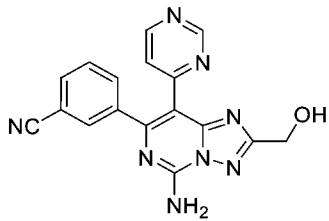
【0294】 在 r.t. 下，將 2-羥基乙醯肼(2.34 g, 26.01 mmol)添加至 3-(2-胺基-6-氯嘧啶-4-基)苯甲腈(4.00 g, 17.34 mmol)之乙醇(35 mL)溶液(實例 A1，步驟 1)。在回流下加熱且攪拌 2 h 後，將反應混合物冷卻至 r.t.，並濃縮。將所得殘餘物溶解於 *N,O*-雙(三甲基矽基)乙醯胺(20 mL)中並在 120°C 下攪拌 7 h。然後將混合物冷卻至 r.t.，傾倒至冰上，並在 r.t. 下攪拌 1 h。藉由過濾收集所得固體，且溶解於 20 mL 1 N HCl 溶液中。將所得混合物在 r.t. 下攪拌 1 h，過濾，並藉由添加飽和 NaHCO₃ 溶液中和水層。藉由過濾收集所得沈澱，並乾燥以獲得棕色固體狀期望產物。針對 C₁₃H₁₁N₆O (M+H)⁺ 之 LCMS 計算值：267.1；實驗值 267.1。

步驟 2：3-(5-胺基-8-溴-2-(羥基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-*c*]嘧啶-7-基)苯甲腈



【0295】 向 3-(5-胺基-2-(羥基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-*c*]嘧啶-7-基)苯甲腈(1.0 g, 3.76 mmol)於 DMF (12 mL)中之混合物中在 -30°C 下逐份添加 NBS (0.67 g, 3.76 mmol)。將反應混合物緩慢升溫至 0°C，產生均質溶液。在 0°C 下攪拌 1 h 後，用飽和 NaHCO₃ 溶液稀釋反應混合物並藉由過濾收集期望產物且乾燥。針對 C₁₃H₁₀BrN₆O (M+H)⁺ 之 LCMS 計算值：345.0；實驗值 345.0。

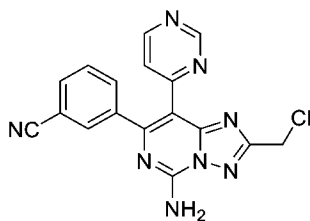
步驟 3：3-(5-胺基-2-(羥基甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-*c*]嘧啶-7-基)苯甲腈



【0296】 將四(三苯基膦)鈹(0) (0.067 g, 0.058 mmol)添加至 4-(三丁基錫烷基)嘧啶(0.321 g, 0.869 mmol)、3-(5-胺基-8-溴-2-(羥基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-*c*]嘧啶-7-基)苯甲腈(0.20 g, 0.579 mmol)、CsF (0.176 g, 1.159 mmol)及碘化銅(I) (0.022 g,

0.116 mmol)於 1,4-二噁烷(5.0 mL)中之混合物。用 N₂吹掃反應混合物且在 80°C 下攪拌 7 h。將所得混合物冷卻至 r.t.，濃縮並藉由急速管柱層析純化，用 DCM 中之 0%至 10%甲醇溶析，以提供產物。針對 C₁₇H₁₃N₈O (M+H)⁺之 LC-MS 計算值：345.1；實驗值 345.1。

步驟 4：3-(5-胺基-2-(氯甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈



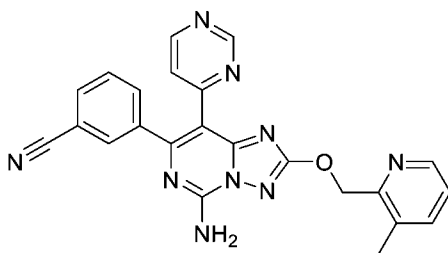
【0297】 在 r.t.下，向 3-(5-胺基-2-(羥基甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈(0.1 g, 0.290 mmol)於乙腈(10 ml)中之混合物中添加亞硫醯氯(0.212 ml, 2.90 mmol)。將反應混合物在 r.t.下攪拌 5 h，濃縮，並藉由急速層析純化，用 DCM 中之 0%至 5%甲醇溶析，以提供產物。針對 C₁₇H₁₂ClN₈ (M+H)⁺之 LC-MS 計算值：363.1；實驗值 363.1。

步驟 5：3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-2H-四唑-2-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈(化合物 3A)及 3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-1H-四唑-1-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈(化合物 3B)之混合物

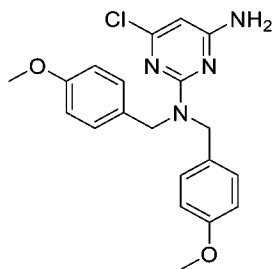
【0298】 將 3-(5-胺基-2-(氯甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈(10 mg, 0.028 mmol)、2-(1H-四唑-5-基)吡啶(8.1mg, 0.055 mmol)及 Cs₂CO₃ (20.7 mg, 0.064 mmol)於 DMF (1 mL)中之混合物在 100°C下攪拌 10 min。然後將反應混合物冷卻至 r.t.，用甲醇(4 mL)稀釋，並藉由製備型 LC-MS (pH 2，乙腈/含 TFA 之水)純化，以提供呈 TFA 鹽形式之產物。針對 C₂₃H₁₆N₁₃ (M+H)⁺之 LCMS 計算值：474.2；實驗值 474.2。

【0299】 化合物 **3A** : ^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.99 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 8.85 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 8.80 - 8.71 (m, 1H), 8.71 - 8.39 (b, 2H), 8.18 (d, $J = 7.7$, 1.1 Hz, 1H), 8.04 (t, $J = 7.8$, 1.8 Hz, 1H), 7.85 (m, 2H), 7.80 - 7.76 (m, 1H), 7.62 - 7.55 (m, 2H), 7.53 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.39 (s, 2H)。

實例 A4 **3-(5-胺基-2-((3-甲基吡啶-2-基)甲氧基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈(化合物 4)**之合成

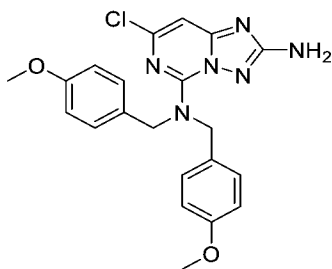


步驟 1 : 6-氯- N,N' -雙(4-甲氧基苄基)嘧啶-2,4-二胺



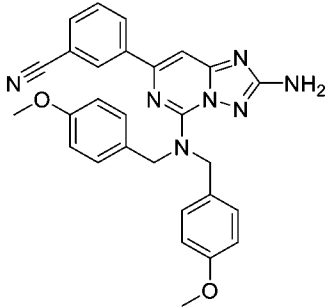
【0300】 向 2,6-二氯嘧啶-4-胺(5.0 g, 31 mmol)於 2-丙醇(31 mL)中之溶液中添加 N,N' -二異丙基乙胺(6.4 mL, 37 mmol)及雙(4-甲氧基苄基)胺(7.9 g, 31 mmol)。將所得溶液在 100°C 下攪拌 16 h，冷卻至 r.t.，用水(100 mL)稀釋，並用 EtOAc (100 mL)萃取。用水及鹽水洗滌有機層，經無水硫酸鈉乾燥，並濃縮以產生粗產物，其未經進一步純化即用於下一步驟中。針對 $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{ClN}_4\text{O}_2$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 之 LC-MS 計算值：385.1；實驗值 385.1。

步驟 2 : 7-氯- N,N' -雙(4-甲氧基苄基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-2,5-二胺



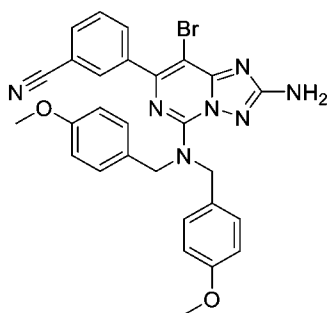
【0301】 在 r.t. 下，將異硫氰酸乙氧羰酯(3.1 mL, 26 mmol)添加至 6-氯-*N*²,*N*²-雙(4-甲氧基苄基)嘧啶-2,4-二胺(1.0 g, 2.6 mmol)之 1,4-二噁烷(5.0 mL)溶液中。然後將反應混合物在 90°C 下攪拌過夜，冷卻至 r.t.，並濃縮。將所得物質溶解於甲醇(12 mL)及乙醇(12 mL)中，並添加 *N,N*-二異丙基乙胺(0.91 mL, 5.2 mmol)，然後添加脛胺鹽酸鹽(0.54 g, 7.8 mmol)。將反應混合物在 45°C 下攪拌 2 h，冷卻至 r.t.，並濃縮。將所得物質溶解於 EtOAc 中，用水洗滌，經無水硫酸鈉乾燥，並濃縮。然後藉由矽膠層析純化粗物質，用己烷中之 0% 至 50% EtOAc 溶析，以提供產物。針對 C₂₁H₂₂ClN₆O₂ (M+H)⁺之 LC-MS 計算值：425.1；實驗值 425.2。

步驟 3：3-(2-胺基-5-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-[1,2,4]三唑并[1,5-*c*]嘧啶-7-基)苯甲腈



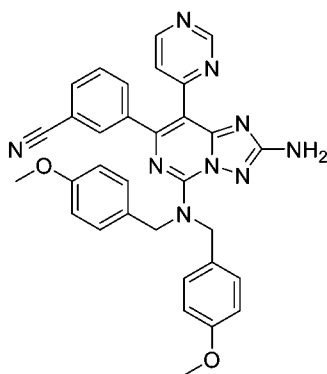
【0302】 將氯(2-二環己基膦基-2',4',6'-三-異-丙基-1,1'-聯苯)(2'-胺基-1,1'-聯苯-2-基)鈹(II) (330 mg, 0.42 mmol)添加至(3-氰基苄基)硼酸(460 mg, 3.2 mmol)、7-氯-*N*⁵,*N*⁵-雙(4-甲氧基苄基)-[1,2,4]三唑并[1,5-*c*]嘧啶-2,5-二胺(890 mg, 2.1 mmol)及碳酸鈉(890 mg, 8.4 mmol)於 1,4-二噁烷(8.8 mL)及水(1.8 mL)中之混合物中。用 N₂ 吹掃混合物並在 95°C 下攪拌過夜。然後將反應混合物冷卻至 r.t.，濃縮，並藉由矽膠層析純化，用 DCM 中之 0% 至 50% EtOAc 溶析，以提供期望產物。針對 C₂₈H₂₆N₇O₂ (M+H)⁺之 LC-MS 計算值：492.2；實驗值 492.2。

步驟 4：3-(2-胺基-5-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-8-溴-[1,2,4]三唑并[1,5-*c*]嘧啶-7-基)苯甲腈



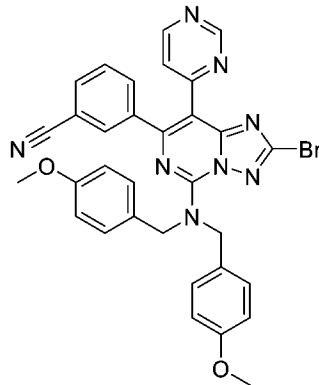
【0303】 在 0°C 下，向 3-(2-胺基-5-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲脒(330 mg, 0.66 mmol)於 DMF (1.4 mL)中之溶液中緩慢添加 NBS (120 mg, 0.66 mmol)。然後將反應混合物在 r.t. 下攪拌 30 min，然後添加水 (10 mL)。藉由過濾收集所得固體，並乾燥以獲得期望產物。針對 $C_{28}H_{25}BrN_7O_2$ (M+H)⁺之 LC-MS 計算值：m/z = 570.1；實驗值 570.2。

步驟 5：3-(2-胺基-5-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲脒



【0304】 將 3-(2-胺基-5-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-8-溴-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲脒(350 mg, 0.61 mmol)、4-(三丁基錫烷基)嘧啶(210 μ L, 0.67 mmol)、四(三苯基膦)鈀(0) (70 mg, 0.060 mmol)、碘化銅(I) (23 mg, 0.12 mmol)及氟化鈾 (180 mg, 1.2 mmol)於二噁烷(4.7 mL)中之混合物在微波反應器中在 140°C 下加熱且攪拌 30 min。然後將反應混合物冷卻至 r.t.，經由矽藻土塞過濾(用 DCM 洗滌)，並濃縮。藉由矽膠管柱層析純化所得材料，用 0-20% MeOH/DCM 溶析以獲得期望產物。針對 $C_{32}H_{28}N_9O_2$ (M+H)⁺之 LC-MS 計算值：m/z = 570.2；實驗值 570.3。

步驟 6：3-(5-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-2-溴-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈



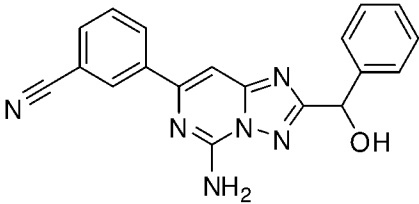
【0305】 在氮下在 50°C 下，向溴化銅(II) (91 mg, 0.407 mmol)及亞硝酸第三丁基酯(0.054 ml, 0.407 mmol)於乙腈(3 mL)中之混合物中逐滴添加乙腈(3 mL)中之 3-(2-胺基-5-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈(100 mg, 0.203 mmol)。將混合物在 50°C 下攪拌 2 小時。冷卻至室溫後，添加 1 N NH₄OH 水溶液(20 mL)且用 CH₂Cl₂ (20 mL)將混合物萃取三次。經硫酸鈉乾燥合併之有機層，過濾並濃縮。藉由矽膠管柱層析純化粗材料，用 50%-100% 乙酸乙酯/己烷溶析以獲得期望產物。針對 C₃₂H₂₆BrN₈O₂ (M+H)⁺之 LC-MS 計算值：m/z = 633.1；實驗值 633.2。

步驟 7：3-(5-胺基-2-((3-甲基吡啶-2-基)甲氧基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈

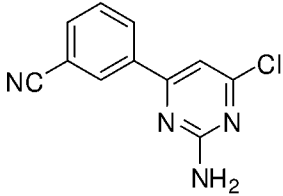
【0306】 將氫化鈉(60%於礦物油中，3.8 mg, 0.095 mmol)、3-(5-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-2-溴-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈(20 mg, 0.032 mmol)及(3-甲基吡啶-2-基)甲醇(9.1 μL, 0.095 mmol)於 1,4-二噁烷(1 mL)中之懸浮液在 110°C 下在氮下加熱且攪拌過夜。然後將反應混合物冷卻至 rt，濃縮，且添加 TFA (1.0 mL)。然後將所得混合物在 110°C 下攪拌 30 min，冷卻至 rt，用乙腈稀釋，過濾並藉由製備型 LC-MS (pH 2，乙腈/含 TFA 之水)純化以獲得呈 TFA 鹽形式之期望產物。針對 C₂₃H₁₈N₉O (M+H)⁺之 LC-MS 計算值：m/z = 436.2；

實驗值 436.2。 ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.97 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 8.88 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 8.58 - 8.52 (m, 1H), 7.97 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.88 (dd, $J = 5.4, 1.4$ Hz, 1H), 7.85 (dt, $J = 7.5, 1.5$ Hz, 1H), 7.78 (t, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.60 - 7.54 (m, 2H), 7.53 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 5.69 (s, 2H), 2.48 (s, 3H)。

實例 A5：3-(5-胺基-2-(羥基(苯基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈(化合物 5)之合成



步驟 1：3-(2-胺基-6-氯嘧啶-4-基)苯甲腈



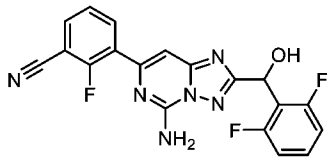
【0307】 將 4,6-二氯嘧啶-2-胺(2.5 g, 15.24 mmol)、(3-氰基苯基)硼酸(2.016 g, 13.72 mmol)、四(三苯基膦)鈰(0) (1.057 g, 0.915 mmol)及碳酸鈉(3.23 g, 30.5 mmol)於 1,4-二噁烷(60 mL)及水(5 mL)中之混合物用氮脫氣，然後將所得混合物在 60°C 下加熱兩天。冷卻至室溫(RT)後，將混合物濃縮，然後用水稀釋，且用二氯甲烷(DCM, 3 × 30 mL)萃取。經 MgSO_4 乾燥合併之有機層，過濾，並濃縮。藉由含有二氯甲烷中之 8%乙酸乙酯(EtOAc)之矽膠管柱上之急速層析純化殘餘物，以提供期望產物。針對 $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{ClN}_4$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 之 LCMS 計算值：231.0。實驗值：231.0。

步驟 2：3-(5-胺基-2-(羥基(苯基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈

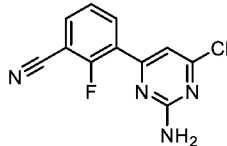
【0308】 將 3-(2-胺基-6-氯嘧啶-4-基)苯甲腈(100 mg, 0.434 mmol)及 2-羥基-2-苯基乙醯肼(108 mg, 0.650 mmol)於乙醇(2 mL)中之溶液在 95°C 下加熱且攪拌 3 h。冷卻至 RT 後，將反應將混合物濃縮至乾燥，溶解於 *N,O*-雙(三甲基矽基)乙醯胺(1 mL)中且在 120°C 下攪拌 7 h。將所得混合物冷卻至 RT，傾倒至冰上，且

攪拌 1 h。用 DCM 將所得懸浮液萃取三次。經 MgSO_4 乾燥合併之有機層，過濾，並濃縮。將殘餘物溶解於甲醇(MeOH)中並藉由製備型 LC-MS (pH 2, 乙腈/含 TFA 之水)純化，以提供呈 TFA 鹽形式之產物。針對 $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{N}_6\text{O}$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺之 LCMS 計算值：343.1；實驗值 343.1。

實例 A6：3-(5-胺基-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)-2-氟苯甲腈(化合物 6)之合成

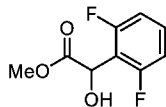


步驟 1：3-(2-胺基-6-氯嘧啶-4-基)-2-氟苯甲腈



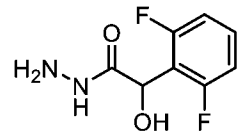
【0309】 在 20 min 內向冷卻至 0°C 之 3-溴-2-氟苯甲腈(18.3 g, 91 mmol)於 THF (60 mL)中之溶液中添加 THF (1.3 M)中之 *i*-PrMgCl LiCl 錯合物(70.4 mL, 91 mmol)。將混合物在 0°C 下攪拌 50 min，然後在 0°C 下添加 2-MeTHF (1.9 M)中之氯化鋅(48.1 mL, 91 mmol)。將反應在 r.t.下攪拌 25 min，此時一次性添加 4,6-二氯嘧啶-2-胺(10 g, 61.0 mmol)。將溶液攪拌 10 min。將四(三苯基膦)鈣(1.41 g, 1.22 mmol)添加至混合物且將反應物在 r.t.下攪拌 16 h。完成後，將 2,4,6-三巰基三嗪矽膠 (2 g)添加至反應溶液。將混合物攪拌 1 h 且過濾。用乙酸乙酯洗滌固體直至期望產物完全溶析(如藉由 LCMS 所偵測)。用飽和氯化銨溶液及水洗滌濾液。濃縮有機物以提供粗產物。將水添加至粗材料且藉由過濾收集所得沈澱並在氮流下乾燥。粗材料未經額外純化即後續使用。針對 $\text{C}_{11}\text{H}_7\text{ClFN}_4$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺之 LC-MS 計算值： $m/z = 249.0$ ；實驗值 249.0。

步驟 2：2-(2,6-二氟苯基)-2-羥基乙酸甲酯



【0310】 在 0°C 下，將濃硫酸(1.4 mL, 27 mmol)添加至 2,6-二氟苦杏仁酸(5.0 g, 27 mmol)之甲醇(45 mL)溶液。將混合物在 r.t. 下攪拌 4 h，然後濃縮。向所得漿液中添加飽和 NaHCO₃ 溶液。用 DCM 萃取所得混合物。用水洗滌合併之有機層，經 MgSO₄ 乾燥，過濾，並濃縮，以提供粗產物，其未經進一步純化即用於下一步驟中。針對 C₁₁H₁₂F₂NO₃ (M+H+MeCN)⁺ 之 LC-MS 計算值：m/z = 244.1；實驗值 244.2。

步驟 3：2-(2,6-二氟苯基)-2-羥基乙醯肼



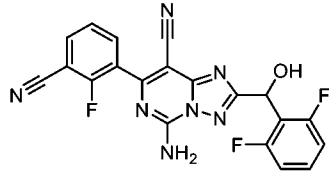
【0311】 在 RT 下，將肼(3.0 mL, 96 mmol)添加至 2-(2,6-二氟苯基)-2-羥基乙酸甲酯(10.8 g, 53 mmol)之乙醇(90 mL)溶液。將反應混合物在 100°C 下攪拌 2 h，冷卻至 RT，濃縮，且未經進一步純化即用於下一步驟中。針對 C₈H₉F₂N₂O₂ (M+H)⁺ 之 LC-MS 計算值：203.1；實驗值 203.2。

步驟 4：3-(5-胺基-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)-2-氟苯甲腈

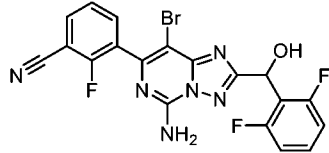
【0312】 標題化合物係使用與針對實例 A5 步驟 2 所述相似之程序、用 3-(2-胺基-6-氯嘧啶-4-基)-2-氟苯甲腈替代 3-(2-胺基-6-氯嘧啶-4-基)苯甲腈，且用 2-(2,6-二氟苯基)-2-羥基乙醯肼替代 2-羥基-2-苯基乙醯肼來製備。藉由手性 SFC 使用 Phenomenex (R,R)-Whelk-O1 管柱(21.2 × 250 mm, 5 μm 粒徑)分離兩種鏡像異構物，用等梯度移動相 CO₂ 中之 15% MeOH 以 85 mL/分鐘之流量溶析。峰 1 及峰 2 之滯留時間分別為 3.8 min 及 5.3 min。濃縮後，藉由製備型 LCMS (pH = 2, MeCN/含 TFA 之水)純化峰 2 以獲得呈 TFA 鹽形式之期望產物。針對 C₁₉H₁₂F₃N₆O (M+H)⁺ 之 LC-MS 計算值：397.1；實驗值 397.1。

實例 A7：5-胺基-7-(3-氟基-2-氟苯基)-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-[1,2,4]三唑并

[1,5-c]嘧啶-8-甲腈(化合物 7)之合成



步驟 1 : 3-(5-胺基-8-溴-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)-2-氟苯甲腈



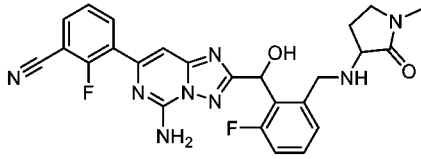
【0313】 此化合物係使用與針對實例 A1、步驟 4 所述相似之程序、用 3-(5-胺基-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)-2-氟苯甲腈(來自實例 A6)替代 3-(5-胺基-2-(吡啶-2-基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈來製備。針對 $C_{19}H_{11}BrF_3N_6O (M+H)^+$ 之 LCMS 計算值：475.0；實驗值 475.0。

步驟 2 : 5-胺基-7-(3-氰基-2-氟苯基)-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-8-甲腈

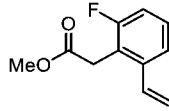
【0314】 將 3-(5-胺基-8-溴-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)-2-氟苯甲腈(0.12 g, 0.25 mmol)、 $ZnCN_2$ (0.060 g, 0.51 mmol) 及 *t*BuXPhos Pd G3 (0.020 g, 0.025 mmol) 於 1,4-二噁烷(0.63 mL)及水(0.63 mL)中之混合物用 N_2 吹掃且在 100°C 下攪拌 1 h。冷卻至 r.t. 後，用飽和 $NaHCO_3$ 稀釋反應物且用 EtOAc (3×) 萃取有機物。經 $MgSO_4$ 乾燥合併之有機物並濃縮。藉由手性 HPLC 使用 Phenomenex Lux Cellulose-4 管柱(21.2 × 250mm, 5 μ m 粒徑)分離兩種鏡像異構物，用等梯度移動相己烷中之 60% EtOH 以 20 mL/分鐘之流量溶析。峰 1 及峰 2 之滯留時間分別為 4.9 min 及 7.2 min。濃縮後，藉由製備型 LC-MS (pH 2，乙腈/含 TFA 之水)純化峰 1，以獲得呈 TFA 鹽形式之期望產物。針對 $C_{20}H_{11}F_3N_7O (M+H)^+$ 之 LC-MS 計算值：422.1；實驗值 422.1。

實例 A8 : 3-(5-胺基-2-((2-氟-6-(((1-甲基-2-側氧基吡咯啶-3-基)胺基)甲基)苯

基)(經基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)-2-氟苯甲腈(化合物 8)之合成

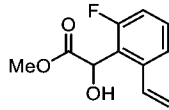


步驟 1：2-(2-氟-6-乙烯基苯基)乙酸甲酯



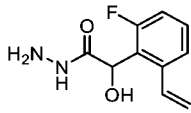
【0315】 將 2-(2-溴-6-氟苯基)乙酸甲酯(6.0 g, 24 mmol)、磷酸三鉀(15.5 g, 73 mmol)、乙酸鈮(II) (0.55 g, 2.4 mmol)及 SPhos (1.0 g, 2.4 mmol)之混合物添加至 500 mL 壓力容器。然後，添加二噁烷(150 mL)及水(15 mL)中之 4,4,5,5-四甲基-2-乙烯基-1,3,2-二氧雜硼雜環戊烷(6.4 ml, 36 mmol)，用 N₂吹掃反應混合物，且在 80°C下攪拌 16 h。然後將反應混合物冷卻至 RT，濃縮，且用 EtOAc (×3)萃取。經 MgSO₄乾燥合併之有機層，濃縮，並藉由管柱層析(DCM 中之 0 至 50% EtOAc)純化。針對 C₁₁H₁₂FO₂ (M+H)⁺之 LC-MS 計算值：195.1；實驗值 195.1。

步驟 2：2-(2-氟-6-乙烯基苯基)-2-羥基乙酸甲酯



【0316】 將 2-(2-氟-6-乙烯基苯基)乙酸甲酯(2.5 g, 12.9 mmol)溶解於 THF (130 mL)中且冷卻至-78°C。逐滴添加 THF (1.0 M)中之 LDA (16.7 mL, 16.7 mmol)，且將所得溶液在-78°C下攪拌 30 min。然後，在 THF (0.5 M)中逐滴添加 9,9-二甲基四氫-4*H*-4*a*,7-橋亞甲基苯并[*c*][1,2]氧氮丙啶并(oxazireno)[2,3-*b*]異噻唑 3,3-二氧化物(4.7 g, 20.6 mmol)。在-78°C下 30 min 後，將反應混合物升溫至 0°C且攪拌 1 h。用飽和 NH₄Cl 淬滅反應。用 DCM (3×)萃取水層。經無水 Na₂SO₄乾燥合併之有機物，過濾，並在減壓下濃縮。藉由管柱層析純化粗產物，用己烷中之 0 至 50%乙酸乙酯溶析，以提供期望產物。針對 C₁₁H₁₁FO₃Na (M+Na)⁺之 LCMS 計算值：233.1；實驗值 233.1。

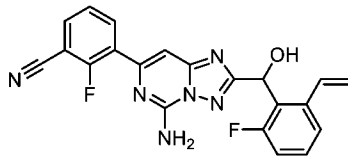
步驟 3 : 2-(2-氟-6-乙炔基苯基)-2-羥基乙醯肼



【0317】 此化合物係使用與針對實例 A6、步驟 3 所述相似之程序、用 2-(2-氟-6-乙炔基苯基)-2-羥基乙酸甲酯替代 2-(2,6-二氟苯基)-2-羥基乙酸甲酯來製備。

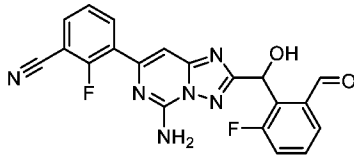
針對 $C_{10}H_{12}FN_2O_2$ (M+H)⁺之 LCMS 計算值：211.1；實驗值 211.1。

步驟 4 : 3-(5-胺基-2-((2-氟-6-乙炔基苯基)(羥基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)-2-氟苯甲腈



【0318】 此化合物係使用與針對實例 A6 步驟 4 所述相似之程序、用 2-(2-氟-6-乙炔基苯基)-2-羥基乙醯肼替代 2-(2,6-二氟苯基)-2-羥基乙醯肼來製備。針對 $C_{21}H_{15}F_2N_6O$ (M+H)⁺之 LCMS 計算值：405.1；實驗值 405.1。

步驟 5 : 3-(5-胺基-2-((2-氟-6-甲醯基苯基)(羥基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)-2-氟苯甲腈



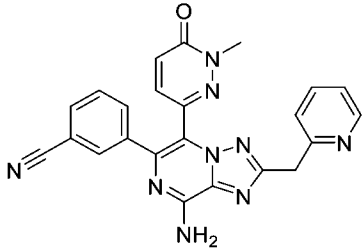
【0319】 將水中之四氧化鐵(4% w/w, 0.36 mL, 0.12 mmol)添加至 3-(5-胺基-2-((2-氟-6-乙炔基苯基)(羥基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)-2-氟苯甲腈(930 mg, 2.30 mmol)之 THF (18 mL)及水(4.6 mL)溶液。將反應混合物在 RT 下攪拌 5 min 且然後添加過碘酸鈉(2.5 g, 11.5 mmol)。攪拌 1 h 後，用飽和 $NaHCO_3$ 水溶液(5% w/w, 20 mL)中之偏二亞硫酸鈉稀釋混合物且用 EtOAc (×3)萃取。經 $MgSO_4$ 乾燥合併之有機層並在減壓下濃縮。藉由管柱層析純化粗材料，用己烷中之 0 至 100% 乙酸乙酯溶析，以提供期望產物。針對 $C_{20}H_{13}F_2N_6O_2$ (M+H)⁺之 LCMS 計算

值：407.1；實驗值 407.1。

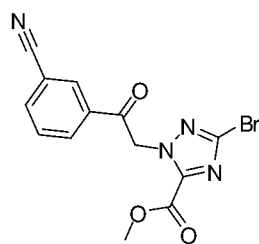
步驟 6：3-(5-胺基-2-((2-氟-6-(((1-甲基-2-側氧基吡咯啉-3-基)胺基)甲基)苯基)(羥基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)-2-氟苯甲腈

【0320】 將 3-胺基-1-甲基吡咯啉-2-酮(63 mg, 0.55 mmol)及 3-(5-胺基-2-((2-氟-6-甲醯基苯基)(羥基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)-2-氟苯甲腈(150 mg, 0.37 mmol)於 1,2-二氯乙烷(1.9 mL)中之溶液在 40°C 下攪拌 2 h。然後添加三乙醯氧基硼氫化鈉(160 mg, 0.74 mmol)且將反應混合物在室溫下攪拌 16 h。用飽和 NaHCO₃ 稀釋反應物且用 EtOAc (3×)萃取有機物。經 MgSO₄ 乾燥合併之有機物並濃縮。藉由手性 HPLC 使用 Phenomenex Lux Cellulose-4 管柱(21.2 × 250mm, 5 μm 粒徑)分離非鏡像異構物，用等梯度移動相己烷中之 45% EtOH 以 20 mL/分鐘之流量溶析。峰 1 及峰 2 之滯留時間分別為 14.9 min 及 17.5 min。濃縮後，藉由手性 HPLC 使用 Phenomenex Lux Cellulose-1 管柱(21.2 × 250mm, 5 μm 粒徑)進一步分離峰 2，用等梯度移動相己烷中之 30% EtOH 以 20 mL/分鐘之流量溶析。峰 1 及峰 2 之滯留時間分別為 11.0 min 及 15.5 min。濃縮後，藉由製備型 LC-MS (pH=2，MeCN/含 TFA 之水)純化峰 1，以獲得呈 TFA 鹽形式之期望產物。針對 C₂₅H₂₃F₂N₈O₂ (M+H)⁺之 LC-MS 計算值：505.2；實驗值 505.2。

實例 A9：3-(8-胺基-5-(1-甲基-6-側氧基-1,6-二氫嗪-3-基)-2-(吡啶-2-基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈(化合物 9)之合成

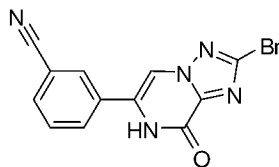


步驟 1：3-溴-1-(2-(3-氰基苯基)-2-側氧基乙基)-1H-1,2,4-三唑-5-甲酸甲酯



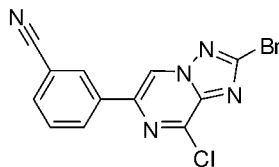
【0321】 向 3-溴-1*H*-1,2,4-三唑-5-甲酸甲酯(5.0 g, 24.3 mmol)、3-(2-溴乙醯基)苯甲腈(5.44 g, 24.3 mmol)於 DMF (100 mL)中之溶液中添加碳酸鉀(3.35 g, 24.3 mmol)。將反應混合物在環境溫度下攪拌 2 h。然後用水及 DCM 稀釋反應混合物。分離有機層，用鹽水洗滌，經 Na₂SO₄ 乾燥，過濾並濃縮。經由急速層析純化所得殘餘物以獲得白色固體狀期望產物(5.2 g, 61%)。針對 C₁₃H₁₀BrN₄O₃ (M+H)⁺之 LC-MS 計算值：m/z = 349.0；實驗值 349.0。

步驟 2：3-(2-溴-8-側氧基-7,8-二氫-[1,2,4]三唑并[1,5-*a*]吡嗪-6-基)苯甲腈



【0322】 將 3-溴-1-(2-(3-氰基苯基)-2-側氧基乙基)-1*H*-1,2,4-三唑-5-甲酸甲酯(10.5 g, 30.1 mmol)溶解於乙酸(100 mL)中，且添加乙酸銨(23.18 g, 301 mmol)。將混合物在 110°C 下攪拌 12 h。冷卻至室溫後，用水稀釋反應混合物。經由過濾收集所得沈澱，用水洗滌，並在真空下乾燥，以提供產物(8.4 g, 88%)。針對 C₁₂H₇BrN₅O (M+H)⁺之 LC-MS 計算值：m/z = 316.0；實驗值 316.0。

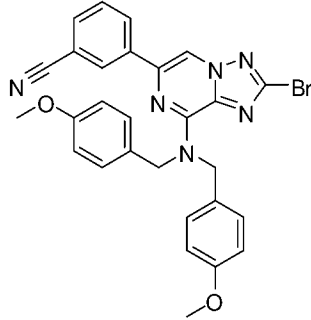
步驟 3：3-(2-溴-8-氯-[1,2,4]三唑并[1,5-*a*]吡嗪-6-基)苯甲腈



【0323】 將 3-(2-溴-8-側氧基-7,8-二氫-[1,2,4]三唑并[1,5-*a*]吡嗪-6-基)苯甲腈(8.4 g, 26.6 mmol)及 POCl₃ (49.5 mL, 531 mmol)之混合物在 110°C 下攪拌過夜。冷卻至室溫後，將反應混合物緩慢添加至含有冰及碳酸氫鈉之燒瓶中。收集所得沈澱，用水洗滌，並乾燥，以提供產物(8.8 g, 99%)。針對 C₁₂H₆BrClN₅ (M+H)⁺之

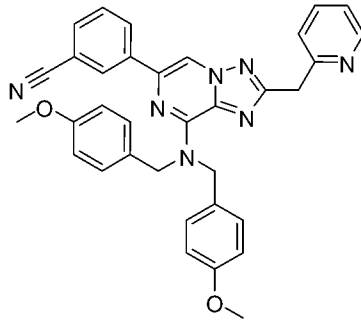
LC-MS 計算值： $m/z = 333.9$ ；實驗值 334.0。

步驟 4. 3-(8-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-2-溴-[1,2,4]三唑并[1,5-*a*]吡嗪-6-基)苯甲腈



【0324】 將 3-(2-溴-8-氯-[1,2,4]三唑并[1,5-*a*]吡嗪-6-基)苯甲腈(8.99 g, 26.9 mmol)、雙(4-甲氧基苄基)胺(10.37 g, 40.3 mmol)及 DIPEA (9.4 mL, 53.7 mmol)於 DMF (134 mL)中之混合物在 85°C 下攪拌過夜。將反應混合物冷卻至室溫，且用水稀釋。經由過濾收集所得沈澱，並乾燥，以提供產物(14.1 g, 94%)。針對 $C_{28}H_{24}BrN_6O_2$ ($M+H$)⁺ 之 LC-MS 計算值： $m/z = 555.1$ ；實驗值 555.1。

步驟 5 3-(8-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-2-(吡啶-2-基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-*a*]吡嗪-6-基)苯甲腈

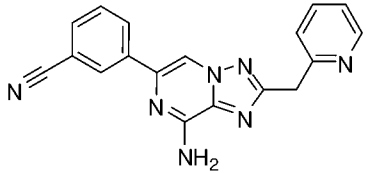


【0325】 在 -78°C 下，向 2-甲基吡啶(0.050 g, 0.540 mmol)於 THF (0.5 mL)中之溶液中添加 2.5 M 正丁基鋰(0.216 mL, 0.540 mmol)。將所得溶液在相同溫度下攪拌 1 h，然後添加 2-甲基四氫呋喃中之 1.9 M 氯化鋅(0.284 mL, 0.540 mmol)，並將所得混合物在室溫下攪拌 10 min。

【0326】 將裝填有 3-(8-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-2-溴-[1,2,4]三唑并[1,5-*a*]吡嗪-6-基)苯甲腈(0.15 g, 0.270 mmol)、乙酸鈹(1.1 mg, 4.7 μ mol)及 2'-(二環己基膦基)-*N,N,N',N'*-四甲基聯苯-2,6-二胺(4.1 mg, 9.5 μ mol)之微波瓶在高真空下抽空且用

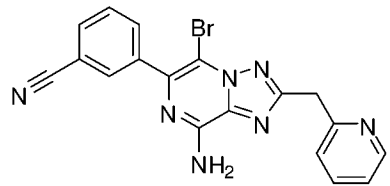
氮回填。然後將 THF (2.0 mL)及甲苯(0.5 mL)添加至反應瓶。將混合物冷卻至 0°C 且經由注射器緩慢添加自先前步驟製備之鋅試劑。然後將反應混合物在 60°C下攪拌過夜，冷卻至室溫，且分配於乙酸乙酯與飽和 NH₄Cl 溶液之間。分離各層且用乙酸乙酯萃取水層。用水及鹽水洗滌合併之有機層，經 MgSO₄ 乾燥，並濃縮。經由急速層析純化所得殘餘物以提供產物(0.11 g, 71%)。針對 C₃₄H₃₀N₇O₂ (M+H)⁺之 LC-MS 計算值：m/z = 568.2；實驗值 568.3。

步驟 6. 3-(8-胺基-2-(吡啶-2-基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈



【0327】 將 3-(8-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-2-(吡啶-2-基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈(110 mg, 0.194 mmol)及 TFA (746 μL, 9.69 mmol)之混合物在 80°C下攪拌 30 min，冷卻至室溫，並濃縮。經由製備型 LCMS (pH 2)純化所得殘餘物以獲得白色固體狀產物(TFA 鹽) (57 mg, 90%)。針對 C₁₈H₁₄N₇ (M+H)⁺之 LC-MS 計算值：m/z = 328.1；實驗值 328.1。

步驟 7. 3-(8-胺基-5-溴-2-(吡啶-2-基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈



【0328】 向 3-(8-胺基-2-(吡啶-2-基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈(TFA 鹽) (35 mg, 0.079 mmol)於 DMF (0.5 mL)/DCM (0.5 mL)中之溶液中添加 NBS (14.1 mg, 0.079 mmol)。然後將反應混合物在室溫下攪拌 1 h，並濃縮以提供粗產物，其未經進一步純化即用於下一步驟中。針對 C₁₈H₁₃BrN₇ (M+H)⁺之 LC-MS 計算值：m/z = 406.0；實驗值 406.0。

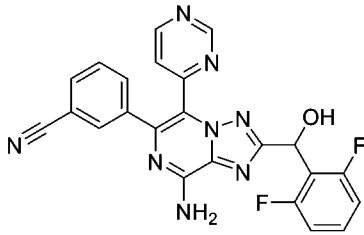
步驟 8. 3-(8-胺基-5-(1-甲基-6-側氧基-1,6-二氫嗪-3-基)-2-(吡啶-2-基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈

[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈

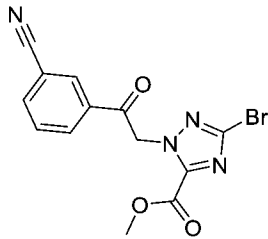
【0329】 將 6-氯-2-甲基嗒嗪-3(2*H*)-酮(30 mg, 0.21 mmol)、雙(頻哪醇)二硼(53 mg, 0.21 mmol)、氯(2-二環己基膦基-2',4',6'-三異丙基-1,1'-聯苯)[2-(2'-胺基-1,1'-聯苯)]鈀(II) (15.7 mg, 0.02 mmol) (XPhos Pd G2)及乙酸鉀(61.7 mg, 0.63 mmol)於 1,4-二噁烷(1 mL)中之混合物在 100°C下攪拌 1 h。然後將 3-(8-胺基-5-溴-2-(吡啶-2-基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈(10 mg, 0.025 mmol)、碳酸銨(37.6 mg, 0.116 mmol)及水(0.2 mL)添加至反應混合物。將所得混合物在 90°C下加熱 1h。將混合物濃縮並藉由製備型 LCMS (pH 2, 乙腈/含 TFA 之水)純化, 以提供呈 TFA 鹽形式之期望產物。針對 $C_{23}H_{18}N_9O$ (M+H)⁺之 LCMS 計算值: 436.2; 實驗值 436.2。

【0330】 ¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.66 - 8.62 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H), 8.09 - 8.02 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.88 - 7.85 (t, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.85 - 7.81 (m, 3H), 7.78 - 7.72 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 7.66 - 7.51 (m, 4H), 7.10 - 7.06 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 4.59 - 4.48 (s, 2H), 3.53 - 3.43 (s, 3H)。

實例 A10 : 3-(8-胺基-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-5-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈(化合物 10)之合成



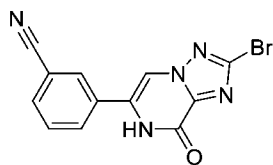
步驟 1 : 3-溴-1-(2-(3-氰基苯基)-2-側氧基乙基)-1*H*-1,2,4-三唑-5-甲酸甲酯



【0331】 向 3-溴-1*H*-1,2,4-三唑-5-甲酸甲酯(5.0 g, 24.3 mmol)、3-(2-溴乙醯基)

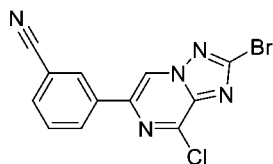
苯甲腈(5.44 g, 24.3 mmol)於 DMF (100 mL)中之溶液中添加碳酸鉀(3.35 g, 24.3 mmol)。將反應混合物在環境溫度下攪拌 2 h。然後用水及 DCM 稀釋反應混合物。分離有機層，用鹽水洗滌，經 Na₂SO₄ 乾燥，過濾並濃縮。經由急速層析純化所得殘餘物以獲得白色固體狀期望產物(5.2 g, 61%)。針對 C₁₃H₁₀BrN₄O₃ (M+H)⁺之 LC-MS 計算值：m/z = 349.0；實驗值 349.0。

步驟 2：3-(2-溴-8-側氧基-7,8-二氫-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈



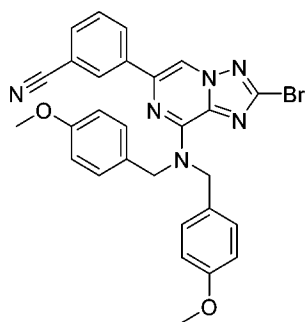
【0332】 將 3-溴-1-(2-(3-氰基苯基)-2-側氧基乙基)-1*H*-1,2,4-三唑-5-甲酸甲酯 (10.5 g, 30.1 mmol)溶解於乙酸(100 mL)中，且添加乙酸鉍(23.18 g, 301 mmol)。將混合物在 110°C下攪拌 12 h。冷卻至室溫後，用水稀釋反應混合物。經由過濾收集所得沈澱，用水洗滌，並在真空下乾燥以提供產物(8.4 g, 88%)。針對 C₁₂H₇BrN₅O (M+H)⁺之 LC-MS 計算值：m/z = 316.0；實驗值 316.0。

步驟 3：3-(2-溴-8-氯-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈



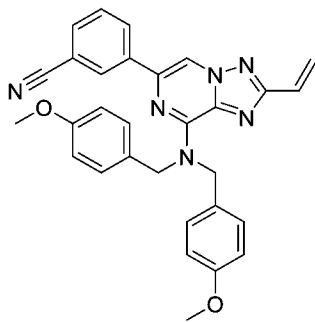
【0333】 將 3-(2-溴-8-側氧基-7,8-二氫-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈 (8.4 g, 26.6 mmol)及 POCl₃ (49.5 mL, 531 mmol)之混合物在 110°C下攪拌過夜。冷卻至室溫後，將反應混合物緩慢添加至含有冰及碳酸氫鈉之燒瓶中。經由過濾收集所得沈澱，用水洗滌，並乾燥以提供產物 (8.8 g, 99%)。針對 C₁₂H₆BrClN₅ (M+H)⁺之 LC-MS 計算值：m/z = 336.0；實驗值 336.0。

步驟 4：3-(8-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-2-溴-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈



【0334】 將 3-(2-溴-8-氯-[1,2,4]三唑并[1,5-*a*]吡嗪-6-基)苯甲腈(8.99 g, 26.9 mmol)、雙(4-甲氧基苄基)胺(10.37 g, 40.3 mmol)及 DIPEA (9.4 mL, 53.7 mmol)於 DMF (134 mL)中之混合物在 65°C下攪拌過夜。將反應混合物冷卻至室溫，且用水稀釋。經由過濾收集所得沈澱，並乾燥以提供產物(14.1 g, 94%)。針對 $C_{28}H_{24}BrN_6O_2$ ($M+H$)⁺之 LC-MS 計算值： $m/z = 555.1$ ；實驗值 555.1。

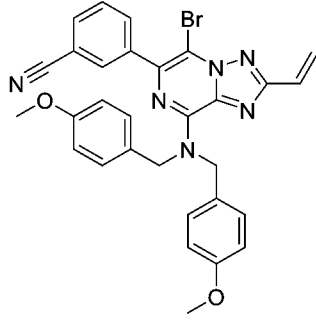
步驟 5：3-(8-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-2-乙炔基-[1,2,4]三唑并[1,5-*a*]吡嗪-6-基)苯甲腈



【0335】 將 3-(8-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-2-溴-[1,2,4]三唑并[1,5-*a*]吡嗪-6-基)苯甲腈(10.0 g, 18.0 mmol)、4,4,5,5-四甲基-2-乙炔基-1,3,2-二氧雜硼雜環戊烷(3.88 g, 25.2 mmol)、磷酸三鉀(9.55 g, 45.0 mmol)及氯(2-二環己基膦基-2',4',6'-三異丙基-1,1'-聯苯)[2-(2'-胺基-1,1'-聯苯)]鈣(II) (567 mg, 0.72 mmol)於 1,4-二噁烷(200 mL)及水(50 mL)中之混合物在 85°C下攪拌 2 hr。將反應混合物冷卻至室溫，且去除大部分 1,4-二噁烷。經由過濾收集所得沈澱，用水洗滌並乾燥以提供粗產物(9.1 g)，其直接用於下一步驟中。針對 $C_{30}H_{27}N_6O_2$ ($M+H$)⁺之 LC-MS 計算值： $m/z = 503.2$ ；實驗值 503.1。

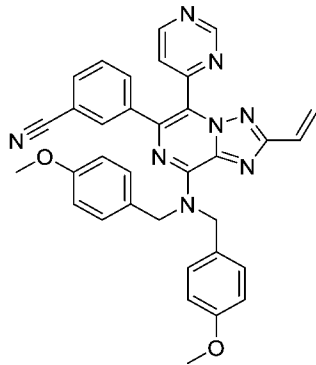
步驟 6. 3-(8-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-5-溴-2-乙炔基-[1,2,4]三唑并[1,5-*a*]吡嗪-6-

基)苯甲腈



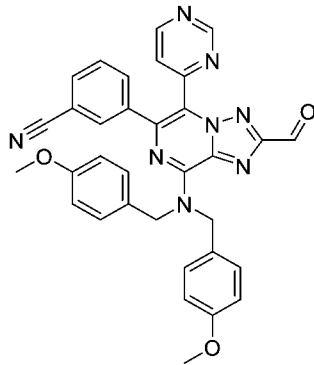
【0336】 在 0°C下，向 3-(8-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-2-乙炔基-[1,2,4]三唑并[1,5-*a*]吡嗪-6-基)苯甲腈(717 mg, 1.43 mmol)於 10 mL 二氯甲烷中之溶液中添加 1-溴吡咯啉-2,5-二酮(254 mg, 1.43 mmol)。將所得混合物攪拌 4 hr，且直接藉由矽膠管柱純化以提供期望產物(780 mg, 94%)。針對 $C_{30}H_{26}BrN_6O_2$ ($M+H$)⁺之 LC-MS 計算值： $m/z = 581.1$ ；實驗值 581.2。

步驟 7：3-(8-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-5-(吡啶-4-基)-2-乙炔基-[1,2,4]三唑并[1,5-*a*]吡嗪-6-基)苯甲腈



【0337】 將 3-(8-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-5-溴-2-乙炔基-[1,2,4]三唑并[1,5-*a*]吡嗪-6-基)苯甲腈(260 mg, 0.45 mmol)、4-(三丁基錫烷基)吡啶(215 mg, 0.58 mmol)、氯化鋰(28.4 mg, 0.67 mmol)、氯化銅(I) (67 mg, 0.67 mmol)及四(三苯基膦)鈀(0) (52 mg, 0.045 mmol)於 THF (5 mL)中之混合物在 90°C下攪拌 45 min。用水淬滅反應混合物且用二氯甲烷萃取。濃縮合併之有機層，並藉由矽膠管柱純化以提供期望產物(176 mg, 67%)。針對 $C_{34}H_{29}N_8O_2$ ($M+H$)⁺之 LC-MS 計算值： $m/z = 581.2$ ；實驗值 581.1。

步驟 8 : 3-(8-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-2-甲醯基-5-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈



【0338】 將 3-(8-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-5-(嘧啶-4-基)-2-乙炔基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈(176 mg, 0.3 mmol)、氧化鐵(VIII) (3 mg 於 0.3 mL 水中, 0.015 mmol)及過碘酸鈉(292 mg, 1.36 mmol)於 THF/水(1:1, 6 mL)中之混合物在 65°C下攪拌 1 h。將反應混合物冷卻至室溫, 且用二氯甲烷萃取。濃縮合併之有機層, 並藉由矽膠管柱純化以提供期望產物(130 mg, 74%)。針對 $C_{33}H_{27}N_8O_3$ (M+H)⁺之 LC-MS 計算值: m/z = 583.2; 實驗值 583.2。

步驟 9 : 3-(8-胺基-2-((2,6-二氟苄基)(羥基)甲基)-5-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈

【0339】 格任亞試劑(Grignard reagent)之製備: 在-10°C下, 向 1,3-二氟-2-碘苯(142 mg, 0.6 mmol)於四氫呋喃(1 mL)中之溶液中添加異丙基氯化鎂溶液(296 μ l, 2 M)。將所得混合物攪拌 1 h, 且直接用於下一步驟中。

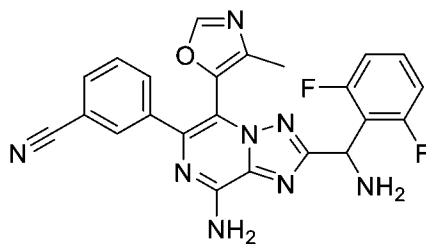
【0340】 在-10°C下, 向 3-(8-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-2-甲醯基-5-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈(120 mg, 0.2 mmol) 於 THF (2 mL)中之溶液中添加自先前步驟剛製備之格任亞試劑。將反應混合物攪拌 30 min, 用氯化銨溶液(4 mL)淬滅, 且用二氯甲烷萃取。在真空下濃縮合併之有機層。將所得材料溶解於 TFA (5 mL)中, 且在 80°C下攪拌 20 min。然後將反應混合物冷卻至室溫, 濃縮, 且藉由添加 $NaHCO_3$ 水溶液鹼化。

【0341】 藉由矽膠管柱直接純化粗材料以提供呈外消旋混合物形式之期望產物(60 mg, 64%)。然後用手性 HPLC 使用手性管柱(Phenomenex Lux 5μm Cellulose-4, 21.2x250mm)及己烷中之 75% EtOH (20 mL/min)溶劑系統分離產物。

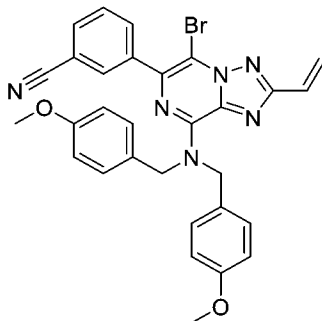
【0342】 分離峰 2，且經由製備型 LC/MS (pH = 2，乙腈/含 TFA 之水)進一步純化以獲得呈 TFA 鹽形式之期望產物。針對 C₂₃H₁₅F₂N₈O (M+H)⁺之 LC-MS 計算值：m/z = 457.1；實驗值 457.0。

【0343】 ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.14 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H), 8.95 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 7.90 (dd, *J* = 5.2, 1.4 Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.78 (dt, *J* = 7.6, 1.4 Hz, 1H), 7.74 (t, *J* = 1.4 Hz, 1H), 7.54 (dt, *J* = 7.9, 1.3 Hz, 1H), 7.51 - 7.40 (m, 2H), 7.09 (t, *J* = 8.4 Hz, 2H), 6.27 (s, 1H)。

實例 A11: 3-(8-胺基-2-(胺基(2,6-二氟苯基)甲基)-5-(4-甲基噁唑-5-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈(化合物 11)之合成



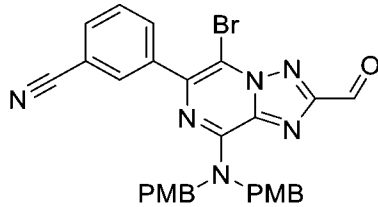
步驟 1：3-(8-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-5-溴-2-乙烯基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈



【0344】 向 3-(8-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-2-乙烯基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈(實例 A10、步驟 5；241 mg, 0.48 mmol)於 DCM (5 mL)中之溶液中添加 NBS (84.6 mg, 0.48 mmol)。然後將反應混合物在室溫下攪拌 1 h，並濃縮以

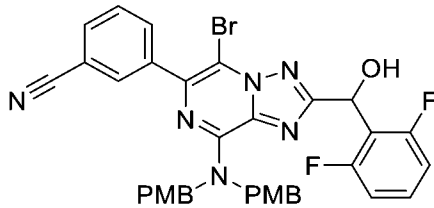
提供粗產物，其未經進一步純化即用於下一步驟中。針對 $C_{30}H_{26}BrN_6O_2 (M+H)^+$ 之 LC-MS 計算值： $m/z = 581.1$ ；實驗值 581.1。

步驟 2：3-(8-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-5-溴-2-甲醯基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈



【0345】 將 3-(8-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-5-溴-2-乙炔基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈(174 mg, 0.3 mmol)、氧化鐵(VIII) (3 mg 於 0.3 mL 水中，0.015 mmol)及過碘酸鈉(292 mg, 1.36 mmol)於 THF/水(1:1, 6 mL)中之混合物在 65°C 下攪拌 1 h。將反應混合物冷卻至室溫，且用二氯甲烷萃取。濃縮合併之有機層，並藉由矽膠管柱純化以提供期望產物。針對 $C_{29}H_{24}N_6O_3Br (M+H)^+$ 之 LC-MS 計算值： $m/z = 583.1$ ；實驗值 583.1。

步驟 3：3-(8-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-5-溴-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈

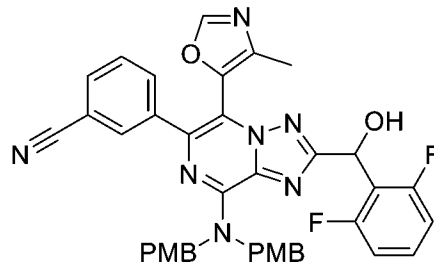


【0346】 格任亞試劑之製備：在 -10°C 下，向 1,3-二氟-2-碘苯(142 mg, 0.6 mmol)於四氫呋喃(1 mL)中之溶液中添加異丙基氯化鎂溶液(296 μ l, 2 M)。將所得混合物攪拌 1 h，且直接用於下一步驟中。

【0347】 在 -10°C 下，向 3-(8-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-5-溴-2-甲醯基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈(120 mg, 0.2 mmol) 於 THF (2 mL)中之溶液中添加自先前步驟 剛製備之格任亞試劑。將反應混合物攪拌 30 min，用氯化銨溶液(4 mL)淬滅，且用二氯甲烷萃取。在真空下濃縮合併之有機層並藉由矽膠管柱純化，以

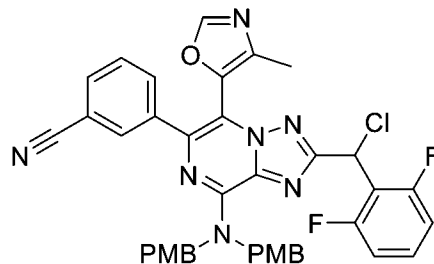
提供呈外消旋混合物形式之期望產物。針對 $C_{35}H_{28}N_6O_3BrF_2$ ($M+H$)⁺ 之 LC-MS 計算值： $m/z = 697.1$ ；實驗值 697.1。

步驟 4：3-(8-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-5-(4-甲基噁唑-5-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈



【0348】 將 3-(8-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-5-溴-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈(382 mg, 0.55 mmol)、4-甲基-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧雜硼雜環戊烷-2-基)噁唑(137 mg, 0.65 mmol)、二環己基(2',4',6'-三異丙基聯苯-2-基)膦-(2'-胺基聯苯-2-基)(氯)鈣(1:1) (17 mg, 21.6 μ mol)及 Cs_2CO_3 (356 mg, 1.09 mmol)於 1,4-二噁烷(2 mL)及水(200 μ l)中之混合物用 N_2 吹掃且在 95°C 下加熱 7 h。將混合物濃縮並經由急速層析純化以提供無色油狀期望產物。針對 $C_{39}H_{32}N_7O_4F_2$ ($M+H$)⁺ 之 LCMS 計算值：700.2；實驗值 700.2。

步驟 5：3-(8-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-2-(氯(2,6-二氟苯基)甲基)-5-(4-甲基噁唑-5-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈



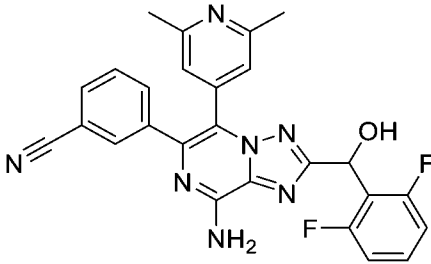
【0349】 在 rt 下，向 3-(8-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-5-(4-甲基噁唑-5-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈(201 mg, 0.29 mmol)於 2 mL 二氯甲烷中之溶液中添加亞硫醢氯(105 μ l, 1.435 mmol)。將所得混合物攪拌 4h，濃縮且未經任何進一步純化即用於下一步驟中。針對

$C_{39}H_{31}N_7O_3ClF_2$ (M+H)⁺之 LC-MS 計算值： $m/z = 718.2$ ；實驗值 718.2。

步驟 6：3-(8-胺基-2-(胺基(2,6-二氟苯基)甲基)-5-(4-甲基噁唑-5-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈

【0350】 向 3-(8-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-2-(氯(2,6-二氟苯基)甲基)-5-(4-甲基噁唑-5-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈(40 mg, 0.084 mmol)於 1 mL DMSO 中之溶液中添加氨溶液(1 mL)。將混合物利用微波條件在 100°C 下加熱 10 h，然後用水稀釋且用 EtOAc 萃取。用水及鹽水洗滌合併之有機層，經 $MgSO_4$ 乾燥，並濃縮。將所得殘餘物溶解於 TFA (1 mL) 中，且在 80°C 下攪拌 20 min。然後將反應混合物冷卻至室溫，濃縮，並藉由添加 $NaHCO_3$ 水溶液鹼化。藉由矽膠管柱直接純化粗材料，以提供呈外消旋混合物形式之期望產物。然後用手性 HPLC 使用手性管柱(AM-1)及己烷中之 45% EtOH (20 mL/min) 溶劑系統分離產物。分離峰 1，且經由製備型 LC/MS (pH = 2，乙腈/含 TFA 之水)進一步純化以獲得呈 TFA 鹽形式之期望產物。針對 $C_{23}H_{17}F_2N_8O$ (M+H)⁺之 LC-MS 計算值： $m/z = 459.1$ ；實驗值 459.0。

實例 A12：3-(8-胺基-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-5-(2,6-二甲基吡啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈(化合物 12)之合成

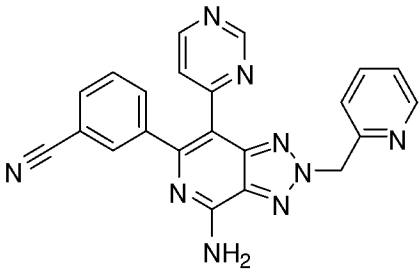


【0351】 向 3-(8-(雙(4-甲氧基苄基)胺基)-5-溴-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈 (實例 A11、步驟 3；0.518 g, 0.638 mmol)、2,6-二甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧雜硼雜環戊烷-2-基)吡啶(0.346 g, 1.48 mmol)及二環己基(2',4',6'-三異丙基聯苯-2-基)膦-(2'-胺基聯苯-2-基)(氯)鈣(1:1)

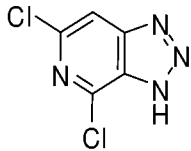
(0.058 g, 0.074 mmol)於二噁烷(3.0 mL)及水(0.60 mL)中之溶液中添加磷酸三鉀(0.472 g, 2.23 mmol)。將反應混合物在 90°C下攪拌 1 h。然後用水及 DCM 稀釋反應混合物。分離各層，用 DCM 萃取水層，且經 MgSO₄乾燥合併之有機流份，過濾並濃縮。將粗材料溶解於 TFA (5 mL)中且加熱至 80°C並保持 20 分鐘。然後將反應混合物冷卻至室溫，濃縮，且藉由添加 NaHCO₃ 水溶液鹼化。藉由矽膠管柱直接純化粗材料，以提供呈外消旋混合物形式之期望產物(257 mg, 72%)。

【0352】 然後用手性 HPLC 使用手性管柱(Phenomenex Lux 5um Cellulose-2, 21.1×250mm)及己烷中之 35% EtOH (20 mL/min)溶劑系統分離產物。分離峰 2，且使用製備型 LC/MS (pH = 2，乙腈/含 TFA 之水)進一步純化以獲得呈 TFA 鹽形式之期望產物。針對 C₂₆H₂₀F₂N₇O (M+H)⁺之 LC-MS 計算值：m/z = 484.2；實驗值 484.2。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.92 (s, 2H), 7.85 (s, 1H), 7.83 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.56 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.53 - 7.40 (m, 4H), 7.10 (t, *J* = 8.4 Hz, 2H), 6.27 (s, 1H), 2.51 (s, 6H)。

實例 A13：3-(4-胺基-2-(吡啶-2-基甲基)-7-(嘧啶-4-基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-*c*]吡啶-6-基)苯甲腈(化合物 13)之合成



步驟 1. 4,6-二氯-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-*c*]吡啶

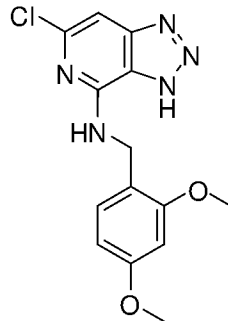


【0353】 在 0°C下，將 NaNO₂ (3.88 g, 56.2 mmol)於水(3mL)中之溶液添加至 2,6-二氯吡啶-3,4-二胺(10 g, 56 mmol)於 37%鹽酸(5 mL)中之溶液。將溶液攪拌

30 min。添加水(20 mL)且將白色沈澱過濾，用水洗滌，並乾燥以獲得期望產物。

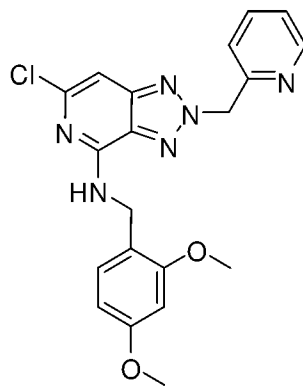
針對 $C_5H_3Cl_2N_4$ 之 LC-MS 計算值：189.0 (M+H)⁺；實驗值：189.0 (M+H)⁺。

步驟 2. 6-氯-N-(2,4-二甲氧基苄基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-4-胺



【0354】 將 4,6-二氯-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶(600 mg, 3.17 mmol)、(2,4-二甲氧基苄基)甲胺(0.53 mL, 3.49 mmol)及三乙胺(0.53 mL, 3.81 mmol)於 1,4-二噁烷(10 mL)中之混合物在 110°C 下攪拌 3 天。在矽膠管柱上直接純化提供期望產物(875 mg, 86%)。針對 $C_{14}H_{15}ClN_5O_2$ 之 LC-MS 計算值：320.1 (M+H)⁺；實驗值：320.3 (M+H)⁺。

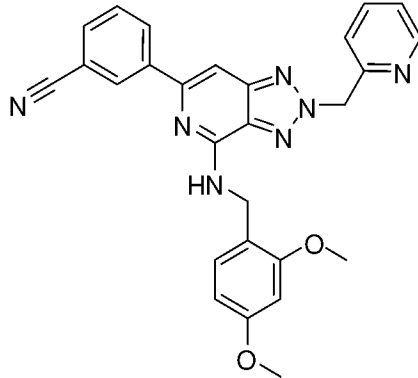
步驟 3. 6-氯-N-(2,4-二甲氧基苄基)-2-(吡啶-2-基甲基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-4-胺



【0355】 在 0°C 下，向 6-氯-N-(2,4-二甲氧基苄基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-4-胺(875 mg, 2.74 mmol)、吡啶-2-基甲醇(0.317 mL, 3.28 mmol)及三苯基膦(1436 mg, 5.47 mmol)於 DCM (20 mL)中之混合物中添加偶氮二甲酸二異丙基酯(0.647 mL, 3.28 mmol)。將所得混合物在 0°C 下攪拌 1 h。在矽膠管柱上直接純化提供期望產物(375 mg, 33.4%產率)。針對 $C_{20}H_{20}ClN_6O_2$ 之 LC-MS 計算值：411.1 (M+H)⁺；

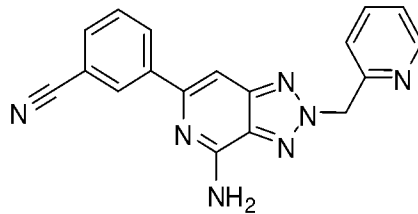
實驗值：411.2 (M+H)⁺。

步驟 4. 3-(4-((2,4-二甲氧基苄基)胺基)-2-(吡啶-2-基甲基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲腈



【0356】 向 6-氯-N-(2,4-二甲氧基苄基)-2-(吡啶-2-基甲基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-4-胺(375 mg, 0.913 mmol)及(3-氰基苯基)硼酸(268 mg, 1.825 mmol)於1,4-二噁烷(10 mL)及水(1.00 mL)中之混合物中添加碳酸銨(595 mg, 1.825 mmol)。用 N₂ 吹掃所得混合物且然後添加氯(2-二環己基膦基-2',4',6'-三異丙基-1,1'-聯苯)[2-(2'-胺基-1,1'-聯苯)]鈹(II) (71.8 mg, 0.091 mmol)。將反應混合物在微波照射下在 120°C下攪拌 90 min。用 20 mL 乙酸乙酯及 20 mL 水淬滅反應。分離有機相且用乙酸乙酯將水溶液萃取兩次。經 Na₂SO₄乾燥合併之萃取物，過濾並在減壓下蒸發。在矽膠管柱上純化殘餘物以提供期望產物(300 mg, 68.9%)。針對 C₂₇H₂₄N₇O₂之 LC-MS 計算值：478.2 (M+H)⁺；實驗值：478.3 (M+H)⁺。

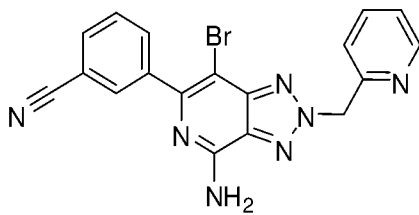
步驟 5. 3-(4-胺基-2-(吡啶-2-基甲基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲腈



【0357】 將 3-(4-((2,4-二甲氧基苄基)胺基)-2-(吡啶-2-基甲基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲腈(300.3 mg, 0.629 mmol)於 TFA (5 mL)中之溶液在 100°C下攪拌 30 min。在減壓下蒸發 TFA 且然後添加 20 mL 飽和 NaHCO₃ 水溶液及 20

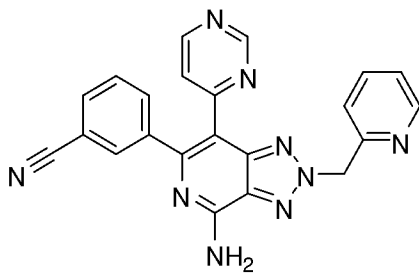
mL 乙酸乙酯。分離有機相且用乙酸乙酯將水溶液萃取兩次。經 Na_2SO_4 乾燥合併之萃取物，過濾並在減壓下蒸發。在矽膠管柱上純化殘餘物以提供期望產物 (175 mg, 85%)。針對 $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_7$ 之 LC-MS 計算值：328.1 (M+H)⁺；實驗值：328.2 (M+H)⁺。

步驟 6. 3-(4-胺基-7-溴-2-(吡啶-2-基甲基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲腈



【0358】 將 3-(4-胺基-2-(吡啶-2-基甲基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲腈(175 mg, 0.535 mmol)及 1-溴吡咯啉-2,5-二酮(100 mg, 0.561 mmol)於 THF (10 mL)中之混合物在 0°C 下攪拌 30 min 且然後用飽和 NaHCO_3 水溶液淬滅。分離有機相，經 Na_2SO_4 乾燥，過濾並在減壓下蒸發。在矽膠管柱上純化所得殘餘物以提供期望產物(135 mg, 62.2%)。針對 $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{BrN}_7$ 之 LC-MS 計算值：406.0 (M+H)⁺ 及 408.0 (M+H)⁺；實驗值：406.1 (M+H)⁺ 及 408.2 (M+H)⁺。

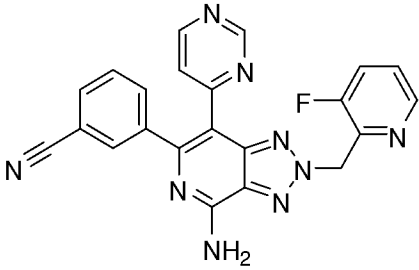
步驟 7. 3-(4-胺基-2-(吡啶-2-基甲基)-7-(嘧啶-4-基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲腈



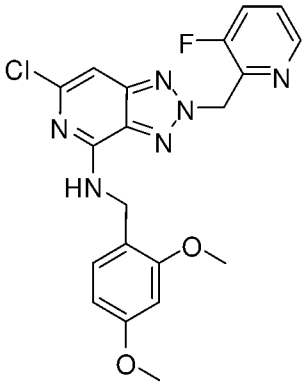
【0359】 將 3-(4-胺基-7-溴-2-(吡啶-2-基甲基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲腈(182 mg, 0.448 mmol)、4-(三丁基錫烷基)嘧啶(496 mg, 1.344 mmol)及氯化銅(I) (53.2 mg, 0.538 mmol)、氯化鋰(22.79 mg, 0.538 mmol)及四(三苯基膦)鈰(0) (51.8 mg, 0.045 mmol)於 THF (1 ml)中之混合物首先用 N_2 吹掃，且然後在

90°C下加熱並攪拌 2 h。用甲醇稀釋反應物並用製備型 LCMS (pH=2)純化以獲得期望產物。針對 C₂₂H₁₆N₉之 LC-MS 計算值:406.2 (M+H)⁺;實驗值:406.2 (M+H)⁺。

實例 A14 3-(4-胺基-2-((3-氟吡啶-2-基)甲基)-7-(嘧啶-4-基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲腈(化合物 14)之合成

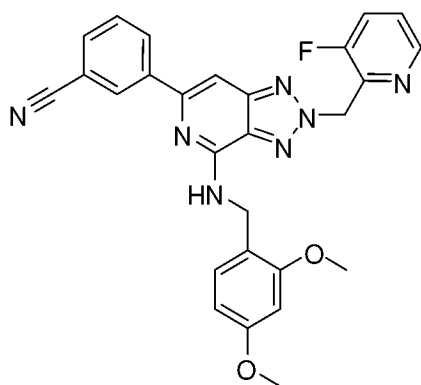


步驟 1. 6-氯-N-(2,4-二甲氧基苄基)-2-((3-氟吡啶-2-基)甲基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-4-胺



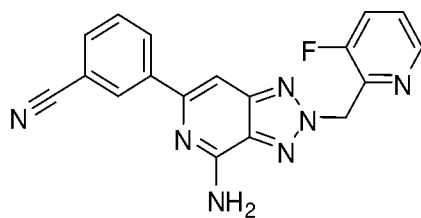
【0360】 在 0°C下，向 6-氯-N-(2,4-二甲氧基苄基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-4-胺(實例 A13、步驟 2；1000 mg, 3.13 mmol)、(3-氟吡啶-2-基)甲醇(477 mg, 3.75 mmol)及三苯基膦(1641 mg, 6.25 mmol)於 DCM (1.7 mL)中之混合物中添加偶氮二甲酸二異丙基酯(739 μ l, 3.75 mmol)。將反應混合物在 0°C下攪拌 1h。在矽膠管柱上直接純化提供期望產物(433 mg, 32%)。針對 C₂₀H₁₉ClFN₆O₂之 LC-MS 計算值：429.1 (M+H)⁺；實驗值：429.3 (M+H)⁺。

步驟 2. 3-(4-((2,4-二甲氧基苄基)胺基)-2-((3-氟吡啶-2-基)甲基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲腈



【0361】 將碳酸鉀(658 mg, 2.019 mmol)添加至 6-氯-N-(2,4-二甲氧基苄基)-2-((3-氟吡啶-2-基)甲基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-4-胺(433 mg, 1.010 mmol)及(3-氰基苯基)硼酸(297 mg, 2.019 mmol)於 1,4-二噁烷(10.0 mL)及水(1.0 mL)中之混合物。向所得混合物充 N₂ 2 min 且添加(SP-4-4)-[2'-胺基[1,1'-聯苯]-2-基]氯[二環己基[2',4',6'-叁(1-甲基乙基)[1,1'-聯苯]-2-基]膦]鉀(79 mg, 0.101 mmol)。將反應混合物在微波照射下在 120°C下攪拌 1.5 h。用 20 mL 乙酸乙酯及 20 mL 水淬滅反應。分離有機相且用乙酸乙酯將水溶液萃取兩次。經 Na₂SO₄ 乾燥合併之萃取物，過濾並在減壓下蒸發。在矽膠管柱上純化殘餘物以提供期望產物(357 mg, 71%)。針對 C₂₇H₂₃FN₇O₂ 之 LC-MS 計算值：496.2 (M+H)⁺；實驗值：496.3 (M+H)⁺。

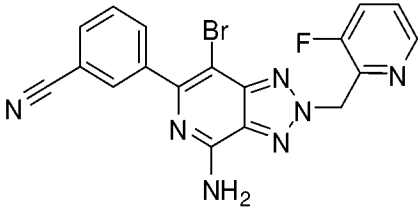
步驟 3. 3-(4-胺基-2-((3-氟吡啶-2-基)甲基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲腈



【0362】 將 3-(4-((2,4-二甲氧基苄基)胺基)-2-((3-氟吡啶-2-基)甲基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲腈(357.3 mg, 0.721 mmol)於 TFA (5 mL)中之溶液在 100°C下攪拌 1h。在減壓下蒸發 TFA 且然後添加 20 mL 飽和 NaHCO₃ 水溶液及 20 mL 乙酸乙酯。分離有機相且用乙酸乙酯將水溶液萃取兩次。經 Na₂SO₄ 乾燥合併之萃取物，過濾並在減壓下蒸發。在矽膠管柱上純化殘餘物以提供期望產物

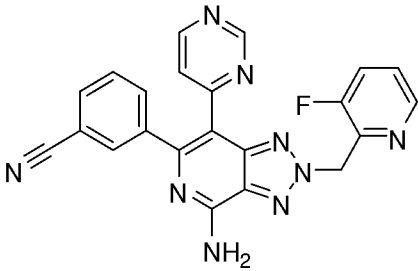
(213 mg, 61%)。針對 $C_{18}H_{13}FN_7$ 之 LC-MS m/z 計算值：346.1 (M+H)⁺；實驗值：346.3 (M+H)⁺。

步驟 4. 3-(4-胺基-7-溴-2-((3-氟吡啶-2-基)甲基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲腈



【0363】 將 3-(4-胺基-2-((3-氟吡啶-2-基)甲基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲腈(213 mg, 0.617 mmol)及 1-溴吡咯啉-2,5-二酮(220 mg, 1.234 mmol)於 THF (5 mL)中之混合物在 0°C下攪拌 1h。在矽膠上直接純化提供期望產物(175 mg, 67%)。針對 $C_{18}H_{12}BrFN_7$ 之 LC-MS 計算值：424.0 (M+H)⁺及 426.0 (M+H)⁺；實驗值：424.3 (M+H)⁺及 426.3 (M+H)⁺。

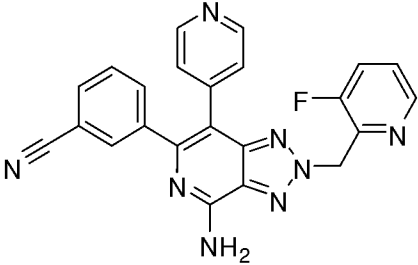
步驟 5. 3-(4-胺基-2-((3-氟吡啶-2-基)甲基)-7-(嘧啶-4-基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲腈



【0364】 將 3-(4-胺基-7-溴-2-((3-氟吡啶-2-基)甲基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲腈(220 mg, 0.519 mmol)、4-(三丁基錫烷基)嘧啶(383 mg, 1.037 mmol)及氯化銅(I) (61.6 mg, 0.622 mmol)、氯化鋰(26.4 mg, 0.622 mmol)及四(三苯基膦)鈀(0) (59.9 mg, 0.052 mmol)於 THF (1 mL)中之混合物首先用 N_2 吹掃，且然後在 90°C下加熱並攪拌 2 h。用甲醇稀釋反應物並用製備型 LCMS (pH=2)純化以獲得期望產物。針對 $C_{22}H_{15}FN_9$ 之 LC-MS 計算值：424.1 (M+H)⁺；實驗值：424.3 (M+H)⁺。¹H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) ppm 8.98 (s, 1H), 8.77 (d, J = 5.02 Hz, 1H),

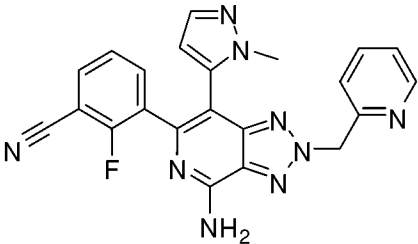
8.38 (dd, $J_1 = 4.60$ Hz, $J_2 = 1.32$ Hz, 1H), 7.90-8.30 (bs, 2H), 7.76-7.89 (m, 3H), 7.66 (dd, $J_1 = 5.25$ Hz, $J_2 = 1.25$ Hz, 1H), 7.45-7.58 (m, 3H), 6.25 (s, 2H)。

實例 A15 3-(4-胺基-2-((3-氟吡啶-2-基)甲基)-7-(吡啶-4-基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲腈(化合物 15)之合成

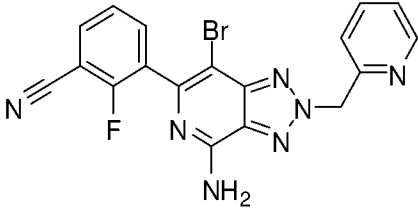


【0365】 將碳酸銨(46.1 mg, 0.141 mmol)添加至 3-(4-胺基-7-溴-2-((3-氟吡啶-2-基)甲基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲腈(30 mg, 0.071 mmol)及吡啶-4-基硼酸(17.38 mg, 0.141 mmol)於 1,4-二噁烷(2 mL)及水(0.2 mL)中之混合物。向所得混合物充 N_2 2 min 且添加氯(2-二環己基膦基-2',4',6'-三異丙基-1,1'-聯苯)[2-(2'-胺基-1,1'-聯苯)]鈣(II) (5.56 mg, 7.07 μ mol)。將反應混合物在微波照射下在 120°C 下攪拌 1.5 h。用甲醇稀釋反應混合物。在製備型 HPLC 上直接純化提供期望產物。針對 $C_{23}H_{16}FN_8$ 之 LC-MS 計算值：423.1 (M+H)⁺；實驗值：423.3 (M+H)⁺。

實例 A16：3-(4-胺基-7-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-(吡啶-2-基甲基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)-2-氟苯甲腈(化合物 16)之合成

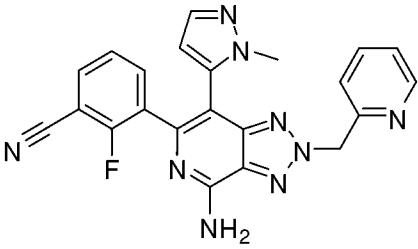


步驟 1. 3-(4-胺基-7-溴-2-(吡啶-2-基甲基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)-2-氟苯甲腈



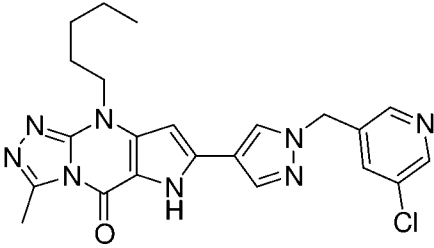
【0366】 此化合物係藉由遵循與實例 A13、步驟 1 至步驟 6 相似之程序、在步驟 4 中用(3-氰基-2-氟苯基)硼酸替代(3-氰基苯基)硼酸來製備。針對 $C_{18}H_{12}BrFN_7$ 之 LC-MS 計算值：424.0 (M+H)⁺及 426.0 (M+H)⁺；實驗值：424.3 (M+H)⁺及 426.3 (M+H)⁺。

步驟 2. 3-(4-胺基-7-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-(吡啶-2-基甲基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)-2-氟苯甲腈

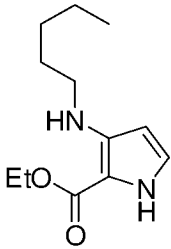


【0367】 此化合物係藉由遵循與實例 A15 中相似之程序、用(1-甲基-1H-吡唑-5-基)硼酸替代吡啶-4-基硼酸且用 3-(4-胺基-7-溴-2-(吡啶-2-基甲基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)-2-氟苯甲腈替代 3-(4-胺基-7-溴-2-((3-氟吡啶-2-基)甲基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲腈來製備。針對 $C_{22}H_{17}FN_9$ 之 LC-MS 計算值：426.2 (M+H)⁺；實驗值：426.3 (M+H)⁺。

實例 A17: 7-(1-((5-氯吡啶-3-基)甲基)-1H-吡唑-4-基)-3-甲基-9-戊基-6,9-二氫-5H-吡咯并[3,2-d][1,2,4]三唑并[4,3-a]嘧啶-5-酮(化合物 17)之合成

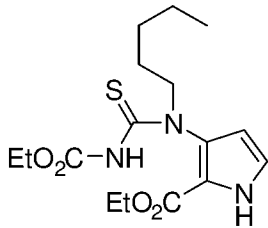


步驟 1：3-(戊基氨基)-1H-吡咯-2-甲酸乙酯



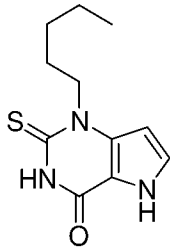
【0368】 在室溫下，將 3-胺基-1*H*-吡咯-2-甲酸乙酯(5 g, 32.4 mmol)、戊醛(3.79 ml, 35.7 mmol)及氰基硼氫化鈉(2.038 g, 32.4 mmol)在甲醇(64.9 ml)中混合過夜。在減壓下濃縮反應混合物。藉由急速層析(己烷中之 0 至 100% EtOAc)純化粗殘餘物以獲得期望產物(4.4 g, 61%)。針對 $C_{12}H_{21}N_2O_2$ (M+H)-之 LCMS 計算值：225.2。實驗值：225.1

步驟 2：3-(3-(乙氧基羰基)-1-戊基硫脲基)-1*H*-吡咯-2-甲酸乙酯



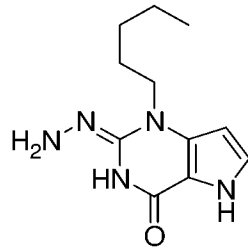
【0369】 向瓶中裝填 3-(戊基胺基)-1*H*-吡咯-2-甲酸乙酯(4.4 g, 19.62 mmol)、二氯甲烷(39.2 ml)及異硫氰酸乙氧羰酯(2.78 ml, 23.54 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌過夜。用水(40 ml)淬滅反應混合物，且分離各層。用二氯甲烷(3 × 40 mL)萃取水層且經 $MgSO_4$ 乾燥合併之有機流份，過濾，並濃縮。粗材料未經進一步純化即用於下一步驟中(7.3 g，定量)。針對 $C_{16}H_{26}N_3O_4S$ (M+H)-之 LCMS 計算值：356.2。實驗值：356.1。

步驟 3：1-戊基-2-硫脲-2,3-二氫-1*H*-吡咯并[3,2-*d*]嘧啶-4(5*H*)-酮



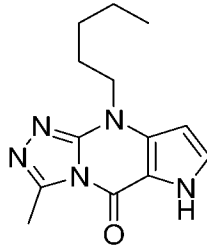
【0370】 向微波瓶中裝填 3-(3-(乙氧基羰基)-1-戊基硫脲基)-1*H*-吡咯-2-甲酸乙酯(7.31 g, 20.57 mmol)及乙醇鈉(21% w/w, 8.45 ml, 22.62 mmol)溶液。蓋上瓶蓋且在微波反應器中在 120°C 下加熱 10 分鐘。藉由添加 1M HCl 溶液使反應混合物達到中性 pH 且過濾並乾燥固體產物(3.1 g, 64%)。針對 $C_{11}H_{16}N_3OS$ (M+H)-之 LCMS 計算值：238.1。實驗值：238.1。

步驟 4：2-亞胼基-1-戊基-2,3-二氫-1*H*-吡咯并[3,2-*d*]嘧啶-4(5*H*)-酮



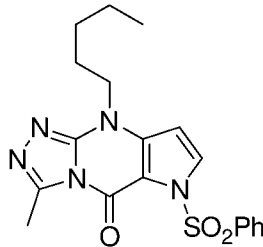
【0371】 向瓶中裝填 1-戊基-2-硫酮-2,3-二氫-1*H*-吡咯并[3,2-*d*]嘧啶-4(5*H*)-酮 (3.13 g, 13.19 mmol) 及胼水合物 (20 mL)。將反應混合物在 100°C 下攪拌過夜。過濾所形成之固體且用水洗滌以獲得期望產物 (2.2 g, 70%)。針對 $C_{11}H_{18}N_5O$ ($M+H$) 之 LCMS 計算值：236.1。實驗值：236.1。

步驟 5：3-甲基-9-戊基-6,9-二氫-5*H*-吡咯并[3,2-*d*][1,2,4]三唑并[4,3-*a*]嘧啶-5-酮



【0372】 向瓶中裝填 (*E*)-2-亞胼基-1-戊基-2,3-二氫-1*H*-吡咯并[3,2-*d*]嘧啶-4(5*H*)-酮 (4.8 g, 20.40 mmol)、一滴三氟乙酸及原乙酸三乙酯 (20 mL)。將反應混合物加熱至 110°C 並保持 3 小時。將懸浮液過濾，用己烷洗滌，並乾燥 (4.0 g, 76%)。針對 $C_{13}H_{18}N_5O$ ($M+H$) 之 LCMS 計算值：260.1。實驗值：260.2。

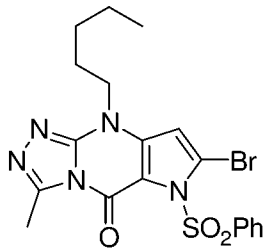
步驟 6：3-甲基-9-戊基-6-(苯基磺醯基)-6,9-二氫-5*H*-吡咯并[3,2-*d*][1,2,4]三唑并[4,3-*a*]嘧啶-5-酮



【0373】 向瓶中裝填 3-甲基-9-戊基-6,9-二氫-5*H*-吡咯并[3,2-*d*][1,2,4]三唑并[4,3-*a*]嘧啶-5-酮 (來自步驟 1) (4 g, 15.43 mmol)、二氯甲烷 (40 mL)、二甲基胺基

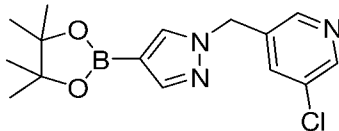
吡啶(0.188 g, 1.543 mmol)、三乙胺(3.23 ml, 23.14 mmol)及苯磺醯氯(2.187 ml, 16.97 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌 1 小時。用水淬滅反應混合物，且分離各層。用二氯甲烷(3 × 40 mL)萃取水層且經 MgSO₄ 乾燥合併之有機流份，過濾，並濃縮。粗材料未經進一步純化即用於下一步驟中(6.1 g，定量)。針對 C₁₉H₂₂N₅O₃S (M+H)之 LCMS 計算值：400.1。實驗值：400.1。

步驟 7：7-溴-3-甲基-9-戊基-6-(苯基磺醯基)-6,9-二氫-5H-吡咯并[3,2-d][1,2,4]三唑并[4,3-a]嘧啶-5-酮



【0374】向瓶中裝填 3-甲基-9-戊基-6-(苯基磺醯基)-6,9-二氫-5H-吡咯并[3,2-d][1,2,4]三唑并[4,3-a]嘧啶-5-酮(1 g, 2.503 mmol)、無水 THF (30 mL)且將混合物冷卻至-78°C。逐滴添加二異丙基胺化鋰溶液(1M 於己烷/THF 中，3.13 ml, 3.13 mmol)。將反應混合物在-78°C下維持 1.5 小時。將 1,2-二溴-1,1,2,2-四氯乙烷(1.223 g, 3.75 mmol)於無水 THF (3 mL)中之溶液逐滴添加至反應混合物且將反應混合物在-78°C下再維持 1.5 小時。用飽和 NH₄Cl 水溶液(30 mL)淬滅反應混合物且用二氯甲烷(30 mL)稀釋。分離各層且用 DCM (3 × 30 mL)萃取水層。經 MgSO₄ 乾燥合併之有機流份，過濾，並濃縮。藉由自動急速層析(DCM 中之 0 至 100% EtOAc)純化粗殘餘物以獲得期望產物(0.84 g, 70%)。針對 C₁₉H₂₁BrN₅O₃S (M+H)之 LCMS 計算值：478.1。實驗值：478.1。

步驟 8：3-氯-5-((4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧雜硼雜環戊烷-2-基)-1H-吡唑-1-基)甲基)吡啶

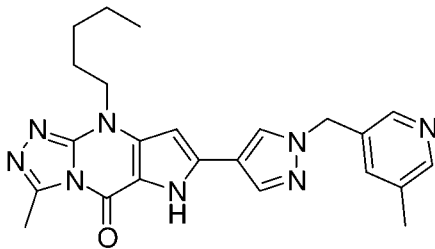


【0375】 向瓶中裝填 4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧雜硼雜環戊烷-2-基)-1*H*-吡啶(0.5 g, 2.58 mmol)、3-(溴甲基)-5-氯吡啶氫溴酸鹽(0.741 g, 2.58 mmol)、碳酸鉀(2.52 g, 7.73 mmol)及 DMF (6.44 ml)。將反應混合物在 60°C 下攪拌 1 小時。用水(10 ml)淬滅反應混合物且用二氯甲烷(10 ml)稀釋。分離各層，且用二氯甲烷(3 × 10 mL)萃取水層。經 MgSO₄ 乾燥合併之二氯甲烷萃取物，過濾，並濃縮。藉由自動急速層析(DCM 中之 0 至 100% EtOAc)純化提供產物(0.548 g, 67%)。針對 C₁₅H₂₀BClN₃O₂ (M+H)之 LCMS 計算值：320.1、322.1。實驗值：320.1、322.1。

步驟 9：7-(1-((5-氯吡啶-3-基)甲基)-1*H*-吡啶-4-基)-3-甲基-9-戊基-6,9-二氫-5*H*-吡咯并[3,2-*d*][1,2,4]三唑并[4,3-*a*]嘧啶-5-酮

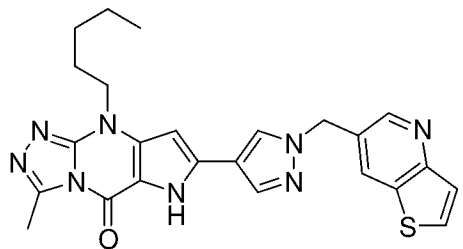
【0376】 向瓶中裝填 7-溴-3-甲基-9-戊基-6-(苯基磺醯基)-6,9-二氫-5*H*-吡咯并[3,2-*d*][1,2,4]三唑并[4,3-*a*]嘧啶-5-酮(0.01 g, 0.021 mmol)、3-氯-5-((4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧雜硼雜環戊烷-2-基)-1*H*-吡啶-1-基)甲基)吡啶(0.013 g, 0.042 mmol)、氯(2-二環己基膦基-2',4',6'-三異丙基-1,1'-聯苯)[2-(2'-胺基-1,1'-聯苯)]鈣(II) (5.00 mg, 0.006 mmol)及磷酸三鉀(0.016 g, 0.074 mmol)。添加 1,4-二噁烷(0.35 ml)及水(0.07 ml)並向反應混合物充氮氣 5 分鐘，然後在 90°C 下攪拌 2 小時。將反應混合物冷卻至室溫且添加氫氧化鈉(10 mg)。將反應混合物在 40°C 下攪拌 60 分鐘。將反應混合物冷卻至室溫且用 DMF (5 ml)稀釋。藉由製備型 HPLC (pH 2，乙腈/含 TFA 之水)純化提供呈 TFA 鹽形式之產物(2 mg, 21%)。針對 C₂₂H₂₄ClN₈O (M+H)之 LCMS 計算值：451.2、453.2。實驗值：451.2、453.2。

實例 A18：3-甲基-7-(1-((5-甲基吡啶-3-基)甲基)-1*H*-吡啶-4-基)-9-戊基-6,9-二氫-5*H*-吡咯并[3,2-*d*][1,2,4]三唑并[4,3-*a*]嘧啶-5-酮(化合物 18)之合成



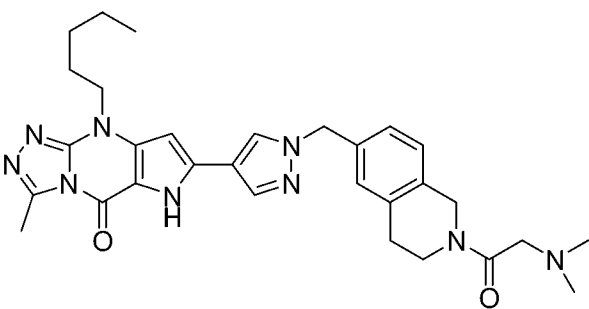
【0377】 此化合物係使用與實例 A17 中所述相似之程序、在步驟 8 中使用 3-(溴甲基)-5-甲基吡啶替代 3-(溴甲基)-5-氯吡啶氫溴酸鹽來製備。針對 $C_{23}H_{27}N_8O$ (M+H)之 LCMS 計算值：431.2。實驗值：431.3。

實例 A19：3-甲基-9-戊基-7-(1-(噻吩并[3,2-b]吡啶-6-基甲基)-1H-吡啶-4-基)-6,9-二氫-5H-吡咯并[3,2-d][1,2,4]三唑并[4,3-a]嘧啶-5-酮(化合物 19)之合成

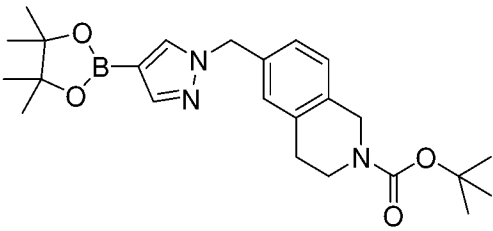


【0378】 此化合物係使用與實例 A17 中所述相似之程序、在步驟 8 中使用 6-(溴甲基)噻吩并[3,2-b]吡啶替代 3-(溴甲基)-5-氯吡啶氫溴酸鹽來製備。針對 $C_{24}H_{25}N_8OS$ (M+H)之 LCMS 計算值：473.2。實驗值：473.3。

實例 A20：7-(1-((2-(2-(二甲基氨基)乙醯基)-1,2,3,4-四氫異喹啉-6-基)甲基)-1H-吡啶-4-基)-3-甲基-9-戊基-6,9-二氫-5H-吡咯并[3,2-d][1,2,4]三唑并[4,3-a]嘧啶-5-酮(化合物 20)



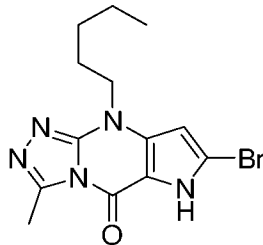
步驟 1：6-((4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧雜硼雜環戊烷-2-基)-1H-吡啶-1-基)甲基)-3,4-二氫異喹啉-2(1H)-甲酸第三丁基酯



【0379】 向燒瓶中裝填 4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧雜硼雜環戊烷-2-基)-1H-

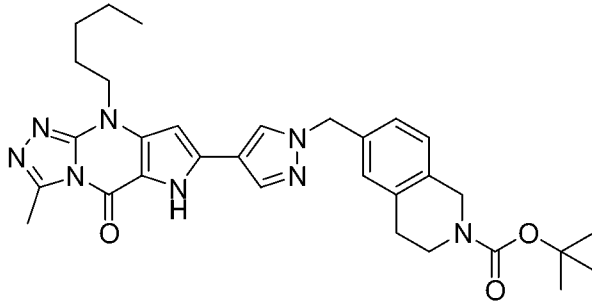
吡唑(.5 g, 2.58 mmol)、6-(羥基甲基)-3,4-二氫異喹啉-2(1*H*)-甲酸第三丁基酯(0.339 g, 1.288 mmol)、三苯基磷(0.743 g, 2.83 mmol)及 THF (12 ml)。將溶液冷卻至 0°C 且逐滴添加 DIAD (0.601 ml, 3.09 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌過夜。用乙酸乙酯稀釋混合物且用水洗滌，乾燥並濃縮。藉由管柱層析純化產物，用己烷/EtOAc (最大 EtOAc 60%)溶析以提供產物。針對 $C_{24}H_{35}BN_3O_4$ ($M+H$)⁺之 LCMS 計算值： $m/z = 440.3$ ；實驗值 440.3。

步驟 2：7-溴-3-甲基-9-戊基-6,9-二氫-5*H*-吡咯并[3,2-*d*][1,2,4]三唑并[4,3-*a*]嘧啶-5-酮



【0380】 將 TBAF (1.0 M 於 THF 中) (2.0 ml, 2.0 mmol)添加至 7-溴-3-甲基-9-戊基-6-(苯基磺醯基)-6,9-二氫-5*H*-吡咯并[3,2-*d*][1,2,4]三唑并[4,3-*a*]嘧啶-5-酮 (0.360 g, 0.753 mmol)於 THF (4.0 ml)中之溶液，且然後將反應物在 50°C下攪拌 1 h。去除溶劑且藉由管柱層析純化產物，用 CH_2Cl_2 /MeOH (最大 MeOH 10%)溶析。針對 $C_{13}H_{17}BrN_5O$ ($M+H$)⁺之 LCMS 計算值： $m/z = 338.1$ ；實驗值 338.1。

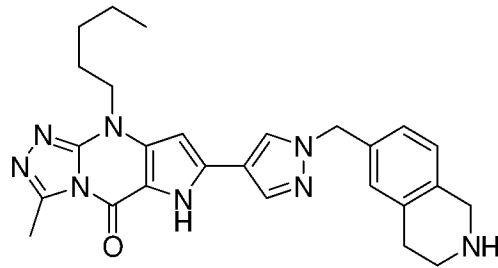
步驟 3：6-((4-(3-甲基-5-側氧基-9-戊基-6,9-二氫-5*H*-吡咯并[3,2-*d*][1,2,4]三唑并[4,3-*a*]嘧啶-7-基)-1*H*-吡唑-1-基)甲基)-3,4-二氫異喹啉-2(1*H*)-甲酸第三丁基酯



【0381】 將 7-溴-3-甲基-9-戊基-6,9-二氫-5*H*-吡咯并[3,2-*d*][1,2,4]三唑并[4,3-*a*]嘧啶-5-酮(來自實例 A20，步驟 2) (0.040 g, 0.118 mmol)、6-((4-(4,4,5,5-四甲基-

1,3,2-二氧雜硼雜環戊烷-2-基)-1*H*-吡啶-1-基)甲基)-3,4-二氫異喹啉-2(1*H*)-甲酸第三丁基酯(0.062 g, 0.142 mmol)、二氯[1,1'-雙(二環己基膦基)二茂鐵]鈀(II)二氯甲烷加合物(Pd-127) (8.94 mg, 0.012 mmol)及氟化鈾(0.090 g, 0.591 mmol)於 *t*-BuOH (1.5 ml)/水(0.6 ml)中之混合物抽真空且用 N₂ 替代 3 次。然後將反應物在 105°C 下攪拌 2 h，冷卻至 rt，用乙酸乙酯稀釋，用水洗滌，乾燥並濃縮。藉由管柱純化產物，用 CH₂Cl₂/MeOH (最大 MeOH 10%) 溶析。針對 C₃₁H₃₉N₈O₃ (M+H)⁺ 之 LCMS 計算值：m/z = 571.3；實驗值 571.5。

步驟 4：3-甲基-9-戊基-7-(1-((1,2,3,4-四氫異喹啉-6-基)甲基)-1*H*-吡啶-4-基)-6,9-二氫-5*H*-吡咯并[3,2-*d*][1,2,4]三唑并[4,3-*a*]嘧啶-5-酮



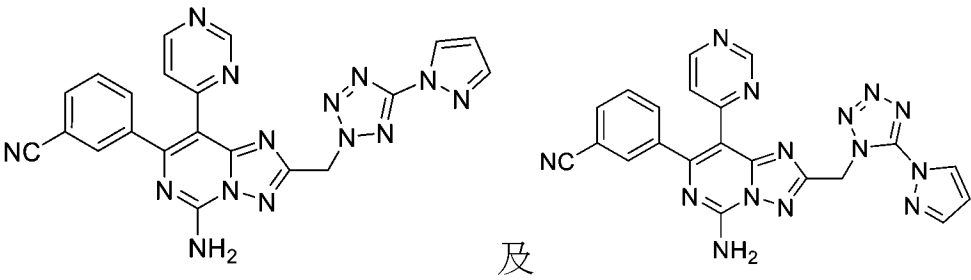
【0382】 將 TFA (0.5 ml, 6.49 mmol) 添加至 6-((4-(3-甲基-5-側氧基-9-戊基-6,9-二氫-5*H*-吡咯并[3,2-*d*][1,2,4]三唑并[4,3-*a*]嘧啶-7-基)-1*H*-吡啶-1-基)甲基)-3,4-二氫異喹啉-2(1*H*)-甲酸第三丁基酯(50.0 mg, 0.088 mmol)於 CH₂Cl₂ (0.5 ml) 中之溶液，且然後將反應物在室溫下攪拌 30 min。然後去除溶劑以提供呈 TFA 鹽形式之粗產物。針對 C₂₆H₃₁N₈O (M+H)⁺ 之 LCMS 計算值：m/z = 471.3；實驗值 471.2。

步驟 5：7-(1-((2-(2-(二甲基胺基)乙醯基)-1,2,3,4-四氫異喹啉-6-基)甲基)-1*H*-吡啶-4-基)-3-甲基-9-戊基-6,9-二氫-5*H*-吡咯并[3,2-*d*][1,2,4]三唑并[4,3-*a*]嘧啶-5-酮

【0383】 在室溫下，將二甲基甘胺鹽(3.10 mg, 0.026 mmol)添加至 3-甲基-9-戊基-7-(1-((1,2,3,4-四氫異喹啉-6-基)甲基)-1*H*-吡啶-4-基)-6,9-二氫-5*H*-吡咯并[3,2-*d*][1,2,4]三唑并[4,3-*a*]嘧啶-5-酮(6.0 mg, 0.013 mmol)及三乙胺(8.89 μl, 0.064 mmol)於 CH₂Cl₂ (0.8 ml) 中之溶液且攪拌 30 min。去除溶劑，且用乙腈/水稀釋混

合物並藉由製備型 HPLC (pH 2, 乙腈/含 TFA 之水)純化以提供呈其 TFA 鹽形式之期望化合物。針對 $C_{30}H_{38}N_9O_2$ ($M+H$)⁺之 LC-MS 計算值： $m/z = 556.3$ ；實驗值 556.3。

實例 A21. 3-(2-((5-(1H-吡唑-1-基)-2H-四唑-2-基)甲基)-5-胺基-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈(化合物 21A)及 3-(2-((5-(1H-吡唑-1-基)-1H-四唑-1-基)甲基)-5-胺基-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈(化合物 21B)



【0384】 標題化合物之混合物係使用與針對實例 A3 所述相似之程序、用 5-(1H-吡唑-1-基)-1H-四唑替代 2-(1H-四唑-5-基)吡啶來製備。藉由製備型 LC-MS (pH 2, 乙腈/含 TFA 之水)來純化化合物 21A, 以提供呈 TFA 鹽形式之產物。針對 $C_{21}H_{15}N_{14}$ ($M+H$)⁺之 LCMS 計算值：463.2；實驗值 463.2。

【0385】 除本文所述之彼等修改外，熟習此項技術者根據前述描述將明了本發明之多種修改。該等修改亦意欲屬於所附申請專利範圍之範圍內。本申請案中所引用之每一參考文獻(包括所有專利、專利申請案及公開案)之全文皆以引用方式併入本文中。

【序列表】

<110> 美商英塞特公司(INCYTE CORPORATION)

<120> 包含A2A/A2B及PD-1/PD-L1抑制劑之組合療法

<130> 20443-0660TW1

<140> TW 109146917

<141> 2020-12-30

<150> 62/956,960

<151> 2020-01-03

<160> 11

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 288

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 1

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln

1 5 10 15

Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp

20 25 30

Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp

35 40 45

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val

50 55 60

Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala

65 70 75 80

Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg

85 90 95

Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg

100										105										110											
Ala	Arg	Arg	Asn	Asp	Ser	Gly	Thr	Tyr	Leu	Cys	Gly	Ala	Ile	Ser	Leu																
115										120										125											
Ala	Pro	Lys	Ala	Gln	Ile	Lys	Glu	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Leu	Arg	Val																
130										135										140											
Thr	Glu	Arg	Arg	Ala	Glu	Val	Pro	Thr	Ala	His	Pro	Ser	Pro	Ser	Pro																
145										150										155										160	
Arg	Pro	Ala	Gly	Gln	Phe	Gln	Thr	Leu	Val	Val	Gly	Val	Val	Gly	Gly																
										165										170								175			
Leu	Leu	Gly	Ser	Leu	Val	Leu	Leu	Val	Trp	Val	Leu	Ala	Val	Ile	Cys																
180										185										190											
Ser	Arg	Ala	Ala	Arg	Gly	Thr	Ile	Gly	Ala	Arg	Arg	Thr	Gly	Gln	Pro																
195										200										205											
Leu	Lys	Glu	Asp	Pro	Ser	Ala	Val	Pro	Val	Phe	Ser	Val	Asp	Tyr	Gly																
210										215										220											
Glu	Leu	Asp	Phe	Gln	Trp	Arg	Glu	Lys	Thr	Pro	Glu	Pro	Pro	Val	Pro																
225										230										235								240			
Cys	Val	Pro	Glu	Gln	Thr	Glu	Tyr	Ala	Thr	Ile	Val	Phe	Pro	Ser	Gly																
										245										250								255			
Met	Gly	Thr	Ser	Ser	Pro	Ala	Arg	Arg	Gly	Ser	Ala	Asp	Gly	Pro	Arg																
260										265										270											
Ser	Ala	Gln	Pro	Leu	Arg	Pro	Glu	Asp	Gly	His	Cys	Ser	Trp	Pro	Leu																
275										280										285											

<210> 2
<211> 445
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 2

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Val Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Trp Leu Asp Gln Lys Phe
 50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Glu His Tyr Gly Thr Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
 130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
435 440 445

<210> 3
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 3
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr
20 25 30

Gly Met Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile His Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ser
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Lys
85 90 95

Glu Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 4
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 4
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Val Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Trp Leu Asp Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu His Tyr Gly Thr Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 5
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 5
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr
20 25 30

Gly Met Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile His Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ser
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Lys
85 90 95

Glu Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210>	6
<211>	5
<212>	PRT
<213>	人工序列(Artificial Sequence)

<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 6
Ser Tyr Trp Met Asn
1 5

<210> 7
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 7
Val Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Trp Leu Asp Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Asp

<210> 8
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 8

Glu His Tyr Gly Thr Ser Pro Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 9
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 9
Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly Met Ser Phe Met Asn Trp
1 5 10 15

<210> 10
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 10
Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser
1 5

<210> 11
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

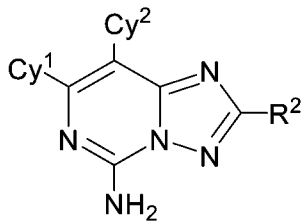
<400> 11
Gln Gln Ser Lys Glu Val Pro Tyr Thr
1 5

【發明申請專利範圍】

【請求項 1】 一種治療個體癌症之方法，其包括向該個體投與：

- (i) A2A/A2B 抑制劑；及
- (ii) PD-1/PD-L1 抑制劑。

【請求項 2】 如請求項 1 之方法，其中該 A2A/A2B 抑制劑係式(I)化合物：



(I)，

或其醫藥學上可接受之鹽，其中

Cy¹ 係苯基，其經 1 或 2 個獨立地選自鹵基及 CN 之取代基取代；

Cy² 係 5-6 員雜芳基或 4-7 員雜環烷基，其中 Cy² 之該 5-6 員雜芳基或該 4-7 員雜環烷基各自視情況經 1 個、2 個或 3 個各自獨立地選自以下之基團取代：C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 烷氧基、NH₂、NH(C₁₋₃ 烷基)及 N(C₁₋₃ 烷基)₂；

R² 係選自苯基-C₁₋₃ 烷基-、C₃₋₇ 環烷基-C₁₋₃ 烷基-、(5-7 員雜芳基)-C₁₋₃ 烷基-、(4-7 員雜環烷基)-C₁₋₃ 烷基-及 OR^{a2}，其中 R² 之該苯基-C₁₋₃ 烷基-、該 C₃₋₇ 環烷基-C₁₋₃ 烷基-、該(5-7 員雜芳基)-C₁₋₃ 烷基-及該(4-7 員雜環烷基)-C₁₋₃ 烷基-各自視情況經 1 個、2 個或 3 個經獨立選擇之 R^c 取代基取代；

R^{a2} 係(5-7 員雜芳基)-C₁₋₃ 烷基，其視情況經 1 或 2 個經獨立選擇之 R^c 取代基取代；

每一 R^c 係獨立地選自鹵基、C₁₋₆ 烷基、C₆ 芳基、5-7 員雜芳基、(4-7 員雜環烷基)-C₁₋₃ 烷基-、OR^{a4} 及 NR^{c4}R^{d4}；且

每一 R^{a4}、R^{c4} 及 R^{d4} 係獨立地選自 H 及 C₁₋₆ 烷基。

【請求項 3】 如請求項 1 或 2 之方法，其中該 A2A/A2B 抑制劑係選自：

3-(5-胺基-2-(吡啶-2-基甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基) 苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；

3-(5-胺基-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c] 嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；

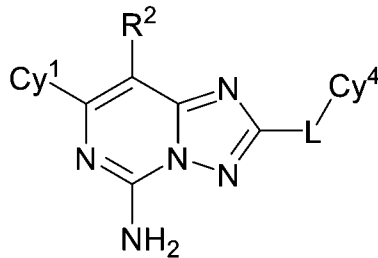
3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-2H-四唑-2-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑 并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；

3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-1H-四唑-1-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑 并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；

3-(5-胺基-2-((3-甲基吡啶-2-基)甲氧基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c] 嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；及

3-(2-((5-(1H-吡唑-1-基)-2H-四唑-2-基)甲基)-5-胺基-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4] 三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項 4】 如請求項 1 之方法，其中該 A2A/A2B 抑制劑係式(II)化合物：



(II)

或其醫藥學上可接受之鹽，其中

R²係選自 H 及 CN；

Cy¹係苯基，其經 1 或 2 個獨立地選自鹵基及 CN 之取代基取代；

L 係 C₁₋₃ 伸烷基，其中該伸烷基視情況經 1 個、2 個或 3 個經獨立選擇之 R^{8D}取代基取代；

Cy⁴係選自苯基、環己基、吡啶基、吡咯啉酮基及咪唑基，其中該苯基、

該環己基、該吡啶基、該吡咯啉酮基及該咪唑基各自視情況經 1 個、2 個或 3 個獨立地選自 R^{8D} 及 R^8 之取代基取代；

每一 R^8 係獨立地選自鹵基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 鹵烷基、 C_{2-4} 烯基、 C_{2-4} 炔基、苯基、 C_{3-7} 環烷基、5-6 員雜芳基、4-7 員雜環烷基、苯基- C_{1-3} 烷基、 C_{3-7} 環烷基- C_{1-3} 烷基、(5-6 員雜芳基)- C_{1-3} 烷基及(4-7 員雜環烷基)- C_{1-3} 烷基，其中 R^8 之該 C_{1-6} 烷基、該 C_{2-4} 烯基、該 C_{2-4} 炔基、該苯基、該 C_{3-7} 環烷基、該 5-6 員雜芳基、該 4-7 員雜環烷基、該苯基- C_{1-3} 烷基、該 C_{3-7} 環烷基- C_{1-3} 烷基、該 (5-6 員雜芳基)- C_{1-3} 烷基及該(4-7 員雜環烷基)- C_{1-3} 烷基各自視情況經 1 個、2 個或 3 個經獨立選擇之 R^{8A} 取代基取代；

每一 R^{8A} 係獨立地選自鹵基、 C_{1-6} 烷基、5-6 員雜芳基、4-7 員雜環烷基、CN、 OR^{a81} 及 $NR^{c81}R^{d81}$ ，其中 R^{8A} 之該 C_{1-3} 烷基、該 5-6 員雜芳基及該 4-7 員雜環烷基各自視情況經 1 個、2 個或 3 個經獨立選擇之 R^{8B} 取代基取代；

每一 R^{a81} 、 R^{c81} 及 R^{d81} 係獨立地選自 H、 C_{1-6} 烷基及 4-7 員雜環烷基，其中 R^{a81} 、 R^{c81} 及 R^{d81} 之該 C_{1-6} 烷基及該 4-7 員雜環烷基各自視情況經 1 個、2 個或 3 個經獨立選擇之 R^{8B} 取代基取代；

每一 R^{8B} 係獨立地選自鹵基及 C_{1-3} 烷基；且

每一 R^{8D} 係獨立地選自 OH、CN、鹵基、 C_{1-6} 烷基及 C_{1-6} 鹵烷基。

【請求項 5】 如請求項 1 或 4 之方法，其中該 A2A/A2B 抑制劑係選自：

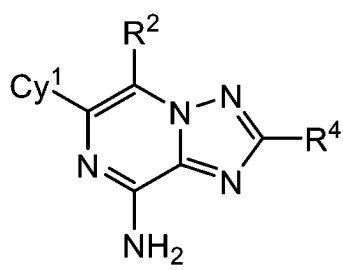
3-(5-胺基-2-(羥基(苯基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；

3-(5-胺基-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)-2-氟苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；

5-胺基-7-(3-氰基-2-氟苯基)-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-8-甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；及

3-(5-胺基-2-((2-氟-6-(((1-甲基-2-側氧基吡咯啉-3-基)胺基)甲基)苯基)(羥基)甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)-2-氟苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項 6】 如請求項 1 之方法，其中該 A2A/A2B 抑制劑係式(III)化合物：



(III)

或其醫藥學上可接受之鹽，其中

Cy¹ 係苯基，其經 1 或 2 個獨立地選自鹵基及 CN 之取代基取代；

R² 係選自 5-6 員雜芳基及 4-7 員雜環烷基，其中 R² 之該 5-6 員雜芳基及該 4-7 員雜環烷基各自視情況經 1 個、2 個或 3 個經獨立選擇之 R^{2A} 取代基取代；

每一 R^{2A} 係獨立地選自 D、鹵基、C₁₋₆ 烷基及 C₁₋₆ 鹵烷基；

R⁴ 係選自苯基-C₁₋₃ 烷基-、C₃₋₇ 環烷基-C₁₋₃ 烷基-、(5-6 員雜芳基)-C₁₋₃ 烷基-及(4-7 員雜環烷基)-C₁₋₃ 烷基，其中 R⁴ 之該苯基-C₁₋₃ 烷基-、該 C₃₋₇ 環烷基-C₁₋₃ 烷基-、該(5-6 員雜芳基)-C₁₋₃ 烷基-及該(4-7 員雜環烷基)-C₁₋₃ 烷基-各自視情況經 1 個、2 個或 3 個經獨立選擇之 R^{4A} 取代基取代；

每一 R^{4A} 係獨立地選自鹵基、C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 鹵烷基、CN、OR^{a41} 及 NR^{c41}R^{d41}；

且

每一 R^{a41}、R^{c41} 及 R^{d41} 係獨立地選自 H 及 C₁₋₆ 烷基。

【請求項 7】 如請求項 1 或 6 之方法，其中該 A2A/A2B 抑制劑係選自：

3-(8-胺基-5-(1-甲基-6-側氧基-1,6-二氫嗪-3-基)-2-(吡啶-2-基甲基)-

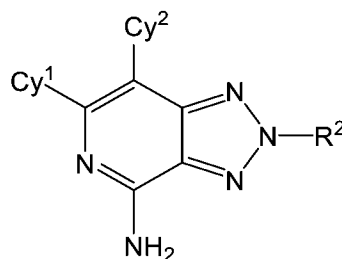
[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈；

3-(8-胺基-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-5-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；

3-(8-胺基-2-(胺基(2,6-二氟苯基)甲基)-5-(4-甲基噁唑-5-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；及

3-(8-胺基-2-((2,6-二氟苯基)(羥基)甲基)-5-(2,6-二甲基吡啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項 8】 如請求項 1 之方法，其中該 A2A/A2B 抑制劑係式(IV)化合物：



(IV)

或其醫藥學上可接受之鹽，其中

Cy¹ 係苯基，其經 1 或 2 個獨立地選自鹵基及 CN 之取代基取代；

Cy² 係選自 5-6 員雜芳基及 4-7 員雜環烷基，其中 Cy² 之該 5-6 員雜芳基及該 4-7 員雜環烷基各自視情況經 1 個、2 個或 3 個經獨立選擇之 R⁶ 取代基取代；

每一 R⁶ 係獨立地選自鹵基、C₁-₆ 烷基及 C₁-₆ 鹵烷基；

R² 係苯基-C₁-₃ 烷基-或(5-6 員雜芳基)-C₁-₃ 烷基-，其中 R² 之該苯基-C₁-₃ 烷基-及該(5-6 員雜芳基)-C₁-₃ 烷基-各自視情況經 1 個、2 個或 3 個經獨立選擇之 R²ᴬ 取代基取代；且

每一 R²ᴬ 係獨立地選自鹵基、C₁-₆ 烷基及 C₁-₆ 鹵烷基。

或其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項 9】 如請求項 1 或 8 之方法，其中該 A2A/A2B 抑制劑係選自：

3-(4-胺基-2-(吡啶-2-基甲基)-7-(嘧啶-4-基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲脒或其醫藥學上可接受之鹽；

3-(4-胺基-2-((3-氟吡啶-2-基)甲基)-7-(嘧啶-4-基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲脒或其醫藥學上可接受之鹽；

3-(4-胺基-2-((3-氟吡啶-2-基)甲基)-7-(吡啶-4-基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)苯甲脒或其醫藥學上可接受之鹽；及

3-(4-胺基-7-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-2-(吡啶-2-基甲基)-2H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-6-基)-2-氟苯甲脒或其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項 10】 如請求項 1 之方法，其中該 A2A/A2B 抑制劑係 3-(8-胺基-5-(1-甲基-6-側氧基-1,6-二氫嗪-3-基)-2-(吡啶-2-基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲脒或其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項 11】 如請求項 1 之方法，其中該 A2A/A2B 抑制劑係 3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-2H-四唑-2-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲脒或其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項 12】 如請求項 1 至 11 中任一項之方法，其中該 PD-1/PD-L1 抑制劑係 (R)-1-((7-氰基-2-(3'-(3-(((R)-3-羥基吡咯啶-1-基)甲基)-1,7-萘啶-8-基胺基)-2,2'-二甲基聯苯-3-基)苯并[d]噁唑-5-基)甲基)吡咯啶-3-甲酸或其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項 13】 如請求項 1 至 11 中任一項之方法，其中該 PD-1/PD-L1 抑制劑係派姆單抗(pembrolizumab)。

【請求項 14】 如請求項 1 至 11 中任一項之方法，其中該 PD-1/PD-L1 抑制劑係阿替珠單抗(atezolizumab)。

【請求項 15】 如請求項 1 至 11 中任一項之方法，其中該 PD-1/PD-L1 抑制劑係

抗體 X，其中抗體 X 係抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含可變重鏈(VH)結構域，該可變重鏈結構域包含 VH 互補決定區(CDR)1、VH CDR2 及 VH CDR3，其中：

該 VH CDR1 包含胺基酸序列 SYWMN (SEQ ID NO:6)；

該 VH CDR2 包含胺基酸序列 VIHPDSETWLDQKFKD (SEQ ID NO:7)；

且

該 VH CDR3 包含胺基酸序列 EHYGTSPFAY (SEQ ID NO:8)；且

其中該抗體包含可變輕鏈(VL)結構域，該可變輕鏈結構域包含 VL CDR1、VL CDR2 及 VL CDR3，其中：

該 VL CDR1 包含胺基酸序列 RASESVDNYGMSFMNW (SEQ ID NO:9)；

該 VL CDR2 包含胺基酸序列 AASNQGS (SEQ ID NO:10)；且

該 VL CDR3 包含胺基酸序列 QQSKEVPYT (SEQ ID NO:11)。

【請求項 16】 如請求項 15 之方法，其中抗體 X 係人類化抗體。

【請求項 17】 如請求項 1 至 16 中任一項之方法，其中該 A2A/A2B 抑制劑係以基於游離鹼約 0.1 mg 至約 1000 mg 之劑量投與該個體。

【請求項 18】 如請求項 1 至 17 中任一項之方法，其中該 A2A/A2B 抑制劑係以每天一次、每隔一天或每週一次投與該個體。

【請求項 19】 如請求項 1 至 18 中任一項之方法，其中該 A2A/A2B 抑制劑及 PD-1/PD-L1 抑制劑係同時投與。

【請求項 20】 如請求項 1 至 18 中任一項之方法，其中該 A2A/A2B 抑制劑及 PD-1/PD-L1 抑制劑係依序投與。

【請求項 21】 如請求項 1 至 20 中任一項之方法，其中該癌症係選自膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、直腸癌、肛門癌、子宮內膜癌、腎癌、口腔癌、頭頸癌、肝癌、黑色素瘤、間皮瘤、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、非黑色素

瘤皮膚癌、卵巢癌、胰臟癌、前列腺癌、肉瘤、甲狀腺癌及默克細胞癌(Merkel cell carcinoma)。

【請求項 22】 如請求項 1 至 20 中任一項之方法，其中該癌症係選自黑色素瘤、子宮內膜癌、肺癌、腎癌、膀胱癌、乳癌、胰臟癌及結腸癌。

【請求項 23】 如請求項 1 至 20 中任一項之方法，其中該癌症係黑色素瘤。

【請求項 24】 如請求項 1 至 20 中任一項之方法，其中該癌症係結腸癌。

【請求項 25】 一種治療個體之選自膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、直腸癌、肛門癌、子宮內膜癌、腎癌、口腔癌、頭頸癌、肝癌、黑色素瘤、間皮瘤、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、非黑色素瘤皮膚癌、卵巢癌、胰臟癌、前列腺癌、肉瘤、甲狀腺癌及默克細胞癌之癌症之方法，其包括向該個體投與：

(i) A2A/A2B 抑制劑，其係 3-(8-胺基-5-(1-甲基-6-側氧基-1,6-二氫嗪-3-基)-2-(吡啶-2-基甲基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡嗪-6-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；及

(ii) PD-1/PD-L1 抑制劑，其係抗體 X；

其中該 A2A/A2B 抑制劑係以基於游離鹼約 0.1 mg 至約 500 mg 之劑量投與該個體，其中該 A2A/A2B 抑制劑係以每天一次或每隔一天投與；且

該抗體 X 係以約 100 mg 至約 1000 mg Q4W 之劑量投與該個體；

其中抗體 X 係抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含可變重鏈(VH)結構域，該可變重鏈結構域包含 VH 互補決定區(CDR)1、VH CDR2 及 VH CDR3，其中：

該 VH CDR1 包含胺基酸序列 SYWMN (SEQ ID NO:6)；

該 VH CDR2 包含胺基酸序列 VIHPDSETWLDQKFKD (SEQ ID NO:7)；

且

該 VH CDR3 包含胺基酸序列 EHYGTSPFAY (SEQ ID NO:8)；且

其中該抗體包含可變輕鏈(VL)結構域，該可變輕鏈結構域包含 VL CDR1、VL CDR2 及 VL CDR3，其中：

該 VL CDR1 包含胺基酸序列 RASESVDNYGMSFMNW (SEQ ID NO:9)；

該 VL CDR2 包含胺基酸序列 AASNQGS (SEQ ID NO:10)；且

該 VL CDR3 包含胺基酸序列 QQSKEVPYT (SEQ ID NO:11)。

【請求項 26】 一種治療個體之選自膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、直腸癌、肛門癌、子宮內膜癌、腎癌、口腔癌、頭頸癌、肝癌、黑色素瘤、間皮瘤、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、非黑色素瘤皮膚癌、卵巢癌、胰臟癌、前列腺癌、肉瘤、甲狀腺癌及默克細胞癌之癌症之方法，其包括向該個體投與：

(i) A2A/A2B 抑制劑，其係 3-(5-胺基-2-((5-(吡啶-2-基)-2H-四唑-2-基)甲基)-8-(嘧啶-4-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-7-基)苯甲腈或其醫藥學上可接受之鹽；及

(ii) PD-1/PD-L1 抑制劑，其係抗體 X；

其中該 A2A/A2B 抑制劑係以基於游離鹼約 0.1 mg 至約 500 mg 之劑量投與該個體，其中該 A2A/A2B 抑制劑係以每天一次或每隔一天投與；且

該抗體 X 係以約 100 mg 至約 1000 mg Q4W 之劑量投與該個體；

其中抗體 X 係抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含可變重鏈(VH)結構域，該可變重鏈結構域包含 VH 互補決定區(CDR)1、VH CDR2 及 VH CDR3，其中：

該 VH CDR1 包含胺基酸序列 SYWMN (SEQ ID NO:6)；

該 VH CDR2 包含胺基酸序列 VIHPDSETWLDQKFKD (SEQ ID NO:7)；

且

該 VH CDR3 包含胺基酸序列 EHYGTSPFAY (SEQ ID NO:8)；且

其中該抗體包含可變輕鏈(VL)結構域，該可變輕鏈結構域包含 VL CDR1、

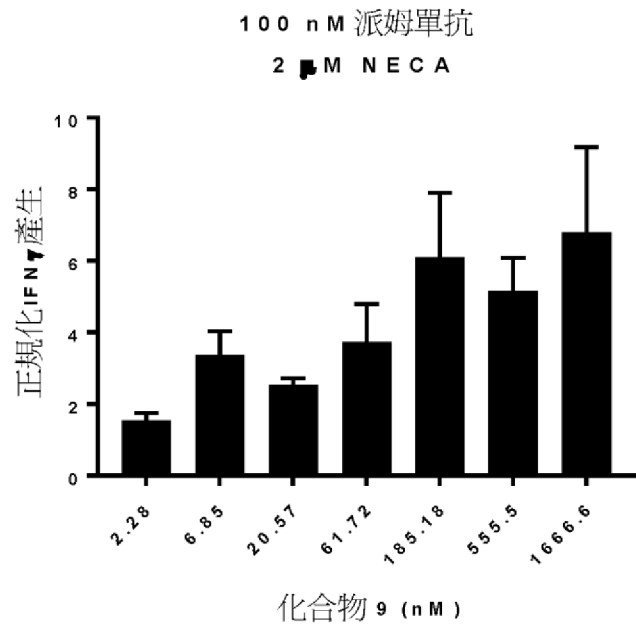
VL CDR2 及 VL CDR3，其中：

該 VL CDR1 包含胺基酸序列 RASESVDNYGMSFMNW (SEQ ID NO:9)；

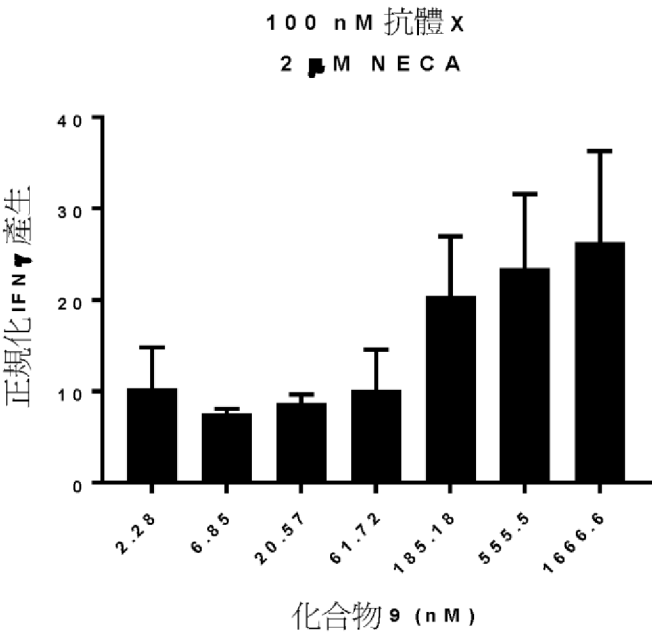
該 VL CDR2 包含胺基酸序列 AASNQGS (SEQ ID NO:10)；且

該 VL CDR3 包含胺基酸序列 QQSKEVPYT (SEQ ID NO:11)。

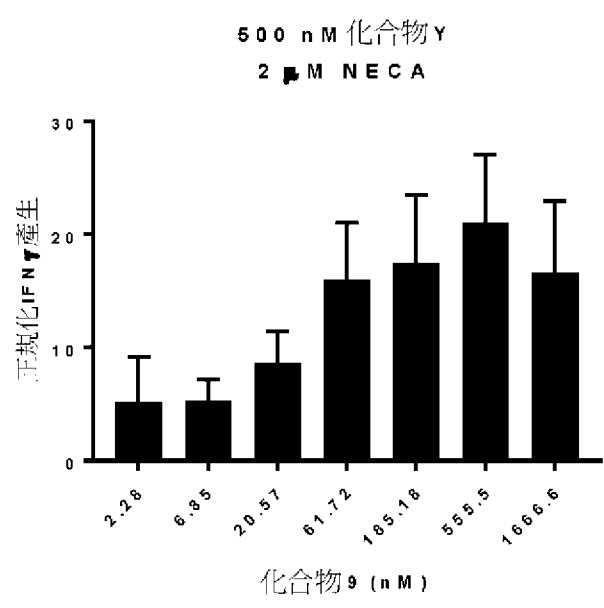
【發明圖式】



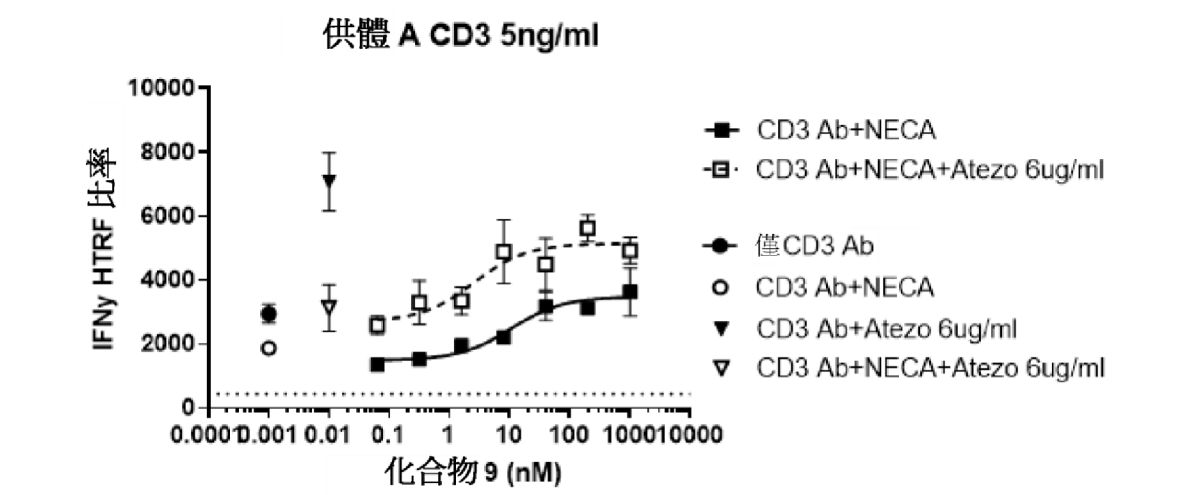
【圖 1A】



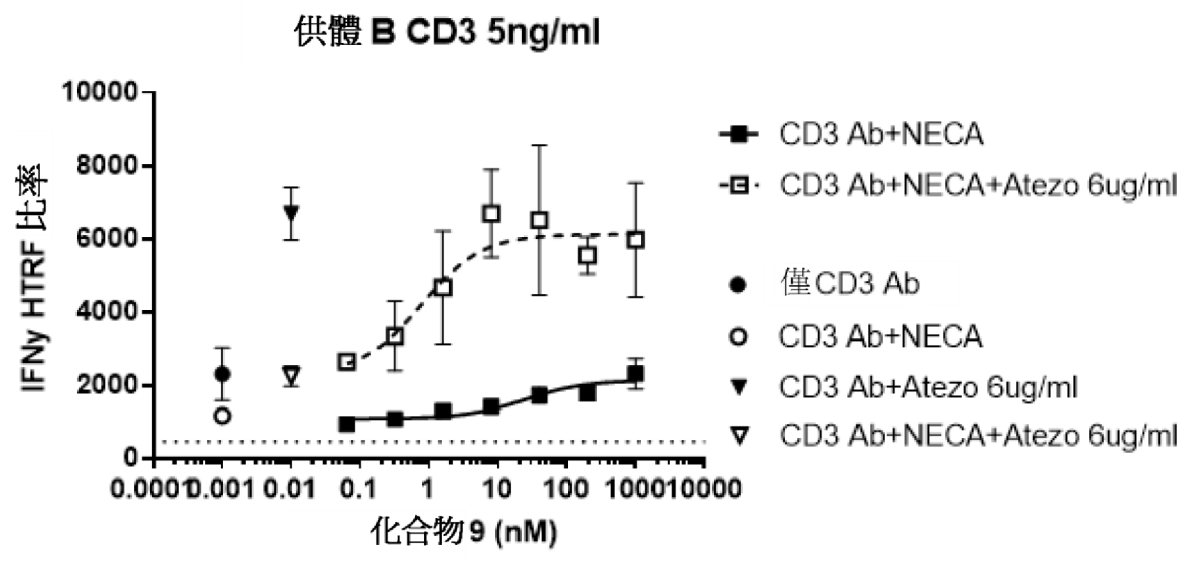
【圖 1B】



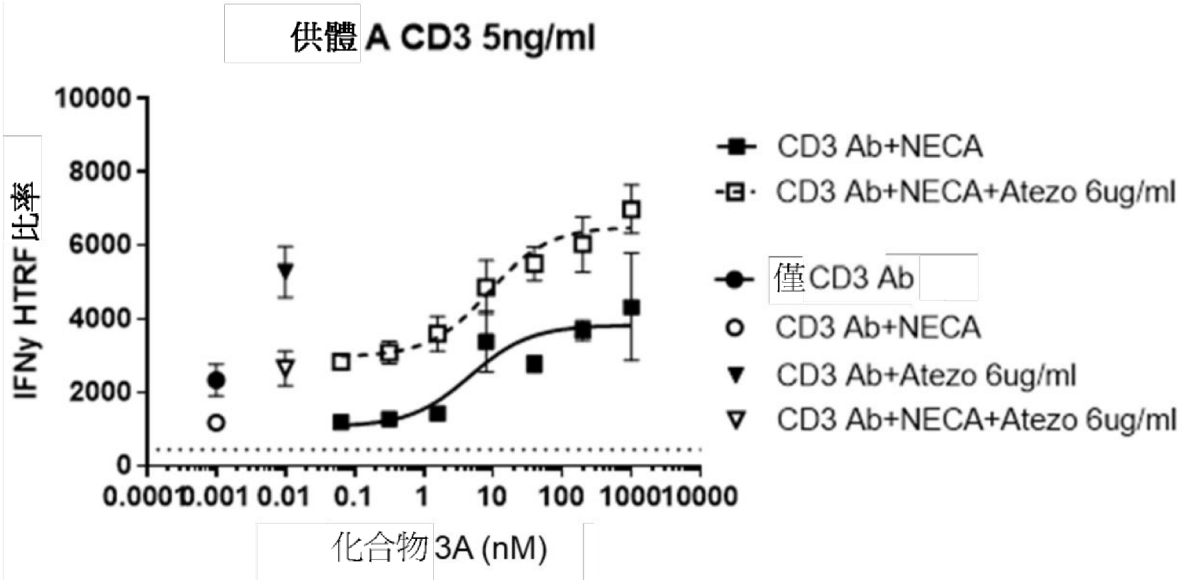
【圖 1C】



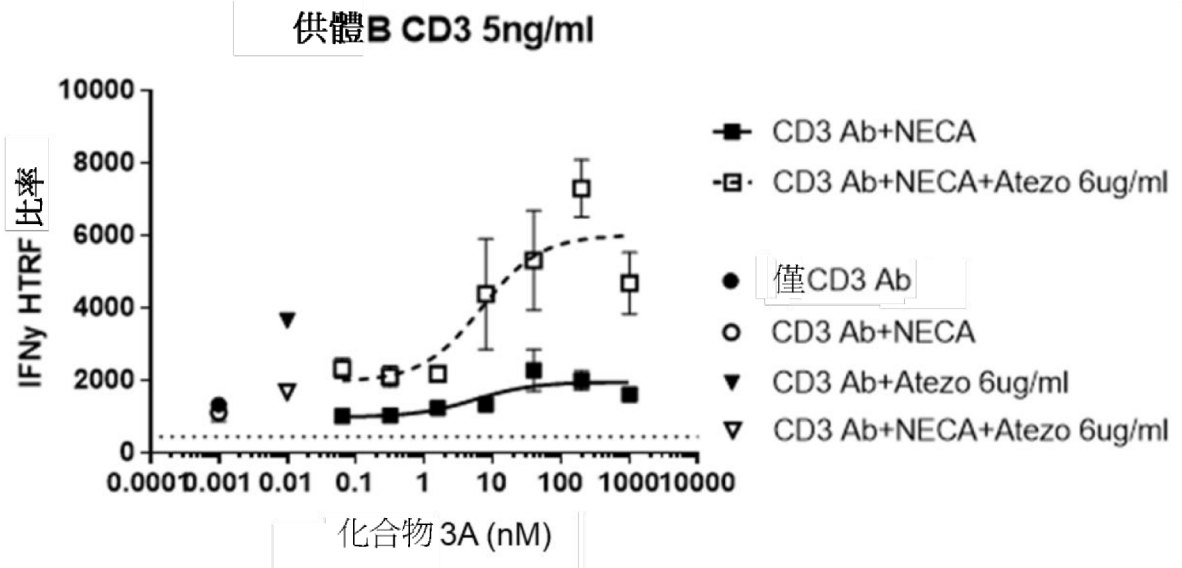
【圖 2A】



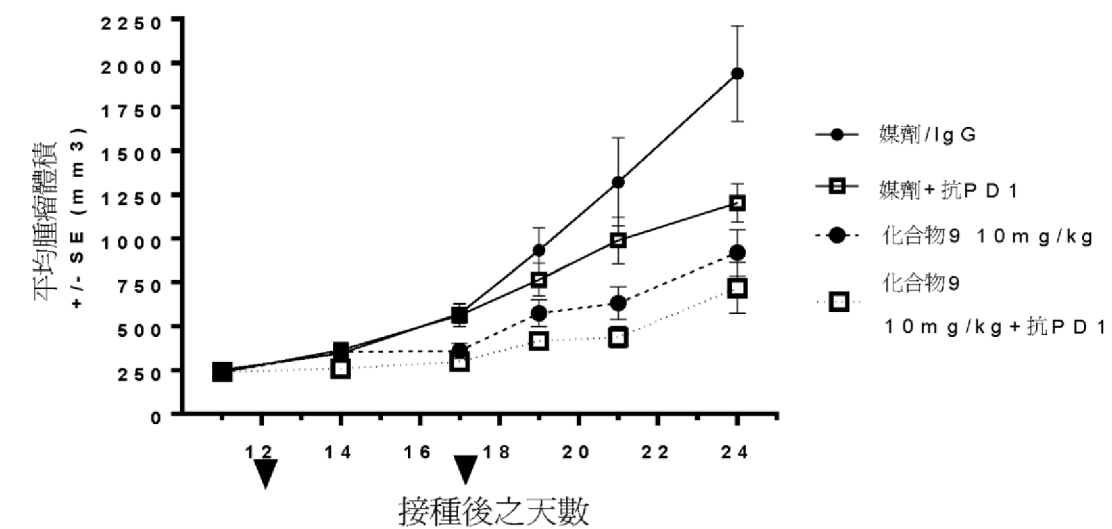
【圖 2B】



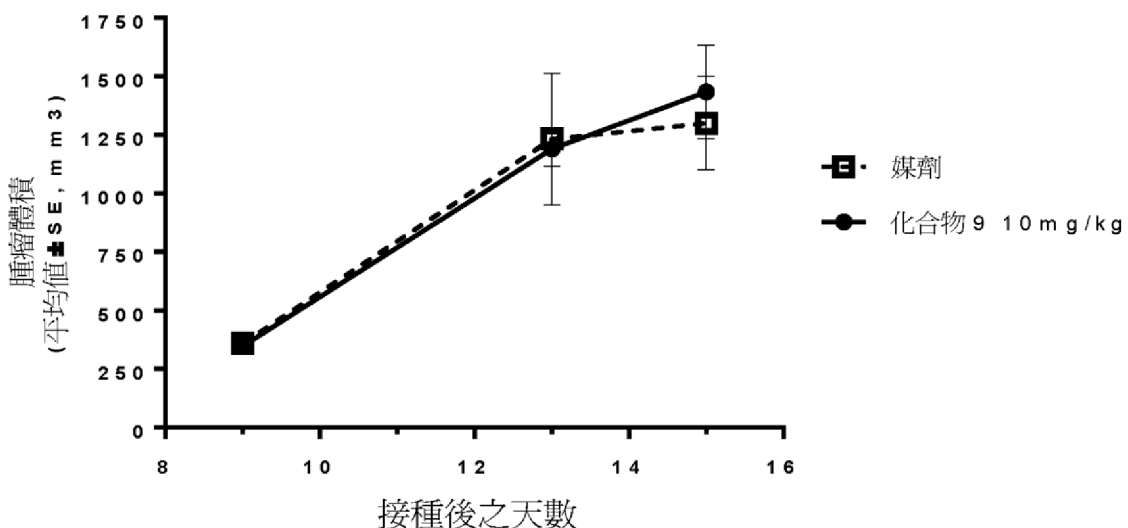
【圖 2C】



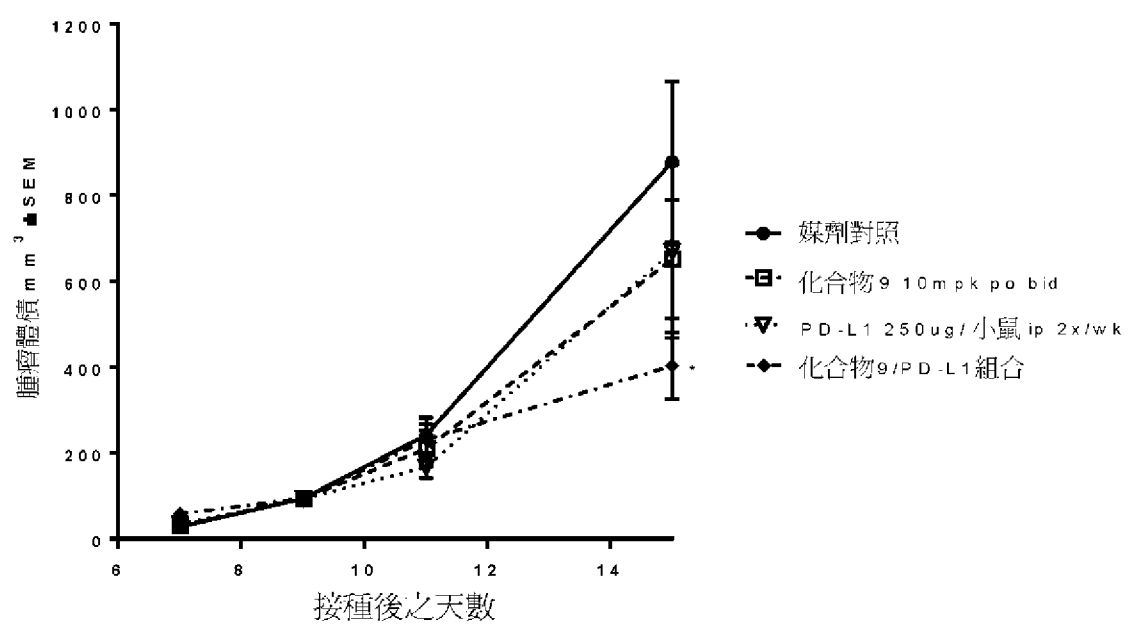
【圖 2D】



【圖 3A】



【圖 3B】



【圖 3C】