

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

苯并氧氮吡啶酮化合物及其製備方法

BENZOXAZEPIN OXAZOLIDINONE COMPOUNDS AND
PREPARATION METHOD THEREOF

相關申請案之交叉參考

根據37 CFR §1.53(b)申請之此非臨時申請案主張2015年7月2日申請之美國臨時申請案第62/188,029號之35 USC §119(e)的權益，其全部內容以引用之方式併入。

【技術領域】

本發明大體上係關於苯并氧氮吡啶酮化合物，其具有對諸如癌症之過度增殖病症之活性。本發明亦係關於將該等化合物用於活體外、原位及活體內診斷或治療哺乳動物細胞或相關病理性病狀之方法。

【先前技術】

上調磷酸肌醇-3激酶(PI3K)/Akt信號傳遞路徑為大多數癌症中常見的特徵(Yuan and Cantley (2008) Oncogene 27:5497-510)。路徑中之遺傳偏差已在許多人類癌症中偵測到(Osaka等人(2004) Apoptosis 9:667-76)，且主要起刺激細胞增殖、遷移及存活的作用。路徑活化在活化點突變或編碼p110 α (阿爾法(alpha)) PI3K同功異型物之*PIK3CA*基因擴增之後進行(Hennessy等人(2005) Nat. Rev. Drug Discov. 4:988-1004)。腫瘤抑制因子PTEN (其為具有與PI3K相反功能之磷酸酶)內功能突變之遺傳缺失或喪失亦增加PI3K路徑信號傳遞(Zhang及Yu (2010) Clin. Cancer Res. 16:4325-30)。此等畸變導致經由諸如Akt及mTOR之

激酶的下游信號傳遞增加，且PI3K路徑之活性增加已提議作為抵抗癌症治療的標誌(Opel等人(2007) *Cancer Res.* 67:735-45；Razis等人(2011) *Breast Cancer Res. Treat.* 128:447-56)。

磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)為關於淋巴瘤之關鍵存活及生長信號的主要信號傳遞節點，且與磷酸酶PTEN之活性相反。磷酸肌醇3-依賴性激酶(PI3K)信號傳遞路徑為激素受體陽性乳癌(HR+BC)中最失調的路徑。PI3K路徑在侵襲性形式之淋巴瘤中亦失調(Abubaker (2007) *Leukemia* 21:2368-2370)。8%之DLBCL (彌漫性大型B細胞淋巴瘤)癌症具有PI3CA (磷脂酰肌醇-3激酶催化次單元 α)誤義突變，且37%經免疫組織化學測試為PTEN陰性。

磷脂酰肌醇為細胞薄膜中所發現之大量磷脂中之一者，且該等磷脂參與胞內信號轉導。經由3'-磷酸化磷酸肌醇之細胞信號傳遞一直牽涉各種細胞過程中，例如惡性轉化、生長因子信號傳遞、炎症及免疫(Rameh等人(1999) *J. Biol Chem.* 274:8347-8350)。負責產生此等磷酸化信號傳遞產物之酶(亦稱為PI 3-激酶或PI3K之磷脂酰肌醇3-激酶)最初識別為與病毒腫瘤蛋白以及使磷脂酰肌醇(PI)及其在肌醇環之3'-羥基處之磷酸化衍生物磷酸化之生長因子受體酪氨酸激酶相關的活性(Panayotou等人(1992) *Trends Cell Biol* 2:358-60)。磷酸肌醇3-激酶(PI3K)為使脂質在肌醇環之3-羥基殘基處磷酸化之脂質激酶(Whitman等人(1988) *Nature*, 332:664)。由PI3-激酶產生之3-磷酸化磷脂(PIP3)充當募集具有諸如Akt及PDK1 (磷酸肌醇依賴性激酶-1)之脂質結合域(包括普列克受質蛋白同源性(pleckstrin homology；PH)區域)之激酶的第二信使子(Vivanco等人(2002) *Nature Rev. Cancer* 2:489；Phillips等人(1998) *Cancer* 83:41)。

PI3激酶家族包含藉由結構同源性細分類之至少15種不同的酶，且基於序列同源性及由酶催化形成之產物經分成3種類別。I類PI3激

酶由2個次單元：110 kd催化次單元及85 kd調節次單元構成。調節次單元含有SH2域，且結合至藉由具有酪胺酸激酶活性或致癌基因產物之生長因子受體磷酸化的酪胺酸殘基，由此誘發脂質基質磷酸化之p110催化次單元的PI3K活性。I類PI3激酶在細胞激素、整合素、生長因子及免疫受體之下游參與重要的信號轉導事件，其表明控制此路徑可產生重要的治療性作用，諸如調節細胞增殖及癌發生。I類PI3K可使磷脂酰肌醇(PI)、磷脂酰肌醇-4-磷酸酯及磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸酯(PIP2)磷酸化，分別產生磷脂酰肌醇-3-磷酸酯(PIP)、磷脂酰肌醇-3,4-二磷酸酯及磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸酯。II類PI3K使PI及磷脂酰肌醇-4-磷酸酯磷酸化。III類PI3K僅可使PI磷酸化。癌症中之關鍵PI3-激酶同功異型物為I類PI3-激酶，其為如由p110 α 中反覆性致癌突變所指示之p110 α (Samuels等人(2004) *Science* 304:554；US 5824492；US 5846824；US 6274327)。其他同功異型物在癌症中可為重要的，且亦牽涉心臟血管及免疫發炎疾病(Workman P (2004) *Biochem Soc Trans* 32:393-396；Patel等人(2004) *Proc. Am. Assoc. of Cancer Res.* (Abstract LB-247) 95th Annual Meeting, 3月27日至31日, Orlando, Florida, USA；Ahmadi K及Waterfield MD (2004) 「Phosphoinositide 3-Kinase: Function and Mechanisms」 *Encyclopedia of Biological Chemistry* (Lennarz W J, Lane M D編) Elsevier/Academic Press)，已在結腸、乳房、大腦、肝、卵巢、胃、肺以及頭部及頸部實體腫瘤中以顯著頻率發現p110 α (α)之致癌突變。約35-40%之激素受體陽性(HR+)乳癌腫瘤具有PIK3CA突變。PTEN異常發現於神經膠母細胞瘤、黑素瘤、前列腺、子宮內膜、卵巢、乳房、肺、頭部及頸部、肝細胞及甲狀腺癌中。

PI3激酶(PI3K)為由p85及p110次單元組成之雜二聚體(Otsu等人(1991) *Cell* 65:91-104；Hiles等人(1992) *Cell* 70:419-29)。已識別四種

不同的I類PI3K，指定為PI3K α (阿爾法)、 β (貝他(beta))、 δ (德耳塔(delta))及 γ (伽瑪(gamma))，各自由不同的110 kDa催化次單元及調節次單元組成。三種催化次單元，亦即p110 α 、p110 β 及p110 δ ，各自與同一調節次單元p85相互作用；然而p110 γ 與不同的調節次單元p101相互作用。人類細胞及組織中此等PI3K中之每一者的表現模式為不同的。PI3K α 、 β 及 δ 亞型中之每一者中，p85次單元用於藉由質膜之SH2域與目標蛋白質中之磷酸化酪胺酸殘基(存在於合適序列情形中)進行交互作用而將PI3激酶定位於該質膜(Rameh等人(1995) Cell, 83:821-30；Volinia等人(1992) Oncogene, 7:789-93)。

由於該等藥劑將預期用於抑制細胞增殖、阻遏來自提供癌細胞之存活及化學抗性之基質細胞的信號、逆轉對細胞凋亡之壓製且克服癌細胞對細胞毒素劑之內在抵抗性，所以PI3激酶/Akt/PTEN路徑對於癌症藥物發展為有吸引力的目標。PI3K經由受體酪胺酸激酶信號傳遞以及活化PI3K之p110催化次單元中之突變、腫瘤抑制因子PTEN喪失或經由AKT中之罕有活化突變加以活化。

命名為2-(4-(2-(1-異丙基-3-甲基-1H-1,2,4-三唑-5-基)-5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-d][1,4]噁氮呋-9-基)-1H-吡唑-1-基)-2-甲基丙醯胺之泰尼西布(Taselisib)(GDC-0032, Roche RG7604, CAS登記號1282512-48-4, Genentech Inc.)具有強力的PI3K活性(Ndubaku, C. O.等人(2013) J. Med. Chem. 56:4597-4610；WO 2011/036280；US 8242104；US 8343955)，且正在患有局部晚期或轉移性實體腫瘤之患者中進行研究。泰尼西布(GDC-0032)為PI3K催化次單元之避開 β 同功異型物抑制劑，與 β 相比，31x對於 α 次單元更加具有選擇性。與野生型PI3K α 相比，泰尼西布對於突變PI3K α 同功異型物顯示更大的選擇性(Olivero AG等人, AACR 2013. Abstract DDT02-01)。泰尼西布當前正發展為用於患有雌激素受體(ER)-陽性、HER2-陰性轉移性乳癌(mBC)及非小

細胞肺癌(NSCLC)之患者的治療。在用單一藥劑泰尼西布之階段Ia研究中，在6/34參與患者中觀察到部分反應(PR)。在患有*PIK3CA*突變腫瘤之患者中觀察到所有6個反應(Juric D.等人AACR 2013)，由此指示需要自用泰尼西布治療之患者確定*PIK3CA*突變狀態。

最近關於PI3K抑制劑之臨床資料已表明PI3K δ 活性為腸胃毒性之來源(Akinleye等人「Phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) inhibitors as cancer therapeutics」 Journal of Hematology & Oncology 2013, 6:88-104；C. Saura等人「Phase Ib Study of the PI3K Inhibitor Taselisib (GDC-0032) in Combination with Letrozole in Patients with Hormone Receptor-Positive Advanced Breast Cancer」 San Antonio Breast Cancer Symposium - December 12, 2014, PD5-2；Lopez 等人「Taselisib, a selective inhibitor of PIK3CA, is highly effective on PIK3CA-mutated and HER2/neu amplified uterine serous carcinoma in vitro and in vivo」 (2014) Gynecologic Oncology)。

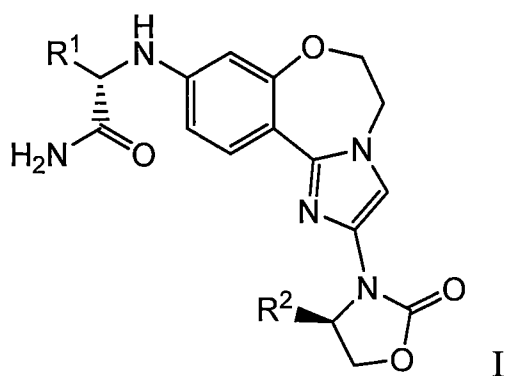
艾德斯布(Idelalisib)(GS-1101, CAL-101, ZYDELIG®, Gilead Sciences Inc., CAS登記號870281-82-6, 5-氟-3-苯基-2-[(1*S*)-1-(7*H*-嘌呤-6-基胺基)丙基]-4(3*H*)-喹啉酮)為選擇性的PI3K δ (德耳塔)抑制劑，且經批准用於治療慢性淋巴白血病(CLL)(Somoza, J.R.等人(2015) J. Biol. Chem. 290:8439-8446；US 6800620；US 6949535；US 8138195；US 8492389；US 8637533；US 8865730；US 8980901；RE44599；RE44638)。腹瀉及結腸炎在艾德斯布治療之後所報導的最常見不良事件當中(Brown 等人「Idelalisib, an inhibitor of phosphatidylinositol 3-kinase p110 δ , for relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia」 (2014) Blood 123(22):3390-3397；Zydelig® Prescribing Information 2014；Zydelig® REMS Fact Sheet)。用艾德斯布治療後所觀察到之顯著GI毒性與PI3K δ (德耳塔)之抑制為腸胃毒性

來源的假設相符。其他嚴重的副作用可見於艾德斯布(Zydelig®)與其他療法組合之臨床試驗中。不良事件，包括死亡與諸如肺炎之感染相關聯。在2016年3月，EMA藥物警戒風險評估委員會(Pharmacovigilance Risk Assessment Committee；PRAC)發佈臨時警告及建議，當服用Zydelig (艾德斯布)時，患者應接受抗生素輔助治療，且定期監測感染。在2016年3月，美國食品及藥物管理局發佈警示「由於報導包括死亡之不良事件比率增加，已停止探索艾德斯布(Zydelig®)與其他療法組合之六個臨床試驗」。

需要PI3K α 之其他調節劑，特別地PI3K α 之抑制劑適用於治療癌症，相對於表現細胞之非突變PI3K α ，該PI3K α 之抑制劑對表現腫瘤之突變PI3K α 具有選擇性。尤其需要相對於PI3K β 、PI3K δ 及PI3K γ 同功異型物，選擇性地抑制PI3K α 同功異型物之此類藥劑，其可預期導致治療窗增強。

【發明內容】

本發明大體上係關於苯并氧氮吡啶酮化合物，其具有調節PI3K α (阿爾法)同功異型物之突變形式的選擇性活性，且具有式I結構：



及其立體異構體、幾何異構體、互變異構體及醫藥學上可接受之鹽。多種取代基在本文中經定義。

本發明之另一態樣為一種醫藥組合物，其包含式I苯并氧氮吡啶酮化合物及醫藥學上可接受之載劑、助滑劑、稀釋劑或賦形劑。

本發明之另一態樣為一種治療患有癌症之患者中癌症的方法，其包含向該患者投與治療有效量之式I苯并氧氮呼噁唑啉酮化合物。

本發明之另一態樣為一種用於治療性處理乳癌之套組，其包含：

- a) 式I苯并氧氮呼噁唑啉酮化合物；及
- b) 用於治療性處理乳癌之說明書。

【圖式簡單說明】

圖1展示PI3K α 與A)泰尼西布(GDC-0032)、B) US 8242104之化合物529、C)化合物**101**及D)化合物**103**一起之x射線共晶結構。

圖2展示PI3K α 與A)泰尼西布(GDC-0032)及B)化合物**101**一起之x射線共晶結構。

圖3A展示西方墨點法資料，其描繪在HCC-1954細胞(PI3K α 突變H1047R)中用化合物**101**、化合物**103**及US 8242104之化合物436治療24小時之後的p110 α (p110a，p110阿爾法)水準。

圖3B展示西方墨點法資料，其描繪在HDQ-P1細胞(PI3K α 野生型)中用化合物**101**、化合物**103**及US 8242104之化合物436治療24小時之後的p110 α (p110a，p110阿爾法)水準。

【實施方式】

現將詳細參考本發明之某些實施例，其實例在隨附結構及式中加以說明。雖然本發明將結合所列舉之實施例描述，但應瞭解其不欲將本發明限於彼等實施例。相反地，本發明意欲涵蓋可包括在申請專利範圍所界定之本發明範疇內的所有替代方案、修改及等效物。熟習此項技術者將識別類似於或等效於本文所述之可用於本發明之實踐中的多種方法及材料。本發明決不限於所述方法及材料。在所併入之文獻、專利及類似材料中之一或多者不同於本申請案(包括(但不限於)所定義之術語、術語用法、所述技術或其類似物)或與其矛盾之情況

下，以本申請案為準。除非另外定義，否則本文所用之所有技術及科學術語均具有與本發明所屬領域之一般熟習此項技術者通常所理解之含義相同的含義。儘管類似於或等效於本文所述之彼等方法及材料之方法及材料可用於實踐或測試本發明，但下文描述適合之方法及材料。本文所提及之所有公開案、專利申請案、專利及其他參考案均以全文引用之方式併入本文中。除非另外指示，否則本申請案中所用之命名法基於IUPAC系統命名法。

定義

當指示取代基之數目時，術語「一或多個」係指一個取代基至最高可能數目之取代基的範圍，亦即藉由取代基置換一個氫至至多置換所有氫。術語「取代基」表示置換母體分子上之氫原子的原子或一組原子。術語「經取代」表示指定基團攜有一或多個取代基。在任何基團可帶有多個取代基且提供多種可能的取代基的情況下，取代基經獨立地選擇且無需相同。術語「未經取代」意謂指定基團不攜有取代基。術語「視情況經取代」意謂指定基團未經取代或經一或多個獨立地選自可能取代基之群的取代基取代。當指示取代基之數目時，術語「一或多個」意謂一個取代基至最高可能數目之取代基的範圍，亦即藉由取代基置換一個氫至至多置換所有氫。

如本文所用，術語「烷基」係指一至十二個碳原子(C_1 - C_{12})之飽和直鏈或分支鏈單價烴基，其中烷基可視情況經一或多個下文所述之取代基獨立地取代。在另一實施例中，烷基為一至八個碳原子(C_1 - C_8)或一至六個碳原子(C_1 - C_6)。烷基之實例包括(但不限於)甲基(Me、 $-CH_3$)、乙基(Et、 $-CH_2CH_3$)、1-丙基(n-Pr、正丙基、 $-CH_2CH_2CH_3$)、2-丙基(i-Pr、異丙基、 $-CH(CH_3)_2$)、1-丁基(n-Bu、正丁基、 $-CH_2CH_2CH_2CH_3$)、2-甲基-1-丙基(i-Bu、異丁基、 $-CH_2CH(CH_3)_2$)、2-丁基(s-Bu、第二丁基、 $-CH(CH_3)CH_2CH_3$)、2-甲基-2-丙基(t-Bu、第

三丁基、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ 、1-戊基(正戊基、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$)、2-戊基($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$)、3-戊基($-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$)、2-甲基-2-丁基($-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_3$)、3-甲基-2-丁基($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)_2$)、3-甲基-1-丁基($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$)、2-甲基-1-丁基($-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$)、1-己基($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$)、2-己基($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$)、3-己基($-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)$)、2-甲基-2-戊基($-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$)、3-甲基-2-戊基($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$)、4-甲基-2-戊基($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$)、3-甲基-3-戊基($-\text{C}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$)、2-甲基-3-戊基($-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)_2$)、2,3-二甲基-2-丁基($-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$)、3,3-二甲基-2-丁基($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}(\text{CH}_3)_3$)、1-庚基、1-辛基及其類似基團。

術語「碳環(carbocycle)」、「碳環基」、「碳環(carbocyclic ring)」及「環烷基」係指具有3至12個碳原子($\text{C}_3\text{-C}_{12}$)之單環形式或7至12個碳原子之雙環形式的單價非芳族飽和或部分不飽和環。具有7至12個原子之雙環碳環可排列成例如雙環[4,5]、[5,5]、[5,6]或[6,6]系統，且具有9或10個環原子之雙環碳環可排列成雙環[5,6]或[6,6]系統，或橋接系統，諸如雙環[2.2.1]庚烷、雙環[2.2.2]辛烷及雙環[3.2.2]壬烷。螺碳環基部分亦包括在此定義之範疇內。螺碳環基部分之實例包括[2.2]戊烷基、[2.3]己烷基及[2.4]庚烷基。單環碳環之實例包括(但不限於)環丙基、環丁基、環戊基、1-環戊-1-烯基、1-環戊-2-烯基、1-環戊-3-烯基、環己基、1-環己-1-烯基、1-環己-2-烯基、1-環己-3-烯基、環己二烯基、環庚基、環辛基、環壬基、環癸基、環十一烷基、環十二烷基及其類似基團。碳環基視情況獨立地經一或多個本文所述之取代基取代。

「芳基」意謂6-20個碳原子($\text{C}_6\text{-C}_{20}$)之單價芳族烴基，其藉由自母芳環系統之單個碳原子移除一個氫原子獲得。一些芳基係以如「Ar」

之例示性結構表示。芳基包括雙環基團，其包含與飽和、部分不飽和環或芳族碳環稠合之芳族環。典型芳基包括(但不限於)衍生自苯(苯基)、經取代之苯、萘、蒽、聯苯、茛基、茛滿基、1,2-二氫萘、1,2,3,4-四氫萘基及其類似基團之基團。芳基視情況獨立地經一或多個本文所述之取代基取代。

術語「雜環」、「雜環基」及「雜環」在本文中可互換地使用，且係指3至約20個環原子之飽和或部分不飽和(亦即環內具有一或多個雙鍵及/或參鍵)碳環基團，其中至少一個環原子為選自氮、氧、磷及硫之雜原子，其餘環原子為C，其中一或多個環原子視情況獨立地經一或多個下文所述之取代基取代。雜環可為具有3至7個環成員(2至6個碳原子及選自N、O、P及S之1至4個雜原子)之單環或具有7至10個環成員(4至9個碳原子及選自N、O、P及S之1至6個雜原子)之雙環，例如：雙環[4,5]、[5,5]、[5,6]或[6,6]系統。雜環描述於Paquette, Leo A.; 「Principles of Modern Heterocyclic Chemistry」 (W.A. Benjamin, New York, 1968), 尤其第1章、第3章、第4章、第6章、第7章及第9章；「The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs」 (John Wiley & Sons, New York, 1950至今), 尤其第13卷、第14卷、第16卷、第19卷及第28卷；及J. Am. Chem. Soc. (1960) 82:5566中。「雜環基」亦包括其中雜環基團與飽和、部分不飽和環或芳族碳環或雜環稠合之基團。雜環之實例包括(但不限於)嗎啉-4-基、哌啶-1-基、哌嗪基、哌嗪-4-基-2-酮、哌嗪-4-基-3-酮、吡咯啶-1-基、硫代嗎啉-4-基、S-二側氧基硫代嗎啉-4-基、氮雜環辛烷-1-基、氮雜環丁烷-1-基、八氫吡啶并[1,2-a]吡嗪-2-基、[1,4]二氮雜環庚烷-1-基、吡咯啶基、四氫呋喃基、二氫呋喃基、四氫噻吩基、四氫哌喃基、二氫哌喃基、四氫硫代哌喃基、N-哌啶基(piperidino)、N-嗎啉基(morpholino)、N-硫代嗎啉基(thiomorpholino)、硫氧雜環己烷基、哌

嗟基、高哌嗟基、氮雜環丁烷基、環氧丙烷基、硫雜環丁烷基、高哌啶基、氧雜環庚烷基、硫雜環庚烷基、噁氮呋基、二氮呋基、噻氮呋基、2-吡咯啉基、3-吡咯啉基、吲哚啉基、2H-哌喃基、4H-哌喃基、二氧雜環己烷基、1,3-二氧戊環基、吡啶啉基、二噻烷基、二硫噻基、二氮哌喃基、二氮噻吩基、二氮呋喃基、吡啶啉基咪啶啉基、咪啶啉基、3-氮雜雙環[3.1.0]己烷基、3-氮雜雙環[4.1.0]庚烷基、氮雜雙環[2.2.2]己烷基、3H-吲哚基喹嗟基及N-吡啶基脲。螺雜環基部分亦包括在此定義之範疇內。螺雜環基部分之實例包括氮雜螺[2.5]辛烷基及氮雜螺[2.4]庚烷基。2個環原子經側氧基(=O)部分取代之雜環基之實例為嘧啶酮基及1,1-二側氧基-硫代嗎啉基。

術語「雜芳基」係指5、6或7員環之單價芳基，且包括5-20個原子之稠環系統（其中之至少一者為芳族），其含有一或多個獨立地選自氮、氧及硫之雜原子。雜芳基之實例為吡啶基(包括例如2-羥基吡啶基)、咪啶基、咪啶并吡啶基、嘧啶基(包括例如4-羥基嘧啶基)、吡啶基、三啶基、吡嗟基、四啶基、呋喃基、噻吩基、異噻啶基、噻啶基、噁二啶基、噁啶基、異噻啶基、吡咯基、喹啉基、異喹啉基、四氮異喹啉基、吲哚基、苯并咪啶基、苯并呋喃基、呋啉基、吲啶基、吲哚嗟基、酞嗟基、噻嗟基、三嗟基、異吲哚基、喋啶基、嘌呤基、噁二啶基、三啶基、噻二啶基、噻二啶基、呋咕基、苯并呋咕基、苯并噻吩基、苯并噻啶基、苯并噁啶基、喹啉基、喹啉基、噻啶基及呋喃并吡啶基。

術語「治療(treat)」及「治療(treatment)」係指治療性處理，其中目標為減緩(減少)非所要生理學變化或病症，諸如關節炎或癌症之發展或擴散。出於本發明之目的，有益或所要臨床結果包括(但不限於)症狀緩解、疾病程度減輕、疾病狀態穩定(亦即不惡化)、疾病進展延緩或減緩、疾病病況改善或減輕及病徵緩解(部分或完全)，該等結

果為可偵測或不可偵測的。「治療」亦可意謂與不接受治療之預期存活期相比，會延長存活期。需要治療者包括患有病狀或病症者。

片語「治療有效量」意謂(i)治療特定疾病、病狀或病症；(ii)減輕、改善或消除特定疾病、病狀或病症之一或多種症狀；或(iii)預防或延遲本文所述之特定疾病、病狀或病症之一或多種症狀發作的本發明化合物之量。在癌症之情況下，藥物之治療有效量可減少癌細胞之數目；減小腫瘤尺寸；抑制(亦即在一定程度上減緩且較佳阻止)癌細胞浸潤至外周器官中；抑制(亦即在一定程度上減緩且較佳阻止)腫瘤轉移；在一定程度上抑制腫瘤生長；及/或在一定程度上減輕一或多種與癌症相關聯之症狀。對於藥物可阻止現有癌細胞生長及/或殺滅現有癌細胞的程度，其可具有細胞生長抑制性及/或細胞毒性。對於癌症療法，可例如藉由評定疾病進展時間(TTP)及/或測定反應率(RR)來量測功效。

術語「癌症」係指或描述哺乳動物中通常特徵為不受調控之細胞生長的生理學病狀。「腫瘤」包含一或多種癌細胞。癌症之實例包括(但不限於)癌瘤、淋巴瘤、母細胞瘤、肉瘤及白血病或淋巴惡性疾病。該等癌症之更特定實例包括鱗狀細胞癌(例如上皮鱗狀細胞癌)；肺癌，包括小細胞肺癌、非小細胞肺癌(「NSCLC」)、肺腺癌及肺鱗狀癌；腹膜癌；肝細胞癌；胃(gastric/stomach)癌，包括腸胃癌；胰臟癌；神經膠母細胞瘤；子宮頸癌；卵巢癌；肝癌；膀胱癌；肝腫瘤；乳癌；結腸癌；直腸癌；結腸直腸癌；子宮內膜癌或子宮癌；唾液腺癌；腎(kidney/renal)癌；前列腺癌；外陰癌；甲狀腺癌；肝癌；肛門癌；陰莖癌以及頭頸癌。

「血液惡性疾病」(Hematological malignancies/Haematological malignancies (英國拼法))為影響血液、骨髓及淋巴結之癌症類型。因為該三者經由免疫系統緊密連接，故影響該三者中之一者的疾病通常

亦影響其他者；儘管淋巴瘤為淋巴結之疾病，但其通常擴散至骨髓，從而影響血液。血液惡性疾病為惡性贅瘤(「癌症」)，且其一般由血液學及/或腫瘤學之專家治療。在一些中心，「血液學/腫瘤學」為內科學之單個次專業，而在其他中心，其被視為獨立部門(亦存在外科及輻射腫瘤科醫師)。並非所有血液病症均為惡性(「癌性」)的；此等其他血液病狀亦可由血液科醫師處理。血液惡性疾病可源自兩個主要血細胞系譜中之任一者：骨髓及淋巴細胞株。骨髓細胞株通常產生粒細胞、紅血球、凝血細胞、巨噬細胞及肥大細胞；淋巴細胞株產生B、T、NK及漿細胞。淋巴瘤、淋巴球性白血病及骨髓瘤來自淋巴株，而急性及慢性骨髓性白血病、骨髓發育不良症候群及骨髓增生病來源於骨髓。白血病包括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)、急性單核細胞性白血病(AMOL)及小淋巴球性淋巴瘤(SLL)。淋巴瘤包括霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphomas)(所有四種亞型)及非霍奇金氏淋巴瘤(Non-Hodgkin's lymphomas)(NHL，所有亞型)。

「化學治療劑」為與作用機制無關之適用於治療癌症的化合物。化學治療劑之類別包括(但不限於)：烷基化劑、抗代謝物、紡錘體抑制劑植物鹼、細胞毒性/抗腫瘤抗生素、拓撲異構酶抑制劑、抗體、光敏劑及激酶抑制劑。化學治療劑包括「靶向療法」及習知化學療法中所使用之化合物。化學治療劑之實例包括：依魯替尼(ibrutinib)(IMBRUVICA™、APCI-32765，Pharmacyclics Inc./Janssen Biotech Inc.；CAS登記號936563-96-1，US 7514444)、艾德斯布(先前為CAL-101、GS 1101、GS-1101，Gilead Sciences Inc.；CAS登記號1146702-54-6)、埃羅替尼(erlotinib)(TARCEVA®，Genentech/OSI Pharm.)、多西他賽(docetaxel) (TAXOTERE®，Sanofi-Aventis)、5-FU(氟尿嘧啶、5-氟尿嘧啶，CAS登記號51-21-8)、吉西他濱

(gemcitabine) (GEMZAR® , Lilly)、PD-0325901 (CAS編號391210-10-9 , Pfizer)、順鉑(cisplatin)(Platinol®、(SP-4-2)-二胺二氯鉑(II)、順-二胺、二氯鉑(II), CAS編號15663-27-1)、卡鉑(carboplatin)(CAS編號41575-94-4)、太平洋紫杉醇 (paclitaxel)(TAXOL® , Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.)、曲妥珠單抗 (trastuzumab)(HERCEPTIN® , Genentech)、替莫唑胺 (temozolomide)(4-甲基-5-側氧基-2,3,4,6,8-五氮雜雙環[4.3.0]九-2,7,9-三烯-9-甲醯胺, CAS編號85622-93-1, TEMODAR®, TEMODAL®, Schering Plough)、他莫昔芬(tamoxifen)((Z)-2-[4-(1,2-二苯基丁-1-烯基)苯氧基]-N,N-二甲基乙胺、NOLVADEX®、ISTUBAL®、VALODEX®)及小紅莓 (doxorubicin)(ADRIAMYCIN®, CAS 編號 23214-92-8)、Akti-1/2、HPPD及雷帕黴素(rapamycin)。

化學治療劑包括B細胞受體標靶之抑制劑，諸如BTK、Bcl-2及JAK抑制劑。

化學治療劑之更多實例包括：奧沙利鉑 (oxaliplatin)(ELOXATIN® , Sanofi)、硼替佐米 (bortezomib)(VELCADE® , Millennium Pharm.)、舒癌特 (sutent)(SUNITINIB®、SU11248 , Pfizer)、來曲唑 (letrozole)(FEMARA® , Novartis)、甲磺酸伊馬替尼 (imatinib mesylate)(GLEEVEC® , Novartis)、XL-518 (Mek抑制劑, Exelixis, WO 2007/044515)、ARRY-886 (Mek抑制劑, AZD6244, Array BioPharma, Astra Zeneca)、SF-1126 (PI3K抑制劑, Semafore Pharmaceuticals)、BEZ-235 (PI3K抑制劑, Novartis)、XL-147 (PI3K抑制劑, Exelixis)、PTK787/ZK 222584 (Novartis)、氟維司群 (fulvestrant)(FASLODEX® , AstraZeneca)、甲醯四氫葉酸 (leucovorin)(醛葉酸)、雷帕黴素(rapamycin)(西羅莫司(sirolimus)、

RAPAMUNE® , Wyeth) 、 拉 帕 替 尼 (lapatinib)(TYKERB® 、 GSK572016 , Glaxo Smith Kline) 、 洛 那 法 尼 (lonafarnib)(SARASAR™、SCH 66336 , Schering Plough)、索拉非尼 (sorafenib)(NEXAVAR® 、 BAY43-9006 , Bayer Labs)、吉非替尼 (gefitinib)(IRESSA® , AstraZeneca) 、 伊 立 替 康 (irinotecan)(CAMPTOSAR® 、 CPT-11 , Pfizer) 、 替 吡 法 尼 (tipifarnib)(ZARNESTRA™ , Johnson & Johnson) 、 ABRAXANE™ (Cremophor-free)、太平洋紫杉醇之白蛋白工程改造之奈米粒子製劑 (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Il) 、 凡 德 他 尼 (vandetanib)(rINN、ZD6474、ZACTIMA® , AstraZeneca)、氯芥苯丁酸 、 AG1478 、 AG1571 (SU 5271 ; Sugen) 、 坦 羅 莫 司 (temsirolimus)(TORISEL® , Wyeth) 、 帕 唑 帕 尼 (pazopanib)(GlaxoSmithKline) 、 堪 佛 司 非 米 德 (canfosfamide)(TELCYTA® , Telik)、噻替派 (thiotepa)及環磷醯胺 (CYTOXAN® 、 NEOSAR®) ; 磺酸烷酯 , 諸如硫酸布他卡因 (busulfan)、英丙舒凡 (improsulfan)及哌泊舒凡 (piposulfan) ; 氮丙啶 , 諸如苯唑多巴 (benzodopa)、卡波醌 (carboquone)、米特多巴 (meturedopa)及尤利多巴 (uredopa) ; 伸乙亞胺及甲基三聚氰胺 , 包括六甲蜜胺 (altretamine)、三伸乙基三聚氰胺、三伸乙基磷醯胺、三伸乙基硫代磷醯胺及三羥甲基三聚氰胺 ; 乙醯精寧 (acetogenins)(尤其布拉他辛 (bullatacin)及布拉他辛酮 (bullatacinone) ; 喜樹鹼 (包括合成類似物拓朴替康 (topotecan)) ; 苔蘚抑素 (bryostatin) ; 卡利斯他汀 (callystatin) ; CC-1065 (包括其阿多來新 (adozelesin)、卡折來新 (carzelesin)及比折來新 (bizelesin)合成類似物) ; 念珠藻環肽 (cryptophycin)(尤其念珠藻環肽 1 及念珠藻環肽 8) ; 海兔毒素 (dolastatin) ; 倍癌黴素 (duocarmycin)(包括合成類似物、KW-2189及

CB1-TM1)；艾榴素(eleutherobin)；水鬼蕉鹼(pancratistatin)；匍枝珊瑚醇(sarcodictyin)；海綿抑素(spongistatin)；氮芥(nitrogen mustard)，諸如苯丁酸氮芥、萘氮芥、氯磷醯胺、雌莫司汀(estramustine)、異環磷醯胺、氮芥(mechlorethamine)、氮芥氧化物鹽酸鹽、美法侖(melphalan)、新恩比興(novembichin)、膽固醇對苯乙酸氮芥(phenesterine)、潑尼莫司汀(prednimustine)、曲磷胺(trofosfamide)、尿嘧啶氮芥；亞硝基脲，諸如卡莫司汀(carmustine)、氯脲菌素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine)及雷莫司汀(ranimustine)；抗生素，諸如烯二炔抗生素(例如卡奇黴素(calicheamicin)、卡奇黴素 γ II、卡奇黴素dII (Angew Chem. Intl. Ed. Engl. (1994) 33:183-186)；達內黴素(dynemicin)、達內黴素A；雙膦酸鹽，諸如氯屈膦酸鹽；埃斯培拉黴素(esperamicin)；以及新抑癌蛋白發色團及相關色素蛋白(烯二炔抗生素發色團)、阿克拉黴素(aclacinomycin)、放線菌素(actinomycin)、安麴黴素(authramycin)、偶氮絲胺酸、博來黴素(bleomycin)、放線菌素C、卡柔比星(carabycin)、洋紅黴素(carminomycin)、嗜癌菌素(carzinophilin)、色黴素(chromomycin)、放線菌素D(dactinomycin)、道諾黴素(daunorubicin)、地托比星(detorubicin)、6-重氮-5-側氧基-L-正白胺酸、N-嗎啉基-小紅莓、氰基-N-嗎啉基-小紅莓、2-吡咯啉基-小紅莓及去氧小紅莓、表柔比星(epirubicin)、依索比星(esorubicin)、艾達黴素(idarubicin)、奈莫柔比星(nemorubicin)、麻西羅黴素(marcellomycin)、絲裂黴素(mitomycins)(諸如絲裂黴素C)、黴酚酸、諾加黴素(nogalamycin)、橄欖黴素(olivomycins)、培洛黴素(peplomycin)、泊非羅黴素(porfiromycin)、嘌呤黴素(puromycin)、奎那黴素(quelamycin)、羅多比星(rodorubicin)、鏈黑黴素(streptonigrin)、鏈脲菌素(streptozocin)、殺結核菌素(tubercidin)、烏

苯美司(ubenimex)、淨司他丁(zinostatin)、左柔比星(zorubicin)；抗代謝物，諸如甲胺喋呤及5-氟尿嘧啶(5-FU)；葉酸類似物，諸如迪諾特寧(denopterin)、甲胺喋呤、蝶羅呤(pteropterin)、三甲曲沙(trimetrexate)；嘌呤類似物，諸如氟達拉濱(fludarabine)、6-巰基嘌呤、噻咪嘌呤(thiamiprine)、硫鳥嘌呤(thioguanine)；嘧啶類似物，諸如安西他濱(ancitabine)、阿紮胞苷(azacitidine)、6-氮雜尿苷、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、雙去氧尿苷、去氧氟尿苷、依諾他濱(enocitabine)、氟尿苷；雄激素，諸如卡普甾酮(calusterone)、屈他雄酮丙酸酯(dromostanolone propionate)、環硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、甾內酯(testolactone)；抗腎上腺素，諸如胺格魯米特(aminogluthimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane)；葉酸補充劑，諸如亞葉酸；醋葡醛內酯(aceglatone)；醛磷醯胺醣苷；胺基乙醯丙酸；恩尿嘧啶(eniluracil)；安吡啶(amsacrine)；貝斯布西(bestrabucil)；比山群(bisantrene)；依達曲沙(edatraxate)；地磷醯胺(defofamine)；秋水仙胺(demecolcine)；地吡醯(diaziquone)；艾弗鳥胺酸(elfornithine)；依利醋鉍(elliptinium acetate)；埃博黴素(epothilone)；乙環氧啶(etoglucid)；硝酸鎂；羥基尿素(hydroxyurea)；蘑菇多醣(lentinan)；羅尼達寧(lonidainine)；美登醇(maytansinoid)，諸如美登素(maytansine)及安絲菌素(ansamitocin)；丙脒脒(mitoguazone)；米托蒽醌(mitoxantrone)；莫比達摩(mopidanmol)；二胺硝吡啶(nitraerine)；噴司他汀(pentostatin)；蛋氨酸(phenamet)；吡柔比星(pirarubicin)；洛索蒽醌(losoxantrone)；鬼臼酸(podophyllinic acid)；2-乙基醯肼；丙卡巴肼(procarbazine)；PSK®多醣複合物(JHS Natural Products, Eugene, OR)；雷佐生(razoxane)；根瘤菌素(rhizoxin)；西佐喃(sizofiran)；鎳螺胺；細交鏈孢菌酮酸；三亞胺醌；2,2',2''-三氯三乙胺；新月毒素

(trichothecene)(尤其T-2毒素、弗納庫林A (verracurin A)、桿孢菌素A (roridin A)及胺癸叮(anguidine))；尿烷；長春地辛(vindesine)；達卡巴嗪(dacarbazine)；甘露莫司汀(mannomustine)；二溴甘露醇；二溴衛矛醇(mitolactol)；哌泊溴烷(pipobroman)；加西托星(gacytosine)；阿拉伯糖苷(arabinoside)(「Ara-C」)；環磷醯胺；噻替派(thiotepa)；6-硫代鳥嘌呤；巯基嘌呤；甲胺喋呤；鉑類似物，諸如順鉑及卡鉑；長春鹼(vinblastine)；依託泊苷(etoposide)(VP-16)；異環磷醯胺；米托蒽醌(ifosfamide)；米托蒽醌；長春新鹼(vincristine)；長春瑞濱(vinorelbine)(NAVELBINE®)；米托蒽醌(novantrone)；替尼泊甙(teniposide)；依達曲沙(edatrexate)；柔紅黴素(daunomycin)；胺基喋呤；卡培他濱(capecitabine)(XELODA®, Roche)；伊班膦酸鹽；CPT-11；拓撲異構酶抑制劑RFS 2000；二氟甲基鳥胺酸(DMFO)；類視黃素，諸如視黃酸；及醫藥學上可接受之鹽、酸及以上中之任一者之衍生物。

亦包括於「化學治療劑」定義中的為：(i)用於調節或抑制腫瘤上之激素作用的抗激素劑，諸如抗雌激素及選擇性雌激素受體調節劑(SERM)，包括(例如)他莫昔芬(包括NOLVADEX®；檸檬酸他莫昔芬)、雷諾昔酚(raloxifene)、曲洛昔芬(droloxifene)、4-羥基他莫昔芬、曲沃昔芬(trioxifene)、雷洛昔芬(keoxifene)、LY117018、奧那司酮(onapristone)及FARESTON® (檸檬酸托瑞米芬(toremifine citrate))，以及選擇性雌激素受體調節劑(SERD)，諸如氟維司群(FASLODEX®, Astra Zeneca)；(ii)抑制芳香酶之芳香酶抑制劑，其調節腎上腺中之雌激素產生，諸如4(5)-咪唑、胺格魯米特、MEGASE® (乙酸甲地孕酮(megestrol acetate))、AROMASIN® (依西美坦(exemestane)；Pfizer)、福美斯坦(formestane)、法屈唑(fadrozole)、RIVISOR® (伏羅唑(vorozole))、FEMARA® (來曲唑

(letrozole) ; Novartis) 及 ARIMIDEX® (阿那曲唑 (anastrozole) ; AstraZeneca) ; (iii) 抗雄激素，諸如氟他胺 (flutamide)、尼魯胺 (nilutamide)、比卡魯胺 (bicalutamide)、亮丙立德 (leuprolide) 及戈舍瑞林 (goserelin) ; 以及曲沙他濱 (troxacitabine) (1,3-二氧雜環戊烷核苷胞嘧啶類似物) ; (iv) 蛋白激酶抑制劑，諸如 MEK 抑制劑，諸如考比替尼 (cobimetinib) (WO 2007/044515) ; (v) 脂質激酶抑制劑，諸如泰尼西布 (GDC-0032, Genentech Inc.) ; (vi) 反義寡核苷酸，尤其在與異常細胞增殖相關之信號傳遞路徑中抑制基因表現的彼等反義寡核苷酸，例如 PKC- α 、Raf 及 H-Ras，諸如奧利默森 (oblimersen) (GENASENSE®, Genta Inc.) ; (vii) 核酶，諸如 VEGF 表現抑制劑 (例如 ANGIOZYME®) 及 HER2 表現抑制劑 ; (viii) 疫苗，諸如基因療法疫苗，例如 ALLOVECTIN®、LEUVECTIN® 及 VAXID® ; PROLEUKIN® rIL-2 ; 拓撲異構酶 1 抑制劑，諸如 LURTOTECAN® ; ABARELIX® rmRH ; (ix) 抗血管生成劑，諸如貝伐單抗 (bevacizumab) (AVASTIN®, Genentech) ; 及醫藥學上可接受之鹽、酸及以上中之任一者之衍生物。

亦包括於「化學治療劑」定義中的為治療性抗體，諸如阿倫單抗 (alemtuzumab) (Campath)、貝伐單抗 (AVASTIN®, Genentech)、西妥昔單抗 (cetuximab) (ERBITUX®, Imclone)、帕尼單抗 (panitumumab) (VECTIBIX®, Amgen)、利妥昔單抗 (rituximab) (RITUXAN®, Genentech/Biogen Idec)、帕妥珠單抗 (pertuzumab) (PERJETA™, 2C4, Genentech)、曲妥珠單抗 (trastuzumab) (HERCEPTIN®, Genentech)、曲妥珠單抗恩他新 (trastuzumab emtansine) (KADCYLA®, Genentech Inc.) 及托西莫單抗 (tositumomab) (BEXXAR, Corixa)。

「代謝物」為經由指定化合物或其鹽在體內代謝產生之產物。化合物之代謝物可使用此項技術中已知之常規技術識別，且其活性使用

諸如本文中所描述之彼等測試的測試來測定。該等產物可例如由所投與化合物之氧化、還原、水解、醯胺化、去醯胺化、酯化、去酯化、酶促裂解及其類似反應產生。因此，本發明包括本發明化合物之代謝物，包括利用如下方法產生之化合物：包含使本發明式I化合物與哺乳動物接觸一段時間以足以產生其代謝產物。

術語「藥品說明書」用以指治療產品之商業封裝中通常包括之說明書，其含有關於適應症、用法、劑量、投與、禁忌及/或關於使用該等治療產品之警告的資訊。

術語「對掌性」係指具有鏡像體之非重疊性質的分子，而術語「非對掌性」係指在其鏡像體上可重疊之分子。

術語「立體異構體」係指具有相同化學構成但在空間中原子或基團之排列不同的化合物。

「非對映異構體」係指具有兩個或兩個以上對掌性中心且其分子並不互為鏡像之立體異構體。非對映異構體具有不同物理性質，例如熔點、沸點、光譜性質及反應性。可在諸如電泳及層析之高解析度分析程序下分離非對映異構體之混合物。

「對映異構體」係指互為不可重疊鏡像的化合物之兩個立體異構體。

本文所用之立體化學定義及約定一般遵循S.P.Parker編，*McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms* (1984) McGraw-Hill Book Company, New York；以及 Eliel, E. 及 Wilen, S., 「*Stereochemistry of Organic Compounds*」, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994。本發明化合物可含有不對稱或對掌性中心，且因此以不同立體異構形式存在。意欲本發明化合物之所有立體異構形式形成本發明之部分，該等立體異構形式包括(但不限於)非對映異構體、對映異構體及滯轉異構體以及其混合物(諸如外消旋混合物)。許多有機化合物以光活性形式存在，亦

即其能夠使面偏光之平面旋轉。在描述光學活性化合物時，使用前綴D及L或R及S表示分子圍繞其對掌性中心之絕對組態。前綴d及l或(+)及(-)用於指明化合物引起面偏光旋轉之跡象，其中(-)或l意謂化合物為左旋的。具有前綴(+)或d之化合物為右旋的。對於既定化學結構，此等立體異構體相同，但其互為鏡像。特定立體異構體亦可稱為對映異構體，且該等異構體之混合物通常稱為對映異構混合物。對映異構體之50:50混合物稱為外消旋混合物或外消旋體，其可在化學反應或製程中還不具有立體選擇或立體特異性時出現。術語「外消旋混合物」及「外消旋體」係指兩種對映異構物質之等莫耳混合物，其缺乏光學活性。對映異構體可藉由對掌性分離方法(諸如超臨界流體層析法(SFC))自外消旋混合物分離。經分離對映異構體中對掌性中心之組態分配可為試驗性的，且出於說明之目的描繪於表1結構中，而立體化學諸如由x射線結晶學資料明確確定。

術語「互變異構體」或「互變異構體形式」係指經由較低能量障壁可互相轉化之具有不同能量的結構異構體。舉例而言，質子互變異構體(亦稱為質子轉移互變異構體)包括經由質子遷移之相互轉化，諸如酮-烯醇及亞胺-烯胺異構化。原子價互變異構體包括藉由一些鍵結電子重組之相互轉化。

術語「醫藥學上可接受之鹽」表示不為生物學上或以其他方式所不期望之鹽。醫藥學上可接受之鹽包括酸加成鹽及鹼加成鹽。片語「醫藥學上可接受」指示物質或組合物必須與構成調配物之其他成分及/或正用其治療之哺乳動物化學上及/或毒理學上相容。

術語「醫藥學上可接受之酸加成鹽」表示與以下形成之彼等醫藥學上可接受之鹽：無機酸，諸如鹽酸、氫溴酸、硫酸、硝酸、碳酸、磷酸；及選自脂族、環脂族、芳族、芳脂族、雜環、羧酸及磺酸類有機酸之有機酸，諸如甲酸、乙酸、丙酸、乙醇酸、葡萄糖酸、乳

酸、丙酮酸、草酸、蘋果酸、順丁烯二酸、丙二酸、丁二酸、反丁烯二酸、酒石酸、檸檬酸、天冬胺酸、抗壞血酸、麩胺酸、鄰胺基苯甲酸、苯甲酸、肉桂酸、杏仁酸、恩波酸、苯乙酸、甲磺酸「甲磺酸鹽」、乙磺酸、對甲苯磺酸及水楊酸。

術語「醫藥學上可接受之鹼加成鹽」表示與有機鹼或無機鹼形成之彼等醫藥學上可接受之鹽。可接受之無機鹼之實例包括鈉鹽、鉀鹽、銨鹽、鈣鹽、鎂鹽、鐵鹽、鋅鹽、銅鹽、錳鹽及鋁鹽。衍生自醫藥學上可接受之有機無毒鹼之鹽包括以下之鹽：一級胺、二級胺及三級胺；經取代之胺，包括天然存在之經取代之胺；環胺；及鹼性離子交換樹脂，諸如異丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺、乙醇胺、2-二乙胺基乙醇、三羥甲基胺基甲烷、二環己胺、離胺酸、精胺酸、組胺酸、咖啡鹼、普魯卡因(procaine)、海卓胺、膽鹼、甜菜鹼、乙二胺、葡糖胺、甲基還原葡糖胺、可可豆鹼、嘌呤、哌嗪、哌啶、N-乙基哌啶及聚胺樹脂。

「溶劑合物」係指一或多個溶劑分子與本發明化合物之締合物或複合物。形成溶劑合物之溶劑之實例包括(但不限於)水、異丙醇、乙醇、甲醇、DMSO、乙酸乙酯、乙酸及乙醇胺。

術語「EC₅₀」為一半最大有效濃度，且表示活體內獲得特定作用最大之50%所要的特定化合物之血漿濃度。

術語「Ki」為抑制常數，且表示特定抑制劑對受體之絕對結合親和力。其使用競爭結合分析來量測，且等於不存在競爭配位體(例如放射性配位體)時，特定抑制劑佔據50%受體之濃度。Ki值可經對數轉換為pKi值(-log Ki)，其中較大值指示按指數規律較大之效能。

術語「IC₅₀」為一半最大抑制濃度，且表示活體外獲得生物方法之50%抑制所要的特定化合物之濃度。IC₅₀值可經對數轉換為pIC₅₀值(-log IC₅₀)，其中較大值指示按指數規律較大之效能。IC₅₀值不為絕對

值而是取決於實驗條件，例如所用濃度，且可使用鄭-普魯索夫方程式(Cheng-Prusoff equation)(Biochem. Pharmacol. (1973) 22:3099)轉換成絕對抑制常數(K_i)。可計算其他抑制參數%，諸如 IC_{70} 、 IC_{90} 等。

術語「本發明化合物(compound of this invention/compounds of the present invention)」及「式I化合物」包括式I化合物及其立體異構體、幾何異構體、互變異構體、溶劑合物、代謝物及醫藥學上可接受之鹽及前藥。

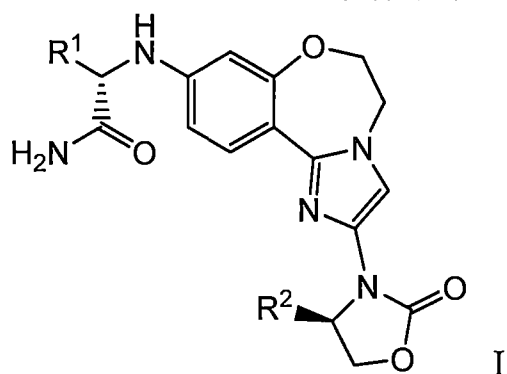
本文所給定之任何式或結構(包括式I化合物)亦意欲代表該等化合物之水合物、溶劑合物及多晶型物及其混合物。

本文所給定之任何式或結構(包括式I化合物)亦意欲代表化合物之未標記形式以及同位素標記形式。經同位素標記之化合物具有由本文所給定之化學式描繪之結構，不同之處在於一或多個原子經具有選定原子質量或質量數之原子置換。可併入本發明化合物中之同位素之實例包括氫、碳、氮、氧、磷、氟及氯之同位素，諸如(但不限於) $2H$ (氘，D)、 $3H$ (氚)、 $11C$ 、 $13C$ 、 $14C$ 、 $15N$ 、 $18F$ 、 $31P$ 、 $32P$ 、 $35S$ 、 $36Cl$ 及 $125I$ 。本發明之經各種同位素標記之化合物，例如將諸如 $3H$ 、 $13C$ 及 $14C$ 之放射性同位素併入至其中之彼等化合物。該等經同位素標記之化合物可適用於代謝研究、反應動力學研究、偵測或成像技術(諸如正電子發射斷層攝影法(PET)或單光子發射電腦斷層攝影法(SPECT))，包括藥物或受質組織分佈分析或用於患者之放射性治療。本發明之經氚標記或取代之治療性化合物可具有經改良之與分佈、代謝及排泄(ADME)相關的DMPK (藥物代謝及藥物動力學)性質。用諸如氚之較重同位素取代可得到某些由更大代謝穩定性產生之治療優勢，例如活體內半衰期增加或劑量需求降低。經 $18F$ 標記之化合物可適用於PET或SPECT研究。本發明之經同位素標記之化合物及其前藥一般可藉由進行下文所描述之流程中或實例及製備中所揭示之程序藉

由用易於得到之經同位素標記之試劑取代未經同位素標記之試劑來製備。此外，用較重的同位素，尤其為氘(亦即， 2H 或 D)取代可得到由較大代謝穩定性產生之某些治療優勢，例如活體內半衰期增加或劑量需求降低或治療指數改良。應瞭解，在此情形下氘在式(I)化合物中視為取代基。可藉由同位素增濃因素來界定此類較重同位素(尤其氘)之濃度。在本發明化合物中，不特指為特定同位素之任何原子均欲代表彼原子之任何穩定同位素。除非另外陳述，否則當位置經特定指定為「 H 」或「氫」時，應瞭解該位置在其天然豐度同位素組成中具有氫。因此，在本發明化合物中，特定指定為氘(D)之任何原子意欲表示氘。

苯并氧氮吡啶啉酮化合物

本發明提供潛在地適用於治療癌症之式I苯并氧氮吡啶啉酮化合物及其醫藥調配物，其具有以下結構：



及其立體異構體、幾何異構體、互變異構體及醫藥學上可接受之鹽，其中：

R^1 係選自 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、環丙基及環丁基；

R^2 係選自 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CHF}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{F}$ 及 $-\text{CF}_3$ 。

式I化合物之例示性實施例包括其中 R^1 為環丙基。

式I化合物之例示性實施例包括其中 R^1 為 CH_3 或環丙基。

式I化合物之例示性實施例包括其中 R^1 為 CH_3 。

式I化合物之例示性實施例包括其中 R^2 為 $-\text{CHF}_2$ 。

式I化合物之例示性實施例包括其中 R^2 為 $-\text{CH}_2\text{F}$ 。

式I化合物之例示性實施例包括其中 R^1 為環丙基且 R^2 為 $-\text{CHF}_2$ 。

式I化合物之例示性實施例包括其中 R^1 為環丙基且 R^2 為 $-\text{CH}_2\text{F}$ 。

式I化合物之例示性實施例包括其中 R^1 為 CH_3 且 R^2 為 $-\text{CHF}_2$ 。

式I化合物之例示性實施例包括表1中之化合物。

本發明之式I化合物可含有不對稱或對掌性中心，且因此以不同立體異構形式存在。意欲本發明化合物之所有立體異構形式形成本發明之部分，該等立體異構形式包括(但不限於)非對映異構體、對映異構體及滯轉異構體以及其混合物(諸如外消旋混合物)。在一些情況下，立體化學尚未確定或已臨時指定。

另外，本發明涵蓋所有非對映異構體，包括順-反(幾何)異構體及構形異構體。舉例而言，若式I化合物併入雙鍵或稠環，則順式及反式以及其混合物包涵在本發明之範疇內。

在本文中所示之結構中，若未規定任何特定對掌性原子之立體化學，則本發明化合物涵蓋及包括所有立體異構體。若藉由實心楔形或虛線表示特定組態來規定立體化學，則彼立體異構體由該實心楔形或虛線表示特定組態加以規定及定義。

本發明化合物可與醫藥學上可接受之溶劑(諸如水、乙醇及其類似物)一起以非溶劑合物以及溶合形式存在，且希望本發明涵蓋溶合形式及非溶劑合物形式。

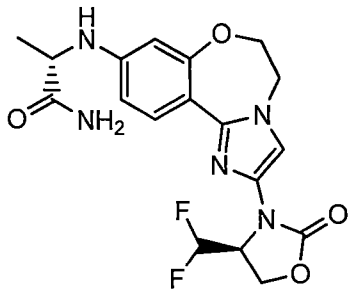
本發明化合物亦可以不同互變異構形式存在，且所有該等形式涵蓋在本發明之範疇內。術語「互變異構體」或「互變異構體形式」係指經由低能量障壁可互相轉化之具有不同能量的結構異構體。舉例而言，質子互變異構體(亦稱為質子轉移互變異構體)包括經由質子遷移之相互轉化，諸如酮-烯醇及亞胺-烯胺異構化。原子價互變異構體包括藉由一些鍵結電子重組之相互轉化。

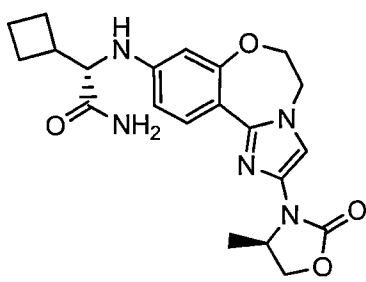
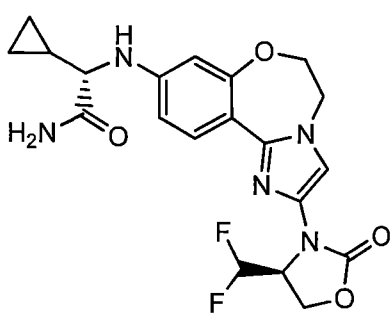
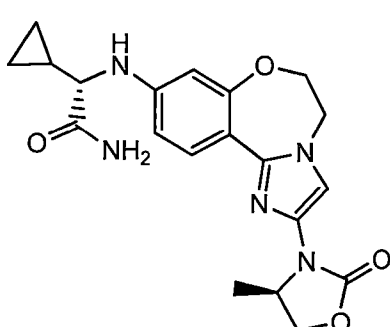
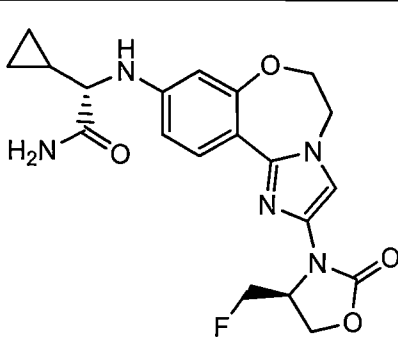
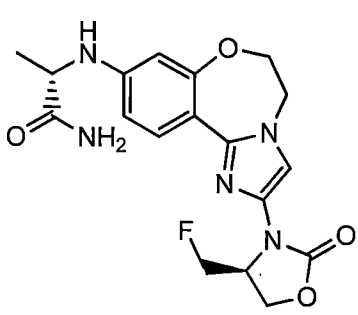
生物評估

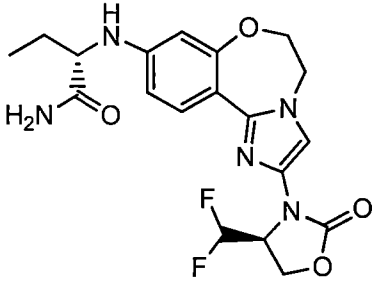
式I化合物作為酶活性(或其他生物活性)之抑制劑的相對功效可藉由測定各化合物將活性抑制於預定程度下之濃度且接著比較結果來確定。通常，較佳測定生物化學分析中抑制50%活性之濃度，亦即50%抑制濃度或「IC₅₀」。IC₅₀值之測定可使用此項技術中已知之習知技術完成。總體而言，IC₅₀可藉由量測指定酶在一系列濃度之正在研究之抑制劑存在下之活性來測定。隨後可繪製實驗獲得之酶活性值相對於所用抑制劑濃度之圖。展示出50%酶活性(相比於在不存在任何抑制劑情況下之活性)之抑制劑濃度視為IC₅₀值。類似地，可經由活性之恰當測定定義其他抑制性濃度。舉例而言，在一些情況下，可能需要確定90%抑制濃度，亦即IC₉₀等。

將表1中之例示性式I化合物根據本發明之方法結合至PI3K之多種同功異型物及突變形式，進行表徵且測試，且該等例示性式I化合物具有以下結構、相應名稱(ChemBioDraw, 版本12.0.2, CambridgeSoft Corp., Cambridge MA)及生物活性。若多於一個名稱與式I化合物或中間物相關，則用化學結構定義該化合物。

表1. 式I化合物

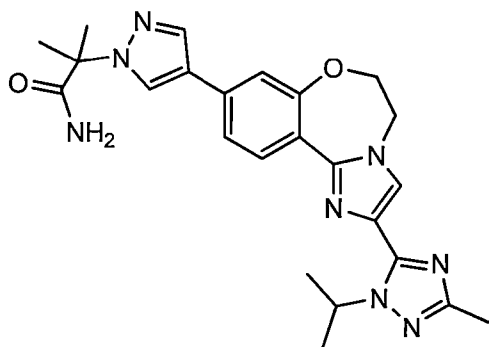
編號	結構	名稱
101		(S)-2-((2-((S)-4-(二氟甲基)-2-側氧基噁唑啉-3-基)-5,6-二氫苯并[<i>b</i>]咪唑并[1,2- <i>d</i>][1,4]噁氮呋-9-基)胺基)丙醯胺

102		(S)-2-環丁基-2-((2-((R)-4-甲基-2-側氧基噁唑啉-3-基)-5,6-二氫苯并[<i>l</i>]咪唑并[1,2- <i>d</i>][1,4]噁氮呋-9-基)胺基)乙醯胺
103		(S)-2-環丙基-2-((2-((S)-4-(二氟甲基)-2-側氧基噁唑啉-3-基)-5,6-二氫苯并[<i>l</i>]咪唑并[1,2- <i>d</i>][1,4]噁氮呋-9-基)胺基)乙醯胺
104		(S)-2-環丙基-2-((2-((R)-4-甲基-2-側氧基噁唑啉-3-基)-5,6-二氫苯并[<i>l</i>]咪唑并[1,2- <i>d</i>][1,4]噁氮呋-9-基)胺基)乙醯胺
105		(S)-2-環丙基-2-((2-((S)-4-(氟甲基)-2-側氧基噁唑啉-3-基)-5,6-二氫苯并[<i>l</i>]咪唑并[1,2- <i>d</i>][1,4]噁氮呋-9-基)胺基)乙醯胺
106		(S)-2-((2-((S)-4-(氟甲基)-2-側氧基噁唑啉-3-基)-5,6-二氫苯并[<i>l</i>]咪唑并[1,2- <i>d</i>][1,4]噁氮呋-9-基)胺基)丙醯胺

107		(S)-2-((2-((S)-4-(二氟甲基)-2-側氧基噁唑啉-3-基)-5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-d][1,4]噁氮呋-9-基)胺基)丁醯胺
-----	---	--

泰尼西布

該化合物稱為泰尼西布、GDC-0032及Roche RG7604 (CAS登記號1282512-48-4, Genentech Inc.)，其IUPAC名稱為：2-(4-(2-(1-異丙基-3-甲基-1H-1,2,4-三唑-5-基)-5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-d][1,4]噁氮呋-9-基)-1H-吡唑-1-基)-2-甲基丙醯胺，且結構為：



泰尼西布

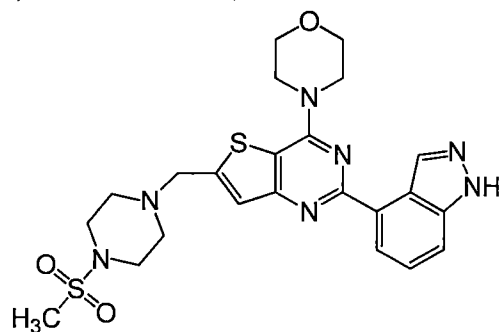
包括其立體異構體、幾何異構體、互變異構體及醫藥學上可接受之鹽。

泰尼西布可如WO 2011/036280、US 8242104及US 8343955中所描述進行製備且表徵。

皮克昔布(pictilisib)

該化合物稱為皮克昔布、GDC-0941、Roche、RG-7321及皮克特昔布(pictrelisib)(CAS登記號957054-30-7, Genentech Inc.)，其為PI3K同功異型物之強力多靶向I類(泛)抑制劑。GDC-0941當前在階段II臨床試驗用於治療晚期實體腫瘤。GDC-0941命名為4-(2-(1H-吡唑-4-基)-6-((4-(甲磺醯基)哌嗪-1-基)甲基)噻吩并[3,2-d]嘧啶-4-基)嗎啉(US 7781433；US 7750002；Folkes等人(2008) Jour. of Med. Chem.

51(18):5522-5532)，且具有以下結構：

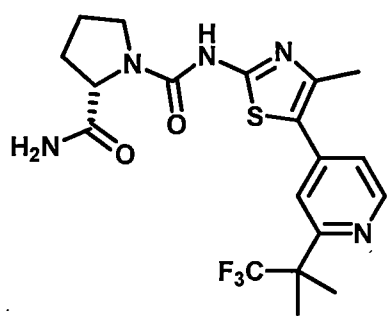


皮克昔布

包括其立體異構體、幾何異構體、互變異構體及醫藥學上可接受之鹽。

艾培昔布(alpelisib)

該化合物稱為艾培昔布(BYL719, Novartis, CAS編號：1217486-61-7)，其為PI3K α 同功異型物之口服選擇性抑制劑，且在臨床試驗中用於潛在治療多種腫瘤類型，包括與氟維司群組合用於第二株激素受體陽性HER2晚期轉移性乳癌之階段III研究(Furet, P.等人(2013) Bioorg. Med. Chem. Lett. 23:3741-3748；US 8227462；US 8476268；US 8710085)。艾培昔布命名為(S)-N1-(4-甲基-5-(2-(1,1,1-三氟-2-甲基丙-2-基)吡啶-4-基)噻唑-2-基)吡咯啉-1,2-二甲醯胺)，且具有以下結構：



艾培昔布

PI3K同功異型物之生物化學抑制

本發明化合物充當PI3K α 之抑制劑在選擇性上超過PI3K β 、PI3K δ 及PI3K γ 之情況下的能力使用實例901之方法測定。除非另外指出，否則表2A及表2B中所展示之K_i值代表三個獨立實驗之最小值的幾何平均值。

表2A展示藉由表1之式I化合物對四種PI3K同功異型物之生物化學抑制。另外，包括作為對比物之兩種經臨床上測試之PI3K化合物泰尼西布及皮克昔布。代表性本發明化合物對PI3K α 展現較強的活性，且當與泰尼西布(GDC-0032)及皮克昔布(GDC-0941)相比時，展現相對於其他同功異型物PI3K β 、PI3K δ 及PI3K γ 顯著增強之選擇性。特定言之，來自表2A右列之第二列中的選擇性比率展示各式I化合物**101-107**之PI3K α 與PI3K δ 選擇性比率遠高於泰尼西布或皮克昔布。實際上，泰尼西布及皮克昔布對PI3K δ 比對PI3K α 具有更強的活性，亦即其選擇性比率小於1。式I化合物**101-107**之選擇性比率範圍介於301倍至634倍。

表2B展示關於US 8242104之某些對比化合物及來自US 8263633之攜有二甲基噁唑啉-2-酮基團之化合物(化合物356，第149列)對兩種PI3K同功異型物 α 及 δ 的生物化學抑制以及PI3K α 與PI3K δ 選擇性比率。此處表2B中所展示之對比化合物為來自US 8242104及US 8263633中每一者所描述之諸多種類的實例。US 8242104及US 8263633均不揭示本發明式I化合物之範疇內的化合物。如表2B中所描述的US 8242104之代表性對比實例展現PI3K α (阿爾法)與PI3K δ (德耳塔)選擇性比率 > 1 ，所觀察到的最大選擇性比率為46.9倍。式I化合物**101-107**因此達成比US 8242104之實例顯著更高的選擇性比率。US 8242104或US 8263633中並未指導選擇式I化合物之結構元素以達成相對於PI3K δ 較高的PI3K α 選擇性之性質。此大於300倍PI3K α 選擇性之出人意料的性質在表1中所例示化合物之整個譜系中均得以保留。

臨床試驗中之當前PI3K抑制劑，諸如泰尼西布(WO 2011/036280；US 8242104；US 8343955)，以及US 8242104之其他代表性實例展現對PI3K δ (德耳塔)同功異型物的顯著活性。此相對於PI3K δ (德耳塔)之選擇性缺乏與泰尼西布之臨床中所觀察到的GI毒性

相符。PI3K α (阿爾法)之抑制劑需要含有代表同時缺乏對PI3K δ (德耳塔)之活性的US 8242104之實例的有利特性。本發明提供滿足此活性及選擇性概況之化合物。

PI3K α 選擇性之出人意料的性質有利於移除臨床PI3K抑制劑候選物中所觀察到的腸胃毒性。最近關於PI3K抑制劑之臨床資料表明PI3K δ 活性為腸胃毒性之來源(Akinleye等人, 「Phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) inhibitors as cancer therapeutics」 Journal of Hematology & Oncology 2013, 6:88-104)。參看臨床試驗中表2之PI3K抑制劑泰尼西布及皮克昔布。

與經臨床上測試之泰尼西布及皮克昔布或US 8242104或US 8263633之實例中之任一者相比，在對於PI3K α (阿爾法)抑制具有相對於PI3K δ (德耳塔)抑制顯著更高的選擇性之情況下，式I化合物101-107將因此預期在由PI3K α (阿爾法)抑制驅動之臨床活性相對於由PI3K δ (德耳塔)抑制驅動之毒性之間達成較大界限。因此，相對於對PI3K β 、PI3K δ 或PI3K γ 之正常功能展現較大抑制的藥劑，本發明之式I化合物可適用作具有減少之毒性概況的治療劑。

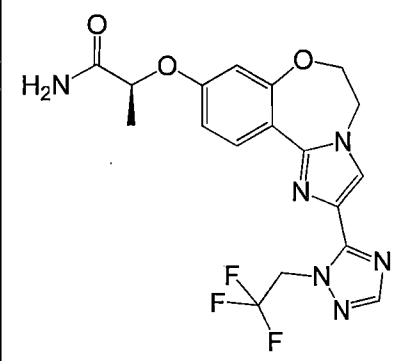
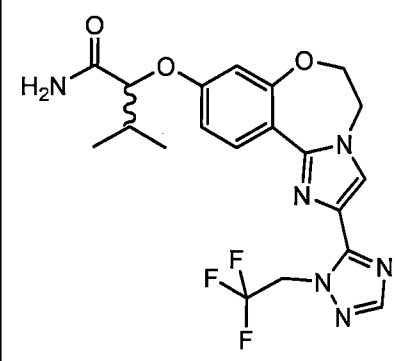
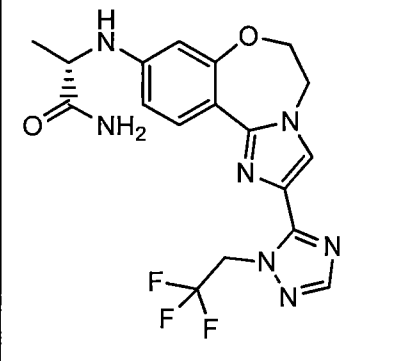
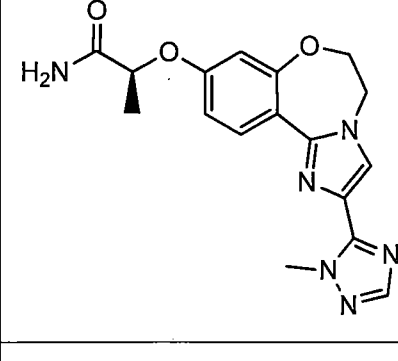
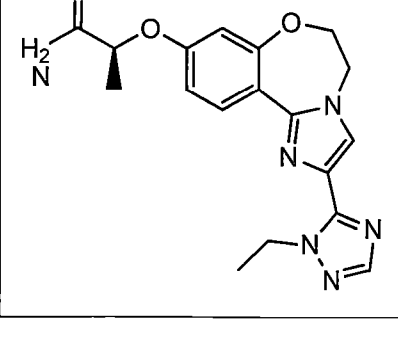
表2A. 藉由式I化合物以及對比化合物泰尼西布及皮克昔布對PI3K同功異型物之生物化學抑制

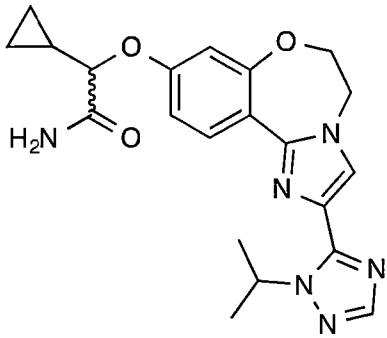
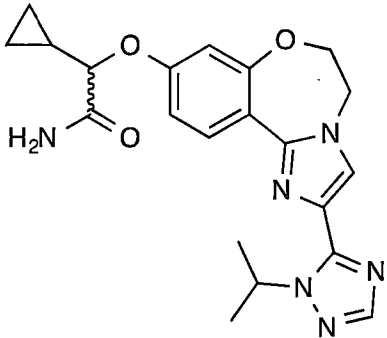
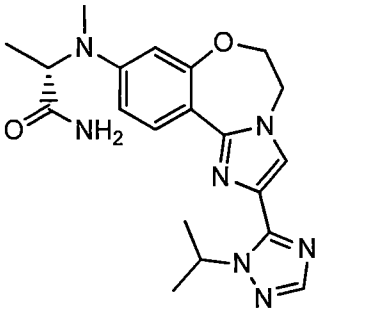
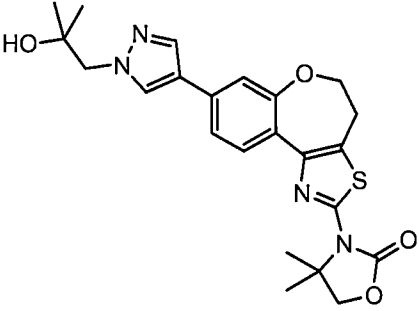
化合物 編號	PI3K α Ki (nM)	PI3K β Ki (nM)	PI3K δ Ki (nM)	PI3K γ Ki (nM)	對 PI3K α 相 對 於 PI3K- β 之 選擇性	對 PI3K α 相 對 於 PI3K δ 之 選擇性	對 PI3K α 相 對 於 PI3K γ 之 選擇性
泰尼西布 GDC- 0032	0.090	53.0	0.079	1.43	591	0.9	16.0
皮克昔布 GDC- 0941	2.56	70.2	1.54	41.8	27.4	0.6	16.3
101	0.034	99.7	12.2	18.2	2944	361	537
102	0.949	>1000	286	708	>1054	301	746
103	0.060	335	37.7	49.0	5640	634	824

104	0.464	813	197	289	1750	425	622
105	0.051	341	30.3	36.4	6718	598	717
106	0.040	122	16.7	17.8	3050	416	444
107	0.048	132	17.5	23.7	2782	368	499

表2B. 藉由對比化合物對PI3K同功異型物之生物化學抑制

編號 (US 8242104)	結構	PI3K α Ki (nM)	PI3K δ Ki (nM)	對 PI3K α 相對 於 PI3K δ 之選 擇性
196 泰尼西布 GDC-0032		0.090	0.079	0.88
375		0.016	0.417	21.7
436		0.35	6.94	22.3
469		<0.02*	0.39*	19.3

486		0.186**	2.5**	13.4
501		3.56**	21.8**	6.1
529		0.023	1.05	46.9
540		2.72**	24.1**	8.8
544		0.437**	11.3**	25.8

549 (分離之立體異構體1)		0.56**	9.41**	17.0
549 (分離之立體異構體2)		5.66**	1.70**	0.30
550		0.107	1.96	19.4
356 (US 8263633)		0.967**	0.92**	0.95

*Ki值代表兩個實驗之平均值，**Ki值代表單個實驗

化合物與PI3K之相互作用

式I化合物對PI3K α 選擇性之合理基礎可能在於某些結合相互作用。

本發明化合物特定地與PI3K α 相互作用之能力藉由使用實例908之方法來解析代表性化合物與PI3K α (阿爾法)之x射線共晶結構測定。

對於PI3K α 同功異型物之選擇性超過其他同功異型物的PI3K抑制劑之最佳化結構設計可包括精確定位且排列原子及官能基，以與結合位點中之同功異型物特異性殘基進行相互作用。尤其發現在5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呼環系統之9位置及2位置處的取代在化合物對PI3K α 之特定活性上具有至關重要的影響。

圖1A至圖1D展示泰尼西布(GDC-0032)、參考化合物529 (US 8242104)及兩種代表性本發明化合物與PI3K α 之x射線共晶結構。如圖1A中展示，泰尼西布(GDC-0032)含有位於Gln859及Ser854之緊密接觸內的一級醯胺官能基，其似乎提供氫鍵結相互作用之可能性。殘基Gln859對PI3K α 同功異型物具有特異性，而不同的殘基佔據其他同功異型物中之此位置(PI3K β = Asp, PI3K δ = Asn, PI3K γ = Lys)。然而，如生物化學分析中所量測，儘管與PI3K α 特異性殘基緊密接觸，GDC-0032對同功異型物PI3K α 及PI3K δ 具有相等的活性，且對同功異型物PI3K γ 具有僅稍微減少之活性(參看表2A)。

如圖1B中所展示，參考化合物529 (US 8242104)在與泰尼西布類似的位置中含有一級醯胺官能基。此官能基在合適的距離內且具有同時適合Ser854及Gln859之幾何結構，以進行氫鍵結相互作用。依據此等相互作用即可合理了解針對PI3K α 相對於針對PI3K δ 之46.9倍選擇性比率(參看表2B)，且由於PI3K δ 在位置859處不含有Gln殘基，因此此等相互作用應對PI3K α 具有特異性。

圖1C及圖1D展示化合物101之(S)-2-胺基丙醯胺基團及化合物103之(S)-2-胺基-2-環丙基乙醯胺基團的一級醯胺各自在結合位點中佔據與GDC-0032及參考化合物529 (US 8242104)之一級醯胺極其類似的位置。在本發明之各代表物中的此一級醯胺官能基在合適的距離內且具有同時適合Ser854及Gln859之幾何結構，以進行理想的氫鍵結相互作用。儘管官能基位置及定向明顯類似，但圖1C及圖1D中所說明之代

表性實例以及具有類似取代基及官能基之其他本發明化合物改良了泰尼西布及參考化合物529 (US 8242104)之一級醯胺之相互作用，使得如生物化學分析中所量測，觀察到本發明化合物針對PI3K α 具有相對於針對PI3K δ 實質上提高之選擇性。化合物101為361倍選擇性，且化合物103為634倍選擇性，相對於僅為46.9倍選擇性之參考化合物529 (US 8242104)而言，相當大幅提高。依據泰尼西布與US 8242104之其他化合物(如由參考化合物529所例示)之間的一級醯胺官能基之定位類似性，如藉由本發明化合物所展現，針對PI3K α 相對於針對PI3K δ 提高之選擇性為出人意料的性質。US 8242104中並未指示選擇式I化合物之結構元素以達成高(> 300倍) PI3K α 選擇性之性質。本發明式I化合物改良了GDC-0032之一級醯胺之相互作用，使得如生物化學分析中所量測，觀察到相對於對照化合物，本發明化合物針對PI3K α 具有相對於PI3K δ 實質上提高之選擇性(參看表2A及表2B)。

圖2A展示在PI3K α (阿爾法)活性位點中結合之泰尼西布的x射線結構。三唑環之N2原子不能直接與Tyr836 (距離4.04 Å)或Ser774 (距離2.74及2.82 Å，在配位體與殘基之間無互補極性)之側鏈進行相互作用。圖2B展示在PI3K α 活性位點中結合之化合物101的x射線結構，且展示相對於三唑環，噁唑啉酮環能夠與蛋白質進行多個改良之相互作用。羰基官能基接近Tyr836側鏈(2.67 Å)，且能夠進行有利的極性交互作用。噁唑啉酮取代基之氟原子與Ser774之羥基緊密接觸(2.21Å)，且與極性交互作用或非經典氫鍵一致，藉由碳-氟鍵之極化使得能夠實現有利的交互作用(Böhm等人, Fluorine in Medicinal Chemistry, (2004) ChemBioChem, 5:637-643；Zhou等人, 「Fluorine Bonding - How Does it Work In Protein-Ligand Interactions」, (2009) J. Chem. Inf. Model., 49:2344-2355)。

所有本發明化合物含有噁唑啉酮環，且能夠與PI3K α (阿爾法)之

Tyr836進行改良之交互作用。本發明之一些實例在噁唑啉酮環上亦含有氟化取代基，且能夠與PI3K α 之Ser774進行改良之交互作用。此等結合相互作用均可促成相對於US 8242104之實例本發明實例對PI3K α 之增強選擇性。如表2A及表2B中展示，含有噁唑啉酮環之化合物具有比含有三唑環之可比較化合物更高的同功異型物選擇性。殘基Ser774及Tyr836對於PI3K α 同功異型物而言並非特有的，PI3K δ 在相同位置處含有此等相同殘基，噁唑啉酮抑制劑之增強同功異型物選擇性不由此等晶體結構進行預測。不同同功異型物之間相同殘基之定位及定向一致性的細微差異可由二級及三級蛋白質結構之細微改變引起。甚至面對兩種蛋白質同功異型物之x射線晶體結構時，此等差異仍難以預測且解釋。改良之分子相互作用之驚人且出人意料的性質及噁唑啉酮抑制劑之增強同功異型物選擇性在表1中所例示化合物之整個譜系中均得以保留。

噁唑啉酮在結構上與三唑有差別，此係因為噁唑啉酮具有羰基、更加具有極性且沒有芳族性。三唑沒有羰基、不太具有極性且具有芳族性。

相對於三唑環，噁唑啉酮環在增加之sp³特性及減少之芳環數方面提供了另一益處。文獻中一般公認的為增加數目之芳環係與混雜結合風險增大相關。相比之下，sp³碳原子之部分(#sp³碳原子/#總體碳原子)增加係與改良之物理化學性質及減少之混雜結合相關，由此降低了脫靶毒理學風險。此等概念描述於參考文獻Lovering等人，「Escape From Flatland」，(2009) J. Med. Chem., 52:6752-6756以及Ritchie及Macdonald，「Physicochemical Descriptors of Aromatic Character and Their Use in Drug Discovery」，(2014) J. Med. Chem., 57:7206-7215中。用飽和雜環置換如由US 8242104之代表例示之三唑芳環，在本發明之每一實例內所含有之噁唑啉酮代表脫靶毒理學之風

險有利地降低。US 8242104中之全部例示化合物絕大多數由在此位置處具有芳環之化合物、甲醯胺官能基置換芳環之4個實例及無飽和環狀或雜環系統之實例構成。由於芳族及飽和雜環之顯著不同的結合相互作用以及空間要求，其通常為不可互換的。在5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呋環之2位置處沒有飽和雜環系統之實例的情況下，US 8242104並未提供指導關於一種用飽和雜環置換芳環同時保持對PI3K α 之活性的方法。

因此，本發明化合物在5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呋9位置及2位置處含有最佳化取代基及官能基。此等最佳化化合物提供了顯著且迄今為止未知的益處，其關於改良之分子相互作用及對PI3K α 增加之選擇性活性以及對PI3K δ 減少之活性。本發明化合物可適用作治療劑，其具有相對於諸如泰尼西布(GDC-0032)之相關藥劑增強的治療窗。

突變PI3K α (阿爾法)之選擇性抑制

如實例902之方法中所描述，本發明化合物優先對含有突變PI3K α 之細胞起作用的能力藉由量測對SW48同基因型細胞株：PI3K α 野生型(親本)、螺旋域突變E545K及激酶域突變H1047R中之PI3K路徑的抑制加以測定。

統計分析：除非另外指出，否則EC50值代表4個獨立實驗之最小值的幾何平均值。所有統計資料均使用KaleidaGraph軟體(版本4.1.3)執行。使用具有相等偏差之非配對資料進行史都登氏t-測試(Student t-Test)，以比較對突變細胞及野生型細胞之活性。P < 0.05視為顯著的。

表3A展示藉由表1之式I化合物對SW48同基因型細胞中P-PRAS40的抑制。此等化合物均顯示出相對於野生型PI3K α 細胞對突變PI3K α 細胞增加之活性。本發明化合物在SW48突變PI3K α 細胞中展示與泰尼

西布類似的活性，相對於在野生型PI3K α 細胞中之活性，本發明化合物之選擇性等於或大於泰尼西布(參看表3B)。

表3B展示藉由US 8242104之某些對比化合物、來自US 8263633之攜有二甲基噁唑啉-2-酮基團之化合物(化合物356，第149列)及皮克昔布對SW48同基因型細胞中P-PRAS40的抑制。此處表3B中所展示之對比化合物為來自US 8242104及US 8263633中每一者所描述之諸多種類的實例。US 8242104及US 8263633均不揭示本發明式I化合物之範疇內的化合物。對比化合物含有相對於野生型PI3K α 細胞對突變PI3K α 細胞不具有顯著增加之活性的實例(參看對比化合物436及549， $p > 0.05$)。此等化合物在結構上極其類似於相對於野生型PI3K α 細胞對突變PI3K α 細胞展現顯著增加之活性的對比化合物(參看對比化合物529)。對比化合物內不存在提供引導選擇性抑制突變PI3K α (阿爾法)細胞之常見結構元素。更廣泛而言，US 8242104或US 8263633中不存在指導選擇式I化合物之結構元素以達成相對於野生型PI3K α 細胞對突變PI3K α 細胞增加或相等的活性。此出人意料的性質在表1中所例示化合物之整個譜系中均得以保留。

表3A. 藉由式I化合物抑制SW48同基因型細胞中之P-PRAS40

編號	P-PRAS40 SW48(E545K) EC50 (μ M)	P-PRAS40 SW48(H1047R) EC50 (μ M)	P-PRAS40 SW48(親本) EC50 (μ M)	對 SW48(E545K) 相對於SW48(親 本)之選擇性倍數	對 SW48(H1047R) 相對於SW48(親 本)之選擇性倍數
101	0.0027	0.0030	0.0063	2.4 ($p<0.001$)	2.1 ($p=0.002$)
102	0.0335	0.0358	0.0849	2.5 ($p=0.002$)	2.4 ($p=0.001$)
103	0.0041	0.0038	0.0101	2.5 ($p<0.001$)	2.6 ($p<0.001$)
104	0.0200	0.0228	0.0618	3.1 ($p=0.007$)	2.7 ($p=0.009$)
105	0.0042	0.0048	0.0125	3.0 ($p=0.007$)	2.6 ($p=0.007$)
106	0.0045	0.0044	0.0115	2.5 ($p=0.003$)	2.6 ($p=0.001$)
107	0.0053	0.0052	0.0108	2.0 ($p=0.003$)	2.1 ($p=0.003$)

表3B. 藉由對比化合物抑制SW48同基因型細胞中之P-PRAS40

化合物或編號 (US 8242104)	P-PRAS40 SW48(E545K) EC50 (μM)	P-PRAS40 SW48(H1047R) EC50 (μM)	P-PRAS40 SW48(親 本) EC50 (μM)	對SW48(E545K)相 對於SW48(親本) 之選擇性倍數	對 SW48(H1047R) 相對於SW48 (親本)之選擇性 倍數
196 泰尼西布 GDC-0032	0.0034	0.0040	0.0079	2.3 (p<0.001)	2.0 (p<0.001)
皮克昔布 GDC-0941	0.0284	0.0321	0.0315	1.1 (p=0.7)	1.0 (p=0.9)
436 GDC-0326	0.0095	0.0092	0.0128	1.3 (p=0.26)	1.4 (p=0.22)
529	0.0008	0.0009	0.0016	2.2 (p<0.001)	2.0 (p=0.002)
549 (分離之立體 異構體1)	0.0105*	0.0147*	0.0119*	1.1	0.8

*EC50代表單個實驗

PI3K突變腫瘤細胞中之抗增殖活性

本發明化合物作用於PI3K突變腫瘤細胞之能力使用實例903之方法藉由量測HCC1954細胞(PI3K α 突變H1047R)及MCF7細胞(PI3K α 突變E545K)中之細胞成活力EC50來測定。表4展示本發明之代表性式I化合物101及103能夠以與對比化合物泰尼西布(化合物196，US 8242104)、皮克昔布及化合物436(US 8242104)類似水準之效能抑制PI3K路徑且抑制HCC1954細胞及MCF7細胞中之增殖。

表4. 突變PI3K- α 腫瘤細胞中PI3K化合物之抗增殖活性

化合物或編號	HCC1954抗增殖EC50 (μM)	MCF7 抗 增 殖 EC50 (μM)
泰尼西布 196 (US 8242104) GDC-0032	0.04	0.02
皮克昔布 GDC-0941	0.75	0.12
436 (US 8242104)	0.35	0.09
101	0.06	0.03
103	0.07	0.03

活體內功效

表5至表8展示來自關於PI3K化合物之活體內腫瘤生長抑制(TGI)研究的資料。在攜有乳癌異種移植之免疫功能不全小鼠之群組中量測腫瘤體積改變20天或更多天，該等小鼠經PO (經口)每日投與媒劑及PI3K化合物(實例904)。

表5展示在最大耐受劑量(MTD)下，GDC-0032 (泰尼西布)、化合物103及化合物101各自在PI3K突變腫瘤模型中比艾培昔布(BYL-719)更加有效。

表6展示在低於最大耐受劑量之劑量(亦即25 mg/kg)下，化合物101在PI3K突變腫瘤模型中比GDC-0032更加有效。由於在最大耐受性之前已達到最大功效，所以化合物101有可能具有較大治療指數(TI)。

表7展示在最大耐受劑量下，與GDC-0032相比，在PI3K突變腫瘤模型中可發現在化合物101之情況下反應增加(PR及CR)。另外，在最大耐受劑量下，GDC-0032及BYL-719為同樣有效的。

表8展示在最大耐受劑量下，在PI3K突變腫瘤模型中GDC-0032及化合物101比BYL-719更加有效，且化合物101與GDC-0032大致一樣有效。

表5. HCC-1954x1 (ER-，PI3K^{H1047R})乳房異種移植模型中最大耐受劑量(MTD)之PI3K化合物的比較

PI3K化合物	%TGI	PR	CR
BYL-719, 40 mg/kg QD, PO	80	1	1
GDC-0032, 15 mg/kg QD, PO	118	4	0
化合物103, 100 mg/kg QD, PO	120	4	3
化合物101, 50 mg/kg QD, PO	129	10	0

表6. HCC-1954x1 (ER- , PI3K^{H1047R})乳房異種移植模型中化合物101之劑量範圍研究

PI3K化合物	%TGI	PR	CR
化合物101, 0.5 mg/kg PO, QD	19	0	0
化合物101, 1 mg/kg PO, QD	60	2	0
化合物101, 2.5 mg/kg PO, QD	68	1	0
化合物101, 5 mg/kg PO, QD	84	0	0
化合物101, 25 mg/kg PO, QD	140	7	0
化合物101, 50 mg/kg PO, QD	149	6	0
GDC-0032, 15 mg/kg PO, QD	111	2	0

表7. KPL-4 (ER- , PI3K^{H1047R})乳房異種移植模型中化合物101之劑量範圍研究

PI3K化合物	%TGI	PR	CR
化合物101, 1 mg/kg PO, QD	28	0	0
化合物101, 2.5 mg/kg PO, QD	86	1	0
化合物101, 5 mg/kg PO, QD	93	1	0
化合物101, 15 mg/kg PO, QD	125	5	0
化合物101, 25 mg/kg PO, QD	135	9	0
化合物101, 50 mg/kg PO, QD	153	9	1
GDC-0032 15 mg/kg PO, QD	113	3	0

表8. HCI-003 (ER+ , PI3K^{H1047R})乳房PDX異種移植模型中GDC-0032、化合物101及BYL-719之比較

PI3K化合物	%TGI	PR	CR
BYL-719, 40 mg/kg PO, QD	114	2	0
GDC-0032, 15 mg/kg PO, QD	162	6	1
化合物101, 50 mg/kg PO, QD	175	5	2

分離之B細胞中之路徑抑制

本發明化合物抑制B細胞中之PI3K-路徑的能力使用實例906之方法藉由化合物對促效a-IgM治療後CD69水準之影響來評定。來自a-IgM治療之B細胞所得物中CD69之表現咸信藉由經由PI3K δ (德耳塔)之

信號傳遞進行驅動。表9展示與泰尼西布、皮克昔布、艾培昔布、化合物-436(US US8242104)及艾德斯布相比，代表性式I化合物在PI3K-突變株(SW48 (H1047R))相對於B細胞(第3列)中為對路徑信號傳遞更加具有選擇性的抑制劑。

表9. 藉由選擇化合物抑制B細胞中之CD69表現

編號	B-細胞a-IgM CD69表現IC50 (μM)，經校正血漿-蛋白質-結合*	[B-細胞a-IgM CD69表現IC50，經校正血漿-蛋白質-結合*]/[p-PRAS40 SW48(H1047R) EC50]
101	0.047	16
103	0.076	20
泰尼西布	0.00031	0.077
皮克昔布	0.006	0.19
艾培昔布	0.048	0.79
化合物436 (US8242104)	0.020	2.2
艾德斯布	0.048	< 0.048

*CD69表現IC50在人全血中量測，且藉由乘以自血漿蛋白質結合實驗所量測之人類f_u進行校正。

PI3K突變及野生型腫瘤細胞中之路徑抑制

本發明化合物抑制腫瘤細胞中之PI3K-路徑信號傳遞的能力使用實例 907 之方法藉由量測 HCC1954 (PI3Kα突變 H1047R)及 HDQ-P1 (PI3Kα野生型)株中之p-PRAS40水準進行評定。表10展示代表性式I化合物 101、103 及 105 能夠在 PI3Kα突變體 (HCC1954、PI3Kα突變 H1047R)相對於PI3Kα野生型腫瘤細胞(HDQ-P1，PI3Kα野生型)中選擇性地抑制PI3K路徑。與對比化合物泰尼西布、皮克昔布、艾培昔布及化合物-436(US8242104)相比，化合物101、103及105在野生型選擇性上具有更大突變體。

表10. 藉由選擇化合物抑制HCC1954及HDQ-P1株中之p-PRAS40

編號	P-PRAS40 HCC1954 MSD EC50 (μM)	P-PRAS40 HDQ-P1 MSD EC50 (μM)	對 HCC1954 相 對 於 HDQ-P1之選擇性倍數
101	0.019	0.084	4.4
103	0.028	0.155	5.5
105	0.027	0.179	6.6
泰尼西布	0.023	0.055	2.4
皮克西布	0.324	0.094	0.3
艾培昔布	0.483	0.311	0.6
化 合 物 436 (US8242104)	0.089	0.122	1.4

PI3K突變腫瘤細胞中之p110α降解

本發明化合物降低p110a水準之能力使用實例905之方法在用HCC1954 (PI3Kα突變H1047R)及HDQ-P1 (PI3Kα野生型)株之實驗中測定。圖3A及圖3B展示代表性式I化合物101及103能夠以濃度依賴性方式選擇性地促進PI3K突變體(HCC1954，PI3Kα突變H1047R)相對於PI3Kα野生型(HDQ-P1，PI3Kα野生型)腫瘤細胞中之p110a水準降低。圖3A展示西方墨點法資料，其描繪在HCC-1954細胞(PI3Kα突變H1047R)中用化合物**101**、化合物**103**及US 8242104之化合物436治療24小時之後的p110α (p110a，p110阿爾法)水準。圖3B展示西方墨點法資料，其描繪在HDQ-P1細胞(PI3Kα野生型)中用化合物**101**、化合物**103**及US 8242104之化合物436治療24小時之後的p110α (p110a，p110阿爾法)水準。化合物**101**及**103**與化合物-436 (US8242104)相比更加強烈地影響p110α水準。

對狗進行數天經口給藥

本發明化合物促進腸胃及/或全身性發炎或導致淋巴損耗之能力在對米格魯犬(Beagle dog)進行數天給藥(7-14天)之後經由臨床及解剖病理學評價進行評定。如藉由臨床病理學或解剖病理學評價(表11a，表11b)所測定，以關於TGI60 (在PI3K突變異種移植研究中之腫瘤生長抑制60%)之> 5倍自由暴露倍數的式I化合物**101**及**103**並不促進促炎

性特徵。類似地，化合物**101**及**103**在高暴露倍數下僅產生少量淋巴損耗。對比而言，用對比化合物泰尼西布之實驗指示在關於TGI60之<0.3倍自由暴露下的顯著促炎性作用及淋巴損耗(表11c)。與式I化合物**101**及**103**相比，對比化合物艾培昔布(BYL-719)及化合物436(US8242104)在較低暴露倍數下亦導致發炎及淋巴損耗(表11d，11e)。研究結果之程度及嚴重性與以關於CD69 IC₅₀之暴露倍數之對比化合物對PI3Kδ (德耳塔)的增加之抑制一致。

表11. 式I及對比化合物在狗中之多天給藥

(a)

化合物 101 劑量 毫克/公斤/ 天 QD	暴露			暴露倍數 * (總計/自由, AUC)	對 CD69 IC ₅₀ 之暴露 倍數** (總計, C _{min})	臨床 症狀	臨床病 理學 ⁺	組織病 理學 ⁺
	AUC0-24hr, D14 (μM hr, 總 計/自由)	Cmax D14 (μM, 總計 /自由)	Cmin D14 (μM, 總 計)					
0.05	0.23/0.16	0.033/0.023	0.0046	0.2x/0.6x	0.07x	-	-	-
0.15	0.87/0.60	0.097/0.067	0.012	0.8x/2.3x	0.2x	-	-	-
0.5	2.0/1.38	0.31/0.21	0.017	1.9x/5.3x	0.3x	-	-	-

$F_u\text{狗} = 0.692$; $F_u\text{小鼠} = 0.252$ (F_u = 物種血漿中之未結合部分)

*來自21天KPL4異種移植研究的使用TGI60之暴露倍數；在2 mg/kg、1.04 μM hr總計、0.26 μM hr自由下之TGI60，

**a-IgM刺激之CD69表現(全血) IC₅₀ = 67 nM

⁺關於發炎及淋巴器官之研究結果

(b)

化合物 103 劑量 毫克/公斤/ 天 QD	暴露			暴露倍數 * (總計/自由, AUC)	對 CD69 IC ₅₀ 之暴 露倍數** (總計, C _{min})	臨床症狀	臨床病 理學 ⁺	組織病 理學 ⁺
	AUC0-24hr, D14 (μM hr, 總 計/自由)	Cmax D14 (μM, 總 計/自由)	Cmin D14 (μM, 總 計)					
0.1	0.27/0.14	0.04/0.02	0.0048	0.2x/4.7x	0.03x	-	-	-
0.3	0.9/0.46	0.13/0.066	0.011	0.8x/15x	0.08x	-	-	-
1	2.54/1.29	0.31/0.16	0.034	2.2x/43x	0.2x	異常糞便 (軟/黏液 狀, 4/4)	↓淋巴 細胞	淋巴損 耗: 胸 腺

F_u 狗 = 0.507 ; F_u 小鼠 = 0.03 (F_u = 物種血漿中之未結合部分)

*來自 21 天 HCC1954 TGI 研究的使用 TGI60 之暴露倍數 ; 在 3 mg/kg、1.13 μ M hr 總計、0.03 μ M hr 自由下之 TGI60 ,

**a-IgM 刺激之 CD69 表現(全血) IC_{50} = 142 nM

⁺關於發炎及淋巴器官之研究結果

(c)

泰 尼 西 布 劑量 毫克/公 斤/天 QD	暴露			暴露倍數 * (總計/自 由, AUC)	對 CD69 IC_{50} 之 暴露倍 數 (總計, Cmin)	臨床症狀	臨床病理 學 ⁺	組織病理學 ⁺
	AUC0- 24hr, D7 (μ M hr, 總計/自 由)	Cmax D7 (μ M, 總 計/自由)	Cmin D7 (μ M, 總計)					
0.3	0.44/0.12	0.07/0.02	0.002	0.1x/0.3x	0.7x	-	-	淋巴損耗：淋巴結、GALT、脾、胸腺 GI發炎：胃、嗜中性發炎
1	1.6/0.45	0.18/0.05	0.019	0.4x/1.0x	6.2x	-	-	淋巴損耗：淋巴結、GALT、脾、胸腺 GI發炎：胃及直腸中之暗紅色區域對應於胃發炎
3	5.1/1.4	1.09/0.31	0.016	1.2x/3.2x	5.2x	BW 損失 (7.9% 相對於預研究；首先 1 隻狗) 瘦，觸感冰涼 (耳朵)；糞便異常；嘔吐	↓ 淋巴細胞 ↑ 嗜中性白血球 ↑ 單核細胞 ↑ 球蛋白 ↓ A:G 比率 ↑ 血纖維蛋白原	淋巴損耗：淋巴結、GALT、脾、胸腺 GI發炎：胃及直腸中之暗紅色區域對應於胃、直腸、盲腸發炎 全身性發炎：嗜中性白血球浸潤 淋巴結、脾、胸腺、肝、肺、腎

F_u 狗 = 0.28 ; F_u 小鼠 = 0.10 (F_u = 物種血漿中之未結合部分)

*來自 21 天 KPL4 異種移植研究的使用 TGI60 之暴露倍數 ; 在 4.3 μ M hr (總計)或 0.44 μ M hr 自由下之 TGI60

** a-IgM刺激之CD69表現(全血) IC₅₀ = 3.1 nM

⁺關於發炎及淋巴器官之研究結果

(d)

化 合 物 436 (US8242104) 劑量 毫克/千克/天 QD	暴露			暴露倍數* (總計/自由, AUC)	對 CD69 IC ₅₀ 之 暴露倍 數** (總計, Cmin)	臨 床 症 狀	臨 床 病 理學 ⁺	組織病理學 ⁺
	AUC0-24hr, D7 (μM hr, 總計/自由)	Cmax D7 (μM, 總計/自由)	Cmin D7 (μM, 總計)					
0.5	3.4/2.3	0.68/0.46	0.016	1.2x/2.3x	0.4x	-	-	淋巴損耗：胸腺、淋巴結
2	15/10.2	2.5/1.7	0.059	5.4x/10.2x	1.3x	-	↑血纖維蛋白原 ↑球蛋白	淋巴損耗：胸腺、淋巴結、脾、GALT
6	56/38	6.8/4.6	0.408	20x/38x	9.1x	BW損失 (10% 相對於預研究) 活動減退、流涎量增加及糞便異常	↓淋巴細胞 ↑嗜中性白血球 ↑血纖維蛋白原 ↑球蛋白	淋巴損耗：胸腺、淋巴結、脾、GALT GI發炎：食道、胃、結腸、盲腸 全身性發炎：心臟、主動脈、腦膜

F_u狗 = 0.68 ; F_u小鼠 = 0.36 (F_u = 物種血漿中之未結合部分)

*來自21天KPL4異種移植研究的使用TGI60之暴露倍數；在2.8 uM hr總計、1.0 uM hr自由下之TGI60

**a-IgM刺激之CD69表現(全血) IC₅₀ = 45 nM

⁺關於發炎及淋巴器官之研究結果

(e)

艾培昔布 (BYL-719) 劑量 毫克/千克/ 天 QD	暴露			暴露倍數 * (總計/自 由, AUC)	對CD69 IC ₅₀ 之 暴露倍 數** (總計, C _{min})	臨床症 狀	臨床病 理學 ⁺	組織病理學 ⁺
	AUC0- 24hr, D7 (μM hr, 總計/自 由)	Cmax D7 (uM, 總 計/自由)	Cmin D7 (uM, 總計)					
3	14/1.0	1.97/0.14	0.20	0.2x/0.2x	0.3x	-	-	-
10	31.7/2.3	3.58/0.26	0.62	0.4x/0.4x	1.0x	-	↑血纖維 蛋白原	GI發炎：嗜中 性浸潤、大腸
30	160/11.5	20.6/1.5	1.25	2.2x/2.0x	2.0x	↓食慾， ~10%↓ BW	↑嗜中性 白血球 ↑單核細 胞 ↑球蛋白 ↑血纖維 蛋白原	淋巴損耗：胸 腺、淋巴結、 GALT GI發炎：嗜中 性浸潤大腸及 小腸；直腸潰 瘍

F_u狗 = 0.072；F_u小鼠 = 0.082 (F_u = 物種血漿中之未結合部分)

*來自21天KPL4異種移植研究的使用TGI60之暴露倍數；在72 uM hr (總計)、5.9 uM hr自由下之TGI60

**a-IgM刺激之CD69表現(全血) IC₅₀ = 613 nM

⁺關於發炎及淋巴器官之研究結果

式I化合物之投與

本發明化合物可藉由適合於待治療病狀之任何途徑投與。適合途徑包括經口、非經腸(包括皮下、肌內、靜脈內、動脈內、皮內、鞘內及硬膜外)、經皮、經直腸、經鼻、局部(包括經頰及舌下)、經陰道、腹膜內、肺內及鼻內。對於局部免疫抑制性治療，化合物可藉由病灶內投與來投與，包括灌注或者在移植前使移植物與抑制劑接觸。應瞭解，較佳途徑可隨例如接受者之病狀而變化。若化合物經口投與，則其可用醫藥學上可接受之載劑或賦形劑調配成丸劑、膠囊、錠劑等。若化合物非經腸投與，則其可如下詳述與醫藥學上可接受之非經腸媒劑一起調配且調配成可單位劑量注射之形式。

治療人類患者之劑量範圍可介於約1 mg至約1000 mg式I化合物。典型劑量可為約10 mg至約300 mg化合物。視藥物動力學及藥力學性質(包括特定化合物之吸收、分佈、代謝及分泌)而定，劑量可一天一次(QID)、每天兩次(BID)或更頻繁地投與。另外，毒性因素可影響劑量及投與方案。在經口投與時，丸劑、膠囊或錠劑可每天或以較低頻率攝取持續指定時段。方案可重複多個治療週期。

用式I化合物治療之方法

本發明之式I化合物適用於治療患有由與PI3K (諸如癌症)相關之異常細胞生長、功能或行為引起之疾病或病症的人類或動物患者，可因此利用包含向該人類或動物患者投與如上所定義之本發明化合物的方法治療。患有癌症之人類或動物患者亦可利用包含向其投與如上文所定義之本發明化合物的方法治療。從而患者之病狀可得到改良或改善。

本發明之方法亦包括治療選自以下之癌症：乳癌、卵巢癌、子宮頸癌、前列腺癌、睪丸癌、泌尿生殖道癌、食道癌、喉癌、神經膠母細胞瘤、神經母細胞瘤、胃癌、皮膚癌、角化棘皮瘤、肺癌、表皮樣癌、大細胞癌、非小細胞肺癌(NSCLC)、小細胞癌、肺腺癌、骨癌、結腸癌、腺瘤、胰腺癌、腺癌、甲狀腺癌、濾泡癌、未分化性癌、乳頭狀癌、精原細胞瘤、黑色素瘤、肉瘤、膀胱癌、肝癌及膽道癌、腎臟癌、胰腺癌、骨髓病症、淋巴瘤、毛細胞癌、頰腔癌、鼻咽癌、咽癌、唇癌、舌癌、口腔癌、小腸癌、結腸-直腸癌、大腸癌、直腸癌、大腦及中樞神經系統癌症、霍奇金氏病(Hodgkin's)、白血病、支氣管癌、甲狀腺癌、肝及肝內膽管癌、肝細胞癌、胃癌、神經膠質瘤/神經膠母細胞瘤、子宮內膜癌、黑色素瘤、腎臟及腎盂癌、膀胱癌、子宮體癌、子宮頸癌、多發性骨髓瘤、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、淋巴球性白血病、慢性淋巴性白血病(CLL)、骨

髓白血病、口腔及咽癌、非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin lymphoma)、黑色素瘤及絨毛狀結腸腺瘤。

基於表現分析、免疫組織化學分析及細胞株分析，結腸、乳房、子宮頸、胃、肺及多發性骨髓瘤之惡性疾病最有可能對PI3K調節劑或抑制劑起反應。

本發明係關於如上文所述之化合物用於治療患者中之癌症的用途。

本發明係關於如上文所述之化合物用於製造供治療患者中癌症用之藥劑的用途。

本發明係關於如上文所述之化合物用於治療患者中之癌症。

本發明係關於如上文所述之化合物用於治療患者中之癌症的用途，其中該癌症係選自乳癌及非小細胞肺癌。

本發明係關於如上文所述之化合物用於製造供治療患者中癌症用之藥劑的用途，其中該癌症係選自乳癌及非小細胞肺癌。

本發明係關於如上文所述之化合物用於治療患者中之癌症，其中該癌症係選自乳癌及非小細胞肺癌。

本發明係如上文所述。

醫藥調配物

為使用用於治療性處理包括人類之哺乳動物的本發明化合物，通常根據標準醫藥實踐將其調配成醫藥組合物。根據本發明之此態樣，提供一種醫藥組合物，其包含與醫藥學上可接受之稀釋劑或載劑結合之本發明化合物。

典型調配物係藉由將本發明化合物與載體、稀釋劑或賦形劑混合製備。適合載劑、稀釋劑及賦形劑為熟習此項技術者所熟知，且包括諸如碳水化合物、蠟、水溶性及/或可膨脹聚合物、親水性或疏水性材料、明膠、油、溶劑、水及其類似物之材料。所用之特定載劑、

稀釋劑或賦形劑將視應用本發明化合物之方式及目的而定。溶劑一般基於熟習此項技術者認為向哺乳動物投與安全(GRAS)之溶劑選擇。一般而言，安全溶劑為無毒水性溶劑，諸如水及可溶於水或可與水互溶的其他無毒溶劑。適合水性溶劑包括水、乙醇、丙二醇、聚乙二醇(例如，PEG 400、PEG 300)等及其混合物。調配物亦可包括一或多種緩衝劑、穩定劑、界面活性劑、濕潤劑、潤滑劑、乳化劑、懸浮劑、防腐劑、抗氧化劑、避光劑、助滑劑、處理助劑、著色劑、甜味劑、芳香劑、調味劑及用以提供藥物(亦即本發明化合物或其醫藥組合物)之優美呈現或輔助製造醫藥產品(亦即藥物)的其他已知添加劑。

調配物可使用習知溶解及混合程序製備。舉例而言，在一或多種上述賦形劑存在下，將散裝原料藥(亦即本發明化合物或化合物之穩定形式(例如與環糊精衍生物或其他已知複合劑之複合物))溶解於適合溶劑中。本發明化合物通常調配成醫藥劑型以提供容易控制劑量之藥物且使患者能夠遵從處方方案。

可視所使用之藥物投與方法而定，以多種方式封裝用於應用之醫藥組合物(或調配物)。一般而言，供分配用之物品包括其中存放有適當形式之醫藥調配物之容器。適合容器為熟習此項技術者所熟知且包括諸如瓶子(塑膠及玻璃)、藥囊、安瓿、塑膠袋、金屬圓筒及其類似物之材料。容器亦可包括防干擾裝配以防止不慎重獲取封裝之內含物。另外，容器上附有描述容器內含物之標籤。標籤亦可包括適當警告。

本發明化合物之醫藥調配物可經製備以用於各種投與途徑及類型。舉例而言，具有所要純度之式I化合物可視情況與呈凍乾調配物、經研磨粉末或水溶液形式的醫藥學上可接受之稀釋劑、載劑、賦形劑或穩定劑(Remington's Pharmaceutical Sciences (1980)第16版，Osol, A.編)混合。調配可藉由在環境溫度下在適當pH值下且在所要純

度下與生理學上可接受之載劑(亦即在所用劑量及濃度下對接受者無毒之載劑)一起混合進行。調配物之pH值主要取決於化合物之特定用途及濃度，但可在約3至約8範圍內。pH為5含調配物之乙酸鹽緩衝劑為適合實施例。

化合物通常可以固體組合物、凍乾調配物或水溶液形式儲存。

本發明之醫藥組合物以與優良醫學實踐一致之方式(亦即投與之量、濃度、時程、過程、媒劑及途徑)調配、給藥及投與。在此情形中考慮之因素包括所治療之特定病症、所治療之特定哺乳動物、個別患者之臨床病狀、病症起因、藥劑遞送部位、投與方法、投與時程及醫學從業者已知的其他因素。待投與化合物之「治療有效量」係藉由該等考慮因素調節且為改善或治療過度增殖病症所必需之最小量。

作為一般建議，非經腸投與之抑制劑每劑的初始醫藥學上有效量在約0.01-100 mg/kg範圍內，亦即每天約0.1至20 mg/kg之患者體重範圍內，其中所用化合物之典型初始範圍為0.3至15毫克/公斤/天。

可接受之稀釋劑、載劑、賦形劑及穩定劑在所採用之劑量及濃度下對接受者無毒性，且包括緩衝液，諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸及甲硫胺酸；防腐劑(諸如十八烷基二甲基苯甲基氯化銨；氯化六羥季銨；氯化苯甲烴銨、苄索氯銨；酚、丁基醇或苯甲醇；對羥基苯甲酸烷酯，諸如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯；兒茶酚；間苯二酚；環己醇；3-戊醇；及間甲酚)；低分子量(少於約10個殘基)多肽；蛋白質，諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯啶酮；胺基酸，諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺、組胺酸、精胺酸或離胺酸；單醣、雙醣及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，諸如EDTA；糖，諸如蔗糖、甘露糖醇、海藻糖或山梨糖醇；成鹽相對離子，諸如鈉離子；金屬錯合物(例如Zn-蛋白質錯合物)；及/或非離子

界面活性劑，諸如TWEEN™、PLURONICS™或聚乙二醇(PEG)。活性藥學成分亦可包埋於例如藉由凝聚技術或藉由界面聚合製備之微膠囊，例如分別在膠態藥物遞送系統(例如脂質體、白蛋白微粒、微乳液、奈米粒子及奈米膠囊)中或在巨乳液中之羥基甲基纖維素或明膠微膠囊及聚-(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊。該等技術揭示於Remington's Pharmaceutical Sciences第16版, Osol, A.編(1980)中。

可製備式I化合物之持續釋放製劑。持續釋放製劑之適合實例包括含有式I化合物之固體疏水性聚合物的半透性基質，該等基質為成型物品形式，例如膜或微膠囊。持續釋放基質之實例包括聚酯、水凝膠(例如聚(2-羥基乙基-甲基丙烯酸酯)或聚(乙烯醇))、聚丙交脂(US 3773919)、L-麩胺酸與 γ -乙基-L-麩胺酸酯之共聚物、不可降解之乙烯-乙酸乙烯酯、諸如LUPRON DEPOT™ (由乳酸-乙醇酸共聚物及亮丙立德乙酸鹽構成之可注射微粒)之可降解乳酸-乙醇酸共聚物及聚-D-(-)-3-羥基丁酸。

調配物包括適用於本文詳述之投與途徑的彼等調配物。調配物可宜以單位劑型呈現且可利用藥劑學技術中熟知之任何方法來製備。技術及調配物一般發現於Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co., Easton, PA)中。該等方法包括使活性成分與構成一或多種附屬成分之載劑結合的步驟。一般而言，藉由使活性成分與液體載劑或細粉狀固體載劑或兩者均勻且緊密結合且隨後必要時使產物成形來製備調配物。

適用於經口投與之式I化合物之調配物可製備為離散單元，諸如丸劑、膠囊、扁囊劑或錠劑，其各含有預定量之式I化合物。壓縮錠劑可藉由在適合機器中壓縮自由流動形式(諸如粉末或顆粒)之視情況與黏合劑、潤滑劑、惰性稀釋劑、防腐劑、表面活性劑或分散劑混合的活性成分來製備。錠劑可藉由在適合機器中模製經惰性液體稀釋劑

濕潤之粉末狀活性成分之混合物來製備。可將錠劑視情況包覆或刻痕且視情況調配，以便提供自其緩慢或控制釋放之活性成分。可製備錠劑、糖衣錠、口含錠、水性或油性懸浮液、可分散粉末或顆粒、乳液、硬或軟膠囊(例如明膠膠囊)、糊漿或酞劑以用於經口用途。欲用於口服用途的式I化合物之調配物可根據製備醫藥組合物之技術中已知的任何方法製備，且該等組合物可含有一或多種藥劑，包括甜味劑、調味劑、著色劑及防腐劑，以便提供可口的製劑。含有與適用於製造錠劑之醫藥學上可接受無毒賦形劑混合的活性成分之錠劑為可接受的。此等賦形劑可為例如惰性稀釋劑，諸如碳酸鈣或碳酸鈉、乳糖、磷酸鈣或磷酸鈉；粒化及崩解劑，諸如玉米澱粉或褐藻酸；黏合劑，諸如澱粉、明膠或阿拉伯膠；及潤滑劑，諸如硬脂酸鎂、硬脂酸或滑石。錠劑可未經包覆或可利用已知技術(包括微囊封裝)包覆以延緩在胃腸道中之崩解及吸附，且因此提供較長時段的持久作用。舉例而言，可單獨或伴以蠟採用諸如單硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯之時間延遲材料。

對於治療眼睛或其他外部組織(例如口部及皮膚)，調配物較佳呈含有例如0.075至20% w/w之量之活性成分的局部軟膏或乳膏形式塗覆。當調配成軟膏時，活性成分可與石蠟或水可混溶性軟膏基劑一起使用。替代地，活性成分可與水包油乳膏基劑一起調配成乳膏。必要時，乳膏基劑之水相可包括多元醇，亦即具有兩個或更多個羥基之醇，諸如丙二醇、1,3-丁二醇、甘露糖醇、山梨糖醇、甘油及聚乙二醇(包括PEG 400)及其混合物。局部調配物宜包括促進活性成分經由皮膚或其他受影響區域吸收或滲透之化合物。該等經皮滲透增強劑之實例包括二甲亞砷及相關類似物。本發明之乳液的油相可由已知成分以已知方式構成。當相可僅包含乳化劑時，其宜包含至少一種乳化劑與脂肪或油或脂肪及油兩者之混合物。較佳地，親水性乳化劑與充當

穩定劑之親脂性乳化劑一起包括在內。亦較佳為包括油及脂肪兩者。具有或不具有穩定劑之乳化劑構成所謂的乳化蠟，且蠟與油及脂肪一起構成所謂的乳化軟膏基劑，其形成乳膏調配物之油性分散相。適用於本發明之調配物的乳化劑及乳液穩定劑包括 Tween® 60、Span® 80、鯨蠟硬脂醇、苯甲醇、肉豆蔻醇、單硬脂酸甘油酯及月桂基硫酸鈉。

式I化合物之水性懸浮液含有與適用於製備水性懸浮液之賦形劑混合的活性材料。該等賦形劑包括懸浮劑，諸如鈉羧基甲基纖維素、交聯羧甲纖維素、聚維酮、甲基纖維素、羥丙基甲基纖維素、海藻酸鈉、聚乙烯吡咯啉酮、黃蓍膠及阿拉伯膠；及分散或濕潤劑，諸如天然存在之磷脂(例如卵磷脂)、環氧烷與脂肪酸之縮合產物(例如聚氧乙烯硬脂酸酯)、環氧乙烷與長鏈脂族醇之縮合產物(例如十七伸乙基氧鯨蠟醇)、環氧乙烷與衍生自脂肪酸之偏酯及己糖醇酐之縮合產物(例如聚氧乙烯脫水山梨糖醇單油酸酯)。水性懸浮液亦可含有一或多種防腐劑，諸如對羥基苯甲酸乙酯或對羥基苯甲酸正丙酯；一或多種著色劑；一或多種調味劑及一或多種甜味劑，諸如蔗糖或糖精。

式I化合物之醫藥組合物可呈可無菌注射製劑形式，諸如可無菌注射水性或油性懸浮液。此懸浮液可根據已知技術使用上文所提及之彼等適合分散劑或濕潤劑及懸浮劑調配。可無菌注射製劑亦可為含可無菌注射溶液或懸浮液之無毒非經腸可接受稀釋劑或溶劑，諸如含1,3-丁二醇之溶液；或製備成凍乾粉末。在可接受之媒劑及溶劑中，可採用的為水、林格氏溶液(Ringer's solution)及等張氯化鈉溶液。此外，無菌不揮發性油可習知地用作溶劑或懸浮介質。出於此目的，可採用任何溫和不揮發性油，包括合成單甘油酯或二甘油酯。此外，諸如油酸之脂肪酸亦可用於製備可注射劑。

可與載劑材料組合產生單一劑型之活性成分的量將視所治療之

主體及特定投與模式而變化。舉例而言，意欲向人類經口投與之時間釋放調配物可含有約1至1000 mg活性材料與合適且適宜量之載劑材料的混配物，該量可在總組合物之約5%至約95% (重量:重量)範圍內變化。醫藥組合物可製備成提供可易於量測之量以便投與。舉例而言，欲用於靜脈內輸注之水溶液每毫升溶液可含有約3 µg至500 µg活性成分，以便可以約30 mL/hr之速率進行適合體積之輸注。

適用於非經腸投與之調配物包括可含有抗氧化劑、緩衝劑、抑菌劑及使調配物與預期接受者血液等張之溶質的水性及非水性無菌注射溶液；及可包括懸浮劑及增稠劑之水性及非水性無菌懸浮液。

適用於向眼睛局部投與之調配物亦包括滴眼劑，其中活性成分溶解或懸浮於適合載劑中，尤其活性成分之水性溶劑中。活性成分較佳以約0.5至20% w/w，例如約0.5至10% w/w，例如約1.5% w/w之濃度存在於該等調配物中。

適用於在口中局部投與之調配物包括口含錠，其包含在調味基劑(一般蔗糖及阿拉伯膠或黃蓍)中之活性成分；片劑，其包含在惰性基劑(諸如明膠及甘油、或蔗糖及阿拉伯膠)中之活性成分；以及漱口劑，其包含在適合液體載劑中之活性成分。

用於經直腸投與之調配物可以具有適合基劑(包含例如可可脂或水楊酸酯)之栓劑形式呈現。

適用於肺內或經鼻投與之調配物的粒度例如在0.1至500微米範圍內(包括在0.1與500微米範圍之間以諸如0.5微米、1微米、30微米、35微米等微米數遞增之粒度)，其藉由經鼻腔快速吸入或藉由經口吸入從而到達肺泡小囊來投與。適合調配物包括活性成分之水性或油性溶液。適用於噴霧劑或乾燥粉末投與之調配物可根據習知方法製備，且可與其他治療劑(諸如迄今為止用於治療或預防下述病症的化合物)一起遞送。

適用於經陰道投與之調配物可呈現為子宮托、棉塞、乳膏、凝膠、糊狀物、發泡體或噴霧劑調配物形式，該等調配物除了含有活性成分以外，亦含有諸如此項技術中已知為合適之載劑。

調配物可封裝於單位劑量或多劑量容器(例如密封安瓿及小瓶)中，且可儲存在冷凍乾燥(凍乾)之條件下，其僅需要在臨使用之前添加無菌液體載劑(例如水)即可供注射。可自上述種類之無菌粉末、顆粒劑及錠劑製備即用型注射溶液及懸浮液。較佳單位劑量調配物為含有如上文中所述之日劑量或單位每日子劑量或其適當部分之活性成分的彼等調配物。

本發明進一步提供獸醫用組合物，其包含如上所定義至少一種活性成分以及因此獸醫用載劑。獸醫載劑為適用於投與組合物之目的的材料，且可為固體、液體或氣體材料，其另外為惰性的或在獸醫領域中可接受的且與活性成分相容。此等獸醫用組合物可以非經腸、經口或藉由任何其他所要途徑投與。

組合療法

式I化合物可單獨或與其他治療劑組合用於治療本文所述之疾病或病症，諸如發炎或過度增殖病症(例如癌症)。在某些實施例中，式I化合物在醫藥組合調配物或作為組合療法之給藥方案中與具有消炎或抗過度增殖性質或適用於治療發炎、免疫反應病症或過度增殖病症(例如癌症)的另一第二治療性化合物一起組合。其他治療劑可為Bcl-2抑制劑、JAK抑制劑、消炎劑、免疫調節劑、化學治療劑、細胞凋亡增強劑、趨神經因子、用於治療心血管疾病之藥劑、用於治療肝病之藥劑、抗病毒劑、用於治療血液病症之藥劑、用於治療糖尿病之藥劑及用於治療免疫缺乏症之藥劑。第二治療劑可為NSAID消炎劑。第二治療劑可為化學治療劑。醫藥組合調配物或給藥方案之第二化合物較佳具有對式I化合物之補充活性，使得其不會不利地影響彼此。該等

化合物適合以有效用於所欲目的之量存在於組合中。在一個實施例中，本發明之組合物包含式I化合物或其立體異構體、互變異構體、溶劑合物、代謝物或醫藥學上可接受之鹽或前藥以及諸如NSAID之治療劑。

組合療法可以同時或依序方案投與。當依序投與時，該組合可以兩次或更多次投與形式投與。組合投與包括使用各別調配物或單一醫藥調配物共投與及以任一次序連續投與，其中較佳存在兩種(或所有)活性劑同時發揮其生物活性之時段。

以上共投與藥劑中之任一者的適合劑量為當前所用劑量，且可由新識別藥劑及其他治療劑或治療之組合作用(協同作用)而降低。

組合療法可提供「協同作用」且證明「協同性」，亦即當活性成分一起使用時所達成之作用大於由分別使用化合物所產生之作用的總和。協同作用可在活性成分如下時獲得：(1)在組合單位劑量調配物中同時共調配及投與或遞送；(2)以各別調配物形式交替或同時遞送；或(3)藉由一些其他方案。當以交替療法遞送時，在依序投與或遞送化合物，例如藉由用各別注射器進行不同注射、藉由各別丸劑或膠囊或利用各別輸注時，可獲得協同作用。一般而言，在交替療法期間，依序(亦即連續)投與各活性成分之有效劑量，而在組合療法中，一起投與兩種或更多種活性成分之有效劑量。

在療法之一特定實施例中，式I化合物或其立體異構體、互變異構體、溶劑合物、代謝物或醫藥學上可接受之鹽或前藥可與其他治療劑、激素或抗體藥劑(諸如本文所述之藥劑)組合以及與外科療法及放射療法組合。因此，根據本發明之組合療法包含投與至少一種式I化合物或其立體異構體、互變異構體、溶劑合物、代謝物或醫藥學上可接受之鹽或前藥，及使用至少一種其他癌症治療方法。將選擇式I化合物及其他醫藥學上活性治療劑之量及相對投與時序以達成所要組合

治療作用。

與式I化合物組合使用之其他治療劑包括5-FU、多西他賽、艾瑞布林(eribulin)、吉西他濱、考比替尼(cobimetinib)、伊巴替布、太平洋紫杉醇、他莫昔芬、氟維司群、GDC-0810、地塞米松、帕博希布(palbociclib)、貝伐單抗、帕妥珠單抗、曲妥珠單抗恩他新、曲妥珠單抗及來曲唑。

式I化合物之代謝物

本文所述之式I之活體內代謝產物亦屬於本發明之範疇內。該等產物可例如由所投與化合物之氧化、還原、水解、醯胺化、去醯胺化、酯化、去酯化、酶促裂解及其類似反應產生。因此，本發明包括式I化合物之代謝物，包括利用如下方法產生之化合物：包含使本發明化合物與哺乳動物接觸一段時間以足以產生其代謝產物。

代謝物產物通常藉由以下來識別：製備本發明化合物之經放射性標記(例如 ^{14}C 或 ^3H)之同位素，以可偵測劑量(例如大於約0.5 mg/kg)向諸如大鼠、小鼠、天竺鼠、猴之動物或向人非經腸投與該同位素，允許充足的時間進行代謝(通常約30秒至30小時)，且自尿液、血液或其他生物樣品分離其轉化產物。此等產物因為其經標記而容易分離(其他藉由使用能夠結合代謝物中存活之抗原決定基的抗體進行分離)。代謝物結構以習知方式測定，例如藉由MS、LC/MS或NMR分析測定。一般而言，代謝物之分析以與熟習此項技術者熟知之習知藥物代謝研究相同的方式進行。代謝物產物只要未另外在活體內發現，則適用於治療劑量之本發明化合物的診斷分析。

製品

在本發明之另一實施例中，提供一種製品或「套組」，其含有適用於治療上述疾病及病症之材料。在一個實施例中，套組包含容器，其包含式I化合物或其立體異構體、互變異構體、溶劑合物、代謝物

或醫藥學上可接受之鹽或前藥。套組可進一步包含在容器上或與容器結合之標籤或藥品說明書。術語「藥品說明書」用以指治療產品之商業封裝中通常包括之說明書，其含有關於適應症、用法、劑量、投與、禁忌及/或關於使用該等治療產品之警告的資訊。適合容器包括例如瓶子、小瓶、注射器、泡殼包裝等。容器可由多種材料(諸如玻璃或塑膠)形成。容器可容納有效用於治療病狀之式I化合物或其調配物，且可具有無菌進口(例如容器可為靜脈內溶液袋或具有可由皮下注射針刺穿之塞的小瓶)。組合物中之至少一種活性劑為式I化合物。標籤或藥品說明書指示組合物用於治療所選病狀，諸如癌症。另外，標籤或藥品說明書可指示欲治療之患者為患有諸如過度增殖病症、神經退化、心肥大、疼痛、偏頭痛或神經創傷性疾病或事件之病症的患者。在一個實施例中，標籤或藥品說明書指示包含式I化合物之組合物可用於治療由異常細胞生長引起之病症。標籤或藥品說明書亦可指示組合物可用於治療其他病症。替代地或另外，製品可進一步包含第二容器，其包含醫藥學上可接受之緩衝劑，諸如注射用抑菌水(BWFI)、磷酸鹽緩衝鹽水、林格氏溶液(Ringer's solution)或右旋糖溶液。其可進一步包括就商業及使用者觀點而言所需之其他材料，包括其他緩衝劑、稀釋劑、過濾器、針及注射器。

套組可進一步包含投與式I化合物及(若存在)第二醫藥調配物之說明。舉例而言，若套組包含有包含式I化合物之第一組合物及第二醫藥調配物，則該套組可進一步包含向有需要之患者同時、依序或分別投與第一及第二醫藥組合物的說明。

在另一實施例中，套組適用於遞送式I化合物之固體口服形式，諸如錠劑或膠囊。此類套組較佳包括多個單位劑量。該等套組可包括使劑量按照其所欲使用之次序的卡片。此類套組之一實例為「泡殼包裝」。泡殼包裝為封裝工業中所熟知且廣泛用於封裝醫藥單位劑型。

必要時，可提供記憶輔助物，例如以數字、字母或其他標記形式或用指明可投與劑量之治療時程之天數的日曆插頁。

根據一個實施例，套組可包含(a)第一容器，其中含有式I化合物；及視情況(b)第二容器，其中含有第二醫藥調配物，其中該第二醫藥調配物包含具有抗過度增殖活性之第二化合物。替代地或另外，套組可進一步包含有包含醫藥學上可接受之緩衝劑(諸如注射用抑菌水(BWFI)、磷酸鹽緩衝鹽水、林格氏溶液及右旋糖溶液)的第三容器。其可進一步包括就商業及使用者觀點而言所需之其他材料，包括其他緩衝劑、稀釋劑、過濾器、針及注射器。

在套組包含式I之組合物及第二治療劑的某些其他實施例中，該套組可包含含有各別組合物的容器，諸如分隔瓶或分隔箔包裝，然而，各別組合物亦可含於單個未分隔容器內。套組通常包含用於投與各別組分之說明。當各別組分較佳以不同劑型(例如經口及非經腸)投與時、以不同給藥時間間隔投與時或處方醫師需要滴定組合之個別組分時，套組形式為尤其有利的。

式I化合物之製備

式I化合物可藉由如下合成途徑合成，該等合成途徑包括類似於化學技術中熟知，特定言之依據本文所包含之說明及以下文獻中所述用於其他雜環之方法：Comprehensive Heterocyclic Chemistry II, 編輯Katritzky及Rees, Elsevier, 1997, 例如第3卷；Liebig's Annalen der Chemie, (9):1910-16, (1985)；Helvetica Chimica Acta, 41:1052-60, (1958)；Arzneimittel-Forschung, 40(12):1328-31, (1990)，其中之每一者以引用的方式明確併入。起始材料一般購自諸如Aldrich Chemicals (Milwaukee, WI)之商業來源，或易於使用熟習此項技術者熟知之方法製備(例如，藉由以下文獻中大體上描述之方法製備：Louis F. Fieser及Mary Fieser, *Reagents for Organic Synthesis*, 第1卷至第23卷, Wiley,

N.Y. (1967-2006版)，或*Beilsteins Handbuch der organischen Chemie*, 4, Aufl.編, Springer-Verlag, Berlin，包括增刊(亦可經由Beilstein線上資料庫獲得))。

適用於合成式I化合物的合成化學轉化及保護基法(添加保護基及去除保護基)及所需試劑及中間物為此項技術中已知，且包括例如以下文獻中所述的方法：R. Larock, *Comprehensive Organic Transformations*, VCH Publishers (1989)；T. W. Greene及P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 第3版, John Wiley and Sons (1999)；及L. Paquette編, *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1995)及其後續版本。

實例提供製備式I化合物之例示性方法。熟習此項技術者應瞭解，可採用其他合成途徑來合成式I化合物。儘管特定的起始材料及試劑已在圖式及實例中加以描繪且論述，但仍可改用其他起始材料及試劑替代，以提供多種衍生物及/或反應條件。另外，利用所述方法製備之多種例示性化合物可根據本發明使用熟習此項技術者熟知之習知化學方法進一步修飾。

製備式I化合物時，可能需要保護中間物之遠端官能基(例如一級或二級胺)。該等保護之需求將視遠端官能基之性質及製備方法之條件而變化。適合之胺基保護基包括乙醯基、三氟乙醯基、第三丁氧羰基(Boc)、苯甲氧羰基(CBz)及9-芴基亞甲基氧基羰基(Fmoc)。熟習此項技術者容易確定對此類保護之需求。關於保護基及其用途之一般描述參見T. W. Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, New York, 1991。

在製備式I化合物之方法中，宜使反應產物彼此分離及/或使其與起始材料分離。各步驟或一系列步驟之所要產物藉由此項技術中常見之技術分離及/或純化至所要均質程度。通常，該等分離法涉及多相

萃取、自溶劑或溶劑混合物結晶、蒸餾、昇華或層析。層析可涉及任何數目之方法，包括例如：反相及正相；尺寸排阻；離子交換；高壓、中壓及低壓液相層析方法及裝置；小規模分析；模擬移動床(SMB)及製備型薄層或厚層層析以及小規模薄層及急驟層析之技術。

另一類別之分離方法涉及用所選擇試劑處理混合物，該試劑結合至所要產物、未反應之起始材料、反應副產物或其類似物或使得可以其他方式分離該等物質。該等試劑包括吸附劑或吸收劑，諸如活性炭、分子篩、離子交換介質或其類似物。替代地，該等試劑在鹼性材料之情況下可為酸，在酸性物質之情況下可為鹼，可為結合試劑，諸如抗體、結合蛋白，選擇性螯合劑，諸如冠醚，液體/液體離子萃取試劑(LIX)或其類似物。分離之合適方法的選擇取決於所涉及材料之性質，諸如在蒸餾及昇華中之沸點及分子量，層析中存在或不存在極性官能基，多相萃取中酸性及鹼性介質中材料之穩定性及其類似性質。

非對映異構體混合物可基於其物理化學差異利用熟習此項技術者熟知之方法(諸如藉由層析及/或分步結晶法)分離成其個別非對映異構體。對映異構體可利用以下方法進行分離：藉由與適合光學活性化合物(例如對掌性助劑，諸如對掌性醇或莫舍氏酸氯化物(Mosher's acid chloride))反應將對映異構混合物轉化成非對映異構混合物，分離非對映異構體且將個別非對映異構體轉化(例如水解)成相應純對映異構體。另外，一些本發明化合物可為滯轉異構體(例如經取代之聯芳基)且視為本發明之部分。對映異構體亦可藉由使用對掌性HPLC管柱來分離。

實質上不含其立體異構體之單一立體異構體(例如對映異構體)可藉由使用諸如形成非對映異構體之方法使用光學活性解析劑對外消旋混合物進行解析來獲得(Eliel, E.及 Wilen, S., 「Stereochemistry of

Organic Compounds」, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994 ; Lochmuller, C. H., J. Chromatogr., 113(3):283-302 (1975))。本發明之對掌性化合物的外消旋混合物可利用任何適合方法分離，包括：(1)與對掌性化合物形成離子非對映異構鹽且藉由分步結晶或其他方法分離，(2)與對掌性衍生試劑形成非對映異構化合物，分離非對映異構體且轉化為純立體異構體，及(3)在對掌性條件下直接分離大體上純的或增濃之立體異構體。參看：「Drug Stereochemistry, Analytical Methods and Pharmacology」, Irving W. Wainer編, Marcel Dekker, Inc., New York (1993)。

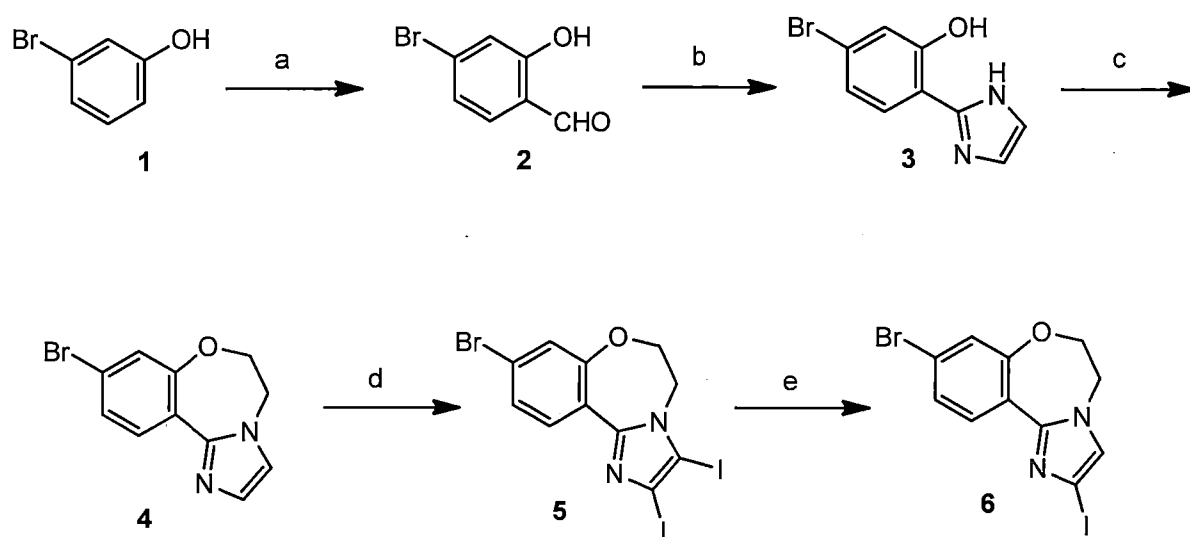
在方法(1)下，非對映異構鹽可藉由對映異構性純對掌性鹼(諸如馬錢子鹼、奎寧、麻黃素、番木鱉鹼、 α -甲基- β -苯基乙胺(安非他明(amphetamine))及其類似物)與攜有酸性官能基之不對稱化合物(諸如羧酸及磺酸)反應形成。可藉由分步結晶或離子層析誘導非對映異構鹽分離。為分離胺基化合物之光學異構體，添加對掌性羧酸或磺酸(諸如樟腦磺酸、酒石酸、杏仁酸或乳酸)可導致形成非對映異構鹽。

替代地，藉由方法(2)，使待解析之基質與對掌性化合物之一個對映異構體反應，形成非對映異構對(E. 及 Wilen, S. 「Stereochemistry of Organic Compounds」, John Wiley & Sons, Inc., 1994, 第322頁)。可藉由使不對稱化合物與對映異構純對掌性衍生試劑(諸如薄荷基衍生物)反應形成非對映異構化合物，隨後分離非對映異構體且水解，獲得純的或增濃對映異構體。測定光學純度之方法涉及製備外消旋混合物之對掌性酯，諸如薄荷基酯，例如在鹼存在下之氯甲酸(-)薄荷酯，或莫舍氏酯(Mosher ester)乙酸 α -甲氧基- α -(三氟甲基)苯酯(Jacob III. J. Org. Chem. (1982) 47:4165)，且分析 ^1H NMR光譜中兩種滯轉異構對映異構體或非對映異構體之存在。滯轉異構化合物之穩定非對映異構體可藉由正相層析及逆相層析遵照分離滯轉異構萘

基-異喹啉之方法(WO 96/15111)分離。藉由方法(3)，兩種對映異構體之外消旋混合物可藉由層析法使用對掌性固定相分離(「Chiral Liquid Chromatography」 (1989) W. J. Lough編, Chapman and Hall, New York; Okamoto, J. Chromatogr., (1990) 513:375-378)。可藉由用於辨別其他具有不對稱碳原子之對掌性分子的方法(諸如旋光及圓二色性)來辨別增濃或純化對映異構體。

本發明化合物如大體上流程1及流程2所說明進行製備。

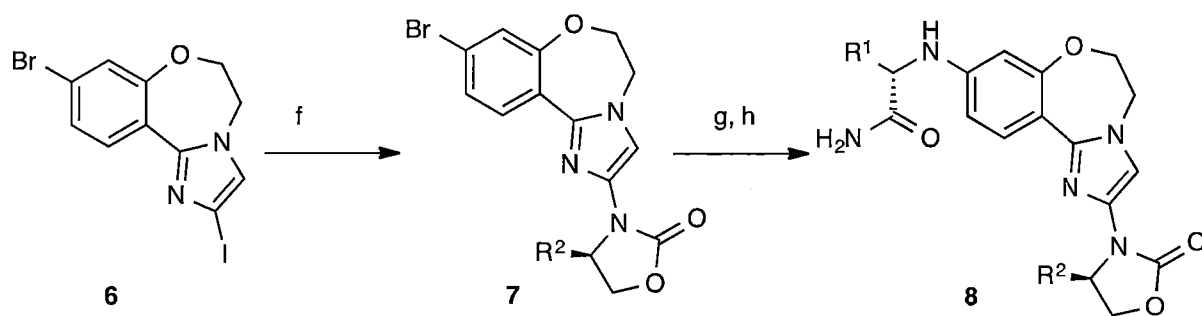
流程1.



a) MgCl_2 、三乙胺、多聚甲醛、乙腈、加熱；b) 乙二醛、氫氧化銨、加熱；c) 碳酸銨、1,2-二溴乙烷、DMF、加熱；d) N-碘代丁二醯亞胺、DMF、加熱；e) i. EtMgBr 、THF、 -20°C ，ii. 氯化銨水溶液

如流程1中展示，4-溴-2-羥基苯甲醛**2**可藉由甲醯化市售之3-溴苯酚獲得。將**2**與乙二醛及氫氧化銨一起加熱，得到**3**。噁氮吡環可藉由將**3**與1,2-二溴乙烷一起加熱形成。雙碘化可藉由與N-碘代丁二醯亞胺反應誘導，且將3-碘基經由用溴化乙基鎂在低溫下處理選擇性地移除，得到**6**。

流程2.



f) 4-經取代之噁唑啉-2-酮、 $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ 、反- N,N' -二甲基環己烷-1,2-二胺、碳酸鉀、二噁烷、加熱；g) $\text{HN}(\text{R}^2)\text{CH}(\text{R}^1)\text{CO}_2\text{H}$ 、 CuI 、 K_3PO_4 、DMSO、加熱；h) 氯化銨、三乙胺、HATU (六氟磷酸3-氧化1-[雙(二甲胺基)亞甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡錠)

如方案2中展示，**6**可使用銅催化劑偶合至經恰當地取代之噁唑啉-2-酮，得到**7**。溴中間物**7**可在銅催化劑下偶合至經恰當地取代之胺基酸，接著與氯化銨進行HATU介導之醯胺偶合，得到化合物**8**。

實例

縮寫

DMSO	二甲亞砜
ESI	電噴霧電離
HPLC	高壓液相層析
LCMS	液相層析質譜分析
min	分鐘
N	正常
NMR	核磁共振
R_T	滯留時間

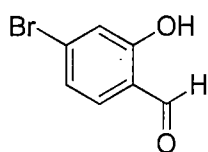
LCMS 方法 A：實驗在連結至具有 PDA UV 偵測器之 Waters Acquity UPLC 系統的 Waters Micromass ZQ2000 質譜儀上進行。光譜儀具有以正離子及負離子模式操作之電噴霧源。此系統使用保持於 40°C

下之Acquity BEH C18 1.7 μm 100 $\times$ 2.1 mm管柱，或保持於40°C及0.4毫升/分鐘流速下之Acquity BEH Shield RP18 1.7 μm 100 $\times$ 2.1 mm管柱。初始溶劑系統在第一個0.4分鐘為95%含有0.1%甲酸之水(溶劑A)及5%含有0.1%甲酸之乙腈(溶劑B)，接著歷經下一個5.6分鐘將梯度升至5%溶劑A及95%溶劑B。此保持0.8分鐘，在隨後歷經下一個1.2分鐘返回至95%溶劑A及5%溶劑B。總操作時間為8分鐘。

LCMS方法B：實驗在與使用ESI作為電離來源之Agilent MSD質譜儀耦合之Agilent 1100 HPLC上進行。LC分離係使用Phenomenex XB-C18，1.7 mm，50 $\times$ 2.1 mm管柱，0.4 mL/min流速。溶劑A為具有0.1%甲酸之水，且溶劑B為具有0.1%甲酸之乙腈。梯度由以下組成：歷經7分鐘2-98%溶劑B，且在平衡1.5 min之後，保持97% B 1.5分鐘。LC管柱溫度為40°C。UV吸光度係在220 nm及254 nm下收集，且質譜完全掃描應用於所有實驗。

實例101 (S)-2-((2-((S)-4-(二氟甲基)-2-側氧基噁唑啉-3-基)-5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-d][1,4]噁氮呋-9-基)胺基)丙醯胺**101**

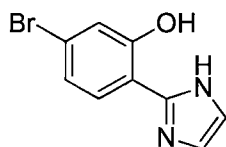
步驟1：4-溴-2-羥基苯甲醛



將3-溴苯酚(1300 g，7.51 mol)、二氯鎂(1078 g，11.3 mol)、三乙胺(3034 g，30.0 mol)及乙腈(7.8 L)放入用氮氣惰性氛圍淨化且維持之20 L 4頸圓底燒瓶中。在40°C下攪拌混合物30分鐘。在80°C下向混合物添加多聚甲醛(676 g，22.6 mol)。在76°C下攪拌所得溶液6小時。重複此反應5次。藉由添加12 L氯化氫水溶液(4 N)淬滅合併之反應混合物。用濃縮氯化氫水溶液(12 N)將溶液之pH值調節至5。用1 $\times$ 20 L乙酸乙酯萃取所得溶液。真空蒸發有機萃取物。殘餘物經由矽膠急驟

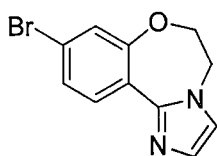
層析法(溶離：15%含乙酸乙酯之石油醚)純化，得到粗產物，其用2.4 L甲基第三丁基醚:己烷(1:4)洗滌。所得固體藉由過濾收集，得到7.0 kg (78%)呈黃色固體狀之標題化合物。

步驟2：5-溴-2-(1*H*-咪唑-2-基)酚



將4-溴-2-羥基苯甲醛(700 g, 3.50 mol)於甲醇(7.0 L)中之溶液及乙二醛(40%)(2540 g, 17.5 mol)放入20 L 4頸圓底燒瓶中，接著在攪拌下且維持溫度低於40℃歷經4小時逐滴添加氨水(25-28%，3500 g)。在30-35℃下攪拌所得溶液15小時。重複此反應9次。真空蒸發合併之9種反應混合物，保持溫度低於45℃。在攪拌下用100 L乙酸乙酯稀釋殘餘物30分鐘。將固體過濾出，且所得溶液用水稀釋。水相用35 L乙酸乙酯萃取。將有機萃取物在真空下蒸發，且殘餘物經由矽膠急驟層析法(溶劑梯度：5-75%乙酸乙酯/石油醚)純化，得到2.4 kg (29%)呈黃色固體狀之標題化合物。

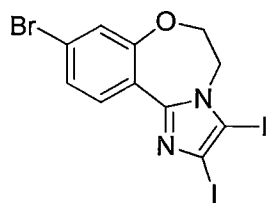
步驟3：9-溴-5,6-二氫苯并[*f*]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呼



將5-溴-2-(1*H*-咪唑-2-基)酚(1.4 kg, 5.86 mol)於*N,N*-二甲基甲醯胺(14 L)中之溶液及碳酸鉀(7.2 kg, 22.1 mol)放入20 L 4頸圓底燒瓶中。攪拌混合物20分鐘。向反應混合物添加1,2-二溴乙烷(4.1 kg, 21.8 mol)。將所得溶液在85-90℃下攪拌4-12小時，冷卻至15℃，且過濾。濾餅用3.0 L乙酸乙酯洗滌。濾液用14 L乙酸乙酯稀釋。將合併之有機萃取物用鹽水(4×14 L)洗滌，經無水硫酸鈉乾燥，過濾且真空

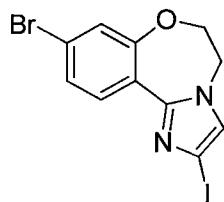
蒸發，得到1.1 kg (71%)呈淡黃色固體狀之標題化合物。LCMS (ESI): $[M+H]^+ = 265$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.32 (d, $J = 8.4$, 1H), 7.35-7.24 (m, 3H), 7.06 (s, 1H), 4.47-4.42 (m, 4H)。

步驟4：9-溴-2,3-二碘-5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呋



將9-溴-5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呋(2.5 kg, 9.43 mol)及*N,N*-二甲基甲醯胺(12.5 L)放入20 L 4頸圓底燒瓶中，接著在攪拌下分數批添加*N*-碘代丁二醯亞胺(6.0 kg, 26.7 mol)。將所得溶液在60℃下攪拌12小時，用水/冰浴冷卻至15℃，用12.5 L水/冰稀釋，且過濾。將過濾固體由石油醚進行再結晶，得到4.0 kg (82%)呈黃色固體狀之標題化合物。

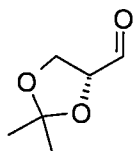
步驟5：9-溴-2-碘-5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呋



將9-溴-2,3-二碘-5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呋(800 g, 1.55 mol)及四氫呋喃(2.4 L)放入用氮氣惰性氛圍淨化且維持之20 L 4頸圓底燒瓶中，接著在攪拌下在-20℃下歷經3.5小時逐滴添加溴化乙基鎂(含1 N溶液之醚，1.7 L)。攪拌反應混合物3小時，使用冰/鹽浴保持溫度在-15℃下。所得混合物藉由添加3.0 L飽和氯化銨水溶液淬滅，且用乙酸乙酯(2×8.0 L)萃取。將合併之有機萃取物用鹽水(2×10 L)洗滌，經無水硫酸鈉乾燥，過濾且真空蒸發。將粗殘餘物用8.0 L乙酸乙酯:石油醚(1:5)濕磨，過濾，且用石油醚洗滌，得到501 g

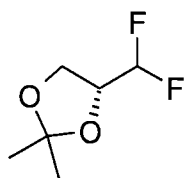
(83%)呈褐色固體狀之標題化合物。LCMS (ESI): $[M+H]^+ = 391$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.22 (d, $J = 8.7$, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.30-7.25 (m, 2H), 4.45-4.41 (m, 4H)。

步驟6：(*R*)-2,2-二甲基-[1,3]二氧雜環戊烷-4-甲醛



將過碘酸鈉(57.0 g, 270 mmol)溶解於熱水(115 mL)中，且添加二氧化矽(200 g, 60 Å 220-440網目，粒徑35-75 μm)。劇烈攪拌混合物，直至獲得自由流動粉末為止。將此添加至1,2:5,6-雙-*O*-(1-甲基亞乙基)-*D*-甘露糖醇(50 g, 190 mmol)於二氯甲烷(1.0 L)中之溶液中，且在室溫下攪拌反應物1小時。將所得混合物經由 Na_2SO_4 之墊過濾，且用二氯甲烷澈底地洗滌固體。將合併之有機萃取物真空蒸發，得到37.2 g (75%)呈無色油狀之標題化合物。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.73 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 4.38 (ddd, $J = 7.4, 4.7, 1.9$ Hz, 1H), 4.18 (dd, $J = 8.8, 7.4$ Hz, 1H), 4.10 (dd, $J = 8.8, 4.7$ Hz, 1H), 1.49 (s, 3H), 1.43 (s, 3H)。

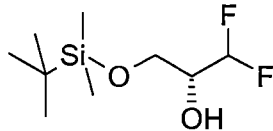
步驟7：(*R*)-4-二氟甲基-2,2-二甲基-[1,3]二氧雜環戊烷



向在水浴中冷卻的(*R*)-2,2-二甲基-[1,3]二氧雜環戊烷-4-甲醛(7.08 g, 54 mmol)於二氯甲烷(50 mL)中之溶液中逐滴添加三氟化二乙基胺基硫(8.4 mL, 62.6 mmol)，且在室溫下攪拌反應混合物3小時。將所得混合物逐滴添加至快速攪拌冰冷的飽和碳酸氫鈉水溶液中。將混合物進一步用二氯甲烷萃取。將合併之有機萃取物用鹽水洗滌，經硫酸

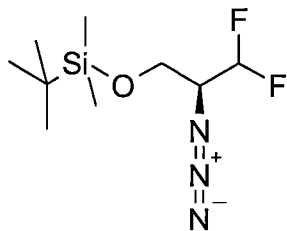
鎂乾燥，過濾且真空蒸發，得到6.58 g (79%)呈橙色油狀之粗標題化合物。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.69 (td, *J* = 55.8, 4.9 Hz, 1H), 4.27 - 4.17 (m, 1H), 4.16 - 4.03 (m, 2H), 1.46 (s, 3H), 1.38 (s, 3H)。

步驟8：(*R*)-3-(第三丁基二甲基矽烷基氧基)-1,1-二氟丙-2-醇



將含HCl之二噁烷(4 N, 10.8 mL, 43.2 mmol)添加至(*R*)-4-二氟甲基-2,2-二甲基[1,3]二氧雜環戊烷(6.58 g, 43.2 mmol)於甲醇(40 mL)中之溶液中，且在室溫下攪拌反應混合物30分鐘。將所得混合物真空蒸發，且使其與乙腈共沸。將殘餘物溶解於*N,N*-二甲基甲醯胺(10 mL)及氯化第三丁基二甲基矽烷(6.53 g, 43.2 mmol)中，添加三乙胺(9.0 mL, 64.9 mmol)及4-(二甲胺基)吡啶(催化)。反應混合物在室溫下攪拌1小時。將所得混合物用水洗滌，且接著用二氯甲烷萃取。將合併之有機萃取物用鹽水洗滌，經硫酸鎂乾燥，過濾且真空蒸發。將所得粗殘餘物經由矽膠急驟層析法(溶劑梯度：0-30%乙酸乙酯/環己烷)純化，得到3.43 g (35%)呈黃色油狀之標題化合物。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.66 (td, *J* = 56.4, 4.6 Hz, 1H), 3.76 - 3.60 (m, 2H), 2.46 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H), 0.81 (s, 9H), 0.00 (s, 6H)。

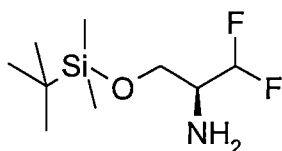
步驟9：((*S*)-2-疊氮基-3,3-二氟丙氧基)-第三丁基二甲基矽烷



將三氟甲磺酸酐(2.9 mL, 17.4 mmol)在-20℃下逐滴添加至(*R*)-3-(第三丁基二甲基矽烷基氧基)-1,1-二氟丙-2-醇(3.43 g, 15.1 mmol)及吡啶(2.0 mL, 24.2 mmol)於二氯甲烷(50 mL)中之溶液中，且將反應

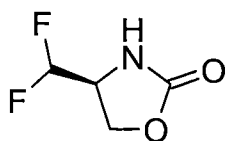
混合物在 -20°C 下攪拌20分鐘，且接著在 0°C 下攪拌1小時。將所得混合物用0.5 N HCl水溶液稀釋，且用二氯甲烷萃取。將合併之有機萃取物經硫酸鎂乾燥，且真空蒸發。將粗殘餘物溶解於 N,N -二甲基甲醯胺(10 mL)中，添加疊氮化鈉(2.96 g, 45.5 mmol)，且在室溫下攪拌反應混合物2小時。將所得混合物用水稀釋，且用乙酸乙酯萃取。將合併之有機萃取物用鹽水洗滌，經硫酸鎂乾燥，過濾且真空蒸發，得到4.50 g粗標題化合物。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.74 (td, $J = 55.4$, 4.4 Hz, 1H), 3.81 - 3.71 (m, 2H), 3.58 - 3.47 (m, 1H), 0.81 (s, 9H), 0.00 (s, 6H)。

步驟10：(S)-1-(第三丁基二甲基矽烷基氧基甲基)-2,2-二氟乙胺



將氫氧化鈣/碳(200 mg, 20%)添加至((R)-2-疊氮基-3,3-二氟丙氧基)-第三丁基二甲基矽烷(4.50 g, 粗產物，採用約15.1 mmol)於乙酸乙酯(20 mL)及甲醇(2.0 mL)中之溶液中，且在氫氣球下攪拌反應物16小時。將反應物過濾，添加新制氫氧化鈣/碳(400 mg, 20%)，且在氫氣球下攪拌反應混合物16小時。過濾所得混合物，且真空蒸發濾液，得到3.08 g (90%)呈無色油狀之粗標題產物。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.66 (td, $J = 57.0$, 4.7 Hz, 1H), 3.71 - 3.57 (m, 2H), 3.00 - 2.89 (m, 1H), 1.42 (br s, 2H), 0.82 (s, 9H), 0.00 (s, 6H)。

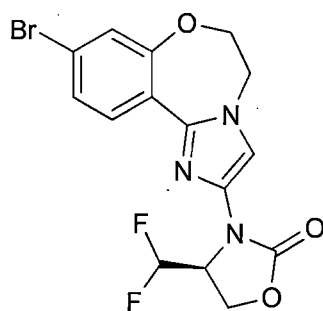
步驟11：(S)-4-二氟甲基噁唑啉-2-酮



將含HCl之二噁烷(4 N, 5.0 mL, 20 mmol)添加至(R)-1-(第三丁

基二甲基矽烷基氧基甲基)-2,2-二氟乙胺(*Org. Lett.*, 第9卷, 第1期, 2007, 41-44) (2.30 g, 10.3 mmol)於甲醇(5.0 mL)中之溶液中, 且在室溫下攪拌反應混合物2小時。將混合物真空蒸發, 且所得油狀物用乙醚濕磨, 得到在真空中經乾燥之固體。在0°C下將固體溶解於甲苯(20 mL)與KOH (2.50 g, 44.6 mmol於20 mL水中)之混合物中。逐滴添加光氣(16.3 mL, 於甲苯中20%), 移除冷卻浴且攪拌反應混合物1小時。真空蒸發混合物, 將所得殘餘物用熱的工業用甲基化油精萃取, 且藉由過濾收集固體。真空蒸發濾液, 且將所得殘餘物經由矽膠急驟層析法(溶劑梯度: 0-100%乙酸乙酯/環己烷)純化, 得到830 mg (68%)呈灰白色固體狀之標題化合物。 $[\alpha]_D = +10.1$ ($c = 2.37$, CHCl_3). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.96 (br s, 1H), 5.78 (td, $J = 55.3, 4.8$ Hz, 1H), 4.54 (t, $J = 9.2$ Hz, 1H), 4.42 (dd, $J = 9.6, 4.4$ Hz, 1H), 4.17 - 4.06 (m, 1H)。

步驟12: (S)-3-(9-溴-5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-d][1,4]噁氮呋-2-基)-4-(二氟甲基)噁唑啉-2-酮



將9-溴-2-碘-5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-d][1,4]噁氮呋(250 mg, 0.64 mmol)、(S)-4-二氟甲基噁唑啉-2-酮(88 mg, 0.64 mmol)、反-*N,N'*-二甲基-1,2-環己烷二胺(36 mg, 0.26 mmol)、碘化亞銅(24 mg, 0.13 mmol)及碳酸鉀(177 mg, 1.28 mmol)於二噁烷(3.0 mL)中之混合物用氫氣在音波處理下進行脫氣。將反應混合物在100°C下加熱5 h, 且接著使其冷卻至室溫。將所得混合物用15%氨水稀釋, 且用乙酸乙酯萃

取。將合併之有機萃取物用鹽水洗滌，經硫酸鎂乾燥，過濾且真空蒸發。將所得殘餘物用甲醇濕磨，且接著經由製備型HPLC [C18，60%乙腈(0.1%甲酸)於水(0.1%甲酸)中，20分鐘操作]純化，得到20 mg (8%)呈白色固體狀之標題化合物。LCMS (ESI): $[M+H]^+ = 400/402$. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.19 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.24 - 7.19 (m, 2H), 6.65 (ddd, $J = 57.8, 54.5, 1.0$ Hz, 1H), 4.87 (ddd, $J = 24.0, 9.2, 4.0$ Hz, 1H), 4.73 (dd, $J = 9.5, 4.2$ Hz, 1H), 4.53 (t, $J = 9.2$ Hz, 1H), 4.48 - 4.43 (m, 2H), 4.38 - 4.33 (m, 2H)。

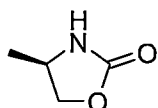
步驟13：(S)-2-((2-((S)-4-(二氟甲基)-2-側氧基噁唑啉-3-基)-5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呋-9-基)胺基)丙醯胺

將(S)-3-(9-溴-5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呋-2-基)-4-(二氟甲基)噁唑啉-2-酮(600 mg, 1.50 mmol)、*L*-丙胺酸(267 mg, 3.00 mmol)、碘化亞銅(57 mg, 0.30 mmol)及磷酸三鉀(637 mg, 3.00 mmol)懸浮於二甲亞碲(6.0 mL)中。將反應混合物在100°C下加熱2小時。在使其冷卻至室溫時，添加二甲亞碲(4.0 mL)、氯化銨(480 mg, 9.00 mmol)及三乙胺(3.1 mL, 22.5 mmol)。向所得攪拌懸浮液歷經5分鐘逐份添加六氟磷酸3-氧化1-[雙(二甲胺基)亞甲基]-1*H*-1,2,3-三唑并[4,5-*b*]吡錠(5.10 g, 13.5 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌1小時，且接著經由Celite®過濾，用乙酸乙酯洗滌。將有機萃取物用飽和碳酸氫鈉水溶液洗滌，且水相用乙酸乙酯萃取。將合併之有機萃取物用鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，過濾且真空蒸發。將粗殘餘物經由矽膠急驟層析法(溶劑梯度：0-5%甲醇/二氯甲烷)且接著藉由對掌性超臨界流體層析法純化，得到294 mg (46%)呈灰白色固體狀之**101**。LCMS (ESI): R_T (min) = 2.89 $[M+H]^+ = 408$ ，方法= A； 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 8.00 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.38 (br s, 1H), 7.18 (s, 1H), 7.00 (br s, 1H), 6.71 (t, $J = 55.9$ Hz, 1H), 6.41 (dd, $J = 8.8, 2.3$ Hz, 1H), 6.16 (d, J

= 7.2 Hz, 1H), 6.09 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 5.02 - 4.89 (m, 1H), 4.63 - 4.52 (m, 2H), 4.39 - 4.30 (m, 4H), 3.76 (五重峰, $J = 7.0$ Hz, 1H), 1.30 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H)。

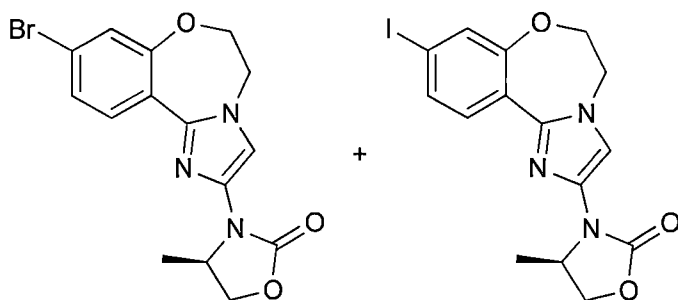
實例102 (*S*)-2-環丁基-2-((2-((*R*)-4-甲基-2-側氧基噁唑啉-3-基)-5,6-二氫苯并[*f*]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呋-9-基)胺基)乙醯胺**102**

步驟1：*(R)*-4-甲基噁唑啉-2-酮



在0°C下向*D*-丙胺醇(8.65 g, 0.12 mmol)於甲苯中與KOH水溶液(124 mL, 12.5%水溶液, 0.28 mmol)之混合物以使內部溫度保持< 5°C之該速率添加光氣(72.7 mL, 於甲苯中20%, 0.14 mmol)。將反應混合物在0°C下攪拌另一40分鐘, 接著蒸發至乾燥。將粗殘餘物用工業用甲基化油精萃取, 將漿料過濾且濾液真空蒸發。將所得殘餘物經由矽膠急驟層析法(溶劑梯度: 40-100%乙酸乙酯/環己烷)純化, 得到10.4 g (90%)呈白色固體狀之標題化合物。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.00 (br s, 1H), 4.50 (t, $J = 6.5$ Hz, 1H), 4.07 - 3.97 (m, 1H), 3.95 (dd, $J = 7.8, 6.2$ Hz, 1H), 1.30 (d, $J = 6.1$ Hz, 3H)。

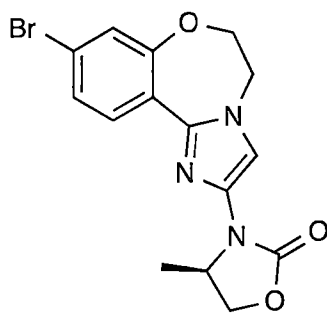
步驟2：*(R)*-3-(9-溴-5,6-二氫苯并[*f*]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呋-2-基)-4-甲基噁唑啉-2-酮及*(R)*-3-(9-碘-5,6-二氫苯并[*f*]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呋-2-基)-4-甲基噁唑啉-2-酮



將9-溴-2-碘-5,6-二氫苯并[*f*]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呋(30.0 g,

76.7 mmol)、(R)-4-甲基噁唑啉-2-酮(7.70 g, 76.7 mmol)、碘化亞銅(1.61 g, 8.40 mmol)、反-*N,N'*-二甲基-1,2-環己烷二胺(2.7 mL, 16.9 mmol)及碳酸鉀(14.9 g, 107 mmol)之混合物懸浮於1,4-二噁烷(200 mL)中, 且將反應混合物用氫氣在音波處理下進行脫氣。將所得混合物在100°C下加熱16小時。將反應混合物用氨水溶液(約16%)稀釋, 且用乙酸乙酯萃取。將合併之有機萃取物用鹽水洗滌, 經硫酸鎂乾燥, 過濾且真空蒸發。將所得殘餘物經由矽膠急驟層析法(溶劑梯度: 0-100%乙酸乙酯/環己烷)純化, 得到13.4 g (約42%)標題化合物(約2:1 9-Br:9-I產物之混合物)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.28 (d, *J* = 7.6 Hz, 0.33H), 8.11 (d, *J* = 6.9 Hz, 0.66H), 7.42 - 7.38 (m, 1H), 7.28 - 7.24 (m, 1.33H), 7.23 - 7.18 (m, 0.66H), 4.77 - 4.68 (m, 1H), 4.58 (t, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.49 - 4.39 (m, 2H), 4.37 - 4.30 (m, 2H), 4.08 (dd, *J* = 8.4, 4.5 Hz, 1H), 1.57 - 1.50 (m, 3H)。

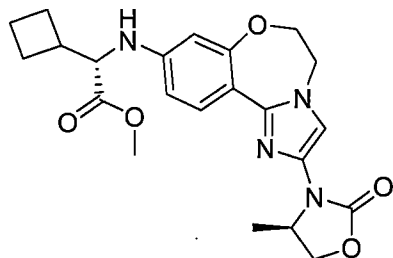
步驟3: (R)-3-(9-溴-5,6-二氫咪唑并[1,2-*d*][1,4]苯并噁氮呋-2-基)-4-甲基-噁唑啉-2-酮



將(R)-3-(9-溴-5,6-二氫苯并[*f*]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呋-2-基)-4-甲基噁唑啉-2-酮及(R)-3-(9-碘-5,6-二氫苯并[*f*]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呋-2-基)-4-甲基噁唑啉-2-酮之80 mg混合物經由對掌性SFC分離, 得到27.6 mg標題化合物。LCMS (ESI): [M+H]⁺ = 364.0/366.0/367.2; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.22 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.31 (dd, *J* = 8.7, 2.1 Hz, 1H), 7.25 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 4.65 - 4.54 (m,

2H), 4.49 - 4.43 (m, 4H), 4.09 - 4.06 (m, 1H), 1.42 (d, $J = 6.0$ Hz)。

步驟4：(S)-2-環丁基-2-((2-((R)-4-甲基-2-側氧基噁唑啉-3-基)-5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-d][1,4]噁氮呋-9-基)胺基)乙酸甲酯



將(4R)-3-(9-溴-5,6-二氫咪唑并[1,2-d][1,4]苯并氧氮呋-2-基)-4-甲基-噁唑啉-2-酮(0.2746 mmol, 100 mg)、碘化亞銅(0.084 mmol, 16 mg)、(2S)-2-胺基-2-環丁基-乙酸(1.10 mmol, 142 mg)及磷酸三鉀(1.37 mmol, 297 mg)於二甲亞碲(3 mL)中之混合物在微波照射下在120℃下加熱2小時。將反應物冷卻至室溫，且添加碘甲烷(1.4 mmol, 0.086 mL)，且將反應物用二氯甲烷及水萃取。將合併之有機萃取物加以合併，用鹽水洗滌，且經硫酸鈉乾燥，過濾且真空蒸發。將粗產物經由矽膠急驟層析法(24 g二氧化矽，溶劑梯度：5-40% 3:1 乙酸異丙酯:甲醇/二氯甲烷)純化，得到100 mg (85%)標題化合物。

步驟5：(S)-2-環丁基-2-((2-((R)-4-甲基-2-側氧基噁唑啉-3-基)-5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-d][1,4]噁氮呋-9-基)胺基)乙醯胺

向(2S)-2-環丁基-2-[[2-[(4R)-4-甲基-2-側氧基-噁唑啉-3-基]-5,6-二氫咪唑并[1,2-d][1,4]苯并氧氮呋-9-基]胺基]乙酸甲酯(0.234 mmol, 100 mg)於四氫呋喃(5 mL)中之溶液中添加水(0.45 mL)及單水合氫氧化鋰(0.357 mmol, 15 mg)。在室溫下攪拌反應混合物6小時。真空蒸發反應混合物。向所得殘餘物於N,N-二甲基甲醯胺(3 mL)中之溶液中添加六氟磷酸3-氧化1-[雙(二甲胺基)亞甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶(0.353 mmol, 137 mg)、氯化銨(0.71 mmol, 38 mg)及N,N-二異丙

基乙胺(0.705 mmol, 0.123 mL), 且在室溫下攪拌反應混合物1小時。將反應混合物真空蒸發, 且所得殘餘物用水處理, 接著用二氯甲烷萃取。將合併之有機萃取物用鹽水洗滌, 經硫酸鎂乾燥且真空蒸發。將粗產物經由反相HPLC, 接著SFC純化, 且凍乾, 得到15.0 mg (15%) **102**。LCMS (ESI): R_T (min) = 3.03, $[M+H]^+ = 412.2$, 方法= D; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.96 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.39 - 7.36 (brs, 1H), 7.13 (s, 1H), 7.00 - 6.97 (brs, 1H), 6.44 (dd, $J = 8.9, 2.3$ Hz, 1H), 6.14 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 5.96 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 4.62 - 4.49 (m, 2H), 4.38 - 4.28 (m, 4H), 4.06-4.03 (m, 1H), 3.70 - 3.61 (m, 1H), 2.06 - 1.75 (m, 6H), 1.42 - 1.34 (m, 3H)。

實例103 (S)-2-環丙基-2-((2-((S)-4-(二氟甲基)-2-側氧基噁唑啉-3-基)-5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-d][1,4]噁氮呋-9-基)胺基)乙醯胺 **103**

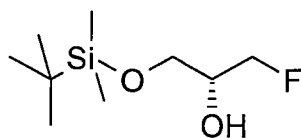
將來自實例101步驟12之(S)-3-(9-溴-5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-d][1,4]噁氮呋-2-基)-4-(二氟甲基)噁唑啉-2-酮(400 mg, 1.00 mmol)、L-環丙基甘胺酸(230 mg, 2.00 mmol)、碘化亞銅(38 mg, 0.20 mmol)及磷酸三鉀(424 mg, 2.00 mmol)於二甲亞碲(2.0 mL)中之混合物用氬氣在音波處理下進行脫氣。將混合物在100°C下加熱5小時, 接著冷卻至環境溫度。將所得混合物用二甲亞碲(5.0 mL)稀釋, 且添加氯化銨(320 mg, 6.00 mmol)及三乙胺(1.4 mL, 10.0 mmol)。接著向攪拌懸浮液逐份添加六氟磷酸3-氧化1-[雙(二甲胺基)亞甲基]-1*H*-1,2,3-三唑并[4,5-*b*]吡錠(2.28 g, 6.0 mmol), 且在室溫下攪拌反應混合物10分鐘。將所得混合物用15%氨水溶液稀釋, 且用乙酸乙酯萃取。將合併之有機萃取物用鹽水洗滌, 經硫酸鎂乾燥, 過濾且真空蒸發。將粗殘餘物經由矽膠急驟層析法(溶劑梯度: 0-7%甲醇/乙酸乙酯)純化。將殘餘物溶解於最少乙腈中。接著添加水以沈澱固體, 其藉由過濾收集, 且在真空中乾燥, 得到324 mg (75%)呈灰白色固體狀之**103**。LCMS

(ESI): R_T (min) = 3.21, $[M+H]^+ = 434$, 方法 = A; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.98 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.40 (br s, 1H), 7.17 (s, 1H), 7.03 (br s, 1H), 6.71 (t, $J = 56.0$ Hz, 1H), 6.42 (dd, $J = 8.9, 2.4$ Hz, 1H), 6.24 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 6.09 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 5.01 - 4.89 (m, 1H), 4.63 - 4.51 (m, 2H), 4.38 - 4.29 (m, 4H), 3.15 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 1.16 - 1.05 (m, 1H), 0.56 - 0.44 (m, 3H), 0.33 - 0.25 (m, 1H)。

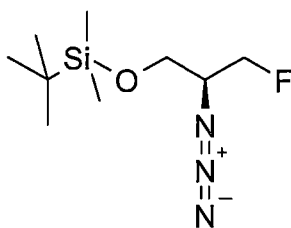
實例 104 (*S*)-2-環丙基-2-((2-((*R*)-4-甲基-2-側氧基噁唑啉-3-基)-5,6-二氫苯并[*f*]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呋-9-基)胺基)乙醯胺 **104**

將(*R*)-3-(9-溴-5,6-二氫咪唑并[1,2-*d*][1,4]苯并氧氮呋-2-基)-4-甲基-噁唑啉-2-酮(實例102, 步驟3) (1.098 mmol, 400 mg)、碘化亞銅(0.330 mmol, 62.8 mg)、(2*S*)-2-胺基-2-環丙基-乙酸(3.295 mmol, 379.3 mg)及磷酸三鉀(4.393 mmol, 951.5 mg)於二甲亞碲(35 mmol, 2.5 mL)中之混合物在110°C下在微波照射下加熱2小時。冷卻反應物至室溫。向反應混合物添加六氟磷酸3-氧化1-[雙(二甲胺基)亞甲基]-1*H*-1,2,3-三唑并[4,5-*b*]吡錠(12.08 mmol, 4260 mg)、氯化銨(12.08 mmol, 646 mg)及三乙胺(1.53 mL, 11.0 mmol)。在20分鐘之後在室溫下將反應混合物用水處理, 接著用二氯甲烷萃取。將合併之有機萃取物用鹽水洗滌, 經硫酸鎂乾燥, 過濾且真空蒸發。將粗產物經由反相HPLC純化, 且凍乾, 得到110 mg (歷經2個步驟25%) **104**。LCMS (ESI): R_T (min) = 2.588, $[M+H]^+ = 398.2$, 方法 = B; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.96 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.39 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.13 (s, 1H), 7.02 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 6.42 (dd, $J = 8.9, 2.4$ Hz, 1H), 6.20 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 6.09 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 4.61 - 4.49 (m, 2H), 4.40 - 4.27 (m, 4H), 4.10 - 3.99 (m, 1H), 3.22 - 3.09 (m, 1H), 1.42 - 1.36 (m, 3H), 1.16 - 1.04 (m, 1H), 0.56 - 0.42 (m, 3H), 0.32 - 0.27 (m, 1H)。

實例 105 (*S*)-2-環丙基-2-((2-((*S*)-4-(氟甲基)-2-側氧基噁唑啉-3-基)-

5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呋-9-基)胺基)乙醯胺**105**步驟1：(*R*)-1-(第三丁基二甲基矽烷基氧基)-3-氟丙-2-醇

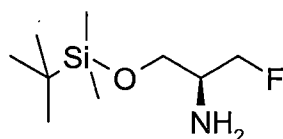
在0℃下將氯化第三丁基二甲基矽烷(1.60 g, 10.63 mmol)添加至(*R*)-3-氟丙烷-1,2-二醇(1.00 g, 10.6 mmol)、三乙胺(1.93 mL, 13.8 mmol)及催化4-(二甲胺基)吡啶於二氯甲烷中之溶液中，且將反應混合物升溫至室溫，且在室溫下攪拌16小時。將反應混合物用水稀釋，且用二氯甲烷萃取。將經合併之有機溶離份用鹽水洗滌，經硫酸鎂乾燥，過濾且真空蒸發。所得粗殘餘物經由矽膠急驟層析法(溶劑梯度：0-40%乙酸乙酯/環己烷)純化，得到1.80 g (81%)呈無色油狀之標題化合物。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.45 - 4.36 (m, 1H), 4.34 - 4.25 (m, 1H), 3.87 - 3.73 (m, 1H), 3.66 - 3.56 (m, 2H), 2.30 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 0.82 (s, 9H), 0.00 (s, 6H)。

步驟2：(*S*)-2-疊氮基-3-氟丙氧基)-第三丁基二甲基矽烷

在-20℃下將三氟甲磺酸酐(1.67 mL, 9.93 mmol)逐滴添加至(*R*)-1-(第三丁基二甲基矽烷基氧基)-3-氟丙-2-醇(1.80 g, 8.60 mmol)及吡啶(1.2 mL, 13.8 mmol)於二氯甲烷中之溶液中，且將反應混合物在-20℃下攪拌20分鐘，接著在0℃下攪拌30分鐘。將反應混合物用0.5 N HCl水溶液稀釋，且用二氯甲烷萃取。合併之有機萃取物經硫酸鎂乾燥，過濾且真空蒸發。將殘餘物溶解於*N,N*-二甲基甲醯胺(5.0 mL)

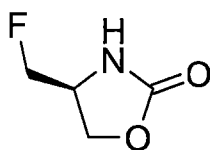
中，且添加疊氮化鈉(1.68 g, 25.9 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌2小時。將所得混合物用水稀釋，且用乙酸乙酯萃取。合併之有機萃取物用鹽水洗滌，經硫酸鎂乾燥，過濾且真空蒸發，得到粗標題化合物，其未經純化即用於下一步驟。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.58 - 4.26 (m, 2H), 3.75 - 3.63 (m, 2H), 3.62 - 3.46 (m, 1H), 0.80 (s, 9H), 0.00 (s, 6H)。

步驟3：(*S*)-1-(第三丁基二甲基矽烷基氧基甲基)-2-氟乙胺



將氫氧化鈣(400 mg, 20%/碳)添加至((*S*)-2-疊氮基-3-氟丙氧基)-第三丁基二甲基矽烷(粗產物，採用8.60 mmol)於乙酸乙酯(15 mL)及甲醇(5.0 mL)中之溶液中，且將反應混合物在氫氣球下攪拌16小時。將所得混合物過濾，添加新制氫氧化鈣(400 mg, 20%/碳)，且將反應物在氫氣球下再攪拌16小時。將所得混合物過濾，且濾液真空蒸發，得到呈約2:1產物:起始材料之混合物形式之標題化合物，其未經純化即用於下一步驟。

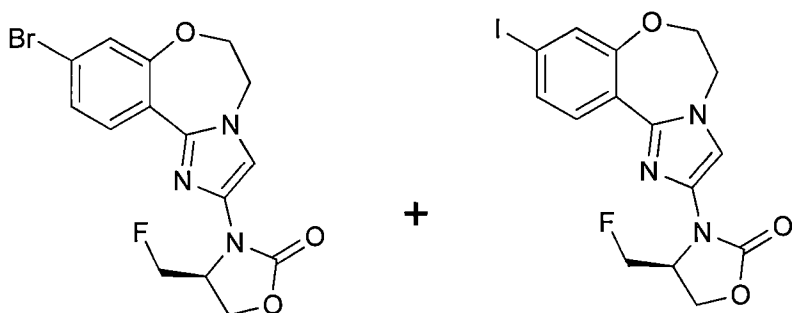
步驟4：(*S*)-4-氟甲基噁唑啉-2-酮



將含HCl之二噁烷(4 N, 2.0 mL, 8.00 mmol)添加至(*S*)-1-(第三丁基二甲基矽烷基氧基甲基)-2-氟乙胺(粗產物，採用8.60 mmol)於甲醇(3.0 mL)中之溶液中，且在室溫下攪拌所得混合物2小時。真空蒸發反應混合物。在0°C下將所得殘餘物溶解於甲苯(20 mL)及KOH (2.89 g, 51.6 mmol, 12.5%水溶液)之混合物中。向此混合物中逐滴添加光氣(13.6 mL, 於甲苯中20%)，移除冷卻浴，且攪拌所得混合物1小時。

將反應混合物真空蒸發，且所得殘餘物用熱的工業用甲基化油精萃取。將濾液真空蒸發，且所得殘餘物經由矽膠急驟層析法(溶劑梯度：50-100%乙酸乙酯/環己烷)純化，得到450 mg (44%，3個步驟)呈灰白色固體狀之標題化合物。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.69 (br s, 1H), 4.59 - 4.42 (m, 2H), 4.42 - 4.32 (m, 1H), 4.25 - 4.08 (m, 2H)。

步驟5：(S)-3-(9-溴-5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-d][1,4]噁氮呋-2-基)-4-(氟甲基)噁唑啉-2-酮及(S)-3-(9-碘-5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-d][1,4]噁氮呋-2-基)-4-(氟甲基)噁唑啉-2-酮



將9-溴-2-碘-5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-d][1,4]噁氮呋(722 mg，1.85 mmol)、(S)-4-氟甲基噁唑啉-2-酮(220 mg，1.85 mmol)、3,4,7,8-四甲基-1,10-啡啉(131 mg，0.55 mmol)、Cu(OAc)₂·H₂O (74 mg，0.37 mmol)、碳酸鉀(510 mg，3.70 mmol)及二噁烷(6.0 ml)之混合物密封於管中，且將該混合物用氫氣在音波處理下進行脫氣。將反應混合物在100℃下加熱72小時。將所得反應混合物用15%氨水稀釋，且用乙酸乙酯萃取。將合併之有機萃取物用鹽水洗滌，經硫酸鎂乾燥，過濾且真空蒸發。將粗殘餘物經由矽膠急驟層析法(溶劑梯度：0-100%乙酸乙酯/環己烷)純化，得到390 mg (53%)標題化合物(約2:1 9-Br與9-I產物之混合物)。LCMS (ESI): [M+H]⁺ = 382/384/430; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.22 (d, *J* = 9.3 Hz, 0.7H), 8.05 (d, *J* = 8.8 Hz, 0.3H), 7.43 - 7.37 (m, 0.6H), 7.29 (s, 1.2H), 7.23 - 7.18 (m, 1.2H), 5.03 - 4.66 (m, 3H), 4.60 (t, *J* = 8.5 Hz, 1H), 4.54 (dd, *J* = 8.6, 4.3 Hz, 1H), 4.47 -

4.43 (m, 2H), 4.37 - 4.33 (m, 2H)。

步驟6：(S)-2-環丙基-2-((2-((S)-4-(氟甲基)-2-側氧基噁唑啉-3-基)-5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-d][1,4]噁氮呋-9-基)胺基)乙醯胺

將(S)-3-(9-溴-5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-d][1,4]噁氮呋-2-基)-4-(氟甲基)噁唑啉-2-酮與(S)-3-(9-碘-5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-d][1,4]噁氮呋-2-基)-4-(氟甲基)噁唑啉-2-酮(195 mg，約2:1混合物Br:I，約0.49 mmol)之混合物、L-環丙基甘胺酸(104 mg，0.90 mmol)、碘化亞銅(17 mg，0.09 mmol)及磷酸三鉀(190 mg，0.90 mmol)於二甲亞砜(1.5 mL)中用氬氣在音波處理下進行脫氣。將反應混合物在100℃下加熱16小時，接著冷卻至室溫。將所得混合物用二甲亞砜(1.0 mL)稀釋，且添加氯化銨(144 mg，2.70 mmol)及三乙胺(950 μ L，6.75 mmol)。接著向此混合物中逐份添加六氟磷酸3-氧化1-[雙(二甲胺基)亞甲基]-1*H*-1,2,3-三唑并[4,5-*b*]吡啶(1.54 g，4.05 mmol)，且在室溫下攪拌反應混合物1小時。將所得混合物用飽和碳酸氫鈉水溶液稀釋，且用乙酸乙酯萃取。將合併之有機萃取物用鹽水洗滌，經硫酸鎂乾燥，過濾且真空蒸發。將所得粗殘餘物經由矽膠急驟層析法(溶劑梯度：0-5%甲醇/二氯甲烷)純化，且接著藉由矽膠急驟層析法(溶劑梯度：0-100%乙酸甲酯/環己烷)進一步純化，得到90 mg (48%)呈灰白色固體狀之**105**。LCMS (ESI): R_T (min) = 2.76 $[M+H]^+ = 416$, Method = A; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.94 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.40 (br s, 1H), 7.17 (s, 1H), 7.03 (br s, 1H), 6.41 (dd, $J = 8.8, 2.3$ Hz, 1H), 6.22 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 6.09 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 4.99 (ddd, $J = 48.3, 9.8, 2.5$ Hz, 1H), 4.81 - 4.56 (m, 3H), 4.40 (dd, $J = 8.6, 3.9$ Hz, 1H), 4.37 - 4.29 (m, 4H), 3.15 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 1.16 - 1.05 (m, 1H), 0.54 - 0.43 (m, 3H), 0.33 - 0.25 (m, 1H)。

實例106 (S)-2-((2-((S)-4-(氟甲基)-2-側氧基噁唑啉-3-基)-5,6-二氫苯

并[*f*]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呋-9-基)胺基)丙醯胺**106**

將(*S*)-3-(9-溴-5,6-二氫苯并[*f*]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呋-2-基)-4-(氟甲基)噁唑啉-2-酮與(*S*)-3-(9-碘-5,6-二氫苯并[*f*]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呋-2-基)-4-(氟甲基)噁唑啉-2-酮(實例105，步驟5) (195 mg，約2:1混合物9-Br:9-I，約0.49 mmol)之混合物、*L*-丙胺酸(87 mg，0.98 mmol)、碘化亞銅(17 mg，0.09 mmol)及磷酸三鉀(208 mg，0.98 mmol)於二甲亞砷(3.0 mL)中用氬氣在音波處理下進行脫氣。將反應混合物在100°C下加熱4小時，接著冷卻至室溫。將所得混合物用二甲亞砷(3.0 mL)稀釋，且添加氯化銨(157 mg，2.94 mmol)及三乙胺(683 μ L，4.8 mmol)。接著向此混合物中逐份添加六氟磷酸3-氧化1-[雙(二甲胺基)亞甲基]-1*H*-1,2,3-三唑并[4,5-*b*]吡錠(1.10 g，2.94 mmol)，且在室溫下攪拌反應混合物30分鐘。將所得混合物用飽和碳酸氫鈉水溶液稀釋，且用乙酸乙酯萃取。將合併之有機萃取物用鹽水洗滌，經硫酸鎂乾燥，過濾且真空蒸發。將所得殘餘物經由矽膠急驟層析法(溶劑梯度：0-5%甲醇/二氯甲烷)純化，且接著藉由對掌性超臨界流體層析法進一步純化，得到36 mg (19%)呈灰白色固體狀之**106**。LCMS (ESI): R_T (min) = 2.43 $[M+H]^+ = 390$ ，方法= A； 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.96 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.37 (br s, 1H), 7.17 (s, 1H), 7.00 (br s, 1H), 6.39 (dd, $J = 8.6, 1.6$ Hz, 1H), 6.15 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H), 6.09 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 5.08 - 4.55 (m, 5H), 4.42 - 4.28 (m, 4H), 3.76 (五重峰, $J = 7.2$ Hz, 1H), 1.30 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H)。

實例107 (*S*)-2-((2-((*S*)-4-(二氟甲基)-2-側氧基噁唑啉-3-基)-5,6-二氫苯并[*f*]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呋-9-基)胺基)丁醯胺**107**

將混合物(*S*)-3-(9-溴-5,6-二氫苯并[*f*]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呋-2-基)-4-(二氟甲基)噁唑啉-2-酮(實例101，步驟12) (240 mg，0.60 mmol)、(*S*)-2-胺基丁酸(124 mg，1.19 mmol)、碘化亞銅(22.8 mg，

0.119 mmol)、磷酸三鉀(255 mg, 1.19 mmol)及二甲亞碲(6.0 mL)在氬氣下在100℃下攪拌6小時。使所得混合物冷卻至室溫，且接著添加氯化銨(188 mg, 3.52 mmol)及三乙胺(1.2 mL, 8.80 mmol)。向攪拌懸浮液逐份添加六氟磷酸3-氧化1-[雙(二甲胺基)亞甲基]-1*H*-1,2,3-三唑并[4,5-*b*]吡錠(2.01 g, 5.28 mmol)，且在室溫下攪拌反應混合物1小時。將所得混合物用乙酸乙酯稀釋，用飽和氯化銨洗滌，經硫酸鎂乾燥，過濾，且真空蒸發。將粗產物經由矽膠急驟層析法(溶劑梯度：0-10% 甲醇/乙酸乙酯)純化，經由反相HPLC，接著對掌性超臨界流體層析法進一步純化，得到73.6 mg (30%)呈白色固體狀之**107**。LCMS (ESI): R_T (min) = 3.13, $[M+H]^+ = 422$, 方法= A; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.99 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.17 (s, 1H), 7.03 (s, 1H), 6.71 (t, $J = 56.0$ Hz, 1H), 6.44 (dd, $J = 8.8, 2.2$ Hz, 1H), 6.13 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 6.09 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 5.02 - 4.89 (m, 1H), 4.62 - 4.53 (m, 2H), 4.41 - 4.27 (m, 4H), 3.65 - 3.60 (m, 1H), 1.72 - 1.59 (m, 2H), 0.94 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H)。

實例901 p110α (阿爾法)PI3K結合分析

PI3K結合分析意欲測定小分子PI3K抑制劑之生物化學效能。PI3K脂質激酶反應在PIP2:3PS脂質基質(Promega #V1792)及ATP存在下進行。若激酶反應終止，則使用Promega ADP-Glo™ (Promega編號V1792)分析偵測由脂質基質之磷酸化引起ATP轉化成ADP。反應使用如表5中以下用於各PI3K同功異型物之條件進行。

表5.

激酶	來源	最終激酶濃度	ATP (uM)	PIP2:3PS (uM)	反應時間 (min.)
PI3Kα	Millipore編號14-602-K	0.2 nM	40	50	120
PI3Kβ	Promega編號V1751	0.6 nM	40	50	120
PI3Kδ	Millipore編號14-604-K	0.25 nM	40	50	120
PI3Kγ	Millipore編號14-558-K	0.4 nM	25	50	120

在120分鐘反應時間之後，終止激酶反應。在反應之後剩餘的任何ATP均耗盡，僅留下ADP。接著添加激酶偵測試劑以將ADP轉換成ATP，該激酶偵測試劑用於偶合之螢光素/螢光素酶反應。量測發光輸出量，且其與激酶活性相關。

所有反應均在室溫下進行。對於各PI3K同功異型物，將酶/脂質基質溶液之3 μ l混合物(1:1)添加至含有50 nl測試化合物或僅用於未經處理對照物之DMSO的384孔白色分析板(Perkin Elmer編號6007299)中。反應藉由添加2 μ l ATP/MgCl₂開始。激酶反應緩衝劑含有50 mM HEPES、50 mM NaCl、3mM MgCl₂、0.01% BSA、1% DMSO及酶，且基質濃度如以上表中所指示。反應藉由添加10 μ L ADP-Glo試劑停止。將板在Perkin Elmer Envision系統中使用發光模式讀取。產生關於各測試化合物的10點劑量反應曲線。關於各化合物之K_i值使用莫里森方程式(Morrison Equation)確定。

結合分析：初始偏振實驗在Analyst HT 96-384 (Molecular Devices Corp, Sunnyvale, CA.)上進行。用於螢光偏振親和力量測之樣品藉由以下方法製備：將以20 μ g/mL之最終濃度開始的p110 α PI3K (Upstate Cell Signaling Solutions, Charlottesville, VA)之1:3連續稀釋液於偏振緩衝劑(10 mM Tris pH 7.5，50 mM NaCl，4 mM MgCl₂，0.05% Chaps及1 mM DTT)中添加至10 mM PIP₂ (Echelon-Inc., Salt Lake City, UT.)最終濃度中。在室溫下培育30分鐘時間之後，反應藉由分別添加GRP-1及PIP3-TAMRA探針(Echelon-Inc., Salt Lake City, UT.) 100 nM及5 nM最終濃度停止。用標準截止濾波器讀取384孔黑色低量Proxiplates® (PerkinElmer, Wellesley, MA.)中之若丹明螢光團(rhodamine fluorophore) (λ_{ex} = 530 nm； λ_{em} = 590 nm)。繪製螢光偏振值隨蛋白濃度而變化的圖。EC₅₀值藉由使用KaleidaGraph®軟體(Synergy軟體, Reading, PA)將資料擬合至四參數方程式獲得。此實驗

亦建立合適的蛋白濃度，以用於使用抑制劑之後續競爭實驗。

抑制劑IC₅₀值藉由以下方法測定：將0.04mg/mL p110α PI3K (最終濃度)以及PIP₂ (10mM最終濃度)添加至孔中，該等孔含有含拮抗劑之25mM ATP (Cell Signaling Technology, Inc., Danvers, MA)最終濃度之1:3連續稀釋液於偏振緩衝劑中。在室溫下培育30分鐘時間之後，反應藉由分別添加GRP-1及PIP3-TAMRA探針(Echelon-Inc., Salt Lake City, UT.) 100 nM及5 nM最終濃度停止。用標準截止濾波器讀取384孔黑色低量Proxiplates® (PerkinElmer, Wellesley, MA.)中之若丹明螢光團($\lambda_{ex} = 530 \text{ nm}$; $\lambda_{em} = 590 \text{ nm}$)。繪製螢光偏振值隨拮抗劑濃度而變化的圖，且IC₅₀值藉由將資料擬合至Assay Explorer軟體(MDL, San Ramon, CA.)中之4參數方程式獲得。

替代地，對PI3K之抑制在輻射量測分析中使用純化重組酶及濃度為1 μM (微莫耳)之ATP中測定。化合物在100% DMSO中連續稀釋。激酶反應物在室溫下培育1 h，且反應藉由添加PBS終止。IC₅₀值隨後使用S型劑量-反應曲線擬合(可變斜率)測定。

實例902 對突變PI3K α (阿爾法)之選擇性抑制

本發明化合物優先對含有突變PI3K α (阿爾法)之細胞起作用的能力藉由量測對SW48同基因型細胞株：PI3K α 野生型(親本)、螺旋域突變E545K及激酶域突變H1047R中PI3K路徑的抑制加以測定。以下分析意欲測定細胞效能及小分子PI3K α 抑制劑之突變選擇性。分析利用同基因型細胞株，其表現PI3K α WT、PI3K α 突變E545K/+ (Horizon Discovery 103-001)或PI3K α 突變H1047R/+ (Horizon Discovery 103-005)。pPRAS40對各細胞株中PI3K α 的抑制效能在化合物治療24小時之後量測。PI3K α 抑制劑之突變選擇性藉由WT相對於E545K細胞株與WT相對於H1047R細胞株的EC₅₀效能比率測定。

細胞培養：細胞株在細胞培養恆溫箱中在37°C及5% CO₂下在含

有RPMI1640 (以Genentech製備)、10% FBS (Gibco 16140-071)、2 mM L-麩醯胺酸(以Genentech製備)及10 mM HEPES pH 7.2 (以Genentech製備)之細胞培養基中維持。細胞以1:8之比率使用0.25%胰蛋白酶-EDTA (Gibco 25200)每隔72小時分裂。

分析程序：收集細胞，且將其接種於384孔經組織培養物處理之分析板(Greiner目錄號781091)中，且在37°C下在5% CO₂下培育隔夜。接種三種細胞株(WT、E545K及H1047R)，且同時進行分析。第二天，將測試化合物在二甲亞砜(DMSO)中連續稀釋，且添加至細胞(最終DMSO濃度0.5%)中。細胞接著在37°C及5% CO₂下培育24小時。在24小時之後，細胞經溶解，且pPRAS40水準使用Meso-Scale常規pPRAS40 384w分析套組(Meso Scale Discovery，目錄號L21CA-1)量測。添加細胞溶解產物以分析經對磷酸化PRAS40之抗體預塗佈之板。使樣品中之磷酸化PRAS40在4°C下結合至捕獲抗體隔夜。將偵測抗體(抗全部PRAS40，用電化學發光磺酸基-標籤標記)添加至結合溶解產物中，且在室溫下培育1小時。添加MSD讀取緩衝劑，使得當施加電壓至板電極時，結合至電極表面之標籤發光。MSD Sector儀器量測光之強度，且定量地量測樣品中磷光體-PRAS40之量。計算相對於未經處理之對照物藉由改變測試化合物之濃度對PRAS40磷酸化的抑制%。EC₅₀值使用4參數對數非線性回歸劑量反應模型計算。

統計分析：EC₅₀值代表4個獨立實驗之最小值的幾何平均值。所有統計資料均使用KaleidaGraph軟體(版本4.1.3)執行。使用具有相等偏差之未配對資料進行史都登氏t-測試，以比較對突變細胞及野生型細胞之活性。P < 0.05視為顯著的。

實例903 活體外細胞成活力分析

將細胞接種(1,500個/孔)於384孔板中16小時。在第2天，在DMSO中在96孔板中製作九種連續1:3化合物稀釋液。化合物接著進一

步使用Rapidplate自動機(Zymark Corp.)稀釋成生長培養基。接著將經稀釋化合物一式四份添加至384孔細胞盤中之孔中，且在37°C及5% CO₂下培育。4天後，活細胞之相對數目藉由根據製造商之說明書使用Cell Titer-Glo (Promega)獲得之發光量測，且在Wallac Multilabel Reader (Perkin-Elmer)上讀取。EC50值使用Prism 6.0軟體(GraphPad)計算。

實例904 活體內小鼠腫瘤異種移植功效

小鼠：嚴重合併之免疫缺乏雌性小鼠(C.B-17 SCID.bg Charles River Labs, San Diego)，NOD.SCID (Charles River Labs, Hollister)或NCR.裸鼠(Taconic)為8至9週大，且在研究之第0天，BW範圍為18-26 g。動物接受任意的水及實驗室可高壓處理的嚙齒動物膳食5010 (LabDiet St. Louis, MO)。小鼠圈養於12小時光循環之微型隔離籠中。關於限制、飼養、手術程序、餵食及流體調節以及獸醫學護理的Genentech尤其符合實驗動物照護與使用指南(Guide for Care and Use of Laboratory Animals)的建議。Genentech之動物照護及使用程式經國際實驗動物照護評定與評審協會(Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International；AAALAC)認可，從而保證符合實驗動物之照護及使用的公認標準。小鼠圈養在Genentech下標準嚙齒動物微型隔離籠中，且在腫瘤細胞移植之前適應研究條件至少3天。僅看起來為健康的且沒有顯而易見異常的動物用於研究。

腫瘤移植：異種移植用癌細胞(HCC1954x1或KPL4)或繼代腫瘤(HCI-003)開始。將細胞在補充有10%胎牛血清、2 mM麩醯胺酸、100單位/毫升青黴素、100 µg/mL(微克/毫升)硫酸鏈黴素及25 µg/mL慶大黴素之RPMI 1640培養基中培養，在對數階段生長中收集且再懸浮於50%無酚紅基質膠(Becton Dickinson Bioscience；San Jose, CA)及濃度為3×10⁶或5×10⁶個細胞/毫升(取決於細胞株之倍增時間)之漢克氏平

衡鹽溶液(Hank's Balanced Salt Solution)中。對於HCI-003患者衍生之模型，將含有約1 mg之 17β (貝他)-雌二醇之30 mg蜂蠟丸粒皮下植入3天，隨後移植腫瘤片段。將腫瘤細胞或片段植入至2/3乳腺脂肪墊中，且在平均尺寸接近100至250 mm³之目標範圍時監測腫瘤生長。當大部分腫瘤達到目標範圍時，將小鼠依據腫瘤體積分成7-10隻小鼠之群組。

治療劑：將PI3K化合物呈含游離鹼之乾燥粉末形式供應，且在室溫下避光儲存。用於泰尼西布(GDC-0032)及BYL719之媒劑為0.5% 甲基纖維素:0.2% Tween 80 (MCT)於去離子水中。用於化合物**101**之媒劑對照物為0.5%甲基纖維素/0.2% Tween-80 (MCT)奈米懸浮液。MCT奈米懸浮液藉由首先製備MCT懸浮液製備。當製備出時，將1 mm玻璃珠及稀土磁性攪拌棒用於研磨MCT懸浮液約24小時，將其研磨成精細奈米懸浮液。粒徑分析儀用於檢查最終粒徑。藥物劑量每週製備一次，且在4°C下儲存。

治療：小鼠經給予(媒劑)或規定PI3K化合物之mg/kg劑量(表達為自由基劑當量)，藉由管飼法每天PO 100 μ L (微升) (5 mL/kg)持續21-28天。

端點：在2個維度(長度及寬度)上使用Ultra Cal IV測徑規(型號54 10 111; Fred V. Fowler Company)量測腫瘤體積，如下：腫瘤體積(mm³)=(長度×寬度²)×0.5，且使用Excel版本11.2 (Microsoft Corporation)分析。線性混合作用(LME)建立模型方法用於分析隨時間推移來自相同動物的腫瘤體積之重複量測(Pinheiro J等人nlme: linear and nonlinear mixed effects models, 2009; R套裝軟體版本3.2.5。此方法解決重複量測與研究結束前由於任何非處理相關動物死亡所致的適度退出。使用三次回歸樣條擬合各劑量下log2腫瘤體積之時程的非線性曲線。隨後在混合模型中將此等非線性曲線與劑量相關聯。呈媒劑

對照物之百分比形式的腫瘤生長抑制(%TGI)使用下式： $\% \text{ TGI} = 100 \times (1 - \text{AUC}_{\text{劑量}} / \text{AUC}_{\text{媒劑}})$ 計算為在關於媒劑之每天各別劑量組的擬合曲線(AUC)下之面積百分比。使用此式，100%之TGI值指示腫瘤停滯，大於(>) 1%但小於(<) 100%之TGI值指示腫瘤生長延緩及大於(>) 100%之TGI值指示腫瘤消退。關於動物之部分反應(PR)定義為大於(>) 50%但小於(<) 100%之起始腫瘤體積的腫瘤消退。完全反應(CR)定義為在研究期間之任一天100%腫瘤消退(亦即無可量測之腫瘤)。

毒性：在研究前五天每天稱量動物，其後每週稱量兩次。使用 Adventurer Pro® AV812天平(Ohaus Corporation)量測動物體重。重量變化%如下計算： $\text{體重變化}(\%) = [(\text{重量}_{\text{新的一天}} - \text{重量}_{\text{第0天}}) / \text{重量}_{\text{第0天}}] \times 100$ 。頻繁觀察小鼠之任何不利處理相關副作用之明顯病徵，且在觀察到時記錄毒性之臨床病徵。可接受之毒性定義為在研究期間組平均體重(BW)損失小於20%，且十隻處理動物中不超過一例處理相關(TR)死亡。引起較大毒性之任何給藥方案認為高於最大耐受劑量(MTD)。死亡在藉由臨床病徵及/或屍檢證明可歸因於處理副作用時歸類為TR，或亦可在給藥期間或最後一劑10天內由未知原因所致時歸類為TR。死亡在無證據表明死亡與處理副作用相關時歸類為NTR。

實例905. 細胞培養及在活體外抑制劑實驗中

細胞株在標準組織培養條件下在具有10%胎牛血清、100 U/mL青黴素及100 µg/mL鏈黴素之RPMI培養基中生長。HCC-1954及HDQ-P1為乳癌細胞株(American Type Culture Collection; Manassas, VA)。將HCC-1954及HDQ-P1細胞以800,00個細胞/孔放入6孔組織培養板之各孔中，且在37°C下培育隔夜。細胞與指示濃度之各化合物一起培育24小時。培育之後，細胞用冷的磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)洗滌一次，且溶解於補充有蛋白酶抑制劑(F. Hoffman-LaRoche; Mannheim,

Germany)、1 mM苯基甲基磺醯基氟化物及磷酸酶抑制劑混合物1及2 (Sigma-Aldrich ; St. Louis, MO) 之 Biosource™ 細胞萃取緩衝劑 (Invitrogen ; Carlsbad, CA)中。蛋白質濃度使用Pierce BCA蛋白質分析套組(Thermo Fisher Scientific ; Rockford, IL)測定。

蛋白質分析

蛋白濃度使用Pierce BCA蛋白質分析套組(Rockford, IL)測定。對於免疫墨點，相等的蛋白質量藉由電泳經由NuPage Bis-Tris 4-12% 梯度凝膠(Invitrogen ; Carlsbad, CA)分離；將蛋白質使用IBlot系統及來自Invitrogen之方案轉移至硝化纖維素薄膜上。對p110 α 之抗體及磷醯基-Akt (Ser473)獲自細胞信號傳遞(Danvers, MA)。對 β -肌動蛋白及GAPDH之抗體來自Sigma。

實例906 B細胞CD69表現，關於CD69表現在CD19⁺ CD27⁻ B細胞中之人類全血分析

細胞培養：將人類全血以100微升/孔分配至96深孔板中。將化合物在DMSO中稀釋以產生所要儲備液濃度，且接著進一步在PBS中稀釋至所要操作濃度，且以5.5微升/孔之體積添加。樣品接著在37°C下在5% CO₂下培育1小時，隨後添加5 μ g (10微升/孔)之山羊抗IgM F(ab')₂ (Southern Biotech, AL)，且在37°C下在5% CO₂下培育18小時。一式兩份地測試所有處理物。

細胞分離及染色程序：在培育之後，CD69表現在CD19⁺ CD27⁻細胞上之水準藉由用CD27；10微升/孔(純系L128；BD Biosciences, NJ) CD19；7.5微升/孔(純系SJ25C1；BD Biosciences, NJ)及CD69；10 μ l (純系FN50；BD Biosciences, NJ)之混合物染色全血樣品來測定。另外，來自各供體之人類全血用同型匹配之螢光對照抗體染色。在添加合適抗體混合物之後，將全血樣品在黑暗中染色30分鐘，且接著使用BD Pharm Lysis (BD Bioscience, NJ)溶解。所得樣品接著用FACS緩衝

劑(磷酸鹽緩衝鹽水(無Ca/Mg⁺⁺))、1 mM EDTA、25 mM HEPES pH 7.0、1%胎牛血清(熱滅活)洗滌，且固定於補充有0.1%甲醛(Polysciences Inc, PA)及0.1% Pluronic F-68 (Sigma, MO)之FACS緩衝劑中。使用具有BD FACSDiva軟體之BD LSR-II (BD Biosciences)獲取資料。

CD19⁺ CD27⁻ B細胞之CD69表現。細胞藉由流式細胞測量術測量出CD19、CD27及CD69之水準使用BD FACSDiva軟體評定，且測定CD19⁺ CD27⁻淋巴細胞群體之CD69 平均MFI。引起對CD69 平均MFI (IC₅₀)之50%抑制的化合物濃度使用Genedata軟體(Genedata Screener, MA)測定。

實例907 HCC1954及HDQP1 pPRAS40 EC₅₀

將細胞接種於384孔經組織培養處理之分析板中，且培育隔夜。第二天，將細胞用化合物處理，且培育24小時。在24小時之後，細胞經溶解，且pPRAS40水準使用Meso-Scale分析平台量測。此等細胞株非常適用於表徵PI3Ka抑制劑對突變PI3Ka的選擇性。HCC1954細胞株在HDQP1中表現突變PI3Ka (E545K)相對於WT。

分析原理：MSD平台提供量測單個樣品中pPRAS40之磷酸化水準的方法。添加溶解產物以分析經對全部PRAS40之抗體預塗佈之板。細胞溶解之後，使樣品中之PRAS40結合至捕獲抗體。將用電化學發光化合物MSD磺酸基-標籤標記之偵測抗體(抗磷醯基PRAS40)添加至經結合之溶解產物中。添加MSD讀取緩衝劑，使得當施加電壓至板電極時，結合至電極表面之標籤發光。MSD Sector儀器量測光之強度，且定量地量測樣品中磷光體-EGFR之量(Meso Scale分析原理)。

材料：

分析板	黑色u形透明底384孔無菌TC處理板(Greiner目錄號781091)
細胞類型	WT親本株：HDQ-P1 (CL131963) E545K突變體：HCC1954 (CL130216)
培養基	RPMI 1640 10% FBS (Gibco 16140-071) 2 mM L-麩醯胺酸(自產GNE) 1% HEPES (自產GNE)
其他細胞培養試劑	0.25%胰蛋白酶 EDTA 1× (Invitrogen Gibco，目錄號25200)
分析試劑套組	全細胞溶解產物套組常規pPRAS40 384w分析套組(Meso Scale Discovery，100個板之目錄號L21CA-1)

程序：

- 以2 mM濃度於DMSO中製備化合物。製備DMSO化合物滴定板，1:3於純DMSO中。
- DMSO母板含有72 μ l之13種化合物。
- 突變選擇性對照化合物：將72 μ l之2 mM對照化合物添加至各分析板上之孔B2。此對照化合物在HCC1954細胞株中比在HDQP1株中展現大約20倍的效能。
- 使用多注式吸液管將36 μ l自各化合物孔直接轉移至下方孔中(實例B2至C2)以便建立一式兩份劑量反應曲線。
- 使用標題為「SLS_serial dilution/1 plate_384_3_13_3x」之Biomek Fx方法在母板中製作化合物之連續稀釋液。
- 當不在使用中時，用熱封機密封且保存DMSO母板及子板。

第1天：細胞接種

- 1.將12,500個細胞接種於各細胞株之45 μ l培養基中。使細胞在室溫下沈降/附著至板15-20 min。
- 2.在37°C濕度及CO₂可控恆溫箱中培育細胞隔夜。

第2天：化合物板製備及化合物處理

- 1.對於10×中間物稀釋液板：將95 μ l無血清培養基添加至標準概

況greiner 384孔聚丙烯板中。

2.將biomek Fx方案用於含中間化合物稀釋液之培養基，且添加至細胞：「SLS Intermed Dil Add 5 ul to Cells July 13 2012」。此Biomek方案將5 μ l自DMSO子板轉移至含有95 μ l培養基之中間物稀釋液板，且混合培養基+化合物。該方法接著將5 μ l自中間物稀釋液板轉移至合適的細胞板。

3. 在37度下在5% CO₂含濕氣培育箱中培育處理細胞24小時。

第3天：細胞溶解及添加至MSD板

用50 μ l 3%阻斷劑A/1 $\times$ MSD洗滌緩衝劑在室溫下阻斷MSD分析板1-2小時。此溶液可在4℃下儲存至多一個月。阻斷緩衝液A含有1 $\times$ MSD洗滌緩衝劑。20 mL 1 $\times$ Tris洗滌緩衝劑及600 mg阻斷劑A。

製備溶解緩衝液：

	3個板(mL)	6個板(mL)	9個板(mL)	12個板(mL)
MSD溶解緩衝液	65.0	120	180	240
磷酸酶抑制劑。混合物1 (或Sigma磷酸酶抑制劑2 目錄號P5726-5mL)	0.65	1.2	1.8	2.4
磷酸酶抑制劑。混合物2 (或Sigma磷酸酶抑制劑3，目錄號P0044-5mL)	0.65	1.2	1.8	2.4
蛋白酶抑制劑 (或再懸浮於10 mL PBS中之Sigma目錄號P2714-1BTL)	0.65	1.2	1.8	2.4

抽出培養基且溶解細胞

1.將細胞溶解於50 μ l溶解緩衝液中。在室溫下在板振盪器上溶解10-20分鐘。

2.細胞溶解時，用1 $\times$ MSD洗滌緩衝劑洗滌阻斷板。

3.將42 μ l溶解產物(21 + 21 μ L)轉移至阻斷MSD pPRAS40分析板。

4.密封MSD板，且在4℃下在振盪下培育隔夜。

第4天：MSD分析/偵測

8.製作1%阻斷劑A於1× MSD洗滌緩衝劑中之溶液。(20 mL 1× Tris洗滌緩衝劑及200 mg阻斷劑 A (1% w/v)。此溶液可在4°C下儲存至多一個月。

9.用1× MSD洗滌緩衝劑洗滌MSD板。

10.將10 µl稀釋磺酸基-標籤偵測抗體添加至板。在振盪下在室溫下培育1小時。

	3個板 (mL)	6個板 (mL)	9個板 (mL)	12個板 (mL)
1%阻斷劑A於MSD洗滌緩衝劑中	13.0	25.0	36.0	48.0
2%阻斷劑DM (100×)	0.13	0.25	0.36	0.48
磺酸基-標籤抗pPRAS40 (50×)	0.26	0.5	0.72	0.96

11.用1× MSD洗滌緩衝劑洗滌板4×。

12.用反向吸液添加35 µl 1×讀取緩衝劑以避免氣泡。

13.即刻在MSD SECTOR儀器上讀取板。

實例908 p110α (阿爾法)之共結晶學

N端截短p110α(阿爾法)根據Chen等人及Nacht等人(Chen, P., Y. L. Deng, S. Bergqvist, M. D. Falk, W. Liu, S. Timofeevski及A. Brooun「Engineering of an isolated p110alpha subunit of PI3Kalpha permits crystallization and provides a platform for structure-based drug design」, (2014) Protein Sci 23(10): 1332-1340；Nacht, M.等人(2013)「Discovery of a potent and isoform-selective targeted covalent inhibitor of the lipid kinase PI3Kalpha」, J. Med. Chem. 56(3): 712-721)製備。

將標準方案用於在項目化合物存在下之晶體製備。將所收集晶體藉由浸漬於液氮中保存以進行繞射資料收集，且安裝於產生單色X射線之同步加速器光束線上。使用標準方案收集、減少且合併繞射資料。結晶單位晶胞及空間群與先前所報導之結晶單位晶胞及空間群類質同形(Nacht, 2013；Chen, 2014)。使用標準方案將項目化合物放入

電子密度圖中，且將結晶優化至2.36與2.56 Å之間的解析界限。

在本申請案中，單位 μl 、 μMol 等意謂 μl 、 μMol 等。

雖然出於清楚理解之目的，前述本發明已藉助於說明及實例詳細地描述，但描述及實例不應解釋為限制本發明之範疇。本文中所引用之所有專利及科學文獻之揭示內容以全文引用之方式明確併入本文中。

【符號說明】

無



I649326

發明摘要

※ 申請案號：106122915

※ 申請日：106年7月1日

※IPC 分類：

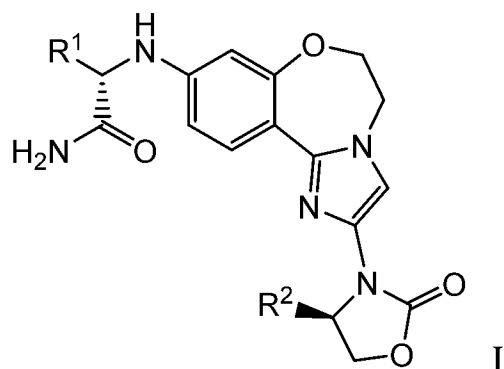
【發明名稱】

苯并氧氮呋噁唑啉酮化合物及其製備方法

BENZOXAZEPIN OXAZOLIDINONE COMPOUNDS AND
PREPARATION METHODS THEREOF

【中文】

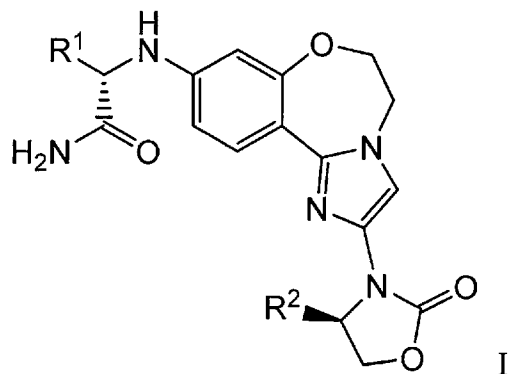
本文說明具有磷酸肌醇-3激酶(PI3K)調節活性或功能之苯并氧氮呋噁唑啉酮化合物，其具有式I結構：



或其立體異構體、互變異構體或醫藥學上可接受之鹽，且該等苯并氧氮呋噁唑啉酮化合物具有本文中所說明之取代基及結構特徵。亦說明包括式I化合物之醫藥組合物及藥劑，以及將該等PI3K調節劑單獨及與其他治療劑組合用於治療PI3K失調介導或依賴其之疾病或病狀的方法。

【英文】

Described herein are benzoxazepin oxazolidinone compounds with phosphoinositide-3 kinase (PI3K) modulation activity or function having the Formula I structure:



or stereoisomers, tautomers, or pharmaceutically acceptable salts thereof, and with the substituents and structural features described herein. Also described are pharmaceutical compositions and medicaments that include the Formula I compounds, as well as methods of using such PI3K modulators, alone and in combination with other therapeutic agents, for treating diseases or conditions that are mediated or dependent upon PI3K dysregulation.

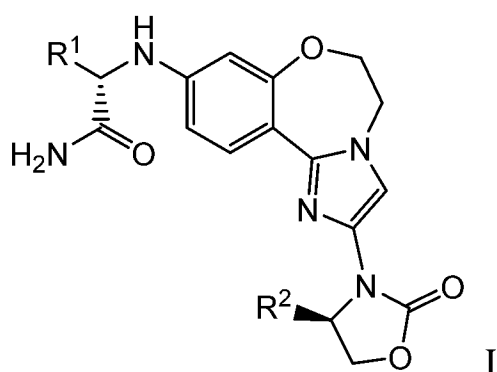
【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（2B）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

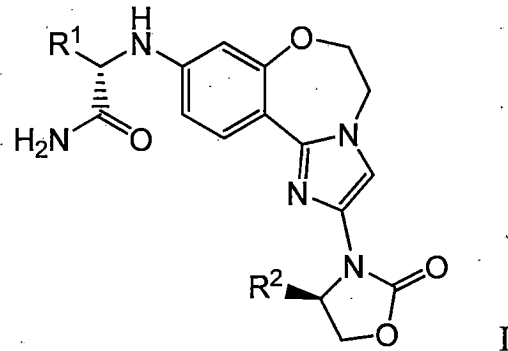
無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：



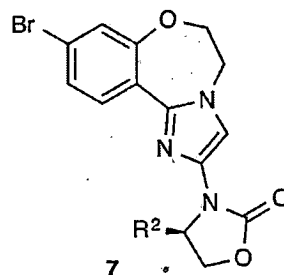
申請專利範圍

1. 一種化合物之製備方法，該化合物其係選自式I：



及其立體異構體、幾何異構體、互變異構體及醫藥學上可接受之鹽，其中 R^1 係選自 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 、環丙基及環丁基，且 R^2 係選自 $-CH_3$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CH_2F$ 及 $-CF_3$ ，該方法包含：

- (a) 中間物7與經恰當地取代之胺基酸之偶合反應；及



- (b) 該所得中間物之醯胺偶合反應。

2. 如請求項1之方法，其中 R^1 為 CH_3 或環丙基。
3. 如請求項1或2之方法，其中 R^2 為 $-CHF_2$ 。
4. 如請求項1或2之方法，其中式I為：

(S)-2-((2-((S)-4-(二氟甲基)-2-側氧基噁唑啉-3-基)-5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-d][1,4]噁氮呋-9-基)胺基)丙醯胺。

5. 如請求項1或2之方法，其中式I為：

(S)-2-環丁基-2-((2-((R)-4-甲基-2-側氧基噁唑啉-3-基)-5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-d][1,4]噁氮呋-9-基)胺基)乙醯胺。

6. 如請求項1或2之方法，其中式I為：

(*S*)-2-環丙基-2-((2-((*S*)-4-(二氟甲基)-2-側氧基噁唑啉-3-基)-5,6-二氫苯并[*f*]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呋-9-基)胺基)乙醯胺。

7. 如請求項1或2之方法，其中式I為：

(*S*)-2-環丙基-2-((2-((*R*)-4-甲基-2-側氧基噁唑啉-3-基)-5,6-二氫苯并[*f*]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呋-9-基)胺基)乙醯胺。

8. 如請求項1或2之方法，其中式I為：

(*S*)-2-環丙基-2-((2-((*S*)-4-(氟甲基)-2-側氧基噁唑啉-3-基)-5,6-二氫苯并[*f*]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呋-9-基)胺基)乙醯胺。

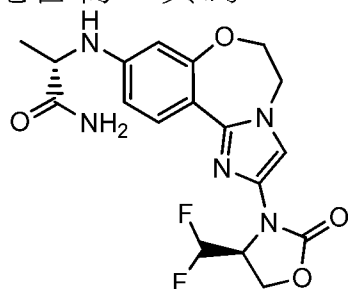
9. 如請求項1或2之方法，其中式I為：

(*S*)-2-((2-((*S*)-4-(氟甲基)-2-側氧基噁唑啉-3-基)-5,6-二氫苯并[*f*]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呋-9-基)胺基)丙醯胺。

10. 如請求項1或2之方法，其中式I為：

(*S*)-2-((2-((*S*)-4-(二氟甲基)-2-側氧基噁唑啉-3-基)-5,6-二氫苯并[*f*]咪唑并[1,2-*d*][1,4]噁氮呋-9-基)胺基)丁醯胺。

11. 一種化合物，其為：



或其醫藥學上可接受之鹽。