



(21)申請案號：112117726

(22)申請日：中華民國 112 (2023) 年 05 月 12 日

(51)Int. Cl.：A61K31/5377(2006.01)A61K31/454 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2022/05/13歐洲專利局22173211.8

2022/05/25歐洲專利局22175302.3

(71)申請人：瑞士商赫孚孟拉羅股份公司 (瑞士) F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (CH)

瑞士

(72)發明人：雅克喬治 JAESCHKE, GEORG (CH)；摩托葛里歐布魯諾 MARTOGLIO, BRUNO (CH)；內格爾依凡艾莉絲 NAGEL, YVONNE ALICE (DE)；歐斯特山德克麗希塔奧瑞克 OBST-SANDER, CHRISTA ULRIKE (DE)；瑞奇安東尼歐 RICCI, ANTONIO (CH)

(74)代理人：陳長文；王淑靜；朱淑尹

申請實體審查：無申請專利範圍項數：28 項圖式數：3共 63 頁

(54)名稱

用於治療癌症的別位及正位 E G F R 抑制劑之組合

(57)摘要

本發明係涉及採用別位 EGFR 抑制劑及正位 EGFR 抑制劑的癌症之組合療法，以及其用途及醫藥組成物。

The present invention is directed to the combination therapy of cancer with an allosteric EGFR inhibitor and an orthosteric EGFR inhibitor, as well as uses and pharmaceutical compositions thereof.

指定代表圖：

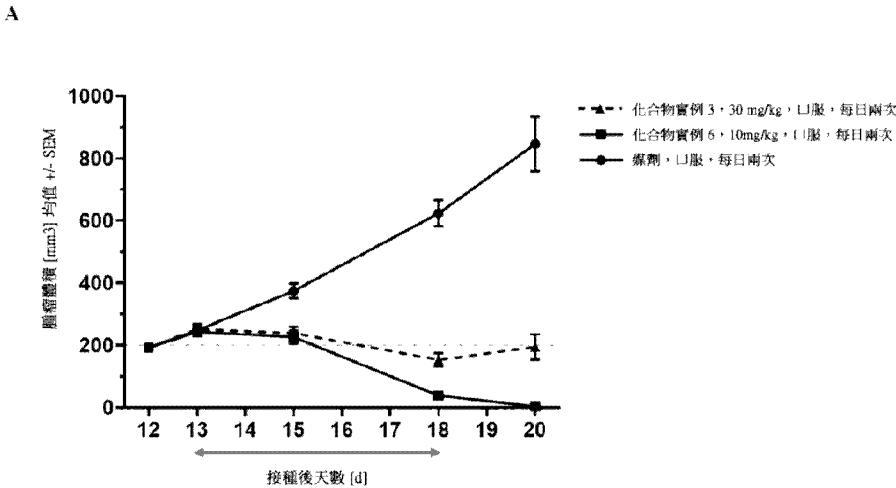


圖 1

Chemical structure (I) is a complex molecule featuring a thiazole ring connected via an amide bond to a bicyclic system. The thiazole ring is substituted with an R⁵ group. The bicyclic system is substituted with R¹, R², R^{2'}, R³, R⁴, and R⁵ groups. The structure is labeled (I).

【發明摘要】

【中文發明名稱】 用於治療癌症的別位及正位 EGFR 抑制劑之組合

【英文發明名稱】 Combination of allosteric and orthosteric EGFR inhibitors

for the treatment of cancer

【中文】 本發明係涉及採用別位 EGFR 抑制劑及正位 EGFR 抑制劑的癌症之組合療法，以及其用途及醫藥組成物。

【英文】 The present invention is directed to the combination therapy of cancer with an allosteric EGFR inhibitor and an orthosteric EGFR inhibitor, as well as uses and pharmaceutical compositions thereof.

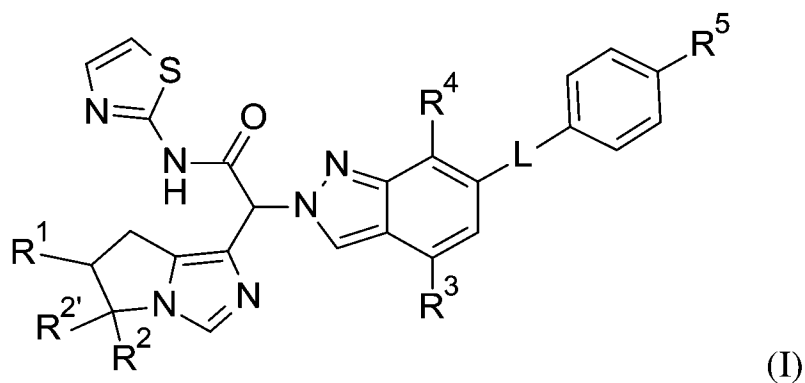
【指定代表圖】

圖 1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】



(I)

【發明說明書】

【中文發明名稱】 用於治療癌症的別位及正位 EGFR 抑制劑之組合

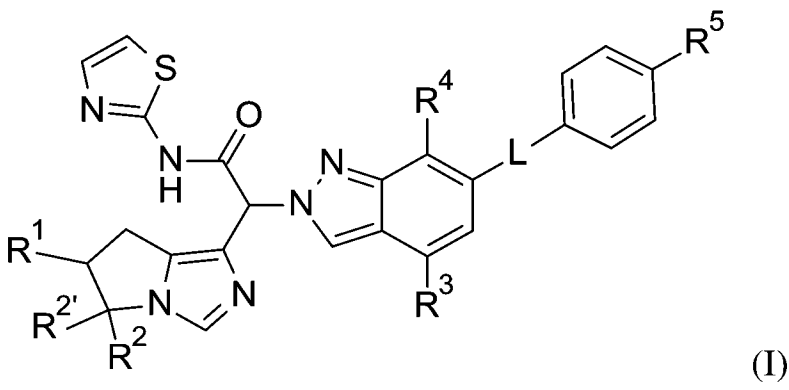
【英文發明名稱】 Combination of allosteric and orthosteric EGFR inhibitors
for the treatment of cancer

【技術領域】

【0001】 本發明涉及正位 EGFR 抑制劑與含 T790M/L858R、T790M/L858R/C797S、L858R、L858R/C797S 之 EGFR 突變體的選擇性別位 EGFR 抑制劑之新穎組合，以及其用途及醫藥組成物。

【先前技術】

【0002】 本發明特別提供一種別位 EGFR 抑制劑及正位 EGFR 抑制劑之組合，其中該別位 EGFR 抑制劑為式 (I) 化合物，



其中

L 為鍵或伸炔基；

R¹ 為氫或鹵素；

R² 及 R^{2'} 獨立地選自氫及烷基；

或 R² 及 R^{2'} 與其所接附的碳原子一起形成環烷基；

R^3 為氫、鹵素或鹵烷基；

R^4 為烷基或鹵素；

R^5 為(雜環烷基)伸烷基或雜環烷基，其中(雜環烷基)伸烷基視情況經一個或兩個獨立地選自 R^6 之取代基取代，且其中雜環烷基視情況經一個或兩個獨立地選自 R^7 之取代基取代；

R^6 在各情況下獨立地選自烷基、環烷基、經基及經基烷基；且

R^7 在各情況下獨立地選自烷基、環烷基、經基及經基烷基；

或其醫藥上可接受之鹽。

【0003】 HER 家族受體酪胺酸激酶是細胞生長、分化及存活的介質。該受體家族包括四個不同的成員，即上皮生長因子受體 (EGFR、ErbB1 或 HER1)、HER2 (ErbB2)、HER3 (ErbB3) 及 HER4 (ErbB4)。當配體結合時，受體形成同源及異源二聚體，內在酪胺酸激酶活性的後續活化導致受體自身磷酸化及下游傳訊分子的活化 (Yarden, Y., Slivkowski, MX. Untangling the ErbB signalling network. Nature Review Mol Cell Biol. 2001 Feb;2(2): 127-37)。藉由過表現或突變的 EGFR 失調已牽連許多類型的人類癌症，包括大腸直腸癌、胰腺癌、神經膠質瘤、頭頸癌及肺癌，特別是非小細胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC)，且經過多年已研發出數種 EGFR 標靶藥劑 (Ciardiello, F., and Tortora, G. (2008). EGFR antagonists in cancer treatment. The New England journal of medicine 358, 1160-1174)。一種 EGFR 酪胺酸激酶的可逆抑制劑厄洛替尼 (Erlotinib) (Tarceva®) 已在許多國家被核准用於治療復發性 NSCLC。

【0004】 在一部分 NSCLC 患者的腫瘤帶有體激酶結構域突變的情況下，觀察到 EGFR 酪胺酸激酶抑制劑的令人印象深刻的單一藥劑活性，而在野生型 EGFR 患者中的臨床獲益則大大降低 (Paez, J. 等人 (2004). EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. Science (New York, NY

304, 1497-1500))。EGFR 最常見的體細胞突變為外顯子 19 的缺失，其中 δ 746-750 是最普遍的突變，以及外顯子 21 胺基酸的取代，其中 L858R 是最常見的突變 (Sharma SV, Bell DW, Settleman J, Haber DA. Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. Nat Rev Cancer. 2007 Mar;7(3): 169-81)。

【0005】治療抗藥性經常出現，通常是由於受體的 ATP 位點內發生繼發性 T790M 突變。一些已研發的突變體選擇性不可逆抑制劑 (諸如例如奧希替尼 (osimertinib)、阿爾莫替尼 (almonertinib)、拉澤替尼 (lazertinib) 及伏美替尼 (furmonertinib)) 對 T790M 突變體具有高活性，但其功效可能因 C797S 的獲得性突變而受損，即與之形成關鍵共價鍵的半胱胺酸殘基 (Thress, K. S. 等人，Acquired EGFR C797S mutation mediates resistance to AZD9291 in non-small cell lung cancer harboring EGFR T790M. Nat. Med. 21, 560–562 (2015))。Wang 進一步報導 C797S 突變為一種對靶向 T790M 的 EGFR 抑制劑產生抗藥性的主要機制 (Wang 等人，EGFR C797S mutation mediates resistance to third-generation inhibitors in T790M-positive non-small cell lung cancer, J Hematol Oncol. 2016; 9: 59)。Yang 描述了引起對奧希替尼的抗藥性的其他突變，例如 L718Q (Yang 等人，Investigating Novel Resistance Mechanisms to Third-Generation EGFR Tyrosine Kinase Inhibitor Osimertinib in Non-Small Cell Lung Cancer Patients, Clinical Cancer Research, DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-2310) Lu 等人 (Targeting EGFR L858R/T790M and EGFR L858R/T790M/C797S resistance mutations in NSCLC: Current developments in medicinal chemistry, Med Res Rev 2018; 1-32) 在一篇回顧性文章中報導了 NSCLC 治療中靶向 EGFR L858R/T790M 及 EGFR L858R/T790M/C797S 抗藥性突變。

【0006】由於大多數可用的 EGFR 酪胺酸激酶抑制劑靶向激酶的 ATP 位點，因此需要例如經由靶向抗藥性 EGFR 突變體而發揮不同作用的新的治療藥劑。

【0007】最近的研究表明，目的性地靶向別位位點 (allosteric site) 可能導致突變體選擇性抑制劑 (Jia 等人，Overcoming EGFR(T790M) and EGFR(C797S) resistance with mutant-selective allosteric inhibitors, June 2016, Nature 534, 129-132)。

【0008】因此，需要生成特異性地抑制含 T790M/L858R、T790M/L858R/C797S、L858R、L858R/C797S 之 EGFR 突變體之選擇性分子。此等選擇性抑制劑可用於癌症 (特定而言含 T790M 及 C797S 之 EGFR 突變體) 之治療性及/或預防性治療。

【0009】重要的是，此等選擇性別位抑制劑經設計成治療以變得對正位 EGFR 抑制劑具有抗藥性的 EGFR 突變體為特徵之癌症。合理的是，一旦出現藥物抗藥性，即可將治療從正位 EGFR 抑制劑切換至別位 EGFR 抑制劑，該別位抑制劑經專門設計用於靶向攜帶 T790M 及/或 C797S 突變的突變體。

【0010】本發明涉及一種正位 EGFR 抑制劑與對應於式 (I) 化合物的選擇性別位 EGFR 抑制劑之組合。式 (I) 化合物高效地靶向 T790M/L858R、T790M/L858R/C797S、L858R、L858R/C797S 突變，並具有低活體外肝清除率 (表 1 及 2)。重要的是，式 (I) 化合物亦於基於 Ba/F3 之同種異體移植物中高效地靶向活體內 L858R/C797S 突變 (圖 1)，其為引起對正位 EGFR 抑制劑的抗藥性之突變。令人驚訝的是，利用臨床上相關劑量之經核准的正位 EGFR 抑制劑奧希替尼及式 (I) 的別位 EGFR 抑制劑之組合治療顯著改善具有 NCI-H1975 異種移植物的小鼠中之腫瘤消退，該小鼠為帶有 EGFR^{L858R/T790M} 雙突變的經 EGFR 驅動的 NSCLC 之所建立模型 (圖 2)。重要的是，式 (I) 的 EGFR 抑制劑之結合使正位 EGFR 抑制劑奧希替尼之停留時間增加約 120 倍，並且從而加快

奧希替尼與 EGFR 共價鍵合之速率 (圖 3)。式 (I) 的別位 EGFR 抑制劑與正位 EGFR 抑制劑之間的這種令人驚訝的正協同作用先前未經報導，並且為患有 EGFR 相關癌症，特定而言非小細胞肺癌的患者提供很有潛力的新治療策略。

【發明內容】

【0011】術語「抑制劑」表示與特定配體競爭、降低或阻止特定配體與特定受體的結合或降低或阻止特定蛋白質的功能的化合物。特定而言，如本文所用之抑制劑指代靶向、減少或抑制 EGFR 活性之化合物，特定抑制劑之 IC₅₀ 值低於 1 μ M、低於 500 nM、低於 200 nM、低於 100 nM、低於 50 nM、低於 25 nM、低於 10 nM、低於 5 nM、2 nM 或低於 1 nM。在本發明的一些實施例中，術語「EGFR 抑制劑」意指降低 EGFR 激酶活性至少約 10%、至少約 20%、至少約 30%、至少約 40%、至少約 50%、至少約 60%、至少約 70%、至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95% 或至少約 99% 的化合物。術語「正位 EGFR 抑制劑」涉及靠近活性位點結合的 EGFR 抑制劑，諸如例如厄洛替尼、吉非替尼 (gefitinib)、奧希替尼、阿爾莫替尼、拉澤替尼及伏美替尼，或其醫藥上可接受之鹽，特定而言甲磺酸鹽。正位 EGFR 抑制劑之非限制性實例包括西妥昔單抗 (cetuximab) (Erbix®)、帕尼單抗 (panitumumab) (Vectibix®)、奧希替尼 (merectinib, Tagrisso®)、厄洛替尼 (Tarceva®)、吉非替尼 (Iressa®)、耐昔妥珠單抗 (necitumumab) (Portrazza™)、來那替尼 (neratinib) (Nerlynx®)、拉帕替尼 (lapatinib) (Tykerb®)、凡德他尼 (vandetanib) (Caprelsa®) 及布加替尼 (brigatinib) (Alunbrig®)。

【0012】術語「IC50」意指抑制 50% 之特定測量活性所需的特定化合物的濃度。

【0013】在本說明書中，術語「烷基」在單獨或組合時表示具有 1 至 8 個碳原子的直鏈或支鏈烷基，特別是具有 1 至 6 個碳原子的直鏈或支鏈烷基，且更特別是具有 1 至 4 個碳原子的直鏈或支鏈烷基。直鏈和支鏈 C1-C8 烷基的實例為甲基、乙基、丙基、異丙基、丁基、異丁基、三級丁基、二級丁基、異構戊基、異構己基、異構庚基和異構辛基，特定而言是甲基、乙基、丙基、丁基和戊基。「烷基」的特定實例是甲基、乙基、丙基、異丙基和三級丁基。甲基為式 (I) 化合物中「烷基」的特定實例。

【0014】術語「烷氧基」或「烷基氧基」在單獨或組合時表示其中術語「烷基」具有先前給定之含義的下式基團：烷基-O-，諸如甲氧基、乙氧基、正丙氧基、異丙氧基、正丁氧基、異丁氧基、二級丁氧基和三級丁氧基。「烷氧基」的特定實例是甲氧基、乙氧基和三級丁氧基。

【0015】術語「伸烷基」在單獨或組合時表示含有 1 至 7 個碳原子的直鏈飽和二價烴基或含有 3 至 7 個碳原子的二價支鏈飽和二價烴基。伸烷基之實例包括亞甲基、伸乙基、伸丙基、2-甲基伸丙基、伸丁基、2-乙基伸丁基、伸戊基、伸己基。「伸烷基」之特定實例為亞甲基。

【0016】術語「伸炔基」在單獨或組合時表示具有至少一個三鍵的 2 至 6 個碳原子的直鏈二價烴鏈或 3 至 6 個碳原子的支鏈二價烴鏈。例示性伸炔基包括伸乙炔基、2,2-二甲基伸乙炔基、伸丙炔基、2-甲基伸丙炔基、伸丁炔基及伸戊炔基。「伸炔基」之特定實例為伸乙炔基。

【0017】術語「氧基」在單獨或組合時表示 -O- 基團。

【0018】術語「鹵素」或「鹵代」在單獨或組合時表示氟、氯、溴或碘，且特定而言為氟或氯。特定的「鹵素」或「鹵代」是氟。術語「鹵代」與另一基

團組合時表示該基團經至少一個鹵素取代，具體是經一至五個鹵素取代，具體是一至四個鹵素，即一個、兩個、三個或四個鹵素。

【0019】 術語「鹵代烷基」在單獨或組合時表示經至少一個鹵素取代的烷基、具體是經一至五個鹵素取代、具體是一至三個鹵素。「鹵烷基」之特定實例為二氟甲基及三氟甲基。

【0020】 術語「羥基」和「羥」在單獨或組合時表示 -OH 基團。

【0021】 術語「羰基」在單獨或組合時表示 -C(O)- 基團。

【0022】 術語「雜環烷基」在單獨或組合時表示 4 至 9 個環原子的單價飽和或部分不飽和的單環或雙環系統，其包含選自 N、O 及 S 的 1、2 或 3 個環雜原子，而其餘之環原子為碳。雙環意指由具有一個或兩個共同的環原子的兩個環組成。「雜環烷基」之實例為嗎啉基、哌啶基、四氫吡啶基及哌嗪基，「雜環烷基」之特定實例為哌啶基及嗎啉基。

【0023】 單獨或組合使用之術語「環烷基」表示 3 至 8 個環碳原子的單價飽和環經基。「環烷基」的實例為環丙基、環丁基、環戊基、環己基或環庚基。「環烷基」基團的特定實例為環丙基。

【0024】 術語「哌啶基 (piperidiny/piperidyl)」可互換，且在單獨或組合時表示包含 5 個碳環原子和一個氮環原子的飽和單環。

【0025】 術語「藥學上可接受之鹽」意指保有自由鹼或自由酸的生物有效性及特性，且並非在生物上或在其他方面有不利之處的鹽。該鹽是與諸如鹽酸、氫溴酸、硫酸、硝酸、磷酸及類似者、特別是鹽酸的無機酸形成，和諸如乙酸、丙酸、乙醇酸、丙酮酸、草酸、馬來酸、丙二酸、琥珀酸、延胡索酸、酒石酸、檸檬酸、苯酸、肉桂酸、苦杏仁酸、甲磺酸、乙磺酸、對甲苯磺酸、水楊酸、N-乙醯半胱氨酸及類似者之有機酸形成。此外，這些鹽類可藉由將無機鹼或有機鹼添加至游離酸中來製備。衍生自無機鹼的鹽類包括但不限於鈉、

鉀、鋰、銨、鈣、鎂鹽及類似者。衍生自有機鹼的鹽包括但不限於一級胺、二級胺、和三級胺的鹽、取代胺，包括天然存在的取代胺、環胺和鹼性離子交換樹脂，諸如異丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺、乙醇胺、離胺酸、精胺酸、N-乙基哌啶、哌啶、聚亞胺樹脂及類似者。式 (I) 化合物的特定醫藥上可接受之鹽為鹽酸鹽、甲磺酸鹽及檸檬酸鹽。奧希替尼之特定醫藥上可接受之鹽為甲基磺酸鹽，亦稱為甲磺酸鹽。

【0026】 在一個實施例中，本發明提供一種套組，其包含如本文所述之正位 EGFR 抑制劑及式 (I) 的別位 EGFR 抑制劑，處方資訊亦稱為「仿單」、泡罩包裝或瓶子 (HDPE 或玻璃) 及容器。該處方資訊較佳地包括給患者的關於投予如本文所述之正位 EGFR 抑制劑及別位 EGFR 抑制劑治療之組合的建議；

【0027】 根據 Cahn-Ingold-Prelog 序列法則，非對稱碳原子可為「R」或「S」組態。本文所述之式 (I) 化合物可包含數個非對稱中心，且其形式可為光學上純鏡像異構物、鏡像異構物的混合物 (例如外消旋物)、光學上純非鏡像異構物、非鏡像異構物的混合物、非鏡像異構外消旋物或非鏡像異構外消旋物的混合物。

【0028】 此外，在適用的情況下，本發明包括式 (I) 化合物在其對應的氘化形式下的所有取代物。

【0029】 在提供光學上純的鏡像異構物的實施例中，光學上純的鏡像異構物意指化合物包含 > 90 % (重量) 的所需異構物，特別是 > 95 % (重量) 的所需異構物，或更特別是 > 99 % (重量) 的所需異構物，該重量百分比基於化合物的異構物的總重量。手性純的或手性富集的化合物可藉由手性選擇性合成或藉由鏡像異構物分離來製備。鏡像異構物分離可在最終產物上或在適當之中間體上進行。

【0030】式 (I) 化合物及其醫藥上可接受之鹽可用為藥物 (例如以醫藥製劑的形式)。醫藥製劑可經內部投予，諸如經口 (例如以錠劑、包衣錠、糖衣錠、硬質及軟質明膠膠囊、溶液、乳劑或懸浮液的形式)、經鼻 (例如以鼻噴霧劑的形式)、經直腸 (例如以栓劑的形式) 或經眼部局部 (例如以溶液、軟膏、凝膠或水溶性聚合物插入物的形式)。然而，投予亦可以腸胃道外實行，諸如肌肉內、靜脈內或眼內 (例如以無菌注射溶液的形式)。

【0031】式 (I) 化合物及其醫藥上可接受之鹽可與醫藥上惰性、無機或有機佐劑一起加工，用於製造錠劑、包衣錠、糖衣錠、硬質明膠膠囊、注射溶液或局部調配物，可將例如乳糖、玉米澱粉或其衍生物、滑石、硬脂酸或其鹽等用作錠劑、糖衣錠及硬質明膠膠囊之此類佐劑。

【0032】軟質明膠膠囊之適合佐劑為例如植物油、蠟、脂肪、半固體物質及液體多元醇等。

【0033】用於產生溶液及糖漿之適合佐劑為例如水、多元醇、蔗糖、轉化糖、葡萄糖等。

【0034】注射溶液之適合佐劑為例如水、醇、多元醇、甘油、植物油等。

【0035】栓劑之適合佐劑為例如天然或硬化油、蠟、脂肪、半固體或液體多元醇等。

【0036】用於局部眼用調配物之適合佐劑為例如環糊精、甘露醇或本技術領域中已知的許多其他載體及賦形劑。

【0037】此外，醫藥製劑可含有防腐劑、增溶劑、增黏物質、穩定劑、濕潤劑、乳化劑、甜味劑、著色劑、調味劑、用於改變滲透壓之鹽類、緩衝劑、遮蔽劑或抗氧化劑。其亦可還含有其他治療上有價值之物質。

【0038】 以下實例舉例說明本發明而非限制本發明，而僅作為其代表。

醫藥組成物方便地含有約 1~500 mg，特別是 1~100 mg 的式 (I) 化合物。醫藥組成物方便地含有約 1~500 mg，特別是 1~100 mg 的式 (II) 化合物。在某些實施例中，含有式 (I) 化合物的醫藥組成物另外含有約 1 至 500 mg，特定而言 80 mg 之固定劑量組合之正位 EGFR 抑制劑。

【0039】 如本發明之組成物的非限制性實例為：

【0040】 包含本發明之化合物的醫藥組成物之製劑：

【0041】 以下組成物的錠劑以通常方法製造：

成分	mg/錠劑			
	5	25	100	500
式 (I) 化合物	5	25	100	500
無水乳糖 DTG	125	105	30	150
Sta-Rx 1500	6	6	6	60
微晶纖維素	30	30	30	450
硬脂酸鎂	1	1	1	1
總	167	167	167	831

【0042】 製造程序

1. 混合成分 1、成分 2、成分 3 及成分 4，並以純水製粒。
2. 在 50°C 乾燥顆粒。
3. 使顆粒通過適合的研磨設備。
4. 加入成分 5 並混合三分鐘；在適合的加壓機上壓縮。

【0043】 下列組成物之膠囊以通常方法製造：

成分	mg/膠囊			
	5	25	100	500
式 (I) 化合物	5	25	100	500
含水乳糖	159	123	148	-
玉米澱粉	25	35	40	70
滑石	10	15	10	25
硬脂酸鎂	1	2	2	5
總	200	200	300	600

【0044】 製造程序

- 1. 在適合的混合器中將成分 1、成分 2 及成分 3 混合 30 分鐘。
- 2. 添加成分 4 及成分 5，並混合 3 分鐘。
- 3. 充填入適合的膠囊中。

【0045】 首先將式 (I) 化合物、乳糖及玉米澱粉在混合器中混合，並隨後在粉碎機中混合。將混合物送回混合器；添加滑石於其中並充分混合。將混合物藉由機器充填至適合的膠囊中，例如硬質明膠膠囊。

【0046】 下列組成物之注射溶液以通常方法製造：

成分	mg/注射溶液。
式 (I) 化合物	3
聚乙二醇 400	150
乙酸	q.s. ad pH 5.0
注射用水	ad 1.0 ml

【圖式簡單說明】

【0047】

圖 1：(A) 化合物實例 6 (方形) 及化合物實例 3 (三角形) 於 Ba/F3 EGFR^{L858R/C797S} 同種異體移植物中分別在 10 mpk 及 30 mpk BID po 之抗腫瘤活

性。黑色箭頭指示劑量。低於 1.0 之腫瘤控制比 (TCR) 指示腫瘤生長抑制，其中信賴區間 (CI) 反映資料分佈。低於 1.0 之上 CI 證實統計學意義。對於不同定群，體重沒有出現顯著變化。

圖 2 (A) 化合物實例 6 單獨及與奧希替尼組合於小鼠中的 NCI-H1975 NSCLC 衍生腫瘤 (EGFR^{L858R/T790M} 異種移植) 中之抗腫瘤活性。黑色箭頭指示劑量。低於 1.0 之 TCR 指示腫瘤生長抑制，其中 CI 反映資料分佈。低於 1.0 之上 CI 證實統計學意義。對於不同定群，體重沒有出現顯著變化。**(B)** 化合物實例 1 單獨及與奧希替尼組合於小鼠中的 NCI-H1975 NSCLC 衍生腫瘤 (EGFR^{L858R/T790M} 異種移植) 中之抗腫瘤活性。黑色箭頭指示劑量。低於 1.0 之 TCR 指示腫瘤生長抑制，其中 CI 反映資料分佈。低於 1.0 之上 CI 證實統計學意義。

圖 3 (A) 藉由停流螢光測量之結合動力學。奧希替尼於結合時淬滅 EGFR 之 TRp 螢光。**(B)** 結合動力學直接表明，於別位抑制劑化合物實例 1 之存在下，奧希替尼與 EGFR 激酶結構域 (L858R) 反應更快，指示正協同作用。**(C)** 動力學資料之全局擬合揭示正協同作用之機制：化合物實例 1 使奧希替尼之停留時間增加約 120 倍，並且從而加快形成重要共價鍵之速率。

【實施方式】

【0048】 實例

【0049】 縮寫

【0050】 AcOH = 乙酸；ATP = 三磷酸腺苷；BID = 每日兩次；CAS = 化學文摘社；CDI = 1,1'-羰基二咪唑；Cl_{int} = 內在清除率；c_{max} = 最大血漿濃度；D = 研究日；DCM = 二氯甲烷；DME = 二甲氧乙烷；DMF = 二甲基甲醯胺；

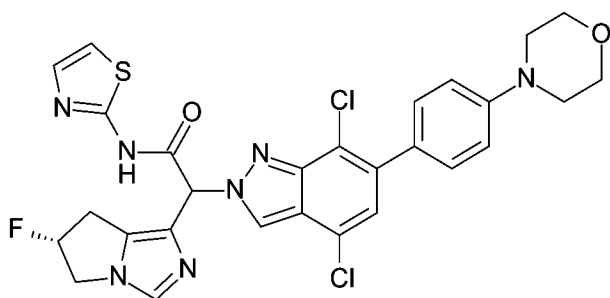
DMSO = 二甲基亞砜；ESI = 電噴霧電離；EtOAc = 乙酸乙酯；EtOH = 乙醇；
HATU = 六氟磷酸鹽氮雜苯并三唑四甲基脲；LDA = 二異丙胺鋰；MeOH = 甲
醇；MS = 質譜法；NMR = 核磁共振；PO) 口服；QD = 每日一次；RT = 室
溫；SC = 皮下；THF = 四氫呋喃。

【0051】 提供以下實例以說明本發明。其等不應被視為限制本發明的範
圍，而僅為其等的代表。

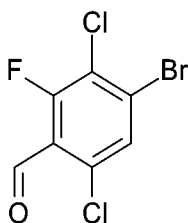
【0052】 如果製備例為鏡像異構物的混合物，則純鏡像異構物可藉由本文
所述方法或熟習本技術領域者已知的方法獲得，諸如手性層析法或結晶。

【0053】 實例 1

【0054】 2-[4,7-二氯-6-(4-N-嗎啉基苯基)吡啶-2-基]-2-[(6R)-6-氟-6,7-二氫-5H-
吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]-N-噻唑-2-基-乙醯胺



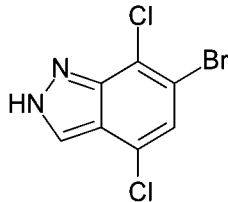
【0055】 步驟 1：4-溴-3,6-二氯-2-氟苯甲醛



【0056】 將 1-溴-2,5-二氯-3-氟苯 (9.41 g, 38.6 mmol) 於四氫呋喃 (70 ml) 中之
溶液於乾冰/丙酮浴中冷卻。添加 LDA 2mol/l 於 THF 中 (21.2 ml, 42.5 mmol, 1.1 當量)，且將混合物於 -75°C 攪拌 20 分鐘。滴加 N,N-二甲基甲醯胺 (2.82 g, 3.0 ml, 38.6 mmol, 1 當量)，並攪拌 1 小時。添加乙醚中乙酸之溶液 (1:1，

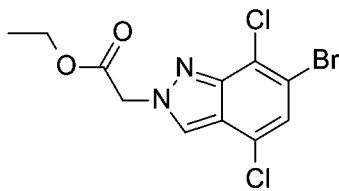
10 ml)。允許將混合物升溫至室溫。添加水，且將混合物用乙酸乙酯萃取。將有機層用水洗滌，乾燥 (MgSO₄)，過濾，並於真空中濃縮，以得到呈淡黃色固體之粗製標題化合物 (定量收率)。化合物無需進一步純化即用於下一步驟。

【0057】 步驟 2：6-溴-4,7-二氯-1H-吡啶



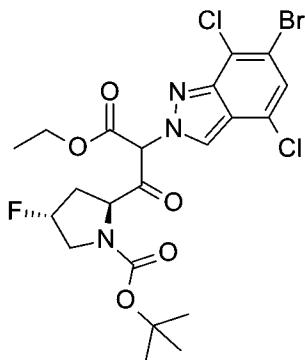
【0058】 向 4-溴-3,6-二氯-2-氟苯甲醛 (實例 1，步驟 1) (10.5 g，38.6 mmol) 於二噁烷 (50 ml) 中之溶液添加水合肼 (3.86 g，3.78 ml，77.2 mmol，2.0 當量)。將混合物在室溫下攪拌 3 天。添加水合肼 (386 mg，0.38 ml，7.72 mmol，0.2 當量)，且將混合物升溫至 70°C 持續 7 小時。冷卻至室溫之後，添加水，且藉由過濾收集經沉澱的固體。向固體添加少量乙腈，並攪拌 2 小時。藉由過濾收集固體，用少量乙腈洗滌，並乾燥，以得到呈白色固體之標題化合物 (7.8 g，收率 76%)。m/z 267.0/269.0, [M+H]⁺, ESI pos, Br 同位素。

【0059】 步驟 3：2-(6-溴-4,7-二氯-吡啶-2-基)乙酸乙酯



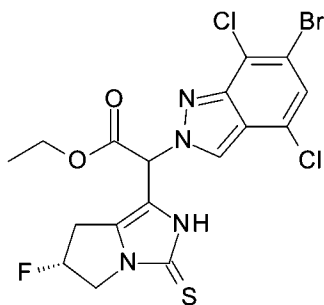
【0060】 向 6-溴-4,7-二氯-1H-吡啶 (實例 1，步驟 2) (7.84 g，29.5 mmol，Eq: 1) 於 N,N-二甲基乙醯胺 (11.5 mL) 之溶液添加 2-溴乙酸乙酯 (9.85 g，6.53 ml，59 mmol，2.0 當量)。將反應混合物於 100°C 攪拌 16 小時。添加冰，且藉由過濾收集經沉澱的固體，並用水洗滌。從沸騰的乙醇結晶化合物。藉由過濾收集固體，用少量乙醇洗滌，並乾燥，以得到呈白色固體之標題化合物 (7.5 g，收率 70%)。m/z 353.0, 355.0 [M+H]⁺, ESI pos, Br 同位素。

【0061】 步驟 4：(2S,4R)-2-[2-(6-溴-4,7-二氯-吡啶-2-基)-3-乙氧基-3-側氧-丙醯基]-4-氟-吡咯啉-1-甲酸三級丁酯



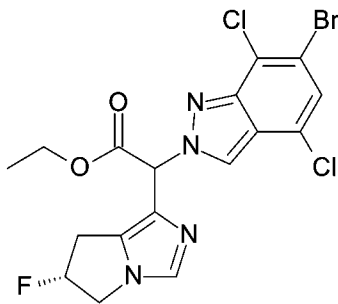
【0062】 將 (2S,4R)-1-(三級丁氧基羰基)-4-氟吡咯啉-2-甲酸 (2.34 g, 10 mmol, 1.55 當量) 於四氫呋喃 (11 ml) 中之溶液於冰浴中冷卻。添加羰基二咪唑 (1.63 g, 10 mmol, 1.55 當量)。除去冷卻浴，且攪拌混合物 3 小時，以得到溶液 A。將 2-(6-溴-4,7-二氯-吡啶-2-基)乙酸乙酯 (實例 1，步驟 3) (2.28 g, 6.5 mmol) 於四氫呋喃 (11 ml) 中之溶液冷卻至 -70°C 。於 5 分鐘內滴加 LDA (於四氫呋喃中 2 mol/l) (5.0 ml, 10 mmol, 1.55 當量) 中之溶液。將混合物於 -70°C 攪拌 30 分鐘。於 5 分鐘內滴加溶液 A。允許將混合物升溫至室溫，於冷卻浴中過夜。添加 NH_4Cl 飽和水溶液之後，將混合物用乙酸乙酯萃取兩次。將有機層用水洗滌，合併，經硫酸鈉乾燥，並濃縮至乾燥，以得到粗製標題化合物 (定量收率)，無需進一步純化即用於下一步驟。 m/z 566.1/568.1, $[\text{M}+\text{H}]^+$, ESI pos, Br 同位素。

【0063】 步驟 5：2-(6-溴-4,7-二氯-吡啶-2-基)-2-[(6R)-6-氟-3-硫側氧-2,5,6,7-四氫吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]乙酸乙酯



【0064】 將 (2S,4R)-2-[2-(6-溴-4,7-二氯-吡啶-2-基)-3-乙氧基-3-側氧-丙醯基]-4-氟-吡咯啉-1-甲酸三級丁酯 (實例 1，步驟 4) (4.23 g，6.41 mmol) 於 HCl (於二噁烷中 4M) (11 ml) 中之溶液於室溫攪拌 1 小時。將混合物濃縮至乾燥。將殘餘物溶解於乙醇 (37 ml) 中，添加硫氰酸鉀 (829 mg，8.53 mmol，1.33 當量) 及 HCl (乙醇中 1M) (12.8 ml)，並於室溫攪拌 40 小時。添加水，且將混合物用乙酸乙酯萃取。將有機層用水洗滌，經 MgSO_4 乾燥，過濾，濃縮，並乾燥，以得到粗製標題化合物 (2.5 g，收率 76%)，無需進一步純化即用於下一步驟。 m/z 509.0/511.0, $[\text{M}+\text{H}]^+$, ESI pos, Br 同位素。

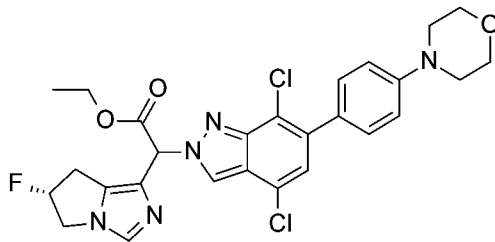
【0065】 步驟 6：2-(6-溴-4,7-二氯-吡啶-2-基)-2-[(6R)-6-氟-6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]乙酸乙酯



【0066】 將 2-(6-溴-4,7-二氯-吡啶-2-基)-2-[(6R)-6-氟-3-硫側氧-2,5,6,7-四氫吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]乙酸乙酯 (實例 1，步驟 5) (1.46 g，2.88 mmol) 於乙酸 (10 ml) 中之溶液冷卻至 10°C。滴加 35% 過氧化氫 (1.12 g，1.01 ml，11.5 mmol，4 當量)。將反應混合物於室溫攪拌 1 小時。藉由添加亞硫酸鈉飽和溶液破壞過量之過氧化氫。添加一些水 (剛好足以溶解所有鹽) 及乙酸乙酯之後，藉由小心添

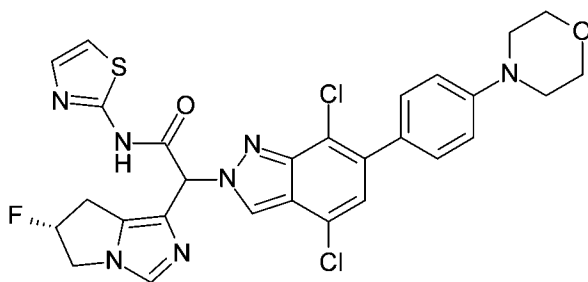
加固體碳酸鈉將混合物調至 pH 9。將混合物用乙酸乙酯萃取。將有機層用水洗滌，經硫酸鈉乾燥，並濃縮。將產物藉由層析 (SiO₂，於庚烷中之乙酸乙酯，0% 至 100%) 純化，以得到呈淺棕色固體之標題化合物 (0.81 g，收率 58%)。
m/z 475.0/477.0, [M+H]⁺, ESI pos, Br 同位素。

【0067】 步驟 7：2-[4,7-二氯-6-(4-N-嗎啉基苯基)吡啶-2-基]-2-[(6R)-6-氟-6,7-二氯-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]乙酸乙酯



【0068】 將 2-(6-溴-4,7-二氯-吡啶-2-基)-2-[(6R)-6-氟-6,7-二氯-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]乙酸乙酯 (實例 1，步驟 6) (100 mg，0.21 mmol)、(4-N-嗎啉基苯基)硼酸 (130 mg，0.63 mmol，3 當量) 及碳酸銨 (205 mg，0.63 mmol，3 當量) 與甲苯 (3.0 ml) 混合，藉由於超聲波處理下透過混合物吹氬氣來脫氣。添加 [1,1'-雙(二苯基膦基)二茂鐵]二氯鈾(II) (15 mg，0.02 mmol，0.1 當量)，且將混合物於密封管中於 110°C 攪拌 30 分鐘。將混合物冷卻至室溫，用乙酸乙酯稀釋，用半濃縮碳酸鈉溶液洗滌，經硫酸鈉乾燥，並濃縮。將粗製材料藉由急速層析 (SiO₂，於乙酸乙酯中之甲醇，0% 至 40%) 純化，以得到呈淺棕色無定形固體之標題化合物 (82 mg，收率 69%)。
m/z 558.4, [M+H]⁺, ESI pos。

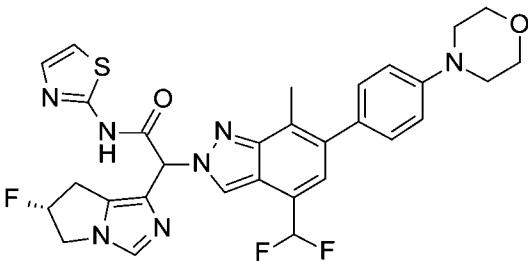
【0069】 步驟 8：2-[4,7-二氯-6-(4-N-嗎啉基苯基)吡啶-2-基]-2-[(6R)-6-氟-6,7-二氯-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]-N-噁唑-2-基-乙醯胺



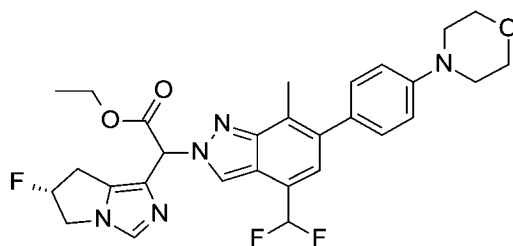
【0070】 向 2-[4,7-二氯-6-(4-N-嗎啉基苯基)吡啶-2-基]-2-[(6R)-6-氟-6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]乙酸乙酯 (實例 1，步驟 7) (40 mg，0.071 mmol) 於四氫呋喃 (1.1 ml) 中之溶液添加 LiOH 1M (101 μ l，0.10 mmol，1.5 當量) 及水 (400 μ l)。將混合物在室溫攪拌 30 分鐘。將混合物濃縮並乾燥。將殘餘物溶解于 N,N-二甲基甲醯胺 (1.1 ml) 中。添加噻唑-2-胺 (9 mg，0.086 mmol，1.2 當量)、HATU (33 mg，0.086 mmol，1.2 當量) 及 Hunig 鹼 (28 mg，0.037 ml，0.21 mmol，3 當量) 之後，將混合物於室溫攪拌 1 小時。添加水，且將混合物用乙酸乙酯萃取。將有機層合併，經硫酸鈉乾燥，過濾，並濃縮。將粗製材料藉由急速層析 (SiO₂，於乙酸乙酯中之甲醇，0% 至 40%) 純化，以得到呈淺棕色固體之標題化合物 (22 mg，收率 50%)。m/z 612.4, [M+H]⁺, ESI pos。

【0071】 實例 2

【0072】 2-[4-(二氟甲基)-7-甲基-6-(4-N-嗎啉基苯基)吡啶-2-基]-2-[(6R)-6-氟-6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]-N-噻唑-2-基-乙醯胺

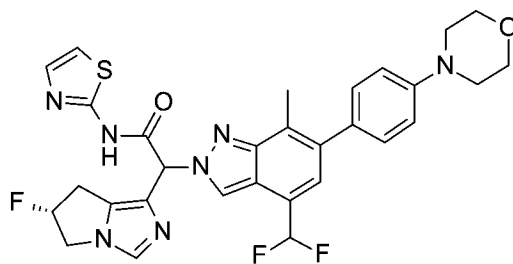


【0073】 步驟 1：2-[4-(二氟甲基)-7-甲基-6-(4-N-嗎啉基苯基)吡啶-2-基]-2-[(6R)-6-氟-6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]乙酸乙酯



【0074】 將中間體 1 (0.5 g, 1.06 mmol, Eq: 1.0)、(4-N-嗎啉基苯基)硼酸 (CAS 186498-02-2, 329 mg, 1.59 mmol, Eq: 1.5) 及 K_2CO_3 (183 mg, 1.33 mmol, Eq: 1.25,) 於 2-MeTHF (6 mL)、水 (1 mL) 中之懸浮液用氬氣脫氣 10 分鐘。添加二氯[雙(二苯基膦基苯基)醚]鈾(II) (CAS 205319-06-8, 91 mg, 127 μ mol, Eq: 0.12)。將反應混合物於 85°C 攪拌 5 小時。添加 AcOH (191 mg, 182 μ L, 3.18 mmol, Eq: 3.0)。將反應混合物倒入 2:1 EtOAc/THF 中並用水及鹽水洗滌。有機層經 Na_2SO_4 乾燥並在真空中濃縮。藉由快速層析法 (矽膠, 12 g, 在庚烷中 0% 至 50% (EtOAc/EtOH/aq. NH_3 75:25:2)) 純化粗製材料, 以得到呈灰白色固體之標題化合物 (433 mg, 743 μ mol, 收率 70%)。 m/z 554.4 $[M+H]^+$, ESI pos。

【0075】 步驟 2：2-[4-(二氟甲基)-7-甲基-6-(4-N-嗎啉基苯基)吡啶-2-基]-2-[(6R)-6-氟-6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]-N-噻唑-2-基-乙醯胺

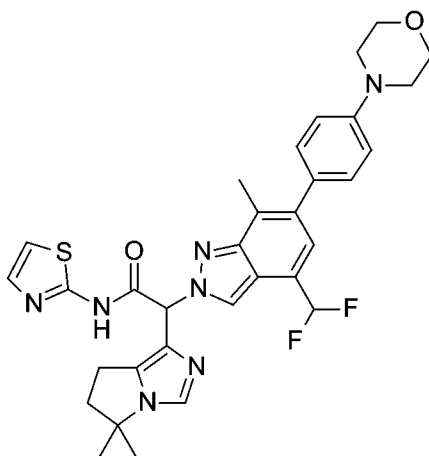


【0076】 向 2-[4-(二氟甲基)-7-甲基-6-(4-N-嗎啉基苯基)吡啶-2-基]-2-[(6R)-6-氟-6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]乙酸乙酯 (720 mg, 1.3 mmol, Eq: 1.0) 於 THF (9 mL) 及 MeOH (9 mL) 中之溶液添加 LiOH (1 M 水溶液, 2.6 mL, 2.6 mmol, Eq: 2.0)。將反應混合物於室溫攪拌 2 小時。添加 HCl (5 N 水溶液, 520 μ L, 2.6 mmol, Eq: 2.0) (pH 6)。添加甲苯, 將反應混合物於真空中濃縮。將羧

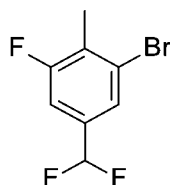
酸溶解於 DMSO (6 mL)、噻唑-2-胺 (195 mg, 1.95 mmol, Eq: 1.5)、DIPEA (840 mg, 1.14 mL, 6.5 mmol, Eq: 5.0) 及 HATU (742 mg, 1.95 mmol, Eq: 1.5)。將反應混合物於室溫攪拌 1.5 小時。將反應混合物倒入 2:1 EtOAc/THF 中並用水及鹽水洗滌。有機層經 Na₂SO₄ 乾燥並在真空中濃縮。粗物質藉由急速層析純化 (矽膠, 40 g, 0% 至 5% MeOH 的 DCM 溶液)。將產物冷凍乾燥, 以得到呈灰白色固體之標題化合物 (501 mg, 收率 63%)。m/z 608.3 [M+H]⁺, ESI pos。

【0077】 實例 3

【0078】 2-[4-(二氟甲基)-7-甲基-6-(4-N-嗎啉基苯基)呋唑-2-基]-2-螺[6,7-二氫吡咯并[1,2-c]咪唑-5,1'-環丙烷]-1-基-N-噻唑-2-基-乙醯胺



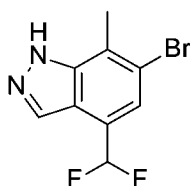
【0079】 步驟 1：1-溴-5-(二氟甲基)-3-氟-2-甲基-苯



【0080】 向 3-溴-5-氟-4-甲基苯甲醛 (CAS # 1370411-47-4, 20.5 g, 89.7 mmol, 1.0 當量) 於二氯甲烷 (98 mL) 中之經冷卻的溶液分批添加 N-嗎啉基三氟化硫 (CAS # 51010-74-3, 24.8 g, 17.3 mL, 135 mmol, 1.5 當量)。將反應混合物於 0°C 至 5°C 攪拌 20 分鐘, 隨後於室溫攪拌 16 小時。於冰冷卻下, 小心

添加 NaHCO_3 飽和水溶液 (300 mL)。將反應混合物於室溫攪拌 1 小時。將反應混合物倒入二氯甲烷中，並用水洗滌。將有機層經硫酸鈉乾燥，過濾，並於真空中濃縮。將粗製材料藉由急速層析 (矽膠，120 g，100% 庚烷) 純化，以得到呈淺黃色固體之標題化合物 (18.6 g，收率 87%)。 ^1H NMR (300 MHz, 氯仿- d) δ = 7.50 (s, 1H), 7.16 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 6.57 (t, J = 56.0 Hz, 1H), 2.50 - 2.22 (m, 3H)

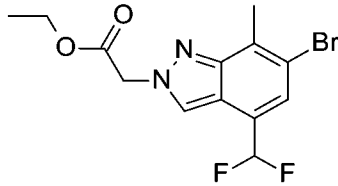
【0081】 步驟 2：6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-1H-吡啶



【0082】 將 1-溴-5-(二氟甲基)-3-氟-2-甲基-苯 (實例 1，步驟 1) (26.4 g，110 mmol，1.0 當量) 於四氫呋喃 (240 mL) 中之溶液冷卻至 -75°C 。滴加二異丙胺鋰溶液 (於四氫呋喃/庚烷/乙苯中 2 M，66.3 mL，133 mmol，1.2 當量)，保持溫度低於 -70°C 。將反應混合物於 -75°C 攪拌 30 分鐘。於低於 -70°C 添加甲酸乙酯 (16.4 g，17.7 mL，220 mmol，2.0 當量)。將反應混合物於 -75°C 攪拌 30 分鐘。於低於 -55°C 添加乙酸 (16.6 g，15.8 mL，277 mmol，2.5 當量)。允許將反應混合物升溫至室溫，倒入乙酸乙酯中，並用經稀釋的 HCl 水溶液、水及鹽水洗滌。將有機層經硫酸鈉乾燥，並於真空中濃縮，以得到呈黃色油狀物之推測的 4-溴-6-(二氟甲基)-2-氟-3-甲基苯甲醛 (29.5 g)，無需進一步純化即經使用。將粗推測的 4-溴-6-(二氟甲基)-2-氟-3-甲基-苯甲醛 (29.5 g) 溶解於二甲氧乙烷 (150 mL) 中。添加 *O*-甲基羥胺鹽酸鹽 (10.2 g，122 mmol，1.1 當量) 及碳酸鉀 (30.6 g，221 mmol，2.0 當量)。將反應混合物於 45°C 攪拌 2.5 小時，隨後透過燒結玻璃過濾，並用二甲氧乙烷 (2 x) 洗滌。濾液在真空中濃縮。將呋喃中間體溶解於二甲亞砷 (150 mL) 中。添加水合肼 (83 g，80.5 mL，1.66 mol，15 當量)。將反應混合物於 110°C 攪拌 3 小時。將反應混合物倒入 5:1 乙酸乙酯/四氫

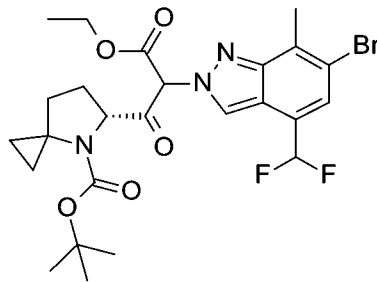
呋喃之混合物中。將有機層用水及鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，並於真空濃縮。將粗製材料藉由急速層析 (矽膠，2 x 120 g，梯度：0% 至 30%，於庚烷中之乙酸乙酯) 純化，以得到呈白色固體 (13.5 g，收率 45%) 之標題化合物 (13.5 g，收率 45%)。LCMS： m/z 260.9/262.8 $[M+H]^+$, ESI pos, Br 同位素。

【0083】 步驟 3：2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-吡啶-2-基]乙酸乙酯

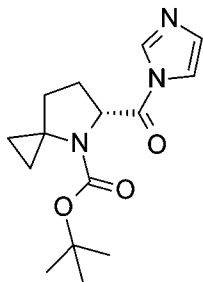


【0084】 向 6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-1H-吡啶 (實例 1，步驟 2) (19 g，72.8 mmol，1.0 當量) 於 *N,N*-二甲基甲醯胺 (75 mL) 中之溶液添加 2-溴乙酸乙酯 (CAS # 105-36-2，18.2 g，12.2 mL，109 mmol，1.5 當量)。將反應混合物於 100 °C 下攪拌 16 小時。將反應混合物倒入乙酸乙酯中，並用水及鹽水洗滌。將有機層經硫酸鈉乾燥，過濾，並於真空中濃縮。將粗製材料藉由急速層析 (矽膠，2 x 120 g，梯度：0% 至 20%，於庚烷中之乙酸乙酯) 純化，以得到呈黃色固體之標題化合物 (21.2 g，收率 80%)。LCMS： m/z 346.9/348.8 $[M+H]^+$, ESI pos, Br 同位素。

【0085】 步驟 4：(5*R*)-5-[2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-吡啶-2-基]-3-乙氧基-3-側氧-丙醯基]-4-氮雜螺[2.4]庚烷-4-甲酸三級丁酯



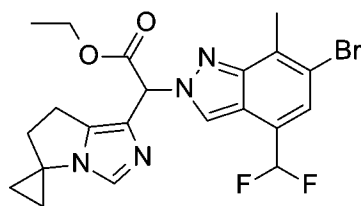
【0086】 (5*R*)-5-(咪唑-1-羰基)-4-氮雜螺[2.4]庚烷-4-甲酸三級丁酯之製備



【0087】向 (5R)-4-三級丁氧基羰基-4-氮雜螺[2.4]庚烷-5-甲酸 (CAS # 2007916-06-3, 1.02 g, 4.21 mmol, 1.0 當量) 於二氯甲烷 (17 mL) 中之溶液分三批添加 1,1'-羰基二咪唑 (818 mg, 5.04 mmol, 1.2 當量), 且將反應混合物於室溫攪拌 2.5 小時。將反應混合物倒入 NaHCO₃ 飽和水溶液, 並用二氯甲烷萃取三次。將合併之有機層經硫酸鈉乾燥, 過濾, 並於真空中濃縮, 以得到呈灰白色固體之 (5R)-5-(咪唑-1-羰基)-4-氮雜螺[2.4]庚烷-4-甲酸三級丁酯 (1.30 g, 收率 95%, 純度 90%), 直接用於下一步驟。

【0088】將 2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-呋唑-2-基]乙酸乙酯 (實例 1, 步驟 3) (1.2 g, 3.46 mmol, 1.0 當量) 於四氫呋喃 (16 mL) 中之溶液冷卻至 -50°C。添加 NaHMDS (於四氫呋喃中 1 M) (4 mL, 4 mmol, 1.16 當量), 且將反應混合物於 -50°C 攪拌 45 分鐘。於 -50°C 滴加上述 (5R)-5-(咪唑-1-羰基)-4-氮雜螺[2.4]庚烷-4-甲酸三級丁酯 (1.29 g, 3.98 mmol, 1.15 當量) 於四氫呋喃 (16 mL) 中之溶液。將反應混合物於 -50°C 攪拌 30 分鐘。隨後, 移除冷卻浴, 且允許將反應混合物升溫至室溫。將反應混合物於室溫攪拌 2 小時。將反應混合物冷卻, 並用 NH₄Cl 飽和水溶液淬滅, 用水稀釋, 並用乙酸乙酯萃取。以乙酸乙酯反萃取水層。用 NaHCO₃ 飽和水溶液, 隨後用鹽水洗滌有機層。將合併之有機層經硫酸鈉乾燥, 過濾, 並於真空中濃縮, 以得到呈淺棕色泡沫之標題化合物 (2.37 g, 收率 96%, 純度 80%), 無需進一步純化即經使用。LCMS: *m/z* 570.3/572.3 [M+H]⁺, ESI pos, Br 同位素。

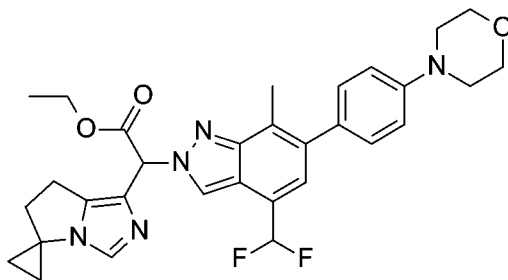
【0089】 步驟 5：2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-吡啶-2-基]-2-螺[6,7-二氫吡咯并[1,2-c]咪唑-5,1'-環丙烷]-1-基-乙酸乙酯



【0090】 (5*R*)-5-[2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-吡啶-2-基]-3-乙氧基-3-側氧-丙醯基]-4-氮雜螺[2.4]庚烷-4-甲酸三級丁酯 (實例 1，步驟 4) (2.36 g，3.31 mmol，1.0 當量，純度 80%) 及 HCl (於 1,4-二噁烷中 4 M，4.2 mL，16.8 mmol，5.07 當量) 之混合物。將反應混合物於室溫攪拌 1 小時。添加 HCl (於 1,4-二噁烷中 4M，1 mL，4.0 mmol，1.21 當量)，且將反應混合物於室溫攪拌 30 分鐘。添加 HCl (於 1,4-二噁烷中 4M，1 mL，4.0 mmol，1.21 當量)，且將反應混合物於室溫攪拌 30 分鐘。用乙醇 (7.6 mL) 及水 (2.0 mL) 稀釋反應混合物。添加硫氰酸鉀 (419 mg，4.31 mmol，1.3 當量)，且將反應混合物於室溫攪拌 1 小時。冷卻反應混合物，且緩慢添加吡啶 (3.91 g，4 mL，49.46 mmol，14.9 當量)。將反應混合物於室溫攪拌 1 小時。將反應混合物倒入 1 N KHSO₄ + 水，並用乙酸乙酯萃取三次。將有機層用鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，過濾，並於真空中濃縮。將粗製材料溶解於乙酸 (7.6 mL) 中，並冷卻至 0°C。於 0°C 滴加過氧化氫 (35 重量% 水溶液，0.580 mL，6.62 mmol，2.0 當量)。將反應混合物於室溫攪拌 1 小時。用 1 M Na₂S₂O₃ 水溶液破壞過量之過氧化氫。將混合物小心地用固體 Na₂CO₃ 鹼化，並用乙酸乙酯萃取兩次。將有機層用鹽水洗滌，合併，經硫酸鈉乾燥，過濾，並於真空中濃縮。將粗製材料吸收於 ISOLUTE HM-N 上，並藉由急速層析 (矽膠，24 g，梯度：0% 至 100%，於庚烷中乙酸乙酯) 純化。將

含有產物之所有餾分合併，並於真空中濃縮，以得到呈淺黃色固體之標題化合物 (882 mg，收率 53%)。LCMS： m/z 479.3/481.3 $[M+H]^+$ ，ESI pos，Br 同位素。

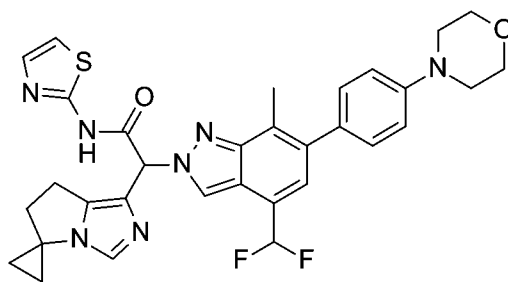
【0091】 步驟 6：2-[4-(二氟甲基)-7-甲基-6-(4-N-嗎啉基苯基)吡啶-2-基]-2-螺[6,7-二氫吡咯并[1,2-*c*]咪唑-5,1'-環丙烷]-1-基-乙酸乙酯



【0092】 將 2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-吡啶-2-基]-2-螺[6,7-二氫吡咯并[1,2-*c*]咪唑-5,1'-環丙烷]-1-基-乙酸乙酯 (實例 1，步驟 5) (350 mg，0.69 mmol，1.00 當量)、(4-N-嗎啉基苯基)硼酸 (CAS # 186498-02-2，187 mg，0.90 mmol，1.30 當量)、碳酸鉍 (679 mg，2.08 mmol，3.00 當量) 及 [1,1'-雙(二苯基膦基)二茂鐵]二氯鉀(II) 複合物與二氯甲烷 (82 mg，0.10 mmol，0.14 當量) 於 1,4-二噁烷 (6.0 mL) 中之混合物用氬氣沖洗，並於 100°C 攪拌 2 小時。將反應混合物冷卻至室溫，然後以乙酸乙酯及水萃取。以乙酸乙酯反萃取水層。有機層以水及鹽水洗滌。將合併的有機層經硫酸鈉乾燥，過濾，並在真空中濃縮。將粗製材料吸收於 ISOLUTE HM-N 上，並藉由急速層析 (矽膠，24 g，梯度：0% 至 90%，於庚烷中乙酸乙酯) 純化。將含有產物之所有餾分合併，並濃縮，以得到呈灰白色固體之標題化合物 (352 mg，收率 81%，純度 90%)。LCMS： m/z 562.5

$[M+H]^+$ ，ESI pos。

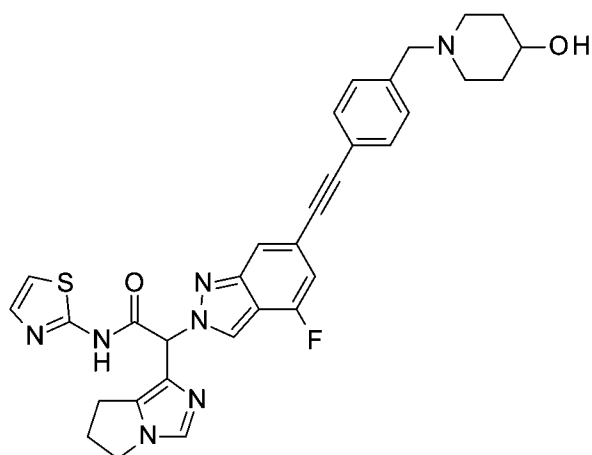
【0093】 步驟 7：2-[4-(二氟甲基)-7-甲基-6-(4-N-嗎啉基苯基)吡啶-2-基]-2-螺[6,7-二氫吡咯并[1,2-*c*]咪唑-5,1'-環丙烷]-1-基-N-噁唑-2-基-乙醯胺



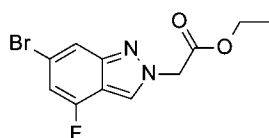
【0094】向 2-[4-(二氟甲基)-7-甲基-6-(4-N-嗎啉基苯基)呋唑-2-基]-2-螺[6,7-二氫吡咯并[1,2-c]咪唑-5,1'-環丙烷]-1-基-乙酸乙酯 (實例 1，步驟 6) (346 mg，0.55 mmol，1.0 當量) 於乙醇 (1.8 mL) 及四氫呋喃 (1.8 mL) 中之溶液添加氫氧化鋰 (1 M 水溶液，0.64 mL，0.64 mmol，1.15 當量)。將反應混合物於室溫攪拌 1.5 小時。將反應混合物蒸發，並與甲苯共蒸發兩次。將殘餘物懸浮於 *N,N*-二甲基甲醯胺 (1.8 mL) 中，且添加 *N,N*-二異丙基乙胺 (0.30 mL，1.72 mmol，3.1 當量)、噻唑-2-胺 (72 mg，0.72 mmol，1.3 當量) 及 HATU (274 mg，0.72 mmol，1.3 當量)。將反應混合物於室溫攪拌 45 分鐘。將反應混合物用乙酸乙酯及水萃取。以乙酸乙酯反萃取水層。將有機層用水洗滌三次，並用鹽水洗滌一次。將合併的有機層經硫酸鈉乾燥，過濾，並在真空中濃縮。將粗產物吸收於 ISOLUTE HM-N 上，並藉由急速層析 (矽膠，25 g，梯度：0% 至 5%，於二氯甲烷中之甲醇) 純化。將包含產物的所有餾分合併並在真空中濃縮。將殘餘物吸收於 ISOLUTE HM-N 上，並藉由急速層析法 (Si-胺，12 g，梯度：於乙酸乙酯中之 0% 至 10% 甲醇) 純化。將含有產物之所有餾分合併，並濃縮，以得到呈灰白色固體之標題化合物 (183 mg，收率 53%)。LCMS： m/z 616.4 $[M+H]^+$ ，ESI pos。

【0095】實例 4

【0096】2-(6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)-2-(4-氟-6-((4-((4-羥基哌啶-1-基)甲基)苯基)乙炔基)-2H-呋唑-2-基)-N-(噻唑-2-基)乙醯胺

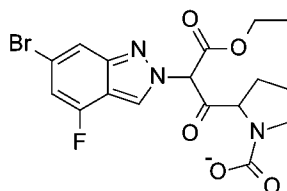


【0097】 步驟 1：2-(6-溴-4-氟-吡啶-2-基)乙酸乙酯



【0098】 將 6-溴-4-氟-1H-吡啶 (CAS 885520-23-0) (1 當量)、2-溴乙酸乙酯 (2 當量) 及 *N,N*-二甲基乙醯胺 (少量以產生溶液) 之混合物加熱至 100°C 直至反應完成為止。冷卻至室溫之後，添加冰，且藉由過濾收集經沉澱的固體並用水洗滌。使用急速層析 (矽膠，於正庚烷中之乙酸乙酯，0% 至 40%) 來純化標題化合物 (灰白色固體，收率 53%)。¹H NMR (氯仿-*d*, 300 MHz) δ = 8.08 (d, 1H, *J* = 0.8 Hz), 7.68 (t, 1H, *J* = 1.1 Hz), 6.87 (dd, 1H, *J* = 1.3, 9.6 Hz), 5.18 (s, 2H), 4.28 (q, 2H, *J* = 7.3 Hz), 1.30 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz)。MS (ESI) *m/z* 302.9 [M+H]⁺。

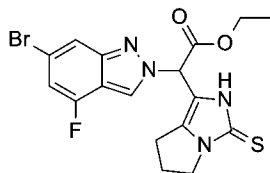
【0099】 步驟 2：2-[2-(6-溴-4-氟-吡啶-2-基)-3-乙氧基-3-側氧-丙醯基]吡咯啉-1-甲酸酯



【0100】 將 2-(6-溴-4-氟-吡啶-2-基)乙酸乙酯 (1 當量) 與 CDI 預活化三級丁氧羰基)-L-脯氨酸 (CAS15761-39-4) (1.55 當量) 在 LDA (1.55 當量) (於 THF 中) 之

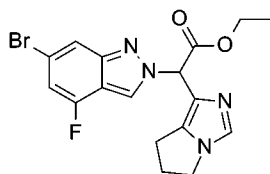
存在下於 -70°C 反應至室溫。該反應產生標題化合物 2-[2-(6-溴-4-氟-吡啶-2-基)-3-乙氧基-3-側氧-丙醯基]吡咯啉-1-甲酸酯。

【0101】 步驟 3：2-(6-溴-4-氟-吡啶-2-基)-2-(3-硫側氧-2,5,6,7-四氫吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)乙酸乙酯



【0102】 將 2-[2-(6-溴-4-氟-吡啶-2-基)-3-乙氧基-3-側氧-丙醯基]吡咯啉-1-甲酸酯 (1 當量) 與 HCl (於二噁烷中) 於室溫反應。接著，於 HCl (於乙醇中) 之存在下於室溫添加 KSCN (1.33 當量)。該反應產生 2-(6-溴-4-氟-吡啶-2-基)-2-(6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)乙酸乙酯。

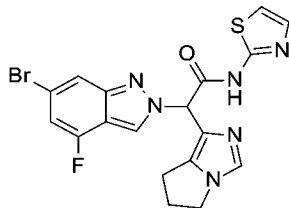
【0103】 步驟 4：2-(6-溴-4-氟-吡啶-2-基)-2-(6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)乙酸乙酯



【0104】 於 10°C 向 2-(6-溴-4-氟-吡啶-2-基)-2-(6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)乙酸乙酯 (2.88 mmol, 1 當量) 於乙酸 (10 mL) 中之溶液滴加 35% 過氧化氫 (1.12 g, 1.01 mL, 11.5 mmol, 4 當量)。將反應混合物於室溫攪拌 1 小時。藉由添加亞硫酸鈉飽和溶液破壞過量之過氧化氫。添加一些水 (剛好足以溶解所有鹽) 及乙酸乙酯之後，藉由小心添加固體碳酸鈉將混合物調至 pH 9。將混合物用乙酸乙酯萃取。將有機層用水洗滌，經硫酸鈉乾燥，並濃縮。將產物藉由層析 (矽膠，於正庚烷中之乙酸乙酯，0% 至 100%) 純化，以得到呈棕色膠狀物之標題化合物 (經步驟 2 至 4，收率 51%)。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, 氯仿- d) δ =

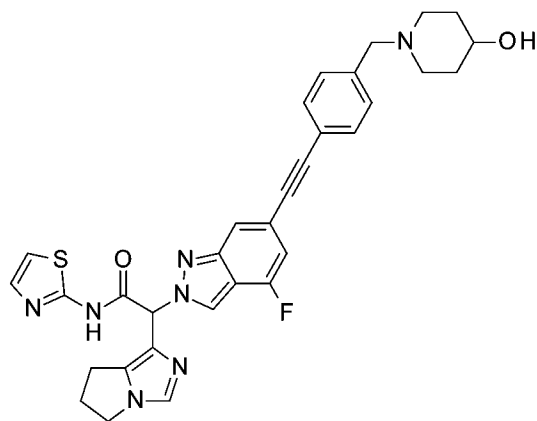
8.22 (s, 1H), 7.66 (t, J = 1.0 Hz, 1H), 7.50 (s, 1H), 6.80 (dd, J = 1.2, 9.5 Hz, 1H), 6.39 (s, 1H), 4.39 - 4.19 (m, 2H), 4.10 - 3.97 (m, 2H), 2.95 - 2.60 (m, 4H), 1.42 - 1.10 (m, 3H) 。 MS (ESI) m/z 409.0 [M+H]⁺ 。

【0105】 步驟 5：2-(6-溴-4-氟-吡啶-2-基)-2-(6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)-N-噻唑-2-基-乙醯胺



【0106】 向 2-(6-溴-4-氟-吡啶-2-基)-2-(6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)乙酸乙酯 (1 當量) 於乙醇 (3 mL) 中之溶液添加 1M 氫氧化鋰 (1.1 當量)。將反應攪拌 1 小時，蒸發溶劑，且將殘餘物濃縮並與甲苯共蒸發兩次以除去水。將反應混合物稀釋於 N,N-二甲基甲醯胺 (3 mL) 中，且添加 N,N-二異丙基乙胺 (345 mg, 0.466 mL, 2.67 mmol, 3 當量)、噻唑-2-基胺 (116 mg, 1.16 mmol, 1.3 當量) 及 HATU (440 mg, 1.16 mmol, 1.3 當量)。於室溫攪拌 1 小時之後，將反應用水稀釋，並用乙酸乙酯萃取兩次。將合併的有機層經硫酸鈉乾燥、過濾並濃縮。將殘餘物藉由急速層析 (矽膠，於二氯甲烷中之甲醇，0% 至 10%) 純化，以得到 2-(6-溴-4-氟-吡啶-2-基)-2-(6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)-N-噻唑-2-基-乙醯胺。

【0107】 步驟 6：2-(6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)-2-(4-氟-6-((4-((4-羥基哌啶-1-基)甲基)苯基)乙炔基)-2H-吡啶-2-基)-N-(噻唑-2-基)乙醯胺



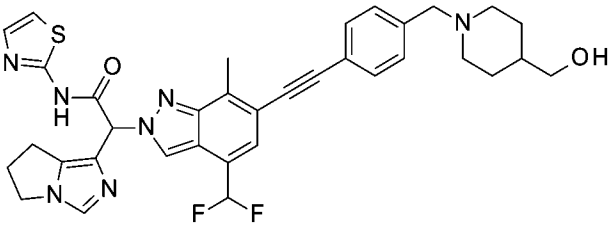
【0108】向 2-(6-溴-4-氟-吡啶-2-基)-2-(6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)-N-噻唑-2-基-乙醯胺 (1 當量) 於 N,N-二甲基甲醯胺 (5 mL) 中之溶液添加 4-乙炔基苯甲醛 (49 mg, 0.375 mmol, 1 當量)、三乙胺 (113.83 mg, 0.157 mL, 1.12 mmol, 3 當量)、三苯基膦 (10 mg, 0.037 mmol, 0.100 當量)、雙(三苯基膦)氯化鈣(II) (13 mg, 0.019 mmol, 0.050 當量) 及碘化銅(I) (3.57 mg, 0.019 mmol, 0.050 當量)。將小瓶蓋上蓋子且於 110°C 於微波中加熱 20 分鐘，隨後添加 4-乙炔基苯甲醛 (49 mg, 0.375 mmol, 1 當量)，且將小瓶再次於 110°C 加熱 20 分鐘。重複此程序三次。總之，將反應混合物於 110°C 攪拌 5x20 分鐘。將反應混合物倒入水中並用乙酸乙酯 (4x) 萃取。將合併之有機層用鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，過濾，並於真空中濃縮。將粗製物藉由急速層析 (矽膠，於乙酸乙酯中之甲醇，0% 至 10%) 純化，並進一步與哌啶-4-醇 (1.3 當量) 及三乙醯氧基硼氫化鈉 (70 mg, 0.332 mmol, 1.6 當量) 合併。將反應混合物於室溫攪拌 3 小時。將反應混合物倒入 NaHCO₃ 飽和溶液中，並用 9:1 二氯甲烷/甲醇之混合物萃取三次。將合併的有機層經硫酸鈉乾燥，過濾，並在真空中濃縮。將粗製物藉由急速層析 (矽膠，於乙酸乙酯中之甲醇，0% 至 10%) 純化，以得到標題化合物 (收率 16%，灰白色固體)。

【0109】 ¹H NMR (300 MHz, 氯仿-*d*) δ = 8.26 (s, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.54 - 7.46 (m, 3H), 7.34 - 7.29 (m, 2H), 7.00 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 6.87 - 6.79 (m,

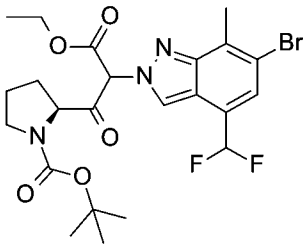
1H), 6.52 (s, 1H), 4.06 - 3.96 (m, 2H), 3.77 - 3.66 (m, 1H), 3.55 - 3.47 (m, 2H), 2.79 - 2.70 (m, 2H), 2.65 - 2.51 (m, 4H), 2.23 - 2.10 (m, 2H), 1.94 - 1.85 (m, 2H), 1.72 - 1.47 (m, 4H) 。 MS (ESI) m/z 594.6 $[M-H]^-$ 。

【0110】 實例 5

【0111】 2-[4-(二氟甲基)-6-[2-[4-[[4-(羥基甲基)-1-哌啶基]甲基]苯基]乙炔基]-7-甲基-吡啶-2-基]-2-(6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)-N-噻唑-2-基-乙醯胺



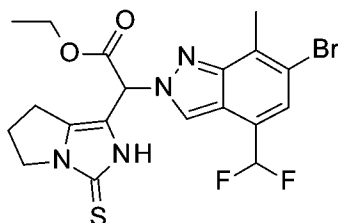
【0112】 步驟 1：(2R)-2-[2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基吡啶-2-基]-3-乙氧基-3-側氧丙醯基]吡咯烷-1-羧酸三級丁酯



【0113】 將 2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-吡啶-2-基]乙酸乙酯 (0.65 g，1.87 mmol，Eq：1.0) 溶解於 THF (7.58 mL) 中，並冷卻至 -75°C 。於 5 分鐘內滴加 LDA (於 THF 中 2 M，1.12 mL，2.25 mmol，Eq：1.20)。將反應混合物於 -75°C 攪拌 40 分鐘。於 -75°C 緩慢添加 (2S)-2-(咪唑-1-羰基)吡咯啉-1-甲酸三級丁酯 (由 (2S)-1-三級丁氧基羰基-4-氟-吡咯啉-2-甲酸製備) (0.77 g，2.9 mmol，Eq：1.55) 於 THF (7.58 mL) 中之溶液，於 -75°C 攪拌 30 分鐘，隨後允許將其升溫至室溫，並於室溫攪拌 18 小時。添加 NH_4Cl 飽和水溶液之后，將反應混合物用 EtOAc 萃取兩次。用水洗滌有機層。將合併之有機層經 Na_2SO_4 乾燥，

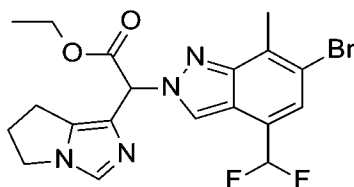
並於真空中濃縮，以得到標題化合物 (1.41 g，純度 72%，收率 99%)，無需進一步純化即直接用於下一步驟。 m/z 544.1, 546.0 $[M+H]^+$, ESI pos. Br 同位素。

【0114】 步驟 2：2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-吡啶-2-基]-2-(3-硫基-2,5,6,7-四氫吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)乙酸乙酯



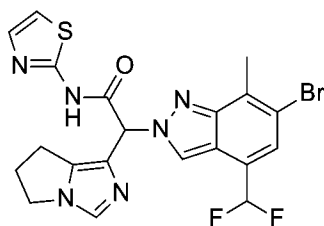
【0115】 類似於實例 7，步驟 5，(2R)-2-[2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基吡啶-2-基]-3-乙氧基-3-側氧丙醯基]吡咯啉-1-甲酸三級丁酯 (1.4 g，純度 72%，1.85 mmol) 用 HCl 4 M 於二噁烷及硫氰酸鉀中處理得到呈棕色油狀物之標題化合物 (1.07 g，純度 85%，收率 100%)，無需進一步純化即用於下一步驟。 m/z 485.0, 486.9 $[M+H]^+$, ESI pos, Br 同位。

【0116】 步驟 3：2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-吡啶-2-基]-2-(6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)乙酸乙酯



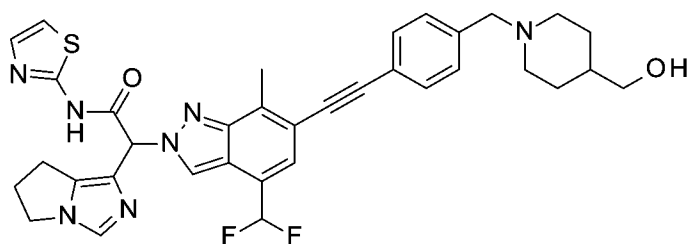
【0117】 類似於實例 7，步驟 6，2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-吡啶-2-基]-2-(3-硫基-2,5,6,7-四氫吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)乙酸乙酯 (1.06 g，純度 85%，1.86 mmol) 用過氧化氫和對甲苯磺酸一水合物處理，以得到呈黃色泡沫之標題化合物 (360 mg，收率 43%)。 m/z 453.0, 454.9 $[M+H]^+$, ESI pos, Br 同位素。

【0118】 步驟 4：2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-吡啶-2-基]-2-(6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)-N-噁唑-2-基-乙醯胺



【0119】 使用類似實例 7，步驟 7 所述之化學法，從 2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-吡啶-2-基]-2-(6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)乙酸乙酯 (實例 5，步驟 3) 及噻唑-2-胺起始，得到呈淺黃色泡沫之標題化合物，MS: $m/e = 509.1/511.1$ ($M+H^+$)。

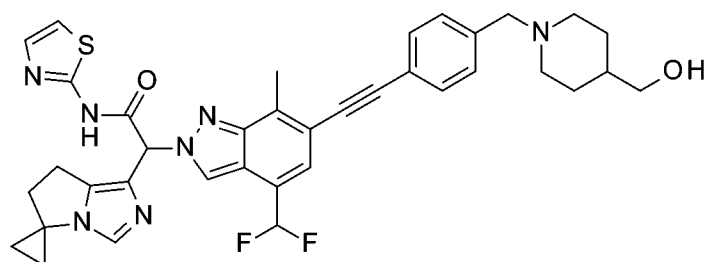
【0120】 步驟 5：2-[4-(二氟甲基)-6-[2-[4-[[4-(羥基甲基)-1-哌啶基]甲基]苯基]乙炔基]-7-甲基-吡啶-2-基]-2-(6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)-N-噻唑-2-基-乙醯胺



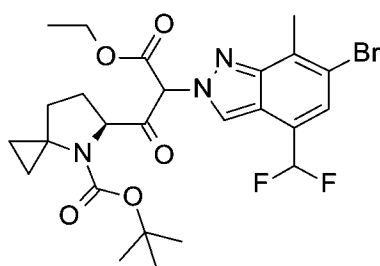
【0121】 使用類似實例 7，步驟 10 所述之化學法，從 2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-吡啶-2-基]-2-(6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)-N-噻唑-2-基-乙醯胺 (實例 5，步驟 4) 及 [1-(4-乙炔基苯基)甲基]-4-哌啶基]甲醇鹽酸鹽 (實例 7，步驟 9) 起始，得到呈棕色固体之標題化合物，MS: $m/e = 656.5$ ($M+H^+$)。

【0122】 實例 6

【0123】 2-[4-(二氟甲基)-6-[2-[4-[[4-(羥基甲基)-1-哌啶基]甲基]苯基]乙炔基]-7-甲基-吡啶-2-基]-2-(5-乙基-5-甲基-6,7-二氫吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)-N-噻唑-2-基-乙醯胺

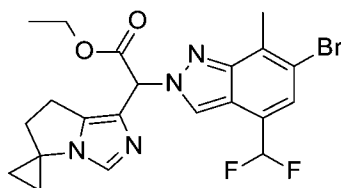


【0124】 步驟 1：(5S)-5-[2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-吡啶-2-基]-3-乙氧基-3-酮-丙醯基]-4-氮雜螺[2.4]庚烷-4-甲酸三級丁酯



【0125】 類似於實例 1，步驟 4，(5S)-4-三級丁氧基羰基-4-氮雜螺[2.4]庚烷-5-甲酸用羰基二咪唑處理得到溶液 A。2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-吡啶-2-基]乙酸乙酯用 LDA 去質子化，並於 -78°C 用溶液 A 處理。於室溫攪拌過夜並類似於實例 7，步驟 4 進行後處理后，得到呈淺黃色泡沫之粗製標題化合物，且無需進一步純化即用於下一步驟。MS: m/e= 572.3 ([M+H]⁺)

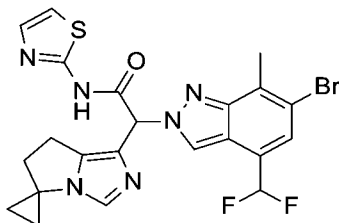
【0126】 步驟 2：2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-吡啶-2-基]-2-螺[6,7-二氮吡咯并[1,2-c]咪唑-5,1'-環丙烷]-1-基-乙酸乙酯



【0127】 類似於實例 1，步驟 5，(5S)-5-[2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-吡啶-2-基]-3-乙氧基-3-酮-丙醯基]-4-氮雜螺[2.4]庚烷-4-甲酸三級丁酯於二噁烷中使用 HCl 脫保護，然後與硫氰酸鉀反應得到粗製中間體，無需進一步純化即用於下一步驟。

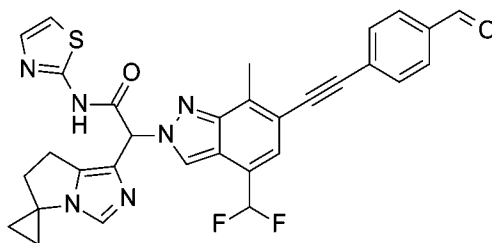
【0128】 類似於實例 7，步驟 6，在 AcOH 中用過氧化氫處理中間體，得到標題化合物，為淺黃色泡沫。MS: $m/e = 481.2$ ($[M+H]^+$)

【0129】 步驟 3：2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-吡啶-2-基]-2-螺[6,7-二氫吡咯并[1,2-c]咪唑-5,1'-環丙烷]-1-基-N-噻唑-2-基-乙醯胺



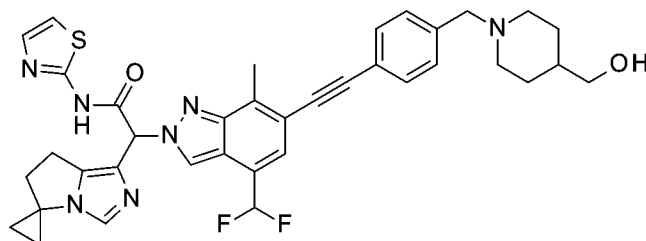
【0130】 使用類似實例 7，步驟 7 所述之化學法，從 2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-吡啶-2-基]-2-螺[6,7-二氫吡咯并[1,2-c]咪唑-5,1'-環丙烷]-1-基-乙酸乙酯 (實例 6，步驟 2) 及噻唑-2-胺起始，得到呈淺黃色泡沫之標題化合物，MS: $m/e = 535.0$ ($M+H^+$)。

【0131】 步驟 4：2-[4-(二氟甲基)-6-[2-(4-甲酰基苯基)乙炔基]-7-甲基-吡啶-2-基]-2-螺[6,7-二氫吡咯并[1,2-c]咪唑-5,1'-環丙烷]-1-基-N-噻唑-2-基-乙醯胺



【0132】 使用類似實例 7，步驟 10 所述之化學法，從 2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-吡啶-2-基]-2-螺[6,7-二氫吡咯并[1,2-c]咪唑-5,1'-環丙烷]-1-基-N-噻唑-2-基-乙醯胺 (實例 6，步驟 3) 及 4-乙炔基苯甲醛起始，得到呈深棕色無定形狀之標題化合物，MS: $m/e = 583.3$ ($M+H^+$)。

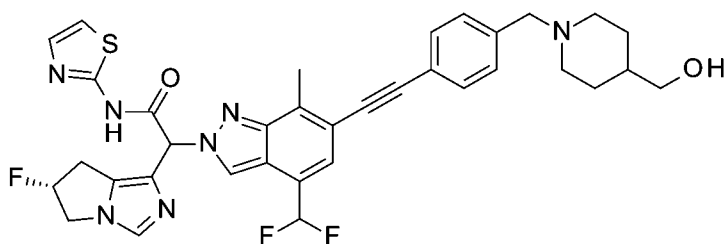
【0133】 步驟 5：2-[4-(二氟甲基)-6-[2-[4-[[4-(羥基甲基)-1-哌啶基]甲基]苯基]乙炔基]-7-甲基-吡啶-2-基]-2-(5-乙基-5-甲基-6,7-二氫吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)-N-噻唑-2-基-乙醯胺



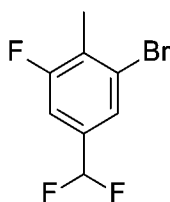
【0134】 使用類似實例 7，步驟 8 中所述之化學法，從 2-[4-(二氟甲基)-6-[2-(4-甲醯基苯基)乙炔基]-7-甲基-吡啶-2-基]-2-螺[6,7-二氫吡咯并[1,2-c]咪唑-5,1'-環丙烷]-1-基-N-噻唑-2-基-乙醯胺 (實例 6，步驟 4) 及吡啶-4-基甲醇起始，得到呈淺黃色固體之標題化合物，MS: m/e = 682.5 (M+H⁺)。

【0135】 實例 7

【0136】 2-[4-(二氟甲基)-6-[2-[4-[[4-(羟基甲基)-1-哌啶基]甲基]苯基]乙炔基]-7-甲基-吡唑-2-基]-2-[(6R)-6-氟-6,7-二氢-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]-N-噻唑-2-基-乙酰胺

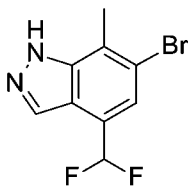


【0137】 步驟 1：1-溴-5-(二氟甲基)-3-氟-2-甲基苯



【0138】 用冰浴冷卻 3-溴-5-氟-4-甲基苯甲醛 (CAS 1370411-47-4, 20.5 g, 89.7 mmol, Eq: 1.0) 之 DCM (98 mL) 溶液。將三氟化[口末]啉代硫 (CAS 51010-74-3, 24.8 g, 17.3 mL, 135 mmol, Eq: 1.5) 分批添加。將反應混合物於 0°C 至 5°C 攪拌 20 分鐘，隨後於室溫攪拌 16 小時。用冰冷卻，小心添加 NaHCO₃ 飽和水溶液 (300 mL)。將反應混合物於室溫攪拌 1 小時。將反應混合物倒入 DCM 中，並用水洗滌。有機層經 Na₂SO₄ 乾燥並在真空中濃縮。藉由快速層析法 (矽膠, 120 g, 100% 戊烷) 純化粗物質，得到呈無色油狀的標題化合物 (18.6 g, 87% 產率)。¹H NMR (300 MHz, 氯仿-d) δ = 7.50 (s, 1H), 7.16 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 6.57 (t, J = 56.0 Hz, 1H), 2.50 - 2.22 (m, 3H)

【0139】 步驟 2：6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-1H-吡啶

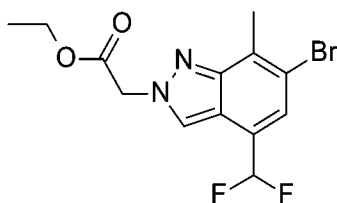


【0140】 將 1-溴-5-(二氟甲基)-3-氟-2-甲基苯 (實例 1, 步驟 1) (26.4 g, 110 mmol, Eq: 1.0) 於 THF (240 mL) 中之溶液冷卻至 -75°C。於低於 -70°C 滴加 LDA (於 THF/庚烷/乙苯中 2 M, 66.3 mL, 133 mmol, Eq: 1.2)。將反應混合物於 -75°C 攪拌 30 分鐘。於低於 -70°C 添加甲酸乙酯 (16.4 g, 17.7 mL, 220 mmol, Eq: 2.0)。將反應混合物於 -75°C 攪拌 30 分鐘。於低於 -55°C 添加 AcOH (16.6 g, 15.8 mL, 277 mmol, Eq: 2.5)。允許將反應混合物升溫至室溫，並倒入 EtOAc 中並用稀 HCl 水溶液、水及鹽水洗滌。有機層經 Na₂SO₄ 乾燥並在真空中濃縮，得到推測的 4-溴-6-(二氟甲基)-2-氟-3-甲基苯甲醛為黃色油狀物 (29.5 g)，其無需進一步純化即可使用。

【0141】 將粗推測的 4-溴-6-(二氟甲基)-2-氟-3-甲基苯甲醛 (29.5 g) 溶解在 DME (150 mL) 中。添加 *O*-甲基羥胺鹽酸鹽 (10.2 g, 122 mmol, Eq: 1.84) 及

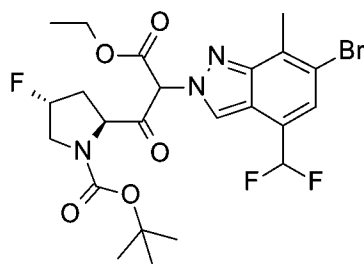
K_2CO_3 (30.6 g, 221 mmol, Eq: 3.34)。將反應混合物於 45°C 攪拌 2.5 小時，隨後透過燒結玻璃過濾並用 DME (2 x) 洗滌。濾液在真空中濃縮。將呋喃中間體溶解在 DMSO (150 mL) 中。添加水合肼 (83 g, 80.5 mL, 1.66 mol, Eq: 25)。將反應混合物於 110°C 攪拌 3 小時。將反應混合物倒入 5:1 EtOAc/THF 中並用水及鹽水洗滌。有機層經 Na_2SO_4 乾燥並在真空中濃縮。將粗製材料藉由急速層析 (矽膠, 2 x 120 g, 於庚烷中之 EtOAc, 0% 至 30%) 純化, 以得到呈白色固體之標題化合物 (13.5 g, 收率 74%)。 m/z 258.9, 260.8 $[M+H]^+$, ESI pos, Br 同位素。

【0142】 步驟 3：2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-呋啶-2-基]乙酸乙酯

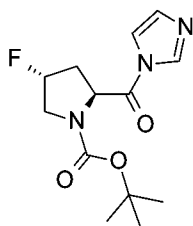


【0143】 向 6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-1H-呋啶 (實例 1, 步驟 2) (19 g, 72.8 mmol, Eq: 1.0) 之 DMF (75 mL) 溶液中添加 2-溴乙酸乙酯 (18.2 g, 12.2 mL, 109 mmol, Eq: 1.5)。將反應混合物於 100°C 攪拌 16 小時。將反應混合物倒入 EtOAc 中並用水及鹽水洗滌。有機層經 Na_2SO_4 乾燥並在真空中濃縮。將粗製材料藉由急速層析 (矽膠, 2 x 120 g, 於庚烷中之 EtOAc, 0% 至 20%) 純化, 以得到呈黃色固體之標題化合物 (21.2 g, 收率 80%)。 m/z 346.9, 348.8, $[M+H]^+$, ESI pos, Br 同位素。

【0144】 步驟 4：(2S,4R)-2-[2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-呋啶-2-基]-3-乙氧基-3-側氧-丙醯基]-4-氟-吡咯烷-1-羧酸三級丁酯



【0145】 (2S,4R)-4-氟-2-(咪唑-1-羰基)吡咯烷-1-羧酸三級丁酯的製備：

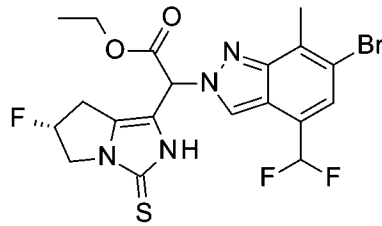


【0146】 於 0°C 向 (2S,4R)-1-丁氧基羰基-4-氟-吡咯啉-2-甲酸 (CAS 203866-14-2, 30 g, 129 mmol, Eq: 1.0) 於 DCM (300 mL) 中之溶液分批添加 1,1'-羰基二咪唑 (25 g, 154 mmol, Eq: 1.2)。將反應混合物於室溫攪拌 3 小時。用水 (3x) 及 1M NaHCO₃ 水溶液 (1x) 洗滌反應混合物。有機層經 Na₂SO₄ 乾燥並在 30°C 在真空中濃縮，得到 (2S,4R)-4-氟-2-(咪唑-1-羰基)吡咯烷-1-羧酸三級丁酯 (36.6 g, 129 mmol, 100% 產率)，為白色固體，使用前該白色固體儲存於 -20°C。¹H NMR (氯仿-d, 300 MHz) δ 8.27 (s, 1H), 7.56 (br d, 1H, J=1.4 Hz), 7.15 (br d, 1H, J=12.1 Hz), 4.9-5.2 (m, 1H), 3.6-4.1 (m, 2H), 2.0-2.9 (m, 2H), 1.2-1.5 (m, 9H)。

【0147】 將 KO^tBu (4.53 g, 40.3 mmol, Eq: 2.0) 溶解於 THF (18 mL) 中。將反應混合物冷卻至 -55°C。於低於 -50°C 滴加 2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-1H-咪唑-2-基]乙酸乙酯 (實例 1, 步驟 3) (7 g, 20.2 mmol, Eq: 1.0) 於 THF (24 mL) 中之溶液。將反應混合物於 -50°C 與 -55°C 之間攪拌 1 小時。於低於 -50°C 滴加先前製備的 (2S,4R)-4-氟-2-(咪唑-1-羰基)吡咯啉-1-甲酸三級丁酯 (6.85 g, 24.2 mmol, Eq: 1.2) 於 THF (50 mL) 中之溶液。將反應混合物於 -50°C 攪拌 15 分鐘，隨後允許將其升溫至 -30°C。於低於 -20°C 添加 10% 檸檬酸水溶液 (60

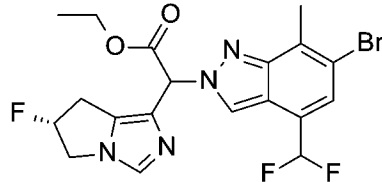
mL)，且將混合物於 0°C 攪拌 1 小時。將反應混合物倒入 EtOAc 中，並用水及鹽水洗滌。將有機層經 Na₂SO₄ 乾燥，並於 30°C 於真空中濃縮，以得到呈黃色無定形半固體之標題化合物 (12.9 g，20.2 mmol，純度 88%，收率 100%)。m/z 562.1, 563.9 [M+H]⁺, ESI pos, Br 同位素。

【0148】 步驟 5：2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-吡啶-2-基]-2-[(6R)-6-氟-3-硫基-2,5,6,7-四氫吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]乙酸乙酯



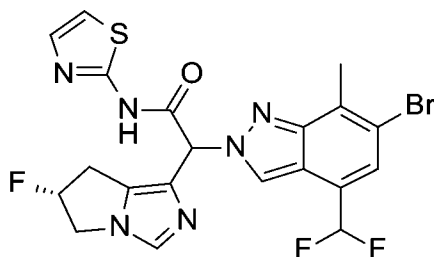
【0149】 向 (2S,4R)-2-[2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-吡啶-2-基]-3-乙氧基-3-側氧-丙醯基]-4-氟-吡咯烷-1-羧酸三級丁酯 (實例 1，步驟 4) (12.9 g，20.2 mmol，Eq: 1.0) 之乙醇 (24 mL) 溶液中添加 HCl (1.25 M 的乙醇溶液，80.6 mL，101 mmol，Eq: 5.0)。將反應混合物於 55°C 攪拌 1 小時。將反應混合物冷卻至室溫，隨後添加水 (6 mL) 及硫氰酸鉀 (2.55 g，26.2 mmol，Eq: 1.3)。將反應混合物於 rt 攪拌 30 min。在 30°C 在真空中除去乙醇並且添加吡啶 (23.9 g，24.5 mL，302 mmol，Eq: 15)。將反應混合物於室溫攪拌 75 分鐘。將反應混合物倒入 EtOAc 中並用 2 N HCl 水溶液 (直到水相 pH 為 1)、水及鹽水洗滌。將有機層經 Na₂SO₄ 乾燥，並於真空中濃縮，以得到呈黃色半固體之標題化合物 (9.65 g，純度 60%，收率 57%)。m/z 502.9, 505.9 [M+H]⁺, ESI pos, Br 同位素。

【0150】 步驟 6：2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-吡啶-2-基]-2-[(6R)-6-氟-6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]乙酸乙酯



【0151】 在 0-3°C 向對甲苯磺酸一水合物 (10.9 g, 57.5 mmol, Eq: 5.0) 之乙腈 (70 mL) 懸浮液中逐滴滴加過氧化氫 (35% aq., 8.38 g, 7.42 mL, 86.3 mmol, Eq: 7.5), 得到無色溶液。10 分鐘之後, 於低於 8°C 滴加 2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-吡啶-2-基]-2-[(6R)-6-氟-3-硫側氧-2,5,6,7-四氫吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]乙酸乙酯 (實例 1, 步驟 5) (9.65 g, 11.5 mmol, Eq: 1.0) 於乙腈 (28 mL) 中之溶液。將反應混合物於 0°C 攪拌 1.5 小時。將反應混合物倒入 EtOAc 中, 並用 Na₂CO₃ 溶液及鹽水洗滌。有機層經 Na₂SO₄ 乾燥並在真空中濃縮。藉由快速層析法 (矽膠, 120 g, 在庚烷中 0% 至 60% (EtOAc/EtOH/aq.NH₃ 75:25:2)) 純化粗製材料, 以得到呈黃色泡沫之標題化合物 (3.96 g, 收率 73%)。m/z 469.1, 471.1 [M+H]⁺, ESI pos。

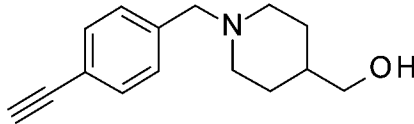
【0152】 步驟 7: 2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-吡啶-2-基]-2-[(6R)-6-氟-6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]-N-噻唑-2-基-乙醯胺



【0153】 將 2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-吡啶-2-基]-2-[(6R)-6-氟-6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]乙酸乙酯 (實例 1, 步驟 6) (200 mg, 0.424 mmol) 溶解於 2 ml 甲醇及 2 ml THF 中。在室溫添加 LiOH (1M 水溶液) (0.4 ml, 0.424 mmol, Eq: 1.0)。將混合物在室溫攪拌 2 小時。將反應混合物在真空中濃縮至乾燥, 並將殘餘物溶於 2 ml DMF 中。在室溫添加噻唑-2-胺 (42 mg, 0.424 mmol, Eq: 1.0)、Hunig 鹼 (0.37 ml, 2.12 mmol, Eq: 5.0) 及 HATU (194 mg, 0.509 mmol, Eq: 1.2)。將混合物在室溫攪拌 90 分鐘。以水萃取反應混合物, 並以乙酸乙酯萃取兩次。以水萃取有機層, 在硫酸鈉上乾燥並濃縮至乾燥。將

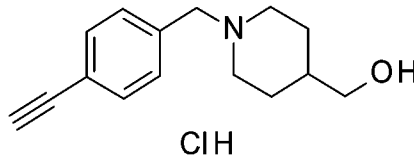
粗產物藉由急速層析，在以二氯甲烷:甲醇 100:0 至 90:10 之梯度溶析之矽凝膠管柱上純化，以獲得呈淺棕色固體之所需產物 (115 mg，收率 49%)，MS：
 $m/e = 527.1 (M+H^+)$ 。

【0154】 步驟 8：[1-[(4-乙炔基苯基)甲基]-4-哌啶基]甲醇



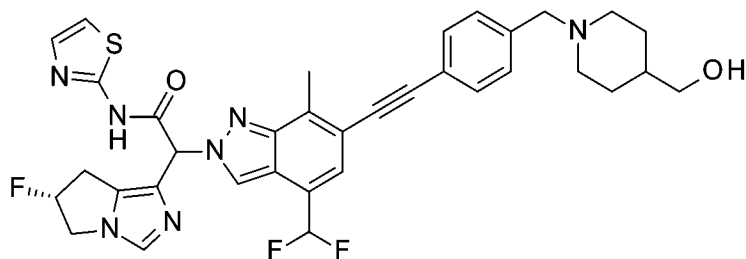
【0155】 將 4-乙炔基苯甲醛 (20.5 g，157.5 mmol) 溶於 525 ml 二氯甲烷中。在室溫添加哌啶-4-基甲醇 (20 g，173.2 mmol，Eq: 1.1) 及三乙醯氧基硼氫化鈉 (53.4 g，252.0 mmol，Eq: 1.6)。混合物於室溫攪拌 4 小時。用 1M 碳酸鈉溶液萃取反應混合物，並用二氯甲烷萃取兩次。將有機層經硫酸鈉乾燥，並濃縮至乾燥，以獲得呈淺黃色固體之所需產物 (34.8 g，收率 91%)，MS: $m/e = 527.1 (M+H^+)$ 。

【0156】 步驟 9：[1-[(4-乙炔基苯基)甲基]-4-哌啶基]甲醇鹽酸鹽



【0157】 將 [1-[(4-乙炔基苯基)甲基]-4-哌啶基]甲醇 (實例 1，步驟 8) (34.8 g) 溶解於 200 ml 四氫呋喃中。於 10°C 至 20°C 滴加 1,4-二噁烷 (39.4 ml，158 mmol，Eq: 1.0) 中之 4 M 氯化氫溶液。形成白色沉澱，並將其攪拌 2 小時。藉由過濾收集沉澱，用三份 50 ml 四氫呋喃來洗滌，並於真空中乾燥，以得到呈白色固體之標題化合物 (38.6 g，92%)，MS: $m/e = 527.1 (M+H^+)$ 。

【0158】 步驟 10：2-[4-(二氟甲基)-6-[2-[4-[[4-(羥基甲基)-1-哌啶基]甲基]苯基]乙炔基]-7-甲基-吡啶-2-基]-2-[(6R)-6-氟-6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]-N-噻唑-2-基-乙醯胺



【0159】 將 2-[6-溴-4-(二氟甲基)-7-甲基-吡啶-2-基]-2-[(6R)-6-氟-6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]-N-噻唑-2-基-乙醯胺 (實例 1，步驟 7) (100 mg，0.19 mmol) 及 [1-[(4-乙炔基苯基)甲基]-4-哌啶基]甲醇鹽酸鹽 (實例 1，步驟 9) (76 mg，0.286 mmol，Eq: 1.5) 溶解在 5 ml DMF 中。添加三乙胺 (0.1 ml，0.76 mmol，Eq: 4.0)、雙-(三苯基膦)-二氯化鈣 (II) (7 mg，0.01 mmol，Eq: 0.05)、三苯基膦 (5 mg，0.019 mmol，Eq: 0.1) 及碘化銅 (I) (2 mg，0.01 mmol，Eq: 0.05) 並將混合物在 80°C 攪拌 2 小時。將反應混合物用水萃取並且用二氯甲烷萃取三次。將有機層在硫酸鈉上乾燥並濃縮至乾燥。將粗產物藉由急速層析，在以二氯甲烷:甲醇 100:0 至 75:25 之梯度溶析之矽凝膠管柱上純化，以獲得呈淺棕色固體之所需產物 (7 mg，收率 5%)，MS: m/e = 674.5 (M+H⁺)。

【0160】 實施例 8-活體外表徵

【0161】 細胞系

【0162】 穩定表現 EGFR 突變體 L858R (#2039)、L858R/C797S (#C2052) 及 L858R/T790M/C797S (#2056) 之 Ba/F3 細胞系購自 CrownBio。NCI-H1975 細胞 (#CRL-5908)、NCI-H2073 細胞 (#CRL-5918) 及 A431 細胞 (#CRL-1555) 購自 ATCC。NCI-H3255 細胞係從 NCI 獲得 (#CVCL_6831)。將細胞保持於處於 37°C 及 5% CO₂ 的加濕孵育箱中。將 Ba/F3 EGFR-LR、Ba/F3 EGFR-LRTM、Ba/F3 EGFR-LRCS 及 Ba/F3 EGFR-LRTMCS 細胞於補充有 10% 胎牛血清 (FBS; VWR #07068-085) 的 RPMI 1640 GlutaMAX 培養基 (Thermo Fisher Scientific #61870010) 中生長。將 NCI-H1975、NCI-H3255、NCI-H2073、A431

及 PC-9 細胞於補充有 10% FBS 具有 ATCC 修飾之 RPMI 1640 培養基 (Thermo Fisher Scientific #A10491) 中培養。透過短串聯重複序列 PCR 分析 (僅人類細胞系) 及 MALDI-TOF 分析來進行對細胞系身份及其他細胞系的交叉污染之不存在之驗證。透過經套組 (MycoAlert™ 菌質體檢測套組 (Lonza #LT07-318)) 測試無抗生素培養細胞 10 至 14 日，驗證了菌質體污染之不存在。對於所有描述的實驗，所有細胞系在解凍之後用於傳代不超過 20 代。

【0163】勻相時間分辨螢光 (HTRF) 細胞測定

【0164】對於勻相時間分辨螢光 (HTRF) 測定，將細胞轉移至含有 10% FBS 的 RPMI 1640 無酚紅培養基 (Thermo Fisher Scientific #11835063) 中，並以 12 μ l/孔之體積以下列密度接種至 384 孔板 (Greiner #781080) 中：15'000 個細胞/孔 (Ba/F3)、16'000 個細胞/孔 (H1975) 及 10'000 個細胞/孔 (H3255)。將 5'000 個細胞/孔 (H2073) 及 10'000 個細胞/孔 (A-431) 以 11 μ l/孔之體積接種。亦製備了僅具有培養基之對照孔。將板以 300 g 離心 30 秒，並於 37°C 孵育過夜。次日，將化合物以 1/4 對數稀釋度添加至範圍為 0.316 nM 至 10 mM 之濃度，且相應地補償 DMSO (Sigma #D2650) 至最終含量 0.1%。將板於 37°C 孵育 4 小時。特定而言對於 H2073 及 A-431 細胞，4 小時孵育之後將 1 μ l 之 300 ng/ml EGF (最終濃度 25 ng/ml) 添加至各孔中，且將細胞於 37°C 再孵育 5 分鐘。細胞最終於由套組提供之 HTRF 裂解緩衝液 (見下文) 中裂解，並儲存於 -80°C 直至進一步使用為止。隨後依據製造商之說明對 pEGFR (CisBio #64EG1PEH) 或 pERK (CisBio #64AERPEH) 進行 HTRF 測定。

【0165】細胞活力測定

【0166】對於細胞活力測定，將含有 10% FBS 的生長培養基中的 Ba/F3 細胞以 50 μ l 中 2'000 個個細胞/孔接種於 384 孔黑色透明底板 (Falcon #353962) 中，且以 1/4 對數稀釋度將化合物添加至範圍從 0.316 nM 至 10 mM 之濃度，並相應

地補償 DMSO (Sigma #D2650) 至最終含量 0.1%。將板於 37°C 孵育 72 小時。用化合物處理之後，添加 25 µl/孔 CellTiter-Glo 2.0 試劑 (Promega #G9243) 且將板於室溫孵育 10 分鐘，並依據製造商之方案對發光進行定量。

【0167】 活體外代謝穩定性

【0168】 於人及大鼠短期肝細胞懸浮液中評定活體外代謝穩定性。將從 BioIVT (Westbury, NY, USA) 獲得的原代池化凍存肝細胞解凍，並懸浮於補充有 10% 胎牛血清的 William E 培養基中。將經懸浮的肝細胞於 37°C (5% CO2) 預孵育，並藉由添加化合物啟動反應。最終測定條件為：1 µM 化合物 (最終測定溶劑濃度為 0.01% 的 DMSO)，1 x 10⁶ 個肝細胞/mL 孵育。隨後將混合物於 37°C (5% CO2) 孵育至多 2 小時。藉由將樣品放在乾冰上停止反應，隨後於 -80°C 儲存，直至藉由 LC-MS/MS 進行分析為止。將孵育樣品中初始藥物濃度百分比之自然對與時間作圖，並使用針對 Windows 的 GraphPad Prism 7.04 版 (GraphPad Software, La Jolla, CA) 應用線性回歸分析來定義斜率。由線性回歸之斜率 (-斜率) 計算活體外肝細胞內在肝細胞清除率 (CL_{int})，其中 V 表示以 µL 為單位的孵育之體積，且 N 表示每次孵育之肝細胞數，如公式 X 中所詳述，

$$\text{活體外 } CL_{int} \cdot \left(\frac{\frac{\mu L}{\text{min}}}{\text{百萬肝細胞}} \right) = \frac{-\text{斜率} * V * \text{百萬個肝細胞}}{N}$$

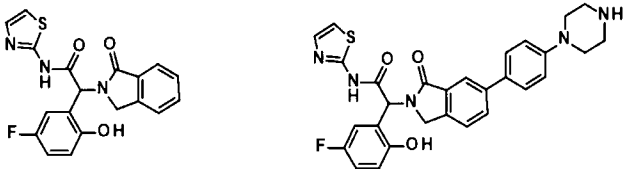
【0169】 表 1 及表 2 示出各種活體外測定之結果

【0170】 表 1.實例 1 至 6 以及參考化合物 JBJ-04-125-02 及 EAI045 之活體外資料

化合物	pEGFR IC ₅₀ (nM)		存活率 IC ₅₀ / IC ₉₀ (nM)		CL _{int} (μL/min/10 ⁶ 細胞) ^c	
	L858R/ T790M/ C797S	L858R/ C797S	L858R/ T790M/ C797S	L858R/ C797S	小鼠	人
實例 1	6	17	13 / 33	12 / 32	16	3.5
實例 2	7	8	8 / 19	4 / 10	21	6.1
實例 3	10	20	16 / 38	3 / 8	25	5.9
實例 4	6	106	9 / 22	800/ 2'800	n.a.	n.a.
實例 5	3	23	1 / 3	2 / 5	36	2.4
實例 6	2	20	1/2	2/2	25	1
JBJ-04-125-02	10	100	30/40	1'550/ 7'280	n.a.	n.a.
EAI045	6	460	424/2251	>3'300/ >3'300	n.a.	n.a.

^a 用 HTRF 測定分別於穩定表現 EGFR^{L858R/C797S} 及 EGFR^{L858R/T790M/C797S} 的 Ba/F3 細胞系中確定的針對 pEGFR 抑制之 IC₅₀。^b 經由細胞滴度 glo 測定分別於穩定表現 EGFR^{L858R/C797S} 及 EGFR^{L858R/T790M/C797S} 的 Ba/F3 細胞系中確定的 IC₉₀ 及 IC₅₀。^c 肝臟肝細胞中的內在清除率。

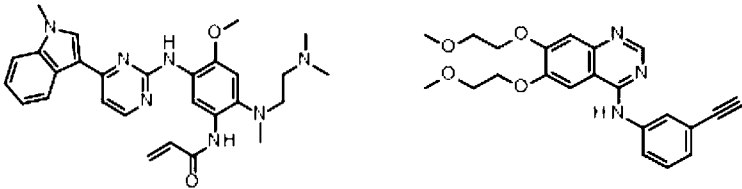
【0171】 參考化合物 EAI045 (左) 及 JBJ-04-125-02 (右)：



【0172】 表 2. EGFR 抑制劑於表現 WT EGFR、EGFR^{L858R} 或 EGFR^{L858R/T790M} 的人類癌症細胞中之 IC₅₀(nM) 值。

化合物	H2073 EGFR WT	A431 EGFR WT	H3255 EGFR LR	H1975 EGFR LRTM
實例 1	約 2'000	約 2.500	16	7
實例 6	545	577	16	8
JBJ-04-125-02	3'910	4'213	428	11
奧希替尼	240	322	40	30
厄洛替尼	17*	92*	40	>5'000

【0173】 正位 EGFR 抑制劑奧希替尼 (左) 及厄洛替尼 (右)：



【0174】 實例 9- 活體內功效研究

【0175】 這些研究係於德國 Charles River Discovery Research Service GmbH 進行。

【0176】 將小鼠保持於無病原體條件下，其中進行 12 小時光照/12 小時黑暗之每日循環。實驗依照動物福利指南 (歐洲實驗動物科學協會聯合會) 進行，且研究方案由當地政府審查及核准。

【0177】 透過將細胞注射 (1x10⁷) 至雌性 Balb/c 裸鼠之右側，建立具有 Ba/F3 細胞克隆的皮下細胞系衍生模型。當腫瘤於大小方面達到 100 至 200 mm³ 時，

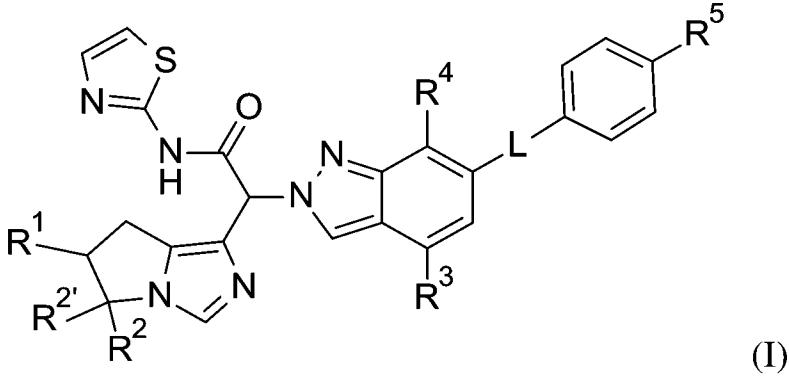
於隨機化之後啟動化合物治療。對於人 NSCLC NCI-H1975 之皮下細胞系衍生異種移植物模型，將 5×10^6 個細胞注射至雌性 Balb/c 小鼠之右側，該等小鼠於腫瘤達到約 150 mm^3 之後經隨機化並分配至治療群組。於立體定向裝置之支持下進行接種程序，且使用吸入面罩用異氟醚/ O_2 進行針對手術之麻醉。

【0178】 別位 EGFR 抑制劑實例 6 係以水中 10% PEG400 及 5% solutol 經調配，且奧希替尼與係以水中 1% DMSO 及 30% PEG300 經調配。每日口服治療開始於小鼠之隨機化之後。透過定期卡尺量來測監測各個腫瘤體積，並依據公式 $(TV = (\text{長度} \times \text{寬度}^2))$ 對其進行計算。針對各別研究群組的腫瘤體積示出沿研究觀察期的均值，SEM 以 mm^3 為單位。所有原始資料均從本地資料庫導出至欄標限制的 csv 文件中，並使用統計軟體 R 進行處理，並用 Shiny (腳本，由 S. Wilson 博士於 PS BIOMICS，RICB 編寫) 進行可視化。

【0179】 關於原發性腫瘤生長之資料於研究 D38 (控制之最後一日) 使用非參數方法進行統計分析，因為資料顯示不對稱表現。簡言之，在隨機化雙樣品設計中，計算治療與控制比 (TCR) 及其雙側參數 (Fieller, 1954) 或非參數 (Hothorn and Munzel, 2000) 信賴區間 (CI) (1-a)。低於 1.0 之 TCR 指示腫瘤生長抑制，其中 CI 反映資料分佈。低於 1.0 之上 CI 證實統計學意義。依據下列公式計算腫瘤生長抑制率： $100 - [\text{平均}(TV_{\text{治療}} - TV_{\text{基線}}) / \text{平均}(TV_{\text{媒劑}} - TV_{\text{基線}})]$ ，基於中位數。依據下列公式計算腫瘤消退率： $\text{平均} [(TV_{\text{基線}} - TV_{\text{治療}}) / TV_{\text{基線}}] \times 100$ ，基於中位數。正值指示腫瘤消退。

【0180】 具體編號的實施例

1. 一種別位 EGFR 抑制劑及正位 EGFR 抑制劑之組合，其中該別位 EGFR 抑制劑為式 (I) 化合物，



其中

L 為鍵或伸炔基；

R¹ 為氫或鹵素；

R² 及 R^{2'} 獨立地選自氫及烷基；

或 R² 及 R^{2'} 與其所接附的碳原子一起形成環烷基；

R³ 為氫、鹵素或鹵烷基；

R⁴ 為烷基或鹵素；

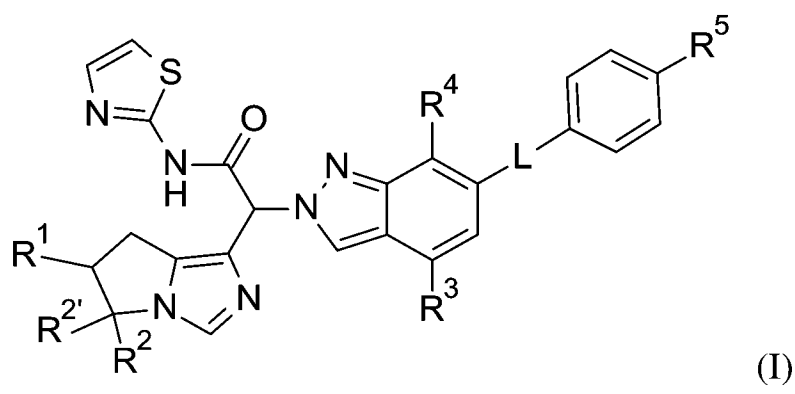
R⁵ 為(雜環烷基)伸烷基或雜環烷基，其中(雜環烷基)伸烷基視情況經一個或兩個獨立地選自 R⁶ 之取代基取代，且其中雜環烷基視情況經一個或兩個獨立地選自 R⁷ 之取代基取代；

R⁶ 在各情況下獨立地選自烷基、環烷基、羥基及羥基烷基；且

R⁷ 在各情況下獨立地選自烷基、環烷基、羥基及羥基烷基；

或其醫藥上可接受之鹽。

2. 如實施例 1 之組合，其中該別位 EGFR 抑制劑為式 (I) 化合物，



其中

L 為鍵或伸炔基；

R¹ 為氫或鹵素；

R² 及 R^{2'} 獨立地選自氫及烷基；

或 R² 及 R^{2'} 與其所接附的碳原子一起形成環烷基；

R³ 為氫、鹵素或鹵烷基；

R⁴ 為烷基或鹵素；

R⁵ 為(雜環烷基)伸烷基或雜環烷基，其中(雜環烷基)伸烷基視情況經一個或兩個獨立地選自 R⁶ 之取代基取代，且其中雜環烷基視情況經一個或兩個獨立地選自 R⁷ 之取代基取代；

R⁶ 在各情況下獨立地選自烷基、環烷基、羥基及羥基烷基；且

R⁷ 在各情況下獨立地選自烷基、環烷基、羥基及羥基烷基。

3. 如實施例 1 或 2 之組合，其中 L 為鍵或伸乙炔基。

4. 如實施例 1 至 3 中任一項之組合，其中 R¹ 為氫或氟。

5. 如實施例 1 至 4 中任一項之組合，其中 R² 及 R^{2'} 為氫或與其所接附的碳原子一起形成環丙基。

6. 如實施例 1 至 5 中任一項之組合，其中 R³ 為鹵素或鹵烷基。

7. 如實施例 1 至 6 中任一項之組合，其中 R³ 為氯或二氟甲基。

8. 如實施例 1 至 7 中任一項之組合，其中 R⁴ 為甲基或氯。

9. 如實施例 1 至 8 中任一項之組合，其中 R⁵ 為視情況經羥基甲基取代的嗎啉基或哌啶基亞甲基 (piperidinylmethylene)。

10. 如實施例 1 至 9 中任一項之組合，其中該式 (I) 化合物係選自

2-[4,7-二氯-6-(4-N-嗎啉基苯基)吡啶-2-基]-2-[(6R)-6-氟-6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]-N-噻唑-2-基-乙醯胺；

2-[4-(二氟甲基)-7-甲基-6-(4-N-嗎啉基苯基)吡啶-2-基]-2-[(6R)-6-氟-6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]-N-噻唑-2-基-乙醯胺；

2-[4-(二氟甲基)-7-甲基-6-(4-N-嗎啉基苯基)吡啶-2-基]-2-螺[6,7-二氫吡咯并[1,2-c]咪唑-5,1'-環丙烷]-1-基-N-噻唑-2-基-乙醯胺；

2-[4-(二氟甲基)-6-[2-[4-[[4-(羥基甲基)-1-哌啶基]甲基]苯基]乙炔基]-7-甲基-吡啶-2-基]-2-(6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)-N-噻唑-2-基-乙醯胺；以及

2-[4-(二氟甲基)-6-[2-[4-[[4-(羥基甲基)-1-哌啶基]甲基]苯基]乙炔基]-7-甲基-吡啶-2-基]-2-(5-乙基-5-甲基-6,7-二氫吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)-N-噻唑-2-基-乙醯胺。

11. 如實施例 1 至 9 中任一項之組合，其中該式 (I) 化合物為 2-[4,7-二氯-6-(4-N-嗎啉基苯基)吡啶-2-基]-2-[(6R)-6-氟-6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]-N-噻唑-2-基-乙醯胺。

12. 如實施例 1 至 9 中任一項之組合，其中該式 (I) 化合物為 2-[4-(二氟甲基)-7-甲基-6-(4-N-嗎啉基苯基)吡啶-2-基]-2-[(6R)-6-氟-6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]-N-噻唑-2-基-乙醯胺。

13. 如實施例 1 至 9 中任一項之組合，其中該式 (I) 化合物為 2-[4-(二氟甲基)-7-甲基-6-(4-N-嗎啉基苯基)吡啶-2-基]-2-螺[6,7-二氫吡咯并[1,2-c]咪唑-5,1'-環丙烷]-1-基-N-噻唑-2-基-乙醯胺。

14. 如實施例 1 至 9 中任一項之組合，其中該式 (I) 化合物為 2-[4-(二氟甲基)-6-[2-[4-[[4-(羥基甲基)-1-哌啶基]甲基]苯基]乙炔基]-7-甲基-吡啶-2-基]-2-(6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)-N-噻唑-2-基-乙醯胺。

15. 如實施例 1 至 9 中任一項之組合，其中該式 (I) 化合物為 2-[4-(二氟甲基)-6-[2-[4-[[4-(羥基甲基)-1-哌啶基]甲基]苯基]乙炔基]-7-甲基-吡啶-2-基]-2-(5-乙基-5-甲基-6,7-二氫吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)-N-噻唑-2-基-乙醯胺。

16. 如實施例 1 至 15 中任一項之組合，其中該正位 EGFR 抑制劑係選自西妥昔單抗、帕尼單抗、奧希替尼、厄洛替尼、吉非替尼、耐昔妥珠單抗、來那替尼、拉帕替尼、凡德他尼、布加替尼、阿爾莫替尼、拉澤替尼及伏美替尼或其醫藥上可接受之鹽，特定而言選自奧希替尼、阿爾莫替尼、拉澤替尼及伏美替尼或其醫藥上可接受之鹽。

17. 如實施例 1 至 16 中任一項之組合，其中該正位 EGFR 抑制劑為奧希替尼或其醫藥上可接受之鹽。

18. 如實施例 1 至 16 中任一項之組合，其中該正位 EGFR 抑制劑為阿爾莫替尼或其醫藥上可接受之鹽。

19. 如實施例 1 至 16 中任一項之組合，其中該正位 EGFR 抑制劑為拉澤替尼或其醫藥上可接受之鹽。

20. 如實施例 1 至 16 中任一項之組合，其中該正位 EGFR 抑制劑為伏美替尼或其醫藥上可接受之鹽。

21. 如實施例 1 至 16 中任一項之組合，其用為治療活性物質。

22. 一種醫藥組成物，其包含如實施例 1 至 20 中任一項之組合及治療惰性載劑。

23. 如實施例 1 至 20 中任一項之組合，其用於治療或預防癌症，特定而言非小細胞肺癌。

24. 如實施例 1 至 20 中任一項之組合用於治療或預防癌症，特定而言非小細胞肺癌之用途。

25. 如實施例 1 至 20 中任一項之組合用於製備藥物之用途，該藥物用於治療或預防癌症，特定而言非小細胞肺癌。

26. 如實施例 1 至 20 中任一項之組合用於製備藥物之用途，該藥物用於治療或預防非小細胞肺癌。

27. 一種治療或預防癌症，特定而言非小細胞肺癌之方法，該方法包含向有需要之患者投予有效量之如實施例 1 至 20 中任一項之組合。

28. 如實施例 21 至 27 中任一項之組合、用途、方法或醫藥組成物，其中別位 EGFR 抑制劑及正位 EGFR 抑制劑兩者係口服投予。

29. 如實施例 21 至 28 中任一項之組合、用途、方法或醫藥組成物，其中別位 EGFR 抑制劑係與正位 EGFR 抑制劑同時投予。

30. 如實施例 21 至 29 中任一項之組合、用途、方法或醫藥組成物，其中別位 EGFR 抑制劑及正位 EGFR 抑制劑係共同調配。

31. 如實施例 21 至 28 中任一項之組合、用途、方法或醫藥組成物，其中別位 EGFR 抑制劑及正位 EGFR 抑制劑係依序投予。

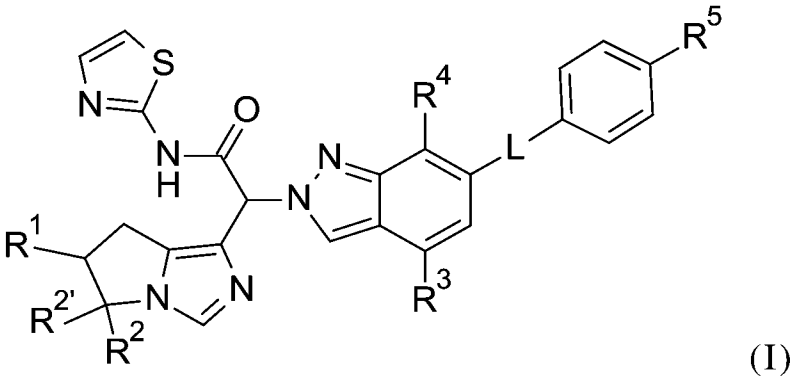
32. 如實施例 23 至 27 中任一項之組合、用途、方法或醫藥組成物，其中癌症係與至少一個選自 del19、L858R、T790M 及 C797S 之 EGFR 突變相關聯。

33. 如實施例 23 至 27 中任一項之組合、用途、方法或醫藥組成物，其中癌症係與至少兩個選自 del19、L858R、T790M 及 C797S 之 EGFR 突變相關聯。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種別位 EGFR 抑制劑及正位 EGFR 抑制劑之組合，其中該別位 EGFR 抑制劑為式 (I) 化合物，



其中

L 為鍵或伸炔基 (alkynylene)；

R¹ 為氫或鹵素；

R² 及 R^{2'} 獨立地選自氫及烷基；

或 R² 及 R^{2'} 與其所接附的碳原子一起形成環烷基；

R³ 為氫、鹵素或鹵烷基；

R⁴ 為烷基或鹵素；

R⁵ 為(雜環烷基)伸烷基或雜環烷基，其中(雜環烷基)伸烷基視情況經一個或兩個獨立地選自 R⁶ 之取代基取代，且其中雜環烷基視情況經一個或兩個獨立地選自 R⁷ 之取代基取代；

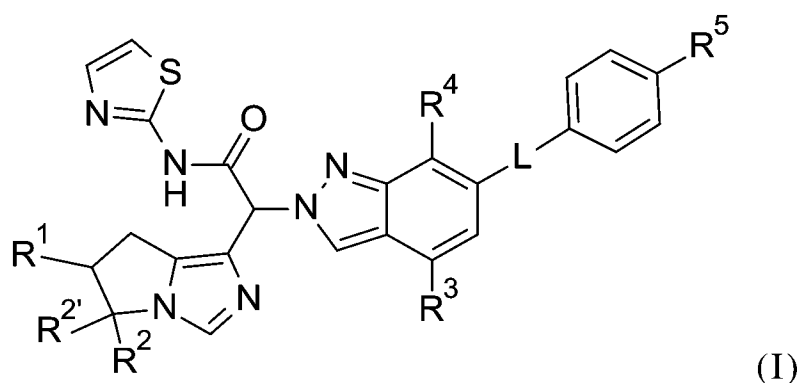
R⁶ 在各情況下獨立地選自烷基、環烷基、羥基及羥基烷基；且

R⁷ 在各情況下獨立地選自烷基、環烷基、羥基及羥基烷基；

或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項2】

如請求項 1 之組合，其中該別位 EGFR 抑制劑為式 (I) 化合物，



其中

L 為鍵或伸炔基；

R^1 為氫或鹵素；

R^2 及 $R^{2'}$ 獨立地選自氫及烷基；

或 R^2 及 R^2 與其所接附的碳原子一起形成環烷基；

R^3 為氫、鹵素或鹵烷基；

R^4 為烷基或鹵素；

R^5 為(雜環烷基)仲烷基或雜環烷基，其中(雜環烷基)仲烷基視情況經一個或兩個獨立地選自 R^6 之取代基取代，且其中雜環烷基視情況經一個或兩個獨立地選自 R^7 之取代基取代；

R⁶ 在各情況下獨立地選自烷基、環烷基、羥基及羥基烷基；且

R⁷ 在各情況下獨立地選自烷基、環烷基、羥基及羥基烷基。

【請求項3】

如請求項 1 或 2 之組合，其中 L 為鍵或伸乙炔基。

【請求項4】

如請求項 1 至 3 中任一項之組合，其中 R¹ 為氫或氟。

【請求項5】

如請求項 1 至 4 中任一項之組合，其中 R^2 及 $R^{2'}$ 為氫或與其所接附的碳原子一起形成環丙基。

【請求項6】

如請求項 1 至 5 中任一項之組合，其中 R^3 為鹵素或鹵烷基。

【請求項7】

如請求項 1 至 6 中任一項之組合，其中 R^3 為氯或二氟甲基。

【請求項8】

如請求項 1 至 7 中任一項之組合，其中 R^4 為甲基或氯。

【請求項9】

如請求項 1 至 8 中任一項之組合，其中 R^5 為視情況經羥基甲基取代的嗎啉基或哌啶基亞甲基 (piperidinylmethylene)。

【請求項10】

如請求項 1 至 9 中任一項之組合，其中該式 (I) 化合物係選自

2-[4,7-二氯-6-(4-N-嗎啉基苯基)吡啶-2-基]-2-[(6R)-6-氟-6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]-N-噻唑-2-基-乙醯胺；

2-[4-(二氟甲基)-7-甲基-6-(4-N-嗎啉基苯基)吡啶-2-基]-2-[(6R)-6-氟-6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]-N-噻唑-2-基-乙醯胺；

2-[4-(二氟甲基)-7-甲基-6-(4-N-嗎啉基苯基)吡啶-2-基]-2-螺[6,7-二氫吡咯并[1,2-c]咪唑-5,1'-環丙烷]-1-基-N-噻唑-2-基-乙醯胺；

2-[4-(二氟甲基)-6-[2-[4-[[4-(羥基甲基)-1-哌啶基]甲基]苯基]乙炔基]-7-甲基-吡啶-2-基]-2-(6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)-N-噻唑-2-基-乙醯胺；以及

2-[4-(二氟甲基)-6-[2-[4-[[4-(羥基甲基)-1-哌啶基]甲基]苯基]乙炔基]-7-甲基-吡啶-2-基]-2-(5-乙基-5-甲基-6,7-二氫吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)-N-噻唑-2-基-乙醯胺。

【請求項11】

如請求項 1 至 9 中任一項之組合，其中該式 (I) 化合物為 2-[4,7-二氯-6-(4-N-嗎啉基苯基)吡啶-2-基]-2-[(6R)-6-氟-6,7-二氫-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基]-N-噻唑-2-基-乙醯胺。

【請求項12】

如請求項 1 至 9 中任一項之組合，其中該式 (I) 化合物為 2-[4-(二氟甲基)-6-[2-[4-[[4-(羥基甲基)-1-哌啶基]甲基]苯基]乙炔基]-7-甲基-吡啶-2-基]-2-(5-乙基-5-甲基-6,7-二氫吡咯并[1,2-c]咪唑-1-基)-N-噻唑-2-基-乙醯胺。

【請求項13】

如請求項 1 至 12 中任一項之組合，其中該正位 EGFR 抑制劑係選自西妥昔單抗 (cetuximab)、帕尼單抗 (panitumumab)、奧希替尼 (osimertinib)、厄洛替尼 (erlotinib)、吉非替尼 (gefitinib)、耐昔妥珠單抗 (necitumumab)、來那替尼 (neratinib)、拉帕替尼 (lapatinib)、凡德他尼 (vandetanib)、布加替尼 (brigatinib)、阿爾莫替尼 (almonertinib)、拉澤替尼 (lazertinib) 及伏美替尼 (furmonertinib) 或其醫藥上可接受之鹽，特定而言選自奧希替尼、阿爾莫替尼、拉澤替尼及伏美替尼或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項14】

如請求項 1 至 12 中任一項之組合，其中該正位 EGFR 抑制劑為奧希替尼或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項15】

如請求項 1 至 14 中任一項之組合，其用為治療活性物質。

【請求項16】

一種醫藥組成物，其包含如請求項 1 至 14 中任一項之組合及治療惰

性載劑。

【請求項17】

如請求項 1 至 14 中任一項之組合，其用於治療或預防癌症，特定而言非小細胞肺癌。

【請求項18】

一種如請求項 1 至 14 中任一項之組合用於治療或預防癌症，特定而言非小細胞肺癌之用途。

【請求項19】

一種如請求項 1 至 11 中任一項之組合用於製備藥物之用途，該藥物用於治療或預防癌症，特定而言非小細胞肺癌。

【請求項20】

一種如請求項 1 至 14 中任一項之組合用於製備藥物之用途，該藥物用於治療或預防非小細胞肺癌。

【請求項21】

一種治療或預防癌症，特定而言非小細胞肺癌之方法，該方法包含向有需要之患者投予有效量之如請求項 1 至 14 中任一項之組合。

【請求項22】

如請求項 15 至 21 中任一項之組合、用途、方法或醫藥組成物，其中該別位 EGFR 抑制劑及該正位 EGFR 抑制劑兩者係口服投予。

【請求項23】

如請求項 15 至 22 中任一項之組合、用途、方法或醫藥組成物，其中該別位 EGFR 抑制劑係與該正位 EGFR 抑制劑同時投予。

【請求項24】

如請求項 15 至 23 中任一項之組合、用途、方法或醫藥組成物，其中

該別位 EGFR 抑制劑及該正位 EGFR 抑制劑係共同調配。

【請求項25】

如請求項 15 至 22 中任一項之組合、用途、方法或醫藥組成物，其中該別位 EGFR 抑制劑及該正位 EGFR 抑制劑係依序投予。

【請求項26】

如請求項 17 至 21 中任一項之組合、用途、方法或醫藥組成物，其中該癌症係與至少一個選自 del19、L858R、T790M 及 C797S 之 EGFR 突變相關聯。

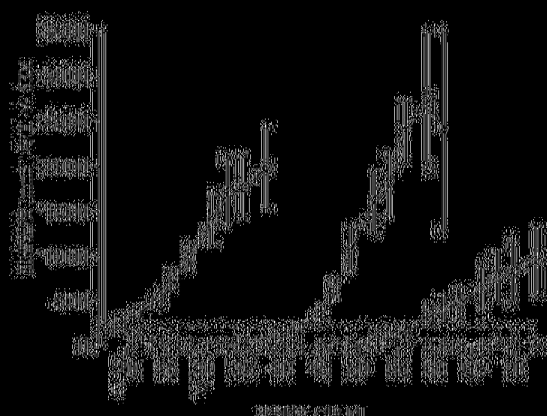
【請求項27】

如請求項 17 至 21 中任一項之組合、用途、方法或醫藥組成物，其中該癌症係與至少兩個選自 del19、L858R、T790M 及 C797S 之 EGFR 突變相關聯。

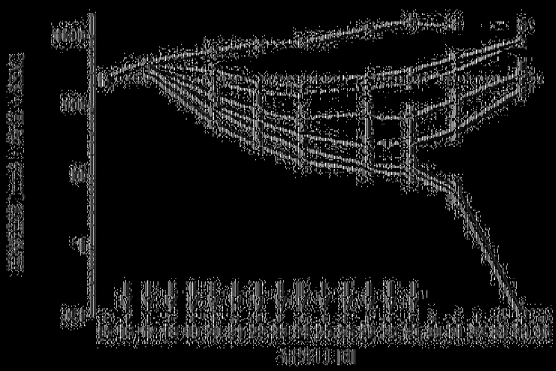
【請求項28】

如前文所述之本發明。





此圖係本發明之立體圖
顯示本發明之組件如何連接
以形成一個整體結構
此圖係本發明之立體圖
顯示本發明之組件如何連接



此圖係本發明之立體圖
顯示本發明之組件如何連接
以形成一個整體結構
此圖係本發明之立體圖
顯示本發明之組件如何連接
此圖係本發明之立體圖
顯示本發明之組件如何連接
此圖係本發明之立體圖
顯示本發明之組件如何連接

圖 2

