

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號： 96113500

※ 申請日期：96. 4. 17

※IPC 分類：A61K

一、發明名稱：(中文/英文)

檢查點激酶之抑制劑

INHIBITORS OF CHECKPOINT KINASES

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

美國默克大藥廠

MERCK & CO., INC.

代表人：(中文/英文)

唐娜 L 瑪吉歐圖

MARGIOTTO, DONNA L.

住居所或營業所地址：(中文/英文)

美國新澤西州雷維市東林肯大道126號

126 EAST LINCOLN AVENUE RAHWAY, NJ 07065, U.S.A.

國 籍：(中文/英文)

美國 U.S.A.

C07D 487/04

C07D 471/04

A61K 31/4196

A61K 31/579

A61P 35/00

三、發明人：(共 6 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 肯尼士 L 亞靈頓
ARRINGTON, KENNETH L.
2. 艾德華 J 伯瑞納狄克
BRNARDIC, EDWARD J.
3. 瓦丁 Y 杜德金
DUDKIN, VADIM Y.
4. 馬克 E 弗萊利
FRALEY, MARK E.
5. 沙伊 Y 黃
HUANG, SHAEI Y.
6. 王澄
WANG, CHENG

國 籍：(中文/英文)

1. 美國 U.S.A.
2. 加拿大 CANADA
3. 俄羅斯 RUSSIA
4. 美國 U.S.A.
5. 美國 U.S.A.
6. 中華人民共和國 P.R.C.

四、聲明事項：

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

☒ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☒ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國；2006年04月25日；60/794,694

2.

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1.

2.

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

【先前技術】

細胞週期檢查點為控制細胞週期轉變之次序及時序之調整路徑。其確保諸如DNA複製及染色體分離之關鍵事件以高保真度完成。此等細胞週期檢查點之調節係決定腫瘤細胞響應於多種化學療法及輻射之方式之關鍵因素。多種有效之癌症療法係藉由引起DNA損傷而起作用；然而，此等試劑之抗性在癌症治療中仍存在顯著侷限性。在抗藥性之多種機制中，一種重要機制係歸因於經由控制檢查點路徑之關鍵活化而阻止細胞週期進程。此舉使細胞週期停滯以提供修復時間且誘發基團之轉錄以有利於修復，藉此避免即刻細胞死亡。藉由取消於(例如)G2檢查點處之檢查點停滯，可能協同地增大由DNA損傷誘發之腫瘤細胞死亡且防止抗性發生。

藉由使絲胺酸216上之磷酸酶cdc25磷酸化，人類CHK1在調節細胞週期停滯中起作用，此過程可能與防止cdc2/細胞週期素B之活化及引發有絲分裂有關。因此，CHK1之抑制作用將藉由在DNA修復完成之前引發有絲分裂且藉此引起腫瘤細胞死亡而增強DNA損傷劑。

本發明之目的為提供作為CHK1(亦稱作Chk1)之抑制劑的新穎化合物。

本發明之目的亦為提供包含作為CHK1之抑制劑的新穎化合物的醫藥組合物。

本發明之目的亦為提供一種治療癌症之方法，該方法包

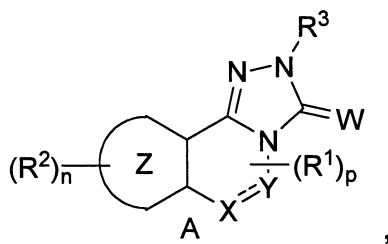
含投與該等CHK1活性抑制劑。

【發明內容】

本發明提供包含經取代三唑并喹唑啉酮之化合物，其抑制CHK1活性。本發明亦提供包含該等抑制性化合物之組合物，及藉由向需要治療癌症之患者投與該化合物來抑制CHK1活性之方法。

【實施方式】

本發明之化合物用於抑制CHK1之活性。在本發明之第一實施例中，藉由式A來說明CHK1活性之抑制劑，或其醫藥學上可接受之鹽或立體異構體：



其中，

a為0或1；b為0或1；m為0、1或2；n為0、1、2、3、4、5或6；p為0、1或2；

X與Y之間的虛線表示視情況選用之雙鍵；

W係選自：O、S及N-R⁴；

X及Y係獨立地選自：CH₂及NH；

環Z係選自：芳基、雜芳基、雜環基、(C₄-C₈)環烯基及(C₄-C₈)環烷基；

R¹係獨立地選自：H、CF₃、側氧基、(C=O)_aO_bC₁-C₁₀烷基、(C=O)_aO_b芳基、(C=O)_aO_bC₂-C₁₀烯基、(C=O)_aO_bC₂-

C_{10} 炔基、 CO_2H 、鹵素、 OH 、 $O_bC_1-C_6$ 全氟烷基、 $(C=O)_aNR^7R^8$ 、 CN 、 $(C=O)_aO_bC_3-C_8$ 環烷基、 $S(O)_mNR^7R^8$ 、 $S(O)_m-(C_1-C_{10})$ 烷基及 $(C=O)_aO_b$ 雜環基，該烷基、芳基、烯基、炔基、環烷基及雜環基視情況經一或多個選自 R^6 之取代基取代；

R^2 係獨立地選自： H 、 CF_3 、側氧基、 $(C=O)_aO_bC_1-C_{10}$ 烷基、 $(C=O)_aO_b$ 芳基、 $(C=O)_aO_bC_2-C_{10}$ 烯基、 $(C=O)_aO_bC_2-C_{10}$ 炔基、 CO_2H 、鹵素、 OH 、 $O_bC_1-C_6$ 全氟烷基、 $(C=O)_aNR^7R^8$ 、 CN 、 $(C=O)_aO_bC_3-C_8$ 環烷基、 $S(O)_mNR^7R^8$ 、 $S(O)_m-(C_1-C_{10})$ 烷基及 $(C=O)_aO_b$ 雜環基，該烷基、芳基、烯基、炔基、環烷基及雜環基視情況經一或多個選自 R^6 之取代基取代，或兩個 R^2 可一起形成單環或雙環雜環，該單環或雙環雜環在各環中具有 3-7 個成員且視情況含有一個、兩個或三個選自 N 、 O 及 S 之另外雜原子，該單環或雙環雜環視情況經一或多個選自 R^{6a} 之取代基取代；

R^3 係選自： H 、 CF_3 、側氧基、 $(C=O)_aO_bC_1-C_{10}$ 烷基、 $(C=O)_aO_b$ 芳基、 $(C=O)_aO_bC_2-C_{10}$ 烯基、 $(C=O)_aO_bC_2-C_{10}$ 炔基、 CO_2H 、鹵素、 OH 、 $O_bC_1-C_6$ 全氟烷基、 $(C=O)_aNR^7R^8$ 、 CN 、 $(C=O)_aO_bC_3-C_8$ 環烷基、 $S(O)_mNR^7R^8$ 、 $S(O)_m-(C_1-C_{10})$ 烷基及 $(C=O)_aO_b$ 雜環基，該烷基、芳基、烯基、炔基、環烷基及雜環基視情況經一或多個選自 R^6 之取代基取代；

R^4 係選自： H 、 CF_3 、側氧基、 $(C=O)_aO_bC_1-C_{10}$ 烷基、

$(\text{C}=\text{O})_a\text{O}_b$ 芳基、 $(\text{C}=\text{O})_a\text{O}_b\text{C}_2\text{-C}_{10}$ 烯基、 $(\text{C}=\text{O})_a\text{O}_b\text{C}_2\text{-C}_{10}$ 炔基、 CO_2H 、鹵素、 OH 、 $\text{O}_b\text{C}_1\text{-C}_6$ 全氟烷基、 $(\text{C}=\text{O})_a\text{NR}^7\text{R}^8$ 、 CN 、 $(\text{C}=\text{O})_a\text{O}_b\text{C}_3\text{-C}_8$ 環烷基、 $\text{S}(\text{O})_m\text{NR}^7\text{R}^8$ 、 $\text{S}(\text{O})_m\text{-(C}_1\text{-C}_{10})$ 烷基及 $(\text{C}=\text{O})_a\text{O}_b$ 雜環基，該烷基、芳基、烯基、炔基、環烷基及雜環基視情況經一或多個選自 R^6 之取代基取代；

R^6 為： CF_3 、側氧基、 $(\text{C}=\text{O})_a\text{O}_b\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基、 $(\text{C}=\text{O})_a\text{O}_b$ 芳基、 $\text{C}_2\text{-C}_{10}$ 烯基、 $\text{C}_2\text{-C}_{10}$ 炔基、 $(\text{C}=\text{O})_a\text{O}_b$ 雜環基、 CO_2H 、鹵素、 CN 、 OH 、 $\text{O}_b\text{C}_1\text{-C}_6$ 全氟烷基、 $\text{O}_a(\text{C}=\text{O})_b\text{NR}^7\text{R}^8$ 、側氧基、 CHO 、 $(\text{N}=\text{O})\text{R}^7\text{R}^8$ 、 $\text{S}(\text{O})_m\text{NR}^7\text{R}^8$ 、 $\text{S}(\text{O})_m\text{-(C}_1\text{-C}_{10})$ 烷基、 SH 或 $(\text{C}=\text{O})_a\text{O}_b\text{C}_3\text{-C}_8$ 環烷基，該烷基、芳基、烯基、炔基、雜環基及環烷基視情況經一或多個選自 R^{6a} 之取代基取代；

R^{6a} 係選自： CF_3 、 $(\text{C}=\text{O})_a\text{O}_b(\text{C}_1\text{-C}_{10})$ 烷基、 $\text{O}_a(\text{C}_1\text{-C}_3)$ 全氟烷基、 $(\text{C}_0\text{-C}_6)$ 伸烷基- $\text{S}(\text{O})_m\text{R}^a$ 、側氧基、 OH 、鹵素、 CN 、 $(\text{C}_2\text{-C}_{10})$ 烯基、 $(\text{C}_2\text{-C}_{10})$ 炔基、 $(\text{C}_3\text{-C}_6)$ 環烷基、 $(\text{C}_0\text{-C}_6)$ 伸烷基-芳基、 $(\text{C}_0\text{-C}_6)$ 伸烷基-雜環基、 $(\text{C}_0\text{-C}_6)$ 伸烷基- $\text{N}(\text{R}^b)_2$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{R}^a$ 、 $(\text{C}_0\text{-C}_6)$ 伸烷基- CO_2R^a 、 $\text{C}(\text{O})\text{H}$ 及 $(\text{C}_0\text{-C}_6)$ 伸烷基- CO_2H ，該烷基、烯基、炔基、環烷基、芳基及雜環基視情況經至多三個選自 R^b 、 OH 、 $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ 烷氧基、鹵素、 CO_2H 、 CN 、 $\text{O}(\text{C}=\text{O})\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、側氧基及 $\text{N}(\text{R}^b)_2$ 之取代基取代；

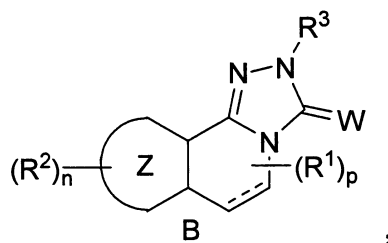
R^7 及 R^8 獨立地選自： H 、 $(\text{C}=\text{O})\text{O}_b\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基、 $(\text{C}=\text{O})\text{O}_b\text{C}_3\text{-C}_8$ 環烷基、 $(\text{C}=\text{O})\text{O}_b$ 芳基、 $(\text{C}=\text{O})\text{O}_b$ 雜環基、

C_1-C_{10} 烷基、芳基、 C_2-C_{10} 烯基、 C_2-C_{10} 炔基、雜環基、 C_3-C_8 環烷基、 $S(O)_mR^a$ 及 $(C=O)NR^b_2$ ，該烷基、環烷基、芳基、雜環基、烯基及炔基視情況經一或多個選自 R^{6a} 之取代基取代，或 R^7 與 R^8 可與其所連接之氮一起形成單環或雙環雜環，該單環或雙環雜環在各環中具有 3-7 個成員且除氮以外還視情況含有一或兩個選自 N、O 及 S 之另外雜原子，該單環或雙環雜環視情況經一或多個選自 R^{6a} 之取代基取代；

R^a 為 H、 (C_1-C_6) 烷基、 (C_3-C_6) 環烷基、芳基或雜環基；且

R^b 獨立地為 H、 (C_1-C_6) 烷基、芳基、雜環基、 (C_3-C_6) 環烷基、 $(C=O)OC_1-C_6$ 烷基、 $(C=O)C_1-C_6$ 烷基或 $S(O)_mR_a$ 。

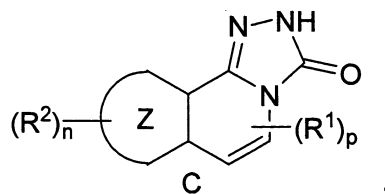
在本發明之第二實施例中，藉由式 B 說明 CHK1 活性之抑制劑，或其醫藥學上可接受之鹽或立體異構體：



其中：

所有其他取代基及變數如第一實施例中所定義。

在本發明之第三實施例中，藉由式 C 說明 CHK1 活性之抑制劑，或其醫藥學上可接受之鹽或立體異構體：

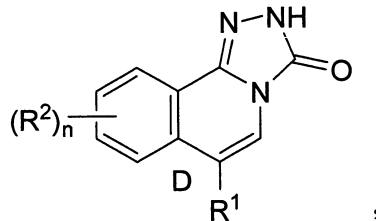


其中：

環Z係選自苯基及萘基；

所有其他取代基及變數如第一實施例中所定義。

在本發明之第四實施例中，藉由式D說明CHK1活性之抑制劑，或其醫藥學上可接受之鹽或立體異構體：

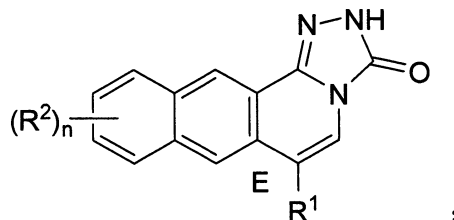


其中：

n為0、1、2、3或4；

所有其他取代基及變數如第一實施例中所定義。

在本發明之第五實施例中，藉由式E說明CHK1活性之抑制劑，或其醫藥學上可接受之鹽或立體異構體：



其中：

所有其他取代基及變數如第一實施例中所定義。

本發明之特定化合物包括：

9-(1H-吡唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-4)；

9-吡啶-3-基[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-5)；

9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-6)；

9-(1H-吡咯-2-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮
(1-7)；

9-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-
3(2H)-酮(1-8)；

9-(1-異丁基-1H-吡唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-
3(2H)-酮(1-9)；

9-(3,5-二甲基-1H-吡唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹
啉-3(2H)-酮(1-10)；

9-(1,3,5-三甲基-1H-吡唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹
啉-3(2H)-酮(1-11)；

9-(5-甲基-2-呋喃基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-
酮(1-12)；

9-(4-甲基-2-噻吩基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-
酮(1-13)；

9-(3-噻吩基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-
14)；

9-(4-甲基-3-噻吩基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-
酮(1-15)；

9-(3-呋喃基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-
16)；

9-(2-呋喃基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-
17)；

9-(3,5-二甲基異噁唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-
3(2H)-酮(1-18)；

9-[(1E)-3-氨基丙-1-烯-1-基][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-19)；

9-(2-氯吡啶-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-20)；

9-(6-嗎啉-4-基吡啶-3-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-21)；

9-吡啶-4-基[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-22)；

9-喹啉-3-基[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-23)；

9-嘧啶-5-基[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-24)；

9-(2,4-二甲氧基嘧啶-5-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-25)；

9-[4-(胺甲基)苯基][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-26)；

6-(2-氨基乙氧基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(2-4)；

6-(3-氨基丙氧基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(2-5)；

6-[(1E)-3-氨基丙-1-烯-1-基]-9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(3-11)；

6-(3-氨基丙基)-9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(3-13)；

6-溴[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(3-14)；

6-[(1E)-3-氨基丙-1-烯-1-基][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(3-15)；

6-(3-氨基丙基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(3-16)；

6,7,8,9-四氫苯并[f][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-1(2H)-酮(3-17)；

8,9,10,11-四氫苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(3-18)；

苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(3-19)；

6-(3-羥基丙基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(4-2)；

6-[3-(甲氨基)丙基][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(5-6)；

6-{3-[(2,2,2-三氟乙基)氨基]丙基}[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(5-7)；

6-[3-(乙氨基)丙基][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(5-8)；

6-(3-氨基-2-氟丙基)-9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(6-5)；

6-[(1E)-3-氨基丙-1-烯-1-基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-8)；

6-(3-氨基丙基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-10)；

6-(3-氨基丙基)-5,6-二氢苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-11)；

6-吡啶-3-基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-12)；

6-[4-(胺甲基)苯基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-13)；

6-[4-(嗎啉-4-基甲基)苯基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-14)；

6-(1,2,3,6-四氫-4-吡啶基)-苯并[g]-1,2,4-三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-15)；

6-(6-氨基吡啶-3-基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-16)；

6-[3-(嗎啉-4-基甲基)苯基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-17)；

6-[3-(哌啶-1-基甲基)苯基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-18)；

6-[3-(胺甲基)苯基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-19)；

6-(2-氨基乙基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-20)；

6-異喹啉-5-基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-21)；

6-喹啉-5-基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-22)；

6-(3-氨基苯基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-23)；

6-哌啶-4-基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-24)；

2,2,2-三氟-N-[4-(3-側氧基-2,3-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-6-基)苯基]乙醯胺(7-25)；

6-(4-氨基苯基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-26)；

6-吡啶-4-基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-27)；

6-(3-氨基丙基)-10-甲基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-28)；

6-(3-氨基丙基)-10-氟苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-29)；

6-(3-氨基丙基)-9,11-二氟苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-30)；

第三丁基[(2Z)-3-(10-甲基-3-側氧基-2,3-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-31)；

6-[(1Z)-3-氨基丙-1-烯-1-基]-10-甲基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-32)；

6-[(1Z)-3-氨基丙-1-烯-1-基]-10-氟苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-33)；

6-[4-(胺甲基)苯基]-10-甲基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-34)；

6-(3-胺基丙基)-10-氯苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-35)；

6-[(1Z)-3-胺基丙-1-烯-1-基]-9,10-二氟苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-36)；

6-(3-胺基丙基)-9,10-二氟苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-37)；

6-(3-胺基丙基)-10-(三氟甲基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-38)；

6-(3-胺基丙基)-2,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[4,3-c]喹啉-3,5-二酮(8-8)；

2,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[4,3-c]喹啉-3,5-二酮(8-9)；及

6-(3-胺基丙基)-2,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[4,3-c]喹啉-3,5-二酮(8-10)；

或其醫藥學上可接受之鹽或立體異構體。

本發明之化合物之TFA鹽包括：

9-(1H-吡唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-4)；

9-吡啶-3-基[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-5)；

9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-6)；

9-(1H-吡咯-2-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-7)；

9-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-8)；

9-(1-異丁基-1H-吡唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-9)；

9-(3,5-二甲基-1H-吡唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-10)；

9-(1,3,5-三甲基-1H-吡唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-11)；

9-(5-甲基-2-呋喃基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-12)；

9-(4-甲基-2-噻吩基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-13)；

9-(3-噻吩基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-14)；

9-(4-甲基-3-噻吩基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-15)；

9-(3-呋喃基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-16)；

9-(2-呋喃基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-17)；

9-(3,5-二甲基異噁唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-18)；

9-[(1E)-3-胺基丙-1-烯-1-基][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-19)；

9-(2-氯吡啶-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-20)；

9-(6-嗎啉-4-基吡啶-3-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-21)；

9-吡啶-4-基[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-22)；

9-喹啉-3-基[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-23)；

9-嘧啶-5-基[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-24)；

9-(2,4-二甲氧基嘧啶-5-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-25)；

9-[4-(胺甲基)苯基][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-26)；

6-(2-胺基乙氧基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(2-4)；

6-(3-胺基丙氧基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(2-5)；

6-[(1E)-3-胺基丙-1-烯-1-基]-9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(3-11)；

6-(3-胺基丙基)-9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(3-13)；

6-溴[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(3-14)；

6-[(1E)-3-胺基丙-1-烯-1-基][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(3-15)；

6-(3-胺基丙基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(3-

16) ;

6,7,8,9-四氫苯并[f][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-1(2H)-酮
(3-17) ;

8,9,10,11-四氫苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-
3(2H)-酮(3-18) ;

苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(3-19) ;

6-(3-羥基丙基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(4-
2) ;

6-[3-(甲胺基)丙基][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮
(5-6) ;

6-{3-[(2,2,2-三氟乙基)胺基]丙基}[1,2,4]三唑并[3,4-a]
異喹啉-3(2H)-酮(5-7) ;

6-[3-(乙胺基)丙基][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮
(5-8) ;

6-(3-胺基-2-氟丙基)-9-氟[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-
3(2H)-酮(6-5) ;

6-[(1E)-3-胺基丙-1-烯-1-基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]
異喹啉-3(2H)-酮(7-8) ;

6-(3-胺基丙基)-5,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異
喹啉-3(2H)-酮(7-11) ;

6-吡啶-3-基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮
(7-12) ;

6-[4-(胺甲基)苯基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-
3(2H)-酮(7-13) ;

6-[4-(嗎啉-4-基甲基)苯基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]
異喹啉-3(2H)-酮(7-14)；

6-(1,2,3,6-四氫-4-吡啶基)-苯并[g]-1,2,4-三唑并[3,4-a]
異喹啉-3(2H)-酮(7-15)；

6-(6-胺基吡啶-3-基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-
3(2H)-酮(7-16)；

6-[3-(嗎啉-4-基甲基)苯基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]
異喹啉-3(2H)-酮(7-17)；

6-[3-(哌啶-1-基甲基)苯基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]
異喹啉-3(2H)-酮(7-18)；

6-[3-(胺甲基)苯基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-
3(2H)-酮(7-19)；

6-(2-胺基乙基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-
3(2H)-酮(7-20)；

6-異喹啉-5-基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-
酮(7-21)；

6-喹啉-5-基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮
(7-22)；

6-(3-胺基苯基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-
3(2H)-酮(7-23)；

6-哌啶-4-基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮
(7-24)；

2,2,2-三氟-N-[4-(3-側氧基-2,3-二氫苯并[g][1,2,4]三唑
并[3,4-a]異喹啉-6-基)苯基]乙醯胺(7-25)；

6-(4-氨基苯基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-26)；

6-吡啶-4-基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-27)；

6-(3-氨基丙基)-10-甲基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-28)；

6-(3-氨基丙基)-10-氟苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-29)；

6-(3-氨基丙基)-9,11-二氟苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-30)；

第三丁基[(2Z)-3-(10-甲基-3-側氧基-2,3-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-31)；

6-[(1Z)-3-氨基丙-1-烯-1-基]-10-甲基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-32)；

6-[(1Z)-3-氨基丙-1-烯-1-基]-10-氟苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-33)；

6-[4-(胺甲基)苯基]-10-甲基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-34)；

6-(3-氨基丙基)-10-氟苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-35)；

6-[(1Z)-3-氨基丙-1-烯-1-基]-9,10-二氟苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-36)；

6-(3-氨基丙基)-9,10-二氟苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-37)；

6-(3-胺基丙基)-10-(三氟甲基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-38)；

6-(3-胺基丙基)-2,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[4,3-c]喹啉-3,5-二酮(8-8)；及

6-(3-胺基丙基)-2,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[4,3-c]喹啉-3,5-二酮(8-10)；

或其立體異構體。

本發明之另一特定化合物為HCl鹽：

6-(3-胺基丙基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-10)；

或其立體異構體。

本發明之化合物可具有不對稱中心、對掌性軸及對掌性平面(如E.L. Eliel及S.H. Wilen, Stereochemistry of Carbon Compounds, John Wiley & Sons, New York, 1994, 第1119-1190頁中所述)，且以外消旋體、外消旋混合物及個別非對映異構體之形式出現，其中所有可能之異構體及其混合物(包括光學異構體)皆包括在本發明內。另外，本文所揭示之化合物可以互變異構體形式存在且儘管僅描述一種互變異構結構，但兩種互變異構形式均意欲由本發明所涵蓋。

本發明亦意欲涵蓋本文所揭示之化合物之前藥。使用眾所周知的藥理學技術可製備該等化合物中任一者之前藥。

當任何變數(例如 R^1 、 R^6 、 R^{6a} 等)不止一次地在任何組份中出現時，其在各狀況下之定義獨立於各其他狀況。同

樣，只有當取代基與變數之組合導致穩定的化合物時，該等組合係可允許的。自取代基牽引至環系統內之線條表明所指示之鍵可連接至任何可取代之環原子。若該環系統為雙環，則該鍵意欲連接至雙環部分之任一環上之任何適合原子。

應瞭解，一般熟習此項技術者視情況選用擇本發明之化合物上之取代基及取代型，以提供化學穩定且可易藉由此項技術中已知之技術以及下文所列之方法自易得之起始物質合成之化合物。若取代基自身經一個以上之基團取代，則應瞭解，只要導致穩定結構，此等多重基團可位於同一碳或不同碳上。短語“視情況經一或多個取代基取代”應等價於短語“視情況經至少一個取代基取代”，且在各狀況下較佳實施例將具有0至3個取代基。

應瞭解一般熟習此項技術者可將一或多個矽(Si)原子併入本發明之化合物中，代替一或多個碳原子，以提供化學穩定且易藉由此項技術中已知之技術自易得之起始物質合成的化合物。當比較類似C元素及Si元素鍵時，碳與矽之區別在於其導致鍵距及空間排列之差異的共價半徑。此等差異導致與碳相比，含矽化合物在尺寸及形狀上之細微差異。一般熟習此項技術者應瞭解，尺寸及形狀差異會導致效能、溶解性、脫靶效應缺乏、封裝特性等等之細微或驚人差異。(Diass, J. O.等人Organometallics (2006) 5:1188-1198 ; Showell, G.A. 等人 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters (2006) 16:2555-2558)。

如本文所用，"烷基"意欲包括具有規定數量碳原子之分枝鏈及直鏈飽和脂族烴基。舉例而言，定義如" C_1 - C_{10} 烷基"中之 C_1 - C_{10} 包括在直鏈或分枝鏈排列中具有1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個碳之基團。舉例而言，" C_1 - C_{10} 烷基"具體包括甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、第三丁基、異丁基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基、癸基等等。

術語"環烷基"意謂具有規定數量碳原子之單環或雙環飽和脂族烴基。舉例而言，"環烷基"包括環丙基、甲基-環丙基、2,2-二甲基-環丁基、2-乙基-環戊基、環己基等等。

術語"環烯基"意謂具有規定數量碳原子之單環或雙環部分不飽和脂族烴基。舉例而言，"環烯基"包括環丙烯基、甲基-環丙烯基、2,2-二甲基-環丁烯基、2-乙基-環戊烯基、環己烯基等等。

"烷氧基"表示具有指定數量之經由氧橋連接之碳原子的環狀或非環狀烷基。因此"烷氧基"涵蓋上述烷基及環烷基之定義。

若未規定碳原子之數量，則術語"烯基"係指含有2至10個碳原子及至少一個碳碳雙鍵之直鏈、分枝鏈或環狀非芳族烴基。較佳存在一個碳碳雙鍵，且可存在至多4個非芳族碳碳雙鍵。因此，" C_2 - C_6 烯基"意謂具有2至6個碳原子之烯基。烯基包括乙烯基、丙烯基、丁烯基、2-甲基丁烯基及環己基。烯基之直鏈、分枝鏈或環狀部分可含有雙鍵且若指定經取代之烯基則烯基之直鏈、分枝鏈或環狀部分可

經取代。

術語"炔基"係指含有2至10個碳原子及至少一個碳碳三鍵之直鏈、分枝鏈或環狀烴基。可存在至多三個碳碳三鍵。因此，" C_2-C_6 炔基"意謂具有2至6個碳原子之炔基。炔基包括乙炔基、丙炔基、丁炔基、3-甲基丁炔基等等。炔基之直鏈、分枝鏈或環狀部分可含有三鍵且若指定經取代之炔基則炔基之直鏈、分枝鏈或環狀部分可經取代。

在某些狀況下，可用包括零之碳範圍來定義取代基，諸如(C_0-C_6)伸烷基-芳基。若芳基取為苯基，則此定義可包括苯基自身，以及 $-CH_2Ph$ 、 $-CH_2CH_2Ph$ 、 $CH(CH_3)CH_2CH(CH_3)Ph$ 等等。

如本文所用，"芳基"意謂在各環中具有至多7個原子之任何穩定單環或雙環碳環，其中至少一個環為芳族環。該等芳基之實例包括苯基、萘基、四氫萘基、二氫茚基、聯苯基、菲基、蒽基或茚基(acenaphthyl)。

如本文所用之術語雜芳基表示在各環中具有至多7個原子之穩定單環或雙環，其中至少一個環為芳族環且含有1至4個選自由O、N及S組成之群之雜原子。在此定義之範疇內之雜芳基包括：吡啶基、呋喃基、噻吩基、喹啉基、吡唑基、咪唑基、苯并三唑基、呋喃基、噻吩基、苯并噻吩基、苯并呋喃基、喹啉基、異喹啉基、噁唑基、異噁唑基、咪唑基、吡嗪基、噻嗪基、吡啶基、嘧啶基、吡咯基、四氫喹啉。如下雜環之定義，"雜芳基"亦應理解為包括任何含氮雜芳基之N-氧化物衍生物。雜芳基取代基可

經由碳原子或經由雜原子連接。

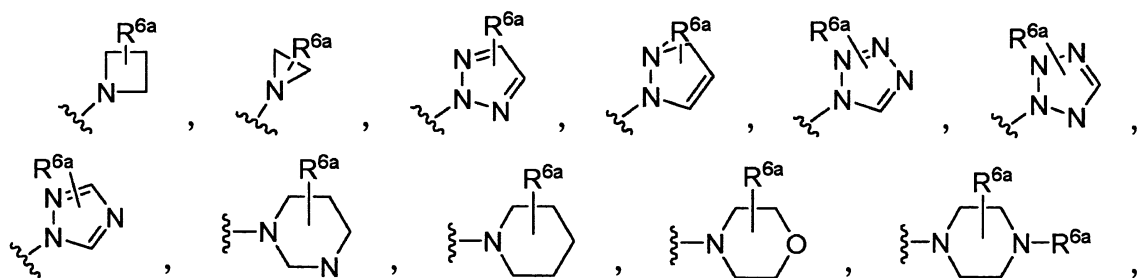
如熟習此項技術者所瞭解，如本文所用之"鹵素"意欲包括氯(Cl)、氟(F)、溴(Br)及碘(I)。

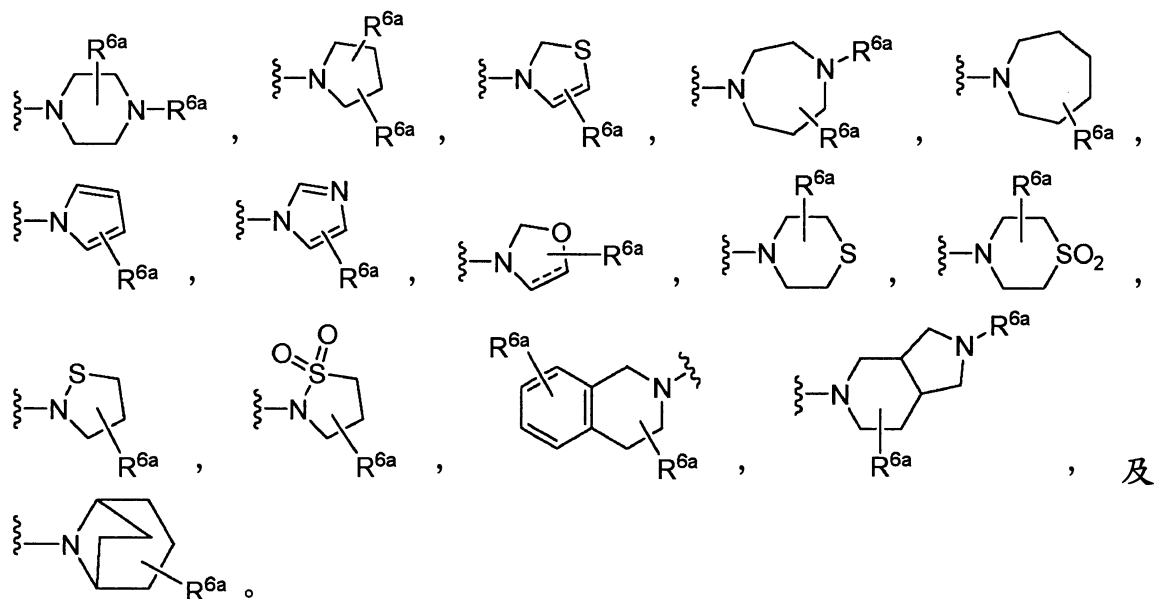
如本文所用之術語"雜環"或"雜環基"意謂含有1至4個選自由O、N及S組成之群之雜原子的3員至10員芳族或非芳族雜環，且包括雙環基。因此"雜環基"包括上述雜芳基及其二氫及四氫類似物。"雜環基"之其他實例包括：苯并咪唑基、苯并呋喃基、苯并呋嗪基、苯并吡唑基、苯并三唑基、苯并噻吩基、苯并噁唑基、卞唑基、卞啉基、吲哚基、吡啶基、喹啉基、呋喃基、咪唑基、吡咯基、吡嗪基(indolaziny)、吡啶基、異苯并呋喃基、異吡啶基、異喹啉基、異噻唑基、異噁唑基、萘吡啶基(naphthpyridinyl)、噁二唑基、噁唑基、噁唑啉、異噁唑啉、氧坦基(oxetanyl)、吡喃基、吡嗪基、吡啶基、噻嗪基、吡啶并吡啶基、噻嗪基、吡啶基、嘧啶基、吡咯基、喹啉基、喹啉基、喹啉基、四氫吡喃基、四唑基、四唑并吡啶基、噻二唑基、噻唑基、噻吩基、三唑基、吡丁啶基(azetidiny)、1,4-二噁烷基、六氫氮吡啶基(hexahydroazepinyl)、哌嗪基、哌啶基、吡咯啶基、嗎啉基、硫代嗎啉基、二氫苯并咪唑基、二氫苯并呋喃基、二氫苯并噻吩基、二氫苯并噁唑基、二氫呋喃基、二氫咪唑基、二氫吡啶基、二氫異吲哚基、二氫異噁唑基、二氫異噻唑基、二氫噁二唑基、二氫噁唑基、二氫吡嗪基、二氫吡啶基、二氫嘧啶基、二氫吡咯基、二氫噻

啉基、二氫四唑基、二氫噻二唑基、二氫噻唑基、二氫噻吩基、二氫三唑基、二氫吡啶基、亞甲基二氧基苯甲醯基、四氫呋喃基、四氫異喹啉基、四氫喹啉基及四氫噻吩基及其N-氧化物。雜環基取代基可經由碳原子或經由雜原子連接。

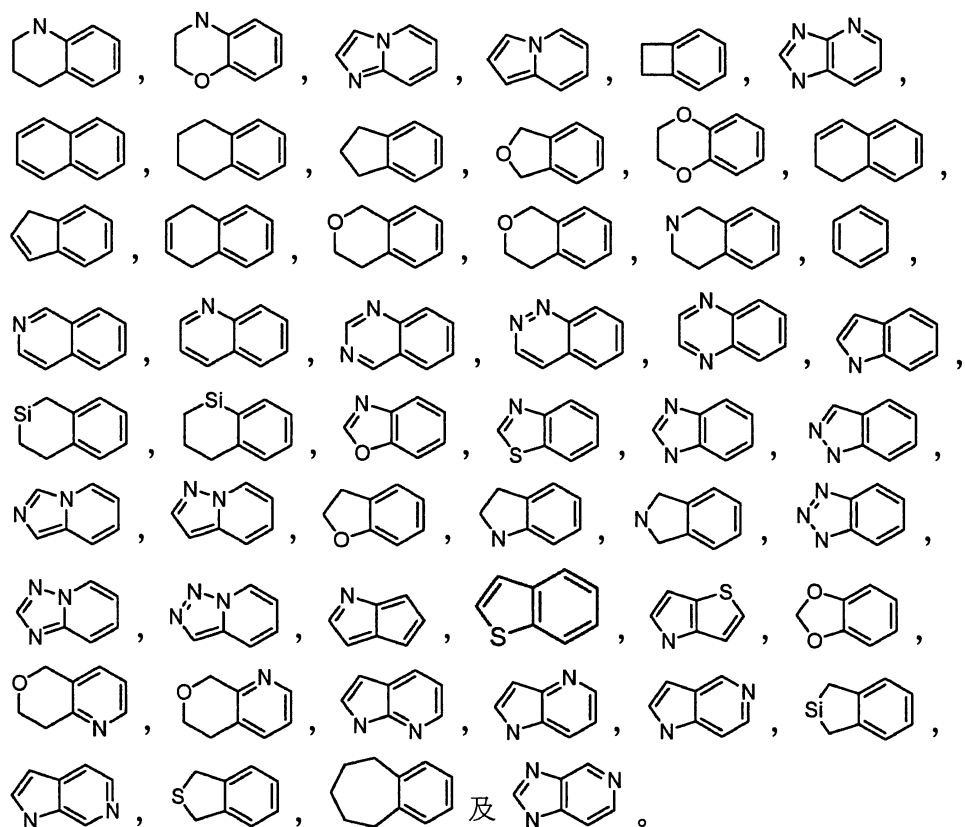
除非另外明確定義，否則烷基、烯基、炔基、環烷基、芳基、雜芳基及雜環基取代基可經取代或未經取代。舉例而言，(C₁-C₆)烷基可經一個、兩個或三個選自OH、側氧基、鹵素、烷氧基、二烷基胺基或雜環基(諸如嗎啉基、哌啶基等)之取代基取代。在此狀況下，若一個取代基為側氧基且另一個為OH，則以下基團包括在定義中：
 $-(C=O)CH_2CH(OH)CH_3$ 、 $-(C=O)OH$ 、 $-CH_2(OH)CH_2CH(O)$ 等等。

在某些狀況下，定義R⁷及R⁸與其所連接之氮一起形成單環或雙環雜環，該單環或雙環雜環在各環中具有3-7個成員且除氮以外還視情況含有一個或兩個選自N、O及S之另外雜原子，該雜環視情況經一或多個選自R^{6a}之取代基取代。可由此形成之雜環之實例包括以下雜環，請注意該雜環視情況經一或多個選自R^{6a}之取代基取代：

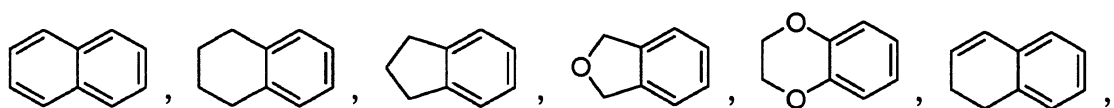


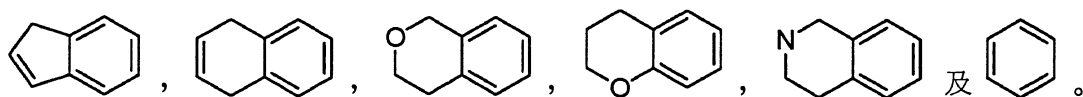


在式 A 之實施例中，環 Z 係選自：

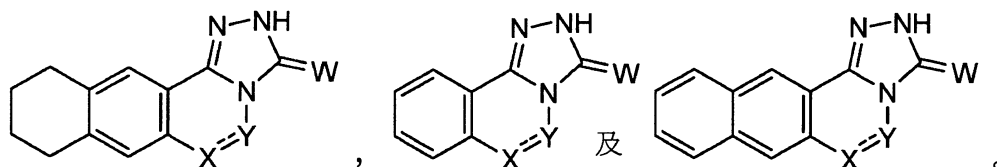


在式 A 之另一實施例中，環 Z 係選自：

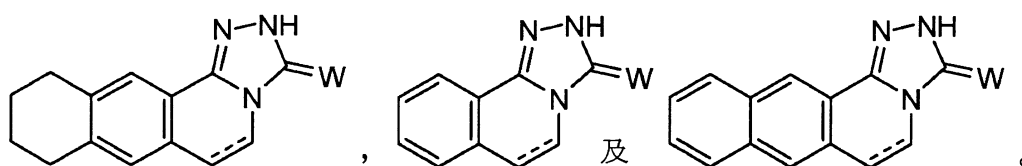




在式A之另一實施例中，包括環Z之核心分子係選自：



在式B之實施例中，包括環Z之核心分子係選自：



在式A或式B之另一實施例中，n為0、1、2、3或4。

在式A或式B之另一實施例中，n為0、1或2。

在式A或式B之另一實施例中，n為1。

在式A或式B之另一實施例中，n為0。

在式A或式B之另一實施例中， R^4 為烷基、芳基、雜環基或H，該烷基、芳基及雜環基視情況經一至三個選自 R^6 之取代基取代。

在式A或式B之另一實施例中，W為O， R^2 係選自：H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烯基、芳基、鹵素、 C_3 - C_8 環烷基及雜環基，該烷基、烯基、芳基、環烷基及雜環基視情況經一至三個選自 R^6 之取代基取代。

在式A或式B之另一實施例中，W為O， R^1 係選自： $(C_2-C_5)-NR'R''$ ，該 (C_2-C_5) 烷基視情況經一至三個 R^6 所取代且該 R' 及該 R'' 係獨立地選自：H、 $(C=O)O_b C_1-C_{10}$ 烷基、 $(C=O)O_b C_3-C_8$ 環烷基、 $(C=O)O_b$ 芳基、 $(C=O)O_b$ 雜環基、

C_1 - C_{10} 烷基、芳基、 C_2 - C_{10} 烯基、 C_2 - C_{10} 炔基、雜環基、 C_3 - C_8 環烷基、 SO_mR^a 及 $(C=O)_aNR^b_2$ ，該烷基、環烷基、芳基、雜環基、烯基及炔基視情況經一至三個選自 R^{6a} 之取代基取代，或 R' 及 R'' 可與其所連接之氮一起形成單環或雙環雜環，該雜環在各環中具有3-7個成員且除氮以外還視情況含有一個或兩個選自N、O及S之另外雜原子，該單環或雙環雜環視情況經一至三個選自 R^{6a} 之取代基取代。

在式A或式B之另一實施例中，W為O， R^1 係選自：丙基-NR'R''，該丙基視情況經一至三個 R^6 所取代且該 R' 及該 R'' 係獨立地選自：H、 $(C=O)O_bC_1$ - C_{10} 烷基、 $(C=O)O_bC_3$ - C_8 環烷基、 $(C=O)O_b$ 芳基、 $(C=O)O_b$ 雜環基、 C_1 - C_{10} 烷基、芳基、 C_2 - C_{10} 烯基、 C_2 - C_{10} 炔基、雜環基、 C_3 - C_8 環烷基、 SO_mR^a 及 $(C=O)_aNR^b_2$ ，該烷基、環烷基、芳基、雜環基、烯基及炔基視情況經一至三個選自 R^{6a} 之取代基取代，或 R' 及 R'' 可與其所連接之氮一起形成單環或雙環雜環，該雜環在各環中具有3-7個成員且除氮以外還視情況含有一個或兩個選自N、O及S之另外雜原子，該單環或雙環雜環視情況經一至三個選自 R^{6a} 之取代基取代。

在式A或式B之另一實施例中，W為O， R^2 係選自：H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烯基、芳基、鹵素、 C_3 - C_8 環烷基及雜環基，該烷基、烯基、芳基、環烷基及雜環基視情況經一至三個選自 R^6 之取代基取代；且 R^1 係選自： $(C_2$ - $C_5)$ 烷基-NR'R''，該 $(C_2$ - $C_5)$ 烷基視情況經一至三個 R^6 所取代且該 R'

及該 R'' 係獨立地選自： H 、 $(C=O)O_bC_{1-10}$ 烷基、 $(C=O)O_bC_{3-8}$ 環烷基、 $(C=O)O_b$ 芳基、 $(C=O)O_b$ 雜環基、 C_{1-10} 烷基、芳基、 C_{2-10} 烯基、 C_{2-10} 炔基、雜環基、 C_{3-8} 環烷基、 SO_mR^a 及 $(C=O)_aNR^b_2$ ，該烷基、環烷基、芳基、雜環基、烯基及炔基視情況經一至三個選自 R^{6a} 之取代基取代，或 R' 及 R'' 可與其所連接之氮一起形成單環或雙環雜環，該雜環在各環中具有 3-7 個成員且除氮以外還視情況含有一個或兩個選自 N 、 O 及 S 之另外雜原子，該單環或雙環雜環視情況經一至三個選自 R^{6a} 之取代基取代。

在式 A 或式 B 之另一實施例中， W 為 O ， R^2 係選自：芳基、鹵素、 C_{3-8} 環烷基及雜環基，該芳基、環烷基及雜環基視情況經一至三個選自 (C_{1-6}) 烷基、 OH 、 NH_2 、 CHO 、 $COOH$ 、鹵素、側氧基、 $-O(C_{1-6})$ 烷基及 (C_{1-6}) 烷基- OH 之取代基所取代；且 R^1 係選自： (C_{2-5}) 烷基- NH_2 ，該 (C_{2-5}) 烷基視情況經一或多個 OH 及鹵素取代。

在式 C 之實施例中， n 為 0、1、2、3 或 4。

在式 C 之另一實施例中， n 為 0、1 或 2。

在式 C 之另一實施例中， n 為 1。

在式 C 之另一實施例中， n 為 0。

在式 C 之另一實施例中， R^2 係選自： H 、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烯基、芳基、鹵素、 C_{3-8} 環烷基及雜環基，該烷基、烯基、芳基、環烷基及雜環基視情況經一至三個選自 R^6 之取代基取代。

在式 C 之另一實施例中， R^1 係選自： (C_{2-5}) 烷基

-NR'R''，該(C₂-C₅)烷基視情況經一至三個R⁶所取代且該R'及該R''係獨立地選自：H、(C=O)O_bC₁-C₁₀烷基、(C=O)O_bC₃-C₈環烷基、(C=O)O_b芳基、(C=O)O_b雜環基、C₁-C₁₀烷基、芳基、C₂-C₁₀烯基、C₂-C₁₀炔基、雜環基、C₃-C₈環烷基、SO_mR^a及(C=O)_aNR^b₂，該烷基、環烷基、芳基、雜環基、烯基及炔基視情況經一至三個選自R^{6a}之取代基取代，或R'及R''可與其所連接之氮一起形成單環或雙環雜環，該雜環在各環中具有3-7個成員且除氮以外還視情況含有一個或兩個選自N、O及S之另外雜原子，該單環或雙環雜環視情況經一至三個選自R^{6a}之取代基取代。

在式C之另一實施例中，R¹係選自：丙基-NR'R''，該丙基視情況經一至三個R⁶所取代且該R'及該R''係獨立地選自：H、(C=O)O_bC₁-C₁₀烷基、(C=O)O_bC₃-C₈環烷基、(C=O)O_b芳基、(C=O)O_b雜環基、C₁-C₁₀烷基、芳基、C₂-C₁₀烯基、C₂-C₁₀炔基、雜環基、C₃-C₈環烷基、SO_mR^a及(C=O)_aNR^b₂，該烷基、環烷基、芳基、雜環基、烯基及炔基視情況經一至三個選自R^{6a}之取代基取代，或R'及R''可與其所連接之氮一起形成單環或雙環雜環，該雜環在各環中具有3-7個成員且除氮以外還視情況含有一個或兩個選自N、O及S之另外雜原子，該單環或雙環雜環視情況經一至三個選自R^{6a}之取代基取代。

在式C之另一實施例中，R²係選自：H、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烯基、芳基、鹵素、C₃-C₈環烷基及雜環基，該烷基、烯基、芳基、環烷基及雜環基視情況經一至三個選

自 R^6 之取代基取代；且 R^1 係選自：(C₂-C₅)烷基-NR'R''，該(C₂-C₅)烷基視情況經一至三個 R^6 所取代且該 R' 及該 R'' 係獨立地選自：H、(C=O)O_bC₁-C₁₀烷基、(C=O)O_bC₃-C₈環烷基、(C=O)O_b芳基、(C=O)O_b雜環基、C₁-C₁₀烷基、芳基、C₂-C₁₀烯基、C₂-C₁₀炔基、雜環基、C₃-C₈環烷基、SO_mR^a及(C=O)_aNR^b₂，該烷基、環烷基、芳基、雜環基、烯基及炔基視情況經一至三個選自 R^{6a} 之取代基取代，或 R' 及 R'' 可與其所連接之氮一起形成單環或雙環雜環，該雜環在各環中具有 3-7 個成員且除氮以外還視情況含有一個或兩個選自 N、O 及 S 之另外雜原子，該單環或雙環雜環視情況經一至三個選自 R^{6a} 之取代基取代。

在式 C 之另一實施例中， R^2 係選自：芳基、鹵素、C₃-C₈環烷基及雜環基，該芳基、環烷基及雜環基視情況經一至三個選自 (C₁-C₆)烷基、OH、NH₂、CHO、COOH、鹵素、側氧基、-O(C₁-C₆)烷基及 (C₁-C₆)烷基-OH 之取代基所取代；且 R^1 係選自：(C₂-C₅)烷基-NH₂，該(C₂-C₅)烷基視情況經一或多個 OH 及鹵素取代。

在式 D 之實施例中， R^2 係選自：芳基、鹵素、C₃-C₈環烷基及雜環基，該芳基、環烷基及雜環基視情況經一至三個選自 R^6 之取代基取代。

在式 D 之另一實施例中， R^2 係選自：芳基、C₃-C₈環烷基及雜環基，該芳基、環烷基及雜環基視情況經一至三個選自 R^6 之取代基取代。

在式 D 之另一實施例中， R^2 為鹵素。

在式 D 之另一實施例中， R^1 係選自：(C₂-C₅) 烷基 - NR'R''，該 (C₂-C₅) 烷基視情況經一至三個 R^6 所取代且該 R' 及該 R'' 係獨立地選自：H、(C=O)O_bC₁-C₁₀ 烷基、(C=O)O_bC₃-C₈ 環烷基、(C=O)O_b 芳基、(C=O)O_b 雜環基、C₁-C₁₀ 烷基、芳基、C₂-C₁₀ 烯基、C₂-C₁₀ 炔基、雜環基、C₃-C₈ 環烷基、SO_mR^a 及 (C=O)_aNR^b₂，該烷基、環烷基、芳基、雜環基、烯基及炔基視情況經一至三個選自 R^{6a} 之取代基取代，或 R' 及 R'' 可與其所連接之氮一起形成單環或雙環雜環，該雜環在各環中具有 3-7 個成員且除氮以外還視情況含有一個或兩個選自 N、O 及 S 之另外雜原子，該單環或雙環雜環視情況經一至三個選自 R^{6a} 之取代基取代。

在式 D 之另一實施例中， R^1 係選自：丙基 - NR'R''，該丙基視情況經一至三個 R^6 所取代且該 R' 及該 R'' 係獨立地選自：H、(C=O)O_bC₁-C₁₀ 烷基、(C=O)O_bC₃-C₈ 環烷基、(C=O)O_b 芳基、(C=O)O_b 雜環基、C₁-C₁₀ 烷基、芳基、C₂-C₁₀ 烯基、C₂-C₁₀ 炔基、雜環基、C₃-C₈ 環烷基、SO_mR^a 及 (C=O)_aNR^b₂，該烷基、環烷基、芳基、雜環基、烯基及炔基視情況經一至三個選自 R^{6a} 之取代基取代，或 R' 及 R'' 可與其所連接之氮一起形成單環或雙環雜環，該雜環在各環中具有 3-7 個成員且除氮以外還視情況含有一個或兩個選自 N、O 及 S 之另外雜原子，該單環或雙環雜環視情況經一至三個選自 R^{6a} 之取代基取代。

在式 D 之另一實施例中， R^2 係選自：H、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烯基、芳基、鹵素、C₃-C₈ 環烷基及雜環基，該烷

基、烯基、芳基、環烷基及雜環基視情況經一至三個選自 R^6 之取代基取代；且 R^1 係選自：(C₂-C₅)烷基-NR'R''，該(C₂-C₅)烷基視情況經一至三個 R^6 所取代且該 R' 及該 R'' 係獨立地選自：H、(C=O)O_bC₁-C₁₀ 烷基、(C=O)O_bC₃-C₈ 環烷基、(C=O)O_b 芳基、(C=O)O_b 雜環基、C₁-C₁₀ 烷基、芳基、C₂-C₁₀ 烯基、C₂-C₁₀ 炔基、雜環基、C₃-C₈ 環烷基、SO_mR^a 及 (C=O)_aNR^b₂，該烷基、環烷基、芳基、雜環基、烯基及炔基視情況經一至三個選自 R^{6a} 之取代基取代，或 R' 及 R'' 可與其所連接之氮一起形成單環或雙環雜環，該雜環在各環中具有 3-7 個成員且除氮以外還視情況含有一個或兩個選自 N、O 及 S 之另外雜原子，該單環或雙環雜環視情況經一至三個選自 R^{6a} 之取代基取代。

在式 D 之另一實施例中， R^2 係選自：芳基、鹵素、C₃-C₈ 環烷基及雜環基，該芳基、環烷基及雜環基視情況經一至三個選自 (C₁-C₆) 烷基、OH、NH₂、CHO、COOH、鹵素、側氧基、-O(C₁-C₆) 烷基及 (C₁-C₆) 烷基-OH 之取代基取代；且 R^1 係選自：(C₂-C₅) 烷基-NH₂，該 (C₂-C₅) 烷基視情況經一或多個 OH 及鹵素取代。

在式 D 之另一實施例中，n 為 0、1 或 2； R^2 係選自：雜環基、鹵素、(C₁-C₆) 烷基、CF₃、(C₂-C₆) 烯基及芳基，該雜環基、烯基、芳基視情況經一至三個選自 (C₁-C₆) 烷基、NH₂、鹵素、-O(C₁-C₆) 烷基、雜環基及 -(C₁-C₆) 烷基-NH₂ 之取代基取代； R^1 係選自：H、-O(C₁-C₆) 烷基、(C₁-C₆) 烷基、鹵素、(C₂-C₆) 烯基、雜環基及芳基，該烷基、烯基、

雜環基及芳基視情況經一至三個選自鹵素、 $-(C_1-C_6)$ 烷基、 $-NH_2$ 、 $-(C_1-C_6)$ 烷基-雜環基、 $-N(R^b)_2-CF_3$ 、 $N(R^b)_2$ 、 OH 、 $-NH-(C=O)CF_3$ 及 $-NH-(C=O)O(C_1-C_6)$ 烷基之取代基取代； R^b 獨立地選自 H 及 (C_1-C_6) 烷基。

在式E之另一實施例中， R^1 係選自： (C_2-C_5) 烷基- $NR'R''$ ，該 (C_2-C_5) 烷基視情況經一至三個 R^6 所取代且該 R' 及該 R'' 係獨立地選自： H 、 $(C=O)O_bC_1-C_{10}$ 烷基、 $(C=O)O_bC_3-C_8$ 環烷基、 $(C=O)O_b$ 芳基、 $(C=O)O_b$ 雜環基、 C_1-C_{10} 烷基、芳基、 C_2-C_{10} 烯基、 C_2-C_{10} 炔基、雜環基、 C_3-C_8 環烷基、 SO_mR^a 及 $(C=O)_aNR^b_2$ ，該烷基、環烷基、芳基、雜環基、烯基及炔基視情況經一至三個選自 R^{6a} 之取代基取代，或 R' 及 R'' 可與其所連接之氮一起形成單環或雙環雜環，該雜環在各環中具有3-7個成員且除氮以外還視情況含有一個或兩個選自 N 、 O 及 S 之另外雜原子，該單環或雙環雜環視情況經一至三個選自 R^{6a} 之取代基取代。

在式E之另一實施例中， R^1 係選自：丙基- $NR'R''$ ，該丙基視情況經一至三個 R^6 所取代且該 R' 及該 R'' 係獨立地選自： H 、 $(C=O)O_bC_1-C_{10}$ 烷基、 $(C=O)O_bC_3-C_8$ 環烷基、 $(C=O)O_b$ 芳基、 $(C=O)O_b$ 雜環基、 C_1-C_{10} 烷基、芳基、 C_2-C_{10} 烯基、 C_2-C_{10} 炔基、雜環基、 C_3-C_8 環烷基、 SO_mR^a 及 $(C=O)_aNR^b_2$ ，該烷基、環烷基、芳基、雜環基、烯基及炔基視情況經一至三個選自 R^{6a} 之取代基取代，或 R' 及 R'' 可與其所連接之氮一起形成單環或雙環雜環，該雜環在各環中具有3-7個成員且除氮以外還視情況含有一個或兩個

選自 N、O 及 S 之另外雜原子，該單環或雙環雜環視情況經一至三個選自 R^{6a} 之取代基取代。

在式 E 之另一實施例中， R^2 係選自：H、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烯基、芳基、鹵素、 C_3-C_8 環烷基及雜環基，該烷基、烯基、芳基、環烷基及雜環基視情況經一至三個選自 R^6 之取代基取代；且 R^1 係選自： (C_2-C_5) 烷基- $NR'R''$ ，該 (C_2-C_5) 烷基視情況經一至三個 R^6 所取代且該 R' 及 R'' 係獨立地選自：H、 $(C=O)O_b C_1-C_{10}$ 烷基、 $(C=O)O_b C_3-C_8$ 環烷基、 $(C=O)O_b$ 芳基、 $(C=O)O_b$ 雜環基、 C_1-C_{10} 烷基、芳基、 C_2-C_{10} 烯基、 C_2-C_{10} 炔基、雜環基、 C_3-C_8 環烷基、 $SO_m R^a$ 及 $(C=O)_a NR^b_2$ ，該烷基、環烷基、芳基、雜環基、烯基及炔基視情況經一至三個選自 R^{6a} 之取代基取代，或 R' 及 R'' 可與其所連接之氮一起形成單環或雙環雜環，該雜環在各環中具有 3-7 個成員且除氮以外還視情況含有一個或兩個選自 N、O 及 S 之另外雜原子，該單環或雙環雜環視情況經一至三個選自 R^{6a} 之取代基取代。

在式 E 之另一實施例中， n 為 0、1 或 2； R^2 係選自：雜環基、鹵素、 (C_1-C_6) 烷基、 CF_3 、 (C_2-C_6) 烯基及芳基，該雜環基、烯基、芳基視情況經一至三個選自 (C_1-C_6) 烷基、 NH_2 、鹵素、 $-O(C_1-C_6)$ 烷基、雜環基及 $-(C_1-C_6)$ 烷基- NH_2 之取代基取代； R^1 係選自：H、 $-O(C_1-C_6)$ 烷基、 (C_1-C_6) 烷基、鹵素、 (C_2-C_6) 烯基、雜環基及芳基，該烷基、烯基、雜環基及芳基視情況經一至三個選自鹵素、 $-(C_1-C_6)$ 烷基- NH_2 、 $-(C_1-C_6)$ 烷基-雜環基、 $-N(R^b)_2-CF_3$ 、 $N(R^b)_2$ 、

OH、-NH-(C=O)CF₃及-NH-(C=O)O(C₁-C₆)烷基之取代基取代；R^b係獨立地選自H及(C₁-C₆)烷基。

在式E之另一實施例中，R²係選自：芳基、鹵素、C₃-C₈環烷基及雜環基，該芳基、環烷基及雜環基視情況經一至三個選自(C₁-C₆)烷基、OH、NH₂、CHO、COOH、鹵素、側氧基、-O(C₁-C₆)烷基及(C₁-C₆)烷基-OH之取代基取代；且R¹係選自：(C₂-C₅)烷基-NH₂，該(C₂-C₅)烷基視情況經一或多個OH及鹵素取代。

在式E之另一實施例中，n為0、1或2；R²係選自：(C₁-C₆)烷基、CF₃及鹵素；且R¹係選自：(C₂-C₅)烷基-NH₂，該(C₂-C₅)烷基視情況經一或多個OH及鹵素取代。

在式E之另一實施例中，n為0、1或2；R²係選自：(C₁-C₆)烷基、CF₃及鹵素；且R¹為丙胺。

在式E之另一實施例中，n為0；且R¹係選自：(C₂-C₅)烷基-NH₂，該(C₂-C₅)烷基視情況經一至三個OH及鹵素取代。

式A之化合物之游離形式，及其醫藥學上可接受之鹽及立體異構體包括在本發明內。一些本文中所例證之經分離特定化合物為胺化合物之質子化鹽。術語"游離形式"係指以非鹽形式存在之胺化合物。所涵蓋之醫藥學上可接受之鹽，不僅包括本文所述之特定化合物所例證之經分離鹽，而且包括式A化合物之游離形式的所有典型醫藥學上可接受之鹽。使用此項技術中已知之技術，可分離所述之特定鹽化合物之游離形式。舉例而言，藉由以諸如稀NaOH水

溶液、碳酸鉀水溶液、氨水及碳酸氫鈉水溶液之適合稀鹼水溶液來處理鹽，可使游離形式再生。該等游離形式與其各自之鹽形式的些許區別在於某些物理性質，諸如極性溶劑中之溶解度，但另外為達成本發明之目的，酸鹽及鹼鹽在醫藥學上等價於其各自之游離形式。

可藉由習知化學方法由含有鹼性或酸性部分之本發明之化合物合成本發明化合物之醫藥學上可接受之鹽。通常，藉由離子交換層析法或藉由使游離鹼與化學計量之量或過量之所要成鹽(salt-forming)無機酸或有機酸於適合之溶劑或各種溶劑組合中反應來製備鹼性化合物之鹽。類似地，藉由與適當之無機鹼或有機鹼反應形成酸性化合物之鹽。

因此，本發明之化合物的醫藥學上可接受之鹽包括本發明之化合物之習知無毒鹽，其係藉由使本發明鹼性化合物與無機酸或有機酸反應而形成。舉例而言，習知無毒鹽包括來源於諸如鹽酸、氫溴酸、硫酸、胺磺酸(sulfamic acid)、磷酸、硝酸及其類似物之無機酸的鹽，以及由諸如乙酸、丙酸、丁二酸、乙醇酸、硬脂酸、乳酸、蘋果酸、酒石酸、檸檬酸、抗壞血酸、雙羥萘酸(pamoic acid)、順丁烯二酸、羥基順丁烯二酸、苯基乙酸、麩胺酸、苯甲酸、水楊酸、對胺基苯磺酸(sulfanilic acid)、2-乙醯氧基-苯甲酸、反丁烯二酸、甲苯磺酸、甲磺酸、乙烷二磺酸、草酸、羥乙基磺酸(isethionic acid)、三氟乙酸(TFA)及其類似物之有機酸所製備之鹽。

當本發明之化合物為酸性時，適合之"醫藥學上可接受

之鹽"係指由包括無機鹼及有機鹼之醫藥學上可接受之無毒鹼所製備的鹽。來源於無機鹼之鹽包括鋁、銨、鈣、銅、鐵、亞鐵、鋰、鎂、錳、亞錳、鉀、鈉、鋅鹽及其類似物。尤其較佳為銨、鈣、鎂、鉀及鈉鹽。來源於醫藥學上可接受之有機無毒鹼之鹽包括第一、第二及第三胺、包括天然產生之經取代胺在內之經取代胺、環胺及鹼性離子交換樹脂之鹽，諸如精胺酸、甜菜鹼、咖啡鹼、膽鹼、N,N¹-二苯甲基乙二胺、二乙胺、2-二乙胺基乙醇、2-二甲胺基乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-乙基嗎啉、N-乙基哌啶、還原葡糖胺、葡糖胺、組胺酸、海卓胺(hydrabamine)、異丙胺、離胺酸、葡甲胺(methylglucamine)、嗎啉、哌嗪、哌啶、多元胺樹脂、普魯卡因(procaine)、嘌吟、可可鹼(theobromine)、三乙胺、三甲胺、三丙胺、緩血酸胺(tromethamine)及其類似物。

上述醫藥學上可接受之鹽及其他典型醫藥學上可接受之鹽的製備由Berg等人，"Pharmaceutical Salts," *J. Pharm. Sci.*, 1977:66:1-19更全面地描述。

亦應注意，本發明之化合物可能為內鹽或兩性離子，因為在生理學條件下化合物中之去質子化酸性部分(諸如羧基)可為陰離子型，因而此電荷可能在內部抵消質子化或烷基化鹼性部分(諸如四級氮原子)之陽離子電荷。

效用

本文所提供之化合物、組合物及方法尤其被視為有用於治療癌症。可藉由本發明之化合物、組合物及方法治療之

癌症包括(但不限於)：心臟：肉瘤(血管肉瘤、纖維肉瘤、橫紋肌肉瘤、脂肪肉瘤)、黏液瘤、橫紋肌瘤、纖維瘤、脂肪瘤及畸胎瘤；肺：支氣管癌(鱗狀細胞、未分化型小細胞、未分化型大細胞、腺癌)、肺泡(小支氣管)癌、支氣管腺瘤、肉瘤、淋巴瘤、軟骨瘤性錯構瘤、間皮瘤；胃腸：食道(鱗狀細胞癌、腺癌、平滑肌肉瘤、淋巴瘤)、胃(癌瘤、淋巴瘤、平滑肌肉瘤)、胰腺(胰管腺癌、胰島素瘤、升糖素瘤、胃泌素瘤、類癌、VIP瘤)、小腸(腺癌、淋巴瘤、類癌、卡波西(Karposi's)肉瘤、平滑肌瘤、血管瘤、脂肪瘤、神經纖維瘤、纖維瘤)、大腸(腺癌、管狀腺瘤、絨毛狀腺瘤、錯構瘤、平滑肌瘤)、結腸、結腸直腸、直腸；泌尿生殖道：腎臟(腺癌、威爾姆氏瘤(Wilm's)[腎胚細胞瘤]、淋巴瘤、白血病)、膀胱及尿道(鱗狀細胞癌瘤、移行細胞癌瘤、腺癌)、前列腺(腺癌、肉瘤)、睪丸(精原細胞瘤、畸胎瘤、胚胎性癌、畸胎癌、絨膜癌、肉瘤、間質細胞癌、纖維瘤、纖維腺瘤、腺瘤樣瘤、脂肪瘤)；肝臟：肝癌(肝細胞癌)、膽管癌、肝母細胞瘤、血管肉瘤、肝細胞腺瘤、血管瘤；骨：骨源性肉瘤(骨肉瘤)、纖維肉瘤、惡性纖維組織細胞瘤、軟骨肉瘤、尤文氏(Ewing's)肉瘤、惡性淋巴瘤(網細胞肉瘤)、多發性骨髓瘤、惡性巨細胞瘤、脊索瘤、骨軟骨瘤(骨軟骨外生骨疣)、良性軟骨瘤、軟骨母細胞瘤、軟骨黏液樣纖維瘤、骨樣骨瘤及巨細胞瘤；神經系統：頭顱(骨瘤、血管瘤、肉芽腫、黃瘤、變形性骨炎)、腦脊膜(腦膜瘤、腦膜

肉瘤、神經膠瘤病)、腦(星形細胞瘤、成神經管細胞瘤、神經膠質瘤、室管膜瘤、生殖細胞瘤[鬆果腺瘤]、多形性膠質母細胞瘤、少枝膠質瘤、神經鞘瘤、視網膜胚細胞瘤、先天性腫瘤)、脊髓神經纖維瘤、腦膜瘤、神經膠質瘤、肉瘤); 婦科: 子宮(子宮內膜癌)、子宮頸(子宮頸癌、腫瘤前子宮頸發育不良(pre-tumor cervical dysplasia))、卵巢(卵巢癌[漿液性囊腺癌、黏質囊腺癌、一般性癌瘤]、粒層泡膜細胞瘤、塞特利氏-萊迪希氏細胞瘤(Sertoli-Leydig cell tumor)、無性細胞瘤、惡性畸胎瘤)、陰門(鱗狀細胞癌、上皮內癌、腺癌、纖維肉瘤、黑色素瘤)、陰道(透明細胞癌、鱗狀細胞癌、葡萄形肉瘤(胚胎橫紋肌肉瘤)、輸卵管(癌瘤)、乳房; 血液學: 血液(骨髓白血病[急性及慢性]、急性淋巴母細胞白血病、慢性淋巴母細胞白血病、骨髓增殖病、多發性骨髓瘤、骨髓發育不良綜合症)、霍奇金病(Hodgkin's disease)、非霍奇金氏(non-Hodgkin's)淋巴瘤[惡性淋巴瘤]; 皮膚: 惡性黑色素瘤、基底細胞癌、鱗狀細胞癌、卡波西氏肉瘤、黑痣、發育異常痣、脂肪瘤、血管瘤、皮膚纖維瘤、癍痕瘤、牛皮癬; 及腎上腺: 神經母細胞瘤。因此, 如本文所提供之術語"癌細胞"包括罹患任何以上確認之病症的細胞。

可藉由本發明之化合物、組合物及方法治療之癌症包括(但不限於): 乳房、前列腺、結腸、結腸直腸、肺、腦、睪丸、胃、卵巢、胰臟、皮膚、小腸、大腸、咽喉、頭頸部、口腔、骨、肝臟、膀胱、腎臟、甲狀腺及血液相關癌

症。

可藉由本發明之化合物、組合物及方法治療之癌症包括：卵巢、乳房、結腸直腸、肺(非小細胞)、胰腺、食道、胃及頭頸部相關癌症。

可藉由本發明之化合物、組合物及方法治療之癌症包括：乳房、前列腺、結腸、卵巢、結腸直腸及肺相關癌症。

可藉由本發明之化合物、組合物及方法治療之癌症包括：乳房、結腸(結腸直腸)及肺相關癌症。

可藉由本發明之化合物、組合物及方法治療之癌症包括：淋巴瘤及白血病。

可藉由本發明之化合物、組合物及方法來治療卵巢癌。

可藉由本發明之化合物、組合物及方法來治療乳癌。

可藉由本發明之化合物、組合物及方法來治療結腸直腸癌。

可藉由本發明之化合物、組合物及方法來治療(非小細胞)肺癌。

可藉由本發明之化合物、組合物及方法來治療胰腺癌。

可藉由本發明之化合物、組合物及方法來治療食道癌。

可藉由本發明之化合物、組合物及方法來治療胃癌。

可藉由本發明之化合物、組合物及方法來治療頭頸部癌。

本發明之化合物亦用於製備用於治療癌症之藥劑中。

根據標準醫藥規範，本發明之化合物可單獨或與醫藥學

上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑結合，以醫藥組合物之形式向包括人類在內之哺乳動物投與。可經口或非經腸投與該化合物，包括靜脈內、肌肉內、腹膜內、皮下、直腸及局部投與途徑。

含有活性成份之醫藥組合物可以適用於口服使用之形式存在，例如錠劑、片劑、口含劑、水性或油性懸浮液、可分散之散劑或顆粒、乳液、硬膠囊或軟膠囊或糖漿或酏劑。根據用於製造醫藥組合物之技術中已知之任何方法，可製備供口服使用之組合物，且該等組合物可含有一或多種選自由以下各物組成之群之試劑：甜味劑、調味劑、著色劑及防腐劑，以便提供醫藥學上雅致及可口之製劑。錠劑含有與適用於製造錠劑的醫藥學上可接受之無毒賦形劑混合之活性成份。舉例而言，此等賦形劑可為：惰性稀釋劑，諸如碳酸鈣、碳酸鈉、乳糖、磷酸鈣或磷酸鈉；成粒劑及崩解劑，例如微晶纖維素、交聯羧甲基纖維素鈉、玉米澱粉或褐藻酸；黏合劑，例如澱粉、明膠、聚乙烯吡咯啶酮或阿拉伯膠；及潤滑劑，例如硬脂酸鎂、硬脂酸或滑石。錠劑可未經塗佈或其可藉由已知技術來塗佈以掩蔽藥物之不良味道或延遲在胃腸道內之崩解及吸收，且藉此提供較長時間內之持續作用。舉例而言，可使用諸如羥丙基甲基纖維素或羥丙基纖維素之水溶性掩味材料，或諸如乙基纖維素、乙酸丁酸纖維素之延時材料。

供口服使用之調配物亦可以硬質明膠膠囊之形式存在，其中使活性成份與例如碳酸鈣、磷酸鈣或高嶺土之惰性固

體稀釋劑混合；或以軟質明膠膠囊之形式存在，其中使活性成份與諸如聚乙二醇之水溶性載劑或例如花生油、液體石蠟或橄欖油之油介質混合。

水性懸浮液含有與適用於製造水性懸浮液之賦形劑混合的活性物質。該等賦形劑為：懸浮劑，例如羧甲基纖維素鈉、甲基纖維素、羥丙基甲基纖維素、海藻酸鈉、聚乙烯吡咯啉酮、黃耆膠及阿拉伯膠；分散劑或潤濕劑，可為天然產生之磷脂，例如卵磷脂，或氧化烯與脂肪酸之縮合產物，例如聚氧乙烯硬脂酸酯，或氧化乙烯與長鏈脂族醇之縮合產物，例如十七伸乙基氧基十六醇 (heptadecaethylene-oxycetanol)，或氧化乙烯與來源於脂肪酸之偏酯 (partial ester) 及己糖醇的縮合產物，諸如聚氧乙烯山梨糖醇單油酸酯，或氧化乙烯與來源於脂肪酸之偏酯及己糖醇酐的縮合產物，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例如對羥基苯甲酸乙酯或對羥基苯甲酸正丙酯之防腐劑、一或多種著色劑、一或多種調味劑及一或多種諸如蔗糖、糖精或阿斯巴甜糖之甜味劑。

油性懸浮液可藉由使活性成份懸浮於例如花生油、橄欖油、芝麻油或椰子油之植物油中或諸如液體石蠟之礦物油中來調配。該等油性懸浮液可含有增稠劑，例如蜂蠟、硬石蠟或鯨蠟醇。可添加諸如以上所列之甜味劑及調味劑，以提供可口之口服製劑。藉由添加諸如丁基化羥基大茴香醚或 α -生育酚之抗氧化劑可保存此等組合物。

適用於藉由添加水來製備水性懸浮液之可分散之散劑及顆粒提供與分散劑或濕潤劑、懸浮劑及一或多種防腐劑混合之活性成份。適合之分散劑或濕潤劑及懸浮劑由以上已提及之彼等物質來例證。亦可存在另外之賦形劑，例如甜味劑、調味劑及著色劑。藉由添加諸如抗壞血酸之抗氧化劑可保存此等組合物。

本發明之醫藥組合物亦可以水包油型乳液之形式存在。油相可為例如橄欖油或花生油之植物油，或例如液體石蠟之礦物油或此等物質之混合物。適合之乳化劑可為天然產生之磷脂(例如大豆卵磷脂)及來源於脂肪酸及己糖醇酐之酯或偏酯(例如脫水山梨糖醇單油酸酯)及該等偏酯與氧化乙烯之縮合產物(例如聚氧化乙烯脫水山梨糖醇單油酸酯)。該等乳液亦可含有甜味劑、調味劑、防腐劑及抗氧化劑。

糖漿及酞劑可調配有甜味劑，例如甘油、丙二醇、山梨糖醇或蔗糖。該等調配物亦可含有緩和劑、防腐劑、調味劑及著色劑以及抗氧化劑。

醫藥組合物可以無菌可注射水溶液之形式存在。在可接受之媒劑及溶劑中，可使用之物質為水、林格氏(Ringer's)溶液及等張氯化鈉溶液。

無菌可注射製劑亦可為其中活性成份溶解於油相中之無菌可注射水包油型微乳液。舉例而言，可首先將活性成份溶解於大豆油與卵磷脂之混合物中。接著將油溶液引入水與甘油之混合物中且經處理以形成微乳液。

可注射之溶液或微乳液可藉由局部快速注射引入患者血流內。或者，可有利地以該方式投與溶液或微乳液，以便維持本發明化合物之恆定循環濃度。為了維持該恆定濃度，可利用連續靜脈傳遞裝置。該裝置之實例為 Deltec CADD-PLUS™ 型 5400 靜脈泵。

醫藥組合物可以用於肌肉內及皮下投藥之無菌可注射水性或油性懸浮液之形式存在。根據已知技術，使用以上已提及之彼等適合之分散劑或濕潤劑及懸浮劑，可調配此懸浮液。無菌可注射製劑亦可為無毒非經腸可接受之稀釋劑或溶劑中之無菌可注射溶液或懸浮液，例如作為 1,3-丁二醇中之溶液。另外，按慣例使用無菌、不揮發性油作為溶劑或懸浮介質。為達成此目的，可使用任何溫和不揮發性油，包括合成單甘油酯或二甘油酯。另外，諸如油酸之脂肪酸可用於製備可注射劑。

舉例而言，可根據以下程序來製備本發明化合物之 50 mg/mL 調配物：1. 稱出 5.6 g 本發明之化合物及 5.0 g 甘露醇；2. 於天平上稱量玻璃容器（較佳為 250 mL 燒杯）之皮重，且向容器中添加約 85 mL 水；3. 將磁性攪拌棒附加至容器且以足以引起漩渦之速率攪拌；4. 向容器中添加 0.42 mL L-乳酸；5. 向容器中添加 5 g 甘露醇且混合 10 分鐘；6. 添加本發明之化合物，用溶液沖洗容器以回收殘餘化合物；7. 攪拌至少 15 分鐘或直至溶液中不存在可見之固體；8. 量測溶液之 pH 值，添加 1 N NaOH 溶液直至 pH 值達到 3.4-6.4 之範圍（預期會需要約 2 mL）；9. 添加額外之水達到目標

重量且再混合10分鐘；10.確定pH值係在3.0-4.0範圍內；及11.使用瓶口(bottle-top)過濾裝置使溶液經受無菌過濾。

本發明之化合物亦可以用於直腸投與藥物之栓劑形式投與。可藉由使藥物與適合之非刺激性賦形劑混合來製備此等組合物，該賦形劑在常溫下為固體但在直腸溫度下為液體且因此將於直腸中融化以釋放出藥物。該等物質包括可可脂、甘油明膠、氫化植物油、不同分子量之聚乙二醇與聚乙二醇之脂肪酸酯的混合物。

對於局部使用而言，使用含有本發明化合物之乳霜、軟膏、凝膠、溶液或懸浮液等。(為達成此應用之目的，局部應用可包括漱口劑及含漱劑。)

本發明化合物可經由適合之鼻內媒劑及傳遞裝置的局部使用以鼻內之形式或使用一般熟習此項技術者所熟知之經皮皮膚貼片經由經皮途徑投與。為了以經皮傳遞系統之形式投與，整個給藥方案中劑量投與當然應為連續而非間歇性的。亦可使用諸如可可脂、甘油明膠、氫化植物油、不同分子量之聚乙二醇與聚乙二醇之脂肪酸酯的混合物之基質以栓劑形式傳遞本發明之化合物。

當將本發明之組合物投藥至人類受試者時，每日劑量通常會由處方醫師根據通常視個別患者之年齡、體重及反應以及患者症狀之嚴重性而變化之劑量來確定。

可根據多種因素來選擇利用本發明之化合物之給藥方案，該等因素包括：類型、物種、年齡、體重、性別及待治療之癌症類型；待治療癌症之嚴重性(例如階段)；投藥

途徑；患者之腎功能及肝功能；及所使用之特定化合物或其鹽。一般熟習此項技術之醫師或獸醫可容易地確定且規定為治療疾病(例如預防、抑制(完全或部分地)或阻止疾病進程)所需之藥物有效量。

舉例而言，可以至多1000 mg之總日劑量投與本發明之化合物。可每日一次(QD)投與本發明之化合物或分成多次每日劑量，諸如每日兩次(BID)及每日三次(TID)。可以至多1000 mg(例如200 mg、300 mg、400 mg、600 mg、800 mg或1000 mg)之總日劑量來投與本發明之化合物，其可以一次日劑量投與或如上所述分成多次每日劑量。

可每三週一次或每三週每週兩次或每三週每週一次投與本發明之化合物。可以每天每平方公尺54-2160 mg之劑量範圍投與本發明之化合物。可經口服或靜脈內(IV)投與化合物。IV給藥可能在2-24小時內發生。

另外，投藥可為連續(亦即每天)或間歇性地。如本文所用之術語"間歇"或"間歇性地"意謂以規律或不規律間隔停止及起始。舉例而言，間歇投與本發明之化合物可為每週投與1至6天或可意謂以週期形式投與(例如連續2至8週每日投藥，接著至多一週不投藥之休眠期)或可意謂隔日投與。

另外，可根據上述時序之任一者投與本發明之化合物，連續投與幾週，繼之以休眠期。舉例而言，可根據上述時序之任一者投與本發明化合物，投與2至8週，繼之以一週之休眠期，或以100-500 mg之劑量每天兩次每週歷時3至5

天。在另一特定實施例中，可每天3次歷時連續兩週，繼之以一週之休眠投與本發明之化合物。

本發明化合物之一或多種特定劑量及給藥時序之任一者，亦可適用於一或多種用於組合治療之治療劑(下文稱作"第二治療劑")之任一者。

此外，此第二治療劑之特定劑量及給藥時序可另外變化，且最佳劑量、給藥時序及投與途徑可基於待使用之特定第二治療劑來確定。

當然，本發明之化合物之投與途徑與第二治療劑之投與途徑無關。在一實施例中，本發明之化合物之投藥為口服給藥。在另一實施例中，本發明之化合物之投藥為靜脈內給藥。因此，根據此等實施例，經口服或經靜脈內投與本發明之化合物，且經口、非經腸、經腹膜內、經靜脈內、經動脈內、經皮、經舌下、經肌肉內、經直腸、經頰部、經鼻、經脂質體、經由吸入、經陰道、經眼內、經由導管或支架之局部傳遞、經皮下、經脂肪內、經關節內、經鞘內或以緩釋劑型投與第二治療劑。

另外，可藉由相同投藥模式投與本發明之化合物及第二治療劑，亦即例如經口、經IV投與兩種試劑。然而，藉由一種投藥模式(例如口服)投與本發明之化合物且藉由另一投藥模式(例如IV)或上述投藥模式中之任何其他模式投與第二治療劑亦在本發明之範疇內。

本發明之化合物投藥之第一治療程序可發生於第二治療程序(亦即第二治療劑)之前、第二治療劑治療之後、與第

二治療劑之治療同時進行或與其組合。舉例而言，可確定本發明之化合物之總治療時間。可在本發明化合物之治療起始之前或在本發明化合物之治療之後投與第二治療劑。另外，可在本發明化合物投藥期間執行抗癌治療，但抗癌治療不需要在本發明化合物之整個治療時間內發生。

本發明化合物亦用於與治療劑、化學治療劑及抗癌劑相組合。目前所揭示之化合物與治療劑、化學治療劑及抗癌劑之組合處在本發明之範疇內。該等試劑之實例可見於由 V.T. Devita 及 S. Hellman(編者)所編之 *Cancer Principles and Practice of Oncology*，第 6 版(2001 年 2 月 15 日)，Lippincott Williams & Wilkins Publishers 中。基於藥物及所涉及之癌症之特殊特性，一般熟習此項技術者能夠辨別有用之試劑的組合。該等試劑包括：雌激素受體調節劑、雄激素受體調節劑、類視黃素受體調節劑、細胞毒素劑/細胞生長抑制劑、抗增殖劑、異戊烯基蛋白質轉移酶抑制劑、HMG-CoA 還原酶抑制劑及其他血管新生抑制劑、HIV 蛋白酶抑制劑、逆轉錄酶抑制劑、細胞增殖及生存信號轉導之抑制劑、雙膦酸鹽、芳香酶抑制劑、siRNA 治療劑、 γ -分泌酶抑制劑、干擾受體酪氨酸激酶(RTK)之試劑及干擾細胞週期檢查點之試劑。當與放射療法共同施用時，本發明化合物尤其有用。

"雌激素受體調節劑"係指不考慮機制，干擾或抑制雌激素與受體結合之化合物。雌激素受體調節劑之實例包括(但不限於)他莫昔芬(tamoxifen)、雷洛昔芬(raloxifene)、

艾多昔芬(idoxifene)、LY353381、LY117081、托瑞米芬(toremifene)、氟維司群(fulvestrant)、4-[7-(2,2-二甲基-1-側氧基丙氧基)-4-甲基-2-[4-[2-(1-哌啶基)乙氧基]苯基]-2H-1-苯并吡喃-3-基]-苯基-2,2-二甲基丙酸酯、4,4'-二羥基二苯甲酮-2,4-二硝基苯基-脞及SH646。

"雄激素受體調節劑"係指不考慮機制，干擾或抑制雄激素與受體結合之化合物。雄激素受體調節劑之實例包括非那雄胺(finasteride)及其他5 α -還原酶抑制劑、尼魯米特(nilutamide)、氟他胺(flutamide)、比卡魯胺(bicalutamide)、利阿唑(liarozole)及乙酸阿比特龍(abiraterone acetate)。

"類視黃素受體調節劑"係指不考慮機制，干擾或抑制類視黃素與受體結合之化合物。該等類視黃素受體調節劑之實例包括貝瑟羅汀(bexarotene)、維A酸(tretinoin)、13-順-視黃酸、9-順-視黃酸、 α -二氟甲基鳥胺酸、ILX23-7553、反-N-(4'-羥苯基)維甲胺(retinamide)及N-4-羧基苯基維甲胺。

"細胞毒性劑/細胞生長抑制劑"係指主要藉由直接干擾細胞之機能或抑制或干擾細胞減數分裂而引起細胞死亡或抑制細胞增殖之化合物，其包括烷基化劑、腫瘤壞死因子、嵌入劑(intercalator)、低氧活化化合物、微管抑制劑/微管穩定劑、有絲分裂驅動蛋白(mitotic kinesin)抑制劑、組蛋白脫乙酰基酶抑制劑、涉及有絲分裂進程之激酶之抑制劑、涉及生長因子及細胞因子信號傳導路徑之激酶之抑制

劑、抗代謝物、生物反應修飾劑、激素/抗激素治療劑、造血生長因子、單株抗體靶向治療劑、拓撲異構酶抑制劑、蛋白體抑制劑、泛素連接酶抑制劑及極光(aurora)激酶抑制劑。

細胞毒性劑/細胞生長抑制劑之實例包括(但不限於)色特奈福(sertenef)、惡病質素(cachectin)、異環磷醯胺(ifosfamide)、他索那明(tasonermin)、氯尼達明(lonidamine)、卡鉑(carboplatin)、六甲密胺(altretamine)、潑尼莫司汀(prednimustine)、二溴半乳糖醇(dibromodulcitol)、雷諾莫司汀(ranimustine)、福莫司汀(fotemustine)、奈達鉑(nedaplatin)、奧沙利鉑(oxaliplatin)、替莫唑胺(temozolomide)、七鉑(heptaplatin)、雌莫司汀(estramustine)、英丙舒凡對甲苯磺酸鹽(improsulfan tosilate)、曲磷胺(trofosfamide)、尼莫司汀(nimustine)、二溴螺氯鉍(dibrospidium chloride)、嘧啶替派(pumitepa)、洛鉑(lobaplatin)、撒塔鉑(satraplatin)、普洛黴素(profiromycin)、順鉑(cisplatin)、伊洛福芬(irofulven)、右異環磷醯胺(dexifosfamide)、順胺二氯(2-甲基-吡啶)鉑、苯甲基鳥嘌呤、格魯佛醯胺(glufosfamide)、GPX100、四氯化(反,反,反)-雙- μ -(己烷-1,6-二胺)- μ -[二胺-鉑(II)]雙[二胺(氯)鉑(II)]、二吡嗪啉基精胺(diarizidinylspermine)、三氧化二砷、1-(11-十二基胺基-10-羥基十一基)-3,7-二甲基黃嘌呤、左柔比星(zorubicin)、伊達比星(idarubicin)、柔紅黴素

(daunorubicin)、比生群(bisantrene)、米托蒽醌(mitoxantrone)、比柔比星(pirarubicin)、吡蔡非特(pinafide)、伐柔比星(valrubicin)、胺柔比星(amrubicin)、抗新普拉通(antineoplaston)、3'-脫胺基-3'-(N-嗎啉基)-13-脫側氧基-10-羥基洋紅黴素(carminomycin)、脂質體蒽環黴素(annamycin)、伽柔比星(galarubicin)、利奈法德(elinafide)、MEN10755、4-脫甲氧基-3-脫胺基-3-氮丙啶基-4-甲基磺醯基-柔紅黴素(daunorubicin)(見 WO 00/50032)、Raf激酶抑制劑(諸如 Bay43-9006)及 mTOR 抑制劑(諸如 韋氏(Wyeth's)CCI-779)。

低氧活化化合物之實例為替拉紫明(tirapazamine)。

蛋白體抑制劑之實例包括(但不限於)雷克塔西汀(lactacystin)及 MLN-341(萬珂(Velcade))。

微管抑制劑/微管穩定劑之實例包括太平洋紫杉醇(paclitaxel)、硫酸長春地辛(vindesine sulfate)、3',4'-二脫氫-4'-脫氧基-8'-去甲長春花鹼(3',4'-didehydro-4'-deoxy-8'-norvincal leukoblastine)、多西他賽(docetaxol)、利索新(rhizoxin)、海兔毒素(dolastatin)、米福林羥乙基磺酸酯(mivobulin isethionate)、奧芮他丁(auristatin)、西馬多丁(cemadotin)、RPR109881、BMS184476、長春氟寧(vinflunine)、自念珠藻環肽(cryptophycin)、2,3,4,5,6-五氟-N-(3-氟-4-甲氧基苯基)苯磺醯胺、脫水長春花鹼(anhydrovinblastine)、N,N-二甲基-L-纈胺醯基-L-纈胺醯基-N-甲基-L-纈胺醯基-L-脯胺醯基-L-脯胺酸-第三丁基醯

胺、TDX258、艾普塞隆(epothilone)(見例如美國專利第6,284,781號及第6,288,237號)及BMS188797。在一實施例中，艾普塞隆並不包括在微管抑制劑/微管穩定劑中。

拓撲異構酶抑制劑之一些實例為拓撲替康(topotecan)、海普胺(hycaptamine)、伊立替康(irinotecan)、魯比替康(rubitecan)、6-乙氧基丙醯基-3',4'-O-外-苯亞甲基-教酒菌素(chartreusin)、9-甲氧基-N,N-二甲基-5-硝基吡唑并[3,4,5-kl]吡啶-2-(6H)丙胺、1-胺基-9-乙基-5-氟-2,3-二氫-9-羥基-4-甲基-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':b,7]-吡啶并[1,2b]喹啉-10,13(9H,15H)二酮、洛托替康(lurtotecan)、7-[2-(N-異丙基胺基)乙基]-(20S)喜樹鹼、BNP1350、BNPI1100、BN80915、BN80942、磷酸依託泊苷(etoposide phosphate)、替尼泊苷(teniposide)、索布佐生(sobuzoxane)、2'-二甲基胺基-2'-脫氧基-依託泊苷、GL331、N-[2-(二甲基胺基)乙基]-9-羥基-5,6-二甲基-6H-吡啶并[4,3-b]吡嗪-1-甲醯胺、奧沙那寧(asulacrine)、(5a,5aB,8aa,9b)-9-[2-[N-[2-(二甲基胺基)乙基]-N-甲胺基]乙基]-5-[4-羥基-3,5-二甲氧基苯基]-5,5a,6,8,8a,9-六氫吡喃并(3',4':6,7)萘并(2,3-d)-1,3-間二氧雜環戊烯-6-酮、2,3-(亞甲二氧基)-5-甲基-7-羥基-8-甲氧基苯并[c]-啡啶、6,9-雙[(2-胺基乙基)胺基]苯并[g]異喹啉-5,10-二酮、5-(3-胺基丙基胺基)-7,10-二羥基-2-(2-羥乙基胺基)-6H-吡啶并[4,5,1-de]吡啶-6-酮、N-[1-[2(二乙胺基)乙基胺基]-7-甲氧基-9-側氧基-9H-硫雜蒽-4-基甲基]甲醯胺、N-(2-(二甲基

胺基)乙基)吡啶-4-甲鹽胺、6-[[2-(二甲基胺基)乙基]胺基]-3-羥基-7H-茚并[2,1-c]喹啉-7-酮及地美司鈉(dimesna)。

有絲分裂驅動蛋白且尤其人類有絲分裂驅動蛋白KSP之抑制劑之實例描述於以下公開案中：WO03/039460、WO03/050064、WO03/050122、WO03/049527、WO03/049679、WO03/049678、WO04/039774、WO03/079973、WO03/099211、WO03/105855、WO03/106417、WO04/037171、WO04/058148、WO04/058700、WO04/126699、WO05/018638、WO05/019206、WO05/019205、WO05/018547、WO05/017190、US2005/0176776。在一實施例中，有絲分裂驅動蛋白之抑制劑包括(但不限於)KSP之抑制劑、MKLP1之抑制劑、CENP-E抑制劑、MCAK之抑制劑及Rab6-KIFL之抑制劑。

"組蛋白脫乙酰基酶抑制劑"之實例包括(但不限於)SAHA、TSA、奧沙呋拉汀(oxamflatin)、PXD101、MG98及司力泰(scriptaid)。其他組蛋白脫乙酰基酶抑制劑之另一參考可見於以下原稿中：Miller, T.A.等人*J. Med. Chem.* 46(24):5097-5116 (2003)。

"涉及有絲分裂進程之激酶之抑制劑"包括(但不限於)極光激酶之抑制劑、Polo樣激酶之抑制劑(PLK；詳言之PLK-1之抑制劑)、bub-1之抑制劑及bub-R1之抑制劑。"極光激酶抑制劑"之實例為VX-680。

"抗增殖劑"包括反義RNA及DNA寡核苷酸，諸如G3139、ODN698、RVASKRAS、GEM231及INX3001；及抗代謝物，諸如依諾他濱(enocitabine)、卡莫氟(carmofur)、替加氟(tegafur)、噴司他丁(pentostatin)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、三甲曲沙(trimetrexate)、氟達拉濱(fludarabine)、卡培他濱(capecitabine)、加洛他濱(galocitabine)、阿糖胞苷(cytarabine ocfosfate)、弗絲替汀鈉水合物(fosteabine sodium hydrate)、雷替曲賽(raltitrexed)、帕替曲賽(paltitrexid)、乙嘧替氟(emitofur)、噻唑呋林(tiazofurin)、地西他濱(decitabine)、諾拉曲特(nolatrexed)、培美曲塞(pemetrexed)、奈拉濱(nelzarabine)、2'-脫氧基-2'-次甲基胞嘧啶核苷、2'-氟亞甲基-2'-脫氧基胞嘧啶核苷、N-[5-(2,3-二氫-苯并呋喃基)磺醯基]-N'-(3,4-二氯苯基)脲、N6-[4-脫氧基-4-[N2-[2(E),4(E)-十四二烯磺基]甘胺磺胺基]-L-甘油磺-B-L-甘露-庚吡喃糖基]腺嘌呤、阿普哩啉(aplidine)、海鞘素(ecteinasidin)、曲沙他濱(troxacitabine)、4-[2-胺基-4-側氧基-4,6,7,8-四氫-3H-嘧啶并[5,4-b][1,4]噻嗪-6-基-(S)-乙基]-2,5-噻吩并基-L-麩胺酸、胺蝶呤(aminopterin)、5-氟脲嘧啶(5-flurouracil)、阿拉諾新(alanosine)、11-乙磺基-8-(胺甲磺基氧基甲基)-4-甲磺基-6-甲氧基-14-氧雜-1,11-二氫雜四環(7.4.1.0.0)-十四-2,4,6-三烯-9-基乙酸酯、苦馬豆素(swainsonine)、洛美曲索(lometrexol)、右雷佐生(dexrazoxane)、甲硫胺酸酶(methioninase)、2'-氟基-2'-脫

氧基-N4-十六醯基-1-B-D-阿拉伯呋喃糖基胞嘧啶、3-胺基吡啶-2-甲醛硫半卡(3-aminopyridine-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone)及搓杜滋美(trastuzumab)。

單株抗體靶向治療劑之實例包括具有連接至癌細胞特異單株抗體或靶細胞特異單株抗體之細胞毒性劑或放射性同位素的治療劑。實例包括Bexxar。

"HMG-CoA還原酶抑制劑"係指3-羥基-3-甲基戊二醯基-CoA還原酶抑制劑。可使用之HMG-CoA還原酶抑制劑之實例包括(但不限於): 洛伐他汀(lovastatin)(MEVACOR[®]; 見美國專利第4,231,938號、第4,294,926號及第4,319,039號)、辛伐他汀(simvastatin)(ZOCOR[®]; 見美國專利第4,444,784號、第4,820,850號及第4,916,239號)、普伐他汀(pravastatin)(PRAVACHOL[®]; 見美國專利第4,346,227號、第4,537,859號、第4,410,629號、第5,030,447號及第5,180,589號)、氟伐他汀(fluvastatin)(LESCOL[®]; 見美國專利第5,354,772號、第4,911,165號、第4,929,437號、第5,189,164號、第5,118,853號、第5,290,946號及第5,356,896號)、阿托伐他汀(atorvastatin)(LIPITOR[®]; 見美國專利第5,273,995號、第4,681,893號、第5,489,691號及第5,342,952號)及西立伐他汀(cerivastatin)(亦稱作立伐他汀(rivastatin)及BAYCHOL[®]; 見美國專利第5,177,080號)。可用於本發明方法中之此等及其他HMG-CoA還原酶抑制劑之結構式描述於M. Yalpani, "Cholesterol Lowering Drugs", *Chemistry & Industry*, 第85-89頁(1996年2月5日)。

之第87頁及美國專利第4,782,084號及第4,885,314號中。如本文所用之術語HMG-CoA還原酶抑制劑包括具有HMG-CoA還原酶抑制活性之化合物之所有醫藥學上可接受之內酯及開環酸(open-acid)形式(亦即其中打開內酯環以形成游離酸)以及鹽及酯形式，且因此該等鹽、酯、開環式酸及內酯形式之使用包括在本發明之範疇內。

"異戊烯基蛋白質轉移酶抑制劑"係指抑制異戊烯基蛋白質轉移酶(包括法呢基蛋白質轉移酶(farnesyl-protein transferase, FPTase)、牻牛兒基牻牛兒基-蛋白質轉移酶I型(geranylgeranyl-protein transferase type I, GGPTase-I)及牻牛兒基牻牛兒基蛋白質轉移酶II型(GGPTase-II, 亦稱為Rab GGPTase))之任一者或任何組合的化合物。

異戊烯基蛋白質蛋白質轉移酶抑制劑之實例可見於以下公開案及專利中：WO 96/30343、WO 97/18813、WO 97/21701、WO 97/23478、WO 97/38665、WO 98/28980、WO 98/29119、WO 95/32987、美國專利第5,420,245號、美國專利第5,523,430號、美國專利第5,532,359號、美國專利第5,510,510號、美國專利第5,589,485號、美國專利第5,602,098號、歐洲專利公開案0 618 221、歐洲專利公開案0 675 112、歐洲專利公開案0 604 181、歐洲專利公開案0 696 593、WO 94/19357、WO 95/08542、WO 95/11917、WO 95/12612、WO 95/12572、WO 95/10514、美國專利第5,661,152號、WO 95/10515、WO 95/10516、WO 95/24612、WO 95/34535、WO 95/25086、WO 96/05529、

WO 96/06138 、 WO 96/06193 、 WO 96/16443 、 WO 96/21701 、 WO 96/21456 、 WO 96/22278 、 WO 96/24611 、 WO 96/24612 、 WO 96/05168 、 WO 96/05169 、 WO 96/00736 、 美國專利第 5,571,792 號 、 WO 96/17861 、 WO 96/33159 、 WO 96/34850 、 WO 96/34851 、 WO 96/30017 、 WO 96/30018 、 WO 96/30362 、 WO 96/30363 、 WO 96/31111 、 WO 96/31477 、 WO 96/31478 、 WO 96/31501 、 WO 97/00252 、 WO 97/03047 、 WO 97/03050 、 WO 97/04785 、 WO 97/02920 、 WO 97/17070 、 WO 97/23478 、 WO 97/26246 、 WO 97/30053 、 WO 97/44350 、 WO 98/02436 及 美國專利第 5,532,359 號。異戊烯基蛋白質轉移酶抑制劑在血管新生中之作用之實例見 *European J. of Cancer* , 第 35 卷 , 第 9 期 , 第 1394-1401 頁 (1999)。

"血管新生抑制劑"係指不考慮機制抑制新血管形成之化合物。血管新生抑制劑之實例包括(但不限於): 諸如酪胺酸激酶受體 Flt-1(VEGFR1)及 Flk-1/KDR(VEGFR2)抑制劑之酪胺酸激酶抑制劑, 來源於表皮、來源於纖維母細胞或來源於血小板之生長因子之抑制劑、MMP(基質金屬蛋白酶)抑制劑、整合素阻斷劑、干擾素 α 、介白素 12、多硫酸化戊聚糖(pentosan polysulfate)、包括類似阿司匹林(aspirin)及布洛芬(ibuprofen)之非類固醇抗炎藥(NSAID)以及類似塞內昔布(celecoxib)及羅非昔布(rofecoxib)之選擇性環加氧酶 2 抑制劑的環加氧酶抑制劑(PNAS, 第 89 卷, 第 7384 頁 (1992); *JNCI*, 第 69 卷, 第 475 頁 (1982); *Arch.*

Ophthalmol., 第108卷, 第573頁(1990); *Anat. Rec.*, 第238卷, 第68頁(1994); *FEBS Letters*, 第372卷, 第83頁(1995); *Clin. Orthop.* 第313卷, 第76頁(1995); *J. Mol. Endocrinol.*, 第16卷, 第107頁(1996); *Jpn. J. Pharmacol.*, 第75卷, 第105頁(1997); *Cancer Res.*, 第57卷, 第1625頁(1997); *Cell*, 第93卷, 第705頁(1998); *Intl. J. Mol. Med.*, 第2卷, 第715頁(1998); *J. Biol. Chem.*, 第274卷, 第9116頁(1999))、類固醇抗炎藥(諸如皮質類固醇、鹽皮質激素、地塞米松(dexamethasone)、潑尼松(prednisone)、潑尼龍(prednisolone)、甲潑尼龍(methylpred)、倍他米松(betamethasone))、羧基胺基三唑、康柏斯達汀 A-4(combretastatin A-4)、角鯊胺(squalamine)、6-O-氯乙酰基-羧基-煙麴黴醇(6-O-chloroacetyl-carbonyl-fumagillol)、沙立度胺(thalidomide)、血管生長抑素(angiostatin)、肌鈣蛋白-1(troponin-1)、血管收縮素II拮抗劑(見Fernandez等人, *J. Lab. Clin. Med.* 105:141-145 (1985))及VEGF抗體(見*Nature Biotechnology*, 第17卷, 第963-968頁(1999年10月)); Kim等人, *Nature*, 362, 841-844 (1993); WO 00/44777及WO 00/61186)。

其他調節或抑制血管新生且亦可與本發明之化合物組合使用之治療劑包括調節或抑制凝血及纖維蛋白質溶解系統之試劑(見*Clin. Chem. La. Med.* 38:679-692 (2000)中之評論)。該等調節或抑制凝血及纖維蛋白質溶解路徑之試劑

之實例包括(但不限於)肝素(見 *Thromb. Haemost.* 80:10-23 (1998))、低分子量肝素及羧肽酶U抑制劑(亦稱作活性凝血酶活化纖維蛋白質溶解抑制因子[TAFIa]之抑制劑)(見 *Thrombosis Res.* 101:329-354 (2001))。TAFIa抑制劑已描述於美國專利第60/310,927號(2001年8月8日申請)及第60/349,925號(2002年1月18日申請)。

"干擾細胞週期檢查點之試劑"係指抑制轉導細胞週期檢查點信號之蛋白質激酶藉此使癌細胞對DNA損傷劑致敏的化合物。該等試劑包括ATR、ATM、CHK1、CHK2及Wee-1激酶抑制劑及cdk與cdc激酶抑制劑，且具體藉由7-羥基星形孢菌素(7-hydroxystaurosporin)、黃素吡多(flavopiridol)、CYC202(Cyclacel)及BMS-387032來例證。

"干擾受體酪氨酸激酶(RTK)之試劑"係指抑制RTK且因此機制涉及腫瘤形成及腫瘤進程之化合物。該等試劑包括c-Kit、Eph、PDGF、Flt3及c-Met之抑制劑。其他試劑包括如Bume-Jensen及Hunter, *Nature*, 411:355-365, 2001中所述之RTK抑制劑。

"細胞增殖及生存信號轉導路徑之抑制劑"係指抑制細胞表面受體之信號轉導級聯下游之化合物。該等試劑包括絲氨酸/蘇氨酸激酶抑制劑(包括(但不限於)諸如WO 02/083064、WO 02/083139、WO 02/083140、US 2004-0116432、WO 02/083138、US 2004-0102360、WO 03/086404、WO 03/086279、WO 03/086394、WO 03/084473、WO 03/086403、WO 2004/041162、WO

2004/096131、WO 2004/096129、WO 2004/096135、WO 2004/096130、WO 2005/100356、WO 2005/100344、US 2005/029941、US 2005/44294、US 2005/43361、60/734188、60/652737、60/670469中所述之Akt抑制劑)、Raf激酶抑制劑(例如BAY-43-9006)、MEK抑制劑(例如CI-1040及PD-098059)、mTOR抑制劑(例如Wyeth CCI-779)及PI3K抑制劑(例如LY294002)。

如上所述，與NSAID之組合係針對使用為有效COX-2抑制劑之NSAID。為達成本說明書之目的，若NSAID對於COX-2抑制具有如細胞或微粒體檢定所量測之1 μ M或小於1 μ M之IC₅₀，則其係有效的。

本發明亦涵蓋與作為選擇性COX-2抑制劑之NSAID之組合。為達成本說明書之目的，將作為COX-2選擇性抑制劑之NSAID定義為具有如藉由細胞或微粒體檢定所評估之COX-2之IC₅₀與COX-1之IC₅₀的比率所量測對COX-2之抑制為COX-1之至少100倍之特異性的NSAID。該等化合物包括(但不限於)揭示於以下專利中之化合物：美國專利5,474,995、美國專利5,861,419、美國專利6,001,843、美國專利6,020,343、美國專利5,409,944、美國專利5,436,265、美國專利5,536,752、美國專利5,550,142、美國專利5,604,260、美國專利5,698,584、美國專利5,710,140、WO 94/15932、美國專利5,344,991、美國專利5,134,142、美國專利5,380,738、美國專利5,393,790、美國專利5,466,823、美國專利5,633,272及美國專利

5,932,598(所有專利均以引用之方式併入本文中)。

尤其可用於本發明治療方法中之COX-2抑制劑為：3-苯基-4-(4-(甲基磺醯基)苯基)-2-(5H)-呋喃酮；及5-氯-3-(4-甲基磺醯基)苯基-2-(2-甲基-5-吡啶基)吡啶；或其醫藥學上可接受之鹽。

描述為特定COX-2抑制劑且因此可用於本發明中之化合物包括(但不限於)以下各物：帕瑞昔布(parecoxib)、ARCOXIA[®]、BEXTRA[®]及CELEBREX[®]或其醫藥學上可接受之鹽。

血管新生抑制劑之其他實例包括(但不限於)內皮抑制素(endostatin)、烏克蘭(ukrain)、核糖核酸酶(ranpirnase)、IM862、5-甲氧基-4-[2-甲基-3-(3-甲基-2-丁烯基)氧呋基]-1-氧雜螺[2,5]辛-6-基(氯乙醯基)胺基甲酸酯、乙醯基二納納林(acetyldinanaline)、5-胺基-1-[[3,5-二氯-4-(4-氯苯甲醯基)苯基]甲基]-1H-1,2,3-三唑-4-甲醯胺、CM101、角鯊胺、康柏斯達汀、RPI4610、NX31838、硫酸化磷酸甘露戊糖、7,7-(羰基-雙[亞胺基-N-甲基-4,2-吡咯并羰基亞胺基[N-甲基-4,2-吡咯]-羰基亞胺基]-雙-(1,3-萘二磺酸酯)及3-[(2,4-二甲基吡咯-5-基)亞甲基]-2-吡啶酮(SU5416)。

如上所用，"整合素阻斷劑"係指選擇性地拮抗、抑制或抵消生理學配位子與 $\alpha_v\beta_3$ 整合素之結合之化合物、選擇性地拮抗、抑制或抵消生理學配位子與 $\alpha_v\beta_5$ 整合素之結合之化合物、拮抗、抑制或抵消生理學配位子與 $\alpha_v\beta_3$ 整合素及 $\alpha_v\beta_5$ 整合素兩者之結合的化合物及拮抗、抑制或抵消於毛

細管內皮細胞上表現之特定整合素之活性的化合物。該術語亦係指 $\alpha_v\beta_6$ 、 $\alpha_v\beta_8$ 、 $\alpha_1\beta_1$ 、 $\alpha_2\beta_1$ 、 $\alpha_5\beta_1$ 、 $\alpha_6\beta_1$ 及 $\alpha_6\beta_4$ 整合素之拮抗劑。該術語亦係指 $\alpha_v\beta_3$ 、 $\alpha_v\beta_5$ 、 $\alpha_v\beta_6$ 、 $\alpha_v\beta_8$ 、 $\alpha_1\beta_1$ 、 $\alpha_2\beta_1$ 、 $\alpha_5\beta_1$ 、 $\alpha_6\beta_1$ 及 $\alpha_6\beta_4$ 整合素之任何組合之拮抗劑。

酪胺酸激酶抑制劑之一些特定實例包括N-(三氟甲基苯基)-5-甲基異噁唑-4-甲醯胺、3-[(2,4-二甲基吡咯-5-基)次甲基]吡啶-2-酮、17-(丙烯胺基)-17-脫甲氧基格爾德黴素(geldanamycin)、4-(3-氯-4-氟苯基胺基)-7-甲氧基-6-[3-(4-嗎啉基)丙氧基]喹啉、N-(3-乙炔基苯基)-6,7-雙(2-甲氧基乙氧基)-4-喹啉胺、BIBX1382、2,3,9,10,11,12-六氫-10-(羥甲基)-10-羥基-9-甲基-9,12-環氧基-1H-二吡啶并[1,2,3-fg:3',2',1'-kl]吡咯并[3,4-i][1,6]苯并二氮呋-1-酮、SH268、染料木素(genistein)、STI571、CEP2563、4-(3-氯苯基胺基)-5,6-二甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶甲烷磺酸酯、4-(3-溴-4-羥苯基)胺基-6,7-二甲氧基喹啉、4-(4'-羥苯基)胺基-6,7-二甲氧基喹啉、SU6668、STI571A、N-4-氯苯基-4-(4-吡啶基甲基)-1-酞嗪胺及EMD121974。

與除抗癌化合物以外之化合物的組合亦涵蓋於本發明方法中。舉例而言，當前主張之化合物與PPAR- γ (亦即PPAR- γ)促效劑及PPAR- δ (亦即PPAR- δ)促效劑之組合可用於治療某些惡性疾病。PPAR- γ 及PPAR- δ 為核過氧化酶體增植物活化受體 γ 及 δ 。PPAR- γ 在內皮細胞上之表現及其與血管新生之關係已報導於文獻中(見*J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1998; 31:909-913; *J. Biol. Chem.* 1999; 274:9116-9121;

Invest. Ophthalmol Vis. Sci. 2000; 41:2309-2317)。新近已顯示PPAR- γ 促效劑活體內抑制對VEGF之血管新生反應；曲格列酮及順丁烯二酸羅格列酮(rosiglitazone maleate)兩者抑制小鼠內視網膜新血管生成之發展。(Arch. Ophthalmol. 2001; 119:709-717)。PPAR- γ 促效劑及PPAR- γ/α 促效劑之實例包括(但不限於)噻唑烷二酮類(諸如DRF2725、CS-011、曲格列酮、羅格列酮及吡格列酮(pioglitazone))、非諾貝特(fenofibrate)、吉非貝齊(gemfibrozil)、對氯苯氧異丁酸乙酯(clofibrate)、GW2570、SB219994、AR-H039242、JTT-501、MCC-555、GW2331、GW409544、NN2344、KRP297、NP0110、DRF4158、NN622、GI262570、PNU182716、DRF552926、2-[(5,7-二丙基-3-三氟甲基-1,2-苯并異噁唑-6-基)氧基]-2-甲基丙酸(揭示於USSN 09/782,856中)及2(R)-7-(3-(2-氯-4-(4-氟苯氧基)苯氧基)丙氧基)-2-乙基吡啶-2-甲酸(揭示於USSN 60/235,708及60/244,697中)。

本發明之另一實施例為組合用於治療癌症之基因療法使用當前所揭示之化合物。治療癌症之遺傳策略之綜述見Hall等人(*Am. J. Hum. Genet.* 61:785-789, 1997)及Kufe等人(*Cancer Medicine*, 第5版, 第876-889頁, BC Decker, Hamilton 2000)。基因療法可用於傳遞任何腫瘤抑制基因。該等基因之實例包括(但不限於): p53, 其可經由重組性病毒介導基因轉植傳遞(例如見美國專利第6,069,134號)、uPA/uPAR拮抗劑("Adenovirus-Mediated Delivery of a

uPA/uPAR Antagonist Suppresses Angiogenesis -Dependent Tumor Growth and Dissemination in Mice,"Gene Therapy, 1998年8月 ; 5(8):1105-13)及干擾素 γ (*J. Immunol.* 2000 ; 164:217-222)。

亦可組合固有多藥耐藥性(MDR)抑制劑，尤其為與轉運蛋白質之高水平表現相關之MDR，投與本發明之化合物。該等MDR抑制劑包括p-糖蛋白(P-gp)抑制劑，諸如LY335979、XR9576、OC144-093、R101922、VX853及PSC833(伐司朴達(valspodar))。

可結合止吐劑使用本發明之化合物來治療包括急性、延遲、後期之噁心或嘔吐及預期性嘔吐(anticipatory emesis)，該等症狀可能是由單獨或與放射療法一起使用本發明之化合物而產生。為了預防或治療嘔吐，亦可結合其他止吐劑使用本發明之化合物，尤其為神經激肽-1受體拮抗劑；5HT₃受體拮抗劑，諸如昂丹司瓊(ondansetron)、格拉司瓊(granisetron)、托烷司瓊(tropisetron)及紫替司瓊(zatisetron)；GABA_B受體促效劑，諸如貝可芬(baclofen)；皮質類固醇，諸如Decadron(地塞米松(dexamethasone))、Kenalog、Aristocort、Nasalide、Preferid、Benecorten或諸如揭示於美國專利第2,789,118號、第2,990,401號、第3,048,581號、第3,126,375號、第3,929,768號、第3,996,359號、第3,928,326號及第3,749,712號中之其他物質；抗多巴胺類，諸如啡噻嗪類(例如丙氯拉嗪(prochlorperazine)、氟奮乃靜

(fluphenazine)、硫利達嗪(thioridazine)及美索達嗪(mesoridazine)、甲氧氯普胺(metoclopramide)或屈大麻酚(dronabinol)。在另一實施例中，與選自神經激肽-1受體拮抗劑、5HT₃受體拮抗劑及皮質類固醇之止吐劑之聯合療法經揭示用於治療或預防可能因投與本發明化合物所產生的嘔吐。

舉例而言，與本發明之化合物結合使用之神經激肽-1受體拮抗劑充分地描述於以下專利中：美國專利第5,162,339號、第5,232,929號、第5,242,930號、第5,373,003號、第5,387,595號、第5,459,270號、第5,494,926號、第5,496,833號、第5,637,699號、第5,719,147號；歐洲專利公開案第EP 0 360 390號、第EP 0 394 989號、第EP 0 428 434號、第EP 0 429 366號、第EP 0 430 771號、第EP 0 436 334號、第EP 0 443 132號、第EP 0 482 539號、第EP 0 498 069號、第EP 0 499 313號、第EP 0 512 901號、第EP 0 512 902號、第EP 0 514 273號、第EP 0 514 274號、第EP 0 514 275號、第EP 0 514 276號、第EP 0 515 681號、第EP 0 517 589號、第EP 0 520 555號、第EP 0 522 808號、第EP 0 528 495號、第EP 0 532 456號、第EP 0 533 280號、第EP 0 536 817號、第EP 0 545 478號、第EP 0 558 156號、第EP 0 577 394號、第EP 0 585 913號、第EP 0 590 152號、第EP 0 599 538號、第EP 0 610 793號、第EP 0 634 402號、第EP 0 686 629號、第EP 0 693 489號、第EP 0 694 535號、第EP 0 699 655號、第EP 0 699 674號、第EP 0 707 006號、第EP 0 708

101號、第EP 0 709 375號、第EP 0 709 376號、第EP 0 714 891號、第EP 0 723 959號、第EP 0 733 632及第EP 0 776 893號；PCT國際專利公開案第WO 90/05525號、第WO 90/05729號、第WO 91/09844號、第WO 91/18899號、第WO 92/01688號、第WO 92/06079號、第WO 92/12151號、第WO 92/15585號、第WO 92/17449號、第WO 92/20661號、第WO 92/20676號、第WO 92/21677號、第WO 92/22569號、第WO 93/00330號、第WO 93/00331號、第WO 93/01159號、第WO 93/01165號、第WO 93/01169號、第WO 93/01170號、第WO 93/06099號、第WO 93/09116號、第WO 93/10073號、第WO 93/14084號、第WO 93/14113號、第WO 93/18023號、第WO 93/19064號、第WO 93/21155號、第WO 93/21181號、第WO 93/23380號、第WO 93/24465號、第WO 94/00440號、第WO 94/01402號、第WO 94/02461號、第WO 94/02595號、第WO 94/03429號、第WO 94/03445號、第WO 94/04494號、第WO 94/04496號、第WO 94/05625號、第WO 94/07843號、第WO 94/08997號、第WO 94/10165號、第WO 94/10167號、第WO 94/10168號、第WO 94/10170號、第WO 94/11368號、第WO 94/13639號、第WO 94/13663號、第WO 94/14767號、第WO 94/15903號、第WO 94/19320號、第WO 94/19323號、第WO 94/20500號、第WO 94/26735號、第WO 94/26740號、第WO 94/29309號、第WO 95/02595號、第WO 95/04040號、第WO 95/04042號、第

WO 95/06645 號、第 WO 95/07886 號、第 WO 95/07908 號、第 WO 95/08549 號、第 WO 95/11880 號、第 WO 95/14017 號、第 WO 95/15311 號、第 WO 95/16679 號、第 WO 95/17382 號、第 WO 95/18124 號、第 WO 95/18129 號、第 WO 95/19344 號、第 WO 95/20575 號、第 WO 95/21819 號、第 WO 95/22525 號、第 WO 95/23798 號、第 WO 95/26338 號、第 WO 95/28418 號、第 WO 95/30674 號、第 WO 95/30687 號、第 WO 95/33744 號、第 WO 96/05181 號、第 WO 96/05193 號、第 WO 96/05203 號、第 WO 96/06094 號、第 WO 96/07649 號、第 WO 96/10562 號、第 WO 96/16939 號、第 WO 96/18643 號、第 WO 96/20197 號、第 WO 96/21661 號、第 WO 96/29304 號、第 WO 96/29317 號、第 WO 96/29326 號、第 WO 96/29328 號、第 WO 96/31214 號、第 WO 96/32385 號、第 WO 96/37489 號、第 WO 97/01553 號、第 WO 97/01554 號、第 WO 97/03066 號、第 WO 97/08144 號、第 WO 97/14671 號、第 WO 97/17362 號、第 WO 97/18206 號、第 WO 97/19084 號、第 WO 97/19942 及第 WO 97/21702 號；及英國專利公開案第 2 266 529 號、第 2 268 931 號、第 2 269 170 號、第 2 269 590 號、第 2 271 774 號、第 2 292 144 號、第 2 293 168 號、第 2 293 169 號及第 2 302 689 號中。該等化合物之製備充分揭示於前述專利及公開案中，其以引用之方式併入本文中。

在一實施例中，用於結合本發明之化合物之神經激肽-1 受體拮抗劑係選自：2-(R)-(1-(R)-(3,5-雙(三氟甲基)苯基)

乙氧基)-3-(S)-(4-氟苯基)-4-(3-(5-側氧基-1H,4H-1,2,4-三唑并)甲基)嗎啉或其醫藥學上可接受之鹽，其描述於美國專利第5,719,147號中。

本發明之化合物亦可與用於治療貧血之試劑一起投與。舉例而言，該貧血治療劑為連續紅血球生成受體活化劑(諸如阿法依伯汀(epoetin alfa))。

本發明之化合物亦可與用於治療嗜中性白血球減少症之試劑一起投與。舉例而言，該嗜中性白血球減少症治療劑為調節嗜中性白血球之生產及功能之造血生長因子，諸如人類粒細胞群落刺激因子(G-CSF)。G-CSF之實例包括非格司亭(filgrastim)。

本發明之化合物亦可與免疫促進藥物一起投與，諸如左旋咪唑(levamisole)、異丙肌苷(isoprinosine)及日達仙(Zadaxin)。

本發明之化合物亦可與P450抑制劑組合用於治療或預防癌症，該等P450抑制劑包括：外生物(xenobiotics)、奎尼丁(quinidine)、酪胺(tyramine)、酮康唑(ketoconazole)、睾酮(testosterone)、奎寧(quinine)、甲吡丙酮(methyrapone)、咖啡鹼(caffeine)、苯乙肼(phenelzine)、羥道諾紅黴素(doxorubicin)、醋竹桃黴素(troleandomycin)、環苯紫林(cyclobenzaprine)、紅黴素(erythromycin)、可卡因(cocaine)、呋喃茶鹼(furafyline)、西咪替丁(cimetidine)、右美沙芬(dextromethorphan)、利托那韋(ritonavir)、茆地那韋(indinavir)、安普那韋

(amprenavir)、地爾硫卓(diltiazem)、特非那定(terfenadine)、維拉帕米(verapamil)、皮質醇(cortisol)、伊曲康唑(itraconazole)、米貝地爾(mibefradil)、奈法唑酮(nefazodone)及奈非那韋(nelfinavir)。

本發明之化合物亦可與Pgp及/或BCRP抑制劑組合用於治療或預防癌症，該等Pgp及/或BCRP抑制劑包括：環孢黴素A(cyclosporin A)、PSC833、GF120918、十六醇聚氧乙烯醚EL(cremophorEL)、福美抑制素(fumitremorgin) C、Ko132、Ko134、易瑞沙(Iressa)、甲磺酸依嗎尼布(Imatinib mesylate)、EKI-785、CI1033、新生黴素(novobiocin)、己烯雌酚(diethylstilbestrol)、他莫昔芬(tamoxifen)、利舍平(reserpine)、VX-710、特普抑制素(tryprostatin)A、類黃酮(flavonoid)、利托那韋、沙喹那韋(saquinavir)、奈非那韋、奧美拉唑(omeprazole)、奎尼丁(quinidine)、維拉帕米、特非那定(terfenadine)、酮康唑、硝苯啶(nifedipine)、FK506、胺碘酮(amiodarone)、XR9576、節地那韋、安普那韋、皮質醇、睾酮、LY335979、OC144-093、紅黴素、長春新鹼(vincristine)、地高辛(digoxin)及他林洛爾(talinolol)。

本發明之化合物亦可與雙膦酸鹽(應理解為包括雙膦酸鹽、二膦酸鹽、雙膦酸及二膦酸)組合用於治療或預防癌症，包括骨癌。雙膦酸鹽之實例包括但不限於：依替膦酸鹽(etidronate)(Didronel)、帕米膦酸鹽(pamidronate)(Aredia)、阿倫膦酸鹽(alendronate)(Fosamax)、利塞膦酸

鹽 (risedronate)(Actonel)、唑來膦酸鹽 (zoledronate) (Zometa)、伊班膦酸鹽 (ibandronate)(Boniva)、因卡膦酸鹽 (incadronate) 或西嗎膦酸鹽 (cimadronate)、氯屈膦酸鹽 (clodronate)、EB-1053、米諾膦酸鹽 (minodronate)、奈立膦酸鹽 (neridronate)、必利膦酸鹽 (piridronate) 及替魯膦酸鹽 (tiludronate)，包括其任何及所有醫藥學上可接受之鹽、衍生物、水合物及混合物。

本發明之化合物亦可與芳香酶抑制劑組合用於治療或預防乳癌。芳香酶抑制劑之實例包括但不限於：安美達錠 (anastrozole)、雷曲唑 (letrozole) 及依西美坦 (exemestane)。

本發明之化合物亦可與 siRNA 治療劑組合用於治療或預防癌症。

亦可與 γ -分泌酶抑制劑及/或 NOTCH 信號轉導抑制劑組合投與本發明之化合物。該等抑制劑包括描述於以下專利中之化合物：WO 01/90084、WO 02/30912、WO 01/70677、WO 03/013506、WO 02/36555、WO 03/093252、WO 03/093264、WO 03/093251、WO 03/093253、WO 2004/039800、WO 2004/039370、WO 2005/030731、WO 2005/014553、USSN 10/957,251、WO 2004/089911、WO 02/081435、WO 02/081433、WO 03/018543、WO 2004/031137、WO 2004/031139、WO 2004/031138、WO 2004/101538、WO 2004/101539 及 WO 02/47671 (包括 LY-450139)。

本發明之化合物亦可與PARP抑制劑組合用於治療或預防癌症。

本發明之化合物亦可與卡鉑及紫杉醇(taxol)組合用於治療或預防癌症。

本發明之化合物亦可與5-FU及順鉑組合用於治療或預防癌症。

本發明之化合物亦可與卡培他濱組合用於治療或預防癌症。

本發明之化合物亦可與奧沙利鉑組合用於治療或預防癌症。

本發明之化合物亦可與順鉑組合用於治療或預防癌症。

本發明之化合物亦可與吉西他賓(gemcitabine)組合用於治療或預防癌症。

本發明之化合物亦可與放射療法組合用於治療或預防癌症。

本發明之化合物亦可與以下治療劑組合用於治療癌症：
阿巴瑞克(abarelix)(Plenaxis depot[®])；阿地白介素(aldesleukin)(Prokine[®])；阿地白介素(Proleukin[®])；阿倫單抗(Alemtuzumab)(Campath[®])；亞利崔托寧(alitretinoin)(Panretin[®])；別嘌醇(allopurinol)(Zyloprim[®])；六甲密胺(Hexalen[®])；胺磷汀(amifostine)(Ethyol[®])；安美達錠(Arimidex[®])；三氧化二砷(Trisenox[®])；門冬醯胺酶(Elspar[®])；阿紫胞苷(azacitidine)(Vidaza[®])；貝伐單抗(bevacuzimab)(Avastin[®])；貝瑟羅汀膠囊(Targretin[®])；貝

瑟羅汀凝膠 (Targretin[®]) ; 博萊黴素 (bleomycin) (Blenoxane[®]) ; 硼替佐米 (bortezomib)(Velcade[®]) ; 靜脈注射白消安 (busulfan intravenous)(Busulfex[®]) ; 口服白消安 (Myleran[®]) ; 卡普聶酮 (calusterone)(Methosarb[®]) ; 卡培他濱 (Xeloda[®]) ; 卡鉑 (Paraplatin[®]) ; 卡莫司汀 (carmustine)(BCNU[®], BiCNU[®]) ; 卡莫司汀 (Gliadel[®]) ; 卡莫司汀與聚苯丙生 20 植入物 (Polifeprosan 20 Implant) (Gliadel Wafer[®]) ; 塞內昔布 (Celebrex[®]) ; 西妥昔單抗 (cetuximab)(Erbitux[®]) ; 苯丁酸氮芥 (chlorambucil) (Leukeran[®]) ; 順鉑 (Platinol[®]) ; 克拉屈濱 (cladribine) (Leustatin[®], 2-CdA[®]) ; 氯法拉濱 (clofarabine)(Clolar[®]) ; 環磷醯胺 (Cytosan[®], Neosar[®]) ; 環磷醯胺 (Cytosan Injection[®]) ; 環磷醯胺 (Cytosan Tablet[®]) ; 阿糖胞苷 (Cytosar-U[®]) ; 阿糖胞苷脂質體 (DepoCyt[®]) ; 達卡巴嗪 (dacarbazine)(DTIC-Dome[®]) ; 放線菌素 D(dactinomycin) (Cosmegen[®]) ; 阿法達貝泊汀 (Darbepoetin alfa)(Aranesp[®]) ; 柔紅黴素脂質體 (DanuoXome[®]) ; 柔紅黴素 (Daunorubicin[®]) ; 柔紅黴素 (Cerubidine[®]) ; 地尼介白素 (Denileukin diftitox)(Ontak[®]) ; 右雷佐生 (Zinecard[®]) ; 多烯紫杉醇 (docetaxel)(Taxotere[®]) ; 羧道諾紅黴素 (Adriamycin PFS[®]) ; 羧道諾紅黴素 (Adriamycin[®], Rubex[®]) ; 羧道諾紅黴素 (Adriamycin PFS Injection[®]) ; 羧道諾紅黴素脂質體 (Doxil[®]) ; 屈他雄酮丙酸酯 (DROMOSTANOLONE PROPIONATE) (DROMOSTANOLONE[®]) ;

屈他雄酮丙酸酯(MASTERONE INJECTION[®])；艾氏B溶液
 (Elliott's B Solution)(Elliott's B Solution[®])；表柔比星
 (epirubicin)(Ellence[®])；阿法依伯汀(epogen[®])；爾洛替尼
 (Tarceva[®])；雌莫司汀(Emcyt[®])；磷酸依託泊苷
 (Etopophos[®])；依託泊苷，VP-16(Vepesid[®])；依西美坦
 (Aromasin[®])；非格司亭(Neupogen[®])；氮尿苷
 (floxuridine)(動脈內)(FUDR[®])；氟達拉濱(Fludara[®])；氟尿
 嘧啶，5-FU(Adrucil[®])；氟維司群(Faslodex[®])；吉非替尼
 (gefitinib)(Iressa[®])；吉西他賓(Gemzar[®])；吉妥單抗
 (gemtuzumab ozogamicin)(Mylotarg[®])；醋酸戈舍瑞林
 (goserelin acetate)(Zoladex Implant[®])；醋酸戈舍瑞林
 (Zoladex[®])；醋酸組胺瑞林(histrelin acetate)(Histreltin
 implant[®])；羥基脲(hydroxyurea)(Hydrea[®])；替坦異貝莫單
 抗(Ibritumomab Tiuxetan)(Zevalin[®])；伊達比星
 (idarubicin)(Idamycin[®])；異環磷醯胺(ifosfamide)
 (IFEX[®])；甲磺酸伊馬替尼(imatinib mesylate)(Gleevec[®])；
 干擾素 α -2a(Roferon A[®])；干擾素 α -2b(Intron A[®])；伊立替
 康(Camptosar[®])；雷利度胺(lenalidomide)(Revlimid[®])；雷
 曲唑(Femara[®])；亞葉酸(leucovorin)(Wellcovorin[®]，
 Leucovorin[®])；醋酸亮丙瑞林(Leuprolide
 Acetate)(Eligard[®])；左旋咪唑(Ergamisol[®])；洛莫司汀
 (lomustine)，CCNU(CeeBU[®])；美克利胺
 (meclorethamine)，氮芥(Mustargen[®])；醋酸甲地孕酮
 (megestrol acetate)(Megace[®])；美法倫(melphalan)，L-

PAM(Alkeran[®]) ; 巯 嘌 呤 (mercaptopurine) , 6-
 MP(Purinethol[®]) ; 美 司 鈉 (mesna)(Mesnex[®]) ; 美 司 鈉
 (Mesnex tabs[®]) ; 甲 胺 喋 呤 (methotrexate)(Methotrexate[®]) ;
 甲 氧 沙 林 (methoxsalen)(Uvadex[®]) ; 絲 裂 黴 素
 C(Mutamycin[®]) ; 米 托 坦 (mitotane)(Lysodren[®]) ; 米 托 蒽 醌
 (mitoxantrone)(Novantrone[®]) ; 苯 丙 酸 諾 龍 (nandrolone
 phenpropionate)(Durabolin-50[®]) ; 奈 拉 濱 (nelarabine)
 (Arranon[®]) ; 諾 非 妥 莫 單 抗 (Nofetumomab)(Verluma[®]) ; 重
 組 人 白 介 素 -11(Oprelvekin)(Neumega[®]) ; 奧 沙 利 鉑
 (Eloxatin[®]) ; 太 平 洋 紫 杉 醇 (Paxene[®]) ; 太 平 洋 紫 杉 醇
 (Taxol[®]) ; 太 平 洋 紫 杉 醇 蛋 白 結 合 型 顆 粒 (Abraxane[®]) ; 帕
 利 弗 明 (palifermin)(Kepivance[®]) ; 帕 米 膦 酸 鹽
 (pamidronate)(Aredia[®]) ; 培 加 酶 (pegademase)
 (Adagen(Pegademase Bovine)[®]) ; 培 門 冬 酶 (pegaspargase)
 (Oncaspar[®]) ; 聚 乙 二 醇 化 非 格 司 亭 (Pegfilgrastim)
 (Neulasta[®]) ; 培 美 曲 塞 二 鈉 (pemetrexed disodium)
 (Alimta[®]) ; 噴 司 他 丁 (Nipent[®]) ; 哌 泊 溴 烷 (pipobroman)
 (Vercyte[®]) ; 普 卡 黴 素 , 米 拉 黴 素 (mithramycin)
 (Mithracin[®]) ; 卟 吩 姆 鈉 (porfimer sodium)(Photofrin[®]) ; 丙
 卡 巴 肼 (procarbazine)(Matulane[®]) ; 奎 納 克 林 (quinacrine)
 (Atabrine[®]) ; 拉 布 立 酶 (Rasburicase)(Elitek[®]) ; 利 妥 昔 單 抗
 (Rituxan[®]) ; 沙 格 司 亭 (sargramostim)(Leukine[®]) ; 沙 格 司
 亭 (Prokine[®]) ; 索 拉 非 尼 (sorafenib)(Nexavar[®]) ; 鏈 佐 星
 (streptozocin)(Zanosar[®]) ; 順 丁 烯 二 酸 舒 尼 替 尼 (sunitinib

maleate)(Sutent[®]) ; 滑石 (Sclerosol[®]) ; 他莫昔芬 (Nolvadex[®]) ; 替莫唑胺 (Temodar[®]) ; 替尼泊苷, VM-26(Vumon[®]) ; 睾內酞 (testolactone)(Teslac[®]) ; 硫鳥嘌呤 (thioguanine) , 6-TG(Thioguanine[®]) ; 塞替派 (thiotepa) (Thioplex[®]) ; 拓撲替康 (Hycamtin[®]) ; 托瑞米芬 (toremifene)(Fareston[®]) ; 托西莫單抗 (Tositumomab) (Bexxar[®]) ; 托西莫單抗 /I-131托西莫單抗 (Bexxar[®]) ; 槎杜滋美 (Herceptin[®]) ; 維A酸, ATRA(Vesanoid[®]) ; 烏拉莫司汀 (Uracil Mustard)(Uracil Mustard Capsules[®]) ; 伐柔比星 (Valstar[®]) ; 長春花鹼 (Velban[®]) ; 長春新鹼 (Oncovin[®]) ; 長春瑞賓 (vinorelbine)(Navelbine[®]) ; 唑來磷酸 (zoledronate) (Zometa[®]) ; 及弗瑞絲他 (vorinostat) (Zolinza[®]) 。

因此, 本發明之範疇涵蓋與第二化合物組合使用當前所主張之化合物, 該第二化合物選自: 雌激素受體調節劑、雄激素受體調節劑、類視黃素受體調節劑、細胞毒性劑/細胞生長抑制劑、抗增殖劑、異戊烯基蛋白質轉移酶抑制劑、HMG-CoA還原酶抑制劑、HIV蛋白酶抑制劑、反轉錄酶抑制劑、血管新生抑制劑、PPAR- γ 促效劑、PPAR- δ 促效劑、固有多藥耐藥性抑制劑、止吐劑、用於治療貧血之試劑、用於治療嗜中性白血球減少症之試劑、免疫促進劑、細胞增殖及生存信號轉導抑制劑、雙膦酸鹽、芳香酶抑制劑、siRNA治療劑、 γ -分泌酶及/或NOTCH抑制劑、干擾受體酪胺酸激酶(RTK)之試劑、干擾細胞週期檢查點之

試劑及以上所列治療劑之任一者。

關於本發明之化合物之術語"投藥"及其變體意謂將該化合物及該化合物之前藥引入需要治療之動物的系統內。當與一或多種其他活性劑(例如細胞毒性劑等)組合提供本發明之化合物或其前藥時，"投藥"及其變體各應理解為包括同時及依序引入該化合物或其前藥及其他試劑。

如本文所用，術語"組合物"意欲涵蓋包含指定量之指定成份之產物，以及由指定量之指定成份之組合直接或間接地產生之任何產物。

如本文所用之術語"治療有效量"意謂引起組織、系統、動物或人類中之生物或醫藥反應之活性化合物或醫藥試劑的量，其由研究員、獸醫、醫學博士或其他臨床醫師來探尋。

術語"治療癌症"或"癌症之治療"係指向罹患癌性症狀之哺乳動物投藥，且係指藉由殺死癌細胞來減輕癌性症狀之效應，而且係指導致抑制癌症之生長及/或轉移之效應。

在一實施例中，用作第二化合物之血管新生抑制劑係選自：酪胺酸激酶抑制劑、來源於表皮之生長因子之抑制劑、來源於纖維母細胞之生長因子之抑制劑、來源於血小板之生長因子之抑制劑、MMP(基質金屬蛋白酶)抑制劑、整合素阻斷劑、干擾素 α 、介白素12、多硫酸化戊聚糖、環加氧酶抑制劑、羧基胺基三唑、康柏斯達汀A-4、角鯊胺、6-O-氯乙醯基-羧基-煙麴黴醇、沙立度胺、血管生長抑素、肌鈣蛋白-1或VEGF之抗體。在一實施例中，雌激

素受體調節劑為他莫昔芬或雷洛昔芬。

治療癌症之方法亦包括在申請專利範圍之範疇內，該方法包含與放射療法組合及/或與選自以下各物之第二化合物組合投與治療有效量之本發明化合物：雌激素受體調節劑、雄激素受體調節劑、類視黃素受體調節劑、細胞毒性劑/細胞生長抑制劑、抗增殖劑、異戊烯基蛋白質轉移酶抑制劑、HMG-CoA還原酶抑制劑、HIV蛋白酶抑制劑、反轉錄酶抑制劑、血管新生抑制劑、PPAR- γ 促效劑、PPAR- δ 促效劑、固有多藥耐藥性抑制劑、止吐劑、用於治療貧血之試劑、用於治療嗜中性白血球減少症之試劑、免疫促進劑、細胞增殖及生存信號轉導抑制劑、雙膦酸鹽、芳香酶抑制劑、siRNA治療劑、 γ -分泌酶及/或NOTCH抑制劑、干擾受體酪胺酸激酶(RTK)之試劑、干擾細胞週期檢查點之試劑及以上所列治療劑之任一者。

本發明之另一實施例為一種治療癌症之方法，其包含與太平洋紫杉醇或槎杜滋美組合投與治療有效量之本發明之化合物。

本發明進一步涵蓋一種治療或預防癌症之方法，其包含與COX-2抑制劑組合投與治療有效量之本發明之化合物。

本發明亦包括一種用於治療或預防癌症之醫藥組合物，其包含治療有效量之本發明之化合物及選自以下各物之第二化合物：雌激素受體調節劑、雄激素受體調節劑、類視黃素受體調節劑、細胞毒性劑/細胞生長抑制劑、抗增殖劑、異戊烯基蛋白質轉移酶抑制劑、HMG-CoA還原酶抑

制劑、HIV蛋白酶抑制劑、反轉錄酶抑制劑、血管新生抑制劑、PPAR- γ 促效劑、PPAR- δ 促效劑、細胞增殖及生存信號轉導抑制劑、雙磷酸鹽、芳香酶抑制劑、siRNA治療劑、 γ -分泌酶及/或NOTCH抑制劑、干擾受體酪胺酸激酶(RTK)之試劑、干擾細胞週期檢查點之試劑及以上所列治療劑之任一者。

所確認之所有專利、公開案及申請中專利申請案均以引用之方式併入本文中。

化學方法描述及隨後流程中可能使用的縮寫為：
 Ac_2O (乙酸酐)； AcOH (乙酸)；AEBSF(p-胺基乙基苯磺醯
 氟)；BSA(牛血清血蛋白)； BuLi (正丁基鋰)； CDCl_3 (氘化
 氯仿)； CuI (碘化銅)； CuSO_4 (硫酸銅)；DBU(1,8-二氮雜雙
 環[5.4.0]十一-7-烯)；DCE(二氯乙烷)；DCM(二氯甲烷)；
 DEAD(偶氮二甲酸二乙酯)；DIPEA(二異丙基乙胺)；
 DMF(N,N-二甲基甲醯胺)；DMP(戴絲-馬丁過碘烷(Dess-
 Martin periodinane))；DMSO(二甲亞砜)；DPPA(疊氮磷酸
 二苯酯)；DTT(二硫蘇糖醇)；EDTA(乙二胺四乙酸)；
 EGTA(乙二醇四乙酸)； Et_2O (乙醚)； EtOAc (乙酸乙酯)；
 EtOH (乙醇)； HOAc (乙酸)；HPLC(高效液相層析法)；
 HRMS(高解析度質譜法)；LAH(氫化鋰鋁)；LCMS(液相層
 析質譜法)；LHMDS(雙(三甲基矽烷基)醯胺鋰)；LRMS(低
 解析度質譜法)；mCPBA(3-氯過氧苯甲酸)； MeOH (甲
 醇)； MP-B(CN)H_3 (巨孔氰基硼氫化物)； NaHCO_3 (碳酸氫
 鈉)； Na_2SO_4 (硫酸鈉)； $\text{Na(OAc)}_3\text{BH}$ (三乙醯氧基硼氫化

鈉)； NH_4OAc (乙酸銨)；NBS(N-溴代琥珀醯亞胺)；NMP(1-甲基-2-吡咯啉酮)；NMR(核磁共振)；PBS(磷酸鹽緩衝生理食鹽水)；PCR(聚合酶鏈反應)； Pd(dppf) ([1,1'-雙(二苯基膦基)二茂鐵]鈀)； $\text{Pd(Ph}_3)_4$ (肆-三苯基膦鈀(0))； POCl_3 (磷醯氯)；PS-DIEA(聚苯乙烯二異丙基乙胺)； PS-PPh_3 (聚苯乙烯-三苯基膦)；PTSA(對甲苯磺酸)；Pyr(吡啶)；Selectfluor(1-氯甲基-4-氟-1,4-二氮鎗雙環[2.2.2]辛烷雙(四氟硼酸酯))；RP HPLC(逆相高效液相層析法)；TBAF(四丁基氟化銨)；t-BuOH(第三丁醇)；THF(四氫呋喃)；Tf(三氟甲基磺醯)；TFA(三氟乙酸)；及 TMSCH_2N_2 (三甲基矽烷基重氮甲烷)。

除文獻中所示或實驗性程序中所例證之其他標準操作方法以外，可藉由使用如以下反應流程中所示之反應來製備本發明之化合物。因此，以下說明性反應流程並不受所列之化合物或受用於說明性目的所使用之任何特定取代基所限。如反應流程中所示之取代基編號並不必須與申請專利範圍內所用之編號相關，且為清楚起見，在於上文式A定義下視情況允許多個取代基連接至化合物的情況下，往往只顯示單一取代基與其連接。

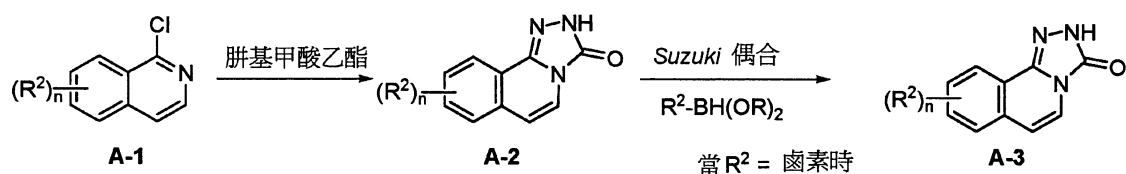
藉由採用如反應流程I-VII中所示之反應來完成生成本發明之化合物的反應。

反應流程之概述

如反應流程I中所示，經取代1-氯異喹啉(A-1)可與肼基甲酸乙酯(ethyl carbazate)一起經歷微波輔助環化反應，以

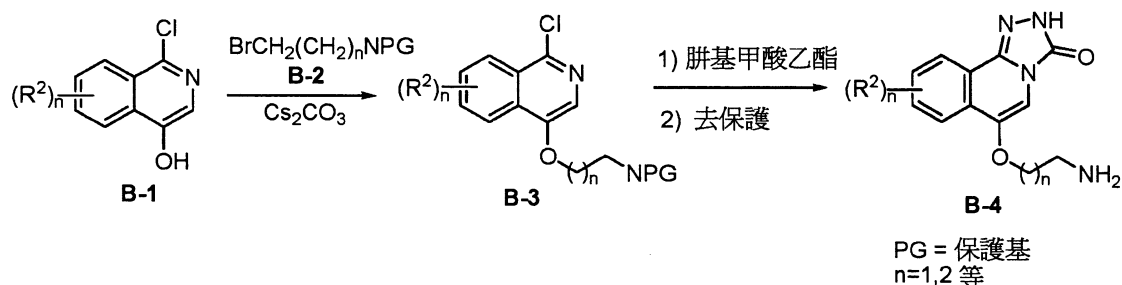
提供三唑并異喹啉(A-2)。當R₂等於鹵素時，藉由與雜環式酮酸/雜環式酮酯進行Suzuki偶合反應可使化合物A-2進一步衍生化以提供由A-3所表示之化合物。

反應流程 I



反應流程II說明藉由使經取代4-羥基異喹啉(B-1)與相應經Boc或鄰苯二甲醯亞胺保護之溴胺(B-2)烷基化來製備胺基醚(B-3)。接著醚B-3與肼基甲酸乙酯經歷微波輔助環化反應及相應去保護反應以提供三唑并喹啉B-4。

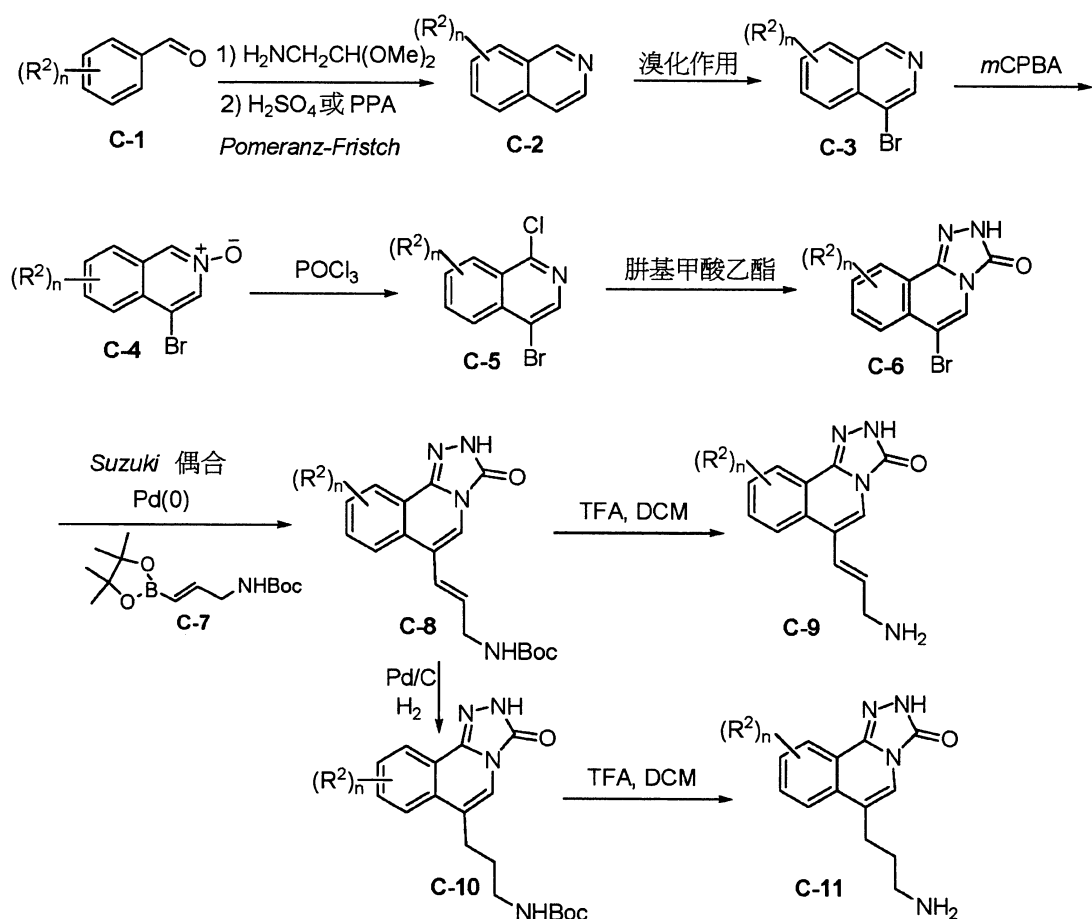
反應流程 II



如反應流程III中所示，使經取代苯甲醛(C-1)與胺基乙醛縮二甲醇進行Pomeranz-Fristch環化反應可提供經取代異喹啉(C-2)(有時為異構體混合物)。選擇性溴化作用可提供其4-溴衍生物(C-3)，使用mCPBA可使4-溴衍生物轉化為N-氧化物(C-4)。當用POCl₃處理時化合物C-4可經歷區域選擇性重排作用以提供經取代1-氯異喹啉(C-5)，其可經歷

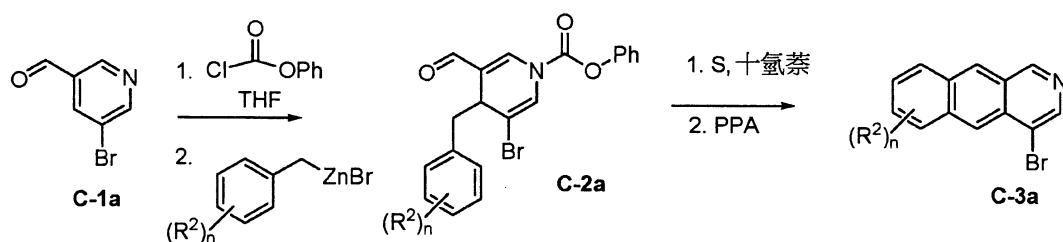
微波輔助環化反應以形成溴三唑并異喹啉(C-6)。化合物C-6與酮酯(C-7)之Suzuki偶合反應可提供由C-8表示之化合物。進一步氫化/去保護可提供相應之C-9及C-11衍生物。

反應流程III



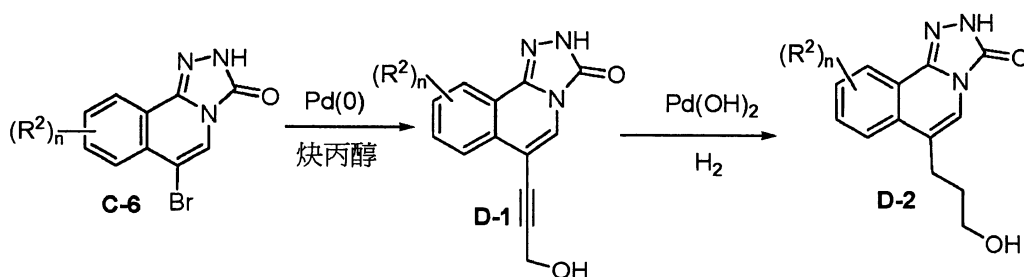
當溴化物C-3視情況經氮雜蒽C-3a取代時，可使用替代途徑(反應流程IIIa)。向由C-1a就地形成之醯化吡啶甲醛添加經取代溴化鋅係以1,4方式發生且導致相應二氫吡啶C-2a，藉由在回流二氫萘中用硫處理可使二氫吡啶C-2a脫芳基且脫醯基。用聚磷酸來處理所得混合物，得到所要環化之溴化物C-3a。

反應流程 IIIa



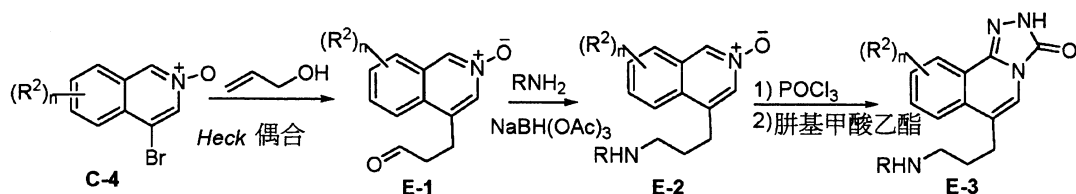
反應流程 IV 說明使溴化物 C-6 與炔丙醇交叉偶合可提供 D-1，D-1 可還原為 D-2。

反應流程 IV



如反應流程 V 中所示，N-氧化物 C-4 可與烯丙醇經歷 Heck 偶合反應以提供醛 E-1，醛 E-1 在還原胺化條件下可形成胺 E-2。接著如反應流程 III 中所述進行重排及環化反應步驟以提供胺 E-3。

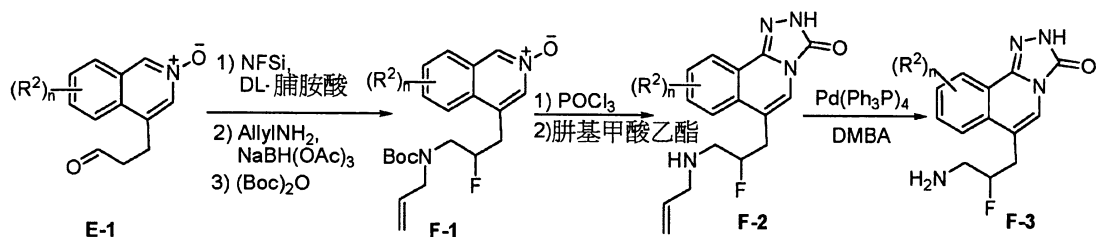
反應流程 V



如反應流程 VI 中所示，使用 DL-脯氨酸作為烯胺催化劑且使用 NFSi 作為氟源，醛 E-1 可經歷 α -氟化作用。可在還

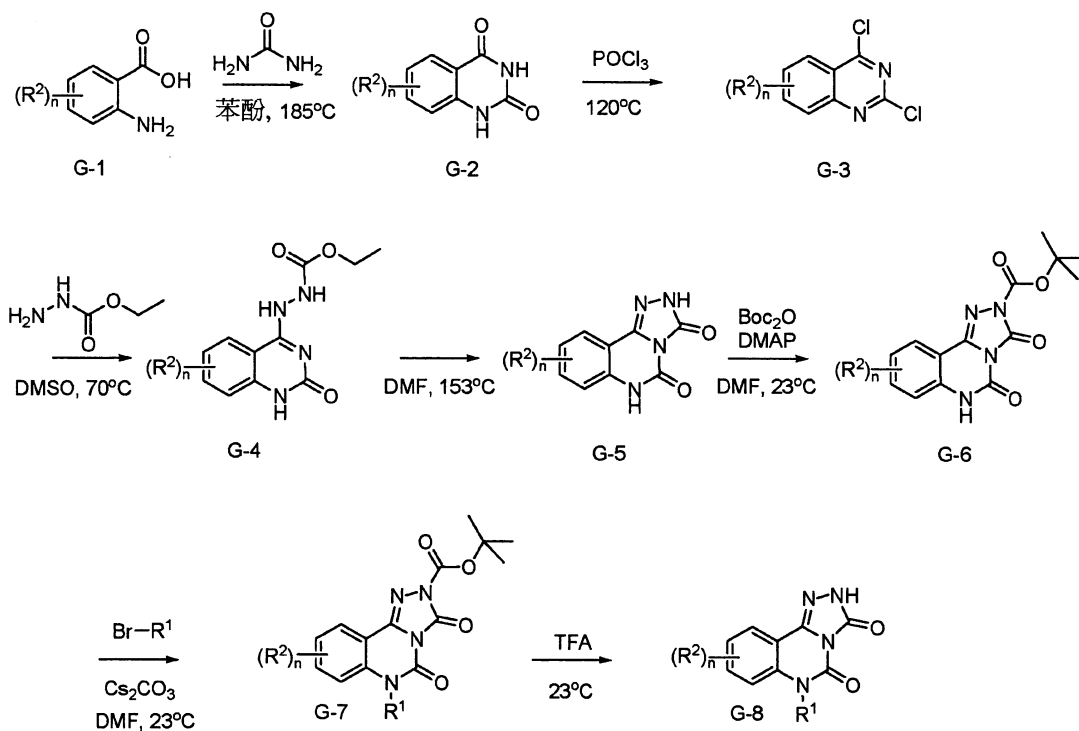
原胺化條件下用烯丙胺捕獲所得 α -氟醛，且進一步用Boc基團保護以提供化合物F-1。接著可如反應流程III中所述進行重排及環化反應步驟以提供由F-2表示之化合物，F-2經DMBA及催化量之Pd(0)處理得到經去保護之胺F-3。

反應流程 VI



如反應流程VII中所示，以脲使經取代鄰胺基苯甲酸(G-1)環化以提供喹唑啉酮(G-2)。經POCl₃處理，可使G-2氯化以提供二氯喹唑啉(G-3)。可使此等親電子劑與胍基甲酸乙酯反應以提供式G-4之化合物，可使該式G-4之化合物在加熱條件下於DMF中環化以提供三唑并喹唑啉酮(G-5)。三唑氮可經歷選擇性BOC保護以得到N-BOC-三唑并喹唑啉酮(G-6)，可藉由在碳酸鉍存在下使用多種溴化物使G-6烷基化以得到N-烷基化化合物(G-7)。以TFA進行BOC基團去保護反應可得到充分精細之三唑并喹唑啉酮(G-8)。

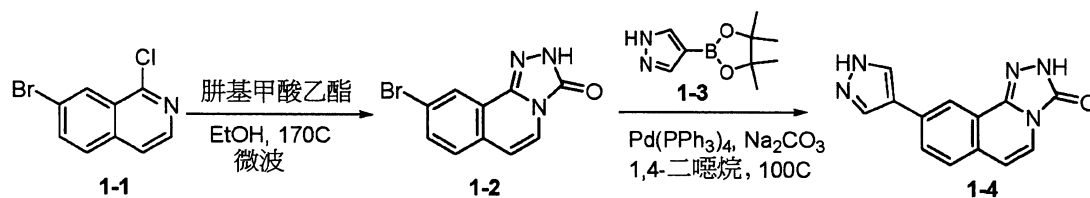
反應流程 VII



實例

所提供之實例意欲幫助進一步理解本發明。所使用之特定材料、種類及條件意欲進一步說明本發明且並不限制其合理範疇。下表所述之用於合成化合物之試劑為市售之物質或可易由一般熟習此項技術者製備。

流程 1



9-(1H-吡唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮
(1-4)

9-溴[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-2)

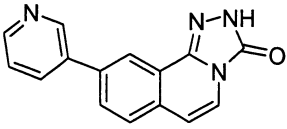
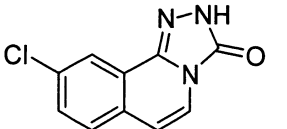
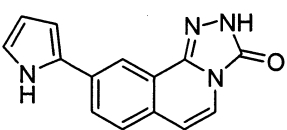
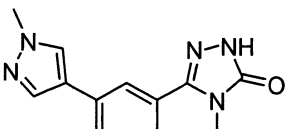
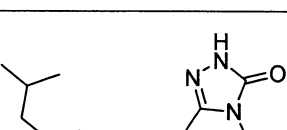
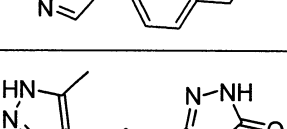
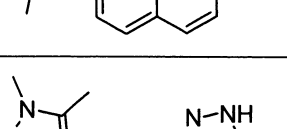
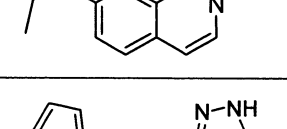
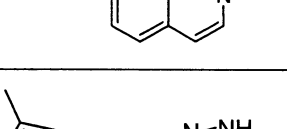
使 7-溴-1-氯異喹啉(1-1)(79 mg, 0.327 mmol, 1.0當量)及肼基甲酸乙酯(34 mg, 0.33 mmol, 1.0當量)懸浮於EtOH(1.5 mL)中。使反應化合物於170℃下在微波中接受照射40分鐘。以逆相HPLC(H₂O/CH₃CN梯度, 存在0.1%TFA)純化粗製混合物得到9-溴[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-2)。LRMS m/z (M+H): 實驗值: 263.9及264.9, 理論值: 264.1及265.1。

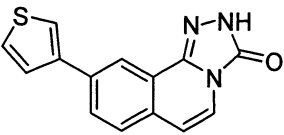
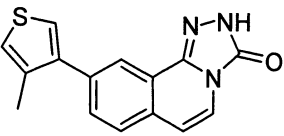
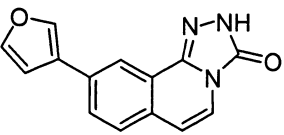
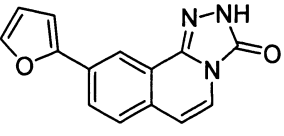
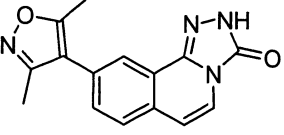
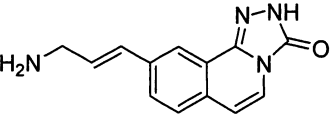
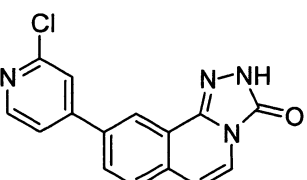
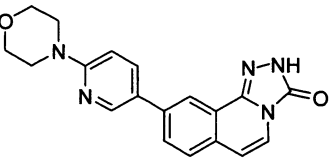
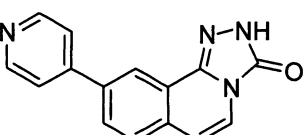
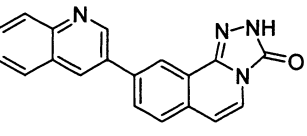
9-(1H-吡唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-4)

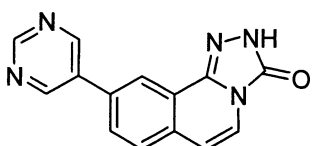
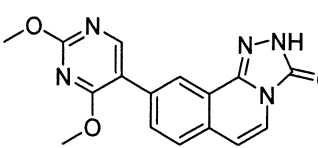
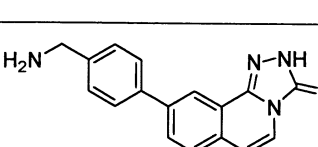
將4,4,5,5-四甲基-2-(1-H-吡唑-4-基)-1,3,2-二氧雜硼戊烷(29 mg, 0.15 mmol, 2.0當量)、9-溴[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(1-2)(20 mg, 0.076 mmol, 1.0當量)、LiCl(6 mg, 0.151 mmol, 2.0當量)及肆(三苯基磷)鈰(9 mg, 0.008 mmol, 0.1當量)溶解於無水1,4-二噁烷(0.5 mL)中, 接著用Na₂CO₃於水(0.2 mL)中之1 M溶液處理。在N₂下於100℃下加熱所得黃色混合物隔夜。以逆相HPLC(H₂O/CH₃CN梯度, 存在0.1%TFA)純化粗製產物, 以提供純淨產物(1-4)。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 8.46 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.94 (d, 1H, J=8.0 Hz), 7.74 (d, 1H, J=8.0 Hz), 7.58 (d, 1H, J=7.5 Hz), 6.95 (d, 1H, J=7.5 Hz)。LRMS m/z (M+H): 實驗值: 252.1, 理論值: 252.1。

根據反應流程1合成表1中所示之化合物。以TFA鹽之形式分離該等化合物。

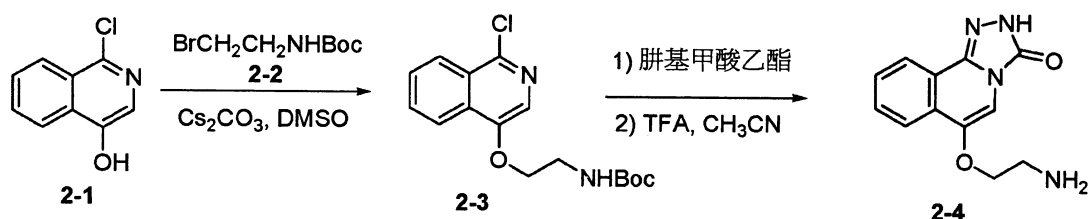
表 1

化合物	結構	名稱	LRMS m/z (M+H)
1-5		9-吡啶-3-基[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H)：實驗值：263.1，理論值：263.1。
1-6		9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H)：實驗值：220.1，理論值：220.0。
1-7		9-(1H-吡咯-2-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H)：實驗值：250.9，理論值：251.1。
1-8		9-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H)：實驗值：266.0，理論值：266.1。
1-9		9-(1-異丁基-1H-吡唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H)：實驗值：308.0，理論值：308.1。
1-10		9-(3,5-二甲基-1H-吡唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H)：實驗值：280.0，理論值：280.1。
1-11		9-(1,3,5-三甲基-1H-吡唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H)：實驗值：294.0，理論值：294.1。
1-12		9-(5-甲基-2-呋喃基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H)：實驗值：265.9，理論值：266.1。
1-13		9-(4-甲基-2-噻吩基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H)：實驗值：281.9，理論值：282.1。

1-14		9-(3-噻吩基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H): 實驗值: 267.9, 理論值: 268.1。
1-15		9-(4-甲基-3-噻吩基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H): 實驗值: 281.9, 理論值: 282.1。
1-16		9-(3-呋喃基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H): 實驗值: 251.9, 理論值: 252.1。
1-17		9-(2-呋喃基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H): 實驗值: 251.9, 理論值: 252.1。
1-18		9-(3,5-二甲基異噁唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H): 實驗值: 281.0, 理論值: 281.1。
1-19		9-[(1E)-3-胺基丙-1-烯-1-基][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H): 實驗值: 241.0, 理論值: 241.1。
1-20		9-(2-氯吡啶-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H): 實驗值: 296.9, 理論值: 297.1。
1-21		9-(6-嗎啉-4-基吡啶-3-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H): 實驗值: 348.0, 理論值: 348.1。
1-22		9-吡啶-4-基[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H): 實驗值: 263.0, 理論值: 263.1。
1-23		9-喹啉-3-基[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H): 實驗值: 313.9, 理論值: 313.1。

1-24		9-嘧啶-5-基[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H): 實驗值: 264.0, 理論值: 264.1。
1-25		9-(2,4-二甲氧基嘧啶-5-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H): 實驗值: 323.9, 理論值: 324.1。
1-26		9-[4-(胺甲基)苯基][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H): 實驗值: 291.0, 理論值: 291.1。

流程 2



6-(2-胺基乙氧基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮 (2-4)

2-[(1-氯異喹啉-4-基)氧基]乙基胺基甲酸第三丁酯(2-3)

將 1-氯-4-羥基異喹啉 (50 mg, 0.28 mmol, 1.0 當量)、 Cs_2CO_3 (454 mg, 1.39 mmol, 5.0 當量) 及 (2-溴乙基)胺基甲酸第三丁酯 (2-2) (94 mg, 0.42 mmol, 1.5 當量) 懸浮於無水 DMSO (2 mL) 中且在室溫下攪拌。當 LCMS 指示反應完成時，以逆相 HPLC ($\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ 梯度，存在 0.1% TFA) 純化粗製反應化合物，得到產物 (2-3)。LRMS m/z (M+H): 實驗值: 323.1, 理論值: 323.1。

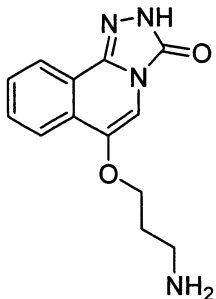
6-(2-胺基乙氧基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮

(2-4)

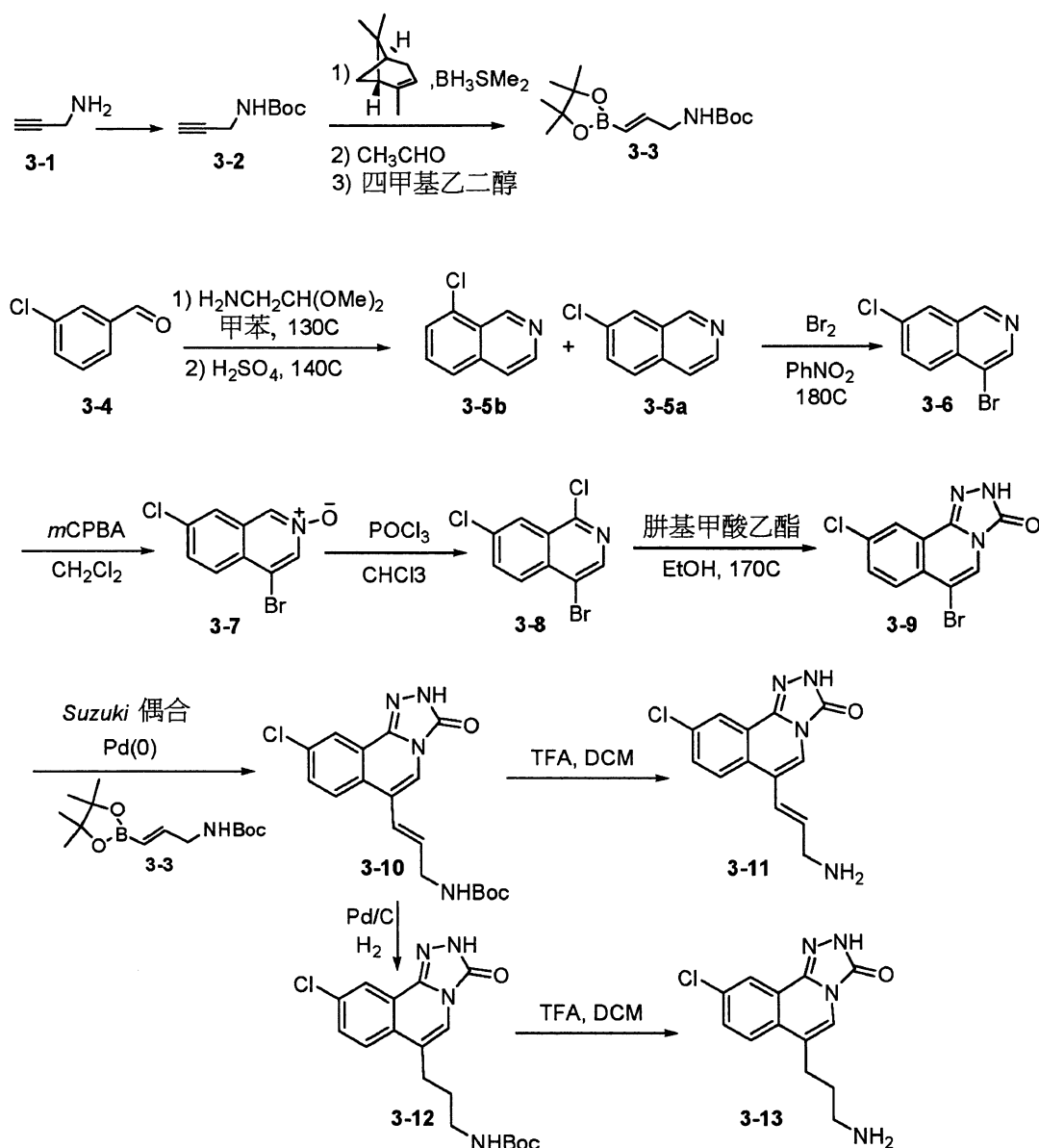
將 2-[(1-氯異喹啉-4-基)氧基]乙基胺基甲酸第三丁酯 (2-3) (10 mg, 0.031 mmol, 1.0 當量) 及 肼基甲酸乙酯 (16 mg, 0.155 mmol, 5.0 當量) 懸浮於 EtOH (1.5 mL) 中且接著於 170 °C 下在微波中接受照射。一旦 LCMS 顯示反應幾乎完成，則以 DMSO 稀釋反應混合物、過濾且以逆相 HPLC (H₂O/CH₃CN 梯度，存在 0.1% TFA) 純化以得到產物。使純淨溶離份在 150 °C 下於微波中接受照射 5 分鐘以移除 Boc 保護基且提供產物 (2-4)。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 8.29 (d, 1H, J=8.0 Hz), 8.24 (d, 1H, J=8.0 Hz), 7.77 (t, 1H, J=7.0 Hz), 7.72 (t, 1H, J=7.0 Hz), 7.26 (s, 1H), 4.39 (t, 2H, J=4.9 Hz), 3.54 (t, 2H, J=4.9 Hz)。LRMS m/z (M+H)：實驗值：245.1，理論值：245.1。

根據反應流程 2 合成表 2 中所示之化合物。以 TFA 鹽之形式分離該化合物。

表 2

化合物	結構	名稱	LRMS m/z (M+H)
2-5		6-(3-胺基丙氧基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H)：實驗值：259.1，理論值：259.1。

流程 3



6-[(1E)-3-氨基丙-1-烯-1-基]-9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]异喹啉-3(2H)-酮 (3-11) 及 6-(3-氨基丙基)-9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]异喹啉-3(2H)-酮 (3-13)

丙-2-炔基氨基甲酸第三丁酯 (3-2)

使炔丙胺 (1.16 mL, 18.16 mmol, 1.0 当量) 溶解於二氯甲烷 (20 mL) 中，且在 0℃ 下用 (Boc)₂O (3.89 g, 0.88 mmol,

0.98當量)處理。使反應混合物隔夜溫至室溫。蒸發溶劑，且使固體殘餘物自己烷再結晶以提供標題產物3-2。

**(E)-2-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧雜硼戊烷-2-基)乙烯基
胺基甲酸第三丁酯(3-3)**

於0℃下在N₂下將硼烷-甲硫醚錯合物(127 mg, 1.68 mmol, 1.3當量)逐滴添加至(-)- α -蒎烯((-)- α -pinene)(456 mg, 3.35 mmol, 2.6當量)於無水THF(1 mL)中之溶液中。在0℃下攪拌混合物1小時且接著在室溫下攪拌2小時。接著使混合物冷卻至0℃且逐滴添加丙-2-炔基胺基甲酸第三丁酯(3-2)(200 mg, 1.29 mmol, 1.0當量)於無水THF(0.8 mL)中之溶液。在室溫下攪拌混合物16小時。將反應混合物冷卻至0℃且逐滴添加乙醛(62 mg, 1.42 mmol, 1.1當量)。在室溫下攪拌5小時後，減壓蒸發溶劑及過量乙醛。接著將四甲基乙二醇(pinacol)(244 mg, 2.06 mmol, 1.6當量)於庚烷(3 mL)中之溶液添加至此殘餘物。在室溫下攪拌反應混合物3小時。在以水(2x10mL)洗滌溶液且以MgSO₄乾燥有機層之後，蒸發溶劑且粗製產物(3-2)不經純化在用於(3-9至3-10)之反應中使用。

7-氯異喹啉(3-5a)

將胺基乙醛縮二甲醇(10.54 g, 100.3 mmol, 1.54當量)添加至3-氯苯甲醛(9.13 g, 65.0 mmol, 1.0當量)於無水甲苯(125 mL)中之溶液中。使用Dean-Stark分離器使混合物回流以移除水。接著蒸發溶劑，且將所得粗製混合物緩慢添加至於140℃下攪拌之H₂SO₄(40 mL)中。添加後將反應混

合物傾於冰上20分鐘。以DCM萃取混合物，分離水層，小心中和至pH值等於7且接著以Et₂O萃取。有機層經MgSO₄乾燥、過濾且濃縮。以矽膠層析法(EtOAc/己烷=0->100%)純化粗製殘餘物得到呈7-異喹啉3-5a與8-異喹啉3-5b(a/b=3/2)之混合物之產物。LRMS m/z (M+H)：實驗值：164.1，理論值：164.0。

4-溴-7-氯異喹啉(3-6)

將7-氯異喹啉(9 g, 55.0 mmol, 1.0當量)[7-異喹啉3-5a與8-異喹啉3-5b(a/b=3/2)之混合物]溶解於硝基苯(180 mL)且在180°C下加熱。將溴逐滴添加至此暗橙色溶液(3.11 mL, 60.5 mmol, 1.1當量)中。在180°C攪拌反應混合物10小時。LCMS顯示幾乎完全之轉化。反應混合物冷卻至室溫，添加含於Et₂O(30 mL)中之2 M HCl，隨後以Et₂O及己烷稀釋。收集沉澱物，接著溶於EtOAc(200 mL)，用飽和Na₂CO₃中和且分離。有機層經Na₂SO₄乾燥、過濾且濃縮。以矽膠層析法(EtOAc/己烷=0->30%)純化粗製殘餘物得到標題產物3-4。LRMS m/z (M+H)：實驗值：242.2，理論值：241.9。

2-氧化4-溴-7-氯異喹啉(3-7)

使4-溴-7-氯異喹啉(3-6)(1 g, 4.12 mmol, 1.0當量)溶解於無水CH₂Cl₂(8.2 mL)中且以mCPBA(1.622 g, 9.40 mmol, 2.3當量)處理。在室溫下攪拌反應混合物，形成呈白色沉澱物之3-7。以Et₂O稀釋之後，收集固體且不經進一步純化用於下一步驟中。LRMS m/z(M+H)：實驗值：260.1，理

論值：259.9。

4-溴-1,7-二氯異喹啉(3-8)

使2-氧化4-溴-7-氯異喹啉(3-7)(1.2 g, 4.64 mmol, 1.0當量)溶解於無水CHCl₃(20 mL)中且逐滴以磷醯氯(0.649 mL, 6.96 mmol, 1.5當量)處理。反應混合物在66℃下回流。3小時後之LCMS顯示僅有產物。以乙酸乙酯稀釋反應混合物，用飽和NaHCO₃洗滌且有機層經Na₂SO₄乾燥、過濾且濃縮。以己烷濕磨殘餘物且過濾以提供產物3-8。LRMS m/z(M+H)：實驗值：277.9，理論值：277.9。

6-溴-9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(3-9)

使用4-溴-1,7-二氯異喹啉(3-8)代替化合物(1-1)作為起始物質，經由如流程1中製備化合物1-2之類似程序來製備3-9。(3-9)之LRMS m/z (M+H)：實驗值：300.9，理論值：300.9。

[(2E)-3-(9-氯-3-側氧基-2,3-二氫[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-6-基)丙-2-烯-1-基]胺基甲酸第三丁酯(3-10)

使6-溴-9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(3-9)(60 mg, 0.201 mmol, 1.0當量)及[(2E)-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧雜硼戊烷-2-基)丙-2-烯-1-基]胺基甲酸第三丁酯(3-3)(228 mg, 0.804 mmol, 4.0當量)溶解於無水1,4-二噁烷(0.6 mL)及2 M K₂CO₃水溶液(0.2 mL)中。將反應混合物加熱至100℃。18小時後之LCMS顯示已完全轉化。以逆相HPLC(H₂O/CH₃CN梯度，0.1% TFA)純化以提供標題產物3-10。LRMS m/z (M+H)：實驗值：375.1，理論值：375.1。

6-[(1E)-3-胺基丙-1-烯-1-基]-9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(3-11)

使[(2E)-3-(9-氯-3-側氧基-2,3-二氫[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-6-基)丙-2-烯-1-基]胺基甲酸第三丁酯(3-10)溶解於存在有0.1%TFA之CH₃CN(10 mL)中。使所得溶液在150℃下於微波中接受照射5分鐘。LCMS顯示僅存在產物。以逆相HPLC(H₂O/CH₃CN梯度, 含0.1%TFA)純化粗製混合物以提供所要產物3-11。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 8.29 (d, 1H, J=2.9 Hz), 7.90 (d, 1H, J=8.5 Hz), 7.78-7.64 (m, 2H), 7.14 (d, 1H, J=16.5 Hz), 6.30 (dt, 1H, J=16.5, 7.0 Hz), 3.83 (d, 2H, J=7.0 Hz)。LRMS m/z (M+H): 實驗值: 275.1, 理論值: 275.1。

[3-(9-氯-3-側氧基-2,3-二氫[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-6-基)丙基]胺基甲酸第三丁酯(3-12)

向[(2E)-3-(9-氯-3-側氧基-2,3-二氫[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-6-基)丙-2-烯-1-基]胺基甲酸第三丁酯(3-10)(14 mg, 0.037 mmol, 1.0當量)於EtOH(4 mL)中之溶液內添加Pd(OH)₂/C(20%Pd, 1.3 mg, 0.002 mmol, 0.05當量)。在氫氣之大氣壓力下於室溫下攪拌反應混合物1.5小時。接著濾出催化劑且將濾液濃縮至乾燥。以逆相HPLC(H₂O/CH₃CN梯度, 含0.1%TFA)純化所得粗製產物以提供標題產物(3-12)。LRMS m/z (M+H): 實驗值: 377.1, 理論值: 377.1。

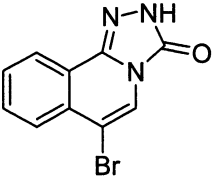
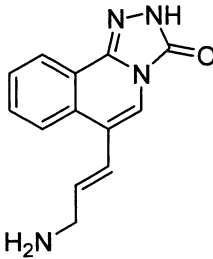
6-(3-胺基丙基)-9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-

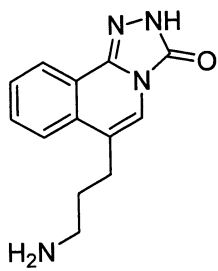
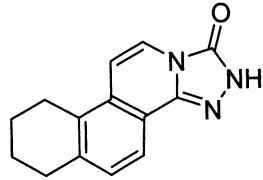
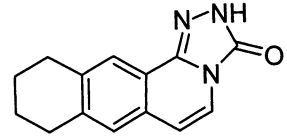
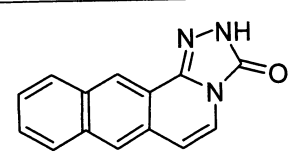
酮(3-13)

使[3-(9-氯-3-側氧基-2,3-二氫[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-6-基)丙基]胺基甲酸第三丁酯(3-12)溶解於存在有0.1% TFA之CH₃CN(10 mL)中。使所得溶液於150℃下在微波中接受照射5分鐘。LCMS顯示僅存在產物。以逆相HPLC(H₂O/CH₃CN梯度, 含0.1%TFA)純化粗產物以提供純淨產物(3-13)。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ. 8.29 (d, 1H, J=2.2 Hz), 7.90 (d, 1H, J=9.0 Hz), 7.75 (dd, 1H, J=9.0, 2.2 Hz), 7.54 (s, 1H), 3.09 (t, 2H, J=7.5 Hz), 2.94 (t, 2H, J=7.5 Hz), 2.06 (五重峰, 2H, J=7.5 Hz)。LRMS m/z (M+H): 實驗值: 277.1, 理論值: 277.1。

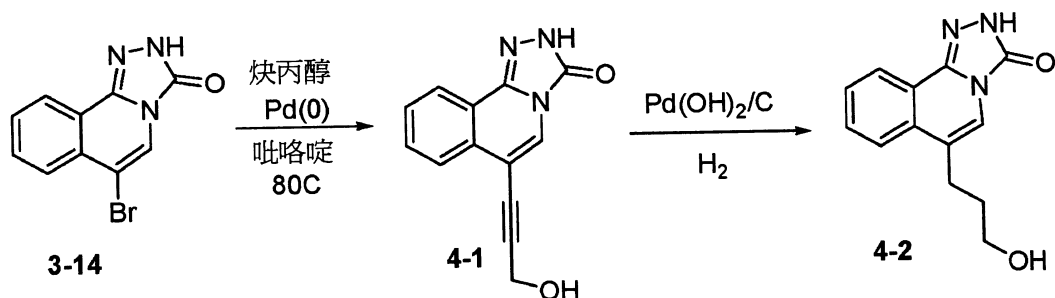
藉由簡單修改流程3所描述之程序製備以下表3中之化合物。以TFA鹽之形式分離化合物。

表 3

化合物	結構	名稱	LRMS m/z (M+H)
3-14		6-溴[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H): 實驗值: 265.0及267.0, 理論值: 264.0及266.0。
3-15		6-[(1E)-3-胺基丙-1-烯-1-基][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H): 實驗值: 241.1, 理論值: 241.1。

3-16		6-(3-氨基丙基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H): 實驗值: 243.2, 理論值: 243.1。
3-17		6,7,8,9-四氫苯并[f][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-1(2H)-酮	LRMS m/z (M+H): 實驗值: 307.6, 理論值: 240.1。
3-18		8,9,10,11-四氫苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H): 實驗值: 307.6, 理論值: 240.1。
3-19		苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H): 實驗值: 236.2, 理論值: 236.1。

流程 4



6-(3-羥基丙基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮 (4-2)

6-(3-羥基丙-1-炔-1-基)[1,2,4]-三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮 (4-1)

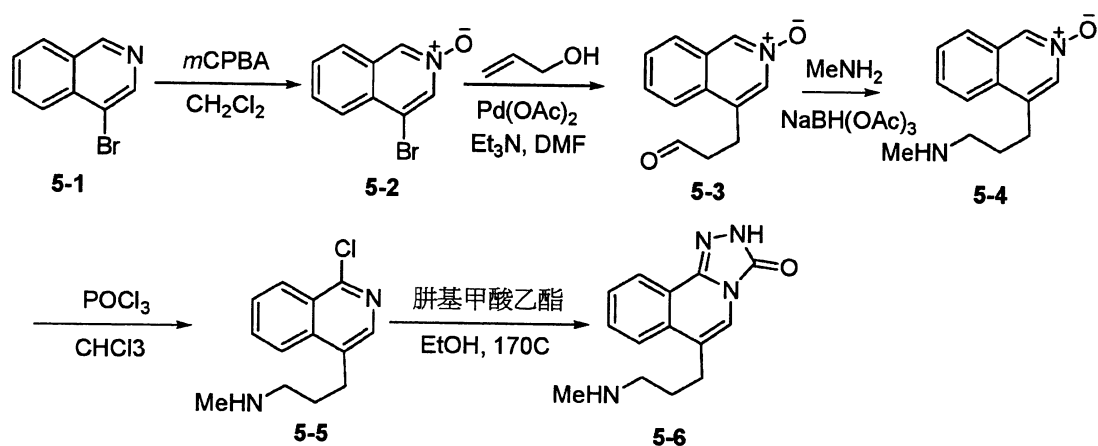
使 6-溴-9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮 (3-14) (400 mg, 1.515 mmol, 1.0 當量) 及 炔丙醇 (0.354 mL, 6.06 mmol, 4.0 當量) 溶解於吡咯啶 (5.83 mL) 中且以 肆 (三苯基

磷)鈹(0)(88 mg, 0.076 mmol, 0.05當量)處理。於80℃下加熱反應混合物4小時。真空蒸發溶劑。以矽膠層析法(EtOAc/己烷=0->100%)純化所得殘餘物以提供純淨產物(4-1)。LRMS m/z (M+H): 實驗值: 240.1, 理論值: 240.1。

6-(3-羥基丙基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(4-2)

使6-(3-羥基丙-1-炔-1-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(4-1)(100mg, 0.418 mmol, 1.0當量)及氫氧化鈹(11.74 mg, 0.017 mmol, 0.04當量)懸浮於MeOH(6 ml)中。將氫氣球連接至燒瓶。在室溫下攪拌反應混合物。40分鐘時之LCMS顯示僅存在產物。濾出催化劑且以MeOH洗滌。濃縮濾液。以逆相HPLC(H₂O/CH₃CN梯度, 存在0.1%TFA)純化粗產物以得到產物(4-2)。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 8.27 (d, 1H, J=8.0 Hz), 7.91 (d, 1H, J=8.0 Hz), 7.73 (dt, 1H, J=8.0, 1.4 Hz), 7.62 (dt, 1H, J=8.0, 1.4 Hz), 7.47 (s, 1H), 3.69 (t, 2H, J=6.5 Hz), 2.91 (t, 2H, J=7.5 Hz), 2.03-1.76 (m, 2H)。LRMS m/z (M+H): 實驗值: 244.2, 理論值: 244.1。

流程 5



**6-[3-(甲胺基)丙基][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮
(5-6)**

2-氧化4-溴異喹啉(5-2)

使用4-溴異喹啉(5-1)代替化合物(3-6)作為起始物質，經由如流程3中用於製備化合物(3-7)之類似程序來製備化合物(5-2)。(5-2)之LRMS m/z (M+H)：實驗值：224.9及225.9，理論值：225.0及226.0。

3-(2-氧離子基異喹啉-4-基)丙醛(5-3)

使2-氧化4-溴異喹啉(5-2)(500 mg, 2.23 mmol, 1.0當量)、氯化鋰(95 mg, 2.23 mmol, 1.0當量)及乙酸鈣(II)(20.04 mg, 0.089 mmol, 0.04當量)溶解於無水DMF(8.6 mL)中。向此橙色溶液添加三乙胺(933 μ l, 6.69 mmol, 3.0當量)及烯丙醇(308 μ l, 4.46 mmol, 2.0當量)。在100°C下加熱反應混合物1.5小時。形成黑色沉澱物。且LCMS顯示起始物質已完全消耗。過濾反應混合物且以EtOAc洗滌，接著濃縮。以矽膠層析法(MeOH/EtOAc=0->20%)純化粗製產物以提供化合物(5-3)。LRMS m/z (M+H)：實驗值：202.1，理論值：202.2。

N-甲基-3-(2-氧離子基異喹啉-4-基)丙-1-胺(5-4)

以甲胺於THF(1.2 ml, 2.40 mmol, 2.8當量)中之2.0 M溶液來處理3-(2-氧離子基異喹啉-4-基)丙醛(5-3)(170 mg, 0.85 mmol, 1.0當量)，隨後添加三乙醯氧基硼氫化鈉(86 mg, 0.41 mmol, 0.5當量)。在室溫下攪拌反應混合物。當LCMS顯示大部分產物時，以EtOAc稀釋反應混合物且以

飽和 NaHCO_3 水溶液洗滌。所合併之有機層經 Na_2SO_4 乾燥、過濾且濃縮。以逆相 HPLC($\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ 梯度，存在 0.1% TFA) 純化粗製產物以得到產物 (5-4)。LRMS m/z (M+H)：實驗值：217.2，理論值：217.1。

3-(1-氯異喹啉-4-基)-N-甲基丙-1-胺 (5-5)

使用 N-甲基-3-(2-氧離子基異喹啉-4-基)丙-1-胺 (5-4) 代替化合物 (3-7) 作為起始物質，經由如流程 3 中用於製備化合物 (3-8) 之類似程序來製備化合物 (5-5)。LRMS (5-5) m/z (M+H)：實驗值：235.1，理論值：235.1。

6-[3-(甲胺基)丙基][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮 (5-6)

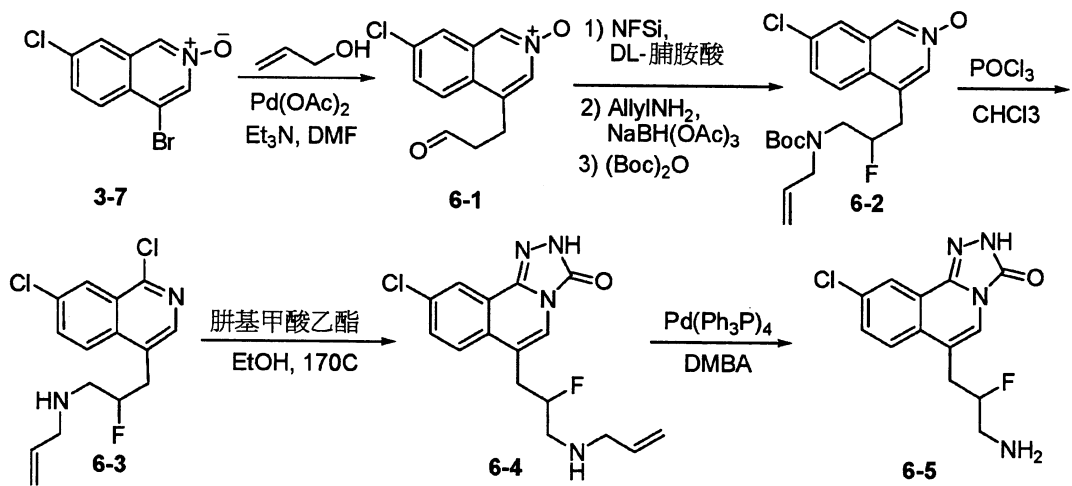
使用 3-(1-氯異喹啉-4-基)-N-甲基丙-1-胺 (5-5) 代替化合物 (3-8) 作為起始物質，經由如流程 3 中用於製備化合物 (3-9) 之類似程序來製備化合物 (5-6)。對於化合物 (5-6) 而言， ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.31 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 7.90 (d, 1H, $J=8.0$ Hz), 7.73 (dt, 1H, $J=8.0, 1.5$ Hz), 7.66 (dt, 1H, $J=8.0, 1.5$ Hz), 7.53 (s, 1H), 3.13 (t, 2H, $J=8.0$ Hz), 2.95 (t, 2H, $J=8.0$ Hz), 2.72 (s, 3H), 2.08 (五重峰, 2H, $J=8.0$ Hz)；LRMS m/z (M+H)：實驗值：257.2，理論值：257.1。

根據該等反應流程及流程 5 合成表 4 中所示之化合物。以 TFA 鹽之形式分離化合物。

表 4

化合物	結構	名稱	LRMS m/z (M+H)
5-7		6-{3-[(2,2,2-三氟乙基)胺基]丙基}[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H)：實驗值：325.0，理論值：325.1。
5-8		6-[3-(乙胺基)丙基][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H)：實驗值：271.1，理論值：271.1。

流程 6



6-(3-胺基-2-氟丙基)-9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮 (6-5)

3-(7-氯-2-氧離子基異喹啉-4-基)丙醛 (6-1)

使用 2-氧化 4-溴-7-氯異喹啉 (3-7) 代替化合物 (5-2) 作為起

始物質，經由如流程5中用於製備化合物(5-3)之類似程序來製備化合物(6-1)。化合物(6-1)之LRMS m/z (M+H)：實驗值：236.0，理論值：236.0。

烯丙基[3-(7-氯-2-氧離子基異喹啉-4-基)-2-氟丙基]胺基甲酸第三丁酯(6-2)

將3-(7-氯-2-氧離子基異喹啉-4-基)丙醛(6-1)(300 mg, 1.27 mmol, 1.0當量)及N-氟苯磺醯亞胺(442 mg, 1.40 mmol, 1.1當量)溶解於THF(11.6 mL)及異丙醇(1.16 mL)中。向此混合物添加DL-脯胺酸(29.3 mg, 0.26 mmol, 0.2當量)。室溫下隔夜攪拌反應混合物。LCMS顯示產物。向此反應混合物中添加烯丙胺(191 μ l, 2.55 mmol, 2.0當量)及三乙醯氧基硼氫化鈉(1.08 g, 5.09 mmol, 4.0當量)。在室溫下攪拌反應混合物3小時，接著添加(Boc)₂O(833 mg, 3.82 mmol, 3當量)。室溫下隔夜攪拌所得反應混合物。接著以H₂O淬滅反應混合物且以EtOAc萃取。所合併之有機層經Na₂SO₄乾燥、過濾且濃縮。以矽膠層析法(EtOAc/己烷=0-100%)純化粗製產物以提供產物(6-2)。LRMS m/z (M+H)：實驗值：395.1，理論值：395.2。

N-[3-(1,7-二氯異喹啉-4-基)-2-氟丙基]丙-2-烯-1-胺(6-3)

使用烯丙基[3-(7-氯-2-氧離子基異喹啉-4-基)-2-氟丙基]胺基甲酸第三丁酯(6-2)代替化合物(3-7)作為起始物質，經由如流程3中用於製備化合物(3-8)之類似程序來製備化合物(6-3)。化合物(6-3)之LRMS m/z (M+H)：實驗值：313.0，理論值：313.1。

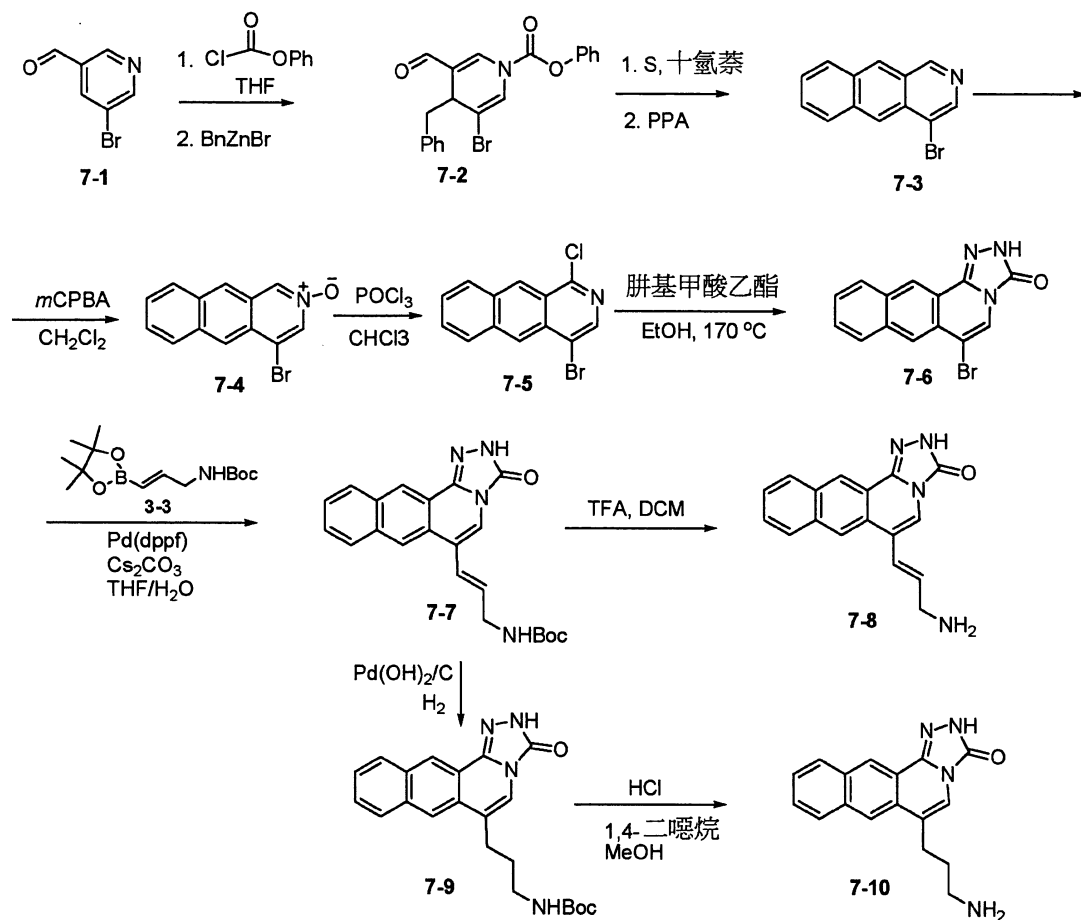
6-[3-(烯丙基氨基)-2-氟丙基]-9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(6-4)

使用 N-[3-(1,7-二氯異喹啉-4-基)-2-氟丙基]丙-2-烯-1-胺(6-3)代替化合物(3-8)作為起始物質，經由如流程3中用於製備化合物(3-9)之類似程序來製備化合物(6-4)。化合物(6-4)之 LRMS m/z (M+H)：實驗值：335.0，理論值：335.1。

6-(3-氨基-2-氟丙基)-9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(6-5)

使 6-[3-(烯丙基氨基)-2-氟丙基]-9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(6-4)(18 mg, 0.054 mmol, 1.0當量)及 DMBA(25.2 mg, 0.16 mmol, 3.0當量)及 肆(三苯基膦)鉍(0)(3 mg, 2.60 μ mol, 0.05當量)懸浮於 $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ (1 mL)中。在 50°C 下加熱所得黃色懸浮液。5小時時之 LCMS 顯示大多數產物。以逆相 HPLC($\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ 梯度，存在有 0.1%TFA)純化粗產物以提供純淨產物(6-5)。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.26 (d, 1H, $J=2.3$ Hz), 7.88 (d, 1H, $J=8.5$ Hz), 7.72 (dd, 1H, $J=8.5, 2.3$ Hz), 7.61 (s, 1H), 5.19-4.94 (dm, 1H, $J=50.0$ Hz), 3.52-3.33 (m, $\sim 4\text{H}$ ，具有溶劑峰之重疊)。LRMS m/z (M+H)：實驗值：295.3，理論值：295.1。

流程 7



6-[(1E)-3-氨基丙-1-烯-1-基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-8)及6-(3-氨基丙基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-10)

4-苯甲基-3-溴-5-甲醯基吡啶-1(4H)-甲酸苯酯(7-2)

將 5-溴菸鹼醛(7-1)(930 mg, 5 mmol, 1 當量)於無水 THF(10 ml)中之溶液冷卻至 0°C 且以氯甲酸苯酯(783 mg, 5 mmol, 1 當量)處理。接著在此溫度下攪拌反應混合物 1 h, 之後添加苯甲基溴化鋅(THF 中之 0.5 M, 10 ml, 5 mmol, 1 當量)。在 0°C 下再次攪拌所得溶液 30 分鐘, 接著溫至室溫且傾入飽和氯化銨水溶液中。分離有機層且以乙酸乙酯萃

取水層3次，乾燥且濃縮所合併之有機萃取物，得到標題二氫吡啶(dyhydropyridine)7-2，其不經進一步純化用於下一步驟中。LRMS m/z ：實驗值：398.0，400.0，計算值：(M+H) 398.0, 400.0。

4-溴苯并[g]異喹啉(7-3)

使在先前步驟中獲得之4-苯甲基-3-溴-5-甲醯基吡啶-1(4H)-甲酸苯酯(7-2)及硫(321 mg, 10 mmol, 2當量)於十氫萘(20 ml)中之懸浮液回流15小時且接著添加至聚磷酸(30 ml)中，在140℃下攪拌。在此溫度下攪拌反應混合物30 min且接著傾入冰/水混合物中。以乙酸乙酯洗滌水層，鹼化至pH值約為9且接著以乙酸乙酯萃取3次。乾燥且濃縮所合併之萃取物以得到粗製產物7-3。LRMS m/z ：實驗值：258.0, 260.0，計算值：(M+H) 258.0, 260.0。 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.61-7.71 (m, 2H), 8.13-8.17 (m, 2H), 8.6 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.73 (s, 1H), 9.37 (s, 1H)。

2-氧化4-溴苯并[g]異喹啉(7-4)

以mCPBA(~70%, 559 mg, 2.27 mmol, 1.5當量)處理4-溴苯并[g]異喹啉(7-3)(390 mg, 1.5 mmol, 1當量)於二氯甲烷(25 ml)中之溶液且在室溫下攪拌反應混合物直至LCMS顯示完全轉化。以乙醚稀釋反應混合物且藉由過濾收集沉澱物，以乙醚洗滌且乾燥以得到標題N-氧化物7-4。LRMS m/z ：實驗值：274.0, 276.0，計算值：(M+H) 274.0, 276.0。

4-溴-1-氯苯并[g]異喹啉(7-5)

將2-氧化4-溴-苯并[g]異喹啉(7-4)(380 mg, 1.39 mmol, 1當量)溶於POCl₃與氯仿之¼ v/v混合物(20 ml)中且在55℃下攪拌所得溶液2小時。接著小心地將反應混合物傾入飽和碳酸氫鈉水溶液中，以乙酸乙酯萃取、乾燥且濃縮以得到粗製所要氯化物7-5。LRMS m/z：實驗值：294.0, 292.0，計算值：(M+H) 294.0, 292.0。

6-溴苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-6)

將4-溴-1-氯苯并[g]異喹啉(7-5)(50 mg, 0.171 mmol, 1當量)及胼基甲酸乙酯(53 mg, 0.513 mmol, 3當量)於乙醇(2 ml)中之懸浮液於170℃下在微波照射下於密封管中加熱60 min。在RP HPLC(含TFA之MeCN/水)上純化所得混合物以得到所要縮合產物7-6。LRMS m/z：實驗值：314.0, 316.0，計算值：(M+H) 314.0, 316.0。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 7.67-7.71 (m, 2H), 7.84 (s, 1H), 8.07-8.10 (m, 2H), 8.46 (s, 1H), 8.82 (s, 1H)。

[(2E)-3-(3-側氧基-2,3-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-6-基)丙-2-烯-1-基]胺基甲酸第三丁酯(7-7)

向[(2E)-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧雜硼戊烷-2-基)丙-2-烯-1-基]胺基甲酸第三丁酯(3-3)(32.5 mg, 0.115 mmol, 4當量)及6-溴苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-6)(9.0 mg, 0.029 mmol, 1當量)於THF(0.5 ml)中之溶液內添加碳酸鉍(18.7 mg, 0.058 mmol, 2當量)於水(0.2 ml)中之溶液，且以氮使所得混合物脫氧且以Pd(dppf)(1.0 mg, 0.0014 mmol, 0.05當量)處理。再次使反應混合物脫氧且於

150°C 下在微波照射下於密封管中加熱 8 min。經由矽藻土墊過濾所得懸浮液，以 DMF 洗滌，且在 RP HPLC(含 TFA 之 MeCN/水)上純化濾液以提供所要偶合產物 7-7。LRMS m/z ：實驗值：391.2，計算值：(M+H) 391.2。

6-[(1E)-3-胺基丙-1-烯-1-基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-8)

在室溫下攪拌[(2E)-3-(3-側氧基-2,3-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-6-基)丙-2-烯-1-基]胺基甲酸第三丁酯(7-7)(3.0 mg, 0.0077 mmol)於二氯甲烷與 TFA(1.0 ml)之 ¼ 混合物中之溶液 15 min 且濃縮至乾燥以得到呈 TFA 鹽形式之去保護材料。LRMS m/z ：實驗值：291.1，計算值：(M+H) 291.1。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 3.88 (d, J=6.6 Hz, 2H), 6.35 (dt, J=6.6, 15.6 Hz, 1H), 7.31 (d, J=15.7 Hz, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.65-7.68 (m, 2H), 8.05-8.11 (m, 2H), 8.38 (s, 1H), 8.84 (s, 1H)。

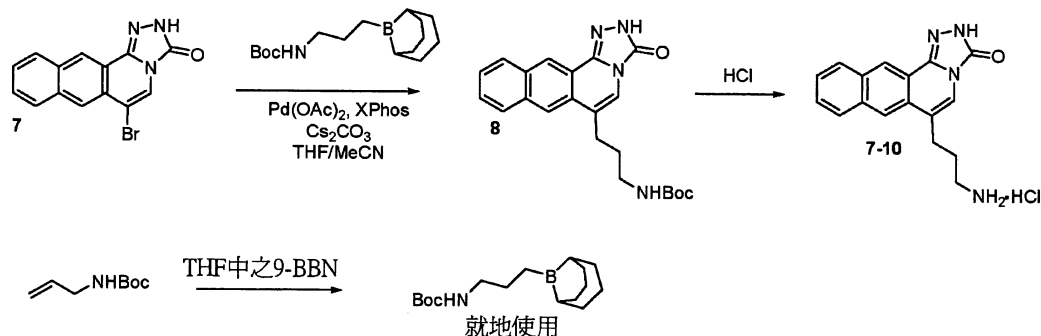
[3-(3-側氧基-2,3-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-6-基)丙基]胺基甲酸第三丁酯(7-9)

以披氫氧化鈣(II)碳(20 %, 77 mg, 0.1 當量)處理 6-[(1E)-3-胺基丙-1-烯-1-基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-8)(890 mg, 1.1 mmol, 1 當量)於 MeOH(120 ml)中之溶液且在室溫下於氫氣之大氣壓力下攪拌。藉由 LCMS 監測反應且在所有起始物質消耗掉後進行過濾。濃縮濾液且藉由 RP HPLC(含 TFA 之 MeCN/水)純化所得殘餘物以得到標題產物 7-9。LRMS m/z ：實驗值：393.2，計算

值：(M+H) 393.2。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 1.96-2.03 (m, 2H), 2.96 (t, $J=8.1$ Hz, 2H), 3.25-3.29 (t, $J=7.1$ Hz, 2H), 7.41 (s, 1H), 7.62-7.66 (m, 2H), 8.05-8.09 (m, 2H), 8.31, (s, 1H), 8.82 (s, 1H)。

6-(3-氨基丙基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮(7-10)

以濃HCl水溶液(2.0 ml)處理[3-(3-側氧基-2,3-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-6-基)丙基]氨基甲酸第三丁酯(7-9)(162 mg, 0.41 mmol, 1當量)於1,4-二噁烷(20 ml)及甲醇(10 ml)中之溶液，且在室溫下攪拌反應混合物2 h且濃縮。將所得殘餘物溶解於水中，用乙酸乙酯洗滌且濃縮水層以得到呈HCl鹽形式之所要去保護產物7-10。LRMS m/z ：實驗值：293.1，計算值：(M+H) 293.1。 ^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ : 1.62-1.71 (m, 2H), 2.13-2.20 (m, 2H), 2.90-2.97 (m, 2H), 6.02 (s, 1H), 7.11-7.33 (m, 6H)。

$$\begin{array}{c} \text{O} \qquad \qquad \text{O} \\ \parallel \qquad \qquad \parallel \end{array}$$


0542.doc - 112 -

向 50 L 圓柱形容器中潰入 THF (13.5 L) 及醛 2 (1.35 kg, 1 當量) 且攪拌直至所有所有醛溶解。伴隨攪拌，於室溫下添加氯甲酸苯酯 (960 mL, 1.05 當量) 且陳化 2 小時。將漿料冷卻至 -20°C 且經 1 小時逐滴添加苯甲基溴化鋅 (14.5 L, 1.0 當量)，接著在該溫度下陳化 2 小時。為了淬滅，將反應溶液饋入含飽和氯化銨溶液 (13.5 L, 10 體積) 之 50 L 萃取器內。以 MTBE (13.5 L, 10 體積) 萃取產物。分離各層且以 25% 鹽水溶液 (13.5 L, 10 體積) 洗滌有機層。所得有機層 (約 40 L) 經硫酸鈉隔夜乾燥。傾析出有機物且潰至裝備有氮氣管線、熱電偶及分批濃縮器之 50 L 4 頸圓底燒瓶中。在 $10-15^{\circ}\text{C}$ 、27-28 Hg 柱下蒸餾溶液。當溶液體積達到 10-12 L 時，以 MTBE (6.75 L, 5 體積) 沖洗溶液 2 次且在每次添加之後將其濃縮至 10 L。在第二次沖洗後，進一步將反應混合物蒸餾至約 5 反應體積 (約 7 L)。分批添加己烷 (13.5 L, 10 體積) 以進一步推動結晶作用。使用母液完成轉移，藉由過濾分離固體。以 2:1 己烷/MTBE (2 x 3.5 L) 洗滌濾餅且在氮氣帳篷下於濾紙上乾燥 1 天。獲得呈微黃色結晶固體之產物 3。

反應在裝備有氮氣入口、攪拌軸、熱電偶及加熱旋管之 50 L 圓柱形容器中進行。提前一天製備 tBuOH (10 體積) 與水 (相對於 SM 總質量之 10 當量) 之溶液。在室溫下將胺基甲酸酯 3 (由檢定所確定之 1.747 kg/1.66 kg) 饋入溶液中。分批潰入 tBuOK (740 g, 1.6 當量) (溫度增加至 34°C)。獲得淺黃色漿料。將溶液加熱至 55°C 且攪拌 2 小時 (檢定顯示 72% 之轉化率)。再添加 0.15 當量 (70 g) tBuOK 且再將溶液陳化 2 小

時45分鐘且檢定顯示98%之轉化率。使反應冷卻至30℃且以水(以溶解在反應期間形成之固體沉澱物-大概為PhOK)及甲苯(17.5 L, 5體積)稀釋。將溶液進一步冷卻至5℃且以1.0 N HCl(7.3 L, 1.75當量)緩慢淬滅, 溫度維持在9℃或低於9℃。攪拌溶液5 min且分離各層。添加水(10體積)及甲苯(5體積)(另外之甲苯顯著有利於第二次分離。分離各層且再以3 x 17.5 L水洗滌有機層(檢定顯示在第4次水洗之後無tBuOH剩餘, 注意: 產物開始自甲苯溶液析出少許, 觀察到碎屑層)。以20% NaCl(Kf=1280 ppm)洗滌有機層。處理後之二氫吡啶在甲苯中不穩定且應立即用於下一步驟中。

使二氫吡啶於甲苯中之溶液(來自先前步驟)冷卻至2℃且向其中分批漬入703 g DDQ。黃色溶液立即轉變為暗紅色, 且接著變成粉色漿料(由於形成DDQH)。每次漬入DDQ會觀察到輕微放熱且將溫度維持在5℃以下。當反應不完全(由HPLC檢定所測定)時, 再添加0.1當量(70 g)DDQ, 接著再添加0.4當量(28 g)DDQ。將漿料傾於纖維素粉(solka floc)床上、過濾且以甲苯洗滌直至固體大部分無色。檢定溶液以顯示922 g吡啶。使溶液保持在室溫下隔夜。第二天, 以1.0 N NaOH (8.6 L)洗滌甲苯中之吡啶2次。以水洗滌有機層1次, 以20% NaCl洗滌一次且在甲苯中濃縮至3體積。此溶液在室溫下隔夜儲存。

向室溫下吡啶於甲苯中之溶液中漬入乙酸, 隨後漬入硫酸(添加H₂SO₄期間觀察到輕微放熱, 溫度升高至35℃)。

將綠棕色溶液加熱至 50°C (過熱至 59°C ，歷時約20分鐘)且在 $t=1$ 小時時以11.5 g產物接種。澄清溶液立即變成漿料且再攪拌2小時。使溶液冷卻至 10°C (注意：溶液冷卻至 4°C 會凝固且不能過濾！)且過濾。以1.1 L乙酸洗滌濾液，隨後以2 L乙酸乙酯洗滌3次。在氮氣下隔夜乾燥黃色結晶固體得到苯并異喹啉4。

向22 L萃取器中潰入800 mL 10 N NaOH、3.2 L GMP水、10 L二氯甲烷及化合物4。在4溶解後，收集底部有機溶液用於反應。向另一50 L燒瓶中潰入839 g m-CPBA及10 L二氯甲烷。在m-CPBA溶解後(溫度降低至 12°C)，在 $12-26^{\circ}\text{C}$ 下經1 h添加1之游離鹼溶液(需要冷水浴用於控制溫度)。添加期間形成濃稠漿料且在室溫下攪拌17 h。在HPLC顯示不存在1時，過濾漿料(緩慢過濾，歷時2 h)且以2 L二氯甲烷沖洗濾餅。在室溫下真空乾燥黃色固體產物且獲得1.114 kg產物5。

室溫下使化合物5(1090 g，約2.53 mol)懸浮於50 L燒瓶中之18 L乙腈中。在 $< 25^{\circ}\text{C}$ 下經3.25 h向燒瓶中添加 POCl_3 (256 mL, 2.79mol)(使用水浴)且使所得漿料在室溫下再陳化3 h。經1.5 h添加18 L 0.5 M K_2HPO_4 以淬滅反應。陳化30 min後，過濾漿料且以18 L飽和 Na_2CO_3 洗滌濾餅且接著以18 L GMP水洗滌。在室溫下於氮氣流下乾燥黃色固體產物過週末且獲得678 g產物6。

向50 L燒瓶中潰入化合物6(644 g，約2.2 mol)、庚醇(19.3 L)、胼基甲酸乙酯(252 g，2.42 mol)及p-TsOH-

H₂O(105 g, 0.55 mol)。經2.5 h將混合物加熱至124°C且在120-126°C下陳化17 h。所得漿料經4 h冷卻至36°C且過濾。以1.5 L乙醇洗滌濾餅2次，且接著在氮氣下於室溫下乾燥。獲得呈棕色結晶固體之產物7。

使THF中之28 L 9-BBN在50 L圓底燒瓶中冷卻至<15°C以下，隨後潰入2.0 kg烯丙基胺基甲酸第三丁酯。接著使溶液溫至室溫且陳化2小時。兩小時後，適溶液冷卻至<15°C以下，且向澄清9-BBN溶液中潰入2 L H₂O且噴射15分鐘以惰化溶液且消除所產生的H₂氣體。接著將2.0 kg三唑(7)潰入澄清9-BBN加合物溶液中且藉由N₂噴射15分鐘再次進行脫氣。在向9-BBN溶液添加三唑及H₂O之前一小時，製成催化劑溶液。將4.3 kg CsCO₃及10 L MeCN潰入50 L圓底燒瓶中且噴射N₂ 15分鐘。接著將Pd(OAc)₂(42 g)及X-Phos(181 g)快速潰入漿料內且使所得漿料陳化且在室溫下繼續噴射1小時。接著在維持惰性之下，將經脫氣之9-BBN加合物及三唑漿料真空轉移至催化劑溶液內。將所得漿料加熱至55°C，繼續噴射直至反應溫度達到45°C。藉由HPLC監測轉化率。在冷卻至室溫後，經由纖維素粉在線過濾溶液，以60 L THF沖洗且轉移至180 L萃取器中。接著以60 L鹽水及60 L 1:1之1N HCl：鹽水洗滌溶液。在100 L萃取器中將所得THF中之漿料加熱至高達45°C且冷卻至接著<15°C以下。在該溫度下陳化30分鐘之後，直接自100 L萃取器過濾漿料。接著藉由在72 L圓底燒瓶中加熱至40°C，使偶合產物(8)溶解於65 L NMP中。經由在線過

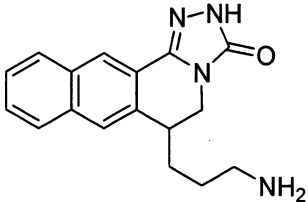
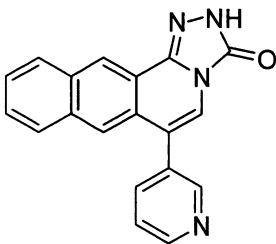
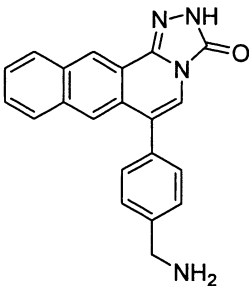
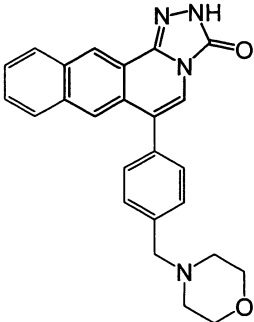
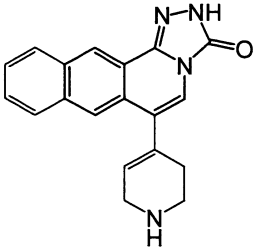
濾器過濾所得紅色溶液，冷卻至室溫，且接著以35 L H₂O進行再結晶。接著過濾漿料且以17.5 L MeCN洗滌濾餅。在氮氣下乾燥微黃色白色固體。獲得呈絨毛狀結晶固體之1.879 kg產物，其中LCAP>99且脫-Br<1%。

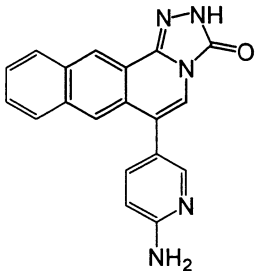
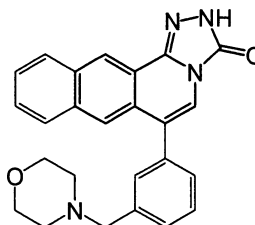
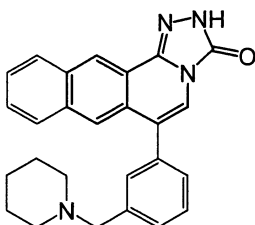
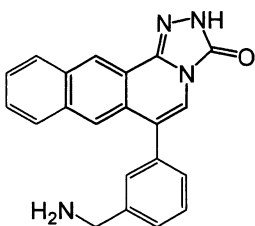
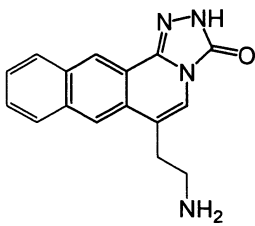
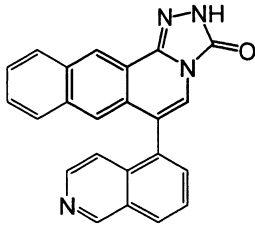
向具有N₂入口之50 L圓柱形容器中潰入32 L EtOH。添加中間體8(1819.3 g, 4.6 mol)，隨後添加濃鹽酸(3.0 L, 12.1 N)。將所得漿料加熱至66-72°C，歷時3小時。使所得漿料冷卻至15-20°C且直接藉由過濾分離固體。以EtOH(2 x 4 L)洗滌濾餅且在氮氣流下隔夜乾燥。獲得呈淺褐色固體之粗製產物7-10。向50 L圓底燒瓶中添加粗製7-10(1423.0 g, 4.4 mol)及減熱源質水(29 L, 20體積)。在劇烈攪拌下，添加Ecosorb C-943且使混合物陳化3小時。使用7 L沖洗水(5體積)經由纖維素粉過濾漿料。以減熱源質水洗滌纖維素粉床直至濾液澄清且無色。經由5 µm在線過濾器將濾液轉移至72 L圓底燒瓶中。向所得溶液添加5 N HCl(1.8 L, 2.0當量)且對溶液接種。以10 g固體7-10 HCl鹽對溶液接種；陳化後觀察到稍許額外沉澱。取混合物之等分試樣(800 mL)且添加另外之5 N HCl，得到濃稠漿料，使其添加回批料中。使混合物隔夜陳化以產生晶床。逐滴添加剩餘HCl(5.2 L)。使用ML完成轉移，藉由過濾分離固體。以EtOH(4 L)洗滌濾餅且在氮氣下乾燥。將濾餅搗碎且使其通過網篩以去塊(delump)。獲得呈灰白色固體之產物7-10。

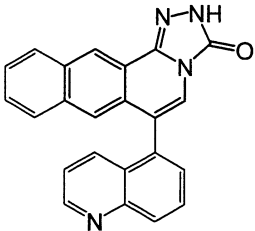
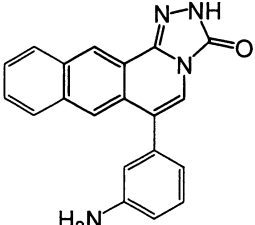
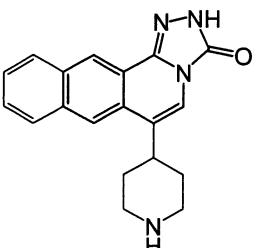
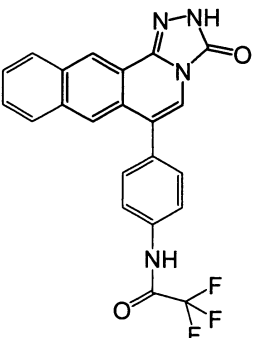
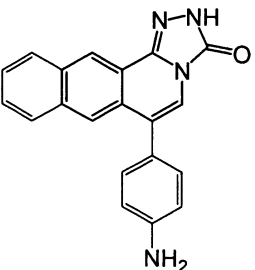
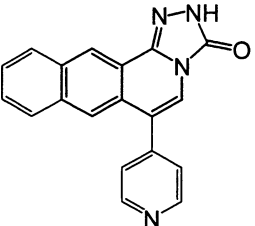
根據流程7中所示之程序以TFA鹽之形式製備以下表5中

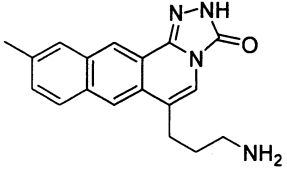
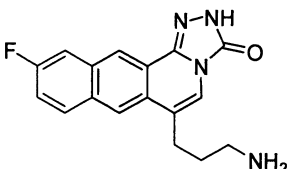
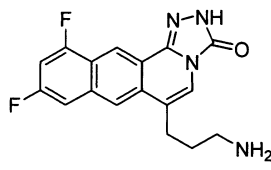
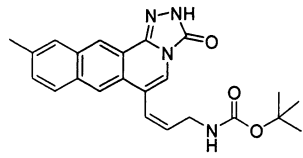
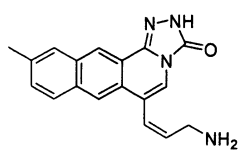
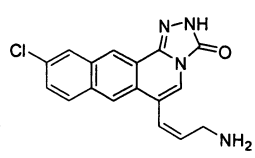
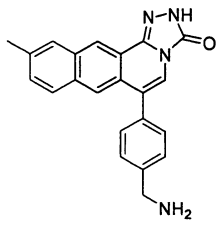
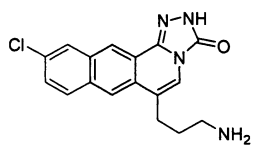
的化合物。

表 5

7-11		6-(3-氨基丙基)-5,6-二氢 苯并[g][1,2,4]三唑并 [3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H)：實驗值： 295.2，理論值： 295.2。
7-12		6-吡啶-3-基苯并 [g][1,2,4]三唑并[3,4-a] 異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H)：實驗值： 313.1，理論值： 312.3。
7-13		6-[4-(胺甲基)苯基]苯并 [g][1,2,4]三唑并[3,4-a] 異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H)：實驗值： 341.1，理論值： 340.4。
7-14		6-[4-(嗎啉-4-基甲基)苯 基]苯并[g][1,2,4]三唑并 [3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H)：實驗值： 411.1，理論值： 410.2。
7-15		6-(1,2,3,6-四氫-4-吡啶 基)-苯并[g]-1,2,4-三唑 并[3,4-a]異喹啉-3(2H)- 酮	LRMS m/z (M+H)：實驗值： 317.1，理論值： 316.3。

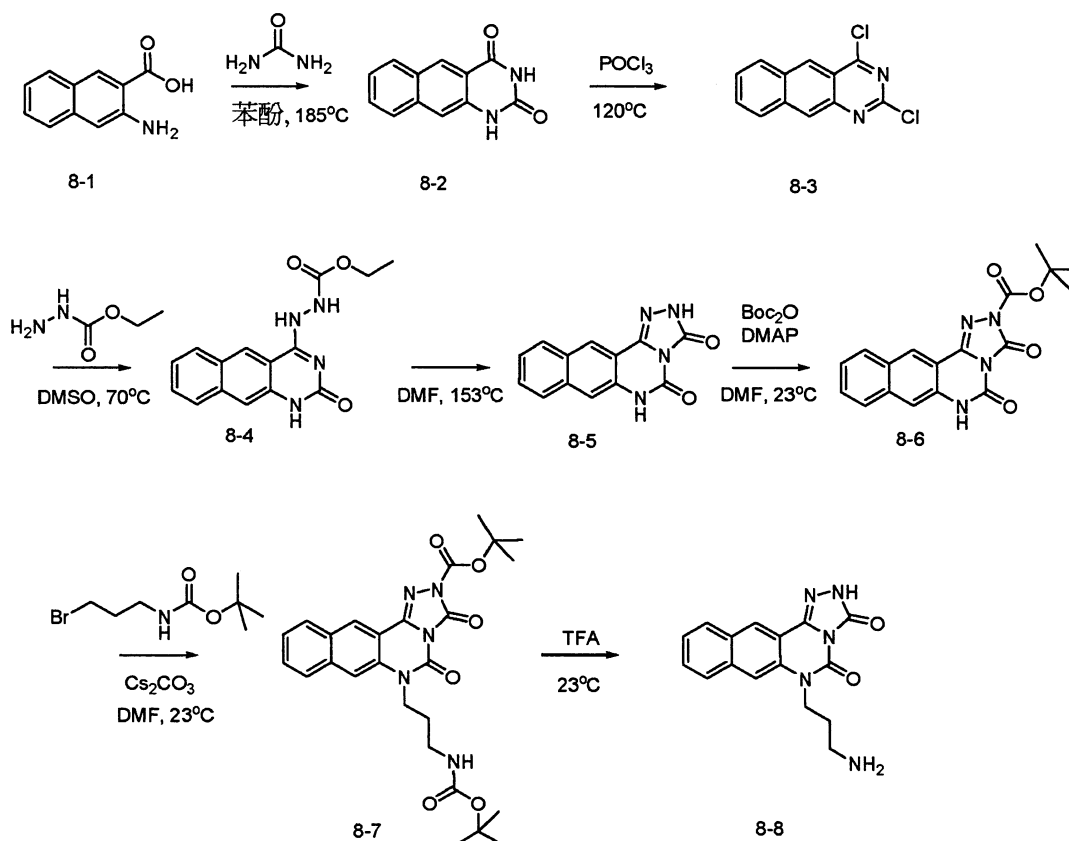
7-16		6-(6-氨基吡啶-3-基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H) ⁺ : 實驗值: 328.1, 理論值: 327.3。
7-17		6-[3-(嗎啉-4-基甲基)苯基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H) ⁺ : 實驗值: 411.0, 理論值: 410.5。
7-18		6-[3-(哌啶-1-基甲基)苯基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H) ⁺ : 實驗值: 409.0, 理論值: 408.5。
7-19		6-[3-(胺甲基)苯基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H) ⁺ : 實驗值: 341.1, 理論值: 340.4。
7-20		6-(2-氨基乙基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H) ⁺ : 實驗值: 279.0, 理論值: 278.3。
7-21		6-異喹啉-5-基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H) ⁺ : 實驗值: 363.1, 理論值: 362.4。

7-22		6-喹啉-5-基苯并 [g][1,2,4]三唑并[3,4-a] 異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H) ⁺ : 實驗值: 363.1, 理論值: 362.4。
7-23		6-(3-胺基苯基)苯并 [g][1,2,4]三唑并[3,4-a] 異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H) ⁺ : 實驗值: 327.1, 理論值: 326.4。
7-24		6-哌啶-4-基苯并 [g][1,2,4]三唑并[3,4-a] 異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H) ⁺ : 實驗值: 319.2, 理論值: 318.4。
7-25		2,2,2-三氟-N-[4-(3-側氧 基-2,3-二氫苯并 [g][1,2,4]三唑并[3,4-a] 異喹啉-6-基)苯基]乙醯 胺	LRMS m/z (M+H) ⁺ : 實驗值: 423.0, 理論值: 422.4。
7-26		6-(4-胺基苯基)苯并 [g][1,2,4]三唑并[3,4-a] 異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H) ⁺ : 實驗值: 327.1, 理論值: 326.4。
7-27		6-吡啶-4-基苯并 [g][1,2,4]三唑并[3,4-a] 異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H) ⁺ : 實驗值: 313.0, 理論值: 312.31。

7-28		6-(3-氨基丙基)-10-甲基 苯并[g][1,2,4]三唑并 [3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H) ⁺ : 實驗值: 307.2, 理論值: 306.2。
7-29		6-(3-氨基丙基)-10-氟苯 并[g][1,2,4]三唑并[3,4- a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H) ⁺ : 實驗值: 311.0, 理論值: 311.1。
7-30		6-(3-氨基丙基)-9,11-二 氟苯并[g][1,2,4]三唑并 [3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H) ⁺ : 實驗值: 328.9, 理論值: 329.1。
7-31		第三丁基[(2Z)-3-(10-甲 基-3-側氧基-2,3-二氫苯 并[g][1,2,4]三唑并[3,4- a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H) ⁺ : 實驗值: 405.1, 理論值: 405.2。
7-32		6-[(1Z)-3-氨基丙-1-烯- 1-基]-10-甲基苯并 [g][1,2,4]三唑并[3,4-a] 異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H) ⁺ : 實驗值: 306.0, 理論值: 306.1。
7-33		6-[(1Z)-3-氨基丙-1-烯- 1-基]-10-氯苯并 [g][1,2,4]三唑并[3,4-a] 異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H) ⁺ : 實驗值: 326.0, 理論值: 326.1。
7-34		6-[4-(胺甲基)苯基]-10- 甲基苯并[g][1,2,4]三唑 并[3,4-a]異喹啉-3(2H)- 酮	LRMS m/z (M+H) ⁺ : 實驗值: 356.0, 理論值: 356.2。
7-35		6-(3-氨基丙基)-10-氯苯 并[g][1,2,4]三唑并[3,4- a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H) ⁺ : 實驗值: 328.0, 理論值: 328.1。

7-36		6-[(1Z)-3-氨基丙-1-烯-1-基]-9,10-二氟苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H): 實驗值: 327.9, 理論值: 328.1。
7-37		6-(3-氨基丙基)-9,10-二氟苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H): 實驗值: 330.9, 理論值: 330.1。
7-38		6-(3-氨基丙基)-10-(三氟甲基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮	LRMS m/z (M+H): 實驗值: 362.2, 理論值: 362.1。

流程 8



6-(3-氨基丙基)-2,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[4,3-c]噻
 唑啉-3,5-二酮(8-8)

苯并[g]喹唑啉-2,4(1H,3H)-二酮(8-2)

在160℃下加熱3-胺基-2-萘甲酸(8-1, 1.2 g, 6.6 mmol, 1當量)、尿素(2.0 g, 33 mmol, 5.0當量)及苯酚(7.0 g, 74 mmol, 11當量)之混合物0.5 h且在185℃下再加熱1.5 h。冷卻反應且以甲醇(50 mL)濕磨。過濾固體沉澱物、以甲醇洗滌且乾燥得到呈橙色固體之苯并[g]喹唑啉-2,4(1H,3H)-二酮(1-2)。LRMS m/z (M+H)：實驗值：213.1，理論值：213.1。

2,4-二氯苯并[g]喹唑啉(8-3)

在120℃下加熱苯并[g]喹唑啉-2,4(1H,3H)-二酮(1-2, 1.0 g, 4.9 mmol, 1當量)於磷醯氯(10 mL)中之溶液12 h。冷卻反應且傾入冰水中。藉由過濾收集沉澱物且藉由矽膠層析法(二氯甲烷)純化得到呈黃色固體之2,4-二氯苯并[g]喹唑啉(8-3)。LRMS m/z (M+H)：實驗值：249.0，理論值：249.0。

2-(2-側氧基-1,2-二氫苯并[g]喹唑啉-4-基)乙酯(8-4)

在70℃下加熱2,4-二氯苯并[g]喹唑啉(8-3, 110 mg, 0.43 mmol, 1當量)及胼基甲酸乙酯(69 mg, 0.66 mmol, 1.5當量)於DMSO(7 mL)中之溶液2 h。冷卻反應且傾入冰水中。藉由過濾收集沉澱物，使其懸浮於正丁醇(20 mL)中且在90℃下加熱4 h。收集所得沉澱物且乾燥得到呈橙色固體之2-(2-側氧基-1,2-二氫苯并[g]喹唑啉-4-基)乙酯(8-4)。LRMS m/z (M+H)：實驗值：299.1，理論值：299.1。

2,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[4,3-c]喹唑啉-3,5-二酮(8-5)

在 153℃ 下加熱 2-(2-側氧基-1,2-二氫苯并[g]喹啉-4-基)乙酯(8-4, 42 mg, 0.14 mmol, 1當量)於 DMF(5 mL)中之溶液 4 h。冷卻反應且傾入冰水中。藉由過濾收集固體沉澱物，且乾燥得到呈灰白色固體之 2,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[4,3-c]喹啉-3,5-二酮(8-5)。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 12.30 (s, 1H), 11.36 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.05 (d, 1H, J=8.0 Hz), 7.88 (d, 1H, J=8.0 Hz), 7.55 (t, 1H, J=7.5 Hz), 7.52 (s, 1H), 7.46 (t, 1H, J=7.5 Hz)。LRMS m/z (M+H): 實驗值: 253.0, 理論值: 253.1。

3,5-二側氧基-5,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[4,3-c]喹啉-2(3H)-甲酸第三丁酯(8-6)

在 23℃ 下向 2,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[4,3-c]喹啉-3,5-二酮(8-5, 20 mg, 0.08 mmol, 1當量)與 Boc₂O(20 mg, 0.09 mmol, 1當量)於 DMF(3 mL)中之混合物添加 DMAP(1 mg, 0.008 mmol, 0.1當量)。3 h後，濃縮反應且以乙醚洗滌殘餘物以得到呈白色固體之 3,5-二側氧基-5,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[4,3-c]喹啉-2(3H)-甲酸第三丁酯(8-6)。LRMS m/z (M+H): 實驗值: 353.1, 理論值: 353.1。

6-{3-[(第三丁氧基羰基)胺基]丙基}-3,5-二側氧基-5,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[4,3-c]喹啉-2(3H)-甲酸第三丁酯(8-7)

在 23℃ 下攪拌 3,5-二側氧基-5,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[4,3-c]喹啉-2(3H)-甲酸第三丁酯(8-6, 28 mg, 0.079 mmol, 1當量)、碳酸鉍(100 mg, 0.31 mmol, 3.8當量)及 N-

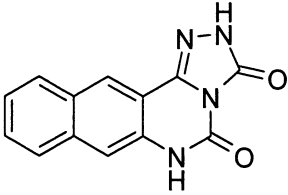
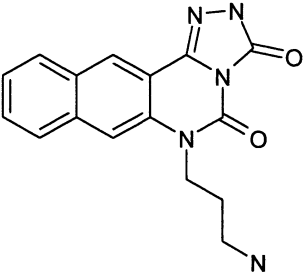
(3-溴丙基)胺基甲酸第三丁酯(50 mg, 0.21 mmol, 2.6當量)於DMF(3 mL)中之混合物16 h。過濾反應混合物且濃縮濾液，且藉由逆相液相層析法(H₂O/CH₃CN梯度，存在有0.1% TFA)純化得到6-{3-[(第三丁氧基羰基)胺基]丙基}-3,5-二側氧基-5,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[4,3-c]喹唑啉-2(3H)-甲酸第三丁酯(8-7)。

6-(3-胺基丙基)-2,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[4,3-c]喹唑啉-3,5-二酮(8-8)

向6-{3-[(第三丁氧基羰基)胺基]丙基}-3,5-二側氧基-5,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[4,3-c]喹唑啉-2(3H)-甲酸第三丁酯(8-7, 5 mg, 0.01 mmol, 1當量)於水與乙腈之1:1混合物中之溶液添加三氟乙酸(3 mL)，且在45℃下攪拌所得溶液2 h。減壓蒸發溶劑得到呈白色固體之6-(3-胺基丙基)-2,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[4,3-c]喹唑啉-3,5-二酮(8-8)之TFA鹽。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆, TFA鹽) δ 12.37 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.10 (d, 1H, J=8.5 Hz), 8.00 (d, 1H, J=8.0 Hz), 7.93 (s, 1H), 7.77 (br s, 1H), 7.63 (t, 1H, J=7.5 Hz), 7.52 (t, 1H, 7.5 Hz), 4.26 (t, 2H, J=7.0 Hz), 3.02 (m, 2H), 2.05 (m, 2H)。LRMS m/z (M+H)：實驗值：310.1，理論值：310.1。

根據流程8中之類似程序以TFA鹽之形式製備以下表6中的化合物。

表 6

化合物	結構	名稱	LRMS m/z (M+H)
8-9		2,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[4,3-c]喹唑啉-3,5-二酮	LRMS m/z (M+H) : 實驗值：253.0，理論值：253.1。
8-10		6-(3-氨基丙基)-2,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[4,3-c]喹唑啉-3,5-二酮	LRMS m/z (M+H) : 實驗值：310.1，理論值：310.1。

實例 1-8

提供以下實例來進一步說明本發明之不同特徵及優點。該等實例亦說明用於實施本發明之有用方法學。此等實例並不限制本發明。

實例 1：使用即時 PCR 識別 *CHK1sv1*

為了便於測定化合物之抑制特性，需要識別編碼 CHK1 之外顯子區域之"正常"剪接之變體。詳言之，探尋導致 CHK1 之 C 末端調節域損失的天然產生之剪接變異作用。C 末端之缺失賦予 CHK1 更多激酶活性 (Chen 等人，2000, *Cell* 100:681-692; Katsuragi 及 Sagata, 2004, *Mol. Biol. Cell.* 15: 1680-1689)。外顯子 2-8 編碼催化激酶域且外顯子 9 編碼連接區域。SQ 及 C 末端調節域位於外顯子 10-13 內 (Sanchez 等人，1997, 277:1497-1501; Katsuragi 及 Sagata,

2004, *Mol. Biol. Cell.* 15:1680-1689)。即時PCR實驗及RT-PCR已用於識別且確認人類 *CHK1* mRNA之新穎剪接變體的存在。編碼CHK1抑制域之C末端截斷的天然產生之剪接變體已得以識別、選殖、表現且純化以用於具有測定化合物抑制特性之效用之CHK1激酶檢定中。

RT-PCR

使用RT-PCR檢定，測定自人類睪丸萃取之RNA對應於外顯子8至11之區域中的 *CHK1* mRNA之結構。自BD Biosciences Clontech(Palo Alto, CA)獲得分離自人類睪丸之總RNA。選擇與 *CHK1*(NM_001274)中之參考外顯子編碼序列之外顯子8及外顯子11中的序列互補之RT-PCR引子。基於 *CHK1* mRNA之核苷酸序列，預期CHK1外顯子8及外顯子11引子組(下文稱作CHK1₈₋₁₁引子組)將擴增呈現"參考"*CHK1* mRNA區域之478鹼基對擴增子(amplicon)。預期CHK1₈₋₁₁引子組將擴增轉錄物中之300鹼基對擴增子，該轉錄物具有外顯子9至外顯子11之替代剪接。*CHK1*外顯子8正向引子具有以下序列：5' ATCAGCAAGAATTACCATTCAGACATC 3'(SEQ ID NO 1)；且*CHK1*外顯子11逆向引子具有以下序列：5' CATACAACCTTTTCTTCCATTGATAGCCC 3'(SEQ ID NO 2)。

使用Qiagen, Inc.(Valencia, CA)，一步式RT-PCR套組，使來自人類睪丸之總RNA經受一步式反轉錄-PCR擴增實驗，且使用以下循環條件：

- 1)50℃，30分鐘；

2)95℃，15分鐘；

3)35次循環：

94℃，30秒；

63.5℃，40秒；

72℃，50秒；接著

72℃，10分鐘。

使 RT-PCR 擴增產物(擴增子)在 2% 瓊脂糖凝膠上進行大小分級(size fractionate)。自凝膠手動萃取所選擇之呈現 250 個至 350 個鹼基對擴增子之片斷，且以 Qiagen 凝膠萃取套組純化。以 CHK1₈₋₁₁ 引子組再擴增經純化之擴增子片斷，且使此等擴增子在瓊脂糖凝膠上進行大小分級。自凝膠手動萃取呈現 250 個至 350 個鹼基對擴增子之片斷，且以 Qiagen 凝膠萃取套組純化。再次以 CHK1₈₋₁₁ 引子組再擴增經純化之擴增子片斷。在瓊脂糖凝膠上進行大小分級且手動萃取 250 個至 350 個鹼基對擴增子之後，使用與 TOPO TA 選殖套組(Invitrogen, Carlsbad, CA)一起提供之試劑及說明，將經純化之擴增子片斷(Qiagen 凝膠萃取套組)選殖入 Invitrogen pCR2.1 載體內。接著將純系置於每盤具有 440 個菌落之池內，共 15 個盤，總計 6600 個純系。自各盤彙集之 440 個菌落萃取 DNA 且用作供即時 PCR 用之模板。

即時 PCR/TAQman

為測定 CHK1 參考蛋白質(NP_001265)之替代剪接同功異型物(isoform)的存在，使用即時 PCR 檢定。

設計用於偵側 *CHK1sv1* 同功異型物之 TAQman 引子及探

針且合成為預置 (pre-set) 混合物 (Applied Biosystems, Foster City, CA)。用於偵側 *CHK1* 參考形式 (SEQ ID NO：3、4及5) 及 *CHK1sv1* 同功異型物 (SEQ ID NO：6、7及8) 之 TAQman 引子及探針之序列係如表 1 中所示。以 6-FAM 螢光團在 5' 端 (FAM) 且以非螢光淬滅劑在 3' 端 (NFQ) 標記剪接點特異性探針。使用 TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA) 在人類睪丸 cDNA 上執行即時 PCR。TAQman 反應含有：

96孔規格		384孔規格
12.5 µl	5 µl	TAQman Universal MasterMix
1.25 µl	0.5 µl	引子探針混合物
6.25 µl	2.5 µl	H ₂ O
5 µl	2µl	DNA

表 1. 用於偵側 *CHK1* 同功異型物之引子及探針。

名稱	SEQ ID NO	序列	特異性
CHK1參考正向引子	SEQ ID NO 3	GTTACTTGGCACCCCAGGA	CHK1參考
CHK1參考逆向引子	SEQ ID NO 4	CATCCAATTTGGTAAAGAATCGTGTCA	CHK1參考
CHK1參考探針	SEQ ID NO 5	FAM-TCCTCACAGAACCCC-NFQ	CHK1參考
CHK1sv1 正向引子	SEQ ID NO 6	GCACATTCAATCCAATTTGGACTTCT	CHK1sv1
CHK1sv1 逆向引子	SEQ ID NO 7	CATCCAATTTGGTAAAGAATCGTGTCAT	CHK1sv1
CHK1sv1探針	SEQ ID NO 8	FAM-CAGTGCTTCTAGAACCC-NFQ	CHK1sv1

在 ABI Prism 7900HT 序列偵側系統 (Applied Biosystems,

Foster City, CA)上進行TAQman反應。熱循環條件為：50℃，2分鐘；95℃，10分鐘；以及40次循環：95℃，15秒及60℃，1分鐘。藉由序列偵側軟體(SDS)(Applied Biosystems, Foster City, CA)執行螢光發射之資料分析。

TAQman檢定之結果表明，自15個盤中的13個盤彙集之DNA顯示出具有呈現替代性外顯子9至外顯子11剪接點之純系。來自此等陽性池之一者之DNA(呈現440個菌落)用於轉化細菌宿主細胞。將純系置於總計12個盤上之每盤具有55個菌落之池內。再次彙集12個盤中每一個盤上之純系且用於TAQman檢定。自12個盤中之1個盤彙集之DNA顯示出具有呈現替代性外顯子9至外顯子11剪接點的純系。使用TAQman檢定，個別篩選位於此陽性盤上之55個菌落，且將一個純系識別為具有替代性外顯子9至外顯子11剪接點。接著使用*CHK1*外顯子8正向引子(SEQ ID NO 1)及具有序列 5' TGCATCCAATTTGGTAAAGAATCG 3'(SEQ ID NO 9)之不同外顯子11逆向引子將此陽性純系自各端定序。

純系之序列分析顯示，其與*CHK1*異核RNA之外顯子9至外顯子11之替代性剪接的預期序列相匹配；亦即，外顯子10之編碼序列完全不存在。

實例2：*CHK1sv1*之選殖

即時PCR、RT-PCR及定序資料表明，除正常*CHK1*參考mRNA序列(NM_001274)、編碼*CHK1*蛋白質(NP_001265)以外，*CHK1* mRNA之新穎剪接變體形式亦存在於睪丸組

織及MOLT-4及Daudi細胞株中。

於酵母中使用重組介導性質體構造，分離具有包含實例1中所識別之CHK1sv1剪接變體之核苷酸序列之純系。兩個引子對之組用於擴增且選殖CHK1sv1之整個mRNA編碼序列。在CHK1sv1之狀況下，即時定量PCR分析表明，此剪接變體形式之轉錄物係以極低含量存在。為了選殖CHK1sv1，藉由酵母中之另外重組步驟，用經設計以產生所要外顯子9至外顯子11剪接點之80個鹼基對連接子來改變含有參考CHK1(NM_001274)之編碼序列之純系。

設計5' "正向"引子及3' "逆向"引子用於分離對應於CHK1sv1之全長純系。設計5' "正向" CHK1sv1引子以便具有 5' TTACTGGCTTATCGAAATTAATACGACTCACTATAG GGAGGAGTCATGGCAGTGCCCTTTGT 3'(SEQ ID NO 10)之核苷酸序列且具有與CHK1 mRNA(NM_001274)之外顯子2互補的序列。設計3' "逆向" CHK1sv1引子以便具有5' TAGAAGGCACAGTCGAGGCTGA TCAGCGGGTTTAAACTCATGCATCCAATTTGGTAAAGAAT CG 3'(SEQ ID NO 11)之核苷酸序列且具有與CHK1 mRNA(NM_001274)之外顯子11互補的序列。以斜體字表示之位於引子序列之5'端的40個核苷酸為併入PCR擴增子內的"尾端"，且有利於隨後於酵母中之質體重組事件。預期此等CHK1sv1"正向"及"逆向"引子將擴增參考CHK1 mRNA(NM_001274)之編碼序列，接著其用於後續重組選殖步驟中以產生CHK1sv1特異性序列。

RT-PCR

使用反轉錄(RT)與聚合酶鏈反應(PCR)之組合來選殖 *CHK1sv1* cDNA序列。更具體而言，根據 Superscript II 製造商之說明，使用 Superscript II(Gibco/Invitrogen, Carlsbad, CA) 及寡聚 d(T) 引子 (RESGEN/Invitrogen, Huntsville, AL)，反轉錄約 25 ng MOLT-4細胞株 mRNA(BD Biosciences Clontech, Palo Alto, CA)。對於PCR而言，將 1 μ l 完成之 RT 反應添加至 40 μ l 水、5 μ l 10 倍緩衝液、1 μ l dNTP 及 1 μ l 來自 Clontech (Palo Alto, CA) Advantage 2 PCR 套組之酶。對於 *CHK1sv1* (SEQ ID NOs 10,11) 而言，使用 *CHK1sv1* "正向" 及 "逆向" 引子，於 Gene Amp PCR System 9700 (Applied Biosystems, Foster City, CA) 中進行 PCR。首先於 94 $^{\circ}$ C 下變性 1 分鐘後，使用 94 $^{\circ}$ C 下變性 30 秒隨後在 63.5 $^{\circ}$ C 下退火 40 秒且在 72 $^{\circ}$ C 下合成 50 秒，來執行 35 次循環之擴增。PCR 之 35 次循環之後，在 72 $^{\circ}$ C 下延長 10 分鐘。接著使 50 μ l 反應液冷卻至 4 $^{\circ}$ C。使 10 μ l 所得反應產物在經 0.3 μ g/ml 溴化乙錠 (Fisher Biotech, Fair Lawn, NJ) 染色之 1% 瓊脂糖 (Invitrogen, 超純) 凝膠上跑電泳。在 UV 燈箱上觀察凝膠中之核酸帶且照相，以判定 PCR 是否已得到預期大小之產物，在 *CHK1* mRNA 之狀況下為約 1243 個鹼基對之產物。使用 QIAquick Gel extraction Kit (Qiagen, Valencia, CA)，隨後使用與該套組一起提供之 QIAquick PCR Purification Protocol，來純化來自 MOLT-4 細胞之 50 μ l PCR 反應的剩餘物。藉由在連接至 Universal Vacuum

System 400(得自 Savant, Holbrook, NY)之 Speed Vac Plus(SC110A, 亦得自 Savant)中以中等熱量乾燥約30分鐘, 將自純化實驗獲得之約50 μ l產物濃縮至約6 μ l。

*CHK1sv1*全長純系之選殖及裝配及酵母轉化

使用類似於先前由 Raymond 等人 (2002, *Genome Res.*12:190-197)所述流程之環己醯亞胺反選擇流程, 來執行酵母中由同源重組選殖所產生之全長*CHK1sv1*純系之裝配。

藉由將經由1243鹼基對*CHK1*擴增子(使用先前所述之*CHK1sv1*正向及逆向"尾端"引子所產生)之間的同源重組所產生之全長*CHK1sv1*全長純系及表現載體同時轉化進酵母細胞中來執行純系與表現載體之裝配。隨後以80鹼基對寡核苷酸連接子進行重組步驟, 生成*CHK1sv1*外顯子9至外顯子11剪接點。後續段落中所述之酵母轉化步驟均藉由電穿孔(Raymond等人, 2002 *Genome Res.*12:190-197)執行。

藉由100 μ l酵母菌株CMY1-5 (*Mata*, *URA3* Δ , *CYH2*^R)之共轉化, 將1 μ g 1243鹼基對*CHK1*純化擴增子直接選殖入100 ng SrfI消化pCMR11中。在含有1 μ g/ml環己醯亞胺之無Ura培養盤(Sigma, St.Louis, MO)上選擇Ura⁺(抗環己醯亞胺菌落)。使用標準酵母培養基(Sherman, 1991, *Methods Enzymol.*194:3-21)。使用含有*CHK1*純系之酵母細胞培養物之總DNA將大腸桿菌(*E. coli*)轉化為氯黴素(Sigma, St. Louis, MO)抗性, 以製備大量如 Hoffman及 Winston(1987 *Gene* 57:267-72)所述之重組質體。自盤中將菌落揀選至2

ml 2倍LB培養基內。在37℃下隔夜培養此等液體培養物。使用 Qiagen(Valencia, CA)Qiaquick Spin Miniprep套組自此等培養物中萃取質體DNA。

表 2. pCMR11質體之組成

核苷酸座標	序列之功能描述
1-6013	自pCC1FOS(Epicentre Technologies, Madison, WI)複製之Copy-control™大腸桿菌源。
6014-7884	酵母 <i>URA3</i> 基因，ARS4自發地自pRS316(Sikorski及Hieter, 1989)複製序列及CEN6著絲點。
7885-8825	來自InVitrogen(Carlsbad, CA)載體pcDNA3.1/myc-HIS A之哺乳動物CMV啟動子。
8826-10,774	自菌株BY4709(Brachmann等人1998)擴增之酵母 <i>CYH2</i> 基因
10,775-10,782	經改造的SrfI限制性位點。
10,783-13,556	哺乳動物聚腺苷化位點，視情況選用之標記，SV40來源等，來自pcDNA3.1/myc-HIS A。
13,557-13,596	來自InVitrogen載體pENTR11之DNA序列。
13,597-14,561	特異性pCMR11；來自pCC1FOS之氯黴素抗性基因。

為構建*CHK1svl*純系，使用1 µg表3中所示之80鹼基對連接子(SEQ ID NO：12、13)(其橫跨外顯子9至外顯子11之替代剪接區域)及100 ng BamHI消化*CHK1*/pCMR11純系共轉化100 µl環己醯亞胺敏感酵母菌株。連接子與*CHK1*/pCMR11純系之間的重疊DNA表明，大多數酵母轉化株將具有正確裝配之構造。選擇Ura⁺(抗環己醯亞胺菌落)用於隨後之大腸桿菌的製備及轉化。藉由限制性消化來分析自大腸桿菌萃取之質體DNA，以確認*CHK1svl*純系中外顯子9至外顯子11之替代剪接的存在。對8個*CHK1svl*純系定序以確認一致性，且具有適當序列之純系用於多個

系統中之蛋白質表現。

表3.用於產生 *CHK1sv1* 純系之外顯子9至外顯子11剪接點的連接子

SEQ ID NO	連接子序列
SEQ ID NO 12	AATCCAATTTGGACTTCTCTCCAGTAAACAGTGCTTCTAGA ACCCCTGGCAGCGGTTGGTCAAAAGAATGACACGATTCT
SEQ ID NO 13	AGAATCGTGTCAATTCTTTTGACCAACCGCTGCCAGGGGTTCT TAGAAGCACTGTTTACTGGAGAGAAGTCCAAATTGGATT

CHK1sv1 聚核苷酸之概述

CHK1sv1 mRNA之聚核苷酸編碼序列(Seq ID NO 14)含有編碼類似於參考CHK1蛋白質(NP_001265)之CHK1sv1蛋白質(SEQ ID NO 15)的開放閱讀框架，但缺乏由對應於參考CHK1 mRNA(NM_001274)之全長編碼序列的外顯子10之178鹼基對區域所編碼的胺基酸。178鹼基對區域之缺失導致蛋白質翻譯閱讀框架相對於參考CHK1蛋白質閱讀框架移位，產生只有CHK1sv1(Seq ID NO 15中以斜體字顯示)才有之羧基末端肽區域。閱讀框架移位亦使得於外顯子9/外顯子11剪接點下游29核苷酸產生提前終止密碼子。因此，與參考CHK1(NP_001265)相比，CHK1sv1蛋白質正丟失與由外顯子10所編碼之胺基酸區域對應的內部59胺基酸區域，且亦缺乏由提前終止密碼子之下游核苷酸所編碼之胺基酸。外顯子10編碼CHK1之SQ/TQ域，且外顯子11-13編碼自體抑制區域(Sanchez 等人，1997, Science 277:1497-1501; Katsuragi及Sagata, 2004, Mol. Biol. Cell.15:1680-

1689)。雖然自體區域之缺失賦予CHK1激酶域組成性活性，但是當亦移除SQ/TQ域時，CHK1酶活性降低(Ng等人，2004, J. Biol. Chem. 279:8808-8819)。

表4.CHK1sv1之核苷酸編碼序列及編碼多肽

Seq ID NO 14	ATGGCAGTGCCCTTTGTGGAAGACTGGGACTTGGTGCAAACCCTGG GAGAAGGTGCCTATGGAGAAGTTCAACTTGCTGTGAATAGAGTAAC TGAAGAAGCAGTCGCAGTGAAGATTGTAGATATGAAGCGTGCCGTA GACTGTCCAGAAAATATTAAGAAAGAGATCTGTATCAATAAAATGCT AAATCATGAAAATGTAGTAAATCTATGGTCACAGGAGAGAAGGCA ATATCCAATATTTATTTCTGGAGTACTGTAGTGGAGGAGAGCTTTTTG ACAGAATAGAGCCAGACATAGGCATGCCTGAACCAGATGCTCAGAG ATTCTTCCATCAACTCATGGCAGGGGTGGTTTATCTGCATGGTATTGG ATAACTCACAGGGATATTAACCAGAAAATCTTCTGTTGGATGAAA GGGATAACCTCAAAATCTCAGACTTTGGCTTGGCAACAGTATTTTCGG TATAATAATCGTGAGCGTTTGTGAACAAGATGTGTGGTACTTTACCA TATGTTGCTCCAGAACTTCTGAAGAGAAGAGAATTCATGCAGAACC AGTTGATGTTTGGTCCTGTGGAATAGTACTTACTGCAATGCTCGCTGG AGAATTGCCATGGGACCAACCCAGTGACAGCTGTCAGGAGTATTCT GACTGGAAAGAAAAAAACATACCTCAACCCTTGGAaaaaaaATCG ATTCTGCTCCTCTAGCTCTGCTGCATAAAATCTTAGTTGAGAATCCAT CAGCAAGAATTACCATTCCAGACATCAAAAAAGATAGATGGTACAAC AAACCCCTCAAGAAAGGGGCAAAAAGGCCCCGAGTCACTTCAGGT GGTGTGTCAGAGTCTCCAGTGGATTTTCTAAGCACATTCAATCCAA TTTGGACTTCTCTCCAGTAAACAGTGCTTCTAGAACCCCTGGCAGCG GTTGGTCAAAAGAATGA
Seq ID NO 15	MAVPFVEDWDLVQTLGEGAYGEVQLAVNRVTEEAVAVKIVDMKRAVD CPENIKKEICINKMLNHENVVKFYGHRREGNIQYLFLEYCSGGELFDRI EPDIGMPEPDAQRFHQLMAGVVYLHGIGITHRDIKPENLLDTERDNL KISDFGLATVFRYNNRERLLNKMCGTLPYVAPELLKRREFHAEPVDVW SCGIVLTAMLGELPWDQPSDSCQEYSDWKEKKTYLNPWKKIDSAPL ALLHKILVENPSARITIPDIKKDRWYNKPLKKGAKRPRVTSGGVSESPS GFSKHIQSNLDFSPVNSASRTPGSGWSKE

實例3：CHK1sv1蛋白質之表現

桿狀病毒基因表現載體系統允許蛋白質表現昆蟲細胞，其廉價且易於保存。所產生之蛋白質具有與哺乳動物細胞類似之品質 (Miller, 1988, *Biotechnology* 10:457-465; Miller, 1989, *Bioessays* 11:91-95)。此項技術中已知在昆蟲

細胞中使用桿狀病毒表現載體進行蛋白質表現之方法，且於 O'Reilly 等人，*Baculovirus Expression Vectors-A Laboratory Manual*, W. H. Freeman及Co., New York, 1992 及 *Baculovirus Expression Vector System Instruction Manual*，第6版，Pharmingen, San Diego, 1999中論述相關技術。

用於昆蟲細胞表現之CHK1sv1選殖

為產生 *CHK1sv1*/桿狀病毒轉移載體構建體，使用表5中所列之引子(SEQ ID NO: 16, 17)，將 *CHK1sv1*/pCMR11純系(見實例2)用作PCR之模板以擴增 *CHK1sv1*(SEQ ID NO 14)之編碼序列。由SEQ ID NO 16表示之引子含有緊接ATG起始密碼子上游之最佳翻譯起始序列及併入擴增子內的上游EcoRI限制性地點。由SEQ ID NO 17表示之引子含有將六個組胺酸殘基C末端編碼至 *CHK1sv1*編碼序列之序列，以及併入 *CHK1sv1*擴增子內之EagI限制性地點。*CHK1sv1*擴增子在1%瓊脂糖凝膠上跑電泳。自凝膠手動萃取所選擇之預期大小之擴增子片斷——在 *CHK1sv1*之狀況下即為約994個鹼基對之產物，且以Qiagen Gel Extraction Kit純化。以EcoRI及EagI消化經純化之擴增子片斷。將EcoRI/EagI消化擴增子接合至桿狀病毒轉移載體pVL1393(Pharmingen, San Diego, CA)內，該載體已經EcoRI及EagI消化且經鹼性磷酸酶脫去磷酸。接著將 *CHK1sv1*/pVL1393構建體轉化至大腸桿菌菌株DH5α中。對自抗安比西林(ampicillin)菌落萃取之質體DNA定序以確

認一致性，且具有適當序列之純系用於昆蟲細胞中之蛋白質表現。

表 5. 用於將 *CHK1sv1* 選殖入桿狀病毒轉移載體 pVL1393 中之引子

SEQ ID NO	引子序列
SEQ ID NO 16	CCCGGAATTCACCATGGCAGTGCCCTTTGTGGAAGACTGG
SEQ ID NO 17	TGTGTCCGGCCGTCAGTGATGGTGATGGTGATGTTCTTTTGACC AACCGCTGCC

CHK1sv1之昆蟲細胞表現

將 *CHK1sv1*/pVL1393 構建體與線性化 AcNPV BaculoGold DNA (PharMingen, San Diego, CA) 共轉染至 SF9 昆蟲細胞 (Invitrogen, Carlsbad, CA) 內。藉由終點稀釋選擇個別重組病毒。擴增病毒純系以獲得高力價備料。此等病毒備料用於小規模 SF9 培養物中之蛋白質表現測試，以檢驗 *CHK1sv1* 重組蛋白質之產生。藉由用於 *CHK1sv1* 蛋白質表現之聚丙烯醯胺凝膠電泳來分析經轉染之 SF9 細胞溶解產物。使用抗 *CHK1* 抗體 (G4 抗體；Santa Cruz Biotechnology, Inc)，藉由考馬斯 (Commassie) 染色或藉由西方 (Western) 墨點法觀察 *CHK1sv1* 蛋白質。基於表現，選擇個別病毒用於較大規模之 *CHK1sv1* 表現。對於公升量級之重組蛋白質表現而言，27°C 下使 SF9 懸浮培養物於 Ex-cell 401 無血清培養基 (JRH Scientific, Lenexa, KS) 中生長，且使用每細胞 0.3 病毒之感染劑量以重組病毒備料浸染。病毒轉染 72 小時後，收集經感染之 SF9 培養物且藉由離心作用製成小球

(pellet)。小球儲存於-70℃下。

CHK1sv1重組蛋白質之純化

以B-PER蛋白質萃取試劑(Pierce, Rockford, IL)溶解昆蟲細胞小球，其中該B-PER蛋白質萃取試劑含有1 μ M微囊藻毒素(microcystin)(Sigma, St. Louis, MO)、10 μ M賽滅寧(cypermethrin)(EMD Biosciences, San Diego, CA)及無EDTA蛋白酶抑制劑混合物(Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)(每50 ml溶解緩衝液(lysis buffer)溶解1片)。蛋白質純化期間的所有操作均在4℃下進行。將細胞再懸浮於溶解緩衝液中，攪拌45分鐘。接著將DNaseI(Roche)添加至200 U/ml之最終濃度且再攪拌細胞懸浮液30分鐘。以30,000 g離心經溶解之細胞懸浮液30分鐘。傾析出溶解上清液且以30,000 g離心30分鐘。對於各10 ml澄清上清液而言，添加1 ml柱床體積之Talon金屬親和樹脂(Clontech, Palo Alto, CA)，且攪拌懸浮液45分鐘。以5000 g離心親和樹脂/溶解產物懸浮液3分鐘且接著拋棄上清液。使用5倍體積之樹脂，以緩衝液A(50 μ M Tris(pH 8.0)；250 mM NaCl)洗滌親和樹脂4次。將經洗滌之樹脂以2倍漿料再懸浮於緩衝液A中且填入層析管柱內。以6倍柱床體積之緩衝液A洗滌填有樹脂之管柱。使用緩衝液A中之咪唑之分步梯度，自管柱溶離CHK1sv1-His標記之蛋白質。2倍柱床體積溶離份中之咪唑濃度為5、10、20、30、40、50及60 mM。使用Amicon Ultra 15 Centrifugal Filter Device、30,000 Nominal Molecular Weight Limit(Millipore,

Billerica, MA)濃縮溶離份。將濃酶溶離份於甘油中稀釋為50%且在-20℃下儲存。使用抗CHK1抗體(G4抗體; Santa Cruz Biotechnology, Inc)，使用聚丙烯醯胺凝膠電泳接著使用考馬斯染色及西方墨點法且，分析溶離份中CHK1sv1-His標記蛋白質之存在。使用以下部分所述之激酶檢定來測定管柱溶離份之CHK1sv1激酶活性。

實例4：CHK1sv1激酶檢定

使用合成肽受質活體內檢定CHK1sv1活性。使用均相時間分辨螢光(HTRF)檢定系統(Park 等人, 1999, *Anal. Biochem.* 269:94-104)來測定磷酸肽產物之量。在40 µl之最終體積中反應混合物含有40 mM HEPES(pH 7.3); 100 mM NaCl; 10 mM MgCl₂; 2 mM二硫蘇糖醇; 0.1% BSA; 0.1 mM ATP; 0.5 µM肽受質; 及0.1 nM CHK1sv1酶。肽受質具有胺基酸序列: 胺基末端-GGRARTSSFAEPG-羧基末端(SynPep, Dublin CA)(SEQ ID NO 18)且在N末端經生物素結合。在22℃下培養激酶反應30分鐘, 且接著以60 µl終止/偵測緩衝液(40 mM HEPES(pH 7.3); 10 mM EDTA; 0.125% Triton X-100; 1.25% BSA; 250 nM PhycoLink Streptavidin-Allophycocyanin(APC)共軛物(Prozyme, San Leandro, CA); 及0.75 nM經銷螯合物(Perkin Elmer, Boston, MA)標記之GSK3α抗磷酸化絲胺酸(anti-phosphoserine)抗體(Cell Signaling Technologies, Beverly, MA; Cat# 9338))終止。使反應在22℃下平衡2小時, 且在Discovery盤式讀取器(Packard Biosciences)上讀取相對螢

光單位。在上述反應中檢定抑制劑化合物，以確定化合物 IC_{50} 。將溶解於DMSO中之1 μ L化合物以包括1 nM至100 μ M範圍之半對數(half-log)稀釋系列添加至各40 μ L反應中。在該化合物濃度範圍內量測以HTRF螢光單位形式讀取之相對磷酸化受質形成，且使用四參數S形曲線擬合(sigmoidal fit)生成滴定曲線。

在上述檢定中測試本發明之特定化合物且發現針對受質之 IC_{50} 為小於等於50 μ M。

實例5：細胞中CHK1自體磷酸化之抑制

藉由監測回應於DNA損傷之CHK1自體磷酸化，檢定抑制劑化合物抑制細胞中CHK1的能力。H1299細胞(ATCC, Manassas, VA)在以下培養基中生長：補充有10%胎牛血清之RPMI 1640；10 mM HEPES；2 mM L-麩醯胺酸；1倍非必需胺基酸；及盤尼西林-鏈黴素(penicillin-streptomycin)。彙集來自T-75燒瓶之細胞、計數、以2 ml培養基中每孔200,000個細胞接種至6孔盤中且培養。自DMSO中之1000倍日常備料將DMSO中之連續稀釋系列化合物或DMSO對照物添加至各孔且在37°C下培養2小時。在培養2小時之後，自PBS中之200倍日常備料將100 nM喜樹鹼(EMD Biosciences, San Diego, CA)添加至所有經藥物處理之細胞(除高劑量孔之一者以外)及一個DMSO對照孔。在以喜樹鹼培養4小時之後，以冰冷PBS洗滌各孔一次且向各孔添加300 μ L溶解緩衝液(50 mM Tris(pH 8.0)、150 mM NaCl、50 mM NaF、1% NP-40、0.5%脫氧膽酸、0.1%

SDS、0.5 μM Na_3VO_4 及1倍不含EDTA之完全蛋白酶抑制劑混合物(Roche Diagnostics, Mannheim, Germany))。4°C下將盤震盪10-15 min且接著將溶解產物轉移至1.5 ml微量離心管中且在-80°C下冷凍。使溶解產物在冰上解凍且藉由以15,000 x g離心20 min使之澄清且將上清液轉移至潔淨管中。

藉由添加5 μL 之5倍樣本裝填緩衝液且在100°C下熱變性5 min，製備用於凝膠電泳的樣本(20 μL)。使樣本在Tris/Glycine SDS-聚丙稀鹽胺凝膠(10%)中跑電泳且將蛋白質轉移至PVDF上。接著在含3% BSA之TBS中阻滯墨點歷時1小時且使用抗磷酸化-Ser-296 CHK1之抗體(Cell Signaling Technologies-Cat #2346)探測。使用經辣根過氧化物酶共軛之第二抗體(山羊抗兔Jackson Labs-Cat# 111-035-046)及增強型化學發光(ECL-plus, Amersham, Piscataway, NJ)觀察結合抗體。藉由在55°C下於62.5 mM Tris HCl(pH 6.7)、2% SDS及2-巰基乙醇中培養至100 μM 歷時30 min去除第一抗體組之後，使用CHK1單株抗體(Santa Cruz Biotechnology Inc., Cat# SC-8408)再探測墨點之總CHK1。使用與辣根過氧化物酶(Amersham Biosciences, Piscataway, NJ, Cat#NA931)偶合之綿羊抗小鼠IgG及增強型化學發光(ECL-plus, Amersham)偵測CHK1單株抗體。掃描經ECL曝光之薄膜且以ImageQuant軟體定量特定帶之強度。對滴定評估歸一化為總CHK1之磷酸化-CHK1(Ser296)信號之值且計算 IC_{50} 值。

實例6：抑制劑在檢查點逃逸檢定中之功能活性

DNA損傷停滯

為量測細胞中CHK1抑制劑之功能活性，檢定化合物消除DNA損傷誘導性細胞週期停滯之能力。該檢定係測定作為在由DNA損傷劑喜樹鹼引起之細胞週期停滯之後進入有絲分裂期(M-phase)之細胞數量之度量的細胞磷酸化核仁素(phospho-nucleolin)含量。

以每孔5000個細胞之密度，於補充有10%胎牛血清之RPMI640培養基中接種H1299細胞(ATCC, Manassas VA)。在37°C下以5% CO₂培養24小時之後，添加喜樹鹼至200 nM之最終濃度且培養16小時。添加等體積之於生長培養基加200 nM喜樹鹼及332 nM諾考達唑(nocodazole)(最終濃度：50 ng/ml)中之測試化合物連續稀釋系列且在37°C下繼續培養8小時。自該等孔移除培養基且添加50 µL溶解緩衝液(20 mM HEPES(pH7.5)、150 mM NaCl、50 mM NaF、1% Triton X-100、10%甘油、1倍蛋白酶抑制劑混合物(Roche Diagnostics, Mannheim Germany)、1 µl/ml DNase I(Roche Diagnostics)、300 µM原鈇酸鈉、1 µM微囊藻毒素(Sigma, St. Louis, MO))。將含有溶解緩衝液之盤在4°C下震盪30 min且在-70°C下冷凍20 min。使用IGEN Origen技術(BioVeris Corp., Gaithersburg, MD)量測細胞溶解產物中之磷酸化核仁素含量。

細胞溶解產物中磷酸化核仁素之偵測

使用Origen Biotin-LC-NHS-Ester(BioVeris Corp)，使用

廠商所述之實驗方法，使4E2抗核仁素抗體(Research Diagnostics Inc., Flanders, NJ)經生物素結合。使用鈦化(ruthenylation)套組(BioVeris Corp.; cat# 110034)，根據廠商所述之方法，使山羊抗小鼠抗體(Jackson Immuno Research, West Grove, PA)鈦化。向96孔盤之各孔添加25 μ L抗體緩衝液(經磷酸鹽緩衝之生理食鹽水pH 7.2，1%牛血清白蛋白，0.5% Tween-20)，該抗體緩衝液含有2 μ g/ml經生物素結合之4E2抗核仁素抗體及0.4 mg/ml經抗生蛋白鏈菌素(streptavidin)塗佈之順磁性Dynabeads(BioVeris Corp)以及25 μ L細胞溶解產物(上述)。在室溫下伴隨震盪培養抗體及溶解產物1小時。接著，將於50 μ L體積之抗體緩衝液(上述)中之50 ng抗磷酸化核仁素TG3抗體(Applied NeuroSolutions Inc., Vernon Hills, IL)添加至具有溶解產物混合物的各孔，且在室溫下繼續培養30 min。最後，將25 μ L鈦化之山羊抗小鼠抗體於抗體緩衝液中之240 ng/ml溶液添加至各孔且在室溫下繼續培養3小時。在BioVeris M-系列M8分析器上讀取溶解產物抗體混合物，且隨磷酸化核仁素之增加測定化合物之EC₅₀。

實例7：其他生物檢定

CHK1表現及純化：使用標準桿狀病毒載體及購自GIBCO™ Invitrogen之(Bac-to-Bac®)昆蟲細胞表現系統，可將重組人類CHK1表現為在胺基末端上具有麩胱甘肽S-轉移酶之融合蛋白質(GST-CHK1)。使用麩胱甘肽瓊脂糖(Amersham Biotech)，採用由廠商所述之標準程序可純化

於昆蟲細胞中表現之重組蛋白質。

CHK1 螢光偏振檢定：使用螢光偏振監測激酶活性可識別CHK1激酶抑制劑。此檢定利用10 nM GST-CHK1且含有5 mM 2-(N-嗎啉基)乙烷磺酸(MES, pH 6.5)、5 mM氯化鎂(MgCl_2)、0.05% Tween[®]-20、1 μM 5'三磷酸腺苷(ATP)、2 mM 1,4-二硫代-DL-蘇糖醇(DTT)、1 μM 肽受質(生物素-ILSRRPSYRKILND-游離酸)(SEQ ID NO: 19)、10 nM肽受質示蹤劑(螢光素-GSRRP-pS-YRKI-游離酸)(pS=磷酸化絲胺酸)(SEQ ID NO: 20)、60 ng來自於購自Cell Signalling Technologies(Beverly, MA)之粗製小鼠腹水的於G蛋白質瓊脂糖上純化之抗磷酸化-CREB(S133)小鼠單株IgG、4%二甲亞砜(DMSO)及30 μM 抑制劑化合物。在室溫下培養反應140分鐘且藉由添加25 mM EDTA(pH 8.0)終止。停止之反應在室溫下培養120分鐘且使用Molecular Devices/LJL Biosystems Analyst[™] AD(Sunnyvale, CA)以標準螢光設置來測定螢光偏振值。

CHK1 SPA過濾檢定：檢定液(25 μl)含有10 nM GST-CHK1、10 mM MES、2 mM DTT、10 mM MgCl_2 、0.025% Tween[®]-20、1 μM 肽受質(生物素-ILSRRPSYRKILND-游離酸)(SEQ ID NO: 19)、1 μM ATP、0.1 μCi ^{33}P - γ -ATP(New England Nuclear, NEN)且在室溫下反應90分鐘。藉由添加含有50 mM EDTA、6.9 mM ATP、0.5 mg閃爍接近式檢定(SPA)珠粒(Amersham Biosciences)之55 μl 磷酸鹽緩衝生理食鹽水終止反應。使肽受質與珠粒在室溫下結合10分鐘，

隨後在Packard GF/B Unifilter盤上過濾且以磷酸鹽緩衝生理食鹽水洗滌。可以Topseal™(NEN)密封乾燥盤且使用具有³³P標準設置之Packard Topcount®閃爍計數器來量測併入肽受質中之³³P。

CHK1 FlashPlate®激酶檢定：檢定液(25 µl)含有8.7 GST-CHK1、10 mM MES、0.1 mM乙二醇-雙(β-胺基乙醚)-N,N,N',N'-四乙酸(EGTA, pH 8.0)、2 mM DTT、0.05% Tween 20、3 µM肽受質(生物素-ILSRRPSYRKILND-游離酸)(SEQ ID NO: 19)、1 µM ATP、0.4 µCi ³³P-γ-ATP(NEN)及4% DMSO。在室溫下培養反應30分鐘，以50 µl 50 mM EDTA終止。將90 µl反應液轉移至經抗生蛋白鏈菌素塗佈之FlashPlates®(NEN)內且在室溫下培養1小時。以含有0.01% Tween-20及10 mM焦磷酸鈉之磷酸鹽緩衝生理食鹽水洗滌盤。將盤乾燥，以Topseal™(NEN)密封且使用具有標準設置之Packard Topcount® NXT™閃爍計數器量測併入肽受質內之³³P的量。

CHK1 DELFIA®激酶檢定：檢定液(25 µl)利用6.4 mM GST-CHK1，其含有25 mM Tris(pH 8.5)、20%甘油、50 mM氯化鈉(NaCl)、0.1 Surfact-Amps® 20、1 µM肽受質(生物素-GLYRSPSPMPEN-醯胺)(SEQ ID NO: 21)、2 mM DTT、4% DMSO、12.5 µM ATP、5 mM MgCl₂，且在室溫下反應30分鐘。以100 µl含有1% BSA、10 mM Tris(pH 8.0)、150 mM NaCl及100 mM EDTA之中止緩衝液終止反應。將中止之反應(100 µl)轉移至96孔中性鏈親和素

(neutravidin)盤(Pierce)中以捕獲室溫培養30分鐘期間之生物素-肽受質。將孔洗滌且與100 μ l PerkinElmer Wallac檢定緩衝液在室溫下反應1小時，該檢定緩衝液含有21.5 ng/ml得自Cell Signalling Technology(Beverly, MA)之抗磷酸化-Ser216-Cdc25c兔多株抗體及292 ng/ml經銷標記之抗兔-IgG。將孔洗滌且藉由添加增強溶液(Enhancement Solution)(100 μ l)(PerkinElmer Wallac)自結合抗體釋放鎳且使用Wallac Victor2™採用標準製造商設置進行偵側。

可在上述CHK1 FlashPlate®激酶檢定中測試本發明之化合物。

WST檢定：以提供線性生長曲線之密度，將HT29、HCT116(每孔5000個細胞)或其他細胞接種(75 μ l)至96孔透明底盤中歷時72小時。在無菌條件下於適當培養基中培養細胞，且對於HT29及HCT116而言此培養基為含有10%胎牛血清(FBS)之McCoy's 5A。在初始細胞接種之後，於37°C下以5% CO₂培養細胞17至24小時，此時以遞增之濃度添加適當之DNA損傷劑(喜樹鹼、5-氟尿嘧啶及依託泊苷)至48小時內能夠引起至少80%細胞致死之點。所有DNA損傷劑及化合物添加之最終體積為25 μ l。檢定液最終含有小於1% DMSO。添加DNA損傷劑的同時，以固定濃度將CHK1抑制劑化合物添加至各DNA損傷劑滴定中，以觀測細胞致死之增加。藉由根據製造商說明在添加DNA損傷劑及CHK1抑制劑化合物47小時後及在37°C下以5% CO₂培養3.5小時或2.5小時後添加WST試劑(Roche)，來確定在上述條

件下之細胞生存力/細胞致死，其中量測OD₄₅₀。

可在上述檢定中測試本發明之化合物。

實例8：其他生物檢定

可用於測定本發明化合物之生物活性之其他檢定包括見於以下公開案的檢定：WO 04/080973、WO 02/070494及WO 03/101444。

序列表

<110>	美國默克大藥廠	
<120>	檢查點激酶之抑制劑	
<130>	22102Y	
<140>	096113500	
<141>	2007-04-17	
<150>	60/794,694	
<151>	2006-04-25	
<160>	21	
<170>	FastSEQ for Windows Version 4.0	
<210>	1	
<211>	28	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	完全合成DNA序列	
<400>	1	
	atcagcaaga attaccattc cagacatc	28
<210>	2	
<211>	28	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	完全合成DNA序列	
<400>	2	
	catacaactt ttcttccatt gatagccc	28
<210>	3	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	完全合成DNA序列	
<400>	3	
	gttacttggc accccagga	19
<210>	4	
<211>	27	

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 完全合成DNA序列	
<400> 4	
catccaattt ggtaaagaat cgtgtca	27
<210> 5	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 完全合成DNA序列	
<400> 5	
tcctcacaga acccc	15
<210> 6	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 完全合成DNA序列	
<400> 6	
gcacattcaa tccaatttgg acttct	26
<210> 7	
<211> 28	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 完全合成DNA序列	
<400> 7	
catccaattt ggtaaagaat cgtgtcat	28
<210> 8	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 完全合成DNA序列	
<400> 8	
cagtgttct agaacc	17
<210> 9	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 完全合成DNA序列	

<400> 9
tgcatccaat ttggtaaaga atcg 24

<210> 10
<211> 62
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 完全合成DNA序列

<400> 10
ttactggcctt atcgaaatta atacgactca ctatagggag gagtcatggc agtgcccttt 60
gt 62

<210> 11
<211> 64
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 完全合成DNA序列

<400> 11
tagaaggcac agtcgaggct gatcagcggg tttaaactca tgcatccaat ttggtaaaga 60
atcg 64

<210> 12
<211> 80
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 完全合成DNA序列

<400> 12
aatccaattt ggactttctt ccagtaaaca gtgcttctag aacccttggc agcggttggt 60
caaaagaatg acacgattct 80

<210> 13
<211> 80
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 完全合成DNA序列

<400> 13
agaatcgtgt cattcttttg accaaccgct gccaggggtt ctagaagcac tgtttactgg 60
agagaagtcc aaattggatt 80

<210> 14
<211> 954
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 完全合成DNA序列

<400> 14

```

atggcagtgc cctttgtgga agactgggac ttggtgcaaa ccctgggaga aggtgcctat 60
ggagaagttc aacttgctgt gaatagagta actgaagaag cagtcgcagt gaagattgta 120
gatatgaagc gtgccgtaga ctgtccagaa aatattaaga aagagatctg tatcaataaa 180
atgctaaatc atgaaaatgt agtaaaattc tatggtcaca ggagagaagg caatatccaa 240
tatttatttc tggagtactg tagtggagga gagctttttg acagaataga gccagacata 300
ggcatgcctg aaccagatgc tcagagattc ttccatcaac tcatggcagg ggtggtttat 360
ctgcatggta ttggaataac tcacagggat attaaaccag aaaatcttct gttggatgaa 420
agggataacc tcaaaatctc agactttggc ttggcaacag tatttcggta taataatcgt 480
gagcgtttgt tgaacaagat gtgtggtact ttaccatatg ttgctccaga acttctgaag 540
agaagagaat ttcatgcaga accagttgat gtttggtcct gtggaatagt acttactgca 600
atgctcgctg gagaattgcc atgggaccaa cccagtgaca gctgtcagga gtattctgac 660
tggaagaaaa aaaaaacata cctcaaccct tggaaaaaaa tcgattctgc tcctctagct 720
ctgctgcata aaatcttagt tgagaatcca tcagcaagaa ttaccattcc agacatcaa 780
aaagatagat ggtacaacaa acccctcaag aaagggggcaa aaaggccccc agtcacttca 840
ggtggtgtgt cagagtctcc cagtggattt tctaagcaca ttcaatccaa tttggacttc 900
tctccagtaa acagtgcttc tagaaccctt ggcagcgggt ggtcaaaaga atga 954

```

<210> 15

<211> 317

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 完全合成氨基酸序列

<400> 15

```

Met Ala Val Pro Phe Val Glu Asp Trp Asp Leu Val Gln Thr Leu Gly
1          5          10          15
Glu Gly Ala Tyr Gly Glu Val Gln Leu Ala Val Asn Arg Val Thr Glu
20          25          30
Glu Ala Val Ala Val Lys Ile Val Asp Met Lys Arg Ala Val Asp Cys
35          40          45
Pro Glu Asn Ile Lys Lys Glu Ile Cys Ile Asn Lys Met Leu Asn His
50          55          60
Glu Asn Val Val Lys Phe Tyr Gly His Arg Arg Glu Gly Asn Ile Gln
65          70          75          80
Tyr Leu Phe Leu Glu Tyr Cys Ser Gly Gly Glu Leu Phe Asp Arg Ile
85          90          95
Glu Pro Asp Ile Gly Met Pro Glu Pro Asp Ala Gln Arg Phe Phe His
100          105          110
Gln Leu Met Ala Gly Val Val Tyr Leu His Gly Ile Gly Ile Thr His
115          120          125
Arg Asp Ile Lys Pro Glu Asn Leu Leu Leu Asp Glu Arg Asp Asn Leu
130          135          140
Lys Ile Ser Asp Phe Gly Leu Ala Thr Val Phe Arg Tyr Asn Asn Arg
145          150          155          160
Glu Arg Leu Leu Asn Lys Met Cys Gly Thr Leu Pro Tyr Val Ala Pro
165          170          175
Glu Leu Leu Lys Arg Arg Glu Phe His Ala Glu Pro Val Asp Val Trp
180          185          190
Ser Cys Gly Ile Val Leu Thr Ala Met Leu Ala Gly Glu Leu Pro Trp
195          200          205
Asp Gln Pro Ser Asp Ser Cys Gln Glu Tyr Ser Asp Trp Lys Glu Lys
210          215          220
Lys Thr Tyr Leu Asn Pro Trp Lys Lys Ile Asp Ser Ala Pro Leu Ala
225          230          235          240
Leu Leu His Lys Ile Leu Val Glu Asn Pro Ser Ala Arg Ile Thr Ile
245          250          255
Pro Asp Ile Lys Lys Asp Arg Trp Tyr Asn Lys Pro Leu Lys Lys Gly

```

260

275

290

305

Ala

Gly

Ser

Ser

Lys

Phe

Ala

Ala

Arg

Ser

Ser

Leu

Pro

Lys

Arg

Ser

Arg

His

Arg

Arg

Val

Ile

Thr

Pro

Thr

Gln

Pro

Gly

Ser

Ser

Gly

Ser

Gly

Asn

Gly

Gly

Gly

Leu

Trp

Trp

Val

Asp

Ser

Ser

Ser

Phe

Lys

Lys

Glu

Ser

Glu

Glu

Ser

Pro

Val

Ser

Pro

Val

Asn

Asn

265

280

295

310

270

285

300

315

<210> 16

<211> 40

<212> DNA

<213>人工序列

<220>

<223> 完全合成DNA序列

<400> 16

cccggaattc accatggcag tgccctttgt ggaagactgg

40

<210> 17

<211> 54

<212> DNA

<213>人工序列

<220>

<223>完全合成DNA序列

<400> 17

tgtgtccggc cgtcagtgat ggtgatggtg atgttctttt gaccaaccgc tgcc

54

<210> 18

<211> 13

<212> PRT

<213>人工序列

<220>

<223> 完全合成氨基酸序列

<400> 18

Gly Gly Arg Ala Arg Thr Ser Ser Phe Ala Glu Pro Gly

1 5 10

<210> 19

<211> 14

<212> PRT

<213>人工序列

<220>

<223>完全合成氨基酸序列

<400> 19

Ile Leu Ser Arg Arg Pro Ser Tyr Arg Lys Ile Leu Asn Asp

1 5 10

<210> 20

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 完全合成氨基酸序列

<400> 20

Gly Ser Arg Arg Pro Ser Tyr Arg Lys Ile
1 5 10

<210> 21

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 完全合成氨基酸序列

<400> 21

Gly Leu Tyr Arg Ser Pro Ser Met Pro Glu Asn
1 5 10

五、中文發明摘要：

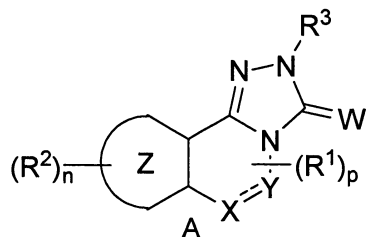
本發明提供包含經取代三唑并喹唑啉酮之化合物，其抑制CHK1活性。本發明亦提供包含該等抑制性化合物之組合物，及藉由向需要治療癌症之患者投與該化合物來抑制CHK1活性的方法。

六、英文發明摘要：

The instant invention provides for compounds which comprise substituted triazoloquinazolinones that inhibit CHK1 activity. The invention also provides for compositions comprising such inhibitory compounds and methods of inhibiting CHK1 activity by administering the compound to a patient in need of treatment of cancer.

十、申請專利範圍：

1. 一種式A之化合物，



其中，

a為0或1；b為0或1；m為0、1或2；n為0、1、2、3、

4、5或6；p為0、1或2；

X與Y之間的虛線表示可視情況選用之雙鍵；

W係選自：O、S及N-R⁴；X及Y係獨立地選自：CH₂及NH；環Z係選自：芳基、雜芳基、雜環基、(C₄-C₈)環烯基及(C₄-C₈)環烷基；

R¹係獨立地選自：H、CF₃、側氧基、(C=O)_aO_bC₁-C₁₀烷基、(C=O)_aO_b芳基、(C=O)_aO_bC₂-C₁₀烯基、(C=O)_aO_bC₂-C₁₀炔基、CO₂H、鹵素、OH、O_bC₁-C₆全氟烷基、(C=O)_aNR⁷R⁸、CN、(C=O)_aO_bC₃-C₈環烷基、S(O)_mNR⁷R⁸、S(O)_m-(C₁-C₁₀)烷基及(C=O)_aO_b雜環基，該烷基、芳基、烯基、炔基、環烷基及雜環基視情況經一或多個選自R⁶之取代基取代；

R²係獨立地選自：H、CF₃、側氧基、(C=O)_aO_bC₁-C₁₀烷基、(C=O)_aO_b芳基、(C=O)_aO_bC₂-C₁₀烯基、(C=O)_aO_bC₂-C₁₀炔基、CO₂H、鹵素、OH、O_bC₁-C₆全氟烷基、(C=O)_aNR⁷R⁸、CN、(C=O)_aO_bC₃-C₈環烷基、

$S(O)_mNR^7R^8$ 、 $S(O)_m-(C_1-C_{10})$ 烷基及 $(C=O)_aO_b$ 雜環基，該烷基、芳基、烯基、炔基、環烷基及雜環基視情況經一或多個選自 R^6 之取代基取代，或兩個 R^2 可一起形成單環或雙環雜環，該單環或雙環雜環在各環中具有3-7個成員且視情況含有一個、兩個或三個選自N、O及S之另外雜原子，該單環或雙環雜環視情況經一或多個選自 R^{6a} 之取代基取代；

R^3 係選自：H、 CF_3 、側氧基、 $(C=O)_aO_bC_1-C_{10}$ 烷基、 $(C=O)_aO_b$ 芳基、 $(C=O)_aO_bC_2-C_{10}$ 烯基、 $(C=O)_aO_bC_2-C_{10}$ 炔基、 CO_2H 、鹵素、OH、 $O_bC_1-C_6$ 全氟烷基、 $(C=O)_aNR^7R^8$ 、CN、 $(C=O)_aO_bC_3-C_8$ 環烷基、 $S(O)_mNR^7R^8$ 、 $S(O)_m-(C_1-C_{10})$ 烷基及 $(C=O)_aO_b$ 雜環基，該烷基、芳基、烯基、炔基、環烷基及雜環基視情況經一或多個選自 R^6 之取代基取代；

R^4 係選自：H、 CF_3 、側氧基、 $(C=O)_aO_bC_1-C_{10}$ 烷基、 $(C=O)_aO_b$ 芳基、 $(C=O)_aO_bC_2-C_{10}$ 烯基、 $(C=O)_aO_bC_2-C_{10}$ 炔基、 CO_2H 、鹵素、OH、 $O_bC_1-C_6$ 全氟烷基、 $(C=O)_aNR^7R^8$ 、CN、 $(C=O)_aO_bC_3-C_8$ 環烷基、 $S(O)_mNR^7R^8$ 、 $S(O)_m-(C_1-C_{10})$ 烷基及 $(C=O)_aO_b$ 雜環基，該烷基、芳基、烯基、炔基、環烷基及雜環基視情況經一或多個選自 R^6 之取代基取代；

R^6 為： CF_3 、側氧基、 $(C=O)_aO_bC_1-C_{10}$ 烷基、 $(C=O)_aO_b$ 芳基、 C_2-C_{10} 烯基、 C_2-C_{10} 炔基、 $(C=O)_aO_b$ 雜環基、 CO_2H 、鹵素、CN、OH、 $O_bC_1-C_6$ 全氟烷基、

$O_a(C=O)_bNR^7R^8$ 、側氧基、CHO、 $(N=O)R^7R^8$ 、 $S(O)_mNR^7R^8$ 、 $S(O)_m-(C_1-C_{10})$ 烷基、SH或 $(C=O)_aO_bC_3-C_8$ 環烷基，該烷基、芳基、烯基、炔基、雜環基及環烷基視情況經一或多個選自 R^{6a} 之取代基取代；

R^{6a} 係選自： CF_3 、 $(C=O)_aO_b(C_1-C_{10})$ 烷基、 $O_a(C_1-C_3)$ 全氟烷基、 (C_0-C_6) 伸烷基- $S(O)_mR^a$ 、側氧基、OH、鹵素、CN、 (C_2-C_{10}) 烯基、 (C_2-C_{10}) 炔基、 (C_3-C_6) 環烷基、 (C_0-C_6) 伸烷基-芳基、 (C_0-C_6) 伸烷基-雜環基、 (C_0-C_6) 伸烷基- $N(R^b)_2$ 、 $C(O)R^a$ 、 (C_0-C_6) 伸烷基- CO_2R^a 、 $C(O)H$ 及 (C_0-C_6) 伸烷基- CO_2H ，該烷基、烯基、炔基、環烷基、芳基及雜環基視情況經至多三個選自 R^b 、OH、 (C_1-C_6) 烷氧基、鹵素、 CO_2H 、CN、 $O(C=O)C_1-C_6$ 烷基、側氧基及 $N(R^b)_2$ 之取代基取代；

R^7 及 R^8 獨立地選自： H 、 $(C=O)O_bC_1-C_{10}$ 烷基、 $(C=O)O_bC_3-C_8$ 環烷基、 $(C=O)O_b$ 芳基、 $(C=O)O_b$ 雜環基、 C_1-C_{10} 烷基、芳基、 C_2-C_{10} 烯基、 C_2-C_{10} 炔基、雜環基、 C_3-C_8 環烷基、 $S(O)_mR^a$ 及 $(C=O)NR^b_2$ ，該烷基、環烷基、芳基、雜環基、烯基及炔基視情況經一或多個選自 R^{6a} 之取代基取代，或 R^7 與 R^8 可與其所連接之氮一起形成單環或雙環雜環，該單環或雙環雜環在各環中具有3-7個成員且除該氮以外還視情況含有一或兩個選自N、O及S之另外雜原子，該單環或雙環雜環視情況經一或多個選自 R^{6a} 之取代基取代；

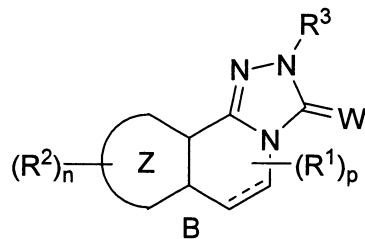
R^a 為 H 、 (C_1-C_6) 烷基、 (C_3-C_6) 環烷基、芳基或雜環

基；且

R^b 獨立地為 H、 (C_1-C_6) 烷基、芳基、雜環基、 (C_3-C_6) 環烷基、 $(C=O)OC_1-C_6$ 烷基、 $(C=O)C_1-C_6$ 烷基或 $S(O)_mR_a$ ；

或其醫藥學上可接受之鹽或立體異構體。

2. 如請求項 1 之化合物，其具有式 B，

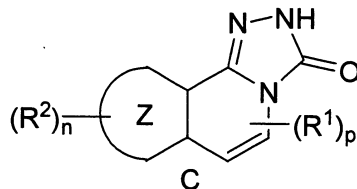


其中：

所有其他取代基及變數如請求項 1 中所定義；

或其醫藥學上可接受之鹽或立體異構體。

3. 如請求項 1 之化合物，其具有式 C，



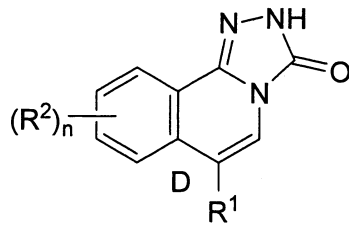
其中：

環 Z 係選自苯基及萘基；

所有其他取代基及變數如請求項 1 中所定義；

或其醫藥學上可接受之鹽或立體異構體。

4. 如請求項 1 之化合物，其具有式 D，



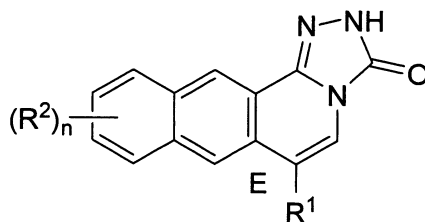
其中：

N為0、1、2、3或4；

所有其他取代基及變數如請求項1中所定義；

或其醫藥學上可接受之鹽或立體異構體。

5. 如請求項1之化合物，其具有式E，



其中：

所有其他取代基及變數如請求項1中所定義；

或其醫藥學上可接受之鹽或立體異構體。

6. 如請求項1之化合物，其係選自：

9-(1H-吡唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-
酮；

9-吡啶-3-基[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-(1H-吡咯-2-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-
酮；

9-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-
3(2H)-酮；

9-(1-異丁基-1H-吡唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹

啉-3(2H)-酮；

9-(3,5-二甲基-1H-吡唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-(1,3,5-三甲基-1H-吡唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-(5-甲基-2-呋喃基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-(4-甲基-2-噻吩基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-(3-噻吩基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-(4-甲基-3-噻吩基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-(3-呋喃基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-(2-呋喃基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-(3,5-二甲基異噁唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-[(1E)-3-氨基丙-1-烯-1-基][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-(2-氯吡啶-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-(6-嗎啉-4-基吡啶-3-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-吡啶-4-基[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-喹啉-3-基[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-嘧啶-5-基[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-(2,4-二甲氧基嘧啶-5-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-[4-(胺甲基)苯基][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(2-胺基乙氧基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(3-胺基丙氧基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-[(1E)-3-胺基丙-1-烯-1-基]-9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(3-胺基丙基)-9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-溴[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-[(1E)-3-胺基丙-1-烯-1-基][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(3-胺基丙基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6,7,8,9-四氫苯并[f][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-1(2H)-酮；

8,9,10,11-四氫苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(3-羥基丙基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-[3-(甲胺基)丙基][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-

酮；

6-{3-[(2,2,2-三氟乙基)氨基]丙基}[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-[3-(乙氨基)丙基][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(3-氨基-2-氟丙基)-9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-[(1E)-3-氨基丙-1-烯-1-基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(3-氨基丙基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(3-氨基丙基)-5,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-吡啶-3-基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-[4-(胺甲基)苯基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-[4-(嗎啉-4-基甲基)苯基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(1,2,3,6-四氫-4-吡啶基)-苯并[g]-1,2,4-三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(6-氨基吡啶-3-基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-[3-(嗎啉-4-基甲基)苯基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]

異喹啉-3(2H)-酮；

6-[3-(哌啶-1-基甲基)苯基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]

異喹啉-3(2H)-酮；

6-[3-(胺甲基)苯基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-

3(2H)-酮；

6-(2-胺基乙基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-

3(2H)-酮；

6-異喹啉-5-基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-

3(2H)-酮；

6-喹啉-5-基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-

酮；

6-(3-胺基苯基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-

3(2H)-酮；

6-哌啶-4-基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-

酮；

2,2,2-三氟-N-[4-(3-側氧基-2,3-二氫苯并[g][1,2,4]三唑

并[3,4-a]異喹啉-6-基)苯基]乙醯胺；

6-(4-胺基苯基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-

3(2H)-酮；

6-吡啶-4-基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-

酮；

6-(3-胺基丙基)-10-甲基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異

喹啉-3(2H)-酮；

6-(3-胺基丙基)-10-氟苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹

啉-3(2H)-酮；

6-(3-氨基丙基)-9,11-二氟苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

第三丁基[(2Z)-3-(10-甲基-3-側氧基-2,3-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-[(1Z)-3-氨基丙-1-烯-1-基]-10-甲基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-[(1Z)-3-氨基丙-1-烯-1-基]-10-氯苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-[4-(胺甲基)苯基]-10-甲基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(3-氨基丙基)-10-氯苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-[(1Z)-3-氨基丙-1-烯-1-基]-9,10-二氟苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(3-氨基丙基)-9,10-二氟苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(3-氨基丙基)-10-(三氟甲基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(3-氨基丙基)-2,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[4,3-c]喹啉-3,5-二酮；

2,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[4,3-c]喹啉-3,5-二酮；及

6-(3-氨基丙基)-2,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[4,3-c]喹

唑啉-3,5-二酮；

或其醫藥學上可接受之鹽或立體異構體。

7. 如請求項1之化合物之TFA鹽，其係選自：

9-(1H-吡唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-
酮；

9-吡啶-3-基[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-(1H-吡咯-2-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-
酮；

9-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-
3(2H)-酮；

9-(1-異丁基-1H-吡唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹
啉-3(2H)-酮；

9-(3,5-二甲基-1H-吡唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹
啉-3(2H)-酮；

9-(1,3,5-三甲基-1H-吡唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異
喹啉-3(2H)-酮；

9-(5-甲基-2-呋喃基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-
3(2H)-酮；

9-(4-甲基-2-噻吩基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-
3(2H)-酮；

9-(3-噻吩基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-(4-甲基-3-噻吩基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-
3(2H)-酮；

9-(3-呋喃基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-(2-呋喃基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-(3,5-二甲基異噁唑-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-[(1E)-3-胺基丙-1-烯-1-基][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-(2-氣吡啶-4-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-(6-嗎啉-4-基吡啶-3-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-吡啶-4-基[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-喹啉-3-基[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-嘧啶-5-基[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-(2,4-二甲氧基嘧啶-5-基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

9-[4-(胺甲基)苯基][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(2-胺基乙氧基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(3-胺基丙氧基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-[(1E)-3-胺基丙-1-烯-1-基]-9-氣[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(3-胺基丙基)-9-氣[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-

3(2H)-酮；

6-溴[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-[(1E)-3-氨基丙-1-烯-1-基][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(3-氨基丙基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6,7,8,9-四氫苯并[f][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-1(2H)-酮；

8,9,10,11-四氫苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(3-羥基丙基)[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-[3-(甲氨基)丙基][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-{3-[(2,2,2-三氟乙基)氨基]丙基}[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-[3-(乙氨基)丙基][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(3-氨基-2-氟丙基)-9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-[(1E)-3-氨基丙-1-烯-1-基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(3-氨基丙基)-5,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-吡啶-3-基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-

酮；

6-[4-(胺甲基)苯基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-[4-(嗎啉-4-基甲基)苯基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(1,2,3,6-四氫-4-吡啶基)-苯并[g]-1,2,4-三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(6-胺基吡啶-3-基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-[3-(嗎啉-4-基甲基)苯基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-[3-(哌啶-1-基甲基)苯基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-[3-(胺甲基)苯基]苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(2-胺基乙基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-異喹啉-5-基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-喹啉-5-基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(3-胺基苯基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-哌啶-4-基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-

酮；

2,2,2-三氟-N-[4-(3-側氧基-2,3-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-6-基)苯基]乙醯胺；

6-(4-胺基苯基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-吡啶-4-基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(3-胺基丙基)-10-甲基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(3-胺基丙基)-10-氟苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(3-胺基丙基)-9,11-二氟苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

第三丁基[(2Z)-3-(10-甲基-3-側氧基-2,3-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮)；

6-[(1Z)-3-胺基丙-1-烯-1-基]-10-甲基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-[(1Z)-3-胺基丙-1-烯-1-基]-10-氟苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-[4-(胺甲基)苯基]-10-甲基苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(3-胺基丙基)-10-氟苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-[(1Z)-3-胺基丙-1-烯-1-基]-9,10-二氟苯并[g][1,2,4]

三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(3-氨基丙基)-9,10-二氟苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(3-氨基丙基)-10-(三氟甲基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮；

6-(3-氨基丙基)-2,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[4,3-c]喹啉-3,5-二酮；及

6-(3-氨基丙基)-2,6-二氫苯并[g][1,2,4]三唑并[4,3-c]喹啉-3,5-二酮；

或其立體異構體。

8. 如請求項1之化合物之HCl鹽，其為：

6-(3-氨基丙基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮。

9. 一種化合物，其為：

6-(3-氨基丙基)苯并[g][1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮

或其醫藥學上可接受之鹽。

10. 一種化合物，其為：

6-(3-氨基-2-氟丙基)-9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮

或其醫藥學上可接受之鹽或立體異構體。

11. 一種化合物，其為：

6-(3-氨基丙基)-9-氯[1,2,4]三唑并[3,4-a]異喹啉-3(2H)-酮

或其醫藥學上可接受之鹽。

12. 一種醫藥組合物，其包含醫藥載劑及分散於其中之治療有效量之如請求項1之化合物。

13. 一種以如請求項1之化合物於製備用於治療或預防需要該治療之哺乳動物中之癌症之藥劑上之用途。

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：(無)

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：