

發明專利說明書

101年10月26日修正替換頁

中文說明書替換頁(101年10月)

(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：097121927

※ 申請日期：97.6.12

※IPC 分類：A61K 31/519 (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

傑納斯激酶(JANUS KINASE)抑制劑(R)-3-(4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基)-3-環戊基丙烷腈之代謝物

METABOLITES OF THE JANUS KINASE INHIBITOR (R)-3-(4-(7H-PYRROLO[2,3-d]PYRIMIDIN-4-YL)-1H-PYRAZOL-1-YL)-3-CYCLOPENTYLPROPANENITRILE

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

美商英塞特公司

INCYTE CORPORATION

代表人：(中文/英文)

派翠莎 史契瑞克

SCHRECK, PATRICIA

住居所或營業所地址：(中文/英文)

美國德拉威州威明頓市141公路亨利克雷路E336/207大樓實驗室
EXPERIMENTAL STATION, BUILDING E336/207, ROUTE 141 &
HENRY CLAY ROAD, WILMINGTON, DELAWARE 19880, U.S.A.

國籍：(中文/英文)

美國 U.S.A.

三、發明人：(共 3 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 詹姆斯 D 洛德傑斯
RODGERS, JAMES D.
2. 阿爾吉里歐斯 G 阿法尼提斯
ARVANITIS, ARGYRIOS G.
3. 傑克 古恩 席
SHI, JACK GUOEN

國 籍：(中文/英文)

1. 美國 U.S.A.
2. 美國 U.S.A.
3. 美國 U.S.A.

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；2007年06月13日；60/943,695

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。

五、中文發明摘要：

本發明係有關一種 3-(4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基)-3-環戊基丙烷腈之活性代謝物，其調節傑納斯激酶(Janus kinase)之活性且用於治療與傑納斯激酶活性有關之疾病，該等疾病包括(例如)免疫相關疾病、皮膚病症、骨髓增殖性病變、癌症及其他疾病。

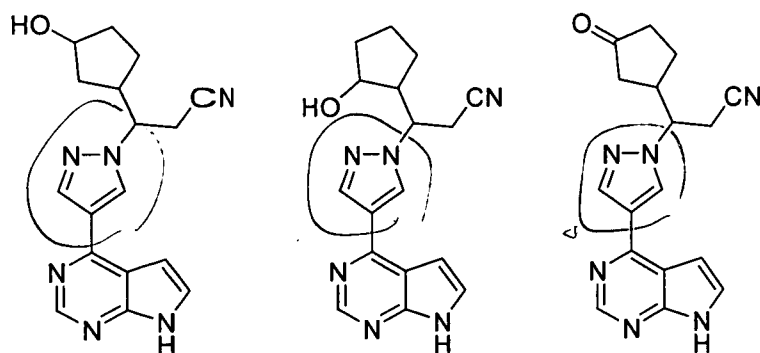
六、英文發明摘要：

The present invention provides active metabolites of 3-(4-(7H-pyrrolo[2,3-d] pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-cyclopentylpropanenitrile that modulate the activity of Janus kinases and are useful in the treatment of diseases related to activity of Janus kinases including, for example, immune-related diseases, skin disorders, myeloid proliferative disorders, cancer, and other diseases.

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：

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明提供(R)-3-(4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基)-3-環戊基丙烷脒之活性代謝物，其調節傑納斯激酶之活性且用於治療與傑納斯激酶活性有關之疾病，該等疾病包括(例如)免疫相關疾病、皮膚病症、骨髓增殖性病症、癌症及其他疾病。

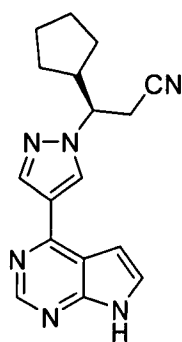
【先前技術】

蛋白激酶(PK)係一群調節不同重要生物過程之酵素，該等生物過程尤其包括細胞生長、存活及分化、器官形成及形態發生、新血管形成、組織修復及再生。蛋白激酶藉助催化蛋白質(或基質)之磷酸化且藉此調節該等基質在各種生物進化中之細胞活性來發揮其生理功能。除在正常組織/器官中之功能以外，許多蛋白激酶在包括癌症之人類疾病宿主中亦發揮更為特殊的作用。當蛋白激酶之子集(亦稱為致癌蛋白激酶)失調時可造成腫瘤形成及生長，且進一步促使腫瘤維持及進展(Blume-Jensen P等人，Nature 2001, 411(6835):355-365)。至今為止，致癌蛋白激酶在癌症干預及藥物開發中係最大且最具吸引力的蛋白質靶群組中的一者。

傑納斯激酶(JAK)家族在增殖及參與免疫響應之細胞之功能的細胞因子依賴性調節中起作用。目前，有四種已知哺乳動物JAK家族成員：JAK1(亦稱為傑納斯激酶-1)、JAK2(亦稱為傑納斯激酶-2)、JAK3(亦稱為傑納斯激酶、

白細胞；JAKL；L-JAK及傑納斯激酶-3)及TYK2(亦稱為蛋白質-酪胺酸激酶2)。JAK蛋白質尺寸在120至140 kDa之範圍內且包含七個保守JAK同源(JH)結構域；其中的一個係功能催化激酶結構域，且另一個係起調節功能作用及/或作為STAT之停泊位點的偽激酶結構域(Scott, Godshall等人，2002, *supra*)。

阻斷JAK激酶層面上之信號轉導有希望用於開發人類癌症之治療。亦預見到JAK激酶之抑制在患有皮膚免疫病症(例如牛皮癬)及皮膚致敏之患者中具有治療益處。因此，廣泛尋找傑納斯激酶或相關激酶之抑制劑且若干公開案報導有效化合物類型。舉例而言，某些JAK抑制劑(包括以下展示之(R)-3-(4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘓啶-4-基)-1H-吡唑-1-基)-3-環戊基丙烷腈)報導於2006年12月12日提出申請的美國專利第11/637,545號中。



因此，仍需要抑制諸如傑納斯激酶等激酶的新穎或經改良試劑用於開發新的且更有效的醫藥以治療癌症及其他疾病。本文所闡述之代謝物、組合物及方法係針對該等需要及其他目標。

【發明內容】

本發明提供選自以下之化合物：

3-(4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基)-3-(3-羥基環戊基)丙烷腈；

3-(4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基)-3-(2-羥基環戊基)丙烷腈；及

3-(4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基)-3-(3-氧代環戊基)丙烷腈；

或其醫藥上可接受之鹽。

本發明進一步提供一或多種上述化合物、或其醫藥上可接受之鹽，其呈實質上分離形式。

本發明進一步提供組合物，其包含本發明之化合物、或其醫藥上可接受之鹽、及至少一種醫藥上可接受之載劑。

本發明進一步提供調節JAK活性之方法，其包含使JAK與本發明之化合物、或其醫藥上可接受之鹽接觸。

本發明進一步提供治療患者疾病之方法，其包含向該患者投與治療有效量的本發明之化合物、或其醫藥上可接受之鹽。

本發明進一步提供本發明化合物、或其醫藥上可接受之鹽在藉由療法治療人類或動物體之方法中的用途。

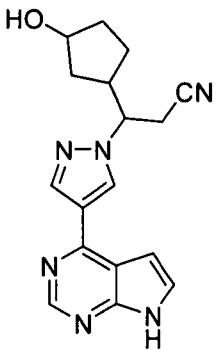
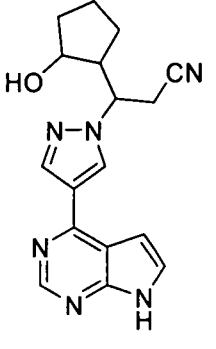
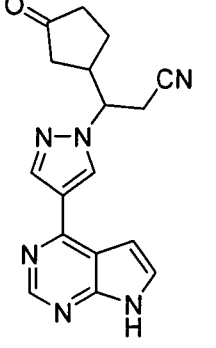
本發明進一步提供本發明化合物、或其醫藥上可接受之鹽在治療一或多種本文所述疾病之方法中的用途。

本發明進一步提供本發明化合物、或其醫藥上可接受之鹽在製備藥劑中的用途，該藥劑用於治療一或多種本文所述疾病之方法中。

【實施方式】

本發明尤其提供作為 JAK 抑制劑 (R)-3-(4-(7H-吡咯并 [2,3-d] 嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基)-3-環戊基丙烷腈之活性代謝物的化合物。該等代謝物調節一或多種 JAK 之活性且用於 (例如) 治療與 JAK 表現或活性相關之疾病。本發明之代謝物繪示於下表 1 中。結構意欲涵蓋所有可能立體異構體。

表 1

參照	名稱	結構
代謝物1	3-(4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基)-3-(3-羥基環戊基)丙烷腈	
代謝物2	3-(4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基)-3-(2-羥基環戊基)丙烷腈	
代謝物3	3-(4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基)-3-(3-氧代環戊基)丙烷腈	

本發明之代謝物係自 JAK 抑制劑 (R)-3-(4-(7H-吡咯并 [2,3-d] 嘧啶 -4-基) -1H-吡唑 -1-基) -3-環戊基丙烷脒 (化合物 1) 之藥物代謝動力學及毒代動力學研究所收集之大鼠或狗尿試樣中分離出。如表 2 中所示及實例 A 中所詳述，該等代謝物係具有活性的強效 JAK 抑制劑，且與化合物 1 相比具有與顯著提高在人類微粒體中的游離分數及提高代謝穩定性有關之有利性質。此數據表明本發明代謝物在人類中可合意地具有比化合物 1 長的消除半衰期。

在一些實施例中，本發明代謝物實質上經分離。"實質上經分離"係指將化合物至少部分地或實質上自其形成或檢測之環境中分離出。部分分離可包括(例如)富含本發明化合物之組合物。實質上分離可包括以重量計含有至少約 50%、至少約 60%、至少約 70%、至少約 80%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 97%、或至少約 99% 代謝物之組合物。

本發明亦包括本文所述化合物之醫藥上可接受之鹽。本文所用"醫藥上可接受之鹽"係指所揭示化合物之衍生物，其中母體化合物係藉由將現有酸或鹼部分轉化成其鹽形式來進行改良。醫藥上可接受之鹽的實例包括(但不限於)鹼性殘基(例如胺)所形成之無機酸鹽或有機酸鹽、酸性殘基(例如羧酸)所形成之鹼性鹽或有機鹽、及諸如此類。本發明醫藥上可接受之鹽包括自(例如)無毒無機酸或有機酸所形成母體化合物之習用無毒鹽。本發明醫藥上可接受之鹽可由藉由習用化學方法自包含鹼性或酸性部分之母體化合

物來合成。一般而言，可藉由使該等化合物之游離酸或鹼形式與化學計量量之合適鹼或酸在水或有機溶劑、或二者之混合物中反應來製備該等鹽；一般而言，較佳者係諸如乙醚、乙酸乙酯、乙醇、異丙醇或乙腈等非水培養基。適宜鹽之列表可在*Remington's Pharmaceutical Sciences*(第17版，Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, 第1418頁)及*Journal' of Pharmaceutical Science*(66, 2 (1977))中發現；其各以引用的方式全部併入本文。

本文採用的短語"醫藥學上可接受的"係指彼等如下化合物、材料、組合物、及/或劑型：在合理的醫學診斷範圍內，適於與人類及動物組織接觸使用而無過度毒性、刺激性、過敏反應或其他問題或併發症，與效益/風險比相稱。

該等代謝物係不對稱的(例如，具有一或多個立構中心)。除非另有說明，否則所有立體異構體(例如對映異構體及非對映異構體)皆合意。關於如何自光學活性起始材料製備光學活性形式之方法已為該項技術所習知，例如藉由外消旋混合物之拆分或藉由立體選擇性合成。

本發明化合物亦包括代謝物中所存在原子之所有同位素。同位素包括彼等具有相同原子序數但不同質量數之原子。舉例而言，氫同位素包括氘及氚。

本文所用術語"化合物"意欲包括所繪示結構之所有立體異構體、幾何異構體、互變異構體及同位素。

合成

本發明化合物(包括其鹽)可使用習知有機合成技術製備且可根據許多可能合成途徑中的任一種合成。

製備本發明化合物之反應可在適宜溶劑中實施，適宜溶劑可容易地由熟悉有機合成者選擇。適宜溶劑可在實施反應之溫度(例如可在溶劑的凍結溫度至溶劑之沸騰溫度範圍內的溫度)下與起始材料(反應物)、中間體、或產物實質上不反應。既定反應可在一種溶劑或一種以上溶劑之混合物中實施。端視特定的反應步驟，可由熟悉該項技術者針對特定反應步驟選擇適宜溶劑。

本發明化合物之製備可涉及各種化學基團之保護及去保護。對保護及去保護之需要、及適宜保護基團之選擇可由熟悉該項技術者容易地確定。保護基團之化學可在(例如)T.W. Greene及P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 第3版, Wiley & Sons, Inc., New York (1999)中找到，其以其整體內容引用的方式併入本文中。

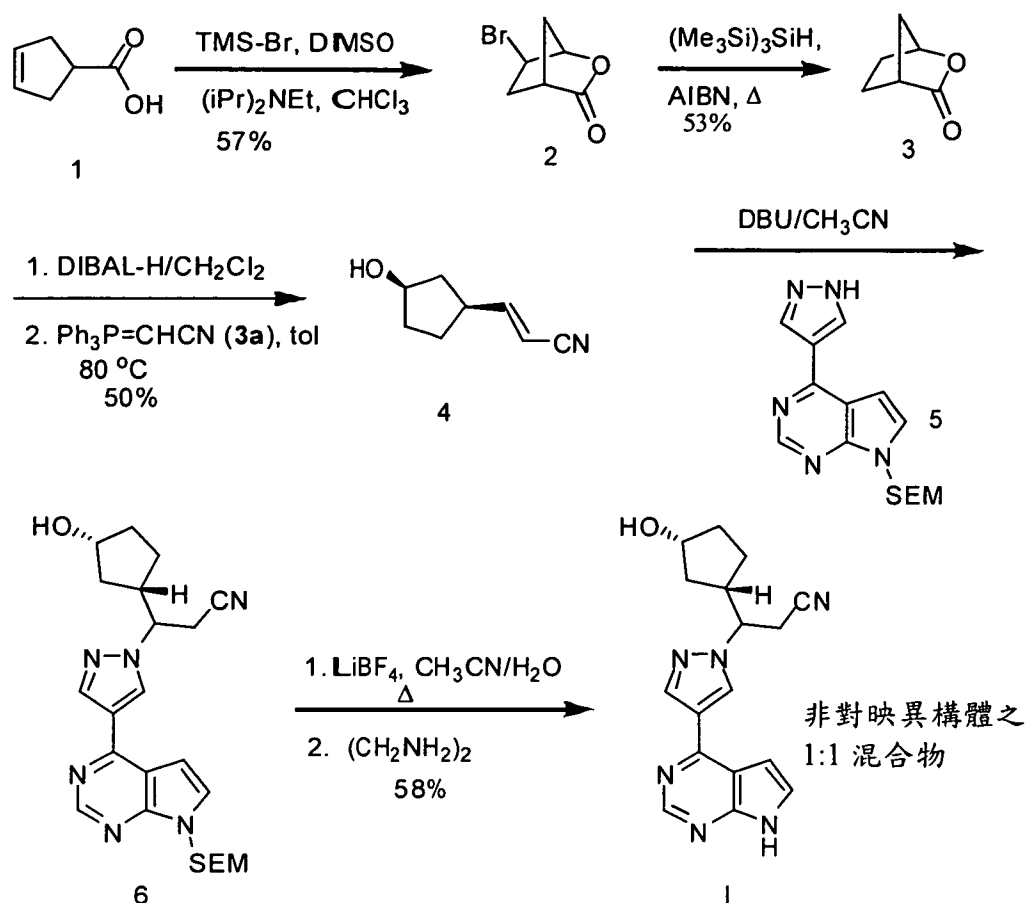
反應可根據該項技術習知之任何適宜方法進行監測。舉例而言，產物形成可藉由光譜方法(例如核磁共振譜(例如， ^1H 或 ^{13}C NMR)、紅外光譜(IR)、分光光度測定法(例如，UV-可見光)、或質譜法)或藉由層析法(例如高效液相層析法(HPLC)或薄層層析法)來監測。

本發明化合物可根據在文獻中所得知的許多製備途徑來製備。製備本發明化合物之實例合成方法提供於以下反應圖中。

如反應圖1中所示，順式醇I之非對映異構體混合物係利

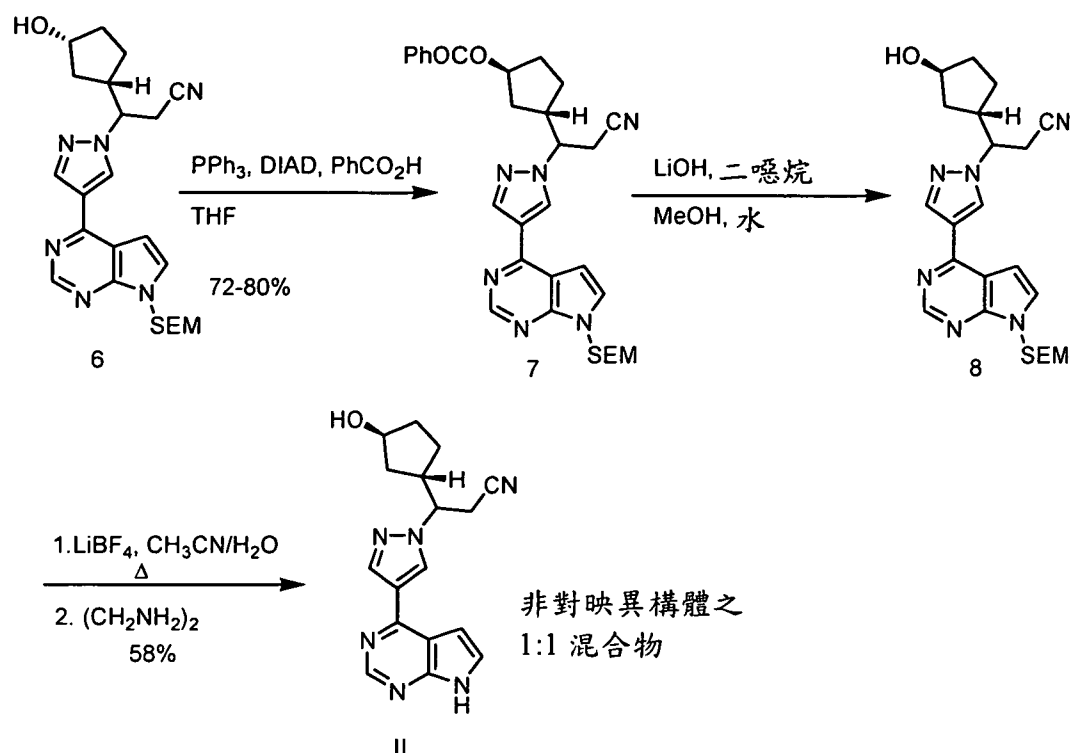
用環戊烯羧酸1開始。根據先前所闡述之程序使環戊烯羧酸1溴代內酯化(Hodgson, David M.; Witherington, Jason; Moloney, Brian A., *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1: Organic and Bio-Organic Chemistry*, 1994, 23, 3950), 獲得相應溴代內酯2。借助去鹵劑(例如 $(\text{Me}_3\text{Si})_3\text{SiH}$)使溴代內酯2脫溴, 獲得3。借助還原劑(例如 DIBAL-H)使內酯3還原成相應半酮縮醇; 將所形成之半酮縮醇直接用內鎢鹽3a處理, 獲得巴豆腈衍生物4。然後腈4與吡啶5在鹼(例如 DBU)之存在下反應, 獲得呈非對映異構體混合物形式的6, 其去除SEM基團後轉化成醇I。此混合物(I)的個別立體異構體可藉由對掌性層析分離, 以獲得對映異構體純的醇(總共4種立體異構體)。

反應圖 1



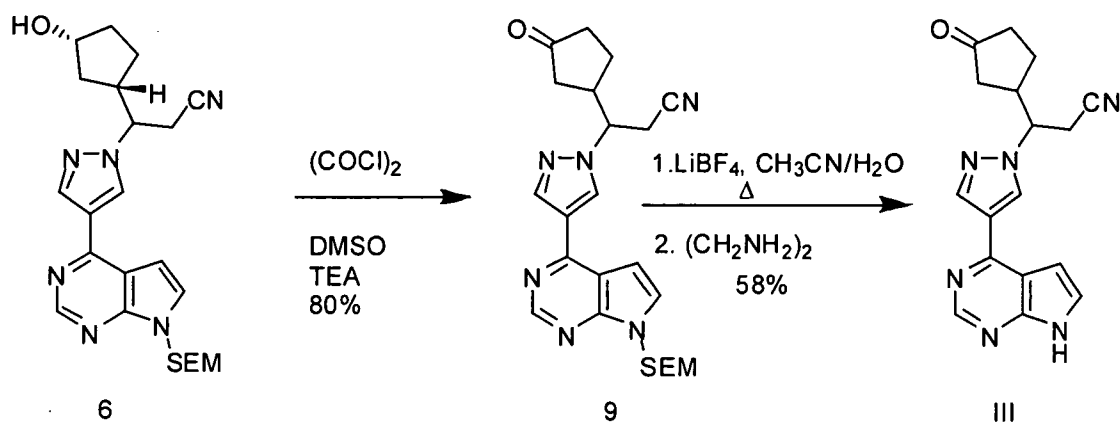
如反應圖2中所示，反式醇II之合成係以醇6之非對映異構體混合物開始。將醇6之非對映異構體混合物在 Mitsunobu 條件下用苯甲酸處理，獲得完全化轉之反式苯甲酸酯7之混合物。將反式苯甲酸酯7之混合物藉由用鹼(例如 LiOH)處理水解，獲得反式醇8之混合物。然後去除醇8內之 SEM 基團以獲得反式醇II之非對映異構體混合物，其藉由對掌性層析分離以獲得個別立體異構體(總共4個立體異構體)。

反應圖 2



酮 III 之合成闡述於反應圖 3 中。順式醇 6 之混合物可在 Swern 條件下氧化，以獲得酮 9 之相應混合物。去除酮 9 內之 SEM 基團以獲得酮 III 之混合物，其可藉由對掌性層析分離以獲得個別立體異構體 (總共 4 個立體異構體)。

反應圖 3



方法

本發明化合物可調節一或多種傑納斯激酶(JAK)之活性。術語"調節"意欲指增加或降低JAK激酶家族中一或多個成員之活性的能力。因此，本發明化合物可藉由使JAK與本文所闡述之任何一種或多種化合物或組合物接觸用於調節JAK之方法中。在一些實施例中，本發明化合物可作為一或多種JAK之抑制劑。在一些實施例中，本發明化合物可作用於刺激一或多種JAK之活性。在其他實施例中，本發明化合物可藉由投與調節量的本發明化合物用於為需要調節受體之個體中調節JAK活性。

與本發明化合物結合及/或調節之JAK包括JAK家族之任一成員。在一些實施例中，該JAK係JAK1、JAK2、JAK3或TYK2。在一些實施例中，該JAK係JAK1或JAK2。在一些實施例中，該JAK係JAK2。在一些實施例中，該JAK係JAK3。

本發明化合物可具選擇性。"選擇性"意味著該化合物結合或抑制其中一種JAK之親和力或效力分別高於對至少一種其他JAK之親和力或效力。在一些實施例中，本發明化合物係針對JAK1或JAK2之選擇性優於JAK3及/或TYK2之抑制劑。在一些實施例中，本發明化合物係JAK2之選擇性抑制劑(例如，優於JAK1、JAK3及TYK2)。不期望受限於理論，由於JAK3之抑制劑可導致免疫抑制效應，故對JAK2之選擇性優於JAK3且用於治療癌症(例如，多發性骨髓瘤)之化合物可提供具有較少免疫抑制副作用之額外優

點。選擇性可為至少約5倍、10倍、至少約20倍、至少約50倍、至少約100倍、至少約200倍、至少約500倍或至少約1000倍。選擇性可藉由該項技術中例行方法量測。在一些實施例中，選擇性可以各種酵素之Km測試。在一些實施例中，本發明化合物對於JAK2優於JAK3之選擇性可藉由細胞ATP濃度確定。

本發明另一態樣係關於治療個體(例如患者)中與JAK相關疾病或病症之方法，該等方法係向需要此治療之個體投與治療有效量或劑量的本發明化合物或其醫藥組合物來實施。JAK-相關疾病可包括直接或間接與JAK表現或活性(包括過表現及/或異常活性層面)相關之任何疾病、病症或病狀。與JAK相關之疾病亦可包括任何可藉由調節JAK活性來預防、改善或治癒之疾病、病症或病狀。

JAK-相關疾病之實例包括涉及免疫細胞之疾病，其包括(例如)器官移植排斥(例如，同種異體移植排斥及移植物對抗宿主疾病)。

JAK-相關疾病之其他實例包括自體免疫疾病，例如多發性硬化症、風濕性關節炎、青少年型關節炎、I型糖尿病、狼瘡、牛皮癬、炎症性腸病、潰瘍性結腸炎、克隆氏病(Crohn's disease)、重症肌無力、免疫球蛋白腎病、自體免疫甲狀腺病症及諸如此類。在一些實施例中，該自體免疫疾病係自體免疫大疱性皮膚病症，例如尋常天疱瘡(PV)或大疱性類天疱瘡(BP)。

JAK-相關疾病之其他實例包括過敏病狀，例如哮喘、食

物過敏、異位性皮炎及鼻炎。JAK-相關疾病之其他實例包括病毒性疾病，例如艾伯斯坦-巴爾病毒 (Epstein-Barr virus) (EBV)、B型肝炎、C型肝炎、HIV、HTLV 1、水痘-帶狀疱疹病毒 (varicella-zoster virus) (VZV) 及人乳頭瘤病毒 (HPV)。

JAK-相關疾病或病狀之其他實例包括皮膚病症，例如牛皮癬 (例如尋常型牛皮癬)、異位性皮炎、皮疹、皮膚刺激、皮膚致敏 (例如，接觸性皮炎或過敏接觸性皮炎)。舉例而言，包括一些醫藥在內的某些物質當局部施加時可導致皮膚致敏。在一些實施例中，至少一種本發明 JAK 抑制劑連同造成不期望致敏之試劑一起共同投與或相繼投與可有助於治療該等不期望致敏或皮炎。在一些實施例中，皮膚病症係藉由局部投與至少一種本發明 JAK 抑制劑來治療。

在其他實施例中，JAK-相關疾病係癌症，其包括彼等以實體瘤為特徵之癌症 (例如，前列腺癌、腎癌、肝癌、胰腺癌、胃癌、乳癌、肺癌、頭部及頸部癌症、甲狀腺癌、膠質細胞瘤、卡波西氏肉瘤 (Kaposi's sarcoma)、卡斯爾曼病 (Castleman's disease)、黑素瘤等)、血液癌症 (例如，淋巴瘤、白血病 (例如急性淋巴細胞性白血病、急性骨髓性白血病 (AML) 或多發性骨髓瘤))、及皮膚癌 (例如皮膚 T 細胞淋巴瘤 (CTCL) 及皮膚 B 細胞淋巴瘤)。實例皮膚 T 細胞淋巴瘤包括 Sezary 症候群及蕁樣真菌病。

JAK-相關疾病可進一步包括彼等以突變體 JAK2 之表達

為特徵之疾病，例如彼等在偽-激酶結構域中具有至少一個突變(例如，JAK2V617F)者。

JAK-相關疾病可進一步包括骨髓增殖性病症(MPD)，例如真性紅細胞增多症(PV)、原發性血小板增多症(ET)、伴有骨髓纖維變性的髓樣化生(MMM)、慢性骨髓性白血病(CML)、慢性骨髓單核細胞性白血病(CMML)、嗜酸細胞增多症候群(HES)、全身性肥大細胞病(SMCD)及諸如此類。

其他JAK-相關疾病包括炎症及炎症性疾病。實例炎症性疾病包括眼睛之炎症性疾病(例如，虹膜炎、葡萄膜炎、鞏膜炎、結膜炎、或有關疾病)、呼吸道之炎症性疾病(例如，包括鼻及竇在內之上呼吸道(例如鼻炎或竇炎)或下呼吸道(包括支氣管炎、慢性阻塞性肺病、及諸如此類))、炎症性肌病(例如心肌炎)及其他炎症性疾病。可藉由本發明化合物治療之其他炎症性疾病包括全身性炎症反應症候群(SIRS)及敗血性休克。

本文所述之JAK抑制劑可進一步用於治療缺血再灌注損傷或與炎症缺血事件有關之疾病或病狀(例如中風或心動停止)。本文所述之JAK抑制劑可進一步用於治療(例如)源自癌症或與其相關之厭食症、惡病質或疲乏。本文所述之JAK抑制劑可進一步用於治療再狹窄、硬化或纖維化。本文所述之JAK抑制劑可進一步用於治療與缺氧或星形膠質細胞增殖相關之病狀，例如糖尿病性視網膜病、癌症或神經變性。參見例如Dudley, A.C.等人，*Biochem. J.* 2005,

390(Pt 2):427-36及Sriram, K.等人, *J. Biol. Chem.* 2004, 279(19):19936-47. Epub 2004 Mar 2。

本文所述之JAK抑制劑可進一步用於治療痛風及由於(例如)良性前列腺肥大或良性前列腺增生症造成之前列腺尺寸增加。

本文所用術語"接觸"係指在活體外系統或活體內系統中使所示部分聚集在一起。舉例而言,使JAK與本發明化合物"接觸"包括將本發明化合物投與給具有JAK之個體或患者(例如人類)、以及(例如)將本發明化合物引入包含細胞之試樣或包含該JAK之純化製劑中。

本文所用術語"個體"或"患者"可互換使用,其係指包括哺乳動物的任何動物,較佳者係小鼠、大鼠、其他齧齒動物、家兔、狗、貓、豬、牛、羊、馬或靈長類動物,且最佳為人類。

本文所用短語"治療有效量"係指活性化合物或醫藥試劑引發研究者、獸醫、醫生或其他臨床醫師在組織、系統、動物、個體或人類中所尋求的生物或醫學響應之量。

本文所用術語"治療(treating或treatment)"係指以下一或多種情況:(1)預防疾病;例如,預防可容易感染疾病、病狀或病症但還未經受或展示該疾病之病理或症狀的個體之疾病、病狀或病症;(2)抑制疾病;例如,抑制正經受或展示疾病、病狀或病症之病理或症狀的個體之疾病、病狀或病症;及(3)改善疾病;例如,改善正經受或展示疾病、病狀或病症之病理或症狀的個體之疾病、病狀或病症(即,

逆轉該病理及/或症狀)，例如降低疾病之嚴重程度。

聯合治療

一或多種額外醫藥試劑(例如化學治療劑、消炎劑、類固醇、免疫抑制劑、以及Bcr-Abl、Flt-3、RAF及FAK激酶抑制劑，例如彼等闡述於WO 2006/056399中者或其他試劑)可與本發明化合物組合用於治療JAK-相關疾病、病症或病狀。該一或多種額外醫藥試劑可同時或相繼投與給患者。

實例化學治療劑包括蛋白酶體抑制劑(例如，硼替佐米(bortezomib))、沙立度胺(thalidomide)、來那度胺(revlimid)及DNA損傷劑(例如美法倫(melphalan)、多柔比星(doxorubicin)、環磷醯胺、長春新鹼(vincristine)、依託泊甙(etoposide)、卡莫司汀(carmustine)及諸如此類)。

實例類固醇包括皮質類固醇，例如地塞米松(dexamethasone)或潑尼松(prednisone)。

Bcr-Abl抑制劑實例包括美國專利第5,521,184號、WO 04/005281、歐洲專利第2005/009967號、歐洲專利第2005/010408號及美國專利第60/578,491號中所揭示種類之化合物及其醫藥上可接受之鹽。

適宜Flt-3抑制劑實例包括化合物、及其醫藥上可接受之鹽，如揭示於WO 03/037347、WO 03/099771及WO 04/046120中者。

適宜RAF抑制劑實例包括化合物、及其醫藥上可接受之鹽，如揭示於WO 00/09495及WO 05/028444中者。

適宜FAK抑制劑實例包括化合物、及其醫藥上可接受之鹽，如揭示於WO 04/080980、WO 04/056786、WO 03/024967、WO 01/064655、WO 00/053595及WO 01/014402中者。

在一些實施例中，一或多種本發明之代謝物可與一或多種其他激酶抑制劑(包括伊馬替尼(imatinib)、尤其用於治療對抗伊馬替尼或其他激酶抑制劑之患者)組合使用。

在一些實施例中，一或多種本發明JAK抑制劑可與化學治療劑組合使用用於治療癌症(例如多發性骨髓瘤)，且與對僅化學治療劑之反應相比可改良治療反應而不會加重其毒性效應。舉例而言，用於治療多發性骨髓瘤之額外醫藥試劑的實例可包括(但不限於)美法倫、美法倫加潑尼松[MP]、多柔比星、地塞米松、及萬珂(Velcade)(硼替佐米)。用於治療多發性骨髓瘤之其他額外試劑包括Bcr-Abl、Flt-3、RAF及FAK激酶抑制劑。累加或協同效應係將本發明JAK抑制劑與額外試劑組合之期望結果。此外，當利用本發明JAK抑制劑治療時可逆轉多發性骨髓瘤細胞對諸如地塞米松等試劑之抗性。該等試劑可與本發明化合物組合於單一或連續劑型中，或者該等試劑可作為單獨劑型同時或相繼投與。

在一些實施例中，皮質類固醇(例如地塞米松)係與至少一種JAK抑制劑組合投與給患者，其中與連續投與相反，地塞米松係以間歇方式投與。

在一些其他實施例中，一或多種本發明JAK抑制劑與其

他治療劑之組合可在骨髓移植或幹細胞移植之前、期間、及/或之後投與給患者。

醫藥調配物及劑型

當作為醫藥使用時，本發明化合物可以醫藥組合物的形式投與。該等組合物可以醫藥技術中習知之方式製備，且可視期望局部還是全身治療並視欲治療之區域而由各種途徑投與。可局部(包括經皮、經表皮、眼及黏膜，包括鼻內、陰道內及直腸遞送)、肺部(例如，藉由粉末或氣溶膠之吸入或吹入，包括藉由霧化器；氣管內或鼻內)、經口或非經腸投與。非經腸投與包括靜脈內、動脈內、皮下、腹膜內或肌內注射或輸注；或顱內(例如，鞘內或心室內)投與。非經腸投與可呈單次推注劑量形式，或可藉由(例如)連續灌注幫浦實施。局部投與之醫藥組合物及調配物可包括經皮貼片、軟膏、洗劑、乳霜、凝膠、滴劑、栓劑、噴霧、液體及粉末。可能需要或期望常用醫藥載劑、水、粉末或油性底物、增稠劑及諸如此類。經塗佈安全套、手套及諸如此類亦有用。

本發明亦包括醫藥組合物，其含有一或多種上述本發明化合物作為活性成份與一或多種醫藥上可接受之載劑(賦形劑)之組合。在製備本發明組合物時，通常將該活性成份與賦形劑混合、藉由賦形劑稀釋或將其密封於呈(例如)膠囊、藥囊、紙或其他容器形式之載劑中。當該賦形劑用做稀釋劑時，其可為固體、半固體或液體材料，其對活性成份起媒劑、載劑或媒介的作用。因此，該等組合物可呈

錠劑、藥丸、粉末、菱形錠劑、藥囊、扁囊劑、醃劑、懸浮液、乳液、溶液、糖漿、氣溶膠(作為固體或於液體媒介中)、軟膏(包含例如多達10重量%活性化合物)、軟及硬明膠膠囊、栓劑、無菌可注射溶液及無菌包裝的粉末之形式。

製備調配物時，與其他成份組合之前可將活性化合物研磨成適宜粒徑。若該活性化合物實質上不溶，則可將其研磨至粒徑小於200網目。若該活性化合物實質溶於水，則可藉由研磨調節粒徑以提供在調配物中之實質均勻分佈，例如約40網目。

本發明化合物可使用已知研磨程序(例如濕研磨)研磨以獲得適用於錠劑形成及用於其他調配物類型之粒徑。本發明化合物之精細(奈米粒子)製劑可藉由該項技術中習知之製程製備，例如參見國際專利申請案第WO 2002/000196號。

適宜賦形劑之一些實例包括乳糖、葡萄糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露醇、澱粉、阿拉伯膠、磷酸鈣、藻酸鹽、磺基水楊酸、明膠、矽酸鈣、微晶纖維素、聚乙烯吡咯啉酮、纖維素、水、糖漿及甲基纖維素。該等調配物可另外包括：潤滑劑，例如滑石粉、硬脂酸鎂及礦物油；潤濕劑；乳化及懸浮劑；防腐劑，例如苯甲酸甲酯及羥基苯甲酸丙酯；甜味劑；及矯味劑。本發明之組合物可藉由採用該項技術中習知之程序調配以便在投與給患者後能提供活性成份之快速、持久或延遲釋放。

該等組合物可調配成單位劑型，每一劑量含約5至約1000毫克(1克)、更通常約100至約500毫克的活性成份。術語"單位劑型"指適宜作為單一劑量用於人類受試者或其他哺乳動物的物理離散單位，每一單位包含經計算以產生期望治療效果之預定量活性材料以及適宜醫藥賦形劑。

該活性化合物可在寬劑量範圍內有效且通常以醫藥上有效量投與。然而，應瞭解，實際所投與化合物之量應由醫生根據相關情況來確定，其包括欲治療之病狀、所選投與途徑、實際投與的化合物、個體患者的年齡、體重及反應、患者症狀之嚴重程度及諸如此類。

為製備諸如錠劑等固體組合物，可將主要活性成份與醫藥賦形劑混合以形成包含本發明化合物之均勻混合物的固體預調配組合物。當稱該等預調配組合物均勻時，活性成份通常均勻地分散於整個組合物，以便該組合物可容易地細分成等效單位劑型，例如，錠劑、藥丸及膠囊。然後，將此固體預調配物細分成上述類型的單位劑型，其包含(例如)約0.1至約1000毫克的本發明活性成份。

本發明之錠劑或藥丸可經包覆或經配製以提供具有持久作用優點之劑型。舉例而言，該錠劑或藥丸可包含內部劑量組份及外部劑量組份，後者為前者上之包膜形式。該兩種組份可藉由腸溶性層分開，該腸溶性層用以抵抗胃內的崩解，從而允許內部組份完整地進入十二指腸或延遲釋放。該等腸溶性層或包衣可使用多種材料，該等材料包括許多聚合酸及聚合酸與蟲膠、十六烷醇及乙酸纖維素等材

料之混合物。

可納入本發明化合物及組合物用於經口或注射投與之液體形式包括水溶液、經適當矯味之糖漿、水性或油性懸浮液及具有可食用油(例如棉籽油、芝麻油、椰子油或花生油)以及酞劑及類似醫藥媒劑之經矯味乳液。

供吸入或吹入用之組合物包括存於醫藥上可接受、水性或有機溶劑中之溶液及懸浮液、或其混合物及粉末。該等液體或固體組合物可包含上文所述醫藥上可接受之適當賦形劑。在一些實施例中，該等組合物係藉由口或鼻呼吸途徑投與以獲得局部或全身效果。組合物可藉由使用惰性氣體霧化。經霧化之溶液可直接自霧化裝置直接吸入或可將該霧化裝置附裝至面罩帷罩或間歇式正壓呼吸機。溶液、懸浮液或粉末組合物可自以恰當方式遞送調配物之裝置經口或經鼻投與。

投與給患者之化合物或組合物之量將隨所投與藥物、投與目的(例如預防或治療)、患者狀況、投與方式等而變。在治療應用中，組合物可以足以治癒或至少部分地阻止疾病及其併發症症狀之量投與給已患該疾病之患者。有效劑量將取決於正治療之疾病狀況以及由臨床主治醫師依照(例如)疾病的嚴重程度、患者的年齡、體重及綜合情況等作出的判斷。

投與給患者之組合物可為上述醫藥組合物形式。該等組合物可藉由常規滅菌技術滅菌或可過濾滅菌。水溶液可經包裝按原樣使用或凍乾，投與前再將此凍乾製劑與無菌水

性載劑組合。複合製劑之pH通常介於3與11之間，更佳為5至9且最佳為7至8。應瞭解，應使用某些上述賦形劑、載劑或穩定劑以形成醫藥鹽。

本發明化合物之治療劑量可視(例如)所進行治療的特定用途、化合物之投與方式、患者之健康狀況及狀態及處方醫師的判斷而不同。本發明化合物在醫藥組合物中之比例及濃度可視各種因素而變，其包括劑量、化學特性(例如，疏水性)、及投與途徑。舉例而言，本發明化合物可以包含約0.1至約10% w/v化合物之水性生理緩衝溶液形式提供用於非經腸投與。一些典型劑量範圍係自約1微克/公斤至約1克/公斤體重/天。在一些實施例中，劑量範圍係自約0.01毫克/公斤至約100毫克/公斤體重/天。劑量可視以下變量而變：疾病或病症之類型或進展程度、特定患者之整體健康狀況、所選化合物之相對生物效能、賦形劑之調配物、及其投與途徑。有效劑量可根據得自活體外或動物模型測試系統之劑量反應曲線推知。

本發明組合物可進一步包括一或多種額外醫藥試劑，例如化學治療劑、類固醇、消炎化合物或免疫抑制劑，其實例列示於上文中。

經標記之化合物及分析方法

本發明之另一態樣係關於經標記之本發明化合物(放射性標記、螢光標記等)，其不僅可用於顯影技術，亦可用於活體外及活體內分析來定位及定量組織試樣(包括人類)中之JAK，且藉由抑制經標記化合物之結合來識別JAK配

體。因此，本發明包括包含該等經標記化合物之JAK分析。

本發明進一步包括經同位素標記之本發明化合物。"同位素標記"或"放射性標記"化合物係其中一或多個原子經原子質量或質量數不同於通常在自然界中所發現(即，天然存在)之原子質量或質量數之原子代替或取代之本發明化合物。可納入本發明化合物之適宜放射同位素包括(但不限於) ^2H (亦寫作D之氘)、 ^3H (亦寫作T之氚)、 ^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{13}N 、 ^{15}N 、 ^{15}O 、 ^{17}O 、 ^{18}O 、 ^{18}F 、 ^{35}S 、 ^{36}Cl 、 ^{82}Br 、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 、 ^{77}Br 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 及 ^{131}I 。納入本發明經放射性標記化合物中的放射性同位素將取決於經放射性標記化合物的具體應用。舉例而言，用於活體外金屬蛋白酶標記及競爭分析時，通常最有用者係納入 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{82}Br 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S 之化合物。用於輻射顯影應用時， ^{11}C 、 ^{18}F 、 ^{125}I 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{131}I 、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 或 ^{77}Br 通常最有用。

應瞭解，"放射性標記"或"標記化合物"係納入至少一種放射性同位素之化合物。在一些實施例中，該放射性同位素係選自由 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{125}I 、 ^{35}S 及 ^{82}Br 組成之群。

本發明可進一步包括用於將放射性同位素納入本發明化合物之合成方法。用於將放射性同位素納入有機化合物之合成方法已為該項技術習知，且熟悉該項技術者應易於識別適用於本發明化合物之方法。

可在篩選分析中使用經標記的本發明化合物來鑑別/分析化合物。舉例而言，當經標記之新合成或識別化合物

(即，測試化合物)與JAK接觸時，可藉由監測其濃度變化、藉助追蹤該標記來分析其結合JAK之能力。例如，可分析測試化合物(經標記)減少另一習知結合至JAK之化合物(即，標準化合物)之能力。因此，測試化合物與標準化合物競爭結合至JAK之能力與其結合親和力直接相關。反之，在一些其他篩選分析中，標記標準化合物而不標記測試化合物。因此，監測經標記標準化合物之濃度以分析標準化合物與測試化合物間之競爭，並由此確定測試化合物之相對結合親和力。

套組

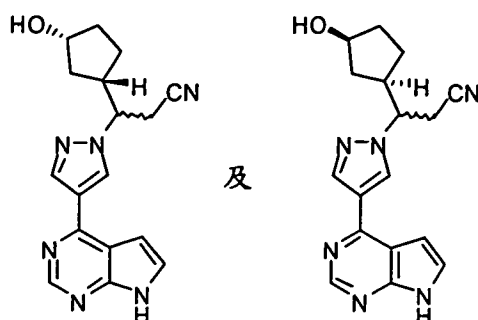
本發明亦包括用於(例如)治療或預防與JAK相關之疾病或病症(例如癌症)之醫藥套組，其包括一或多個包含含有治療有效量的本發明化合物之醫藥組合物的容器。若期望，該等套組可進一步包括一或多種各種常用醫藥套組組件，例如，具有一或多種醫藥上可接受載劑之容器、額外容器等，如彼等熟悉該項技術者顯而易見。該套組中亦可包括作為插入件或標籤指示欲投與組份之數量、投與原則及/或混合該等組份之原則的說明書。

將根據特定實例更詳細闡述本發明。出於闡述目的提供以下實例，且並非意欲以任何方式限制本發明。彼等熟悉該項技術者應容易地認識到，可改變或修改各個非限制性參數來獲得基本上相同結果。

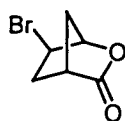
實例

實例 1：

3-[(1S,3R)-3-羥基環戊基]-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙烷腈及3-[(1R,3S)-3-羥基環戊基]-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙烷腈



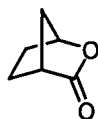
步驟1. 6-溴-2-氧雜雙環[2.2.1]庚-3-酮



於0℃下將溴三甲基矽烷(3.1毫升，0.023莫耳)逐滴添加於圓底燒瓶中二甲亞碲(1.6毫升，0.023莫耳)於氯仿(38.0毫升)中之溶液中。將反應混合物於0℃下攪拌2小時。於15分鐘時期內向反應混合物中逐滴添加環戊-3-烯-1-甲酸(2.00克，0.0178莫耳)於氯仿(12毫升)中之溶液並將反應混合物於0℃下攪拌10分鐘。然後添加N,N-二異丙基乙胺(4.0毫升，0.023莫耳)並將所得混合物於0℃下攪拌。10分鐘後，將混合物加熱回流16小時。將反應混合物用氯仿稀釋，用水、鹽水洗滌，乾燥(MgSO₄)，並在真空中汽提。藉由在二氧化矽凝膠上層析使用30% EtOAc/己烷作為溶析液純化殘餘物，獲得產物。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃): δ 4.88 (brs, 1H), 4.34 (m, 1H), 2.90 (m, 1H), 2.66 (m, 1H),

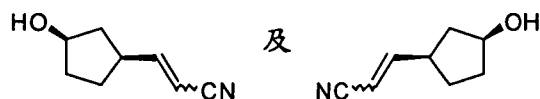
2.31 (m, 1H), 1.93 (m, 1H), 1.83 (m, 1H)。

步驟2. 2-氧雜雙環[2.2.1]庚-3-酮



將叁(三甲基甲矽烷基)矽烷(4.7毫升，15毫莫耳)逐滴添加於圓底燒瓶中6-溴-2-氧雜雙環[2.2.1]庚-3-酮 (1.96克，10.3毫莫耳)及2,2'-偶氮-雙-異丁腈(0.2克，1毫莫耳)於甲苯 (100毫升)中之溶液中並將所得混合物於80℃下攪拌5小時。藉由旋轉蒸發將反應混合物濃縮並將殘餘物用乙酸乙酯稀釋、用飽和NH₄Cl洗滌，乾燥(MgSO₄)，並在真空中汽提。藉由在二氧化矽凝膠上層析使用100%己烷、漸變至25% EtOAc/己烷、然後33% EtOAc/己烷作為溶析液純化殘餘物，獲得產物。¹H NMR(300 MHz, CDCl₃): δ 4.93 (m, 1H), 2.91 (m, 1H), 2.19 (m, 1H), 1.60-1.99 (m, 5H)。

步驟3. (2E)-及(2Z)-3-[(1S,3R)-3-羥基環戊基]丙烯腈及(2E)-及(2Z)-3-[(1R,3S)-3-羥基環戊基]丙烯腈

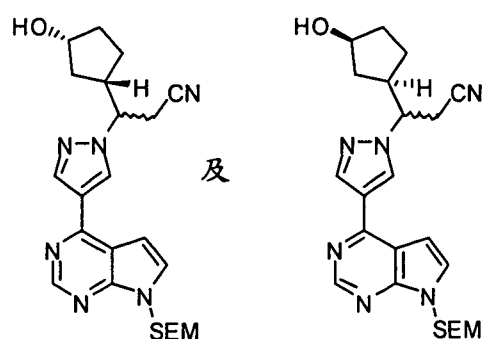


於-78℃下將1.00 M於甲苯中之二異丁基氫化鋁(8.0毫升)逐滴添加於圓底燒瓶中2-氧雜雙環[2.2.1]庚-3-酮 (600毫克，5毫莫耳)於二氯甲烷 (20毫升)中之溶液中。將所得混合物於-78℃下攪拌45分鐘。將反應混合物用飽和羅謝爾(Rochelle)鹽溶液處理。攪拌15分鐘後，將反應混合物

用乙酸乙酯萃取並將合併的有機萃取物用水、飽和 NaCl 洗滌，乾燥 (MgSO₄)，並在真空中汽提。粗產物未經進一步純化即用於下一反應。

將粗製 2-氧雜雙環 [2.2.1] 庚-3-醇 (400 毫克，4 毫莫耳) 及 (三苯基亞正膦基) 乙腈 (1.2 克，3.8 毫莫耳) 於甲苯 (12 毫升) 中之溶液在圓底燒瓶中於 80°C 下加熱 2 小時。然後藉由在二氧化矽凝膠上層析使用 40% EtOAc/己烷純化反應混合物，獲得外消旋產物。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 6.78 (dd, 1H), 5.30 (d, 1H), 5.20 (m, 1H), 2.67 (m, 1H), 2.20 (m, 1H), 1.40-1.90 (m, 6H)。

步驟 4. 3-[(1*S*,3*R*)-3-羥基環戊基]-3-[4-(7-[2-(三甲基甲矽烷基)乙氧基]甲基-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶-4-基)-1*H*-吡唑-1-基]丙烷腈及 3-[(1*R*,3*S*)-3-羥基環戊基]-3-[4-(7-[2-(三甲基甲矽烷基)乙氧基]甲基-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶-4-基)-1*H*-吡唑-1-基]丙烷腈



將 1,8-二氮雜雙環 [5.4.0] 十一碳-7-烯 (0.54 毫升，3.6 毫莫耳) 添加於圓底燒瓶中 (2*E*)-及 (2*Z*)-3-[(1*S*,3*R*)-3-羥基環戊基]丙腈及 (2*E*)-及 (2*Z*)-3-[(1*R*,3*S*)-3-羥基環戊基]丙腈 (0.250 克，1.82 毫莫耳) 及 4-(1*H*-吡唑-4-基)-7-[2-(三

基 甲 矽 烷 基) 乙 氧 基] 甲 基 -7H-吡 咯 并 [2,3-d] 嘧 啶 (0.57 克 , 1.8 毫 莫 耳) 之 混 合 物 於 乙 腈 (5 毫 升) 中 之 溶 液 中 。 將 所 得 混 合 物 於 25℃ 下 攪 拌 2 天 , 此 時 LCMS 分 析 展 示 已 消 耗 約 80% 的 起 始 材 料 。 藉 由 在 二 氧 化 矽 凝 膠 上 層 析 使 用 1:1 EtOAc/ 己 烷 純 化 反 應 混 合 物 , 獲 得 產 物 。 ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃): δ 8.90 (d, 1H), 8.39 (m, 2H), 7.46 (m, 1H), 6.86 (m, 1H), 5.73 (s, 2H), 4.52 (m, 2H), 3.59 (m, 2H), 3.2 (m, 1H), 3.02 (m, 1H), 2.78 (m, 1H), 2.3 (m, 1H), 1.30-1.90 (m, 6H), 0.99 (m, 2H), 0.08 (s, 9H) 。 LC/MS: 453 (M+H)⁺ 。

步 驟 5. 3-[(1S,3R)-3-羥 基 環 戊 基]-3-[4-(7H-吡 咯 并 [2,3-d] 嘧 啶 -4-基)-1H-吡 啶 -1-基] 丙 烷 腈 及 3-[(1R,3S)-3-羥 基 環 戊 基]-3-[4-(7H-吡 咯 并 [2,3-d] 嘧 啶 -4-基)-1H-吡 啶 -1-基] 丙 烷 腈

將 四 氟 硼 酸 鋰 (0.176 克 , 1.88 毫 莫 耳) 添 加 於 小 瓶 中 之 3-[(1S,3R)-3-羥 基 環 戊 基]-3-[4-(7-[2-(三 甲 基 甲 矽 烷 基) 乙 氧 基] 甲 基 -7H-吡 咯 并 [2,3-d] 嘧 啶 -4-基)-1H-吡 啶 -1-基] 丙 烷 腈 及 3-[(1R,3S)-3-羥 基 環 戊 基]-3-[4-(7-[2-(三 甲 基 甲 矽 烷 基) 乙 氧 基] 甲 基 -7H-吡 咯 并 [2,3-d] 嘧 啶 -4-基)-1H-吡 啶 -1-基] 丙 烷 腈 (85.0 毫 克 , 0.188 毫 莫 耳) 於 乙 腈 (1.5 毫 升) 及 水 (0.135 毫 升) 中 之 溶 液 中 。 將 所 得 混 合 物 於 85℃ 下 加 熱 26 小 時 。 將 反 應 混 合 物 冷 卻 至 25℃ 後 , 添 加 乙 二 胺 (63 微 升 , 0.94 毫 莫 耳) 並 將 所 得 混 合 物 於 25℃ 下 攪 拌 3 小 時 。 藉 由 製 備 型 LC 純 化 反 應 混 合 物 , 獲 得 呈 三 氟 乙 酸 鹽 形 式 的 產 物 。 將 其 溶 於 甲 醇 中 並 添 加 Amberlyst 26 。 將 所 得 混 合 物 攪 拌

10分鐘，過濾並濃縮。藉由對掌性層析純化殘餘物，獲得4個主峰及4個次峰。(管柱：ChiralPak IA, 4.6×250 mm, 5微米顆粒。流動相：30%於己烷中之乙醇。流速：0.8毫升/分鐘-分析型；管柱：ChiralPak IA, 20×250 mm, 5微米顆粒。流動相：30%於己烷中之乙醇。流速：12毫升/分鐘-製備型)。

主峰歸為三氟乙酸酯，其極易流動且於甲醇中靜置時黏附至相應醇。

主峰1 [停留時間：18.56分鐘]: ^1H NMR(400 MHz, CD_3OD): δ 8.66 (brs, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.38 (s, 1H), 7.51 (m, 1H), 6.97 (m, 1H), 4.57 (m, 1H), 4.20 (m, 1H), 3.16 (m, 2H), 2.65 (m, 1H), 1.64-2.00 (m, 5H), 1.28 (m, 1H)。
LC/MS: 323 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 。

主峰2 [停留時間：25.88分鐘]: ^1H NMR(400 MHz, CD_3OD): δ 8.66 (brs, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.38 (s, 1H), 7.50 (m, 1H), 6.96 (m, 1H), 4.60 (m, 1H), 4.30 (m, 1H), 3.18 (m, 2H), 2.61 (m, 1H), 2.23 (m, 1H), 1.40-1.80 (m, 5H)。
LC/MS: 323 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 。

主峰3 [停留時間：39.84分鐘]: ^1H NMR(400 MHz, CD_3OD): δ 8.66 (brs, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.38 (s, 1H), 7.50 (m, 1H), 6.96 (m, 1H), 4.60 (m, 1H), 4.30 (m, 1H), 3.18 (m, 2H), 2.61 (m, 1H), 2.23 (m, 1H), 1.40-1.80 (m, 5H)。
LC/MS: 323 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 。

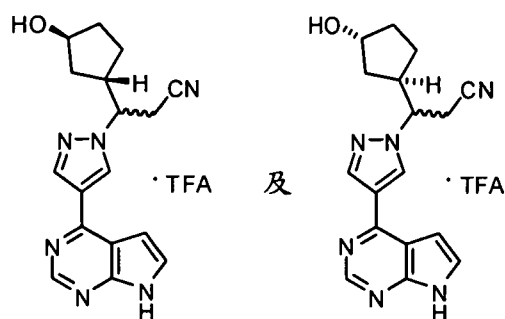
主峰4 [停留時間：51.48分鐘]: ^1H NMR(400 MHz,

CD₃OD): δ 8.66 (brs, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.38 (s, 1H), 7.51 (m, 1H), 6.97 (m, 1H), 4.57 (m, 1H), 4.20 (m, 1H), 3.16 (m, 2H), 2.65 (m, 1H), 1.64-2.00 (m, 5H), 1.28 (m, 1H)。

LC/MS: 323 (M+H)⁺。

實例 2：

3-[(1S,3S)-3-羥基環戊基]-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙烷腈三氟乙酸鹽及3-[(1R,3R)-3-羥基環戊基]-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙烷腈三氟乙酸鹽



步驟 1: 苯甲酸(1S,3S)-3-{2-羥基-1-[4-(7-[2-(三甲基甲矽烷基)乙氧基]甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]乙基}環戊基酯及苯甲酸(1R,3R)-3-{2-羥基-1-[4-(7-[2-(三甲基甲矽烷基)乙氧基]甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]乙基}環戊基酯

於 0℃ 下將偶氮二甲酸二異丙酯(0.38 毫升, 1.9 毫莫耳)添加於圓底燒瓶中 3-[(1S,3R)-3-羥基環戊基]-3-[4-(7-[2-(三甲基甲矽烷基)乙氧基]甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙烷腈及 3-[(1R,3S)-3-羥基環戊基]-3-

[4-(7-[2-(三甲基甲矽烷基)乙氧基]甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙烷腈(0.51克, 1.9毫莫耳)於四氫呋喃(5.3毫升)中之溶液中。將所得混合物攪拌10分鐘並添加苯甲酸(0.24克, 1.9毫莫耳)。將反應混合物於0℃下攪拌2小時, 此時TLC分析展示無起始材料。將反應混合物用乙酸乙酯稀釋, 用飽和NaHCO₃、水、飽和NaCl洗滌, 乾燥(MgSO₄), 並在真空中汽提。將殘餘物在二氧化矽凝膠上使用20% EtOAc/己烷層析, 獲得產物。¹H NMR(300 MHz, CDCl₃): δ 8.91 (d, 1H), 8.39 (m, 2H), 8.08 (m, 2H), 7.75 (m, 1H), 7.61 (m, 1H), 7.48 (m, 2H), 7.46 (m, 1H), 6.87 (m, 1H), 5.74 (s, 2H), 5.40-5.50 (m, 1H), 4.40 (m, 1H), 3.60 (m, 2H), 3.25 (m, 1H), 3.07 (m, 1H), 2.27 (m, 2H), 1.30-1.90 (m, 6H), 0.99 (m, 2H), 0.08 (s, 9H)。LC/MS: 557 (M+H)⁺。

步驟2: 3-[(1S,3S)-3-羥基環戊基]-3-[4-(7-[2-(三甲基甲矽烷基)乙氧基]甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙烷腈及3-[(1R,3R)-3-羥基環戊基]-3-[4-(7-[2-(三甲基甲矽烷基)乙氧基]甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙烷腈

將氫氧化鋰(22.7毫克, 0.000948莫耳)添加於圓底燒瓶中苯甲酸(1S,3S)-3-{2-氰基-1-[4-(7-[2-(三甲基甲矽烷基)乙氧基]甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]乙基}環戊基酯及苯甲酸(1R,3R)-3-{2-氰基-1-[4-(7-[2-(三甲基甲矽烷基)乙氧基]甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-

1H-吡唑-1-基]乙基}環戊基酯(440毫克, 0.00079莫耳)溶於1,4-二噁烷(10.0毫升, 0.128莫耳)、甲醇(4.0毫升, 0.099莫耳)及水(4.0毫升, 0.22莫耳)之混合物中之溶液中。將所得混合物攪拌20小時, 此時LCMS分析展示無起始材料。將反應混合物用乙酸乙酯萃取並將有機萃取物用飽和NaHCO₃、水、飽和NaCl洗滌, 乾燥(MgSO₄), 並在真空中汽提。殘餘物未經進一步純化即用於下一反應。LC/MS: 453 (M+H)⁺。

步驟3: 3-[(1S,3S)-3-羥基環戊基]-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙烷脒三氟乙酸鹽及3-[(1R,3R)-3-羥基環戊基]-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙烷脒三氟乙酸鹽

在實例1步驟5中所闡述相同條件下使3-[(1S,3S)-3-羥基環戊基]-3-[4-(7-[2-(三甲基甲矽烷基)乙氧基]甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙烷脒及3-[(1R,3R)-3-羥基環戊基]-3-[4-(7-[2-(三甲基甲矽烷基)乙氧基]甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙烷脒之混合物去保護。使用對掌性LC分離混合物並進一步藉由LC純化, 獲得呈三氟乙酸鹽形式之同分異構體。管柱: ChiralPak IA, 4.6×250 mm, 5微米顆粒。流動相: 30%於己烷中之乙醇。流速: 0.8毫升/分鐘-分析型; 管柱: ChiralPak IA, 20×250 mm, 5微米顆粒。流動相: 30%於己烷中之乙醇。流速: 12毫升/分鐘-製備型)。

Pk1[停留時間: 16.98分鐘]: ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ

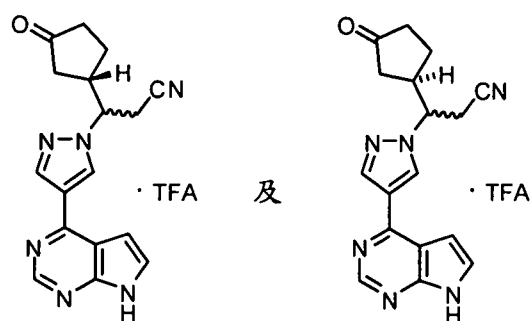
8.11 (brs, 1H), 8.07 (brs, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.03 (d, 1H), 6.46 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.43 (m, 1H), 2.20 (m, 2H), 2.08 (m, 1H), 1.29 (m, 1H), 1.20 (m, 1H), 0.60-0.90 (m, 4H) 。 LC/MS: 323 (M+H)⁺ 。

Pk2[停留時間：18.68分鐘]: ¹H (500 MHz, CD₃OD): δ 8.91 (s, 1H), 8.087 (s, 1H), 8.51 (s, 1H), 7.84 (d, 1H), 7.28 (m, 1H), 4.60 (m, 1H), 4.34 (m, 1H), 3.20 (m, 2H), 2.91 (m, 1H), 1.92 (m, 2H), 1.60 (m, 3H), 1.35 (m, 1H) 。 LC/MS: 323 (M+H)⁺ 。

Pk3及Pk4一起溶析出(23.13分鐘)。

實例3：

3-[(1S)-3-氧代環戊基]-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙烷腈三氟乙酸鹽及3-[(1R)-3-氧代環戊基]-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙烷腈三氟乙酸鹽



步驟1: 3-[(1S)-3-氧代環戊基]-3-[4-(7-[2-(三甲基甲矽烷基)乙氧基]甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙烷腈及3-[(1R)-3-氧代環戊基]-3-[4-(7-[2-(三甲基甲矽烷基)乙氧基]甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙烷腈

矽烷基)乙氧基]甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙烷脒

於-78℃下在圓底燒瓶中將二甲亞碲 (0.340毫升, 4.79毫莫耳)添加於草醯氯(0.20毫升, 2.4毫莫耳)於二氯甲烷(25毫升)中之溶液中。將所得混合物於-78℃下攪拌15分鐘並逐滴添加3-[(1S,3R)-3-羥基環戊基]-3-[4-(7-[2-(三甲基甲矽烷基)乙氧基]甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙烷脒及3-[(1R,3S)-3-羥基環戊基]-3-[4-(7-[2-(三甲基甲矽烷基)乙氧基]甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙烷脒 (0.84克, 1.8毫莫耳)於二氯甲烷(17毫升)中之溶液。將所得混合物於-78℃下攪拌60分鐘並添加三乙胺 (0.722毫升, 5.18毫莫耳)。於-78℃下攪拌60分鐘後, 將反應混合物加熱至0℃並攪拌1小時。將反應混合物用乙酸乙酯稀釋, 用水、飽和NaCl洗滌, 乾燥(MgSO₄), 並在真空中汽提。藉由在二氧化矽凝膠上層析使用40% EtOAc/己烷純化殘餘物, 獲得產物。¹H NMR(300 MHz, CDCl₃): δ 8.91 (m, 1H), 8.40 (d, 1H), 8.38 (s, 1H), 7.47 (m, 1H), 6.85 (t, 1H), 5.74 (s, 2H), 4.51 (m, 1H), 3.60 (t, 2H), 3.00-3.30 (m, 3H), 1.50-2.70 (m, 6H), 0.98 (t, 2H), 0.00 (s, 9H)。LC/MS: 451 (M+H)⁺。

步驟2: 3-[(1S)-3-氧代環戊基]-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙烷脒三氟乙酸鹽及3-[(1R)-3-氧代環戊基]-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙烷脒三氟乙酸鹽

在類似於實例1步驟5之條件下使3-[(1S)-3-氧代環戊基]-3-[4-(7-[2-(三甲基甲矽烷基)乙氧基]甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙烷腈及3-[(1R)-3-氧代環戊基]-3-[4-(7-[2-(三甲基甲矽烷基)乙氧基]甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙烷腈之混合物去保護，獲得兩種非對映異構酮，將其藉由對掌性層析分離並藉由LC純化，獲得呈三氟乙酸鹽形式之非對映異構體及對映異構體。管柱：ChiralPak IA, 4.6×250 mm, 5微米顆粒。流動相：30%於己烷中之乙醇。流速：0.8毫升/分鐘-分析型；管柱：ChiralPak IA, 20×250 mm, 5微米顆粒。流動相：30%於己烷中之乙醇。流速：12毫升/分鐘-製備型)。

Pk1[停留時間：11.82分鐘]。

Pk2[停留時間：13.94分鐘]: ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 1.07 (brs, 1H), 8.79 (brs, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 7.32 (d, 1H), 6.71 (m, 1H), 4.40 (m, 1H), 3.12 (m, 1H), 2.97 (m, 2H), 2.00-2.32 (m, 5H), 1.61 (m, 1H)。LC/MS: 321 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 。

Pk3 [停留時間：17.61分鐘]: ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 10.70 (brs, 1H), 8.83 (brs, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 7.35 (d, 1H), 6.73 (m, 1H), 4.37 (m, 1H), 3.10 (m, 1H), 2.90 (m, 2H), 2.51 (m, 1H), 2.27 (m, 1H), 2.15 (m, 1H), 1.91 (m, 1H), 1.84 (m, 1H), 1.60 (m, 1H)。LC/MS: 321 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 。

Pk4 [停留時間：20.31分鐘]。

實例 A

表 2

化合物	JAK 1 IC50 (nM)	JAK 2 IC50 (nM)	JAK 3 IC50 (nM)	未結合分數 (%人類血清)	人類固有 CL (L/h/kg)
化合物1	<10	<10	<10	<5	0.68
代謝物1	2.5-12	0.7-2.5	8.3-45	26-35	<0.50
代謝物2	3-15	2-2.8	17-30	5-27	<0.50
代謝物3	2.7-12	2.1-5.9	11-41	14-56	<0.57

代謝物 1、2 及 3 係投與化合物 1 之後自大鼠或狗尿中分離出用於藥物代謝動力學及毒代動力學研究。將代謝物 1、2 及 3 之活性數據以及游離分數及固有清除率數據與母體化合物(即，化合物 1)相比較。以下闡述 JAK 活性分析、游離分數分析、及固有清除率分析。自代謝物 1、2 及 3 之一些個別立體異構體獲得數據點，且以上所提供數值範圍反映自所測試的所有立體異構體獲得之最高及最低值。如在表 1 中可看出，該等代謝物如化合物 1 一樣係 JAK1、JAK2 及 JAK3 之潛在抑制劑。然而，所獲得之該等代謝物游離分數意想不到地高於化合物 1 且固有清除率合意地低於化合物 1。

活體外 JAK 激酶分析

根據 Park 等人於 *Analytical Biochemistry* 1999, 269, 94-104 中所述之以下活體外分析測試本文化合物抑制 JAK 靶之活性。將人類 JAK1 (a.a. 837-1142)、Jak2 (a.a. 828-

1132)及Jak3 (a.a. 781-1124)具有N-末端His標籤之催化結構域使用桿狀病毒表現於昆蟲細胞中並純化。藉由量測生物素化肽之磷酸化分析JAK1、JAK2或JAK3之催化活性。藉由均相時間分辨螢光(homogenous time resolved fluorescence) (HTRF)檢測生物素化肽。針對反應中之各種激酶量測化合物之 IC_{50} ，該等反應包含酵素、ATP及存於50 mM Tris (pH 7.8)緩衝液中之500 nM肽以及100 mM NaCl、5 mM DTT、及0.1毫克/毫升(0.01%) BSA。該等反應中之ATP濃度對於Jak1而言為90 μ M，對於Jak2為30 μ M且對於Jak3為3 μ M。將反應於室溫下實施1小時且然後利用於分析緩衝液(Perkin Elmer, Boston, MA)中之20微升45 mM EDTA、300 nM SA-APC、6 nM Eu-Py20停止。至鎔標記抗體之結合實施40分鐘並在Fusion板讀數器(Perkin Elmer, Boston, MA)上量測HTRF信號。認為對於任何上述JAK靶 IC_{50} 為10 μ M或以下之化合物具有活性。

游離分數分析

藉由平衡滲析使用來自Harvard Apparatus (Holliston, MA)之Dianorm系統確定測試化合物之蛋白質結合。於37 °C下在人類血清中滲析2小時。將代謝物以3 μ M培養，且化合物1以3及10 μ M培養。藉由LC/MS/MS分析確定滲析後血清及緩衝液中之化合物濃度。游離分數定義為緩衝液對血清濃度之比率。

固有清除率分析

藉由將1 μ M測試化合物於人類混合性別的肝微粒體(0.5

毫克/毫升蛋白質)中於37°C下在1 mM NADPH之存在下培養確定固有清除率。藉由LC/MS在0、5、10、20及30分鐘時監測測試化合物之消失程度。使用化合物濃度之斜率並藉由採用文獻中所報告之標準方法來計算人類固有清除率。

除彼等本文所闡述者以外，彼等熟習該項技術者根據先前闡述可明瞭本發明之各種修改。該等修改亦意欲屬於隨附請求項之範圍內。本發明所引用的各參考文獻皆以其整體引用的方式併入本文中。

十、申請專利範圍：

102年7月30日修正本

公告本

1. 一種化合物，其選自：

3-(4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基)-3-(3-羥基環戊基)丙烷脒；

3-(4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基)-3-(2-羥基環戊基)丙烷脒；及

3-(4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基)-3-(3-氧代環戊基)丙烷脒，

或其醫藥上可接受之鹽。

2. 如請求項1之化合物，或其醫藥上可接受之鹽，其實質上經分離。

3. 一種組合物，其包含如請求項1之化合物、或其醫藥上可接受之鹽、及至少一種醫藥上可接受之載劑。

4. 如請求項3之組合物，其適用於口服投與。

5. 一種調節JAK活性之方法，其包含於活體外使JAK與請求項1之化合物、或其醫藥上可接受之鹽接觸。

6. 如請求項5之方法，其中抑制該調節作用。

7. 一種如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽於製備用於治療疾病的藥物之用途，其中該疾病係與JAK活性相關。

8. 如請求項7之用途，其中該疾病係同種異體移植排斥或移植物對抗宿主疾病。

9. 如請求項7之用途，其中該疾病係自體免疫疾病。

10. 如請求項9之用途，其中該自體免疫疾病係皮膚病症、

多發性硬化症、風濕性關節炎、青少年型關節炎、I型糖尿病、狼瘡、炎症性腸病、克隆氏病(Crohn's disease)、重症肌無力、免疫球蛋白腎病、心肌炎或自體免疫甲狀腺病症。

11. 如請求項9之用途，其中該自體免疫疾病係大疱性皮膚病症。
12. 如請求項11之用途，其中該大疱性皮膚病症係尋常天疱瘡(PV)或大疱性類天疱瘡(BP)。
13. 如請求項7之用途，其中該疾病係皮膚病症。
14. 如請求項13之用途，其中該皮膚病症係異位性皮炎、牛皮癬、皮膚致敏、皮膚刺激、皮疹、接觸性皮炎或變應性接觸致敏。
15. 如請求項7之用途，其中該疾病係病毒性疾病。
16. 如請求項15之用途，其中該病毒性疾病係艾伯斯坦-巴爾病毒(Epstein-Barr virus) (EBV)、B型肝炎、C型肝炎、HIV、HTLV 1、水痘-帶狀疱疹病毒(varicella-zoster virus)(VZV)或人乳頭瘤病毒(HPV)。
17. 如請求項7之用途，其中該疾病係癌症。
18. 如請求項17之用途，其中該癌症係實體瘤。
19. 如請求項18之用途，其中該癌症係前列腺癌、腎癌、肝癌、乳癌、肺癌、甲狀腺癌、卡波西氏肉瘤(Kaposi's sarcoma)、卡斯爾曼病(Castleman's disease)或胰腺癌。
20. 如請求項18之用途，其中該癌症係前列腺癌。
21. 如請求項17之用途，其中該癌症係血液癌。

22. 如請求項21之用途，其中該癌症係淋巴瘤、白血病或多發性骨髓瘤。
23. 如請求項17之用途，其中該癌症係皮膚癌。
24. 如請求項23之用途，其中該皮膚癌係皮膚T細胞淋巴瘤或皮膚B細胞淋巴瘤。
25. 如請求項21之用途，其中該癌症係多發性骨髓瘤。
26. 如請求項7之用途，其中該疾病之特徵在於突變體JAK2。
27. 如請求項26之用途，其中該突變體JAK2之至少一種突變位於該JAK2之偽-激酶結構域中。
28. 如請求項7之用途，其中該疾病係骨髓增殖性病變。
29. 如請求項28之用途，其中該骨髓增殖性病變(MPD)係真性紅細胞增多症(PV)、原發性血小板增多症(ET)、伴有骨髓纖維變性的髓樣化生(MMM)、慢性骨髓性白血病(CML)、慢性骨髓單核細胞性白血病(CMML)、嗜酸細胞增多症候群(HES)或全身性肥大細胞病(SMCD)。
30. 如請求項7之用途，其中該疾病係炎症性疾病。
31. 如請求項30之用途，其中該疾病係眼睛之炎症性疾病。
32. 如請求項31之用途，其中該疾病係虹膜炎、葡萄膜炎、鞏膜炎或結膜炎。
33. 如請求項30之用途，其中該疾病係呼吸道之炎症性疾病。
34. 如請求項33之用途，其中該炎症性疾病涉及上呼吸道。
35. 如請求項33之用途，其中該炎症性疾病涉及下呼吸道。

36. 如請求項30之用途，其中該炎症性疾病係炎症性肌病。
37. 如請求項36之用途，其中該炎症性疾病係心肌炎。
38. 如請求項7之用途，其中該疾病係缺血再灌注或與缺血事件相關。
39. 如請求項7之用途，其中該疾病係源自癌症或與其相關之厭食症或惡病質。
40. 如請求項7之用途，其中該疾病係源自癌症或與其相關之疲乏。
41. 一種如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽於製備用於治療癌症的藥物之用途。
42. 一種如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽於製備用於治療風濕性關節炎的藥物之用途。
43. 一種如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽於製備用於治療前列腺癌的藥物之用途。
44. 一種如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽於製備用於治療牛皮癬的藥物之用途。
45. 一種如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽於製備用於治療多發性骨髓瘤的藥物之用途。
46. 一種如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽於製備用於治療伴有骨髓纖維變性的髓樣化生(MMM)的藥物之用途。
47. 一種如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽於製備用於治療真性紅細胞增多症(PV)的藥物之用途。
48. 一種如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽於製備

用於治療原發性血小板增多症(ET)的藥物之用途。

49. 一種如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽於製備用於治療蕈樣真菌病的藥物之用途。
50. 一種如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽於製備用於治療血液癌症的藥物之用途。
51. 一種如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽於製備用於治療慢性骨髓性白血病(CML)的藥物之用途。
52. 一種如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽於製備用於治療急性淋巴細胞性白血病(ALL)的藥物之用途。
53. 一種如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽於製備用於治療慢性骨髓單核細胞性白血病(CMML)的藥物之用途。