



(21) 申請案號：106131764

(22) 申請日：中華民國 106 (2017) 年 09 月 15 日

(51) Int. Cl. :

C07C233/61 (2006.01)

C07C233/92 (2006.01)

C07D213/61 (2006.01)

C07D239/34 (2006.01)

C07D261/12 (2006.01)

C07D401/12 (2006.01)

C07D413/12 (2006.01)

A61K31/166 (2006.01)

A61K31/42 (2006.01)

A61K31/44 (2006.01)

A61K31/4439 (2006.01)

A61K31/505 (2006.01)

A61P31/04 (2006.01)

(30) 優先權：2016/09/16 美國

62/395,938

2017/02/15 美國

62/459,456

(71) 申請人：美商庫特克希米公司 (美國) CORTEXIME, INC. (US)

美國

(72) 發明人：康拉迪 安卓伊 W KONRADI, ANDREI W. (US)；葛雷默 羅伯特 GALEMMO,

ROBERT (US)；多米尼 史蒂芬 S DOMINY, STEPHEN S. (US)；林區 卡西

C LYNCH, CASEY C. (US)；荷爾辛格 雷斯里 JHOLSINGER, LESLIE J. (US)

(74) 代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：54 項 圖式數：9 共 289 頁

(54) 名稱

離胺酸牙齦蛋白酶 (GINGIPAIN) 之酮抑制劑

KETONE INHIBITORS OF LYSINE GINGIPAIN

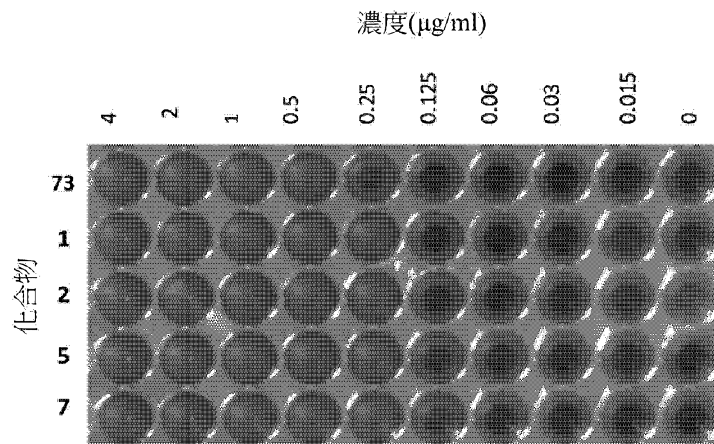
(57) 摘要

本發明提供如本文中所闡述之式 I 化合物，及其用於抑制來自細菌牙齦卟啉單胞菌 (Porphyromonas gingivalis) 之離胺酸牙齦蛋白酶 (lysine gingipain protease, Kgp) 之用途。亦闡述牙齦蛋白酶活性探針化合物，及亦闡述用於分析牙齦蛋白酶活性之方法，以及用於治療與牙齦卟啉單胞菌感染相關病症，包括諸如阿茲海默氏病 (Alzheimer's disease) 之腦病症之方法。

The present invention provides compounds according to Formula I as described herein, and their use for inhibiting the lysine gingipain protease (Kgp) from the bacterium Porphyromonas gingivalis. Also described are gingipain activity probe compounds and methods for assaying gingipain activity are also described, as well as methods for the treatment of disorders associated with P. gingivalis infection, including brain disorders such as Alzheimer's disease.

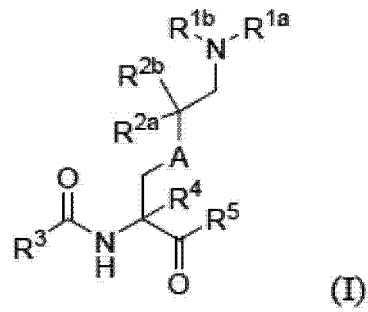
指定代表圖：

布氏桿菌(Brucella)血液培養基



【圖 2】

特徵化學式：



## 【發明說明書】

### 【中文發明名稱】

離胺酸牙齦蛋白酶（GINGIPAIN）之酮抑制劑

### 【英文發明名稱】

KETONE INHIBITORS OF LYSINE GINGIPAIN

### 【技術領域】

### 【先前技術】

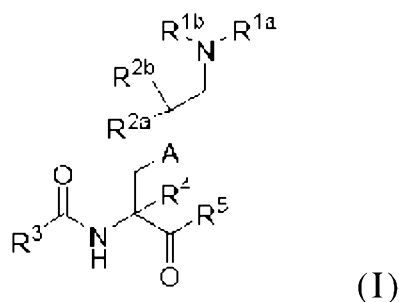
感染細菌牙齦卟啉單胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)與牙周疾病、阿茲海默氏病(Alzheimer's)及其他腦病症、心血管疾病、糖尿病、癌症、肝病、腎病、早產、關節炎、肺炎及其他病症之發展相關聯。牙齦卟啉單胞菌係已知會感染口腔且全身性移位至冠狀動脈、主動脈、胎盤組織、腦、腎及肝中之嫌氧非糖發酵(asaccharolytic)革蘭氏陰性桿狀菌。亦已在癌組織中鑑別出該細菌且已提出牙齦蛋白酶(牙齦蛋白酶)可觸發永生及轉移之機制。參見：Gandhimadhi等人，*Journal of Indian Society of Periodontology*. 2010；14(2)：114-120；Liao等人，*Med Hypotheses*, 2009. 72(6): 732-5；Byrne等人，*Oral Microbiol Immunol*, 2009. 24(6): 469-77；Mahindra等人，*J Maxillofac Oral Surg*, 2009. 8(2): 108-13；Stelzel等人，*J Periodontol*, 2002. 73(8): 868-70；Katz等人，*Journal of Dental Research*, 2009. 88(6): 575-578；Poole等人，*J Alzheimers Dis*, 2015, 43(1): 67-80；Ishikawa等人，*Biochim Biophys Acta*, 2013. 1832(12): 2035-2043；Inaba等人，*Cellular Microbiology*, 2014. 16(1): 131-145。

牙齦卟啉單胞菌會產生名為牙齦蛋白酶的蛋白酶，其包括精胺酸牙

齦蛋白酶A (RgpA)、精胺酸牙齦蛋白酶B (RgpB)及離胺酸牙齦蛋白酶(Kgp)。牙齦蛋白酶有助於該生物體之許多功能，包括其存活及毒力。牙齦蛋白酶可由牙齦卟啉單胞菌分泌、運送至之外膜表面，或釋放於外膜囊泡中。牙齦蛋白酶降解寬範圍之蛋白質(例如，免疫球蛋白、蛋白酶抑制劑、肌動蛋白及膠原)，此可導致許多類型之細胞中之細胞骨架塌陷及細胞凋亡，且已發現抑制牙齦蛋白酶可預防牙齦卟啉單胞菌所誘導之細胞死亡。參見：Travis等人，*Adv Exp Med Biol*, 2000. 477: 455-65；Sheets等人，*Infect Immun*, 2005. 73(3): 1543-52；Sheets等人，*Infect Immun*, 2006. 74(10): 5667-78；Stathopoulou等人，*BMC Microbiol*, 2009. 9: 107。需要用於抑制牙齦蛋白酶活性及治療與牙齦蛋白酶活性及牙齦卟啉單胞菌感染相關之疾病之新穎化合物。另外，需要用於檢測並量化牙齦蛋白酶活性之化合物以有效診斷感染牙齦卟啉單胞菌之個體，鑑別新穎治療劑且研發用於治療牙齦蛋白酶介導之疾病之新穎方法。本發明解決該等需要。

### 【發明內容】

在第一實施例中，本發明提供式I化合物：



或其醫藥上可接受之鹽，其中：

A係選自-CH<sub>2</sub>-及-O-；

R<sup>1a</sup>及R<sup>1b</sup>係各自獨立地選自氫、C<sub>1-4</sub>烷基及胺保護基團；

$R^{2a}$ 及 $R^{2b}$ 係各自獨立地選自氫、鹵素、 $C_{1-4}$ 鹵烷基及 $C_{1-4}$ 鹵烷氧基；

$R^3$ 係選自 $C_{3-8}$ 環烷基、 $C_{3-8}$ 烷基、3員至12員雜環基、 $C_{6-10}$ 芳基、5員至12員雜芳基及報告子(reporter)部分，其中 $R^3$ 視情況經一或多個 $R^{3a}$ 取代基取代；

每一 $R^{3a}$ 係獨立地選自鹵素、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-N_3$ 、 $-OH$ 、 $C_{1-4}$ 烷基、 $C_{1-4}$ 鹵烷基、 $C_{1-4}$ 烷氧基、 $C_{1-4}$ 鹵烷氧基、 $-N(R^c)_2$ 、 $-N^+(R^b)_3$ 、 $-(CH_2)_kC(O)R^b$ 、 $-NR^c(CH_2)_uC(O)R^b$ 、 $-O(CH_2)_uC(O)R^b$ 、 $-(CH_2)_kCONR^cR^c$ 、 $-(CH_2)_kNR^cC(O)R^b$ 、 $-NR^c(CH_2)_uCONR^cR^c$ 、 $-NR^c(CH_2)_uNR^cC(O)R^b$ 、 $-O(CH_2)_uCONR^cR^c$ 及 $-O(CH_2)_uNR^cC(O)R^b$ 以及視情況經取代之三唑基；

每一 $R^b$ 係獨立地選自 $C_{1-4}$ 烷基、 $C_{1-4}$ 鹵烷基及 $C_{1-4}$ 氘代烷基；

每一 $R^c$ 係獨立地選自氫及 $C_{1-8}$ 烷基；

每一下標 $k$ 係獨立地選自0、1、2、3、4、5及6；

每一下標 $u$ 係獨立地選自1、2、3、4、5及6；

$R^4$ 係選自氫及 $C_{1-4}$ 烷基；

$R^5$ 係選自 $-CH_2R^{5a}$ 、 $-CHS(O)(R^{5b})_2$ 及 $C_{1-6}$ 鹵烷基；

$R^{5a}$ 係選自 $-O-R^6$ 、 $-S-R^7$ 、 $-SO-R^7$ 、 $-SO_2-R^7$ 、 $-N(R^8)_2$ 、5員至12員雜芳基及3員至12員雜環基，

其中5員至12員雜芳基視情況經一或多個獨立地選自鹵素、 $C_{1-3}$ 烷基及 $C_{1-3}$ 鹵烷基之成員取代，且

3員至12員雜環基視情況經一或多個獨立地選自側氧基、鹵素、 $C_{1-3}$ 烷基及 $C_{1-3}$ 鹵烷基之成員取代；

每一 $R^{5b}$ 係獨立選擇之 $C_{1-6}$ 烷基；

$R^6$ 及 $R^7$ 係選自苯基、 $C_{1-6}$ 烷基、 $C_{1-6}$ 鹵烷基及5員至12員雜芳基，

其中苯基經1至5個鹵素取代，且

其中5員至12員雜芳基視情況經一或多個鹵素、 $C_{1-3}$ 烷基或 $C_{1-3}$ 鹵烷基取代；

每一 $R^8$ 係獨立選擇之 $C_{1-6}$ 烷基；且

$R^5$ 視情況包含淬滅部分 $R^9$ ；

條件係 $R^5$ 不為2,3,5,6-四氟苯氧基甲基。

在相關實施例中，本發明提供包括一或多種本發明之化合物及一或多種醫藥上可接受之賦形劑之醫藥組合物。

在另一實施例中，本發明提供用於治療與牙齦卟啉單胞菌感染相關之疾病或病狀之方法。該等方法包括向有需要之個體投與有效量之本發明之化合物或組合物。在一些實施例中，腦病症(例如，阿茲海默氏病)、牙周疾病、糖尿病、心血管疾病、關節炎、類風濕性關節炎、骨關節炎、感染性關節炎、牛皮癬關節炎、升高之早產風險、肺炎、癌症、腎病、肝病、視網膜病症及青光眼。

在另一實施例中，本發明提供包含報告子部分及牙齦蛋白酶反應性部分之化合物以及用於檢測生物樣品中之牙齦蛋白酶活性之方法。該等方法包括：在足以使牙齦蛋白酶與如上文所闡述之化合物之牙齦蛋白酶反應性部分反應之條件下形成包含生物樣品及該化合物之混合物；檢測該混合物中之該化合物之報告子部分；及當檢測到報告子部分時確定生物樣品中存在牙齦蛋白酶。

#### 【圖式簡單說明】

**圖1**顯示本發明之Kgp抑制劑保護SH-SY5Y神經胚細胞瘤細胞免於牙

齦卟啉單胞菌誘導之細胞死亡。

**圖2**顯示本發明之Kgp抑制劑防止血紅素分解及鐵獲取(牙齦卟啉單胞菌之關鍵存活增強機制)。

**圖3**顯示本發明之化合物在小鼠中提供增加之血漿濃度。

**圖4**顯示本發明之化合物在小鼠中提供增加之游離腦濃度。

**圖5A**顯示本發明之活性探針可用於表徵細菌塗片。暴露於活性探針**15a**或**38a**之牙齦卟啉單胞菌之細菌塗片可藉由螢光顯微鏡術檢測。信號取決於Kgp之存在，且在Kgp基因剔除之牙齦卟啉單胞菌W83菌株之細菌塗片中未檢測到。

**圖5B**顯示本發明之活性探針可用於表徵組織切片。利用免疫螢光劑CAB102 (針對Kgp之多株抗體)使來自患有牙周疾病之患者之牙齦組織切片染色。單獨之連續組織切片在與活性探針**15a**一起培育之後產生螢光信號。

**圖6A**顯示含有來自經或不經牙齦卟啉單胞菌W83感染之人類Jurkat細胞樣品之SDS-PAGE凝膠之螢光影像。使樣品與螢光探針**15a**或非螢光Kgp抑制劑化合物**73** (*N*-[7-胺基-2-側氧基-1-(2,3,5,6-四氟苯氧基)庚-3-基]環戊烷甲醯胺)反應，之後進行SDS-PAGE。泳道1：僅細胞。泳道2：細胞+探針**15a**。泳道3：細胞+探針**15a**，牙齦卟啉單胞菌感染複數(MOI)：100。泳道4：細胞+與化合物**73**、之後探針**15a**之預培育物，MOI：100。泳道5：細胞+探針**15a**，MOI：10。泳道6：細胞+與化合物**73**、之後探針**15a**之預培育物，MOI：10。泳道7：經純化之Kgp +探針**15a**。泳道8：經純化之Kgp +不含探針**15a**之溶解緩衝液。

**圖6B**顯示含有滴定量之牙齦卟啉單胞菌W83之SDS-PAGE凝膠之螢

光影像。泳道A： $10^7$ 個菌落形成單位(colony forming unit, CFU)；泳道B： $10^6$ 個CFU；泳道C： $10^5$ 個CFU；泳道D： $10^4$ 個CFU；泳道E： $10^3$ 個CFU；泳道F： $10^2$ 個CFU；泳道G：經純化之Kgp。滴定之螢光數據可用於量化生物樣品中之牙齦卟啉單胞菌感染。

**圖7**顯示頰細胞之螢光顯微鏡成像，該等頰細胞係自人類個體之口腔獲得，與活性探針**15a**一起培育並分析活性探針結合。利用活性探針**15a**之點狀染色(punctate staining)指示在一些細胞中存在Kgp。左圖顯示此點狀染色，而右圖中之細胞顯示細胞未經探針染色且假定未受牙齦卟啉單胞菌感染。藍色染料係用於細胞核之DAPI染色劑。

**圖8**顯示生物素活性探針**51a**可用於共價標記牙齦卟啉單胞菌溶解物中之Kgp，用於隨後將經標記之Kgp結合至鏈黴抗生物素蛋白珠粒。在自珠粒釋放之後，藉由SDS-PAGE分析經標記之Kgp並利用多株Kgp抗體CAB102在西方墨點(Western blot)上進行檢測。經由此方法下拉Kgp並自至少 $10^6$  CFU之牙齦卟啉單胞菌檢測到。泳道1：經純化之Kgp。泳道2：牙齦卟啉單胞菌W83， $10^2$  CFU。泳道3：W83， $10^4$  CFU。泳道4：W83， $10^6$  CFU。泳道5：Kgp剔除菌株， $10^6$  CFU。泳道6：僅探針**51a**。

**圖9A**顯示在與探針化合物**71**一起培育之後藉由SDS-PAGE之牙齦卟啉單胞菌W83溶解物及牙齦卟啉單胞菌Kgp剔除菌株溶解物之可視化。

**圖9B**顯示在與CAB102抗體偶聯珠粒一起進行預培育或不進行預培育之情形下，在與探針化合物**71**一起培育之後藉由SDS-PAGE之牙齦卟啉單胞菌溶解物之可視化。

**圖9C**顯示藉由SDS-PAGE及Cy5信號可視化之經標記之牙齦卟啉單胞菌W83溶解物之分析(頂圖)或藉由CAB102一級抗體檢測及化學發光檢



測之西方墨點(底圖)。

## 【實施方式】

### 相關申請案之交叉參考

本申請案主張於2016年9月16日提出申請之美國臨時專利申請案第62/395,938號及於2017年2月15日提出申請之美國臨時專利申請案第62/459,456號之優先權，該等申請案係以全文引用的方式併入本文中。

### I. 概述

本發明提供用於抑制牙齦卟啉單胞菌離胺酸牙齦蛋白酶(Kgp)之強效化合物。本發明係部分地基於以下驚人發現：某些抑制劑展現較內源性蛋白酶(例如細胞自溶酶)對於Kgp增加之選擇性，同時亦展現與先前已知化合物相當之活性。此外，當與先前已知化合物相比時，本發明之化合物提供改良之藥物動力學性質。該等化合物可用於預防與牙齦卟啉單胞菌感染相關之各種疾病(包括衰老相關病狀(例如阿茲海默氏病))中之細胞死亡、發炎及其他病理過程。

### II. 定義

如本文中所使用，術語「牙齦卟啉單胞菌 (*Porphyromonas gingivalis* 及 *P. gingivalis*)」係指公認為係齒根骨膜炎及相關病狀之發病機制中關鍵致病微生物之革蘭氏陰性(gram-negative)非糖發酵細菌。「牙齦卟啉單胞菌感染」係指牙齦卟啉單胞菌在身體組織(例如牙齦或腦)中之入侵及定殖。牙齦卟啉單胞菌感染常常以隨後之組織損傷及疾病為特徵。

如本文中所使用，術語「牙齦蛋白酶」係指由具有胰蛋白酶樣特異性(即，Lys-Xaa及Arg-Xaa)之牙齦卟啉單胞菌表現之半胱胺酸蛋白酶。牙齦蛋白酶認為係牙齦卟啉單胞菌之主要毒力因子且有助於細菌吸附及定

殖、營養獲得、逃避宿主防禦及組織入侵。術語「精胺酸牙齦蛋白酶」及「Rgp」可互換使用，係指牙齦卍淋單胞菌精胺酸特異性牙齦蛋白酶RgpA及RgpB，按照EC編號EC 3.4.22.37分類。rgpA及rgpB基因轉譯產物RgpA及RgpB共用半胱天冬酶樣蛋白酶結構域(對Arg-Xaa肽鍵具特異性)及免疫球蛋白樣結構域。在RgpA中，蛋白酶及免疫球蛋白樣結構域之後係含有血球凝集素-黏附素結構域之較大C末端延伸。

如本文中所使用，術語「烷基」本身或作為另一取代基之一部分係指具有指示碳原子數之直鏈或具支鏈飽和脂肪族基團。烷基可包括任何數量之碳，例如C<sub>1-2</sub>、C<sub>1-3</sub>、C<sub>1-4</sub>、C<sub>1-5</sub>、C<sub>1-6</sub>、C<sub>1-7</sub>、C<sub>1-8</sub>、C<sub>1-9</sub>、C<sub>1-10</sub>、C<sub>2-3</sub>、C<sub>2-4</sub>、C<sub>2-5</sub>、C<sub>2-6</sub>、C<sub>3-4</sub>、C<sub>3-5</sub>、C<sub>3-6</sub>、C<sub>4-5</sub>、C<sub>4-6</sub>及C<sub>5-6</sub>。舉例而言，C<sub>1-6</sub>烷基包括(但不限於)甲基、乙基、丙基、異丙基、丁基、異丁基、第二丁基、第三丁基、戊基、異戊基、己基等。烷基亦可係指具有最多20個碳原子之烷基，例如(但不限於)庚基、辛基、壬基、癸基等。烷基可經取代或未經取代。除非另外規定，否則「經取代之烷基」可經一或多個選自以下之基團取代：鹵基、羥基、胺基、烷基胺基、醯胺基、醯基、硝基、氰基及烷氧基。

如本文中所使用，術語「烷氧基」本身或作為另一取代基之一部分係指具有式-OR之基團，其中R係烷基。

如本文中所使用，術語「環烷基」本身或作為另一取代基之一部分係指含有3至12個環原子或指示原子數之飽和或部分不飽和之單環、稠合二環或橋接多環總成。環烷基可包括任何數量之碳，例如C<sub>3-6</sub>、C<sub>4-6</sub>、C<sub>5-6</sub>、C<sub>3-8</sub>、C<sub>4-8</sub>、C<sub>5-8</sub>、C<sub>6-8</sub>、C<sub>3-9</sub>、C<sub>3-10</sub>、C<sub>3-11</sub>及C<sub>3-12</sub>。飽和單環環烷基環包括(例如)環丙基、環丁基、環戊基、環己基及環辛基。飽和二環及多環環烷基

環包括(例如)降莖烷、[2.2.2]二環辛烷、十氫萘及金剛烷。環烷基亦可係在環中具有一或多個雙鍵或三鍵之部分不飽和基團。部分不飽和之代表性環烷基包括(但不限於)環丁烯、環戊烯、環己烯、環己二烯(1,3-及1,4-異構物)、環庚烯、環庚二烯、環辛烯、環辛二烯(1,3-、1,4-及1,5-異構物)、降莖烯及降莖二烯。當環烷基係飽和單環C<sub>3-8</sub>環烷基時，例示性基團包括(但不限於)環丙基、環丁基、環戊基、環己基、環庚基及環辛基。當環烷基係飽和單環C<sub>3-6</sub>環烷基時，例示性基團包括(但不限於)環丙基、環丁基、環戊基及環己基。環烷基可經取代或未經取代。除非另外規定，否則「經取代之環烷基」可經一或多個選自以下之基團取代：鹵基、羥基、胺基、烷基胺基、醯胺基、醯基、硝基、氰基及烷氧基。術語「低碳數環烷基」係指具有3至7個碳之環烷基，其包括(例如)環丙基、環丁基、環戊基、環己基及環庚基。

如本文中所使用，術語「伸烷基」係指如上文所定義之連接至少兩個其他基團之烷基(即，二價烷基)。連接至伸烷基之兩個部分可連接至伸烷基之同一碳原子或不同碳原子。術語「伸環烷基」係指如上文所定義之連接至少兩個其他基團之環烷基(即，二價環烷基)。連接至伸環烷基之兩個部分可連接至伸環烷基之同一碳原子或不同碳原子。

如本文中所使用，術語「烷硫基」本身或作為另一取代基之一部分係指具有式-SR之基團，其中R係烷基。

如本文中所使用，術語「雜烷基」本身或作為另一取代基之一部分係指具有任何適宜長度且具有1至3個雜原子(例如N、O及S)之烷基。舉例而言，雜烷基可包括醚、硫醚及烷基-胺。亦可使用其他雜原子，包括(但不限於) B、Al、Si及P。該等雜原子可經氧化以形成諸如(但不限於)-

S(O)-及-S(O)<sub>2</sub>-之部分。雜烷基之雜原子部分可替代烷基之氫原子以形成羥基、硫基或胺基。或者，雜原子部分可係連結原子，或插入兩個碳原子之間。

如本文中所使用，術語「伸雜烷基」係指如上文所定義之連接至少兩個其他基團之雜烷基(即，二價雜烷基)。連接至伸雜烷基之兩個部分可連接至伸雜烷基之同一原子或不同原子。術語「伸雜環基」係指如上文所定義之連接至少兩個其他基團之環烷基(即，二價雜環基)。連接至伸雜環基之兩個部分可連接至伸雜環基之同一原子或不同原子。

如本文中所使用，術語「鹵基」及「鹵素」本身或作為另一取代基之一部分係指氟、氯、溴或碘原子。

如本文中所使用，術語「鹵烷基」本身或作為另一取代基之一部分係指其中一些或所有氫原子均經鹵素原子替代之烷基。正如對於烷基，鹵烷基可具有任何適宜數量之碳原子，例如C<sub>1-6</sub>。舉例而言，鹵烷基包括三氟甲基、氟甲基等。在一些情況下，術語「全氟」可用於界定其中所有氫均經氟替代之化合物或基團。舉例而言，全氟甲基係指1,1,1-三氟甲基。

如本文中所使用，術語「鹵烷氧基」本身或作為另一取代基之一部分係指其中一些或所有氫原子均經鹵素原子替代之烷氧基。

如本文中所使用，術語「鹵環烷基」本身或作為另一取代基之一部分係指其中一些或所有氫原子均經鹵素原子替代之環烷基。

如本文中所使用，術語「氘代烷基」本身或作為另一取代基之一部分係指其中一些或所有氫原子均經氘原子替代之烷基。正如對於烷基，氘代烷基可具有任何適宜數量之碳原子，例如C<sub>1-6</sub>。在一些情況下，術語「全氘代」可用於界定其中所有氫均經氘替代之化合物或基團。

如本文中所使用，術語「芳基」本身或作為另一取代基之一部分係指具有任何適宜數量之碳環原子及任何適宜數量之環之芳香族環系統。芳基可包括任何適宜數量之碳環原子，例如C<sub>6</sub>、C<sub>7</sub>、C<sub>8</sub>、C<sub>9</sub>、C<sub>10</sub>、C<sub>11</sub>、C<sub>12</sub>、C<sub>13</sub>、C<sub>14</sub>、C<sub>15</sub>或C<sub>16</sub>以及C<sub>6-10</sub>、C<sub>6-12</sub>或C<sub>6-14</sub>。芳基可係單環基團，稠合以形成二環(例如，苯并環己基)或三環基團，或藉由鍵連接以形成聯芳基。代表性芳基包括苯基、萘基及聯苯。其他芳基包括苺基，其具有亞甲基連接基團。一些芳基具有6至12個環成員，例如苯基、萘基或聯苯。其他芳基具有6至10個環成員，例如苯基或萘基。一些其他芳基具有6個環成員，例如苯基。芳基可經取代或未經取代。除非另外規定，否則「經取代之芳基」可經一或多個選自以下之基團取代：鹵基、羥基、胺基、烷基胺基、醯胺基、醯基、硝基、氰基及烷氧基。

如本文中所使用，術語「伸芳基」係指如上文所定義之連接至少兩個其他基團之芳基(即，二價芳基)。

如本文中所使用，術語「雜芳基」本身或作為另一取代基之一部分係指含有5至16個環原子之單環或稠合二環或三環芳香族環總成，其中1至5個環原子係雜原子(例如N、O或S)。亦可使用其他雜原子，包括(但不限於) B、Al、Si及P。該等雜原子可經氧化以形成諸如(但不限於)-S(O)-及-S(O)<sub>2</sub>-之部分。雜芳基可包括任何數量之環原子，例如C<sub>5-6</sub>、C<sub>3-8</sub>、C<sub>4-8</sub>、C<sub>5-8</sub>、C<sub>6-8</sub>、C<sub>3-9</sub>、C<sub>3-10</sub>、C<sub>3-11</sub>或C<sub>3-12</sub>，其中至少一個碳原子由雜原子替代。雜芳基中可包括任何適宜數量之雜原子，例如1個、2個、3個、4個；或5個或1至2個、1至3個、1至4個、1至5個、2至3個、2至4個、2至5個、3至4個或3至5個。舉例而言，雜芳基可係C<sub>5-8</sub>雜芳基，其中1至4個碳環原子經雜原子替代；或C<sub>5-8</sub>雜芳基，其中1至3個碳環原子經雜原子替

代；或C<sub>5-6</sub>雜芳基，其中1至4個碳環原子經雜原子替代；或C<sub>5-6</sub>雜芳基，其中1至3個碳環原子經雜原子替代。雜芳基可包括諸如以下之基團：吡咯、吡啶、咪唑、吡唑、三唑、四唑、吡嗪、嘧啶、噻嗪、三嗪(1,2,3-、1,2,4-及1,3,5-異構物)、噻吩、呋喃、噻唑、異噻唑、噁唑及異噁唑。雜芳基亦可稠合至芳香族環系統(例如苯基環)以形成包括(但不限於)以下之成員：苯并吡咯(例如吲哚及異吲哚)、苯并吡啶(例如喹啉及異喹啉)、苯并吡嗪(喹啉)、苯并嘧啶(喹唑啉)、苯并噻嗪(例如酞嗪及吡嗪)、苯并噻吩及苯并呋喃。其他雜芳基包括藉由鍵連接之雜芳基環，例如聯吡啶。雜芳基可經取代或未經取代。除非另外規定，否則「經取代之雜芳基」可經一或多個選自以下之基團取代：鹵基、羥基、胺基、烷基胺基、醯胺基、醯基、硝基、氰基及烷氧基。

雜芳基可經由環上之任一位置連接。舉例而言，吡咯包括1-、2-及3-吡咯，吡啶包括2-、3-及4-吡啶，咪唑包括1-、2-、4-及5-咪唑，吡唑包括1-、3-、4-及5-吡唑，三唑包括1-、4-及5-三唑，四唑包括1-及5-四唑，嘧啶包括2-、4-、5-及6-嘧啶，噻嗪包括3-及4-噻嗪，1,2,3-三嗪包括4-及5-三嗪，1,2,4-三嗪包括3-、5-及6-三嗪，1,3,5-三嗪包括2-三嗪，噻吩包括2-及3-噻吩，呋喃包括2-及3-呋喃，噻唑包括2-、4-及5-噻唑，異噻唑包括3-、4-及5-異噻唑，噁唑包括2-、4-及5-噁唑，異噁唑包括3-、4-及5-異噁唑，吲哚包括1-、2-及3-吲哚，異吲哚包括1-及2-異吲哚，喹啉包括2-、3-及4-喹啉，異喹啉包括1-、3-及4-異喹啉，喹唑啉包括2-及4-喹唑啉，吡嗪包括3-及4-吡嗪，苯并噻吩包括2-及3-苯并噻吩且苯并呋喃包括2-及3-苯并呋喃。

一些雜芳基包括具有5至10個環成員及1至3個環原子(包括N、O或S)

之彼等，例如吡咯、吡啶、咪唑、吡唑、三唑、吡嗪、嘧啶、噻嗪、三嗪(1,2,3-、1,2,4-及1,3,5-異構物)、噻吩、呋喃、噻唑、異噻唑、噁唑、異噁唑、吡啶、異吡啶、喹啉、異喹啉、喹啉、喹啉、酞嗪、吡啶、苯并噻吩及苯并呋喃。其他雜芳基包括具有5至8個環成員及1至3個雜原子之彼等，例如吡咯、吡啶、咪唑、吡唑、三唑、吡嗪、嘧啶、噻嗪、三嗪(1,2,3-、1,2,4-及1,3,5-異構物)、噻吩、呋喃、噻唑、異噻唑、噁唑及異噁唑。一些其他雜芳基包括具有9至12個環成員及1至3個雜原子之彼等，例如吡啶、異吡啶、喹啉、異喹啉、喹啉、喹啉、酞嗪、吡啶、苯并噻吩、苯并呋喃及聯吡啶。其他雜芳基包括具有5至6個環成員及1至2個環原子(包括N、O或S)之彼等，例如吡咯、吡啶、咪唑、吡唑、吡嗪、嘧啶、噻嗪、噻吩、呋喃、噻唑、異噻唑、噁唑及異噁唑。

一些雜芳基包括5至10個環成員及僅氮雜原子，例如吡咯、吡啶、咪唑、吡唑、三唑、吡嗪、嘧啶、噻嗪、三嗪(1,2,3-、1,2,4-及1,3,5-異構物)、吡啶、異吡啶、喹啉、異喹啉、喹啉、喹啉、酞嗪及吡啶。其他雜芳基包括5至10個環成員及僅氧雜原子，例如呋喃及苯并呋喃。一些其他雜芳基包括5至10個環成員及僅硫雜原子，例如噻吩及苯并噻吩。其他雜芳基包括5至10個環成員及至少兩個雜原子，例如咪唑、吡唑、三唑、吡嗪、嘧啶、噻嗪、三嗪(1,2,3-、1,2,4-及1,3,5-異構物)、噻唑、異噻唑、噁唑、異噁唑、喹啉、喹啉、酞嗪及吡啶。

如本文中所使用，術語「伸雜芳基」係指如上文所定義之連接至少兩個其他基團之雜芳基(即，二價雜芳基)。

如本文中所使用，術語「雜環基」本身或作為另一取代基之一部分係指具有3至12個環成員及1至4個N、O及S之雜原子之飽和環系統。亦可

使用其他雜原子，包括(但不限於) B、Al、Si及P。該等雜原子可經氧化以形成諸如(但不限於)-S(O)-及-S(O)<sub>2</sub>-之部分。雜環基可包括任何數量之環原子，例如C<sub>3-6</sub>、C<sub>4-6</sub>、C<sub>5-6</sub>、C<sub>3-8</sub>、C<sub>4-8</sub>、C<sub>5-8</sub>、C<sub>6-8</sub>、C<sub>3-9</sub>、C<sub>3-10</sub>、C<sub>3-11</sub>或C<sub>3-12</sub>，其中至少一個碳原子由雜原子替代。在雜環基中，任何適宜數量之碳環原子可經雜原子替代，例如1個、2個、3個或4個或1至2個、1至3個、1至4個、2至3個、2至4個或3至4個。雜環基可包括諸如以下之基團：氮丙啶、氮雜環丁烷、吡咯啶、六氫吡啶、氮雜環庚烷(azepane)、氮雜環辛烷(azocane)、吡啶、吡啶啞、咪啶啞、六氫吡嗪(1,2-、1,3-及1,4-異構物)、環氧乙烷、氧雜環丁烷、四氫呋喃、噁烷(四氫吡喃)、氧雜環庚烷、硫環丙烷、硫雜環丁烷、四氫噻吩(四氫噻吩)、硫代環己烷(四氫噻喃)、噁啶啞、異噁啶啞、噻啶啞、異噻啶啞、二氧戊環、二硫戊環、嗎啉、硫嗎啉、二噁烷或二噻烷。雜環基亦可稠合至芳香族或非芳香族環系統以形成包括(但不限於)吡啶啞之成員。雜環基可未經取代或經取代。除非另外規定，否則「經取代之雜環基」可經一或多個選自以下之基團取代：鹵基、羥基、胺基、側氧基(=O)、烷基胺基、醯胺基、醯基、硝基、氰基及烷氧基。

雜環基可經由環上之任一位置連接。舉例而言，氮丙啶可係1-或2-氮丙啶，氮雜環丁烷可係1-或2-氮雜環丁烷，吡咯啶可係1-、2-或3-吡咯啶，六氫吡啶可係1-、2-、3-或4-六氫吡啶，吡啶啞可係1-、2-、3-或4-吡啶啞，咪啶啞可係1-、2-、3-或4-咪啶啞，六氫吡嗪可係1-、2-、3-或4-六氫吡嗪，四氫呋喃可係1-或2-四氫呋喃，噁啶啞可係2-、3-、4-或5-噁啶啞，異噁啶啞可係2-、3-、4-或5-異噁啶啞，噻啶啞可係2-、3-、4-或5-噻啶啞，異噻啶啞可係2-、3-、4-或5-異噻啶啞且嗎啉可係2-、3-或



4-嗎啉。

當雜環基包括3至8個環成員及1至3個雜原子時，代表性成員包括(但不限於)吡咯啉、六氫吡啉、四氫呋喃、噁烷、四氫噻吩、硫代環己烷、吡啶啉、咪啶啉、六氫吡嗪、噁啶啉、異噁啶啉、噻啶啉、異噻啶啉、嗎啉、硫嗎啉、二噁烷及二噻烷。雜環基亦可形成具有5至6個環成員及1至2個雜原子之環，其中代表性成員包括(但不限於)吡咯啉、六氫吡啉、四氫呋喃、四氫噻吩、吡啶啉、咪啶啉、六氫吡嗪、噁啶啉、異噁啶啉、噻啶啉、異噻啶啉及嗎啉。

如本文中所使用，術語「胺保護基團」係指使得胺基不反應，但亦可去除以恢復胺基之化學部分。胺保護基團之實例包括(但不限於)苄基氧基羰基；9-苄基甲基氧基羰基(Fmoc)；第三丁基氧基羰基(Boc)；烯丙基氧基羰基(Alloc)；對甲苯磺醯基(Tos)；2,2,5,7,8-五甲基吡啶-6-磺醯基(Pmc)；2,2,4,6,7-五甲基-2,3-二氫苯并呋喃-5-磺醯基(Pbf)；均三甲苯基-2-磺醯基(Mts)；4-甲氧基-2,3,6-三甲基苯基磺醯基(Mtr)；乙醯胺基；苯二甲醯亞胺基；及諸如此類。其他胺保護基團為熟習此項技術者所已知，包括(例如) Green 及 Wuts 闡述之彼等 (*Protective Groups in Organic Synthesis*，第4版，2007, Wiley-Interscience, New York)。

如本文中所使用，術語「羰基」本身或作為另一取代基之一部分係指-C(O)-，即，雙鍵鍵合至氧且結合至具有該羰基之部分中之兩個其他基團之碳原子。

如本文中所使用，術語「胺基」係指部分-NR<sub>2</sub>，其中每一R基團係H或烷基。胺基部分可經電離以形成相應銨陽離子。「二烷基胺基」係指胺基部分，其中每一R基團係烷基。

如本文中所使用，術語「磺醯基」係指部分-SO<sub>2</sub>R，其中R基團係烷基、鹵烷基或芳基。胺基部分可經電離以形成相應銨陽離子。「烷基磺醯基」係指胺基部分，其中R基團係烷基。

如本文中所使用，術語「羥基」係指部分-OH。

如本文中所使用，術語「氰基」係指碳原子三鍵鍵合至氮原子(即，部分-C≡N)。

如本文中所使用，術語「羧基」係指部分-C(O)OH。羧基部分可經電離以形成相應羧酸陰離子。

如本文中所使用，術語「醯胺基」係指部分-NRC(O)R 或 -C(O)NR<sub>2</sub>，其中每一R基團係H或烷基。

如本文中所使用，術語「硝基」係指部分-NO<sub>2</sub>。

如本文中所使用，術語「側氧基」係指雙鍵鍵合至化合物之氧原子(即，O=)。

如本文中所使用，術語「醫藥上可接受之賦形劑」係指有助於向個體投與活性劑之物質。「醫藥上可接受之」意指賦形劑與調配物之其他成分相容且對其接受者無害。可用於本發明中之醫藥賦形劑包括(但不限於)黏合劑、填充劑、崩解劑、潤滑劑、助流劑、塗料、甜味劑、矯味劑及色彩。

如本文中所使用，術語「鹽」係指本發明化合物之酸式鹽或鹼式鹽。醫藥上可接受之鹽之說明性實例係礦物酸(鹽酸、氫溴酸、磷酸及諸如此類)鹽、有機酸(乙酸、丙酸、麩胺酸、檸檬酸及諸如此類)鹽、四級銨(碘甲烷、碘乙烷及諸如此類)鹽。應理解，醫藥上可接受之鹽無毒。

本發明之酸性化合物之醫藥上可接受之鹽係與鹼所形成之鹽，即陽

離子鹽，例如鹼金屬鹽及鹼土金屬鹽(例如鈉、鋰、鉀、鈣、鎂)以及銨鹽(例如銨、三甲基銨、二乙基銨及參-(羥基甲基)-甲基-銨鹽)。

類似地，酸加成鹽，例如礦物酸、有機羧酸及有機磺酸(例如鹽酸、甲磺酸、馬來酸)之酸加成鹽亦有可能，條件係鹼性基(例如吡啶基)構成結構之一部分。

化合物之中性形式可藉由使鹽與鹼或酸接觸並以習用方式分離母體化合物來再生。化合物之母體形式在某些物理性質上與各種鹽形式不同(例如在極性溶劑中之溶解性)，但在其他方面，於本發明之目的，該等鹽等效於化合物之母體形式。

除了鹽形式以外，本發明提供呈前藥形式之化合物。本文中所述化合物之前藥係在生理條件下容易進行化學變化以提供本發明化合物之彼等化合物。另外，前藥可藉由化學或生物化學方法在離體環境中轉化為本發明之化合物。舉例而言，當與適宜酶或化學試劑一起置於經皮貼片貯器中時，前藥可緩慢轉化為本發明之化合物。

如本文中所使用，術語「牙齦蛋白酶反應性部分」係指化合物中與牙齦蛋白酶活性位點硫醇反應以形成經共價修飾之牙齦蛋白酶之化學官能基或係指化合物中與牙齦蛋白酶相互作用以形成非共價之牙齦蛋白酶/化合物複合物之化學官能基。牙齦蛋白酶反應性部分之實例包括(但不限於)鹵乙醯胺基(包括氯乙醯胺及碘乙醯胺)、馬來醯亞胺基、苯并噻唑基-羰基及苯氧基甲基(包括鹵化苯氧基甲基)。

如本文中所使用，術語「報告子部分」係指可使用包括(但不限於)光學方法(例如，螢光或UV-vis吸光度)及生物化學方法(例如，利用免疫化學試劑(例如抗體))之技術檢測之化合物中之化學官能基。

如本文中所使用，術語「治療(treat、treatment及treating)」係指在治療或改善損傷、病理、病狀或症狀(例如，認知損害)方面(包括任何客觀或主觀參數)出現任何成功之跡象，例如，症狀減輕、緩解、消除或使患者更能耐受該症狀、損傷、病理或病狀；降低症狀進展之速率；減小症狀或病狀之頻率或持續時間；或在一些情況下預防症狀發作。症狀之治療或改善可基於任何客觀或主觀參數；包括(例如)身體檢查結果。

如本文中所使用，術語「有效量」及「治療有效量」係指產生其投與治療效應之化合物(例如Rgp抑制劑)之劑量。準確劑量將取決於治療目的，且將可由熟習此項技術者使用已知技術來確定(例如，參見Lieberman, *Pharmaceutical Dosage Forms* (第1-3卷, 1992)；Lloyd, *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding* (1999)；Pickar, *Dosage Calculations* (1999)；Goodman及Gilman, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 第11版, 2006, Brunton編輯, McGraw-Hill；及Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 第21版, 2005, Hendrickson編輯, Lippincott, Williams & Wilkins)。

如本文中所使用，術語「阿茲海默氏病」係指人類及其他哺乳動物之中樞神經系統之進展性疾病。其顯現為失智症(尤其在老人中)；迷失方向；記憶喪失；語言、計算或視覺空間技能困難；及精神病學表現。阿茲海默氏病與進展性神經退化及特徵性病理學(即 $\beta$ 類澱粉斑塊及tau纏結)相關。

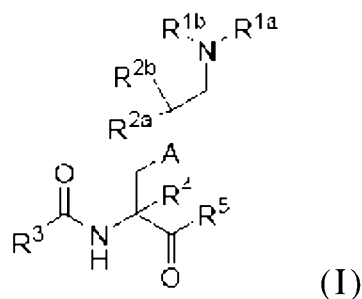
如本文中所使用，術語「骨關節炎」係指由關節軟骨、滑膜組織及下伏骨之分解所造成之慢性退化性關節疾病。

如本文中所使用，術語「個體」係指動物，例如哺乳動物，其包括

(但不限於)靈長類(例如人類)、牛、綿羊、山羊、馬、狗、貓、兔、大鼠、小鼠及諸如此類。

### III. 離胺酸牙齦蛋白酶之抑制劑

本發明提供用於抑制牙齦卟啉單胞菌之化合物。在第一實施例中，本發明提供式I化合物：



或其醫藥上可接受之鹽，其中：

A係選自-CH<sub>2</sub>-及-O-；

R<sup>1a</sup>及R<sup>1b</sup>係各自獨立地選自氫、C<sub>1-4</sub>烷基及胺保護基團；

R<sup>2a</sup>及R<sup>2b</sup>係各自獨立地選自氫、鹵素、C<sub>1-4</sub>鹵烷基及C<sub>1-4</sub>鹵烷氧基；

R<sup>3</sup>係選自C<sub>3-8</sub>環烷基、C<sub>3-8</sub>烷基、3員至12員雜環基、C<sub>6-10</sub>芳基、5員至12員雜芳基及報告子部分，其中R<sup>3</sup>視情況經一或多個R<sup>3a</sup>取代基取代；

每一R<sup>3a</sup>係獨立地選自鹵素、-CN、-NO<sub>2</sub>、-N<sub>3</sub>、-OH、C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>鹵烷基、C<sub>1-4</sub>鹵烷氧基、C<sub>1-4</sub>鹵烷氧基、-N(R<sup>c</sup>)<sub>2</sub>、-N<sup>+</sup>(R<sup>b</sup>)<sub>3</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>k</sub>C(O)R<sup>b</sup>、-NR<sup>c</sup>(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>C(O)R<sup>b</sup>、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>C(O)R<sup>b</sup>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>k</sub>CONR<sup>c</sup>R<sup>c</sup>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>k</sub>NR<sup>c</sup>C(O)R<sup>b</sup>、-NR<sup>c</sup>(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>CONR<sup>c</sup>R<sup>c</sup>、-NR<sup>c</sup>(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>NR<sup>c</sup>C-(O)R<sup>b</sup>、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>CONR<sup>c</sup>R<sup>c</sup>及-O(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>NR<sup>c</sup>C(O)R<sup>b</sup>以及視情況經取代之三唑基；

每一R<sup>b</sup>係獨立地選自C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>鹵烷基及C<sub>1-4</sub>氘代烷基；

每一R<sup>c</sup>係獨立地選自氫及C<sub>1-8</sub>烷基；

每一下標 $k$ 係獨立地選自0、1、2、3、4、5及6；

每一下標 $u$ 係獨立地選自1、2、3、4、5及6；

$R^4$ 係選自氫及 $C_{1-4}$ 烷基；

$R^5$ 係選自 $-CH_2R^{5a}$ 、 $-CHS(O)(R^{5b})_2$ 及 $C_{1-6}$ 鹵烷基；

$R^{5a}$ 係選自 $-O-R^6$ 、 $-S-R^7$ 、 $-SO-R^7$ 、 $-SO_2-R^7$ 、 $-N(R^8)_2$ 、5員至12員雜芳基及3員至12員雜環基，

其中5員至12員雜芳基視情況經一或多個獨立地選自鹵素、 $C_{1-3}$ 烷基及 $C_{1-3}$ 鹵烷基之成員取代，且

3員至12員雜環基視情況經一或多個獨立地選自側氧基、鹵素、 $C_{1-3}$ 烷基及 $C_{1-3}$ 鹵烷基之成員取代；

每一 $R^{5b}$ 係獨立選擇之 $C_{1-6}$ 烷基；

$R^6$ 及 $R^7$ 係選自苯基、 $C_{1-6}$ 烷基、 $C_{1-6}$ 鹵烷基及5員至12員雜芳基，

其中苯基經1至5個鹵素取代，且

其中5員至12員雜芳基視情況經一或多個鹵素、 $C_{1-3}$ 烷基或 $C_{1-3}$ 鹵烷基取代；

每一 $R^8$ 係獨立選擇之 $C_{1-6}$ 烷基；且

$R^5$ 視情況包含淬滅部分 $R^9$ ；

條件係 $R^5$ 不為2,3,5,6-四氟苯氧基甲基。

在一些實施例中：

A係選自 $-CH_2-$ 及 $-O-$ ；

$R^{1a}$ 及 $R^{1b}$ 係各自獨立地選自氫、 $C_{1-4}$ 烷基及胺保護基團；

$R^{2a}$ 及 $R^{2b}$ 係各自獨立地選自氫、鹵素、 $C_{1-4}$ 鹵烷基及 $C_{1-4}$ 鹵烷氧基；

$R^3$ 係選自 $C_{3-8}$ 環烷基、 $C_{3-8}$ 烷基、 $C_{6-10}$ 芳基、 $C_{5-12}$ 雜芳基及 $C_{3-12}$ 雜環

基，其中 $R^3$ 視情況經一或多個 $R^{3a}$ 取代基取代；

每一 $R^{3a}$ 係獨立地選自鹵素、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-N_3$ 、 $-OH$ 、 $C_{1-4}$ 烷基、 $C_{1-4}$ 鹵烷基、 $C_{1-4}$ 烷氧基、 $C_{1-4}$ 鹵烷氧基、 $-N(R^c)_2$ 、 $-(CH_2)_kC(O)R^b$ 、 $-NR^c(CH_2)_uC(O)R^b$ 、 $-O(CH_2)_uC(O)R^b$ 、 $-(CH_2)_kCONR^cR^c$ 、 $-(CH_2)_kNR^cC(O)R^b$ 、 $-NR^c(CH_2)_uCONR^cR^c$ 、 $-NR^c(CH_2)_uNR^cC(O)R^b$ 、 $-O(CH_2)_uCONR^cR^c$ 、及 $-O(CH_2)_uNR^cC(O)R^b$ 以及視情況經取代之三唑基；

每一 $R^b$ 係獨立地選自 $C_{1-4}$ 烷基、 $C_{1-4}$ 鹵烷基及 $C_{1-4}$ 氘代烷基；

每一 $R^c$ 係獨立地選自氫及 $C_{1-8}$ 烷基；

每一下標 $k$ 係獨立地選自0、1、2、3、4、5及6；

每一下標 $u$ 係獨立地選自1、2、3、4、5及6；

$R^4$ 係選自氫及 $C_{1-4}$ 烷基；

$R^5$ 係選自 $C_{1-6}$ 鹵烷基及 $-CH_2R^{5a}$ ；

$R^{5a}$ 係選自 $-O-R^6$ 、 $-S-R^7$ 、 $-SO-R^7$ 、 $-SO_2-R^7$ 、 $-N(R^8)_2$ 及 $C_{5-12}$ 雜芳基；

$R^6$ 係選自苯基、 $C_{1-6}$ 烷基、 $C_{1-6}$ 鹵烷基及 $C_{5-12}$ 雜芳基，

其中苯基經1至5個鹵素取代，且

其中 $C_{5-12}$ 雜芳基視情況經鹵素或 $C_{1-3}$ 鹵烷基取代；

$R^7$ 係選自苯基、 $C_{1-6}$ 烷基、 $C_{1-6}$ 鹵烷基及 $C_{5-12}$ 雜芳基，

其中苯基視情況經1至5個鹵素取代，且

其中 $C_{5-12}$ 雜芳基視情況經鹵素或 $C_{1-3}$ 鹵烷基取代；且

每一 $R^8$ 係獨立選擇之 $C_{1-6}$ 烷基；

條件係當 $R^5$ 不為2,3,5,6-四氟苯氧基甲基時。

本發明之化合物可以經保護之形式(即，其中 $R^{1a}$ 及 $R^{1b}$ 之至少一者係

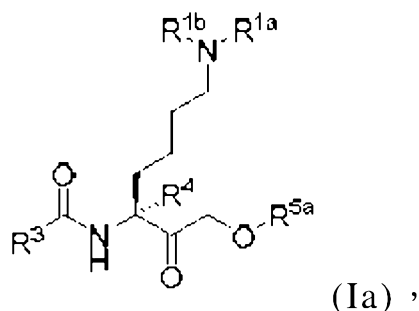
胺保護基團之化合物)來製備。可使用多個適宜保護基團，如(例如) Green 及 Wuts (*Protective Groups in Organic Synthesis*, 第4版, 2007, Wiley-Interscience, New York)所闡述。在一些實施例中， $R^{1a}$ 係H且 $R^{1b}$ 係選自苄基氧基羰基；9-芡基甲基-氧基羰基；第三丁基氧基羰基；及烯丙基氧基羰基。在一些實施例中， $R^{1a}$ 係H且 $R^{1b}$ 係第三丁基氧基羰基。化合物亦可以烷基化形式(即，其中 $R^{1a}$ 及 $R^{1b}$ 之至少一者係烷基之化合物)來製備。 $R^{1a}$ 及 $R^{1b}$ 之一者或兩者可係(例如)甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基或第三丁基。

在一些實施例中， $R^{1a}$ 及 $R^{1b}$ 係H； $R^{2a}$ 及 $R^{2b}$ 係獨立地選自氫及氟；且A係-CH<sub>2</sub>-。

在一些實施例中， $R^{1a}$ 及 $R^{1b}$ 係H； $R^{2a}$ 及 $R^{2b}$ 係獨立地選自氫及氟；A係-CH<sub>2</sub>-；且 $R^4$ 係選自氫及C<sub>1-4</sub>烷基。在一些此等實施例中， $R^4$ 係選自氫及甲基。在一些此等實施例中， $R^4$ 係氫。

在一些實施例中，A係-CH<sub>2</sub>-； $R^{2a}$ 係氫； $R^{2b}$ 係氫或氟；且 $R^{1a}$ 及 $R^{1b}$ 係H。在一些實施例中，A係-CH<sub>2</sub>-； $R^{2a}$ 係氫； $R^{2b}$ 係氟；且 $R^{1a}$ 及 $R^{1b}$ 係H。

在一些實施例中，本發明提供具有式Ia結構之化合物：



及其醫藥上可接受之鹽。

在一些實施例中，本發明提供式I或式Ia之化合物及其醫藥上可接受



之鹽，其中 $R^3$ 係選自 $C_{3-8}$ 環烷基、 $C_{3-8}$ 烷基、 $C_{6-10}$ 芳基、 $C_{5-12}$ 雜芳基及 $C_{3-12}$ 雜環基，其各自視情況經一或多個 $R^{3a}$ 取代基取代。舉例而言， $R^3$ 可係環丙基、環丁基、環戊基、環己基、環庚基或環辛基。 $R^3$ 可係正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、第二丁基、第三丁基、正戊基、具支鏈戊基、正己基、具支鏈己基、正庚基、具支鏈庚基、正辛基或具支鏈辛基。在一些實施例中， $R^3$ 係選自未經取代或經取代之環丁基、未經取代或經取代之環戊基及未經取代或經取代之環己基。在一些實施例中， $R^3$ 係未經取代或經取代之異丙基。

在一些實施例中， $R^3$ 係選自未經取代或經取代之苯基及未經取代或經取代之萘基。在一些實施例中， $R^3$ 係選自未經取代或經取代之吡咯基、未經取代或經取代之吡啶基、未經取代或經取代之咪唑基、未經取代或經取代之吡唑基、未經取代或經取代之三唑基、未經取代或經取代之吡嗪基、未經取代或經取代之三嗪基、未經取代或經取代之吡啶基、未經取代或經取代之異吡啶基及未經取代或經取代之喹啉基。

在一些實施例中， $R^3$ 係選自環戊基及苯基，其各自視情況經一或多個 $R^{3a}$ 取代基取代。在一些此等實施例中，每一 $R^{3a}$ 係獨立地選自鹵素、 $-N_3$ 、 $C_{1-4}$ 烷基、 $C_{1-4}$ 鹵烷基、 $C_{1-4}$ 烷氧基、 $C_{1-4}$ 鹵烷氧基及 $-NR^cC(O)R^b$ 。在一些實施例中， $R^3$ 係環戊基。

在一些實施例中，本發明提供式I或式Ia之化合物及其醫藥上可接受之鹽，其中 $R^3$ 係選自 $C_{3-8}$ 烷基、 $C_{3-8}$ 環烷基、 $C_{6-10}$ 芳基、 $C_{5-12}$ 雜芳基及 $C_{3-12}$ 雜環基，其各自視情況經一或多個 $R^{3a}$ 取代基取代。在一些此等實施例中， $R^3$ 係選自異丙基、環戊基、苯基、吡啶-2-基、吡啶-3-基及吡啶-4-基，其各自視情況經一或多個 $R^{3a}$ 取代基取代。在一些此等實施例中，每

一 $R^{3a}$ 係獨立地選自鹵素、 $-N_3$ 、 $C_{1-4}$ 烷基、 $C_{1-4}$ 鹵烷基、 $C_{1-4}$ 烷氧基、 $C_{1-4}$ 鹵烷氧基、 $C_{1-4}$ 烷氧基、 $C_{1-4}$ 鹵烷氧基、 $-N(R^c)_2$ 、 $-N^+(R^b)_3$ 及 $-NR^cC(O)R^b$ 。

在一些實施例中， $R^3$ 係環戊基。在一些實施例中， $R^3$ 係環戊基且 $R^5$ 係選自如下文所述之實施例(A)、實施例(B)、實施例(C)、實施例(D)、實施例(E)、實施例(F)、實施例(G)、實施例(H)、實施例(J)或實施例(K)中之取代基。

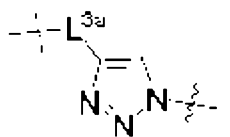
在一些實施例中， $R^3$ 係經 $C_{1-4}$ 烷氧基(例如，甲氧基、乙氧基、異丙氧基、第三丁氧基及諸如此類)取代之 $C_{3-8}$ 烷基(例如，正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、第二丁基、第三丁基、正戊基及諸如此類)。在一些實施例中， $R^3$ 係甲氧基丙基。在一些實施例中， $R^3$ 係(2-甲氧基)-丙-2-基。在一些實施例中， $R^3$ 係(2-甲氧基)丙-2-基且 $R^5$ 係選自如下文所述之實施例(A)、實施例(B)、實施例(C)、實施例(D)、實施例(E)、實施例(F)、實施例(G)、實施例(H)、實施例(J)或實施例(K)中之取代基。

在一些實施例中， $R^3$ 係未經取代之苯基或 $R^3$ 係經一或多個鹵素、 $-N_3$ 、 $C_{1-4}$ 鹵烷氧基及/或 $-NR^cC(O)R^b$ 取代之苯基。在一些此等實施例中， $R^5$ 係選自如下文所述之實施例(A)、實施例(B)、實施例(C)、實施例(D)、實施例(E)、實施例(F)、實施例(G)、實施例(H)、實施例(J)或實施例(K)中之取代基。

在一些實施例中， $R^3$ 係未經取代之吡啶基(即，吡啶-2-基、吡啶-3-基或吡啶-4-基)或經一或多個鹵素、 $-N(R^c)_2$ 及/或 $-N^+(R^b)_3$ 取代之吡啶基。在一些此等實施例中， $R^5$ 係選自如下文所述之實施例(A)、實施例(B)、實施例(C)、實施例(D)、實施例(E)、實施例(F)、實施例(G)、實施例(H)、

實施例(J)或實施例(K)中之取代基。

含有疊氮基團之化合物(例如，其中 $R^{3a}$ 係 $-N_3$ 之化合物)可經由與互補反應配偶體(例如含炔烴之化合物或含膈化合物)反應經其他官能基修飾。疊氮化物與炔烴經由[3+2]環加成(通常稱為「點擊化學」)之反應可用於在本發明之化合物中安裝各種經取代之三唑基。因此，本發明之一些實施例提供化合物，其中連接部分 $-L^3-$ 係根據下式之視情況經取代之三唑基部分：



其中波形線係與 $R^{3a}$ 之連結點且虛線係與 $R^{3c}$ 之連結點。

在一些實施例中，連接部分 $L^{3a}$ 具有結構 $-L^{3b}-L^{3c}-$ ，其中 $L^{3b}$ 及 $L^{3c}$ 係獨立地選自鍵、二價聚合物部分及直鏈或具支鏈、飽和或不飽和 $C_{1-30}$ 烷基；

其中 $C_{1-30}$ 烷基中之一或多個碳原子視情況且獨立地由O、S、 $NR^a$ 替代；

其中 $C_{1-30}$ 烷基中之兩個或更多個毗鄰碳原子組群視情況且獨立地由 $-NR^a(CO)-$ 或 $-(CO)NR^a-$ 替代；且

其中 $C_{1-30}$ 烷基中之兩個或更多個毗鄰碳原子組群視情況且獨立地由4員至8員二價碳環或4員至8員具有1至4個選自O、S及N之雜原子之二價雜環替代；

且其中每一 $R^a$ 係獨立地選自H及 $C_{1-6}$ 烷基。

在一些實施例中，官能基 $R^{3c}$ 係選自發色團、螢光團及結合部分(例如，生物素、麩胱甘肽及諸如此類)，如下文更詳細地闡述。

在某些實施例中， $R^3$ 與其所鍵合之羰基形成除天然胺基酸殘基(L胺基酸殘基)或天然胺基酸殘基之異構物(D胺基酸殘基)以外之部分。在一些實施例中， $R^3$ 與其所鍵合之羰基形成除以下以外之部分：天冬醯胺醯基、經取代之天冬醯胺醯基、麩醯胺醯基(即，麩醯胺酸殘基)、經取代之麩醯胺醯基(即，經取代之麩醯胺酸殘基)、麩胺醯基(即，麩胺酸殘基)、經取代之麩胺醯基(即，經取代之麩胺酸殘基)、異白胺醯基、經取代之異白胺醯基、白胺醯基、經取代之白胺醯基、離胺醯基、經取代之離胺醯基、甲硫胺醯基、經取代之甲硫胺醯基、脯胺醯基、經取代之脯胺醯基、蘇胺醯基、經取代之蘇胺醯基、纈胺醯基或經取代之纈胺醯基。經取代之胺基酸殘基可存在於具有兩個或更多個經由胺鍵連接之胺基酸殘基之較大肽基團中。

在一些實施例中，本發明提供式I或式Ia之化合物及其醫藥上可接受之鹽，其中 $R^4$ 係氫或甲基。在一些此等實施例中， $R^5$ 係 $-CH_2R^{5a}$ 且 $R^{5a}$ 係選自 $C_{5-12}$ 雜芳基及 $-O-R^6$ 。在一些此等實施例中， $R^{5a}$ 係 $-O-$ 苯基，其中苯基經1至5個鹵素取代。在一些此等實施例中， $R^4$ 係氫。

在一些實施例中，式I或式Ia之化合物中之 $R^{5a}$ 係選自 $-S-R^7$ 、 $-SO-R^7$ 、 $-SO_2-R^7$ 、 $C_{5-12}$ 雜芳基及 $-N-R^8$ 。在一些實施例中， $R^{5a}$ 係選自 $-O-R^6$ 、 $C_{5-12}$ 雜芳基及 $-N-R^8$ 。在一些實施例中， $R^{5a}$ 係選自 $-O-R^6$ 、 $-S-R^7$ 、 $-SO-R^7$ 、 $-SO_2-R^7$ 及 $-N-R^8$ 。在一些實施例中， $R^{5a}$ 係選自 $-O-R^6$ 、 $-S-R^7$ 、 $-SO-R^7$ 、 $-SO_2-R^7$ 及 $C_{5-12}$ 雜芳基。

在一些實施例(A)中，式I或式Ia之化合物中之 $R^{5a}$ 係選自 $C_{1-6}$ 鹵烷氧基(即 $-O-R^6$ ，其中 $R^6$ 係 $C_{1-6}$ 鹵烷基)、 $C_{1-6}$ 烷硫基(即 $-S-R^7$ ，其中 $R^7$ 係 $C_{1-6}$ 烷基)、 $C_{1-6}$ 鹵烷硫基(即 $-S-R^7$ ，其中 $R^7$ 係 $C_{1-6}$ 鹵烷基)、 $C_{1-6}$ 烷基磺醯基(即-

$\text{SO}_2\text{-R}^7$ ，其中 $\text{R}^7$ 係 $\text{C}_{1-6}$ 烷基)、( $\text{C}_{1-6}$ 二烷基)胺基(即 $\text{-NR}^8$ )、 $\text{C}_{5-12}$ 雜芳基、3員至12員雜環基、 $\text{-O-}$ 苯基(其中苯基經1至5個鹵素取代)及 $\text{-S-}$ 苯基(其中苯基視情況經1至5個鹵素取代)。在實施例(A)中， $\text{R}^3$ 可係上文所述之取代基或取代基群之任一者。

在一些實施例(B)中，式I或式Ia之化合物中之 $\text{R}^{5a}$ 係選自 $\text{C}_{1-6}$ 烷氧基、 $\text{C}_{1-6}$ 烷硫基、 $\text{C}_{1-6}$ 鹵烷硫基、 $\text{C}_{1-6}$ 烷基磺醯基、( $\text{C}_{1-6}$ 二烷基)胺基、 $\text{C}_{5-12}$ 雜芳基、3員至12員雜環基、 $\text{-O-}$ 苯基(其中苯基經1至5個鹵素取代)及 $\text{-S-}$ 苯基(其中苯基視情況經1至5個鹵素取代)。在實施例(B)中， $\text{R}^3$ 可係上文所述之取代基或取代基群之任一者。

在一些實施例(C)中，式I或式Ia之化合物中之 $\text{R}^{5a}$ 係選自 $\text{C}_{1-6}$ 烷氧基、 $\text{C}_{1-6}$ 鹵烷氧基、 $\text{C}_{1-6}$ 鹵烷硫基、 $\text{C}_{1-6}$ 烷基磺醯基、( $\text{C}_{1-6}$ 二烷基)胺基、 $\text{C}_{5-12}$ 雜芳基、3員至12員雜環基、 $\text{-O-}$ 苯基(其中苯基經1至5個鹵素取代)及 $\text{-S-}$ 苯基(其中苯基視情況經1至5個鹵素取代)。在實施例(C)中， $\text{R}^3$ 可係上文所述之取代基或取代基群之任一者。

在一些實施例(D)中，式I或式Ia之化合物中之 $\text{R}^{5a}$ 係選自 $\text{C}_{1-6}$ 烷氧基、 $\text{C}_{1-6}$ 鹵烷氧基、 $\text{C}_{1-6}$ 烷硫基、 $\text{C}_{1-6}$ 烷基磺醯基、( $\text{C}_{1-6}$ 二烷基)胺基、 $\text{C}_{5-12}$ 雜芳基、3員至12員雜環基、 $\text{-O-}$ 苯基(其中苯基經1至5個鹵素取代)及 $\text{-S-}$ 苯基(其中苯基視情況經1至5個鹵素取代)。在實施例(D)中， $\text{R}^3$ 可係上文所述之取代基或取代基群之任一者。

在一些實施例(E)中，式I或式Ia之化合物中之 $\text{R}^{5a}$ 係選自 $\text{C}_{1-6}$ 烷氧基、 $\text{C}_{1-6}$ 鹵烷氧基、 $\text{C}_{1-6}$ 烷硫基、 $\text{C}_{1-6}$ 鹵烷硫基、( $\text{C}_{1-6}$ 二烷基)胺基、 $\text{C}_{5-12}$ 雜芳基、3員至12員雜環基、 $\text{-O-}$ 苯基(其中苯基經1至5個鹵素取代)及 $\text{-S-}$ 苯基(其中苯基視情況經1至5個鹵素取代)。在實施例(E)中， $\text{R}^3$ 可係上文所述

之取代基或取代基群之任一者。

在一些實施例(F)中，式I或式Ia之化合物中之 $R^{5a}$ 係選自 $C_{1-6}$ 烷氧基、 $C_{1-6}$ 鹵烷氧基、 $C_{1-6}$ 烷硫基、 $C_{1-6}$ 鹵烷硫基、 $C_{1-6}$ 烷基磺醯基、 $C_{5-12}$ 雜芳基、3員至12員雜環基、-O-苯基(其中苯基經1至5個鹵素取代)及-S-苯基(其中苯基視情況經1至5個鹵素取代)。在實施例(F)中， $R^3$ 可係上文所述之取代基或取代基群之任一者。

在一些實施例(G)中，式I或式Ia之化合物中之 $R^{5a}$ 係選自 $C_{1-6}$ 烷氧基、 $C_{1-6}$ 鹵烷氧基、 $C_{1-6}$ 烷硫基、 $C_{1-6}$ 鹵烷硫基、 $C_{1-6}$ 烷基磺醯基、( $C_{1-6}$ 二烷基)胺基、3員至12員雜環基、-O-苯基(其中苯基經1至5個鹵素取代)及-S-苯基(其中苯基視情況經1至5個鹵素取代)。在實施例(G)中， $R^3$ 可係上文所述之取代基或取代基群之任一者。

在一些實施例(H)中，式I或式Ia之化合物中之 $R^{5a}$ 係選自 $C_{1-6}$ 烷氧基、 $C_{1-6}$ 鹵烷氧基、 $C_{1-6}$ 烷硫基、 $C_{1-6}$ 鹵烷硫基、 $C_{1-6}$ 烷基磺醯基、( $C_{1-6}$ 二烷基)胺基、 $C_{5-12}$ 雜芳基、3員至12員雜環基及-S-苯基(其中苯基視情況經1至5個鹵素取代)。在實施例(H)中， $R^3$ 可係上文所述之取代基或取代基群之任一者。

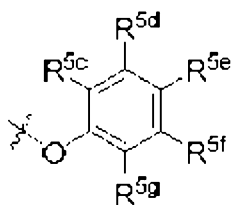
在一些實施例(J)中，式I或式Ia之化合物中之 $R^{5a}$ 係選自 $C_{1-6}$ 烷氧基、 $C_{1-6}$ 鹵烷氧基、 $C_{1-6}$ 烷硫基、 $C_{1-6}$ 鹵烷硫基、 $C_{1-6}$ 烷基磺醯基、( $C_{1-6}$ 二烷基)胺基、 $C_{5-12}$ 雜芳基、3員至12員雜環基及-O-苯基(其中苯基經1至5個鹵素取代)。在實施例(J)中， $R^3$ 可係上文所述之取代基或取代基群之任一者。

在一些實施例(K)中，式I或式Ia之化合物中之 $R^{5a}$ 係選自 $C_{1-6}$ 烷氧基、 $C_{1-6}$ 鹵烷氧基、 $C_{1-6}$ 烷硫基、 $C_{1-6}$ 鹵烷硫基、 $C_{1-6}$ 烷基磺醯基、( $C_{1-6}$ 二烷

基)胺基、 $C_{5-12}$ 雜芳基、-O-苯基(其中苯基經1至5個鹵素取代)及-S-苯基(其中苯基視情況經1至5個鹵素取代)。在實施例(K)中， $R^3$ 可係上文所述之取代基或取代基群之任一者。

在一些實施例中， $R^{5a}$ 中之每一鹵素係獨立地選自F及Cl。在一些實施例中， $R^{5a}$ 中之每一鹵素係F。

在一些實施例中， $R^{5a}$ 係具有以下結構之部分：



其中 $R^{5b}$ 、 $R^{5c}$ 、 $R^{5d}$ 、 $R^{5e}$ 及 $R^{5f}$ 係獨立地選自氫及鹵素，且波形線表示與化合物之連結點。

在一些實施例中：

$R^{5c}$ 係鹵素， $R^{5d}$ 係H， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係H；或

$R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係鹵素， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係H；或

$R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係H， $R^{5e}$ 係鹵素， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係H；或

$R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係H， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係鹵素，且 $R^{5g}$ 係H；或

$R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係H， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係鹵素；或

$R^{5c}$ 係鹵素， $R^{5d}$ 係鹵素， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係H；或

$R^{5c}$ 係鹵素， $R^{5d}$ 係H， $R^{5e}$ 係鹵素， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係H；或

$R^{5c}$ 係鹵素， $R^{5d}$ 係H， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係鹵素，且 $R^{5g}$ 係H；或

$R^{5c}$ 係鹵素， $R^{5d}$ 係H， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係鹵素；或

$R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係鹵素， $R^{5e}$ 係鹵素， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係H；或

$R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係鹵素， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係鹵素，且 $R^{5g}$ 係H；或

$R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係鹵素， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係鹵素；或

$R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係鹵素,  $R^{5f}$  係鹵素, 且  $R^{5g}$  係 H; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係鹵素,  $R^{5f}$  係 H, 且  $R^{5g}$  係鹵素; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係 H,  $R^{5f}$  係鹵素, 且  $R^{5g}$  係鹵素; 或  
 $R^{5c}$  係鹵素,  $R^{5d}$  係鹵素,  $R^{5c}$  係鹵素,  $R^{5f}$  係 H, 且  $R^{5g}$  係 H; 或  
 $R^{5c}$  係鹵素,  $R^{5d}$  係鹵素,  $R^{5c}$  係 H,  $R^{5f}$  係鹵素, 且  $R^{5g}$  係 H; 或  
 $R^{5c}$  係鹵素,  $R^{5d}$  係鹵素,  $R^{5c}$  係 H,  $R^{5f}$  係 H, 且  $R^{5g}$  係鹵素; 或  
 $R^{5c}$  係鹵素,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係鹵素,  $R^{5f}$  係鹵素, 且  $R^{5g}$  係 H; 或  
 $R^{5c}$  係鹵素,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係鹵素,  $R^{5f}$  係 H, 且  $R^{5g}$  係鹵素; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係鹵素,  $R^{5c}$  係鹵素,  $R^{5f}$  係鹵素, 且  $R^{5g}$  係 H; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係鹵素,  $R^{5c}$  係鹵素,  $R^{5f}$  係 H, 且  $R^{5g}$  係鹵素; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係鹵素,  $R^{5c}$  係 H,  $R^{5f}$  係鹵素, 且  $R^{5g}$  係鹵素; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係鹵素,  $R^{5f}$  係鹵素, 且  $R^{5g}$  係鹵素; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係鹵素,  $R^{5c}$  係鹵素,  $R^{5f}$  係鹵素, 且  $R^{5g}$  係鹵素; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係鹵素,  $R^{5c}$  係 H,  $R^{5f}$  係鹵素, 且  $R^{5g}$  係鹵素; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係鹵素,  $R^{5f}$  係鹵素, 且  $R^{5g}$  係鹵素; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係鹵素,  $R^{5c}$  係鹵素,  $R^{5f}$  係鹵素, 且  $R^{5g}$  係鹵素; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係鹵素,  $R^{5c}$  係 H,  $R^{5f}$  係鹵素, 且  $R^{5g}$  係鹵素; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係鹵素,  $R^{5f}$  係鹵素, 且  $R^{5g}$  係 H。

在一些實施例中：

$R^{5c}$  係 F 或 Cl,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係 H,  $R^{5f}$  係 H, 且  $R^{5g}$  係 H; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 F 或 Cl,  $R^{5c}$  係 H,  $R^{5f}$  係 H, 且  $R^{5g}$  係 H; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係 F 或 Cl,  $R^{5f}$  係 H, 且  $R^{5g}$  係 H; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係 H,  $R^{5f}$  係 F 或 Cl, 且  $R^{5g}$  係 H; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係 H,  $R^{5f}$  係 H, 且  $R^{5g}$  係 F 或 Cl; 或



$R^{5c}$ 係F或C1， $R^{5d}$ 係F或C1， $R^{5c}$ 係H， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係F或C1， $R^{5d}$ 係H， $R^{5c}$ 係F或C1， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係F或C1， $R^{5d}$ 係H， $R^{5c}$ 係H， $R^{5f}$ 係F或C1，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係F或C1， $R^{5d}$ 係H， $R^{5c}$ 係H， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係F或C1；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係F或C1， $R^{5c}$ 係F或C1， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係F或C1， $R^{5c}$ 係H， $R^{5f}$ 係F或C1，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係F或C1， $R^{5c}$ 係H， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係F或C1；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係H， $R^{5c}$ 係F或C1， $R^{5f}$ 係F或C1，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係H， $R^{5c}$ 係F或C1， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係F或C1；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係H， $R^{5c}$ 係H， $R^{5f}$ 係F或C1，且 $R^{5g}$ 係F或C1；或  
 $R^{5c}$ 係F或C1， $R^{5d}$ 係F或C1， $R^{5c}$ 係F或C1， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係F或C1， $R^{5d}$ 係F或C1， $R^{5c}$ 係H， $R^{5f}$ 係F或C1，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係F或C1， $R^{5d}$ 係F或C1， $R^{5c}$ 係H， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係F或C1；或  
 $R^{5c}$ 係F或C1， $R^{5d}$ 係H， $R^{5c}$ 係F或C1， $R^{5f}$ 係F或C1，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係F或C1， $R^{5d}$ 係H， $R^{5c}$ 係F或C1， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係F或C1；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係F或C1， $R^{5c}$ 係F或C1， $R^{5f}$ 係F或C1，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係F或C1， $R^{5c}$ 係F或C1， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係F或C1；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係F或C1， $R^{5c}$ 係H， $R^{5f}$ 係F或C1，且 $R^{5g}$ 係F或C1；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係H， $R^{5c}$ 係F或C1， $R^{5f}$ 係F或C1，且 $R^{5g}$ 係F或C1；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係F或C1， $R^{5c}$ 係F或C1， $R^{5f}$ 係F或C1，且 $R^{5g}$ 係F或C1；

或

$R^{5c}$ 係F或C1， $R^{5d}$ 係H， $R^{5c}$ 係F或C1， $R^{5f}$ 係F或C1，且 $R^{5g}$ 係F或C1；

或

$R^{5c}$  係 F 或 CI， $R^{5d}$  係 F 或 CI， $R^{5e}$  係 F 或 CI， $R^{5f}$  係 H，且  $R^{5g}$  係 F 或 CI；

或

$R^{5c}$  係 F 或 CI， $R^{5d}$  係 F 或 CI， $R^{5e}$  係 F 或 CI， $R^{5f}$  係 F 或 CI，且  $R^{5g}$  係 H。

在一些實施例中：

$R^{5c}$  係 F， $R^{5d}$  係 H， $R^{5e}$  係 H， $R^{5f}$  係 H，且  $R^{5g}$  係 H；或

$R^{5c}$  係 H， $R^{5d}$  係 F， $R^{5e}$  係 H， $R^{5f}$  係 H，且  $R^{5g}$  係 H；或

$R^{5c}$  係 H， $R^{5d}$  係 H， $R^{5e}$  係 F， $R^{5f}$  係 H，且  $R^{5g}$  係 H；或

$R^{5c}$  係 H， $R^{5d}$  係 H， $R^{5e}$  係 H， $R^{5f}$  係 F，且  $R^{5g}$  係 H；或

$R^{5c}$  係 H， $R^{5d}$  係 H， $R^{5e}$  係 H， $R^{5f}$  係 H，且  $R^{5g}$  係 F；或

$R^{5c}$  係 F， $R^{5d}$  係 F， $R^{5e}$  係 H， $R^{5f}$  係 H，且  $R^{5g}$  係 H；或

$R^{5c}$  係 F， $R^{5d}$  係 H， $R^{5e}$  係 F， $R^{5f}$  係 H，且  $R^{5g}$  係 H；或

$R^{5c}$  係 F， $R^{5d}$  係 H， $R^{5e}$  係 H， $R^{5f}$  係 F，且  $R^{5g}$  係 H；或

$R^{5c}$  係 F， $R^{5d}$  係 H， $R^{5e}$  係 H， $R^{5f}$  係 H，且  $R^{5g}$  係 F；或

$R^{5c}$  係 H， $R^{5d}$  係 F， $R^{5e}$  係 F， $R^{5f}$  係 H，且  $R^{5g}$  係 H；或

$R^{5c}$  係 H， $R^{5d}$  係 F， $R^{5e}$  係 H， $R^{5f}$  係 F，且  $R^{5g}$  係 H；或

$R^{5c}$  係 H， $R^{5d}$  係 F， $R^{5e}$  係 H， $R^{5f}$  係 H，且  $R^{5g}$  係 F；或

$R^{5c}$  係 H， $R^{5d}$  係 H， $R^{5e}$  係 F， $R^{5f}$  係 F，且  $R^{5g}$  係 H；或

$R^{5c}$  係 H， $R^{5d}$  係 H， $R^{5e}$  係 F， $R^{5f}$  係 H，且  $R^{5g}$  係 F；或

$R^{5c}$  係 H， $R^{5d}$  係 H， $R^{5e}$  係 H， $R^{5f}$  係 F，且  $R^{5g}$  係 F；或

$R^{5c}$  係 F， $R^{5d}$  係 F， $R^{5e}$  係 F， $R^{5f}$  係 H，且  $R^{5g}$  係 H；或

$R^{5c}$  係 F， $R^{5d}$  係 F， $R^{5e}$  係 H， $R^{5f}$  係 F，且  $R^{5g}$  係 H；或

$R^{5c}$  係 F， $R^{5d}$  係 F， $R^{5e}$  係 H， $R^{5f}$  係 H，且  $R^{5g}$  係 F；或

$R^{5c}$  係 F,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係 F,  $R^{5f}$  係 F, 且  $R^{5g}$  係 H; 或  
 $R^{5c}$  係 F,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係 F,  $R^{5f}$  係 H, 且  $R^{5g}$  係 F; 或  
 $R^{5c}$  係 F,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係 H,  $R^{5f}$  係 F, 且  $R^{5g}$  係 F; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 F,  $R^{5c}$  係 F,  $R^{5f}$  係 F, 且  $R^{5g}$  係 H; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 F,  $R^{5c}$  係 F,  $R^{5f}$  係 H, 且  $R^{5g}$  係 F; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 F,  $R^{5c}$  係 H,  $R^{5f}$  係 F, 且  $R^{5g}$  係 F; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係 F,  $R^{5f}$  係 F, 且  $R^{5g}$  係 F; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 F,  $R^{5c}$  係 F,  $R^{5f}$  係 F, 且  $R^{5g}$  係 F; 或  
 $R^{5c}$  係 F,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係 F,  $R^{5f}$  係 F, 且  $R^{5g}$  係 F; 或  
 $R^{5c}$  係 F,  $R^{5d}$  係 F,  $R^{5c}$  係 F,  $R^{5f}$  係 H, 且  $R^{5g}$  係 F; 或  
 $R^{5c}$  係 F,  $R^{5d}$  係 F,  $R^{5c}$  係 F,  $R^{5f}$  係 F, 且  $R^{5g}$  係 H。

在某些實施例中,  $R^{5a}$  不為 2,3,5,6-四氟苯氧基。

在一些實施例中, 本發明提供式 I 化合物及其醫藥上可接受之鹽, 其中  $R^{5a}$  係選自 2-氟苯基; 3-氟苯基; 4-氟苯基; 2,3-二氟苯基; 2,4-二氟苯基; 2,5-二氟苯基; 2,6-二氟苯基; 3,4-二氟苯基; 3,5-二氟苯基; 2,3,6-三氟苯基; 及 2,3,5-三氟苯基。在一些此等實施例中,  $R^{5a}$  係選自 2-氟苯基; 3-氟苯基; 2,3-二氟苯基; 2,5-二氟苯基; 2,6-二氟苯基; 3,5-二氟苯基; 2,3,6-三氟苯基; 及 2,3,5-三氟苯基。在一些此等實施例中,  $R^{5a}$  係選自 2,6-二氟苯基及 2,3,6-三氟苯基。

在一些實施例中, 本發明提供式 Ia 化合物及其醫藥上可接受之鹽, 其中  $R^{5a}$  係選自 2-氟苯基; 3-氟苯基; 4-氟苯基; 2,3-二氟苯基; 2,4-二氟苯基; 2,5-二氟苯基; 2,6-二氟苯基; 3,4-二氟苯基; 3,5-二氟苯基; 2,3,6-三氟苯基; 及 2,3,5-三氟苯基。在一些此等實施例中,  $R^{5a}$  係選自 2-氟苯

基；3-氟苯基；2,3-二氟苯基；2,5-二氟苯基；2,6-二氟苯基；3,5-二氟苯基；2,3,6-三氟苯基；及2,3,5-三氟苯基。在一些此等實施例中， $R^{5a}$ 係選自2,6-二氟苯基及2,3,6-三氟苯基。

在一些實施例中，本發明提供式I或式Ia之化合物及其醫藥上可接受之鹽，其中 $R^{5a}$ 係選自 $-N(R^8)_2$ 、5員至12員雜芳基及3員至12員雜環基，其中5員至12員雜芳基視情況經一或多個獨立地選自鹵素、 $C_{1-3}$ 烷基及 $C_{1-3}$ 鹵烷基之成員取代，且3員至12員雜環基視情況經一或多個獨立地選自側氧基、鹵素、 $C_{1-3}$ 烷基及 $C_{1-3}$ 鹵烷基之成員取代。

在一些實施例中， $R^{5a}$ 係5員至12員雜芳基或3員至12員雜環基。 $R^{5a}$ 可係(例如)吡咯基、吡啶基、咪唑基、吡唑基、三唑基、四唑基、吡嗪基、三嗪基、吡啶基、異吡啶基或喹啉基。在一些實施例中， $R^{5a}$ 係四唑基(例如，1*H*-四唑-1-基或2*H*-四唑-2-基)。在一些實施例中， $R^{5a}$ 係6-側氧基嘧啶-1(6*H*)-基。在一些實施例中， $R^{5a}$ 係四唑基或6-側氧基嘧啶-1(6*H*)-基，且 $R^3$ 係選自(2-甲氧基)丙-2-基、未經取代之苯基、經一或多個鹵素、 $-N_3$ 、 $C_{1-4}$ 鹵烷氧基及/或 $-NR^cC(O)R^b$ 取代之苯基、未經取代之吡啶基以及經一或多個鹵素、 $-N(R^c)_2$ 及/或 $-N^+(R^b)_3$ 取代之吡啶基。

在一些實施例中， $R^{5a}$ 係 $-N(R^8)_2$ ，其中每一 $R^8$ 係獨立選擇之 $C_{1-6}$ 烷基。在此等實施例中，每一 $R^8$ 可獨立地係(例如)甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、第二丁基、第三丁基、正戊基、異戊基或正己基。在一些實施例中， $R^{5a}$ 係二甲基胺基。在一些實施例中， $R^{5a}$ 係二甲基胺基且 $R^3$ 係選自(2-甲氧基)丙-2-基、未經取代之苯基、經一或多個鹵素、 $-N_3$ 、 $C_{1-4}$ 鹵烷氧基及/或 $-NR^cC(O)R^b$ 取代之苯基、未經取代之吡啶基以及經一或多個鹵素、 $-N(R^c)_2$ 及/或 $-N^+(R^b)_3$ 取代之吡啶基。

在一些實施例中， $R^{5a}$ 係-O- $R^6$ ，其中 $R^6$ 係 $C_{1-6}$ 鹵烷基。在此等實施例中， $R^6$ 可係(例如)氯甲基、二氯甲基、三氯甲基、氟甲基、二氟甲基、三氟甲基、2,2,2-三氯乙基、2,2,2-三氟乙基、五氯乙基、五氟乙基、1,1,1,3,3,3-六氯丙基、1,1,1,3,3,3-六氟丙基或諸如此類。在一些實施例中， $R^{5a}$ 係選自2,2,2-三氟乙氧基及1,1,1,3,3,3-六氟異丙氧基。在一些此等實施例中， $R^3$ 係選自(2-甲氧基)丙-2-基、未經取代之苯基、經一或多個鹵素、- $N_3$ 、 $C_{1-4}$ 鹵烷氧基及/或- $NR^cC(O)R^b$ 取代之苯基、未經取代之吡啶基以及經一或多個鹵素、- $N(R^c)_2$ 及/或- $N^+(R^b)_3$ 取代之吡啶基。

在一些實施例中， $R^{5a}$ 係-O- $R^6$ ，且 $R^6$ 係5員至12員雜芳基，其視情況經一或多個獨立地選自鹵素、 $C_{1-3}$ 烷基及 $C_{1-3}$ 鹵烷基之成員取代。舉例而言，當 $R^{5a}$ 係-O- $R^6$ 時， $R^6$ 可係異噁唑基、噁唑基、咪唑基、吡唑基、吡啶基、噁嗪基、嘧啶基、吡嗪基、噻嗪基。在一些實施例中， $R^{5a}$ 係-O- $R^6$ 且 $R^6$ 係選自吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、異噁唑-3-基、異噁唑-4-基、異噁唑-5-基、嘧啶-2-基、嘧啶-4-基、嘧啶-5-基及嘧啶-6-基。在一些實施例中， $R^{5a}$ 係-O- $R^6$ 且 $R^6$ 係選自異噁唑-3-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、2,6-二甲基吡啶-5-基及2-甲基嘧啶-5-基。在一些實施例中， $R^{5a}$ 係-O- $R^6$ ， $R^6$ 係選自異噁唑-3-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、2,6-二甲基吡啶-5-基及2-甲基嘧啶-5-基，且 $R^3$ 係選自(2-甲氧基)丙-2-基、未經取代之苯基、經一或多個鹵素、- $N_3$ 、 $C_{1-4}$ 鹵烷氧基及/或- $NR^cC(O)R^b$ 取代之苯基、未經取代之吡啶基以及經一或多個鹵素、- $N(R^c)_2$ 及/或- $N^+(R^b)_3$ 取代之吡啶基。

在一些實施例中， $R^5$ 係選自- $CH_2R^{5a}$ 及- $CHS(O)(R^{5b})_2$ 。在一些實施例中， $R^5$ 係- $CHS(O)(R^{5b})_2$  (例如，二甲基(側氧基)- $\lambda^6$ -亞硫基)。在一些實

施例中， $R^5$ 係 $-CH_2R^{5a}$ ， $R^{5a}$ 係選自 $-S-R^7$ 及 $-SO_2-R^7$ ，且 $R^7$ 係 $C_{1-6}$ 烷基。在此等實施例中， $R^7$ 可係(例如)甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、第二丁基、第三丁基、正戊基、異戊基或正己基。在一些實施例中， $R^{5a}$ 係甲硫基。在一些實施例中， $R^{5a}$ 係甲磺醯基。在一些實施例中， $R^{5a}$ 係甲硫基或甲磺醯基，且 $R^3$ 係選自(2-甲氧基)丙-2-基、未經取代之苯基、經一或多個鹵素、 $-N_3$ 、 $C_{1-4}$ 鹵烷氧基及/或 $-NR^cC(O)R^b$ 取代之苯基、未經取代之吡啶基以及經一或多個鹵素、 $-N(R^c)_2$ 及/或 $-N^+(R^b)_3$ 取代之吡啶基。

在一些實施例中， $R^{5a}$ 係 $-S-R^7$ ，且 $R^7$ 係5員至12員雜芳基，其視情況經一或多個獨立地選自鹵素、 $C_{1-3}$ 烷基及 $C_{1-3}$ 鹵烷基之成員取代。舉例而言，當 $R^{5a}$ 係 $-S-R^7$ 時， $R^7$ 可係異噁唑基、噁唑基、咪唑基、吡唑基、吡啶基、噁嗪基、嘧啶基、吡嗪基、噻嗪基。在一些實施例中， $R^{5a}$ 係 $-S-R^7$ 且 $R^7$ 係選自吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、異噁唑-3-基、異噁唑-4-基、異噁唑-5-基、嘧啶-2-基、嘧啶-4-基、嘧啶-5-基及嘧啶-6-基。在一些實施例中， $R^{5a}$ 係 $-S-R^7$ 且 $R^7$ 係選自異噁唑-3-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、2,6-二甲基吡啶-5-基及2-甲基嘧啶-5-基。在一些實施例中， $R^{5a}$ 係 $-S-R^7$ ， $R^7$ 係選自吡啶-3-基、吡啶-4-基、2,6-二甲基吡啶-5-基及2-甲基嘧啶-5-基，且 $R^3$ 係選自(2-甲氧基)丙-2-基、未經取代之苯基、經一或多個鹵素、 $-N_3$ 、 $C_{1-4}$ 鹵烷氧基及/或 $-NR^cC(O)R^b$ 取代之苯基、未經取代之吡啶基以及經一或多個鹵素、 $-N(R^c)_2$ 及/或 $-N^+(R^b)_3$ 取代之吡啶基。

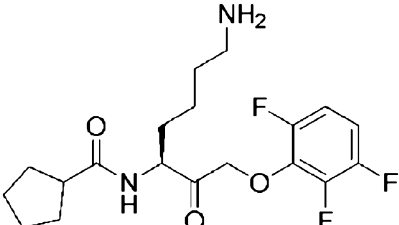
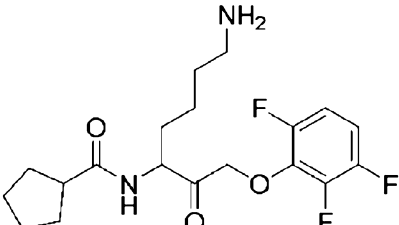
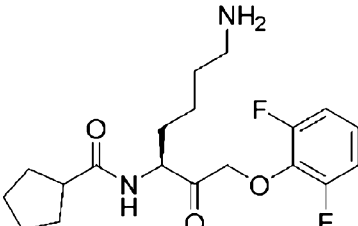
在一些實施例中， $R^5$ 係 $C_{1-6}$ 鹵烷基。 $R^5$ 可係(例如)氯甲基、二氯甲基、三氯甲基、氟甲基、二氟甲基、三氟甲基、2,2,2-三氯乙基、2,2,2-三氟乙基、五氯乙基、五氟乙基、1,1,1,3,3,3-六氯丙基、1,1,1,3,3,3-六

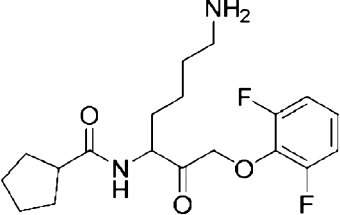
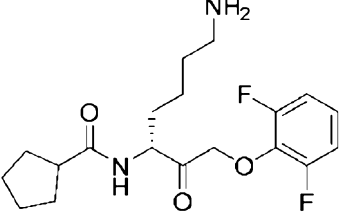
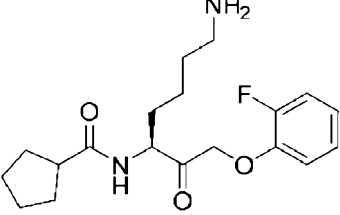
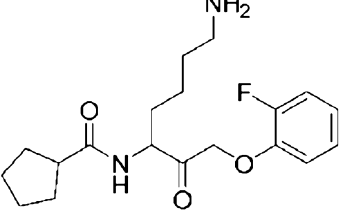
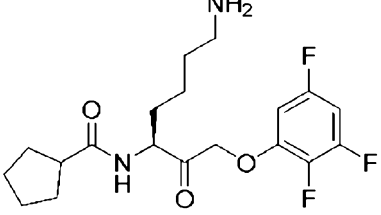
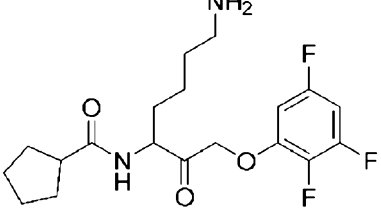
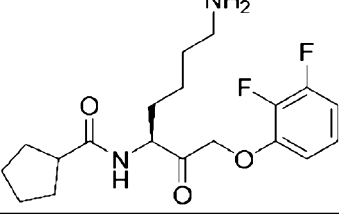
氟丙基或諸如此類。在一些實施例中， $R^5$ 係二氟甲基。在一些實施例中， $R^5$ 係二氟甲基且 $R^3$ 係選自(2-甲氧基)丙-2-基、未經取代之苯基、經一或多個鹵素、 $-N_3$ 、 $C_{1-4}$ 鹵烷氧基及/或 $-NR^cC(O)R^b$ 取代之苯基、未經取代之吡啶基以及經一或多個鹵素、 $-N(R^c)_2$ 及/或 $-N^+(R^b)_3$ 取代之吡啶基。

在一些實施例中，本發明提供式I或式Ia之化合物及其醫藥上可接受之鹽，其中 $R^5$ 係鹵烷基。舉例而言， $R^5$ 可係氯甲基、二氯甲基、三氯甲基、二氟甲基或三氟甲基。

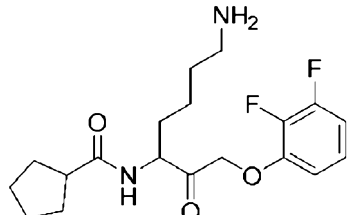
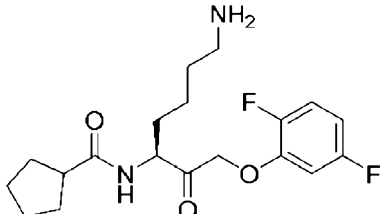
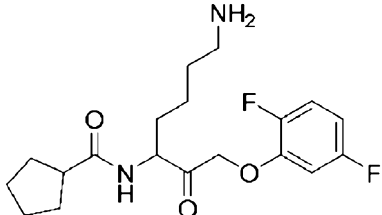
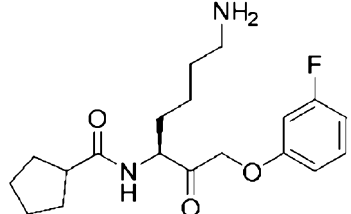
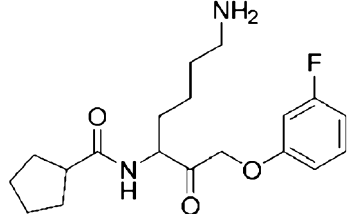
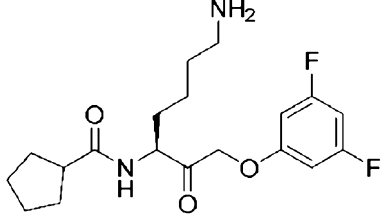
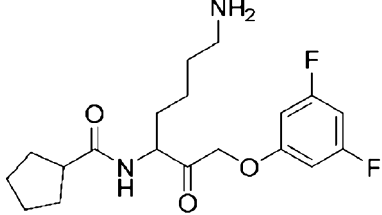
在一些實施例中，本發明提供如下表1中所述之化合物或其醫藥上可接受之鹽。

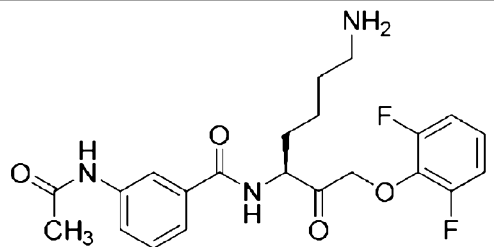
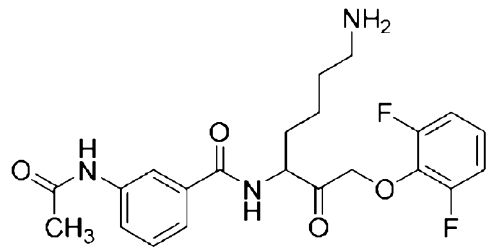
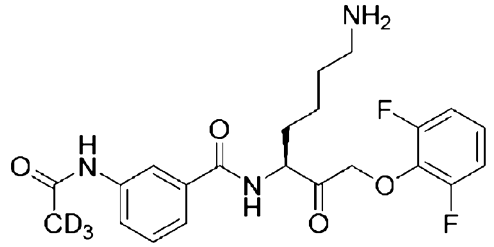
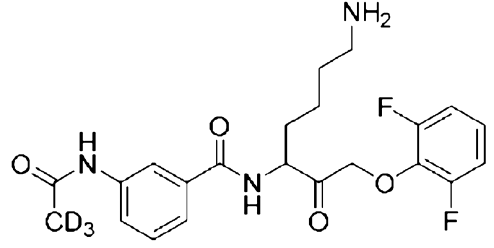
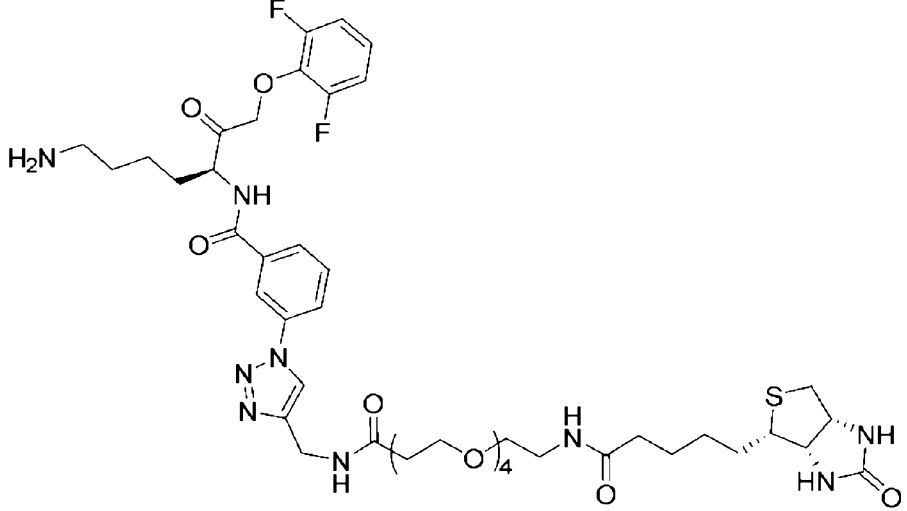
表1. 離胺酸牙齦蛋白酶抑制劑。

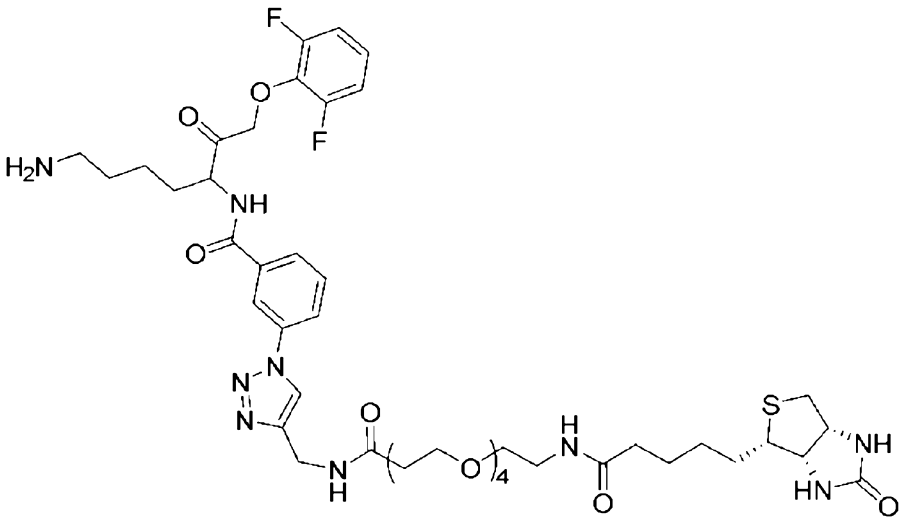
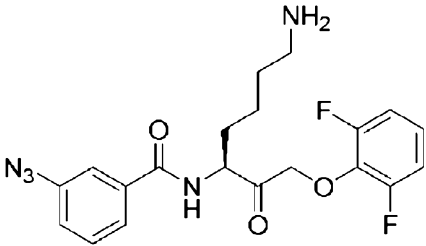
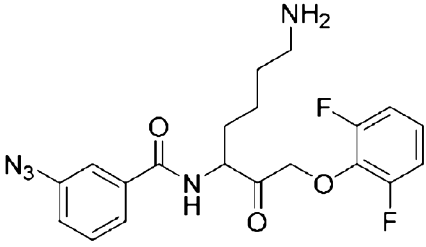
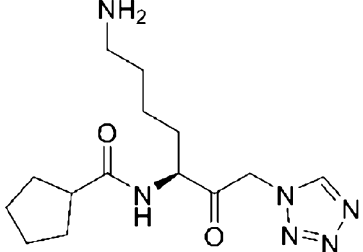
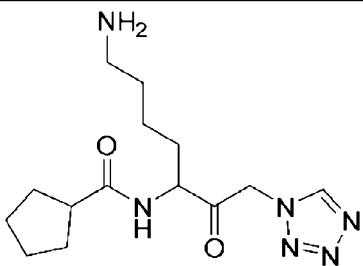
化合物編號	化合物結構
1	
1a	
2	

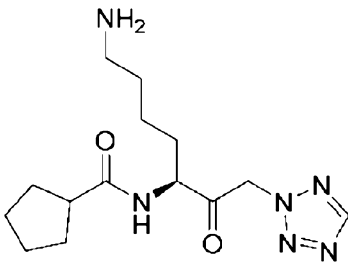
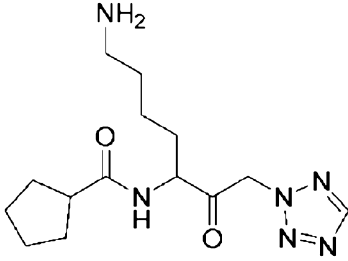
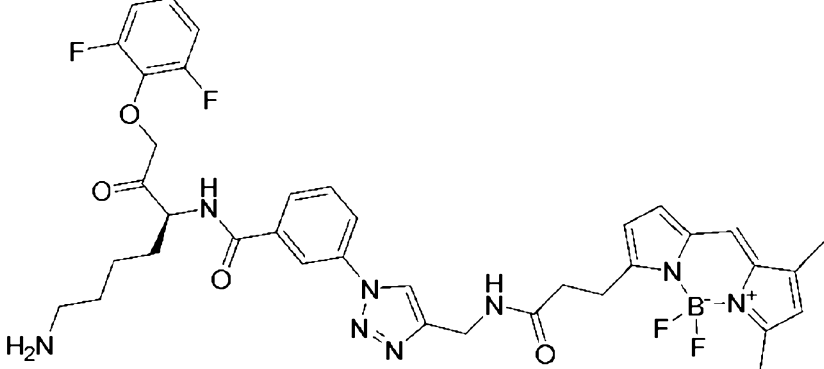
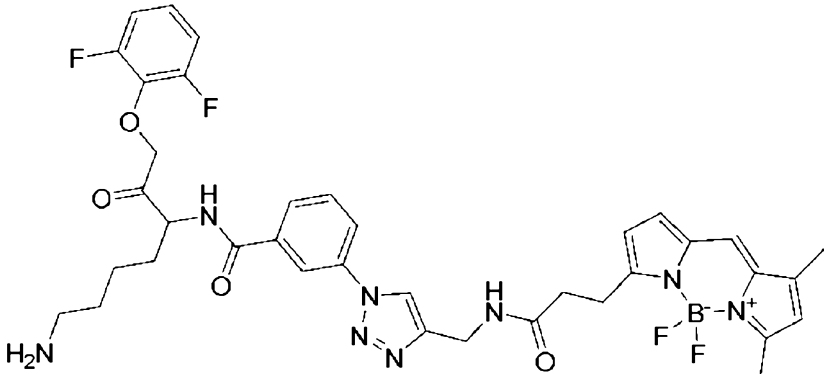
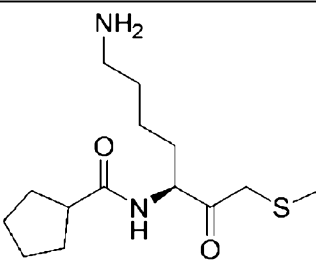
化合物編號	化合物結構
2a	
2b	
3	
3a	
4	
4a	
5	

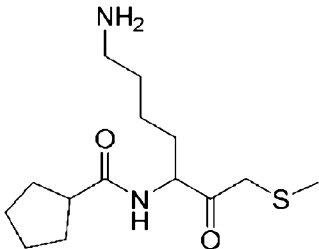
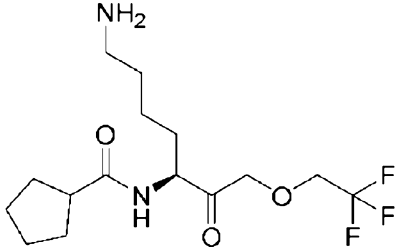
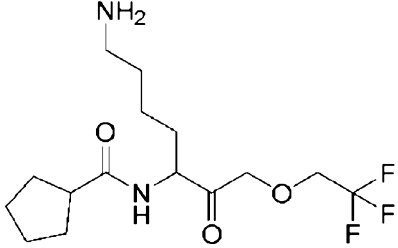
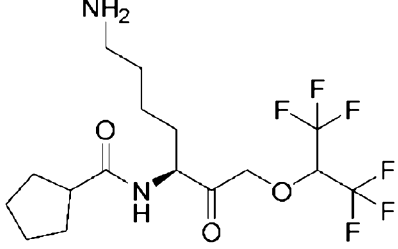
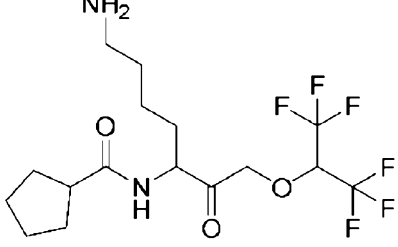
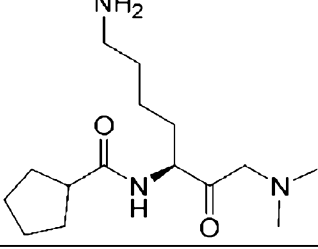


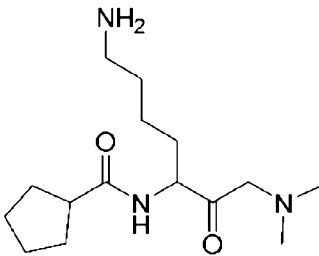
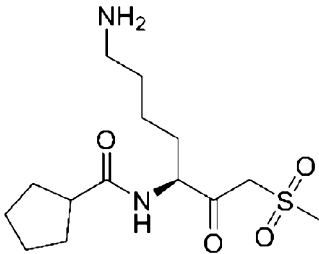
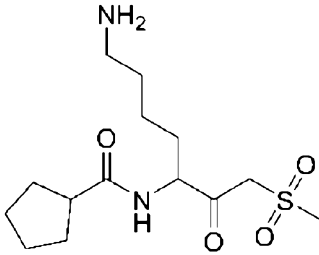
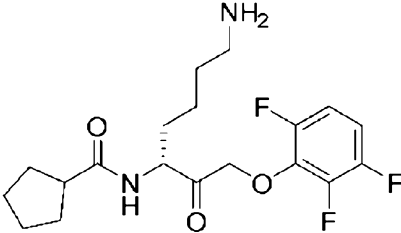
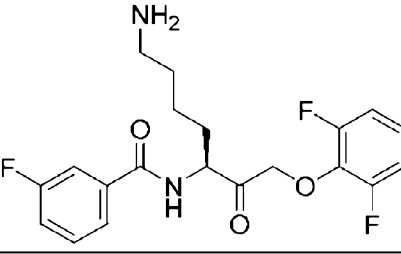
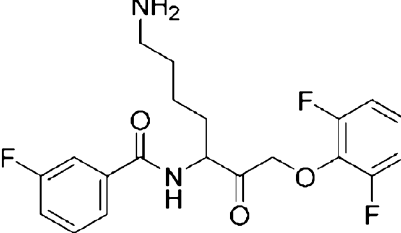
化合物編號	化合物結構
5a	
6	
6a	
7	
7a	
8	
8a	

化合物編號	化合物結構
9	
9a	
10	
10a	
11	

化合物編號	化合物結構
11a	
12	
12a	
13	
13a	

化合物編號	化合物結構
14	
14a	
15	
15a	
16	

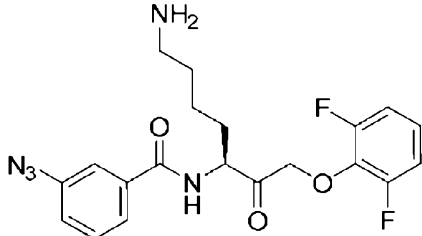
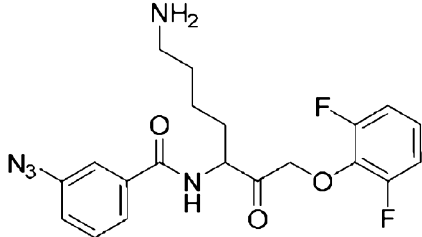
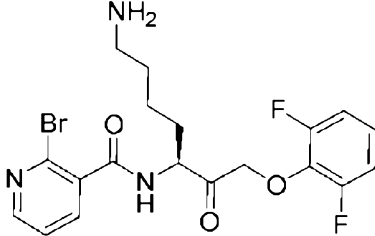
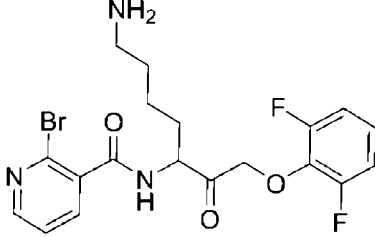
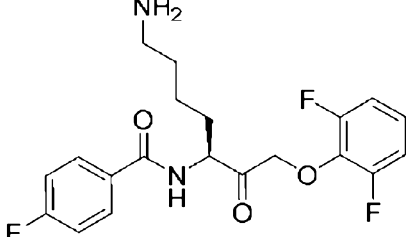
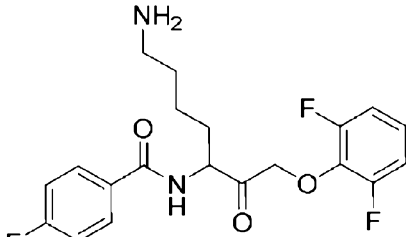
化合物編號	化合物結構
16a	
17	
17a	
18	
18a	
19	

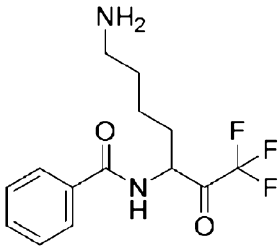
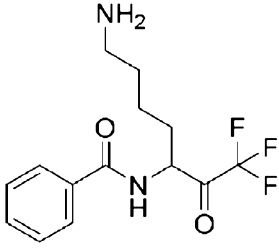
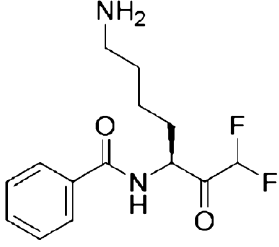
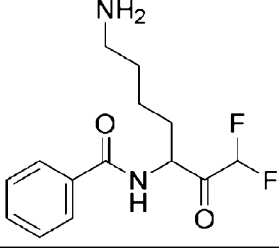
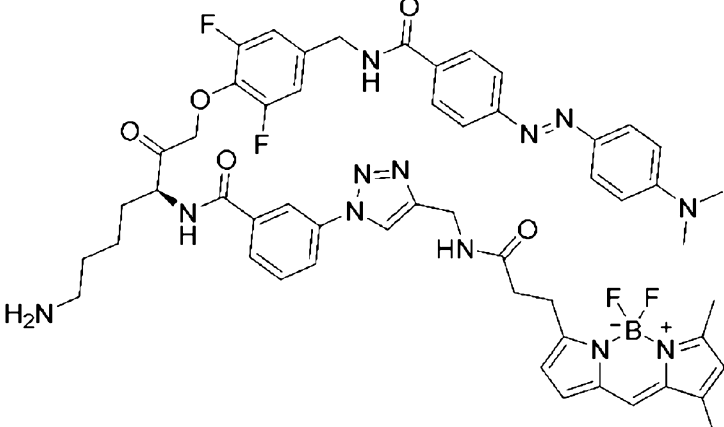
化合物編號	化合物結構
19a	
20	
20a	
21	
26	
26a	

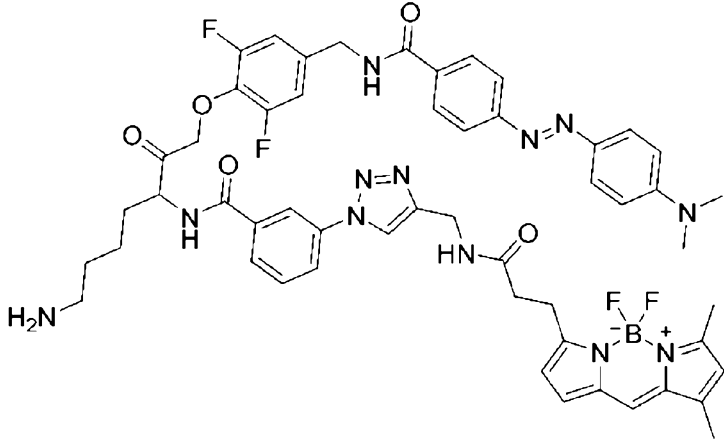
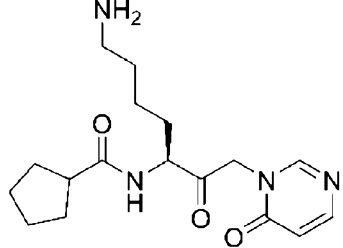
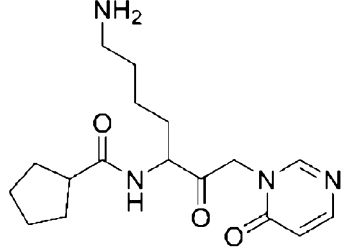
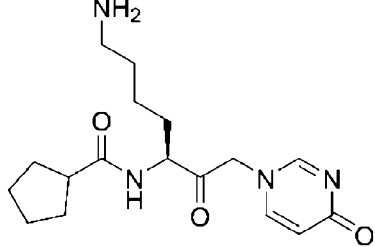
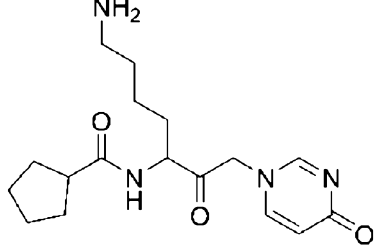
化合物編號	化合物結構
27	
27a	
28	
28a	
29	
29a	

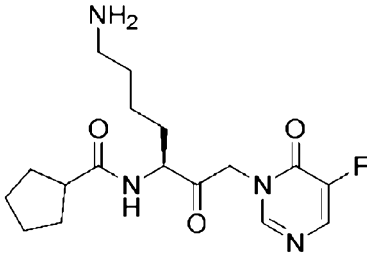
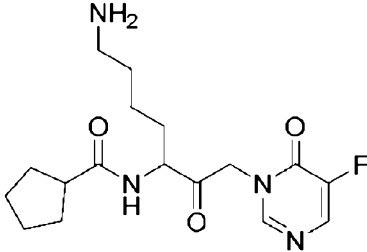
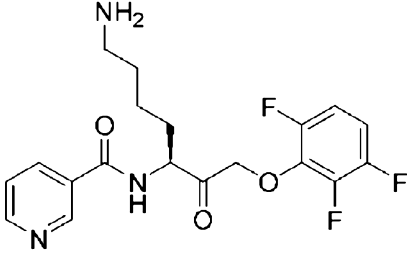
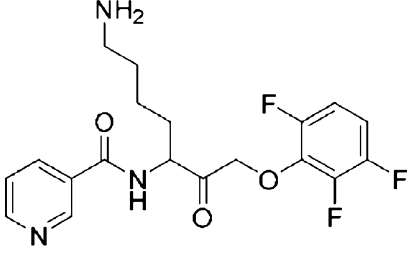
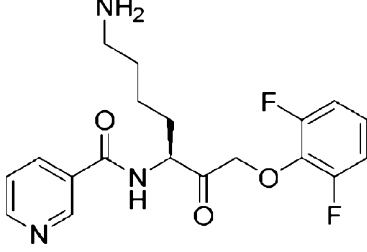
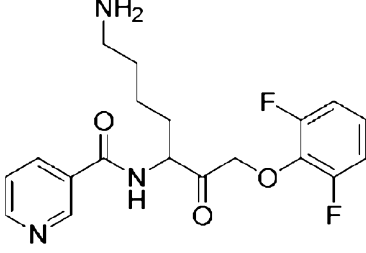
化合物編號	化合物結構
30	
30a	
31	
31a	
32	
32a	

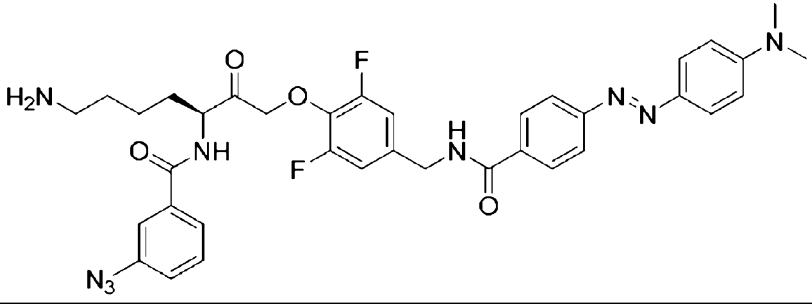
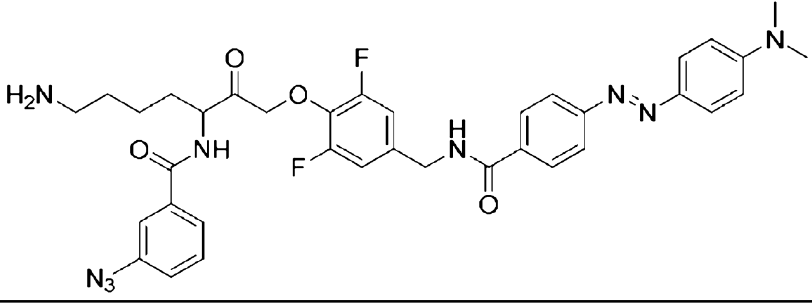
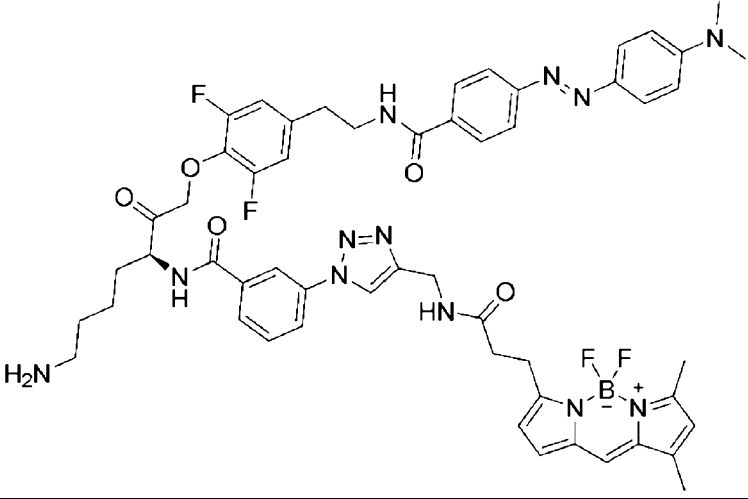
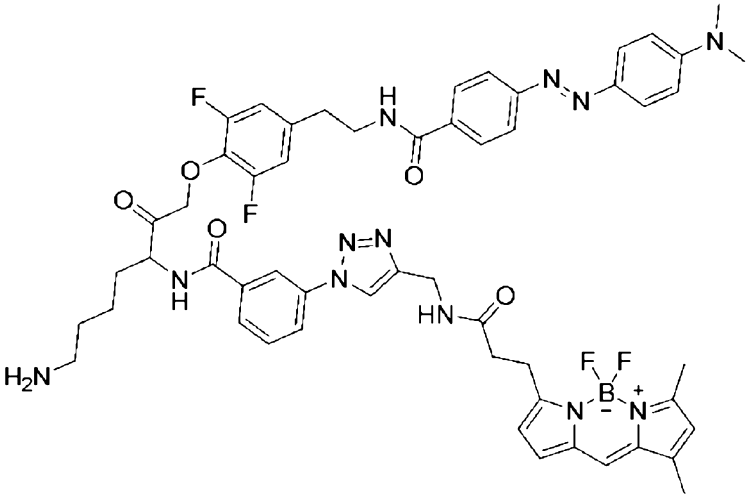


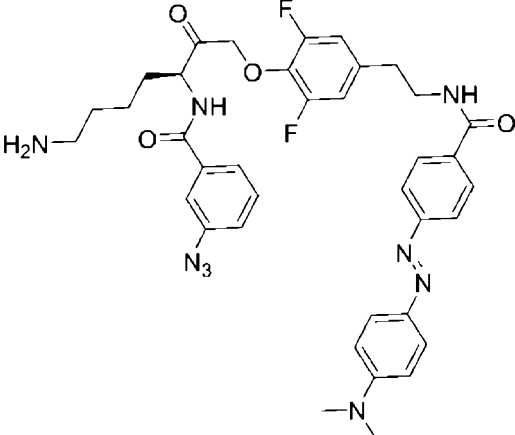
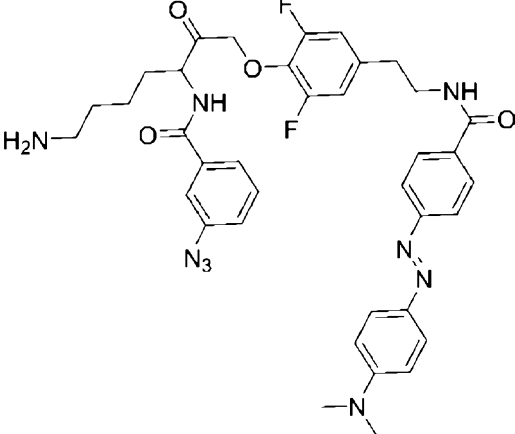
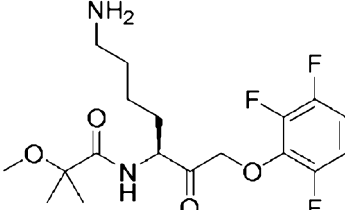
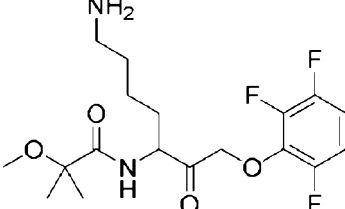
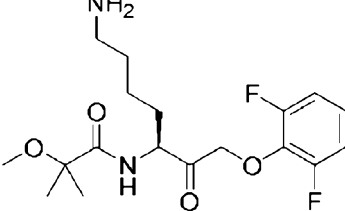
化合物編號	化合物結構
33	
33a	
34	
34a	
35	
35a	

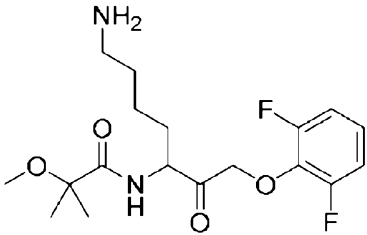
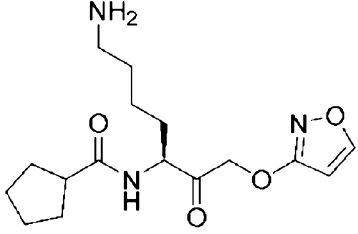
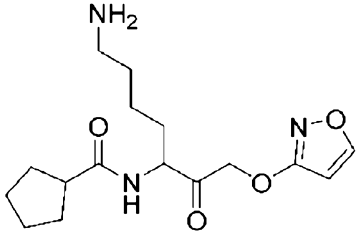
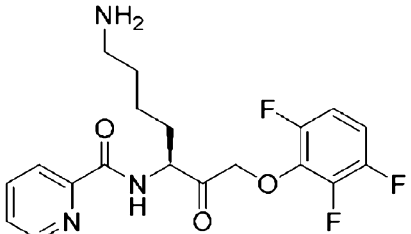
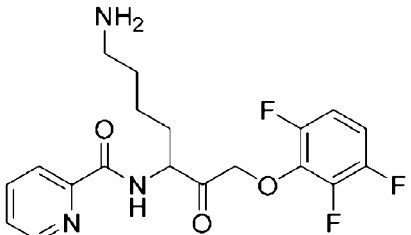
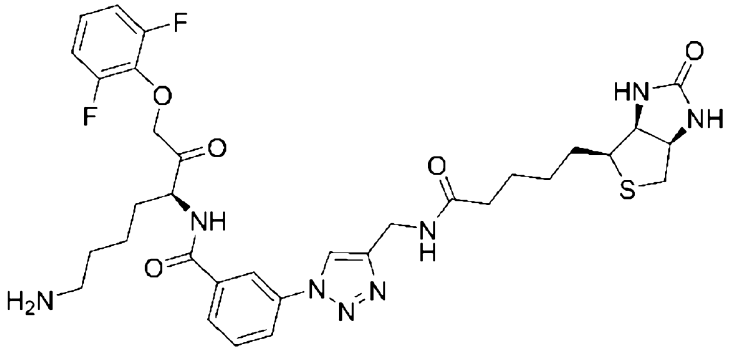
化合物編號	化合物結構
36	
36a	
37	
37a	
38	

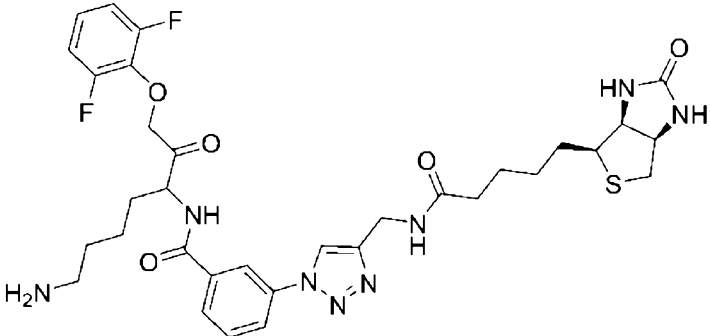
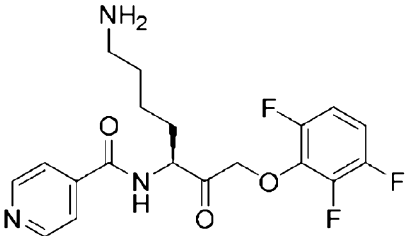
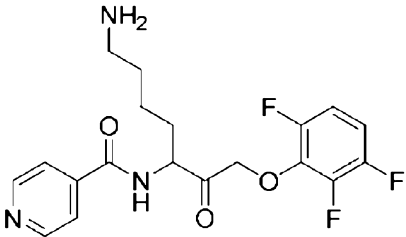
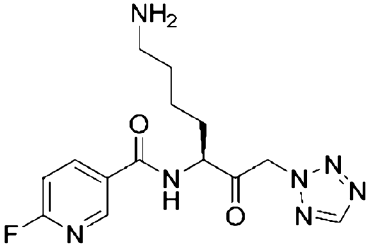
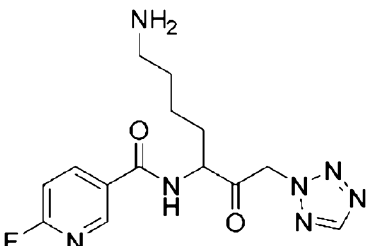
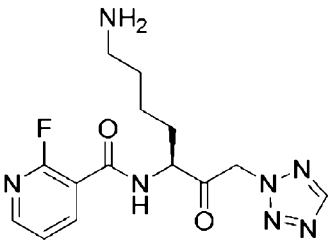
化合物編號	化合物結構
38a	 <p>Chemical structure of compound 38a, featuring a complex molecule with a central benzene ring substituted with a fluorine atom and a dimethylamino group. The structure includes a long chain with a primary amine group (H<sub>2</sub>N), a secondary amide group, and a tertiary amide group. A boron atom is coordinated to two nitrogen atoms in a five-membered ring system, with two fluorine atoms attached to the boron atom.</p>
39	 <p>Chemical structure of compound 39, showing a cyclopentane ring connected to a secondary amide group. The amide nitrogen is linked to a chain containing a primary amine group (NH<sub>2</sub>) and a secondary amide group connected to a pyrimidine ring.</p>
39a	 <p>Chemical structure of compound 39a, similar to 39, but with a different stereochemistry at the chiral center connecting the cyclopentane ring to the amide chain.</p>
40	 <p>Chemical structure of compound 40, showing a cyclopentane ring connected to a secondary amide group. The amide nitrogen is linked to a chain containing a primary amine group (NH<sub>2</sub>) and a secondary amide group connected to a pyrimidine ring.</p>
40a	 <p>Chemical structure of compound 40a, similar to 40, but with a different stereochemistry at the chiral center connecting the cyclopentane ring to the amide chain.</p>

化合物編號	化合物結構
41	
41a	
42	
42a	
43	
43a	

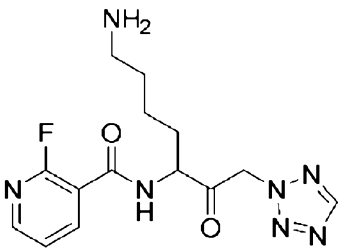
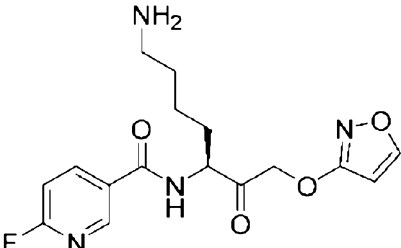
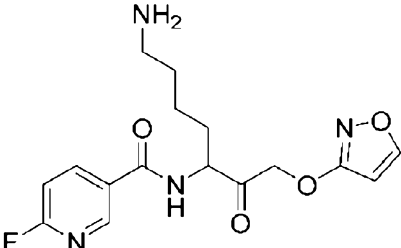
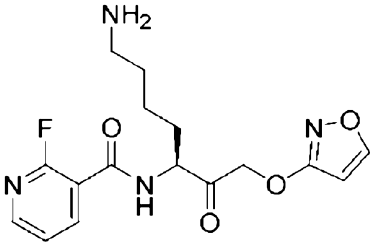
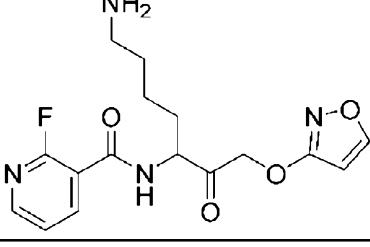
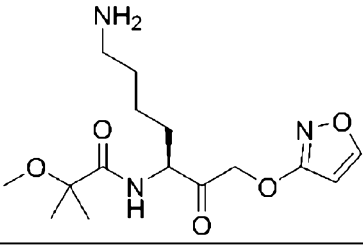
化合物編號	化合物結構
44	
44a	
45	
45a	

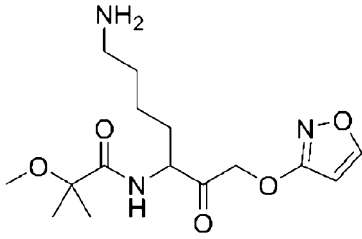
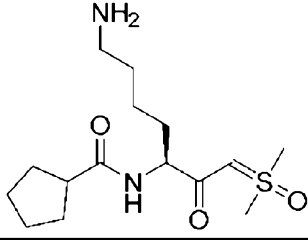
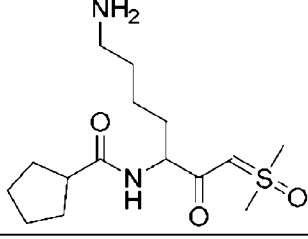
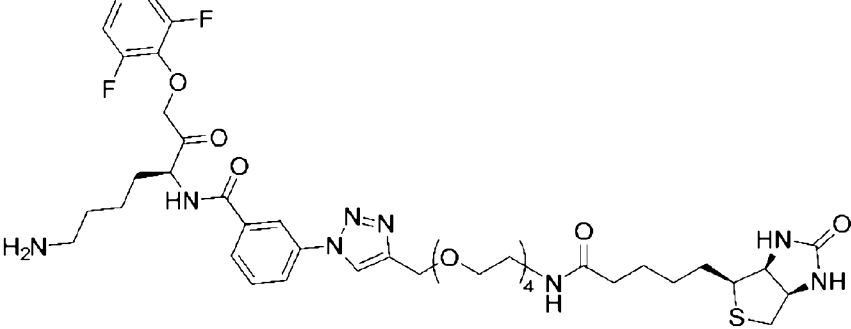
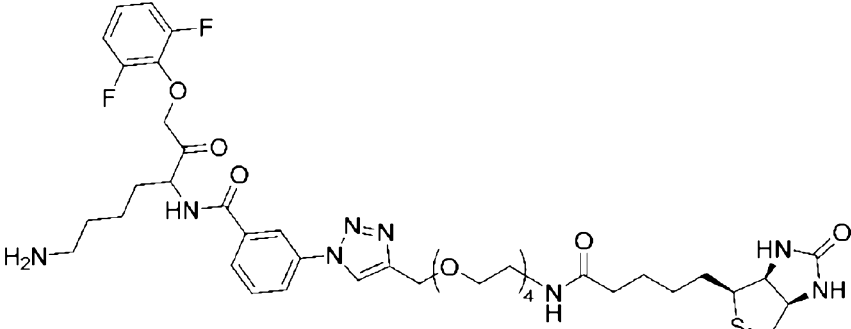
化合物編號	化合物結構
46	 <p>Chemical structure of compound 46: A complex molecule featuring a central amide linkage. On the left, a 4-aminobutyl chain is attached to a carbonyl group, which is further linked to a benzamide moiety with a para-azido group. This is connected via an ester linkage to a 2,4-difluorophenyl ring. On the right, another amide chain is attached to the 2,4-difluorophenyl ring, leading to a benzamide moiety with a para-dimethylamino group.</p>
46a	 <p>Chemical structure of compound 46a: This structure is identical to compound 46, showing a complex molecule with a central amide linkage, a 4-aminobutyl chain, a benzamide moiety with a para-azido group, an ester linkage to a 2,4-difluorophenyl ring, and another amide chain leading to a benzamide moiety with a para-dimethylamino group.</p>
47	 <p>Chemical structure of compound 47: A molecule with a central amide linkage. On the left, a 4-aminobutyl chain is attached to a carbonyl group, which is further linked to a benzamide moiety with a para-tert-butyl group. This is connected via an ester linkage to a 2,4,6-trifluorophenyl ring.</p>
47a	 <p>Chemical structure of compound 47a: This structure is identical to compound 47, showing a molecule with a central amide linkage, a 4-aminobutyl chain, a benzamide moiety with a para-tert-butyl group, and an ester linkage to a 2,4,6-trifluorophenyl ring.</p>
48	 <p>Chemical structure of compound 48: This structure is identical to compound 47, showing a molecule with a central amide linkage, a 4-aminobutyl chain, a benzamide moiety with a para-tert-butyl group, and an ester linkage to a 2,4,6-trifluorophenyl ring.</p>

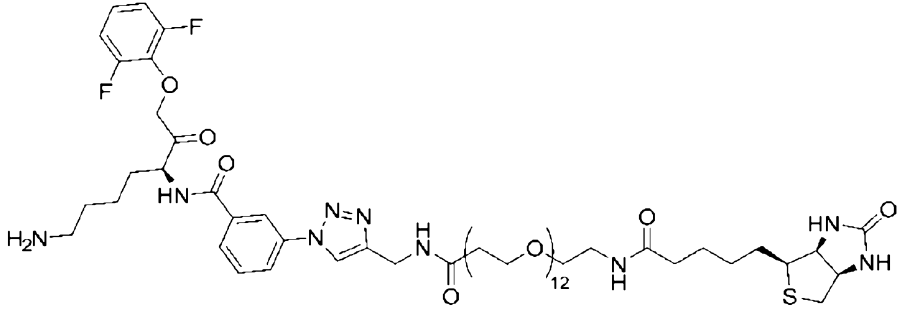
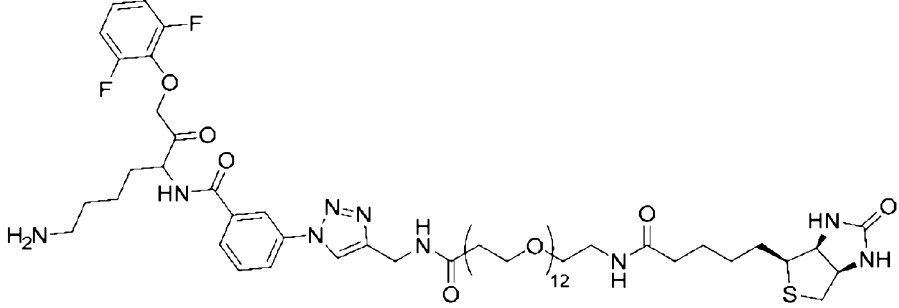
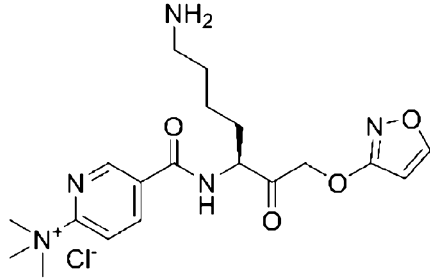
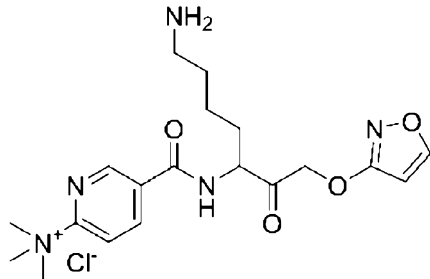
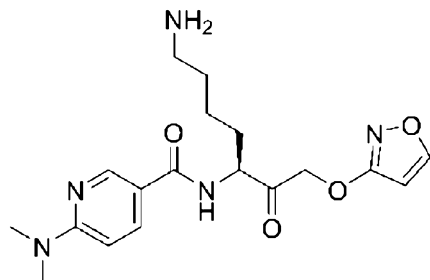
化合物編號	化合物結構
48a	
49	
49a	
50	
50a	
51	

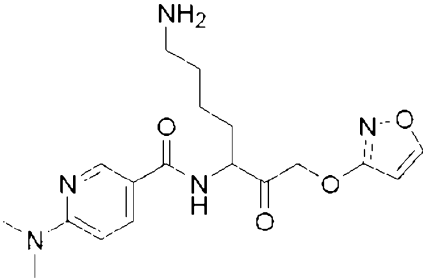
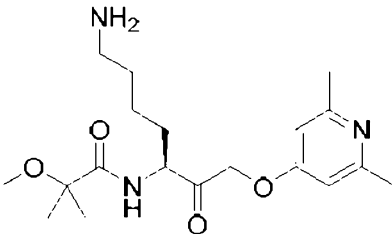
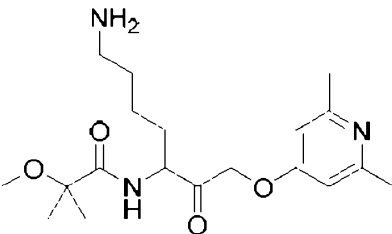
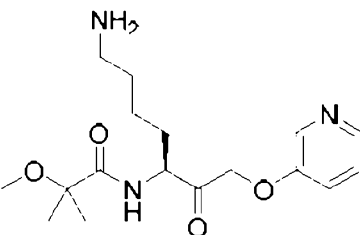
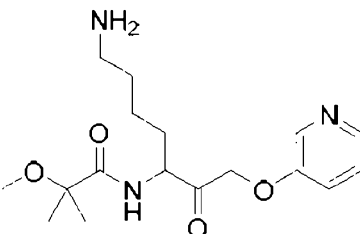
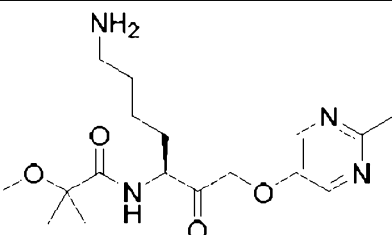
化合物編號	化合物結構
51a	 <p>Chemical structure of compound 51a: A complex molecule featuring a 2,6-difluorophenyl group connected via an ester linkage to a chiral center. This chiral center is also bonded to a propylamine chain and a benzamide group. The benzamide group is further substituted with a 1,2,4-triazole ring, which is linked to another chiral center. This second chiral center is bonded to a propylamine chain and a 5-membered thiadiazolidinone ring system.</p>
52	 <p>Chemical structure of compound 52: A chiral molecule with a propylamine chain attached to a chiral center. This chiral center is also bonded to a pyridine-2-carboxamide group and a 2,4,6-trifluorophenyl ether group.</p>
52a	 <p>Chemical structure of compound 52a: A chiral molecule with a propylamine chain attached to a chiral center. This chiral center is also bonded to a pyridine-2-carboxamide group and a 2,4,6-trifluorophenyl ether group.</p>
53	 <p>Chemical structure of compound 53: A chiral molecule with a propylamine chain attached to a chiral center. This chiral center is also bonded to a 5-fluoropyridine-2-carboxamide group and a 1,2,4-triazole ring.</p>
53a	 <p>Chemical structure of compound 53a: A chiral molecule with a propylamine chain attached to a chiral center. This chiral center is also bonded to a 5-fluoropyridine-2-carboxamide group and a 1,2,4-triazole ring.</p>
54	 <p>Chemical structure of compound 54: A chiral molecule with a propylamine chain attached to a chiral center. This chiral center is also bonded to a 2-fluoropyridine-2-carboxamide group and a 1,2,4-triazole ring.</p>

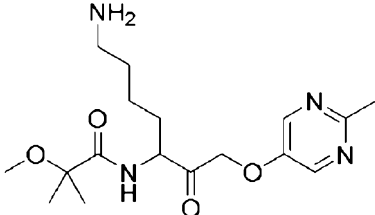
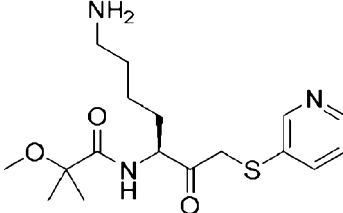
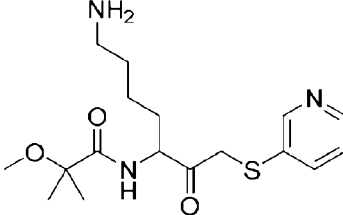
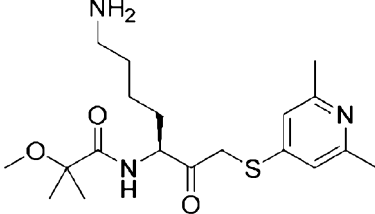
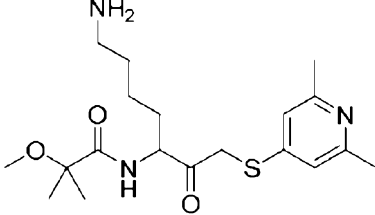
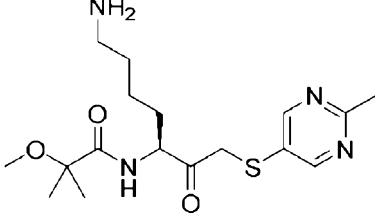
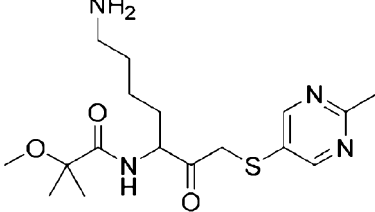


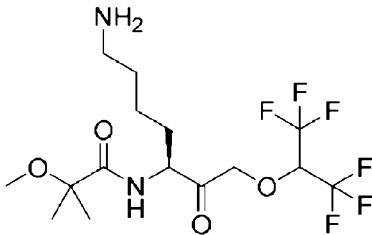
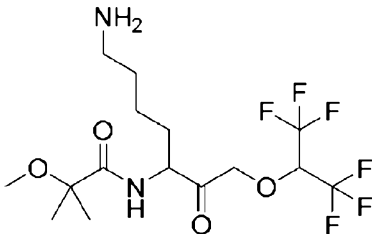
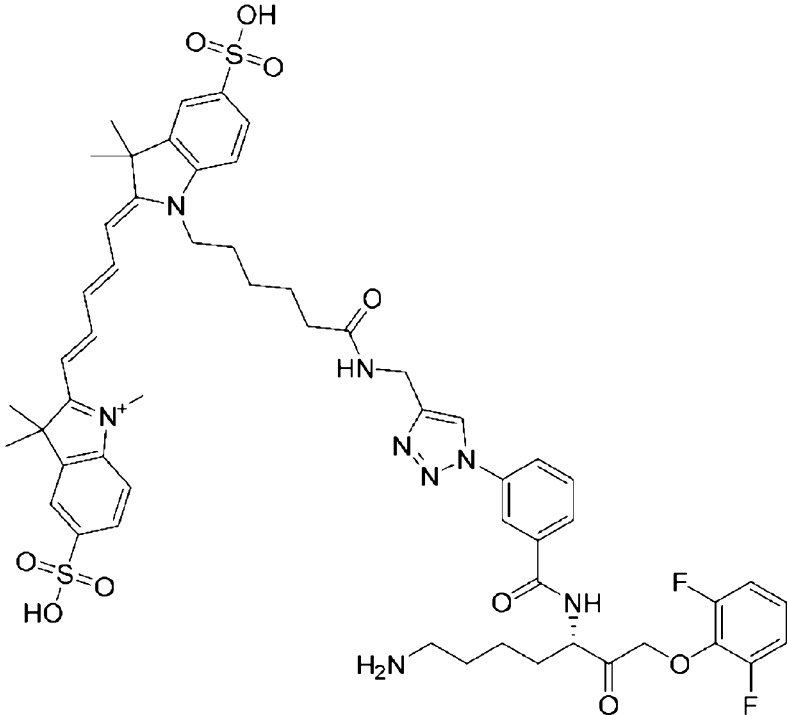
化合物編號	化合物結構
54a	
55	
55a	
56	
56a	
57	

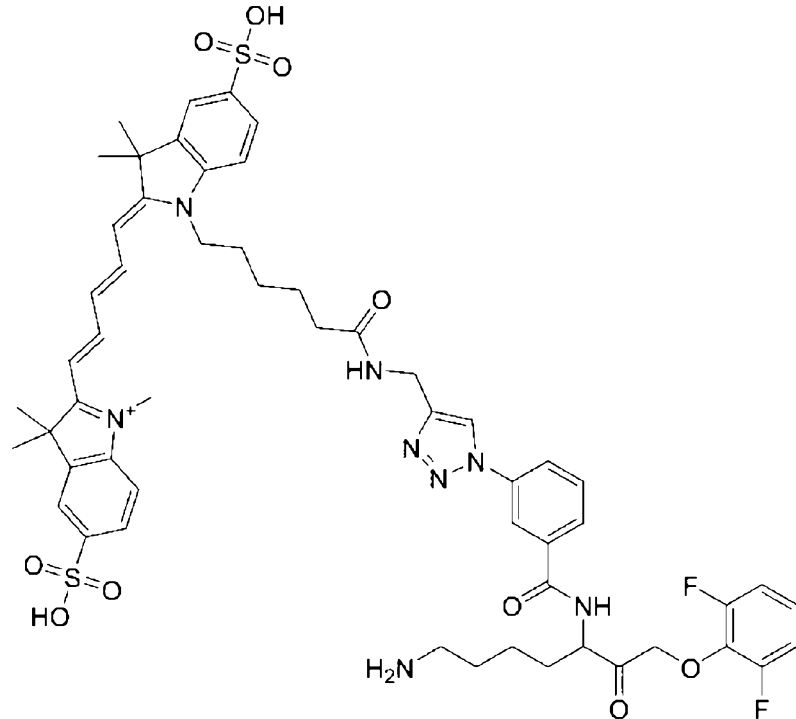
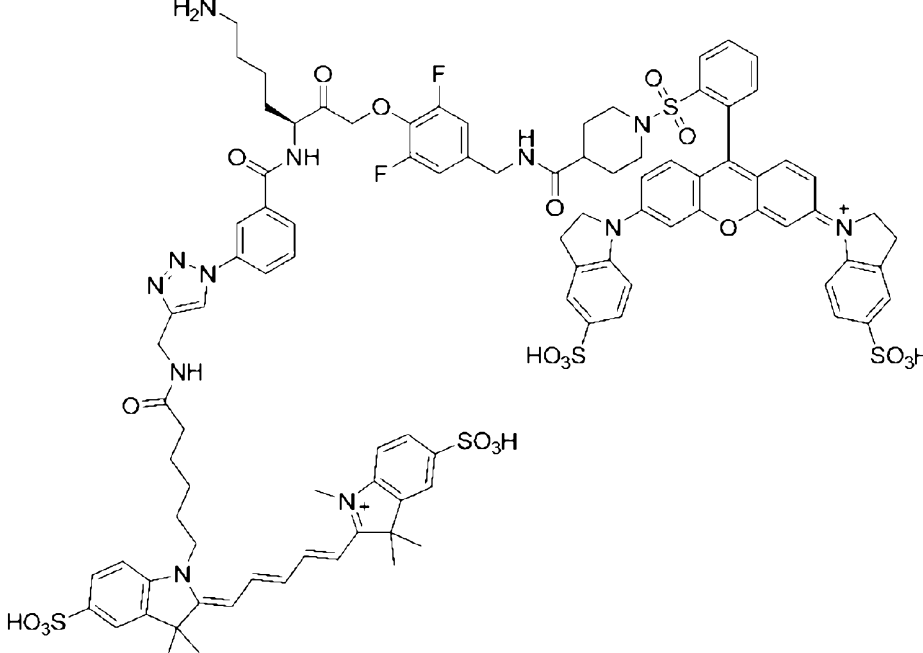
化合物編號	化合物結構
57a	
58	
58a	
59	
59a	

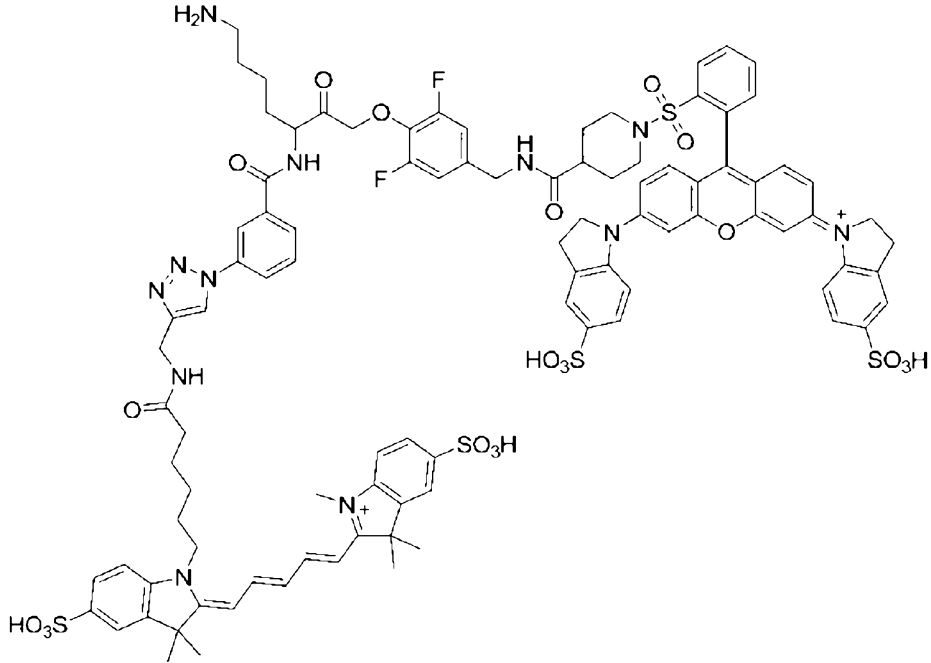
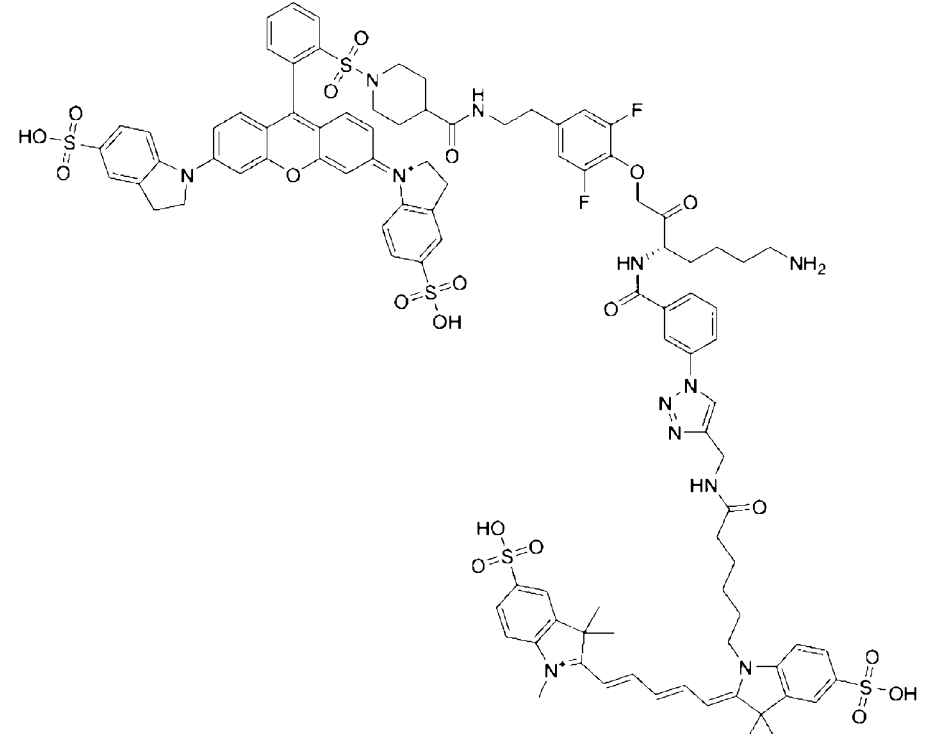
化合物編號	化合物結構
60	 <p>Chemical structure of compound 60: A complex molecule featuring a 2,6-difluorophenyl group connected via an ether linkage to a chiral center. This center is also bonded to a propylamine chain and a carbonyl group. The carbonyl group is linked to a benzene ring, which is further connected to a triazole ring system. This triazole system is linked to a poly(ethylene glycol) chain (indicated by a subscript 12), which is then connected to another carbonyl group. This second carbonyl group is linked to a chain that terminates in a thiazolidine ring system.</p>
60a	 <p>Chemical structure of compound 60a: This structure is identical to compound 60, showing a 2,6-difluorophenyl group, a chiral center with a propylamine chain and a carbonyl group, a benzene ring, a triazole ring system, a poly(ethylene glycol) chain (subscript 12), and a thiazolidine ring system.</p>
61	 <p>Chemical structure of compound 61: A molecule consisting of a 4-(dimethylammonio)pyridine ring system (with a chloride counterion, Cl<sup>-</sup>) connected via a carbonyl group to a chiral center. This chiral center is also bonded to a propylamine chain and a carbonyl group. The carbonyl group is linked to a chain that terminates in a thiazolidine ring system.</p>
61a	 <p>Chemical structure of compound 61a: This structure is identical to compound 61, showing a 4-(dimethylammonio)pyridine ring system (with a chloride counterion, Cl<sup>-</sup>), a chiral center with a propylamine chain and a carbonyl group, and a thiazolidine ring system.</p>
62	 <p>Chemical structure of compound 62: A molecule consisting of a 4-(dimethylamino)pyridine ring system connected via a carbonyl group to a chiral center. This chiral center is also bonded to a propylamine chain and a carbonyl group. The carbonyl group is linked to a chain that terminates in a thiazolidine ring system.</p>

化合物編號	化合物結構
62a	
63	
63a	
64	
64a	
65	

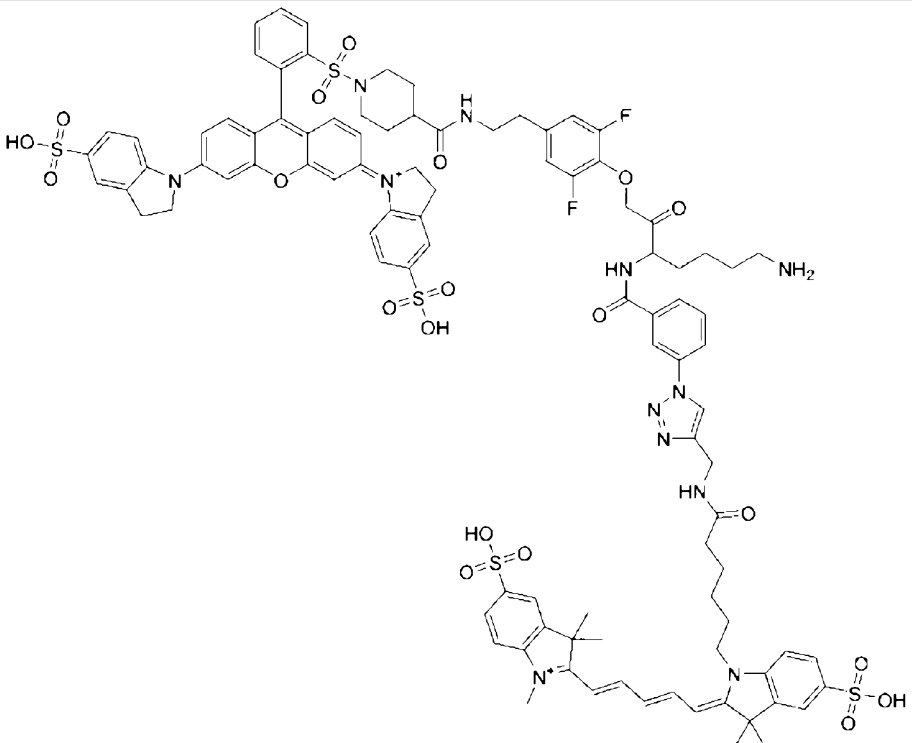
化合物編號	化合物結構
65a	
66	
66a	
67	
67a	
68	
68a	

化合物編號	化合物結構
69	
69a	
70	

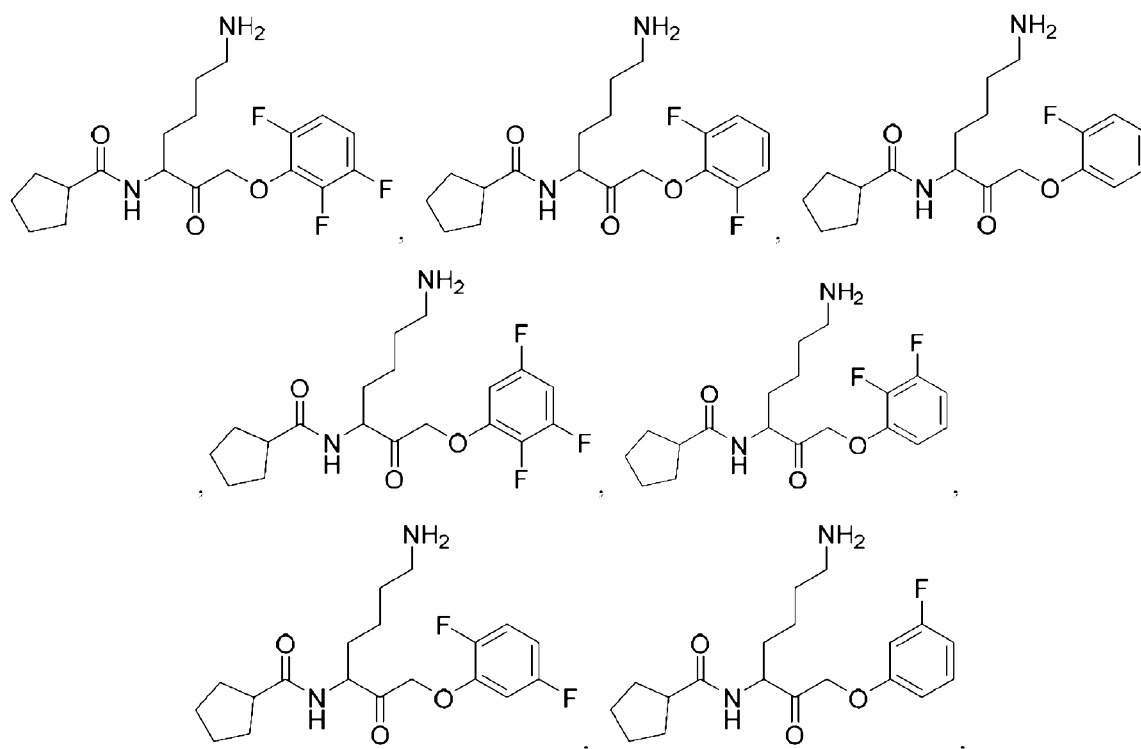
化合物編號	化合物結構
70a	 <p>The structure of compound 70a is a complex molecule. It features a central chain of three conjugated double bonds. The left end of this chain is attached to a pyrrole ring system. This pyrrole ring has a methyl group at the 2-position and a sulfonic acid group (-SO<sub>3</sub>H) at the 4-position. The nitrogen atom of this pyrrole ring is also bonded to a long alkyl chain. The right end of this alkyl chain is connected to a secondary amide group (-NH-). This amide group is further linked to a 1,2,3,4-tetrazole ring, which is substituted with a phenyl group at the 5-position. The nitrogen atom of the tetrazole ring is also bonded to another secondary amide group (-NH-). This second amide group is connected to a chain that includes a primary amine group (-NH<sub>2</sub>), a secondary amide group (-NH-), and a 2,4-difluorophenoxy group (-O-C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>(F)<sub>2</sub>).</p>
71	 <p>The structure of compound 71 is a highly complex molecule. It features a central chain of three conjugated double bonds. The left end of this chain is attached to a pyrrole ring system. This pyrrole ring has a methyl group at the 2-position and a sulfonic acid group (-SO<sub>3</sub>H) at the 4-position. The nitrogen atom of this pyrrole ring is also bonded to a long alkyl chain. The right end of this alkyl chain is connected to a secondary amide group (-NH-). This amide group is further linked to a 1,2,3,4-tetrazole ring, which is substituted with a phenyl group at the 5-position. The nitrogen atom of the tetrazole ring is also bonded to another secondary amide group (-NH-). This second amide group is connected to a chain that includes a primary amine group (-NH<sub>2</sub>), a secondary amide group (-NH-), and a 2,4-difluorophenoxy group (-O-C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>(F)<sub>2</sub>). The molecule also contains a piperidine ring substituted with a sulfonamide group (-NH-SO<sub>2</sub>-Ph) and a sulfonic acid group (-SO<sub>3</sub>H). Additionally, there is a benzimidazole ring system substituted with a sulfonic acid group (-SO<sub>3</sub>H) and a sulfonamide group (-NH-SO<sub>2</sub>-Ph).</p>

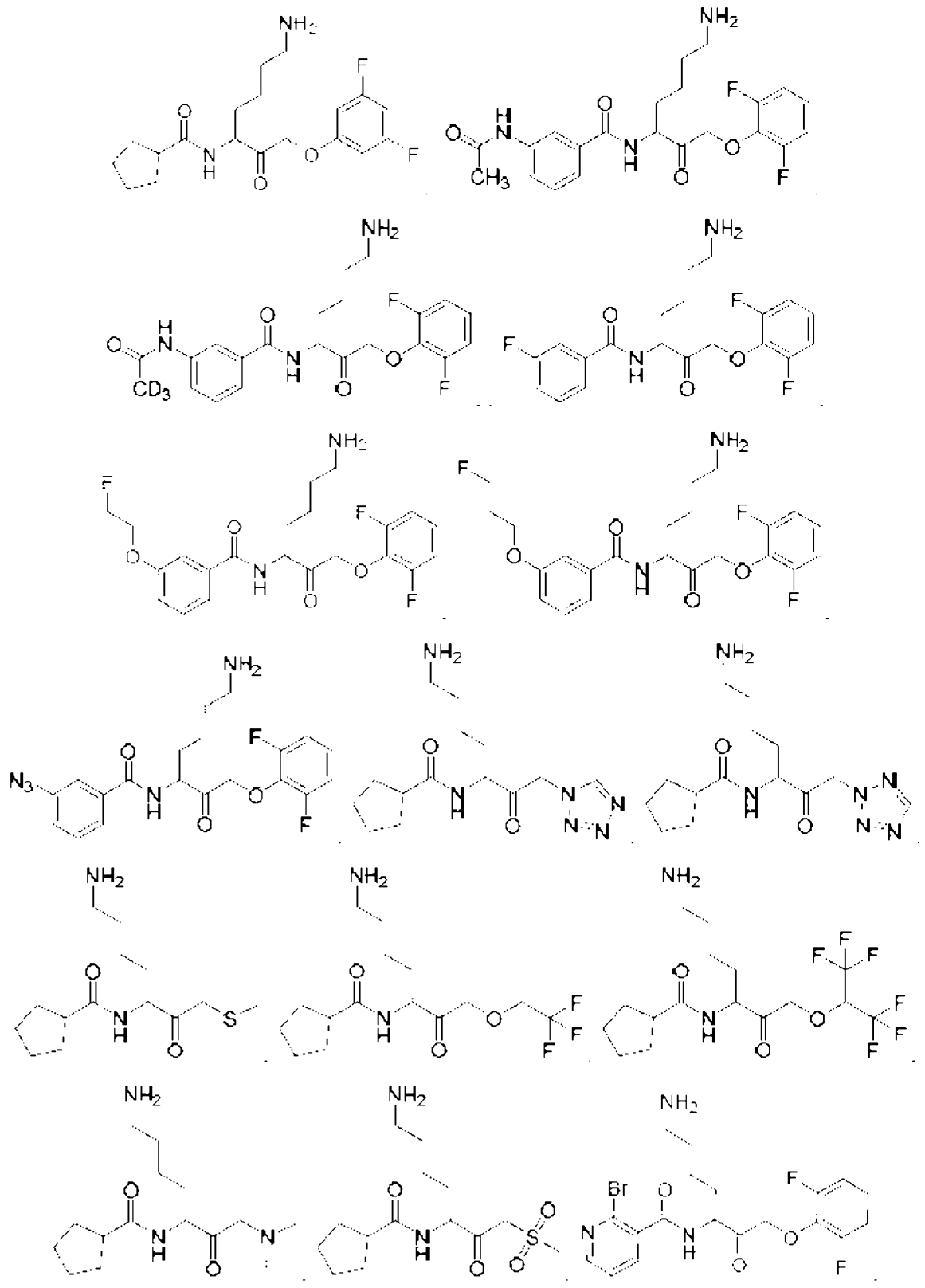
化合物 編號	化合物結構
71a	 <p>The structure of compound 71a is a complex molecule featuring a central xanthone core. It is substituted with a piperazine ring bearing a benzylsulfonamide group, a 4-aminobutyl chain, and a 2,6-difluorophenyl group. The xanthone core is also substituted with a 4-sulfamoylphenyl group, a 4-sulfamoylphenyl group, and a 4-sulfamoylphenyl group. The molecule contains multiple amide linkages, a sulfonamide group, and a sulfonic acid group.</p>
72	 <p>The structure of compound 72 is a complex molecule featuring a central xanthone core. It is substituted with a piperazine ring bearing a benzylsulfonamide group, a 4-aminobutyl chain, and a 2,6-difluorophenyl group. The xanthone core is also substituted with a 4-sulfamoylphenyl group, a 4-sulfamoylphenyl group, and a 4-sulfamoylphenyl group. The molecule contains multiple amide linkages, a sulfonamide group, and a sulfonic acid group.</p>

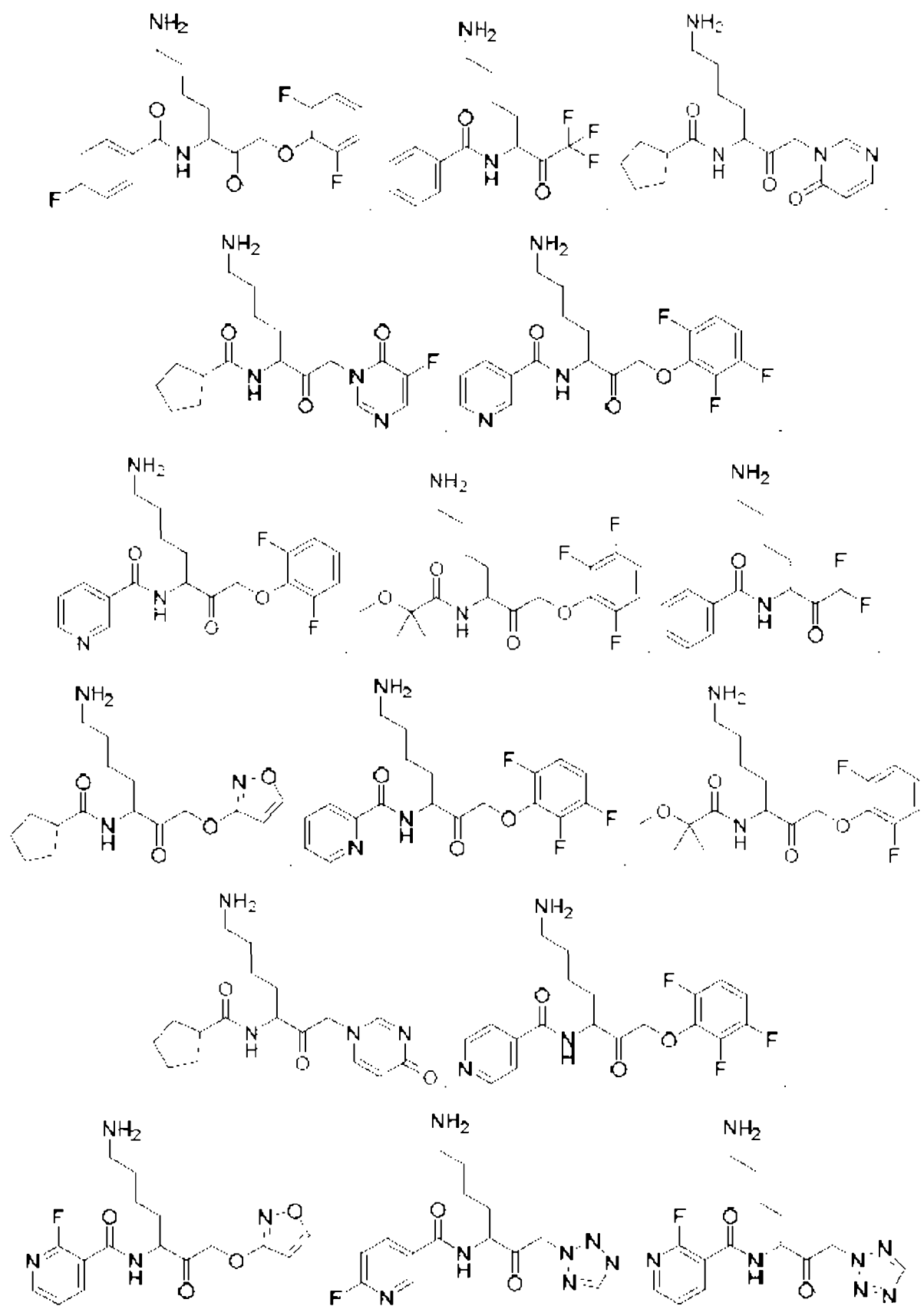


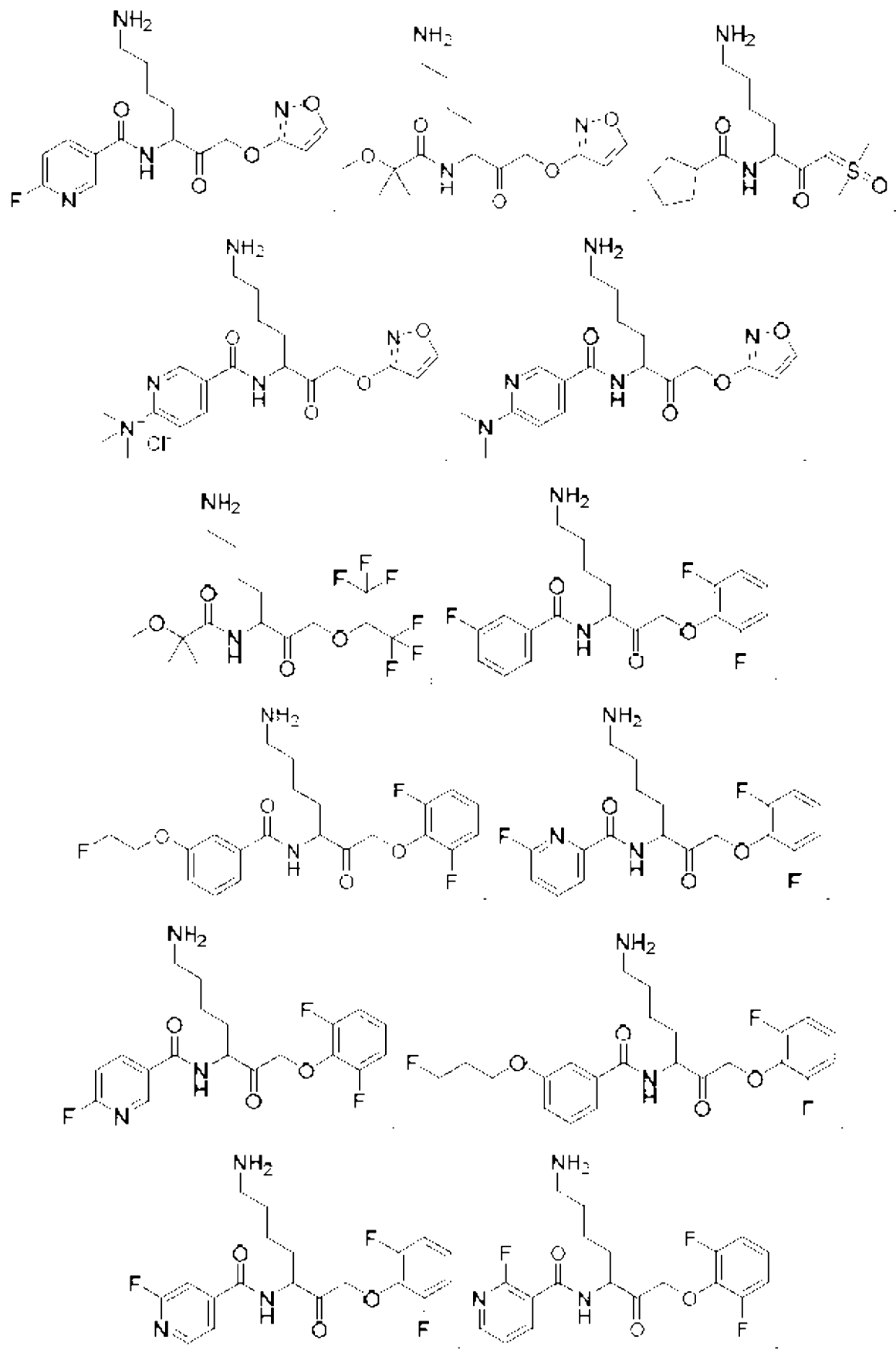
化合物編號	化合物結構
72a	

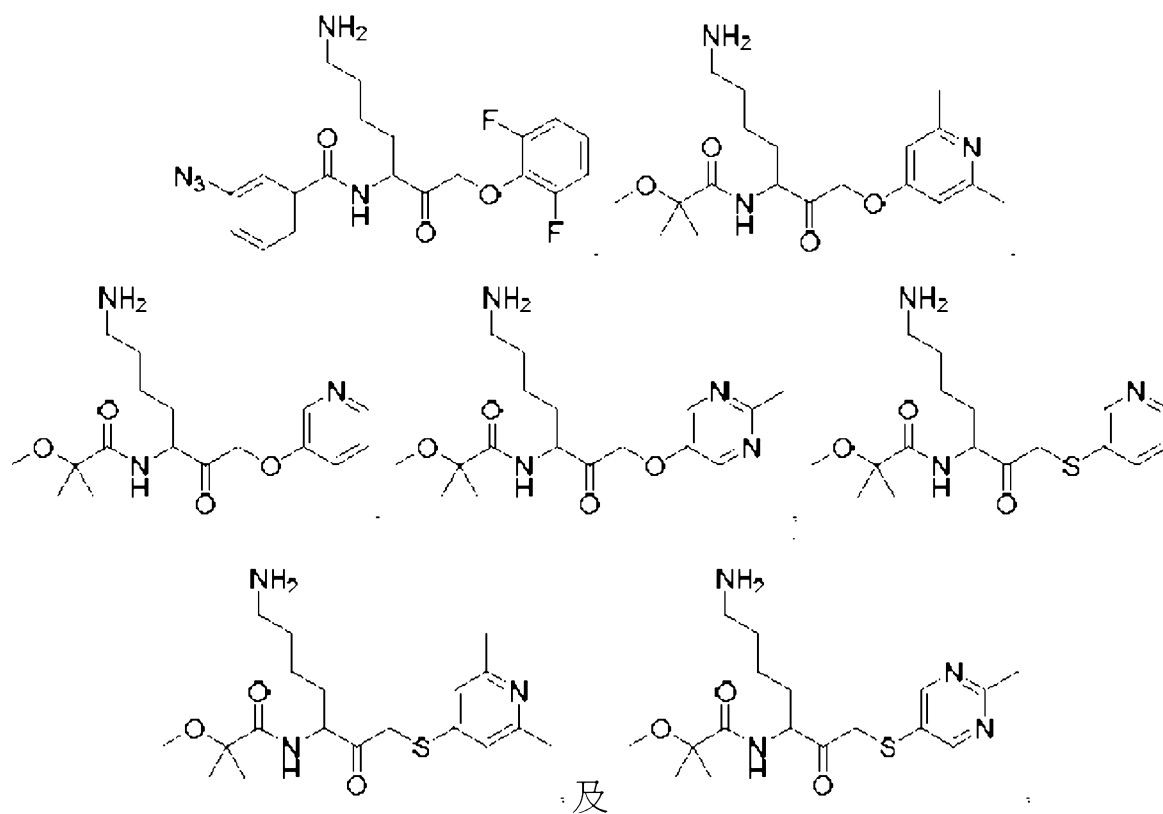
在一些實施例中，化合物係選自：





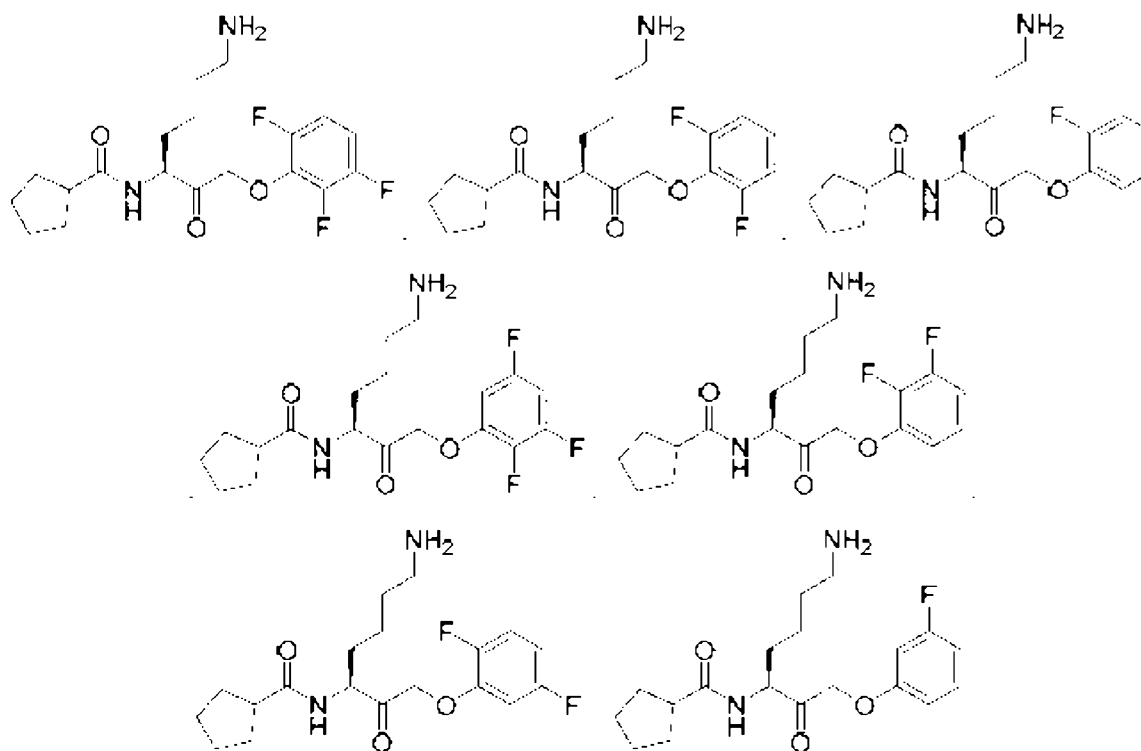


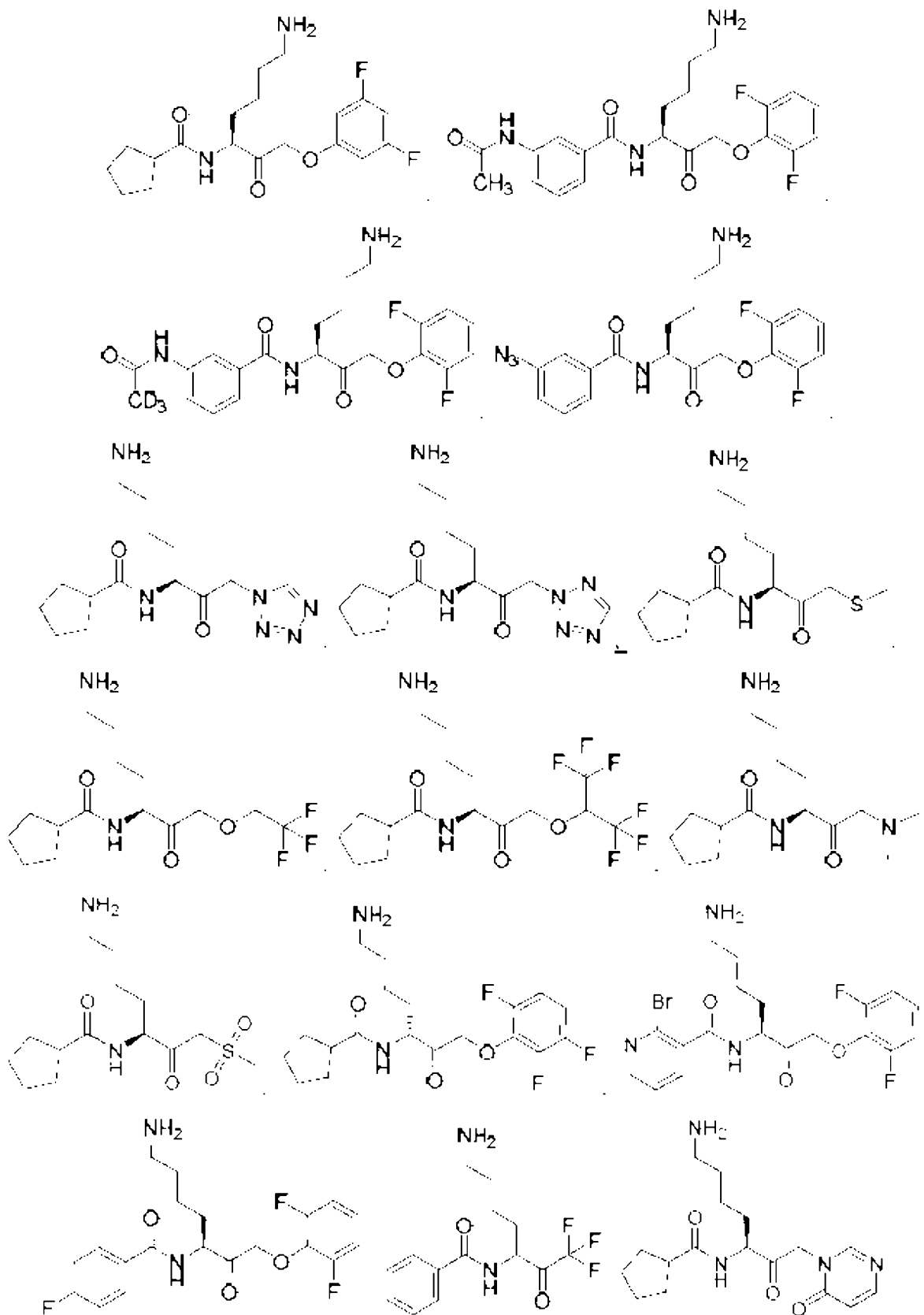


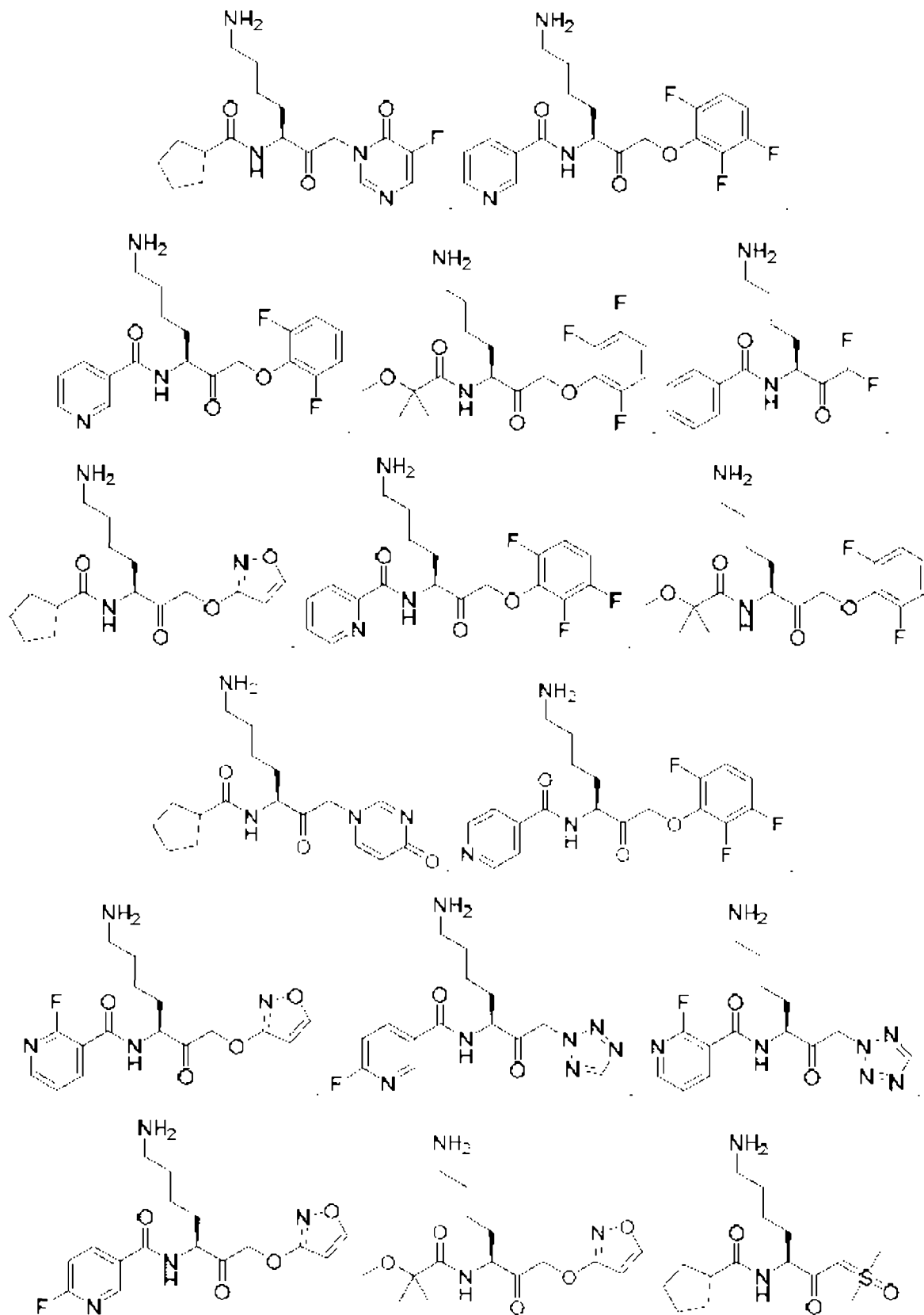


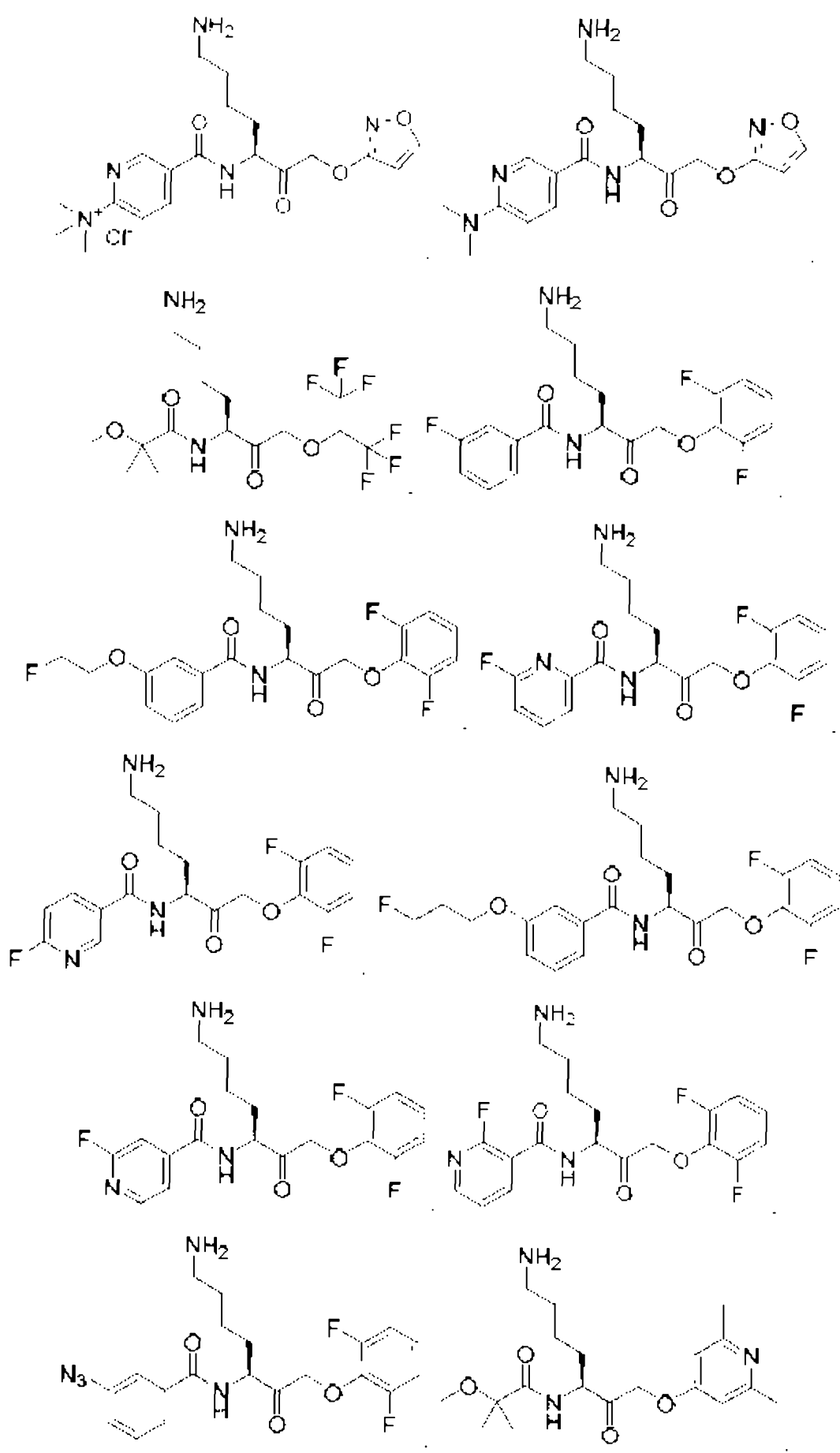
及其醫藥上可接受之鹽。

在一些實施例中，化合物係選自：

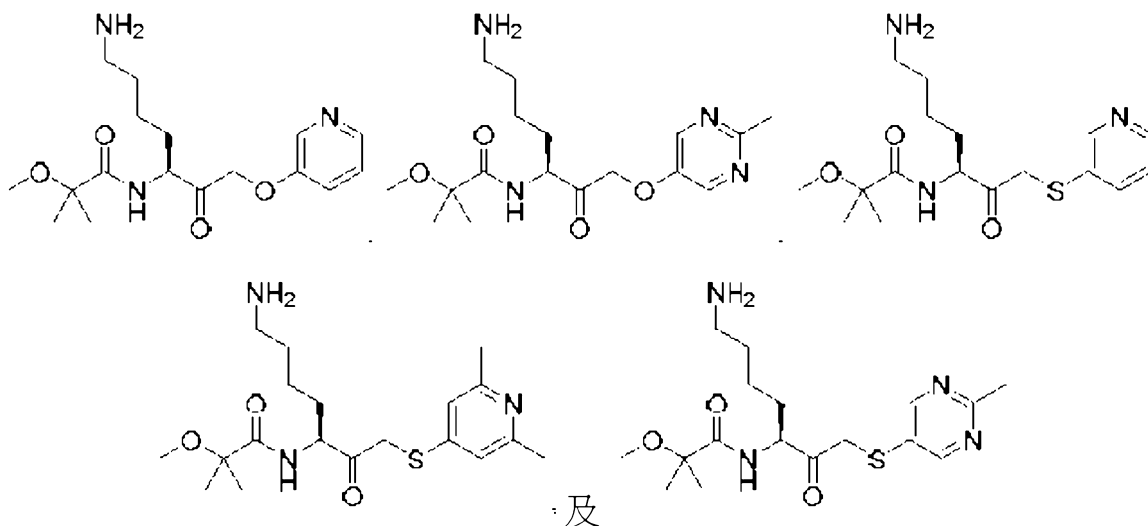












及其醫藥上可接受之鹽。

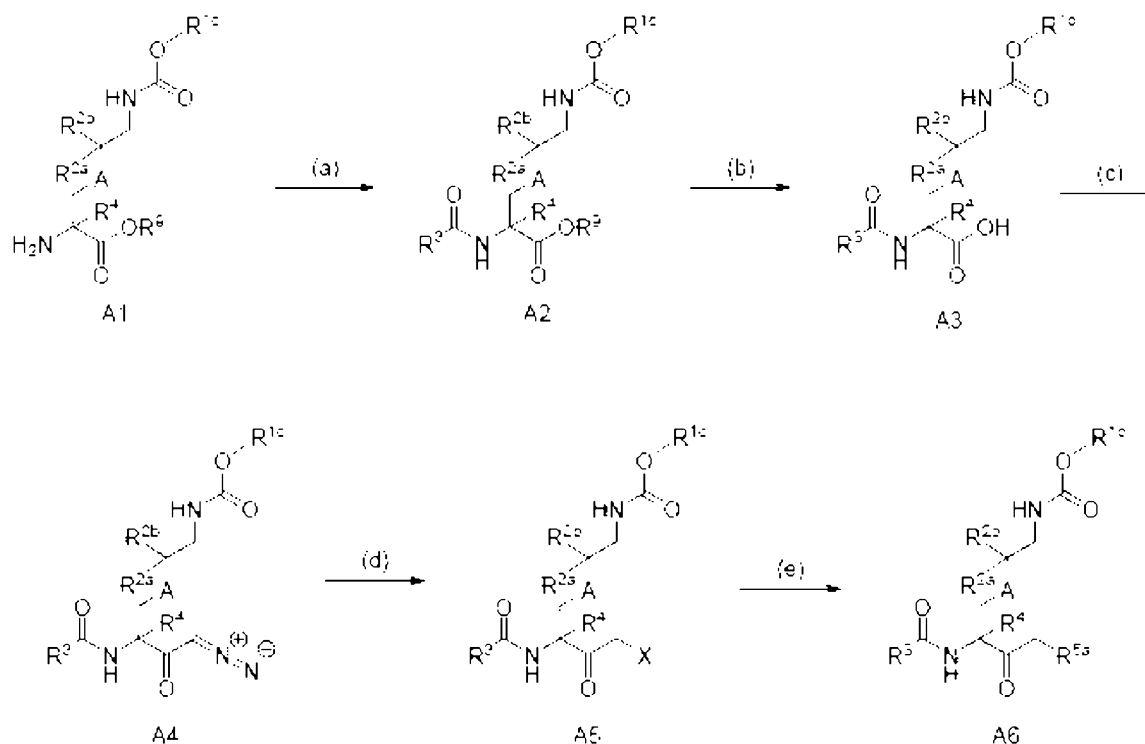
本文中所闡述之化合物及其使用方法涵蓋所闡述化合物之治療活性鏡像異構物或非鏡像異構物之製備及用途。該等化合物之所有此等鏡像異構物及非鏡像異構物均包括在本發明之範圍中。此等化合物可作為混合物(例如，外消旋混合物)或作為經分離之鏡像異構物或非鏡像異構物使用。

本發明之化合物可經製備以便包括用於診斷成像應用(例如正電子發射斷層攝影術(positron emission tomography, PET)及單光子發射電腦斷層掃描攝影術(single-photon emission computed tomography, SPECT))之放射性核種。舉例而言，如本文中所闡述之Kgp抑制劑可經製備以便包括一或多種選自以下之放射性核種：氧-15 ( $^{15}\text{O}$ )、氮-13 ( $^{13}\text{N}$ )、碳-11 ( $^{11}\text{C}$ )、碘-131 ( $^{131}\text{I}$ )及氟-18 ( $^{18}\text{F}$ )。此等經放射標記之化合物可用於PET成像。本發明之化合物亦可以氘化形式(即，具有一或多個氘原子 $^2\text{H}$ 替代一或多個氫原子)、氚化形式(即，具有一或多個氚原子 $^3\text{H}$ 替代一或多個氫原子)或經 $^{14}\text{C}$ -標記之形式(即，具有一或多個 $^{14}\text{C}$ 原子替代一或多個碳原子)來製備。

本發明之化合物可使用如方案1中所示之起始材料A1來製備。在A1中，可使用不影響另一者之化學條件來操控較佳之 $\text{R}^9$ 及 $\text{R}^{1c}$ 基團。舉例而

言， $R^{1c}$  = 苄基可藉由氫及鈹-碳觸媒去除，但 $R^{1c}$ 不受三氟乙酸影響，而 $R^9$  = 第三丁基可藉由三氟乙酸去除，但 $R^9$ 不受氫及鈹-碳觸媒影響。 $R^9$ 及 $R^{1c}$ 之其他適當之互補組合及用於其選擇性修飾之方法為業內已知。

### 方案1

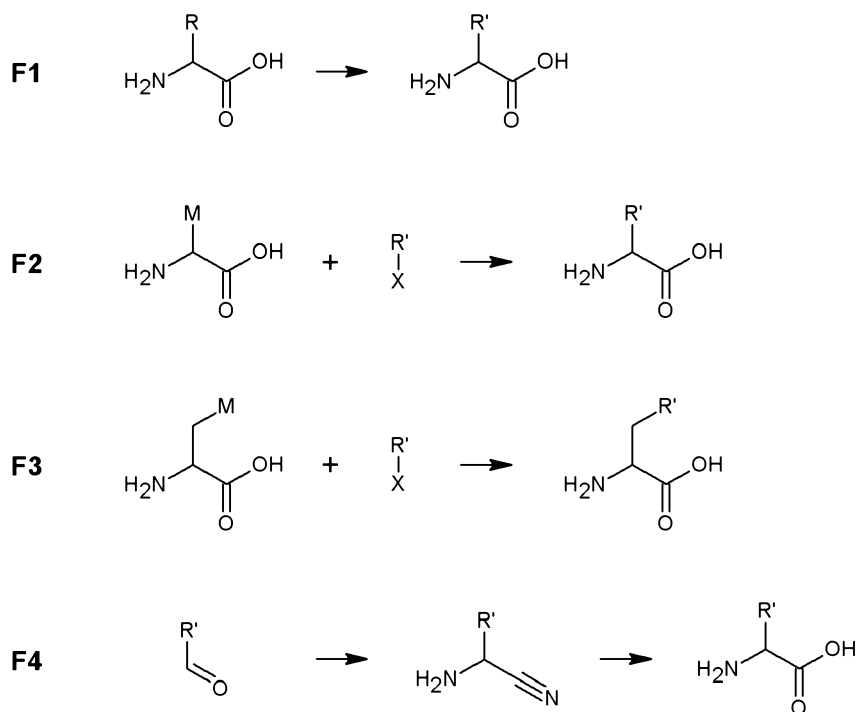


可於有機溶劑(例如DMF)中用羧酸 $R^3CO_2H$ 及外消旋化抑制劑(例如HOBt)以及脫水劑(例如EDAC)來處理A1從而產生A2。或者，可於有機溶劑(例如 $CH_2Cl_2$ )中用 $R^3COX$  (其中X係脫離基(例如氯))及有機鹼(例如 $Et_3N$ )來處理A1從而產生A2。各種可應用之羧酸( $R^3CO_2H$ )及其衍生物( $R^3COX$ )可購得，或可根據已知方法來製備。 $R^9$ 可藉由適當化學條件去除而產生A3。可使A3與氯甲酸酯(例如，氯甲酸異丁基酯、氯甲酸乙基酯及諸如此類)、之後重氮甲烷反應以提供A4。A4可經由利用氫鹵酸(即HX，其中X係鹵素(例如Cl、Br或I))處理而轉化為A5。在鹼存在下使用化合物 $R^{5a}-H$  (例如，鹵化酚或雜芳香族化合物)自A5置換鹵化物可提供經保護之化合物A6，其可去保護從而提供式I之產物。或者，可使羧酸A3 N-醯化

且環化以得到相應之5(4*H*)-噁唑酮。可使噁唑酮進一步與 $\alpha$ -氟化羧酸之酸酐(例如，三氟乙酸酐)反應以提供C-醯化之5(4*H*)-噁唑酮，其使用草酸去羰基以形成式I化合物，其中R<sup>5</sup>係鹵烷基(參見，Kolb等人，*Liebigs. Ann. Chem.*, 1990, 第1-6頁；Kolb等人，*Tet. Lett.* 1986, (27)：第1579-1582頁及第4437-4440頁)。

式(I)之某些實例之製備將需要首先製備非天然胺基酸，該等非天然胺基酸之特徵在於不存在於蛋白質中所出現之任何胺基酸中之側鏈。對於特徵在於非天然側鏈之胺基酸之製備，已發表眾多種方法，包括如下文所匯總之最有用及重要之方法F1-4。

儘管在F1-3中未圖解說明，但在應用該等方法之前胺及羧酸根基團通常經保護，且在構築非天然側鏈之後去除該保護。在F1中，天然側鏈(R)經修飾以形成非天然側鏈(R')。天然胺基酸絲胺酸、麩胺酸及甲硫胺酸將尤其用於式(I)及(II)之某些實例之製備。在F2中，利用烷基化劑(R'X)處理金屬化甘胺酸衍生物以安裝非天然側鏈(R')。在一些情況下，金屬化甘胺酸衍生物係藉由利用強鹼性金屬化劑(例如二異丙基胺基鋰或第三丁醇鉀)處理甘胺酸衍生物來產生。在其他情況下，起始甘胺酸衍生物足夠酸，使得



鹼性極小之金屬化劑(例如碳酸鉀)即令人滿意。在後者情況下，金屬化甘胺酸衍生物可作為解離之離子對而非作為F2中所圖解說明之共價鍵合物質存在。在F3中，利用烷基化劑(R'X)處理金屬化丙胺酸衍生物以安裝非天然側鏈(R')。在大多數情況下，金屬化丙胺酸衍生物係藉由利用低價金屬(例如鋅塵)處理鹵化丙胺酸衍生物來產生。在多種情況下，利用可溶性鈀觸媒來促進F3。在F4中，使醛(R'CHO)與氨源及氰化物源反應以產生胺基-腈，其隨後進行水解以產生特徵在於非天然側鏈(R')之胺基酸。

儘管在F1-3中未圖解說明，但在應用該等方法之前胺及羧酸根基團通常經保護，且在構築非天然側鏈之後去除該保護。在F1中，天然側鏈(R)經修飾以形成非天然側鏈(R')。天然胺基酸絲胺酸、麩胺酸及甲硫胺酸將尤其用於式(I)及(II)之某些實例之製備。在F2中，利用烷基化劑(R'X)處理金屬化甘胺酸衍生物以安裝非天然側鏈(R')。在一些情況下，金屬化甘胺酸衍生物係藉由利用強鹼性金屬化劑(例如二異丙基胺基鋰或第三丁醇鉀)處理甘胺酸衍生物來產生。在其他情況下，起始甘胺酸衍生

物足夠酸，使得鹼性極小之金屬化劑(例如碳酸鉀)即令人滿意。在後者情況下，金屬化甘胺酸衍生物可作為解離之離子對而非作為F2中所圖解說明之共價鍵化合物存在。在F3中，利用烷基化劑(R'X)處理金屬化丙胺酸衍生物以安裝非天然側鏈(R')。在大多數情況下，金屬化丙胺酸衍生物係藉由利用低價金屬(例如鋅塵)處理鹵化丙胺酸衍生物來產生。在多種情況下，利用可溶性鈀觸媒來促進F3。在F4中，使醛(R'CHO)與氨源及氰化物源反應以產生胺基-腓，其隨後進行水解以產生特徵在於非天然側鏈(R')之胺基酸。

在應用適當方法以製備特徵在於非天然側鏈之胺基酸之後，如上文所闡述，該等胺基酸可經適當保護，且然後可應用適當方法以產生其中離胺酸側鏈已經非天然側鏈替代之中間體及產物。因此，可使用適宜方法來提供指定用於式(I)之 $\text{CH}_2\text{AC}(\text{R}^{2a})(\text{R}^{2b})\text{CH}_2\text{N}(\text{R}^{1a})(\text{R}^{1b})$ 之變化形式。

#### IV. 醫藥組合物及離胺酸牙齦蛋白酶抑制劑之投與

在相關態樣中，本發明提供包含式I化合物及醫藥上可接受之賦形劑之醫藥組合物。

醫藥組合物可藉由藥學及藥物遞送領域中所熟知之任何方法來製備。一般而言，製備組合物之方法包括使活性成分與含有一或多種輔助成分之載劑締合之步驟。醫藥組合物通常係藉由以下來製備：使活性成分與液體載劑或精細固體載劑或二者均勻且充分地締合，且然後(若需要)使產物成形為所期望之調配物。組合物可便捷地製備及/或以單位劑型包裝。

含有本發明之化合物之醫藥組合物可經調配用於經口使用。用於經口投與之適宜組合物包括(但不限於)錠劑、糖錠劑、菱形錠劑、水性或油性懸浮液、可分散粉末或顆粒、乳液、硬脂或軟質膠囊、糖漿、酞劑、溶

液、經頰貼劑、經口凝膠、口香糖、可咀嚼錠劑、起泡粉及起泡錠。用於經口投與之組合物可根據熟習此項技術者已知之任何方法來調配。此等組合物可含有一或多種選自甜味劑、矯味劑、著色劑、抗氧化劑及防腐劑之試劑以提供醫藥上美觀且可口之製劑。

錠劑通常含有活性成分與無毒之醫藥上可接受之賦形劑之混合物，該等賦形劑包括：惰性稀釋劑，例如纖維素、二氧化矽、氧化鋁、碳酸鈣、碳酸鈉、葡萄糖、甘露醇、山梨醇、乳糖、磷酸鈣及磷酸鈉；造粒劑及崩解劑，例如玉米澱粉及海藻酸；黏合劑，例如聚乙烷基吡咯啉酮(PVP)、纖維素、聚乙二醇(PEG)、澱粉、明膠及阿拉伯樹膠；以及潤滑劑，例如硬脂酸鎂、硬脂酸及滑石。錠劑可無包衣或可藉由已知技術包衣(腸溶包衣或其他方式)以延遲在胃腸道中之崩解及吸收，並藉此在較長時期內提供持續之作用。舉例而言，可採用諸如單硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯之延時材料。錠劑亦可根據已知技術經半滲透膜及可選聚合滲透劑(osmogent)包衣以形成用於受控釋放之滲透幫浦組合物。

用於經口投與之組合物可調配為硬質明膠膠囊，其中將活性成分與惰性固體稀釋劑(例如，碳酸鈣、磷酸鈣或高嶺土(kaolin))混合；或軟質明膠膠囊，其中將活性成分與水或油介質(例如，花生油、液體石蠟或橄欖油)混合。

Kgp抑制劑亦可作為溶液、軟膏劑、乳霜、凝膠或懸浮液以及漱口劑、滴眼劑及諸如此類局部投與。此外，Kgp抑制劑之經皮遞送可藉助離子電滲貼劑及諸如此類來完成。

含有Kgp抑制劑之醫藥組合物亦可呈無菌可注射水性或油性溶液及懸浮液之形式。無菌可注射製劑可使用無毒之非經腸可接受之媒劑(包括

水、林格氏溶液(Ringer's solution)及等滲氯化鈉溶液)以及可接受之溶劑(例如1,3-丁二醇)來調配。另外，可使用無菌不揮發性油作為溶劑或懸浮介質。出於此目的，可採用任何溫和之不揮發性油，包括合成甘油單酯、甘油二酯或甘油三酯。

在一些實施例中，Kgp抑制劑可與聚合物(例如Pluronic F127)一起調配並皮下遞送。Pluronic係在體溫下固化之水凝膠，且可在數天至數週之持續時期內提供延長之藥物遞送。

水性懸浮液可含有一或多種Kgp抑制劑與賦形劑之混合物，該等賦形劑包括(但不限於)：懸浮劑，例如羧甲基纖維素鈉、甲基纖維素、油性-丙基甲基纖維素(oleagino-propylmethylcellulose)、海藻酸鈉、聚乙烯基-吡咯啉酮、黃耆膠及阿拉伯樹膠；分散劑或潤濕劑，例如卵磷脂、聚氧乙烯硬脂酸酯及聚乙烯去水山梨醇單油酸酯；以及防腐劑，例如對羥基苯甲酸乙基酯及對羥基苯甲酸正丙基酯。可分散之粉末及顆粒(適於藉由添加水來製備水性懸浮液)可含有一或多種Kgp抑制劑與分散劑、潤濕劑、懸浮劑或其組合之混合物。油性懸浮液可藉由將Kgp抑制劑懸浮於植物油(例如花生油、橄欖油、芝麻油或椰子油)中或於礦物油(例如液體石蠟)中來調配。油性懸浮液可含有一或多種增稠劑，例如蜂蠟、硬石蠟或十六烷醇。該等組合物可藉由添加抗氧化劑(例如抗壞血酸)來保存。

本發明之醫藥組合物亦可呈水包油乳液形式。油相可為植物油(例如，橄欖油或花生油)或礦物油(例如，液體石蠟)或該等之混合物。適宜乳化劑可為天然樹膠，例如阿拉伯樹膠或黃耆膠；天然磷脂，例如大豆卵磷脂；衍生自脂肪酸及己糖醇酸酐之酯或偏酯，例如去水山梨醇單油酸

酯；及該等偏酯與環氧乙烷之縮合產物，例如聚氧乙烯去水山梨醇單油酸酯。

使用雜交分子以促進奈米粒子之主動運輸可用於某些實施例中以增加血腦障壁運輸。舉例而言，與運輸蛋白質穿過血腦障壁之受體(包括LPR-1受體、運鐵蛋白受體、EGF樣生長因子或麩胱甘肽運輸蛋白)結合之脂質體、蛋白質、工程化肽化合物或抗體可用於增加對腦之滲透。可使用包括滲透性開放、超音波、雷射、蝶齶神經節刺激、經由幫浦之直接顱內、鞘內或室內遞送之物理技術。

根據本發明之醫藥組合物亦可包括一或多種可用於治療與牙齦卟啉單胞菌感染相關之病狀之其他活性劑。在某些實施例中，本發明提供醫藥組合物，其包含如本文中所闡述之一或多種Kgp抑制劑與一或多種用於治療阿茲海默氏病之其他活性劑之組合。若干種療法正處於研發及臨床使用中用於治療阿茲海默氏病。治療策略包括降低 $\beta$ -類澱粉及tau (如下文更詳細地闡述)之循環含量、穩定化微管、去除動脈粥樣硬化斑塊、調節自體吞噬、調節神經傳遞質含量及抑制GABA(A)  $\alpha$ 5受體。此等療法可維持及/或恢復患有阿茲海默氏病之個體之認知功能；減緩認知功能下降；且有助於神經可塑性及腦恢復。

可與Kgp抑制劑組合於醫藥組合物中之活性劑包括(但不限於)抗生素(即，殺菌化合物及抑菌化合物)、膽鹼酯酶抑制劑、 $\alpha$ -7菸鹼受體調節劑、血清素調節劑、NMDA調節劑、A $\beta$ 靶向療法、ApoE靶向療法、小神經膠質細胞靶向療法、血/腦障壁靶向療法、tau靶向療法、補體靶向療法及抗炎藥。

任何適宜抗生素可與本發明之醫藥組合物中之一或多種Kgp抑制劑組



合。在某些實施例中，本發明提供醫藥組合物，其含有一或多種Kgp抑制劑及牙齦卟啉單胞菌MIC<sub>50</sub>為小於25 µg/ml之抗生素。舉例而言，抗生素之牙齦卟啉單胞菌MIC<sub>50</sub>可小於20 µg/ml、小於15 µg/ml、小於10 µg/ml、小於8 µg/ml、小於6 µg/ml或小於5 µg/ml。在一些實施例中，抗生素之牙齦卟啉單胞菌MIC<sub>50</sub>小於1 µg/ml。在一些實施例中，抗生素之牙齦卟啉單胞菌MIC<sub>50</sub>小於0.2 µg/ml。

殺菌及抑菌化合物之實例包括(但不限於)：喹啉酮(例如，莫西沙星(moxifloxacin)、吉米沙星(gemifloxacin)、環丙沙星(ciprofloxacin)、氧氟沙星(ofloxacin)、曲伐沙星(trovafloxacin)、西他沙星(sitafloxacin)及諸如此類)、β-內醯胺(例如青黴素，例如阿莫西林、阿莫西林-克拉維酸(clavulanate)、必倍西林(piperacillin)-三唑巴坦(tazobactam)、青黴素G及諸如此類；及頭孢菌素，例如頭孢曲松(ceftriaxone)及諸如此類)、巨環內酯(例如，紅黴素(erythromycin)、阿奇黴素(azithromycin)、克拉黴素(clarithromycin)及諸如此類)、碳青黴烯(例如，多尼培南(doripenem)、亞胺培南(imipenem)、美羅培南(meropenem)、厄他培南(ertapenem)及諸如此類)、噻唑化物(例如，替唑尼丁(tizoxanidine)、尼唑尼丁(nitazoxanidine)、RM 4807、RM 4809及諸如此類)、四環素(例如，四環素、米諾四環素(minocycline)、去氧羥四環素、埃拉卡環素(eravacycline)及諸如此類)、克林達黴素(clindamycin)、甲硝唑及沙曲硝唑(satranidazole)。殺菌及抑菌化合物亦包括抑制或以其他方式干擾嫌氧革蘭氏陰性細菌之生物膜形成之試劑；此等試劑包括奧克太爾(oxantel)、莫侖太爾(morantel)、噻苯咪唑及諸如此類。本發明之組合物可含有一或多種Kgp抑制劑與一或多種(例如，兩種、三種、四種、五種、六種或更

多種)殺菌/抑菌化合物。含有殺菌/抑菌化合物之組合物可進一步僅含有洛赫西定(chlorhexidine) (例如，二葡萄糖酸洛赫西定)或與鋅化合物(例如，乙酸鋅)之組合，其亦可與所投與之抗生素組合使用。

在一些實施例中，使用青黴素(例如阿莫西林)與甲硝唑之組合或青黴素(例如阿莫西林)、甲硝唑與四環素之組合。在一些實施例中，抗生素係選自米諾四環素、去氧羥四環素、甲硝唑、阿莫西林、克林達黴素、沃格孟汀(augmentin)、沙曲硝唑及其組合。

適宜膽鹼酯酶抑制劑之實例包括(但不限於)多奈派齊(donepezil)、多奈派齊/美金剛(memantine)、加蘭他敏(galantamine)、利凡斯的明(rivastigmine)及塔克寧(tacrine)以及其醫藥上可接受之鹽。適宜血清素調節劑之實例包括(但不限於)伊朵派丁(idalopirdine)、RVT-101、西酞普蘭(citalopram)、依地普侖(escitalopram)、氟西汀(floxetine)、氟伏沙明(flvoxamine)、帕羅西汀(paroxetine)及舍曲林(sertraline)以及其醫藥上可接受之鹽。適宜 $\alpha$ -7菸鹼受體調節劑之實例包括(但不限於) $\alpha$ -7激動劑，例如恩森克林(encenicline)及APN1125。適宜NMDA調節劑包括(但不限於)NMDA受體拮抗劑，例如美金剛及其衍生物。

本發明之醫藥組合物亦可含有針對與神經疾病相關之生物分子靶標之活性劑。此等靶標包括 $\beta$ 類澱粉肽(亦稱為 $\beta$ 類澱粉、 $a\beta$ 或 $A\beta$ )、載脂蛋白E(亦稱為ApoE)及微管相關tau(亦稱為tau蛋白或簡稱為tau)。

$A\beta$ 靶向療法尤其包括 $A\beta$ 產生之抑制劑(例如 $\beta$ -分泌酶抑制劑、 $\gamma$ -分泌酶抑制劑、 $\alpha$ -分泌酶活化劑)、 $A\beta$ 聚集之抑制劑、 $A\beta$ 寡聚化之抑制劑及 $A\beta$ 清除之上調劑(例如，參見Jia等人，*BioMed Research International*, 2014。文章ID 837157，22頁)。  $A\beta$ 靶向療法之實例包括(但不限於)抗

體、吡格列酮(pioglitazone)、貝加司他(begacestat)、阿托伐他汀(atorvastatin)、斯伐他汀(simvastatin)、依他唑酯(etazolate)及高牛磺酸(tramiprosate)以及其醫藥上可接受之鹽。

ApoE靶向療法之實例包括(但不限於)類視色素X受體激動劑(參見，Cramer等人，*Science* 2012. 335(6075): 1503-1506)及Liu等人所闡述之其他者(*Nat Rev Neurol.* 2013. 9(2): 106-118)。Tau靶向療法包括(但不限於)亞甲藍、白-亞甲藍、抗體及Lee等人所闡述之彼等(*Cold Spring Harb Perspect Med* 2011; 1:a006437)。

本發明之醫藥組合物亦可含有補體靶向療法。此等療法靶向參與先天免疫反應之補體系統之組分。補體靶向療法包括(但不限於)Ricklin及Lambris所闡述之彼等(*Nat. Biotechnology* 2007. 25(11): 1265-1275)。

適宜抗炎藥之實例包括(但不限於)NSAID，例如阿紮丙宗(apazone)、雙氯芬酸、布洛芬(ibuprofen)、吲哚美辛(indomethacin)、酮洛芬(ketoprofen)、萘丁美酮(nabumetone)、萘普生(naproxen)、吡羅昔康(piroxicam)及舒林酸(sulindac)以及其醫藥上可接受之鹽。

## V. 抑制牙齦蛋白酶及治療與牙齦卟啉單胞菌感染相關之病狀之方法

在另一實施例中，本發明提供抑制牙齦蛋白酶之方法。該方法包括使牙齦蛋白酶與有效量之如本文中所闡述之化合物接觸。在某些實施例中，牙齦蛋白酶係離胺酸牙齦蛋白酶(即，Kgp或含有一或多個胺基酸取代、缺失及/或其他肽序列變化形式之變體)。抑制牙齦蛋白酶通常包括使牙齦蛋白酶與一定量之化合物接觸，與不存在該化合物之情形下之牙齦蛋白酶活性相比，該量足以降低牙齦蛋白酶之活性。舉例而言，使牙齦蛋白酶與牙齦蛋白酶抑制劑接觸可導致約1%至約99%之牙齦蛋白酶抑制(即，

經抑制之牙齦蛋白酶之活性係在不存在該化合物之情形下之牙齦蛋白酶活性之99%至1%範圍內)。牙齦蛋白酶之抑制程度可在以下範圍內：約1%至約10%、或約10%至約20%、或約20%至約30%、或約30%至約40%、或約40%至約50%、或約50%至約60%、或約60%至約70%、或約70%至約80%、或約80%至約90%、或約90%至約99%。牙齦蛋白酶之抑制程度可在以下範圍內：約5%至約95%、或約10%至約90%、或約20%至約80%、或約30%至約70%、或約40%至約60%。在一些實施例中，使牙齦蛋白酶與如本文中所闡述之化合物接觸將導致完全(即，100%)牙齦蛋白酶抑制。

如上文所闡述，感染牙齦卟啉單胞菌及牙齦蛋白酶活性與牙周疾病、阿茲海默氏病及其他腦病症、心血管疾病、糖尿病、癌症、肝病、腎病、早產、關節炎、肺炎及其他病症之發展相關。參見：Bostanci等人，*FEMS Microbiol Lett*, 2012. 333(1): 1-9；Ghizoni等人，*J Appl Oral Sci*, 2012. 20(1): 104-12；Gatz等人，*Alzheimers Dement*, 2006. 2(2): 110-7；Stein等人，*J Am Dent Assoc*, 2007. 138(10): 1314-22；測驗 1381-2；Noble等人，*J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2009. 80(11): 1206-11；Sparks Stein等人，*Alzheimers Dement*, 2012. 8(3): 196-203；Velsko等人，*PLoS ONE*, 2014. 9(5): e97811；Demmer等人，*J Dent Res*, 2015. 94(9S): 201-S-11S；Atanasova及Yilmaz，*Molecular Oral Microbiology*, 2014. 29(2): 55-66；Yoneda等人，*BMC Gastroenterol*, 2012. 12: 16。

由牙齦卟啉單胞菌產生之細胞外蛋白酶(包括精胺酸牙齦蛋白酶A (RgpA)、精胺酸牙齦蛋白酶B (RgpB)及離胺酸牙齦蛋白酶(Kgp))亦可降

解結締組織及血漿中廣泛範圍之蛋白質(例如膠原、免疫球蛋白及蛋白酶抑制劑等)。牙齦蛋白酶可進入體循環及/或滑膜細胞及軟骨細胞，且其亦可引起激肽釋放素-激肽級聯、血液凝固及宿主防禦系統之破壞。在關節及循環系統中具有牙齦蛋白酶之患者可經受牙齦蛋白酶誘導之滑膜細胞及/或軟骨細胞之死亡，導致骨關節炎。

最近已發現，RgpB及Kgp可浸潤人類及狗關節，導致骨關節炎之發生。相信牙齦卟啉單胞菌及牙齦蛋白酶可經由多個途徑浸潤關節組織。牙齦蛋白酶可由牙齦卟啉單胞菌分泌、運送至牙齦卟啉單胞菌之外膜表面，或釋放於外膜囊泡中。先前已在牙周組織、冠狀動脈、主動脈及最近在肝中鑑別出牙齦卟啉單胞菌，這些生態區位(niche)中任一者之牙齦卟啉單胞菌及/或牙齦蛋白酶釋放至體循環中可導致牙齦卟啉單胞菌及/或牙齦蛋白酶移位至關節。參見：Travis等人，*Adv Exp Med Biol*, 2000. 477: 455-65；Byrne等人，*Oral Microbiol Immunol*, 2009. 24(6): 469-77；Mahendra等人，*J Maxillofac Oral Surg*, 2009. 8(2): 108-13；Stelzel，*Periodontol*, 2002. 73(8): 868-70；Ishikawa等人，*Biochim Biophys Acta*, 2013. 1832(12): 2035-2043。

牙齦卟啉單胞菌及/或牙齦蛋白酶亦可藉由降解保護血液/關節障壁之內皮細胞或藉由關節之創傷事件(例如半月板損傷)而進入關節，其永久性或短暫地降低關節組織之完整性。舉例而言，此創傷性關節損傷之破壞可促成牙齦卟啉單胞菌及/或牙齦蛋白酶在受感染個體中之浸潤及隨後發生慢性骨關節炎。處於高風險創傷性關節損傷之人，包括從事身體接觸運動(如足球)之運動員，可利用牙齦蛋白酶抑制劑預防性治療以降低創傷相關骨關節炎之風險。

牙齦卟啉單胞菌及牙齦蛋白酶亦可經由其他機制到達關節，該等機制包括主動運輸，被動運輸或巨噬細胞遞送。因該等機制中之任一者所引起之骨關節炎可限於單一關節或存在於多個關節中。

類似於人類，牙齦卟啉單胞菌感染及牙周疾病係影響成年狗及貓之最常見傳染病中之一者。在其關節及循環系統中具有牙齦卟啉單胞菌感染及牙齦蛋白酶之狗及貓可經歷因牙齦蛋白酶誘導之細胞死亡所致之牙周疾病及骨關節炎，其可根據本發明之方法治療或預防。老年狗自發性發展骨關節炎之許多特徵，包括與前交叉韌帶 (ACL, anterior cruciate ligament) 變性相關之常見發炎性膝關節炎。Muir等人對患有發炎性膝關節炎及ACL變性之狗之研究在37%之來自患病狗之膝關節中檢測到來自一系列細菌物種之DNA。Muir等人假設細菌係狗發炎性關節炎之發病機制中之重要致病因素。在Muir等人之研究中，在狗關節中未檢測到來自牙齦卟啉單胞菌之DNA。參見Muir等人，*Microb Pathog*, 2007. 42(2-3): 47-55。然而，類似於人類，牙齦卟啉單胞菌係影響成年狗之常見口腔病原體，且可因菌血症而潛在地自口腔移位至關節組織。已展示，牙齦卟啉單胞菌在活體外會感染軟骨細胞，引起軟骨細胞凋亡，此顯示狗及人類二者中骨關節炎軟骨損失之途徑。參見：Rohner等人，*Calcif Tissue Int*, 2010. 87(4)：第333-40頁；Houle等人，*FEMS Microbiol Lett*, 2003. 221(2)：第181-5頁；Kataoka等人，*FASEB J*, 2014. 28: 3564-3578；Pischon等人，*Ann Rheum Dis*, 2009. 68(12)：第1902-7頁。

因此，Kgp抑制劑可用於治療由牙齦卟啉單胞菌引起或以其他方式受牙齦卟啉單胞菌感染之疾病及病狀(例如腦病症)。因此，本發明之另一態樣提供治療與牙齦卟啉單胞菌感染相關之疾病或病狀之方法。該方法包括

向有需要之個體投與有效量之如上文所闡述之本發明之化合物或組合物。

在某些實施例中，本發明之化合物抑制哺乳動物(例如，人類或動物(例如狗))之腦中之活性Kgp，且係細胞保護性化合物或神經保護性化合物。「神經保護性」意指該等化合物防止神經元之異常變化或神經元之死亡。因此，本發明之化合物可用於(例如)治療腦病症(例如，神經退化性疾病(例如，阿茲海默氏病、唐氏症候群(Down's syndrome)、癲癇、自閉症、帕金森氏病(Parkinson's disease)、自發性震顫、額-顳葉失智症、進行性核上性麻痺、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症、杭丁頓氏症(Huntington's disease)、多發性硬化、輕度認知損害、年齡相關性記憶損害、慢性創傷性腦病、中風、腦血管疾病、路易氏體病(Lewy Body disease)、多重系統萎縮、精神分裂症及抑鬱症等)、糖尿病、心血管疾病、關節炎、類風濕性關節炎、骨關節炎、感染性關節炎、牛皮癬關節炎、視網膜病症(例如，年齡相關性黃斑退化)及青光眼。

在一些實施例中，疾病或病狀係選自腦病症、牙周疾病、糖尿病、心血管疾病、關節炎、類風濕性關節炎、骨關節炎、早產、肺炎、癌症、腎病、肝病、視網膜病症及青光眼。

在一些實施例中，疾病或病狀係腦病症。

在一些實施例中，腦病症係選自阿茲海默氏病、唐氏症候群、癲癇、自閉症、帕金森氏病、自發性震顫、額-顳葉失智症、進行性核上性麻痺、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症、杭丁頓氏症、多發性硬化、輕度認知損害、年齡相關性記憶損害、慢性創傷性腦病、中風、腦血管疾病、路易氏體病、多重系統萎縮、精神分裂症及抑鬱症。

在一些實施例中，腦病症係阿茲海默氏病。

在一些實施例中，方法進一步包括投與個體一或多種選自以下之活性劑：膽鹼酯酶抑制劑、血清素調節劑、NMDA調節劑、A $\beta$ 靶向療法、ApoE靶向療法、小神經膠質細胞靶向療法、血腦障壁靶向療法、tau靶向療法、補體靶向療法及抗炎藥。

在一些實施例中，疾病或病狀係牙周疾病。在一些實施例中，疾病或病狀係肝病。在一些實施例中，肝病係非酒精性脂肪性肝炎。在一些實施例中，疾病或病狀係視網膜病症。在一些實施例中，視網膜病症係年齡相關性黃斑退化。

在一些實施例中，疾病或病狀係癌症。在一些實施例中，癌症係乳癌、口腔癌、胰臟癌或多形性神經膠母細胞瘤。

如本文中所闡述之Kgp抑制劑可在本發明之方法中以任何適宜劑量投與。一般而言，Kgp抑制劑係以約0.1毫克至約1000毫克/千克個體體重(即，約0.1-1000 mg/kg)範圍內之劑量投與。Kgp抑制劑之劑量可係(例如)約0.1-1000 mg/kg、或約1-500 mg/kg、或約25-250 mg/kg、或約50-100 mg/kg。Kgp抑制劑之劑量可係約1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、85、90、95、100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950或1000 mg/kg。劑量可端視患者需求、所治療病症之嚴重程度及所投與之具體調配物而有所變化。投與患者之劑量應足以在患者中產生有益治療反應。劑量大小亦可藉由伴隨具體患者中藥物投與之任何不良副作用之存在、性質及程度來確定。針對具體情形確定適當劑量係在典型從業人員之能力範圍內。可將總劑量分開且在適於治療癲癇發作之時期內分部分投與。



Kgp抑制劑可投與一定時期，該時期將端視具體病症之性質、其嚴重程度及投與Kgp抑制劑之個體之總體狀況而有所變化。投與可(例如)每小時、每2小時、3小時、4小時、6小時、8小時或每日兩次(包括每12小時)或以其任何中間間隔進行。投與可每日進行一次，或每36小時或48小時進行一次，或每月或若干個月進行一次。在治療後，可監測個體之其狀況改變及病症症狀之緩和。在個體對特定劑量無顯著反應之情形下可增加Kgp抑制劑之劑量，或若觀察到病症症狀之緩和或若病症已經補救或若在特定劑量下觀察到不可接受之副作用，則可將劑量減少。

可將治療有效量之Kgp抑制劑以包含劑量之間至少1小時或6小時或12小時或24小時或36小時或48小時間隔之治療方案投與個體。投與可以至少72、96、120、144、168、192、216或240小時(即，3、4、5、6、7、8、9或10天)之間隔進行。在某些實施例中，一或多種Kgp抑制劑之投與係以慢性方式經若干個月至若干年範圍內之時期進行。因此，本發明之一些實施例提供治療如上文所闡述之與牙齦卟啉單胞菌感染相關之疾病或病狀之方法，其中將化合物向個體投與至少一年。在一些實施例中，將化合物向個體投與至少10年。在一些實施例中，將化合物向個體投與至少60年。

根據本發明之方法投與抑制劑通常使得個體中活性Kgp之循環含量降低及/或腦中活性Kgp降低。在某些實施例中，根據本發明之方法投與Kgp抑制劑使得活性Kgp之循環含量降低至少20%及/或腦中之活性Kgp降低至少20%。舉例而言，與第一次投與Kgp抑制劑24小時之前之相應Kgp含量相比，Kgp之循環含量及/或腦中Kgp之含量較佳降低約25%至約95%、或約35%至約95%、或約40%至約85%、或約40%至約80%。

Kgp抑制劑可單獨投與或與一或多種其他治療活性劑組合投與，如上文所闡述。該一或多種其他治療有效試劑包括(例如)：(i) 醫藥上可接受之抑制RgpA、RgpB及/或Kgp產生、RgpA、RgpB及/或Kgp移位至體循環或腦中及/或哺乳動物中RgpA、RgpB及/或Kgp之病理(例如，神經毒性效應)之試劑；(ii) 對於牙齦卟啉單胞菌為抑菌或殺菌之抗細菌劑；(iii) 一或多種與RgpA、RgpB及/或Kgp結合之抗體(例如，18E6，其與RgpB之免疫球蛋白結構域之前半部分結合；Kgp特異性單株抗體7B9，其識別Kgp催化結構域內之表位；RgpA抗體61Bg 1.3，前述任一者之人類化形式等)；(iv) 與RgpA、RgpB及/或Kgp或牙齦卟啉單胞菌表現之其他蛋白質結合之抗體之表位；及(v) 前述任一者之組合。

其他治療活性劑亦包括A $\beta$ 肽含量降低劑、致病程度之tau降低劑、微管穩定劑、能夠去除動脈粥樣硬化斑塊之試劑、降低 $\beta$ -類澱粉及tau之循環含量之試劑、自體吞噬調節劑、神經傳遞質含量調節劑、GABA(A)  $\alpha$ 5受體抑制劑及有助於維持及/或恢復阿茲海默氏病之認知功能及功能缺陷及/或減慢阿茲海默氏病中之認知功能下降及功能缺陷之其他試劑。

本發明之醫藥組合物可含有一或多種如本文中所闡述之Kgp抑制劑與利托那韋(ritonavir, RTV)之組合，其可增加生物利用度且增加血腦障壁滲透。舉例而言，利托那韋通常與口服肽型HIV蛋白酶抑制劑組合以藉由抑制P450 3A4酶增加血漿含量，且因此減少首渡代謝(參見，Walmsley等人，*N Engl J Med*, 2002. 346(26): 2039-46)。另外，RTV結合至P-醣蛋白(在許多組織中發現之跨膜流出幫浦，包括血腦障壁)，此容許共投與之化合物更好地進入腦(參見，Marzolini等人，*Mol Pharm*, 2013. 10(6): 2340-9)。因此，RTV與Kgp抑制劑之組合可用於增加牙齦蛋白酶抑制劑

之血漿濃度及腦含量。如美國專利申請案第14/875,416號中所闡述，在Kgp抑制劑Kyt-36之前15分鐘經口投與RTV增加半衰期，因此預期RTV將亦增加其他Kgp抑制劑之半衰期。

在一些實施例中，本發明之化合物可與自肉豆蔻分離之天然牙齦蛋白酶抑制劑(包括美拉巴酮C (melabaricone C))一起投與，或源自植物(例如蔓越莓、綠茶、蘋果及蛇麻草)之多酚化合物可結合投與用於治療或預防腦病症。包括κ-酪蛋白肽(109-137) 34、組胺素5及CL(14-25)、CL(K25A)以及CL(R24A, K25A)之天然及非天然抗微生物肽亦可結合本發明之Kgp抑制劑投與。(例如，參見Taniguchi等人，*Biopolymers*, 2014. 102(5): 379-89)。

如本文中所闡述之Kgp抑制劑可與靶向牙齦蛋白酶或其他牙齦卟啉單胞菌蛋白質之抗體一起投與。抗體可依賴於牙齦蛋白酶及牙齦卟啉單胞菌增殖對血腦障壁之損害以進入腦或外圍干擾。抗體亦可有助於刺激免疫系統在清除細菌方面之效能。可利用針對RgpA、RgpB或Kgp之新穎或現有抗體，包括18E6及7B9。RgpA抗體61BG 1.3先前已展示局部防止牙周治療後牙齦卟啉單胞菌重新定殖之效能。參見，Booth等人，*Infect Immun*, 1996. 64(2): 422-7。抗體將較佳人類化以用於人類。可使用業內人員已知之用於遞送生物製劑以改良半衰期及腦滲透之方法，該等方法包括(但不限於)靜脈內遞送、皮下遞送、鼻內遞送、鞘內遞送、關節內遞送、載體運送及直接腦遞送。

本發明之方法亦涵蓋投與如本文中所闡述之Kgp抑制劑與以下其他治療活性劑或其醫藥上可接受之鹽之一或多者：精胺酸衍生物；組胺素5；桿狀病毒p35；牛痘病毒細胞介素-反應調節劑之單點突變體(CrmA (Asp

> Lys))；苯丙胺醯基-脲基-瓜胺醯基-纈胺醯基-環精胺醯(FA-70C1)；(醯氧基)甲基酮(Cbz-Phe-Lys-CH<sub>2</sub>OCO-2,4,6-Me<sub>3</sub>Ph)；肽基氯-甲基酮(例如，精胺酸之氯甲基酮衍生物、離胺酸之氯甲基酮衍生物及諸如此類)；氟-甲基酮；溴-甲基酮；酮肽；1-(3-苯基丙醯基)六氫吡啶-3(R,S)-甲酸[4-胺基-1(S)-(苯并噻唑-2-羰基)丁基]醯胺(A71561)；氮雜肽富馬醯胺；氮雜-肽邁克爾受體(aza-peptide Michael acceptor)；苯甲脒化合物；環甲基酮；經活化之因子X抑制劑(例如，DX-9065a)；蔓越莓不可透析部分；蔓越莓多酚部分；胰臟胰蛋白酶抑制劑；Cbz-Phe-Lys-CH<sub>2</sub>O-CO-2,4,6-Me<sub>3</sub>-Ph；E-64；洛赫西定；鋅(例如，乙酸鋅)；或任何前述之兩者、三者或更多者之組合。在該等實施例中之一些實施例中，Zn可增強本發明之方法中所使用之化合物(例如，洛赫西定、苯甲脒等)之功效及選擇性。

本發明之Kgp抑制劑可以與額外治療活性劑相同之組合物投與。或者，額外治療活性劑可在Kgp抑制劑投與之前、與其同時或之後分開投與。

## VI. 牙齦蛋白酶活性探針

在相關實施例中，本發明提供包含報告子部分及牙齦蛋白酶反應性部分之化合物或其醫藥上可接受之鹽。在一些實施例中，牙齦蛋白酶反應性部分係Kgp反應性部分。在一些實施例中，牙齦蛋白酶反應性部分係Rgp反應性部分。

在一些實施例中，牙齦蛋白酶反應性部分可逆地結合至靶標牙齦蛋白酶。在一些實施例中，牙齦蛋白酶反應性部分不可逆地結合至靶標牙齦蛋白酶。

在一些實施例中，Kgp反應性部分進一步包含淬滅部分。

在一些實施例中，報告子部分係選自螢光團、螢光部分、發色團、發色部分、生物素、地殼新配質(digoxigenin)、肽標籤(例如FLAG肽)、寡核苷酸及多核苷酸。

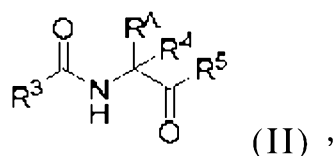
如本文中所使用，術語「FLAG肽」係指含有胺基酸序列Asp-Tyr-Lys-Asp-Asp-Asp-Asp-Lys (即，DYKDDDDK)之寡肽或多肽。FLAG肽及其變體闡述於(例如) Hopp等人之美國專利第4,703,004號中，該專利係以引用的方式併入本文中。可代替FLAG肽使用之其他肽包括(但不限於)含有序列Tyr-Pro-Tyr-Asp-Val-Pro-Asp-Tyr-Ala (即，YPYDVPDYA)之HA肽標籤、含有序列His-His-His-His-His-His (即，HHHHHH)之His<sub>6</sub>肽標籤及含有序列Glu-Gln-Lys-Leu-Ile-Ser-Glu-Glu-Asp-Leu (即，EQKLISEEDL)之Myc肽標籤。肽標籤可由與比色試劑、化學發光試劑或諸如此類一起使用之抗體或其他結合部分識別，以便便利地鑑別及/或量化。同樣，報告子部分可含有可由互補一級核苷酸或另一互補核苷酸識別之核苷酸(例如，RNA、單鏈DNA或雙鏈DNA)，以便藉由PCR技術(例如，定量PCR)來檢測，如(例如) WO 2016/019929 (Navratil等人)中所闡述，該公開案係以引用的方式併入本文中。可用之DNA序列包括(但不限於)

CCTGCCAGTTGAGCATT TTTATCTGCCACCTTCTCCACCAGACAAA  
AGCTGGAAA ; CACTCTGTGCTCGTTGCTACAC ; 及  
CAGACAGCAAGCAGCACTACAC。

如本文中所使用，術語「地殼新配質」係指 3-[(3S,5R,8R,9S,10S,12R,13S,14S,17R)-3,12,14-三羥基-10,13-二甲基-1,2,3,4,5,6,7,8,9,11,12,15,16,17-十四氫環戊[a]菲-17-基]-2H-咪喃-5-酮

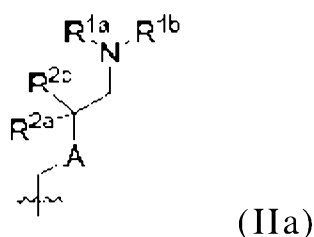
(CAS 登記號 1672-46-4) 及其經取代之類似物。如本文中所使用，術語「生物素」係指 5-[(3aS,4S,6aR)-2-側氧基六氫-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基]戊酸(CAS 登記號 58-85-5) 及其經取代之類似物。

在一些實施例中，化合物具有上文所述之式 I 之結構，其中  $R^3$  係報告子部分。在一些實施例中，化合物具有式 II 之結構：

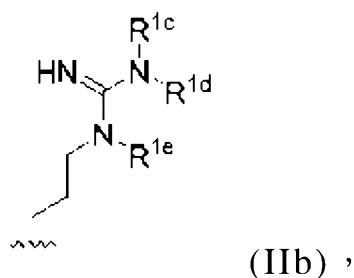


或其醫藥上可接受之鹽，其中：

$R^A$  係側鏈 IIa：



或側鏈 IIb：



其中波形線表示與式 II 之連結點；

A 係選自  $-\text{CH}_2-$  及  $-\text{O}-$  ；

$R^{1a}$ 、 $R^{1b}$ 、 $R^{1c}$ 、 $R^{1d}$  及  $R^{1e}$  係各自獨立地選自氫、 $\text{C}_{1-4}$  烷基及胺保護基團；

$R^{2a}$  及  $R^{2b}$  係各自獨立地選自氫、鹵素、 $\text{C}_{1-4}$  鹵烷基及  $\text{C}_{1-4}$  鹵烷氧基；

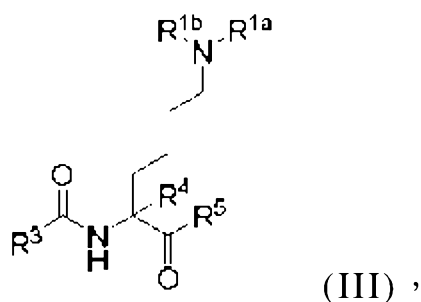
$R^3$  係報告子部分；

$R^4$ 係選自氫及 $C_{1-4}$ 烷基；且

$R^5$ 係牙齦蛋白酶反應性部分，其中該牙齦蛋白酶反應性部分視情況包含淬滅部分 $R^9$ 。

本發明之化合物可以經保護之形式來製備(即，其中 $R^{1a}$ 、 $R^{1b}$ 、 $R^{1c}$ 、 $R^{1d}$ 及 $R^{1e}$ 之至少一者係胺保護基團之化合物)。可使用多個適宜保護基團，如(例如) Green及Wuts (*Protective Groups in Organic Synthesis*, 第4版, 2007, Wiley-Interscience, New York)所闡述之。在一些實施例中， $R^{1a}$ 係H且 $R^{1b}$ 係選自苄基氧基羰基；9-芴基甲基-氧基羰基；第三丁基氧基羰基；及烯丙基氧基羰基。在一些實施例中， $R^{1a}$ 係H且 $R^{1b}$ 係第三丁基氧基羰基。化合物亦可以烷基化形式(即，其中 $R^{1a}$ 及 $R^{1b}$ 之至少一者係烷基之化合物)來製備。 $R^{1a}$ 及 $R^{1b}$ 之一者或兩者可係(例如)甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基或第三丁基。

在一些實施例中，化合物具有式III之結構：



或其醫藥上可接受之鹽。

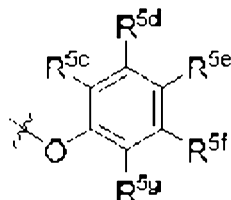
在一些實施例中：

$R^5$ 係選自 $C_{1-6}$ 鹵烷基、 $-CH_2-O-R^6$ 、 $-CH_2-S-R^7$ 、 $-CH_2-SO-R^7$ 、 $-CH_2-SO_2-R^7$ 、 $-CH_2-N(R^8)_2$ 及 $-CH_2-C_{5-12}$ 雜芳基；

$R^6$ 及 $R^7$ 係選自苯基、 $C_{1-6}$ 烷基、 $C_{1-6}$ 鹵烷基及 $C_{5-12}$ 雜芳基，其中苯基經1至5個鹵素取代且其中 $C_{5-12}$ 雜芳基視情況經鹵素或 $C_{1-3}$ 鹵烷基取代；且

$R^8$ 係獨立選擇之 $C_{1-6}$ 烷基。

在一些實施例中，牙齦蛋白酶反應性部分 $R^5$ 係- $CH_2-O$ -苯基，且苯基經1至5個鹵素取代。在一些實施例中，苯基視情況經淬滅部分 $R^9$ 取代。在一些實施例中，牙齦蛋白酶反應性部分具有下式：



其中波形線表示與式II或式III之連結點。

在一些實施例中：

$R^{5c}$ 係鹵素， $R^{5d}$ 係H， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係鹵素， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係H， $R^{5e}$ 係鹵素， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係H， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係鹵素，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係H， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係鹵素；或  
 $R^{5c}$ 係鹵素， $R^{5d}$ 係鹵素， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係鹵素， $R^{5d}$ 係H， $R^{5e}$ 係鹵素， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係鹵素， $R^{5d}$ 係H， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係鹵素，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係鹵素， $R^{5d}$ 係H， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係鹵素；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係鹵素， $R^{5e}$ 係鹵素， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係鹵素， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係鹵素，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係鹵素， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係鹵素；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係H， $R^{5e}$ 係鹵素， $R^{5f}$ 係鹵素，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係H， $R^{5e}$ 係鹵素， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係鹵素；或



$R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係H， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係鹵素，且 $R^{5g}$ 係鹵素；或  
 $R^{5c}$ 係鹵素， $R^{5d}$ 係鹵素， $R^{5e}$ 係鹵素， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係鹵素， $R^{5d}$ 係鹵素， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係鹵素，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係鹵素， $R^{5d}$ 係鹵素， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係鹵素；或  
 $R^{5c}$ 係鹵素， $R^{5d}$ 係H， $R^{5e}$ 係鹵素， $R^{5f}$ 係鹵素，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係鹵素， $R^{5d}$ 係H， $R^{5e}$ 係鹵素， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係鹵素；或  
 $R^{5c}$ 係鹵素， $R^{5d}$ 係H， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係鹵素，且 $R^{5g}$ 係鹵素；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係鹵素， $R^{5e}$ 係鹵素， $R^{5f}$ 係鹵素，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係鹵素， $R^{5e}$ 係鹵素， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係鹵素；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係鹵素， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係鹵素，且 $R^{5g}$ 係鹵素；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係H， $R^{5e}$ 係鹵素， $R^{5f}$ 係鹵素，且 $R^{5g}$ 係鹵素；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係鹵素， $R^{5e}$ 係鹵素， $R^{5f}$ 係鹵素，且 $R^{5g}$ 係鹵素；或  
 $R^{5c}$ 係鹵素， $R^{5d}$ 係H， $R^{5e}$ 係鹵素， $R^{5f}$ 係鹵素，且 $R^{5g}$ 係鹵素；或  
 $R^{5c}$ 係鹵素， $R^{5d}$ 係鹵素， $R^{5e}$ 係鹵素， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係鹵素；或  
 $R^{5c}$ 係鹵素， $R^{5d}$ 係鹵素， $R^{5e}$ 係鹵素， $R^{5f}$ 係鹵素，且 $R^{5g}$ 係H；

其中 $R^{5c}$ 、 $R^{5d}$ 、 $R^{5e}$ 、 $R^{5f}$ 及 $R^{5g}$ 之一者中之H或鹵素視情況經淬滅部分 $R^9$ 替代。

在一些實施例中：

$R^{5c}$ 係F或Cl， $R^{5d}$ 係H， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係F或Cl， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係H， $R^{5e}$ 係F或Cl， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係H， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係F或Cl，且 $R^{5g}$ 係H；或  
 $R^{5c}$ 係H， $R^{5d}$ 係H， $R^{5e}$ 係H， $R^{5f}$ 係H，且 $R^{5g}$ 係F或Cl；或

$R^{5c}$  係 F 或 C1,  $R^{5d}$  係 F 或 C1,  $R^{5c}$  係 H,  $R^{5f}$  係 H, 且  $R^{5g}$  係 H; 或  
 $R^{5c}$  係 F 或 C1,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係 F 或 C1,  $R^{5f}$  係 H, 且  $R^{5g}$  係 H; 或  
 $R^{5c}$  係 F 或 C1,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係 H,  $R^{5f}$  係 F 或 C1, 且  $R^{5g}$  係 H; 或  
 $R^{5c}$  係 F 或 C1,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係 H,  $R^{5f}$  係 H, 且  $R^{5g}$  係 F 或 C1; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 F 或 C1,  $R^{5c}$  係 F 或 C1,  $R^{5f}$  係 H, 且  $R^{5g}$  係 H; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 F 或 C1,  $R^{5c}$  係 H,  $R^{5f}$  係 F 或 C1, 且  $R^{5g}$  係 H; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 F 或 C1,  $R^{5c}$  係 H,  $R^{5f}$  係 H, 且  $R^{5g}$  係 F 或 C1; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係 F 或 C1,  $R^{5f}$  係 F 或 C1, 且  $R^{5g}$  係 H; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係 F 或 C1,  $R^{5f}$  係 H, 且  $R^{5g}$  係 F 或 C1; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係 H,  $R^{5f}$  係 F 或 C1, 且  $R^{5g}$  係 F 或 C1; 或  
 $R^{5c}$  係 F 或 C1,  $R^{5d}$  係 F 或 C1,  $R^{5c}$  係 F 或 C1,  $R^{5f}$  係 H, 且  $R^{5g}$  係 H; 或  
 $R^{5c}$  係 F 或 C1,  $R^{5d}$  係 F 或 C1,  $R^{5c}$  係 H,  $R^{5f}$  係 F 或 C1, 且  $R^{5g}$  係 H; 或  
 $R^{5c}$  係 F 或 C1,  $R^{5d}$  係 F 或 C1,  $R^{5c}$  係 H,  $R^{5f}$  係 H, 且  $R^{5g}$  係 F 或 C1; 或  
 $R^{5c}$  係 F 或 C1,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係 F 或 C1,  $R^{5f}$  係 F 或 C1, 且  $R^{5g}$  係 H; 或  
 $R^{5c}$  係 F 或 C1,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係 F 或 C1,  $R^{5f}$  係 H, 且  $R^{5g}$  係 F 或 C1; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 F 或 C1,  $R^{5c}$  係 F 或 C1,  $R^{5f}$  係 F 或 C1, 且  $R^{5g}$  係 H; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 F 或 C1,  $R^{5c}$  係 F 或 C1,  $R^{5f}$  係 H, 且  $R^{5g}$  係 F 或 C1; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 F 或 C1,  $R^{5c}$  係 H,  $R^{5f}$  係 F 或 C1, 且  $R^{5g}$  係 F 或 C1; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係 F 或 C1,  $R^{5f}$  係 F 或 C1, 且  $R^{5g}$  係 F 或 C1; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 F 或 C1,  $R^{5c}$  係 F 或 C1,  $R^{5f}$  係 F 或 C1, 且  $R^{5g}$  係 F 或 C1;

或

$R^{5c}$  係 F 或 C1,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5c}$  係 F 或 C1,  $R^{5f}$  係 F 或 C1, 且  $R^{5g}$  係 F 或 C1;

或

$R^{5c}$  係 F 或 CI， $R^{5d}$  係 F 或 CI， $R^{5e}$  係 F 或 CI， $R^{5f}$  係 H，且  $R^{5g}$  係 F 或 CI；

或

$R^{5c}$  係 F 或 CI， $R^{5d}$  係 F 或 CI， $R^{5e}$  係 F 或 CI， $R^{5f}$  係 F 或 CI，且  $R^{5g}$  係 H；

其中  $R^{5c}$ 、 $R^{5d}$ 、 $R^{5e}$ 、 $R^{5f}$  及  $R^{5g}$  之一者中之 H、F 或 CI 視情況經淬滅部分  $R^9$  替代。

在一些實施例中：

$R^{5c}$  係 F， $R^{5d}$  係 H， $R^{5e}$  係 H， $R^{5f}$  係 H，且  $R^{5g}$  係 H；或

$R^{5c}$  係 H， $R^{5d}$  係 F， $R^{5e}$  係 H， $R^{5f}$  係 H，且  $R^{5g}$  係 H；或

$R^{5c}$  係 H， $R^{5d}$  係 H， $R^{5e}$  係 F， $R^{5f}$  係 H，且  $R^{5g}$  係 H；或

$R^{5c}$  係 H， $R^{5d}$  係 H， $R^{5e}$  係 H， $R^{5f}$  係 F，且  $R^{5g}$  係 H；或

$R^{5c}$  係 H， $R^{5d}$  係 H， $R^{5e}$  係 H， $R^{5f}$  係 H，且  $R^{5g}$  係 F；或

$R^{5c}$  係 F， $R^{5d}$  係 F， $R^{5e}$  係 H， $R^{5f}$  係 H，且  $R^{5g}$  係 H；或

$R^{5c}$  係 F， $R^{5d}$  係 H， $R^{5e}$  係 F， $R^{5f}$  係 H，且  $R^{5g}$  係 H；或

$R^{5c}$  係 F， $R^{5d}$  係 H， $R^{5e}$  係 H， $R^{5f}$  係 F，且  $R^{5g}$  係 H；或

$R^{5c}$  係 F， $R^{5d}$  係 H， $R^{5e}$  係 H， $R^{5f}$  係 H，且  $R^{5g}$  係 F；或

$R^{5c}$  係 H， $R^{5d}$  係 F， $R^{5e}$  係 F， $R^{5f}$  係 H，且  $R^{5g}$  係 H；或

$R^{5c}$  係 H， $R^{5d}$  係 F， $R^{5e}$  係 H， $R^{5f}$  係 F，且  $R^{5g}$  係 H；或

$R^{5c}$  係 H， $R^{5d}$  係 F， $R^{5e}$  係 H， $R^{5f}$  係 H，且  $R^{5g}$  係 F；或

$R^{5c}$  係 H， $R^{5d}$  係 H， $R^{5e}$  係 F， $R^{5f}$  係 F，且  $R^{5g}$  係 H；或

$R^{5c}$  係 H， $R^{5d}$  係 H， $R^{5e}$  係 F， $R^{5f}$  係 H，且  $R^{5g}$  係 F；或

$R^{5c}$  係 H， $R^{5d}$  係 H， $R^{5e}$  係 H， $R^{5f}$  係 F，且  $R^{5g}$  係 F；或

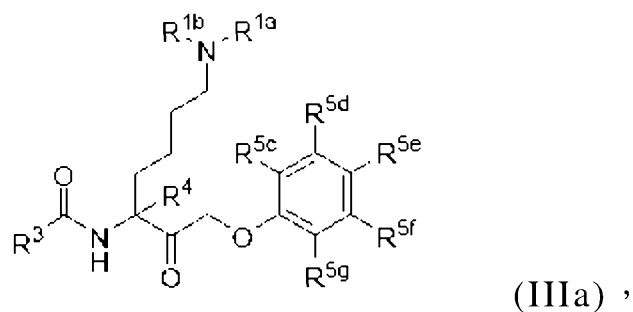
$R^{5c}$  係 F， $R^{5d}$  係 F， $R^{5e}$  係 F， $R^{5f}$  係 H，且  $R^{5g}$  係 H；或

$R^{5c}$  係 F,  $R^{5d}$  係 F,  $R^{5e}$  係 H,  $R^{5f}$  係 F, 且  $R^{5g}$  係 H; 或  
 $R^{5c}$  係 F,  $R^{5d}$  係 F,  $R^{5e}$  係 H,  $R^{5f}$  係 H, 且  $R^{5g}$  係 F; 或  
 $R^{5c}$  係 F,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5e}$  係 F,  $R^{5f}$  係 F, 且  $R^{5g}$  係 H; 或  
 $R^{5c}$  係 F,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5e}$  係 F,  $R^{5f}$  係 H, 且  $R^{5g}$  係 F; 或  
 $R^{5c}$  係 F,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5e}$  係 H,  $R^{5f}$  係 F, 且  $R^{5g}$  係 F; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 F,  $R^{5e}$  係 F,  $R^{5f}$  係 F, 且  $R^{5g}$  係 H; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 F,  $R^{5e}$  係 F,  $R^{5f}$  係 H, 且  $R^{5g}$  係 F; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 F,  $R^{5e}$  係 H,  $R^{5f}$  係 F, 且  $R^{5g}$  係 F; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5e}$  係 F,  $R^{5f}$  係 F, 且  $R^{5g}$  係 F; 或  
 $R^{5c}$  係 H,  $R^{5d}$  係 F,  $R^{5e}$  係 F,  $R^{5f}$  係 F, 且  $R^{5g}$  係 F; 或  
 $R^{5c}$  係 F,  $R^{5d}$  係 H,  $R^{5e}$  係 F,  $R^{5f}$  係 F, 且  $R^{5g}$  係 F; 或  
 $R^{5c}$  係 F,  $R^{5d}$  係 F,  $R^{5e}$  係 F,  $R^{5f}$  係 H, 且  $R^{5g}$  係 F; 或  
 $R^{5c}$  係 F,  $R^{5d}$  係 F,  $R^{5e}$  係 F,  $R^{5f}$  係 F, 且  $R^{5g}$  係 H;

其中  $R^{5c}$ 、 $R^{5d}$ 、 $R^{5e}$ 、 $R^{5f}$  及  $R^{5g}$  之一者中之 H 或 F 或 Cl 視情況經湮滅部分  $R^9$  替代。

在某些實施例中，牙齦蛋白酶反應性部分不為 2,3,5,6-四氟苯氧基甲基。

在一些實施例中，化合物具有式 IIIa 之結構：



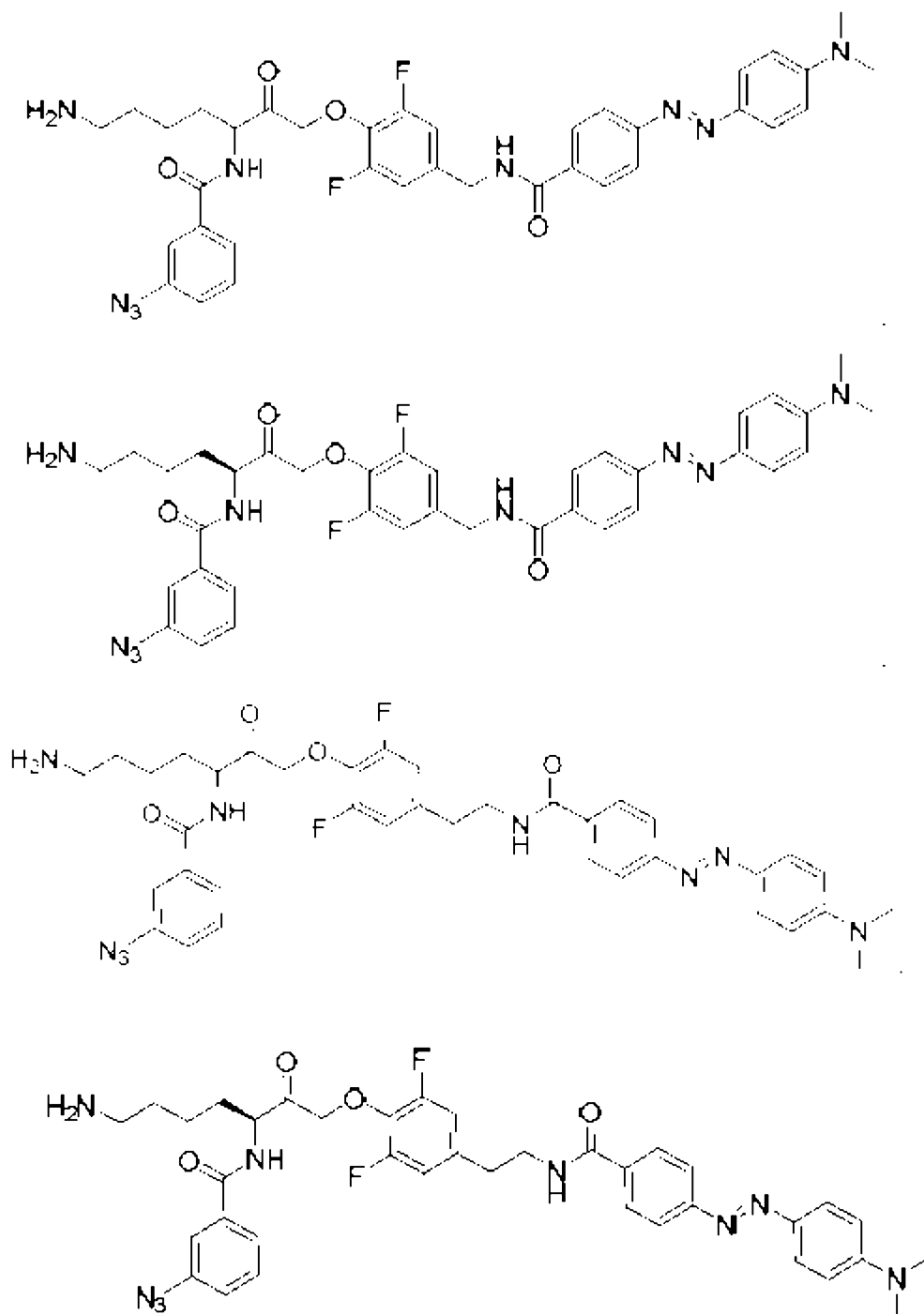
或其醫藥上可接受之鹽，其中：

$R^{5c}$ 、 $R^{5d}$ 、 $R^{5e}$ 、 $R^{5f}$ 及 $R^{5g}$ 之一者係選自氫、鹵素及淬滅部分；且

$R^{5c}$ 、 $R^{5d}$ 、 $R^{5e}$ 、 $R^{5f}$ 及 $R^{5g}$ 之四者係獨立地選自氫及鹵素；

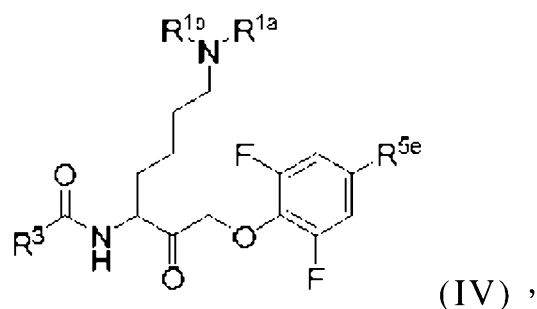
條件係 $R^{5c}$ 、 $R^{5d}$ 、 $R^{5e}$ 、 $R^{5f}$ 及 $R^{5g}$ 之至少一者係鹵素。

在一些實施例中，本發明提供淬滅部分包括於 $R^5$ 中之化合物。此等化合物包括(但不限於)：



及其醫藥上可接受之鹽。

在一些實施例中，化合物具有式IV之結構：



或其醫藥上可接受之鹽，其中：

$R^{5c}$  係選自H及淬滅部分- $L^9$ - $R^{9a}$ ；

$L^9$  係連接部分；且

$R^{9a}$  係選自偶氮苯、吡啶鎊(xanthylum)、蔥醌及紫羅鹼。

在一些實施例中，報告子部分 $R^3$ 係- $R^{3b}$ - $L^3$ - $R^{3c}$ ，其中：

$R^{3b}$  係選自 $C_{3-8}$ 伸烷基、 $C_{3-8}$ 伸環烷基、 $C_{3-12}$ 伸雜環基、 $C_{6-10}$ 伸芳基及 $C_{5-12}$ 伸雜芳基；

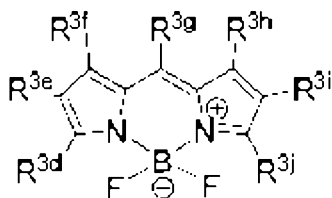
$L^3$  係連接部分；且

$R^{3c}$  係選自發色團或螢光團。

使用如下文所闡述之UV-可見吸收光譜或螢光測定法，含有發色團或螢光團之報告部分可用於檢測經標記之牙齦蛋白酶。任何適宜發色團或螢光團可用於本發明之化合物中。一般而言，適宜發色團及螢光團具有可直接或經由一或多個連接基團共價鍵合至式II化合物之反應基團(例如，羧酸酯部分、胺基部分、鹵烷基部分或諸如此類)。適宜發色團及螢光團之實例包括(但不限於)美國專利第7,687,282號；第7,671,214號；第7,446,202號；第6,972,326號；第6,716,979號；第6,579,718號；第6,562,632號；第6,399,392號；第6,316,267號；第6,162,931號；第6,130,101號；第6,005,113號；第6,004,536號；第5,863,753號；第

5,846,737 號；第 5,798,276 號；第 5,723,218 號；第 5,696,157 號；第 5,658,751 號；第 5,656,449 號；第 5,582,977 號；第 5,576,424 號；第 5,573,909 號；及第 5,187,288 號中所闡述之彼等，該等專利均係以全文引用的方式併入本文中。

在一些實施例中， $R^{3c}$  係具有以下結構之硼-二吡咯亞甲基部分：



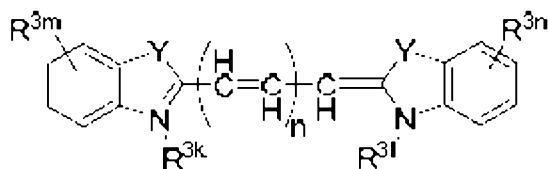
其中

$R^{3d}$ 、 $R^{3c}$ 、 $R^{3f}$ 、 $R^{3g}$ 、 $R^{3h}$ 、 $R^{3i}$  及  $R^{3j}$  之六者係獨立地選自 H、鹵素、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{3-8}$  環烷基、 $C_{6-10}$  芳基、 $C_{7-16}$  芳基烷基、 $C_{1-6}$  醯基及  $-SO_3H$ ；且其中

$R^{3d}$ 、 $R^{3c}$ 、 $R^{3f}$ 、 $R^{3g}$ 、 $R^{3h}$ 、 $R^{3i}$  及  $R^{3j}$  之一者係連接部分  $-L^3-$ 。

在一些實施例中， $R^{3d}$  及  $R^{3f}$  係獨立選擇之  $C_{1-6}$  烷基(例如，甲基或乙基)，且  $R^{3h}$ 、 $R^{3i}$  及  $R^{3j}$  之一者係連接部分  $-L^3-$ 。在一些實施例中， $R^{3d}$  及  $R^{3f}$  係甲基且  $R^{3j}$  係連接部分  $-L^3-$ 。

在一些實施例中， $R^{3c}$  係具有以下結構之青色素部分：



其中

$R^{3k}$  及  $R^{3l}$  係獨立地選自 H、 $C_{1-6}$  烷基、 $(CH_2)_tCOOH$ 、 $(CH_2)_tSO_3H$  及連接部分  $L^3$ ；

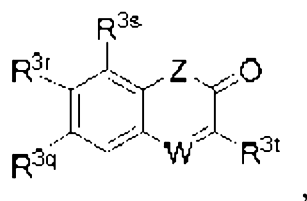
每一下標  $t$  獨立地係 1 至 10 之整數；

$R^{3m}$  及  $R^{3n}$  係獨立地選自 H、鹵素、 $C_{1-6}$  烷基、 $-SO_3H$ 、 $-PO_3H_2$ 、 $-OPO_3H_2$ 、 $-COOH$  及連接部分  $L^3$ ；

每一 Y 係獨立地選自 O、S、 $C(R^{3p})_2$ 、 $-CH=CH-$  及  $NR^{3p}$ ，其中每一  $R^{3p}$  獨立地係 H 或  $C_{1-6}$  烷基；且

下標 n 係 1 至 6 之整數，條件係  $R^{3k}$ 、 $R^{3l}$ 、 $R^{3m}$  及  $R^{3n}$  之一者且僅一者係連接部分  $-L^3-$ 。

在一些實施例中， $R^{3c}$  係具有以下結構之香豆素部分：



其中

W 係 N 或  $CR^{3u}$ ；

Z 係 O、S 或  $NR^{3v}$ ；且

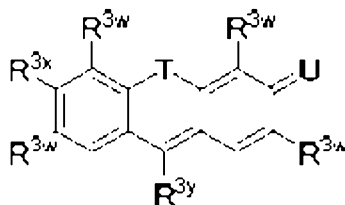
$R^{3q}$ 、 $R^{3s}$ 、 $R^{3t}$ 、 $R^{3u}$  之每一者係獨立地選自 H、鹵素、 $C_{1-6}$  烷基、 $-CN$ 、 $-CF_3$ 、 $-COOR^{3v}$ 、 $-CON(R^{3v})_2$ 、 $-OR^{3v}$  及連接部分  $-L^3-$ ；

$R^{3r}$  係選自  $-OR^{3v}$  及  $-N(R^{3v})_2$

每一  $R^{3v}$  係獨立地選自 H、 $C_{1-6}$  烷基及連接部分  $-L^3-$ ；

條件係  $R^{3q}$ 、 $R^{3s}$ 、 $R^{3t}$ 、 $R^{3u}$  及  $R^{3v}$  之一者且僅一者係連接部分  $-L^3-$ 。

在一些實施例中， $R^{3c}$  係具有以下結構之吡嗪部分：



其中：



T係選自O、S、 $C(R^{3z})_2$ 及 $NR^{3z}$ ；

U係O或 $N(R^{3z})_2$ ；

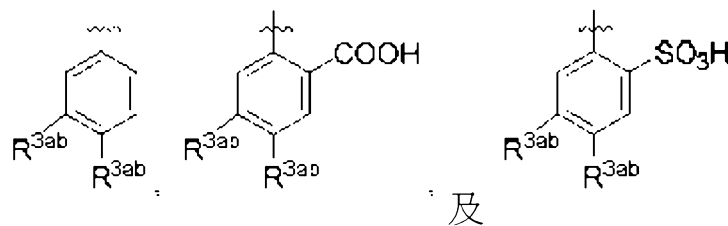
每一 $R^{3w}$ 係獨立地選自H、鹵素、 $C_{1-6}$ 烷基、 $-SO_3H$ 及連接部分 $-L^3-$ ；

$R^{3x}$ 係選自H、 $-OH$ 、 $-OR^{3z}$ 、 $-N(R^{3z})_2$ 及連接部分 $-L^3-$ ；

$R^{3y}$ 係選自H、 $C_{1-6}$ 烷基、 $R^{3aa}$ 及連接部分 $-L^3-$ ；

每一 $R^{3z}$ 獨立地係H或 $C_{1-6}$ 烷基；且

$R^{3aa}$ 係選自

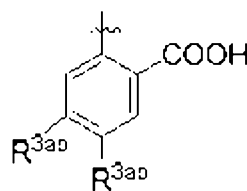


其中：

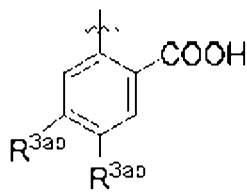
每一 $R^{3ab}$ 係獨立地選自H及連接部分 $-L^3-$ ；

條件係 $R^{3w}$ 、 $R^{3x}$ 、 $R^{3y}$ 及 $R^{3ab}$ 之一者且僅一者係連接部分 $-L^3-$ 。

在一些實施例中， $R^{3c}$ 係螢光黃，其中T及U係O； $R^{3x}$ 係OH，且 $R^{3y}$ 係：

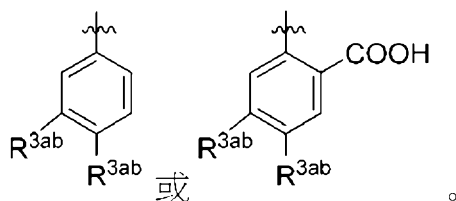


在一些實施例中，吡啶部分係伊紅，其中T及U係O； $R^{3x}$ 係OH，每一 $R^{3w}$ 係鹵素(例如，溴)，且 $R^{3y}$ 係：

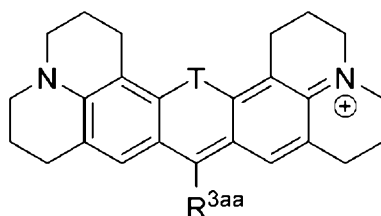


在一些實施例中，吡啶部分係玫瑰紅，其中T係O；U係 $N(R^{3z})_2$  (例

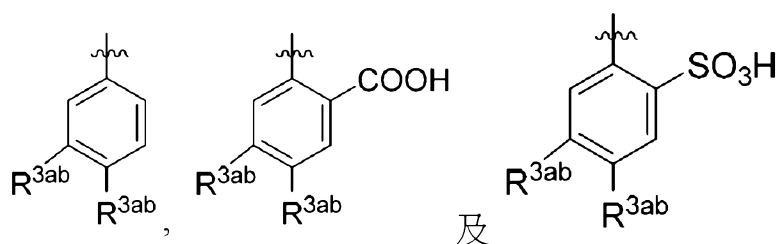
如， $=\text{NH}_2^+$ )； $\text{R}^{3x}$ 係 $-\text{N}(\text{R}^{3z})_2$  (例如， $-\text{NH}_2$ )，且 $\text{R}^{3y}$ 係：



在一些實施例中，吡啶部分係具有以下結構之玫瑰紅：



其中 $\text{R}^{3aa}$ 係選自



一個 $\text{R}^{3ab}$ 係 $\text{H}$ ，且另一個 $\text{R}^{3ab}$ 係連接部分 $-\text{L}^3-$ 。

在一些實施例中，本發明提供式II化合物，其中報告子部分 $\text{R}^3$ 係 $-\text{R}^{3b}-\text{L}^3-\text{R}^{3c}$ ，其中：

$\text{R}^{3b}$ 係選自 $\text{C}_{3-8}$ 伸烷基、 $\text{C}_{3-8}$ 伸環烷基、 $\text{C}_{3-12}$ 伸雜環基、 $\text{C}_{6-10}$ 伸芳基及 $\text{C}_{5-12}$ 伸雜芳基；

$\text{L}^3$ 係連接部分；且

$\text{R}^{3c}$ 係選自生物素、地殼新配質及抗體表位。

在一些實施例中，報告子部分 $\text{R}^3$ 係 $-\text{R}^{3b}-\text{L}^3-\text{R}^{3c}$ ，其中：

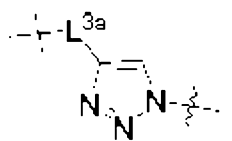
$\text{R}^{3b}$ 係選自 $\text{C}_{3-8}$ 伸烷基、 $\text{C}_{3-8}$ 伸環烷基、 $\text{C}_{3-12}$ 伸雜環基、 $\text{C}_{6-10}$ 伸芳基及 $\text{C}_{5-12}$ 伸雜芳基；

$\text{L}^3$ 係連接部分；且

$\text{R}^{3c}$ 係選自螢光黃、玫瑰紅、伊紅、青色素、硼-二吡咯亞甲基、香豆

素、生物素、地殼新配質、FLAG肽(或其他肽標籤)、寡核苷酸及多核苷酸。

熟習此項技術者將瞭解，含有疊氮基團之化合物(例如，其中 $R^{3a}$ 係 $-N_3$ 之化合物)可經由與互補反應配偶體(例如含炔烴化合物或含膦化合物)反應經其他官能基修飾。疊氮化物與炔烴經由[3+2]環加成(通常稱為「點擊化學」)之反應可用於在本發明之化合物中安裝各種經取代之三唑基。因此，本發明之一些實施例提供化合物，其中連接部分 $-L^3-$ 係根據下式之視情況經取代之三唑基部分：



其中波形線係與 $R^{3a}$ 之連結點且虛線係與 $R^{3c}$ 之連結點。

在一些實施例中， $L^{3a}$ 具有結構 $-L^{3b}-L^{3c}-$ ，其中：

$L^{3b}$ 及 $L^{3c}$ 係獨立地選自鍵、二價聚合物部分及直鏈或具支鏈、飽和或不飽和 $C_{1-30}$ 烷基；

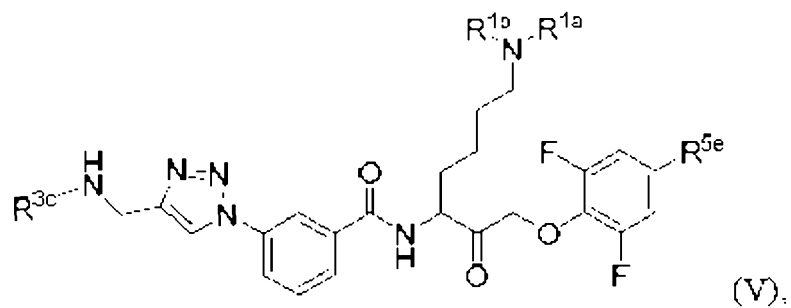
$C_{1-30}$ 烷基中之一或多個碳原子視情況且獨立地由O、S、 $NR^a$ 替代；

$C_{1-30}$ 烷基中之兩個或更多個毗鄰碳原子組群視情況且獨立地由 $-NR^a(CO)-$ 或 $-(CO)NR^a-$ 替代；

$C_{1-30}$ 烷基中之兩個或更多個毗鄰碳原子組群視情況且獨立地由4員至8員二價碳環或4員至8員具有1至4個選自O、S及N之雜原子之二價雜環替代；且

每一 $R^a$ 係獨立地選自H及 $C_{1-6}$ 烷基。

在一些實施例中，化合物具有式V之結構：

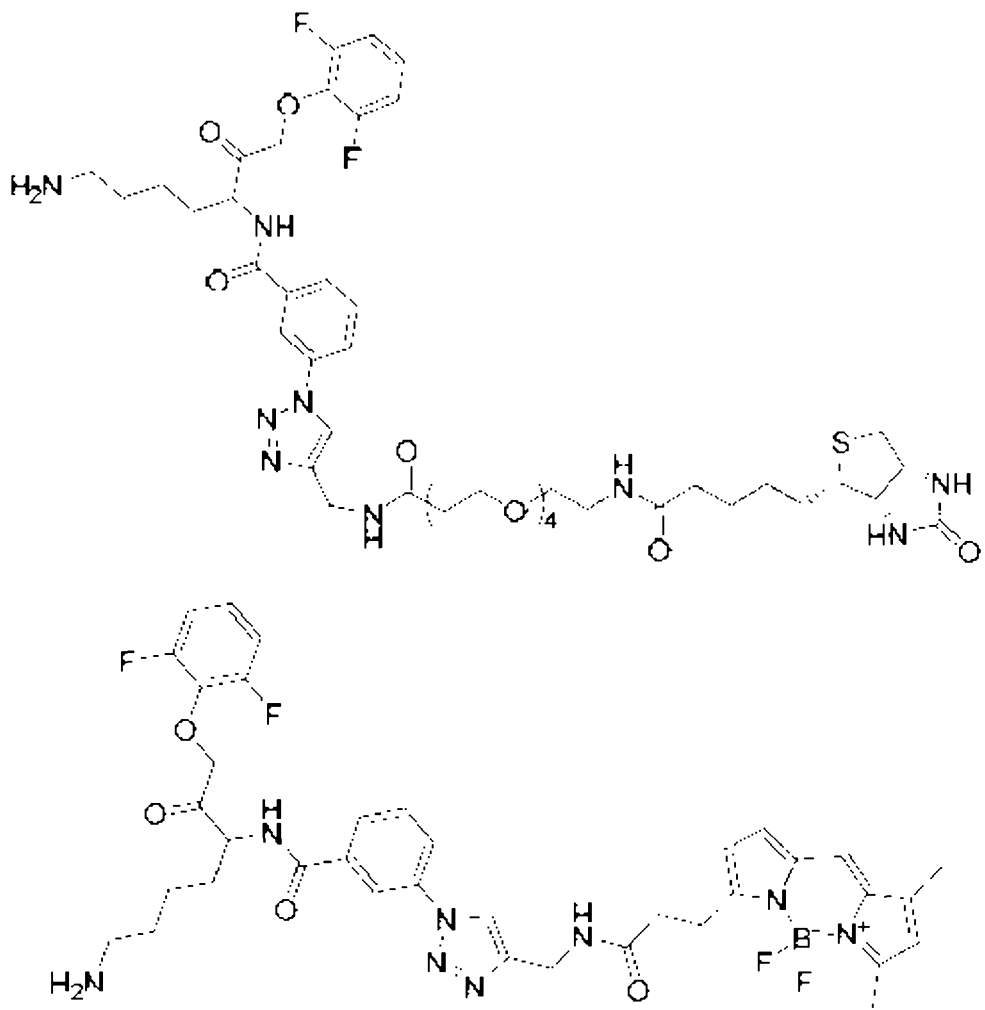


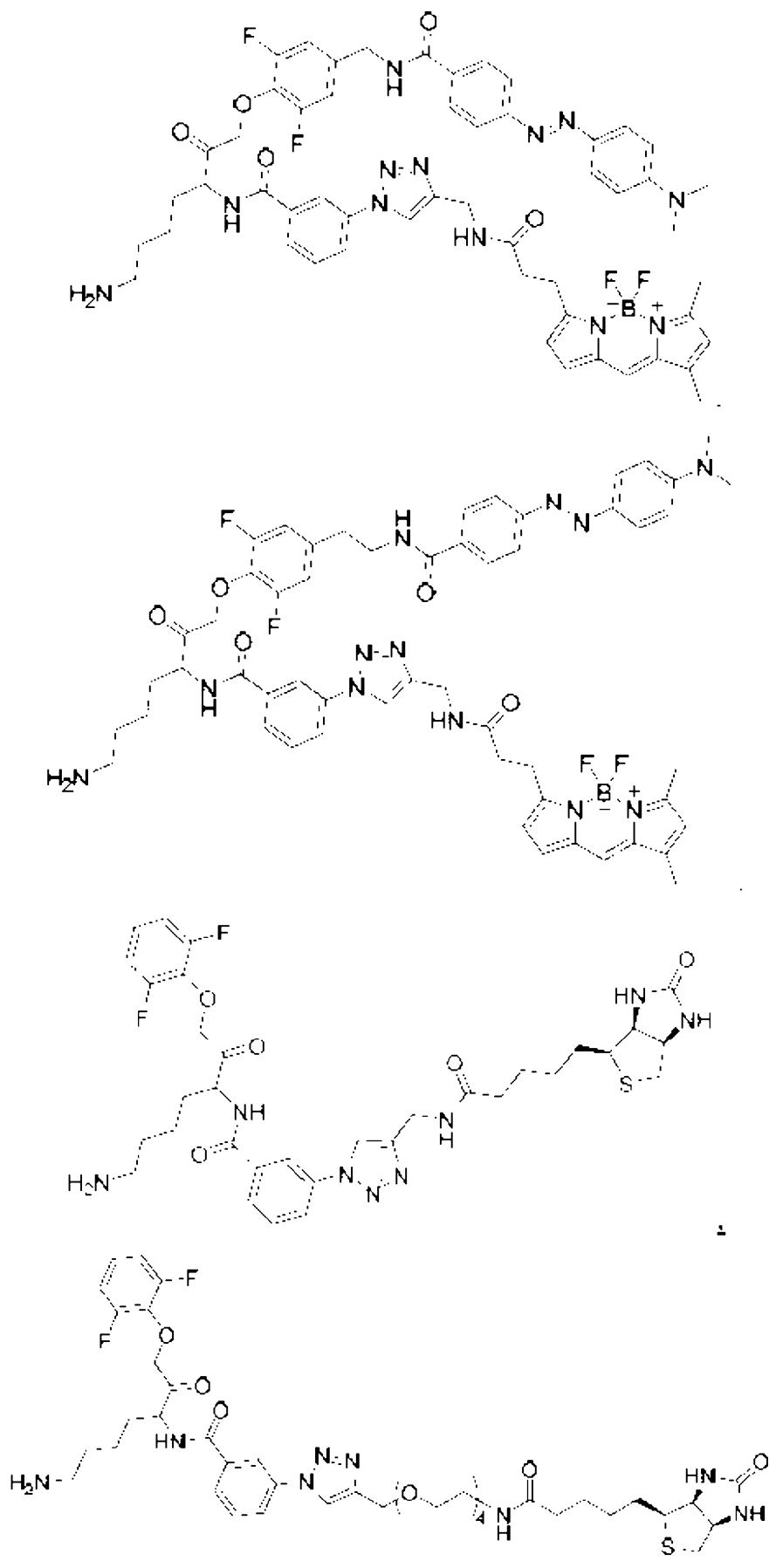
或其醫藥上可接受之鹽，其中：

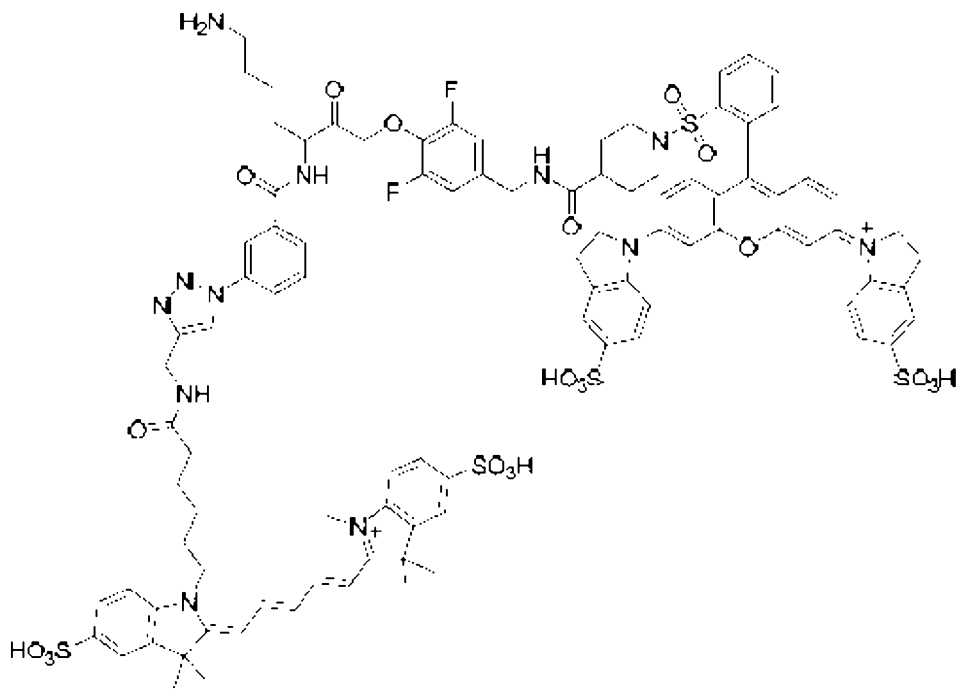
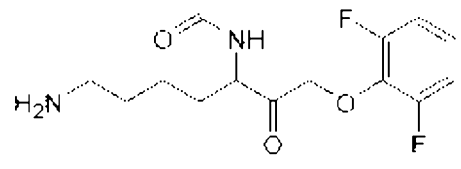
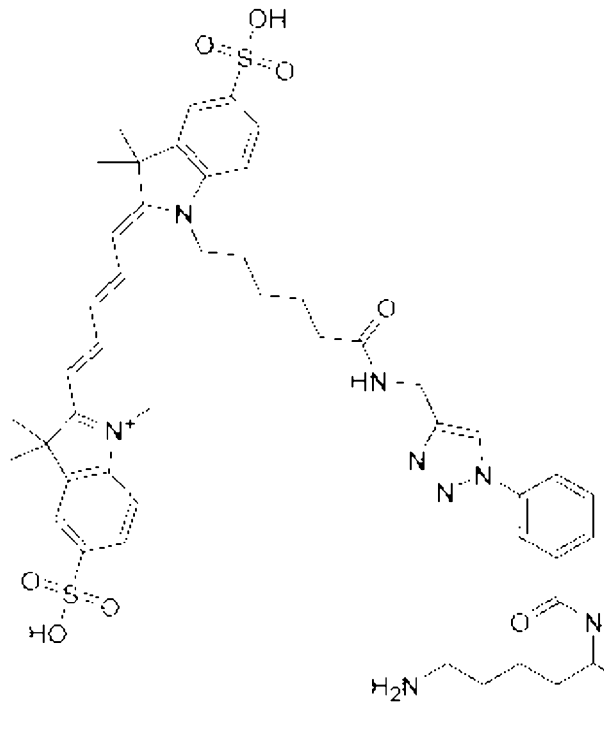
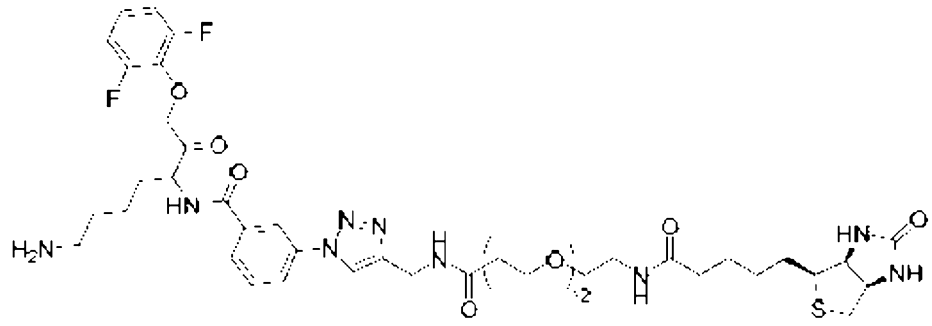
$R^{5c}$  係選自 H 及  $-C(O)NH-(CH_2)_x-R^{9a}$ ；且

下標  $x$  係 1 至 4 範圍內之整數。

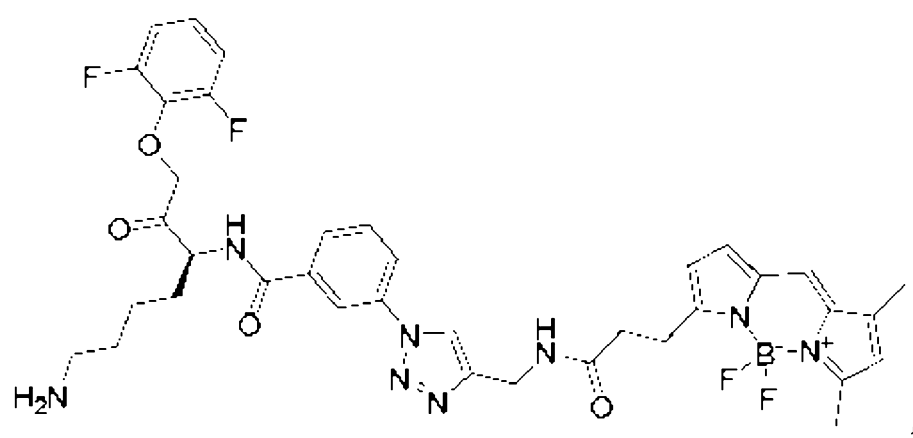
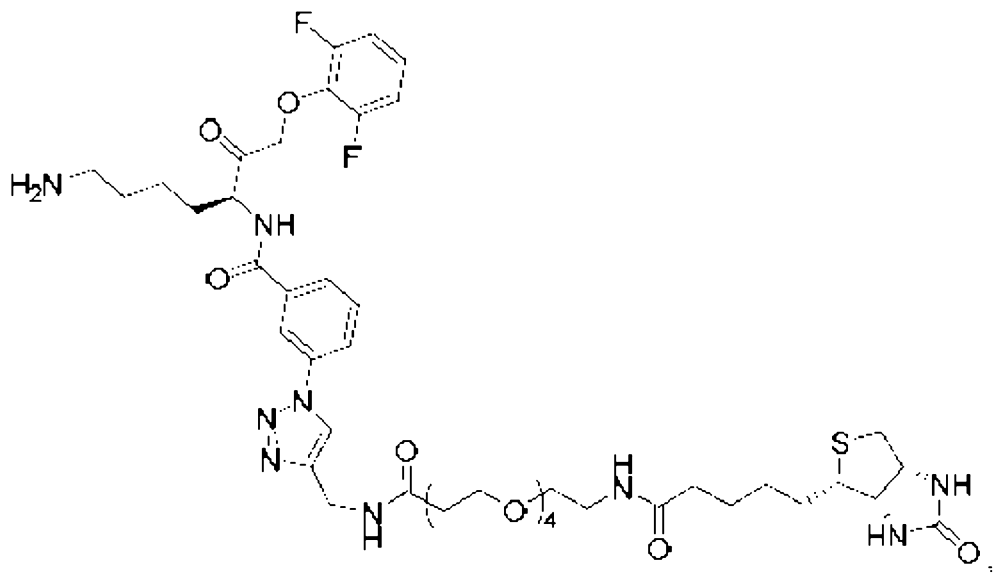
在一些實施例中，化合物係選自：



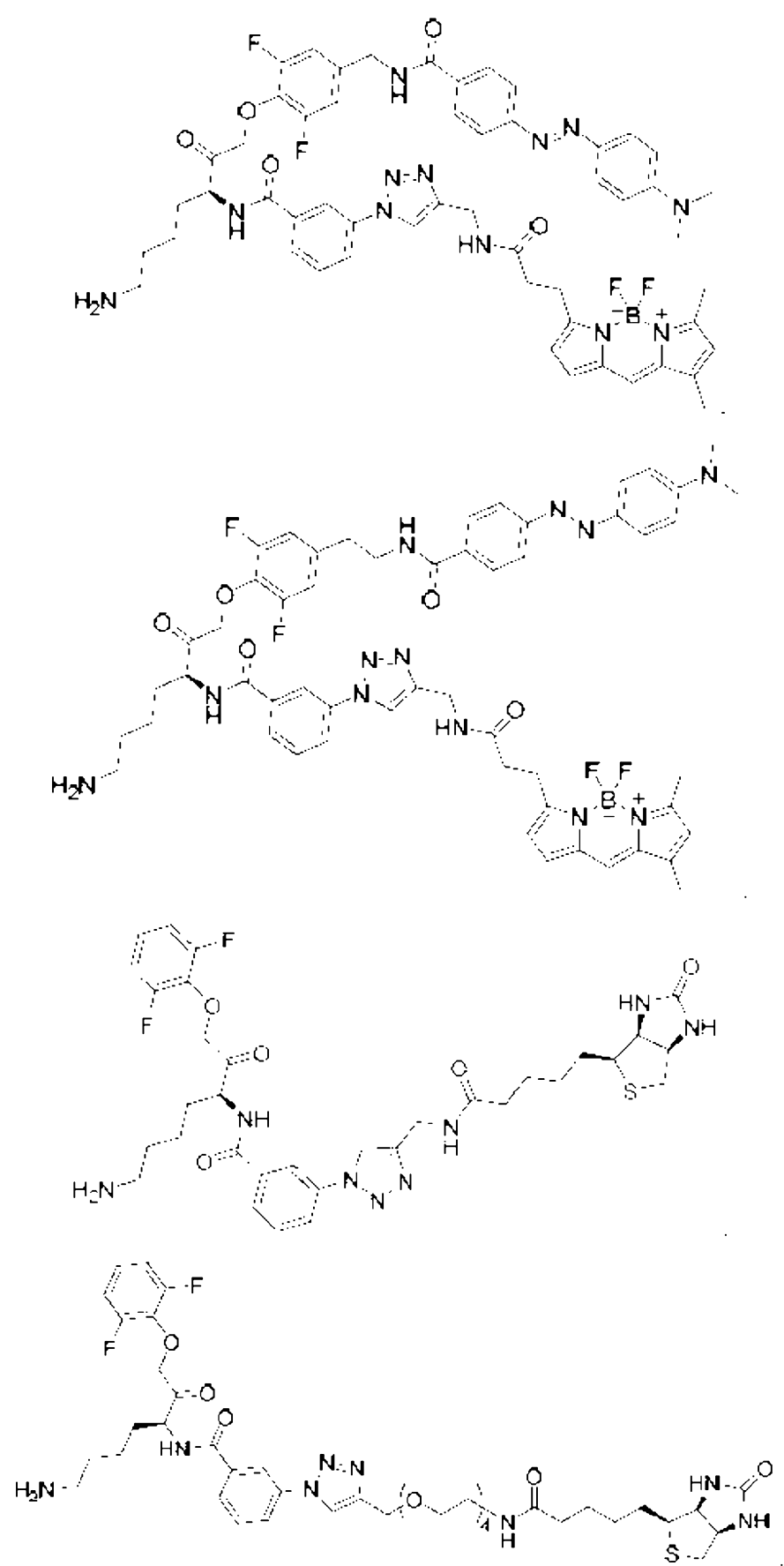


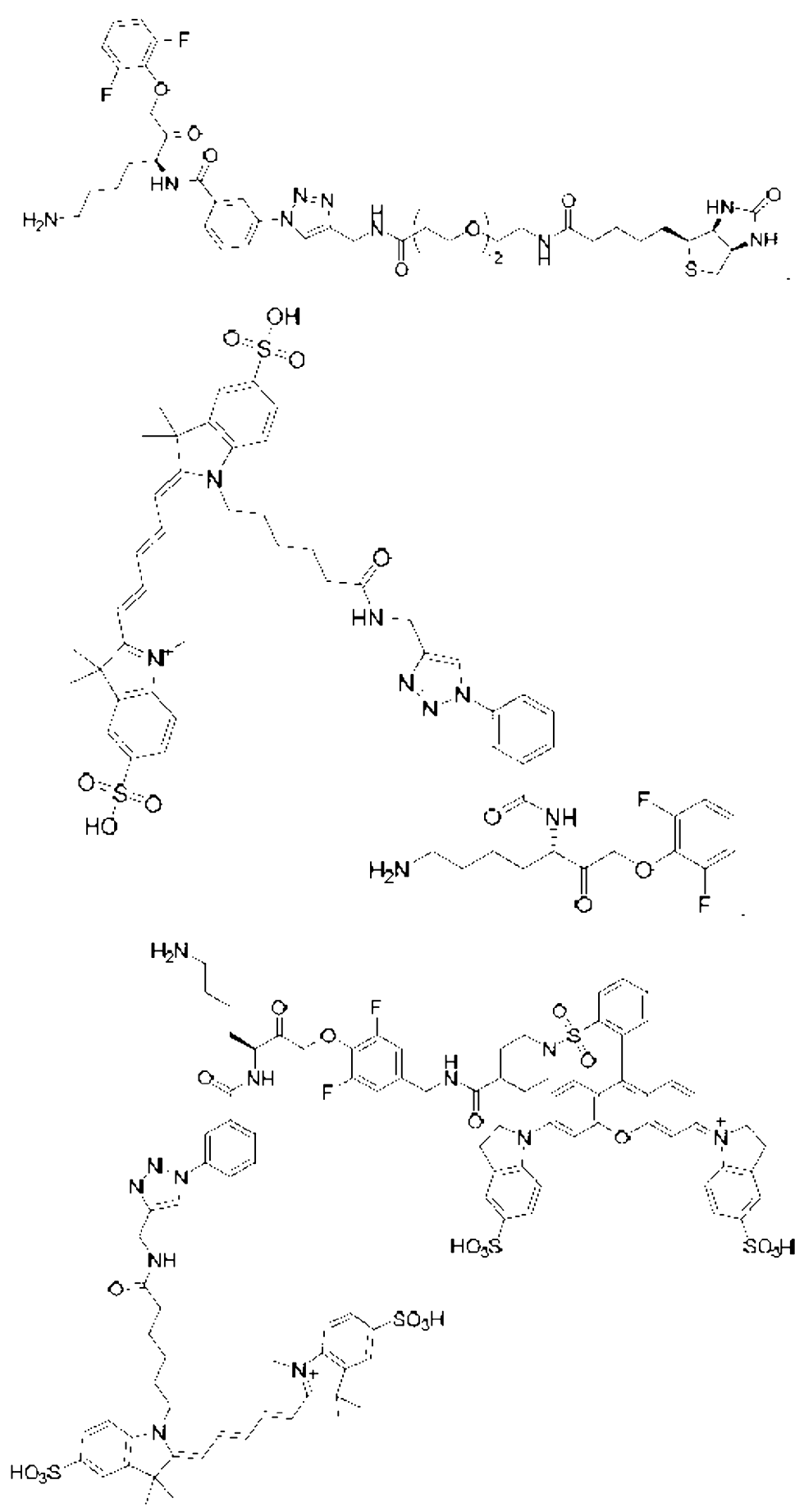














諸如所分析樣品之類型及活性探針中報告子部分之檢測方法等因素。舉例而言，當欲檢測細胞樣品中之牙齦蛋白酶活性時，可將細胞懸浮於水性緩衝液(例如，磷酸鹽緩衝鹽水、檸檬酸鹽-磷酸鹽緩衝液及諸如此類)中並合併於含有牙齦蛋白酶活性探針及可選共溶劑(例如，二甲亞砒、*N,N*-二甲基甲醯胺及諸如此類)之混合物中，使得活性探針與細胞樣品中所存在之牙齦蛋白酶反應。活性探針通常係以約1  $\mu\text{M}$ 至約5  $\text{mM}$ 範圍內之濃度使用，且細胞係在約4°C至約40°C範圍內之溫度下培育範圍為幾分鐘至若干小時或更久之時期。培育期之後可經由離心自混合物收集細胞，且未反應之活性探針可藉由將細胞在適宜體積之緩衝液中重複性重新懸浮並離心而自混合物去除。然後，可利用光學顯微鏡或螢光顯微鏡檢查該等細胞，且可使用比色或螢光報告子部分之檢測來確定細胞中牙齦蛋白酶之存在及/或定位。

比色或螢光報告子部分之檢測波長將取決於包括(但不限於)活性探針之結構及樣品分析條件等因素。報告子部分之UV-可見吸收可在(例如)約190 nm至約1100 nm範圍內(例如，介於190 nm與380 nm之間或介於380 nm與750 nm之間)之波長下量測。螢光報告子部分可在約300 nm至約800 nm範圍內之波長下激發，且所得螢光發射可在約350 nm至約800 nm範圍內之波長下檢測。可使用其他吸收波長、激發波長及發射波長來檢測經標記之牙齦蛋白酶，此取決於所採用之具體活性探針或樣品。報告子部分可藉由包括以下之方式來檢測：目視檢查、照相軟片或使用諸如螢光計、量子計數器、讀板儀、顯微鏡及流式細胞儀之儀器。用於基於UV-vis吸收及基於螢光之方法之儀器以及比色及螢光部分之光學性質為熟習此項技術者所已知，如(例如) *The Molecular Probes™ Handbook*, 第11版(2010)

中所闡述。

在某些實施例中，牙齦蛋白酶活性探針含有淬滅部分，其在結合牙齦蛋白酶之前防止在探針上檢測到來自報告子部分之吸光度信號及/或螢光信號。舉例而言，具有螢光黃、玫瑰紅或青色素報告子部分之活性探針可含有包含苯胺淬滅部分(例如dabcyl)之牙齦蛋白酶反應性部分。在與靶標牙齦蛋白酶反應之前報告子部分與淬滅部分之鄰近將防止螢光檢測，此可有利地降低背景信號。在使牙齦蛋白酶反應性部分與靶標牙齦蛋白酶反應之後釋放淬滅部分然後容許檢測螢光報告子部分。

可使用自個體獲得之生物樣品製備細胞溶解物或組織溶解物，且可將該溶解物與如上文所闡述之活性探針組合，使得溶解物中之牙齦蛋白酶與探針反應。未反應之活性探針可經由凝膠過濾自溶解物混合物去除，且可經由藉助UV-vis吸收光譜法或螢光測定法檢測報告子部分在混合物中鑑別牙齦蛋白酶。或者，經標記之牙齦蛋白酶可經由電泳(例如，SDS-PAGE、毛細管電泳、等電聚焦及諸如此類)自未反應之活性探針及其他混合物組分分離。可藉由檢測比色或螢光活性探針在經解析之樣品(例如聚丙烯醯胺凝膠)中檢測經標記之牙齦蛋白酶。若使用生物素、FLAG肽或另一基於親和力之報告子部分，則可利用經標記之結合配偶體(例如鏈黴抗生物素蛋白-螢光黃)或經標記之抗體(或一級/二級抗體對)來探測凝膠以檢測經解析之樣品中經標記之牙齦蛋白酶。若需要，可在檢測步驟之前將經標記之牙齦蛋白酶藉由電印跡自聚丙烯醯胺凝膠或其他經解析之樣品轉移至適宜支撐材料(例如硝化纖維素、聚二氟亞乙烯(PVDF)或諸如此類)。

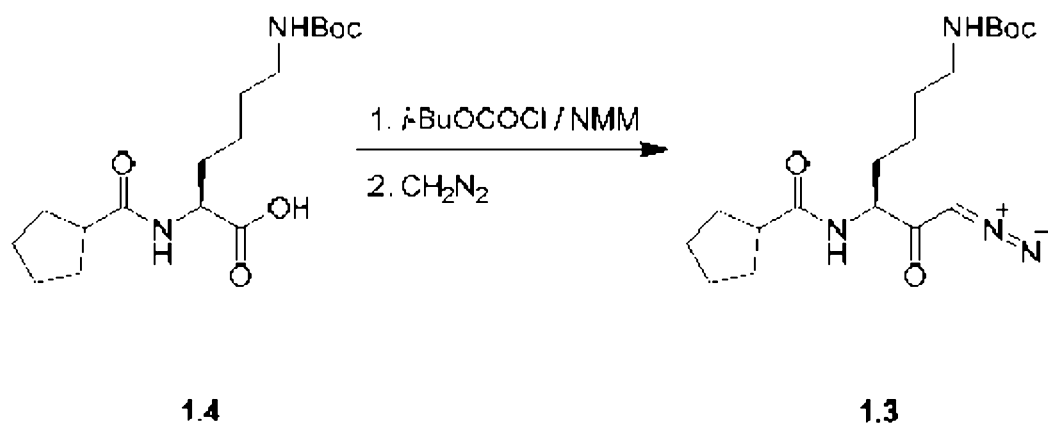
組織樣品可自個體獲得，切片並封固用於用牙齦蛋白酶活性探針進行處理。樣品可新鮮冷凍，且在用牙齦蛋白酶活性探針處理之前視情況經

乙醇、福馬林或另一適宜固定劑固定。可在檢測報告子部分之前將所封固之樣品浸入一或多份水或緩衝液中將未反應之活性探針自組織樣品去除。使用具有淬滅部分之探針可在不需要將任何未反應之活性探針去除之情形下使得能夠檢測組織樣品中之信號。若需要，則可使用如上文所闡述之光學顯微鏡或螢光顯微鏡結合一或多種經標記之結合配偶體來檢測經標記之牙齦蛋白酶。

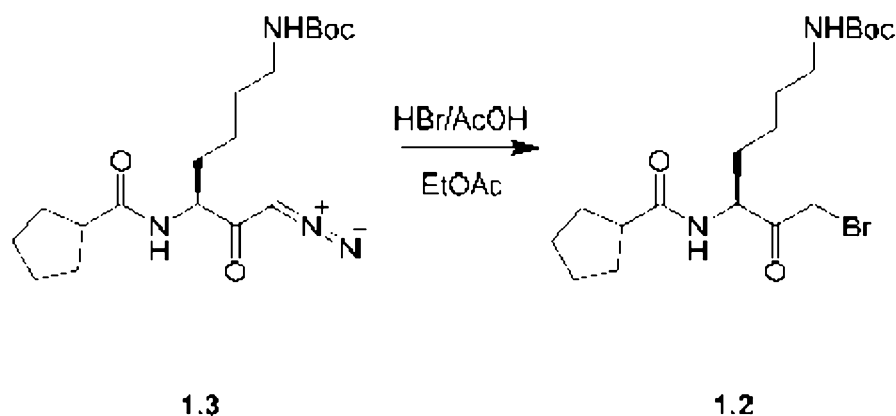
當牙齦蛋白酶經具有基於親和力之報告子部分(例如，生物素、地殼新配質、FLAG肽或其他表位)之活性探針標記時，可使用固定於適宜載體上之結合配偶體將經標記之牙齦蛋白酶自複雜混合物(例如，細胞溶解物或組織溶解物)分離。作為非限制性實例，牙齦蛋白酶可經生物素活性探針修飾並結合至鏈黴抗生物素蛋白珠粒(例如，具有共價或非共價結合之鏈黴抗生物素蛋白之交聯多醣、多孔矽膠、磁性粒子或諸如此類)。在檢測活性探針中之報告子部分之前，可經由物理方式(例如離心或過濾)將具有結合牙齦蛋白酶之珠粒自混合物分離。攜有對報告子部分表位(例如，FLAG肽)具特異性之抗體之表面可用於經由包括(但不限於) ELISA (包括夾心式ELISA及競爭性ELISA)及表面電漿共振分析之技術來結合並檢測經標記之抗體。

## VIII. 實例

### 實例1. (S)-N-(7-胺基-2-側氧基-1-(2,3,6-三氟苯氧基)庚-3-基)環戊烷甲醯胺(1)鹽酸鹽之製備

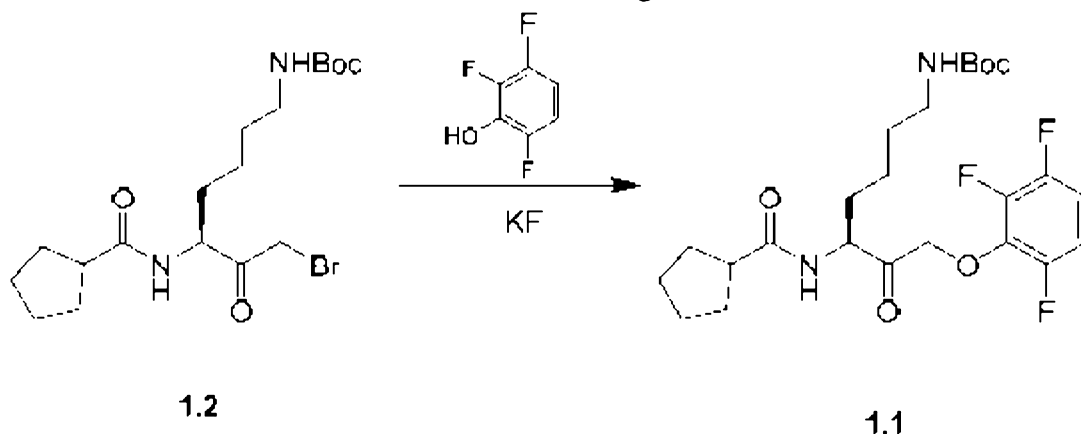


在N<sub>2</sub> (15 psi)下在-40°C下向化合物**1.4** (23.0 g, 67.2 mmol, 1.00 eq) 於THF (200 mL)中之混合物添加NMM (6.79 g, 67.2 mmol, 7.38 mL, 1.00 eq)、氯甲酸異丁基酯(9.17 g, 67.2 mmol, 8.82 mL, 1.00 eq)及重氮甲烷(5.65 g, 134 mmol, 2.00 eq)。將混合物在0°C下攪拌30 min。LCMS顯示反應已完成。向反應添加H<sub>2</sub>O (200 mL)，並用兩份300-mL乙酸乙酯萃取。將合併之有機相用兩份200-mL鹽水(200)洗滌，經無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在真空下濃縮以提供呈黃色油狀物之粗製化合物**1.3** (30.0 g，粗製)。

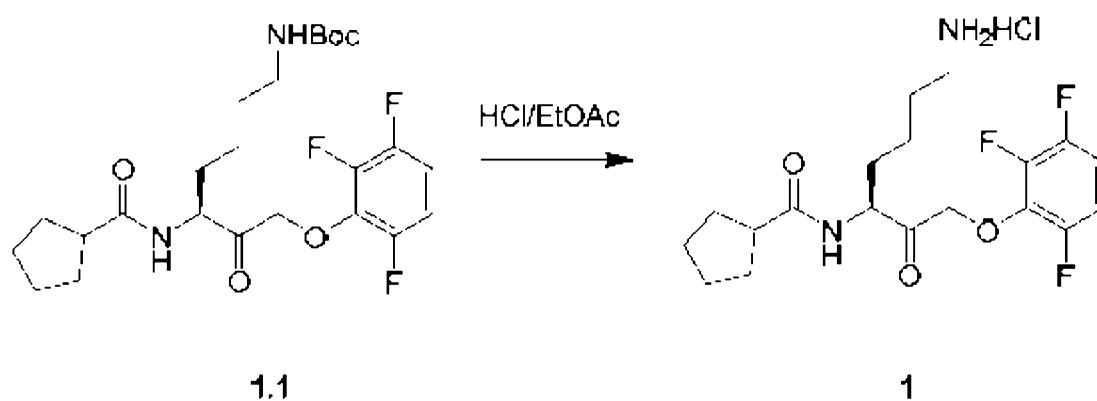


在N<sub>2</sub> (15 psi)下在-20°C下向化合物**1.3** (20.0 g, 54.6 mmol, 1.00 eq) 於EtOAc (300 mL)中之混合物添加溴化氫(29.8 g, 121.7 mmol, 20.0 mL, 33%純度，2.23 eq)。將混合物在-20°C下攪拌10 min。TLC (石油醚:乙酸乙酯= 0:1)顯示反應已完成。藉由添加飽和NaHCO<sub>3</sub>使反應鹼化直至混合

物之pH達到8為止，並用三份500-mLEtOAc萃取混合物。將合併之有機相用兩份200-mL鹽水洗滌，經無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在真空下濃縮，以得到呈黃色固體之粗製化合物**1.2** (15.0 g, 粗製)。



在25°C下向化合物**1.2** (4.00 g, 9.54 mmol, 1.00 eq)於DMF (40.0 mL)中之混合物添加2,6-二氟苯酚(1.49 g, 11.4 mmol, 1.20 eq)及KF (1.66 g, 28.6 mmol, 670 μL, 3.00 eq)。將混合物在25°C下攪拌3 h。TLC (石油醚:乙酸乙酯= 1:1)顯示反應已完成。向混合物添加H<sub>2</sub>O (150 mL)並用兩份200-mL乙酸乙酯萃取。將合併之有機相用兩份100-mL鹽水洗滌，經無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾，並在真空下濃縮。殘餘物藉由矽膠層析(石油醚:乙酸乙酯= 100:1, 5:1)進行純化，以得到呈黃色固體之化合物**1.1** (2.50 g, 5.35 mmol, 56.1%產率)。

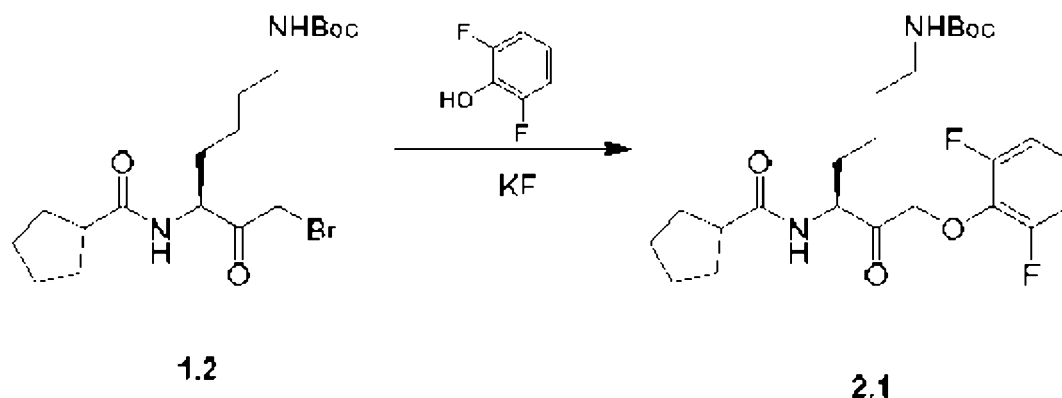


在25°C下向化合物**1.1** (4.00 g, 8.22 mmol, 1.00 eq)於EtOAc (3.00 mL)中之混合物添加HCl/EtOAc (40.0 mL)。將混合物在25°C下攪拌2 h。

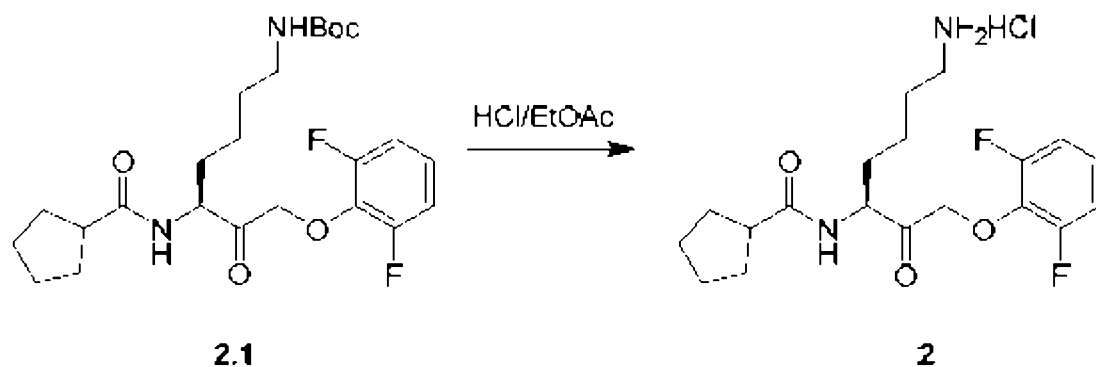


TLC (石油醚:乙酸乙酯=2:1)顯示反應已完成。將混合物在減壓中濃縮以提供呈淺黃色固體之(*S*)-*N*-(7-胺基-2-側氧基-1-(2,3,6-三氟苯氧基)庚-3-基)環戊烷甲醯胺**1**鹽酸鹽(1.34 g, 3.16 mmol)。LCMS (ESI)：針對  $C_{19}H_{25}N_2F_3O_3$  計算之  $m/z$ :  $[M + H]$ : 387.2；實驗值 387.1；RT=2.508 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  ppm 1.21 - 1.83 (m, 15 H) 2.60 - 2.81 (m, 3 H) 4.30 (ddd,  $J=9.70, 7.17, 4.52$  Hz, 1 H) 5.02 - 5.22 (m, 2 H) 7.12 - 7.24 (m, 2 H) 7.98 (br s, 3 H) 8.32 (d,  $J=7.28$  Hz, 1 H)。

**實例2. (*S*)-*N*-(7-胺基-1-(2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)環戊烷甲醯胺 (2)鹽酸鹽之製備**

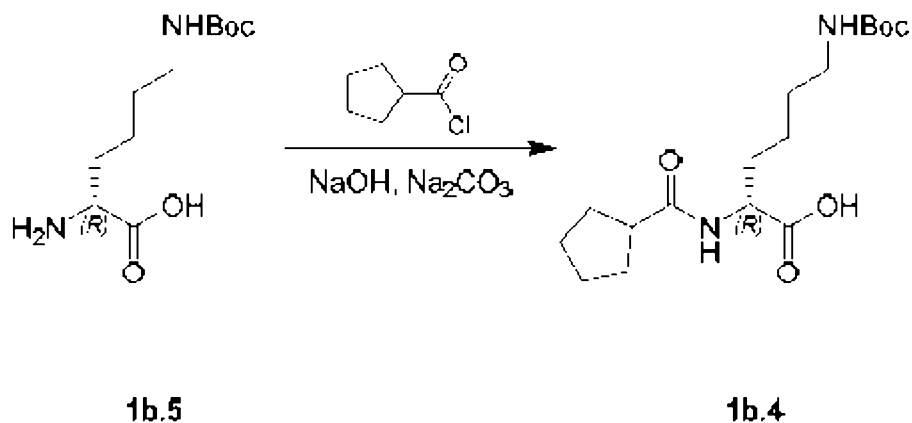


如上文所闡述製備化合物**1.2** (4.00 g, 9.54 mmol, 1.00 eq)，並在25 °C下與DMF (40.0 mL)、2,6-二氟苯酚(1.49 g, 11.5 mmol, 1.20 eq)及KF (1.66 g, 28.6 mmol, 670  $\mu$ L, 3.00 eq)合併。將混合物在25°C下攪拌3 h。TLC (石油醚:乙酸乙酯= 1:1)顯示反應已完成。向混合物添加H<sub>2</sub>O (150 mL)並利用乙酸乙酯(100 mL\*2)萃取。將合併之有機相用鹽水(100 mL\*2)洗滌，經無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在真空下濃縮。殘餘物藉由矽膠層析(石油醚:乙酸乙酯= 100:1，5:1)進行純化，以得到呈黃色固體之化合物**2.1** (2.50 g, 5.35 mmol, 56.1%產率)。



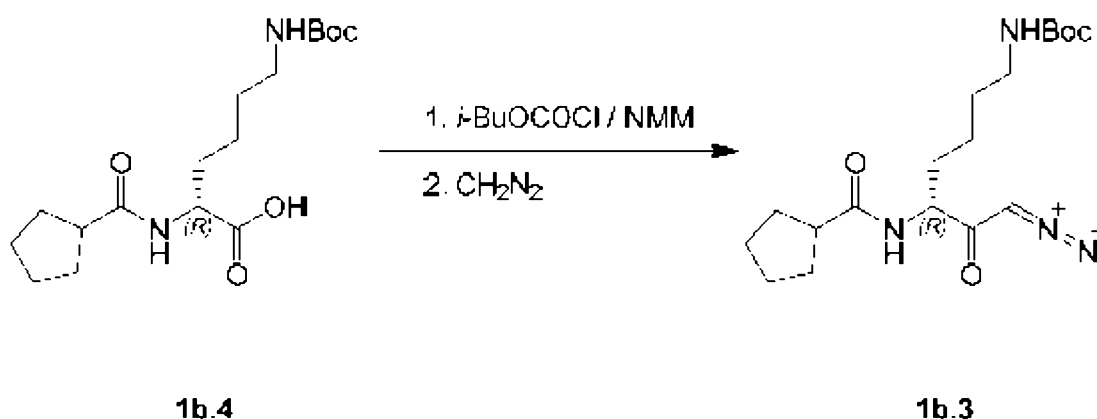
在25°C下向化合物**2.1** (3.50 g, 7.47 mmol, 1.00 eq)於EtOAc (2.00 mL)中之混合物添加HCl/EtOAc (20.0 mL)。將混合物在25°C下攪拌1 h。TLC (石油醚:乙酸乙酯=1:1)顯示反應已完成。殘餘物藉由製備型HPLC (酸)進行預純化,以得到呈淺黃色固體之(*S*)-*N*-(7-胺基-1-(2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)環戊烷甲醯胺**2**鹽酸鹽(1.13 g, 2.79 mmol)。LCMS (ESI): 針對C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>F<sub>2</sub>O<sub>3</sub>計算之m/z: [M + H]: 369.2; 實驗值369.1; RT=2.439 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1.18 - 1.84 (m, 15 H) 2.56 - 2.82 (m, 3 H) 4.25 - 4.39 (m, 1 H) 4.92 - 5.13 (m, 2 H) 7.02 - 7.18 (m, 3 H) 7.91 (br s, 3 H) 8.27 (br d, *J*=7.28 Hz, 1 H)。

**實例3. 外消旋*N*-(7-胺基-2-側氧基-1-(2,3,6-三氟苯氧基)庚-3-基)環戊烷甲醯胺之製備**

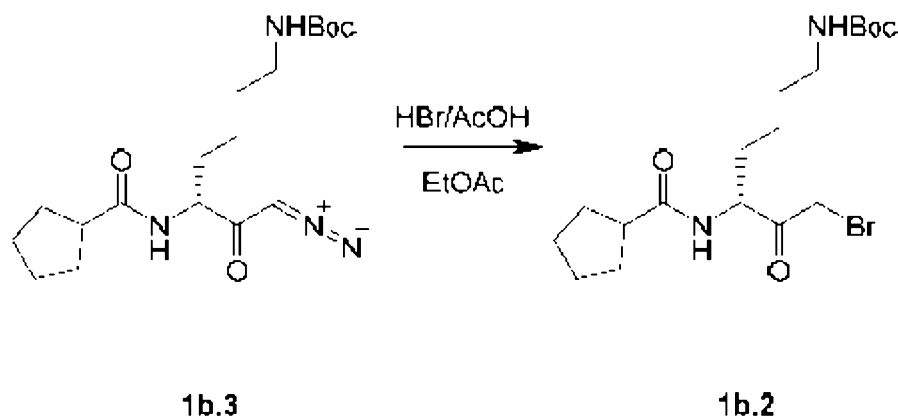


在15°C下向環戊烷甲酸(4.40 g, 38.6 mmol, 4.19 mL, 0.95 eq)於DCM (50.0 mL)中之混合物添加(COCl)<sub>2</sub> (5.87 g, 46.3 mmol, 4.05 mL,

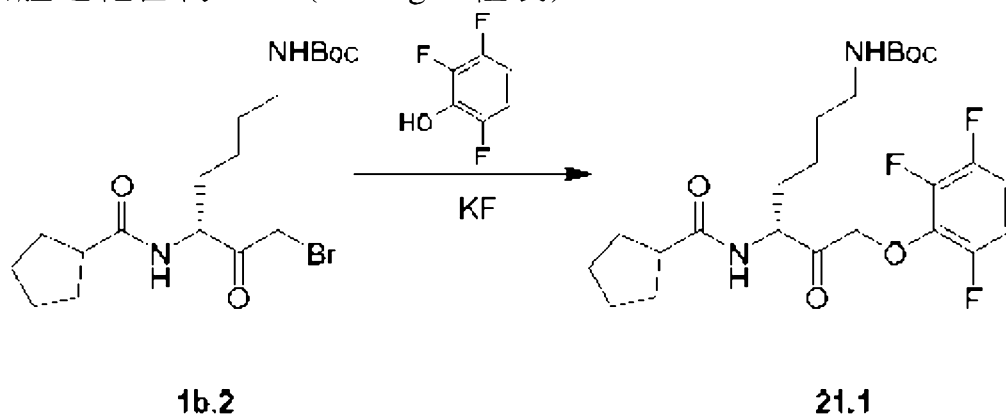
1.14 eq)。將混合物在15°C下攪拌30 min。然後將其在真空下濃縮以形成殘餘物，將其溶解於EtOAc (40.0 mL)。在0°C下將所得溶液逐滴添加至化合物**1b.5** (10.0 g, 40.6 mmol, 1.00 eq)、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (5.16 g, 48.7 mmol, 1.20 eq)及NaOH (1.64 g, 41.0 mmol, 1.01 eq)於H<sub>2</sub>O (80.0 mL)中之混合物。然後將混合物在15°C下攪拌14小時。LCMS顯示反應已完成。將乙酸乙酯去除，並使剩餘溶液冷卻至0°C，之後用固體KHSO<sub>4</sub>將pH調整至6-7。將混合物過濾，收集到呈白色固體之化合物**1b.4** (12.0 g, 35.0 mmol, 86.3%產率)。



在N<sub>2</sub> (15 psi)下在-40°C下向化合物**1b.4** (12.0 g, 35.0 mmol, 1.00 eq)於THF (300 mL)中之混合物添加NMM (3.54 g, 35.0 mmol, 3.85 mL, 1.00 eq)氯甲酸異丁基酯(4.79 g, 35.0 mmol, 4.61 mL, 1.00 eq)及重氮甲烷(2.95 g, 70.1 mmol, 2.00 eq)。將混合物在0°C下攪拌30 min。TLC (石油醚:乙酸乙酯=0:1)顯示反應已完成。向反應添加H<sub>2</sub>O (100 mL)並用兩份200-mL乙酸乙酯萃取。將合併之有機相用兩份100-mL鹽水洗滌，經無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾，並在真空下濃縮以提供呈黃色油狀物之化合物**1b.3** (13.7 g, 粗製)。

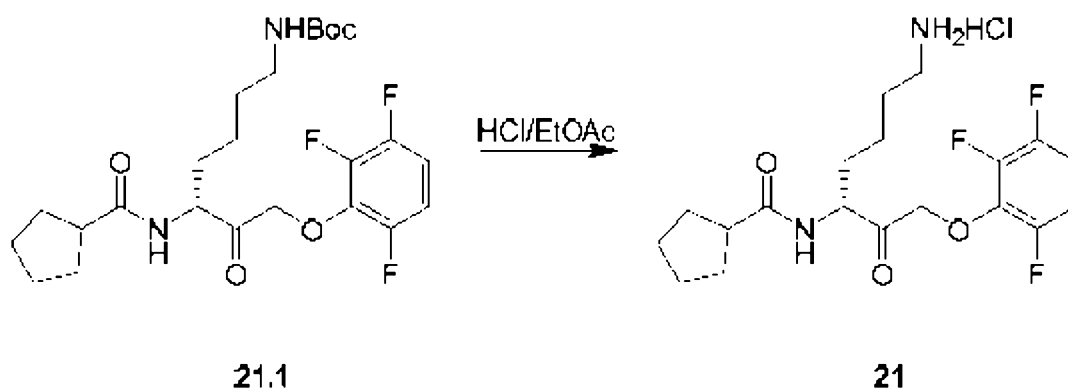


在 $N_2$  (15 psi)下在 $-20^\circ\text{C}$ 下向化合物**1b.3** (13.7 g, 37.4 mmol, 1.00 eq)於EtOAc (140 mL)中之混合物添加溴化氫(20.9 g, 85.3 mmol, 14.0 mL, 33%純度, 2.28 eq)。將混合物在 $-20^\circ\text{C}$ 下攪拌10 min。TLC (石油醚:乙酸乙酯=2:1)顯示反應已完成。藉由飽和  $\text{NaHCO}_3$ 使反應鹼化直至pH達到8為止, 並用三份200-mL EtOAc萃取混合物。將合併之有機相用兩份100-mL鹽水洗滌, 經無水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 乾燥, 過濾, 並在真空下濃縮, 以得到呈黃色固體之化合物**1b.2** (8.80 g, 粗製)。



在 $25^\circ\text{C}$ 下向化合物**1b.2** (400 mg, 954  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)於DMF (10.0 mL)中之混合物添加KF (166 mg, 2.86 mmol, 67.0  $\mu\text{L}$ , 3.00 eq)及2,3,6-三氟苯酚(170 mg, 1.14 mmol, 1.20 eq)。將混合物在 $25^\circ\text{C}$ 下攪拌10 h。TLC (石油醚:乙酸乙酯=2:1)顯示反應已完成。然後將混合物用 $\text{H}_2\text{O}$  (10 mL)稀釋並用三份10-mL EtOAc萃取。將有機層合併, 用鹽水(10 mL)洗滌, 經 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 乾燥, 過濾並在減壓下濃縮, 以得到呈黃色油狀物之化合物**21.1**

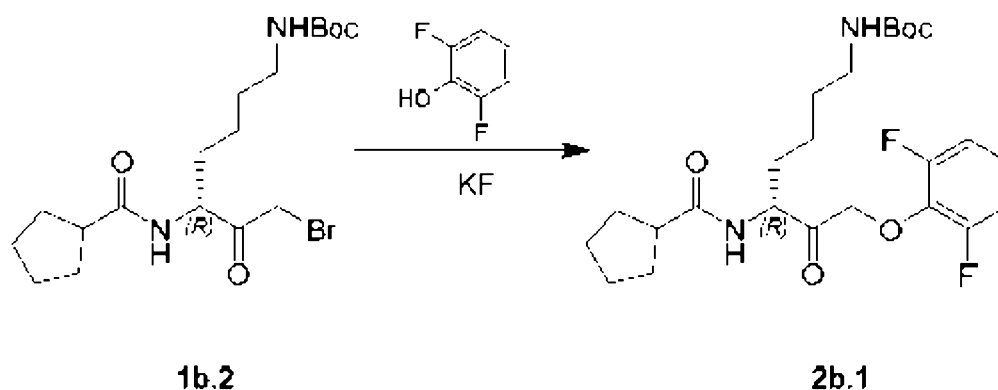
(400 mg, 822  $\mu\text{mol}$ , 86.2%產率)。



在25°C下向化合物**21.1** (400 mg, 822  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)於EtOAc (5.00 mL)中之混合物添加HCl/EtOAc (822  $\mu\text{mol}$ , 15.0 mL, 1.00 eq)。將混合物在25°C下攪拌30 min。TLC (石油醚:乙酸乙酯=2:1)顯示反應已完成。將反應在減壓下濃縮。殘餘物藉由製備型HPLC進行純化以提供呈淺黃色固體之化合物**21**之三氟乙酸鹽(90.0 mg, 213  $\mu\text{mol}$ , 25.9%產率)。

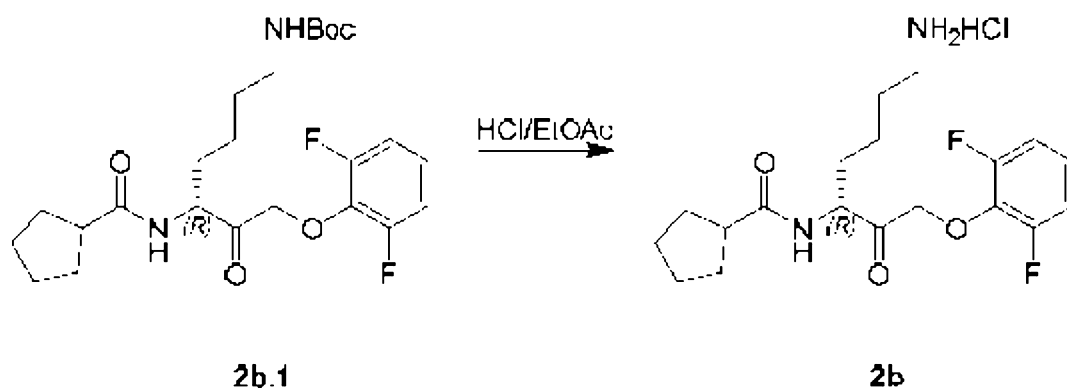
將化合物**1** (36 mg)及化合物**21** (36 mg)與水(2 mL)及MeOH (0.5 mL)一起混合。然後，藉由凍乾將溶劑去除以提供外消旋*N*-(7-胺基-2-側氧基-1-(2,3,6-三氟苯氧基)庚-3-基)環戊烷甲醯胺三氟乙酸鹽(72 mg)。

**實例4. 外消旋*N*-(7-胺基-1-(2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)環戊烷甲醯胺之製備**



在25°C下將如上文所闡述製備之化合物**1b.2** (400 mg, 954  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)與DMF (10.0 mL)、KF (166 mg, 2.86 mmol, 67.0  $\mu\text{L}$ , 3.00 eq)

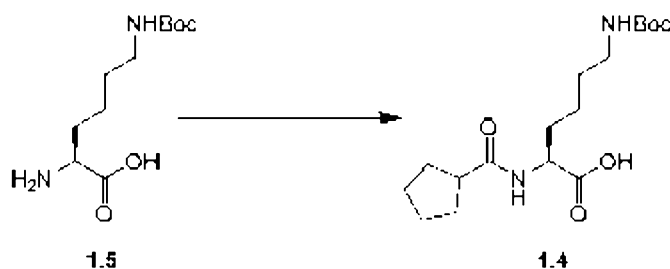
及2,6-二氟苯酚(149 mg, 1.14 mmol, 1.20 eq)合併。將混合物在25°C下攪拌10 h。TLC (石油醚:乙酸乙酯=2:1)顯示反應已完成。用H<sub>2</sub>O (10 mL)稀釋混合物並用三份10-mL EtOAc萃取。將有機層合併，用鹽水(10 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在減壓下濃縮以提供呈黃色油狀物之粗製**2b.1** (400 mg, 粗製)。



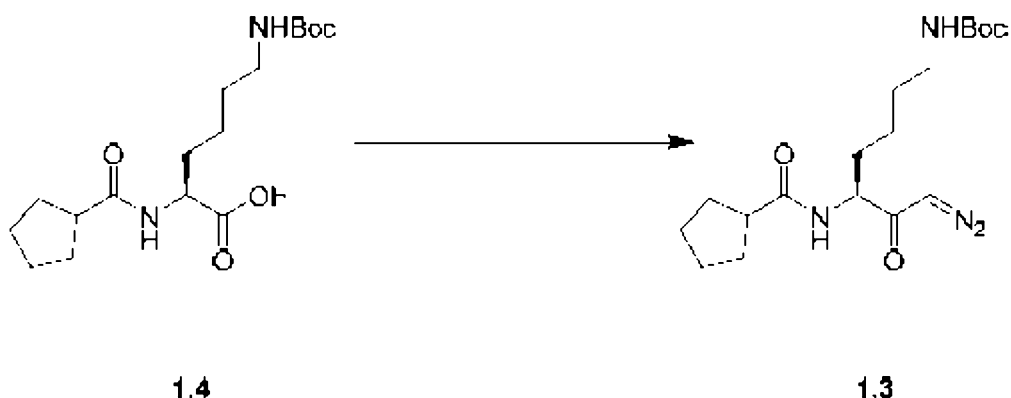
在25°C下向**2b.1** (400 mg, 856 μmol, 1.00 eq)於EtOAc (5.00 mL)中之混合物添加HCl/EtOAc (856 μmol, 15.0 mL, 1.00 eq)。將混合物在25°C下攪拌30 min。TLC (石油醚:乙酸乙酯=2:1)顯示反應已完成。將混合物在減壓下濃縮，並藉由製備型HPLC對所得殘餘物進行純化，以得到呈淺黃色固體之化合物**2b**之三氟乙酸鹽(70.0 mg, 173 μmol, 20.2%產率)。

*N*-(7-胺基-1-(2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)環戊烷甲醯胺三氟乙酸鹽(55 mg)之外消旋混合物係藉由如上文針對化合物**1**及化合物**21**所闡述合併化合物**2**及化合物**2b**來製備。

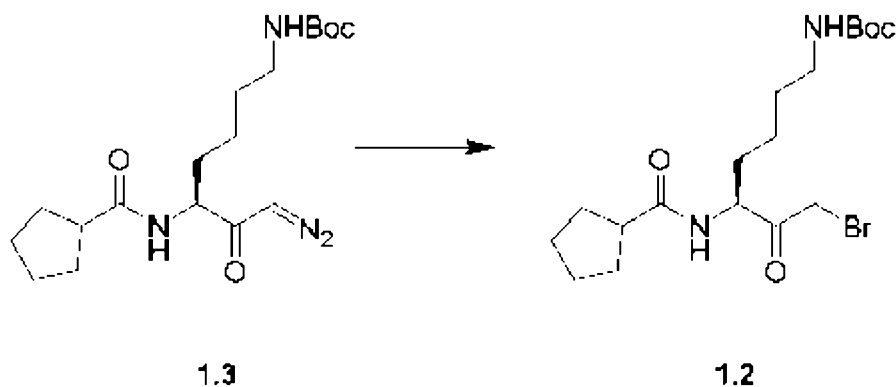
### 實例5. (*S*)-*N*-(7-胺基-1-(2-氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)環戊烷甲醯胺(3)之製備



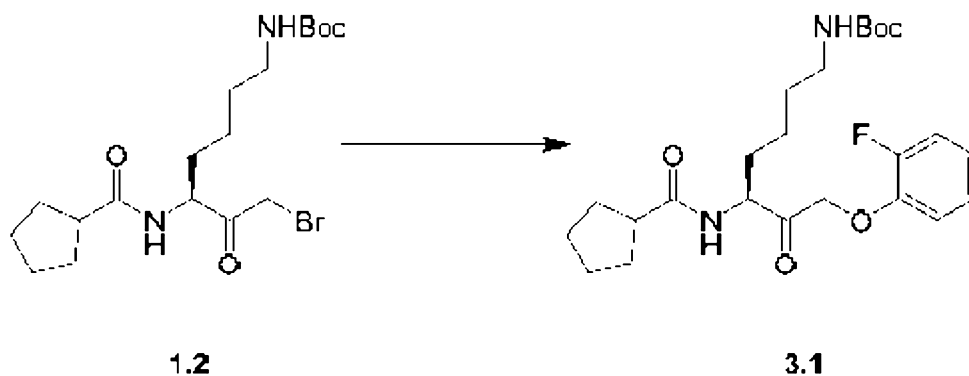
在N<sub>2</sub>下在0°C下向化合物**1.5** (10.00 g, 40.60 mmol, 1.00 eq)及環戊烷甲醯氯(5.92 g, 44.66 mmol, 5.43 mL, 1.10 eq)於EtOAc (20.00 mL)中之混合物添加於H<sub>2</sub>O (80.00 mL)中之Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (5.16 g, 48.72 mmol, 1.20 eq)及NaOH (1.64 g, 41.01 mmol, 1.01 eq)。將混合物在10°C下攪拌3小時。去除EtOAc且然後使溶液冷卻至0°C，並利用HCl (1 N)將pH調整至6-7。將懸浮液過濾，並用50 mL PE洗滌濾餅且在真空下乾燥，以得到呈白色固體之化合物**1.4** (10.60 g, 30.96 mmol, 76.26%產率)。LCMS (ESI)：針對C<sub>17</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>計算之m/z: [M + H] : 343.4 ; 實驗值343.2 ; RT=1.022 min。



在N<sub>2</sub>下在-20°C下向化合物**1.4** (2.00 g, 5.84 mmol, 1.00 eq)於THF (20.00 mL)中之混合物一次性添加NMM (708.86 mg, 7.01 mmol, 770.50 μL, 1.20 eq)及氯甲酸異丁基酯(797.61 mg, 5.84 mmol, 766.93 μL, 1.00 eq)。將混合物在-20°C下攪拌1小時。在0°C下添加於Et<sub>2</sub>O (20ml)中之重氮甲烷溶液並攪拌2小時。用H<sub>2</sub>O (20 mL)稀釋混合物並用EtOAc (3 × 20 mL)萃取。將有機層合併，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在減壓下濃縮以產生殘餘物，其藉由矽膠層析(PE/EtOAc= 1/1)進行純化，以得到呈黃色固體之化合物**1.3** (130.00 mg, 354.76 μmol)。LCMS (ESI)：針對C<sub>18</sub>H<sub>30</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>計算之m/z: [M + H] : 367.4 ; 實驗值339.2 ; RT=0.772 min。



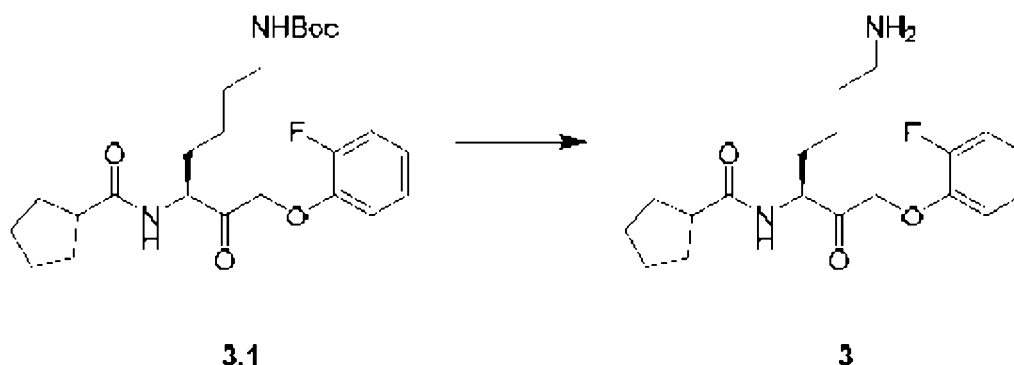
在N<sub>2</sub>下在-20°C下向化合物**1.3** (130.00 mg, 354.75 μmol, 1.00 eq)於EtOAc (1.00 mL)中之混合物一次性添加HBr/AcOH (150.00 μL, 33%純度)。將混合物在N<sub>2</sub>下在-20°C下攪拌10 min，用飽和NaHCO<sub>3</sub>鹼化至pH = 8，並用EtOAc (3 × 10 mL)萃取。將有機層合併，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並濃縮，以得到呈白色固體之化合物**1.2** (100.00 mg, 238.46 μmol, 67.22%產率)。LCMS (ESI)：針對C<sub>18</sub>H<sub>31</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>計算之m/z: [M + H]：420.3；實驗值316.2；RT=0.709 min。



在N<sub>2</sub>下在20°C下向化合物**1.2** (50.00 mg, 119.23 μmol, 1.00 eq)及2-氟苯酚(13.37 mg, 119.23 μmol, 11.05 μL, 1.00 eq)於DMF (1.00 mL)中之混合物一次性添加KF (20.78 mg, 357.69 μmol, 8.38 μL, 3.00 eq)。將混合物在20°C下攪拌15小時。用EtOAc (3 × 5 mL)萃取水相。將合併之有機相用鹽水(3 mL)洗滌，經無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾，並在真空下濃縮。然後藉由製備型HPLC (TFA條件)純化殘餘物，以得到呈黃色油狀物

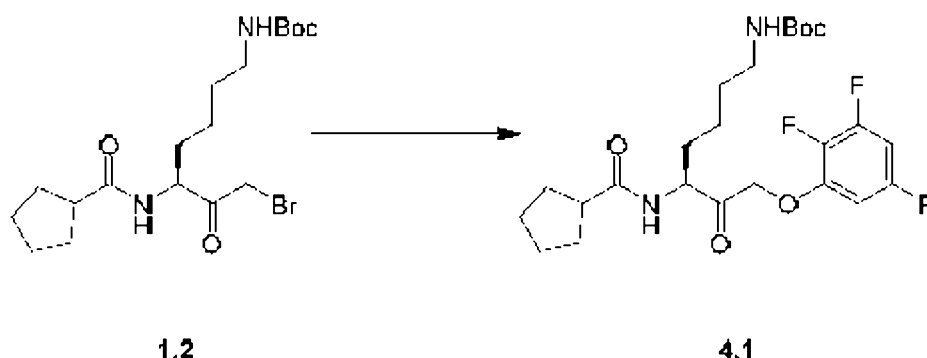


之化合物**3.1** (15.00 mg, 33.29  $\mu\text{mol}$ , 27.92%產率)。LCMS (ESI)：針對  $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_5\text{F}$  計算之  $m/z$ :  $[\text{M} + \text{H}]$  : 451.5 ; 實驗值 451.4 ;  $\text{RT}=0.929$  min。



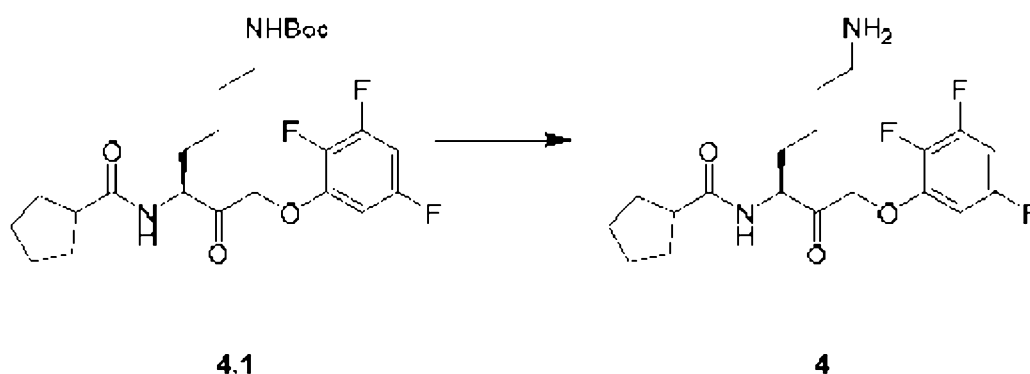
將化合物**3.1** (15.00 mg, 33.29  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)於HCl/EtOAc (1.00 mL)中之混合物在20 $^{\circ}\text{C}$ 下攪拌3小時。蒸發溶液以去除有機溶劑。將殘餘水溶液凍乾，以得到呈白色固體之化合物**3**之鹽酸鹽(2.00 mg, 5.71  $\mu\text{mol}$ , 17.14%產率)。LCMS (ESI)：針對  $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_3\text{F}$  計算之  $m/z$ :  $[\text{M} + \text{H}]$  : 351.4 ; 實驗值 351.3 ;  $\text{RT}=2.477$  min。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm 1.25 - 1.83 (m, 17 H) 2.61 - 2.87 (m, 4 H) 4.24 - 4.43 (m, 1 H) 4.95 - 5.13 (m, 2 H) 6.87 - 7.27 (m, 4 H) 7.83 (br s, 3 H) 8.31 (d,  $J=6.90$  Hz, 1 H)。

**實例6. (S)-N-(7-氨基-2-側氧基-1-(2,3,5-三氟苯氧基)庚-3-基)環戊烷甲醯胺(4)之製備**



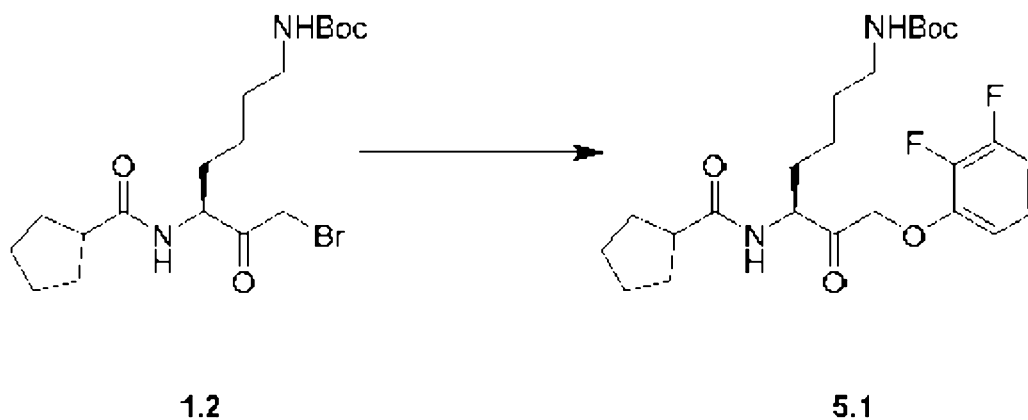
在 $\text{N}_2$ 下在25 $^{\circ}\text{C}$ 下向化合物**1.2** (100.00 mg, 238.46  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)及

2,3,5-三氟苯酚(42.37 mg, 286.15  $\mu\text{mol}$ , 1.20 eq)於DMF (1.00 mL)中之混合物一次性添加KF (41.56 mg, 715.38  $\mu\text{mol}$ , 16.76  $\mu\text{L}$ , 3.00 eq)。將混合物在25 $^{\circ}\text{C}$ 下攪拌15小時。將反應混合物傾倒至 $\text{H}_2\text{O}$  (50 mL)中，並用EtOAc (3  $\times$  20mL)萃取水相。將合併之有機相用鹽水(5 mL)洗滌，經無水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 乾燥，過濾，並在真空下濃縮。然後藉由製備型HPLC (TFA條件)純化殘餘物，以得到呈白色固體之化合物**4.1** (50.00 mg, 102.77  $\mu\text{mol}$ , 43.10%產率)。LCMS (ESI)：針對 $\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{F}_3\text{O}_5$ 計算之 $m/z$ :  $[\text{M} + \text{H}]$  : 487.2；實驗值487.3；RT=0.936 min。

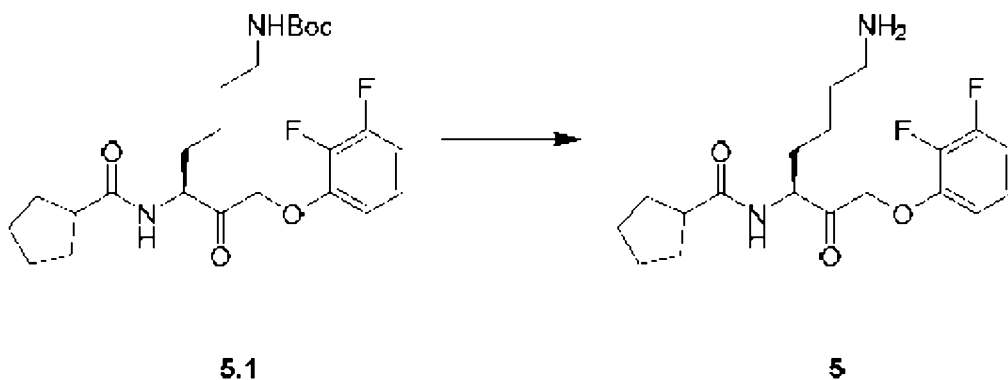


在 $\text{N}_2$ 下在20 $^{\circ}\text{C}$ 下將化合物**4.1** (50.00 mg, 102.77  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)於HCl/EtOAc (2.00 mL)中之混合物攪拌15小時。蒸發溶液以去除有機溶劑。將殘餘水溶液凍乾，以得到呈白色固體之化合物**4**之鹽酸鹽(30.00 mg, 77.64  $\mu\text{mol}$ , 75.55%產率)。LCMS (ESI)：針對 $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{F}_3\text{O}_3$ 計算之 $m/z$ :  $[\text{M} + \text{H}]$  : 387.2；實驗值387.2；RT=2.321 min。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm 1.24 - 1.85 (m, 15 H) 2.63 - 2.83 (m, 3 H) 4.20 - 4.35 (m, 1 H) 5.18 (d,  $J=1.32$  Hz, 2 H) 6.83 - 7.14 (m, 2 H) 7.98 (br s, 3 H) 8.44 (d,  $J=6.62$  Hz, 1 H)。

**實例7. (S)-N-(7-氨基-1-(2,3-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)環戊烷甲醯胺(5)之製備**



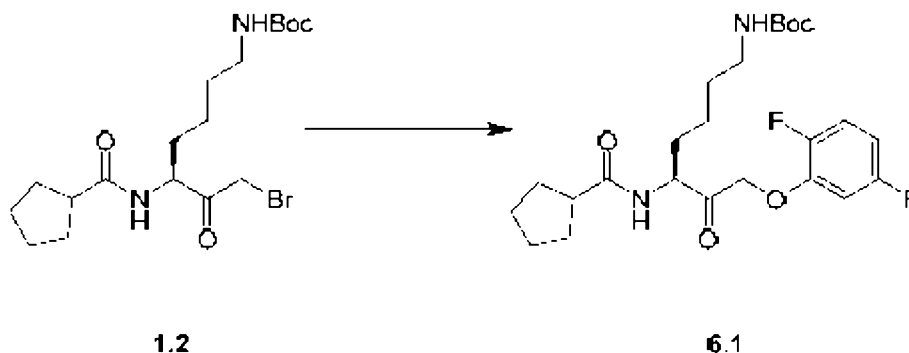
在N<sub>2</sub>下在20°C下向化合物**1.2** (100.00 mg, 238.46 μmol, 1.00 eq)於DMF (1.00 mL)中之混合物一次性添加KF (41.56 mg, 715.38 μmol, 16.76 μL, 3.00 eq)及2,3-二氟苯酚(37.23 mg, 286.15 μmol, 1.20 eq)。將混合物在20°C下攪拌15小時。將反應混合物傾倒至H<sub>2</sub>O (5mL)中，並用EtOAc (3 × 5mL)萃取水相。將合併之有機相用鹽水(3 mL)洗滌，經無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥且過濾並在真空下濃縮。然後藉由製備型HPLC (TFA條件)純化殘餘物，以得到呈白色固體之化合物**5.1** (50.00 mg, 106.72 μmol, 44.75%產率)。



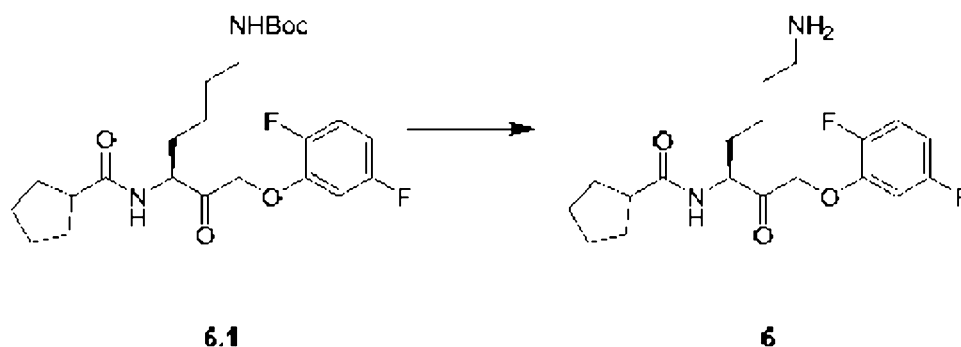
在N<sub>2</sub>下在20°C下將化合物**5.1** (50.00 mg, 106.72 μmol, 1.00 eq)於HCl/EtOAc (2.00 mL)中之混合物攪拌15小時。蒸發溶液以去除有機溶劑。將殘餘水溶液凍乾，以得到呈白色固體之化合物**5**之鹽酸鹽(15.00 mg, 40.71 μmol, 38.15%產率)。LCMS (ESI)：針對C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>F<sub>2</sub>O<sub>3</sub>計算之m/z: [M + H]：369.2；實驗值369.2；RT=2.246 min。<sup>1</sup>H NMR (400

MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 1.23 - 1.83 (m, 15 H) 2.62 - 2.83 (m, 3 H) 4.32 (ddd,  $J=9.59, 6.73, 4.63$  Hz, 1 H) 5.03 - 5.19 (m, 2 H) 6.77 - 7.14 (m, 3 H) 7.90 (br s, 3 H) 8.36 (d,  $J=6.83$  Hz, 1 H)。

**實例8. (S)-N-(7-胺基-1-(2,5-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)環戊烷甲醯胺 (6)之製備**



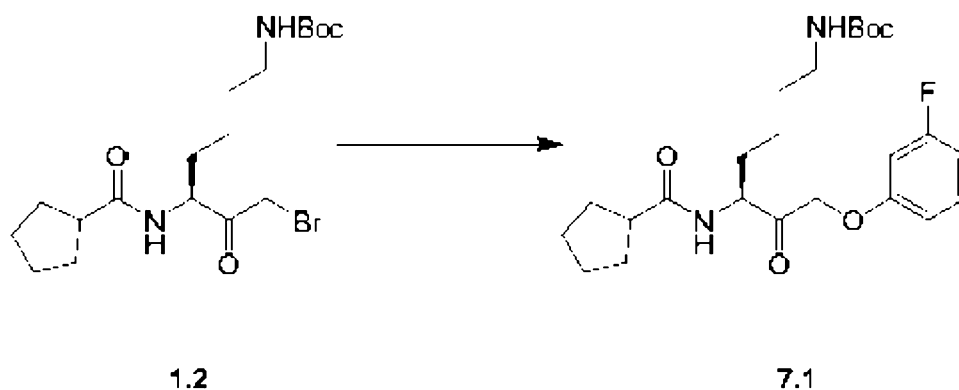
在 $N_2$ 下在 $20^\circ C$ 下向化合物**1.2** (100.00 mg, 238.46  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)於DMF (1.00 mL)中之混合物一次性添加KF (41.56 mg, 715.38  $\mu\text{mol}$ , 16.76  $\mu\text{L}$ , 3.00 eq)及2,5-二氟苯酚(37.23 mg, 286.15  $\mu\text{mol}$ , 1.20 eq)。將混合物在 $20^\circ C$ 下攪拌15小時。將反應混合物傾倒至 $H_2O$  (5mL)中，並用EtOAc (5mL\*3)萃取水相。將合併之有機相用鹽水(3 mL)洗滌，經無水 $Na_2SO_4$ 乾燥，過濾，並在真空下濃縮。然後藉由製備型HPLC (TFA條件)純化殘餘物，以得到呈白色固體之化合物**6.1** (41.00 mg, 87.51  $\mu\text{mol}$ , 36.70%產率)。



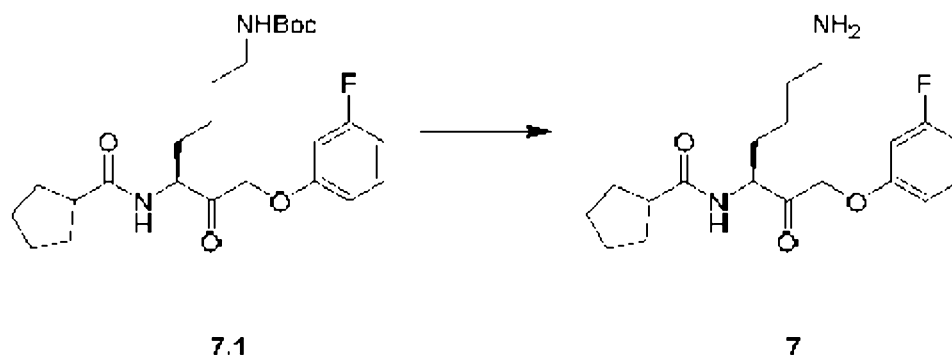
在 $N_2$ 下在 $20^\circ C$ 下將化合物**6.1** (41.00 mg, 87.51  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)於

HCl/EtOAc (2.00 mL)中之混合物攪拌15小時。蒸發溶液以去除有機溶劑。將殘餘水溶液凍乾，以得到呈白色固體之化合物**6**之鹽酸鹽(17.00 mg, 46.14  $\mu\text{mol}$ , 52.73%產率)。LCMS (ESI)：針對 $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{F}_2\text{O}_3$ 計算之  $m/z$ : [M + H] : 369.2 ; 實驗值 369.2 ; RT=2.239 min 。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  ppm 1.10 - 1.85 (m, 16 H) 2.62 - 2.84 (m, 3 H) 4.31 (br t,  $J=10.23$  Hz, 1 H) 5.02 - 5.18 (m, 2 H) 6.69 - 7.33 (m, 3 H) 7.85 (br s, 3 H) 8.35 (br d,  $J=6.65$  Hz, 1 H) 。

**實例9. (S)-N-(7-胺基-1-(3-氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)環戊烷甲醯胺(7)之製備**

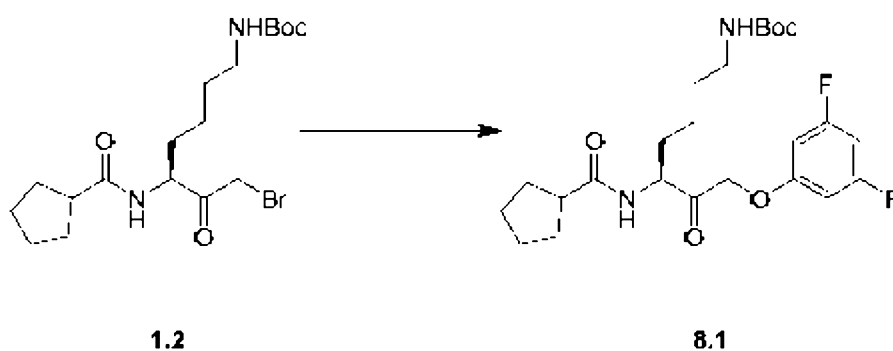


在 $\text{N}_2$ 下在 $20^\circ\text{C}$ 下向化合物**1.2** (100.00 mg, 238.46  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)於DMF (1.00 mL)中之混合物一次性添加KF (41.56 mg, 715.38  $\mu\text{mol}$ , 16.76  $\mu\text{L}$ , 3.00 eq)及3-氟苯酚(32.08 mg, 286.15  $\mu\text{mol}$ , 26.30  $\mu\text{L}$ , 1.20 eq)。將混合物在 $20^\circ\text{C}$ 下攪拌15小時。將反應混合物傾倒至 $\text{H}_2\text{O}$  (5mL)中，用EtOAc (3  $\times$  5mL)萃取水相。將合併之有機相用鹽水(3 mL)洗滌，經無水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 乾燥，過濾並在真空下濃縮。然後藉由製備型HPLC (TFA條件)純化殘餘物，以得到呈白色固體之化合物**7.1** (47.00 mg, 104.32  $\mu\text{mol}$ , 43.75%產率)。



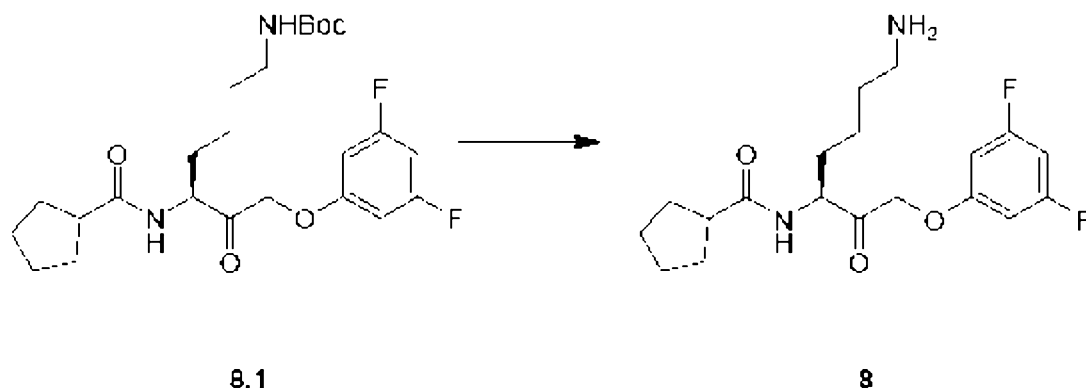
在 $N_2$ 下在 $20^\circ C$ 下將化合物**7.1** (47.00 mg, 104.32  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)於HCl/EtOAc (2.00 mL)中之混合物攪拌15小時。蒸發溶液以去除有機溶劑。將殘餘水溶液凍乾，以得到呈白色固體之化合物**7**之鹽酸鹽(20.00 mg, 57.07  $\mu\text{mol}$ , 54.71%產率)。LCMS (ESI)：針對 $C_{19}H_{27}N_2FO_3$ 計算之 $m/z$ :  $[M + H]$  : 351.2 ; 實驗值351.2 ; RT=2.205 min 。 $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 1.19 - 1.85 (m, 15 H) 2.60 - 2.87 (m, 3 H) 4.33 (ddd,  $J=9.43, 6.67, 4.85$  Hz, 1 H) 4.93 - 5.13 (m, 2 H) 6.61 - 6.88 (m, 3 H) 7.68 (br s, 3 H) 8.27 (d,  $J=6.84$  Hz, 1 H) 。

**實例10. (S)-N-(7-胺基-1-(3,5-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)環戊烷甲醯胺(8)之製備**



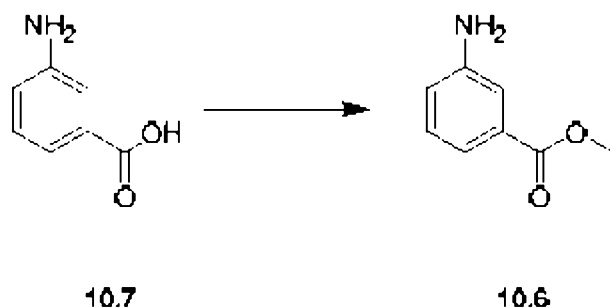
在 $N_2$ 下在 $20^\circ C$ 下向化合物**1.2** (100.00 mg, 238.46  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)於DMF (1.00 mL)中之混合物一次性添加KF (41.56 mg, 715.38  $\mu\text{mol}$ , 16.76  $\mu\text{L}$ , 3.00 eq)及3,5-二氟苯酚(37.23 mg, 286.15  $\mu\text{mol}$ , 1.20 eq)。將混合物在 $20^\circ C$ 下攪拌15小時。將反應混合物傾倒至 $H_2O$  (5mL)中，並用EtOAc

(3 × 5mL)萃取水相。將合併之有機相用鹽水(3 mL)洗滌，經無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾，並在真空下濃縮。然後藉由製備型HPLC (TFA條件)純化殘餘物，以得到呈白色固體之化合物**8.1** (50.00 mg, 106.72 μmol, 44.75%產率)。

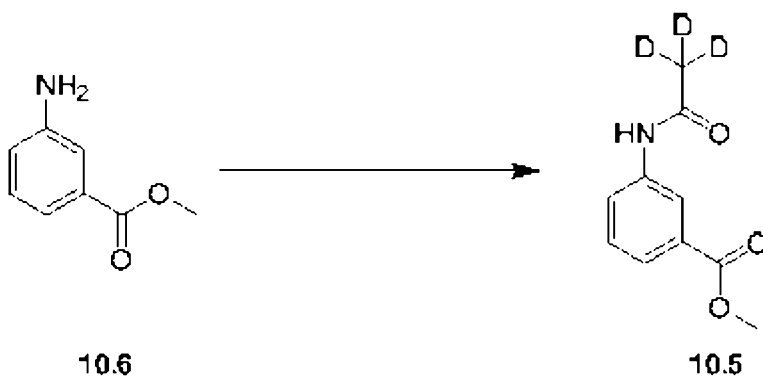


在N<sub>2</sub>下在20°C下將化合物**8.1** (50.00 mg, 106.72 μmol, 1.00 eq)於HCl/EtOAc (2.00 mL)中之混合物攪拌4小時。蒸發溶液以去除有機溶劑。將殘餘水溶液凍乾，以得到呈白色固體之化合物**8**之鹽酸鹽(20.00 mg, 54.29 μmol, 50.87%產率)。LCMS (ESI)：針對C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>F<sub>2</sub>O<sub>3</sub>計算之m/z: [M + H] : 369.2 ; 實驗值369.1 ; RT=2.750 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1.24 - 1.82 (m, 15 H) 2.61 - 2.83 (m, 3 H) 4.32 (ddd, *J*=9.43, 6.67, 4.85 Hz, 1 H) 4.96 - 5.08 (m, 2 H) 6.67 (dd, *J*=9.48, 2.21 Hz, 2 H) 6.79 (tt, *J*=9.43, 2.26 Hz, 1 H) 7.67 (br s, 3 H) 8.26 (d, *J*=6.84 Hz, 1 H)。

**實例11. (R)-3-(乙醯胺基-2,2,2-d<sub>3</sub>)-N-(7-胺基-1-(2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)苯甲醯胺(10)之製備**



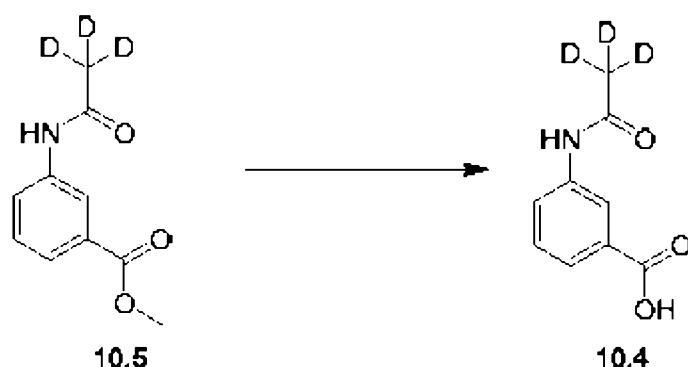
在N<sub>2</sub>下在0°C下向化合物**10.7** (10.00 g, 72.92 mmol, 1.00 eq)於MeOH (100.00 mL)中之溶液一次性添加SOCl<sub>2</sub> (17.35 g, 145.84 mmol, 10.58 mL, 2.00 eq)。將混合物在65°C下攪拌15小時。將反應混合物傾倒至H<sub>2</sub>O (20mL)中，並用EtOAc (3 × 10 mL)萃取水相。將合併之有機相用鹽水(5 mL)洗滌，經無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾，並在真空下濃縮，以得到呈白色固體之化合物**10.6** (13.10 g, 粗製)。LCMS (ESI)：針對C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>計算之m/z: [M + H] : 152.1 ; 實驗值152.2 ; RT=1.191 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ ppm 3.35 (s, 3 H) 3.95 (s, 3 H) 7.65 - 7.72 (m, 2 H) 8.07 (s, 1 H) 8.10 - 8.16 (m, 1 H)



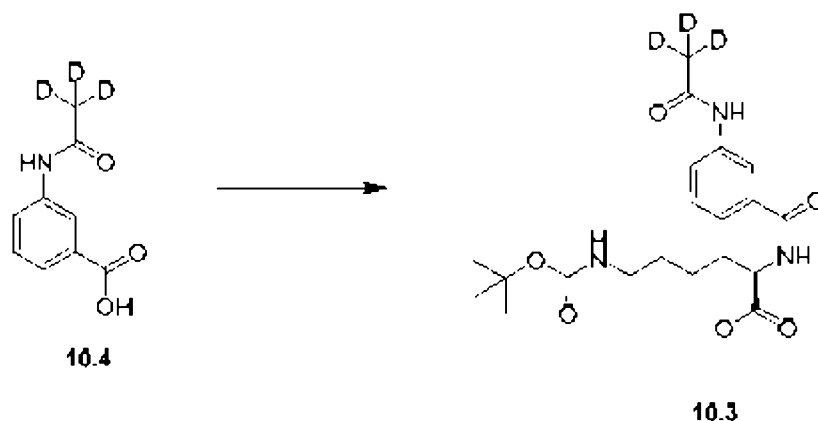
在N<sub>2</sub>下在0°C下向化合物**10.6** (3.77 g, 24.97 mmol, 1.00 eq)、HOBt (3.71 g, 27.47 mmol, 1.10 eq)及EDCI (4.79 g, 24.97 mmol, 1.00 eq)於DMF (50.00 mL)中之混合物一次性添加DIEA (16.14 g, 124.85 mmol, 21.80 mL, 5.00 eq)及氘化2,2,2-三氘乙酸酯(1.60 g, 24.97 mmol, 1.00 eq)。將混合物在15°C下攪拌15小時。將反應混合物傾倒至H<sub>2</sub>O (20 mL)



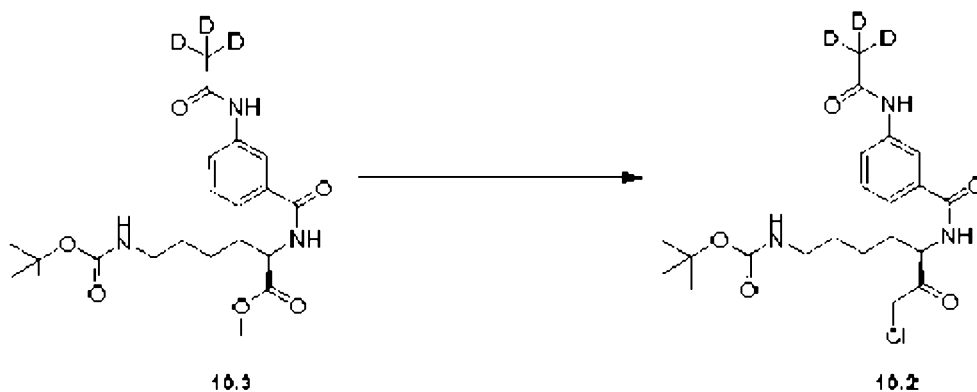
中，並用EtOAc (3 × 10 mL)萃取水相。將合併之有機相用鹽水(5 mL)洗滌，經無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾，並在真空下濃縮。殘餘物藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>，石油醚/乙酸乙酯=10:1至2:1)進行純化，以得到呈無色油狀物之化合物**10.5** (2.90 g, 14.78 mmol, 59.19% 產率)。LCMS (ESI)：針對C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>D<sub>3</sub>NO<sub>3</sub>計算之m/z: [M + H] : 197.1 ; 實驗值 197.2 ; RT=0.634 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 氯仿-*d*) δ ppm 3.91 (s, 3 H) 7.41 (t, *J*=7.94 Hz, 1 H) 7.51 (br s, 1 H) 7.78 (d, *J*=7.72 Hz, 1 H) 7.92 (br d, *J*=8.16 Hz, 1 H) 8.01 (s, 1 H)。



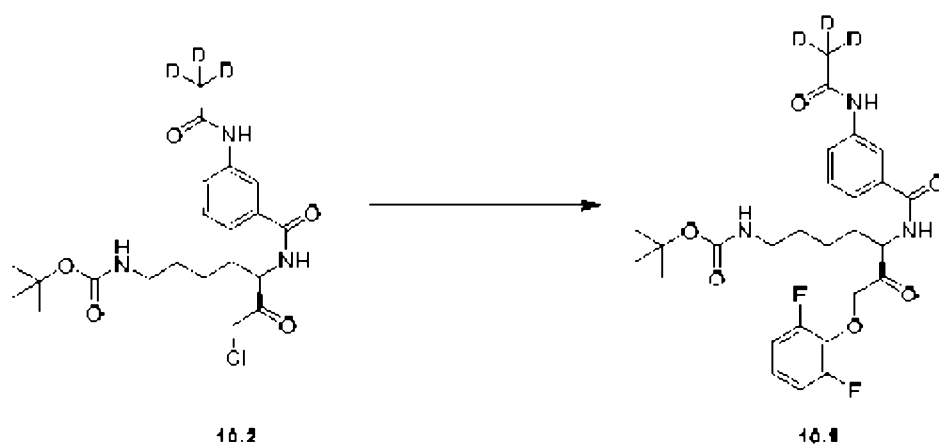
在N<sub>2</sub>下在15°C下向化合物**10.5** (2.90 g, 14.78 mmol, 1.00 eq)於MeOH (36.00 mL)中之溶液一次性添加於H<sub>2</sub>O (12.00 mL)中之NaOH (1.18 g, 29.56 mmol, 2.00 eq)。將混合物在15°C下攪拌15小時。去除EtOAc且然後使溶液冷卻至0°C，並利用HCl (1 N)將pH調整至6-7。將懸浮液過濾並用50 mL PE洗滌濾餅且在真空下乾燥，以得到呈白色固體之化合物**10.4** (2.10 g, 粗製)。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 甲醇-*d*<sub>4</sub>) δ ppm 7.41 (t, *J*=7.94 Hz, 1 H) 7.75 (dt, *J*=7.72, 1.32 Hz, 1 H) 7.82 (ddd, *J*=8.05, 2.21, 0.99 Hz, 1 H) 8.21 (t, *J*=1.87 Hz, 1 H)。



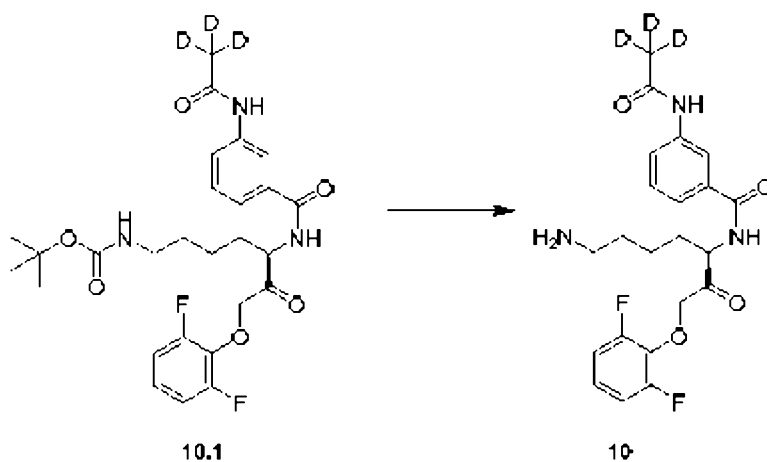
在N<sub>2</sub>下在0°C下向化合物**10.4** (1.00 g, 5.49 mmol, 1.00 eq)、HOBT (815.81 mg, 6.04 mmol, 1.10 eq)及EDCI (1.16 g, 6.04 mmol, 1.10 eq)於DMF (2.00 mL)中之混合物一次性添加DIEA (2.84 g, 21.96 mmol, 3.83 mL, 4.00 eq)及(2S)-2-胺基-6-(第三丁氧基羰基胺基)己酸甲基酯(1.43 g, 5.49 mmol, 1.00 eq)。將混合物在15°C下攪拌15小時。將反應混合物傾倒至H<sub>2</sub>O (30mL)中，用EtOAc (3 × 30mL)萃取水相。將合併之有機相用鹽水(5 mL)洗滌，經無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在真空下濃縮。殘餘物藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>，石油醚/乙酸乙酯=4:1至0:1)進行純化，以得到呈淺黃色固體之化合物**10.3** (1.90 g, 4.48 mmol, 81.53%產率)。LCMS (ESI)：針對C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>D<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>計算之m/z: [M + H]：425.2；實驗值325.3；RT=0.757 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz，氯仿-d) δ ppm 1.31 - 1.54 (m, 14 H) 1.70 - 1.97 (m, 2 H) 2.11 - 2.19 (m, 1 H) 3.00 - 3.12 (m, 2 H) 3.71 (s, 3 H) 4.64 - 4.81 (m, 2 H) 7.11 (br d, J=7.50 Hz, 1 H) 7.28 - 7.36 (m, 1 H) 7.47 (br d, J=7.28 Hz, 1 H) 7.75 (br s, 1 H) 7.95 (br d, J=7.72 Hz, 1 H) 8.47 (br s, 1 H)。



在N<sub>2</sub>下在0°C下向DIPA (760.95 mg, 7.52 mmol, 1.06 mL, 4.00 eq) 於THF (15.00 mL)中之溶液添加n-BuLi (481.73 mg, 7.52 mmol, 4.00 eq)。0.5 h之後，在N<sub>2</sub>下在-78°C下將化合物**10.3** (800.00 mg, 1.88 mmol, 1.00 eq)及氯(碘)甲烷(1.33 g, 7.52 mmol, 545.83 μL, 4.00 eq)添加至混合物。將所得混合物在-78°C下攪拌1.5小時。添加水(20 mL)，並用EtOAc (3 × 20mL)萃取混合物。將合併之有機層用鹽水(10 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾，並在減壓下濃縮，以得到呈深棕色油狀物之化合物**10.2** (900.00 mg，粗製)。LCMS (ESI)：針對C<sub>21</sub>H<sub>27</sub>D<sub>3</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>5</sub>計算之m/z: [M + H]：442.2；實驗值339.3；RT=0.748 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz，氯仿-*d*) δ ppm 1.35 - 1.59 (m, 17 H) 1.67 (br s, 3 H) 1.76 - 2.02 (m, 3 H) 3.11 (br d, *J*=6.17 Hz, 2 H) 3.77 (s, 3 H) 4.60 - 4.82 (m, 2 H) 6.87 (br s, 1 H) 7.40 (br t, *J*=7.61 Hz, 1 H) 7.52 (br s, 1 H) 7.66 - 7.82 (m, 2 H) 7.92 (br s, 1 H)。



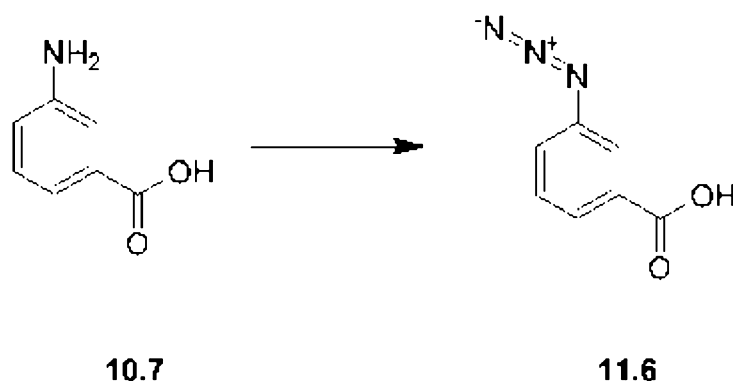
在N<sub>2</sub>下在20°C下向化合物**10.2** (200.00 mg, 451.52 μmol, 1.00 eq)及2,6-二氟苯酚(58.74 mg, 451.52 μmol, 1.00 eq)於DMF (4.00 mL)中之混合物一次性添加DIEA (175.06 mg, 1.35 mmol, 236.57 μL, 3.00 eq)。將混合物在20°C下攪拌15小時。殘餘物藉由製備型HPLC (TFA條件)進行純化，以得到呈深棕色固體之化合物**10.1** (20.00 mg, 37.27 μmol, 8.26%產率)。LCMS (ESI)：針對C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>D<sub>3</sub>F<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>計算之m/z: [M + H] : 537.3 ; 實驗值481.3 ; RT=1.208 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 1.41 (br s, 18 H) 1.80 (br s, 2 H) 2.08 - 2.24 (m, 2 H) 3.13 (br s, 3 H) 4.91 (br s, 3 H) 5.24 (br s, 1 H) 6.88 - 7.05 (m, 5 H) 7.37 - 7.46 (m, 3 H) 7.56 (br s, 2 H) 7.78 (br s, 1 H) 7.93 (br s, 1 H)



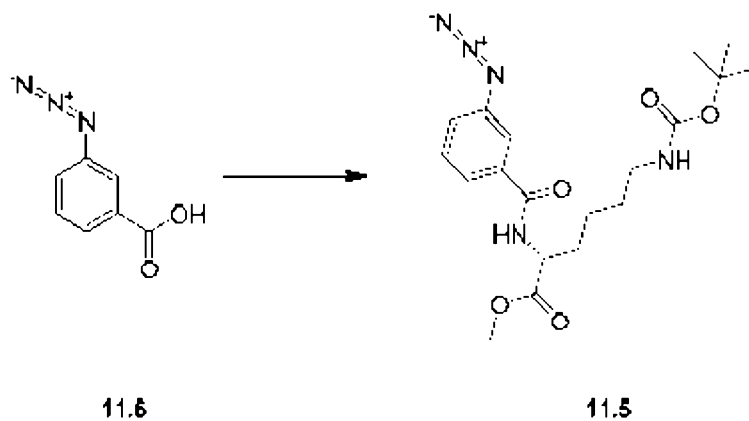
在N<sub>2</sub>下在20°C下向化合物**10.1** (10.00 mg, 18.64 μmol, 1.00 eq)於DCM (10.00 mL)中之溶液一次性添加TFA (3.08 g, 27.01 mmol, 2.00

mL, 1449.18 eq)。將混合物在20°C下攪拌4小時，過濾，並在真空下濃縮。殘餘物藉由製備型HPLC (TFA條件)進行純化，以得到呈深棕色固體之化合物**10**之三氟乙酸鹽(1.00 mg, 2.29  $\mu$ mol, 12.29%產率)。LCMS (ESI)：針對C<sub>22</sub>H<sub>22</sub>D<sub>3</sub>F<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>計算之m/z: [M + H] : 437.2 ; 實驗值437.3 ; RT=2.042 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$  ppm 1.48 - 1.87 (m, 5 H) 2.13 (br s, 1 H) 2.91 - 2.99 (m, 2 H) 4.90 - 5.08 (m, 5 H) 6.94 - 7.12 (m, 3 H) 7.39 - 7.46 (m, 1 H) 7.54 - 7.65 (m, 2 H) 8.13 (s, 1 H)。

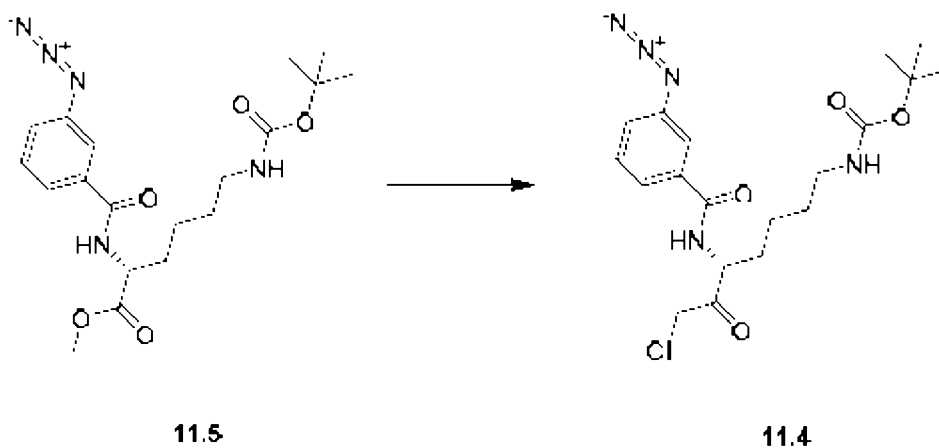
### 實例12. 生物素化牙齦蛋白酶抑制劑(11)之製備



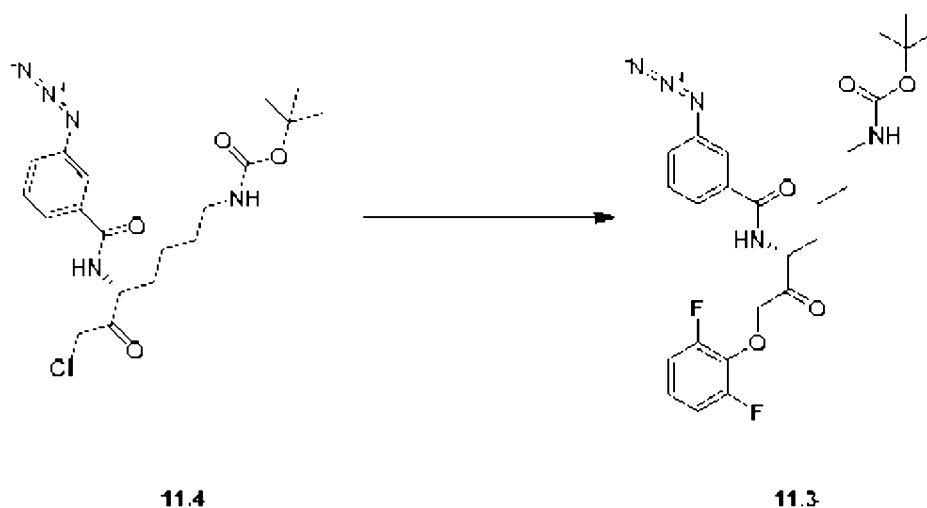
在N<sub>2</sub>下在0°C下向化合物**10.7** (5.00 g, 36.46 mmol, 1.00 eq)於CH<sub>3</sub>CN (50.00 mL)中之溶液一次性添加t-BuONO (5.64 g, 54.69 mmol, 6.48 mL, 1.50 eq)及TMSN<sub>3</sub> (5.04 g, 43.75 mmol, 5.73 mL, 1.20 eq)。將混合物在15°C下攪拌1小時，過濾，並在真空下濃縮。添加H<sub>2</sub>O (20 mL)，並用EtOAc (3  $\times$  10 mL)萃取水相。將合併之有機相用鹽水(5 mL)洗滌，經無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾，並在真空下濃縮，以得到呈白色固體之化合物**11.6** (4.00 g, 粗製)。LCMS (ESI)：針對C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>計算之m/z: [M + H] : 164.0 ; 實驗值164.1 ; RT=0.705 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 氯仿-d)  $\delta$  ppm 2.71 (d, J=9.48 Hz, 1 H) 6.93 - 6.98 (m, 1 H) 7.27 - 7.32 (m, 1 H) 7.44 - 7.57 (m, 1 H) 7.79 - 7.84 (m, 1 H) 7.90 - 7.95 (m, 1 H)。



在 $N_2$ 下在 $0^\circ C$ 下向化合物**11.6** (2.00 g, 12.26 mmol, 1.00 eq)、HOBt (1.82 g, 13.49 mmol, 1.10 eq)及EDCI (2.59 g, 13.49 mmol, 1.10 eq)於DMF (40.00 mL)中之混合物一次性添加(2S)-2-胺基-6-(第三丁氧基羰基胺基)己酸甲基酯(3.19 g, 12.26 mmol, 1.00 eq)及DIEA (6.34 g, 49.04 mmol, 8.57 mL, 4.00 eq)。將混合物在 $15^\circ C$ 下攪拌4小時。將反應混合物傾倒至 $H_2O$  (20 mL)中。用EtOAc (3 × 50 mL)萃取水相。將合併之有機相用鹽水(5 mL)洗滌，經無水 $Na_2SO_4$ 乾燥，過濾，並在真空下濃縮。殘餘物藉由管柱層析( $SiO_2$ ，石油醚/乙酸乙酯=10:1至2:1)進行純化，以得到呈白色固體之化合物**11.5** (3.50 g, 8.63 mmol, 70.39%產率)。LCMS (ESI)：針對 $C_{19}H_{27}N_5O_5$ 計算之 $m/z$ :  $[M + H]^+$ : 406.2；實驗值350.2；RT=0.840 min。 $^1H$  NMR (400 MHz，氯仿- $d$ )  $\delta$  ppm 1.39 (s, 10 H) 1.46 - 1.56 (m, 3 H) 1.75 - 2.00 (m, 2 H) 3.05 - 3.14 (m, 2 H) 3.77 (s, 3 H) 4.64 (br s, 1 H) 4.72 - 4.80 (m, 1 H) 6.94 (br d,  $J=7.06$  Hz, 1 H) 7.14 (ddd,  $J=8.05, 2.32, 0.88$  Hz, 1 H) 7.40 (t,  $J=7.83$  Hz, 1 H) 7.47 - 7.56 (m, 2 H)

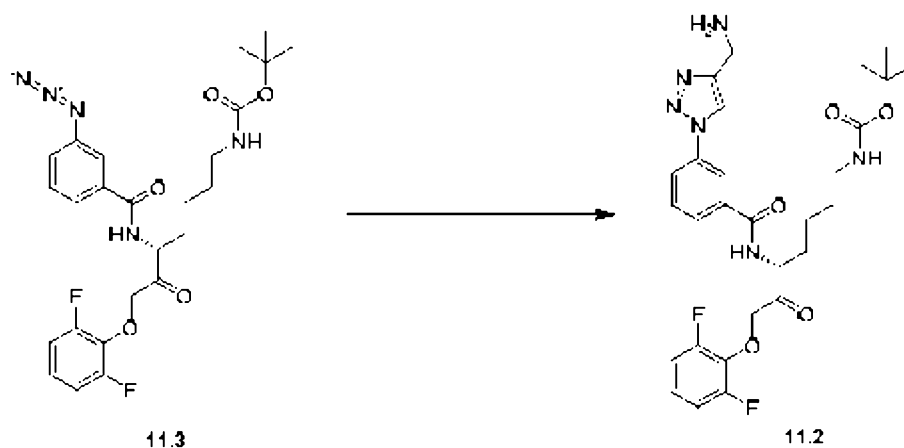


在 $N_2$ 下在 $0^\circ C$ 下向DIPA (2.25 g, 22.20 mmol, 3.12 mL, 6.00 eq)於THF (40.00 mL)中之溶液添加n-BuLi (1.42 g, 22.20 mmol, 6.00 eq)。0.5 h之後，在 $N_2$ 下在 $-78^\circ C$ 下將化合物**11.5** (1.50 g, 3.70 mmol, 1.00 eq)及氯(碘)甲烷(2.61 g, 14.80 mmol, 1.07 mL, 4.00 eq)添加至混合物。將所得混合物在 $-78^\circ C$ 下攪拌1.5小時。將反應混合物添加至水(20 mL)，並用EtOAc (3 × 20 mL)萃取溶液。將合併之有機層用鹽水(10 mL)洗滌，經 $Na_2SO_4$ 乾燥，過濾，並在減壓下濃縮以產生殘餘物，以得到呈深棕色油狀物之化合物**11.4** (1.50 g，粗製)。



在 $N_2$ 下在 $20^\circ C$ 下向化合物**11.4** (1.50 g, 3.54 mmol, 1.00 eq)及2,6-二氟苯酚(460.34 mg, 3.54 mmol, 1.00 eq)於DMF (15.00 mL)中之混合物一次性添加DIEA (1.37 g, 10.62 mmol, 1.85 mL, 3.00 eq)。將混合物在20

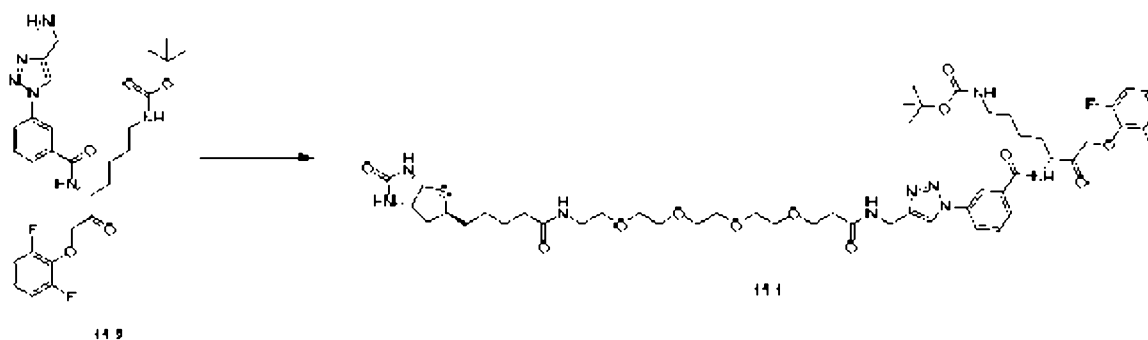
°C下攪拌15小時。將反應混合物添加至水(20 mL)，並用EtOAc (3 × 20 mL)萃取溶液。將合併之有機層用鹽水(10 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾，並在減壓下濃縮以產生殘餘物。殘餘物藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>，石油醚/乙酸乙酯=10:1至2:1)進行純化，以得到呈淺黃色油狀物之化合物**11.3** (400.00 mg, 772.92 μmol, 21.83% 產率)。LCMS (ESI)：針對C<sub>25</sub>H<sub>29</sub>F<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>計算之m/z: [M + H] : 518.2；實驗值518.3；RT=0.912 min。



在N<sub>2</sub>下在20°C下向化合物**11.3** (270.00 mg, 521.72 μmol, 1.00 eq)及丙-2-炔-1-胺(28.74 mg, 521.72 μmol, 33.41 μL, 1.00 eq)於CH<sub>3</sub>CN (4.00 mL)中之混合物一次性添加CuSO<sub>4</sub> (4.16 mg, 26.09 μmol, 4.00 μL, 0.05 eq)及抗壞血酸鈉(20.67 mg, 104.34 μmol, 0.20 eq)。將混合物在20°C下攪拌15小時。殘餘物藉由製備型HPLC (TFA條件)進行純化，以得到呈深棕色油狀物之化合物**11.2** (70.00 mg, 122.25 μmol, 23.43%產率)。LCMS (ESI)：針對C<sub>28</sub>H<sub>34</sub>F<sub>2</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>計算之m/z: [M + H] : 573.3；實驗值573.5；RT=0.846 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz，氯仿-*d*) δ ppm 1.19 - 1.69 (m, 8 H) 2.04 (br s, 1 H) 2.67 - 3.25 (m, 3 H) 4.45 (br s, 1 H) 4.72 - 5.15 (m, 2 H) 6.78 - 7.09 (m, 2 H) 7.58 - 8.01 (m, 2 H) 8.16 - 8.49 (m, 1 H) 8.63 - 9.26

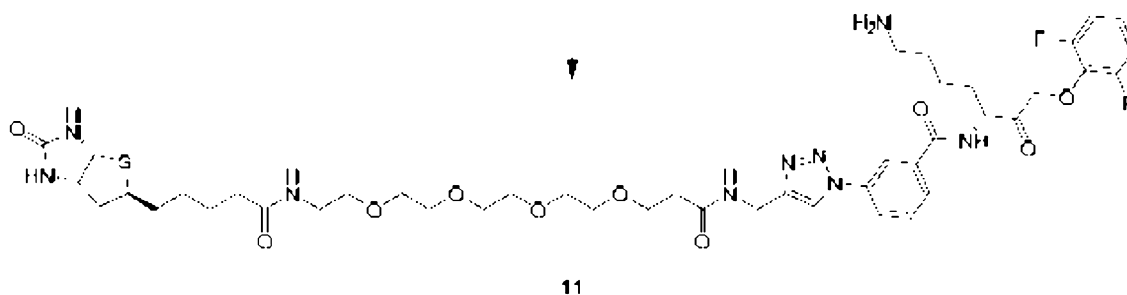
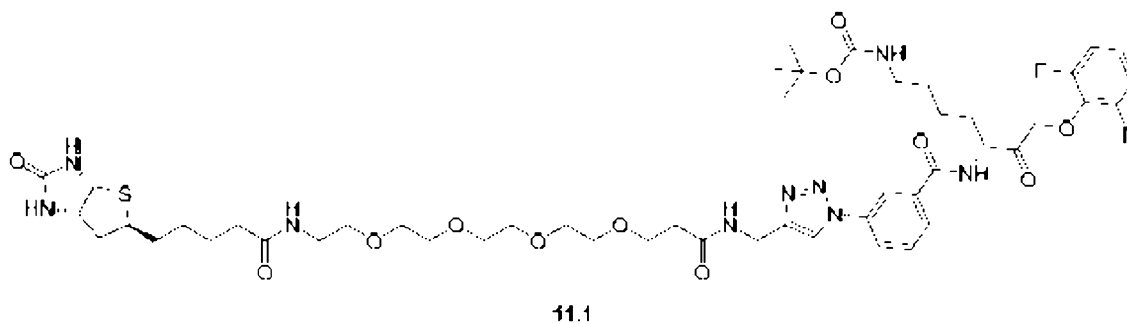


(m, 1 H)。



在 $N_2$ 下在 $0^\circ C$ 下向生物素-DPEG(4)-COOH (34.34 mg, 69.86  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)、HOBt (9.44 mg, 69.86  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)及EDCI (13.39 mg, 69.86  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)於DMF (1.00 mL)中之混合物一次性添加化合物**11.2** (40.00 mg, 69.86  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)及DIEA (36.11 mg, 279.44  $\mu\text{mol}$ , 48.80  $\mu\text{L}$ , 4.00 eq)。將混合物在 $20^\circ C$ 下攪拌15小時。殘餘物藉由製備型HPLC (TFA條件)進行純化，以得到呈白色固體之化合物**11.1** (20.00 mg, 19.12  $\mu\text{mol}$ , 27.37%產率)。LCMS (ESI)：針對 $C_{49}H_{69}F_2N_9O_{12}S$ 計算之 $m/z$ : [M + H] : 1046.5 ; 實驗值1046.3 ; RT=1.115 min。 $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 1.21 - 1.34 (m, 12 H) 1.35 - 1.75 (m, 9 H) 1.85 (br dd, J=9.59, 3.64 Hz, 1 H) 2.05 (t, J=7.39 Hz, 2 H) 2.35 - 2.42 (m, 1 H) 2.38 (t, J=6.50 Hz, 1 H) 2.53 - 2.60 (m, 2 H) 2.80 (dd, J=12.35, 5.07 Hz, 1 H) 2.89 (br d, J=5.95 Hz, 2 H) 3.08 (ddd, J=8.49, 6.06, 4.63 Hz, 1 H) 3.16 (q, J=5.88 Hz, 2 H) 3.44 - 3.50 (m, 15 H) 3.62 (t, J=6.50 Hz, 3 H) 4.11 (dd, J=7.72, 4.41 Hz, 1 H) 4.29 (dd, J=7.72, 4.41 Hz, 1 H) 4.40 (d, J=5.73 Hz, 2 H) 4.59 - 4.67 (m, 1 H) 5.06 - 5.20 (m, 2 H) 6.76 (br t, J=5.51 Hz, 1 H) 7.06 - 7.14 (m, 3 H) 7.71 (t, J=8.05 Hz, 1 H) 7.82 (t, J=5.62 Hz, 1 H) 7.95 - 8.00 (m, 1 H) 8.06 (ddd, J=8.16, 2.21, 0.88 Hz, 1 H) 8.36 (t, J=1.76 Hz, 1 H) 8.45 (t, J=5.51 Hz, 1 H) 8.64 (s, 1 H) 8.95

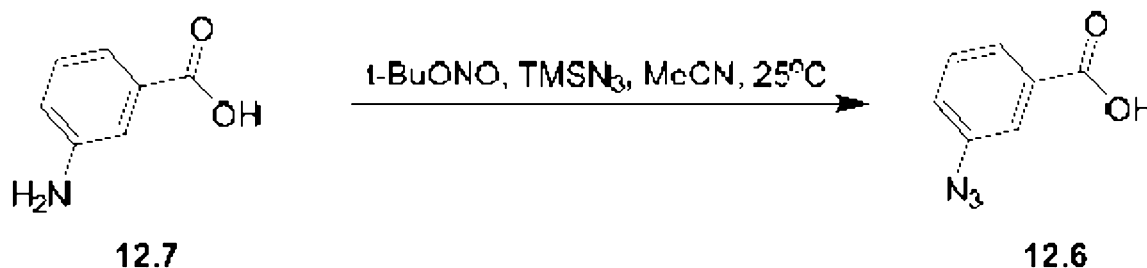
(d,  $J=7.28$  Hz, 1 H)。



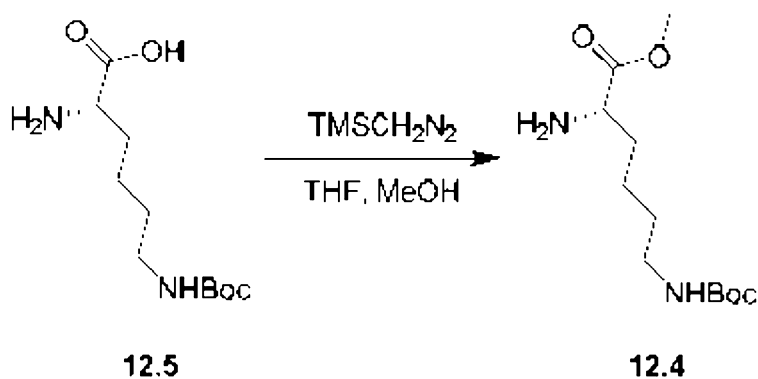
在 $N_2$ 下在 $20^\circ C$ 下將化合物**11.1** (20.00 mg, 19.12  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)於TFA (1.03 g, 9.00 mmol, 666.11  $\mu\text{L}$ , 470.61 eq)中之溶液攪拌4小時。將混合物過濾並在真空下濃縮，以得到呈白色固體之化合物**11**之三氟乙酸鹽 (18.00 mg, 16.98  $\mu\text{mol}$ , 88.81% 產率，TFA)。LCMS (ESI)：針對 $C_{44}H_{61}F_2N_9O_{10}S$ 計算之 $m/z$ :  $[M + H]$  : 946.4 ; 實驗值946.6 ;  $RT=2.076$  min。 $^1H$  NMR (400 MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$  ppm 1.10 - 1.77 (m, 14 H) 1.82 - 1.95 (m, 1 H) 2.05 (t,  $J=7.40$  Hz, 2 H) 2.17 (t,  $J=8.03$  Hz, 1 H) 2.30 - 2.42 (m, 2 H) 2.53 - 2.60 (m, 3 H) 2.64 - 2.71 (m, 2 H) 2.73 - 2.85 (m, 3 H) 3.04 - 3.12 (m, 2 H) 3.17 (q,  $J=5.86$  Hz, 3 H) 3.44 - 3.52 (m, 14 H) 3.63 (br t,  $J=6.46$  Hz, 2 H) 4.08 - 4.15 (m, 1 H) 4.26 - 4.33 (m, 1 H) 4.40 (d,  $J=5.52$  Hz, 2 H) 4.63 - 4.72 (m, 1 H) 5.07 - 5.21 (m, 2 H) 6.31 - 6.42 (m, 2 H) 6.95 - 6.99 (m, 1 H) 6.97 (s, 1 H) 7.06 - 7.15 (m, 3 H) 7.23 (s, 1 H) 7.58 - 7.76 (m, 4 H) 7.81 (br t,  $J=5.46$  Hz, 1 H) 7.95 - 8.01

(m, 1 H) 7.98 (d,  $J=7.91$  Hz, 1 H) 8.07 (dd,  $J=8.03, 1.25$  Hz, 1 H) 8.38 (s, 1 H) 8.45 (t,  $J=5.52$  Hz, 1 H) 8.63 - 8.66 (m, 1 H) 8.64 (s, 1 H) 8.98 (d,  $J=7.53$  Hz, 1 H)。

**實例13. (S)-N-(7-胺基-1-(2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)-3-疊氮基苯甲醯胺(12)之製備**

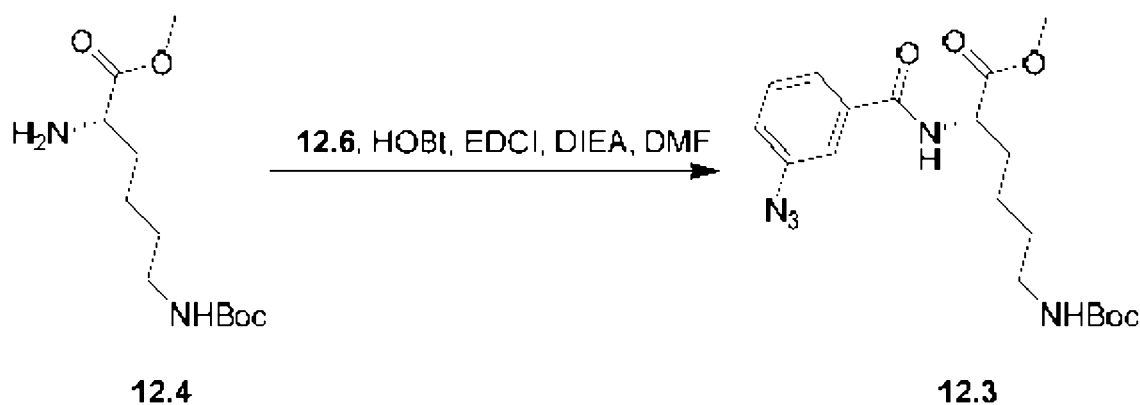


在 $\text{N}_2$ 下在 $18^\circ\text{C}$ 下向化合物**12.7** (5.00 g, 36.46 mmol, 1.00 eq)及t-BuONO (5.64 g, 54.69 mmol, 6.48 mL, 1.50 eq)於 $\text{CH}_3\text{CN}$  (70.00 mL)中之混合物一次性添加 $\text{TMSN}_3$  (5.04 g, 43.75 mmol, 5.73 mL, 1.20 eq)。將混合物在 $18^\circ\text{C}$ 下攪拌10小時。將反應混合物用 $\text{H}_2\text{O}$  (100 mL)稀釋，並用EtOAc (3 × 50 mL)萃取。將合併之有機層用鹽水(100 mL)洗滌，經 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 乾燥，過濾，並在減壓下濃縮以產生殘餘物。殘餘物藉由管柱層析( $\text{SiO}_2$ , DCM: MeOH = 10:1)進行純化，以得到呈黃色固體之化合物**12.6** (3.00 g, 18.39 mmol, 50.44%產率)。



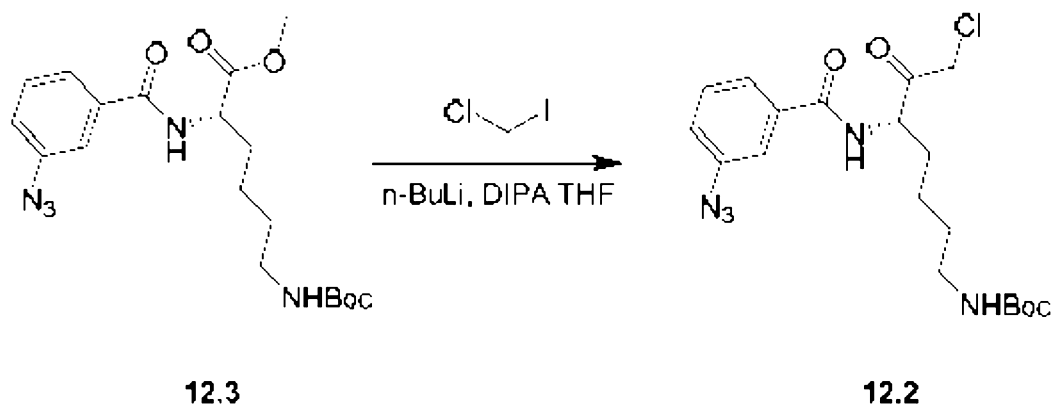
在 $\text{N}_2$ 下在 $25^\circ\text{C}$ 下向化合物**12.5** (20.00 g, 81.20 mmol, 1.00 eq)於

THF (160.00 mL) 及 MeOH (40.00 mL) 中之溶液逐滴添加 TMSCHN<sub>2</sub> (27.82 g, 243.60 mmol, 3.00 eq)。將混合物在 25°C 下攪拌 20 小時。將反應混合物在減壓下濃縮以產生殘餘物。殘餘物藉由管柱層析 (SiO<sub>2</sub>, 乙酸乙酯) 進行純化, 以得到呈無色油狀物之化合物 **12.4** (8.00 g, 30.73 mmol, 37.85% 產率)。

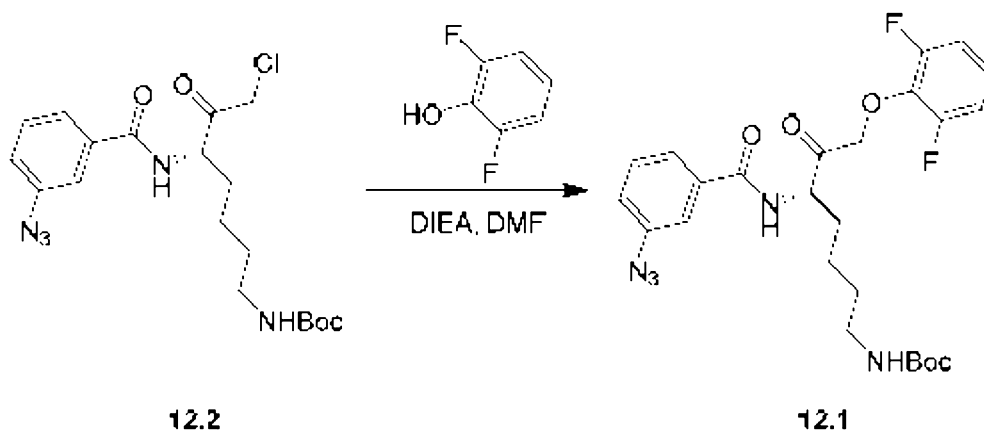


在 N<sub>2</sub> 下在 0°C 下向化合物 **12.6** (1.25 g, 7.68 mmol, 1.00 eq) 及 EDCI (1.62 g, 8.45 mmol, 1.10 eq) 於 DMF (20.00 mL) 中之混合物一次性添加 HOBt (1.14 g, 8.45 mmol, 1.10 eq)。將混合物在 0°C 下攪拌 1 小時, 然後向混合物逐滴添加化合物 **12.4** (2.00 g, 7.68 mmol, 1.00 eq) 於 DMF (5 mL) 中之溶液。逐滴添加 DIPEA (2.98 g, 23.04 mmol, 4.03 mL, 3.00 eq), 並將混合物在 0°C 下攪拌 1 小時。將反應混合物用 H<sub>2</sub>O (20 mL) 稀釋並用 EtOAc (3 × 15 mL) 萃取。將合併之有機層用鹽水 (40 mL) 洗滌, 經 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 乾燥, 過濾並在減壓下濃縮以產生殘餘物。殘餘物藉由管柱層析 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1:1) 進行純化, 以得到呈黃色油狀物之化合物 **12.3** (2.80 g, 6.91 mmol, 89.97% 產率)。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD-d<sub>4</sub>) δ ppm 1.40 (s, 8 H) 1.44 - 1.58 (m, 4 H) 1.80 - 2.00 (m, 2 H) 3.00 - 3.10 (m, 2 H) 3.74 (s, 3 H) 4.58 (dd, J=9.26, 5.07 Hz, 1 H) 7.25 (ddd, J=8.05, 2.32, 1.10 Hz, 1 H) 7.49 (t, J=7.83 Hz, 1 H) 7.56 (t, J=1.76 Hz, 1 H)

7.63 - 7.69 (m, 1 H)。LCMS (ESI)：針對 $C_{19}H_{27}O_5N_5$ 計算之 $m/z$ ：[M + H]：405；實驗值350, 306；RT=0.897 min。

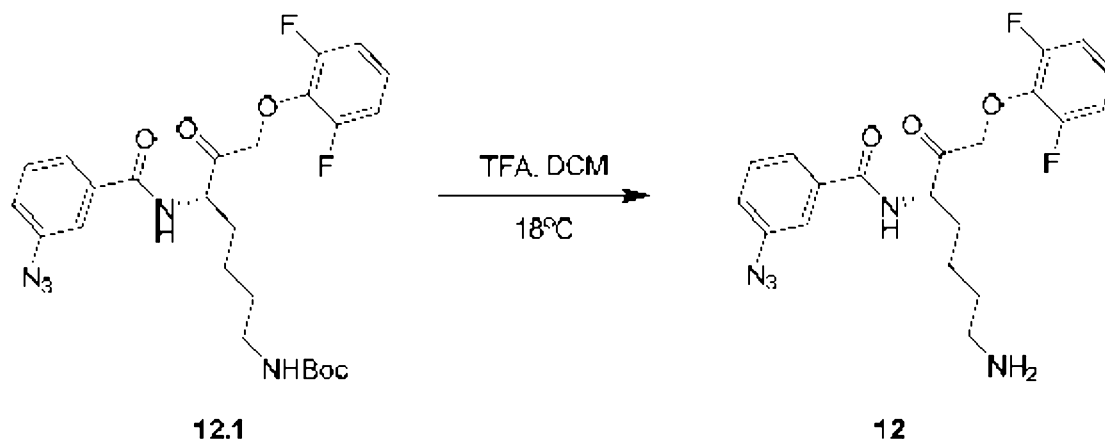


在 $0^\circ\text{C}$ 下向DIPA (1.50 g, 14.80 mmol, 2.08 mL, 6 eq)於THF (15.00 mL)中之溶液添加n-BuLi (2.5 M, 5.92 mL, 6.00 eq)，並將混合物在 $0^\circ\text{C}$ 下攪拌30 min。在 $-78^\circ\text{C}$ 下向該混合物添加化合物**12.3** (1.00 g, 2.47 mmol, 1.00 eq)及氯(碘)甲烷(2.18 g, 12.35 mmol, 895.11  $\mu\text{L}$ , 5.00 eq)於THF (15.00 mL)中之溶液。將混合物在 $-78^\circ\text{C}$ 下攪拌30 min。添加飽和 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 水溶液(10 mL)，且然後用EtOAc (3  $\times$  15 mL)萃取混合物。將合併之有機層用飽和 $\text{Na}_2\text{SO}_3$ 水溶液(20)及鹽水(20 mL)洗滌，經 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 乾燥，過濾，並在減壓下濃縮以提供呈黃色油狀物之粗製化合物**12.2** (2.00 g，粗製)，其用於下一步驟中。



在 $\text{N}_2$ 下在 $20^\circ\text{C}$ 下向化合物**12.2** (2.00 g, 4.72 mmol, 1.00 eq)及2,6-二

氟苯酚(613.79 mg, 4.72 mmol, 1.00 eq)於DMF (5.00 mL)中之混合物一  
次性添加DIPEA (2.44 g, 18.87 mmol, 3.30 mL, 4.00 eq)。將混合物在20  
°C下攪拌10小時。殘餘物藉由製備型HPLC (TFA條件)進行純化，以得到  
呈黃色油狀物之化合物**12.1** (200.00 mg, 386.46  $\mu$ mol, 8.19%產率)。

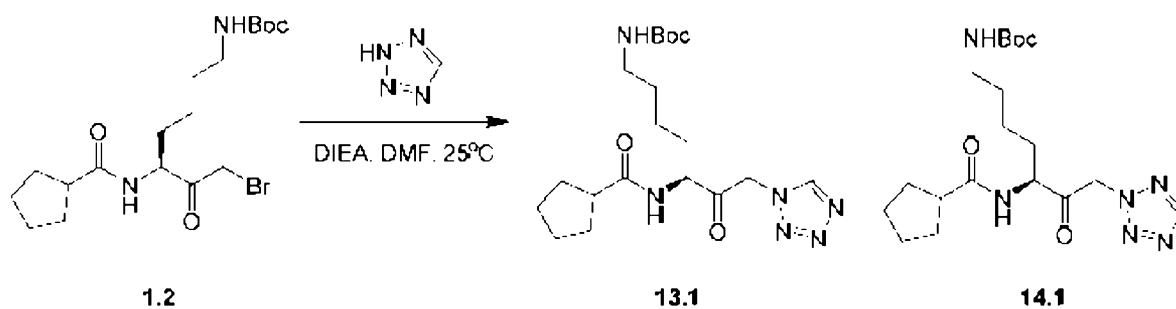


在N<sub>2</sub>下在18°C下向化合物**12.1** (100.00 mg, 193.23  $\mu$ mol, 1.00 eq)於  
DCM (5.00 mL)中之溶液一次性添加TFA (1.54 g, 13.51 mmol, 1.00 mL,  
69.90 eq)。將混合物在18°C下攪拌10小時。將反應混合物在減壓下濃縮  
以產生殘餘物。殘餘物藉由製備型HPLC (TFA條件)進行純化，以得到呈  
黃色油狀物之化合物**12**之三氟乙酸鹽(80.00 mg, 191.66  $\mu$ mol, 99.19%)。

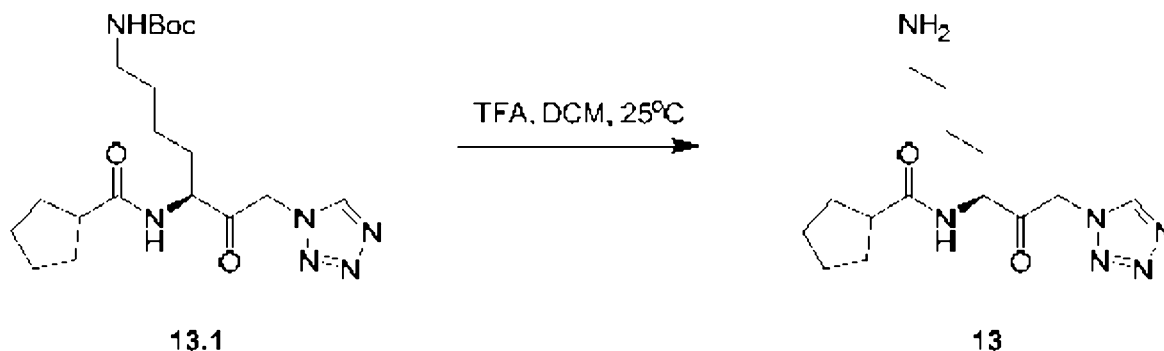
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$  ppm 1.49 - 1.67 (m, 2 H) 1.67 - 1.88  
(m, 3 H) 2.11 (dddd, J=13.84, 9.48, 6.78, 4.30 Hz, 1 H) 2.89 - 2.99 (m, 2  
H) 4.91 - 5.08 (m, 3 H) 6.95 - 7.05 (m, 2 H) 7.05 - 7.12 (m, 1 H) 7.26 -  
7.31 (m, 1 H) 7.48 - 7.54 (m, 1 H) 7.56 (t, J=1.87 Hz, 1 H) 7.64 - 7.70  
(m, 1 H)。LCMS (ESI)：針對C<sub>20</sub>H<sub>21</sub>F<sub>2</sub>O<sub>3</sub>N<sub>5</sub>計算之m/z: [M + H] : 418 ;  
實驗值418 ; RT=3.08 min。

**實例14.** (S)-N-(7-胺基-2-側氧基-1-(1H-四唑-1-基)庚-3-基)環戊烷甲醯胺  
(**13**)及(S)-N-(7-胺基-2-側氧基-1-(2H-四唑-2-基)庚-3-基)環戊烷甲醯胺

## (14)之製備

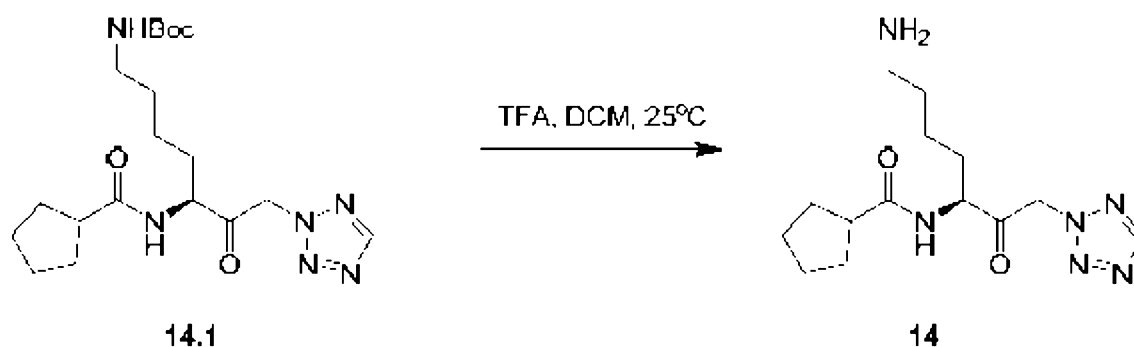


向化合物**1.2** (50.00 mg, 119.23  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)於DMF (3.00 mL)中之溶液添加DIEA (46.23 mg, 357.70  $\mu\text{mol}$ , 62.47  $\mu\text{L}$ , 3.00 eq)及四唑(0.45 M, 264.96  $\mu\text{L}$ , 1.00 eq)。將混合物在25 $^{\circ}\text{C}$ 下攪拌15小時。殘餘物藉由製備型HPLC (TFA條件)進行純化。獲得呈白色固體之化合物**13.1** (5.00 mg, 12.24  $\mu\text{mol}$ , 10.27%產率)，且獲得5 mg呈白色固體之化合物**14.1**。



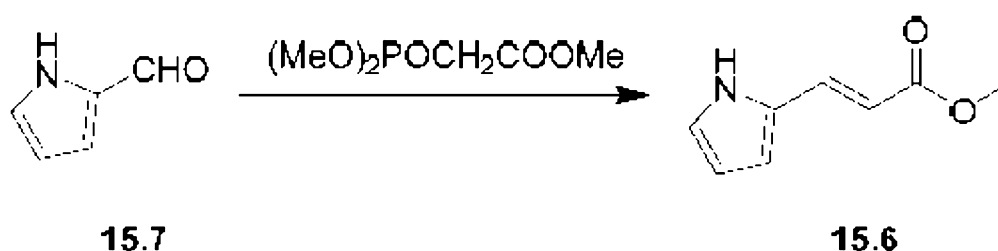
將化合物**13.1** (5.00 mg, 12.24  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)於DCM (5.00 mL)及TFA (1.00 mL)中之混合物在25 $^{\circ}\text{C}$ 下攪拌2小時。將混合物在減壓下濃縮，以得到化合物**13**之三氟乙酸鹽(5.00 mg, 11.84  $\mu\text{mol}$ , 96.71%產率，TFA)。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  ppm 1.25 - 1.57 (m, 4 H) 1.58 - 1.81 (m, 12 H) 1.84 - 2.09 (m, 6 H) 2.68 - 2.84 (m, 1 H) 2.94 (br t,  $J=7.50$  Hz, 3 H) 4.44 - 4.58 (m, 1 H) 5.51 - 5.79 (m, 2 H) 9.06 - 9.18 (m, 1 H)。LCMS (ESI)：針對 $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{O}_2\text{N}_6 \cdot \text{C}_2\text{HF}_3\text{O}_2$ 計算之 $m/z$ : [M + H]：

423；實驗值309；RT=1.208 min。



將化合物**14.1** (5.00 mg, 12.24  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)於DCM (5.00 mL)及TFA (1.00 mL)中之混合物在25 $^{\circ}\text{C}$ 下攪拌2小時。將混合物在減壓下濃縮，以得到化合物**14**之三氟乙酸鹽(5.00 mg, 11.84  $\mu\text{mol}$ , 96.71%產率，TFA)。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz，甲醇- $d_4$ )  $\delta$  ppm 1.20 - 1.53 (m, 5 H) 1.54 - 1.80 (m, 12 H) 1.82 - 2.08 (m, 5 H) 2.64 - 2.83 (m, 1 H) 2.93 (br t,  $J=7.28$  Hz, 3 H) 4.55 (dd,  $J=9.37, 4.74$  Hz, 1 H) 5.71 - 5.94 (m, 2 H) 8.76 (s, 1 H)。LCMS (ESI)：針對 $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_2 \cdot \text{C}_2\text{HF}_3\text{O}_2$ 計算之 $m/z$ ：[M + H]:423；實驗值309；RT=1.606 min。

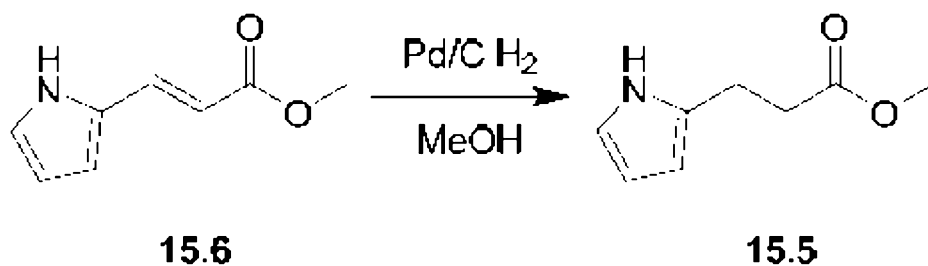
**實例15. 螢光牙齦蛋白酶活性探針(S)-N-(7-胺基-1-(2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)-3-(4-((3-(5,5-二氟-7,9-二甲基-5H-514,614-二吡咯並[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]二氮雜硼環三烯(diazaborinin)-3-基)丙醯胺基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苯甲醯胺(15)之製備**



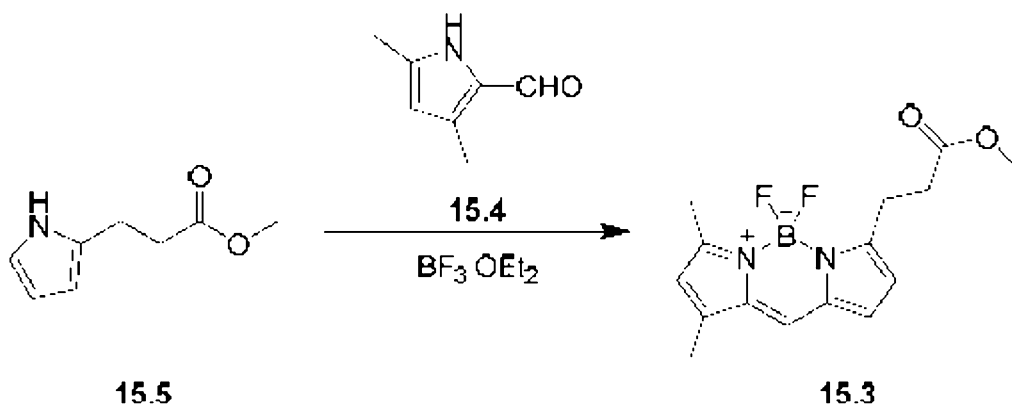
在 $\text{N}_2$ 下在50 $^{\circ}\text{C}$ 下向化合物**15.7** (5.00 g, 52.58 mmol, 1.00 eq)及2-二乙氧基磷醯基乙酸甲基酯(11.05 g, 52.58 mmol, 1.00 eq)於THF (60.00



mL)中之混合物一次性添加 $K_2CO_3$  (14.53 g, 105.16 mmol, 2.00 eq)。將混合物在 $50^\circ C$ 下攪拌10小時。將反應混合物用 $H_2O$  (50 mL)稀釋並用EtOAc (3 × 50 mL)萃取。將合併之有機層用鹽水(100 mL)洗滌，經 $Na_2SO_4$ 乾燥，過濾，並在減壓下濃縮以產生殘餘物。殘餘物藉由管柱層析( $SiO_2$ ，石油醚/乙酸乙酯=5:1)進行純化，以得到呈白色固體之**15.6** (8.60 g, 56.89 mmol, 108.20%產率)。

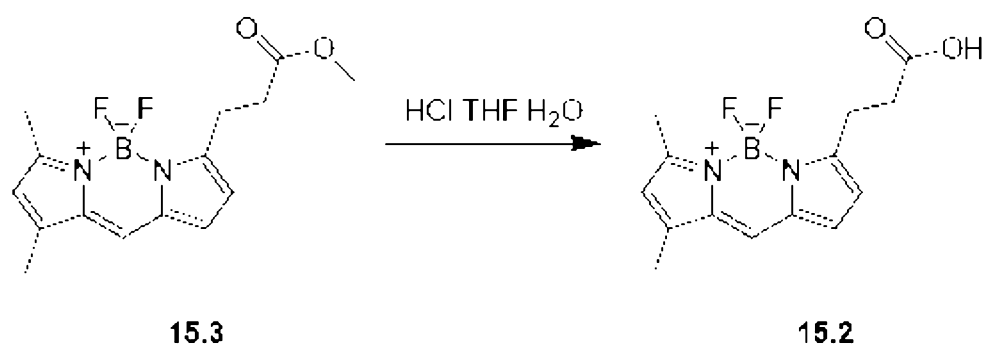


在 $N_2$ 下向化合物**15.6** (8.60 g, 56.89 mmol, 1.00 eq)於MeOH (100.00 mL)中之溶液添加Pd-C (10%, 0.9 g)。將懸浮液在真空下脫氣並用 $H_2$ 吹掃若干次。將混合物在 $H_2$  (50psi)下在 $18^\circ C$ 下攪拌10小時。過濾反應混合物並在減壓下濃縮以產生殘餘物。殘餘物藉由管柱層析( $SiO_2$ ，石油醚/乙酸乙酯=5:1)進行純化，以得到呈無色油狀物之化合物**15.5** (5.00 g, 32.64 mmol, 57.37%產率)。

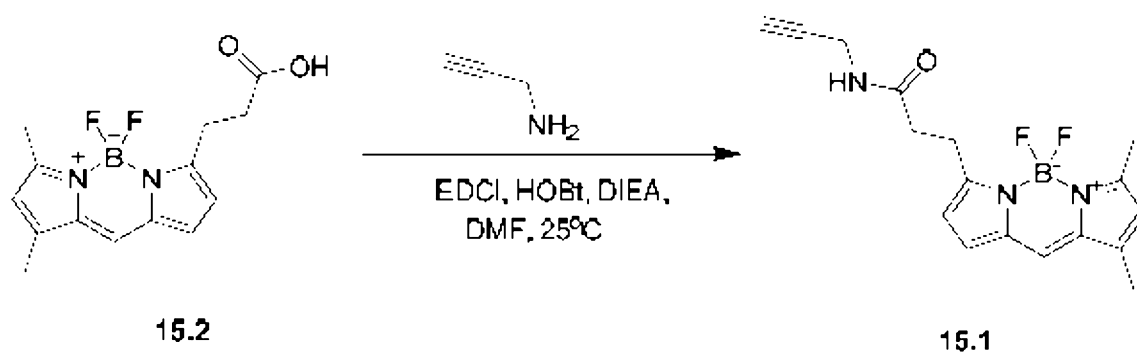


在 $N_2$ 下在 $18^\circ C$ 下向化合物**15.5** (3.00 g, 19.58 mmol, 1.00 eq)及化合物**15.4** (2.65 g, 21.54 mmol, 1.10 eq)於DCM (60.00 mL)中之混合物一次

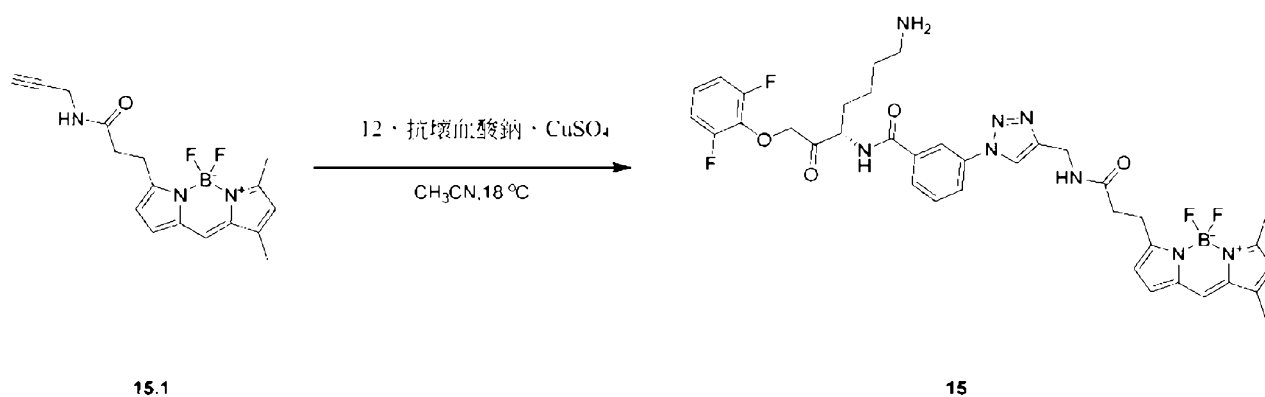
性添加 $\text{POCl}_3$  (3.30 g, 21.54 mmol, 2.00 mL, 1.10 eq)。將混合物在 $18^\circ\text{C}$ 下攪拌10小時，之後在 $18^\circ\text{C}$ 下逐滴添加 $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$  (11.12 g, 78.32 mmol, 9.67 mL, 4.00 eq)及DIEA (10.63 g, 82.24 mmol, 14.36 mL, 4.20 eq)。將混合物在 $18^\circ\text{C}$ 下攪拌10小時。將反應混合物過濾，用 $\text{H}_2\text{O}$  (50 mL)稀釋，並用DCM ( $3 \times 50$  mL)萃取。將合併之有機層用鹽水(100 mL)洗滌，經 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 乾燥，過濾，並在減壓下濃縮以產生殘餘物。殘餘物藉由管柱層析( $\text{SiO}_2$ ，石油醚/乙酸乙酯=1:4)進行純化，以得到呈紅色固體之化合物**15.3** (3.00 g, 9.80 mmol, 50.05%產率)。



在 $\text{N}_2$ 下在 $18^\circ\text{C}$ 下向化合物**15.3** (1.00 g, 3.27 mmol, 1.00 eq)於THF (120.00 mL)及 $\text{H}_2\text{O}$  (80.00 mL)中之混合物一次性添加HCl (51.11 g, 519.15 mmol, 50.11 mL, 37%純度，158.76 eq)。將混合物在 $18^\circ\text{C}$ 下攪拌10小時。藉由添加DCM (100 mL)使反應混合物淬滅，然後用DCM ( $3 \times 100$  mL)萃取。將合併之有機層用鹽水(300 mL)洗滌，經 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 乾燥，過濾，並在減壓下濃縮以產生殘餘物。殘餘物藉由管柱層析( $\text{SiO}_2$ , DCM:MeOH = 20:1)進行純化，以得到呈紅色固體之化合物**15.2** (700.00 mg, 2.40 mmol, 73.29%產率)。



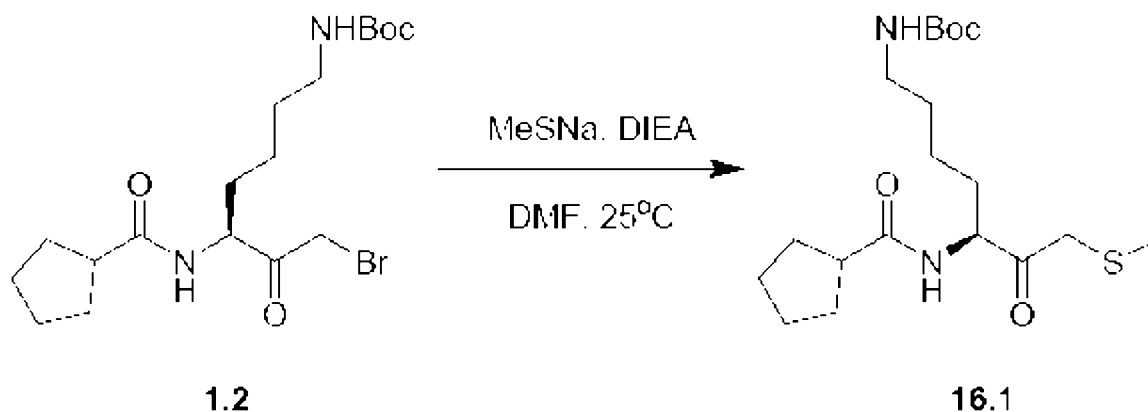
在 $\text{N}_2$ 下在 $0^\circ\text{C}$ 下向化合物**15.2** (300.00 mg, 1.03 mmol, 1.00 eq)及HOBt (152.66 mg, 1.13 mmol, 1.10 eq)於DMF (3.00 mL)中之混合物一次性添加EDCI (216.58 mg, 1.13 mmol, 1.10 eq)。將混合物在 $0^\circ\text{C}$ 下攪拌1小時。然後，在 $0^\circ\text{C}$ 下一次性添加炔丙基胺(56.57 mg, 1.03 mmol, 65.78  $\mu\text{L}$ , 1.00 eq)及DIPEA (398.22 mg, 3.08 mmol, 538.13  $\mu\text{L}$ , 3.00 eq)，並將混合物在 $0^\circ\text{C}$ 下攪拌1小時。將反應混合物用EtOAc (4 mL)稀釋並用EtOAc (3  $\times$  3 mL)萃取。將合併之有機層用鹽水(5 mL)洗滌，經 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 乾燥，過濾，並在減壓下濃縮以產生殘餘物。殘餘物藉由製備型TLC ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{DCM}:\text{MeOH} = 20:1$ )進行純化，以得到呈紅色固體之化合物**15.1** (150.00 mg, 455.72  $\mu\text{mol}$ , 44.24%產率)。



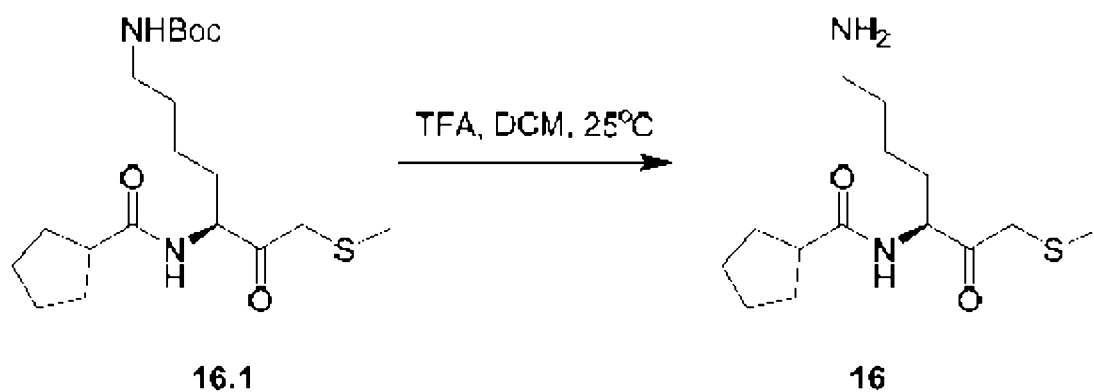
在 $\text{N}_2$ 下在 $18^\circ\text{C}$ 下向化合物**15.1** (100.00 mg, 303.81  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)及化合物**12** (126.81 mg, 303.81  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)於乙腈(2.00 mL)中之混合物一次性添加 $\text{CuSO}_4$  (2.42 mg, 15.19  $\mu\text{mol}$ , 2.33  $\mu\text{L}$ , 0.05 eq)於 $\text{H}_2\text{O}$  (100.00  $\mu\text{L}$ )中之溶液及抗壞血酸鈉(120.38 mg, 607.62  $\mu\text{mol}$ , 2.00 eq)。

將混合物在18°C下攪拌10小時。殘餘物藉由製備型HPLC (TFA條件)進行純化，以產生呈紅色固體之化合物**15**之三氟乙酸鹽(5.00 mg, 6.70  $\mu\text{mol}$ , 2.21%產率)。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  ppm 1.46 - 1.68 (m, 1 H) 1.46 - 1.67 (m, 1 H) 1.69 - 1.90 (m, 1 H) 2.04 - 2.18 (m, 2 H) 2.19 - 2.31 (m, 3 H) 2.48 (s, 2 H) 2.69 (br t,  $J=7.45$  Hz, 2 H) 2.95 (br s, 2 H) 3.19 - 3.28 (m, 2 H) 4.52 (s, 2 H) 5.04 (br s, 3 H) 6.19 (s, 1 H) 6.31 (br d,  $J=3.51$  Hz, 1 H) 6.91 - 7.12 (m, 4 H) 7.31 - 7.32 (m, 1 H) 7.35 (s, 1 H) 7.68 (br t,  $J=8.11$  Hz, 1 H) 7.65 - 7.71 (m, 1 H) 7.95 - 8.04 (m, 2 H) 8.25 - 8.36 (m, 2 H)。LCMS (ESI)：針對 $\text{C}_{37}\text{H}_{39}\text{F}_4\text{O}_4\text{N}_8\text{B}$ 計算之 $m/z$ : [M + H] : 746 ; 實驗值747 ; RT=2.117 min

### 實例16. (S)-N-(7-胺基-1-(甲硫基)-2-側氧基庚-3-基)環戊烷甲醯胺(**16**)之製備

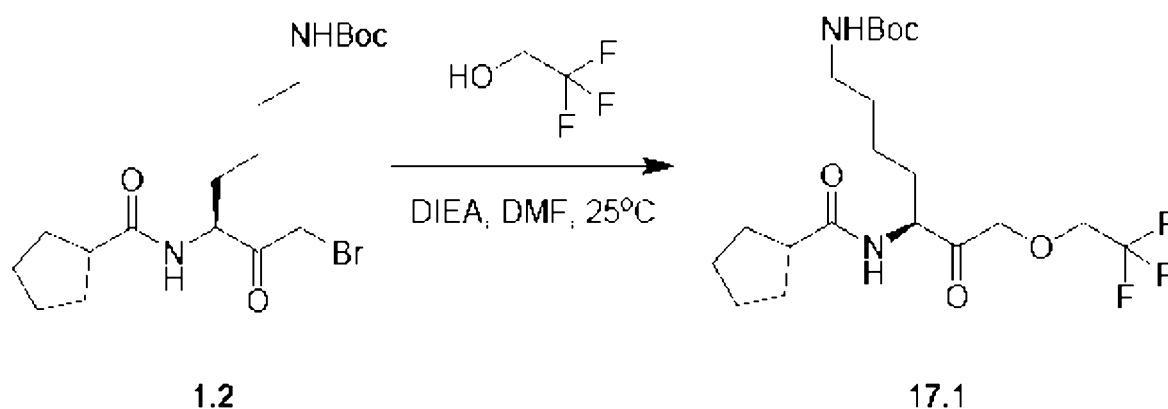


向化合物**1.2** (100.00 mg, 240  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)於DMF (2.00 mL)中之溶液添加甲基硫基鈉(16 mg, 240  $\mu\text{mol}$ , 15  $\mu\text{L}$ , 1.00 eq)。將混合物在25°C下攪拌0.5小時。殘餘物藉由製備型HPLC (TFA條件)進行純化。獲得呈黃色油狀物之化合物**16.1** (50.00 mg, 99.89  $\mu\text{mol}$ , 55.16%產率, TFA)。



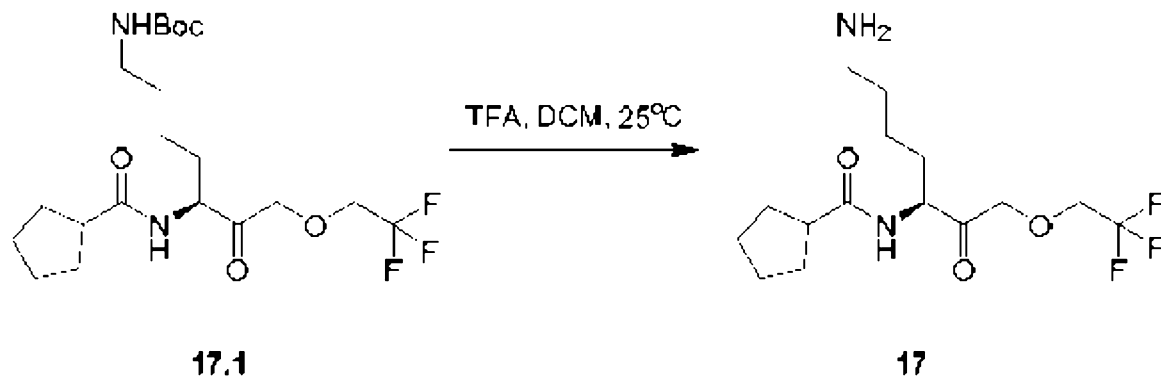
向化合物**16.1** (50.00 mg, 129.35  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)於DCM (5.00 mL)中之溶液添加TFA (1.00 mL)。將混合物在25°C下攪拌5小時。將混合物在減壓下濃縮以產生化合物**16**之三氟乙酸鹽(5.00 mg, 17.46  $\mu\text{mol}$ , 13.50%產率)。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  ppm 1.33 - 1.54 (m, 2 H) 1.55 - 1.79 (m, 11 H) 1.80 - 1.99 (m, 4 H) 2.06 (s, 3 H) 2.64 - 2.80 (m, 1 H) 2.86 - 2.99 (m, 2 H) 3.36 (d,  $J=1.54$  Hz, 2 H) 4.67 (dd,  $J=9.48, 4.41$  Hz, 1 H)。 $\text{LCMS}$  (ESI)：針對 $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{SO}_2\text{N}_2$ 計算之 $m/z$ :  $[\text{M} + \text{H}]$ : 287；實驗值287； $\text{RT}=1.826$  min。

### 實例17. (S)-N-(7-胺基-2-側氧基-1-(2,2,2-三氟乙氧基)庚-3-基)環-戊烷甲醯胺(17)之製備



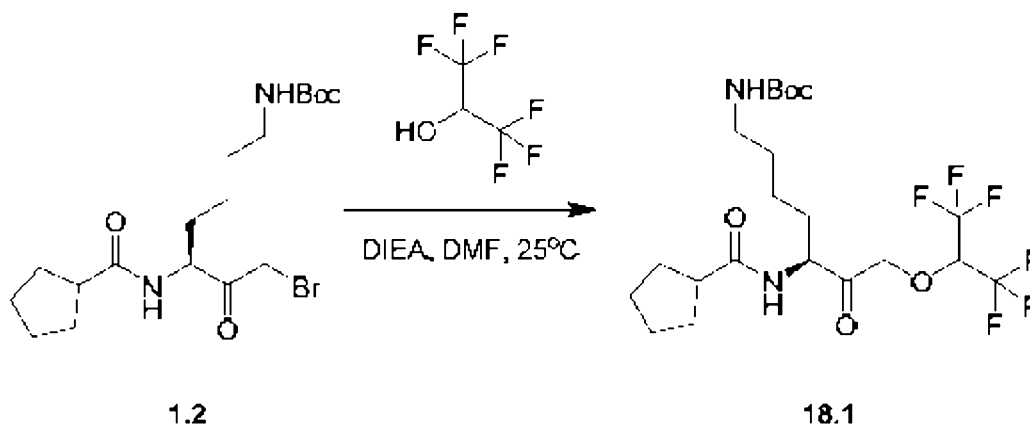
向化合物**1.2** (50.00 mg, 119.23  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)於DMF (2.00 mL)中之溶液添加 $\text{K}_2\text{CO}_3$  (49.44 mg, 357.69  $\mu\text{mol}$ , 3.00 eq)及2,2,2-三氟乙-1-醇 (11.93 mg, 119.23  $\mu\text{mol}$ , 8.58  $\mu\text{L}$ , 1.00 eq)。將混合物在25°C下攪拌15小

時。殘餘物藉由製備型HPLC (TFA條件)進行純化。獲得呈黃色油狀物之化合物**17.1** (10.00 mg, 22.81  $\mu\text{mol}$ , 19.13%產率)。



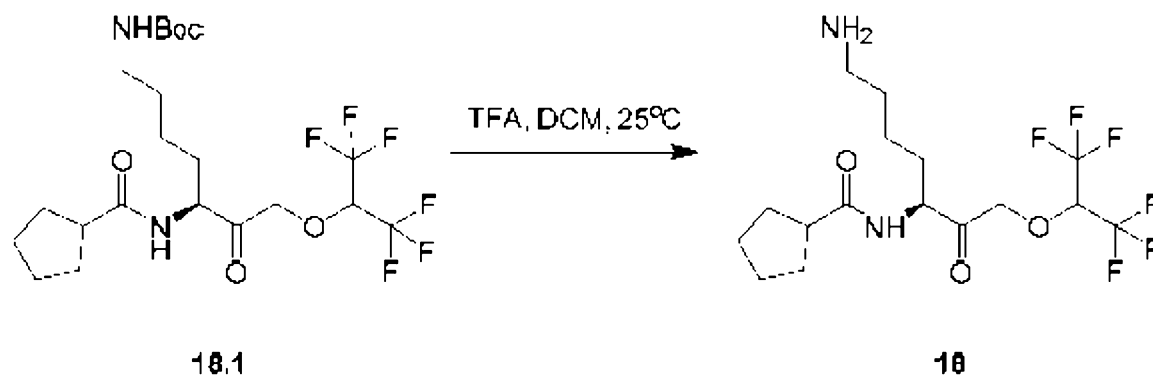
向第三丁基化合物**17.1** (10.00 mg, 22.81  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)於DCM (2.50 mL)中之溶液添加TFA (500.00  $\mu\text{L}$ )。將混合物在25 $^\circ\text{C}$ 下攪拌2小時。將混合物在減壓下濃縮，以產生呈黃色油狀物之化合物**17**之三氟乙酸鹽(5.00 mg, 14.78  $\mu\text{mol}$ , 64.78%產率)。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  ppm 1.32 - 1.51 (m, 3 H) 1.53 - 1.78 (m, 10 H) 1.80 - 1.96 (m, 4 H) 2.72 (quin,  $J=7.88$  Hz, 1 H) 2.86 - 2.99 (m, 2 H) 3.96 - 4.08 (m, 2 H) 4.36 - 4.55 (m, 3 H)。LCMS (ESI)：針對 $\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{O}_3\text{N}_2\text{F}_3$ 計算之 $m/z$ :  $[\text{M} + \text{H}]$  : 339；實驗值339；RT=2.060 min。

**實例18. (S)-N-(7-胺基-1-((1,1,1,3,3,3-六氟丙-2-基)氧基)-2-側氧基庚-3-基)環戊烷甲醯胺(18)之製備**



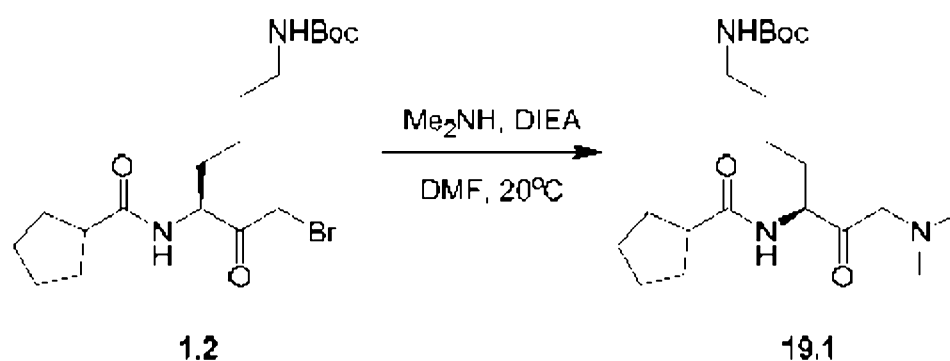
向化合物**1.2** (50.00 mg, 119.23  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)於DMF (2.00 mL)中

之溶液添加K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (49.44 mg, 357.69 μmol, 3.00 eq)及1,1,1,3,3,3-六氟丙-2-醇(20.04 mg, 119.23 μmol, 1.00 eq)。將混合物在25°C下攪拌15小時。殘餘物藉由製備型HPLC (TFA條件)進行純化。獲得呈黃色油狀物之化合物**18.1** (15.00 mg, 29.62 μmol, 24.84%產率)。

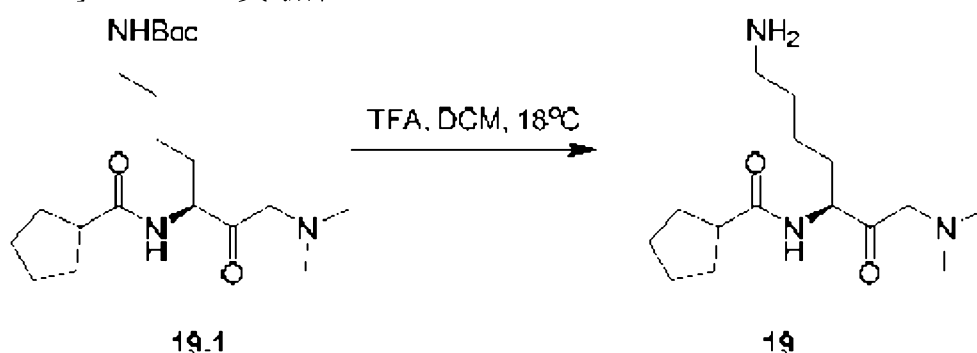


向化合物**18.1** (15.00 mg, 29.62 μmol, 1.00 eq)於DCM (5.00 mL)中之溶液添加TFA (1.00 mL)。將混合物在25°C下攪拌15小時。將混合物在減壓下濃縮，以產生呈黃色油狀物之化合物**18**之三氟乙酸鹽(5.00 mg, 12.30 μmol, 41.54%產率)。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ ppm 1.35 - 1.54 (m, 2 H) 1.55 - 1.78 (m, 10 H) 1.80 - 1.97 (m, 3 H) 2.65 - 2.79 (m, 1 H) 2.85 - 2.98 (m, 2 H) 4.45 - 4.54 (m, 1 H) 4.60 - 4.78 (m, 1 H) 4.98 - 5.08 (m, 1 H)。LCMS (ESI)：針對C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>F<sub>6</sub>計算之m/z: [M + H] : 407 ; 實驗值407 ; RT=2.356 min。

**實例19. (S)-N-(7-胺基-1-(二甲基胺基)-2-側氧基庚-3-基)環戊烷甲醯胺 (19)之製備**



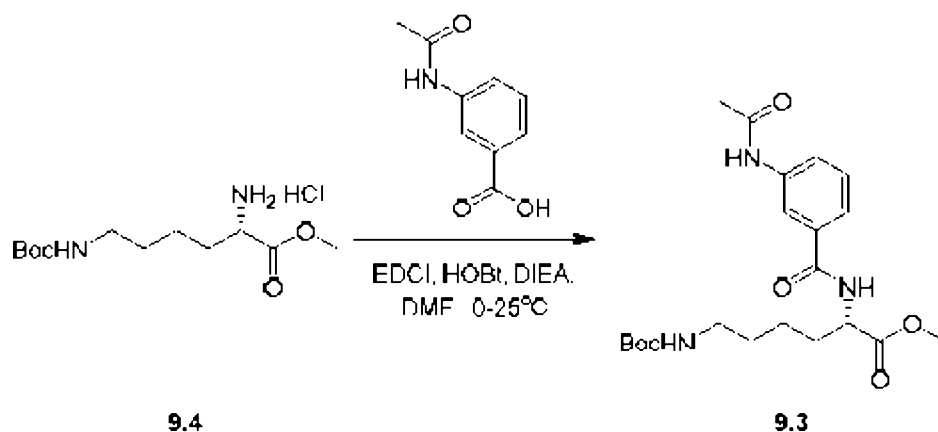
在N<sub>2</sub>下在20°C下向化合物**1.2** (100.00 mg, 238.46 μmol, 1.00 eq)及N-甲基甲胺(19.44 mg, 238.46 μmol, 21.85 μL, 1.00 eq, HCl)於DMF (1.00 mL)中之混合物一次性添加DIPEA (123.28 mg, 953.86 μmol, 166.59 μL, 4.00 eq)。將混合物在20°C下攪拌1小時。殘餘物藉由製備型HPLC (TFA條件)進行純化，以產生呈無色油狀物之化合物**19.1** (50.00 mg, 130.37 μmol, 54.67%產率)。LCMS (ESI)：針對C<sub>20</sub>H<sub>37</sub>O<sub>4</sub>N<sub>3</sub>計算之m/z: [M + H] : 383 ; 實驗值384 ; RT=0.672 min



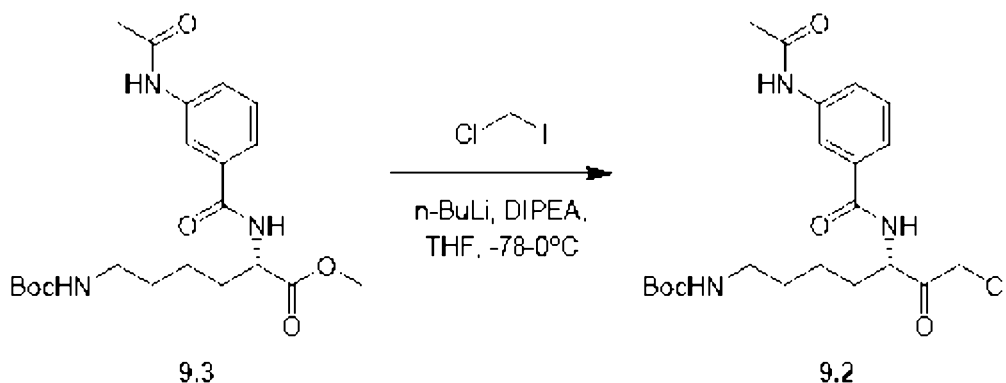
將化合物**19.1** (50.00 mg, 130.37 μmol, 1.00 eq)溶解於DMF (1.00 mL)中，向混合物添加TFA (1.12 g, 9.85 mmol, 728.95 μL, 75.52 eq)，並在18°C下攪拌10小時。將反應混合物在減壓下濃縮，以產生呈無色油狀物之化合物**19**之三氟乙酸鹽(50.00 mg，粗製)。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz，甲醇-d<sub>4</sub>) δ ppm 1.39 - 1.58 (m, 3 H) 1.59 - 1.66 (m, 2 H) 1.66 - 1.78 (m, 7 H) 1.87 - 1.98 (m, 3 H) 2.68 - 2.81 (m, 1 H) 2.90 (s, 6 H) 2.92 - 2.97 (m, 2 H) 4.28 - 4.32 (m, 1 H) 4.32 - 4.42 (m, 2 H)。LCMS (ESI)：針對C<sub>15</sub>H<sub>29</sub>O<sub>2</sub>N<sub>3</sub>計算之m/z: [M + H] : 283 ; 實驗值284 ; RT=2.365 min

**實例20. (S)-3-乙醯胺基-N-(7-胺基-1-(2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基) 苯甲醯胺(9)之製備**

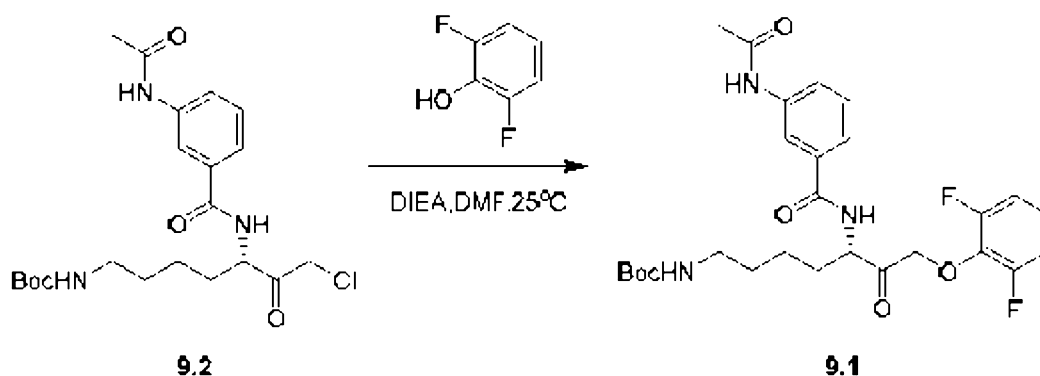




向化合物3-乙醯苯胺甲酸(1.21 g, 6.74 mmol, 1.00 eq)於DMF (30.00 mL)中之溶液添加HOBt (1.00 g, 7.41 mmol, 1.10 eq)及EDCI (1.42 g, 7.41 mmol, 1.10 eq)。添加後，將混合物在0°C下攪拌30 min。然後在N<sub>2</sub>下在0°C下向上述混合物添加DIEA (3.48 g, 26.96 mmol, 4.71 mL, 4.00 eq)及化合物**9.4** (2.00 g, 6.74 mmol, 1.00 eq)。將所得混合物在25°C下攪拌15.5小時。向反應混合物添加水(10 mL)，用EtOAc (30 mL \* 3)萃取。分離有機相，用NaCl (10 mL)洗滌並經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在減壓下濃縮以產生殘餘物。獲得呈白色固體之化合物**9.3** (2.30 g, 5.46 mmol, 80.96%產率)。LCMS (ESI)：針對C<sub>21</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>計算之m/z: [M + H] : 421.22；實驗值322.3；RT=0.748 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 1.30 - 1.56 (m, 14 H) 1.68 - 1.98 (m, 2 H) 2.16 (s, 3 H) 2.98 - 3.15 (m, 2 H) 3.71 (s, 3 H) 4.61 - 4.83 (m, 2 H) 7.14 (br d, J=7.50 Hz, 1 H) 7.28 - 7.37 (m, 1 H) 7.47 (br d, J=7.06 Hz, 1 H) 7.74 (br s, 1 H) 7.91 - 8.02 (m, 1 H) 8.52 (br s, 1 H)。

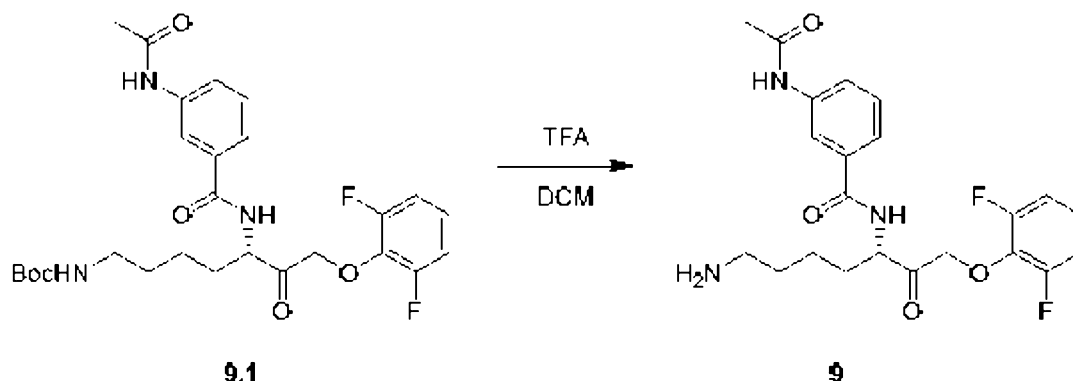


在N<sub>2</sub>下在0°C下向DIPA (384.12 mg, 3.80 mmol, 533.50 μL, 4.00 eq)於THF (10.00 mL)中之溶液添加n-BuLi (243.17 mg, 3.80 mmol, 4.00 eq)。0.5 h之後，在N<sub>2</sub>下在-78°C下向上述混合物添加化合物**9.3** (400.00 mg, 949.01 μmol, 1.00 eq)及氯碘甲烷(669.55 mg, 3.80 mmol, 275.53 μL, 4.00 eq)。將所得混合物在-78°C下攪拌1.5小時。向反應混合物添加水(20 mL)，用EtOAc (20mL \* 3)萃取。將合併之有機層用鹽水(10 mL\*1)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在減壓下濃縮以產生殘餘物。獲得呈黑棕色油狀物之化合物**9.2** (500.00 mg，粗製)。



在N<sub>2</sub>下在25°C下向化合物**9.2** (200.00 mg, 454.62 μmol, 1.00 eq)及DIEA (176.27 mg, 1.36 mmol, 238.20 μL, 3.00 eq)於DMF (4.00 mL)中之溶液添加2,6-二氟苯酚(118.28 mg, 909.24 μmol, 2.00 eq)。將所得混合物在25°C下攪拌16小時。向反應混合物添加水(10 mL)，用EtOAc (10 mL \* 3)萃取。將合併之有機層用鹽水(5 mL\* 1)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾

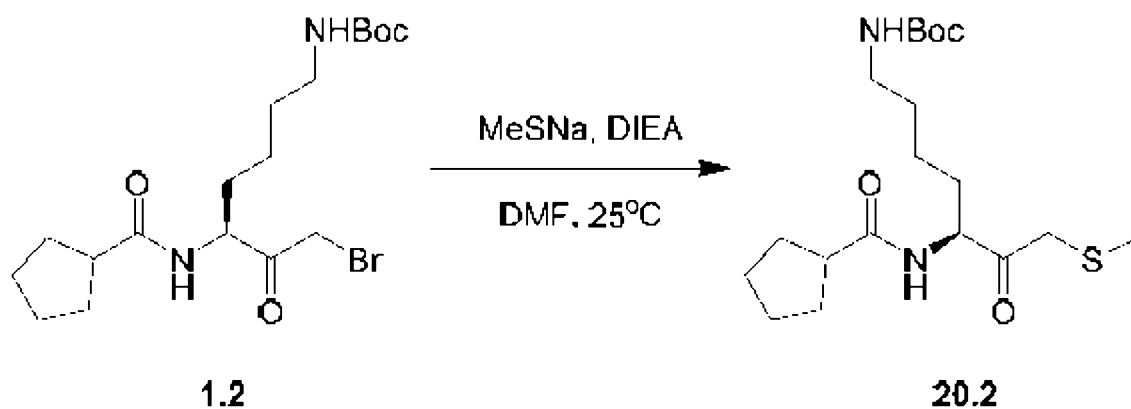
並在減壓下濃縮以產生殘餘物。獲得呈黃色油狀物之粗產物(500.00 mg)。殘餘物藉由製備型HPLC (中性條件)進行純化。獲得呈白色固體之化合物**9.1** (10.00 mg, 18.74  $\mu\text{mol}$ , 2.00%產率)。



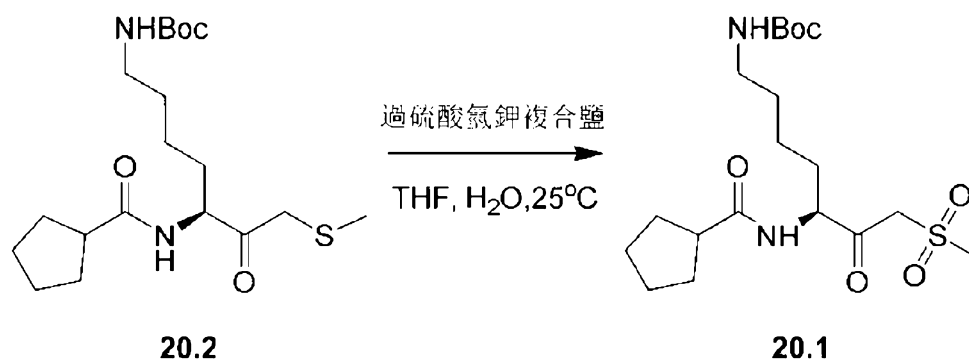
在 $\text{N}_2$ 下向化合物**9.1** (5.00 mg, 9.37  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)於DCM (2.00 mL)中之溶液添加TFA (2.14 mg, 18.74  $\mu\text{mol}$ , 1.39  $\mu\text{L}$ , 2.00 eq)。將混合物在 $25^\circ\text{C}$ 下攪拌16小時。濃縮以得到殘餘物。獲得呈紅色油狀物之化合物**9**之三氟乙酸鹽(5.00 mg, 9.13  $\mu\text{mol}$ , 97.47%產率, TFA)。LCMS (ESI)：針對 $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_4$ 計算之 $m/z$ :  $[\text{M} + \text{H}]$ : 433.18；實驗值434.2； $\text{RT}=2.052$  min。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  ppm 1.44 - 1.88 (m, 1 H) 1.44 - 1.51 (m, 1 H) 1.51 - 1.84 (m, 1 H) 1.52 - 1.82 (m, 1 H) 1.52 - 1.85 (m, 1 H) 1.83 - 1.85 (m, 1 H) 2.07 - 2.20 (m, 1 H) 2.94 (br t,  $J=6.50$  Hz, 1 H) 4.90 - 5.10 (m, 1 H) 4.91 - 5.10 (m, 1 H) 6.91 - 7.13 (m, 1 H) 7.33 - 7.47 (m, 1 H) 7.49 - 7.68 (m, 1 H) 8.03 - 8.18 (m, 1 H)

其他化合物係根據前述實例中之程序來合成。

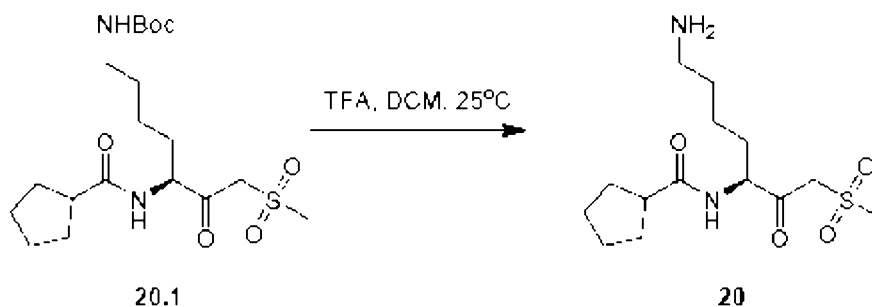
**實例21. (S)-N-(7-胺基-1-(甲磺醯基)-2-側氧基庚-3-基)環戊烷甲醯胺(20)之製備**



向化合物**1.2** (200.00 mg, 476.93  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)於DMF (3.00 mL)中之溶液添加甲基硫基鈉(33.43 mg, 476.93  $\mu\text{mol}$ , 30.39  $\mu\text{L}$ , 1.00 eq)。將混合物在25 $^\circ\text{C}$ 下攪拌0.5小時。殘餘物藉由製備型HPLC進行純化，且獲得呈黃色油狀物之化合物**20.2** (80.00 mg, 206.96  $\mu\text{mol}$ , 43.39%產率)。

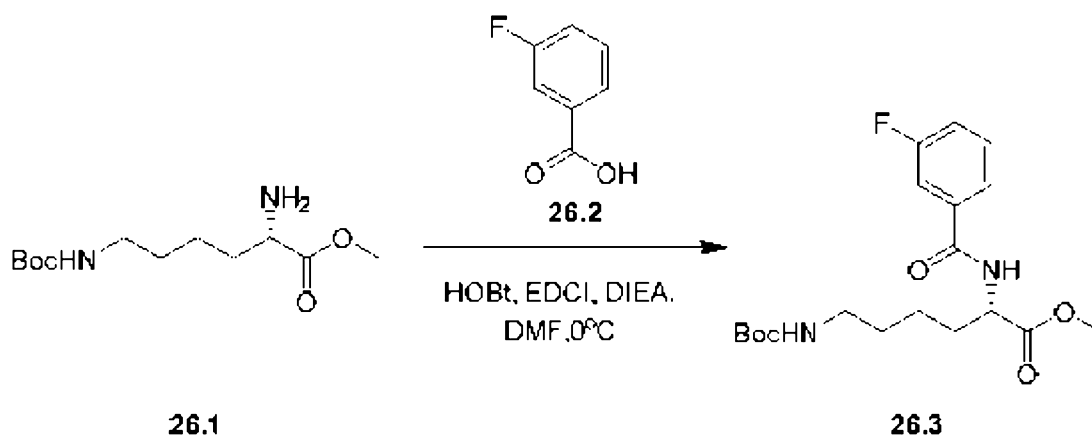


向化合物**20.2** (60.00 mg, 155.22  $\mu\text{mol}$ , 1.00 eq)於THF (2.00 mL)及H<sub>2</sub>O (600.00  $\mu\text{L}$ )中之溶液添加過硫酸氫鉀複合鹽(190.85 mg, 310.44  $\mu\text{mol}$ , 2.00 eq)。將混合物在25 $^\circ\text{C}$ 下攪拌12小時。殘餘物藉由製備型HPLC進行純化，且獲得呈白色固體之化合物**20.1** (20.00 mg, 47.78  $\mu\text{mol}$ , 30.78%產率)



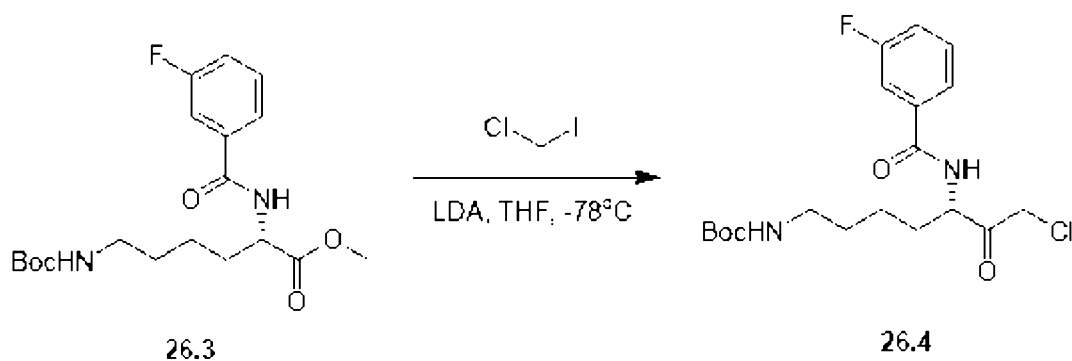
將於TFA (1.00 mL)及DCM (5.00 mL)中之化合物**20.1** (20.00 mg, 47.78  $\mu\text{mol}$ , 1.00 *eq*)在25°C下攪拌14小時。將混合物在減壓下濃縮以提供呈黃色油狀物之化合物**20**之三氟乙酸鹽(10.00 mg, 31.40  $\mu\text{mol}$ , 65.73% 產率)。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  ppm 1.18 - 1.39 (m, 1 H) 1.18 - 1.39 (m, 1 H) 1.39 - 1.66 (m, 9 H) 1.67 - 1.88 (m, 3 H) 2.58 - 2.86 (m, 3 H) 3.08 (s, 3 H) 4.15 - 4.32 (m, 1 H) 4.39 - 4.61 (m, 2 H) 7.70 (br s, 3 H) 8.23 (d, *J*=7.06 Hz, 1 H)。LCMS (ESI)：針對C<sub>14</sub>H<sub>26</sub>SO<sub>4</sub>N<sub>2</sub>計算之 *m/z*: [M + H] : 319 ; 實驗值319 ; RT=1.916 min。

### 實例22. (S)-N-(7-胺基-1-(2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)-3-氟苯甲醯胺(26)之製備

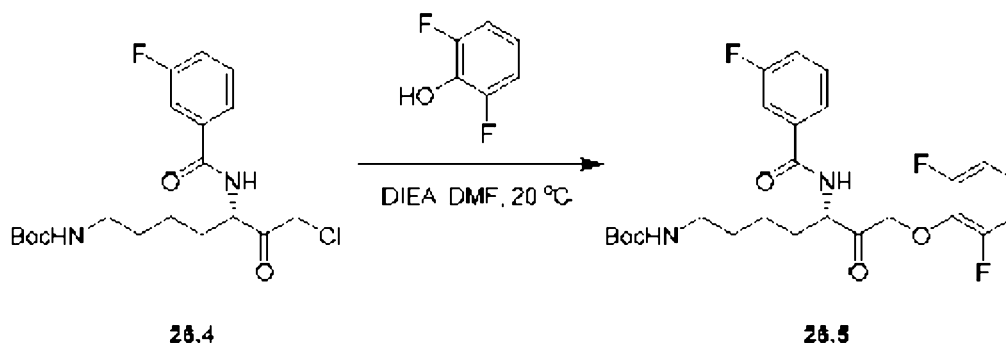


在N<sub>2</sub>下在0°C下向化合物**26.1** (420.44 mg, 3.0 mmol, 1當量)及EDCI (632.77 mg, 3.3 mmol, 1.1當量)、HOBt (446.01 mg, 3.3 mmol, 1.1當量)於DMF (10 mL)中之混合物一次性添加化合物**26.2** (1 g, 3 mmol, 1當量)及DIEA (1.55 g, 12 mmol, 2.09 mL, 4當量)。將混合物在0°C下攪拌15小時。用EtOAc (20 mL × 3)萃取水相。將合併之有機相用鹽水(5 mL)洗滌，經無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在真空中濃縮。殘餘物藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>，石油醚/乙酸乙酯= 10:1至1:1)進行純化，以產生呈白色固體之化合物**26.3** (600 mg, 1.57 mmol, 52.3%產率)；LCMS [M + H]<sup>+</sup>: 383 ; RT

= 0.824 min。

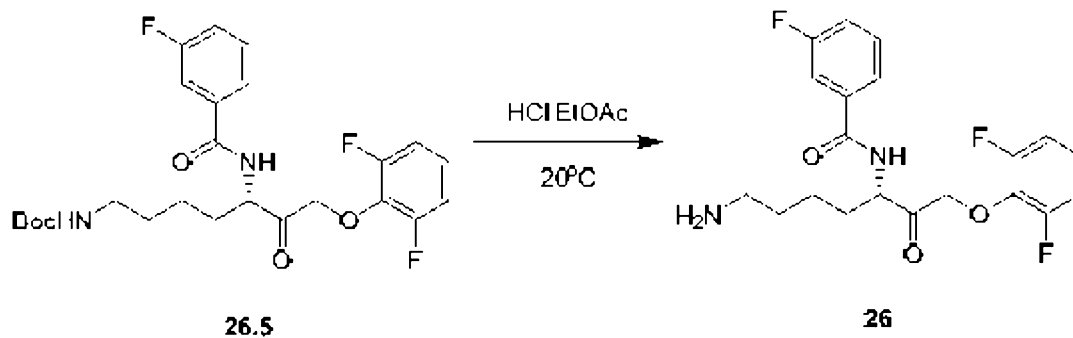


將n-BuLi (301.51 mg, 4.71 mmol, 6當量)及DIPA (476.28 mg, 4.71 mmol, 661.49  $\mu\text{L}$ , 6當量)於THF (6 mL)中之混合物在 $\text{N}_2$ 下在 $0^{\circ}\text{C}$ 下攪拌。0.5 h之後，在 $\text{N}_2$ 下在 $-78^{\circ}\text{C}$ 下向上述混合物添加**26.3** (300 mg, 784.46  $\mu\text{mol}$ , 1當量)及碘氯甲烷(553.45 mg, 3.14 mmol, 227.76  $\mu\text{L}$ , 4當量)。將所得混合物在 $-78^{\circ}\text{C}$ 下攪拌2小時。向反應混合物添加水(20 mL)，然後用EtOAc (20 mL  $\times$  3)對其進行萃取。將合併之有機層用鹽水(10 mL)洗滌，經 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 乾燥，過濾並在減壓下濃縮。獲得呈棕色油狀物之**26.4** (200 mg, 499  $\mu\text{mol}$ , 63.6%產率)。



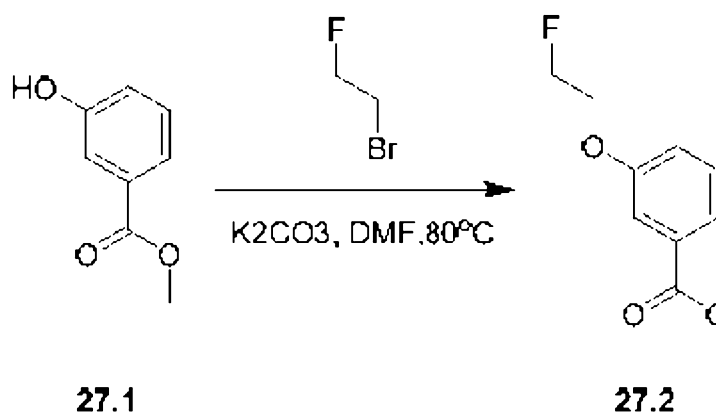
在 $\text{N}_2$ 下在 $20^{\circ}\text{C}$ 下向化合物**26.4** (200 mg, 499  $\mu\text{mol}$ , 1當量)及2,6-二氟苯酚(64.9 mg, 499  $\mu\text{mol}$ , 1當量)於DMF (4 mL)中之混合物一次性添加DIEA (193.44 mg, 1.5 mmol, 261.41  $\mu\text{L}$ , 3當量)。將混合物在 $20^{\circ}\text{C}$ 下攪拌15小時。殘餘物藉由製備級HPLC (TFA條件)進行純化。獲得呈白色固體之化合物**26.5** (18 mg, 36.4  $\mu\text{mol}$ , 1當量)。LCMS  $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 496 ; RT =

0.886 min。



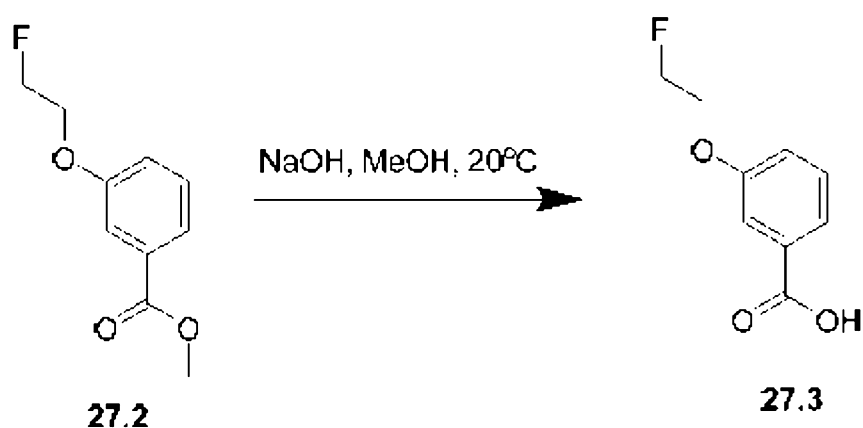
將化合物**26.5** (18 mg, 36.4  $\mu\text{mol}$ , 1當量)於HCl/EtOAc (10 mL)中之混合物在20°C下攪拌4小時；然後過濾並在真空下濃縮。殘餘物藉由半製備級HPLC (TFA條件)進行純化，以產生呈無色油狀物之化合物**26** (12 mg)；LCMS  $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 395；RT = 1.53 min。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  ppm 1.48 - 1.63 (m, 2 H), 1.67 - 1.86 (m, 3 H), 2.07 - 2.18 (m, 1 H), 2.89 - 2.99 (m, 2 H), 4.92 - 4.96 (m, 1 H), 4.96 - 5.06 (m, 2 H), 6.95 - 7.03 (m, 2 H), 7.03 - 7.12 (m, 1 H), 7.29 - 7.35 (m, 1 H), 7.51 (td,  $J=7.99, 5.62$  Hz, 1 H), 7.60 (dt,  $J=9.70, 2.09$  Hz, 1 H), 7.67 - 7.71 (m, 1 H)。

**實例23. (S)-N-(7-胺基-1-(2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)-3-(2-氟乙氧基)苯甲醯胺(27)之製備**

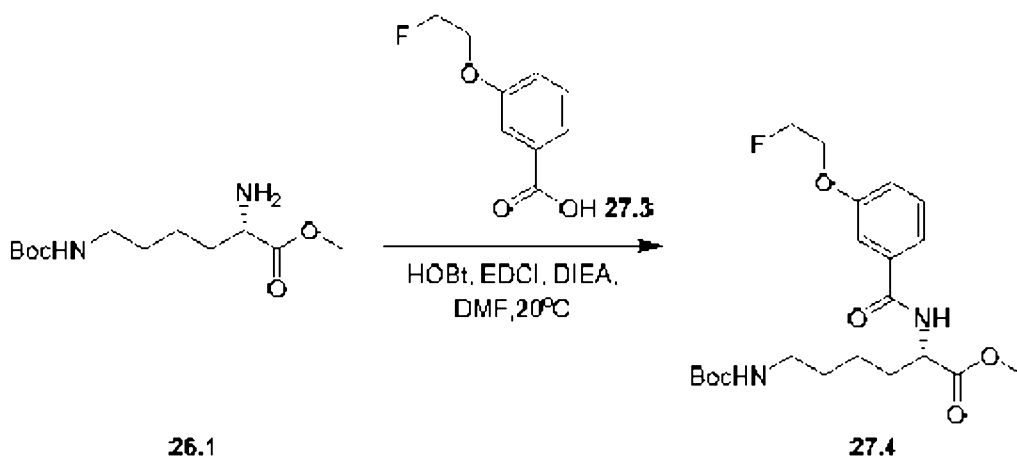


在 $\text{N}_2$ 下在20°C下向**27.1** (1 g, 6.57 mmol, 1當量)及1-氟-2-溴乙烷 (834.44 mg, 6.57 mmol, 1當量)於DMF (10 mL)中之混合物一次性添加

$K_2CO_3$  (2.72 g, 19.71 mmol, 3當量)。將混合物在 $80^\circ C$ 下攪拌15小時。用EtOAc (20 mL  $\times$  3)萃取水相。將合併之有機相用鹽水(5 mL)洗滌，經無水 $Na_2SO_4$ 乾燥，過濾並在真空中濃縮。殘餘物藉由管柱層析( $SiO_2$ ，石油醚/乙酸乙酯= 10 / 1至2 / 1)進行純化，以產生呈無色油狀物之化合物**27.2** (890 mg, 4.49 mmol, 68.35%產率)；LCMS  $[M + H]^+$ :199；RT = 0.77 min。



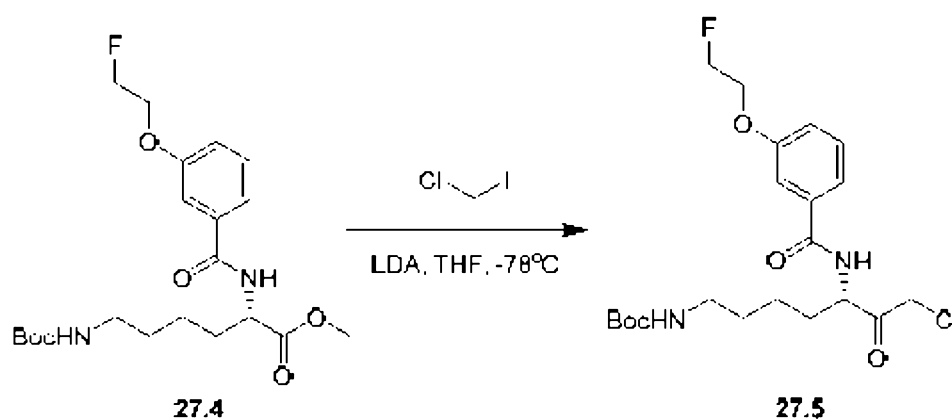
將**27.2** (890 mg, 4.49 mmol, 1當量)於MeOH (27 mL)及NaOH (1 M, 8.98 mL, 2當量)中之溶液在 $20^\circ C$ 下攪拌15小時。用EtOAc (40 mL  $\times$  2)萃取合併之水層以去除中性雜質。利用HCl水溶液使水相酸化至pH 5並用EtOAc (40 mL)進行萃取。獲得呈無色油狀物之化合物**27.3** (600 mg, 3.26 mmol, 72.6%產率)。



在 $N_2$ 下在 $0^\circ C$ 下向化合物**27.3** (600 mg, 3.26 mmol, 1當量)及HOBt



(484.54 mg, 3.59 mmol, 1.1當量) EDCI (687.44 mg, 3.59 mmol, 1.1當量)於DMF (10 mL)中之混合物一次性添加**26.1** (967.54 mg, 3.26 mmol, 1當量, HCl)及DIEA (1.69 g, 13.04 mmol, 2.28 mL, 4當量)。將混合物在20°C下攪拌15小時。將反應混合物添加至水(20 mL)，然後用EtOAc (20 mL × 3)進行萃取。將合併之有機層用鹽水(10 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在減壓下濃縮，以產生呈無色油狀物之**27.4** (1.17 g, 2.74 mmol, 84%產率)；LCMS [M + H]<sup>+</sup>: 427；RT = 0.825 min。

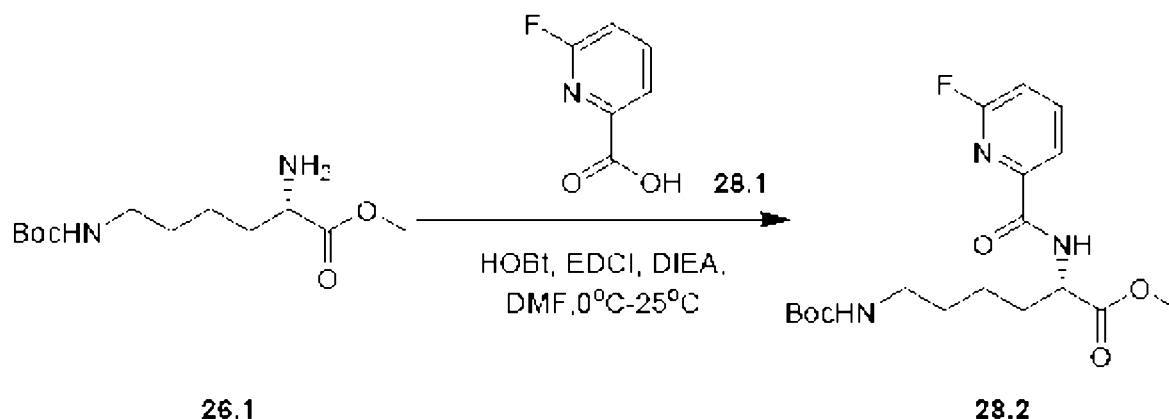


在N<sub>2</sub>下在0°C下將n-BuLi (270.37 mg, 4.22 mmol, 6當量)一次性添加至於THF (6 mL)中之DIPA (427.08 mg, 4.22 mmol, 593.17 μL, 6當量)。0.5小時之後，在N<sub>2</sub>下在-78°C下向上述混合物添加**27.4** (300 mg, 703.43 μmol, 1當量)及碘氯甲烷(744.43 mg, 4.22 mmol, 306.35 μL, 6當量)。將所得混合物在-78°C下攪拌2小時。向反應混合物添加水(20 mL)，然後用EtOAc (20 mL × 3)對其進行萃取。將合併之有機層用鹽水(10 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在減壓下濃縮。獲得呈棕色油狀物之化合物**27.5** (300 mg, 粗製)。



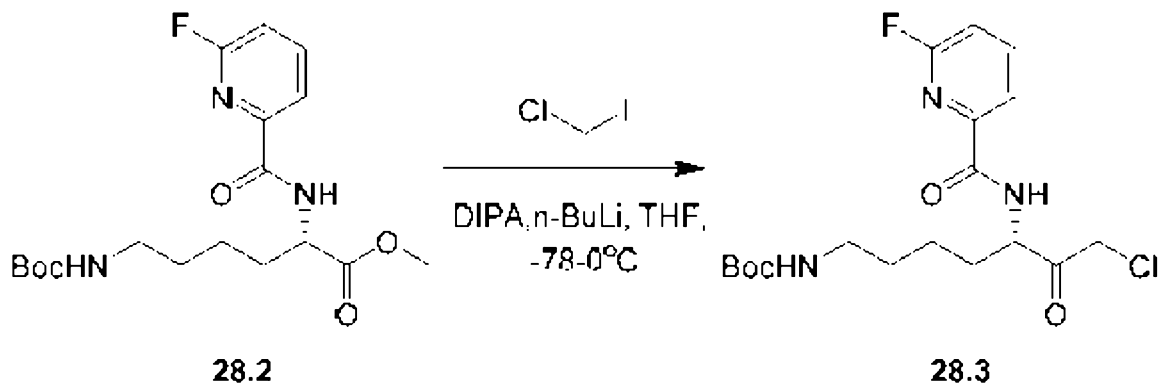
4.35 (m, 1 H), 4.69 - 4.71(m, 1 H), 4.81 - 4.82(m, 1 H), 5.09 - 5.13(dd,  $J=1.6$  Hz, 2 H), 7.09 - 7.12(m, 4 H), 7.39-7.48(m, 4 H), 7.73(s, 2 H), 8.77 - 8.78 (d,  $J=7.6$  Hz, 2 H)。

**實例24. (S)-N-(7-胺基-1-(2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)-6-氟吡啶醯胺(28)之製備**

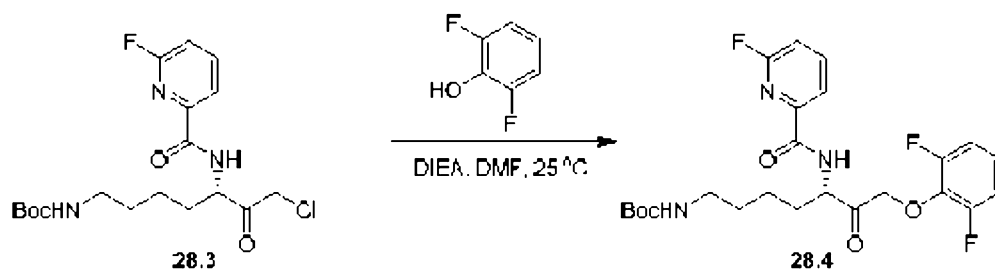


向化合物**28.1** (366.07 mg, 2.6 mmol, 1.1 當量)於DMF (15 mL)中之溶液添加HOBt (350.77 mg, 2.6 mmol, 1.1 當量)及EDCI (497.65 mg, 2.60 mmol, 1.1 當量)。將混合物在0°C下攪拌1小時。然後向該混合物添加化合物**26.1** (700 mg, 2.36 mmol, 1 當量, HCl)及DIEA (1.22 g, 9.44 mmol, 1.65 mL, 4 當量)；將混合物在25°C下攪拌14小時。藉由添加H<sub>2</sub>O (30 mL)使反應混合物淬滅並利用乙酸乙酯(30 mL × 3)萃取。將合併之有機層用飽和鹽水(5 mL)洗滌，經無水硫酸鈉乾燥，過濾並在減壓下濃縮。殘餘物藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>, DCM: MeOH = 10: 1)進行純化，以產生呈黃色油狀物之化合物**28.2** (750 mg, 1.96 mmol, 83% 產率)；LCMS [M + H - Boc]<sup>+</sup>: 384；RT = 0.817 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 氯仿-*d*) δ ppm 1.42 (s, 11 H), 1.53 (br d,  $J=6.17$  Hz, 2 H), 1.65 (s, 1 H), 1.75 - 2.05 (m, 2 H), 3.12 (br d,  $J=6.17$  Hz, 2 H), 3.78 (d,  $J=0.66$  Hz, 3 H), 4.57 (br s, 1 H), 4.67 - 4.89 (m, 1 H), 6.97 - 7.18 (m, 1 H), 7.87 - 8.03 (m, 1 H), 8.05

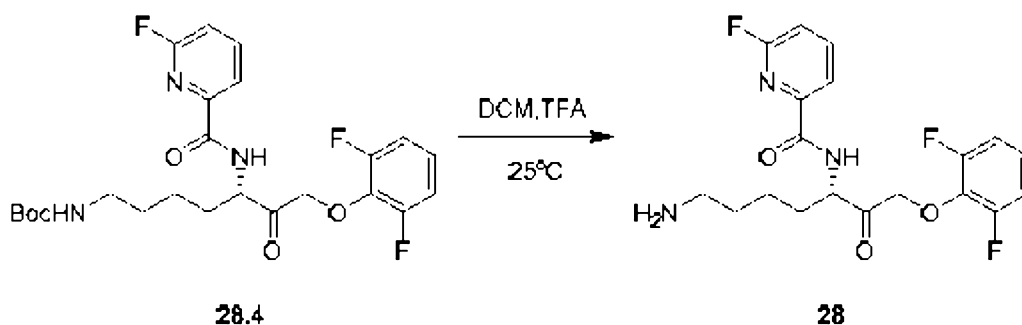
- 8.22 (m, 2 H)。



向DIPA (526.19 mg, 5.2 mmol, 730.82  $\mu\text{L}$ , 5 當量)於THF (5 mL)中之溶液添加n-BuLi (2.5 M, 2.08 mL, 5 當量)。將混合物在 $\text{N}_2$ 下在 $0^\circ\text{C}$ 下攪拌0.5小時；然後向該混合物添加化合物**28.2** (400 mg, 1.04 mmol, 1 當量)及氯(碘)甲烷(917.18 mg, 5.2 mmol, 377.44  $\mu\text{L}$ , 5 當量)於THF (10 mL)中之溶液。將其在 $-78^\circ\text{C}$ 下攪拌0.5小時。藉由在 $25^\circ\text{C}$ 下添加飽和 $\text{NH}_4\text{Cl}$  (20 ml)使反應混合物淬滅，並利用乙酸乙酯(15 mL  $\times$  3)萃取。將合併之有機層用飽和 $\text{Na}_2\text{SO}_3$  (10 mL)、飽和 $\text{NaHCO}_3$  (10 mL)及鹽水(10 mL)洗滌；然後使其經無水硫酸鈉乾燥，過濾並在減壓下濃縮，以產生呈黃色油狀物之**28.3** (500 mg, 粗製)。

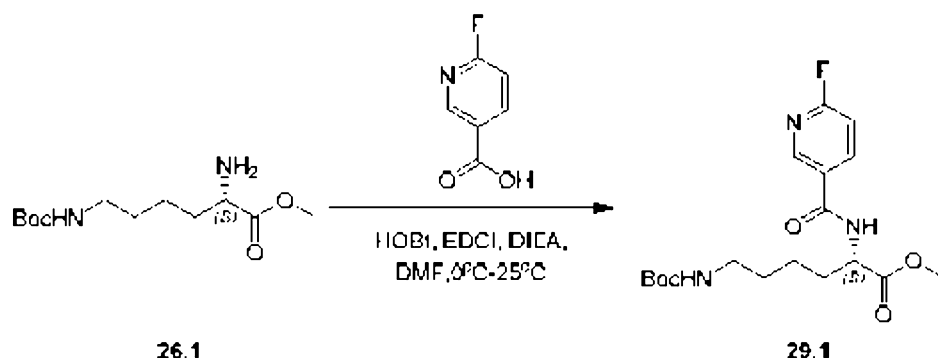


向**28.3** (500 mg, 1.24 mmol, 1 當量)於DMF (8 mL)中之溶液添加DIEA (481 mg, 3.72 mmol, 649.69  $\mu\text{L}$ , 3 當量)及2,6-二氟苯酚(241.97 mg, 1.86 mmol, 1.5 當量)。將混合物在 $25^\circ\text{C}$ 下攪拌15小時。殘餘物藉由半製備級HPLC (TFA條件)進行純化，以產生呈黃色油狀物之**28.4** (50 mg, 101  $\mu\text{mol}$ , 8%產率)；LCMS  $[\text{M} + \text{H}]^+$  : 496 ; RT = 2.84 min。



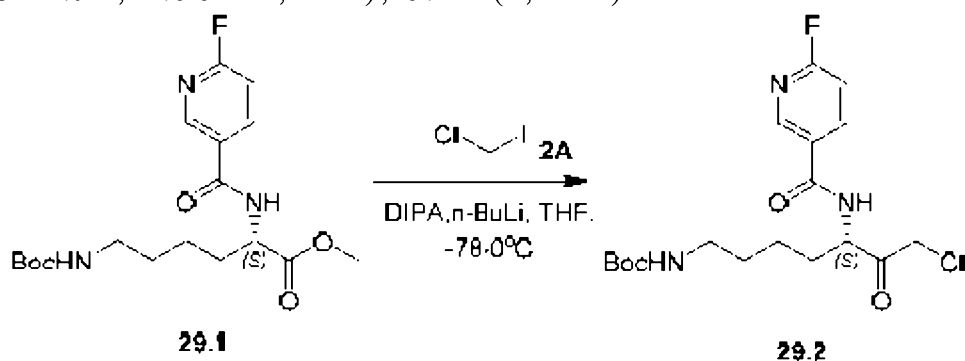
向**28.4** (50 mg, 101  $\mu\text{mol}$ , 1 當量)於DCM (5 mL)中之溶液添加TFA (1 mL)。將混合物在25°C下攪拌15小時；然後在減壓下濃縮以產生化合物**28** (20 mg, 50.6  $\mu\text{mol}$ , 50%產率)；LCMS  $[M + H]^+$  : 396 ; RT = 2.11 min。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 1.21 - 1.44 (m, 2 H), 1.45 - 1.65 (m, 2 H), 1.71 - 2.01 (m, 2 H), 2.69 - 2.85 (m, 2 H), 4.55 - 4.76 (m, 2 H), 4.97 - 5.34 (m, 2 H), 7.03 - 7.21 (m, 2 H), 7.48 (dd,  $J=8.27$ , 1.65 Hz, 1 H), 7.68 (br s, 3 H), 7.99 (dd,  $J=7.28$ , 1.76 Hz, 1 H), 8.22 (q,  $J=8.08$  Hz, 1 H), 8.98 (d,  $J=8.38$  Hz, 1 H)。

### 實例25. (S)-N-(7-胺基-1-(2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)-6-氟菸鹼醯胺(**29**)之製備

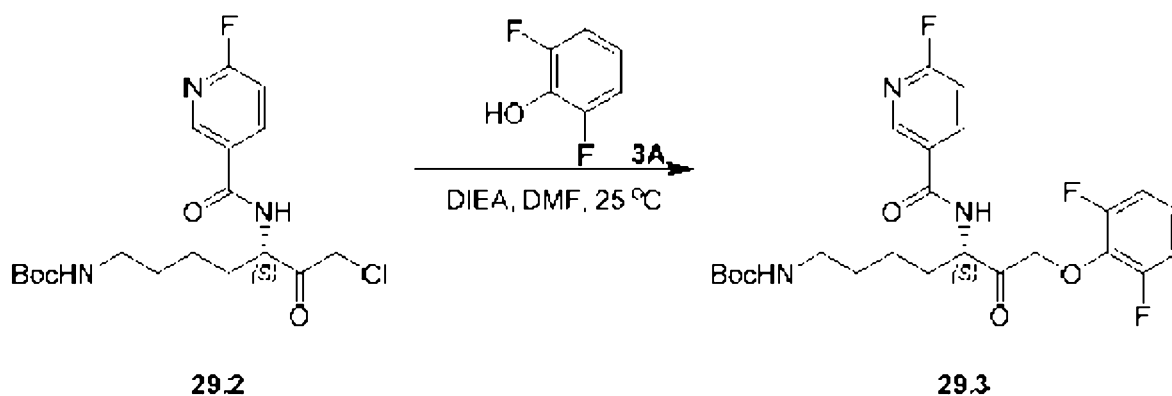


向6-氟菸鹼酸(366.3 mg, 2.6 mmol, 1.1 當量)於DMF (15 mL)中之溶液添加HOBt (351 mg, 2.6 mmol, 1.1 當量)及EDCI (497.65 mg, 2.60 mmol, 1.1 當量)。將混合物在0°C下攪拌1小時。然後向該混合物添加化合物**26.1** (700 mg, 2.36 mmol, 1 當量, HCl鹽)及DIEA (1.22 g, 9.44 mmol,

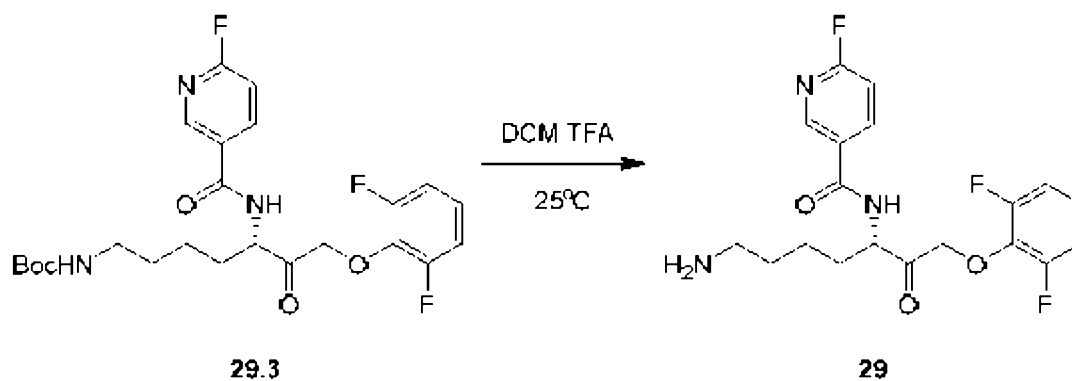
1.65 mL, 4 當量)；將混合物在25°C下攪拌14小時。藉由添加H<sub>2</sub>O (50 mL)使反應混合物淬滅，並利用乙酸乙酯(30 mL × 3)萃取。將合併之有機層用飽和鹽水(5 mL)洗滌，經無水硫酸鈉乾燥，過濾並在減壓下濃縮。殘餘物藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>，石油醚/乙酸乙酯= 2/1)進行純化以產生**29.1** (300 mg, 782.45 μmol, 33.15%產率)；LCMS [M + H - Boc]<sup>+</sup>：384；RT = 0.7 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz，氯仿-*d*) δ ppm 1.40 (s, 11 H), 1.48 - 1.59 (m, 3 H), 1.63 (s, 1 H), 1.76 - 2.04 (m, 2 H), 3.13 (br d, *J*=6.15 Hz, 2 H), 4.47 - 4.86 (m, 2 H), 6.93 (br s, 1 H), 7.01 (dd, *J*=8.53, 2.76 Hz, 1 H), 8.29 (td, *J*=7.97, 2.38 Hz, 1 H), 8.72 (s, 1 H)。



向DIPA (396 mg, 3.91 mmol, 549.82 μL, 5 當量)於THF (5 mL)中之溶液添加n-BuLi (2.5 M, 1.56 mL, 5 當量)。將混合物在N<sub>2</sub>下在0°C下攪拌0.5小時。然後將混合物添加至**29.1** (300 mg, 782.43 μmol, 1 當量)及氯碘甲烷(690 mg, 3.91 mmol, 284 μL, 5 當量)於THF (5 mL)中之溶液；將其在-78°C下攪拌0.5小時。藉由添加飽和NH<sub>4</sub>Cl (20 ml)使反應混合物淬滅，然後用乙酸乙酯(15 mL × 3)萃取。將合併之有機層用飽和Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (10 mL)、飽和NaHCO<sub>3</sub> (10 mL)及鹽水(10 mL)洗滌。使其經無水硫酸鈉乾燥，過濾並在減壓下濃縮，以產生呈黃色油狀物之**29.2** (500 mg，粗製)。



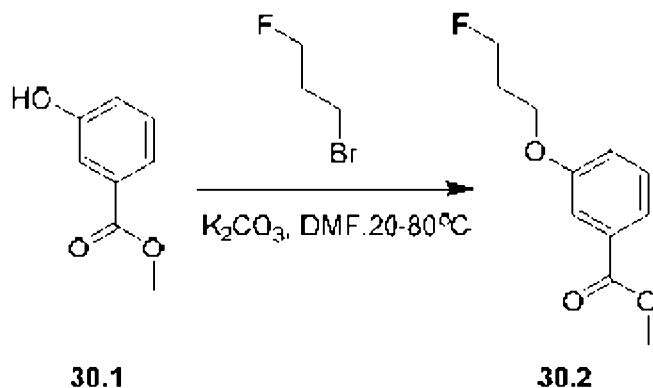
向**29.2** (300.00 mg, 746.53  $\mu\text{mol}$ , 1.00 當量)及2,6-二氟苯酚(145.7 mg, 1.12 mmol, 1.5 當量)於DMF (6 mL)中之溶液添加DIEA (289 mg, 2.24 mmol, 3 當量)。將混合物在25 $^\circ\text{C}$ 下攪拌15小時，然後使其蒸發並藉由半製備型HPLC (TFA條件)進行純化，以產生呈黃色油狀物之**29.3** (40 mg, 81  $\mu\text{mol}$ , 11%產率)；LCMS  $[\text{M} + \text{H}]^+$  : 496 ; RT = 0.874 min。



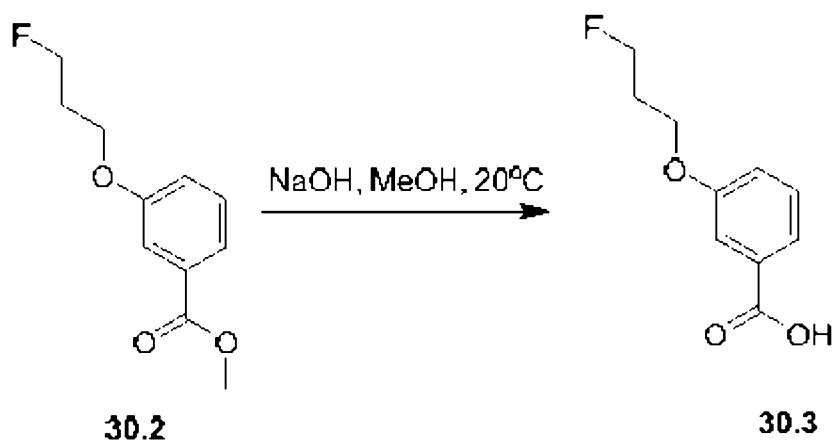
向於DCM (5 mL)中之**29.3** (40 mg, 81  $\mu\text{mol}$ , 1 當量)添加TFA (1 mL)。將混合物在25 $^\circ\text{C}$ 下攪拌15小時，然後蒸發。殘餘物藉由半製備級HPLC (TFA條件)進行純化以產生化合物**29** (10 mg, 25  $\mu\text{mol}$ , 31%產率)；LCMS  $[\text{M} + \text{H}]^+$  : 396 ; RT = 0.7 min。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  ppm 1.43 - 1.67 (m, 2 H), 1.67 - 1.89 (m, 3 H), 2.05 - 2.20 (m, 1 H), 2.86 - 3.01 (m, 2 H), 4.93 - 5.11 (m, 3 H), 6.92 - 7.16 (m, 2 H), 7.19 (dd,  $J=8.60, 2.65$  Hz, 1 H), 8.38 (td,  $J=8.05, 2.65$  Hz, 1 H), 8.71 (d,

$J=2.43$  Hz, 1 H)。

**實例26. (S)-N-(7-胺基-1-(2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)-3-(3-氟丙氧基)苯甲醯胺(30)之製備**



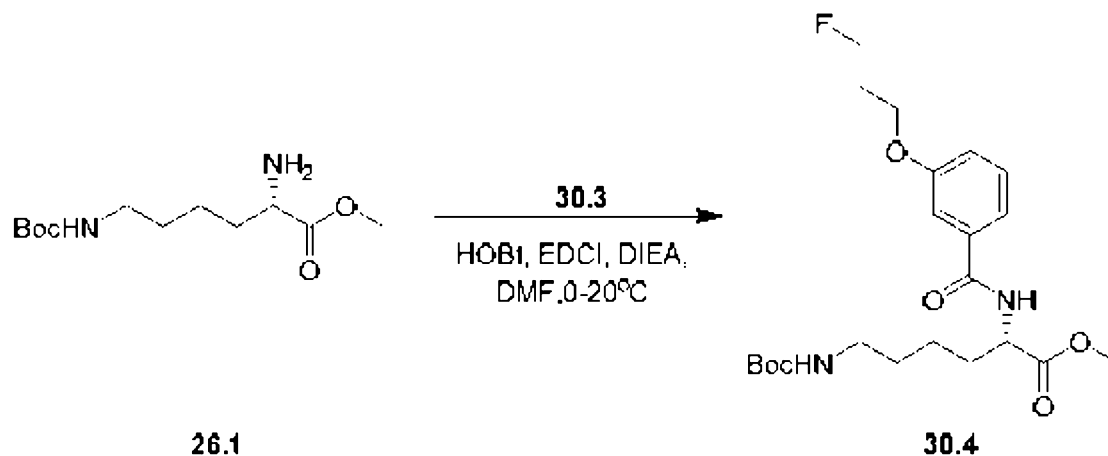
向**30.1** (540.13 mg, 3.55 mmol, 1當量)及**30.2** (500 mg, 3.55 mmol, 1當量)於DMF (10 mL)中之混合物添加 $\text{K}_2\text{CO}_3$  (981.29 mg, 7.1 mmol, 2當量)；將混合物在 $80^\circ\text{C}$ 下攪拌15小時。用水(20 mL)稀釋反應混合物並用EtOAc (20 mL  $\times$  3)萃取。將合併之有機層用鹽水(10 mL)洗滌，經 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 乾燥，過濾並在減壓下濃縮。殘餘物藉由管柱層析( $\text{SiO}_2$ ，石油醚/乙酸乙酯= 10/ 1至1/ 1)進行純化，以產生呈無色油狀物之**30.2** (440 mg, 2.07 mmol, 58%產率)；LCMS  $[\text{M} + \text{H}]^+$  : 213 ; RT = 0.82 min。



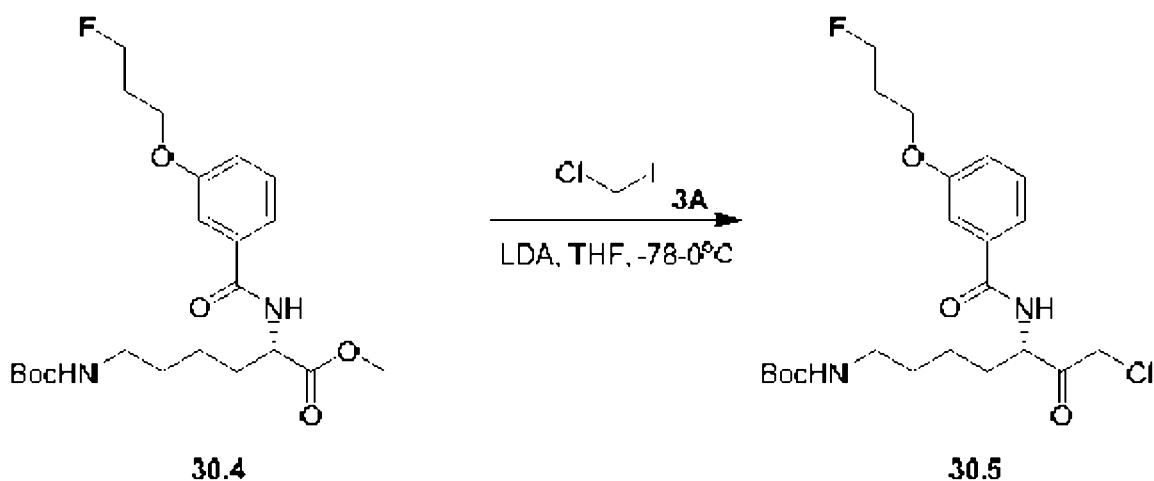
將於含有NaOH (1 M, 4.14 mL, 2當量)之MeOH (12 mL)中之**30.2** (440 mg, 2.07 mmol, 1當量)在 $20^\circ\text{C}$ 下攪拌15小時。將反應用水(40 mL)稀



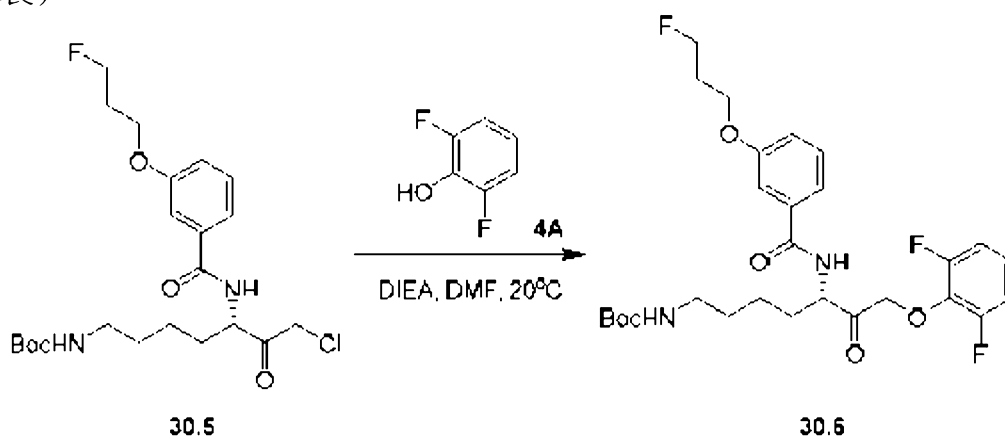
釋，然後用EtOAc (40 mL × 2)萃取以去除中性雜質。利用HCl水溶液使水相酸化至pH 5，然後用乙酸乙酯(40 mL)萃取。獲得呈白色固體之**30.3** (160 mg, 807 μmol, 39%產率)；LCMS [M + H]<sup>+</sup>：199；RT = 1.01 min。



在N<sub>2</sub>下在0°C下向於DMF (2 mL)中之**30.3** (160 mg, 807.31 μmol, 1當量)及EDCI (170.24 mg, 888.04 μmol, 1.1當量)、HOBt (120 mg, 888 μmol, 1.1當量)一次性添加化合物**26.1** (210.17 mg, 807.31 μmol, 1當量)及DIEA (417.34 mg, 3.23 mmol, 563.97 μL, 4當量)。將混合物在20°C下攪拌15小時。用水(20 mL)稀釋反應混合物並用EtOAc (20 mL × 3)萃取。將合併之有機層用鹽水(10 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在減壓下濃縮。殘餘物藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>，石油醚/乙酸乙酯= 10/ 1至1/ 1)進行純化，以產生呈白色固體之**30.4** (240 mg, 545 μmol, 67.5%產率)；LCMS [M + H]<sup>+</sup>：441；RT = 0.84 min。

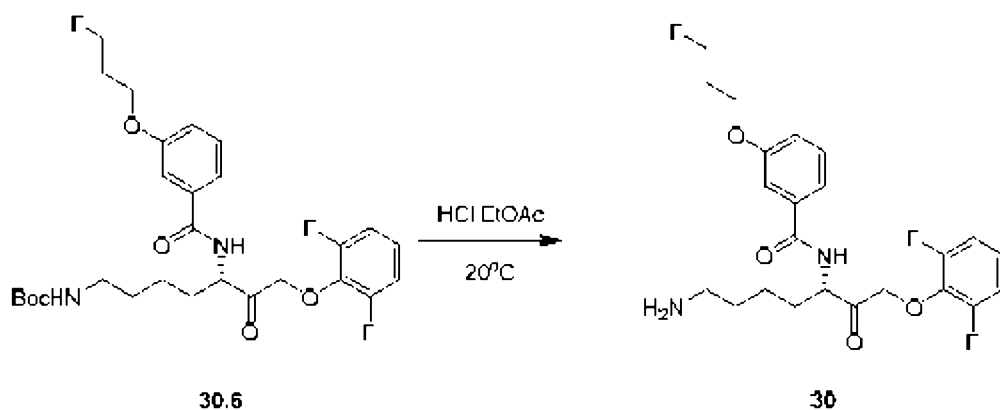


在 $\text{N}_2$ 下在 $0^\circ\text{C}$ 下向 $n\text{-BuLi}$  (209.41 mg, 3.27 mmol, 6當量)之混合物一次性添加於THF (6 mL)中之DIPA (330.8 mg, 3.3 mmol, 460  $\mu\text{L}$ , 6當量)。0.5 h之後，在 $\text{N}_2$ 下在 $-78^\circ\text{C}$ 下向上述混合物添加**30.4** (240 mg, 545  $\mu\text{mol}$ , 1當量)及氯(碘)甲烷(577 mg, 3.3 mmol, 237.3  $\mu\text{L}$ , 6當量)。將所得混合物在 $-78^\circ\text{C}$ 下攪拌2小時。用水(20 mL)稀釋反應混合物，然後用EtOAc (20 mL  $\times$  3)萃取。將合併之有機層用鹽水(10 mL)洗滌，經 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 乾燥，過濾並在減壓下濃縮，且獲得呈棕色油狀物之**30.5** (200 mg, 粗製)。



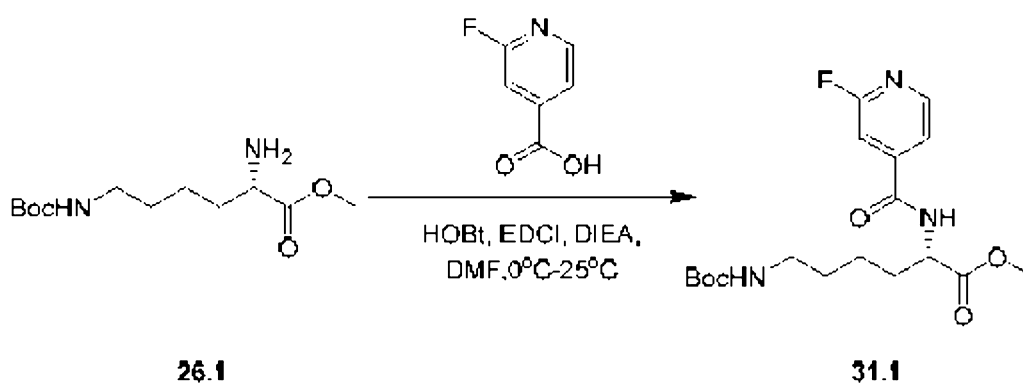
向於DMF (4 mL)中之**30.5** (200 mg, 436  $\mu\text{mol}$ , 1當量)及2,5-二氟苯酚(57 mg, 436  $\mu\text{mol}$ , 1當量)添加DIEA (168.96 mg, 1.31 mmol, 228.32  $\mu\text{L}$ , 3當量)；將混合物在 $20^\circ\text{C}$ 下攪拌15小時。殘餘物藉由半製備級HPLC (TFA條件)進行純化以產生**30.6** (13 mg, 23.5  $\mu\text{mol}$ , 5.4%產率)；LCMS

$[M + H]^+$  : 553 ; RT = 0.91 min .



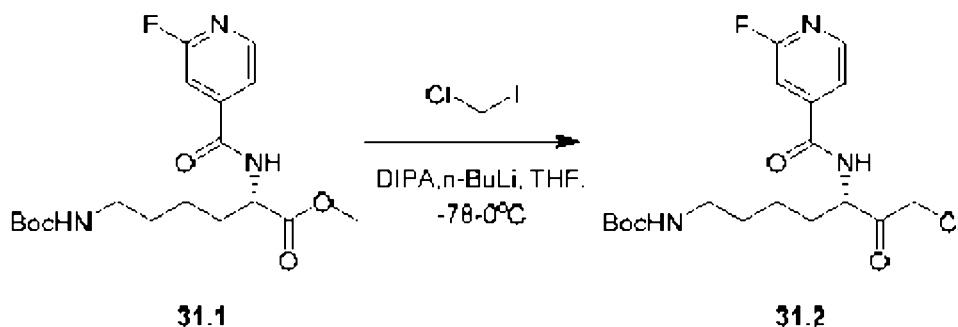
向於DCM (500  $\mu$ L)中之**30.6** (13 mg, 23.53  $\mu$ mol, 1當量)添加TFA (160.97 mg, 1.41 mmol, 104.53  $\mu$ L, 60當量)。將混合物在20°C下攪拌3小時。殘餘物藉由半製備級HPLC (TFA條件)進行純化，以產生呈無色油狀物之化合物**30** (2 mg, 4.42  $\mu$ mol, 19%產率)；LCMS  $[M + H]^+$  : 453 ; RT = 0.7 min 。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz , 甲醇-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  ppm 1.47 - 1.63 (m, 2 H), 1.67 - 1.86 (m, 2 H), 2.10 - 2.23 (m, 2 H), 2.85 - 3.01 (m, 2 H), 4.10 - 4.20 (m, 1 H), 4.11 - 4.20 (m, 1 H), 4.57 (t, *J*=5.84 Hz, 1 H), 4.69 (t, *J*=5.84 Hz, 1 H), 4.90 - 5.07 (m, 4 H), 6.95 - 7.03 (m, 2 H), 7.03 - 7.11 (m, 1 H), 7.14 (ddd, *J*=7.94, 2.54, 1.21 Hz, 1 H), 7.35 - 7.46 (m, 3 H) 。

**實例27. (S)-N-(7-胺基-1-(2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)-2-氟異菸鹼醯胺(31)之製備**



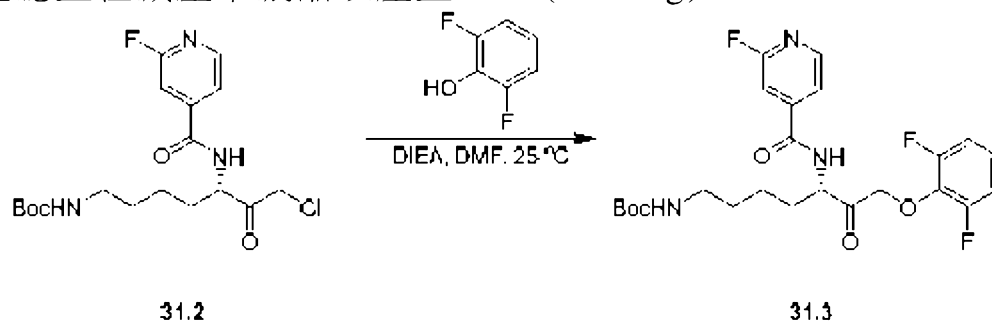
向2-氟-4-羧基吡啶(523 mg, 3.71 mmol, 1.1當量)於DMF (15 mL)中

之溶液添加HOBt (501 mg, 3.71 mmol, 1.1 當量)及EDCI (710.5 mg, 3.71 mmol, 1.1 當量)。將混合物在0°C下攪拌1小時。然後向該混合物添加**26.1** (1 g, 3.37 mmol, 1 當量, HCl鹽)及DIEA (1.74 g, 13.48 mmol, 2.35 mL, 4 當量)；將混合物在25°C下攪拌14小時。藉由添加H<sub>2</sub>O (50 mL)使反應混合物淬滅，並利用乙酸乙酯(30 mL × 3)萃取。將合併之有機層用飽和鹽水(5 mL)洗滌，經無水硫酸鈉乾燥，過濾並濃縮。殘餘物藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>，石油醚/乙酸乙酯=2:1)進行純化，以產生呈黃色油狀物之化合物**31.1** (800 mg, 2.1 mmol, 62%產率)；LCMS [M + H - Boc] : 384 ; RT = 0.8 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ ppm 1.27 - 1.62 (m, 14 H), 1.69 - 2.08 (m, 2 H), 3.05 (t, *J*=6.50 Hz, 2 H), 3.75 (s, 3 H), 4.59 (dd, *J*=9.37, 4.96 Hz, 1 H), 7.46 (s, 1 H), 7.69 (dt, *J*=5.29, 1.54 Hz, 1 H), 8.35 (d, *J*=5.29 Hz, 1 H)

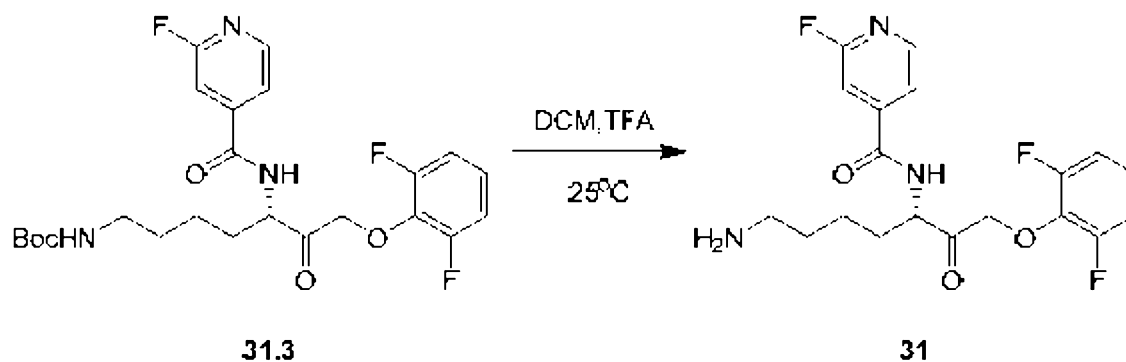


向於THF (5 mL)中之DIPA (659.8 mg, 6.52 mmol, 916.4 μL, 5 當量)添加n-BuLi (2.5 M, 2.61 mL, 5 當量)。將混合物在N<sub>2</sub>下在0°C下攪拌0.5小時；然後將混合物添加至**31.1** (500 mg, 1.3 mmol, 1 當量)及氯(碘)甲烷 (1.15 g, 6.52 mmol, 473.3 μL, 5 當量)於THF (10 mL)中之溶液；將其於-78°C下攪拌0.5小時。藉由添加飽和NH<sub>4</sub>Cl (20 mL)使反應混合物淬滅，並利用乙酸乙酯(15 mL × 3)萃取。將合併之有機層用飽和Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (10 mL)、飽和NaHCO<sub>3</sub> (10 mL)及鹽水(10 mL)洗滌。使其經無水硫酸鈉

乾燥，過濾並在減壓下濃縮以產生**31.2** (620 mg)。

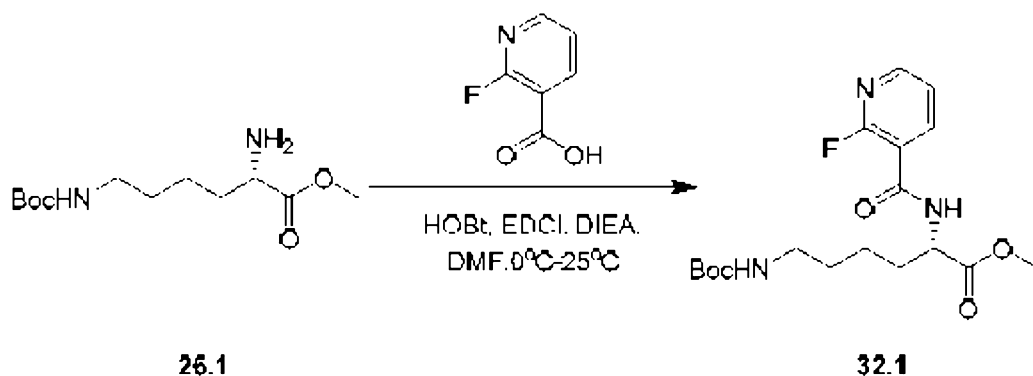


向於DMF (5 mL)中之**31.2** (620 mg, 1.54 mmol, 1 當量)添加DIEA (598.2 mg, 4.63 mmol, 808.36  $\mu$ L, 3 當量)及2,6-二氟苯酚(301.1 mg, 2.31 mmol, 1.5 當量)；將其在25°C下攪拌15小時。水處理之後，殘餘物藉由半製備級HPLC (TFA條件)進行純化以產生**31.3** (20 mg, 40.36  $\mu$ mol, 3%產率)。

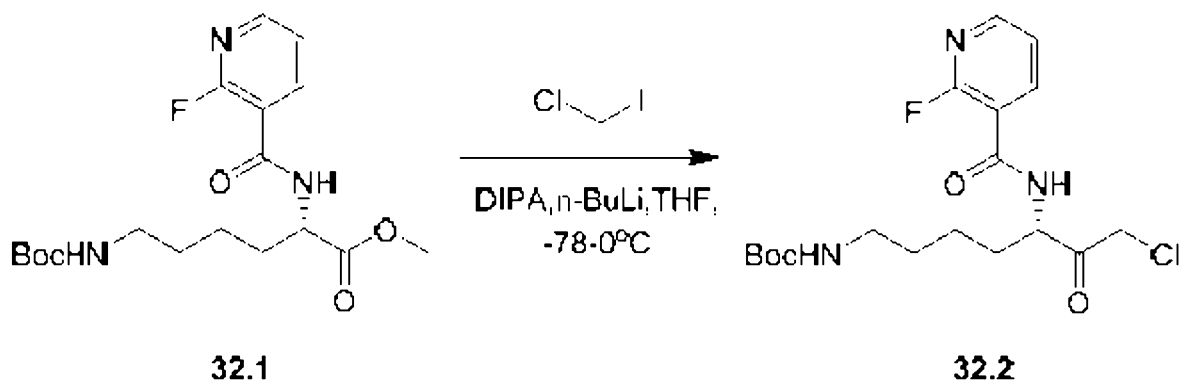


將於DCM (5 mL)及TFA (1 mL)中之**31.3** (50 mg, 101  $\mu$ mol, 1 當量)在25°C下攪拌15小時。殘餘物藉由半製備級HPLC (TFA條件)進行純化以產生化合物**31** (10 mg, 25.3  $\mu$ mol, 25%產率)；LCMS [M + H] : 396 ; RT = 1.3 min 。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz , 甲醇-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  ppm 1.40 - 1.91 (m, 5 H), 2.03 - 2.22 (m, 1 H), 2.83 - 3.03 (m, 2 H), 4.87 - 5.15 (m, 3 H), 6.90 - 7.17 (m, 2 H), 7.38 - 7.53 (m, 1 H), 7.60 - 7.74 (m, 1 H), 8.24 - 8.39 (m, 1 H)。

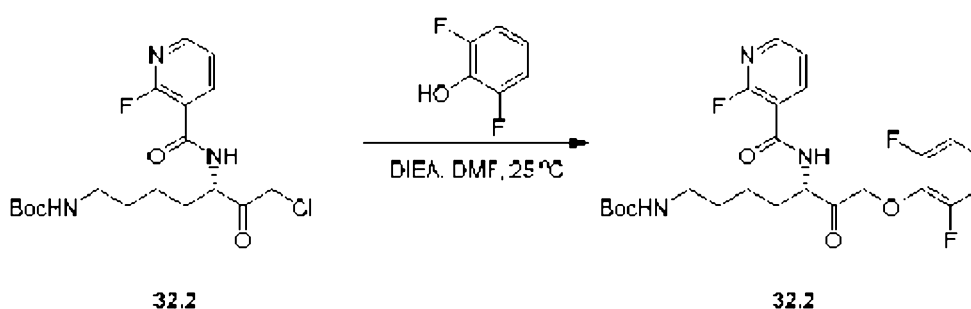
**實例28. (S)-N-(7-胺基-1-(2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)-2-氟菸鹼醯胺(32)之製備**



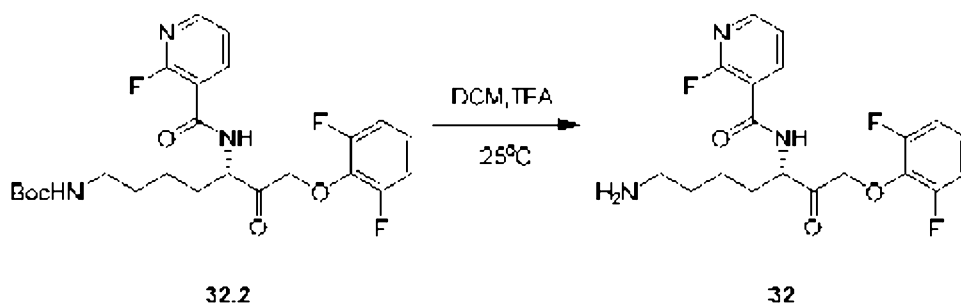
向於DMF (15 mL)中之2-(氟)菸鹼酸(366.3 mg, 2.6 mmol, 1.1 當量)添加HOBt (350.8 mg, 2.6 mmol, 1.1 當量)及EDCI (497.65 mg, 2.6 mmol, 1.1 當量)。將混合物在0°C下攪拌1小時；然後向該混合物添加**26.1** (700 mg, 2.36 mmol, 1 當量, HCl鹽)及DIEA (1.22 g, 9.44 mmol, 1.65 mL, 4 當量)。將混合物在25°C下攪拌14小時。用H<sub>2</sub>O (50 mL)使反應混合物淬滅，然後用乙酸乙酯(30 mL × 3)萃取。將合併之有機層用鹽水(5 mL)洗滌，然後經無水硫酸鈉乾燥，過濾並在減壓下濃縮。殘餘物藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>，石油醚/乙酸乙酯= 2/ 1)進行純化，以產生呈棕色油狀物之**32.1** (600 mg, 1.56 mmol, 66%產率)；LCMS [M + H] : 284 ; RT = 0.7 min 。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz，氯仿-*d*) δ ppm 1.42 (s, 11 H), 1.54 (dt, *J*=13.68, 6.84 Hz, 3 H), 1.63 (s, 1 H), 1.76 - 2.10 (m, 2 H), 3.12 (br d, *J*=6.15 Hz, 2 H), 3.80 (s, 3 H), 4.57 (br s, 1 H), 4.76 - 4.90 (m, 1 H), 7.30 - 7.48 (m, 2 H), 8.36 (br d, *J*=4.52 Hz, 1 H), 8.55 (ddd, *J*=9.66, 7.72, 1.95 Hz, 1 H)。



向於THF (5 mL)中之DIPA (527.8 mg, 5.2 mmol, 733  $\mu$ L, 5 當量)添加n-BuLi (2.5 M, 2.1 mL, 5 當量)；將混合物在N<sub>2</sub>下在0°C下攪拌0.5小時。然後將該混合物添加至於THF (5 mL)中之**32.2** (400 mg, 1.04 mmol, 1 當量)及氯(碘)甲烷(920 mg, 5.22 mmol, 378.6  $\mu$ L, 5 當量)；將其在-78°C下攪拌0.5小時。利用飽和NH<sub>4</sub>Cl (20 ml)使反應混合物淬滅，並利用乙酸乙酯(15 mL  $\times$  3)萃取。將合併之有機層用飽和Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (10 mL)、飽和NaHCO<sub>3</sub> (10 mL)及鹽水(10mL)洗滌；使其經無水硫酸鈉乾燥，過濾並在減壓下濃縮以產生**32.2** (620 mg)。



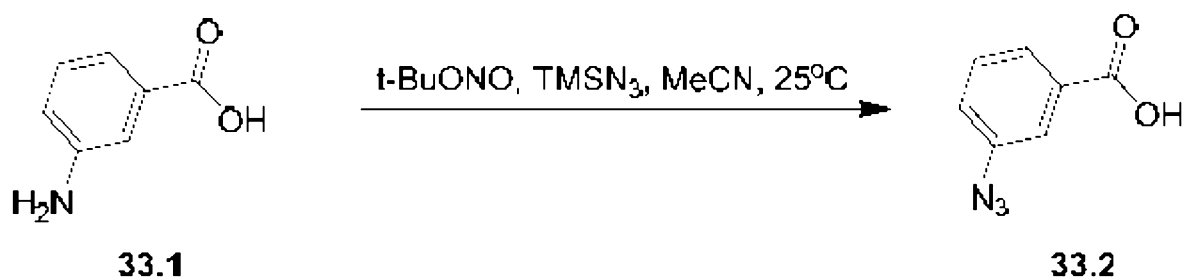
向於DMF (6 mL)中之**32.2** (500 mg, 1.24 mmol, 1 當量)及2,6-二氟苯酚(242.8 mg, 1.87 mmol, 1.5 當量)添加DIEA (482.41 mg, 3.73 mmol, 652  $\mu$ L, 3 當量)。將混合物在25°C下攪拌15小時。殘餘物藉由半製備級HPLC (TFA條件)進行純化以產生**32.2** (20 mg, 40.4  $\mu$ mol, 3%產率)；LCMS [M + H] : 496 ; RT = 0.86 min。



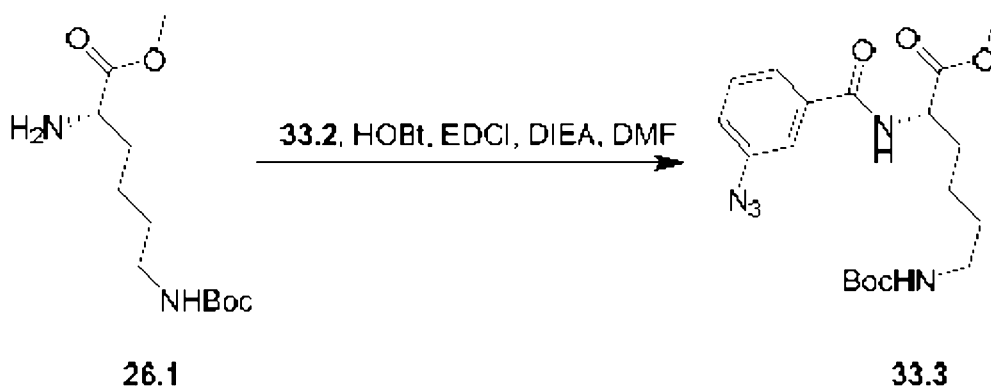
將於DCM (5 mL)及TFA (1 mL)中之**32.2** (20 mg, 40.4  $\mu$ mol, 1 當量)在25°C下攪拌15小時。殘餘物藉由半製備級HPLC (TFA條件)進行純化，

以產生化合物32 (5 mg, 12.65  $\mu\text{mol}$ , 31%產率) ; LCMS [M + H] : 396 ; RT = 1.25 min 。  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz , 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  ppm 1.44 - 1.87 (m, 5 H), 2.06 - 2.22 (m, 1 H), 2.85 - 3.03 (m, 2 H), 4.89 - 5.12 (m, 3 H), 6.93 - 7.05 (m, 2 H), 7.06 - 7.15 (m, 1 H), 7.45 (ddd,  $J=7.22, 5.02, 1.87$  Hz, 1 H), 8.26 (ddd,  $J=9.48, 7.50, 1.98$  Hz, 1 H), 8.30 - 8.40 (m, 1 H) 。

**實例29. (S)-N-(7-胺基-1-(2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)-3-疊氮基苯甲醯胺(33)之製備**

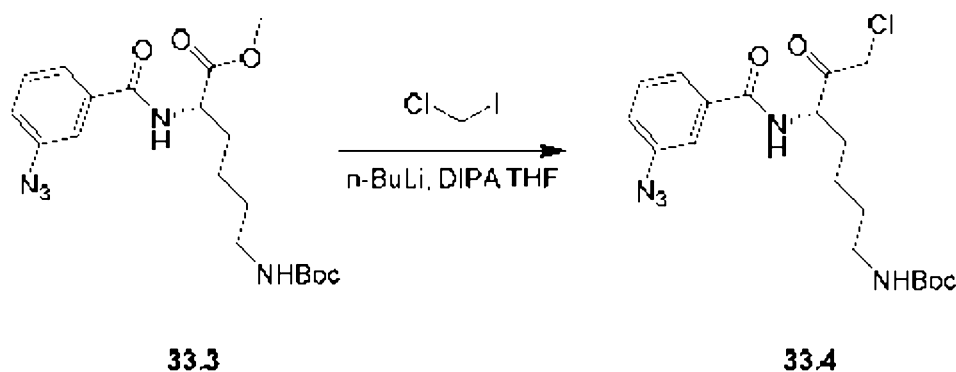


在 $\text{N}_2$ 下在 $18^\circ\text{C}$ 下向於AcN (70 mL)中之**33.1** (5 g, 36.5 mmol, 1當量) 及t-BuONO (5.64 g, 54.7 mmol, 6.5 mL, 1.5當量) 一次性添加 $\text{TMSN}_3$  (5.04 g, 43.75 mmol, 5.73 mL, 1.2當量) 。將混合物在 $18^\circ\text{C}$ 下攪拌10小時。用 $\text{H}_2\text{O}$  (100 mL)稀釋反應混合物，並用EtOAc (50 mL  $\times$  3)萃取。將合併之有機層用鹽水(100 mL)洗滌，經 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 乾燥，過濾並在減壓下濃縮。此材料藉由管柱層析( $\text{SiO}_2$ , DCM: MeOH = 10:1)進行純化，以產生**33.2** (3 g, 18.4 mmol, 50%產率) 。



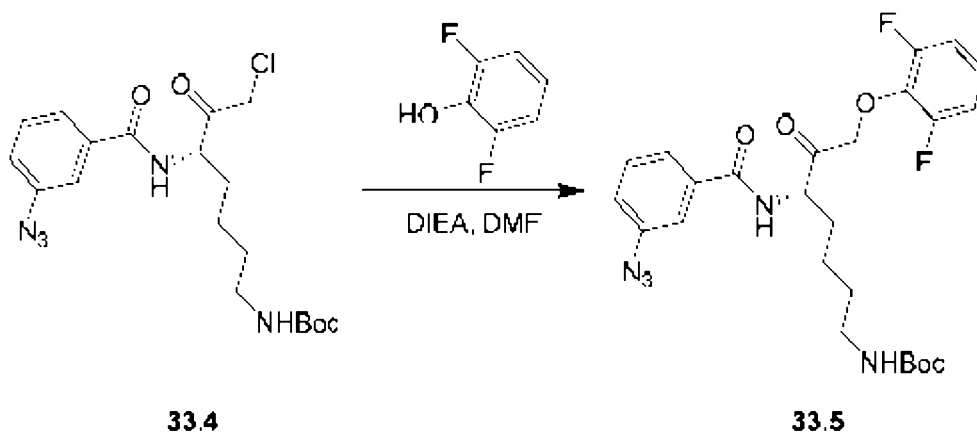


向於DMF (20 mL)中之**33.2** (1.25 g, 7.68 mmol, 1 當量)及EDCI (1.62 g, 8.45 mmol, 1.1 當量)添加HOBt (1.14 g, 8.45 mmol, 1.1 當量)。將混合物在0°C下攪拌1小時；然後逐滴添加**26.1** (2 g, 7.68 mmol, 1 當量)於DMF (5 mL)中之溶液，之後添加DIPEA (2.98 g, 23.04 mmol, 4.03 mL, 3 當量)。將此混合物在0°C下攪拌1小時。用H<sub>2</sub>O (20 mL)稀釋反應混合物，並用EtOAc (15 mL × 3)萃取。將合併之有機層用鹽水(40 mL × 1)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並濃縮。殘餘物藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>，石油醚/乙酸乙酯= 1/ 1)進行純化，以產生**33.3** (2.8 g, 6.91 mmol, 90%產率)。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ ppm 1.40 (s, 8 H), 1.44 - 1.58 (m, 4 H), 1.80 - 2.00 (m, 2 H), 3.00 - 3.10 (m, 2 H), 3.74 (s, 3 H), 4.58 (dd, *J*=9.26, 5.07 Hz, 1 H), 7.25 (ddd, *J*=8.05, 2.32, 1.10 Hz, 1 H), 7.49 (t, *J*=7.83 Hz, 1 H), 7.56 (t, *J*=1.76 Hz, 1 H), 7.63 - 7.69 (m, 1 H)。

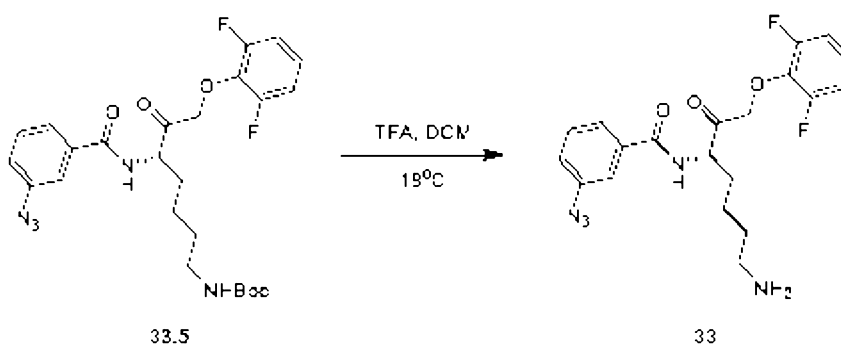


在0°C下向DIPA (1.5 g, 14.8 mmol, 2.08 mL, 6 當量)於THF (15 mL)中之溶液添加n-BuLi (2.5 M, 5.92 mL, 6 當量)；將混合物攪拌30 min。在-78°C下將其添加至於THF (15 mL)中之**33.3** (1 g, 2.47 mmol, 1 當量)及氯(碘)甲烷(2.18 g, 12.35 mmol, 895.11 μL, 5 當量)。將混合物在-78°C下攪拌30 min。藉由添加NH<sub>4</sub>Cl (10 mL)使反應混合物淬滅，且然後用EtOAc (15 mL × 3)萃取。將合併之有機層用Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (20 mL)及鹽水(20 mL)洗

滌，經 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 乾燥；然後過濾並濃縮以產生**33.4** (2 g)，其用於下一步驟。



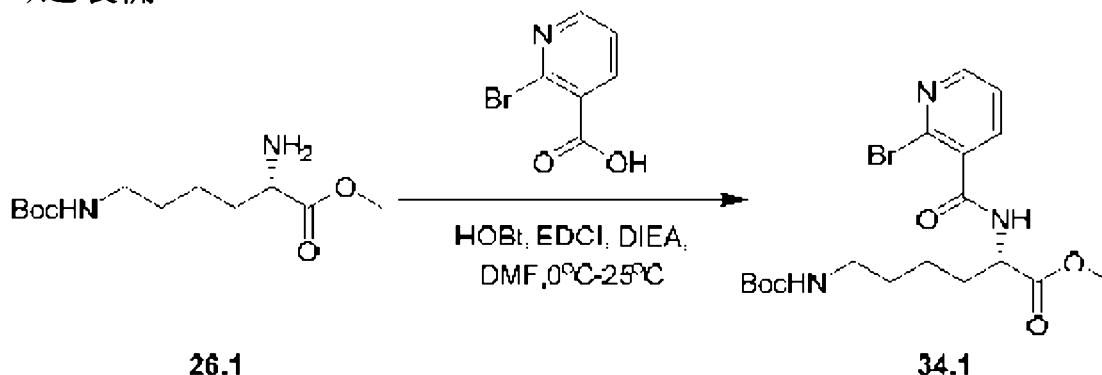
向於DMF (5 mL)中之**33.4** (2 g)及2,6-二氟苯酚(614 mg, 4.72 mmol, 1當量)添加DIPEA (2.44 g, 18.87 mmol, 3.3 mL, 4當量)；將此混合物在20°C下攪拌10小時。水處理之後，殘餘物藉由半製備型HPLC (TFA條件)進行純化，以產生**33.5** (200 mg, 386.46  $\mu\text{mol}$ , 8%產率)。



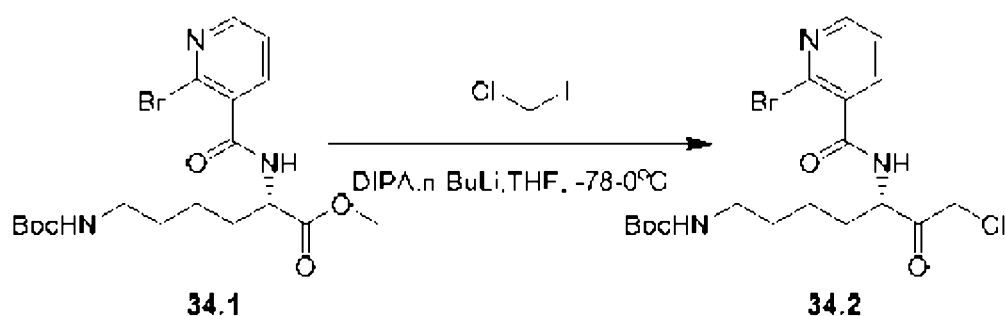
將於DCM (5 mL)及TFA (1 mL)中之**33.5** (100 mg, 193.23  $\mu\text{mol}$ , 1當量)在18°C下攪拌10小時。將反應混合物在減壓下濃縮，然後藉由半製備型HPLC (TFA條件)進行純化，以產生呈黃色油狀物之化合物**33** (80 mg, 192  $\mu\text{mol}$ , 產率99%)；LCMS [M + H]<sup>+</sup>: 418；RT = 3.1 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$  ppm 1.49 - 1.67 (m, 2 H) 1.67 - 1.88 (m, 3 H) 2.11 (dddd,  $J=13.84, 9.48, 6.78, 4.30$  Hz, 1 H) 2.89 - 2.99 (m, 2 H) 4.91 - 5.08 (m, 3 H) 6.95 - 7.05 (m, 2 H) 7.05 - 7.12 (m, 1 H) 7.26 - 7.31

(m, 1 H) 7.48 - 7.54 (m, 1 H) 7.56 (t,  $J=1.87$  Hz, 1 H) 7.64 - 7.70 (m, 1 H)。

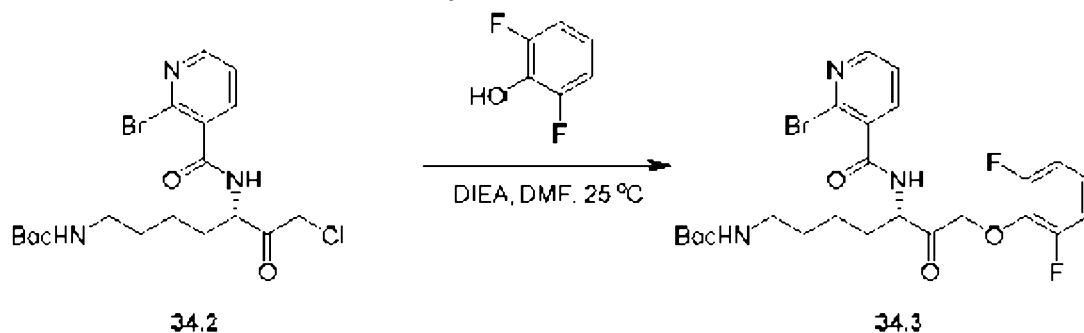
**實例30. (S)-N-(7-胺基-1-(2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)-2-溴菸鹼醯胺(34)之製備**



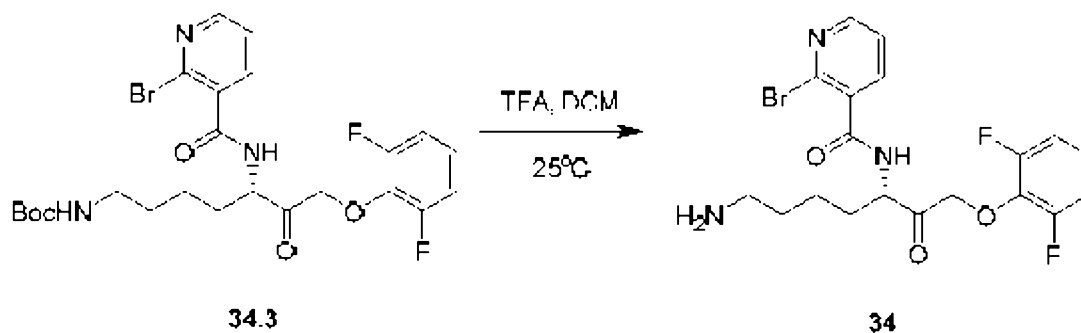
向於DMF (30 mL)中之2-(溴)菸鹼酸(748.71 mg, 3.71 mmol, 1.1 當量)添加HOBt (501 mg, 3.71 mmol, 1.1 當量)及EDCI (710.5 mg, 3.71 mmol, 1.1 當量)；將其在0°C下攪拌1小時。向此混合物添加化合物**26.1** (1 g, 3.37 mmol, 1 當量, HCl鹽)及DIEA (1.74 g, 13.48 mmol, 2.35 mL, 4 當量)；將其在25°C下攪拌14小時。藉由添加H<sub>2</sub>O (50 mL)使反應混合物淬滅，並利用乙酸乙酯(30 mL × 3)萃取。將合併之有機層用鹽水(5 mL)洗滌，經無水硫酸鈉乾燥，過濾並在減壓下濃縮。殘餘物藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>，石油醚/乙酸乙酯= 2/ 1)進行純化，以產生呈黃色油狀物之**34.1** (950 mg, 2.14 mmol, 63.5%產率)；LCMS [M + H] : 345 ; RT= 0.73 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 氯仿-*d*) δ ppm 1.29 - 1.60 (m, 16 H), 1.76 - 2.04 (m, 2 H), 2.98 - 3.27 (m, 2 H), 3.80 (s, 3 H), 4.59 (br s, 1 H), 4.71 - 4.86 (m, 1 H), 6.95 (br d,  $J=6.61$  Hz, 1 H), 7.36 (dd,  $J=7.61, 4.74$  Hz, 1 H), 7.92 (dd,  $J=7.61, 1.87$  Hz, 1 H), 8.45 (dd,  $J=4.85, 1.98$  Hz, 1 H)



向於THF (5 mL)中之DIPA (1.08 g, 10.69 mmol, 1.50 mL, 5 當量)添加n-BuLi (2.5 M, 4.28 mL, 5 當量)；將此混合物在N<sub>2</sub>下在0°C下攪拌0.5小時。將此混合物添加至於THF (10 mL)中之**34.1** (950 mg, 2.14 mmol, 1 當量)及氯(碘)甲烷(1.89 g, 10.7 mmol, 776.65 μL, 5 當量)，並在-78°C下攪拌0.5小時。在25°C下利用NH<sub>4</sub>Cl (20 ml)使反應混合物淬滅，並利用乙酸乙酯(15 mL × 3)萃取。將合併之有機層用飽和Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (10 mL)、NaHCO<sub>3</sub> (10 mL)及鹽水(10 mL)洗滌。使其經無水硫酸鈉乾燥，過濾並在減壓下濃縮以產生**34.2** (1.1 g)。

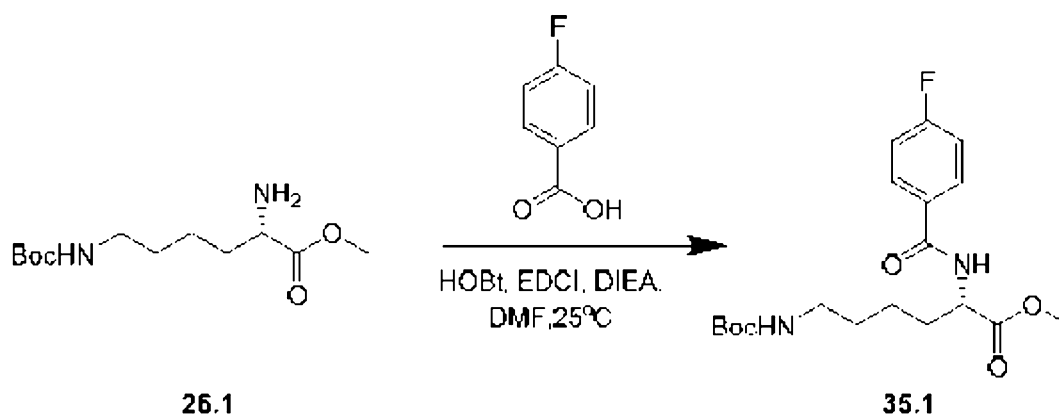


向於DMF (10 mL)中之**34.2** (1.1 g, 2.38 mmol, 1 當量)添加DIEA (921.63 mg, 7.13 mmol, 1.25 mL, 3 當量)及2,6-二氟苯酚(463.84 mg, 3.57 mmol, 1.5 當量)。將混合物在25°C下攪拌15小時；水處理之後，產物藉由半製備型HPLC (TFA條件)進行純化，以產生**34.3** (150 mg, 269.6 μmol, 11%產率)。



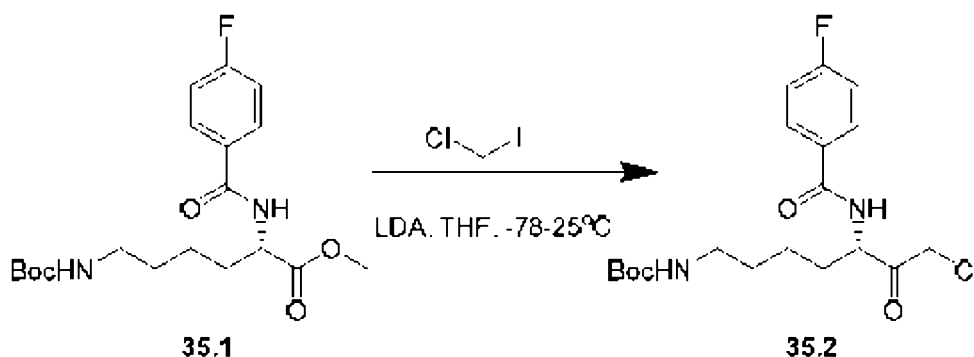
將於DCM (10 mL)及TFA (2 mL)中之34.3 (150 mg, 270  $\mu\text{mol}$ , 1 當量)在25°C下攪拌14小時。將混合物在減壓下濃縮以產生化合物34 (100 mg, 219.16  $\mu\text{mol}$ , 81.3%產率)；LCMS [M + H] : 456 ; RT = 2.28 min 。  
 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz , 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  ppm 1.51 - 1.88 (m, 6 H), 1.97 - 2.21 (m, 1 H), 2.95 (br t,  $J=7.50$  Hz, 2 H), 4.96 (dd,  $J=9.70, 4.19$  Hz, 1 H), 5.00 - 5.14 (m, 1 H), 6.93 - 7.15 (m, 2 H), 7.41 - 7.56 (m, 1 H), 7.73 - 7.89 (m, 1 H), 8.35 - 8.48 (m, 1 H) 。

### 實例31. (S)-N-(7-胺基-1-(2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)-4-氟苯甲醯胺(35)之製備

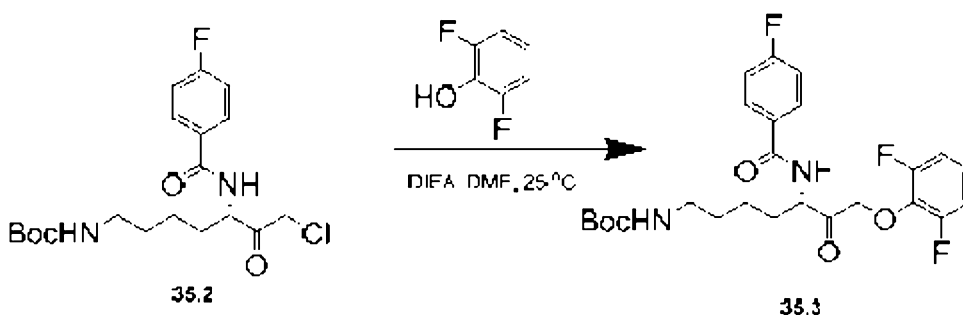


向於DMF (15 mL)中之4-(氟)苯甲酸(538.2 mg, 3.84 mmol, 1 當量)添加HOBt (570.75 mg, 4.22 mmol, 1.1 當量)及EDCI (809.74 mg, 4.22 mmol, 1.1 當量)；將混合物在25°C下攪拌0.5 h。向該混合物添加**26.1** (1 g, 3.84 mmol, 1 當量)及DIEA (1.99 g, 15.36 mmol, 2.68 mL, 4 當量)；將

反應攪拌14 h。藉由添加H<sub>2</sub>O (50 mL)使反應混合物淬滅，並用EtOAc (50 mL × 3)萃取。將合併之有機層用飽和NaHCO<sub>3</sub> (25 mL)洗滌，經無水硫酸鈉乾燥，過濾並在減壓下濃縮以產生**35.1** (1.10 g)；LCMS [M + H] : 369 ; RT = 0.8 min。

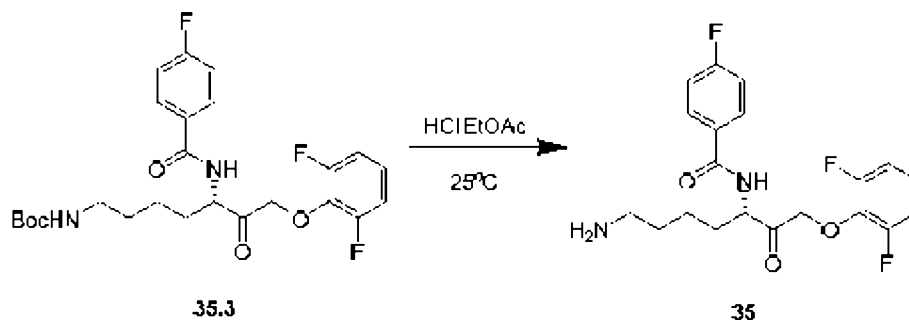


向於THF (10 mL)中之DIPA (1.32 g, 13.05 mmol, 1.83 mL, 5當量)添加n-BuLi (835.98 mg, 13.05 mmol, 5當量)；將其在N<sub>2</sub>下在25°C下攪拌0.5 h。將混合物添加至於THF (10 mL)中之**35.1** (1 g, 2.61 mmol, 1當量)及氯(碘)甲烷(5當量)，然後在-78°C下攪拌2h。藉由添加飽和氯化銨(30 mL)使反應混合物淬滅，並用EtOAc (50 mL × 3)萃取。將合併之有機層用飽和亞硫酸氫鈉(25 mL)及鹽水洗滌。使其經無水硫酸鈉乾燥，過濾並在減壓下濃縮以產生**35.2** (800 mg, 2 mmol, 77%產率)。產物不經進一步純化即用於下一步驟中；LCMS [M + H] : 402 ; RT = 0.8 min。



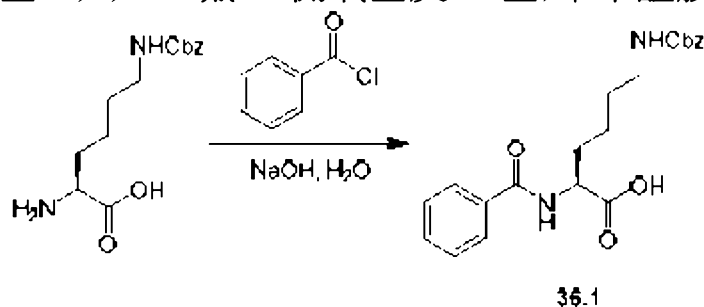
向於DMF (10 mL)中之**35.2** (800 mg, 2 mmol, 1當量)添加DIEA (773.76 mg, 5.99 mmol, 1.05 mL, 3當量)及2,6-二氟苯酚(389.42 mg, 2.99 mmol, 1.5當量)。將混合物在25°C下攪拌15小時。水處理之後，藉由

半製備型HPLC (TFA條件)對其進行純化，以產生**35.3** (80 mg, 161.78  $\mu\text{mol}$ , 8 %產率)；LCMS [M + H] : 495 ; RT = 0.94 min。



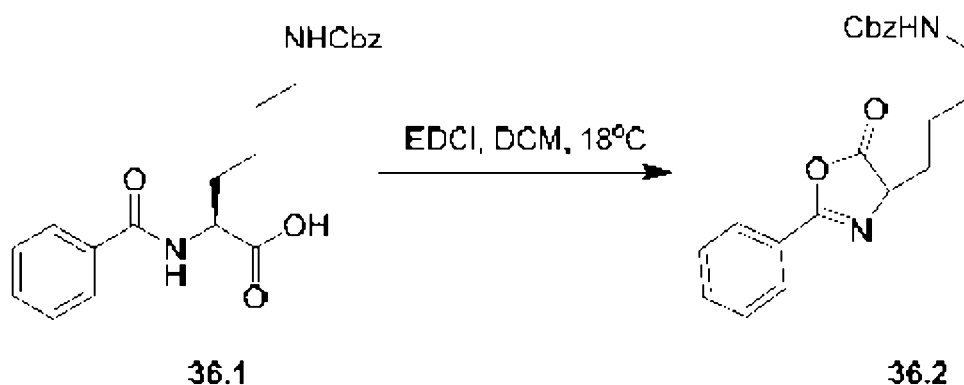
將於HCl/EtOAc (15 mL)中之**35.3** (80 mg, 232.95  $\mu\text{mol}$ )在25°C下攪拌14小時。過濾反應混合物並在減壓下濃縮以產生化合物**35** (50 mg, 205.51  $\mu\text{mol}$ , 88%產率)；LCMS [M + H] : 244 ; RT = 0.104 min。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  ppm 1.51 - 1.65 (m, 2 H), 1.67 - 1.87 (m, 3 H), 2.05 - 2.18 (m, 1 H), 2.95 (br d,  $J=5.29$  Hz, 2 H), 4.90 - 4.95 (m, 1 H), 4.95 - 5.07 (m, 2 H), 6.96 - 7.02 (m, 2 H), 7.03 - 7.12 (m, 1 H), 7.22 (t,  $J=8.82$  Hz, 2 H), 7.92 (dd,  $J=8.82, 5.29$  Hz, 2 H)。

### 實例32. N-(7-胺基-1,1,1-三氟-2-側氧基庚-3-基)苯甲醯胺(36)之製備

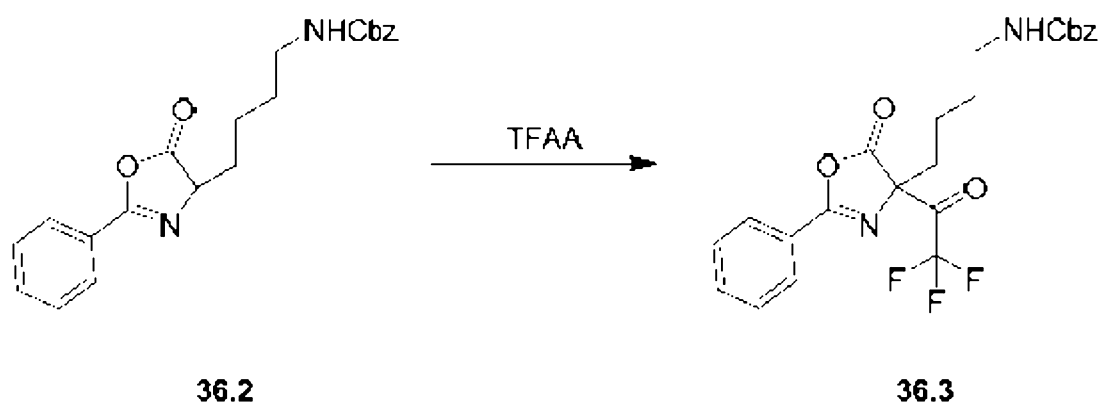


在 $\text{N}_2$ 下在0°C下向於 $\text{H}_2\text{O}$  (6 mL)中之 $\epsilon$ -Cbz離胺酸(2.4 g, 8.56 mmol, 1當量)一次性添加NaOH (684.93 mg, 17.12 mmol, 2當量)。將混合物在0°C下攪拌1小時。然後向混合物逐滴添加化合物苯甲醯氯(1.20 g, 8.56 mmol, 994.64  $\mu\text{L}$ , 1當量)，並將混合物攪拌9小時。過濾反應混合物並將固體用EtOAc (10 ml)洗滌，以產生呈白色固體之**36.1** (4 g)；LCMS [M +

H] : 385 ; RT = 0.77 min 。

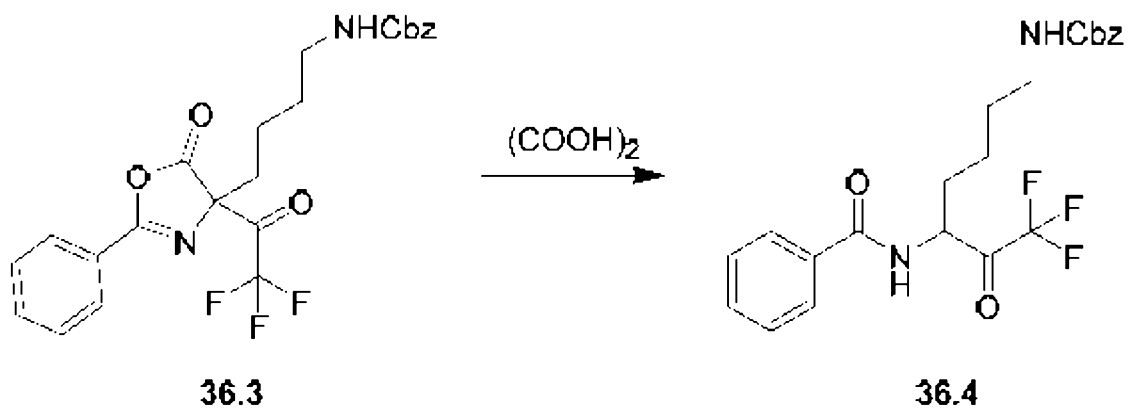


在 $\text{N}_2$ 下在 $18^\circ\text{C}$ 下向於DCM (40 mL)中之**36.1** (4 g, 10.41 mmol, 1當量)一次性添加EDCI (2 g, 10.41 mmol, 1當量)。將混合物在 $18^\circ\text{C}$ 下攪拌0.5小時。藉由添加 $\text{H}_2\text{O}$  (40 mL)使反應混合物淬滅，然後用DCM (20 mL  $\times$  3)萃取。將合併之有機層用 $\text{NaHCO}_3$  (50mL)洗滌，經 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 乾燥，過濾並在減壓下濃縮以產生**36.2** (5 g)；LCMS [M + H] : 367 ; RT = 0.87 min 。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz , 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  ppm 1.33 - 2.02 (m, 7 H), 3.10 - 3.17 (m, 2 H), 4.35 - 4.54 (m, 1 H), 4.98 - 5.06 (m, 2 H), 7.28 - 7.38 (m, 5 H), 7.42 - 7.50 (m, 2 H), 7.52 - 7.58 (m, 1 H), 7.76 - 7.86 (m, 2 H) 。

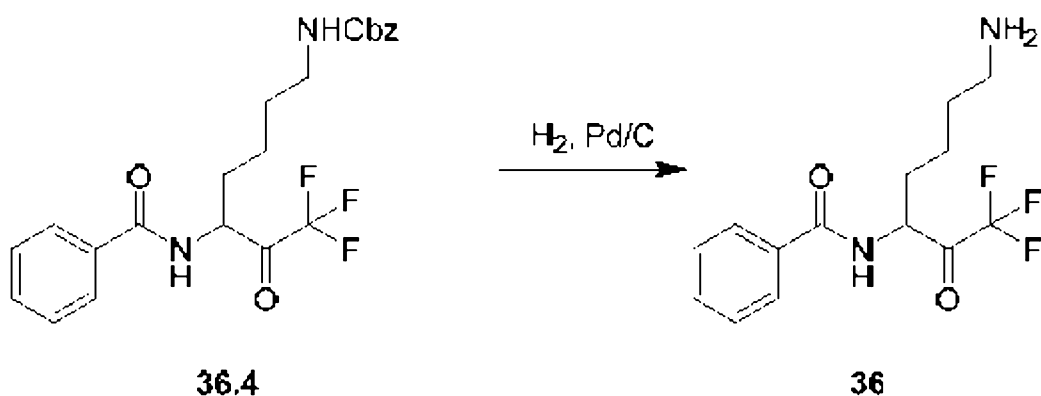


向**36.2** (3 g, 8.19 mmol, 1當量)添加TFAA (2.06 g, 9.83 mmol, 1.37 mL, 1.2當量)；將其在 $40^\circ\text{C}$ 下攪拌10小時。將反應混合物在減壓下濃縮以產生**36.3** (3.5 g, 7.57 mmol, 92%產率)；LCMS [M + H] : 463 ; RT = 0.96 min 。





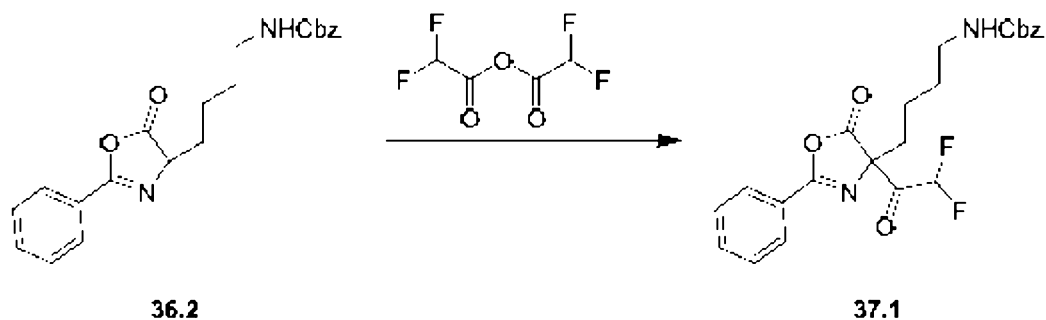
向**36.3** (3 g, 6.49 mmol, 1 當量)添加草酸(934.53 mg, 10.38 mmol, 916  $\mu\text{L}$ , 1 當量)。將混合物在 $120^\circ\text{C}$ 下攪拌5 min。然後藉由添加 $\text{H}_2\text{O}$  (20 mL)使其淬滅，並用EtOAc (20 mL  $\times$  2)萃取。將合併之有機層用鹽水(40 mL)洗滌，經 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 乾燥，過濾並濃縮。殘餘物藉由半製備型HPLC (TFA條件)進行純化以產生**36.4** (200 mg, 458.27  $\mu\text{mol}$ , 7%產率)；LCMS [M + H] : 437 ; RT = 0.9 min 。  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz , 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  ppm 1.21 - 1.96 (m, 7 H), 3.04 - 3.16 (m, 2 H), 4.30 - 4.51 (m, 1 H), 4.99 (s, 1 H), 7.27 - 7.34 (m, 3 H), 7.40 - 7.47 (m, 1 H), 7.48 - 7.56 (m, 1 H), 7.74 - 7.83 (m, 1 H)。



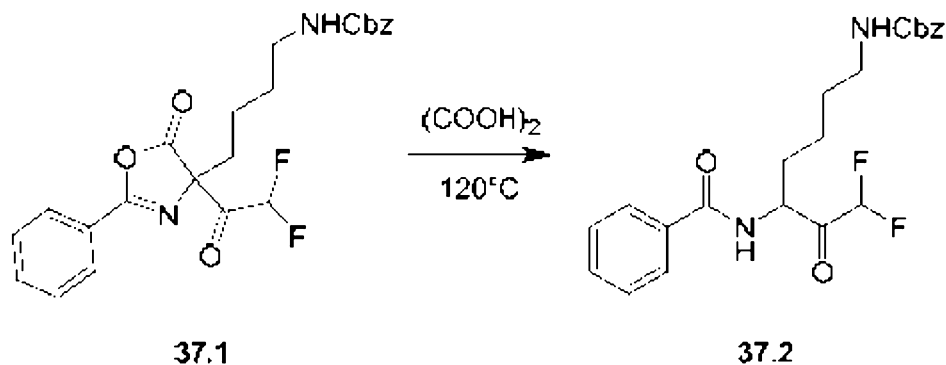
在 $\text{N}_2$ 下向於i-PrOH (10 mL)及HCl (1 M, 2 mL, 8.73 當量)中之**36.4** (100 mg, 229.14  $\mu\text{mol}$ , 1.00 當量)添加Pd-C (10%, 0.02 g)。將懸浮液在真空下脫氣並用 $\text{H}_2$ 吹掃若干次。將混合物在 $\text{H}_2$  (50 psi)下在 $18^\circ\text{C}$ 下攪拌10小時。過濾反應混合物並在減壓下濃縮。殘餘物藉由半製備型HPLC (中性

條件)進行純化，以產生化合物36 (20 mg, 66.16  $\mu\text{mol}$ , 29%產率)；LCMS [M + H] : 303 ; RT = 1.73 min 。  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz , 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  ppm 1.27 - 2.04 (m, 6 H), 2.88 (br s, 1 H), 4.50 (br t,  $J=12.04$  Hz, 1 H), 7.44 - 7.52 (m, 2 H), 7.53 - 7.61 (m, 1 H), 7.73 - 7.90 (m, 2 H) 。

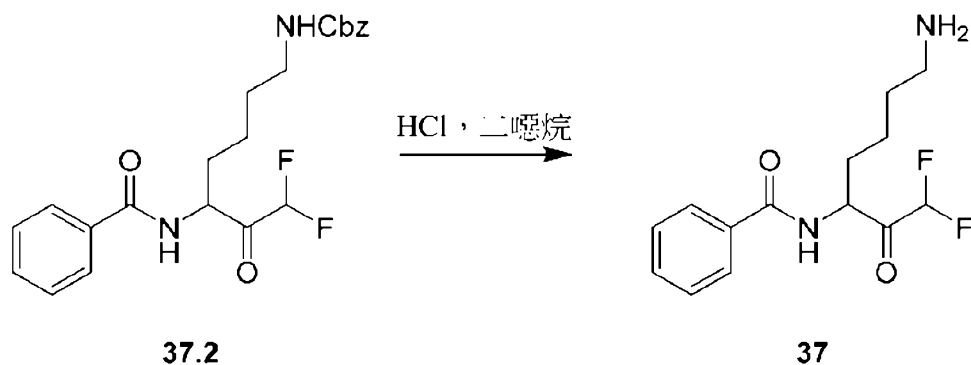
### 實例33. N-(7-胺基-1,1-二氟-2-側氧基庚-3-基)苯甲醯胺(37)之製備



將於二氟乙酸酐(1.71 g, 9.83 mmol, 3 當量)中之**36.2** (1.2 g, 3.28 mmol, 1 當量)在40 $^{\circ}\text{C}$ 下攪拌2小時。將反應混合物在減壓下濃縮以產生**37.1** (1.2 g, 粗製)；LCMS [M + H] : 445 ; RT = 0.91 min 。

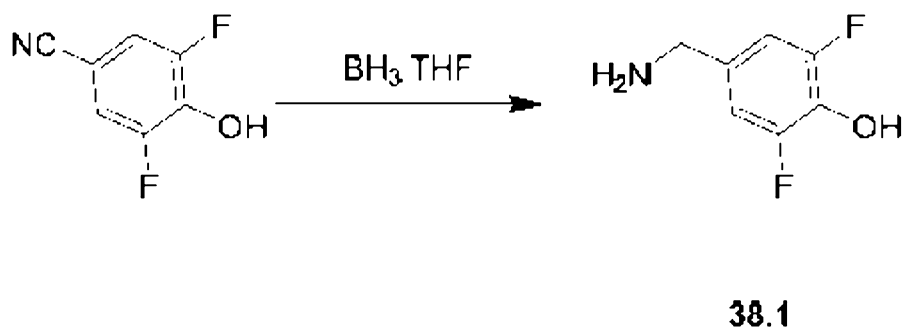


將**37.1** (1.2 g, 2.70 mmol, 1 當量)及草酸(486.18 mg, 5.40 mmol, 476.64  $\mu\text{L}$ , 2 當量)在 $\text{N}_2$ 下在120 $^{\circ}\text{C}$ 下攪拌10 min。將混合物在減壓下濃縮並藉由管柱層析( $\text{SiO}_2$ , 乙酸乙酯)進行純化以產生粗製品**37.2**，然後藉由半製備級HPLC (中性條件)進行進一步純化以產生純**37.2** (120 mg, 286.79  $\mu\text{mol}$ , 80%產率)；LCMS [M + H] : 419 ; RT = 0.79 min 。



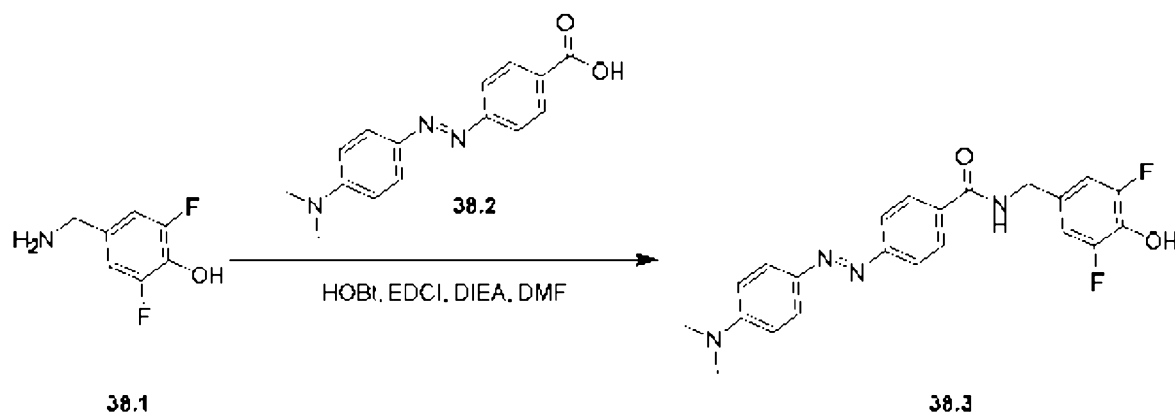
將於HCl (1 mL)及二噁烷(1 mL)中之**37.2** (10 mg, 23.9  $\mu\text{mol}$ , 1 當量)在50°C下攪拌2小時。將混合物在減壓下濃縮，並藉由半製備級HPLC (中性條件)進行純化以產生化合物**37** (120 mg, 287  $\mu\text{mol}$ , 80%產率)；LCMS [M + H] : 285 ; RT = 2.0 min。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  ppm 1.38 - 1.57 (m, 1 H), 1.72 - 1.97 (m, 5 H), 2.01 - 2.14 (m, 1 H), 3.70 - 3.85 (m, 1 H), 4.05 (br dd,  $J=12.35, 6.84$  Hz, 1 H), 5.95 - 6.29 (m, 1 H), 7.44 - 7.60 (m, 4 H), 7.81 - 7.90 (m, 2 H)。

**實例34. 具有可裂解之淬滅劑(S,E)-N-(7-胺基-1-(4-((4-((4-(二甲基胺基)苯基)二氮烯基)苯甲醯胺基)甲基)-2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)-3-(4-((3-(5,5-二氟-7,9-二甲基-5H-514,614-二吡咯並[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]二氮雜硼環三烯-3-基)丙醯胺基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苯甲醯胺(38)之螢光牙齦蛋白酶活性探針之製備**

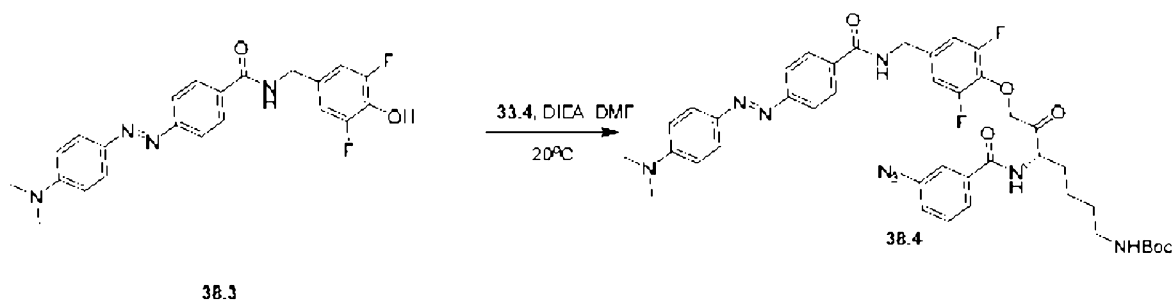


向2,6-二氟-4-氰基酚(2.5 g, 16.12 mmol, 1 當量)添加BH<sub>3</sub>-THF (1 M, 64.48 mL, 4 當量)。將混合物在70°C下攪拌10小時。藉由在25°C下添

加HCl (6 M, 5 mL)使反應淬滅，然後將其在減壓下濃縮，以產生呈白色固體之**38.1** (7.1 g, 粗製)。

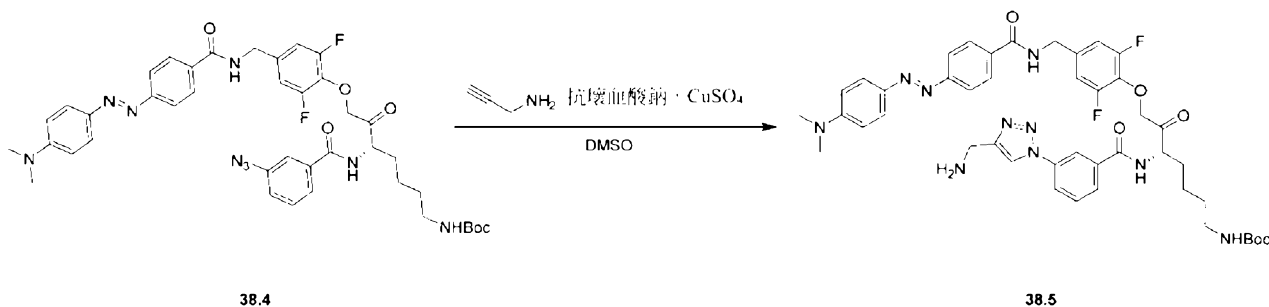


向於DMF (15 mL)中之**38.2** (6.09 g, 22.62 mmol, 1 當量)添加HOBt (3.36 g, 24.88 mmol, 1.1 當量)及EDCI (4.77 g, 24.88 mmol, 1.1 當量)。將混合物在0°C下攪拌1小時，然後添加**38.1** (3.60 g, 22.62 mmol, 1 當量)及DIEA (11.70 g, 90.48 mmol, 15.81 mL, 4.00 當量)；將此混合物在25°C下攪拌11小時。用H<sub>2</sub>O (20 mL)稀釋反應，並用EtOAc (20 mL × 3)萃取。將合併之有機層用鹽水(20 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在減壓下濃縮。藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>，石油醚/乙酸乙酯= 1/1)對其進行純化，以產生呈紅色固體之**38.3** (400 mg, 974.6 μmol)。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 甲醇-*d*<sub>4</sub>) δ ppm 3.11 (s, 6 H), 4.48 (s, 2 H), 6.84 (d, *J*=9.29 Hz, 2 H), 6.90 - 6.98 (m, 2 H), 7.78 - 7.90 (m, 4 H), 7.94 - 8.01 (m, 2 H)。

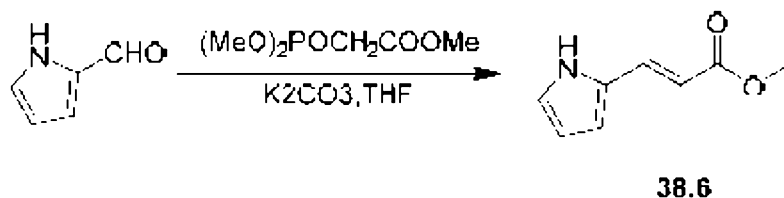


在N<sub>2</sub>下在20°C下向於DMF (10 mL)中之**33.4** (1 g, 2.36 mmol, 1 當量)及**38.3** (100 mg, 243.65 μmol, 0.1 當量)一次性添加DIPEA (1.22 g,

9.44 mmol, 1.65 mL, 4 當量)。將混合物在20°C下攪拌10小時。用H<sub>2</sub>O (10 mL)稀釋反應混合物，並用EtOAc (10 mL × 3)萃取。將合併之有機層用鹽水(30 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並濃縮。藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>，石油醚/乙酸乙酯= 1/1)對其進行純化，以產生呈紅色固體之**38.4** (250 mg, 313.34 μmol)。

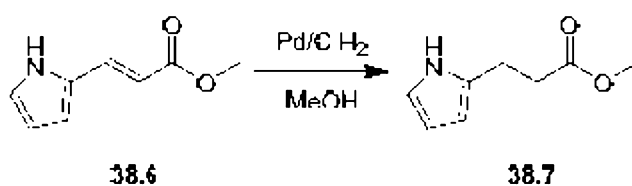


在N<sub>2</sub>下在18°C下向**38.4** (220 mg, 275.74 μmol, 1 當量)及丙-2-炔-1-胺(15.19 mg, 275.74 μmol, 17.66 μL, 1 當量)於DMSO (2 mL)中之混合物一次性添加CuSO<sub>4</sub> (8.8 mg, 55.15 μmol, 8.46 μL, 0.2 當量)於H<sub>2</sub>O (100 μL)中之溶液及抗壞血酸鈉(109.25 mg, 551.48 μmol, 2 當量)。將此混合物在18°C下攪拌5 min。用H<sub>2</sub>O (5 mL)稀釋反應混合物，並用EtOAc (5 mL × 3)萃取。將合併之有機層用鹽水(10 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並濃縮，以產生呈棕色固體之**38.5** (250 mg)；LCMS [M + H] : 853 ; RT = 1.14 min。

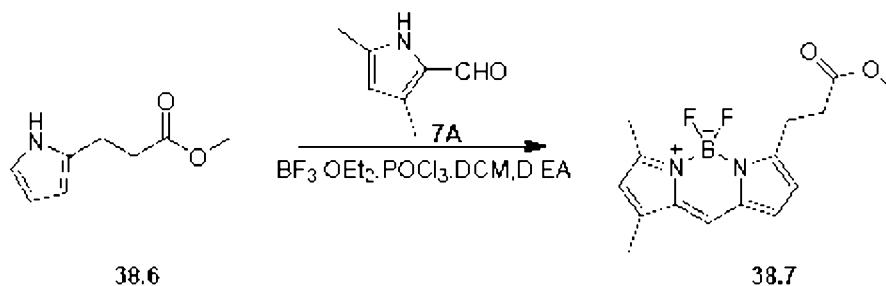


在N<sub>2</sub>下在50°C下向於THF (60 mL)中之2-甲醯基吡咯(5 g, 52.58 mmol, 1 當量)及2-二乙氧基磷醯基乙酸甲基酯(11.05 g, 52.58 mmol, 1 當量)添加K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (14.53 g, 105.16 mmol, 2 當量)。將混合物在50°C下攪拌

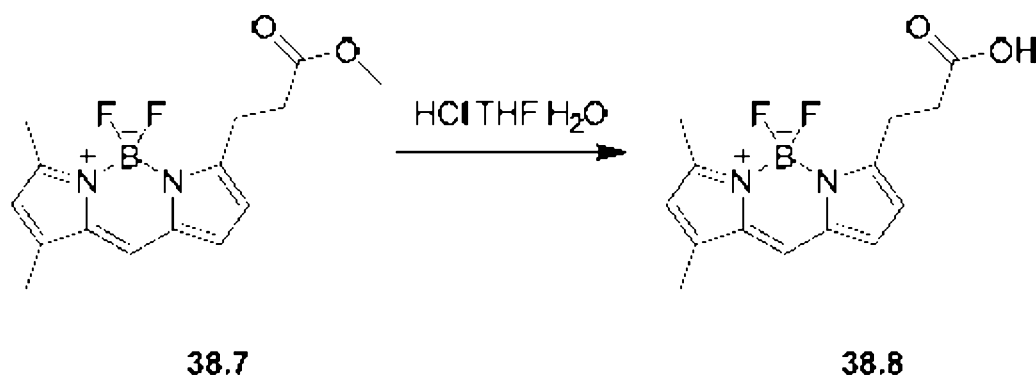
10小時。用H<sub>2</sub>O (50 mL)稀釋反應，並用EtOAc (50 mL × 3)萃取。將合併之有機層用鹽水(100 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並濃縮。此材料藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>，石油醚/乙酸乙酯= 5/1)進行純化，以產生呈白色固體之**38.6** (8.6 g, 57 mmol)；LCMS [M + H] : 152 ; RT = 0.68 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz，甲醇-d<sub>4</sub>) δ ppm 3.69 - 3.76 (m, 3 H), 6.04 - 6.13 (m, 1 H), 6.15 - 6.21 (m, 1 H), 6.31 (dt, *J*=3.91, 2.12 Hz, 1 H,) 6.45 - 6.57 (m, 1 H), 6.92 (br d, *J*=1.32 Hz, 1 H), 6.98 - 7.21 (m, 1 H), 7.44 - 7.59 (m, 1 H)。



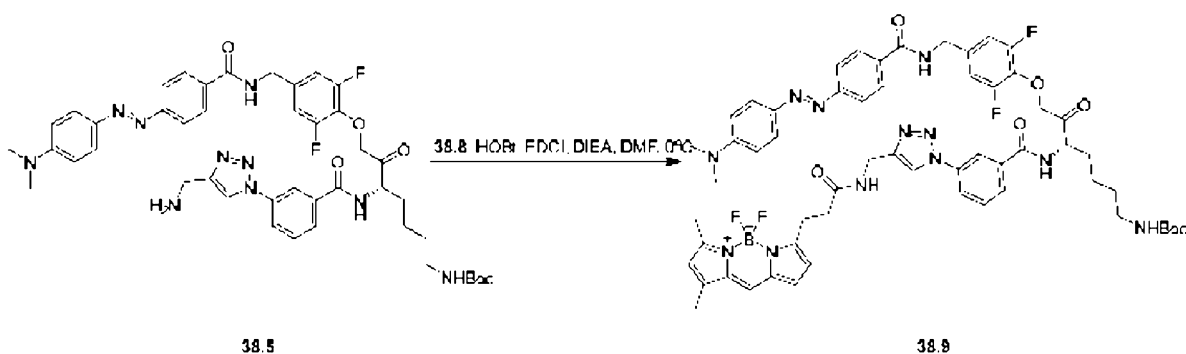
在N<sub>2</sub>下向於MeOH (100 mL)中之**38.6** (8.6 g, 56.89 mmol)添加Pd-C (10%, 0.9 g)。將懸浮液在真空下脫氣並用H<sub>2</sub>吹掃若干次。將混合物在H<sub>2</sub> (50 psi)下在18°C下攪拌10小時。將反應混合物過濾並濃縮。此材料藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>，石油醚/乙酸乙酯= 5/1)進行純化，以產生**38.6** (5 g, 32.64 mmol)；LCMS [M + H] : 154 ; RT = 0.55 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz，氯仿-d) δ ppm 2.66 (t, *J*=6.78 Hz, 2 H), 2.93 (t, *J*=6.71 Hz, 2 H), 3.62 - 3.78 (m, 3 H), 5.80 - 5.99 (m, 1 H), 6.12 (q, *J*=2.76 Hz, 1 H) 6.60 - 6.76 (m, 1 H), 8.54 (br s, 1 H)。



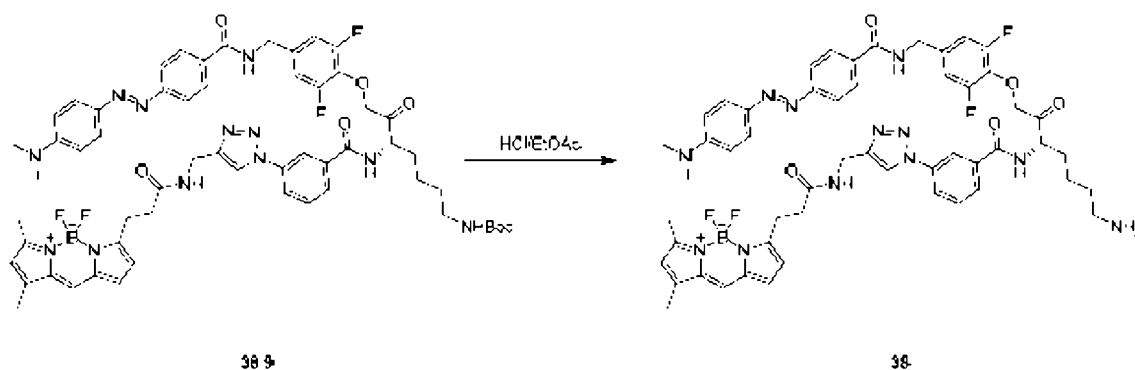
在N<sub>2</sub>下在18°C下向於DCM (60 mL)中之**38.6** (3 g, 19.58 mmol, 1當量)及化合物2-甲醯基-3,5-二甲基吡咯(2.65 g, 21.54 mmol, 1.1當量)一次性添加POCl<sub>3</sub> (3.3 g, 21.54 mmol, 2 mL, 1.1當量)。將混合物在18°C下攪拌10小時，然後在18°C下逐滴添加BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O (11.12 g, 78.32 mmol, 9.67 mL, 4當量)及DIEA (10.63 g, 82.24 mmol, 14.36 mL, 4.2當量)。將此混合物在18°C下攪拌10小時。將反應混合物過濾，然後用H<sub>2</sub>O (50 mL)稀釋，並用DCM (50 mL × 3)萃取。將合併之有機層用鹽水(100 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並濃縮。藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>，石油醚/乙酸乙酯=1/4)對其進行純化，以產生**38.7** (3 g, 9.80 mmol)。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz，氯仿-*d*) δ ppm 2.25 (s, 3 H), 2.57 (s, 3 H), 2.78 (t, *J*=7.59 Hz, 2 H), 3.30 (t, *J*=7.65 Hz, 2 H), 3.67 - 3.78 (m, 3 H), 6.11 (s, 1 H), 6.27 (d, *J*=3.89 Hz, 1 H), 6.88 (d, *J*=3.89 Hz, 1 H), 7.08 (s, 1 H)。



將於THF (120 mL)及H<sub>2</sub>O (80 mL)中之**38.7** (1.2 g, 3.92 mmol, 1當量)及HCl (50 mL, 37%)在18°C下攪拌24小時。利用DCM (80 mL)分配反應混合物並用DCM (100 mL × 2)萃取水層。將合併之有機層用鹽水(300 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並濃縮。此材料藉由製備級TLC (SiO<sub>2</sub>, DCM: MeOH = 10:1)進行純化，以產生呈紅色固體之**38.8** (700 mg, 2.4 mmol)。



在N<sub>2</sub>下在0°C下向**38.8** (109.59 mg, 375.18 μmol, 2當量)及HOBt (152.08 mg, 1.13 mmol, 6當量)於DMF (2 mL)中之混合物添加EDCI (215.76 mg, 1.13 mmol, 6當量)。將混合物在0°C下攪拌10 min。向此混合物添加**38.5** (160 mg, 187.59 μmol, 1當量)及DIPEA (145.46 mg, 1.13 mmol, 196.57 μL, 6當量)，將此混合物在0°C下攪拌20 min。用H<sub>2</sub>O (5 mL)稀釋反應混合物，並用EtOAc (5 mL × 3)萃取。將合併之有機層用鹽水(10 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並濃縮。殘餘物藉由製備級TLC (SiO<sub>2</sub>, EtOAc)進行純化，以產生**38.9** (60 mg, 53.24 μmol)；LCMS [M + H] : 1128 ; RT = 1.45 min。

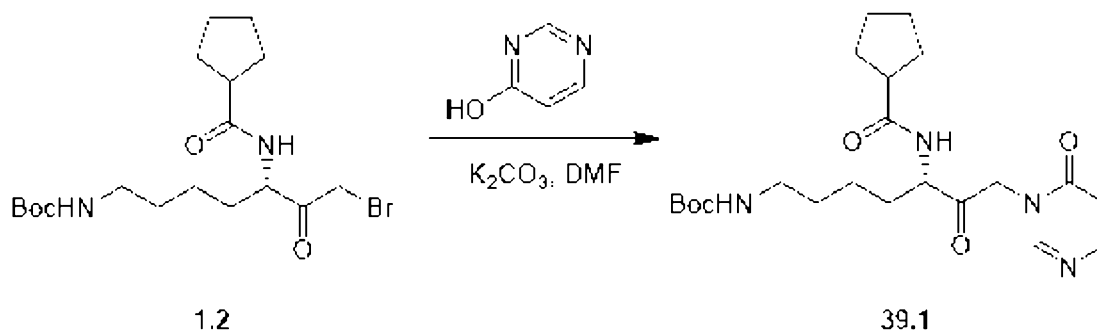


將**38.9** (50 mg, 44.37 μmol, 1當量)添加至HCl/ EtOAc (5 mL)，並將混合物在18°C下攪拌10 min。將反應在減壓下濃縮，然後藉由半製備級HPLC (TFA條件)進行純化，以產生化合物**38** (10 mg, 9.74 μmol)；LCMS [M + H] : 1027 ; RT = 2.82 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1.23 - 1.59 (m, 4 H), 1.67 (br d, J=9.48 Hz, 1 H), 1.85 (br d,

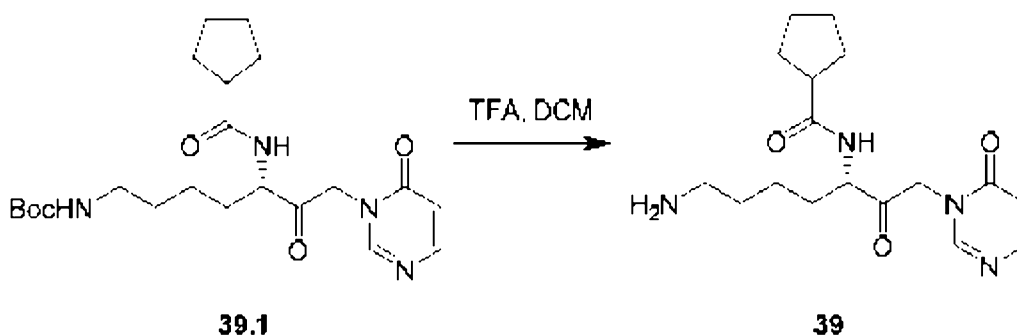


$J=6.62$  Hz, 1 H), 2.21 (s, 2 H), 2.42 (s, 3 H), 2.53 (br d,  $J=7.94$  Hz, 2 H), 2.74 (br d,  $J=6.39$  Hz, 2 H), 3.04 (s, 5 H), 3.06 - 3.11 (m, 1 H), 4.39 (br d,  $J=5.51$  Hz, 5 H), 4.64 (br s, 1 H), 4.99 - 5.20 (m, 2 H), 6.25 (s, 1 H), 6.32 (br d,  $J=3.97$  Hz, 1 H), 6.81 (br d,  $J=9.04$  Hz, 2 H), 6.96 - 7.10 (m, 2 H), 7.52 - 7.62 (m, 3 H), 7.68 (br t,  $J=8.05$  Hz, 1 H), 7.79 (br dd,  $J=8.60, 4.41$  Hz, 3 H), 7.90 - 8.01 (m, 2 H), 8.04 (d,  $J=7.72$  Hz, 1 H), 8.36 (s, 1 H), 8.47 - 8.58 (m, 1 H), 8.64 (s, 1 H), 8.96 (br d,  $J=7.50$  Hz, 1 H), 9.07 - 9.20 (m, 1 H)。

**實例35. (S)-N-(7-胺基-2-側氧基-1-(6-側氧基嘓啶-1(6H)-基)庚-3-基)環戊烷甲醯胺(39)之製備**

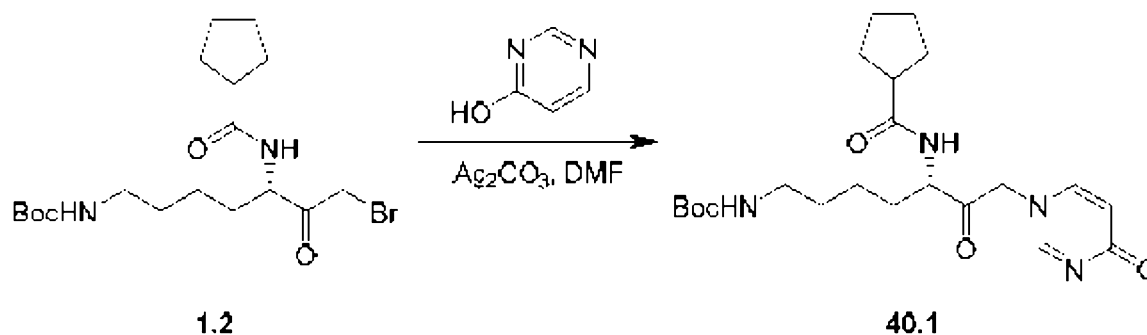


向於DMF (2 mL)中之**1.2** (150 mg, 357.7  $\mu\text{mol}$ , 1 當量)添加 $\text{K}_2\text{CO}_3$  (148.31 mg, 1.07 mmol, 3 當量)及4-羥基嘓啶(34.37 mg, 357.7  $\mu\text{mol}$ , 1 當量)。將混合物在 $25^\circ\text{C}$ 下攪拌15小時。殘餘物藉由半製備級HPLC (TFA條件)進行純化，以產生**39.1** (40 mg, 92.05  $\mu\text{mol}$ )；LCMS [M + H] : 435 ; RT = 0.76 min。

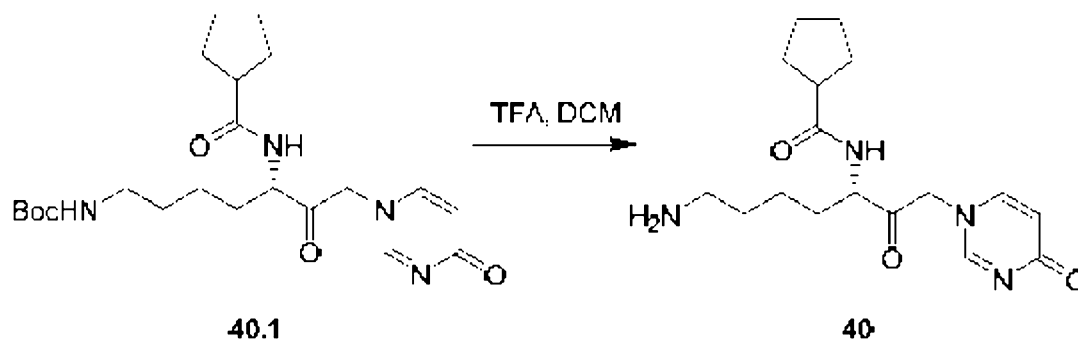


將於DCM (5 mL)及TFA (1 mL)中之**39.1** (40 mg, 92.05  $\mu\text{mol}$ , 1 當量)在25°C下攪拌15小時。將混合物在減壓下濃縮以產生化合物**39** (20 mg, 59.8  $\mu\text{mol}$ , 65%產率)；LCMS [M + H] : 335 ; RT = 0.25 min 。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz , 甲醇-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  ppm 1.37 - 1.57 (m, 2 H), 1.57 - 1.81 (m, 10 H), 1.83 - 2.06 (m, 3 H), 2.63 - 2.83 (m, 1 H), 2.94 (br t, *J*=7.50 Hz, 2 H), 4.52 (dd, *J*=8.49, 5.40 Hz, 1 H), 4.95 - 4.99 (m, 1 H), 4.97 (s, 1 H), 6.51 (d, *J*=6.61 Hz, 1 H), 8.00 (d, *J*=6.61 Hz, 1 H), 8.32 (s, 1 H)。

### 實例36. (S)-N-(7-胺基-2-側氧基-1-(4-側氧基嘧啶-1(4H)-基)庚-3-基)環戊烷甲醯胺(**40**)之製備

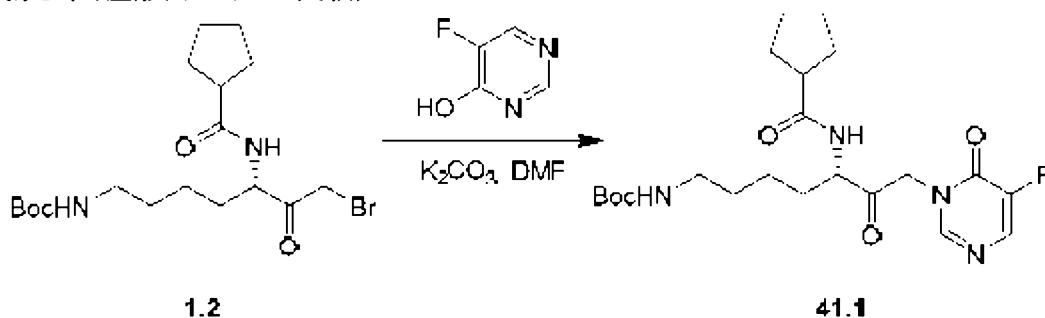


向於DMF (3 mL)中之**1.2** (100 mg, 238.46  $\mu\text{mol}$ , 1 當量)添加 $\text{Ag}_2\text{CO}_3$  (197.27 mg, 715.38  $\mu\text{mol}$ , 32.45  $\mu\text{L}$ , 3.00 當量)及4-羥基嘧啶(22.91 mg, 238.46  $\mu\text{mol}$ , 1 當量)。將混合物在25°C下攪拌15小時。殘餘物藉由半製備級HPLC (TFA條件)進行純化，以產生呈白色固體之**40.1** (30 mg, 69.04  $\mu\text{mol}$ , 29%產率)；LCMS [M + H] : 435 ; RT=0.74 min 。

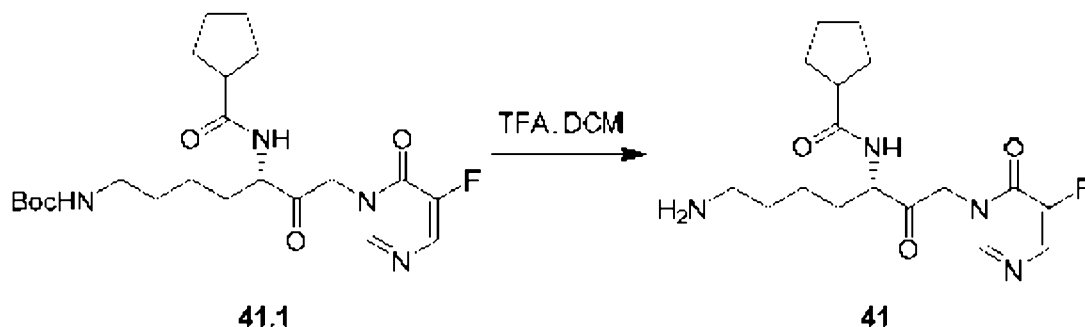


將於TFA (1 mL)及DCM (5 mL)中之**40.1** (30 mg, 69  $\mu\text{mol}$ , 1 當量) 在25°C下攪拌15小時。將混合物在減壓下濃縮以產生化合物**40** (2 mg, 6  $\mu\text{mol}$ ) ; LCMS [M + H] : 335 ; RT = 0.43 min 。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz , 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  ppm 1.24 - 1.57 (m, 4 H), 1.58 - 1.81 (m, 10 H), 1.82 - 2.03 (m, 4 H), 2.66 - 2.84 (m, 1 H), 2.86 - 3.03 (m, 2 H), 4.31 - 4.48 (m, 1 H), 4.95 - 5.19 (m, 2 H), 6.30 (d,  $J=7.58$  Hz, 1 H), 7.62 (br d,  $J=7.34$  Hz, 1 H), 8.23 (br s, 1 H)。

**實例37. (S)-N-(7-胺基-1-(5-氟-6-側氧基嘧啶-1(6H)-基)-2-側氧基庚-3-基)環戊烷甲醯胺(41)之製備**



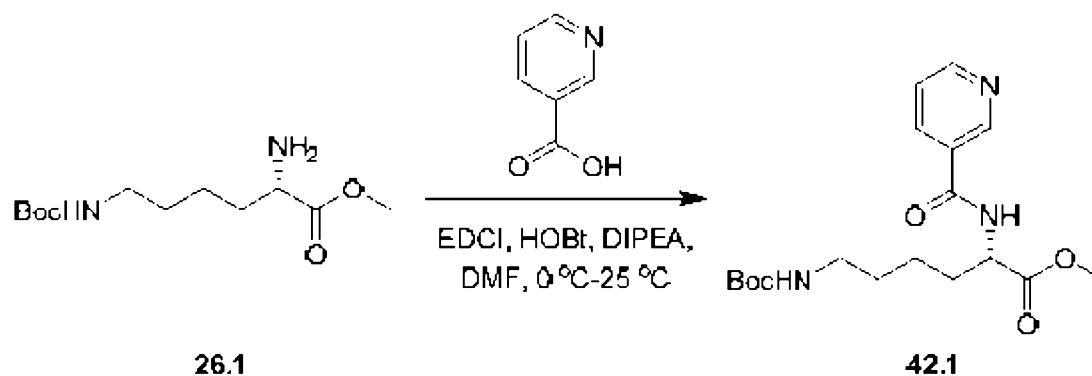
向於DMF (2 mL)中之**1.2** (150 mg, 357.7  $\mu\text{mol}$ , 1 當量)添加 $\text{K}_2\text{CO}_3$  (148.31 mg, 1.07 mmol, 3 當量)及5-氟嘧啶-4-醇(40.81 mg, 357.7  $\mu\text{mol}$ , 1 當量)。將混合物在25°C下攪拌15小時。殘餘物藉由半製備級HPLC (TFA 條件)進行純化，以產生呈白色固體之**41.1** (50.00 mg, 110.49  $\mu\text{mol}$ , 30.89%產率) ; LCMS [M + H] : 453 ; RT = 0.8 min。



將於DCM (5 mL)及TFA (1 mL)中之**41.1** (50 mg, 110.49  $\mu\text{mol}$ , 1 當

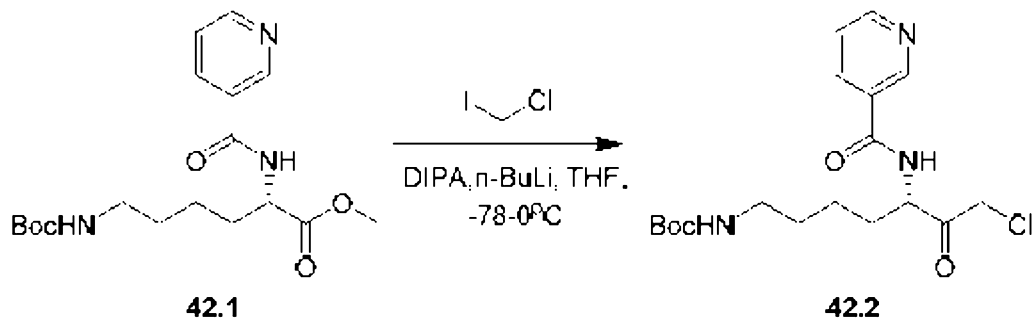
量)在25°C下攪拌15小時。將混合物在減壓下濃縮，以產生呈白色固體之化合物41 (30 mg, 85.13  $\mu$ mol, 77%產率)；LCMS [M + H] : 353 ; RT = 0.16 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 甲醇-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  ppm 1.28 - 1.47 (m, 2 H), 1.48 - 1.73 (m, 9 H), 1.75 - 1.98 (m, 3 H), 2.56 - 2.73 (m, 1 H), 2.86 (br t, *J*=7.52 Hz, 2 H), 4.44 (dd, *J*=8.56, 5.50 Hz, 1 H), 4.90 - 5.04 (m, 2 H), 7.95 (d, *J*=2.45 Hz, 1 H), 8.05 (s, 1 H)。

### 實例38. (S)-N-(7-胺基-2-側氧基-1-(2,3,6-三氟苯氧基)庚-3-基)菸鹼醯胺 (42)之製備

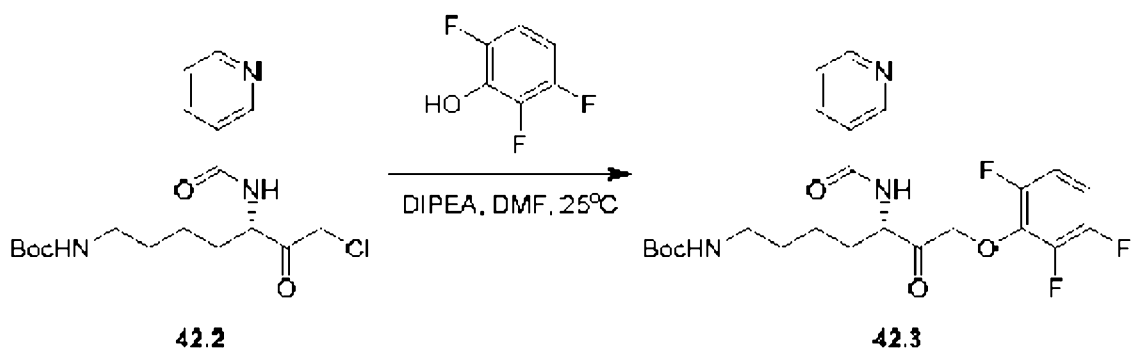


向於DMF (10 mL)中之菸鹼酸(497.86 mg, 4.04 mmol, 339  $\mu$ L, 1.2 當量)添加HOBT (501 mg, 3.71 mmol, 1.1 當量)及EDCI (710.5 mg, 3.71 mmol, 1.1 當量)。將混合物在0°C下攪拌1小時。然後將混合物添加至DIPEA (1.74 g, 13.48 mmol, 2.35 mL, 4 當量)及**26.1** (1 g, 3.37 mmol, 1.00 當量, HCl鹽)，並在25°C下攪拌11小時。用H<sub>2</sub>O (20 mL)稀釋反應混合物，並用EtOAc (20 mL  $\times$  3)萃取。將合併之有機層用鹽水(20 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並濃縮。殘餘物藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>，石油醚/乙酸乙酯= 20/1至0/1)進行純化，以產生呈無色油狀物之**42.1** (800 mg, 2.19 mmol, 65%產率)。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 氯仿-*d*)  $\delta$  ppm 1.41 (br s, 10 H), 1.54 (br d, *J*=6.11 Hz, 3 H), 1.81 - 2.06 (m, 3 H), 3.14 (br s, 2 H), 3.80

(br d,  $J=2.69$  Hz, 3 H), 4.06 - 4.20 (m, 1 H), 7.04 (br s, 1 H), 7.40 (br d,  $J=5.14$  Hz, 1 H), 8.16 (br s, 1 H), 8.76 (br s, 1 H), 9.07 (br s, 1 H)。

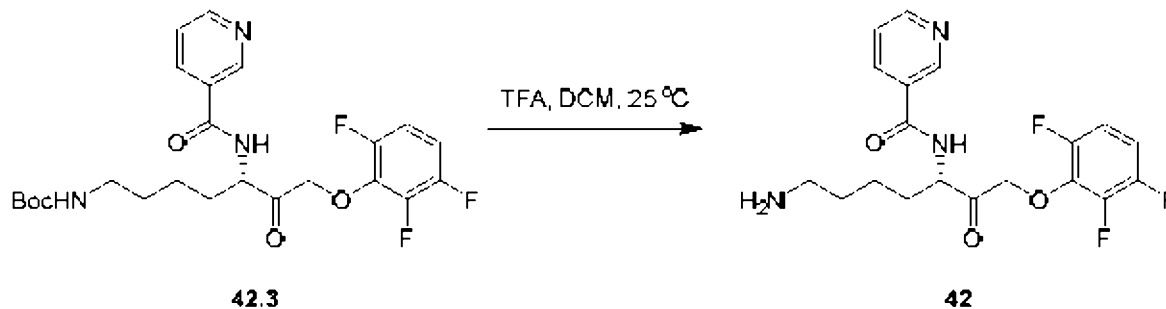


向DIPEA (648 mg, 6.4 mmol, 9  $\mu\text{L}$ , 6當量)於THF (5 mL)中之溶液添加n-BuLi (2.5 M, 2.56 mL, 6當量)；將其於0°C下攪拌1小時。向於THF (5 mL)中之**42.1** (390 mg, 1.07 mmol, 1當量)添加氯(碘)甲烷(1.13 g, 6.4 mmol, 464.8  $\mu\text{L}$ , 6當量)；將其於-78°C下攪拌30 min。然後將該兩種混合物合併並在-78°C下攪拌2小時。藉由添加NH<sub>4</sub>Cl溶液(15 mL)使反應淬滅，並用EtOAc (20 mL  $\times$  3)萃取。將合併之有機層用Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>溶液(15 mL)、NaHCO<sub>3</sub>溶液(15 mL)及鹽水(15 mL)洗滌；使其經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在減壓下濃縮以產生**42.2** (410 mg)；LCMS [M + H] : 384 ; RT = 0.79 min。



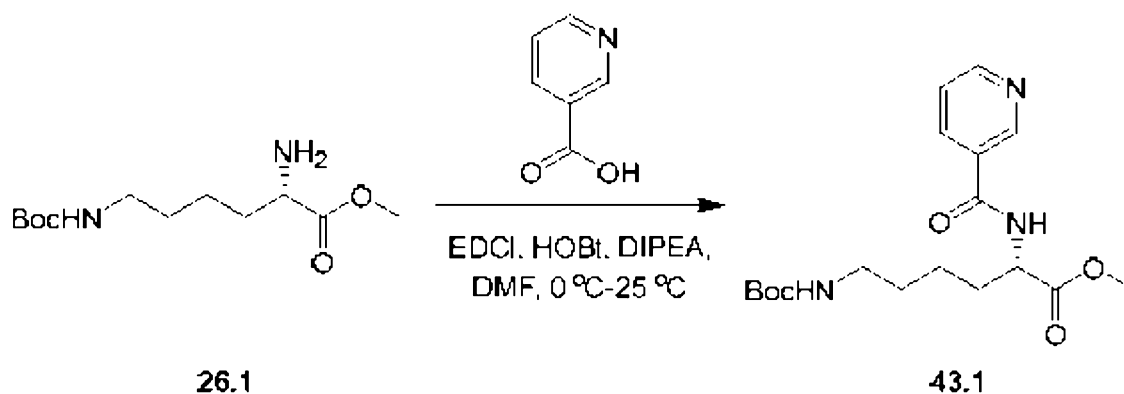
向於DMF (5 mL)中之**42.2** (410 mg, 1.07 mmol, 1當量)添加DIPEA (553.15 mg, 4.28 mmol, 747.5  $\mu\text{L}$ , 4當量)及2,3,6-三氟苯酚(158.45 mg, 1.07 mmol, 1當量)。將混合物在25°C下攪拌12小時。殘餘物藉由半製備級HPLC (管柱：Waters Xbridge 150  $\times$  25  $\times$  5 $\mu$ ；移動相：[A：水

(0.1% TFA) ; B : AcN] ; B之梯度 : 24%-65%經12 min)進行純化，以產生**42.3** (40 mg, 90  $\mu$ mol) ; LCMS [M + H] : 496 ; RT = 0.80 min。



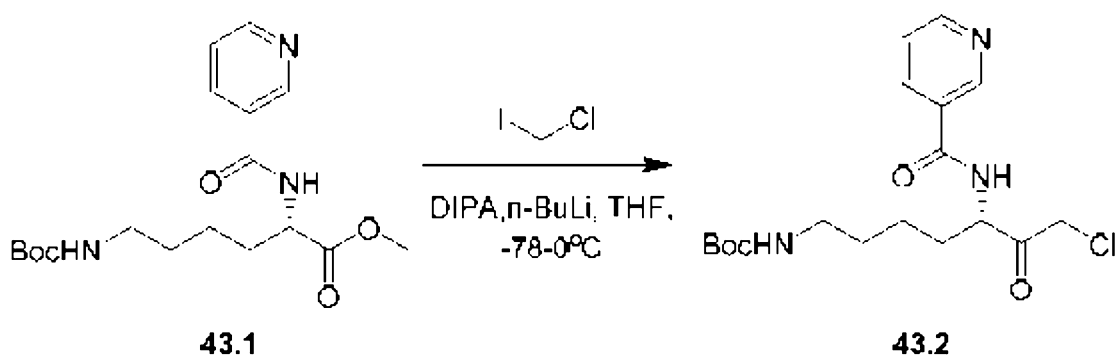
向於CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL)中之**42.3** (40.00 mg, 80.73  $\mu$ mol)添加TFA (1 mL)，並在25°C下攪拌12小時。將反應混合物在減壓下濃縮以去除溶劑，產生化合物**42** (20 mg, 50.59  $\mu$ mol, 63%產率) ; LCMS [M + H] : 396 ; RT = 0.76 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$  ppm 1.48 - 1.67 (m, 2 H), 1.70 - 1.91 (m, 3 H), 2.08 - 2.19 (m, 1 H), 2.91 - 3.03 (m, 1 H), 2.97 (br t,  $J=7.03$  Hz, 1 H), 4.95 - 5.01 (m, 1 H), 5.05 - 5.25 (m, 2 H), 6.94 - 7.09 (m, 2 H), 7.68 - 7.81 (m, 1 H), 8.39 - 8.51 (m, 1 H), 8.75 - 8.85 (m, 1 H), 9.01 - 9.14 (m, 1 H)。

**實例39. (S)-N-(7-胺基-1-(2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)菸鹼鹽胺(43)之製備**



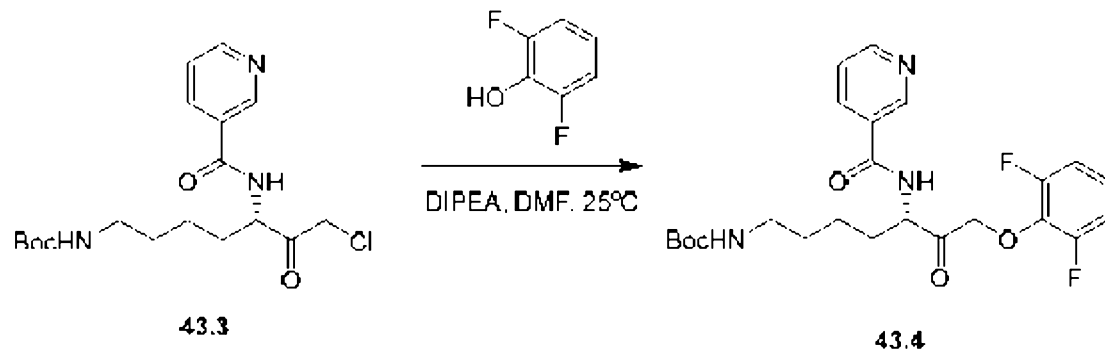
向於DMF (10 mL)中之菸鹼酸(497.86 mg, 4.04 mmol, 338.68  $\mu$ L, 1.2當量)添加HOBt (500.8 mg, 3.71 mmol, 1.1當量)及EDCI (710.5 mg,

3.71 mmol, 1.1 當量)。將混合物在0°C下攪拌1小時。向該混合物添加DIPEA (1.74 g, 13.48 mmol, 2.35 mL, 4 當量)及**26.1** (1 g, 3.37 mmol, 1 當量, HCl)；將其於25°C下攪拌11小時。用H<sub>2</sub>O (20 mL)稀釋反應混合物，並用EtOAc (20 mL×3)萃取。將合併之有機層用鹽水(20 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並濃縮。殘餘物藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>，石油醚/乙酸乙酯= 20:1至0:1)進行純化，以產生**43.1** (800 mg, 2.19 mmol)；LCMS [M + H] : 366 ; RT = 0.69 min 。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 1.39 (s, 9 H), 1.49 - 1.59 (m, 2 H), 1.78 - 2.05 (m, 5 H), 3.12 (br d, *J*=5.70 Hz, 2 H), 3.79 (s, 2 H), 3.78 - 3.81 (m, 1 H), 4.65 (br s, 1 H), 4.79 (br d, *J*=5.26 Hz, 1 H), 7.02 (br d, *J*=5.70 Hz, 1 H), 7.39 (dd, *J*=7.67, 5.04 Hz, 1 H), 8.15 (br d, *J*=7.89 Hz, 1 H), 8.74 (br d, *J*=4.38 Hz, 1 H), 9.06 (br s, 1 H)。

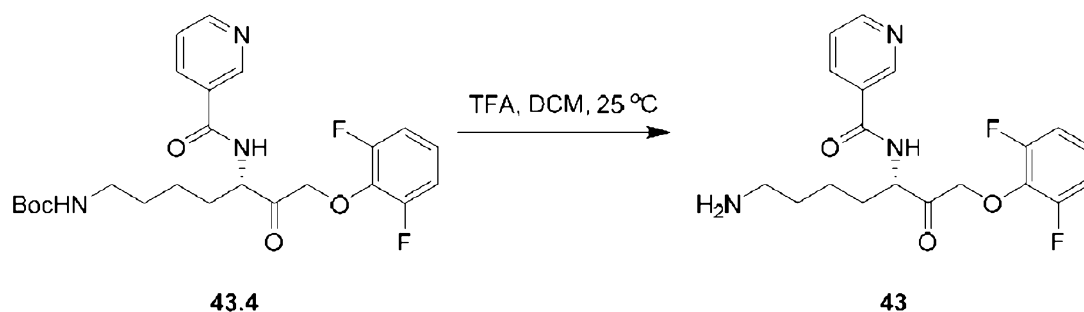


向DIPA (662 mg, 6.54 mmol, 919 μL, 6 當量)於THF (5 mL)中之溶液添加n-BuLi (2.5 M, 2.62 mL, 6 當量)；將其於0°C下攪拌1小時。向於THF (5 mL)中之**43.1** (400 mg, 1.09 mmol, 1 當量)添加氯(碘)甲烷(1.15 g, 6.54 mmol, 474.7 μL, 6 當量)，並在-78°C下攪拌30 min。然後向該混合物添加前述混合物，並在-78°C下攪拌2小時。藉由在25°C下添加15 mL NH<sub>4</sub>Cl溶液使反應混合物淬滅，並用EtOAc (15 mL × 3)萃取。將合併之有機層用Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>溶液(15 mL)、NaHCO<sub>3</sub>溶液(15 mL)及鹽水(15 mL)洗滌；

然後經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並濃縮，以產生**43.2** (500 mg)。



向於DMF (5 mL)中之**43.3** (500 mg, 1.30 mmol, 1 當量)添加DIPEA (672.05 mg, 5.2 mmol, 908.18  $\mu$ L, 4 當量)及2,6-二氟苯酚(186.03 mg, 1.43 mmol, 1.1 當量)。將混合物在25°C下攪拌12小時。殘餘物藉由製備型HPLC (管柱: Waters Xbridge 150  $\times$  25  $\times$  5  $\mu$ ; 移動相: [A: 水 (0.1% TFA), B: AcN]; B之梯度: 23%至63%, 經12 min)進行純化, 以產生**43.4** (40 mg, 86.30  $\mu$ mol)。

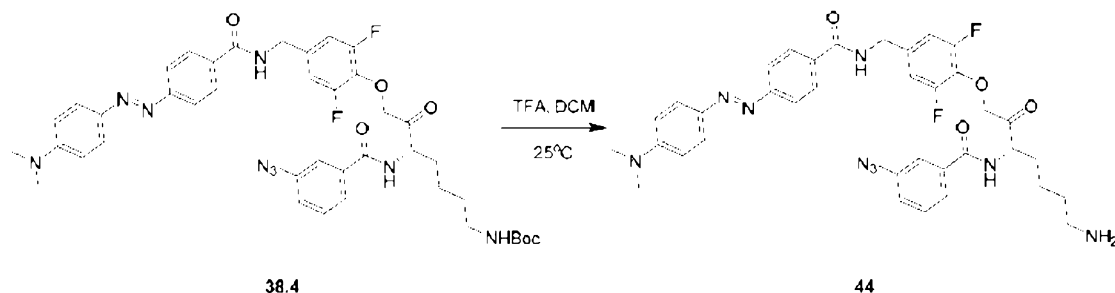


將於CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL)及TFA (1 mL)中之**43.4** (40 mg, 83.77  $\mu$ mol)在25°C下攪拌7小時。將反應混合物在減壓下濃縮以產生化合物**43** (15 mg); LCMS [M + H]: 378; RT = 0.61 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 甲醇-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  ppm 1.51 - 1.68 (m, 2 H), 1.72 - 1.90 (m, 3 H), 2.08 - 2.24 (m, 1 H), 2.97 (br t, *J*=6.60 Hz, 2 H), 4.97 - 5.12 (m, 3 H), 6.95 - 7.06 (m, 2 H), 7.06 - 7.15 (m, 1 H), 7.71 - 7.83 (m, 1 H), 8.50 (br d, *J*=7.95 Hz, 1 H), 8.82 (br d, *J*=3.67 Hz, 1 H), 9.03 - 9.17 (m, 1 H)。

**實例40.** (S,E)-N-(7-胺基-1-(4-((4-(二甲基胺基)苯基)二氮烯基)苯甲

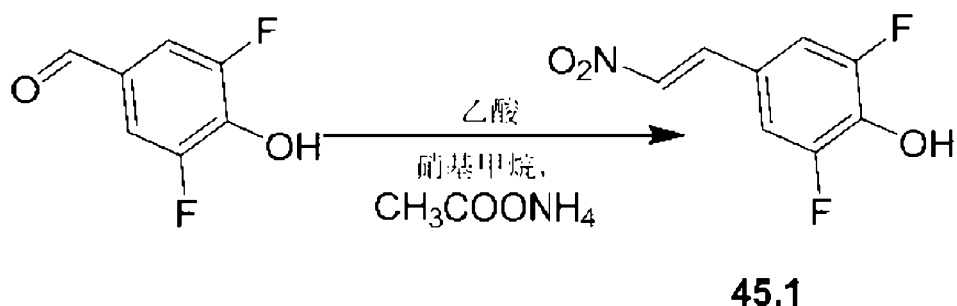


醯胺基)甲基)-2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)-3-疊氮基苯甲醯胺(44)  
之製備

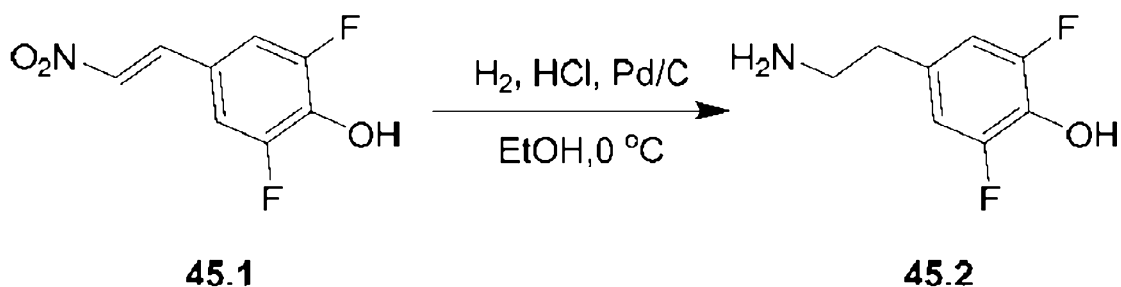


向**38.4** (100 mg, 125.34  $\mu\text{mol}$ , 1 當量)於 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 mL)中之溶液添加TFA (1.54 g, 13.51 mmol, 1 mL, 107.76 當量)，並在 $25^\circ\text{C}$ 下攪拌12小時。殘餘物藉由製備型HPLC (Waters Xbridge  $150 \times 25 \times 5\mu$ ；移動相：[A：水(0.1%TFA)及B：ACN]；B%：31%-61%,12min)進行純化，以產生呈紅色固體之化合物**44** (40 mg, 57.33  $\mu\text{mol}$ , 46%產率)；LCMS [M + H]：698；RT=2.764 min。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 1.29 - 1.46 (m, 2 H), 1.52 (dt,  $J=14.28$ , 7.30 Hz, 2 H), 1.63 - 1.74 (m, 1 H), 1.79 - 1.91 (m, 1 H), 2.71 - 2.81 (m, 2 H), 3.07 (s, 5 H), 4.42 (br d,  $J=5.73$  Hz, 2 H), 4.54 - 4.67 (m, 1 H), 4.95 - 5.19 (m, 2 H), 6.84 (br d,  $J=9.04$  Hz, 2 H), 7.01 - 7.11 (m, 2 H), 7.30 (br d,  $J=7.94$  Hz, 1 H), 7.52 (br t,  $J=7.83$  Hz, 1 H), 7.57 (s, 1 H), 7.63 (br s, 2 H), 7.68 (br d,  $J=7.72$  Hz, 1 H), 7.82 (dd,  $J=8.71$ , 4.74 Hz, 3 H), 7.94 - 8.10 (m, 1 H), 8.85 (br d,  $J=7.50$  Hz, 1 H), 9.11 - 9.24 (m, 1 H)。

實例41. (S,E)-N-(7-胺基-1-(4-(2-(4-((4-(二甲基胺基)苯基)二氮烯基)苯甲醯胺基)乙基)-2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)-3-(4-((3-(5,5-二氟-7,9-二甲基-5H-5 $\lambda$ ,6 $\lambda$ -二吡咯並[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]二氮雜硼環三烯-3-基)丙醯胺基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苯甲醯胺(45)之製備

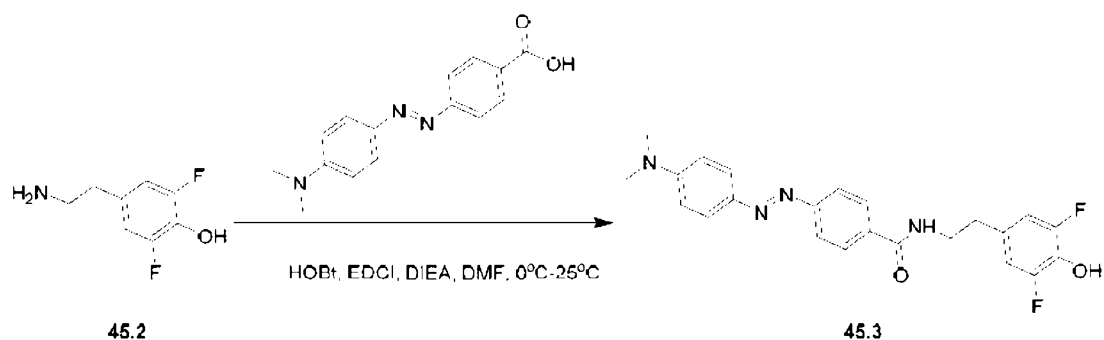


向3,5-二氟-4-羥基苯甲醛(5 g, 31.63 mmol, 1 當量)於乙酸(50.00 mL)中之溶液添加硝基甲烷(11.58 g, 189.78 mmol, 10.25 mL, 6.00 當量)及 $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  (9.75 g, 126.52 mmol, 4.00 當量)。將混合物在 $110^\circ\text{C}$ 下攪拌1.5小時。用 $\text{H}_2\text{O}$  (20 mL)稀釋反應混合物，並用EtOAc (20 mL  $\times$  3)萃取。將合併之有機層用鹽水(20 mL)洗滌，經 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 乾燥，過濾並在減壓下濃縮以產生殘餘物。殘餘物藉由管柱層析( $\text{SiO}_2$ ，石油醚/乙酸乙酯=20/1至1:1)進行純化，以產生呈黃色固體之**45.1** (4.60 g, 22.87 mmol, 72%產率)。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  ppm 7.33 - 7.40 (m, 2 H), 7.77 - 7.89 (m, 1 H), 7.90 - 8.01 (m, 1 H)。

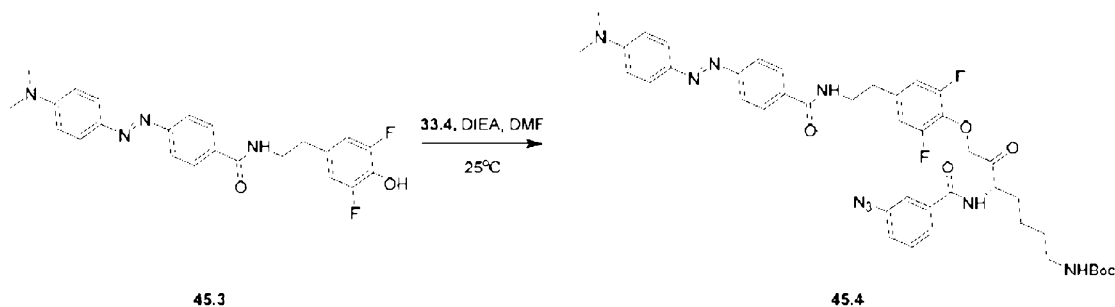


在Ar氣氛下在 $0^\circ\text{C}$ 下向**45.1** (2.10 g, 10.44 mmol, 1.00 當量)於EtOH (200.00 mL)中之溶液添加HCl (6 M, 12.60 mL, 7.24 當量)及Pd/C (10%, 1.5 g)。使懸浮液脫氣，並用 $\text{H}_2$ 吹掃3次。將混合物在 $\text{H}_2$  (15 Psi)下在 $0^\circ\text{C}$ 下攪拌3小時。將反應混合物在減壓下濃縮以去除EtOH，產生呈棕色固體之**45.2** (2.00 g, 粗製)；LCMS [M + H] : 174 ; RT= 0.102 min。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  ppm 2.88 (t,  $J=7.52$  Hz, 2 H) 3.08 - 3.20

(m, 2 H), 6.85 - 6.93 (m, 2 H)。

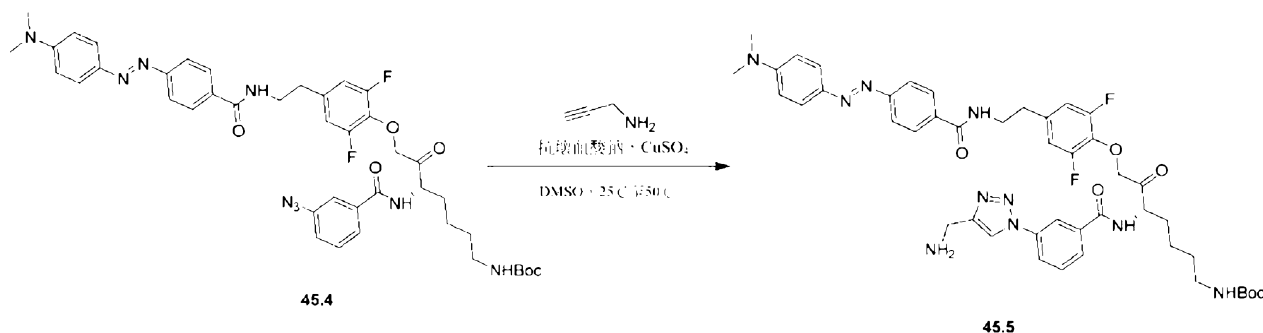


向重氮化合物(3.11 g, 11.55 mmol, 1.00 當量)於DMF (20.00 mL)中之溶液添加EDCI (2.44 g, 12.71 mmol, 1.10 當量)及HOBt (1.72 g, 12.71 mmol, 1.10 當量)，並在0°C下攪拌1小時。然後向混合物添加**45.2** (2.00 g, 11.55 mmol, 1.00 當量)及DIPEA (5.97 g, 46.20 mmol, 8.07 mL, 4.00 當量)，並在25°C下攪拌11小時。用H<sub>2</sub>O (20 mL)稀釋反應混合物，並用EtOAc (20 mL × 3)萃取。將合併之有機層用鹽水(20 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在減壓下濃縮以產生殘餘物。殘餘物藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>，石油醚/乙酸乙酯=20/1至1:1)進行純化，以產生**45.3** (600 mg, 1.41 mmol)。LCMS [M + H] : 425 ; RT=0.848 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 3.04 - 3.09 (m, 6 H), 3.43 - 3.51 (m, 1 H), 4.37 (br d, *J*=5.99 Hz, 1 H), 4.54 (br d, *J*=5.75 Hz, 1 H), 6.76 - 7.02 (m, 3 H), 6.79 (br s, 1 H), 7.71 - 7.85 (m, 4 H) 7.88 - 8.01 (m, 2 H)。

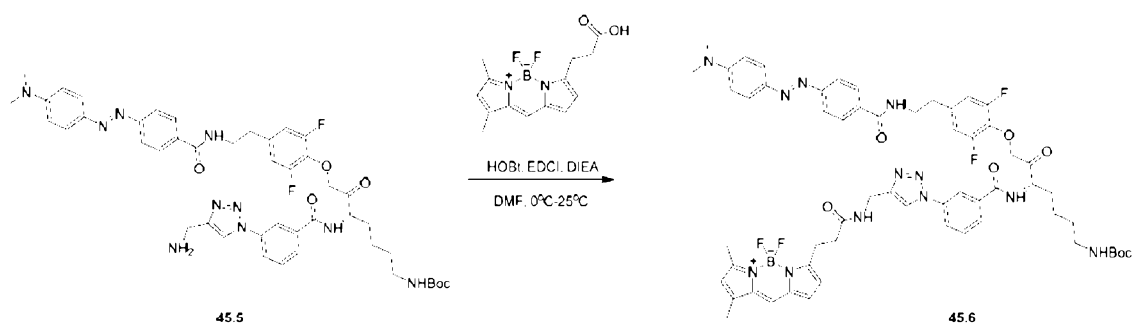


向**45.3** (310.00 mg, 730.37 μmol, 0.18 當量)於DMF (10.00 mL)中之

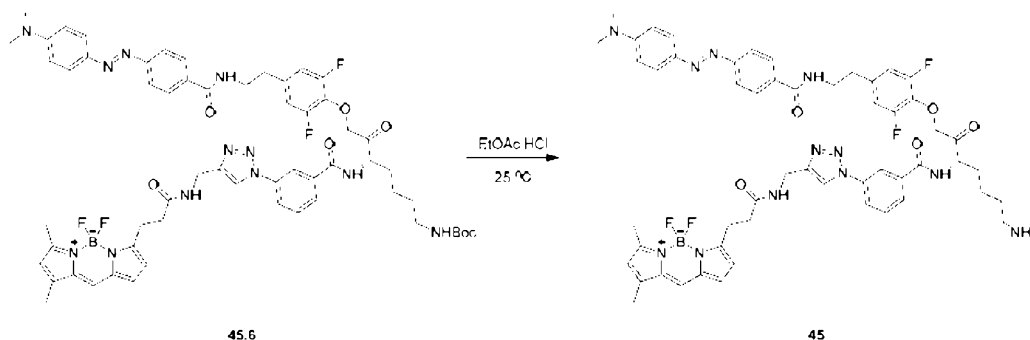
溶液添加**33.4** (1.70 g, 4.01 mmol, 1.00 當量)及DIPEA (2.07 g, 16.04 mmol, 2.80 mL, 4.00 當量)。將混合物在25°C下攪拌12小時。用H<sub>2</sub>O (20 mL)稀釋反應混合物，並用EtOAc (20 mL × 3)萃取。將合併之有機層用鹽水(20 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在減壓下濃縮以產生殘餘物。殘餘物藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>，石油醚/乙酸乙酯=20/1至1:1)進行純化，以產生**45.4** (350 mg) LCMS [M + H] : 813 ; RT=1.393 min。



向**45.4** (200.00 mg, 246.34 μmol, 1.00 當量)於DMSO (2.00 mL)中之溶液添加於H<sub>2</sub>O (200.00 μL)中之化合物14A (13.57 mg, 246.34 μmol, 15.78 μL, 1.00 當量)及CuSO<sub>4</sub> (1.97 mg, 12.32 μmol, 1.89 μL, 0.05 當量)以及抗壞血酸鈉(97.61 mg, 492.68 μmol, 2.00 當量)。將混合物在25°C下攪拌1小時。用H<sub>2</sub>O (20 mL)稀釋反應混合物，並用EtOAc (20 mL × 3)萃取。將合併之有機層用鹽水(20 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在減壓下濃縮以產生殘餘物。殘餘物藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>，石油醚/乙酸乙酯=20/1至1:1)進行純化，以產生**45.5** (130 mg)。



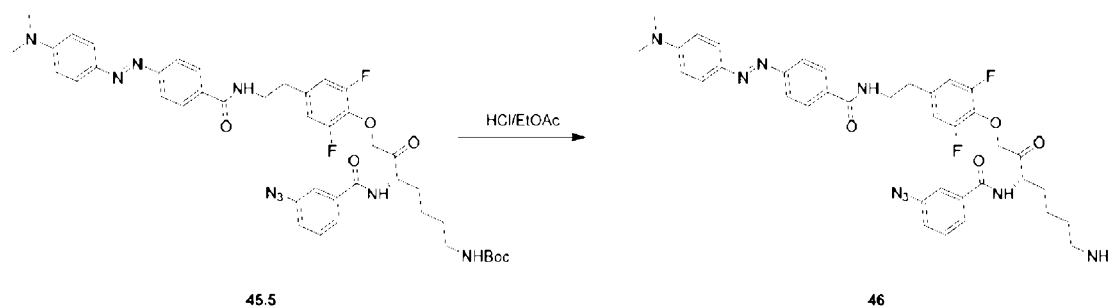
在0℃下向二氟硼酸鹽染料(48.18 mg, 164.95 μmol, 1.10 當量)於DMF (2.00 mL)中之混合物添加EDCI (31.62 mg, 164.95 μmol, 1.10 當量)及HOBt (22.29 mg, 164.95 μmol, 1.10 當量), 並攪拌1小時。然後向混合物添加**45.5** (130.00 mg, 149.95 μmol, 1.00 當量)及DIPEA (77.52 mg, 599.80 μmol, 104.76 μL, 4.00 當量), 並在25℃下攪拌11小時。用H<sub>2</sub>O (20 mL)稀釋反應混合物, 並用EtOAc (20 mL × 3)萃取。將合併之有機層用鹽水(20 mL)洗滌, 經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥, 過濾並在減壓下濃縮以產生殘餘物。殘餘物藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>, 乙酸乙酯)進行純化, 以產生**45.6** (120.00 mg); LCMS [M + H]: 1142; RT=1.461 min。



將化合物15 (120.00 mg, 105.17 μmol, 1.00 當量)於HCl/EtOAc (5.00 mL)中之溶液在25℃下攪拌0.1小時。殘餘物藉由製備型HPLC (管柱: Luna C18 100 × 30 × 5u; 移動相: A: 水(0.1%TFA), B: ACN; B%: 30%-60%,10min)進行純化, 以產生呈紅色固體之化合物45 (20.00 mg, 19.21 μmol, 18.27%產率)。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1.33 - 1.51 (m, 2 H), 1.56 (dt, *J*=14.00, 7.06 Hz, 2 H), 1.73 (br dd, *J*=9.29, 4.40 Hz, 1 H), 1.90 (br d, *J*=6.24 Hz, 1 H), 2.25 (s, 3 H), 2.46 (s, 3 H), 2.74 - 2.87 (m, 5 H), 3.08 (s, 6 H), 3.46 - 3.55 (m, 2 H), 4.44 (br d, *J*=5.01 Hz, 2 H), 4.64 - 4.73 (m, 1 H), 5.01 - 5.18 (m, 2 H), 6.30 (s, 1 H), 6.36 (d, *J*=4.03 Hz, 1 H), 6.86 (d, *J*=9.17 Hz, 2

H), 7.01 - 7.11 (m, 3 H), 7.62 - 7.76 (m, 4 H), 7.78 - 7.87 (m, 4 H), 7.92 - 8.11 (m, 4 H), 8.40 (s, 1 H), 8.57 (br t,  $J=5.50$  Hz, 1 H), 8.61 - 8.70 (m, 2 H), 8.99 (br d,  $J=7.34$  Hz, 1 H)。

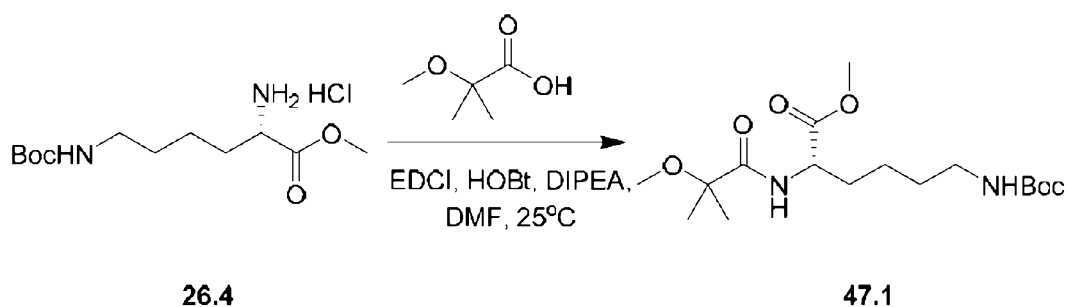
**實例42.** 具有可裂解之淬滅劑(S,E)-N-(7-胺基-1-(4-(2-(4-((4-(二甲基胺基)苯基)二氮烯基)苯甲醯胺基)乙基)-2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)-3-疊氮基苯甲醯胺(46)之螢光牙齦蛋白酶活性探針之製備



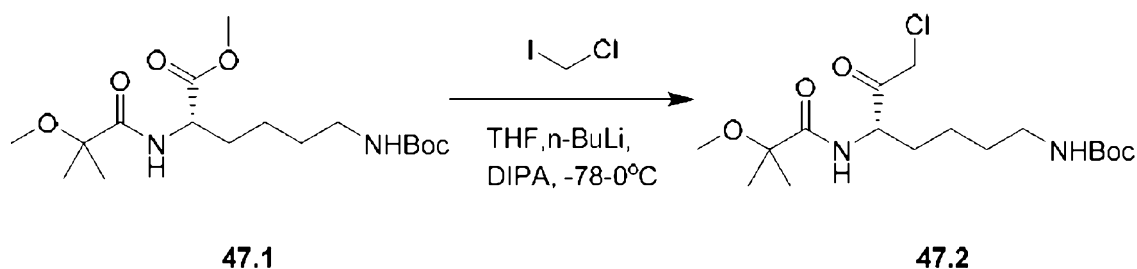
將**45.5** (150.00 mg, 188.01  $\mu\text{mol}$ , 1.00 當量)於HCl/EtOAc (5.00 mL)中之溶液在25 $^{\circ}\text{C}$ 下攪拌0.2小時。殘餘物藉由製備型HPLC (管柱: Waters Xbridge Prep OBD C18 150  $\times$  30  $\times$  5  $\mu$ ; 移動相: A: 水(0.1%TFA), B: ACN; B%: 26%-66%,12 min)進行純化,以產生呈紅色固體之化合物**46** (10.00 mg, 14.33  $\mu\text{mol}$ , 7.62%產率); LCMS [M + H]: 712; RT = 2.76 min。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  ppm 1.52 - 1.60 (m, 2 H), 1.67 - 1.85 (m, 4 H), 2.09 (br s, 1 H), 2.85 - 3.00 (m, 4 H), 3.13 (s, 6 H), 3.61 (br t,  $J=7.24$  Hz, 2 H), 4.52 (s, 1 H), 4.92 - 5.04 (m, 2 H), 6.87 (d,  $J=8.77$  Hz, 2 H), 6.95 (br d,  $J=9.21$  Hz, 1 H), 7.03 (br d,  $J=9.65$  Hz, 1 H), 7.27 (br d,  $J=7.89$  Hz, 1 H), 7.47 - 7.53 (m, 1 H), 7.55 (br s, 1 H), 7.65 (br d,  $J=7.02$  Hz, 1 H), 7.80 - 7.91 (m, 5 H), 7.98 (d,  $J=8.77$  Hz, 1 H)。

**實例43.** (S)-N-(7-胺基-2-側氧基-1-(2,3,6-三氟苯氧基)庚-3-基)-2-甲氧基-

## 2-甲基丙醯胺(47)之製備

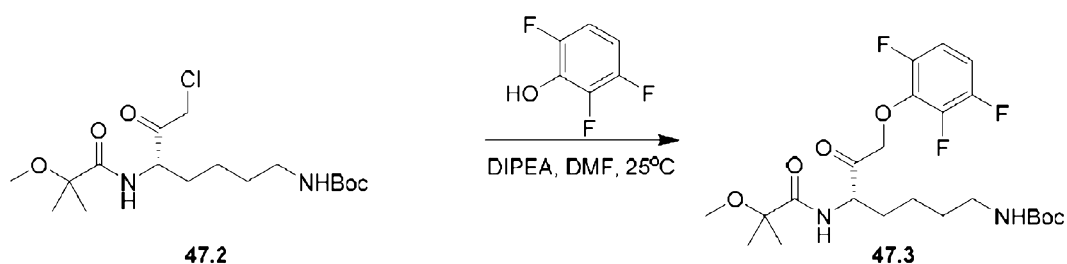


向2-甲氧基-2-甲基-丙酸(398.03 mg, 3.37 mmol, 1.00 當量)於DMF (15.00 mL)中之溶液添加HOBt (500.89 mg, 3.71 mmol, 1.10 當量)及EDCI (710.63 mg, 3.71 mmol, 1.10 當量)，將混合物在25°C下攪拌1小時。然後向該混合物添加DIPEA (1.74 g, 13.48 mmol, 2.35 mL, 4.00 當量)及**26.4** (1.00 g, 3.37 mmol, 1.00 當量, HCl)。將混合物在25°C下攪拌14小時。用H<sub>2</sub>O (20 mL)稀釋反應混合物，並用EtOAc (20 mL × 3)萃取。將合併之有機層用鹽水(20 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在減壓下濃縮以產生殘餘物。殘餘物藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>，石油醚/乙酸乙酯=2:1)進行純化，以產生呈黃色油狀物之**47.1** (1.00 g, 2.77 mmol, 82.33% 產率)；LCMS [M + H] : 361 ; RT=0.780min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 氯仿-*d*) δ ppm 1.20 - 1.58 (m, 17 H), 1.60 - 1.75 (m, 1 H), 1.81 - 1.94 (m, 1 H), 3.09 (br d, *J*=6.17 Hz, 2 H), 3.29 (s, 3 H), 3.74 (s, 3 H), 4.45 - 4.73 (m, 2 H), 7.09 (br d, *J*=8.38 Hz, 1 H)。

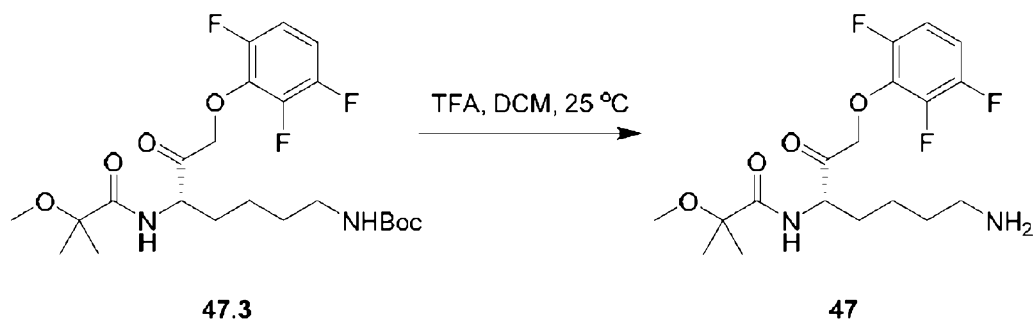


向DIPA (1.54 g, 15.24 mmol, 2.14 mL, 5.50 當量)於THF (10 mL)中

之溶液添加n-BuLi (2.5 M, 6.09 mL, 5.50 當量)。將混合物在N<sub>2</sub>下在0℃下攪拌0.5小時。然後將混合物添加至化合物2 (1.00 g, 2.77 mmol, 1.00 當量)及氯(碘)甲烷(2.69 g, 15.24 mmol, 1.11 mL, 5.50 當量)於THF (10 mL)中之溶液，並在-78℃下攪拌0.5小時。用H<sub>2</sub>O (20 mL)稀釋反應混合物，並用EtOAc (20 mL × 3)萃取。將合併之有機層用鹽水(20 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在減壓下濃縮以產生殘餘物，產生呈棕色油狀物之**47.2** (1.30 g, 粗製)。



向**47.2** (650.00 mg, 1.72 mmol, 1.00 當量)於DMF (10.00 mL)中之溶液添加DIPEA (666.88 mg, 5.16 mmol, 901.19 μL, 3.00 當量)及2,3,6-三氟苯酚(280.17 mg, 1.89 mmol, 1.10 當量)。將混合物在25℃下攪拌15小時。殘餘物藉由製備型HPLC (TFA條件)進行純化，以產生呈黃色油狀物之**47.3** (50.00 mg, 128.07 μmol, 7.45%產率)；LCMS [M + H] : 391 ; RT=0.877 min。

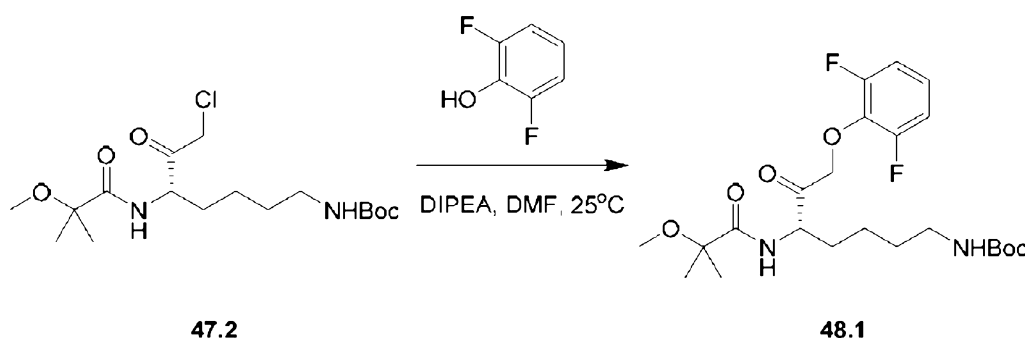


將**47.3** (50.00 mg, 101.93 μmol, 1.00 當量)於DCM (5.00 mL)及TFA (1.00 mL)中之混合物在25℃下攪拌15小時。將混合物在減壓下濃縮，以

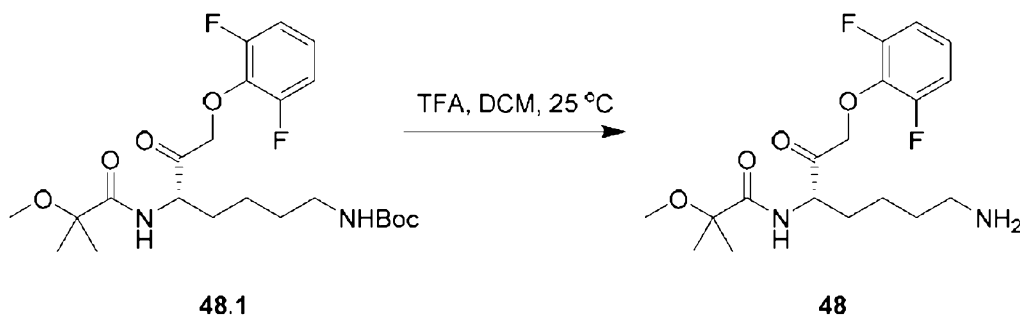


產生呈棕色油狀物之化合物47 (30.00 mg, 76.84  $\mu\text{mol}$ , 75.39%產率) ;  
 LCMS [M + H] : 391 ; RT=0.681 min 。  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz , 甲醇- $d_4$ )  $\delta$   
 ppm 1.26 - 1.39 (m, 6 H), 1.39 - 1.56 (m, 2 H), 1.57 - 1.84 (m, 3 H),  
 1.96 - 2.12 (m, 1 H), 2.82 - 3.01 (m, 2 H), 3.27 - 3.31 (m, 3 H), 4.68  
 (dd,  $J=9.60, 4.34$  Hz, 1 H), 4.95 - 5.15 (m, 1 H), 6.89 - 7.12 (m, 2 H) 。

**實例44. (S)-N-(7-胺基-1-(2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)-2-甲氧基-2-甲基丙醯胺(48)之製備**



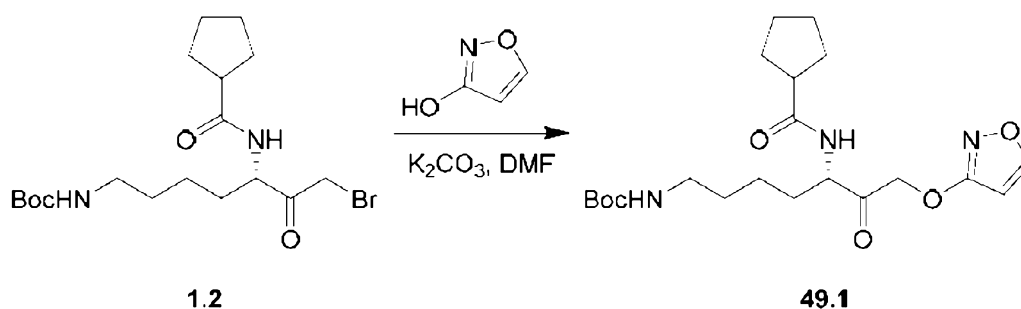
向**47.2** (650.00 mg, 1.72 mmol, 1.00 當量)於DMF (10.00 mL)中之溶液添加DIPEA (666.88 mg, 5.16 mmol, 901.19  $\mu\text{L}$ , 3.00 當量)及2, 6-二氟苯酚(246.13 mg, 1.89 mmol, 1.10 當量)。將混合物在25 $^\circ\text{C}$ 下攪拌14小時。殘餘物藉由製備型HPLC (TFA條件)進行純化，以產生呈黃色油狀物之**48.1** (50.00 mg, 134.26  $\mu\text{mol}$ , 7.81%產率) ; LCMS [M + H] : 473 ; RT=0.864 min 。



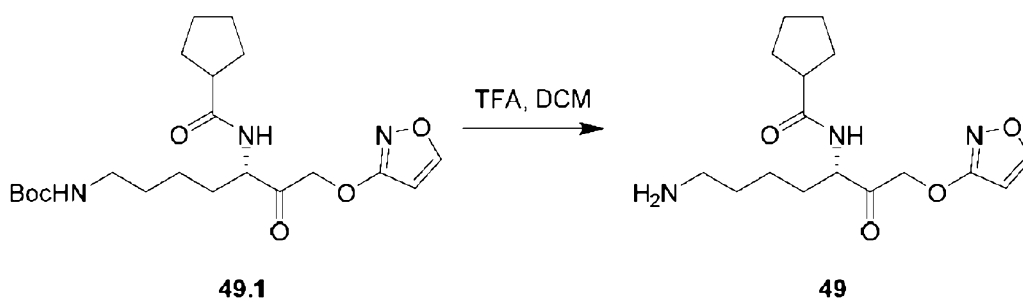
將於DCM (5.00 mL)及TFA (1.00 mL)中之**48.1** (50.00 mg, 105.82

$\mu\text{mol}$ , 1.00 當量)在 $25^\circ\text{C}$ 下攪拌15小時。將混合物在減壓下濃縮，以產生化合物48 (30.00 mg, 80.56  $\mu\text{mol}$ , 76.13%產率)；LCMS [M + H] : 373 ; RT=0.671 min。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  ppm 1.18 - 1.39 (m, 6 H), 1.41 - 1.56 (m, 2 H), 1.57 - 1.82 (m, 3 H), 1.88 - 2.15 (m, 1 H), 2.78 - 3.03 (m, 2 H), 3.25 - 3.31 (m, 3 H), 4.74 (dd,  $J=9.54, 4.28$  Hz, 1 H), 4.90 - 5.03 (m, 2 H), 6.89 - 7.20 (m, 3 H)。

#### 實例45. (S)-N-(7-胺基-1-(異噁唑-3-基氧基)-2-側氧基庚-3-基)環戊烷甲醯胺(49)之製備

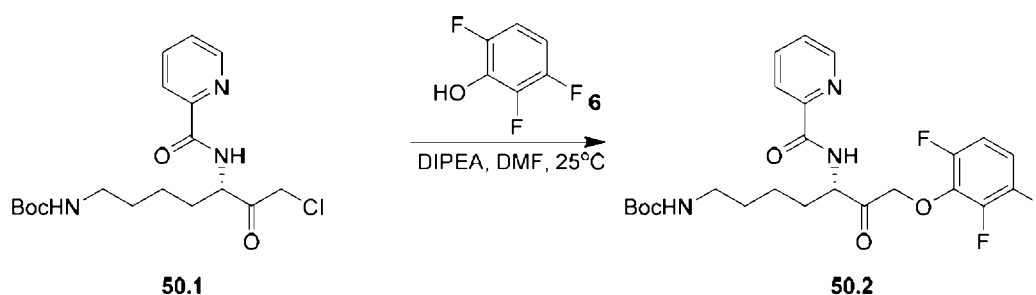


向**1.2** (0.3 g, 715.39  $\mu\text{mol}$ , 1 當量)於DMF (5 mL)中之溶液添加 $\text{K}_2\text{CO}_3$  (296.62 mg, 2.15 mmol, 3 當量)及異噁唑(66.94 mg, 786.92  $\mu\text{mol}$ , 1.1 當量)。將混合物在 $25^\circ\text{C}$ 下攪拌15小時。藉由在 $25^\circ\text{C}$ 下添加 $\text{H}_2\text{O}$  (10 mL)使反應混合物淬滅，並用乙酸乙酯(15 mL  $\times$  3)萃取。將合併之有機層用鹽水(10 mL)洗滌，經無水硫酸鈉乾燥，過濾並在減壓下濃縮以產生粗產物。殘餘物藉由管柱層析( $\text{SiO}_2$ , 石油醚/乙酸乙酯=2:1)進行純化，以產生呈黃色固體之**49.1** (100 mg, 236.13  $\mu\text{mol}$ , 33.01%產率)；LCMS [M + H + Na]: 446 ; RT=1.443 min。



向**49.1** (0.1 g)於DCM (5 mL)中之溶液添加TFA (1 mL)。將混合物在25°C下攪拌14小時。將混合物在減壓下濃縮以產生殘餘物。殘餘物藉由製備型HPLC (TFA條件)進行純化，以產生呈黃色油狀物之化合物**49** (20 mg, 61.85  $\mu\text{mol}$ , 26.19%產率)；LCMS [M + H] : 324 ; RT=2.072 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 甲醇-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  ppm 1.37 - 1.55 (m, 2 H), 1.57 - 1.80 (m, 10 H) 1.89, (br dd, *J*=12.68, 5.62 Hz, 3 H), 2.73 (quin, *J*=7.77 Hz, 1 H), 2.93 (br t, *J*=6.84 Hz, 2 H), 4.52 (dd, *J*=9.04, 5.07 Hz, 1 H), 4.96 - 5.17 (m, 2 H), 6.17 (d, *J*=1.54 Hz, 1 H), 8.38 (d, *J*=1.54 Hz, 1 H)。

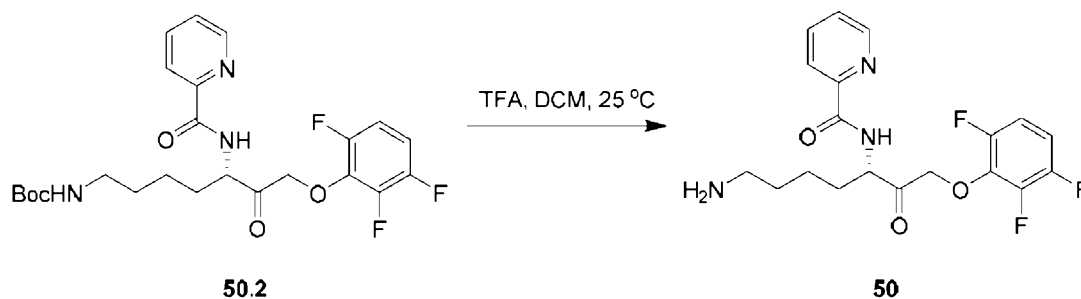
#### 實例46. (S)-N-(7-胺基-2-側氧基-1-(2,3,6-三氟苯氧基)庚-3-基)吡啶醯胺 (50)之製備



**50.1**係以與**34.2**相同之方式來製備，但用吡啶-2-甲酸替代2-溴菸鹼酸。

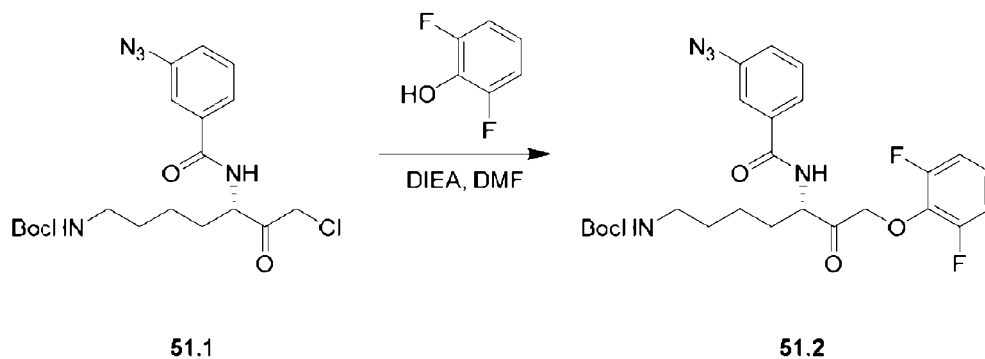
向於DMF (5.00 mL)中之**50.1** (600.00 mg, 1.56 mmol, 1.00 當量)添加DIPEA (606.02 mg, 4.69 mmol, 818.94  $\mu\text{L}$ , 3.00 當量)及2,3,6-三氟苯酚

(231.45 mg, 1.56 mmol, 1.00 當量)。將混合物在25°C下攪拌15小時。殘餘物藉由製備型HPLC (TFA條件)進行純化，以產生呈黃色油狀物之化合物**50.2** (50.00 mg, 100.91  $\mu$ mol, 6.47%產率)；LCMS [M + H] : 496 ; RT=1.302 min。



此反應係以與化合物34相同之方式運行。所獲得之產物係藉由製備型HPLC (TFA條件)進行純化，以產生化合物50 (10 mg)；LCMS [M + H] : 396 ; RT=2.187 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 甲醇-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  ppm 1.43 - 1.62 (m, 2 H), 1.62 - 1.93 (m, 3 H), 2.06 - 2.24 (m, 1 H), 2.93 (br t, *J*=7.28 Hz, 2 H), 4.97 (br dd, *J*=9.48, 4.19 Hz, 1 H), 5.03 - 5.21 (m, 2 H), 6.91 - 7.07 (m, 2 H), 7.60 (dd, *J*=6.95, 5.40 Hz, 1 H), 8.00 (td, *J*=7.66, 1.65 Hz, 1 H), 8.12 (d, *J*=7.72 Hz, 1 H), 8.60 - 8.74 (m, 1 H)。

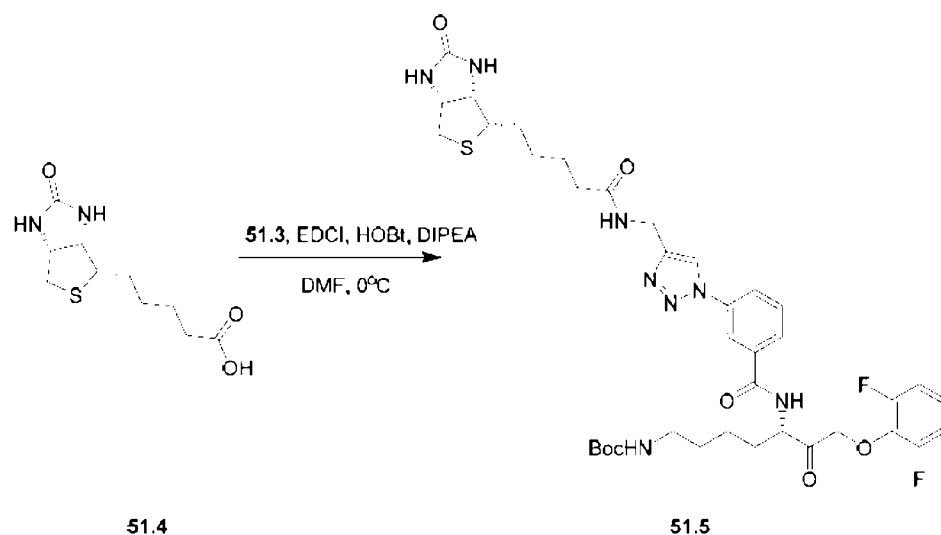
**實例47. 生物素化牙齦蛋白酶活性探針N-((S)-7-胺基-1-(2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)-3-(4-((5-((3a*S*,4*S*,6a*R*)-2-側氧基六氫-1*H*-噻吩并[3,4-*d*]咪唑-4-基)戊醯胺基)甲基)-1*H*-1,2,3-三唑-1-基)苯甲醯胺(51)之製備**



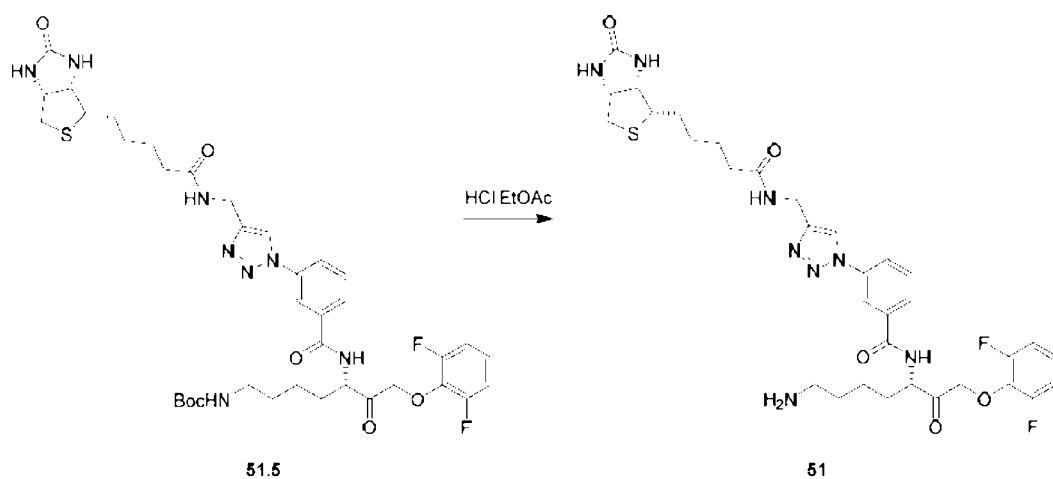
在N<sub>2</sub>下在20℃下向於DMF (10.00 mL)中之**51.1** (2.00 g, 4.72 mmol, 1.00 當量)及苯酚(613.79 mg, 4.72 mmol, 1.00 當量)一次性添加DIPEA (2.44 g, 18.87 mmol, 3.30 mL, 4.00 當量)。將混合物在20℃下攪拌10小時。用10 mL H<sub>2</sub>O稀釋反應混合物，並用EtOAc (10 mL × 3)萃取。將合併之有機層用鹽水(30 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在減壓下濃縮以產生殘餘物。殘餘物藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>，石油醚/乙酸乙酯=1:1)進行純化，以產生呈黃色油狀物之**51.2** (160.00 mg, 309.17 μmol, 6.55%產率)；LCMS [M + H] : 518 ; RT=0.909 min。



向於DMSO (3.00 mL)中之**51.2** (140.00 mg, 270.52 μmol, 1.00 當量)及胺基丙炔(14.90 mg, 270.52 μmol, 17.33 μL, 1.00 當量)添加CuSO<sub>4</sub> (8.64 mg, 54.10 μmol, 8.31 μL, 0.20 當量)於H<sub>2</sub>O (100.00 μL)中之溶液。將混合物在18℃下攪拌5 min。用10 mL H<sub>2</sub>O稀釋反應混合物，並用EtOAc (10 mL× 3)萃取。將合併之有機層用鹽水(30 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在減壓下濃縮，以產生呈紅色固體之**51.3** (150.00 mg，粗製)。

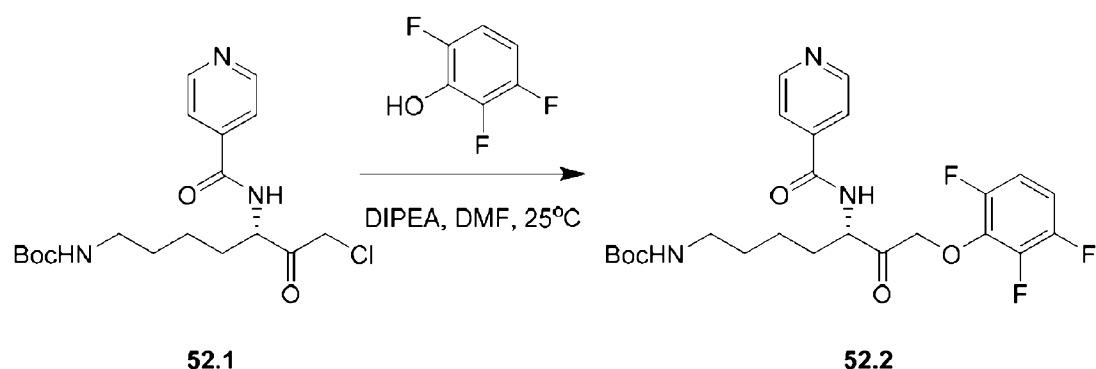


在 $\text{N}_2$ 下在 $0^\circ\text{C}$ 下向**51.4** (64.00 mg, 261.96  $\mu\text{mol}$ , 1.00 當量)及HOBT (38.94 mg, 288.16  $\mu\text{mol}$ , 1.10 當量)於DMF (2.00 mL)中之混合物一次性添加EDCI (55.24 mg, 288.16  $\mu\text{mol}$ , 1.10 當量)。將混合物在 $0^\circ\text{C}$ 下攪拌1小時，然後在 $0^\circ\text{C}$ 下向該混合物一次性添加**51.3** (150.00 mg, 261.96  $\mu\text{mol}$ , 1.00 當量)及DIPEA (101.57 mg, 785.88  $\mu\text{mol}$ , 137.26  $\mu\text{L}$ , 3.00 當量)，並將混合物在 $0^\circ\text{C}$ 下攪拌1小時。用10 mL  $\text{H}_2\text{O}$ 稀釋反應混合物，並用EtOAc (10 mL $\times$  3)萃取。將合併之有機層用鹽水(30 mL)洗滌，經 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 乾燥，過濾並在減壓下濃縮，以產生呈黃色固體之**51.5** (200.00 mg, 250.34  $\mu\text{mol}$ , 95.57% 產率)；LCMS [M + H] : 799 ; RT=1.373 min。



將**51.5** (200 mg)溶解至HCl/EtOAc (5 mL)中，並將混合物在18°C下攪拌1 min。將反應混合物在減壓下濃縮以產生殘餘物。殘餘物藉由製備型HPLC (TFA條件)進行純化，以產生呈白色固體之化合物**51** (40 mg)；LCMS [M + H] : 699 ; RT= 2.391 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 甲醇-d4)  $\delta$  ppm 1.34 - 1.46 (m, 2 H), 1.48 - 1.63 (m, 3 H), 1.64 - 1.77 (m, 4 H), 1.77 - 1.91 (m, 2 H), 2.08 - 2.20 (m, 1 H), 2.27 (t,  $J=7.17$  Hz, 2 H), 2.62 (d,  $J=12.79$  Hz, 1 H), 2.80 - 2.89 (m, 1 H), 2.95 (br t,  $J=6.50$  Hz, 2 H), 3.11 - 3.19 (m, 1 H), 4.24 (dd,  $J=7.94, 4.41$  Hz, 1 H), 4.43 (dd,  $J=7.50, 4.63$  Hz, 1 H), 4.53 (s, 2 H), 4.98 (br d,  $J=3.75$  Hz, 1 H), 5.00 - 5.10 (m, 2 H), 6.96 - 7.05 (m, 2 H), 7.06 - 7.13 (m, 1 H), 7.68 - 7.74 (m, 1 H), 7.95 - 8.00 (m, 1 H), 8.02 - 8.08 (m, 1 H), 8.35 (t,  $J=1.76$  Hz, 1 H), 8.46 (s, 1 H)。

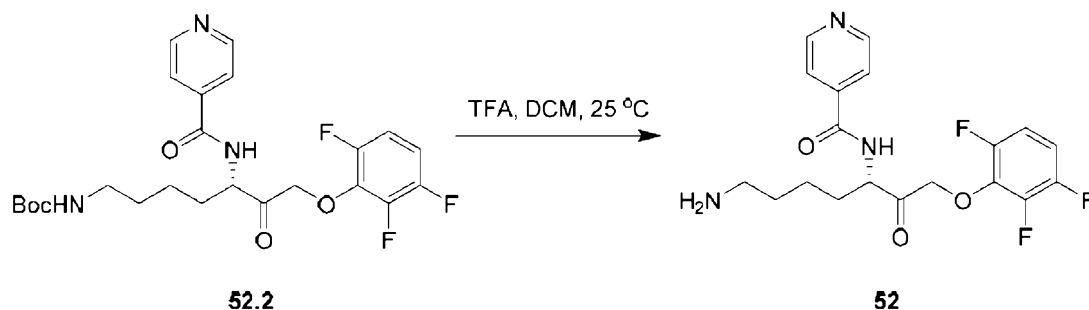
#### 實例48. (S)-N-(7-胺基-2-側氧基-1-(2,3,6-三氟苯氧基)庚-3-基)異菸鹼醯胺(**52**)之製備



**52.1**係以與**34.2**相同之方式來製備，但用吡啶-4-甲酸替代2-溴菸鹼酸。

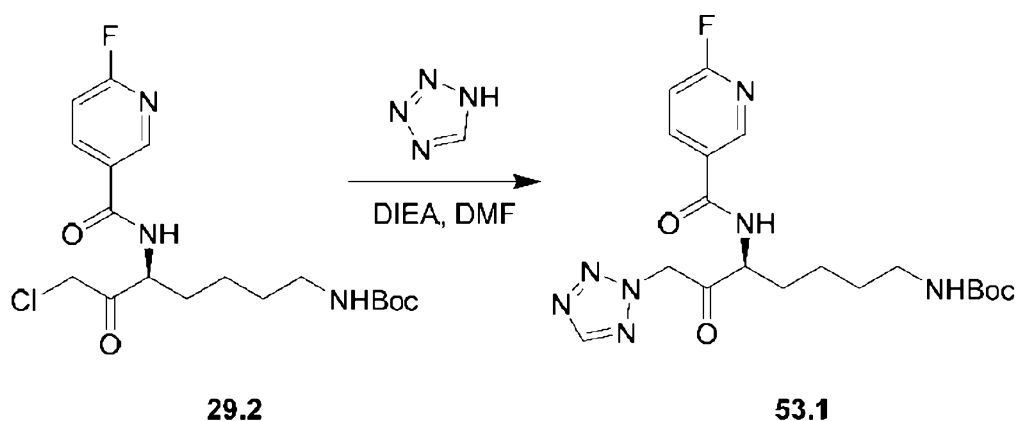
向於DMF (10.00 mL)中之**52.1** (783.60 mg, 2.04 mmol, 1.00 當量)添加DIPEA (791.46 mg, 6.12 mmol, 1.07 mL, 3.00 當量)及三氟苯酚(302.28 mg, 2.04 mmol, 1.00 當量)。將混合物在25°C下攪拌15小時。用H<sub>2</sub>O (10

mL)稀釋反應混合物，並用EtOAc (10 mL× 3)萃取。將合併之有機層用鹽水(30 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在減壓下濃縮。殘餘物藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>，石油醚/乙酸乙酯=10/1至1/1)進行純化，以產生**52.2** (50.00 mg)；LCMS [M + H] : 496 ; RT=0.777 min。



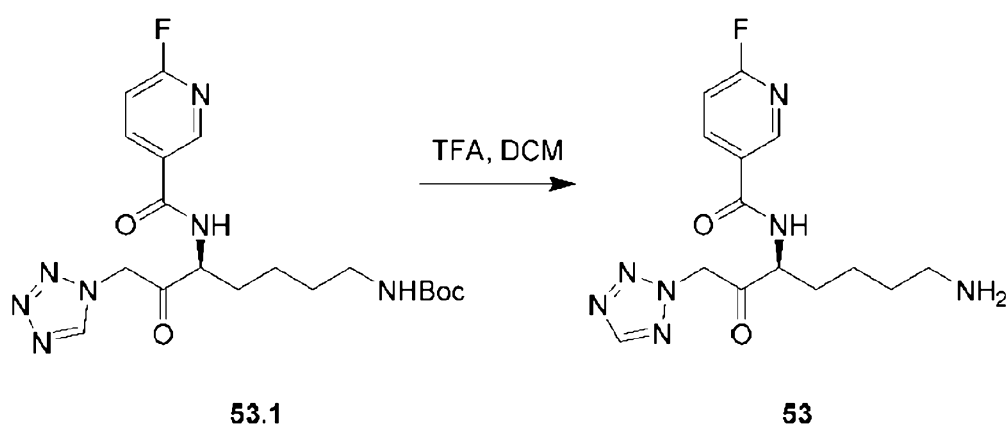
向於DCM (500.00 μL)中之**52.2** (10.00 mg, 20.18 μmol, 1.00 當量)添加TFA (154.00 mg, 1.35 mmol, 100.00 μL, 66.93 當量)。將混合物在25 °C下攪拌15小時。將反應混合物在減壓下濃縮以產生化合物**52** (7.50 mg, 18.97 μmol)；LCMS [M + H] : 397 ; RT= 2.128 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 甲醇-*d*<sub>4</sub>) δ ppm 1.49 - 1.66 (m, 2 H), 1.67 - 1.92 (m, 3 H), 2.04 - 2.21 (m, 1 H), 2.94 (br t, *J*=7.61 Hz, 2 H), 4.95 (dd, *J*=9.70, 4.41 Hz, 1 H), 5.05 - 5.18 (m, 2 H), 6.88 - 7.13 (m, 2 H), 7.86 - 8.00 (m, 2 H), 8.79 (br d, *J*=4.19 Hz, 2 H)。

**實例49. (S)-N-(7-胺基-2-側氧基-1-(2H-四唑-2-基)庚-3-基)-6-氟菸鹼醯胺 (53)之製備**



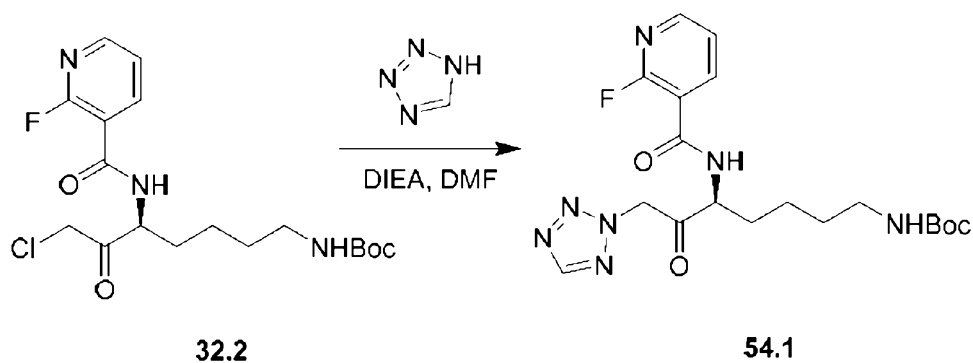


向於DMF (10.00 mL)中之**29.2** (1.70 g, 4.23 mmol, 1.00 當量)添加四唑(0.45 M, 10.34 mL, 1.10 當量)及DIPEA (2.19 g, 16.92 mmol, 2.96 mL, 4.00 當量)。將混合物在10°C下攪拌12小時。用H<sub>2</sub>O (10 mL)稀釋反應混合物，並用EtOAc (10 mL× 3)萃取。將合併之有機層用鹽水(30 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在減壓下濃縮。殘餘物藉由製備型HPLC (管柱：Luna C18 100 × 30 × 5u；移動相：A：水(0.1%TFA)及B：ACN；B%：20%-60%，10min)進行純化，以產生**53.1**(10.00 mg)。

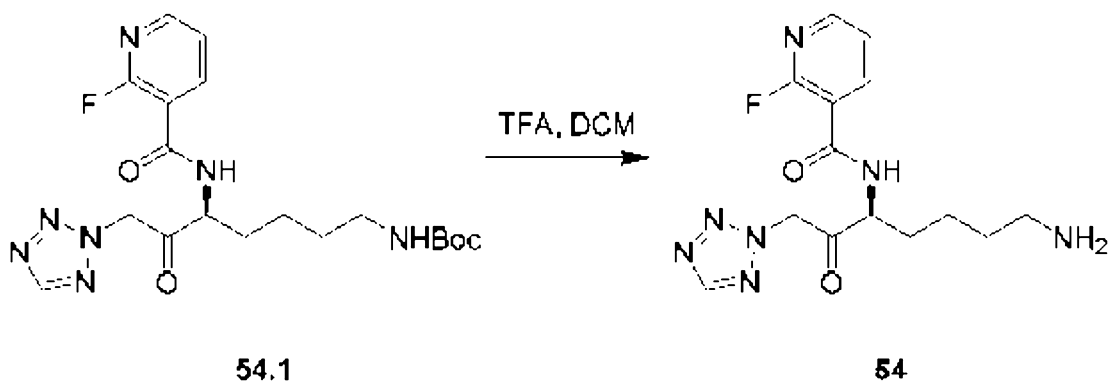


向於DCM (2.50 mL)中之**53.1** (10.00 mg)添加TFA (0.5 mL)。將混合物在10°C下攪拌12小時。將反應混合物在減壓下濃縮以產生化合物**53** (2.00 mg, 5.96 μmol)；LCMS [M + H]<sup>+</sup>：336；RT=0.593 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ ppm 1.49 - 1.66 (m, 2 H), 1.67 - 1.80 (m, 2 H), 1.83 - 1.93 (m, 1 H), 2.06 - 2.16 (m, 1 H), 2.89 - 3.00 (m, 2 H), 4.79 (br s, 1 H), 5.87 - 6.01 (m, 2 H), 7.15 - 7.24 (m, 1 H), 8.35 - 8.46 (m, 1 H), 8.68 - 8.79 (m, 2 H)。

**實例50. (S)-N-(7-氨基-2-側氧基-1-(2H-四唑-2-基)庚-3-基)-2-氟菸鹼醯胺 (54)之製備**

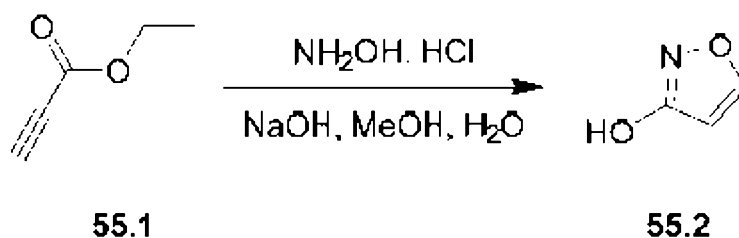


向於DMF (10.00 mL)中之**32.2** (1.70 g, 4.23 mmol, 1.00當量)添加四唑(0.45 M, 10.34 mL, 1.10當量)及DIPEA (2.19 g, 16.92 mmol, 2.96 mL, 4.00當量)。將混合物在10°C下攪拌12小時。用H<sub>2</sub>O (10 mL)稀釋反應混合物，並用EtOAc (10 mL× 3)萃取。將合併之有機層用鹽水(30 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在減壓下濃縮。殘餘物藉由製備型HPLC (管柱：Luna C18 100 × 30 × 5 u；移動相：A：水(0.1%TFA)，B：ACN；B%：20%-60%，10 min)進行純化，以產生**54.1** (5.00 mg)。

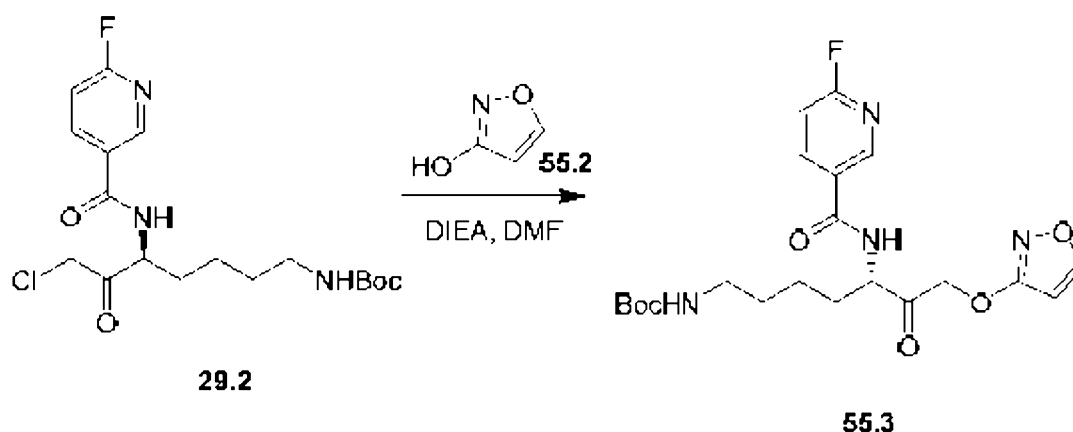


向於DCM (2.50 mL)中之**54.1** (5.00 mg)添加TFA (0.5 mL)。將混合物在10°C下攪拌12小時。將反應混合物在減壓下濃縮，以產生化合物**54** (2.00 mg)；LCMS [M + H]：336；RT=3.720 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz，甲醇-d<sub>4</sub>) δ ppm 1.51 - 1.66 (m, 2 H), 1.70 - 1.79 (m, 2 H), 1.81 - 1.91 (m, 1 H), 2.03 - 2.19 (m, 1 H), 2.96 (br t, J=7.61 Hz, 2 H), 3.77 (s, 1 H), 4.84 (br d, J=4.85 Hz, 1 H), 5.96 (d, J=2.65 Hz, 2 H), 7.46 (ddd, J=7.22, 5.13, 1.76 Hz, 1 H), 8.25 - 8.41 (m, 2 H), 8.68 - 8.80 (m, 1 H)。

實例51. (S)-N-(7-氨基-1-(異噁唑-3-基氧基)-2-側氧基庚-3-基)-6-氟菸鹼醯胺(55)之製備

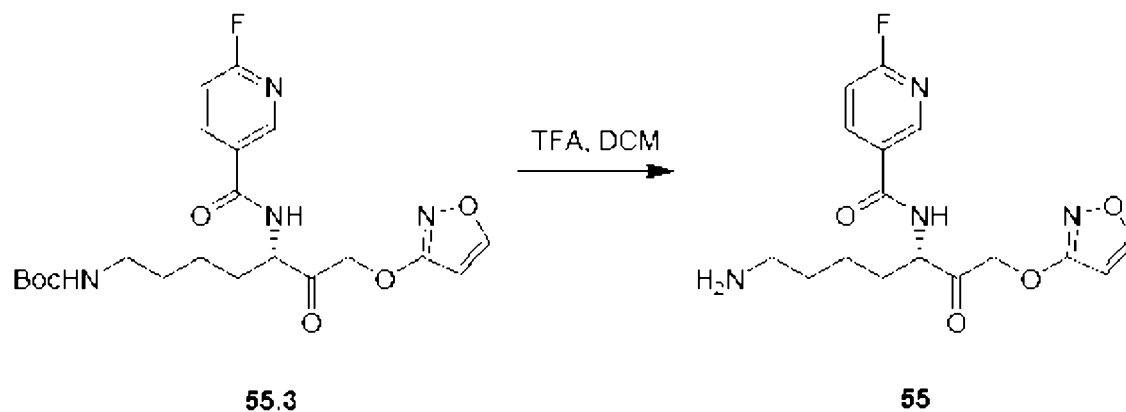


將**55.1** (10.00 g, 101.94 mmol, 10.00 mL, 1.00 當量)、鹽酸羥胺 (9.21 g, 132.52 mmol, 1.30 當量)、NaOH (15.25 g, 381.26 mmol, 3.74 當量)於H<sub>2</sub>O (150.00 mL)及MeOH (170.00 mL)中之混合物在25°C下攪拌100小時。利用濃鹽酸將混合物酸化至pH 2，且然後利用氯化鈉飽和。用DCM (8 × 150 ml)萃取溶液，合併萃取物，乾燥並將溶劑蒸發。將固體殘餘物用熱異己烷(3 × 100 ml)洗滌，並使最終懸浮液冷卻且藉由過濾收集所得固體，在真空下乾燥以產生呈黃色固體之**55.2** (4.00 g, 47.03 mmol, 46.13%產率)。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 氯仿-*d*) δ ppm 6.04 (d, *J*=1.76 Hz, 1 H), 8.10 (d, *J*=1.76 Hz, 1 H), 11.11 (br s, 1 H)。



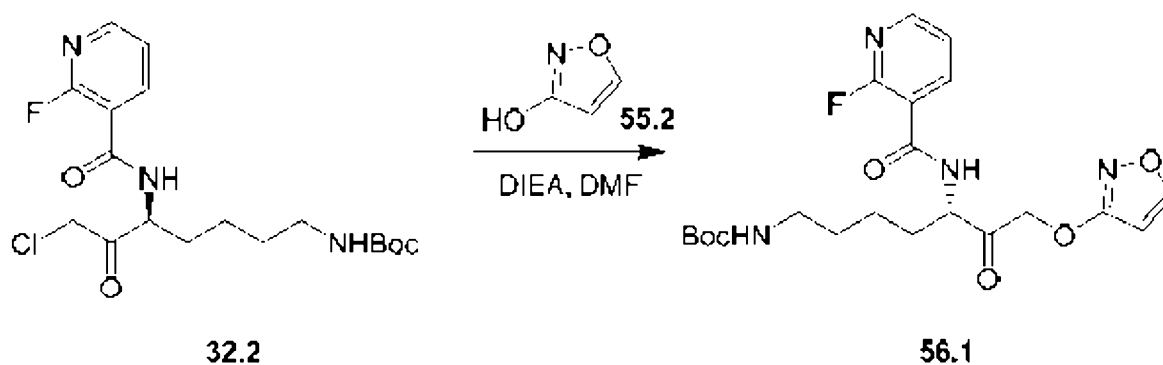
向於DMF (3.00 mL)中之**29.2** (200.00 mg, 497.69 μmol, 1.00 當量)添加K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (206.36 mg, 1.49 mmol, 3.00 當量)及**55.2** (55.03 mg, 647.00 μmol, 1.30 當量)。將混合物在25°C下攪拌15小時。用H<sub>2</sub>O (10 mL)稀釋反

應混合物，並用EtOAc (10 mL× 3)萃取。將合併之有機層用鹽水(30 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在減壓下濃縮。殘餘物藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>，石油醚/乙酸乙酯=2:1)進行純化，以產生呈黃色油狀物之**55.3** (0.1 g, 222.00 μmol, 44.61%產率)；LCMS [M + H] : 451 ; RT=1.145 min。

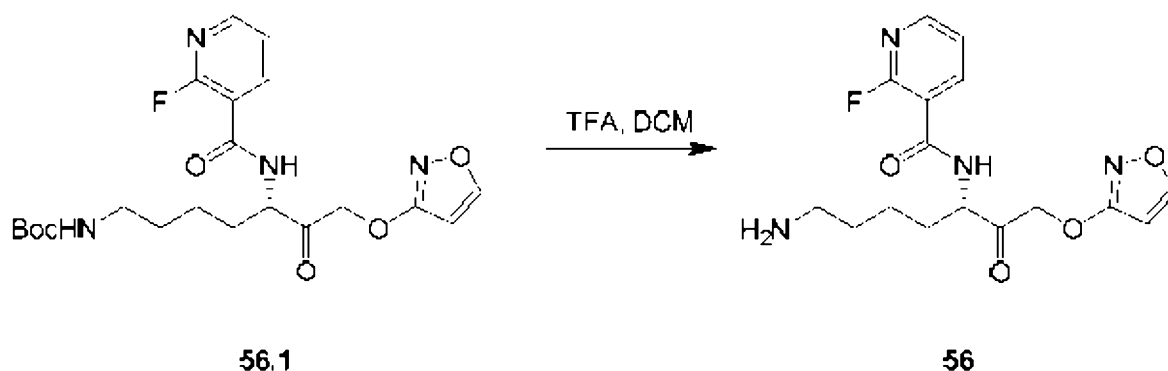


向**55.3** (0.1 g)於DCM (5 mL)中之溶液添加TFA (1 mL)。將混合物在25°C下攪拌15小時。將混合物在減壓下濃縮以產生殘餘物。殘餘物藉由製備型HPLC (TFA條件)進行純化，以產生化合物**55** (20 mg)；LCMS [M + H] : 351 ; RT=0.850 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 甲醇-*d*<sub>4</sub>) δ ppm 1.44 - 1.66 (m, 2 H), 1.67 - 1.90 (m, 3 H), 2.00 - 2.18 (m, 1 H), 2.82 - 3.09 (m, 2 H), 4.79 (dd, *J*=9.26, 4.85 Hz, 1 H), 5.06 - 5.22 (m, 2 H), 6.18 (d, *J*=1.10 Hz, 1 H), 7.07 - 7.27 (m, 1 H), 8.30 - 8.47 (m, 2 H), 8.72 (d, *J*=1.98 Hz, 1 H)。

**實例52. (S)-N-(7-胺基-1-(異噁唑-3-基氧基)-2-側氧基庚-3-基)-2-氟菸鹼醯胺(56)之製備**

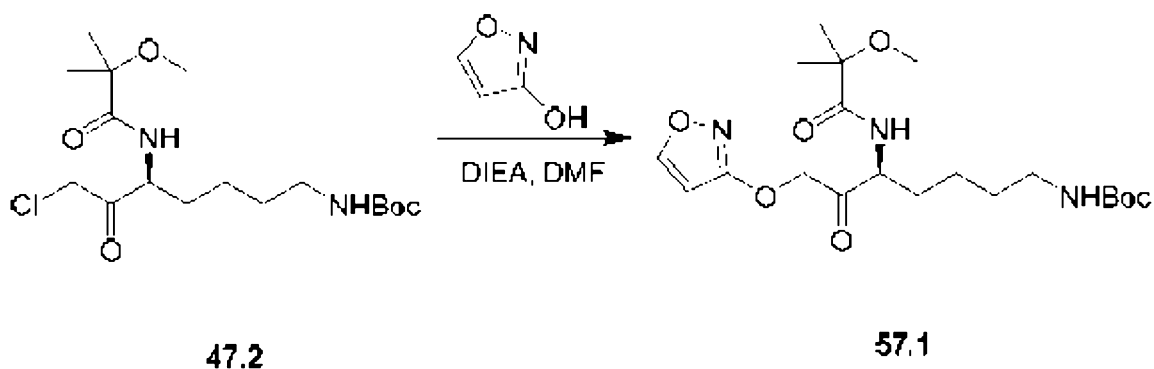


向於DMF (15.00 mL)中之**32.2** (1.40 g, 3.48 mmol, 1.00 當量)添加  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (1.44 g, 10.44 mmol, 3.00 當量)及異噁唑-3-醇(**55.2**, 296.01 mg, 3.48 mmol, 1.00 當量)。將混合物在25°C下攪拌15小時。用 $\text{H}_2\text{O}$  (10 mL)稀釋反應混合物，並用EtOAc (10 mL $\times$  3)萃取。將合併之有機層用鹽水 (30 mL)洗滌，經 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 乾燥，過濾並在減壓下濃縮。殘餘物藉由管柱層析( $\text{SiO}_2$ ，石油醚/乙酸乙酯=2:1)進行純化，以產生**56.1** (300 mg)；LCMS [M + H] : 453 ; RT=1.379 min。

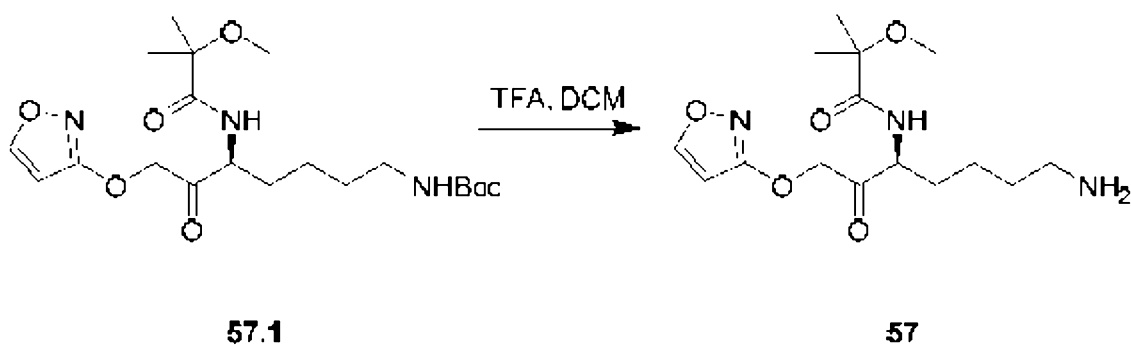


向於DCM (5 mL)中之**56.1** (0.3 g)添加TFA (1 mL)。將混合物在25°C下攪拌15小時。將混合物在減壓下濃縮以產生殘餘物。殘餘物藉由製備型HPLC (TFA條件)進行純化，以產生化合物**56** (20 mg)；LCMS [M + H] : 351 ; RT=0.730 min。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  ppm 1.45 - 1.64 (m, 2 H), 1.65 - 1.89 (m, 3 H), 1.96 - 2.18 (m, 1 H), 2.95 (br t,  $J=7.50$  Hz, 2 H), 4.81 (br dd,  $J=9.15, 4.74$  Hz, 1 H), 5.16 (s, 2 H), 6.19 (s, 1 H), 7.46 (br t,  $J=6.06$  Hz, 1 H), 8.14 - 8.50 (m, 3 H)。

實例53. (S)-N-(7-胺基-1-(異噁唑-3-基氧基)-2-側氧基庚-3-基)-2-甲氧基-2-甲基丙醯胺(57)之製備



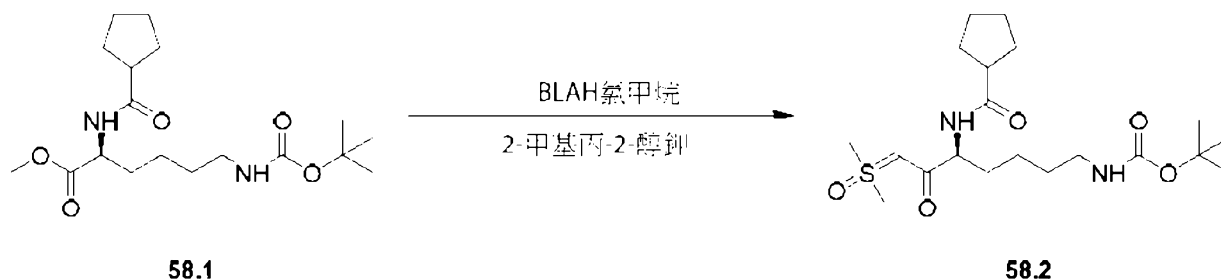
向**47.2** (893 mg, 2.36 mmol, 1 當量)及異噁唑-3-醇(200.48 mg, 2.36 mmol, 1 當量)於DMF (8 mL)中之溶液添加DIPEA (913.83 mg, 7.07 mmol, 1.23 mL, 3 當量)。將混合物在25°C下攪拌10小時。用H<sub>2</sub>O (10 mL)稀釋反應混合物，並用EtOAc (10 mL× 3)萃取。將合併之有機層用鹽水 (30 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在減壓下濃縮。殘餘物藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>，石油醚/乙酸乙酯=10/1至1/1)進行純化，以產生**57.1** (130 mg)；LCMS [M + H]：428；RT=0.649 min。



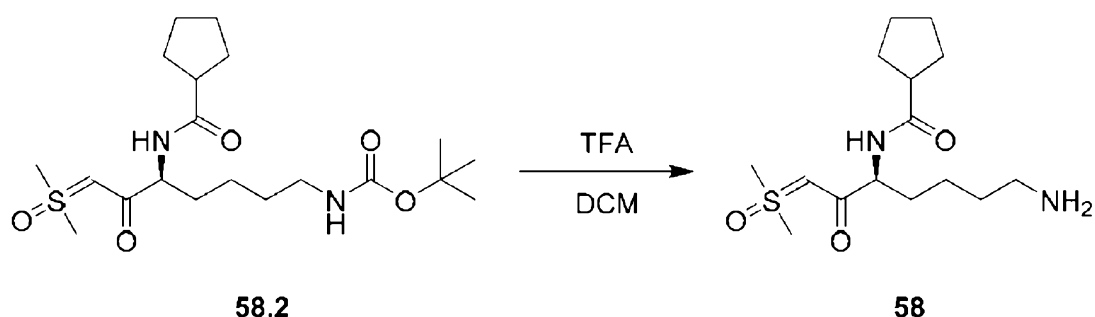
向於DCM (5 mL)中之**57.1** (50 mg)添加TFA (1 mL)。將混合物在25°C下攪拌10小時。殘餘物藉由製備型HPLC (TFA條件)進行純化，以產生化合物**57** (10 mg)；LCMS [M + H]：328；RT=2.430 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz，甲醇-*d*<sub>4</sub>) δ ppm 1.38 (s, 7 H), 1.45 (br d, *J*=6.84 Hz, 2 H), 1.58 - 1.80 (m, 4 H), 2.01 (br s, 1 H), 2.92 (br d, *J*=7.28 Hz, 2 H), 3.31 -

3.33 (m, 3 H), 4.53 - 4.62 (m, 1 H), 4.99 - 5.14 (m, 2 H), 6.17 (s, 1 H), 8.38 (s, 1 H)。

**實例54. (S)-N-(7-胺基-1-(二甲基(側氧基)-λ6-亞硫基)-2-側氧基庚-3-基)環戊烷甲醯胺(58)之製備**



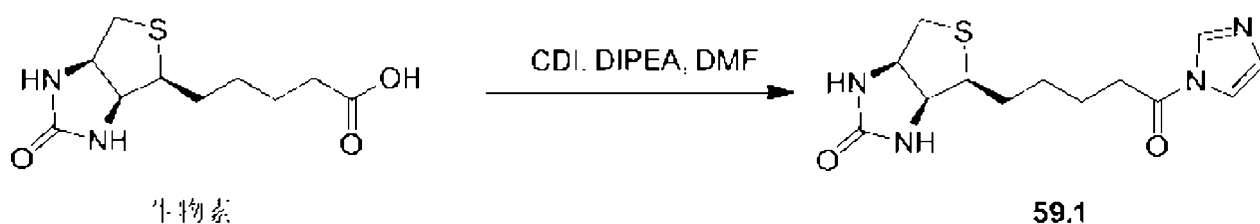
在25°C下將2-甲基丙-2-醇鉀(1 M, 5.87 mL, 2.99當量)逐滴添加至BLAH 氯甲烷(896.67 mg, 6.97 mmol, 3.55當量)之甲苯(17 mL)懸浮液中。將混合物加熱至70°C持續4小時，且然後冷卻至0°C。在0°C下逐滴添加**58.1** (0.7 g, 1.96 mmol, 1當量)之THF (15 mL)懸浮液，並將所得溶液在0°C下攪拌16小時。藉由MTBE將溶液洗滌三次。將濾餅在減壓下濃縮，以產生呈白色固體之**58.2** (630 mg, 1.51 mmol, 38.51%產率)；LCMS [M + H] : 417 ; RT=0.910 min。



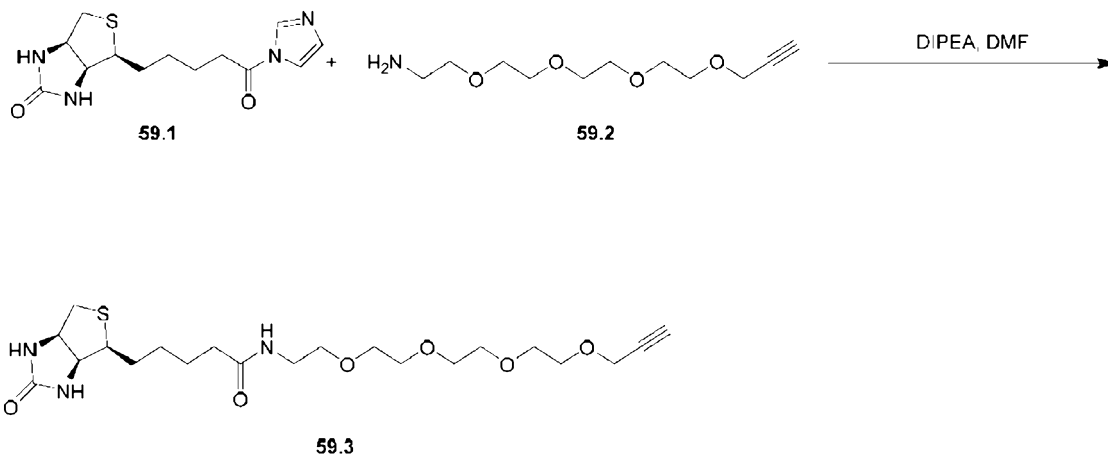
在N<sub>2</sub>下在18°C下向**58.2** (50 mg)於DCM (2 mL)中之溶液一次性添加TFA (0.4 mL)。將混合物在18°C下攪拌30 min。將反應混合物在減壓下濃縮，以產生呈黃色油狀物之化合物**58** (50 mg)；LCMS [M + H] : 317 ; RT=1.782 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 乙腈-d<sub>3</sub>) δ ppm 1.39 - 1.51 (m, 2

H), 1.56 (br d,  $J=6.60$  Hz, 2 H), 1.67 (br d,  $J=4.77$  Hz, 6 H), 1.75 - 1.89 (m, 4 H), 2.70 (dt,  $J=15.68, 7.75$  Hz, 1 H), 2.94 (br s, 2 H), 3.63 (s, 8 H), 4.17 - 4.26 (m, 1 H)。

**實例55. N-((S)-7-胺基-1-(2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)-3-(4-(15-側氧基-19-((3aS,4S,6aR)-2-側氧基六氫-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)-2,5,8,11-四氧雜-14-氮雜十九烷基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苯甲醯胺(59)之製備**



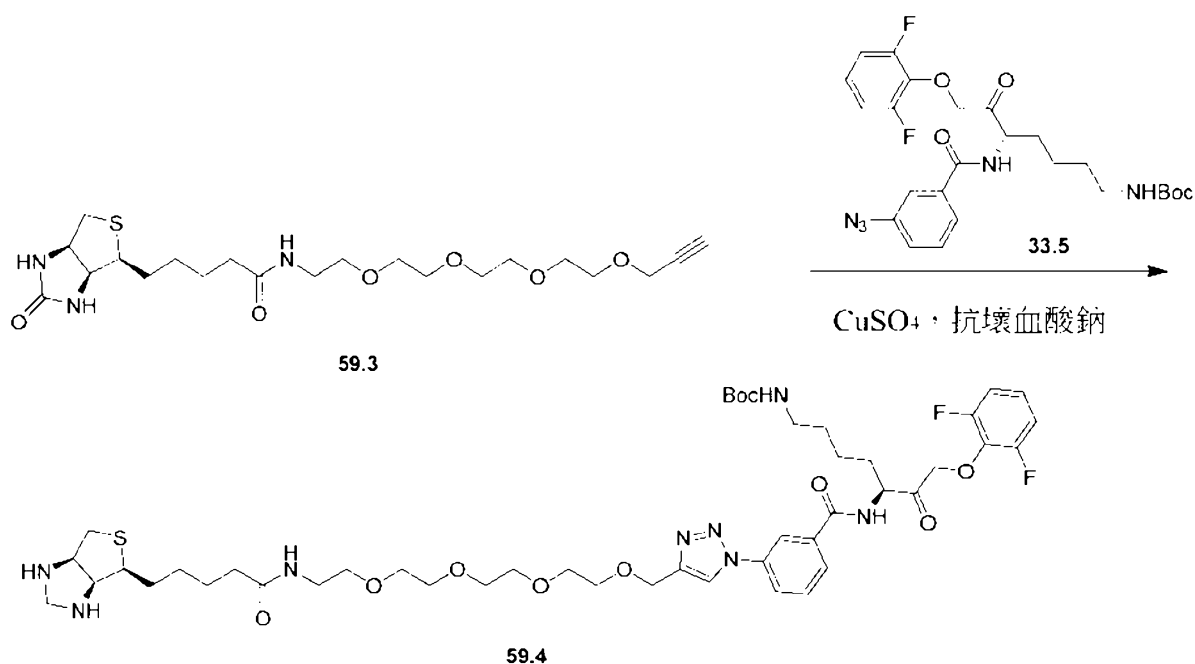
將生物素(159.29 mg, 982.36  $\mu\text{mol}$ , 1.2 當量)於DMF (2 mL)中之混合物在25 $^{\circ}\text{C}$ 下攪拌12小時。將混合物過濾並在減壓下濃縮，以產生呈白色固體之**59.1** (200 mg, 粗製)；LCMS [M + H] : 295 ; RT=0.298 min。



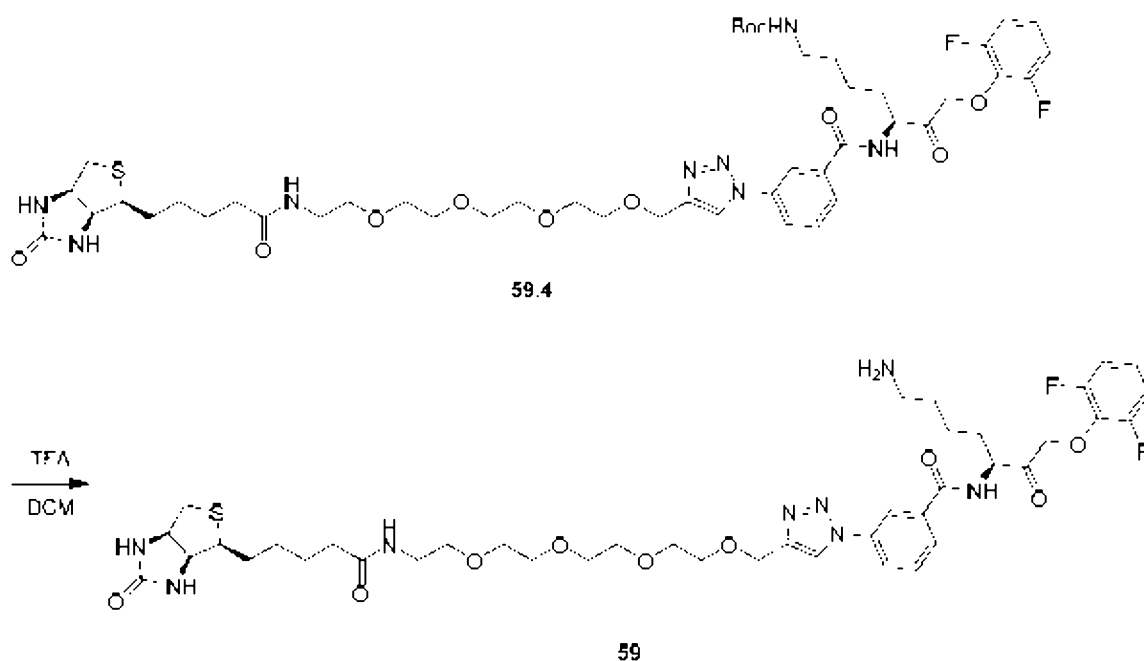
將**59.1** (127.28 mg, 432.36  $\mu\text{mol}$ , 1 當量)、**59.2**(100 mg, 432.36  $\mu\text{mol}$ , 1 當量)、DIPEA (167.64 mg, 1.30 mmol, 225.93  $\mu\text{L}$ , 3 當量)於DMF (3 mL)中之混合物在25 $^{\circ}\text{C}$ 下攪拌12小時。殘餘物藉由製備型HPLC (TFA條件)進行純化，以產生呈白色固體之**59.3** (100 mg, 218.54  $\mu\text{mol}$ ,



50.55%產率)；LCMS [M + H] : 458 ; RT=1.052 min。



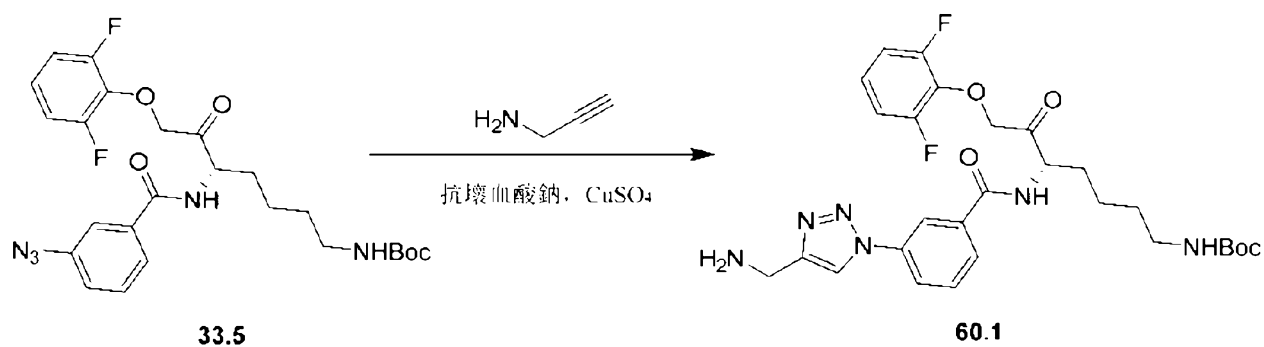
向**59.3** (80 mg, 174.83  $\mu\text{mol}$ , 1 當量)於DMSO (2 mL)及H<sub>2</sub>O (0.2 mL)中之溶液添加**33.5** (90.48 mg, 174.83  $\mu\text{mol}$ , 1 當量)及CuSO<sub>4</sub> (5.58 mg, 34.97  $\mu\text{mol}$ , 5.37  $\mu\text{L}$ , 0.2 當量)及抗壞血酸鈉(69.27 mg, 349.66  $\mu\text{mol}$ , 2 當量)。將混合物在25°C下攪拌10 min。藉由在25°C下添加10 mL H<sub>2</sub>O使反應混合物淬滅，並用乙酸乙酯(10 mL  $\times$  3)萃取。將合併之有機層用飽和鹽水(5 mL)洗滌，經無水硫酸鈉乾燥，過濾並在減壓下濃縮，以產生粗產物。殘餘物藉由製備型TLC (SiO<sub>2</sub>, DCM: MeOH = 10:1)進行純化，以產生呈黃色油狀物之**59.4** (90 mg, 92.30  $\mu\text{mol}$ , 52.79%產率)；LCMS [M + H] : 951 ; RT=1.160 min。



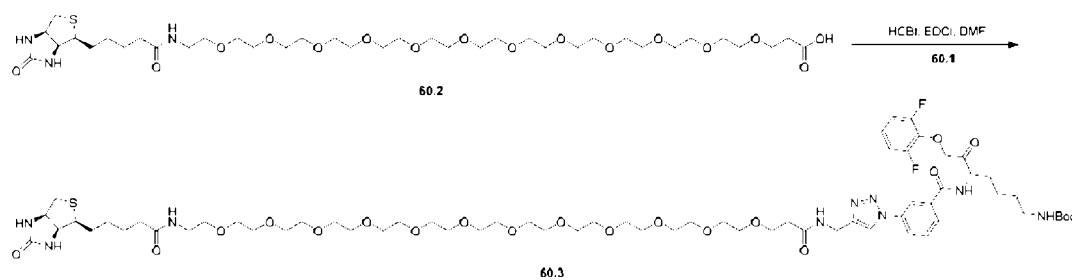
將於DCM (5 mL)及TFA (1 mL)中之**59.4** (90 mg, 92.30  $\mu\text{mol}$ )在 $\text{N}_2$ 氣氛下在 $25^\circ\text{C}$ 下攪拌12小時。將反應混合物在減壓下濃縮以產生殘餘物。殘餘物藉由製備型HPLC (TFA條件)進行純化，以產生呈白色固體之化合物**59** (20 mg, 22.86  $\mu\text{mol}$ )；LCMS [M + H] : 875 ; RT=0.870 min。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  ppm 1.25 - 1.46 (m, 2 H), 1.47 - 1.95 (m, 9 H), 2.02 - 2.29 (m, 3 H), 2.68 (d,  $J=12.57$  Hz, 1 H), 2.82 - 3.04 (m, 3 H), 3.07 - 3.22 (m, 1 H), 3.31 - 3.35 (m, 2 H), 3.43 - 3.54 (m, 2 H), 3.54 - 3.66 (m, 8 H), 3.67 - 3.78 (m, 4 H), 4.18 - 4.35 (m, 1 H), 4.47 (dd,  $J=7.72, 4.85$  Hz, 1 H), 4.75 (s, 2 H), 4.92 - 5.17 (m, 3 H), 6.88 - 7.18 (m, 2 H), 7.72 (t,  $J=7.94$  Hz, 1 H), 7.89 - 8.13 (m, 2 H), 8.30 - 8.43 (m, 1 H), 8.62 (s, 1 H)。

**實例56. N-((S)-7-胺基-1-(2,6-二氟苯氧基)-2-側氧基庚-3-基)-3-(4-(3,4,3-二側氧基-47-((3aS,4S,6aR)-2-側氧基六氫-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39-十二氧雜-2,42-二氮雜四十七烷基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苯甲醯胺(60)之製備**

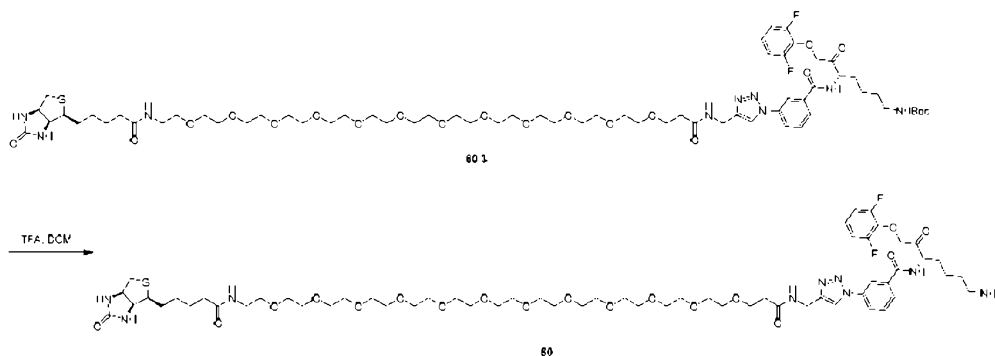


向丙-2-炔-1-胺(21.29 mg, 386.46  $\mu\text{mol}$ , 24.75  $\mu\text{L}$ , 1 當量)及**33.5** (200 mg, 386.46  $\mu\text{mol}$ , 1 當量)於DMSO (2 mL)中之溶液添加於 $\text{H}_2\text{O}$  (0.1 mL)中之 $\text{CuSO}_4$  (362.30  $\mu\text{g}$ , 2.27  $\mu\text{mol}$ , 3.48  $\mu\text{L}$ , 0.2 當量)及抗壞血酸鈉 (153.12 mg, 772.91  $\mu\text{mol}$ , 2 當量)。將混合物在 $25^\circ\text{C}$ 下攪拌15 min。藉由在 $25^\circ\text{C}$ 下添加10 mL  $\text{H}_2\text{O}$ 使反應混合物淬滅，並用乙酸乙酯(10 mL  $\times$  3)萃取。將合併之有機層用飽和鹽水(5 mL)洗滌，經無水硫酸鈉乾燥，過濾並在減壓下濃縮，以產生粗產物。殘餘物藉由管柱層析( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{DCM}:\text{MeOH} = 0:1$ )進行純化，以產生呈黃色固體之**60.1** (140 mg, 244.50  $\mu\text{mol}$ , 63.27%產率)；LCMS [ $\text{M} + \text{H}$ ] : 573 ;  $\text{RT}=0.991$  min。



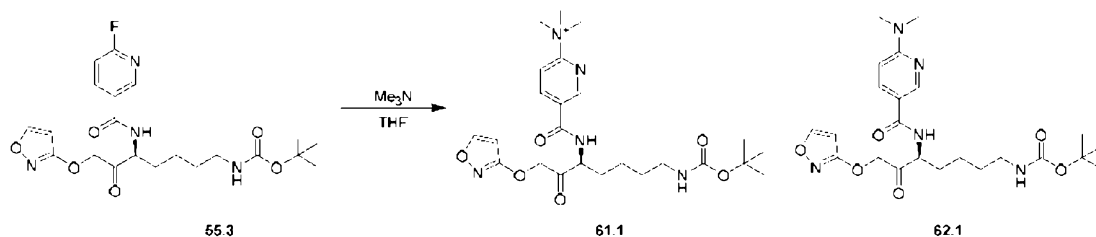
向**60.2** (200 mg, 236.96  $\mu\text{mol}$ , 1 當量)於DMF (5 mL)中之溶液添加HOBt (35.22 mg, 260.66  $\mu\text{mol}$ , 1.1 當量)及EDCI (49.97 mg, 260.66  $\mu\text{mol}$ , 1.1 當量)。將混合物在 $25^\circ\text{C}$ 下攪拌1小時。然後向該混合物添加**60.1** (135.69 mg, 236.96  $\mu\text{mol}$ , 1 當量)及DIPEA (122.50 mg, 947.85  $\mu\text{mol}$ , 165.10  $\mu\text{L}$ , 4 當量)。將混合物在 $25^\circ\text{C}$ 下攪拌11小時。殘餘物藉由製備型HPLC (TFA條件)進行純化，以產生呈黃色固體之**60.3** (55 mg, 39.32

$\mu\text{mol}$ , 16.60%產率) ; LCMS [M + H] : 700 ; RT=1.225 min。



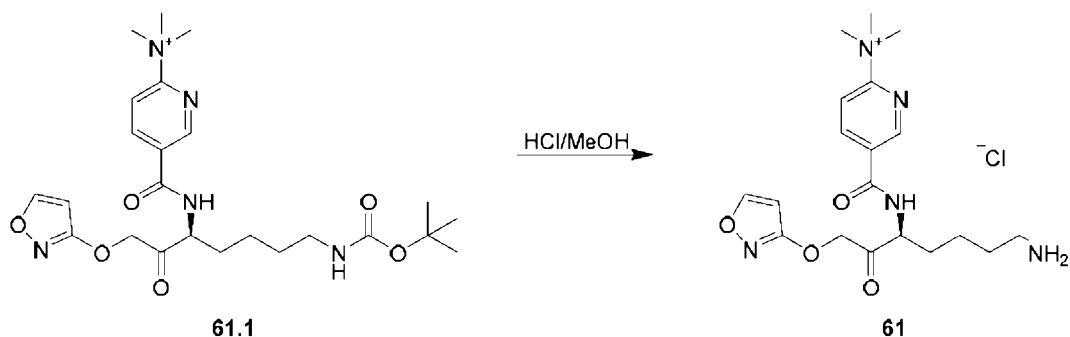
**60.3** (50 mg, 35.75  $\mu\text{mol}$ )於DCM (5 mL)及TFA (1 mL)中之混合物，將該混合物在25 $^{\circ}\text{C}$ 下攪拌12小時。將混合物在真空中濃縮以產生粗產物。殘餘物藉由製備型HPLC (TFA條件)進行純化，以產生呈黃色油狀物之化合物60 (15 mg, 11.55  $\mu\text{mol}$ ) ; LCMS [M + H] : 1299 ; RT=1.06 min。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  ppm 1.32 - 1.93 (m, 12 H), 2.06 - 2.27 (m, 3 H), 2.52 (t,  $J=5.95$  Hz, 2 H), 2.70 (d,  $J=12.79$  Hz, 1 H), 2.86 - 3.05 (m, 3 H), 3.14 - 3.24 (m, 1 H), 3.32 - 3.38 (m, 2 H), 3.45 - 3.68 (m, 49 H), 3.77 (t,  $J=5.84$  Hz, 2 H), 4.30 (dd,  $J=7.83, 4.52$  Hz, 1 H), 4.49 (dd,  $J=7.72, 4.63$  Hz, 1 H), 4.56 (s, 2 H), 4.96 - 5.13 (m, 2 H), 6.94 - 7.14 (m, 3 H), 7.64 - 7.77 (m, 1 H), 7.91 - 8.10 (m, 2 H), 8.28 - 8.39 (m, 1 H), 8.44 - 8.52 (m, 1 H)。

**實例57. (S)-5-((7-胺基-1-(異噁唑-3-基氧基)-2-側氧基庚-3-基)胺甲醯基)-N,N,N-三甲基吡啶-2-氯化銨(61)之製備**



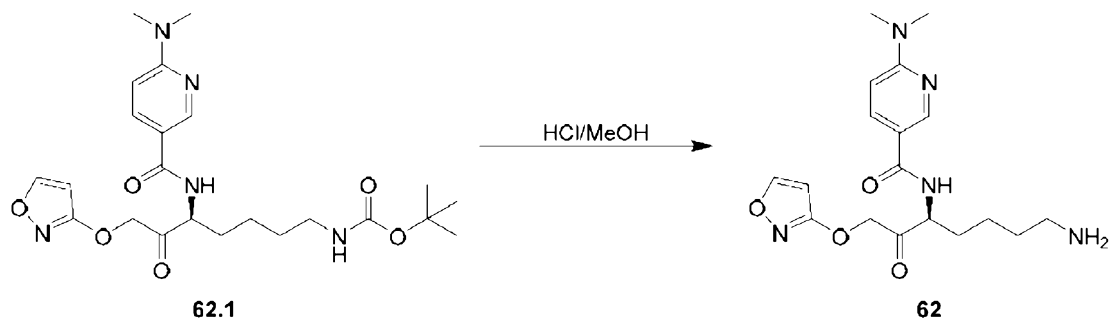
在18 $^{\circ}\text{C}$ 下向N,N-二甲基甲胺(2 M, 4.44 mL, 20當量)於THF (0.5 mL)

中之溶液一次性添加**55.3** (0.2 g, 443.99  $\mu\text{mol}$ , 1 當量)。將混合物在 $18^{\circ}\text{C}$ 下攪拌10小時。將反應混合物在減壓下濃縮以產生殘餘物。殘餘物藉由製備型HPLC (HCl條件)進行純化，以產生呈白色固體之**61.1** (20 mg, 40.77  $\mu\text{mol}$ , 9.18% 產率) 及 **62.1** (20 mg, 42.06  $\mu\text{mol}$ , 9.47% 產率) ;  $\text{C}_{24}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{O}_6$ 之LCMS [M + H] ; RT=1.136 min。



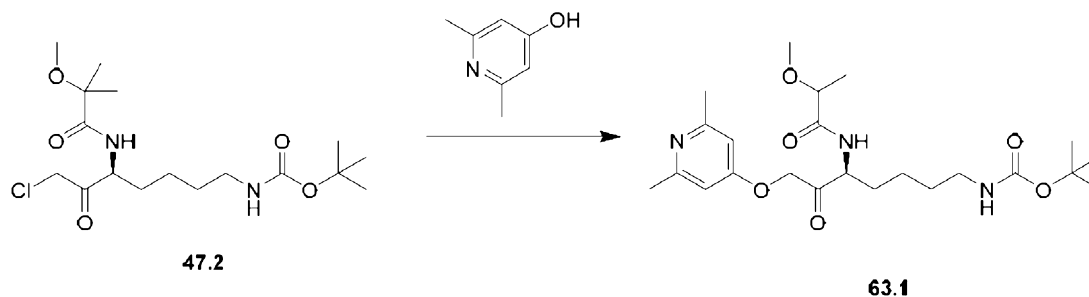
將**61.1** (20 mg)溶解於HCl/MeOH (2 mL)中，並將混合物在 $25^{\circ}\text{C}$ 下攪拌10 min。將反應混合物在減壓下濃縮，以產生呈黃色油狀物之化合物**61** (15 mg) ;  $\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{O}_4$ 之LCMS [M + H] : 391 ; RT=0.149 min。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  ppm 1.47 - 1.66 (m, 2 H), 1.68 - 1.82 (m, 2 H), 1.84 - 1.97 (m, 1 H), 2.01 - 2.16 (m, 1 H), 2.97 (br t,  $J=7.45$  Hz, 2 H), 3.67 - 3.74 (m, 9 H), 4.81 (dd,  $J=9.43, 4.60$  Hz, 1 H), 5.15 - 5.21 (m, 2 H), 6.17 - 6.23 (m, 1 H), 8.10 - 8.19 (m, 1 H), 8.39 (d,  $J=1.75$  Hz, 1 H), 8.64 (dd,  $J=8.77, 2.19$  Hz, 1 H), 9.11 (d,  $J=1.75$  Hz, 1 H)。

**實例58. (S)-N-(7-胺基-1-(異噁唑-3-基氧基)-2-側氧基庚-3-基)-6-(二甲基胺基)菸鹼鹽胺(62)之製備**



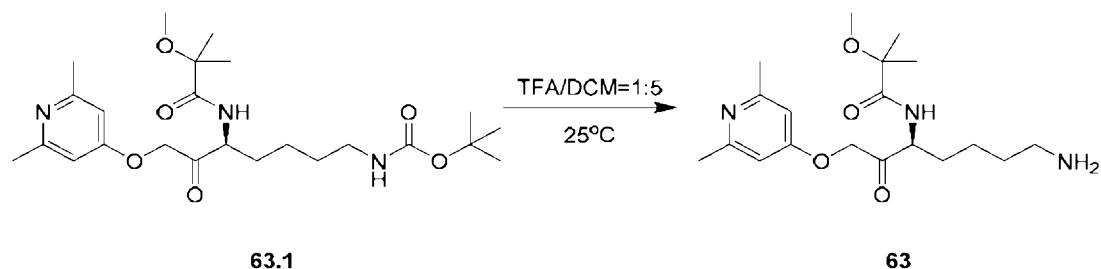
將**62.1** (20 mg)溶解於HCl/MeOH (2 mL)中，並將混合物在25°C下攪拌10 min。將反應混合物在減壓下濃縮，以產生呈黃色油狀物之化合物**62** (15 mg)； $C_{18}H_{26}N_5O_4$ 之LCMS [M + H] : 376 ; RT=2.077 min。 $^1H$  NMR (400 MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  ppm 1.46 - 1.67 (m, 2 H), 1.75 (br d,  $J=7.02$  Hz, 2 H), 1.87 (dtd,  $J=14.25, 9.65, 9.65, 4.60$  Hz, 1 H), 2.00 - 2.11 (m, 1 H), 2.97 (br t,  $J=7.45$  Hz, 2 H), 3.34 - 3.41 (m, 6 H), 4.74 (dd,  $J=9.21, 4.82$  Hz, 1 H), 5.16 (d,  $J=1.75$  Hz, 2 H), 6.19 (d,  $J=1.75$  Hz, 1 H), 7.33 (d,  $J=9.65$  Hz, 1 H), 8.39 (d,  $J=1.75$  Hz, 1 H), 8.43 (dd,  $J=9.65, 1.75$  Hz, 1 H), 8.52 (d,  $J=1.75$  Hz, 1 H)。

**實例59. (S)-N-(7-胺基-1-((2,6-二甲基吡啶-4-基)氧基)-2-側氧基庚-3-基)-2-甲氧基-2-甲基丙醯胺(63)之製備**



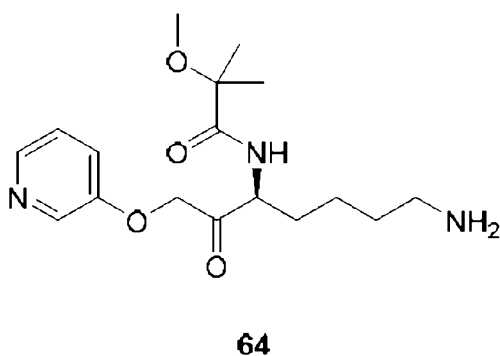
在 $N_2$ 下在25°C下向於DMF (9 mL)中之**47.2** (423 mg, 1.12 mmol, 1當量)及2,6-二甲基-4-羥基吡啶(137.49 mg, 1.12 mmol, 1當量)一次性添加 $K_2CO_3$  (462.89 mg, 3.35 mmol, 3當量)及KI (185.33 mg, 1.12 mmol, 1當量)。然後將混合物攪拌2小時。藉由添加 $H_2O$  (20 mL)使反應混合物淬滅，且然後用EtOAc (20 mL)稀釋並用EtOAc (10 mL  $\times$  3)萃取。將合併之有機層用 $H_2O$  (10 mL  $\times$  3)洗滌，經乾燥，過濾並在減壓下濃縮以產生殘餘物。殘餘物藉由管柱層析( $SiO_2$ , 石油醚/乙酸乙酯=3:1)進行純化，以產生呈白色固體之**63.1** (85 mg, 182.57  $\mu$ mol)；LCMS [M + H] : 466 ;

RT=1.155 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 甲醇-*d*<sub>4</sub>) δ ppm 1.38 (d, *J*=5.51 Hz, 8 H), 1.43 (s, 11 H), 1.50 (dt, *J*=13.67, 6.84 Hz, 3 H), 1.64 - 1.77 (m, 2 H), 1.88 - 1.99 (m, 2 H), 2.41 - 2.46 (m, 6 H), 2.99 - 3.09 (m, 3 H), 3.31 - 3.32 (m, 3 H), 4.55 - 4.62 (m, 2 H), 4.92 - 5.04 (m, 3 H), 6.66 (s, 2 H)。



將於DCM (5 mL)及TFA (1 mL)中之**63.1**(85 mg)攪拌0.5小時。將反應混合物在減壓下濃縮。殘餘物藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=2:1)進行純化, 以產生化合物**63** (50 mg); LCMS [M + H]: 366; RT=1.517 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 甲醇-*d*<sub>4</sub>) δ ppm 1.25 - 1.40 (m, 6 H), 1.46 - 1.59 (m, 2 H), 1.67 - 1.80 (m, 3 H), 1.94 - 2.05 (m, 1 H), 2.61 - 2.66 (m, 6 H), 2.93 (br t, *J*=7.58 Hz, 2 H), 3.30 - 3.32 (m, 3 H), 4.47 (dd, *J*=9.66, 4.40 Hz, 1 H), 5.22 - 5.40 (m, 2 H), 7.13 - 7.22 (m, 2 H)。

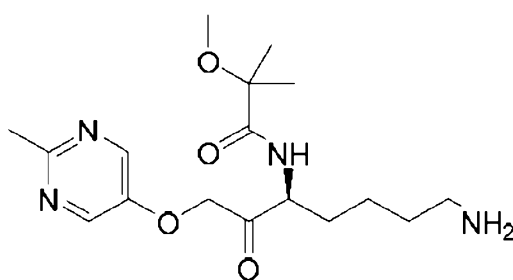
**實例60. (S)-N-(7-胺基-2-側氧基-1-(吡啶-3-基氧基)庚-3-基)-2-甲氧基-2-甲基丙醯胺(64)之製備**



化合物**64**係藉由與用於化合物**63**相同之方法來製備, 其中使用3-羥

基吡啶代替2,6-二甲基-4-羥基吡啶；LCMS [M + H] : 338 ; RT = 4.585 min 。 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz , 甲醇-*d*<sub>4</sub>) δ ppm 1.21 - 1.40 (m, 6 H), 1.42 - 1.58 (m, 2 H) ,1.64 - 1.80 (m, 3 H), 1.95 - 2.05 (m, 1 H) ,2.93 (br t, *J*=7.64 Hz, 2 H) ,3.30 - 3.32 (m, 3 H), 4.51 (dd, *J*=9.66, 4.40 Hz, 1 H), 5.14 - 5.29 (m, 2 H) ,7.86 (dd, *J*=8.80, 5.38 Hz, 1 H) ,7.98 - 8.03 (m, 1 H), 8.41 (br d, *J*=5.14 Hz, 1 H), 8.51 (br d, *J*=2.08 Hz, 1 H) 。

**實例61. (S)-N-(7-胺基-1-((2-甲基嘧啶-5-基)氧基)-2-側氧基庚-3-基)-2-甲氧基-2-甲基丙醯胺(65)之製備**

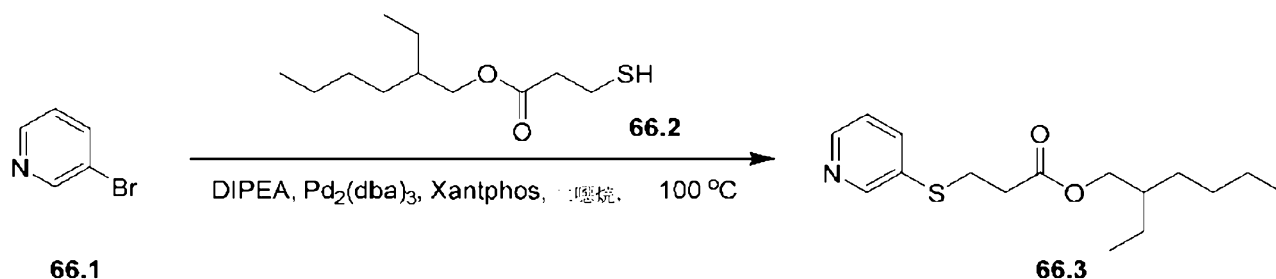


**65**

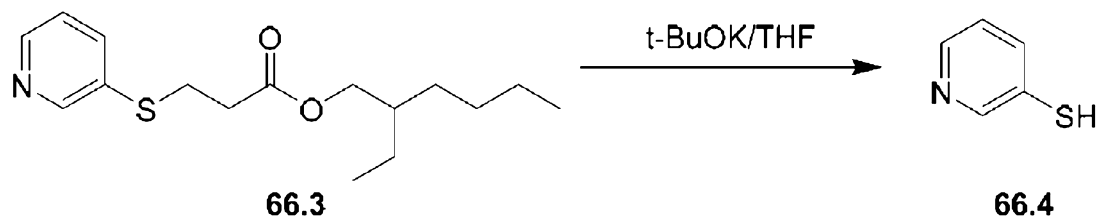
化合物**65**係藉由與用於化合物**63**相同之方法來製備，其中使用5-羥基嘧啶代替2,6-二甲基-4-羥基吡啶；LCMS [M + H] : 353 ; RT = 1.98 min 。 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1.24 (br s, 1 H), 1.31 (s, 7 H), 1.34 (br s, 1 H), 1.45 - 1.58 (m, 2 H), 1.65 (dtd, *J*=14.00, 9.48, 9.48, 4.71 Hz, 1 H), 1.78 - 1.89 (m, 1 H), 2.55 (s, 3 H), 2.72 - 2.85 (m, 2 H), 3.20 (s, 3 H), 4.19 - 4.61 (m, 1 H), 5.18 (br s, 2 H), 7.68 (br s, 2 H), 8.21 (d, *J*=7.70 Hz, 1 H), 8.36 (s, 2 H) 。

**實例62. (S)-N-(7-胺基-2-側氧基-1-(吡啶-3-基硫基)庚-3-基)-2-甲氧基-2-甲基丙醯胺(66)之製備**

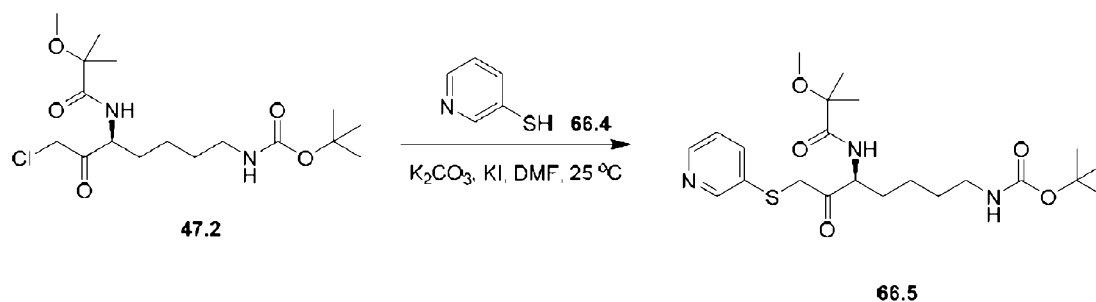




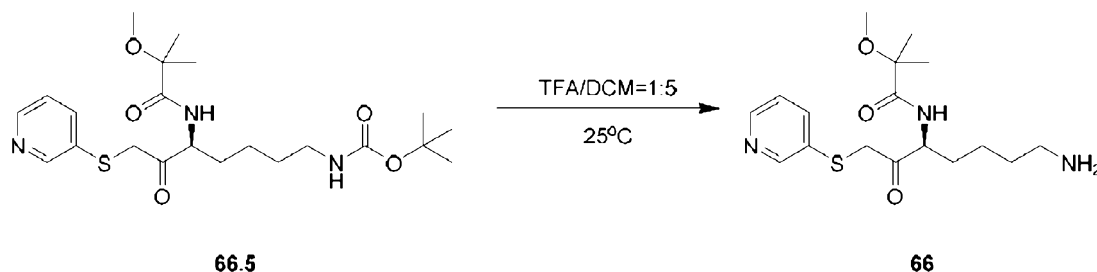
向於二噁烷(20 mL)中之**66.1** (2 g, 12.66 mmol, 1.22 mL, 1 當量)添加**66.2** (2.90 g, 13.29 mmol, 1.05 當量)、DIPEA (3.27 g, 25.32 mmol, 4.41 mL, 2 當量)及 Xantphos (732.45 mg, 1.27 mmol, 0.1 當量)、Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (579.58 mg, 632.93 μmol, 0.05 當量)。將混合物在100°C下攪拌2小時。藉由添加H<sub>2</sub>O (20 mL)使反應混合物淬滅，並用EtOAc (20 mL × 3)萃取。將合併之有機層用鹽水(20 mL)洗滌，經Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，並在減壓下濃縮以產生殘餘物。殘餘物藉由MPLC (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=10/1至1:1)進行純化，以產生呈黃色油狀物之**66.3** (3.6 g, 12.19 mmol, 96.26%產率)。



向於THF (10 mL)中之**66.3** (800 mg, 2.71 mmol, 1 當量)添加t-BuOK/THF (1 M, 4.06 mL, 1.5 當量)。將混合物在-78°C下攪拌1 h。將反應混合物在減壓下濃縮以產生殘餘物。殘餘物藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>, EtOAc/MeOH=10/1至1:1)進行純化，以產生呈黃色油狀物之**66.4** (80 mg)。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 8.53 (d, *J*=1.75 Hz, 1 H), 8.31 (dd, *J*=4.82, 1.32 Hz, 1 H), 7.83 - 7.91 (m, 1 H), 7.30 (dd, *J*=7.45, 4.82 Hz, 1 H), 3.58 (br s, 8 H) 3.38 - 3.73 (m, 1 H)。



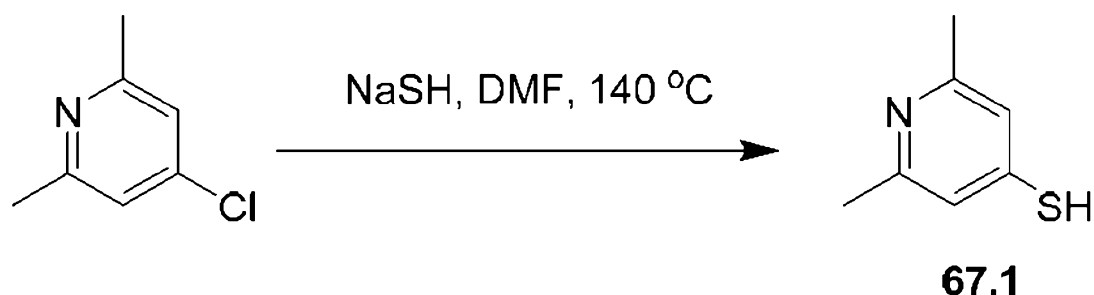
向於DMF (5 mL)中之**47.2** (500 mg, 1.32 mmol, 1當量)添加**66.4** (80 mg, 719.65  $\mu$ mol, 5.45當量)、 $K_2CO_3$  (547.15 mg, 3.96 mmol, 3當量)及KI (219.06 mg, 1.32 mmol, 1當量)。將混合物在25°C下攪拌5 h。過濾反應混合物，且所期望之化合物係於濾液中。藉由製備型HPLC (管柱：Phenomenex Luna C18 200  $\times$  40 mm  $\times$  10  $\mu$ m；移動相：A：水 (0.1%TFA)-B：ACN；B%：15%-35%，8 min)純化濾液，以產生**66.5** (40 mg, 88.18  $\mu$ mol)。



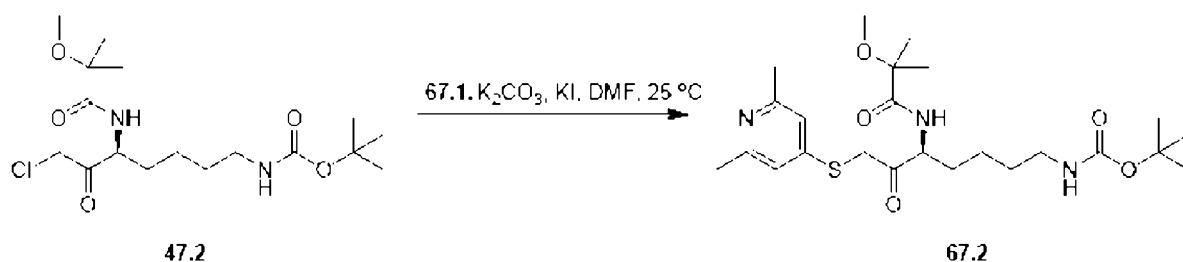
向於DCM (5 mL)中之**66.5**添加TFA (1 mL)。將混合物在25°C下攪拌1 h。將反應混合物在減壓下濃縮以產生殘餘物，產生化合物**66** (12 mg)；LCMS [M + H] : 354 ; RT= 1.83 min。 $^1H$  NMR (400 MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  ppm 8.62 (br s, 1 H) ,8.49 (br s, 1 H) ,8.14 (d,  $J=8.33$  Hz, 1 H) ,7.62 (dd,  $J=8.33, 4.82$  Hz, 1 H) ,4.60 (dd,  $J=9.43, 4.17$  Hz, 1 H), 4.10 - 4.21 (m, 1 H), 3.29 (br s, 3 H), 2.90 (br t,  $J=7.45$  Hz, 2 H), 1.97 (br d,  $J=10.09$  Hz, 1 H), 1.62 - 1.74 (m, 3 H), 1.42 (br d,  $J=4.39$  Hz, 1 H), 1.36 (d,  $J=4.38$  Hz, 8 H), 1.27 - 1.33 (m, 1 H)。

**實例63. (S)-N-(7-胺基-1-((2,6-二甲基吡啶-4-基)硫基)-2-側氧基庚-3-基)-**

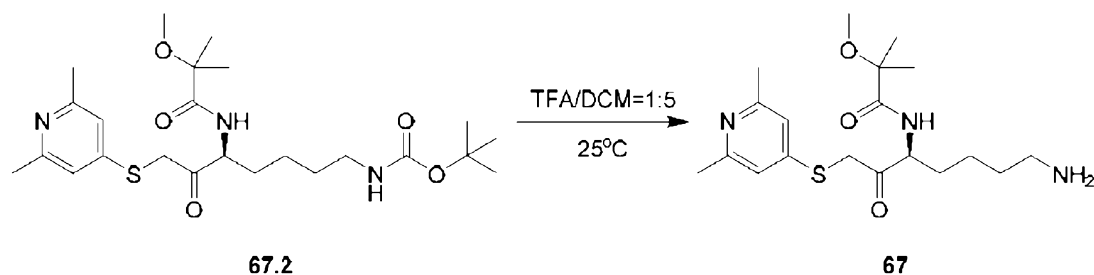
## 2-甲氧基-2-甲基丙醯胺(67)之製備



向於DMF (20 mL)中之2,6-二甲基-4-氯吡啶(2 g, 14.12 mmol, 1 當量)添加NaSH (1.98 g, 35.31 mmol, 2.5 當量)。將混合物在140°C下攪拌2 h。將反應混合物在減壓下濃縮以產生殘餘物。殘餘物藉由MPLC (二氯甲烷:甲醇SiO<sub>2</sub>, =10/1至1:1)進行純化,以產生呈黃色固體之**67.1** (2.7 g)。

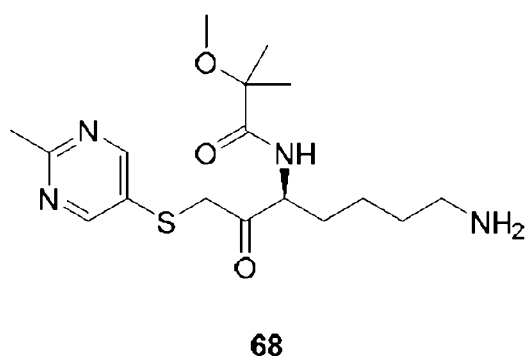


向於DMF (7 mL)中之**67.1** (367.44 mg, 2.64 mmol, 1 當量)添加**47.2** (1 g, 2.64 mmol, 1 當量)、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.09 g, 7.92 mmol, 3 當量)及KI (438.12 mg, 2.64 mmol, 1 當量)。將混合物在25°C下攪拌2 h。過濾反應混合物,且所期望之化合物係於濾液中。藉由製備型HPLC (管柱: Phenomenex Luna (2) C18, 250 × 50 × 10 u; 移動相A: 水(0.1%TFA)及B: ACN; 梯度B%: 10%-40%經20 min)純化濾液,以產生**67.2** (353 mg)。



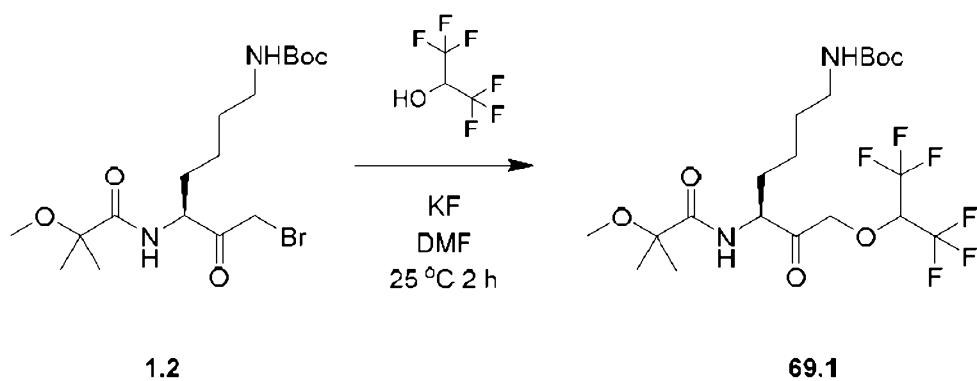
向於DCM (5 mL)中之**67.2** (353 mg)添加TFA (1 mL)。將混合物在25°C下攪拌1 h。將反應混合物在減壓下濃縮以產生化合物**67** (350 mg)；LCMS [M + H] : 382 ; RT=1.799 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 甲醇-*d*<sub>4</sub>) δ ppm 7.40 - 7.52 (m, 2 H), 4.32 - 4.57 (m, 3 H), 3.32 (br s, 3 H), 2.94 (br t, *J*=7.64 Hz, 2 H), 2.63 (s, 6 H), 1.95 - 2.08 (m, 1 H), 1.65 - 1.83 (m, 3 H), 1.43 - 1.57 (m, 2 H), 1.39 (d, *J*=5.62 Hz, 6 H)。

**實例64. (S)-N-(7-胺基-1-((2-甲基嘓啶-5-基)硫基)-2-側氧基庚-3-基)-2-甲氧基-2-甲基丙醯胺(68)之製備**

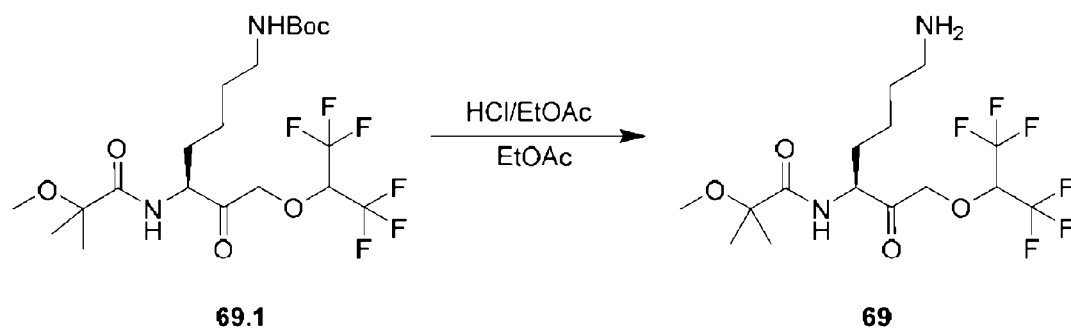


化合物**68** 係藉由與用於化合物**66**相同之方法來製備，其中使用2-甲基-5-溴嘓啶代替3-溴吡啶；LCMS [M + H] : 369 ; RT = 2.0 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 甲醇-*d*<sub>4</sub>) δ ppm 1.36 (s, 8 H), 1.38 - 1.48 (m, 2 H), 1.60 - 1.74 (m, 3 H), 1.90 - 2.01 (m, 1 H), 2.65 (s, 3 H), 2.90 (br t, *J*=6.80 Hz, 2 H), 3.29 (s, 3 H), 3.91 - 4.10 (m, 2 H), 4.62 (dd, *J*=9.43, 4.60 Hz, 1 H), 8.68 (s, 2 H)。

**實例65. (S)-N-(7-胺基-1-((1,1,1,3,3,3-六氟丙-2-基)氧基)-2-側氧基庚-3-基)-2-甲氧基-2-甲基丙醯胺(69)之製備**



將化合物**1.2** (1.0 g, 2.36 mmol, 1.0 當量)、1,1,1,3,3,3-六氟異丙醇 (595 mg, 3.54 mmol, 1.5 當量)、KF (411 mg, 7.09 mmol, 3.0 當量)於DMF (7 mL)中之懸浮液脫氣並用N<sub>2</sub>吹掃3次，且然後將該懸浮液在N<sub>2</sub>氣氛下在25°C下攪拌2小時。LCMS指示化合物**1.2**完全消耗。用水(21 mL)使反應緩慢淬滅，且然後用EtOAc (20 mL× 2)萃取。將合併之有機相用鹽水(10 mL)洗滌，經無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>乾燥，過濾並在真空中濃縮。殘餘物藉由管柱層析(SiO<sub>2</sub>，石油醚:乙酸乙酯= 15:1至3:1)進行純化，以產生呈無色膠狀物之**69.1** (0.90 g, 1.67 mmol, 70% 產率)。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.05 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.73(broad s, 1H), 5.42-5.50 (m, 1H), 4.65 (dd, *J* = 1.2 Hz, *J* = 1.2 Hz, 2H), 4.26-4.32 (m, 1H), 3.15 (s, 3H), 2.80-2.91 (m, 2H), 1.67-1.75 (m, 1H), 1.52-1.58 (m, 1H), 1.33 (s, 11H), 1.25 (s, 6H) ppm。

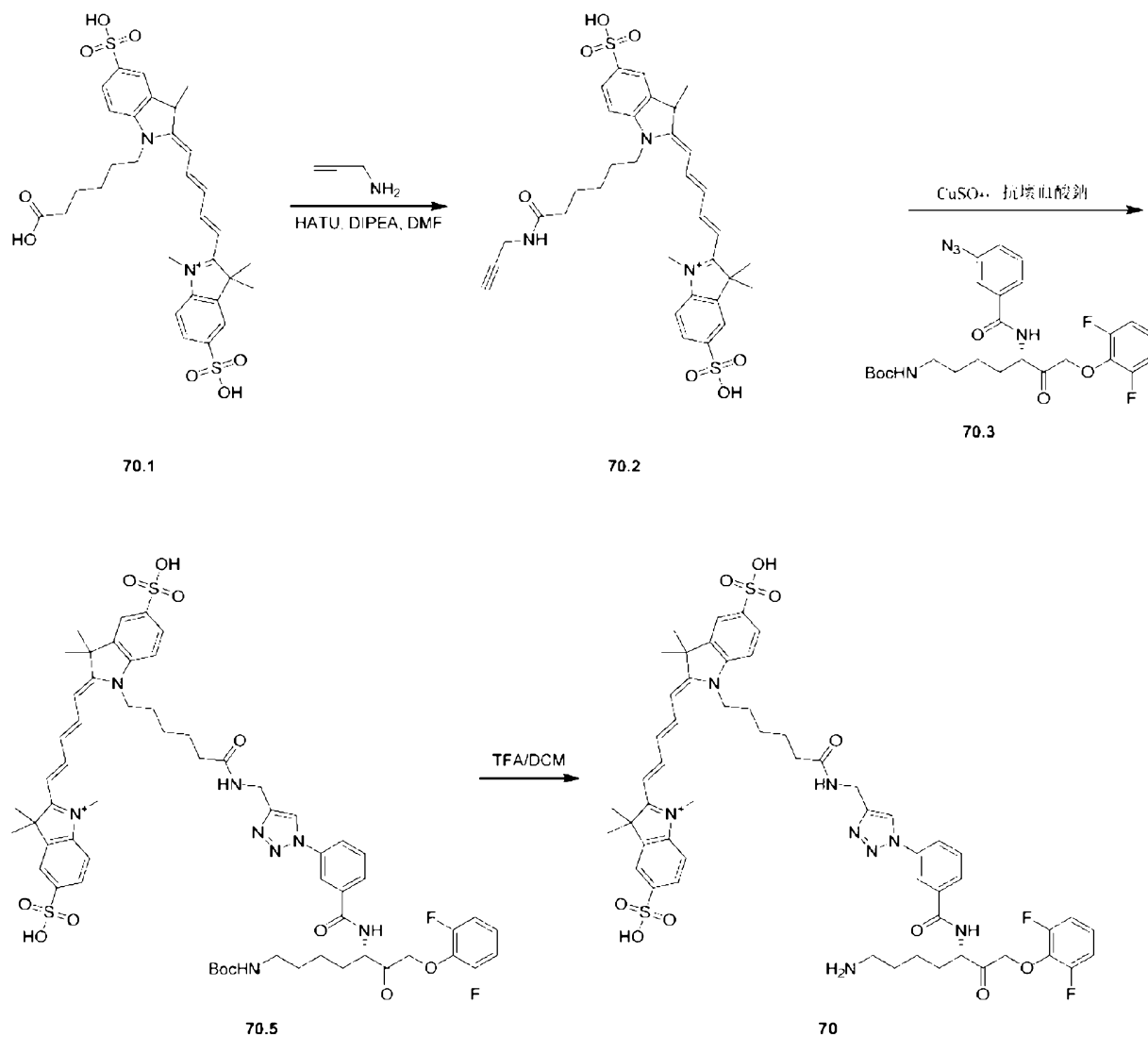


在0°C下向化合物**3** (0.90 g, 1.76 mmol, 1.0 當量)於EtOAc (10 mL)中

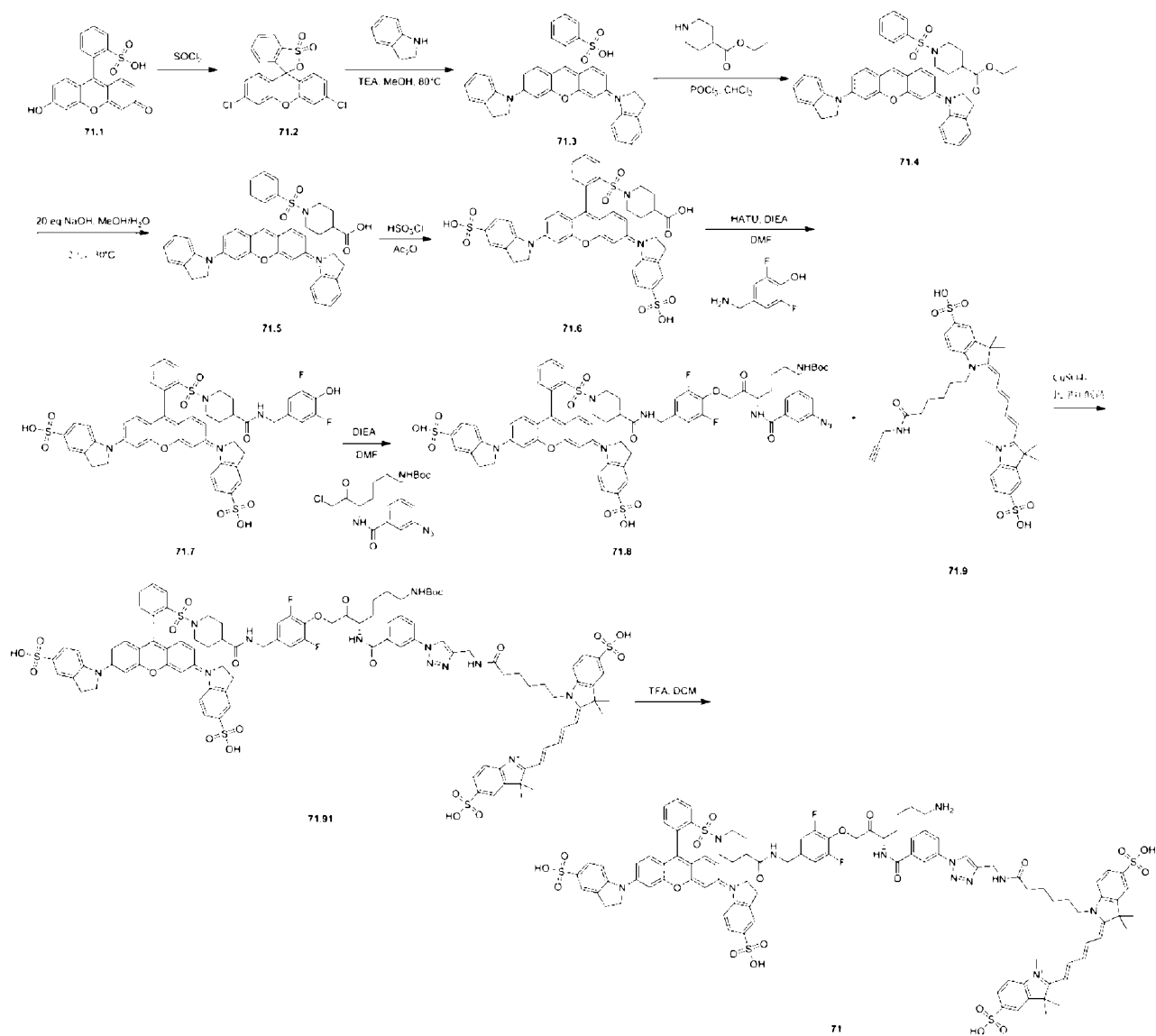
之溶液添加HCl/EtOAc (4 M, 10 mL, 22 當量)。將溶液在0°C下攪拌1小時。LCMS指示化合物**69.1**完全消耗。將反應混合物在減壓下濃縮以產生殘餘物。藉由冷凍乾燥器使其乾燥以產生呈黃色膠狀物之化合物**69** (0.78 g, 總產率: 63.7%, HCl鹽)。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.09 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.91 (br. s, 3H), 5.47-5.54 (m, 1H), 4.61-4.79 (m, 2H), 3.15 (s, 3H), 2.64-2.72 (m, 2H), 1.58-1.74 (m, 1H), 1.52-1.58 (m, 3H), 1.33-1.34 (m, 2H), 1.33 (s, 6H) ppm。

### 實例66. 青色素牙齦蛋白酶活性探針**70**、**71**及**72**之製備

探針化合物**70**係根據以下方案來製備。



探針化合物**71**係根據以下方案來製備。



探針化合物**72**係根據以下方案來製備。



### 實例67. 離胺酸牙齦蛋白酶之抑制

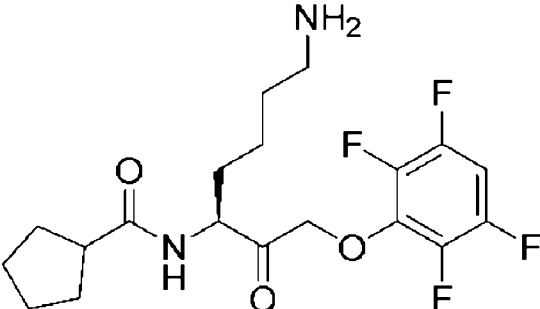
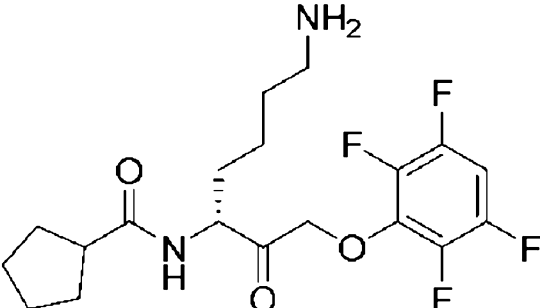
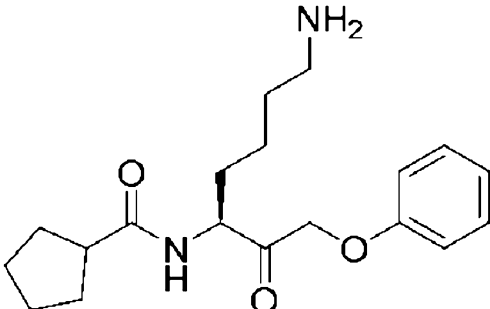
本發明之化合物抑制離胺酸牙齦蛋白酶之活性之能力係在與Barret (*Biochemical Journal*. **1980**, 187(3), 909)中所闡述之彼等類似之螢光分析中量測。具體分析條件係如下。緩衝液：在所有添加後，pH = 7.5，100 mM Tris-HCl、75 mM NaCl、2.5 mM CaCl<sub>2</sub>、10 mM半胱胺酸、1% DMSO。蛋白質：0.1 nM Kgp，自牙齦卟啉單胞菌之培養物分離，如Pike等人 (*J. Biol. Chem.* **1994**, 269(1), 406)以及Potempa及Nguyen (*Current*



*Protocols in Protein Science*. 2007, 21.20.1-21.20.27)所闡述。螢光受質：10  $\mu\text{M}$  Z-His-Glu-Lys-MCA。時間= 90分鐘。溫度= 37°C。每一化合物：10個濃度，以100  $\mu\text{M}$ 或100 nM開始，較低濃度由連續3倍稀釋產生。藉由測試每一化合物之濃度範圍，確定將離胺酸牙齦蛋白酶之活性抑制50%所需之濃度(「 $\text{IC}_{50}$ 」)。在所闡述之分析條件下，信號雜訊比優良，且Z因子大於0.6。測試表1中之化合物以及下表2中所示之化合物。

在類似分析中量測本發明之化合物抑制細胞自溶酶B、H、K、L及S之活性之能力。使用於含有DTT (1 mM)及EDTA (2 mM)之乙酸鈉緩衝液(50 mM, pH 5.5)中之Boc-Leu-Arg-Arg-AMC (20  $\mu\text{M}$ )用於細胞自溶酶B分析。使用於含有DTT (1 mM)及EDTA (2 mM)之乙酸鈉緩衝液(50 mM, pH 5.5)中之L-Arg-AMC (20  $\mu\text{M}$ )用於細胞自溶酶H分析。使用於含有DTT (2.5 mM)及EDTA (1 mM)之HEPES緩衝液(50 mM, pH 7.4)中之Z-Phe-Arg-AMC (10  $\mu\text{M}$ )用於細胞自溶酶K分析。使用於含有DTT (1 mM)及EDTA (2 mM)之乙酸鈉緩衝液(50 mM, pH 5.5)中之Z-Phe-Arg-AMC (20  $\mu\text{M}$ )用於細胞自溶酶L分析。使用於含有DTT (2.5 mM)及NaCl (50 mM)之乙酸鈉緩衝液(25 mM, pH 4.5)中之Z-Leu-Arg-AMC (10  $\mu\text{M}$ )用於細胞自溶酶S分析。亦量測化合物抑制細胞自溶酶F、V及Z之活性之能力。測試表1中之化合物以及下表2中所示之化合物。

表2. 比較性離胺酸牙齦蛋白酶抑制劑。

化合物編號	化合物結構
73	
74	
75	

本發明之化合物抑制Kgp及細胞自溶酶之 $IC_{50}$ 值示於表3中。結果顯示，本發明之化合物與參考化合物73關於Kgp抑制活性相當，均具有亞奈莫耳Kgp  $IC_{50}$ 值。令人驚訝的是，本發明之化合物展現對Kgp之優異選擇性。舉例而言，化合物2之CatH及CatS  $IC_{50}$ 值較參考化合物73之 $IC_{50}$ 值高十倍以上，表明化合物2係有效性低於參考化合物73之細胞自溶酶抑制劑。化合物2之CatB  $IC_{50}$ 值較參考化合物73之CatB  $IC_{50}$ 值高20倍以上。化合物2之CatK及CatL  $IC_{50}$ 值較參考化合物73之 $IC_{50}$ 值高100倍以上。

化合物之細胞自溶酶抑制活性降低係有利的，此乃因細胞自溶酶係涉及多個重要生理過程之溶酶體蛋白酶，該等生理過程包括MHC-II介導

之抗原呈遞、骨重塑、角質細胞分化及前激素活化。因此，本發明之化合物可用於選擇性地抑制個體中由侵入性牙齦卍淋單胞菌所產生之Kgp，而不擾亂個體中之內源性細胞自溶酶活性。

**表3. 本發明之化合物對離胺酸牙齦蛋白酶及細胞自溶酶之抑制。**

化合物編號	IC <sub>50</sub> (nM)					
	Kgp	CatB	CatS	CatK	CatL	CatH
1a -非外消旋	≤0.05	380	29,470	170	4680	560
1a -外消旋	≤0.05					
2a	≤0.05	> 10 <sup>4</sup>	> 10 <sup>5</sup>	2290	> 10 <sup>5</sup>	1550
2a	0.11					
3a	0.64	52181	> 10 <sup>5</sup>	> 10 <sup>5</sup>	> 10 <sup>5</sup>	
4a	0.07	2645	> 10 <sup>5</sup>	> 10 <sup>5</sup>	> 10 <sup>5</sup>	
5a	0.15	21517	> 10 <sup>5</sup>	> 10 <sup>5</sup>	> 10 <sup>5</sup>	
6a	0.19	20337	42763	> 10 <sup>5</sup>	> 10 <sup>5</sup>	
7a	1.3	49578	24054	20239	5526	
8a	0.34	68264	> 10 <sup>5</sup>	> 10 <sup>5</sup>	> 10 <sup>5</sup>	
9a	0.08					
10a	0.12					
11a	3.39					
12a	0.08					
13a	2.56					
14a	6.42					
15a	3.89					
16a	>100					
17a	>100					
18a	0.50					

19a	>100					
20a	>100					
73	≤0.05	485	9980	20	700	110
74	≤0.05					
75	2.29					

### 實例68. 本發明之化合物之神經保護效應

於5% CO<sub>2</sub>培育器(Thermal Fisher 371)中將處於第13代之人類神經胚細胞瘤SH-SY5Y細胞接種並培養於補充有2 mM L-麩醯胺酸(Invitrogen 25030164)、10%熱不活化胎牛血清(Invitrogen-10099141)及1%青黴素-鏈黴素 (Pen/Strep ; Invitrogen-15140122)之完全培養基DMEM/F12 (Invitrogen 11330-032)中。將細胞以 $2 \times 10^4$ 個細胞/孔- $4 \times 10^4$ 個細胞/孔 (200  $\mu$ l之 $1 \times 10^5$ 個細胞/mL- $2 \times 10^5$ 個細胞/mL)之密度接種於經I型膠原手動塗覆之96孔黑色/平底板(Greiner-655090)中。將板在37°C下之CO<sub>2</sub>培育器中培育。

當孔中之細胞培養物達到70-80%鋪滿(約 $6 \times 10^4$ 個細胞/孔)時，在存在各種濃度之測試化合物下或不存在測試化合物下，用牙齦卟啉單胞菌對其進行攻擊。經由在無菌v形底96孔板中用DMSO連續稀釋來製備化合物儲備溶液(2.8、6.4、3.2、1.6、0.8、0.4、0.2、0.1、0.05及0 mg/ml)。然後將儲備溶液(6  $\mu$ L)轉移至填充有594  $\mu$ L完全培養基-Pen/Strep之96深孔板中以提供用於進一步測試之工作溶液(128、64、32、16、8、4、2、1、0.5及0  $\mu$ g/mL)。

將菌株牙齦卟啉單胞菌ATCC BAA-308自-80°C儲備液劃線至腦心浸液瓊脂(brain heart infusion agar, BHA) (BD-211065)上。將板在嫌氧工作台(Shanghaiyuejin, YQX-II)中在37°C下培育72 h。使氣氛保持在80%

$N_2$ 、10%  $CO_2$ 及10%  $H_2$ 下。在測試時，將板自嫌氧工作台取出並在環境氣氛中處理。收穫細菌並懸浮於完全培養基-Pen/Strep (不含Pen/Strep) 中。藉由Siemens MicroScan®濁度計(Siemens)將懸浮液之濁度調整至0.5，其相當於約 $6 \times 10^8$  cfu/mL。將細菌懸浮液在完全培養基-Pen/Strep中稀釋至最終細菌密度為 $6 \times 10^8$  cfu/ml (對於MOI 1:1000)，包括一個不含細菌之孔作為陰性對照。

將測試板中之細胞用200  $\mu$ L完全培養基-Pen/Strep洗滌一次。然後添加100  $\mu$ L工作溶液。在此步驟之後立即添加100  $\mu$ L細菌懸浮液。測試化合物之最終濃度係64、32、16、8、4、2、1、0.5、0.025及0  $\mu$ g/mL，且含有1% DMSO。將測試板在5%  $CO_2$ 培育器中在37°C下培育24小時。

使用AlamarBlue (Invitrogen-527026)測定細胞存活率。使用完全培養基-Pen/Strep將測試板中之細胞洗滌兩次以自懸浮液去除細菌。在此之後立即使用多吸量管將220  $\mu$ L AlamarBlue/培養基混合物(由200  $\mu$ L完全培養基-Pen/Strep及20  $\mu$ L AlamarBlue組成)添加至測試板之每一孔。然後將測試板在37°C  $CO_2$ 培育器中培育以使螢光減少之AlamarBlue顯影，其可在不經飽和之情形下在顯影5-6小時之後使用SpectraMax M2e讀板儀(Molecular Devices)讀取。根據供應商手冊(Invitrogen)，將激發及發射波長分別設定為530 nm及590 nm。

本發明之Kgp抑制劑保護SH-SY5Y神經胚細胞瘤細胞免於牙齦卟啉單胞菌誘導之細胞死亡，如圖1中所顯示。

### 實例69. 防止牙齦卟啉單胞菌獲取鐵

在測試日前三天，將細菌菌株自-80°C甘油儲備液劃線至腦心浸液瓊脂(BHA) (BD-211065)板上，並在YQX-II嫌氧工作台中在37°C下培育72

h。使用接種環(Greiner-731175)挑取單菌落並懸浮至5 ml無菌鹽水中。將懸浮液之濁度調整至0.2 (Siemens MicroScan濁度計)，其等於約 $2 \times 10^8$  cfu/mL。然後將細菌懸浮液在測試培養基中稀釋100×。使用此用於接種子板。

將100  $\mu$ l細菌懸浮液之等分試樣接種至子板之每一孔中。每一孔含有約 $1.0 \times 10^6$  cfu/mL細菌、1% DMSO及於200  $\mu$ L布氏肉湯(Brucella Broth, BRU)中之連續稀釋化合物。將板在YQX-II嫌氧工作台中在37°C下培育6天。藉由可視化細菌色彩至黑色之轉換來讀鐵獲取之結果。

圖2顯示本發明之化合物在防止血紅素分解及鐵獲取(牙齦卟啉單胞菌之關鍵存活機制)方面與參考化合物73相比有效性大約為兩倍。

#### 實例70. Kgp抑制劑之改良之藥物動力學性質

使用異氟醚(2%, 800 mL/min O<sub>2</sub>)使成年雄性Balb/C小鼠(20-25克, Harlan Laboratories, USA)麻醉。使用布比卡因(bupivacaine)/腎上腺素用於局部止痛且使用卡洛芬(carprofen)用於圍手術期及手術後止痛。將動物置於立體定位架(Kopf instruments, USA)中。將MetaQuant (MQ)微透析探針(再生纖維素膜, 3 mm暴露表面, BrainLink, the Netherlands)插入至海馬體中並將套管插至頸靜脈中。海馬體探針尖端之坐標為：前-後(AP) = 自前囟-3.1 mm, 橫向(L) = 自中線-2.8 mm且腹側(V) = 自硬腦膜-4.1 mm, 搜齒樑設定在0 mm。手術後, 將動物個別地飼養在籠中且隨時自由地提供食物及水。

化合物1及參考化合物73係以2 mg/mL於2% DMSO及98%鹽水中新鮮製備, 並以5 mL/kg p.o.投用, 使得最終投用濃度為10 mg/kg。

手術後一天開始微透析取樣。在實驗當天, 將探針與撓性PEEK管連

結至微灌注幫浦(Harvard PHD 2000注射器幫浦，Holliston, MA或類似幫浦)。將微透析探針用含有147 mM NaCl、3.0 mM KCl、1.2 mM CaCl<sub>2</sub>、1.2 mM MgCl<sub>2</sub>及0.15 % BSA之CSF以0.15 μL/min之緩慢流速及載劑流(以水補足(UP water)，0.04%抗壞血酸及0.15% BSA)以0.8 μL/min流速來灌注。藉由自動化部分收集器(820 Microsampler, Univentor, Malta)將微透析樣品收集15或30分鐘之時期，至300 μL。穩定化之後，收集一個基線樣品，並向所有動物投與參考化合物**73** (10 mg/kg；PO)。將樣品再收集8小時。亦在投與參考化合物**73**後15、30、60、120、240、360、480及720分鐘時經由尾靜脈採集血漿。將所有樣品儲存在-80°C下等待Brains On-Line分析。實驗完成之後，處死小鼠，收集腦用於探針驗證。

藉由具有串聯質譜(MS/MS)檢測之HPLC測定透析液及血漿中之藥物濃度。藉由自動化樣品注射器(Sil20AHT, Shimadzu, Japan)將微透析樣品在不進行任何樣品預處理之情形下注射至LC系統(LC20XR, Shimadzu, Japan)上。用含有80% ACN之混合物沈澱血漿樣品。將樣品用含有0.1%甲酸之水進一步稀釋。

層析分離係在反相管柱(2.1 × 50 mm，粒徑：2.5 μm, Xbridge C8, Waters, USA)上實施。使用於含有0.1%甲酸之超純H<sub>2</sub>O中之含有0.1%甲酸之乙腈線性梯度分離各組分(流速0.2 mL/min)。

MS分析係使用由API 4000三相四極桿檢測器及Turbo Ion Spray接口(二者均來自Applied Biosystems, USA)組成之API 4000三相四極桿系統來實施。以正電離模式實施獲取，對分析物進行最佳化設置。儀器係以多反應-監測(multiple-reaction-monitoring，MRM)模式使用405.2至221.3之質量轉變來運行。使用Analyst™數據系統(Applied Biosystem)，使用

分析物對濃度之反應來校準並量化數據。

本發明之化合物在小鼠中提供增加之血漿濃度及游離腦濃度，如圖3及圖4中所分別顯示。

#### 實例71. 離胺酸牙齦蛋白酶之抑制

量測本發明之化合物針對Kgp及細胞自溶酶B、H、K、L及S之抑制活性之其他分析係以如實例66中所闡述來進行。亦量測該等化合物抑制細胞自溶酶F、V及Z之活性之能力。綜上所述，實例66及實例70之結果顯示，本文中所闡述之化合物係極有效之Kgp抑制劑，其展現奈莫耳及皮莫耳IC<sub>50</sub>值。此外，如表4中所示，與參考化合物73相比，多個化合物(包括化合物1、2、7及50)顯示較內源性細胞自溶酶對於Kgp之增加之選擇性。與參考化合物73相比，尤其化合物18、47、55及69對於Kgp之選擇性遠高於內源性細胞自溶酶。

該等化合物亦展示其他重要優點。舉例而言，與參考化合物73相比，在投與雄性CD-1小鼠(以10 mg/kg p.o.投用)之後，化合物1、47、48及69展現經改良之經口可用性及增加之血漿濃度。與參考化合物73相比，化合物47及69在腦及腦脊髓液(CSF)中產生增加之濃度，其尤其可用於治療諸如阿茲海默氏病之腦病狀。其他化合物(包括化合物49)在腦及/或腦脊髓液中展現降低之濃度。此等化合物可用於治療不影響腦之外圍病狀，例如牙周疾病或關節炎。

表4. 本發明之化合物對離胺酸牙齦蛋白酶及細胞自溶酶之抑制。

化合物編號	IC <sub>50</sub> (nM)								
	Kgp	CatK	CatH	CatB	CatF	CatL	CatV	CatS	CatZ
73	<0.05	20	110	485	500	700	5720	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>
1	<0.05	117	560	380	6,100	4680	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>



97% S鏡像 異構物									
21	0.09								
2a	<0.05	2290	1550	>10 <sup>4</sup>		>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	
7a	1.3	>10 <sup>4</sup>		>10 <sup>4</sup>		>10 <sup>4</sup>		>10 <sup>4</sup>	
18a	0.5	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	
47a	0.06	9000	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	
50a	0.09	1,000	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	
55a	0.12	1,000	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>		6,380	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	
69a	0.21	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>		>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>
48a	0.07								
49a	0.23								
57a	0.09								
26a	0.09								
27a	0.27								
28a	0.34								
29a	0.31								
30a	0.21								
31a	0.15								
32a	0.08								
33a	0.08								
34a	0.13								
35a	0.10								
36a	71.36								
37a	>100								
38a	12.09								
39a	>100								

40a	30.3								
41a	>100								
42a	0.06								
43a	0.09								
44a	3.04								
45a	54.16								
46a	13.12								
51a	0.44								
52a	0.06								
53a	71.25								
54a	49.02								
56a	0.10								
58a	4.66								
59a	1.94								
60a	4.41								
61a	0.43								
62a	0.14								
63a	0.09								
64a	0.40								
65a	0.16								
66a	359.6								
67a	531.2								
68a	258.4								

### 實例72. 藉由探針化合物量測Kgp抑制活性。

本發明之化合物抑制離胺酸牙齦蛋白酶(Kgp)之活性之能力係在與 Barret (*Biochemical Journal*. **1980**, 187(3), 909)中所闡述之彼等類似之

螢光分析中在37°C下使用10  $\mu\text{M}$  Z-His-Glu-Lys-MCA作為螢光受質來量測。藉由測試每一化合物之濃度範圍，確定將離胺酸牙齦蛋白酶之活性抑制50%所需之濃度(「 $\text{IC}_{50}$ 」)，如表5中所述。

表5. 比較性離胺酸牙齦蛋白酶抑制劑。

化合物	Kgp $\text{IC}_{50}$ (nM)
15a	4
38a	12
44a	3
45a	54
46a	13
51a	0.4
73	<0.05

#### 實例73. 使用牙齦蛋白酶活性探針分析細菌塗片。

將W83細菌或細菌之W83 Kgp剔除菌株與1  $\mu\text{M}$ 活性探針**15a**或活性探針**38a**在37°C下一起培育1小時。然後使細菌粒化並重新懸浮於20  $\mu\text{L}$  PBS中，將其滴加至經聚-L-離胺酸塗覆之載玻片上並在室溫下保持在暗箱中約2小時以使液滴乾燥。然後將載玻片在PBS中洗滌3次。用含有用於細菌DNA之DAPI染色劑之封固介質將載玻片封固並在螢光顯微鏡下可視化。基於活性Kgp之表現，在暴露於活性探針**15a**或活性探針**38a**之後，W83細菌發螢光。Kgp剔除細菌及未暴露於活性探針之細菌僅顯示藍色DAPI螢光，證實細菌核之存在(圖5A)。此實例證明，活性探針可藉由與Kgp之特異性共價反應使細菌染色，而使得檢測到其等存在。

#### 實例74. 使用牙齦蛋白酶活性探針分析牙齦組織樣品。

將新鮮冷凍之牙齦組織載玻片(5微米厚)自-80°C冰箱移除並在RT下解凍10 min。然後，將組織立即與活性探針**15a** (於PBS中1  $\mu\text{M}$ )一起浸入

加濕室中，並將該室覆蓋避光且在37°C下培育1小時。然後將載玻片在PBS中洗滌3次，每次5 min，然後在RT下於新鮮4% PFA中固定15 min，然後再在PBS中洗滌3次。然後將載玻片與1×工作Trueblack溶液(Biotium)一起在RT下培育30 min。然後將載玻片在PBS中洗滌3次，並用含有DAPI之抗褪色封固介質封固(圖5B)。所得顯微照片展示，活性探針可用於使人類組織樣品中之活性Kgp之存在視覺化。

#### 實例75. 使用牙齦蛋白酶活性探針分析受感染細胞。

使經及不經牙齦卟啉單胞菌W83或W83 Kgp剔除菌株感染之人類Jurkat細胞暴露於活性探針**15a**。在暴露於活性探針**15a**之前，使一些受感染細胞與非螢光活性位點Kgp抑制劑**73** (*N*-[7-胺基-2-側氧基-1-(2,3,5,6-四氟苯氧基)庚-3-基]環戊烷甲醯胺)一起預培育1小時。如圖6A中所顯示，探針**15a**不可逆地結合至經純化之Kgp及受感染細胞中對應於Kgp之大小之蛋白質。經牙齦卟啉單胞菌感染之細胞中之此經標記蛋白質之身份藉由西方墨點證實為Kgp。另外，在添加活性探針**15a**之前使化合物**70** (*N*-[7-胺基-2-側氧基-1-(2,3,5,6-四氟苯氧基)庚-3-基]環戊烷甲醯胺)與受感染細胞一起預培育阻斷探針**15a**與Kgp之結合，證實探針對於Kgp具特异性。

對Jurkat細胞生長中之細菌滴定容許定量測定受感染細胞中之Kgp含量(圖6B)。此實例展示，Kgp可在細菌及細菌感染之細胞中定量地檢測到，且其亦可用於量測抑制劑之靶標接合。

#### 實例76. 使用牙齦蛋白酶活性探針分析頰細胞樣品。

將利用無菌環自若干人類供體收穫之頰細胞懸浮於活性探針**15a**之溶液(於PBS中1 μM)中。將細胞在37°C下培育1小時並粒化。將細胞重新懸

浮於20  $\mu$ L PBS中並置於經聚-L-離胺酸塗覆之載玻片上，洗滌並乾燥。利用含有DAPI之抗褪色封固介質將載玻片封固，並在螢光顯微鏡下可視化。與活性探針**15a**一起培育之一些頰細胞顯示明顯之點狀染色，而其他者則不(圖7)，指示在一些細胞中存在Kgp。此實例展示，牙齦卟啉單胞菌及Kgp之存在可在人類口腔頰細胞樣品中檢測到。

#### **實例77. 生物素化活性探針用於分離及分析牙齦蛋白酶之用途。**

在4°C下將牙齦卟啉單胞菌W83用B-Per緩衝液溶解15 min。將所得上清液摻加2 mM生物素Kgp活性探針**51a**，並在室溫下培育1小時。使5 mg鏈黴抗生物素蛋白-珠粒與所有樣品一起在室溫下在翻轉平臺上培育1小時。1小時之後收集珠粒，並在100°C下與0.1% SDS一起加熱5 min以破壞生物素-鏈黴抗生物素蛋白結合。藉由SDS-PAGE及西方墨點法分析所得上清液，以利用CAB102特異性檢測Kgp (圖8)。此實例展示，生物素探針可用於活性Kgp之下拉及量化。

#### **實例78. 使用基於Cy5活性之探針檢測Kgp。**

此實例展示利用探針化合物**71** (不可逆地結合至Kgp之基於Cy5偶聯活性之探針)檢測活性Kgp。其具有結合至Kgp活性位點之彈頭，基於肽之核心及用於檢測之Cy5螢光團。經標記之靶標蛋白質可藉由利用藉由2-D凝膠電泳之分級生物化學分離樣品且在適當激發及發射波長下檢測來自Cy5之螢光信號來可視化。在使Kgp與測試化合物(例如，候選Kgp抑制劑)結合之後，培育固定濃度之探針導致活性探針與尚未由測試化合物結合之Kgp活性位點結合。

**牙齦卟啉單胞菌溶解物之製備。**收集 $10^8$ 個細菌且在4°C下在5000 g下離心10 min，且棄掉上清液。將細菌細胞糰粒在冰上用1 mL B-Per溶解

緩衝液(Thermo Fischer)溶解10 min，然後在4°C下在14000 g下離心10 min。收集含有蛋白質溶解物之上清液。將生物樣品在4°C下用B-Per溶解緩衝液溶解10 min。

**Kgp之Cy5直接標記**。將生物樣品、牙齦卟啉單胞菌溶解物或經純化之Kgp與可淬滅之Cy5探針化合物71 (1  $\mu$ M)一起在振盪下在37°C下培育1 h。然後，利用含有50 mM DTT之NUPAGE LDS樣品緩衝液(Thermo Fisher)使樣品在95°C下變性10 min，並使用Criterion 4-15%預製凝膠(Bio-Rad)及Tris/甘胺酸/SDS運行緩衝液(Bio-Rad)經受SDS-PAGE電泳。使凝膠在75 V下運行10 min且然後在125V下運行1.5 h。然後將凝膠自塑膠盒移除，並利用ChemiDoc成像系統(Bio-Rad)經受Cy5可視化。

**經Cy5探針標記之Kgp之免疫沈澱**。將樣品在振盪下在37°C下用可淬滅之Cy5探針化合物71 (1  $\mu$ M)標記1 h。為免疫沈澱經Cy5標記之Kgp，則使樣品與10  $\mu$ g兔多株CAB102抗體一起在4°C下在旋轉下培育過夜。然後，使樣品與預洗滌之Dynabead蛋白質G珠粒在室溫下在旋轉下一起培育20 min。使用磁性架將樣品用200  $\mu$ L洗滌緩衝液洗滌4次。將珠粒懸浮於20  $\mu$ L溶析緩衝液及10  $\mu$ L NUPAGE LDS樣品緩衝液(50 mM DTT)中，在70°C下加熱10 min。然後使用磁性架自磁性珠粒溶析經免疫沈澱之蛋白質。然後使樣品經受SDS-PAGE電泳並利用ChemiDoc成像系統(Bio-Rad)使Cy5信號可視化。

**經Cy5標記之樣品之西方墨點分析**。用Cy5檢測成像後，藉由使用Trans-blot Turbo轉移系統(Bio-Rad)以將蛋白質轉移至PVDF膜使SDS-PAGE凝膠經受西方墨點分析。然後將膜用TBS洗滌5 min並用於TBST緩衝液中之3% BSA封阻1 h或更久。然後於封阻緩衝液中使墨點與1:1000一

級抗體CAB102一起在RT下培育2 h或在4°C下培育過夜。然後將墨點用TBST緩衝液洗滌3次，每次5 min，然後在RT下與於TBST中之1:50,000山羊抗兔IgG吸收之HRP偶聯抗體(Thermo Fisher，編號31462)一起培育45 min。然後將墨點用TBST洗滌4次，並使用SuperSignal West Femto Maximum Sensitivity Substrate (Thermo Fisher)及ChemiDoc成像系統經受化學發光成像。

**結果。**使用探針化合物**71**檢測Kgp係敏感的，表觀檢測極限為500 CFU。檢測對於Kgp具有特異性，如由三個實驗所證明。首先，如圖9A中所顯示，在野生型W83牙齦卟啉單胞菌細菌培養物樣品中存在Kgp蛋白之單一條帶(分子量50 kDa)之特異性檢測，而在來自牙齦卟啉單胞菌之Kgp剔除菌株之樣品中未檢測到。

其次，探針化合物**71**標記之Kgp係藉由用CAB102 (Kgp特異性多株抗體)預培育及免疫清除而特異性地清除。圖9B中之泳道1顯示用探針化合物**71**對野生型牙齦卟啉單胞菌之標記，而圖9B中之泳道2顯示利用兔多株抗體CAB102偶聯珠粒免疫清除經標記之Kgp後之樣品分析。泳道1及2等同地裝載十分之一之總樣品體積。圖9B之泳道3顯示來自CAB102偶聯珠粒之經標記之Kgp之溶析液。在泳道3中裝載三分之二之總溶析體積。

最後，藉由與化合物**1** (100 nM)一起預培育來完成檢測，該濃度對於Kgp具有選擇性且不會抑制同源精胺酸牙齦蛋白酶Rgp。圖9C顯示對不同濃度之野生型牙齦卟啉單胞菌之標記及檢測以確定標記分析之檢測限。亦將CFU (菌落形成單位)最高之樣品與100 nM之化合物**1**一起培育。樣品係藉由西方墨點法利用CAB102抗體以及藉由可視化Cy5信號來檢測。此最後一項研究展示，化合物**1**與探針化合物**71**競爭活性位點結合，使得能

夠檢測Kgp小分子抑制劑(例如化合物**1**)之Kgp靶標接合程度。該等數據確立藉由探針化合物**71**標記完整細菌培養物中之Kgp蛋白及經純化之蛋白質，且確立評價經化合物處理之樣品中之靶標接合之方法。

儘管出於清晰及理解之目的，已藉由說明及實例相當詳細地闡述上述發明，但熟習此項技術者應瞭解可在隨附申請專利範圍之範圍內實踐某些變化及修改。另外，本文中所提供之每一參考文獻係以全文引用的方式併入，其併入程度如同將每一參考文獻個別地併入一般。





201813952

**【發明摘要】****【中文發明名稱】**

離胺酸牙齦蛋白酶（GINGIPAIN）之酮抑制劑

**【英文發明名稱】**

KETONE INHIBITORS OF LYSINE GINGIPAIN

**【中文】**

本發明提供如本文中所闡述之式I化合物，及其用於抑制來自細菌牙齦卟啉單胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)之離胺酸牙齦蛋白酶(lysine gingipain protease, Kgp)之用途。亦闡述牙齦蛋白酶活性探針化合物，及亦闡述用於分析牙齦蛋白酶活性之方法，以及用於治療與牙齦卟啉單胞菌感染相關病症，包括諸如阿茲海默氏病(Alzheimer's disease)之腦病症之方法。

**【英文】**

The present invention provides compounds according to Formula I as described herein, and their use for inhibiting the lysine gingipain protease (Kgp) from the bacterium *Porphyromonas gingivalis*. Also described are gingipain activity probe compounds and methods for assaying gingipain activity are also described, as well as methods for the treatment of disorders associated with *P. gingivalis* infection, including brain disorders such as Alzheimer's disease.

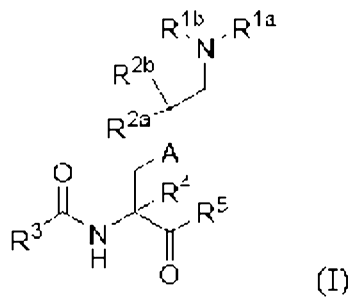
**【指定代表圖】**

圖2

**【代表圖之符號簡單說明】**

無

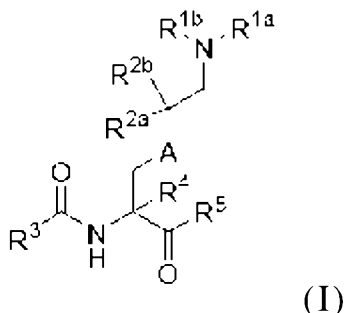
## 【特徵化學式】



## 【發明申請專利範圍】

## 【第1項】

一種式I化合物，



或其醫藥上可接受之鹽，其中：

A係選自由-CH<sub>2</sub>-及-O-組成之群；

R<sup>1a</sup>及R<sup>1b</sup>係各自獨立地選自由氫、C<sub>1-4</sub>烷基及胺保護基團組成之群；

R<sup>2a</sup>及R<sup>2b</sup>係各自獨立地選自由氫、鹵素、C<sub>1-4</sub>鹵烷基及C<sub>1-4</sub>鹵烷氧基組成之群；

R<sup>3</sup>係選自由以下組成之群：C<sub>3-8</sub>環烷基、C<sub>3-8</sub>烷基、3員至12員雜環基、C<sub>6-10</sub>芳基、5員至12員雜芳基及報告子部分，其中R<sup>3</sup>視情況經一或多個R<sup>3a</sup>取代基取代；

每一R<sup>3a</sup>係獨立地選自由以下組成之群：鹵素、-CN、-NO<sub>2</sub>、-N<sub>3</sub>、-OH、C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>鹵烷基、C<sub>1-4</sub>烷氧基、C<sub>1-4</sub>鹵烷氧基、-N(R<sup>c</sup>)<sub>2</sub>、-N<sup>+</sup>(R<sup>b</sup>)<sub>3</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>k</sub>C(O)R<sup>b</sup>、-NR<sup>c</sup>(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>C(O)R<sup>b</sup>、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>C(O)R<sup>b</sup>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>k</sub>CONR<sup>c</sup>R<sup>c</sup>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>k</sub>NR<sup>c</sup>C(O)R<sup>b</sup>、-NR<sup>c</sup>(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>CONR<sup>c</sup>R<sup>c</sup>、-NR<sup>c</sup>(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>NR<sup>c</sup>C(O)R<sup>b</sup>、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>CONR<sup>c</sup>R<sup>c</sup>及-O(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>NR<sup>c</sup>C(O)R<sup>b</sup>以及視情況經取代之三唑基；

每一R<sup>b</sup>係獨立地選自由C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>鹵烷基及C<sub>1-4</sub>氘代烷基(deuteroalkyl)組成之群；

每一 $R^c$ 係獨立地選自由氫及 $C_{1-8}$ 烷基組成之群；

每一下標 $k$ 係獨立地選自0、1、2、3、4、5及6；

每一下標 $u$ 係獨立地選自1、2、3、4、5及6；

$R^4$ 係選自由氫及 $C_{1-4}$ 烷基組成之群；

$R^5$ 係選自由 $-CH_2R^{5a}$ 、 $-CHS(O)(R^{5b})_2$ 及 $C_{1-6}$ 鹵烷基組成之群；

$R^{5a}$ 係選自由以下組成之群： $-O-R^6$ 、 $-S-R^7$ 、 $-SO-R^7$ 、 $-SO_2-R^7$ 、 $-N(R^8)_2$ 、5員至12員雜芳基及3員至12員雜環基，

其中5員至12員雜芳基視情況經一或多個獨立地選自由鹵素、 $C_{1-3}$ 烷基及 $C_{1-3}$ 鹵烷基組成之群之成員取代，且

3員至12員雜環基視情況經一或多個獨立地選自由側氧基(oxo)、鹵素、 $C_{1-3}$ 烷基及 $C_{1-3}$ 鹵烷基組成之群之成員取代；

每一 $R^{5b}$ 係獨立選擇之 $C_{1-6}$ 烷基；

$R^6$ 及 $R^7$ 係選自由以下組成之群：苯基、 $C_{1-6}$ 烷基、 $C_{1-6}$ 鹵烷基及5員至12員雜芳基，

其中苯基經1至5個鹵素取代，且

其中5員至12員雜芳基視情況經一或多個鹵素、 $C_{1-3}$ 烷基或 $C_{1-3}$ 鹵烷基取代；

每一 $R^8$ 係獨立選擇之 $C_{1-6}$ 烷基；且

$R^5$ 視情況包含淬滅(quenching)部分 $R^9$ ；

條件係 $R^5$ 不為2,3,5,6-四氟苯氧基甲基。

## 【第2項】

如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R^3$ 係選自由以下組成之群： $C_{3-8}$ 環烷基、 $C_{3-8}$ 烷基、 $C_{6-10}$ 芳基、5員至12員雜芳基及3員至12

員雜環基，該等各自視情況經一或多個 $R^{3a}$ 取代基取代。

**【第3項】**

如請求項1或請求項2之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R^3$ 係選自由環戊基及苯基組成之群，該等各自視情況經一或多個 $R^{3a}$ 取代基取代。

**【第4項】**

如請求項3之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中每一 $R^{3a}$ 係獨立地選自由以下組成之群：鹵素、 $-N_3$ 、 $C_{1-4}$ 烷基、 $C_{1-4}$ 鹵烷基、 $C_{1-4}$ 烷氧基、 $C_{1-4}$ 鹵烷氧基、 $-N(R^c)_2$ 、 $-N^+(R^b)_3$ 及 $-NR^cC(O)R^b$ 。

**【第5項】**

如請求項3之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R^3$ 係環戊基。

**【第6項】**

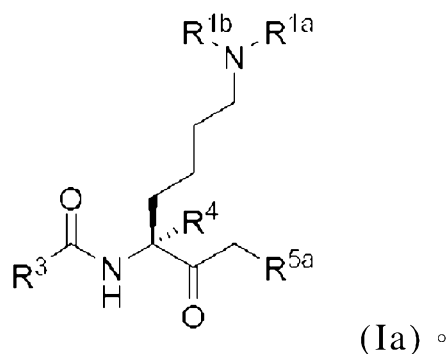
如請求項3之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R^3$ 係經 $C_{1-4}$ 烷氧基取代之 $C_{3-8}$ 烷基。

**【第7項】**

如請求項6之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R^3$ 係甲氧基丙基。

**【第8項】**

如請求項1至5中任一項之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其具有式Ia之結構：



**【第9項】**

如請求項1至8中任一項之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R^4$ 係氫。

**【第10項】**

如請求項8或請求項9之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R^{5a}$ 係-O-苯基，其中苯基經1至5個鹵素取代。

**【第11項】**

如請求項10之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R^{5a}$ 中之每一鹵素係獨立地選自由F及Cl組成之群。

**【第12項】**

如請求項11之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R^{5a}$ 中之每一鹵素係F。

**【第13項】**

如請求項1至12中任一項之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R^{5a}$ 係選自由以下組成之群：2,3,6-三氟苯氧基；2,3,5-三氟苯氧基；2,3,4-三氟苯氧基；3,4,5-三氟苯氧基；2,3-二氟苯氧基；2,4-二氟苯氧基；2,5-二氟苯氧基；2,6-二氟苯氧基；3,4-二氟苯氧基；3,5-二氟苯氧基；2-氟苯氧基；3-氟苯氧基；及4-氟苯氧基。

**【第14項】**

如請求項13之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R^{5a}$ 係選自由以下組成之群：2,3,6-三氟苯氧基；2,3,5-三氟苯氧基；2,3-二氟苯氧基；2,5-二氟苯氧基；2,6-二氟苯氧基；3,5-二氟苯氧基；2-氟苯氧基；及3-氟苯氧基。

**【第15項】**

如請求項13之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R^{5a}$ 係選自由2,3,6-三氟苯氧基及2,6-二氟苯氧基組成之群。

**【第16項】**

如請求項8或請求項9之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R^5$ 係- $CH_2R^{5a}$ ， $R^{5a}$ 係-O- $R^6$ ，且 $R^6$ 係 $C_{1-6}$ 鹵烷基。

**【第17項】**

如請求項16之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R^6$ 係選自由三氟乙基及六氟丙基組成之群。

**【第18項】**

如請求項8或請求項9之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R^5$ 係- $CH_2R^{5a}$ ， $R^{5a}$ 係-O- $R^6$ ，且 $R^6$ 係5員至12員雜芳基，其視情況經一或多個獨立地選自由鹵素及 $C_{1-3}$ 烷基組成之群之成員取代。

**【第19項】**

如請求項18之化合物，其中 $R^6$ 係選自由異噁唑基及吡啶基組成之群。

**【第20項】**

如請求項8或請求項9之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R^{5a}$ 係選自由以下組成之群： $-N(R^8)_2$ 、5員至12員雜芳基及3員至12員雜環基，其中：

5員至12員雜芳基視情況經一或多個獨立地選自由鹵素、 $C_{1-3}$ 烷基及 $C_{1-3}$ 鹵烷基組成之群之成員取代，且

3員至12員雜環基視情況經一或多個獨立地選自由側氧基、鹵素、

C<sub>1-3</sub>烷基及C<sub>1-3</sub>鹵烷基組成之群之成員取代。

**【第21項】**

如請求項20之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中R<sup>5a</sup>係選自由四唑基及側氧基嘧啶基組成之群。

**【第22項】**

如請求項8或請求項9之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中：

R<sup>5</sup>係選自由-CH<sub>2</sub>R<sup>5a</sup>及-CHS(O)(R<sup>5b</sup>)<sub>2</sub>組成之群，

R<sup>5a</sup>係選自由-S-R<sup>7</sup>及-S-(O)<sub>2</sub>R<sup>7</sup>組成之群，且

R<sup>7</sup>係選自由以下組成之群：C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>1-6</sub>鹵烷基、5員至12員雜芳基及3員至12員雜環基。

**【第23項】**

如請求項22之化合物，其中：R<sup>5</sup>係-CH<sub>2</sub>R<sup>5a</sup>；R<sup>5a</sup>係選自由-S-R<sup>7</sup>及-S-(O)<sub>2</sub>R<sup>7</sup>組成之群；且R<sup>7</sup>係C<sub>1-6</sub>烷基。

**【第24項】**

如請求項22之化合物，其中：R<sup>5</sup>係-CH<sub>2</sub>R<sup>5a</sup>；R<sup>5a</sup>係-S-R<sup>7</sup>；且R<sup>7</sup>係選自由5員至12員雜芳基及3員至12員雜環基組成之群。

**【第25項】**

如請求項24之化合物，其中R<sup>7</sup>係選自由以下組成之群：異噁唑基、吡啶基及嘧啶基。

**【第26項】**

如請求項22之化合物，其中R<sup>5</sup>係-CHS(O)(R<sup>5b</sup>)<sub>2</sub>。

**【第27項】**

如請求項8或請求項9之化合物，其中R<sup>5</sup>係C<sub>1-6</sub>鹵烷基。

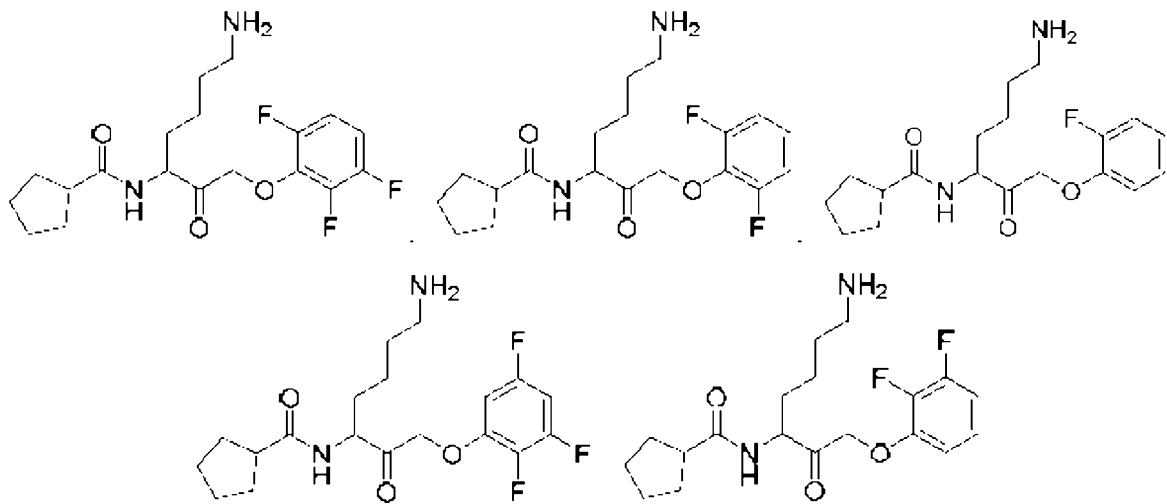


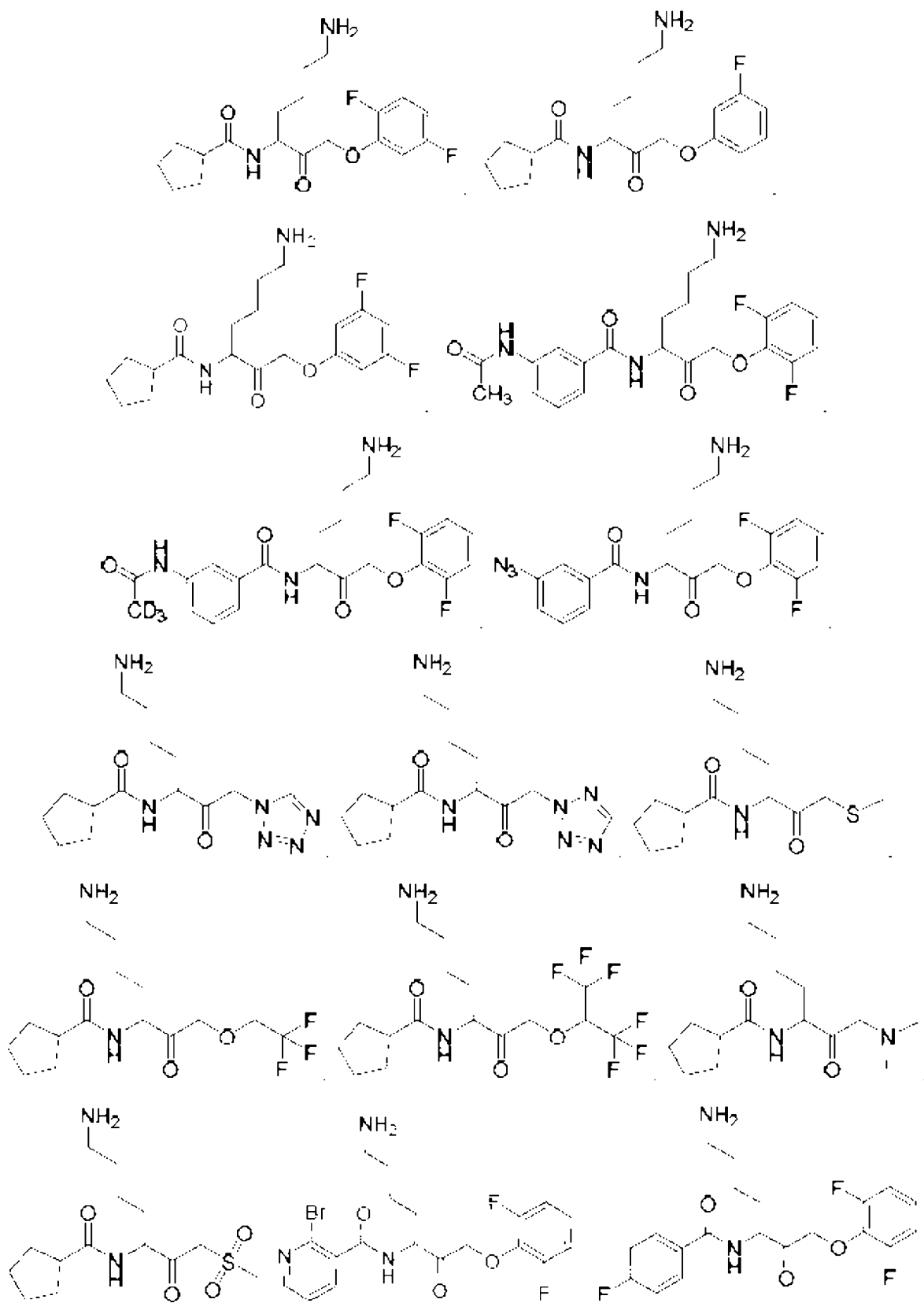
## 【第28項】

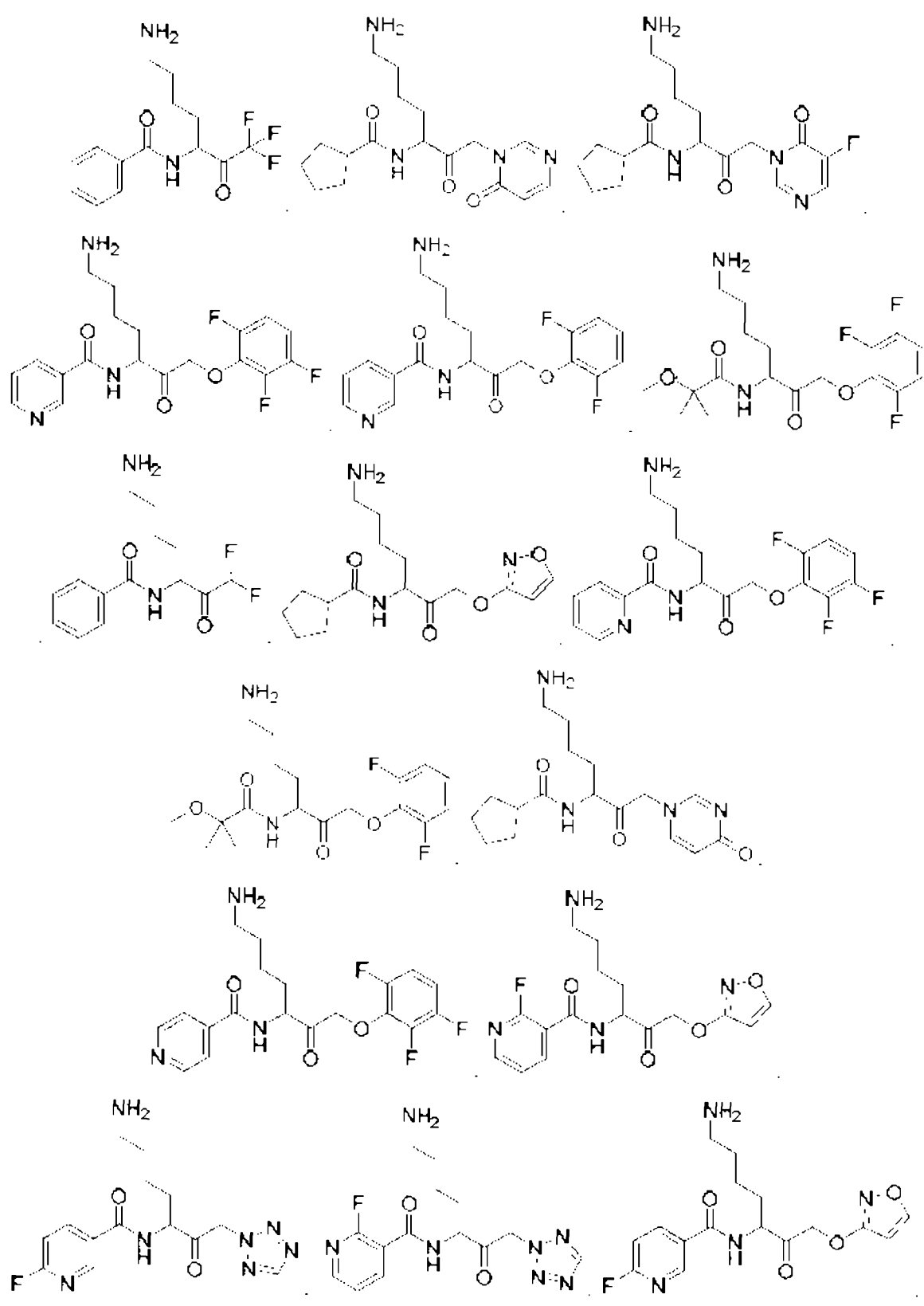
如請求項27之化合物，其中 $R^5$ 係二氟甲基。

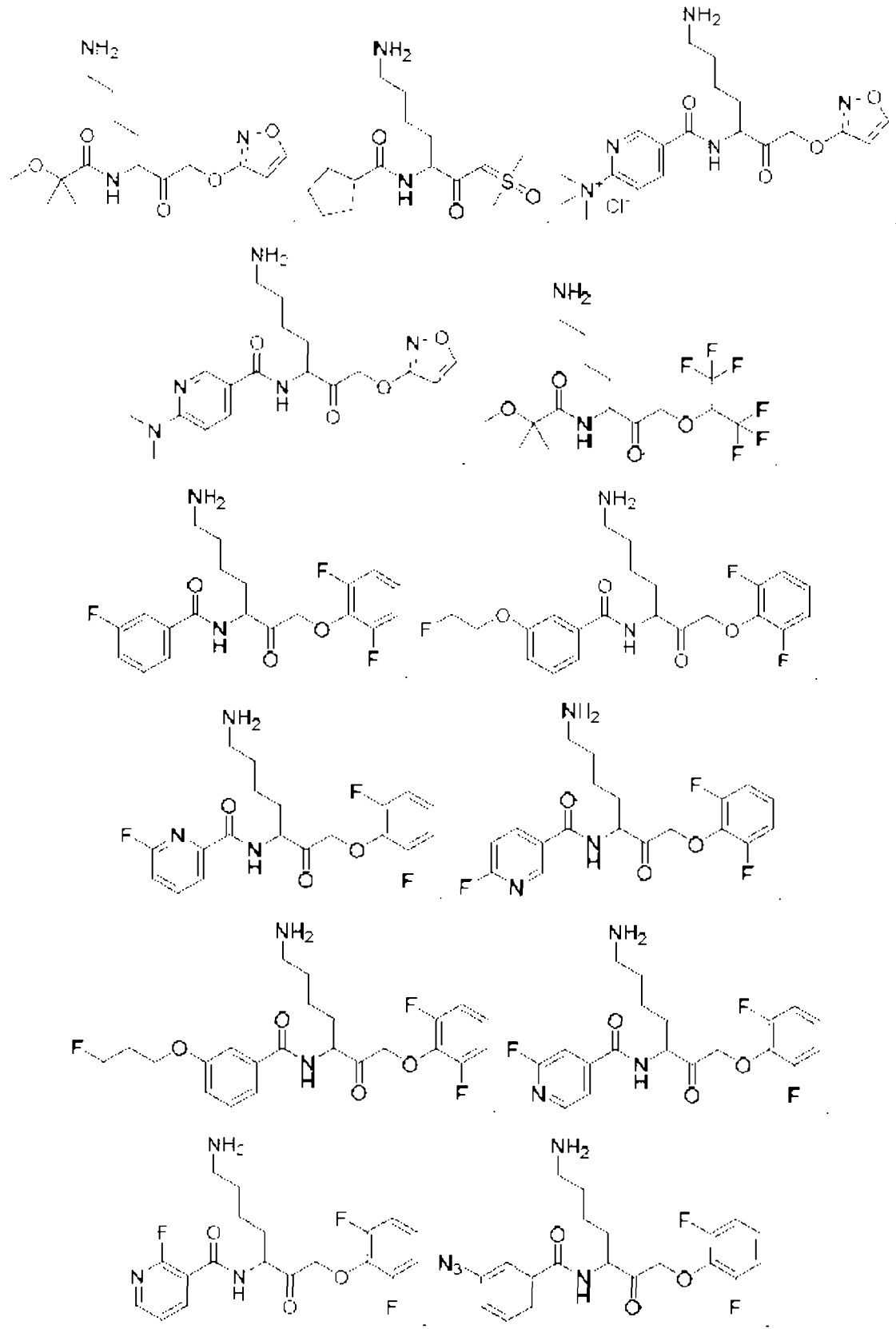
## 【第29項】

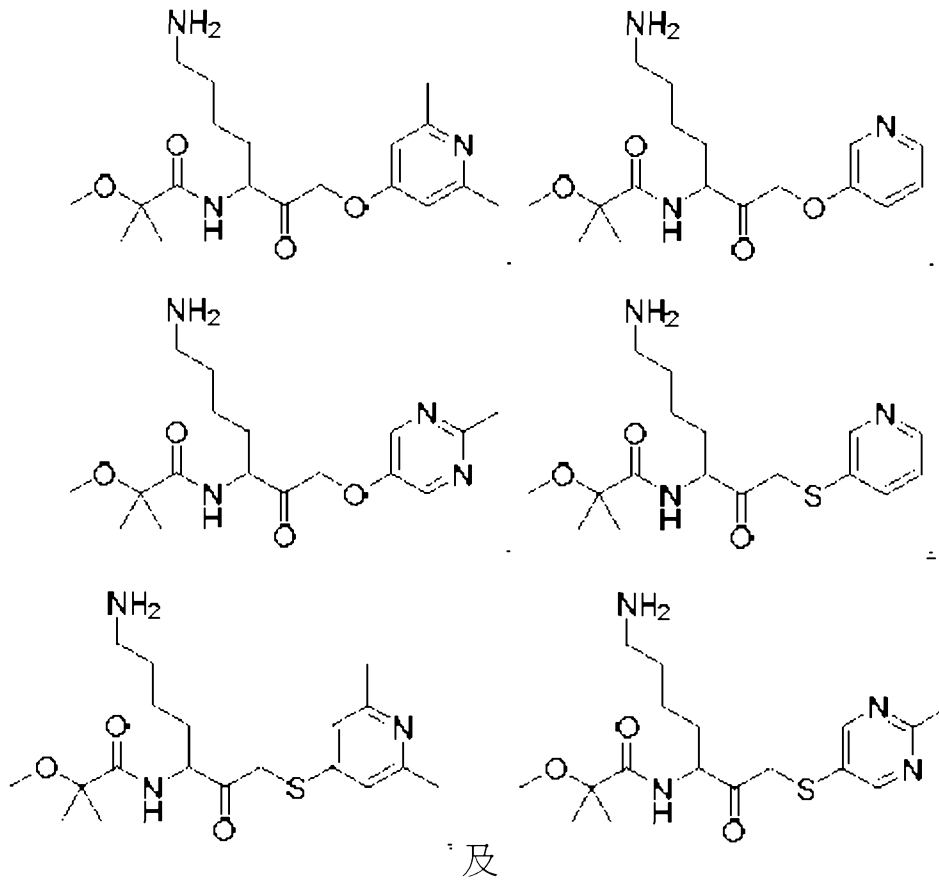
如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其係選自由以下組成之群：





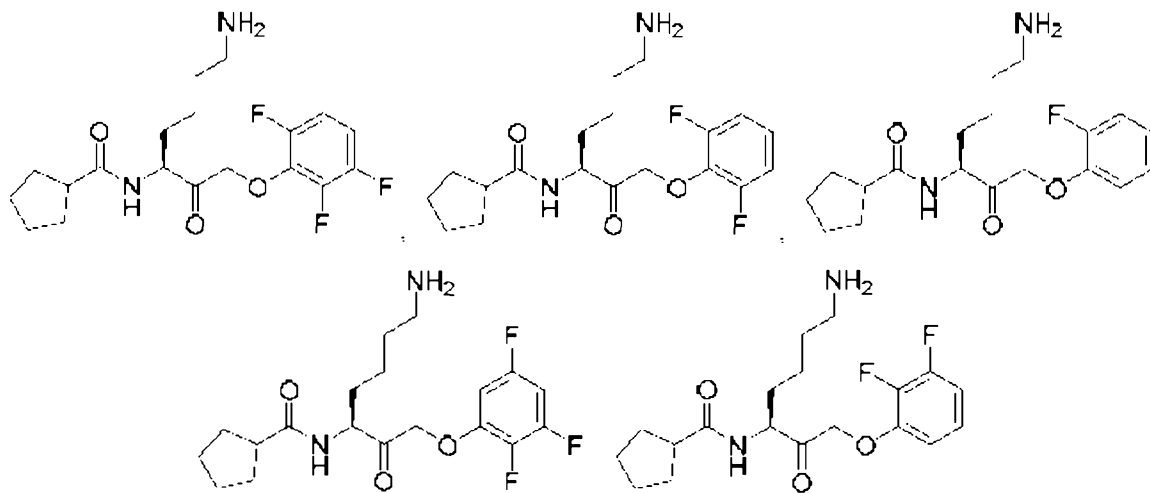


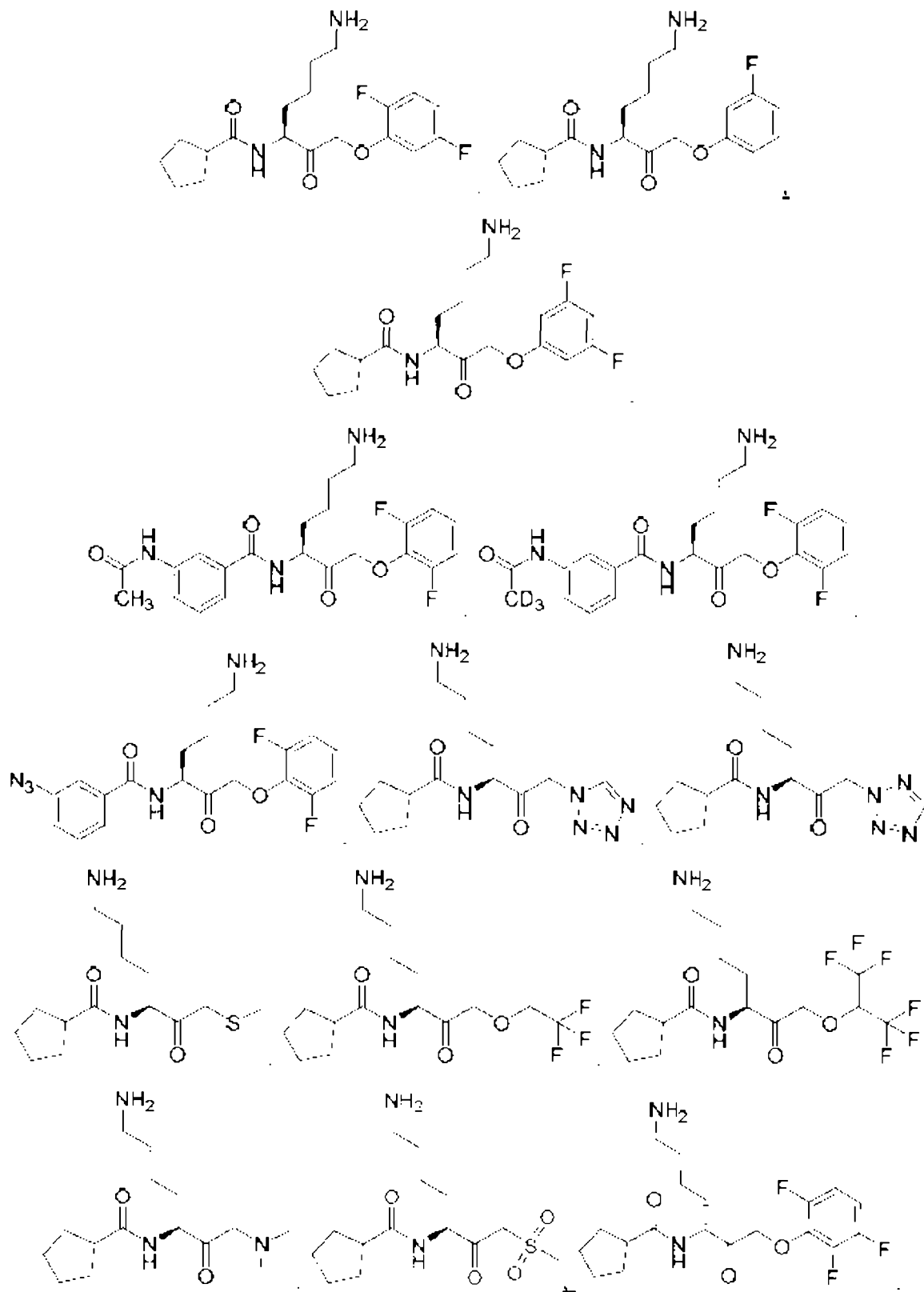


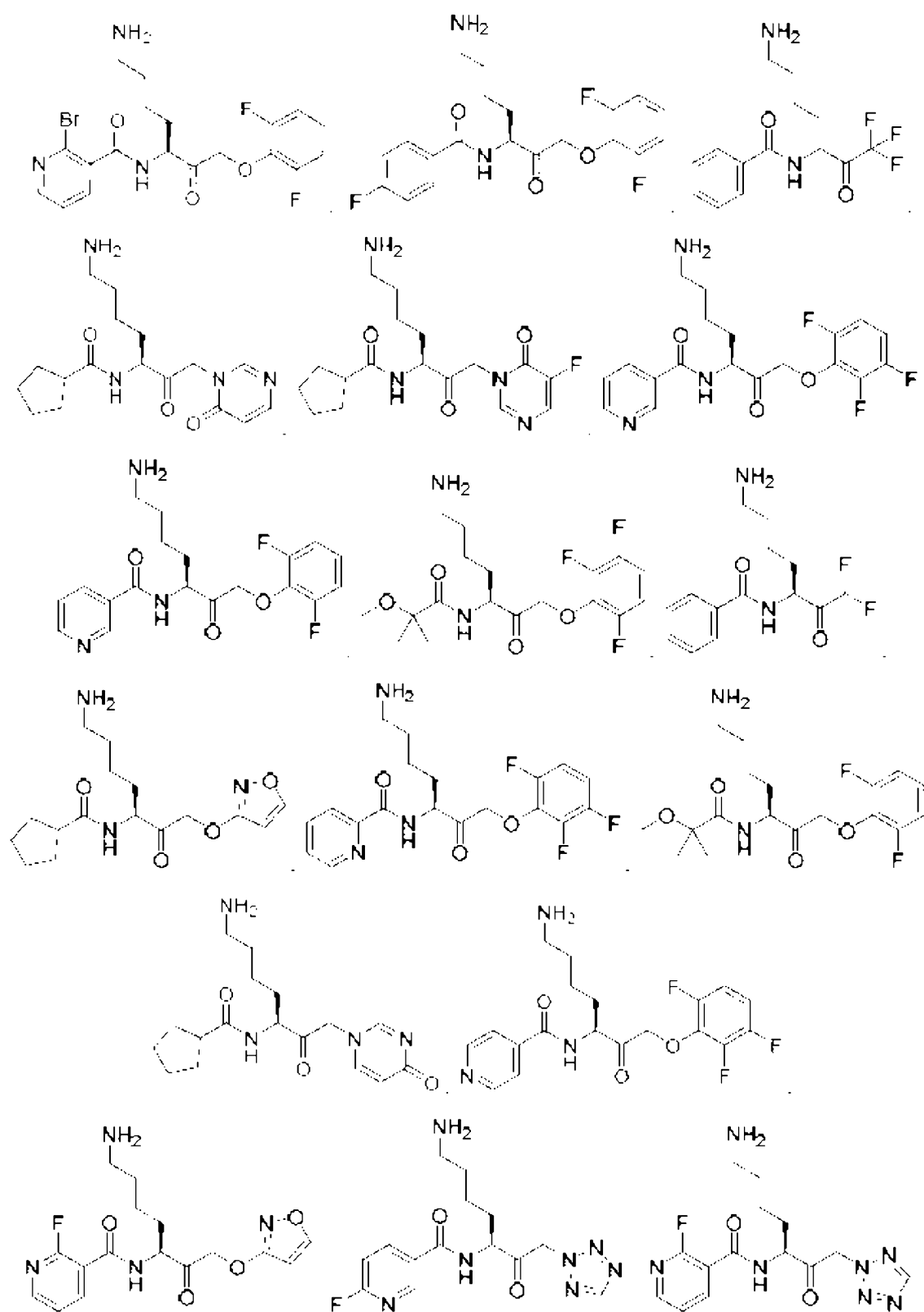


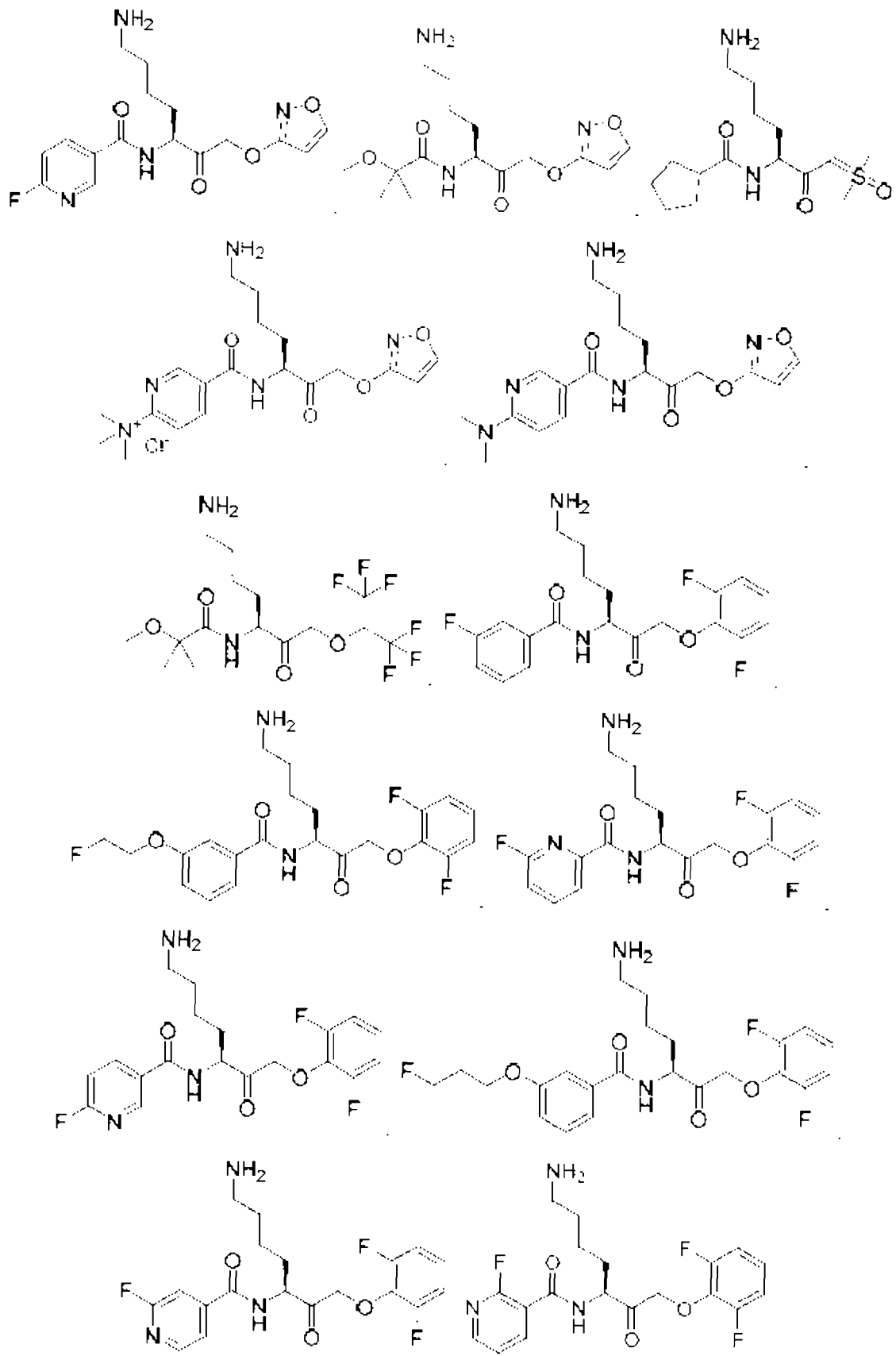
## 【第30項】

如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其係選自由以下組成之群：

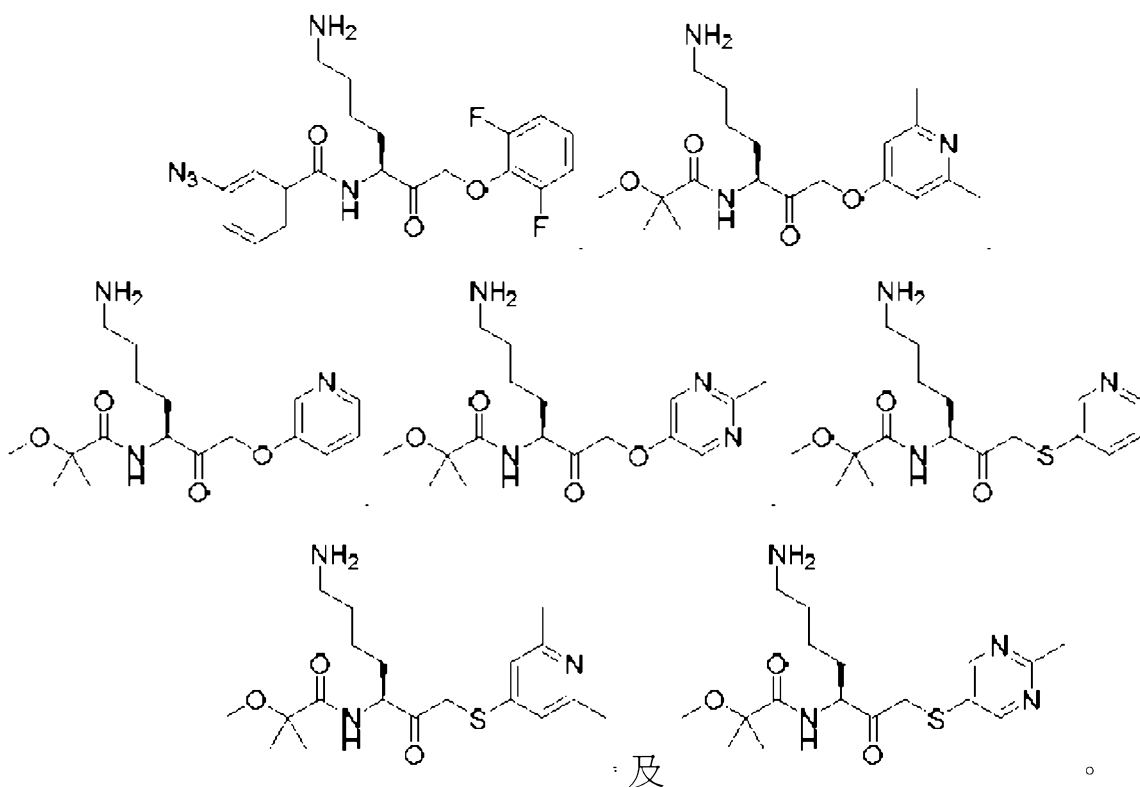












**【第31項】**

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至30中任一項之化合物或其醫藥上可接受之鹽及醫藥上可接受之賦形劑。

**【第32項】**

一種治療與牙齦卟啉單胞菌(*P. gingivalis*)感染相關疾病或病狀之方法，該方法包含向有需要之個體投與有效量之如請求項1至30中任一項之化合物或其醫藥上可接受之鹽或有效量之如請求項31之組合物。

**【第33項】**

如請求項32之方法，其中該疾病或病狀係選自由以下組成之群：腦病症、牙周疾病、糖尿病、心血管疾病、關節炎、類風濕性關節炎、骨關節炎、感染性關節炎、牛皮癬性關節炎、升高之早產風險、肺炎、癌症、腎病、肝病、視網膜病症及青光眼。

**【第34項】**

如請求項33之方法，其中該疾病或病狀係腦病症。

**【第35項】**

如請求項34之方法，其中該腦病症係選自由以下組成之群：阿茲海默氏病(Alzheimer's disease)、唐氏症候群(Down's syndrome)、癲癇、自閉症、帕金森氏病(Parkinson's disease)、自發性震顫、額-顳葉失智症、進行性核上性麻痺、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症、杭丁頓氏症(Huntington's disease)、多發性硬化、輕度認知損害、年齡相關性記憶損害、慢性創傷性腦病、中風、腦血管疾病、路易氏體病(Lewy Body disease)、多重系統萎縮、精神分裂症及抑鬱症。

**【第36項】**

如請求項35之方法，其中該腦病症係阿茲海默氏病。

**【第37項】**

如請求項36之方法，其進一步包含向該個體投與一或多種選自由以下組成之群之活性劑：膽鹼酯酶抑制劑、血清素調節劑、NMDA調節劑、A $\beta$ 靶向療法、ApoE靶向療法、小神經膠質細胞靶向療法、血腦障壁靶向療法、tau靶向療法、補體靶向療法及抗發炎藥。

**【第38項】**

如請求項33之方法，其中該疾病或病狀係牙周疾病。

**【第39項】**

如請求項33之方法，其中該疾病或病狀係肝病。

**【第40項】**

如請求項39之方法，其中該肝病係非酒精性脂肪性肝炎。

**【第41項】**

如請求項33之方法，其中該疾病或病狀係視網膜病症。

**【第42項】**

如請求項41之方法，其中該視網膜病症係年齡相關性黃斑退化。

**【第43項】**

如請求項33之方法，其中該疾病或病狀係癌症。

**【第44項】**

如請求項43之方法，其中該癌症係選自由以下組成之群：口腔癌、乳癌、胰臟癌及多形性神經膠母細胞瘤。

**【第45項】**

如請求項33之方法，其中該疾病或病狀係升高之早產風險。

**【第46項】**

如請求項33之方法，其中該疾病或病狀係關節炎。

**【第47項】**

如請求項46之方法，其中該關節炎係類風濕性關節炎或骨關節炎。

**【第48項】**

如請求項33之方法，其中該疾病或病狀係心血管疾病。

**【第49項】**

如請求項33之方法，其中該疾病或病狀係糖尿病。

**【第50項】**

如請求項32至49中任一項之方法，其中將該化合物投與該個體至少一個月。

**【第51項】**

如請求項50之方法，其中將該化合物投與該個體至少一年。

**【第52項】**

如請求項50之方法，其中將該化合物投與該個體至少10年。

**【第53項】**

如請求項50之方法，其中將該化合物投與該個體至少60年。

**【第54項】**

如請求項32至53中任一項之方法，其中該個體係人類、犬或貓。















