(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 102516184 B
(45)授权公告日 2015.03.25

(21)申请号 201110329468.1

(22)申请日 2008.04.18

(30)优先权数据
10-2007-0038462 2007.04.19 KR

(62)分案原申请数据
200880012626.7 2008.04.18

(73)专利权人 东亚ST株式会社
地址 韩国首尔市

(72)发明人 金兴载 郭祐宁 申昌烈 金夏东 闵种弼 朴间珍 李在荣 崔圣贤 尹泰铉 金海鲜 张志勉 金美庆 孙文虎 金舜会 刘武嬉

(74)专利代理机构 北京信慧永光知识产权代理有限责任公司 11290
代理人 张淑珍 王维玉

(51)Int.Cl.
C07D 241/08(2006.01)

(56)对比文件
JP 2002088070 A,2002.03.27, 说明书全文.
WO 2005056541 A1,2005.06.23, 说明书全文.
WO 2005056003 A1,2005.06.23, 说明书全文.
WO 2005123685 A1,2005.12.29, 说明书全文.
WO 2005095343 A1,2005.10.13, 说明书全文.
WO 2005121131 A1,2005.12.22, 说明书全文.
Tesfaye Biftu.(3R)-4-[(3R)-3-Amino-4-(2,4,5-trifluorophenyl)butanoyl]-3-(2,2,2-trifluoroethyl)-1,4-diazepan-2-one, a selective dipeptidyl peptidase IV inhibitor for the treatment of type 2 diabetes.《Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters》.2006,(第17期),49-52.

审查员 费嘉

权利要求书2页 说明书21页 附图1页

(54)发明名称

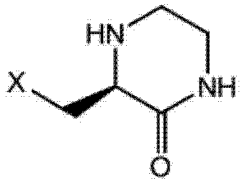
包含β-氨基的DPP-IV抑制剂及其制备方法以及用于预防和治疗糖尿病或肥胖症的含有所述抑制剂的药物组合物

(57)摘要

本发明提供一种新型的含有β-氨基的杂环化合物、制备所述化合物的方法以及含有相同的杂环化合物或其药学上可接受的盐作为活性成分的药物组合物。本发明的杂环化合物显示出良好的DPP-IV抑制活性和生物利用度,并因此具有预防或治疗与DPP-IV相关的疾病诸如糖尿病或肥胖症的用途。

CN 102516184 B

1. 一种由式 4 表示的化合物：



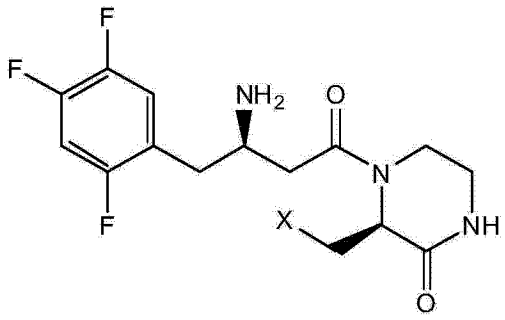
4

其中，X 为 OR_1、SR_1 或 NR_1R_2，其中，R_1 和 R_2 独立为 C_1 至 C_5 的低级烷基，且 NR_1R_2 中的 R_1 和 R_2 可形成包含杂原子 O 的 5 至 7 元环。

2. 如权利要求 1 所述的化合物，其中，所述 X 选自于由下述基团组成的组：t- 丁氧基、甲氧基、乙氧基、异丙氧基、环戊氧基、二乙基氨基、甲基乙基氨基、吗啉代和 t- 丁硫基。

3. 如权利要求 1 所述的化合物，其中，所述 X 为 t- 丁氧基。

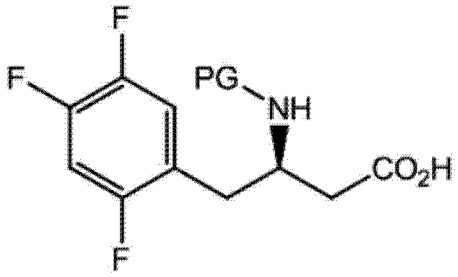
4. 一种利用如权利要求 1 所述的化合物制备由式 2 表示的化合物的方法，包括：



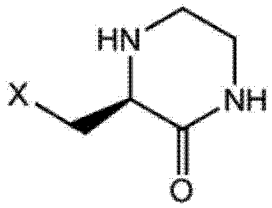
2

(1) 在 1- 羟基苯并三唑、1- 乙基 -3-[3-(二甲基氨基) 丙基] 碳二亚胺和三级胺的存在下，将含有 β - 氨基的具有式 3 的化合物与具有式 4 的取代的杂环化合物进行反应，由此制得含有肽键的具有式 5 的化合物；以及

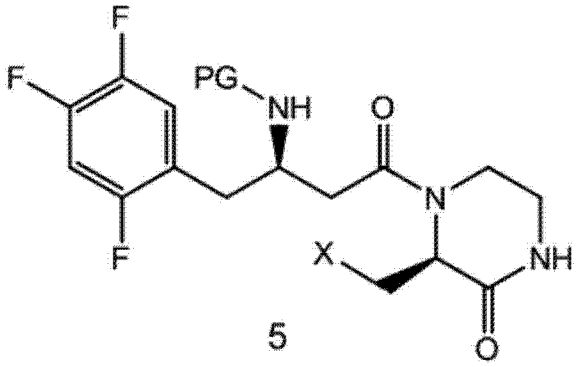
(2) 在酸的存在下，使具有式 5 的化合物反应，从而制得具有式 2 的化合物，



3



4



5

其中，PG 为 Boc，X 为 OR_1、SR_1 或 NR_1R_2，其中，R_1 和 R_2 独立为 C_1 至 C_5 的低级烷基，且 NR_1R_2 中的 R_1 和 R_2 可形成包含杂原子 O 的 5 至 7 元环。

5. 如权利要求 4 所述的方法，其中，所述 X 选自于由下述基团组成的组：t- 丁氧基、甲氧基、乙氧基、异丙氧基、环戊氧基、二乙基氨基、甲基乙基氨基、吗啉代和 t- 丁硫基。

6. 如权利要求 4 所述的方法，其中，所述 X 为 t- 丁氧基。

包含 β-氨基的DPP-IV抑制剂及其制备方法以及用于预防和治疗糖尿病或肥胖症的含有所述抑制剂的药物组合物

[0001] 本申请是申请日为2008年4月18日、发明名称为“包含 β-氨基的DPP-IV抑制剂及其制备方法以及用于预防和治疗糖尿病或肥胖症的含有所述抑制剂的药物组合物”的、申请号为200880012626.7的专利申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及一种含有 β-氨基的杂环化合物，其生物利用度高且对于二肽基肽酶IV(以下称为“DPP-IV”)具有良好的抑制活性。本发明还涉及一种包含相同的杂环化合物或其药学上可接受的盐作为活性成分的药物组合物。

背景技术

[0003] 二肽基肽酶IV在本文中缩写为DPP-IV(在别处有时缩写为DP-IV、DP-4或DAP-IV)，同时可由分类EC.3.4.14.5而获知。二肽基肽酶IV是一种丝氨酸蛋白酶(Barrett A.J. 等人，Arch.Biochem.Biophys.，1995，247-250)，能够将N末端的二肽从以序列H-Xaa-Pro-Y或H-Xaa-Ala-Y起始的肽上切割下来，其中Xaa代表任意亲脂性氨基酸，Pro代表脯氨酸，Ala代表丙氨酸(Heins J. 等人，Biochim.et Biophys.Acta，1988，161)。DPP-IV广泛分布于并发现存在于各种哺乳动物组织诸如肾、肝和小肠中(Hegen M. 等人，J.Immunol.，1990，2908-2914)。DPP-IV最初被认定为膜结合蛋白。近来又发现一种可溶的形式(Duke-Cohan J.S. 等人，J.Biol.Chem.，1995，14107-14114)。根据最近发表的研究和报道显示，DPP-IV的这一可溶的形式与该酶的膜结合形式有着相同的结构和功能，并且发现其在血液中没有特定的膜结合结构域(Christine D. 等人，Eur.J.Biochem.，2000，5608-5613)。

[0004] 对DPP-IV最初的兴趣集中于其在激活T淋巴细胞中的作用。负责激活T淋巴细胞的DPP-IV被明确地命名为CD26。有报道表明CD26可与人类免疫缺陷病毒(HIV)相结合或是与其发生相互作用(Gutei1 W.G. 等人，Proc.Natl.Acad.Sci.，1994，6594-6598)，因而有人提出DPP-IV抑制剂在治疗AIDS方面可能有一定作用(Doreen M.A. 等人，Bioorg.Med.Chem.Lett.，1996，2745-2748)。

[0005] 除了参与免疫系统的重要作用之外，DPP-IV的主要功能源于其如上所述的肽分解活性。由于发现DPP-IV是牵涉到小肠中胰高血糖素样蛋白-1(以下称为“GLP-1”)降解中的关键酶，人们对DPP-IV的作用给予了特别的关注(Mentlein R. 等人，Eur.J.Biochem.，1993，829-835)。GLP-1是由30个氨基酸组成的肽类激素，其由肠L细胞分泌作为小肠摄入食物的响应(Goke R. 等人，J.Biol.Chem.，1993，19650-19655)。由于已知GLP-1在控制餐后血糖水平方面对胰岛素具有加强的效果(Holst J.J. 等人，Diabetes Care，1996，580-586)，人们假定DPP-IV抑制剂可能在治疗II型糖尿病方面同样可以有效地使用。基于这一假设，有一些关于开发DPP-IV抑制剂早期形式的报道证明了其在动物实验中的药物治疗效果(Pauly R.P. 等人，Metabolism，1999，385-389)。此外，缺少DPP-IV的小鼠或大

鼠维持 GLP-1 活性和高胰岛素水平，使血糖水平降低，这一 DPP-IV 基因的基因中断或基因突变对个体动物的生存并未显示出显著的影响 (Marguet D. 等人，Proc.Natl.Acad.Sci.，2000，6874-6879)。因此，人们提出 DPP-IV 作为一种用于治疗 II 型糖尿病的强效治疗剂是可行的，这也加快了 DPP-IV 抑制剂的研发。

[0006] GLP-1 与各种组织中受体的结合会引起饱腹感（吃饱的感觉）和胃排空的延迟，并促进胰 β- 细胞的生长。因此，用于治疗 II 型糖尿病的临床试验通过将 GLP-1 本身进行静脉给药正逐渐增加 (Verdich C. 等人，J.Clin.Endocrinol.Metab.，2001，4382-4389)。GLP-1 的体内半衰期仅为 2 分钟 (Kieffer T.J. 等人，Endocrinology，1995，3585-3596)，因此，如此短的半衰期成为直接将 GLP-1 作为治疗剂使用的主要障碍。从那以后，众多的研究小组和研究机构针对 GLP-1 的衍生进行了许多尝试，结果是开发出一种能够将较短的体内半衰期延长的肽，并将其商品化 (Deacon C.F.，Diabetes，2004，2181-2189)。然而，这一 GLP-1 衍生物由于是注射制剂仍然受到根本性的限制。此外，由于活性 GLP-1(7-36) 在很短的时间内（如 2 分钟）被 DPP-IV 降解并随后转化为非活性的 GLP-1(9-36) 的事实，大量的注意力正越来越多地集中于对高效 DPP-IV 抑制剂的开发。

[0007] 开发 DPP-IV 抑制剂的开始阶段与其他抑制剂的开发趋势相类似。也就是说，大多数的研究结果都是关于底物类似物的。此类底物类似物中具有代表性的一种是作为早期研究的产物所得到的二肽衍生物。基于 DPP-IV 对于含有特定氨基酸脯氨酸的肽显示出明显亲和力的事实，该早期研究在具有与脯氨酸 (Pro) 类似结构的母核上进行 (Chinnaswamy T. 等人，J.Biol.Chem.，1990，1476-1483)。脯氨酸类似结构的典型实例包括吡咯烷 (pyrrolidide) 和噻唑烷 (thiazolidide)，以及含有此类对于 DPP-IV 酶显示出竞争性可逆抑制活性的母核化合物的衍生物 (Augustyns KJL. 等人，Eur.J.Med.Chem.，1997，301-309)。

[0008] 在如此大量研发的产物中，对于特定化合物的作用机制和功效进行了不断的实验，尤其是 Val-Pyr（缬氨酸 - 吡咯烷）和 Ile-Thia（异亮氨酸 - 噻唑烷）等。特别地，由于 Val-Pyr 结构对于 DPP-IV 显示出相对较弱的抑制活性 (Hanne B.R. 等人，Nat.Struct.Biol.，2003，19-25)，所以大量的注意力都集中于 Ile-Thia，这推动了关于 Ile-Thia 化合物衍生物的深入细致的研究和探讨。

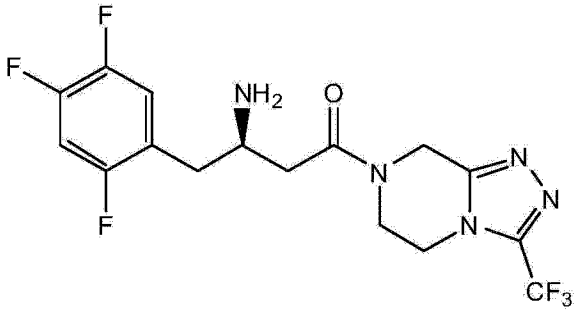
[0009] 除了上述研究和探讨所关注和得到的 Ile-Thia 衍生化合物之外，一种具有突出活性的化合物为由 Merck&Co.，Inc. 尝试开发的 β- 氨基酸噻唑烷系列物。然而，根据在大鼠中进行的药效实验和药物动力学实验的结果，所得到的化合物显示出生物利用度显著较低并且在抑制酶活性方面具有明显的局限性 (Jinyou Xu 等人，Bioorg.Med.Chem.Lett.，2004，4759-4762)。因此，由于存在严重的缺陷，人们中断了对此类化合物的进一步开发。

[0010] 在上述调查研究的过程中，Merck 注意到：除了噻唑烷母核之外，β- 氨基酸在 DPP-IV 抑制活性方面同样是具有显著效果的关键因素。这一发现被应用于用不同的母核化合物代替噻唑烷类母核的方法 (Linda L.B. 等人，Bioorg.Med.Chem.Lett.，2004，4763-4766)。通过随后的研究，人们合成出了各种用哌嗪母核代替噻唑烷母核的衍生物，并进行了药效测试和药效学研究。遗憾的是，Merck 的哌嗪衍生物的生物利用度仍然明显偏低。通过对化合物进行优化以克服这一缺陷，人们通过将哌嗪基团修饰成为三唑哌嗪 (triazolopiperazine) 基团开发出了产品 MK-0431（商品名称：JANUVIA)。在 2006 年获得

美国 FDA 的新药批准后，这一商品目前在市面上有售。而且，继 MK-0431 之后，结合有二氮杂环庚酮 (diazepanone) 基团（七元环）的化合物目前还在开发之中 (WO2004037169 ;WO 2005011581 ;WO 2006104997 ;以及 Bioorg. Med. Chem. Lett. ,2007,49-52)。特别是根据期刊上所发表的文章 (Bioorg. Med. Chem. Lett. ,2007,49-52) 显示，相比于二氮杂环庚酮，咪唑酮（五元环）和哌嗪酮（六元环）显示出显著较低的体外活性，因而在二氮杂环庚酮的优化方面引起了深入细致的关注。

[0011] [MK-0431]

[0012]



[0013] 为解决上述问题并实现对目标化合物进行优化，作为各种广泛而深入的研究和实验的结果，本发明的发明者发现，当在哌嗪酮基团上进行的取代包含杂原子时，如此修饰的化合物相比于常规的 DPP-IV 抑制剂不仅具有良好的 DPP-IV 抑制活性，而且能够达到显著改善生物利用度的效果，然后还成功合成了含有 β - 氨基的新型杂环化合物。本发明是基于这些发现完成的。

发明内容

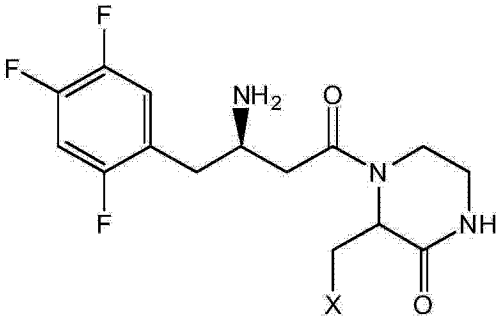
[0014] 本发明的目的是提供具有 DPP-IV 抑制活性的、含有 β - 氨基的杂环化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物。

[0015] 本发明的另一目的是提供用于预防和治疗糖尿病或肥胖症的药物组合物，所述药物组合物包含前述的杂环化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物作为活性成分。

[0016] 以下，本发明将更为详细地进行描述。

[0017] 本发明提供了含有 β - 氨基的杂环化合物或其药学上可接受的盐，该杂环化合物由式 1 表示：

[0018]



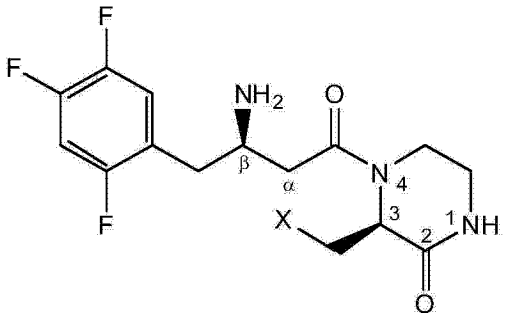
(1)

[0019] 其中，X 为 OR_1、SR_1 或 NR_1R_2，其中，R_1 和 R_2 独立为 C_1 至 C_5 的低级烷基，且 NR_1R_2 中

的 R_1 和 R_2 可形成包含杂原子 O 的 5 至 7 元环。

[0020] 优选地，本发明的具有式 1 的化合物涵盖了具有式 2 的化合物。具有式 2 的化合物是在哌嗪酮环 (piperazinone ring) 的 3 位碳原子上引入光学活性的立体异构体，并由下面的式 2 表示：

[0021]



(2)

[0022] 其中，X 与式 1 中的定义相同。

[0023] 也就是说，具有式 1 的化合物可具有两个不对称中心。具体而言，如式 2 所示，具有式 1 的化合物可在 β 碳和哌嗪酮环的 3 位碳上具有不对称中心，因此其能够以单独的非对映异构体、外消旋体、外消旋混合物或非对映异构体混合物的形式存在，所有这些形式均落入本发明的具有式 1 的化合物的范围。

[0024] 此外，具有式 1 的化合物可以部分地以互变异构体的形式存在。单独的互变异构体及其混合物也包含于具有式 1 的化合物的范围内。

[0025] 具有式 1 的化合物的立体异构形式可使用光学纯起始原料或已知的试剂，根据本领域已知的常规方法由立体选择合成得到。

[0026] 本发明的具有式 1 的含有 β- 氨基的杂环化合物的优选实施例可包括如下化合物：

[0027] (1)(R)-3-(t- 丁氧基甲基)-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮盐酸盐；

[0028] (2)(R)-3-(甲氧基甲基)-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮盐酸盐；

[0029] (3)(R)-3-(乙氧基甲基)-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮盐酸盐；

[0030] (4)(R)-3-(异丙氧基甲基)-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮盐酸盐；

[0031] (5)(R)-3-(环戊氧基甲基)-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮盐酸盐；

[0032] (6)(R)-3-[(二乙基氨基) 甲基]-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮二盐酸盐；

[0033] (7)(R)-3-[(甲基乙基氨基) 甲基]-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮二盐酸盐；

[0034] (8)(R)-3-(吗啉代甲基)-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮二盐酸盐；

[0035] (9)(R)-3-(t-丁硫基甲基)-4-[(R)-3-氨基-4-(2,4,5-三氟苯基)丁酰基]哌嗪-2-酮盐酸盐；

[0036] (10)(S)-3-(t-丁氧基甲基)-4-[(R)-3-氨基-4-(2,4,5-三氟苯基)丁酰基]哌嗪-2-酮盐酸盐；

[0037] (11)(R)-3-(t-丁氧基甲基)-4-[(R)-3-氨基-4-(2,4,5-三氟苯基)丁酰基]哌嗪-2-酮；

[0038] (12)(R)-3-(t-丁氧基甲基)-4-[(R)-3-氨基-4-(2,4,5-三氟苯基)丁酰基]哌嗪-2-酮酒石酸盐；

[0039] (13)(R)-3-(t-丁氧基甲基)-4-[(R)-3-氨基-4-(2,4,5-三氟苯基)丁酰基]哌嗪-2-酮柠檬酸盐；

[0040] (14)(R)-3-(t-丁氧基甲基)-4-[(R)-3-氨基-4-(2,4,5-三氟苯基)丁酰基]哌嗪-2-酮磷酸盐；

[0041] (15)(R)-3-(t-丁氧基甲基)-4-[(R)-3-氨基-4-(2,4,5-三氟苯基)丁酰基]哌嗪-2-酮乙酸盐；

[0042] (16)(R)-3-(t-丁氧基甲基)-4-[(R)-3-氨基-4-(2,4,5-三氟苯基)丁酰基]哌嗪-2-酮苹果酸盐；

[0043] (17)(R)-3-(t-丁氧基甲基)-4-[(R)-3-氨基-4-(2,4,5-三氟苯基)丁酰基]哌嗪-2-酮琥珀酸盐；以及

[0044] (18)(R)-3-(t-丁氧基甲基)-4-[(R)-3-氨基-4-(2,4,5-三氟苯基)丁酰基]哌嗪-2-酮己二酸盐。

[0045] 本发明中具有式1的、含有β-氨基的杂环化合物包括其药学上可接受的盐以及可由其制备的水合物和溶剂合物。

[0046] 具有式1的杂环化合物的药学上可接受的盐可通过任何本领域已知的制备盐的常规方法进行制备。

[0047] 本文所用的术语“药学上可接受的盐”是指由药学上可接受的无毒的碱或酸(包括无机碱或有机碱以及无机酸或有机酸)所制备的盐。药学上可接受的盐的实例可包括化合物1与无机碱形成的盐，所述无机碱例如铝离子、铵离子、钙离子、铜离子、铁离子、亚铁离子、锂离子、镁离子、锰酸根离子、锰离子、钾离子、钠离子或锌离子，特别优选铵盐、钙盐、镁盐、钾盐和钠盐。固态盐可具有一种或多种晶体结构，或是可以以水合物的形式存在。药学上可接受的无毒有机盐的实例可包括化合物1与一级胺、二级胺、三级胺、取代胺(如天然存在的取代胺)、环胺或阳离子交换树脂形成的盐，这些物质例如精氨酸、甜菜碱、咖啡因、胆碱、N,N'-二苄基乙二胺、二乙胺、2-(二乙基氨基)乙醇、2-(二甲基氨基)乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-乙基吗啉、N-乙基哌啶、还原葡糖胺(glucamine)、葡糖胺(glucosamine)、组氨酸、海巴明(hydrabamine)、异丙胺、赖氨酸、甲基还原葡糖胺、吗啉、哌嗪、哌啶、多胺树脂、普鲁卡因、嘌呤、可可碱、三乙胺、三甲胺、三丙胺和氨丁三醇(tromethamine)。

[0048] 当本发明的化合物为碱性时，其盐可由药学上可接受的无毒的酸(包括无机酸和有机酸)制得。所述的酸的实例可包括乙酸、苯磺酸、苯甲酸、樟脑磺酸、柠檬酸、乙磺酸、富马酸、葡糖酸、谷氨酸、氢溴酸、盐酸、羟乙磺酸、乳酸、马来酸、苹果酸、扁桃酸、甲磺酸、粘酸(mucic acid)、硝酸、扑酸(pamoic acid)、泛酸、磷酸、琥珀酸、硫酸、酒石酸、对甲苯磺酸和

己二酸。特别优选乙酸、柠檬酸、盐酸、苹果酸、磷酸、琥珀酸、酒石酸和己二酸。

[0049] 当本文指出具有式 1 的化合物时，这一术语意即涵盖了其药学上可接受的盐。

[0050] 本文所用的术语“水合物”是指具有式 1 的化合物或其药学上可接受的盐，该物质进一步包含通过非共价分子间作用力束缚于其中的化学计量含量或非化学计量含量的水。该水合物可含有多于 1 当量的水，典型的情况为 1 至 5 当量的水。该水合物可通过将具有式 1 的化合物或其药学上可接受的盐在水中或在含水溶剂中进行结晶来制备。

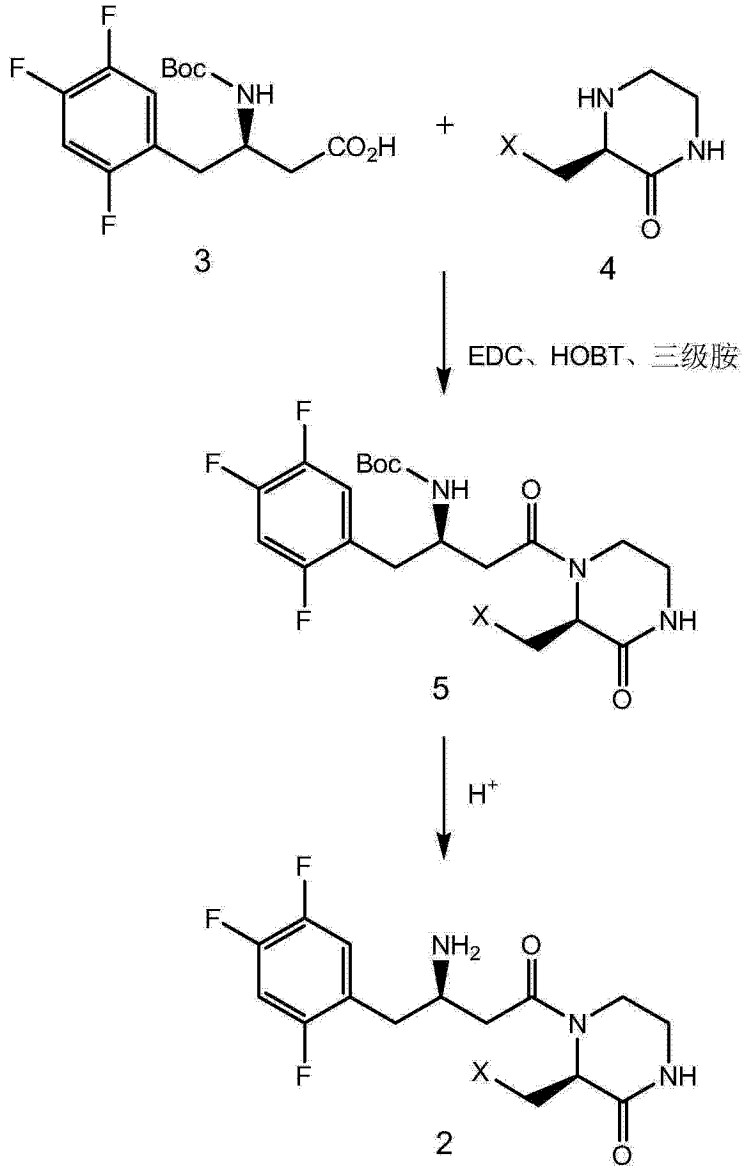
[0051] 本文所用的术语“溶剂合物”是指具有式 1 的化合物或其盐，该物质进一步包含通过非共价分子间作用力束缚于其中的化学计量含量或非化学计量含量的溶剂。优选溶剂为挥发性的、无毒的和 / 或对人类进行给药时可接受的溶剂。例如所提到的溶剂可以为乙醇、甲醇、丙醇、二氯甲烷等。

[0052] 本发明的另一方面提供了一种用式 1 表示的、含有 β - 氨基的杂环化合物或其药学上可接受的盐的制备方法。

[0053] 如下面的反应历程 1 所示，本发明包括用式 2 表示的杂环化合物的制备方法，包括 :(1) 在 1- 羟基苯并三唑 (HOBT)、1- 乙基 -3-[3-(二甲基氨基) 丙基] 碳二亚胺 (EDC) 和三级胺的存在下，将含有 β - 氨基的具有式 3 的化合物与具有式 4 的取代的杂环化合物进行反应，由此制得含有肽键的具有式 5 的化合物 ;以及 (2) 在酸的存在下，使具有式 5 的化合物反应，制得含有 β - 氨基的、具有式 2 的杂环化合物。

[0054] [反应历程 1]

[0055]



[0056] 其中，X 与式 1 中的定义相同。

[0057] 举例来讲，具有式 5 的中间体可通过在偶合试剂（如 1- 乙基 -3-[3-（二甲基氨基）丙基］碳二亚胺 (EDC) 或 1- 羟基苯并三唑 (HOBT)）以及碱（如乙基二异丙基胺或三乙胺）的存在下，将具有式 3 的化合物与具有式 4 的化合物在溶剂中（如 N,N- 二甲基甲酰胺 (DMF) 或二氯甲烷）于 0℃至室温下进行 3 至 48 小时的常规反应得到。

[0058] 为防止化合物参与成肽反应 (peptidization)，将由成肽反应制得的具有式 5 的中间体中的 N 原子用保护基团进行保护。可通过除去保护基团的脱保护反应得到所需的具有式 2 的、含有 β - 氨基的杂环化合物。也就是说，由于该保护基团为叔丁氧羰基 (Boc)，除去保护基团的过程可在酸性环境下进行，典型的情况是在 0℃至室温下，使用三氟乙酸 / 二氯甲烷、乙酸乙酯 / 氯化氢、氯化氢 / 二氯甲烷或甲醇 / 氯化氢反应 1 至 24 小时。

[0059] 如果需要的话，通过肽的键合反应以及脱保护反应所制备的具有式 2 的化合物可从不合需要的副产物中提纯出来，所使用的方法可以是任何常规方法诸如重结晶、研磨、制备薄层色谱、硅胶快速色谱（请参见 W.C.Still 等人，J.Org.Chem.，43，2923(1978)）或 HPLC。通过 HPLC 提纯的化合物可以以其相应的盐的形式分离出来。具有式 5 的化合物可

用同样方式进行提纯。

[0060] 在本发明中，具有式 1 的化合物的立体异构混合物使用立体异构体的混合物作为起始原料进行制备，将所得到的混合物分离为单独的立体异构体从而得到具有式 1 的化合物。此外，具有式 1 的化合物的每种立体异构体可使用每种立体异构体作为起始原料进行制备。立体异构体的分离可通过常规的柱色谱或重结晶来进行。

[0061] 在制备具有式 2 的化合物的过程中，在反应历程 1 中所使用的具有式 3 的化合物可从市面上购得或通过任何本领域已知的方法容易地制得。

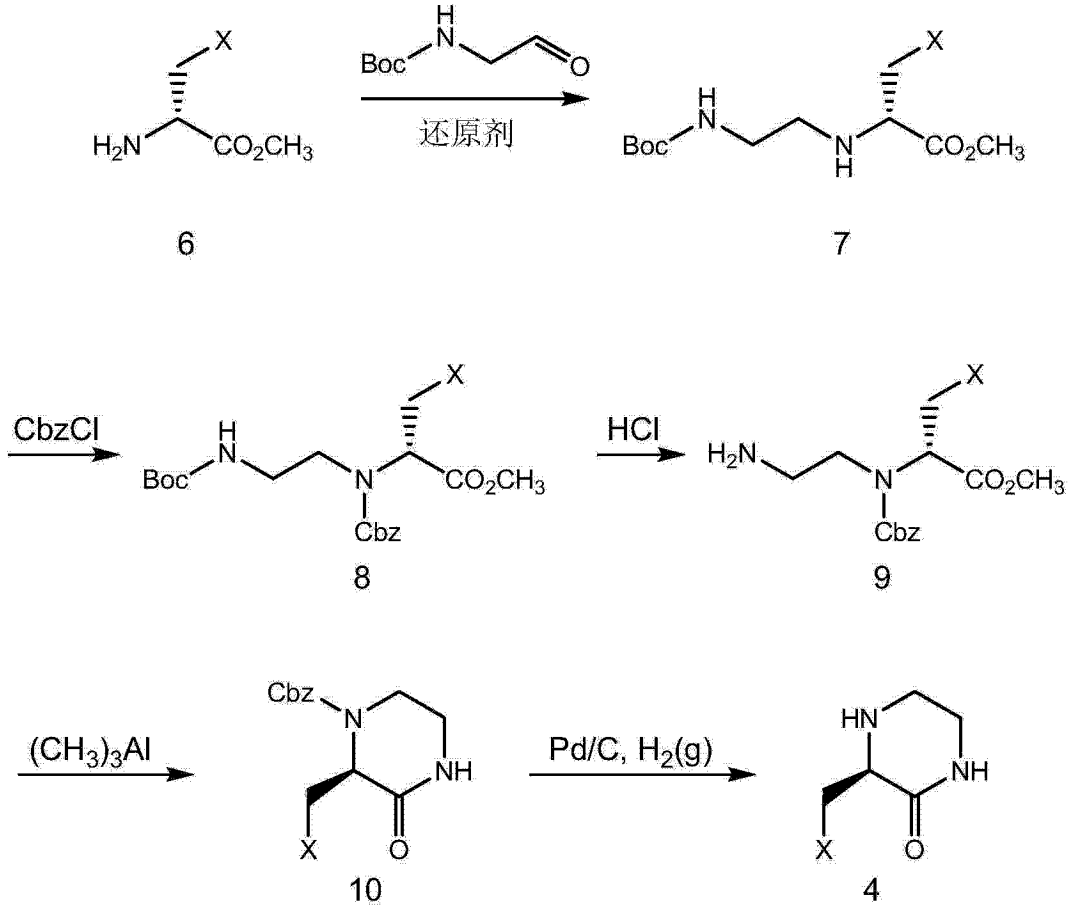
[0062] 在制备具有式 2 的化合物的过程中，在反应历程 1 中所使用的具有式 4 的化合物可根据反应历程 2 和反应历程 3 的合成路径进行制备。

[0063] 在反应历程 2 中，化合物 6 是否可从市面上购得取决于取代基 X，因此，化合物 6 可从市面上购得或通过任何本领域已知的方法容易地制得，例如下面的反应历程 3 中所描述的方法。

[0064] 在反应历程 2 中，用于制备本发明的化合物使用的化合物 4 可由化合物 6 制得。具体而言，化合物 6 与 N- 丁氧羰基 -2- 氨基乙醛在还原剂的存在下进行反应得到化合物 7，再由化合物 7 制得含有由苄氧羰基 (Cbz) 保护的二级胺的化合物 8，然后通过将丁氧羰基 (Boc) 脱保护从而制得化合物 9。接下来，将化合物 9 用三甲基铝（或乙基二异丙基胺 / 乙醇、碳酸氢钠 / 甲醇等）环化从而得到化合物 10，然后将化合物 10 脱去 Cbz 保护基团制得化合物 4。由化合物 6 制备化合物 7 的还原剂的实例可包括氰基硼氢化钠、三乙酰氧基硼氢化钠和硼氢化钠等。

[0065] [反应历程 2]

[0066]

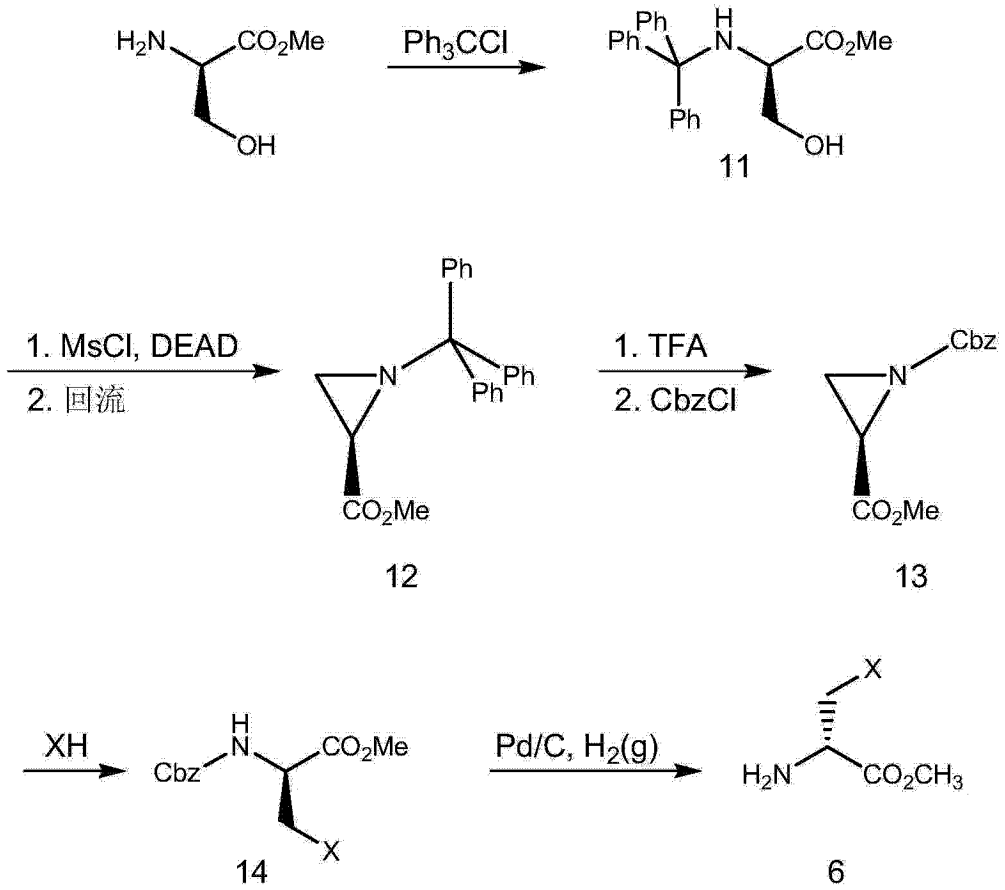


[0067] 其中，X 与式 1 中的定义相同。

[0068] 当反应历程 2 中的化合物 6 无法从市面上购得时，其可由类似下面的反应历程 3 的方式进行制备。反应历程 3 中含有多种取代基 R_1 的化合物 6 可按以下方式进行制备：将 D- 丝氨酸甲酯用三苯甲基氯进行取代得到化合物 11，再将化合物 11 的羟基基团用甲磺酰基取代，然后进行回流，从而制得氮杂环丙烷化合物 12；接下来，将化合物 12 的三苯甲基基团用三氟乙酸除去，再进行苄氧羰基 (Cbz) 保护制得化合物 13；然后，将化合物 13 与含有多种取代基 R_1 的 HX 进行反应制得化合物 14，再将 Cbz 脱保护从而制得化合物 6。

[0069] [反应历程 3]

[0070]



[0071] 其中，X 与式 1 中的定义相同。

[0072] 为促进目标反应或阻止一些不合需要的具有本发明的式 1 的化合物的反应产物的形成，前述的反应条件和反应次序可根据需要进行变化。

[0073] 如上文所述，具有本发明的式 1 的化合物、起始原料和中间体可通过本领域已知的多种方法进行合成。

[0074] 本发明另一方面提供了用于预防和治疗糖尿病或肥胖症的药物组合物，其包含具有式 1 的化合物或其药学上可接受的盐作为活性成分。

[0075] 本发明的具有式 1 的化合物对于 DPP-IV 显示出良好的抑制活性。当测量具有式 1 的化合物对于酶 DPP-IV 的抑制能力时，将 DPP-IV 的酶促反应抑制 50％所需要的药物浓度 IC_{50} 差不多显示为 0.5nM 至 20nM 的范围，这与常规的 DPP-IV 抑制剂相比表现出了更高的 DPP-IV 抑制活性。据报道常规 DPP-IV 抑制剂的 IC_{50} 为数百 nM 至数千 nM 或者甚至数万 nM(Jinyou Xu 等人，Bioorg.Med.Chem.Lett.，2004，4759-4762；以及 Linda L.B. 等人，Bioorg.Med.Chem.Lett.，2004，4763-4766)。

[0076] 此外，本发明的具有式 1 的化合物具有较高的口服葡萄糖耐量。根据口服葡萄糖耐量测试 (OGTT)，具有式 1 的化合物经测定其具有高于 35％的降血糖效果，优选高于 50％，因而表明其相比于常规的 DPP-IV 抑制剂具有更高的生物利用度。此外，体内实验结果，包括药物动力学 / 药效学相关性、DPP-IV 抑制活性持续时间的测定结果以及体内动力学实验表明本发明的化合物在 DPP-IV 抑制活性和生物利用度方面更为出色。

[0077] 因此，包含具有式 1 的化合物作为活性成分的药物组合物可有效地用于治疗和预防由 DPP-IV 引起的代表性疾病糖尿病和肥胖症。

[0078] 本发明的另一方面提供了前述用于预防和治疗糖尿病或肥胖症的组合物的用途，并提供了预防和治疗糖尿病或肥胖症的方法，该方法包括将有效量的前述组合物对哺乳动物（包括人类）进行给药。

[0079] 可将包含具有式 1 的化合物或其立体异构物、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物作为活性成分的药物组合物配制为下述的口服剂型或胃肠外剂型，但并不作为对其所进行的限定。

[0080] 用于口服给药的剂型的实例可包括片剂、丸剂、软硬胶囊剂、溶液剂、悬浮剂、乳剂、糖浆剂、颗粒剂和酏剂等。此类药物制剂除前述活性成分外可包含一种或多种常规的稀释剂或赋形剂，诸如填充剂、增量剂、润湿剂、崩解剂、助流剂、粘合剂和表面活性剂。崩解剂的实例可包括琼脂、淀粉、海藻酸或其钠盐以及无水磷酸氢钙等。助流剂的实例可包括二氧化硅、滑石、硬脂酸或其镁盐或钙盐以及聚乙二醇等。粘合剂的实例可包括硅酸铝镁、淀粉糊、明胶、西黄蓍胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、聚乙烯吡咯烷酮和低取代羟丙纤维素等。此外，该药物制剂可包含稀释剂，例如乳糖、右旋糖、蔗糖、甘露醇、山梨醇、纤维素和 / 或甘氨酸。如果需要的话，该制剂可进一步包含常规已知的泡腾混合物、吸收剂、着色剂、香料和甜味剂。

[0081] 包含具有式 1 的化合物或其药学上可接受的盐作为活性成分的药物组合物可通过胃肠外途径进行给药，例如栓剂、皮下注射、静脉注射、肌肉注射或胸腔内注射。对于本发明的组合物制剂进行胃肠外给药时，将具有式 1 的化合物或其药学上可接受的盐在水的存在下与稳定剂或缓冲剂进行混合以制得溶液或悬浮液，然后将制得的溶液或悬浮液加工为在安瓿或管形瓶中的单位剂量形式。

[0082] 该组合物可以是无菌的和 / 或包含辅料（例如防腐剂、稳定剂、水化剂、乳化剂、用于控制渗透压的盐、和 / 或缓冲剂）和药学上有用的物质，并可根据常规方法例如混合、造粒和包衣进行制剂。

[0083] 如果需要的话，具有式 1 的化合物或是包含其作为活性成分的药物组合物可与其他药物（例如抗糖尿病药物）共同进行给药。

[0084] 当将具有式 1 的化合物或是包含其作为活性成分的药物组合物配制为单位剂量形式时，具有式 1 的化合物优选以活性成分计大约 0.1mg 至 1500mg 的单位剂量进行应用。对于本领域技术人员来说，很明显本发明的活性化合物的有效剂量可根据医生处方来确定，其取决于多种因素，例如患者的体重和年龄、疾病的性质和严重程度等。对于成年人来说，考虑到给药频率和强度，该活性化合物的有效剂量的典型范围约为每天 1mg 至 500mg。在对成年人进行肌肉注射或静脉注射的情况下，每天约 5mg 至 300mg 总剂量，且分为数个单位剂量给予可能较为合适，有些患者甚至需要更高的日剂量。

[0085] 在下文中将会进行具体说明的是，本发明提供了一种含有 β - 氨基的杂环化合物，其对于 DPP-IV 的酶活性具有良好的抑制效果。包含相同的本发明的化合物作为活性成分的药物组合物显示出良好的 DPP-IV 抑制活性和生物利用度，而且具有预防或治疗多种被认为是由 DPP-IV 所引起的疾病如糖尿病和肥胖症的用途。

附图说明

[0086] 图 1 表示用 MK-0431 和实施例 1 中的化合物得到的血浆 DPP-IV 活性与药物剂量

之间的相关性；以及

[0087] 图 2 表示用 MK-0431 和实施例 1 中的化合物得到的实验大鼠体内 DPP-IV 抑制活性的测定结果和比较结果。

具体实施方式

[0088] 现在，将会根据下面的实施例以更具体的方式描述本发明。这些实施例仅为对本发明进行说明而提供，而不应被理解为对本发明的范围和精神所进行的限定。

[0089] 实施例 1：(R)-3-(t- 丁氧基甲基)-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮盐酸盐的制备

[0090] 步骤 1：(R)-1- 三苯甲基氮杂环丙烷 -2- 羧酸甲酯的制备

[0091] 将 200g 的 D- 丝氨酸甲酯盐酸盐加入 1.8L 的氯仿中，然后将反应溶液冷却至 0℃后，向其中缓慢加入 448mL 三乙胺。向反应混合物中缓慢加入 358.4g 三苯甲基氯后，搅拌 1 小时。将反应混合物升至室温后，向其中加入 1L 氯仿，然后用 2.5L 水进行洗涤。将有机层用硫酸镁进行干燥并冷却至 0℃，然后向其中依次缓慢加入 484mL 三乙胺和 15.7g 的 4- 甲氨基吡啶。搅拌反应混合物 5 分钟并向其中加入 139mL 甲磺酰氟。将反应混合物升至室温后搅拌 4 小时然后回流 12 小时。将反应混合物冷却至室温，然后依次用 4L 水和 3L 盐水进行洗涤。将有机层用硫酸镁进行干燥并减压浓缩至干。将 3L 乙醇加入到得到的残留物中并进行搅拌。所合成的固体经过滤得到 329g 标题化合物。

[0092] ^{1}H NMR(400MHz, $CDCl_3$):7.42-7.49(m,6H),7.18-7.32(m,9H),7.68(s,1H),3.74(s,3H),2.24(m,1H),1.87(m,1H) 和 1.40(m,1H)

[0093] 步骤 2：(R)- 氮杂环丙烷 -1,2- 二羧酸 -1- 苄基 -2- 甲基二酯的制备

[0094] 将 328.4g 的 (R)-1- 三苯甲基氮杂环丙烷 -2- 羧酸甲酯溶解于 1.4L 氯仿中并将溶液冷却至 0℃，然后向其中缓慢加入 462mL 三氟乙酸。将反应混合物搅拌 1 小时，然后加入 2L 水，搅拌 10 分钟后除去有机层。将水层用碳酸氢钠中和，无须经过进一步的纯化即可用于接下来的反应。

[0095] 向该水层中加入 2L 乙醚与 120.5g 碳酸氢钠，并将反应溶液冷却至 0℃，然后向其中缓慢滴入 165mL 氯甲酸苄酯。搅拌反应混合物 2 小时然后弃去水层。将有机层用硫酸镁进行干燥，再减压浓缩蒸干，然后使用柱层析进行纯化从而得到 108.5g 标题化合物。

[0096] ^{1}H NMR(400MHz, DMSO):7.32-7.36(m,5H),5.13(s,2H),3.09(dd,J = 3.2,5.4Hz,1H),2.58(dd,J = 1.2,3.2Hz,1H) 和 2.47(dd,J = 1.2,5.4Hz,1H) 步骤 3：(R)-2- 氨基 -3-t- 丁氧基丙酸甲酯的制备

[0097] 将 1.1g 的 (R)- 氮杂环丙烷 -1,2- 二羧酸 -1- 苄基 -2- 甲基二酯溶解于 11mL 氯仿中，再向其中加入 18mL 的 t- 丁醇。然后向反应混合物中缓慢滴入 1.2mL 的 BF_3OEt_2，再搅拌 12 小时。向反应混合物中加入 2L 水将反应终止。然后将有机层分离出来并用硫酸镁干燥，再减压浓缩蒸干，无须经过进一步的纯化即可用于接下来的反应。

[0098] 将得到的残留物溶解于 10mL 甲醇中，再向其中加入分散于 2mL 乙酸乙酯中的 740mg 钯 / 碳，然后在环境大气压力下通入 1 小时氢气。将反应混合物过滤并减压蒸干从而得到 736mg 标题化合物。

[0099] ^{1}H NMR(400MHz, CD_3OD):4.21(m,1H),3.82(s,3H),3.74-3.88(m,2H) 和 1.20(s,9H)

[0100] 步骤 4 :(R)-2-[2-(t- 丁氧羰基氨基) 乙胺基]-3-t- 丁氧基丙酸甲酯的制备

[0101] 将 736mg 在步骤 3 中制得的 (R)-2- 氨基 -3-t- 丁氧基丙酸甲酯溶解于 14mL 二氯甲烷中,再向其中缓慢加入含 6335mg N-t- 丁氧羰基 -2- 氨基乙醛的甲醇溶液。将反应混合物冷却至 0℃,然后逐渐加入 1.2mL 三乙胺和 1.78g 三乙酰氧基硼氢化钠。将反应混合物升至室温,再搅拌 12 小时。向其中加入饱和碳酸氢钠溶液将反应终止,将有机层用 10mL 的水和盐水依次进行洗涤,然后减压浓缩蒸干。得到的残留物使用柱层析纯化从而得到 355mg 标题化合物。

[0102] ^{1}H NMR(400MHz, $CDCl_3$) :5.10(m, 1H), 3.71(s, 3H), 3.56(m, 2H), 3.40(m, 1H), 3.15-3.28(m, 2H), 2.81(m, 1H), 2.67(m, 1H), 1.42(s, 9H) 和 1.13(s, 9H)

[0103] 步骤 5 :(R)-2-[(1- 苄氧羰基)(2-t- 丁氧羰基氨基) 乙胺基]-3-t- 丁氧基丙酸甲酯的制备

[0104] 将 355mg 在步骤 4 中制得的 (R)-2-[2-(t- 丁氧羰基氨基) 乙胺基]-3-t- 丁氧基丙酸甲酯溶解于 11mL 四氢呋喃,将反应混合物冷却至 0℃,然后向其中加入 187mg 碳酸氢钠。向其中缓慢滴入 192μL 氯甲酸苄酯,然后将反应混合物升至室温。12 小时后将反应混合物减压蒸干,再加入 10mL 乙酸乙酯,然后用 10mL 水洗涤有机层。将有机层用硫酸镁进行干燥,再减压蒸干,然后通过柱层析纯化从而得到 410mg 标题化合物。

[0105] ^{1}H NMR(400MHz, $CDCl_3$) :7.36-7.25(m, 5H), 5.82-5.72(m, 1H), 5.17-5.03(m, 2H), 4.15(m, 1H), 3.98(m, 1H), 3.81(m, 1H), 3.73(s, 3H), 3.60(m, 1H), 3.42-3.28(m, 3H), 1.40(s, 9H) 和 1.14(s, 9H)

[0106] 步骤 6 :(R)-2-(t- 丁氧基甲基)-3- 氧代哌嗪 -1- 甲酸苄酯的制备

[0107] 将 410mg 在步骤 5 中制得的 (R)-2-[(1- 苄氧羰基)(2-t- 丁氧羰基氨基) 乙胺基]-3-t- 丁氧基丙酸甲酯溶解于 10mL 甲醇中,将反应混合物冷却至 0℃,然后向其中缓慢加入 4mL 2N 的盐酸 / 乙醚,再搅拌 3 小时。将反应混合物减压蒸干,无须经过进一步的纯化即可用于接下来的反应。

[0108] 将得到的残留物溶解于 10mL 二氯甲烷,将反应混合物冷却至 0℃,然后向其中缓慢加入 152μL 三乙胺。将 1.1mL 三甲基铝 (2.0M 的甲苯溶液) 缓慢加入到反应混合物中,并将其升至室温,然后搅拌 12 小时。再将反应混合物冷却至 0℃,并加入饱和氯化铵水溶液终止反应。将 10mL 乙酸乙酯加入反应混合物,再用 10mL 盐水进行洗涤。将有机层用硫酸镁进行干燥然后减压蒸干。将得到的残留物使用柱层析进行纯化得到 103mg 标题化合物。

[0109] ^{1}H NMR(400MHz, $CDCl_3$) :7.34-7.25(m, 5H), 6.27(m, 1H), 5.14(m, 2H), 4.57(m, 1H), 4.19(m, 1H), 4.08(m, 1H), 3.94(m, 1H), 3.74(m, 1H), 3.64(m, 1H), 3.42(m, 1H), 3.29(m, 1H) 和 1.09(s, 9H)

[0110] 步骤 7 :(R)-3-(t- 丁氧基甲基) 哌嗪 -2- 酮的制备

[0111] 将 103mg 在步骤 6 中制得的 (R)-2-(t- 丁氧基甲基)-3- 氧代哌嗪 -1- 甲酸苄酯溶解于 2mL 甲醇中,再向其中加入分散于 1mL 乙酸乙酯中的 50mg 钯 / 碳,然后在室压下通入 1 小时氢气。将反应混合物过滤并减压蒸干得到 58mg 标题化合物。

[0112] ^{1}H NMR(400MHz, $CDCl_3$) :6.41(brs, 1H), 3.76(m, 3H), 3.63(m, 1H), 3.52(m, 1H), 3.42(m, 1H), 3.28(m, 1H), 3.16(m, 1H), 2.95(m, 1H), 2.45(brs, 1H) 和 1.17(s, 9H)

[0113] 步骤 8 :(R)-1-(2,4,5- 三氟苯基)-4-[(R)-2-(t- 丁氧基甲基)-3- 氧代哌

嗪 -1- 基]-4- 氧代 - 丁 -2- 基氨基甲酸 t- 丁酯的制备

[0114] 将 104mg 的 (3R)-4-(2,4,5- 三氟苯基)-3-(t- 丁氧羰基氨基) 丁酸和 58mg 的 (R)-3-(t- 丁氧基甲基) 哌嗪 -2- 酮加入到 4mL 的 N,N- 二甲基甲酰胺中，然后向其中加入 63mg 的 1- 羟基苯并三唑 (HOBT) 和 217μL 乙基二异丙基胺。将反应混合物冷却至 0℃并向其中加入 78mg 的 1- 乙基 -3-[3-(二甲基氨基) 丙基] 碳二亚胺 (EDC)，然后在室温下搅拌 12 小时。将反应混合物用 10mL 乙酸乙酯进行稀释，再用盐水洗涤两次。将有机层用硫酸镁干燥后进行浓缩。将得到的残留物通过柱层析进行纯化得到 97mg 标题化合物。

[0115] ^{1}H NMR(400MHz, $CDCl_3$):7.03(m, 1H), 6.88(m, 1H), 5.97(m, 1H), 5.48(m, 1H), 4.16-4.07(m, 1H), 4.02-3.91(m, 1H), 3.74(m, 2H)3.37(m, 2H), 3.24(m, 1H), 2.92(m, 2H), 2.80(m, 1H), 2.59(m, 2H), 1.34(d, 9H) 和 1.13(s, 9H)

[0116] 步骤 9 :(R)-3-(t- 丁氧基甲基)-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮盐酸盐的制备

[0117] 将 97mg 在步骤 8 中制得的 (R)-1-(2,4,5- 三氟苯基)-4-[(R)-2-(t- 丁氧基甲基)-3- 氧代哌嗪 -1- 基]-4- 氧代 - 丁 -2- 基氨基甲酸 t- 丁酯溶解于 3mL 甲醇中，然后加入 2mL 2N 的盐酸 / 乙醚，再在室温下搅拌 3 小时。将反应混合物减压浓缩并蒸干从而得到 64mg 泡沫状固体形式的标题化合物。

[0118] ^{1}H NMR(400MHz, CD_3OD):7.37(m, 1H), 7.23(m, 1H), 4.80(m, 1H), 4.59-4.40(m, 1H), 3.93(m, 1H), 3.90-3.83(m, 2H), 3.70(m, 1H), 3.38(m, 2H), 3.27(m, 1H), 3.07(m, 2H), 2.89-2.66(m, 2H), 1.18(s, 3H) 和 1.11(s, 6H)

[0119] Mass(M+1):402

[0120] 实施例 2 :(R)-3-(甲氧基甲基)-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮盐酸盐的制备

[0121] 用甲醇代替实施例 1 的步骤 3 中的 t- 丁醇，然后通过与实施例 1 的步骤 4 至步骤 9 类似的方式合成得到 40mg 标题化合物。

[0122] ^{1}H NMR(400MHz, CD_3OD):7.34(m, 1H), 7.23(m, 1H), 4.82(m, 1H), 4.62-4.46(m, 1H), 3.92(m, 1H), 3.87-3.82(m, 2H), 3.66(m, 1H), 3.35(m, 2H), 3.24(m, 1H), 3.04(m, 2H), 2.94-2.72(m, 2H) 和 3.27(s, 3H)

[0123] Mass(M+1):360

[0124] 实施例 3 :(R)-3-(乙氧基甲基)-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮盐酸盐的制备

[0125] 用乙醇代替实施例 1 的步骤 3 中的 t- 丁醇，然后通过与实施例 1 的步骤 4 至步骤 9 类似的方式合成得到 66mg 标题化合物。

[0126] ^{1}H NMR(400MHz, CD_3OD):7.38(m, 1H), 7.23(m, 1H), 4.83(m, 1H), 4.54-4.44(m, 1H), 3.98(m, 1H), 3.93-3.82(m, 2H), 3.71(m, 1H), 3.53(m, 2H), 3.36(m, 2H), 3.26(m, 1H), 3.07(m, 2H), 2.90-2.70(m, 2H) 和 1.11(t, 3H)

[0127] Mass(M+1):374

[0128] 实施例 4 :(R)-3-(异丙氧基甲基)-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮盐酸盐的制备

[0129] 用异丙醇代替实施例 1 的步骤 3 中的 t- 丁醇，然后通过与实施例 1 的步骤 4 至步

骤 9 类似的方式合成得到 69mg 标题化合物。

[0130] ^1H NMR(400MHz, CD_3OD):7.38(m, 1H), 7.23(m, 1H), 4.86(m, 1H), 4.62-4.43(m, 1H), 3.96(m, 1H), 3.90-3.87(m, 2H), 3.77(m, 1H), 3.69(m, 1H), 3.44(m, 2H), 3.26(m, 1H), 3.08(m, 2H), 2.95-2.69(m, 2H) 和 1.15(m, 6H)

[0131] Mass(M+1):388

[0132] 实施例 5:(R)-3-(环戊氧基甲基)-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮盐酸盐的制备

[0133] 用环戊醇代替实施例 1 的步骤 3 中的 t- 丁醇,然后通过与实施例 1 的步骤 4 至步骤 9 类似的方式合成得到 51mg 标题化合物。

[0134] ^1H NMR(400MHz, CD_3OD):7.38(m, 1H), 7.23(m, 1H), 4.82(m, 1H), 4.61-4.42(m, 1H), 3.93(m, 1H), 3.90-3.82(m, 2H), 3.67(m, 1H), 3.40(m, 1H), 3.36(m, 2H), 3.25(m, 1H), 3.08(m, 2H), 3.01-2.62(m, 2H) 和 1.67-1.50(m, 8H)

[0135] Mass(M+1):414

[0136] 实施例 6:(R)-3-[(二乙基氨基) 甲基]-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮二盐酸盐的制备

[0137] 用二乙胺代替实施例 1 的步骤 3 中的 t- 丁醇,并用回流来代替实施例 1 的步骤 3 中所加入的 BF_3OEt_2,然后通过与实施例 1 的步骤 4 至步骤 9 类似的方式合成得到 68mg 标题化合物。

[0138] ^1H NMR(400MHz, CD_3OD):7.41(m, 1H), 7.24(m, 1H), 5.21(m, 1H), 3.59-3.53(m, 2H), 3.50-3.53(m, 4H), 3.43-3.37(m, 4H), 3.35(m, 2H), 3.09(m, 2H), 2.97-2.81(m, 2H) 和 1.37(m, 6H)

[0139] Mass(M+1):401

[0140] 实施例 7:(R)-3-[(甲基乙基氨基) 甲基]-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮二盐酸盐的制备

[0141] 用甲乙胺代替实施例 1 的步骤 3 中的 t- 丁醇,并用回流来代替实施例 1 的步骤 3 中所加入的 BF_3OEt_2,然后通过与实施例 1 的步骤 4 至步骤 9 类似的方式合成得到 67mg 标题化合物。

[0142] ^1H NMR(400MHz, CD_3OD):7.42(m, 1H), 7.24(m, 1H), 5.22(m, 1H), 4.08-3.87(m, 2H), 3.86-3.75(m, 2H), 3.68-3.57(m, 2H), 3.56-3.33(m, 4H), 3.09(m, 2H), 3.02-2.81(m, 5H) 和 1.38(m, 3H)

[0143] Mass(M+1):387

[0144] 实例例 8:(R)-3-(吗啉代甲基)-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮二盐酸盐的制备

[0145] 用吗啉代替实施例 1 的步骤 3 中的 t- 丁醇,并用回流来代替实施例 1 的步骤 3 中所加入的 BF_3OEt_2,然后通过与实施例 1 的步骤 4 至步骤 9 类似的方式合成得到 27mg 标题化合物。

[0146] ^1H NMR(400MHz, CD_3OD):7.37(m, 1H), 7.23(m, 1H), 5.32(m, 1H), 4.12-3.98(m, 4H), 3.97-3.77(m, 4H), 3.74-3.52(m, 4H), 3.48-3.39(m, 2H), 3.14-2.91(m, 4H) 和 2.86-2.72(m, 2H)

[0147] Mass(M+1):415

[0148] 实施例 9:(R)-3-(t- 丁硫基甲基)-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮盐酸盐的制备

[0149] 用 t- 丁硫醇代替实施例 1 的步骤 3 中的 t- 丁醇,然后通过与实施例 1 的步骤 4 至步骤 9 类似的方式合成得到 25mg 标题化合物。

[0150] ^{1}H NMR(400MHz, CD_3OD):7.34(m,1H),7.25(m,1H),5.04(m,1H),4.60(s,1H),4.60-4.41(m,1H),3.86(m,2H),3.70(m,1H),3.40(m,2H),3.25(m,1H),3.05(m,2H),2.95(m,1H),2.81(m,2H) 和 1.26(s,9H)

[0151] Mass(M+1):418

[0152] 实施例 10:(S)-3-(t- 丁氧基甲基)-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮盐酸盐的制备

[0153] 用 L- 丝氨酸甲酯盐酸盐代替实施例 1 的步骤 1 中的 D- 丝氨酸甲酯盐酸盐,然后通过与实施例 1 的步骤 2 至步骤 9 类似的方式合成得到 31mg 标题化合物。

[0154] ^{1}H NMR(400MHz, CD_3OD):7.34(m,1H),7.24(m,1H),4.79(m,1H),4.580-4.40(m,1H),3.96(m,1H),3.86-3.74(m,2H),3.70(m,1H),3.36(m,2H),3.19(m,1H),3.05-2.86(m,3H),2.67(m,1H),1.15(s,4H) 和 1.03(s,5H)

[0155] Mass(M+1):402

[0156] 实施例 11:(R)-3-(t- 丁氧基甲基)-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮的制备

[0157] 将 60mg 在实施例 1 中得到的化合物加入到 10mL 的 5% 碳酸氢钠水溶液中,再将混合物用 10mL 二氯甲烷 /2- 丙醇的混合溶液 (体积比 4:1) 萃取两次。将有机层减压蒸干从而得到 55mg 固体形式的标题化合物。

[0158] ^{1}H NMR(400MHz, CD_3OD):7.27(m,1H),7.14(m,1H),4.56-4.39(m,1H),3.96-3.81(m,3H),3.70(m,1H),3.46(m,1H),3.43-3.32(m,1H),2.83-2.65(m,3H),2.58-2.40(m,2H),1.16(s,3H) 和 1.11(s,6H)

[0159] Mass(M+1):402

[0160] 实施例 12:(R)-3-(t- 丁氧基甲基)-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮酒石酸盐的制备

[0161] 将 55mg 在实施例 11 中得到的化合物溶解于 0.56mL 丙酮,再向其中缓慢加入将 26mg 的 L- 酒石酸溶于 0.35mL 乙醇 / 水混合溶剂 (体积比 9:1) 所形成的溶液,然后搅拌 30 分钟。向其中加入 0.56mL 的 2- 丙醇,再搅拌 10 分钟后将其过滤从而得到 77mg 固体形式的标题化合物。

[0162] ^{1}H NMR(400MHz, CD_3OD):7.38(m,1H),7.22(m,1H),4.80(m,1H),4.59-4.40(m,1H),4.40(s,2H),3.93(m,1H),3.90-3.83(m,2H),3.70(m,1H),3.38(m,2H),3.27(m,1H),3.07(m,2H),2.89-2.66(m,2H),1.15(s,3H) 和 1.11(s,6H)

[0163] Mass(M+1):402

[0164] 实施例 13:(R)-3-(t- 丁氧基甲基)-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮柠檬酸盐的制备

[0165] 将 496mg 在实施例 11 中得到的化合物溶解于 2mL 乙醇,再向其中缓慢加入将

273mg 的无水柠檬酸溶于 1mL 水所形成的溶液，然后搅拌 30 分钟。将反应混合物浓缩，然后向其中加入 2mL 乙酸乙酯和 1mL 的 2- 丙醇并搅拌。然后向其中加入 15mL 正己烷，再搅拌 10 分钟后将其过滤从而得到 637mg 固体形式的标题化合物。

[0166] ^{1}H NMR(400MHz, CD_3OD):7.34(m,1H),7.22(m,1H),4.81(m,1H),4.58-4.40(m,1H),3.94(m,1H),3.87(m,2H),3.70(m,1H),3.36(m,2H),3.25(m,1H),3.03(m,2H),2.94-2.70(m,4H),1.18(s,3H) 和 1.12(s,6H)

[0167] Mass(M+1):402

[0168] 实施例 14：(R)-3-(t- 丁氧基甲基)-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮磷酸盐的制备

[0169] 将 501mg 在实施例 11 中得到的化合物溶解于 3mL 的 2- 丙醇，再向其中缓慢加入 84μL 的 85％磷酸水溶液，然后搅拌 30 分钟。向其中加入 3mL 的 2- 丙醇，再将所得到的混合物搅拌 10 分钟后将其过滤从而得到 100mg 固体形式的标题化合物。

[0170] ^{1}H NMR(400MHz, CD_3OD):7.33(m,1H),7.19(m,1H),4.81(m,1H),4.58-4.41(m,1H),3.94(m,1H),3.85(m,2H),3.65(m,1H),3.37(m,2H),3.22(m,1H),2.95(m,2H),2.69(m,2H),1.17(s,3H) 和 1.12(s,6H)

[0171] Mass(M+1):402

[0172] 实施例 15：(R)-3-(t- 丁氧基甲基)-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮乙酸盐的制备

[0173] 将 500mg 在实施例 11 中得到的化合物溶解于 3mL 乙酸乙酯，再向其中缓慢加入将 74.5mg 乙酸溶于 1mL 乙酸乙酯所形成的溶液，然后搅拌 30 分钟。将反应混合物浓缩，然后向其中加入 2mL 乙酸乙酯和 1mL 的 2- 丙醇并搅拌。然后向其中加入 15mL 正己烷，再将得到的混合物搅拌 10 分钟后将其过滤从而得到 495mg 固体形式的标题化合物。

[0174] ^{1}H NMR(400MHz, CD_3OD):7.32(m,1H),7.20(m,1H),4.79(m,1H),4.60-4.40(m,1H),3.94(m,1H),3.87(m,2H),3.70(m,1H),3.34(m,2H),3.24(m,1H),2.90(m,2H),2.76-2.58(m,2H),1.94(s,3H),1.17(s,3H) 和 1.12(s,6H)

[0175] Mass(M+1):402

[0176] 实施例 16：(R)-3-(t- 丁氧基甲基)-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮苹果酸盐的制备

[0177] 将 498mg 在实施例 11 中得到的化合物溶解于 4mL 丙酮，再向其中缓慢加入将 166mg 的 L- 苹果酸溶于 1mL 丙酮所形成的溶液，然后搅拌 30 分钟。将反应混合物浓缩，然后向其中加入 2mL 乙酸乙酯和 1mL 的 2- 丙醇并搅拌。然后向其中加入 15mL 正己烷，再将得到的混合物搅拌 10 分钟后将其过滤从而得到 506mg 固体形式的标题化合物。

[0178] ^{1}H NMR(400MHz, CD_3OD):7.34(m,1H),7.21(m,1H),4.80(m,1H),4.58-4.39(m,1H),4.26(m,1H),3.94(m,1H),3.84(m,2H),3.71(m,1H),3.36(m,2H),3.22(m,1H),3.02(m,2H),2.82-2.63(m,3H),2.50(m,1H),1.17(s,3H) 和 1.12(s,6H)

[0179] Mass(M+1):402

[0180] 实施例 17：(R)-3-(t- 丁氧基甲基)-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮琥珀酸盐的制备

[0181] 将 498mg 在实施例 11 中得到的化合物溶解于 3mL 丙酮，再向其中缓慢加入将

147mg 的琥珀酸溶于 2mL 丙酮 / 水混合溶剂（体积比 20 :1）所形成的溶液，然后搅拌 30 分钟。将反应混合物减压浓缩至干从而得到 596mg 固体形式的标题化合物。

[0182] ^{1}H NMR(400MHz, CD_3OD) :7.34(m,1H),7.21(m,1H),4.81(m,1H),4.58-4.40(m,1H),3.95(m,1H),3.85(m,2H),3.70(m,1H),3.36(m,2H),3.25(m,1H),2.92(m,2H),2.81-2.64(m,2H),2.51(s,4H),1.18(s,3H) 和 1.12(s,6H)

[0183] Mass(M+1) :402

[0184] 实施例 18 :(R)-3-(t- 丁氧基甲基)-4-[(R)-3- 氨基 -4-(2,4,5- 三氟苯基) 丁酰基] 哌嗪 -2- 酮己二酸盐的制备

[0185] 将 503mg 在实施例 11 中得到的化合物溶解于 4mL 乙酸乙酯，再向其中缓慢加入将 183mg 的己二酸溶于 3mL 丙酮 / 水混合溶剂（体积比 30 :1）所形成的溶液，然后搅拌 30 分钟。将反应混合物浓缩，然后向其中加入 2mL 乙酸乙酯和 1mL 的 2- 丙醇并搅拌。然后向其中加入 15mL 正己烷，再将所得到的混合物搅拌 10 分钟后将其过滤从而得到 336mg 固体形式的标题化合物。

[0186] ^{1}H NMR(400MHz, CD_3OD) :7.32(m,1H),7.19(m,1H),4.80(m,1H),4.56-4.40(m,1H),3.94(m,1H),3.87(m,2H),3.70(m,1H),3.35(m,2H),3.25(m,1H),2.92(m,2H),2.83-2.58(m,2H),2.25(m,4H),1.63(m,4H),1.21(s,3H) 和 1.12(s,6H)

[0187] Mass(M+1) :402

[0188] 实验例 1 :DPP-IV 抑制活性分析

[0189] 为了检验在实施例 1 至实施例 18 中制得的所发明的具有式 1 的化合物的 DPP-IV 抑制能力，进行下列实验。

[0190] 已知为丝氨酸蛋白酶的 DPP-IV 从 R&D Systems 购得。作为对照的 MK-0431 根据 J.Med.Chem.,2005,48,141-151 中所公开的方法制得。为了评价所发明的具有式 1 的化合物的药效，用荧光底物 Gly-Pro-AMC 对所合成的 DPP-IV 抑制剂的结合活性进行测定。于 25℃下在含有 25mM Tris/HCl(pH 8.0) 的缓冲溶液中进行酶促反应，相对于 100ng/mL 的 DPP-IV，使用的 Gly-Pro-AMC 的浓度为 50μM，并在不同的抑制剂浓度下进行所述反应。在酶促反应进行 1 小时后，通过用荧光分光光度计测定荧光光谱，然后计算出将 DPP-IV 酶促反应抑制 50％所需要的抑制剂浓度，从而得到抑制剂的抑制常数 IC_{50}。所用的荧光分光光度计为激发波长为 360nm、发射波长为 465nm 的 Tecan SpectraFluor 荧光分光光度计。结果，为表示具有式 1 的化合物抑制 DPP-IV 活性的能力而测定的 IC_{50} 其范围为 0.5nM 至 20nM（表 1 :对人类 DPP-IV 的体外抑制活性）。从这一结果中可以看出，通过与报道的市售 JANUVIA 或常规 DPP-IV 抑制剂化合物的 IC_{50} 值（范围在数百 nM 至数千 nM) 进行比较，所发明的具有式 1 的化合物具有非常良好的 DPP-IV 抑制活性。

[0191] 表 1

[0192]

实施例编号	IC_{50}(nM)
MK-0431	28.3
实施例 1	0.72

实施例 2	7.4
实施例 3	2.2
实施例 4	4.3
实施例 5	1.7
实施例 6	11.0
实施例 7	17.4
实施例 8	5.2
实施例 9	1.3
实施例 10	48.7
实施例 11	0.8
实施例 12	1.05
实施例 13	0.81
实施例 14	0.92
实施例 15	0.87
实施例 16	0.73
实施例 17	1.2
实施例 18	0.71

[0193] 实验例 2：口服葡萄糖耐量测试 (OGTT)

[0194] 为了研究包含所发明的具有式 1 的化合物作为活性成分的药物组合物的抗糖尿病效果，进行了用以测定人体在给定的时间内代谢葡萄糖的能力的口服葡萄糖耐量测试 (OGTT)。

[0195] 为此，将实验动物 (C57BL/6 只小鼠) 在实验前禁食 16 至 17 小时。在实验当天的早上，从动物的尾静脉采集血液，用 Accu-Chek 活力型血糖仪 (Roche Diagnostics) 对血糖水平进行测定。在给予葡萄糖前 30 分钟 (-30 分钟)，将含有载体的药物组合物进行口服给药，30 分钟 (0 分钟) 后，再将葡萄糖溶液 (2g/kg/10mL) 进行口服给予。在指定的时间点进行血液的采集，这些时间点为药物即将给药前、即将给予葡萄糖前以及给予葡萄糖后 5、15、30、60 和 90 分钟。

[0196] 结果，与对照组相比 (没有给予含有载体的组合物)，在 1mg/kg 的剂量下，实施例

1、3 和 12 显示出较好的降血糖效果，分别为 54％、52％和 62％。从这些结果可以看出，所发明的具有式 1 的化合物由于其较高的生物利用度，具有治疗与 DPP-IV 相关的疾病包括糖尿病和肥胖症的作用。

[0197] 实验例 3 :DPP-IV 抑制剂的药物动力学 / 药效学相关性（血浆 DPP-IV 活性对药物剂量）

[0198] 为了探明所发明的具有式 1 的化合物的抗糖尿病效果，在所发明的化合物与 MK-0431 之间进行了血浆 DPP-IV 抑制活性的比较性评价。将 MK-0431 和所发明的化合物（实施例 1 的化合物）以单独的剂量对 8 周龄的 C57BL6 小鼠进行口服给药，然后在 1 小时后以 2g/kg 的剂量给予葡萄糖。10 分钟后，从动物的眼部采集血液。从所采集的血液中得到血浆，并测定血浆 DPP-IV 活性和血浆药物浓度。

[0199] 通过用 Gly-Pro-AMC(Bachem，瑞士）作为底物，测定由 DPP-IV 的作用所释放出的荧光 AMC(7- 氨基 -4- 甲基香豆素）的量，得到血浆 DPP-IV 活性。为此，将 50μL 血浆加入反应溶液 (100mM HEPES，pH7.6，0.1mg/mL，50μM Gly-Pro-AMC)，然后计算 25℃下 5 分钟内的 AMC 释放速率。

[0200] 结果，与 MK-0431 相比，具有式 1 的化合物（实施例 1）在血浆浓度为 10ng/mL 时显示出高出 4 至 5 倍的抑制活性，同时显示出高出 8 至 9 倍的 EC_{50}(50％有效浓度）和 EC_{80}(80％有效浓度）（请参见图 1)。

[0201] 实验例 4 :体内 DPP-IV 分析 (DPP-IV 抑制活性的持续时间）

[0202] 为了探明所发明的具有式 1 的化合物的抗糖尿病效果，在将药物化合物对正常的 SD 大鼠进行给药后，对 MK-0431 和所发明的化合物（实施例 1）之间的血浆 DPP-IV 抑制活性及其持续时间进行比较性评价。

[0203] 为此，将实验动物 (SD 大鼠）在实验前禁食 16 至 17 小时。在实验当天，将禁食后的动物用乙醚麻醉，然后进行腹主动脉插管。之后将 MK-0431 和所发明的化合物（实施例 1）稀释至 0.5％ MC 并对动物进行给药。在给药之前 (0h) 以及在给药后的指定时间，在预先准备好的 500μL 肝素管中进行血液采集并将血浆分离出来。在每种反应溶液 (0.1M HEPES，pH 7.6，0.1mg/mL，50μM Gly-Pro-AMC) 中加入 50μL 血浆，然后进行 5 分钟的动力学研究以计算反应速率。

[0204] 结果，在 10mg/kg 的剂量下，发现所发明的化合物直至给药后 24 小时仍保持 90％或以上的 DPP-IV 抑制活性。考虑到 MK-0431 在同样的 24 小时后仅保持约 50％的 DPP-IV 抑制活性，所发明的化合物明显保持了更高的活性（请参见图 2)。

[0205] 实验例 5 :体内动力学实验

[0206] 为了测定所发明的具有式 1 的化合物的体内半衰期，将 MK-0431 和所发明的化合物（实施例 1、3 和 12) 以 10mg/kg 的剂量对正常的 SD 大鼠 (8 周龄）进行口服给药。从股主动脉周期性地对血液进行取样并测定原化合物的体内保留时间。结果，相比于 MK-0431，所发明的化合物显示出更长的体内半衰期 ($T_{1/2}$)。

[0207] 表 2

[0208]

	实施例 1	实施例 3	实施例 12	MK-0431

$T_{1/2}$（小时）	7.9	7.6	5.5	4.8

[0209] 工业实用性

[0210] 从以上记载可以明显看出，本发明能够制得含有 β－氨基的杂环化合物，其对于 DPP-IV 活性具有良好的抑制效果。此外，包含相同的本发明的化合物作为活性成分的药物组合物显示出良好的 DPP-IV 抑制活性和生物利用度，并因此具有预防或治疗多种被认为是由 DPP-IV 引起的疾病诸如糖尿病和肥胖症的用途。

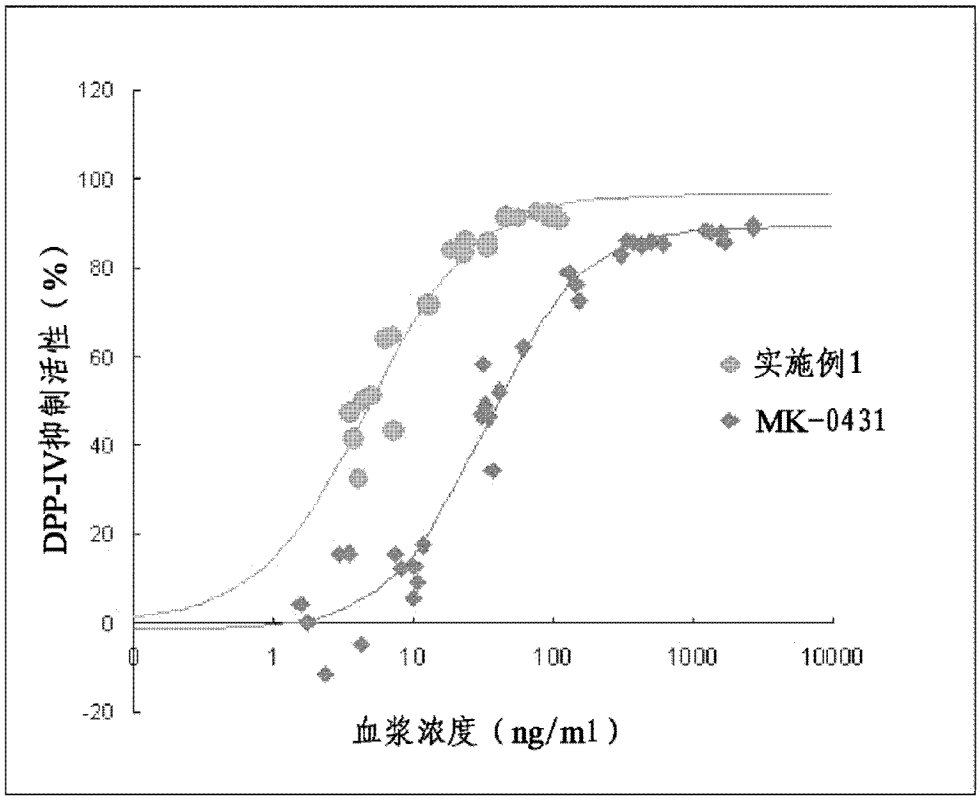

DPP-IV抑制活性（%）
120
100
80
60
40
20
0
-20
0
1
10
100
1000
10000
血浆浓度（ng/ml）
实施例1
MK-0431

图 1

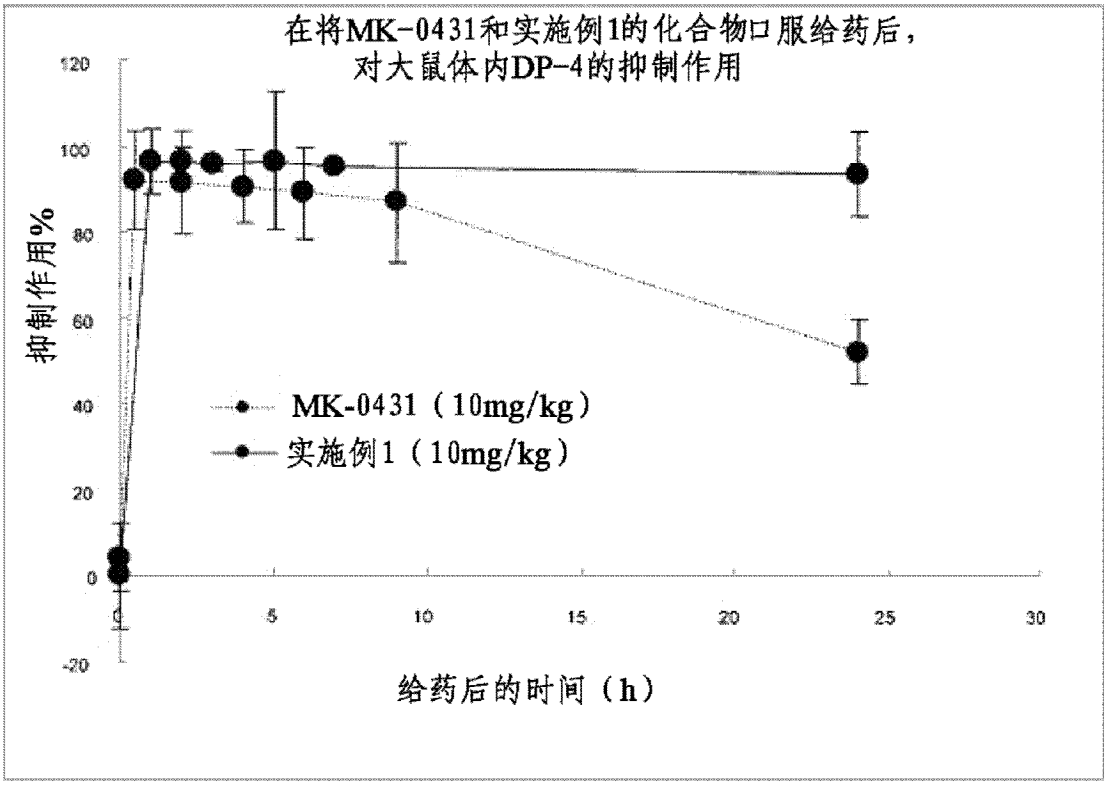

在将MK-0431和实施例1的化合物口服给药后，
对大鼠体内DP-4的抑制作用
抑制作用%
120
100
80
60
40
20
0
-20
0
5
10
15
20
25
30
给药后的时间（h）
MK-0431（10mg/kg）
实施例1（10mg/kg）

图 2