



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105008323 B

(45)授权公告日 2018.11.06

(21)申请号 201380068795.3

A61K 31/165(2006.01)

(22)申请日 2013.10.31

(56)对比文件

(65)同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 105008323 A

CN 101351495 A,2009.01.21,

WO 9200968 A1,1992.01.23,

EP 0555893 A1,1991.08.01,

(43)申请公布日 2015.10.28

JP 2000171937 A,2000.06.23,

(30)优先权数据

EP 1719763 A1,2005.02.25,

61/720838 2012.10.31 US

US 2002052513 A1,2005.05.02,

(85)PCT国际申请进入国家阶段日  
2015.06.29

John B. Hynes et al.Hydroxylamine

Derivatives as Potential Inhibitors of

Nucleic Acid Synthesis.《Journal of

Medicinal Chemistry》.1973,第16卷(第5期),

第577页表1.

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2013/067695 2013.10.31

(87)PCT国际申请的公布数据

W02014/070983 EN 2014.05.08

Wallace T. Ashton et al.Nonpeptide

Angiotensin II Antagonists Derived from

4H-1,2,4-Triazoles and SH-Imidazo[ 1,2-b]

[ 1,2,4]triazoles.《J. Med. Chem.》.1993,第

36卷第595页化合物144-145.

(73)专利权人 密歇根大学董事会

地址 美国密歇根州

专利权人 东密执安大学

Seoung-ryoung Choi et al.Generation of

Oxamic Acid Libraries:Antimalarials and

Inhibitors Of plasmodium falciparum

lactate Dehydrogenase.《J.Comb.Chem.》

.2007,第9卷表1及表2.

(72)发明人 D.A.劳伦斯 C.伊马尔 A.雷恩克  
S-H.李 M.瓦诺克 G.阿伯纳蒂

STN.REGISTRY数据库.《REGISTRY数据库》

.2011,

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公  
司 72001

代理人 关立新 李炳爱

审查员 韩玉英

(51)Int.Cl.

C07C 233/08(2006.01)

C07C 233/05(2006.01)

A61K 31/16(2006.01)

权利要求书4页 说明书77页

(54)发明名称

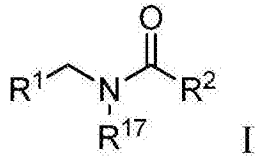
纤溶酶原激活物抑制因子-1抑制剂和其使用  
方法

(57)摘要

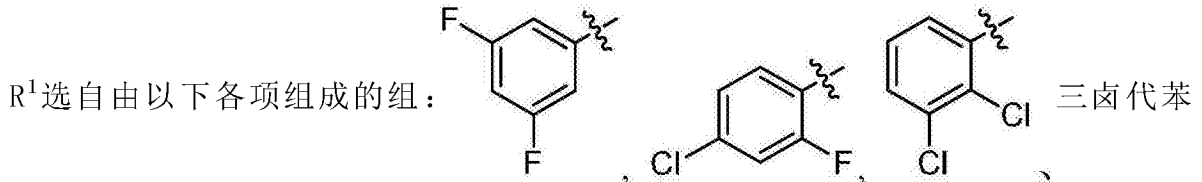
本发明涉及纤溶酶原激活物-1(PAI-1)抑制  
剂化合物以及其用于治疗与PAI-1升高相关的任  
何疾病或病症的用途。本发明包括但不限于这些  
化合物用于预防或减少血栓形成和纤维化、促进  
血栓溶解、以及调节脂质代谢和治疗与PAI-1、胆  
固醇或脂质水平升高相关的疾病或病症的用途。

CN 105008323 B

1. 一种式I化合物或其盐：



其中：



基、氟代(三氟甲基)苯基、氯代(三氟甲基)苯基、溴代(三氟甲基)苯基、碘代(三氟甲基)苯基、二甲苯基、氟甲苯基、氯甲苯基、溴甲苯基、碘甲苯基、氟二甲苯基、氯二甲苯基、溴二甲苯基、碘二甲苯基、(三氟甲氧基)苯基和氰基苯基，其中每个基团均可任选被取代：

R<sup>2</sup>是-L<sup>5</sup>-C(=O)R<sup>3</sup>；

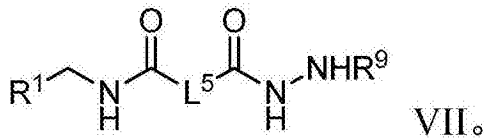
R<sup>3</sup>是NHNHR<sup>9</sup>；

R<sup>9</sup>以及R<sup>17</sup>独立地选自由H和C<sub>1</sub>至C<sub>12</sub>烷基组成的组；

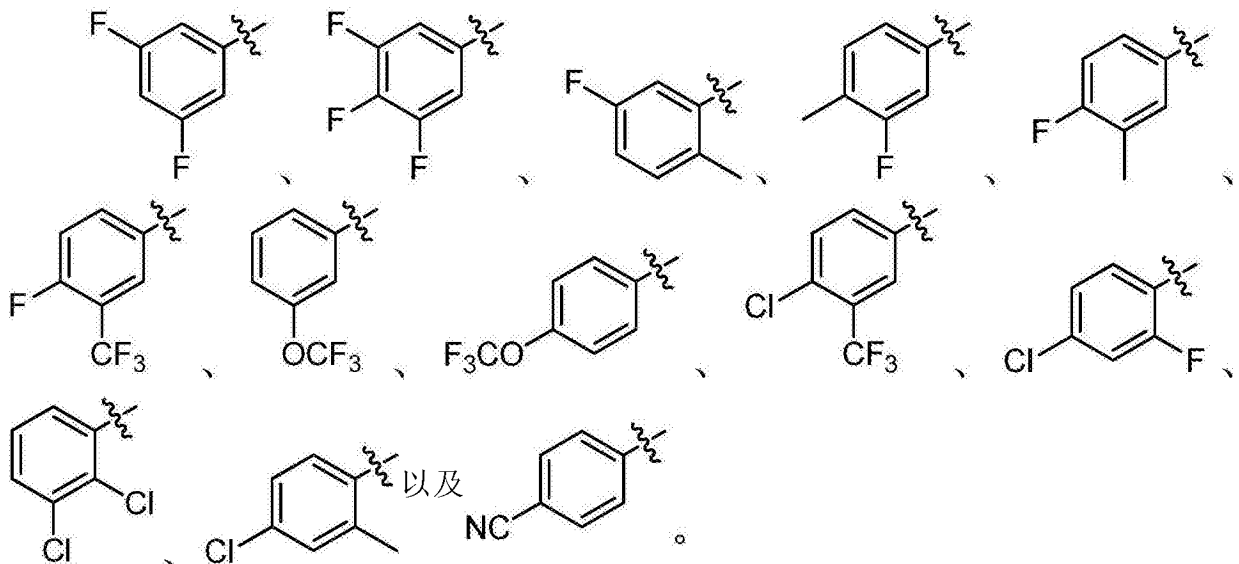
以及

L<sup>5</sup>选自由以下各项组成的组：无、C<sub>1</sub>至C<sub>12</sub>亚烷基以及C<sub>1</sub>至C<sub>12</sub>亚烯基。

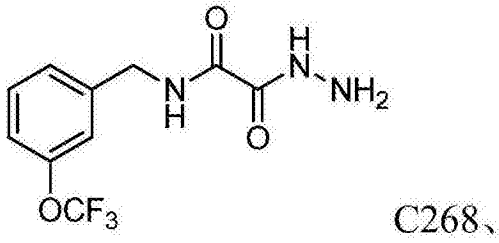
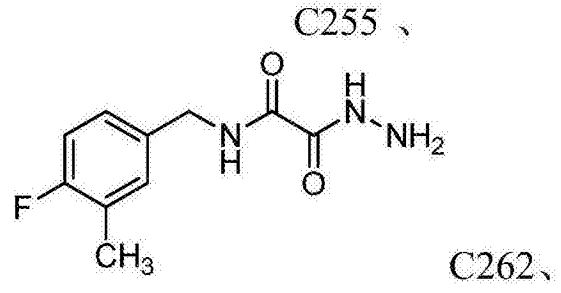
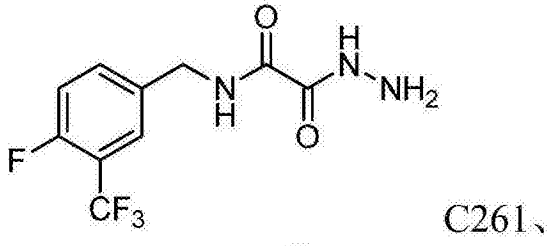
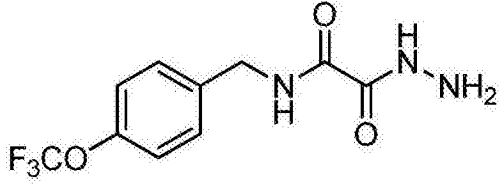
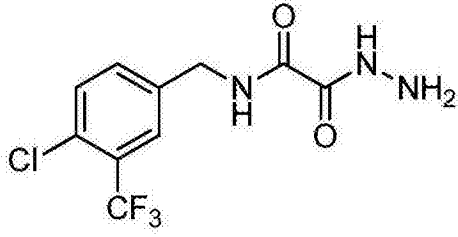
2. 如权利要求1所述的化合物，所述化合物具有化学式VII，以及其盐：

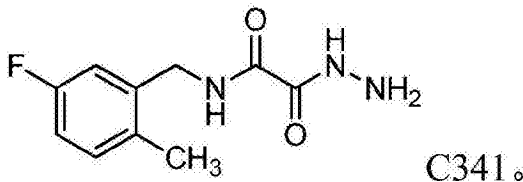
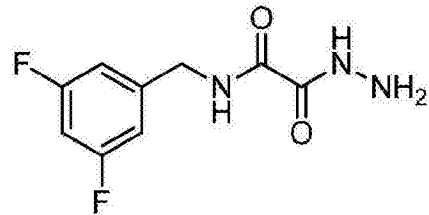
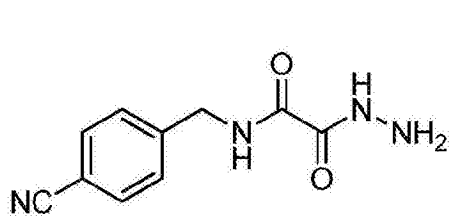
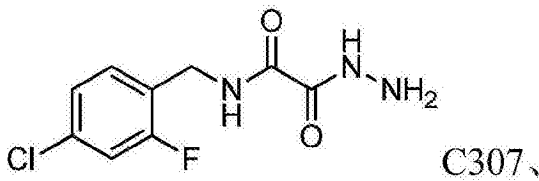
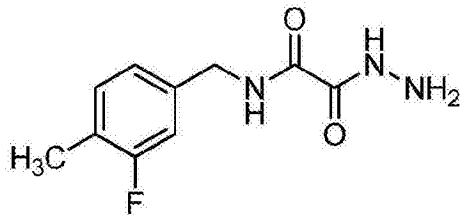
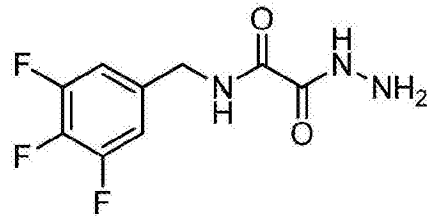
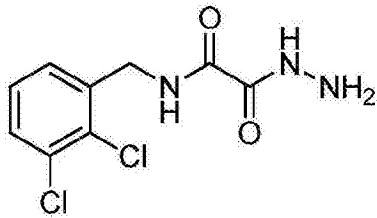
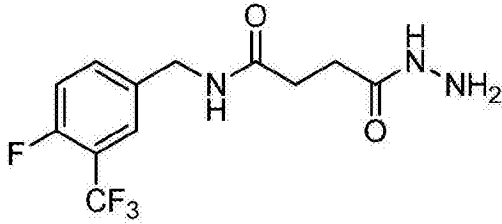
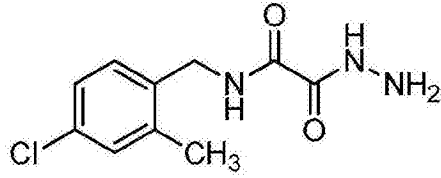
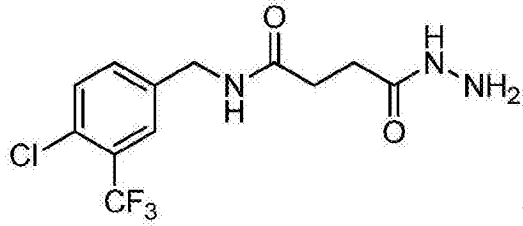


3. 如权利要求1所述的化合物，其中R<sup>1</sup>选自由以下各项组成的组：



4. 如权利要求1所述的化合物，所述化合物具有选自由以下各项组成的组的化学式：C251、C255、C261、C262、C268、C278、C282、C287、C301、C304、C305、C307、C336、C340、C341、以及其盐：





5. 一种组合物,所述组合物包含根据权利要求1所述的分离的化合物,其中所述化合物以有效抑制PAI-1的量存在。

6. 一种组合物,所述组合物包含根据权利要求1所述的化合物以及药学上可接受的载

体。

7. 下述组合物在制备用于治疗或预防受试者的与PAI-1水平升高相关的疾病或病症, 以降低所述受试者的所述升高的PAI-1水平药物中的应用, 所述组合物包含根据权利要求1所述的化合物以及药学上可接受的载体。

8. 如权利要求7所述的应用, 其中所述疾病或病症是癌症、败血病、肥胖、胰岛素抵抗、与脂质代谢失调相关的疾病或病症、与VLDL或LDL水平升高相关的疾病或病症、高胆固醇、增生性疾病或病症、纤维化和纤维化疾病、凝血稳态、高血压、痴呆、动脉粥样硬化、骨质疏松症、骨质减少、哮喘、心力衰竭、心律不齐、心绞痛、激素功能不全、阿尔茨海默氏病、炎症、纤维蛋白溶解性病症、中风、冠状动脉性心脏病、心肌梗塞、血管疾病、外周动脉疾病、急性血管综合征、血栓形成、促血栓形成、肺栓塞、糖尿病、高血糖症、高胰岛素血症、恶性病变、恶变前病变、脂肪肉瘤、上皮肿瘤、银屑病、细胞外基质积聚症、纤维蛋白溶解性损伤、多囊卵巢综合征、由雌激素缺乏所诱发的骨质流失、或者血管生成。

9. 如权利要求8所述的应用, 其中所述疾病或病症是脑血管疾病、微血管疾病、新生血管生成、或者骨髓纤维化。

10. 如权利要求8所述的应用, 其中所述涉及血栓形成或促血栓形成的疾病或病症是动脉粥样硬化斑块的形成、静脉血栓形成、动脉血栓形成、心肌缺血、心房纤颤、深静脉血栓形成、凝血综合征、肺血栓形成、脑血栓形成、手术的血栓栓塞性并发症以及外周动脉闭塞。

11. 如权利要求8所述的应用, 其中所述疾病或病症是纤维化。

12. 如权利要求8所述的应用, 其中所述细胞外基质积聚症是肾纤维化、慢性阻塞性肺病、多囊卵巢综合征、再狭窄、肾血管疾病、糖尿病性肾病、或器官移植排斥反应。

13. 下述组合物在制备用于调节具有升高的PAI-1水平的受试者的胆固醇、脂质清除和/或脂质摄取, 其量在所述受试者中有效降低所述升高的PAI水平并且调节胆固醇、脂质清除和/或脂质摄取药物中的应用, 所述组合物包含根据权利要求1所述的化合物以及药学上可接受的载体。

14. 如权利要求13所述的应用, 其中所述组合物在所述受试者中增加循环高密度脂蛋白和/或降低循环极低密度脂蛋白。

15. 如权利要求13所述的应用, 其中所述组合物抑制与VLDL-R结合的载脂蛋白E或载脂蛋白A。

16. 如权利要求13所述的应用, 其中所述组合物影响与载脂蛋白A受体结合的HDL或载脂蛋白E或载脂蛋白A。

17. 如权利要求13所述的应用, 其中所述组合物降低与载脂蛋白E结合的PAI-1。

18. 如权利要求13所述的应用, 其中所述组合物降低与载脂蛋白A结合的PAI-1。

19. 如权利要求13所述的应用, 其中所述组合物降低与VLDL结合的PAI-1。

20. 如权利要求13所述的应用, 其中所述组合物在玻连蛋白存在下与PAI-1结合。

21. 如权利要求13所述的应用, 其中所述组合物在尿激酶型纤溶酶原激活物存在下与PAI-1结合。

22. 如权利要求7至21中任一项所述的应用, 其中所述受试者是人类。

23. 如权利要求7所述的应用, 其中所述疾病或病症是胃肠恶性肿瘤、关节炎、败血症、深静脉血栓形成、或者稳定型和不稳定型心绞痛。

## 纤溶酶原激活物抑制因子-1抑制剂和其使用方法

[0001] 政府权利

[0002] 本发明是部分地在政府支持下根据美国国家卫生研究院 (National Institute of Health) 的拨款号HL089407作出的。因而, 美国政府对本发明拥有一定的权利。

### 技术领域

[0003] 本发明大体上涉及用于调节纤溶酶原激活物抑制因子-1 (PAI-1) 活性的方法和组合物。更具体地说, 本发明涉及鉴定PAI-1抑制剂的方法以及这些抑制剂用于调节PAI-1活性的用途。本发明还涉及这些抑制剂用于治疗多种与PAI-1活性相关的疾病或病症的用途。这些疾病或病症包括但不限于脂质代谢失调、肥胖、糖尿病、多囊卵巢综合征、由雌激素缺乏所诱发的骨质流失、纤维化和纤维化疾病、炎症、细胞迁移以及由迁移驱动的细胞增殖、血管生成以及血栓形成。这些抑制剂还预期可用于调节内源性纤维蛋白溶解以及结合药理学血栓溶解一起使用。

### 背景技术

[0004] 纤溶酶原激活物抑制因子-1 (PAI-1) 是一种50kDa单链糖蛋白, 所述糖蛋白是尿激酶型纤溶酶原激活物 (uPA) 和组织型PA (tPA) 这两者主要的抑制因子。PAI-1以约 $10^7 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 的二级速率常数抑制tPA和uPA, 该值是其它PAI抑制PA的速率的10倍-1000倍。此外, 在小心采集的正常人血浆中总tPA的约70%被检测出与PAI-1形成复合体, 这表明PAI-1对tPA的抑制是一种正常的持续的过程。PAI-1还可以直接抑制纤溶酶。因此, PAI-1是体内纤溶酶产生的主要的调节因子, 并且因而它似乎在纤维化疾病和血栓形成性疾病这两者中起重要作用。PAI-1具有三个潜在的N-连接的糖基化位点并且含有15%至20%的碳水化合物。

[0005] PAI-1属于丝氨酸蛋白酶抑制因子超家族 (Serine Protease Inhibitor super family, SERPIN), 所述丝氨酸蛋白酶抑制因子超家族是包括在血液中存在许多蛋白酶抑制因子以及具有无关的或未知的功能的其它蛋白质在内的一个基因家族。Serpins在蛋白酶失活的过程中被消耗并且因此充当“自杀性抑制因子”。serpin与它的靶蛋白酶之间在被称为“饵”残基的氨基酸残基处进行缔合, 所述氨基酸残基位于serpin的被称作反应中心环 (RCL) 的表面环上。该“饵”残基还被称为P1残基并且被认为模拟酶的正常底物。在P1残基与靶蛋白酶的S1位点缔合后, 发生RCL的裂解。这与serpin中大的构象变化相关, 所述构象变化涉及RCL快速插入到serpin的主要结构特征, 即 $\beta$ -折叠A中。这引起了蛋白酶与serpin表面的紧密对接以及酶结构的变形, 包括它的活性位点在内。RCL的插入还使得serpin的结构稳定性大幅增加, 从而使得复合体具有刚性, 并且因此将蛋白酶捕捉在与serpin形成的共价酰基-酶复合体中。

[0006] 天然的PAI-1以至少两种不同的构象存在, 即由细胞产生并且分泌的活性形式以及在细胞培养基中随时间推移而积聚的非活性或潜在形式。在血液和组织中, 大部分的PAI-1呈活性形式; 然而, 在血小板中, 存在PAI-1的活性形式和潜在形式这两者。在活性PAI-1中, RCL暴露在分子的表面上, 但在与蛋白酶反应后, 裂解的RCL整合到 $\beta$ 折叠A的中心

中。在潜在形式中,RCL是完整的,但是RCL的整个氨基端侧以中心链的形式插入到 $\beta$ 折叠A中而不是暴露的。这是潜在的PAI-1的稳定性增加以及它缺乏抑制活性的原因。

[0007] 活性PAI-1在37℃下以一至两小时的半衰期自发地转化成潜在形式,并且潜在的PAI-1可以通过用变性剂处理而转化回活性形式。带负电荷的磷脂也可以使潜在的PAI-1转化成活性形式,这表明细胞表面可以调节PAI-1活性。被输注到兔体内的潜在的PAI-1被明显地转化成活性形式的观测结果与这一假设一致。活性结构与潜在结构之间的这种自发的可逆的相互转化是PAI-1独有的并且将它与其它serpin相区分;然而,潜在构象的生物学意义仍然未知。

[0008] 还已经鉴定出PAI-1的其它非抑制性形式。第一种形式是通过氧化活性PAI-1内的一个或多个关键的甲硫氨酸残基而产生。这种形式与潜在的PAI-1的区别在于它可以由特异性地还原被氧化的甲硫氨酸残基的酶部分地重新激活。PAI-1的氧化失活可能是调节PAI-1的另一种机制,并且由中性粒细胞或其它细胞局部产生的氧自由基可以使PAI-1失活并且因此促进纤溶酶在感染部位或在组织重构区域中产生。PAI-1还以两种不同的裂解形式存在。如上文所指出,呈与蛋白酶形成的复合体形式的PAI-1在它的RCL中被裂解。未复合的PAI-1也可以在它的RCL被裂解的情况下存在,这可能是由PAI-1-PA复合体的解离或非靶蛋白酶在除P1以外的位点处使RCL裂解而产生。PAI-1的这些形式均不能抑制蛋白酶活性;然而,它们可以与其它配体相互作用。

[0009] PAI-1与非蛋白酶配体的相互作用在PAI-1的功能中起必要的作用。PAI-1以高亲和力与肝素、细胞粘附蛋白玻连蛋白、以及内吞性低密度脂蛋白受体(LDL-R)家族的成员,如脂蛋白受体相关蛋白(LRP)和极低密度脂蛋白受体(VLDL-R)结合。这些非蛋白酶相互作用对于PAI-1的定位和功能这两者来说是重要的,并且它们经由与RCL插入相关的结构变化在很大程度上在构象上受到控制。在血液中,大部分活性的PAI-1以与糖蛋白玻连蛋白形成的复合体的形式循环。PAI-1的玻连蛋白结合位点已被局限于PAI-1结构中 $\beta$ -折叠A的边缘上的区域。LDL-R家族成员的结合位点被不太充分地表征,但已被鉴定为处在PAI-1中与 $\alpha$ 螺旋D相关的靠近玻连蛋白结合域的区域中。PAI-1上的肝素结合域也已经被定位。这个位点也定位于与抗凝血酶III的肝素结合域同源的区域中的 $\alpha$ 螺旋D,并且可能与LDL-R家族成员的结合位点重叠。

[0010] 玻连蛋白在血浆中循环并且在细胞外基质中主要存在于损伤或重构的部位。PAI-1和玻连蛋白似乎具有显著的功能相互依赖性。玻连蛋白使PAI-1稳定在它的活性构象,从而延长它的生物半衰期。

[0011] 玻连蛋白还使得PAI-1对凝血酶的抑制效率提高到约300倍。反过来,与玻连蛋白结合的PAI-1使它的构象从不支持细胞粘附的原生血浆形式变成能够结合整合素的“激活”形式。然而,整合素的结合由PAI-1的存在所阻断。如上文所指出,PAI-1与玻连蛋白的缔合在构象上受到控制并且在抑制蛋白酶后,PAI-1的与RCL插入相关的构象变化造成对玻连蛋白的高亲和力的丧失以及对LDL-R家族成员的亲和力的增加。这是由于PAI-1中RCL的插入破坏了玻连蛋白结合位点,而同时暴露了只有在PAI-1呈与蛋白酶形成的复合体时才露出的隐蔽的受体结合位点,这使得PAI-1的相对亲和力从玻连蛋白向LDL-R家族成员的约100,000倍的转变以及随后PAI-1定位从玻连蛋白转到细胞受体。因此,PAI-1与玻连蛋白和LDL-R的缔合在构象上受到控制。

[0012] 高PAI-1水平与各种疾病和病症有关。举例来说,高PAI-1水平与急性疾病(如败血症和心肌梗塞)和慢性病症(如癌症、动脉粥样硬化以及2型糖尿病)有关。此外,高PAI-1水平与心血管疾病有关,其中PAI-1的表达在重度动脉粥样硬化血管中显著增加,并且PAI-1蛋白质水平在疾病从正常血管进展到脂肪条纹再进展到动脉粥样硬化斑块期间持续升高。升高的PAI-1水平还与肥胖和胰岛素抵抗相关。

[0013] 此外,PAI-1的血浆水平升高与血栓形成性事件有关,并且PAI-1活性的抗体中和产生对内源性血栓溶解和再灌注的促进作用。PAI-1的水平升高还牵涉到多囊卵巢综合征和由雌激素缺乏所诱发的骨质流失。

[0014] PAI-1在鼠类脂肪细胞和人类脂肪细胞这两者中合成。人类和小鼠的内脏脂肪量与PAI-1的血浆水平之间还存在强相关性。在肥胖中PAI-1的这种显著上调已表明脂肪组织本身可以直接促使全身性PAI-1升高,这进而会经由血栓形成增加以及动脉粥样硬化加速而提高血管疾病的概率。值得注意的是,最新的数据表明PAI-1在肥胖中还可能起直接的作用。

[0015] 在一项研究中,被杂交到PAI-1缺陷背景中的遗传性肥胖和糖尿病性ob/ob小鼠与带有PAI-1的ob/ob小鼠相比具有显著减轻的体重和改善的代谢谱。同样,营养诱发的肥胖和胰岛素抵抗在PAI-1有遗传缺陷的小鼠中以及在接受口服活性PAI-1抑制剂处理的小鼠中显著减轻。PAI-1缺陷型小鼠的肥胖和胰岛素抵抗得到改善可能与以下观测结果相关:食用高脂饮食的PAI-1缺陷型小鼠与野生型小鼠相比具有增加的代谢率和总能量消耗,并且维持过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR $\gamma$ )和脂联素。然而,所涉及的精确机制并未被证实并且可能是复杂的,这是因为小鼠的PAI-1过表达还会使脂肪组织的形成受损。综上所述,这些观测结果表明PAI-1在肥胖和胰岛素抵抗中起到了先前未被认识到的直接作用,所述直接作用涉及除它被鉴定出的调节纤维蛋白溶解和组织重构的活性以外的相互作用。

[0016] 实际上,如果PAI-1正向地调节脂肪组织产生,则PAI-1表达增加与产生肥胖的关联可以构成正反馈回路,从而促进脂肪组织扩增以及正常的胆固醇稳态的失调。因此,在本领域中需要在更大程度上了解PAI-1是如何涉及代谢、肥胖以及胰岛素抵抗。本发明提供了鉴定以及使用PAI-1抑制剂的方法。

## 发明内容

[0017] 本发明提供了纤溶酶原激活物抑制因子-1 (PAI-1) 抑制剂以及其用于治疗受试者的与PAI-1水平升高相关的任何疾病或病症的用途。这些用途包括但不限于治疗如本文以下所论述的与PAI-1水平或活性升高相关的多种疾病或病症。本发明还提供了组合物,所述组合物包含分离的PAI-1抑制剂和药学上可接受的载体,其中所述PAI-1抑制剂以有效抑制PAI-1的量存在。

[0018] 这些PAI-1抑制剂包括但不限于式I至XXIX的化合物中的任一种或表1、表3、表5、表7、表9、表11、表12以及表14中所描绘的化合物中的任一种,包括如本文所述的C256、C259、C265、C267、C276、C277、C288、C309、C311、C280、C300、C313、C314、C320、C323、C326、C328、C334、C342、C240、C241、C246、C248、C251、C255、C260、C261、C262、C263、C264、C266、C268、C278、C281、C282、C287、C289、C295、C296、C297、C301、C304、C305、C307、C310、C322、C336、C339、C340、C341、C362、C279、C285、C286、C299、C306、C330、C344、C345、C346、C347、



C348、C356、C357、C358、C359、C360、C361、C363、C364、C284、C152、C155、C173、C189、C191、C197、C224、C292、C293、C294、C153、C162、C163、C165、C188、C195、C157、C158、C182、C183、C170、C171、C172、C175、C177、C179、C180、C186、C193、C205、C160、C187、C190、C198、C232、C233、C249、C270、C271、C272、C273、C274、C275、C303、C210、C168、C176、C184、C185、C196、C156、C161、C200、C204、C236、C201、C208、C213、C216、C220、C221、C222、C223、C199、C207、C225、C227、C228、以及C229。

[0019] 在另一个实施方案中,提供了治疗或预防与PAI-1水平升高或PAI-1活性升高相关的疾病或病症的方法。所述方法包括向受试者以有效治疗所述疾病或病症的量施用PAI-1抑制剂。在一个方面,所述疾病或病症包括但不限于癌症、败血病、与脂质代谢失调相关的病症、增生性疾病或病症、银屑病、纤维化和纤维化疾病、凝血稳态、脑血管疾病、血管疾病、微血管疾病、高血压、痴呆、动脉粥样硬化、骨质疏松症、骨质减少、关节炎、哮喘、心力衰竭、心律不齐、心绞痛、激素功能不全、阿尔茨海默氏病 (Alzheimer's disease)、炎症、败血症、纤维蛋白溶解性病症、中风、痴呆、冠状动脉性心脏病、心肌梗塞、稳定型和不稳定型心绞痛、外周动脉疾病、急性血管综合征、血栓形成、促血栓形成、肺栓塞、胰岛素抵抗、非胰岛素依赖型糖尿病、1型和2型糖尿病以及相关糖尿病性疾病、肥胖、高血糖症、高胰岛素血症、恶性病变、恶变前病变、胃肠恶性肿瘤、脂肪肉瘤、上皮肿瘤、细胞外基质积聚症、新生血管生成、骨髓纤维化、纤维蛋白溶解性损伤、多囊卵巢综合征、由雌激素缺乏所诱发的骨质流失、血管生成、新生血管生成、骨髓纤维化或纤维蛋白溶解性损伤。

[0020] 在一些方面,涉及血栓形成或促血栓形成的疾病或病症包括但不限于动脉粥样硬化斑块的形成、静脉和/或动脉血栓形成、深静脉血栓形成、动脉血栓形成、心肌缺血、心房纤颤、深静脉血栓形成、凝血综合征、肺血栓形成、脑血栓形成、手术的血栓栓塞性并发症、以及外周动脉闭塞。

[0021] 在一些方面,涉及微血管疾病的疾病或病症包括但不限于肾病、神经病、视网膜病以及肾病综合征。

[0022] 在一些方面,涉及纤维化或细胞外基质积聚的疾病或病症包括但不限于肾纤维化、慢性阻塞性肺病、多囊卵巢综合征、再狭窄、肾血管疾病、糖尿病性肾病、或器官移植排斥反应。

[0023] 在一些方面,涉及脂质代谢失调的疾病或病症包括但不限于高胆固醇、甘油三酯升高、VLDL或LDL水平升高以及低HDL水平。在各个方面,因此,本发明的PAI-1抑制剂化合物用于调节胆固醇和/或脂质摄取和/或脂质清除的方法中。在一些方面,所述PAI-1抑制剂化合物减少与ApoE、ApoA、VLDL、VLDL-R、ApoA-R、或LDL结合的PAI-1。在又一个方面,所述PAI-1抑制剂化合物在玻连蛋白和/或uPA存在下与PAI-1结合。在一个方面,向受试者施用有效抑制与VLDL-R结合的VLDL或ApoE或ApoA的量的PAI-1抑制剂。在一个方面,向受试者施用有效影响与ApoA受体结合的HDL或ApoE或ApoA的量的PAI-1抑制剂。在具体方面,所述PAI-1抑制剂用于在受试者中增加HDL和/或减少VLDL。

[0024] 在另一个实施方案中,本发明的PAI-1抑制剂化合物可用于调节内源性纤维蛋白溶解以及用于药理学血栓溶解。

[0025] 在一些方面,所述受试者是人类。

[0026] 还提供了本发明的化合物用于生产用于治疗或预防本文所论述的任何疾病或病

症的药物的用途。本发明的化合物是丝氨酸蛋白酶抑制因子PAI-1的抑制剂,并且因此可用于治疗或预防涉及PAI-1的产生和/或作用的那些过程。

[0027] 上述发明内容并不旨在限定本发明的每一个方面,并且在其它部分,如具体实施方式中描述了另外的方面。整份文件旨在作为统一的公开内容而相关,并且应当了解的是,涵盖了本文所述的特征的所有组合,即使特征的组合并不一同见于这份文件的同一个语句、或段落、或部分中。

[0028] 除了上述内容之外,本发明还包括作为另外的方面的在范围上以任何方式窄于上文具体提到的变化方案的本发明的所有实施方案。对于被描述成一类的本发明的方面,所有单个物质均被单独地认为是本发明的不同方面。根据本申请的整体,本发明的另外的特征和变化方案对于本领域技术人员来说将是显而易见的,并且所有这些特征均旨在作为本发明的方面。

### 具体实施方式

[0029] 本发明描述了用于抑制纤溶酶原激活物抑制因子-1 (PAI-1) 的物质和方法。在示例性方面,本发明描述了PAI-1抑制剂化合物。

[0030] 本发明的PAI-1抑制剂化合物

[0031] 如本文所用的术语“卤代烷基”指的是被选自F、Cl、Br以及I的一个或多个卤素取代的烃基。

[0032] 如本文所用的术语“环烷基”指的是环状烃基,例如环丙基、环丁基、环己基、环戊基、环己基、环庚基、以及环辛基。如本文所用的术语“杂环烷基”或“杂环”指的是具有一个或多个杂原子,例如一至三个杂原子的环状烃基,所述杂原子独立地选自氧、氮以及硫组成的组。

[0033] 如本文所用的术语“芳基”指的是单环或多环芳族基团,优选地单环或双环芳族基团。除非另外指示,否则芳基可以是未取代的或被一个或多个,并且特别是一至四个独立地选自例如以下各项的基团取代: -OH、-OR (包括-OCH<sub>3</sub>)、-F、-Cl、-Br、-I、-CF<sub>3</sub>、-NO<sub>2</sub>、-NO、-N(R)<sub>2</sub>、-N(R)<sub>3</sub><sup>+</sup>、-C(O)R、-C(O)OR、-CHO、-C(O)NH<sub>2</sub>、-C(O)SR、-CN、-S(O)<sub>2</sub>R、-SO<sub>3</sub>R、-SO<sub>3</sub>H、-SO<sub>2</sub>N(R)<sub>2</sub>、-S=O、芳基以及杂芳基。示例性芳基包括但不限于苯基、甲苯基、萘基、四氢萘基、氯代苯基、甲基苯基、甲氧基苯基、三氟甲基苯基、硝基苯基、2,4-甲氧基氯代苯基等。

[0034] 如本文所用的术语“杂芳基”指的是含有一个或多个芳环并且在芳环中含有至少一个氮、氧或硫原子的单环或多环系。除非另外指示,否则杂芳基可以是未取代的或被一个或多个,并且特别是一至四个选自例如以下各项的取代基取代: -OH、-OR (包括-OCH<sub>3</sub>)、-F、-Cl、-Br、-I、-CF<sub>3</sub>、-NO<sub>2</sub>、-NO、-N(R)<sub>2</sub>、-N(R)<sub>3</sub><sup>+</sup>、-C(O)R、-C(O)OR、-CHO、-C(O)NH<sub>2</sub>、-C(O)SR、-CN、-S(O)<sub>2</sub>R、-SO<sub>3</sub>R、-SO<sub>3</sub>H、-SO<sub>2</sub>N(R)<sub>2</sub>、-S=O、芳基以及杂芳基。杂芳基的实例包括但不限于噻吩基(thienyl)、呋喃基、吡啶基、噁唑基、喹啉基、噻吩基(thiophenyl)、异噻啉基、吡啶基、三嗪基、三唑基、异噻唑基、异噁唑基、咪唑基、苯并噻唑基、吡嗪基、嘧啶基、噻唑基、以及噻二唑基。

[0035] 如本文所用的术语“取代的苯甲基”指的是被一个或多个,并且特别是一至四个独立地选自例如以下各项的基团取代的苯甲基: -OH、-OR (包括-OCH<sub>3</sub>)、-F、-Cl、-Br、-I、-CF<sub>3</sub>、-NO<sub>2</sub>、-NO、-N(R)<sub>2</sub>、-N(R)<sub>3</sub><sup>+</sup>、-C(O)R、-C(O)OR、-CHO、-C(O)NH<sub>2</sub>、-C(O)SR、-CN、-S(O)<sub>2</sub>R、-SO<sub>3</sub>R、-

SO<sub>3</sub>H、-SO<sub>2</sub>N(R)<sub>2</sub>、-S=O、芳基以及杂芳基。

[0036] 如本文所用的术语“氨基酸”指的是天然存在的氨基酸和非天然的氨基酸以及氨基酸类似物。天然编码的氨基酸包括20种常见的氨基酸(丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、以及缬氨酸)、吡咯赖氨酸、以及硒代半胱氨酸。氨基酸类似物指的是与天然存在的氨基酸具有相同的基本化学结构,即与氢、羧基、氨基、以及R基团结合的碳的化合物,例如3-硝基酪氨酸、高丝氨酸、正亮氨酸、甲硫氨酸亚砷、甲硫氨酸甲基砷。这些类似物具有修饰的R基团(如3-硝基酪氨酸)或修饰的肽主链,但保留与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构。氨基酸类似物还包括氨基酸酯(例如氨基酸烷基酯,如氨基酸甲酯)以及酰化的氨基酸(例如乙酰化的氨基酸)。

[0037] 还将了解的是,本发明的某些化合物可以游离形式存在以用于治疗,或在适当时,以其药学上可接受的衍生物的形式存在。根据本发明,药学上可接受的衍生物包括但不限于药学上可接受的盐、酯、这些酯的盐、前药、这些前药的盐、或任何其它加合物或衍生物,所述任何其它加合物或衍生物在向有需要的患者施用能够直接地或间接地提供如本文另外所述的化合物。

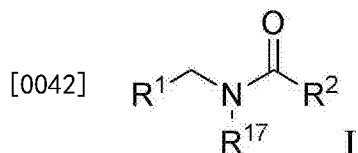
[0038] 如本文所用的术语“药学上可接受的盐”指的是在合理的医学判断的范围内适用于与人类和低等动物的组织接触而不存在不当的毒性、刺激性、过敏反应等并且与合理的效益/风险比相称的盐。“药学上可接受的盐”意指本发明化合物的任何盐或酯的盐,所述盐在向接受者施用能够直接地或间接地提供本发明的化合物。

[0039] 药学上可接受的盐是本领域公知的。举例来说,S.M.Berge等人在J.Pharmaceutical Sciences,1977,66,1-19中详细地描述了药学上可接受的盐,该参考文献以引用的方式并入本文。本发明的化合物的药学上可接受的盐包括由合适的无机和有机酸和碱所产生的那些盐。药学上可接受的无毒酸加成盐的实例是与无机酸,如盐酸、氢溴酸、磷酸、硫酸以及高氯酸,或与有机酸,如乙酸、三氟乙酸、草酸、顺丁烯二酸、酒石酸、柠檬酸、丁二酸或丙二酸,或通过使用本领域中所用的其它方法(如离子交换法)形成的氨基的盐。其它药学上可接受的盐包括己二酸盐、藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙烷磺酸盐、甲酸盐、反丁烯二酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、葡萄糖酸盐、谷氨酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、氢碘酸盐、2-羟基-乙烷磺酸盐、乳糖醛酸盐、乳酸盐、月桂酸盐、月桂基硫酸盐、苹果酸盐、顺丁烯二酸盐、丙二酸盐、甲烷磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、双羟萘酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、丁二酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、对甲苯磺酸盐、十一烷酸盐、戊酸盐等。含有羧酸或其它酸性官能团的化合物的盐可以通过与合适的碱反应来制备。这些盐包括但不限于碱金属盐、碱土金属盐、铝盐、铵盐、N<sup>+</sup>(C<sub>1-4</sub>烷基)<sub>4</sub>盐、以及有机碱的盐,所述有机碱如三甲胺、三乙胺、吗啉、吡啶、哌啶、甲基吡啶、二环己胺、N,N'-二苯甲基乙二胺、2-羟基乙胺、双(2-羟乙基)胺、三(2-羟乙基)胺、普鲁卡因(procaine)、二苯甲基哌啶、脱氢枞胺、N,N'-双脱氢枞胺、葡糖胺、N-甲基葡糖胺、可力丁(collidine)、奎宁(quinine)、喹啉、以及碱性氨基酸,如赖氨酸和精氨酸。本发明还设想了本文所公开的化合物的任何含有碱性氮的基团的季铵化。水溶性或分散性或者油溶性

或分散性产物可以通过这种季铵化获得。代表性碱金属盐或碱土金属盐包括钠盐、锂盐、钾盐、钙盐、镁盐等。在适当时,另外的药学上可接受的盐包括使用诸如卤离子、氢氧根、羧酸根、硫酸根、磷酸根、硝酸根、低级烷基磺酸根以及芳基磺酸根之类的平衡离子形成的无毒铵、季铵以及胺阳离子。

[0040] 如本文所用的术语“前药”指的是在身体或其细胞内在内源性酶或其它化学物质和/或条件的作用下快速转化成活性形式(即药物)的化合物。前药设计一般论述于Hardma等人(编著),《古德曼和吉尔曼治疗学的药理学基础》(Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics),第9版,第11-16页(1996)中。本文所公开的化合物的前药包括但不限于由可供使用的羟基或羧基形成的酯(也被称为酯前药或前药酯)、由可供使用的氨基、酰氨基或羧基形成的酰胺、由可供使用的硫醇或羧基形成的硫酯、由可供使用的羟基或羧基形成的碳酸酯、由可供使用的羟基、氨基或酰氨基形成的氨基甲酸酯、由可供使用的酰氨基或氨基形成的碳酰胺、由可供使用的羟基形成的磺酸酯和硫酸酯、由可供使用的氨基形成的磺酰胺、以及由可供使用的氨基形成的膦酰胺。合适的酯前药包括但不限于脂族酯、芳基酯、苯甲基酯、以及其衍生物。

[0041] 本发明的化合物包括式I的那些化合物或其盐、酯或前药:



[0043] 其中:

[0044]  $R^1$ 选自自由以下各项组成的组: $C_1$ 至 $C_{12}$ 烷基、 $-L^1-C_3-C_6$ 环烷基、 $-L^2-C_2-C_6$ 杂环烷基、苯甲基、 $-L^3$ -芳基、以及 $-L^4$ -杂芳基;

[0045]  $R^2$ 选自自由 $-L^5-C(=O)R^3$ 、 $-L^6-R^4$ 以及 $NHR^5$ 组成的组;

[0046]  $R^3$ 选自自由 $OR^6$ 、 $NR^7R^8$ 以及 $NHNHR^9$ 组成的组;

[0047]  $R^5$ 选自自由以下各项组成的组: $OR^{10}$ 、 $C_1$ 至 $C_{12}$ 烷基、 $-L^7-C_3-C_6$ 环烷基、 $-L^8-C_2-C_6$ 杂环烷基、苯甲基、 $-L^9$ -芳基、以及 $-L^{10}$ -杂芳基;

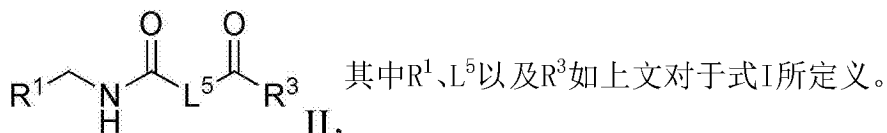
[0048]  $R^8$ 选自自由以下各项组成的组: $OR^{11}$ 、 $N=R^{12}R^{13}$ 、 $-L^{11}-R^{14}$ 、 $NHSO_2R^{15}$ 、以及 $NHR^{16}$ ;

[0049]  $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$ 、 $R^{10}$ 、 $R^{11}$ 、 $R^{12}$ 、 $R^{13}$ 以及 $R^{17}$ 独立地选自自由H和 $C_1$ 至 $C_{12}$ 烷基组成的组;

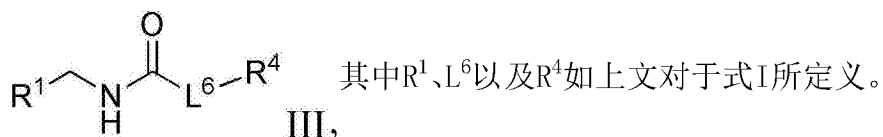
[0050]  $R^4$ 、 $R^{14}$ 、 $R^{15}$ 以及 $R^{16}$ 独立地选自自由 $-L^{12}-C_3-C_6$ 环烷基、 $-L^{13}-C_2-C_6$ 杂环烷基、苯甲基、 $-L^{14}$ -芳基、以及 $-L^{15}$ -杂芳基组成的组;以及

[0051]  $L^1$ 、 $L^2$ 、 $L^3$ 、 $L^4$ 、 $L^5$ 、 $L^6$ 、 $L^7$ 、 $L^8$ 、 $L^9$ 、 $L^{10}$ 、 $L^{11}$ 、 $L^{12}$ 、 $L^{13}$ 、 $L^{14}$ 以及 $L^{15}$ 独立地选自自由无、 $C_1$ 至 $C_{12}$ 亚烷基、以及 $C_1$ 至 $C_{12}$ 亚烯基组成的组。

[0052] 本发明的化合物包括式II的那些化合物或其盐、酯、或前药:



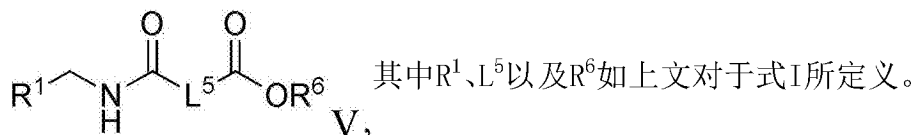
[0053] 本发明的化合物包括式III的那些化合物或其盐、酯、或前药:



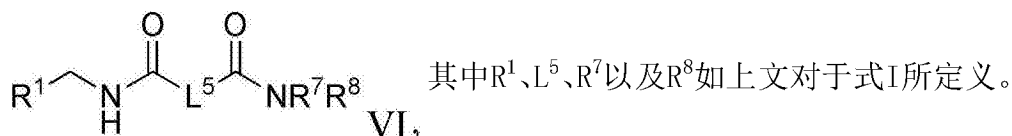
[0054] 本发明的化合物包括式IV的那些化合物或其盐、酯、或前药：



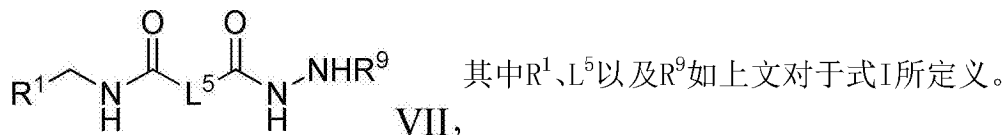
[0055] 本发明的化合物包括式V的那些化合物或其盐、酯、或前药：



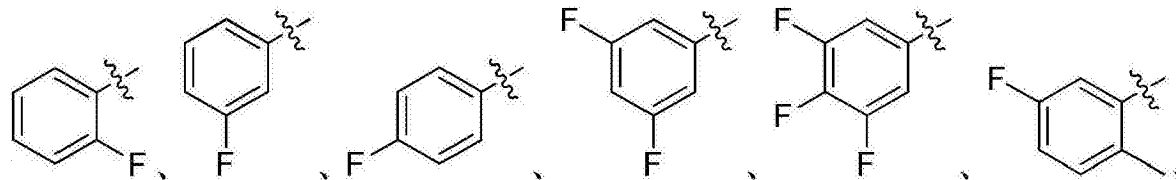
[0056] 本发明的化合物包括式VI的那些化合物或其盐、酯、或前药：

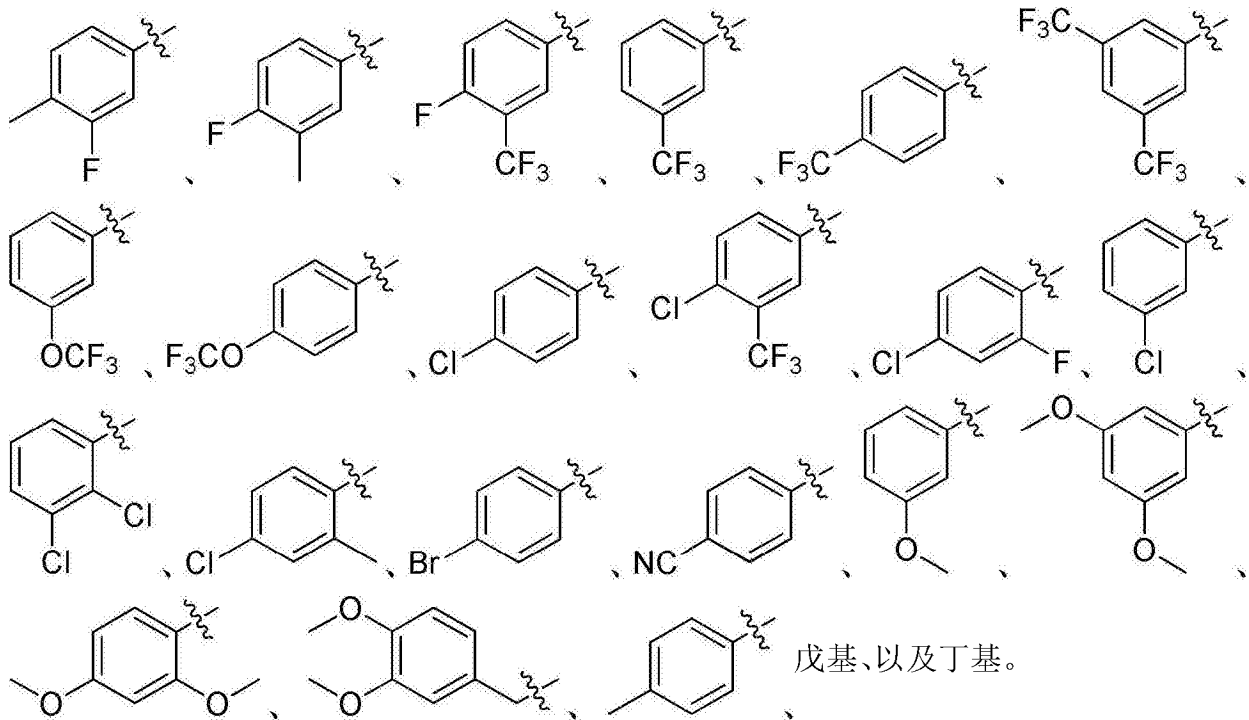


[0057] 本发明的化合物包括式VII的那些化合物或其盐、酯、或前药：

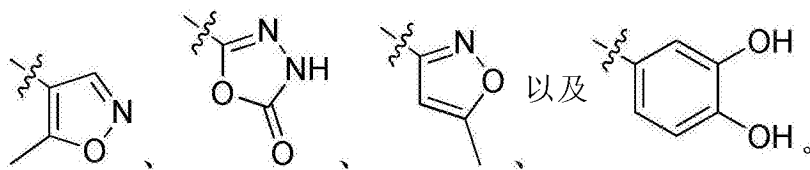


[0058] 在式I至VII中，R<sup>1</sup>选自C<sub>1</sub>至C<sub>12</sub>烷基、-L<sup>1</sup>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>环烷基、-L<sup>2</sup>-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>杂环烷基、苯甲基、-L<sup>3</sup>-芳基、以及-L<sup>4</sup>-杂芳基，并且任选地被一个、两个、三个或更多个相同或不同的取代基取代。合适的取代基包括但不限于F、Cl、Br、I、CF<sub>3</sub>、CH<sub>3</sub>、OCF<sub>3</sub>、OCH<sub>3</sub>以及-CN。另外的R<sup>1</sup>基团包括但不限于任选取代的苯基、卤代苯基（例如氟代苯基、氯代苯基、溴代苯基、碘代苯基）、二卤代苯基（例如二氟代苯基、二氯代苯基、二溴代苯基、二碘代苯基）、三卤代苯基（例如三氟代苯基、三氯代苯基、三溴代苯基、三碘代苯基）、（三氟甲基）苯基、氟代（三氟甲基）苯基、氯代（三氟甲基）苯基、溴代（三氟甲基）苯基、碘代（三氟甲基）苯基、甲苯基、二甲苯基、氟甲苯基、氯甲苯基、溴甲苯基、碘甲苯基、氟二甲苯基、氯二甲苯基、溴二甲苯基、碘二甲苯基、甲氧基苯基、二甲氧基苯基、（三氟甲氧基）苯基、氰基苯基、二甲氧基苯甲基、甲基异噁唑基、3H-1,3,4-噁二唑-2-酮-5-基、甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基、癸基、十一烷基以及十二烷基。另外的R<sup>1</sup>基团包括





[0059]  $R^4$ 、 $R^{14}$ 、 $R^{15}$ 以及 $R^{16}$ 独立地选自 $-L^{12}-C_3-C_6$ 环烷基、 $-L^{13}-C_2-C_6$ 杂环烷基、苯甲基、 $-L^{14}$ -芳基、以及 $-L^{15}$ -杂芳基,并且任选地被一个、两个、三个或更多个相同或不同的取代基取代。合适的取代基包括但不限于F、Cl、Br、I、 $CF_3$ 、 $CH_3$ 、 $OCF_3$ 、 $OCH_3$ 、以及 $-CN$ 。另外的 $R^4$ 、 $R^{14}$ 、 $R^{15}$ 、以及 $R^{16}$ 基团包括但不限于任选取代的苯基、卤代苯基(例如氟代苯基、氯代苯基、溴代苯基、碘代苯基)、二卤代苯基(例如二氟代苯基、二氯代苯基、二溴代苯基、二碘代苯基)、三卤代苯基(例如三氟代苯基、三氯代苯基、三溴代苯基、三碘代苯基)、(三氟甲基)苯基、氟代(三氟甲基)苯基、氯代(三氟甲基)苯基、溴代(三氟甲基)苯基、碘代(三氟甲基)苯基、甲苯基、二甲苯基、氟甲苯基、氯甲苯基、溴甲苯基、碘甲苯基、氟二甲苯基、氯二甲苯基、溴二甲苯基、碘二甲苯基、甲氧基苯基、二甲氧基苯基、(三氟甲氧基)苯基、氰基苯基、二甲氧基苯甲基、甲基异噁唑基、以及3H-1,3,4-噁二唑-2-酮-5-基。另外的 $R^4$ 基团包括

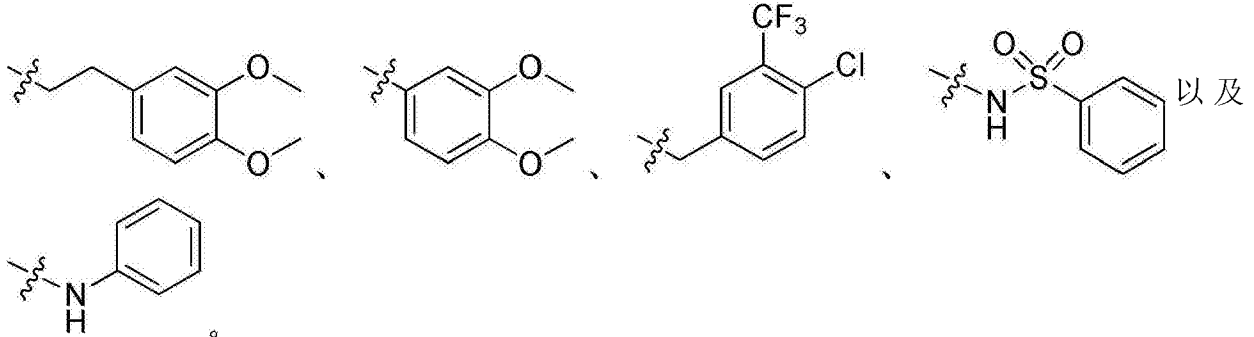


[0060]  $R^5$ 选自 $OR^{10}$ 、 $C_1$ 至 $C_{12}$ 烷基、 $-L^7-C_3-C_6$ 环烷基、 $-L^8-C_2-C_6$ 杂环烷基、苯甲基、 $-L^9$ -芳基、以及 $-L^{10}$ -杂芳基,并且任选地被一个、两个、三个或更多个相同或不同的取代基取代。合适的取代基包括但不限于F、Cl、Br、I、 $CF_3$ 、 $CH_3$ 、 $OCF_3$ 、 $OCH_3$ 、以及 $-CN$ 。另外的 $R^5$ 基团包括但不限于任选取代的苯基、卤代苯基(例如氟代苯基、氯代苯基、溴代苯基、碘代苯基)、二卤代苯基(例如二氟代苯基、二氯代苯基、二溴代苯基、二碘代苯基)、三卤代苯基(例如三氟代苯基、三氯代苯基、三溴代苯基、三碘代苯基)、(三氟甲基)苯基、氟代(三氟甲基)苯基、氯代(三氟甲基)苯基、溴代(三氟甲基)苯基、碘代(三氟甲基)苯基、甲苯基、二甲苯基、氟甲苯基、氯甲苯基、溴甲苯基、碘甲苯基、氟二甲苯基、氯二甲苯基、溴二甲苯基、碘二甲苯基、甲氧基苯基、二甲氧基苯基、(三氟甲氧基)苯基、氰基苯基、二甲氧基苯甲基、甲基异噁唑基、3H-1,3,4-噁二唑-2-酮-5-基、甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基、癸基、十一烷基

以及十二烷基。另外的R<sup>5</sup>基团包括OH。

[0061] R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>、R<sup>9</sup>、R<sup>10</sup>、R<sup>11</sup>、R<sup>12</sup>、R<sup>13</sup>以及R<sup>17</sup>独立地选自H和C<sub>1</sub>至C<sub>12</sub>烷基，包括C<sub>1</sub>烷基、C<sub>2</sub>烷基、C<sub>3</sub>烷基、C<sub>4</sub>烷基、C<sub>5</sub>烷基、C<sub>6</sub>烷基、C<sub>7</sub>烷基、C<sub>8</sub>烷基、C<sub>9</sub>烷基、C<sub>10</sub>烷基、C<sub>11</sub>烷基、以及C<sub>12</sub>烷基。

[0062] R<sup>8</sup>选自OR<sup>11</sup>、N=R<sup>12</sup>R<sup>13</sup>、-L<sup>11</sup>-R<sup>14</sup>、NHSO<sub>2</sub>R<sup>15</sup>、以及NHR<sup>16</sup>。示例性R<sup>8</sup>基团包括但不限于OH、OCH<sub>3</sub>、N=(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、

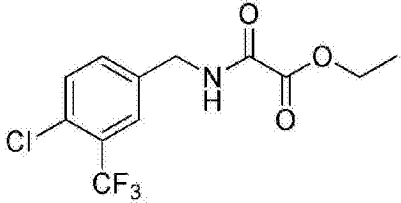
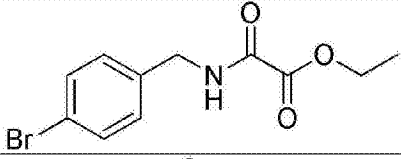
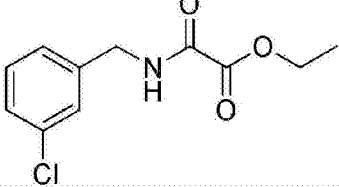


[0063] L<sup>1</sup>、L<sup>2</sup>、L<sup>3</sup>、L<sup>4</sup>、L<sup>5</sup>、L<sup>6</sup>、L<sup>7</sup>、L<sup>8</sup>、L<sup>9</sup>、L<sup>10</sup>、L<sup>11</sup>、L<sup>12</sup>、L<sup>13</sup>、L<sup>14</sup>、以及L<sup>15</sup>独立地选自无(化学键)、C<sub>1</sub>至C<sub>12</sub>亚烷基，包括C<sub>1</sub>亚烷基、C<sub>2</sub>亚烷基、C<sub>3</sub>亚烷基、C<sub>4</sub>亚烷基、C<sub>5</sub>亚烷基、C<sub>6</sub>亚烷基、C<sub>7</sub>亚烷基、C<sub>8</sub>亚烷基、C<sub>9</sub>亚烷基、C<sub>10</sub>亚烷基、C<sub>11</sub>亚烷基以及C<sub>12</sub>亚烷基；以及C<sub>1</sub>至C<sub>12</sub>亚烯基，包括C<sub>1</sub>亚烯基、C<sub>2</sub>亚烯基、C<sub>3</sub>亚烯基、C<sub>4</sub>亚烯基、C<sub>5</sub>亚烯基、C<sub>6</sub>亚烯基、C<sub>7</sub>亚烯基、C<sub>8</sub>亚烯基、C<sub>9</sub>亚烯基、C<sub>10</sub>亚烯基、C<sub>11</sub>亚烯基以及C<sub>12</sub>亚烯基。

[0064] 本发明的示例性化合物具有选自以下各项的化学式：C256、C259、C265、C267、C276、C277、C288、C309、C311、C280、C300、C313、C314、C320、C323、C326、C328、C334、C342、C240、C241、C246、C248、C251、C255、C260、C261、C262、C263、C264、C266、C268、C278、C281、C282、C287、C289、C295、C296、C297、C301、C304、C305、C307、C310、C322、C336、C339、C340、C341、C362、C279、C285、C286、C299、C306、C330、C344、C345、C346、C347、C348、C356、C357、C358、C359、C360、C361、C363、C364、C284、以及其盐、酯或前药。这些化合物描绘于本文的下表1中。

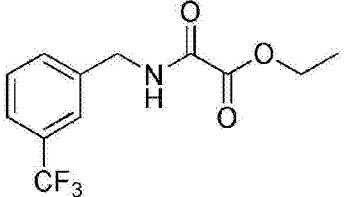
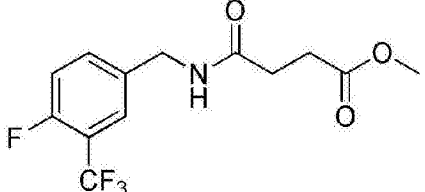
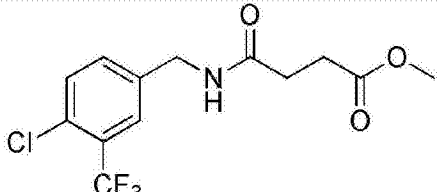
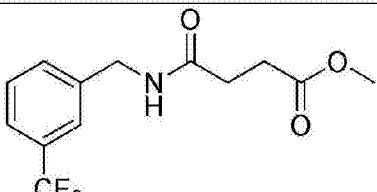
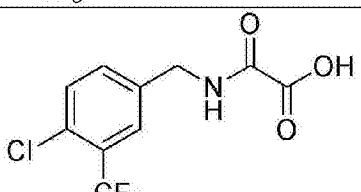
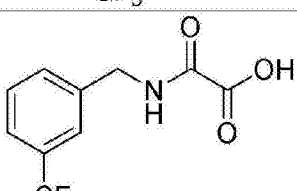
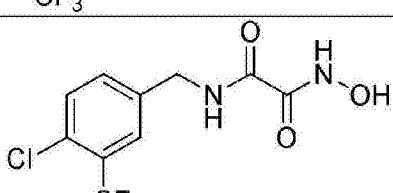
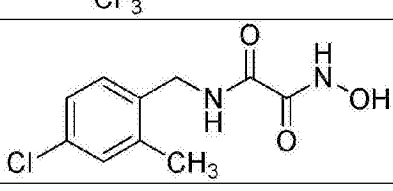
[0065] 表1. 所合成的PAI-1抑制剂化合物

[0066]

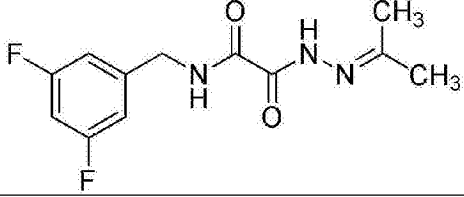
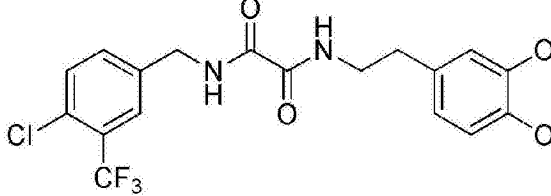
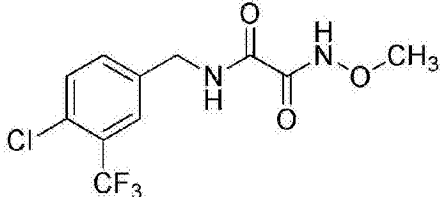
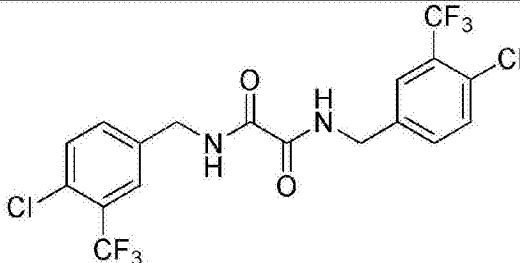
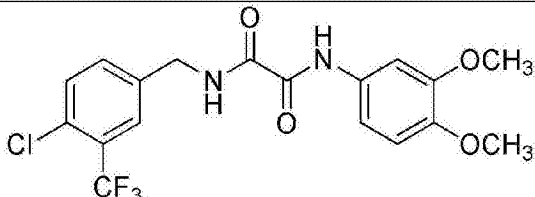
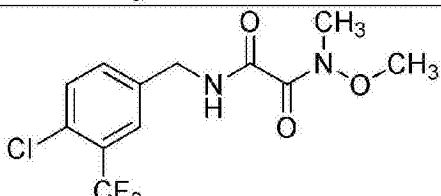
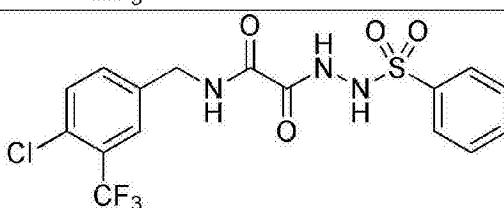
编号	结构	在缓冲液中的 PAI-1/uPA IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	在 1.5% BSA 缓 冲液中的 PAI-1/uPA IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	在 10% 血浆缓 冲液中的 PAI-1/uPA IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
C256		1040、1353	204、235	214
C259		2892、 3141	625、 760	526
C265		4018		



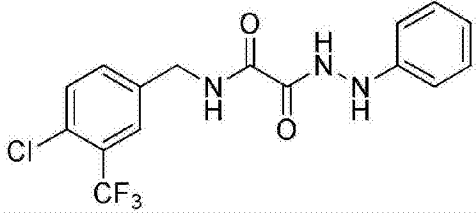
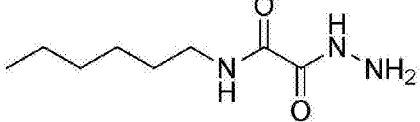
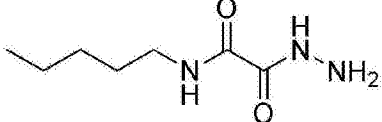
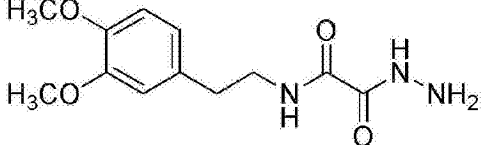
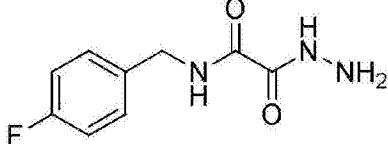
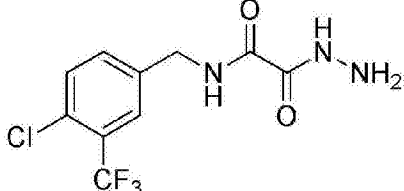
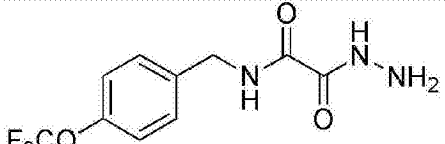
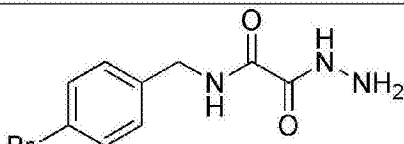
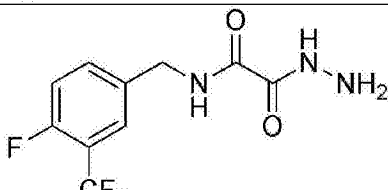
[0067]

C267		3794		
C276		1438	428	476
C277		750.6、719	165.4、158	148、142
C288		2909	1061	752
C309		1200		
C311				
C280		207、203	166、159	168
C300		5491		

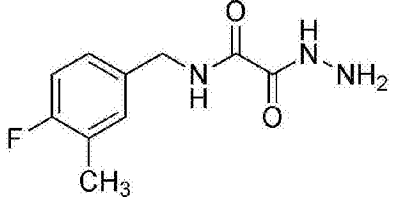
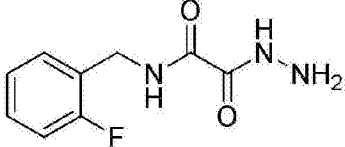
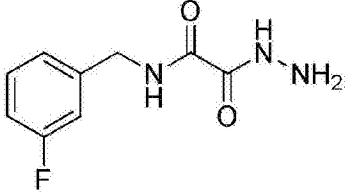
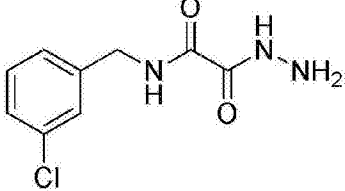
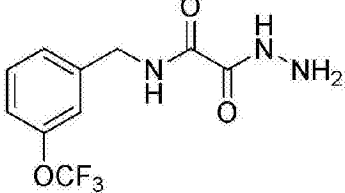
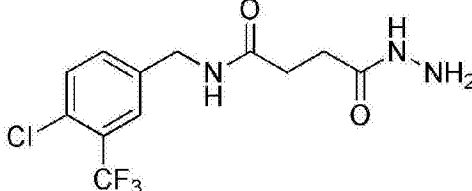
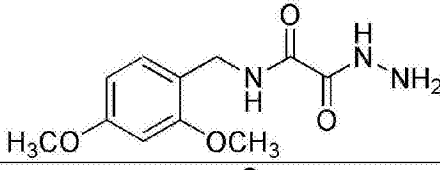
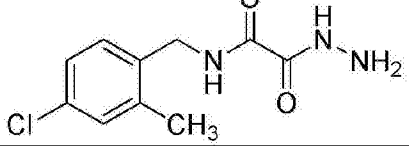
[0068]

C313		1196	532	490
C314				
C320		329	513	693
C323				
C326				
C328		713	345	318
C334		189		

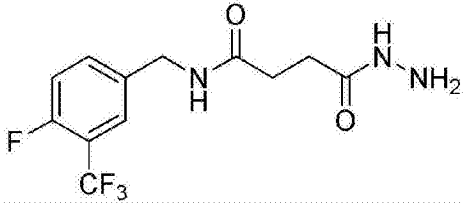
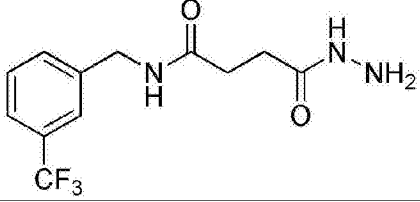
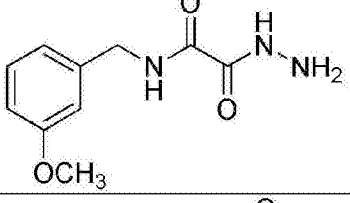
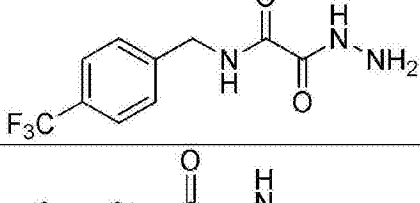
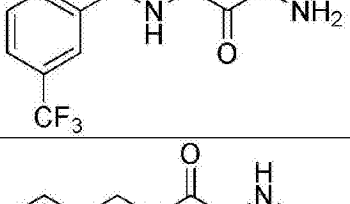
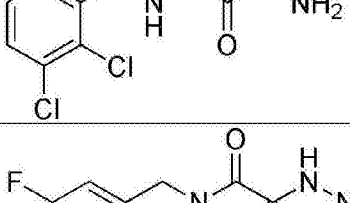
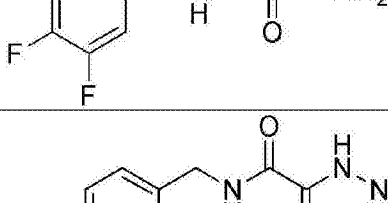
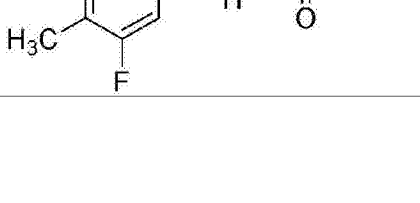
[0069]

C342				
C240		3766、 3912	2221、 1973	1208
C241		1933		
C246		2559		
C248		1190、1313	652、646	478
C251		68.6、76	110、123	108
C255		2064、1780	221、292	279
C260		147、 187	43、 545	525
C261		102、 103	68、 86	69

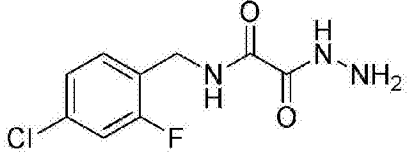
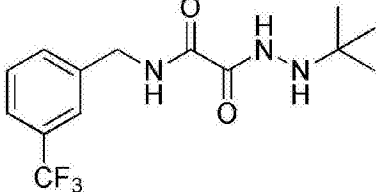
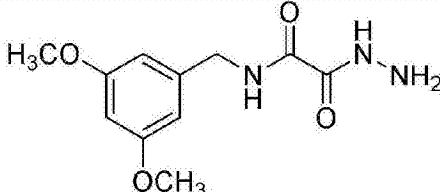
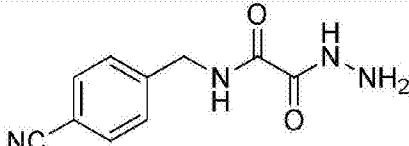
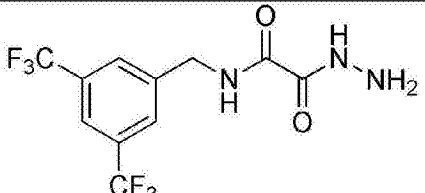
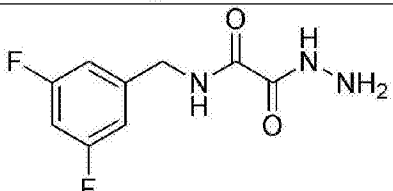
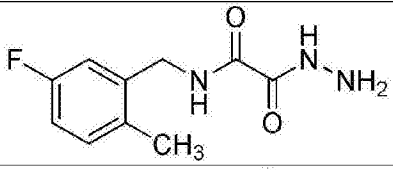
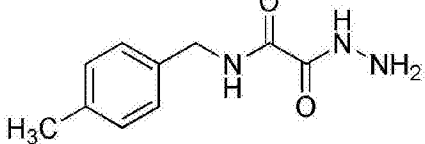
[0070]

C262		170、 187	63、 84	86
C263		2837	1685	1356
C264		2121	1175	1248
C266		568、 549	126	219
C268		135、 134	65	77
C278		640、 642	118、 130	142
C281		2285		
C282		225、 219	163、 154	121

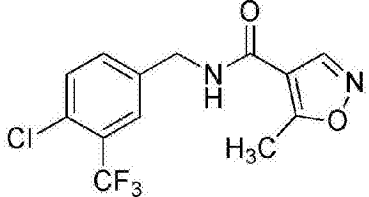
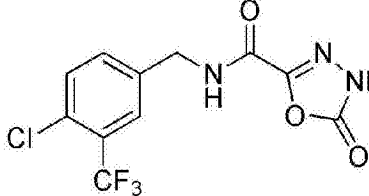
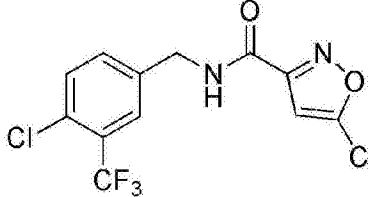
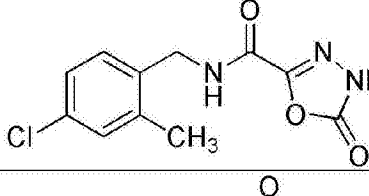
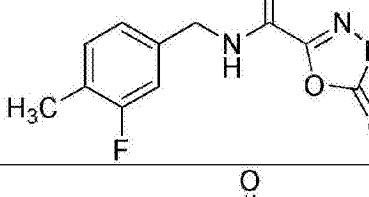
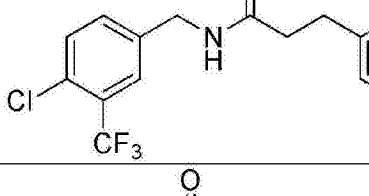
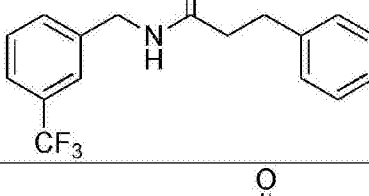
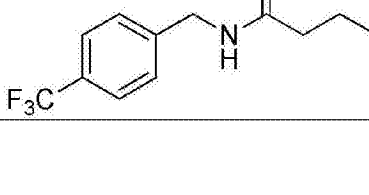
[0071]

C287		1187	363	304
C289		2725	1099	733
C295		1337	776	736
C296		112	69	64
C297		136	111	87
C301		173	128	106
C304		162	90	74
C305		224	81	62

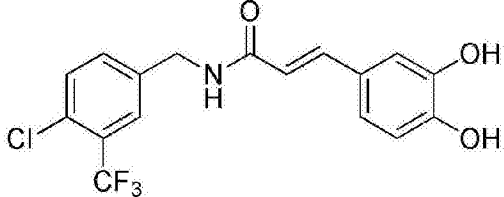
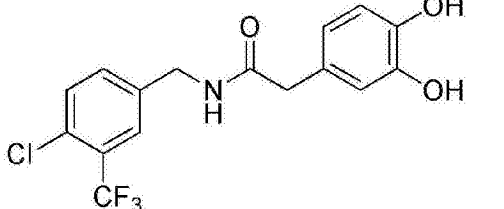
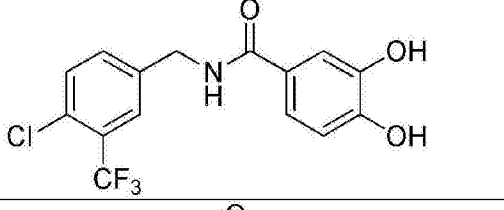
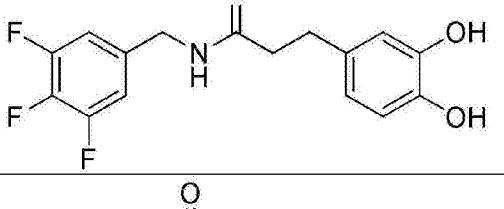
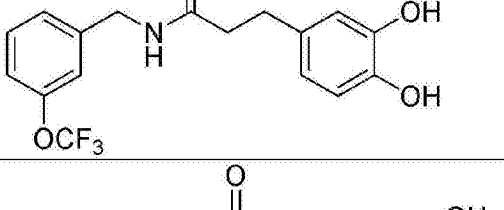
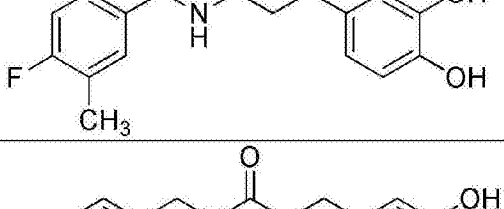
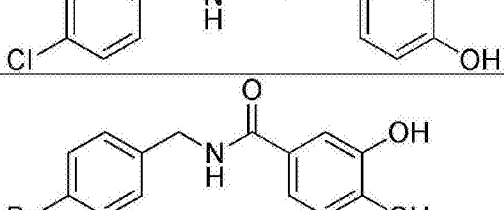

[0072]

C307		465	99	101
C310				
C322		4315		
C336		5469	892	851
C339		282	247	303
C340		337	249	272
C341		900	1460	1868
C362		533	353	229

[0073]

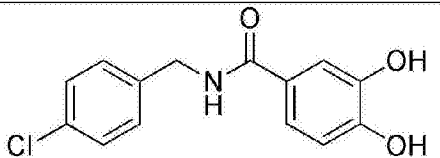
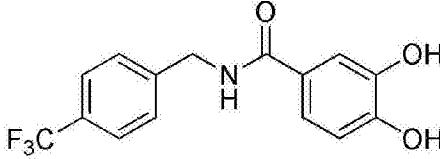
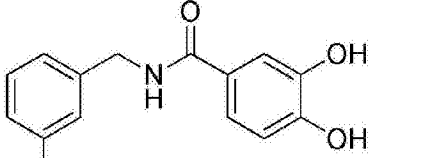
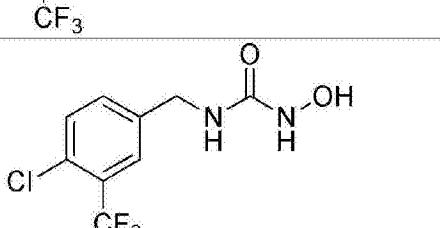
C279		539, 593	545, 504	680
C285		422, 388	265	306
C286		580		
C299		238	739	628
C306		1159	403	405
C330		365, 423*	112	115
C344		1002	830	866
C345		1469	673	539

[0074]

C346		353		
C347		888	309	293
C348		99	454	240
C356		1100	1241	544
C357		1370	1227	567
C358		1501	1229	619
C359		3373	2084	974
C360		164	1670	771



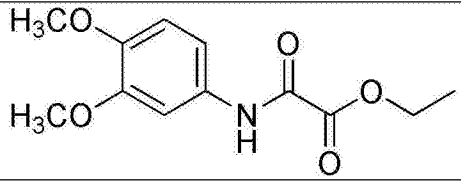
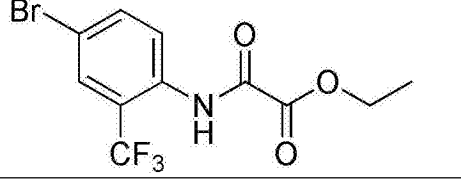
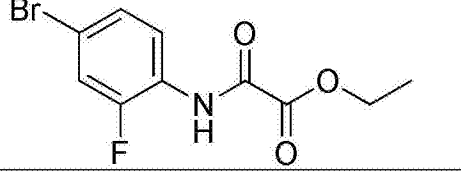
[0075]

C361		232	2000	851
C363		199	751	309
C364		475	898	533
C284		2481		

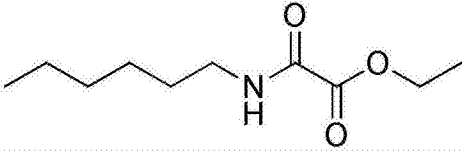
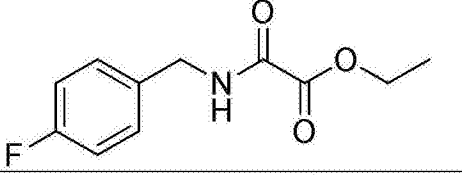
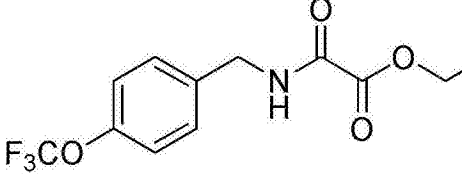
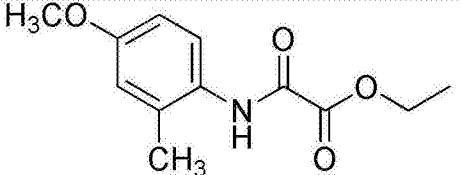
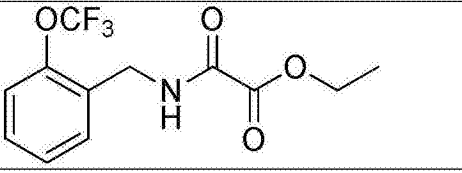
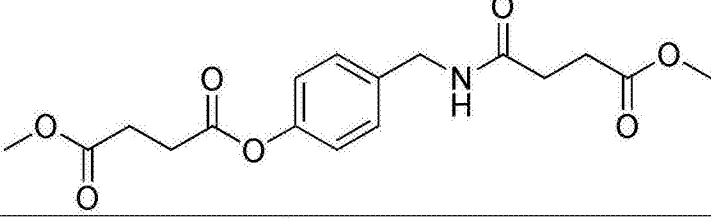
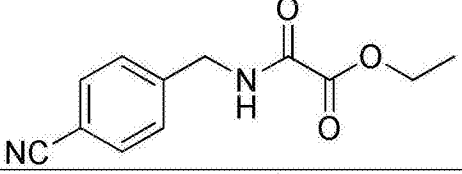
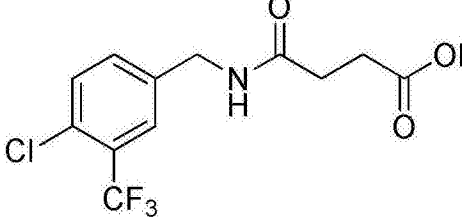
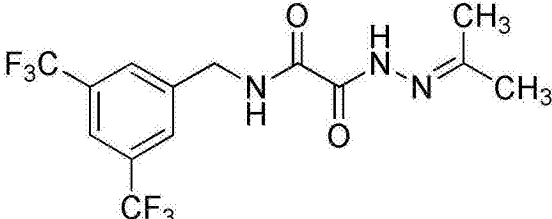
[0076] \*使用pH 7.8。

[0077] 在本文中的实施例11中所述的测定中在缓冲液(40mM的HEPES、100mM的NaCl、0.05%吐温-20(Tween-20)、10%的DMSO,pH 7.4)中没有表现出PAI-1抑制活性的比较化合物描绘于表2中。

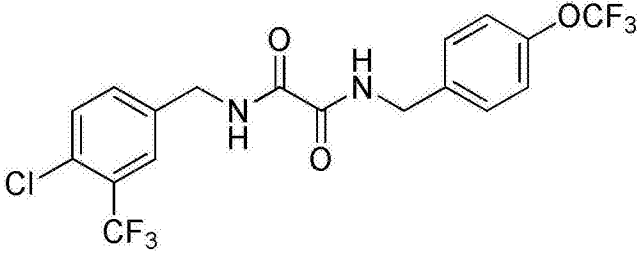
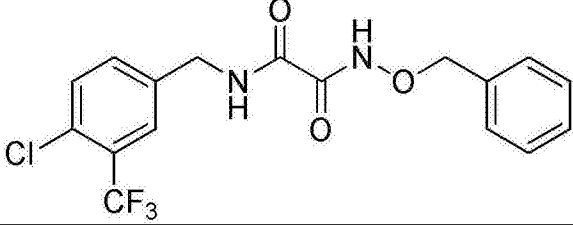
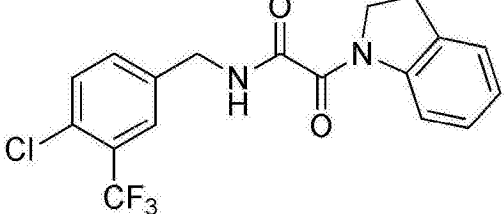
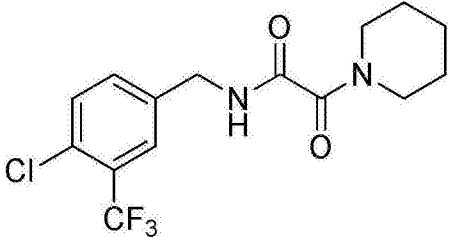
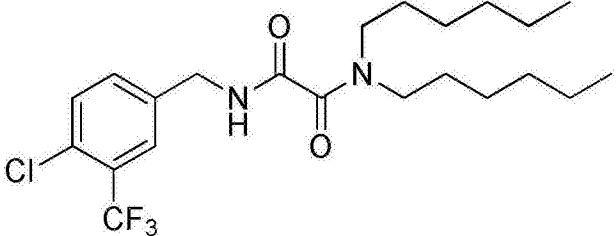
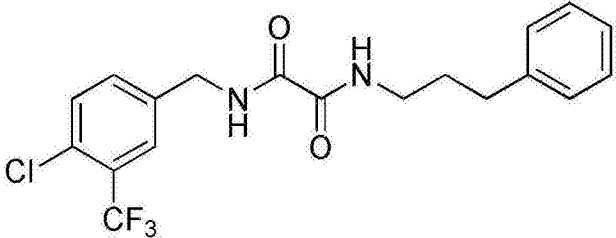
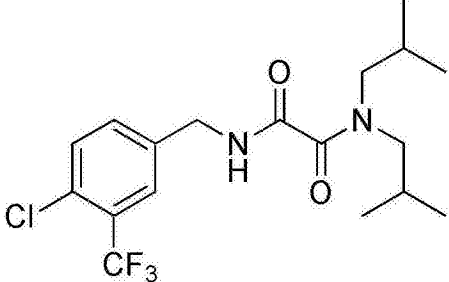
[0078] 表2.所合成的比较化合物

编号	结构
E242	
[0079] E243	
E244	

[0080]

E245	 <chem>CCCCCCCNCC(=O)C(=O)OCC</chem>
E247	 <chem>CCOC(=O)C(=O)NCCc1ccc(F)cc1</chem>
E254	 <chem>CCOC(=O)C(=O)NCCc1ccc(cc1)C(F)(F)F</chem>
E257	 <chem>CCOC(=O)C(=O)Nc1cc(C)c(C)c1OC</chem>
E258	 <chem>CCOC(=O)C(=O)NCCc1ccc(Oc2ccc(F)(F)F)cc1</chem>
E290	 <chem>CCOC(=O)CCC(=O)Oc1ccc(cc1)NCC(=O)CCC(=O)OC</chem>
E319	 <chem>CCOC(=O)C(=O)NCCc1ccc(N#N)cc1</chem>
E308	 <chem>OC(=O)CCC(=O)NCCc1ccc(Cl)c(C(F)(F)F)c1</chem>
E312	 <chem>CCOC(=O)C(=O)NCCc1ccc(C(F)(F)F)cc1C(=O)NCC(=O)NCC(=O)C(=O)OC</chem>

[0081]

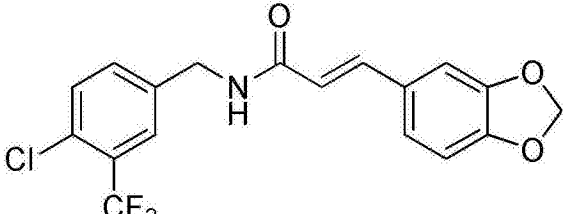
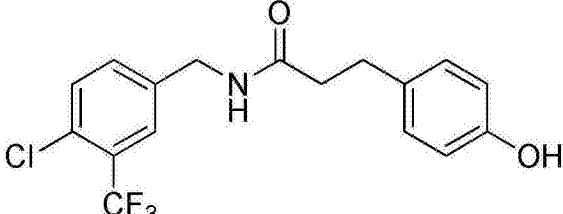
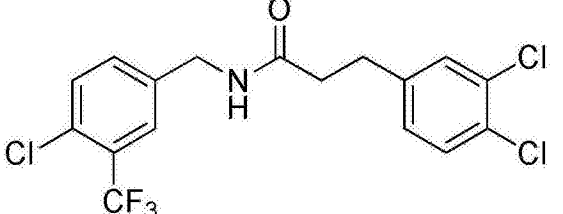
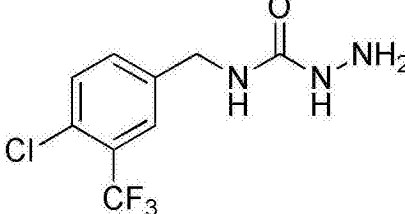
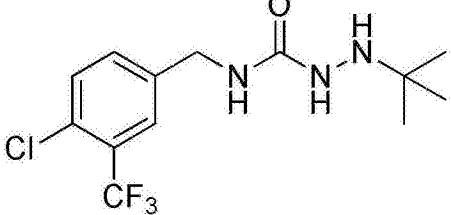
E324	
E325	
E329	
E331	
E332	
E335	
E343	

[0082]

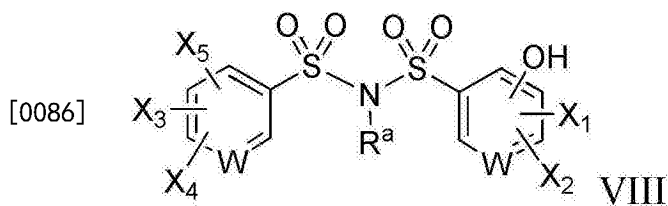
E338	 <chem>Clc1ccc(cc1C(F)(F)F)CCNC(=O)NC(=O)NCc2ccc(F)cc2</chem>
E234	 <chem>c1ccccc1CCNC(=O)NC(=O)NN</chem>
E235	 <chem>c1ccccc1CCCNC(=O)NC(=O)NN</chem>
E237	 <chem>Brc1ccc(cc1C(F)(F)F)CCNC(=O)NC(=O)NN</chem>
E238	 <chem>COC1=CC=C(C=C1)C(OC)CCNC(=O)NC(=O)NN</chem>
E252	 <chem>OC(F)(F)Fc1ccccc1CCNC(=O)NC(=O)NN</chem>
E253	 <chem>COC1=CC=C(C=C1)C(C)CCNC(=O)NC(=O)NN</chem>
E269	 <chem>c1ccc2ccccc2c1CCCNC(=O)NC(=O)NN</chem>
E291	 <chem>Oc1ccc(cc1)CCNC(=O)CCCC(=O)NN</chem>

[0083]

E327	<chem>Clc1ccc(cc1C(F)(F)F)CN(C(=O)NNC(=O)Nc2cc(F)cc(F)c2)</chem>
E333	<chem>Clc1ccc(cc1C(F)(F)F)CN(C(=O)NNC(=O)Nc2cccc(Br)c2)</chem>
E321	<chem>Clc1ccc(cc1C(F)(F)F)NC(=O)/C=C/c2cc(OC)cc(OC)c2</chem>
E349	<chem>Clc1ccc(cc1C(F)(F)F)NC(=O)/C=C/c2cc(F)cc(F)c2</chem>
E350	<chem>Clc1ccc(cc1C(F)(F)F)NC(=O)/C=C/c2ccc(F)cc2</chem>
E351	<chem>Clc1ccc(cc1C(F)(F)F)NC(=O)/C=C/c2ccc(C(F)(F)F)cc2</chem>
E352	<chem>Clc1ccc(cc1C(F)(F)F)NC(=O)/C=C/c2ccc(OC(F)(F)F)cc2</chem>

E353	
E354	
[0084] E355	
E283	
E298	

[0085] 本发明的化合物包括式VIII的那些化合物或其盐、酯、或前药：



[0087] 其中：

[0088] W是C或N；

[0089] X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>、X<sub>3</sub>、X<sub>4</sub>、以及X<sub>5</sub>独立地选自由以下各项组成的组：-H、-OH、-OR、-F、-Cl、-Br、-I、-NO<sub>2</sub>、-NO、-N(R)<sub>2</sub>、-N(R)<sub>3</sub><sup>+</sup>、-C(O)R、-C(O)OR、-CHO、-C(O)NH<sub>2</sub>、-C(O)SR、-CN、-S(O)<sub>2</sub>R、-SO<sub>3</sub>R、-SO<sub>3</sub>H、-SO<sub>2</sub>N(R)<sub>2</sub>、-S=O、C<sub>1</sub>至C<sub>12</sub>烷基、芳基、取代的芳基、杂芳基、以及取代的杂芳基；

[0090] R选自由以下各项组成的组：C<sub>1</sub>至C<sub>6</sub>烷基、C<sub>3</sub>至C<sub>6</sub>环烷基、CH<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>环烷基、苯基、甲苯基、以及苯甲基；

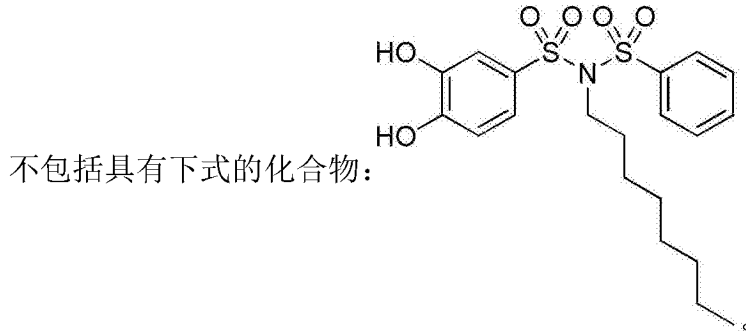
[0091] R<sup>a</sup>选自由以下各项组成的组：C<sub>1</sub>至C<sub>12</sub>烷基、C<sub>3</sub>至C<sub>6</sub>环烷基、(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>环烷基、C<sub>2</sub>至

C<sub>6</sub>杂环烷基、(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>杂环烷基、C<sub>2</sub>至C<sub>6</sub>杂环烷基、(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>杂环烷基、苯甲基、芳基、(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-芳基、杂芳基、(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-杂芳基、以及其取代的衍生物；以及

[0092] m是1、2、3、4、5或6。

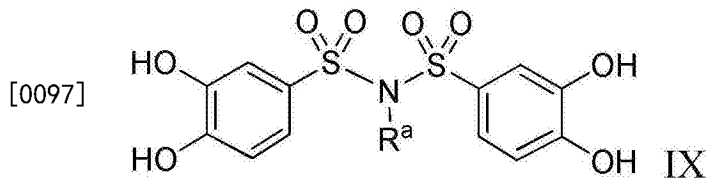
[0093] 在一些实施方案中，本发明的化合物包括如上文所定义的式VIII的那些化合物，前提条件是X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>、X<sub>3</sub>、X<sub>4</sub>以及X<sub>5</sub>中的最多两个是OH。

[0094] 在一些实施方案中，本发明的化合物包括如上文所定义的式VIII的那些化合物，



[0095] 在一些实施方案中，本发明的化合物包括如上文所定义的式VIII的那些化合物，前提条件是X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>、X<sub>3</sub>、X<sub>4</sub>以及X<sub>5</sub>中的最多三个是H。

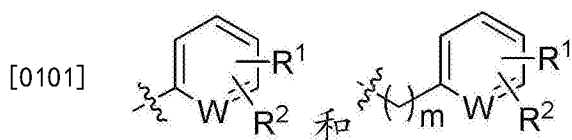
[0096] 本发明的化合物包括式IX的那些化合物或其盐、酯、或前药：



[0098] 其中R<sup>a</sup>选自自由以下各项组成的组：苯甲基、芳基、(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-芳基、杂芳基、(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-杂芳基、以及其取代的衍生物；以及

[0099] m是1、2、3、4、5或6。

[0100] 在一些实施方案中，本发明的化合物包括如上文所定义的式VIII或式IX的那些化合物，其中R<sup>a</sup>选自自由以下各项组成的组：



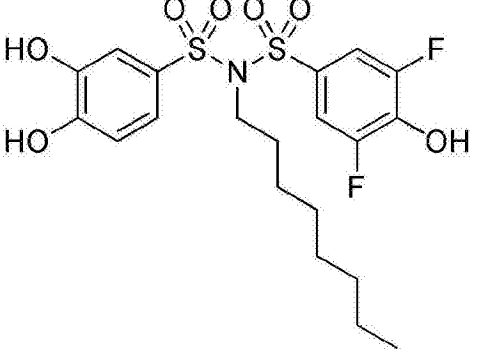
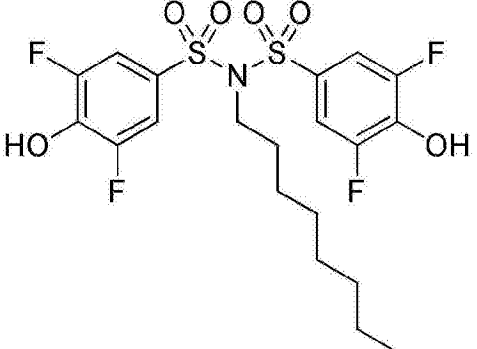
[0102] 其中：W是C或N；以及

[0103] R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>独立地选自自由以下各项组成的组：-H、-F、-Cl、-Br、-I、-CF<sub>3</sub>、C<sub>1</sub>至C<sub>12</sub>烷基、以及苯基。

[0104] 本发明的示例性化合物具有选自以下各项的化学式：C152、C155、C173、C189、C191、C197、C224、C292、C293、C294、C153、C162、C163、C165、C188、C195、C157、C158、C182、C183、以及其盐、酯或前药。这些化合物描绘于本文的下表3中。

[0105] 表3. 所合成的PAI-1抑制剂化合物

[0106]

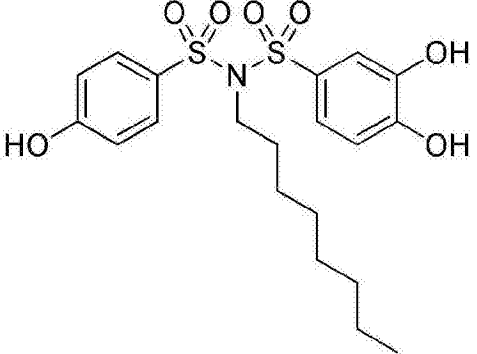
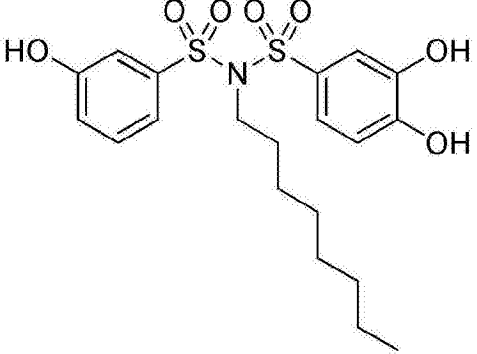
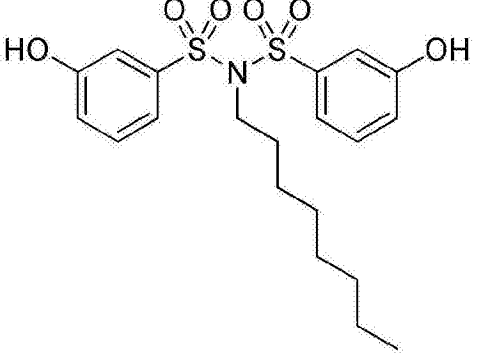
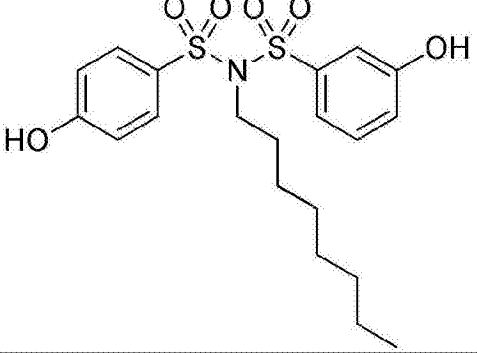
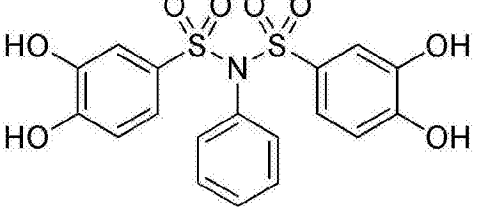
编号	结构	PAI-1/uPA IC <sub>50</sub> (μM)	PAI-1/tPA IC <sub>50</sub> (μM)	ATIII/αIIa IC <sub>50</sub> (μM)
C152		1.57	1.71	87
C155		30.44	34.84	2326



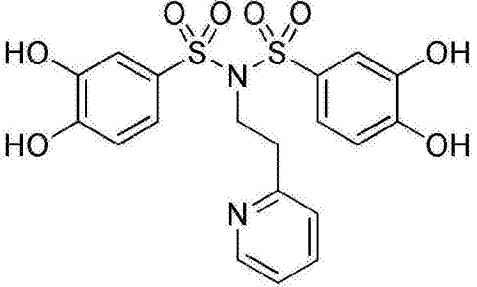
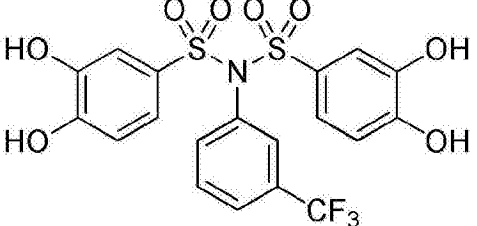
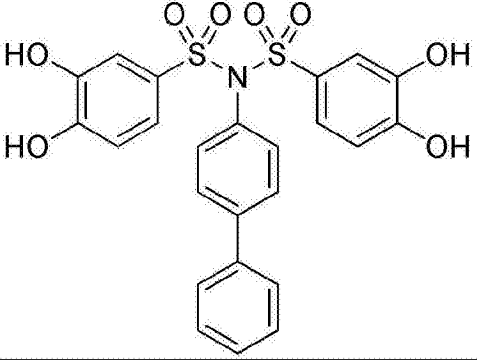
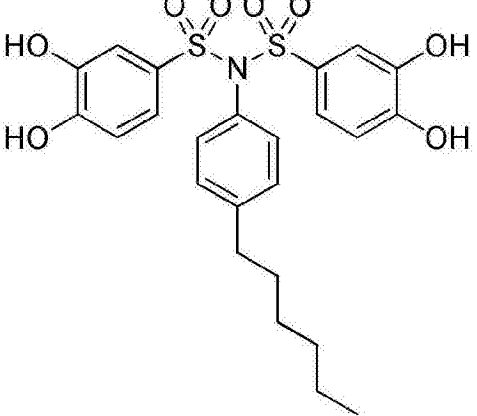
[0107]

C173	<chem>CCCCN(S(=O)(=O)c1ccc(O)c(O)c1)S(=O)(=O)c2ccc(OCC3=CC=C(C=C3)OC(F)(F)F)c2</chem>	19.2		
C189	<chem>CCCCN(S(=O)(=O)c1ccc(O)c(O)c1)S(=O)(=O)c2ccc(OCC3=CC=C(C=C3)C)cc2</chem>	2.29		
C191	<chem>CCCCN(S(=O)(=O)c1ccc(O)c(O)c1)S(=O)(=O)c2ccc(OCC3=CC=C(C=C3)C)cc2</chem>	1.28		
C197	<chem>CCCCN(S(=O)(=O)c1ccc(O)c(O)c1)S(=O)(=O)c2ccccc2CC3=CC=C(O)C(O)=C3</chem>	0.173		

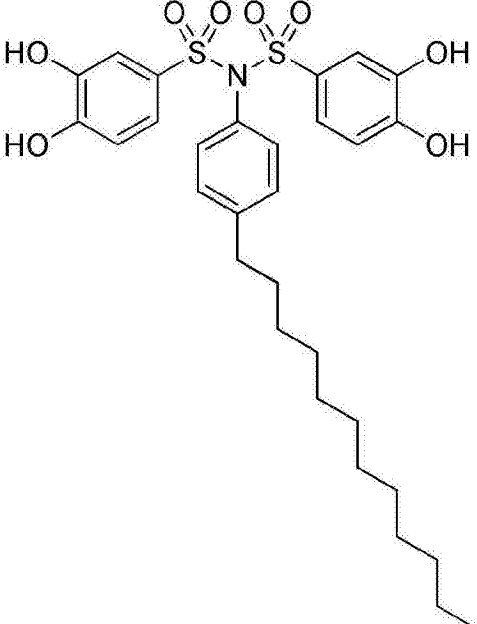
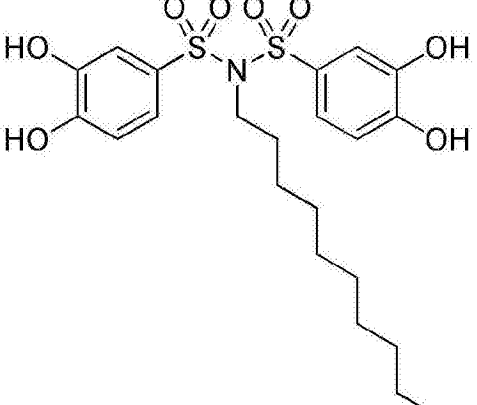
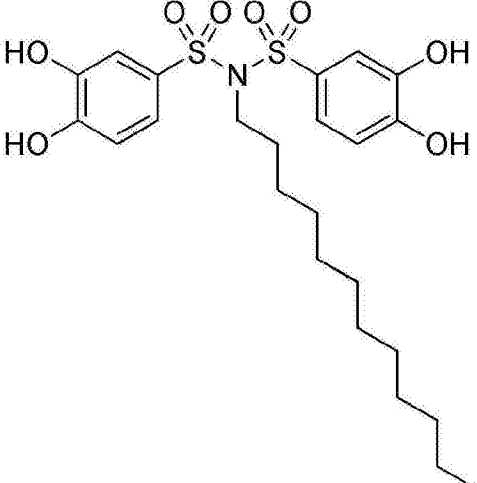
[0108]

C224		4.34		
C292		4.94、68*		
C293		77.6、123*		
C294		120.5、234*		
C153		0.70	1.02	

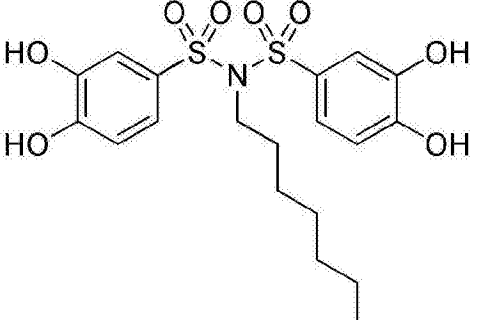
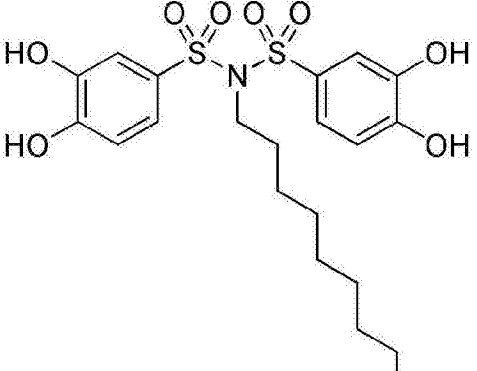
[0109]

C162		3.90	7.59	
C163		0.288	0.611	
C165		0.35	0.51	
C188		0.12		

[0110]

C195		0.92		
C157		0.25	0.98	44.37
C158		2.60	1.44	547

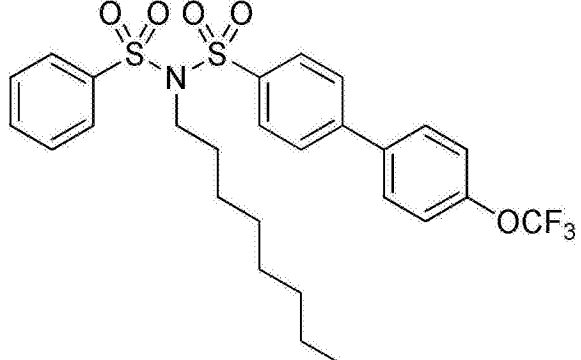
[0111]

C182		0.033		
C183		0.18		

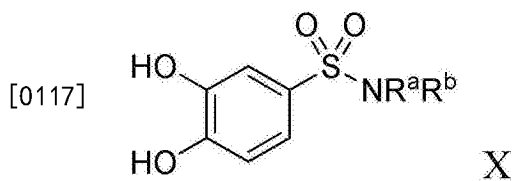
[0112] \*使用pH 7.4。

[0113] 在本文中的实施例12中所述的测定中在缓冲液 (40mM的HEPES、100mM的NaCl、0.05%吐温-20、10%的DMSO, pH 7.8) 中没有表现出PAI-1抑制活性的比较化合物描绘于表4中。

[0114] 表4. 所合成的比较化合物

编号	结构
E174	

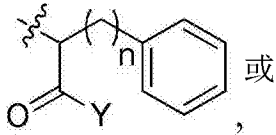
[0116] 本发明的化合物包括式X的那些化合物或其盐、酯、或前药：



[0118] 其中

[0119] R<sup>a</sup>是C<sub>1</sub>至C<sub>12</sub>烷基，

[0120]  $R^b$ 选自由以下各项组成的组： $C_1$ 至 $C_{12}$ 烷基、芳基、杂芳基、 $(CH_2)_m-R$ 以及



[0121]  $R^a$ 和 $R^b$ 连同它们所键合的N原子一起形成任选取代的3元至8元杂环；

[0122]  $m$ 是1、2、3、4、5或6；

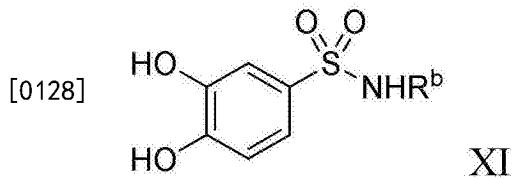
[0123]  $n$ 是0、1、2、3、4、5或6；

[0124]  $Y$ 选自由 $NH_2$ 和 $OH$ 组成的组；以及

[0125]  $R$ 选自由以下各项组成的组： 取代的苯基以及杂芳基。

[0126] 在一些实施方案中，本发明的化合物包括如上文所定义的式X的那些化合物，其中 $R^a$ 选自由以下各项组成的组：丁基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基、以及癸基。在一些实施方案中，本发明的化合物包括如上文所定义的式X的那些化合物，其中 $R^b$ 选自由以下各项组成的组：丁基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基、癸基、氟代苯基、氯代苯基、溴代苯基、碘代苯基、三氟甲基苯基、以及二氯代羟基苯基。

[0127] 本发明的化合物包括式XI的那些化合物或其盐、酯、或前药：



[0129] 其中

[0130]  $R^b$ 选自由以下各项组成的组：芳基、杂芳基、 $(CH_2)_m-R$ 、以及

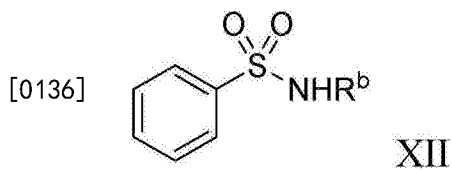
[0131]  $m$ 是1、2、3、4、5或6；

[0132]  $n$ 是0、1、2、3、4、5或6；

[0133]  $Y$ 选自由 $NH_2$ 和 $OH$ 组成的组；以及

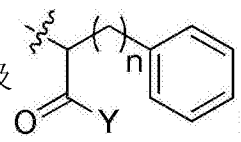
[0134]  $R$ 选自由以下各项组成的组：  $CO_2H$ 、苯基、取代的苯基以及杂芳基。

[0135] 本发明的化合物包括式XII的那些化合物或其盐、酯、或前药：



[0137] 其中

[0138] R<sup>b</sup>选自自由以下各项组成的组：芳基、杂芳基、(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R、以及

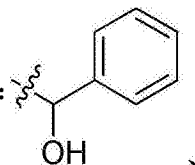


[0139] m是1、2、3、4、5或6；

[0140] n是0、1、2、3、4、5或6；

[0141] Y选自自由NH<sub>2</sub>和OH组成的组；以及

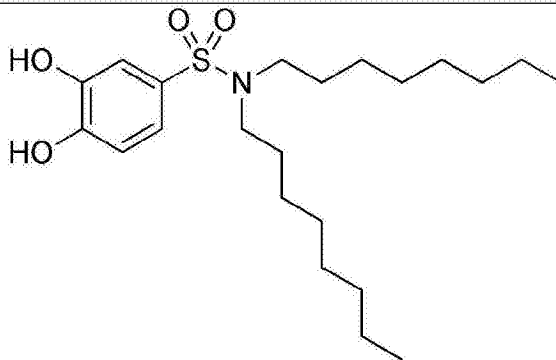
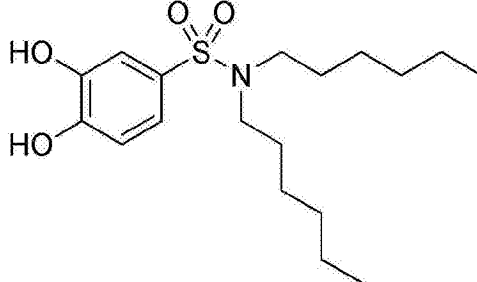
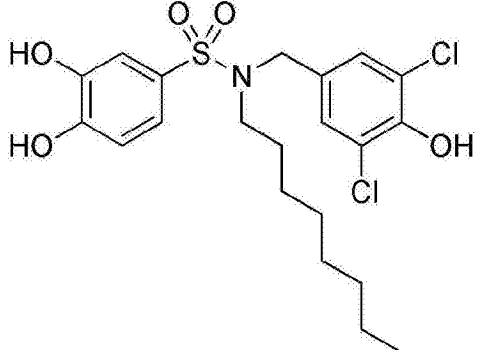
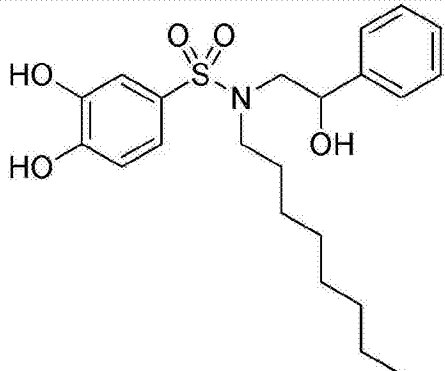
[0142] R选自自由以下各项组成的组：CO<sub>2</sub>H、苯基、取代的苯基以及杂芳基。



[0143] 本发明的示例性化合物具有选自以下各项的化学式：C170、C171、C172、C175、C177、C179、C180、C186、C193、C205、C160、C187、C190、C198、C232、C233、C249、C270、C271、C272、C273、C274、C275、C303、C210、以及其盐、酯或前药。这些化合物描绘于本文的下表5中。

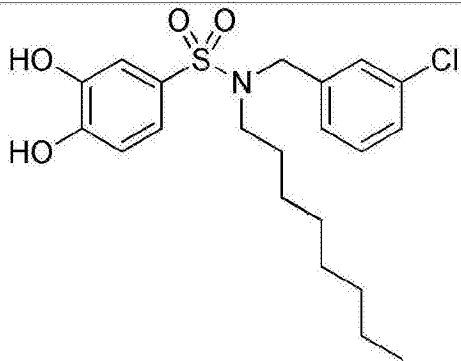
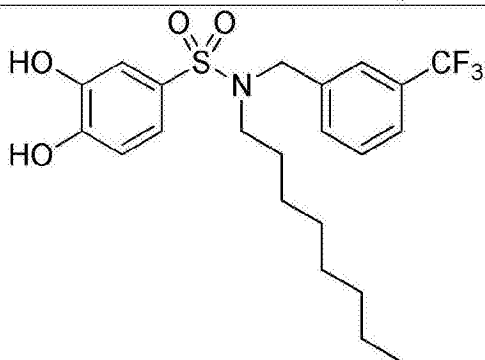
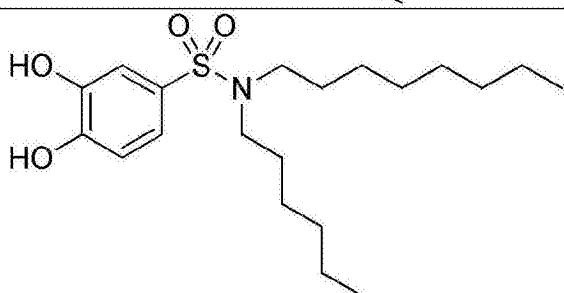
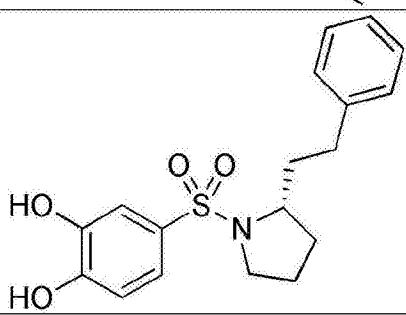
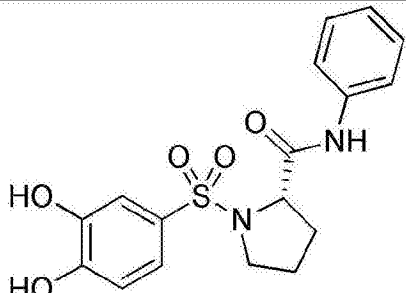
[0144] 表5. 所合成的PAI-1抑制剂化合物

[0145]

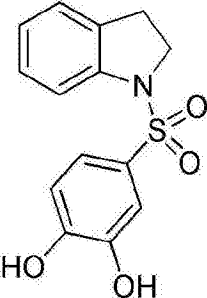
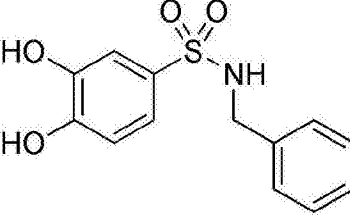
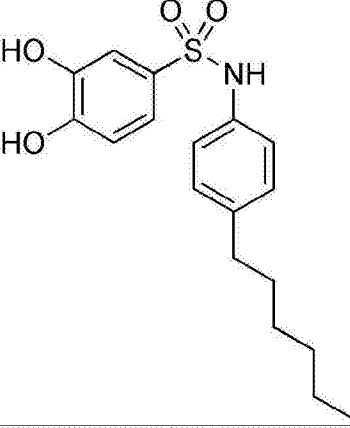
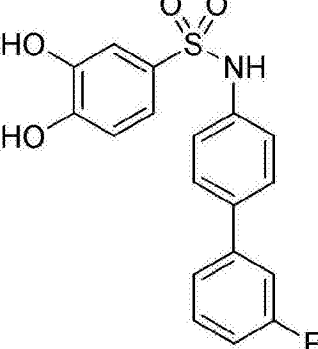
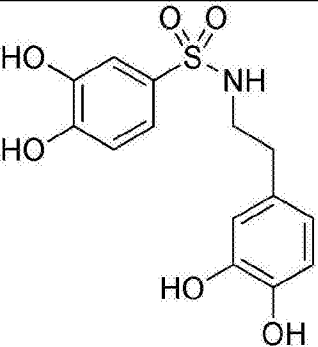
编号	结构	PAI-1/uPA IC <sub>50</sub> (μM)	PAI-1/tPA IC <sub>50</sub> (μM)	ATIII/αIIa IC <sub>50</sub> (μM)
C170		5.49		
C171		1.67		
C172		1.98		
C175		6.74		



[0146]

C177	 <chem>CCCCCN(Cc1ccc(Cl)cc1)S(=O)(=O)c2ccc(O)c(O)c2</chem>	5.11		
C179	 <chem>CCCCCN(Cc1ccc(C(F)(F)F)cc1)S(=O)(=O)c2ccc(O)c(O)c2</chem>	2.40		
C180	 <chem>CCCCCCCCCN(CCCCC)S(=O)(=O)c1ccc(O)c(O)c1</chem>	1.34		
C186	 <chem>c1ccc(cc1)CCN2CCCC2S(=O)(=O)c3ccc(O)c(O)c3</chem>	6.98		
C193	 <chem>c1ccc(cc1)NC(=O)N2CCCC2S(=O)(=O)c3ccc(O)c(O)c3</chem>	552		

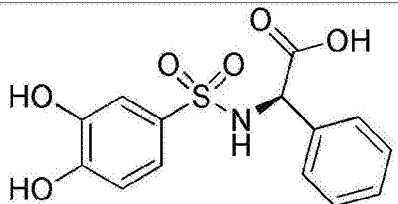
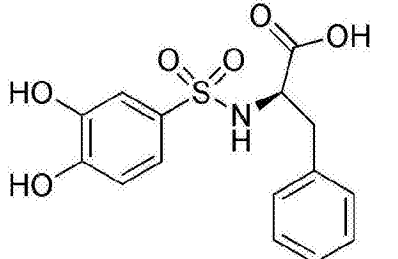
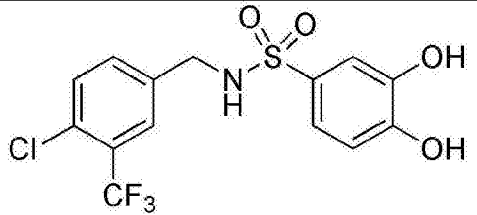
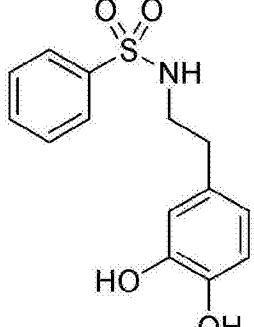
[0147]

C205		5.05		
C160		39.04	58.16	2326
C187		0.91		
C190		9.70		
C198		0.051		

[0148]

C232		13.3		
C233		74.8		
C249		663		
C270		29.5		
C271		1.82		
C272		16.4		
C273		55.6		

[0149]

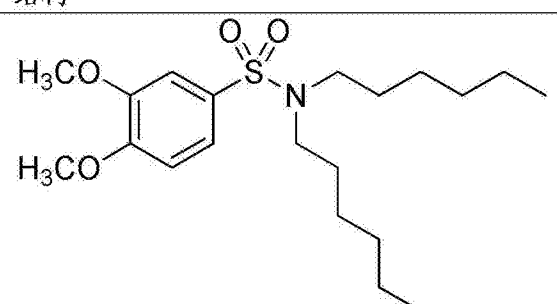
C274		73.6		
C275		30.5		
C303		12.6*, 13.6		
C210		189.6		

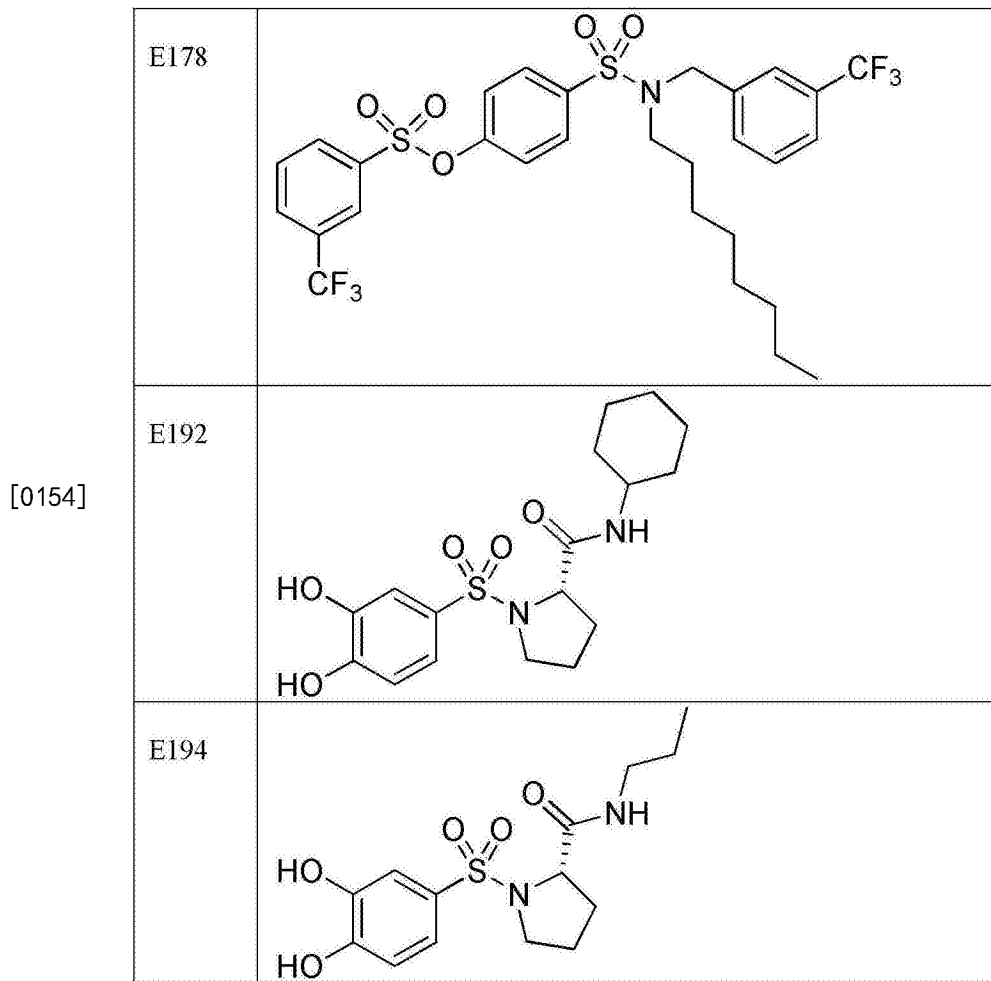
[0150] \*使用pH 7.4。

[0151] 在本文中的实施例12中所述的测定中在缓冲液(40mM的HEPES、100mM的NaCl、0.05%吐温-20、10%的DMSO, pH 7.8)中没有表现出PAI-1抑制活性的比较化合物描绘于表6中。

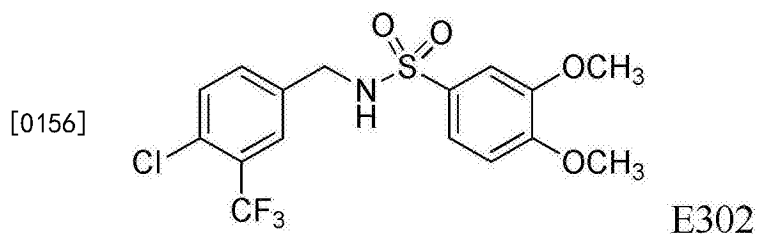
[0152] 表6. 所合成的比较化合物

[0153]

编号	结构
E169	



[0155] 在本文中的实施例11中所述的测定中在缓冲液(40mM的HEPES、100mM的NaCl、0.05%吐温-20、10%的DMSO, pH 7.4)中没有表现出PAI-1抑制活性的比较化合物描绘于下文中。



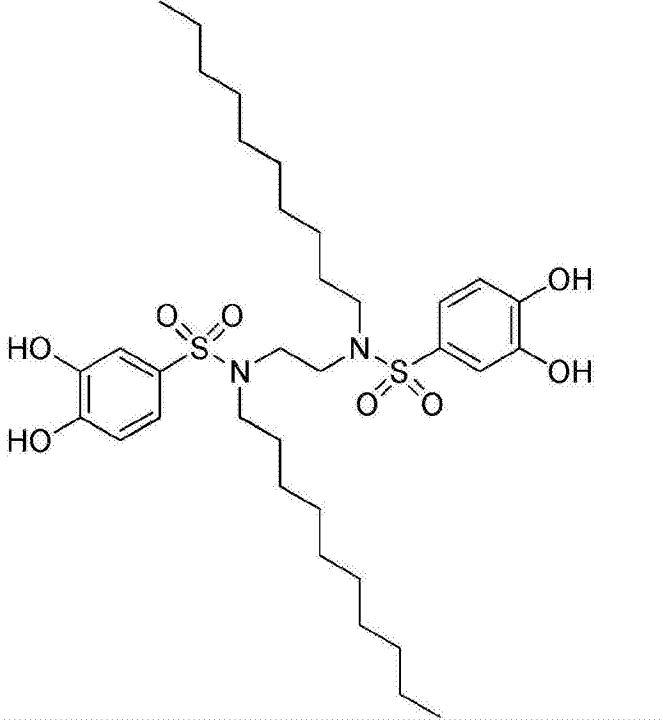
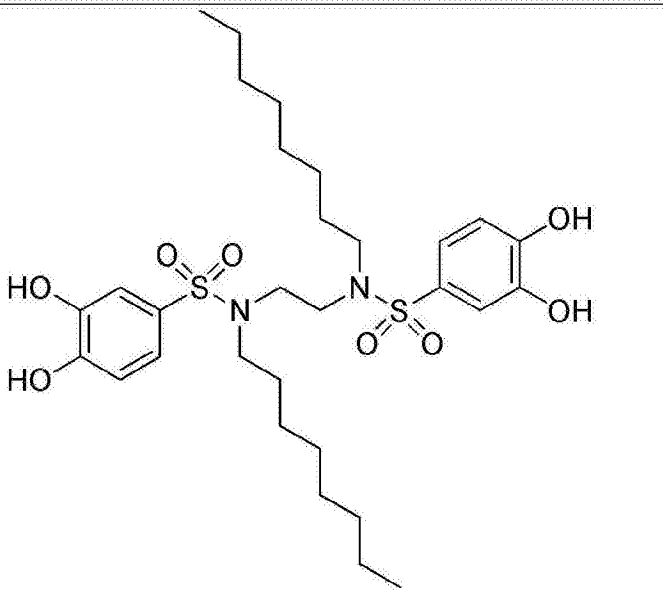
[0157] 本发明的示例性化合物具有选自以下各项的化学式:C168、C176、C184、C185、C196、C156、C161、C200、C204、C236、以及其盐、酯或前药。这些化合物描绘于本文的下表7中。

[0158] 表7. 所合成的PAI-1抑制剂化合物

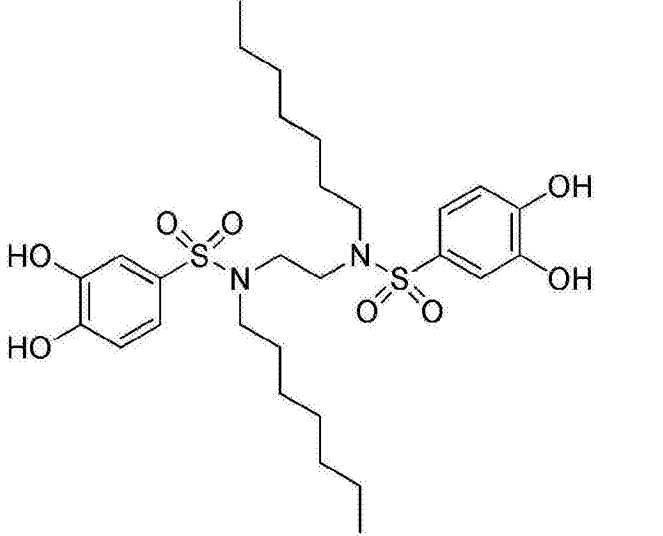
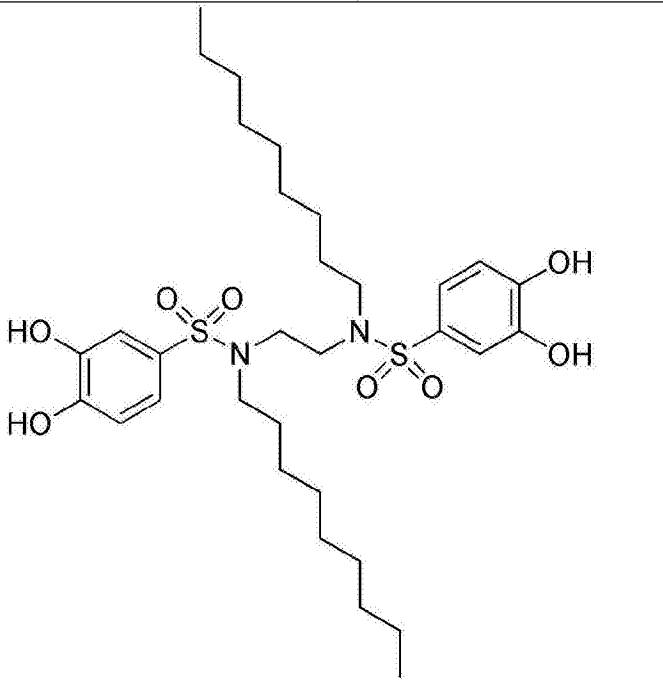
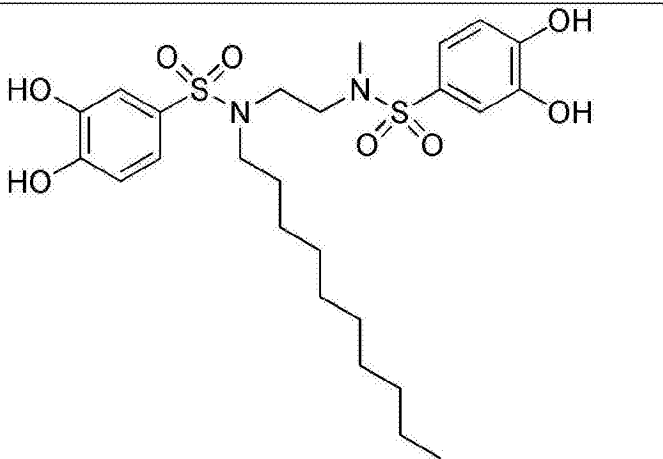
[0159]

编号	结构	PAI-1/uPA IC <sub>50</sub> (μM)	PAI-1/tPA IC <sub>50</sub> (μM)	ATIII/αIIa IC <sub>50</sub> (μM)

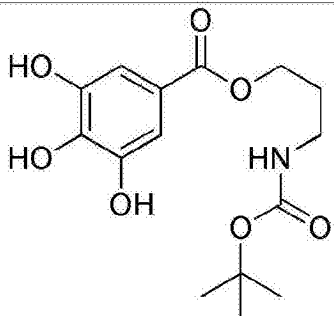
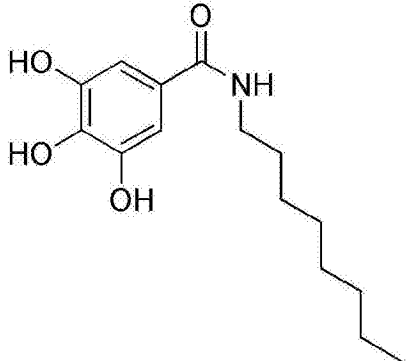
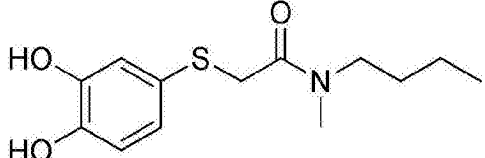
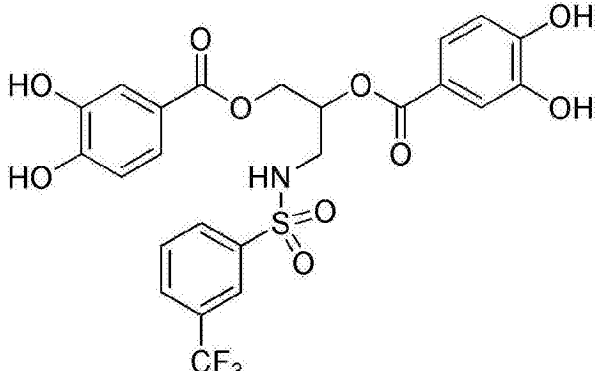
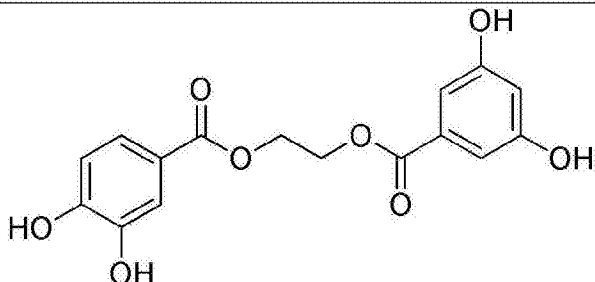
[0160]

C168	 <p>The chemical structure of C168 is a bis-sulfonamide. It features a central nitrogen atom bonded to two long alkyl chains (represented by zigzag lines) and two secondary amide groups. Each secondary amide group is further substituted with a 3,4-dihydroxyphenyl group. The two 3,4-dihydroxyphenyl groups are oriented in opposite directions relative to the central nitrogen atom.</p>	1.98		
C176	 <p>The chemical structure of C176 is a bis-sulfonamide, identical to C168. It features a central nitrogen atom bonded to two long alkyl chains (represented by zigzag lines) and two secondary amide groups. Each secondary amide group is further substituted with a 3,4-dihydroxyphenyl group. The two 3,4-dihydroxyphenyl groups are oriented in opposite directions relative to the central nitrogen atom.</p>	0.62		

[0161]

C184		0.59		
C185		0.42		
C196		0.45		

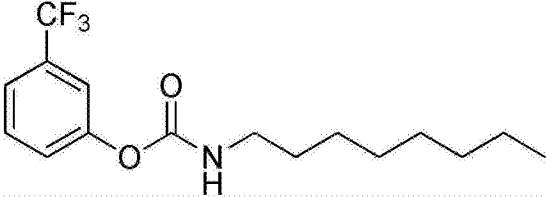
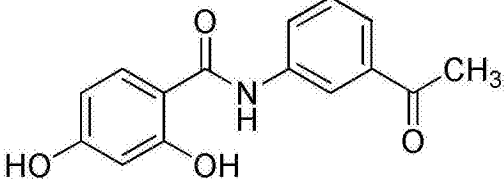
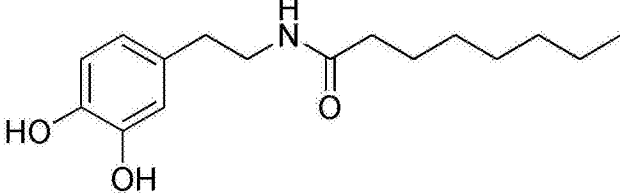
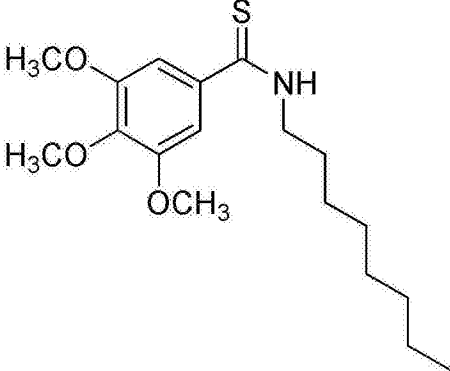
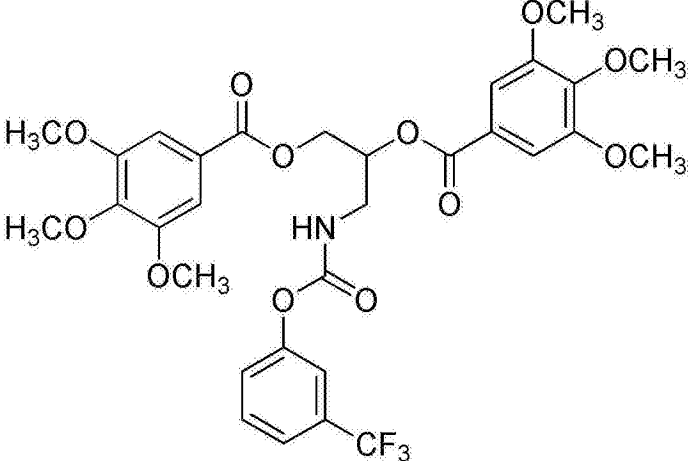
[0162]

C156		188.7	581.2	
C161		3.70	2.21	1670
C200		58.37		
C204		0.035		
C236		174		

[0163] 在本文中的实施例11中所述的测定中在缓冲液(40mM的HEPES、100mM的NaCl、0.05%吐温-20、10%的DMSO, pH 7.4)中没有表现出PAI-1抑制活性的比较化合物描绘于表8中。

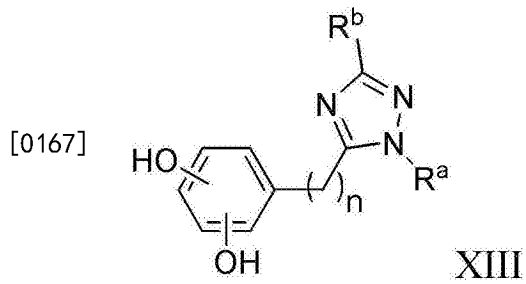
[0164] 表8. 所合成的比较化合物



编号	结构
E164	
E250	
E181	
E167	
E166	

[0165]

[0166] 本发明的化合物包括式XIII的那些化合物或其盐、酯、或前药：



[0168] 其中

[0169] n是0或1；

[0170]  $R^a$ 和 $R^b$ 独立地选自由以下各项组成的组： $C_1$ 至 $C_{12}$ 烷基、 $C_3$ 至 $C_6$ 环烷基、 $(CH_2)_m-C_3-C_6$ 环烷基、 $C_2$ 至 $C_6$ 杂环烷基、 $(CH_2)_m-C_2-C_6$ 杂环烷基、 $C_2$ 至 $C_6$ 杂环烷基、 $(CH_2)_m-C_2-C_6$ 杂环烷基、苯甲基、芳基、 $(CH_2)_m$ -芳基、杂芳基、 $(CH_2)_m$ -杂芳基、以及其取代的衍生物；以及

[0171] m是1、2、3、4、5或6。

[0172] 在一些实施方案中，本发明的化合物包括如上文所定义的式XIII的那些化合物，其中 $R^a$ 和 $R^b$ 独立地选自由丁基、戊基、环丙基、苯基、二氟代苯基、以及羟苯基组成的组。

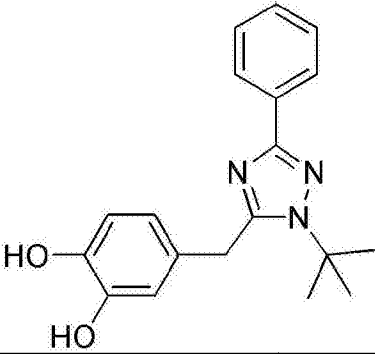
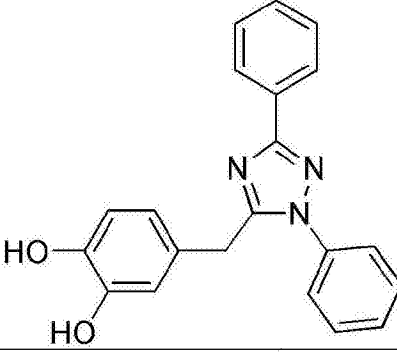
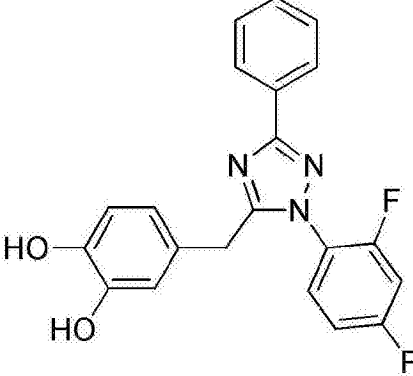
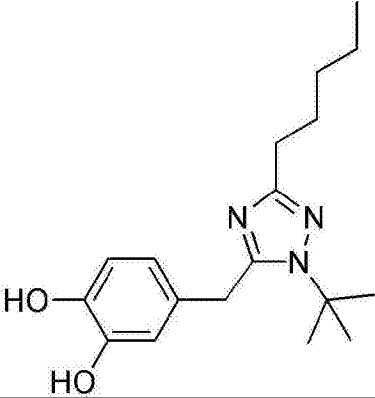
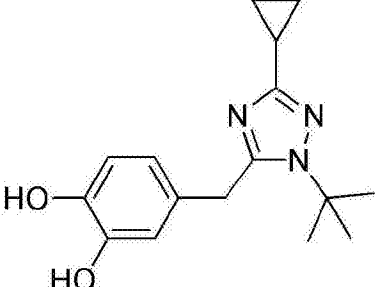
[0173] 本发明的示例性化合物具有选自以下各项的化学式：C201、C208、C213、C216、C220、C221、C222、C223、以及其盐、酯或前药。这些化合物描绘于本文的下表9中。

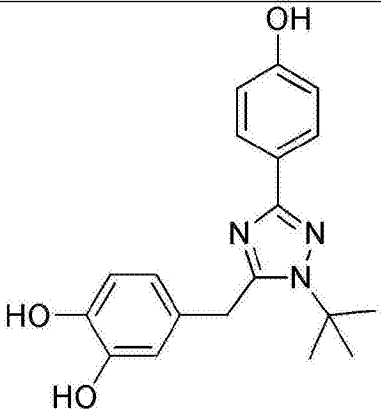
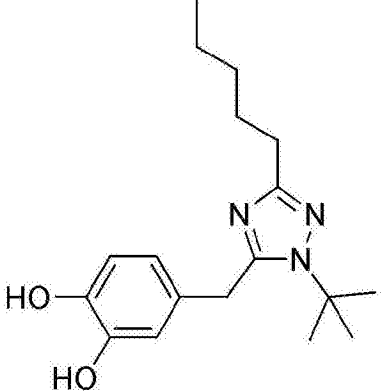
[0174] 表9. 所合成的PAI-1抑制剂化合物

编号	结构	在缓冲液中的 PAI-1/uPA $IC_{50}$ ( $\mu M$ )
C201		181

[0175]

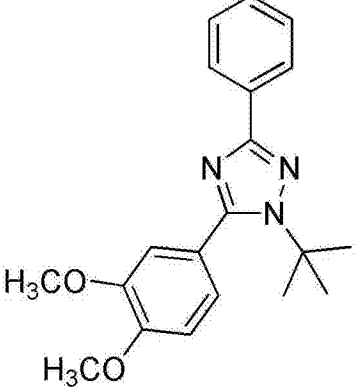
[0176]

C208		77.2
C213		
C216		
C220		116.46
C221		1608

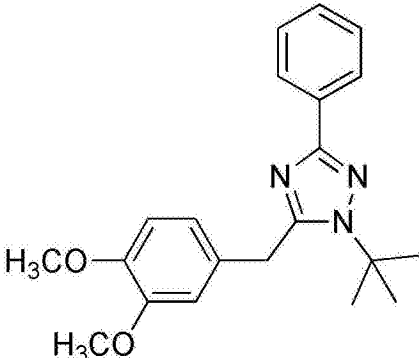
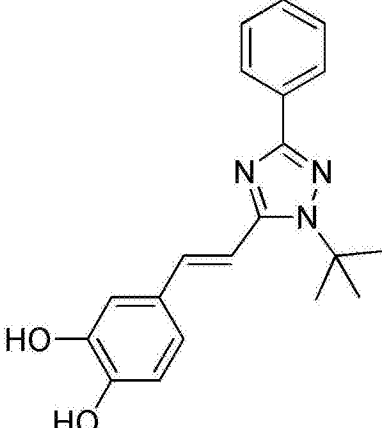
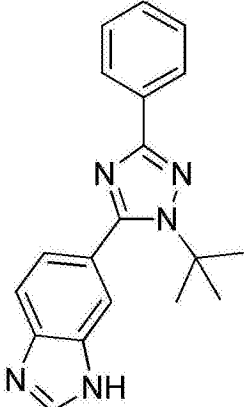
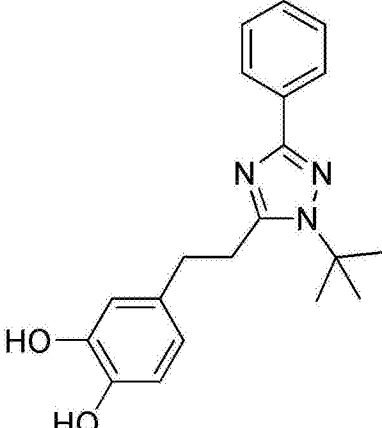
[0177]	<p>C222</p> 	236
	<p>C223</p> 	124.6

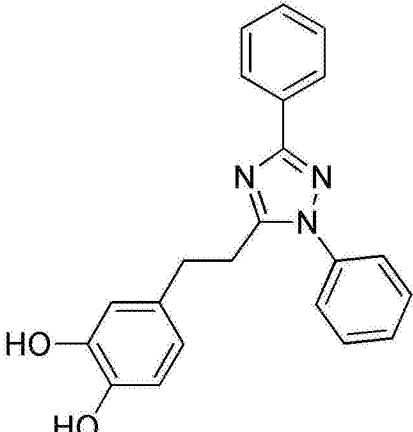
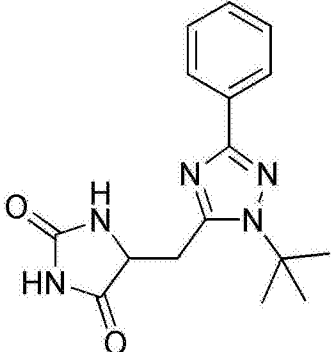
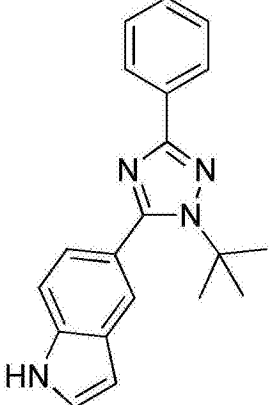
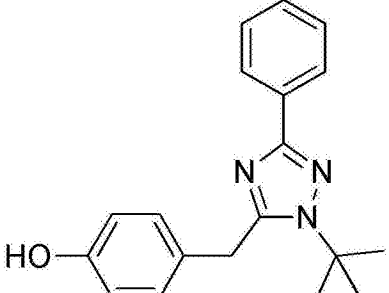
[0178] 在本文中的实施例12中所述的测定中在缓冲液(40mM的HEPES、100mM的NaCl、0.05%吐温-20、10%的DMSO, pH 7.8)中没有表现出PAI-1抑制活性的比较化合物描绘于表10中。

[0179] 表10. 所合成的比较化合物

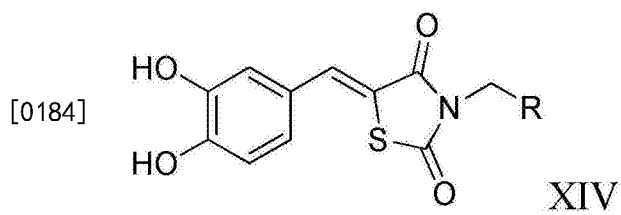
编号	结构
[0180] E202	

[0181]

E209	 <chem>COc1ccc(OC)cc1CC1=CN(C(C)(C)C)N=C1C=CC=C1</chem>
E211	 <chem>Oc1ccc(O)cc1/C=C/C1=CN(C(C)(C)C)N=C1C=CC=C1</chem>
E212	 <chem>C1=CN2C=CC=C2N1C1=CN(C(C)(C)C)N=C1C=CC=C1</chem>
E215	 <chem>Oc1ccc(O)cc1CCC1=CN(C(C)(C)C)N=C1C=CC=C1</chem>

E217	
E218	
E219	
E226	

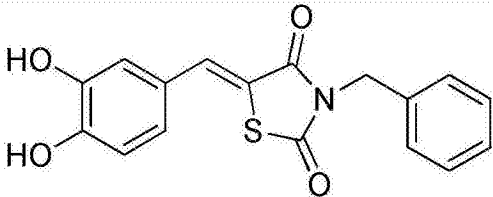
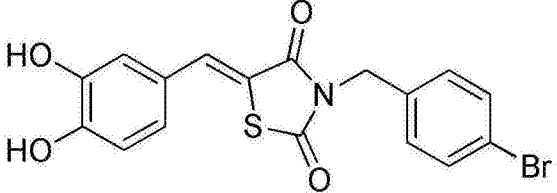
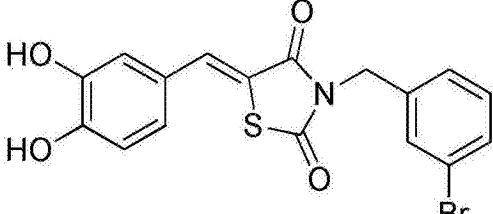
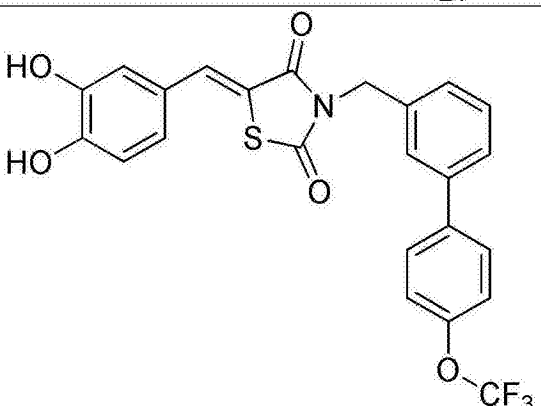
[0183] 本发明的化合物包括式XIV的那些化合物或其盐、酯、或前药：



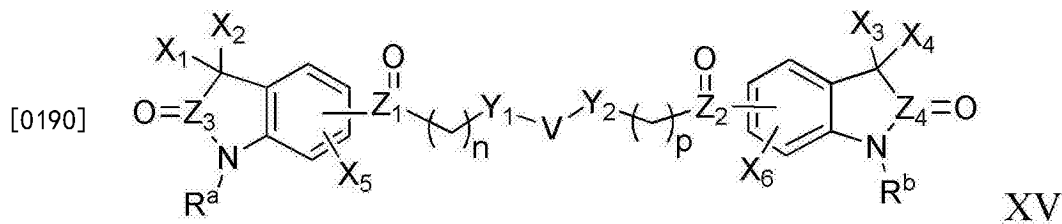
[0185] 其中R选自苯基和取代的联苯组成的组。

[0186] 本发明的示例性化合物具有选自以下各项的化学式：C199、C203、C206、C207、以及其盐、酯或前药。这些化合物描绘于本文的下表11中。

[0187] 表11. 所合成的PAI-1抑制剂化合物

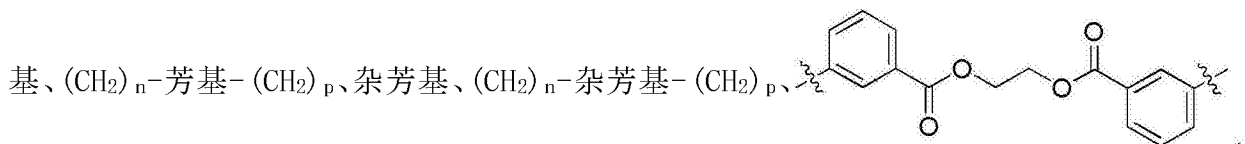
编号	结构	在缓冲液中的 PAI-1/uPA IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )
C199		5.36
C203		17.07
[0188] C206		4.96
C207		16.83

[0189] 本发明的化合物包括式XV的那些化合物或其盐、酯、或前药：



[0191] 其中：

[0192] V选自自由以下各项组成的组：(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>、C<sub>3</sub>至C<sub>8</sub>环烷基、(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>、芳



以及其取代的衍生物；

[0193]  $n$ 和 $p$ 独立地是0、1、2、3、4、5或6；

[0194]  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 、 $X_4$ 、 $X_5$ 以及 $X_6$ 独立地选自由以下各项组成的组：-H、-OH、-OR、-F、-Cl、-Br、-I、-NO<sub>2</sub>、-NO、-N(R)<sub>2</sub>、-N(R)<sub>3</sub><sup>+</sup>、-C(O)R、-C(O)OR、-CHO、-C(O)NH<sub>2</sub>、-C(O)SR、-CN、-S(O)<sub>2</sub>R、-SO<sub>3</sub>R、-SO<sub>3</sub>H、-SO<sub>2</sub>N(R)<sub>2</sub>、-S=O、C<sub>1</sub>至C<sub>12</sub>烷基、芳基、取代的芳基、杂芳基、以及取代的杂芳基；

[0195] R选自由以下各项组成的组：C<sub>1</sub>至C<sub>6</sub>烷基、C<sub>3</sub>至C<sub>6</sub>环烷基、CH<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>环烷基、苯基、甲苯基、以及苯甲基；

[0196] Y<sub>1</sub>选自由O、NH、NR<sup>a</sup>、S、以及CH<sub>2</sub>组成的组；

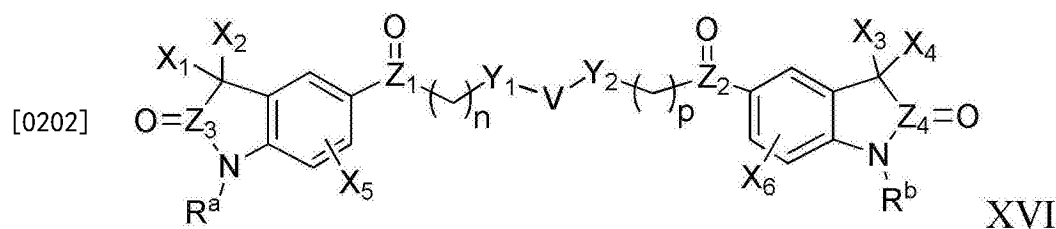
[0197] Y<sub>2</sub>选自由O、NH、NR<sup>b</sup>、S、以及CH<sub>2</sub>组成的组；

[0198] R<sup>a</sup>和R<sup>b</sup>独立地选自由以下各项组成的组：C<sub>1</sub>至C<sub>12</sub>烷基、C<sub>3</sub>至C<sub>6</sub>环烷基、(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>环烷基、C<sub>2</sub>至C<sub>6</sub>杂环烷基、(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>杂环烷基、苯甲基、芳基、(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-芳基、杂芳基、(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-杂芳基、以及其取代的衍生物；

[0199]  $m$ 是1、2、3、4、5或6；以及

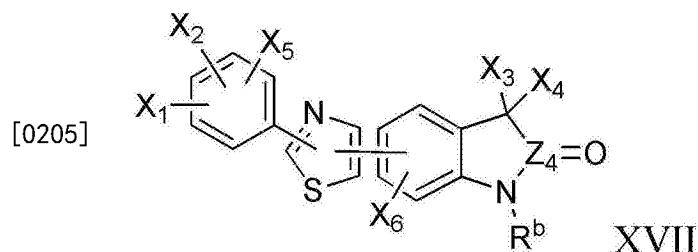
[0200] Z<sub>1</sub>、Z<sub>2</sub>、Z<sub>3</sub>以及Z<sub>4</sub>独立地选自由C、P-OH、S以及S=O组成的组。

[0201] 本发明的化合物包括式XVI的那些化合物或其盐、酯、或前药：



[0203] 其中V、n、p、X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>、X<sub>3</sub>、X<sub>4</sub>、X<sub>5</sub>、X<sub>6</sub>、Y<sub>1</sub>、Y<sub>2</sub>、R<sup>a</sup>、R<sup>b</sup>、Z<sub>1</sub>、Z<sub>2</sub>、Z<sub>3</sub>、以及Z<sub>4</sub>如上文对于式XV所定义。

[0204] 本发明的化合物包括式XVII的那些化合物或其盐、酯、或前药：



[0206] 其中：

[0207]  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 、 $X_4$ 、 $X_5$ 以及 $X_6$ 独立地选自由以下各项组成的组：-H、-OH、-OR、-F、-Cl、-Br、-I、-NO<sub>2</sub>、-NO、-N(R)<sub>2</sub>、-N(R)<sub>3</sub><sup>+</sup>、-C(O)R、-C(O)OR、-CHO、-C(O)NH<sub>2</sub>、-C(O)SR、-CN、-S(O)<sub>2</sub>R、-SO<sub>3</sub>R、-SO<sub>3</sub>H、-SO<sub>2</sub>N(R)<sub>2</sub>、-S=O、C<sub>1</sub>至C<sub>12</sub>烷基、芳基、取代的芳基、杂芳基、以及取代的杂芳基；

[0208] R选自由以下各项组成的组：C<sub>1</sub>至C<sub>6</sub>烷基、C<sub>3</sub>至C<sub>6</sub>环烷基、CH<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>环烷基、苯基、甲



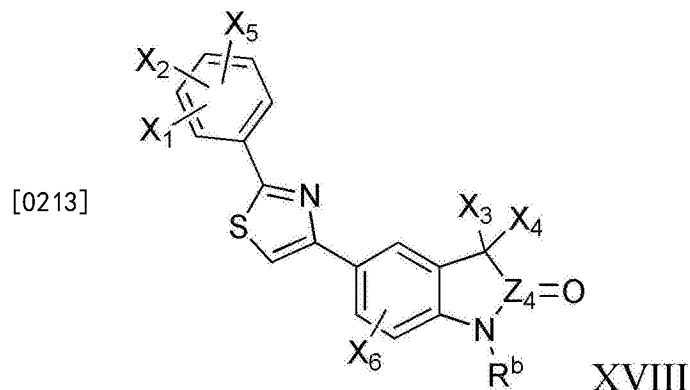
苯基、以及苯甲基；

[0209]  $R^b$ 选自由以下各项组成的组：H、 $C_1$ 至 $C_{12}$ 烷基、 $C_3$ 至 $C_6$ 环烷基、 $(CH_2)_m$ - $C_3$ - $C_6$ 环烷基、 $C_2$ 至 $C_6$ 杂环烷基、 $(CH_2)_m$ - $C_2$ - $C_6$ 杂环烷基、苯甲基、芳基、 $(CH_2)_m$ -芳基、杂芳基、 $(CH_2)_m$ -杂芳基、以及其取代的衍生物；

[0210]  $m$ 是1、2、3、4、5、或6；以及

[0211]  $Z_4$ 选自由C、P-OH、S以及S=O组成的组。

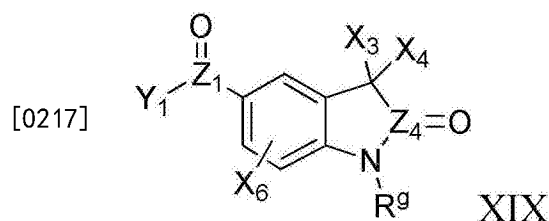
[0212] 本发明的化合物包括式XVIII的那些化合物或其盐、酯、或前药：



[0214] 其中 $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 、 $X_4$ 、 $X_5$ 、 $X_6$ 、 $R^b$ 以及 $Z_4$ 如上文对于式XVII所定义。

[0215] 在一些实施方案中，本发明的化合物包括如上文所定义的式XVII或式XVIII的那些化合物，其中 $X_1$ 和 $X_2$ 独立地选自-OH和-OR。

[0216] 本发明的化合物包括式XIX的那些化合物或其盐、酯、或前药：



[0218] 其中：

[0219]  $X_3$ 、 $X_4$ 以及 $X_6$ 独立地选自由以下各项组成的组：-H、-OH、-OR、-F、-Cl、-Br、-I、-NO<sub>2</sub>、-NO、-N(R)<sub>2</sub>、-N(R)<sub>3</sub><sup>+</sup>、-C(O)R、-C(O)OR、-CHO、-C(O)NH<sub>2</sub>、-C(O)SR、-CN、-S(O)<sub>2</sub>R、-SO<sub>3</sub>R、-SO<sub>3</sub>H、-SO<sub>2</sub>N(R)<sub>2</sub>、-S=O、芳基、取代的芳基、杂芳基、以及取代的杂芳基；

[0220]  $R$ 选自由以下各项组成的组： $C_1$ 至 $C_6$ 烷基、 $C_3$ 至 $C_6$ 环烷基、 $CH_2$ - $C_3$ - $C_6$ 环烷基、苯基、甲苯基、以及苯甲基；

[0221]  $Y_1$ 选自由以下各项组成的组： $CHR^aR^b$ 、 $OR^a$ 、 $NHR^a$ 、 $NR^aR^b$ 、以及 $SR^a$ ；

[0222]  $R^a$ 和 $R^b$ 独立地选自由以下各项组成的组： $C_1$ 至 $C_{12}$ 烷基、 $C_3$ 至 $C_6$ 环烷基、 $(CH_2)_m$ - $C_3$ - $C_6$ 环烷基、 $C_2$ 至 $C_6$ 杂环烷基、 $(CH_2)_m$ - $C_2$ - $C_6$ 杂环烷基、苯甲基、芳基、 $(CH_2)_m$ -芳基、杂芳基、 $(CH_2)_m$ -杂芳基、-U、 $(CH_2)_m$ -U、以及其取代的衍生物，或 $R^a$ 和 $R^b$ 连同它们所键合的N原子一起形成3元至8元杂环；

[0223]  $U$ 选自由以下各项组成的组：-NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>、-NR<sup>c</sup>C(O)R<sup>e</sup>、-NR<sup>c</sup>C(O)OR<sup>e</sup>、-NR<sup>c</sup>C(O)NR<sup>f</sup>R<sup>e</sup>、-NR<sup>c</sup>C(O)SR<sup>e</sup>、-NR<sup>c</sup>P(O)(OH)R<sup>e</sup>、-NR<sup>c</sup>P(O)(OH)OR<sup>e</sup>、-NR<sup>c</sup>P(O)(OH)NR<sup>f</sup>R<sup>e</sup>、-NR<sup>c</sup>P(O)(OH)SR<sup>e</sup>、-NR<sup>c</sup>S(O)R<sup>e</sup>、-NR<sup>c</sup>S(O)OR<sup>e</sup>、-NR<sup>c</sup>S(O)NR<sup>f</sup>R<sup>e</sup>、-NR<sup>c</sup>S(O)SR<sup>e</sup>、-NR<sup>c</sup>S(O)<sub>2</sub>R<sup>e</sup>、-NR<sup>c</sup>S(O)<sub>2</sub>OR<sup>e</sup>、-NR<sup>c</sup>S(O)<sub>2</sub>NR<sup>f</sup>R<sup>e</sup>、-NR<sup>c</sup>S(O)<sub>2</sub>SR<sup>e</sup>、-OR<sup>f</sup>、-OC(O)R<sup>e</sup>、-OC(O)OR<sup>e</sup>、-OC(O)NR<sup>f</sup>R<sup>e</sup>、-OC(O)SR<sup>e</sup>、-OP(O)(OH)R<sup>e</sup>、-

OP(O)(OH)OR<sup>e</sup>、-OP(O)(OH)NR<sup>d</sup>R<sup>e</sup>、-OP(O)(OH)SR<sup>e</sup>、-OS(O)R<sup>e</sup>、-OS(O)OR<sup>e</sup>、-OS(O)NR<sup>d</sup>R<sup>e</sup>、-OS(O)SR<sup>e</sup>、-OS(O)<sub>2</sub>R<sup>e</sup>、-OS(O)<sub>2</sub>OR<sup>e</sup>、-OS(O)<sub>2</sub>NR<sup>d</sup>R<sup>e</sup>、-OS(O)<sub>2</sub>SR、-C(O)OR<sup>c</sup>、-C(O)NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>、-C(O)SR<sup>c</sup>、以及-C(O)R<sup>c</sup>;

[0224] R<sup>c</sup>和R<sup>d</sup>独立地选自由以下各项组成的组:H、C<sub>1</sub>至C<sub>12</sub>烷基、C<sub>1</sub>至C<sub>12</sub>卤代烷基、C<sub>3</sub>至C<sub>6</sub>环烷基、(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>环烷基、C<sub>2</sub>至C<sub>6</sub>杂环烷基、(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>杂环烷基、苯甲基、芳基、(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-芳基、杂芳基、(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-杂芳基、以及其取代的衍生物,或R<sup>c</sup>和R<sup>d</sup>连同它们所键合的N原子一起形成3元至8元杂环;

[0225] R<sup>e</sup>、R<sup>f</sup>以及R<sup>g</sup>独立地选自由以下各项组成的组:H、C<sub>1</sub>至C<sub>12</sub>烷基、C<sub>1</sub>至C<sub>12</sub>卤代烷基、C<sub>3</sub>至C<sub>6</sub>环烷基、(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>环烷基、C<sub>2</sub>至C<sub>6</sub>杂环烷基、(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>杂环烷基、苯甲基、芳基、(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-芳基、杂芳基、(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-杂芳基、以及其取代的衍生物;

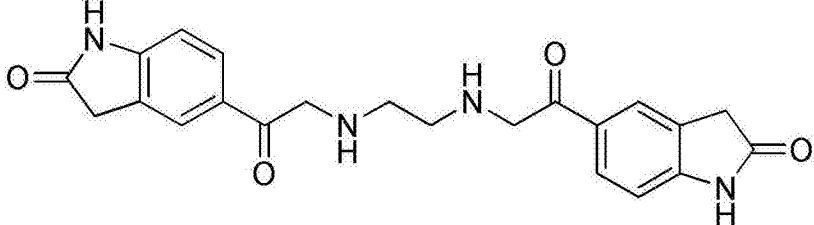
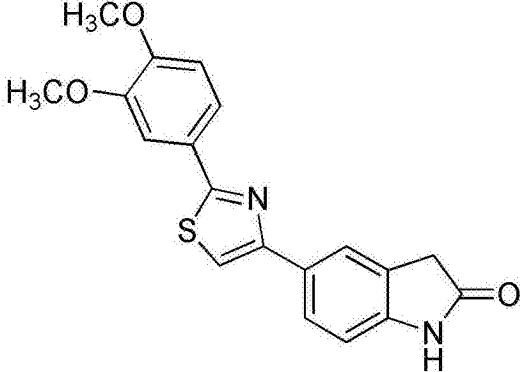
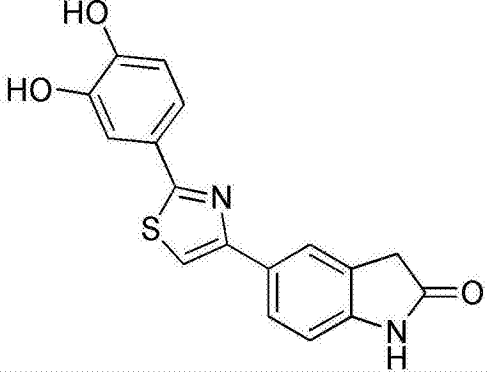
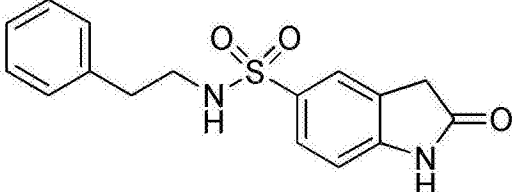
[0226] m是1、2、3、4、5、或6;以及

[0227] Z<sub>1</sub>和Z<sub>4</sub>独立地选自由C、P-OH、S以及S=O组成的组。

[0228] 本发明的示例性化合物具有选自以下各项的化学式:C225、C227、C228、C229、以及其盐、酯或前药。这些化合物描绘于本文的下表12中。

[0229] 表12. 所合成的PAI-1抑制剂化合物

[0230]	编号	结构	在缓冲液 中的

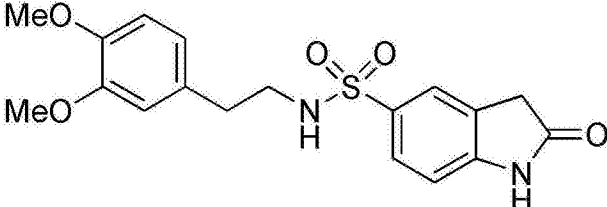
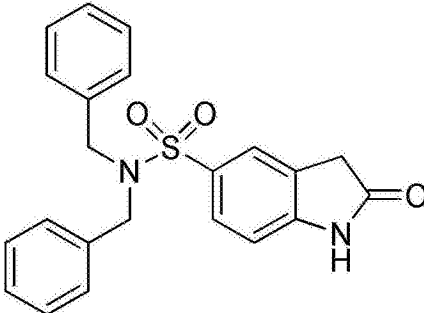
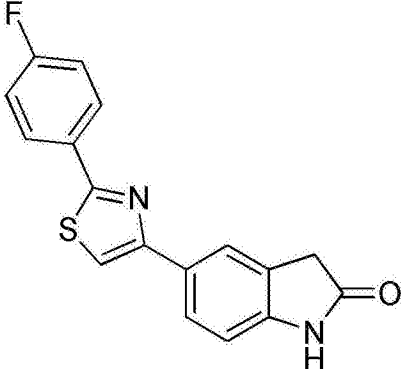
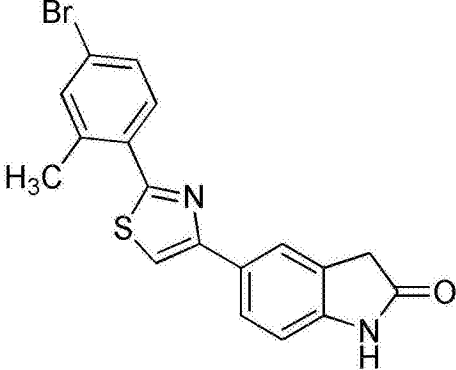
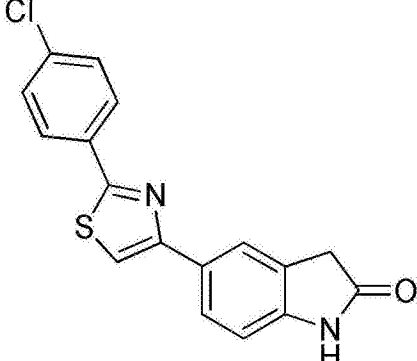
		PAI-1/uPA IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
C225		163
C227		205
C228		14.8
C229		1288

[0232] 在本文中的实施例11中所述的测定中在缓冲液(40mM的HEPES、100mM的NaCl、0.05%吐温-20、10%的DMSO, pH 7.4)中没有表现出PAI-1抑制活性的比较化合物描绘于表13中。

[0233] 表13. 所合成的比较化合物

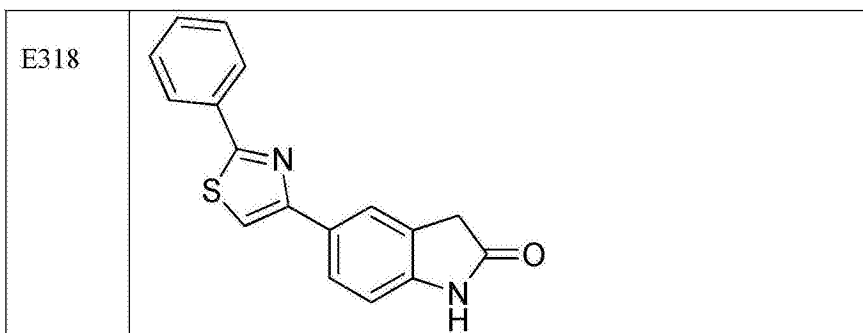
[0234]

编号	结构

E230	
E231	
E315	
E316	
E317	

[0235]

[0236]

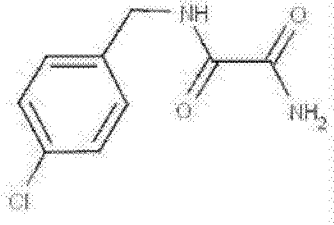
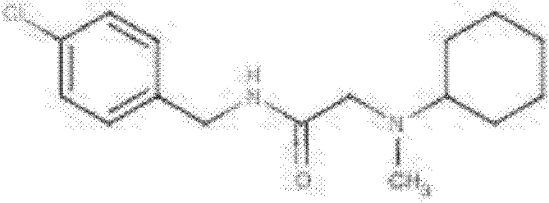
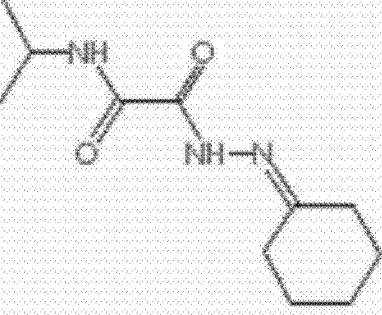
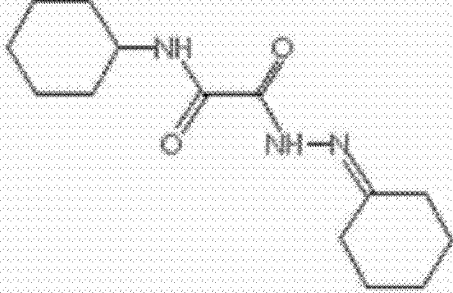
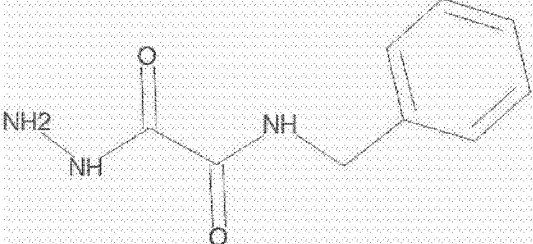


[0237] 用于本发明的方法中的化合物包括式XX至XXIX的那些化合物或其盐、酯或前药。表现出PAI-1抑制活性的式XX至XXIX的化合物描绘于表14中。

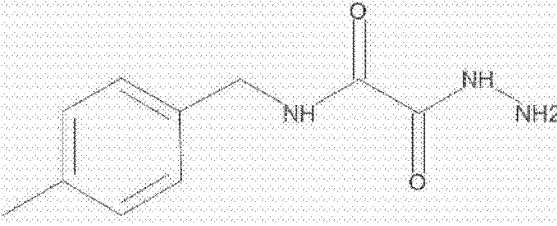
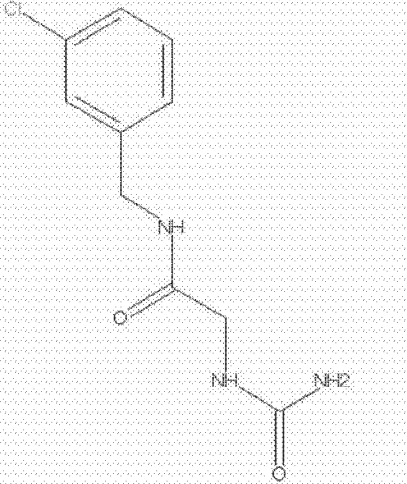
[0238] 表14. PAI-1抑制剂化合物

[0239]

化合物编号	结构	供应商
XX		Chembridge 公司
XXI		Synthon Labs 公司
XXII		Vitas M Labs 公司

XXIII		Chembridge 公司
XXIV		Chembridge 公司
XXV		Chembridge 公司
XXVI		Chembridge 公司
XXVII		Synthon Labs 公司

[0240]

XXVIII		Synthon Labs 公司
[0241] XXIX		Enamine 公司

[0242] 制备PAI-1活性抑制剂的方法

[0243] 本发明的化合物可以容易地根据下列反应方案或其改动方案,使用容易获得的起始物质、试剂以及常规的合成程序来制备。还有可能利用这些方法步骤的变化方案,这些变化方案本身对于药物化学工作人员来说是已知的并且完全在药物化学工作人员的制备技能范围内。

[0244] 本文还包括了PAI-1抑制剂的衍生物。这些衍生物包括由一种或多种水溶性聚合物分子(如聚乙二醇),或通过添加聚氨基酸(包括融合蛋白)所修饰的分子(其程序是本领域公知的)。这种衍生化可以单独地进行或可以存在多个衍生化位点。

[0245] 针对PAI-1抑制作用的初级高通量筛选

[0246] 使用下文所述的方案进行高通量筛选。所有筛选均是在密歇根大学(University of Michigan)的生命科学研究院(Life Sciences Institute)的化学基因组学中心(Center for Chemical Genomics)进行的。对于测定验证,在HEPES缓冲的盐水(HBS)和含有15mg/mL BSA的HBS这两者中对Microsource Spectrum 2000进行筛选。仅在含有15mg/mL BSA的HBS中对所有其它文库进行筛选。所筛选的纯化化合物文库是NIH临床集合(NIH Clinical Collection)文库、化学方法文库开发(Chemical Methodologies Libraries Development)(波士顿大学(Boston University))文库、Maybridge文库、Chembridge文库、ChemDiv文库、美国国家癌症研究所(National Cancer Institute)-治疗剂开发计划文库(Development Therapeutics Program Library)、开曼(Cayman)大麻素(Cannabinoid)和表观遗传学(Epigenetics)集合文库、EMD蛋白激酶集合(EMD Protein Kinase collection)文库、以及Enzo自噬(Autophagy)文库、蛋白酶(Protease)文库、天然产品(Natural products)文库、REDOX文库和Wnt通路(Wnt Pathway)文库。总共,这些文库总计约152,899种纯化的化合物。对于初级筛选,使用Thermo Scientific Multidrop Combi分

液仪添加除化合物外的所有试剂。

[0247] 简单地说,每孔添加6 $\mu$ L的于15mg/mL BSA中的15nM PAI-1,继而使用具有针点工具附件的Beckman Biomek FX液体处理系统添加200nL的化合物。每孔添加一种化合物,从而在PAI-1存在下产生约32 $\mu$ M的化合物浓度(3.2%的DMSO)。在15分钟孵育之后,每孔添加3 $\mu$ L的于HEPES缓冲盐水(HBS)中的15nM uPA,使得PAI-1和uPA的最终浓度分别是10nM和5nM。选择2:1的PAI-1:uPA比率以针对最具活性的化合物富集,这是因为在产生信号之前大于一半的PAI-1必须失活。再孵育15分钟之后,添加3 $\mu$ L于HBS中的pNA/AMC底物混合物以分别产生200 $\mu$ M和100 $\mu$ M的最终浓度。uPA和底物在不存在PAI-1的情况下的混合物用作阳性对照,而阴性对照由uPA和底物连同PAI-1一起的混合物组成。在孵育90分钟以允许底物转换之后,使用BMG Labtech Pherastar板读数器记录pNA荧光(激发/发射430/470nm)和AMC荧光(激发/发射380/470nm)的WPF猝灭。使用Tripos Benchware数据挖掘器(Dataminer)分析所有数据。

[0248] 使用这种HTS方案,在密歇根大学的化学基因组学中心(CCG)对来自15个不同集合的152,899种纯化的化合物进行了筛选。如果观测到pNA信号和AMC信号这两者的变化相对于阴性对照大于三倍的标准偏差(>3倍的SD),那么认为化合物是PAI-1失活剂。仅表现出这些报告子信号中的一种发生变化的化合物被归类为假阳性并且不被考虑进行进一步的评价。用作HTS测定质量的统计学计量的平均Z-因子值(Z')对于pNA和AMC来说分别是0.72和0.68,这表示pNA/AMC双重报告子系统是一种在统计学上优异的测定。

[0249] 由于单独地记录了pNA荧光读数和AMC荧光读数,因此还将来自每一种信号的数据单独地进行比较以研究在使用pNA或AMC的情况下相比于在使用双重报告子系统的情况下的命中率。有趣的是,对于单独的每一种报告子均观测到显著高的命中率。对单独的AMC报告子的分析揭示20.3%的化合物表现出相对于阴性对照信号变化大于3倍的SD,这例证了初级筛选的高命中率并且说明了对化合物进行归类以进行确认和跟进的困难。对于单独的pNA报告子,命中率相对于AMC是较低的,但还是高达8.7%。在对于命中标准应用这两种信号之后,总命中率显著降低到1.5%(2,363种化合物),这表示降低了7.2%-18.8%的假阳性率,这取决于使用了哪一种单个报告子。总之,这些HTS结果证实了与单报告子测定相比,应用双重报告子系统排除假阳性的有用性和效率。

[0250] 针对PAI-1抑制作用的确认和剂量-反应测试

[0251] 如对于初级测定所述对纯化的化合物进行确认测试,不同的是将化合物按一式三份点样。此外,在添加PAI-1、化合物以及uPA之后,但在添加底物混合物之前记录‘预读数’。对在3个孔中的至少2个孔中显示出pNA和AMC信号变化>3倍的SD的化合物进行进一步研究。在这个子集当中,仅选择在预读数中在2个或更少的孔中相对于阴性对照显示出信号变化<3倍的SD的化合物进行剂量-反应测试。基于这些标准,在CCG选择了300种化合物进行剂量-反应测试。对于这项分析,使用TTP Labtech Mosquito X1液体处理系统将不同体积(29-600nL)的化合物按一式两份点样,从而产生12-250 $\mu$ M的近似最终浓度。如对于初级筛选所述进行研发。

[0252] 使用PAI-1抑制剂的方法

[0253] 如本文以上所提到,预期的是,本发明的方法包括治疗与PAI-1水平升高相关的疾病或病症,所述治疗包括施用PAI-1抑制剂。在一个方面,所述受试者是哺乳动物。在一个优



选的方面,所述哺乳动物受试者是人类。

[0254] 在一个实施方案中,本发明包括PAI-1抑制剂化合物和使用所述化合物治疗与PAI-1活性相关的多种疾病或病症的方法。这些病况(例如疾病或病症)包括但不限于脂质代谢失调、肥胖、糖尿病、多囊卵巢综合征、由雌激素缺乏所诱发的骨质流失、纤维化和纤维化疾病、炎症、细胞迁移和由迁移所驱动的细胞增殖以及血管生成或血栓形成。在一个方面,这些抑制剂还预期可用于调节内源性纤维蛋白溶解以及结合药理学血栓溶解一起使用。在另一个方面,本发明包括PAI-1抑制剂化合物和使用所述化合物治疗诸如但不限于败血症、心肌梗塞以及血栓形成的急性疾病的方法,所述急性疾病与较已知未患败血症、心肌梗塞或血栓形成的正常受试者的PAI-1水平高的PAI-1水平相关。在另一个方面,本发明的PAI-1抑制剂化合物用于治疗诸如但不限于癌症、动脉粥样硬化、胰岛素抵抗、2型糖尿病、以及纤维化疾病的疾病和病症的方法中,所述疾病和病症与较已知未患这些疾病或病症的正常受试者的PAI-1水平高的PAI-1水平相关。在另一个方面,本发明包括用于调节受试者的脂质代谢的PAI-1抑制剂化合物,所述调节包括增加循环HDL和/或减少循环VLDL。

[0255] 在各个方面,PAI-1抑制剂可用于治疗任何病况,包括疾病或病症,其中降低PAI-1水平将提供益处。PAI-1抑制剂可单独使用或与其它化合物组合使用,所述其它化合物可以起作用以促进PAI-1水平的降低。

[0256] 本发明的一个治疗实施方案是向有需要的受试者提供包含一种或多种PAI-1抑制剂的组合物。在一个方面,PAI-1抑制剂是由已知的化合物分离或以化学方式合成。在另一个方面,用于治疗受试者的PAI-1抑制剂制剂是基于施用途径来选择的并且在某些方面,包括脂质体和胶束制剂以及经典的药物制剂。

[0257] PAI-1抑制剂被配制成适当的制剂并且以治疗有效量向受试者体内的一个或多个部位施用。在一个实施方案中,基于PAI-1抑制剂的疗法是经由连续或间歇性静脉内施用来实现的。在一个方面,基于PAI-1抑制剂的疗法是经由连续或间歇性肌内或皮下施用来实现的。在另一个方面,基于PAI-1抑制剂的疗法是经由口服或经颊施用来实现的。“有效量”在本发明中指的是PAI-1抑制剂化合物足以支持PAI-1、纤溶酶原激活物、HDL、LDL或VLDL的一种或多种生物活性的水平出现可观测到的变化和/或治疗方法所预期用于的适应症出现可观测到的变化的量。所述变化可以是PAI-1活性的水平降低。在一个方面,所述变化是纤溶酶原激活物和/或HDL增加和/或LDL和VLDL减少。

[0258] 在各个方面,组合物的施用是全身的或局部的,并且在另外的其它方面,包括治疗有效量的PAI-1抑制剂组合物的单部位注射。涵盖了为本领域技术人员已知的用于施用本发明的治疗性组合物的任何途径,包括例如静脉内施用、肌内施用、皮下施用、口服施用或用于长期施用的导管施用。

[0259] 或者,预期的是,在多个部位向患者递送治疗性组合物。多次施用同时进行或在数小时的时间内施用。同样预期的是,经由口服施用定期服用治疗性组合物。在某些情况下,提供治疗性组合物的连续流是有益的。定期,例如每天一次、每周一次、或每月一次施用另外的疗法。

[0260] 除了仅基于PAI-1抑制剂组合物的递送的疗法之外,还特别涵盖了组合疗法。在本发明的背景下,预期的是,PAI-1抑制剂组合物疗法类似地结合常用于治疗PAI-1、LDL以及VLDL的水平升高的其它药剂一起使用。

[0261] 为了使用本发明的方法和组合物实现适当的治疗结果,一般将提供包含PAI-1抑制剂和至少一种其它治疗剂(第二治疗剂)的组合物。在本发明的一个方面,预期的是,方法包括施用或包括至少一种另外的因子或其它药物。这些药物包括用于管理心血管疾病的药物,包括但不限于降胆固醇药,诸如他汀类(statin)、抗炎药、以及ACE抑制剂。这些药物还包括靶向神经病症的药物,包括但不限于靶向中风、癫痫发作、以及阿尔茨海默氏病的药物。在另一个方面,另外的药物包括但不限于靶向糖尿病的药物。这些均是和PAI-1水平升高相关的病症,并且因此,预期的是,可以用PAI-1抑制剂和其它已知的疗法来使用组合疗法。

[0262] 以有效产生治疗PAI-1、VLDL或LDL水平升高的所需治疗结果和/或使得如本文所述的适应症出现可检测出的变化的组合量提供组合疗法组合物。这种方法涉及同时施用PAI-1抑制剂和一种或多种第二药剂或因子。方法因此包括施用包括这两种药剂的单一组合物或药理学制剂、或同时施用两种不同的组合物或制剂,其中一种组合物包括PAI-1抑制剂治疗性组合物并且另一种组合物包括第二治疗剂。

[0263] 或者,PAI-1抑制剂治疗在第二治疗剂治疗之前或之后进行,相隔从数分钟到数周范围内的时间间隔。在其中分开地施用第二治疗剂和PAI-1抑制剂的实施方案中,一般确保在每一次递送的时间之间有意义的时间段没有结束,因此第二治疗剂和PAI-1抑制剂能够发挥有利地组合作用。在这些情况下,预期的是,在彼此相隔约12-24小时内,或作为另外一种选择,在彼此相隔约6-12小时内,或作为另外一种选择,以仅仅约12小时的延迟时间施用这两种用药程式。然而,在一些情形下,理想的是,显著地延长治疗的时间段,其中在对应的施用之间经过数天(2天、3天、4天、5天、6天或7天)至数周(1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、或8周)的时间。

[0264] 向患者全身性递送PAI-1抑制剂是一种用于递送治疗有效量的化合物以对抗疾病或病症的即刻临床表现的非常高效的方法。或者,在某些情况下,局部递送PAI-1抑制剂和/或第二治疗剂是适当的。在某个实施方案中,预期的是,在一段较长的时间内向患者递送PAI-1抑制剂。进一步预期的是,在患者的整个寿命期间服用PAI-1抑制剂以降低PAI-1、VLDL和/或LDL水平。

[0265] 药物组合物

[0266] 如本文以上所提到,本发明还涵盖了使用可用于PAI-1抑制剂疗法中的药物组合物的方法,所述药物组合物包含有效量的PAI-1抑制剂以及药学上可接受的稀释剂、防腐剂、增溶剂、乳化剂、佐剂和/或载体。这些组合物包括具有各种缓冲剂内含物(例如Tris-HCl、乙酸盐、磷酸盐)、pH值以及离子强度的稀释剂;添加剂,如洗涤剂 and 增溶剂(例如吐温80、聚山梨醇酯80)、抗氧化剂(例如抗坏血酸、偏亚硫酸氢钠)、防腐剂(例如硫柳汞、苯甲醇)、以及增量物质(例如乳糖、甘露醇);将物质并入到聚合化合物的颗粒制剂中,如聚乳酸、聚乙醇酸等,或与脂质体或胶束缔合。这些组合物将影响PAI-1抑制剂的物理状态、稳定性、体内释放速率、以及体内清除速率。参见例如《雷明顿药物科学》(Remington's Pharmaceutical Sciences)(第18版(1990年),宾夕法尼亚州伊斯顿的麦克出版公司(Mack Publishing Co., Easton, PA))的第1435-1712页,所述参考文献以引用的方式并入本文。

[0267] 无菌的液体组合物包括溶液、悬浮液、乳液、糖浆以及酞剂。本发明的化合物可以溶解或悬浮在药学上可接受的载体中,所述载体如无菌水、无菌的有机溶剂或这两者的混

合物。在一个方面,所述液体载体是适合于胃肠外注射的液体载体。在化合物具有足够的可溶性的情况下,它们可以在使用或不使用合适的有机溶剂的情况下直接溶解在生理盐水中,所述有机溶剂如丙二醇或聚乙二醇。如果需要的话,可以在淀粉或羧甲基纤维素钠水溶液中、或在合适的油(如花生油)中制成细分的化合物的分散体。可以通过肌内、腹膜内或皮下注射来利用液体药物组合物,所述液体药物组合物是无菌溶液或悬浮液。在许多情况下,可以使用液体组合物形式来替代优选的固体口服施用方法。

[0268] 优选的是,制备化合物的单位剂型以用于标准的施用方案。以这种方式,组合物可以在医师的指导下容易地被细分成更小的剂量。举例来说,可以封包的粉剂、小瓶或安瓿的形式以及在一个方面,以胶囊或片剂的形式制成单位剂量。组合物的这些单位剂型中所存在的活性化合物可以约一克至约十五克或更多的量存在以根据患者的具体需要每天单次或多次施用。活性化合物的日剂量将根据以下因素而变化:施用途径、患者的体格、年龄以及性别、疾病状态的严重程度、以及如通过血液分析和患者的恢复率所追踪的对疗法的反应。

[0269] 所要使用的精确剂量取决于多种因素,包括宿主,无论是兽医学上还是人类医学上;所治疗的病况,例如疾病或病症的性质和严重程度;施用方式以及所使用的具体活性物质。可以通过任何常规的途径,特别是通过肠内途径,以及在一个方面,通过口服途径以片剂或胶囊的形式施用化合物。所施用的化合物可以在适当时呈游离形式或药学上可接受的盐形式,以用作药物,特别是用于预防性或治愈性治疗动脉粥样硬化和后遗症(心绞痛、心肌梗塞、心律不齐、心力衰竭、肾衰竭、中风、外周动脉闭塞、以及相关的疾病状态)。这些措施将减缓疾病状态的进展速率并且协助身体以自然的方式逆转过程方向。

[0270] PAI-1抑制剂或其衍生物可以被配制用于注射、或口服、经鼻、肺部、局部或其它类型的施用,如本领域技术人员将认识到的那样。所述制剂可以是液体或可以是复原用固体,如冻干。

[0271] PAI-1抑制剂或其衍生物可用于治疗与PAI-1、LDL或VLDL水平升高相关的急性或慢性疾病或病症中的任一种。在一些方面,通过施用PAI-1抑制剂所缓解或调节的病况(例如疾病或病症)是特征在于VLDL和LDL水平升高的那些病况。这些病况可以是随着用于其它目的的疗程,如化学疗法或放射疗法所诱发的。预期的是,这些病况可能由基因遗传所引起或是另一种病况或药物的副作用。

[0272] 短语“药学上或药理学上可接受的”指的是分子实体和组合物在向动物或人类施用不会产生不利的、过敏的、或其它不良反应。如本文所用的“药学上可接受的载体”包括任何和所有溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。对于药学活性物质使用这些介质和试剂是本领域公知的。除非任何常规的介质或试剂与本发明的载体或细胞不相容,否则预期将它用于治疗性组合物中。辅助性活性成分也可以被并入到组合物中。

[0273] 本发明的方法中所用的活性组合物包括经典的药物制剂。根据本发明的这些组合物的施用将经由任何常用的途径,只要经由该途径可达到靶组织即可。可以通过任何常规方法将药物组合物引入到受试者体内,例如通过静脉内、皮内、肌肉、乳房内、腹膜内、鞘内、眼球后、肺内(例如定期释放(term release));通过口服、舌下、经鼻、肛门、阴道或透皮递送、或通过在特定的部位手术植入。治疗可以由单次给药或在一段时间内的多次给药组成。

[0274] 活性化合物可以被制备用于以游离碱或药理学上可接受的盐在与表面活性剂(如羟丙基纤维素)适当混合的水中的溶液形式施用。还可以在甘油、液体聚乙二醇、和其混合物中以及在油中制备分散体。在普通的储存和使用条件下,这些制剂含有防腐剂以防止微生物生长。

[0275] 适合于注射使用的药物形式包括无菌水溶液或分散体以及用于临时制备无菌注射溶液或分散体的无菌粉末。在所有情况下,所述形式必须是无菌的并且必须是流体以达到容易注射的程度。它在制造和储存的条件下必须是稳定的并且必须经过防腐处理以防止微生物(如细菌和真菌)的污染作用。载体可以是含有例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇以及液体聚乙二醇等)、其合适的混合物以及植物油的溶剂或分散介质。可以例如通过使用如卵磷脂的包衣、在分散体的情况下通过维持所需的粒度以及通过使用表面活性剂来维持适当的流动性。可以通过各种抗细菌剂和抗真菌剂,例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸、硫柳汞等来防止微生物的作用。在许多情况下,将优选的是,包括等渗剂(例如糖或氯化钠)。可以通过在组合物中使用延迟吸收剂(例如单硬脂酸铝和明胶)来使可注射组合物的吸收延长。

[0276] 通过将所需量的活性化合物并入到必要时含有上文所列举的其它成分中的若干种的适当的溶剂中,继而过滤灭菌来制备无菌可注射溶液。一般来说,通过将各种经过灭菌的活性成分并入到含有基本分散介质和上文所列举的那些成分中的所需的其它成分的无菌媒介物中来制备分散体。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下,优选的制备方法是真空干燥和冷冻干燥技术,这些技术产生活性成分加上来自其先前无菌过滤的溶液的任何另外的所需成分的粉末。

[0277] 如本文所用的“药学上可接受的载体”包括任何和所有溶剂、分散介质、包衣、抗细菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。对于药学活性物质使用这些介质和试剂是本领域公知的。除非任何常规的介质或试剂与活性成分不相容,否则预期将它用于治疗性组合物中。辅助性活性成分也可以被并入到组合物中。

[0278] 对于本发明的方法中所用的组合物的口腔施用,可以将PAI-1抑制剂与赋形剂一起并入并且以不可摄取的漱口剂和洁齿剂的形式使用。可以通过将所需量的活性成分并入到适当的溶剂,如硼酸钠溶液(多贝尔氏溶液(Dobell's Solution))中来制备漱口剂。或者,可以将活性成分并入到含有硼酸钠、甘油以及碳酸氢钾的抗菌性漱口剂中。还可以使活性成分分散在洁齿剂中,包括:凝胶、膏、粉末以及浆料。可以将活性成分以治疗有效量添加到膏状洁齿剂中,所述洁齿剂可以包括水、粘结剂、研磨剂、调味剂、发泡剂、以及湿润剂。

[0279] 本发明的方法中所用的组合物可以被配制成中性或盐形式。药学上可接受的盐包括酸加成盐(与蛋白质的游离氨基所形成),并且所述酸加成盐是与例如像盐酸或磷酸的无机酸或如乙酸、草酸、酒石酸、扁桃酸等有机酸形成的。与游离羧基所形成的盐也可以由无机碱,例如像氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化铵、氢氧化钙或氢氧化铁;以及有机碱,如异丙胺、三甲胺、组氨酸、普鲁卡因等产生。

[0280] 本发明的方法中所用的组合物可以被配制成胶束或脂质体。这些制剂包括空间上稳定的胶束或脂质体以及空间上稳定的混合胶束或脂质体。这些制剂可以有助于细胞内递送,这是因为已知脂质体和胶束的脂质双层会与细胞的质膜融合并且将所包封的内容物递送到细胞内区室中。

[0281] 在配制之后,将以与剂量制剂相容的方式并且以治疗有效量施用溶液。所述制剂容易以多种剂型施用,如可注射溶液、药物释放胶囊等。对于以例如水溶液形式胃肠外施用,如果有必要,所述溶液应当被适当地缓冲,并且首先用足够的盐水或葡萄糖使液体稀释剂等渗。这些特定的水溶液特别适合于静脉内、肌内、皮下以及腹膜内施用。

[0282] 一般来说,PAI-1抑制剂或其衍生物的有效量将根据接受者的年龄、体重、以及疾病或病症的情况或严重程度来确定。参见雷明顿药物科学(同上)的第697-773页,其以引用的方式并入本文。通常,可以使用每天每公斤体重约0.001 $\mu$ g至每天每公斤体重约1000 $\mu$ g的剂量,但可以使用更多或更少,如熟练的专业人员所将认识到的那样。可以每天给药一次或多次,或不太频繁地给药,并且可以结合如本文所述的其它组合物一起给药。应当指出的是,本发明不限于本文所述的剂量。

[0283] 通过以约一克的最低日剂量开始治疗方案,可以使用PAI-1的血液水平和患者的症状缓解分析来确定是否适应更大的剂量。本领域技术人员将了解的是,用于治疗的适当的剂量水平因此将在某种程度上根据以下因素而变化:所递送的分子、正使用的PAI-1抑制剂化合物的适应症、施用途径、以及患者的体格(体重、体表或器官大小)和情况(年龄和一般健康情况)。因此,临床医师可以对剂量进行滴定并且可以调整施用途径以获得最佳的治疗作用。典型的剂量可以在约0.1 $\mu$ g/kg至最多约100mg/kg或更多的范围内,这取决于上述因素。在其它实施方案中,所述剂量可以在0.1 $\mu$ g/kg至约100mg/kg;或1 $\mu$ g/kg至约100mg/kg;或5 $\mu$ g/kg至约100mg/kg的范围内。

[0284] “单位剂量”被定义为分散在合适的载体中的治疗性组合物的离散量。可以通过初始推注,继而连续输注以维持药物产品的治疗性循环水平来进行胃肠外施用。本领域的普通技术人员将容易对如通过良好医疗实践和单个患者的临床情况所确定的有效剂量和施用方案进行优化。

[0285] 给药频率将取决于药剂的药物代谢动力学参数和施用途径。最佳的药物制剂将由本领域技术人员根据施用途径和所需的剂量来确定。参见例如雷明顿药物科学(同上)的第1435-1712页,其以引用的方式并入本文。这些制剂可以影响所施用的药剂的物理状态、稳定性、体内释放速率、以及体内清除速率。根据施用途径,可以根据体重、体表面积或器官大小计算合适的剂量。常规地由本领域的普通技术人员在不进行过度实验的情况下,特别是根据本文所公开的剂量信息和测定以及在动物或人类临床试验中所观测到的药物代谢动力学数据来对为确定适当的治疗剂量所需的计算进行进一步改进。

[0286] 可以经由使用用于确定心肌梗塞水平的公认测定结合相关的剂量-反应数据来确定适当的剂量。最终的给药方案将由主治医师在考虑到改变药物作用的因素的情况下确定,所述因素例如药物的具体活性、患者的损伤严重程度和反应性、患者的年龄、病况、体重、性别以及饮食、任何感染的严重程度、施用时间以及其它临床因素。在进行研究时,将出现关于适当剂量水平和治疗持续时间的另外的信息。

[0287] 将了解的是,本发明的药物组合物和治疗方法可用于人类医学和兽医学的领域中。因此,所要治疗的受试者在一个方面是哺乳动物。在另一个方面,所述哺乳动物是人类。

[0288] 此外,本发明涵盖了一种试剂盒,所述试剂盒含有包含如下组合物的部件,所述组合物包含PAI-1抑制剂;以及任选的可用于治疗本文所论述的急性和慢性疾病和病症的至少一种另外的因子。

[0289] 本发明的化合物用于治疗疾病或病症的用途

[0290] 本发明包括了本发明化合物用于生产用于治疗或预防本文论述的任何疾病或病症的药物的用途。

[0291] 本发明的化合物是丝氨酸蛋白酶抑制因子PAI-1的抑制剂,并且因此可用于治疗或预防涉及PAI-1的产生和/或作用的那些过程。因此,在各个方面,本发明的化合物可用于预防或减少血栓形成、促进血栓溶解、减少纤维化、调节脂质代谢,如本文所述。在一个方面,本发明的化合物可用于治疗高胆固醇以及与PAI-1水平升高相关的疾病或病症。在另一个方面,本发明的化合物可用于治疗VLDL或LDL水平升高。在另一个方面,本发明的化合物可用于升高HDL。

[0292] 在一个方面,本发明包括了这些抑制剂用于治疗与PAI-1活性相关的多种疾病或病症的用途。这些疾病或病症包括但不限于炎症、细胞迁移以及由迁移驱动的细胞增殖、以及血管生成或血栓形成。这些抑制剂还预期可用于调节内源性纤维蛋白溶解以及结合药理学血栓溶解一起使用。

[0293] 本发明的化合物可用于治疗或预防胰岛素抵抗、肥胖、非胰岛素依赖型糖尿病、心血管疾病、与冠状动脉相关的血栓形成性事件以及脑血管疾病。本发明的化合物还可用于抑制涉及血栓形成和促血栓形成状态的疾病过程,所述状态包括但不限于动脉粥样硬化斑块的形成、静脉和动脉血栓形成、心肌缺血、心房纤颤、深静脉血栓形成、凝血综合征、肺血栓形成、脑血栓形成、手术(如关节置换术)的血栓栓塞性并发症、以及外周动脉闭塞。这些化合物还可用于治疗与心房纤颤相关或由心房纤颤产生的中风。

[0294] 本发明的化合物还被用于治疗或预防高胆固醇以及与这种病况相关的疾病或病症。

[0295] 本发明的化合物还可以用于治疗与细胞外基质积聚相关的疾病或病症,包括但不限于肾纤维化、慢性阻塞性肺病、多囊卵巢综合征、再狭窄、肾血管疾病以及器官移植排斥反应。

[0296] 本发明的化合物还可以用于治疗恶性肿瘤以及与新生血管生成相关的疾病或病症(如糖尿病性视网膜病)。

[0297] 本发明的化合物还可以结合如下的过程或程序以及在所述过程或程序之后使用,所述过程或程序涉及维持血管通畅,包括血管手术、血管移植以及支架通畅、器官、组织以及细胞植入和移植。

[0298] 本发明的化合物还可以用于治疗阿尔茨海默氏病。这种方法还可以被表征为在遭受或患有阿尔茨海默氏病的哺乳动物,特别是人类中PAI-1对纤溶酶原激活物的抑制。这种方法还可以被表征为使哺乳动物,特别是遭受或患有阿尔茨海默氏病的那些哺乳动物的纤溶酶浓度水平升高或正常的方法。

[0299] 本发明的化合物可以用于通过调节基质细胞增生和细胞外基质蛋白的增加来治疗伴有髓样化生的骨髓纤维化。

[0300] 本发明的化合物还可以结合含有蛋白酶抑制剂的高活性抗逆转录病毒疗法(HAART)使用以用于治疗接受这种疗法的感染了HIV-1的患者的起因于纤维蛋白溶解损伤和高凝状态的疾病或病症。

[0301] 本发明的化合物可以用于治疗糖尿病性肾病和与肾病相关的肾透析。

[0302] 本发明的化合物可以用于治疗癌症、败血病；增生性疾病，如银屑病；改善凝血稳态、脑血管疾病、微血管疾病、高血压、痴呆、动脉粥样硬化、骨质疏松症、关节炎、哮喘、心力衰竭、心律不齐、心绞痛、以及作为激素替代剂；治疗、预防或逆转动脉粥样硬化、阿尔茨海默氏病、骨质疏松症、骨质减少的进展；减少炎症标志物、纤维蛋白溶解性病症、减少C-反应蛋白、或预防或治疗低度血管炎症、中风、痴呆、冠状动脉性心脏病、心肌梗塞的一级和二级预防、稳定型和不稳定型心绞痛、冠状动脉事件的一级预防、心血管事件的二级预防、外周血管疾病、外周动脉疾病、急性血管综合征、深静脉血栓形成、肺栓塞、降低接受心肌血管重建术程序的风险；微血管疾病，如肾病、神经病、视网膜病和肾病综合征；高血压、1型和2型糖尿病以及相关疾病、肥胖、胰岛素抵抗、高血糖症、高胰岛素血症、恶性病变、恶变前病变、胃肠恶性肿瘤、脂肪肉瘤以及上皮肿瘤；增生性疾病，如银屑病；改善凝血稳态、和/或改善内皮功能、以及所有形式的脑血管疾病。

[0303] 本发明的化合物可以用于在伤口愈合中局部施用以预防瘢痕形成。

[0304] 本发明的化合物可以用于治疗炎症疾病、败血性休克和与感染相关的血管损伤以及用于处理透析中所用的血液和血液制品、处于流体相中的血液储存，特别是离体血小板聚集。本发明的化合物还可以与促血栓溶解剂、纤维蛋白溶解剂以及抗凝剂组合使用。本发明的化合物还可以在医院环境中在分析血液化学期间被添加到人类血浆中以确定其纤维蛋白溶解的能力。

[0305] 本发明还包含用于在哺乳动物中，在一个方面，在人类中治疗、预防、改善或抑制本文所提到的疾病中的每一种的方法，所述方法各自包括向需要这种治疗、预防、改善或抑制的哺乳动物施用药学或治疗有效量的本发明的化合物或其药学上可接受的盐、酯或前药形式。

[0306] 本发明的化合物还可以用于治疗癌症，包括但不限于乳腺癌和卵巢癌，并且用作鉴定转移性癌症的成像剂。

[0307] 应了解的是，本文的化合物的药学或治疗有效量指的是所讨论的化合物将足以抑制有需要的哺乳动物的丝氨酸蛋白酶抑制因子PAI-1达到足够的程度以提供对所讨论的病况的理想改善作用或提供对丝氨酸蛋白酶抑制因子PAI-1的足够的抑制作用以预防、抑制或限制所讨论的疾病或病况的生理基础的发作的量。

[0308] 实施例

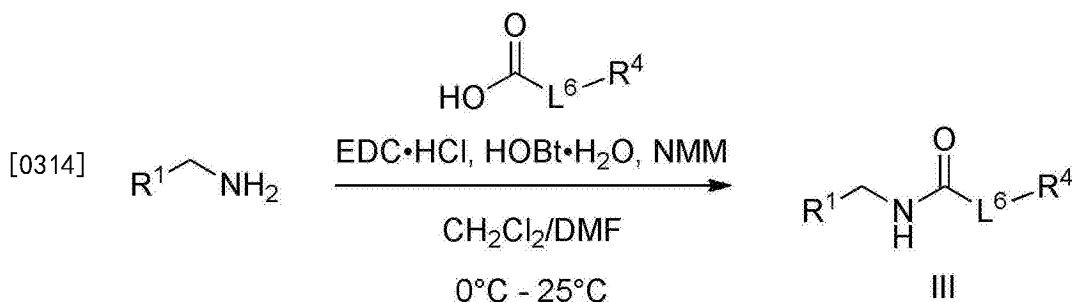
[0309] 参考下列非限制性实施例更详细地描述了本发明，提供所述实施例以更充分地说明本发明，但并不被视为对本发明的范围的限制。本领域技术人员将了解的是，这些实施例中所述的技术代表了由本申请的发明人所描述的在实施本发明中运作良好的技术，并且因而构成了用于实施本发明的优选方式。然而，应当了解的是，本领域技术人员根据本公开应当了解的是，可以在所公开的具体方法中作出许多变化并且仍获得同样的或类似的结果而不背离本发明的精神和范围。

[0310] 如本文以上所论述，PAI-1水平升高已牵涉到多种疾病和病症。用作PAI-1选择性抑制剂的的治疗剂的研发可以提供治疗这些疾病和病症的方法。描述了多种化合物的设计和合成以及它们与PAI-1的结构：活性关系。用于获得PAI-1抑制剂的另外的合成方法公开在US 2010/0137194中，US 2010/0137194以引用的方式整体并入本文。

[0311] 实施例1-式III化合物的合成

[0312] 一般程序A

[0313] 式III的化合物是根据下文所述以及如下列方案中所示的程序来合成：



[0315] 向适当取代的羧酸 (1当量)、适当取代的胺 (1.2当量)、N-甲基吗啉 (1当量)、以及HOBT·H<sub>2</sub>O (1当量) 在2.5:1无水CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>和DMF中的0℃溶液中分批添加EDC·HCl (1当量)。使所得的浆料在搅拌下升温到室温过夜。将反应混合物通过旋转蒸发浓缩,用4:1的EtOAc和己烷的溶液稀释,用0.1N HCl (2×)、饱和NaHCO<sub>3</sub> (2×) 以及盐水 (2×) 洗涤。将有机相用无水MgSO<sub>4</sub>干燥并且在真空中浓缩。将所得的固体用氯仿研磨并且将在过滤后获得的固体在真空中干燥,得到式III的化合物。

[0316] N-(4-氯代-3-(三氟甲基)苯基)-3-(3,4-二羟基苯基)丙酰胺 (化合物C330) 的合成

[0317] N-(4-氯代-3-(三氟甲基)苯基)-3-(3,4-二羟基苯基)丙酰胺 (化合物C330) 是根据一般程序A来合成。向3,4-二羟基氢化肉桂酸 (205.8mg, 1.13mmol)、4-氯代-3-(三氟甲基)苯基胺 (0.2mL, 1.36mmol)、N-甲基吗啉 (0.12mL, 1.13mmol) 以及HOBT·H<sub>2</sub>O (173.0mg, 1.13mmol) 在5mL的无水CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>和2mL的DMF中的0℃溶液中分批添加EDC·HCl (216.6mg, 1.13mmol)。使所得的浆料在搅拌下升温到室温过夜。将反应混合物通过旋转蒸发浓缩,用30mL的4:1的EtOAc和己烷的溶液稀释,用0.1N HCl (2×)、饱和NaHCO<sub>3</sub> (2×) 以及盐水 (2×) 洗涤。将有机相用无水MgSO<sub>4</sub>干燥并且在真空中浓缩。将所得的固体用氯仿研磨并且将在过滤后获得的固体在真空中干燥,得到235mg (48%) 呈浅黄色结晶固体状的产物。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz) δ8.66 (s, 1H), 8.59 (s, 1H), 8.35 (t, J=6.0Hz, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.57 (d, J=8.2Hz, 1H), 7.31 (d, J=8.2Hz, 1H), 6.57 (d, J=8.2Hz, 1H), 6.54 (d, J=1.8Hz, 1H), 6.39 (dd, J=1.8, 8.2Hz, 1H), 4.27 (d, J=6.0Hz, 2H), 2.62 (t, J=7.8Hz, 2H), 2.33 (t, J=7.7Hz, 2H)。<sup>13</sup>C NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 100MHz) δ172.32, 145.53, 143.89, 140.46, 133.24, 132.45, 131.99, 129.25, 126.99 (q, J=5.7Hz), 126.53 (q, J=30.5Hz), 125.96, 123.41 (q, J=270.8Hz), 119.30, 116.29, 115.92, 41.54, 37.90。C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>3</sub>Cl的HRMS-DART计算值: [M+H]<sup>+</sup> 374.07707, 实测值: 374.07880。

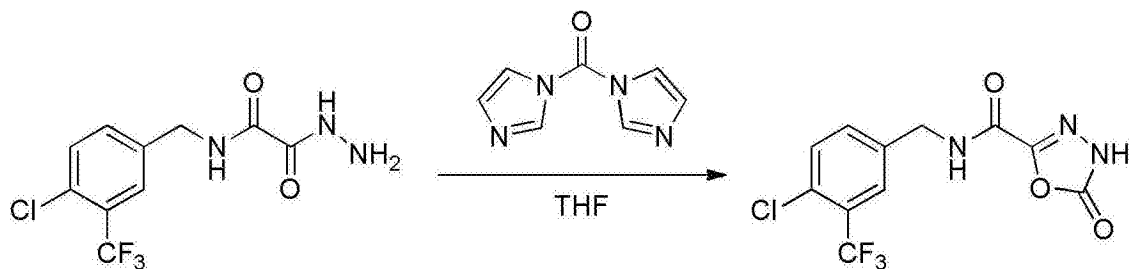
[0318] 下列化合物也是根据一般程序A来合成: C279、C286、C330、C344、C345、C346、C347、C348、C356、C357、C358、C359、C360、C361、C363、C364。

[0319] N-(4-氯代-3-(三氟甲基)苯基)-5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-甲酰胺 (化合物C285) 的合成

[0320] N-(4-氯代-3-(三氟甲基)苯基)-5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-甲酰胺 (C285) 是根据下文所述以及如下列方案中所示的程序来合成：



[0321]



[0322] 向化合物C251 (0.125g, 0.422mmol) 在6mL四氢呋喃中的溶液中添加1,1'-羰基二咪唑 (0.082g, 0.506mmol)。在室温下将混合物搅拌18小时,此时将反应物用1N HCl骤冷,溶解在30mL乙酸乙酯中,并且用盐水洗涤。将有机层干燥,过滤并且在真空中浓缩。将所得的残余物用氯仿研磨并且过滤,得到0.087g (64%) 呈固体状的产物 (化合物C285)。

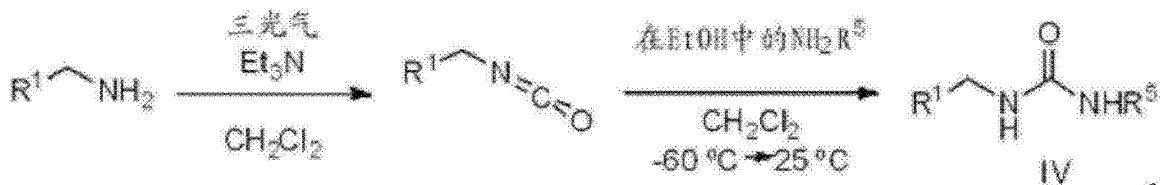
[0323] 化合物C299和C306是根据以上程序来制备,不同的是分别使用化合物C282和化合物C305代替化合物C251。

[0324] 实施例2-式IV化合物的合成

[0325] 一般程序B

[0326] 式IV的化合物是根据下文所述以及如下列方案中所示的程序来合成:

[0327]



[0328] 步骤1:在搅拌下向三光气 (1当量) 在二氯甲烷中的0℃溶液中逐滴添加适当取代的胺 (2.5当量)。然后添加三乙胺 (4.7当量) 的二氯甲烷溶液。将混合物在0℃下搅拌5分钟,然后在25℃下搅拌过夜。将反应混合物在真空中浓缩,用乙酸乙酯研磨,并且过滤。将滤液在真空中浓缩,得到异氰酸酯产物。

[0329] 步骤2:将羟胺 (1当量) 的乙醇溶液添加到适当取代的异氰酸酯 (1当量) 在无水二氯甲烷中的-60℃溶液中。使混合物升温到室温并且搅拌18小时。将反应溶液在冰浴中冷却并且趁冷过滤。将滤液在真空中浓缩并且将所得的残余物溶解在乙酸乙酯中并且用盐水 (1×) 洗涤。将有机层分离,干燥,过滤并且在真空中浓缩。将所得的残余物用氯仿研磨并且过滤,得到式IV的化合物。

[0330] 异氰酸4-氯代-3-三氟甲基苯甲酯的合成

[0331] 在搅拌下向三光气 (0.630g, 2.12mmol) 在10mL二氯甲烷中的0℃溶液中逐滴添加4-氯代-3-三氟甲基苯甲胺 (0.800mL, 5.23mmol)。然后添加三乙胺 (1.39mL, 10mmol) 在5mL二氯甲烷中的溶液。白色沉淀物立即形成。将混合物在0℃下搅拌5分钟,然后在25℃下搅拌过夜。将反应混合物在真空中浓缩,用乙酸乙酯研磨,并且过滤。将滤液在真空中浓缩,得到1.19g (97%) 呈澄清油状的异氰酸4-氯代-3-三氟甲基苯甲酯。

[0332] 1-(4-氯代-3-(三氟甲基)苯甲基)-3-羟基脲 (化合物C284) 的合成

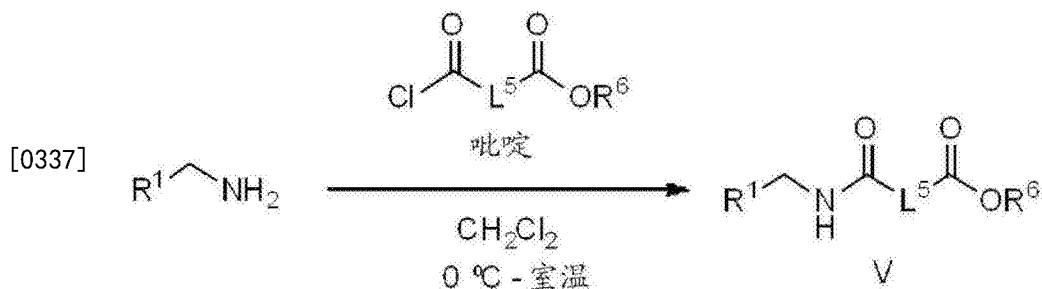
[0333] 通过以下步骤来制备羟胺的乙醇溶液:在0℃下将25mmol NaOH在55mL绝对乙醇中的溶液添加到25mmol 盐酸羟胺在60mL绝对乙醇中的正搅拌的悬浮液中。将8.9mL的羟胺

(1.93mmol)的乙醇溶液添加到异氰酸4-氯代-3-三氟甲基苯甲酯(0.455g,1.93mmol)在10mL无水二氯甲烷中的-60℃溶液中。使混合物升温到室温并且搅拌18小时。将反应溶液在冰浴中冷却并且趁冷过滤。将滤液在真空中浓缩并且将所得的残余物溶解在30mL乙酸乙酯中并且用盐水(1×)洗涤。将有机层分离,干燥,过滤并且在真空中浓缩。将所得的残余物用氯仿研磨并且过滤,得到0.140g(27%)呈白色固体状的化合物C284。

[0334] 实施例3-式V化合物的合成

[0335] 一般程序C

[0336] 式V的化合物是根据下文所述以及如下列方案中所示的程序来合成:



[0338] 向适当取代的胺(1当量)和吡啶(3.7当量)在二氯甲烷中的0℃溶液中逐滴添加适当取代的氯代羰基酯(1当量)。将溶液从冰浴中取出并且使其反应30分钟。将反应混合物用0.2N HCl(2×)、饱和NaHCO<sub>3</sub>(2×)以及盐水(2×)洗涤,然后用MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在真空中浓缩,得到式V的化合物。

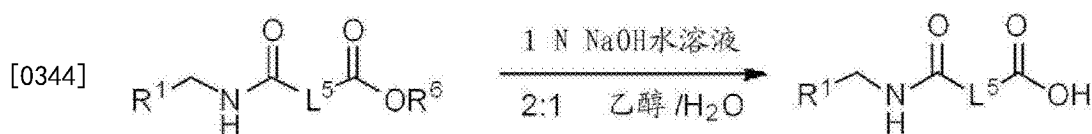
[0339] 2-((4-氯代-3-(三氟甲基)苯甲基)氨基)-2-氧代乙酸乙酯(化合物C256)的合成

[0340] 2-((4-氯代-3-(三氟甲基)苯甲基)氨基)-2-氧代乙酸乙酯(化合物C256)是根据一般程序C来合成。向4-氯代-3-三氟甲基苯甲胺(187μL,1.23mmol)和吡啶(370μL,4.6mmol)在二氯甲烷(6mL)中的0℃溶液中逐滴添加2-氯代-2-氧代乙酸乙酯(170μL,1.25mmol)。将溶液从冰浴中取出并且使其反应30分钟。将反应混合物用0.2N HCl(2×)、饱和NaHCO<sub>3</sub>(2×)以及盐水(2×)洗涤,然后用MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在真空中浓缩,得到0.381g呈白色固体状的化合物C256(74%)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>,400MHz) δ7.48(m,3H),4.53(d,J=6.4Hz,2H),4.35(q,J=7.3Hz,6.9Hz,2H),1.38(t,J=6.9Hz,3H);<sup>13</sup>C NMR(CDCl<sub>3</sub>,100MHz) δ160.48,156.87,136.25,132.48,131.94,131.85,128.77(q,J=31.5Hz),127.15(q,J=4.8Hz),122.69(q,J=271.7Hz),63.53,42.89,13.97。

[0341] 下列化合物也是根据一般程序C来合成:C256、C259、C265、C267、C276、C277、C288。

[0342] 一般程序D

[0343] 羧酸是根据下文所述以及如下列方案中所示的程序来合成:



[0345] 将适当取代的酯(1当量)溶解在2:1的乙醇和水的溶液中。将1.0N NaOH(4当量)添加到反应物中。在TLC分析指示起始物质已经被完全消耗之后,使用约3当量的1.0N HCl使反应物骤冷。将反应物在冰上冷却,同时形成沉淀物,然后经由过滤浓缩,得到产物羧酸。

[0346] 2-((4-氯代-3-(三氟甲基)苯甲基)氨基)-2-氧代乙酸(化合物C309)的合成

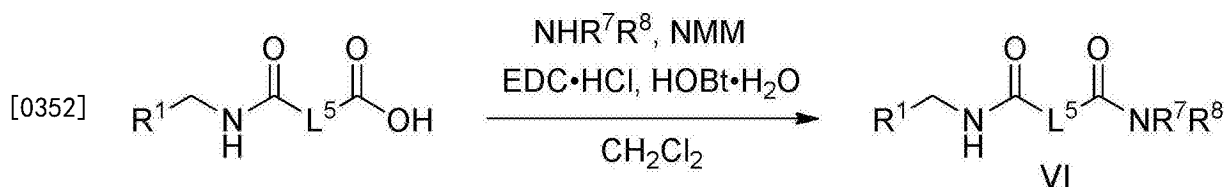
[0347] 2-((4-氯代-3-(三氟甲基)苯基)氨基)-2-氧代乙酸(化合物C309)是根据一般程序D来合成。将2-((4-氯代-3-(三氟甲基)苯基)氨基)-2-氧代乙酸乙酯(324.7mg, 1.0mmol)溶解在12ml的2:1的乙醇和水的溶液中。将4ml的1.0N NaOH(4.0mmol)添加到反应物中。在约5分钟之后,TLC分析指示起始物质已经被完全消耗。使用约3当量的1.0N HCl(12ml)使反应物骤冷。将反应物在冰上冷却,同时形成沉淀物,然后经由过滤浓缩,得到143mg(50%)呈白色固体状的产物。<sup>1</sup>H NMR(DMSO-d<sub>6</sub>,400MHz) δ9.42(t,J=6.0Hz,1H),7.65(d,J=8.3Hz,1H),7.73(d,J=1.8Hz,1H),7.54(dd,J=8.3Hz,1H),4.34(d,J=6.44Hz,2H);<sup>13</sup>C NMR(DMSO-d<sub>6</sub>,100MHz) δ162.38,159.10,139.26,133.70,132.15,129.70(q,J=1.9Hz),127.39(q,J=4.8Hz),126.95(q,J=30.5Hz),123.38(q,J=271.7Hz),42.09。产率%:50.74%。C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>ClF<sub>3</sub>NO<sub>3</sub>的HRMS-DART计算值:282.01448,实测值:282.01169。

[0348] 下列化合物也是根据一般程序D来合成:C311。

[0349] 实施例4-式VI化合物的合成

[0350] 一般程序E

[0351] 式VI的化合物是根据下文所述以及如下列方案中所示的程序来合成:



[0353] 向适当取代的羧酸(1当量)、适当取代的胺(1.15当量)、1-羟基苯并三唑[HOBt·H<sub>2</sub>O](1.15当量)、N-甲基吗啉[NMM](1.15当量)在二氯甲烷中的混合物中添加1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺盐酸盐(EDC·HCl)(1.15当量)并且搅拌过夜。将所得溶液用乙酸乙酯稀释并且用1N HCl(2×)、饱和NaHCO<sub>3</sub>(2×)以及盐水溶液洗涤,用MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在真空中浓缩,得到式VI的化合物。

[0354] N-(4-氯代-3-(三氟甲基)苯基)-N'-甲氧基草酰胺(化合物C320)的合成

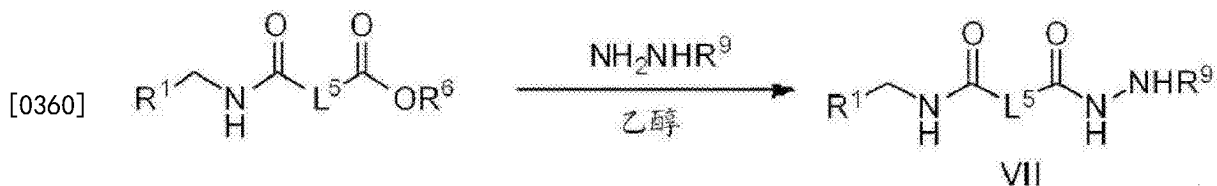
[0355] N-(4-氯代-3-(三氟甲基)苯基)-N'-甲氧基草酰胺(化合物C320)是根据一般程序E来合成。向2-((4-氯代-3-(三氟甲基)苯基)氨基)-2-氧代乙酸(103.8mg, 0.369mmol)、甲氧基胺盐酸盐(36.9mg,0.426mmol)、1-羟基苯并三唑[HOBt·H<sub>2</sub>O](65.8mg, 0.426mmol)、N-甲基吗啉[NMM](47.0μl,0.426mmol)在二氯甲烷(4ml)中的混合物中添加1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺盐酸盐(EDC·HCl)(82.4mg,0.426mmol)并且搅拌过夜。将所得溶液用约20ml的乙酸乙酯稀释并且用1N HCl(2×)、饱和NaHCO<sub>3</sub>(2×)以及盐水溶液洗涤,用MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在真空中浓缩,得到0.0541g(47.2%)呈白色固体状的产物。<sup>1</sup>H NMR(DMSO-d<sub>6</sub>,400MHz) δ12.11(bs,1H),9.45(t,J=5.9Hz,1H),7.73(d,J=1.8Hz,1H),7.65(d,J=8.2Hz,1H),7.53(dd,J=6.8Hz,J=1.4Hz,1H),4.33(d,J=6.4Hz,2H),3.59(s,3H);<sup>13</sup>C NMR(DMSO-d<sub>6</sub>,100MHz) δ160.17,156.99,139.26,133.78,132.16,129.70,127.52(q,J=4.77Hz),126.92(q,J=31.46Hz),223.38(q,J=270.8Hz),63.67,41.83; C<sub>11</sub>H<sub>11</sub>ClF<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>的HRMS-DART计算值:[M+H]<sup>+</sup>311.04103,实测值:311.03891。

[0356] 下列化合物也是根据一般程序E来合成:C280、C300、C313、C314、C320、C323、C326、C328、C334、C342。

[0357] 实施例5-式VII化合物的合成

[0358] 一般程序F

[0359] 式VII的化合物是根据下文所述以及如下列方案中所示的程序来合成：



[0361] 将在实施例3中根据一般程序C所制备的式V的适当取代的化合物(1当量)溶解在乙醇中。然后逐滴添加适当取代的含水肼(2当量)。在室温下将混合物搅拌48小时。将溶液过滤,得到式VII的化合物。

[0362] 化合物C301的合成

[0363] 化合物C301是根据一般程序F来合成。将2-(2,3-二氯苯氨基)-2-氧代乙酸乙酯(88.5mg,0.32mmol,根据一般程序C)溶解在5mL乙醇中。然后逐滴添加50%含水肼水合物(41μL,0.64mmol)。在室温下将混合物搅拌48小时。将溶液过滤,得到0.2045g(定量产率)呈白色固体状的产物。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>,400MHz) δ10.06(bs,1H),9.29(t,J=6.0Hz,1H),7.52(dd,J=1.4,7.8Hz,1H),7.31(t,J=7.8Hz,1H),7.17(dd,J=1.4,7.8Hz,1H),4.52(bs,2H),4.38(d,J=6.4Hz,2H);<sup>13</sup>C-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>,100MHz) δ160.67,158.24,138.79,132.21,130.29,129.59,128.59,127.48,41.31;C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>的HRMS-DART计算值:[M+H<sup>+</sup>]262.01500,实测值:262.00989。

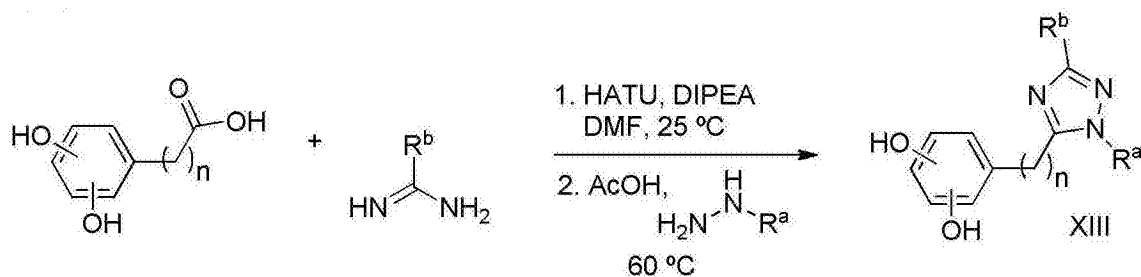
[0364] 下列化合物也是根据一般程序F来合成:C240、C241、C246、C248、C251、C255、C260、C261、C262、C263、C264、C266、C268、C278、C281、C282、C287、C289、C295、C296、C297、C301、C304、C305、C307、C310、C322、C336、C339、C340、C341、C362。

[0365] 实施例6-式XIII的三唑化合物的合成

[0366] 一般程序G

[0367] 式XIII的化合物是根据下文所述以及如下列方案中所示的程序来合成：

[0368]



[0369] 将适当取代的羧酸(1当量)、适当取代的脒(1.4当量)、HATU(1.1当量)、二异丙基乙胺(2.8当量)以及DMF添加到圆底烧瓶中,在25℃下搅拌并且经由TLC(含20%甲醇的CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(含2滴乙酸))监测酸的消耗以及中间体的形成。在酸耗尽后,添加适当取代的脒(1.5当量)和乙酸(13.8当量),并且在80℃下将混合物搅拌并且经由TLC(含20%甲醇的CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)监测产物的形成。将混合物溶解在4:1的乙酸乙酯/己烷中,用饱和NaHCO<sub>3</sub>溶液(3×)洗涤,用MgSO<sub>4</sub>干燥,并且通过旋转蒸发浓缩。使用快速色谱(含10%甲醇的DCM)分离式XIII的化合物。上述程序改编自Castanedo,G.M.等人,J.Org.Chem.2011,76,1177-1179中所述的程

序,该参考文献以引用的方式整体并入本文。

[0370] 4-(1-(叔丁基)-3-苯基-1H-1,2,4-三唑-5-基)苯-1,2-二醇(化合物C201)的合成

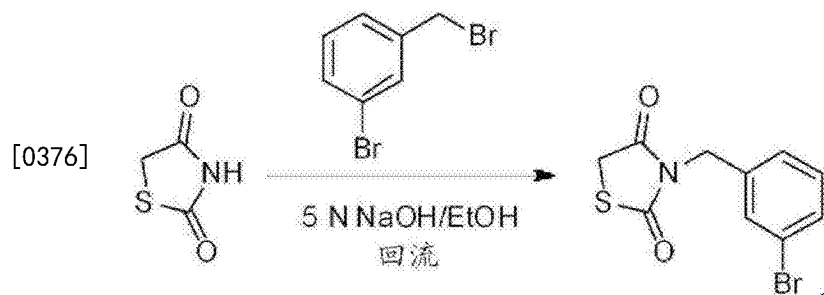
[0371] 4-(1-(叔丁基)-3-苯基-1H-1,2,4-三唑-5-基)苯-1,2-二醇(化合物C201)是根据一般程序G来合成。将3,4-二羟基苯甲酸(265mg,1.72mmol)、苯甲脒·HCl(292mg,2.43mmol)、HATU(707mg,1.86mmol)、二异丙基乙胺(850 $\mu$ L,4.86mmol)、以及DMF(6mL)添加到25mL圆底烧瓶中,在25 $^{\circ}$ C下搅拌并且经由TLC(含20%甲醇的CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(含2滴乙酸))监测酸的消耗和中间体的形成。在酸耗尽之后,添加叔丁基胍·HCl(189mg,2.55mmol)和乙酸(1mL,23.8mmol),并且在80 $^{\circ}$ C下搅拌混合物并且经由TLC(含20%甲醇的CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)监测产物的形成。将混合物溶解在100mL的4:1的乙酸乙酯/己烷中,用饱和NaHCO<sub>3</sub>溶液(3 $\times$ )洗涤,用MgSO<sub>4</sub>干燥,并且通过旋转蒸发浓缩。使用快速色谱(含10%甲醇的DCM)分离14.6mg的产物(3%)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>,400MHz)  $\delta$ 8.10(dd,J=1.36,8.24Hz,2H),7.5-7.36(m,3H),6.77(d,J=1.84Hz,1H),6.72(d,J=7.8Hz,1H),6.66(dd,J=1.84,7.76Hz,1H),1.51(s,9H);<sup>13</sup>C(CDCl<sub>3</sub>,100MHz)  $\delta$ 157.86,155.02,147.25,143.99,130.51,129.37,128.82,128.71,126.35,121.92,117.84,114.90,61.83,30.76。

[0372] 下列化合物也是根据一般程序G来合成:C208、C213、C214、C216、C220、C221、C222、C223。

[0373] 实施例7-式XIV的噻唑烷二酮化合物的合成

[0374] 3-(3-溴苯甲基)噻唑烷-2,4-二酮

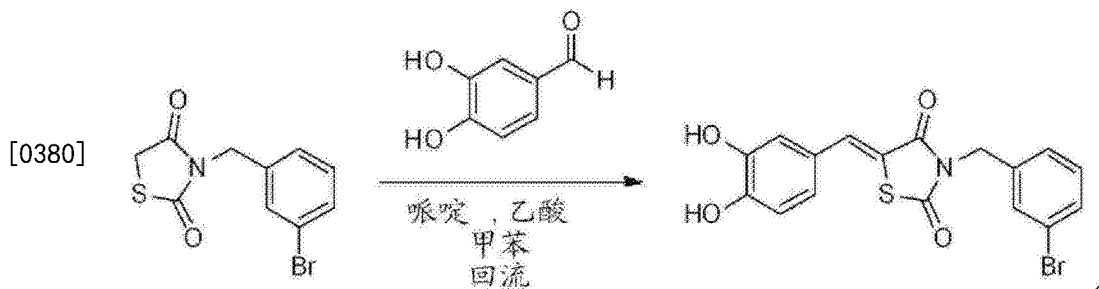
[0375] 3-(3-溴苯甲基)噻唑烷-2,4-二酮是根据下文所述以及如下列方案中所示的程序来合成:



[0377] 向2,4-噻唑烷二酮(0.50g,4.27mmol)和3-溴苯甲基溴(1.03g,4.12mmol)在12.5mL绝对乙醇中的溶液中添加1.27mL的5N NaOH并且将反应混合物加热到回流。在26小时之后,将反应物用15mL的H<sub>2</sub>O和20mL的乙酸乙酯稀释。将有机层用H<sub>2</sub>O(3 $\times$ 15mL)和盐水(3 $\times$ 15mL)洗涤,经过硫酸钠干燥,过滤并且在真空中浓缩。将所得残余物通过二氧化硅快速柱色谱(20:80乙酸乙酯:己烷)纯化,得到0.254g(21%)的产物。

[0378] (Z)-3-(3-溴苯甲基)-5-(3,4-二羟基苯亚甲基)噻唑烷-2,4-二酮(化合物C206)的合成

[0379] (Z)-3-(3-溴苯甲基)-5-(3,4-二羟基苯亚甲基)噻唑烷-2,4-二酮(化合物C206)是根据下文所述以及如下列方案中所示的程序来合成:



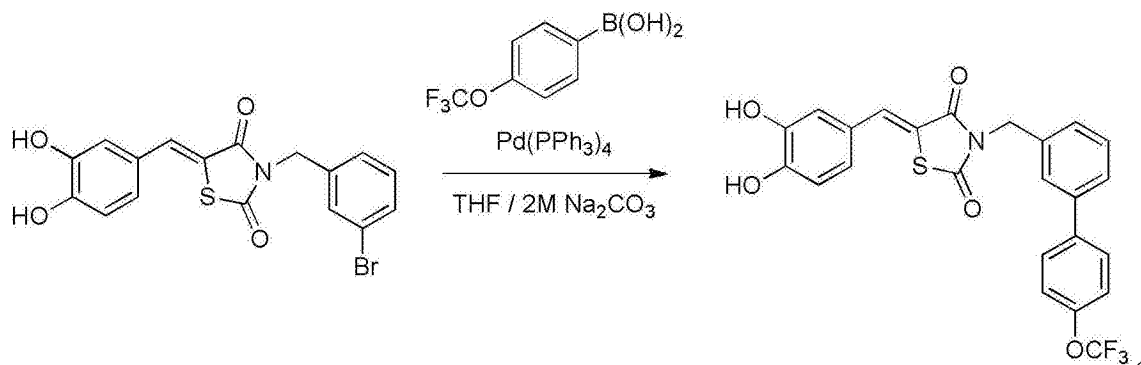
[0381] 将3-(3-溴苯基)噻唑烷-2,4-二酮(0.123g,0.43mmol)、3,4-二羟基苯甲醛(0.060g,0.43mmol)、吡啶(6滴)、乙酸(6滴)以及8mL甲苯的溶液在回流下加热40分钟。将反应混合物浓缩并且通过柱色谱(40:60乙酸乙酯:己烷)纯化,得到0.039g(22%)的产物(化合物C206)。

[0382] 化合物C199和C203是根据上述程序来制备的,不同的是分别使用3-(苯基)噻唑烷-2,4-二酮和3-(4-溴苯基)噻唑烷-2,4-二酮代替3-(3-溴苯基)噻唑烷-2,4-二酮。

[0383] (Z)-5-(3,4-二羟基苯亚甲基)-3-((4'-(三氟甲氧基)-[1,1'-联苯]-3-基)甲基)噻唑烷-2,4-二酮(化合物C207)

[0384] (Z)-5-(3,4-二羟基苯亚甲基)-3-((4'-(三氟甲氧基)-[1,1'-联苯]-3-基)甲基)噻唑烷-2,4-二酮(化合物C207)是根据下文所述以及如下列方案中所示的程序来合成:

[0385]



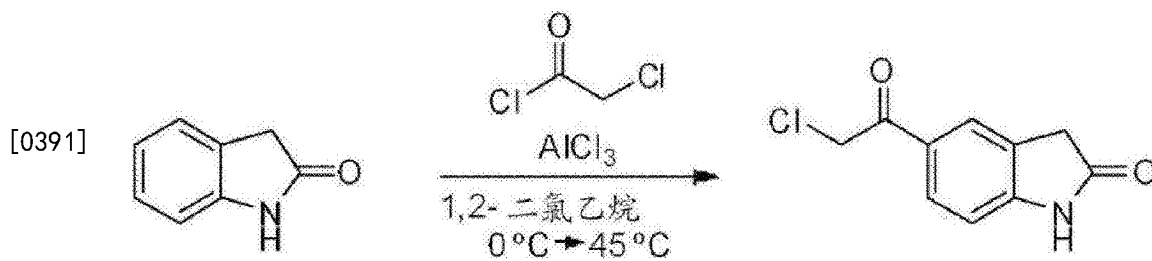
[0386] 向化合物C206(0.0365g,0.090mmol)、4-三氟甲氧基苯基硼酸(0.028g,0.131mmol)、1.3mL四氢呋喃、以及0.15mL的2M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>的混合物中添加四(三苯基膦)钯(0.0029g,0.0025mmol)。将混合物加热到回流,持续3小时。将反应混合物用20mL的H<sub>2</sub>O稀释并且通过逐滴添加1N HCl酸化到pH 3。将溶液用乙酸乙酯(3×15mL)萃取,并且将合并的有机物用H<sub>2</sub>O(3×15mL)洗涤,经过MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在真空中浓缩。使所得的残余物从乙醇中重结晶,得到0.034g(78%)的产物(化合物C207)。

[0387] 用于获得PAI-1抑制剂的另外的合成方法公开在EP 166469 A1中,EP 166469 A1以引用的方式整体并入本文。

[0388] 实施例8-式XV的羟吡唑化合物的合成

[0389] 5-(2-氯乙酰基)吡唑-2-酮的合成

[0390] 5-(2-氯乙酰基)吡唑-2-酮是根据下文所述以及如下列方案中所示的程序来合成:

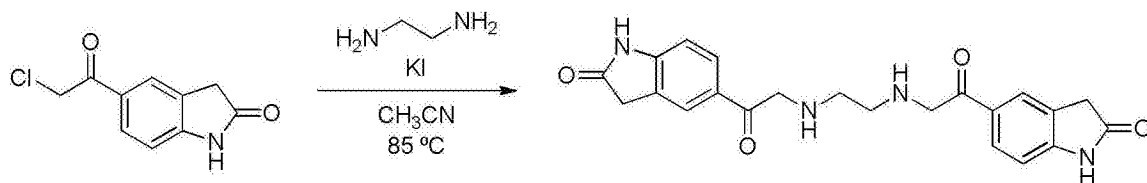


[0392] 向容纳7.53g  $\text{AlCl}_3$  (56.3mmol) 在7mL 1,2-二氯乙烷中的悬浮液的0℃圆底烧瓶中逐滴添加3.6mL (45.1mmol) 氯乙酰氯,使颜色从黄色变成暗红色。使反应进行1小时,之后添加3.00g羟吲哚 (22.5mmol) 在16mL 1,2-二氯乙烷中的溶液。使反应在0℃下再进行2小时,并且之后在45℃下再进行3小时。通过倒入冰冷水中来停止反应,其中立即形成棕褐色沉淀物。将沉淀物过滤,得到0.788g (77%) 呈米色固体状的产物。

[0393] 5,5'-(2,2'-(乙烷-1,2-二基双(脲二基))双(乙酰基))双(吲哚-2-酮) (化合物C225) 的合成

[0394] 5,5'-(2,2'-(乙烷-1,2-二基双(脲二基))双(乙酰基))双(吲哚-2-酮) (化合物C225) 是根据下文所述以及如下列方案中所示的程序来合成:

[0395]



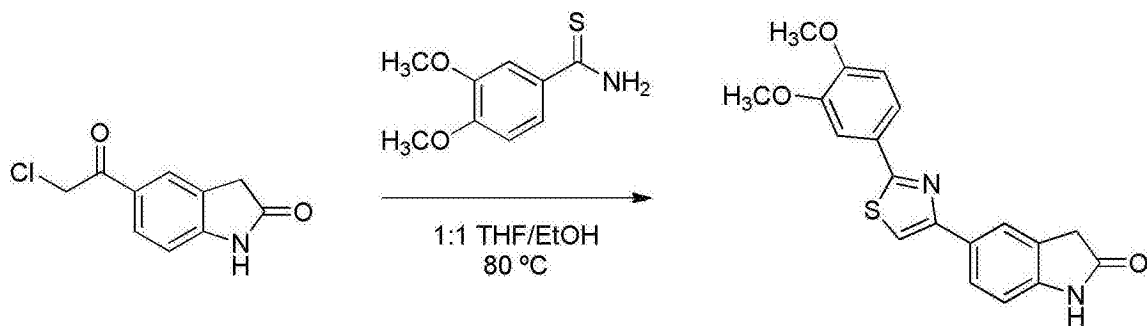
[0396] 向圆底烧瓶中添加7.2mL的乙腈、320mg的碘化钾 (1.93mmol)、250mg的碳酸钾 (1.79mmol)、以及24μL的1,2-乙二胺。之后,将150mg的5-(2-氯乙酰基)吲哚-2-酮添加到反应烧瓶中并且使反应在85℃下回流下进行过夜(在氮气下,在搅拌下)。将反应烧瓶内容物在真空中浓缩并且使用乙酸乙酯转移到分液漏斗中。然后用饱和盐溶液(3×)洗涤产物。将有机层干燥,过滤并且在真空中浓缩,得到0.291g (6.6%) 的产物(化合物C225)。

[0397] 实施例9-式XVII的羟吲哚化合物的合成

[0398] 5-(2-(3,4-二甲氧基苯基)噻唑-4-基)吲哚-2-酮(C227)的合成

[0399] 5-(2-(3,4-二甲氧基苯基)噻唑-4-基)吲哚-2-酮(化合物C227)是根据下文所述以及如下列方案中所示的程序来合成:

[0400]



[0401] 向容纳60mg (0.286mmol) 5-(2-氯乙酰基)吲哚-2-酮、1.5mL的THF以及1.5mL绝对乙醇的溶液的圆底烧瓶中添加57mg (0.286mmol) 的3,4-二甲氧基硫代苯甲酰胺。将反应物

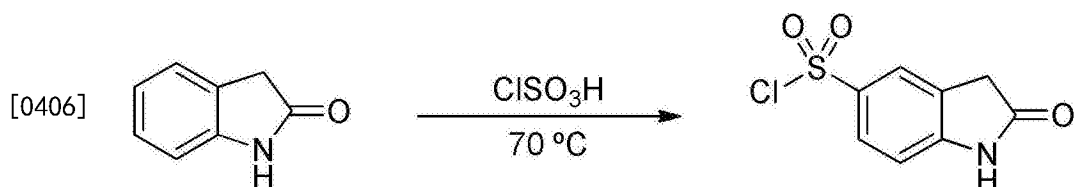
在氮气下在回流(80℃)下搅拌过夜。然后将反应烧瓶内容物在真空中浓缩并且将所得残余物通过在丙酮中研磨来纯化,得到50mg(50%)的产物(化合物C227)。

[0402] 化合物C228是根据上述程序来制备,不同的是使用3,4-二羟基硫代苯甲酰胺代替3,4-二甲氧基硫代苯甲酰胺。

[0403] 实施例10-式XIX的羟吡啶化合物的合成

[0404] 2-氧代二氢吡啶-5-磺酰氯的合成

[0405] 2-氧代二氢吡啶-5-磺酰氯是根据下文所述以及如下列方案中所示的程序来合成:

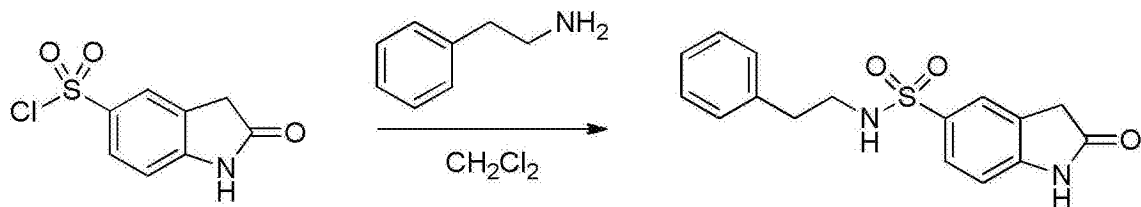


[0407] 在30℃下在搅拌同时向圆底烧瓶中,将2.00g羟吡啶(15.0mmol)分数小份添加到4.0mL(61.2mmol)氯磺酸中。在添加全部的羟吡啶之后,使温度降低到25℃并且使其在氮气下进行反应1.5小时。将反应物加热到70℃,再持续1.5小时。然后将反应混合物放在冰浴中并且通过将去离子水逐滴添加到反应混合物中来骤冷。在添加水之后,形成粉红色沉淀物,将所述沉淀物通过抽滤分离,得到1.47g(42%)呈暗玫瑰色(dusty rose)固体状的产物。

[0408] 2-氧代-N-苄基二氢吡啶-5-磺酰胺(化合物C229)的合成

[0409] 2-氧代-N-苄基二氢吡啶-5-磺酰胺(化合物C229)是根据下文所述以及如下列方案中所示的程序来合成:

[0410]



[0411] 向容纳100mg 2-氧代二氢吡啶-5-磺酰氯(0.432mmol)在9.5mL二氯甲烷中的溶液的圆底烧瓶中添加0.119mL(0.950mmol)的苄胺。将反应物在室温下在氮气下搅拌12小时。然后将反应混合物用45mL的乙酸乙酯稀释。将这一溶液用1M HCl(3×15mL)和饱和盐溶液(1×15mL)洗涤。将有机层收集并且经过硫酸镁干燥,过滤并且在真空中浓缩,得到0.110g(67%)的产物(化合物C229)。

[0412] 实施例11-在pH 7.4下进行的荧光测定PAI-1/uPA IC<sub>50</sub>培养板测定

[0413] 为了确定各种所合成的化合物作为PAI-1抑制剂的功效,进行荧光测定培养板测定以测量这些化合物在体外对重组活性人类PAI-1的半数最大抑制浓度(IC<sub>50</sub>)。IC<sub>50</sub>是化合物抑制生物或生化功能的有效性的量度。换种方式来说,IC<sub>50</sub>表示在体外实现50%抑制作用所需的药物的浓度。使用如下文所述的荧光测定培养板测定来测量各种化合物的IC<sub>50</sub>,并且结果示于表1和12中。

[0414] 将PAI-1抑制剂化合物在DMSO中溶解到(10-50mM)的最终浓度,这取决于溶解度。然后将化合物在含有10%DMSO的生理缓冲液(40mM的HEPES、100mM的NaCl、0.05%吐温-20,



pH7.4) 中稀释并且制备稀释液系列(从0 $\mu$ M到1000 $\mu$ M,这取决于溶解度)。将每孔80 $\mu$ L的化合物按一式两份添加到96孔黑色不透明的微量培养板中。添加10 $\mu$ L于生理缓冲液(40mM HEPES、100mM NaCl、0.05%吐温-20、10%DMSO,pH 7.4)或含15mg/mL人类血浆的生理缓冲液、或含10%人类血浆的生理缓冲液中的20nM重组活性人类PAI-1(Molecular Innovations公司),并且将混合物在室温下搅拌15分钟。将10 $\mu$ L的25nM uPA(**Rheotromb**<sup>®</sup>)添加到每一个反应孔中并且将培养板在室温下再搅拌30分钟。然后添加三肽氨基甲基香豆素Gly-Gly-Arg-AMC(Calbiochem公司)荧光底物(100 $\mu$ L的100 $\mu$ M)并且基于这种底物的裂解来确定残余uPA活性。在370nm的激发波长和440nm的发射波长下测量uPA的AMC释放速率(荧光)。对照包括在不存在化合物的情况下的PAI-1和uPA以及单独的uPA。PAI-1抑制%是使用下式来计算:[(单独的uPA-uPA/PAI-1+化合物)/(单独的uPA-PAI-1/uPA)] $\times$ 100%。使用Graphit(IC<sub>50</sub> 0%-100%)来计算IC<sub>50</sub>。

[0415] 实施例12-在pH 7.8下进行的荧光测定PAI-1/uPA IC<sub>50</sub>培养板测定

[0416] 为了确定各种所合成的化合物在pH 7.8下作为PAI-1抑制剂的功效,进行另外的荧光测定培养板测定以测量这些化合物在体外对重组活性人类PAI-1的半数最大抑制浓度(IC<sub>50</sub>)。使用如下文所述的测定来测量这些各种化合物中的每一种的IC<sub>50</sub>,并且结果示于表3、5、7、9以及11中。

[0417] 将PAI-1抑制剂化合物在DMSO中溶解到(10-50mM)的最终浓度,这取决于溶解度。然后将化合物在含有10%DMSO的生理缓冲液(40mM的HEPES、100mM的NaCl、0.05%吐温-20,pH7.8)中稀释并且制备稀释液系列(从0 $\mu$ M到1000 $\mu$ M,这取决于溶解度)。将每孔80 $\mu$ L的化合物按一式两份添加到96孔黑色不透明的微量培养板中。添加10 $\mu$ L于生理缓冲液(pH 7.8)中的20nM PAI-1并且将混合物在室温下搅拌15分钟。添加10 $\mu$ L的25nM uPA并且将培养板在室温下再搅拌30分钟。然后添加100 $\mu$ L的100 $\mu$ M荧光三肽氨基甲基香豆素Gly-Gly-Arg-AMC(Calbiochem公司)荧光底物并且基于这种底物的裂解来确定残余uPA活性。在下列波长下对作为uPA的AMC释放速率的量的荧光进行读数;激发370nm,发射440nm。对照包括在不存在化合物的情况下的PAI-1和uPA以及单独的uPA。PAI-1抑制%是使用下式来计算:[(单独的uPA-uPA/PAI-1+化合物)/(单独的uPA-PAI-1/uPA)] $\times$ 100%。使用Graphit(IC<sub>50</sub> 0%-100%)来计算IC<sub>50</sub>。

[0418] 实施例13-在pH 7.8下进行的荧光测定PAI-1/tPA IC<sub>50</sub>培养板测定

[0419] 进行另外的荧光测定培养板测定,如下文所述,以确定各种所合成的化合物作为PAI-1抑制剂的IC<sub>50</sub>。结果示于表3、5、7、9以及11中。

[0420] 将PAI-1抑制剂化合物在DMSO中溶解到(10-50mM)的最终浓度,这取决于溶解度。然后将化合物在含有10%DMSO的生理缓冲液(40mM的HEPES、100mM的NaCl、0.05%吐温-20,pH7.8)中稀释并且制备稀释液系列(从0 $\mu$ M到1000 $\mu$ M,这取决于溶解度)。将每孔80 $\mu$ L的化合物按一式两份添加到96孔黑色不透明的微量培养板中。每孔添加如上文所述的10 $\mu$ L于生理缓冲液中的20nM重组活性人类PAI-1(Molecular Innovations公司)并且将混合物在室温下搅拌15分钟。每孔添加10 $\mu$ L的25nM人类组织型PA(tPA)(**Activase**<sup>®</sup>(阿替普酶(alteplase)),基因泰克公司(Genentech))并且将培养板在室温下再搅拌30分钟。通过添加Phe-Gly-Arg-AMC荧光底物(100 $\mu$ L的100 $\mu$ M)(Centerchem公司)来测定每一种反应混合物中组织型PA的活性。在370nm的激发波长和440nm的发射波长下测量tPA的AMC释放速率。对

照包括在不存在化合物的情况下的PAI-1和tPA以及单独的tPA。PAI-1抑制%是使用下式来计算： $[(\text{单独的tPA}-\text{tPA}/\text{PAI-1}+\text{化合物}) / (\text{单独的tPA}-\text{PAI-1}/\text{tPA})] \times 100\%$ 。使用Graphit ( $\text{IC}_{50}$  0%-100%) 来计算 $\text{IC}_{50}$ 。

[0421] 实施例14-在pH 7.8下进行的荧光测定ATIII/ $\alpha$ IIa  $\text{IC}_{50}$ 培养板测定

[0422] 进行另外的荧光测定培养板测定,如下文所述,以确定各种所合成的化合物作为PAI-1抑制剂的 $\text{IC}_{50}$ 。结果示于表3、5以及7中。

[0423]  $\alpha$ -凝血酶是与uPA或tPA相关的活性酶。 $\alpha$ -凝血酶受serpin ATIII抑制,所述serpin ATIII与PAI-1密切相关。这一测定因此被用作测试PAI-1抑制剂化合物的特异性的对照。因此,对抑制PAI-1具有特异性的任何化合物均不应当抑制ATIII。

[0424] 将PAI-1抑制剂化合物在DMSO中溶解到(10-50mM)的最终浓度,这取决于溶解度。然后将化合物在含有10%DMSO的生理缓冲液(40mM的HEPES、100mM的NaCl、0.05%吐温-20, pH7.8)中稀释并且制备稀释液系列(从0 $\mu$ M到1000 $\mu$ M,这取决于溶解度)。将每孔80 $\mu$ L的化合物按一式两份添加到96孔黑色不透明的微量培养板中。添加如上文所述的10 $\mu$ L于生理缓冲液中的20nM重组活性抗凝血酶III(ATIII)(Molecular Innovations公司)(一种PAI-1相关蛋白质)并且将混合物在室温下搅拌15分钟。将10 $\mu$ L的25nM人类 $\alpha$ -凝血酶( $\alpha$ IIa)(血液学技术公司(Haematologic Technologies))添加到每一个反应孔中并且将培养板在室温下再搅拌30分钟。然后添加100 $\mu$ L的100 $\mu$ M荧光三肽氨基甲基香豆素苯甲酰基Phe-Val-Arg-AMC底物并且基于这种底物的裂解来确定残余 $\alpha$ IIa活性。在370nm的激发波长和440nm的发射波长下测量 $\alpha$ IIa的AMC释放速率。对照包括在不存在化合物的情况下的PAI-1和 $\alpha$ IIa以及单独的 $\alpha$ IIa。PAI-1抑制%是使用下式来计算： $[(\text{单独的}\alpha\text{IIa}-\alpha\text{IIa}/\text{PAI-1}+\text{化合物}) / (\text{单独的}\alpha\text{IIa}-\text{PAI-1}/\alpha\text{IIa})] \times 100\%$ 。使用Graphit ( $\text{IC}_{50}$  0%-100%) 来计算 $\text{IC}_{50}$ 。

[0425] 已关于所发现或所提出以包含实施本发明的优选方式的具体实施方案描述了本发明。本领域的普通技术人员将了解的是,根据本公开,可以在所举例说明的具体实施方案中作出很多的修改和变化而不背离本发明的预期范围。因此,所附权利要求书意图覆盖落入要求保护的本发明的范围内的所有这些等同的变化方案。