

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680020649.3

[51] Int. Cl.

C07D 263/32 (2006.01)

C07D 409/04 (2006.01)

A61K 31/421 (2006.01)

A61K 31/422 (2006.01)

A61P 3/06 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

[43] 公开日 2008年6月4日

[11] 公开号 CN 101193874A

[51] Int. Cl. (续)

A61P 9/10 (2006.01)

[22] 申请日 2006.6.9

[21] 申请号 200680020649.3

[30] 优先权

[32] 2005.6.24 [33] DE [31] 102005029382.4

[86] 国际申请 PCT/EP2006/005570 2006.6.9

[87] 国际公布 WO2007/000235 德 2007.1.4

[85] 进入国家阶段日期 2007.12.10

[71] 申请人 塞诺菲-安万特股份有限公司

地址 法国巴黎

[72] 发明人 C·施塔帕尔 H·格隆比克

E·法尔克 S·凯尔

H-L·舍费尔 W·文德勒

S·哈什特尔

[74] 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

代理人 黄革生 隋晓平

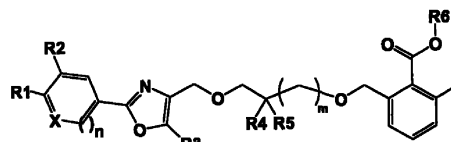
权利要求书4页 说明书45页

[54] 发明名称

作为 PPAR 配体的 6-噁唑-4-基甲氧基-烷氧基甲基取代的苯甲酸衍生物、其制备方法和其在药物制剂中的用途

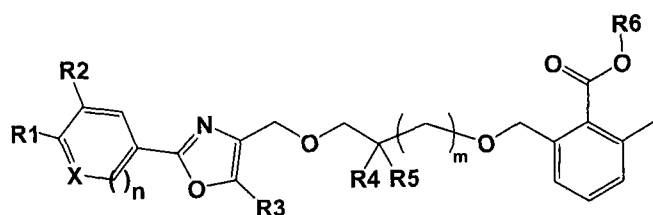
[57] 摘要

本发明涉及烷氧基甲基取代的苯甲酸衍生物，并涉及其生理上可容许的盐和其具有生理学功能的衍生物。本发明还涉及式 I 化合物和其生理上可容许的盐以及制备所述化合物的方法，式 I 化合物中各基团有特定的含义。本发明化合物例如可用于预防和/或治疗脂肪酸代谢疾病、葡萄糖利用疾病以及胰岛素抵抗在其中起作用的疾病。



I

1. 式 I 的化合物和它们生理上耐受的盐、溶剂合物和有生理学作用的衍生物:



I

其中各基团含义如下:

R1 为 H、(C1-C6)-烷基、O-(C1-C2)-烷基、(C1-C6)-烷基巯基、三氟甲氧基、三氟甲基巯基、F、CF₃、苯基、苯氧基;

R2 为 H、O-(C1-C3)-烷基、(C1-C3)-烷基、CF₃、三氟甲氧基或

R1 和 R2 与苯环一起稠合成萘基;

R3 为 H、(C1-C6)-烷基、苯基、环己基;

R4、R5 为 H, 其中 m 可以为 1、2; 或

为 CH₃, 仅对 m=1 而言;

R6 为 H、(C1-C6)-烷基;

X 为 CH, 如果 n=1 或

S, 如果 n=0;

n 为 0 或 1;

m 为 1 或 2。

2. 如权利要求 1 中所要求保护的式 I 化合物, 其中 R1 或 R2 不为 H。

3. 如权利要求 1 中所要求保护的式 I 化合物, 其中

R1 为 H;

R2 为 O-(C1-C3)-烷基、(C1-C3)-烷基、CF₃、三氟甲氧基;

R3 为(C1-C6)-烷基;

R4、R5、R6 为 H;

X 为 CH;

n 为 1;

m 为 1。

4. 如权利要求 1 中所要求保护的式 I 化合物, 其中

R1 为(C1-C6)-烷基、O-(C1-C2)-烷基、三氟甲氧基、三氟甲基巯基、F、苯基、苯氧基;

R2 为 H;

R3 为(C1-C6)-烷基、苯基、环己基;

R4、R5、R6 为 H;

X 为 CH;

n 为 1;

m 为 1。

5. 如权利要求 1 中所要求保护的式 I 化合物, 其中

R1 和 R2 同时为 H、Me、OMe 或

R1 和 R2 与苯环一起稠合成萘基;

R3 为(C1-C6)-烷基;

R4、R5、R6 为 H;

X 为 CH;

n 为 1;

m 为 1。

6. 如权利要求 1 中所要求保护的式 I 化合物, 其中

R1 为 H、F、Me;

R2 为 H、OMe、CF₃;

R3 为 H、(C1-C6)-烷基;

R4、R5 为 Me;

R6 为 H;

X 为 CH;

n 为 1;

m 为 1。

7. 如权利要求 1 中所要求保护的式 I 化合物, 其中

R1 为 H、F、Me、Ph;

R2 为 H、OMe、CF₃;

R3 为(C1-C6)-烷基;

R4、R5、R6 为 H;

X 为 CH;

n 为 1;

m 为 2。

8. 药物, 该药物包含一种或多种如权利要求 1-7 的一项或多项中所要求保护的式 I 化合物。

9. 药物, 该药物包含一种或多种如权利要求 1-7 的一项或多项中所要求保护的式 I 化合物和一种或多种对代谢紊乱或与其相关的疾病有有益作用的活性成分。

10. 药物, 该药物包含一种或多种如权利要求 1-7 的一项或多项中所要求保护的式 I 化合物和一种或多种抗糖尿病药物。

11. 药物, 该药物包含一种或多种如权利要求 1-7 的一项或多项中所要求保护的式 I 化合物和一种或多种脂类调节剂。

12. 如权利要求 1-7 的一项或多项所要求保护的式 I 化合物在治疗和/或预防脂肪酸代谢疾病和葡萄糖利用疾病中的用途。

13. 如权利要求 1-7 的一项或多项中所要求保护的式 I 化合物在治疗和/或预防与胰岛素抵抗有关的疾病中的用途。

14. 如权利要求 1-7 的一项或多项中所要求保护的式 I 化合物在治疗和/或预防糖尿病和与其相关的后遗症中的用途。

15. 如权利要求 1-7 的一项或多项中所要求保护的式 I 化合物在治疗和/或预防血脂异常及其后遗症中的用途。

16. 如权利要求 1-7 的一项或多项中所要求保护的式 I 化合物在治疗和/或预防与代谢综合征相关的病症中的用途。

17. 如权利要求1-7的一项或多项中所要求保护的化合物联合至少一种其它活性化合物在治疗和/或预防脂肪酸代谢疾病和葡萄糖利用疾病中的用途。

18. 如权利要求1-7的一项或多项中所要求保护的化合物联合至少一种其它活性化合物在治疗和/或预防与胰岛素抵抗相关的疾病中的用途。

19. 制备包含一种或多种如权利要求1-7的一项或多项中所要求保护的化合物的药物的方法，该方法包括将活性化合物与药学上适当的载体混合，并将该混合物制成适于给药的形式。

作为 PPAR 配体的 6-噁唑-4-基甲氧基-烷氧基甲基取代的苯甲酸衍生物、其制备方法和其在药物制剂中的用途

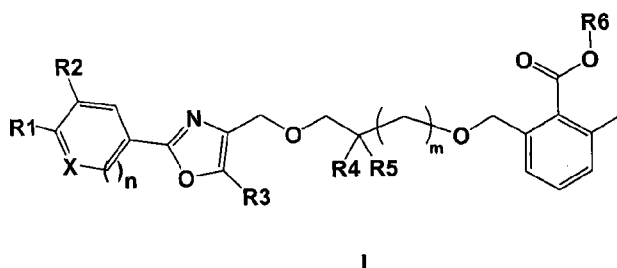
本发明涉及烷氧基甲基取代的苯甲酸衍生物、它们的制备方法、它们作为药物的用途，并且涉及它们的生理上耐受的盐和有生理学作用的衍生物。

就治疗高脂血症和糖尿病而言，现有技术已经对结构相似的化合物进行了描述(WO 2000/064888)。此外，WO 2003/010158 描述了噁吩甲酰胺类化合物，并且 WO2002096863 描述了苯环上没有羧基基团的苯基烷氧基-苯基衍生物。

本发明的目的为发现特别有效的化合物，该化合物在治疗上可用于调节脂类和/或糖类代谢，并因此适于预防和/或治疗 2 型糖尿病和动脉粥样硬化及其各种后遗症。

通过选择下面描述的式 I 化合物达到了上述目的，令人吃惊地是，式 I 化合物除了显示有特别好的 PPAR α 作用外，还有相当好的 PPAR γ 作用。

本发明涉及式 I 化合物和它们生理上耐受的盐、溶剂合物和有生理学作用的衍生物：



其中各基团含义如下：

R1 为 H、(C1-C6)-烷基、O-(C1-C2)-烷基、(C1-C6)-烷基巯基、三氟甲氧基、三氟甲基巯基、F、CF₃、苯基、苯氧基；

R2 为 H、O-(C1-C3)-烷基、(C1-C3)-烷基、CF₃、三氟甲氧基或

R1 和 R2 与苯环一起稠合成萘基；

R3 为 H、(C1-C6)-烷基、苯基、环己基；

R4、R5 为 H，其中 m 可以是 1、2；或

- 为 CH_3 , 仅对 $m=1$ 而言;
- R6 为 H、(C1-C6)-烷基;
- X 为 CH, 如果 $n=1$ 或
S, 如果 $n=0$;
- n 为 0 或 1;
- m 为 1 或 2。

优选的式 I 化合物是其中 R1 或 R2 不为 H 的式 I 化合物。

特别优选的式 I 化合物是如下定义的式 I 化合物, 其中:

- R1 为 H;
- R2 为 O-(C1-C3)-烷基、(C1-C3)-烷基、 CF_3 、三氟甲氧基;
- R3 为(C1-C6)-烷基;
- R4、R5、R6 为 H;
- X 为 CH;
- n 为 1;
- m 为 1 或如下定义的式 I 化合物

其中

- R1 为(C1-C6)-烷基、O-(C1-C2)-烷基、三氟甲氧基、三氟甲基巯基、F、
苯基、苯氧基;
- R2 为 H;
- R3 为(C1-C6)-烷基、苯基、环己基;
- R4、R5、R6 为 H;
- X 为 CH;
- n 为 1;
- m 为 1 或如下定义的式 I 化合物

其中

- R1 和 R2 同时为 H、Me、OMe 或
R1 和 R2 与苯环一起稠合成萘基;

R3 为(C1-C6)-烷基;

R4、R5、R6 为 H;

X 为 CH;

n 为 1;

m 为 1。

更加特别优选的式 I 化合物为如下定义的式 I 化合物, 其中:

R1 为 H、F、Me;

R2 为 H、OMe、CF₃;

R3 为 H、(C1-C6)-烷基;

R4、R5 为 Me;

R6 为 H;

X 为 CH;

n 为 1;

m 为 1 或如下定义的式 I 化合物

其中

R1 为 H、F、Me、Ph;

R2 为 H、OMe、CF₃;

R3 为(C1-C6)-烷基;

R4、R5、R6 为 H;

X 为 CH;

n 为 1;

m 为 2。

取代基 R1、R2、R3 和 R6 中的烷基基团可以是直链或分支的。

因为药学上可接受的盐在水中的溶解性高于初始或者碱性化合物的溶解性, 所以它们特别适于医疗用途。这些盐必须具有药学上可接受的阴离子或阳离子。本发明化合物的适当的药学上可接受的酸加成盐为无机酸盐和有机酸盐, 所述无机酸如盐酸、氢溴酸、磷酸、偏磷酸、硝酸和硫酸; 所述有机酸如乙酸、苯磺酸、苯甲酸、柠檬酸、乙磺酸、反丁烯二酸、葡

糖酸、羟基乙酸、羟乙磺酸、乳酸、乳糖酸、马来酸、苹果酸、甲磺酸、琥珀酸、对甲苯磺酸和酒石酸。适当的药学上可接受的碱盐为铵盐、碱金属盐(如钠盐和钾盐)、碱土金属盐(如镁盐和钙盐)、氨基丁三醇(2-氨基-2-羟基甲基-1,3-丙二醇)盐、二乙醇胺盐、赖氨酸盐或乙二胺盐。

与药学上不可接受的阴离子形成的盐,例如与三氟乙酸盐,同样在本发明的范围之内,它们可作为制备或纯化药学上可接受的盐和/或用于非治疗应用(例如在体外)的有用中间体。

文中所用的术语“有生理学作用的衍生物”指本发明的式 I 化合物的任何生理上耐受的衍生物,例如酯,将其给药至哺乳动物(如人类)能够形成(直接或间接地)式 I 化合物或其活性代谢物。

有生理学作用的衍生物还包括本发明化合物的前药,例如 H. Okada 等人,化学和药物公报(Chem. Pharm. Bull.) 1994, 42, 57-61 中所述。此类前药可在体内代谢成本发明化合物。这些前药本身可为活性的或无活性的。

本发明的化合物也可以各种多晶型形式存在,例如无定形或结晶多晶型形式。本发明化合物的所有多晶型形式在本发明的范围之内并为本发明的另一方面。

所有下文谈及的“式 I 化合物”指如上所述的式 I 化合物、如本文所述的它们的盐、溶剂合物和有生理学作用的衍生物。

用途

本发明还涉及式 I 化合物和其药物组合物作为 PPAR 受体的配体的用途。本发明的 PPAR 受体的配体适于用作 PPAR 受体活性的调节剂。

过氧化物增殖物激活受体(PPAR)为可由配体活化的转录因子,并且属于核激素受体类型(class)。存在三种由不同基因编码的 PPAR 同种型: PPAR α 、PPAR γ 和 PPAR δ (过氧化物增殖物激活受体(PPAR): 结构、激活机制和各种功能(Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR): structure, mechanisms of activation and diverse functions): Motojima K., Cell Struct Funct., 1993, 18(5), 267-77)。

PPAR 受体在大量基因调节的许多方面起关键作用, 所述基因的产物直接或间接地决定性地参与脂类和糖类代谢。因此, 例如 PPAR α 受体在肝脏中的脂肪酸分解代谢和脂蛋白代谢的调节中起重要作用, 而 PPAR γ 例如在脂肪细胞分化的调节中起决定性作用。存在两种 PPAR γ 变种, 即 PPAR γ 1 和 γ 2(Vidal-Puig 等人, 临床研究杂志(J. Clin. Invest.), 97: 2553-2561, 1996)。不同的 PPAR 受体具有不同的组织分布并调节不同的生理功能。然而, 此外 PPAR 受体也参与许多其他生理过程的调节, 所述调节包括那些与糖类或脂类代谢不直接相关的生理过程。不同 PPAR 受体的活性可在不同程度由多种脂肪酸、脂肪酸衍生物和合成化合物调节。关于功能、生理作用和病理生理学的相关综述, 参见: Joel Berger 等人, 医学年鉴(Annu. Rev. Med.), 2002, 53, 409-435; Timothy Wilson 等人, 药物化学杂志(J. Med. Chem.), 2000, 43 (4), 527-550; Steven Kliewer 等人, 激素研究当前进展(Recent Prog Horm Res.), 2001, 56, 239-63。

本发明涉及式 I 化合物, 其适于调节 PPAR 受体的活性, 尤其是 PPAR α 和 PPAR γ 的活性。取决于调节的模式, 式 I 化合物适于治疗、控制和预防下文所述的适应症, 并适于与其相关的许多其他药物应用(见于例如, Joel Berger 等人, 医学年鉴, 2002, 53, 409-435; Timothy Wilson 等人, 药物化学杂志, 2000, 43(4), 527-550; Steven Kliewer 等人, 激素研究当前进展, 2001, 56, 239-63; Jean-Charles Fruchart, Bart Staels 和 Patrick Duriez: PPARs, 代谢病和动脉硬化(PPARs, Metabolic Disease and Arteriosclerosis), 药理学研究(Pharmacological Research), Vol. 44, No. 5, 2001; Sander Kersten, Beatrice Desvergne & Walter Wahli: PPARs 在健康和疾病中的作用(Roles of PPARs in health and disease), 自然(NATURE), VOL 405, 2000 年 5 月 25 日; Ines Pineda Torra, Giulia Chinetti, Caroline Duval, Jean-Charles Fruchart 和 Bart Staels: 过氧化物增殖物激活受体: 从转录控制到临床实践(Peroxisome proliferator-activated receptors: from transcriptional control to clinical practice), 脂类学的当前观点(Curr Opin Lipidol) 12: 2001, 245-254)。

该类化合物特别适于治疗和/或预防:

1. -脂肪酸代谢疾病和葡萄糖利用疾病
-与胰岛素抵抗有关的病症
2. 糖尿病,尤其是2型糖尿病,包括其相关后遗症的预防。

与上述相关的具体方面是:

- 高血糖症,
 - 胰岛素抵抗的改善
 - 葡萄糖耐受的改善
 - 胰腺 β 细胞的保护
 - 大血管和微血管病症的预防
3. 血脂障碍及其后遗症,例如动脉粥样硬化、冠心病、脑血管病等等,尤其是那些特征为下列因素的一种或多种的疾病(但不限于此):
 - 高血浆甘油三酯浓度、高餐后血浆甘油三酯浓度
 - 低HDL胆固醇浓度
 - 低ApoA脂蛋白浓度
 - 高LDL胆固醇浓度
 - 小密度LDL胆固醇颗粒
 - 高ApoB脂蛋白浓度
 4. 与代谢综合征相关的许多其他疾病,如:
 - 肥胖症(超重),包括向心性肥胖
 - 血栓形成、高凝固性和血栓形成前的阶段(动脉和静脉)
 - 高血压
 - 心脏衰竭,例如(但不限于)随心肌梗塞、高血压心脏病和心肌病而来的心脏衰竭
 5. 例如与炎性反应或细胞分化有关的另外的病症或疾病:
 - 动脉粥样硬化,例如(但不限于)冠状动脉硬化,包括心绞痛或心肌梗塞、中风
 - 血管再狭窄或再闭塞

- 慢性炎性肠疾病，例如克罗恩氏病和溃疡性结肠炎
- 胰腺炎
- 其他炎症状态
- 视网膜病
- 脂肪细胞瘤
- 脂肪细胞癌，如脂肉瘤
- 实体瘤和肿瘤，例如(但不限于)胃肠道癌、肝癌、胆道癌、胰腺癌、内分泌肿瘤、肺癌、肾和尿道癌、生殖道癌、前列腺癌等等
- 急性和慢性骨髓增殖性疾病和淋巴瘤
- 血管生成
- 神经变性疾病
- 阿尔茨海默氏病
- 多发性硬化
- 帕金森病
- 红斑鳞屑性皮肤病，如牛皮癣
- 寻常痤疮
- PPAR调节的其他皮肤病症和皮肤疾病
- 湿疹和神经性皮炎
- 皮炎，例如脂溢性皮炎或光照性皮炎
- 角膜炎和角化病，如脂溢性角化病、老年性角化病、光化性角化病、光诱导的角化病或毛囊角化病
- 瘢痕疙瘩和瘢痕疙瘩的预防
- 疣，包括湿疣和尖锐湿疣
- 人乳头瘤病毒(HPV)感染，例如性病湿疣、病毒性疣(例如传染性软疣、粘膜白斑病)
- 丘疹性皮肤病，例如扁平苔癣
- 皮肤癌，例如基底细胞癌、黑素瘤或皮肤T细胞淋巴瘤
- 局部良性表皮瘤，如皮肤角化病、表皮痣

- 冻疮
- 高血压
- X综合征
- 多囊卵巢综合征(PCOS)
- 哮喘
- 骨关节炎
- 红斑狼疮(LE)或炎性风湿性疾病, 例如类风湿关节炎
- 脉管炎
- 消瘦(恶病质)
- 痛风
- 局部缺血/再灌注综合征
- 急性呼吸窘迫综合征(ARDS)

制剂

达到所需生物学作用必需的式 I 化合物的量取决于很多因素, 例如所选的特定化合物、预期的用途、给药方式和患者的临床病症。日剂量通常为每天每千克体重 0.001-100 mg(一般为 0.01-50 mg), 例如 0.1-10 mg/kg/天。静脉给药剂量可为例如 0.001-1.0 mg/kg, 其适于以每分钟每千克体重 10-100 ng 输注给药。用于上述目的的适当输注溶液可每毫升含有例如 0.1 ng-10 mg, 通常为每毫升含有 1ng-10 mg。单一剂量可含有例如 1 mg-10 g 的活性成分。因此, 注射用的安瓿剂可含有例如 1-100 mg, 并且可口服给药的单剂量制剂, 例如胶囊剂或片剂, 可含有例如 0.05-1000 mg, 通常含有 0.5-600 mg。为治疗上面提到的疾病, 式 I 化合物可以以化合物本身使用, 但是它们优选为在含有可接受载体的药物组合物形式中。当然, 载体必须与组合物的其他成分相容的意义上是可接受的并且对患者的健康无害。载体可以是固体或液体或两者皆可, 并且优选与所述化合物配制成单剂量, 例如作为片剂, 所述单剂量可以包含重量为 0.05%到 95%的活性成分。同样也可以存在其它药物活性物质, 包括其它式 I 化合物。本发明的

药物组合物可以通过已知的药学方法之一生产，所述方法基本由混合成分与药学上可接受的载体和/或赋形剂组成。

本发明的药物组合物是那些适于口服、直肠、局部、经口(例如舌下)、肠胃外(例如皮下、肌内、皮内或静脉内)给药的药物组合物，最适合的给药方式在每个单独的病例中取决于需要治疗的病症的性质和严重程度以及取决于每个病例中使用的式 I 化合物的性质。包衣制剂和包衣缓释制剂也在本发明的范围内。优选酸和胃液抗性制剂。适当的抵抗胃液的包衣材料包括乙酸邻苯二甲酸纤维素、聚乙酸邻苯二甲酸乙烯酯(polyvinyl acetate phthalate)、邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素和异丁烯酸与异丁烯酸甲酯的阴离子聚合物。

用于口服给药的适当的药物制剂可以以独立的单位形式存在，例如胶囊剂、扁囊剂、可吮吸片剂或片剂，所述每种独立单位包含规定量的式 I 化合物；如散剂或颗粒剂；如水或非水液体中的溶液剂或混悬剂；或如水包油或油包水型乳剂。如已经提到的，这些组合物可以通过任何合适的药学方法制备，所述方法包括使活性成分和载体(可由一种或多种另外成分组成)混合的步骤。通常通过将活性成分与液体和/或微粉化固体载体混合均一和均匀，制备组合物，如果需要的话，随后使产物成型。因此，例如可以通过将化合物粉末或颗粒根据需要进行一种或多种另外成分一起压制或模压，制备片剂。可以通过下法制备压制片剂：在合适的机器中将能自由流动形式的化合物，例如粉末或颗粒，根据需要，与粘合剂、助流剂、惰性稀释剂和/或一种(或多种)表面活性剂/分散剂一起压片。模压片剂可以如下制备：在合适的机器中将粉末形式的并用惰性液体稀释剂湿润的化合物模压。

适合经口(舌下)给药的药物组合物包括可吸吮片剂和软锭剂(pastilles)，所述可吸吮片剂包含式 I 化合物和矫味剂，矫味剂通常是蔗糖和阿拉伯胶或黄蓍胶；所述软锭剂包含在惰性基质(如明胶和甘油或蔗糖和阿拉伯胶)中的化合物。

适合肠胃外给药的药物组合物优选包含式 I 化合物的无菌含水制剂，

该制剂优选与目标受试者的血液等渗。尽管给药也可以通过皮下、肌肉或皮内注射给药，但优选将这些制剂静脉内给药。可以优选通过将化合物和水混合并且将得到的溶液灭菌以及使它和血液等渗，制备上述制剂。可注射的本发明的组合物通常包含重量为 0.1%到 5%的活性化合物。

适于直肠给药的药物组合物优选为单剂量栓剂形式。可以通过将式 I 化合物与一种或多种常规的固体载体(例如可可脂)混合，并且使得到的混合物成形，制备上述栓剂。

适于皮肤局部给药的药物组合物优选为膏剂、乳膏剂、洗剂、糊剂、喷雾剂、气雾剂或油剂的形式。可使用的载体是凡士林、羊毛脂、聚乙二醇、醇类以及两种或多种上述物质的组合。活性成分通常以组合物重量的 0.1%-15%的浓度存在，例如 0.5%-2%。

也可经皮给药。适于经皮使用的药物组合物可以是单独的贴剂形式，该贴剂适合长期与患者表皮紧密接触。这类贴剂适当地包含在水溶液中的活性化合物，根据需要，可以将该溶液缓冲、溶解和/或分散在粘合剂中或分散在聚合物中。适当的活性成分的浓度约为 1%到 35%，优选约 3%到 15%。对于活性化合物而言，通过例如药学研究(Pharmaceutical Research), 2(6): 318(1986)中所描述的电转运或离子电渗疗法进行释放是极有可行性的。

式 I 化合物对代谢疾病有显著的有益作用。它们有利地影响脂类和糖类代谢，特别是它们降低甘油三酯水平并适于预防和治疗 II 型糖尿病和动脉粥样硬化及其各种后遗症。

与其它药物联合

本发明化合物可以单独给药或与一种或多种其它药理活性物质联合给药，所述其它药理活性物质例如对代谢紊乱或通常与其相关的疾病具有有益作用。这些药物的示例为

1. 降血糖、抗糖尿病药物，
2. 用于治疗血脂异常的活性成分，

- 3.抗动脉粥样硬化药物,
- 4.减肥药物,
- 5.抗炎活性成分,
- 6.用于治疗恶性肿瘤的活性成分,
- 7.抗血栓形成的活性成分,
- 8.用于治疗高血压的活性成分,
- 9.用于治疗心脏衰竭的活性成分以及
- 10.用于治疗和/或预防由糖尿病引起的或与糖尿病相关的并发症的活性成分。

特别是为了使效果协同提高,可以将它们与本发明的式 I 化合物组合。可以通过分别将活性成分给药至患者,或以其中多种活性成分存在于一种药物制剂中的组合产品的形式,进行活性成分的联合给药。

可提及的实例是:

抗糖尿病药

适当的抗糖尿病药是例如在 Rote Liste 2001, 第 12 章中或在 USAN 的 USP 药名词典和国际药物名称(International Drug Names)、美国药典、Rockville 2003 中公开的抗糖尿病药。抗糖尿病药包括所有胰岛素和胰岛素衍生物,例如, Lantus[®](参见 www.Lantus.com)或 Apidra[®]以及其它速效胰岛素(参见 US 6221633)、GLP-1 受体调节剂,如在 WO01/04146 中描述的或如那些在 Novo Nordisk A/S 的 WO98/08871 中公开的。

口服有效的降血糖活性成分优选地包括磺酰脲类、双胍类、氯茴苯酸类(Meglitinides)、噁二唑烷二酮类(oxadiazolidinediones)、噻唑烷二酮类(thiazolidinediones)、葡糖苷酶抑制剂、胰高血糖素拮抗剂、口服 GLP-1 激动剂、DPP-IV 抑制剂、钾通道开启剂(例如在 WO 97/26265 和 WO99/03861 中公开的)、胰岛素增敏剂、与刺激糖异生和/或糖原分解相关的肝酶抑制剂、葡萄糖摄取调节剂、改变脂类代谢且导致血液脂类组成改变的化合物、减少食物摄取或食物吸收的化合物、PPAR 和 PXR 调节剂以及作用于 β 细胞的 ATP-依赖的钾通道的活性成分。

在本发明的一个实施方案中，式 I 化合物与胰岛素联合给药。

在本发明的一个实施方案中，式 I 化合物与影响肝葡萄糖生成的物质(例如糖原磷酸化酶抑制剂)联合给药(参见 WO 01/94300、WO 02/096864、WO 03/084923、WO 03/084922、WO 03/104188)。

在一个实施方案中，式 I 化合物与磺酰脲类联合给药，所述磺酰脲类例如为甲磺丁脲、格列本脲、格列吡嗪或格列美脲。

在一个实施方案中，式 I 化合物与作用于 β 细胞的 ATP 依赖性钾通道的活性成分联合给药，所述活性成分例如为甲磺丁脲、格列本脲、格列吡嗪、格列美脲或瑞格列奈。

在一个实施方案中，式 I 化合物与例如二甲双胍的双胍类联合给药。

在另一实施方案中，式 I 化合物与例如瑞格列奈的氯茴苯酸联合给药。

在一个实施方案中，式 I 化合物与噻唑烷二酮类联合给药，所述噻唑烷二酮类例如环格列酮、吡格列酮、罗格列酮或在 Reddy 博士研究基金(Dr. Reddy's Research Foundation)的 WO97/41097 中公开的化合物，特别是 5-[[4-[(3,4-二氢-3-甲基-4-氧代-2-噻唑啉基甲氧基)]苯基]甲基]-2,4-噻唑烷二酮。

在一个实施方案中，式 I 化合物与 DPPIV 抑制剂联合给药，所述 DPPIV 抑制剂例如为在 WO 98/19998、WO 99/61431、WO 99/67278、WO 99/67279、WO 01/72290、WO 02/38541、WO 03/040174 中所描述的化合物，特别是 P93/01(氯化 1-环戊基-3-甲基-1-氧代-2-戊铵)、P-31/98、LAF237(1-[2-(3-羟基金刚烷-1-基氨基)乙酰基]吡咯烷-2-(S)-甲腈)、TS021((2S, 4S)-4-氟-1-[(2-羟基-1,1-二甲基乙基)氨基]乙酰基]吡咯烷-2-甲腈单苯磺酸盐)。

在本发明的一个实施方案中，式 I 化合物与 PPAR γ 激动剂联合给药，所述 PPAR γ 激动剂例如为罗格列酮、吡格列酮。

在一个实施方案中，式 I 化合物与对 SGLT-1 和/或 2 有抑制活性的化合物联合给药，所述化合物例如为直接或间接在 WO 2004/007517、WO 2004/052902 和 WO 2004/052903 中公开的化合物。

在一个实施方案中，式 I 化合物与 α -葡糖苷酶抑制剂联合给药， α -葡糖苷酶抑制剂例如为米格列醇或阿卡波糖。

在一个实施方案中，式 I 化合物与乙酰辅酶 A 羧化酶(ACC)抑制剂联合给药，所述 ACC 抑制剂例如为在 WO199946262、WO200372197、WO2003072197、WO2005044814 中所描述的化合物。

在一个实施方案中，式 I 化合物与磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(PEPCK)抑制剂联合给药，所述 PEPCK 抑制剂例如为在 WO2004074288 中所描述的化合物。

在一个实施方案中，式 I 化合物与糖原合酶激酶-3 β (GSK-3 β)抑制剂联合给药，所述 GSK-3 β 抑制剂例如为在 US2005222220、WO2005085230、PCT/EP2005/005346、WO2003078403、WO2004022544、WO2003106410、WO2005058908、US2005038023、WO2005009997、US2005026984、WO2005000836、WO2004106343、EP1460075、WO2004014910、WO2003076442、WO2005087727、WO2004046117 中所描述的化合物。

在一个实施方案中，式 I 化合物与蛋白激酶 C- β (PKC- β)抑制剂(例如 ruboxistaurin)联合给药。

在一个实施方案中，式 I 化合物与“I-kappaB 激酶”抑制剂(IKK 抑制剂)联合给药，所述 IKK 抑制剂例如为在 WO2001000610、WO2001030774、WO2004022553、WO2005097129 中所描述的化合物。

在一个实施方案中，式 I 化合物与糖皮质激素受体调节剂联合给药，所述调节剂例如为在 WO2005090336 中所描述的化合物。

在一个实施方案中，式 I 化合物与乙酰辅酶 A 羧化酶(ACC)抑制剂联合给药，所述 ACC 抑制剂例如为在 WO199946262、WO200372197、WO2003072197、WO2005044814 中所描述的化合物。

在一个实施方案中，式 I 化合物与磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(PEPCK)抑制剂联合给药，所述 PEPCK 抑制剂例如为在 WO2004074288 中所描述的化合物。

在一个实施方案中，式 I 化合物与糖原合酶激酶-3 β (GSK-3 β)抑制剂联合

给药, 所述 GSK-3 β 抑制剂例如为在 US2005222220、WO2005085230、PCT/EP2005/005346、WO2003078403、WO2004022544、WO2003106410、WO2005058908、US2005038023、WO2005009997、US2005026984、WO2005000836、WO2004106343、EP1460075、WO2004014910、WO2003076442、WO2005087727、WO2004046117 中所描述的化合物。

在一个实施方案中, 式 I 化合物与蛋白激酶 C- β (PKC- β)抑制剂(例如 ruboxistaurin)联合给药。

在一个实施方案中, 式 I 化合物与内皮素-A 受体拮抗剂(例如 avosentan(SPP-301))联合给药。

在一个实施方案中, 式 I 化合物与“I-kappaB 激酶”抑制剂(IKK 抑制剂)联合给药, 所述 IKK 抑制剂例如为在 WO2001000610、WO2001030774、WO2004022553、WO2005097129 中所描述的化合物。

在一个实施方案中, 式 I 化合物与糖皮质激素受体调节剂联合给药, 所述调节剂例如为在 WO2005090336 中所描述的化合物。

在一个实施方案中, 式 I 化合物与内皮素-A 受体拮抗剂(例如 avosentan(SPP-301))联合给药。

在一个实施方案中, 式 I 化合物与多种上述化合物联合给药, 例如, 与磺酰脲和二甲双胍、磺酰脲和阿卡波糖、瑞格列奈和二甲双胍、胰岛素和磺酰脲、胰岛素和二甲双胍、胰岛素和曲格列酮、胰岛素和洛伐他汀等联合给药。

脂类调节剂

在本发明的一个实施方案中, 式 I 化合物与 HMGCoA 还原酶抑制剂联合给药, 所述 HMGCoA 还原酶抑制剂例如洛伐他汀、氟伐他汀、普伐他汀、辛伐他汀、匹伐他汀(ivastatin)、伊伐他汀、atorvastatin、罗舒伐他汀。

在本发明的一个实施方案中, 式 I 化合物与胆汁酸吸收抑制剂(参见, 例如 US 6245744、US 6221897、US 6277831、EP0683773、EP0683774)联

合给药。

在本发明的一个实施方案中，式 I 化合物与聚合胆汁酸吸收剂(例如消胆胺、考来维纶)联合给药。

在本发明的一个实施方案中，式 I 化合物与胆固醇吸收抑制剂联合给药，所述胆固醇吸收抑制剂如在 WO 0250027 中描述的化合物或依泽替米贝、替奎安、帕马昔。

在本发明的一个实施方案中，式 I 化合物与 LDL 受体诱导剂(参见，例如，US 6342512)联合给药。

在本发明的一个实施方案中，式 I 化合物与填充剂(bulking agent)联合给药，优选不可溶填充剂(见例如，carob/Caromax[®] (Zunft H J 等，用于治疗高胆固醇血症的角豆胶制剂浆(Carob pulp preparation)，治疗进展(ADVANCES IN THERAPY) (2001年9月-10月)，18(5)，230-6)。Caromax 是一种得自 Nutrinova, Nutrition Specialties & Food Ingredients GmbH, Industriepark Höchst, 65926 Frankfurt/Main 的含有豆角胶的产品))。可以将式 I 化合物和 Caromax[®]在一种制剂中给药或将它们分别给药，从而与 Caromax[®]联用。此外，可以将 Caromax[®]以食品的形式给药，例如，在面点产品或早餐棒(muesli bar)中给药。

在本发明的一个实施方案中，式 I 化合物与 PPAR α 激动剂联合给药。

在本发明的一个实施方案中，式 I 化合物与 PPAR α/γ 混合型激动剂联合给药，所述 PPAR α/γ 混合型激动剂例如为 AZ 242(Tesaglitazar, (S)-3-(4-[2-(4-甲磺酰氧基苯基)乙氧基]苯基)-2-乙氧基丙酸)、BMS 298585(N-[(4-甲氧基苯氧基)羰基]-N-[[4-[2-(5-甲基-2-苯基-4-噁唑基)乙氧基]苯基]甲基]甘氨酸)，或如在 WO 99/62872、WO 99/62871、WO 01/40171、WO 01/40169、WO 96/38428、WO 01/81327、WO 01/21602、WO 03/020269、WO 00/64888 或 WO 00/64876 中描述的化合物。

在本发明的一个实施方案中，式 I 化合物与 PPAR δ 激动剂(例如 GW-501516)联合给药。

在一个实施方案中，式 I 化合物与激素敏感脂肪酶(HSL)抑制剂(例如在

WO 2005073199 中所描述的化合物)联合给药。

在本发明的一个实施方案中,式 I 化合物与贝特类(fibrate)药物如非诺贝特、吉非贝齐、氯苯丁酯、苯扎贝特联合给药。

在本发明的一个实施方案中,式 I 化合物与尼克酸或烟酸联合给药。

在本发明的一个实施方案中,式 I 化合物与 CETP 抑制剂如 CP-529414(torcetrapib)联合给药。

在本发明的一个实施方案中,式 I 化合物与 ACAT 抑制剂联合给药。

在本发明的一个实施方案中,式 I 化合物与 MTP 抑制剂如英普他派联合给药。

在本发明的一个实施方案中,式 I 化合物与抗氧化剂联合给药。

在本发明的一个实施方案中,式 I 化合物与脂蛋白脂肪酶抑制剂联合给药。

在本发明的一个实施方案中,式 I 化合物与 ATP 柠檬酸裂合酶抑制剂联合给药。

在本发明的一个实施方案中,式 I 化合物与角鲨烯合成酶抑制剂联合给药。

在本发明的一个实施方案中,式 I 化合物与脂蛋白拮抗剂联合给药。

减肥药

在本发明的一个实施方案中,式 I 化合物与脂肪酶抑制剂(例如奥利司他)联合给药。

在一个实施方案中,其它活性成分是芬氟拉明或右芬氟拉明。

在另一实施方案中,其它活性成分是西布曲明。

大麻素(Cannabinoid)受体 1 拮抗剂(例如利莫那班、surinabant、氮杂环丁烷衍生物和/或如 EP 0656354、WO 00/15609、WO 02/076949、WO2005080345、WO2005080328、WO2005080343、WO2005075450、WO2005080357、WO200170700、WO2003026647-48、WO200302776、WO2003040107、WO2003007887、WO2003027069、US6509367、WO200132663、WO2003086288、

WO2003087037、WO2004048317、WO2004058145、WO2003084930、
WO2003084943、WO2004058744、WO2004013120、WO2004029204、
WO2004035566、WO2004058249、WO2004058255、WO2004058727、
WO2004069838、US20040214837、US20040214855、US20040214856、
WO2004096209、WO2004096763、WO2004096794、WO2005000809、
WO2004099157、US20040266845、WO2004110453、WO2004108728、
WO2004000817、WO2005000820、US20050009870、WO200500974、
WO2004111033-34、WO200411038-39、WO2005016286、WO2005007111、
WO2005007628、US20050054679、WO2005027837、WO2005028456、
WO2005063761-62、WO2005061509、WO2005077897 所描述的大麻素受体拮抗剂)。

在另外的实施方案中，式 I 化合物与下列物质联合给药，所述物质为 CART 调节剂(见“可卡因-苯丙胺调节的转录物影响大鼠的能量代谢、焦虑和胃排空(Cocaine-amphetamine-regulated transcript influences energy metabolism, anxiety and gastric emptying in mice)” Asakawa, A 等, M.: 激素和代谢研究(Hormone and Metabolic Research)(2001), 33(9), 554-558)、NPY 拮抗剂(例如萘-1-磺酸{4-[(4-氨基喹唑啉-2-基氨基)甲基]环己基甲基}酰胺盐酸盐(CGP71683A))、MC4 激动剂(例如 1-氨基-1,2,3,4-四氢萘-2-甲酸[2-(3a-苄基-2-甲基-3-氧代-2,3,3a,4,6,7-六氢吡唑并[4,3-c]吡啶-5-基)-1-(4-氯苄基)-2-氧代乙基]酰胺; (WO01/91752))、阿立新(Orexin)拮抗剂(如 1-(2-甲基苯并噁唑-6-基)-3-[1,5]萘啶-4-基脲盐酸盐(SB-334867-A))、H3 激动剂(如 3-环己基-1-(4,4-二甲基-1,4,6,7-四氢咪唑并[4,5-c]吡啶-5-基)丙烷-1-酮草酸盐(WO 00/63208)); TNF 激动剂、CRF 拮抗剂(如[2-甲基-9-(2,4,6-三甲基苯基)-9H-1,3,9-三氮杂芴-4-基]二丙基胺(WO00/66585))、CRF BP 拮抗剂(如优洛可定(Urocortin))、优洛可定激动剂、 β 3 激动剂(如 1-(4-氯-3-甲磺酰甲基苄基)-2-[2-(2,3-二甲基-1H-吡啶-6-基氧基)乙基氨基]-乙醇盐酸盐(WO 01/83451))、MSH(促黑素细胞激素)激动剂、CCK-A 激动剂(如{2-[4-(4-氯-2,5-二甲氧基苄基)-5-(2-环己基乙基)

噻唑-2-基氨基甲酰基]-5,7-二甲基吲哚-1-基}乙酸三氟乙酸盐(WO99/15525)、血清素再摄取抑制剂(如右芬氟拉明)、混合的血清素能和去甲肾上腺素能化合物(如 WO 00/71549)、5HT 激动剂(如 1-(3-乙基苯并咪唑-7-基)哌嗪草酸盐(WO01/09111))、铃蟾肽激动剂、加兰肽拮抗剂、生长激素(如人生长激素)、生长激素释放化合物(6-苄氧基-1-(2-二异丙基氨基乙基氨基甲酰基)-3,4-二氢-1H-异喹啉-2-甲酸叔丁酯 (WO01/85695))、TRH 激动剂(参见, 如 EP0 462 884)、解偶联蛋白 2 或 3 调节剂、瘦蛋白激动剂(参见, 如 Lee, Daniel W.; Leinung, Matthew C.; Rozhavskaya-Arena, Marina; Grasso, Patricia)。瘦蛋白激动剂作为治疗肥胖的潜在方法(Leptin agonists as a potential approach to the treatment of obesity), 未来药物(Drugs of the Future) (2001), 26(9), 837-881)、DA 激动剂(溴隐停、Doprexin)、脂肪酶/淀粉酶抑制剂(如 WO 00/40569)、PPAR 调节剂(如 WO00/78312)、RXR 调节剂或 TR- β 激动剂)。

在本发明的一个实施方案中, 另外的活性成分是瘦蛋白。

在一个实施方案中, 另外的活性成分是右旋安非他明、安非他明、吗啉啉(mazindole)或苯丁胺。

在一个实施方案中, 式 I 化合物与对冠状循环和血管系统有作用的药物(如 ACE 抑制剂(如雷米普利))、对肾素-血管紧张素系统有作用的药物、钙拮抗剂、 β -阻断剂等联合给药。

在一个实施方案中, 式 I 化合物与具有抗炎作用的药物联合给药。

在一个实施方案中, 式 I 化合物与用于癌症治疗和癌症预防的药物联合给药。

可以理解, 本发明化合物与一种或多种上述化合物以及任选一种或多种其它药理活性物质的任何适当的组合产品是在本发明的保护范围内。

化合物的活性如下测试:

在 PPAR α 细胞试验中测定 PPAR 激动剂的 EC50 值

原理

使用稳定转染的 HEK(HEK=人胚胎肾)细胞系, 在这里将其称“PPAR α 报告细胞系”, 对结合到人 PPAR α 并以激动(agonistic)方式将其激活的物质的功效进行分析。所述细胞包含两个遗传元件, 即荧光素酶报告元件 (pdeltaM-GAL4-Luc-Zeo) 和 PPAR α 融合蛋白 (GR-GAL4-人 PPAR α -LBD), PPAR α 融合蛋白依赖 PPAR α 配体介导荧光素酶报告元件的表达。稳定和组成型表达的融合蛋白 GR-GAL4-人 PPAR α -LBD 在 PPAR α 报告细胞系的细胞核中通过 GAL4 蛋白部分结合到稳定整合进此细胞系基因组中的荧光素酶报告元件的 5'-上游 GAL4 DNA 结合基序。如果在试验中使用脂肪酸耗竭的胎牛血清(cs-FCS), 没有 PPAR α 配体加入时, 只有极少量荧光素酶报告基因表达。PPAR α 配体结合并激活了 PPAR α 融合蛋白, 因此导致荧光素酶报告基因的表达。形成的荧光素酶可以通过借助合适底物的化学发光法检测。

细胞系的构建

PPAR α 报告细胞系通过两个步骤制备。首先, 构建荧光素酶报告元件并且将其稳定地转染进 HEK 细胞。为此, 将酵母转录因子 GAL4 (在每种情况下为 5'-CGGAGTACTGTCCTCCGAG-3') 的五个结合位点克隆进 68bp 长的最小 MMTV 启动子(基因库登录号#V01175)的 5'-上游。最小 MMTV 启动子部分包含 CCAAT 盒和 TATA 元件, 以使通过 RNA 聚合酶 II 的有效转录成为可能。GAL4-MMTV 构建体的克隆和测序可类似于 Sambrook J. 等人所描述(分子克隆(Molecular cloning), Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989)进行。然后将完整的萤火虫荧光素酶基因(基因库登录号#M15077)克隆进 GAL4-MMTV 元件的 3'-下游。测序后, 将由五个 GAL4 结合位点、MMTV 启动子和荧光素酶基因组成的荧光素酶报告元件亚克隆进赋予 zeozin 抗性的质粒中, 以获得质粒 pdeltaM-GAL4-Luc-Zeo。根据 Ausubel, F.M. 等的描述((分子生物学当前技术)Current protocols in molecular biology, 1-3 卷, John Wiley & Sons, Inc., 1995)将载体转染进 HEK 细胞中。然后用含有 zeozin 的培养基(0.5 mg/ml)来选择合适的稳定的细胞克隆, 它表现极低的荧光素酶基因的基础表达。

第二步, 将 PPAR α 融合蛋白(GR-GAL4-人 PPAR α -LBD)导入所述的稳定细胞克隆中。为此, 最初, 将编码糖皮质激素受体 N 端 76 个氨基酸的 cDNA (基因库登录号#P04150)连接到编码酵母转录因子 GAL4 的氨基酸 1-147 的 cDNA 部分(基因库登录号#P04386)。将人 PPAR α 受体的配体结合结构域的 cDNA(氨基酸 S167-Y486; 基因库登录号#S74349)克隆进此 GR-GAL4 构建体的 3'端。将用此方法制备的融合构建体(GR-GAL4-人 PPAR α -LBD)亚克隆进质粒 pcDNA3(购自 Invitrogen), 以使通过巨细胞病毒启动子进行的组成型表达成为可能。将这个质粒用限制性核酸内切酶线性化, 并稳定地转染进前述含有荧光素酶报告元件的细胞克隆中。所得到的包含荧光素酶报告元件和组成型表达 PPAR α 融合蛋白(GR-GAL4-人 PPAR α -LBD)的 PPAR α 报告细胞系可以通过用 zeozin(0.5 mg/ml)和 G418(0.5 mg/ml)选择, 进行分离。

试验方法

PPAR α 激动剂活性在为期 3 天的试验中得以测定, 描述如下:

第一天

将 PPAR α 报告细胞系在具有如下添加物: 10% cs-FCS(胎牛血清, #SH-30068.03, Hyclone)、0.5 mg/ml 的 zeozin (#R250-01 Invitrogen)、0.5 mg/ml 的 G418(#10131-027, Invitrogen)、1%的青霉素链霉素溶液(#15140-122, Invitrogen)和 2 mM 的 L-谷氨酰胺(#25030-024, Invitrogen)的 DMEM 培养基(#41965-039, Invitrogen)中培养至 80%汇合。在 5%CO₂ 存在下于 37°C 细胞培养箱中的标准细胞培养瓶(#353112, Becton Dickinson)里进行培养。将 80%汇合的细胞用 15 ml PBS(#14190-094, Invitrogen)洗涤一次, 用 3 ml 胰蛋白酶溶液(#25300-054, Invitrogen)在 37°C 处理 2 分钟, 将其置于 5 ml 上述 DMEM 培养基中并且在细胞计数器中计数。稀释到 500000 个细胞/ml 后, 将 35000 个细胞接种在具有透明塑料底的 96 孔微量滴定板(#3610, Corning Costar)的每个孔中。将板在 37°C 和 5% CO₂ 条件下的细胞培养箱中孵育 24 小时。

第二天

将待检测的 PPAR α 激动剂溶解于 DMSO 中，浓度为 10 mM。将此储备溶液在 DMEM 培养基(#41965-039, Invitrogen)中稀释，所述培养基中混有 5%的 cs-FCS(#SH-30068.03, Hyclone)、2 mM 的 L-谷氨酰胺(#25030-024, Invitrogen)以及上述抗生素(zeozin、G418、青霉素和链霉素)。

在 10 μ M 到 100 pM 范围内，对测试物质以 11 种不同浓度进行检测。较有效的化合物以 1 μ M 到 10pM 或 100 nM 到 1 pM 之间的浓度进行检测。

通过抽吸将第一天用来接种 PPAR α 报告细胞系的培养基完全除去，并且立刻将在培养基中稀释了的试验物质加入细胞中。使用自动装置(robot)(Beckman FX)进行上述物质的稀释和添加。在培养基中稀释的试验物质的终体积为 96 孔微量滴定板的每孔 100 μ l。在检测中 DMSO 浓度低于 0.1% v/v，以防止溶剂的细胞毒效应。

为了证明本测试在各个单独板中的作用，将同样稀释成 11 种不同浓度的标准 PPAR α 激动剂加入到各个板中。将检测板于 37 $^{\circ}$ C 和 5% CO $_2$ 的培养箱中孵育 24 小时。

第三天

将用试验物质处理过的 PPAR α 受体细胞从培养箱中移出，并且将培养基抽吸掉。吸量 50 μ l Bright Glo 试剂(来自 Promega)加入每个 96 孔微量滴定板孔中，将细胞裂解。在暗处室温下孵育 10 分钟后，在光度计中(来自 Wallac 的 Trilux)测定微量滴定板。对每个微量滴定板孔的测定时间为 1 秒。

计算

将得自光度计的原始数据导入 Microsoft Excel 文件中。根据生产商(IDBS)的指定的程序 XL.Fit 计算 PPAR 激动剂的剂量-效应曲线和 EC $_{50}$ 值。

在PPAR γ 细胞试验中测定PPAR激动剂的EC $_{50}$ 值

原理

用一种瞬时转染系统测定 PPAR 激动剂的细胞 PPAR γ 的活性, 其中应用了荧光素酶报告质粒 (pGL3basic-5xGAL4-TK) 和 PPAR γ 表达质粒 (pcDNA3-GAL4-人 PPAR γ LBD)。将两种质粒瞬时转染到人胚胎肾细胞 (HEK 细胞)。然后在这些融合蛋白 GAL4-人 PPAR γ LBD (其结合至报告质粒 GAL4 结合点) 的细胞中进行表达。在 PPAR γ 活性配体的存在下, 有活性的融合蛋白 GAL4-人 PPAR γ LBD 诱导荧光素酶报告基因表达, 在加入荧光素酶底物后, 这可以以化学发光信号形式检测。不同于稳定转染的 PPAR α 报告细胞系, 在细胞 PPAR γ 测定中, 由于 PPAR γ 融合蛋白稳定和持久的表达是细胞毒性的, 所以两个组分 (荧光素酶报告质粒和 PPAR γ 表达质粒) 被瞬间转染到 HEK 细胞中。

质粒的构建

荧光素酶报告质粒 pGL3basic-5xGAL4-TK 基于来自 Promega 的载体 pGL3basic。通过将酵母转录因子 GAL4 (每个结合位点带有 5' CTCGGAGGACAGTACTCCG-3' 序列) 五个结合位点与 160 bp-长的胸苷激酶启动子部分 (基因库登录号 #AF027128) 5'-上游一起克隆进 pGL3basic, 制备报告质粒。胸苷激酶启动子的 3'-下游是来自萤火虫的完全荧光素酶基因 (基因库登录号 #M15077), 它还是所用的质粒 pGL3basic 的一个构成组分。根据类似于 Sambrook J. 等人的描述 (分子克隆, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989), 进行报告质粒 pGL3basic-5xGAL4-TK 的克隆和序列测定。

PPAR γ 表达质粒 pcDNA3-GAL4-人 PPAR γ LBD 的制备: 首先, 将编码酵母转录因子 GAL4 氨基酸 1-147 的 cDNA (基因库登录号 #P04386) 克隆到细胞巨化病毒启动子的质粒 pcDNA3 (得自 Invitrogen) 3'-下游。然后, 克隆 GAL4 DNA 结合域的人 PPAR γ 受体 3'-下游的配体结合域 (LBD) 的 cDNA (氨基酸 I152-Y475; 基因库登录号 #g1480099)。再根据类似于 Sambrook J. 等人的描述 (分子克隆, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989), 进行 PPAR γ 表达质粒 pcDNA3-GAL4-人 PPAR γ LBD 的克隆和序列测定。除了荧光素酶报告质粒 pGL3basic-5xGAL4-TK 和 PPAR γ 表达质粒 pcDNA3-GAL4-人 PPAR γ LBD 外, PPAR γ 试验还使用对照质粒 pRL-CMV (来自 Promega) 和来自 Stratagene 的质

粒 pBluescript SK(+). 四种质粒全部用来自 Qiagen 的质粒制备盒制备, 该制备盒可保证质粒的质量, 使其在转染进 HEK 细胞前有最低的内毒素含量。

试验方法

在为期 4 天的试验中测定 PPAR γ 激动剂活性, 描述如下。在转染前, 将 HEK 细胞在具有下列添加物: 10% FCS (#16000-044, Invitrogen)、1% 青霉素链霉素溶液(#15140-122, Invitrogen)和 2 mM L-谷氨酰胺(#25030-024, Invitrogen)的 DMEM 培养基(# 41965-039, Invitrogen)中培养。

第一天

首先, 制备溶液 A, 即除了 DMEM 培养基外还包含上述的全部四种质粒的转染混合物。测试中对于每个 96 孔微量滴定板而言, 3mL 的溶液 A 包括下列量: 2622 μ l 的含抗生素且无血清的 DMEM 培养基(# 41965-039, Invitrogen)、100 μ l 的对照质粒 pRL-CMV (1 ng/ μ l)、100 μ l 的荧光素酶报告质粒 pGL3basic-5xGAL4-TK (10 ng/ μ l)、100 μ l 的 PPAR γ 表达质粒 pcDNA3-GAL4-人 PPAR γ LBD (100 ng/ μ l)和 78 μ l 的质粒 pBluescript SK(+)(500 ng/ μ l)。然后, 对于每个 96 孔微量滴定板, 用 1.9mL 的 DMEM 培养基(# 41965-039, Invitrogen)和 100 μ l 的 PolyFect 转染剂(来自 Qiagen)制备 2mL 溶液 B。接着, 将 3mL 溶液 A 与 2mL 溶液 B 混合得到 5mL 溶液 C, 通过多次移液使其完全混合, 在室温下孵育 10 分钟。

将得自容量为 175 cm² 的细胞培养瓶的 80% 汇合的 HEK 细胞用 15 ml PBS(#14190-094, Invitrogen)洗涤一次, 用 3 ml 胰蛋白酶溶液(#25300-054, Invitrogen)在 37 $^{\circ}$ C 处理 2 分钟。将细胞加入 15mL DMEM 培养基(# 41965-039, Invitrogen)中, 该培养基混有 10% FCS (# 16000-044, Invitrogen)、1% 青霉素链霉素溶液(#15140-122, Invitrogen)和 2 mM L-谷氨酰胺 (#25030-024, Invitrogen)。将细胞悬浮液在细胞计数器中计数后, 将悬浮液稀释到 250000 个细胞/ml。

对于一个微量滴定板而言, 将 15 ml 上述细胞悬浮液和 5mL 溶液 C 混合。将 200 μ l 悬浮液接种在具有透明塑料底的 96 孔微量滴定板(#3610, Corning

Costar)的每个孔中,将板在 37°C 和 5% CO₂ 条件下在细胞培养箱中孵育 24 小时。

第二天

将待检测的 PPAR 激动剂溶于 DMSO 中,浓度为 10 mM。将此储备溶液在 DMEM 培养基(#41965-039, Invitrogen)中稀释,上述培养基混有 2% Ultroser (#12039-012, Biosepra)、1% 青霉素链霉素溶液(#15140-122, Invitrogen)和 2 mM L-谷氨酰胺(#25030-024, Invitrogen)。将测试物质以 10 μM 到 100 pM 范围内的总共 11 种不同浓度进行检测。较有效的化合物以 1 μM 到 10pM 范围的浓度进行检测。

通过抽吸将第一天用于接种和转染 HEK 细胞的培养基完全除去,并且立刻将在培养基中稀释的试验物质加入细胞中。使用自动装置(Beckman FX)进行此类物质的稀释和添加。在培养基中稀释的试验物质的终体积为 96 孔微量滴定板的每孔 100 μl。为了证明本测试在各个单独板中的作用,将同样稀释成 11 种不同浓度的标准 PPAR γ 激动剂加入到各个板中。将检测板在 37°C 和 5% CO₂ 条件下,在培养箱中孵育 48 小时。

第四天

通过吸抽将培养基移除后,根据生产商的用法说明,将 50 μl Dual-Glo™ 试剂(Dual-Glo™ Luciferase Assay System; Promega)加至每孔,以使细胞裂解,同时提供在细胞中形成的萤火虫荧光素酶 (Photinus pyralis) 的底物,在暗处室温下孵育 10 分钟后,在测量仪器中测定萤火虫荧光素酶介导的化学发光(测定时间/每孔 1 秒;来自 Wallac 的 Trilux)。然后将 50 μl Dual-Glo™ Stop & Glo 试剂 (Dual-Glo™ Luciferase Assay System; Promega) 加入到每个孔中,以终止萤火虫荧光素酶的活性,并且提供通过对照质粒 pRL-CMV 表达的 Renilla 荧光素酶的底物。在暗处及室温下再孵育 10 分钟后,在测量仪器上再以 1 秒/孔测定 Renilla 荧光素酶介导的化学发光。

计算

将得自光度计的原始数据导入 Microsoft Excel 文件中。对由微滴定板

的孔中得到的每一测量值而言，测定萤火虫/*Renilla* 荧光素酶活性比。根据生产商(IDBS)的指定的程序 XL.Fit，由上述比例计算 PPAR 激动剂的剂量-效应曲线和 EC₅₀ 值。

本发明的式 I 部分化合物的活性结果如下列表 I 所示：

表 I:

实施例编号	EC ₅₀ PPAR α [μ M]	EC ₅₀ PPAR γ [μ M]
3	0.0042	0.15
8	0.011	0.040
11	0.0087	0.63
17	0.0037	0.091
22	0.022	0.71
23	0.088	1.8
27	0.013	0.39
31	0.0014	0.017
32	0.0016	0.072
33	0.021	0.014
*	0.0010	> 10

· 来自 WO2000064888 的实施例 51

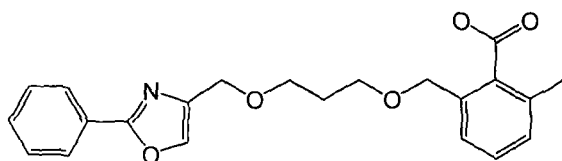
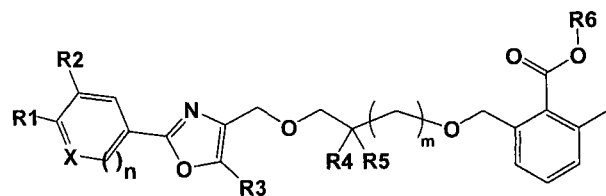


表 I 表明，式 I 的本发明化合物活化 PPAR α 受体和 PPAR γ 受体，因此类似于临床使用的贝特类，例如减少体内的甘油三酯(参见，例如 J.-Ch. Fruchard 等人：PPARS，代谢疾病和动脉粥样硬化，药理学研究，Vol. 44, No. 5, 2001；S. Kersten 等人：PPARs 在健康和疾病中的作用，自然，VOL 405, 2000 年 5 月 25 日；I. Pineda 等人：过氧化物增殖物激活受体：从转录控制到临床实践，脂类学的当前观点 12: 2001, 245-254)。

下面详述的实施例用以举例说明本发明，而不是限制本发明。



I

表 II: 实施例 1 到 23, 其中 $m=1$, $R4=R5=R6=H$ 。

实施例	R1	R2	R3	X	n
1	H	Me	Me	CH	1
2	Me	H	Me	CH	1
3	Ph	H	Me	CH	1
4	OCF ₃	H	Me	CH	1
5	H	H	Me	S	0
6	SCF ₃	H	Me	CH	1
7	F	H	Me	CH	1
8	PhO	H	Me	CH	1
9	H	CF ₃	Me	CH	1
10	H	OMe	Me	CH	1
11	OMe	OMe	Me	CH	1
12	H	OCF ₃	Me	CH	1
13	tBu	H	Et	CH	1
14	2-萘基		Et	CH	1
15	Me	Me	Et	CH	1
16	Me	H	Et	CH	1
17	H	OMe	Et	CH	1
18	tBu	H	iPr	CH	1
19	2-萘基		iPr	CH	1
20	H	CF ₃	iPr	CH	1
21	Me	Me	iPr	CH	1
22	Me	H	Cy	CH	1
23	Me	H	Ph	CH	1

表 III: 实施例 24-28, 其中 $m=n=1$, $R4=R5=Me$, $R6=H$, $X=CH$ 。

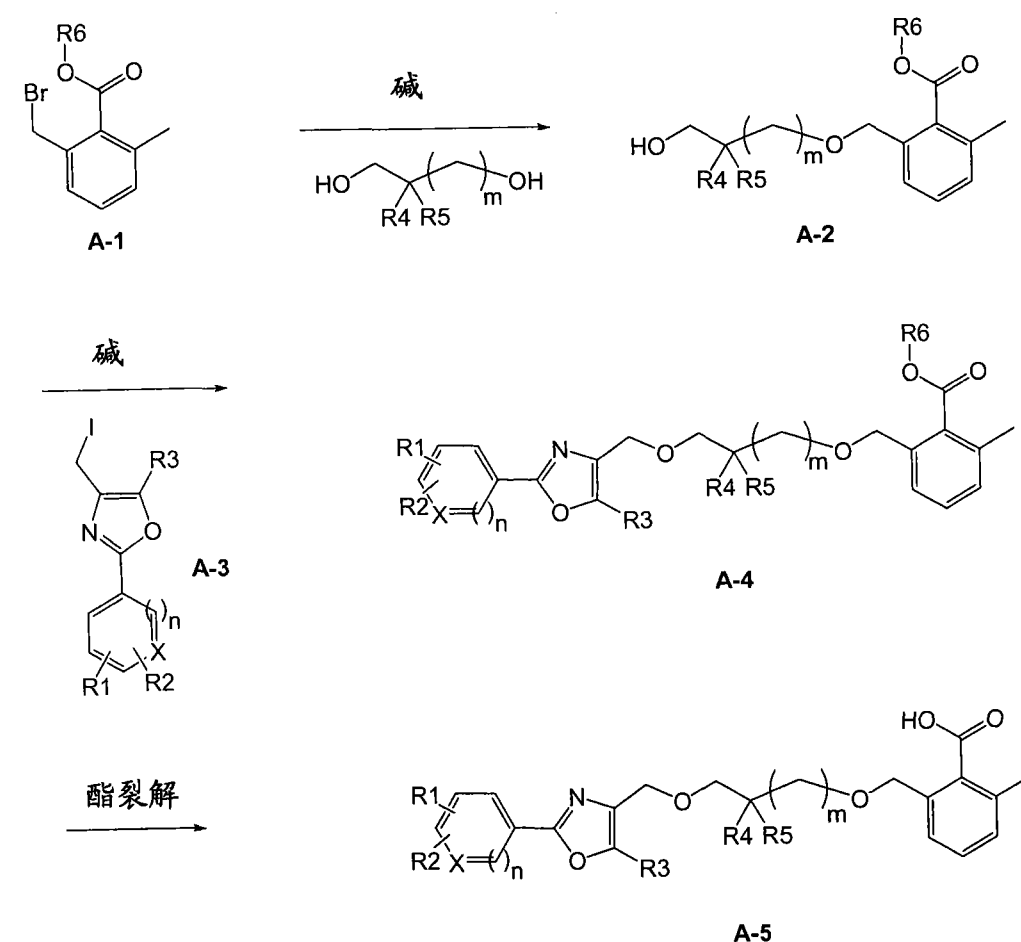
实施例	R1	R2	R3
24	F	H	H
25	Me	H	Me
26	F	H	Me
27	H	OMe	Me
28	H	CF ₃	iPr

表 IV: 实施例 29-33, 其中 $m = 2$, $n = 1$, $R_4 = R_5 = R_6 = H$, $X = CH$.

实施例	R1	R2	R3
29	F	H	Me
30	Me	H	Me
31	H	OMe	Me
32	H	CF ₃	iPr
33	Ph	H	Me

方法

本发明的式 I 化合物可按下面的反应流程制得:



方法

A:

化合物 A-1 是按照 WO2004076390 描述的方法制备的, 其中 R₆ 具有上面所述的意义。然后该溴化物与伯二醇(过量)在极性溶剂及在碱存在和 20 至 40℃ 条件下反应, 得到产物 A-2, 其中 R₄、R₅ 和 m 具有上面所述的意义。然后化合物

A-2 在极性溶剂中及在碱存在和 20 至 40℃条件下与碘化物 A-3 反应, A-3 如 WO2004076428、WO2004076427、WO2004076426、WO2004075815、WO2004076390、WO2003020269 所述制备, 其中 R1、R2、R3、X 和 n 具有上面所述的意义, 得到化合物 A-4。最后, 通过将化合物 A-4 氢氧化物在水/甲醇或水/乙醇混合物中在 0-40℃下(对于 R6 为伯或仲烷基而言)或在三氟乙酸/二氯甲烷中在 0-40℃下(对于 R6 为叔烷基而言)搅拌, 使其进行酯裂解。下面提到的实施例可以通过该方法合成。

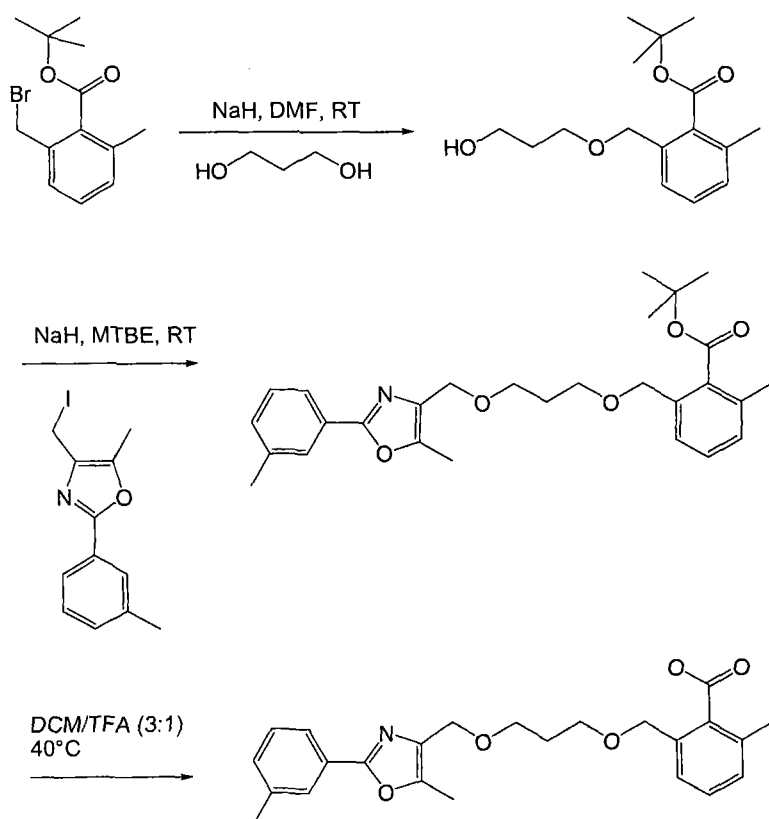
所用的缩写代表:

tBu	叔丁基
Cy	环己基
DCM	二氯甲烷
DMF	N,N-二甲基甲酰胺
DMSO	二甲基亚砷
EA	乙酸乙酯
EI	电子轰击离子化(在 MS 中)
equiv.	当量
ESI	电喷雾离子化(在 MS 中)
Et	乙基
h	小时
HPLC	高压、高效液相色谱
LCMS	液相色谱-质谱联用
Me	甲基
MS	质谱法
MTBE	叔丁基甲醚
NMR	核磁共振波谱法
Ph	苯基
iPr	异丙基
nPr	正丙基
Rf	保留比(在 TLC 中)
RT	室温
sat.	饱和的
TFA	三氟乙酸
THF	四氢呋喃
TLC	薄层色谱

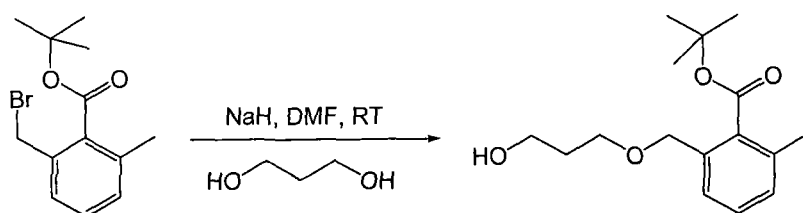
其他化合物可根据上述方法制备。

实施例 1

2-甲基-6-[3-(5-甲基-2-*m*-甲苯基噁唑-4-基甲氧基)丙氧基甲基]苯甲酸



2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯

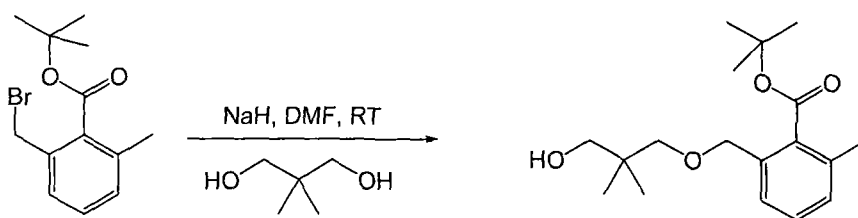


将 25.5 ml 的丙二醇在 RT 下慢慢滴加到 3.37 g 的氢化钠(在矿物油中, 重量含量 60%)的 400mL DMF 悬浊液中。在气体停止产生后, 加入 20 g 2-溴甲基-6-甲基苯甲酸叔丁酯, 将溶液在 RT 搅拌 72h。加入水, 并用 MTBE 将溶液萃取两次, 合并有机相, 用水和饱和氯化钠溶液洗涤, 经 MgSO₄ 干燥并浓缩。将残留

物在硅胶柱上层析, 用环己烷/乙酸乙酯梯度洗脱, 得到 16 g 无色油状的 2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO): $\delta = 7.27-7.32$ (m, 1H); 7.16-7.24 (m, 2H); 4.44 (s, 2H); 4.38 (t, $J = 6\text{Hz}$, 1H); 3.39-3.46 (m, 4H); 2.27 (s, 3H); 1.66 (tt, $J_1 = 6\text{Hz}$, $J_2 = 6\text{Hz}$, 2H); 1.55 (s, 9H)。

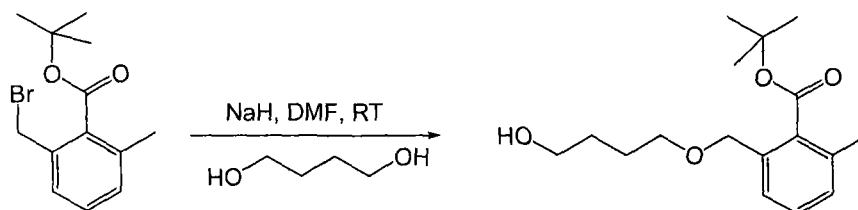
2-(3-羟基-2,2-二甲基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯



类似于 2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯的合成, 由 2-溴甲基-6-甲基苯甲酸叔丁酯和 2,2-二甲基丙烷-1,3-二醇制备 2-(3-羟基-2,2-二甲基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO): $\delta = 7.27-7.32$ (m, 1H); 7.16-7.24 (m, 2H); 4.44 (s, 2H); 4.39 (t, $J = 6\text{Hz}$, 1H); 3.32-3.40 (m, 4H); 3.16 (d, $J = 6\text{Hz}$, 2H); 3.10 (s, 2H); 2.27 (s, 3H); 1.55 (s, 9H); 0.79 (s, 6H)。

2-(4-羟基丁氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯

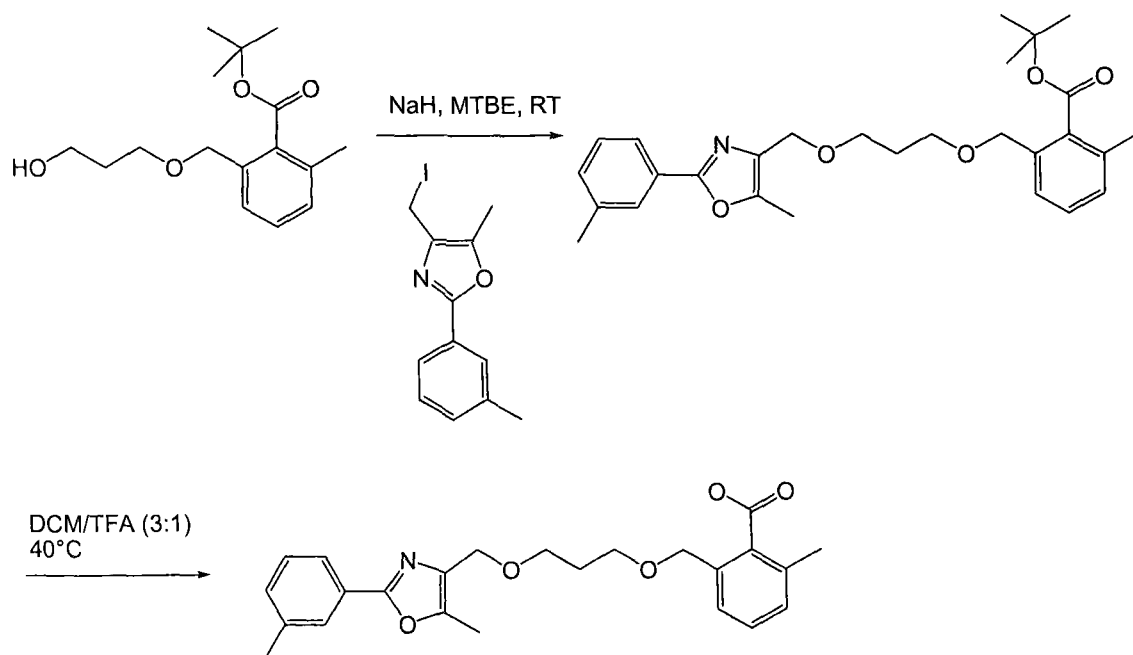


类似于 2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯的合成, 由 2-溴甲基-6-甲基苯甲酸叔丁酯和丁烷-1,4-二醇合成 2-(4-羟基丁氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO): $\delta = 7.27-7.32$ (m, 1H); 7.16-7.24 (m, 2H);

4.44 (s, 2H); 4.37 (t, J = 6Hz, 1H); 3.32-3.40 (m, 4H); 2.27 (s, 3H); 1.55 (s, 9H); 1.50-1.59 (m, 2H); 1.40-1.48 (m, 2H).

2-甲基-6-[3-(5-甲基-2-m-甲苯基噁唑-4-基甲氧基)丙氧基甲基]苯甲酸

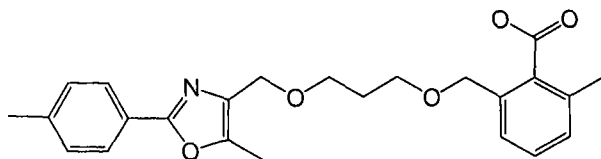


将200 mg的2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯溶解在1.0 ml MTBE中，加入57 mg的氢化钠(60%，在矿物油中)。在停止产生气体后，加入446 mg的5-甲基-2-m-甲苯基噁唑-4-基甲基碘，将混悬液在RT下搅拌过夜，然后加入水，将液体倒入硅藻土(kieselguhr)柱(VARIAN CHEM ELUT 1010)中。产物用MTBE洗脱并浓缩。不经纯化，将残留物溶解在DCM/TEA(3: 1)中，在40°C搅拌5 h。将溶液浓缩，并用制备型HPLC纯化，得到202mg 2-甲基-6-[3-(5-甲基-2-m-甲苯基噁唑-4-基甲氧基)丙氧基甲基]苯甲酸。

C₂₄H₂₇NO₅ (409.19): LCMS (ESI): 410.48 [MH⁺].

实施例2

2-甲基-6-[3-(5-甲基-2-p-甲苯基噁唑-4-基甲氧基)丙氧基甲基]苯甲酸

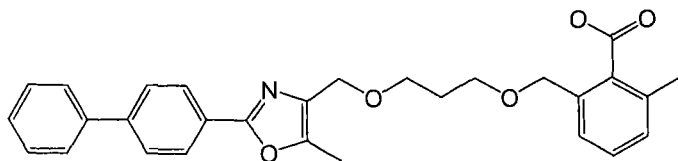


类似于实施例1,由2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和5-甲基-2-p-甲苯基噁唑-4-基甲基碘制得2-甲基-6-[3-(5-甲基-2-p-甲苯基噁唑-4-基甲氧基)丙氧基甲基]苯甲酸。

$C_{24}H_{27}NO_5$ (409.19): LCMS (ESI): 410.23 $[MH^+]$ 。

实施例3

2-甲基-6-[3-(5-甲基-2-p-联苯基噁唑-4-基甲氧基)丙氧基甲基]苯甲酸

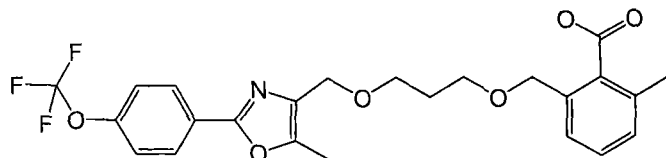


类似于实施例1,由2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和5-甲基-2-p-联苯基噁唑-4-基甲基碘制得到2-甲基-6-[3-(5-甲基-2-p-联苯基噁唑-4-基甲氧基)丙氧基甲基]苯甲酸。

$C_{29}H_{29}NO_5$ (471.20): LCMS (ESI): 472.19 $[MH^+]$ 。

实施例4

2-甲基-6-{3-[5-甲基-2-(4-三氟甲氧基苯基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}苯甲酸



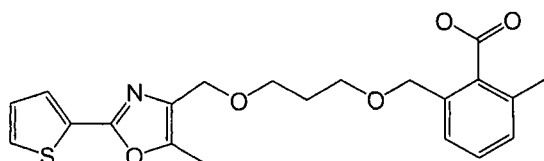
类似于实施例1,由2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和5-甲基-2-(4-三氟甲氧基苯基)噁唑-4-基甲基碘制得2-甲基-6-{3-[5-甲基-2-(4-三氟甲氧基苯基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}苯甲酸。

基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}苯甲酸。

$C_{24}H_{24}F_3NO_6$ (479.16): LCMS (ESI): 480.12 $[MH]^+$ 。

实施例 5

2-甲基-6-[3-(5-甲基-2-噻吩基噁唑-4-基甲氧基)丙氧基甲基]苯甲酸

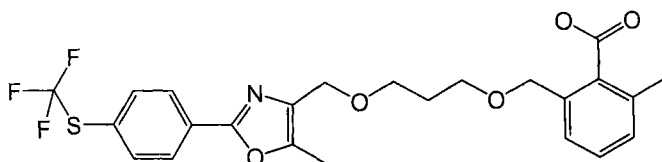


类似于实施例 1, 由 2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和 5-甲基-2-噻吩基噁唑-4-基甲基碘制得 2-甲基-6-[3-(5-甲基-2-噻吩基噁唑-4-基甲氧基)丙氧基甲基]苯甲酸。

$C_{21}H_{23}NO_5S$ (401.13): LCMS (ESI): 402.13 $[MH]^+$ 。

实施例 6

2-甲基-6-[3-[5-甲基-2-(4-三氟甲基巯基苯基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基]苯甲酸

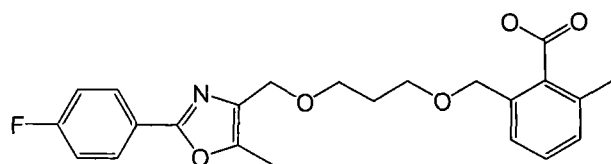


类似于实施例 1, 由 2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和 5-甲基-2-(4-三氟甲基巯基苯基)噁唑-4-基甲基碘制得 2-甲基-6-[3-[5-甲基-2-(4-三氟甲基巯基苯基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基]苯甲酸。

$C_{24}H_{24}F_3NO_5S$ (495.13): LCMS (ESI): 496.14 $[MH]^+$ 。

实施例 7

2-甲基-6-[3-[5-甲基-2-(4-氟苯基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基]苯甲酸

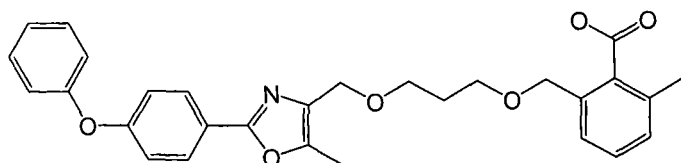


类似于实施例1,由2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和5-甲基-2-(4-氟苯基)噁唑-4-基甲基碘制得2-甲基-6-{3-[5-甲基-2-(4-氟苯基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}苯甲酸。

$C_{23}H_{24}FNO_5$ (413.16): LCMS (ESI): 414.20 $[MH^+]$ 。

实施例8

2-甲基-6-{3-[5-甲基-2-(4-苯氧基苯基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}苯甲酸

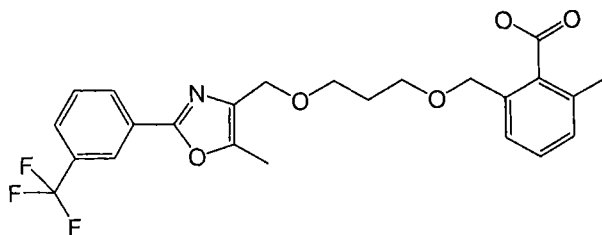


类似于实施例1,由2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和5-甲基-2-(4-苯氧基苯基)噁唑-4-基甲基碘制得2-甲基-6-{3-[5-甲基-2-(4-苯氧基苯基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}苯甲酸。

$C_{29}H_{29}NO_6$ (487.20): LCMS (ESI): 488.23 $[MH^+]$ 。

实施例9

2-甲基-6-{3-[5-甲基-2-(3-三氟甲基苯基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}苯甲酸

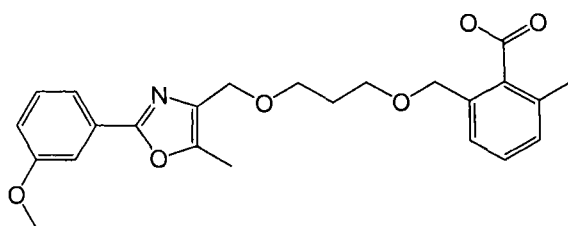


类似于实施例1,由2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和5-甲基-2-(3-三氟甲基苯基)噁唑-4-基甲基碘制得 2-甲基-6-{3-[5-甲基-2-(3-三氟甲基苯基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}苯甲酸。

C₂₄H₂₄F₃N₅ (463.16): LCMS (ESI): 464.03 [MH⁺].

实施例 10

2-甲基-6-{3-[5-甲基-2-(3-甲氧基苯基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}苯甲酸

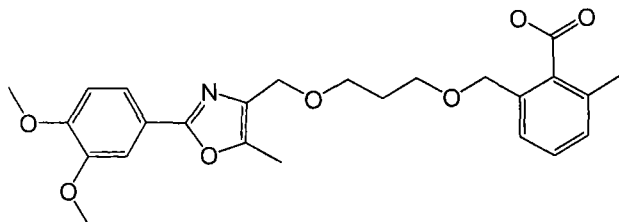


类似于实施例1,由2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和5-甲基-2-(3-甲氧基苯基)噁唑-4-基甲基碘制得 2-甲基-6-{3-[5-甲基-2-(3-甲氧基苯基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}苯甲酸。

C₂₄H₂₇N₅O₆ (425.18): LCMS (ESI): 426.44 [MH⁺].

实施例 11

2-甲基-6-{3-[5-甲基-2-(3,4-二甲氧基苯基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}苯甲酸

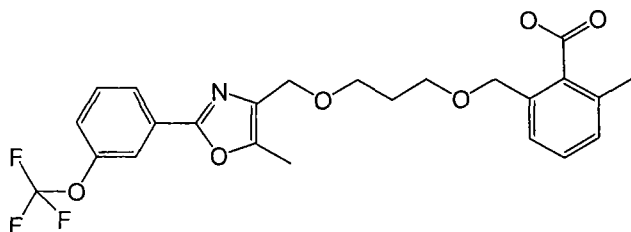


类似于实施例 1, 由 2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和 5-甲基-2-(3,4-二甲氧基苯基)噁唑-4-基甲基碘制得 2-甲基-6-{3-[5-甲基-2-(3,4-二甲氧基苯基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}苯甲酸。

C₂₅H₂₉N₅O₇ (455.19): LCMS (ESI): 456.18 [MH⁺].

实施例 12

2-甲基-6-{3-[5-甲基-2-(3-三氟甲氧基苯基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}苯甲酸

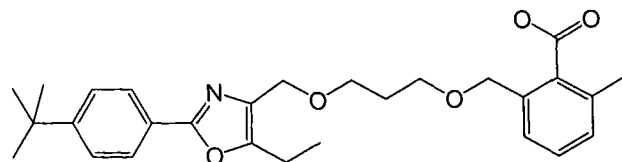


类似于实施例 1, 由 2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和 5-甲基-2-(3-三氟甲氧基苯基)噁唑-4-基甲基碘制得 2-甲基-6-{3-[5-甲基-2-(3-三氟甲氧基苯基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}苯甲酸。

$C_{24}H_{24}F_3NO_6$ (479.16): LCMS (ESI): 480.21 $[MH]^+$ 。

实施例 13

2-{3-[2-(4-叔丁基苯基)-5-乙基噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}-6-甲基苯甲酸

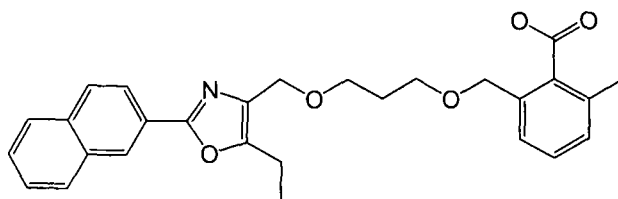


类似于实施例 1, 由 2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和 2-(4-叔丁基苯基)-5-乙基噁唑-4-基甲基碘制得 2-{3-[2-(4-叔丁基苯基)-5-乙基噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}-6-甲基苯甲酸。

$C_{28}H_{35}NO_5$ (465.25): LCMS (ESI): 464.24 $[MH]^+$ 。

实施例 14

2-{3-[5-乙基-2-(2-萘基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}-6-甲基苯甲酸

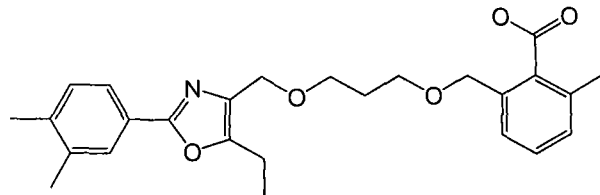


类似于实施例1,由2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和5-乙基-2-(2-萘基)噁唑-4-基甲基碘制得2-{3-[5-乙基-2-(2-萘基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}-6-甲基苯甲酸。

$C_{28}H_{29}NO_5$ (459.20): LCMS (ESI): 460.09 $[MH^+]$ 。

实施例15

2-{3-[2-(3,4-二甲基苯基)-5-乙基噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}-6-甲基苯甲酸

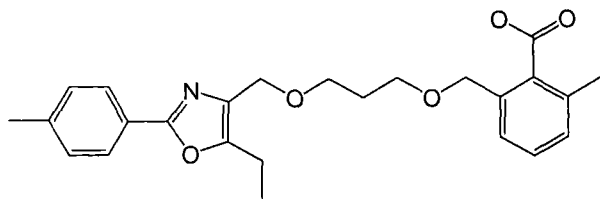


类似于实施例1,由2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和5-乙基-2-(3,4-二甲基苯基)噁唑-4-基甲基碘制得2-{3-[2-(3,4-二甲基苯基)-5-乙基噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}-6-甲基苯甲酸。

$C_{26}H_{31}NO_5$ (437.22): LCMS (ESI): 438.10 $[MH^+]$ 。

实施例16

2-甲基-6-[3-(5-乙基-2-p-甲苯基噁唑-4-基甲氧基)丙氧基甲基]苯甲酸

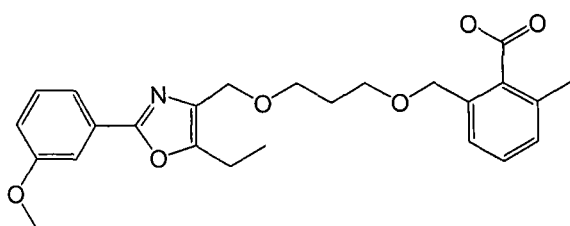


类似于实施例1,由2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和5-乙基-2-p-甲苯基噁唑-4-基甲基碘制得2-甲基-6-[3-(5-乙基-2-p-甲苯基噁唑-4-基甲氧基)丙氧基甲基]苯甲酸。

C₂₅H₂₉NO₅ (423.20): LCMS (ESI): 424.51 [MH⁺].

实施例17

2-乙基-6-{3-[5-甲基-2-(3-甲氧基苯基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}苯甲酸

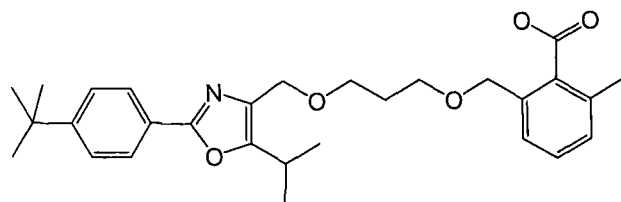


类似于实施例1,由2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和5-乙基-2-(3-甲氧基苯基)噁唑-4-基甲基碘制得2-乙基-6-{3-[5-甲基-2-(3-甲氧基苯基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}苯甲酸。

C₂₅H₂₉NO₆ (439.20): LCMS (ESI): 440.25 [MH⁺].

实施例18

2-{3-[2-(4-叔丁基苯基)-5-异丙基噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}-6-甲基苯甲酸

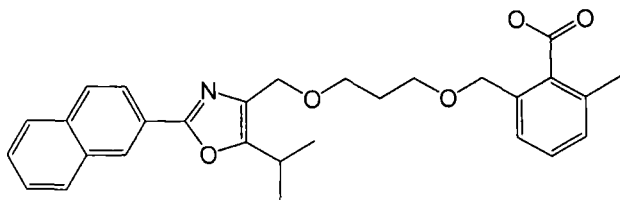


类似于实施例1,由2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和2-(4-叔丁基苯基)-5-异丙基噁唑-4-基甲基碘制得2-{3-[2-(4-叔丁基苯基)-5-异丙基噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}-6-甲基苯甲酸。

C₂₉H₃₇NO₅ (479.27): LCMS (ESI): 480.13 [MH⁺].

实施例 19

2-{3-[5-异丙基-2-(2-萘基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}-6-甲基苯甲酸

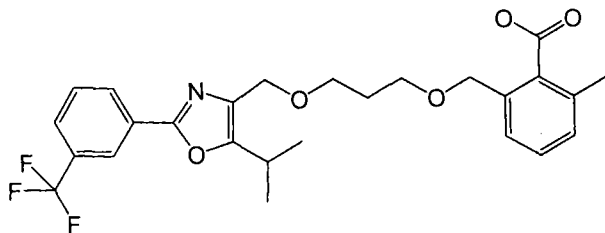


类似于实施例 1, 由 2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和 5-异丙基-2-(2-萘基)噁唑-4-基甲基碘制得 2-{3-[5-异丙基-2-(2-萘基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}-6-甲基苯甲酸。

C₂₉H₃₁NO₅ (473.22): LCMS (ESI): 474.09 [MH⁺].

实施例 20

2-{3-[5-异丙基-2-(3-三氟甲基苯基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}-6-甲基苯甲酸

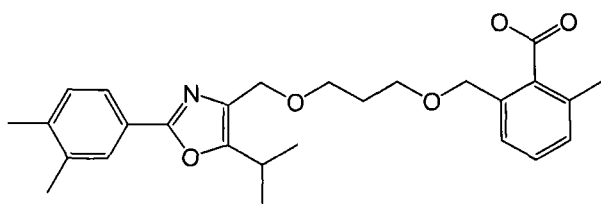


类似于实施例 1, 由 2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和 5-异丙基-2-(3-三氟甲基苯基)噁唑-4-基甲基碘制得 2-{3-[5-异丙基-2-(3-三氟甲基苯基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}-6-甲基苯甲酸。

C₂₆H₂₈F₃NO₅ (491.19): LCMS (ESI): 492.04 [MH⁺].

实施例 21

2-{3-[5-异丙基-2-(3,4-二甲基苯基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}-6-甲基苯甲酸

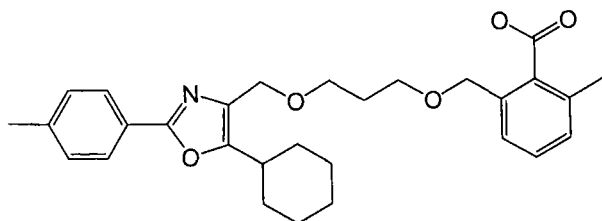


类似于实施例 1, 由 2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和 5-异丙基-2-(3,4-二甲基苯基)噁唑-4-基甲基碘制得 2-{3-[5-异丙基-2-(3,4-二甲基苯基)噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}-6-甲基苯甲酸。

$C_{27}H_{33}NO_5$ (451.24): LCMS (ESI): 452.10 $[MH^+]$ 。

实施例 22

2-甲基-6-{3-[5-环己基-2-p-甲苯基噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}苯甲酸

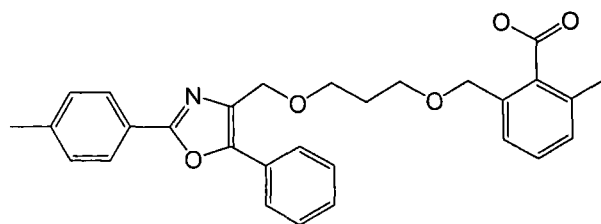


类似于实施例 1, 由 2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和 5-环己基-2-p-甲苯基噁唑-4-基甲基碘制得 2-甲基-6-{3-[5-环己基-2-p-甲苯基噁唑-4-基甲氧基]丙氧基甲基}苯甲酸。

$C_{29}H_{35}NO_5$ (477.25): LCMS (ESI): 478.52 $[MH^+]$ 。

实施例 23

2-甲基-6-[3-(5-苯基-2-p-甲苯基噁唑-4-基甲氧基)丙氧基甲基]苯甲酸



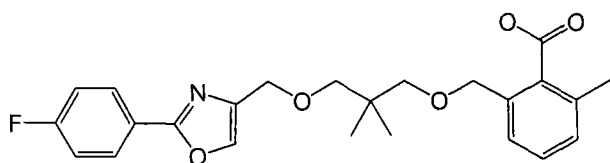
类似于实施例 1, 由 2-(3-羟基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和 5-苯基-2-p-

甲基噁唑-4-基甲基碘制得 2-甲基-6-[3-(5-苯基-2-p-甲基噁唑-4-基甲氧基)丙氧基甲基]苯甲酸。

C₂₉H₂₉NO₅ (471.20): LCMS (ESI): 472.52 [MH⁺].

实施例 24

2-{3-[2-(4-氟苯基)噁唑-4-基甲氧基]-2,2-二甲基丙氧基甲基}-6-甲基苯甲酸

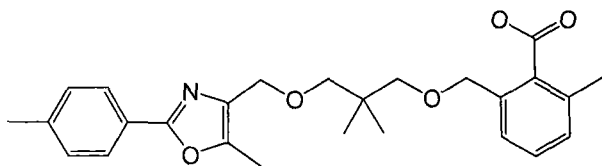


类似于实施例 1, 由 2-(3-羟基-2,2-二甲基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和 2-(4-氟苯基)噁唑-4-基甲基碘制得 2-{3-[2-(4-氟苯基)噁唑-4-基甲氧基]-2,2-二甲基丙氧基甲基}-6-甲基苯甲酸。

C₂₄H₂₆FNO₅ (427.18): LCMS (ESI): 428.24 [MH⁺].

实施例 25

2-[2,2-二甲基-3-(5-甲基-2-p-甲基噁唑-4-基甲氧基)丙氧基甲基]-6-甲基苯甲酸

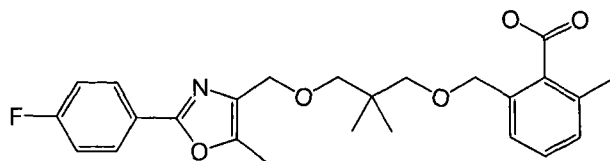


类似于实施例 1, 由 2-(3-羟基-2,2-二甲基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和 5-甲基-2-p-甲基噁唑-4-基甲基碘制得 2-[2,2-二甲基-3-(5-甲基-2-p-甲基噁唑-4-基甲氧基)丙氧基甲基]-6-甲基苯甲酸。

C₂₆H₃₁NO₅ (437.22): LCMS (ESI): 438.53 [MH⁺].

实施例 26

2-{3-[2-(4-氟苯基)-5-甲基噁唑-4-基甲氧基]-2,2-二甲基丙氧基甲基}-6-甲基苯甲酸

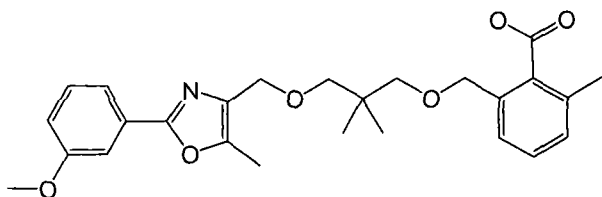


类似于实施例 1, 由 2-(3-羟基-2,2-二甲基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和 2-(4-氟苯基)-5-甲基噁唑-4-基甲基碘制得 2-{3-[2-(4-氟苯基)-5-甲基噁唑-4-基甲氧基]-2,2-二甲基丙氧基甲基}-6-甲基苯甲酸。

$C_{25}H_{28}FNO_5$ (441.20): LCMS (ESI): 442.27 $[MH^+]$ 。

实施例 27

2-{3-[2-(3-甲氧基苯基)-5-甲基噁唑-4-基甲氧基]-2,2-二甲基丙氧基甲基}-6-甲基苯甲酸

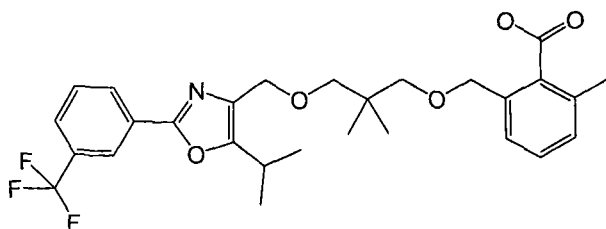


类似于实施例 1, 由 2-(3-羟基-2,2-二甲基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和 2-(3-甲氧基苯基)-5-甲基噁唑-4-基甲基碘制得 2-{3-[2-(3-甲氧基苯基)-5-甲基噁唑-4-基甲氧基]-2,2-二甲基丙氧基甲基}-6-甲基苯甲酸。

$C_{26}H_{31}NO_6$ (453.22): LCMS (ESI): 454.11 $[MH^+]$ 。

实施例 28

2-{3-[5-异丙基-2-(3-三氟甲基苯基)噁唑-4-基甲氧基]-2,2-二甲基丙氧基甲基}-6-甲基苯甲酸

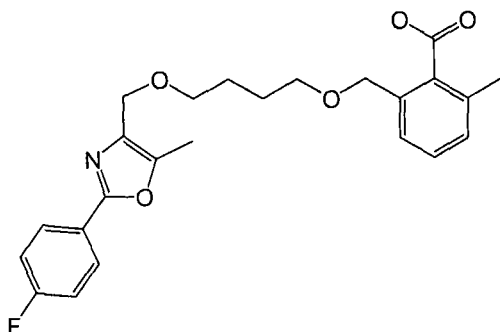


类似于实施例1,由2-(3-羟基-2,2-二甲基丙氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和5-异丙基-2-(3-三氟甲基苯基)噁唑-4-基甲基碘制得2-{3-[5-异丙基-2-(3-三氟甲基苯基)噁唑-4-基甲氧基]-2,2-二甲基丙氧基甲基}-6-甲基苯甲酸。

$C_{28}H_{32}F_3NO_5$ (519.22): LCMS (ESI): 520.46 $[MH]^+$ 。

实施例29

2-甲基-6-[4-[5-甲基-2-(4-氟苯基)噁唑-4-基甲氧基]丁氧基甲基]苯甲酸

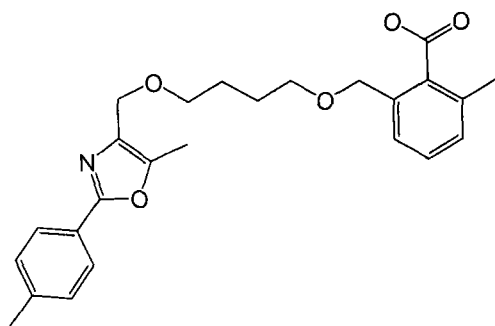


类似于实施例1,由2-(4-羟基丁氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和5-甲基-2-(4-氟苯基)噁唑-4-基甲基碘制得2-甲基-6-[4-[5-甲基-2-(4-氟苯基)噁唑-4-基甲氧基]丁氧基甲基]苯甲酸。

$C_{24}H_{26}FNO_5$ (427.18): LCMS (ESI): 428.45 $[MH]^+$ 。

实施例30

2-甲基-6-[4-(5-甲基-2-p-甲苯基噁唑-4-基甲氧基)丁氧基甲基]苯甲酸



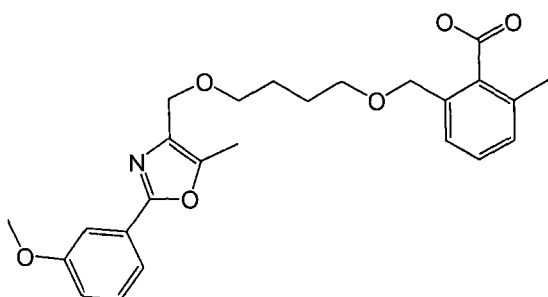
类似于实施例1,由2-(4-羟基丁氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和5-甲基-2-p-

甲基苯基噁唑-4-基甲基碘制得 2-甲基-6-[4-(5-甲基-2-p-甲基苯基噁唑-4-基甲氧基)丁氧基甲基]苯甲酸。

C₂₅H₂₉NO₅ (423.20): LCMS (ESI): 424.27 [MH⁺].

实施例 31

2-甲基-6-{4-[2-(3-甲氧基苯基)-5-甲基噁唑-4-基甲氧基]丁氧基甲基}苯甲酸

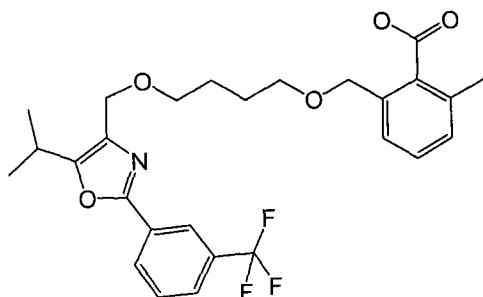


类似于实施例 1, 由 2-(4-羟基丁氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和 2-(3-甲氧基苯基)-5-甲基噁唑-4-基甲基碘制得 2-甲基-6-{4-[2-(3-甲氧基苯基)-5-甲基噁唑-4-基甲氧基]丁氧基甲基}苯甲酸。

C₂₅H₂₉NO₆ (439.20): LCMS (ESI): 440.15 [MH⁺].

实施例 32

2-{4-[5-异丙基-2-(3-三氟甲基苯基)噁唑-4-基甲氧基]丁氧基甲基}-6-甲基苯甲酸

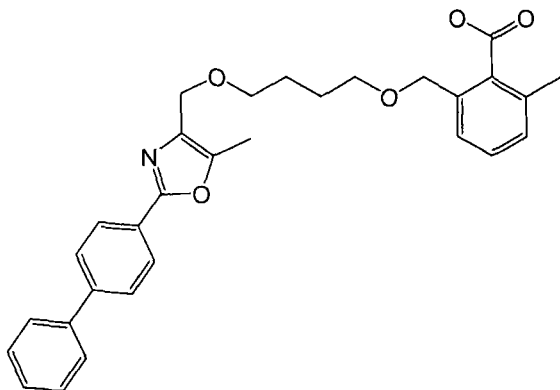


类似于实施例 1, 由 2-(4-羟基丁氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和 5-异丙基-2-(3-三氟甲基苯基)噁唑-4-基甲基碘制得 2-{4-[5-异丙基-2-(3-三氟甲基苯基)噁唑-4-基甲氧基]丁氧基甲基}-6-甲基苯甲酸。

C27H30F3NO5 (505.21): LCMS (ESI): 506.30 [MH⁺].

实施例 33

2-甲基-6-[4-(2-p-联苯基-5-甲基噁唑-4-基甲氧基)丁氧基甲基]苯甲酸



类似于实施例 1, 由 2-(4-羟基丁氧基甲基)-6-甲基苯甲酸叔丁酯和 2-p-联苯基-5-甲基噁唑-4-基甲基碘制得 2-甲基-6-[4-(2-p-联苯基-5-甲基噁唑-4-基甲氧基)丁氧基甲基]苯甲酸。

C30H31NO5 (485.22): LCMS (ESI): 486.47 [MH⁺].