

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷



[12] 发明专利说明书

C07D417/12

A61K 31/4166

A61P 43/00

C07D417/14

C07D401/12

[21] ZL 专利号 01808913.5

[45] 授权公告日 2005 年 7 月 6 日

[11] 授权公告号 CN 1209361C

[22] 申请日 2001.4.23 [21] 申请号 01808913.5

[30] 优先权

[32] 2000. 5. 3 [33] US [31] 60/201,498

[86] 国际申请 PCT/EP2001/004555 2001.4.23

[87] 国际公布 WO2001/083478 英 2001.11.8

[85] 进入国家阶段日期 2002.11.1

[71] 专利权人 霍夫曼 - 拉罗奇有限公司

地址 瑞士巴塞尔

[72] 发明人 罗伯特·阿兰·吉尔·古德诺

乐 康

审查员 刘 雷

[74] 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任公
司

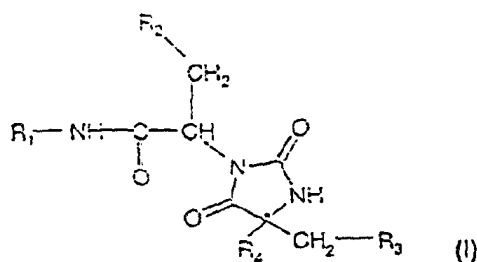
代理人 程金山

权利要求书 5 页 说明书 35 页

[54] 发明名称 含乙内酰脲的葡糖激酶激活剂

[57] 摘要

下式的乙内酰脲化合物：其中 R₁ 为具有 1 - 3 个选自氮、氧和硫的杂原子的五 - 或六 - 元芳香杂环，该环是未取代的，或被下列基团所取代：卤素，氨基，羟基氨基，硝基，氰基，亚磺酰氨基，低级烷基，全氟低级烷基，低级烷基硫基，全氟 - 低级烷基硫基，低级烷基磺酰基，全氟 - 低级烷基磺酰基，低级烷基亚磺酰基，或 - (R₅)_n - C(O) - OR₆；R₂ 为含有 5 - 7 个碳原子的环烷基；其作为葡糖激酶激活剂对增加胰岛素分泌有活性，这使其可以用于治疗 II 型糖尿病。

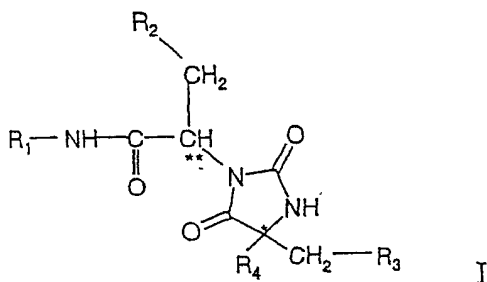


ISSN 1008-4274

1. 下式的化合物:

5

10



其中 R_1 为未取代的噻唑基或吡啶基; 或被下列基团取代的噻唑基或吡啶基: 卤素, 氨基, 羟基氨基, 硝基, 氰基, 亚磺酰氨基, 低级烷基, 全氟低级烷基, 低级烷基硫基, 全氟-低级烷基硫基, 低级烷基磺酰基, 全氟-低级烷基磺酰基, 低级烷基亚磺酰基, 或 $-(R_5)_n-C(O)-OR_6$;

R_2 为含有 5-7 个碳原子的环烷基环;

R_3 为氢, 低级烷基, 环戊基, 环己基, 苯基, 萘基, 噻吩基, 被卤素取代的苯基或被羟基取代的苯基;

R_4 为氢, 低级烷基, 或 R_3 和 R_4 与它们相连的碳原子一起形成环戊基环;

R_5 为 $-C(O)-$ 或低级烷基;

R_6 为低级烷基;

n 为 0 或 1;

*和**分别表示不对称中心,

“低级烷基”是指具有 1-6 个或 1-7 个碳原子的直链或支链烷基, 及其药用盐。

2. 按照权利要求 1 的化合物, 其中 R_1 为被下列基团取代的噻唑基: 卤素, 氨基, 羟基氨基, 硝基, 氰基, 亚磺酰氨基, 低级烷基, 全氟低级烷基, 低级烷基硫基, 全氟-低级烷基硫基, 低级烷基磺酰基, 全氟-低级烷基磺酰基, 低级烷基亚磺酰基, 或 $-(R_5)_n-C(O)-OR_6$; 低级烷基、 n 、 R_5 和 R_6

如权利要求 1 所定义。

3. 按照权利要求 1 的化合物, 其中 R_1 为被 $-(R_5)_n-C(O)-OR_6$ 取代的噻唑基; 低级烷基、 n 、 R_5 和 R_6 如权利要求 1 所定义。

4. 按照权利要求 1 的化合物, 其中 R_1 为被下列基团取代的吡啶基:
5 卤素, 氨基, 羟基氨基, 硝基, 氰基, 亚磺酰氨基, 低级烷基, 全氟低级烷基, 低级烷基硫基, 全氟-低级烷基硫基, 低级烷基磺酰基, 全氟-低级烷基磺酰基, 低级烷基亚磺酰基, 或 $-(R_5)_n-C(O)-OR_6$; 低级烷基、 n 、 R_5 和 R_6 如权利要求 1 所定义。

5. 按照权利要求 1 的化合物, 其中 R_1 为被卤素、低级烷基或 $-(R_5)_n-$
10 $C(O)-OR_6$ 取代的吡啶基; 低级烷基、 n 、 R_5 和 R_6 如权利要求 1 所定义。

6. 按照权利要求 1 的化合物, 其中 R_2 为环戊基或环己基。

7. 按照权利要求 1 的化合物, 其中 R_2 为环戊基。

8. 按照权利要求 1 的化合物, 其中 R_2 为环己基。

9. 按照权利要求 1 的化合物, 其中 R_3 为氢或低级烷基。

10. 按照权利要求 1 的化合物, 其中 R_3 为环戊基或环己基。
15

11. 按照权利要求 1 的化合物, 其中 R_3 为噻吩基。

12. 按照权利要求 1 的化合物, 其中 R_3 为萘基。

13. 按照权利要求 1 的化合物, 其中 R_3 为任选被卤素或羟基取代的
苯基。

14. 按照权利要求 1 的化合物, 其中 R_4 为氢或低级烷基。
20

15. 按照权利要求 1 的化合物, 其中 R_3 和 R_4 与其连接的碳原子形成
环戊基环。

16. 按照权利要求 1 的化合物, 其中 R_5 为 $-C(O)-$ 。

17. 按照权利要求 1 的化合物, 其中 R_5 为低级烷基。

18. 按照权利要求 1 的化合物, 其中 n 为 0。
25

19. 按照权利要求 1 的化合物, 其中 n 为 1。

20. 按照权利要求 1 的化合物, 其中 R_1 为未取代的噻唑基或吡啶基; 或
被卤素、低级烷基或 $-(R_5)_n-C(O)-OR_6$ 取代的噻唑基或吡啶基; R_2 为环戊
基或环己基; R_3 为氢, 低级烷基, 环戊基, 环己基, 苯基, 萘基, 噻吩基,
30 被卤素取代的苯基或被羟基取代的苯基; R_4 为氢, 低级烷基, 或 R_3 和 R_4

与它们相连接的碳原子形成环戊基环；R₅为-C(O)-或低级烷基；R₆为低级烷基；和n为0或1。

21. 按照权利要求1的化合物，其选自：

- (S, S)-2-[[2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]-3-环戊基丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯,
- 5 (S, S)-2-[[3-环戊基-2-[4-(环戊基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯,
- (S, S)-2-[[3-环己基-2-[4-(环戊基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯,
- 10 (S, S)-2-[[3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯,
- (S, S)-[2-[[3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-基]氧代乙酸乙酯,
- (S, S)-[2-[[3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-基]乙酸乙酯,
- 15 (S, S)-2-[[2-(4-苄基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基)-3-环己基丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯,
- 2-[[S)-2-[(R)-4-(4-氯苄基)-2,5-二氧代咪唑烷-1-基]-3-环己基丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯,
- 20 (S, S)-2-[[3-环己基-2-[2, 5-二氧代-4-(4-羟基苄基)咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯,
- (S, S)-2-[[3-环己基-2-[2, 5-二氧代-4-(3-羟基苄基)咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯,
- 2-[[S)-3-环己基-2-[(R, S)-2, 5-二氧代-4-(4-氟苄基)咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯,
- 25 (S)-2-[[3-环己基-2-(4, 4-二甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基)丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯,
- 2-[[S)-2-[[3-环己基-2-[(R)-2,5-二氧代-4-丙基咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯,
- 30 (S, S)-2-[[3-环己基-2-[2,5-二氧代-4-(萘-2-基)甲基咪唑烷-1-基]丙酰基]

氨基]噻唑-4-羧酸甲酯,

(S)-2-[[3-环己基-2-(2,4-二氧化-1,3-二氮杂螺[4.4]壬-3-基)丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯,

(S, S)-2-[[3-环己基-2-[2,5-二氧化-4-(噻吩-2-基)甲基咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯,

(S, S)-3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2,5-二氧化咪唑烷-1-基]-N-(噻唑-2-基)丙酰胺,

(S, S)-6-[[3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2,5-二氧化咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]烟酸甲酯,

(S, S)-3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2,5-二氧化咪唑烷-1-基]-N-(5-甲基吡啶-2-基)丙酰胺,

(S, S)-N-(5-氯吡啶-2-基)-3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2,5-二氧化咪唑-1-基]丙酰胺, 和

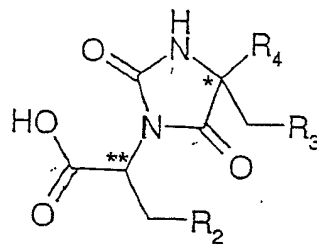
(S, S)-3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2,5-二氧化咪唑烷-1-基]-N-(吡啶-2-基)丙酰胺。

22. 一种药物组合物, 其含有权利要求 1 的化合物和药用载体和/或辅剂。

23. 按照权利要求 22 的药物组合物的制备方法, 其包括将按照权利要求 1 的式 I 化合物与药用载体和/或辅剂组合。

24. 按照权利要求 1 的化合物在制备用于治疗或预防 II 型糖尿病的药物中的用途。

25. 按照权利要求 1 式 I 化合物的制备方法, 该方法包括将下式化合物

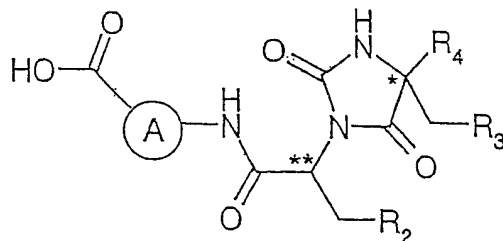


其中 R_2 , R_3 和 R_4 如权利要求 1 所定义;

与式 R_1-NH_2 化合物偶联，其中 R_1 如权利要求 1 所定义。

26. 式 I-A 化合物的制备方法，该方法包括
将下式化合物

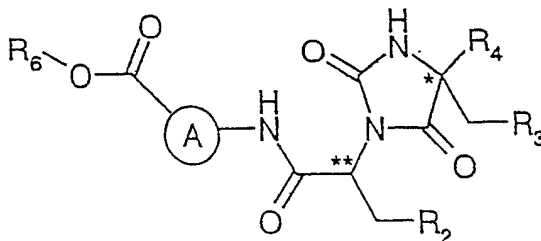
5



10

其中 R_2 , R_3 和 R_4 如权利要求 1 所定义，环 A 为噻唑基或吡啶基；
酯化成式 I-A 化合物

15



20

其中 R_2 , R_3 , R_4 和 R_6 如权利要求 1 所定义，环 A 为噻唑基或吡啶基。

含乙内酰胺的葡糖激酶激活剂

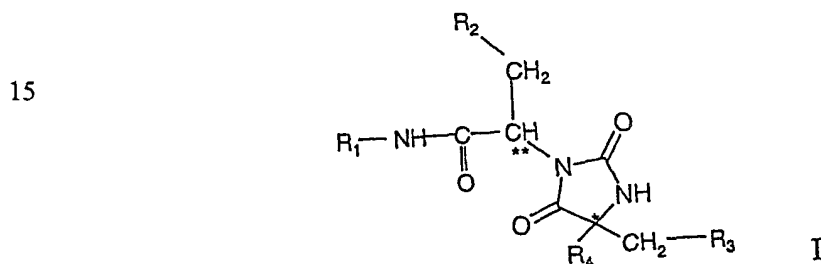
5

葡糖激酶(GK)是在哺乳动物中发现的四种己糖激酶之一[Colowick, S. P., 酶 (*The Enzymes*), Vol. 9 (P. Boyer 编辑) 学术出版社 (Academic Press), 纽约, NY, 第 1-48 页, 1973]。己糖激酶催化葡萄糖代谢的第一步, 即将葡萄糖转化成葡萄糖-6-磷酸。葡糖激酶具有有限的细胞分布, 其主要被发现于胰 β -细胞和肝实质细胞中。此外, GK 是这两类细胞中葡萄糖代谢的限速酶, 已报道这两类细胞在整个身体的葡萄糖体内平衡起重要作用[Chipkin, S. R., Kelly, K. L.和 Ruderman, N. B. *Joslin's 糖尿病* (C. R. Khan 和 G. C. Wier 编辑), Lea 和 Febiger, Philadelphia, PA, 第 97-115 页, 1994]。在 GK 显示出最高活性的一半时, 葡萄糖的浓度大约为 8 mM。而当葡萄糖在很低浓度(< 1 mM)时, 另外三种己糖激酶即被饱和。因此, 当进食含碳水化合物餐后, 随着血中葡萄糖浓度从禁食(5 mM)增加至餐后(约等于 10-15 mM)水平, 通过 GK 途径的葡萄糖流量提高[Printz, R. G., Magnuson, M. A., 和 Granner, D. K., 营养学年度综述(*Ann. Rev. Nutrition*) Vol. 13 (R. E. Olson, D. M. Bier,和 D. B. McCormick 编辑), 年度综述 (Annual Review), Inc., Palo Alto, CA, 第 463-496 页, 1993]。这些发现得益于 10 年前的假设: GK 在 β -细胞和肝实质细胞中起到葡萄糖传感器的作用(Meglasson, M. D.和 Matschinsky, F. M. *美国生理学杂志*(*Amer. J. Physiol.*) 246, E1-E13, 1984)。近年来, 在转基因动物中的研究已经证实 GK 确实在整个身体的葡萄糖体内平衡中发挥关键作用。不表达 GK 的动物在出生后几日内死于严重的糖尿病, 而过度表达 GK 的动物已经改善了葡萄糖耐受(Grupe, A., Hultgren, B., Ryan, A.等, *细胞*(*Cell*) 83, 69-78, 1995; Ferrie, T., Riu, E., Bosch, F.等, *FASEB J.*, 10, 1213-1218, 1996)。葡萄糖暴露的增加通过 β -细胞中的 GK 与增加的胰岛素分泌偶联, 通过肝实质细胞中的 GK 与增加的糖原沉积以及或许降低的葡萄糖产生偶联。

30 发现 II 型青年成熟期突发型糖尿病 (MODY-2)是由 GK 基因突变后功

能丧失而引起，表明 GK 在人体中也起葡萄糖传感器的作用(Liang, Y., Kesavan, P., Wang, L.等, 生物化学杂志(Biochem. J.) 309, 167-173, 1995)。通过鉴定表达突变型 GK 并伴随增加的酶活性的患者，提供了进一步的证据支持 GK 在人的葡萄糖代谢的调节中扮演重要的角色。这些患者表现出与不正常提高的血浆胰岛素水平相关的禁食低血糖(Glaser, B., Kesavan, P., Heyman, M.等, 新英格兰医学杂志 (New England J. Med.) 338, 226-230, 1998)。尽管在大多数 II 型糖尿病患者中未发现 GK 基因的突变，能激活 GK 并由此增加 GK 传感器系统的敏感性的化合物仍然被用于治疗所有 II 型糖尿病的高血糖症状。葡糖激酶激活剂能增加 β -细胞和肝细胞中的葡萄糖代谢的流量 (flux)，其会偶联到增加的胰岛素分泌。这些药物将有益于治疗 II 型糖尿病。

本发明提供了一种包括下式的取代的乙内酰脲的化合物：



20 其中 R_1 为具有 1-3 个选自氮、氧和硫的杂原子的五-或六-元芳香杂环，该环是未取代的，或被下列基团所取代：卤素，氨基，羟基氨基，硝基，氰基，亚磺酰氨基，低级烷基，全氟低级烷基，低级烷基硫基 (lower alkyl thio)，全氟-低级烷基硫基(perfluoro-lower alkyl thio)，低级烷基磺酰基，全氟-低级烷基磺酰基，低级烷基亚磺酰基，或 $-(R_5)_n-C(O)-OR_6$ ；

25 R_2 为含有 5-7 个碳原子的环烷基环；

R_3 为氢，低级烷基，含有 5-7 个碳原子的环烷基环，未取代的芳基，被卤素或羟基取代的芳基，或具有 1 或 2 个选自氮、氧和硫的杂原子的未取代的五-或六-元芳香杂环；

30 R_4 为氢，低级烷基，或 R_3 和 R_4 与它们相连的碳原子一起形成含有 5-7 个碳原子的环烷基环；

R_5 为-C(O)-或低级烷基;

R_6 为低级烷基;

n 为 0 或 1; *和**分别表示不对称中心,
及其药用盐。

- 5 已发现式 I 化合物能激活葡糖激酶。葡糖激酶激活剂在治疗 II 型糖尿病中用于增加胰岛素分泌。因此, 本发明的化合物由于其葡糖激酶激活剂的活性而用于增加胰岛素分泌。

本发明还涉及含有式 I 化合物和药用载体和/或辅剂的药物组合物。另外, 本发明还涉及这些化合物作为治疗活性物质的用途, 以及它们在制备
10 用于治疗或预防 II 型糖尿病的药物中的用途。本发明还涉及式 I 化合物的制备方法。此外, 本发明涉及用于预防或治疗 II 型糖尿病的方法, 其包括对人或动物给药式 I 化合物。

更具体地, 本发明涉及上述式 I 化合物。本发明特别涉及下列化合物, 其中:

- 15 R_2 和 R_3 同时为环己基, 或
 R_3 , 当其为低级烷基时, 为甲基, 乙基, 丙基或丁基, 或
 R_4 , 当其为低级烷基时, 为甲基或乙基(尤其当 R_3 和 R_4 同时为这样定义的化合物), 或

R_1 , 当被取代时, 其被卤素, 低级烷基, 或-(R_5) $_n$ -C(O)-OR $_6$ 取代, 或符合任何两个或多个, 或全部的这些条件的化合物。对于其中 R_1 、 R_2 或 R_3
20 未指定的本发明的任何化合物, 优选变量如本段中所描述。

某些优选的式 I 化合物包括其中 R_1 为取代的或未取代的噻唑基的化合物(化合物 A)。在化合物 A 的实施方案中, 包括其中 R_1 为被卤素, 低级烷基, 或-(R_5) $_n$ -C(O)-OR $_6$ 取代的, 并且尤其是被-(R_5) $_n$ -C(O)-OR $_6$ 取代的噻唑
25 基的化合物(化合物 A-1)。在化合物 A-1 中, 优选 R_2 为环戊基或环己基。还优选 R_3 为环戊基或环己基。优选 R_4 为氢。特别优选 R_2 和 R_3 为环己基。

在化合物 A-1 的优选实施方案中, R_2 和 R_3 为环戊基或环己基, 并且 R_4 为氢 (化合物 A-1a)。在化合物 A-1a 的一个实施方案中, n 为 0 (例如该噻唑基被-C(O)-OR $_6$ 取代)。这些化合物的例子为:

- 30 (S, S)-2-[[3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]丙酰基]

氨基]噻唑-4-羧酸甲酯。

(S, S)-2-[[2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]-3-环戊基丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯。

(S, S)-2-[[3-环戊基-2-[4-(环戊基)甲基-2, 5-二氧代咪唑-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯。

(S, S)-2-[[3-环己基-2-[4-(环戊基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯。

在这些化合物中, R_2 和 R_3 可以同时为环己基, 例如(S, S)-2-[[3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯。

在化合物 A-1a 的另一个实施方案中, R_5 为-C(O)-或低级烷基 (例如, 该噻唑基被-C(O)-C(O)-OR₆ 或低级烷基-C(O)-OR₆ 取代)。此外, 在这些化合物中, R_2 和 R_3 可以是环己基。这些化合物的例子有:

(S, S)-[2-[[3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-基]氧代乙酸乙酯, 和

(S, S)-[2-[[3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-基]乙酸乙酯。

在化合物 A1 的另一个实施方案中, R_2 为环戊基或环己基 (化合物 A-1b)。在化合物 A-1b 的一个实施方案中, R_3 为取代的或未取代的苯基, 和 R_4 为氢。这些化合物的例子有:

(S, S)-2-[(2-(4-苄基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基)-3-环己基丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯。

2-[[S)-2-[(R)-4-(4-氯苄基)-2,5-二氧代咪唑烷-1-基]-3-环己基丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯。

(S, S)-2-[[3-环己基-2-[2, 5-二氧代-4-(4-羟基苄基)咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯。

(S, S)-2-[[3-环己基-2-[2,5-二氧代-4-(3-羟基苄基)咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯, 和

2-[[S)-3-环己基-2-[(R, S)-2, 5-二氧代-4-(4-氟苄基)咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯。

在化合物 A-1b 的另一个实施方案中, R_3 和 R_4 中至少一个为低级烷基。这些化合物的例子有:

(S)-2-[[3-环己基-2-(4, 4-二甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基)丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯, 和

5 2-[[S)-3-环己基-2-[(R)-2, 5-二氧代-4-丙基咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯。

在化合物 A-1b 的另一个实施方案中, R_3 为萘基和 R_4 为氢。这些化合物的一个例子为(S, S)-2-[[3-环己基-2-[2, 5-二氧代-4-(萘-2-基)甲基咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯。

10 在化合物 A-1b 的另一个实施方案中, R_3 和 R_4 与它们连接的碳原子一起形成含有 5-7 个碳原子的环烷基环。这些化合物的一个例子为(S)-2-[[3-环己基-2-(2, 4-二氧代-1, 3-二氮杂螺[4.4]壬-3-基)丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯。

在化合物 A-1b 的另一个实施方案中, R_3 为具有 1 或 2 个选自氮、氧和硫的杂原子的未取代的五-或六-元芳香杂环。这些化合物的一个例子为(S, S)-2-[[3-环己基-2-[2, 5-二氧代-4-(噻吩-2-基)甲基咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯。

在化合物 A 的一个实施方案(式 I 化合物, 其中 R_1 为取代的或未取代的噻唑基)中, R_1 为未取代的噻唑基 (化合物 A-2)。优选 R_2 和 R_3 为环己基, 和 R_4 为氢。这种化合物 A-2 的一个例子为(S, S)-3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]-N-(噻唑-2-基)丙酰胺。

在另一个优选的式 I 化合物中, R_1 为取代的或未取代的吡啶(化合物 B)。优选 R_2 为环戊基或环己基, 尤其是环己基。还优选 R_3 为环戊基或环己基, 尤其是环己基。优选 R_4 为氢。

25 在化合物 B 的一个实施方案中, R_2 为环己基。在其中 R_2 为环己基的这些化合物中, 优选 R_3 为环己基和 R_4 为氢(化合物 B-1)。

在化合物 B-1 的一个实施方案中, R_1 为取代的吡啶。优选吡啶被- $(R_5)_n$ -C(O)-OR₆取代, 尤其是其中 n 为 0 和 R_6 为低级烷基, 如甲基 (例如, 甲氧基羰基)。这些化合物的例子有:

30 (S, S)-3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]-N-(5-甲基

吡啶-2-基)丙酰胺。

(S, S)-6-[[3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]烟酸甲酯, 和

5 (S, S)-N-(5-氯吡啶-2-基)-3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]丙酰胺。

在化合物 B-1 的另一个实施方案中, R₁ 为未取代的吡啶。这些化合物的例子有(S, S)-3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]-N-(吡啶-2-基)丙酰胺。

10 在式 I 化合物中, "*"和"***"表示两个单独的不对称中心。优选在"***"指示的位置上的(S)对映异构体。但是, 本发明的化合物可以是纯(R)(R)、纯(S)(S)、纯(R)(S)、纯(S)(R), 或纯对映异构体的任何混合物。

在本申请的上下文中使用的术语"低级烷基", 除非另有指明, 包括具有 1-6 个或 1-7 个碳原子的直链和支链烷基, 如甲基, 乙基, 丙基, 异丙基, 优选甲基和乙基。除非另有指明, 丙基包括两种形式的丙基(例如异丙基, n-丙基), 丁基包括所有形式的丁基(例如异丁基, n-丁基, 叔-丁基)。优选 R₃ 15 为甲基, 乙基, 丙基, 或丁基。优选 R₄ 为甲基或乙基。

术语"环烷基环"可以是 3-7 个碳原子, 但优选 5-7 个碳原子的环, 尤其是环戊基, 环己基, 环丁基和环丙基。更优选的环烷基基团含有 5-6 个碳原子, 例如环戊基和环己基, 最优选环己基。因此, 在本发明的一个实施方案中, 例如, 环烷基残基 R₂ 为环戊基或环己基。在另一个实施方案中, 20 环烷基残基 R₂ 为环戊基。在另一个实施方案中, 环烷基残基 R₂ 为环己基。

本文中使用的"全氟-低级烷基"是指其中低级烷基基团中的所有的氢被氟取代或替换的低级烷基基团。优选的全氟-低级烷基中有三氟甲基, 五氟乙基, 七氟丙基等等。

25 本文中使用的"低级烷基硫基(lower alkyl thio)"是指上述定义的低级烷基基团, 其中硫基(thio)结合到该分子的其余部分上。类似地, "全氟-低级烷基"硫基是指上述定义的全氟-低级烷基基团, 其中硫基结合到该分子的其余部分上。本文中使用的"低级烷基磺酰基"或"低级烷基亚磺酰基"是指上述定义的低级烷基基团, 其中磺酰基或亚磺酰基基团结合到该分子的其余部分上。类似地, "全氟-低级烷基磺酰基"是指上述定义的全氟-低级烷 30

基基团，其中磺酰基基团结合到该分子的其余部分上。

当 R_3 和 R_4 与它们相连的碳原子一起形成含有 5-7 个碳原子的环烷基环时，其包括环碳原子和连接环碳原子和 R_4 的亚甲基，这样如果 R_3 和 R_4 分别为亚甲基，形成环丁基。如果 R_3 为亚甲基， R_4 为亚乙基，形成环戊基等。通过 R_3 和 R_4 与它们相连的碳原子一起形成的优选的环烷基环为环戊基。

本文使用的术语"卤素或卤原子"除非另有说明，表示所有四种卤素，即氟，氯，溴和碘。

R_1 和 R_3 可以是任何具有 1-3 个，优选 1-2 个选自硫、氧或氮的杂原子的五-或六-元芳香杂环。任何这些五-或六-元芳香杂环可以用于本发明。其中，优选 R_1 的环为噻唑和吡啶(尤其是吡啶)，优选 R_3 的环为噻吩。当 R_3 为杂环时， R_1 和 R_3 通过环碳原子连接到式 I 分子的其余部分上。上述残基 R_1 ，如例如噻唑基或吡啶基，可以在环碳原子上任选被下列基团所取代：卤素，氨基，羟基氨基，硝基，氰基，亚磺酰氨基，低级烷基，全氟低级烷基，低级烷基硫基，全氟-低级烷基硫基，低级烷基磺酰基，全氟-低级烷基磺酰基，低级烷基亚磺酰基，或 $-(R_5)_n-C(O)-OR_6$ ，其中 n 、 R_5 和 R_6 如上式 I 所定义。噻唑基残基 R_1 的优选取代基为式 $-(R_5)_n-C(O)-OR_6$ 的取代基，其中 n 、 R_5 和 R_6 如上式 I 所定义。吡啶基残基 R_1 的优选取代基为卤素，低级烷基，或 $-(R_5)_n-C(O)-OR_6$ ，其中 n 、 R_5 和 R_6 如上式 I 所定义。 R_1 优选是单取代的，但也可以是二或三取代的。优选取代基，尤其是吡啶的，为低级烷氧基(优选甲氧基)羰基。

本文使用的术语"芳基"表示具有 6 或 10 个碳原子的芳香环，如苯基或萘基。

优选的残基 R_3 选自氢，低级烷基，环戊基，环己基，苯基，萘基，噻吩基，被卤素取代的苯基或被羟基取代的苯基。在一个实施方案中， R_3 为氢或低级烷基。在另一个实施方案中， R_3 为环戊基或环己基。在另一个实施方案中， R_3 为噻吩基。在另一个实施方案中， R_3 为萘基。在另一个实施方案中， R_3 为苯基，其任选被卤素或羟基取代。优选的残基 R_4 为氢和低级烷基。在一个实施方案中， R_5 为 $-C(O)-$ 。在另一个实施方案中， R_5 为低级烷基。在一个实施方案中， n 为 0。在另一个实施方案中， n 为 1。

按照本发明的优选化合物为那些化合物，其中 R_1 为未取代的噻唑基或吡啶基；或被卤素、低级烷基或 $-(R_5)_n-C(O)-OR_6$ 取代的噻唑基或吡啶基； R_2 为环戊基或环己基； R_3 为氢，低级烷基，环戊基，环己基，苯基，萘基，噻吩基，被卤素取代的苯基或被羟基取代的苯基； R_4 为氢，低级烷基，或 R_3 和 R_4 与它们相连接的碳原子形成环戊基环； R_5 为 $-C(O)-$ 或低级烷基； R_6 为低级烷基；和 n 为 0 或 1。

按照本发明特别优选的化合物为：

- (S, S)-2-[[2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]-3-环戊基丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯,
- 10 (S, S)-2-[[3-环戊基-2-[4-(环戊基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯,
- (S, S)-2-[[3-环己基-2-[4-(环戊基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯,
- (S, S)-2-[[3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯,
- 15 (S, S)-2-[[3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-基]氧代乙酸乙酯,
- (S, S)-2-[[3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-基]乙酸乙酯,
- 20 (S, S)-2-[[2-(4-苄基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基)-3-环己基丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯,
- 2-[[*(S)*-2-[[*(R)*]-4-(4-氯苄基)-2,5-二氧代咪唑烷-1-基]-3-环己基丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯,
- (S, S)-2-[[3-环己基-2-[2, 5-二氧代-4-(4-羟基苄基)咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯,
- 25 (S, S)-2-[[3-环己基-2-[2, 5-二氧代-4-(3-羟基苄基)咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯,
- 2-[[*(S)*]-3-环己基-2-[[*(R, S)*]-2, 5-二氧代-4-(4-氟苄基)咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯,
- 30 (S)-2-[[3-环己基-2-(4, 4-二甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基)丙酰基]氨基]

噻唑-4-羧酸甲酯,

2-[[*(S)*-3-环己基-2-[[*(R)*-2,5-二氧代-4-丙基咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]

噻唑-4-羧酸甲酯,

(S, S)-2-[[3-环己基-2-[2,5-二氧代-4-(萘-2-基)甲基咪唑烷-1-基]丙酰基]

5 氨基]噻唑-4-羧酸甲酯,

(S)-2-[[3-环己基-2-(2,4-二氧代-1,3-二氮杂螺[4.4]壬-3-基)丙酰基]氨基]

噻唑-4-羧酸甲酯,

(S, S)-2-[[3-环己基-2-[2,5-二氧代-4-(噻吩-2-基)甲基咪唑烷-1-基]丙酰基]

基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯,

10 *(S, S)*-3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2,5-二氧代咪唑烷-1-基]-*N*-(噻唑-2-基)丙酰胺,

(S, S)-6-[[3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2,5-二氧代咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]烟酸甲酯,

15 *(S, S)*-3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2,5-二氧代咪唑烷-1-基]-*N*-(5-甲基吡啶-2-基)丙酰胺,

(S, S)-*N*-(5-氯吡啶-2-基)-3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2,5-二氧代咪唑-1-基]丙酰胺, 和

(S, S)-3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2,5-二氧代咪唑烷-1-基]-*N*-(吡啶-2-基)丙酰胺。

20 本发明的化合物可以按照下面提供的反应路线制备:

术语“树脂”是指具有用于固相肽合成的适当特性的任何常规聚合物树脂。具有适当特性的树脂为惰性的、物理稳定的、不溶于无机溶剂的、和具有其在已知的化学条件下不稳定的接头官能度(linker functionality)。优选为具有化学不稳定官能性的接头的聚苯乙烯树脂, 如三苯甲基树脂, 尤其是 Wang 树脂。

25 术语“氨基保护基团”是指可以裂解产生游离氨基的任何常规的氨基保护基团。优选的保护基团为用于肽合成的常规氨基保护基团。尤其优选的为用仲二烷基胺处理能裂解的那些氨基保护基团。尤其优选的氨基保护基团为 9H-芴-9-基甲氧基氨基甲酸酯。

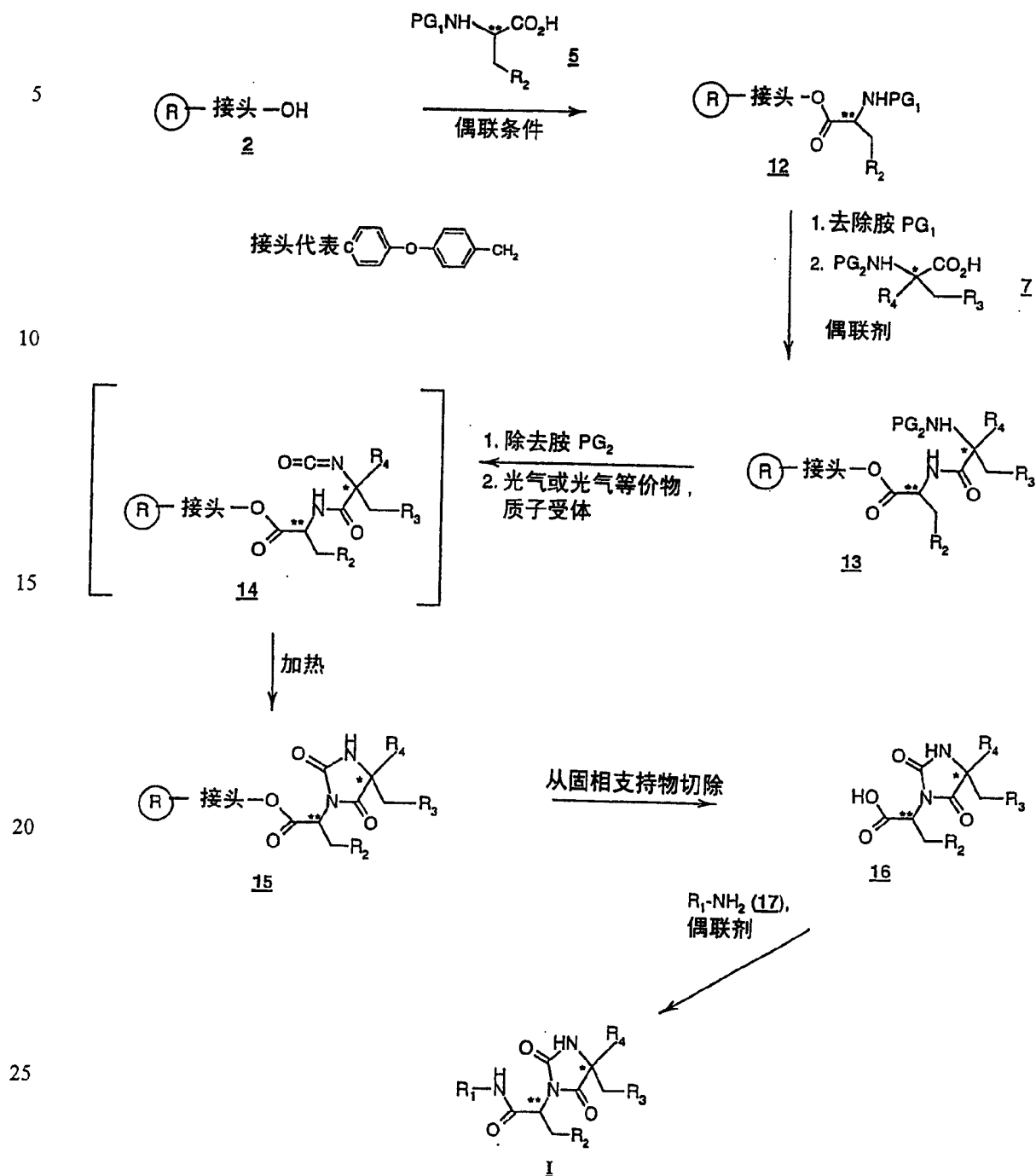
30 “正交的(orthogonal)”为用于描述氨基保护基团与树脂关系的术语。

该树脂和氨基保护基团必须是相容的，这是因为树脂-肽键和氨基保护基团不应该是在相同的条件下不稳定。在给定化合物的合成中，应该能够裂解该化合物的氨基保护基团，而该化合物仍附着在该树脂上。换句话说，使氨基保护基团脱离该化合物的条件不应该还引起该化合物脱离树脂。优选氨基保护基团在碱性或弱酸条件下裂解，这是因为优选的 Wang-型树脂在强酸条件下裂解(即约 pH 0-约 pH 1)。本领域普通技术人员能够容易地确定选择正交的氨基保护基团-树脂组的必需条件。

本文使用的术语“药用盐”包括与无机或有机药用酸的任何盐，如盐酸，氢溴酸，硝酸，硫酸，磷酸，柠檬酸，甲酸，马来酸，乙酸，琥珀酸，酒石酸，甲磺酸，对-甲苯磺酸等。术语“药用盐”还包括任何药用碱盐，如胺盐，三烷基胺盐等。本领域普通技术人员应用标准技术可以很容易地形成这些盐。

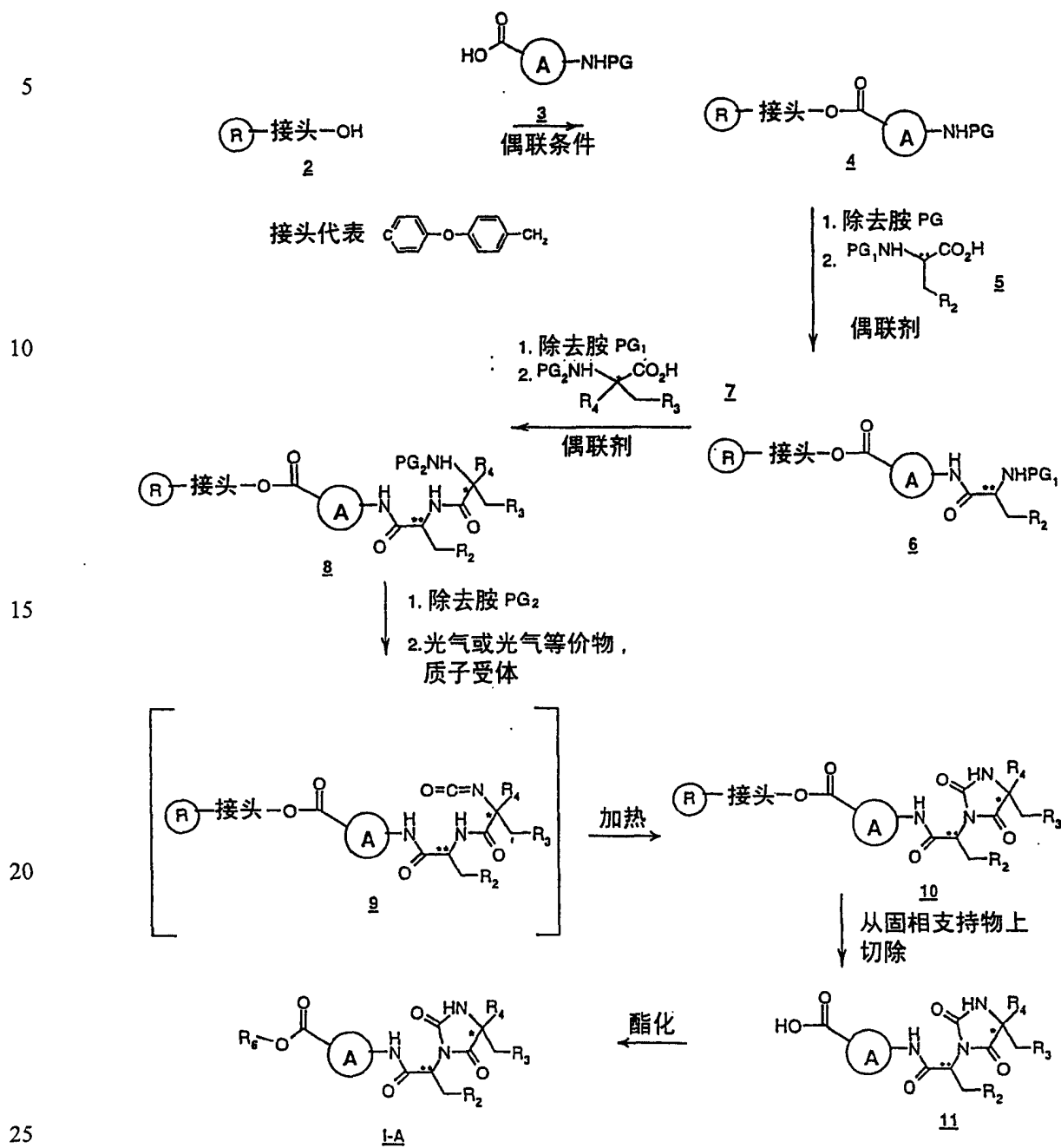
按照本发明，式 I 化合物可以按照下列反应路线制备。任何式 I 化合物可以如反应路线 1 所示制备。式 I-A 化合物如反应路线 2 所示制备。反应路线 3 显示了如何制备 N-Fmoc-氨基噻唑-4-羧酸，其为反应路线 2 的化合物 3，其中 PG 为保护基团 Fmoc。

反应路线 1



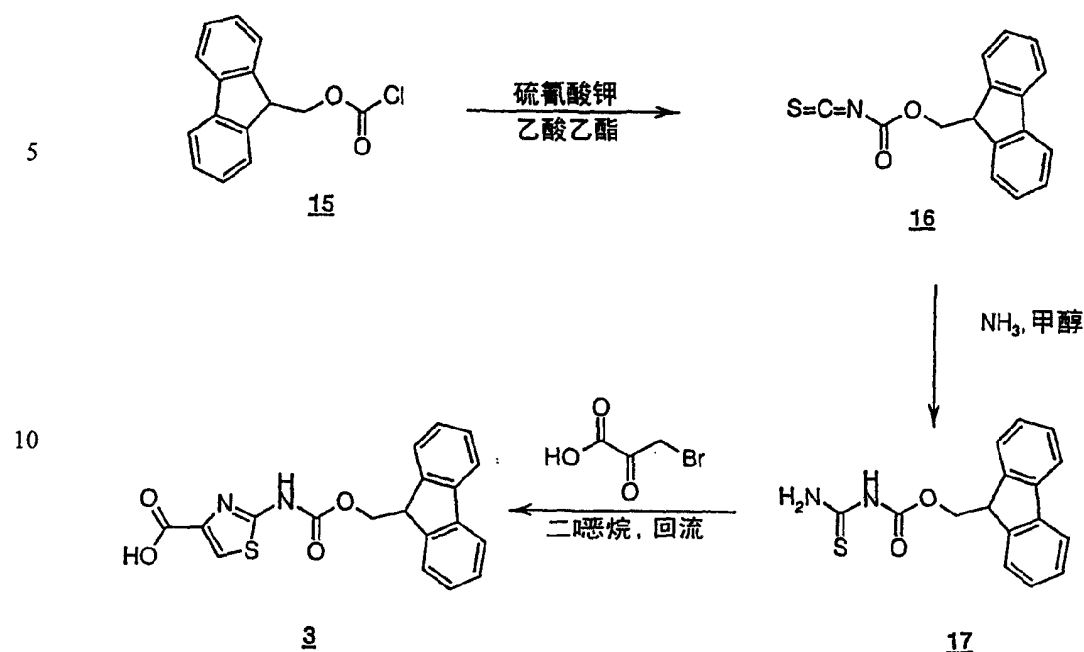
其中 R₁, R₂, R₃ 和 R₄ 如前所描述, PG₁ 和 PG₂ 为胺保护基团, 其可以是相同的, 也可以是不相同的, 并且其在与接头-O 键相容的条件下可除去。

反应路线 2



其中 R_2 , R_3 , R_4 和 R_6 如前所描述, PG、 PG_1 和 PG_2 为胺保护基团, 其可以是相同的, 也可以是不相同的, 并且其在与接头-O 键相容的条件下可除去, 其中环 A 表示具有 1、2 或 3 个选自氮、氧或硫的杂原子的五-或六-元芳香杂环。

反应路线 3



15 本发明化合物的合成可以通过这样的方法进行：其中一次加入一个在所需序列中的各个氨基酸，随后加入另一种氨基酸或其残基，或通过这样的方法进行：其中先常规合成具有所需氨基酸序列的肽片断，然后缩合以提供该化合物。

合成本发明的新化合物的这些常规方法包括例如任何固相肽合成方法。在这些方法中，新化合物的合成可以通过按照固相方法的一般原则依次将所需的氨基酸残基一次一个地掺入到生长的肽链中进行[Merrifield, R.B., 美国化学协会杂志(J. Amer. Chem. Soc.) 1963, 85, 2149-2154; Barany 等, 肽、分析、合成和生物学(The Peptides, Analysis, Synthesis and Biology), Vol. 2, Gross, E.和 Meienhofer, J., 编辑, Academic Press 1-284 (1980); Bunin, 25 B., Combinatorial Index, Academic Press (1998)]。

通常肽的化学合成是应用适当的保护基团保护各个氨基酸部分的反应性侧链基团，其能防止在该位置发生化学反应直到该保护基团被最终去除。还通常保护氨基酸或片断的 α -氨基基团，而本体在羧基部位反应，随后选择性去除 α 氨基保护基团，并且使随后的反应在该位点发生。尽管下面提到了针对固相合成方法的特殊的保护基团，但应注意每种氨基酸可以 30

被在液相合成中常规用于各氨基酸的任何保护基团所保护。

例如， α 氨基基团可以被选自芳香族尿烷型保护基团的适当保护基团所取代，如苄氧基羰基(Z)和取代的苄氧基羰基，如 p-氯苄氧基羰基，p-硝基苄氧基羰基，p-溴苄氧基羰基，p-二苯基-异丙氧基羰基，9-芴基甲氧基羰基 (Fmoc)和 p-甲氧基苄氧基羰基 (Moz)；脂肪族尿烷型保护基团，如 t-丁氧基羰基 (Boc)，二异丙基甲氧基羰基，异丙氧基羰基，和烯丙氧基羰基。在本情况下，Fmoc 最优选用于 α 氨基保护。胍基基团可以被选自下组的适当基团所保护：硝基，p-甲苯磺酰基(Tos)，Z，五甲基苯并二氢吡喃磺酰基 (Pmc)，金刚烷氧基羰基和 Boc。精氨酸(Arg)最优选 Pmc。

10 溶剂二氯甲烷、二甲基甲酰胺(DMF)和 N-甲基吡咯烷酮和甲苯可以从 Fisher 或 Burdick 和 Jackson 购买，可以不经过另外蒸馏而使用。三氟乙酸从 Halocarbon 或 Fluka 购买，可以不经过进一步纯化而使用。二异丙基碳二亚胺和二异丙基乙胺(DIPEA)从 Fluka 或 Aldrich 购买，可以不经过进一步纯化而使用。1-羟基苯并三唑(HOBT)可以从 Sigma Chemical Co. 购买，
15 不经过进一步纯化而使用。除非另有指明，保护的氨基酸通常优选 L 构型，可以从 Bachem, Advanced ChemTech 或 Neosystem 商业购买。这些氨基酸还可以应用已知的几种氨基酸合成的方法中的一种化学合成。用于制备本发明给定化合物的氨基酸 5 和 7 的构型能确定式 I 的分别**和*位置的构型。因此，注意选择具有所需最终构型的氨基酸构型是有用的。L 氨基酸
20 具有(S)绝对构型，D 氨基酸具有(R)绝对构型。

尽管如前所述可以使用本领域已知的其它等同化学合成，本发明的化合物可以应用固相合成根据如 Merrifield 或 Bunin 所描述的原则和一般性方法制备。通过将 N-保护的氨基酸偶联到适当的树脂上，从肽的 C-末端开始固相合成。通过酯键将 N-保护的氨基酸连接到 p-苄氧基苄基醇(Wang)
25 树脂上，或通过 Fmoc-接头，如 p-[(R, S)- α -[1-(9H-芴-9-基)-甲氧基甲酰胺基]-2, 4-二甲氧基苄基]-苄氧基乙酸(Rink 接头)间的酰氨键将 N-保护的氨基酸连接到二苯甲基胺(BHA)树脂上，可以制备这些起始原料。羟基甲基树脂的制备是本领域公知的。Wang 树脂载体从商业获得，通常在当合成的所需肽在 C-末端具有酯或取代的酰胺时使用。为了形成结合氨基酸的起
30 始树脂，通过形成混合的酐，所述混合的酐通过酯键再与羟基甲基树脂偶

联活化 Fmoc N-保护的氨基酸。几种试剂被用于形成混合的酐，其中通过电子或立体效应，来源于 C-末端氨基酸的羰基基团优先地被 Wang 树脂中的羟基甲基残基活化的亲核反应 (attack)。例如，用于形成混合的酐的适当化合物为三甲基乙酰氯、2, 6-二氯苯甲酰氯和 2, 4, 6-三氯苯甲酰氯，优选 2, 6-二氯苯甲酰氯。

随后，应用氨基酸或模拟物的 Fmoc 保护型与 2-5 当量氨基酸和适当的偶联试剂，将氨基酸或模拟物偶联到 Wang 树脂上。每次偶联后，可以洗涤该树脂，并在真空下干燥。通过 Fmoc-氨基酸树脂的等分试样的氨基酸分析，或通过 UV 分析 Fmoc 基团，可以确定氨基酸装载到树脂上。

10 通过连续加入氨基酸的一或两个循环加载该树脂。在每次循环中，在碱性条件下从结合氨基酸的树脂除去 N-末端 Fmoc 保护的基团。在惰性溶剂例如 N, N-二甲基甲酰胺中的仲胺碱如哌啶、哌嗪或吗啉，优选哌啶(20-40% v/v)尤其用于该目的。除去 α 氨基保护基团后，以所需的顺序逐步偶联随后的保护的氨基酸以获得 N-Fmoc 保护的肽-树脂。在肽的固相合成中
15 用于氨基酸偶联的活化试剂是本领域所公知的。例如，这些合成的适当的偶联剂为[(苯并三唑-1-基)氧]三(二甲基氨基)磷六氟磷酸盐(BOP), [(苯并三唑-1-基)氧]三(吡咯烷基)磷六氟磷酸盐(PyBOP), O-(1H-苯并三唑-1-基)-N, N, N'-四甲基脲鎓 (uronium) 六氟磷酸盐(HBTU)和二异丙基碳二亚胺(DIC), 优选 HBTU 和 DIC。可以使用如 Barany 和 Merrifield 所描述的其他活化试剂[肽(The Peptides), Vol.2, J. Meienhofer 编辑, Academic Press, 1979, pp 1-284]。通常在惰性溶剂如 N, N-二甲基甲酰胺或 N-甲基吡咯烷酮，优选 N-甲基吡咯烷酮中，并任选在能最小化外消旋作用和增加反应速率的物质存在下进行该偶联。这些物质有 1-羟基苯并三唑(HOBT), 3, 4-二氢-3-羟基-4-氧代-1, 2, 3-苯并三嗪(HOBT), 1-羟基-7-氮杂苯并三唑(HOAT)
20 和 N-羟基琥珀酰亚胺(HOSu)。在本发明的例子中，优选 HOBT。

典型的偶联循环方案如下所示(方法 B):

步骤	试剂	时间
1	哌啶/DMF	30 分
2	DMF	3 x 30 秒
3	甲醇	3 x 30 秒
4	二氯甲烷	3 x 30 秒
5	偶联	过夜
6	DMF	3 x 30 秒
7	甲醇	3 x 30 秒
8	二氯甲烷	3 x 30 秒

可以用体积度量所有洗涤和偶联的试剂,例如 10-20 ml/g 树脂。整个合成的偶联反应可以通过检测如 Kaiser 茚三酮测试来监控,以确定完成程度[Kaiser 等 Anal. Biochem. 1970, 34, 595-598]。

当需要数目的氨基酸单元装载到树脂上后,可以应用方法 B 的步骤 1-4 裂解 N-末端的 Fmoc 基团,去保护的胺基与光气或光气等价物反应,形成异氰酸酯。在该转化选择的试剂为氯甲酸三氯甲基酯(双光气)。反应在惰性溶剂例如二氯甲烷中、质子接受体存在下进行。当加热结合异氰酸酯的树脂混悬液时,发生环化,其中异氰酸酯部分与相邻酰胺基基团的氮缩合,形成 2,5-二氧代咪唑烷环。

通过下列方法,也除去其它保护基团(如果它们存在)的条件,可以从树脂上裂解该化合物。在室温、并任选在阳离子清除剂如乙烷二硫醇、二甲基硫化物、苯甲醚、三乙基硅烷存在下,在三氟乙酸在二氯甲烷的混合物(1: 1)中振荡树脂-树脂 60 分钟。裂解溶液可以过滤而除去树脂,浓缩至干燥,然后产物本身用于随后的转化,如反应路线 1 和反应路线 2 所示。

可以通过反应路线 1 和反应路线 2 中所示的方法制备式 1 化合物。反应路线 2 是一般性方法,其可以用于制备式 1 表示的所有化合物,但在本例中,其尤其用于制备这些化合物,其中 R_1 变化, R_2 和 R_3 限于环烷基,和 R_4 为氢。反应路线 1 用于制备式 I-A 化合物。

在反应路线 2 中，在 Wang 树脂 2 和质子接受体如三乙胺、二异丙基乙胺或吡啶，优选吡啶存在下，用 2, 6-二氯苯甲酰氯处理，N-保护的-氨基酸 3 (参见反应路线 3)被转化成混合的酐，得到结构 4 的结合氨基酸的树脂。在惰性溶剂例如 N, N-二甲基甲酰胺或 N-甲基吡咯烷酮，优选 N-甲基吡咯烷酮存在下，在 0°C 至室温，最方便在室温下，方便地进行该反应。应用方法 B 所示的方案，可以获得 4 到结构 6 的结合化合物的树脂的转化。因此，用在 N, N-二甲基甲酰胺中的哌啶将结构 4 的结合氨基酸的树脂 N-去保护后，然后在二异丙基碳二亚胺和 HOBT(在 N-甲基吡咯烷酮中)存在下，产物用结构 5 的 N^o-保护的氨基酸酰化。去保护和 N-酰化在大约 0°C 至约室温，优选在约室温下进行。通过应用上述 4 至 6 转化的偶联循环，结构 7 的 N^o-保护的氨基酸掺入到结构 6 的结合化合物的树脂中。因此随后用在 N, N-二甲基甲酰胺中的哌啶去保护结构 6 的化合物，然后在二异丙基碳二亚胺和 1-羟基苯并三唑(在 N-甲基吡咯烷酮中)存在下，在约 0°C 至约室温，优选在约室温下与结构 7 的化合物偶联，得到结构 8 的结合化合物的树脂。

应用在惰性溶剂(优选 N, N-二甲基甲酰胺)中的仲胺碱，优选哌啶处理，除去结构 8 的化合物中的 N-末端保护基团 PG₂，然后与光气或光气等价物试剂反应，在两步中最终得到结构 10 的 2, 5-二氧代咪唑烷。应用在惰性溶剂(例如卤代烃)中的氯甲酸三氯甲基酯(双光气)，在质子接受体例如吡啶、三乙胺或二异丙基乙胺，优选二异丙基乙胺存在下，在约 0°C 至约室温，优选在约室温下，方便地进行获得中间体异氰酸酯 9 的反应。通过在 50°C 至混合物的回流温度下，优选在约 70°C 下，加热在惰性溶剂例如甲苯中的结构 9 的结合异氰酸酯的树脂的混悬液，进行中间体异氰酸酯的热诱导的环化，得到结构 10 的结合化合物的树脂。

任选在阳离子清除剂和惰性共-溶剂例如二氯甲烷存在下，通过振摇在在强酸例如甲磺酸、氢氟酸或三氟乙酸，优选三氟乙酸中的 10 的混悬液，可以获得从固相载体中裂解装载的肽残基 10 得到结构 11 的酸。反应在约 0°C 至约室温，优选在约室温下方便地进行。

为了完成该合成，结构 11 的酸与醇(R_gOH)反应，形成酯 1。该酯化可以应用有机化学领域普通技术人员熟知的许多方法完成。应用偶联试剂

例如许多有用的碳二亚胺中的一种，优选水溶性 1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺，任选应用 R_6OH 或 R_6OH 和惰性共溶剂(例如二氯甲烷)的混合物作为反应介质，方便地进行该转化。反应在约 $0^\circ C$ 至约室温，优选在约室温下方便地进行。

5 在类似的方式，反应路线 1 中，在 Wang 树脂 2 和质子接受体如三乙胺、二异丙基乙胺或吡啶，优选吡啶存在下，用 2, 6-二氯苯甲酰氯处理，结构 5 的 N^α -保护的-氨基酸被转化成混合的酐，得到结构 12 的结合氨基酸的树脂。在惰性溶剂例如 N, N-二甲基甲酰胺或 N-甲基吡咯烷酮，优选 N-甲基吡咯烷酮存在下，在 $0^\circ C$ 至室温，最方便在室温下，方便地进行该反应。应用方法 B 归纳的方案，可以获得 12 到结构 13 的结合化合物的树脂的转化。因此，用在 N, N-二甲基甲酰胺中的哌啶将结构 12 的结合氨基酸的树脂 N-去保护后，然后在二异丙基碳二亚胺和 HOBT(在 N-甲基吡咯烷酮中)存在下，产物用结构 7 的 N^α -保护的氨基酸酰化。去保护和 N-酰化在约 $0^\circ C$ 至约室温，优选在约室温下进行。

15 应用在惰性溶剂(优选 N, N-二甲基甲酰胺)中的仲胺碱，优选哌啶处理，除去结构 13 的化合物中的 N-末端保护基团 PG_2 ，然后与光气或光气等价物试剂反应，在两步中最终得到结构 15 的 2, 5-二氧代咪唑烷。应用在惰性溶剂(例如卤代烃)中的氯甲酸三氯甲基酯(双光气)，在质子接受体例如吡啶、三乙胺或二异丙基乙胺，优选二异丙基乙胺存在下，在约 $0^\circ C$ 至约室温，优选在约室温下，方便地进行获得中间体异氰酸酯 14 的反应。通过在 $50^\circ C$ 至混合物的回流温度下，优选在约 $70^\circ C$ 下，加热在惰性溶剂例如甲苯中的结构 14 的结合异氰酸酯的树脂的混悬液，进行中间体异氰酸酯的热诱导的环化，得到结构 15 的结合化合物的树脂。

25 任选在阳离子清除剂和惰性共-溶剂例如二氯甲烷存在下，通过振摇在在强酸例如甲磺酸、氢氟酸或三氟乙酸，优选三氟乙酸中的 15 的混悬液，可以获得从固相载体中裂解肽残基 15 得到结构 16 的酸。反应在约 $0^\circ C$ 至约室温，优选在约室温下方便地进行。

可以在前述的偶联条件下，进行酸 16 与 R_1-NH_2 形成式 1 的酰胺的反应。在该例中优选的偶联试剂为 HBTU。在叔胺碱如三乙胺或二异丙基乙胺，优选二异丙基乙胺(在惰性溶剂例如 N, N-二甲基甲酰胺或 N-甲基吡咯

烷酮, 优选 N-甲基吡咯烷酮中)存在下, 反应在 0°C 至室温, 最方便在室温下进行该反应。

反应路线 3 归纳了中间体 N-Fmoc-2-氨基噻唑-4-羧酸 3 的制备。起始, 在惰性溶剂优选乙酸乙酯中温度 0°C-5°C 下, 9-苄基甲氧基碳酰氯(18)与硫氰酸钾反应。然后, 在温度 0°C-40°C 下, 优选在室温下进行该反应, 以提供 N-Fmoc-硫氰酸酯(19)。在 0°C 至室温, 优选 0°C 下, 用在惰性溶剂例如甲醇或乙醇, 优选甲醇中的氨溶液处理 19, 得到 N-Fmoc-硫脲 20。在最后步骤中, 硫脲 20 然后与溴代丙酮酸反应, 形成结构 3 的噻唑。在 40°C 至混合物的回流温度下, 优选在约 70°C 下, 在惰性溶剂, 如环状醚, 例如四氢呋喃或二噁烷, 优选二噁烷中方便地进行该反应。

包括实施例中列出的化合物的全部式 I 化合物通过实施例 A 的过程在体外激活葡萄糖激酶。在该方法中, 它们增加葡萄糖代谢的流量, 其引起胰岛素分泌增加。因此, 式 I 化合物是用于增加胰岛素分泌的葡萄糖激酶激活剂。

根据它们激活葡萄糖激酶的能力, 上述式 I 化合物可以用作治疗 II 型糖尿病的药物。因此, 如上所述, 含有式 I 化合物的药物也是本发明的一个目的, 以及制备该药物的方法, 其包括将一种或多种式 I 化合物以及, 必要时, 一种或者多种其它的治疗上有价值的物质制成盖仑(galenical)给药剂型, 例如, 通过将式 I 化合物与药用载体和/或辅剂组合。

该药物组合物可以口服给药, 例如以片剂, 包衣的片剂, 糖锭剂, 硬或者软明胶胶囊, 溶液剂, 乳剂或者混悬剂的形式。给药也可以通过直肠进行, 例如使用栓剂; 局部给药或者经皮肤给药, 例如使用软膏剂, 霜剂, 凝胶剂或者溶液剂; 或者胃肠外给药, 例如使用可注射溶液的静脉内、肌肉内、皮下、鞘内或经皮给药。并且, 给药可以是舌下给药或作为气溶胶例如喷雾剂的形式。为了制备片剂, 包衣的片剂, 糖锭剂, 硬明胶胶囊, 本发明的化合物可以与药学惰性的, 有机或无机赋形剂一起混合。合适的片剂, 包衣的片剂, 糖锭剂, 硬明胶胶囊的赋形剂的实例包括乳糖, 玉米淀粉或其衍生物, 滑石, 或者硬脂酸或者其盐。软明胶胶囊的合适的赋形剂包括例如植物油, 蜡, 脂肪, 半固体或者液体多元醇等; 但是, 根据该活性成分的性质, 可能有软明胶胶囊根本不需要任何赋形剂的情况。为了

制备溶液剂和糖浆剂，可以使用的赋形剂包括例如水，多元醇，糖类，转化糖和葡萄糖。为了制备注射溶液，可以使用的赋形剂包括例如水，醇，多元醇，甘油，和植物油。为了制备栓剂和局部给药或经皮肤给药用剂，可以使用的赋形剂包括例如天然或者硬化油，蜡，脂肪，半固体或者液体多元醇。该药物组合物还可以含有防腐剂，增溶剂，稳定剂，润湿剂，乳化剂，甜味剂，着色剂，调味剂，改变渗透压的盐，缓冲剂，包衣剂或者抗氧化剂。它们也可以含有其它的治疗上有价值的活性剂。先决条件是用于制备该制剂的所有辅剂都是非毒性的。

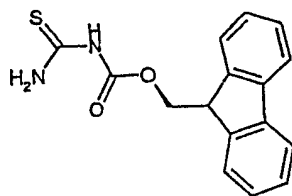
使用的优选剂型为静脉内、肌肉内或口服给药，最优选口服给药。给药式(I)化合物的有效量的剂量根据特殊活性成份的性质、患者的年龄和要求以及施用方式来确定。通常，考虑大约 1-100 mg/kg 体重/天的剂量。

通过下列实施例可以更好地理解本发明，其目的是为了举例说明，而不是为了限制本发明，本发明通过后附的权利要求进行限定。

在应用 ES Industries C₁₈ 柱(30 x 3.2 mm)的具有在 214 nm 处紫外(UV)检测系统的 Hewlett-Packard 1090 系统上进行分析型高效液相色谱(HPLC)检测。在应用 YMC C₁₈ 柱(2 x 5 cm)的用 Perkin-Elmer Sciex 质谱检测器(PE Sciex 150EX)连系的 Shimazu VP 系列系统，进行制备型 HPLC 分离。

实施例 1

20 N-Fmoc-硫脲的制备



25

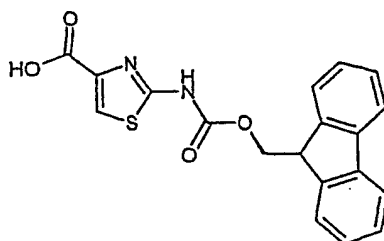
向冷却至 0°C 的硫氰酸钾(8.55 g, 88 mmol)在乙酸乙酯(100 mL)的混悬液中，在 15 分钟内逐滴加入 9-苄基甲氧基羰基氯(20.7 g, 80 mmol)在乙酸乙酯(100 mL)中的溶液。将得到的混悬液升温至环境温度，搅拌下过夜。过滤形成的固体，在真空下浓缩滤液得到橙色油。不经过进一步纯化，将

该油溶解于乙醇(50 mL)中, 通过逐滴加入氨水在乙醇中的冷溶液(7N, 91 mL, 637 mmol)处理。加入氨水溶液后形成沉淀。在 0°C 下剧烈搅拌该混合物 15 分钟, 然后过滤固体, 用冷乙醇(3 x 20 mL)洗涤, 干燥得到灰白色固体 N-Fmoc-硫脲(16.8g, 70%): EI-HRMS m/e 计算值 $C_{16}H_{14}N_2O_2S$ (M^+)298.0776, 实测值 298.0770

实施例 2

N-Fmoc-2-氨基噻唑-4-羧酸的制备

10



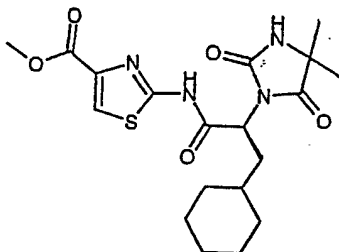
15 将 N-Fmoc-硫脲(5.96g, 20 mmol)在二噁烷(40 mL)中的溶液用溴代丙酮酸(3.34g, 20 mmol)处理。将反应混合物回流 1 小时, 然后通过过滤回收沉淀, 用二乙醚(3 x 20 mL)洗涤, 得到白色固体 N-Fmoc-2-氨基噻唑-4-羧酸 (7.1g, 97%): EI-HRMS m/e 计算值 $C_{19}H_{14}N_2O_4S$ (M^+) 366.0674, 实测值 366.0679。

20

实施例 3

(S)-2-[[3-环己基-2-(4, 4-二甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基)丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯的制备

25



30

步骤(i). 将 N-Fmoc-2-氨基噻唑-4-羧酸 (6.0 g, 16.5 mmol)、2, 6-二氯苯甲酰氯 (7.9mL, 55 mmol)在 N-甲基吡咯烷酮 (50 mL)中的混合物加入到填充 Wang 树脂(Midwest Bio-Tech, 10 g, 11 mmol)的多孔的聚丙烯柱中。将该混悬液振摇 5 分钟后, 缓慢加入吡啶 (6.2 mL, 77 mmol), 在环境温度下振摇得到的暗色混合物过夜。然后过滤混合物, 树脂用 N, N-二甲基甲酰胺(3 x 100 mL), 甲醇 (3 x 100 mL), 二氯甲烷 (3 x 100 mL)洗涤, 真空下干燥。

步骤(ii). 向前一步骤的树脂产物(3 g, 2.31 mmol)中加入 20% 吡啶(在 N, N-二甲基甲酰胺(25 mL)中)。在环境温度下振摇反应混合物 30 分钟。过滤该混合物, 树脂用 N, N-二甲基甲酰胺(3 x 30 mL), 甲醇 (3 x 30 mL), 二氯甲烷 (3 x 30 mL)洗涤。然后将该树脂混悬于 N-甲基吡咯烷酮 (10 mL)和 N-Fmoc-3-环己基-L-丙氨酸(2.7 g, 6.93 mmol)中, 加入二异丙基碳二亚胺 (1.09 mL, 6.93 mmol)和 HOBT (0.936 g, 6.93 mmol)。在环境温度下振摇得到的混合物过夜, 并过滤。用 N, N-二甲基甲酰胺(3 x 100 mL), 甲醇 (3 x 100 mL), 二氯甲烷 (3 x 100 mL)洗涤树脂, 真空下干燥。

步骤(iii). 向前一步骤的树脂产物(200 mg, 0.14 mmol)中加入 20% 吡啶(在 N, N-二甲基甲酰胺(5 mL)中), 然后将该反应混合物在环境温度下振摇 30 分钟。过滤该混合物, 树脂用 N, N-二甲基甲酰胺(3 x 10 mL), 甲醇 (3 x 10 mL), 二氯甲烷 (3 x 10 mL)洗涤。然后将该树脂混悬于 N-甲基吡咯烷酮 (2 mL)N-Fmoc-2-氨基-2 甲基丙酸(136 mg, 0.42 mmol)中, 加入二异丙基碳二亚胺 (65 PLL, 0.42 mmol)和 HOBT (57 mg, 0.42 mmol)。在环境温度下振摇得到的混合物过夜, 并过滤。用 N, N-二甲基甲酰胺(3 x 10 mL), 甲醇 (3 x 10 mL), 二氯甲烷 (3 x 10 mL)洗涤树脂, 真空下干燥。

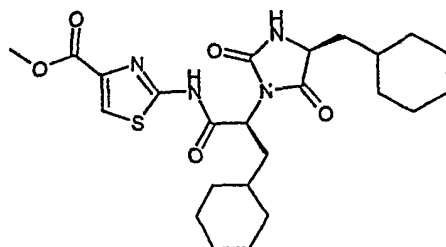
步骤(iv). 向前一步骤的树脂产物(0.14 mmol)中加入 20% 吡啶(在 N, N-二甲基甲酰胺(5 mL)中), 然后将该反应混合物在环境温度下振摇 30 分钟。过滤该混合物, 树脂用 N, N-二甲基甲酰胺(3 x 10 mL), 甲醇 (3 x 10 mL), 二氯甲烷 (3 x 10 mL)洗涤。然后将该树脂混悬于二氯甲烷 (2 mL)中, 用二异丙基乙胺 (73 μ L, 0.42 mmol)处理。将该反应混合物冷却至 0 $^{\circ}$ C, 逐滴加入双光气(50 μ L, 0.42 mmol)。将得到的混合物升温至环境温度, 搅拌 3 小时。过滤该混合物, 用二氯甲烷 (3 x 10 mL)洗涤树脂, 真空下

干燥。然后将该树脂混悬于甲苯 (2 mL)中, 在 70°C下加热搅拌的反应混合物 4 小时。过滤冷却的树脂混合物, 然后将树脂用二氯甲烷 (3 x 10 mL) 洗涤。通过用 50% 三氟乙酸(在二氯甲烷 (3 mL)中)处理 1 小时, 进行从载体的裂解。浓缩滤液得到棕色固体。

- 5 步骤(v). 不经过进一步纯化, 将步骤(iv)的固体溶解于甲醇 (1 mL)中, 然后用 1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺 (40 mg, 0.21 mmol)处理。在环境温度下搅拌该混合物过夜, 然后在真空下浓缩。将得到的油用 99/1 二氯甲烷/甲醇 (3 x 5 mL)研制, 通过硅胶塞过滤。在真空下浓缩滤液, 得到白色泡沫状(S)-2-[[3-环己基-2-(4, 4-二甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基)丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯 (18 mg): EI-HRMS m/e 计算值 $C_{19}H_{26}N_4O_5S$ (M^+) 423.1702, 实测值 423.1701。

实施例 4

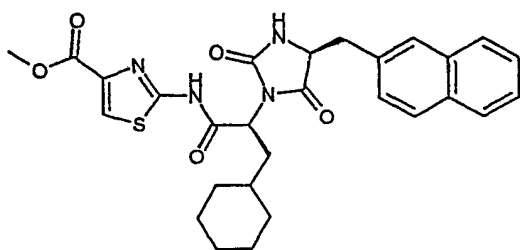
- 15 (S, S)-2-[[3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯的制备



- 20 该化合物如实施例 3 所描述制备, 除了该方法的步骤(iii)中加入的氨基酸为 N-Fmoc-3-环己基-L-丙氨酸。得到白色泡沫状题述化合物: EI-HRMS m/e 计算值 $C_{24}H_{34}N_4O_5S$ (M^+) 491.2328, 实测值 491.2323。

实施例 5

- 30 (S, S)-2-[[3-环己基-2-[2,5-二氧代-4-(萘-2-基)甲基咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯的制备

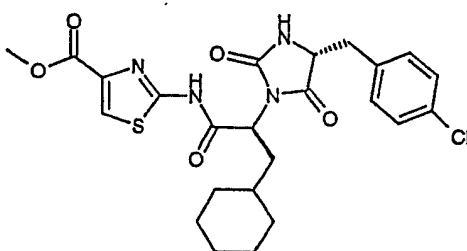


5

该化合物如实施例 3 所描述制备,除了该方法的步骤(iii)中加入的氨基酸为 N-Fmoc-3-(萘-2-基)-L-丙氨酸。得到白色泡沫状题述化合物: EI-HRMS m/e 计算值 $C_{28}H_{30}N_4O_5S$ (M^+) 535.2015, 实测值 535.2035。

10 实施例 6

2-[[(S)-2-[(R)-4-(4-氯苄基)-2,5-二氧代咪唑烷-1-基]-3-环己基丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯的制备



15

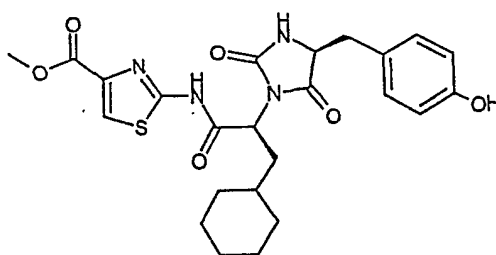
该化合物如实施例 3 所描述制备,除了该方法的步骤(iii)中加入的氨基酸为 N-Fmoc-3-(4-氯苄基)-D-丙氨酸。得到白色泡沫状题述化合物: EI-HRMS m/e 计算值 $C_{24}H_{27}N_4O_5SCl$ (M^+) 519.1469, 实测值 519.1466。

20

实施例 7

(S, S)-2-[[3-环己基-2-[2,5-二氧代-4-(4-羟基苄基)咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯的制备

25



30

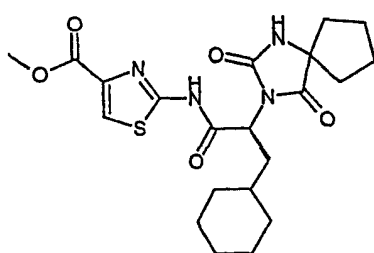
该化合物如实施例 3 所描述制备,除了该方法的步骤(iii)中加入的氨基酸为 N-Fmoc-L-酪氨酸。得到白色泡沫状题述化合物: EI-HRMS m/e 计算值 $C_{24}H_{28}N_4O_6S$ (M^+) 501.1808, 实测值 501.1815。

5

实施例 8

(S)-2-[[3-环己基-2-(2,4-二氧化-1,3-二氮杂螺[4.4]壬-3-基)丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯的制备

10

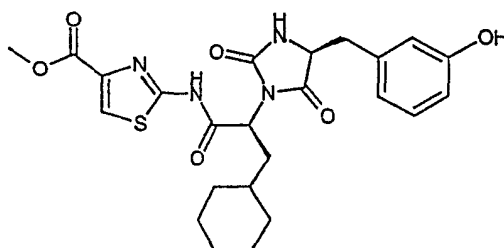


15 该化合物如实施例 3 所描述制备,除了该方法的步骤(iii)中加入的氨基酸为 N-Fmoc-1-氨基环戊烷羧酸: EI-HRMS m/e 计算值 $C_{21}H_{28}N_4O_5S$ (M^+) 449.1859, 实测值 449.1853。

实施例 9

20 (S,S)-2-[[3-环己基-2-[2,5-二氧化-4-(3-羟基苄基)咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯的制备

25

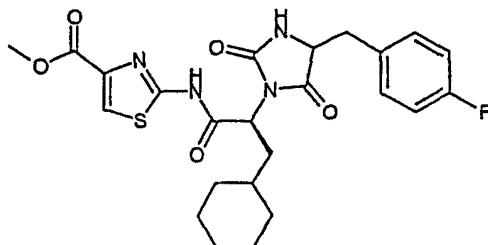


30 该化合物如实施例 3 所描述制备,除了该方法的步骤(iii)中加入的氨基酸为 N-Fmoc-3-(3-羟基苄基)-L-丙氨酸: EI-HRMS m/e 计算值 $C_{24}H_{28}N_4O_6S$ (M^+) 501.1808, 实测值 501.1816。

实施例 10

2-[[*(S)*-3-环己基-2-[[*(R, S)*-2, 5-二氧代-4-(4-氟苄基)咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯的制备

5



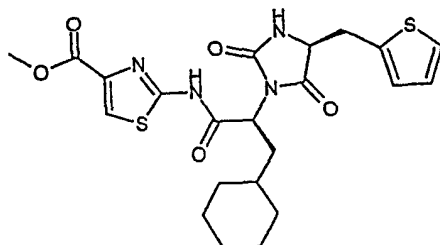
10

该化合物如实施例 3 所描述制备,除了该方法的步骤(iii)中加入的氨基酸为 N-Fmoc-3-(4-氟苄基)-DL-丙氨酸: EI-HRMS m/e 计算值 $C_{24}H_{27}N_4O_5SF (M^+)$ 503.1764, 实测值 503.1776。

15 实施例 11

(*S, S*)-2-[[3-环己基-2-[2,5-二氧代-4-(噻吩-2-基)甲基咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯的制备

20

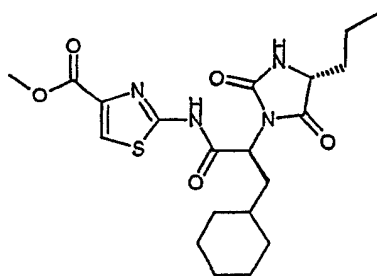


25 该化合物如实施例 3 所描述制备,除了该方法的步骤(iii)中加入的氨基酸为 N-Fmoc-3-(噻吩-2-基)-L-丙氨酸: EI-HRMS m/e 计算值 $C_{22}H_{26}N_4O_5S_2 (M^+)$ 491.1423, 实测值 491.1425。

实施例 12

30 2-[[*(S)*-3-环己基-2-[[*(R)*-2, 5-二氧代-4-丙基咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯的制备

5



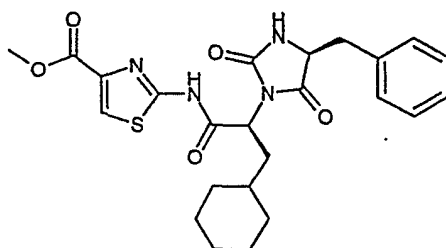
该化合物如实施例 3 所描述制备,除了该方法的步骤(iii)中加入的氨基酸为(R)-N-Fmoc-2-氨基戊酸: EI-HRMS m/e 计算值 $C_{20}H_{28}N_4O_5S$ (M^+) 437.1859, 实测值 437.1850。

10

实施例 13

(S, S)-2-[[2-(4-苄基-2,5-二氧代咪唑烷-1-基)-3-环己基丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯的制备

15



20

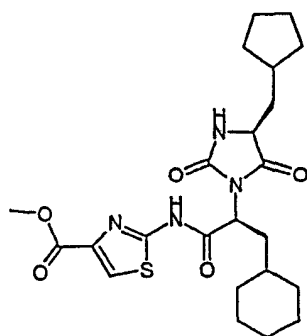
该化合物如实施例 3 所描述制备,除了该方法的步骤(iii)中加入的氨基酸为 N-Fmoc-L-苯基丙氨酸: EI-HRMS m/e 计算值 $C_{24}H_{28}N_4O_5S$ (M^+) 485.1859, 实测值 485.1857。

实施例 14

(S, S)-2-[[3-环己基-2-[4-(环戊基)甲基-2,5-二氧代咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯的制备

30

5

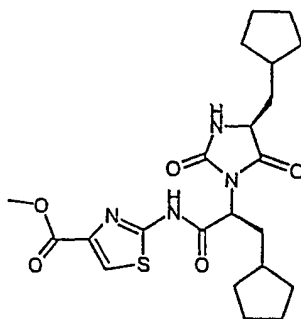


该化合物如实施例 3 所描述制备,除了该方法的步骤(iii)中加入的氨基酸为 N-Fmoc-3-环戊基-L-丙氨酸: EI-HRMS m/e 计算值 $C_{23}H_{32}N_4O_5S$ (M^+)
10 477.2172, 实测值 477.2170。

实施例 15

(S, S)-2-[[3-环戊基-2-[4-(环戊基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯的制备

15



20

该化合物如实施例 3 所描述制备,除了该方法的步骤(ii)和步骤(iii)中加入的氨基酸都为 N-Fmoc-3-环戊基-L-丙氨酸。得到白色泡沫状题述化合物: EI-HRMS m/e 计算值 $C_{22}H_{30}N_4O_5S$ (M^+) 463.2015, 实测值 463.2023。

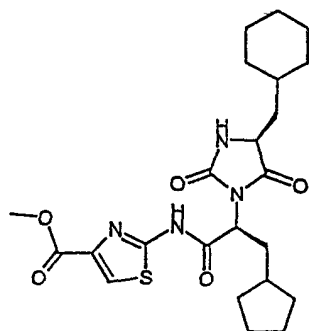
25

实施例 16

(S, S)-2-[[2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]-3-环戊基丙酰基]氨基]噻唑-4-羧酸甲酯的制备

30

5



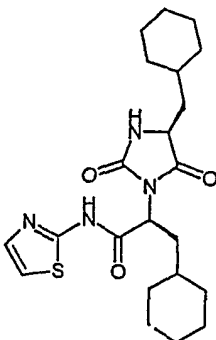
10

该化合物如实施例 3 所描述制备,除了该方法的步骤(ii)和步骤(iii)中加入的氨基酸分别为 N-Fmoc-3-环戊基-L-丙氨酸和 N-Fmoc-3-环己基-L-丙氨酸: EI-HRMS m/e 计算值 $C_{23}H_{32}N_4O_5S$ (M^+) 477.2172, 实测值 477.2164。

实施例 17

(S, S)-3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]-N-(噻唑-2-基)丙酰胺的制备:

15



20

步骤(i). 将 N-Fmoc-3-环己基-L-丙氨酸(3.47g, 8.8 mmol)、2, 6-二氯苯甲酰氯(3.2 mL, 22 mmol)在 N-甲基吡咯烷酮 (20 mL)中的混合物加入到填充 Wang 树脂(Midwest Bio-Tech, 4 g, 4.4 mmol)的多孔的聚丙烯柱中。将该混悬液振摇 5 分钟后,缓慢加入吡啶(2.5 mL, 30.8 mmol),在环境温度下振摇得到的暗色混合物过夜。然后过滤混合物,树脂用 N, N-二甲基甲酰胺(3 x 30 mL), 甲醇 (3 x 30 mL), 二氯甲烷 (3 x 30 mL)洗涤,真空下干燥。

步骤(ii). 向步骤(i)的树脂产物中加入 20% 哌啶(在 N, N-二甲基甲酰胺(25 mL)中)。在环境温度下振摇反应混合物 30 分钟。过滤该混合物,树

30

脂用 N, N-二甲基甲酰胺(3 x 30 mL), 甲醇 (3 x 30 mL), 二氯甲烷 (3 x 30 mL)洗涤。然后将该树脂混悬于 N-甲基吡咯烷酮 (10 mL)和 N-Fmoc-3-环己基-L-丙氨酸(5.2 g, 13.2 mmol)中, 加入二异丙基碳二亚胺 (2.1 mL, 13.2 mmol)和 HOBT (1.8 g, 13.2 mmol)。在环境温度下振摇得到的混合物过夜, 5 并过滤。用 N, N-二甲基甲酰胺(3 x 30 mL), 甲醇 (3 x 30 mL), 二氯甲烷 (3 x 30 mL)洗涤树脂, 真空下干燥。

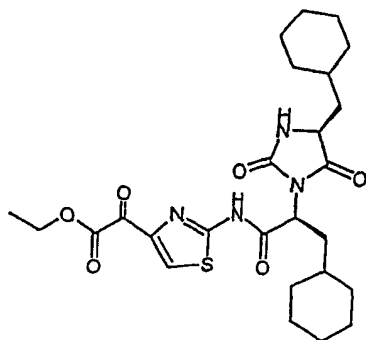
步骤(iii). 向步骤(ii)的树脂产物中加入 20% 哌啶(在 N, N-二甲基甲酰胺(25 mL)中), 然后将该反应混合物在环境温度下振摇 30 分钟。过滤该混合物, 树脂用 N, N-二甲基甲酰胺(3 x 30 mL), 甲醇 (3 x 30 mL), 二氯甲烷 (3 x 30 mL)洗涤。然后将该树脂混悬于二氯甲烷 (20 mL)中, 用二异丙基乙胺 (2.3 mL, 13.2 mmol)处理。将该反应混合物冷却至 0°C, 逐滴加入双光气(1.6 mL, 13.2 mmol)。将混合物升温至室温, 搅拌 5 小时, 然后过滤, 树脂用二氯甲烷 (3 x 30 mL)洗涤, 真空下干燥。然后将树脂混悬于甲苯 (20 mL), 将搅拌的混合物加热至 70°C 4 小时。过滤冷却的树脂混合物, 用二氯甲烷 (3 x 30 mL)洗涤树脂。应用 50% 三氟乙酸(在二氯甲烷 (30 mL)中)处理, 进行从载体的裂解。浓缩滤液得到棕色固体。通过反相 HPLC 纯化, 得到白色泡沫状(S, S)-3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]丙酸(850 mg): EI-HRMS m/e 计算值 $C_{19}H_{30}N_2O_4$ (M^+) 350.2205, 实测值 350.2204。

20 步骤(iv). 将(S, S)-3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑-1-基]丙酸[步骤(iii); 25 mg, 0.071 mmol]在 N-甲基吡咯烷酮 (1 mL)中的溶液用二异丙基乙胺 (19 μ L, 1.065 mmol)和 HBTU (29.3 mg, 0.078 mmol)处理。然后将反应混合物用 2-氨基噻唑(7.2 mg, 0.071 mmol)处理, 在环境温度下搅拌过夜。然后将该反应混合物用水(2 mL)稀释, 乙酸乙酯(2 x 3 mL)萃取, 25 硫酸镁干燥合并的有机层, 过滤, 并在真空下干燥。应用快速色谱(Merck 硅胶 60, 230-400 目, 99/1 二氯甲烷/甲醇)纯化产物, 得到白色泡沫状(S, S)-3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]-N-(噻唑-2-基)丙酰胺 (27 mg, 88%): EI-HRMS m/e 计算值 $C_{22}H_{32}N_4O_3S$ (M^+) 433.2273, 实测值 433.2270。

30

实施例 18

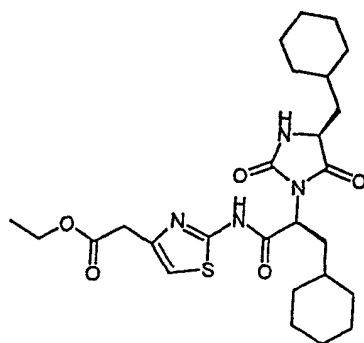
(S, S)-[2-[[3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2,5-二氧代咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-基]氧代乙酸乙酯的制备



通过应用实施例 17 步骤(iv)中描述的条件, 2-氨基-4-噻唑乙醛酸乙酯与(S, S)-3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2,5-二氧代咪唑烷基]丙酸[实施例 17, 步骤(iii)]缩合, 得到无色泡沫状题述化合物: EI-HRMS m/e 计算值 $C_{26}H_{36}N_4O_6S$ (M^+) 533.2434, 实测值 533.2431。

实施例 19

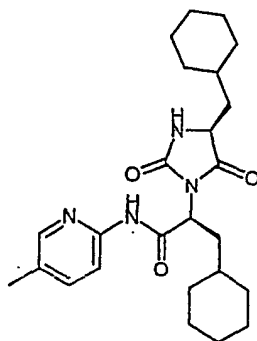
(S, S)-[2-[[3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2,5-二氧代咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]噻唑-4-基]乙酸乙酯的制备



通过应用实施例 17 步骤(iv)中描述的条件, 2-氨基-4-噻唑乙酸乙酯与(S, S)-3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2,5-二氧代咪唑烷基]丙酸[实施例 17, 步骤(iii)]缩合, 得到无色泡沫状题述化合物: EI-HRMS m/e 计算值 $C_{26}H_{38}N_4O_5S$ (M^+) 519.2641, 实测值 519.2620。

实施例 20

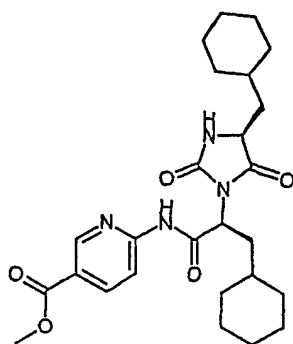
(S, S)-3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]-N-(5-甲基吡啶-2-基)丙酰胺的制备



通过应用实施例 17 步骤(iv)中描述的条件, 2-氨基-5-甲基吡啶与(S, S)-3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷基]丙酸[实施例 17, 步骤(iii)]缩合, 得到无色泡沫状题述化合物: EI-HRMS m/e 计算值 $C_{25}H_{36}N_4O_3$ (M^+) 441.2866, 实测值 441.2869。

实施例 21

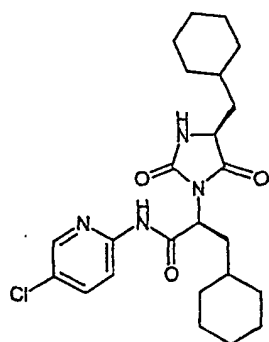
(S, S)-6-[[3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]丙酰基]氨基]烟酸甲酯的制备



通过应用实施例 17 步骤(iv)中描述的条件, 6-氨基烟酸甲酯与(S, S)-3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷基]丙酸[实施例 17, 步骤(iii)]缩合, 得到无色泡沫状题述化合物: EI-HRMS m/e 计算值 $C_{26}H_{36}N_4O_5$ (M^+) 485.2764, 实测值 485.2768。

实施例 22

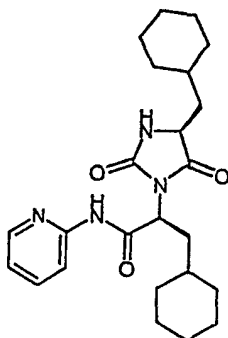
(S, S)-N-(5-氯吡啶-2-基)-3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]丙酰胺的制备



通过应用实施例 17 步骤(iv)中描述的条件, 2-氨基-5-氯吡啶与(S, S)-3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷基]丙酸[实施例 17, 步骤(iii)]缩合, 得到无色泡沫状题述化合物: EI-HRMS m/e 计算值 $C_{24}H_{33}N_4O_3Cl$ (M^+) 461.2319, 实测值 461.2321。

实施例 23

(S, S)-3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷-1-基]-N-(吡啶-2-基)丙酰胺的制备



通过应用实施例 17 步骤(iv)中描述的条件, 2-氨基吡啶与(S, S)-3-环己基-2-[4-(环己基)甲基-2, 5-二氧代咪唑烷基]丙酸[实施例 17, 步骤(iii)]缩合, 得到无色泡沫状题述化合物: EI-HRMS m/e 计算值 $C_{24}H_{34}N_4O_3$ (M^+) 427.2709, 实测值 427.2706。

30 实施例 A

尿病(MODY)有关的葡糖激酶突变对底物相互作用和酶稳定性的关系的可变性影响 (Variable effects of maturity-onset-二 abetes-ofyouth (MODY)-associated glucolinase mutations on the substrate interactions and stability of the enzyme) Biochem.J. 309: 167-173, 1995 等, 1995], 并在谷胱甘肽琼脂糖凝胶 4B 亲和柱上用生产商(Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ)提供的方法通过色谱纯化。以前的研究已经证明天然 GK 和 GST-GK 的酶的性质基本上相同 (Liang 等, 1995; Neet, K., Keenan, R.P.,和 Tippett, P.S. 单体葡糖激酶动力学缓慢改变的观察 (Observation of a kinetic slow transition in monomeric glucolinase.) Biochemistry 29; 770-777, 1990)。

10 在 25°C 下, 在来自 Costar (Cambridge, MA)的 96 孔平底组织培养板中进行分析, 终培养体积为 120 μ l。培养混合物含有: 25 mM HEPES 缓冲液(pH, 7.1), 25 mM KCl, 5 mM D-葡萄糖, 1mM ATP, 1.8 mM NAD, 2 mM MgCl₂, 1 μ M 山梨糖醇-6-磷酸, 1 mM 二硫苏糖醇, 实验药物或 10% DMSO, 1.8 单位/ml G6PDH,和 GK (见下)。所有有机试剂纯度 > 98 %, 除了 D-葡萄糖和 HEPES 来自 Sigma Chemical Co, St Louis, MO, 其它来自 Boehringer Mannheim。将实验化合物溶解于 DMSO, 然后加入体积为 12 μ l 的不含 GST-GK 的培养混合物, 至 DMSO 的终浓度为 10%。将该混合物置于 SPECTRAMax 250 微平板分光光度计(Molecular Devices Corporation, Sunnyvale, CA)的温控槽中预保温 10 分钟, 使温度平衡, 然后加入 20 μ l
15 GST-GK 起始反应。

加入酶后, 监测 10 分钟的保温期中, 340 nm 处的光密度 (OD)的增加, 作为 GK 活性的测量。加入足够的 GST-GK, 以使含 10% DMSO、而无测试化合物的孔在 10 分钟的保温期中, OD₃₄₀ 从 0.08 增加到 0.1 单位。初步实验表明, GK 反应在这个时间段中呈线性, 甚至在产生 GK 活性增加 5 倍的激活剂存在时也如此。比较了对照孔与含测试的 GK 激活剂的孔中的 GK 活性, 并计算使 GK 活性增加 50%的激活剂的浓度, 即 SC_{1.5}。

合成实施例描述的所有式 I 化合物的 SC_{1.5} 都低于或等于 30 μ M。