[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
C07D 401/04 (2006.01)
C07D 405/04 (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)

[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200580046538.5

[43] 公开日 2008 年 1 月 2 日

[11] 公开号 CN 101098865A

[22] 申请日 2005.12.17
[21] 申请号 200580046538.5
[30] 优先权
[32] 2005. 1.14 [33] FR [31] 0500422
[86] 国际申请 PCT/EP2005/013634 2005.12.17
[87] 国际公布 WO2006/074789 英 2006.7.20
[85] 进入国家阶段日期 2007.7.13
[71] 申请人 默克专利有限公司
地址 德国达姆施塔特
[72] 发明人 N·阿杰 D·罗彻 S·伊冯
[74] 专利代理机构 北京市中咨律师事务所
代理人 黄革生 林柏楠

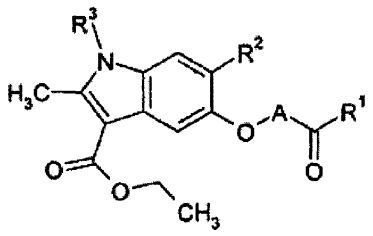
权利要求书 8 页 说明书 30 页

[54] 发明名称

1H－吲哚－3－羧酸衍生物及其作为 PPAR 激动剂的用途

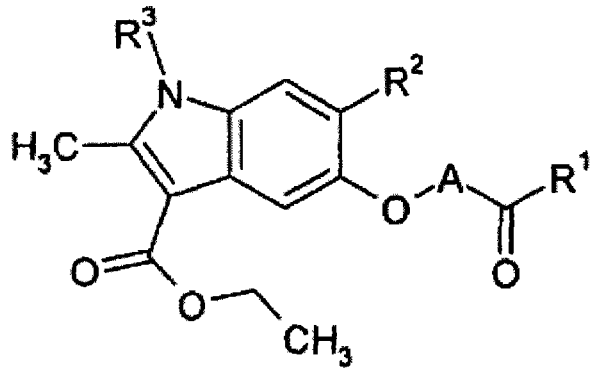
[57] 摘要

本发明涉及式(1)化合物：其中 A、R^1、R^2和R^3如说明书中所定义，制备这些化合物的方法，它们在治疗血脂异常、动脉粥样硬化和糖尿病中的用途以及包含它们的药物组合物。



(1)

1. 式(1)化合物、它们可能的旋光异构体、氧化物形式和溶剂化物以及它们与酸或碱的可药用加成盐:



(1)

其中:

R^1表示-O-R'^{1}或-NR'^{1}R"^{1}，其中 R'^{1}和 R"^{1}可以是相同的或不同的，其选自氢原子、烷基、链烯基、炔基、环烷基、芳基和杂芳基;

R^2选自:

· 烷基、链烯基或炔基;

· 芳基，其是任选取代的和/或任选与单环或多环的饱和或不饱和的任选含有一个或多个选自 O、N 和 S 的杂原子的 5 至 8 元环稠合，所述的环本身是任选取代的，以及

· 含有一个或多个选自 O、N 和 S 的杂原子的饱和、不饱和或芳族的任选取代的 5 至 8 元单环杂环基;

R^3选自氢原子和烷基; 并且

A 表示含有 1 至 6 个碳原子的直链或支链亚烷基链。

2. 权利要求 1 的化合物、它们可能的旋光异构体、氧化物形式和溶剂化物以及它们与酸或碱的可药用加成盐，它们具有一个或多个下列特征，所述的特征是单独或作为一个、几个或所有特征的组合出现的:

R^1表示-O-R'^{1}，R'^{1}选自氢原子和烷基;

R^2表示任选被基团-O-烷基、芳基或环烷基取代的烷基，或者另外表示任选取代的芳基，或者另外表示任选取代的杂环基;

R^3 选自氢原子和任选被基团-O-烷基、芳基或环烷基取代的烷基；并且

A 表示含有 1 至 6 个碳原子的直链或支链亚烷基链。

3. 前述权利要求中任意一项的化合物、它们可能的旋光异构体、氧化物形式和溶剂化物以及它们与酸或碱的可药用加成盐，它们具有一个或多个下列特征，所述的特征是单独或作为一个、几个或所有特征的组合出现的：

R^1 表示-O-R'^{1}，R'^{1} 选自氢原子和含有 1 至 6 个碳原子的烷基；

R^2 表示含有 1 至 6 个碳原子并且任选被含有 1 至 6 个碳原子的基团-O-烷基取代或者被苯基或 5 或 6 元环烷基取代的烷基，或者另外表示任选取代的苯基，或者另外表示任选取代的杂环基；

R^3 选自氢原子和含有 1 至 6 个碳原子并且任选被含有 1 至 6 个碳原子的基团-O-烷基取代或者被苯基或 5 或 6 元环烷基取代的烷基；并且

A 表示含有 1 至 6 个碳原子的直链或支链亚烷基链。

4. 前述权利要求中任意一项的化合物、它们可能的旋光异构体、氧化物形式和溶剂化物以及它们与酸或碱的可药用加成盐，它们具有一个或多个下列特征，所述的特征是单独或作为一个、几个或所有特征的组合出现的：

R^1 表示-O-R'^{1}，R'^{1} 选自氢原子、甲基和乙基；

R^2 表示含有 1 至 6 个碳原子并且任选被甲氧基或乙氧基取代或者被取代的苯基或环戊基或环己基取代的烷基，或者另外表示任选取代的苯基，或者另外表示含有至少一个氮原子的任选取代的芳族杂环基；

R^3 选自氢原子和含有 1 至 6 个碳原子并且任选被甲氧基或乙氧基取代或者被取代的苯基或环戊基或环己基取代的烷基；并且

A 表示式-$(CH_2)_k$-的亚烷基链，其中 k 表示 1 和 6 之间的整数，包括边界值，或者表示-$C(CH_3)_2$-链。

5. 前述权利要求中任意一项的化合物、它们可能的旋光异构体、氧化物形式和溶剂化物以及它们与酸或碱的可药用加成盐，它们具有一个或多个下列特征，所述的特征是单独或作为一个、几个或所有特征的组合出现

的：

R^1表示氢原子；

R^2选自甲基、乙基、丙基和正己基，所述的甲基、乙基、丙基和正己基任选被甲氧基或乙氧基取代或者被取代的苯基取代或者被环戊基取代，或者另外表示任选取代的苯基，或者另外表示任选取代的吡啶基；

R^3选自氢原子、甲基、乙基、丙基、异丙基、异丁基和异戊基，这些基团各自任选被甲氧基或乙氧基取代或者被取代的苯基取代；并且

A表示式-$(CH_2)_k$-的亚烷基链，其中k表示1、2或3，或者表示-$C(CH_3)_2$-链。

6. 前述权利要求中任意一项的化合物、它们可能的旋光异构体、氧化物形式和溶剂化物以及它们与酸或碱的可药用加成盐，其特征在于芳基和杂环基上的取代基选自卤原子，优选氟和/或氯，以及甲基、乙基、甲氧基、苯基、三氟甲基和三氟甲氧基。

7. 前述权利要求中任意一项的化合物、它们可能的旋光异构体、氧化物形式和溶剂化物以及它们与酸或碱的可药用加成盐，其特征在于杂环基选自噻吩基、苯并噻吩基、吡啶基和噁唑基。

8. 权利要求1的化合物，选自

• 1-苄基-5-(3-羧基丙氧基)-2-甲基-6-吡啶-3-基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯；

• 5-(3-羧基丙氧基)-1-(4-氯苄基)-2-甲基-6-吡啶-3-基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯；

• 5-(1-羧基-1-甲基乙氧基)-2-甲基-1-(3-甲基丁基)-6-吡啶-4-基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯；

• 5-羧基甲氧基-6-己基-1-异丁基-2-甲基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯；

• 5-羧基甲氧基-6-(3-乙氧基丙基)-1-异丁基-2-甲基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯；

• 5-羧基甲氧基-6-(3-环戊基丙基)-1-(2-甲氧基乙基)-2-甲基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯；

• 5-羧基甲氧基-6-[2-(4-氟苯基)乙基]-1-(2-甲氧基乙基)-2-甲基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯；

• 5-(3-羧基丙氧基)-6-己基-1-(2-甲氧基乙基)-2-甲基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯;

• 5-(3-羧基丙氧基)-6-(3-乙氧基丙基)-1-(2-甲氧基乙基)-2-甲基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯; 和

• 5-(3-羧基丙氧基)-6-(3-环戊基丙基)-1-(2-甲氧基乙基)-2-甲基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯;

及其可能的旋光异构体、氧化物形式和溶剂化物以及这些化合物与酸或碱的可药用加成盐。

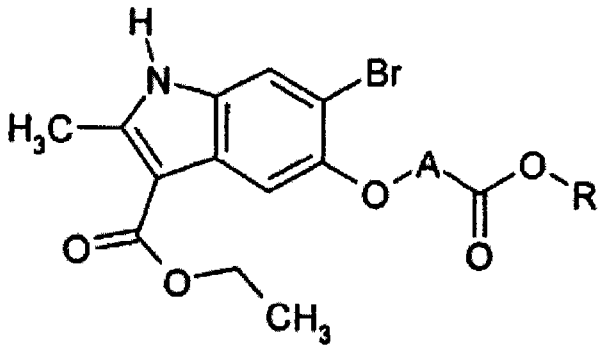
9. 制备式(1)化合物的方法，该方法以 6-溴-5-羟基-2-甲基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯作原料，使其羟基官能团与式(2)化合物作用:

$$Br\text{-}A\text{-}CO_2R \qquad (2)$$

其中 A 如权利要求 1 中定义的并且 R 表示酸官能团的保护基，

该反应在碱的存在下，在极性非质子介质中进行，

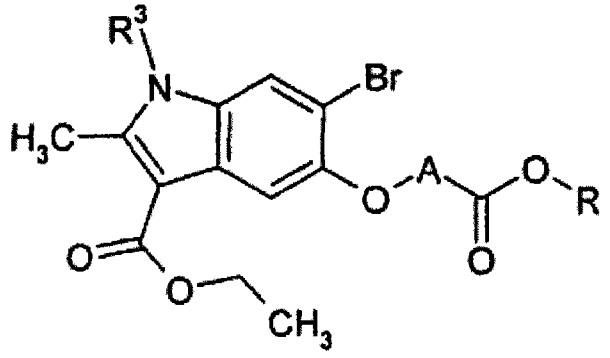
从而得到式(3)化合物:



(3)

其中 A 和 R 如以上定义的，

式(3)化合物中的氮原子可以任选被取代，该取代是在溴化物 R^3-Br 的作用下进行的，其中 R^3 如权利要求 1 中定义的，其反应条件与用于制备式(3)化合物的那些条件类似，以获得式(4)化合物:

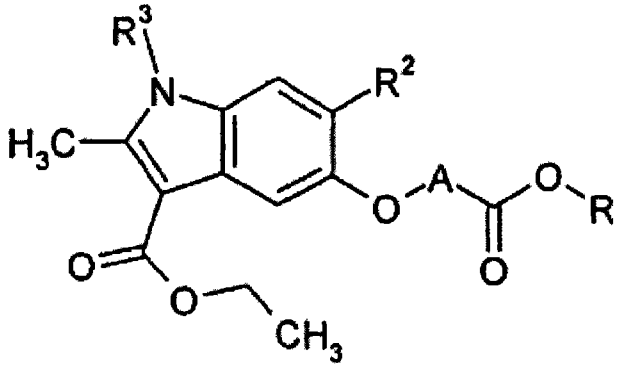


(4)

其中 A、R^3和 R 如以上定义的，

然后进行以下反应，其中将式 R'-CH=CH-R"化合物(基团 R^2-的前体，基团 R^2-可能由基团 $R'-CH_2-\underset{H}{C}-R''$ 表示)用硼烷处理以得到 R^2-硼烷，其中 R^2 如式(1)化合物中定义的，

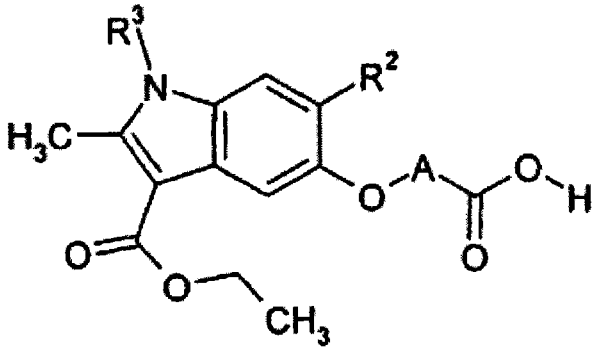
然后在钯催化剂的存在下，在碱性介质中，在极性非质子溶剂中，将 R^2-硼烷与式(3)化合物偶联以得到式(1_R)化合物:



(1_R)

其中 A、R^2、R^3和 R 如以上定义的，

然后将式(1_R)化合物转化为式(1_{OH})的相应的酸:



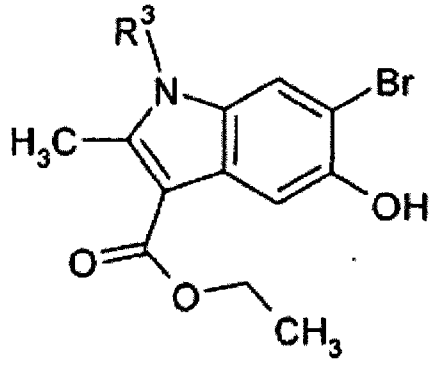
(1_{OH})

该化合物是式(1)化合物、其中 R^1 表示羟基的特殊情况，

并且将该酸任选酯化或转化为相应的酰胺，以形成式(1)化合物组，其

中 R^1 不是羟基。

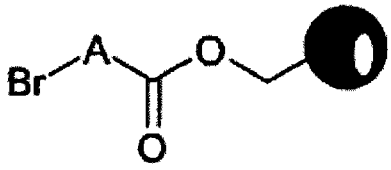
10. 制备权利要求 1 至 8 之一的化合物的方法，该方法以 6-溴-5-羟基-2-甲基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯作原料，其羟基官能团被保护，然后，在溴化物 R^3-Br 的作用下，氮原子被任选取代，如在制备权利要求 9 中定义的化合物(4)中说明的，然后在碱性介质中并且在醇的存在下将羟基官能团脱保护以获得式(5)化合物:



(5)

其中 R^3 如权利要求 1 中定义的，

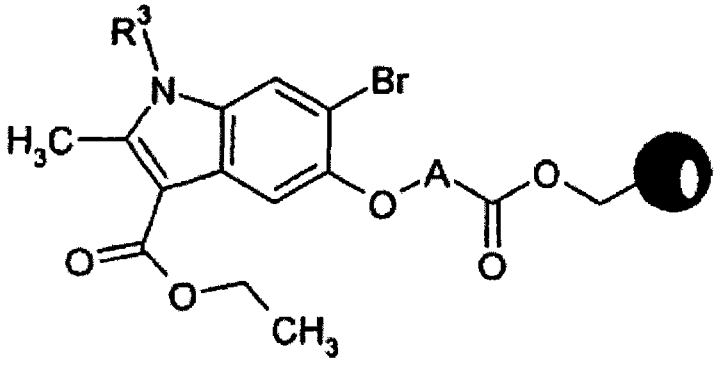
对于式(5)化合物，其向式(1)化合物的合成是通过在树脂上的合成技术方法继续的，例如接枝的 Wang 类树脂并且相应于式(6):



(6)

其中 A 如权利要求 1 中定义的，并且●表示树脂支持物，

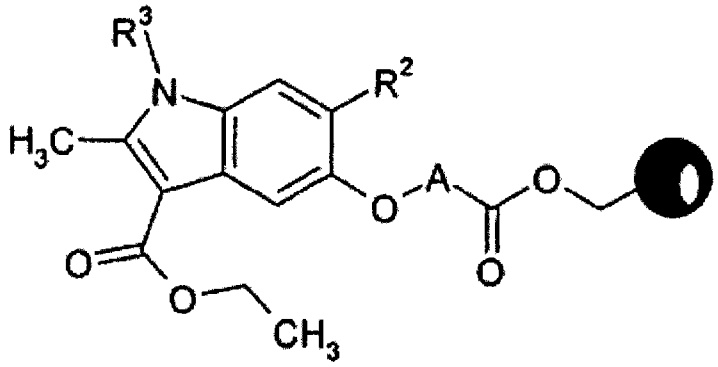
当式(6)与化合物(5)在碱性介质和极性非质子溶剂中，在碘化钾的存在下接触时得到式(7)化合物:



(7)

其中 A、R^3 和● 如以上定义的，

在与权利要求9中描述的制备式(1_R)化合物相同的操作条件下，将式(7)化合物的溴原子用取代基 R^2 代替而因此得到式(8)化合物：

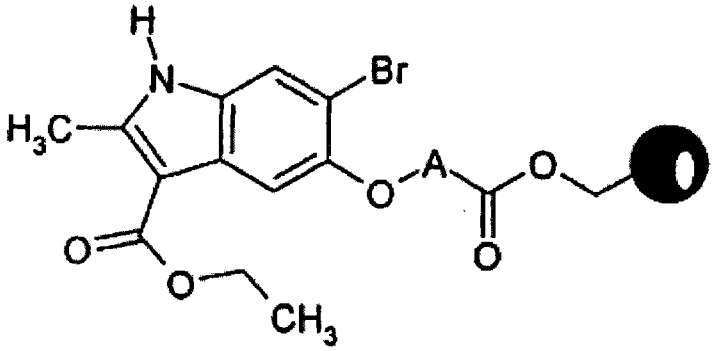


(8)

其中 A、R^2、R^3 和 ● 如以上定义的，

然后，从树脂支持物上脱离，以得到权利要求 9 中描述的式(1_{OH})化合物，然后，如果适合的话，将式(1_{OH})化合物酯化或者转化为相应的酰胺以形成式(1)化合物组，其中 R^1 不是羟基。

11. 制备权利要求 1 至 8 之一的化合物的方法，其中与接枝树脂(6)的连接可以直接在 6-溴-5-羟基-2-甲基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯上进行，以获得式(9)的溴衍生物：



(9)

其中 A 和 ● 如权利要求 10 中定义的，

根据权利要求 10 中分别定义的制备式(5)和(8)化合物的技术，式(9)衍生物的氮原子可以任选被基团 R^3 取代，并且溴原子被基团 R^2 代替(以任何顺序)。

12. 药物组合物，该药物组合物包含药学有效量的至少一种权利要求 1 至 8 中任意一项或通过权利要求 9 至 11 中任意一项的方法获得的式(1)化合物与一种或多种可药用载体组合。

13. 权利要求 1 至 8 中任意一项或通过权利要求 9 和 11 中任意一项的方法获得的式(1)化合物在制备用于预防或治疗血脂异常、动脉粥样硬化和糖尿病的药物中的用途。

1H-吲哚-3-羧酸衍生物及其作为 PPAR 激动剂的用途

本发明涉及可以用于治疗血脂异常、动脉粥样硬化和糖尿病的 1*H*-吲哚-3-羧酸衍生物。本发明也涉及包含它们的药物组合物以及涉及制备这些化合物的方法。

另外，本发明涉及这些化合物在制备用于治疗血脂异常、动脉粥样硬化和糖尿病的药物中的用途。

卡路里失调的慢性作用已经引起现代社会中代谢性疾病的发病率成流行性增加。因此，世界卫生组织估计 2030 年全球 2 型糖尿病的发病率将超过 3 亿。尽管存在几种治疗选择，但是它们中没有一种可以逆转这种疾病的进程。

尽管控制禁食状态的糖化的血红蛋白和血浆血糖仍然被认为是抗糖尿病治疗的主要目标，但是确认糖尿病状态包括一定范围的代谢性障碍这一事实已经扩展了范围并且预示了未来的治疗。在近十年期间，已经显示出高血糖症并非影响 2 型糖尿病患者的一系列异常中唯一的因素。并发疾病，包括胰岛素抗性、肥胖症、高血压和血脂异常如果共同存在或部分存在，那么就构成了已经被描述为代谢综合征或 X 综合征的情况。这些代谢障碍形成了这些患者心血管疾病发病率显著增加的基础。

在研究用于糖尿病患者的新的和改善的治疗选择中，被过氧化物酶体增殖物激活的受体(“过氧化物酶体增殖物激活受体”：PPAR)家族潜在地表现为理想的靶标。该配体激活的转录因子家族调节类脂和碳水化合物代谢的许多方面，因此具有攻击糖尿病表型的多个方面的可能性。PPAR 具有三种类型：PPARα、γ和δ(分别是 PPARα、PPARγ和 PPARδ)。

PPARα涉及刺激脂肪酸的β-氧化。在啮齿动物中，涉及脂肪酸代谢的基因表达中由 PPARα传递的改变是主要限于肝和肾的过氧化物酶体增殖现象，即多效细胞应答的基础，它可以导致啮齿类动物的肝癌形成。过氧化物酶体增殖现象在男性中并未遇到。除了在啮齿动物的过氧化物酶体增

殖中的作用外，PPARα还涉及控制啮齿动物和人的 HDL 胆固醇水平。这种作用至少部分基于由主要 HDL 载脂蛋白，即载脂蛋白 A-I 和载脂蛋白 A-II 的 PPARα传递的转录调节。贝特类和脂肪酸的降低甘油三酯(hypotriglyceridaemiant)的作用也涉及 PPARα并且可以概括如下：(i)由于脂蛋白脂肪酶和载脂蛋白 C-III 的水平改变而引起的剩余颗粒脂解和清除的增加，(ii)刺激细胞的脂肪酸摄取以及随后通过结合脂肪酸的蛋白和酰基辅酶 A 合酶的诱导而将脂肪酸转化为酰基辅酶 A 衍生物，(iii)诱导脂肪酸的β-氧化途径，(iv)减少脂肪酸和甘油三酯的合成，以及最后的(v)减少 VLDL 的产生。因此，富含甘油三酯的颗粒分解代谢的改善和 VLDL 颗粒分泌的减少构成了贝特类降血脂(hypolipidaemiant)作用的机制。

纤维酸(fibric acid)衍生物，例如氯贝丁酯、非诺贝特、苯扎贝特、环丙贝特、苄氯贝特和依托贝特，以及吉非贝齐(它们分别是 PPARα配体和/或激活物)产生了血浆甘油三酯的显著降低以及 HDL 的一定的增加。对 LDL 胆固醇的作用是相反的并且可能取决于化合物和/或血脂异常表型。因此，此类化合物首先用于治疗高甘油三酯血症(即 Fredrickson IV 型和 V 型)和/或混合性高脂血症。

最初报道 PPARδ的激活不涉及葡萄糖或甘油三酯水平的调节(Berger 等人, *J. Biol. Chem.*, (1999), Vol. 274, pp. 6718-6725)。后来，显示 PPARδ的激活引起更高的 dbldb 小鼠的 HDL 胆固醇水平(Leibowitz 等人, *FEBS Letters*, (2000), 473, 333-336)。另外，PPARδ激动剂在给肥胖的成年胰岛素抗性猕猴施用的过程中引起血清 HDL 胆固醇的显著的剂量依赖性增加，而同时通过耗尽甘油三酯和胰岛素而降低了低密度 LDL 的水平(Oliver 等人, *PNAS*, (2001), 98, 5306-5311)。相同的公开文献还显示了 PPARδ的激活增加了结合胆固醇的 ATP 逆转运蛋白的 A1 盒并且诱导了对载脂蛋白 A1 具有特异性的胆固醇流动。这些观察结果共同表明 PPARδ的激活用于治疗和预防包括动脉粥样硬化、高甘油三酯血症和混合性血脂异常的疾病和心血管状态(PCT 公开 WO 01/00603(Chao 等人))。

PPARγ受体亚型涉及脂肪细胞分化程序的激活，但不涉及肝过氧化物酶体增殖的刺激。PPARγ蛋白存在两种已知的同种型：PPARγ1 和 PPARγ2，

它们的不同之处仅在于 PPARγ2 在氨基末端含有 28 个另外的氨基酸。人同种型的 DNA 序列由 Elbrecht 等人, *BBRC*, 224,(1996), 431-437 描述。在小鼠中，PPARγ2 特别在脂肪细胞中表达。Tontonoz 等人, *Cell*, 79, (1994), 1147-1156 提供了 PPARγ2 的生理学作用之一是诱导脂肪细胞分化的证据。PPARγ2 与核激素受体超家族的其它成员通过与其它蛋白相互作用以及与激素应答元件、例如应答基因 5'外侧区的激素应答元件结合而调节基因表达。PPARγ2 应答基因的实例是组织特异性 P2 脂肪细胞基因。尽管包含贝特类和脂肪酸的过氧化物酶体增殖物激活了 PPAR 受体的转录活性，但是仅前列腺素 J_2 衍生物被鉴定为 PPARγ亚型的潜在的天然配体，它还可以以高亲和性与抗糖尿病的噻唑烷二酮类药物结合。

通常认为格列酮类通过与过氧化物酶体增生物激活受体(PPAR)家族中的受体结合，通过控制与上述生物物种相关的某些转录元件而发挥它们的作用。参见 Hulin 等人, *Current Pharm. Design*, (1996), 2, 85-102。特别的是，PPARγ被归为格列酮类胰岛素致敏物的主要分子靶标。

作为 PPAR 激动剂的格列酮类的许多化合物已经被批准用于治疗糖尿病。它们是曲格列酮、罗西格列酮和吡格列酮，它们均是 PPARγ的主要或专用激动剂。

这表明对于具有不同的 PPARα、PPARγ和 PPARδ激活程度的化合物的研究可能引起有效降低甘油三酯和/或胆固醇和/或葡萄糖的药物的发现，该类药物在治疗疾病中存在很大的潜能，所述的疾病例如 2 型糖尿病、血脂异常、X 综合征(包括代谢综合征，即葡萄糖耐受降低、胰岛素抗性、高甘油三酯血症和/或肥胖症)、心血管疾病(包括动脉粥样硬化)和高胆固醇血症。

已经最广泛研究的 PPAR 活性的组合是 PPARα＋γ组合(双重激动剂)，特别是泰沙格列赛(tesaglitazar)，以及α、γ＋δ三重组合(PPARpan 激动剂)。

尽管格列酮类在治疗 NIDDM 中是有益的，但是已经发现了许多与这些化合物的应用有关的严重不良副作用。其中最严重的是对肝的毒性，这已经引起了一定数量的死亡。最严重的问题出现在曲格列酮的应用中，目前已经因毒性原因从市场上去除。

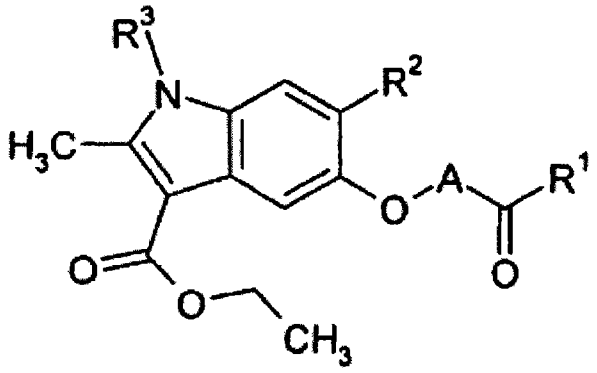
除了格列酮类的潜在肝毒性外，其它有害作用是与 PPARγ完全激动剂有关的，例如体重增加、贫血和水肿，这些限制了它们的应用(罗西格列酮、吡格列酮)。

考虑到格列酮类已经遇到的问题，许多实验室的研究人员已经研究了不属于格列酮类并且不含 1,3-噻唑烷二酮类、但可将三种已知的 PPAR 亚型共同或分别调节至多种程度(通过内在能量、功能应答的最大幅度或基因表达改变谱测定)的 PPAR 激动剂类型。

因此，近期研究(参考文献 WO 01/30343 和 WO 02/08188)已经揭示出某些化合物具有 PPAR 激动剂或部分激动剂特性，它们用于治疗 2 型糖尿病，而降低了心脏重量和体重方面的副作用。

本发明者目前已经发现了属于 PPARγ的部分或完全激动剂的一类新化合物，它们具有不同程度的 PPARα和/或 PPARδ活性。

更特别的是，本发明涉及衍生自下式(1)的 1*H*-吲哚-3-羧酸的化合物、它们可能的旋光异构体、氧化物形式和溶剂化物以及它们与酸或碱的可药用加成盐：



(1)

其中：

R^1 表示-O-R'^1 或-N$R'^1R''^1$，其中 R'^1 和 R''^1 可以是相同的或不同的，其选自氢原子、烷基、链烯基、炔基、环烷基、芳基和杂芳基；

R^2 选自：

· 烷基、链烯基或炔基；

· 芳基，其是任选取代的和/或任选与单环或多环的饱和或不饱和的任选含有一个或多个选自 O、N 和 S 的杂原子的 5 至 8 元环稠合，所述的环

本身是任选取代的，以及

· 含有一个或多个选自 O、N 和 S 的杂原子的饱和、不饱和或芳族的任选取代的 5 至 8 元单环杂环基;

R^3选自氢原子和烷基；并且

A 表示含有 1 至 6 个碳原子的直链或支链亚烷基链。

可以用于形成式(1)化合物的盐的酸是无机酸或有机酸。产生的盐是例如盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸二氢盐、柠檬酸盐、马来酸盐、富马酸盐、三氟乙酸盐、2-萘磺酸盐和对-甲苯磺酸盐。

可以用于形成式(1)化合物的盐的碱是有机碱或无机碱。产生的盐是例如与金属以及特别是碱金属、碱土金属和过渡金属(例如钠、钾、钙、镁或铝)形成的盐，或者与碱例如氨或仲胺或叔胺(例如二乙胺、三乙胺、哌啶、哌嗪或吗啉)形成的盐或者与碱性氨基酸形成的盐，或者与糖胺(例如葡甲胺)形成的盐或者与氨基醇(例如 3-氨基丁醇和 2-氨基乙醇)形成的盐。

本发明特别包括可药用盐，但也包括能够使式(1)化合物适当分离或结晶的盐，例如与手性胺或手性酸获得的盐。

可以应用的手性胺的实例包括奎宁、番木鳖碱、(S)-1-(苄基氧基甲基)丙胺(III)、(-)-麻黄碱、(4S,5R)-(+)-1,2,3,4-四甲基-5-苯基-1,3-噁唑烷、(R)-1-苯基-2-对甲苯基乙基-胺、(S)-苯基甘氨醇(glycinol)、(-)-N-甲基麻黄碱、(+)-(2S,3R)-4-二甲基-氨基-3-甲基-1,2-二苯基-2-丁醇、(S)-苯基甘氨醇和(S)-α-甲基-苄基胺，或者它们的两种或多种的混合物。

可以应用的手性酸的实例包括(+)-d-二-O-苯甲酰基酒石酸、(-)-l-二-O-苯甲酰基酒石酸、(-)-二-O,O'-对甲苯甲酰基-l-酒石酸、(+)-二-O,O'-对-甲苯甲酰基-d-酒石酸、(R)-(+)-苹果酸、(S)-(-)-苹果酸、(+)-茨烷酸、(-)-茨烷酸、R-(-)-1,1'-联萘-2,2'-二基磷酸氢盐、(S)-(+)-1,1'-联萘-2,2'-二基磷酸氢盐、(+)-樟脑酸、(-)-樟脑酸、(S)-(+)-2-苯基丙酸、(R)-(-)-2-苯基丙酸、d-(-)-扁桃酸、l-(+)-扁桃酸、d-酒石酸和 l-酒石酸，或者它们的两种或多种的混合物。

手性酸优选选自(-)-二-O,O'-对甲苯甲酰基-l-酒石酸、(+)-二-O,O'-对甲苯甲酰基-d-酒石酸、(R)-(-)-1,1'-联萘-2,2'-二基磷酸氢盐、(S)-(+)-1,1'-联萘

-2,2'-二基磷酸氢盐、d-酒石酸和 l-酒石酸，或者它们的两种或多种的混合物。

当适合的时候，本发明也包括式(1)化合物的可能的旋光异构体，特别是立体异构体和非对映异构体，并且也包括任何比例的旋光异构体的混合物，包括外消旋混合物。

取决于取代基的性质，式(1)化合物也可以是多种互变异构形式，它们单独或者作为其两种或多种的任何比例的混合物也包括在本发明中。

以上式(1)化合物也包括这些化合物的前药。

术语“前药”指的是当给患者施用时在化学和/或生物学上被生物体转化为式(1)化合物的化合物。

在以上定义的式(1)化合物中，术语“烷基”指的是含有 1 至 10 个碳原子并且更好的是含有 1 至 6 个碳原子、例如 1 至 4 个碳原子的直链或支链的基于烃的链。

烷基的实例是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、戊基、异戊基、新戊基、2-甲基丁基、1-乙基丙基、己基、异己基、新己基、1-甲基戊基、3-甲基戊基、1,1-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、1-乙基丁基、1-甲基-1-乙基丙基、庚基、1-甲基己基、1-丙基丁基、4,4-二甲基戊基、辛基、1-甲基庚基、2-甲基己基、5,5-二甲基己基、壬基、癸基、1-甲基壬基、3,7-二甲基辛基和 7,7-二甲基辛基。

作为本发明的式(1)化合物的取代基存在的烷基可以任选被一个或多个选自下列的化学基团取代:

- 卤原子;
- -O-烷基;
- 芳基;
- 环烷基; 和
- 杂环基。

术语“亚烷基链”指的是衍生自以上定义的烷基(通过除去氢原子)的直链或支链的脂族的基于烃类型的二价基团。亚烷基(alkylenediyl)链的优选实例是-$(CH_2)_k$-链，其中 k 表示选自 1、2、3、4、5 和 6 的整数，以及链

>$CH(CH_3)$、>$C(CH_3)_2$、-CH_2-$CH(CH_3)$-CH_2-和-CH_2-$C(CH_3)_2$-CH_2-。

术语“链烯基”指的是含有 2 至 10 个碳原子、优选 2 至 8 个碳原子并且有利的是含有 2 至 6 个碳原子、含有一个、两个或多个双键形式的不饱和现象的直链或支链的基于烃的链，所述的链任选被一个或多个、可以是相同的或不同的选自下列的取代基取代：卤原子和三氟甲基、三氟甲氧基、羟基、烷氧基、烷氧基羰基、羧基和氧代基团。

可以提及的链烯基的实例包括乙烯基、丙烯基、异丙烯基、丁-2-烯基、戊烯基和己烯基。

术语“炔基”指的是含有 2 至 10 个碳原子、优选 2 至 8 个碳原子并且有利的是含有 2 至 6 个碳原子、含有一个、两个或多个三键形式的不饱和现象的直链或支链的基于烃的链，所述的链任选被一个或多个、可以是相同的或不同的选自下列的取代基取代：卤原子和三氟甲基、三氟甲氧基、羟基、烷氧基、烷氧基羰基、羧基和氧代基团。

可以提及的炔基的实例包括乙炔基、丙炔基、丁-2-炔基、戊炔基和己炔基。

根据本发明，术语“芳基”指的是含有 6 至 18 个碳原子并且优选 6 至 10 个碳原子的单环或多环碳环芳族基团。可以提及的芳基包括苯基、萘基、蒽基和菲基。

在本发明中，环烷基指的是含有 4 至 9 个碳原子、优选 5、6 或 7 个碳原子并且有利的是含有 5 或 6 个碳原子、任选含有一个或多个双键和/或三键形式的不饱和现象的基于环烃的基团，所述的环烷基任选被一个或多个、可以是相同的或不同的选自下列的取代基取代：卤原子和烷基、链烯基、炔基、三氟甲基、三氟甲氧基、羟基、烷氧基、烷氧基羰基、羧基和氧代基团。

环烷基的优选的实例是环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环己二烯基、环庚基、环庚烯基和环庚二烯基。

环烷基通常是单环基团，但也可以是多环，特别是二环或三环基团，任选包含一个或多个双键形式的不饱和现象。

多环环烷基是例如四氢萘基、全氢萘基、茚满基、二环辛基、二环壬

基和二环癸基。

除非另外说明，否则杂环基是含有一个或多个通常选自 O、S 和 N 的杂原子，任选氧化形式(在 S 和 N 的情况中)以及任选一个或多个双键形式的不饱和现象的单环、二环或三环基团。如果它们是完全饱和的，那么杂环基被称为芳基或杂芳基。

优选构成杂环的单环中的至少一个含有 1 至 4 个桥环杂原子并且更好的是包含 1 至 3 个杂原子。

优选杂环包含一个或多个单环，它们各自是 5 至 8 元的。

5 至 8 元单环芳族杂环基的实例是衍生自芳族杂环的杂芳基(通过除去氢原子)，所述的芳族杂环例如吡啶、呋喃、噻吩、吡咯、咪唑、噻唑、异噁唑、异噻唑、呋咱、哒嗪、嘧啶、吡嗪、噻嗪、噁唑、吡唑、噁二唑、三唑和噻二唑。

可以提及的优选的芳族杂环基包括吡啶基、嘧啶基、三唑基、噻二唑基、噁唑基、噻唑基和噻吩基。

其中每个单环是 5 至 8 元环的二环杂芳基的实例选自中氮茚、吲哚、异吲哚、苯并呋喃、苯并噻吩、吲唑、苯并咪唑、苯并噻唑、苯并呋咱、苯并硫代呋咱、嘌呤、喹啉、异喹啉、噌啉、酞嗪、喹唑啉、喹喔啉、萘啶、吡唑并三嗪(例如吡唑并-1,3,4-三嗪)、吡唑并嘧啶和蝶啶。

可以提及的优选的杂芳基包括喹啉基、吡啶基、苯并噻唑基和三唑基。

其中每个单环是 5 至 8 元环的三环杂芳基选自例如吖啶、吩嗪和咔唑。

饱和或不饱和的 5 至 8 元单环杂环分别是以上提及的饱和或不饱和的芳族杂环衍生物。

更特别的是，可以提及吗啉、哌啶、噻唑烷、噁唑烷、四氢噻吩基、四氢呋喃基、吡咯烷、异噁唑烷、咪唑烷和吡唑烷。

芳基和杂环基任选被一个或多个下列基团 G 取代:

三氟甲基；三氟甲氧基；苯乙烯基；卤原子；含有一个或多个选自 O、N 和 S 的杂原子并且任选被一个或多个以下定义的基团 T 取代的单环、二环或三环芳族杂环基；基团 Het-CO-，其中 Het 表示以上定义的芳族杂环基，其任选被一个或多个基团 T 取代；C_1-C_6 亚烷基链；C_1-C_6 亚烷基二氧

基链；硝基；氰基；(C_1-C_{10})烷基；(C_1-C_{10})烷基羰基；(C_1-C_{10})烷氧基羰基-A-，其中 A 表示(C_1-C_6)亚烷基、(C_2-C_6)亚链烯基或键；(C_3-C_{10})环烷基；三氟甲氧基；二(C_1-C_{10})烷基氨基；(C_1-C_{10})-烷氧基(C_1-C_{10})烷基；(C_1-C_{10})烷氧基;任选被一个或多个基团 T 取代的(C_6-C_{18})芳基;(C_6-C_{18})芳基(C_1-C_{10})烷氧基$(CO)_n$-，其中 n 是 0 或 1 并且芳基任选被一个或多个基团 T 取代;(C_6-C_{18})芳基氧基-$(CO)_n$-，其中 n 是 0 或 1 并且芳基任选被一个或多个基团 T 取代;(C_6-C_{18})芳硫基,其中芳基任选被一个或多个基团 T 取代;(C_6-C_{18})芳基氧基(C_1-C_{10})烷基$(CO)_n$-，其中 n 是 0 或 1 并且芳基任选被一个或多个基团 T 取代；包含一个或多个选自 O、N 和 S 的杂原子的饱和或不饱和的 5 至 8 元单环杂环，其任选被一个或多个基团 T 取代；任选被一个或多个基团 T 取代的(C_6-C_{18})芳基羰基；(C_6-C_{18})芳基羰基-B-$(CO)_n$-，其中 n 是 0 或 1，B 表示(C_1-C_6)-亚烷基或(C_2-C_6)亚链烯基并且芳基任选被一个或多个基团 T 取代；(C_6-C_{18})芳基-C-$(CO)_n$-，其中 n 是 0 或 1，C 表示(C_1-C_6)-亚烷基或(C_2-C_6)亚链烯基并且芳基任选被一个或多个基团 T 取代；与以上定义的饱和或不饱和的杂环稠合的(C_6-C_{18})芳基，其任选被一个或多个基团 T 取代；以及(C_2-C_{10})炔基。

T 选自卤原子；(C_6-C_{18})芳基；(C_1-C_6)烷基；(C_1-C_6)烷氧基；(C_1-C_6)烷氧基(C_6-C_{18})芳基；硝基；羧基；(C_1-C_6)烷氧基羧基；并且如果取代饱和或不饱和的杂环，那么 T 可以表示氧代；或者另外 T 表示(C_1-C_6)烷氧基羰基(C_1-C_6)烷基；或(C_1-C_6)烷基羰基((C_1-C_6)烷基)$_n$-，其中 n 是 0 或 1。

术语“卤原子”指的是氯、溴、碘或氟原子，优选氟或氯。

在式(1)化合物中，优选的是其中 R^1 表示-O-R'^1 的那些式(1)化合物，并且最特别的是其中 R^1 表示-O-R'^1、R'^1 是氢原子或烷基的那些式(1)化合物。

本发明第一组优选的化合物包括具有一个或多个下列特征的化合物、它们可能的旋光异构体、氧化物形式和溶剂化物以及它们与酸或碱的可药用加成盐，所述的特征是单独或作为一个、几个或所有特征的组合出现的:

R^1 表示-O-R'^1，R'^1 选自氢原子和烷基;

R^2 表示任选被基团-O-烷基、芳基或环烷基取代的烷基，或者另外表

示任选取代的芳基，或者另外表示任选取代的杂环基；

R^3 选自氢原子和任选被基团-O-烷基、芳基或环烷基取代的烷基；并且

A 表示含有 1 至 6 个碳原子的直链或支链亚烷基链。

本发明另一组甚至更优选的化合物包括具有一个或多个下列特征的化合物、它们可能的旋光异构体、氧化物形式和溶剂化物以及它们与酸或碱的可药用加成盐，所述的特征是单独或作为一个、几个或所有特征的组合出现的：

R^1 表示-O-R'^1，R'^1 选自氢原子和含有 1 至 6 个碳原子的烷基；

R^2 表示含有 1 至 6 个碳原子并且任选被含有 1 至 6 个碳原子的基团-O-烷基取代或者被苯基或 5 或 6 元环烷基取代的烷基，或者另外表示任选取代的苯基，或者另外表示任选取代的杂环基；

R^3 选自氢原子和含有 1 至 6 个碳原子并且任选被含有 1 至 6 个碳原子的基团-O-烷基取代或者被苯基或 5 或 6 元环烷基取代的烷基；并且

A 表示含有 1 至 6 个碳原子的直链或支链亚烷基链。

本发明另一组更优选的化合物包括具有一个或多个下列特征的化合物、它们可能的旋光异构体、氧化物形式和溶剂化物以及它们与酸或碱的可药用加成盐，所述的特征是单独或作为一个、几个或所有特征的组合出现的：

R^1 表示-O-R'^1，R'^1 选自氢原子、甲基和乙基；

R^2 表示含有 1 至 6 个碳原子并且任选被甲氧基或乙氧基取代或者被取代的苯基或环戊基或环己基取代的烷基，或者另外表示任选取代的苯基，或者另外表示含有至少一个氮原子的任选取代的芳族杂环基；

R^3 选自氢原子和含有 1 至 6 个碳原子并且任选被甲氧基或乙氧基取代或者被取代的苯基或环戊基或环己基取代的烷基；并且

A 表示式-$(CH_2)_k$-的亚烷基链，其中 k 表示 1 和 6 之间的整数，包括边界值，或者表示-$C(CH_3)_2$-链。

本发明另一组甚至更优选的化合物包括具有一个或多个下列特征的化合物、它们可能的旋光异构体、氧化物形式和溶剂化物以及它们与酸或碱

的可药用加成盐，所述的特征是单独或作为一个、几个或所有特征的组合出现的：

R^1表示氢原子；

R^2选自甲基、乙基、丙基和正己基，所述的甲基、乙基、丙基和正己基任选被甲氧基或乙氧基取代或者被取代的苯基取代或者被环戊基取代，或者另外表示任选取代的苯基，或者另外表示任选取代的吡啶基；

R^3选自氢原子、甲基、乙基、丙基、异丙基、异丁基和异戊基，这些基团各自任选被甲氧基或乙氧基取代或者被取代的苯基取代；并且

A表示式-$(CH_2)_k$-的亚烷基链，其中k表示1、2或3，或者表示-$C(CH_3)_2$-链。

芳基和杂环基上的取代基优选选自卤原子(优选氟和/或氯)以及甲基、乙基、甲氧基、苯基、三氟甲基和三氟甲氧基。

杂环基优选选自噻吩基、苯并噻吩基、吡啶基和噁唑基。

更特别优选的式(1)化合物是选自下列的那些化合物及其可能的旋光异构体、氧化物形式和溶剂化物以及这些化合物与酸或碱的可药用加成盐：

- 1-苄基-5-(3-羧基丙氧基)-2-甲基-6-吡啶-3-基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯；
- 5-(3-羧基丙氧基)-1-(4-氯苄基)-2-甲基-6-吡啶-3-基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯；
- 5-(1-羧基-1-甲基乙氧基)-2-甲基-1-(3-甲基丁基)-6-吡啶-4-基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯；
- 5-羧基甲氧基-6-己基-1-异丁基-2-甲基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯；
- 5-羧基甲氧基-6-(3-乙氧基丙基)-1-异丁基-2-甲基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯；
- 5-羧基甲氧基-6-(3-环戊基丙基)-1-(2-甲氧基乙基)-2-甲基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯；
- 5-羧基甲氧基-6-[2-(4-氟苯基)乙基]-1-(2-甲氧基乙基)-2-甲基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯；
- 5-(3-羧基丙氧基)-6-己基-1-(2-甲氧基乙基)-2-甲基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯；

• 5-(3-羧基丙氧基)-6-(3-乙氧基丙基)-1-(2-甲氧基乙基)-2-甲基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯；和

• 5-(3-羧基丙氧基)-6-(3-环戊基丙基)-1-(2-甲氧基乙基)-2-甲基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯。

本发明也涉及药物组合物，该药物组合物包含药学有效量的至少一种以上定义的式(1)化合物与一种或多种可药用载体组合。

这些组合物可以以速释或控释的片剂、胶囊剂或颗粒剂的形式口服施用，以可注射溶液剂形式静脉内施用，以粘合透皮装置形式透皮施用或者以溶液剂、乳膏剂或凝胶剂形式局部施用。

口服施用的固体组合物是通过以下方法制备的：向活性成分中加入填充剂，并且如果适合的话，加入粘合剂、崩解剂、润滑剂、染料或增味剂并且使混合物形成片剂、包衣片、颗粒剂、散剂或胶囊剂。

填充剂的实例包括乳糖、玉米淀粉、蔗糖、葡萄糖、山梨醇、结晶纤维素和二氧化硅，并且粘合剂的实例包括聚(乙烯醇)、聚(乙烯醚)、乙基纤维素、甲基纤维素、阿拉伯胶、西黄蓍胶、明胶、虫胶、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、柠檬酸钙、糊精和果胶。润滑剂的实例包括硬脂酸镁、滑石粉、聚乙二醇、二氧化硅和硬化植物油。染料可以是允许用于药物的任何染料。增味剂的实例包括可可粉、草药形式的薄荷、芳香粉、油形式的薄荷、冰片和肉桂粉。当然，片剂或颗粒剂可以用糖、明胶等适当包衣。

如果适合的话，包含本发明化合物作为活性成分的可注射形式是通过以下方法制备的：将所述化合物与 pH 调节剂、缓冲剂、助悬剂、增溶剂、稳定剂、张力剂和/或防腐剂混合，并且根据标准方法将该混合物转化为静脉内、皮下或肌内注射的形式。如果适合的话，获得的可注射形式可以通过标准方法进行冻干。

助悬剂的实例包括甲基纤维素、聚山梨酯 80、羟乙基纤维素、阿拉伯胶、粉状西黄蓍胶、羧甲基纤维素钠和聚乙氧基化失水山梨糖醇单月桂酸酯。

增溶剂的实例包括用聚氧乙烯固化的蓖麻油、聚山梨醇酯 80、烟酰胺、聚乙氧基化失水山梨糖醇单月桂酸酯和蓖麻油脂肪酸乙酯。

另外，稳定剂包括亚硫酸钠、焦亚硫酸钠和醚，而防腐剂包括对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、山梨酸、苯酚、甲酚和氯甲酚。

本发明也涉及本发明式(1)化合物在制备用于预防或治疗血脂异常、动脉粥样硬化和糖尿病的药物中的用途。

旨在预防或治疗由 PPAR 活性的调节引起的或与之相关的疾病、症状或状态的本发明化合物的有效施用剂量和剂量学取决于许多因素，例如，调节剂的性质、患者的大小、治疗的预期目标、待治疗的病理学的性质、应用的特殊药物组合物以及治疗医生的观察和结论。

例如，在口服施用的情况中，例如，片剂或胶囊剂，式(1)化合物的可能的适合剂量是约 0.1 mg/kg 至约 100 mg/kg 体重/天，优选约 0.5 mg/kg 至约 50 mg/kg 体重/天，更优选约 1 mg/kg 至约 10 mg/kg 体重/天并且更优选约 2 mg/kg 至约 5 mg/kg 体重/天活性物质。

如果认为代表性的体重为 10 kg 和 100 kg 以说明可以应用并且如上所述的日口服剂量范围，那么式(1)化合物的适合剂量将是约 1-10 mg 和 1000-10 000 mg/天，优选约 5-50 mg 和 500-5000 mg/天，更优选约 10.0-100.0 mg 和 100.0-1000.0 mg/天并且甚至更优选约 20.0-200.0 mg 和约 50.0-500.0 mg/天包含优选化合物的活性物质。

这些剂量范围代表了对于指定患者而言的每天活性物质的总量。每天施用剂量时的施用次数可以在宽比例内不同，所述的比例作为药代动力学和药理学因素的函数，该因素例如活性物质的半衰期(反映出了活性物质的分解代谢率和清除率)，以及到达患者血浆或其它体液的所述活性物质的最低和最佳水平并且该水平是治疗效果所需要的。

还应该在决定每日施用次数和每次应该施用的活性物质的量时考虑到许多其它因素。在这些其它因素中特别是待治疗患者的个体响应。

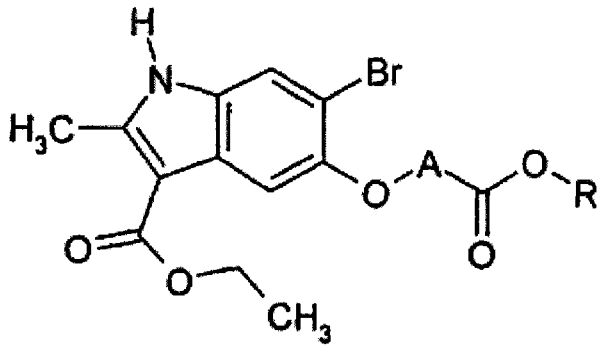
本发明也涉及制备式(1)化合物的通用方法，该方法以 6-溴-5-羟基-2-甲基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯作原料，使其羟基官能团与式(2)化合物作用：

$$Br\text{-}A\text{-}CO_2R \qquad (2)$$

其中 A 如以上式(1)化合物中定义的并且 R 表示酸官能团的保护基，例如烷基，例如甲基或乙基，

该反应在碱，例如碱金属或碱土金属氢氧化物或碳酸盐，例如氢氧化钠或碳酸钾(K_2CO_3)的存在下，在极性非质子介质、例如二甲基甲酰胺(DMF)溶剂中进行，

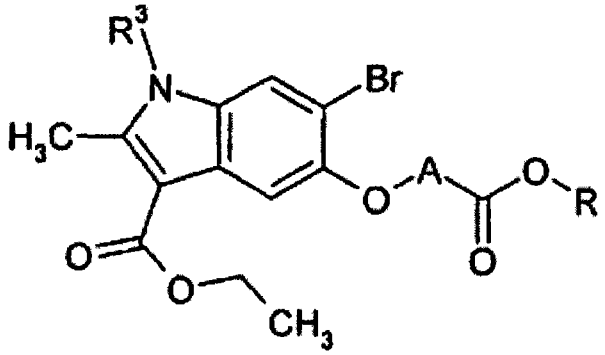
从而得到式(3)化合物：



(3)

其中 A 和 R 如以上定义的，

式(3)化合物中的氮原子可以任选被取代，该取代是在溴化物 R^3-Br 的作用下进行的，其中 R^3 如式(1)化合物中定义的，其反应条件与以上概括的那些条件类似(例如 NaOH 或 K_2CO_3/DMF)，以获得式(4)化合物：

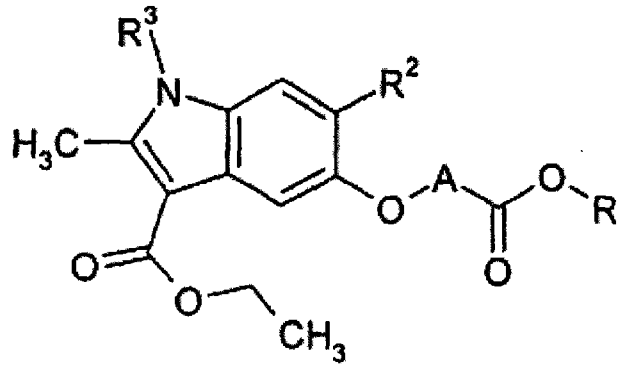


(4)

其中 A、R^3 和 R 如以上定义的，

然后进行 Heck 反应(R. F. Heck 等人, *J. Org. Chem.*, (1972), 37, 2320 sqq.)，其中将式 R'-CH=CH-R"化合物(基团 R^2-的前体，基团 R^2-可能由基团 R'-CH_2-CH-R" 表示)用硼烷、例如 9-硼杂二环[3.3.1]壬烷处理以得到 R^2-硼烷，其中 R^2 如式(1)化合物中定义的，

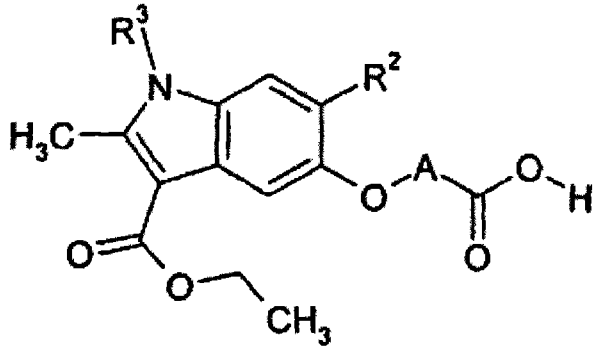
然后在钯催化剂、例如 1,1'-二(二苯基膦基)二茂铁二氯钯 II($PdCl_2$dppf)的存在下，在碱性介质、例如磷酸钾中，在极性非质子溶剂、例如四氢呋喃中，将 R^2-硼烷与式(3)化合物偶联以得到式(1_R)化合物：



(1_R)

其中 A、R^2、R^3和 R 如以上定义的，

然后，根据本领域技术人员公知的标准技术将式(1_R)化合物转化为式(1_{OH})的相应的酸:



(1_{OH})

该化合物是式(1)化合物、其中 R^1 表示羟基的特殊情况，

并且根据标准技术将该酸任选酯化或转化为相应的酰胺，以形成式(1)化合物组，其中 R^1 不是羟基。

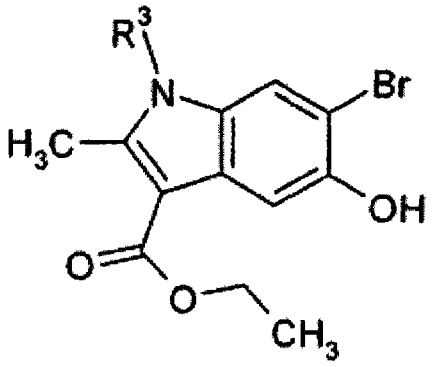
该合成方法应用于所有本发明式(1)化合物并且在下文实施例 1、2、12 和 13 的化合物合成中更详细地描述。

应理解的是，如果 R 表示烷基，那么以上的式(1_R)化合物形成了部分本发明式(1)化合物。

如果该化合物是希望的，那么酸官能团的脱保护步骤以及之后的酯化步骤是多余的。

根据一种变通实施方案，式(1)化合物也可以从 6-溴-5-羟基-2-甲基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯制备，其羟基官能团根据常规方法，例如在吡啶存在下与乙酸酐反应而被保护，然后，在溴化物 R^3-Br 的作用下，氮原子被任选取代(如在制备以上定义的化合物(4)中说明的)，然后在碱的存在下并且在醇中、例如在氢氧化钠的甲醇溶液中将羟基官能团脱保护以获得式(5)化合

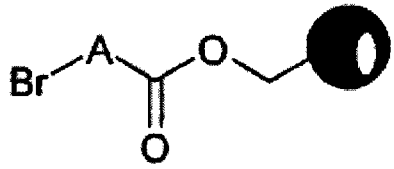
物:



(5)

其中 R^3 如以上定义的,

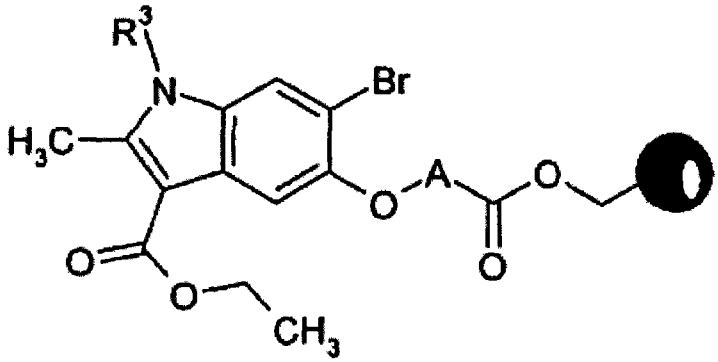
对于式(5)化合物,其向式(1)化合物的合成是通过在树脂上的合成技术方法继续的,例如接枝的 Wang 类树脂并且相应于式(6):



(6)

其中 A 如以上式(1)化合物中定义的,并且●表示树脂支持物,

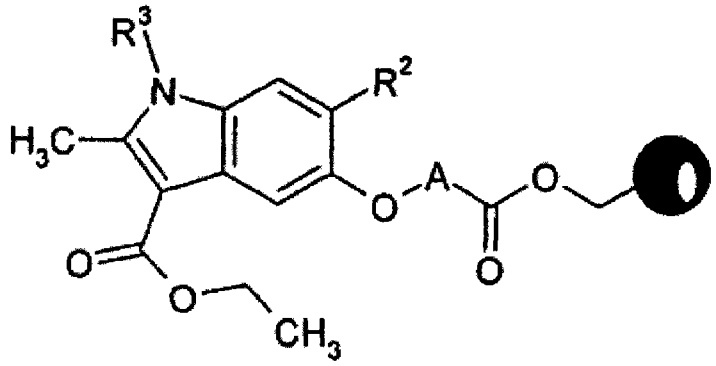
当式(6)与化合物(5)在碱性介质和极性非质子溶剂、例如 K_2CO_3/DMF 中,在碘化钾的存在下接触时得到式(7)化合物:



(7)

其中 A、R^3 和●如以上定义的,

在与上述制备式(1_R)化合物相同的操作条件下,将式(7)化合物的溴原子用取代基 R^2 代替而因此得到式(8)化合物:



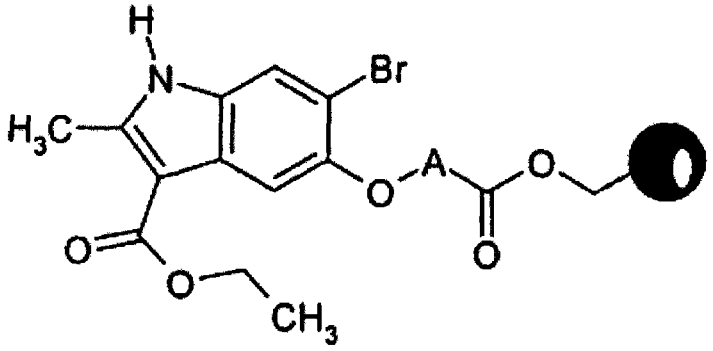
(8)

其中 A、R^2、R^3和●如以上定义的，

然后，根据常规条件，例如应用三氟乙酸将化合物从树脂支持物上脱离，以得到上述式(1_{OH})化合物，然后，如果适合的话，将式(1_{OH})化合物酯化或者转化为相应的酰胺以形成式(1)化合物组，其中 R^1 不是羟基。

该方法在实施例 3、14-17 和 29-31 化合物的制备中更特别详细地描述。

根据一种备选方法，与接枝树脂(6)的连接可以直接在 6-溴-5-羟基-2-甲基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯上进行，以获得式(9)的溴衍生物：



(9)

其中 A 和●如以上定义的，

根据以上分别描述的制备式(5)和(8)化合物的技术，式(9)衍生物的氮原子可以任选被基团 R^3 取代，并且溴原子被基团 R^2 代替(以任何顺序)。

该方法在实施例 4-11 和 18-28 化合物的制备中更特别详细地描述。

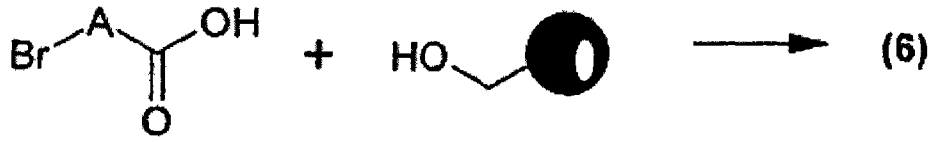
式(1)化合物(其中 R^1 表示 H)可以有利地通过将相应的式(1)化合物(其中 R^1 表示烷基)皂化而获得，或者另外以式(1_R)化合物(其中 R 表示烷基)作原料而获得。皂化可以通过碱的作用进行，所述的碱例如无机碱，选自氢氧化锂、氢氧化钾、氢氧化钠、碳酸氢钠、碳酸氢钾、碳酸钠和碳酸钾。通常应用的碱的摩尔量范围是 1 至 20 当量并且优选 1 至 12 当量，这取决

于所选择的碱的强度。

该反应优选在极性非质子型溶剂中进行并且更优选在低级(C_1-C_4)链烷醇和水的混合物、例如乙醇和水或者甲醇和水的混合物中进行。

反应温度有利地是室温至 120℃并且更好是 20℃至 100℃，例如 20℃至回流。

式(6)化合物可以根据本领域技术人员公知的标准技术，例如在 4-二甲基氨基吡啶(DMAP)和 N,N'-二异丙基碳二亚胺(DIC)的存在下，在非极性有机介质、例如二氯甲烷中通过将式(10)的 Wang 类树脂与式(11)的酸根据以下反应流程图偶联而获得:



(11) (10)

其中 A 如式(1)化合物中定义的并且●表示树脂支持物。

这种 Wang 树脂的接枝在实施例 3 步骤 4 中更详细地描述。

在上述方法中，应当理解的是，操作条件可以基本作为存在于预期制备的式(1)化合物中的多种取代基的函数而不同。此类变化和改变易于由本领域技术人员，例如从科学综述、专利文献、化学文摘和计算机数据库，包括国际互联网中获得。类似地，原料是可商购的或者通过本领域技术人员易于例如在上述多种公开文献和数据库中找到的合成方法获得。

一方面，式(1)化合物的旋光异构体可以通过本领域技术人员公知的用于分离和/或纯化异构体的标准技术，以式(1)化合物的外消旋混合物作原料而获得。旋光异构体也可以通过旋光活性起始化合物的立体选择性合成或通过式(1)化合物的旋光活性盐的分离或重结晶直接获得，所述的盐用手性胺或手性酸获得。

以下实施例说明本发明，但不以任何方式限制本发明。在这些实施例和质子核磁共振数据(300 MHz NMR)中，使用了以下缩略语：s 是单峰，d 是双峰，t 是三重峰，q 是四重峰，o 是八重峰并且 m 是复杂的多重峰。化学位移δ以 ppm 表示。

实施例

实施例 1: 5-乙氧基羰基甲氧基-6-己基-1-异丁基-2-甲基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯

步骤 1

在 60℃下，将 6-溴-5-羟基-2-甲基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯(5 g; 16.77 mmol)、2-溴乙酸乙酯(4.2 g; 25.16 mmol)和碳酸钾(2.3 g; 16.89 mmol)在二甲基甲酰胺(DMF)(20 mL)中的混合物加热 1 小时 30 分钟。将反应介质倾倒至冰和乙酸乙酯的混合物中。用乙酸乙酯将水相萃取两次。将合并的有机相用水洗涤，经硫酸钠干燥，然后浓缩。将获得的残留物(6.85 g)通过色谱在硅胶上纯化(3.63 g; 57%)。

^{1}H NMR (300 MHz, 氯仿-D), δ ppm: 1.2 (t, *J*=6.9 Hz, 3 H); 1.4 (t, *J*=7.2 Hz, 3 H); 2.6 (s, 3 H); 4.2 (m, 4 H); 4.7 (s, 2 H); 7.2 (s, 1 H); 7.3 (s, 1 H); 7.5 (s, 1 H)。

步骤 2

将步骤 1 中获得的化合物(3.63 g; 9.45 mmol)、异丁基溴(2.6 g; 18.98 mmol)和碳酸钾(2.68 g; 19.68 mmol)在 DMF(20 mL)中的混合物加热 48 小时。加入大量过量的卤化物、碳酸钾和碘化钾(0.615 mg)并且将该混合物再加热 48 小时。然后将反应介质倾倒至冰和乙酸乙酯的混合物中。用乙酸乙酯将水相萃取两次。将合并的有机相用水洗涤，经硫酸钠干燥，然后浓缩。将获得的残留物(3.73 g)通过色谱在硅胶上(梯度: 0-30%在庚烷中的乙酸乙酯)纯化。获得 1.73 g(42%)预期的产物。

^{1}H NMR (300 MHz, 氯仿-D), δ ppm: 0.9 (d, *J*=6.7 Hz, 6 H); 1.3 (t, *J*=7.2 Hz, 3 H); 1.4 (t, *J*=7.2 Hz, 3 H); 2.2 (m, 1 H); 2.7 (s, 3 H); 3.8 (d, *J*=7.8 Hz, 2 H); 4.3 (q, *J*=7.2 Hz, 2 H); 4.4 (q, *J*=7.2 Hz, 2 H); 4.7 (s, 2 H); 7.5 (s, 1 H); 7.6 (s, 1 H)。

步骤 3

有机硼烷溶液的制备: 在氮气下，将己烯(0.42 g; 5 mmol)的四氢呋喃(THF)溶液(2 mL)冷却至 3℃。然后滴加商购的 0.5 N 的 9-硼杂二环[3.3.1]壬烷(9-BBN)的 THF(10 mL，5 mmol)溶液以保持温度低于 5℃。然后，在

室温下，将获得的无色溶液搅拌 3 小时。

将步骤 2 中获得的化合物(0.208 g; 0.47 mmol)、$PdCl_2dppf$(12.3 mg; 15.1 μmol)和磷酸钾(237 mg; 0.89 mmol)在 THF(2 mL)中的混合物回流，然后一次性加入有机硼烷溶液(2.3 mL; 0.96 mmol)。将迅速变黑色的介质回流 1 小时 30 分钟。然后将反应介质倾倒至水和乙醚的混合物中。萃取水相。将合并的有机相用水洗涤，经硫酸钠干燥，然后浓缩。将获得的油状残留物(0.5 g)通过色谱在二氧化硅上(4/1 庚烷/乙酸乙酯)纯化，然后将其分散在庚烷中(82.0 mg; 39%)。

^{1}H NMR (300 MHz, 氯仿-D), δ ppm: 0.9 (t, *J*=6.7 Hz, 3 H); 0.9 (d, *J*=6.7 Hz, 6 H); 1.4 (m, 6 H); 1.3 (t, *J*=7.2 Hz, 3 H); 1.4 (t, *J*=7.2 Hz, 3 H); 1.7 (m, 2 H); 2.2 (s, 1 H); 2.8 (m, 2 H); 2.7 (s, 3 H); 3.9 (d, *J*=7.4 Hz, 2 H); 4.3 (q, *J*=7.2 Hz, 2 H); 4.4 (q, *J*=7.2 Hz, 2 H); 4.7 (s, 2 H); 7.0 (s, 1 H); 7.5 (s, 1 H)。

实施例 2: 5-羧基甲氧基-6-己基-1-异丁基-2-甲基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯

将实施例 1 中获得的化合物(82.0 mg; 0.184 mmol)、甲醇(2 mL)和 1 N 氢氧化钠水溶液(0.265 mL; 0.265 mmol)的混合物在室温下搅拌过夜。将溶剂蒸发。将残留物溶于水中，然后用浓盐酸处理。在用乙醚萃取并且经硫酸钠干燥后，蒸发而得到白色固体(71 mg; 92%)。

^{1}H NMR (300 MHz, 氯仿-D), δ ppm: 0.9 (m, 3 H); 0.9 (d, *J*=6.7 Hz, 6 H); 1.3 (m, 7 H); 1.4 (t, *J*=7.2 Hz, 3 H); 1.6 (m, 2 H); 2.2 (m, 1 H); 2.8 (m, 2 H); 2.7 (s, 3 H); 3.9 (d, *J*=7.6 Hz, 2 H); 4.4 (q, *J*=7.2 Hz, 2 H); 4.7 (s, 2 H); 7.0 (s, 1 H); 7.5 (s, 1 H)。

实施例 3: 5-(3-羧基丙氧基)-6-己基-1-(2-甲氧基乙基)-2-甲基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯

步骤 1

将包含 6-溴-5-羟基-2-甲基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯(14.91 g; 50 mmol)、乙酸酐(100 mL; 1.06 mol)和吡啶(12.08 mL; 0.15 mol)的混合物回流 1 小时。然后将冷却的反应介质倾倒至饱和的碳酸氢钠溶液中。在用乙酸乙酯萃取后，将合并的有机相用水洗涤，经硫酸钠干燥，然后浓缩。将获得的

残留物(14.0 g)分散在二氯甲烷(8.3 g)中。将母液浓缩，然后在氧化铝柱上进行色谱(二氯甲烷)，又得到一定量预期的产物(2.9 g)。将两批(8.3 g 和 2.9 g)合并并且分散在乙醚中。得到 9.6 g 纯产物。

熔点：200℃。

^{1}H NMR (300 MHz, 氯仿-D), δ ppm: 1.4 (t, *J*=7.1 Hz, 3 H); 2.4 (s, 3 H); 2.6 (s, 3 H); 4.4 (q, *J*=7.1 Hz, 2 H); 7.3 (s, 1 H); 7.7 (s, 1 H); 8.6 (s, 1 H)。

步骤 2

在 40℃下，将包含步骤 1 中获得的衍生物(9.05 g; 26.60 mmol)、氢氧化钠(NaOH)(1.17 g; 29.26 mmol)和 2-甲氧基乙基溴(7.50 mL; 79.81 mmol)的在干燥的 DMF 中的混合物搅拌 4 小时。然后将冷却的反应介质倾倒至冰冷的稀盐酸中。在用乙酸乙酯萃取后，将合并的有机相用水洗涤并且经硫酸钠干燥。将蒸发的残留物分散在戊烷中(7.84 g)。

^{1}H NMR (300 MHz, 氯仿-D), δ ppm: 1.4 (t, *J*=7.1 Hz, 3 H); 2.4 (s, 3 H); 2.8 (s, 3 H); 3.3 (s, 3 H); 3.6 (t, *J*=5.5 Hz, 2 H); 4.2 (t, *J*=5.5 Hz, 2 H); 4.4 (q, *J*=7.1 Hz, 2 H); 7.5 (s, 1 H); 7.8 (s, 1 H)。

步骤 3

在室温下，将包含步骤 2 中获得的衍生物(7.81 g; 19.61 mmol)和 1 N 氢氧化钠水溶液(23.5 mL; 23.5 mmol)的在甲醇(80 mL)中的混合物搅拌 1 小时。然后将反应介质倾倒至稀盐酸中。将形成的沉淀过滤，洗涤并且通过抽吸除去水(6.65 g; 90%)。

熔点：195℃

^{1}H NMR (300 MHz, 氯仿-D), δ ppm: 1.4 (t, *J*=7.2 Hz, 3 H); 2.8 (s, 3 H); 3.3 (s, 3 H); 3.6 (t, *J*=5.6 Hz, 2 H); 4.2 (t, *J*=5.6 Hz, 2 H); 4.4 (q, *J*=7.2 Hz, 2 H); 5.3 (s, 1 H); 7.4 (s, 1 H); 7.7 (s, 1 H)

步骤 4

4-溴丁酸在 Wang 树脂上的接枝:

在 250 mL 烧瓶中，将包含 Wang 树脂(8.24 g; 0.91 mM/g)、4-溴丁酸(5.51 g; 33 mmol)、4-二甲氨基吡啶(DMAP)(0.183 g; 1.5 mM)和 N,N'-二异丙基碳二亚胺(DIC)(5.14 g; 33 mmol)的在二氯甲烷(130 mL)中的混合物

用轨道搅拌器搅拌 20 小时。将树脂用二氯甲烷洗涤三次，然后用甲醇洗涤三次。在室温下真空干燥后，获得 9.16 g 接枝的树脂(理论值：9.36 g)。

取 2.63 g 以上树脂并且倾倒至干燥的 DMF(14 mL)中。然后依次加入步骤 3 中获得的 5-羟基-6-溴吲哚衍生物(1.5 g；4.21 mmol)、碘化钾(349.5 mg；2.1 mmol)和碳酸钾(291 mg；2.1 mmol)。将混合物在 80℃下加热过夜。将树脂过滤并且用 DMF(5 mL)洗涤三次，然后用 1/1 的四氢呋喃/水混合物(5 mL)洗涤三次，然后用四氢呋喃(5 mL)洗涤三次，然后用甲醇(5 mL)洗涤三次并且最后真空干燥(3.14 g，理论值：3.21 g)。

步骤 5

有机硼烷溶液的制备：将 0.5 N 的 9-BBN 的 THF 溶液(1.2 mL；0.60 mmol)冷却至 0℃，然后加入己烯(75 μL；0.60 mmol)。然后将获得的无色溶液在室温下搅拌 3 小时。

将有机硼烷溶液(0.957 mL；0.45 mmol)加入至步骤 4 中获得的树脂(227.27 mg)、$Pd(PPh_3)_4$(8.67 mg；75.0 μmol)和 2 M 碳酸钠水溶液(94 μL；188 μmol)在 DMF(2 mL)中的混合物中。将介质在 80℃下加热过夜。将树脂过滤并且用 DMF 洗涤三次，然后用 1/1 的四氢呋喃/水混合物洗涤三次，用甲醇洗涤三次，然后用二氯甲烷洗涤三次并且最后真空干燥。

步骤 6

在室温下，将步骤 5 中获得的树脂用二氯甲烷/三氟乙酸的 8/2 混合物(2 mL)处理 2 小时。

将介质过滤，然后将树脂用二氯甲烷洗涤。将滤液浓缩至干(10 mg)。然后将树脂用二氯甲烷/三氟乙酸的 1/1 混合物再处理 2 小时。

在过滤和洗涤后，将滤液蒸发又得到 18 mg 产物(总计 28 mg)。

^{1}H NMR (300 MHz，氯仿-D), δ ppm: 0.9 (m, 3 H); 1.3 (m, 6 H); 1.4 (t, *J*=7.2 Hz, 3 H); 1.6 (m, 2 H); 2.2 (m, 2 H); 2.7 (m, 7 H); 3.3 (s, 3 H); 3.6 (t, *J*=5.7 Hz, 2 H); 4.1 (t, *J*=5.8 Hz, 2 H); 4.3 (t, *J*=5.6 Hz, 2 H); 4.4 (m, 2 H); 5.3 (s, 1 H) 7.0 (s, 1 H); 7.6 (s, 1 H)。

LC/MS: ES+ 448.5 ES- 446.4

实施例 4: 1-苄基-5-(3-羧基丙氧基)-2-甲基-6-吡啶-3-基-1*H*-吲哚-3-甲

酸乙酯

步骤 1

将 2.85 g 接枝的 Wang 树脂(载荷 1.09 mM/g)用 4-溴丁酸溶解(制备与实施例 3 步骤 4 中描述的相同，但以 1.3 mM/g Wang 树脂作原料)并且倾倒至干燥的 DMF(58 mL)中。然后，依次加入 6-溴-5-羟基-2-甲基-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯(3.71 g; 12.44 mmol)、碘化钾(0.52 g; 3.13 mmol)和碳酸钾(0.43 g; 3.11 mmol)。将混合物在 80℃下加热 16 小时。将树脂过滤并且用 DMF 洗涤两次，用 1/1 的四氢呋喃/水混合物洗涤三次，用四氢呋喃(THF)洗涤三次并且用甲醇洗涤三次并且最后真空干燥(3.37 g，理论值：3.52 g)。

步骤 2

将在 DMF(5 mL)中的 602 mg 以上树脂(载荷 0.88 mM/g)用在油中 60%的氢化钠(NaH)(63.3 mg; 1.58 mmol)处理 15 分钟，然后加入碘化钾(88 mg; 0.53 mmol)和苄基溴(362.6 mg; 2.11 mmol)。在室温、氮气下，将混合物搅拌 20 小时。

加入乙酸乙酯(0.5 mL)，然后将树脂过滤并且用 DMF(10 mL)洗涤三次，用 1/1 的 THF/H_2O 洗涤三次，用 THF 洗涤三次并且用甲醇洗涤三次并且最后真空干燥。

步骤 3

在 120℃下，将以上树脂(146.3 mg; 载荷 0.82 mM/g)、$PdP(Ph_3)_4$(27.7 mg; 24 μmol)、2 M 碳酸钠水溶液(120 μL; 240 mmol)和 3-吡啶基硼酸(59 mg; 480 μmol)在 DMF(2 mL)中的混合物加热 12 小时。在室温、氮气下，将该混合物搅拌 20 小时。

将树脂过滤并且用 DMF(2 mL)洗涤三次，用 1/1 的 THF/H_2O 洗涤三次，用 THF 洗涤三次，用甲醇洗涤三次并且用二氯甲烷洗涤三次并且最终真空干燥。

在室温下，将获得的树脂用二氯甲烷/三氟乙酸的 8/2 混合物(1.5 mL)处理 1.5 小时。

将介质过滤，然后将树脂用二氯甲烷洗涤。将滤液浓缩至干(39 mg)。

LC/MS: ES+ 473.2

实施例 5: 5-(3-羧基丙氧基)-2-甲基-6-(3,4-二氯苯基)-1*H*-吲哚-3-甲酸乙酯

在 120℃下，将实施例 4 步骤 1 中获得的树脂(144 mg; 载荷 0.94 mmol/g)、0.025 M 的 $PdP(Ph_3)_4$ 的 DMF 溶液(1 mL; 25 μmol)、2 M 碳酸钠水溶液(135 μL; 270 mmol)和 3,4-二-氯苯基硼酸(52 mg; 270 μmol)在 DMF(2 mL)中的混合物加热 16 小时。将树脂过滤并且用 DMF(3 mL)洗涤六次，用二甲亚砜(DMSO)(3 mL)洗涤六次，用水(3 mL)洗涤三次，用甲醇(3 mL)洗涤三次并且用二氯甲烷(3 mL)洗涤四次。

然后，在室温下，将混悬于二氯甲烷(1 mL)中的树脂用二氯甲烷/三氟乙酸的 6/4 混合物(2 mL)处理 1 小时。

将介质过滤，然后将树脂用二氯甲烷洗涤。将滤液浓缩至干(20 mg)。

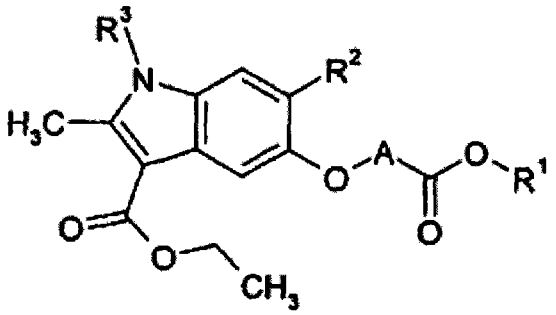
LC/MS: ES+ 450.3、452.3、454.2。2 个氯原子。

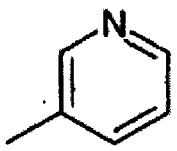
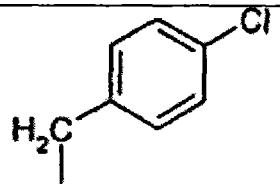
化合物 6 至 31 是根据与在制备以上实施例 1 至 5 化合物中描述的方法类似的方法制备的。

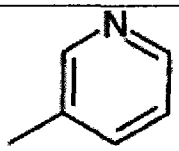
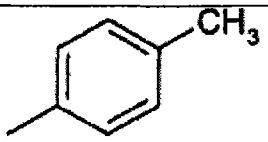
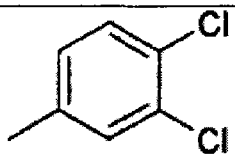
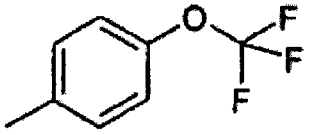
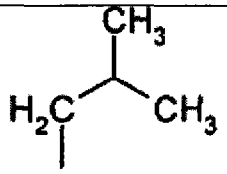
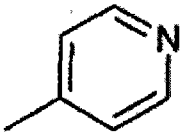
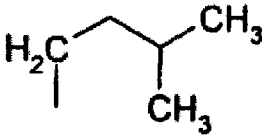
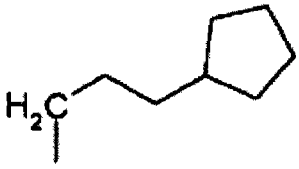
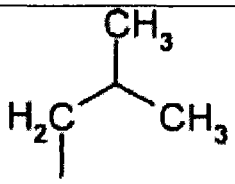
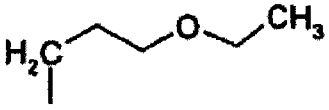
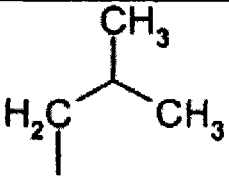
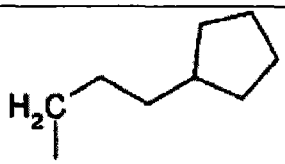
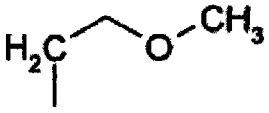
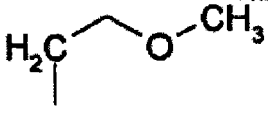
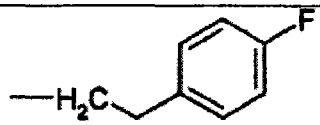
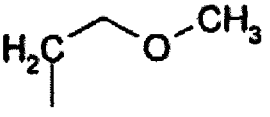
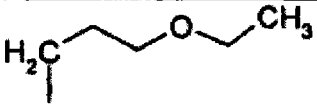
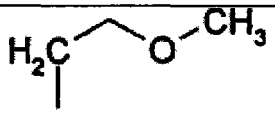
化合物 6 至 31 的结构在下表 1 中进行了比较，其中“方法”中说明了用于制备每种化合物的方法序号(以上描述的 1、2 或 3):

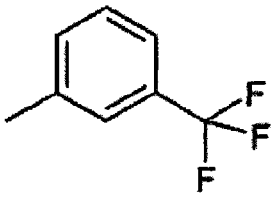
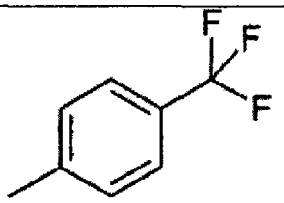
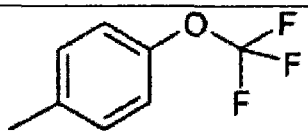
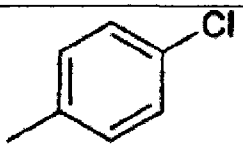
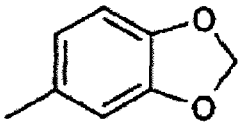
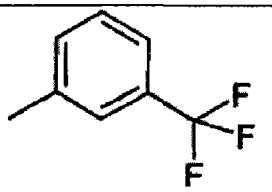
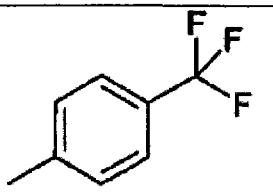
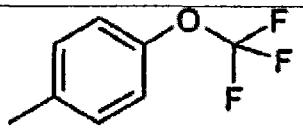
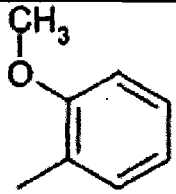
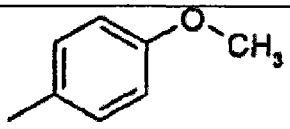
-表 1-

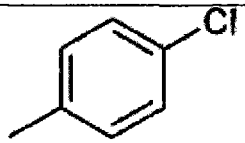
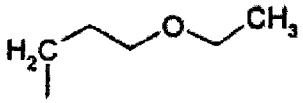
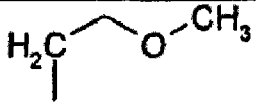
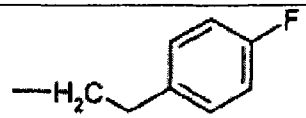
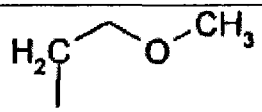
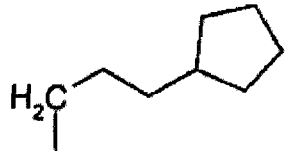
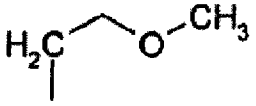
化合物 6 至 31 的结构



实施例号	R^1	A	R^2	R^3	方法
6	-H	$-(CH_2)_3-$			3

7	-H	$-(CH_2)_3-$		-H	3
8	-H	$-C(CH_3)_2-$		-H	3
9	-H	$-C(CH_3)_2-$		-H	3
10	-H	$-C(CH_3)_2-$			3
11	-H	$-C(CH_3)_2-$			3
12	-H	$-CH_2-$			1
13	-H	$-CH_2-$			1
14	-H	$-CH_2-$			2
15	-H	$-CH_2-$	$-(CH_2)_5-CH_3$		2
16	-H	$-CH_2-$			2
17	-H	$-CH_2-$			2

18	**-H**	**-$(CH_2)_3$-**		**-H**	**3**
19	**-H**	**-$(CH_2)_3$-**		**-H**	**3**
20	**-H**	**-$(CH_2)_3$-**		**-H**	**3**
21	**-H**	**-$(CH_2)_3$-**		**-H**	**3**
22	**-H**	**-$C(CH_3)_2$-**		**-H**	**3**
23	**-H**	**-$C(CH_3)_2$-**		**-H**	**3**
24	**-H**	**-$C(CH_3)_2$-**		**-H**	**3**
25	**-H**	**-$C(CH_3)_2$-**		**-H**	**3**
26	**-H**	**-$C(CH_3)_2$-**		**-H**	**3**
27	**-H**	**-$C(CH_3)_2$-**		**-H**	**3**

28	-H	-C(CH_3)$_2$-		-H	3
29	-H	-(CH_2)$_3$-			2
30	-H	-(CH_2)$_3$-			2
31	-H	-(CH_2)$_3$-			2

合成的产物 6 至 31 的分析结果在下表 2 中列出，在该表中：

- M 表示化合物的理论摩尔质量；

- LC/MS 表示通过液相色谱偶联质谱的分析结果；并且

- NMR 表示通过在 300 MHz 的磁共振得到的质子的化学位移δ(以 ppm 计)。

－表 2－

实施例号	M	LC/MS	NMR
6	506.98	ES+ 507.2/509.2 1 Cl	
7	382.41	ES+ 383.3	
8	395.45	ES- 394.2	
9	450.32	ES- 448.1/450.1 2 Cl	
10	521.53	ES+ 522.4	
11	452.55	ES+ 453.4	

12	443.58		^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-D6), δ ppm: 0.9 (d, J=6.5 Hz, 6 H); 1.0 (m, 2 H); 1.5 (m, 10 H); 2.1 (m, 1 H); 2.7 (m, 5 H); 3.3 (m, 4 H); 4.0 (d, J=7.2 Hz, 2 H); 4.2(q, J=7.1 Hz, 2 H); 4.7 (s, 2 H); 7.3 (s, 1 H); 7.3 (s, 1 H); 12.9 (s, 1 H)。
13	419.51	ES- 418.5	
14	445.55	ES- 444.4	^{1}H NMR (300 MHz, 氯仿-D), δ ppm: 1.1 (d, J=6.3 Hz, 2 H); 1.6 (m, 14 H); 2.8 (m, 5 H); 3.3 (s, 3 H); 3.7 (t, J=5.6 Hz, 2 H); 4.3 (t, J=5.6 Hz, 2 H); 4.4 (q, J=7.1 Hz, 2 H); 4.8 (s, 2 H); 7.1 (s, 1 H); 7.5 (s, 1 H)。
15	419.51	ES+ 420.3	
16	457.50	ES- 456.3	
17	421.49	ES+ 422.3	^{1}H NMR (300 MHz, 氯仿-D), δ ppm: 1.2 (t, J=7.0 Hz, 3 H); 1.4 (t, J=7.1 Hz, 3 H); 1.9 (m, 2 H); 2.7 (s, 3 H); 2.9 (t, J=7.2 Hz, 2 H); 3.3 (s, 3 H); 3.6 (m, 6 H); 4.3 (t, J=5.6 Hz, 2 H); 4.4 (q, J=6.9 Hz, 2 H); 4.7 (s, 2 H); 6.8 (s, 1 H); 7.1 (s, 1 H); 7.5 (s, 1 H)。
18	449.42	ES+ 450.3	
19	449.42	ES- 448.4	
20	465.42	ES- 464.4	
21	415.87	ES+ 416.3	
22	425.43	ES- 424.3	
23	449.42	ES+ 450.4	
24	449.42	ES+ 450.3	

25	465.42	ES+ 466.3	
26	411.45	ES+ 412.4	
27	411.45	ES+ 412.4	
28	415.87	ES- 414.3/416.3 1 Cl	
29	449.54	ES+ 450.4	^{1}H NMR (300 MHz, 氯仿-D), δ ppm: 1.3 (t, J=6.8 Hz, 3 H); 1.4 (t, J=7.0 Hz, 3 H); 1.9 (m, 2 H); 2.2 (m, 2 H); 2.6 (t, J=6.6 Hz, 2 H); 2.8 (m, 5 H); 3.3 (s, 3 H); 3.6 (m, 6 H); 4.1 (t, J=5.5 Hz, 2 H); 4.3 (t, J=5.7 Hz, 2 H); 4.4 (q, J=7 Hz, 2 H); 7.0 (s, 1 H); 7.6 (s, 1 H)。
30	485.55	ES+ 486.4	^{1}H NMR (300 MHz, 氯仿-D), δ ppm: 1.4 (t, J=7.1 Hz, 2 H); 2.2 (m, 2 H); 2.7 (m, 6 H); 2.9 (m, 4 H); 3.3 (s, 3 H); 3.5 (t, J=5.7 Hz, 2 H); 4.2 (m, 4 H); 4.4 (q, J=7.1 Hz, 2 H); 6.0 (s, 1 H); 6.8 (s, 1 H); 6.9 (m, 2 H); 7.1 (m, 2 H); 7.6 (s, 1 H)。
31	473.61	ES+ 474.5	^{1}H NMR (300 MHz, 氯仿-D), δ ppm: 1.5 (m, 16 H); 2.2 (m, 2 H); 2.7 (m, 7 H); 3.3 (s, 3 H); 3.7 (t, J=5.6 Hz, 2 H); 4.1 (m, 2 H); 4.3 (t, J=5.7 Hz, 2 H); 4.4 (m, 2 H); 7.0 (s, 1 H); 7.6 (s, 1 H)。

结果

PPAR 激活的测定是根据 Lehmann 等人描述的技术进行的(*J. Biol. Chem.*, 270, (1995), 12953-12956)。

将 CV-1 细胞(猴肾细胞)用嵌合蛋白 PPARγ-Gal4 的表达载体和能够表达荧光素酶基因(其放置是在包含 Gal4 应答元件的启动子控制下的)的“报

道”质粒共转染。

将细胞接种于 96-孔微量板中并且应用商购试剂用报道质粒(pG5-tk-pGL3)和嵌合蛋白(PPARγ-Gal4)的表达载体共转染。培养 4 小时后，将全培养介质(包含 10%胎牛血清)加入至孔中。24 小时后，除去介质并且用包含试验产物的全培养介质代替。将产物与细胞接触 18 小时。然后将细胞裂解并且应用发光计测定荧光素酶活性。然后，PPARγ激活因子可以通过产物诱导的报道基因表达的激活方法计算(相对于没有接受产物的对照细胞而言)。

在没有 PPARγ配体结合域(仅表达 Gal4 的载体)存在下，在激动剂的存在下测定的荧光素酶活性是零。

用为浓度 50 μM 的 PPARγ获得了以下反式激活结果。

实施例	浓度	嵌合蛋白 PPARγ-Gal4 的激活因子
4	50 μM	17
无激动剂（对照）	-	1

部分激动剂的生物活性的实施例

反式激活试验

应用嵌合蛋白 Gal-4-PPARγ表达的反式激活试验也能够确定在该系统中激动剂是作为“完全”激动剂起作用，还是作为“部分”激动剂起作用。

如果比“完全”激动剂的罗西格列酮诱导更弱的响应，即具有更低的功效，那么在该系统中此激动剂是“部分”激动剂。在具体的术语中，在我们的系统中，在坪值时用部分激动剂获得的反式激活是在罗西格列酮的坪值时最大响应(功效)的 20%至 50%。

实施例	用罗西格列酮获得的 PPARγ 嵌合蛋白的最大刺激	达到 PPARγ嵌合蛋白的最大刺激的浓度
31	24%	1 μM