



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 (11)證書號數：TW I594991 B

(45)公告日：中華民國 106(2017)年 08 月 11 日

(21)申請案號：105120617

(51)Int. Cl. : *C07D307/33 (2006.01)*
C07D333/32 (2006.01)
A61K31/343 (2006.01)
A61P3/10 (2006.01)

(30)優先權：2015/06/30 美國 62/186,512

(71)申請人：中央研究院(中華民國) ACADEMIA SINICA (TW)
臺北市南港區研究院路二段 128 號

(72)發明人：陳榮傑 CHEIN, RONG-JIE (TW)；金克寧 KING, KLIM (TW)；林迺彬 LIN, NAI-PIN (TW)；鄭瑀鴻 CHENG, YU-HONG (TW)

(74)代理人：何美瑩

(56)參考文獻：

JP 昭 60-45568A

US 2003/0171371A1

WO 2006/084056A2

WO 2013/034621A1

Hilke Bruns et al., "N-Acylated Alanine Methyl Esters (NAMEs) from Roseovarius tolerans, Structural Analogs of Quorum-Sensing Autoinducers, N-Acylhomoserine Lactones", Chemistry & Biodiversity (2013), 10(9), pp. 1559-1573。

Michael A. Savka et al., "LasR Receptor for Detection of Long-Chain Quorum-Sensing Signals: Identification of N-Acyl-homoserine Lactones Encoded by the avsI Locus of Agrobacterium vitis", Current Microbiology (2011), 62(1), pp. 101-110。

Agnes. Puskas et al "A quorum-sensing system in the free-living photosynthetic bacterium Rhodobacter sphaeroides", Journal of Bacteriology (1997), 179(23), pp. 7530-7537。

Alexander . Neumann et al., "Identification of new N-acylhomoserine lactone signalling compounds of Dinoroseobacter shibae DFL-12T by overexpression of luxI genes", ChemBioChem (2013), 14(17), pp. 2355-2361。

Armando M. Pomini, et al., "Long-Chain Acyl-Homoserine Lactones from Methylobacterium mesophilicum: Synthesis and Absolute Configuration", Journal of Natural Products (2009), 72(12), pp. 2125-2129。

Kenji Kai et al., "(Z)-N-(4-Decenoyl)homoserine lactone, a new quorum sensing molecule produced by endobacteria associated with Mortierella alpina A-178", Tetrahedron Letters (2012), 53(40), pp. 5441-5444。

(22)申請日：中華民國 105(2016)年 06 月 29 日

C07D307/83 (2006.01)
A61K31/341 (2006.01)
A61K31/381 (2006.01)

Anja Krick et al., "A marine Mesorhizobium sp. produces structurally novel long-chain N-acyl-L-homoserine lactones", Tetrahedron Letters (2012), 53(40), pp. 5441-5444。

審查人員：謝敏哲

申請專利範圍項數：14 項 圖式數：5 共 58 頁

(54)名稱

第一型類升糖素肽調節子及其用途

NOVEL GLUCAGON-LIKE PEPTIDE 1 MODULATOR AND USES THEREOF

(57)摘要

本揭示內容是關於新穎之第一型類升糖素肽調節子及其於製備藥物的用途，其中該藥物可用以治療及/或預防與高血糖相關之疾病及/或病狀。

Disclosed herein are novel glucagon-like peptide-1 (GLP-1) modulators and their uses in manufacturing medicaments for the treatment and/or prophylaxis of diseases and/or disorders associated with hyperglycemia.

指定代表圖：

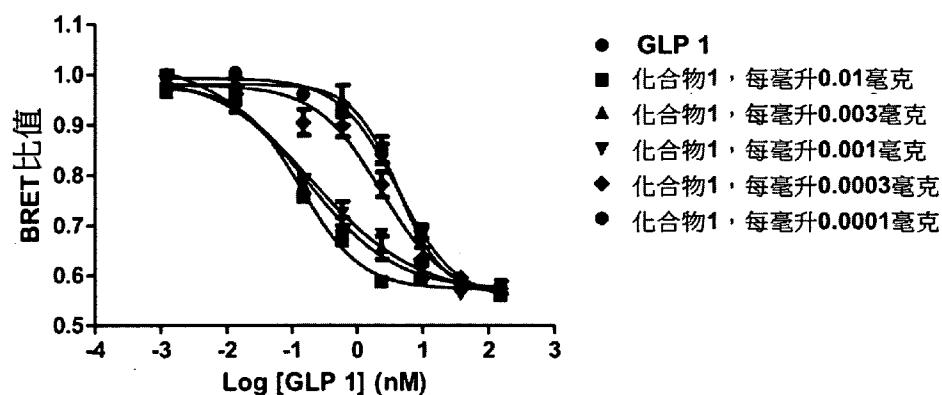


圖 1A



公告本

申請日: 105/06/29

IPC分類:

C07D 307/33 (2006.01)
C07D 307/83 (2006.01)
C07D 333/32 (2006.01)
A61K 31/341 (2006.01)
A61K 31/343 (2006.01)
A61K 31/381 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)

【中文發明名稱】第一型類升糖素肽調節子及其用途

【英文發明名稱】NOVEL GLUCAGON-LIKE PEPTIDE 1 MODULATOR AND
USES THEREOF

【中文】

本揭示內容是關於新穎之第一型類升糖素肽調節子及其於製備藥物的用途，其中該藥物可用以治療及/或預防與高血糖相關之疾病及/或病狀。

【英文】

Disclosed herein are novel glucagon-like peptide-1 (GLP-1) modulators and their uses in manufacturing medicaments for the treatment and/or prophylaxis of diseases and/or disorders associated with hyperglycemia.

【指定代表圖】圖1A

【代表圖之符號簡單說明】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】第一型類升糖素肽調節子及其用途

【英文發明名稱】NOVEL GLUCAGON-LIKE PEPTIDE 1 MODULATOR AND USES THEREOF

【技術領域】

【0001】本揭示內容是關於治療高血糖的領域；更具體來說，本揭示內容是關於新穎之第一型類升糖素肽調節子及其於治療或預防與高血糖相關之疾病及/或病症的用途。

【先前技術】

【0002】高血糖(High blood sugar 或 hyperglycemia)是一種血漿中葡萄糖含量過高的病徵。高血糖多數是由糖尿病所導致，近年來罹患糖尿病的病患有逐漸增加的趨勢，糖尿病會降低病患生活品質及壽命，並引起多種併發症。在工業化社會中，基於與糖尿病相關的微血管併發症，第二型糖尿病已是造成成人失明、腎臟衰竭及截肢的主因之一。此外，第二型糖尿病也使罹患心血管疾病的風險增加 2 到 5 倍。糖尿病還會造成眼部後方視網膜病變，及增加罹患白內障及青光眼的風險。已知糖尿病與腎臟疾病的發生及神經(特別是腿部及腳部)損傷也有關，會干擾病患對痛的感知能力進而造成嚴重的感染。整體來說，與糖尿病相關之併發症是全球發病率及死亡率的主因之一。

【0003】「血糖控制良好」(Good glycemic control)是指將血糖維持於可接受的範圍內，且降低治療間超出正常範圍的波

動起伏。長期血糖控制不佳會增加罹患與糖尿病相關之長期性血管併發症的風險，例如冠狀動脈疾病、心臟病、中風、心臟衰竭、腎臟衰竭、失明、神經病變(喪失知覺，特別是腳部的知覺)及壞疽。血糖控制不佳亦使得術後短期性併發症(例如傷口癒合不良)風險變高。

【0004】 諸如二甲雙胍(metformin)、磺醯尿素(sulfonylurea)及胰島素等用以治療第二型糖尿病的傳統藥物不必然能良好地控制血糖。目前已研發二種新型藥物：第一型類升糖素肽受器(glucagon-like peptide-1 receptor、GLP-1 receptor 或 GLP-1R)促效劑及第四型二肽基肽酶(dipeptidyl peptidase 4, DPP-4)抑制劑。近期已商品化之第一型類升糖素肽受器促效劑包含艾塞那肽(exenatide)及利拉魯肽(liraglutide)，其餘則尚處於研發階段。第四型二肽基肽酶抑制劑的例子包含西他列汀(sitagliptin)、阿格列汀(alogliptin)及沙格列汀(saxagliptin)。

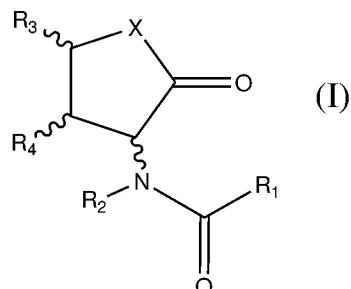
【0005】 雖然該些治療藥物可將許多高血糖病患之血糖維持於正常範圍內，但仍有許多病患無法有效地控制血糖，且需要代替性的治療方式。因此，相關領域亟需新穎的治療藥劑，透過新穎的作用機制以安全且有效地改善高血糖病患之血糖控制。

【發明內容】

【0006】 本揭示內容是基於發明人意外地發現某些化合物為具有效力之 GLP-1 受器(GLP-1R)調節子，可與 GLP-1 結合，並增加 GLP-1R 訊息的活化程度，該些化合物因此可用以開發能治療與高血糖相關之疾病及/或病症(例如第二型糖尿病及肥胖

等)的藥物。

【0007】因此，本揭示內容的一態樣是關於一種新穎之化合物，其係具有式(I)之結構，



其中，

X 是 O 或 S；

R₁ 是 H 或 ；

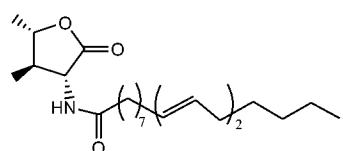
R₂ 是 H 或氮原子保護基(nitrogen protecting group)；

R₃ 及 R₄ 分別是 H、鹵素、包含非必要取代基的烷基或烯基；或 R₃ 及 R₄ 可共同形成一包含非必要取代基的 6 員碳環(carbocycle)或雜環(heterocycle)；

R' 是 H 或包含非必要取代基的烷基；以及

n 及 m 分別是介於 1 到 10 的整數。

【0008】依據一較佳實施方式，式(I)之化合物是



。

【0009】本揭示內容的另一態樣是關於用以治療或預防一罹患或疑似罹患與高血糖相關之疾病及/或病症之個體的藥學組合物。該藥學組合物包含一治療或預防有效量之式(I)化合物；以及一藥學上可接受之載體。

【0010】 式(I)化合物的重量可為藥學組合物總重量之 0.1% 到 99%。在某些實施方式中，式(I)化合物的重量至少是藥學組合物總重量的 1%。在某些實施方式中，式(I)化合物的重量至少是藥學組合物總重量的 5%。在另一實施方式中，式(I)化合物的重量至少是藥學組合物總重量的 10%。在再另一實施方式中，式(I)化合物的重量至少是藥學組合物總重量的 25%。

【0011】 依據某些較佳的實施方式，該藥學組合物更包含一降血糖藥劑，其係選自由 α -葡萄糖苷酶抑制劑 (alpha-glucosidase 抑制劑)、雙胍(biguanide)、多巴胺促效劑 (dopamine agonist)、第四型二肽基肽酶抑制劑(dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitor)、第一型類升糖素肽 (GLP-1)、美格列奈(meglitinide)、第二型鈉葡萄糖轉運子(sodium glucose transporter 2, SGLT 2)抑制劑、磺醯尿素及噻唑烷二酮(thiazolidinedione)所組成的群組。

【0012】 本揭示內容亦包含一種用以治療或預防一罹患或疑似罹患與高血糖相關之疾病及/或病症之個體的方法。該方法包含對該個體投予一治療或預防有效量之式(I)化合物，藉以改善、減緩及/或預防疾病及/或病症的徵狀。

【0013】 依據某些較佳的實施方式，該方法更包含在投予本發明式(I)化合物之前、同時或之後，對該個體投予另一種已知可降低個體血糖的藥劑，例如 α -葡萄糖苷酶抑制劑、雙胍、多巴胺促效劑、第四型二肽基肽酶抑制劑、第一型類升糖素肽、美格列奈、第二型鈉葡萄糖轉運子抑制劑、磺醯尿素及噻唑烷二酮。

【0014】 本揭示內容亦包含用以治療或預防一罹患或疑似罹患與高血糖相關之疾病及/或病症之個體的套組。該套組至少

包含一第一容器，其係包含一降血糖藥劑；以及一第二容器，其係包含本發明之式(I)化合物。

【0015】以下實施方式將闡述本揭示內容一或多種實施例的細節。依據實施方式及申請專利範圍之闡述，本所屬領域具有通常知識者可輕易了解本發明特徵及優勢。

【0016】在參閱下文實施方式後，本發明所屬技術領域中具有通常知識者當可輕易瞭解本發明之基本精神及其他發明目的，以及本發明所採用之技術手段與實施態樣。

【圖式簡單說明】

【0017】為讓本發明的上述與其他目的、特徵、優點與實施例能更明顯易懂，所附圖式之說明如下：

圖 1A 是依據本揭示內容一實施方式來闡述在 RINm5F 細胞中，化合物 1 於增加 GLP-1 誘發 cAMP 合成之功效；

圖 1B 是依據本揭示內容一實施方式來闡述在 RINm5F 細胞中，化合物 12 於增加 GLP-1 誘發 cAMP 合成之功效；

圖 1C 是依據本揭示內容一實施方式來闡述在 RINm5F 細胞中，化合物 16 及 17 的外消旋混合物於增加 GLP-1 誘發 cAMP 合成之功效；

圖 1D 是依據本揭示內容一實施方式來闡述在 RINm5F 細胞中，化合物 14 於增加 GLP-1 誘發 cAMP 合成之功效；

圖 1E 是依據本揭示內容一實施方式來闡述在 RINm5F 細胞中，化合物 18 於增加 GLP-1 誘發 cAMP 合成之功效；

圖 2 是依據本揭示內容一實施方式來闡述在 RINm5F 細胞中，

化合物 1 (N55) 於增加 GLP-1 誘發 cAMP 合成之功效，(A)增加化合物 1 (N55) 的濃度對 GLP-1 誘發 cAMP 合成的影響；(B) 化合物 1 可以劑量相關且飽和的方式增加 GLP-1 刺激 cAMP 合成的效力；

圖 3 是依據本揭示內容一實施方式來闡述化合物 1 於 GLP-1 誘發 GLP-1R 胞飲作用(endocytosis)的功效；(A)在無(圓形)或有(三角形) 7.7 μM 之化合物 1 的情況下，GLP-1R 胞飲作用對 GLP-1 滴定的反應；(B)化合物 1 可以劑量相關且飽和的方式增加 1 nM GLP-1 所引發之 GLP-1R 胞飲作用；

圖 4 是依據本揭示內容一實施方式來闡述化合物 1 於 GLP-1 引發 RINm5F 細胞釋放胰島素的功效；以及

圖 5 是依據本揭示內容一實施方式來闡述化合物 1 的細胞毒性試驗。

【實施方式】

【0018】 為了使本揭示內容的敘述更加詳盡與完備，下文針對了本發明的實施態樣與具體實施例提出了說明性的描述；但這並非實施或運用本發明具體實施例的唯一形式。實施方式中涵蓋了多個具體實施例的特徵以及用以建構與操作這些具體實施例的方法步驟與其順序。然而，亦可利用其他具體實施例來達成相同或均等的功能與步驟順序。

【0019】 1. 定義

【0020】 除非另有所指，否則「烷基」(alkyl)一詞是指一具有 1 到 23 個碳原子之直鏈或分支碳氫化合物，例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、

19、20、21、22 或 23 個碳原子。除非另有所指，否則各烷基可分別為包含非必要取代基的烷基，即可以是未經取代的烷基，或是具有一或多取代基的烷基。

【0021】 除非另有所指，否則「烯基」(alkenyl)一詞是指一具有 2 到 23 個碳原子(例如 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22 或 23 個碳原子)且包含一或多碳-碳雙鍵(例如 1、2、3、4、5、6 或 7 碳-碳雙鍵)的直鏈或分支碳氫化合物。該一或多碳-碳雙鍵可以位於中間(例如 2-丁烯基)或末端(例如 1-丁烯基)。除非另有所指，否則各烯基可分別為包含非必要取代基的烯基，亦即，其可以是未經取代的烯基，或是具有一或多取代基的烯基。在某些實施方式中，烯基是具有一個碳-碳雙鍵之 C₁₅ 烯基。在某些實施方式中，烯基是具有 2 或 3 個碳-碳雙鍵之 C₁₇ 烯基。在某些實施方式中，烯基是具有 4 或 5 個碳-碳雙鍵之 C₁₉ 烯基。在某些實施方式中，烯基是具有 6 個碳-碳雙鍵之 C₂₁ 烯基。

【0022】 除非另有所指，否則「碳環」(carbocycle)一詞是指一環烷基(cycloalkyl)或環烯基(cycloalkenyl)部分(moiety)。在某些實施方式中，碳環是一環己基(cyclohexyl)部分。

【0023】 除非另有所指，否則「雜環」(heterocycle)一詞是指一環烷基或環烯基部分，其中至少一個碳原子被雜原子(例如 N、O 或 S)置換。例示性之雜環包含，但不限於，苯并呋喃基(benzofuranyl)、苯並噻吩基(benzothienyl)、喹啉基(quinolyl)、苯並間二氫雜環戊烯基(benzodioxolyl)、呋喃基(furyl)及噻吩基(thienyl)。

【0024】 除非另有所指，否則「鹵素」(halogen 或 halo)一詞包含氟、氯、溴及碘。

【0025】 除非另有所指，否則當用以闡述一化學結構或官能基時，「可經取代的」(substituted)一詞是指該化學結構或部分的衍生物，其中一或多個氫原子被一原子、化學部分或官能基所取代，例如，但不限於，-OH、-CHO、烷氧基(alkoxy)、烷醯氧基(alkanoyloxy，例如-OAc)、烯基、烷基(例如甲基、乙基、丙基、叔丁基)、芳香基(aryl)、芳氧基(aryloxy)、鹵素或鹵烷基(haloalkyl，例如-CCl₃、-CF₃、-C(CF₃)₃)。除非另有所指，否則「烷氧基」(alkoxy)一詞是指-O-烷基。例示性之烷氧基包含，但不限於，-OCH₃、-OCH₂CH₃、-O(CH₂)₂CH₃、-O(CH₂)₃CH₃、-O(CH₂)₄CH₃ 及 -O(CH₂)₅CH₃。「低級烷氧基」(lower alkoxy)是指-O- (低 碳 數 烷 基)，例如-OCH₃ 及 -OCH₂CH₃。

【0026】 除非另有所指，否則「氮原子保護基」(nitrogen protecting group)包含，但不限於，烷基、烯基、炔基、-OH、-OR^a、-C(=O)R^a、-CO₂R^a、-SOR^a、-SO₂R^a 及 -SO₂OR^a，其中 R^a 是指烷基、烯基，芳香基(aryl)、芳烷基(aralkyl)、碳環、雜環或雜芳基(heteroaryl)。氮原子保護基為所屬領域習知技藝人士所熟知之基團，且包含 *Protecting Groups in Organic Synthesis*, T. W. Greene 及 P. G. M. Wuts, 3rd Edition, John Wiley & Sons, 1999 所述之保護基團。

【0027】 除非另有所指，否則一或多個置於一系列名詞前的形容詞應視為用以形容各個名詞。舉例來說，「包含非必要取代基的烷基、烯基、碳環或雜環」應解讀為「包含非必要取代基

的烷基、包含非必要取代基的烯基、包含非必要取代基的碳環或包含非必要取代基的雜環」。

【0028】 基於本發明目的，諸如氮等雜原子可具有氫取代基及/或任何本揭示內容所述之能滿足雜原子價數並形成穩定部分之適合的取代基。

【0029】 除非另有所指，否則一化合物的「治療有效量」(therapeutically effective amount)是指在治療一疾病或症狀時足以提供治療效益的劑量，或是可延遲或減少一或多種與該疾病或症狀相關之病徵的劑量。一化合物的治療有效量是指在治療一疾病或症狀時，不論是單獨投予或與其他療法合併投予，治療藥劑能提供治療效益的劑量。「治療有效量」(therapeutically effective amount)一詞可包含能改善整體治療功效、減少或防止與疾病或症狀相關之病徵或造成原因，或是增加另一治療藥劑療效的劑量。

【0030】 除非另有所指，否則一化合物的「預防有效量」(prophylactically effective amount)是指足以防止一疾病或症狀或與該疾病或症狀相關之一或多種病徵的劑量，或是防止該疾病/症狀/相關病徵復發的劑量。一化合物的預防有效量是指在防止該疾病時，不論是單獨投予或與其他藥劑合併投予，治療藥劑能提供預防效益的劑量。「預防有效量」(prophylactically effective amount)一詞可包含能改善整體預防功效或增加另一預防藥劑預防功效的劑量。

【0031】 除非另有所指，否則「治療」(treat、treating 及 treatment)一詞是指能減少一罹患特定疾病或病症之病患體內疾病或病症的嚴重程度、一或多種病徵、減緩疾病或病症之進程

的動作。

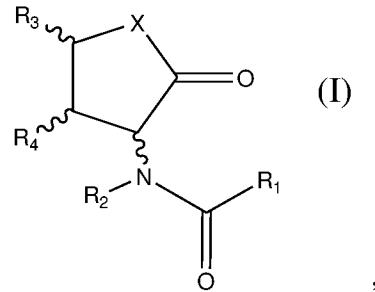
【0032】 須知，若無特別提及(舉例來說，粗體或底線)一結構或一部分結構的立體化學，則應將該結構或部分結構解讀為包含其所有立體異構物。相似地，在命名具有一或多掌性中心之化合物時，若未特定提及該中心之立體化學，則應包含純立體異構物及其混合物。此外，圖式中任何具有不飽和價數的原子應視為與足夠氫原子鍵結，以滿足其價數。

【0033】 雖然用以界定本發明較廣範圍的數值範圍與參數皆是約略的數值，此處已盡可能精確地呈現具體實施例中的相關數值。然而，任何數值本質上不可避免地含有因個別測試方法所致的標準偏差。在此處，「約」通常係指實際數值在一特定數值或範圍的正負 10%、5%、1% 或 0.5% 之內。或者是，「約」一詞代表實際數值落在平均值的可接受標準誤差之內，視本發明所屬技術領域中具有通常知識者的考量而定。除了實驗例之外，或除非另有明確的說明，當可理解此處所用的所有範圍、數量、數值與百分比（例如用以描述材料用量、時間長短、溫度、操作條件、數量比例及其他相似者）均經過「約」的修飾。因此，除非另有相反的說明，本說明書與附隨申請專利範圍所揭示的數值參數皆為約略的數值，且可視需求而更動。至少應將這些數值參數理解為所指出的有效位數與套用一般進位法所得到的數值。在此處，將數值範圍表示成由一端點至另一段點或介於二端點之間；除非另有說明，此處所述的數值範圍皆包含端點。

【0034】 除非另有所指，否則在本說明書中，「一」(a、an) 及「該」(the) 等單數型亦涵蓋其複數型。

【0035】 2. 新穎之式(I)化合物

【0036】本發明包含式(I)之化合物，



其中，

X 是 O 或 S；

R₁ 是 H 或

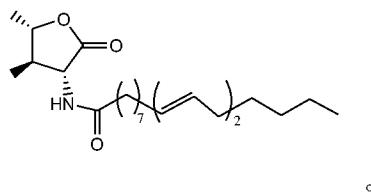
R₂ 是 H 或氮原子保護基；

R₃ 及 R₄ 分別是 H、鹵素、包含非必要取代基的烷基或烯基；或是 R₃ 及 R₄ 可共同形成一包含非必要取代基的碳環或雜環；

R' 是 H 或包含非必要取代基的烷基；以及

n 及 m 分別是一介於 1 到 10 的整數。

【0037】依據一較佳實施方式，式(I)化合物為

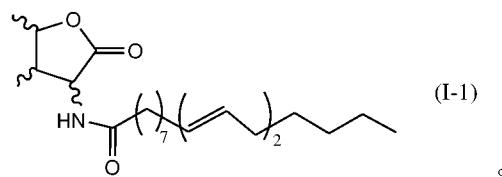


【0038】本發明化合物包含一或多個立體中心(stereocenter)，因此可為鏡像異構物(enantiomer)的外消旋混合物或非鏡像異構物(diastereomer)的混合物。本發明因此包含該些化合物之純立體異構物及其混合物。可利用習知技術(例如結晶、色層分析及使用解析劑)以非對稱合成法合成出該立體異構物或解析出該立體異構物。較佳是藉由製備性高效液相層析技

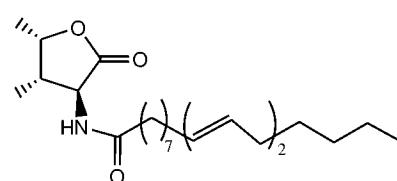
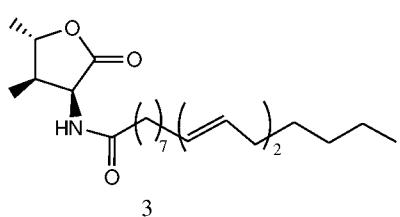
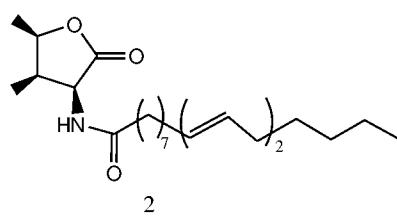
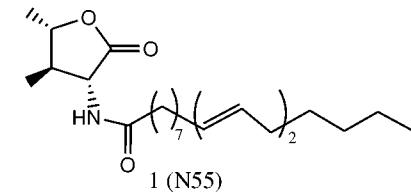
術(preparative high performance liquid chromatography, HPLC)由外消旋混合物中將鏡像異構物彼此分離。或者是，可將外消旋混合物與溶於溶劑之光學活性解析劑進行反應，據以將鏡像異構物彼此分離。依據解析劑的光學形式，在二種鏡像異構物中，其中一種鏡像異構物會以具有高產率及高光學純度的不溶性鹽類形式析出，而另一鏡像異構物則會留存於溶液中。

【0039】 本發明因此更包含本揭示內容所述之化合物的光學異構混合物。本發明亦包含本揭示內容所述之化合物的結構異構物(configurational isomer)(例如順式及反式異構物，而不論其是否具有雙鍵)，其可以混合物、純化形式或幾近純化形式存在。

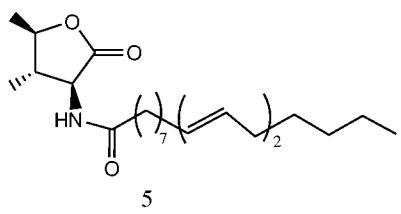
【0040】 依據某些實施方式，式(I)化合物具有式(I-1)的結構，



【0041】 例示性之式(I-1)化合物包含，但不限於，

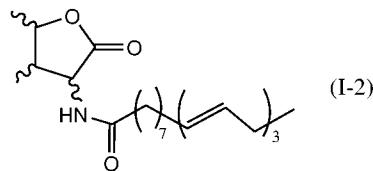


，及



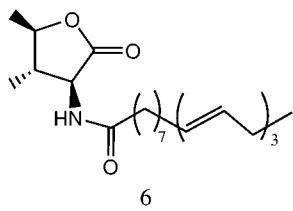
。

【0042】依據某些實施方式，式(I)化合物具有式(I-2)的結構，

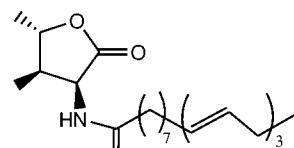


。

【0043】例示性之式(I-2)化合物包含，但不限於，

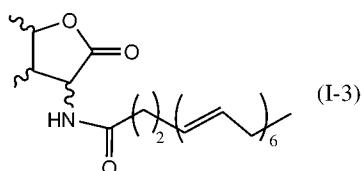


及



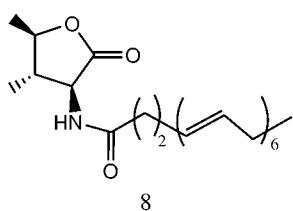
。

【0044】依據某些實施方式，式(I)化合物具有式(I-3)的結構，

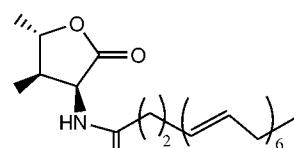


。

【0045】例示性之式(I-3)化合物包含，但不限於，

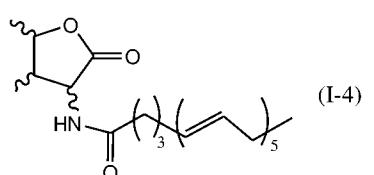


及



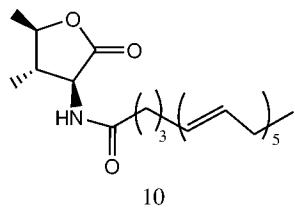
。

【0046】依據某些實施方式，式(I)化合物具有式(I-4)的結構，



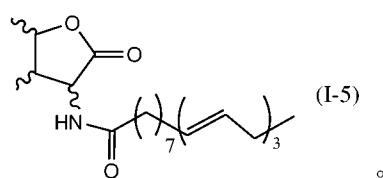
。

【0047】 例示性之式(I-4)化合物包含，但不限於，



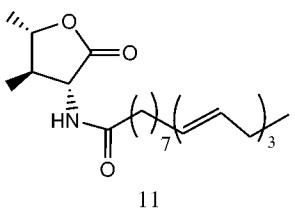
。

【0048】 依據某些實施方式，式(I)化合物具有式(I-5)的結構，



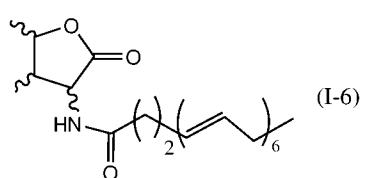
。

【0049】 例示性之式(I-5)化合物包含，但不限於，



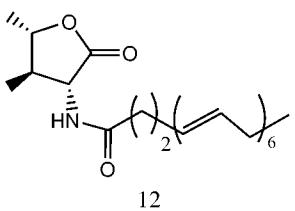
。

【0050】 依據某些實施方式，式(I)化合物具有式(I-6)的結構，



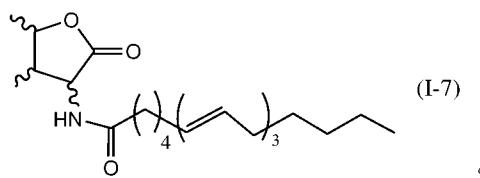
。

【0051】 例示性之式(I-6)化合物包含，但不限於，

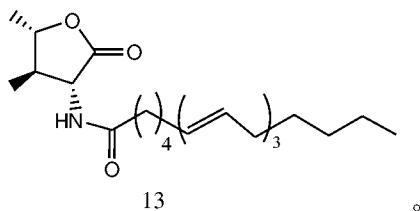


。

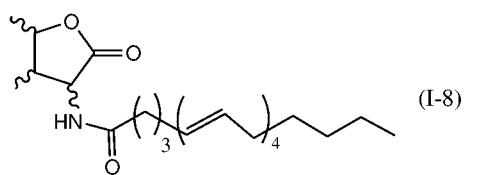
【0052】 依據某些實施方式，式(I)化合物具有式(I-7)的結構，



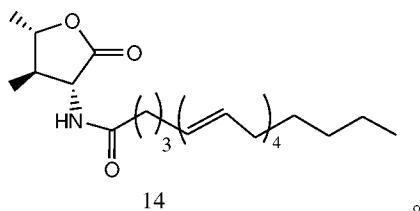
【0053】例示性之式(I-7)化合物包含，但不限於，



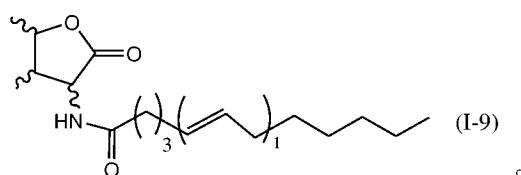
【0054】依據某些實施方式，式(I)化合物具有式(I-8)的結構，



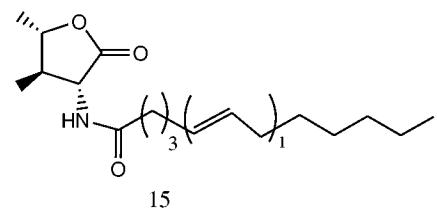
【0055】例示性之式(I-8)化合物包含，但不限於，



【0056】依據某些實施方式，式(I)化合物具有式(I-9)的結構，

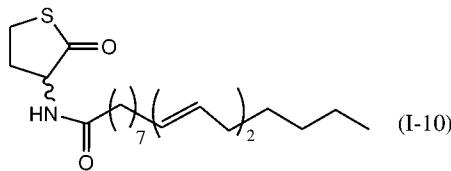


【0057】例示性之式(I-9)化合物包含，但不限於，



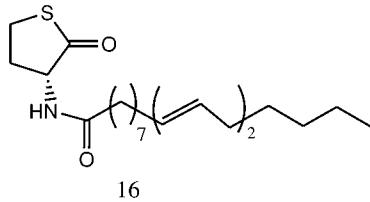
【0058】依據某些實施方式，式(I)化合物具有式(I-10)的

結構，

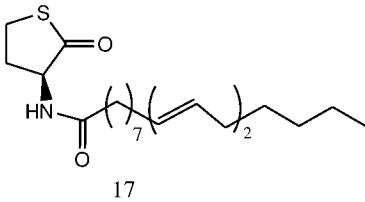


。

【0059】 例示性之式(I-10)化合物包含，但不限於，

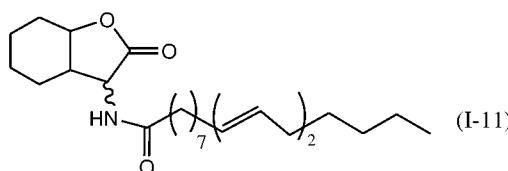


及



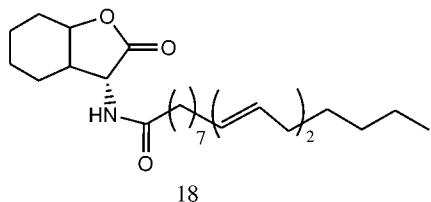
。

【0060】 依據某些實施方式，式(I)化合物具有式(I-11)的結構，

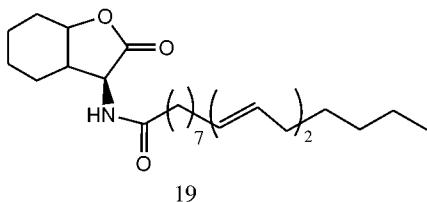


。

【0061】 例示性之式(I-11)化合物包含，但不限於，



及



。

【0062】 3. 使用方法

【0063】 本發明包含一種用以治療或預防一罹患或疑似罹患與高血糖相關之疾病及/或病症之個體的方法。該方法包含對該個體投予一治療或預防有效量之本揭示內容所述之式(I)化合物，以降底該個體體內的血糖含量，進而改善、減緩及/或防止與高血糖相關之疾病及/或病症的徵狀。

【0064】 在某些實施方式中，該方法更包含在投予式(I)化合物之前、同時或之後，對該個體投予一降血糖藥劑。該降血糖藥劑可選自由 α -葡萄糖苷酶抑制劑、雙胍、多巴胺促效劑、第四

型二肽基肽酶抑制劑、第一型類升糖素肽、美格列奈、第二型鈉葡萄糖轉運子抑制劑、磺醯尿素及噻唑烷二酮所組成的群組。

【0065】 依據本揭示內容實施方式， α -葡萄糖昔酶抑制劑是阿卡波糖(acarbose)或米格列醇(miglitol)。例示性之雙胍是二甲雙胍。例示式性之多巴胺促效劑是麥角鹼衍生物(bromocriptine)。例示性之第四型二肽基肽酶抑制劑包含，但不限於，阿格列汀(alogliptin)、利拉列汀(linagliptin)、沙格列汀(saxagliptin)、西他列汀(sitagliptin)及辛伐他汀(simvastatin)。例示性之第一型類升糖素肽包含，但不限於，利西拉來(lixisenatide)、阿必魯泰(albiglutide)、杜拉魯泰(dulaglutide)、艾塞那肽(exenatide)及利拉魯肽(liraglutide)。例示性之第二型鈉葡萄糖轉運子抑制劑包含，但不限於，達格列淨(dapagliflozin)、卡格列淨(canagliflozin)及恩格列淨(empagliflozin)。例示式之磺醯尿素包含，但不限於，格列美脲(glimepiride)、格列齊特(gliclazide)、克吡噻(glipizide)、甘布若(glyburide)、氯苯磺丙脲(chlorpropamide)、杜拉唑胺(tolazamide)及甲苯磺丁脲(tolbutamide)。例示式之噻唑烷二酮包含，但不限於，吡格列酮(pioglitazone)及羅格列酮/rosiglitazone)。

【0066】 在本揭示內容中，與高血糖相關之疾病及/或病症可以是糖尿病、肥胖、葡萄糖耐受不良(impaired glucose tolerance)、空腹血糖異常(impaired fasting glycemia, IFG)、高胰島素血症(hyperinsulinemia)、高血脂症(hyperlipidemia)、高膽固醇血症(hyper-cholesterolemia)、高三酸甘油脂血症(hypertriglyceridemia)、脂質代謝病症(lipid metabolism

disorder)、動脈粥狀硬化(atherosclerosis)、高血壓(hypertension)、充血性心臟病(congestive heart failure)、水腫(edema)、高尿酸血症(hyperuricemia)、痛風(gout)及糖尿病併發症(diabetic complication)等。

【0067】 依據本揭示內容某些實施方式，與高血糖相關之疾病及/或病症為糖尿病，其係包含，但不限於第一型或第二型糖尿病及妊娠糖尿病(gestational diabetes)。依據一較佳實施方式，本發明方法可治療之與高血糖相關的疾病及/或病症是第二型糖尿病。

【0068】 依據本揭示內容其他實施方式，與高血糖相關之疾病及/或病症是糖尿病併發症，其可以是視網膜病變、神經病變、腎臟病變、潰瘍或微血管病變。

【0069】 可依據以下因素來調整式(I)化合物的投予劑量、路徑及投藥療程，包含待治療、防止或處理的適應症及病患的年齡、性別及生理狀況。該些因素的影響為本所屬領域習知技藝人士所熟知，且可藉由習知實驗來分析了解。

【0070】 4. 藥學組合物

【0071】 本發明包含用以治療或預防與高血糖相關之疾病及/或病症的藥學組合物。該藥學組合物包含一治療或預防有效量之本揭示內容所述之式(I)化合物。

【0072】 式(I)化合物的重量可為藥學組合物總重量之0.1%到99%。在某些實施方式中，式(I)化合物的重量至少是藥學組合物總重量的1%。在某些實施方式中，式(I)化合物的重量至少是藥學組合物總重量的5%。在另一實施方式中，式(I)化合物的重量至少是藥學組合物總重量的10%。在再另一實施方式中，

式(I)化合物的重量至少是藥學組合物總重量的 25%。

【0073】 在某些較佳的實施方式中，藥學組合物更包含一降血糖藥劑。該降血糖藥劑可選自由 α -葡萄糖昔酶抑制劑、雙胍、多巴胺促效劑、第四型二肽基肽酶抑制劑、第一型類升糖素肽、美格列奈、第二型鈉葡萄糖轉運子抑制劑、礦醯尿素及噻唑烷二酮所組成的群組。

【0074】 依據本揭示內容一實施方式，藥學組合物更包含 α -葡萄糖昔酶抑制劑，其可以是阿卡波糖或米格列醇。

【0075】 依據本揭示內容另一實施方式，該藥學組合物更包含雙胍，其較佳為二甲雙胍。

【0076】 依據本揭示內容另一實施方式，藥學組合物更包含多巴胺促效劑，其可以是麥角鹼衍生物。

【0077】 依據本揭示內容一實施方式，藥學組合物更包含第四型二肽基肽酶抑制劑，其中例示性之第四型二肽基肽酶抑制劑包含，但不限於，阿格列汀、利拉列汀、沙格列汀、西他列汀及辛伐他汀。

【0078】 依據本揭示內容其他實施方式，藥學組合物更包含第一型類升糖素肽。例示性之第一型類升糖素肽包含，但不限於，利西拉來、阿必魯泰、杜拉魯泰、艾塞那肽及利拉魯肽。

【0079】 依據本揭示內容另一實施方式，藥學組合物更包含第二型鈉葡萄糖轉運子抑制劑。例示性之第二型鈉葡萄糖轉運子抑制劑包含，但不限於，達格列淨、卡格列淨及恩格列淨。

【0080】 依據本揭示內容其他實施方式，藥學組合物更包含礦醯尿素。例示性之礦醯尿素包含，但不限於，格列美脲、格列齊特、克吡噻、甘布若、氯苯礦丙脲、杜拉唑胺及甲苯礦丁脲。

【0081】依據本揭示內容另一實施方式，藥學組合物更包含噻唑烷二酮，其可以是吡格列酮或羅格列酮。

【0082】某些藥學組合物可以單一單位劑型利用口服、黏膜(例如鼻腔、舌下、陰道、頰部或直腸)、非口服(例如皮下、靜脈內、推注、肌肉內或動脈內)或穿皮注射等方式投予至病患體內。例式性之劑型包含，但不限於：片劑(tablets)、囊片(caplets)、膠囊(capsules)，例如軟性彈性明膠膠囊)、扁囊劑(cachets)、含片(troches)、錠劑(lozenges)、分散劑(dispersions)、栓劑(suppositories)、軟膏(ointments)、泥罨劑(cataplasms 或 poultices)、糊劑(pastes)、粉末(powders)、敷料(dressings)、乳劑(creams)、硬膏劑(plasters)、溶液(solutions)、貼劑(patches)、氣霧劑(aerosols，例如鼻腔噴霧或吸入劑)、凝膠(gels)、包含懸浮液(例如水性或非水性之懸浮液、水包油乳化劑或油包水乳化劑)、溶液及酏劑(elixir)等適用於口服或黏膜投予的液體劑型、適用於非口服投予的液體劑型，以及可復溶為液體劑型並以非口服方式投予至病患體內之無菌固體(例如結晶體或非結晶體)。

【0083】劑型應符合投藥模式。舉例來說，口服投藥需要腸溶衣以保護本發明化合物，避免於胃腸道中進行降解。相似地，劑型可包含能促使活性成分傳遞至作用位置的成分。舉例來說，可將化合物製備為脂質體劑型，以避免受到降解酶的作用、增加於循環系統中的傳遞及有效穿透細胞膜傳遞至細胞內位置。

【0084】相似地，可加入增溶劑、乳化劑及表面活性劑，將溶解性較差的化合物製備為液體劑型(及適用於復溶之劑型)，其中例示性的表面活性劑包含，但不限於，環糊精

(cyclodextrins，例如 α -環糊精或 β -環糊精)、及非水性溶劑，例如，但不限於，乙醇、異丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苯甲醇、苯甲酸苄酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲醯胺(dimethyl formamide)、二甲基亞砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)、生物相容性油脂(例如棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄欖油、蓖麻油及芝麻油)、甘油、四氫呋喃醇(tetrahydrofurfuryl alcohol)、聚乙二醇、山梨醇酐的脂肪酸酯(fatty acid esters of sorbitan)及其混合物(例如 DMSO：玉米油)。

【0085】 劑型的組成、形狀及類型可隨著其用途不同而有所差異。舉例來說，相較於用以慢性治療一疾病的劑型，用以急性治療相同疾病的劑型可包含較多量之一或多種活性成分。相似地，相較於用以治療一疾病的口服劑型，用以治療相同疾病的非口服劑型可包含較少量之一或多種活性成分。本發明所屬技術領域具有通常知識者可輕易將本發明所包含之該些及其他特定劑型改變為其他劑型形式。例如可參照 Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing, Easton PA (1990)。

【0086】 4.1 口服劑型

【0087】 可將適用以口服投予之本發明藥學組合物配製為離散式劑型，例如，但不限於，片劑(例如可咀嚼之片劑)、囊片、膠囊及液體(例如調味糖漿)。該些劑型可包含預定劑量之活性成分，且可以本所屬技術領域具有通常知識者所熟知之藥學方法進行製備。例如可參照 Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing, Easton PA (1990)。

【0088】 可依據習知藥學化合物製備技術，將活性成分與

至少一種賦形劑混合，以製備典型的口服劑型。依據投藥所需的劑型，可採用不同形式的賦形劑。

【0089】 基於易於投藥的理由，片劑及膠囊為最具優勢性之口服單位劑型。若有需要，可以標準水性或非水性技術來包覆片劑。可利用習知藥學方法來製備該些劑型。一般來說，可將活性成分與液體載體、細分固體載體或二者均勻混合後，依據特定需求將產品製成特定形狀(若有需要)，以製備藥學組合物及劑型。可於固體劑型中加入崩解劑，以促使快速溶解。亦可加入潤滑劑以有效製備劑型(例如片劑)。

【0090】 4.2 非口服劑型

【0091】 可經由不同路徑投予非口服劑型，該些路徑包含，但不限於，皮下、靜脈內(包含推注)、肌肉內及動脈內注射。有鑑於該些投予方式通常會避開病患對抗污染物的天然防禦系統，非口服劑型應為無菌或在投予至病患體內前可經消毒滅菌處理的形式。例示性之非口服劑型包含，但不限於，可進行注射的溶液、可溶解或懸浮於一藥學上可接受之載體後進行注射的乾燥產物、可進行注射的懸浮液及乳化液。

【0092】 適用於製備非口服劑型的載體係為本所屬技術領域具有通常知識者所熟知的載體。例示性之載體包含，但不限於，水、水性載體(例如，但不限於，氯化鈉溶液、林格氏溶液(Ringer's solution)及右旋糖(Dextrose))、可與水互溶的載體(例如，但不限於，乙醇、聚乙二醇及聚丙二醇)，以及非水性載體(例如，但不限於，玉米油、棉籽油、花生油、芝麻油、油酸乙酯、肉豆蔻酸異丙酯(isopropyl myristate)及苯甲酸苄酯)。

【0093】 4.3 穿皮、局部或黏膜劑型

【0094】 穿皮、局部及黏膜劑型包含，但不限於，眼用溶液、噴霧、氣霧、乳膏、洗劑、軟膏、凝膠、溶液、乳劑、懸浮劑或其他本所屬技術領域具有通常知識者所熟知的劑型。例如可參照 Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th eds., Mack Publishing, Easton PA (1990)。穿皮劑型包含「貯存型」(reservoir type)或「基質型」(matrix type)貼片，其可貼附於皮膚一段時間，藉以使特定劑量之活性成分滲入體內。

【0095】 適用於製備穿皮、局部及黏膜劑型的賦形劑係為本所屬領域習知技藝人士所熟知，且可依據藥學組合物或劑型投予組織的不同而有所調整。

【0096】 依據治療組織的不同，可於投予本發明活性成分進行治療前、治療中或治療後，投予另一成分。舉例來說，可使用穿透增強劑(penetration enhancers)來輔助傳遞活性成分。

【0097】 可調整藥學組合物或劑型的 pH 值，或是欲投予藥學組合物或劑型之組織的 pH 值，以改善一或多種活性成分的傳遞功效。相似地，亦可調整溶劑載體的極性、離子強度或張力，以改善傳遞功效。可於藥學組合物或劑型中加入諸如硬脂酸鹽(stearates)等化合物，藉由改變一或多種活性成分的親水或親油特性來改善傳遞功效。在這個部分，硬脂酸鹽可作為劑型的脂質載體、乳化或表面活性劑，以及傳遞增強劑或穿透增強劑。可利用活性成分之不同鹽類、水合物或溶濟合物來進一步調整製成組合物的特性。

【0098】 5.套組

【0099】 本揭示內容亦包含用以治療或預防一個體之與高血糖相關之疾病及/或病症的套組。

【0100】 依據本揭示內容，該套組至少包含一第一容器，其係包含一降血糖藥劑；一第二容器，其係包含本發明式(I)化合物；以及一隨附於套組的說明書，據以指示使用者何如使用套組。說明書可以為手冊、磁帶、CD、VCD 或 DVD。例示性之容器包含，但不限於安瓶及試管等。

【0101】 下文提出多個實驗例來說明本發明的某些態樣，以利本發明所屬技術領域中具有通常知識者實作本發明，且不應將這些實驗例視為對本發明範圍的限制。據信習知技藝者在閱讀了此處提出的說明後，可在不需過度解讀的情形下，完整利用並實踐本發明。此處所引用的所有公開文獻，其全文皆視為本說明書的一部分。

實施例

【0102】材料及方法

【0103】細胞培養

【0104】 將 RINm5F 細胞及 H460 培養於包含 10% 經熱去活化之胎牛血清、每毫升 100 單位青黴素及每毫升 100 微克鏈黴素的使用建議細胞培養液中，並將細胞培養於 37°C、包含 5% 二氧化碳的潮溼環境中。

【0105】cAMP 試驗

【0106】 依據文獻(Cheng et al., J. Biol Chem. 290, 14302-14313 (2015))操作即時細胞內 cAMP 試驗(Real time intracellular cAMP assay)。簡單來說，將會穩定表現 RG-cAMP 蛋白之 RINm5F 細胞以每孔洞 3×10^4 細胞的密度種植於包含 0.15 毫升之 RPMI 1640 細胞培養液(包含每毫升 400 微克之 G418)的 96 孔洞盤中。隔天，以 0.1 毫升之包含 5 mM

HEPES 之不含酚紅(phenol red)的 MEM 洗滌細胞二次，再以相同細胞培養液培養 1 小時。將細胞培養液置換為 90 微升之包含每毫升 1 毫克 BSA 及 5 μ M DeepBlueC 的相同細胞培養液。立即將細胞培養盤置於配有雙色冷光偵測匣及 SoftMax Pro 6.2.2 的 SpectraMax 型偵測平台(SpectraMax Paradigm Detection Platform, Molecular Devices, Sunnyvale, CA)，藉由偵測 60-150 秒之介於 370-450 及 500-530 奈米的連續積分冷光值來得到 BRET 訊號的背景值。接著將 10 微升之 10 倍胜肽及脂質溶液以及每毫升 1 毫克之溶於包含 5 mM HEPES、不含酚紅之 MEM 的 BSA 加入各孔洞後，立即以相同設定檢測 BRET 訊號。BRET 比值是 90-300 秒時介於 500-530 奈米之光發散值與介於 370-450 奈米之光發散值的比值。cAMP 反應是以 cAMP 合成百分比來表示，其係以 $100 \times (0.01 \text{ nM GLP-1(7-36)-醯胺的 BRET 比值} - \text{有或無脂質之特定胜肽濃度的 BRET 比值}) / (0.01 \text{ nM 之 GLP-1(7-36)-醯胺的 BRET 比值} - 250 \text{ nM 之 GLP-1(7-36)-醯胺的 BRET 比值})$ 來計算。利用 Prism 軟體 5.0 (GraphPad, San Diego)以非線性迴歸將數據代入促效劑與反應公式，以得到劑量反應曲線、最大反應值及欲產生半最大反應(half-maximal response, EC₅₀)的勝肽濃度。除非另有所指，否則所有的 cAMP 反應數據皆取自三次獨立實驗的實驗結果(各獨立實驗皆為三重複)，並以平均值 \pm 標準差(means \pm S.E.)來表示。

【0107】受器胞飲作用試驗(receptor endocytosis assay)

【0108】會穩定表現 β -第二型抑制蛋白

(β -arrestin2):GFP 融合蛋白之 U2OS 骨肉瘤細胞株是購買自 Norak Biosciences。pcDNA3 GLP-1R-V2R 嵌合建構體包含 GLP-1R 的前 440 個胺基酸(Met-1 到 Thr-440)，其係與血管加壓素 V2 (vasopressin V2)受器的後 29 個胺基酸(Ala-343 到 Ser-371)融合，且以作為連接子的二個丙胺酸(alanine)相間隔。將 GLP-1R-V2R 嵌合建構體插入 pcDNA3 的 EcoRI 位置 (pcDNA3-GLP-1R-V2R)，藉由 CMV 啟動子來驅動嵌合蛋白的表現。將 pcDNA3-GLP-1R-V2R 轉染至會穩定表現 β -第二型抑制蛋白:GFP 的 U2OS 骨肉瘤細胞，以得到會同時穩定表現 GLP-1R-V2R 及 β -第二型抑制蛋白:GFP 的細胞株。投予每毫升 0.03 到 0.001 毫克的測試化合物，藉由細胞內受器胞飲作用的高內涵影像來確認各測試化合物對 GLP-1 相關之 GLP-1R 胞飲作用的增強活性。將會同時穩定表現 GLP-1R-V2R 及 β -第二型抑制蛋白:GFP 的 U2OS 細胞以三重複種植於 384 孔洞試驗微盤中，細胞密度為每孔洞 3×10^3 細胞。將 2.5 微升之包含特定濃度之測試化合物的 10 倍原液(各測試化合物是溶於包含濃度漸增 (0.12 到 3,000 nM) 之 GLP-1(7-36)-醯胺及每毫升 1 毫克 BSA 之不含酚紅的 MEM 中)加入試驗盤的各個孔洞中，其係包含 22.5 微升之包含每毫升 1 毫克 BSA 之不含酚紅的 MEM。將三試驗盤於室溫放置 60 分鐘，以 2% 甲醛固定細胞後，以每毫升 5 微克的 DNA 結合染劑 Hoechst 33342 染色細胞核 1 小時。以生理食鹽水洗滌培養盤二次後，密封培養盤，並立即使用分析。

【0109】 影像及分析

【0110】以 ImageXpress® 微系統 (ImageXpress® Micro System, Molecular Devices, Sunnyvale, CA) 之 XL 模式得到

影像，並利用 MetaXpress 高內涵影像擷取及分析軟體 (MetaXpress High-Content Image Acquisition and Analysis Software, Molecular Devices, Sunnyvale, CA) 以粒性及可變粒度分析模組 (granularity and variable grain analysis modules) 進行分析。藉由 DAPI (擷取以藍色螢光 Hoechst 33342 標記之細胞核影像) 及 FITC (擷取綠色螢光 GFP-β-抑制蛋白影像) 過濾器組及 Plan Fluor ELWD 物鏡，以 MetaXpress 擷取影像。以 20×0.45 數值孔徑的顯微物鏡拍攝，每孔洞拍攝二個視野。將光點數、光點覆蓋總面積、光點平均及總螢光強度及細胞核區域與螢光強度記錄至資料庫中。以 Acuity Xpress 排除高於閥值之異常細胞數據 (異常：平均細胞核染色強度 < 500 ；光點覆蓋區域的總螢光強度 < 150)，再以檢測方法進行篩選，以光點螢光總強度計算各細胞核中光點的平均數量。利用 Prism 軟體 5.0 以非線性迴歸將數據代入促效劑與反應公式，以得到劑量反應曲線、最大反應值及欲產生半最大反應的勝肽濃度。受器胞飲反應程度是以 750 MGLP-1(7-36)-醯胺產生的百分比來表示。

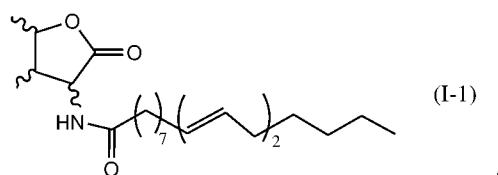
【0111】 細胞存活試驗

【0112】 以 PrestoBlue[®]試劑 (其會受到活細胞的還原環境修飾，而會由藍色轉變為紅色) 來分析不同化合物對 H460 細胞造成的細胞毒性。簡單來說，將 3,000 個 H460 細胞以 0.1 毫升之 RPMI 1640 細胞培養液種植於 96 孔洞盤中，在投予化合物前，先將其置於 37°C 培養 24 小時。投予化合物 72 小時後，依據使用操作說明，將 PrestoBlueTM 細胞活性試劑 (Invitrogen) 加入各孔洞中。將 96 孔洞盤置於避光、37°C 且包含 5% 二氧化碳的環境中反應 10 分鐘，以自動化之酵素連結免疫吸附法讀盤

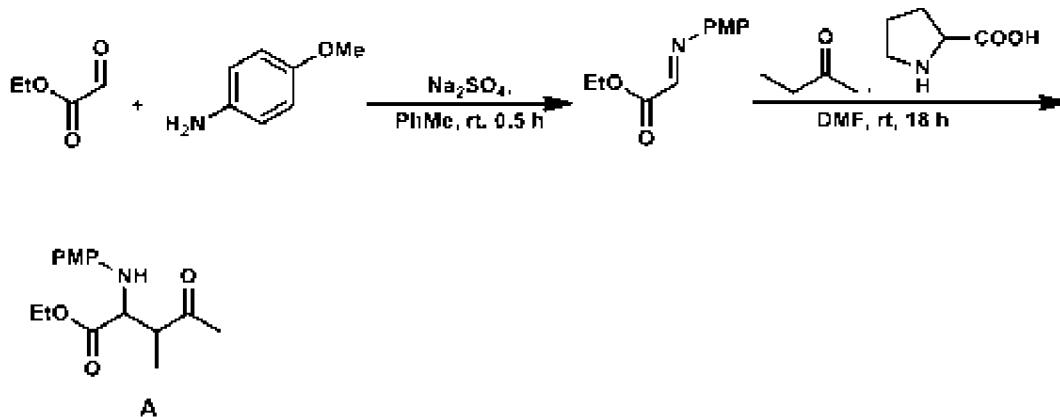
器(automatic enzyme-linked immunosorbent assay plate reader, Molecular Devices, Union City, CA)讀取所有孔洞於 570- 及 600- 奈米波長的吸光值。依據使用操作說法，標準化及校正原始數據。所有的檢體檢測皆為三重複，並重複三次檢測試驗。以下列公式計算細胞存活：100 的百分比 \times (投予化合物之細胞的平均校正值)/(未處理之細胞的平均校正值)。

【0113】 實施例 1 製備例示性之式(I)化合物

【0114】 1.1 合成式(I-1)之化合物



【0115】 步驟 1：

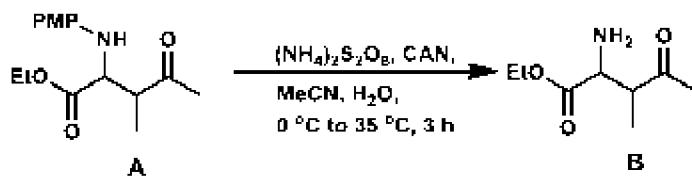


【0116】 乙基 2-(4-甲氧苯基胺基)-3-甲基-4-氧化戊酸甲酯 (Ethyl 2-(4-Methoxyphenylamino)-3-methyl-4-oxopentanoate (A))

(Ethy 2-(4-Methoxyphenylamino)-3-methyl-4-oxopentanoate (A))：將 Na_2SO_4 (10.7 克，75.0 毫莫耳)加入溶於甲苯(PhMe，30.0 毫升)之 4-氨基苯甲醚(4-anisidine，3.69 克，30.0 毫莫耳)的攪拌溶液中，再於 10 到 20 分鐘內加入乙醛酸乙酯(ethyl glyoxalate，6.13 毫升，30.0 毫莫耳，50% 於甲苯)。將反應混合物於室溫攪拌 30 分鐘。

待起始材料反應完成後，以矽藻土(Celite)過濾 Na_2SO_4 ，於減壓環境中濃縮過濾物以製備可立即使用於下一個步驟而不需進一步純化的棕色油。於室溫將溶於無水二甲基甲醯胺(dry dimethylformamide (DMF)，15.5 毫升)之棕色油溶液以超過30分鐘的速度緩慢加入溶於無水DMF(46.6毫升)之丁酮(59.0毫升，660毫莫耳)及脯胺酸(1.21克，10.5毫莫耳)的攪拌溶液中，再將混合物於室溫持續攪拌12小時。待起始材料反應完成後，以篩網過濾反應混合物，並於減壓環境中進行濃縮。製得的黃色油可直接使用於下一反應步驟，而不需進一步純化。取一小部分的混合物進行管柱層析(矽膠，乙酸乙酯/正己烷=1/4)及HPLC分析以確認化合物(A)。 $R_f = 0.25$ (乙酸乙酯/正己烷=1/5，紫外光)；IR (film) $\nu = 3379, 2981, 2936, 1729, 1713, 1514, 1235, 1200, 1180, 1035, 823 \text{ cm}^{-1}$ ； ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.77 (d, $J = 8.8 \text{ Hz}$, 2 H), 6.66 (d, $J = 8.8 \text{ Hz}$, 2 H), 4.31 (d, $J = 5.8 \text{ Hz}$, 1 H), 4.19–4.13 (m, 2 H), 3.74 (s, 3 H), 3.03 (m, 1 H), 2.23 (s, 3 H), 1.25 (d, $J = 7.1 \text{ Hz}$, 3 H), 1.22 (t, $J = 7.2$, 3 H)； ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 209.3, 172.9, 153.3, 140.9, 116.0, 115.0, 61.5, 59.8, 55.8, 49.4, 28.6, 14.3, 12.4。

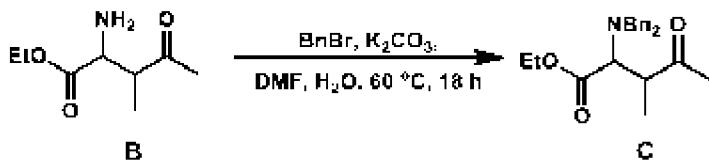
【0117】步驟 2：



【0118】乙 基-2-胺 基-3-甲 基-4-氧 代 戊 酸 甲 酯

(Ethyl-2-Amino-3-methyl-4-oxopentanoate) (B)：於 0°C，將溶於水(5.8 毫升)之 $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ (913 毫克，4.0 毫莫耳)及硝酸鉑銨(cerium ammonium nitrate, CAN, 110 毫克，0.2 毫莫耳)溶液緩慢地加入溶於 1.0 毫升乙腈(acetonitrile, MeCN)之步驟 1 化合物(A) (547 毫克，2.0 毫莫耳)的攪拌溶液中。將製得的混合物加熱至 35°C，並持續攪拌 3 小時。一旦反應完成，以水(5.8 毫升)稀釋反應混合物，並以 CH_2Cl_2 (5 毫升 × 4)洗滌。以 1 M Na_2CO_3 水溶液將水層鹼化至 pH ~ 8，再以 CH_2Cl_2 (15 毫升 × 5)進行萃取。以 Na_2SO_4 乾燥經合併的有機層，並於減壓環境中進行濃縮，以製得一包含化合物(B) (229 毫克)的棕色液體。粗製混合物可立即使用於下一反應步驟，而不需進一步純化。確認化合物(B)： $R_f = 0.40$ (甲醇/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2 = 1/10$ ，茚三酮(ninhydrin))； ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.19–4.13 (m, 2 H), 3.86 (d, $J = 4.8$ Hz, 1 H), 2.91 (m, 1 H), 2.19 (s, 3 H), 1.25 (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H), 1.11 (d, $J = 7.2$ Hz, 3 H)； ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 209.9, 174.3, 61.3, 55.4, 49.8, 28.4, 14.2, 11.0；HRMS (APCI-TOF) m/z [M + H]⁺ calcd. for $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_3\text{N}$ 174.1130, found 174.1127。

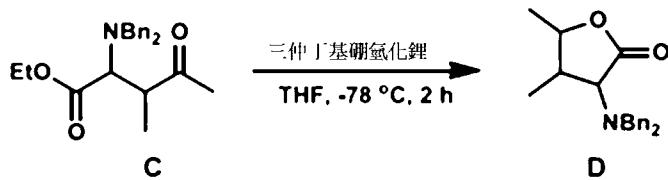
【0119】步驟 3：



【0120】乙基 2-(二苄胺基)-3-甲基-4-氧化戊酸甲酯(Ethyl 2-(Dibenzylamino)-3-methyl-4-oxopentanoate) (C)：將步驟 2 之粗製混合物-化合物(B) (98 毫克，0.57 毫莫耳)及 K_2CO_3 (235 毫克，1.7 毫莫耳)溶於 DMF/水(1.1 毫升/0.11

毫升)以製備一懸浮液，於室溫持續攪拌懸浮液 15 分鐘，再滴入溴化苯(benzyl bromide, $BnBr$, 0.34 毫升, 2.8 毫莫耳)。於 $60^{\circ}C$ 持續攪拌 18 小時後，加入水(5 毫升)，之後以乙酸乙酯(10 毫升 $\times 3$)萃取反應混合物。以 Na_2SO_4 乾燥經合併的有機層，並於減壓環境中進行濃縮。以快速管柱層析法利用矽膠(乙酸乙酯/正己烷 = 1/15)純化殘基以製得一白色固體，即化合物(C)(120 毫克，0.34 毫莫耳，60%)。 $R_f = 0.45$ (乙酸乙酯/正己烷 = 1/5，紫外光)；mp 58.8–62.3 °C；IR (film) $\nu = 3062, 3029, 2977, 2929, 2852, 1723, 1602, 1495, 1454, 1370, 1201, 1169, 1026, 961, 748, 699\text{ cm}^{-1}$ ； 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.37–7.22 (m, 10 H), 4.34–4.16 (m, 2 H), 3.86 (d, $J = 13.5$ Hz, 2 H), 3.49 (d, $J = 10.9$ Hz, 1 H), 3.45 (d, $J = 13.4$ Hz, 2 H), 3.08 (dt, $J = 10.9, 7.2$ Hz, 1 H), 2.15 (s, 3 H), 1.38 (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H), 1.10 (d, $J = 7.3$ Hz, 3 H)； ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 211.5, 171.9, 138.9, 129.2, 128.4, 127.3, 62.6, 60.5, 55.2, 46.0, 29.2, 14.7, 14.5；HRMS (ESI-TOF) m/z [M + H]⁺ calcd. for $C_{22}H_{28}O_3N$ 354.2069, found 354.2061。

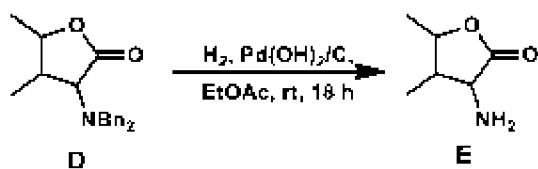
【0121】步驟 4：



【0122】3-(二苄胺基)-4,5-二甲基二氫呋喃-2(3H)-一(3-(Dibenzylamino)-4,5-dimethyldihydrofuran-2(3H)-one) (D)：於 $-78^{\circ}C$ 的氮氣中，

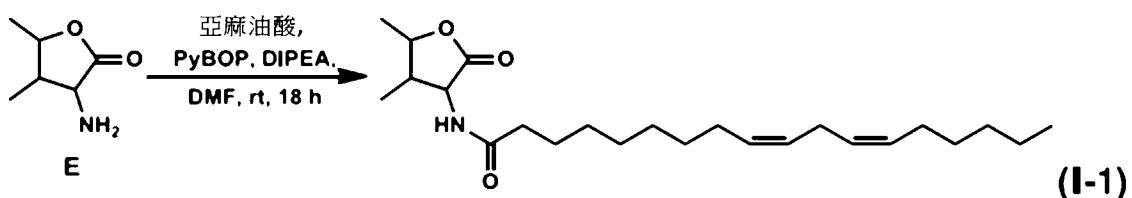
將三仲丁基硼氫化鋰(L-selectride) [0.54 毫升，溶於四氫呋喃(tetrahydrofuran, THF)，濃度為 1.0 M，0.54 毫莫耳]加入溶於無水 THF (4.9 毫升)之化合物(C) (173 毫克，0.49 毫莫耳)的攪拌溶液中。於-78°C 攪拌 2 小時後，將反應混合物加入一劇烈攪拌之乙酸乙酯/1 M HCl (10.0 毫升/10.0 毫升)混合液中。以乙酸乙酯 (10 毫升×3)萃取水層。以水(5 毫升×3–5)洗滌經合併的有機層，直到 pH ~ 6，接著以鹽水洗滌後，利用 Na₂SO₄ 乾燥，並於減壓環境下進行濃縮。以快速管柱層析法利用矽膠(乙酸乙酯/正己烷 = 1/20，紫外光)純化殘基以製得一白色固體，即化合物(D)(143 毫克，0.46 毫莫耳，94%)。R_f = 0.33 (乙酸乙酯/正己烷 = 1/10，紫外光)；mp 66.5–69.7 °C；IR (film) ν = 3062, 3028, 2972, 2928, 2850, 1769, 1601, 1493, 1454, 1385, 1325, 1236, 1185, 1171, 1141, 1050, 995, 953, 745, 699 cm⁻¹；¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.42–7.40 (m, 4 H), 7.35–7.31 (m, 4 H), 7.28–7.23 (m, 2 H), 4.00 (d, J = 13.8 Hz, 2 H), 3.91–3.83 (m, 3 H), 3.29 (d, J = 11.8 Hz, 1 H), 2.05 (m, 1 H), 1.35 (d, J = 6.1 Hz, 3 H), 1.02 (d, J = 6.5 Hz, 3 H)；¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 175.3, 139.4, 128.8, 128.4, 127.3, 79.6, 65.4, 54.9, 42.1, 18.9, 14.1；HRMS (ESI-TOF) m/z [M + Na]⁺ calcd. for C₂₀H₂₃O₂NNa 332.1626, found 332.1623。

【0123】步驟 5：



**【0124】 3-胺 基-4,5-二 甲 基 二 氢 呋 喹-2(3H)-一
(3-Amino-4,5-dimethyltetrahydrofuran-2(3H)-one) (E)：**於氮氣中，將 $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (6.2 毫克，20%)加入溶於乙酸乙酯 (4.0 毫升)之化合物(D) (61.9 毫克，0.20 毫莫耳)的攪拌溶液中，再於室溫中以氫氣(1 大氣壓，氣球)沖洗 1 小時。於室溫、包含氫氣的環境中攪拌 18 小時後，以矽藻土過濾反應混合物，並於減壓環境下進行濃縮，不需進一步純化即可製得一無色油，即化合物(E)(25.8 毫克，0.20 毫莫耳，>99%)。 $R_f = 0.4$ (甲醇/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2 = 1/10$ ，茚三酮)；IR (film) $\nu = 3374, 3310, 2973, 2927, 2878, 2852, 1771, 1456, 1389, 1330, 1192, 1145, 1044, 983, 946, 918, 735, 702 \text{ cm}^{-1}$ ； ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.05 (dq, $J = 9.9, 6.1 \text{ Hz}$, 1 H), 3.25 (d, $J = 5.2 \text{ Hz}$, 1 H), 1.80 (m, 1 H), 1.73 (s, 2 H), 1.42 (d, $J = 6.2 \text{ Hz}$, 3 H), 1.21 (d, $J = 6.6 \text{ Hz}$, 3 H)； ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 178.2, 79.8, 58.9, 47.5, 18.6, 14.2；HRMS (EI+) m/z M + calcd. for $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_2\text{N}$ 129.0790, found 129.0791。

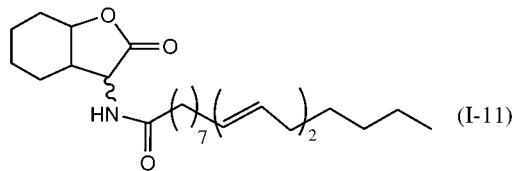
【0125】 步驟 6：



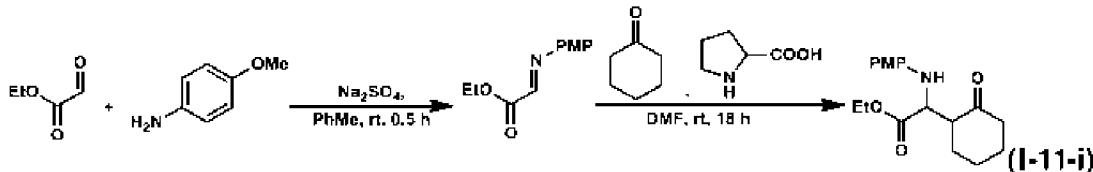
【0126】 ($9\text{Z},12\text{Z}$)-N-(4,5-二 甲 基-2-氧 代 四 氢 呋 喹-3-基)十 八 碳-9,12-二 醤 (($9\text{Z},12\text{Z}$)-N-(4,5-Dimethyl-2-oxotetrahydrofuran-3-yl) octadeca-9,12-dienamide) (I-1)：於室溫、包含氮氣的環境中，將六氟磷酸苯並三唑-1-基-氨基三吡咯烷基磷

(Benzotriazol-1-oxytritypyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate, PyBOP, 62.5 毫克, 0.12 毫莫耳)加入溶於無水 DMF (1.0 毫升)之化合物 (E) (12.9 毫克, 0.10 毫莫耳)及亞麻油酸(linoleic acid, 31 毫升, 0.10 毫莫耳)的攪拌溶液中, 再以新鮮蒸餾的 N,N-二異丙基乙胺 (N,N-diisopropylethylamine, DIPEA, 21 毫升, 0.12 毫莫耳)進行處理。持續攪拌反應混合物 18 小時。待起始材料反應完成後, 以乙酸乙酯(10 毫升)稀釋反應混合物, 再以水(5 毫升)及鹽水(5 毫升)洗滌。以 Na_2SO_4 乾燥有機層, 再於減壓環境中進行濃縮。以快速管柱層析法利用矽膠(乙酸乙酯/正己烷 = 1/4)純化殘基以製得一無色油, 即化合物(I-1)(36.9 毫克, 0.094 毫莫耳, 94%)。 $R_f = 0.28$ [乙酸乙酯/正己烷 = 1/2, I2]; IR (film) $\nu = 3303, 3009, 2957, 2927, 2855, 1782, 1657, 1650, 1533, 1461, 1454, 1389, 1187, 1047, 908, 723 \text{ cm}^{-1}$; $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ 5.39–5.29 (m, 4 H), 4.38 (d, $J = 11.8 \text{ Hz}$, 1 H), 4.19 (dt, $J = 9.8, 6.1 \text{ Hz}$, 1 H), 2.78 (t, $J = 6.5 \text{ Hz}$, 2 H), 2.26 (t, $J = 7.5 \text{ Hz}$, 2 H), 2.17–2.04 (m, 5 H), 1.66–1.60 (m, 2 H), 1.41 (d, $J = 6.1 \text{ Hz}$, 3 H), 1.40–1.28 (m, 14 H), 1.13 (d, $J = 6.6 \text{ Hz}$, 3 H), 0.91 (t, $J = 6.9 \text{ Hz}$, 3 H); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ 176.5, 176.2, 130.9, 130.9, 129.1, 129.1, 81.4, 57.5, 45.6, 36.9, 32.7, 30.7, 30.5, 30.3, 30.3, 30.2, 28.2, 26.8, 26.5, 23.6, 18.8, 14.4, 14.0; HRMS (MALDI-TOF) m/z [M + Na]⁺ calcd. for $\text{C}_{24}\text{H}_{41}\text{O}_3\text{NNa}$ 414.2979, found 414.2963。

【0127】 1.2 合成式(I-11)之化合物



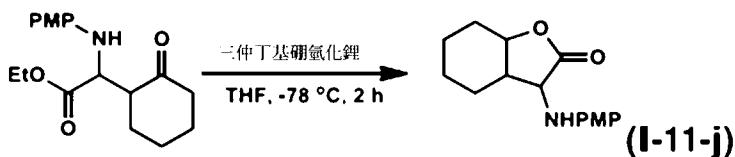
【0128】步驟 1：



【0129】乙基 2-(4-甲氧苯基氨基)-2-(2'-氧化環己-1'-基)醋酸鹽 (Ethyl 2-(4-Methoxyphenylamino)-2-(2'-oxocyclohex-1'-yl)acetate) (I-11-i)：將 Na_2SO_4 (1.77 克，12.5 毫莫耳) 加至溶於甲苯(PhMe，5.0 毫升)之 4-氨基苯甲醚(616 毫克，5.0 毫莫耳)的攪拌溶液中，之後於 10 到 20 分鐘內加入乙醛酸乙酯(1.02 毫升，5.0 毫莫耳，50% 於甲苯)。於室溫持續攪拌反應混合物 30 分鐘。待起始材料反應完成後，以矽藻土過濾 Na_2SO_4 ，於減壓環境中濃縮過濾物以製備可立即使用於下一個步驟而不需進一步純化的棕色油。於室溫將溶於無水二甲基甲醯胺(dimethylformamide (DMF)，2.6 毫升)之棕色油溶液以超過 30 分鐘的速度緩慢加入溶於無水 DMF (7.8 毫升)之環己酮(8.4 毫升，110 毫莫耳)及脯氨酸(201 毫克，1.75 毫莫耳)的攪拌溶液中，再將混合物於室溫持續攪拌 12 小時。待起始材料反應完成後，以篩網過濾反應混合物，並於減壓環境中進行濃縮。以快速管柱層析法利用矽膠(乙酸乙酯/正己烷 = 1/5)純化殘基以製備一橘色固體，即化合物 (I-11-i)(1.24 克，毫莫耳，81%)。Rf = 0.45 (乙酸乙酯/正己烷 = 1/2，紫外光)； ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.78–6.71 (m, 4 H), 4.23 (d, J = 4.9 Hz, 1 H), 4.19–

4.10 (m, 2 H), 3.90 (br-s, 1 H), 3.73 (s, 3 H), 2.80 (m, 1 H), 2.48–2.44 (m, 1 H), 2.35–2.26 (m, 1 H), 2.22–2.04 (m, 1 H), 1.96–1.93 (m, 1 H), 1.86–1.67 (m, 4 H), 1.21 (t, $J = 7.2$ Hz, 3 H) ; ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 210.1, 173.5, 153.2, 141.3, 116.2, 114.9, 61.2, 58.2, 55.8, 53.7, 41.9, 29.7, 26.9, 24.9, 14.2.

【0130】步驟 2：

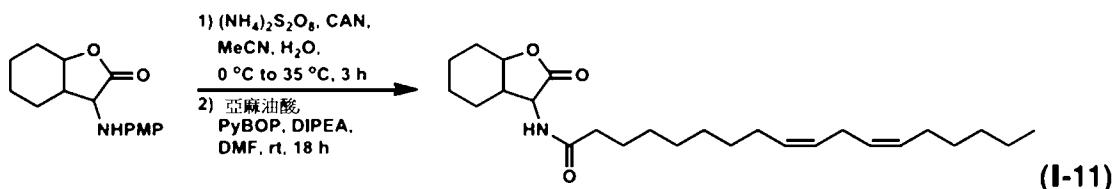


【0131】3-(4-甲氧苯基胺基)六氢苯并呋喃-2(3H)-一 (3-(4-Methoxyphenylamino)

hexahydrobenzofuran-2(3H)-one (I-11-j)：於 -78°C 的氮氣中，將三仲丁基硼氫化鋰[0.55 毫升，溶於四氫呋喃(tetrahydrofuran, THF)，濃度為1.0 M，0.55毫莫耳]加入溶於無水THF(5.0毫升)之化合物(I-11-i)(153毫克，0.50毫莫耳)的攪拌溶液中。於 -78°C 攪拌2小時後，將反應混合物加入一劇烈攪拌之乙酸乙酯/1 M HCl(10.0毫升/10.0毫升)混合液中。以乙酸乙酯(10毫升 \times 3)萃取水層。以水(5毫升 \times 3-5)洗滌經合併的有機層，直到pH~6，接著以鹽水洗滌後，利用 Na_2SO_4 乾燥，並於減壓環境下進行濃縮。以快速管柱層析法利用矽膠(乙酸乙酯/正己烷=1/4，紫外光)純化殘基以製備一黃色油，即化合物(I-11-j)(87毫克，0.33毫莫耳，67%)。 $R_f = 0.43$ (乙酸乙酯/正己烷=1/2，紫外光)； ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.78 (d, $J = 8.8$ Hz, 2 H), 6.68 (d, $J = 8.9$ Hz, 2 H), 4.59 (m, 1 H), 3.96 (d, $J = 8.4$ Hz, 1 H), 3.74 (s, 3 H), 2.44 (m, 1 H),

2.04–1.94 (m, 1 H), 1.77–1.60 (m, 4 H), 1.55–1.48 (m, 2 H), 1.40–1.30 (m, 1 H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 176.7, 153.3, 140.9, 115.6, 115.0, 77.0, 57.9, 55.8, 41.8, 29.0, 24.6, 21.5, 21.4。

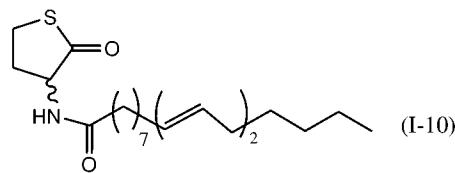
【0132】步驟 3：



【0133】 $(9\text{Z},12\text{Z})\text{-N-(2-氧化八氢苯并呋喃-3-基)十八碳-9,12-二-鹽 腺 } ((9\text{Z},12\text{Z})\text{-N-(2-Oxo octahydrobenzofuran-3-yl)octadeca-9,12-dienamide})$ (I-11)：於 0°C ，將溶於水(0.77 毫升)之 $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ (69.9 毫克，0.31 毫莫耳)及硝酸鈰銨(cerium ammonium nitrate, CAN, 8.4 毫克，0.015 毫莫耳)溶液緩慢地加入溶於0.6 毫升乙腈(acetonitrile, MeCN))之化合物(I-11-j) (40.0 毫克，0.15 毫莫耳)的攪拌溶液中。將製得的混合物加熱至 35°C ，並持續攪拌3小時。一旦反應完成，以水(2毫升)稀釋反應混合物，並以 CH_2Cl_2 (2毫升×4)洗滌。以1M Na_2CO_3 水溶液將水層鹼化至pH ~ 8，再以 CH_2Cl_2 (5毫升×5)進行萃取。以 Na_2SO_4 乾燥經合併的有機層，並於減壓環境中進行濃縮，以製得一棕色液體之粗製產物(13.1 毫克，~0.084 毫莫耳，~55%)。將 PyBOP (52.7 毫克，0.10 毫莫耳)加入溶於無水DMF (0.84 毫升)之粗製產物(13.1 毫克，~0.084 毫莫耳)及亞麻油酸 (26 毫升，0.084 毫莫耳)的攪拌溶液中，再於室溫、包含氮氣的環境中，以新鮮蒸餾的N,N-二異丙基乙胺(N,N-diisopropylethylamine, DIPEA，

18 毫升，0.10 毫莫耳)進行處理。持續攪拌反應混合物 18 小時。待起始材料反應完成後，以乙酸乙酯(10 毫升)稀釋反應混合物，再以水(5 毫升)及鹽水(5 毫升)洗滌。以 Na_2SO_4 乾燥有機層，再於減壓環境中進行濃縮。以快速管柱層析法利用矽膠(乙酸乙酯/正己烷 = 1/4)純化殘基以製備一無色油，即化合物(I-11)(29.3 毫克，0.070 毫莫耳，83%)。 $R_f = 0.4$ (乙酸乙酯/正己烷 = 1/2, I2)；IR (film) $\nu = 3296, 3009, 2927, 2855, 1785, 1657, 1650, 1547, 1536, 1463, 1453, 1175, 1126, 1015, 725 \text{ cm}^{-1}$ ； ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 6.01 (d, $J = 8.0 \text{ Hz}$, 1 H), 5.40–5.29 (m, 4 H), 4.92 (dd, $J = 8.1, 12.3 \text{ Hz}$, 1 H), 4.51 (dt, $J = 10.7, 6.7 \text{ Hz}$, 1 H), 2.76 (t, $J = 6.7 \text{ Hz}$, 2 H), 2.48–2.43 (m, 1 H), 2.29–2.21 (m, 2 H), 2.21–2.17 (m, 1 H), 2.06–2.01 (m, 4 H), 1.92–1.89 (m, 1 H), 1.81–1.78 (m, 1 H), 1.71–1.52 (m, 5 H), 1.44–1.19 (m, 16 H), 0.88 (t, $J = 6.8 \text{ Hz}$, 3 H)； ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 175.9, 174.1, 130.3, 130.1, 128.1, 128.0, 77.3, 49.7, 42.3, 36.4, 31.6, 29.7, 29.4, 29.4, 29.3, 29.2, 27.3, 25.7, 25.5, 24.2, 22.7, 22.5, 20.0；HRMS (MALDI-TOF) m/z [M + Na]⁺ calcd. for $\text{C}_{26}\text{H}_{43}\text{O}_3\text{NNa}$ 440.3135, found 440.3145。

【0134】 1.3 合成例示性之式(I-10)化合物



【0135】 於室溫、包含氮氣的環境中，將 PyBOP (122 毫克，0.23 毫莫耳)加入溶於無水 DMF (2.0 毫升)之起始材料 (I-10-i) (30.0 毫克，0.20 毫莫耳)、亞麻油酸(61 毫升，0.20 毫

莫耳)及新鮮蒸餾的 DIPEA (75 毫升，0.43 毫莫耳)的攪拌溶液中。持續攪拌反應混合物 18 小時。待起始材料反應完成後，以乙酸乙酯(10 毫升)稀釋反應混合物，再以水(5 毫升)及鹽水(5 毫升)洗滌。以 Na_2SO_4 乾燥有機層，再於減壓環境中進行濃縮。以快速管柱層析法利用矽膠(乙酸乙酯/正己烷 = 1/2)純化殘基以製備一無色固體，即化合物(I-10)(71.0 毫克，0.19 毫莫耳，96%)。
 $R_f = 0.45$ (乙酸乙酯/正己烷 = 1/1, I2)；IR (film) $\nu = 3283, 3008, 2926, 2854, 1711, 1650, 1536, 1462, 1275, 1055, 1019, 916, 724 \text{ cm}^{-1}$ ； ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 5.90 (d, $J = 4.7 \text{ Hz}$, 1 H), 5.41–5.29 (m, 4 H), 4.50 (m, 1 H), 3.36 (dt, $J = 5.1, 11.8 \text{ Hz}$, 1 H), 3.25 (dd, $J = 6.8, 11.3 \text{ Hz}$, 1 H), 2.97 (m, 1 H), 2.76 (t, $J = 6.6 \text{ Hz}$, 2 H), 2.23 (dt, $J = 2.3, 7.6 \text{ Hz}$, 2 H), 2.04 (m, 4 H), 1.90 (m, 1 H), 1.65–1.60 (m, 2 H), 1.38–1.25 (m, 14 H), 0.88 (t, $J = 6.8 \text{ Hz}$, 3 H)； ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 205.8, 173.8, 130.3, 130.1, 128.2, 128.0, 59.6, 36.5, 32.3, 31.6, 29.7, 29.4, 29.3, 29.3, 29.2, 27.7, 27.3, 25.7, 25.6, 22.7, 14.2；HRMS (MALDI-TOF) m/z [M + H]⁺ calcd. for $\text{C}_{22}\text{H}_{38}\text{O}_2\text{NS}$ 380.2614, found 380.2614。

【0136】 實施例 2 式(I)化合物可增加 GLP-1 誘發的 cAMP 合成量

【0137】 本實施例將探討於 RINm5F 細胞中，包含化合物 1 (或 N55)、12、14、18 及化合物 16 及 17 之外消旋混合物等一列系式(I)化合物對 GLP-1 誘發 cAMP 合成的影響，圖 1A 到 1E 開述該些結果。結果指出，各測試化合物可以提高 GLP-1R 訊息傳遞(即 GLP-1 誘發 cAMP 合成)，且其 cAMP 增加量與使

用的劑量成正相關(圖 1A 到 1E)。

【0138】 實施例 3 確認化合物 1 (N55)

【0139】 3.1 化合物 1 可增加 GLP-1R 訊息傳遞量

【0140】 在實施例 2 測試的式(I)化合物中，化合物 1 (或 N55)看似最具增強功效，因此本實施例挑選其進行進一步的研究，結果闡述於圖 2 及 3。

【0141】 GLP-1 可以劑量相關且飽和的方式誘發 cAMP 合成，其 EC₅₀ 為 2.4 nM (圖 2A)。在化合物 1 的濃度由 0.8 μM 增加至 26 μM 時，化合物 1 可藉由將劑量反應曲線左移> 10 倍及減少 GLP-1 之 EC₅₀ 約 40 倍，來增加 cAMP 的合成(圖 2A)。化合物 1 可以劑量相關且飽和的方式增加 GLP-1 的效力，其 EC₅₀ 為 3.7 μM (圖 2B)。

【0142】 為進一步確認化合物 1 的作用，故進行 GLP-1 受器胞飲作用試驗，結果闡述於圖 3。

【0143】 實驗結果發現，濃度 7.7 μM 之化合物 1 可將 GLP-1 滴定的劑量反應曲線顯著地左移，並將 EC₅₀ 減少至 0.27 nM (圖 3A)。化合物 1 (N55)滴定對由 1 nM GLP-1 誘發之 GLP-1R 胞飲作用的功效顯示，化合物 1 (N55)可以劑量相關且飽和的方式增加 GLP-1 刺激受器胞飲作用(圖 3B)。能增加 1 nM GLP-1 誘發之受器胞飲作用的 EC₅₀ 為 0.87 μM。

【0144】 3.2 化合物 1 可增加 GLP-1 誘發 RINm5F 細胞釋放胰島素

【0145】 有鑑於化合物 1 可藉由 cAMP 合成來增加 GLP-1 的效力，本實施例將研究其於促進胰臟 β 細胞株 RINm5F 細胞釋放胰島素的功效。

【0146】 實驗結果發現，2 nM GLP-1 可穩定刺激 RINm5F 細胞釋放少量胰島素；即使化合物 1 本身不會誘發任何胰島素的釋放，加入 7.7 μM 的化合物 1 却能顯著地增加 GLP-1 誘發的反應(圖 4)。基於氟斯柯林(Forskolin)亦能造成 cAMP 合成，進而促使 RINm5F 細胞釋放胰島素，因此在本實施例中是利用氟斯柯林作為正對照組。

【0147】 3.3 比對化合物 1 及其他脂肪酸對 GLP-1 誘發 cAMP 合成的功效

【0148】 已知不同形式的脂肪酸可增加 GLP-1 誘發 cAMP 合成作用，因此，本實施例比對化合物 1 及該些脂肪酸的功效，結果總結於表 1。

【0149】 在表 1 測試的 30 種脂肪酸中，僅有 3 種(即二十碳五烯乙醇胺(eicosanpentaenoyl ethanolamide)、亞麻油酸乙醇胺(linoleoyl ethanolamide)及 α-次亞麻油酸乙醇胺(α-linolenoyl ethanolamide))具有與化合物 1 相當的活性(即約化合物 1 之 90% 的活性)；其餘多數脂肪酸的功效皆遠低於化合物 1 的功效(即化合物 1 之 10 到 35% 的活性)。

【0150】 表 1

化合物名稱	化合物 1 之活性百分比
化合物 1 (N55)	100
與 9(E), 11(E)連結的亞麻油酸	30
與 10(E), 12(Z)連結的亞麻油酸	30
反式亞麻酸(Linoelaidic acid)	30

二十碳五烯酸(Eicosapentaenoic acid)	60
二十二碳六烯酸(Docosahexaenoic acid)	60
α -次亞麻油酸(α -linolenic acid)	15
與 9(Z), 11(E)連結的亞麻油酸	25
反亞油酸甲酯(Methyl linoleaidate)	30
γ -亞麻油酸甲酯 (γ -linoleic acid methyl ester)	25
次亞麻油酸甲酯 (linolenic acid methyl ester)	15
亞麻油酸甲酯 (linoleic acid methyl ester)	30
11-反式-十八碳烯酸 (11-trans-octadecenoic acid)	10
順式-十八碳烯酸(Cis-octadecenoic acid)	25
油酸(Oleic acid)	35
甲基-順式-順式-9,12-十八碳二烯酸鹽(Methyl cis,cis-9,12-octadecadienoate)	15
甲基- γ -次亞麻油酸鹽 (Methyl γ -linolenate)	20
二十二碳六烯乙醇胺(Docosahexaenoyl ethanolamide)	20
二十二碳六烯血清素 (Docosahexaenoyl serotonin)	15
二十二碳六烯甘氨酸 (Docosahexaenoyl glycine)	15

1-一亞麻油酸甘油脂 (1-monolinolein)	80
乙基亞麻油酸鹽 (Ethyl linoleate)	60
二十碳五烯酸乙醇胺 (Eicosapentaenoyl ethanolamide)	90
二十碳五烯酸血清素 (Eicosapentaenoyl serotonin)	20
亞麻油酸甘胺酸 (Linoleoyl glycine)	80
N-(α-次亞麻油酸)酪胺酸 (N-(α-linolenoyl) tyrosine)	70
亞麻油酸乙醇胺	90
α-次亞麻油酸乙醇胺	90
4-羥基異白胺酸 (4-hydroxyisoleucine)	<10

【0151】3.4 化合物 1 不影響細胞存活率

【0152】本實施例藉由比對化合物 1 與其他藥劑(例如類內生性大麻脂質(endocannabinoid lipid)及抗癌藥劑)來了解化合物 1 對細胞存活率的影響，結果顯示於圖 5。

【0153】實驗結果發現，在 0.78 到 100 μM 的測試濃度中，化合物 1、2-油酸甘油酯(2-oleoylglycerol)及油酸乙醇胺(oleoylethanolamide)不會產生可偵測的細胞毒性，然而，50 μM 的順鉑(cisplatin)即會造成細胞死亡，其 IC₅₀ 為 6.7 μM (圖 5)。

【0154】 雖然上文實施方式中揭露了本發明的具體實施例，然其並非用以限定本發明，本發明所屬技術領域中具有通常知識者，在不悖離本發明之原理與精神的情形下，當可對其進行各種更動與修飾，因此本發明之保護範圍當以附隨申請專利範圍所界定者為準。

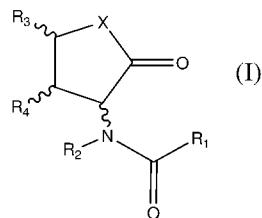
【符號說明】

【0155】 無

民國 106 年 05 月 16 日修正

【發明申請專利範圍】

【第 1 項】 一種如式(I)之化合物，



其中，

(1) X 是 S，

R₁ 是

R₂、R₃ 及 R₄ 分別是 H，其中

n 是 7，且 m 是 2；或是

(2) X 是 O，

R₁ 是

R₂ 是 H，且

R₃ 及 R₄ 分別是 CH₃，或是 R₃ 及 R₄ 可共同形

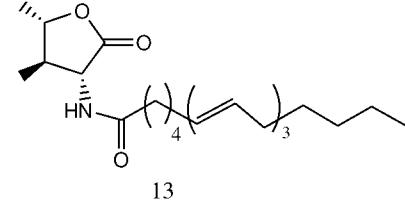
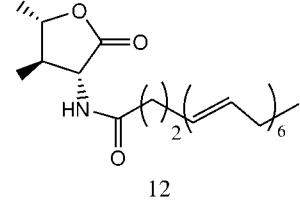
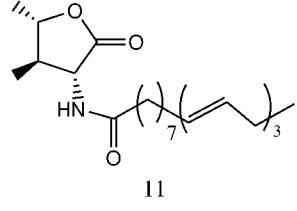
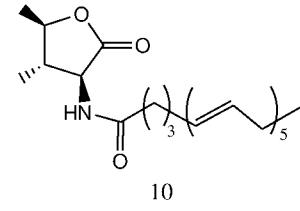
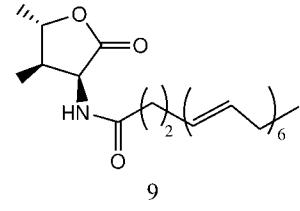
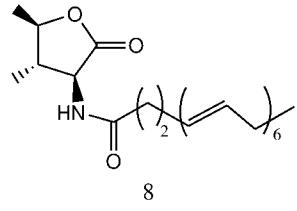
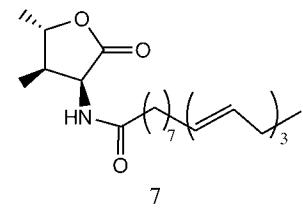
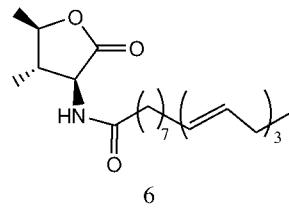
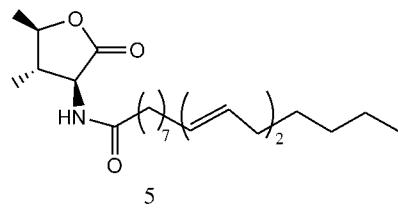
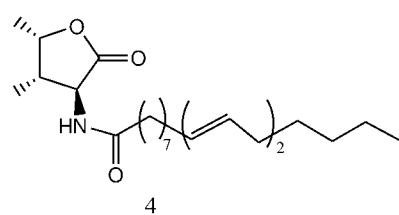
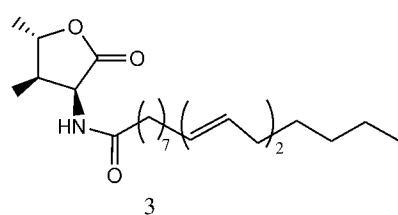
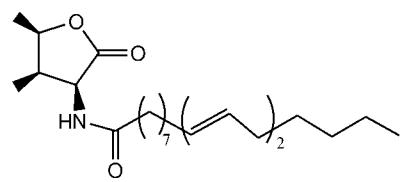
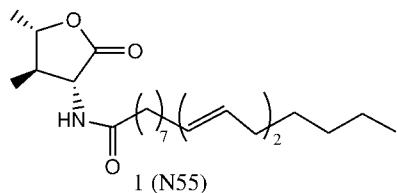
成一包含非必要取代基的 6 員碳環，其中

n 是一介於 2 到 7 的整數，且

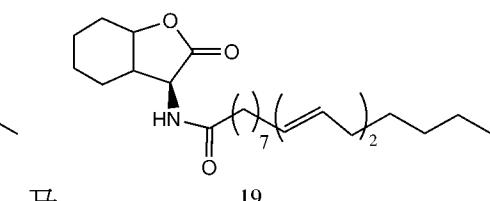
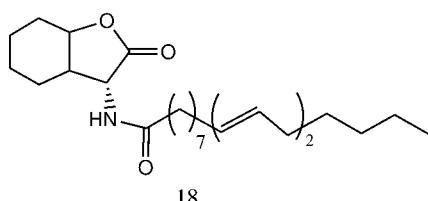
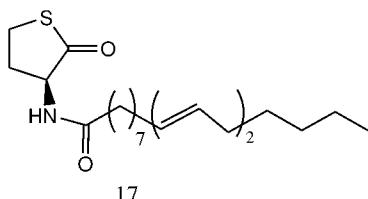
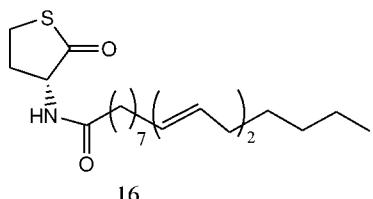
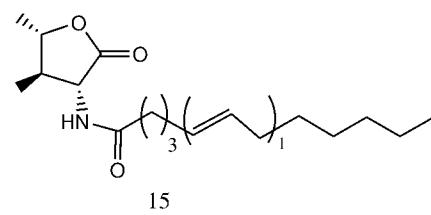
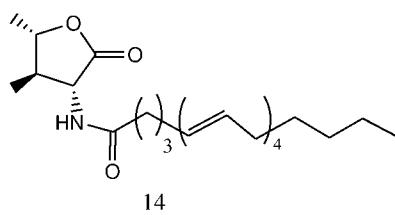
m 是一介於 1 到 6 的整數。

民國 106 年 05 月 16 日修正

【第 2 項】如請求項 1 所述之化合物，其中該化合物是選自由



民國 106 年 05 月 16 日修正

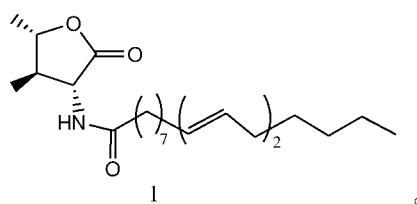


及

所組成的群

組。

【第3項】 如請求項1所述之化合物，其中該化合物是



。

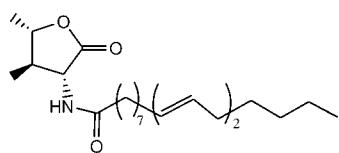
【第4項】 一種套組，包含：

- 一 第一容器，其係包含一降血糖藥劑；以及
- 一 第二容器，其係包含如請求項1所述之化合

民國 106 年 05 月 16 日修正

物。

【第 5 項】 如請求項 4 所述之套組，其中該式(I)之化合物為



。

【第 6 項】 如請求項 4 所述之套組，其中該降血糖藥劑是選自由 α -葡萄糖昔酶抑制劑 (α -glucosidase inhibitor)、雙胍 (biguanide)、多巴胺促效劑 (dopamine agonist)、第四型二肽基肽酶抑制劑 (dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, DPP-4 inhibitor)、第一型類升糖素肽 (glucagon-like peptide-1, GLP-1)、美格列奈 (meglitinide)、第二型鈉葡萄糖轉運子抑制劑 (sodium glucose transporter 2 inhibitor, SGLT 2 inhibitor)、磺醯尿素 (sulfonylurea) 及 噻唑烷二酮 (thiazolidinedione) 所組成的群組。

【第 7 項】 如請求項 6 所述之套組，其中該 α -葡萄糖昔酶抑制劑是阿卡波糖 (acarbose) 或米格列醇 (miglitol)。

民國 106 年 05 月 16 日修正

【第8項】 如請求項 6 所述之套組，其中該雙胍是二甲雙胍(metformin)。

【第9項】 如請求項 6 所述之套組，其中該多巴胺促效劑是麥角鹼衍生物(bromocriptine)。

【第10項】 如請求項 6 所述之套組，其中該第四型二肽基肽酶抑制劑是阿格列汀(alogliptin)、利拉列汀(linagliptin)、沙格列汀(saxagliptin)、西他列汀(sitagliptin)或辛伐他汀(simvastatin)。

【第11項】 如請求項 6 所述之套組，其中該第一型類升糖素肽抑制劑是利西拉來(lixisenatide)、阿必魯泰(albiglutide)、杜拉魯泰(dulaglutide)、艾塞那肽(exenatide)或利拉魯肽(liraglutide)。

【第12項】 如請求項 6 所述之套組，其中該第二型鈉葡萄糖轉運子抑制劑是達格列淨(dapagliflozin)、卡格列淨(canagliflozin)或恩格列淨(empagliflozin)。

【第13項】 如請求項 6 所述之套組，其中該磺醯尿素是格列美脲(glimepiride)、格列齊特(gliclazide)、

民國 106 年 05 月 16 日修正

克吡噻 (glibizide)、甘布若 (glyburide)、氯苯磺丙脲 (chlorpropamide)、杜拉唑胺 (tolazamide) 或甲苯磺丁脲 (tolbutamide)。

【第14項】如請求項6所述之套組，其中該噻唑烷二酮是吡格列酮 (pioglitazone) 或羅格列酮 (rosiglitazone)。

【發明圖式】

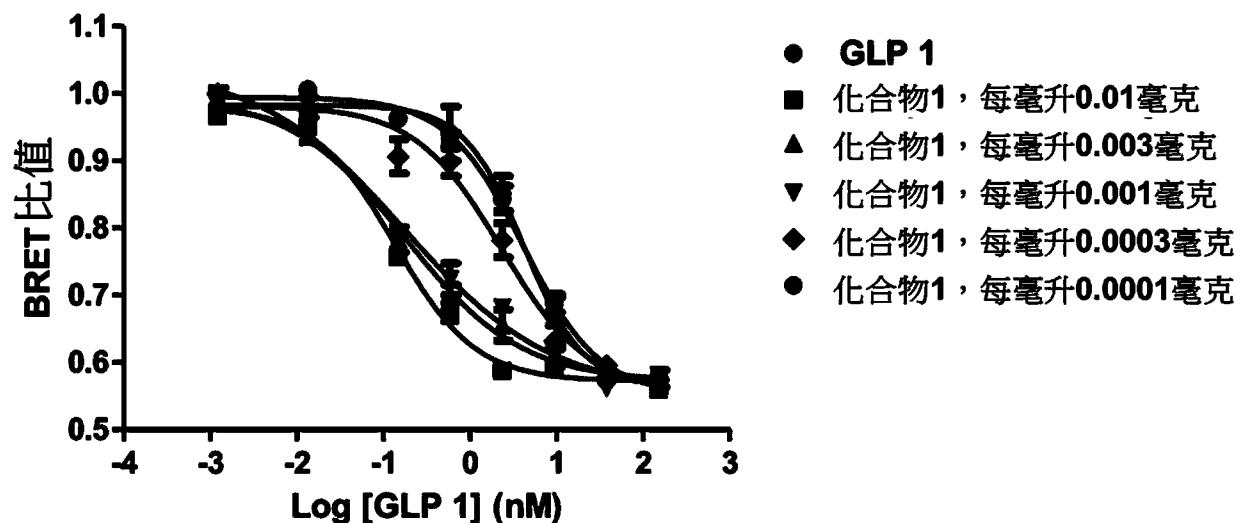


圖 1A

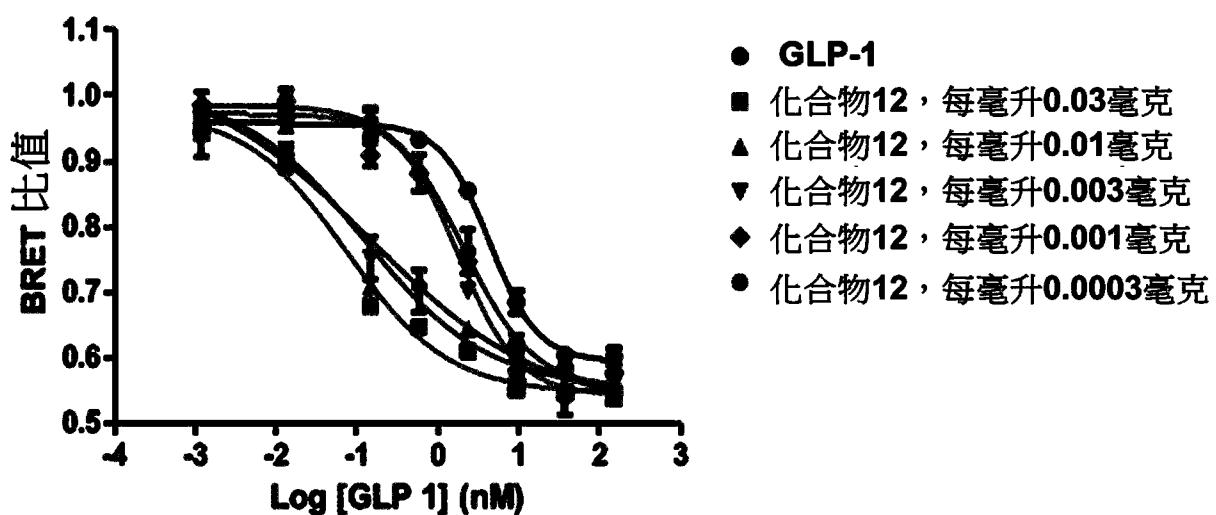


圖 1B

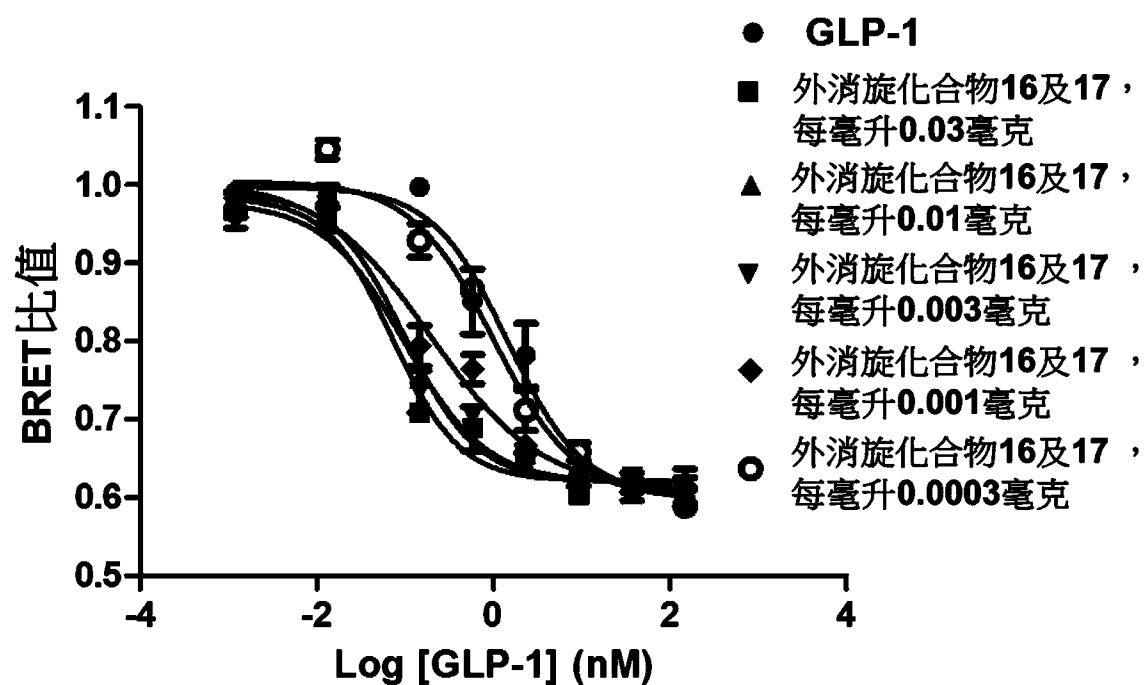


圖 1C

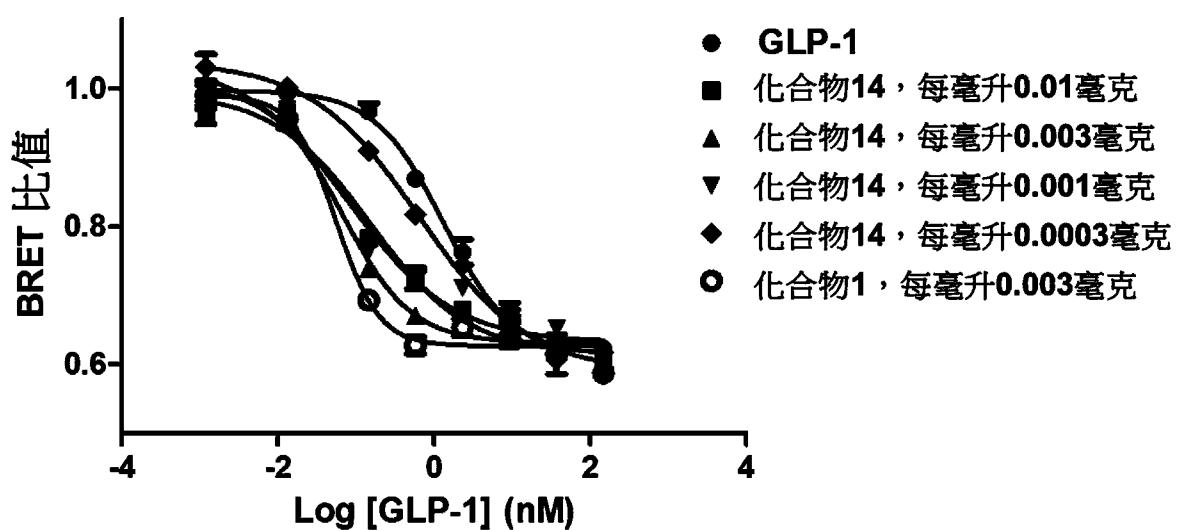


圖 1D

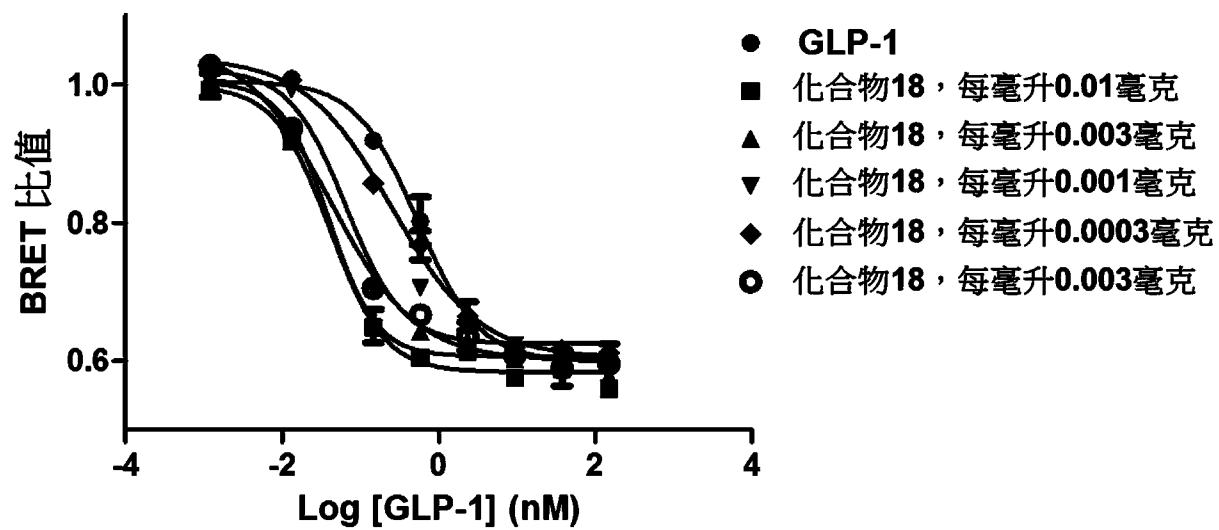


圖 1E

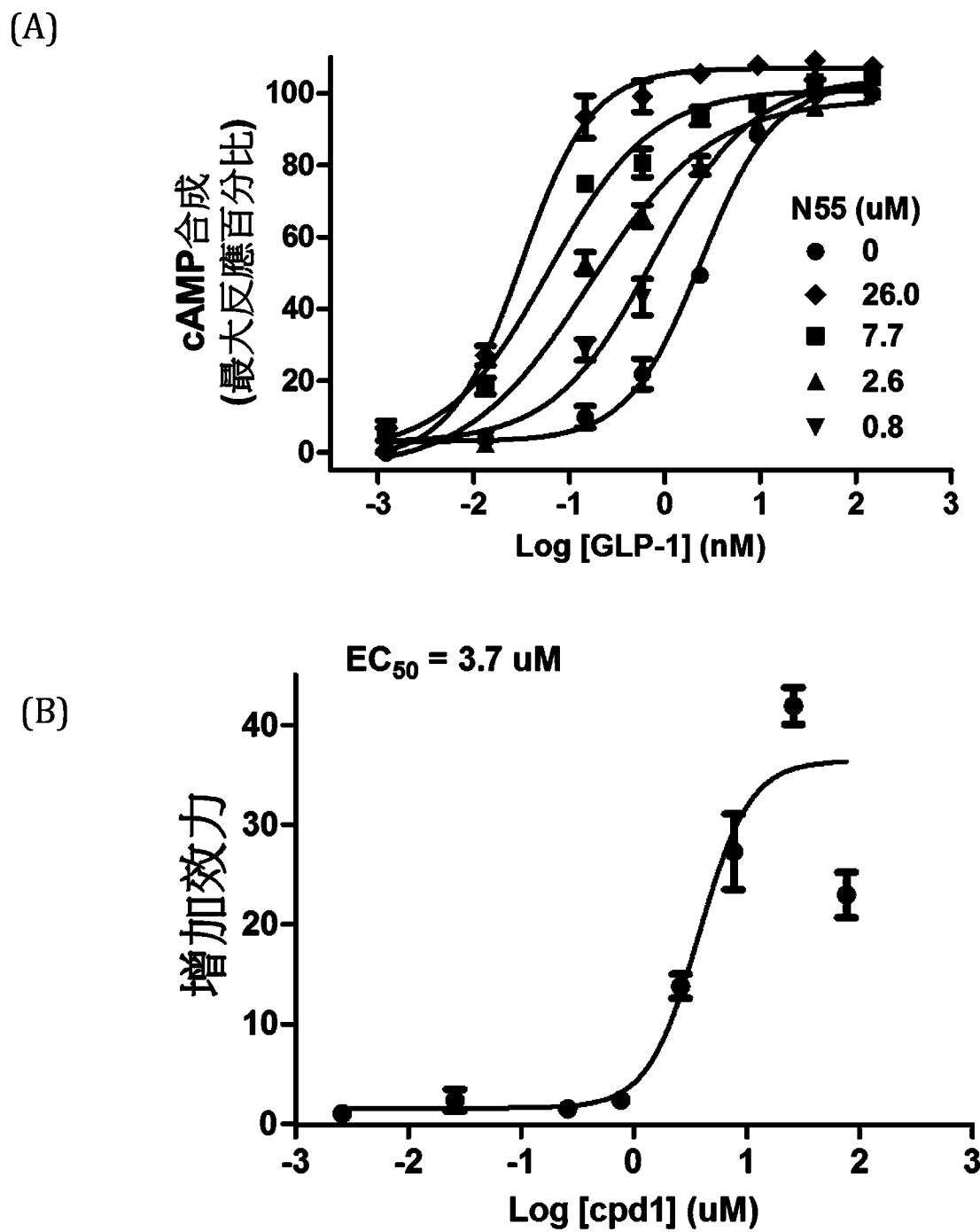
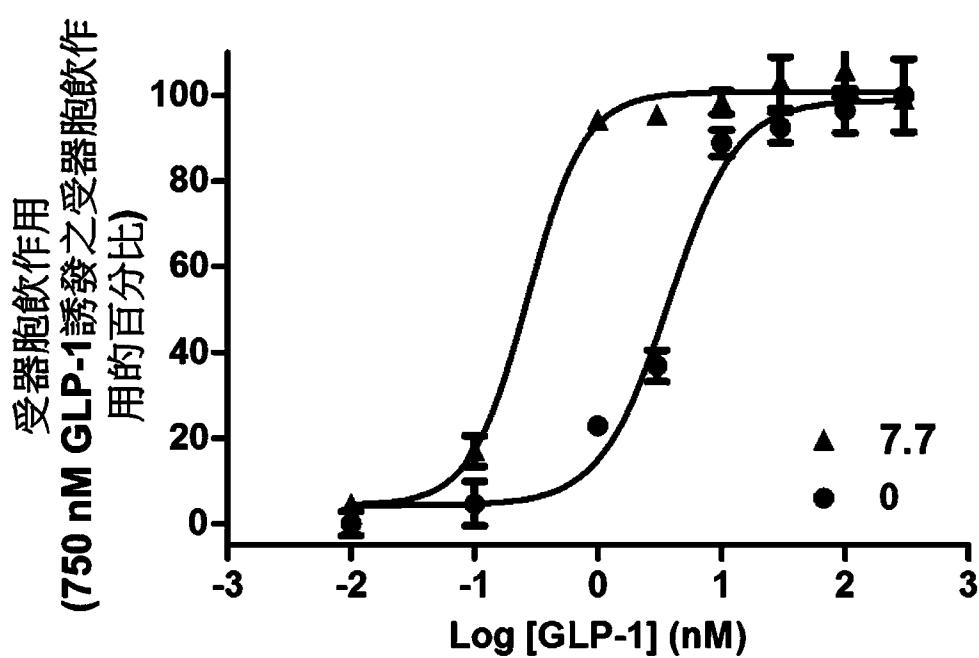


圖 2

(A)



(B)

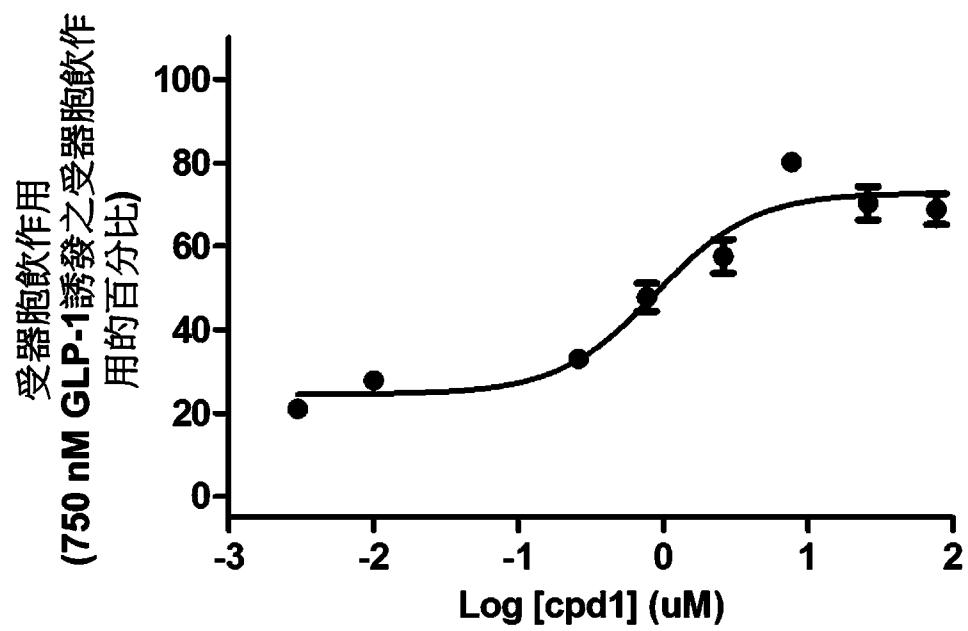


圖 3

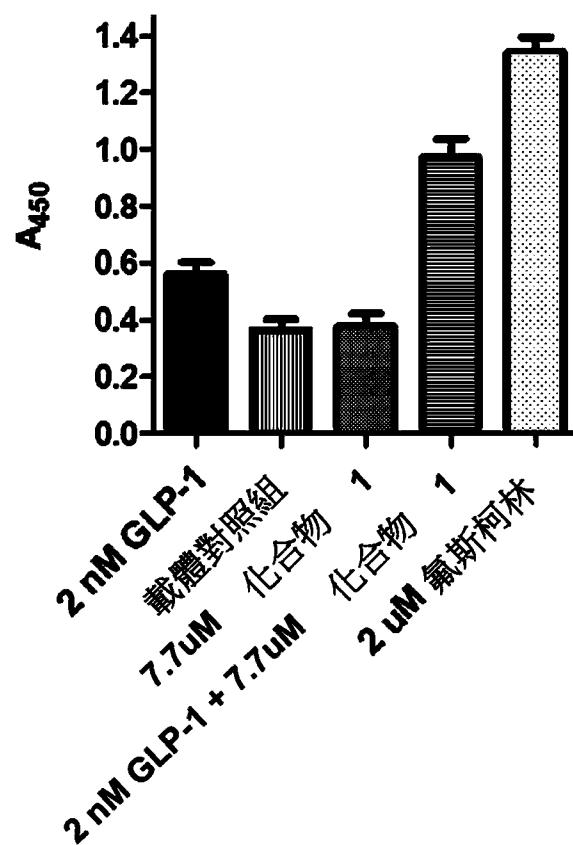


圖 4

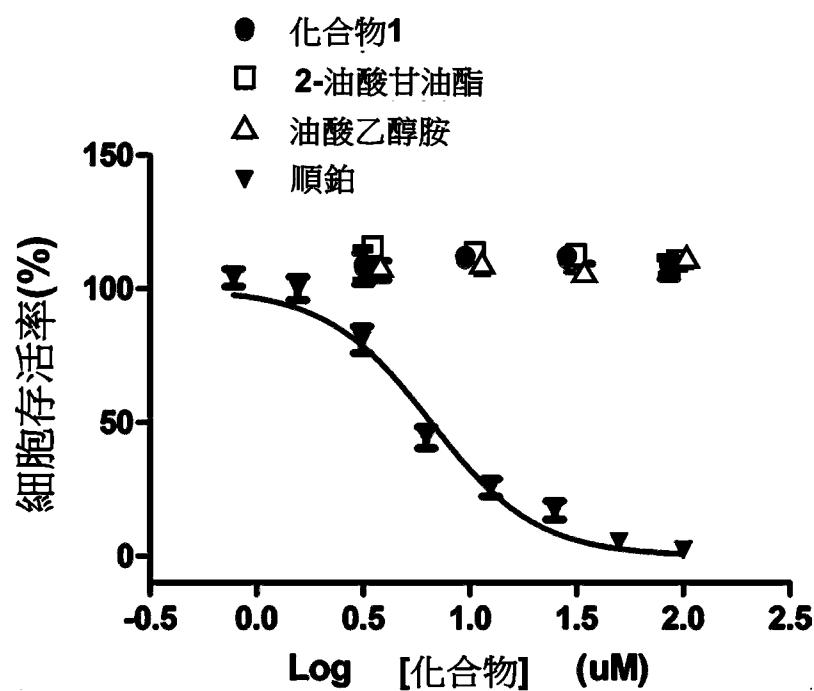


圖 5