

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 03819474.0

C07C 235/34 (2006.01)
C07C 323/62 (2006.01)
A61K 31/19 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)

[45] 授权公告日 2007 年 6 月 6 日

[11] 授权公告号 CN 1319938C

[22] 申请日 2003.6.17 [21] 申请号 03819474.0

[30] 优先权

[32] 2002. 6. 20 [33] SE [31] 0201935 - 4

[32] 2002. 12. 20 [33] SE [31] 0203826 - 3

[86] 国际申请 PCT/GB2003/002584 2003. 6. 17

[87] 国际公布 WO2004/000790 英 2003. 12. 31

[85] 进入国家阶段日期 2005. 2. 16

[73] 专利权人 阿斯特拉曾尼卡有限公司

地址 瑞典南泰利耶

[72] 发明人 L·李

[56] 参考文献

EP0802186A 1997. 10. 22

CN1354742A 2002. 6. 19

审查员 白帆

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 王景朝

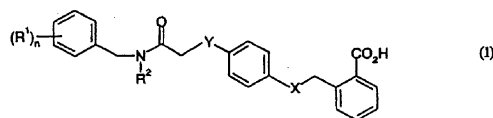
权利要求书 5 页 说明书 49 页

[54] 发明名称

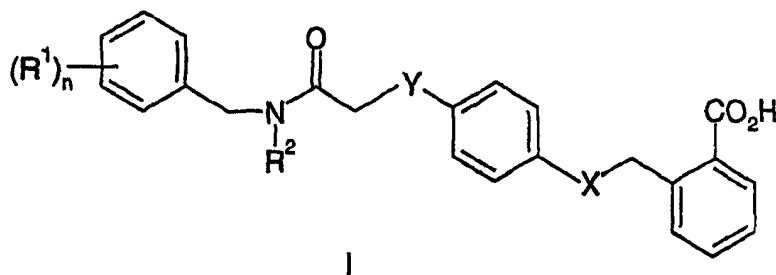
治疗胰岛素抵抗的邻位取代的苯甲酸衍生物

[57] 摘要

本发明提供了一种式(I)化合物及其药学上可接受的盐和前药,其中n为0、1或2,R¹代表卤基、任选被一个或一个以上的氟取代的C₁₋₄烷基、任选被一个或一个以上的氟取代的C₁₋₄烷氧基,且当n为2时,取代基R¹可相同或不同;R²代表任选插入氧的C₂₋₈烷基;Y不存在或代表亚甲基;且X为O或S。本发明还涉及制备这类化合物的方法、这类化合物在治疗与胰岛素抵抗有关的临床病症中的用途、这类化合物的治疗应用方法以及包含这类化合物的药用组合物。



1. 一种式 I 化合物及其药学上可接受的盐和前药，



其中

n 为 0、1 或 2， R^1 代表卤基、任选被一个或一个以上的氟取代的 C_{1-4} 烷基、任选被一个或一个以上的氟取代的 C_{1-4} 烷氧基，并且当 n 为 2 时，取代基 R^1 可相同或不同；

R^2 代表任选插入氧的 C_{2-8} 烷基；

Y 不存在或代表亚甲基；且

X 为 O 或 S。

2. 权利要求 1 的化合物，其中 X 为 O。
3. 权利要求 1 的化合物，其中 X 为 S。
4. 前述权利要求中任一项的化合物，其中 Y 为亚甲基。
5. 权利要求 1、2 或 3 中任一项的化合物，其中 Y 不存在。
6. 前述权利要求中任一项的化合物，其中 R^1 为卤基、 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 烷氧基，且 n 为 0、1 或 2。
7. 前述权利要求中任一项的化合物，其中当 n 为 1 或 2 时， R^1 为氟基、甲氧基或异丙基。

8. 权利要求 1-6 中任一项的化合物，其中 n 为 0。

9. 前述权利要求中任一项的化合物，其中 R^2 代表 C_{5-7} 烷基。

10. 一种化合物，所述化合物选自以下化合物及其药学上可接受的盐：

- 1) 2-[(4-{3-[苄基(己基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸；

2) 2-[[4-{2-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-2-氧代乙基}苯基]硫基]甲基}苯甲酸;

3) 2-[(4-{2-[苄基(己基)氨基]-2-氧代乙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;

4) 2-[(4-{2-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-2-氧代乙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;

5) 2-[(4-{3-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;

6) 2-[[4-{3-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-3-氧代丙基}苯基]硫基]甲基}苯甲酸;

7) 2-[(4-{3-[丁基(2,3-二甲氧基苄基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;

8) 2-[(4-{3-[(2,3-二甲氧基苄基)(庚基)-氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;

9) 2-[(4-{3-[(3-乙氧基丙基)(4-异丙基苄基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;

10) 2-[(4-{3-[(2,4-二氟苄基)(丙基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;

11) 2-[(4-{2-[乙基(2-氟苄基)氨基]-2-氧代乙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;

12) 2-[(4-{3-[乙基(2-氟苄基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;

13) 2-([4-(2-{乙基[4-(三氟甲基)苄基]氨基}-2-氧代乙基)苯基]硫基)甲基}苯甲酸; 和

15) 2-[[4-{2-[(4-氟苄基)(乙基)氨基]-2-氧代乙基}苯基]硫基]甲基}苯甲酸。

11. 权利要求 2 的化合物, 所述化合物选自以下化合物及其药学上可接受的盐:

1) 2-[(4-{3-[苄基(己基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;

- 2) 2-[(4-{2-[苄基(己基)氨基]-2-氧代乙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;
- 3) 2-[(4-{2-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-2-氧代乙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;
- 4) 2-[(4-{3-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;
- 5) 2-[(4-{3-[丁基(2,3-二甲氧基苄基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;
- 6) 2-[(4-{3-[(2,3-二甲氧基苄基)(庚基)-氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;
- 7) 2-[(4-{3-[(3-乙氧基丙基)(4-异丙基苄基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]-苯甲酸;
- 8) 2-[(4-{3-[(2,4-二氟苄基)(丙基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;
- 9) 2-[(4-{2-[乙基(2-氟苄基)氨基]-2-氧代乙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;
- 10) 2-[(4-{3-[乙基(2-氟苄基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸。

12. 权利要求 3 的化合物, 所述化合物选自以下化合物及其药学上可接受的盐:

2-[(4-{2-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-2-氧代乙基}苯基)硫基]甲基}苯甲酸。

13. 权利要求 3 的化合物, 所述化合物选自以下化合物及其药学上可接受的盐:

2-[(4-{3-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-3-氧代丙基}苯基)硫基]甲基}苯甲酸。

14. 权利要求 3 的化合物, 所述化合物选自以下化合物及其药学上可接受的盐:

2-([4-(2-{乙基[4-(三氟甲基)苄基]氨基}-2-氧代乙基)苯基)硫基}

甲基)苯甲酸。

15. 权利要求 3 的化合物, 所述化合物选自以下化合物及其药学上可接受的盐:

2-[[3-{2-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-2-氧代乙基}苯基)硫基]甲基}苯甲酸。

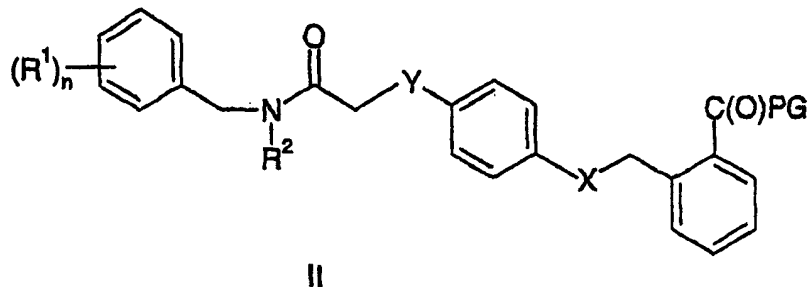
16. 权利要求 3 的化合物, 所述化合物选自以下化合物及其药学上可接受的盐:

2-[[4-{2-[(4-氯苄基)(乙基)氨基]-2-氧代乙基}苯基)硫基]甲基}苯甲酸。

17. 一种药用制剂, 所述制剂包含与药学上可接受的佐剂、稀释剂和/或载体混合的前述权利要求中任一项的化合物。

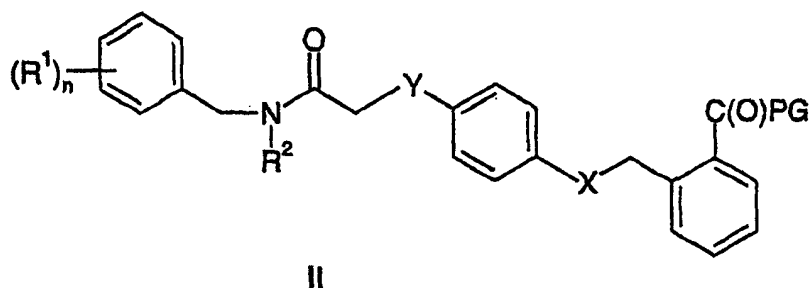
18. 权利要求 1-16 中任一项的化合物在制备用于治疗或预防胰岛素抵抗的药物中的用途。

19. 一种制备式 I 化合物的方法, 所述方法包括将式 II 化合物与脱保护剂反应,



其中 R^1 、 R^2 、 X 、 n 和 Y 如权利要求 1 中所定义, 且 PG 代表羧基的保护基团。

20. 式 II 化合物,



其中 R^1 、 R^2 、 X 、 n 和 Y 如权利要求 1 中所定义，且 PG 代表羧基的保护基团。

治疗胰岛素抵抗的邻位取代的苯甲酸衍生物

发明领域

本发明涉及一些新的苯甲酸衍生物、制备这些化合物的方法、它们在治疗与胰岛素抵抗(insulin resistance)有关的临床病症中的用途、它们的治疗应用方法以及含有它们的药用组合物。

发明背景

包括 II 型糖尿病的胰岛素抵抗综合征(IRS)是指一组临床表现,包括:伴随高胰岛素血症的胰岛素抵抗,可能的 II 型糖尿病,动脉高血压,向心性(内脏)肥胖,出现脂蛋白水平异常的异常脂血症,异常脂血症的典型特征在于升高的 VLDL (极低密度脂蛋白)、小的稠密的 LDL 颗粒、降低的 HDL (高密度脂蛋白)浓度以及减少的纤微蛋白溶解。

近期流行病学研究证明,胰岛素抵抗个体患者发生心血管疾病和死亡的风险很大,尤其发生心肌梗塞和中风。在 II 型糖尿病中,与动脉粥样硬化有关的病症造成的死亡在所有死亡中高达 80%。

在临床医学上,人们意识到有必要增加 IRS 患者的胰岛素敏感性,从而矫正被认为是导致动脉粥样硬化加速进展的异常脂血症。但是,目前该疾病尚不是具有普遍公认定义的疾病。

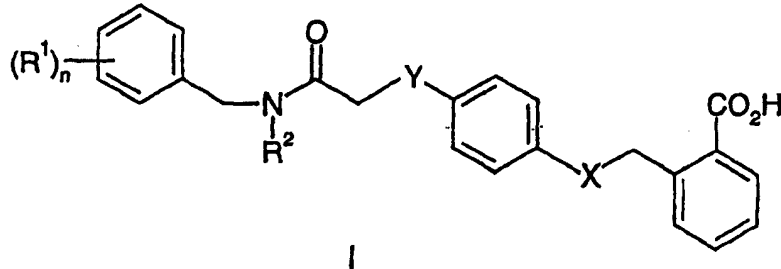
过氧化物酶体增生物激活受体(PPAR, 有关 PPAR 的综述参见 T. M. Willson 等, J Med Chem 2000, Vol 43, 527)调节剂能有效治疗与胰岛素抵抗有关的病症。

美国专利 5,750,783 公开了一些具有环烷基取代基的苄氧基取代的苯甘氨酸酰胺类化合物为抗动脉粥样硬化药物。该专利未公开或提及本发明化合物。

惊奇地是，发现为选择性 PPAR α 调节剂的系列化合物。

发明内容

本发明提供式 I 化合物及其药学上可接受的盐和前药，



其中

n 为 0、1 或 2，和 R^1 代表卤基、任选被一个或一个以上的氟取代的 C_{1-4} 烷基、任选被一个或一个以上的氟取代的 C_{1-4} 烷氧基，且其中当 n 为 2 时，取代基 R^1 可以相同或不同；

R^2 代表任选插入氧的 C_{2-8} 烷基；

Y 不存在或代表亚甲基；且

X 为 O 或 S。

R^1 、 R^2 、 Y 及 X 在式 I 化合物中的进一步含义如下。可理解在适合的场合下，这些含义可与上文或下文中限定的任何定义、权利要求或实施方案一起使用。

在一方面， X 为 O。

在第二方面， X 为 S。

在第三方面， Y 为亚甲基。

在第四方面， Y 不存在。

在第五方面， R^1 为卤基、 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 烷氧基，且 n 为 0、1 或 2。当 n 为 1 或 2 时， R^1 特别为氟、甲氧基或异丙基。 n 特别为 0。

在第六方面， R^2 代表 C_{5-7} 烷基。

术语 C_{2-8} 烷基表示具有 2-8 个碳原子的直链或支链饱和脂族烃。所述烷基的实例包括乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲

丁基、叔丁基和直链或支链戊基、己基、庚基及辛基。

本领域技术人员将理解以上使用的术语“插入”表示氧原子位于烷基链内部，而不是末端原子。本说明书中使用的术语“前药”包括羧酸基团的衍生物，其在哺乳动物特别是在人体内转化为其羧酸基团或其盐或衍生物。尽管不受理论约束，但应理解，相信与前药活性有关的大部分活性来自于所述前药转化成的式 I 化合物的活性。前药可在本领域技术人员能力范围内通过常规方法制备。羧基的各种前药为本领域所熟知。有关这类前药衍生物的实例参见：

a) Design of Prodrugs, H. Bundgaard 编辑(Elsevier, 1985)和 Methods in Enzymology. 42: 309-396, K. Widder 等编辑(Academic 出版社, 1985);

b) A Textbook of Drug Design and Development, Krogsgaard-Larsen 和 H. Bundgaard 编辑, 第 5 章“前药的设计与应用”, H. Bundgaard 著 113-191 页(1991);

c) H. Bundgaard, Advanced Drug Delivery Reviews, 8:1-38 (1992);

d) H. Bundgaard 等, Journal of Pharmaceutical Sciences, 77:285 (1988); 和

e) N. Kakeya 等, Chem Pharm Bull, 32:692 (1984)。

以上文献 a-e 通过引用而结合到本文中。

体内可解离的酯即为母体分子的一种前药。

式 I 化合物具有药物活性，式 I 化合物特别为选择性的 PPAR α 激动剂，即它们对 PPAR α 的 EC₅₀ 比它们各自对 PPAR γ 的 EC₅₀ 至少低 3 倍，优选至少低 4 倍，更优选低 10 倍或 50 倍，其中 EC₅₀ 的测定和计算在本文下面的测试部分描述。式 I 化合物有活性并具有选择性。

本发明的具体化合物为一个或一个以上的以下化合物及其药学上可接受的盐：

- 1) 2-[(4-{3-[苄基(己基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;
- 2) 2-[[4-{2-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-2-氧代乙基}苯基]硫基]甲基]苯甲酸;
- 3) 2-[(4-{2-[苄基(己基)氨基]-2-氧代乙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;
- 4) 2-[(4-{2-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-2-氧代乙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;
- 5) 2-[(4-{3-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;
- 6) 2-[[4-{3-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-3-氧代丙基}苯基]硫基]甲基]苯甲酸;
- 7) 2-[(4-{3-[丁基(2,3-二甲氧基苄基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;
- 8) 2-[(4-{3-[(2,3-二甲氧基苄基)(庚基)-氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;
- 9) 2-[(4-{3-[(3-乙氧基丙基)(4-异丙基苄基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]-苯甲酸;
- 10) 2-[(4-{3-[(2,4-二氟苄基)(丙基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;
- 11) 2-[(4-{2-[乙基(2-氟苄基)氨基]-2-氧代乙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;
- 12) 2-[(4-{3-[乙基(2-氟苄基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;
- 13) 2-([4-(2-{乙基[4-(三氟甲基)苄基]氨基}-2-氧代乙基)苯基]硫基]甲基)苯甲酸;
- 14) 2-[[3-{2-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-2-氧代乙基}苯基]硫基]甲基]苯甲酸; 和
- 15) 2-[[4-{2-[(4-氟苄基)(乙基)氨基]-2-氧代乙基}苯基]硫基]甲基]苯甲酸。

本发明的第二组具体化合物包括选自以下的化合物及其药学上可接受的盐:

- 1) 2-{[(4-{2-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-2-氧代乙基}苯基)硫基]甲基}苯甲酸;
- 2) 2-{[(4-{3-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-3-氧代丙基}苯基)硫基]甲基}苯甲酸;
- 3) 2-{[4-(2-{乙基[4-(三氟甲基)苄基]氨基}-2-氧代乙基)苯基)硫基]甲基}苯甲酸;
- 4) 2-{[(3-{2-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-2-氧代乙基}苯基)硫基]甲基}苯甲酸; 和
- 5) 2-{[(4-{2-[(4-氟苄基)(乙基)氨基]-2-氧代乙基}苯基)硫基]甲基}苯甲酸。

本发明的第三组具体化合物包括选自以下的化合物及其药学上可接受的盐:

- 1) 2-[(4-{3-[苄基(己基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;
- 2) 2-[(4-{2-[苄基(己基)氨基]-2-氧代乙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;
- 3) 2-[(4-{2-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-2-氧代乙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;
- 4) 2-[(4-{3-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;
- 5) 2-[(4-{3-[丁基(2,3-二甲氧基苄基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;
- 6) 2-[(4-{3-[(2,3-二甲氧基苄基)(庚基)-氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;
- 7) 2-[(4-{3-[(3-乙氧基丙基)(4-异丙基苄基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;
- 8) 2-[(4-{3-[(2,4-二氟苄基)(丙基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;

9) 2-[(4-{2-[乙基(2-氟苄基)氨基]-2-氧代乙基}苯氧基)甲基]苯甲酸;

10) 2-[(4-{3-[乙基(2-氟苄基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸。

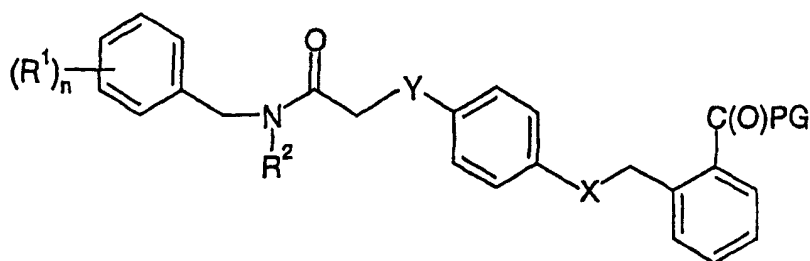
本发明的一些化合物可存在互变异构体。可理解本发明包括所有这类互变异构体。

在整个说明书及权利要求书中，给出的化学式或名称将包括所有立体异构体和旋光异构体及其外消旋体、不同比例的对映体的混合物(如果这些异构体和对映体存在)及其药学上可接受的盐。异构体可用常规技术例如色谱法或分级结晶法分离。对映体可通过外消旋体的分开而分离出，例如通过分级结晶法或 HPLC 拆分法分离。非对映体可通过例如分级结晶法、HPLC 或闪式色谱法分离异构体混合物而分离出。或者，在不引起外消旋化或差向异构化的条件下，立体异构体可用手性原料进行手性合成制备，或与手性试剂通过衍生化制备。所有立体异构体均包括在本发明范围之内。

制备方法

本发明化合物可按以下概述方法制备。但是，本发明不限于这些方法，所述化合物也可按照本领域中用于结构相关化合物的方法制备。反应可按照标准方法或本文实验部分描述的方法进行。

式 I 化合物可通过使式 II 化合物与脱保护试剂反应制备，

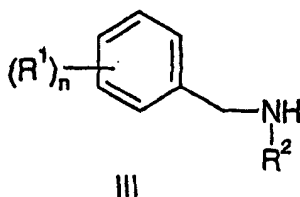


II

其中 R^1 、 R^2 、X 及 Y 如前定义，且 PG 代表 Greene 和 Wuts 所著标准教材“Protective Groups in Organic Synthesis” (第二版，1991)

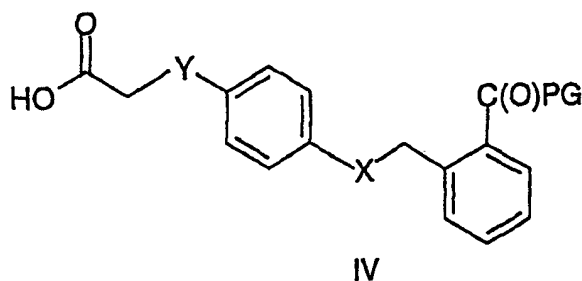
中所述的用于羧基的保护基团。所述保护基团也可以是树脂，如 Wang 树脂或 2-氯三苯甲基氯化物树脂。保护基团可按照本领域那些技术人员所熟知的技术除去。这类保护基团为其中 PG 代表 C_{1-6} 烷氧基或芳基烷氧基如苄基的基团，因此 COPG 代表酯。这类酯可在 0-200 °C 下与例如在溶剂(如 THF 和水的混合物)存在下的氢氧化锂或在 C_{1-3} 醇(如甲醇)中的氢氧化钾的水解试剂反应，或通过微波幅射得到式 I 化合物。

式 II 化合物可通过式 III 化合物或其盐(如盐酸盐)



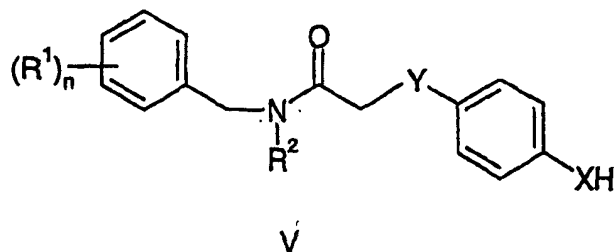
其中 R^1 、 R^2 和 n 的定义同上，

与式 IV 化合物或其酰氯在例如二氯甲烷的惰性溶剂中，任选在例如 4-二甲氨基吡啶或 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐的偶合试剂存在下，在 -25°C-150°C 下反应制备。



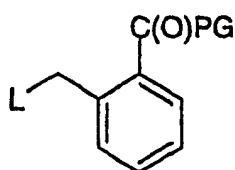
其中 X、Y 及 PG 的定义同前。

式 II 化合物也可通过使式 V 化合物



其中 R^1 、 n 、 R^2 、X 及 Y 的定义同前，

与式 VI 化合物任选在例如乙腈的溶剂存在下，并任选在例如碳酸钾的碱存在下，在 0-150℃ 下反应制备。



VI

其中 PG 的定义同前，且 L 代表离去基团，例如卤基，如溴。

式 III、IV、V 和 VI 化合物可按实施例描述的方法或按本领域那些技术人员熟知的类似方法制备。

式 II、III、IV 和 V 化合物是制备式 I 化合物的有用中间体。相信这些化合物中有一些是新的。新的式 II 化合物、或式 III 化合物、或式 IV 化合物或式 V 化合物作为本发明的再一方面在本文中要求保护。

可用常规技术从它们的反应混合物中分离出本发明化合物。

本领域技术人员将认识到，在另一种情况和一些情形中为用更便利的方法获得本发明化合物，上述的各方法步骤可按不同的顺序进行，和/或在整个反应路线中可在不同的阶段进行各反应(即化学转化可用与上文特定反应有关的那些中间体不同的中间体进行)。

在任何前述制备方法中，羟基、氨基或其它反应基团可用保护基团如 Greene 和 Wuts 所著的标准教材“Protective groups in Organic Synthesis”(第二版，1991)描述的 R^p 保护。所述保护基团也可以是树脂，如 Wang 树脂或 2-氯三苯甲基氯化物树脂。官能团的保护和脱保护可在上文描述的任何反应步骤之前或之后进行。按照为本领域那些技术人员所熟知的技术可除去保护基团。

表述“惰性溶剂”是指不与原料、试剂、中间体或产物以不利于所需产物生成的方式反应的溶剂。

药用制剂

本发明化合物通常经口、肠胃外、静脉内、肌内、皮下或其它注射途径、面颊、直肠、阴道、皮内和/或鼻途径和/或经吸入途径，以包含为游离酸或药学上可接受的盐的活性成分的药用制剂形式，以药学上可接受的剂型给予。所述组合物根据疾病和所治疗的患者以及给药途径不同可按可变剂量给药。

本发明化合物治疗人的合适日剂量为约 0.0001-100 mg/kg 体重，优选为 0.001-10 mg/kg 体重。

尤其优选的口服制剂是片剂或胶囊剂，其可通过本领域那些技术人员熟知的方法配制，提供 0.5mg-500mg 剂量，例如 1 mg、3 mg、5 mg、10 mg、25mg、50mg、100mg 和 250mg 的化合物。

因此根据再一方面，本发明提供一种药用组合物，所述组合物包括与药学上可接受的佐剂、稀释剂和/或载体混合的本发明的任何化合物或其药学上可接受的盐。

药理学特性

本发明式(I)化合物可用于预防和/或治疗与先天或诱发降低的胰岛素敏感性(胰岛素抵抗)有关的临床病症和与代谢障碍(也称代谢综合征)有关的临床病症。这些临床病症包括但不限于一般肥胖症、腹部肥胖症、动脉高血压、高胰岛素血症、高血糖症、II型糖尿病和特征表现为胰岛素抵抗的异常脂血症。这种异常脂血症，也因致动脉粥样化的脂蛋白特征被熟知，特征在于在小的稠密的低密度脂蛋白(LDL)颗粒(表型 B)存在下，中度增加的非酯化脂肪酸、提高的富含甘油三酸脂的极低密度脂蛋白(VLDL)颗粒、高 Apo B 水平、与低 apoAI 颗粒水平和高 Apo B 水平有关的低高密度脂蛋白(HDL)水平。

预期本发明化合物可用于治疗患有混合性高脂血症或各种程度的高甘油三脂血症和有或没有其它代谢综合征表现的食后异常脂血症的患者。

由于本发明化合物的抗异常脂血症和抗炎特性，预期用它们的治疗可降低与动脉粥样硬化有关的心血管疾病的发病率和死亡率。所述心血管疾病病症包括引起心肌梗塞的各种内部器官的大血管病变、充血性心力衰竭、脑血管疾病和下肢动脉功能不全。因它们的胰岛素敏化作用，所以还预期式 I 化合物可预防或延缓由代谢综合征和妊娠性糖尿病发展为 II 型糖尿病。因此预期可延迟与在糖尿病中的慢性高血糖症有关的长期并发症，如导致肾病、视网膜损伤和下肢血管疾病的大血管病变的发生。此外，所述化合物可用于治疗心血管系统疾病以外的各种病症，不管其是否与胰岛素抵抗相关，如多囊性卵巢综合征、肥胖症、癌症和包括神经变性障碍(如轻微认知缺损)的炎性疾病状态、阿尔茨海默病、帕金森病和多发性硬化。

预期本发明化合物可用于控制患有 II 型糖尿病的患者们的葡萄糖水平。

本发明提供一种治疗或预防异常脂血症、胰岛素抵抗综合征和/或代谢障碍(如上所述)的方法，所述方法包括给予有需要的哺乳动物(特别是人)式 I 化合物。

本发明提供一种治疗和预防 II 型糖尿病的方法，所述方法包括给予有需要的哺乳动物(特别是人)有效量的式 I 化合物。

在再一方面，本发明提供式 I 化合物作为药物的用途。

在再一方面，本发明提供式 I 化合物在制备用于治疗胰岛素抵抗和/或代谢障碍的药物中的用途。

联合疗法

本发明化合物可与另一用于治疗与动脉粥样硬化发生和发展有关的病症如高血压、高脂血症、异常脂血症、糖尿病和肥胖等的治疗药物联合。本发明化合物可与另一用于降低 LDL:HDL 比例的治疗药物或导致 LDL-胆固醇循环水平降低的药物联合。在患有糖尿病的患者中，本发明化合物也可与用于治疗与大血管病变有关的并发症

的治疗药物联合。

本发明化合物可与其它治疗代谢综合征或 II 型糖尿病及其有关并发症的治疗药物一起使用，这些治疗药物包括双胍类药物(例如二甲双胍、苯乙双胍和丁福明)、胰岛素(合成胰岛素类似物、胰岛淀粉样多肽)和口服抗高血糖药物(这类药物分为膳食葡萄糖调节剂和 α -葡萄糖苷酶抑制剂)。 α -葡萄糖苷酶抑制剂的一个实例是阿卡波糖或伏格列波糖或米格列醇。膳食葡萄糖调节剂的一个实例是瑞格列萘或那格列萘。

在本发明的另一方面，式 I 化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种盐的溶剂合物或前药可与另一种 PPAR 调节剂一起给药。 PPAR 调节剂包括但不限于 PPAR α 和/或 γ 和/或 δ 激动剂或其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种盐的溶剂合物或前药。适合的 PPAR α 和/或 δ 激动剂其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种盐的溶剂合物或前药在本领域是众所周知的。它们包括在以下专利和文献中所描述的化合物：WO 01/12187、WO 01/12612、WO 99/62870、WO 99/62872、WO 99/62871、WO 98/57941、WO 01/40170, J Med Chem, 1996, 39, 665, Expert Opinion on Therapeutic Patents, 10(5), 623-634 (特别是在专利申请第 634 页所列举描述的化合物)和 J Med Chem, 2000, 43, 527, 所有专利和文献通过引用而结合到本文中。具体的讲，PPAR α 激动剂和/或 γ 激动剂是指 BMS 298585、氯贝丁酯、非诺贝特、苯扎贝特、吉非贝齐及环丙贝特；GW 9578、吡格列酮、罗格列酮、rivoglitazone、balaglitazone、KRP-297、JTT-501、SB 213068、GW 1929、GW 7845、GW 0207、L-796449、L-165041 和 GW 2433。更具体的讲，PPAR α 和/或 γ 激动剂是指(S)-2-乙氧基-3-[4-(2-{4-甲磺酰基氧基-苯基}乙氧基)苯基]丙酸及其药学上可接受的盐。

此外，本发明的联合药物可用于与以下磺酰脲类药物联合使用：例如格列美脲、格列苯脲、格列齐特、格列吡嗪、格列喹酮、氯磺丙脲、甲苯磺丁脲、醋磺己脲、葡萄糖吡胺(glycopyramide)、氯磺丁脲、

格列波脲(glibonuride)、格列哌特、格列噻唑、glibuzole、美他己脲、格列嘧啶、格列平脲、苯磺丁脲、tolcylamide 和妥拉磺脲。优选的磺酰脲类药物是格列美脲或格列苯脲。更优选的磺酰脲类药物是格列美脲。因此本发明包括本发明化合物与本段描述的的一种、两种或多种现有治疗药物联合给药。其它治疗 II 型糖尿病及其有关并发症的现有治疗药物的剂量为本领域所熟知、并被管理机构例如 FDA 批准使用的那些剂量, 并且可在 FDA 出版的橙皮书中查到。另外, 由于联合使用的益处, 可使用减少的剂量。本发明也包括本发明化合物与降胆固醇药物联合。本发明申请中所指的降胆固醇药物包括但不限于 HMG-CoA 还原酶(3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶)抑制剂。合适的 HMG-CoA 还原酶抑制剂为选自以下的抑制素或其药学上可接受的盐尤其是钠盐或钙盐、或溶剂合物、或这种盐的溶剂合物: 阿托伐他汀、柏伐他汀、西立伐他汀、达伐他汀、氟伐他汀、伊伐他汀、洛伐他汀、美伐他汀、nicostatin、nivastatin、普伐他汀及辛伐他汀。具体的抑制素是阿托伐他汀或其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种盐的溶剂合物或前药。更具体的抑制素是阿托伐他汀钙盐。但是, 特别优选的抑制素是化学名为(E)-7-[4-(4-氟苯基)-6-异丙基-2-[甲基(甲磺酰基)-氨基]-嘧啶-5-基](3R,5S)-3,5-二羟基庚-6-烯酸, [也称为(E)-7-[4-(4-氟苯基)-6-异丙基-2-[N-甲基-N-(甲磺酰基)-氨基]嘧啶-5-基](3R,5S)-3,5-二羟基庚-6-烯酸]的化合物或其药学上可接受的盐、或溶剂合物、或这种盐的溶剂合物。化合物(E)-7-[4-(4-氟苯基)-6-异丙基-2-[甲基-(甲磺酰基)-氨基]-嘧啶-5-基](3R,5S)-3,5-二羟基庚-6-烯酸及其钙盐和钠盐已在欧洲专利申请(公开号为EP-A-0521471)和 Bioorganic and Medicinal Chemistry, (1997), 5(2), 437-444 中公开。现已知后一个抑制素的通用名为罗苏伐他汀。

在本发明申请中, 术语“降胆固醇药物”也包括 HMG-CoA 还原酶抑制剂的化学修饰物, 如酯、前药及代谢物(不管是有活性还是无活性)。

本发明也包括本发明化合物与胆汁酸螯合剂(例如考来替泊或考来烯胺或考来胶)联合。

本发明也包括本发明化合物与回肠胆汁酸转运系统抑制剂(IBAT 抑制剂)联合。

合适的具有 IBAT 抑制活性的化合物已有描述, 参见例如在以下专利中描述的化合物: WO 93/16055、WO 94/18183、WO 94/18184、WO 94/24087、WO 96/05188、WO 96/08484、WO 96/16051、WO 97/33882、WO98/07749、WO 98/38182、WO 98/40375、WO 98/56757、WO 99/32478、WO 99/35135、WO 99/64409、WO 99/64410、WO 00/01687、WO 00/20392、WO 00/20393、WO 00/20410、WO 00/20437、WO 01/34570、WO 00/35889、WO 00/47568、WO 00/61568、WO 01/68637、WO 01/68096、WO 02/08211、WO 00/38725、WO 00/38726、WO 00/38727、WO 00/38728、WO 00/38729、DE 19825804、JP 10072371、US 5070103、EP 251315、EP 417725、EP 489423、EP 549967、EP 573848、EP 624593、EP 624594、EP 624595、EP 869121、EP 864582 和 EP 1070703, 并且这些专利申请的内容、尤其是权利要求 1 所述的化合物和指定的实例, 通过引用而结合到本文中。

适用于本发明的具体类别的 IBAT 抑制剂为苯并硫杂庚英类(benzothiepinines)化合物和在 WO 00/01687、WO 96/08484 和 WO 97/33882 权利要求书中、尤其在权利要求 1 中所述的化合物, 这些专利通过引用而结合到本文中。其它合适类别的 IBAT 抑制剂为 1,2-苯并硫杂氮杂萘类(benzothiazepines)、1,4-苯并硫杂氮杂萘类和 1,5-苯并硫杂氮杂萘类化合物。更合适类别的 IBAT 抑制剂为 1,2,5-苯并硫杂二氮杂萘类化合物(benzothiadiazepines)。

一种特别合适的具有 IBAT 抑制活性的化合物是(3R,5R)-3-丁基-3-乙基-1,1-二氧化(dioxido)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,4-苯并硫杂氮杂萘-8-基 β -D-吡喃葡萄糖醛酸(EP 864582)。其它合适的 IBAT 抑制剂包括以下化合物之一的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种

盐的溶剂合物或前药:

1) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8-(*N*-{(R)-1'-苯基-1'-[*N'*-(羧甲基)氨基甲酰基]甲基}氨基甲酰基甲氧基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫杂氮杂草;

2) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8-(*N*-{(R)- α -[*N'*-(羧甲基)氨基甲酰基]-4-羟基苄基}氨基甲酰基甲氧基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫杂氮杂草;

3) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8-(*N*-{(R)-1'-苯基-1'-[*N'*-(2-磺基乙基)氨基甲酰基]甲基}氨基甲酰基甲氧基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫杂氮杂草;

4) 1,1-二氧代-3-丁基-3-乙基-5-苯基-7-甲硫基-8-(*N*-{(R)-1'-苯基-1'-[*N'*-(2-磺基乙基)氨基甲酰基]甲基}氨基甲酰基甲氧基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫杂氮杂草;

5) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8-(*N*-{(R)- α -[*N'*-(2-磺基乙基)氨基甲酰基]-4-羟基苄基}氨基甲酰基甲氧基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫杂氮杂草;

6) 1,1-二氧代-3-丁基-3-乙基-5-苯基-7-甲硫基-8-(*N*-{(R)- α -[*N'*-(2-磺基乙基)氨基甲酰基]-4-羟基苄基}氨基甲酰基甲氧基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫杂氮杂草;

7) 1,1-二氧代-3-丁基-3-乙基-5-苯基-7-甲硫基-8-(*N*-{(R)- α -[*N'*-(2-羧乙基)氨基甲酰基]苄基}氨基甲酰基甲氧基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫杂氮杂草;

8) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8-(*N*-{(R)- α -[*N'*-(2-羧乙基)氨基甲酰基]-4-羟基苄基}氨基甲酰基甲氧基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫杂氮杂草;

9) 1,1-二氧代-3-丁基-3-乙基-5-苯基-7-甲硫基-8-(*N*-{(R)- α -[*N'*-(5-羧基戊基)氨基甲酰基]苄基}氨基甲酰基甲氧基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫杂氮杂草;

10) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8-(*N*-{(R)- α -[*N'*-(2-羧乙基)氨基甲酰基]苄基}氨基甲酰基甲氧基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫杂氮杂草;

11) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8-(*N*-{ α -[*N'*-(2-磺基乙基)氨基甲酰基]-2-氟苄基}氨基甲酰基甲氧基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫杂氮杂草;

12) 1,1-二氧代-3-丁基-3-乙基-5-苯基-7-甲硫基-8-(*N*-{(R)- α -[*N'*-(R)-(2-羟基-1-羧乙基)氨基甲酰基]苄基}氨基甲酰基甲氧基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫杂氮杂草;

13) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8-(*N*-{(R)- α -[*N'*-(R)-(2-羟基-1-羧乙基)氨基甲酰基]苄基}氨基甲酰基甲氧基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫杂氮杂草;

14) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8-{*N*-[(R)- α -(*N'*-{(R)-1-[*N''*-(R)-(2-羟基-1-羧乙基)氨基甲酰基]-2-羟乙基}氨基甲酰基)苄基]氨基甲酰基甲氧基}-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫杂氮杂草;

15) 1,1-二氧代-3-丁基-3-乙基-5-苯基-7-甲硫基-8-(*N*-{ α -[*N'*-(羧甲基)氨基甲酰基]苄基}氨基甲酰基甲氧基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫杂氮杂草;

16) 1,1-二氧代-3-丁基-3-乙基-5-苯基-7-甲硫基-8-(*N*-{ α -[*N'*-((乙氧基)(甲基)磷酰基-甲基)氨基甲酰基]苄基}氨基甲酰基甲氧基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫杂氮杂草;

17) 1,1-二氧代-3-丁基-3-乙基-5-苯基-7-甲硫基-8-{*N*-[(R)- α -(*N'*-{2-[(羟基)(甲基)磷酰基]乙基}氨基甲酰基)苄基]氨基甲酰基甲氧基}-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫杂氮杂草;

18) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8-(*N*-{(R)- α -[*N'*-(2-甲硫基-1-羧乙基)氨基甲酰基]苄基}氨基甲酰基甲氧基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫杂氮杂草;

19) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8-{*N*-[(R)- α -(*N'*-{2-

[(甲基)(乙基)磷酰基]乙基}氨基甲酰基)-4-羟基苄基]氨基甲酰基甲氧基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫杂氮杂草;

20) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8- $\{N-[(R)-\alpha-(N'-\{2-[(甲基)(羟基)磷酰基]乙基}氨基甲酰基)-4-羟基苄基]氨基甲酰基甲氧基\}-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫杂氮杂草\}$;

21) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8- $\{N-[(R)-\alpha-[(R)-N'(2-甲基亚磺酰基-1-羧乙基)氨基甲酰基]苄基}氨基甲酰基甲氧基\}-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫杂氮杂草\}$;

22) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲氧基-8- $\{N-[(R)-\alpha-[N'(2-磺基乙基)氨基甲酰基]-4-羟基苄基}氨基甲酰基甲氧基\}-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫杂氮杂草\}$;

23) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8- $\{N-[(R)-\alpha-[N-((R)-1-羧基-2-甲硫基-乙基)氨基甲酰基]-4-羟基苄基}氨基甲酰基甲氧基\}-2,3,4,5-四氢-1,2,5-苯并硫杂二氮杂草\}$;

24) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8- $\{N-[(R)-\alpha-[N-((S)-1-羧基-2-(R)-羟丙基)氨基甲酰基]-4-羟基苄基}氨基甲酰基甲氧基\}-2,3,4,5-四氢-1,2,5-苯并硫杂二氮杂草\}$;

25) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8- $\{N-[(R)-\alpha-[N-((S)-1-羧基-2-甲基丙基)氨基甲酰基]-4-羟基苄基}氨基甲酰基甲氧基\}-2,3,4,5-四氢-1,2,5-苯并硫杂二氮杂草\}$;

26) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8- $\{N-[(R)-\alpha-[N-((S)-1-羧基丁基)氨基甲酰基]-4-羟基苄基}氨基甲酰基甲氧基\}-2,3,4,5-四氢-1,2,5-苯并硫杂二氮杂草\}$;

27) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8- $\{N-[(R)-\alpha-[N-((S)-1-羧基丙基)氨基甲酰基]苄基}氨基甲酰基甲氧基\}-2,3,4,5-四氢-1,2,5-苯并硫杂二氮杂草\}$;

28) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8- $\{N-[(R)-\alpha-[N-((S)-1-羧乙基)氨基甲酰基]苄基}氨基甲酰基甲氧基\}-2,3,4,5-四氢-1,2,5-苯$

并硫杂二氮杂草;

29) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8-(*N*-{(R)- α -[*N*-((S)-1-羧基-2-(R)-羟丙基)氨基甲酰基]苄基}氨基甲酰基甲氧基)-2,3,4,5-四氢-1,2,5-苯并硫杂二氮杂草;

30) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8-(*N*-{(R)- α -[*N*-(2-磺基乙基)氨基甲酰基]-4-羟基苄基}氨基甲酰基甲氧基)-2,3,4,5-四氢-1,2,5-苯并硫杂二氮杂草;

31) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8-(*N*-{(R)- α -[*N*-((S)-1-羧乙基)氨基甲酰基]-4-羟基苄基}氨基甲酰基甲氧基)-2,3,4,5-四氢-1,2,5-苯并硫杂二氮杂草;

32) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8-(*N*-{(R)- α -[*N*-((R)-1-羧基-2-甲硫基乙基)氨基甲酰基]苄基}氨基甲酰基甲氧基)-2,3,4,5-四氢-1,2,5-苯并硫杂二氮杂草;

33) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8-(*N*-{(R)- α -[*N*-{(S)-1-[*N*-((S)-2-羟基-1-羧乙基)氨基甲酰基]丙基}氨基甲酰基]苄基}氨基甲酰基甲氧基)-2,3,4,5-四氢-1,2,5-苯并硫杂二氮杂草;

34) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8-(*N*-{(R)- α -[*N*-((S)-1-羧基-2-甲基丙基)氨基甲酰基]苄基}氨基甲酰基甲氧基)-2,3,4,5-四氢-1,2,5-苯并硫杂二氮杂草;

35) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8-(*N*-{(R)- α -[*N*-((S)-1-羧丙基)氨基甲酰基]-4-羟基苄基}氨基甲酰基甲氧基)-2,3,4,5-四氢-1,2,5-苯并硫杂二氮杂草;

36) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8-[*N*-((R/S)- α -{*N*-[1-(R)-2-(S)-1-羟基-1-(3,4-二羟基苯基)丙-2-基]氨基甲酰基}-4-羟基苄基)氨基甲酰基甲氧基]-2,3,4,5-四氢-1,2,5-苯并硫杂二氮杂草;

37) 1,1-二氧代-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8-(*N*-{(R)- α -[*N*-(2-(S)-3-(R)-4-(R)-5-(R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基甲酰基]-4-羟基苄基}氨基甲酰基甲氧基)-2,3,4,5-四氢-1,2,5-苯并硫杂二氮杂草; 和

38) 1,1-二氧化-3,3-二丁基-5-苯基-7-甲硫基-8-(*N*-{(R)- α -[*N*-(2-(S)-3-(R)-4-(R)-5-(R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基甲酰基]苄基}氨基甲酰基甲氧基)-2,3,4,5-四氢-1,2,5-苯并硫杂二氮杂草。

根据又再一方面，本发明提供一种联合治疗，所述联合治疗包括同时、序贯或分开给予有治疗需要的温血动物如人有效量的式 I 化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种盐的溶剂合物或前药(任选加药学上可接受的稀释剂或载体)和任选加药学上可接受的稀释剂或载体的选自以下的一种或一种以上的药物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种盐的溶剂合物或前药：

CETP (胆固醇酯转移蛋白)抑制剂，例如在 WO 00/38725 第 7 页第 22 行-第 10 页第 17 行中引用并描述的那些化合物，它们通过引用而结合到本文中；

胆固醇吸收拮抗剂，例如 β -丙内酰胺类化合物，如 SCH 58235 和在 US 5,767,115 中描述的那些化合物，其通过引用而结合到本文中；

MTP (微粒体转移蛋白)抑制剂，例如在 Science, 282, 751-54, 1998 中描述的那些化合物，其通过引用而结合到本文中；

烟酸衍生物，包括缓释和组合产品，例如烟酸、氧甲吡嗪和戊四烟酯；

植物甾醇化合物，例如 stanols；

丙丁酚；

ω -3 脂肪酸，例如 Omacor™；

减肥化合物，例如奥利司他(EP 129,748)和西布曲明(GB 2,184,122 和 US 4,929,629)；

抗高血压化合物，例如血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂、血管紧张素 II 受体拮抗剂、肾上腺素能(adrenergic)阻断剂、 α -肾上腺素能阻断剂、 β -肾上腺素能阻断剂(例如美托洛尔)、 α/β 混合型肾上腺素能阻断剂、肾上腺素能刺激剂、钙离子通道阻断剂、AT-1 阻断剂、

促尿盐排泄药、利尿药或血管舒张药;

CB1拮抗剂或反向激动剂,例如在WO 01/70700和EP 65635中描述的拮抗剂或反向激动剂;

阿司匹林;

黑色素聚集素(MCH)拮抗剂;

PDK抑制剂;或

核受体调节剂,例如LXR、FXR、RXR和ROR α ;

可用于与式I化合物联合的具体ACE抑制剂或其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种盐的溶剂合物或前药(包括活性代谢物)包括但不限于以下化合物:阿拉普利、alatriopril、altiopril calcium、ancovenin、贝那普利、盐酸贝那普利、贝那普利拉、苯甲酰卡托普利、卡托普利、卡托普利-半胱氨酸、卡托普利-谷胱甘肽、ceranapril、ceranopril、西罗普利、西拉普利、西拉普利拉、地拉普利、地拉普利-二酸盐、依那普利、依那普利拉、enapril、表卡托普利(epicaptopril)、foroxymithine、fosfenopril、fosenopril、fosenopril sodium、福辛普利、福辛普利钠、福辛普利拉、福辛普利酸(fosinoprilic acid)、glycopril、hemorphin-4、伊曲普利、咪达普利、吲哚普利、吲哚普利拉、赖苯普利、赖诺普利、lyciumin A、lyciumin B、mixanpril、莫昔普利、莫昔普利拉、莫维普利、muracein A、muracein B、muracein C、喷托普利、培哚普利、培哚普利拉、pivalopril、匹伏普利、喹那普利、盐酸喹那普利、喹那普利拉、雷米普利、雷米普利拉、螺普利、盐酸螺普利、螺普利拉、spiropril、spiropril hydrochloride、替莫普利、盐酸替莫普利、替普罗肽、群多普利、群多普利拉、乌替普利、扎普利、扎普利拉、佐芬普利和佐芬普利拉。优选用于本发明的ACE抑制剂是雷米普利、雷米普利拉、赖诺普利、依那普利和依那普利拉。更优选用于本发明的ACE抑制剂是雷米普利和雷米普利拉。

优选用于与式I化合物联合的血管紧张素II拮抗剂、其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种盐的溶剂合物或前药包括但不限于以

下化合物：坎地沙坦、坎地沙坦西酯、氯沙坦、缬沙坦、厄贝沙坦、他索沙坦、替米沙坦和依普罗沙坦。特别优选的用于本发明的血管紧张素 II 拮抗剂或其药学上可接受的衍生物是坎地沙坦和坎地沙坦西酯。

因此在另一个特征中，本发明提供一种治疗有需要这种治疗的温血动物如人的 II 型糖尿病及其有关并发症的方法，所述方法包括同时、序贯或分开给予所述动物有效量的式 I 化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种盐的溶剂合物或前药和有效量的该联合疗法部分描述的一种其它化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种盐的溶剂合物或前药。

因此在本发明的另一个特征中，提供一种治疗有需要这种治疗的温血动物如人的高脂血症的方法，所述方法包括同时、序贯或分开给予所述动物有效量的式 I 化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种盐的溶剂合物或前药和有效量的在该联合疗法部分描述的一种其它化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种盐的溶剂合物或前药。

根据再一方面，本发明提供一种药用组合物，所述组合物包含式 I 化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种盐的溶剂合物或前药和在该联合疗法部分描述的一种其它化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种盐的溶剂合物或前药以及药学上可接受的稀释剂或载体。

根据再一方面，本发明提供一种药剂盒，所述药剂盒包含式 I 化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种盐的溶剂合物或前药和在该联合疗法部分描述的一种其它化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种盐的溶剂合物或前药。

根据再一方面，本发明提供一种包括以下的药剂盒：

a) 在第一种单位剂型中的式 I 化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种盐的溶剂合物或前药；

b) 在第二种单位剂型中的在该联合疗法部分描述的其它化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种盐的溶剂合物或前药；以及

c) 用于包装所述第一种单位剂型和第二种单位剂型的容器。

根据再一方面，本发明提供一种包括以下的药剂盒：

a) 在第一种单位剂型中的式 I 化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种盐的溶剂合物或前药以及药学上可接受的稀释剂或载体；

b) 在第二种单位剂型中的在该联合疗法部分描述的其它化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种盐的溶剂合物或前药；以及

c) 用于包装所述第一种单位剂型和第二种单位剂型的容器。

根据另一个特征，本发明提供式 I 化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种盐的溶剂合物或前药和在该联合疗法部分描述的其它化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种盐的溶剂合物或前药在制备用于治疗温血动物如人的代谢综合征或 II 型糖尿病及其有关并发症的药物中的用途。

根据另一个特征，本发明提供式 I 化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种盐的溶剂合物或前药和在该联合疗法部分描述的其它化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种盐的溶剂合物或前药在制备用于治疗温血动物如人的高脂血症的药物中的用途。

根据再一方面，本发明提供一种联合治疗，所述联合治疗包括同时、序贯或分开给予有治疗需要的温血动物如人有效量的式 I 化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种盐的溶剂合物或前药以及任选加药学上可接受的稀释剂或载体，和有效量的在该联合疗法部分描述的一种其它化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、这种盐的溶剂合物或前药以及任选加药学上可接受的稀释剂或载体。

实施例

在 Varian Mercury 300 或 Varian UNITY plus 400、500 或 600 分光光度计上进行 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 测定, ^1H 的工作频率分别为 300、400、500 和 600 MHz, ^{13}C 的工作频率分别为 75、100、125 和 150 MHz。测定结果以(δ)表示。

除非另外说明, 否则化学位移以 ppm 给出, 并且溶剂为内标。

缩写

IRS	胰岛素抵抗综合征
TLC	薄层色谱
HOBT	1-羟基苯并三唑水合物
DIBAH	氯化二异丁基铝
DMSO	二甲亚砜
EtOAc	乙酸乙酯
DMF	<i>N,N</i> -二甲基甲酰胺
THF	四氢呋喃
PEG	聚乙二醇
HPLC	高效液相色谱
MeCN	乙腈
TFA	三氟乙酸
Pd/C	披钯碳
HATU	六氟磷酸 O-(7-氮杂苯并三唑基-1-基)- <i>N,N,N',N'</i> -四甲基脲鎓
DCM	二氯甲烷
TBTU	四氟硼酸 O-(苯并三唑-1-基)- <i>N,N,N',N'</i> -四甲基脲鎓
DIPEA	<i>N,N</i> -二异丙基乙胺
DMAP	4-二甲氨基吡啶

三甲醇氨基甲烷 三(羟甲基)氨基甲烷

ISOLUTE® FLASH Si 是适用于色谱层析的硅胶柱

载于聚合物载体上的氢硼化物为来自 Aldrich 的 Amberlite IRA-400 上的氢硼化物

EDC 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐

NH₄OAc 乙酸铵

t 三重峰

s 单峰

d 双重峰

q 四重峰

qvint 五重峰

m 多重峰

br 宽峰

bs 宽单峰

dm 双多重峰

bt 宽三重峰

dd 双双重峰

实施例 1

a) N-苄基-N-己基-3-(4-羟基苯基)丙酰胺

将 N-己基苄胺(0.6 g, 3.136 mmol)和 3-(4-羟基苯基)丙酸(0.52 g, 3.136 mmol)在 DMF (10 ml)中混合, 将混合物冷却。加入 HOBT (0.424 g, 3.136 mmol)和 TBTU (1 g, 3.136 mmol)试剂, 随后加入 DIPEA (1.216 g, 9.409 mmol)。在室温下将混合物搅拌过夜, 然后蒸发。将所得混合物在乙酸乙酯和饱和碳酸氢钠水溶液之间分配。水层用乙酸乙酯萃取, 合并的有机萃取液用硫酸镁干燥, 然后蒸发。用乙酸乙酯/庚烷(10:90, 然后 25:75)作为洗脱液, 经柱(ISOLUTE®SI, 5g/25 ml)层析纯化剩余物, 得到 760 mg 所需产物, 收率 71%。

$^1\text{H NMR}$ (旋异构体, 500 MHz, CDCl_3): δ 0.84 (t, 3H), 1.16-1.27 (m, 6H), 1.41-1.51 (m, 2H), 2.55, 2.63 (t, t, 2H), 2.88, 2.94 (t, t, 2H), 3.09, 3.31 (t, t, 2H), 4.40, 4.57 (s, s, 2H), 6.69, 6.73 (d, d, 2H), 6.98 (d, 2H), 7.05, 7.07 (d, d, 2H), 7.14 (d, 1H) 和 7.21-7.31 (m, 5H)

b) 2-[(4-{3-[苄基(己基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸甲酯

将 N-苄基-N-己基-3-(4-羟基苯基)丙酰胺(183mg, 0.54mmol)、2-(溴甲基)苯甲酸甲酯(136mg, 0.59mmol)和碳酸钾(112mg, 0.81mmol)在乙腈中混合。将混合物在 66°C 下搅拌过夜。减压蒸发溶剂, 将剩余物溶于乙酸乙酯。将有机相洗涤(水 \times 2、盐水 \times 1), Na_2SO_4 干燥, 蒸发。用制备型 HPLC (用 $\text{CH}_3\text{CN}/10\%$ CH_3CN -含 0.1M NH_4OAc 的水相作梯度洗脱液)进一步纯化, 得到 91mg 所需产物(收率 34%)。

$^1\text{HNMR}$ (旋异构体, 400MHz, CDCl_3): δ 0.84-0.88 (m, 3H), 1.19-1.29 (m, 6H), 1.42-1.53 (m, 2H), 2.57, 2.65 (t, t, 2H), 2.92, 2.99 (t, 2H), 3.10, 3.34 (t, t, 2H), 3.89, 3.90 (s, s, 3H), 4.42, 4.60 (s, s, 2H), 5.47, 5.48 (s, s, 2H), 6.86-6.93 (m, 2H), 7.07 (t, 2H), 7.14-7.19 (m, 2H), 7.21-7.38 (m, 4H), 7.52-7.56 (m, 1H), 7.75 (t, 1H), 8.00-8.03 (m, 1H).

c) 2-[(4-{3-[苄基(己基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸

在微波瓶中, 将 2-[(4-{3-[苄基(己基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸甲酯(61mg, 0.13mmol)和氢氧化锂(7mg, 0.29mmol)溶于 3ml THF 和水的混合物(1:1)中。将所得反应混合物置于微波炉中, 在 120°C 下辐照 40 分钟。

加入水, 减压蒸发掉 THF。剩余物用 1M 盐酸酸化, 乙酸乙酯(\times 3)萃取。将有机相合并, 洗涤(水、盐水), Na_2SO_4 干燥, 蒸发。所得粗产物用制备型 HPLC (用 $\text{CH}_3\text{CN}/10\%$ CH_3CN -含 0.1M NH_4OAc 的水相作梯度洗脱液)进一步纯化。

冷冻干燥后得到纯产物 38mg (收率 64%)。

$^1\text{H NMR}$ (旋转异构体, 400MHz, CDCl_3): δ 0.86 (t, 3H), 1.19-1.28 (m, 6H), 1.43-1.55 (m, 2H), 2.60, 2.69 (t, t, 2H), 2.92, 2.99 (t, t, 2H), 3.11, 3.36 (t, t, 2H), 4.43, 4.61 (s, s, 2H), 5.52, 5.53 (s, s, 2H), 6.87-6.93 (m, 2H), 7.05-7.09 (m, 2H), 7.14-7.33 (m, 5H), 7.36-7.40 (m, 1H), 7.55-7.59 (m, 1H), 7.77 (t, 1H) 和 8.12-8.15 (m, 1H),

$^{13}\text{C NMR}$ (旋转异构体, 100MHz, CDCl_3): δ 14.17, 14.23, 22.73, 22.79, 26.75, 26.88, 27.68, 27.72, 31.11, 31.26, 31.61, 31.82, 35.39, 35.68, 46.84, 47.48, 48.72, 51.35, 68.42, 115.16, 115.22, 126.39, 127.15, 127.42, 127.49, 127.72, 128.23, 128.70, 129.10, 129.72, 131.81, 133.45, 133.81, 133.84, 137.10, 137.82, 140.88, 157.33, 157.40, 171.20, 173.10, 173.39.

实施例 2

a) *N*-(2,4-二氟苄基)-*N*-庚胺

将庚胺(345.6 mg, 3 mmol)加至 2,4-二氟苯甲醛(440.5 mg, 3.1 mmol)的 MeOH (3 ml)和原甲酸三甲酯(2 ml)溶液中, 随后加入乙酸(0.05 ml)。将混合物放入微波炉(Smith Synthesizer)在 150°C 下保持 10 分钟。然后依次加入 DCM (3 ml)、聚合物载体上的氢硼化物(1.2g, ~3 mmol)。将混合物振摇过夜, 再加入聚合物载体上的氢硼化物(1.2 g)。将混合物振摇过周末, 然后过滤, 蒸发。将剩余物加至柱((ISOLUTE®PRS, 10g)上, 依次用 MeCN、MeOH、MeOH(NH_3 饱和)洗脱。得到 536 mg 油状产物, 收率 72%。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 0.87 (t, 3H), 1.23-1.32 (m, 8H), 1.45-1.52 (m, 2H), 2.59 (t, 2H), 3.78 (s, 2H), 6.75-6.85 (m, 2H) 和 7.27-7.33 (m, 1H)

b) 4-([2-(甲氧基羰基)苄基]硫基)苯基)乙酸

将 4-巯基苯乙酸(995 mg, 5.915 mmol)的 THF (15 ml)溶液在冰浴中冷却, 加入氢化钠(55-65%, 520 mg, ~13 mmol)。搅拌混合物 30 分钟, 然后加入 2-溴甲基-苯甲酸甲酯(1.49 g, 6.507 mmol)的 THF (5 ml)溶液。将所得混合物搅拌过夜并将温度升至室温。滴加入水, 将混合物搅拌约 20 分钟。然后蒸发除去 THF。用 1%盐酸将剩余物酸化至 pH~3, 然后用乙酸乙酯萃取。将有机萃取液合并, 硫酸镁干燥, 蒸发。依次用 DCM、MeOH/DCM (1:99)作为洗脱液, 经柱

(ISOLUTE®SI, 20g/70ml)层析纯化剩余物, 得到 224 mg 所需产物, 收率 65%。

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 3.62 (s, 2H), 3.90 (s, 3H), 4.52 (s, 2H), 7.17 (d, 2H), 7.23-7.40 (m, 5H) 和 7.94 (d, 1H)。

c) 2-[[[4-{2-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-2-氧代乙基}苯基]硫基]甲基}苯甲酸甲酯

将(4-[[2-(甲氧基羰基)苄基]硫基}苯基)乙酸(581 mg, 1.836 mmol)和 *N*-(2,4-二氟苄基)-*N*-庚胺(465.3 mg, 1.968 mmol)在 DMF 中混合, 将混合物在冰浴中冷却。加入 HOBT (260.6 mg, 1.928 mmol)和 TBTU (619 mg, 1.928 mmol), 随后加入 DIPEA (747.7 mg, 5.785 mmol)。在室温下搅拌混合物过夜, 然后蒸发。将所得混合物在乙酸乙酯和饱和碳酸氢钠水溶液之间分配。水相用乙酸乙酯萃取, 合并的有机萃取液用硫酸镁干燥, 然后蒸发。用乙酸乙酯/庚烷(5:95, 然后 10:90)作为洗脱液, 经柱(ISOLUTE®SI, 20g/70ml)层析纯化剩余物, 得到 767 mg 所需产物, 收率 77%。

$^1\text{H NMR}$ (旋转异构体, 500 MHz, CDCl_3): δ 0.88-0.93 (m, 3H), 1.23-1.34 (m, 8H), 1.48-1.57 (m, 2H), 3.19-3.24, 3.30-3.37 (m, m, 2H), 3.67-3.74 (m, 2H), 3.92 (s, 3H), 4.50, 4.63 (s, s, 2H), 4.53 (s, 2H), 6.78-6.89 (m, 2H), 7.00-7.40 (m, 8H) 和 7.95 (d, 2H)。

d) 2-[[[4-{2-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-2-氧代乙基}苯基]硫基]甲基}苯甲酸

将 2-[[[4-{2-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-2-氧代乙基}苯基]硫基]甲基}-苯甲酸甲酯(31 mg, 0.057 mmol)溶于 THF (1 ml), 在冰浴中冷却。加入氢氧化锂(2 mg, 0.075 mmol)的水(1 ml)溶液。加毕, 撤去冷浴, 搅拌混合物过夜。LC-MS 表明几乎没有产物生成。再加入氢氧化锂(3 mg), 将混合物再搅拌 6 天, HPLC 表明约 30%产物生成。再加入氢氧化锂(3 mg), 再将混合物搅拌 13 天。真空蒸发除去 THF。剩余物用 10%盐酸酸化至 pH~3, 然后用乙酸乙酯($\times 2$)萃取。将有机

相合并，硫酸镁干燥，蒸发。用 DCM、MeOH/DCM (0.5:99.5)作为洗脱液，经柱(ISOLUTE®SI, 500g/3ml)层析纯化剩余物，得到 17 mg 所需产物，收率 56%。

$^1\text{H NMR}$ (旋转变构体, 500 MHz, CDCl_3): δ 0.89-0.93 (m, 3H), 1.25-1.34 (m, 8H), 1.52-1.60 (m, 2H), 3.27, 3.37 (t, t, 2H), 3.71, 3.76 (s, s, 2H), 4.55, 4.65 (s, s, 2H), 6.80-6.92 (m, 2H), 7.07-7.17 (m, 2H), 7.28-7.37 (m, 5H), 7.42-7.47 (m, 1H) 和 7.95-7.98 (m, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$ (旋转变构体, 125 MHz, CDCl_3): δ 14.01, 22.51, 26.78, 26.85, 27.28, 28.56, 28.85, 28.93, 31.65, 31.70, 38.22, 39.94, 40.25, 41.57, 41.60, 45.16, 46.48, 47.94, 103.53 (t), 104.26(t), 111.50(br), 111.71(br), 119.65(d), 120.37(d), 127.05, 128.95 (br), 129.61, 129.68, 131.15, 131.66(d), 131.76(d), 132.41, 132.80, 132.88, 133.85, 134.03, 140.43, 160.58 (dd), 160.91(dd), 162.21(dd), 162.53(dd), 170.46, 171.44 和 171.54.

实施例 3

a) 4-([2-(甲氧基羰基)苄基]氧基)苯基)乙酸

将 4-羧基苯乙酸(760 mg, 4.995 mmol)溶于乙醇(99.5%, 20 ml)。加入氢氧化钾(560.5 mg, 9.99 mmol)。将混合物在室温下搅拌 30 分钟。然后滴加入 2-溴甲基苯甲酸甲酯(1144.2 mg, 4.995 mmol)。将所得混合物加热回流 2 小时，然后真空蒸发至干。向剩余物中加入水和乙酸乙酯，然后分离各相。水相用 10%盐酸酸化至 pH~5，然后用乙酸乙酯萃取。有机相用硫酸镁干燥，真空蒸发至干。用 DCM、MeOH/DCM (1:99)作为洗脱液，经柱(ISOLUTE®SI, 5g/6ml)层析纯化剩余物，得到所需产物(262 mg)，收率 17.5%。

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 3.61 (s, 2H), 3.91 (s, 3H), 5.50 (s, 2H), 6.97 (d, 2H), 7.22 (d, 2H), 7.39 (t, 1H), 7.57 (t, 1H), 7.76 (d, 1H) 和 8.04 (d, 1H).

b) 2-([4-{2-[苄基(己基)氨基]-2-氧代乙基}苯氧基)甲基]苯甲酸甲酯

将(4-([2-(甲氧基羰基)苄基]氧基)苯基)乙酸(50 mg, 0.166 mmol)溶于 DCM (2 ml)，依次加入 N-己基苄胺(38.2 mg, 0.2 mmol)、EDC (38.3

mg, 0.2 mmol)、DMAP (24.4 mg, 0.2 mmol)。将混合物在室温下搅拌过夜。向混合物中加入 1% HCl (1 ml)和水(1 ml)。用 Whatman 过滤管分离两相。真空蒸发所得的有机溶液, 剩余油状产物(71 mg)。然后将其直接用于下步反应。

$^1\text{H NMR}$ (旋转异构体, 500 MHz, CDCl_3): δ 0.86-0.91 (m, 3H), 1.22-1.32 (m, 6H), 1.47-1.58(m, 2H), 3.21, 3.39 (t, t, 2H), 3.65, 3.75 (s, s, 2H), 3.93 (s, 3H), 4.53, 4.64 (s, s, 2H), 5.51, 5.52 (s, s, 2H), 6.96, 6.99 (d, d, 2H), 7.16 (d, 2H), 7.23-7.42 (m, 6H), 7.59 (t, 1H), 7.78 (d, 1H) 和 8.06 (d, 1H).

c) 2-[(4-{2-[苄基(己基)氨基]-2-氧代乙基}苯氧基)甲基]苯甲酸

将 2-[(4-{2-[苄基(己基)氨基]-2-氧代乙基}苯氧基)甲基]苯甲酸甲酯(70 mg, 0.148 mmol)的 THF (2 ml)溶液在冰浴中冷却。滴加入氢氧化锂(7.08 mg, 0.296 mmol)的水(1 ml)溶液。然后撤去冷浴, 并搅拌混合物过夜。HPLC 表明反应没有完成。再加入氢氧化锂(0.2M, 0.5 ml)。将反应混合物再搅拌 4 天。然后真空蒸发除去 THF。剩余物用 1% 盐酸酸化至 pH=3-4, 然后用乙酸乙酯萃取。有机相用硫酸镁干燥, 然后蒸发。用 DCM、MeOH/DCM(1:99, 然后 2:98)作为洗脱液, 经柱 (ISOLUTE®SI, 2g/6 ml)层析纯化剩余物, 得到所需产物 24 mg, 收率 35%。

$^1\text{H NMR}$ (旋转异构体, 500 MHz, CDCl_3): δ 0.86-0.90 (m, 3H), 1.21-1.30 (m, 6H), 1.46-1.58(m, 2H), 3.21, 3.39 (t, t, 2H), 3.68, 3.77 (s, s, 2H), 4.53, 4.65 (s, s, 2H), 5.53, 5.54 (s, s, 2H), 6.95, 6.98 (d, d, 2H), 7.14-7.17 (m, 2H), 7.22-7.33 (m, 4H), 7.35-7.43 (m, 2H), 7.60 (t, 1H), 7.80 (d, 1H) 和 8.16 (d, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$ (旋转异构体, 125 MHz, CDCl_3): δ 13.94, 13.97, 22.49, 22.53, 26.47, 26.57, 27.29, 28.36, 31.40, 31.50, 39.82, 40.12, 46.50, 47.43, 48.28, 51.31, 68.21, 115.15, 126.25, 126.85, 127.20, 127.24, 127.36, 127.48, 127.54, 127.97, 128.49, 128.87, 129.76, 129.89, 131.52, 133.18, 136.80, 137.57, 140.40, 157.59, 170.60, 171.76 和 172.03.

实施例 4

a) 2-[(4-{2-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-2-氧代乙基}苯氧基)甲基]-苯甲酸甲酯

依次将 *N*-(2,4-二氟苄基)-*N*-庚胺(106 mg, 0.44 mmol)、EDC (84.3 mg, 0.44 mmol)、DMAP (54 mg, 0.44 mmol)加至(4-{[2-(甲氧基羰基)苄基]氧基}苯基)乙酸(120 mg, 0.4 mmol)的 DCM(10 ml)溶液中。将混合物在室温下搅拌过夜, 然后用 1%盐酸、水、盐水洗涤, 用硫酸镁干燥, 然后蒸发。用 DCM、MeOH/DCM(0.5:99.5)作为洗脱液, 经柱 (ISOLUTE®SI, 5g/15 ml)层析纯化剩余物, 得到所需产物 155 mg, 收率 74%。

¹H NMR (旋异构体, 500 MHz, CDCl₃): δ 0.88-0.92 (m, 3H), 1.23-1.33 (m, 8H), 1.49-1.57 (m, 2H), 3.24, 3.34 (t, t, 2H), 3.66, 3.72 (s, s, 2H), 3.92 (s, 3H), 4.53, 4.62 (s, s, 2H), 5.50, 5.51 (s, s, 2H), 6.77-6.89 (m, 2H), 6.95, 6.98 (d, d, 2H), 6.99-7.04, 7.29-7.33 (m, m, 1H), 7.17, 7.20 (d, d, 2H), 7.39(t, 1H), 7.57 (t, 1H), 7.75-7.79 (m, 1H) 和 8.05 (d, 1H)。

b) 2-[(4-{2-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-2-氧代乙基}苯氧基)甲基]苯甲酸

将氢氧化锂(13.3 mg, 0.554 mmol)的水(1.5 ml)溶液加至 70335 2-[(4-{2-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-2-氧代乙基}苯氧基)甲基]苯甲酸甲酯(145 mg, 0.277 mmol)的 THF(3 ml)溶液中。然后将混合物在微波炉 (Smith Synthesizer)中 150℃下放置 7 分钟, 然后蒸发除去 THF。剩余物用 1%盐酸酸化至 pH~4, 然后用乙酸乙酯(× 2)萃取。将有机部分合并, 用盐水洗涤, 硫酸镁干燥, 然后蒸发。依次用 DCM、MeOH/DCM(0.5:99.5, 然后 1:99)作为洗脱液, 经柱 (ISOLUTE®SI, 2g/6ml)层析纯化剩余物, 得到所需产物 94 mg, 收率 67%。

$^1\text{H NMR}$ (旋转变构体, 500 MHz, CDCl_3): δ 0.86-0.91 (m, 3H), 1.22-1.32 (m, 8H), 1.48-1.56 (m, 2H), 3.23, 3.34 (t, t, 2H), 3.68, 3.73 (s, s, 2H), 4.52, 4.63 (s, s, 2H), 5.53 (s, br, 2H), 6.77-6.87 (m, 2H), 6.93-6.97 (m, 2H), 6.99-7.04, 7.27-7.33 (m, m, 1H), 7.16-7.20 (m, 2H), 7.41 (t, 1H), 7.58-7.62 (m, 1H), 7.78 (d, 1H) 和 8.15(d, 1H)。

$^{13}\text{C NMR}$ (旋转变构体, 125 MHz, CDCl_3): δ 14.00, 22.51, 26.75, 26.84, 27.26, 28.54, 28.86, 28.94, 31.64, 31.70, 39.75, 40.08, 41.39, 45.05, 46.30, 47.98, 68.21, 103.67 (t), 104.12 (t), 111.52 (d), 115.17, 119.80 (d), 120.52 (d), 126.97, 127.04, 127.21, 128.81 (br), 129.78, 129.85, 131.52, 133.16, 140.33, 157.65, 160.48 (dd), 160.85 (dd), 162.13 (dd), 162.46 (dd), 171.01, 171.93 和 171.99。

实施例 5

a) *N*-(2,4-二氟苄基)-*N*-庚基-3-(4-羟基苯基)丙酰胺

将 3-(4-羟基苯基)丙酸(108 mg, 0.650 mmol)溶于 DMF。加入 *N*-(2,4-二氟苄基)-*N*-庚胺(164.7 mg, 0.682 mmol)。将混合物在冰浴中冷却。加入 TBTU (219 mg, 0.682 mmol), 随后加入 DIPEA (0.238 ml, 1.365 mmol)。搅拌混合物过夜并将温度升至室温。加入乙酸乙酯和饱和碳酸氢钠水溶液, 然后分离两相。水相用乙酸乙酯萃取。将有机相合并, 硫酸镁干燥, 然后蒸发。依次用 DCM、MeOH/DCM (1:99) 作为洗脱液, 经柱(ISOLUTE®SI, 5g/15 ml)层析纯化剩余物, 得到所需产物 223 mg, 收率 88%。

$^1\text{H NMR}$ (旋转变构体, 500 MHz, CDCl_3): δ 0.86-0.90 (m, 3H), 1.21-1.31 (m, 8H), 1.47-1.53 (m, 2H), 2.60, 2.67 (t, t, 2H), 2.85-2.96 (m, 2H), 3.15, 3.32 (t, t, 2H), 4.41, 4.60 (s, s, 2H), 6.75-6.85 (m, 4H), 6.90-6.96, 7.12-7.18 (m, m, 1H) 和 7.00, 7.04 (d, d, 2H)。

b) 2-[(4-{3-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]-苯甲酸甲酯

将 *N*-(2,4-二氟苄基)-*N*-庚基-3-(4-羟基苯基)丙酰胺(195 mg, 0.501 mmol)、2-溴甲基苯甲酸甲酯(120.4 mg, 0.526 mmol)和无水碳酸钾(103 mg, 0.751 mmol)在乙腈(15 ml)中混合。将混合物加热回流过夜, 然后蒸发至干。加入水和乙酸乙酯, 分离两相。有机相经硫酸镁干燥,

然后蒸发。依次用庚烷/DCM (50:50)、DCM、MeOH/DCM (0.5:99.5) 作为洗脱液，经柱(ISOLUTE®SI, 2g/6ml)层析纯化剩余物，得到所需产物 187 mg，收率 69.5%。

$^1\text{H NMR}$ (旋转变构体, 500 MHz, CDCl_3): δ 0.87-0.91 (m, 3H), 1.21-1.31 (m, 8H), 1.44-1.56 (m, 2H), 2.56-2.69 (m, 2H), 2.91-3.01 (m, 2H), 3.14, 3.32 (t, t, 2H), 3.92 (s, 3H), 4.43, 4.59 (s, s, 2H), 5.49 (s, 2H), 6.75-6.97 (m, 4H), 7.08-7.28 (m, 3H), 7.38 (t, 1H), 7.56 (t, 1H), 7.76 (d, 1H) 和 8.04 (d, 1H),

c) 2-[(4-{3-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸

将氢氧化锂(13.3 mg, 0.554 mmol)的水(1 ml)溶液加至 2-[(4-{3-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸甲酯(149 mg, 0.277 mmol)的 THF(2 ml)溶液中。然后将混合物置于微波炉(Smith Synthesizer)中，在 150°C 下辐照 7 分钟，然后蒸发除去 THF。剩余物用 1% 盐酸酸化至 pH~4，然后用乙酸乙酯萃取(\times 2)。将有机萃取液合并，用盐水洗涤，硫酸镁干燥，然后蒸发。依次用 DCM、MeOH/DCM (1:99)作为洗脱液，经柱(ISOLUTE®SI, 2g/6ml)层析纯化剩余物，得到所需产物 121 mg，收率 83%。

$^1\text{H NMR}$ (旋转变构体, 500 MHz, CDCl_3): δ 0.89-0.93 (m, 3H), 1.24-1.33 (m, 8H), 1.49-1.58 (m, 2H), 2.64-2.74 (m, 2H), 2.97-3.03 (m, 2H), 3.17, 3.37 (t, t, 2H), 4.46, 4.65 (s, s, 2H), 5.58, 5.59 (s, s, 2H), 6.78-6.87 (m, 2H), 6.94-6.97 (m, 2H), 6.99-7.04, 7.27-7.31 (m, m, 和 1H), 7.14, 7.17 (d, d, 2H), 7.42-7.45 (m, 1H), 7.61-7.64 (m, 1H), 7.82-7.85 (m, 1H) 8.19-8.22 (d, 1H),

$^{13}\text{C NMR}$ (旋转变构体, 125 MHz, CDCl_3): δ 13.96, 22.46, 22.49, 26.67, 26.85, 27.38, 28.57, 28.80, 28.94, 30.69, 30.84, 31.58, 31.67, 35.01, 35.26, 41.63, 44.76, 44.78, 46.43, 47.78, 68.15, 103.60(t), 104.07(t), 111.41(dd), 111.49 (dd), 114.91, 119.74 (d), 120.45 (d), 126.86, 127.12, 128.53 (br), 129.40, 131.49, 131.58, 133.15, 133.32, 140.54, 157.12, 160.33 (dd), 160.81 (dd), 162.07 (dd), 162.33 (dd), 171.07, 173.04 和 173.11.

实施例 6

a) 将 3-(4-巯基苯基)丙酸(2.0 g, 10.97 mmol)溶于无水 THF (60 ml), 冷却至 0℃。加入氢氧化钠(0.64 g, 24.1 mmol)。将混合物搅拌 30 分钟, 滴加入 2-(溴甲基)苯甲酸甲酯(2.77 g, 12.07 mmol)的无水 THF(10 ml)溶液。将溶液升温至室温, 搅拌过夜。滴加入水(10 ml)使剩余氢氧化钠失活。蒸发除去溶剂, 将剩余物酸化至 pH 为 3 (HCl 1%)。水相用 EtOAc (3 × 10 ml)洗涤。将有机相合并, MgSO₄干燥, 然后蒸发。所得粗产物用制备型 HPLC 纯化(开始用乙腈/缓冲液 60/40, 然后将乙腈浓度增至 100%, 所述缓冲液是乙腈/水(10/90)和乙酸铵的混合物(0.1 M, KR-100-7-C8 柱, 50 mm × 250 mm, 流速 40 ml/min)。合并含产物的流分, 蒸发除去乙腈。加入 EtOAc (10 ml), 有机相用盐水洗涤两次, MgSO₄干燥。蒸发除去溶剂, 得到 2.26 g 3-(4-{[2-(甲氧基羰基)苄基]巯基}苯基)丙酸(收率 62.3%)。

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 2.66 (t, 2H), 2.92 (t, 2H), 3.90 (s, 3H), 4.51 (s, 2H), 7.10 (d, 2H), 7.19 (d, 1H), 7.25 (d, 2H), 7.29 (t, 1H), 7.36 (t, 1H) 和 7.94 (d, 1H)。

b) 2-{[(4-{3-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-3-氧代丙基}苯基)巯基]-甲基}苯甲酸甲酯

将 *N*-(2,4-二氟苄基)-*N*-庚胺(0.64 g, 2.65 mmol)溶于 DMF (10 ml), 加入 3-(4-{[2-(甲氧基羰基)苄基]巯基}苯基)丙酸(0.80 g, 2.41 mmol), 将混合物冷却至 0℃。加入四氟硼酸 *N*-[(1*H*-1,2,3-苯并三唑-1-基氧基)-(二甲氨基)亚甲基]-*N*-甲基甲铵(0.85 g, 2.65 mmol)和二异丙基乙胺(0.65 g, 5.05 mmol)。将混合物升温至室温并搅拌过夜。加入 EtOAc (15 ml), 有机相用碳酸氢钠(水溶液, 10 ml)洗涤两次。蒸发除去 EtOAc, 所得粗产物用制备型 HPLC 纯化(开始用乙腈/缓冲液 60/40, 然后将乙腈浓度增至 100%, 所述缓冲液是乙腈/水(10/90)和乙酸铵的混合物(0.1 M, KR-100-7-C8 柱, 50 mm × 250 mm, 流速 40 ml/min)。合并含产物的流分, 蒸发除去乙腈。加入 EtOAc (10 ml),

有机相用盐水洗涤两次, MgSO_4 干燥。蒸发除去溶剂, 得到 1.10 g 2-
 {[4-{3-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-3-氧代丙基}苯基)硫基]甲基}苯甲
 酸甲酯(收率 82.2%)。

$^1\text{H NMR}$ (旋转异构体, 500 MHz, CDCl_3): δ 0.89 (t, 3H), 1.22-1.32 (m, 8H), 1.47-1.55 (m,
 2H), 2.55, 2.66 (t, t, 2H), 2.95-3.01 (m, 2H), 3.16, 3.33 (t, t, 2H), 3.89, 3.90 (s, s, 3H), 4.44,
 4.60 (s, s, 2H), 4.50, 4.51 (s, s, 2H), 6.76-6.85 (m, 2H), 6.92-6.96, 7.20-7.25 (m, m, 4H),
 7.07, 7.12 (d, d, 2H), 7.27-7.31 (m, 1H), 7.32-7.34 (m, 1H) 和 7.91-7.92 (m, 1H)。

c) 2-[[4-{3-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-3-氧代丙基}苯基)硫基]-
 甲基}苯甲酸

将 2-[[4-{3-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-3-氧代丙基}苯基)硫基]-
 甲基}苯甲酸甲酯(1.05 g, 1.89 mmol)溶于 EtOH (95%, 5 ml), 加入氢
 氧化钾(0.21 g, 3.77 mmol)。反应在单波节微波炉中进行(7 分钟, 150
 $^\circ\text{C}$)。进行如下后处理: 加入 EtOAc (5 ml)并用 HCl (2×5 ml, 1M)洗
 涤。有机层用 MgSO_4 干燥, 蒸发除去溶剂, 得到 0.96 g 2-[[4-{3-[(2,4-
 二氟苄基)(庚基)氨基]-3-氧代丙基}苯基)硫基]甲基}苯甲酸(收率
 94.3%)。

$^1\text{H NMR}$ (旋转异构体, 500 MHz, CDCl_3): δ 0.88-0.92 (m, 3H), 1.24-1.33 (m, 8H), 1.50-1.57
 (m, 2H), 2.64, 2.69 (t, t, 2H), 2.95-3.00 (m, 2H), 3.20, 3.34 (t, t, 2H), 4.48, 4.62 (s, s, 2H),
 4.55, 4.56 (s, s, 2H), 6.79-6.87 (m, 2H), 6.98-7.03, 7.27-7.30 (m, m, 2H), 7.06-7.10 (m,
 2H), 7.22-7.24 (m, 2H), 7.31-7.36 (m, 1H), 7.41-7.46 (m, 1H) 和 8.03 (d, 1H)。

$^{13}\text{C NMR}$ (旋转异构体, 125 MHz, CDCl_3): δ 14.01, 22.51, 22.54, 26.74, 26.90, 27.42, 28.63,
 28.86, 28.98, 30.92, 31.18, 31.64, 31.72, 34.65, 38.23, 38.28, 41.58, 44.82, 46.44, 47.77,
 103.46 (t), 104.14 (t), 111.52 (dd), 111.58 (dd), 119.74 (dd), 120.51 (dd), 127.09, 128.55,
 128.63, 129.03, 131.16, 131.49, 131.55, 131.78 (dd), 132.30, 132.50, 132.96, 140.04,
 140.11, 140.59, 140.68, 160.47 (dd), 160.88 (dd), 162.16 (dd), 162.44 (dd), 170.88 (br),
 172.56 和 172.59。

实施例 7

a) 将 *N*-(2,3-二甲氧基苄基)丁-1-胺(0.59 g, 2.65 mmol)溶于 DMF

(10 ml), 加入 3-(4-羟基苯基)丙酸(0.4 g, 2.41 mmol), 将混合物冷却至 0°C。加入四氟硼酸 *N*-[(1*H*-1,2,3-苯并三唑-1-基氧基)(二甲氨基)亚甲基]-*N*-甲基甲铵(0.85 g, 2.65 mmol)和二异丙基乙胺(0.65 g, 5.05 mmol)。将混合物升温至室温并搅拌过夜。加入 EtOAc (15 ml), 有机相用碳酸氢钠(水溶液, 10 ml)洗涤两次。蒸发除去 EtOAc, 所得粗产物用制备型 HPLC 纯化(开始用乙腈/缓冲液 60/40, 然后将乙腈浓度增至 100%, 所述缓冲液是乙腈/水(10/90)和乙酸铵的混合物(0.1 M, KR-100-7-C8 柱, 50 mm × 250 mm, 流速 40 ml/min)。合并含产物的流分, 蒸发除去乙腈。加入 EtOAc (10 ml), 有机相用盐水洗涤两次, MgSO₄ 干燥。蒸发除去溶剂, 得到 1.08 g *N*-丁基-*N*-(2,3-二甲氧基苄基)-3-(4-羟基苯基)丙酰胺(收率 82.3%)。

¹H NMR (旋转异构体, 500 MHz, CDCl₃): δ 0.85-0.89 (m, 3H), 1.20-1.30 (m, 2H), 1.44-1.53 (m, 2H), 2.60, 2.65 (t, t, 2H), 2.88, 2.94 (t, t, 2H), 3.13, 3.33 (t, t, 2H), 3.78, 3.80 3.83, 3.85 (s, s, s, s, 6H), 4.43, 4.68 (s, s, 2H), 6.57, 6.67 (d, d, 1H), 6.74-6.86 (m, 3H) 和 6.95-7.05 (m, 3H)。

b) 将 *N*-丁基-*N*-(2,3-二甲氧基苄基)-3-(4-羟基苯基)丙酰胺(50 mg, 0.13 mmol)和 2-(溴甲基)苯甲酸甲酯(0.034 g, 0.15 mmol)溶于乙腈(10 ml), 加入碳酸钾(37 mg, 0.27 mmol)。将混合物在 60°C 下搅拌 3 小时。加入加载在聚合物上的三甲醇氨基甲烷(0.3 当量), 搅拌过夜。滤除聚合物, 蒸发除去溶剂。加入 EtOAc (10 ml), 有机相用水洗涤 3 次。粗产物用 MgSO₄ 干燥后, 蒸发除去溶剂。所得剩余物用制备型 HPLC 纯化(开始用乙腈/缓冲液 60/40, 然后将乙腈浓度增至 100%, 所述缓冲液是乙腈/水(10/90)和乙酸铵的混合物(0.1 M, KR-100-7-C8 柱, 50 mm × 250 mm, 流速 40 ml/min)。合并含产物的流分, 蒸发除去乙腈。加入 EtOAc (10 ml), 有机相用盐水洗涤两次, MgSO₄ 干燥。蒸发除去溶剂, 得到 15 mg 2-[(4-{3-[丁基(2,3-二甲氧基苄基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸甲酯(21.4%)。

$^1\text{H NMR}$ (旋转异构体, 500 MHz, CDCl_3): δ 0.89-0.95 (m, 3H), 1.24-1.35 (m, 2H), 1.48-1.57 (m, 2H), 2.62, 2.69 (t, t, 2H), 2.95, 3.01 (t, t, 2H), 3.17, 3.36 (t, t, 2H), 3.83, 3.86, 3.89, 3.90, 3.93, 3.94 (s, s, s, s, s, s, 9H), 4.48, 4.71 (s, s, 2H), 5.50, 5.52 (s, s, 2H), 6.62, 6.75 (d, d, 1H), 6.84-6.97 (m, 3H), 7.00-7.04 (m, 1H), 7.11, 7.19 (d, d, 2H), 7.38-7.42 (m, 1H), 7.56-7.60 (m, 1H), 7.78 (t, 1H) 和 8.04-8.07 (m, 1H).

c) 将 2-[(4-{3-[丁基(2,3-二甲氧基苄基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]-苯甲酸甲酯(15 mg, 0.029 mmol)溶于 THF/水(2/1, 2 ml), 加入 LiOH (1.4 mg, 0.058 mmol)。反应在单波节微波炉中进行(150°C, 7 分钟)。进行以下后处理: 加入 EtOAc (10 ml)并用 HCl (2 × 5 ml, 1M)洗涤有机相两次。有机相用 MgSO_4 干燥, 蒸发除去溶剂, 得到 13 mg 2-[(4-{3-[丁基(2,3-二甲氧基苄基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸(收率 89%)。

$^1\text{H NMR}$ (旋转异构体, 500 MHz, CDCl_3): δ 0.89-0.95 (m, 3H), 1.24-1.35 (m, 2H), 1.48-1.57 (m, 2H), 2.62, 2.69 (t, t, 2H), 2.95, 3.01 (t, t, 2H), 3.17, 3.36 (t, t, 2H), 3.83, 3.85, 3.88, 3.89 (s, s, s, s, 6H), 4.48, 4.71 (s, s, 2H), 5.50, 5.52 (s, s, 2H), 6.62, 6.75 (d, d, 1H), 6.84-6.97 (m, 3H), 7.00-7.04 (m, 1H), 7.11, 7.19 (d, d, 2H), 7.38-7.42 (m, 1H), 7.56-7.60 (m, 1H), 7.78 (t, 1H) 和 8.04-8.07 (m, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$ (旋转异构体, 125 MHz, CDCl_3): δ 13.76, 13.85, 20.02, 20.21, 29.55, 30.30, 30.69, 30.84, 30.96, 35.13, 35.34, 42.60, 46.17, 46.37, 47.20, 55.69, 55.75, 60.35, 61.74, 68.20, 111.23, 111.79, 114.88, 114.96, 118.79, 120.88, 124.15, 124.21, 126.81, 127.18, 127.26, 129.46, 130.51, 131.25, 131.52, 133.23, 133.65, 140.59, 146.50, 147.17, 152.48, 152.61, 157.02, 157.10, 170.79, 172.93 和 173.25.

实施例 8

a) 将 *N*-(2,3-二甲氧基苄基)-*N*-庚胺(0.70 g, 2.65 mmol)溶于 DMF (10 ml), 加入 3-(4-羟基苯基)丙酸(0.4 g, 2.41 mmol), 将混合物冷却至 0°C。加入四氟硼酸 *N*-[(1*H*-1,2,3-苯并三唑-1-基氧基)(二甲氨基)亚甲基]-*N*-甲基甲铵(0.85 g, 2.65 mmol)和二异丙基乙胺(0.65 g, 5.05 mmol)。将混合物升温至室温并搅拌过夜。加入 EtOAc (15 ml), 有机

相用碳酸氢钠(水溶液, 10 ml)洗涤两次。蒸发除去 EtOAc, 所得粗产物用制备型 HPLC 纯化(开始用乙腈/缓冲液 60/40, 然后将乙腈浓度增至 100%, 所述缓冲液是乙腈/水(10/90)和乙酸铵的混合物(0.1 M, KR-100-7-C8 柱, 50 mm × 250 mm, 流速 40 ml/min)。合并含产物的流分, 蒸发除去乙腈。加入 EtOAc (10 ml), 有机相用盐水洗涤两次, MgSO₄ 干燥, 蒸发除去溶剂, 得到 0.98 g *N*-(2,3-二甲氧基苄基)-*N*-庚基-3-(4-羟基苯基)丙酰胺(收率 70%)。

¹H NMR (旋转异构体, 500 MHz, CDCl₃): δ 0.85-0.89 (m, 3H), 1.20-1.30 (m, 8H), 1.47-1.56 (m, 2H), 2.62, 2.67 (t, t, 2H), 2.89, 2.95 (t, t, 2H), 3.14, 3.33 (t, t, 2H), 3.79, 3.80, 3.84, 3.85 (s, s, s, s, 6H), 4.45, 4.69 (s, s, 2H), 6.58, 6.68 (d, d, 1H), 6.74-6.88 (m, 3H) 和 6.96-7.05 (m, 3H)。

b) 将 *N*-(2,3-二甲氧基苄基)-*N*-庚基-3-(4-羟基苯基)丙酰胺(0.196 g, 0.47 mmol)和 2-(溴甲基)苯甲酸甲酯(0.12 g, 0.52 mmol)溶于乙腈(10 ml), 加入碳酸钾(131 mg, 0.95 mmol)。将混合物在 60℃ 下搅拌 3 小时。加入加载在聚合物上的三甲醇氨基甲烷(0.3 当量), 搅拌过夜。滤除聚合物, 蒸发除去溶剂, 加入 EtOAc (10 ml), 有机相用水洗涤 3 次。粗产物用 MgSO₄ 干燥后, 蒸发除去溶剂, 所得粗产物用制备型 HPLC 纯化(开始用乙腈/缓冲液 60/40, 然后将乙腈浓度增至 100%, 所述缓冲液是乙腈/水(10/90)和乙酸铵的混合物(0.1 M, KR-100-7-C8 柱, 50 mm × 250 mm, 流速 40 ml/min)。合并含产物的流分, 蒸发除去乙腈。加入 EtOAc (10 ml), 有机相用盐水洗涤两次, MgSO₄ 干燥, 蒸发除去溶剂, 得到 39 mg 2-[(4-{3-[(2,3-二甲氧基苄基)(庚基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸甲酯(收率 14.6%)。

¹H NMR (旋转异构体, 500 MHz, CDCl₃): δ 0.86-0.89 (m, 3H), 1.19-1.30 (m, 8H); 1.46-1.55 (m, 2H), 2.60, 2.66 (t, t, 2H), 2.93, 2.98 (t, t, 2H), 3.14, 3.33 (t, t, 2H), 3.80, 3.83, 3.86, 3.87, 3.90, 3.91 (s, s, s, s, s, 9H), 4.45, 4.68 (s, s, 2H), 5.48, 5.49 (s, s, 2H), 6.59, 6.73 (d, d, 1H), 6.81-7.01 (m, 4H) 7.08, 7.16 (d, d, 2H) 7.35-7.39 (m, 1H), 7.53-7.57 (m, 1H), 7.76 (t, 1H) 和 8.01-8.04 (m, 1H)。

c) 将 2-[(4-{3-[(2,3-二甲氧基苄基)(庚基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]-苯甲酸甲酯(39 mg, 0.069 mmol)溶于 THF/水(2/1, 2 ml), 加入 LiOH (3.3 mg, 0.14 mmol)。反应在单波节微波炉中进行(150°C, 7 分钟)。进行以下后处理: 加入 EtOAc (10 ml)并用 HCl (2 × 5 ml, 1 M) 洗涤有机相两次。有机相用 MgSO₄ 干燥, 蒸发除去溶剂, 得到 30 mg 2-[(4-{3-[(2,3-二甲氧基苄基)(庚基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸(收率 78.9)。

¹H NMR (旋转异构体, 500 MHz, CDCl₃): δ 0.84-0.87 (m, 3H), 1.20-1.28 (m, 8H), 1.45-1.55 (m, 2H), 2.63, 2.69 (t, t, 2H), 2.93, 2.99 (t, t, 2H), 3.13, 3.33 (t, t, 2H), 3.79, 3.81, 3.84, 3.85 (s, s, s, s, 6H), 4.45, 4.69 (s, s, 2H), 5.52, 5.53 (s, s, 2H), 6.60, 6.72 (d, d, 1H), 6.79-7.01 (m, 4H) 7.08, 7.16 (d, d, 2H) 7.36-7.41 (m, 1H), 7.55-7.60 (m, 1H), 7.79 (t, 1H) 和 8.13-8.16 (m, 1H)。

¹³C NMR (旋转异构体, 125 MHz, CDCl₃): δ 14.04, 22.52, 22.56, 26.77, 26.96, 27.45, 28.60, 28.92, 29.03, 30.83, 30.97, 31.66, 31.75, 35.16, 35.36, 42.61, 46.42, 46.46, 47.45, 55.69, 55.75, 60.35, 60.73, 68.19, 111.26, 111.83, 114.88, 114.95, 118.84, 120.91, 124.14, 124.20, 126.85, 127.15, 127.22, 129.46, 130.52, 131.26, 131.51, 133.19, 133.66, 140.61, 146.59, 147.19, 152.48, 152.60, 157.02, 157.11, 170.77, 172.92 和 173.23。

实施例 9

a) N-(3-乙氧基丙基)-N-(4-异丙基苄基)胺

将对异丙基苯甲醛(1.007 g, 6.798 mmol)溶于甲醇 (5 ml)。加入原甲酸三甲酯(5 ml)。然后加入 3-乙氧基丙胺(681 mg, 6.6 mmol), 随后加入乙酸(0.2 ml)。在室温下放置过夜后, 加入 DCM (5 ml), 随后加入加载在聚合物上的氢硼化物(5.28 g, 13.2 mmol)。将混合物在室温下振摇 4 天, 然后过滤。蒸发滤液。将剩余物溶于乙腈, 然后分成两份, 加至两根柱(ISOLUTE®PRS, 10g/70 ml, 用乙腈润湿)上。依次用乙腈、甲醇、甲醇(NH₃ 饱和)洗脱。合并产物流分并蒸发。得到油状产物 1.283 g, 收率 83%。

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.19 (t, 3H), 1.25 (d, 6H), 1.75-1.84 (m, 2H), 2.73 (t, 2H), 2.85-2.94 (m, 1H), 3.43-3.52 (m, 4H), 3.75 (s, 2H), 7.18 (d, 2H) 和 7.24 (d, 2H)。

b) 将 *N*-(3-乙氧基丙基)-*N*-(4-异丙基苄基)胺(0.62 g, 2.65 mmol) 溶于 DMF (10 ml), 加入 3-(4-羟基苯基)丙酸(0.4 g, 2.41 mmol), 将混合物冷却至 0℃。加入四氟硼酸 *N*-[(1*H*-1,2,3-苯并三唑-1-基氧基)(二甲氨基)亚甲基]-*N*-甲基甲铵(0.85 g, 2.65 mmol)和二异丙基乙胺(0.65 g, 5.05 mmol)。将混合物升温至室温并搅拌过夜。加入 EtOAc (15 ml), 有机相用碳酸氢钠(水溶液, 10 ml)洗涤两次。蒸发除去 EtOAc, 所得粗产物用制备型 HPLC 纯化(开始用乙腈/缓冲液 60/40, 然后将乙腈浓度增至 100%, 所述缓冲液是乙腈/水(10/90)和乙酸铵的混合物(0.1 M, KR-100-7-C8 柱, 50 mm × 250 mm, 流速 40 ml/min)。合并含产物的流分, 蒸发除去乙腈。加入 EtOAc (10 ml), 有机相用盐水洗涤两次, MgSO₄ 干燥。蒸发除去溶剂, 得到 1.0 g *N*-(3-乙氧基丙基)-3-(4-羟基苯基)-*N*-(4-异丙基苄基)丙酰胺(收率 75.8%)。

¹H NMR (旋转异构体, 500 MHz, CDCl₃): δ 1.16-1.21 (m, 3H), 1.26, 1.27 (d, d, 6H), 1.75-1.80, 1.84-1.90 (m, m, 2H), 2.64, 2.74 (t, t, 2H), 2.86-3.00 (m, 3H), 3.33, 3.37 (t, t, 2H), 3.41-3.50 (m, 4H), 4.43, 4.62 (s, s, 2H), 6.80-6.84 (m, 2H) 和 6.97-7.22 (m, 6H)。

c) 将 *N*-(3-乙氧基丙基)-3-(4-羟基苯基)-*N*-(4-异丙基苄基)丙酰胺 (0.18 g, 0.47 mmol) 和 2-(溴甲基)苯甲酸甲酯(0.12 g, 0.52 mmol) 溶于乙腈(10 ml), 加入碳酸钾(131 mg, 0.95 mmol)。将混合物在 60℃ 下搅拌 3 小时。加入加载在聚合物上的三甲醇氨基甲烷(0.3 当量)并搅拌过夜。滤除聚合物, 蒸发除去溶剂, 加入 EtOAc (10 ml), 有机相用水洗涤 3 次。粗产物用 MgSO₄ 干燥后, 蒸发除去溶剂, 所得粗产物用制备型 HPLC 纯化(开始用乙腈/缓冲液 60/40, 然后将乙腈浓度增至 100%, 所述缓冲液是乙腈/水(10/90)和乙酸铵的混合物(0.1 M, KR-100-7-C8 柱, 50 mm × 250 mm, 流速 40 ml/min)。合并含产物的流分, 蒸发除去乙腈。加入 EtOAc (10 ml), 有机相用盐水洗涤两次, MgSO₄ 干燥。蒸发除去溶剂, 得到 0.16 g 2-[(4-{3-[(3-乙氧基丙基)(4-异丙基苄基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸甲酯(收率 63.5%)。

$^1\text{H NMR}$ (旋转变构体, 500 MHz, CDCl_3): δ 1.17, 1.21 (t, t, 3H), 1.27, 1.28 (d, d, 6H), 1.75-1.80, 1.84-1.89 (m, m, 2H), 2.63, 2.73 (t, t, 2H), 2.89-3.04 (m, 3H), 3.32, 3.37 (t, t, 2H), 3.41-3.50 (m, 4H), 3.93, 3.94 (s, s, 3H), 4.46, 4.61 (s, s, 2H), 5.51, 5.53 (s, s, 2H), 6.92, 6.95 (d, d, 2H), 7.04-7.22 (m, 6H), 7.40 (t, 1H), 7.58 (t, 1H), 7.78-7.80 (m, 1H) 和 8.05-8.07 (m, 1H).

d) 将 2-[(4-{3-[(3-乙氧基丙基)(4-异丙基苄基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)-甲基]苯甲酸甲酯(0.16 g, 0.30 mmol)溶于 THF/水(2/1, 2 ml), 加入 LiOH (14.4 mg, 0.60 mmol)。反应在单波节微波炉中进行(150°C, 7 分钟)。进行以下后处理: 加入 EtOAc (10 ml)并用 HCl (2 × 5 ml, 1 M) 洗涤有机相两次。有机相用 MgSO_4 干燥, 蒸发除去溶剂, 得到 0.108 g 2-[(4-{3-[(3-乙氧基丙基)(4-异丙基苄基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸(收率 69.3%)。

$^1\text{H NMR}$ (旋转变构体, 500 MHz, CDCl_3): δ 1.15, 1.19 (t, t, 3H), 1.23-1.25 (m, 6H), 1.74-1.79, 1.84-1.89 (m, m, 2H), 2.66, 2.76 (t, t, 2H), 2.86-3.03 (m, 3H), 3.30, 3.36 (t, t, 2H), 3.40-3.50 (m, 4H), 4.44, 4.61 (s, s, 2H), 5.55, 5.56 (s, s, 2H), 6.90-6.94 (m, 2H), 7.02-7.20 (m, 6H), 7.40 (t, 1H), 7.57-7.60 (m, 1H), 7.79-7.82 (m, 1H) 和 8.15-8.18 (m, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$ (旋转变构体, 125 MHz, CDCl_3): δ 15.15, 23.98, 27.78, 28.61, 30.93, 31.01, 33.73, 35.07, 35.38, 43.86, 44.13, 47.96, 51.26, 66.06, 66.22, 66.82, 67.98, 68.13, 114.77, 126.03, 126.38, 126.72, 126.97, 127.90, 129.31, 131.31, 132.88, 133.23, 133.39, 133.84, 134.56, 140.30, 140.38, 147.71, 148.05, 156.90, 170.48, 173.02 和 173.26.

实施例 10

a) *N*-(2,4-二氟苄基)-*N*-丙胺

将 2,4-二氟苯甲醛(1.003 g, 7.055 mmol)溶于甲醇(5 ml)。加入原甲酸三甲酯(5 ml)。然后加入丙胺(401 mg, 6.784 mmol), 随后加入乙酸(0.2 ml)。1 小时后加入 DCM (5 ml), 随后加入加载在聚合物上的氢硼化物(2.5mmol/g, 5.42 g, 13.55 mmol)。将混合物在室温下振摇 4 天, 然后过滤。蒸发滤液。将剩余物溶于乙腈, 然后分成两份, 加至两根柱(ISOLUTE®PRS, 10g/70 ml, 用乙腈润湿)上。依次用乙腈、

甲醇和甲醇(NH₃饱和)洗脱。合并产物流分,蒸发。得到油状产物(892 mg),收率 71%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 0.91 (t, 3H), 1.47-1.56 (m, 2H), 2.57 (t, 2H), 3.79 (s, 2H), 6.75-6.85 (m, 2H) 和 7.27-7.33 (m, 1H)。

b) N-(2,4-二氟苄基)-3-(4-羟基苯基)-N-丙基丙酰胺

将 3-(4-羟基苯基)丙酸(245 mg, 1.474 mmol)的 DMF(5 ml)溶液在冰浴中冷却。依次加入 N-(2,4-二氟苄基)-N-丙胺(300.4 mg, 1.622 mmol)、TBTU (521 mg, 1.622 mmol)、DIPEA (400 mg, 3.096 mmol)。在室温下将混合物搅拌过夜。加入饱和碳酸氢钠水溶液。混合物用乙酸乙酯(×2)萃取。将有机萃取液合并,用硫酸镁干燥,然后蒸发。依次用 DCM/庚烷(50:50)、DCM 和 MeOH/DCM (1:99, 然后 2:98)作为洗脱液,经柱(ISOLUTE®SI, 5g/25 ml)层析纯化剩余物,得到 336 mg 所需产物,收率 68%。

¹H NMR (旋转异构体, 300 MHz, CDCl₃): δ 0.82-0.88 (m, 3H), 1.45-1.58 (m, 2H), 2.59, 2.65 (t, t, 2H), 2.88-2.98 (m, 2H), 3.11, 3.27 (t, t, 2H), 4.40, 4.59 (s, s, 2H), 6.71-7.03 (m, 6H), 7.07-7.16 (m, 1H) 和 7.79 (s, br, 1H)。

c) 2-[(4-{3-[(2,4-二氟苄基)(丙基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸甲酯

将 N-(2,4-二氟苄基)-3-(4-羟基苯基)-N-丙基丙酰胺(290 mg, 0.87 mmol)溶于乙腈(10 ml)。加入 2-溴甲基-苯甲酸甲酯(209 mg, 0.913 mmol),随后加入无水碳酸钾(180 mg, 1.305 mmol)。将混合物加热回流过夜,然后蒸发至干。加入水和乙酸乙酯,分离两相。有机相用硫酸镁干燥,然后蒸发。依次用 DCM、MeOH/DCM (1:99)作为洗脱液,经柱(ISOLUTE®SI, 20g/70ml)层析纯化剩余物,得到 184 mg 所需产物,收率 44%。

$^1\text{H NMR}$ (旋转异构体, 500 MHz, CDCl_3): δ 0.85-0.92 (m, 3H), 1.52-1.60 (m, 2H), 2.61, 2.68 (t, t, 2H), 2.95-3.01 (m, 2H), 3.15, 3.32 (t, t, 2H), 3.92, 3.93 (s, s, 3H), 4.45, 4.62 (s, s, 2H), 5.51, 5.52 (s, s, 2H), 6.77-6.86 (m, 2H), 6.92-6.99, 7.23-7.27 (m, m, 3H), 7.12, 7.16 (d, d, 2H), 7.38-7.42 (m, 1H), 7.57 (t, 1H) 7.78 (d, 1H) 和 8.04-8.07 (m, 1H).

d) 2-[(4-{3-[(2,4-二氟苄基)(丙基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸

将 2-[(4-{3-[(2,4-二氟苄基)(丙基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸甲酯(0.184 g, 0.382 mmol)和氢氧化锂(0.018 g, 0.76 mmol)在 THF(2 ml)和水(2 ml)中的混合物在 150°C 下加热 7 分钟。该混合物用水稀释, 盐酸酸化, 二氯甲烷萃取。合并的萃取液用硫酸镁干燥, 蒸发, 得到 2-[(4-{3-[(2,4-二氟苄基)(丙基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸。

$^1\text{HNMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 0.85 (t, 3), 1.4-1.6 (m, 2), 2.6-2.7 (m, 2), 2.9-3.0 (m, 2), 3.05-3.15 和 3.25-3.35 (多重峰, 旋转异构体, 2), 4.4 和 4.6 (单峰, 旋转异构体, 2), 5.5 (m, 2), 6.7-6.8 (m, 2), 6.9-7.0 (m, 2), 7.05-7.2 (m, 2), 7.4 (t, 1), 7.6 (t, 1), 7.8 (d, 1), 8.15 (d, 1).

实施例 11

a) 2-([4-(2-{乙基[4-(三氟甲基)苄基]氨基)-2-氧代乙基}苯基]硫基)甲基]苯甲酸甲酯

将乙基[4-(三氟甲基)苄基]胺(284 mg, 1.40 mmol)和(4-{[2-(甲氧基羰基)苄基]硫基}苯基)乙酸(443 mg, 1.40 mmol, 见实施例 2b)在 DMF (15 ml)中混合。加入 TBTU (472 mg, 1.47 mmol), 然后加入 DIPEA (190 mg, 1.47 mmol)。将混合物在室温下搅拌 1 小时。加入 EtOAc (20 ml)。然后用饱和碳酸氢钠水溶液、1% HCl、水(\times 2)、盐水洗涤, 硫酸镁干燥, 然后蒸发。剩余题述化合物(663 mg), 收率 94%。

$^1\text{H NMR}$ (旋转异构体, 500 MHz, CDCl_3): δ 1.08-1.15 (m, 3H), 3.31, 3.45 (q, q, 2H), 3.63, 3.76 (s, s, 2H), 3.92 (s, 3H), 4.52-4.66 (m, 4H), 7.09-7.40 (m, 8H), 7.56, 7.62 (d, d, 2H) 和 7.94 (d, 2H).

b) 2-([4-(2-[乙基[4-(三氟甲基)苄基]氨基]-2-氧代乙基)苯基]硫基)甲基)苯甲酸

将 2-([4-(2-[乙基[4-(三氟甲基)苄基]氨基]-2-氧代乙基)苯基]硫基)甲基)苯甲酸甲酯(640 mg, 1.276 mmol)溶于 THF (20 ml)。加入氢氧化锂(61 mg, 2.552 mmol)的水(10 ml)溶液。在室温下搅拌混合物, 反应用 LC-MS 跟踪。24 小时后, 再加入氢氧化锂(30 mg)和水(10 ml)。总计 70 小时后, LC-MS 表明反应完成。蒸发混合物除去 THF。剩余物用乙醚洗涤, 然后用 10% HCl 酸化至 pH=2, EtOAc ($\times 2$) 萃取。将萃取液合并, 盐水洗涤, 硫酸镁干燥, 然后蒸发。依次用 DCM 和 MeOH/DCM (0.5:99.5, 然后 1:99) 作为洗脱液, 经柱 (ISOLUTE[®]SI, 5g/25 ml) 层析纯化剩余物, 得到题述化合物(510 mg), 收率 82%。

¹H NMR (旋转异构体, 300 MHz, CDCl₃): δ 1.07-1.15 (m, 3H), 3.31, 3.45 (q, q, 2H), 3.64, 3.77 (s, s, 2H), 4.54 (s, 2H), 4.55, 4.66 (s, s, 2H), 7.05-7.40 (m, 8H), 7.55, 7.60 (d, d, 2H) 和 7.97 (d, 2H)_e。

¹³C NMR (旋转异构体, 75 MHz, CDCl₃): δ 12.60, 13.80, 38.17, 38.25, 40.00, 40.44, 41.63, 42.40, 47.94, 50.61, 118-134 (复合多重峰), 140.32, 140.70, 141.50, 170.48 和 171.20。

实施例 12

2-([4-(2-[乙基(2-氟苄基)氨基]-2-氧代乙基)苯氧基)甲基)苯甲酸

a) 将 *N*-(2-氟苄基)乙胺(0.554 g, 3.615 mmol)溶于 DMF (10 ml)。加入(4-羟基苯基)乙酸(0.500 g, 3.286), 将混合物冷却至 0°C。加入四氟硼酸 *N*-[(1*H*-1,2,3-苯并三唑-1-基氧基)(二甲氨基)亚甲基]-*N*-甲基甲铵(1.161 g, 3.615 mmol)和 *N*-乙基-*N,N*-二异丙基胺(0.892 g, 6.901 mmol)。将溶液在室温下搅拌过夜。加入 EtOAc (20 ml), 有机相用 Na₂CO₃ (2 \times 20 ml, 水溶液)洗涤两次。有机层用硫酸镁干燥, 蒸发除去溶剂。粗产物用制备型 HPLC 纯化(开始用等度乙腈/缓冲液 60/40, 然后将乙腈浓度增至 100%, 所述缓冲液是乙腈/水(10/90)和乙酸铵的混合物(0.1 M, KR-100-7-C8 柱, 50 mm \times 250 mm, 流速 40 ml/min)。

合并含产物的流分，蒸发除去乙腈。加入 EtOAc (10 ml)，有机相用盐水洗涤两次，MgSO₄ 干燥，蒸发除去溶剂，得到 0.69 g *N*-乙基-*N*-(2-氟苄基)-2-(4-羟基苯基)乙酰胺(收率 73.1%)。

¹HNMR (旋转变构体, 500 MHz, CDCl₃): δ 1.12 (m, 3H), 3.35-3.5 (m, 2H), 3.62-3.72 (m, 2H), 4.57-4.78 (m, 2H), 6.7 (t, 2H), 6.98-7.38 (m, 6H).

b) 将 *N*-乙基-*N*-(2-氟苄基)-2-(4-羟基苯基)乙酰胺(0.381 g, 1.327 mmol)和 2-(溴甲基)苯甲酸甲酯(0.334 g, 1.460 mmol)溶于乙腈(10 ml)，加入碳酸钾(0.367 g, 2.654 mmol)。将混合物在 65℃下搅拌 3 小时。当 *N*-乙基-*N*-(2-氟苄基)-2-(4-羟基苯基)乙酰胺反应完全后，加入 PS-三甲醇氨基甲烷(0.3 当量)，将溶液在室温下搅拌过夜。滤除聚合物，蒸发除去乙腈。加入 EtOAc (10 ml)，有机相用水洗涤 2 次，用 MgSO₄ 干燥，蒸发除去溶剂，得到 0.545 g 2-[(4-{2-[乙基(2-氟苄基)氨基]-2-氧代乙基}苯氧基)甲基]苯甲酸甲酯(收率 94.3%)。

¹HNMR (旋转变构体, 300 MHz, CDCl₃): δ 1.12 (m, 3H), 3.23-3.35 (m, 2H), 3.6-3.75 (m, 2H), 3.88 (s, 3H), 4.45-4.70 (m, 2H), 5.45 (s, 2H), 6.84-7.35 (m, 9H), 7.5 (t, 1H), 7.72 (d, 1H), 8.0 (d, 1H).

c) 将 2-[(4-{2-[乙基(2-氟苄基)氨基]-2-氧代乙基}苯氧基)甲基]苯甲酸甲酯(0.545 g, 1.251 mmol)溶于 EtOH (5 ml)，加入氢氧化钾(0.105 g, 1.877 mmol)。反应在单波节微波炉中进行(150℃, 7 分钟)。进行以下后处理：蒸发除去溶剂，加入 HCl (20 ml, 1M)并用 EtOAc (20 ml)洗涤水相两次。将有机相合并，蒸发除去溶剂。粗产物用制备型 HPLC 纯化(开始用等度乙腈/缓冲液 60/40，然后将乙腈浓度增至 100%，所述缓冲液是乙腈/水(10/90)和乙酸铵的混合物(0.1 M, KR-100-7-C8 柱, 50 mm × 250 mm, 流速 40 ml/min)。合并含产物的流分，蒸发除去乙腈。加入 EtOAc (10 ml)，有机相用盐水洗涤两次，MgSO₄ 干燥。蒸发除去溶剂，得到 0.124 g 2-[(4-{2-[乙基(2-氟苄基)氨基]-2-氧代乙基}苯氧基)甲基]苯甲酸(23.5%)。

$^1\text{H NMR}$ (旋转异构体, 500 MHz, CDCl_3): δ 1.12 (m, 3H), 3.25-3.5 (m, 2H), 3.65-3.8 (m, 2H), 4.5-4.75 (m, 2H), 5.52 (m, 2H), 6.84-7.45 (m, 9H), 7.55 (t, 1H), 7.78 (d, 1H), 8.13 (d, 1H).

实施例 13

2-[(4-{3-[乙基(2-氟苄基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸

a) 将 *N*-(2-氟苄基)乙胺(0.554 g, 3.615 mmol)溶于 DMF (10 ml)。加入 3-(4-羟基苯基)丙酸(0.546 g, 3.286 mmol), 然后将混合物冷却至 0°C 。加入四氟硼酸 *N*-[(1*H*-1,2,3-苯并三唑-1-基氧基)(二甲氨基)-亚甲基]-*N*-甲基甲铵(1.161 g, 3.615 mmol)和 *N*-乙基-*N,N*-二异丙基胺(0.892 g, 6.901 mmol)。将溶液在室温下搅拌过夜。加入 EtOAc (20 ml), 有机相用 Na_2CO_3 (2 \times 20 ml, 水溶液)洗涤两次。有机层用硫酸镁干燥, 蒸发除去溶剂。粗产物用制备型 HPLC 纯化(开始用等度乙腈/缓冲液 60/40, 然后将乙腈浓度增至 100%, 所述缓冲液是乙腈/水(10/90)和乙酸铵的混合物(0.1 M, KR-100-7-C8 柱, 50 mm \times 250 mm, 流速 40 ml/min)。合并含产物的流分, 蒸发除去乙腈。加入 EtOAc (10 ml), 有机相用盐水洗涤两次, MgSO_4 干燥, 然后蒸发除去溶剂, 得到 0.803 g *N*-乙基-*N*-(2-氟苄基)-3-(4-羟基苯基)丙酰胺(收率 81.1%)。

$^1\text{H NMR}$ (旋转异构体, 500 MHz, CDCl_3): δ 1.1 (m, 3H), 2.58-2.72 (m, 2H), 2.83-3.0 (m, 2H), 3.2-3.5 (m, 2H), 4.45-4.7 (m, 2H), 6.78 (t, 2H), 6.95-7.35 (m, 6H).

b) 将 *N*-乙基-*N*-(2-氟苄基)-3-(4-羟基苯基)丙酰胺(0.400 g, 1.327 mmol)和 2-(溴甲基)苯甲酸甲酯(0.334 g, 1.460 mmol)溶于乙腈(10 ml), 加入碳酸钾(0.367 g, 2.654 mmol)。将混合物在 65°C 下搅拌 3 小时。当 *N*-乙基-*N*-(2-氟苄基)-2-(4-羟基苯基)乙酰胺反应完全后, 加入 PS-三甲醇氨基甲烷(0.3 当量), 将溶液在室温下搅拌过夜。滤除聚合物, 蒸发除去乙腈。加入 EtOAc (10 ml), 有机相用水洗涤 2 次, MgSO_4 干燥, 蒸发除去溶剂。加入 EtOAc (10 ml), 有机相用水洗涤 2 次, MgSO_4 干燥, 蒸发除去溶剂。粗产物用制备型 HPLC 纯化(开始用等度乙腈/

缓冲液 60/40, 然后将乙腈浓度增至 100%, 所述缓冲液是乙腈/水(10/90)和乙酸铵的混合物(0.1 M, KR-100-7-C8 柱, 50 mm × 250 mm, 流速 40 ml/min)。合并含产物的流分, 蒸发除去乙腈。加入 EtOAc (10 ml), 有机相用盐水洗涤两次, MgSO₄ 干燥。然后蒸发除去溶剂, 得到 0.454 g 2-[(4-{3-[乙基(2-氟苄基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]-苯甲酸甲酯(收率 76.1%)。

¹HNMR (旋转异构体, 400 MHz, CDCl₃): δ 1.08 (m, 3H), 2.52-2.68 (m, 2H), 2.9-3.03 (m, 2H), 3.18-3.45 (m, 2H), 3.88 (s, 3H), 4.45-4.7 (m, 2H), 5.45 (s, 2H), 6.82-7.28 (m, 8H), 7.36 (t, 1H), 7.53 (t, 1H), 7.73 (d, 1H), 8.0 (d, 1H)。

c) 将 2-[(4-{3-[乙基(2-氟苄基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]-苯甲酸甲酯(0.454 g, 1.001 mmol)溶于 EtOH (5 ml), 加入氢氧化钾(0.085 g, 1.514 mmol)。反应在单波节微波炉中进行(150℃, 7 分钟)。进行以下后处理: 蒸发除去溶剂, 加入 HCl (20 ml, 1M), 水相用 EtOAc (20 ml)洗涤两次。合并有机相, 蒸发除去溶剂。粗产物用制备型 HPLC 纯化(开始用等度乙腈/缓冲液 60/40, 然后将乙腈浓度增至 100%, 所述缓冲液是乙腈/水(10/90)和乙酸铵的混合物(0.1 M, KR-100-7-C8 柱, 50 mm × 250 mm, 流速 40 ml/min)。合并含产物的流分, 蒸发除去乙腈。加入 EtOAc (10 ml), 有机相用盐水洗涤两次, MgSO₄ 干燥。蒸发除去溶剂, 得到 0.079 g 2-[(4-{3-[乙基(2-氟苄基)氨基]-3-氧代丙基}苯氧基)甲基]苯甲酸(18.0%)。

¹HNMR (旋转异构体, 500 MHz, CDCl₃): δ 1.12 (m, 3H), 2.60-2.75 (m, 2H), 3.03 (m, 2H), 3.23-3.50 (m, 2H), 4.45-4.73 (m, 2H), 5.57 (s, 2H), 6.88-7.35 (m, 8H), 7.41 (t, 1H), 7.60 (t, 1H), 7.80 (d, 1H), 8.18 (d, 1H)。

以下实施例按类似方法制备:

实施例 14

2-[[3-{2-[(2,4-二氟苄基)(庚基)氨基]-2-氧代乙基}苯基)硫基]甲基]苯甲酸

实施例 15

2-[[[4-{2-[(4-氟苄基)(乙基)氨基]-2-氧代乙基}苄基)硫基]甲基}苯甲酸

生物活性

制剂

将化合物溶于 DMSO，制得 16 mM 贮备液。测定前用 DMSO 和培养基进一步稀释贮备液。

通用化学品和试剂

萤光素酶检测试剂购自 Packard, USA。限制酶来自 BoehringerVent 聚合酶来自 New England Biolabs。

细胞系和细胞培养条件

U2-OS (人骨源性肉瘤)购自 ATCC, USA。将第 6 代细胞分批膨胀并冷冻。将细胞在 5% CO₂ 条件下，在含有 25 mM 葡萄糖、2 mM 谷氨酰胺或 4 mM L-丙氨酰-L-谷氨酰胺、10%胎牛血清的 Dulbecco 氏改变的 Eagle 培养基(DMEM)中培养。使用不加钙或镁的磷酸缓冲盐溶液(PBS)。所有的细胞培养试剂均购自 Gibco (USA)，96 孔细胞培养板来自 Wallach。

构建异源表达的质粒

按 Ausubel (7)所述的方法完成标准重组 DNA 技术。将萤光素酶报道载体 pGL5UAS (由 GAL4 DNA 结合序列 5'-CGACGGAGTACTGTCCTCCGAGCT-3'的 5 个模板组成的克隆，克隆至 pGL3 启动子(Promega)的 SacI/XhoI 位点。用经退火的重叠寡核苷酸构建载有 UAS 位点的 SacI/XhoI 片段。

所用表达载体基于 pSG5 (Stratagene)。所有载体都含有编码 GAL4

(编码数据库登记号 P04386 的 1-145 位氨基酸)的 DNA 结合区域的 EcoRI/NheI 片段和编码多瘤病毒 T 抗原的核定位序列的片段, 这两个片段经框内融合在一起。用经退火的重叠寡核苷酸构建核定位序列产生 NheI/KpnI 粘端 (5'-CTAGCGCTCCTAGAAGAAACGCAAGGTTGGTAC-3')。将人和小鼠 PPAR α 以及人和小鼠 PPAR γ 的配体结合区域 PCR 扩增为 KpnI/BamHI 片段, 并框内克隆至 GAL4 DNA 结合区域和核定位序列中。所有使用的质粒构件的序列都通过测序得到确证。

以下表达载体用于瞬时转染:

载体	编码的 PPAR 亚型	参照序列 ¹
pSGGALhPPa	人 PPAR α	S74349, nt625-1530
pSGGALmPPa	鼠 PPAR α	X57638, nt 668-1573
pSGGALhPPg	人 PPAR γ	U63415, nt 613-1518
pSGGALmPPg	鼠 PPAR γ	U09138, nt 652-1577

¹ 指用于表达配体结合区域的数据库登录的核苷酸位置。

瞬时转染

转染前将第六代的冷冻储备细胞解冻, 然后扩充到第八代。将融合细胞用胰蛋白酶消化、洗涤并通过 $270 \times g$ 离心 2 分钟使其沉淀。将细胞沉淀重悬浮在冷 PBS 中, 至细胞浓度约 18×10^6 细胞/ml。加入 DNA 后, 将该细胞悬浮液在冰上温育约 5 分钟, 然后在 230 V、960 μF 下, 在 Biorad's Gene PulserTM 中按每批 0.5 ml 进行电穿孔。向 0.5 ml 细胞/批中加入共 50 μg DNA, 包括 2.5 μg 表达载体、25 μg 报道载体和 22.5 μg 非特异性 DNA (pBluescript, Stratagene)。

电穿孔后, 用不含酚红的 DMEM 将细胞稀释至 320,000 细胞/ml 浓度, 然后以约 25,000 细胞/孔接种在 96 孔板上。为使细胞复原, 将接种过的板在 37 $^{\circ}C$ 下孵育 3-4 小时, 然后加入试试化合物。在 PPAR α 的测的测定中, 为避免 FCS 的脂肪酸成分激活本底物, 在细胞培养

基中补加树脂-活性碳吸附的胎牛血清(FCS)。树脂-活性碳吸附的 FCS 制备方法如下：向 500 ml 热灭活的 FCS 中加入 10 g 活性碳和 25 g Bio-Rad 分析纯的阴离子交换树脂(200-400 目)，然后将该溶液在室温下用电磁搅拌器搅拌过夜。第二天将 FCS 离心，并重复该吸附过程 4-6 小时。经第二次处理后，将 FCS 离心并经除菌过滤器过滤以除去残余的活性碳和树脂。

测试方法

将化合物的 DMSO 贮备液在主平板中稀释至适宜的浓度范围。将主平板中的化合物用培养基稀释，得到最终剂量的测试化合物溶液。

将各孔中细胞培养基的量调节至 75 μ l 后，加入 50 μ l 测试化合物溶液。将瞬时转染的细胞暴露在化合物中约 24 小时，然后进行荧光素酶检测。为进行荧光素酶检测，向各孔中手工加入 100 μ l 检测试剂，将各板放置约 20 分钟以使细胞溶解。溶胞后，用 1420 Multiwell 计数器(来自 Wallach, Victor)测定荧光素酶活性。

参比化合物

用 TZD 吡格列酮作为激活人和鼠 PPAR γ 的标准物质。用 5,8,11,14-二十碳四炔酸(ETYA)(Eicosatetrayonic acid)作为人 PPAR α 的标准物质。

计算和分析

为计算 EC₅₀ 值，建立浓度-效应曲线。所用数值来自两个或三个独立测量值(减去本底平均值后)的平均值，以参比化合物获得的最大激活的百分率表示。以数值对测试化合物浓度的对数作图。通过在数据点之间的线性插入估测 EC₅₀ 值，并计算达到参比化合物获得的最大激活的 50%所需的浓度。

式 I 化合物对 PPAR α 的 EC₅₀ 小于 50 μ mol/l, 优选化合物的 EC₅₀ 小于 5 μ mol/l。例如一些实施例化合物对人 PPAR α 的 EC₅₀ 如下所示:

实施例 5 化合物	0.163 μ mol/l;
实施例 10 化合物	0.168 μ mol/l;
实施例 11 化合物	0.026 μ mol/l; 和
实施例 15 化合物	0.027 μ mol/l.