

發明專利說明書 200305410

(填寫本書件時請先行詳閱申請書後之申請須知，作※記號部分請勿填寫)

※申請案號：92101061 ※IPC分類：A61K31/425
 ※申請日期：92年01月15日 A61P 9/10

壹、發明名稱：

(中文)可用於治療針對 P P A R α 活化作用作反應之疾病的
 α - 苯硫基羧酸及 α - 苯氧基羧酸衍生物

(英文)Derivatives of α -phenylthiocarboxylic and
 α -phenyloxycarboxylic acids useful for the
treatment of diseases responding to PRAR α
activation

貳、發明人 (共 8 人)

發明人 1

姓 名：(中文)法畢歐·吉安納希
 (英文)Giannessi, Fabio

住居所地址：(中文)義大利羅馬波美吉亞朋特那路三〇四〇〇
 (英文)Via Pontina km 30,400, 00040 Pomezia
RM, Italy

參、申請人 (共 1 人)

申請人 1

姓名或名稱：(中文)西格瑪·陶製藥廠
 (英文)Sigma-Tau Industrie Farmaceutiche
Riunite S.P.A.

住居所地址：(中文)義大利羅馬莎士比亞路四十七號
 (或營業所) (英文)47, Viale Shakespeare, 00144 Rome,
Italy

國 籍：(中文)義大利 (英文)ITALY

代 表 人：(中文)1. 史提法諾·馬瑞諾

200305410

840252

(英文) 1. Marino, Stefano

發明人 2

姓 名：(中文) 納塔里納·德爾伍默

(英文) Dell'Uomo, Natalina

住居所地址：(中文) 義大利羅馬波美吉亞朋特那路三〇四〇〇

(英文) Via Pontina km 30,400, 00040 Pomezia
RM, Italy發明人 3

姓 名：(中文) 伊曼諾拉·塔索尼

(英文) Tassoni, Emanuela

住居所地址：(中文) 義大利羅馬波美吉亞朋特那路三〇四〇〇

(英文) Via Pontina km 30,400, 00040 Pomezia
RM, Italy發明人 4

姓 名：(中文) 瑪麗亞·汀恩堤

(英文) Tinti, Maria Ornella

住居所地址：(中文) 義大利羅馬波美吉亞朋特那路三〇四〇〇

(英文) Via Pontina km 30,400, 00040 Pomezia
RM, Italy發明人 5

姓 名：(中文) 安娜·西亞朗尼

(英文) Sciarroni, Anna Floriana

住居所地址：(中文) 義大利羅馬波美吉亞朋特那路三〇四〇〇

(英文) Via Pontina km 30,400, 00040 Pomezia
RM, Italy

說明書發明人續頁

發明人 6

姓 名：(中文) 莫尼卡·班德拉
(英文) Bandera, Monica
住居所地址：(中文) 義大利羅馬波美吉亞朋特那路三〇四〇〇
(英文) Via Pontina km 30,400, 00040 Pomezia
RM, Italy

發明人 7

姓 名：(中文) 朋比歐·帕索多
(英文) Pessotto, Pompeo
住居所地址：(中文) 義大利羅馬波美吉亞朋特那路三〇四〇〇
(英文) Via Pontina km 30,400, 00040 Pomezia
RM, Italy

發明人 8

姓 名：(中文) 阿多伊諾·阿多伊尼
(英文) Arduini, Arduino
住居所地址：(中文) 義大利羅馬維狄拉卡蜜拉西亞七〇一號
(英文) 701, Via della Camilluccia, 00135 Rome,
Italy

捌、聲明事項

■主張專利法第二十四條第一項優先權：

【格式請依：受理國家（地區）；日期；案號 順序註記】

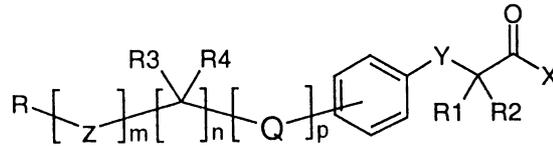
1. 義大利 ; 2002/01/15 ; RM2002 A000014

(1)

玖、發明說明

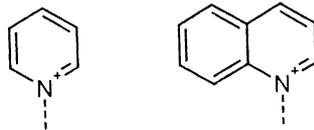
發明所屬之技術領域

本文說明的本發明係關於可用於治療針對 PPAR α (過氧化物酶體增殖劑活化受體 α) 活化作用作反應之疾病的通式 (I) 之 α -苯硫基羧酸及 α -苯氧基羧酸衍生物：



其中：

R 代表 -H、-YCR₅R₆COX、有可能以一或多個 -YCR₅R₆COX、鹵素、硝基、羥基、烷基及有可能以一或多個鹵素基團取代之烷氧基取代之單環、二環或三環芳基或雜芳基、其中有可能將芳基或雜芳基以一或多個 -YCR₅R₆COX、鹵素、硝基、羥基、烷基及有可能以一或多個鹵素基團取代之烷氧基取代之單環、二環或三環芳烷基或雜芳烷基，其中雜芳基可能帶有電荷，係如下式所示：



其中以適合的負抗衡離子平衡正電荷；

m 代表 0-1；

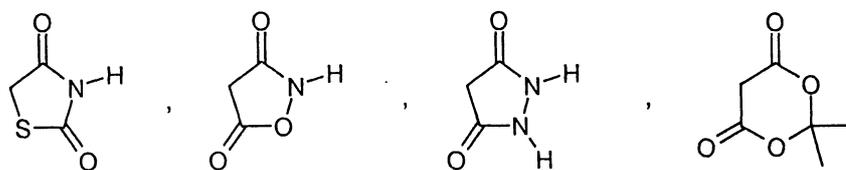
(2)

n 代表 0-3；當 n 代表 1 時，則 R3 及 R4 可能相同或不相同，係選自 H 或烷基 C₁-C₅；當 n 代表 2 或 3 時，則 R3 與 R4 相同及代表 H；

p 代表 0-1；

X 代表 -OH、-O-烷基 C₁-C₃；

R1 及 R2 可能相同或不相同，係選自：-H；烷基 C₁-C₅；有可能以一或多個鹵素基團取代之烷氧基；有可能以一或多個鹵素、硝基、羥基、烷基取代之苯氧基；經一或多個鹵素、硝基、羥基、烷基取代之苄氧基；-COX；或 R1 或 R2 與通式 (I) 之 COX 一起形成以下型式之環：



R5 及 R6 可能相同或不相同，係選自 R1 及 R2 所定義的基團；

Q 及 Z 可能相同或不相同，係選自：NH、O、S、-NHC(O)O-、NHC(O)NH-、-NHC(O)S-、-OC(O)NH-、-NHC(S)O-、-NHC(S)NH-、-C(O)NH-；及

Y 代表 O、S。

根據本文說明之針對 PPAR α 活化作用作反應之疾病係心臟衰竭、高脂血症及動脈粥樣硬化症。

(3)

先前技術

屬於核受體副族群之成員的 PPAR 係以調節基因表現之配體活化之轉錄因子。

已經證實各種不同的 PPAR 同型體：PPAR α 、PPAR δ （有時以 β 表示）及 PPAR γ （J. Med. Chem. 2000, 43, 527-550；Nature 2000, 405, 421-424）。

PPAR α 屬於類固醇激素受體的大群組（Kersten 等人之 Nature 2000, 405:421-424）。

最初係以該受體控制針對過氧化物酶體增殖劑（如纖維酸衍生物）反應之脂肪酸氧化酵素的基因編碼為基礎證實該受體（Issemann 及 Green, Nature 1990, 347:645-650）。

Leone 等人之 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1999, 96:7473-7478 確認以 PPAR α 扮演在組織中關鍵的脂肪酸角色。

心臟衰竭係失能及猝死的重要原因。由於心臟失能，故泵抽不足以符合各種組織代謝需求的血液量。

該症狀連同使心臟的電及機械機能的控制系統完全改變。經發現之生物化學及神經激素異常係構成適應變更失代償性心臟之心臟血管系統的機制，主要係減少心輸出量，增加衰竭之心臟周邊阻力及滯留上游血液為特徵，結果使動脈擴張及逆行失代償作用。

涉及心臟衰竭的攻擊、發生及進展的身體病理學機制仍需要某種程度的澄清。

(4)

已知可用於治療針對 PPAR α 活化作用作反應之疾病的化合物。

在 Gen. Pharmacol. 1995 Sep ; 26 (5) :897-904 中提出依託莫司 (etomoxir) 對心臟性能具有利的效應及涉入 PPAR α 之報導。

在 Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids ; 1999 May-Jun ; 60 (5-6) :339-43 中提出依託莫司及 PPAR α 涉入脂質代謝控制作用之報導。

在 Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 2000 Apr ; 278 (4) :F667-75 中提出依託莫司係 PPAR α 活化劑及該活化作用誘發脂肪酸氧化的調節作用之報導。

在 Circulation 1997 , 96:3681-3686 及 Br. J. Pharmacol. 1999 , 126:501-507 中提出依託莫司有效改進肥大症及心臟衰竭之動物體內的心肌機能之報導。

在 Clin. Sci. (Colch) 2000 ; Jul. ; 99 (1) :27-35 中提出患有心臟衰竭之病患在以依託莫司治療之後會改進心臟機能之報導。

在 Curr. Opin. Lipidol. 1999 , 10:245-247 中提出以活化之 PPAR α 使貝特類 (fibrates) 刺激脂肪酸氧化作用、抑制血管壁發炎及保護免於動脈粥樣硬化症之報導。

在 WO 98/05331 Curr. Opin. Lipidol. 1999 , 10:245-247 中提出以活化之 PPAR α 使貝特類具有抗高血壓、冠狀動脈異常及以糖尿病引起的粥樣現象之保護效應的報導。

(5)

但是，迄今仍以非常少的化合物能夠有效活化 PPAR α 及證明可用於治療心臟失代償作用。

在該醫學領域中，因此對用於治療該症狀之漸增式特殊性新藥物仍有強烈認知上的需求。

上述已知的化合物不具有非特定的缺點。

事實上，在 *Therapie* 1991 Sep-Oct; 46 (5) :351-4 中提出貝特類會引起許多副效應，如皮膚反應、出血、胰臟炎及神經系統異常之報導。

在 *Current Pharmaceutical Design*, 1998; 4:1-15 中提出以依託莫司誘發心肌粥樣性及增加心肌梗塞風險之報導。

因此，對上述疾病症狀賦與之新 PPAR α 活性劑仍有強烈認知上的需求，但是沒有上述已知化合物呈現的缺點。

發明內容

目前已意外發現式 (I) 化合物係 PPAR α 活性劑及得使用彼治療針對該 PPAR α 活化作用作反應之疾病。

如以上描述針對 PPAR α 活化作用作反應之疾病包括心臟衰竭、高血脂症及動脈粥樣硬化症。

本文說明的本發明的目的包含式 (I) 化合物及彼在醫學領域中的用途。

患有心臟衰竭之病患在以依託莫司治療之後會改進心臟機能之報導。

(6)

本文說明的本發明進一步的目的包含醫藥組成物，其包括作為彼之活性成份的式 (1) 化合物及至少一種在醫藥上可接受之賦形劑及 / 或稀釋劑。

本文說明的本發明進一步的目的包含以式 (1) 化合物製備用於治療針對 PPAR α 活化作用作反應之疾病的藥劑之用途，該疾病之實例係心臟衰竭、高血脂症及動脈粥樣硬化症，雖然不限於這些疾病。

實施方式

由以下的實例進一步例證本發明。

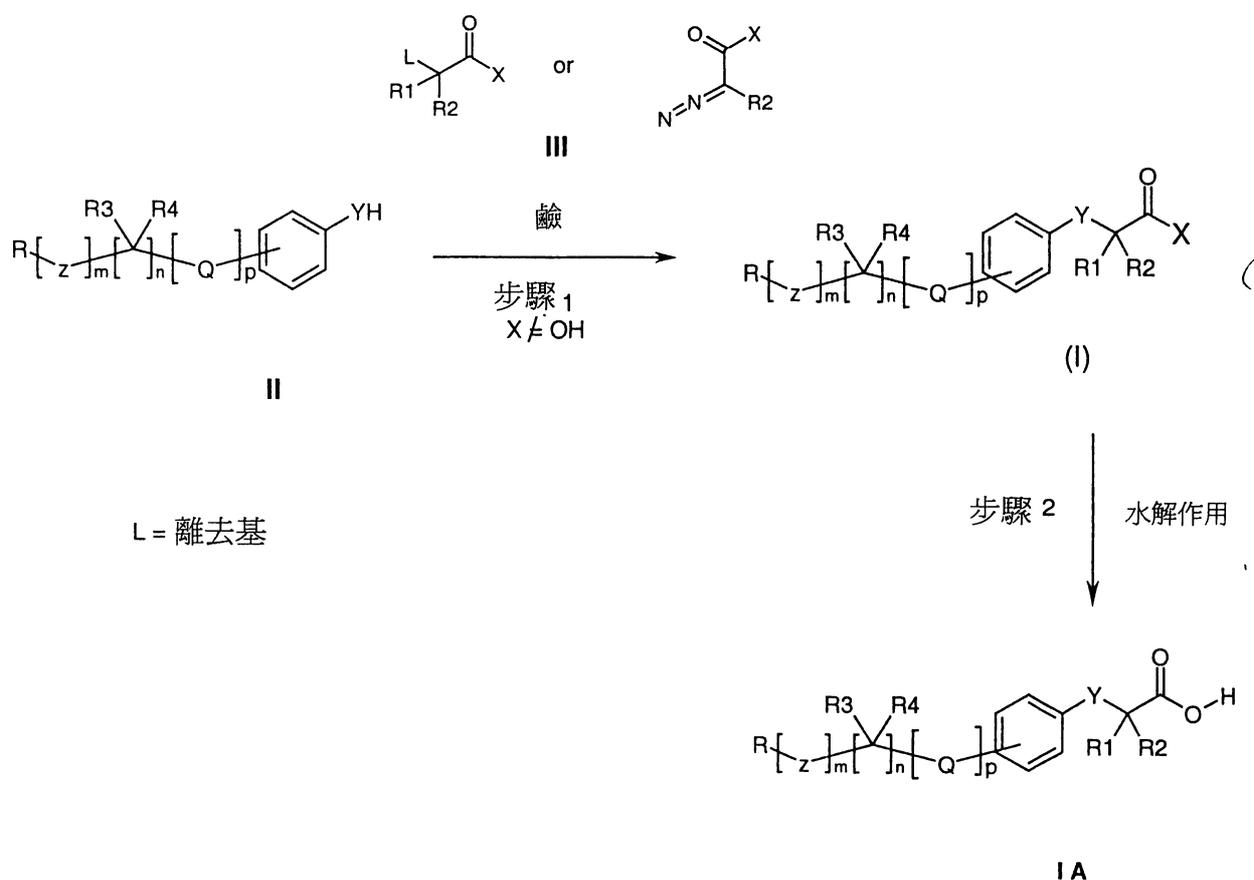
通用的合成方法

由以下的流程例證用於合成式 (1) 化合物之方法。

除非有其它另外的說明，各種符號的意義符合在通式 (1) 中指明的意義。以方法 A 說明的水解步驟也可以適用於其它方法。

(7)

方法 A

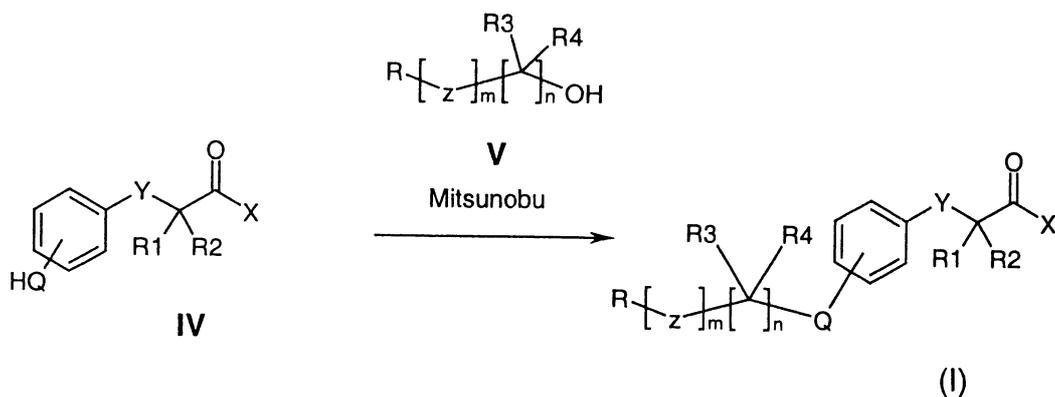


以通式 II 化合物與鹼（以無機鹼較佳及以氫化鈉較佳）反應，以形成對應陰離子，接著將其與包括離棄基（如氯、溴、碘、甲磺醯基、甲苯磺醯基及重氮基（在重氮基的案例中，使用二價醋酸銻二聚物代替無機鹼作為催化劑））之通式 III 化合物（例如， α -溴基異丁酸 2-甲酯）在極性溶劑中（如乙腈、甲苯或以二甲基甲醯胺較佳），在從 10 至 50°C 為範圍之溫度下（以 25°C 較佳）以從 18 至 48 小時為範圍之時間期限反應，以完成通式 (I) 化合物之製備作用。將因此獲得的產物使用例如 NaOH 或例如 HCl/醋酸之混合物在從 10 至 100°C 為範圍之溫度下（以 25°C 較佳）進行從 1 小時至 72 小時為範圍

(8)

之時間期限（以 3 小時較佳）的鹼或酸水解作用，以產生對應酸 IA。

方法 B

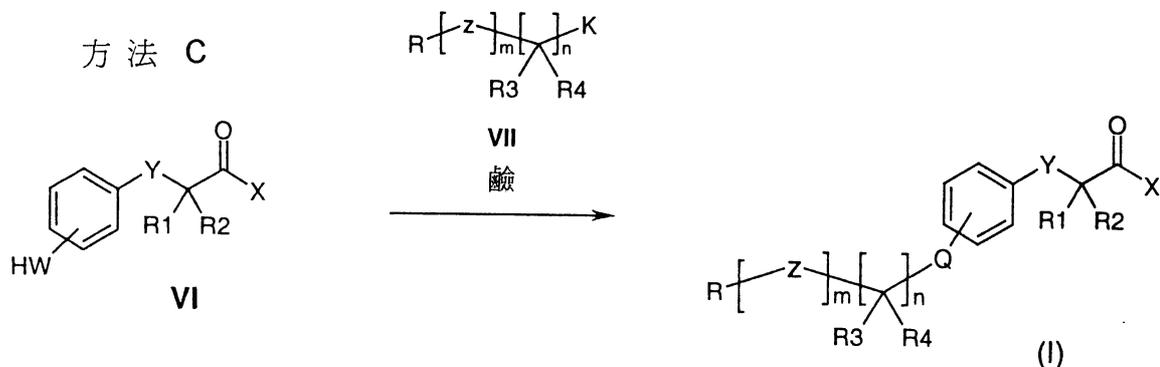


Q = O, S

X ≠ OH

以通式結構 IV 化合物開始與通式結構 V 之醇在 Mitsunobu 反應的傳統條件下（如 *Synthesis* 1981, 1-28 之說明）使用無水及質子惰性溶劑（如苯、甲苯、醚或以四氫呋喃較佳）在從 10 至 40°C 為範圍之溫度下（以 25°C 較佳）以從 30 分鐘至 72 小時為範圍之時間期限（以 48 小時較佳）反應，以完成通式 (I) 化合物之製備作用。

方法 C



W = O, NH, S

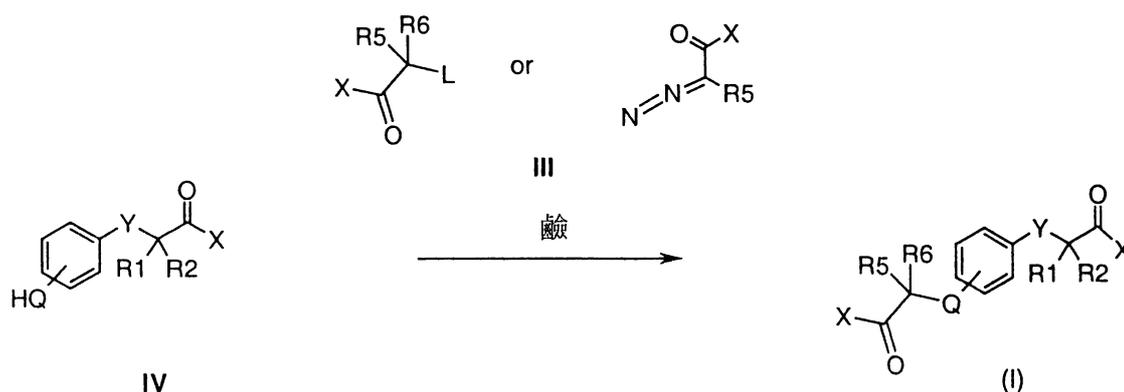
K = -NCS, -NCO, -OC(O)Cl, -COOH

Q ≠ N, O, S

(9)

以溶解在質子惰性溶劑（例如，甲苯、醚，但是以四氫呋喃較佳）中的通式結構 VI 開始，接著有可能在無機或有機鹼的存在下（以催化量或化學計量之三乙胺較佳）加入相關的異氰酸酯、硫代異氰酸酯或氨基甲酸酯 VII，並以留下的混合物在從 10 至 40°C 為範圍之溫度下（以 25°C 較佳）以從 6 至 72 小時為範圍之時間期限（以 48 小時較佳）反應，獲得以該方法製備之化合物。如果 K 等於 COOH 時，則使用相對於基質之 1-3 當量比例（以 1-1.5 當量較佳）之濃縮劑，如二乙基偶磷氰酸鹽、EEDQ、DCC 或 CDI 及類似物，或進行經由酸之氯化物形成作用，在有機溶劑中（如 DMF、CH₃CN、CHCl₃、THF 及類似物）及在從 20 至 80°C 為範圍之溫度下（以 25°C 較佳）進行從 18 小時至 3 天為範圍之反應時間（以 24 小時較佳）的濃縮反應。

方法 D



Q = O, S

X different from OH

L = 離去基

(10)

例如，根據 *Tetrahedron*, 1990, 46 (3), 967-978 說明之步驟，以產物 IV 開始與包括離棄基（如氯、溴、碘、甲磺醯基、甲苯磺醯基及重氮基（在重氮基的案例中，使用二價醋酸銻二聚物代替無機鹼作為催化劑））之通式 III 化合物（例如， α -溴基異丁酸 2-甲酯）在鹼（如碳酸鉀）和相轉移觸媒（如例如溴化四丁基銨（TBAB）的存在下及在質子惰性溶劑中（如甲苯），在從 25°C 至所選擇之溶劑的回流溫度為範圍之溫度下以從 1 至 5 天為範圍之時間期限（以 2 天較佳）反應，以完成通式 (I) 化合物（ m 及 n 等於 0， Y 及 Q 等於 O 及 I 或 S）之製備作用。

實例 1

2-（4-羥苯硫基）異丁酸甲酯（ST1923）之製備

方法 A 之步驟 1

將 80% NaH（0.144 公克，4.8 毫莫耳）加入在 10 毫升無水 CH_3CN 中的 4-巯酚（0.500 公克，4.0 毫莫耳）中。將混合物冷卻至 0°C，並在 5 分鐘之後，加入 α -溴基異丁酸甲酯（0.724 公克，4.0 毫莫耳）。將在磁攪拌下的反應混合物在室溫下留置 2 天。接著將反應混合物倒入 H_2O 中及以醋酸乙酯萃取；接著將水相酸化及再以醋酸乙酯萃取。將匯聚的有機相在 Na_2SO_4 上乾燥，過濾及蒸發。將所獲得的殘餘物以使用 CHCl_3 作為溶離劑之矽膠色層分離法純化。獲得 0.760 公克產物（產量：84%）；

(11)

Mp (熔點) : 110-112 °C ; TLC : 矽膠 , 溶離劑係 CHCl_3 , Fr (前沿比) : 0.11 ; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300MHz) δ 7.30 (d , 2H) , 6.73 (d , 2H) , 5.57 (brm , 1H) , 3.70 (s , 3H) , 1.45 (s , 6H) ; HPLC : 管柱 : Symmetry- C_{18} (5 微米) 4.6x250 毫米 , R. T. (室溫) , 移動相係 50/50 (體積 / 體積) 之 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, pH : 不變 , 流速 : 0.75 毫升 / 分鐘 , 205 微米 UV 偵測器 , 逗留時間 10.14 分鐘 ; 以 E. A. (元素分析) 確定 $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_3\text{S}$ 。

實例 2

2- (4-羥苯硫基) 異丁酸 (ST1981) 之製備

方法 A 之步驟 2

將 2.7 毫升醋酸及 2.7 毫升之 37% 氫氨酸加入 2- (4-羥苯硫基) 異丁酸甲酯 (ST1923) (0.200 公克 , 0.88 毫莫耳) 中 , 並將因此獲得的混合物在磁攪拌下以回流留置隔夜。接著將溶液倒入水中及將水相以醋酸乙酯萃取。接著將有機相在 Na_2SO_4 上乾燥 , 過濾及蒸發。獲得 0.161 公克產物 (產量 : 87%) ; 熔點 : 152-154 °C ; TLC : 矽膠 , 溶離劑係 9/1 之 $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$, Fr : 0.38 ; $^1\text{H NMR}$ (DMSO , 300MHz) δ 7.23 (d , 2H) , 6.72 (d , 2H) , 3.30 (brm , 2H) , 1.30 (s , 6H) ; HPLC : 管柱 : Inertisil ODS-3 (5 微米) 4.6x250 毫米 , 室溫 , 移動相係 50 毫微米之 40/60 (體積 / 體積) 之

(12)

$\text{CH}_3\text{CN}/\text{KH}_2\text{PO}_4$ ，pH：不變，流速：0.75 毫升/分鐘，205 毫微米 UV 偵測器，逗留時間 7.39 分鐘；KF：0.5% H_2O ；以元素分析確定 $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_3\text{S}$ 。

實例 3

2- (3-羥基苯硫基) 異丁酸甲酯 (ST2047) 之製備

根據方法 A (步驟 1) 所說明之步驟製備該產物，以在 40 毫升無水 CH_3CN 中的 3-巯酚 (2.000 公克，15.9 毫莫耳) 及 80% NaH (0.572 公克，19.1 毫莫耳) 在 0°C 下開始。在 5 分鐘之後，將 2-溴基異丁酸甲酯 (2.88 公克，15.9 毫莫耳) 加入懸浮液中。將因此獲得的反應混合物在磁攪拌下留置在室溫下隔夜。接著將反應混合物倒入 H_2O 中及以醋酸乙酯萃取。將有機相在無水硫酸鈉上乾燥，過濾及蒸發。將所獲得的殘餘物以使用 98/2 之 $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ 作為溶離劑之矽膠色層分離法純化。獲得 2.900 公克產物 (產量：81%) ；熔點： $41.5-42.5^\circ\text{C}$ ；TLC：矽膠，溶離劑係 98/2 之 $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ ，Fr：0.23； ^1H NMR (CDCl_3 ，300MHz) δ 7.19 (t，1H)，7.00 (d，1H)，6.95 (brt，1H)，6.81 (dd，1H)，3.69 (s，3H)，1.50 (s，6H) ；HPLC：管柱：Inertisil ODS-3 (5 微米) 4.6x250 毫米，室溫，移動相係 50/50 (體積/體積) 之 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ ，pH：不變，流速：0.75 毫升/分鐘，205 毫微米 UV 偵測器，逗留時間 13.82 分鐘；KF：0.3% H_2O ；以元素分析確定

(13)

 $C_{11}H_{14}O_3S$ 。實例 42-〔4-〔2-(4-氯苯基)乙氧基〕苯硫基〕異丁酸甲酯
(ST1929)之製備方法 B

將 DEAD (0.801 公克, 4.6 毫莫耳) 及三苯膦 (1.205 公克, 4.6 毫莫耳) 以使溫度維持在低於 30°C 的少量方式加入在 20 毫升無水 THF 中的 2-(4-羥苯硫基)異丁酸甲酯 (ST1923, 如實例 1 的說明製得的) (0.800 公克, 3.54 毫莫耳) 及 4-氯苯乙醇 (0.554 公克, 3.54 毫莫耳) 中。將在磁攪拌下反應混合物在室溫下留置隔夜。接著將溶劑蒸發及將殘餘物以使用 9/1 之己烷/醋酸乙酯作為溶離劑之矽膠色層分離法純化。獲得 0.416 公克油狀產物 (產量: 32%) ; TLC: 矽膠, 溶離劑係 9/1 之己烷/醋酸乙酯, Fr: 0.32; 1H NMR ($CDCl_3$, 300MHz) δ 7.40-7.19 (m, 6H), 6.80 (d, 2H), 4.15 (t, 2H), 3.65 (s, 3H), 3.08 (t, 2H), 1.45 (s, 6H) ; HPLC: 管柱: Symmetry- C_{18} (5 微米) 4.6x250 毫米, 室溫, 移動相係 70/30 (體積/體積) 之 CH_3CN/H_2O , pH: 不變, 流速: 0.75 毫升/分鐘, 205 微米 UV 偵測器, 逗留時間 31.40 分鐘; KF: 0.4% H_2O ; 以元素分析確定 $C_{19}H_{21}ClO_3S$ 。

(14)

實例 52-〔4-〔2-（1-吡啶基）乙氧基〕苯硫基〕異丁酸甲酯
（ST1983）之製備1-（2-羥乙基）吡啶中間產物之製備

根據 J. Med. Chem. 1998, 41/10, 1619-1639 所說明之步驟製備在其中報導之中間產物，除了反應時間期限之外（以 30 小時，而非 30 分鐘），以在 50 毫升無水 DMSO 中的吡啶（5.0 公克，42.7 毫莫耳）、KOH（3.6 公克，64.1 毫莫耳）及溴基乙醇（6.4 公克，51.3 毫莫耳）在 T：25-30℃ 時開始，獲得 5 公克油狀產物（產量：73%）。

2-〔4-〔2-（1-吡啶基）乙氧基〕苯硫基〕異丁酸甲酯
（ST1983）之製備

根據方法 B 所說明之步驟製備產物，以使溫度維持在低於 30℃ 的少量方式加入在 15 毫升無水 THF 中的 2-（4-羥苯硫基）異丁酸甲酯（ST1923，如實例 1 的說明製得的）（0.671 公克，2.97 毫莫耳）、1-（2-羥乙基）吡啶（0.478 公克，2.97 毫莫耳）、DEAD（0.672 公克，3.86 毫莫耳）及三苯膦（1.011 公克，3.86 毫莫耳）開始。將在磁攪拌下的反應混合物在室溫下留置 48 小時。接著將溶劑蒸發及將殘餘物以使用 8/2 之己烷/醋酸乙酯作為溶離劑之矽膠色層分離法純化。獲得總計 0.500 公克仍不純的產物，將其溶解在醋酸乙酯中及以 1

(15)

當量 NaOH 溶液清洗。將有機相乾燥及蒸發，以產生 0.230 公克殘餘物，將其以使用 CHCl₃ 作為溶離劑之矽膠色層分離法進一步純化。獲得 0.184 公克油狀產物（產量：17%）；TLC：矽膠，溶離劑係 8/2 之己烷/醋酸乙酯，Fr：0.29；¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) δ 7.62 (d, 1H)，7.40-7.10 (m, 6H)，6.78 (d, 2H)，6.50 (d, 1H)，4.50 (m, 2H)，4.24 (m, 2H)，3.61 (s, 3H)，1.40 (s, 6H)；HPLC：管柱：Symmetry-C₁₈ (3.5 微米) 4.6x75 毫米，室溫，移動相係 60/40 (體積/體積) 之 CH₃CN/H₂O，pH：不變，流速：0.90 毫升/分鐘，205 毫微米 UV 偵測器，逗留時間 10.70 分鐘；KF：1.7% H₂O；以元素分析確定 C₂₁H₂₃NO₃S。

實例 6

2-〔4-〔2-(2-萘基)乙氧基〕苯硫基〕異丁酸甲酯 (ST2011) 之製備

根據方法 B 所說明之步驟製備產物，以使溫度維持在低於 30°C 的少量方式加入在 30 毫升無水 THF 中的 2-(4-羥苯硫基)異丁酸甲酯 (ST1923，如實例 1 的說明製得的) (1.000 公克，4.42 毫莫耳)、2-(2-萘基)乙醇 (0.760 公克，4.42 毫莫耳)、DEAD (1.000 公克，5.75 毫莫耳) 及三苯膦 (1.500 公克，5.75 毫莫耳)。將在磁攪拌下的反應混合物在室溫下留置隔夜。接著將溶劑蒸發及將殘餘物以使用 9/1 之己烷/醋酸乙酯作為溶離

(16)

劑之矽膠色層分離法純化。獲得 1.262 公克產物（產量：75%）；熔點：56-57°C；TLC：矽膠，溶離劑係 9/1 之己烷/醋酸乙酯，Fr：0.23；¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) δ 7.85-7.70 (m, 4H), 7.45-7.28 (m, 5H), 6.83 (d, 2H), 4.27 (t, 2H), 3.65 (s, 3H), 3.26 (t, 2H), 1.45 (s, 6H)；HPLC：管柱：Inertisil ODS-3 (5 微米) 4.6x250 毫米，室溫，移動相係 80/20 (體積/體積) 之 CH₃CN/H₂O，pH：不變，流速：0.75 毫升/分鐘，205 毫微米 UV 偵測器，逗留時間 23.51 分鐘；KF：0.16% H₂O；以元素分析確定 C₂₃H₂₄O₃S。

實例 72- [4- [2- (2- 萘基) 乙氧基] 苯硫基] 異丁酸 (ST2036) 之製備

將 12.9 毫升之 1 當量 NaOH 加入在 30 毫升甲醇中的 ST2011 (如實例 6 的說明製得的) (0.489 公克, 1.29 毫莫耳) 之溶液中。將因此獲得的溶液以回流留置隔夜。接著將溶液冷卻，以水稀釋及酸化，並將水相以醋酸乙酯萃取。將有機相經無水 Na₂SO₄ 乾燥，接著在真空中蒸發及將殘餘物以使用氯仿作為溶離劑之矽膠色層分離法純化。獲得 0.360 公克產物（產量：76.2%）；熔點：103-104°C；TLC：矽膠，溶離劑係 98/2 之 CHCl₃/CH₃OH，Fr：0.13；¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) δ 7.80 (m, 3H), 7.70 (s, 1H), 7.50-7.38 (m, 5H), 6.83

(17)

(d , 2H) , 4.26 (t , 2H) , 3.35 (t , 2H) , 1.48 (s , 6H) ; HPLC : 管柱 : Inertisil ODS-3 (5 微米) 4.6x250 毫米 , 室溫 , 移動相係 75/25 (體積 / 體積) 之 CH₃CN/KH₂PO₄ , pH : 不變 , 流速 : 0.75 毫升 / 分鐘 , 205 毫微米 UV 偵測器 , 逗留時間 13.07 分鐘 ; KF : 1% H₂O ; 以元素分析確定 C₂₂H₂₂O₃S 。

實例 8

2- [4- [[(4-甲氧基苯甲基) 胺甲醯基] 氧基] 苯硫基] 異丁酸甲酯 (ST2031) 之製備

方法 C

將對 - 甲氧基苯甲基異氰酸酯 (0.417 公克 , 2.56 毫莫耳) 及 0.010 公克三乙胺加入在 10 毫升無水 THF 中的 ST1923 (0.482 公克 , 2.13 毫莫耳) (如實例 1 的說明製得的) 中。將在磁攪拌下的溶液在室溫下留置 48 小時。在該時間期限之後 , 將溶劑蒸發及將殘餘物以使用 98/2 之 CHCl₃/CH₃OH 作為溶離劑之矽膠色層分離法純化。獲得 0.410 公克產物 (產量 : 50%) ; 熔點 : 64-65 °C ; TLC : 矽膠 , 溶離劑係 CHCl₃ , Fr : 0.14 ; ¹H NMR (CDCl₃ , 300MHz) δ 7.44 (d , 2H) , 7.28 (d , 2H) , 7.10 (d , 2H) , 6.90 (d , 2H) , 5.29 (brm , 1H) , 4.39 (d , 2H) , 3.80 (s , 3H) , 3.65 (s , 3H) , 1.48 (s , 6H) ; HPLC : 管柱 : Inertisil ODS-3 (5 微米) 4.6x250 毫米 , 室溫 , 移動相係 70/30 (體積

(18)

/體積) 之 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ ，pH：不變，流速：0.75 毫升/分鐘，205 毫微米 UV 偵測器，逗留時間 11.22 分鐘；以元素分析確定 $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{NO}_5\text{S}$ 。

實例 9

2-〔3-〔〔(4-甲氧基苯甲基)胺甲醯基〕氧基〕苯硫基〕異丁酸甲酯 (ST2139) 之製備

根據方法 C 所說明之步驟製備產物，以在 7 毫升無水 THF 中的 ST2047 (如實例 3 的說明製得的) (0.240 公克，1.06 毫莫耳)、對-甲氧基苯甲基異氰酸酯 (0.207 公克，1.27 毫莫耳) 及 0.010 公克三乙胺開始，將溶液留置在室溫下攪拌 18 小時。接著加入 0.086 公克 (0.53 毫莫耳) 對-甲氧基苯甲基異氰酸酯，並將在磁攪拌下的混合物在室溫下再留置 6 小時。接著將溶劑蒸發至乾燥及將殘餘物以使用 7/3 之己烷/醋酸乙酯作為溶離劑之矽膠色層分離法純化。獲得 0.320 公克產物，將其以 Na_2CO_3 清洗，以進一步純化。獲得 0.200 公克油狀產物 (產量 48%)；TLC：矽膠，溶離劑係 7/3 之己烷/醋酸乙酯， R_f ：0.37； ^1H NMR (CDCl_3 ，300MHz) δ 7.35-7.18 (m, 6H)，6.90 (d, 2H)，5.25 (brm, 1H)，4.40 (d, 2H)，3.80 (s, 3H)，3.62 (s, 3H)，1.50 (s, 6H)；HPLC：管柱：Inertisil ODS-3 (5 微米) 4.6x250 毫米，室溫，移動相係 50/50 (體積/體積) 之 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ ，pH：不變，流速：0.75 毫升/分鐘，205 毫

(19)

微米 UV 偵測器，逗留時間 47.02 分鐘；以元素分析確定 $C_{20}H_{23}NO_5S$ 。

實例 10

2-〔4-(2-甲氧基-1,1-二甲基-2-酮乙氧基)苯硫基〕異丁酸甲酯 (ST1982) 之製備

方法 D

將 K_2CO_3 (0.306 公克, 2.22 毫莫耳) 及溴化四丁基銨 (TBAB) (0.0193 公克, 0.06 毫莫耳) 加入在 15 毫升無水甲苯中的 2-(4-羥苯硫基) 異丁酸酯 (ST1923, 如實例 1 的說明製得的) (0.250 公克, 1.11 毫莫耳) 中；將混合物在 $100^\circ C$ 下加熱，並在 5 分鐘之後，加入 2-溴基異丁酸甲酯 (0.803 公克, 4.44 毫莫耳)。接著將混合物以回流留置 2 天 ($130^\circ C$ 之油浴溫度)。接著將混合物過濾及將固體以甲苯清洗。將匯聚之有機相乾燥，並將油狀殘餘物以醋酸乙酯溶解及以 1 當量 NaOH 清洗。將蒸發有機溶劑之後所獲得的殘餘物以使用 9/1 之己烷/醋酸乙酯作為溶離劑之矽膠色層分離法純化。獲得 0.145 公克油狀產物 (產量: 40%)；TLC: 矽膠，溶離劑係 9/1 之己烷/醋酸乙酯，Fr: 0.17； 1H NMR ($CDCl_3$, 300MHz) δ 7.31 (d, 2H), 6.74 (d, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.65 (s, 3H), 1.60 (s, 6H), 1.45 (s, 6H)；HPLC: 管柱: Symmetry- C_{18} (3.5 微米) 4.6x75 毫米，室溫，移動相係 50/50 (體積/體積) 之

(20)

CH₃CN/H₂O, pH: 不變, 流速: 0.75 毫升/分鐘, 205 毫米 UV 偵測器, 逗留時間 13.00 分鐘; 以元素分析確定 C₁₆H₂₂O₅S。

實例 11

2-〔3-〔2-(3-羥苯氧基)乙氧基〕苯氧基〕異丁酸甲酯 (ST1877) 及

2-〔3-〔2-〔3-(2-甲氧基-1,1-二甲基-2-酮乙氧基)苯氧基〕乙氧基〕苯氧基〕異丁酸甲酯 (ST1878) 之製備

根據方法 D 所說明之步驟製備產物, 以在 100 毫升甲苯中的 3,3-乙撐二氧酚 (2.000 公克, 8.1 毫莫耳)、K₂CO₃ (4.500 公克, 32.4 毫莫耳)、TBAB (0.131 公克, 0.4 毫莫耳) 及 2-溴基異丁酸甲酯 (11.611 公克, 64 毫莫耳) 開始。將反應混合物在 130°C 下加熱 3 天, 接著冷卻及過濾。將所獲得的固體以甲苯清洗, 將匯聚之有機相在真空中蒸發至乾燥及將油狀殘餘物以使用 8/2 之己烷/醋酸乙酯作為溶離劑之矽膠色層分離法純化。獲得兩種產物: 單衍生物 ST1877 (0.700 公克) (產量: 25%) 及二衍生物 ST1878 (1.100 公克) (產量: 30.4%)。

ST1877 之分析數據

熔點: 77-79°C; ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) δ 7.13 (t, 2H), 6.62-6.40 (m, 6H), 4.25 (s, 4H), 3.78 (s, 3H), 1.60 (s, 6H); HPLC: 管柱:

(21)

Inertisil ODS-3 (5 微米) ; 4.6x250 毫米, 室溫, 移動相係 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (60/40 (體積/體積)), pH: 3.2, 流速: 1.0 毫升/分鐘, 205 毫微米 UV 偵測器, 逗留時間 8.76 分鐘; 以元素分析確定 $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_6$ 。

ST1878 之分析數據

熔點: 60-62°C ; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300MHz) δ 7.13 (t, 2H), 6.60 (d, 2H), 6.41 (m, 4H), 4.26 (s, 4H), 3.78 (s, 6H), 1.60 (s, 12H); HPLC: 管柱: Inertisil ODS-3 (5 微米); 4.6x250 毫米, 室溫, 移動相係 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (60/40 (體積/體積)), pH: 3.2, 流速: 1.0 毫升/分鐘, 205 毫微米 UV 偵測器, 逗留時間 23.92 分鐘; 以元素分析確定 $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_8$ 。

實例 12

2-〔4-〔1-(4-羥苯基)-1-甲基〕苯氧基〕丙二酸二甲酯 (ST2020) 之製備

根據以下如方法 A 之步驟 1 的說明之步驟製備產物: 將在 50 毫升無水甲苯中的重氮丙二酸酯 (2.846 公克, 18 毫莫耳) (如 *Org. Synth.*: 1973, V, 179 的說明製得的) 之溶液在氮氣流下逐滴加入在 100 毫升無水甲苯中的二價醋酸銻二聚物 (0.220 公克, 0.5 毫莫耳) 及雙酚 A (2,2-雙(4-羥苯基)丙烷) (3.400 公克, 15 毫莫耳) 之懸浮液中, 小心維持溫度介於 15 至 20°C 之間。接著將反應混合物在 120-130°C 之氮氣下回流 24 小時。接

(22)

著將反應混合物過濾及將甲苯在真空中蒸發。將所獲得的殘餘物以使用 8/2 之己烷/醋酸乙酯作為溶離劑之矽膠色層分離法純化。獲得 1.700 公克油狀產物（產量：32%）；TLC：矽膠，溶離劑係 7/3 之己烷/醋酸乙酯， R_f ：0.23； $^1\text{H NMR}$ （ CDCl_3 ，300MHz） δ 7.16（m，4H），6.90（d，2H），6.87（d，2H），5.12（s，1H），3.90（s，6H），1.62（s，6H）；HPLC：管柱：Inertisil ODS-3（5 微米）4.6x250 毫米，室溫，移動相係 70/30（體積/體積）之 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ ，pH：不變，流速：0.75 毫升/分鐘，205 毫微米 UV 偵測器，逗留時間 7.00 分鐘；KF：0.6% H_2O ；以元素分析確定 $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_6$ 。

實例 13

2-〔4-〔1-〔4-〔2-甲氧基-1-（甲氧羰基）-2-酮乙氧基〕
苯基〕-1-甲乙基〕苯氧基〕丙二酸二甲酯
（ST2048）之製備

根據已以實例 12 說明之步驟，如方法 A 之步驟 1 的說明製備產物，以在 36 毫升甲苯中的二價醋酸銻二聚物（0.0885 公克，0.2 毫莫耳）及 ST2020（1.230 公克，3.4 毫莫耳）（如實例 12 的說明製得的）開始，逐滴加入在 18 毫升無水甲苯中的重氮丙二酸酯（1.882 公克，11.9 毫莫耳），小心維持溫度介於 15 至 20℃ 之間。將反應混合物在 120-130℃ 之氮氣下回流 24 小時。接著將反應混合物過濾及將甲苯在真空中蒸發。將所獲得的殘餘物

(23)

以使用 8/2 之己烷/醋酸乙酯作為溶離劑之矽膠色層分離法純化。獲得 0.430 公克油狀產物（產量：26%）；TLC：矽膠，溶離劑係 6/4 之己烷/醋酸乙酯，Fr：0.46； $^1\text{H NMR}$ （ CDCl_3 ，300MHz） δ 7.20（d，4H），6.90（d，4H），5.22（s，2H），3.90（s，12H），1.61（s，6H）；管柱：Inertisil ODS-3（5 微米）4.6x250 毫米，室溫，移動相係 70/30（體積/體積）之 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ ，pH：不變，流速：0.75 毫升/分鐘，205 微米 UV 偵測器，逗留時間 9.68 分鐘；KF：0.7% H_2O ；以元素分析確定 $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{O}_{10}$ 。

實例 142-〔3-〔2-（2-萘基）乙氧基〕苯硫基〕異丁酸甲酯（ST2167）之製備

根據方法 B 所說明之步驟製備產物（除了以 DIAD 置換 DEAD 之外），以在 20 毫升無水 THF 中的 2-（3-羥苯硫基）異丁酸甲酯（ST2047）（1.110 公克，4.9 毫莫耳）、2-（2-萘基）乙醇（0.842 公克，4.9 毫莫耳）、DIAD（1.290 公克，6.37 毫莫耳）及三苯膦（1.670 公克，6.37 毫莫耳）開始。將在磁攪拌下的反應混合物在室溫下留置隔夜。接著在真空下除去溶劑及將殘餘物以使用 7/3 之己烷/醋酸乙酯作為溶離劑之矽膠色層分離法純化。將產物溶解在醋酸乙酯中及將有機相以 Na_2CO_3 溶液清洗，將其進一步純化。接著將有機相在無水硫酸鈉上乾

(24)

燥，過濾及將溶劑在真空中蒸發。獲得 1.14 公克產物（產量：61.2%）；TLC：矽膠，溶離劑係 9/1 之己烷/醋酸乙酯，Fr：0.20； ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) δ 7.80 (m, 3H), 7.75 (s, 1H), 7.45 (m, 3H), 7.25 (t, 1H), 7.05 (m, 2H), 6.90 (d, 1H), 4.25 (t, 2H), 3.65 (s, 3H), 3.30 (t, 2H), 1.50 (s, 6H)；HPLC：管柱：Inertisil ODS-3 (5 微米) 4.6x250 毫米，室溫，移動相係 80/20 (體積/體積) 之 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ ，pH：不變，流速：0.9 毫升/分鐘，205 微米 UV 偵測器，逗留時間 18.91 分鐘；KF：1.0% H_2O ；以元素分析確定 $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_3\text{S}$ 。

實例 152-〔3-〔〔〔4-(三氟甲基)苯基〕胺甲醯基〕氧基〕苯硫基〕異丁酸甲酯 (ST2208) 之製備

根據方法 C 所說明之步驟製備產物，以在 10 毫升無水 THF 中的 ST2047 (0.800 公克，3.54 毫莫耳) (如實例 3 的說明製得的)、4-三氟甲基異氰酸酯 (0.749 公克，4.25 毫莫耳) 及 0.010 公克三乙胺開始，反應時間係在室溫下以 18 小時代替 48 小時。接著將溶劑蒸發至乾燥及將殘餘物以使用 CHCl_3 及 98/2 之 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 作為溶離劑之矽膠色層分離法純化。獲得 0.881 公克產物 (產量 = 60%)；熔點 = 66-67 $^\circ\text{C}$ ；TLC：矽膠，溶離劑係 CHCl_3 ，Fr：0.38； ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) δ 7.60

(25)

(m , 4H) , 7.38 (m , 3H) , 7.15 (m , 1H) , 7.06 (brs , 1H) , 3.70 (s , 3H) , 1.55 (s , 6H) ;
 HPLC : 管柱 : Inertisil ODS-3 (5 微米) 4.6x250 毫米 , 室溫 , 移動相係 50 毫克分子量之 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{KH}_2\text{PO}_4$ (60/40 (體積 / 體積)) , pH : 3.0 (85% H_3PO_4) , 流速 : 1 毫升 / 分鐘 , 205 毫微米 UV 偵測器 , 逗留時間 25.46 分鐘 ; KF : 2.5% H_2O ; 以元素分析確定 $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{F}_3\text{NO}_4\text{S}$ 。

實例 162- [4- [[[4- (三氟甲基) 苯基] 胺甲醯基] 氧基] 苯硫基] 異丁酸甲酯 (ST2209) 之製備

根據方法 C 所說明之步驟製備標題產物 , 以在 7 毫升無水 THF 中的 ST1923 (0.300 公克 , 1.33 毫莫耳) (如實例 1 的說明製得的) 、 4-三氟甲基異氰酸酯 (0.298 公克 , 1.6 毫莫耳) 及 0.010 公克三乙胺開始 , 反應時間係在室溫下以 18 小時代替 48 小時。接著將溶劑蒸發至乾燥及將殘餘物以使用 7/3 之己烷 / AcOEt 作為溶離劑之矽膠色層分離法純化。獲得 0.340 公克產物 (產量 : 62%) ; 熔點 = 110-111°C ; TLC : 矽膠 , 溶離劑係 CHCl_3 , Fr : 0.34 ; ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) δ 7.55 (m , 4H) , 7.48 (d , 2H) , 7.15 (d , 2H) , 7.10 (brs , 1H) , 3.70 (s , 3H) , 1.55 (s , 6H) ;
 HPLC : 管柱 : Inertisil ODS-3 (5 微米) 4.6x250 毫

(26)

米，室溫，移動相係 50 毫克分子量之 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{KH}_2\text{PO}_4$ (60/40 (體積/體積))，pH: 3.0 (85% H_3PO_4)，流速: 1 毫升/分鐘，205 毫微米 UV 偵測器，逗留時間 25.60 分鐘；以元素分析確定 $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{F}_3\text{NO}_4\text{S}$ 。

實例 17

2-〔3-〔2-(4-氯苯基)乙氧基〕苯硫基〕異丁酸甲酯 (ST2195) 之製備

根據方法 B 所說明之步驟製備標題產物，以在 15 毫升無水 THF 中的 2-(3-羥苯硫基)異丁酸甲酯 (ST2047, 如實例 3 的說明製得的) (1.00 公克, 4.42 毫莫耳) 及 4-氯苯乙醇 (0.692 公克, 4.42 毫莫耳) 開始，將 DIAD (1.16 公克, 5.75 毫莫耳) 及三苯膦 (1.500 公克, 5.75 毫莫耳) 以使溫度維持在低於 30°C 的少量方式加入其中，。將在磁攪拌下的反應在室溫下留置隔夜。在該期限之後，將溶劑蒸發及將殘餘物以使用 9/1 之己烷/AcOEt 作為溶離劑之矽膠色層分離法純化。獲得 1.146 公克油狀產物 (產量: 71%)；TLC: 矽膠，溶離劑係 9/1 之己烷/AcOEt, Fr: 0.28； ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) δ 7.25 (m, 6H), 7.00 (m, 1H), 6.90 (d, 1H), 4.15 (t, 2H), 3.65 (s, 3H), 3.08 (t, 2H), 1.55 (s, 6H)；HPLC: 管柱: Inertisil ODS 3 (5 微米) 4.6x250 毫米，室溫，移動相係 80/20 (體積/體積) 之 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, pH: 不變，流速:

(27)

0.75 毫升/分鐘，205 毫微米 UV 偵測器，逗留時間 19.34 分鐘；KF：1.7% H₂O；以元素分析確定 C₁₉H₂₁ClO₃S。

實例 18

2-〔3-〔2-(1-吡啶基)乙氧基〕苯硫基〕異丁酸甲酯 (ST2394) 之製備

根據方法 B 所說明之步驟製備標題產物，以在 20 毫升無水 THF 中的 2-(3-羥苯硫基)異丁酸甲酯 (ST2047，如實例 3 的說明製得的) (1.00 公克，4.42 毫莫耳) 及 1-(2-羥乙基)吡啶 (如實例 5 的說明製得的) (0.711 公克，4.42 毫莫耳) 開始，將 DIAD (1.16 公克，5.75 毫莫耳) 及三苯膦 (1.500 公克，5.75 毫莫耳) 以使溫度維持在低於 30°C 的少量方式加入其中。將在磁攪拌下的反應在室溫下留置隔夜。接著將溶劑蒸發至乾燥及將殘餘物以使用 8/2 之己烷/AcOEt 作為溶離劑之矽膠色層分離法純化。獲得 0.581 公克油狀產物 (產量：35%)；TLC：矽膠，溶離劑係 9/1 之己烷/AcOEt，Fr：0.22；¹H NMR (CDCl₃，300MHz) δ 7.62 (d，1H)，7.42 (d，1H)，7.30-6.80 (m，7H)，6.52 (d，1H)，4.55 (m，2H)，4.30 (m，2H)，3.61 (s，3H)，1.50 (s，6H)；HPLC：管柱：Supelco-C₁₈ (5 微米) 4.6x150 毫米，室溫，移動相係 70/30 (體積/體積) 之 CH₃CN/H₂O，pH：不變，流速：0.90 毫升/分鐘，205 毫微米 UV 偵測器，逗留時間 6.36 分鐘；以元素分析

(28)

確定 $C_{21}H_{23}NO_3S$ 。

實例 19

2-〔3-〔(1-甲基-1-甲氧羰基)乙氧基〕苯硫基〕異丁酸甲酯 (ST2418) 之製備

根據方法 D 所說明之步驟製備標題產物，以在 100 毫升甲苯中的 2-(3-羥苯硫基)異丁酸甲酯 (ST2047，如實例 3 的說明製得的) (0.870 公克，3.85 毫莫耳)、 K_2CO_3 (1.06 公克，7.7 毫莫耳)、TBAB (0.062 公克，0.19 毫莫耳) 及 2-溴基異丁酸甲酯 (2.8 公克，15.4 毫莫耳) 開始。將反應混合物在 $130^\circ C$ 下加熱 3 天，接著冷卻及過濾。將所獲得的固體以甲苯清洗，將匯聚之有機層在真空中蒸發至乾燥及將油狀殘餘物以使用 9/1 之己烷 / AcOEt 作為溶離劑之矽膠色層分離法純化。獲得 1.0 公克油狀產物 (產量：79%)；TLC：矽膠，溶離劑係 9/1 之己烷 / AcOEt， R_f ：0.20； 1H NMR ($CDCl_3$ ，300MHz) δ 7.20 (m, 1H)，7.05 (d, 1H)，6.95 (s, 1H)，6.90 (d, 1H)，3.80 (s, 3H)，3.65 (s, 3H)，1.60 (s, 6H)，1.45 (s, 6H)；HPLC：管柱：Symmetry- C_{18} (5 微米) 4.6x150 毫米，室溫，移動相係 60/40 (體積 / 體積) 之 CH_3CN/H_2O ，pH：不變，流速：0.75 毫升 / 分鐘，205 毫微米 UV 偵測器，逗留時間 9.53 分鐘；以元素分析確定 $C_{16}H_{22}O_5S$ 。

(29)

實例 202- [4- [2- (4- 氯 苯 基) 乙 氧 基] 苯 硫 基] -2- 甲 基 丙 酸
(ST2505) 之 製 備

根據通式法 A 之步驟 2 的說明製備標題產物，以在 36 毫升甲醇中的 ST1929 (如實例 4 的說明製得的) (0.572 公克，1.57 毫莫耳) 之溶液開始，將 15.7 毫升之 1 當量 NaOH 加入其中。將因此獲得的溶液以回流隔夜。接著將溶液冷卻，以水稀釋及酸化，並將水相以 AcOEt 萃取。將有機相在真空中蒸發及將殘餘物以使用 7/3 之己烷 / AcOEt 作為溶離劑之矽膠色層分離法純化。獲得 0.448 公克產物 (產量 : 81%) ; 熔點 = 87-88 °C ; TLC : 矽膠，溶離劑係 6/4 之己烷 / AcOEt，Fr : 0.30 ; ¹H NMR (CDCl₃，300MHz) δ 7.45 (d，2H)，7.15 (m，4H)，6.85 (d，2H)，4.15 (t，2H)，3.05 (t，2H)，1.50 (s，6H) ; HPLC : 管柱 : Symmetry-C₁₈ (5 微米) 4.6x250 毫米，室溫，移動相係 10 毫克分子量之 45/55 (體積 / 體積) 之 CH₃CN / 醋酸銨，pH : 不變，流速 : 0.70 毫升 / 分鐘，205 毫微米 UV 偵測器，逗留時間 4.73 分鐘 ; 以元素分析確定 C₁₈H₁₉ClO₃S。

實例 212- [3- [5- (4- 硝 苯 基) 糠 氧 基] 苯 硫 基] 異 丁 酸 甲 酯
(ST2501) 之 製 備

根據方法 B 所說明之步驟製備標題產物，以在 23 毫

(30)

升無水 THF 中的 2- (3- 羥 苯 硫 基) 異 丁 酸 甲 酯 (ST2047, 如 實 例 3 的 說 明 製 得 的) (1.02 公 克 , 4.5 毫 莫 耳) 及 5- (硝 苯 基) 糠 醇 (0.986 公 克 , 4.5 毫 莫 耳) 開 始 , 將 DIAD (1.18 公 克 , 5.85 毫 莫 耳) 及 三 苯 膦 (1.53 公 克 , 5.85 毫 莫 耳) 以 使 溫 度 維 持 在 低 於 30°C 的 少 量 方 式 加 入 其 中 。 將 在 磁 攪 拌 下 的 反 應 在 室 溫 下 留 置 隔 夜 。 接 著 將 溶 劑 蒸 發 及 將 殘 餘 物 以 使 用 9.4/0.6 之 己 烷 /AcOEt 作 為 溶 離 劑 之 矽 膠 色 層 分 離 法 純 化 。 獲 得 0.300 公 克 產 物 (產 量 : 16%) ; 熔 點 : 81-82°C ; TLC : 矽 膠 , 溶 離 劑 係 7/3 之 己 烷 /AcOEt , Fr : 0.45 ; ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) δ 8.25 (d , 2H) , 7.80 (d , 2H) , 7.30 (m , 1H) , 7.05 (m , 1H) , 7.03 (m , 1H) , 7.01 (m , 1H) , 6.90 (d , 1H) , 6.60 (d , 1H) , 5.10 (s , 2H) , 3.70 (s , 3H) , 1.50 (s , 6H) ; HPLC : 管 柱 : Symmetry- C_{18} (5 微 米) 4.6x250 毫 米 , 室 溫 , 移 動 相 係 85/15 (體 積 / 體 積) 之 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, pH : 不 變 , 流 速 : 0.85 毫 升 / 分 鐘 , 205 毫 微 米 UV 偵 測 器 , 逗 留 時 間 6.24 分 鐘 ; 以 元 素 分 析 確 定 $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{NO}_6\text{S}$ 。

實 例 22

2- [3- [2- (4- 氯 苯 基) 乙 氧 基] 苯 硫 基] -2- 甲 基 丙 酸 (ST2518) 之 製 備

根 據 通 式 法 A 之 步 驟 2 的 說 明 製 備 標 題 產 物 , 以 在 9

(31)

毫升甲醇中的 ST2195 (如實例 17 的說明製得的) (0.150 公克, 0.41 毫莫耳) 之溶液開始, 將 4 毫升之 1 當量 NaOH 加入其中。將因此獲得的溶液在攪拌下及在室溫下留置 48 小時。接著將溶液以水稀釋, 酸化及將水相以 AcOEt 萃取。將有機相在無水 Na₂SO₄ 上乾燥及過濾, 並將溶劑在真空中蒸發。獲得 0.128 公克產物 (產量 = 88%) ; 熔點: 105-106 °C ; TLC : 矽膠, 溶離劑係 9.4/0.6 之 CHCl₃/CH₃OH, Fr : 0.42 ; ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) δ 7.45 (m, 5H) , 7.10 (m, 2H) , 6.80 (dd, 1H) , 4.15 (t, 2H) , 3.05 (t, 2H) , 1.50 (s, 6H) ; HPLC : 管柱 : Symmetry-C₁₈ (5 微米) 4.6x250 毫米, 室溫, 移動相係 10 毫克分子量之 35/65 (體積/體積) 之 CH₃CN/醋酸銨, pH : 不變, 流速 : 0.80 毫升/分鐘, 205 毫微米 UV 偵測器, 逗留時間 4.66 分鐘 ; 以元素分析確定 C₁₈H₁₉ClO₃S。

實例 23

2-〔4-(2-(2,4-二氯苯基)乙氧基)苯硫基〕異丁酸甲酯 (ST2531) 之製備

根據方法 B 所說明之步驟製備標題產物, 以 2-(4-羥苯硫基)異丁酸甲酯 (ST1923, 如實例 1 的說明製得的) (0.280 公克, 1.24 毫莫耳) 及溶解在 3 毫升無水 THF 中的 DIAD (0.325 公克, 1.61 毫莫耳) 開始, 並在 0°C 下逐滴加入在 4 毫升無水 THF 中的 2,4-二氯苯乙醇

(32)

(0.260 公克, 1.36 毫莫耳) 及三苯膦 (0.422 公克, 1.61 毫莫耳) 之溶液中。將在磁攪拌下的反應混合物在室溫下留置隔夜。接著將溶劑蒸發及將殘餘物以使用 9.6/0.4 之己烷 /AcOEt 作為溶離劑之矽膠色層分離法純化。獲得 0.346 公克產物 (產量: 70%) ; 熔點: 73-74 °C ; TLC : 矽膠, 溶離劑係 9/1 之己烷 /AcOEt, Fr : 0.26 ; ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) δ 7.35 (m, 3H) , 7.22 (m, 2H) , 6.83 (d, 2H) , 4.18 (t, 2H) , 3.65 (s, 3H) , 3.20 (t, 2H) , 1.45 (s, 6H) ; HPLC : 管柱 : Inertisil ODS-3 (5 微米) 4.6x250 毫米, 室溫, 移動相係 85/15 (體積/體積) 之 CH₃CN/H₂O, pH : 不變, 流速 : 1 毫升/分鐘, 205 毫微米 UV 偵測器, 逗留時間 12.58 分鐘 ; KF : 0.4% H₂O ; 以元素分析確定 C₁₉H₂₀Cl₂O₃S。

實例 242-〔3-(2-(2,4-二氯苯基)乙氧基)苯硫基〕異丁酸甲酯 (ST2534) 之製備

根據方法 B 所說明之步驟製備標題產物, 以 2-(3-羥苯硫基)異丁酸甲酯 (ST2047, 如實例 3 的說明製得的) (0.280 公克, 1.24 毫莫耳) 及溶解在 3 毫升無水 THF 中的 DIAD (0.325 公克, 1.61 毫莫耳) 開始, 並在 0°C 下逐滴加入在 4 毫升無水 THF 中的 2,4-二氯苯乙醇 (0.260 公克, 1.36 毫莫耳) 及三苯膦 (0.422 公克,

(33)

1.61 毫莫耳) 之溶液中。將在磁攪拌下的反應在室溫下留置隔夜。接著將溶劑蒸發及將殘餘物以使用 9.6/0.4 之己烷 /AcOEt 作為溶離劑之矽膠色層分離法純化。獲得 0.327 公克油狀產物 (產量: 66%) ; TLC: 矽膠, 溶離劑係 9/1 之己烷 /AcOEt, Fr: 0.34; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300MHz) δ 7.40 (d, 1H), 7.20 (m, 3H), 7.00 (m, 2H), 6.90 (dd, 1H), 4.15 (t, 2H), 3.65 (s, 3H), 3.20 (t, 2H), 1.45 (s, 6H); HPLC: 管柱: Inertisil ODS-3 (5 微米) 4.6x250 毫米, 室溫, 移動相係 90/10 (體積/體積) 之 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, pH: 不變, 流速: 0.8 毫升/分鐘, 205 毫微米 UV 偵測器, 逗留時間 12.40 分鐘; KF: 0.2% H_2O ; 以元素分析確定 $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{O}_3\text{S}$ 。

實例 25

2- [3- (2-咪唑 -9-基) 乙氧基] 苯硫基] 異丁酸甲酯 (ST2365) 之製備

根據方法 B 所說明之步驟製備標題產物, 以使溫度維持在低於 30°C 的少量方式加入在 14 毫升無水 THF 中的 2- (3-羥苯硫基) 異丁酸甲酯 (ST2047, 如實例 3 的說明製得的) (0.609 公克, 2.7 毫莫耳)、9H-咪唑 -9-乙醇 (0.507 公克, 2.7 毫莫耳)、DIAD (0.708 公克, 3.5 毫莫耳) 及三苯膦 (0.917 公克, 3.5 毫莫耳) 開始。將在磁攪拌下的反應混合物在室溫下留置 18 小時。接著將

(34)

溶劑蒸發至乾燥及將殘餘物以使用 9/1 之己烷 /AcOEt 作為溶離劑之矽膠色層分離法純化。獲得 0.510 公克產物（產量：45%）；熔點：101-103°C；TLC：矽膠，溶離劑係 8/2 之己烷 /AcOEt，Fr：0.38；¹H NMR（CDCl₃，300MHz） δ 8.05（d，2H），7.50（m，4H），7.15（m，2H），7.08（t，1H），7.00（d，1H），6.90（s，1H），6.80（m，1H），4.75（t，2H），4.35（t，2H），3.60（s，3H），1.40（s，6H）；HPLC：管柱：Symmetry-C₁₈（5微米）4.6x150毫米，室溫，移動相係 65/35（體積 / 體積）之 CH₃CN/H₂O，pH：不變，流速：0.80 毫升 / 分鐘，205 毫微米 UV 偵測器，逗留時間 11.45 分鐘；以元素分析確定 C₂₅H₂₅NO₃S。

實例 262-〔4-（2-咪唑-9-基）乙氧基〕苯硫基〕異丁酸甲酯（ST2387）之製備

根據方法 B 所說明之步驟製備標題產物，以 2-（4-羥苯硫基）異丁酸甲酯（ST1923，如實例 1 的說明製得的）（0.609 公克，2.7 毫莫耳）、9H-咪唑-9-乙醇（0.507 公克，2.7 毫莫耳）、DIAD（0.708 公克，3.5 毫莫耳）開始，將在 14 毫升無水 THF 中的三苯膦（0.917 公克，3.5 毫莫耳）以使溫度維持在低於 30°C 的少量方式加入其中。將在磁攪拌下反應混合物在室溫下留置 18 小時。接著將溶劑蒸發及將殘餘物以使用 9/1 之己烷 /AcOEt

(35)

作為溶離劑之矽膠色層分離法純化。獲得 0.702 公克產物（產量：62%）；熔點：72-74℃；TLC：矽膠，溶離劑係 8/2 之己烷 / AcOEt，Fr：0.30；¹H NMR（CDCl₃，300MHz）δ 8.05（d，2H），7.50（m，4H），7.15（m，4H），6.75（d，2H），4.75（t，2H），4.35（t，2H），3.60（s，3H），1.40（s，6H）；HPLC：管柱：Symmetry-C₁₈（5 微米）4.6x150 毫米，室溫，移動相係 70/30（體積 / 體積）之 CH₃CN/H₂O，pH：不變，流速：0.80 毫升 / 分鐘，205 毫微米 UV 偵測器，逗留時間 11.60 分鐘；以元素分析確定 C₂₅H₂₅NO₃S。

實例 27

主動脈收縮

所使用之動物係重達 100-120 公克之 Wistar 雄鼠，以在 21±1℃ 之溫度及 50±15% 之濕度下，具有 12/12 小時之日光 / 黑暗循環及具有每小時 15-20 次之氣體更換的每個籠子收留 5 隻動物（籠子尺寸：425 毫米 x 266 毫米 x 180 毫米，具有鋸屑）。使動物以 LP ALTROMIN 食料（REIPER）及以活水自由攝取的方式進食。

誘發心臟肥大症

以放在橫隔膜與腎支管之間的腹主動脈中的夾子（0.8 毫米之直徑）使腹主動脈收縮的方式在以奈姆布托（Nembutal）（戊巴比妥鈉（pentobarbital sodium））

(36)

麻醉之老鼠中誘發左心室肥大症，接著使用一組動物作為控制組，其遭逢相同的操作，但是一組沒有植入的夾子及因此不會遭逢主動脈收縮（空白組）。

將動物因此任意分成以下的群組：

空白組：在沒有主動脈收縮之老鼠上操作（8隻動物）

控制組：在有主動脈收縮之老鼠上操作（8隻動物）

CLO 組：在有主動脈收縮及自操作之後以根據本發明說明的化合物治療 12 週之老鼠上操作（11 隻動物）

心臟機能的評估

在治療結束時，以經由頸主動脈插入左心室及連接至壓力傳導物（Statham p23XL）與放大器（Biomedica Mangoni bm 61）之聚乙烯插管方式評定在以奈姆布托（戊巴比妥鈉）麻醉之老鼠中的心臟機能。

記錄的參數係：心速、左心室內收縮壓和舒張壓及以特殊的數據獲取系統（IDAS）方式在個人電腦上記錄的心室內壓力之正和負衍生值。進行 30 分鐘的記錄。

巨觀評定

在實驗結束時，以致命的奈姆布托劑量的方式犧牲動物，打開腹腔及取出內臟，以證實正確應用的主動脈夾子，取出心臟、肺及肝，並在以巨觀檢查可能的異常之後徹底乾燥及稱重。

以該試驗獲得的初步結果顯示根據本發明說明的化合

(37)

物在與控制組比較的治療組中具有良好的耐藥性及使血壓值正常。

實例 28

以過渡性轉染真核細胞評估 PPAR α 配體之激動劑活性

以在真核細胞中的轉活化檢定作用容許以定量評估理論性配體促使在轉錄因子與其在促進劑中的反應元素之間的交互作用之能力。

以過氧化物酶體增殖劑活化受體同型物 α (PPAR α) 經由以 9-順式視黃酸受體 (RXR) 之雜相二聚合作用抑揚調節標的基因轉錄作用。如果只在至少該兩種受體的其中之一配體存在下活化時，則所形成的二聚物能夠與位於標的基因促進劑中的過氧化物酶體增殖劑反應元素 (PPRE) 結合。

轉活化檢定作用因此要求以：

- a) 充份的 PPAR α 量；
- b) 充份的 9-順式視黃酸受體 (RXR) 量；
- c) 包括以位於雜相病毒促進劑上游之 PPRE 控制之受體基因的嵌合質體。

在吾等的案例中，受體基因係氯霉素-乙酰基轉移酶 (CAT) 。

PPAR α 及 RXR 之內源值無論何時均不充份，故可將彼經由包括有關的受體基因之表現載體的轉染作用的外源補充。

(38)

質體 pCH110 包括 β -半乳糖苷酶之基因，並與受體基因 CAT 一起共同轉染，因此提供以內部控制轉染效率及使結果標準化。

實驗步驟

使用猴子腎臟成纖維細胞 (COS-7) 之細胞株。將細胞以受體基因 (參考以上的項目 c) 及包括 PPAR α 基因之編碼序列 (cDNA) 的表現質體轉染。將細胞曝露於濃度漸增的研究之化合物，並評定 CAT 活性。使用未治療之細胞作為控制組。CAT 值的增加表示以其與 PPRE 結合的方式活化 PPAR α -依賴型基因轉錄作用 (化合物的激動劑活性)。

細胞培養

根據常見的細胞培養技術，在 37°C 下及在 5% 體積 / 體積之二氧化碳氣體中使用以 3.7 公克 / 公升之碳酸氫鈉、4 毫克分子量 L-谷胺醯胺、4.5 公克 / 公升之葡萄糖、1 毫克分子量丙酮酸鈉及 10% 體積 / 體積之胎牛血清改良之生長介質 DMEM (杜貝克氏 (Dulbeco's) 改良型老鷹介質) 在 100 微克 / 毫升之鏈霉素及最終 100U / 毫升之青霉素的在下培養猴子腎臟成纖維細胞 (COS-7)。

COS-7 細胞之過渡性轉染

以核酸與磷酸鈣的共同沉澱技術的方式使 COS-7 細

(39)

胞經過渡性轉染。

在轉染之前，先將細胞以 3×10^5 細胞/井之密度覆蓋在具有 6 個井之 25 毫米直徑尺寸之平盤上經 24 小時。在轉染之前，先將培養介質改變 2 小時，並接著將如以下製備的 280 微升轉染混合物逐滴加入每一個井中：

- 1) 包括 PPAR α 之 cDNA 的表現質體 (2.5 微克)
- 2) 包括受體基因 CAT 之質體 (5 微克)
- 3) pCH110 (1 微克) ；

+17.5 微升之 2 克分子量氯化鈣。

以水加滿至 140 微升的最終體積。將等體積之 HBS 溶液 2x pH7.1 (每公升計 16 公克氯化鈉、0.74 公克氯化鉀、0.27 公克磷酸氫鈉脫水物、2 公克右旋糖、10 公克 HEPES) 加入該質體混合物中。

將細胞在 37°C 下及在 5% 體積/體積之二氧化碳氣體中保溫 6 小時。

在 2 毫升新鮮介質中以根據本發明說明的化合物及以參考化合物、氯貝特及 4-氨基-6-(2,3-二甲代苯胺基)-2-嘧啶基硫代醋酸 (WY-14,643) 進行 24 小時的治療。使用未治療之細胞作為負控制組。針對來自經治療及未經治療之細胞的蛋白質萃取物以放射計量方式評定各種影響受體基因 CAT 轉錄作用的治療能力。

細胞蛋白質萃取物之製備及 CAT 活性之檢定

在治療之後，將細胞以磷酸鹽緩衝液 (5 毫升) 清洗

(40)

兩次，並以機械方式自在 TEN 緩衝液中（pH8 之 10 毫克分子量參〔羥甲基〕胺基甲烷、pH8 之 1 毫克分子量乙撐二胺四醋酸、0.1 克分子量氯化鈉）的井取出。在 Eppendorf 5417R 離心機中（F453011 馬達）以 4°C 及以每分鐘 1000 轉（rpm）離心 2 分鐘之後，將細胞再懸浮在 0.15 毫升緩衝液中（pH8 之 0.25 克分子量參〔羥甲基〕胺基甲烷－氫氨酸），並以重複冷凍及解凍（三次的 5 分鐘循環）方式溶胞。

在 4°C 下以最高速離心 15 分鐘的方式除去不可溶之細胞物質，並回收上層清液及用於 CAT 活性檢定作用。

測量 CAT 活性之檢定作用係由在以水達到最多 100 微升之最終體積中具有：

- 1) 50 微升蛋白質細胞萃取物（在 65°C 下加熱 10 分鐘）
- 2) 10 微升正丁醯基-共酵素 A（3.5 毫克/毫升）
- 3) 5 微升〔¹⁴C〕氯霉素（0.25 微 Ci）所組成的。

在 37°C 下保溫約 2 小時之後，將反應以 2 體積計之二甲苯/2,6,10,14 四甲基十五烷（以 1:2（體積/體積）之混合物）阻斷。在以該溶劑萃取之後，將 150 微升上層相加入 5 毫升閃爍液體中及以 β 計數器（閃爍計）分析，以測定因為酵素反應所形成之〔¹⁴C〕丁醯基氯霉素含量。

測定 β-半乳糖苷酶活性之試驗

使用針對在質體 pCH110 中存在的對應基因編碼之 β-半乳糖苷酶活性作為使關於轉染效率之 CAT 活性標準

(41)

化之內控制。

在 "Z 緩衝劑" (在磷酸鹽緩衝液中的 10 毫克分子量氯化鉀、1 毫克分子量氯化鎂及 50 毫克分子量 β -巰基乙醇) 的存在下評估 20 微升蛋白質萃取物 (參考以上) 針對 2 毫克/毫升基質 ONPG (O-硝苯基- β -D-吡喃半乳糖苷) 之活性。在 37°C 下保溫 15-120 分鐘之後 (依據典型的黃色出現的速度而定), 以 200 微升之 1 克分子量碳酸鈉阻斷反應。將樣品在室溫下保溫 10 分鐘及接著以分光光度計分析, 測量在 420 毫微米波長時的吸收度 (A_{420})。

使用以下的公式使關於 β -半乳糖苷酶活性之 CAT 檢定標準化:

$$\frac{\text{每分鐘計之CAT樣品計數} - \text{每分鐘計之空白樣品計數}}{\beta\text{-半乳糖苷酶}(\beta\text{-gal})\text{活性單位}^* \times \frac{\text{CAT 樣品體積}(50\text{微升})}{\beta\text{-半乳糖苷酶樣品體積}(20\text{微升})}}$$

$$*\beta\text{-半乳糖苷酶活性單位} = \frac{A_{420} \times \text{稀釋倍數}}{\text{保溫時間}(\text{分鐘})}$$

實例 29

以過渡性轉染真核細胞評估 PPAR α 配體之激動劑活性 (II 方法)

使用另一選擇之轉活化系統, 其主要差別在於受體係位於 DNA 上, 並依據如何使配體結合事件轉譯成轉錄活性作用而定。

(42)

在該模式中，將真核細胞以編碼在酵母 Gal4 轉錄因子之 DNA 結合區 (DBD) 與 PPAR α 之配體結合區 (LBD) 之間的融合蛋白質 (Gal4DBD/PPAR α LBD) 之表現載體過渡性轉染。共同轉染包括 5 個複製對與受體基因氯霉素乙醯基轉移酶 (CAT) 連結之強病毒促進劑的 Gal4 上游具有高親合性結合位置 (稱為 UAS, 上游活化序列) 之受體載體。該模式提供一些優點，最重要的優點係不受內源受體的干擾。

除了表現及受體載體之外，將細胞以編碼 β -半乳糖苷酶酵素之控制載體 pCH110 轉染，以校正轉染效率之差異。

實驗步驟

使用猴子腎臟成纖維細胞株 (COS-7)。將細胞以攜帶基因受體之質體、編碼融合蛋白質 (Gal4DBD/PPAR α LBD) 之表現質體及控制載體 pCH110 共同轉染。接著將細胞以濃度漸增的試驗化合物治療及測量 CAT 活性。使用未治療之細胞作為控制組。

細胞培養

將猴子腎臟成纖維細胞 (COS-7) 在 100 微克/毫升之鏈霉素及最終 100U/毫升之青霉素的在下以 3.7 公克/公升之碳酸氫鈉、4 毫克分子量 L-谷胺醯胺、4.5 公克/公升之葡萄糖、1 毫克分子量丙酮酸鈉及 10% 體積/體積

(43)

之胎牛血清補充之 DMEM (杜貝克氏改良型老鷹介質) 中依例行成長。

COS-7 細胞之過渡性轉染

將 COS-7 細胞以使用在轉染期間與輸送體 DNA 複合成細胞的以多重組份脂質為主之 FuGENE6 轉染試劑過渡性轉染。將細胞在 12 井平盤中以 1.2×10^5 個細胞/井接種及在 5% (體積/體積) 二氧化碳氣體中以 37°C 經隔夜培養。在轉染之後 2 小時，將培養介質以新鮮的無絲胺酸介質置換，並接著根據製造商的指示，以 FuGENE6 轉染試劑進行轉染。簡言之，將包括 (每一個井) 0.8 微升表現載體、1.6 微升受體載體、0.8 微升控制載體及 9 微升 FuGENE6 轉染試劑之轉染混合物直接加入在無絲胺酸介質存在下的細胞中。在 5 小時之後，將轉染介質以具有或不具有 3 種不同濃度之試驗化合物 (2、20 及 100 微克分子量) 的 1 毫升完全培養介質置換。使用 2 微克分子量 Wy-14,643 (已知的 PPAR α 配體) 作為正控制組。

細胞蛋白質萃取物之製備及 CAT 活性之檢定

在 48 小時之後，將細胞以 1 毫升磷酸鹽緩衝液 (PBS) 清洗兩次，並接著以在 TEN 緩衝液中 (pH8 之 10 毫克分子量參 [羥甲基] 胺基甲烷、pH8 之 1 毫克分子量乙撐二胺四醋酸、0.1 克分子量氯化鈉) 的刮取方式收成。在室溫下以每分鐘 1000 轉 (rpm) 離心 3 分鐘之

(44)

後，將細胞再懸浮在 60 微升溶胞緩衝液中（pH8 之 0.25 克分子量 Tris-HCl）及以 3 次快速冷凍/解凍循環（三次的 5 分鐘循環）的方式溶胞。接著在 4℃ 下以每分鐘 15,000 轉（rpm）離心 15 分鐘，以除去細胞屑。接著加入甘油（最終 10% 體積/體積）及 β -巰基乙醇（最終 5 毫克分子量），並將細胞萃取物儲存在 -80℃ 下，直到檢定為止。

CAT 活性檢定的進行如下：將 20 微升細胞溶胞產物（在 65℃ 下預熱 10 分鐘，以去活化內脫醯基酶酵素活性）加入 10 微升正丁醯基-CoA（3.5 毫克/毫升）、5 微升（0.25 微 Ci）[^{14}C] 氯霉素及 65 微升蒸餾水中，並在 37℃ 下保溫 2 小時。將反應以 200 微升二甲苯/2,6,10,14 四甲基十五烷（以 1:2（體積/體積）之混合物）溶液阻斷。在劇烈渦轉及以最高速離心 5 分鐘之後，將 150 微升上層清液相轉移至在 5 毫升閃爍液體存在下的閃爍小瓶中及以 β 計數器測量相對放射活性。

測定 β -半乳糖苷酶活性之試驗

β -半乳糖苷酶活性的測量如下：將 20 微升細胞萃取物加入由 1 體積之 2 毫克/毫升之 ONPG 及 3 體積之“Z 緩衝劑”（在磷酸鹽緩衝液中的 10 毫克分子量氯化鉀、1 毫克分子量氯化鎂及 50 毫克分子量 β -巰基乙醇）所組成的 750 微升反應緩衝液中。將反應在 37℃ 下進行，並在有些許典型的黃色出現時，以加入 200 微升之 1 克分子量

(45)

Na_2CO_3 阻斷反應。將樣品在室溫下保溫 10 分鐘及接著以分光光度計測量在 420 毫微米時的吸收度 (A_{420})。

將 CAT 活性結果如下以 β -半乳糖苷酶活性標準化：

$$\frac{\text{每分鐘計之CAT樣品計數} - \text{每分鐘計之空白樣品計數}}{\beta\text{-半乳糖苷酶活性單位}^*}$$

$$\beta\text{-半乳糖苷酶活性單位}^* = \frac{A_{420} \times \text{稀釋倍數}}{\text{保溫時間(分鐘)}}$$

所獲得的初步結果 (表 1 中的報導) 顯示根據本發明的化合物係 PPAR α 激動劑。

表 1

化合物	2 微克分子量	20 微克分子量	100 微克分子量
實例 5 (ST1983)	150%	391.2%	1372%
實例 14 (ST2167)	98.1%	360%	462.7%
實例 24 (ST2534)	113.1%	284.9%	421%

將與在參考化合物 (WY-14.463, 2 微克分子量) 存在下測量的結果 (依慣例以等於 100% 表示) 比較的結果以 CAT 受體基因之活化百分比表示。

實例 30

在 db/db 鼠中增加的 HDL-膽固醇值

(46)

在該實驗中使用 db/db 鼠，其中 PPAR α 表現係以上的標準表現 (Memon 等人之 Endocrinology 2000, 4021-4031) 及以實質評估 HDL-膽固醇值 (Silver 等人之 J. Biol. Chem 1999, 274:4140-4146) 。

將 C57BL/KsJ db/db 鼠經 1 週適應於標準條件 (22±2°C ; 55±15%之濕度 ; 15-20 次的氣體更換 /小時 ; 從早上 7 時至下午 7 時的 12 小時日光 /12 小時黑暗循環) ，提供標準的 4 RF21 飲食 (Mucedola) 。在吸收後的狀態下 (從早上 8.30 時至下午 4.30 時禁食) 以 Jelco 22G 插管 (Johnson and Johnson) 的輔助自尾部靜脈取得血液樣品。檢查在均勻分布的治療組老鼠血漿中的葡萄糖、胰島素、三酸甘油酯、膽固醇、自由胺基酸及尿素值。

在開始治療時，檢查動物重量，並進行監控彼等的水及進食消耗的安排。

將老鼠每天以口服治療兩次 (在早上 8.30 時及下午 6.30 時) ，經 10 或 14 天。

將如以實例 4 的說明獲得的測試化合物 (ST1929) 以在 10 毫升 /公斤之媒劑中 (在去離子 H₂O 中包括 0.5% Tween 之 1% CMC) 的 24 毫克 /公斤之劑量投藥。

也將其它的測試化合物以等於實例 4 之劑量投藥。

將環丙貝特 (ciprofibrate) (其係已知的 PPAR α 激動劑) (Varanasi 等人之 J. Biol. Chem. , 1996 , 271:2147-2155 ; Latruffe 等人之 Cell Biochem.

(47)

Biophys., 2000, 32 Spring:213-220) 以 20 毫克/公斤之劑量投藥 (Dwivedi 等人之 Toxicol Pathol 1989, 17:16-26; Qi 等人之 Proc Natl Acad Sci USA 1999, 96:1585-1590) 。

在最終治療之後 7 小時犧牲在吸收後的狀態下的動物 (從早上 9.30 時至下午 4.30 時禁食) 。測定許多在血清中重要的脂質值及碳水化合物代謝參數。

以磷鎢酸為主之沉澱試劑 (ABX 診斷劑) 處理血清 (以除去乳糜微粒、非常低密度及低密度脂質蛋白質) 及以膽固醇套組 (ABX 診斷劑) 的輔助和 Cobas Mira S 自動分析儀 (Roche) 測定在上層清液中的 HDL-膽固醇，以測量 HDL-膽固醇值。

結果顯示根據本發明的化合物能夠以類似的方式將在 db/db 老鼠中的 HDL-膽固醇值提升至與參考化合物 (環丙貝特) 一樣或更高的值 (表 2) 。

(48)

表 2

在 db/db 鼠中增加的 HDL-膽固醇值

化合物	劑量 (毫克/公斤)	治療期 (天數)	增加的 HDL- 膽固醇值 (%)
環丙貝特	20	14	+52▲
實例 4 化合物 (ST1929)	24	10	+80▲
實例 8 化合物 (ST2013)	等於 24 毫克 之 ST1929	10	+51▲

史徒頓氏 (Student's) 't'-試驗：▲表示相對於控制組之 $P < 0.001$ 。

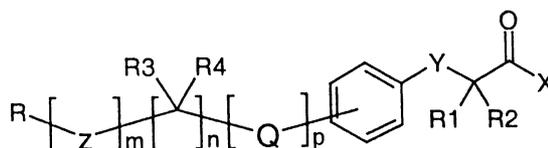
可以使用根據本發明說明的式 (I) 化合物的原樣子或使用其在醫藥上可接受之衍生物形式 (如鹽類或衍生物)，以改進藥物動力學觀點，同時維持特殊的活性 (前體藥物)。

就所關心的本發明說明的工業觀點而言，藥品將具有以熟悉本技藝的專家根據慣用的方法製得的適合的醫藥調配物 (或組成物) 劑型。醫藥組成物之實例係藥片、膠囊、藥丸、栓劑、藥袋、口服投藥之液體劑型 (如溶液、懸浮液及乳液)、通常以口服或經腸投藥之控制釋放劑型及非經腸投藥劑型 (如注射劑型)。

肆、中文發明摘要

發明之名稱：可用於治療針對 PPAR α 活化作用作反應之疾病的 α -苯硫基羧酸及 α -苯氧基羧酸衍生物

本發明係說明式 (I) 化合物



(I)

其中取代基具有在本文說明的意義，及以其可用於治療針對 PPAR α 活化作用作反應之疾病，如心臟衰竭、高脂血症及動脈粥樣硬化症。

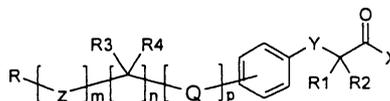
伍、英文發明摘要

發明之名稱：

Derivatives of α -phenylthiocarboxylic and α -phenyloxy-carboxylic acids useful for the treatment of diseases responding to PPAR α activation.

SUMMARY

Formula (I) compounds are described



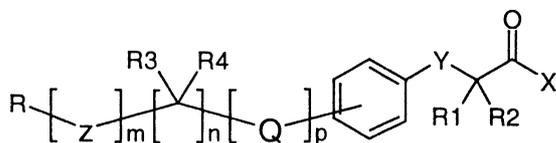
(I)

in which the substituents have the meanings described in the text, and which are useful for the treatment of diseases responding to PPAR α activation, such as heart failure, the hyperlipaemias and atherosclerosis.

(1)

拾、申請專利範圍

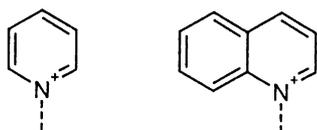
1. 一種式 (I) 化合物



(I)

其中：

R 代表 -H、-YCR₅R₆COX、單環、二環或三環芳基或雜芳基（有可能將彼以 -YCR₅R₆COX、鹵素、硝基、羥基、烷基及有可能以鹵素取代之烷氧基型式之基團取代）、單環、二環或三環芳烷基或雜芳烷基（其中有可能將芳基或雜芳基以 -YCR₅R₆COX、鹵素、硝基、羥基、烷基及有可能以鹵素取代之烷氧基型式之基團取代），雜芳基可能帶有電荷，係如下式所示：



其中以適合的負抗衡離子平衡正電荷；

m 代表 0-1；

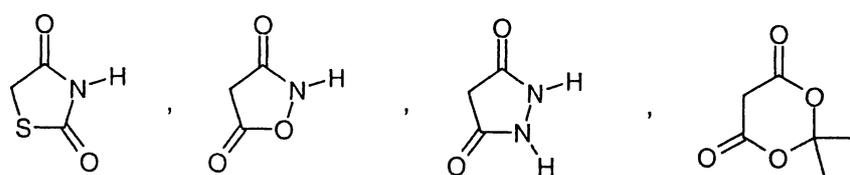
n 代表 0-3；當 n 代表 1 時，則 R₃ 及 R₄ 可能相同或不相同，係選自 H 或烷基 C₁-C₅；當 n 代表 2 或 3 時，則 R₃ 與 R₄ 相同及代表 H；

p 代表 0-1；

X 代表 -OH、-O-烷基 C₁-C₃；

(2)

R1 及 R2 可能相同或不相同，係選自：-H；烷基 C₁-C₅；有可能以鹵素取代之烷氧基；有可能以鹵素、硝基、羥基、烷基取代之苯氧基；可能經鹵素、羥基、烷基取代之苄氧基；-COX；或與通式 (I) 之 COX 一起形成以下型式之環：



R5 及 R6 可能相同或不相同，係選自 R1 及 R2 所定義之基團；

Q 及 Z 可能相同或不相同，係選自：NH、O、S、-NHC(O)O-、NHC(O)NH-、-NHC(O)S-、-OC(O)NH-、-NHC(S)O-、-NHC(S)NH-、-C(O)NH-；及

Y 代表 O、S。

2. 根據申請專利範圍第 1 項之式 (I) 化合物，其係用於醫學領域。

3. 一種醫藥組成物，其包括作為其活性成份之根據申請專利範圍第 1 項之式 (I) 化合物及至少一種醫藥上可接受之賦形劑及 / 或稀釋劑。

4. 根據申請專利範圍第 3 項之醫藥組成物，其係呈藥片、膠囊、藥丸、藥袋、小瓶、藥粉、栓劑、溶液、懸浮液、乳液或脂質體製劑形式。

(3)

5. 根據申請專利範圍第 4 項之醫藥組成物，可將其以經腸或非經腸途徑投藥。

6. 一種根據申請專利範圍第 1 項之式 (I) 化合物之用途，其係用於製備用於治療針對 PPAR α 活化作用作反應之疾病的藥劑。

7. 根據申請專利範圍第 6 項之用途，其中疾病係選自心臟衰竭、高血脂症及動脈粥樣硬化症。

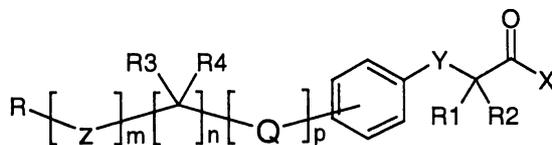
陸、(一)、本案指定代表圖為：第_____圖

(二)、本代表圖之元件代表符號簡單說明：

無

柒、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

本案指定代表化學式為：第I化學式



(I)