



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101657099 B

(45) 授权公告日 2014. 11. 26

(21) 申请号 200880008902. 2

(22) 申请日 2008. 01. 18

(30) 优先权数据

PCT/IB2007/002542 2007. 01. 18 WO

60/989, 808 2007. 11. 21 US

60/989, 806 2007. 11. 21 US

60/989, 805 2007. 11. 21 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2009. 09. 18

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2008/051521 2008. 01. 18

(87) PCT国际申请的公布数据

W02008/089461 EN 2008. 07. 24

(73) 专利权人 埃沃尔瓦公司

地址 瑞士赖纳赫

(72) 发明人 A·S·索伦森 J·P·梅耶尔

P·阿尔伯特斯 M·S·普拉特哈玛

M·H·卡拉梅里 T·邦诺德

J·凯勒赫 D·皮尔森

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

代理人 陈文平 尚继栋

(51) Int. Cl.

C07D 319/06 (2006. 01)

A61K 31/357 (2006. 01)

A61K 31/36 (2006. 01)

审查员 张恒君

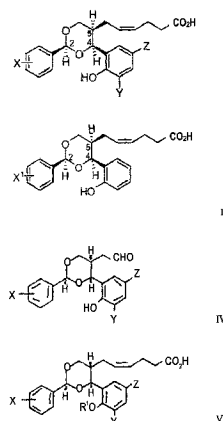
权利要求书1页 说明书70页 附图12页

(54) 发明名称

用作 PPAR 调节剂的取代的 1, 3- 二氧杂环己烷

(57) 摘要

本发明描述了特别有用的 1, 3- 二氧杂环己烷衍生物的立体异构体及其在治疗如糖尿病、癌症、炎症、神经变性疾病和感染的依赖于 PPAR 调节的疾病或病症中的用途, 以及其在治疗如心血管疾病的与 TP 有关的疾病中的用途。



1. 一种化合物,其是具有如图 14 所示的 X-射线粉末衍射图的 (Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸叔丁胺盐的晶体形式。

2. 一种化合物,其是具有在 15.9、20.3 和 21.9 度的 2θ 角处有峰的 X-射线粉末衍射图的 (Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸叔丁胺盐的晶体形式。

3. 一种化合物,其是具有在约 10.9、15.9、20.3、20.7 和 21.9 度 2θ 角处有峰的 X-射线粉末衍射图的 (Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸叔丁胺盐的晶体形式。

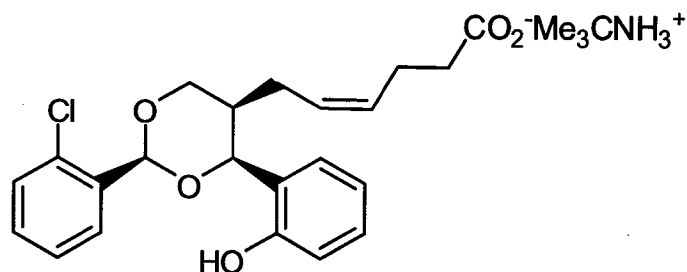
4. 一种化合物,其中所述化合物是具有如图 15 所示的 X-射线粉末衍射图的 (Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸叔丁胺盐的异丙醇溶剂化物的晶体形式。

5. 一种化合物,其中所述化合物是具有在约 16.8、17.9 和 25.4 度 2θ 角处有峰的 X-射线粉末衍射图的 (Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸叔丁胺盐的异丙醇溶剂化物的晶体形式。

6. 如权利要求 5 所述的化合物,其中所述溶剂化物具有在约 10.6、16.8、17.9、22.0 和 25.4 度的 2θ 角处有峰的 X-射线粉末衍射图。

7. 一种化合物,其中所述化合物是具有如图 12 所示的 X-射线粉末衍射图的 (Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸的叔丁基甲醚溶剂化物的晶体形式。

8. 一种如下式表示的结晶化合物:



其从铜辐射源获得时的 X 射线粉末衍射图具有选自 $11\pm 0.2^\circ$ 和 $20.9\pm 0.2^\circ$ 的 2θ 角的至少一个。

用作 PPAR 调节剂的取代的 1,3- 二氧杂环己烷

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求 2007 年 11 月 21 日提交的美国临时申请第 60/989,805 号、2007 年 11 月 21 日提交的美国临时申请第 60/989,806 号、2007 年 11 月 21 日提交的美国临时申请第 60/989,808 号和 2007 年 1 月 18 日提交的 PCT 申请 PCT/US07/60724 的利益和优先权,本文完整引入这些申请作为参考。

发明领域

[0003] 本发明涉及能够调节 PPAR 活性的特定的一类 2,4- 二苯基 -1,3- 二氧杂环己烷 (本文也称为“PPAR 调节剂”)。本发明的取代的 1,3- 二氧杂环己烷可用于治疗依赖于 PPAR 调节的疾病或病症,如糖尿病、癌症、炎症、神经变性疾病和感染。本发明的二氧杂环己烷也可用于调节、尤其是拮抗血栓烷受体 (血栓烷类前列腺素受体,即, TP 受体) 的活性,和 / 或抑制血栓烷合酶。根据 IUPHARcompendium of receptor characterization and classification 1998,第 239 页,和 The Sigma-RBI Handbook 第 5 版,Prostanoid receptors, 2006,第 138-140 页所述的约定,本文将血栓烷受体、血栓烷 A₂ 受体或前列腺素 H₂ 受体都称为“TP 受体”。本发明的优选的化合物也称为 PPAR 调节剂、TP 受体拮抗剂和血栓烷合酶 (TS) 抑制剂。

[0004] 发明背景

[0005] 过氧化物酶体增植物激活受体 (PPAR) 是核激素受体。PPAR 受体通过结合被称为过氧化物酶体增植物效应元件 (PPRE) 的 DNA 序列的元件,以与类视黄醇 X 受体的杂二聚体 (称为 RXR) 的形式激活转录。已经鉴定和描述了人 PPAR 的 3 种亚型:PPAR- α 、PPAR- γ 和 PPAR- δ (或 NUC1)。PPAR- α 主要在肝脏表达,而 PPAR- δ 则普遍存在。PAR- γ 涉及调节脂肪细胞的分化,它在其中高度表达。它在全身脂质体内平衡中也具有关键作用。已经鉴定了许多调节 PPAR 活性的化合物,包括噻唑烷二酮类,其已经用于治疗糖尿病。

[0006] 在 Elbrecht 等人,BBRC 224 ;431-437 (1996) 中描述了 PPAR- γ 亚型的 DNA 序列。包括贝特类 (fibrates) 和脂肪酸的过氧化物酶体增植物激活 PPAR 的转录活性。

[0007] 文献中提供了许多例子,说明 PPAR 密切涉及与表达这些核受体的细胞有关的许多疾病或病理状态。更特别地,PPAR 可在降低血糖、胆固醇和甘油三酯水平的方法中用作药物靶标,并因此被探索用于治疗 and / 或预防胰岛素抵抗、血脂异常和其它与 X 综合征 (也称为“代谢综合征”) 相关的疾病 (W0 97/25042、W0 97/10813、W097/28149 ;也参见 Kaplan 等人,2001, J Cardiovasc Risk,8,211-7),包括肥胖和动脉粥样硬化 (Duez 等人,2001, J. Cardiovasc. Risk,8,185-186)、冠状动脉病和特定的其它心血管疾病。而且,已证明 PPAR 是治疗某些炎症疾病的潜在的靶标,例如皮肤疾病 (参见,Smith 等人,2001, J. Cutan. Med. Surg. ,5,231-43)、胃肠疾病 (W0 98/43081) 或肾脏疾病,包括肾小球性肾炎、肾小球硬化症、肾病综合征和高血压肾硬化。类似地,PPAR 可用于改善神经疾病 (Landreth 和 Heneka, 2001, Neurobiol Aging,22,937-44) 或痴呆中的认知功能,用于治疗牛皮癣、多囊卵巢综合征 (PCOS) 或用于预防和治疗骨丢失,例如,骨质疏松症 (参见,例如 US 5,981,586 或 US

6, 291, 496)。

[0008] 因此, PPAR 是用于开发治疗性化合物的令人激动的靶标。尽管在用于治疗和 / 或预防疾病或病理状态的各种方法的范围中观察到的反应是鼓舞人心的, 例如, 噻唑烷二酮 (TZD) 类药物 (例如, 罗格列酮或吡格列酮) 明显地在改善 2 型糖尿病患者的胰岛素敏感性方面发挥关键作用 (参见, Cheng lai 和 Levine, 2000, Heart Dis., 2, 326-333), 但是由于出现了许多严重的不良副作用 (例如, 体重增加、高血压、心脏肥大、血稀释、肝毒性和水肿; 参见, Haskins 等人, 2001, Arch Toxicol., 75, 425-438; Yamamoto 等人, 2001, Life Sci., 70, 471-482; Scheen, 2001, Diabetes Metab., 27, 305-313; Gale, 2001, Lancet, 357, 1870-1875; Forman 等人, 2000, Ann. Intern. Med., 132, 118-121 和 Al Salman 等人, 2000, Ann. Intern. Med., 132, 121-124), 它们不是完全令人满意的治疗剂。因此, 人们希望鉴定出能够治疗和 / 或预防与表达 PPAR 核受体的细胞类型有关的疾病或病理状态的新型改进产品和 / 或新方法。更特别地, TZD 衍生物观察到的大部分副作用是由于所述化合物的完全激动剂性质, 因此, 希望鉴定出不一定是完全激动剂的新化合物。

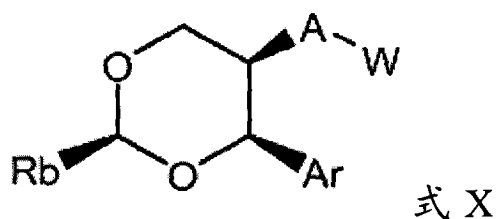
[0009] 血栓烷受体参与血小板聚集, 并参与血管收缩以及支气管和气管平滑肌收缩。欧洲专利申请公开第 94239 号、欧洲专利申请公开第 0 266 980 号和 USPN 4 895 962 提到了某些 4- 苯基 -1,3- 二氧杂环己烷 -5- 基链烯酸衍生物, 并描述了其作为血栓烷受体拮抗剂的潜在的用途。还需要另外的用于调节血栓烷受体和 / 或过氧化物酶体增殖物激活受体 (PPAR) 并用于治疗 and 预防与其相关的疾病的化合物。

[0010] 发明概述

[0011] 本发明涉及能够调节 PPAR (尤其是 PPAR γ)、TP 受体和血栓烷合酶 (TS) 中的一种或多种的活性、优选所有这三者的活性的化合物。另外, 本发明涉及这些化合物在治疗本文下面指出的许多临床病症中的各种用途。

[0012] 一方面, 本发明涉及式 X 的化合物:

[0013]



[0014] 其中,

[0015] A 是 3-7 个碳的分支或线性碳链, 任选包含 1 个或 2 个双键; 和 W 是 COOH、C(O)NH-、OH、NH₂、SO₃H、OSO₃H、芳香基团 (任选地被 COOH、OH 或 NH₂ 取代) 或 -C(O)-Rd, 其中, Rd 是 -NH-C₁₋₆- 烷基 (分支或线性, 优选线性)、-O-C₁₋₆- 烷基 (分支或线性, 优选线性)、糖或 -OH; 和

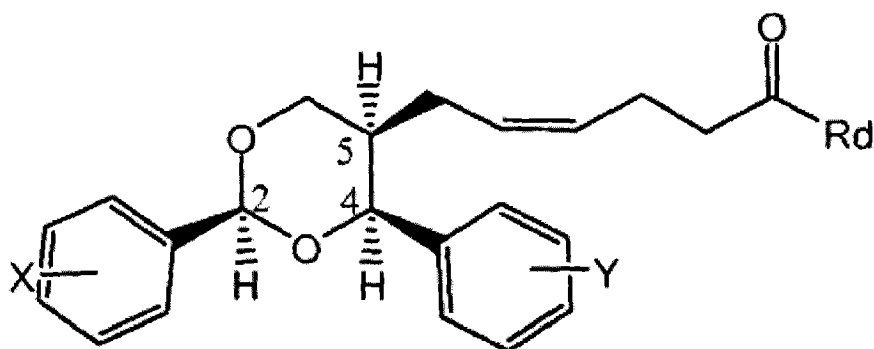
[0016] Ar 是任选被 O-Rc 取代的苯基或 5 或 6 元杂环芳香基, 其中, Rc 是 C₁₋₆- 烷基 (分支或线性, 优选线性)、-C(O)-C₁₋₆- 烷基 (分支或线性, 优选线性)、-CH(O)、糖或 -H; 和

[0017] Rb 是 2-6C 烯基、任选地被最多 3 个卤素取代基取代的 1-8C 烷基、糖、五氟苯基、芳基或芳基 (1-4C) 烷基, 其中后两个可以任选地具有最多 5 个选自卤素、(1-6C) 烷基、分支或线性的 (1-6C) 烷氧基、(1-4C) 亚烷基二氧、三氟甲基、氰基、硝基、羟基、(2-6C) 烷酰氧基、

(1-6C) 烷硫基、(1-6C) 烷磺酰基、(1-6C) 烷酰基氨基和 2-4 个碳原子的氧杂聚亚甲基的取代基。

[0018] 另外,本发明涉及式 XI 的化合物:

[0019]



式 XI

[0020] 其中,

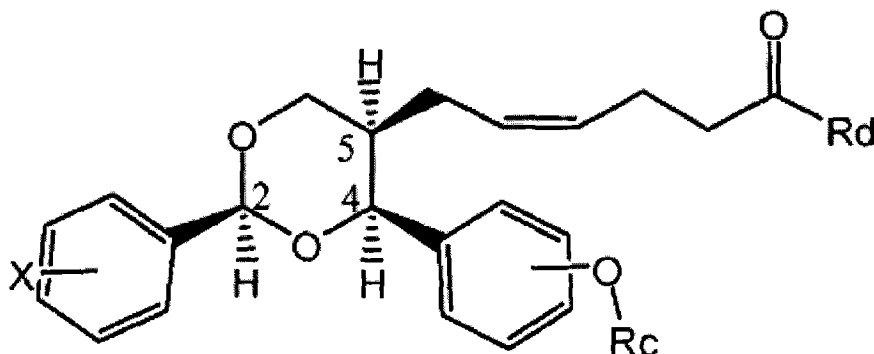
[0021] X 选自氟、氯、溴、三氟甲基、取代的苯基、氰基、甲氧基、硝基、羟基和 -H; 和

[0022] Y 选自氟、氯、溴、三氟甲基、取代的苯基、氰基、甲氧基、硝基、羟基、-C(O)-糖和 -H; 和

[0023] Rd 是 -NH-C₁₋₆-烷基 (分支或线性, 优选线性)、-O-C₁₋₆-烷基 (分支或线性, 优选线性)、糖或 -OH。

[0024] 本发明还涉及式 XIII 的化合物:

[0025]



式 XIII

[0026] 其中, X 选自氟、氯、溴、三氟甲基、任选取代的苯基、氰基、甲氧基和硝基; 和

[0027] Rc 是 C₁₋₆-烷基 (分支或线性, 优选线性)、-C(O)-C₁₋₆-烷基 (分支或线性, 优选线性)、-CH(O)-糖或 -H; 和

[0028] Rd 是 -NH-C₁₋₆-烷基 (分支或线性, 优选线性)、-O-C₁₋₆-烷基 (分支或线性, 优选线性)、糖基或 -OH。

[0029] 例如, 这些化合物可以用于治疗或预防选自以下的临床病症: 代谢综合征、肥胖、胰岛素抵抗、前驱糖尿病 (pre-diabetes)、糖尿病、血脂异常、如多发性硬化、牛皮癣、特应性皮炎、哮喘和溃疡性结肠炎的自身免疫疾病、如脂肪肉瘤、成神经细胞瘤、膀胱癌、乳腺癌、结肠癌、肺癌、胰腺癌和前列腺癌的癌症、炎症、感染、AIDS 和伤口愈合。

[0030] 另外, 例如, 这些化合物可以用于治疗或预防选自以下的临床病症: 心肌梗塞、血栓症 (thrombosis)、血栓性疾病、肺动脉高压、动脉粥样硬化、糖尿病肾病、视网膜病、外周

动脉疾病、下肢循环障碍、肺栓塞、血栓形成、支架引发的血栓形成、支架诱发的再狭窄、增生、支架引发的增生、感染性休克、先兆子痫、哮喘、鼻炎、过敏性鼻炎、肿瘤血管生成和转移。

[0031] 附图描述

[0032] 图 1 显示完全激动剂和部分激动剂各自的 PPAR 活化模式。

[0033] 图 2 说明相比于 PPAR- δ 、PPAR- α 和 RxR 的活化，罗格列酮和 (Z)-6-(2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸对 PPAR- γ 的选择性活化。

[0034] 图 3 说明罗格列酮和 (Z)-6-(2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸对全长 PPAR- γ 的活化。

[0035] 图 4 说明 (Z)-6-(2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-顺-5-基)己-4-烯酸对于全长 PPAR- δ 的反式激活没有作用。

[0036] 图 5 说明部分 PPAR- γ 竞争分析的结果。

[0037] 图 6 说明 PPAR- γ 配体置换分析的结果。

[0038] 图 7 说明葡萄糖摄取试验的结果。

[0039] 图 8 显示化学式 II-V。

[0040] 图 9 显示化学式 VI-VIII。

[0041] 图 10 显示化学反应路线 I。

[0042] 图 11 显示 (Z)-6-(2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-顺-5-基)己-4-烯酸的 TBME 溶剂化物的 ^1H NMR。

[0043] 图 12 显示 (Z)-6-(2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-顺-5-基)己-4-烯酸的 TBME 溶剂化物的 XRPD 衍射图。

[0044] 图 13 显示 (Z)-6-(2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-顺-5-基)己-4-烯酸的叔丁胺 (erbumine) 盐的 ^1H NMR。

[0045] 图 14 显示 (Z)-6-(2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-顺-5-基)己-4-烯酸的叔丁胺盐的 XRPD 衍射图。

[0046] 图 15 显示 (Z)-6-(2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-顺-5-基)己-4-烯酸叔丁胺盐的 IPA 溶剂化物的 XRPD 衍射图。

[0047] 发明详述

[0048] 定义

[0049] 一般地，本文使用的术语采取制药学、生物学和化学领域的普通技术人员在理解本发明时采用的其标准定义。以下术语具有给定的含义，而其它术语的含义则在本说明书中提供。

[0050] 烷基：术语“烷基”指具有标明的碳原子数目的一价饱和的脂肪族烃基，碳原子数目一般为 1-22。例如，“1-8 C 烷基”或“1-8 个碳的烷基”或“烷基 1-8”指结构中包含 1-8 个碳原子的任何烷基。烷基可以是直链（即，线性）或支链。低级烷基指 1-6 个碳的烷基。低级烷基的代表性的例子包括甲基、乙基、正丙基、正丁基、正戊基、正己基、异丙基、异丁基、异戊基、戊基、仲丁基、叔丁基、仲戊基、叔戊基、2-乙基丁基、2,3-二甲基丁基等。高级烷基指 7 个和更多个碳的烷基。它们包括正庚基、正辛基、正壬基、正癸基、正十二烷基、正十四烷基、正十六烷基、正十八烷基、正二十烷基等，以及其分支变体。3-7 个碳的线性碳链

指不包括任何存在于分支上的碳的链长度。该基团可以任选地被取代。

[0051] 烯基：术语“烯基”指具有至少一个碳-碳双键且具有标明的碳原子数目的一价脂肪族烃基。例如，“C 2-6 烯基”或“1-6 个碳的烯基”或“烯基 1-6”指结构中包含 1-6 个碳原子的烯基。烯基可以是直链（即，线性）或支链。低级烯基指 1-6 个碳的烯基。低级烯基的代表性的例子包括乙烯基、1-丙烯基、1-丁烯基、1-戊烯基、1-己烯基、异丙烯基、异丁烯基等。高级烯基指 7 个和更多个碳的烯基。它们包括 1-庚烯基、1-辛烯基、1-壬烯基、1-癸烯基、1-十二烯基、1-十四烯基、1-十六烯基、1-十八烯基、1-二十烯基等，以及其分支变体。该基团可以任选地被取代。

[0052] 烷氧基：术语“烷氧基”指式 R-O- 的一价基团，其中，R 是本文定义的烷基。低级烷氧基指 1-6 个碳原子的烷氧基或 (1-6) 烷氧基。代表性的低级烷氧基包括甲氧基、乙氧基、正丙氧基、正丁氧基、正戊氧基、正己氧基、异丙氧基、异丁氧基、异戊氧基、戊氧基、仲丁氧基、叔丁氧基、叔戊氧基等。该基团可以任选地被取代。

[0053] 芳基：除非另外指出，本文使用的术语“芳基”指包含 5-15 个碳原子的一价芳香族碳环基，其由一个单独的环、或一个或多个稠合的环组成，其中至少一个环在性质上是芳香族的，其可以任选地被一个或多个、优选 1 个或 3 个独立地选自羟基、硫、氰基、烷基、烷氧基、低级卤代烷氧基、烷硫基、氧、卤素、卤代烷基、羟烷基、硝基、烷氧羰基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、氨基烷基、烷基氨基烷基和二烷基氨基烷基、硫代烷基、烷基磺酰基、芳基亚磺酰基、烷基氨基磺酰基、芳基氨基磺酰基、烷基磺酰基氨基、芳基磺酰基氨基、氨甲酰基、烷基氨甲酰基和二烷基氨甲酰基、芳基氨甲酰基、烷基羰基氨基、芳基羰基氨基的取代基所取代。或者，芳环的两个相邻的原子可以被亚甲二氧基或亚乙二氧基取代。因此，二环芳基取代基可以与杂环基或杂芳基环稠合；但是，二环芳基取代基的连接点位于碳环芳香环上。芳基的例子包括苯基、萘基、苊基、联苯基、呋喃基、吡啶基、2,3-二氢化茚基 (indanyl)、蒽醌基 (anthraquinolyl)、四氢萘基、3,4-亚甲二氧苯基、1,2,3,4-四氢喹啉-7-基、1,2,3,4-四氢异喹啉-7-基、1,3-二氧戊环 (dioxolane) 基、苯甲酸基、呋喃-2-羧酸基、2-(异噁唑-5-基) 乙氧基、3-羟基-2-甲基吡啶-4-羧酸基等。

[0054] 卤素：“卤素”取代基是选自氯、溴、碘和氟的一价卤素基团。“卤化的”化合物是被一个或多个卤素取代基取代的化合物。

[0055] 苯基：“苯基”是通过从苯环除去氢形成的基团。苯基可以任选地被取代。

[0056] 苯氧基：“苯氧基”是式 R-O- 的基团，其中，R 是苯基。

[0057] 苊基：“苊基”是式 $\text{R-CH}_2\text{-}$ 的基团，其中，R 是苊基。

[0058] 苊氧基：“苊氧基”是式 R-O- 的基团，其中，R 是苊基。

[0059] 杂环：“杂环”或“杂环体”是含有碳和至少一个一般为氮、氧或硫的其它元素的 5 元或 6 元闭环的一价基团，可以是完全饱和、部分饱和或不饱和的（即，性质上是芳香族的）。杂环一般包含不超过 2 个杂原子。只含有一个杂原子的不饱和 5 元杂环的代表性例子包括 2- 或 3- 吡咯基、2- 或 3- 呋喃基和 2- 或 3- 噻吩基。相应的部分饱和或完全饱和的基团包括 3- 吡咯啉-2 基、2- 或 3- 吡咯烷基、2- 或 3- 四氢呋喃基和 2- 或 3- 四氢噻吩基。代表性的含有 2 个杂原子的不饱和 5 元杂环基包括咪唑基、噁唑基、噻唑基、吡唑基等。也包括相应的完全饱和或部分饱和的基团。只含有一个杂原子的不饱和 6 元杂环的代表性的例子包括 2-、3- 或 4- 吡啶基、2H- 吡喃基和 4H- 吡喃基。相应的部分饱和或完全饱和的基团

包括 2-、3- 或 4- 哌啶基、2-、3- 或 4- 四氢吡喃基等。代表性的含有 2 个杂原子的不饱和 6 元杂环基团包括 3- 或 4- 哒嗪基、2-、4- 或 5- 嘧啶基、2- 吡嗪基、吗啉代等。也包括相应的完全饱和和部分饱和的基团,例如,2-哌嗪。杂环基通过杂环上的可用碳原子或杂原子直接与实体键合,或通过如亚烷基(如亚甲基或亚乙基)的连接体键合。杂环可以以与芳基相同的方式任选地被取代。

[0060] 任选地取代:如果基团被称为“任选地被取代的”,这意味着该基团未被取代,或者该基团的至少一个-H 被除去并且在其位置上插入了另一个取代基。基团可以任选地在某些位置上被取代基取代,所述位置不会明显干扰落入本发明的范围的化合物的制备,且不会明显不利地影响化合物的生物活性。基团任选地被 1、2、3、4 或 5 个独立地选自卤素、低级烷氧基、羟基、氰基、硝基、氨基、卤代低级烷基、卤代低级烷氧基、羟基羰基、低级烷氧羰基、低级烷基羰氧基和低级烷基羰基氨基的取代基取代或如上文提到的被取代。

[0061] 术语“羟基羰基”是具有式 $-C(O)OH$ 的单价基团。

[0062] 术语“低级烷氧羰基”是具有式 $-C(O)OA_{1k}$ 的单价基团,其中, A_{1k} 是低级烷基。

[0063] 术语“低级烷基羰氧基”是具有式 $-OC(O)A_{1k}$ 的单价基团,其中, A_{1k} 是低级烷基。

[0064] 如本文所用,术语“糖”或“糖类”可交换地使用,是指单糖、二糖或多糖。合适的单糖包括戊糖、己糖或庚糖残基。戊糖的非限制性的例子包括阿拉伯糖、核糖、核酮糖、木糖、来苏糖和木酮糖。己糖的非限制性的例子包括葡萄糖、半乳糖、果糖、岩藻糖、甘露糖、阿洛糖、阿卓糖、塔罗糖、艾杜糖、阿洛酮糖、山梨糖、鼠李糖和塔格糖。庚糖的非限制性的例子包括甘露庚酮糖和景天庚酮糖。糖部分可以在糖环上可形成酰胺键或酯键的任何位置处连接到化合物上。优选的糖类是 β -糖基糖类。

[0065] PPAR 调节参照自然的状况,-即,在缺乏配体的情况下靶基因的 PPAR 依赖性转录的基础水平-,来定义,其中,通过在存在能够调节 PPAR 活性的化合物的情况下所述转录基础水平的降低或增加来反映 PPAR 活性的调节。一般地,所述转录的增加与 PPAR 活性的增强有关,并涉及称为活化剂或激动剂的化合物。相反地,所述转录的降低与 PPAR 活性的抑制有关,并涉及称为抑制剂或拮抗剂的化合物。部分激动剂是导致靶基因亚群的 PPAR 依赖性转录,而对其它 PPAR 靶基因没有效应的化合物。部分激动剂可以从生物化学或生理学的观点来看。从生物化学观点来看,部分激动剂是能够与完全激动剂竞争,并且相对于完全激动剂具有较低水平的反式激活的化合物。从生理学观点来看,部分激动剂涉及基因的不同亚群的活化(甚至是某些靶基因完全活化,而其它 PPAR 靶基因没有活化)。这导致仅产生完全激动剂的部分生理效应,这是非常希望的。

[0066] 化合物的“治疗有效量”意思是,当向需要的受试者施用,随着时间的推移将会对于待治疗的病症产生希望的结果的量。例如,希望的效应可以是 PPAR 调节和与其相关的生物活性。

[0067] 在本申请中用各种通式描述本发明中有用的化合物。通过观察通式,以下是明显的:化合物经常具有一个或多个手性中心,即,连接有 4 个不同的基团的碳,且这些化合物可以作为对映异构体和非对映异构体存在。而且,由于在某些例子中双键的存在,化合物将会具有受阻旋转。因而化合物显示几何异构现象,即,两种形式在原子的空间朝向方式上彼此不同。关于双键,存在称为非对映异构体的立体异构体。非对映异构体(或非对映体)为不是对映异构体(彼此互为镜像)的立体异构体。在命名本申请中的化合物时,使

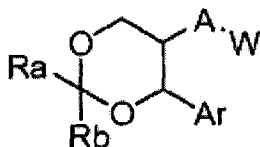
用 Chemical Abstracts Service system (化学文摘服务系统), 其中, 如同在 R, S 系统中命名对映异构体那样, 为连接到双键的各个末端上的两个基团提供优先编号。当较高优先编号的两个基团位于同侧时, 该分子是 Z 异构体。(德语 -zusammen, 在一起)。当较高优先编号的两个基团位于对侧时, 该分子是 E 异构体(德语 -entgegen, 相对的)。应该理解: 通式意图包括所有可能的对映异构体和非对映异构体, 无论是单独的或作为混合物。表明特定的立体化学的通式应该理解为只覆盖所示的特定的立体异构体。

[0068] 本发明中有用的化合物

[0069] 本发明部分地基于对能够调节至少一种 PPAR 亚型(例如 PPAR γ 或 PPAR β/δ) 的活性的化合物的鉴定。这些化合物可用于治疗例如人的哺乳动物中由这些 PPAR 功能介导的病症或疾病。在另一种实施方式中, 本发明的化合物能够调节 TP 受体的活性, 尤其是拮抗 TP 受体的活性。既显示 PPAR 调节又显示 TP 受体调节的本发明的化合物被称为“PPAR/TP 受体调节剂”。在进一步的实施方式中, 本发明的化合物能够抑制血栓烷合酶(TS)。显示这些活性中的两种或三种的化合物对于某些应用是特别需要的, 例如但不限于: 治疗糖尿病患者的心血管并发症。

[0070] 在本发明中有用的化合物是 1,3- 二氧杂环己烷衍生物或其药学上可接受的盐, 其中, 该衍生物由式 I 代表:

[0071]



[0072] 其中,

[0073] A 是 2-7 或 3-7 个碳的分支或线性碳链, 各自任选包含 1 个或 2 个双键(各自可以是顺式或反式);

[0074] W 是 COOH、OH、NH₂、SO₃H、OSO₃H、芳香基, 例如但不限于苯基、1- 或 2- 萘基、吡啶、呋喃、2- 甲基吡啶, 任选地被例如 COOH、OH 或 NH₂ 取代; 或通过 2- 位连接的 1,3- 二氧戊环基;

[0075] Ar 是苯基或 5 或 6 元杂环芳香基, 例如但不限于, 2- 吡啶、3- 吡啶、噻吩、呋喃、1- 萘基、2- 萘基、联苯基和 (4- 甲氧基苯氧基)- 苯基, 苯基和萘基部分任选地在邻、间和 / 或对位被 OH 或 OMe 取代, 但是如果被取代, 优选在邻位被 OH 或 OMe 单取代;

[0076] 和,

[0077] Ra 和 Rb 独立地是氢、2-6C 烯基、任选地具有最多 3 个卤素取代基的 1-8C 烷基、五氟苯基、芳基或芳基 (1-4C) 烷基, 其中后两个可以任选地具有最多 5 个选自卤素、(1-6C) 烷基、分支或线性的 (1-6C) 烷氧基、(1-4C) 亚烷基二氧、三氟甲基、氰基、硝基、羟基、(2-6C) 烷酰氧基、(1-6C) 烷硫基、(1-6C) 烷磺酰基、(1-6C) 烷酰基氨基和 2-4 个碳原子的氧杂聚亚甲基的取代基, 或者, Ra 和 Rb 一起形成任选地具有 1 个或 2 个 (1-4C) 烷基取代基的 2-7 个碳原子的聚亚甲基。

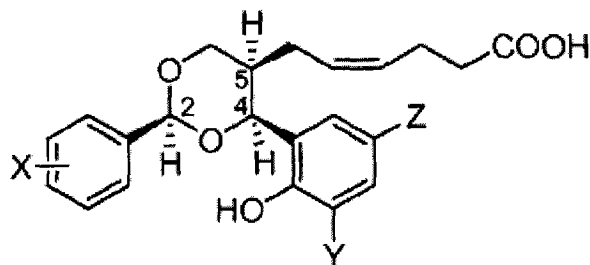
[0078] 在某些实施方式中, A 是 3-7 个碳的线性碳链, 且 W 是 COOH。这样的碳链可以包括例如在 C2-C3 或 C3-C4 之间的双键。

[0079] 在一种实施方式中, Ra 是 H, 且 Rb 是如苯基、苄基、2- 或 3- 或 4- 吡啶、呋喃、联苯

基、1- 或 2- 萘基的芳香部分, 具有最多 5 个选自卤素、OH、O- 烷基、氨基、N- 单烷基、N- 二烷基 (分支或线性)、硝基和硫代烷基 (分支或线性) 的不同的取代基。

[0080] 在某些实施方式中, 所述衍生物是 2, 4- 二苯基-1, 3- 二氧杂环己烷衍生物或其药学上可接受的盐, 其中, 该衍生物由式 II 代表:

[0081]



[0082] 其中, X 选自氟、氯、溴、三氟甲基、任选取代的苯基、氰基、甲氧基和硝基, 或者, 苯基-X 基团可以是任选取代的色烯衍生物; 且 Y 和 Z 单独地是氢或卤素。

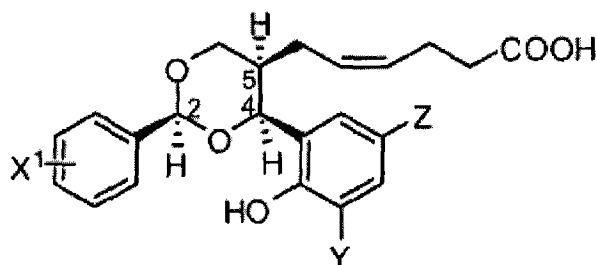
[0083] 典型地, 在式 I 代表的衍生物中二氧杂环己烷环的 2, 4 和 5 位上的基团具有顺式的相对立体化学。

[0084] 尤其令人感兴趣的具有 X 基团的苯基部分的其它特定取代包括, 例如, X 是 2- 氟-、2- 氯-、2- 溴-、2- 氰基-、2- 三氟甲基-、3- 氟-、3- 氯-、3- 氰基-、3- 硝基-、3- 甲氧基-、4- 氯-、4- 氰基-、4- 硝基- 和 4- 甲氧基苯基。

[0085] 优选的 Y 取代是氢或氟, Z 取代是氢。

[0086] 优选的一组在本发明中有用的化合物包括那些式 III (下文列出) 的化合物及其药学上可接受的盐:

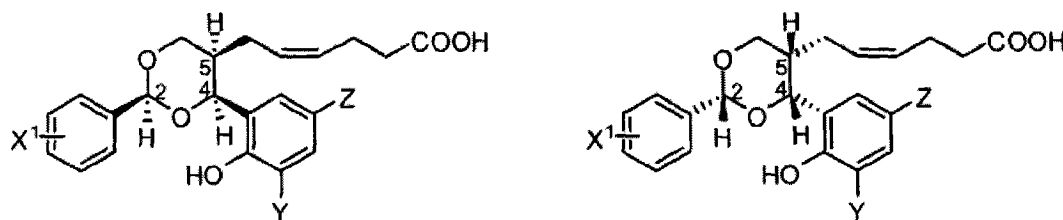
[0087]



式 III

[0088] 其中, X¹ 选自 2- 氯-、3- 氯-、2- 氰基-、4- 氰基-、3- 硝基和 4- 硝基; 且二氧杂环己烷环的 2, 4 和 5 位上的基团具有顺式的相对立体化学。因此, 式 III 的化合物包括下面的两个对映异构体:

[0089]



[0090] 本发明也提供了式 I 的化合物, 其中, A、W 和 Ar 如上定义, 而且, 其中, R_a 是 H, 且 R_b 是芳基或杂环, 例如其中芳基部分的一个碳原子被一个氧或氮原子替代。这样的芳基或杂

环基可以任选地被选自卤素、OH、O- 烷基（分支或线性）、O- 芳基、氨基或 N- 单烷基或 N- 二烷基（分支或线性）或 N- 单芳基或 N- 二芳基、硝基、硫代烷基（分支或线性）或氧（例如，表 II 中的 SN13）的 3 个不同的取代基取代。以下式 I 的化合物是特别令人感兴趣的：其中，Ra 是 H，且 Rb 是杂环或被 O- 芳基取代的苯基，尤其是当 Ar 是在邻位被 OH 或 OMe 取代的苯基，W 是 COOH，且 A 是具有一个双键的 5 个碳的线性链时。这样的化合物的说明性的例子包括式 I 的化合物，其中，Ra 是 H，且 Rb 是通过苯基的 2 位或邻位连接到二氧杂环己烷环上的（4- 甲氧基苯氧基）- 苯基，例如，(Z)-6-(2-[4- 甲氧基苯氧基 - 邻 - 苯基]-4- 邻 - 羟基苯基 -1,3- 二氧杂环己烷 - 顺式 -5- 基) 己 -4- 烯酸；或者，Rb 是 6- 氯 -4H- 色烯 -4- 酮（例如，通过色烯部分的 3 位连接到二氧杂环己烷环上），例如，(Z)-6-(2-3-[6- 氯 -4H- 色烯 -4- 酮 6- 氯 -4- 氧 -4H- 色烯 -3- 基]-4- (2- 羟基苯基 -1,3- 二氧杂环己烷 - 顺式 -5- 基) 己 -4- 烯酸，或者 Rb 是联苯基，通过联苯基的 2 位或邻位连接到二氧杂环己烷环上。因此，本发明提供单独的或与药物载体及任选地与另外一种治疗活性成分组合的本实施方式中提及的化合物，及其药学上相关的盐。

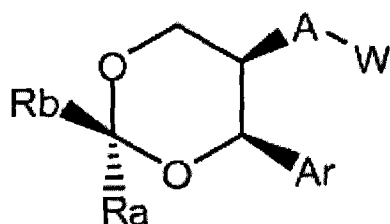
[0091] 可以理解，式 I 和式 II 的化合物具有不对称碳原子，且可以以外消旋和旋光的形式存在和被分离。本发明包括能够调节 PPAR 活性、拮抗 TP 受体活性和 / 或抑制 TS 的外消旋形式和任何旋光形式（或其混合物），及其各自的用途，本领域中公知如何使用一种或多种下文提及的测定方法来评估生物学性质。

[0092] 除非从上下文中另外清楚地看出，本文所示的化学式可以以特定的构型显示，但这不一定对应于绝对构型。

[0093] 特别的式 I 或 II 的酸的药学上可接受的盐是，例如，碱金属盐和碱土金属盐，如锂、钠、钾、镁和钙盐，铝和铵盐，和与形成生理上可接受的阳离子的有机胺和季铵碱的盐，例如与甲胺、二甲胺、三甲胺、乙二胺、哌啶、吗啉、吡咯烷、哌嗪、乙醇胺、三乙醇胺、N- 甲基葡萄糖胺、氢氧化四甲铵、叔丁胺和氢氧化苄基三甲基铵的盐。

[0094] 本发明最优选的化合物是 PPAR 调节剂、TP 受体拮抗剂或 TS 抑制剂或显示出这些活性中的两种或多种的化合物。因此，式 IX 所示的优选的化合物显示出这些活性中的一种或多种，其中，式 IX 是：

[0095]

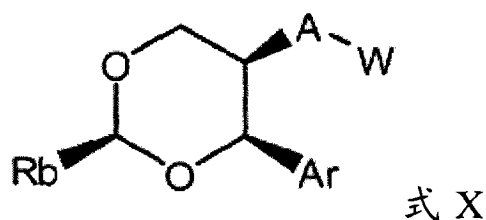


式 IX

[0096] 而且，其中，取代基 Ra、Rb、A、W 和 Ar 如本文上面对于式 I 的化合物或任何前述化合物所定义。式 IX 的化合物的特定的立体化学是重要的，且如所述通式所示。

[0097] 更优选的式 IX 的化合物包括那些其中 Ra 是 -H 且是 PPAR 调节剂、TP 受体拮抗剂或 TS 抑制剂的化合物，或显示两种或多种这些活性的化合物。因此，优选的化合物是式 X 的化合物：

[0098]



[0099] 其中,取代基 Rb、A、W 和 Ar 如本文上面对于式 I 的化合物所定义。式 X 的化合物的特定的立体化学是重要的,且如所述通式所示。

[0100] 优选的 PPAR 调节剂、TP 受体拮抗剂和 / 或 TS 抑制剂是具有以下取代基的式 X 的化合物:

[0101] Rb 优选是苯基,其任选地被最多 5 个、优选 4 个、更优选 3 个、甚至更优选 2 个、更加优选 1 个取代基所取代,所述取代基选自卤素、(1-6C) 烷基、分支或线性的 (1-6C) 烷氧基、(1-4C) 亚烷基二氧基、三氟甲基、氰基、硝基、羟基、(2-6C) 烷酰氧基、(1-6C) 烷硫基、(1-6C) 烷磺酰基、(1-6C) 烷酰基氨基和 2-4 个碳原子的氧杂聚亚甲基。更优选地,Rb 是被一个选自氟、氯、溴、三氟甲基、取代的苯基、氰基、甲氧基和硝基、优选选自氟、氯、溴和三氟甲基的取代基所取代的苯基。优选地,所述苯基在邻位被取代。

[0102] Ar 优选是苯基,其任选地被最多 5 个、优选 4 个、更优选 3 个、甚至更优选 2 个、更加优选 1 个取代基所取代,所述取代基选自卤素、(1-6C) 烷基、分支或线性的 (1-6C) 烷氧基、(1-4C) 亚烷基二氧基、三氟甲基、氰基、硝基、羟基、(2-6C) 烷酰氧基、(1-6C) 烷硫基、(1-6C) 烷磺酰基、(1-6C) 烷酰基氨基和 2-4 个碳原子的氧杂聚亚甲基,更优选地选自 -OH、(1-6C) 烷氧基和卤素。甚至更优选地 Ar 是在邻位、间位和 / 或对位被 -OH 或 -OMe 取代的苯基,但优选在邻位被 OH 或 OMe 单取代。

[0103] A 是含有 1 个双键 (优选是顺式双键) 的 3-7 个碳、优选 5-6 个碳、更优选 5 个碳的线性碳链。对于 5-6 个碳的碳链,所述双键优选地位于 2- 位 (即,从二氧杂环己烷环计数的 C2 和 C3 之间)。

[0104] 在一种实施方式中,本发明的优选的化合物是 PPAR 调节剂、TP 受体拮抗剂、TS 抑制剂,或具有 2 种或 3 种这样的活性的式 X 的化合物,其中:

[0105] A 是具有 3-7 个碳的分支或线性碳链,任选地含有 1 或 2 个双键 (各自是顺式或反式),优选地 A 是含有 1 个双键 (优选地是顺式双键) 的 5-6 个碳的线性碳链,甚至更优选地 A 是含有 1 个顺式双键的 5 个碳的线性碳链,和

[0106] W 是 COOH、C(O)NH₂、OH、NH₂、SO₃H、OSO₃H、芳香基,例如但不限于苯基、1- 或 2- 萘基、吡啶、呋喃、2- 甲基吡啶,任选地被例如 COOH、OH 或 NH₂ 取代;或通过 2- 位连接的 1,3- 二氧戊环基,或 -C(O)-Rd,其中,Rd 是 -NH-C₁₋₆- 烷基 (分支或线性,优选线性)、-O-C₁₋₆- 烷基 (分支或线性,优选线性)、糖 (优选单糖或二糖,更优选单糖,甚至更优选糖基) 或 -OH,优选地 W 是 -C(O)-Rd,其中,Rd 是 -OH、糖基或 -O-CH₃,更优选 -OH 或 -O-CH₃,和

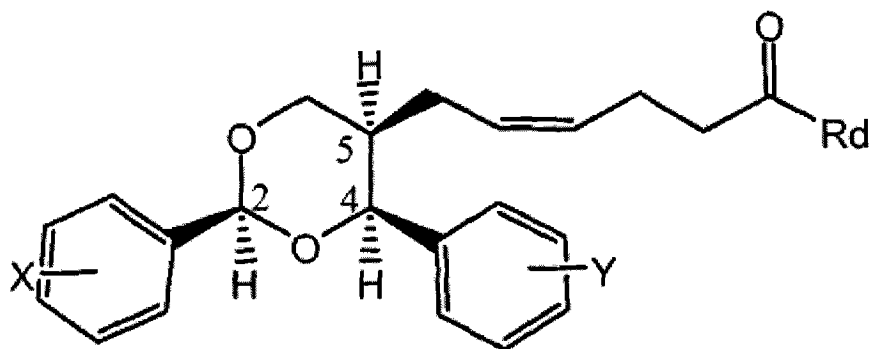
[0107] Ar 是苯基或例如但不限于 2- 吡啶、3- 吡啶、噻吩、呋喃、1- 萘基、2- 萘基、联苯基和 (4- 甲氧苯氧基)- 苯基的 5 元或 6 元杂环芳香基,苯基和萘基部分任选地在邻位、间位和 / 或对位被 O-Rc 取代,但如果取代的话,优选地在邻位被 O-Rc 单取代,其中,Rc 是 C₁₋₆- 烷基 (分支或线性,优选线性)、-C(O)-C₁₋₆- 烷基 (分支或线性,优选线性)、-CH(O)- 糖 (优选单糖或二糖,更优选单糖,甚至更优选糖基) 或 -H,优选地 Ar 是在邻位被 -O-Rc 取代的苯

基,其中,Rc 是甲氧基、 $-C(O)-CH_3$ 或 $-H$,和

[0108] Rb 是 2-6C 烯基、任选地被最多 3 个卤素取代基取代的 1-8C 烷基、糖基、五氟苯基、芳基或芳基 (1-4C) 烷基,其中后两个可以任选地具有最多 5 个选自卤素、(1-6C) 烷基、分支或线性的 (1-6C) 烷氧基、(1-4C) 亚烷基二氧基、三氟甲基、氰基、硝基、羟基、(2-6C) 烷酰氧基、(1-6C) 烷硫基、(1-6C) 烷磺酰基、(1-6C) 烷酰基氨基和 2-4 个碳原子的氧杂聚亚甲基的取代基,优选地 Rb 是被卤素取代的苯基,甚至更优选被氯取代,优选在邻位取代。

[0109] 本发明优选的 PPAR 调节剂、TP 受体拮抗剂和 / 或 TS 抑制剂是式 XI 的化合物:

[0110]



式 XI

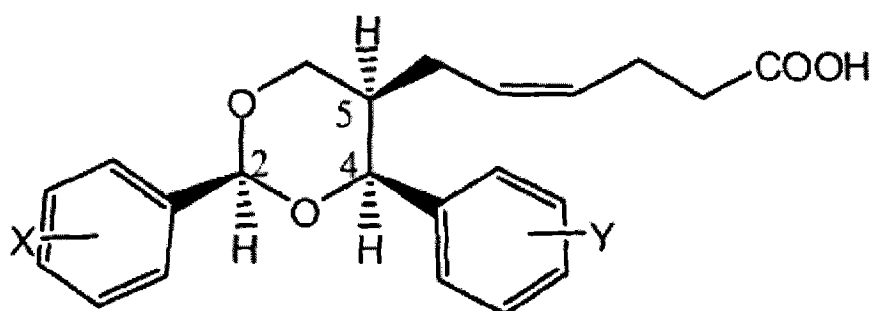
[0111] 其中,X 可选自氟、氯、溴、三氟甲基、取代的苯基、氰基、甲氧基、硝基、羟基和 $-H$,优选地 X 选自卤素,更优选地 X 是氯,其中,X 可以在邻位、间位和 / 或对位,优选在邻位,和

[0112] 其中,Y 可选自氟、氯、溴、三氟甲基、取代的苯基、氰基、甲氧基、硝基、羟基、 $-C(O)-$ 糖 (优选单糖或二糖,更优选单糖,甚至更优选糖基) 和 $-H$,优选地 Y 选自 C_{1-6} 烷基 $-OH$ 、 $-OH$ 、 $-O-C_{1-6}-$ 烷基 (分支或线性,优选线性)、 $-OC(O)-C_{1-6}-$ 烷基 (分支或线性,优选线性) 和 $-O-CH(O)$,更优选地 Y 选自 $-OH$ 、甲氧基和 $-O-C(O)-CH_3$,其中,Y 可以在邻位、间位和 / 或对位,优选在邻位,和

[0113] Rd 是 $-NH-C_{1-6}-$ 烷基 (分支或线性,优选线性)、 $-O-C_{1-6}-$ 烷基 (分支或线性,优选线性)、糖 (优选单糖或二糖,更优选单糖,甚至更优选糖基) 或 $-OH$,优选地 Rd 是 $-OH$ 或 $-O-CH_3$ 。

[0114] 在一种优选的实施方式中,本发明的 PPAR 调节剂、TP 受体拮抗剂和 / 或 TS 抑制剂是式 XI 的化合物,其中,Rd 是 $-OH$ 。这些化合物具有通式 XII:

[0115]

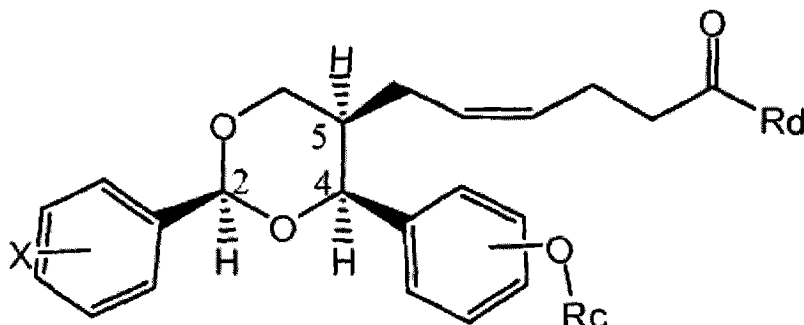


式 XII

[0116] 其中,X 和 Y 如本文上面对于式 XI 的化合物所述。式 XII 的化合物的特定的立体化学是重要的,且如所述通式所示。

[0117] 本发明非常优选的 PPAR 调节剂、TP 受体拮抗剂和 / 或 TS 抑制剂是式 XIII 的化合物:

[0118]



式 XIII

[0119] 其中,X 如本文上面对于式 II 的化合物所定义,优选地 X 是卤素,更优选地 X 是氯,其中, X 可以在邻位、间位和 / 或对位,优选在邻位,和

[0120] Rc 是 C₁₋₆-烷基 (分支或线性,优选线性)、-C(O)-C₁₋₆-烷基 (分支或线性,优选线性)、-CH(O)-糖 (优选单糖或二糖,更优选单糖,甚至更优选糖基) 或 -H,优选地 Rc 是甲氧基、-C(O)-CH₃ 或 -H,和

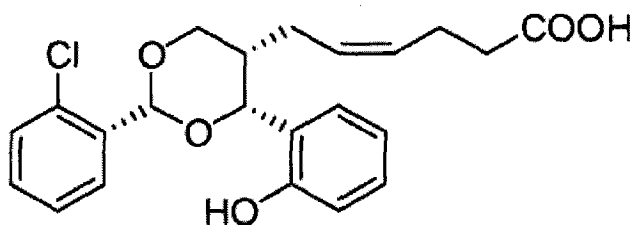
[0121] Rd 是 -NH-C₁₋₆-烷基 (分支或线性,优选线性)、-O-C₁₋₆-烷基 (分支或线性,优选线性)、糖基或 -OH,优选地 Rd 是 -OH、糖基或 -O-CH₃,更优选地 Rd 是 -H 或 -O-CH₃。

[0122] 式 XIII 的化合物的特定的立体化学是重要的,且如所述通式所示。

[0123] 为了说明,(Z)-6-((2R,4R,5S)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)-己-4-烯酸具有顺式和反式双键非对映异构体。在下面的实施例中测试的两个对映异构体具有顺式构型的双键。二氧杂环己烷周围的 3 个基团中的每一个相对于彼此可以处于顺式或反式位置,并且得到总共 8 个可能的组合,全部 3 个基团处于顺式位置的情况只有 2 种,即,取代基都是向上或都是向下。

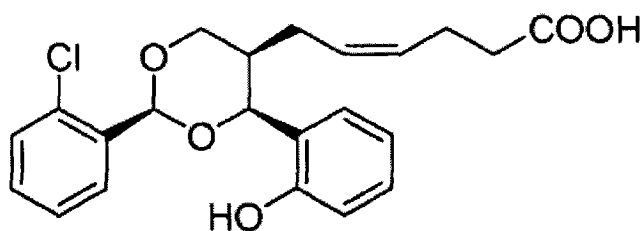
[0124] (Z)-6-((2R,4R,5S)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)-己-4-烯酸具有 3 个全都向下的基团:

[0125]



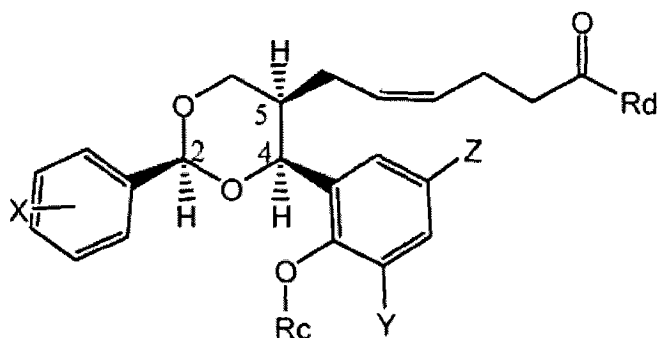
[0126] (Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)-己-4-烯酸具有 3 个全都向上的基团,这对于其生物活性具有显著的效应:

[0127]



[0128] 在一种非常优选的实施方式中, -O-Rc 基团位于邻位。在该实施方式中, 优选的 PPAR 调节剂、TP 受体拮抗剂和 / 或 TS 抑制剂是式 XIV 的化合物:

[0129]



式 XIV

[0130] 其中, X、Z 和 Y 如本文上面对于式 II 的化合物所定义, 优选地 X 是卤素, 更优选地 X 是氯, 其中, X 可以在邻位、间位和 / 或对位, 优选在邻位, 且优选地 Z 和 Y 都是 -H, 和

[0131] Rc 是 C₁₋₆-烷基 (分支或线性, 优选线性)、-C(O)-C₁₋₆-烷基 (分支或线性, 优选线性)、-CH(O)-糖 (优选单糖或二糖, 更优选单糖, 甚至更优选糖基) 或 -H, 优选地 Rc 是甲氧基、-C(O)-CH₃ 或 -H, 和

[0132] Rd 是 -NH-C₁₋₆-烷基 (分支或线性, 优选线性)、-O-C₁₋₆-烷基 (分支或线性, 优选线性)、糖 (优选单糖或二糖, 更优选单糖, 甚至更优选糖基) 或 -OH, 优选地 Rd 是 -OH、糖基或 -O-CH₃, 更优选地 Rd 是 -H 或 -O-CH₃。

[0133] 式 XIV 的化合物的特定的立体化学是重要的, 且如所述通式所示。

[0134] 本发明的非常优选的化合物可以选自:

[0135] (Z)-6-((2S, 4S, 5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸,

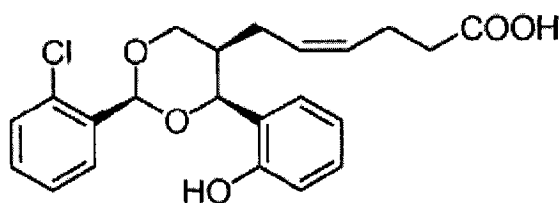
[0136] (Z)-6-((2S, 4S, 5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-甲氧苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸,

[0137] (Z)-6-((2S, 4S, 5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-乙酰氧苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸, 和

[0138] (Z)-6-((2S, 4S, 5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸甲酯。

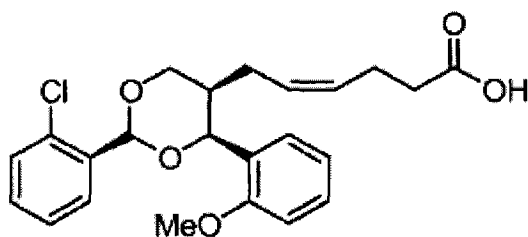
[0139] 因此, 一种优选的化合物是下面结构的化合物:

[0140]



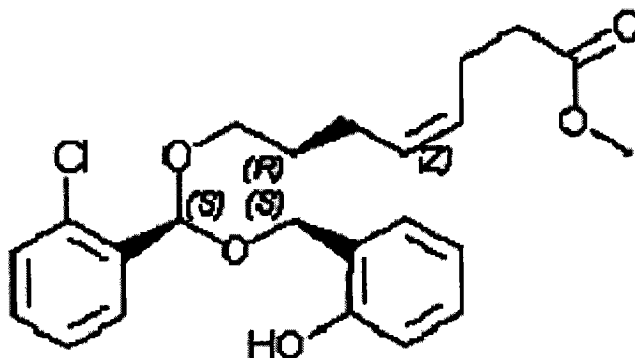
[0141] 另一种优选的化合物是下面结构的化合物：

[0142]



[0143] 另一种优选的化合物是下面结构的化合物：

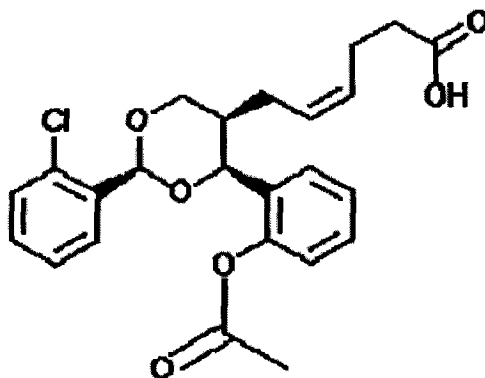
[0144]



[0145] (Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸甲酯

[0146] 另一种优选的化合物是下面结构的化合物：

[0147]



[0148] (Z)-6-((2S,4S,5R)-4-(2-乙酰氧苯基)-2-(2-氯苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸

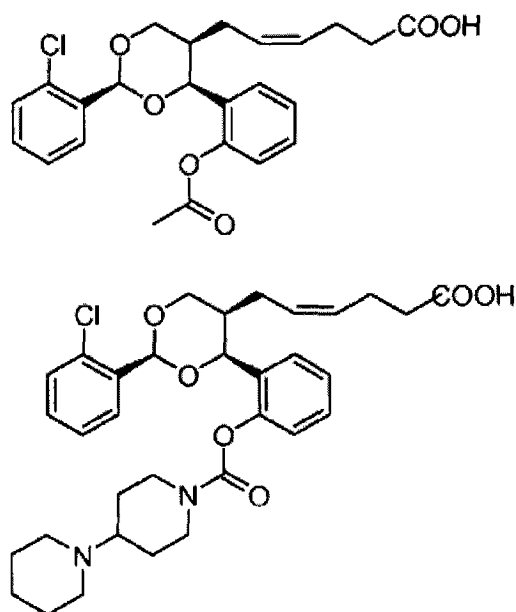
[0149] 可以制备本发明的有用的 PPAR 调节剂、TP 受体拮抗剂和 / 或 TS 抑制剂,并以任何前述化合物的前药形式施用。本领域的技术人员会理解:本文所述的本发明的化合物可以包括可被前体基团 (progroup) 掩蔽以产生前药的官能团。这样的前药通常 (但不必须) 是无药理活性的,直至转化为其活性药物形式。在本发明的前药中,任何可用的官能部分

可以被前体基团掩蔽以产生前药。本领域中已知适于掩蔽这样的官能团以产生前体部分 (promoieties) 的众多前体基团,所述前体部分可在需要的使用条件下解离。

[0150] 如本文所用,术语“前药”是指在体内转化以产生本发明的物质的物质。这种转化可以通过各种机制实现,如通过血液中的水解。例如,当本发明的化合物包含羧酸官能团时,前药可以包括通过用包括但不限于以下基团的基团取代酸基团的氢原子而形成的酯:例如, (C_1-C_8) 烷基、 (C_2-C_{12}) 烷酰氧甲基、具有 4-9 个碳原子的 1-(烷酰氧基)乙基、具有 5-10 个碳原子的 1-甲基-1-(烷酰氧基)乙基、具有 3-6 个碳原子的烷氧羰基氧基甲基、具有 4-7 个碳原子的 1-(烷氧羰基氧基)乙基、具有 5-8 个碳原子的 1-甲基-1-(烷氧羰基氧基)乙基、具有 3-9 个碳原子的 N-(烷氧羰基)氨基、具有 4-10 个碳原子的 1-(N-(烷氧羰基氧基)氨基)乙基、3-(2-苯并[c]呋喃酮基 (phthalidyl)、4-巴豆酰内酯基 (crotonolactonyl)、 γ -丁内酯-4-基、二-N,N- (C_1-C_2) 烷基氨基 (C_2-C_3) 烷基、氨基酰基- (C_1-C_2) 烷基、N,N-二 (C_1-C_2) 烷基氨基酰基- (C_1-C_2) 烷基和哌啶基、吡咯烷基-或吗啉代 (C_2-C_3) 烷基。前药也可以是这样一种化合物,其中,-COOH 基团与糖反应以形成酯,所述糖优选是单糖或二糖,更优选单糖,甚至更优选葡萄糖。

[0151] 具有可以衍生化的官能团(如苯酚官能团、羧酸官能团、硫醇官能团等)的本发明的某些化合物可以用于合成前药。本发明的化合物的前药的例子包括:

[0152]

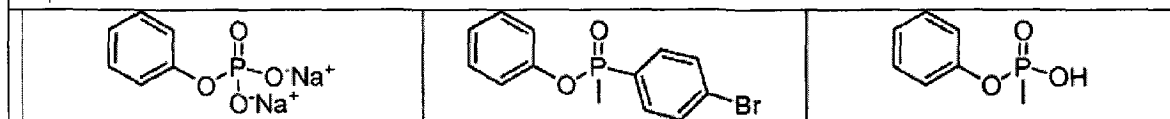


[0153] 以这样的方式,可以获得为选择的给药方式特别定制的前药。也可以设计前体基团以赋予前药其它性质,例如,提高被动肠吸收、提高转运介导的肠吸收、防止快速代谢(缓释前药)、组织选择性递送、靶组织中的被动富集、靶向特异性的转运体等。能够赋予前药这些特征的基团是众所周知的,且在例如 Ettmayer 等人 (2004) J. Med. Chem. 47 : 2393-2404 中有描述。这些文献中描述的各种基团都可以用于本文所述的前药中。尤其是,苯酚基团可以转化为磷酸酯、烷基酯,或使用聚乙二醇 (PEG)、烷氧基羰基氧基甲基 (AOCOM) 衍生化,或者作为如下所示的立体位阻的烷氧基羰基氧基甲基衍生化。

[0154] 苯酚前药

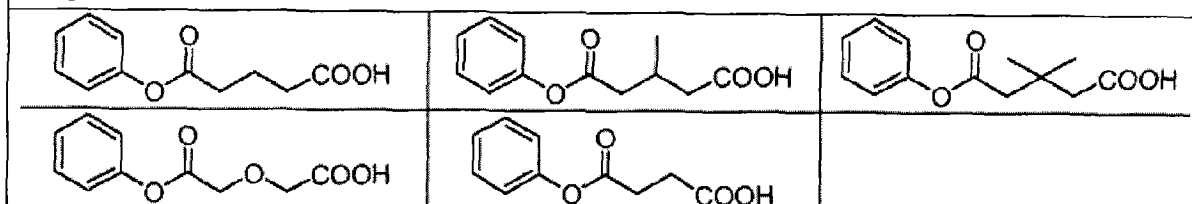
[0155]

磷酸酯

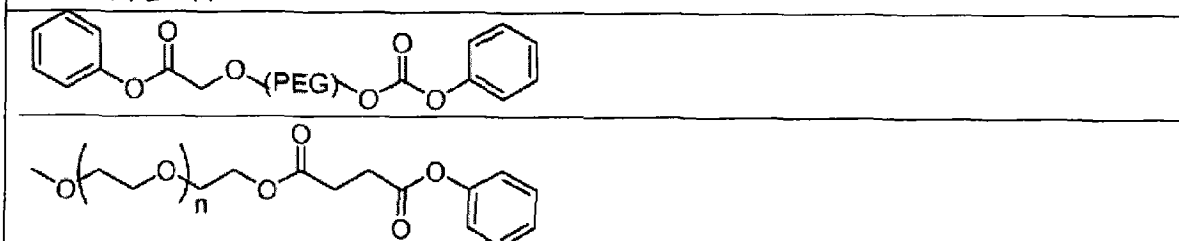


[0156]

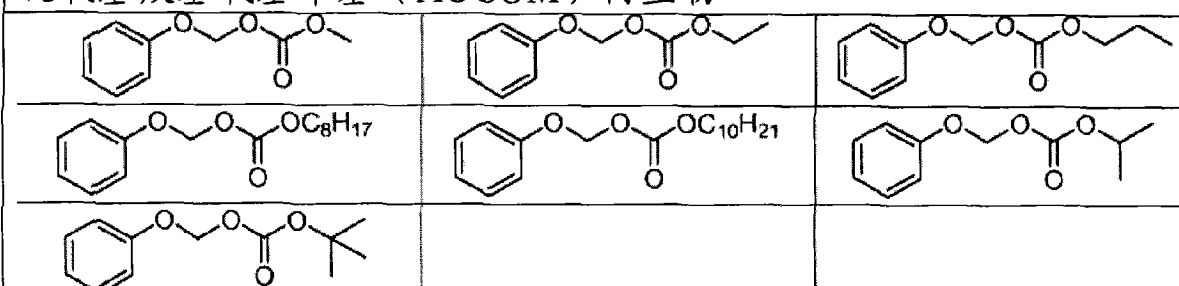
烷基酯



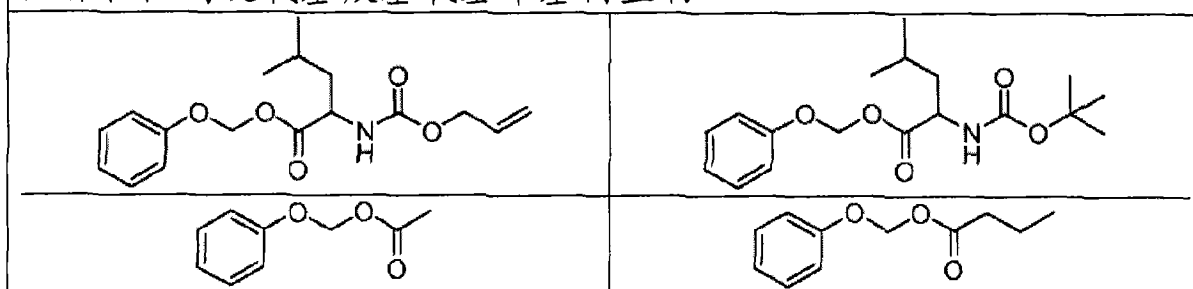
PEG 衍生物



烷氧基羰基氧基甲基 (AOCOM) 衍生物



立体位阻的烷氧基羰基氧基甲基衍生物



[0157] 本发明的有用的 PPAR 调节剂、TP 受体拮抗剂和 / 或 TS 抑制剂也包括任何前述化合物的溶剂化物。

[0158] 如本文所用,术语“溶剂化物”是指进一步包括化学计量量或非化学计量量的通过非共价分子间力结合的溶剂的本发明的任何化合物或其盐。优选的溶剂是挥发性的、非毒性的和 / 或痕量施用对于人类是可接受的。包括水合形式的溶剂化物形式与非溶剂化物形式等效,且包括在本发明的范围之内。

[0159] 如本文上面所述,本发明的优选的PPAR调节剂、TP受体拮抗剂和/或TS抑制剂具有如上所述的特定的立体化学。优选地,本发明的任何组合物包含基本上对映异构体纯的化合物。因此,优选本发明的PPAR调节剂、TP受体拮抗剂和/或TS抑制剂具有至少80%、更优选至少90%、甚至更优选至少95%、更加优选至少98%、甚至更优选至少99%、更加优选至少99.5%、更加优选至少99.8%的光学纯度,例如至少99.9%、如基本上100%、例如100%的光学纯度。

[0160] 可以通过本领域中公知的制备结构上类似的化合物的有机化学常规方法制备式I、式II、式IX、式X、式XI、式XII、式XIII和式XIV的化合物。例如,在EP 0 094 239第4-10页中提供了这样的方法,本文明确地引入其作为参考,而且,实施例部分描述的程序和下面的过程提供了这样的方法,其中X、Y和Z具有本文上面定义的任何含义:

[0161] (A) 式IV的醛与式 $R^1_3P=CH(CH_2)_2CO_2M^+$ 的维悌希(Wittig)试剂反应,其中, R^1 是(1-6C)烷基或芳基(尤其是苯基),且 M^+ 是阳离子,例如,碱金属阳离子,如锂、钠或钾阳离子。在某些实施方式中,醛与修改为 $P=CH(CH_2)_nCOO^-M^+$ (其中, $n=0-4$)的通式的维悌希试剂反应。

[0162] 本过程一般产生需要的式II的化合物,其中,邻近双键的取代基具有主要为顺式的相对立体化学,即,"Z"异构体。但是,本过程也产生具有反式相对立体化学的类似的化合物,如果需要,其可以通过如色谱法或结晶法的常规方法除去。

[0163] 合成过程方便地在合适的溶剂或稀释剂中进行,例如,如甲苯或氯苯的芳香族溶剂,如1,2-二甲氧基乙烷、叔丁基甲基醚、二丁醚或四氢呋喃的醚,在二甲基亚砜或四亚甲基砜中,或在一种或多种这样的溶剂或稀释剂的混合物中。一般在例如-80℃至40℃的温度范围内进行本过程,但在室温下或室温附近方便地进行,例如0至35℃。

[0164] (B) 去保护式V的苯酚衍生物,其中, R^1 是保护基,例如,(1-6C)烷基(如甲基或乙基)、酰基(如乙酰基、苯甲酰基、甲磺酰基或对甲苯磺酰基)、烯丙基、四氢吡喃-2-基、三甲基甲硅烷基。

[0165] 所用的去保护条件取决于保护基 R^1 的性质。因此,例如,当它是甲基或乙基时,可以通过在例如50-160℃的温度范围内、在合适的溶剂(如N,N-二甲基甲酰胺或N,N-二甲基-3,4,5,6-四氢-2(1H)-嘧啶酮)中,与硫醇钠(氢化物物和链烷硫醇)加热完成去保护。或者,可以在0-60℃的温度范围内、在合适的溶剂(如四氢呋喃或甲基叔丁基醚)中,通过与二苯基磷化锂反应除去乙基或甲基保护基。当保护基是酰基时,例如可以在例如0-60℃的温度范围内、在合适的水性溶剂(如水性(1-4C)烷醇)中、在碱(如氢氧化钠或氢氧化钾)的存在下通过水解除去该保护基。当保护基是烯丙基或四氢吡喃-2-基时,例如可以通过用如三氟甲酸的强酸处理来去除,当保护基是三甲基甲硅烷基时,例如可以使用常规方法,通过与水性四丁基氟化铵或氟化钠反应来去除。

[0166] (C) 式VI的赤式二醇衍生物(其中, Q^1 和 Q^2 中的一个为氢,另一个为氢或式 $-CRaRb.OH$ (其中,Ra和Rb是相同或不同的(1-4C)烷基)的基团)与式VII的苯甲醛衍生物或其缩醛、半缩醛或水合物反应。

[0167] 苯甲醛VII(或其水合物、或其与(1-4C)烷醇(如甲醇或乙醇)的缩醛、半缩醛)可以方便地过量存在。

[0168] 一般在如0-80℃的温度范围内,在如氯化氢、溴化氢、硫酸、磷酸、甲磺酸、樟脑磺

酸、柠檬酸、吡啶鎓对甲苯磺酸 (PPTS) 或对甲苯磺酸的酸催化剂的存在下,方便地在如甲苯、二甲苯或醚(如四氢呋喃、二丁醚、甲基叔丁基醚或 1,2-二甲氧基乙烷)、或卤代烷(如二氯甲烷(DCM))的合适溶剂或稀释剂的存在下进行反应。

[0169] 例如,其中 Q^1 和 Q^2 都是氢的式 VI 的起始材料可以通过式 VIII 化合物的二氧杂环己烷环(其中 Ra 和 Rb 都是烷基,如甲基或乙基)的温和的、酸催化的水解或醇解获得,用与本文的过程(A)类似的方法获得。通常在 10–80°C 的温度范围内,在作为溶剂的烷醇(如乙醇或 2-丙醇)或醚(如四氢呋喃)中,使用水性无机酸如盐酸进行水解或醇解。

[0170] 其中 Q^1 和 Q^2 中的一个为氢,另一个是式 $-CRaRb$ 的 OH 基团的式 VI 的起始材料,是上述形成其中 Q^1 和 Q^2 都是氢的式 VI 的起始材料中的中间产物。但是,通常不分离或鉴定所述中间产物。因此,过程(C)的有用的改变包括:在酸催化剂(如上述中的一个)的存在下,方便地在例如 10–80°C 的温度范围内,且任选地在合适的溶剂或稀释剂(如上述中的一个)的存在下,将其中 Ra 和 Rb 中的一个为氢、甲基或乙基,另一个为甲基或乙基的式 VIII 的化合物与过量的式 VII 的化合物(或其水合物、缩醛或半缩醛)反应。

[0171] 通过已知用于制备结构相关的化合物的有机化学通用方法可以制备用于上述方法的起始材料。因此,例如,通过路线 I 所示的方法可以获得式 IV 的醛。例如,通过使用与上述过程(A)类似的方法,使用类似于式 IV 的醛(但其中已经用基团 R^1 保护苯酚基团)可以制备式 V 的被保护的苯酚衍生物,例如,通过忽略去保护步骤(ii)的路线 I 的方法制备这样的醛。可以使用与欧洲专利申请公开第 94239 号所述的方法类似的方法获得新的、式 VIII 的起始材料。

[0172] 通过常规方法可以获得必需的维悌希试剂,例如,通过用如氢化钠、二异丙基酰胺锂、叔丁醇钾、LiHMDS 或丁基锂的强碱处理相应的卤化磷(phosphonium halide)。它们一般恰在进行上述的缩合过程(A)之前原位形成。

[0173] 可以理解,也可以通过本领域熟知的其它常规方法获得式 I 和 II 的化合物,例如,通过相应的酯、酰胺或腈的碱催化水解。

[0174] 当需要式 I 或 II 的化合物的盐时,通过与合适的提供生理上可接受的阳离子的碱反应获得,或者通过任何其它常规方法获得。

[0175] 更进一步,当需要式 I 或 II 的化合物的旋光形式时,或者当制备全部是特定旋光形式的式 IX、X、XI、XII、XIII 或 XIV 中任一种的化合物时,可以使用旋光起始材料进行前述的过程之一。或者,式 II 化合物的外消旋形式或式 IX、X、XI、XII、XIII 或 XIV 中任一化合物及其对映异构体的外消旋混合物,可以与合适的有机碱的旋光形式反应,接着对这样获得的盐的非对映异构体混合物进行常规分离,例如,从如 (1-4C) 烷醇的合适的溶剂的分步结晶(fractional crystallisation),随后,可以通过使用常规方法用酸处理将所述式 I 或 II 的化合物的旋光形式解离出来,例如使用如稀盐酸的水性无机酸。

[0176] 另外,实施例 29 说明了如何通过手性色谱法分离式 I 或 II 的化合物的外消旋混合物。特别地,实施例 29 描述了如何从外消旋混合物分离对映异构体。制备本发明的其它化合物的特定对映异构体时,可以容易地改变该方法。

[0177] 如前所述,本文所述的化合物是 PPAR 活性的调节剂。因而,除了上面列出的结构特征,本发明的方法使用的优选的化合物也是 PPAR 激动剂、PPAR 拮抗剂或 PPAR 部分激动剂,优选 PPAR 部分激动剂。下面在“化合物的功能性”一节中描述了用于确定作为 PPAR 激

动剂 / 拮抗剂 / 部分激动剂的功能性的方法。

[0178] 化合物的功能性

[0179] 本发明的优选的化合物是本文上述的任一化合物, 其为 PPAR 调节剂、尤其是 PPAR γ 选择性调节剂 (完全或部分激动剂或拮抗剂, 优选激动剂)、TP 受体拮抗剂或 TS 抑制剂, 或显示两种或多种这些性质的化合物。尽管不希望受限于理论, 本发明人相信: 尤其需要作为 TP 受体拮抗剂或 TS 抑制剂的化合物, 因为这导致提高的 PG12 水平, 其抑制血小板聚集并作为有效的血管扩张剂发挥作用。

[0180] 激动剂和拮抗剂通过其表明效力 / EC_{50} / IC_{50} 值的结合亲和力、以及通过在饱和水平的化合物存在下获得的活性水平 (即效价) 进行表征。部分激动剂 / 部分拮抗剂也通过其结合力和效价进行表征。因此 PPAR 的部分激动剂 / 部分拮抗剂不能够完全活化同源的 PPAR 并且可以以竞争性的方式将完全激动剂从受体上置换下来, 从而降低反式激活的水平。PPAR 的完全和部分激动剂还可以募集不同的辅因子补体, 并且对于给定的 PPAR 亚型所募集的辅因子的性质, 可能会对给定的激动剂活化的基因模式造成很深的影响。

[0181] 与其它核受体相比, PPAR 的配体 - 结合口袋很大, 这可能部分解释了能够结合并且活化 PPAR 的化合物类型众多。在 PPAR 三种亚型的配体识别中, 存在显著的重叠, 严格说来, 目前还没有鉴定出亚型的特异性的配体。然而, 几种天然和合成的配体显示出很高程度的选择性, 并且现在的选择性最高的配体相对于活化单个 PPAR 亚型所需的浓度相差达 3 个数量级以上。和甾体核受体激动剂类似, 引入了术语“选择性 PPAR 调节剂”(SPPARM) (本文中称作“部分激动剂或拮抗剂”)。这类配体包括部分激动剂 / 拮抗剂, 其在结合到 PPAR 上时产生不同的构型, 从而导致不同组的辅助活化剂的募集。原则上, SPPARM 应该能够仅活化 PPAR 靶基因的亚群 (subset), 因此有可能促进所需要的基因群的特异性表达。图 1 给出了完全激动剂和部分激动剂的 PPAR 活化的模型。本发明的优选的化合物是部分激动剂。

[0182] PPAR 调节活性可以通过本领域所知的许多方法或者其改良方法容易地测定。例如, PPAR 调节活性可以通过本领域所知的体外反式激活分析确定。下文的实施例 22 描述了一种用于确定 PPAR γ 调节活性的有用的反式激活测定的非限制性的例子, 实施例 23 描述了一种用于确定 PPAR δ 调节活性的有用的反式激活测定的非限制性的例子。下面的实施例 22 说明了一种方法, 其中, 向用编码 PPAR-GAL4 (DNA 结合域) 融合蛋白的构建体和编码 GAL4 依赖性报道构建体的构建体转染的细胞加入化合物。本领域普通技术人员很清楚, 可以使用许多可能的构建体, 例如使用不同的 DNA 结合域来激活转录或使用不同的报道基因 (例如, 荧光蛋白、 β -半乳糖苷酶、过氧化物酶、萤光素酶等)。本领域普通技术人员很清楚, 根据想要检测的 PPAR 活性, 构建体优选编码所述的 PPAR 或者其配体结合域。PPAR 一经活化 (即在 PPAR 激动剂或者部分激动剂存在下), PPAR 任选地以定量的方式反式激活报道构建体。

[0183] PPAR 调节剂也可以使用含有可操作地处于含有至少一种 PPRE 的第二核酸控制之下的第一核酸的报道基因进行鉴定。该第一核酸优选编码报道蛋白质, 例如荧光蛋白、 β -半乳糖苷酶、过氧化物酶、萤光素酶等。所述报道构建体应当被插入到表达一种或多种 PPAR (例如 PPAR γ 和 / 或 δ) 的细胞中。PPAR 激动剂因此可以鉴定为能够活化该第一核酸转录的化合物。

[0184] 根据本发明的一种特定的实施方式, 优选的化合物是 PPAR 和 / 或 PPAR LBD 激动剂

或部分激动剂。术语“PPAR LBD”指 PPAR 的配体结合域。根据一种优选的实施方式,本发明的化合物和组合物是 PPAR γ 和 / 或 PPAR γ LBD 激动剂。“激动剂”是指当结合细胞内受体时,刺激或增加对于受体典型的反应(例如,转录活化活性)的化合物和组合物。在一种实施方式中,所述激动剂是 PPAR γ 激动剂,即,加强、刺激、诱导或以其它方式提高 PPAR γ 受体的转录活性的 PPAR 配体,例如,通过模拟受体的天然生理配体。

[0185] 可以使用上述反式激活分析确定所述 PPAR 调节活性。合适的标准激动剂包括用于 PPAR γ 的罗格列酮,和用于 PPAR δ 的(4-[3-(2-丙基-3-羟基-4-乙酰基)苯氧基]丙氧基苯氧基)乙酸(L165041,可商购)。显示比标准激动剂低 50% 的反式激活的可能的激动剂仍然是有用的,尤其用于开发新化合物或活性衍生物,或作为部分激动剂存在的指示剂。

[0186] 根据优选的实施方式,本发明的化合物和组合物是 PPAR 和 / 或 PPAR LBD 部分激动剂,更特别地,本发明的化合物和组合物是 PPAR γ 和 / 或 PPAR γ LBD 部分激动剂。产生低于可能的最大效应(即,由完全激动剂或参比分子产生的最大效应)的药物被称为部分激动剂。

[0187] 例如,可以通过参考完全激动剂罗格列酮(AvandiaTM, Glaxo-SmithKline)定义本发明的化合物和组合物的部分激动剂性质。对于 PPAR γ 部分激动剂尤其是这样。本发明的部分 PPAR 激动剂,尤其是 PPAR γ 激动剂,对经受需要的治疗的患者将提供类似的或更好的功效,但具有更少的对患者不利的不良副作用。例如,SN1(DPD)在 10mM 时诱导与 1mM 的 Avandia 同样水平的葡萄糖摄取,但由于较低的脂肪细胞分化,预期有更低的副作用。

[0188] 也可以通过参考 L165041(可商购)定义本发明的化合物和组合物的部分激动剂性质。对于 PPAR δ 部分激动剂尤其如此。例如,一个这样的反式激活分析是实施例 23 中描述的反式激活分析。

[0189] 在一种实施方式中,优选本发明的化合物对于 PPAR 的活化是选择性的。在这种实施方式中,优选化合物不显著活化 RxR 和 / 或 RxR LBD 反式激活,优选 RxR 转录低于 2 倍背景水平,例如低于 1.5 倍背景水平,例如,大约等于或低于背景水平。例如,如实施例 25 所述,可以通过 RxR 反式激活分析确定 RxR 反式激活。背景水平是在不添加配体的情况下的反式激活。

[0190] 在本发明的一种实施方式中,化合物是 PPAR 拮抗剂。“拮抗剂”意思是当结合 PPAR 时,干扰或减少对于所述 PPAR 典型的反应(例如,转录活化)的化合物。作为一般定义,“PPAR 拮抗剂”指可以抑制相应的 PPAR 激动剂的活性的 PPAR 配体。更一般地,可以通过本领域的技术人员广泛了解的试验,例如,WO99/50664 或 WO96/41013 中所公开的试验,测定这些激动剂 / 拮抗剂 / 部分激动剂的活性。

[0191] 在本发明的一种非常优选的实施方式中,PPAR 调节剂具有最多 25 μ M、优选最多 20 μ M、甚至更优选最多 10 μ M、例如最多 5 μ M 的关于 PPAR 结合的 IC_{50} 。在本发明的这种实施方式中,优选的 PPAR 是 PPAR γ ,非常优选的 PPAR 调节剂是 PPAR γ 调节剂,其具有最多 25 μ M、优选最多 20 μ M、甚至更优选最多 15 μ M、例如最多 12 μ M 的关于 PPAR γ 结合的 IC_{50} 。可以通过技术人员所知的任何适当的方法测定 IC_{50} 。

[0192] 通过向患有受 PPAR 活性的调节影响的病症或疾病的患者施用时的生物活性,进一步表征本发明的化合物和组合物。本发明的优选的化合物是能够降低需要的患者中一

种或多种以下生物指标的化合物：葡萄糖、甘油三酯、脂肪酸、胆固醇、胆汁酸等，相比于本领域的已知分子（例如，噻唑烷二酮类），具有更好或相等的效力和效能，但具有较低的毒性和/或出现较少的不良副作用。尤其地，所述化合物优选较少地诱导脂肪细胞分化和体重增加。这样的化合物尤其可以是上文的C部分所述的任一化合物。用于测定脂肪细胞分化的有用方法如下文的实施例26所述。更特别地，它们显示对于胰岛素抵抗（胰岛素对于较低的血浆葡萄糖水平的效力降低）和/或脂肪生成有益的活性。已经证明：许多活化PPAR γ 的化合物（例如，噻唑烷二酮类）进一步诱导脂肪细胞分化（即，显示脂肪形成（adipogenic）或脂肪生成（lipogenic）的效应），并因此导致治疗的患者的体重增加。因此，非常希望这些化合物的下一代显示降低的活性，且优选没有这样的活性。可以使用本领域广泛使用的方法评价这些活性。更具体地，参考本领域已经鉴定的分子例如罗格列酮评价这些活性。根据本发明的优选的实施方式，优选的化合物显示出罗格列酮对于胰岛素抵抗的性质的至少大约50%、优选至少大约60%、更优选至少大约70%、甚至更优选至少大约80%，例如，其可以通过测定患有胰岛素抵抗的患者的葡萄糖水平来测定。理想地，它是100%或更高。根据本发明的另一种优选的实施方式，优选的化合物显示出低于罗格列酮对于脂肪细胞分化的性质的性质的大约80%、优选低于大约50%、更优选低于大约40%和甚至更优选低于大约30%。理想地，低于罗格列酮对于脂肪细胞分化的性质的性质的大约20%。例如，可以如下文实施例26所述测定脂肪细胞分化。在非常优选的实施方式中，优选的化合物具有上述两种性质。或者，如通过反式激活所测定的，该化合物能够以至少是罗格列酮的50%的程度诱导PPAR活性，并显示上述对于脂肪细胞分化的性质。

[0193] 在本发明的非常优选的实施方式中，PPAR调节剂能够降低个体中的一种或多种、如2、3或4种选自以下生物指标的性质：血清葡萄糖、糖基化的血红蛋白（HbA_{1c}）、果糖胺、胰岛素、游离脂肪酸（FFA）、甘油三酯（TG）、低水平高密度脂蛋白（HDL）和总胆固醇。甚至更优选地，PPAR调节剂能够降低个体中的一种或多种、优选至少2种、更优选所有3种以下生物指标：血清葡萄糖、糖基化的血红蛋白（HbA_{1c}）和游离脂肪酸（FFA）。

[0194] 特别地，优选的PPAR调节剂是这样的PPAR调节剂，其中，以以下剂量向个体施用PPAR调节剂：0.1-100mg/kg/天，如0.5-70mg/kg/天，例如，0.5-7.5mg/kg/天，如5mg/kg/天，在施用7-365天、如7-180天、例如7-90天、如7-30天、例如14天之后，将导致血清葡萄糖减少至少10%、如至少15%，例如至少20%、如至少24%。

[0195] 另外，优选的PPAR调节剂是这样的PPAR调节剂，其中，以以下剂量向个体施用所述PPAR调节剂：0.1-100mg/kg/天，如0.5-70mg/kg/天，例如，0.5-7.5mg/kg/天，如5mg/kg/天，在施用7-365天、如7-180天、例如7-90天、如7-30天、例如14天之后，将导致HbA_{1c}减少至少0.2%、如至少0.5%，例如至少1%、如至少2%。对于HbA_{1c}值，在健康患者中的参考范围是大约4%-5.9%，在向需要治疗的患者施用PPAR调节剂之后，低于6.5%-7%的值是合乎需要的。

[0196] 另外，优选的PPAR调节剂是这样的PPAR调节剂，其中，以以下剂量向个体施用所述PPAR调节剂：0.1-100mg/kg/天，如0.5-70mg/kg/天，例如，0.5-7.5mg/kg/天，如5mg/kg/天，在施用7-365天、如7-180天、例如7-90天、如7-30天、例如14天之后，将导致FFA减少至少10%、如至少15%，例如至少20%、如至少22%。对于FFA值，在健康患者中的参考范围是大约0.28-0.89毫摩尔/升，在向需要治疗的患者施用PPAR调节剂之后，该值向

此范围降低 / 正常化是合乎需要的。

[0197] 另外,优选的 PPAR 调节剂是这样的 PPAR 调节剂,其中,以以下剂量向个体施用所述 PPAR 调节剂:0.1-100mg/kg,如 0.5-70mg/kg,例如,0.5-7.5mg/kg,如 5mg/kg,在 7-365 天、如 7-180 天、例如 7-90 天、如 7-30 天、例如 14 天内,不会导致所述个体的体重明显增加。“体重明显增加”意思是体重增加超过 1%、如超过 2%,例如超过 3%、如超过 4%,例如超过 5%、如超过 6%、如超过 7% 的体重变化。

[0198] 另外,优选的 PPAR 调节剂是这样的 PPAR 调节剂,其中,以以下剂量施用所述 PPAR 调节剂:0.1-100mg/kg,如 0.5-70mg/kg,例如,0.5-7.5mg/kg,如 5mg/kg,不会导致所述个体的每日食物摄取量的明显变化。“平均食物摄取量的明显变化”意思是根据体重确定的每日食物摄取量超过 10%、如超过 12%,例如超过 14%、如超过 16% 的变化。

[0199] 另外,优选的 PPAR 调节剂是这样的 PPAR 调节剂,其中,以以下剂量向个体施用所述 PPAR 调节剂:0.1-100mg/kg,如 0.5-70mg/kg,例如 0.5-7.5mg/kg,如 5mg/kg,不会导致所述个体中的一种或多种、优选至少 2 种、如至少 3 种、更优选所有 4 种以下生物指标明显增加:血细胞比容、天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、丙氨酸转氨酶 (ALT) 和碱性磷酸酶 (ALP)。“明显增加”意思是超过 30%,例如超过 20%、如超过 10%,例如超过 5% 的增加。对于血细胞比容,健康患者的参考范围是 0.41-0.50 (无单位),对于 AST,是 10-30U/L、对于 ALT 是 10-40U/L,且对于 ALP 是 30-120U/L,且向需要治疗的患者施用 PPAR 调节剂之后,这些值朝向这些范围的降低 / 正常化是合乎需要的。

[0200] 本章节中的所有上述个体可以是任何个体,如需要施用 PPAR 调节剂的个体,例如,患有本文其它地方提及的一种或多种 PPAR 相关的临床病症的人。但是,个体也可以是实验室试验动物,例如,小鼠。一般相对于没有施用所述 PPAR 调节剂的类似个体中获得的值来确定本章节的所有上述减少和增加。下面的实施例 32 描述了用于测定生物学指标的上述减少和增加的适当方法的非限制性例子。

[0201] 如血稀释、水肿、脂肪细胞分化或肥胖的不良副作用的体内出现可能受所述化合物的辅因子募集特征的影响,例如,使用 EP1267171 所述方法。因此,在本发明的一种实施方式中,优选的化合物是预期具有低的体内不良副作用发生率的化合物。

[0202] 广泛认为,如 PPAR γ 的核受体通过结合靶基因的启动子区域的同源序列并通过募集许多辅因子复合物来实现转录活化或抑制,所述辅因子复合物的活性包括从染色质重塑、组蛋白和辅因子修饰到基本的转录机制募集 (Glass, & Rosenfeld, 2000, Genes Dev., 14, 121-141)。这些辅因子可以很大程度地确定核受体作用的特异性,并将它们的作用整合到刺激物的网络中,所述刺激物的合适的配合 (orchestration) 导致特定的细胞反应。因此,随时间和根据细胞类型确定每种核受体参与的多种合作关系,将会更好地理解核受体在转录调节中的活性。例如,已知对于如雌激素的某些激素,确定在存在相应的核激素受体时对于激素的响应与存在与该受体相互作用的辅因子时对于激素的响应几乎程度相同。已经鉴定了各种 PPAR 辅因子。如 p300/CBP (Dowell 等人, 1997, J. Biol. Chem. 272, 33435-33433)、SRC-1 (O'Nate 等人, 1995, Science 270, 1354-1357)、TIF2 (GRIP-2; Chakravarti 等人, 1996, Nature, 383, 99-103)、SRA (Lanz 等人, 1999, Cell, 97, 17-27)、AIB-1 (Anzick 等人, 1997, Science, 277, 965-968)、TRAP220/DRIP205 (即 PBP; Zhu 等人, 1997, J. Biol. Chem. 272, 25500-25506; Rachez 等人, 1999, Nature, 398, 824-828)、

PGC-1 (Puigserver 等人, 1998, Cell 92, 829-839)、PRIP (Zhu 等人, 2000, J Biol Chem 275, 13510-13516)、PGC-2 (Castillo 等人, 1999, Embo J, 18, 3676-3687)、ARA70 (Heinlein 等人, 1999, J Biol Chem 274, 16147-16152)、RIP140 (Treuter 等人, 1998, Mol Endocrinol 12, 864-881) 的某些辅因子增强其转录活性, 而 SMRT (Lavinsky 等人, 1998, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 2920-2925) 和 N-CoR (Dowell 等人, J Biol Chem 274, 15901-15907) 则抑制其转录活性。另外, 已经证明: PPAR γ 辅因子家族的成员 (例如, 160-kDa 蛋白质 (SRC-1/TIF2/AIB-1)、CBP/p300 或 TRAP220/DRIP205) 直接与 PPAR γ 相互作用, 并以配体依赖的方式加强核受体的反式激活功能, 导致根据所用的配体而可能不同的生物作用和副作用 (Adams 等人, 1997, J. Clin. Invest., 100, 3149-3153)。Kodera 等人, (2000, J Biol Chem., 275, 33201-33204) 已研究了 PPAR γ 和已知的辅因子之间的相互作用是否被不同类型的 PPAR γ 配体 (天然的和合成的) 相同程度地诱导, 并得出以下结论: PPAR γ 和辅因子复合物的整体结构根据所涉及的配体可能不同, 导致发挥不同生物作用的一组特定靶基因启动子的活化。

[0203] PPAR 部分激动剂一般具有特定的共激活剂 (coactivator) 募集特性, 因此优选具有特定的共激活剂募集特性的化合物。因此, 根据特定的实施方式, 本发明的化合物和组合物进一步通过限制的辅因子募集模式来表征。在优选的实施方式中, 所述模式导致对于所述核受体的转录活性调节具有明显不同的效应, 这允许非常精细的调节, 这种调节导致特定的代谢过程的活化以及不良副作用的消除。在更特定的实施方式中, 本发明的化合物和组合物能够进一步抑制 PPAR 受体 (更优选 PPAR 受体 LBD) 与辅因子 TIF2 的相互作用。根据另一种实施方式, 本发明的化合物和组合物还能够增强 PPAR 受体 (更优选 PPAR 受体 LBD) 与辅因子 SRC-1 的相互作用。优选地, 所述 PPAR 受体是 PPAR γ 受体。

[0204] EP1267171 中详述了用于测量配体对于辅因子募集的抑制和 / 或增强的方法。

[0205] 在优选的实施方式中, 本发明的化合物在与 PPAR γ 结合时, 会允许 SRC1 以比 TIF2 的 EC_{50} 至少高一个对数的 EC_{50} , 优选高至少 2 个对数的 EC_{50} 募集到 LBD 上。

[0206] 在本发明的一种实施方式中, 由于其对于 PPAR 受体、尤其是 PPAR γ 受体的天然生理配体的激动 (agonistic)、尤其是部分激动或拮抗性质, 优选的化合物能够作为药物用于控制 PPAR 介导的转录控制的生物效应及因此产生的伴随的生理效应。更特别地, 它们可以调节细胞生理学以减少相关的病理状况或提供或增强预防作用。

[0207] 在本发明的另外一种实施方式中, 优选的化合物是这样的化合物: 其是一种以上的 PPAR (例如, PPAR γ 和 PPAR δ) 的激动剂 (或优选是部分激动剂)。例如如本文所述, 可以通过分别对于 PPAR γ 和 PPAR δ 的反式激活分析来鉴定这样的激动剂。本文下面在实施例 27 和 28 中分别描述了用于测定 PPAR γ 和 PPAR δ 活性的非限制性的方法。

[0208] 在本发明的一种实施方式中, 本发明的优选的化合物能够结合血栓烷受体 (TP), 例如, 能够结合人重组 HEK-293 细胞中的血栓烷受体。尤其地, 本发明的化合物能够以优选低于 100nM、更优选低于 50nM、甚至更优选低于 30nM、例如低于 20nM、如低于 10nM、例如低于 5nM、例如低于 1nM 的 IC_{50} 结合血栓烷受体。另外, 本发明的化合物能够以优选低于 100nM、更优选低于 50nM、甚至更优选低于 20nM、如低于 10nM、例如低于 5nM、例如低于 1nM 的 K_i 结合血栓烷受体。优选如本文下面的实施例 35 所述测定 IC_{50} 和 K_i 。

[0209] 优选的 TP 受体调节剂是 TP 受体拮抗剂。TP 受体的生理功能包括血小板聚集、血

管收缩和支气管收缩的控制(参见, The IUPHARcompendium of receptor characterization and classification 1998, 第 239 页, 和 The Sigma-RBI Handbook 第 5 版, Prostanoid receptors, 2006, 第 138-140 页)。因此, 本发明优选的作为 TP 受体拮抗剂的 PPAR/TP 调节剂可用于治疗以如下一种或多种为特征的临床病症: 增加的血小板聚集、增加的血管收缩和增加的支气管收缩、心肌梗塞、血栓病、血栓性疾病、肺动脉高压、动脉粥样硬化、IgA 肾病、肝肾综合征、糖尿病肾病、视网膜病、糖尿病视网膜病、外周动脉疾病、下肢循环障碍、肺栓塞、血栓形成、增生、感染性休克、先兆子痫、哮喘、过敏性鼻炎、肿瘤血管生成和转移、支架引发的血栓形成、支架诱发的再狭窄和支架引发的增生。

[0210] 在进一步的实施方式中, 本发明的化合物是血栓烷合酶(TS)活性的抑制剂(即, 降低其活性)。血栓烷参与血小板聚集、血管收缩和支气管收缩的控制, 因此血栓烷合酶的抑制也可以用于治疗以增加的血小板聚集、增加的血管收缩和增加的支气管收缩中的一种或多种为特征的临床病症。可以通过本领域的技术人员已知的任何有用的方法测定血栓烷合酶活性。本文下面的实施例 34 中描述了一种有用的方法。使用本文下面的实施例 34 中描述的人血小板血栓烷合酶分析, 本发明非常优选的化合物在 10 μ M 的浓度时能够抑制血栓烷合酶达至少 30%、优选至少 40%、如至少 50%。而且, 使用本文下面的实施例 34 中描述的人血小板血栓烷合酶分析, 本发明非常优选的化合物能够以最多 10,000nM、优选最多 9000nM、更加优选最多 8000nM、更加优选最多 7500nM、例如最多 7100nM 的 IC_{50} 抑制血栓烷合酶。

[0211] 本发明的优选的化合物能够抑制血小板聚集。特别地, 优选下面的化合物: 其能够在 0.01-100 μ M、优选 1-30 μ M、例如大约 1 μ M、如大约 8 μ M、例如大约 16 μ M、如大约 30 μ M、例如大约 1 μ M 或大约 8 μ M 范围的浓度时, 抑制血小板聚集(即, 在增加血小板聚集的情况下, 该化合物将使血小板聚集正常化)达至少 20%、优选至少 40%、更优选至少 50%、更加优选至少 80%、例如至少 90%、如至少 94%、例如至少 95%、如至少 97%、例如大约 100%、如 100%。优选地如实施例 34 所述测定血小板聚集。

[0212] 本发明的优选的化合物能够延长闭塞时间, 即, 诱导血栓形成之后动脉闭塞(0%的血流量)之前的时间, 例如可以通过接触如 $FeCl_3$ 的血栓形成促进剂诱导血栓形成。因此, 施用本发明的化合物后, 相比没有施用该化合物的闭塞时间, 动脉闭塞之前的闭塞时间延长。甚至更优选地, 本发明的化合物能够在如下文的实施例 33 所述鼠血栓形成模型中延长闭塞时间。施用 100mg/kg 之后, 本发明的优选的化合物能够将闭塞时间延长到平均至少 7 分钟、优选至少 8 分钟、更优选至少 9 分钟、甚至更优选至少 10 分钟。

[0213] 在特别优选的实施方式中, 本发明优选的化合物显示超过一种的上文所述的性质。

[0214] 临床病症

[0215] 本发明涉及治疗临床病症的方法, 包括施用上述的化合物(优选上述的任何 PPAR/TP 受体、TS 调节剂, 优选式 IX、X、XI、XII、XIII 或 XIV 的任何化合物, 如 (Z)-6-((2S, 4S, 5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸), 以及所述化合物和所述化合物的盐和溶剂化物用于制备治疗临床病症的药物的用途。

[0216] 本文以上所述的 PPAR 调节剂, 如 (Z)-6-((2S, 4S, 5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸可以用于体重控制。因此, 在一种实施方式

中,临床病症可以是饮食障碍,如神经性厌食(本文也缩写为“厌食”)或贪食。上文公开的化合物(优选任何上述的PPAR调节剂,如(Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸)也可以用于增加或降低体重、尤其是降低体重的方法中。因而,临床病症可以是肥胖。肥胖是脂肪组织的过度积聚。最近的研究已证明,PPAR、尤其是PPAR γ ,在脂肪细胞的基因表达和分化中发挥了中心的作用。PPAR γ 亚型参与了脂肪细胞分化的活化,但在肝脏中的过氧化物酶体增殖的刺激中发挥较不重要的作用。PPAR γ 的活化典型地通过激活脂肪细胞特异性的基因表达促进脂肪细胞分化(Lehmann, Moore, Smith-Oliver, Wilkison, Willson, Kliewer, J. Biol. Chem., 270: 12953-12956, 1995)。因此,PPAR激动剂可以用来增加脂肪组织。可以针对用于治疗脂肪组织的过度积聚的性质选择PPAR部分激动剂。

[0217] 在一种优选的实施方式中,本发明涉及通过向需要的个体施用任何本文上述的化合物(优选任何上述的PPAR调节剂,如(Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸)来治疗胰岛素抵抗的方法。本发明也涉及任何上述化合物(优选任何上述的PPAR调节剂,如(Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸)用于制备治疗胰岛素抵抗的药物的用途。另外,本发明涉及通过施用所述化合物(优选任何上述的PPAR调节剂,如(Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸)增加胰岛素敏感性的方法,以及所述化合物用于制备用来增加胰岛素敏感性的药物的用途。可以如本文所教导的,治疗胰岛素敏感性的急性和暂时的障碍,如那些可能在创伤、手术或心肌梗塞之后出现的障碍。

[0218] 胰岛素抵抗与多种临床病症有关。胰岛素抵抗表现为胰岛素在宽浓度范围内发挥其生理作用的能力降低。在胰岛素抵抗的早期阶段,机体分泌异常大量的胰岛素以补偿这种缺陷。即使血液胰岛素水平长期较高,活动肌细胞对胰岛素的代谢反应受损使其不能有效地摄取葡萄糖。现在越来越认识到,胰岛素抵抗及其导致的高胰岛素血症可能是几种临床病症例如代谢综合征(也称为X综合征)的原因。代谢综合征的特征是导致了高胰岛素血症、血脂异常和葡萄糖耐受降低的第一胰岛素抵抗阶段。现已证明患有代谢综合征的患者患心血管疾病和/或II型糖尿病的风险增加。

[0219] 当患者适用下面至少3种标准时,该患者被认为患有代谢综合征:

[0220] - 通过腰围测量的中心/腹部肥胖(男性大于102cm,女性大于94cm)

[0221] - 空腹甘油三酯大于或等于150mg/dL(1.69mmol/L)

[0222] -HDL胆固醇[男性-低于40mg/dL(1.04mmol/L);女性-低于50mg/dL(1.29mmol/L)]

[0223] - 血压大于或等于130/85mm Hg

[0224] - 空腹葡萄糖大于或等于110mg/dL(6.1mmol/L)

[0225] 胰岛素抵抗对脂质的产生也有负面效应,从而促使血流中VLDL(极低密度脂蛋白)、LDL(低密度脂蛋白)和甘油三酯水平增加以及HDL(高密度脂蛋白)减少。这可能导致动脉内脂肪斑块的沉积,随着时间的推移动脉内脂肪斑块会导致动脉粥样硬化。因此,本发明的临床病症可以是高脂血症,例如家族性高脂血症。优选地,高脂血症的特征为高胆固醇血症和/或高甘油三酯血症。临床病症还可以包括血脂异常和糖尿病性血脂异

常。本文包括的化合物（优选任何上述的 PPAR 调节剂，如 (Z)-6-((2S, 4S, 5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸）也可以用来降低血清甘油三酯水平或提高血浆 HDL 水平。

[0226] 胰岛素抵抗可导致血液中过高的胰岛素和葡萄糖水平。过量的胰岛素会增加肾脏的钠潴留，因此本发明的方法可用于减少肾脏的钠潴留。葡萄糖水平的升高可能会损伤血管和肾脏。因此，本发明的化合物可用于预防血管和肾脏的损伤。

[0227] 在本发明的另一种实施方式中，临床病症是由 PPAR γ 介导的炎症性疾病。术语“由 PPAR γ 介导的”应该理解为 PPAR γ 在所述病症的表现中发挥作用。例如，认为 PPAR γ 不在如急性炎症的与嗜中性粒细胞活化相关的炎症中发挥作用。尽管不希望受限于理论，PPAR γ 激动剂可以是有效的抗炎药物，其作用是通过直接关联和抑制 NF κ B 介导的转录，进而调节各种炎症反应，例如，可诱导的氧化亚氮合酶 (NOS) 和环加氧酶-2 (COX-2) 的酶途径 (Pineda-Torra, I. 等人, 1999, Curr. Opinion in Lipidology, 10, 151-9)。

[0228] 炎症性疾病可以是急性或慢性的，例如，眼睛炎症 (J Biol Chem. 2000 Jan 28 ; 275(4) :2837-44) 或干眼病 (J Ocul Pharmacol Ther. 2003 Dec ; 19(6) :579-87)。慢性炎症性疾病的示例性的例子包括炎性肠病、溃疡性结肠炎或克罗恩氏病。慢性炎症性疾病也可以是关节炎、特别是类风湿性关节炎和多关节炎。慢性炎症性疾病也可以是炎性皮肤病、特别是寻常痤疮 (acne vulgaris)、特应性皮炎、具有屏障功能障碍的皮肤病、皮肤老化效应或牛皮癣，尤其是牛皮癣。慢性炎症性疾病也可以是炎性神经变性疾病，例如多发性硬化或阿尔茨海默病。临床病症也可以是胃肠疾病和肾病，包括肾小球性肾炎、肾小球硬化症、肾病综合征和高血压肾硬化。

[0229] 在本发明的另一种实施方式中，临床病症是响应 PPAR γ 的活化的癌症。因此，临床病症可以是，例如，特征为 PPAR 响应性细胞的异常细胞生长的疾病，如在脂肪组织中发生的增生性或瘤性疾病，例如脂肪细胞瘤，如脂肪瘤、纤维脂瘤、成脂细胞瘤、脂肪过多症、蛰伏脂瘤 (hibemomas)、血管瘤和 / 或脂肪肉瘤。而且，已经证明前列腺、胃、肺和胰的某些癌症响应 PPAR γ 激动剂的治疗。尤其是，已经证明某些脂肪肉瘤、前列腺癌、多发性骨髓瘤和胰腺癌响应 PPAR γ 的活化，而至少某些结肠直肠癌和乳腺癌则不响应 (Rumi 等人, 2004, Curr. Med. Chem. Anti-Canc Agents, 4 :465-77)。其它研究已证明其它乳腺癌和结肠癌响应 PPAR 激动剂，以及成神经细胞瘤和膀胱癌也响应。Levy Kopelovich, 2002, Molecular Cancer Therapeutics, 357 综述了 PPAR 配体在治疗癌症中的用途。

[0230] 但是，即使某些类型的癌症可以响应 PPAR γ 的活化，但并非给定类型的所有癌症都响应。尤其是，PPAR γ 的功能缺失突变经常在癌症中出现，且这样的癌症一般不响应。因此，优选癌症表达功能性的 PPAR γ 。

[0231] 临床病症也可以是感染，如病毒感染、特别是 AIDS 或 HIV 感染或丙型肝炎病毒感染。另外，本发明的 PPAR 配体可以用于改善神经疾病或痴呆中的认知功能，或用于治疗多囊卵巢综合征，或用于预防并治疗骨丢失，例如骨质疏松症。

[0232] 临床病症也可以是肝病、特别是丙型肝炎病毒感染或脂肪肝、肝脏炎症、肝损伤、肝硬化、非酒精性脂肪性肝炎或肝后型 (post-hepatic) 癌症，无论其是否与丙型肝炎病毒感染有关，但优选响应 PPAR 调节。

[0233] 临床病症也可以是马方综合征 (Marfan syndrome)。

[0234] 尽管说明书大量涉及 PPAR γ ，但本发明的化合物和方法不限于 PPAR γ 调节。实际上，技术人员知道其它 PPAR 亚型在疾病中发挥重要的作用。另外，技术人员也知道血栓烷受体在与 PPAR 有关的疾病中发挥重要的作用。例如，PPAR δ 与脂类代谢疾病和伤口愈合、尤其是表皮创伤愈合有关 (Soon Tan 等人, 2004, Expert Opinion in Molecular Targets, 39)。因此，临床病症也可以是包括表皮创伤愈合的伤口愈合。

[0235] 胰岛素敏化剂，例如格列酮 (glitazone)，已被用于治疗胰岛素抵抗，但是在提高胰岛素敏感性的同时，它们也增加而非减少体重。肥胖和身体不活动加重胰岛素抵抗。格列酮 (噻唑烷二酮类或 TZD) 通过提高脂肪组织、肝和肌肉中的胰岛素敏感性发挥作用。已经在几种糖尿病动物模型上测试了使用所述药剂的治疗，所述药剂的治疗导致了对于升高的血浆葡萄糖、甘油三酯和非酯化游离脂肪酸水平的完全校正，而没有出现任何低血糖反应 (Cheng Lai 和 Levine, 2000, Heart Dis., 2, 326-333)。这些噻唑烷二酮类的例子是罗格列酮、吡格列酮和曲格列酮。但是，在提供了吸引人的治疗效应的同时，这些化合物也具有许多严重的不良副作用，包括血液稀释 (包括水肿)、肝毒性、体重增加 (包括脂肪细胞分化增加引起的体脂肪增加、血浆容量增加和心脏肥大)、温和但明显的 LDL-胆固醇增加和贫血 (综述，参见 Lebovitz, 2002, Diabetes Metab. Res. Rev, 18, Suppl2, S23-9)。实际上，许多可用的对于糖尿病的治疗与体重增加 - 一个对于疾病的长期治疗非常重要的问题 - 相关。因此，非常需要可以用于治疗肥胖、糖尿病和通常相关的疾病 (如心血管疾病和肝病) 的替代的、更有效的治疗剂。

[0236] 因此，在一种实施方式中，本发明涉及通过向个体施用本发明的化合物 (优选任何上述的 PPAR 调节剂，如 (Z)-6-((2S, 4S, 5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1, 3-二氧杂环己烷-5-基) 己-4-烯酸) 来同时治疗和 / 或预防肥胖和糖尿病，所述个体：

[0237] i. 患有肥胖和糖尿病，或

[0238] ii. 处于患糖尿病和肥胖的危险中，或

[0239] iii. 患有肥胖并处于患糖尿病的危险中，或

[0240] iv. 患有糖尿病并处于患肥胖的危险中。

[0241] 本发明也涉及本发明的化合物 (优选任何上述的 PPAR 调节剂，如 (Z)-6-((2S, 4S, 5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1, 3-二氧杂环己烷-5-基) 己-4-烯酸) 及所述化合物的盐和溶剂化物在制备用于同时治疗和 / 或预防肥胖和糖尿病的药物中的用途。所述化合物可以是上述的任何化合物，优选任何上述的 PPAR 调节剂，更优选式 IX、X、XI、XII、XIII 或 XIV 的任何化合物，如 (Z)-6-((2S, 4S, 5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1, 3-二氧杂环己烷-5-基) 己-4-烯酸。在本实施方式中，糖尿病优选是 II 型糖尿病。所述处于患糖尿病的危险中的个体可以是，例如，患有上述的代谢综合征的个体。所述处于患肥胖的危险中的个体可以是，例如，使用具有体重增加的副作用的抗糖尿病化合物进行医学治疗的个体。

[0242] 本发明也涉及任何上述的化合物、更优选式 IX、如式 X、例如式 XI、如式 XII、例如式 XIII 或如式 XIV 的任何化合物、如 (Z)-6-((2S, 4S, 5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1, 3-二氧杂环己烷-5-基) 己-4-烯酸及所述化合物的盐和溶剂化物在制备用于治疗或预防、优选治疗需要的个体中与血栓烷有关的临床病症的药物中的用途。所述临床病症可以是特征为血小板聚集、血管收缩和 / 或支气管收缩增加的临床病症。例如，所述临床

病症可以选自心肌梗塞、血栓症、血栓性疾病、支架引发的血栓形成、支架诱发的再狭窄、支架引发的增生、肺动脉高压、动脉粥样硬化、家族性高胆固醇血症、川崎病、室中隔缺损、IgA 肾病、肝肾综合征、肝纤维化、糖尿病肾病、视网膜病、糖尿病视网膜病、外周动脉疾病、下肢循环障碍、肺栓塞、血栓形成、增生、感染性休克、先兆子痫、哮喘、鼻炎、过敏性鼻炎、肿瘤血管生成和转移。与血栓烷 (TP) 有关的临床病症也可以选自心肌梗塞、心绞痛、不稳定心绞痛、中风、短暂性脑血管缺血、偏头痛、动脉粥样硬化、微血管病、高血压、凝血缺陷、华法林不足的病症 (warfarin sparing situations) (例如, 手术前)、肺栓塞、支气管哮喘、支气管炎、慢性支气管炎、肺炎、呼吸困难和肺气肿。在一种优选的实施方式中, 所述临床病症选自血栓症、肺动脉高压、糖尿病肾病、肾损伤延迟 (尤其是在糖尿病患者中)、视网膜病、外周动脉疾病、下肢循环障碍、血栓形成、支架引发的血栓形成、支架诱发的再狭窄、支架引发的增生、增生、感染性休克、先兆子痫、鼻炎、过敏性鼻炎、肿瘤血管生成和转移, 优选选自血栓症、肺动脉高压、糖尿病肾病、视网膜病、外周动脉疾病、下肢循环障碍、血栓形成和增生。耐受阿司匹林、氯吡格雷 (clopidogrel)、华法林和通过不同机制作用的其它类似药物的个体尤其从使用本文上述化合物的治疗中获益。此外, 个体可以是患有或处于患任何上述与 TP 有关的临床病症的危险中的个体, 优选地个体是患有或处于患任何上述与 TP 有关的临床病症的危险中的人, 甚至更优选地所述个体是除患有或处于患任何上述与 TP 有关的临床病症的危险外还患有糖尿病的人。

[0243] 在一种实施方式中, 本发明涉及个体的血栓症的治疗, 所述个体已经患有血栓症、遭受一种或多种血栓形成事件或正在遭受一种或多种血栓形成事件, 所述方法包括向所述个体施用任何上述化合物, 优选式 IX、X、XI、XII、XIII 或 XIV 的任何化合物, 如 (Z)-6-((2S, 4S, 5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸。

[0244] 本发明也涉及任何上述的特定化合物 (优选任何上述的化合物, 更优选式 IX、X、XI、XII、XIII 或 XIV 的任何化合物, 如 (Z)-6-((2S, 4S, 5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸) 用于制备治疗或预防临床病症的药物的用途。所述临床病症可以选自代谢综合征、血脂异常、肥胖、糖尿病、胰岛素抵抗或任何与上述胰岛素抵抗有关的病症、高血压、心血管疾病、冠状动脉再狭窄、自身免疫疾病 (如哮喘、多发性硬化、牛皮癣、局部皮炎和溃疡性结肠炎)、癌症、炎症、伤口愈合、脂类代谢疾病、肝病 (如丙型肝炎病毒感染或脂肪肝、肝脏炎症、肝损伤、肝硬化或肝后型癌症, 无论其是否与丙型肝炎病毒感染有关)、胃肠疾病或肾病 (如肾小球性肾炎、肾小球硬化症、肾病综合征或高血压肾硬化)、感染 (尤其是病毒感染)、认知功能障碍 (如神经疾病或痴呆)、多囊卵巢综合征、骨丢失 (如骨质疏松症) 和 AIDS。

[0245] 癌症可以是任何癌症, 例如以下癌症中的任何一种: 癌瘤、肉瘤、骨肉瘤、白血病和淋巴瘤; 肿瘤血管生成和转移; 骨骼发育异常; 肝脏疾病; 及造血和 / 或骨髓增生性疾病。示例性的疾病包括但不限于纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肪肉瘤、软骨肉瘤、骨源性肉瘤、脊索瘤、血管肉瘤、内皮肉瘤、淋巴管肉瘤、淋巴管内皮肉瘤、滑膜瘤、间皮瘤、尤文氏瘤、平滑肌肉瘤、横纹肌肉瘤、结肠癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、鳞状细胞癌、基底细胞癌、腺癌、汗腺瘤、皮脂腺癌、乳头状癌、乳头状腺癌、囊腺癌、髓样癌、支气管癌、肾细胞癌、肝细胞癌、胆管癌、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎性癌、肾母细胞瘤、子宫颈癌、睾丸瘤、肺癌、小细胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、胶质瘤、星形细胞瘤、髓母细胞瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤、松果体瘤、

成血管细胞瘤、听神经瘤、少突神经胶质瘤、脑膜瘤、黑素瘤、成神经细胞瘤或成视网膜细胞瘤。优选地,所述癌症是响应 PPAR γ 活化的上述癌症中的一种。

[0246] 心血管疾病可以是,例如,动脉粥样化形成、动脉粥样硬化或动脉粥样硬化性疾病、血管再狭窄、心肌病或心肌纤维化或任一种上述的心血管疾病。

[0247] 炎症可以是,例如,慢性炎症,优选任一种上述的慢性炎症。

[0248] 糖尿病指源自多种发病因素并且特征为血中葡萄糖水平升高或者高血糖的疾病过程。不受控制的高血糖与发病和死亡的增加和提前相关。已经确定了至少两种类型的糖尿病:(i) I 型糖尿病,或胰岛素依赖型糖尿病 (IDDM),其由胰岛素的完全缺乏引起,胰岛素是在正常生理条件下调节血糖利用的激素,和 (ii) II 型糖尿病,或非胰岛素依赖型糖尿病 (NIDDM)。NIDDM 是源自多种发病因素的复杂疾病,在一些病例中可以通过提高循环胰岛素水平而得到治疗

[0249] 药物制剂和给药方法

[0250] 根据本发明的方法和组合物,可以以取决于选择的给药方式的多种形式向哺乳动物施用本文所述的一种或多种化合物(优选上述的 PPAR 调节剂、TP 拮抗剂和 / 或 TS 抑制剂,如 (Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸),这是本领域的技术人员可以理解的。本发明的组合物可以口服、经鼻、局部、经肺给药或肠胃外给药,后一途径包括静脉内和皮下给药。肠胃外给药可以是在选定的时段内连续输注。

[0251] 注射用的形式包括无菌水溶液或分散体和用于即时制备无菌注射溶液或分散体的无菌粉末。在所有情况下,所述形式必须是无菌的且必须是达到易于注射的程度的流体。

[0252] 为了易于患者施用,优选口服或其它非侵入性的施用模式,例如,贴剂、栓剂等。化合物可以与惰性稀释剂或可吸收的可食用载体口服施用,或者它可以包封于硬壳或软壳的明胶胶囊中,压成片剂或直接掺入饮食中。对于口服治疗性施用,化合物可以与赋形剂混合,并以可吞咽的片剂、含片、锭剂、胶囊、酏剂、悬浮剂、糖浆剂、薄片剂 (wafer) 等形式使用。

[0253] 也可以以包含在称为脂质体的磷脂囊泡中的溶液或乳剂施用包含本发明的一种或多种化合物的组合物。脂质体可以是单层或多层的,且由选自磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰胆碱、胆固醇、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱及其组合的成分形成。多层脂质体包括与单层囊泡类似组成的多层囊泡,但经制备产生多个区室,溶液或乳剂形式的化合物封闭于这些区室中。另外,可以在脂质体制剂中包含其它辅剂和修饰剂,如聚乙二醇或其它材料。

[0254] 含有组合物的脂质体也可以具有修饰,例如为了靶向递送,具有固定于脂质体表面的抗体。

[0255] 本发明的一种实施方式是以适合体内施用的生物相容形式向受试者施用的药物组合物,用于治疗在上文的“临床病症”一节中描述的临床病症之一,所述方法包括安全有效量的单独的化合物或与其它药剂和 / 或药物载体的组合。例如,本发明的化合物可以与有效对抗血脂异常的药剂,如贝特类药物,例如苯扎贝特联用,用来治疗胰岛素抵抗和 / 或糖尿病。某些其它药剂的例子是胰岛素敏化剂、PPAR γ 激动剂、格列酮、曲格列酮、吡格列酮、恩格列酮、MCC-555、BRL 49653、双胍类、二甲双胍、苯乙双胍、胰岛素、胰岛素模拟物、磺

脲类、甲苯磺丁脲、格列吡嗪、 α -葡萄糖苷酶抑制剂、阿卡波糖、降胆固醇药、HMG-CoA 还原酶抑制剂、洛伐他汀、辛伐他汀、普伐他汀、氟伐他汀、阿托伐他汀、西伐他汀、其它他汀类、螯合剂 (sequestrates)、考来烯胺、考来替泊、交联葡聚糖的二烷基氨基烷基衍生物、烟醇、烟酸、烟酸盐、PPAR α 激动剂、非诺贝酸衍生物、吉非贝齐、氯贝丁酯、非诺贝特、胆固醇吸收抑制剂、 β -谷甾醇、酰基 CoA :胆固醇酰基转移酶抑制剂、甲亚油酰氨、普罗布考、PPAR δ 激动剂、抗肥胖化合物、芬氟拉明、右芬氟拉明、非尼拉敏 (phentiramine)、西布曲明 (sulbitramine)、奥利司他、神经肽 Y5 抑制剂、 β_3 肾上腺素能受体激动剂和回肠胆汁酸转运体抑制剂。

[0256] 可以向需要这种治疗的包括人和动物的任何活生物体施用组合物,因为本组合物具有体内效力。本文所用的安全有效,意思是提供足够的效力,以减少、防止、改善或治疗影响受试者的疾病,同时避免严重的副作用。安全有效的量取决于受试者的年龄、所治疗的受试者的身体状况、疾病的严重性、治疗的持续时间和任何平行治疗的性质而变化,其确定在普通医师的能力范围之内。通过与本文所述相同的普通方式配制和施用组合物。可以单独地或与一种或多种另外的有效药剂联合地有效使用本发明的化合物。联合治疗包括施用单一的药剂剂量组合物,该组合物包含本发明的化合物和一种或多种另外的有效药剂,以及包括以其自身的独立药剂剂量施用本发明的化合物和各种活性药剂。例如,可以以单一口服剂量组合物如胶囊或片剂向患者一起施用本发明的化合物和胰岛素促分泌素,如磺酰脲类、噻唑烷二酮类、双胍类、美格列奈、胰岛素或 β -葡萄糖苷酶抑制剂,或者以独立的口服剂量施用每种药剂。当使用独立的剂量时,可以在基本上相同的时间,即同时,或在分别交错的时间,即顺序地,施用本发明的化合物和一种或多种另外的活性药剂;联合治疗理解为包括所有这些方案。

[0257] 本发明的药物组合物的治疗活性量也可以根据如受试者的疾病状态、年龄、性别和体重和化合物在受试者中引起需要的响应的能力等因素而变化。可以调整剂量方案以提供最佳的治疗响应。例如,可以每日施用几个分开的剂量,或者剂量可以按照治疗情况的紧急程度的指示成比例地减少。

[0258] 大约 0.01mg/kg 的剂量可能是对于哺乳动物的合适的初始剂量,且可以按需要调整该剂量,以提供安全有效的量。因此,剂量在开始时典型地是 0.01-100mg/kg,如 0.1-50mg/kg,优选 0.1-10mg/kg,优选 0.5-5mg/kg,更优选 1-5mg/kg。对于成年人,剂量一般是 0.01-20mg/kg,优选 0.1-10mg/kg,更优选 0.5-5mg/kg,如 1-200mg 总量,例如总量 1-125mg,例如总量 5mg,优选每日施用一次或两次。

[0259] 本文所用的药学上可接受的载体,意思是当向受试者施用时,一种或多种可相容的固体或液体递送系统具有无害的生理反应。一些例子包括,但不限于,用于药物制剂的淀粉、糖、纤维素及其衍生物、粉末黄芪胶、麦芽、明胶、胶原、滑石粉、硬脂酸、硬脂酸镁、硫酸钙、植物油、多元醇、琼脂、藻酸、无热原的水、等渗盐水、磷酸盐缓冲液和其它合适的无毒性物质。也考虑其它赋形剂,如润湿剂和润滑剂、制片剂 (tableting agents)、稳定剂、抗氧化剂和防腐剂。

[0260] 可以通过用于制备可向受试者施用的药学上可接受的组合物的已知方法制备本文所述的组合物,使得有效量的化合物或类似物在混合物中与药学上可接受的载体组合。合适的载体如 Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company,

Easton, PA, USA, 1985) 所述。在此基础上,即使不是专门地,组合物也可包括与一种或多种药学上可接受的载体或稀释剂结合并包含在具有合适的 pH 和与生理性液体等渗的缓冲溶液中的化合物的溶液。

[0261] 在本发明的一种优选的实施方式中,将本发明的化合物(优选 PPAR 调节剂、TP 受体拮抗剂和 / 或 TS 抑制剂),如式 IX 的任何化合物、例如式 X 的任何化合物、如式 XI 的任何化合物、例如式 XII 的任何化合物、如式 XIII 的任何化合物、如式 XIV 的任何化合物、例如 (Z)-6-((2S, 4S, 5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸,与合适的药学上可接受的赋形剂、稀释剂或载体、尤其是与适于即时、延迟、改变、持续、双重、控制释放或脉冲式递送所述化合物的药物赋形剂、稀释剂或载体混合来施用。

[0262] 例如,可以以片剂、胶囊(包括软凝胶胶囊)、卵状小体(ovules)、酏剂、溶液或悬浮剂的形式口服地、口腔含服地或舌下施用用于本发明的化合物,这些形式中可以包含用于即时、延迟、改变、持续、双重、控制释放或脉冲式递送应用的调味剂或着色剂。也可以经快速分散或快速溶解的剂型施用本发明的化合物。在本发明的一种优选的实施方式中,本发明的化合物(优选 PPAR 调节剂、TP 受体拮抗剂和 / 或 TS 抑制剂),如式 IX 的任何化合物、例如式 X 的任何化合物、如式 XI 的任何化合物、例如式 XII 的任何化合物、如式 XIII 的任何化合物、如式 XIV 的任何化合物、例如 (Z)-6-((2S, 4S, 5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸,在用于延迟、改变、持续或控制释放的药物组合物中施用。

[0263] 延迟释放、改变性释放、持续释放或控制释放剂型可以包含上述赋形剂,以及另外的作为释放速度调节剂发挥作用的赋形剂,这些赋形剂涂覆在制剂体上和 / 或包含在制剂体中。释放速度调节剂包括,但不仅仅限于,羟丙甲基纤维素、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、乙基纤维素、乙酸纤维素、聚环氧乙烷、黄原胶、卡波姆、铵基甲基丙烯酸共聚物、氢化蓖麻油、巴西棕榈蜡、石蜡、邻苯二甲酸乙酸纤维素、羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯、甲基丙烯酸共聚物、聚氧乙烯蓖麻油(cremophor)、玉米油甘油酯、丙二醇及其混合物。改性释放和控制释放剂型可以包含一种或组合的释放速度调节赋形剂。释放速度调节赋形剂可以存在于剂型中,即,基质中,和 / 或存在于剂型上,即,在表面或包衣上。

[0264] 除了上述制剂,还可进一步以通过如 Remington :The Science and Practice of Pharmacy 1995, E. W. Martin 编著, Mack Publishing Company, 第 19 版, Easton, Pa 描述的常规技术制备含有用于本发明的化合物的药物。

[0265] 下面的实施例描述本发明的具体方面,以说明本发明,它们不应理解为限制本发明,因为这些实施例仅提供了用于本发明的理解和实践的具体的方法。

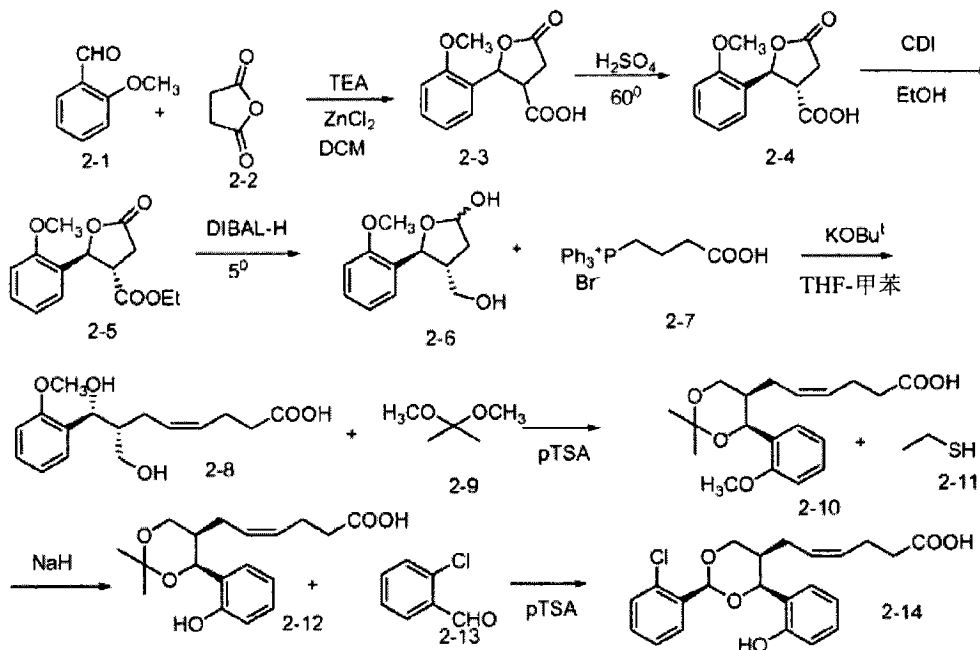
实施例

[0266] 实施例 1 : (Z)-6-(2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸的合成

[0267] 本实施例描述了根据路线 2 合成 (Z)-6-[(2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)]己-4-烯酸,在此也称为 DPD(表 II 的 SN1)。

[0268] 路线 2

[0269]



[0270] 作为顺式 / 反式混合物的外消旋 2- 甲氧基 - 仲康酸 (2-3) 的合成 : 在 20L 的双夹套玻璃反应器中加入 260g 邻甲氧基苯甲醛、286g 琥珀酐、572g 无水氯化锌和 2600mL 无水 DCM。搅拌混合物, 并冷却至 2℃。在 30 分钟的时间里加入 533mL 三乙胺。然后将混合物在室温下搅拌 24 小时。加入 1690mL 的 2M HCl, 接着加入 2600mL 乙酸乙酯。剧烈搅拌混合物 5 分钟。用 2000mL 乙酸乙酯萃取水相。用 650mL 饱和盐水洗涤合并的有机萃取物, 接着用 3×2600mL 饱和碳酸氢钠洗涤。然后用乙酸乙酯洗涤合并的水性提取物。使用浓 HCl 酸化水性提取物至 pH 2。分离黄色油。使用 2000mL 乙酸乙酯萃取混合物两次。用 1000mL 盐水洗涤有机相 4 次, 并采用 45℃ 的加热水浴温度用 Buchi R220 旋转蒸发仪 (rotavap) 蒸发。向残留物加入 4000mL 甲苯。加热混合物至 110℃。蒸馏出 1L 甲苯。让剩余物冷却至室温, 并静置 48 小时, 在此期间, 纯的 2- 甲氧基 - 仲康酸结晶出来。收集结晶物质, 过滤并在真空炉中 45℃ 真空干燥至恒重。

[0271] 产量 : 220g (49%)。顺式 / 反式比例 : 46/54

[0272] 顺式和反式外消旋甲氧基仲康酸向全反式 2- 甲氧基 - 仲康酸 (2-4) 的转化 : 向 1729mL 浓硫酸和 2570mL 水的混合物中加入 1020g 甲氧基仲康酸。在室温下搅拌混合物 18 小时。获得 33 : 64 的顺式 / 反式比例。然后加热混合物至 60℃ 持续 2.5 小时。获得 11 : 89 的顺式 / 反式比例 (通过 HPLC 分析)。使混合物冷却至室温, 并随后过滤。固体物质再溶解于乙酸乙酯中, 并用水和盐水洗涤。经 MgSO₄ 干燥有机层, 并蒸发。观察到 6 : 94 的顺式 / 反式比例。从热甲苯中重结晶固体物质。在 40℃ 下真空干燥获得的结晶物质 48 小时。

[0273] 产量 : 885g (84%)。顺式 / 反式比例 : 8/92。熔点 : 132-133℃

[0274] NMR (CDCl₃, 300MHz) : 2.9 (2H, d), 3.4 (1H, m), 3.83 (3H, s), 5.85 (1H, d), 6.8-7.4 (4H, m)。

[0275] 外消旋甲氧基仲康酸 (2-5) 的酯化 : 将 193g 甲氧基仲康酸溶于 600mL THF 中。向混合物加入 145g CDI (899 毫摩尔, 1.1 当量), 并搅拌混合物 10 分钟。加入 65mL 无水乙醇

(或者甲醇,以制备甲酯),搅拌混合物直至完全(~120分钟)。使用乙酸乙酯和饱和碳酸氢钠萃取粗反应混合物。用0.5N HCl和盐水洗涤有机相。蒸发后,获得188g需要的乙酯。

[0276] 外消旋甲氧基仲康酸乙酯(2-6)的还原:外消旋内半缩醛(lactol)的制备:5℃下,向700mL甲苯中的105g乙酯(397毫摩尔)加入3当量的DIBAL-H(1.19摩尔,1.19L 1M溶液)。室温下搅拌混合物60分钟,并用甲醇淬灭。加入乙酸乙酯(2.5L)和水(700mL)。相分离后,再次用EtOAc萃取水相。接着用盐水洗涤有机层,过滤并蒸发。从氯仿/己烷重结晶得到油状残余物。过滤固体并真空干燥。

[0277] 产量:53g(237毫摩尔,59%)。

[0278] 使用外消旋内半缩醛的维悌希反应-外消旋二醇(2-8)的合成:在80℃下,混合191g羧丙基三苯基溴化磷、1000mL无水甲苯和100g叔丁醇钾30分钟。冷却混合物至室温。缓慢加入预溶解于180mL无水THF的25g纯化的外消旋内半缩醛(114.5mmol)。持续反应60分钟。将粗反应混合物倒入1500mL冰水中,加入300mL乙酸乙酯。用300mL乙酸乙酯再萃取水相。接着用2N HCl酸化水相,使用300mL乙酸乙酯提取3次。过滤出已经形成的固体。蒸发有机相。向蒸发后的残留物加入500mL二乙醚。使烧瓶旋转10分钟,并过滤出固体。用饱和的碳酸氢钠溶液萃取滤液3次。使用2M HCl酸化水相至pH 4。接着采用200mL乙酸乙酯萃取水相3次。合并有机相,经MgSO₄干燥,蒸发后产生45g物质。

[0279] 柱色谱:经硅胶(35cm柱长,4cm直径)纯化外消旋的二醇。将外消旋的二醇溶于最小量的乙酸乙酯中,并加至柱上。向量筒中加入1L乙酸乙酯(60%)/己烷(40%)。从量筒取出300mL乙酸乙酯/己烷,并加至柱中。使用乙酸乙酯稀释量筒中剩余的700mL乙酸乙酯/己烷至1L。接着向柱上加入300mL新的乙酸乙酯/己烷溶液,并使之过柱。使用乙酸乙酯再次稀释量筒中剩余的700mL乙酸乙酯/己烷至1L。接着向柱上加入300mL新的乙酸乙酯/己烷溶液,并使之过柱。使用乙酸乙酯再一次稀释量筒中剩余的700mL乙酸乙酯/己烷至1L。接着向柱上加入300mL新的乙酸乙酯/己烷溶液,然后加至柱上。收集纯的外消旋二醇的部分,并蒸发,产生26g纯的外消旋的二醇。

[0280] 产量:26g(88.3毫摩尔,79%)。

[0281] 外消旋的二醇向外消旋丙酮化合物(acetonide)(2-10)的转化:将26g(88毫摩尔)纯化的二醇与260mL二甲氧基丙烷和26mg p-TsOH混合。在室温下搅拌混合物过夜。加入3滴三乙胺,并蒸发混合物。向剩余的残留物加入150mL己烷,并搅拌混合物过夜。过滤出固体,并干燥,产生25g(75毫摩尔)外消旋的丙酮化合物。

[0282] 产率:85%

[0283] 外消旋丙酮化合物的脱甲基化(2-12):通过将16.7g乙硫醇加入到含有21.5g NaH的375mL DMPU的混合物中制备氢化钠和乙硫醇的悬浮液。将悬浮液加热到80℃,并使之冷却到室温。

[0284] 将15g外消旋丙酮化合物溶于75mL DMPU,并加到EtSH/NaH的悬浮液中。在130℃下加热混合物2小时。然后将反应混合物倒入冰水中,并用DCM萃取。使用2N HCl酸化水层,并用乙酸乙酯萃取。用盐水洗涤有机层,并蒸发至干。

[0285] 产量:16.5g(粗品)

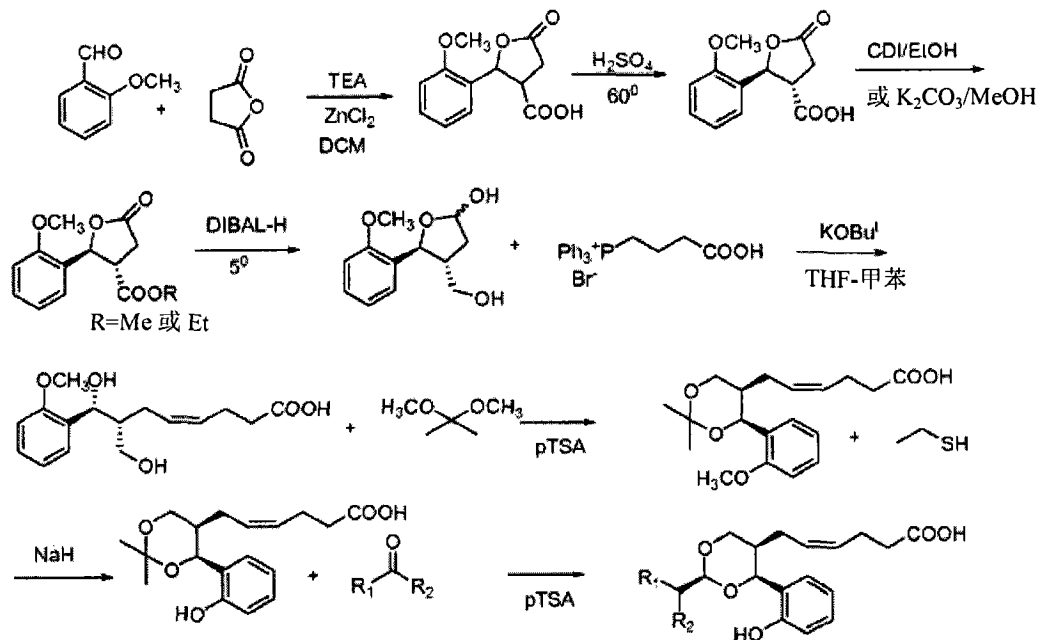
[0286] 外消旋的最终化合物(2-14)的制备:将28mmol脱甲基化的外消旋丙酮化合物与15mL 2-氯苯甲醛、0.5g p-TsOH和60mL甲苯混合。搅拌混合物24小时,并蒸发。利用

Biotage **Horizon®** 色谱仪通过硅胶色谱法纯化粗反应混合物。使用 DCM(19)/ 甲醇 (1) 纯化混合物, 蒸发后产生 6.5g 固体。

[0287] 产量: 6.5g (16.7 毫摩尔, 59%)

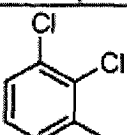
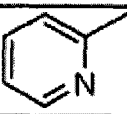
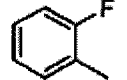
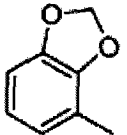
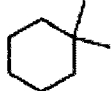
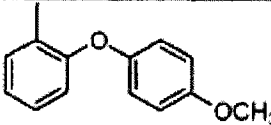
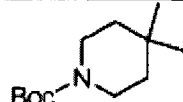
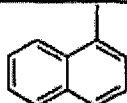
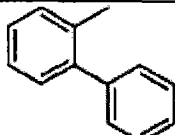
[0288] 路线 3: 表 I (和表 II) 所述的 PPAR 调节剂的合成路线

[0289]

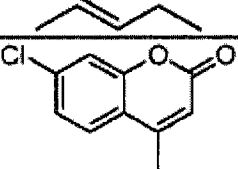
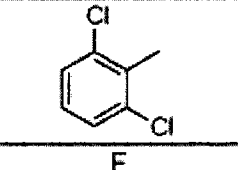
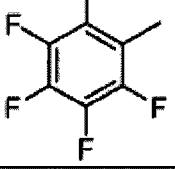
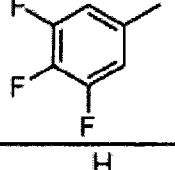
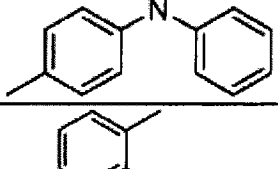
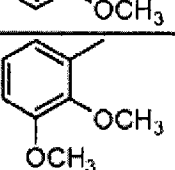
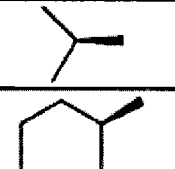
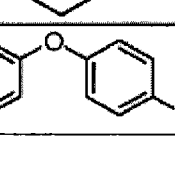
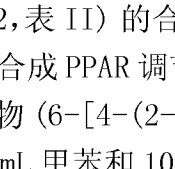
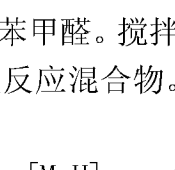
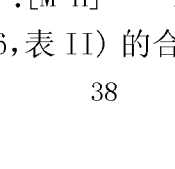


[0290] 表 I

[0291]

R_1	R_2
	H
	H
	H
	H
	
	H
	
	H
	H
	H

[0292]

	H
	H
	H
	H
	H
	H
	H
	H
	H
	H
	H

[0293] 实施例 2 :PPAR 调节剂 2 (SN2, 表 II) 的合成

[0294] 本实施例描述了根据路线 3 合成 PPAR 调节剂 2 (SN2, 表 II)。将 100mg (0.31 毫摩尔) 实施例 1 所述的外消旋丙酮化合物 (6-[4-(2-羟苯基)-2,2-二甲基-[1,3]二氧杂环己烷-5-基]-己-4-烯酸) 2-12 与 1mL 甲苯和 10mg 对甲苯磺酸混合。向混合物加入 2 当量 (0.62 毫摩尔, 108mg) 的 2,3-二氯苯甲醛。搅拌混合物 24 小时, 并使用氮气流蒸发。使用甲醇 (1)/DCM (19) 经硅胶柱纯化粗反应混合物。通过 TLC 鉴定、收集、蒸发并通过 HPLC 和质谱法分析纯的部分。

[0295] 质谱 (电喷雾、负离子模式): $[M-H]^- = 435$

[0296] 实施例 3 :PPAR 调节剂 6 (SN6, 表 II) 的合成

[0297] 本实施例描述了根据路线 3 合成 PPAR 调节剂 6 (SN6, 表 II)。将 100mg (0.31 毫摩尔) 外消旋丙酮化合物与 1mL 甲苯和 10mg 对甲苯磺酸混合。向混合物加入 2 当量 (0.62 毫摩尔, 70mg) 的环己酮。搅拌混合物 24 小时, 并使用氮气流蒸发。使用甲醇 (1)/DCM (19) 经硅胶柱纯化粗反应混合物。通过 TLC 鉴定纯的部分、并收集、蒸发和通过 HPLC 和质谱法分析纯的部分。

[0298] 质谱 (电喷雾、负离子模式): $[M-H]^- = 359$

[0299] 实施例 4: PPAR 调节剂 8 (SN8, 表 II) 的合成

[0300] 本实施例描述了根据路线 3 合成 PPAR 调节剂 8 (SN8, 表 II)。

[0301] N-Boc-4-氧代哌啶的制备: 将 2g 4-氧代哌啶溶于 20mL 二氧杂环己烷 / 水中。向混合物加入 2 当量碳酸氢钠、接着加入 1.0 当量 Boc_2O 。搅拌混合物 4 小时。加入乙酸乙酯 (100mL)。使用 0.2N HCl 和盐水洗涤有机相两次。接着有机相经硫酸镁干燥, 并蒸发产生结晶的黄色油。将 100mg (0.31 毫摩尔) 外消旋丙酮化合物与 1mL 甲苯和 10mg 对甲苯磺酸混合。向混合物加入 2 当量 (0.62 毫摩尔) 的 N-Boc-4-氧代哌啶。搅拌混合物 24 小时, 并使用氮气流蒸发。使用甲醇 (1)/DCM (19) 经微型硅胶柱纯化粗反应混合物。通过 TLC 鉴定纯的部分、并收集、蒸发和通过 HPLC 和质谱法分析纯的部分。

[0302] 质谱 (电喷雾、负离子模式): $[M-H]^- = 460$

[0303] 用包括仍然存在于螺哌啶环上的 Boc 保护基的反应产物进行下文所述的生物学分析。

[0304] 实施例 5: PPAR 调节剂 9 (SN9, 表 II) 的合成

[0305] 本实施例描述了根据路线 3 合成 PPAR 调节剂 9 (SN9, 表 II)。

[0306] 1-萘甲醛的制备: 将 3.87mL 草酰氯 (44.24 毫摩尔) 溶于 100mL DCM 中。冷却混合物至 -60°C 。使用注射器逐滴加入 5.6mL DMSO。搅拌混合物 15 分钟。逐滴加入 5g 萘-1-甲醇在 75mL DCM 中的溶液。在 -60°C 下持续反应 1 小时。加入 20mL 三乙胺。使混合物达到 15°C 。将混合物转移到分液漏斗中, 并用水、1M HCl、水和盐水洗涤。接着有机相经硫酸镁干燥, 并蒸发。粗产物的纯度足以在下一步中无需进一步纯化而使用。

[0307] 将 100mg (0.31 毫摩尔) 根据实施例 1 制备的外消旋丙酮化合物 (上述的 2-12) 与 1mL 甲苯和 10mg 对甲苯磺酸混合。向混合物加入 2 当量 (0.62 毫摩尔, 97mg) 1-萘甲醛。搅拌混合物 24 小时, 并使用氮气流蒸发。使用甲醇 (1)/DCM (19) 经硅胶柱纯化粗反应混合物。通过 TLC 鉴定纯的部分、并收集、蒸发和通过 HPLC 和质谱法分析纯的部分。

[0308] 质谱 (电喷雾、负离子模式): $[M-H]^- = 417$

[0309] 实施例 6: PPAR 调节剂 11 (SN11, 表 II) 的合成

[0310] 本实施例描述了根据路线 3 合成 PPAR 调节剂 11 (SN11, 表 II)。

[0311] 将 100mg (0.31 毫摩尔) 外消旋丙酮化合物 (来自实施例 1 的 2-12) 与 1mL 甲苯和 10mg 对甲苯磺酸混合。向混合物加入 2 当量 (0.62 毫摩尔, 62mg) 己醛。搅拌混合物 24 小时, 并使用氮气流蒸发。使用甲醇 (1)/DCM (19) 经硅胶柱纯化粗反应混合物。通过 TLC 鉴定纯的部分、并收集、蒸发和通过 HPLC 和质谱法分析纯的部分。

[0312] 质谱 (电喷雾、负离子模式): $[M-H]^- = 361$

[0313] 实施例 7: PPAR 调节剂 13 (SN13, 表 II) 的合成

[0314] 本实施例描述了根据路线 3 合成 PPAR 调节剂 13 (SN13, 表 II)。

[0315] 将 100mg (0.31 毫摩尔) 外消旋丙酮化合物与 1mL 甲苯和 10mg 对甲苯磺酸混合。向混合物加入 2 当量 (0.62 毫摩尔, 130mg) 邻-2-氧-4a,8a-二氢-2H-色烯-4-甲醛。搅拌混合物 24 小时, 并使用氮气流蒸发。使用甲醇 (1)/DCM (19) 经微型硅胶柱纯化粗反应混合物。通过 TLC 鉴定纯的部分、并收集、蒸发和通过 HPLC 和质谱法分析纯的部分。

[0316] 质谱 (电喷雾、负离子模式): $[M-H]^- = 469$

[0317] 实施例 8: PPAR 调节剂 19 (SN19, 表 II) 的合成

[0318] 本实施例描述了根据路线 3 合成 PPAR 调节剂 19 (SN19, 表 II)。

[0319] 将 100mg (0.31 毫摩尔) 外消旋丙酮化合物与 1mL 甲苯和 10mg 对甲苯磺酸混合。向混合物加入 2 当量 (0.62 毫摩尔, 103mg) 2,3-二甲氧基苯甲醛。搅拌混合物 24 小时, 并使用氮气流蒸发。使用甲醇 (1)/DCM (19) 经硅胶柱纯化粗反应混合物。通过 TLC 鉴定纯的部分、并收集、蒸发和通过 HPLC 和质谱法分析纯的部分。

[0320] HPLC: 保留时间 (梯度 A): 15.23、15.39 分钟, 95% (同分异构体 1 : 1 混合物的总和)

[0321] 质谱 (电喷雾、负离子模式): $[M-H]^- = 427.2$

[0322] 实施例 9: PPAR 调节剂 14 (SN14, 表 II) 的合成

[0323] 本实施例描述了根据路线 3 合成 PPAR 调节剂 14 (SN14, 表 II)。

[0324] 向在室温下搅拌的二醇 (0.08g, 0.27 毫摩尔) 的 DCM (10mL) 溶液中加入 2,6-二氯苯甲醛 (0.07g, 0.40 毫摩尔) 和 pTSA (3mg)。搅拌反应混合物 8 小时, 并在真空浓缩之前用三乙胺 (2-3 滴) 淬灭。通过硅胶柱色谱法纯化残留物, 用己烷/EtOAc (8 : 2) 洗脱, 产生无色油状的缩醛 (100mg, 45% 产率)。

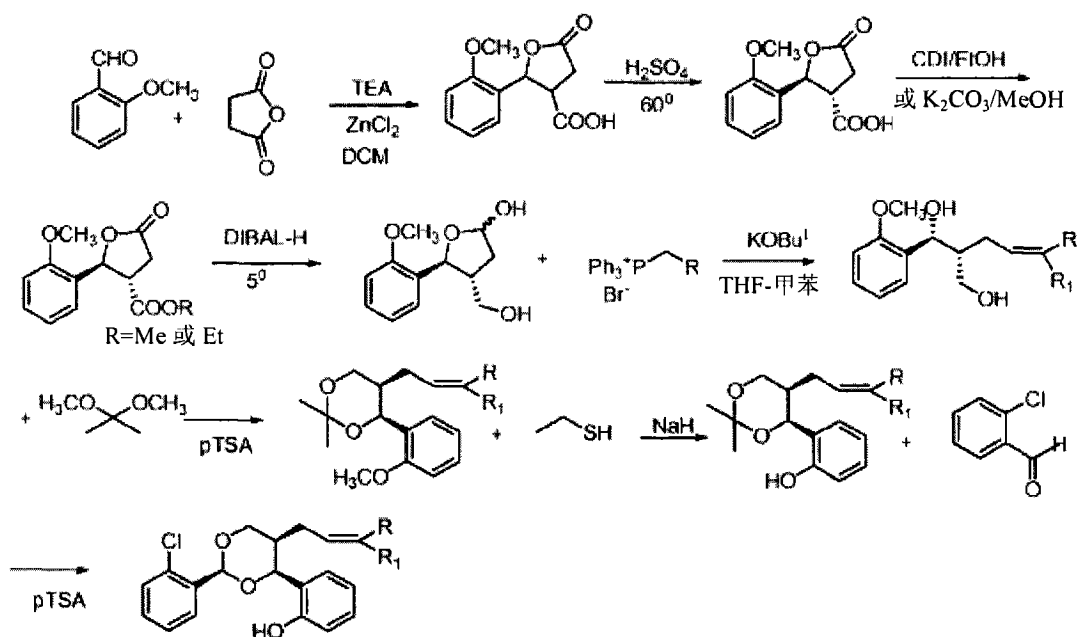
[0325] $^1\text{H NMR}$ (200MHz, CDCl_3): δ 7.55 (d, 1H, $J = 7.8\text{Hz}$), 7.37-7.13 (m, 4H), 7.00 (t, 1H, $J = 7.8\text{Hz}$), 6.87 (d, 1H, $J = 7.8\text{Hz}$), 6.46 (s, 1H), 5.51-5.15 (m, 3H), 4.24-4.14 (m, 2H), 3.84 (s, 3H), 2.99-2.81 (m, 1H), 2.40-2.27 (m, 4H), 1.93-1.87 (bd, 1H, $J = 10.9\text{Hz}$), 1.73-1.67 (bd, 1H, $J = 10.9\text{Hz}$)。MS: 450 (M^+)

[0326] 实施例 10: PPAR 调节剂 15 (SN15, 表 II) 的合成

[0327] 本实施例描述了根据路线 3 合成 PPAR 调节剂 15 (SN15, 表 II)。将来自实施例 1、路线-2 的化合物 2-12 (100mg, 0.31 毫摩尔) 溶于 THF (5mL) 中, 并在室温下加入催化量的 pTsOH (5mg)。室温下持续搅拌反应混合物 8 小时。向反应物质中加 2,3,4,5,6-五氟苯甲醛 (158mg, 0.62 毫摩尔); 再次加入催化量的 pTsOH。再维持反应条件 24 小时。反应完成后, 加入干 Et_3N 以调节至 $\text{pH} = 7$ 。真空下除去溶剂, 通过柱色谱纯化产生的粗混合物, 获得最终产物 15。

[0328] 路线 4: 表 III (和表 II) 所述的化合物的合成路径

[0329]



[0330] 表 III

[0331]

	R	R ₁
		H
		H
	H	COOH
		H

[0332] 实施例 11 :PPAR 调节剂 23 (SN23, 表 II) 的合成

[0333] 本实施例描述了根据路线 4 合成 PPAR 调节剂 23 (SN23, 表 II)。

[0334] 维悌希反应 :将 10g (22.56 毫摩尔) BrPPh₃(CH₂)₄CO₂H 与 60mL 干甲苯中的 5.06g (45 毫摩尔) KOtBu 混合。加热混合物至 80℃ 进行 30 分钟,并使之冷却至室温。加入 10mL 无水 THF 中的 1.26g 外消旋内半缩醛,并持续反应 2 小时。程序如同路线 2 的 2-8 的制备。

[0335] 产量 :3.3g (粗品,在下一步骤中使用)。

[0336] 丙酮化合物的制备 :将在前述步骤获得的二醇溶于 40mL 二甲氧基丙烷。加入 25mg p-TsOH,并搅拌反应物 24 小时。加入一滴三乙胺,并蒸发混合物。经小型硅胶柱过滤粗混合物。

[0337] 产量 :1.6g

[0338] 丙酮化合物的脱甲基化 :将 1.91mL 乙硫醇 (25.83 毫摩尔) 与 50mL DMPU 混合。加入 51.7 毫摩尔 NaH (2.06g, 在油中的 60% 分散液),并将混合物加热到 80℃ 进行 30 分钟。冷却混合物到室温。加入 1.5g 丙酮化合物 (4.3 毫摩尔) 在 7.5mL DMPU 中的溶液,并在 125℃ 下搅拌混合物 2 小时。将粗混合物倒入冰水中,并用 2×50mL DCM 萃取。使用 2N HCl 酸化水相,接着用 EtOAc 萃取,并最终用盐水洗涤。蒸发有机相,产生 1.6g 羟基丙酮化合物。

[0339] 与 2-氯苯甲醛的反应 :将羟基丙酮化合物 (1.6g, 粗品) 与 2mL 的 2-氯苯甲醛、

8mL 无水甲苯和 50mg pTsOH 混合。搅拌混合物 24 小时,蒸发并通过硅胶柱色谱纯化。

[0340] 质谱(电喷雾、负离子模式): $[M-H]^- = 415$

[0341] 实施例 12:PPAR 调节剂 17(SN17,表 II)的合成

[0342] 本实施例描述了根据路线 4 合成 PPAR 调节剂 17(SN17,表 II)。

[0343] 将 100mg(0.31 毫摩尔)外消旋丙酮化合物与 1mL 甲苯和 10mg 对甲苯磺酸混合。向混合物加入 2 当量(0.62 毫摩尔,122mg)4-苯基氨基苯甲醛。搅拌混合物 24 小时,并使用氮气流蒸发。使用甲醇(1)/DCM(19),经微型硅胶柱纯化粗反应混合物。对纯的部分通过 TLC 鉴定、收集、蒸发并通过 HPLC 和质谱法分析。

[0344] 邻甲氧基仲康酸甲酯的合成:

[0345] a) 向搅拌的酸(5g,21.18 毫摩尔)的干 DMF(150mL)溶液中加入 K_2CO_3 (29.2g,211.8 毫摩尔),接着在 0℃下加入甲基碘(6.01g,42.3 毫摩尔),并在室温下搅拌反应混合物 5 小时。用水(10mL)稀释反应混合物,DCM(30mL),并分离有机层。用 DCM(2×15mL)萃取水层,并用盐水(2×20mL)洗涤合并的有机层,经 Na_2SO_4 干燥,并真空蒸发以获得酯,其纯度足以用于进一步的反应。(产量:4.34g,81.9%)

[0346] b) 在 0℃下,向搅拌的酸 5(10g,42.3 毫摩尔)的干乙醚(60mL)溶液中加入新鲜制备的重氮甲烷溶液(200mL 溶液,由 10g 亚硝基甲脒产生),并在室温下搅拌 30 分钟。起始物质完全消失后,蒸发醚以得到酯 6,其可无需纯化用于进一步反应。(产量:9.8g,98%)。黄色粘性油

[0347] 1H NMR($CDCl_3$,200MHz): δ 7.38–7.22(2H, m),6.94–6.82(m, 2H),5.79(d, $J = 6.2$ Hz, 1H),3.36–3.24(m, 1H),2.9–2.8(m, 2H)。

[0348] 实施例 13:PPAR 调节剂 34(SN34,表 II)的合成

[0349] 本实施例描述了 PPAR 调节剂 34(SN34,表 II)的合成。

[0350] 氮气中,在催化性对甲苯磺酸(~ 5 mg)的存在下,搅拌二醇 7(0.4g,1.36 毫摩尔)和氯苯甲醛二甲基缩醛(0.28g,1.63 毫摩尔)在干甲苯(2mL)中的混合物过夜。起始物质完全消失后,用固体 $NaHCO_3$ 中和反应混合物;从反应混合物倒出溶液,并用旋转式蒸发器浓缩。经柱色谱纯化粗产物,产生亚苄基缩醛(benzylideneacetal)。

[0351] 产量:0.31g(59%)

[0352] 1H NMR($CDCl_3$,200MHz): δ 7.82(d, $J = 7.8$ Hz, 1H),7.42(d, $J = 7.8$ Hz, 1H),7.38–7.2(m, 3H),6.87(t, $J = 7.8$ Hz, 1H),6.82(d, $J = 8.6$ Hz, 1H),6.05(s, 1H),5.72(d, $J = 15.6$ Hz, 1H),5.45(d, $J = 2.3$ Hz, 1H),4.21(t, $J = 15.6$ Hz, 2H),4.1(q, $J = 7.0$ Hz, 2H),3.83(s, 3H),2.68–2.56(m, 1H),1.29(t, $J = 7.0$ Hz, 3H)。

[0353] 向该化合物(0.2g,0.48 毫摩尔)在 THF : H_2O (4mL,3 : 1)中的溶液中加入 LiOH. H_2O (0.3g,7.15 毫摩尔)、甲醇(0.5mL),并在室温下搅拌过夜。用 $NaHSO_4$ 的饱和水溶液中和反应混合物,并用 DCM(2×10mL)萃取。用盐水(10mL)洗涤合并的有机层,在旋转蒸发仪(rotavapour)上蒸发,并经柱色谱纯化粗产物。

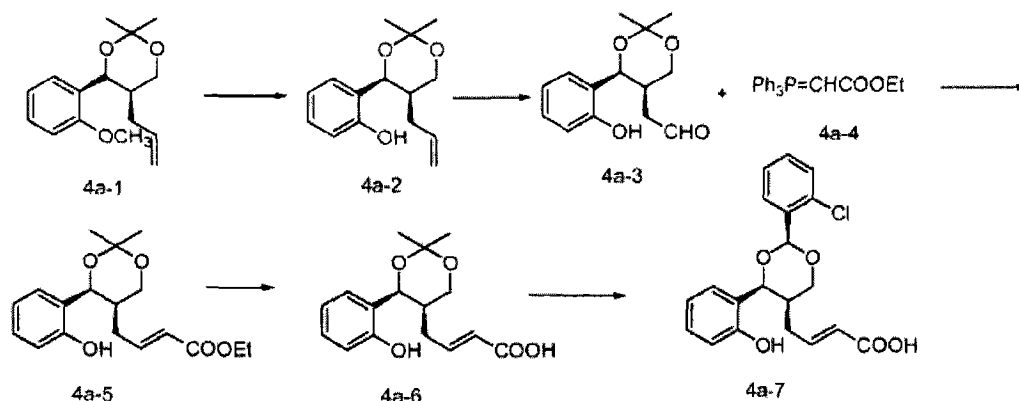
[0354] 产量:95mg(51%)

[0355] 1H NMR($CDCl_3$,200MHz): δ 7.83(d, $J = 7.5$ Hz, 1H),7.32(m, 1H),7.2(t, $J = 7.5$ Hz, 1H),6.87(d, $J = 8.5$ Hz, 1H),6.9(t, $J = 7.5, 6.6$ Hz, 1H),6.69(m, 1H),6.06(s, 1H),5.67(d, $J = 16.1$ Hz, 1H),5.42(s, 1H),4.18(dd, $J = 11.32$ Hz, 2H),3.84(s, 3H),2.58(m, 1H),

2. 09 (m, 2H)。MS :411 (M+Na)⁺

[0356] 路线 -4a :

[0357]



[0358] 实施例 14 :PPAR 调节剂 25 (SN25, 表 II) 的合成

[0359] 本实施例描述了表 II 的 PPAR 调节剂 25 的合成。

[0360] 在 0-5℃ 下, 向搅拌的 NaH (0.38g, 9.5 毫摩尔) 在干 DMF (8mL) 中的悬浮液 (60%, 悬浮于油中) 加入乙硫醇 (0.7mL, 9.5 毫摩尔), 并搅拌 20-30 分钟。保持温度的条件下向上述混合物缓慢逐滴加入干 DMF (2mL) 中的化合物 4a-1 (0.25g, 0.95 毫摩尔)。将反应物的温度升高到 120-130℃, 并维持 6-8 小时。反应完成后, 物质冷却到 0-5℃, 并用 1N HCl (1mL) 通过调整至 pH 4-5 来淬灭。用乙酸乙酯 (3×10mL) 萃取化合物, 并分离水相。收集合并的有机部分, 用盐水洗涤, 经硫酸钠 (2g) 干燥并真空浓缩。通过柱色谱纯化粗产物 (用 2.5 : 7.5 的乙酸乙酯 : 己烷洗脱), 获得纯的 4a-2。

[0361] 产量 :155mg (65.6%)

[0362] 将化合物 4a-2 (0.15g, 0.6 毫摩尔) 溶于比例为 8 : 2 的丙酮和水的混合物 (10mL)。向上述混合物加入 OsO₄ (催化量, 0.05M) 和 NMO (0.14g, 1.2 毫摩尔), 并保持在室温下搅拌 8-10 小时。通过 TLC 监测反应进程。反应完成后, 用饱和的 Na₂S₂O₅ 溶液 (3mL) 使反应淬灭。真空下除去溶剂丙酮, 并用乙酸乙酯 (3×10mL) 萃取化合物。收集合并的有机部分, 用盐水洗涤, 经硫酸钠 (2g) 干燥并在真空下浓缩。

[0363] 室温下向粗产物 (路线中未显示的二醇) 在 THF : H₂O (8 : 2, 10mL) 混合物中的溶液中加入 NaIO₄ (0.27g, 1.8 毫摩尔), 并保持搅拌 1 小时。反应完成后, 用饱和的 Na₂S₂O₅ 溶液 (3mL) 使反应淬灭。用乙酸乙酯 (3×10mL) 萃取化合物, 并分离水层。收集合并的有机部分, 用盐水洗涤, 经硫酸钠 (2g) 干燥并真空浓缩。处理粗产物 4a-3 用于进一步的反应。

[0364] 向化合物 4a-3 的干苯 (10mL) 溶液中加入 C2- 维梯希叶立德 (0.15g, 0.42 毫摩尔)。室温下反应物质在惰性条件下搅拌 2-3 小时。用旋转式蒸发器除去过量的苯, 并将由此产生的粗化合物 4a-5 经柱色谱纯化。(乙酸乙酯 : 己烷, 0.5 : 9.5)。

[0365] 产量 :0.11g (95%)

[0366] ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) : δ 8.1 (s, 1H), 7.2-7.1 (t, J = 6.1Hz, 1H), 6.85-6.6 (m, 4H), 5.8-5.69 (d, J = 15.7Hz, 1H), 5.85 (m, 1H), 4.15-4.0 (q, J = 6.1Hz, 8.74, 3H), 3.80-3.70 (d, J = 8.7Hz, 1H), 2.7-2.55 (m, 1H), 2.15-2.05 (m, 1H), 1.72-1.65 (m, 1H), 1.60-1.40 (m, 6H), 1.25-1.11 (t, J = 6.1Hz, 3H), [M+Na]⁺ = 343.1。

[0367] 室温下向化合物 4a-5 (0.11g, 0.34 毫摩尔) 在 THF : H₂O (8 : 2, 5mL) 混合物中

的溶液中加入 $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0.1g, 2.4 毫摩尔), 并保持搅拌 8-10 小时。反应完成后, 用饱和的 NaHSO_4 溶液 (1mL) 通过调整 pH 到 4-5 来使反应淬灭。用乙酸乙酯 ($3 \times 10\text{mL}$) 萃取化合物, 并分离水层。收集合并的有机部分, 用盐水洗涤, 经硫酸钠 (2g) 干燥, 并真空浓缩。处理粗产物 4a-6 用于进一步的反应。

[0368] 将化合物 4a-6 (85mg, 0.29 毫摩尔) 溶于 THF, 并在室温下加入催化量的 pTSAH。在室温下将反应混合物搅拌 6-8 小时。向反应物中加入邻氯苯甲醛 (81mg, 0.58 毫摩尔); 再次加入催化量的 pTSAH。进一步维持反应条件 5-6 小时。反应完成后, 加入干 Et_3N 调整 $\text{pH} = 7$ 。真空下除去溶剂, 通过柱色谱纯化产生的粗混合物, 以获得最终产物 25 (表 II)。(乙酸乙酯: 己烷, 3.5 : 6.5)

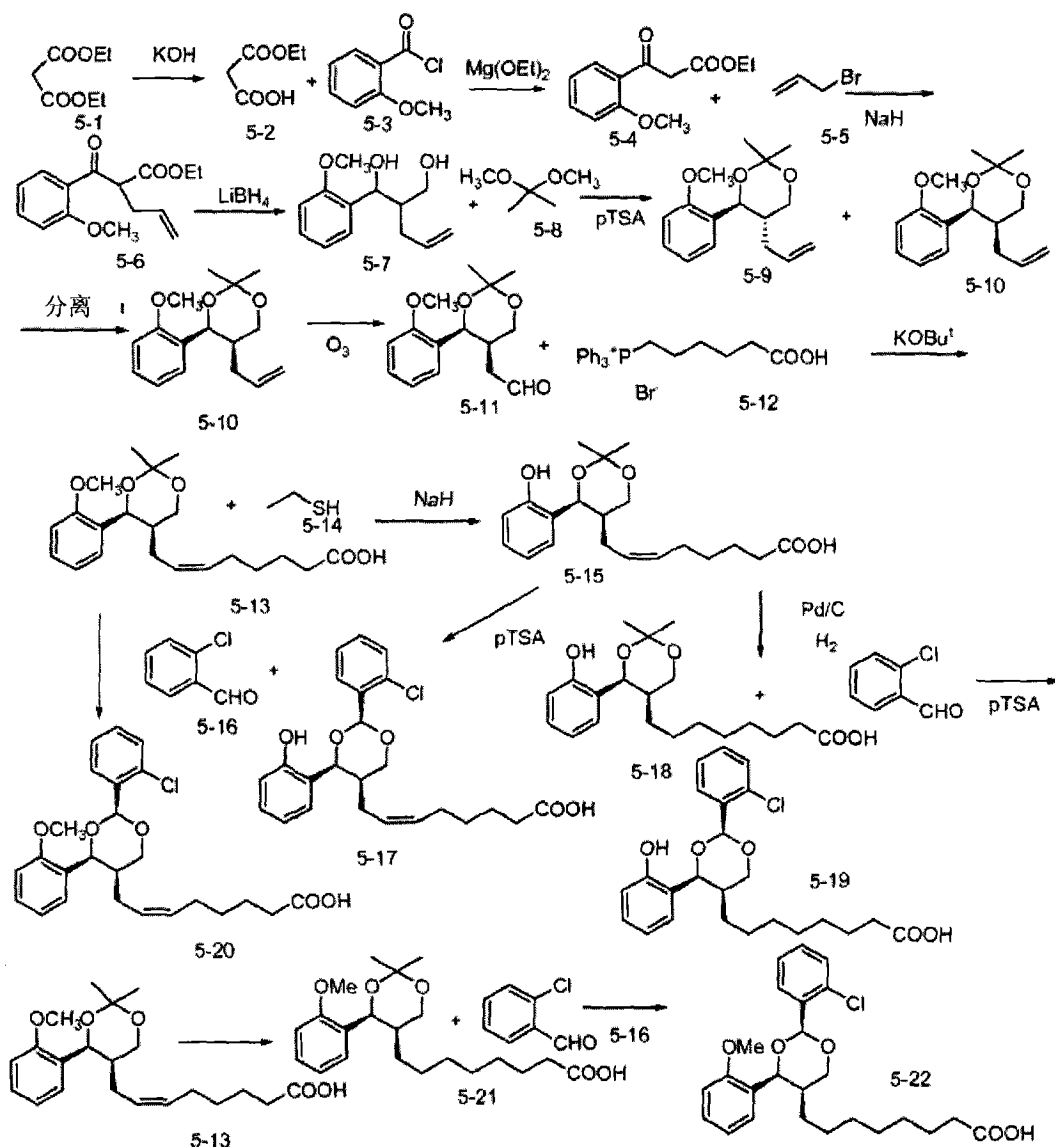
[0369] 产量: 35mg (32%)

[0370] 上述化合物的 HPLC 纯度是 79.2%, 其通过制备型 HPLC 进一步纯化, 获得纯化合物 (98% 纯, 15mg)。

[0371] $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300MHz): δ 7.85-7.69 (d, $J = 7.1\text{Hz}$, 1H), 7.5-7.30 (m, 4H), 7.19-7.08 (t, $J = 7.1\text{Hz}$, 1H), 7.08-7.0 (d, $J = 7.1\text{Hz}$, 1H), 6.99-6.70 (m, 2H), 6.05 (s, 1H), 5.95 (s, 1H), 5.9-5.75 (d, $J = 15.7\text{Hz}$, 1H), 5.5 (s, 1H), 4.4-4.1 (s, 宽, 2H), 2.4-2.1 (m, 4H), 2.9-2.7 (m, 1H), 2.35-2.19 (d, $J = 7.1\text{Hz}$, 1H), 2.1-1.95 (d, $J = 7.1\text{Hz}$, 1H). $[\text{M}^+ + \text{H}^+] = 374.1$ HPLC: 98.93% (RT: 4.12)。

[0372] 路线 5:

[0373]



[0374] 实施例 15:PPAR 调节剂 37 (SN37,表 II) 的合成

[0375] 本实施例描述了根据路线 5 合成表 II 的 PPAR 调节剂 37。

[0376] 路线 5 中的丙二酸单乙酯 5-2 的制备：

[0377] 室温下向搅拌的丙二酸二乙酯 (20g, 0.125 摩尔) 的乙醇溶液 (100mL) 中加入 85% KOH (7g, 0.125 摩尔) 的乙醇 (30mL) 溶液, 不时需要冷却。20 分钟后, 用浓 HCl 酸化混合物, 并过滤。用乙醇 (50mL) 洗涤滤饼 (KCl)。浓缩合并的滤液, 将残留液体经柱色谱 (己烷-EtOAc : 85 : 15) 纯化, 得到 1 (14.7g, 87%)。

[0378] $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) : 1.22 (3H, t), 3.39 (2H, s), 4.39–4.41 (2H, q) .

[0379] 西酮 - 西酯 (Keto-ester) 5-4 的制备:

[0380] 向 14.34g 乙醇镁 (0.13 摩尔) 在干 THF (100mL) 中的悬浮液中加入 10.5g 丙二酸单乙酯 1 (5-2) (0.08 摩尔), 并回流 90 分钟。冷却反应混合物至 0°C, 并以使反应温度不超过 5°C 的速度加入 2-甲氧基苯甲酰氯 5-3 (14.59g; 0.085 摩尔) 的干 THF (25mL) 溶液。室温下搅拌反应混合物过夜, 并静置 2 天。加入饱和的氯化铵溶液, 并用 EtOAc (3×50mL) 萃取反应混合物。用水洗涤合并的有机层, 并经无水硫酸钠干燥。蒸发溶剂以产生油状产物, 并经柱色谱 (己烷-EtOAc; 95 : 5) 纯化, 产生产物 (4.33g, 25% 的产率)。通过光谱数据

确认产物。

[0381] $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 1.23 (3H, t), 3.85 (5H, s), 4.10–4.22 (2H, q), 6.90–7.05 (2H, m), 7.42–7.51 (1H, m), 7.69–7.80 (1H, d)。

[0382] 在 0–10℃ 下, 向搅拌的氢化钠 (60%, 0.9g, 0.08 摩尔) 在干 DMF (40mL) 中的悬浮液中逐滴加入乙酰化的酯 (4.33g, 0.019 摩尔), 并搅拌 15 分钟。室温下, 向反应混合物加入烯丙基溴 5-5 (2.30g, 0.019 摩尔), 并回流 3–4 小时。冷却反应混合物, 并加入氯化铵溶液, 用 EtOAc (3×30mL) 萃取。用水洗涤有机层, 经无水硫酸钠干燥, 并蒸发。经柱色谱 (正己烷–EtOAc : 95 : 5) 纯化粗产物, 获得 5-6 (2.5g, 50% 的产率)。

[0383] $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 1.15 (3H, t), 2.61–2.72 (2H, m), 3.90 (3H, s), 4.05–4.11 (2H, q), 4.30–4.33 (1H, m), 4.92–5.10 (2H, m), 5.78–5.81 (1H, m), 6.92–7.15 (2H, m), 7.40–7.49 (1H, m), 7.71–7.75 (1H, d)。

[0384] 二醇 (5-7) 的制备 :

[0385] 向冷却的硼氢化锂 (0.83g, 0.038 摩尔) 在干 THF (15mL) 中的悬浮液中, 以使温度不超过 10℃ 的速度加入冷却的烷基化酮酯 5-6 (2.5g, 0.0095 摩尔) 的干 THF (25mL) 溶液。室温下, 持续搅拌 4–5 小时, 并通过 TLC 监测反应进程。通过加入 2N HCl 酸化反应混合物至 pH 2; 向反应混合物加入水, 并用 EtOAc (3×25mL) 萃取。用盐水、水洗涤合并的有机层, 并经无水硫酸钠干燥。蒸发溶剂以产生二醇 5-7 的顺式和反式的反应混合物 (2g, 94% 的产率), 并且无需纯化进入下一步。HPLC : 顺式 77.318%, 保留时间 20.244 分钟; 反式 22.682%, 保留时间 22.337 分钟。(HPLC 条件在色谱图上提到)。

[0386] 丙酮化合物 5-10 的制备 :

[0387] 室温下搅拌二醇 5-7 (2g, 0.009 摩尔)、2,2-二甲基丙烷 (15mL, 0.12 摩尔)、催化量的 pTSA (10mg) 4–5 小时, 并通过 TLC 监测反应进程。用 Et₃N 中和反应混合物。真空下除去过量 DMP, 通过柱色谱分离油状顺–反混合物, 获得 5-10 (0.925g, 40% 的产率)。

[0388] $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 1.51 (3H, s), 1.53 (3H, s), 1.62–1.80 (2H, m), 2.25–2.41 (1H, m), 3.75–3.85 (1H, m), 3.82 (3H, s), 4.08–4.11 (1H, m), 4.85–4.96 (2H, m), 5.35 (1H, d, $J = 2.3$), 5.41–5.62 (1H, m), 6.75–6.81 (1H, d), 6.90–6.97 (1H, m), 7.15–7.25 (1H, m), 7.33–7.41 (1H, m)。

[0389] 1,3-二氧杂环己烷醛 (臭氧分解) 5-11 的制备 :

[0390] 在 –78℃ 下, 使 O_3 经过丙酮化合物 5-10 (0.93g, 0.004 摩尔) 的干 DCM (10mL) 溶液, 直至显现持久的蓝色。在 0℃ 下搅拌反应混合物, 直至蓝色消失。在 0℃ 下向无色溶液加入 TPP (1.1g, 0.0043 摩尔) 的 DCM (5mL) 溶液, 加热反应混合物到室温, 并搅拌 1 小时。通过 TLC 监测反应混合物的进程。除去溶剂, 并通过快速色谱纯化产物, 以产生醛 5-11 (0.5g, 54% 的产率)。

[0391] $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 1.50 (3H, s), 1.54 (3H, s), 2.23 (1H, dd), 2.44 (1H, m), 2.75–2.80 (1H, m), 3.65 (1H, dd), 3.81 (3H, s), 4.21–4.22 (1H, dd), 5.39 (1H, d, $J = 2.2\text{Hz}$), 6.90 (1H, d), 6.95–6.97 (1H, t), 7.18–7.21 (1H, m), 7.39–7.40 (1H, d), 9.45 (1H, s)。

[0392] IR (cm^{-1}) : 2992, 2933, 2720, 1723, 1595, 1491, 1462, 1379, 1239 和 1197。

[0393] 维梯希盐 5-12 的制备 :

[0394] 将 6-溴己酸 (3g, 0.0512 摩尔) 和三苯基膦 (4.8g, 0.018 摩尔) 的干乙腈 (50mL)

溶液回流 20-24 小时,并减压除去过量溶剂,以产生颜色较浅的油,将其与干苯研磨,并连续用干苯和醚洗涤(各 3 遍)。在洗涤过程中,减压干燥结晶的物质产生了白色微晶粉末的维悌希盐(3.6g,55%的产率)。

[0395] 2,4-取代(1,3-二氧杂环己烷-5-基)羧酸(SN37,表 II)(维悌希产物)5-13 的制备:

[0396] 在 0℃下、N₂ 气氛中,向搅拌的维悌希盐 5-12(0.95g,0.002 摩尔)在干 THF(10mL)中的悬浮液中加入氢化钠(60%,0.364g,0.0152 摩尔)的干 THF(5mL)溶液。搅拌混合物 30 分钟。然后加入醛 5-11(0.5g,0.0019 摩尔)的溶液。反应物在搅拌下保持 36 小时。反应完成后,加水,减压除去溶剂。用乙酸乙酯洗涤水溶液,用 5% HCl 酸化至 pH 2,并用乙酸乙酯萃取。用饱和盐水洗涤合并的有机提取物,经无水 Na₂SO₄ 干燥并蒸发。通过快速柱色谱(己烷:乙酸乙酯-75:25)纯化获得的油,以获得维悌希产物 5-13(0.2g,35%产率)。

[0397] ¹HNMR(CDCl₃): δ 1.49(3H, s), 1.51(3H, s), 1.40-1.49(4H, m), 1.55-1.95(4H, m), 2.22-2.48(3H, m), 3.70-3.75(1H, m), 3.80(3H, s), 4.05-4.15(1H, m), 5.12-5.42(2H, m), 5.35(1H, d, J = 2.30Hz), 6.75-6.80(1H, d), 6.92-6.99(1H, t), 7.21-7.25(1H, m), 7.40-7.47(1H, d)。LC/MS:纯度 91%, MW:385(M+Na)。

[0398] 实施例 16:PPAR 调节剂 36(SN36,表 II)的合成

[0399] 本实施例描述了表 II 的 PPAR 调节剂 36(2,2-二甲基-4-(2-羟苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基-羧酸)(5-15)的合成(甲氧基的去保护):

[0400] 在 0℃下、N₂ 气氛中,向搅拌的氢化钠(60%,1g,0.004167 摩尔)在 DMPU(5mL)中的悬浮液加入乙硫醇(0.13g,0.00203 摩尔)。30 分钟后,加入化合物 5-13(0.00055 摩尔)的 DMPU 溶液。120℃下加热混合物 2-3 小时,冷却,倒入冰水中,用 DCM 洗涤含水混合物。用 5% HCl 酸化水层至 pH 5,并用乙酸乙酯萃取。用饱和盐水洗涤合并的有机提取物,干燥,并蒸发。通过柱色谱(己烷:乙酸乙酯-75:25)纯化获得的油,以提供维悌希产物 5-15(0.6g,66%产率)。

[0401] ¹HNMR(CDCl₃): 1.51(3H, s), 1.53(3H, s), 1.22-1.34(4H, m), 1.52-2.00(4H, m), 2.21-2.34(2H, t), 2.53-2.69(1H, m), 3.79-4.11(2H, m), 5.15-5.40(2H, m), 5.38-5.40(1H, d, J = 2.40), 6.70-6.95(3H, m), 7.05-7.15(1H, m), 8.20-8.30(1H, br)。LC/MS:纯度 99%, MW:371(M+Na)。

[0402] 实施例 17:PPAR 调节剂 35(SN35,表 II)的合成

[0403] 本实施例描述了表 II 的 PPAR 调节剂 35:(Z)-8-(2-(2-氯苯基)-4-(2-甲氧基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)辛-6-烯酸(路线 5 的 5-20)的合成:

[0404] 将 2-氯苯甲醛(50.48mg,0.359 毫摩尔)、pTSA(催化量,5mg)和丙酮化合物 5-15(130mg,0.359 毫摩尔)的混合物在 4mL 干甲苯中搅拌 24 小时。减压蒸发溶剂,并将混合物经过柱色谱(己烷-EtOAc:80:20)处理,以提供产物 5-20(55mg,34.3%产率)。

[0405] ¹HNMR(CDCl₃, δ): 1.21-2.03(8H, m); 2.25(2H, t, J = 7.554Hz); 2.28(1H, m); 3.83(3H, s); 4.16(2H, m); 5.13-5.38(2H, m); 5.41(1H, d, J = 2.266Hz); 6.03(1H, s); 6.81(1H, d, J = 7.554Hz); 6.93(1H, t, J = 7.55Hz); 7.14-7.36(4H, m); 7.43(1H, t, J = 6.043Hz); 7.82(1H, d, J = 7.554Hz)。LC-MS:纯度 89.19%(71.05+18.14,两种非对映异构体), MW 462(M+18)。

[0406] 实施例 18 :PPAR 调节剂 38 (SN38, 表 II) 的合成

[0407] 本实施例描述了表 II 的 PPAR 调节剂 38 :8-(2-(2-氯苯基)-4-(2-甲氧基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)辛酸 (5-21) 的合成:

[0408] 向烯烃化合物 5-13 (150mg, 0.414 毫摩尔) 的 5mL 干乙酸乙酯溶液中小心地加入 10mol% 的 10% Pd-C (44mg)。在 H₂ 气氛中搅拌反应混合物 1.5-2 小时。反应完成后, 经硅藻土 (celite) 过滤混合物, 并用干乙酸乙酯 (2×5mL) 洗涤滤饼 (Pd-C)。浓缩合并的滤液, 将残留的液体经柱色谱 (己烷-EtOAc :80 : 20) 处理, 以提供产物 5-21 (SN38) (80mg, 53.05% 产率)。

[0409] ¹HNMR (CDCl₃, δ) :1.06-1.60 (12H, m) ;1.46 (3H, s) ;1.53 (3H, s) ;1.67 (1H, m) ;2.25 (2H, t, J = 7.554Hz) ;3.76 (1H, d, J = 10.009Hz) ;3.81 (3H, s) ;4.15 (1H, d, J = 8.687Hz) ;5.32 (1H, d, J = 2.455Hz) ;6.77 (1H, d, J = 7.365Hz) ;6.92 (1H, t, J = 7.554Hz) ;7.16 (1H, t, J = 6.043Hz) ;7.38 (1H, d, J = 5.854Hz)。

[0410] 将 2-氯苯甲醛 (34.25mg, 0.247 毫摩尔)、pTSA (催化量, 3mg) 和丙酮化合物 12 (5-21) (80mg, 0.34 毫摩尔) 的混合物在 3mL 干甲苯中搅拌 24 小时。减压蒸发溶剂, 并将混合物经过柱色谱 (己烷-EtOAc :80 : 20) 处理, 以提供产物 5-22 (50mg, 45% 产率)。

[0411] ¹HNMR (CDCl₃, δ) :1.08-1.92 (13H, m) ;2.26 (2H, t, J = 7.554Hz) ;3.83 (3H, s) ;4.20 (2H, m) ;5.36 (1H, d, J = 2.266Hz) ;6.02 (1H, s) ;6.81 (1H, d, J = 7.554Hz) ;6.92 (1H, t, J = 7.554Hz) ;7.15-7.36 (4H, m) ;7.42 (1H, t, J = 7.554Hz) ;7.81 (1H, d, J = 7.554Hz)。

[0412] LC-MS :纯度 87.53%, MW 464 (M+18)。

[0413] 实施例 19 :PPAR 调节剂 24 (SN24, 表 II) 的合成

[0414] 本实施例描述了表 II 的 PPAR 调节剂 24 : (Z)-8-(2-(2-氯苯基)-4-(2-甲氧基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)辛-6-烯酸 (5-17) 的合成。

[0415] 将 2-氯苯甲醛 (48.47mg, 0.344 毫摩尔)、pTSA (催化量, 5mg) 和丙酮化合物 (120mg, 0.344 毫摩尔) 的混合物在 4mL 干甲苯中搅拌 24 小时。减压蒸发溶剂, 并将混合物经过柱色谱 (己烷-EtOAc :80 : 20) 处理, 以提供产物 5-17 (40mg, 27% 产率)。

[0416] ¹HNMR (CDCl₃, δ) :1.13-2.80 (11H, m) ;4.10-4.37 (2H, m) ;5.17-5.41 (2H, m) ;5.44 (1H, d, J = 2.340Hz) ;6.00 (1H, s) ;6.74-7.74 (8H, m)。

[0417] LC-MS :纯度是 94.43% (两种非对映异构体分别是 80.12+14.31), MW 448 (M+18)。

[0418] 实施例 20 :PPAR 调节剂 31 (SN31, 表 II) 的合成

[0419] 本实施例描述了表 II 的 PPAR 调节剂 31 :8-(2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)辛酸 (5-19) 的合成。

[0420] 向烯烃化合物 5-15 (60mg, 0.172 毫摩尔) 在 3mL 干乙酸乙酯中的溶液加入 10mol% 的 10% Pd-C (19mg, 0.0172 毫摩尔)。将反应混合物在 H₂ 气氛中搅拌 8 小时。反应完成后, 经硅藻土过滤混合物, 并用干乙酸乙酯 (2×5mL) 洗涤滤饼 (Pd-C)。浓缩合并的滤液, 将残留的液体经柱色谱 (己烷-EtOAc :80 : 20) 纯化, 以提供产物 5-18 (40mg, 66% 产率)。

[0421] ¹HNMR (CDCl₃, δ) :1.05-1.88 (13H, m) ;1.54 (3H, s) ;1.58 (3H, s) ;2.29 (2H, t, J = 7.031Hz) ;3.86 (1H, d, J = 11.719Hz) ;4.15 (1H, d, J = 12.5Hz) ;5.36 (1H, d, J = 2.344Hz) ;6.82 (3H, m) ;7.12 (1H, m) ;8.32 (1H, 宽峰)。

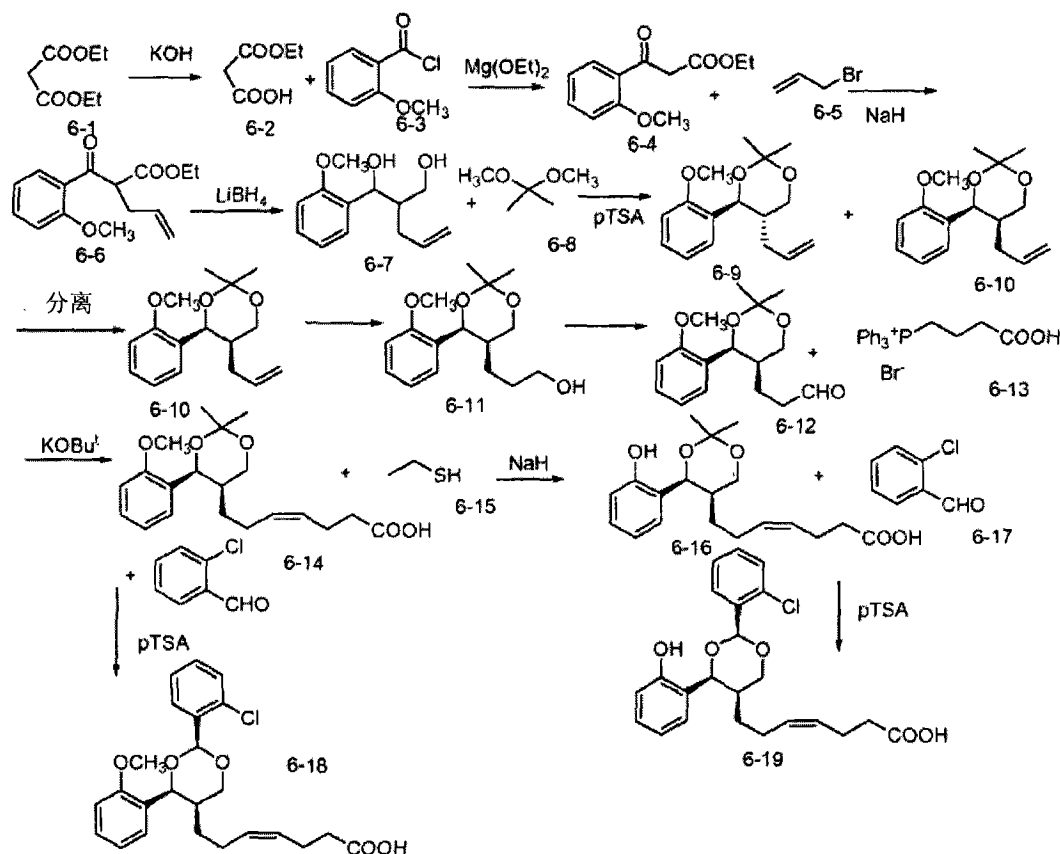
[0422] 将 2-氯苯甲醛 (16mg, 0.114 毫摩尔)、pTSA (催化量, 3mg) 和丙酮化合物 5-18 (40mg, 0.114 毫摩尔) 的混合物在 3mL 干甲苯中搅拌 24 小时。减压蒸发溶剂, 并将混合物经过柱色谱 (己烷-EtOAc: 80 : 20) 处理, 以提供产物 5-19 (20mg, 40% 产率)。

[0423] $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , δ) : 1.07-2.35 (13H, m) ; 2.98 (2H, t, $J = 7.554\text{Hz}$) ; 3.65-4.41 (2H, m) ; 4.62 (1H, d, $J = 10.575\text{Hz}$) ; 5.90 (1H, s) ; 6.77-7.66 (8H, m)。

[0424] LC-MS : 纯度 85%, MW 450 (M+18)。

[0425] 路线 6

[0426]



[0427] 实施例 21 : PPAR 调节剂 32 (SN32, 表 II) 的合成

[0428] 本实施例描述了表 II 的 PPAR 调节剂 32 的合成。

[0429] 在 0℃ 下, 向烯烃 6-10 (前述的 5-10) (1.2g, 4.5 毫摩尔) 的干 THF (10mL) 溶液加入 BH_3 ·DMS (0.34g, 4.5), 并在同样的温度下搅拌反应混合物 2 小时。在 0℃ 下, 向该混合物加入 3N NaOH (3mL) 和 30% H_2O_2 (1mL), 并在室温下再继续搅拌 1 小时。用水稀释反应混合物, 并用乙酸乙酯 (2×30mL) 萃取。真空下蒸发合并的有机层, 并通过柱色谱 (乙酸乙酯: 己烷, 2 : 8) 纯化粗产物。

[0430] 产量 : 0.9g (70%)

[0431] $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 200MHz) : δ 7.51-7.45 (d, $J = 6.4\text{Hz}$, 1H), 7.3-7.2 (t, $J = 7.1\text{Hz}$, 1H), 7.05-6.95 (t, $J = 7.1\text{Hz}$, 1H), 6.9-6.82 (d, $J = 7.1\text{Hz}$, 1H), 5.5-5.4 (s, 1H), 4.25-4.19 (d, $J = 9.6\text{Hz}$, 1H), 3.92-3.78 (m, 4H), 3.53-3.40 (t, $J = 7.1\text{Hz}$, 2H), 1.85-1.70 (m, 1H), 1.51 (d, $J = 11.3\text{Hz}$, 6H), 1.32-1.0 (m, 4H)。

[0432] 6-12 的制备 : 将 IBX (0.525g, 1.87 毫摩尔) 溶于干 DMSO (1mL), 在室温下搅拌 10

分钟,并冷却至 0℃。在氮气氛下向此混合物加入溶于干 THF (9mL) 中的醇 6 (0.35g, 1.25 毫摩尔),并在室温下搅拌 1.5 小时。用醚 (10mL) 稀释反应混合物,搅拌 20 分钟,并过滤。用水 (2×10mL) 洗涤滤液,干燥 (Na₂SO₄) 醚层,用旋转蒸发仪浓缩。经过滤柱纯化产物 (乙酸乙酯:己烷,2 : 8),获得醛 6-12。

[0433] 产量 :300mg (86.4%产率)

[0434] ¹H NMR (CDCl₃, 200MHz) : δ 9.59 (s, 1H), 7.54-7.48 (d, J = 6.4Hz, 1H), 7.28-7.20 (t, J = 6.4Hz, 1H), 7.08-6.95 (t, J = 6.4Hz, 1H), 6.90-6.82 (d, J = 6.4Hz, 1H), 5.42 (s, 1H), 4.26-4.21 (d, J = 9.6Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.80-3.75 (d, J = 9.6Hz, 1H), 2.4-1.7 (m, 3H), 1.51 (s, 6H), 1.45-1.40 (m, 2H)。

[0435] 6-14 的制备 :在 100℃下,真空干燥 (3-羧丙基) 三苯基溴化磷 2-3 小时。室温下,在惰性条件下,向搅拌的 (3-羧丙基) 三苯基溴化磷 (1.47g, 3.43 毫摩尔) 的干甲苯 (10mL) 溶液中逐部分地加入叔丁醇钾 (0.774g, 6.89 毫摩尔)。加热混合物到 80℃,并保持该温度 30-40 分钟。冷却反应物至 50℃,并向上述化合物逐滴加入干 THF (2mL) 中的醛 (化合物 6-12) (0.3g, 1.07 毫摩尔)。通过 TLC 监测反应进程。反应完成后,将物质冷却至 0-5℃,并用 1N HCl (1mL) 通过调节 pH 4-5 使反应淬灭。用乙酸乙酯 (3×10mL) 萃取化合物,并分离水层。收集合并的有机部分,并经硫酸钠 (2g) 干燥,真空浓缩。经柱色谱纯化粗产物,获得化合物 6-14 (乙酸乙酯:己烷,2 : 8)。

[0436] 产量 :325mg (86%)

[0437] ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) : δ 7.45-7.4 (d, J = 7.1Hz, 1H), 7.25-7.10 (t, J = 7.1, 1H), 6.95-6.85 (t, J = 7.1Hz, 1H), 6.80-6.70 (d, J = 7.1Hz, 1H), 5.40-5.30 (s, 1H), 5.25-5.10 (m, 2H), 4.2-4.1 (d, J = 14.3Hz, 1H), 3.85-3.8 (d, J = 14.3Hz, 1H), 3.75 (s, 3H), 2.35-2.05 (m, 4H), 1.75-1.5 (m, 3H), 1.50-1.45 (d, J = 11.4Hz, 6H), 0.85-0.75 (m, 2H)。

[0438] MW :371.1 (M⁺+Na)。

[0439] 6-16 的制备 :在 0-5℃下,向搅拌的 NaH (0.287g, 7.17 毫摩尔) 在干 DMF (10mL) 中的 60%悬浮液中加入乙硫醇 (0.44g, 7.17 毫摩尔),并搅拌 20-30 分钟。保持温度,向上述混合物缓慢逐滴加入干 DMF (2mL) 中的化合物 6-14 (0.25g, 0.71 毫摩尔)。将反应物的温度升高到 120-130℃,并维持 6-8 小时。反应完成后,物质冷却到 0-5℃,并用 1N HCl (1mL) 通过调整 pH 为 4-5 来使反应淬灭。用乙酸乙酯 (3×10mL) 萃取化合物,并分离水相。收集合并的有机部分,用盐水洗涤,经硫酸钠 (2g) 干燥并在真空下浓缩。通过柱色谱 (乙酸乙酯:己烷,2.5 : 7.5) 纯化粗产物以获得纯的 6-16。

[0440] 产量 :155mg (65%)

[0441] 将化合物 6-16 (130mg, 0.38 毫摩尔) 溶于 THF (8mL),并在室温下加入催化量的 pTsOH。反应混合物在室温下搅拌 6-8 小时。向反应物质加入邻氯苯甲醛 (109mg, 0.77 毫摩尔);再次加入催化量的 pTsOH。再保持反应条件 5-6 小时。反应完成后,加入干 Et₃N 调整 pH = 7。真空下除去溶剂,通过柱色谱纯化产生的粗混合物 (乙酸乙酯:己烷,3.5 : 6.5),以获得最终产物 SN32 (表 II) 6-19。

[0442] 产量 :65mg (40%)

[0443] 柱色谱之后的 HPLC 纯度是 80.3%,具有接近的杂质。通过制备型 HPLC 进一步纯化,获得 HPLC 纯度为 92.4%的化合物 (获得 20mg)。

[0444] ^1H NMR (CDCl_3 , 200MHz) : δ 7.7-7.6 (d, $J = 6.4\text{Hz}$, 1H), 7.35-7.20 (m, 3H), 7.10-7.0 (s, 1H), 6.99-6.90 (d, $J = 6.4\text{Hz}$, 1H), 6.80-6.60 (m, 2H), 5.95 (s, 1H), 5.85-5.80 (s, 1H), 5.25-5.10 (brs, 2H), 4.27-4.05 (dd, $J = 6.4, 9.6\text{Hz}$, 2H), 2.4-2.1 (m, 4H), 2.0-1.65 (m, 3H), 1.29-1.1 (m, 2H)。

[0445] MW :415.1 (M^+-H)

[0446] HPLC 纯度 :92%。如下合成进一步的类似物 :将化合物 6-14 (90mg, 0.25 毫摩尔) 溶于 THF :0.2N HCl (10mL, 9 : 1) 的混合物中, 并在室温下搅拌 2 小时。反应完成后, 用乙酸乙酯 (2 $\times$ 10mL) 萃取混合物, 经 Na_2SO_4 干燥, 并用旋转蒸发仪蒸发, 获得 68mg 粗产物, 其可以无需纯化而用于进一步的反应。

[0447] 将上述粗化合物 (68mg, 0.22 毫摩尔) 溶于干 THF, 并在室温下向此混合物加入 2-氯苯甲醛 (61mg, 0.44 毫摩尔) 和催化量的 pTSA ($\sim 4\text{mg}$)。在氮气氛中, 在同样的温度下搅拌反应混合物 5 小时。起始物质消失后, 用于三乙胺中和混合物 (通过调整 pH 至 7), 并蒸发溶剂。通过柱色谱 (乙酸乙酯为已烷的 25%) 纯化粗产物, 以获得产物 6-18。

[0448] 产量 :32mg (34%)

[0449] ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) : δ 7.9-7.8 (d, $J = 7.1\text{Hz}$, 1H), 7.45-7.15 (m, 5H), 6.95-6.87 (t, $J = 7.0\text{Hz}$, 1H), 6.85-6.77 (d, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 6.05 (s, 1H), 5.36 (s, 1H), 5.25 (brs, 2H), 4.2 (2, 2H), 3.85 (s, 3H), 2.35-2.1 (m, 4H), 2.05-1.82 (m, 3H), 1.3-1.1 (m, 2H)。

[0450] MW :429.1 (M^+-H)

[0451] HPLC 纯度 :98%。

[0452] 实施例 22 :PPAR γ 反式激活分析

[0453] 细胞培养、质粒和转染

[0454] 这是一个用于测定 PPAR γ 调节活性的反式激活分析的实施例。

[0455] Gal4-PPAR γ LBD (Helledie 等人, 2000)、UASx4-TK luc (Chen 和 Evans, 1995) 和 CMV- β -半乳糖苷酶 (可商购, 例如, Clontech) 用于这些分析, 以证明 PPAR γ 反式激活。UASx4-TK-luc 报道构建体 (其中, UAS 指“上游激活序列”) 包含 4 个 Gal4 响应元件。质粒 Gal4-PPAR γ LBD 编码能够通过结合 UAS 来反式激活 UASx4-TK-luc 报道质粒的 Gal4-DBD-PPAR γ -LBD 融合蛋白 (即, 与 PPAR γ 的配体结合域 LBD 融合的 Gal4 的 DNA 结合域 DBD)。CMV- β -半乳糖苷酶质粒 (其中, CMV 是巨细胞病毒) 用于实验值的标准化。

[0456] 在补充有 7.5% Amniomax supplement C-100 (Gibco)、7.5% 胎牛血清 (FBS)、2mM 谷氨酰胺、62.5 $\mu\text{g/mL}$ 青霉素和 100 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素的 AmnioMax 基础培养基 (Gibco) (生长培养基) 中培养小鼠胚胎成纤维细胞 (MEF)。或者, 在补充有 10% 小牛血清 (CS)、62.5 $\mu\text{g/mL}$ 青霉素和 100 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素的 DMEM (生长培养基) 中培养 ME3 细胞 (Hansen 等人, 1999)。典型地将细胞再接种于 24 孔板中, 使得转染时细胞 50-70% 汇合。

[0457] 根据生产者的说明书使用 Lipofectamin Plus (Invitrogen) 或 Metafectane (Biontex), 用 Gal4-PPAR γ LBD (Helledie 等人, 2000)、UASx4-TK luc (Chen 和 Evans, 1995) 和 CMV- β -半乳糖苷酶 (可商购, 例如, Clontech) 转染细胞。简单地说, 在 24 孔板的每孔中, 将 30 μL DMEM (不含血清和抗生素) 中的 UASx4TKluc (0.2 μg) Gal4-PPAR γ LBD (或 pM-hPPAR γ -LBD; 0.1 μg) 和 CMV- β -半乳糖苷酶 (0.05 μg) 与含有

1 μ L metafectenein 的 30 μ L DMEM (不含血清和抗生素) 混合。室温下孵育混合物 20 分钟, 以使得形成核酸-脂质复合物, 然后将大约 60 μ L 加入含有 50-60% 汇合的细胞的各孔中。接着在 37°C 下、CO₂ 孵箱中孵育细胞 6-12 小时, 然后将培养基置换为补充有抗生素和目标物质 (例如, 本文称为 DPD 的 4-(Z)-6-(2-邻-氯苯基-4-邻-羟基苯基-1,3-二氧杂环己烷-顺式-5-基) 己烯酸, 或作为阳性对照的罗格列酮 (Avandia), 都溶于 DMSO) 的培养基或相当体积的 DMSO (< 总细胞培养体积的 0.5%)。DPD 是可商购的, 或者可以根据实施例 1 合成。12-24 小时后收获细胞, 并根据标准方案测定萤光素酶和 β -半乳糖苷酶的活性。

[0458] 用罗格列酮 (一种已知的 PPAR γ 激动剂) 比单独的 DMSO 实现高 40 倍以上的 PPAR 反式激活, 且是使用 10 μ M 4-(Z)-6-(2-邻-氯苯基-4-邻-羟基苯基-1,3-二氧杂环己烷-顺式-5-基) 己烯酸 (参见图 2 的 "DPD") 的大约 10 倍。因此, 4-(Z)-6-(2-邻-氯苯基-4-邻-羟基苯基-1,3-二氧杂环己烷-顺式-5-基) 己烯酸是 PPAR γ 激动剂。

[0459] 初步结果表明, 经手性 HPLC 纯化的任一 DPD 对映异构体的 PPAR γ 反式激活活性没有区别。但是, 随后的分析显示出明显的区别 (参见下文的实施例 32)。因此, 发现一种对映异构体不结合 PPAR γ , 而另一种以 4.9-12 μ M 的 IC₅₀ 结合 PPAR γ 。

[0460] 表 II 概括了用 DPD (SN1) 的各种类似物获得的结果, 并比较了它们的活性。"P" 代表相比于 10 μ M DPD (表 II 中的 SN1), 10 μ M 时的类似的 PPAR γ 活化活性, "P-" 代表相比于 10 μ M DPD, 30 μ M 试验物质具有同样的活性水平 (即, 有效性较低); "P+" 代表大于 "P" 的活性水平, 3 μ M 的活性水平相当于 10 μ M DPD (即, 更强); "P++" 代表 3 μ M 的活性水平高于 10 μ M DPD, 但 1 μ M 时低于 10 μ M DPD; "P+++" 代表 1 μ M 的活性水平相当于 10 μ M DPD。"- " 意味着没有进行测试。

[0461] 当基本上如上所述进行分析, 但用全长人 PPAR γ 而非 PPAR γ 配体结合域时, 发现全长 hPPAR γ 2 的活化是 Avandia 阳性对照的 64% (图 3)。

[0462] 实施例 23: PPAR δ 反式激活分析

[0463] 本实施例描述用于测定 PPAR δ 调节活性的反式激活分析。

[0464] 基本上如实施例 22 所述测试 DPD 和其它配体反式激活 PPAR δ 的能力。但是, 反式激活构建体是 mPPAR δ LBD, 其中, PPAR δ 配体结合域代替 PPAR γ 配体结合域, 且 L165041 (可商购) 代替罗格列酮用作选择性 PPAR δ 激动剂。在所用条件下, 证明 L165041 增强 PPAR δ 反式激活 50 倍以上, 而 DPD 没有或几乎没有增强反式激活 (参见, 图 2)。因而, DPD 显示对于 PPAR γ 的选择性。

[0465] 当基本上如上所述进行该分析, 但用全长人 PPAR δ 而非 PPAR δ 配体结合域时, 没有发现全长 hPPAR δ 的活化 (图 4), 证明了 DPD 对于 PPAR γ 的选择性。

[0466] 实施例 24: PPAR α 反式激活分析

[0467] 本实施例描述用于测定 PPAR α 调节活性的反式激活分析。

[0468] 基本上如实施例 22 所述测试 DPD 和其它配体反式激活 PPAR α 的能力。但是, 反式激活构建体是 mPPAR α LBD, 其中, PPAR α 配体结合域代替 PPAR γ 配体结合域, 且 GW7647 (可商购) 代替罗格列酮用作选择性 PPAR α 激动剂。在所用条件下, 证明 GW7647 增强 PPAR α 反式激活 2 倍以上, 而 DPD 没有反式激活 (参见, 图 2)。因而, DPD 显示对于 PPAR γ 的选择性。

[0469] 实施例 25 :RXR 反式激活分析

[0470] 本实施例描述视黄酸 X 受体的反式激活分析。

[0471] 基本上如实施例 22 所述测试化合物反式激活 RXR 的能力。但是,反式激活构建体是 hRXR α LBD,其中, RXR 配体结合域代替 PPAR γ 配体结合域,且 {4-[1-(3,5,5,8,8- 五甲基 -5,6,7,8- 四氢 -2- 萘基) 乙烯基] 苯甲酸} (LG1069,可商购) 代替罗格列酮用作选择性 RXR 激动剂。在所用条件下,证明 LG1069 增强 RXR 反式激活 5 倍以上,而 DPD 没有产生反式激活(参见,图 2)。因而,DPD 再次显示对于 PPAR γ 的选择性。

[0472] 实施例 26 :脂肪细胞分化试验

[0473] 本实施例描述用于测定脂肪细胞分化的试验。测试化合物以观察它们是否诱导脂肪细胞分化,并观察它们是否抑制脂肪细胞分化。

[0474] 细胞培养 and 分化

[0475] 在补充有 7.5% Amniomax supplement C-100(Gibco)、7.5%胎牛血清(FBS)、2mM 谷氨酰胺、62.5 μ g/mL 青霉素和 100 μ g/mL 链霉素的 AmnioMax 基础培养基(Gibco)(生长培养基)中培养 MEF。汇合时,在添加有 1 μ M 地塞米松(Sigma)、0.5mM 异丁基甲基黄嘌呤(Sigma)、5 μ g/mL 胰岛素(Sigma)和溶于 DMSO 中的 10 μ M 测试化合物或单独 DMSO 的培养基中诱导 MEF 分化。随后每 48 小时用补充有 5 μ g/mL 胰岛素和配体或 DMSO 的生长培养基更新培养基。

[0476] 简单地说,为了测试作为脂肪细胞分化诱导剂的化合物,典型地在 24 孔皿中,在含有 10%小牛血清(CS)的 DMEM 中培养 3T3-L1 至汇合。汇合(0 天)后第 2 天,用补充有 10%胎牛血清(FBS)、1 μ M 地塞米松和测试化合物(0.1、1 和 10 μ M)的 DMEM 诱导细胞分化。BRL49653(1.0 μ M,溶于 100% DMSO)用作阳性对照。48 小时后,再向细胞添加补充有测试化合物或阳性对照的含有 10% FBS 的 DMEM。从第 4 天起,在含有 10% FBS 的 DMEM 中培养细胞,并且每两天更换一次直至第 8 天。第 8 天时,如下所述用油红 O 对细胞染色。

[0477] 为了测试作为脂肪细胞分化抑制剂的化合物,如上所述培养 3T3-L1 细胞,直至汇合(指定为第 0 天)后两天,这之后用含有 10%胎牛血清(FBS)、1 μ M 地塞米松(Sigma)、0.5mM 甲基异丁基黄嘌呤(Sigma)、1 μ g/mL 胰岛素(Roche Molecular Biochemicals)和测试化合物的 DMEM 诱导细胞分化。在测试化合物的溶剂存在下诱导分化的细胞用作阳性对照。48 小时后,再向细胞添加补充有测试化合物或阳性对照的含有 10% FBS 的 DMEM。从第 4 天起,在含有 10% FBS 的 DMEM 中培养细胞,并且每两天更换一次直至第 8 天。第 8 天时,如下所述用油红 O 对细胞染色。

[0478] 油红 O 染色

[0479] 如上所述培养的细胞用于油红 O 染色。用 PBS 洗涤培养皿,细胞在 3.7%低聚甲醛中固定 1 小时,并如(Hansen 等人,1999)所述用油红 O 染色。通过将 0.5g 油红 O(Sigma)溶于 100mL 异丙醇制备油红 O 溶液原液。通过用水稀释原液(6 : 4)接着过滤来制备油红 O 工作溶液。

[0480] 在诱导试验中,DPD 诱导出非常少的红色染色。由于红色染色指示脂肪细胞的存在,可以推测 DPD 不诱导脂肪细胞分化。但是,DPD 不抑制脂肪细胞,因为它没有显示抑制脂肪细胞分化的明显的效应。表 II 概括了用不同的 DPD(SN1)类似物获得的结果,"0"代表与 DPD 类似的结果,"-1"代表甚至更少的脂肪细胞分化,"+1"代表更多的脂肪

细胞分化（二者都是相对于 DPD），“-”意味着没有测定。

[0481] 基本上如上所述进行试验但使用人类的前成脂肪细胞时，也证明 DPD 诱导非常少的红色染色，类似于 DMSO。

[0482] 实施例 27：部分激动剂相对于完全激动剂的鉴定

[0483] 本实施例描述用于确定特别适合作为药物的部分 PPAR 激动剂的试验。

[0484] 简单地说，基本上如实施例 22 所述进行反式激活分析，但向各孔中加入 100nM Avandia（完全激动剂），及浓度逐渐增加的测试化合物（或者不加测试化合物，作为对照）。降低 Avandia 的反式激活的化合物是 PPAR 部分激动剂。图 5 中描述了结果。

[0485] 在本实施例中，根据其代替已知的 PPAR γ 激动剂（例如，本例中的 Avandia）与 PPAR γ 结合的能力，鉴定 PPAR γ 部分激动剂。或者，可以使用基本上如实施例 22 所述的反式激活分析，使用例如 300nM L165041 的其它已知的完全激动剂鉴定 PPAR δ 的部分激动剂。

[0486] 实施例 28：部分 PPAR γ 激动剂配体置换试验

[0487] 使用 Invitrogen POLARSCREEN PPAR 竞争试验进行进一步的分析，以鉴定部分 PPAR γ 激动剂，对于与 PPAR γ 配体结合袋结合的分析如下。

[0488] 1. 将 20 微升 2X 测试化合物分配于比色杯中

[0489] 2. 加入 20 微升 2X PPAR-LBD/Fluormone Green Complex，并混合

[0490] 3. 在黑暗中孵育 2 小时

[0491] 4. 测量荧光偏振值

[0492] 5. 作为对照，使用罗格列酮（Avandia）

[0493] 图 6 显示 DPD 相对于 AVANDIA 的结果。

[0494] 实施例 29：葡萄糖摄取试验

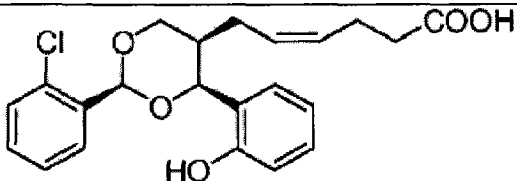
[0495] 本实施例说明，鉴定为 PPAR γ 激动剂的化合物在细胞试验中也产生 PPAR γ 激动剂预期的生理效应，即对葡萄糖摄取的效应。葡萄糖摄取试验对于确定化合物是否适合于治疗胰岛素抵抗是重要的。

[0496] 简单地说，在 12 孔板中培养 3T3-L1 前成脂肪细胞直至汇合。用不含血清的 DMEM 洗涤细胞，并在 37℃ 下用 1mL 同样的培养基培养 1-2 小时。然后，用 Krebs-Ringer-Hepes (KRP) 缓冲液洗涤细胞，接着在 37℃ 下用 0.9mL KRP 缓冲液培养 30 分钟。以 0、0.3、1 和 3nM 最终浓度向细胞加入胰岛素，并在 37℃ 下培养 15 分钟。通过加入补充有 10mM [3 H]2-脱氧-D-葡萄糖 (1mCi/1) 的 0.1mL Krebs-Ringer-Hepes (KRP) 缓冲液启动葡萄糖摄取。在 37℃ 下培养 10 分钟后，吸出培养基，并用冰冷的 PBS 洗涤板，以终止诱导的葡萄糖摄取。用 0.5mL 1% Triton X-100 裂解细胞，并使用闪烁计数器测定放射性水平。结果如图 7 所示。

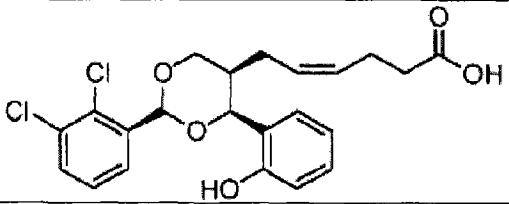
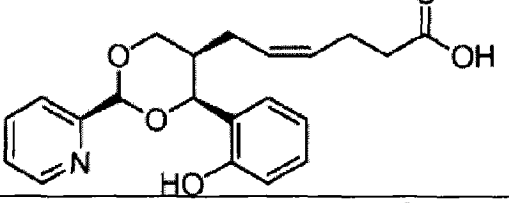
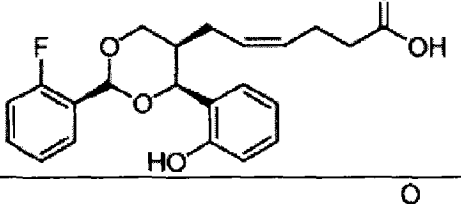
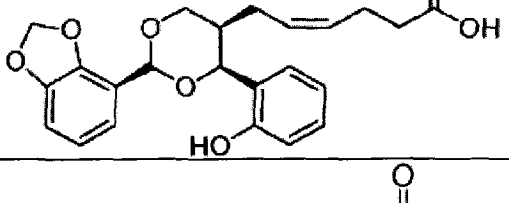
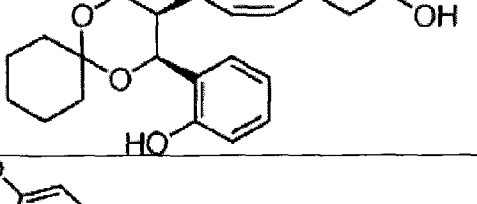
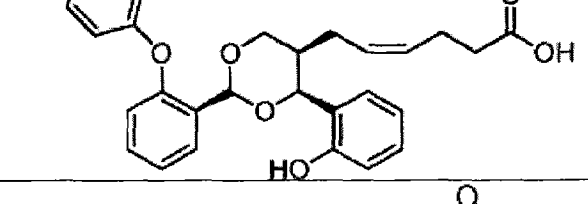
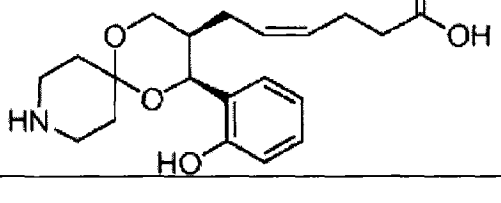
[0497] 总之，证明 DPD 和表 II 中列出的许多类似物是 PPAR γ 激动剂，而物质 10 似乎是 PPAR γ 拮抗剂。物质 7 和 13 是尤其令人感兴趣的类似物，因为它们显示更高的效力而导致低的或没有脂肪细胞分化。

[0498] 表 II

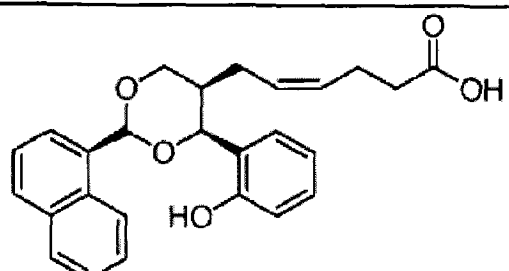
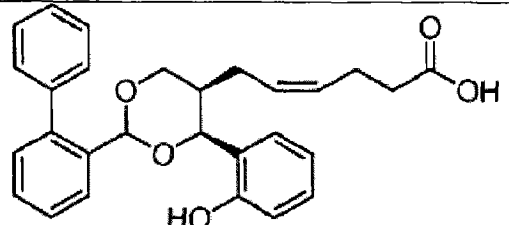
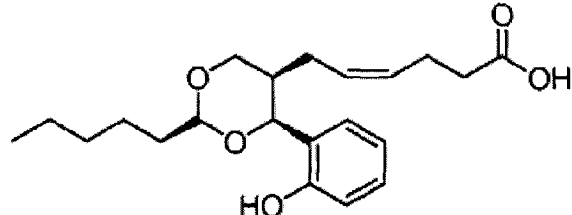
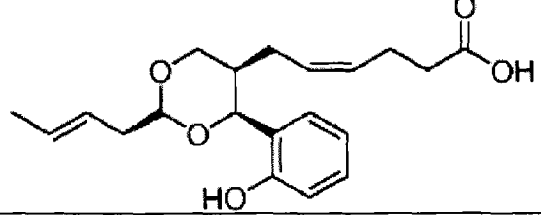
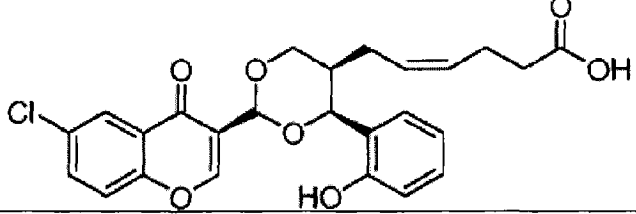
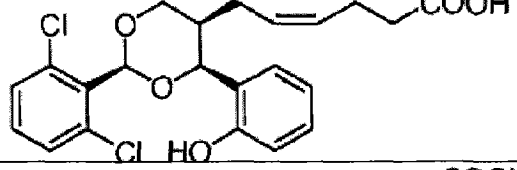
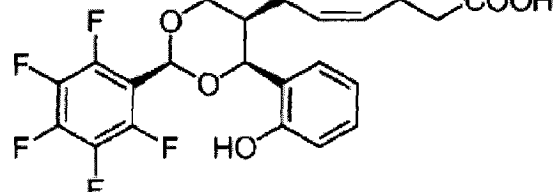
[0499]

SN	结构	PPAR	脂肪细胞分化
1		P	0

[0500]

2		P	0
3		-	-
4		P+	0
5		P-	0
6		P	0
7		P+++	0
8		Boc 衍 生物 无活性	-1

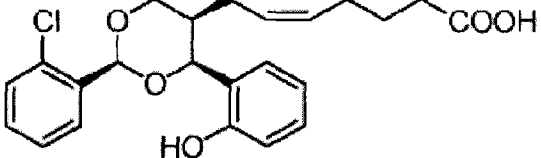
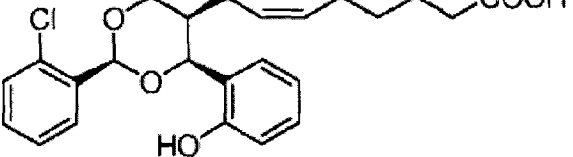
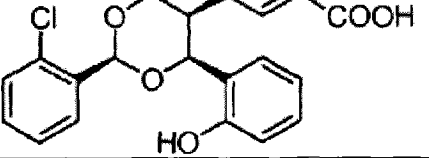
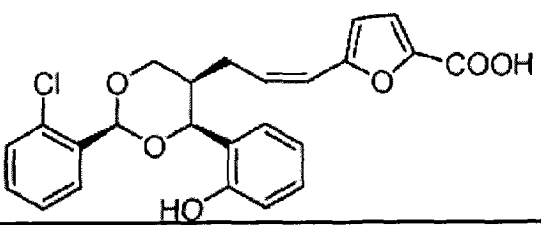
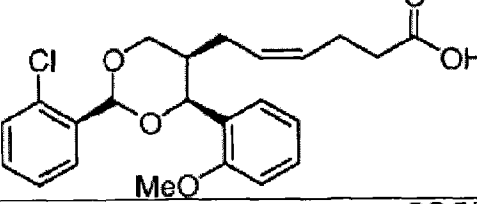
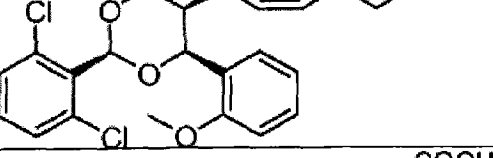
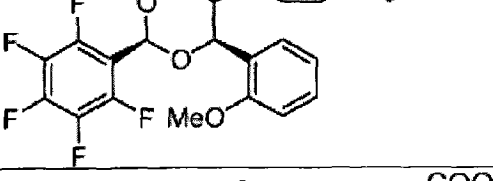
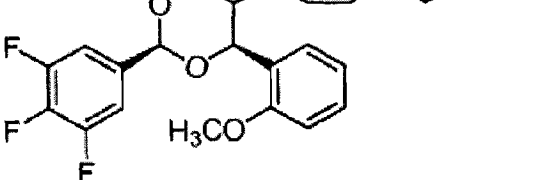
[0501]

9		P	0
10		拮抗剂	0
11		P+	+1
12		P	-1
13		P+++	-1
14			
15			

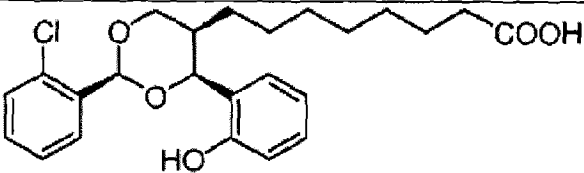
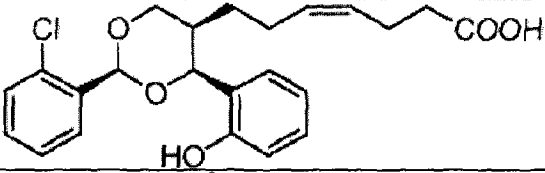
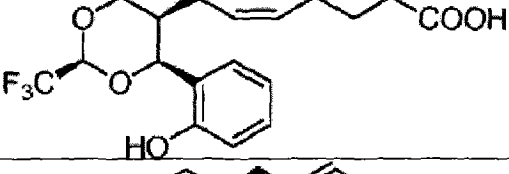
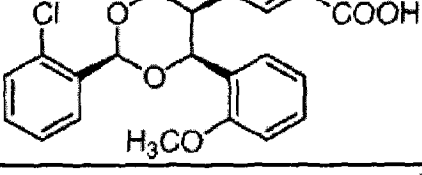
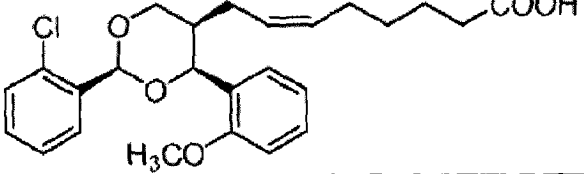
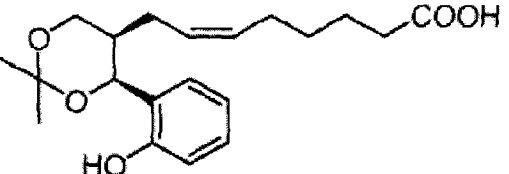
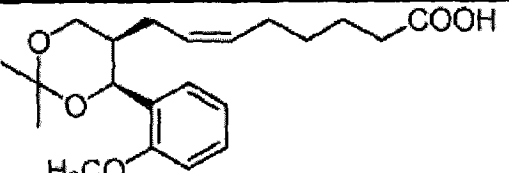
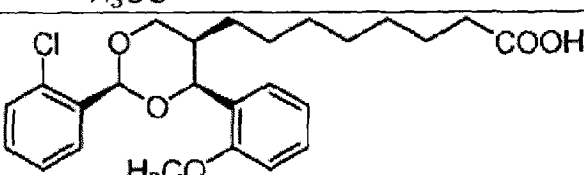
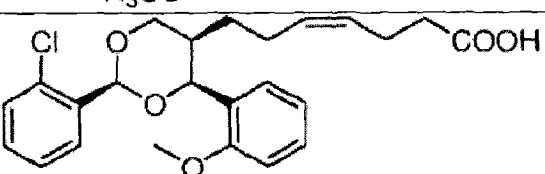
[0502]

16			
17			
18		P	-1
19		P	0
20		P	0
21		P+	0
22			

[0503]

23		P+	+1
24		P+	-
25		-	-
26			
27		无活性	-
28		无活性	-
29		P	-
30		P	-

[0504]

31		P+	0
32		P++	-
33		P	-
34		P	-
35		P	-
36		无活性	-
37		无活性	0
38		P+	-
39		-	-

[0505] 实施例 30 :血栓烷受体活性

[0506] 本实施例证明物质 1 (SN1) 只有一个对映异构体结合 TP 受体。

[0507] 通过下面条件下的手性色谱分离 DPD (表 II 中的 SN1) 的每个对映异构体,即,化合物 (Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)

己-4-烯酸（对映异构体 1）和（Z）-6-（（2R,4R,5S）-2-（2-氯苯基）-4-（2-羟基苯基）-1,3-二氧杂环己烷-5-基）己-4-烯酸（对映异构体 2, 在下面的手性柱上洗脱）：

[0508] 柱：250×4.6mm Chiralpak AD-H 5 μm

[0509] 流动相：80/20/0.1 正庚烷 / 乙醇 / 三氟乙酸

[0510] 流速：1mL/ 分钟

[0511] 检测：UV 230nm

[0512] 温度：25℃

[0513] 将样品溶于 80/20 的正庚烷 / 乙醇

[0514] 用手性柱首先洗脱出对映异构体 1, 用手性柱其次洗脱出对映异构体 2。

[0515] 基本上如 Hedberg 等人 (1988) J Pharmacol. Exp. Ther. 245 :786-792 和 Saussy 等人 (1986) J. Biol. Chem. 261 :3025-3029 所述, 经放射性配体结合试验测试对映异构体 1 和 2 的血栓烷受体结合。发现对映异构体（（Z）-6-（（2S,4S,5R）-2-（2-氯苯基）-4-（2-羟基苯基）-1,3-二氧杂环己烷-5-基）己-4-烯酸）是强血栓烷受体结合剂（IC₅₀:0.841nM;Ki:0.549nM）, 而对映异构体 2 似乎不结合（IC₅₀>10nM）。

[0516] 实施例 31:癌细胞增殖的抑制

[0517] 本实施例证明 DPD 对于癌细胞生长的抗增殖效应, 并说明本文所述的类似物对于癌症治疗的效用。

[0518] 使用经改造后稳定地表达重组生物传感器受体活性的人宫颈癌细胞系 (HeLa) 和非癌细胞系 HaCaT (Boukamp 等人, 1988, J. Cell Biol 106 (3) :761-771), 以及 Caspa Tag 试剂盒 (可商购, 例如从 Chemicon)。使用高通量筛选自动流式细胞仪进行增殖检测。

[0519] 将 DPD (物质 1) 在不含血清、调整到 1% DMSO 的细胞培养基中稀释到 20 μM。在 HTS 流式细胞仪 (FACS Calibur HTS, Becton Dickinson) 的 FL2 (稀释增殖标志物) 通道中处理 48 小时后, 在 96 孔板中一式两份进行细胞事件的检测。第 1 天, 在 96 孔板中接种细胞。第 2 天用 DPD 和适当的对照处理细胞, 并在第 4 天进行分析。

[0520] 在 20 微摩尔时, DPD 抑制 90% 的 HeLa 细胞增殖。DPD 对于非癌细胞系 HaCaT 没有效应, 因而确定了 DPD (表 II 中的 SN1) 对癌细胞的选择性抗增殖效果。

[0521] 实施例 32

[0522] 本实施例说明本发明的一种对映异构体在小鼠模型上显示降低葡萄糖的效应。

[0523] 材料和方法

[0524] KKA^y 小鼠：

[0525] 商购得到 52 只 6 周大的雄性 KKA^y 小鼠 (例如, 来自 Clea Japan), 并在它们到达时给予高脂饮食。在适应期和实验阶段, 在 IVC II 型笼中饲养每只小鼠。随意供应食物 (高脂饮食) 和水。

[0526] 每笼 1 只动物。光照 12 小时, 黑暗 12 小时。上午 06:00 开始光照。温度:21-25℃。相对湿度目标范围:55-60%。

[0527] 根据其 4 小时的空腹血糖, 将小鼠随机分到治疗组中。

[0528] 分组：

[0529] 载体、（（Z）-6-（（2S,4S,5R）-2-（2-氯苯基）-4-（2-羟基苯基）-1,3-二氧杂环己烷-5-基）己-4-烯酸 (53mg/kg)、罗格列酮 (5mg/kg; 阳性对照)。

[0530] 治疗：

[0531] 14 天，每 12 小时经口管饲，每天两次 (BID)。

[0532] 结束：

[0533] 最后一次给药后 4 小时，非禁食状态。

[0534] 高脂饮食

[0535] 从 Research Diets, Inc. New Brunswick, NJ 得到 γ 照射的高脂饮食 (产品编号 #D12266BI)。

[0536] 血液葡萄糖

[0537] 使用 Glucotrend stick (Roche Diagnostics Art#28050) 测定全血或血清中的葡萄糖 (参见下文)。

[0538] 血细胞比容

[0539] 将血液收集到含有肝素的玻璃毛细管中，随后在室温下用 "Haematokrit 24" 离心机 (Hettich) 以 15' 200xg 离心 10 分钟，以获得血细胞比容值。

[0540] 血清参数

[0541] 用 COBAS INTEGRA 800 自动分析仪 (Roche Diagnostics, Switzerland)，使用供应商提供的试剂和方案测定以下的血清参数。

[0542]

葡萄糖	(订单号 #04404483190)
胆固醇	(订单号 #03039773190)
甘油三酯	(订单号 #20767107322)
HDL	(订单号 #04399803190)
AST	(订单号 #20764949322)
ALT	(订单号 #20764957322)
ALP	(订单号 #03333752190)

[0543] HbA1c：用 Hitachi 917 自动分析仪，根据供应商提供的方案，使用 Roche Diagnostics 试剂盒 (订单号 #11822039216) 测定。

[0544] 以微量滴定板形式测量以下血清参数：

[0545] 胰岛素：根据供应商提供的方案，使用 ELISA 试剂盒 (Mercodia, Uppsala, 订单号 #10-1149-01) 在 1 微升样品中测定。

[0546] 果糖胺：根据供应商提供的方案，使用 Roche Diagnostics 试剂盒 (订单号 #11930010216) 以 96 孔板形式在 5 微升血清中测定。

[0547] FFA：根据供应商的方案，使用 NEFA C 试剂盒 (Wako Chemicals GmbH D-42468 Neuss) 测量游离脂肪酸。

[0548] 除了在第 12 天进行食物摄取和体重测量之外，在给药后第 14 天进行所有测量。

[0549] 在第 12 天，小鼠的数目是 10 (载体)、14 ((Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸, 53mg/kg) 和 10 (罗格列酮)。

[0550] 在第 14 天，小鼠的数目是 10 (载体)、10 ((Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸, 53mg/kg) 和 10 (罗格列酮)。

[0551] 在 9 只 ((Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己

烷-5-基)己-4-烯酸, 53mg/kg) 小鼠中测量血清化合物的水平。

[0552] 结果

[0553] 表 IV

[0554]

测量的参数	治疗组		
	载体	平均值+ S.E.M.	
		(Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸, 53 mg/kg, 每日两次	罗格列酮 5 mg/kg 每日两次
血清葡萄糖 (mM)	42.5 ± 1.6	31.9 ± 3.6 *	18.8 ± 2.2 ***
HbA1C (%)	8.8 ± 0.2	7.8 ± 0.3 *	7.8 ± 0.4 *
果糖胺 (mM)	0.38 ± 0.01	0.41 ± 0.03	0.35 ± 0.03
胰岛素 (μg/L)	30.9 ± 3.3	39.1 ± 8.8	17.9 ± 4.2 *
FFA (mM)	2.2 ± 0.1	1.7 ± 0.3	1.3 ± 0.1 ***
TG (mM)	2.2 ± 0.2	2.0 ± 0.3	1.0 ± 0.2 **
HDL(mM)	2.7 ± 0.1	3.1 ± 0.2	3.6 ± 0.2 **
总胆固醇 (mM)	3.2 ± 0.1	3.6 ± 0.3	4.0 ± 0.4
体重 (克)	45.9 ± 1.0	45.4 ± 1.0	49.5 ± 1.0 *
食物摄取 (克/天)	5.5 ± 0.2	5.0 ± 0.6	4.5 ± 0.6
心脏重量 (mg)	204.8 ± 5.3	208.5 ± 7.6	226.2 ± 6.9 *

[0555]

血细胞比容 (%)	42.1 ± 1.4	40.1 ± 1.6	40.3 ± 1.5
AST (dU/L)	7.1 ± 0.6	7.7 ± 1.0	10.1 ± 0.9
ALT (dU/L)	5.8 ± 0.6	5.1 ± 0.6	8.9 ± 0.9
ALP (dU/L)	30.1 ± 1.3	21.5 ± 1.6	26.0 ± 1.7
血清 (Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸 (ng/ml)	NA	161 ± 60	NA

[0556] 与载体对照的统计学差异 (P) 是 : *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001。

[0557] 循环葡萄糖是在门诊进行的用于诊断糖尿病的主要测量中的一个指标,因为它反映了实际水平。降低葡萄糖的化合物的主要目标是降低循环葡萄糖。

[0558] 结论:(Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸和阳性对照(罗格列酮)降低了(后者略多)高血糖小鼠中的循环葡萄糖水平,表明(Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸的降葡萄糖效应。

[0559] 由糖基化的血液蛋白质形成的果糖胺和 HbA1c(糖基化血红蛋白)反映较长时间段的整体循环葡萄糖水平。血液蛋白质以非酶促的方式不可逆转地糖基化。由于血清蛋白相比红细胞寿命更短,认为果糖胺是更窄范围的参数。

[0560] 结论:阳性对照(罗格列酮)和(Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸降低 HbA1c 水平;果糖胺水平未受影响。已知 PPAR- γ 激动剂不是立即起效,而是需要一段时间才发挥作用,在人体中是 2-3 周,甚至要更长时间才能达到最大效应。葡萄糖水平可以是较低的数量级,且不需要足够长的时间以对于 HbA1c 和果糖胺水平具有一致的效应。

[0561] 胰岛素是增加从循环进入例如肌肉、脂肪和脂肪细胞的组织的葡萄糖摄取的激素。KKA^y 小鼠是高胰岛素模型,即,它不缺乏胰岛素。

[0562] 结论:只有阳性对照降低胰岛素水平,表明(Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸具有较低的效力,通过对循环葡萄糖水平的效应证明了这一点。高胰岛素水平反映高循环葡萄糖水平或胰岛素抵抗。因此,似乎当葡萄糖水平降低时,胰岛素抵抗还没有降低;这可能是因为葡萄糖效应是最近的、较低的,而抵抗需要较长时间。

[0563] 甘油三酯(TG)、总胆固醇和游离脂肪酸(FFA)的高循环水平以及低水平高密度脂蛋白(HDL)胆固醇是心血管疾病的危险因素。

[0564] 结论:(Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸略微减少 FFA。阳性对照(罗格列酮)增加 HDL,减少甘油三酯和 FFA。

[0565] 测量小鼠的体重,因为硫格列酮(thioglitazone)在小鼠和人体中的一种副作用是体重增加。而且,体重减轻是副作用的一个指征。

[0566] 结论:只有阳性对照(罗格列酮)增加体重,与以前的观察一致。(Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸没有改变体重。

[0567] 也测量了心脏重量:

[0568] 结论:罗格列酮组的心脏重量增加,可能是补偿最终的体重增加。(Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸的治疗对于心脏重量没有影响。

[0569] 血细胞比容的增加可能指示脱水的趋势,即,水摄取的减少。

[0570] 结论:在任何一组中都没有观察到对血细胞比容的影响,表明没有脱水。

[0571] 测量普通的肝功能标志酶:天冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)和碱性磷酸酶(ALP),以确保对于肝脏没有副作用。

[0572] 结论:血清AST、ALT和ALP没有增加,表明所用剂量没有副作用。

[0573] 为了证明动物的循环中实际上具有预期的化合物,测量了血清(Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸的水平。

[0574] 实施例33:人重组(大肠杆菌)PPAR γ (h)结合试验

[0575] 本实施例说明本发明的化合物与重组人PPAR γ 的结合。

[0576] 配体浓度:[³H]-罗格列酮 10nM

[0577] 非特异性结合:罗格列酮(10 μ M)

[0578] 孵育:在4°C下120分钟

[0579] 结果表示为在测试化合物的存在下获得的相对于对照特异性结合的百分比((测定的特异性结合/对照特异性结合) $\times$ 100)。通过使用Hill方程曲线拟合($Y = D + [(A-D)/(1 + (C/C_{50})^{nH})]$),其中,Y=特异性结合,D=最小特异性结合,A=最大特异性结合,C=化合物浓度,C₅₀=IC₅₀,nH=斜率系数),对以平均复制值产生的竞争曲线进行非线性回归分析,确定IC₅₀值(导致对照特异性结合的半数最大抑制的浓度)和Hill系数(nH)。使用Cerep开发的软件(Hill软件)进行该分析,并且通过与商业软件 **Windows**®版 **Sigma Plot**® 4.0(©1997,SPSS Inc)产生的数据进行比较来验证。使用 ChengPrusoff 方程($K_i = IC_{50}/(1 + (L/KD))$),其中,L=试验中放射性配体的浓度,KD=放射性配体对于受体的亲和力)计算抑制常数(K_i)。

[0580] 表 V

[0581]

化合物:	PPAR γ 结合	
	IC ₅₀ (μ M)	Ki (μ M)
(Z)-6-((2R,4R,5S)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸	30 μ M 时 没有结合	
(Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸	4.9; 12	1.8; 4.3
(Z)-6-(-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸	21	
吡考他胺 (Picotamide)	10 μ M 时 没有结合	

[0582] 实施例 34 :对于小鼠模型的动脉血栓形成的效应

[0583] 本实施例说明本发明的化合物对于小鼠模型的动脉血栓形成的效应。

[0584] 材料

[0585] • 载体 (DMSO/PEG 400, 5/95)

[0586] • 载体中剂量为 1、3、10、30、100 和 300mg/kg 的 ((Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸)

[0587] • 盐水

[0588] • 阿司匹林 (载体中剂量为 100 和 600mg/kg)

[0589] • 阿司匹林 (来自 Sanofi Synthelabo 的 Aspégic ;溶于盐水)

[0590] • 氯吡格雷 (来自 Sanofi Pharma 的 Plavix ;溶于 H₂O)

[0591] 将溶液在盐水中稀释 3.3 倍,并注射 100 μ l/25g。因此,上述 100 和 300mg/kg 的 (Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸的剂量对应于 30 和 100mg/kg 的最终剂量。

[0592] 应该注意 :PEG 非常吸湿,而且 DMSO 在体外非常低的浓度时 影响血小板聚集。对于小鼠的静脉注射,这似乎不是优选的溶剂。

[0593] 在本实验过程中,提供了药物的可溶性的钾盐,用盐水稀释。尾静脉注射 100 μ l/25g 的这种制剂 (100mg/kg 的剂量)。

[0594] 血栓形成模型

[0595] 在 2 分钟时间内尾静脉注射溶液 (100 μ l/25g 体重),以获得 30mg/kg 和 100mg/kg 的 (Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸的剂量。以同样的方式给予 200mg/kg 剂量的阿司匹林。在实验前 6-7 小时,通过经口管饲法以 20mg/kg 的剂量施用氯吡格雷。对溶液编号 (除了氯吡格雷),且操作员不知编号。分配到每个小组的动物按体重匹配。所有使用的小鼠是 8-10 周大的雄性小鼠,且是 100% 的瑞士 (Swiss) 遗传背景。

[0596] 基本上如 Nagai 等人 (Nagai N, Lijnen HR, Van Hoef B, HoylaertsMF, Van Vlijmen

BJM. Nutritionally induced obesity reduces the arterial thrombotic tendency of Factor V Leiden mice. *Thromb Haemost.* 2007 Oct ;98(4) :858-863.) (在线出版:doi: 10.1160/TH07-04-0306) 所述完成动脉血栓形成模型。简单地说,将用 5% FeCl₃ 溶液饱和的一小片薄棉纸放置于分离的小鼠股动脉上 2 分钟,接着用盐水充分洗涤(应用开始于静脉注射后大约 10 分钟)。使用扫描激光器 Doppler 流量计监测后爪的血流,并在 30 分钟内以 15 秒的间隔采集数字化图像(停止 FeCl₃ 处理后 1 分钟开始)。以相对于对侧的百分比表示每个图像的流量,将所有 120 个图像的数据进行平均,以确定总流量。以 10 分钟的间隔进行同样的分析(其给出基本上与曲线下面积相同的信息)。以显示 0% 流量的第一个图像记录闭塞时间。处理前的流量记录为 100%,且闭塞动脉的流量记录为 0%。在实验结束时,为了确定血细胞计数,通过心穿刺术在 0.01M 柠檬酸盐上收集血液。通过离心制备血浆,并在 -20℃ 储存以测定药物水平。

[0597] 通过非参数 Student t- 检验进行两组之间的差异的统计学分析。对于统计分析,把 > 30 分钟的闭塞时间看作等同于 30 分钟。应该注意:该方法会导致统计偏差,由于不同组中实验次数不同,更是这样。设定显著性为 $p < 0.05$ 。

[0598] 结果

[0599] 在本研究中使用了总共 59 只小鼠,其中,初步实验中使用 4 只以优化给药方案。使用载体中 100mg/kg 药物的剂量的 1 只小鼠(D947)在实验过程中死亡(在 FeCl₃ 应用之后 5 分钟,相当于注射药物之后大约 15 分钟;死亡原因不明)。

[0600] 闭塞时间

[0601] • 200mg/kg 的阿司匹林对于闭塞时间没有影响;与载体相比,其堵塞时间稍短,这是由于两个试验的载体组中存在闭塞延迟(没有闭塞延迟的试验结果为平均值 $\pm$ SEM = 7' 18" $\pm$ 0' 33")。

[0602] • 氯吡格雷在 6/7 实验中在 30 分钟之内完全防止闭塞。在一个实验中,观察到快速闭塞。

[0603] • 相比阿司匹林 ($p = 0.024$),载体中剂量为 30mg/kg 的 (Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸略微延迟闭塞时间,但相比载体没有效果。

[0604] • 盐水中 100mg/kg 剂量的 (Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸钾延迟闭塞时间(相比阿司匹林, $p = 0.0006$; 相比单独的盐水, $p = 0.017$)。

[0605] 结果显示了小鼠模型中对 FeCl₃ 诱导的闭塞形成的抑制。

[0606] 血流量

[0607] • 200mg/kg 的阿司匹林对于总血流量没有显著影响(相对于载体, $p = 0.53$)。

[0608] • 氯吡格雷显著增加了总血流量(相对于载体, $p = 0.0087$,包括实验 B130)。

[0609] • 载体中 30mg/kg 剂量的 (Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸对于总血流量没有显著影响(相对于载体, $p = 0.84$,相对于阿司匹林, $p = 0.65$)。

[0610] • 相比阿司匹林 ($p = 0.055$),载体中 100mg/kg 剂量的 (Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸增加了总血

流量,但相比载体 ($p = 0.45$),没有效果。

[0611] • 在所有组中,血流量随时间的变化与观察到的闭塞时间一致。在时间窗 0-10 分钟中,相比阿司匹林 ($p = 0.0002$),施用的载体中 100mg/kg 的 (Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸与显著较高的流量相关,但与单独的载体相比 ($p = 0.11$) 则不是这样。在后面的时间点观察到同样的趋势。

[0612] • 相比盐水 ($p = 0.0032$) 或阿司匹林 ($p = 0.0021$),盐水中 100mg/kg 剂量的 (Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸钾显著增加总血流量。而且,在同样的时间窗中,相比单独的盐水 ($p = 0.009$) 或阿司匹林 ($p = 0.0006$),盐水中 100mg/kg 的 (Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸钾与显著较高的血流量相关。在后面的时间点观察到同样的趋势。使用盐水中 100mg/kg 的 (Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸 10-20 分钟,相对于盐水, $p = 0.0066$,而相对于阿司匹林, $p = 0.027$;使用 20-30 分钟,相对于盐水, $p = 0.016$,而相对于阿司匹林, $p = 0.031$ 。

[0613] 血细胞分析

[0614] 表 VI 概括了对观察期结束时采集的样品进行的血细胞分析的结果。(Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸在表 VI 中被称为 EV。

[0615] 相比阿司匹林或氯吡格雷,没有观察到明显变化;在白细胞分布中观察到一些中等程度的差别。

[0616] 表 VI :血细胞分析

[0617]

	载体 (n = 11)	盐水 (n = 4)	阿司匹林 (n = 7)	氯吡格雷 (n = 6)	EV30 mg/kg载体 (n = 4)	EV100 mg/kg 载体 (n = 9)
白细胞 ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	1.9 $\pm$ 0.47	1.3 $\pm$ 1.0	1.4 $\pm$ 0.42	0.62 $\pm$ 0.22	0.95 $\pm$ 0.17	1.5 $\pm$ 0.46
嗜中性粒细胞 (%)	37 $\pm$ 5.6	42 $\pm$ 14	39 $\pm$ 11	50 $\pm$ 7.2	56 $\pm$ 5.3	34 $\pm$ 12
淋巴细胞 (%)	62 $\pm$ 5.6	56 $\pm$ 15	60 $\pm$ 11	47 $\pm$ 7.8	42 $\pm$ 4.7	58 $\pm$ 11
血小板 ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	1005 $\pm$ 44	935 $\pm$ 77	1020 $\pm$ 59	1060 $\pm$ 106	1020 $\pm$ 89	895 $\pm$ 46
红细胞 ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	8.4 $\pm$ 0.30	9.1 $\pm$ 0.25	9.3 $\pm$ 0.10	9.0 $\pm$ 0.36	9.1 $\pm$ 0.26	9.2 $\pm$ 0.17
血红蛋白 (g/dL)	14 $\pm$ 0.49	15 $\pm$ 0.40	15 $\pm$ 0.19	15 $\pm$ 0.60	15 $\pm$ 0.28	15 $\pm$ 0.30
血细胞比容 (%)	66 $\pm$ 2.2	64 $\pm$ 7.8	72 $\pm$ 0.60	72 $\pm$ 2.7	62 $\pm$ 7.3	70 $\pm$ 3.5

[0618] 数据是 n 次实验的平均值 $\pm$ SEM

[0619] EV = (Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸

[0620] 实施例 35

[0621] 如实施例 30 所述进行血栓烷受体结合试验。

[0622] TP 受体放射性配体结合研究:

[0623] 使用如下实验条件:人重组 HEK-293 细胞,配体:5nM [^3H]SQ-29548,载体:1% DMSO,孵育时间、温度:30 分钟、25 $^{\circ}\text{C}$,孵育缓冲液:50mM Tris-HCl, pH 7.4,154mM NaCl,非特异性的配体:1 μM SQ-29548, KD:9.4nM, Bmax:5.1pmol/mg 蛋白质,特异性结合:93%,根据 Hedberg A, Hall SE, Ogletree ML, Harris DN 和 Liu E C-K(1988)Characterization

of [5,6-³H]SQ 29,548 as a high affinity radioligand, binding to thromboxane A₂/prostaglandin H₂-receptors in human platelets. *J Pharmacol Exp Ther.* 245(3) : 786-92792, 与 Saussy DL Jr, Mais DE, Burch RM 和 Halushka PV (1986) Identification of a putative thromboxane A₂/prostaglandin H₂ receptor in human platelet membranes. *J Biol Chem.* 261(7) : 3025-9 进行试验。

[0624] 人血小板血栓烷合酶测定:

[0625] 使用如下实验条件:底物:10 μM PGH₂, 载体:1% DMSO, 预孵育时间、温度:15 分钟、25℃, 孵育时间、温度:3 分钟、25℃, 孵育缓冲液:10mM Tris-HCl, pH 7.4, 定量方法:TxB₂的EIA定量, 根据 Borsch-Haubold AG, Pasquet S, Watson SP. (1998) Direct inhibition of cyclooxygenase-1 and -2 by the kinase inhibitors SB203580 and PD 98059. SB 203580 also inhibits thromboxane synthase. *J Biol Chem.* 273(44) : 28766-72, 与 Iizuka K, Akahane K, Momose D, Nakazawa M, Tanouchi T, Kawamura M, Ohyama I, Kajiwara I, Iguchi Y, Okada T, Taniguchi K, Miyamoto T, Hayashi M. (1981) Highly selective inhibitors of thromboxane synthetase. 1. Imidazole derivatives. *J Med Chem.* 24(10) : 1139-48 进行测定。

[0626] TP 受体血小板聚集 - 兔:

[0627] 使用如下实验条件:新西兰兔 (2.75 ± 0.25kg) 的富含血小板的血浆, 载体:0.3% DMSO, 测定:1.5 μM U-46619 诱导的血小板聚集的抑制, 孵育时间、温度:5 分钟、37℃, 孵育缓冲液:柠檬酸三钠 (0.13M) 处理的富含血小板的血浆, 水浴体积:0.5mL, 评估时间:5 分钟, 定量方法:光密度改变, 根据 Patscheke, H. 和 Stregmeier, K. (1984) Investigations on a selective non-prostanoid thromboxane antagonist, BM13,177, in human platelets. *Thrombosis Research* 33 : 277-288 进行测定。

[0628] TP 受体血小板聚集 - 人:

[0629] 使用如下实验条件:人 (60 ± 10kg) 的富含血小板的血浆, 载体:0.3% DMSO, 测定:3 μM U-46619 诱导的血小板聚集的抑制, 孵育时间、温度:5 分钟、37℃, 孵育缓冲液:柠檬酸三钠 (0.13M) 处理的新鲜的富含血小板的血浆, 水浴体积:0.5mL, 评估时间:5 分钟, 定量方法:光密度改变, 根据 Patscheke, H. 和 Stregmeier, K. (1984) Investigations on a selective non-prostanoid thromboxane antagonist, BM13,177, in human platelets. *Thrombosis Research* 33 : 277-288 进行测定。

[0630] IC₅₀ 计算:

[0631] 将数据转化为半对数, 然后使用 Graph Pad Prism 软件的 log(激动剂) 对响应 - 可变斜率函数, 利用对 4 参数剂量 - 响应曲线 $Y = \text{底数} + (\text{顶数} - \text{底数}) / (1 + 10^{((\log EC_{50} - X) * \text{Hill 斜率}))}$ 的非线性回归进行分析, (http://graphpad.com/help/prism5/prism5help.html?usingnonlinear_regression_step_by_s.htm)。

[0632]

化合物:	血小板聚集				血栓烷受体 (TP) 结合 人重组 HEK-293 细胞			血栓烷合酶人血 小板	
	人	兔			抑制 (%) 10 μ M 时	IC ₅₀ (nM)	Ki (nM)	抑制(%), 5 μ M 时	IC ₅₀ (nM)
	抑制 (%)	IC ₅₀ (nM)	抑制 (%)						
			10 μ M	30 μ M					
A	30 μ M 时 13			0.1 mM 时 15	94, 96	1260	825	10 μ M 时 25, 28	12100
B	1 μ M 时 94 8 μ M 时 97 16 μ M 时 100	310		100	102	0.84	0.55	10 μ M 时 43, 61	7020
3			33		98			12	
4					85	1870	1220	30 μ M 时 52	17500
5					0.3 μ M 时 96	23.4	15.3	30 μ M 时 62	20400
吡考他胺				0.1 mM 时 36, 21	66	5950	3880	10 μ M 时 53	10100

[0633] 化合物 A : (Z)-6-((2R,4R,5S)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸 (对映异构体 2)

[0634] 化合物 B : (Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸 (对映异构体 1)

[0635] 化合物 3 : (Z)-6-(2-(2-氯苯基)-4-(2-甲氧基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸

[0636] 化合物 4 : (Z)-6-((2R,4R,5S)-2-(2-氯苯基)-4-(2-甲氧基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸

[0637] 化合物 5 : (Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-甲氧基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸。

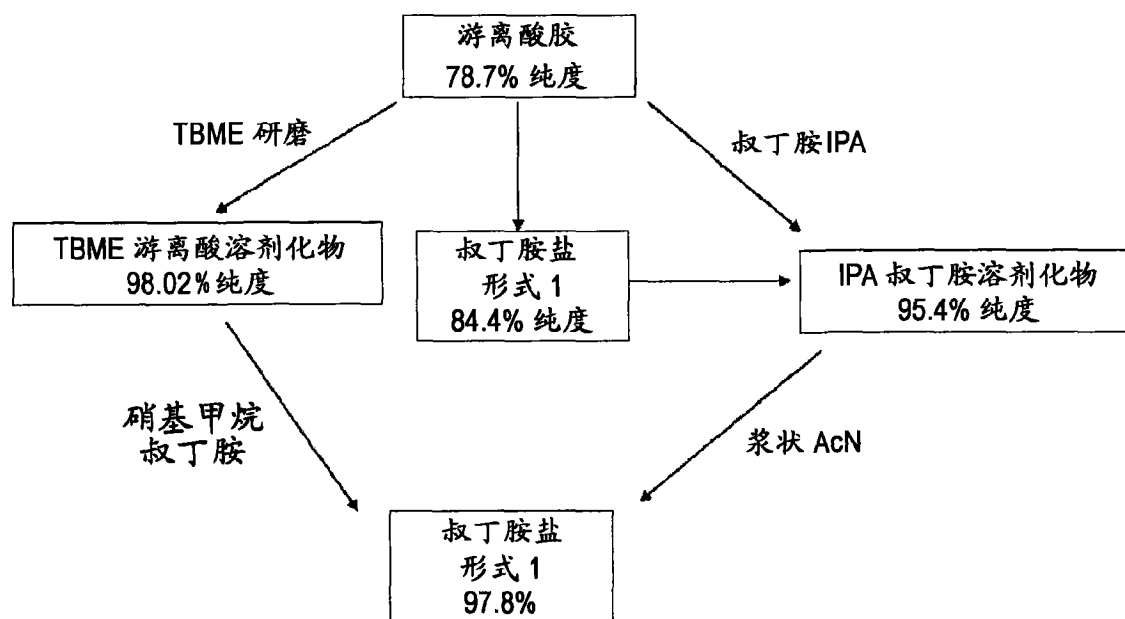
[0638] 实施例 36

[0639] (Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸的溶剂化物和盐的制备。

[0640] (Z)-6-((2S,4S,5R)-2-(2-氯苯基)-4-(2-羟基苯基)-1,3-二氧杂环己烷-5-基)己-4-烯酸 (表 II 的 SN1) 是胶状油。该酸可以按照下面的

[0641] 路线所示转化为各种固体盐和溶剂化物。

[0642]



[0643] 该酸 (14.08g) 在叔丁基甲基醚 (TBME, 32mL, 2.25 体积) 中研磨。室温下搅拌溶液 30 分钟, 并在冰浴中搅拌 30 分钟。过滤收集这样获得的沉淀物, 用冰冷的 TBME (2×15mL) 洗涤, 并真空干燥产生固体 (8.17g, 58%)。使用 Bruker 400MHz NMR 仪表征获得的固体, 并使用 Cu K α 辐射 (40kV, 40mA) 用 Bruker AXS C2GADDS 衍射仪采集 X-射线粉末衍射图, 使用 TA 仪器 Q500TGA 进行热重分析 (TGA)。NMR 和 XPRD 数据分别如图 11 和 12 所示。

[0644] ^1H NMR 图谱和 TGA 曲线与存在的 0.72 摩尔 TBME 一致。TGA 与 DSC 曲线表明涉及两个去溶剂化步骤。第一去溶剂化吸热在 55℃ 开始, 第二去溶剂化吸热在 75℃ 发生。没有熔化吸热的证据。通过 HPLC 测得化合物的纯度是 98.0%。

[0645] 可变温度 XRPD 表明直至 70℃ 的温度时材料是同样的晶形。在较高的温度时, 材料变为胶状, 并得到无定形图谱。冷却到 30℃ 时, 材料保持具有无定形 XRPD 图谱的胶状。

[0646] TBME 溶剂化物向叔丁胺盐的转化

[0647] 将产生的 TBME 游离酸溶剂化物 (8.07g, 20.0 毫摩尔) 溶于硝基甲烷 (16mL)。恒定搅拌下, 室温下加入叔丁胺 (2.5mL, 1.2 当量), 然后将产生的残留物在冰上再搅拌 30 分钟以产生胶状固体。用乙腈 (20mL) 研磨该胶状物, 过滤收集产生的沉淀物。将固体制成均匀粒度, 并在室温下真空干燥 48 小时, 接着在 40℃ 下再干燥 72 小时, 产生 7.46g (78.5%) 白色固体材料。图 13 和 14 分别显示其 ^1H NMR 和 XPRD 衍射图。 ^1H NMR 证明固体中存在 0.17 摩尔的硝基甲烷和 1 摩尔叔丁胺, 通过 HPLC 发现其纯度是 97.8%。通过干燥进一步减少硝基甲烷的量。TGA 的数据显示在 ~100℃ 开始逐渐的重量损失, 这与叔丁胺的损失一致, 且 DSC 显示吸热在 130℃ 开始, 这也与叔丁胺的损失一致。

[0648] 在另一种方法中, 室温下将酸 (452.23mg, 1.12 毫摩尔) 溶于 IPA (2mL)。加热溶液到 50℃, 并加入叔丁胺。1 小时后沉淀出结晶材料。IPA 的体积增加到 23mL, 在加热下材料再溶解, 并在 48 小时的时间里冷却到室温。以 34% 的产率获得结晶白色物质。该材料的特征确定它为化学纯度 95.4% 的 IPA 溶剂化物。衍射图 (图 15) 表明作为 IPA 溶剂化物的化合物的叔丁胺盐的形成。

[0649] 在本说明书中引用的所有出版物和专利申请都引入本文作为参考, 如同特别地且单独地引入每个单独的出版物或专利申请作为参考。

[0650] 尽管为了清楚理解的目的已经通过示例和实施例相当详细地描述了前述发明,但本领域的技术人员根据本发明的记载应当清楚,在不背离如所附的权利要求书所限定的本发明的精神和范围的情况下,可以对本发明做出某些变化和改变。

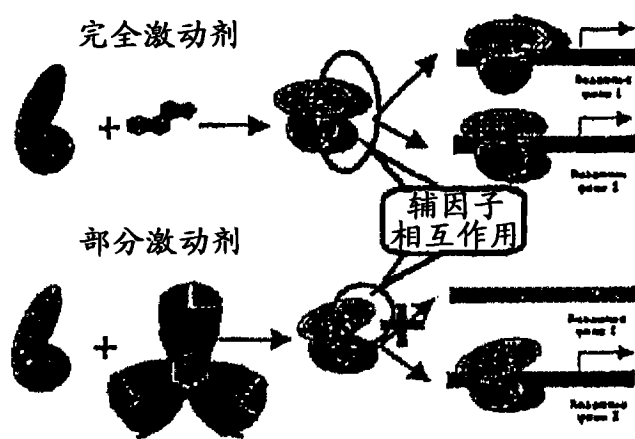


图 1

PPAR-LBD 反式激活
hPPAR γ -LBD 的剂量依赖性激活

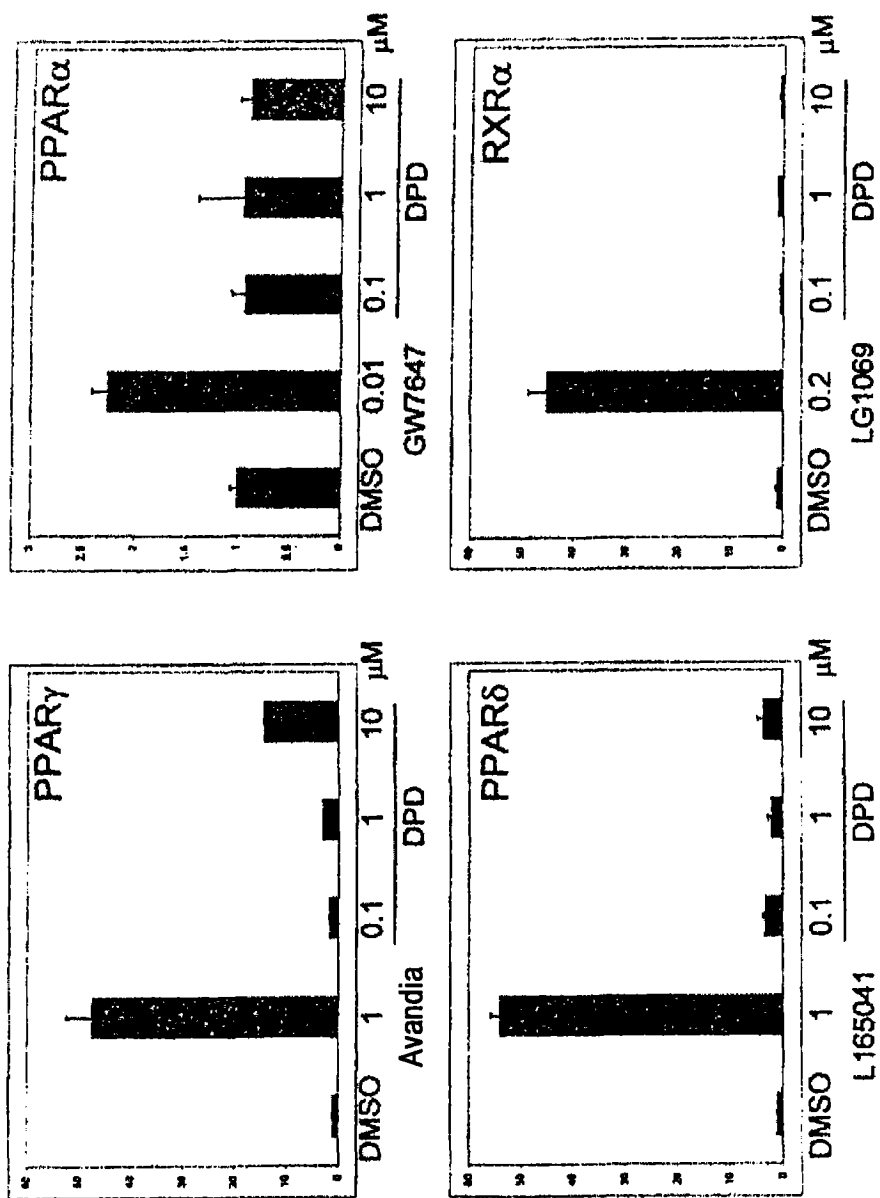


图 2

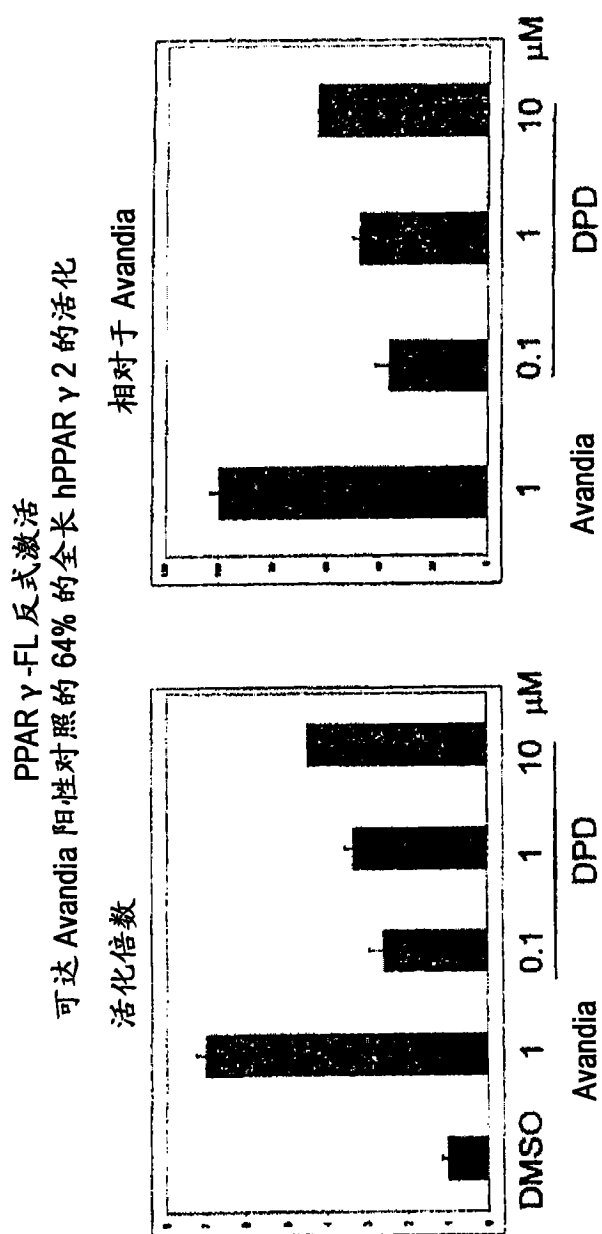


图 3

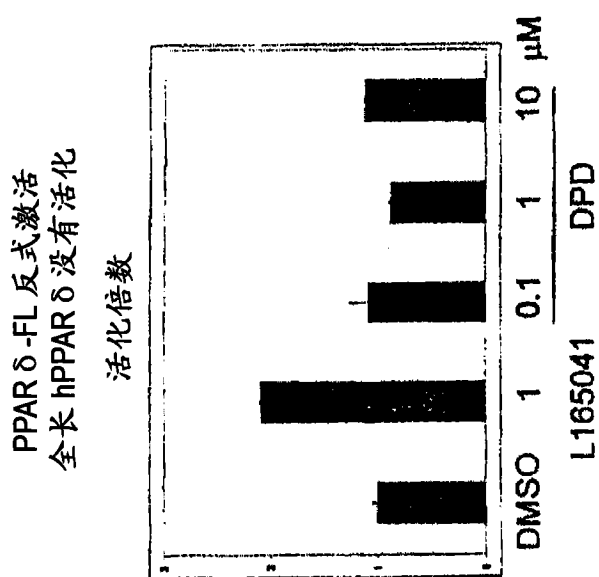


图 4

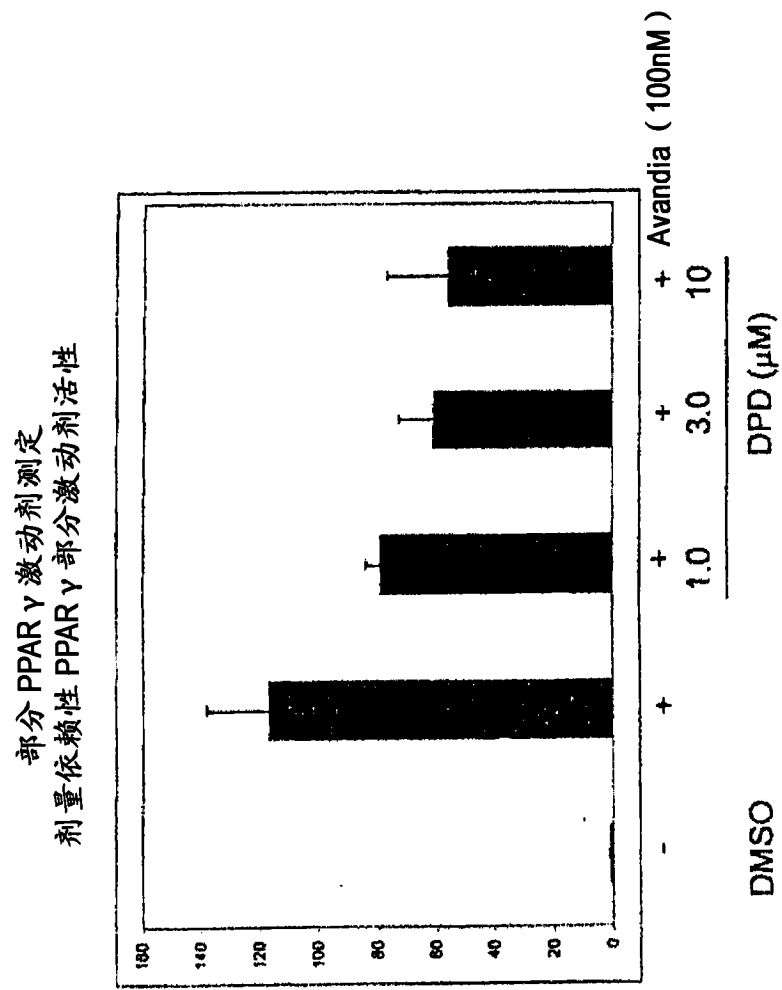


图 5

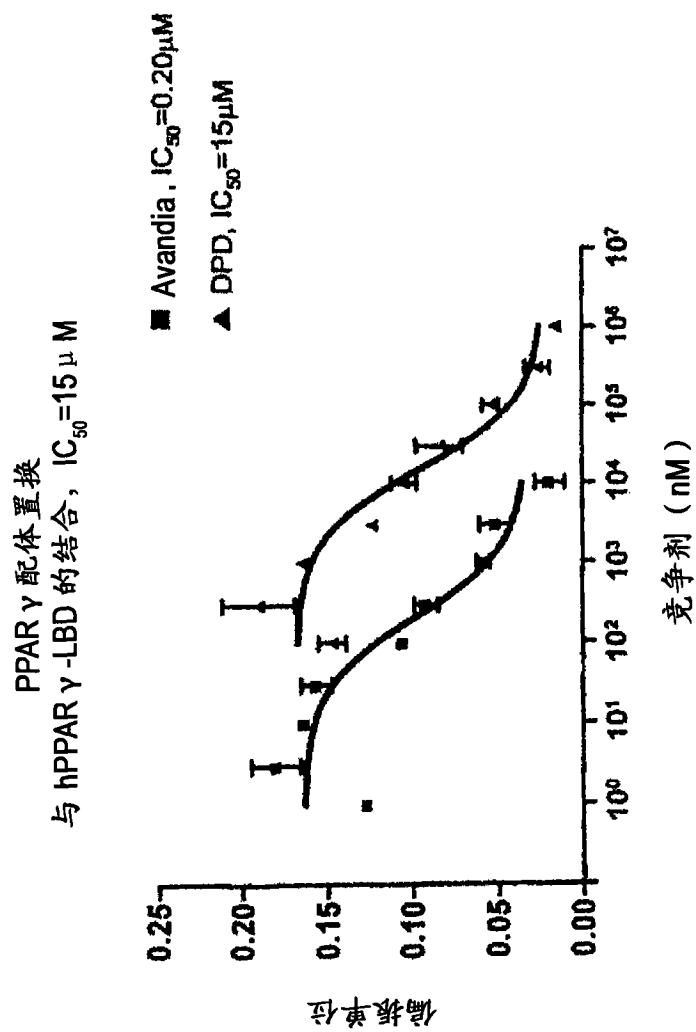


图 6

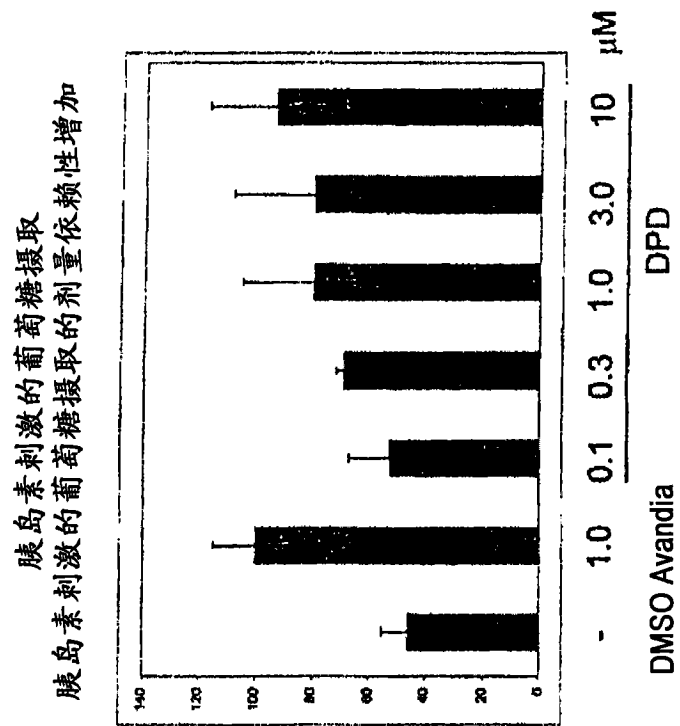
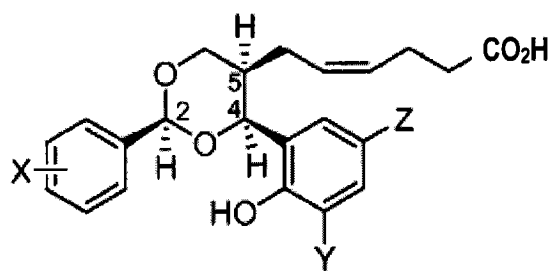
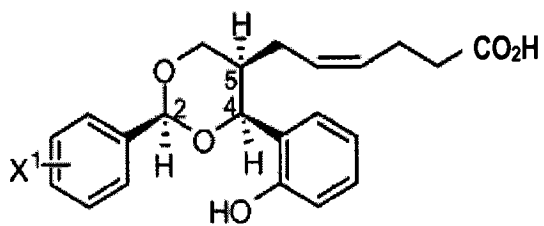


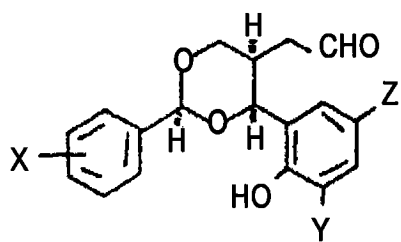
图 7



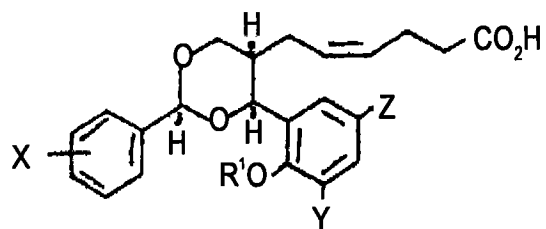
II



III

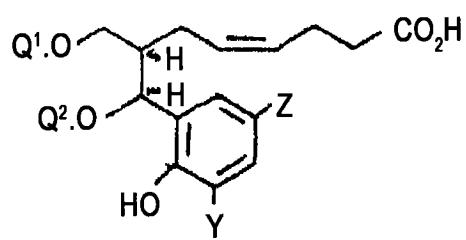


IV

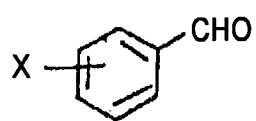


V

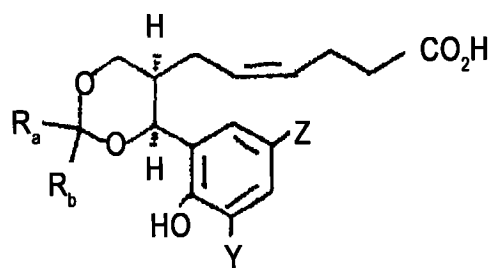
图 8



VI

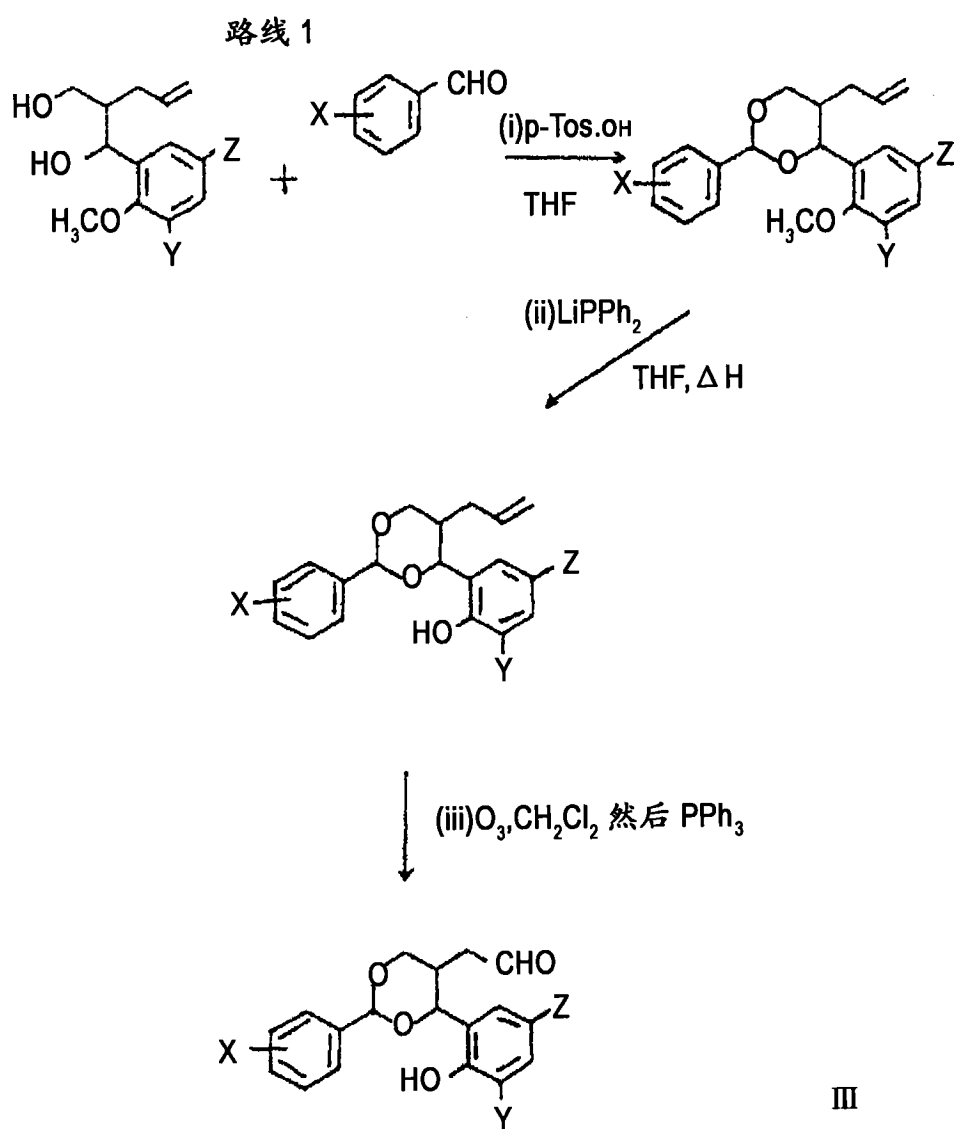


VII



VIII

图 9



Tos= 对甲苯磺酰基
Ph= 苯基

图 10

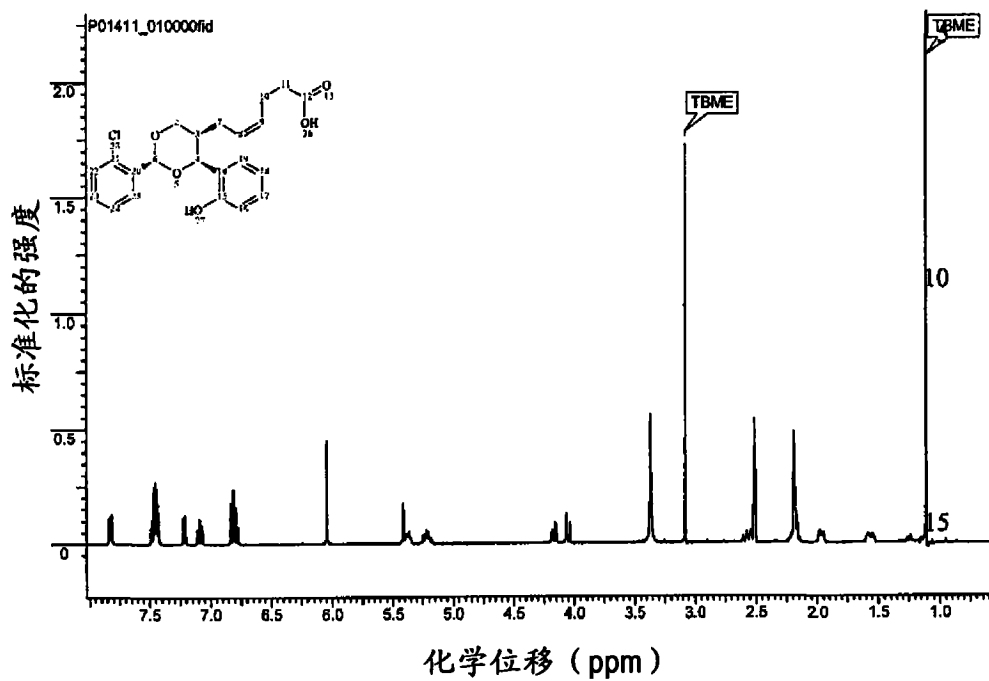


图 11

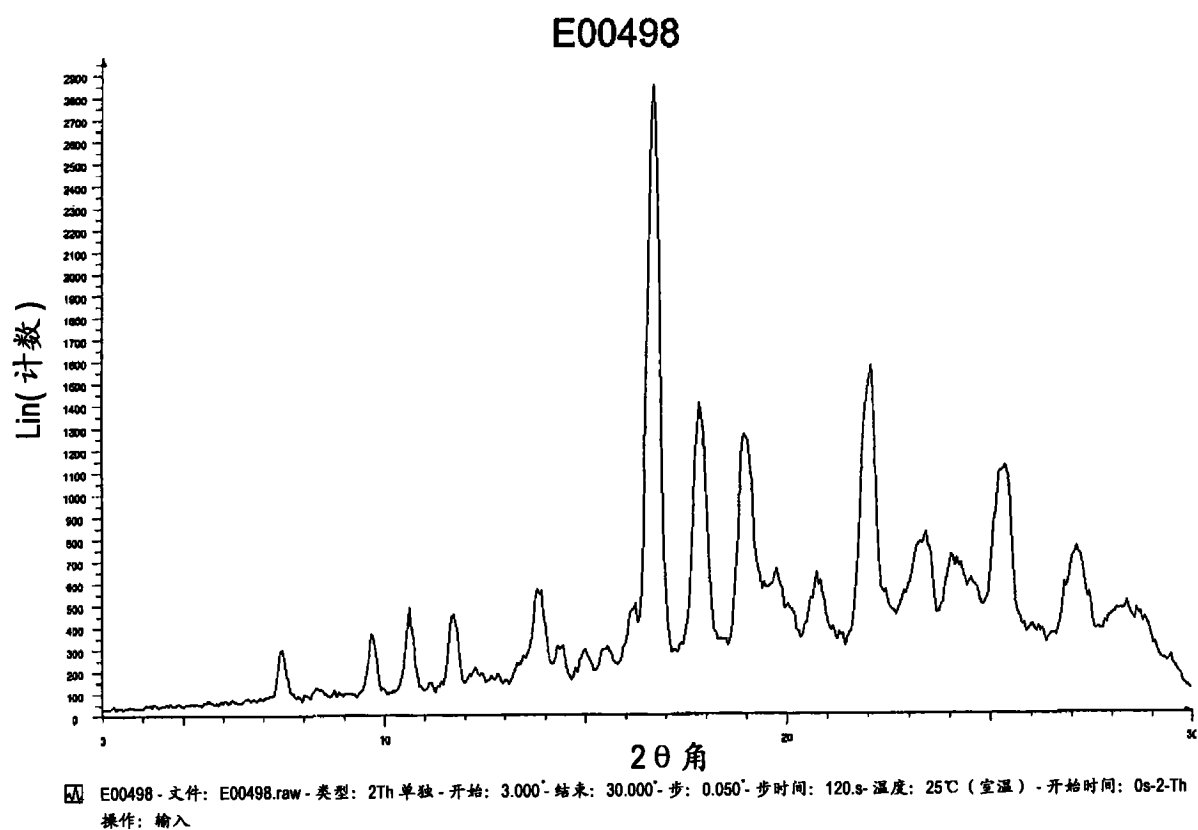


图 12

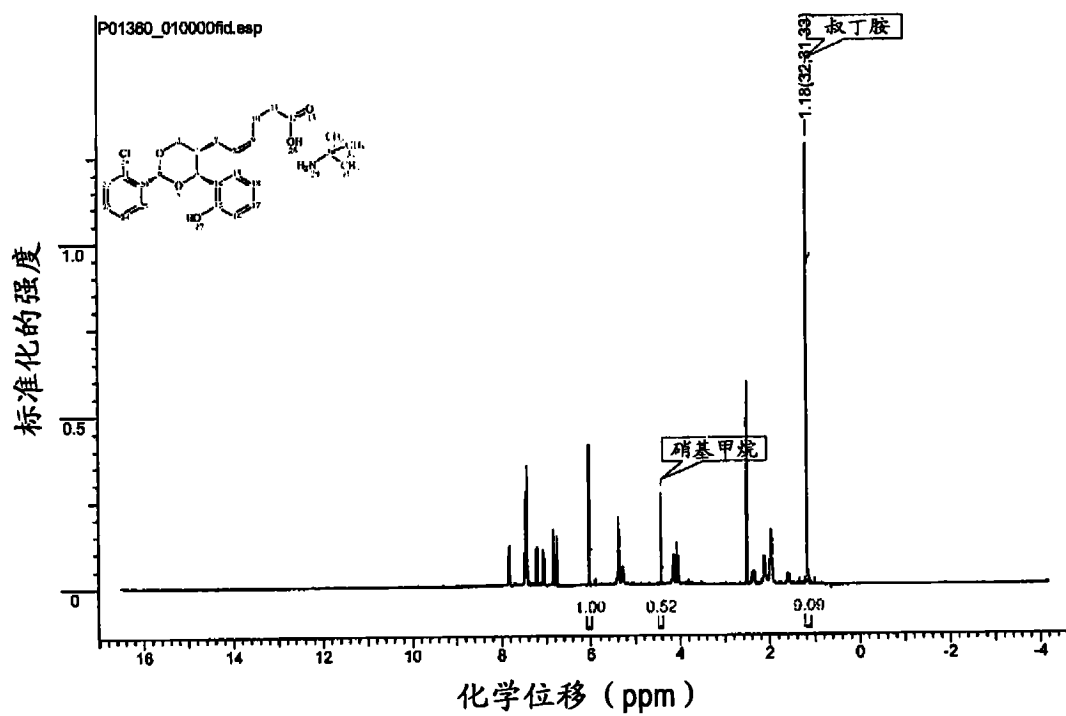


图 13

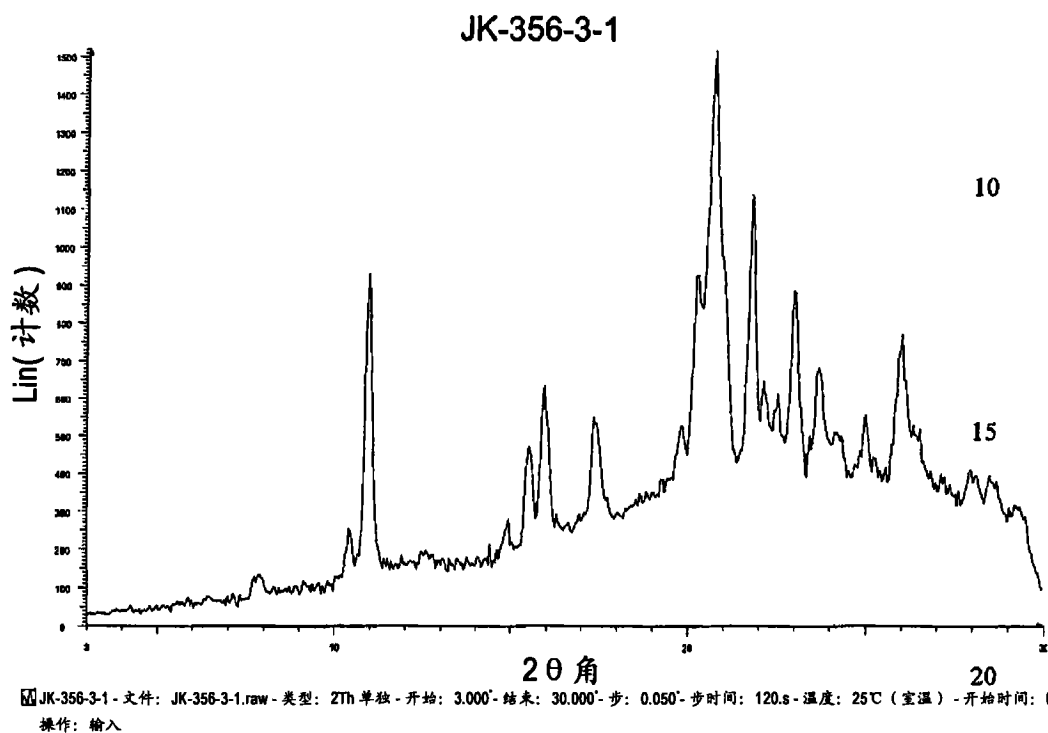
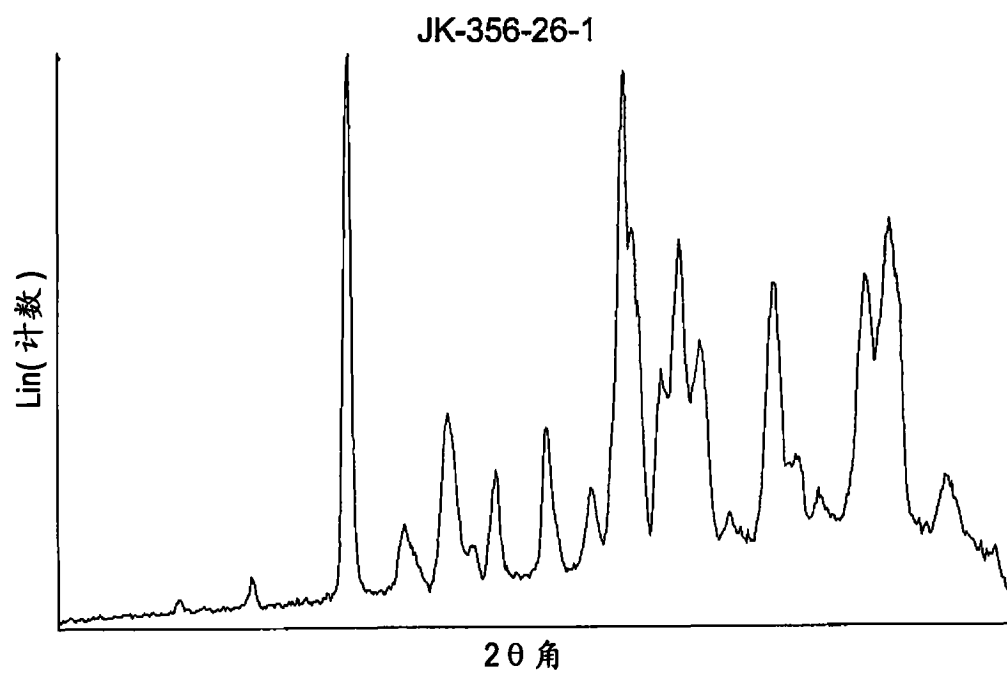


图 14



JK-356-26-1 - 文件: JK-356-26-1.raw - 类型: ZTh 单独 - 开始: 3.000° - 结束: 30.000° - 步: 0.050° - 步时间: 120.s - 温度: 25℃ (室温) - 开始时间:
操作: 输入

图 15