



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102317296 B

(45) 授权公告日 2015. 05. 27

(21) 申请号 200880010110. 9

A61K 31/662(2006. 01)

(22) 申请日 2008. 01. 24

A61K 31/675(2006. 01)

(30) 优先权数据

A61P 3/10(2006. 01)

60/897, 700 2007. 01. 26 US

A61P 35/00(2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

C07F 9/38(2006. 01)

2009. 09. 27

C07F 9/40(2006. 01)

(86) PCT国际申请的申请数据

(56) 对比文件

PCT/CA2008/000172 2008. 01. 24

Jacqueline Montalibet, et al..Using yeast to screen for inhibitors of protein tyrosine phosphatase 1B. 《Biochemical Pharmacology》. 2004, 第 68 卷 1807-1814.

(87) PCT国际申请的公布数据

W02008/089581 EN 2008. 07. 31

Jacqueline Montalibet, et al..Using yeast to screen for inhibitors of protein tyrosine phosphatase 1B. 《Biochemical Pharmacology》. 2004, 第 68 卷 1807-1814.

(73) 专利权人 卡内克制药公司

地址 加拿大魁北克省

(72) 发明人 J·科卢奇 M·-C·威尔逊 韩永新

C·迪夫雷斯内 M·贝利 C·K·刘

C·拜利

审查员 郝鹏

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 林毅斌 李连涛

(51) Int. Cl.

C07F 9/60(2006. 01)

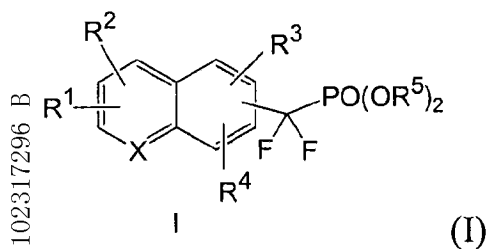
权利要求书4页 说明书26页

(54) 发明名称

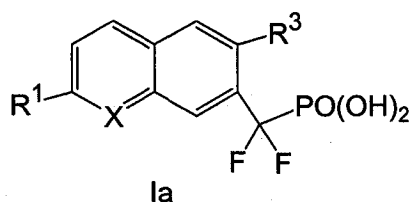
稠合芳烃 PTP-1B 抑制剂

(57) 摘要

本发明包括下式所代表化合物的新类别, 其为 PTP-1B 酶的抑制剂。本发明还包括包含如上所示(式 I) 化合物的药物组合物和治疗或预防 PTP-1B 介导的疾病, 包括糖尿病的方法。



1. 式 Ia 化合物或其药学上可接受的盐,



X 是 CH;

R¹选自:(a) 任选被 1 个 -CN 取代的 C₁₋₃烷基,以及 (b) -C(=O)C₁₋₃烷基;而 R³是 Br。

2. 权利要求 1 定义的式 Ia 化合物或其药学上可接受的盐,其选自以下化合物:

实例	结构	实例	结构
3		4	
		6	

3. 一种药物组合物,所述药物组合物包括权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的载体。

4. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗 2 型糖尿病的药物中的用途。

5. 一种药物组合物,所述药物组合物包含:

(1) 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐;

(2) 一种或多种选自以下的化合物:

(a) PPAR γ 激动剂和部分激动剂;

(b) 双胍;

(c) GPR40 激动剂;

(d) 二肽基肽酶 IV (DP-IV) 抑制剂;

(e) 胰岛素或胰岛素模拟物;

(f) 磺酰脲;

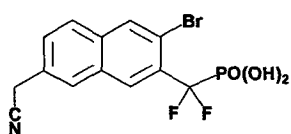
(g) α 葡萄糖苷酶抑制剂;

(h) 改善患者血脂谱的药剂,所述药剂选自:(i) HMG-CoA 还原酶抑制剂, (ii) 胆汁酸螯合剂, (iii) 烟醇、烟酸或其盐, (iv) PPAR α 激动剂, (v) 胆固醇吸收抑制剂, (h) 酰基 CoA: 胆固醇酰基转移酶 (ACAT) 抑制剂, (i) CETP 抑制剂和 (j) 酚类抗氧化剂;

(i) PPAR α / γ 二元激动剂,

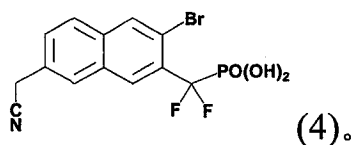
- (j) PPAR δ 激动剂,
- (k) 减肥化合物,
- (l) 回肠胆汁酸载体蛋白抑制剂;
- (m) 抗炎症药;
- (n) 胰高血糖素受体拮抗剂;
- (o) GLP-1;
- (p) GIP-1;
- (q) GLP-1 类似物;和
- (r) HSD-1 抑制剂;以及
- (3) 药学上可接受的载体。

6. 权利要求 1 定义的式 Ia 化合物或其药学上可接受的盐, 其中所述化合物是:



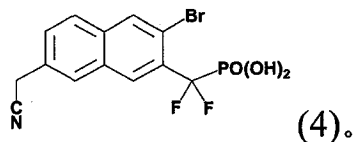
(4)。

7. 权利要求 3 的药物组合物, 其中所述权利要求 1 的化合物是式 (4) 的化合物:



(4)。

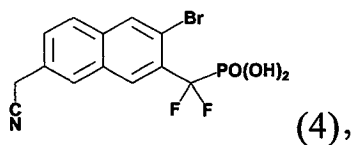
8. 权利要求 4 的用途, 其中所述权利要求 1 的化合物是式 (4) 的化合物:



(4)。

9. 权利要求 7 的药物组合物, 所述药物组合物包含:

- (1) 式 (4) 的第一化合物



(4),

或其药学上可接受的盐;

- (2) 选自以下的第二化合物:
- (a) PPAR γ 激动剂和部分激动剂;
- (b) 双胍;
- (c) GPR40 激动剂;
- (d) 二肽基肽酶 IV (DP-IV) 抑制剂;
- (e) 胰岛素或胰岛素模拟物;
- (f) 磺酰脲;

(g) α 葡萄糖苷酶抑制剂；

(h) 改善患者血脂谱的药剂,所述药剂选自:(i)HMG-CoA 还原酶抑制剂,(ii)胆汁酸螯合剂,(iii)烟醇、烟酸或其盐,(iv)PPAR α 激动剂,(v)胆固醇吸收抑制剂,(vi)酰基 CoA:胆固醇酰基转移酶 (ACAT) 抑制剂,(vii)CETP 抑制剂和 (viii) 酚类抗氧化剂；

(i)PPAR α / γ 二元激动剂,

(j)PPAR δ 激动剂,

(k) 减肥化合物,

(l) 回肠胆汁酸载体蛋白抑制剂；

(m) 抗炎症药；

(n) 胰高血糖素受体拮抗剂；

(o)GLP-1；

(p)GIP-1；

(q)GLP-1 类似物；和

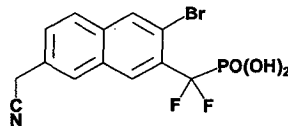
(r)HSD-1 抑制剂；以及

(3) 药学上可接受的载体。

10. 权利要求 9 的药物组合物,其中所述双胍是二甲双胍。

11. 权利要求 9 的药物组合物,其中所述二肽基肽酶 IV (DP-IV) 抑制剂是西格列汀、沙格列汀或维格列汀之一。

12. 权利要求 1 的化合物和选自以下的第二化合物用于制造用于治疗 2 型糖尿病的药物的用途,其中所述权利要求 1 的化合物是式 (4) 的化合物或其药学上可接受的盐：



(4)

第二化合物：

(a)PPAR γ 激动剂和部分激动剂；

(b) 双胍；

(c)GPR40 激动剂；

(d) 二肽基肽酶 IV (DP-IV) 抑制剂；

(e) 胰岛素或胰岛素模拟物；

(f) 磺酰脲；

(g) α - 葡萄糖苷酶抑制剂；

(h) 改善患者血脂谱的药剂,所述药剂选自:(i)HMG-CoA 还原酶抑制剂,(ii)胆汁酸螯合剂,(iii)烟醇、烟酸或其盐,(iv)PPAR α 激动剂,(v)胆固醇吸收抑制剂,(vi)酰基 CoA:胆固醇酰基转移酶 (ACAT) 抑制剂,(vii)CETP 抑制剂和 (viii) 酚类抗氧化剂；

(i)PPAR α / γ 二元激动剂,

(j)PPAR δ 激动剂,

(k) 减肥化合物,

(l) 回肠胆汁酸载体蛋白抑制剂；

- (m) 抗炎药；
- (n) 胰高血糖素受体拮抗剂；
- (o) GLP-1；
- (p) GIP-1；
- (q) GLP-1 类似物；和
- (r) HSD-1 抑制剂。

稠合芳烃 PTP-1B 抑制剂

发明领域

[0001] 本发明涉及一类新的磷酸衍生物,所述磷酸衍生物是 PTP-1B 的抑制剂,并在治疗 2 型糖尿病和其他 PTP-1B 介导的疾病中具有优势。

[0002] 发明背景

[0003] 蛋白酪氨酸磷酸酶是参与多种调节过程的去磷酸化底物的跨膜或胞内酶大家族 (Fischer 等,1991,Science 253 :401-406)。蛋白酪氨酸磷酸酶-1B (PTP-1B) 是以丰富的量在多种人体组织中存在的约 50kd 胞内蛋白 (Charbonneau 等,1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86 :5252-5256 ;Goldstein,1993, Receptor 3 :1-15)。

[0004] 很多蛋白是 PTP-1B 的底物。一种重要底物是胰岛素受体。胰岛素与其受体结合引起受体自磷酸化,最显著的是激酶催化结构域的酪氨酸 1146、1150 和 1151 处的自磷酸化 (White & Kahn,1994,J. Biol. Chem. 269 :1-4)。这引起胰岛素受体酪氨酸激酶的激活,该激酶使各种胰岛素受体底物 (IRS) 蛋白磷酸化,后者传导胰岛素信号事件到更下游以调节胰岛素的各种生物效应。

[0005] Kennedy 等,1999,Science 283 :1544-1548 表明蛋白酪氨酸磷酸酶 PTP-1B 是胰岛素信号途径的负调节物,说明该酶的抑制剂可有助于治疗 2 型糖尿病。缺乏 PTP-1B 的小鼠对糖尿病和肥胖症皆有抗性。

[0006] PTP-1B 抑制剂治疗 2 型糖尿病及相关疾病的用途的进一步支持,由特定针对 2 型糖尿病动物模型中 PTP-1B 的反义寡核苷酸的应用所提供。在动物模型中用反义寡核苷酸抑制 PTP-1B 导致血糖和胰岛素水平的正常化。Zinker 等,2002, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 99 :11357。

[0007] 因此抑制 PTP-1B 的化合物被预期在治疗和 / 或控制 2 型糖尿病并在有需要的患者中提高葡萄糖耐受方面具有功效。PTP-1B 的抑制剂还被期望用于延迟前驱糖尿病患者的糖尿病发作并预防前驱糖尿病患者发展为糖尿病。PTP-1B 抑制剂还应在治疗肥胖症和血脂障碍中具有功效。通过抑制 PTP-1B 来治疗糖尿病的人类用药至今尚未开发成功。需要抑制 PTP-1B 的新化学化合物。

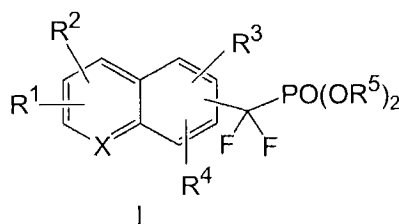
[0008] 在包括慢性髓细胞性白血病 (CML)、乳腺癌、卵巢癌和前列腺癌在内的若干癌系 (cancer line) 中观察到 PTP-1B 的过量表达和水平提高,说明 PTP-1B 在这些和其他癌症细胞中起控制激酶活性的调节作用。参见例如 Liu 等, J Biol. Chem., 1996, 271 : 31290-31295 ;Kenneth 等, Mol Cell Biol, 1998, 18 :2965-2975 ;Weiner 等, J Natl. Cancer Inst., 1996, 86 :372-378。因此 PTP-1B 活性的抑制可构成治疗或预防这些或其他癌症的一个重要目标。因此 PTP-1B 的抑制剂可用于治疗或预防癌症并且在癌症发展时用于减缓其进展。

[0009] 还有研究表明 PTP-1B 抑制剂可用于治疗或预防神经退行性疾病。

[0010] 发明概述

[0011] 包括其药学上可接受的盐及其前药在内的式 I 所代表的化合物是可用于治疗糖尿病和相关医学病症、也可用于治疗其他 PTP-1B 介导的疾病或病症的 PTP-1B 抑制剂。

[0012]



[0013] 在式 I 化合物中：

[0014] X 选自 CH 和 N；

[0015] R¹选自：(a) 被 1-3 个卤素任选取代以及被 1 个选自以下的基团任选取代的 C₁₋₃烷基：-OH、被 1-3 个卤素任选取代的 -OC₁₋₃烷基、-SO_xC₁₋₃烷基和 -CN，(b) -C(=O)H，(c) 被 1-3 个卤素任选取代的 -C(=O)C₁₋₃烷基，(d) -CN，(e) -HC=NOH，(f) -(CH₃)C=NOH，(g) 被 1-3 个卤素任选取代的 -HC=NOC₁₋₃烷基，(h) 被 1-3 个卤素任选取代的 -(CH₃)C=NOC₁₋₃烷基，(i) 被 1-3 个卤素任选取代的 -C(=O)OC₁₋₃烷基，(j) -C(=O)NHR⁶，(k) -CH=CH- 苯基，其中 -CH=CH- 被 1-2 个独立选自以下的取代基任选取代：卤素和被 1-3 个 F 任选取代的 C₁₋₂烷基，(l) -CH₂CH₂- 苯基，其中 -CH₂CH₂- 被 1-4 个独立选自以下的取代基任选取代：卤素和被 1-3 个 F 任选取代的 C₁₋₂烷基，(m) 苯基，(n) -HET- 苯基，其中 HET 是含 1-3 个选自 O、N 和 S 的杂原子的 5 元或 6 元杂芳环，(o) -C≡C- 苯基，和 (p) -CH₂- 苯基，其中 -CH₂- 苯基的 -CH₂- 基被 1-2 个独立选自以下的取代基任选取代：卤素和被 1-3 个 F 任选取代的 C₁₋₂烷基，其中所有出现的苯基和 HET 被 1-3 个独立选自以下的取代基任选取代：(i) 卤素，(ii) 被 1-3 个卤素任选取代的 -C(=O)OC₁₋₃烷基，(iii) -C(=O)OH，(iv) 被 1-3 个卤素任选取代的 C₁₋₃烷基，(v) 被 1-3 个卤素任选取代的 -OC₁₋₃烷基，(vi) -So_xMe，和 (vii) -SO₂NH₂；

[0016] R⁶选自：H、被 1-3 个卤素任选取代的 C₁₋₃烷基、苯基和 -CH₂- 苯基，其中两次出现的苯基被 1-3 个独立选自以下的取代基任选取代：(i) 卤素，(ii) 被 1-3 个卤素任选取代的 -C(=O)OC₁₋₃烷基，(iii) -C(=O)OH，(iv) 被 1-3 个卤素任选取代的 C₁₋₃烷基和 (v) 被 1-3 个卤素任选取代的 -OC₁₋₃烷基；

[0017] R²和 R⁴独立选自：H、卤素、-CH₃、-CF₃、-OCH₃和 -OCF₃；[0018] R³是卤素，其中所述卤素在 -CF₂PO(OR⁵)₂基团的邻位连接到图 1 的稠合芳环上，[0019] 各个 R⁵基团独立选自 H 和被 1-3 个卤素任选取代的 C₁₋₃烷基，而

[0020] x 是 0、1 或 2。

[0021] 本文公开了使用式 I 化合物治疗和控制糖尿病、肥胖症和其他疾病和病症的方法。本文还公开了药物组合物和联合治疗。

[0022] 本文所公开的化合物是一类新的 PTP-1B 抑制剂。下列两篇出版物中公开了作为 PTP-1B 抑制剂的所述化合物之一（实例 7B）的结构和名称。在这些出版物中没有公开所述化合物的合成：(1) Montalibet 等，Biochemical Pharmacology, 2004, 68 :1807-1814, (2) Montalibet 等，Journal of Biological Chemistry, 2006, 281, No. 8 :5258-5266。

[0023] 发明详述

[0024] 式 I 化合物具有多种实施方案，总结如下：

[0025] 本发明包括所出示的化合物，还包括（在可能的情况下）所述化合物的单独的非对映异构体、对映异构体、差向异构体以及包括消旋混合物在内的其非对映异构体和 / 或

对映异构体的混合物。尽管优选本文所公开的特定立体化学物 (diastereomers), 但是其他立体异构体, 包括非对映异构体、对映异构体、差向异构体及其混合物也可在治疗 PTP-1B 介导的疾病中具有功效。无活性或活性较低的非对映异构体和对映异构体可用于与受体和激活机制相关的科学研究。

[0026] 本发明还包括所述化合物的药学上可接受的盐, 以及包含所述化合物和药学上可接受的载体的药物组合物。所述化合物特别可用于治疗胰岛素抵抗、2 型糖尿病和与 2 型糖尿病和胰岛素抵抗相关的血脂障碍。所述化合物还可用于治疗肥胖症。它们还可用于治疗某种癌症以及当癌症在患者体内发展时用于减缓其进展。它们还可用于治疗、预防或减缓神经退行性疾病的进展。

[0027] 本文所公开的化合物可用于包含以下物质的药物组合物: (a) 一种或多种所述化合物或其药学上可接受的盐、和 (b) 药学上可接受的载体。所述化合物可用于包含一种或多种其他活性药物成分的药物组合物。所述化合物还可用于其中式 I 化合物或其药学上可接受的盐是唯一的活性成分的药物组合物。

[0028] 式 I 化合物或其药学上可接受的盐可用于制备用于治疗人或其他哺乳动物患者中的 2 型糖尿病的药物。

[0029] 治疗 2 型糖尿病的方法包括给予需要治疗的患者治疗有效量的式 I 化合物或其药学上可接受的盐、或包含所述化合物的药物组合物。在下文中描述了式 I 化合物的其他医学用途。

[0030] 缩写

[0031] 本文中使用了在有机化学、药物化学、药理学和医学中常用的并为这些领域的从业者众所周知的缩写和术语。下面提供了代表性的缩写和定义:

[0032] Ac 为乙酰基 [$\text{CH}_3\text{C}(\text{O})-$]; Ac_2O 为乙酸酐; 9-BBN 为 9- 硼杂双环-[3.3.1] 壬烷; Bn 为苄基; BOC 为叔丁氧羰基; DIAD 为偶氮二甲酸二异丙酯; DIBAL 为氢化二异丁基铝; DMF 为 N,N- 二甲基甲酰胺; DMSO 为二甲基亚砜; EDAC (或 EDC) 为 1- 乙基-3-[3-(二甲基氨基) 丙基]- 碳二亚胺盐酸盐。Et₃N 为三乙胺; Et 为乙基; EtOAc 为乙酸乙酯; EtOH 为乙醇; 3-F-Ph 为 3- 氟苯, HCl 为盐酸; HOBT 为 1- 羟基苯并三唑; HPLC 为高效液相色谱; LCMS 为具有质谱检测的 HPLC; LG 为离去基团; M 为摩尔; mmol 为毫摩尔; Me 为甲基; MeOH 为甲醇; MsCl 为甲磺酰氯; N 为正; NaHMDS 为六甲基二硅基氨基钠; NaOAc 为乙酸钠; NaOtBu 为叔丁醇钠; NMO 为 N- 甲基吗啉 N 氧化物; NMP 为 N 甲基吡咯烷酮; $\text{Pd}(\text{dba})_2$ 为三(二亚苄基丙酮) 合二钯; $\text{PdCl}_2(\text{Ph}_3\text{P})_2$ 为二氯·双(三苯基膦) 合钯; PG 表示未指定的保护基团; Ph 为苯基; PhMe 为甲苯; PPh_3 为三苯基膦; PMB 为对甲氧基苄基; RT 为室温; TBAF 为氟化四丁基铵; TBS 为叔丁基二甲基甲硅烷基; tBu 为叔丁基; Tf 为三氟甲磺酸基; TFA 为三 氟乙酸; THF 为四氢呋喃; TLC 为薄层色谱法; TMS 为三甲基甲硅烷基; TPAP 为过钨酸四丙基铵。

[0033] 定义

[0034] “Ac” 是乙酰基, 即 $\text{CH}_3\text{C}(=\text{O})-$ 。

[0035] 除非碳链被另外定义, 否则“烷基”意指可为直链或支链或其组合的饱和碳链。除非碳链被另外定义, 否则具有前缀“烷”的其他基团如烷氧基和烷酰基, 也可作为直链或支链或其组合。烷基的实例包括甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、仲丁基和叔丁基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基等。

[0036] “烯基”意指包含至少一个碳-碳双键,并可为直链或支链或其组合的碳链。烯基的实例包括乙烯基、烯丙基、异丙烯基、戊烯基、己烯基、庚烯基、1-丙烯基、2-丁烯基、2-甲基-2-丁烯基等。

[0037] “炔基”意指包含至少一个碳-碳三键,并可为直链或支链或其组合的碳链。炔基的实例包括乙炔基、炔丙基、3-甲基-1-戊炔基、2-庚炔基等。

[0038] “环烷基”意指具有特定数目碳原子的饱和碳环。该术语也可用于描述与芳基稠合的碳环。环烷基的实例包括环丙基、环戊基、环己基、环庚基等。环烯基在环上包含一个双键。

[0039] “芳基”常用以指碳环芳香结构。最常用的芳基是苯基和萘基。通常苯基是最优选的芳基。

[0040] “杂环”意指包含至少一个选自 N、S 和 O 的杂原子的饱和或部分不饱和环或环系,其中本文定义了杂原子数目和环大小以及不饱和度(如果有的话)。杂环的实例包括四氢呋喃、哌嗪、哌啶和吗啉。

[0041] 如本文中更具体的定义,“杂芳基”意指包含至少一个选自 N、O 和 S(包括 SO 和 SO₂) 的环杂原子的杂芳环。杂芳基的实例包括吡咯基、异噁唑基、异噻唑基、吡唑基、吡啶基、噁唑基、噁二唑基、噻二唑基、噻唑基、咪唑基、三唑基、四唑基、呋喃基、三嗪基、噻吩基、嘧啶基、哒嗪基、吡嗪基、苯并异噁唑基、苯并噁唑基、苯并噻唑基、苯并咪唑基、苯并呋喃基、苯并噻吩基(包括 S-氧化物和二氧化物)、呋喃并(2,3-b)吡啶基、喹啉基、吲哚基、异喹啉基、喹唑啉基、二苯并呋喃基等。

[0042] “卤素”包括氟、氯、溴和碘。

[0043] “Me”代表甲基。

[0044] 本文中使用措辞“药学上可接受的”来提及使用充分的医学判断、遵守所有适用的政府法规、安全并适合给予人体或动物的化合物、材料、组合物、盐和/或剂型。

[0045] 如在药用组合物中的术语“组合物”包括包含一种或多种活性成分和构成载体的一种或多种惰性成分的制品,以及直接或间接地由两种或更多所述成分结合、络合或集合,或者由一种或多种所述成分分离,或者由一种或多种所述成分的其他类型反应或互相作用所得的任何制品。因此,本发明的药物组合物包括通过将本发明化合物和药学上可接受的载体混合而制成的任何组合物。

[0046] 取代基“四唑”意指 2H-四唑-5-基取代基及其互变异构体。

[0047] 旋光异构体-非对映异构体-几何异构体-互变异构体

[0048] 式 I 化合物可包含一个或多个不对称中心,因此可作为外消旋体、外消旋混合物、单一的对映异构体、单独的非对映异构体和非对映异构体和/或对映异构体的混合物存在。本发明意在包括式 I 化合物的所有这样的异构体形式。具体而言,本发明化合物具有至少三个不对称中心。根据分子上不同取代基的性质,还可存在另外的不对称中心。在混合物中的或作为纯化合物或部分纯化的化合物的所有可能的旋光异构体、立体异构体和非对映异构体旨在包括在本发明的范围中(即作为纯化合物或在混合物中的不对称中心的所有可能组合)。

[0049] 本文所述的一些化合物可包含烯烃双键,除非另有说明,否则其意在同时包括 E 和 Z 几何异构体两者。

[0050] 本文所述的一些化合物可以具有不同的氢附着点而存在,称为互变异构体。一个实例是酮及其烯醇形式,又称酮-烯醇互变异构体。单独的互变异构体以及其混合物包括在式 I 化合物中。

[0051] 可通过本领域众所周知的方法,将具有一个或多个不对称中心的式 I 化合物分为不对映异构体和对映异构体等。

[0052] 或者,可使用光学纯的原材料和/或已知构型的试剂通过立体定向合成来合成对映异构体和具有手性中心的其他化合物。

[0053] 盐

[0054] 术语“药学上可接受的盐”指由包括无机碱或有机碱和无机酸或有机酸的药学上可接受的无毒性碱或酸制备的盐。得自无机碱的盐包括:铝盐、铵盐、钙盐、铜盐、铁盐、亚铁盐、锂盐、镁盐、锰盐、亚锰盐、钾盐、钠盐、锌盐等。特别优选的是:铵盐、钙盐、镁盐、钾盐和钠盐。固体形式的盐可以多于一种晶体结构存在,也可以水合物形式存在。得自药学上可接受的无毒有机碱的盐包括以下有机物的盐:伯胺、仲胺和叔胺、取代胺(包括天然存在的取代胺)、环胺和碱离子交换树脂,例如精氨酸、甜菜碱、咖啡因、胆碱、N, N' - 二苄基乙二胺、二乙胺、2- 二乙氨基乙醇、2- 二甲氨基乙醇、乙醇胺、乙二胺、N- 乙基- 吗啉、N- 乙基哌啶、葡糖胺、氨基葡萄糖、组氨酸、哈胺(hydrabamine)、异丙胺、赖氨酸、甲基葡糖胺、吗啉、哌嗪、哌啶、聚胺树脂、普鲁卡因、嘌呤、可可碱、三乙胺、三甲胺、三丙胺、氨丁三醇等。

[0055] 当本发明化合物是碱性的或当其结构中具有碱性取代基时,盐可由药学上可接受的无毒性酸(包括无机酸和有机酸)来制备。这样的酸包括乙酸、苯磺酸、苯甲酸、樟脑磺酸、柠檬酸、乙磺酸、富马酸、葡萄糖酸、谷氨酸、氢溴酸、盐酸、羟乙磺酸、乳酸、马来酸、苹果酸、扁桃酸、甲磺酸、黏酸、硝酸、扑酸、泛酸、磷酸、琥珀酸、硫酸、酒石酸、对甲苯磺酸等。特别优选的是柠檬酸、氢溴酸、盐酸、马来酸、磷酸、硫酸和酒石酸。

[0056] 应当清楚的是,当在本文提到式 I 化合物时还旨在包括药学上可接受的盐。

[0057] 代谢产物-前药

[0058] 本发明包括有治疗活性的代谢产物,其中所述代谢产物自身落入权利要求的范围中。本发明还包括前药,前药是将其给予患者时或将其给予患者后转化为所要求保护的化合物的化合物。在一些情况中本申请要求保护的化学结构其本身可为前药。

[0059] 功效

[0060] 如其体外试验所示,本文具体例示的化合物在抑制 PTP-1B 酶中表现出良好的功效。在试验部分所描述的酶试验中,所述化合物通常具有小于 $2\mu\text{M}$ 、优选小于 $1\mu\text{M}$ 的 IC_{50} 值。

[0061] 在所有需要这种治疗或可受益于这种治疗的包括人在内的哺乳动物中,PTP-1B 抑制剂提高了胰岛素敏感性并可具有以下方面的功效:当有胰岛素抵抗时预防或治疗糖尿病、提高葡萄糖耐受和胰岛素敏感性,以及治疗或预防肥胖症。所述化合物通常在治疗 2 型糖尿病(非胰岛素依赖性糖尿病或 NIDDM) 中更加有用。所述化合物还可引起甘油三酯和脂质的有益的减少。

[0062] 抑制 PTP-1B 的化合物还可用于治疗、预防或控制伴随 2 型糖尿病的许多病症,所述病症包括高脂血症、高甘油三酸酯血症、高胆固醇血症(包括受益提高的低 HDL 水平)、动脉粥样硬化、血管再狭窄、胰腺炎、脂肪细胞肿瘤、脂肪细胞癌(如脂肪肉瘤、血脂异常、炎

症性肠病)、一般炎症和胰岛素抵抗是组成部分之一的其他病症。

[0063] 所述化合物被预期在糖尿病患者和葡萄糖耐受受损和 / 或处于前驱糖尿病状态的非糖尿病患者中降低葡萄糖和血脂中有效。通过调节常发生在糖尿病患者或前驱糖尿病患者中的血糖水平摆动,所述化合物可改善常发生在这些患者中的高胰岛素血症。所述化合物还可有效治疗或减少胰岛素抵抗。所述化合物可有效治疗或预防妊娠糖尿病。

[0064] 本文所述的化合物、组合物和药物还可有效降低与代谢综合征相关的不良后遗症的风险、降低发生动脉粥样硬化的风险、延迟动脉粥样硬化的发作、和 / 或减少动脉粥样硬化后遗症的风险。动脉粥样硬化后遗症包括心绞痛、跛行、心脏病发作、中风和其他。

[0065] 通过保持高血糖在控制之下,所述化合物还可有效延迟或预防血管再狭窄和糖尿病性视网膜病变。

[0066] 本发明化合物还在提高或恢复 β 细胞功能中具有功效,所以它们还可用于治疗 1 型糖尿病或者延迟或免除 2 型糖尿病患者对胰岛素疗法的需要。

[0067] 在包括慢性髓细胞性白血病 (CML)、乳腺癌、卵巢癌和前列腺癌在内的若干癌系中观察到 PTP-1B 的过量表达和水平提高,说明 PTP-1B 在这些和其他癌症细胞中起控制激酶活性的调节作用。因此对 PTP-1B 活性的抑制可构成治疗或预防这些或其他癌症的一个重要目标。因此所述化合物可用于治疗或预防癌症,如前列腺癌、乳腺癌、卵巢癌、多发性骨髓瘤、白血病、黑色素瘤、淋巴瘤、肾癌和膀胱癌。

[0068] 所述化合物还可在治疗神经退行性疾病中具有功效。

[0069] 所述化合物通常在治疗一种或多种下述疾病中有效:(1) 2 型糖尿病(又称非胰岛素依赖型糖尿病或 NIDDM)、(2) 高血糖症、(3) 葡萄糖耐受受损、(4) 胰岛素抵抗、(5) 肥胖症、(6) 血脂障碍、(7) 混合或糖尿病血脂异常、(8) 高脂血症、(9) 高甘油三酸酯血症、(10) 高胆固醇血症、(11) 低 HDL 胆固醇、(12) 高 LDL 胆固醇、(13) 高载脂蛋白 β 脂蛋白血症(hyperapoblipoproteinemia)、(14) 动脉粥样硬化及其后遗症、(14) 血管再狭窄、(15) 腹型肥胖、(16) 视网膜病变、(17) 代谢综合征、(18) 高血压、(19) 胰岛素抵抗、(19) 癌症和(20) 神经退行性疾病。

[0070] 本发明一方面提供了治疗和控制混合或糖尿病血脂异常、高胆固醇血症、动脉粥样硬化、低 HDL 水平、高 LDL 水平、高脂血症和 / 或高甘油三酸酯血症的方法,所述方法包括对需要这种治疗的患者给予治疗有效量的式 I 化合物。所述化合物可单独使用或可有利地与胆固醇吸收抑制剂联合使用,特别地 HMG-CoA 还原酶如洛伐他汀(lovastatin)、辛伐他汀(simvastatin)、罗苏伐他汀(rosuvastatin)、普伐他汀(pravastatin)、氟伐他汀(fluvastatin)、阿托伐他汀(atorvastatin)、rivarastatin 或伊伐他汀(itavastatin)。所述化合物还可有利地与其他降脂药物联合使用,如胆固醇吸收抑制剂(例如甾烷醇酯(stanol ester)、甾醇苷如替奎安(tiqueside)和氮杂环丁酮(azetidinone)如依泽替米贝(ezetimibe)、ACAT 抑制剂(如阿伐麦布(avasimibe)、CETP 抑制剂(例如托塞匹布(torcetrapib)和在公开申请 W02005/100298, W02006/014413 和 W02006/014357 中所描述的那些药物)、烟酸和烟酸受体拮抗剂、胆汁酸螯合剂、微粒体甘油三酯转运抑制剂和胆汁酸再摄取抑制剂。这些联合治疗可有效治疗或控制一种或多种相关病症,包括高胆固醇血症、动脉粥样硬化、高脂血症、高甘油三酸酯血症、血脂异常、高 LDL 和低 HDL。

[0071] 通过给予需要治疗的患者治疗有效量的所述化合物,式 I 化合物或其药学上可接

受的盐可用于治疗一种或多种上面列举的疾病。式 I 化合物或其药学上可接受的盐还可用于制备治疗一种或多种所列疾病的药物。

[0072] 给药和剂量范围

[0073] 任何合适的给药途径可用于提供给哺乳动物（特别是人）有效剂量的本发明化合物。例如可用口服给药、直肠给药、局部给药、胃肠外给药、眼部给药、肺部给药、鼻内给药等。剂型包括片剂、锭剂、分散剂、混悬剂、溶液剂、胶囊剂、霜剂、软膏剂、气雾剂等。优选口服给予式 I 化合物。

[0074] 所用活性成分的有效剂量可根据所用特定化合物、给药模式、待治疗病症和待治疗病症的严重性而变化。本领域技术人员可容易地确定这样的剂量。

[0075] 当治疗或控制糖尿病和 / 或高血糖或高甘油三酸酯血症或式 I 化合物的其他适应症时,当本发明的化合物以约 0.1 毫克 - 约 100 毫克 / 每公斤动物体重给予、优选作为单个日剂量或每日 2-6 次分剂量或以持续释放形式给予时,通常获得良好的效果。对大多数大型哺乳动物而言,总日剂量是约 1 毫克 - 约 1000 毫克。对 70kg 成人而言,总日剂量通常为约 1 毫克 - 约 500 毫克。对特别有效的化合物而言,成人的剂量可低至 0.1mg。在一些情况时,日剂量可高至 1gm。给药方案可在此范围内或甚至在此范围外进行调整以提供最佳治疗反应。

[0076] 口服给药将常用片剂或胶囊实现。片剂和胶囊剂的剂量实例是 0.1mg、0.25mg、0.5mg、1mg、2mg、5mg、10mg、25mg、50mg、100mg、200mg、300mg、400mg、500mg 和 750mg。其他口服形式还可具有同样或类似的剂量。可一天一次、一天两次、一天三次或一天四次给予这些片剂或胶囊剂。通常优选一天一次给药。

[0077] 药物组合物

[0078] 本发明另一方面提供了包含式 I 化合物和药学上可接受的载体的药物组合物。本发明的药物组合物包含作为活性成分的式 I 化合物或药学上可接受的盐,以及药学上可接受的载体和任选的其他治疗成分。术语“药学上可接受的盐”指由包括无机碱或酸或有机碱或酸在内的药学上可接受的无毒性碱或酸制备的盐。如果给予前药,药物组合物还可包括前药或其药学上可接受的盐。

[0079] 虽然在任何给予情况中最适合的途径将取决于待治疗的病症的性质和严重性以及活性成分的性质,但是所述组合物包括适用于口服给药、直肠给药、胃肠外给药（包括皮下给药、肌肉给药和静脉内给药）、眼给药（眼部给药）、肺部给药（鼻吸入或口腔吸入）或鼻内给药的组合物。它们可方便地以单位剂型形式存在或通过任何药学领域总所周知的方法来制备。

[0080] 在实际使用中,可依照常规药学调制技术将作为活性成分的式 I 化合物与药用载体充分混合。载体可采用多种形式,视给药所需制备形式例如口服给药或胃肠外给药（包括静脉内给药）而定。任何常用药学介质都可用于制备口服剂型的组合物,例如所述介质在口服液体制剂（例如混悬剂、酏剂和溶液剂）中例如为水、二醇类、油类、醇类、矫味剂、防腐剂、着色剂等,或在口服固体制剂（例如散剂、硬胶囊剂和软胶囊剂、片剂）中例如为淀粉、糖、微晶纤维素、稀释剂、制粒剂、润滑剂、粘合剂、崩解剂,固体口服制剂比液体制剂更优选。

[0081] 因为其便于给药,片剂和胶囊剂代表了最有利的口服剂量单位形式,在这种情况下

下显然采用固体药用载体。如果需要,可通过标准含水技术或无水技术将片剂包衣。这样的组合物和制剂应包含至少 0.1% 的活性化合物。当然在这些组合物中的活性化合物的百分比可变化并合适地可在约 2% - 约 60% / 单位重量之间。此类治疗上有用的组合物中的活性组合物的量为获得有效剂量的量。活性化合物还可作为例如液体滴剂或喷雾剂鼻内给药。

[0082] 片剂、丸剂、胶囊剂等还可包含粘合剂如西黄蓍胶、阿拉伯胶、玉米淀粉或明胶;赋形剂如磷酸二钙;崩解剂如玉米淀粉、马铃薯淀粉、海藻酸;润滑剂如硬脂酸镁;甜味剂如蔗糖、乳糖或糖精。当剂量单位形式是胶囊剂时,除了上述类型的材料外,其还可包含液体载体如脂肪油。

[0083] 在一些实例中,根据待给予的化合物或盐的溶解性,将所述化合物或盐配制成油溶液可以是有利的,所述油例如为一种或多种中链脂肪酸的甘油三酯、亲脂溶剂如三乙酸甘油酯、亲水溶剂(例如丙二醇)或者它们中的两种或更多的混合物,还任选包括一种或多种离子或非离子表面活性剂如十二烷基硫酸钠、聚山梨酯 80、聚乙氧基化甘油三酯以及一种或多种中链脂肪酸的单甘油酯和/或二甘油酯。包含表面活性剂(特别是 2 种或更多表面活性剂)的溶液与水接触时将形成乳剂或微乳剂。所述化合物还可配制在水溶性聚合物中,即通过例如热融挤出和喷雾干燥的方法使所述化合物作为无定型相分散在其中,这样的聚合物包括乙酸羟丙基甲基纤维素(hydroxypropylmethylcellulose acetate)(HPMCAS)、羟丙基甲基纤维素(hydroxypropylmethyl cellulose)(HPMCS)和聚乙烯吡咯烷酮,包括同聚物和共聚物。

[0084] 各种其他材料可作为包衣存在或修饰剂量单位的物理形式。例如,片剂可用虫胶、糖或两者共同包被。除了活性成分之外,糖浆剂或酏剂还可包含作为增甜剂的蔗糖、作为防腐剂的羟苯甲酸甲酯和对羟基苯甲酸丙酯、染料和调味剂如樱桃香精或桔子香精。

[0085] 式 I 化合物还可经胃肠外给药。可合适地在水中与一种表面活性剂或表面活性剂的混合物(所述表面活性剂如羟丙基纤维素、聚山梨酯 80 和中链脂肪酸和长链脂肪酸的单甘油酯和/或二甘油酯)混合,来制备这些活性化合物的溶液剂或混悬剂。还可在甘油、液体聚乙二醇及其在油类中的混合物中制备分散剂。在平常的储存和使用条件下,这些制剂包含防腐剂以防止微生物的生长。

[0086] 适用于注射使用的药物形式包括无菌水溶液剂或分散剂和用于无菌注射溶液剂或分散剂临时制备的无菌粉末。在所有情况中,所述形式必须是无菌的并且就存在容易注射性而言必须是流体。在制备和储存条件下必须是稳定的并且必须进行保存以防止微生物如细菌和真菌的污染作用。载体可为包含例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇和液体聚乙二醇)的溶剂或分散剂、其合适的混合物及植物油。

[0087] 联合治疗

[0088] 式 I 化合物可与在式 I 化合物对其有用的疾病和病症的治疗和改善中也可用的其他药物联合使用。因此通过一定途径或以常使用的量可将这样的其他药物与式 I 化合物同时或序贯给予。在治疗患有 2 型糖尿病、胰岛素抵抗、肥胖症、代谢综合征和伴随这些疾病的并存病的患者时,通常给予多于一种的药物。本发明的化合物通常可给予已经服用一种或多种用于这些病症的其他药物的患者。当已接受一种或多种抗糖尿病化合物如二甲双胍(metformin)、磺酰脲(sulfonylurea)和/或 PPAR 激动剂治疗的患者的血糖水平

(glycemic level) 不足以响应治疗时, 往往将所述化合物给予上述患者。

[0089] 当式 I 化合物与一种或多种其他药物同时使用时, 优选包含这样的其他药物和式 I 化合物的单位剂型的药物组合物。然而, 联合治疗还包括其中式 I 化合物和一种或多种其他药物根据不同的重叠时间表给予的疗法。还被考虑的是, 当与一种或多种其他活性成分联合使用时, 本发明的化合物和其他活性成分可以按少于每一种单独使用时的剂量使用。因此, 除了式 I 化合物以外, 本发明的药物组合物包括那些包含一种或多种其他活性成分的化合物。

[0090] 可与式 I 化合物联合给予, 以及分别给予或在同一药物组合物中的其他活性成分的实例包括但不限于:

[0091] (a) PPAR γ 激动剂和部分激动剂, 同时包括格列酮类 (glitazones) 和非格列酮类 (例如曲格列酮 (troglitazone)、吡格列酮 (pioglitazone)、恩格列酮 (englitazone)、MCC-555、罗格列酮 (rosiglitazone)、巴格列酮 (balaglitazone)、萘格列酮 (netoglitazone)、T-131、LY-300512、LY-818 及在 W002/08188、W02004/020408 和 W02004/020409 中公开的化合物)。

[0092] (b) 双胍如二甲双胍和苯乙双胍;

[0093] (c) GPR40 激动剂;

[0094] (d) 二肽基肽酶 IV (DP-IV) 抑制剂如西格列汀 (sitagliptin)、沙格列汀 (saxagliptin) 和维格列汀 (vildagliptin);

[0095] (e) 胰岛素或胰岛素模拟物;

[0096] (f) 磺酰脲如甲苯磺丁脲 (tolbutamide)、格列美脲 (glimepiride)、格列吡嗪 (glipizide) 和相关物质;

[0097] (g) α 葡萄糖苷酶抑制剂 (如阿卡波糖 (acarbose));

[0098] (h) 改善患者血脂谱的药剂, 如 (i) HMG-CoA 还原酶抑制剂 (洛伐他汀、辛伐他汀、罗苏伐他汀、普伐他汀、氟伐他汀、阿托伐他汀、rivarastatin、伊伐他汀、ZD-4522 和其他他汀类药物)、(ii) 胆汁酸螯合剂 (消胆胺 (cholestyramine)、考来替泊 (colestipol) 和与葡聚糖交联的二烷氨基烷基衍生物)、(iii) 烟酸受体激动剂、烟醇、烟酸或其盐、(iv) PPAR α 激动剂如非诺贝酸 (fenofibric acid) 衍生物 (吉非贝齐 (gemfibrozil)、氯贝丁酯 (clofibrate)、非诺贝特 (fenofibrate) 和苯扎贝特 (bezafibrate))、(v) 胆固醇吸收抑制剂例如依泽替米贝、(vi) 酰基 CoA: 胆固醇酰基转移酶 (ACAT) 抑制剂, 如阿伐麦布、(vii) CETP 抑制剂如托塞匹布和 (viii) 酚类抗氧化剂如普罗布考 (probucol);

[0099] (i) PPAR α/γ 二元激动剂, 如莫格列扎 (muraglitazar), 替格列扎 (tesaglitazar), 法格列扎 (farglitazar) 和 JT-501;

[0100] (j) PPAR δ 激动剂如那些在 W097/28149 中公开的;

[0101] (k) 减肥化合物如芬氟拉明 (fenfluramine)、右芬氟拉明 (dexfenfluramine)、酚妥拉明 (phentiramine)、subitramine、奥利司他 (orlistat)、神经肽 Y5 抑制剂、Mc4r 激动剂、大麻素受体 1 (CB-1) 拮抗剂 / 逆激动剂和 β 3 肾上腺素能受体激动剂;

[0102] (l) 回肠胆汁酸载体蛋白抑制剂;

[0103] (m) 旨在用于炎症病症中的药剂如阿司匹林、非类固醇消炎药、糖皮质激素、柳氮磺吡啶 (azulfidine) 和环氧化酶 2 选择性抑制剂;

- [0104] (n) 胰高血糖素受体拮抗剂；
[0105] (o) GLP-1；
[0106] (p) GIP-1；
[0107] (q) GLP-1 类似物；如毒蜥激动肽 (exendins)，例如艾塞那肽 (exenatide (Byetta))，和
[0108] (r) 羟基胆固醇脱氢酶 -1 (HSD-1) 抑制剂。

[0109] 上面组合包括本发明化合物与一种其他活性化合物而且与两种或更多其他活性化合物的组合。非限制性实例包括式 I 化合物与两种或更多选自以下的活性化合物的组合：双胍、磺酰脲、HMG-CoA 还原酶抑制剂、其他 PPAR 激动剂、GPR40 激动剂、DP-IV 抑制剂和减肥化合物。

[0110] 用于测量生物活性的试验

[0111] 用以下对 PTP-1B- 抑制活性的试验表明本申请的化合物的活性。

[0112] 磷酸酶试验方案

[0113] 材料：

[0114] EDTA- 乙二胺四乙酸 (Sigma)

[0115] DMH-N,N'- 二甲基 -N,N'- 双 (巯基乙酰基)- 胍 (由 R. Singh 和 G. M. Whitesides 在 J. Org. Chem. 56, 第 2332-2337 页, (1991) 上公开了其合成并可用 DTT 即二硫苏糖醇、Bistris 即 2,2- 双 (羟甲基)-2',2''- 三乙醇胺 (Sigma)、Triton X-100 即聚乙二醇辛基苯基醚 10 (Pierce) 代替。

[0116] 抗体：兔抗 - 谷胱甘肽 S- 转移酶 (H 和 L) 片段 (分子探针)

[0117] 酶：人重组 PTP-1B, 包含氨基酸 1-320, 与 GST 酶 (谷胱甘肽 S- 转移酶) 或 FLAG 肽融合, 通过亲和色谱法纯化 (Huyer 等, 1997, J. Biol. Chem., 272, 843-852)。野生型包含活性位点半胱氨酸 (215), 而突变体包含活性位点丝氨酸 (215)。

[0118] 氘标记肽 :Bz-NEJJ-CONH₂, 分子量 808, 经验式, C₃₂H₃₂T₂O₁₂P₂F₄

[0119] 母液

[0120] (10X) 试验缓冲液 500mM Bistris (Sigma), pH 6.2,

[0121] 分子量 = 209.2

[0122] 20mM EDTA (GIBCO/BRL)

[0123] 储存在 4℃。

[0124] 每天现制：

[0125] 检测缓冲液 (1X) 50mM Bistris

[0126] (室温) 2mM EDTA

[0127] 5mM DMH (分子量 = 208)

[0128] 酶的稀释

[0129] 缓冲液 (放置于冰上) 50mM Bistris

[0130] 2mM EDTA

[0131] 5mM DMH

[0132] 20% 甘油 (Sigma)

[0133] 0.01% Triton X-100 (Pierce)

[0134] 抗体的稀释

[0135] 缓冲液（放置于冰上） 50mM Bistris

[0136] 2mM EDTA

[0137] IC₅₀结合试验方案：

[0138] 如下在 96 孔板中筛选可能抑制放射性配基与特定磷酸酶结合的化合物（配体）：

[0139] 在 25℃下按以下时间先后顺序向每一个孔中添加下列溶液：

[0140] 1. 110 μl 试验缓冲液。

[0141] 2. 25℃下 10 μl 在试验缓冲液 (1X) 中的 50nM 氚标记 BzN-EJJ-CONH₂。

[0142] 3. 25℃下双份 10 μl 在 DMSO 中系列稀释（最终 DMSO, 约 5% v/v）的 10 个不同浓度的测试化合物。

[0143] 4. 10 μl 在酶稀释缓冲液中的 3.75 μg/ml 纯化人重组 GST-PTP-1B。

[0144] 5. 摇动该板 2 分钟。

[0145] 6. 25℃下 10 μl 稀释在抗体稀释缓冲液中的 0.3 μg/μl 兔抗 - 谷胱甘肽 S- 转移酶（抗 -GST）IgG（分子探针）。

[0146] 7. 摇动该板 2 分钟。

[0147] 8. 25℃下 50 μl 的蛋白 A-PVT SPA 珠（Amersham）。

[0148] 9. 摇动该板 5 分钟。在 Microbeta 96 孔板计数器上定量结合信号。

[0149] 10. 非特异性信号被定义为无抗 -GST 抗体下的酶 - 配体结合。

[0150] 11. 100% 结合活性被定义为无测试配体而有抗 -GST 抗体存在、并减去非特异性结合的酶 - 配体结合。

[0151] 12. 相应地计算抑制百分率。

[0152] 13. IC₅₀值通过用 4- 参数 / 多位点公式（由 P. J. Huber (1981) 在“Robust Statistics”, New York, Wiley 中描述）的非线性回归拟合取近似值, 以 nM 单位报道。

[0153] 14. 10 μM 下具有大于 90% 抑制作用的测试配体（化合物）定义为具有活性。

[0154] 酶试验 PTP-1B

[0155] 试验缓冲液 50mM Bis-Tris (pH = 6.3)

[0156] 2mM EDTA

[0157] 5mM N, N' - 二甲基 -N, N' - 双（巯基乙酰基）- 肼 (DMH)

[0158] 底物 储存在 -20℃的 10mM 荧光素二磷酸酯 (FDP)（还

[0159] 可用 10mM DiFMUP）

[0160] 酶稀释缓冲液 50mM Bis-Tris (pH = 6.3)

[0161] 2mM EDTA

[0162] 5mM DMH

[0163] 20% (v/v) 甘油

[0164] 0.01% Triton X-100

[0165] 室温下在 96 孔板中进行试验。170 μl 反应混合物包含 50mM Bis-Tris (pH = 6.3)、2mM EDTA、5mM N, N' - 二甲基 -N, N' - 双（巯基乙酰基）- 肼 (DMH) 和 10 μM 荧光素二磷酸酯 (FDP) 或 6,8- 二氟 -4- 甲基 -7- 羟基香豆素磷酸酯 (DiFMUP)。将 10 μl 溶解在 DMSO 中的 10 个浓度（连续稀释）的测试化合物（抑制剂）或作为对照的单独的 DMSO 加至每一个

孔中,混合板 2 分钟。通过加入 20 μ l 稀释的 PTP-1B (在 50mM Bis/Tris (pH = 6.3)、2mM EDTA、5mM DMH、20% 甘油和 0.01% Triton X-100 中,50nM 用于 FDP,0.5nM 用于 DiFMUP) 起始反应。使用 Spectromax Gemini 荧光板分析仪 (分子探针),连续 15-30 分钟通过监测荧光产物荧光素一磷酸酯 (FMP) 或 6,8- 二氟 -4- 甲基 -7- 羟基 -4- 香豆素 (DiFMU) 的产生跟踪磷酸酶活性,对 FDP 为 440nm 激发和 530nm 发射 (在 525nm 截止滤光片),对 DiFMUP 为 360nm 激发和 450nm 发射 (在 435nm 截止滤光片)。所有试验至少进行两次。FMP 或 DiFMU 初始形成率对抑制剂的浓度作图,将数据拟合到 4- 参数公式,拟合的拐点即为 IC_{50} 。

[0166] 可逆性试验

[0167] 如 PTP1B 酶试验一样的试剂。如上所述在 96 孔板中用 10uM FDP 和 5nM PTP1B (最终浓度) 测定化合物的 IC_{50} 。跟踪 10 分钟磷酸酶活性。通过转移 5uL FDP 反应混合物到另一个 96 孔板的含 10uM DiFMUP 的 195uL 试验缓冲液中获得 40 倍稀释的反应混合物。跟踪 30 分钟 DiFMU 的产生。FDP 反应和 DiFMUP 反应数据均拟合到 4- 参数公式,对于 FDP 反应和 DiFMUP 反应拟合的拐点即为 IC_{50} 。如果从 FDP 到稀释到 DiFMUP 缓冲液中 IC_{50} 变化 > 20 倍,则化合物是可逆的。

[0168] 大鼠中的药物动力学

[0169] 大鼠中的口服药物动力学

[0170] 步骤:

[0171] 依照加拿大动物保护协会的指南 (Guidelines of the Canadian Council on Animal Care) 关养、饲喂和看护动物。

[0172] 在每一次口服血液水平研究前过夜禁食雄性 Sprague Dawley 大鼠 (325-375g)。

[0173] 将大鼠一次一只放置在限制器中,关牢箱子。通过从尾尖切一小片 (1mm 或更小) 获得零血液样品。接着用有力但是轻柔的动作从顶端到底端一划 (stroke) 尾部以挤出血液。将约 1mL 血液收集到肝素化真空抽血管中。

[0174] 如要求的以 10mL/kg 的标准给药体积制备化合物,并通过 16 规、3" 管饲针 (gavaging needle) 经口给予至胃中。

[0175] 除了无需再切尾部外,以和零点处取血相同的方式取之后的血液。用一片纱布清洁尾部,并如上所述挤 / 划血液至适当标记的管中。

[0176] 取样结束后,立即离心、分离血液,放至清楚标记的小瓶中,并在分析前储存在冰箱中。

[0177] 口服给药后测定大鼠血液水平的典型时间点为:

[0178] 0、15min、30min、1h、2h、4h、6h

[0179] 在 4hr 时间点取血后,向大鼠提供任意取食的食物。在研究中一直提供水。

[0180] 赋形剂:

[0181] 下面赋形剂可用于口服大鼠血液水平测定中:

[0182] PEG 200/300/400 ;限制到 2mL/kg

[0183] 甲基纤维素 (Methocel) 0.5% -1.0% :10mL/kg

[0184] Tween 80 :10mL/kg

[0185] 用于口服血液水平的化合物可为混悬液形式。为更好的溶解,溶液可放置在超声波仪中约 5 分钟。

[0186] 为了分析,用等体积的乙腈稀释等分试样并离心以去除蛋白沉淀。将上清液直接注入带有 UV 检测的 C-18HPLC 柱中。定量通过与加入已知量药物的清洁血样进行比较来完成。通过比较曲线 (AUC) 下的面积 (静脉注射与口服比较) 来评估生物利用率 (F)。

[0187]

$$F = \frac{\text{AUC 口服}}{\text{AUC 静脉内}} \times \frac{\text{静脉内剂量}}{\text{剂量口服}} \times 100\%$$

[0188] 通过下面的关系计算清除率:

[0189]

$$CL = \frac{\text{静脉内剂量(mg/kg)}}{\text{AUC 静脉内}}$$

[0190] CL 的单位是 mL/h • kg (毫升 / 小时千克)

[0191] 大鼠中的静脉内药物动力学

[0192] 步骤:

[0193] 依照加拿大动物保护协会的指南关养、饲喂和看护动物。

[0194] 将雄性 Sprague Dawley 大鼠 (325-375g) 放至在具有悬挂地板、笼顶、水瓶和食物的塑料垫块盒笼中。

[0195] 根据要求以 1mL/kg 的标准给药体积制备化合物。

[0196] 从大鼠取血用于零点血液样品,在 CO₂镇静作用下给药。将大鼠一次一只放置在预处理的 CO₂室中,当它们刚失去其翻正反射时马上取出。接着将大鼠放置在束缚板上,递送 CO₂的鼻锥 (nose cone) 放置在口套上,用橡皮筋将大鼠束缚在板上。通过使用镊子和剪刀暴露颈静脉,取零点样品,接着将测量剂量化合物注射到颈静脉中。向注射位点施以轻微指压,移去鼻锥。注意时间。这构成了零时间点。

[0197] 通过从尾尖切下一小片 (1-2mm) 取血 5 分钟。接着用有力但是轻柔的动作从鼠尾顶部到底部一划尾部以从尾部挤出血液。将约 1mL 血液收集到肝素化收集小瓶中。除了无需再切尾部外,以同样的方式取之后的血液。用一片纱布清洁尾部,并如上所述挤出血液至适当标记的管中。

[0198] 静脉内给药后测定大鼠血液水平的典型时间点为:

[0199] 0、5min、15min、30min、1h、2h、6h

[0200] 或 0、5min、30min、1h、2h、4h、6h。

[0201] 赋形剂:

[0202] 下面赋形剂可用于 IV 大鼠血液水平测定中:

[0203] 葡萄糖:1mL/kg

[0204] 2-羟丙基-β-环糊精 1mL/kg

[0205] DMSO (二甲基亚砜):限制为每只动物 0.1mL 的剂量体积

[0206] PEG 200:以不多于 60%与 40%无菌水混合 -1mL/kg

[0207] 如果溶液是浑浊的,可与葡萄糖一起添加碳酸氢钠或碳酸钠。

[0208] 为了分析,用等体积的乙腈稀释等分试样并离心以去除蛋白沉淀。将上清液直接注入带有 UV 检测的 C-18 HPLC 柱中。定量通过与加入已知量药物的清洁血样进行比较来完成。通过比较曲线 (AUC) 下的面积 (静脉注射与口服比较) 来评估生物利用率 (F)。

[0209]

$$F = \frac{\text{AUC 口服}}{\text{AUC 静脉内}} \times \frac{\text{静脉内剂量}}{\text{口服剂量}} \times 100\%$$

[0210] 通过下面的关系计算清除率：

[0211]

$$CL = \frac{\text{静脉内剂量(mg/kg)}}{\text{AUC 静脉内}}$$

[0212] CL 的单位是 mL/h · kg (毫升 / 小时千克)

[0213] PTP-1B 完整细胞试验

[0214] 重组杆状病毒转移载体的构建和昆虫细胞

[0215] 简而言之, 使用 Bac-to-Bac 杆状病毒表达体系 (Gibco-BRL, Mississauga, Ontario, Canada) 将 PTP 1B cDNA (获自美国哈佛大学 R. L. Erikson 博士) 克隆到 pFASTBAC 供体质粒中, 该质粒经过设计以使 cDNA 的 5' 端包含 FLAG 序列 (PTP1B-FL)。将重组质粒转化到感受态 DH10BAC 大肠杆菌细胞中。经过转座和抗生素筛选后, 将重组杆粒 DNA 从挑选的大肠杆菌克隆中分离出来并用以转染 sf9 昆虫细胞 (Invitrogen, San Diego, CA, U. S. A.)。按照 Summers 和 Smith 的实验方案 (A manual for Methods for Baculovirus Vectors and Insect Culture Procedures (公报编号 1555). Texas A&M University, Texas Agricultural Experiment Station, College Station, TX, 1987), 在 28°C 下在转瓶中含有 10% 热灭活胎牛血清 (Gibco-BRL) 的 Grace's 补充培养基 (Gibco-BRL, Mississauga, Ontario, Canada) 中培养 sf9 细胞。

[0216] 完整细胞检测

[0217] 在 29hpi (转染后小时) 时通过 460rpm (48g) 温和离心 (Beckman GS-6R) 5 分钟收获表达 PTP1B-FL 的转染 sf9 细胞和模拟转染细胞。在试验缓冲液 (用 15mM Hepes 缓冲的 Hanks' 溶液, pH 7.4, 获自 Sigma, St. Louis, MO, U. S. A.) 中清洗一次细胞并在 300rpm (21g) 下再离心 10 分钟。接着将细胞在检测缓冲液中温和重悬, 并通过锥虫蓝拒染法 (trypan blue exclusion) 用血球计测定细胞密度和细胞活力。使用 Tomtec Quadra 96 自动移液器进行试验, 程序设计为在每一次添加后温和混合细胞。在 200 μL 试验缓冲液中, 将 2X 10⁵ PTP 表达细胞或模拟感染细胞分发到 96 孔聚丙烯板的每一个孔中, 并在 37°C 下用测试化合物或 DMSO 溶媒 (3 μL) 预孵育 15 分钟。用终浓度 10mM 的 pNPP (磷酸对硝基苯酯, 获自 Sigma-Aldrich Canada Ltd., Oakville, Ontario) 攻击预孵育的细胞 15 分钟, 4°C 离心, 于 OD₄₀₅ 下分光光度测定底物水解量。

[0218] 口服葡萄糖耐受试验

[0219] 在清醒的 Zucker obese fa/fa 大鼠或 obese ob/ob 小鼠 (12 周龄或更大) 中进行口服葡萄糖耐受试验。在用于实验前将动物禁食 16-18 小时。腹膜内或经口给予测试化合物或赋形剂, 60 分钟后经口给予剂量为 2g/kg 体重的葡萄糖溶液。用 Medisense 血糖测量仪测定取自给予葡萄糖之前和之后不同时间点的尾部血液样品的血糖水平。生成血糖水平的时间曲线并计算 120 分钟的曲线下面积 (AUC) (葡萄糖给予时间为零时间点)。将赋形剂对照组中的 AUC 用作零抑制百分比测定抑制百分比。

[0220] 在单独研究中, 向 C57BL/6J 小鼠饲喂获自 Bioserv (Frenchtown, NJ) 的高脂肪 (35%) 高碳水化合物 (36%) 的饮食 3-4 周, 在这段时间小鼠获得 50-100% 的基线体重。

按照如上所述同样方式进行口服葡萄糖耐受试验。

实施例

[0221] 提供下面实施例以阐述本发明但并不解释为以任何方式限制本发明。通过所附权利要求限定本发明的范围。

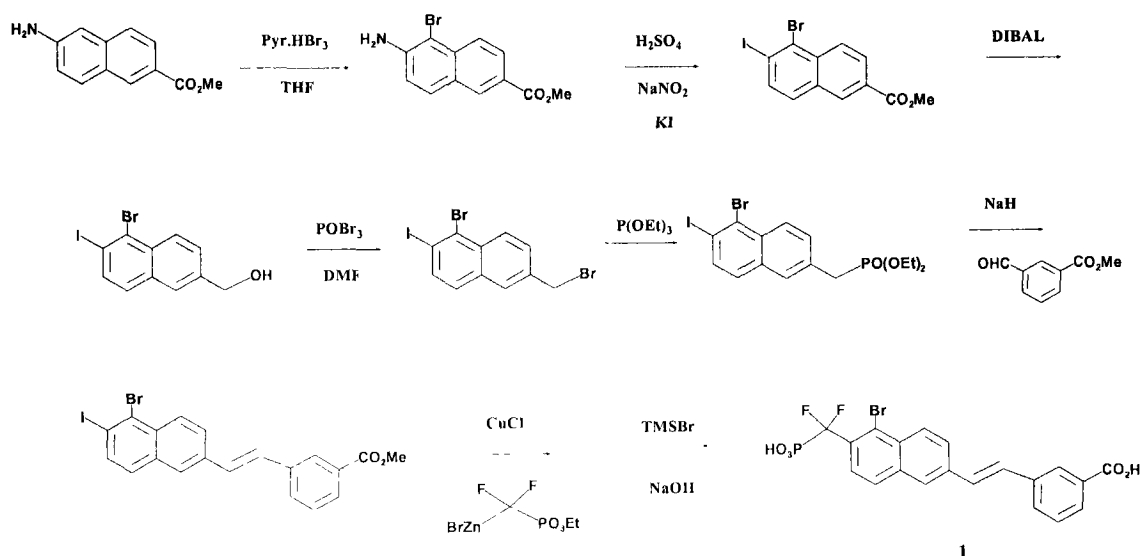
[0222] 在下面方案和实施例中阐述了制备本文所公开化合物的方法。原材料是市售的或通过文献中或根据所描述的已知实验方案制备的原材料。本发明进一步提供了制备如上所定义的式 I 化合物的制备方法。在一些情况下,进行上述反应方案顺序可变化以促进反应或避免不需要的反应产物。提供以下实施例仅为了例证的目的而不应理解成限制所公开的发明。

[0223] 实施例 1

[0224] 3-((E)-2-{5-溴-6-[二氟(膦酰基)甲基]-2-萘基}乙烯基)苯甲酸

[0225] 方案 1

[0226]



[0227] 步骤 1 :6-氨基 -5-溴 -2-萘甲酸甲酯

[0228] 向含 6-氨基-2-萘甲酸甲酯 (0.5g) 的 THF (10ml) 溶液中加入三溴吡啶鎓 (0.87g)。0℃下搅拌反应混合物 1h,接着用 SiO₂ 垫过滤反应混合物并用己烷洗涤。将有机洗出液蒸发至干燥,通过快速色谱法用己烷洗脱来纯化残余物,得到标题化合物。

[0229] 步骤 2 :5-溴 -6-碘 -2-萘甲酸甲酯

[0230] 0℃下向含 6-氨基-5-溴-2-萘甲酸甲酯 (700mg) 的水 (5mL) 溶液中加入 H₂SO₄。搅拌反应混合物 30 分钟。接着滴加含 NaNO₂ (0.3g) 的 5mL 水溶液并搅拌混合物 90 分钟。0℃下向溶液中加入 KI 溶液 (1.1 g 在 5mL 水中)。室温搅拌过夜反应物,之后将 NH₄Cl 的饱和溶液加入到混合物中。用 EtOAc 萃取混合物,将萃取物用 Na₂SO₄ 干燥。将有机萃取物蒸发至无水,通过快速色谱法用己烷洗脱来纯化残余物,得到标题化合物。

[0231] 步骤 3 :(5-溴 -6-碘 -2-萘基) 甲醇

[0232] -78℃下向含 5-溴-6-碘-2-萘甲酸甲酯 (0.37g, 0.95mmol) 的甲苯 (10mL) 溶液中滴加 DIBAL (3mL 在 PhMe 中的 1M 溶液, 3mmol)。将温度升至 0℃持续 1h。用 10mL 1M HCl

猝灭反应,用 EtOAc 萃取并用 Na₂SO₄干燥。将有机萃取物蒸发至干燥,得到标题化合物。

[0233] 步骤 4 :1-溴 -6-(溴甲基)-2-碘萘

[0234] 0℃下向含 POBr₃ (662mg, 2.3mmol) 的 4.5mL CH₂Cl₂溶液中滴加 DMF (2.25mL)。搅拌反应 10 分钟,接着加入含 (5-溴 -6-碘 -2-萘基) 甲醇 (280mg, 0.77mmol) 的 5mL CH₂Cl₂ 溶液。搅拌反应混合物 30 分钟,用 NH₄Cl 的饱和溶液猝灭反应,用 EtOAc 萃取并用 Na₂SO₄干燥。将有机萃取物蒸发至干燥,得到下一步骤中所用的标题产物。

[0235] 步骤 5 :(5-溴 -6-碘 -2-萘基) 甲基膦酸二乙酯

[0236] 向得自步骤 4 的 1-溴 -6-(溴甲基)-2-碘萘 (270mg) 中加入亚磷酸三乙酯 (4mL)。加热回流反应混合物 1 小时,接着在高真空蒸馏下去除过量的亚磷酸三乙酯,得到标题产物。

[0237] 步骤 6 :3-[(E)-2-(5-溴 -6-碘 -2-萘基) 乙烯基] 苯甲酸甲酯

[0238] 0℃下向含得自步骤 5 的 (5-溴 -6-碘 -2-萘基) 甲基膦酸二乙酯 (250mg) 的 THF (5mL) 溶液中加入 NaH (矿物油中的 60%, 17mg)。搅拌反应混合物 1 小时,向其中加入 3-甲酰苯甲酸甲酯 (85mg) 并于室温下持续搅拌 1h。用 NH₄Cl 的饱和溶液猝灭反应,用 EtOAc 萃取,用 Na₂SO₄干燥并蒸发。通过快速色谱法用 5% EtOAc/ 己烷洗脱来纯化残余物,得到标题化合物。

[0239] 步骤 7 :3-((E)-2-{5-溴 -6-[(二乙氧基磷酰基) (二氟) 甲基]-2-萘基 } 乙烯基) 苯甲酸甲酯

[0240] 按照 S. Shibuya 在 Tetrahedron 1997, 53. 3, 815 中所述的方法,通过 3-[(E)-2-(5-溴 -6-碘 -2-萘基) 乙烯基] 苯甲酸甲酯与 ((二乙氧基氧磷基) 二氟甲基) 溴化锌反应获得此产物。

[0241] 步骤 8 :3-((E)-2-{5-溴 -6-[(二氟 (膦酰基) 甲基]-2-萘基 } 乙烯基) 苯甲酸

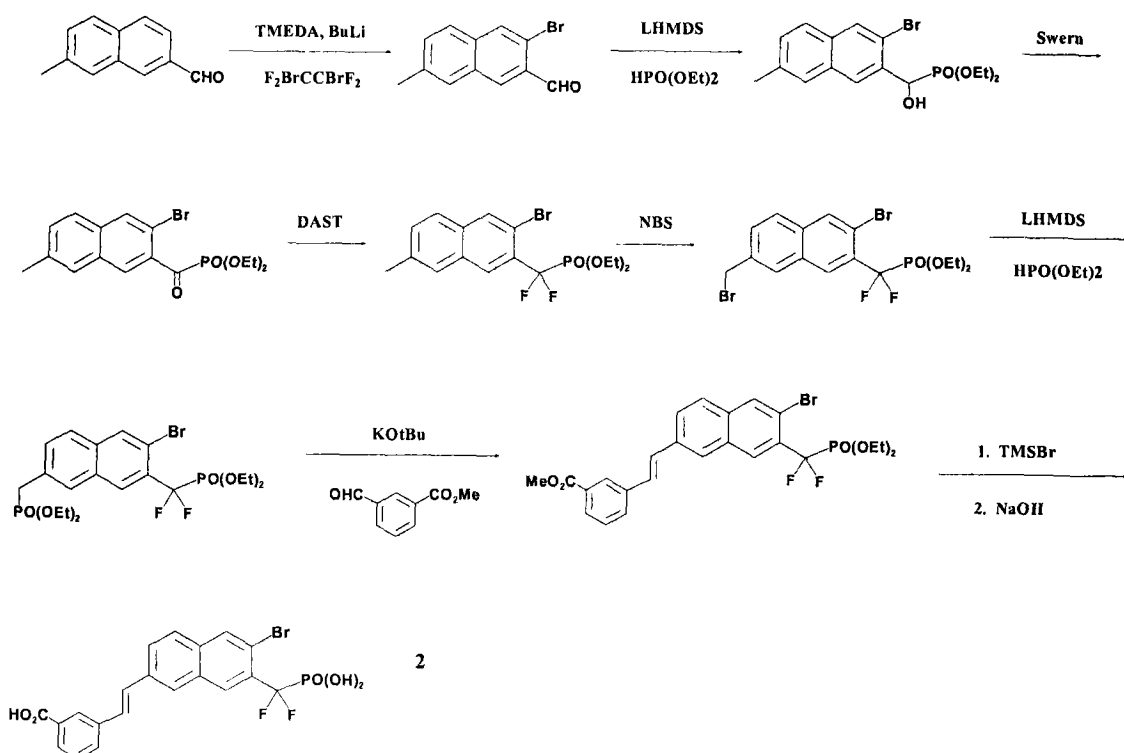
[0242] 用含 TMSBr (2mL) 的 1mL CH₂Cl₂于室温下过夜水解得自步骤 7 的 3-((E)-2-{5-溴 -6-[(二乙氧基磷酰基) (二氟) 甲基]-2-萘基} 乙烯基) 苯甲酸甲酯 (35mg)。混合物蒸发至干燥,将残余物溶解在乙醇中。再次蒸发至干燥并重复此过程 3 次。将反应残余物溶解在水中并用 1N NaOH 处理,得到为钠盐的标题产物。

[0243] ¹H NMR (500MHz, CD₃OD) : δ 8.52 (d, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.15 (m, 2H), 7.95-8.05 (m, 3H), 7.72 (d 1H), 7.60 (m, 3H)。

[0244] 实施例 2 3-((E)-2-{6-溴 -7-{二氟 (膦酰基) 甲基]-2-萘基 } 乙烯基) 苯甲酸

[0245] 方案 2

[0246]



[0247] 步骤 1 : 3-溴 -7-甲基 -2-萘甲醛

[0248] 如文献 (Sun, Q., Lavoie E. J. ; Heterocycles ; 1996, 43, (4), 737-743) 中所描述的从 7-甲基 -2-萘甲醛 (430mg)、N,N,N'-三甲基乙二胺 (500mg)、BuLi (在己烷中的 1.6M, 4.95mL) 和四氟二溴乙烷 (2.5mL), 得到标题化合物。

[0249] 步骤 2 : (3-溴 -7-甲基 -2-萘基) (羟基) 甲基膦酸二乙酯

[0250] -78℃下向含亚磷酸二乙酯 (0.22mL) 的 THF (5mL) 溶液中加入 LiHMDS (1 当量在 THF 中的 1M 溶液)。-78℃下搅拌反应混合物 1h。滴加 3-溴 -7-甲基 -2-萘甲醛的溶液, 0℃下过夜搅拌反应。用饱和的 NH₄Cl 溶液猝灭反应, 用 EtOAc 萃取并用 Na₂SO₄ 干燥。将有机萃取物蒸发至干燥, 通过快速色谱法用 50-100% EtOAc/己烷洗脱来纯化残余物, 得到标题产物。

[0251] 步骤 3 : 3-溴 -7-甲基 -2-萘甲酰基膦酸二乙酯

[0252] -78℃下向含草酰氯溶液 (0.15mL) 的 2.5mL CH₂Cl₂ 中加入 DMSO (0.23mL)。搅拌反应物 10 分钟, 之后滴加含 (3-溴 -7-甲基 -2-萘基) (羟基) 甲基膦酸二乙酯 (160mg) 的 2.5mL CH₂Cl₂ 溶液。-78℃下搅拌反应物 1h, 之后加入三乙胺 (0.66mL) 到混合物中, 并将温度升至室温。加入水 (5mL) 并用 CH₂Cl₂ 萃取混合物。合并有机萃取物, 用 Na₂SO₄ 干燥并蒸发至干燥, 得到下一步骤中所用的标题产物。

[0253] 步骤 4 : (3-溴 -7-甲基 -2-萘基) (二氟) 甲基膦酸二乙酯

[0254] -78℃下向含 3-溴 -7-甲基 -2-萘甲酰基膦酸二乙酯 (160mg) 的 CHCl₃ (3mL) 溶液中加入三氟化 (二乙基氨基) 硫 (0.44mL)。室温下搅拌反应 5h, 接着倒入冰 / 水 / CH₂Cl₂ 混合物中。用含 50% NH₄OH 的水和盐水反冲洗有机萃取物。接着用 Na₂SO₄ 干燥萃取物并蒸发至干燥。通过快速色谱法用 40% 己烷 / EtOAc 洗脱来纯化残余物, 得到标题产物。

[0255] 步骤 5 : [3-溴 -7-(溴甲基) -2-萘基] (二氟) 甲基膦酸二乙酯

[0256] 向含 (3-溴 -7-甲基 -2-萘基) (二氟) 甲基膦酸二乙酯 (200mg) 的 CCl₄ (12mL)

溶液中加入 NBS (90mg) 和催化量的过氧化苯甲酰。回流混合物 2 小时,接着用己烷稀释。通过硅藻土垫过滤溶液并用己烷洗涤。将己烷洗出液蒸发至干燥,得到标题产物。

[0257] 步骤 6 : {6-溴 -7-[(二乙氧基磷酰基)(二氟)甲基]-2-萘基}甲基膦酸二乙酯

[0258] 0℃下向含亚磷酸二乙酯 (0.22mL) 的甲苯 (5mL) 溶液中加入 NaH (60% 在矿物油中, 20mg)。搅拌反应混合物 1 小时,接着滴加含 [3-溴 -7-(溴甲基)-2-萘基](二氟)甲基膦酸二乙酯 (220mg) 的甲苯 (2mL) 溶液。0℃下搅拌反应 1h,用饱和的 NH₄Cl 溶液猝灭反应,用 EtOAc 萃取,用 Na₂SO₄干燥。将有机萃取物蒸发至干燥,通过快速色谱法用 50% EtOAc/己烷洗脱来纯化残余物,得到标题化合物。

[0259] 步骤 7 : 3-((E)-2-{6-溴 -7-[(二乙氧基磷酰基)(二氟)甲基]-2-萘基}乙烯基)苯甲酸甲酯

[0260] -78℃下向含 {6-溴 -7-[(二乙氧基磷酰基)(二氟)甲基]-2-萘基}甲基膦酸二乙酯 (190mg) 和 3-甲酰基苯甲酸甲酯 (60mg) 的脱气 THF (5mL) 溶液中加入叔丁醇钾 (0.35mL 1M 在 THF 中的溶液),0℃下搅拌反应混合物 1h。用 NH₄Cl 的饱和溶液猝灭混合物,用 EtOAc 萃取,用 Na₂SO₄干燥并蒸发至干燥。通过快速色谱法用 25% EtOAc/己烷洗脱来纯化残余物,得到标题产物。

[0261] 步骤 8 : 3-((E)-2-{6-溴 -7-{二氟(膦酰基)甲基]-2-萘基}乙烯基)苯甲酸

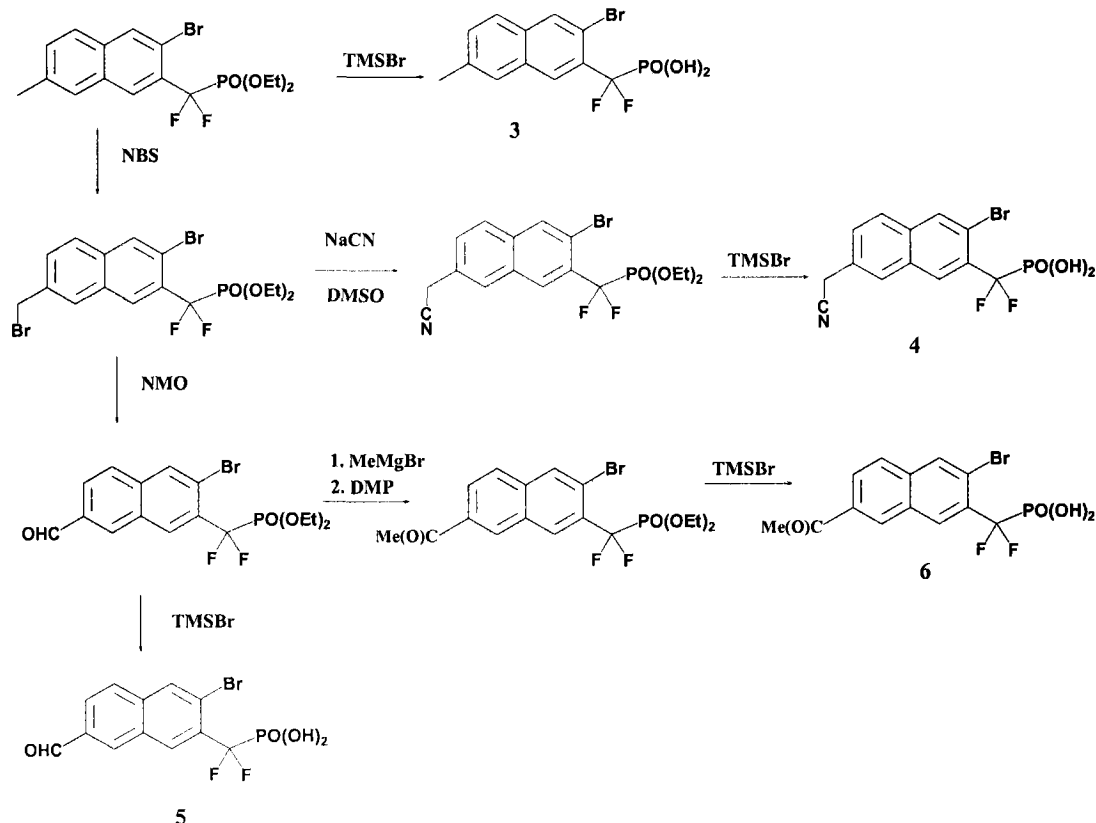
[0262] 用含 TMSBr (2mL) 的 1mL CH₂Cl₂ 室温下过夜水解得自步骤 7 的 3-((E)-2-{6-溴 -7-[(二乙氧基磷酰基)(二氟)甲基]-2-萘基}乙烯基)苯甲酸甲酯 (120mg)。混合物蒸发至干燥,将残余物溶解在乙醇中。再次蒸发至干燥并重复此过程 3 次。将反应残余物溶解在水中并用 1N NaOH 处理,得到为钠盐的标题产物。

[0263] ¹H NMR (500MHz, CD₃OD) : δ 8.84 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.88 (m, 2H), 7.78 (d, 1H), 7.70 (d, 1H), 7.40 (m, 3H),

[0264] 实施例 3-6

[0265] 方案 3

[0266]



[0267] 实施例 3 (3-溴 -7-甲基 -2-萘基) (二氟) 甲基磷酸

[0268] 用含 TMSBr (2mL) 的 1mL CH_2Cl_2 室温下过夜水解 (3-溴 -7-甲基 -2-萘基) (二氟) 甲基磷酸二乙酯 (0.1g 得自实施例 2 步骤 4)。将混合物蒸发至干燥, 将残余物溶解在乙醇中。再次蒸发至干燥并重复此过程 3 次。将反应残余物溶解在水中并用 1N NaOH 处理, 得到为钠盐的标题产物。

[0269] ^1H NMR (500MHz, CD_3OD) : δ 8.15 (d, 2H), 7.70 (m, 2H), 7.45 (d, 1H), 2.50 (s, 3H).

[0270] 实施例 4 [3-溴 -7-(氰基甲基) -2-萘基] (二氟) 甲基磷酸

[0271] 向含 [3-溴 -7-(溴甲基) -2-萘基] (二氟) 甲基磷酸二乙酯 (0.06g 得自实施例 2 步骤 5) 的 3mL DMSO 溶液中加入 NaCN (18mg)。室温下 搅拌反应物 1 小时。用水猝灭反应并用醚萃取两次。用 Na_2SO_4 干燥有机萃取物并蒸发。通过快速色谱法用 20% EtOAc / 己烷洗脱来纯化残余物, 得到磷酸酯 (20mg) : 室温下过夜水解含 [3-溴 -7-(氰基甲基) -2-萘基] (二氟) 甲基磷酸二乙酯的 2mL TMSBr 。混合物蒸发至干燥并将残余物溶解在乙醇中。再次蒸发至干燥并重复此过程 3 次。将反应残余物溶解在水中并用 1N NaOH 处理, 得到为钠盐的标题产物。

[0272] ^1H NMR (500MHz, CD_3OD) : δ 8.40 (d, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), -8.05 (d, 1H), 7.72 (d, 1H), 4.20 (s, 2H).

[0273] 实施例 5 (3-溴 -7-甲酰基 -2-萘基) (二氟) 甲基磷酸

[0274] 向含 [3-溴 -7-(溴甲基) -2-萘基] (二氟) 甲基磷酸二乙酯 (0.2g 得自实施例 2 步骤 5) 的 5mL 二噁烷溶液中加入 N -甲基吗啉 N -氧化物 (0.17g)。回流反应混合物 1 小时。用饱和的 NH_4Cl 溶液猝灭混合物, 用 EtOAc 萃取混合物, 用 Na_2SO_4 干燥萃取物并蒸发。通过快速色谱法用 10-20% EtOAc / 己烷洗脱来纯化残余物, 得到 (3-溴 -7-甲酰 -2-萘基) (二氟) 甲基磷酸二乙酯 (0.15 克), 在室温下对其用含 TMSBr (2mL) 的 CH_2Cl_2 (1mL) 过夜水

解。混合物蒸发至干燥并将残余物溶解在乙醇中。再次蒸发至干燥并重复此过程 3 次。将反应残余物溶解在水中并用 1N NaOH 处理,得到为钠盐的标题产物。

[0275] ^1H NMR(500MHz, CD_3OD) : δ 10.22 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 8.51 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.09 (m, 2H).

[0276] 实施例 6 (7-乙酰基 -3-溴 -2-萘基)(二氟)甲基膦酸

[0277] 步骤 1 : [3-溴 -7-(1-羟基乙基) -2-萘基] (二氟) 甲基膦酸二乙酯

[0278] -78°C 下向含 (3-溴 -7-甲酰 -2-萘基)(二氟)甲基膦酸二乙酯 (0.1g 得自实施例 5) 的 THF (1mL) 溶液中加入 MeMgBr (79 μL 在 THF 中的 3N 溶液)。将温度升至 0°C 并搅拌 1h。用 NH_4Cl 的饱和溶液猝灭混合物,用 EtOAc 萃取,用 Na_2SO_4 干燥有机萃取物并蒸发至干燥。通过快速色谱法用 10-30% 己烷 /EtOAc 来纯化残余物,得到标题产物。

[0279] 步骤 2 : (7-乙酰基 -3-溴 -2-萘基)(二氟)甲基膦酸二乙酯

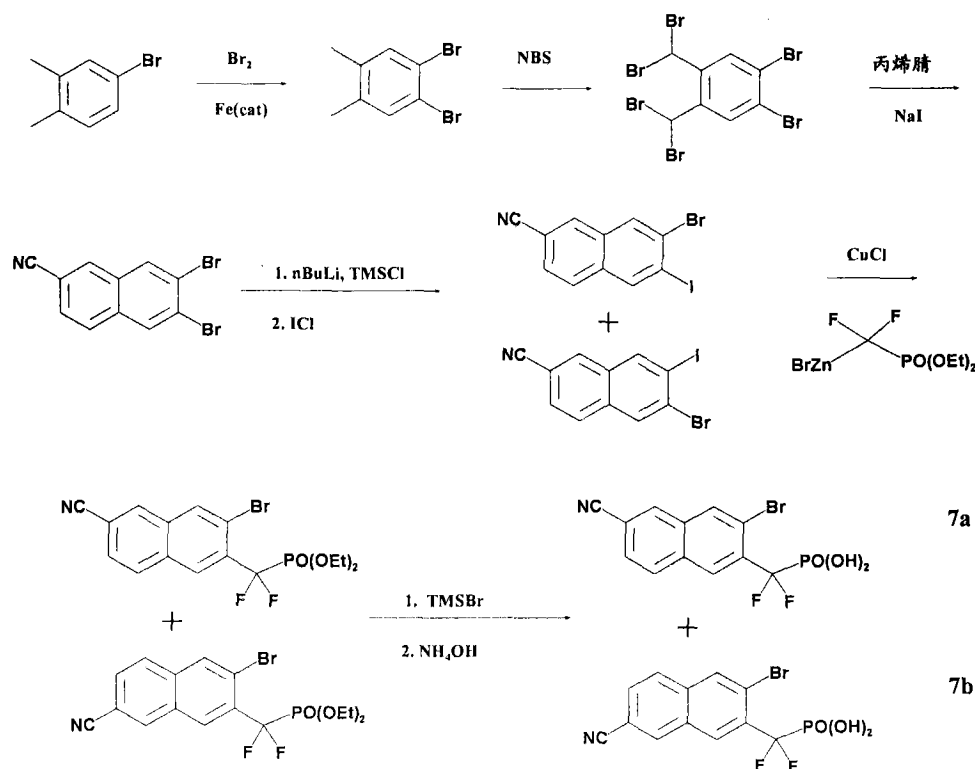
[0280] 0°C 下向得自步骤 1 的含 [3-溴 -7-(1-羟基乙基) -2-萘基] (二氟) 甲基膦酸二乙酯 (20mg) 的 CH_2Cl_2 (2mL) 溶液中加入 Dess-Martin 试剂 (24mg)。将温度升至 0°C 并搅拌反应物 1h。在 SiO_2 垫上过滤反应物,用 30% EtOAc / 己烷洗脱,将有机物蒸发至干燥。将残余物溶解,用纯 TMSBr (3mL) 水解并于室温下过夜搅拌。混合物蒸发至干燥并将残余物溶解在乙醇中。再次蒸发至干燥并重复此过程 3 次。将反应残余物溶解在水中,用甲苯共蒸馏并抽高真空,得到标题产物。

[0281] ^1H NMR(500MHz, CD_3OD) : δ 8.79 (d, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.15 (d, 1H), 8.02 (d, 1H), 2.75 (s, 3H).

[0282] 实施例 7 [(3-溴 -6-氰基 -2-萘基)(二氟)甲基]膦酸

[0283] 方案 4

[0284]



[0285] 步骤 1-3 : 6,7-二溴 -2-萘甲腈

[0286] 依照文献方法 (Hanack, M., Grobhans, R.; Chem. Ber. 1992, 125, 1243-1247), 可从市售的 4,5-二溴-邻二甲苯以 2 步骤或从市售的 4-溴-邻二甲苯以 3 步骤制备 6,7-二溴-2-萘甲腈。

[0287] 步骤 4: 7-溴-6-碘-2-萘甲腈和 6-溴-7-碘-2-萘甲腈

[0288] -78℃ 下向含 6,7-二溴-2-萘甲腈 (15g) 和 TMSCl (6.73mL) 的 THF (250mL) 溶液中快速加入 n-BuLi (53mL, 在 1.6M 己烷中, 预冷至 -20℃) 并剧烈搅拌, 将混合物另外搅拌 5 分钟, 用饱和 NH₄Cl 猝灭反应。接着用乙酸乙酯萃取混合物, 用水和盐水洗涤有机层, 用 MgSO₄ 干燥并过滤。离心滤出液, 通过柱色谱纯化粗提物, 得到为黄色固体的所需产物。

[0289] ¹H NMR (400MHz, 丙酮-d₆) (两种区域异构体的混合物): δ 8.53 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.18 (d, 1H), 8.07 (d, 1H), 7.82-7.77 (m, 2H), 0.50 (s, 18H)。

[0290] 向含上述产物的二氯甲烷 (250mL) 溶液中加入过量 ICl 并于室温下搅拌混合物 1h。接着用 10% Na₂S₂O₃ 洗涤溶液直到耗尽所有 ICl。接着用水、盐水洗涤溶液, 用 MgSO₄ 干燥并过滤。浓缩滤出液并从醚/己烷中重结晶, 得到所需产物。

[0291] ¹H NMR (400MHz, 丙酮-d₆) (两种区域异构体的混合物): δ 8.74 (s, 1H), 8.73 (s, 1H), 8.46-8.44 (m, 4H), 8.10-8.07 (m, 2H), 7.84-7.81 (m, 2H)。

[0292] 步骤 5: [(3-溴-6-氰基-2-萘基)(二氟)甲基]膦酸二乙酯和 [(3-溴-7-氰基-2-萘基)(二氟)甲基]膦酸二乙酯

[0293] 按照 S. Shibuya 在 Tetrahedron 1997, 53, 3, 815. 中所述的方法, 将 CuBr (99.999%) 和 THF (10mL) 装入用火干燥过的圆底烧瓶中, 接着装入 ((二乙氧基氧膦基)二氟甲基)溴化锌 (29mL, 1.72M 在 THF 中)。在 N₂ 下搅拌混悬液 15 分钟。接着加入固体 7-溴-6-碘-2-萘甲腈 (7.1g), 将混合物加热至 45℃ 过夜并冷却至室温。接着用饱和 NH₄Cl 猝灭混悬液并用 1:1 醚/乙酸乙酯 (3x) 萃取。照例处理萃取物, 得到粗产物, 首先用快速色谱法 (含 40% 乙酸乙酯的己烷) 对其进行纯化。接着通过 HPLC 分离两种区域异构体。用 50% 乙酸乙酯/己烷洗脱, 首先得到极性较小的 [(3-溴-7-氰基-2-萘基)(二氟)甲基]膦酸二乙酯异构体。

[0294] ¹H NMR (400MHz, 丙酮-d₆): δ 8.72 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.19 (d, 1H), 7.95 (d, 1H), 4.26 (m, 4H), 1.33 (t, 6H)。

[0295] 继续洗脱, 得到极性更大的 [(3-溴-6-氰基-2-萘基)(二氟)甲基]-膦酸二乙酯异构体。

[0296] ¹H NMR (400MHz, 丙酮-d₆): δ 8.56 (s, 2H), 8.43 (s, 1H), 8.35 (d, 1H), 7.93 (d, 1H), 4.26 (m, 4H), 1.33 (t, 6H)。

[0297] 步骤 6: [(3-溴-7-氰基-2-萘基)(二氟)甲基]膦酸 (7a)

[0298] 将含 [(3-溴-7-氰基-2-萘基)(二氟)甲基]膦酸二乙酯 (2.2g) 的二氯甲烷 (5mL) 和 TMSBr (7mL) 的溶液搅拌过夜并浓缩。将残余物与二氯甲烷 (2x)、乙醇/水 (2x) 共蒸发, 接着溶解在 20mL 甲醇中。接着加入氨 (30%) 并剧烈搅拌, 将混合物浓缩并与甲醇 (3x) 共蒸发。用醚洗涤固体残余物, 得到为白色粉末的所需产物。MS (-ESI): m/z 360.0 和 361.9 (M-1)⁻。

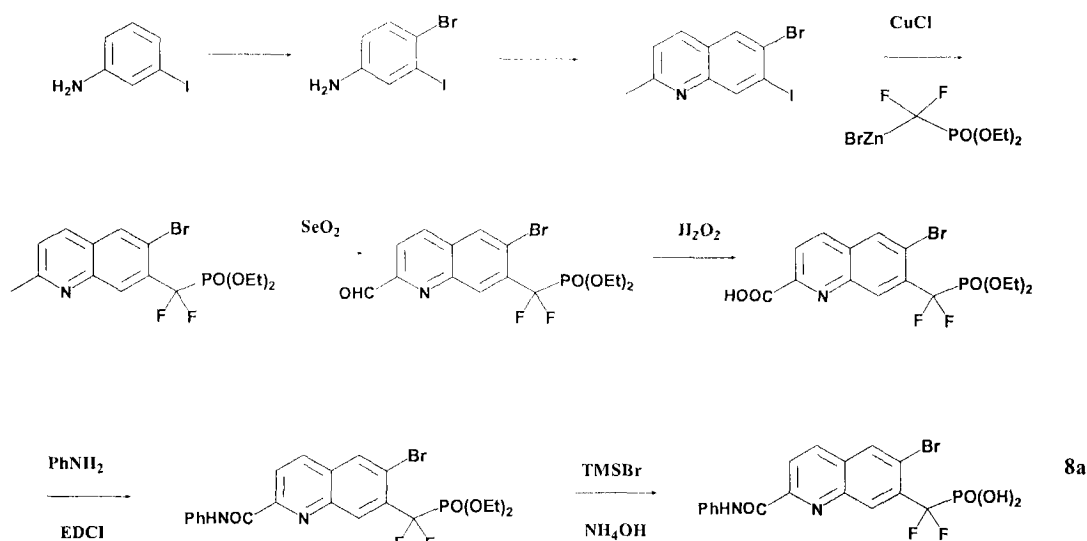
[0299] 注意: 以如步骤 6 所描述的类似方式获得 [(3-溴-6-氰基-2-萘基)(二氟)甲

基]磷酸(7b)。MS(-ESI):m/z 360.0, 361.9。

[0300] 实施例 8a:[{2-[(苯氨基)羰基]-6-溴喹啉-7-基}(二氟)甲基]磷酸

[0301] 方案 5

[0302]



[0303] 步骤 1:(4-溴-3-碘苯基)胺

[0304] -10℃下向含 3-碘苯胺(12mL, 100mmol)的 400mL CH₂Cl₂溶液中加入部分 2,4,4,6-四溴-2,5-环己二烯酮(45.1g, 110mmol),同时维持内部温度为-10℃。搅拌 4 小时后,加入 150mL 1N NaOH,用 CH₂Cl₂萃取产物。用水接着用盐水洗涤经合并的萃取物,用 Na₂SO₄干燥。真空中浓缩后用 2:1 的己烷:甲苯重结晶粗产物,得到所需产物。

[0305] 步骤 2:6-溴-7-碘-2-甲基喹啉

[0306] 向(4-溴-3-碘苯基)胺(11.93g, 40mmol)中加入浓 HCl(6mL)、对四氯苯醌(9.83g, 1 当量)和异丙醇(20mL),将混合物加热至回流。接着用注射泵以 0.1mL/min 的速率加入含巴豆醛的异丙醇(3.8mL)溶液,在加入完毕后在回流下另外搅拌 40 分钟。将混合物冷却至室温,用 EtOAc 和 5% NH₄OH 水溶液稀释。用 EtOAc 萃取产物,用水、盐水洗涤有机层几次并用 Na₂SO₄干燥。在 300mL 沸腾的甲苯中尽可能多地溶解粗材料,通过快速色谱法在二氧化硅上用 0 到 5% 梯度的 EtOAc/甲苯纯化。初始产物为 6-溴-7-碘-2-甲基喹啉接着是其异构体 6-溴-5-碘-2-甲基喹啉。

[0307] 6-溴-7-碘-2-甲基喹啉:¹H NMR(400MHz, 丙酮-d₆): δ 8.58(s, 1H), 8.32(s, 1H), 8.20(d, 1H), 7.48(d, 1H), 2.68(s, 3H)。

[0308] 6-溴-5-碘-2-甲基喹啉:¹H NMR(400MHz, 丙酮-d₆): δ 8.45(d, 1H), 8.01(d, 1H), 7.92(d, 1H), 7.53(d, 1H), 2.72(s, 3H)。

[0309] 步骤 3:[(6-溴-2-甲基喹啉-7-基)(二氟)甲基]磷酸二乙酯

[0310] 按照 S. Shibuya 在 Tetrahedron 1997, 53, 3, 815. 中所述的方法,通过 6-溴-7-碘-2-甲基喹啉与((二乙氧基氧磷基)二氟甲基)溴化锌反应获得此产物。

[0311] 步骤 4:[(6-溴-2-甲酰基喹啉-7-基)(二氟)甲基]磷酸二乙酯

[0312] 向含步骤 3 产物(1.24g, 3.04mmol)的 15mL 二噁烷中加入二氧化硒(388mg, 1.15 当量, 真空下用火干燥),将混合物加热至 100℃ 1.3h。将溶剂蒸发并通过快速色谱法在二氧化硅上用 30% EtOAc/甲苯来纯化残余物,得到为黄色固体的标题产物。

[0313] ^1H NMR (500MHz, 丙酮- d_6) δ 10.16 (s, 1H), 8.63, (d, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.13 (d, 1H), 4.30 (m, 4H), 1.33 (t, 6H).

[0314] 步骤 5 : 6-溴 -7-[(二乙氧基磷酰基)(二氟)甲基]喹啉 -2-甲酸

[0315] 如在文献中 (Synthesis, 1993, 295) 所描述的, 向含步骤 4 产物 (105mg, 0.25mmol) 的 1ml 甲酸中滴加 30% 过氧化氢 (0.13mL, 1mmol), 在室温下过夜搅拌混合物。将溶剂蒸发并加入无水乙醇。此过程重复 3 次, 将剩余乙醇蒸发后获得为油状的标题产物。

[0316] ^1H NMR (500MHz, 丙酮- d_6) δ 8.63, (s, 1H), 8.49 (s, 2H), 8.45 (s, 1H), 4.30 (m, 4H), 1.33 (t, 6H).

[0317] 步骤 6 : [(2-[(苯基氨基)羰基]-6-溴喹啉 -7-基)(二氟)甲基]磷酸二乙酯

[0318] 向含步骤 5 产物 (109mg) 的 5mL CH_2Cl_2 中加入 EDCI (96mg)、苯胺 (0.1mL) 和 Hunig's 碱 (0.1mL)。室温下搅拌溶液 3 小时, 浓缩并在二氧化硅上用 10-25% 梯度的 EtOAc/ 甲苯快速色谱后获得酰胺。

[0319] NMR (500MHz, CDCl_3) δ 10.2, (s, 1H), 8.6 (s, 1H), 8.5 (d, 1H), 8.45 (d, 1H), 8.4 (s, 1H), 7.4-7.0 (m, 5H), 4.30 (m, 4H), 1.33 (t, 6H).

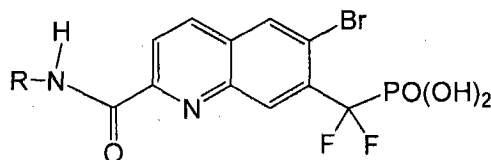
[0320] 步骤 7 : [(2-[(苯氨基)羰基]-6-溴喹啉 -7-基)(三氟)甲基]磷酸 (8)

[0321] 过夜搅拌含 [(3-溴 -7-氰基 -2-萘基)(二氟)甲基]磷酸二乙酯 (2.2g) 的二氯甲烷 (5mL) 和 TMSBr (7mL) 溶液并浓缩。将残余物与二氯甲烷 (2x)、乙醇 / 水 (2x) 共蒸发, 接着溶解在 20mL 甲醇中。接着加入氨 (30%) 并剧烈搅拌, 将混合物浓缩并用甲醇 (3x) 共蒸发。用醚洗涤固体残余物, 得到为白色粉末的所需产物。

[0322] MS (-ESI) : m/z 457.2 和 456.3 ($\text{M}-1$) $^-$.

[0323] 下表表示了与用类似于上面方案的方法所制备的实例 8a 类似的衍生物:

[0324]



[0325] 表 1

[0326]	实例	R	MS (阴性)
[0327]	8a	Ph	457, 456
[0328]	8b	H	381, 379
[0329]	8c	Me	395, 393
[0330]	8d	Bn	471, 469
[0331]	8e	3-F-Ph	475, 473

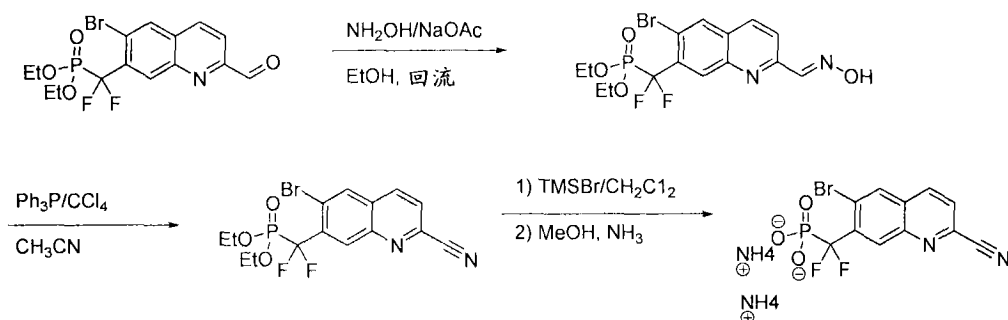
[0332] 实施例 9a-9i : (6-溴 -2-取代的喹啉 -7-基)(二氟)甲基]磷酸

[0333] 如注脚所示由方案 5 (实施例 8) 和方案 6 (实施例 9-I, 表 2 中的最后一项) 中所描述的中间体制得下表中的化合物。

[0334] 实施例 9i (表 2) : [(6-溴 -2-氰基喹啉 -7-基)(二氟)甲基]磷酸二铵

[0335] 方案 6

[0336]



[0337] 步骤 1 [(6-溴-2-((羟基亚胺基)甲基)喹啉-7-基)(二氟)甲基]磷酸二乙酯

[0338] 室温下向含 [(6-溴-2-甲酰基喹啉-7-基)(二氟)甲基]磷酸二乙酯 (525mg, 1.244mmol) [实施例 8, 步骤 4] 的乙醇溶液 (12mL) 中搅拌加入盐酸羟胺 (130mg, 1.865mmol) 和乙酸钠 (508mg, 3.73mmol)。70℃下搅拌反应混合物 1 小时。接着将反应混合物倒入碳酸氢钠水溶液中, 用乙酸乙酯 (100mL) 萃取, 用碳酸氢钠水溶液 (2X)、盐水洗涤, 用 MgSO_4 干燥并在真空中浓缩, 得到粗制 [(6-溴-2-[(E)-(羟基亚胺基)甲基]喹啉-7-基)(二氟)甲基]磷酸二乙酯。

[0339] ^1H NMR δ (ppm) (丙酮- d_6): 11.19 (1H, s), 8.44 (1H, s), 8.39 (1H, d, $J = 8.72\text{Hz}$), 8.36 (1H, s), 8.29 (1H, s), 8.13 (1H, d, $J = 8.72\text{Hz}$), 4.34-4.26 (4H, m), 1.36-1.29 (6H, m)。

[0340] 步骤 2 [(6-溴-2-氰基喹啉-7-基)(二氟)甲基]磷酸二乙酯

[0341] 室温下向含 [(6-溴-2-[(E)-(羟基亚胺基)甲基]喹啉-7-基)(二氟)甲基]磷酸二乙酯 (520mg, 1.189mmol) 的乙腈溶液 (30mL) 中搅拌加入三苯基膦 (1.248g, 4.76mmol) 和四氯化碳 (230 μL , 2.383mmol)。100℃下搅拌反应混合物 1 小时。真空中将反应混合物浓缩至干燥, 在二氧化硅胶上预吸附, 用于快速色谱法用含乙酸乙酯的甲苯 (20% - 30%) 洗脱, 得到 [(6-溴-2-氰基喹啉-7-基)(二氟)甲基]磷酸二乙酯。

[0342] ^1H NMR δ (ppm) (丙酮- d_6): 8.72 (1H, d, $J = 8.52\text{Hz}$), 8.63 (1H, s), 8.43 (1H, s), 8.13 (1H, d, $J = 8.52\text{Hz}$), 4.36-4.26 (4H, m), 1.41-1.29 (6H, m)。MS(+ESI) = 419.0 和 421.0。

[0343] 步骤 3 [(6-溴-2-氰基喹啉-7-基)(二氟)甲基]磷酸二铵

[0344] 0℃下向含 [(6-溴-2-氰基喹啉-7-基)(二氟)甲基]磷酸二乙酯 (370mg, 0.883mmol) 的二氯甲烷 (9) 溶液中搅拌下滴加溴三甲基甲硅烷 (1.15mL, 8.83mmol)。室温下过夜搅拌反应混合物。将反应混合物浓缩至干燥, 与二氯甲烷 (2x) 共蒸发。将乙醇 (5mL) 加入残余物中, 对其搅拌 20 分钟。浓缩至干燥并与乙醇 (2X) 共蒸发。将残余物溶解在甲醇 (8mL) 中并滴加含 2.0M 氨的甲醇 (4.4mL, 8.80mmol)。搅拌 20 分钟, 浓缩至干燥并悬浮在二乙醚中。过滤沉淀物, 得到 [(6-溴-2-氰基喹啉-7-基)(二氟)甲基]磷酸二铵。

[0345] ^1H NMR δ (ppm) (CD_3OD): 8.69 (1H, s), 8.48 (1H, d, $J = 8.50\text{Hz}$), 8.39 (1H, s), 7.89 (1H, d, $J = 8.50\text{Hz}$), MS(-ESI) = 361.0 和 363.0。

[0346] 表 2

[0347]

实例	结构	MS (neg)
9a		350, 352
9b		350, 352
9c		364, 366
9d		380, 382
9e		378, 380
9f		398, 400
9g		379, 381
9h		407, 409
9i		361, 363

[0348] 9a) 根据实施例 1 步骤 8, 用 TMSBr 水解 [(6- 溴 -2- 甲基喹啉 -7- 基) (二氟) 甲基] 磷酸二乙酯 (实施例 8, 步骤 3) 来制备。

[0349] 9b) 根据实施例 1 步骤 8, 通过 6- 溴 -5- 碘 -2- 甲基喹啉 (实施例 8, 步骤 2) 与 ((二乙氧基氧磷基) 二氟甲基) 溴化锌 (S. Shibuya 在 Tetrahedron 1997, 第 53 卷, no 3, 815 中) 反应接着用 TMSBr 水解来制备。

[0350] 9c) 根据实施例 1 步骤 8, 用 TMSBr 水解 [(6- 溴 -2- 甲酰基喹啉 -7- 基) (二氟) 甲基] 磷酸二乙酯 (实施例 8, 步骤 4) 来制备。

[0351] 9d) 根据实施例 1 步骤 8, 在 -78 至 -10°C 下通过将甲基镁加入含 [(6- 溴 -2- 甲酰基喹啉 -7- 基) (二氟) 甲基] 磷酸二乙酯 (实施例 8, 步骤 4) 的 THF 中, 接着用 TMSBr 水解来制备。

[0352] 9e) 根据实施例 1 步骤 8, 室温下用含 MnO₂ 的 EtOAc 氧化 [(6- 溴 -2- (1- 羟基乙基) 喹啉 -7- 基) (二氟) 甲基] 磷酸二乙酯 (实施例 9d) 1.5h, 接着用 TMSBr 水解来制备。

[0353] 9f) 根据实施例 1 步骤 8, 室温下通过 [(6- 溴 -2- (1- 羟基乙基) 喹啉 -7- 基) (二氟) 甲基] 磷酸二乙酯 (实施例 9d) 与甲磺酰氯和大大过量的含 DBU 的 CH₂Cl₂ 反应若干小时, 接着用 TMSBr 水解来制备。

[0354] 9g) 根据实施例 1 步骤 8, 通过 [(6- 溴 -2- 甲酰基喹啉 -7- 基) (二氟) 甲基] 磷酸二乙酯 (实施例 8 步骤 4) 与盐酸羟胺 (2 当量) 和三水合乙酸钠 (4 当量) 在回流乙醇中反应 5h, 接着用 TMSBr 水解来制备。

[0355] 9h) 根据实施例 1 步骤 8, 80℃下通过将 [(6- 溴 -2- 乙酰基喹啉 -7- 基) (二氟) 甲基] 磷酸二乙酯 (实施例 9e) 与含盐酸甲氧胺 (3 当量) 的吡啶反应 2h, 接着用 TMSBr 水解来制备。

[0356] 9i) 通过用含三苯基膦和 CCl_4 的 CH_3CN 使 [(6- 溴 -2-((羟基亚胺基) 甲基) 喹啉 -7- 基) (二氟) 甲基] 磷酸二乙酯 (实施例 9g) 脱水 (Synth. Commun. 1990, 2785), 接着用 TMSBr 水解来制备 (实施例 9i)。