



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101312963 B

(45) 授权公告日 2012. 03. 14

(21) 申请号 200680043895. 0

(22) 申请日 2006. 11. 21

(30) 优先权数据

60/739, 692 2005. 11. 23 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2008. 05. 23

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2006/061132 2006. 11. 21

(87) PCT申请的公布数据

W02007/120284 EN 2007. 10. 25

(73) 专利权人 伊莱利公司

地址 美国印第安纳州

(72) 发明人 M·D·查佩尔 S·E·康纳

P·A·希普斯金德 A·E·特里普

朱国新

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 郭文洁 李连涛

(51) Int. Cl.

C07D 409/12 (2006. 01)

A61K 31/41 (2006. 01)

A61P 3/10 (2006. 01)

(56) 对比文件

CN 1437581 A, 2003. 08. 20, 说明书第 6-10 页.

WO 03048109 A1, 2003. 06. 12, 说明书第 6-12 页.

审查员 康蕾

权利要求书 6 页 说明书 34 页

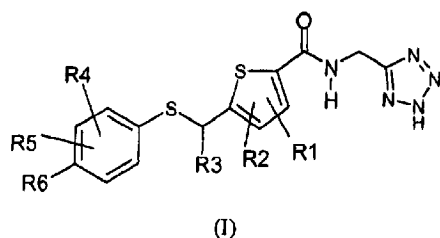
(54) 发明名称

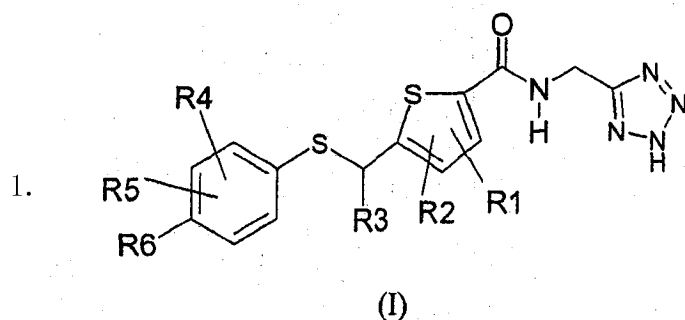
胰高血糖素受体拮抗剂、制备和治疗用途

(57) 摘要

本发明公开了新的式 I 化合物或其可药用盐, 其具有胰高血糖素受体拮抗剂或反向激动剂活性, 以及制备这种化合物的方法。在另一个实施方案中, 本发明公开了包含式 I 化合物的药物组合物, 以及使用这些化合物和组合物来治疗糖尿病性以及其他胰高血糖素相关的代谢病症等等的

方法。





或其可药用盐,其中:

R1 和 R2 独立地为 -H 或 - 卤素;

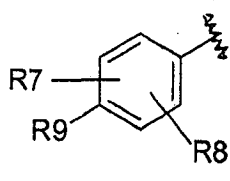
R3 是

-(C₁-C₈) 烷基,其任选被 1-3 个卤素取代、-(C₃-C₇) 环烷基、-(C₁-C₆) 烷基-(C₃-C₇) 环烷基或 -(C₃-C₇) 环烷基-(C₁-C₆) 烷基,其任选被 1-3 个卤素取代;

R4 和 R5 独立地为

-H、- 卤素、- 羟基、羟基甲基、-CN、-(C₁-C₇) 烷氧基、-(C₂-C₇) 链烯基或 -(C₁-C₆) 烷基,其任选被 1-3 个卤素取代;

R6 是



其中锯齿形标记表示与母分子的连接点;

R7 和 R8 独立地为

-H、- 卤素、-(C₁-C₆) 烷基,其任选被 1-3 个卤素取代、-(C₁-C₆) 烷氧基、-(C₃-C₇) 环烷基、-C(O)R₁₀、-COOR₁₀、-OC(O)R₁₀、-OS(O)₂R₁₀、-SR₁₀、-S(O)R₁₀、-S(O)₂R₁₀ 或 -O(C₂-C₇) 链烯基;

R9 独立地为

-H、- 卤素、-CN、-(C₃-C₇) 环烷基、-C(O)R₁₀、-COOR₁₀、-OC(O)R₁₀、-OS(O)₂R₁₀、-SR₁₀、-S(O)R₁₀、-S(O)₂R₁₀ 或 -O(C₂-C₇) 链烯基、-(C₁-C₃) 烷氧基,其任选被 1-3 个卤素取代,或 -(C₁-C₆) 烷基,其任选被 1-3 个卤素取代;且

R₁₀ 在每次出现时独立地为

- 氢或 -(C₁-C₆) 烷基,其任选被 1-3 个卤素取代。

2. 权利要求 1 的化合物或其可药用盐,其中

R1 和 R2 是 -H;

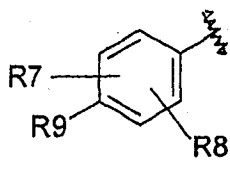
R3 是

-(C₁-C₈) 烷基,其任选被 1-3 个卤素取代、-(C₃-C₆) 环烷基、-(C₁-C₆) 烷基-(C₃-C₆) 环烷基或 -(C₃-C₆) 环烷基-(C₁-C₆) 烷基,其任选被 1-3 个卤素取代;

R4 和 R5 独立地为

-H、- 卤素或 -(C₁-C₆) 烷基,其任选被 1-3 个卤素取代;

R6 是



其中锯齿形标记表示与母分子的连接点；

R7 和 R8 独立地为

-H、- 卤素、-(C₁-C₃) 烷基,其任选被 1-3 个卤素取代,或 -(C₁-C₃) 烷氧基 ;且

R9 独立地为

-H、- 卤素或 -(C₁-C₆) 烷基,其任选被 1-3 个卤素取代。

3. 权利要求 1 的化合物或其可药用盐,其中

R1 和 R2 是 -H ;

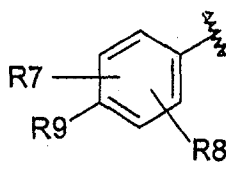
R3 是

-(C₁-C₈) 烷基,其任选被 1-3 个卤素取代、-(C₃-C₆) 环烷基、-(C₁-C₆) 烷基 -(C₃-C₆) 环烷基或 -(C₃-C₆) 环烷基 -(C₁-C₆) 烷基,其任选被 1-3 个卤素取代 ;

R4 和 R5 独立地为

-H、- 卤素或 -CH₃,其任选被 1-3 个卤素取代 ;

R6 是



其中锯齿形标记表示与母分子的连接点；

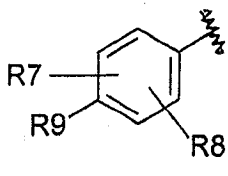
R7 和 R8 独立地为 -H 或 - 卤素 ;且

R9 独立地为 -(C₁-C₆) 烷基,其任选被 1-3 个卤素取代。

4. 权利要求 1 的化合物或其可药用盐,其中

R1 和 R2 是 -H ;R3 是 -(C₁-C₈) 烷基,其任选被 1-3 个卤素取代、-(C₃-C₆) 环烷基、-(C₁-C₆) 烷基 -(C₃-C₆) 环烷基或 -(C₃-C₆) 环烷基 -(C₁-C₆) 烷基,其任选被 1-3 个卤素取代 ;R4 和 R5 是 -CH₃,其任选被 1-3 个卤素取代,并且分别位于 R6 所连接的苯基环上与 R6 相邻的位置上 ;

R6 是



其中锯齿形标记表示与母分子的连接点；

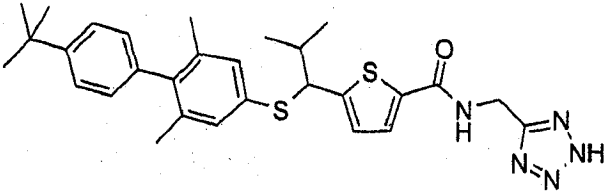
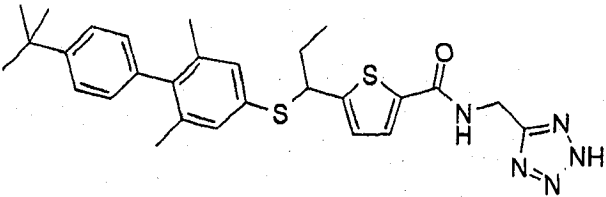
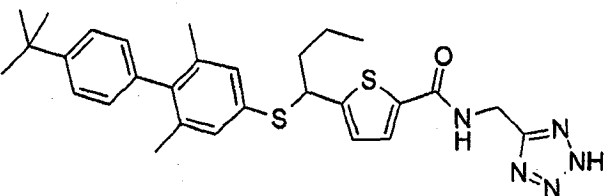
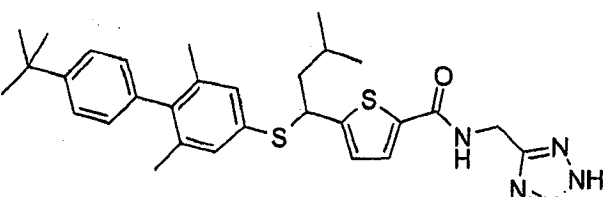
R7 和 R8 是 -H ;且 R9 独立地为 -(C₁-C₆) 烷基,其任选被 1-3 个卤素取代。

5. 权利要求 1 的化合物或其可药用盐,其中

R1 和 R2 独立地为氢或卤素 ;R3 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、戊基、己基、庚基、辛基、3,3- 二甲基丁基、2- 甲基丙基、3- 甲基 - 丁基、叔丁基、4- 甲基戊基、2,2- 二甲基丙基、3,3,3- 三氟丙基、4,4,4- 三氟丁基、环丙基、环丁基、环戊基或环己基 ;R4 和 R5 独立地为氢、甲基、乙基、叔丁基、戊基、异丙氧基、氯、氟、溴、羟基、三氟甲基、-CN、甲氧基、羟基甲基、4- 甲基戊氧基或戊氧基 ;R7 和 R8 独立地为氢、氟、氯、甲基、乙基、戊基、异丙基、叔丁基、三

氟甲基、乙酰基、2-甲基丙基、甲氧基、环己基；且 R9 是氢、溴、氟、甲基、叔丁基、三氟甲基或异丙基。

6. 权利要求 1 的化合物，其中所述化合物选自式 X1 至 X11 的化合物：

式编号	结构式
X1	
X2	
X3	
X4	

式编号	结构式
X11	

或其可药用盐。

7. 权利要求 1 的化合物,其中所述化合物选自:

(R, S)-5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-2-甲基-丙基]-噻吩-2-甲酸(2H-四唑-5-基甲基)-酰胺;

(±)-5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-丙基]-噻吩-2-甲酸(2H-四唑-5-基甲基)-酰胺;

(±)-5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-丁基]-噻吩-2-甲酸(2H-四唑-5-基甲基)-酰胺;

(±)-5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-戊基]-噻吩-2-甲酸(2H-四唑-5-基甲基)-酰胺;

(±)-5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-3-甲基-丁基]-噻吩-2-甲酸(2H-四唑-5-基甲基)-酰胺;

(±)-5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-3,3-二甲基-丁基]-噻吩-2-甲酸(2H-四唑-5-基甲基)-酰胺;

(±)-5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-2,2-二甲基-丙基]-噻吩-2-甲酸(2H-四唑-5-基甲基)-酰胺;

(±)-5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-丁基]-噻吩-2-甲酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺;

(±)-5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-2-甲基-丙基]-噻吩-2-甲酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺;

(±)-5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-2,2-二甲基-丙基]-噻吩-2-甲酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺;

(±)-5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-3-甲基-丁基]-噻吩-2-甲酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺;

(±)-5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-3,3-二甲基-丁基]-噻吩-2-甲酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺;

(±)-5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-戊基]-噻吩-2-甲酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺;

5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-2,2-甲基-丙基]-噻吩-2-甲酸(2H-四唑-5-基甲基)-酰胺(异构体 1);

5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-2,2-甲基-丙基]-噻吩-2-甲酸(2H-四唑-5-基甲基)-酰胺(异构体 2);

5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-丙基]-噻吩-2-甲酸(2H-四

唑-5-基甲基)-酰胺(异构体1)；

5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-丙基]-噻吩-2-甲酸(2H-四唑-5-基甲基)-酰胺(异构体2)；

5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-丁基]-噻吩-2-甲酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺(异构体1)；

5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-丁基]-噻吩-2-甲酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺(异构体2)；

5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-2-甲基-丙基]-噻吩-2-甲酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺(异构体1)；

5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-2-甲基-丙基]-噻吩-2-甲酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺(异构体2)；

5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-2,2-二甲基-丙基]-噻吩-2-甲酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺(异构体1)；

5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-2,2-二甲基-丙基]-噻吩-2-甲酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺(异构体2)；

5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-3-甲基-丁基]-噻吩-2-甲酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺(异构体1)；

5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-3-甲基-丁基]-噻吩-2-甲酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺(异构体2)；

5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-3,3-二甲基-丁基]-噻吩-2-甲酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺(异构体1)；

5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-3,3-二甲基-丁基]-噻吩-2-甲酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺(异构体2)；

5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-戊基]-噻吩-2-甲酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺(异构体1)；和

5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-戊基]-噻吩-2-甲酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺(异构体2)；

或其可药用盐。

8. 药物组合物,所述组合物包含权利要求1-7任一项的化合物和可药用载体。

9. 权利要求1-7任一项的式I化合物或其盐在制备药物中的应用,所述药物用于治疗对胰高血糖素受体hGlucR的调节有反应的病症。

胰高血糖素受体拮抗剂、制备和治疗用途

[0001] 本申请要求于 2005 年 11 月 23 日提交的第 60/739,692 号美国临时专利申请的优先权。

[0002] 本发明涉及胰高血糖素受体的拮抗剂或反向激动剂的化合物和其药物组合物,以及这些化合物和组合物在人类或动物体中的治疗用途。本化合物对于胰高血糖素受体显示了高亲和性和选择性结合能力,并因此可用于治疗对胰高血糖素受体的调节有反应的病症,例如糖尿病性以及其它胰高血糖素相关的代谢病症等等。

[0003] 胰高血糖素是关键激素物质,其和胰岛素协同作用,介导血液中葡萄糖量的体内平衡调节。胰高血糖素主要通过刺激某些细胞(在这些之中肝细胞是重要的)起作用,以在血糖水平下降时释放葡萄糖。胰高血糖素的作用与胰岛素的作用相反,每当血糖水平升高时,胰岛素刺激细胞接纳并存储葡萄糖。胰高血糖素和胰岛素两者都是肽类激素。胰高血糖素是在胰腺的 α 胰岛细胞中产生的,而胰岛素是在 β 胰岛细胞中产生的。胰高血糖素通过与其受体结合并活化其受体而发挥其作用,其受体是 7- 横跨膜 G- 蛋白偶联受体家族的胰高血糖素 - 分泌素分枝的一个成员。受体通过将导致 cAMP 水平增加的腺苷酸环化酶第二信使系统活化而起作用。胰高血糖素受体或该受体的天然存在的变体可以具有内在的体外以及体内基本活性(即在没有激动剂情况下的活性)。作为反向激动剂起作用的化合物可以抑制这种活性。

[0004] 糖尿病是葡萄糖代谢作用的常见病症。该疾病特征为高血糖症,并且可以分为胰岛素 - 依赖形式的 1 型糖尿病,或非胰岛素依赖性特征的 2 型糖尿病。1 型糖尿病个体是高血糖症和低胰岛素血症,并且对于这种形式疾病的常规治疗是提供胰岛素。然而,在某些 1 型或 2 型糖尿病患者中,已经显示了促使高血糖症状况的绝对或相对升高的胰高血糖素水平。在健康的对照动物以及在 1 型和 2 型糖尿病的动物模型中,用选择性和特异性抗体除去循环的胰高血糖素已经导致了血糖水平的降低。对于同型删除了胰高血糖素受体的小鼠,呈现出增加的葡糖耐量。同样,使用反义寡核苷酸对胰高血糖素受体表达进行抑制可以在 db/db 小鼠中改善糖尿病综合征。这些研究表明,胰高血糖素的抑制或拮抗胰高血糖素的作用可以是糖尿病患者中的高血糖症常规治疗的有效辅助。可以通过提供拮抗剂或反向激动剂,即抑制或防止基本的或胰高血糖素导致的胰高血糖素受体介导的反应的物质,来抑制胰高血糖素的作用。

[0005] 一些出版物公开了据述可以起胰高血糖素拮抗剂作用的肽。肽类激素的肽拮抗剂常常是有效的;然而通常已知他们不能口服,因为通过生理学的酶可以降解并产生不良的体内分布。因此,适宜口服的肽类激素的非肽拮抗剂通常是优选的。

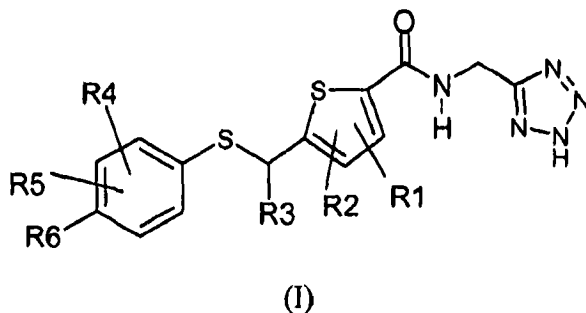
[0006] 近年来,大量出版物已经报道了可在胰高血糖素受体上起作用的非肽物质。例如,WO 03/048109, WO 2004/002480 和 Kurukulasuriya 等人,“Biaryl amide glucagon receptor antagonists”*Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters*, vol.14, no.9, p. 2047-2050, 2004 分别公开了据述具有胰高血糖素受体拮抗剂活性的非肽类化合物。尽管治疗与胰高血糖素有关的疾病的方法很多,但现行的治疗方法具有一种或多种不适宜性,包括不良的或不完全的效力,无法接受的副作用,和对于某些患者人群的禁忌症。因此,还

存在使用替代方案或改进的药物来提高治疗效果的需要,这些药物可以调节胰高血糖素受体活性并治疗可以受益于胰高血糖素受体调节的疾病。本发明基于发现了在胰高血糖素受体上具有高亲合性、选择性和有效抑制活性的新类别化合物而为本领域提供了这种贡献。本发明在具体的结构和其活性方面是独特的。

[0007] 发明概述

[0008] 本发明提供了结构式 I 代表的化合物:

[0009]



[0010] 或其可药用盐,其中:

[0011] R1 和 R2 独立地为 -H 或 - 卤素;

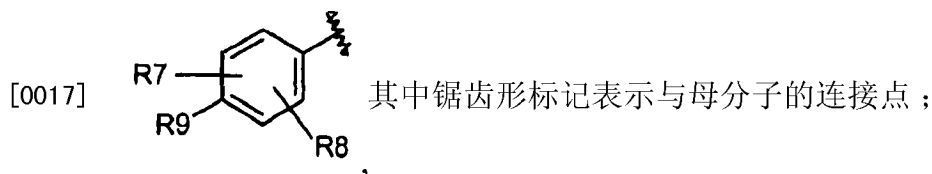
[0012] R3 是

[0013] $-(C_1-C_8)$ 烷基 (任选被 1-3 个卤素取代)、 $-(C_3-C_7)$ 环烷基、 $-(C_1-C_6)$ 烷基 $-(C_3-C_7)$ 环烷基或 $-(C_3-C_7)$ 环烷基 $-(C_1-C_6)$ 烷基 (任选被 1-3 个卤素取代);

[0014] R4 和 R5 独立地为

[0015] -H、- 卤素、- 羟基、羟基甲基、-CN、 $-(C_1-C_7)$ 烷氧基、 $-(C_2-C_7)$ 链烯基或 $-(C_1-C_6)$ 烷基 (任选被 1-3 个卤素取代);

[0016] R6 是



[0018] R7 和 R8 独立地为

[0019] -H、- 卤素、 $-(C_1-C_6)$ 烷基 (任选被 1-3 个卤素取代)、 $-(C_1-C_6)$ 烷氧基、 $-(C_3-C_7)$ 环烷基、 $-C(O)R_{10}$ 、 $-COOR_{10}$ 、 $-OC(O)R_{10}$ 、 $-OS(O)_2R_{10}$ 、 $-SR_{10}$ 、 $-S(O)R_{10}$ 、 $-S(O)_2R_{10}$ 或 $-O(C_2-C_7)$ 链烯基;

[0020] R9 独立地为

[0021] -H、- 卤素、-CN、 $-(C_3-C_7)$ 环烷基、 $-C(O)R_{10}$ 、 $-COOR_{10}$ 、 $-OC(O)R_{10}$ 、 $-OS(O)_2R_{10}$ 、 $-SR_{10}$ 、 $-S(O)R_{10}$ 、 $-S(O)_2R_{10}$ 或 $-O(C_2-C_7)$ 链烯基、 $-(C_1-C_3)$ 烷氧基 (任选被 1-3 个卤素取代) 或 $-(C_1-C_6)$ 烷基 (任选被 1-3 个卤素取代);且

[0022] R10 在每次出现时独立地为

[0023] -H 或 $-(C_1-C_6)$ 烷基 (任选被 1-3 个卤素取代)。

[0024] 本发明提供了用作胰高血糖素受体拮抗剂或反向激动剂的化合物。本发明进一步提供了化合物,其是 GLP-1 受体上的胰高血糖素受体的选择性拮抗剂或反向激动剂。本发

明进一步提供了药物组合物,其包含式 I 化合物或其可药用盐和可药用载体、稀释剂或赋形剂。本发明还提供了使用这些化合物和组合物治疗对胰高血糖素受体的调节有反应的病症,例如糖尿病性以及其它胰高血糖素相关的代谢病症的方法。

[0025] 发明详述

[0026] 在一个实施方案中,本发明提供了本文中详细描述 of 式 I 化合物。虽然所有本发明化合物都是有用的,但是一些化合物是特别值得关注和优选的。下面的列举显示了几组优选的化合物。应当理解,每一列举都可以与其他列举合并以产生如本文所示另外组的优选实施方案。

[0027] 在另一个实施方案中,本发明提供了式 I 化合物,其中

[0028] R1 和 R2 是 -H;

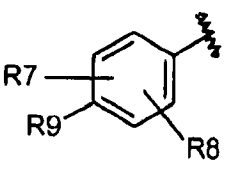
[0029] R3 是

[0030] $-(C_1-C_8)$ 烷基 (任选被 1-3 个卤素取代)、 $-(C_3-C_6)$ 环烷基、 $-(C_1-C_6)$ 烷基 $-(C_3-C_6)$ 环烷基或 $-(C_3-C_6)$ 环烷基 $-(C_1-C_6)$ 烷基 (任选被 1-3 个卤素取代);

[0031] R4 和 R5 独立地为

[0032] -H、- 卤素或 $-(C_1-C_6)$ 烷基 (任选被 1-3 个卤素取代);

[0033] R6 是

[0034]  其中锯齿形标记表示与母分子的连接点;

[0035] R7 和 R8 独立地为

[0036] -H、- 卤素、 $-(C_1-C_3)$ 烷基 (任选被 1-3 个卤素取代) 或 $-(C_1-C_3)$ 烷氧基;

[0037] 且

[0038] R9 独立地为

[0039] -H、卤素或 $-(C_1-C_6)$ 烷基 (任选被 1-3 个卤素取代),

[0040] 在另一个实施方案中,本发明提供了式 I 化合物,其中

[0041] R1 和 R2 是 -H;

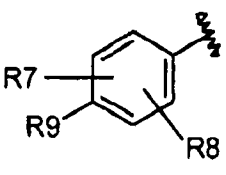
[0042] R3 是

[0043] $-(C_1-C_8)$ 烷基 (任选被 1-3 个卤素取代)、 $-(C_3-C_6)$ 环烷基、 $-(C_1-C_6)$ 烷基 $-(C_3-C_6)$ 环烷基或 $-(C_3-C_6)$ 环烷基 $-(C_1-C_6)$ 烷基 (任选被 1-3 个卤素取代);

[0044] R4 和 R5 独立地为

[0045] -H、- 卤素或 $-CH_3$ (任选被 1-3 个卤素取代);

[0046] R6 是

[0047]  其中锯齿形标记表示与母分子的连接点;

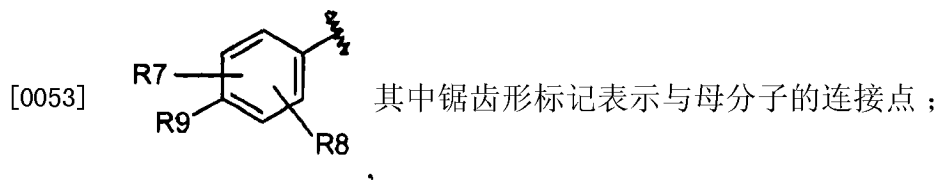
[0048] R7 和 R8 独立地为 -H 或 - 卤素;且

[0049] R9 独立地为 $-(C_1-C_6)$ 烷基 (任选被 1-3 个卤素取代)。

[0050] 在另一个实施方案中,本发明提供了式 I 化合物,其中

[0051] R1 和 R2 是 -H;R3 是 $-(C_1-C_8)$ 烷基(任选被 1-3 个卤素取代)、 $-(C_3-C_6)$ 环烷基、 $-(C_1-C_6)$ 烷基- $-(C_3-C_6)$ 环烷基或 $-(C_3-C_6)$ 环烷基- $-(C_1-C_6)$ 烷基(任选被 1-3 个卤素取代);R4 和 R5 是 $-CH_3$ (任选被 1-3 个卤素取代),并且分别位于 R6 所连接的苯基环上与 R6 相邻的位置上;

[0052] R6 是



[0054] R7 和 R8 是 -H;且 R9 独立地为 $-(C_1-C_6)$ 烷基(任选被 1-3 个卤素取代)。

[0055] 在另一个实施方案中,本发明提供了式 I 化合物,其中 R1 和 R2 独立地为氢或卤素;R3 是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、戊基、己基、庚基、辛基、3,3-二甲基丁基、2-甲基丙基、3-甲基-丁基、叔丁基、4-甲基戊基、2,2-二甲基丙基、3,3,3-三氟丙基、4,4,4-三氟丁基、环丙基、环丁基、环戊基或环己基;R4 和 R5 独立地为氢、甲基、乙基、叔丁基、环己基、戊基、异丙氧基、氯、氟、溴、羟基、三氟甲基、-CN、甲氧基、羟基甲基、4-甲基戊氧基或戊氧基;R7 和 R8 独立地为氢、氟、氯、甲基、乙基、戊基、异丙基、叔丁基、三氟甲基、乙酰基、2-甲基丙基、甲氧基、环己基或三氟甲氧基;R9 是氢、溴、氟、甲基、叔丁基、三氟甲基或异丙基。

[0056] 提供了本发明的其他实施方案,其中上文描述的每一个实施方案如下面的优选中所述进一步变窄。具体来说,下面的每一个优选独立地与每一上述实施方案合并,并且特定组合提供了另一个实施方案,其中在优选中指出的变量根据该优选而变窄。

[0057] R1 优选为 -H。R1 优选为氟。R1 优选为氯。R2 优选为 -H。R2 优选为氟。R2 优选为氯。R1 和 R2 优选是 -H。优选地, R1 为氟,且 R2 是氟。

[0058] R3 优选为 $-(C_1-C_8)$ 烷基(任选被 1-3 个卤素取代)。R3 优选为乙基、丙基、异丙基、丁基、叔丁基、3-甲基-丁基、戊基、己基、庚基、辛基、3,3-二甲基丁基、2-甲基丙基、4-甲基戊基、2,2-二甲基丙基、3,3,3-三氟丙基或 4,4,4-三氟丁基。R3 优选为异丙基、丁基、叔丁基、3-甲基-丁基、戊基、3,3-二甲基丁基、2-甲基丙基、4-甲基戊基、2,2-二甲基丙基、3-三氟丙基或 4,4,4-三氟丁基。R3 优选为异丙基、3-甲基-丁基、三氟丙基或 4,4,4-三氟丁基。

[0059] R3 优选为 $-(C_3-C_7)$ 环烷基。R3 优选为环丙基、环丁基、环戊基或环己基。R3 优选为环丙基。R3 优选为环丁基。R3 优选为环戊基。R3 优选为环己基。

[0060] R3 优选为 $-(C_1-C_6)$ 烷基- $-(C_3-C_7)$ 环烷基。R3 优选为 $-(C_1-C_3)$ 烷基- $-(C_3-C_6)$ 环烷基。R3 优选为 $-(C_1-C_3)$ 烷基-环丙基。R3 优选为 $-(C_1-C_3)$ 烷基-环丁基。R3 优选为 $-(C_1-C_3)$ 烷基-环戊基。R3 优选为 $-(C_1-C_3)$ 烷基-环己基。

[0061] R3 优选为 $-(C_3-C_7)$ 环烷基- $-(C_1-C_6)$ 烷基(任选被 1-3 个卤素取代)。R3 优选为-环丙基- $-(C_1-C_6)$ 烷基(任选被 1-3 个卤素取代)。R3 优选为-环丁基- $-(C_1-C_6)$ 烷基(任选被 1-3 个卤素取代)。R3 优选为-环戊基- $-(C_1-C_6)$ 烷基(任选被 1-3 个卤素取代)。R3 优选为-环己基- $-(C_1-C_6)$ 烷基(任选被 1-3 个卤素取代)。

[0062] R4 优选为 -H、-卤素、-羟基、羟基甲基或 $-(C_1-C_6)$ 烷基(任选被 1-3 个卤素取

代)。R4 优选为 -H、- 卤素或 $-(C_1-C_3)$ 烷基 (任选被 1-3 个卤素取代)。R4 优选为 -H、- 卤素或 $-CH_3$ 。R4 优选为 -H。R4 优选为氟、氯或溴。R4 优选为 $-CH_3$ 。

[0063] R5 优选为 -H、- 卤素、- 羟基、羟基甲基或 $-(C_1-C_6)$ 烷基 (任选被 1-3 个卤素取代)。R5 优选为 -H、- 卤素或 $-(C_1-C_3)$ 烷基 (任选被 1-3 个卤素取代)。R5 优选为 -H、- 卤素或 $-CH_3$ 。R5 优选为 -H。R5 优选为氟、氯或溴。R5 优选为 $-CH_3$ 。

[0064] 优选地, R4 和 R5 是 -H。R4 优选为卤素, 且 R5 是 -H。优选地, R4 是 -H, 且 R5 是 $-CH_3$ 。优选地, R4 和 R5 是 $-CH_3$ 。优选地, R4 和 R5 是 $-CH_3$, 并且分别位于 R6 所连接的苯基环上与 R6 相邻的位置上。

[0065] R7 优选为 - 卤素、 $-(C_1-C_6)$ 烷基 (任选被 1-3 个卤素取代)、 $-(C_1-C_6)$ 烷氧基、 $-(C_3-C_7)$ 环烷基、 $-C(O)R_{10}$ 、 $-COOR_{10}$ 、 $-OC(O)R_{10}$ 、 $-OS(O)_2R_{10}$ 、 $-SR_{10}$ 、 $-S(O)R_{10}$ 、 $-S(O)_2R_{10}$ 或 $-O(C_2-C_7)$ 链烯基。R7 优选为 - 卤素、 $-(C_1-C_6)$ 烷基 (任选被 1-3 个卤素取代) 或 $-(C_1-C_6)$ 烷氧基。R7 优选为 -H 或 - 卤素。R7 优选为 -H。

[0066] R8 优选为 - 卤素、 $-(C_1-C_6)$ 烷基 (任选被 1-3 个卤素取代)、 $-(C_1-C_6)$ 烷氧基、 $-(C_3-C_7)$ 环烷基、 $-C(O)R_{10}$ 、 $-COOR_{10}$ 、 $-OC(O)R_{10}$ 、 $-OS(O)_2R_{10}$ 、 $-SR_{10}$ 、 $-S(O)R_{10}$ 、 $-S(O)_2R_{10}$ 或 $-O(C_2-C_7)$ 链烯基。R8 优选为 - 卤素、 $-(C_1-C_6)$ 烷基 (任选被 1-3 个卤素取代) 或 $-(C_1-C_6)$ 烷氧基。R8 优选为 -H 或 - 卤素。R8 优选为 -H。R7 优选为 -H, 且 R8 是 -H。

[0067] R9 优选为 $-(C_1-C_6)$ 烷基 (任选被 1-3 个卤素取代)。R9 优选为甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、叔丁基、三氟甲基、3- 甲基- 丁基、戊基、己基、3,3- 二甲基丁基、2- 甲基丙基、4- 甲基戊基、2,2- 二甲基丙基、3- 三氟丙基或 4- 三氟丁基。R9 优选为异丙基、叔丁基或三氟甲基。

[0068] 优选地, R7 为 -H, R8 为 -H, 且 R9 为异丙基、叔丁基或三氟甲基。

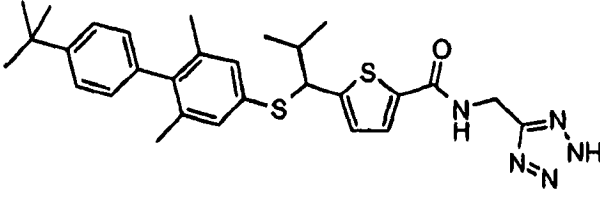
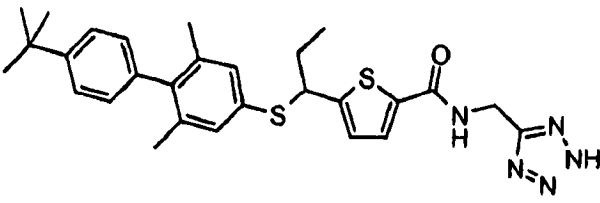
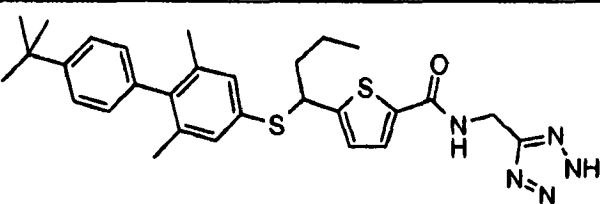
[0069] 优选地, R10 在每次出现时独立地为 $-(C_1-C_6)$ 烷基 (任选被 1-3 个卤素取代)。

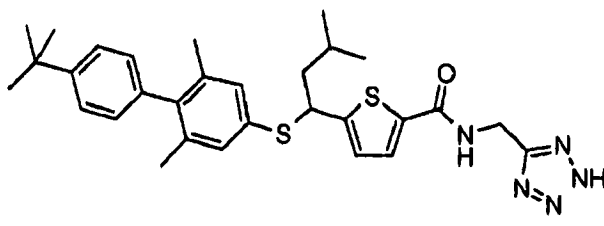
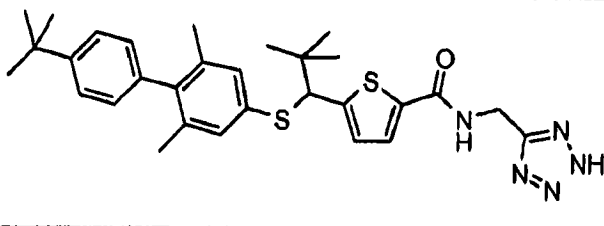
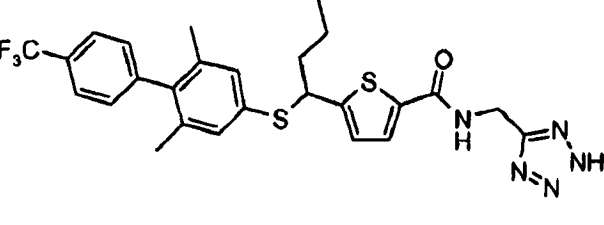
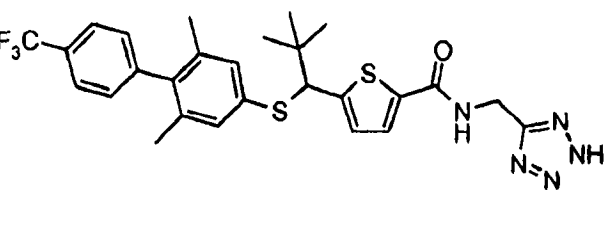
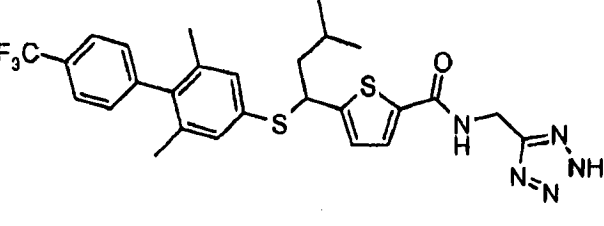
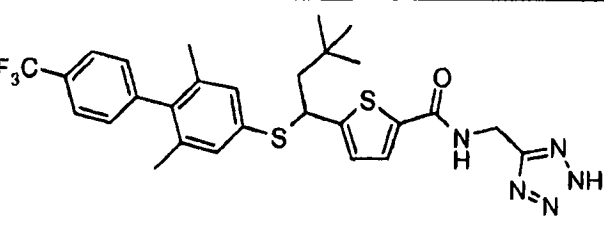
[0070] 本发明另外的实施方案包括式 X1-X11 化合物。本发明另外的实施方案是本文中描述的任何新的中间体, 所述中间体可用于制备式 I 或式 X1-X11 的胰高血糖素受体的拮抗剂或反向激动剂。

[0071]

表 1

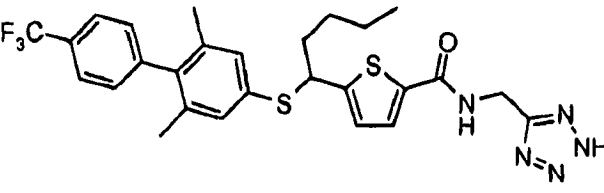
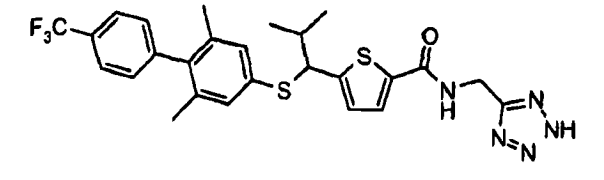
[0072]

式编号	结构式
X1	
X2	
X3	

式编号	结构式
X4	
X5	
X6	
X7	
X8	
X9	

[0073]

[0074]

式编号	结构式
X10	
X11	

[0075] 由于它们与胰高血糖素受体的相互作用,本发明化合物可有效用于治疗许多病症和障碍,在这些病症和障碍中,与胰高血糖素受体的相互作用是有益的。本文中将这些障碍和病症定义为“糖尿病性以及其他胰高血糖素相关的代谢病症”。通过病症的病理生理学或对于病症的体内平衡反应中的胰高血糖素受体介导信号的涉及,本领域技术人员能够鉴别“糖尿病性以及其他胰高血糖素相关的代谢病症”。因此,该化合物可以用于例如预防、治疗或缓和内分泌系统、中枢神经系统、周围神经系统、心血管系统、肺系和胃肠系统的疾病或病症或相关的症状或后遗症,同时降低和 / 或消除一种或多种与现行治疗有关的不必要的副作用。“糖尿病性以及其他胰高血糖素相关的代谢病症”包括但不限于:糖尿病,1型糖尿病,2型糖尿病,高血糖症,高胰岛素血症,β-细胞静止,通过恢复初相反应而提高β-细胞功能,膳食高血糖症,防止细胞程序死亡,空腹血糖异常(IFG),代谢性综合征,低血糖,高/低钾血症,正态化胰高血糖素水平,提高LDL/HDL比例,减食,进食障碍,失重,多囊卵巢综合征(PCOS),由于糖尿病引起的肥胖症,成人中潜在的自身免疫糖尿病(LADA),胰岛炎,胰岛移植,小儿科糖尿病,妊娠期糖尿病,糖尿病性延迟并发症,微/大量白蛋白尿,肾病,视网膜病,神经病,糖尿病性足溃疡,由于给予胰高血糖素引起的肠运动性降低,短肠综合征,止泻,增加胃液分泌,降低血流量,勃起机能障碍,青光眼,外科后紧张,改善由局部缺血之后的血流再灌注所引起的器官组织损伤,缺血性的心脏损伤,心脏机能不全,充血性心力衰竭,中风,心肌梗塞,心律失常,早亡,抗细胞程序死亡,创伤愈合,葡萄糖耐量异常(IGT),胰岛素抗性综合征,综合征X,高脂血症,异常脂血症,高甘油三酯血症,高脂蛋白血症,高胆固醇血症,动脉硬化,包括动脉粥样硬化,胰升糖素瘤,急性胰腺炎,心血管疾病,高血压,心脏肥大,胃肠病症,肥胖症,由于肥胖症引起的糖尿病,糖尿病性异常脂血症,等等。

[0076] 此外,本发明提供了式I化合物或其可药用盐、或包括式I化合物或其可药用盐和可药用载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物;其用于抑制胰高血糖素受体;用于抑制哺乳动物中的胰高血糖素受体介导的细胞反应;用于降低哺乳动物中的血糖水平;用于治疗因为过量的胰高血糖素引起的疾病;用于治疗哺乳动物中的糖尿病性以及其他胰高血糖素相关的代谢病症;和用于治疗糖尿病,肥胖症,高血糖症,动脉粥样硬化,缺血性心脏病,中风,神经病,和创伤愈合。因此,本发明的方法包括预防性和治疗性给予式I化合物。

[0077] 本发明还提供了式I化合物或其可药用盐在制备下列药物中的应用,用于抑制胰

高血糖素受体的药物；用于抑制哺乳动物中的胰高血糖素受体介导的细胞反应的药物；用于降低哺乳动物血糖水平的药物；用于治疗由过量胰高血糖素引起的疾病的药物；用于治疗哺乳动物中的糖尿病性以及其他胰高血糖素相关的代谢病症的药物；和用于预防或治疗糖尿病、肥胖症、高血糖症、动脉粥样硬化、缺血性心脏病、中风、神经病和不适当的创伤愈合的药物。

[0078] 本发明还提供了治疗哺乳动物中由过量胰高血糖素引起的病症的方法；抑制哺乳动物中的胰高血糖素受体方法；抑制哺乳动物中的胰高血糖素受体介导的细胞反应的方法；降低哺乳动物中的血糖水平的方法；治疗哺乳动物中的糖尿病性以及其他胰高血糖素相关的代谢病症的方法；预防或治疗糖尿病、肥胖症、高血糖症、动脉粥样硬化、缺血性心脏病、中风、神经病和不适当的创伤愈合的方法；所述方法包括给予需要这种治疗的哺乳动物胰高血糖素受体抑制量的式 I 化合物或其可药用盐或药物组合物，所述药物组合物包含式 I 化合物或其可药用盐和可药用载体、稀释剂或赋形剂。

[0079] 此外，本发明提供了药物组合物，所述组合物包含式 I 化合物或其可药用盐和可药用载体、稀释剂或赋形剂；其适合用于抑制胰高血糖素受体；适合用于抑制胰高血糖素受体介导的细胞反应；适合用于降低哺乳动物中的血糖水平；适合用于治疗哺乳动物中的糖尿病性以及其他胰高血糖素相关的代谢病症；和适合用于预防或治疗糖尿病、肥胖症、高血糖症、动脉粥样硬化、缺血性心脏病、中风、神经病和创伤愈合。

[0080] 本发明的化合物或盐进一步提供了用于鉴别患有胰高血糖素受体缺陷的患者的诊断试剂，作为疗法以增加胃酸分泌和逆转由于胰高血糖素给予所造成的肠活动性降低。本发明同样提供了用于治疗障碍或疾病的方法，在这些障碍或疾病中，胰高血糖素拮抗作用是有益的，该方法包括给予需要其的患者有效量的按照本发明的化合物。在本发明的另一个实施方案中，本发明化合物用于制备治疗任何胰高血糖素介导的病症和疾病的药物。在本发明的另一个实施方案中，本发明化合物用于制备治疗高血糖症的药物。在本发明的又一个实施方案中，本发明化合物用于制备降低哺乳动物中的血糖的药物。本发明化合物在禁食和饭后阶段可有效用于降低血糖。在本发明的另一个实施方案中，本发明化合物用于制备治疗 IGT 的药物组合物。在本发明的进一步实施方案中，本发明化合物用于制备治疗 2 型糖尿病的药物组合物。在本发明的进一步实施方案中，本发明化合物用于制备延迟或预防由 IGT 发展为 2 型糖尿病的药物组合物。在本发明的又一个实施方案中，本发明化合物用于制备延迟或预防由非胰岛素必需型 2 型糖尿病发展为胰岛素必需型 2 型糖尿病的药物组合物。在本发明的进一步实施方案中，本发明化合物用于制备治疗 1 型糖尿病的药物组合物。这种治疗通常伴有胰岛素疗法。在本发明的进一步实施方案中，本发明化合物用于制备治疗肥胖症的药物组合物。在本发明的更进一步实施方案中，本发明化合物用于制备治疗脂类代谢障碍的药物组合物。在本发明的另一个实施方案中，本发明化合物用于制备治疗食欲调节或能量消耗障碍的药物组合物。在本发明的进一步实施方案中，用本发明化合物对于患者的治疗与饮食和 / 或锻炼结合。

[0081] 在本发明的另一方面，可以以任何合适的比例与一种或多种其它活性物质联合给药本发明化合物。这种其它活性物质可以例如选自抗糖尿病药，抗肥胖药，抗高血压药，治疗由糖尿病引起或与糖尿病相关的并发症的药剂和治疗由肥胖症引起或与肥胖症相关的并发症的药物。下面目录列出了几组组合。应该理解的是，每个所述药物可以与其它所述

药物组合,以产生另外的组合。

[0082] 因此,在本发明的进一步实施方案中,可以与一种或多种抗糖尿病药联合给药本发明化合物。

[0083] 合适的抗糖尿病药物包括胰岛素,胰岛素类似物和衍生物,例如公开在下列中的那些:EP 792 290 (Novo Nordisk A/S),例如 N^ε B29-十四酰基 des (B30) 人类胰岛素,EP 214 826 和 EP 705 275 (Novo Nordisk A/S),例如 Asp^{B28} 人类胰岛素,US 5,504,188 (Eli Lilly),例如 Lys^{B28}Pro^{B29} 人类胰岛素,EP 368 187 (Aventis),例如 Lantus[®],本文引入其全部作为参考,GLP-1 和 GLP-1 衍生物,例如公开在 WO 98/08871 (NovoNordisk A/S) 中的那些,本文引入作为参考,以及口服活性降血糖药物。

[0084] 口服活性降血糖药物优选包括咪唑啉类,磺酰基脲类,双胍类,氯茴苯酸类,噻二唑啉二酮类,噻唑啉二酮类,胰岛素敏化剂,胰岛素促泌剂,例如格列美脲,α-葡萄糖苷酶抑制剂,作用于 β-细胞的 ATP-依赖性钾通道的药物,例如钾通道开放剂,例如公开在 WO 97/26265、WO 99/03861 和 WO 00/37474 (Novo Nordisk A/S) 中的那些,本文引入作为参考,或米格列奈,或钾通道阻断剂,例如 BTS-67582,那格列奈,GLP-1 拮抗剂,DPP-IV(二肽基肽酶-IV)抑制剂,PTPase(蛋白质酪氨酸磷酸酶)抑制剂,糖原异生和/或糖原分解的刺激作用所涉及的肝脏酶的抑制剂,葡萄糖吸收量调节剂,葡萄糖激酶(GK)的活化剂,例如公开在 WO 00/58293、WO 01/44216、WO 01/83465、WO 01/83478、WO01/85706、WO 01/85707 和 WO 02/08209 (Hoffman-La Roche) 中的那些或公开在 WO 03/00262、WO 03/00267 和 WO 03/15774 (AstraZeneca) 中的那些,本文引入作为参考,GSK-3(糖原合酶激酶-3)抑制剂,改进脂类代谢的化合物,例如降血脂药物,例如 HMG CoA 抑制剂(抑制素),降低食物摄入的化合物,PPAR(过氧化物酶体增生-活化受体)配体,包括 PPAR-α,PPAR-γ 和 PPAR-δ 亚型,和 RXR(视黄醇 X 受体)激动剂,例如 ALRT-268, LG-1268 或 LG-1069。

[0085] 在另一个实施方案中,本发明化合物与胰岛素或胰岛素类似物或衍生物联合给药,例如 N^ε B29-十四酰基 des (B30) 人类胰岛素,Asp^{B28} 人类胰岛素,Lys^{B28}Pro^{B29} 人类胰岛素,Lantus[®],或包括这些中的一种或多种的混合制剂。

[0086] 在本发明的其他实施方案中,本发明化合物与下列联合给药:磺酰基脲类,例如优降糖,格列甲脲,甲苯磺丁脲(tolbautamide),chloropamide,甲磺吡啶脲,格列美脲,达美康和优降糖。

[0087] 在本发明的另一个实施方案中,本发明化合物与双胍例如二甲双胍联合给药。

[0088] 在本发明的又一个实施方案中,本发明化合物与美格替耐类例如瑞格列奈或那格列奈联合给药。

[0089] 在本发明的另一个实施方案中,本发明化合物与下列联合给药:噻唑啉二酮胰岛素敏化剂,例如曲格列酮,噻格列酮,吡格列酮(pioglitazone),罗格列酮,isaglitazone,达格列酮,恩格列酮,CS-011/CI-1037 或 T 174,或公开在 WO 97/41097、WO 97/41119、WO97/41120、WO 00/41121 和 WO 98/45292 (Dr. Reddy's Research Foundation) 中的化合物,在此引入作为参考。

[0090] 在本发明的另一个实施方案中,本发明化合物可以与下列联合给药:胰岛素敏化剂,例如 GI 262570, YM-440, MCC-555, JTT-501, AR-H039242, KRP-297, GW-409544, CRE-16336, AR-H049020, LY510929, MBX-102, CLX-0940, GW-501516 或公开在 WO

99/19313、WO 00/50414、WO 00/63191、WO 00/63192、WO 00/63193 中的化合物，例如 ragaglitazar (NN622 或 (-)-DRF 2725) (Dr. Reddy's Research Foundation)，和公开在 WO 00/23425、WO 00/23415、WO 00/23451、WO 00/23445、WO 00/23417、WO 00/23416、WO 00/63153、WO 63196、WO 00/63209、WO 00/63190 和 WO 00/63189 (Novo Nordisk A/S) 中的化合物，在此引入作为参考。

[0091] 在本发明的另一个实施方案中，本发明化合物与 α -葡萄糖苷酶抑制剂例如伏格列醇、乙格列酯、米格列醇或阿卡波糖联合给药。

[0092] 在本发明的另一个实施方案中，本发明化合物与作用于 β -细胞的 ATP 依赖性钾通道药物例如甲苯磺丁脲、优降糖、格列甲嗪、达美康、BTS-67582 或瑞格列奈联合给药。

[0093] 在本发明的又一个实施方案中，本发明化合物可以与那格列奈联合给药。

[0094] 在本发明的另一个实施方案中，本发明化合物与下列联合给药：降血脂药物或抗高血脂药物，例如消胆胺，降脂树脂 II 号，冠心平，降胆固醇药，洛伐他汀，普伐他汀，西伐他汀，匹伐他汀，瑞舒伐他汀，普罗布考，右旋甲状腺素，非诺贝特或阿伐他汀。

[0095] 在本发明的另一个实施方案中，本发明化合物与降低食物摄入的化合物联合给药。

[0096] 在本发明的另一个实施方案中，本发明化合物可以与一个以上的上述化合物联合给药，例如与下列组合：二甲双胍和磺酰基脲，例如优降糖；磺酰基脲和阿卡波糖；那格列奈和二甲双胍；瑞格列奈和二甲双胍；阿卡波糖和二甲双胍；磺酰脲类，二甲双胍和曲格列酮；胰岛素和磺酰脲；胰岛素和二甲双胍；胰岛素，二甲双胍和磺酰脲；胰岛素和曲格列酮；胰岛素和洛伐他汀；等等。

[0097] 在本发明的进一步实施方案中，本发明化合物可以与一种或多种抗肥胖药物或食欲调节剂联合给药。

[0098] 这种药物可以选自：CART (古柯碱安非他明调节的转录产物) 激动剂，NPY (神经肽 Y) 拮抗剂，MC4 ((促) 黑皮质素 4) 激动剂，MC3 ((促) 黑皮质素 3) 激动剂，阿立新拮抗剂，TNF (肿瘤坏死因子) 激动剂，CRF (促皮质释放素) 激动剂，CRF BP (促皮质释放素结合蛋白) 拮抗剂，优洛可定激动剂， β 3 肾上腺素能的激动剂例如 CL-316243，AJ-9677，GW-0604，LY362884，LY377267 或 AZ-40140MSH (促黑素细胞激素) 激动剂，MCH (黑素细胞-浓缩激素) 拮抗剂，CCK (缩胆囊素) 激动剂，血清素再吸收量抑制剂例如氟西汀，赛乐特或西酞普兰，血清素和去甲肾上腺素再吸收抑制剂，混合血清素和拟正交感神经素化合物，5HT (血清素) 激动剂，铃蟾素激动剂，加拉宁拮抗剂，生长激素，生长因子例如催乳素或胎盘催乳素，生长激素释放化合物，TRH (促甲状腺激素释放激素) 激动剂，UCP 2 或 3 (去耦合蛋白 2 或 3) 调节剂，瘦素激动剂，DA 激动剂 (溴隐亭，doprexin)，脂肪酶 / 淀粉酶抑制剂，PPAR (过氧化物酶体增生-活化受体) 调节剂，RXR (类视黄醇 X 受体) 调节剂，TR β 激动剂，AGRP (刺豚鼠相关蛋白质) 抑制剂，H3 组胺拮抗剂，阿片样物质拮抗剂 (例如纳曲酮)，exendin-4，GLP-1 和睫状神经营养因子 (例如阿索开)，大麻素受体拮抗剂例如 CB-1 (例如利莫那班)。在另一个实施方案中，抗肥胖药物是右旋安非他明或安非他明。在另一个实施方案中，抗肥胖药物是瘦素。在另一个实施方案中，抗肥胖药物是苯氟拉明或 exfenfluramine。在另一个实施方案中，抗肥胖药物是西布曲明。在另一个实施方案中，抗肥胖药物是奥利司他。在另一个实施方案中，抗肥胖药物是氯苯咪唑啉或苯丁胺。在另一个实施方案中，抗肥胖药物

是苯二甲吗啉,二乙胺苯丙酮,氟西汀,丁氨苯丙酮,托吡酯或 ecopipam。

[0099] 此外,本发明化合物可以与一种或多种抗高血压药物联合给药。抗高血压药物的例子是:β-阻断剂例如心得舒,阿替洛尔,噻吗心安,心得静,心得安和美托洛尔,SCE(血管紧张肽转化酶)抑制剂例如苯那普利,卡托普利,依那普利,福辛普利,赖诺普利,喹那普利和雷米普利,钙通道阻断剂例如硝苯地平,非洛地平,尼卡地平,伊拉地平,尼莫地平,地尔硫草和维拉帕米,和α-阻断剂例如多沙唑嗪,呱胺甲尿啉,哌唑嗪和特拉唑嗪。其它参考可以是 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th Edition, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1995。

[0100] 本发明的化合物可以与 FAS 抑制剂联合给药。

[0101] 本发明的化合物也可以与下列联合给药:化学解偶联剂,激素敏感的脂肪酶抑制剂,咪唑啉类,11-β-羟甾醇脱氢酶抑制剂,脂蛋白脂肪酶活化剂,AMPK 活化剂,免疫抑制药物,烟酰胺,ASIS,抗雄激素或羧肽酶抑制剂。

[0102] 应该理解,本发明的化合物与饮食和/或锻炼、一种或多种上述化合物和任选的一种或多种其它活性物质的任何合适组合被认为在本发明范围之内。

[0103] 用于本文描述的化合物、组合物和方法中的常规术语具有它们的通常含义。贯穿本申请,下列术语具有指明的含义:

[0104] “GLP-1”是指胰高血糖素类肽 1。术语“胰高血糖素受体”是指与胰高血糖素专一性相互作用产生生物学信号的一种或多种受体。术语“GLP-1 受体”是指与胰高血糖素类肽 1 专一性相互作用产生生物学信号的一种或多种受体。

[0105] 术语“胰高血糖素受体拮抗剂”是指在反应胰高血糖素中具有阻断 cAMP 制备能力的本发明的化合物。术语“胰高血糖素受体反向激动剂”是指具有抑制胰高血糖素受体基本活性能力的本发明的化合物。术语“选择性”拮抗剂或反向激动剂是指与对于 GLP-1 受体的亲合性相比较,对于胰高血糖素受体具有更大亲合性的化合物。

[0106] 在本文的通式中,常规化学术语具有它们的通常含义。例如;

[0107] “卤素”或“卤代”是指氟、氯、溴和碘。

[0108] 除非另有陈述,术语“烷基”是指具有指定碳原子数目的直链或支链饱和构型的那些烷基。“(C₁-C₃) 烷基”是一至三个碳原子,例如甲基,乙基,丙基,正丙基,异丙基,等等和其支链或异构形式,并任选可以被一至三个卤素或标明数目的本文列举的实施方案中列出的取代基取代,“(C₁-C₆) 烷基”是一至六个碳原子,例如甲基,乙基,丙基,正丙基,异丙基,正丁基,异丁基,仲丁基和叔丁基,戊基,异戊基,己基等等,和其支链或异构形式,并任选可以被一至三个卤素或标明数目的本文列举的实施方案中列出的取代基取代,“(C₁-C₈) 烷基”是一至八个碳原子,例如甲基,乙基,丙基,丁基,戊基,己基,庚基,辛基等等,和其支链或异构形式,并任选可以被一至三个卤素或标明数目的本文列举的实施方案中列出的取代基取代。

[0109] 术语“(C₃-C₇) 环烷基”是指含有一个或多个 3 至 7 个碳原子的环的饱和或部分饱和的碳环。(C₃-C₇) 环烷基的例子包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基和环庚基等等。术语“(C₃-C₆) 环烷基”是指 3 至 6 个碳原子的饱和碳环。(C₃-C₆) 环烷基的例子包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基和环己基等等。

[0110] 术语“(C₁-C₃) 烷氧基”表示通过氧桥连接的一至三个碳原子的烷基,例如甲氧基、

乙氧基、丙氧基等等。术语“(C₁-C₆) 烷氧基”表示通过氧桥连接的一至六个碳原子的烷基，例如甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、丁氧基、叔丁氧基、戊氧基等等。术语“(C₁-C₇) 烷氧基”表示通过氧桥连接的一至七个碳原子的烷基，例如甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、丁氧基、叔丁氧基、戊氧基等等，并且可以任选被三个卤素或标明数目的本文列举实施方案中列出的取代基取代。

[0111] 术语“(C₂-C₇) 链烯基”是指 2 至 7 个碳原子的烃链，其可以是直链或支链构型，具有至少一个可以在沿着链的任一点存在的碳-碳双键，例如乙烯基、丙烯基、丁烯基、戊烯基、乙炔基、烷基、2-丁烯基等等，并可以任选被一至三个卤素或本文列举实施方案中列出的标明数目取代基取代。

[0112] 本文使用的术语“任选被取代的”或“任选的取代基”是指所述基团既可以是未取代的、也可以被一个或多个所述取代基取代。当所述基团被一个以上取代基取代时，取代基可以相同或不同。此外，当使用术语“独立地”、“独立地是”和“独立地选自”时，是指所述基团可以相同或不同。某些本文定义的术语可以在结构式中出现不止一次，并且这样出现时，各个术语应该是与其它术语相互独立定义的。

[0113] 术语“患者”包括人类和非人类的动物，例如陪伴动物（狗和猫等等）和家畜动物。家畜动物是用于食物生产而喂养的动物。反刍类或“反刍咀嚼”动物例如牛、公牛、小母牛、小公牛、羊、水牛、野牛、山羊和羚羊是家畜的例子。家畜的其它例子包括猪和鸟类（家禽），例如小鸡、鸭、火鸡和鹅。家畜的其它例子包括养殖业喂养的鱼、贝和甲壳类动物。还包括的是用于食物生产的动物，例如鳄鱼、水牛和平胸鸟（例如食火鸟、美洲鸵或鸵鸟）。待治疗的患者优选哺乳动物，尤其是人。

[0114] 术语“胰高血糖素受体介导的细胞反应”包括通过哺乳动物细胞对于胰高血糖素刺激作用或胰高血糖素受体活性的各种反应。例如“胰高血糖素受体介导的细胞反应”包括但不局限于在对于胰高血糖素刺激作用或胰高血糖素受体活性的反应中从肝脏或其它细胞中释放葡萄糖。本领域普通技术人员可以容易鉴别通过胰高血糖素受体活性介导的其它细胞反应，例如在细胞与有效剂量胰高血糖素接触之后，通过观测反应性细胞端点的变化。

[0115] 本文中使用的术语“治疗”包括它们的通用含义，即为了预防、阻止、抑制、缓和、改善、减缓、中止、延迟或逆转本文描述的疾病、障碍或病理学病症的进展和严重程度的目的而管理和护理患者，包括症状或并发症的减轻或去除，或疾病、障碍或病症的治愈或消除。

[0116] “组合物”是指药物组合物，并且拟包括包含活性组分和组成载体的惰性成份的药物产品，活性组分包括式 I 的化合物。相应地，本发明的药物组合物包括通过将本发明化合物和可药用载体混合制成的任何组合物。

[0117] 术语“合适的溶剂”是指任何溶剂或溶剂的混合物，其对于所进行的反应是惰性的，可充分溶解反应物得到一种介质，在介质内可实现所需要的反应。

[0118] 术语“单位剂型”是指对于人类患者及其它非人类动物适合作为单一剂量的物理分散单位，每个单位含有预定量的、预计产生所需要的治疗效果的、与合适的药学载体结合的活性物质。

[0119] 本发明的化合物可以是手性的，并且不论以纯的或部分纯化的、或外消旋混合物形式存在的所有对映体均包括在本发明的范围内。此外，当双键或完全或部分饱和的环系或一个以上不对称中心或限定旋转性的键存在于分子中时，可以形成非对映体。以单独的、

纯的或部分纯化的非对映体或其混合物形式存在的所有非对映体均包括在本发明范围内。此外,本发明的一些化合物可以以不同的互变异构形式存在,并且化合物能够形成的任何互变异构形式均包括在本发明范围内。本发明还包括式 I 化合物的互变异构体、对映体及其他立体异构体。这种变型包括在本发明的范围之内。

[0120] 式 I 化合物,当以非对映体混合物的形式存在时,可以通过例如由合适的溶剂例如甲醇或乙酸乙酯或其混合物进行分级结晶而分离成对映体的非对映体对。由此获得的对映体对可以通过常规方法,例如通过利用旋光性酸作为拆分试剂而分离成独立的立体异构体。或者,式 I 化合物的任何对映体可以通过立体特异性合成使用已知构型的旋光纯的起始原料或试剂或通过非对映体选择性合成来获得。

[0121] 本文中所使用的术语“对映体富集”是指与其它对映体相比较,一种对映体的量的增加。表达所获得的对映体富集的便利方法是对映体过量概念,或“ee”,使用下面的方程式可以求出:

$$ee = \frac{E^1 - E^2}{E^1 + E^2} \times 100$$

[0122]

[0123] 其中 E^1 是第一个对映体的量, E^2 是第二个对映体的量。因此,如果两个对映体的初始比值是 50 : 50,例如存在于外消旋混合物中,获得了足以产生 70 : 30 的最终比例的对映体富集,则相对于第一个对映体, ee 是 40%。然而,如果最终比例是 90 : 10,则相对于第一个对映体的 ee 是 80%。优选大于 90% 的 ee,最优选大于 95% 的 ee,尤其最优选大于 99% 的 ee。对映体的富集可由本领域普通技术人员使用标准技术和方法,例如带有手性柱的气相或高效液相色谱法容易地测定。合适的手性柱、洗脱液和为分离对映体所必需的条件选择在本领域普通技术人员的知识范围内。此外,式 I 化合物的特异立体异构体和对映体可以使用众所周知的技术和方法由本领域普通技术人员制备,例如在 J. Jacques 等人, " Enantiomers, Racemates, and Resolutions, " John Wiley and Sons, Inc., 1981, 以及 E. L. Eliel 和 S. H. Wilen, " Stereochemistry of Organic Compounds, " (Wiley-Interscience 1994), 以及欧洲专利申请 EP-A-838448 (1998 年 4 月 29 日出版) 中公开的那些。拆分的例子包括重结晶技术或手性色谱法。除非另有陈述,标明为“异构体 1”的化合物是从手性分离柱中洗脱出来的第一个异构体,而“异构体 2”是第二个。

[0124] 通常,当术语“可药用”用作形容词时,是指对于活性生物体基本上是无毒的。例如,本文中使用的术语“可药用盐”是指式 I 化合物的盐,其对于活性生物体基本上无毒。本发明还包括本发明化合物的可药用盐。可药用盐以及制备他们的常用方法是本领域众所周知的。参见例如 P. Stahl, 等人, " Handbook Of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, " (VCHA/Wiley-VCH, 2002); Berge, S. M., Bighley, L. D., 和 Monkhouse, D. C., " Pharmaceutical Salts, " J. Pharm. Sci., 66 : 1, 1977。

[0125] 本发明同样包括本发明化合物的前药,给药时,其在成为药理学活性物质之前,通过代谢过程进行化学转化。通常,这种前药是本发明化合物的功能性衍生物,其在体内容易转变为本发明的化合物。合适的前药衍生物的选择和制备的常规方法描述在例如“Design of Prodrugs”, ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985 中。

[0126] 式 I 化合物可以按照各种方法由本领域普通技术人员来制备,其中一些在下面列

出的方法和反应方案中进行了说明。制备式 I 化合物所要求步骤的具体顺序取决于待合成的具体化合物、原料化合物和取代部分的相对倾向。对于本领域技术人员，试剂或起始原料容易得到，并且对于不可商购的，按照本领域通常采用的标准方法、以及下面列出的各种方法和反应方案，由本领域普通技术人员很容易合成。

[0127] 为了更好地解释本发明的实际应用，提供下面的反应方案、制备例、实施例和方法，并且无论如何不应该将其解释为限制本发明的范围。本领域技术人员将认识到，在没有离开本发明的精神和范围的情况下，可以进行各种改进。在说明书中提到的所有出版物表示与本发明有关的本领域技术人员的水平。

[0128] 反应方案、制备例、实施例和方法中的进行反应的最佳时机可以通过常规的色谱技术监测反应进展来确定。此外，优选本发明的反应在惰性气氛例如氩气或尤其是氮气中进行。溶剂的选择通常不是关键的，只要所采用的溶剂对于进行中的反应是惰性的，并且足以溶解反应物，实现所需要的反应。优选，分离并纯化化合物，而后在随后的反应中使用它们。一些化合物可以在其形成期间从反应溶液中结晶出来，而后通过过滤收集，或可以通过提取、蒸发或倾析来除去反应溶剂。如果需要的话，可以通过普通技术例如重结晶或固体载体例如硅胶或氧化铝色谱，将式 I 中间体和最终产品进一步纯化。

[0129] 本领域技术人员将会理解，不是所有的取代基都与所有的反应条件适合。这些化合物可以在合成过程中的方便时刻、通过本领域众所周知的方法进行保护或修饰。

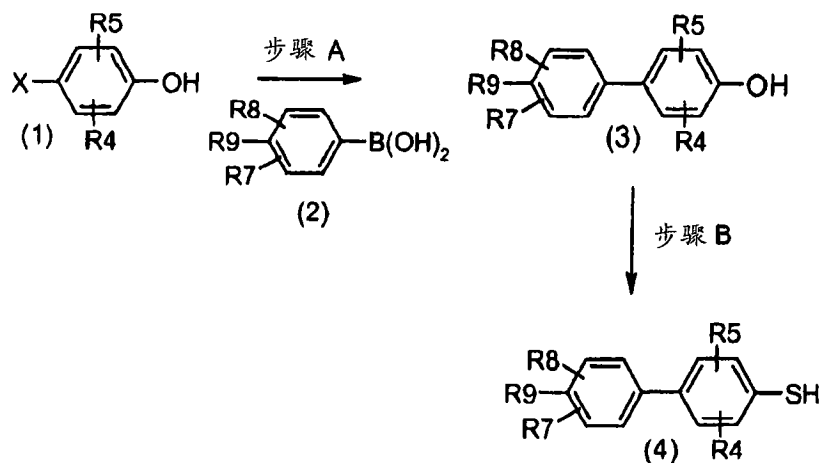
[0130] 用于反应方案、制备例、实施例和方法中的术语和缩写具有它们的正常含义，除非另外标明。例如本文中使用的下列术语具有标明的含义：“psi”是指磅 / 平方英寸；“min”是指分钟；“h”或“hr”是指小时；“TLC”是指薄层色谱；“HPLC”是指高效液相色谱；“ R_f ”是指保留因子；“ R_t ”是指保留时间；“ δ ”是指从四甲基硅烷低场的百万分数；“MS”是指质谱；“MS(ES)”是指电子喷雾质谱；“UV”是指紫外光谱；“ ^1H NMR”是指质子核磁共振光谱。此外，“RT”是指室温；“DEAD”是指偶氮二甲酸二乙酯；“PPh₃”是指三苯基膦；“ADDP”是指 1,1'-(氮杂二羰基)二哌啶；“PPBu₃”是指三丁基膦；“OTf”是指三氟甲磺酸盐；“LAH”是指氢化锂铝；“DIBAL-H”是指氢化二异丁基铝；“KOtBu”是指叔丁醇钾；“THF”是指四氢呋喃；“TBP”是指三丁基膦；“EDCI”是指 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐；“DMAP”是指二甲氨基吡啶；“HNMe(OMe)”是指 N,N-二甲氨基羟胺；“CDMT”是指 2-氯-4,6-二甲氧基-[1,3,5]三嗪；“NMM”是指 N-甲基吗啉；“DCM”是指二氯甲烷；“DMSO”是指二甲亚砜；“Et₃N”是指三乙胺；“DMF”是指二甲基甲酰胺；“PBr₃”是指三溴化磷；式中的“Et”是指乙基，例如 Et₂O 是指乙醚，EtOAc 是指乙酸乙酯；“PyBOP”是指溴-三-吡咯烷子基-膦六氟磷酸盐；“Me”是指甲基，如 MeOH 是甲醇；“Pd/C”是指 10% 钯 / 碳。除非另有说明，否则异构体 1 是指从手性分离中洗脱出来的第一个异构体，而异构体 2 是指从手性分离中洗脱出来的第二个异构体。

[0131] 一般反应方案

[0132] 所有本发明化合物都可以通过化学方法制得，例如按照下面的反应方案和 / 或制备例和实施例中给出的合成途径制得。然而，下面的论述不是以任何方式限制本发明的范围。例如，对于所描述的每一合成途径，具体的合成步骤可以以不同方式组合，或者与不同方案的步骤联合，以制备另外的式 I 化合物。

[0133] 反应方案 I

[0134]



[0135] 在反应方案 I 步骤 A 中,使用 Suzuki 反应将式 (1) 的 4- 卤代苯酚 ($X = \text{I}$ 或 Br) 与式 (2) 的苯基硼酸偶联,获得式 (3) 的联苯羟基化合物。本领域技术人员应当认识到,使用芳基卤化物和苯基硼酸的 Suzuki 偶联反应可使用多种不同反应条件来进行。优选的条件使用氧基二 -2,1- 亚苯基) 二 (二苯基膦),在乙酸钯和氟化钾存在下,在惰性溶剂例如四氢呋喃中。将反应在 50°C 至溶剂的回流温度的温度下于氮气下加热约 4 至 48 小时。

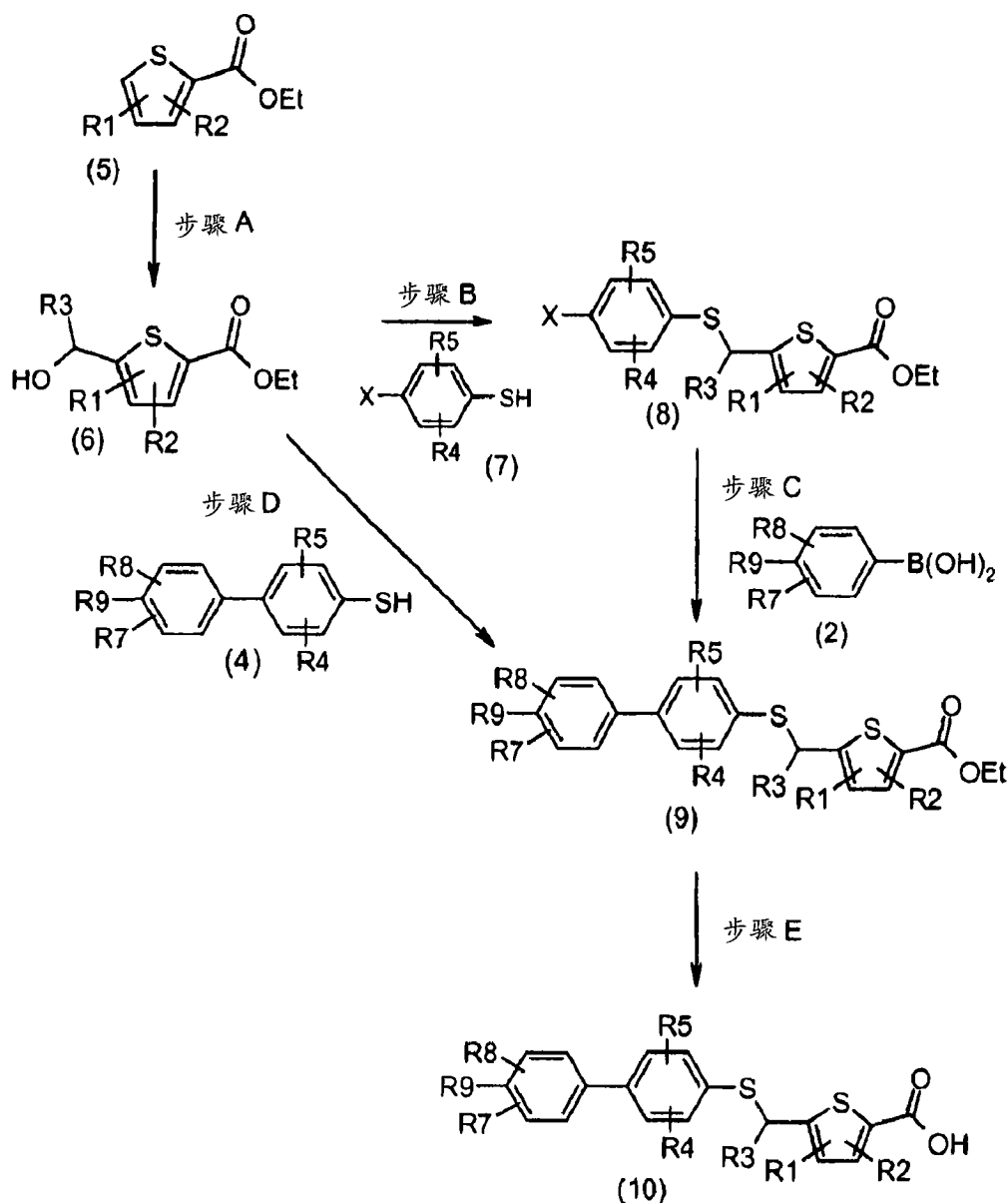
[0136] 或者,Suzuki 反应可以使用四 (三苯基膦) 钯与氟化钾在氮气下进行。反应在惰性溶剂例如甲苯或苯与水中于 40°C 至反应的回流温度的温度下进行约 4 至 48 小时。

[0137] 在反应方案 I 步骤 B 中,将式 (3) 的联苯羟基化合物与二甲基硫代氨基甲酸酐进行偶联,历经热重排以及随后二甲基硫代氨基甲酸酯中间体的溶剂解,获得式 (4) 的联苯硫酚化合物。生成硫代氨基甲酸酯的该偶联反应是在 4- 二甲基氨基吡啶与有机胺例如三乙胺或二异丙基乙基胺存在下进行的。该反应在惰性溶剂例如二氧杂环己烷、四氢呋喃、苯或甲苯,优选二氧杂环己烷中,在 65°C 至溶剂的回流温度的温度下进行。所得硫代氨基甲酸酯在十四烷中于 200 至 250°C 温度下进行热重排,优选的温度是 245°C ,生成二甲基 - 硫代氨基甲酸酯。在甲醇中用甲醇钠或者在乙醇中用乙醇钠进行溶剂解,生成式 (4) 的联苯硫酚化合物。

[0138]

反应方案 II

[0139]



[0140] 在反应方案 II 步骤 A 中,将式 (5) 的噻吩-2-甲酸乙酯用醛 ($R_3\text{CHO}$) 烷基化,以生成式 (6) 的仲醇。将式 (5) 的噻吩-2-甲酸乙酯用二异丙基氨基锂于 -80 至 -70°C 温度下处理,然后在惰性溶剂例如四氢呋喃中用醛处理。让该反应经由约 12 至 24 小时温热至室温,使用萃取技术分离出产物,获得式 (6) 的仲醇。

[0141] 在反应方案 II 步骤 B 中,将式 (6) 的仲醇与式 (7) 的 4-卤代苯硫酚 ($X = \text{Br}$ 或 I) 偶联,生成式 (8) 的 4-卤代苯基硫醚。该偶联是用路易斯酸例如碘化锌 (ZnI_2),在惰性溶剂例如二氯甲烷或二氯乙烷中于 0 至 50°C 温度下进行,使用二氯乙烷在室温是优选的条件。使用常规萃取技术分离出产物,获得式 (8) 的 4-卤代苯基硫醚。

[0142] 或者,仲醇与苯硫酚的偶联可以使用 Mitsunobu 条件来进行。本领域技术人员已知的常用氧化还原体系,例如偶氮二甲酸二乙酯 (DEAD)/三苯基膦、 N,N,N',N' -四甲基偶氮二甲酰胺 (TMAD)/三丁基膦或 $1,1'$ -(氮杂二羰基)二哌啶 (ADDP)/三丁基膦可用于进行该转化。

[0143] 在反应方案 II 步骤 C 中,使用反应方案 I 步骤 A 中描述的条件,将式 (8) 的 4-卤代苯基硫醚与式 (2) 的苯基硼酸在 Suzuki 反应中偶联,生成式 (9) 的联苯硫醚。

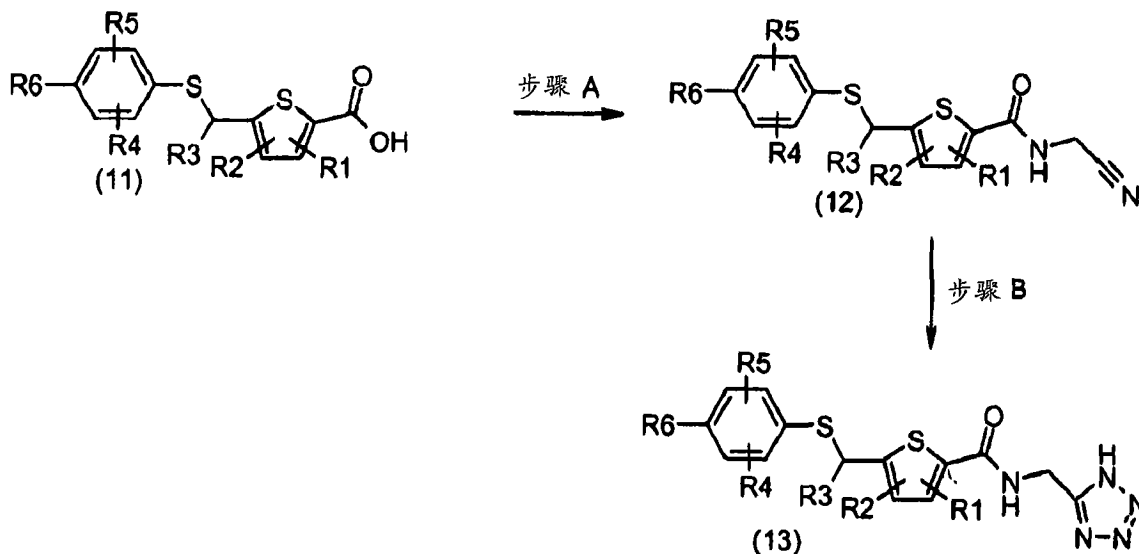
[0144] 或者,在反应方案 II 步骤 D 中,使用反应方案 II 步骤 B 中描述的条件,将式 (3) 的联苯硫酚偶联,生成式 (9) 的联苯硫醚。

[0145] 在反应方案 II 步骤 E 中,将式 (9) 的噻吩甲酸乙酯水解,以生成式 (10) 的噻吩甲酸。该酯是在合适的水溶性溶剂例如乙醇、甲醇、二氧杂环己烷或四氢呋喃中水解的,乙醇是优选的。将该酯用无机碱例如氢氧化钾或氢氧化钠,优选氢氧化钠,在室温至溶剂回流温度下处理 2 至 48 小时。通过用盐酸中和,然后通过常规萃取技术来分离出式 (10) 的噻吩甲酸。

[0146]

反应方案 III

[0147]



[0148] 在反应方案 III 步骤 A 中,将式 (11) 的噻吩甲酸酰化,生成式 (12) 的酰胺。本领域技术人员应当理解,对于在羧酸与胺之间形成酰胺键,有很多条件。这样的方法可参见 R. C. Larock 在“Comprehensive Organic Transformations”, VCH Publishers, 1989, p. 972-976 中的教导。优选的条件使用催化量的 4-二甲基氨基吡啶 (DMAP)、1, [3-(二甲基氨基)丙基]-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (EDCI) 和有机碱例如二异丙基乙基胺或三乙胺,在惰性溶剂例如二氯甲烷或四氢呋喃中。将该活性酯用氨基乙腈盐酸盐于 0℃ 至溶剂的回流温度下,优选在室温处理约 4 至 48 小时。

[0149] 或者,在反应方案 III 步骤 A 中,另一组优选的条件在有机碱例如 N-甲基吗啉存在下,在惰性溶剂例如四氢呋喃中使用 2-氯-4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪以形成活性酯。将该活性酯用氨基乙腈盐酸盐于 0 至 50℃ 处理 4 至 48 小时,生成式 (12) 的酰胺。

[0150] 在反应方案 III 步骤 B 中,将式 (12) 的酰胺环合生成式 (13) 的四唑。本领域技术人员应当认识到,用于由腈形成四唑的试剂包括叠氮基三甲基甲硅烷、叠氮基三丁基锡和叠氮化钠。优选的条件在惰性溶剂例如甲苯、苯、二甲基甲酰胺、四氢呋喃或二氧杂环己烷中,在烷基胺盐酸盐例如三乙胺或二异丙基乙基胺盐酸盐存在下使用叠氮化钠。优选的条件在 40℃ 至溶剂回流温度下使用甲苯 4 至 48 小时。通过用盐酸酸化,并且萃取到合适的有机溶剂例如乙酸乙酯中来分离出产物。

[0151]

制备例和实施例

[0152] 本文提供的实施例是为了举例说明本发明,而不是以任何方式限制所要求保护的

本发明的范围。制备例和实施例的命名使用 ChemDraw 得到。

[0153] 于室温在 Varian 400MHz 分光计上记录 ^1H NMR 光谱。数据报道如下：化学位移以 ppm 表示，以四甲基硅烷为内标，以 δ 度量，多重性 (b = 宽峰, s = 单峰, d = 双峰, T = 三重峰, q = 四重峰, qn = 五重峰和 m = 多重峰)，积分，偶合常数 (Hz) 和归属。 ^1H -NMR 指出了所获得的所述化合物的满意的 NMR 光谱。单一同位素质谱数据是在使用电子喷雾电离 (ESI 或 ES) 的 Agilent G1956B MSD 单一四极装置上获得的。在 EM Reagent 0.25mm 硅胶 60-F 板上进行分析薄层色谱。用 UV 光完成显色。除非另有说明，所有实施例都是外消旋的。

[0154] 制备例 1

[0155] 2,6-二甲基-4'-(三氟甲基)联苯-4-酚

[0156] 将 4-溴-3,5-二甲基苯酚 (115.00g, 571.96mmol)、4-(三氟甲基)苯基硼酸 (130.36g, 686.35mmol)、(氧基二-2,1-亚苯基)二(二苯基膦) (126.00g, 233.96mmol)、氟化钾 (99.69g, 1.72mol) 和 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (25.68g, 114.39mmol) 加到氮气吹扫的四氢呋喃 (3.0L) 中，并且加热至回流。通过 GC 监测原料 4-溴-3,5-二甲基苯酚的消耗。保持回流直至 4-溴-3,5-二甲基苯酚已经消耗完，并且一般在 18 小时后完全。反应完成后，将该批反应混合物冷却至大约 25°C。把粗的反应混合物吸收到二氧化硅 (~500g) 上，并且在二氧化硅 (1.5kg) 上用 10% 乙酸乙酯在庚烷中的混合物洗脱，获得了产物，为固体 (132.9g, 87.3%)。将产物从庚烷 (23L/kg) 和异丙醇 (0.4L/kg) 中结晶，获得了本标题化合物 (119.5g; 78.5% 产率)，为灰白色固体。MS (ES): 265.21 [M-1]⁻。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 7.68 (d, 2H), 7.26 (d, 2H), 6.62 (s, 2H), 4.73 (s, 1H), 1.97 (s, 6H)。

[0157] 制备例 2

[0158] 4'-叔丁基-2,6-二甲基联苯-4-酚

[0159] 基本上按照制备例 1 中描述的方法，使用 4-叔丁基苯基硼酸，制得了本标题化合物。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 7.43 (d, 2H), 7.06 (d, 2H), 6.61 (s, 2H), 4.85 (s, 1H), 2.02 (s, 6H), 1.38 (s, 9H)。

[0160] 制备例 3

[0161] (R, S)-5-(1-羟基-3-甲基-丁基)-噻吩-2-甲酸乙酯

[0162] 将二异丙基胺 (8.55mL, 60mmol) 在 THF (350mL) 中的溶液于氮气下冷却至 -78°C，并且用正丁基锂 (2.5M 在己烷中的溶液, 24mL) 处理。然后将该混合物温热至 0°C，保持 10 分钟，再冷却至 -78°C，滴加噻吩-2-甲酸乙酯 (7.8g, 50mmol) 在 THF (150mL) 中的溶液，搅拌 5 分钟。然后加入 3-甲基-丁醛 (6.48mL, 60mmol)，让该反应温热至室温，同时搅拌过夜。加入含水缓冲液 (pH = 7)，并且把产物萃取到乙酸乙酯内 (3×)。将合并的有机层干燥，过滤，并且浓缩。将所得残余物施加到硅胶上，并且使用己烷与 0% 至 60% 梯度的乙酸乙酯的混合物洗脱，获得了本标题化合物 (8.03g)。

[0163] 制备例 4-9 是按照与制备例 3 基本上类似的方法制备的。

[0164] 制备例 4

[0165] (R, S)-5-(1-羟基-丙基)-噻吩-2-甲酸乙酯

[0166] 制备例 5

[0167] (R, S)-5-(1-羟基-丁基)-噻吩-2-甲酸乙酯

[0168] 制备例 6

[0169] (R, S)-5-(1-羟基-戊基)-噻吩-2-甲酸乙酯

[0170] 制备例 7

[0171] (R, S)-5-(1-羟基-2,2-二甲基-丙基)-噻吩-2-甲酸乙酯

[0172] 制备例 8

[0173] (R, S)-5-(1-羟基-2-甲基-丙基)-噻吩-2-甲酸乙酯

[0174] 制备例 9

[0175] (R, S)-5-(1-羟基-3,3-二甲基-丁基)-噻吩-2-甲酸乙酯

[0176] 制备例 10

[0177] 4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-硫酚

[0178] 步骤 A. 二甲基-硫代氨基甲酸 O-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基)酯

[0179] 向 4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-酚 (10g, 37.3mmol) 在二氧杂环己烷 (157mL) 内的溶液中加入 4-二甲基氨基吡啶 (476mg, 3.9mmol)、三乙胺 (10mL, 78.6mmol) 和二甲基硫代氨基甲酰氯 (6.1g, 49.1mmol)。将该反应混合物加热回流过夜。冷却至室温后, 将该反应混合物在乙酸乙酯与水之间分配。将水层用乙酸乙酯反萃取, 将合并的有机层干燥, 并且浓缩。将所得残余物施加到硅胶上, 并且使用 20% 乙酸乙酯在己烷中的混合物洗脱, 获得了二甲基-硫代氨基甲酸 O-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基)酯 (12.2g)。

[0180] 步骤 B. 二甲基-硫代氨基甲酸 S-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基)酯

[0181] 将二甲基-硫代氨基甲酸 O-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基)酯 (12.1g, 35.4mmol) 在十四烷 (80mL) 中的悬浮液于 245℃ 加热 16 小时。冷却至室温后, 将固体沉淀过滤, 用庚烷洗涤, 并且在 40℃ 真空干燥。将所得残余物施加到硅胶上, 并且使用己烷与 0% 至 60% 梯度的乙酸乙酯的混合物洗脱, 获得了二甲基-硫代氨基甲酸 S-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基)酯 (8.86g)。

[0182] 步骤 C. 4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-硫酚

[0183] 向二甲基-硫代氨基甲酸 S-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基)酯 (8.8g, 25.8mmol) 在甲醇 (65mL) 内的溶液中加入甲醇钠 (1.39g, 25.8mmol)。将该反应混合物加热回流过夜。冷却至室温后, 将该反应混合物用 5N HCl 中和, 浓缩至 1/3 体积, 用盐水处理, 并且萃取到乙酸乙酯内。将水层用二氯甲烷反萃取, 将合并的有机层干燥, 并且浓缩。将所得残余物施加到硅胶上, 并且使用己烷与 0% 至 50% 梯度的乙酸乙酯的混合物洗脱, 获得了本标题化合物 (5.84g)。

[0184] 制备例 11

[0185] 2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-硫酚

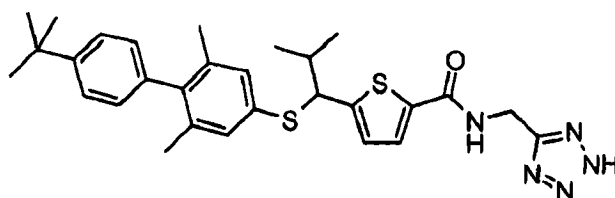
[0186] 按照基本上类似于制备例 10 中描述的方法, 使用 2,6-二甲基-4'-(三氟甲基)联苯-4-酚制得了本标题化合物。MS(ES): 281.1 [M-H]⁻。

[0187] 实施例 1

[0188] (R, S)-5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-2-甲基-丙基]-噻吩-2-

[0189] 甲酸 (2H-四唑-5-基甲基)-酰胺

[0190]



[0191] 步骤A. (R,S)-5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-2-甲基-丙基]-噻吩-2-甲酸乙酯

[0192] 将 (R,S)-5-(1-羟基-2-甲基-丙基)-噻吩-2-甲酸乙酯 (1.26g, 5.52mmol) 和 4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-硫酚 (1.64g, 6.07mmol) 在 1,2-二氯乙烷 (22mL) 中的溶液用碘化锌 (1.76g, 5.52mmol) 处理, 并且在室温搅拌过夜。然后将该反应混合物在水与二氯甲烷之间分配。将水层用二氯甲烷反萃取, 将合并的有机层干燥, 过滤, 并且浓缩。将所得残余物施加到硅胶上, 并且使用己烷与 0% 至 40% 梯度的乙酸乙酯的混合物洗脱, 获得了 (R,S)-5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-2-甲基-丙基]-噻吩-2-甲酸乙酯 (2.08g)。MS (ES): 481.1 [M+H]⁺。

[0193] 步骤B. (R,S)-5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-2-甲基-丙基]-噻吩-2-甲酸

[0194] 在室温向 (R,S)-5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-2-甲基-丙基]-噻吩-2-甲酸乙酯 (2.08g, 4.33mmol) 在乙醇 (43mL) 内的混合物中加入氢氧化钠 (5N 水溶液, 4.33mL), 并且搅拌过夜。将该反应混合物用 1N HCl (4.42mL) 酸化, 萃取到乙酸乙酯内, 干燥并且浓缩, 然后真空干燥, 获得了 (R,S)-5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-2-甲基-丙基]-噻吩-2-甲酸 (1.82g)。MS (ES): 451.2 [M-H]⁻。

[0195] 步骤C. (R,S)-5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-2-甲基-丙基]-噻吩-2-甲酸氰基甲基-酰胺

[0196] 在室温向 (R,S)-5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-2-甲基-丙基]-噻吩-2-甲酸 (342mg, 0.756mmol) 在 DMF (7.6mL) 内的混合物中加入 N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐 (290mg, 1.512mmol)、1-羟基苯并三唑水合物 (123mg, 0.907mmol) 和二异丙基乙基胺 (0.264mL, 1.512mmol), 并且搅拌 10 分钟。然后将该混合物用氨基乙腈盐酸盐 (84mg, 0.907mmol) 处理, 并且搅拌过夜。将该反应混合物用 0.1N HCl 处理, 并且萃取到乙酸乙酯内两次。将合并的有机层用盐水洗涤, 干燥并且浓缩, 将所得残余物施加到硅胶上, 并且使用己烷与 0% 至 70% 梯度的乙酸乙酯的混合物洗脱, 获得了 (R,S)-5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-2-甲基-丙基]-噻吩-2-甲酸氰基甲基-酰胺 (289mg)。MS (ES): 491.1 [M+H]⁺。

[0197] 步骤D. (R,S)-5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-2-甲基-丙基]-噻吩-2-甲酸 (2H-四唑-5-基甲基)-酰胺

[0198] 将 (R,S)-5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-2-甲基-丙基]-噻吩-2-甲酸氰基甲基-酰胺 (195mg, 0.397mmol) 在甲苯 (8mL) 中的溶液用三乙胺盐酸盐 (275mg, 2mmol) 和叠氮化钠 (130mg, 2mmol) 处理, 然后加热回流过夜 (热条件), 或者, 在 CEM 微波反应器中放置 20 分钟 (300W, 180°C, N₂ 冷却) (微波条件)。冷却至室温后, 将该反应混合物在乙酸乙酯与水之间分配。将水层用乙酸乙酯反萃取, 将合并的有机层干燥并且浓缩, 将所得残余物负载到 C₁₈ 上, 并且用水与 15% 至 100% 梯度的乙腈的混合物

洗脱, 获得了本标题化合物 (91mg)。MS (ES) : 534. 2 [M+H]⁺。

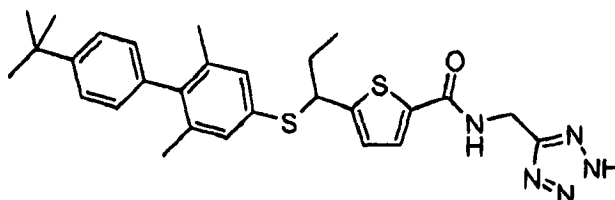
[0199] 实施例 2-7 是按照基本上类似于实施例 1 步骤 D 中描述的使用热条件的方法制得的。

[0200] 实施例 2

[0201] (±)-5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-丙基]-噻吩-2-甲酸 (2H-

[0202] 四唑-5-基甲基)-酰胺

[0203]



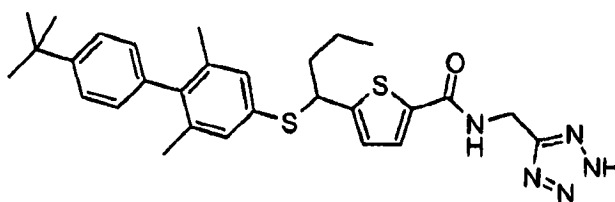
[0204] MS (ES) : 520. 3 [M+H]⁺。

[0205] 实施例 3

[0206] (±)-5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-丁基]-噻吩-2-甲酸 (2H-

[0207] 四唑-5-基甲基)-酰胺

[0208]



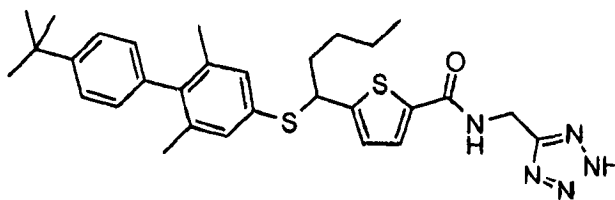
[0209] MS (ES) : 534. 3 [M+H]⁺。

[0210] 实施例 4

[0211] (±)-5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-戊基]-噻吩-2-甲酸 (2H-

[0212] 四唑-5-基甲基)-酰胺

[0213]



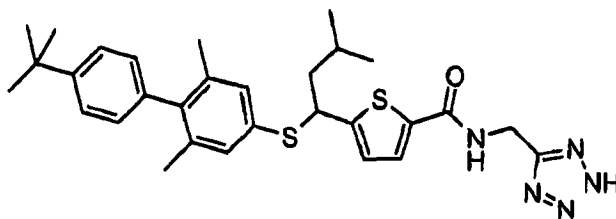
[0214] MS (ES) : 548. 3 [M+H]⁺。

[0215] 实施例 5

[0216] (±)-5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-3-甲基-丁基]-噻吩-2-甲

[0217] 酸 (2H-四唑-5-基甲基)-酰胺

[0218]



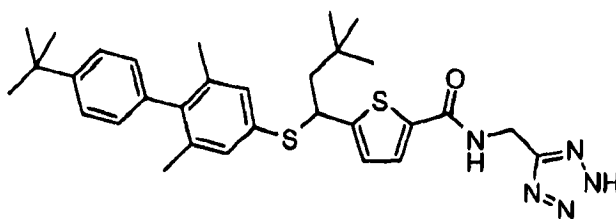
[0219] MS (ES) :548.0 [M+H]⁺.

[0220] 实施例 6

[0221] ((±)-5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-3,3-二甲基-丁基]-噻吩

[0222] -2-甲酸(2H-四唑-5-基甲基)-酰胺

[0223]



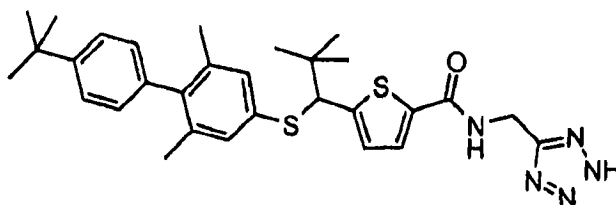
[0224] MS (ES) :562.0 [M+H]⁺.

[0225] 实施例 7

[0226] (±)-5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-2,2-二甲基-丙基]-噻吩

[0227] -2-甲酸(2H-四唑-5-基甲基)-酰胺

[0228]



[0229] MS (ES) :548.3 [M+H]⁺.

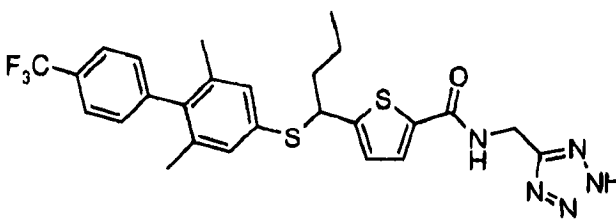
[0230] 实施例 8-13 是按照基本上类似于实施例 1 步骤 D 中描述的使用微波条件的方法制得的。

[0231] 实施例 8

[0232] (±)-5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-丁基]-噻吩-2-甲酸

[0233] (1H-四唑-5-基甲基)-酰胺

[0234]



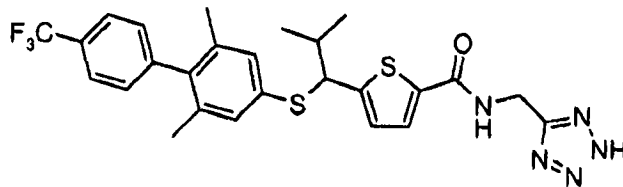
[0235] MS (ES) :546.0 [M+H]⁺.

[0236] 实施例 9

[0237] (±)-5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-2-甲基-丙基]-噻吩-2-

[0238] 甲酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺

[0239]



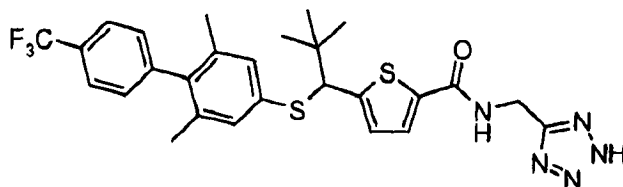
[0240] MS(ES): 545.8 [M+H]⁺.

[0241] 实施例 10

[0242] (±)-5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-2,2-二甲基-丙基]-噻

[0243] 吩-2-甲酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺

[0244]



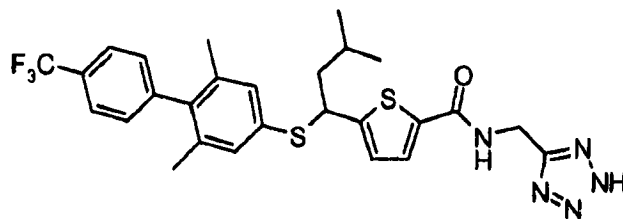
[0245] MS(ES): 560.0 [M+H]⁺.

[0246] 实施例 11

[0247] (±)-5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-3-甲基-丁基]-噻

[0248] 吩-2-甲酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺

[0249]



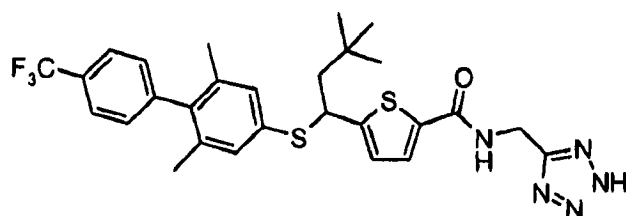
[0250] MS(ES): 560.0 [M+H]⁺.

[0251] 实施例 12

[0252] (±)-5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-3,3-二甲基-丁基]-噻

[0253] 吩-2-甲酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺

[0254]



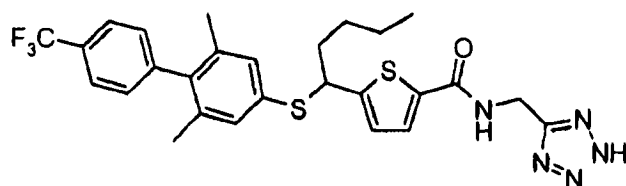
[0255] MS(ES) :574.0 [M+H]⁺.

[0256] 实施例 13

[0257] (±)-5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-戊基]-噻吩-2-甲酸

[0258] (1H-四唑-5-基甲基)-酰胺

[0259]



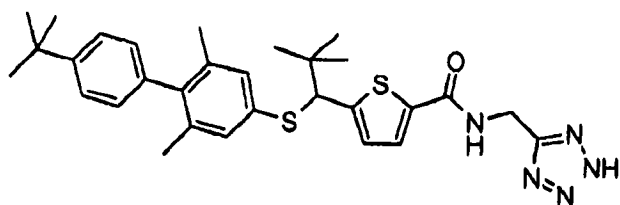
[0260] MS(ES) :560.0 [M+H]⁺.

[0261] 实施例 14

[0262] 5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-2,2-二甲基-丙基]-噻吩-2-甲

[0263] 酸(2H-四唑-5-基甲基)-酰胺(异构体 1)

[0264]



[0265] 步骤 A. 5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-2,2-二甲基-丙基]-噻吩-2-甲酸氨基甲基-酰胺(异构体 1)

[0266] 将(±)-5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-2,2-二甲基-丙基]-噻吩-2-甲酸氨基甲基-酰胺(500mg)通过手性 HPLC 分离(柱:Chiralpak AD 4.6×150mm;洗脱剂:15/853A 乙醇/庚烷,含有 12%二甲基乙基胺;流速:0.6mL/min;UV 吸收波长:300nm),获得了 5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-2,2-二甲基-丙基]-噻吩-2-甲酸氨基甲基-酰胺(异构体 1)(220mg)。

[0267] 步骤 B. 5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-2,2-二甲基-丙基]-噻吩-2-甲酸(2H-四唑-5-基甲基)-酰胺(异构体 1)

[0268] 将 5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-2,2-二甲基-丙基]-噻吩-2-甲酸氨基甲基-酰胺(异构体 1)(220mg,0.436mmol)在甲苯(8.7mL)中的溶液用三乙胺盐酸盐(300mg,2.18mmol)和叠氮化钠(142mg,2.18mmol)处理,然后加热回流过夜(热条件),或者,在 CEM 微波反应器中放置 20 分钟(300W,180℃,N₂冷却)(微波条件)。冷却至室温后,将该反应混合物在乙酸乙酯与水之间分配。将水层用乙酸乙酯反萃取,将合

并的有机层干燥,并且浓缩,获得了本标题化合物 (105mg)。MS(ES):548.3[M+H]⁺。

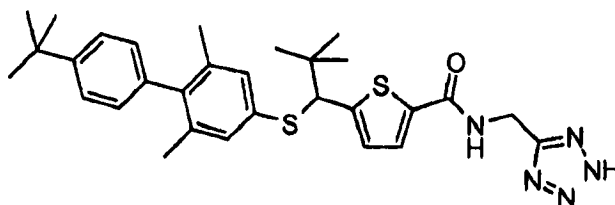
[0269] 实施例 15-17 是按照基本上类似于实施例 14 步骤 B 中描述的使用热条件的方法制得的。

[0270] 实施例 15

[0271] 5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-2,2-二甲基-丙基]-噻吩-2-甲

[0272] 酸(2H-四唑-5-基甲基)-酰胺(异构体 2)

[0273]



[0274] MS(ES):548.3[M+H]⁺。

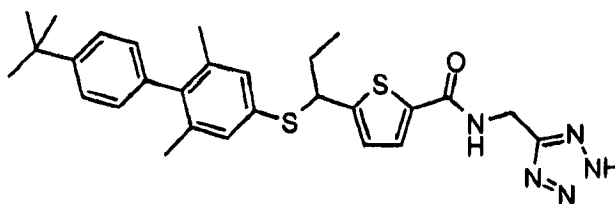
[0275] 实施例 16

[0276] 5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-丙基]-噻吩-2-甲酸

[0277] -5-基甲基)-酰胺(异构体 1)

[0278] 手性

[0279]



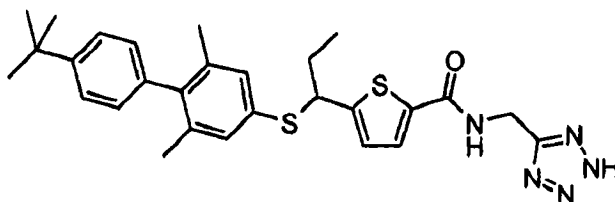
[0280] MS(ES):519.8[M+H]⁺。

[0281] 实施例 17

[0282] 5-[1-(4'-叔丁基-2,6-二甲基-联苯-4-基硫基)-丙基]-噻吩-2-甲酸

[0283] -5-基甲基)-酰胺(异构体 2)

[0284]



[0285] MS(ES):520.3[M+H]⁺。

[0286] 实施例 18-29 是按照基本上类似于实施例 14 步骤 B 中描述的使用微波条件的方法制得的。

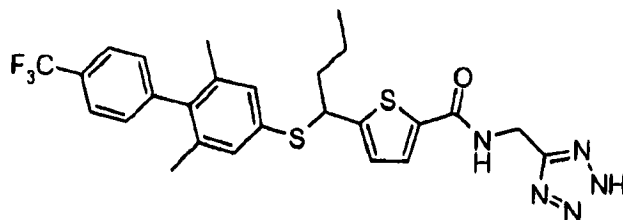
[0287] 实施例 18

[0288] 5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-丁基]-噻吩-2-甲酸

(1H- 四

[0289] 唑-5-基甲基)-酰胺(异构体 1)

[0290]

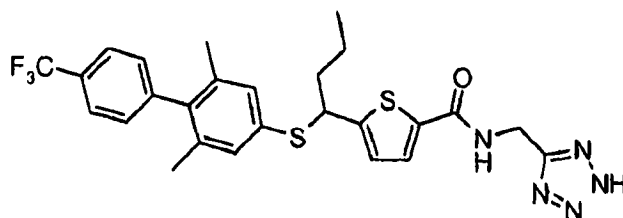
[0291] MS(ES): 546.0 [M+H]⁺.

[0292] 实施例 19

[0293] 5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-丁基]-噻吩-2-甲酸
(1H- 四

[0294] 唑-5-基甲基)-酰胺(异构体 2)

[0295]

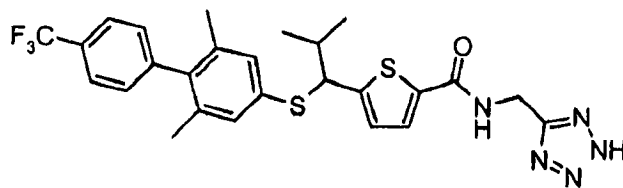
[0296] MS(ES): 546.0 [M+H]⁺.

[0297] 实施例 20

[0298] 5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-2-甲基-丙基]-噻吩-2-甲

[0299] 酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺(异构体 1)

[0300]

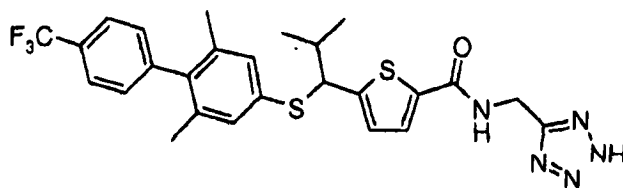
[0301] MS(ES): 546.0 [M+H]⁺.

[0302] 实施例 21

[0303] 5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-2-甲基-丙基]-噻吩-2-甲

[0304] 酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺(异构体 2)

[0305]

[0306] MS(ES): 546.0 [M+H]⁺.

[0307]

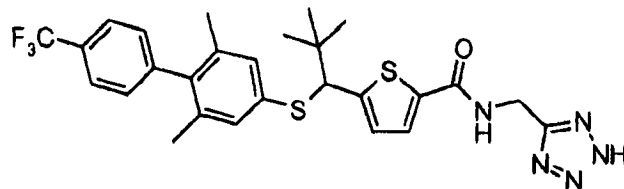
实施例 22

[0308] 5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-2,2-二甲基-丙基]-噻吩-2-

[0309]

甲酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺 b(异构体 1)

[0310]



[0311] MS(ES): 559.8 [M+H]⁺.

[0312]

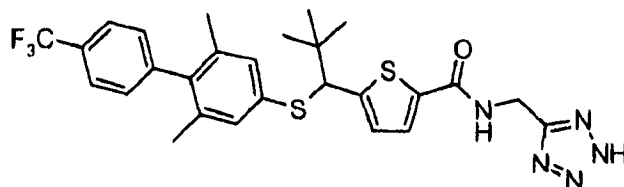
实施例 23

[0313] 5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-2,2-二甲基-丙基]-噻吩-2-

[0314]

甲酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺 b(异构体 2)

[0315]



[0316] MS(ES): 559.8 [M+H]⁺.

[0317]

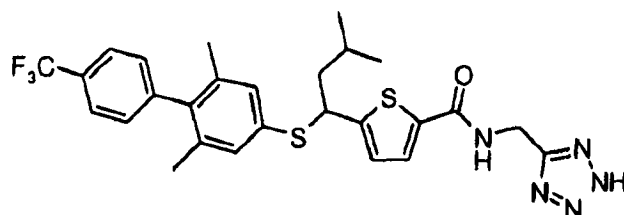
实施例 24

[0318] 5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-3-甲基-丁基]-噻吩-2-甲

[0319]

酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺(异构体 1)

[0320]



[0321] MS(ES): 560.0 [M+H]⁺.

[0322]

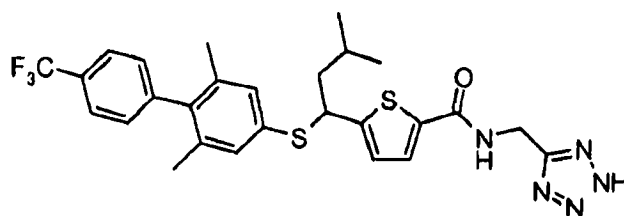
实施例 25

[0323] 5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-3-甲基-丁基]-噻吩-2-甲

[0324]

酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺(异构体 2)

[0325]



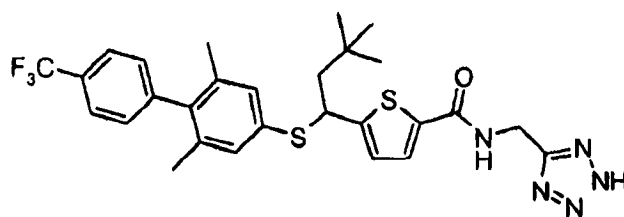
[0326] MS (ES) :560.0 [M+H]⁺.

[0327] 实施例 26

[0328] 5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-3,3-二甲基-丁基]-噻吩-2-

[0329] 甲酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺(异构体 1)

[0330]



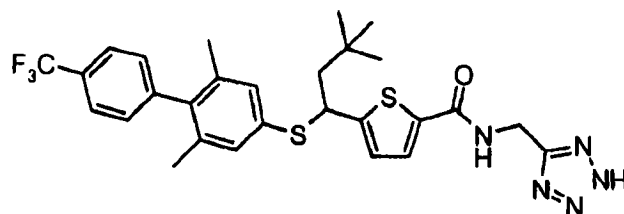
[0331] MS (ES) :573.8 [M+H]⁺.

[0332] 实施例 27

[0333] 5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-3,3-二甲基-丁基]-噻吩-2-

[0334] 甲酸(1H-四唑-5-基甲基)-酰胺(异构体 2)

[0335]



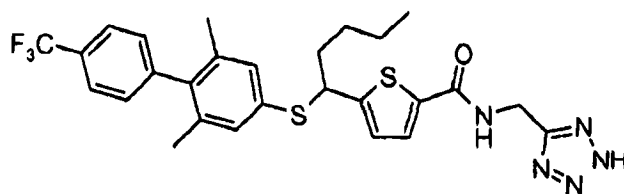
[0336] MS (ES) :573.8 [M+H]⁺.

[0337] 实施例 28

[0338] 5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-戊基]-噻吩-2-甲酸

[0339] 唑-5-基甲基)-酰胺(异构体 1)

[0340]



[0341] MS (ES) :559.8 [M+H]⁺.

[0342] 实施例 29

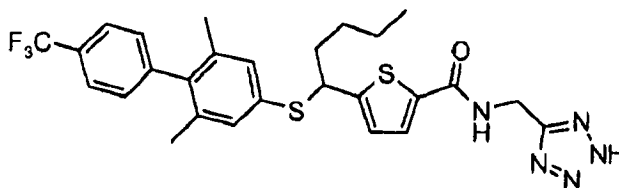
[0343] 5-[1-(2,6-二甲基-4'-三氟甲基-联苯-4-基硫基)-戊基]-噻吩-2-甲酸

(1H- 四

[0344]

唑 -5- 基甲基)- 酰胺 (异构体 2)

[0345]

[0346] MS (ES) :559.8 [M+H]⁺.

[0347] 优选在给药之前将式 I 化合物配制成单位剂型。因此,本发明的又一个实施方案是包含式 I 化合物与一种或多种可药用载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物。以这种形式,制剂被细分成含有合适量的活性组分,例如达到所需要目的的有效量的合适尺寸的单位剂量。这样的药物组合物及其制备方法是本领域众所周知的。参见例如 REMINGTON :THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY (A. Gennaro, 等人, eds., 19th ed., Mack Publishing Co., 1995)。构成本发明有效量所需的式 (I) 化合物或其可药用盐的具体剂量将取决于所治疗病症的具体情况。化合物优选口服给药。在制剂的单位剂量中,本发明活性组合物的量一般可以根据具体应用在约 0.01 毫克至约 1,000 毫克,优选约 0.01 至约 950 毫克,更优选约 0.01 至约 500 毫克,典型地约 1 至约 250 毫克之间改变或者调整。实际使用的剂量可以根据患者的年龄、性别、体重和所治疗症状的严重程度而改变。这种技术为本领域技术人员所熟知。通常,含有活性成份的人用口服剂型,每天可以给予 1 或 2 次。有关例如剂量、给药途径以及给药频率的考虑最好由临床医生做决定。

[0348] 可以配制本发明的组合物,以便在给予患者后,提供活性成份的迅速、持续或延迟释放。本发明的组合物可以配制成持续释放的形式,以使一种或多种组分或活性成份的任一种以控制的速率释放,使治疗效果即胰高血糖素受体拮抗剂活性等等最佳化。持续释放的合适剂型包括含有崩解速度变化的层或控制释放的聚合物基体的层片,它们用活性组分浸渍并形成含有这种浸渍的或包囊的多孔聚合物基体的片剂形式或胶囊。

[0349] 增加的证据表明,胰高血糖素在葡萄糖动态平衡中起重要作用。式 I 化合物有效作为胰高血糖素受体的拮抗剂或反向激动剂,并因此抑制胰高血糖素受体的活性。更特别的是,这些化合物是胰高血糖素受体的选择性拮抗剂或反向激动剂。作为选择性的拮抗剂或反向激动剂,式 I 化合物可有效用于治疗对胰高血糖素受体的失活敏感的疾病、障碍或病症,包括但不限于糖尿病性以及其它胰高血糖素相关病症。预计胰高血糖素受体的选择性拮抗剂或反向激动剂会降低血浆葡萄糖水平,并因此预防或治疗糖尿病性以及其它胰高血糖素相关的代谢病症。

[0350]

药理学方法

[0351] 在以下部分中描述了用于评价本发明化合物效果的结合试验以及功能性试验。可以在使用克隆人类胰高血糖素受体的竞争性结合试验中确定化合物与胰高血糖素受体的结合,和针对 hGlpr 受体的选择性。可以将拮抗作用确定为在 5nM 胰高血糖素的存在下,化合物抑制试验中形成的 cAMP 数量的能力。

[0352] 胰高血糖素受体 (h GlucR) 结合试验

[0353] 受体结合试验使用从 293HEK 膜中分离的克隆人类胰高血糖素受体 (Lok S,

Kuijper JL, Jelinek LJ, Kramer JM, Whitmore TE, Sprecher CA, Mathewes S, Grant FJ, BIG gs SH, Rosenber g gB 等人, Gene 140(2), 203-209(1994))。将 h GlucR cDNA 亚克隆到表达质粒 pH D 中 (Trans-activated expression of fully gamma-carboxylated recombinanthuman protein C, an antithrombotic factor. grinnell, B. W., Ber g, D. T., Walls, J. and Yan, S. B. Bio/Technology 5 :1189-1192(1987))。将质粒 DNA 转染到 293HEK 细胞中,并用 200 μ g/mL 潮霉素进行选择。

[0354] 使用悬浮培养物的细胞制备粗品原生质膜。在含有 25mM TrisHCL、pH 值 7.5、1mM $MgCl_2$ 、DNaseI、20u/mL 和不含 EDTA 的 Roche 完全抑制剂的低渗缓冲液中,将细胞溶解在冰上。用玻璃杜恩斯匀浆器将细胞悬浮液用 Teflon 研棒均化 25 次。在 4℃、在 1800×g 的条件下,将均浆离心 15 分钟。收集上清液,将球粒再悬浮在低渗缓冲液中,并重新均化。在 1800×g 的条件下,将混合物离心 15 分钟。将第二个上清液与第一个上清液合并。在 1800×g 的条件下,将合并的上清液再次离心 15 分钟,以使其澄清。将澄清上清液转入高速管中,并在 4℃、在 25000×g 离心 30 分钟。将膜球粒再悬浮在均化缓冲液中,并在 -80℃ 的冷藏箱中存为冷冻的等份试样,直至需要的时候。

[0355] 利用 I-125- 乳过氧化物酶方法将胰高血糖素进行放射性碘标记,并在 Perkin-Elmer/NEN(NEX207) 上通过反相 HPLC 纯化。比活性是 2200Ci/mmol。通过同源竞争而不是饱和结合来进行 Kd 测定,这是由于在 I-125 胰高血糖素物质中的高丙醇含量。估计 Kd 是 3nM,并用来计算所有试验化合物的 Ki 值。

[0356] 使用闪烁近似测定法 (Amersham)、用 WGA 小球进行结合试验,预先用不含 BSA(ICN) 的 1% 脂肪酸将小球封闭。结合缓冲液含有 25mMHepes、pH 值 7.4、2.5mM $CaCl_2$ 、1mM $MgCl_2$ 、不含 BSA(ICN) 的 0.1% 脂肪酸、0.003% tween-20 和不含 EDTA 的 Roche 完全抑制剂。将胰高血糖素溶于 0.01N HCl 中,浓度为 1mg/mL,并以 30 μ l 的等份试样立刻在 -80℃ 下冷冻。将胰高血糖素等份稀释,并在一小时之内在结合试验中使用。将试验化合物溶于 DMSO 中并用 DMSO 连续稀释。将 10 μ l 稀释化合物或 DMSO 转入 Cornin g 3632 中,其是含有 90 μ l 试验结合缓冲液或冷胰高血糖素 (NSB, 最终浓度为 1 μ M) 的不透明的透明底的试验平皿。加入 50 μ l I-125 胰高血糖素 (在反应中最终 0.15nM)、50 μ l 膜 (300ug/ 孔)、和 40 μ l WGA 小球 (150 μ g/ 孔),覆盖,并来回颠倒混合。在室温下,设定 14 小时之后,用 MicroBeta 对平皿进行读数。

[0357] 以化合物存在条件下的特定 I-125- 胰高血糖素结合的百分数来计算结果。通过 I-125- 胰高血糖素的百分数特定结合对加入化合物剂量的非线性回归,得到化合物的绝对 EC50 剂量。使用 Cheng-Prusoff 方程式,将 EC50 剂量转变为 Ki (Cheng Y., Prusoff W. H., Biochem. Pharmacol. 22, 3099-3108, 1973)。

[0358] 胰高血糖素 - 类 - 肽 1 (Glp1-R) 受体结合试验

[0359] 使用由 293HEK 膜中分离的克隆人类胰高血糖素类肽 1 受体 (hGlp1-R (Graziano MP, Hey PJ, Borkowski D, Chicch IG G, Strader CD, Biochem Biophys Res Commun. 1993 Oct 15 ;196(1) :141-6) 进行受体结合试验。将 h Glp1-R cDNA 亚克隆到表达质粒 pH D 中 (Trans-activated expression of fully gamma-carboxylated recombinant human protein C, an antithrombotic factor. grinnell, B. W., Berg, D. T., Walls, J. and Yan, S. B. Bio/Technology 5 :1189-1192(1987))。将质粒 DNA 转染到 293HEK 细胞中,并用

200 μ g/mL 潮霉素进行选择。

[0360] 使用悬浮培养物的细胞制备粗品原生质膜。在含有 25mM TrisHCl、pH 值 7.5、1mM $MgCl_2$ 、DNase、20 μ /mL 和不含 EDTA 的 Roche 完全抑制剂的低渗缓冲液中,将细胞在冰上溶解。用玻璃杜恩斯匀浆器将细胞悬浮液用 Teflon 研棒均化 25 次。在 4℃、在 1800×g 的条件下,将均浆离心 15 分钟。收集上清液,将球粒再悬浮在低渗缓冲液中,并重新均化。在 1800×g 的条件下,将混合物离心 15 分钟。将第二个上清液与第一个上清液合并。在 1800×g 的条件下,将合并的上清液再次离心 15 分钟,以使其澄清。将澄清上清液转入高速管中,并在 4℃、在 25000×g 离心 30 分钟。将膜球粒再悬浮在均化缓冲液中,并在 -80℃ 的冷藏箱中存为冷冻的等份试样,直至使用的时候。

[0361] 通过 I-125- 乳过氧化物酶方法将胰高血糖素类肽 1 (Glp-1) 进行放射性碘标记,并在 Perkin-Elmer/NEN (NEX308) 上通过反相 HPLC 纯化。比活性是 2200Ci/mmol。通过同源竞争而不是饱和结合来进行 Kd 测定,这是由于在 I-125glp-1 物质中的高丙醇含量。估计 Kd 是 3nM,并用来计算所有试验化合物的 Ki 值。

[0362] 使用闪烁近似测定法 (Amersham)、用小麦胚芽凝集素 (WGA) 小球进行结合试验,预先用不含 BSA (ICN) 的 1% 脂肪酸将小球封闭。结合缓冲液含有 25mM Hepes、pH 值 7.4、2.5mM $CaCl_2$ 、1mM $MgCl_2$ 、不含 BSA (ICN) 的 0.1% 脂肪酸、0.003% tween-20 和不含 EDTA 的 Roche 完全抑制剂。将胰高血糖素类肽 1 溶于 PBS 中,浓度为 1mg/mL,并以 30 μ l 的等份试样立刻在 -80℃ 下冷冻。将胰高血糖素类肽等份试样进行稀释,并在一小时之内在结合试验中使用。将试验化合物溶于 DMSO 中并用 DMSO 连续稀释。将 10 μ l 稀释化合物或 DMSO 转入 Corning 3632 中,其是含有 90 μ l 试验结合缓冲液或冷胰高血糖素类肽 1 (NSB, 最终浓度为 1 μ M) 的不透明的透明底的试验平皿。加入 50 μ l I-125 胰高血糖素类肽 1 (在反应中最终 0.15nM)、50 μ l 膜 (600ug/孔)、和 40 μ l WGA 小球 (150 μ g/孔),覆盖,并来回颠倒混合。在室温下,设定 14 小时之后,用 MicroBeta 对平皿进行读数。

[0363] 以化合物存在条件下的特定 I-125- 胰高血糖素类肽 1 结合的百分数来计算结果。通过 I-125- 胰高血糖素类肽 1 的百分数特定结合对加入化合物剂量的非线性回归,得到化合物的绝对 EC50 剂量。使用 Cheng-Prusoff 方程式,将 EC50 剂量转变为 Ki (Cheng Y., Prusoff W. H., Biochem. Pharmacol. 22, 3099-3108, 1973)。

[0364] 胰高血糖素 - 刺激的 cAMP 功能性拮抗试验

[0365] cAMP 功能性试验使用如上所述 h GlucR 结合试验中分离的相同的克隆人类胰高血糖素受体细胞系。在化合物的存在下,用 EC80 剂量的胰高血糖素的混合物刺激细胞。使用 Amplified Luminescent Proximity Homogeneous Assay, Alpha Screen, 产自 Perkin Elmer (6760625R) 来定量细胞内产生的 cAMP。

[0366] 简要地说,细胞内的 cAMP 与源于试剂盒的生物素化的 cAMP 进行竞争,以与涂有抗 -cAMP 抗体的受体小球和链霉和素涂层的供体小球结合。当细胞内的 cAMP 水平提高时,受体小球 - 生物素化的 cAMP- 供体小球复合物出现破裂,并且信号降低。

[0367] 将胰高血糖素溶于 0.01N HCl 中,浓度为 1mg/mL,并以 30 μ l 的等份试样立刻在 -80℃ 下冷冻。将胰高血糖素等份试样进行稀释,并在一小时之内在功能性试验中使用。从装有酶 - 游离细胞溶解溶液 (特殊介质 5-004-B) 的亚融合 (sub-confluent) 的组织培养平皿中采集细胞。将细胞在低速下造粒,并用试验缓冲液 [25mM Hepes, 在 HBSS 中带有 Mg

和 Ca (GIBCO, 14025-092), 含有无 BSA (ICN) 的 0.1% 脂肪酸] 洗涤 3 次, 然后稀释至每 mL 250,000 个细胞的最后浓度。将化合物连续稀释到 DMSO 中, 然后稀释到含有 3× 浓度的胰高血糖素和 3% DMSO 的试验缓冲液中。由完全胰高血糖素剂量反应来预先确定胰高血糖素的 EC80, EC80 表示胰高血糖素产生 80% 最大胰高血糖素反应的剂量。在试验缓冲液中由 α 屏栅试剂盒和 3× IBMX (1500 μ M) 制备生物素化 cAMP 的混合物 (1 单位 / 孔, 最终)。

[0368] 在 96 孔、小容积、白色、聚苯乙烯 Costar 平皿 (3688) 中进行功能性试验。将 0.02mL 生物素化的 cAMP/IBMX 混合物放入每个孔中, 而后加入 0.02mL 胰高血糖素剂量反应、cAMP 标准曲线、或化合物 / 胰高血糖素混合物。通过加入 0.02mL 细胞 (5000 个 / 孔, 最终) 来开始反应。在室温下 60 分钟之后, 通过加入 0.03mLs 的溶解缓冲液 [10mMHepes, pH 值 7.4, 1% NP40, 和 0.01% 无 BSA (ICN) 的脂肪酸, 每个孔含有 1 单位的源于 Alpha Screen 试剂盒的受体和供体小球] 中止反应。在绿色光线下进行溶解缓冲液的加入, 以防止检测小球变白。将平皿用箔片覆盖, 并在室温下放置, 平衡过夜。在 Packard FusionTM- α 仪器上将平皿读数。

[0369] 基于 cAMP 标准曲线, 将 Alpha Screen 单元转变为每孔产生的 pmolcAMP。对于只有胰高血糖素的 EC80 剂量, 将在化合物存在下产生的 pmol cAMP 转变为 % 最大反应。对于每个实验, 测定需要产生 pmolcAMP 的 50% 反应的胰高血糖素剂量。利用改进的 Cheng-Prusoff 方程式, 使用该 EC50 剂量将结果归一化为 Kb (Cheng Y., Prusoff W.H., Biochem. Pharmacol. 22, 3099-3108, 1973), 其中 $K_b = (EC_{50} \text{ 化合物}) / [1 + (\text{所使用的 pM 胰高血糖素} / \text{胰高血糖素剂量反应的 pM } EC_{50})]$ 。

[0370] 通过本文公开的胰高血糖素受体 (hGlucR) 结合试验进行测定, 本发明化合物优选具有不大于 50 μ M 的 K_i 值。通过本文公开的胰高血糖素受体 (hGlucR) 结合试验进行测定, 更优选本发明化合物具有小于 5 μ M, 优选小于 500nM, 更加优选小于 100nM 的 K_i 值。通常, 与 GLP-1 受体相比, 本发明化合物对于胰高血糖素受体显示了更高的亲合性, 并且优选对于胰高血糖素受体, 具有比 GLP-1 受体更高的结合亲合性。本文提供的所有实施例的化合物都具有小于 10 μ M 的 K_i 值。

[0371] 下面给出有关所示化合物的结果。

[0372] 表 1:

实施例	Ki (nM)
实施例 17	18.4
实施例 18	36.0

[0374] 由上面的说明书,本领域技术人员可以确定本发明的必要特征,并且在没有背离其精神和范围的条件下,可以对本发明进行各种改变和改进,以使其适应各种用途和病症。因此,其他实施方案也在权利要求范围之内。