



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101899047 B

(45) 授权公告日 2016.01.20

(21) 申请号 200910085611.X

(22) 申请日 2009.05.26

(73) 专利权人 盛世泰科生物医药技术(苏州)有限公司

地址 215123 江苏省苏州市苏州工业园区星湖街 218 号生物纳米园 A3 楼 323 室

(72) 发明人 余强 韦凤萍

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

代理人 温宏艳 孙秀武

(51) Int. Cl.

C07D 487/04(2006.01)

C07D 471/04(2006.01)

A61K 31/4985(2006.01)

A61K 31/519(2006.01)

A61K 31/437(2006.01)

A61P 43/00(2006.01)

(续)

(56) 对比文件

CN 101357922 A, 2009.02.04, 权利要求 1-10, 说明书第 10 页表 1, 说明书第 3-4 页中化合物 1-24.

CN 101357923 A, 2009.02.04, 权利要求 1-9, 说明书第 5 页表 1, 说明书第 12 页表 2.

CN 101357924 A, 2009.02.04, 权利要求 1-9, 说明书第 5 页化合物 1-12, 说明书第 12 页表 1.

CN 1524082 A, 2004.08.25, 权利要求 1-40, 说明书第 29 页 16 行-第 38 页 22 行, 实施例 1-33.

CN 1787823 A, 2006.06.14, 权利要求 1-30, 实施例 1-12.

CN 1809544 A, 2006.07.26, 实施例 1-7, 权利要求 1-31.

CN 1832949 A, 2006.09.13, 说明书第 4 页第 4 行.

US 20070099884 A1, 2007.05.03, 第 [0373] 段.

WO 2004032836 A2, 2004.04.22, 权利要求 23.

WO 2004064778 A2, 2004.08.05, 第 106 页表 2.

Ping Chen 等. Imidazopiperidine amides as dipeptidyl peptidase IV inhibitors for the treatment of diabetes. 《Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters》. 2007, 第 17 卷 (第 21 期), 第 5853 - 5857 页.

审查员 房长进

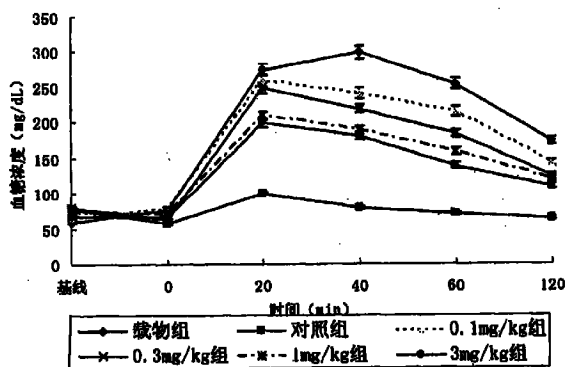
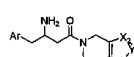
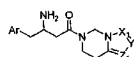
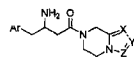
权利要求书1页 说明书27页 附图1页

(54) 发明名称

作为二肽基肽酶抑制剂用于治疗或预防糖尿病的 β-氨基四氢吡嗪、四氢嘧啶和四氢吡啶

(57) 摘要

本发明涉及一种作为二肽基肽酶抑制剂用于治疗或预防糖尿病的 β-氨基四氢吡嗪、四氢嘧啶和四氢吡啶, 其中各个变量如本申请说明书中所定义。所述化合物是二肽基肽酶-IV 酶的抑制剂 ("DP-IV 抑制剂"), 其可用于治疗或预防与二肽基肽酶-IV 酶有关的疾病如糖尿病, 特别是 II 型糖尿病。本发明还涉及含这些化合物的药物组合物以及这些化合物和组合物在预防或治疗这些与二肽基肽酶-IV 酶有关的疾病中的用途。



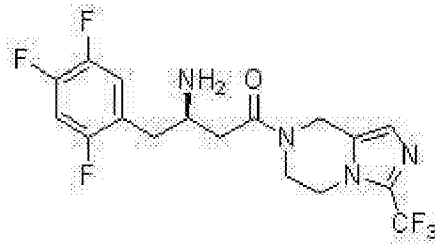
[ 转续页 ]

[ 接上页 ]

(51) Int. Cl.

<i>A61P 3/10</i> (2006.01)	<i>A61P 25/00</i> (2006.01)
<i>A61P 3/04</i> (2006.01)	<i>A61P 35/04</i> (2006.01)
<i>A61P 5/50</i> (2006.01)	<i>A61P 13/08</i> (2006.01)
<i>A61P 3/06</i> (2006.01)	<i>A61P 1/02</i> (2006.01)
<i>A61P 9/10</i> (2006.01)	<i>A61P 9/12</i> (2006.01)
<i>A61P 5/00</i> (2006.01)	<i>A61P 19/10</i> (2006.01)
<i>A61P 37/02</i> (2006.01)	<i>A61P 15/00</i> (2006.01)
<i>A61P 31/18</i> (2006.01)	<i>A61P 1/00</i> (2006.01)

1. 化合物, 其为:



或其药学上可接受的盐。

2. 药物组合物, 其包含权利要求 1 的化合物和惰性载体。
3. 权利要求 1 的化合物在制备用于抑制二肽基肽酶 -IV 酶活性的药物中的用途。
4. 权利要求 1 的化合物在制备用于治疗、控制或预防糖尿病的药物中的用途。
5. 权利要求 1 的化合物在制备用于在需要这种治疗的哺乳动物中治疗、控制或预防非胰岛素依赖性 (II 型) 糖尿病的药物中的用途。
6. 权利要求 1 的化合物在制备用于在需要这种治疗的哺乳动物中治疗、控制或预防高血糖症的药物中的用途。
7. 权利要求 1 的化合物在制备用于在需要这种治疗的哺乳动物中治疗、控制或预防胰岛素抗性的药物中的用途。

## 作为二肽基肽酶抑制剂用于治疗或预防糖尿病的 $\beta$ -氨基 四氢吡嗪、四氢嘧啶和四氢吡啶

### 技术领域

[0001] 本发明涉及化合物,其是二肽基肽酶-IV酶的抑制剂(“DP-IV抑制剂”)并且其用于治疗或预防与二肽基肽酶-IV酶有关的疾病如糖尿病,特别是II型糖尿病。本发明还涉及含这些化合物的药物组合物以及这些化合物和组合物在预防或治疗这些与二肽基肽酶-IV酶有关的疾病中的用途。

### 背景技术

[0002] 糖尿病是指一种由多种致病因素引起的疾病过程,其特征在于,在禁食状态下或口服葡萄糖耐量试验期间服用葡萄糖后,血浆葡萄糖水平升高或高血糖症。

[0003] 持续或非受控性高血糖症与过早发病和死亡率提高有关。经常性异常的葡萄糖体内平衡直接和间接与脂质、脂蛋白和载脂蛋白代谢的改变以及其它代谢性和血液动力性疾病有关。因此,II型糖尿病患者大大增加了患大血管和微血管并发症的风险,所述并发症包括冠心病、中风、周围性血管疾病、高血压、肾病、神经病和视网膜病。因此,在糖尿病的临床管理和治疗的过程中,葡萄糖体内平衡、脂类代谢和高血压的治疗性控制是非常重要的。

[0004] 糖尿病通常被认为有两种类型。在I型糖尿病或胰岛素依赖性糖尿病(IDDM)中,患者几乎不产生或完全不产生胰岛素(该激素调节葡萄糖的利用)。在II型糖尿病或非胰岛素依赖性糖尿病(NIDDM)中,与非糖尿病患者相比,患者通常具有相同或更高的血浆胰岛素水平;然而,这些患者在主要的胰岛素敏感性组织中的胰岛素对葡萄糖和脂类代谢的刺激作用已形成抗性,其是肌肉、肝脏和脂肪组织,并且虽然血浆胰岛素水平升高,但是仍不足以克服明显的胰岛素抗性。

[0005] 胰岛素抗性主要不是由于胰岛素受体数目的减少,而是由于尚未知晓的后胰岛素受体结合缺陷。对胰岛素应答的这种抗性导致肌肉内对葡萄糖摄取、氧化和储存的胰岛素激活不足,以及对脂肪组织中脂解和对肝脏中葡萄糖产生和分泌的胰岛素抑制的不适当。

[0006] 多年来基本未变的对II型糖尿病的现有治疗方法已经认识到了它的局限性。虽然体育锻炼和膳食热量摄入的减少可以显著改善糖尿病的症状,但是由于完全束缚的坐着的生活方式以及过量的食物消耗(尤其是含大量饱和脂肪的食物),照此治疗是极其差的。通过给予磺酰脲类(例如甲苯磺丁脲和格列吡嗪)或氯茴苯酸来增加胰岛素的血浆水平,其刺激胰腺的( $\beta$ -细胞以分泌更多的胰岛素,和/或当磺酰脲类或氯茴苯酸变得无效时,通过注射胰岛素,可以导致胰岛素浓度足够高以刺激非常抗胰岛素的组织。然而,危险的低水平的血浆葡萄糖可以由给予胰岛素或胰岛素促泌剂(磺酰脲类或氯茴苯酸)引起,并且由于更高的血浆胰岛素水平,可能出现高水平的胰岛素抗性。双胍类能胰岛素敏感性,从而高血糖症在一定程度上得到缓和。然而,所述的两种双胍,苯乙双胍和二甲双胍,都可能诱发乳酸酸中毒和恶心/腹泻。二甲双胍比苯乙双胍副作用低,因此经常作为治疗II型糖尿病的处方药。

[0007] 格列酮类(即5-苄基噻唑烷-2,4-二酮)是新近公开的有效改善II型糖尿病

多种症状的一类化合物。在 II 型糖尿病的几个动物模型中,这些药物显著提高了肌肉、肝脏和脂肪组织中的胰岛素敏感性,从而使高血浆葡萄糖水平得到部分或完全的修正而不出现低血糖。目前销售的格列酮类是过氧化物酶体增殖剂激活的受体 (PPAR) 的激动剂,主要是 RPAR- $\gamma$  亚型。RPAR- $\gamma$  激动作用通常被认为是造成改善的胰岛素敏化作用的原因,所述胰岛素敏化作用通过格列酮类化合物观察到。较新的目前正在进行 II 型糖尿病治疗测试的 RPAR 激动剂是  $\alpha$ 、 $\gamma$  或  $\delta$  亚型或这些组合的激动剂,并且在很多情况下化学上不同于格列酮类 (即,它们不是噻唑烷二酮类)。

[0008] 一些格列酮类如曲格列酮已经出现严重的副作用 (例如肝中毒)。

[0009] 治疗该疾病的其它方法尚在研究中。

[0010] 最近引入的或仍在开发中的新生化方法包括用  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂 (例如阿卡波糖) 和蛋白质酪氨酸磷酸酶-1B (PTP-1B) 抑制剂进行治疗。

[0011] 作为药物的化合物,其是二肽基肽酶-IV ("DP-IV" 或 "DPP-IV") 抑制剂也在研究之中,它们可以用于治疗糖尿病,特别是 II 型糖尿病。例如参见 WO 97/40832, WO 98/19998, 美国专利号 5,939,560, Bioorg. Med. Chem. Lett., 6(10), 1163-1166 (1996); 和 Bioorg. Med. Chem. Lett., 6 (22), 2745-2748 (1996), WO 2004064778, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters (2007), 17(21), 5934-5939, WO 2004032836, WO 2003004498, Journal of Medicinal Chemistry (2005), 48(1), 141-151., Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters (2007), 17(12), 3384-3387, Current Medical Research and Opinion (2008), 24(2), 489-496。DP-IV 抑制剂在治疗 II 型糖尿病中的用途是基于体内 DP-IV 很容易灭活胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 和胃抑制肽 (GIP) 的事实。GLP-1 和 GIP 是肠降血糖素,它们在食物消耗时产生。所述的肠降血糖素刺激胰岛素生成。DP-IV 的抑制导致肠降血糖素的灭活下降,这反过来导致肠降血糖素在刺激通过胰腺产生胰岛素的效果方面得到提高。

[0012] 因此,DP-IV 抑制导致血清胰岛素水平提高。

[0013] 有利地,由于肠降血糖素只有当食物消耗时才由身体产生,因此不期望在不适当的时间如两餐之间 DP-IV 抑制提高胰岛素水平,其可能导致血糖过低 (低血糖)。因此,期望 DP-IV 的抑制能增加胰岛素而没有增加低血糖的风险,低血糖是与胰岛素促泌剂的使用有关的一种危险副作用。

[0014] DP-IV 抑制剂还具有在此所述的其它治疗用途。到目前为止,还没有对 DP-IV 抑制剂进行广泛研究,尤其是尚未对除糖尿病以外的用途进行研究。对于糖尿病以及潜在的其它疾病和病症的治疗,需要新的化合物以发现改善的 DP-IV 抑制剂。

## 发明内容

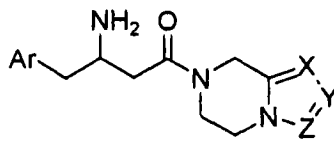
[0015] 发明概述

[0016] 本发明涉及化合物,其是二肽基肽酶-IV 酶的抑制剂 ("DP-IV 抑制剂") 并且其用于治疗或预防与二肽基肽酶-IV 酶有关的疾病如糖尿病,特别是 II 型糖尿病。本发明还涉及含这些化合物的药物组合物以及这些化合物和组合物在预防或治疗这些与二肽基肽酶-IV 酶有关的疾病中的用途。

[0017] 发明的详细说明

[0018] 本发明涉及式 I 的化合物：

[0019]



[0020] 其中 :Ar 是苯基,其是未取代的或被 1-5 个 R5 取代,其中 R5 独立地选自：

[0021] (1) 卤素,

[0022] (2) C<sub>1-6</sub>烷基,其是线性或分枝的并且是未取代的或被 1-5 个卤素取代,

[0023] (3) OC<sub>1-6</sub>烷基,其是线性或分枝的并且是未取代的或被 1-5 个卤素取代,和

[0024] (4) CN；

[0025] X 选自：

[0026] (1) N, 和

[0027] (2) CR1；

[0028] Y 选自：

[0029] (1) N, 和

[0030] (2) CR2；

[0031] Z 选自：

[0032] (1) N, 和

[0033] (2) CR3；

[0034] R1、R2 和 R3 独立地选自：

[0035] (1) 氢,

[0036] (2) CN,

[0037] (3) C<sub>1-10</sub>烷基,其是线性或分枝的并且是未取代的或被 1-5 个卤素或苯基取代,所述苯基是未取代的或被 1-5 个取代基取代,所述取代基独立地选自卤素、CN、OH、R<sub>4</sub>、OR<sub>4</sub>、NHSO<sub>2</sub>R<sub>4</sub>、SO<sub>2</sub>R<sub>4</sub>、CO<sub>2</sub>H 和 CO<sub>2</sub>C<sub>1-6</sub>烷基,其中所述 CO<sub>2</sub>C<sub>1-6</sub>烷基是线性或分枝的,

[0038] (4) 苯基,其是未取代的或被 1-5 个取代基取代,所述取代基独立地选自卤素、CN、OH、R<sub>4</sub>、OR<sub>4</sub>、NHSO<sub>2</sub>R<sub>4</sub>、SO<sub>2</sub>R<sub>4</sub>、CO<sub>2</sub>H 和 CO<sub>2</sub>C<sub>1-6</sub>烷基,其中所述 CO<sub>2</sub>C<sub>1-6</sub>烷基是线性或分枝的,和

[0039] (5) 5- 或 6- 元杂环,其可以是饱和或不饱和的并且包含 1-4 个独立地选自 N、S 和 O 的杂原子,所述杂环是未取代的或被 1-3 个独立地选自氧代、OH、卤素、C<sub>1-6</sub>烷基和 OC<sub>1-6</sub>烷基的取代基取代,其中所述 C<sub>1-6</sub>烷基和 OC<sub>1-6</sub>烷基是线性或分枝的并且任选被 1-5 个卤素取代；

[0040] R<sub>4</sub> 是 C<sub>1-6</sub>烷基,其是线性或分枝的并且其是未取代的或被 1-5 个独立地选自卤素、CO<sub>2</sub>H 和 CO<sub>2</sub>C<sub>1-6</sub>烷基的基团取代,其中所述 CO<sub>2</sub>C<sub>1-6</sub>烷基是线性或分枝的；

[0041] 及其药学上可接受的盐和各非对映体。

[0042] 在本发明中,Ar 优选是苯基,其是未取代的或被 1-5 个取代基取代,所述取代基独立地选自：

[0043] (1) 氟,

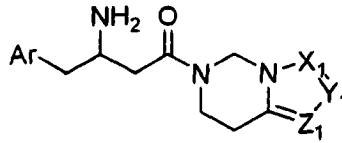
[0044] (2) 溴,和

- [0045] (3) CF<sub>3</sub>。
- [0046] 在本发明中, Ar 更优选选自 :
- [0047] (1) 苯基,
- [0048] (2) 2- 氟苯基,
- [0049] (3) 3,4- 二氟苯基,
- [0050] (4) 2,5- 二氟苯基,
- [0051] (5) 2,4,5- 三氟苯基,
- [0052] (6) 2- 氟 -4-( 三氟甲基 ) 苯基, 和
- [0053] (7) 4- 溴 -2,5- 二氟苯基。
- [0054] 在本发明中, R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub> 和 R<sub>3</sub> 优选选自 :
- [0055] (1) 氢, 和
- [0056] (2) C<sub>1-6</sub> 烷基, 其是线性或分枝的并且其是未取代的或被苯基或 1-5 个氟取代。
- [0057] 在本发明中, R<sub>2</sub> 和 R<sub>3</sub> 更优选选自 :
- [0058] (1) 氢,
- [0059] (2) 甲基,
- [0060] (3) 乙基,
- [0061] (4) CF<sub>3</sub>,
- [0062] (5) CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>,
- [0063] (6) CF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>,
- [0064] (7) 苯基, 和
- [0065] (8) 苄基。
- [0066] 在本发明中, R<sub>1</sub> 更优选是氢。
- [0067] 在本发明中, R<sub>2</sub> 和 R<sub>3</sub> 优选选自 :
- [0068] (1) 氢,
- [0069] (2) C<sub>1-6</sub> 烷基, 其是线性或分枝的并且是未取代的或被 1-5 个氟取代,
- [0070] (3) 苯基, 其是未取代的或被 1-3 个独立地选自氟、OCH<sub>3</sub> 和 OCF<sub>3</sub> 的取代基取代。
- [0071] 在本发明中, R<sub>2</sub> 和 R<sub>3</sub> 更优选选自 :
- [0072] (1) 氢,
- [0073] (2) 甲基,
- [0074] (3) 乙基,
- [0075] (4) CF<sub>3</sub>,
- [0076] (5) CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>,
- [0077] (6) CF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>,
- [0078] (7) 苯基,
- [0079] (8) (4- 甲氧基 ) 苯基,
- [0080] (9) (4- 三氟甲氧基 ) 苯基,
- [0081] (10) 4- 氟苯基, 和
- [0082] (11) 3,4- 二氟苯基, 和
- [0083] (12) 异丙基。

[0084] 在本发明中, R5 优选是 F、Br 或 CF<sub>3</sub>。

[0085] 本发明涉及式 II 的化合物:

[0086]



[0087] 其中:Ar 是苯基,其是未取代的或被 1-5 个 R5 取代,其中 R5 独立地选自:

[0088] (1) 卤素,

[0089] (2) C<sub>1-6</sub>烷基,其是线性或分枝的并且是未取代的或被 1-5 个卤素取代,

[0090] (3) OC<sub>1-6</sub>烷基,其是线性或分枝的并且是未取代的或被 1-5 个卤素取代,和

[0091] (4) CN;

[0092] X1 选自:

[0093] (1) N, 和

[0094] (2) CR1;

[0095] Y1 选自:

[0096] (1) N, 和

[0097] (2) CR2;

[0098] Z 选自:

[0099] (1) N, 和

[0100] (2) CR3;

[0101] R1、R2 和 R3 独立地选自:

[0102] (1) 氢,

[0103] (2) CN,

[0104] (3) C<sub>1-10</sub>烷基,其是线性或分枝的并且其是未取代的或被 1-5 个卤素或苯基取代,所述苯基是未取代的或被 1-5 个取代基取代,所述取代基独立地选自卤素、CN、OH、R<sub>4</sub>、OR<sub>4</sub>、NHSO<sub>2</sub>R<sub>4</sub>、SO<sub>2</sub>R<sub>4</sub>、CO<sub>2</sub>H 和 CO<sub>2</sub>C<sub>1-6</sub>烷基,其中所述 CO<sub>2</sub>C<sub>1-6</sub>烷基是线性或分枝的,

[0105] (4) 苯基,其是未取代的或被 1-5 个取代基取代,所述取代基独立地选自卤素、CN、OH、R<sub>4</sub>、OR<sub>4</sub>、NHSO<sub>2</sub>R<sub>4</sub>、SO<sub>2</sub>R<sub>4</sub>、CO<sub>2</sub>H 和 CO<sub>2</sub>C<sub>1-6</sub>烷基,其中所述 CO<sub>2</sub>C<sub>1-6</sub>烷基是线性或分枝的,和

[0106] (5) 5- 或 6- 元杂环,其可以是饱和或不饱和的并且包含 1-4 个独立地选自 N、S 和 O 的杂原子,所述杂环是未取代的或被 1-3 个独立地选自氧代、OH、卤素、C<sub>1-6</sub>烷基和 OC<sub>1-6</sub>烷基的取代基取代,其中所述 C<sub>1-6</sub>烷基和 OC<sub>1-6</sub>烷基是线性或分枝的并且任选被 1-5 个卤素取代;

[0107] R<sub>4</sub> 是 C<sub>1-6</sub>烷基,其是线性或分枝的并且其是未取代的或被 1-5 个独立地选自卤素、CO<sub>2</sub>H 和 CO<sub>2</sub>C<sub>1-6</sub>烷基的基团取代,其中所述 CO<sub>2</sub>C<sub>1-6</sub>烷基是线性或分枝的;

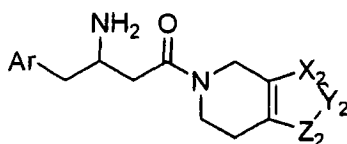
[0108] 及其药学上可接受的盐和各非对映体。

[0109] 在本发明中,Ar 优选是苯基,其是未取代的或被 1-5 个取代基取代,所述取代基独立地选自:

[0110] (1) 氟,



- [0111] (2) 溴, 和
- [0112] (3) CF<sub>3</sub>。
- [0113] 在本发明中, Ar 更优选选自 :
- [0114] (1) 苯基,
- [0115] (2) 2- 氟苯基,
- [0116] (3) 3,4- 二氟苯基,
- [0117] (4) 2,5- 二氟苯基,
- [0118] (5) 2,4,5- 三氟苯基,
- [0119] (6) 2- 氟 -4-( 三氟甲基 ) 苯基, 和
- [0120] (7) 4- 溴 -2,5- 二氟苯基。
- [0121] 在本发明中, R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub> 和 R<sub>3</sub> 优选选自 :
- [0122] (1) 氢, 和
- [0123] (2) C<sub>1-6</sub> 烷基, 其是线性或分枝的并且其是未取代的或被苯基或 1-5 个氟取代。
- [0124] 在本发明中, R<sub>2</sub> 更优选选自 :
- [0125] (1) 氢,
- [0126] (2) 甲基,
- [0127] (3) 乙基,
- [0128] (4) CF<sub>3</sub>,
- [0129] (5) CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>,
- [0130] (6) CF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>,
- [0131] (7) 苯基, 和
- [0132] (8) 苄基。
- [0133] 在本发明中, R<sub>5</sub> 优选是 F、Br 或 CF<sub>3</sub>。
- [0134] 本发明涉及式 III 的化合物 :
- [0135]



- [0136] 其中 :Ar 是苯基, 其是未取代的或被 1-5 个 R<sub>5</sub> 取代, 其中 R<sub>5</sub> 独立地选自 :
- [0137] (1) 卤素,
- [0138] (2) C<sub>1-6</sub> 烷基, 其是线性或分枝的并且是未取代的或被 1-5 个卤素取代,
- [0139] (3) OC<sub>1-6</sub> 烷基, 其是线性或分枝的并且是未取代的或被 1-5 个卤素取代, 和
- [0140] (4) CN ;
- [0141] X<sub>2</sub> 选自 :
- [0142] (1) N, 和
- [0143] (2) CR<sub>1</sub> ;
- [0144] Y<sub>2</sub> 选自 :
- [0145] (1) N, 和
- [0146] (2) CR<sub>2</sub> ;

[0147] Z2 选自：

[0148] (1)N, 和

[0149] (2)CR<sub>3</sub>；

[0150] R1、R2 和 R3 独立地选自：

[0151] (1) 氢，

[0152] (2)CN，

[0153] (3)C<sub>1-10</sub> 烷基，其是线性或分枝的并且其是未取代的或被 1-5 个卤素或苯基取代，所述苯基是未取代的或被 1-5 个取代基取代，所述取代基独立地选自卤素、CN、OH、R<sub>4</sub>、OR<sub>4</sub>、NHSO<sub>2</sub>R<sub>4</sub>、SO<sub>2</sub>R<sub>4</sub>、CO<sub>2</sub>H 和 CO<sub>2</sub>C<sub>1-6</sub> 烷基，其中所述 CO<sub>2</sub>C<sub>1-6</sub> 烷基是线性或分枝的，

[0154] (4) 苯基，其是未取代的或被 1-5 个取代基取代，所述取代基独立地选自卤素、CN、OH、R<sub>4</sub>、OR<sub>4</sub>、NHSO<sub>2</sub>R<sub>4</sub>、SO<sub>2</sub>R<sub>4</sub>、CO<sub>2</sub>H 和 CO<sub>2</sub>C<sub>1-6</sub> 烷基，其中所述 CO<sub>2</sub>C<sub>1-6</sub> 烷基是线性或分枝的，和

[0155] (5)5- 或 6- 元杂环，其可以是饱和或不饱和的并且包含 1-4 个独立地选自 N、S 和 O 的杂原子，所述杂环是未取代的或被 1-3 个独立地选自氧代、OH、卤素、C<sub>1-6</sub> 烷基和 OC<sub>1-6</sub> 烷基的取代基取代，其中所述 C<sub>1-6</sub> 烷基和 OC<sub>1-6</sub> 烷基是线性或分枝的并且任选被 1-5 个卤素取代；

[0156] R<sub>4</sub> 是 C<sub>1-6</sub> 烷基，其是线性或分枝的并且其是未取代的或被 1-5 个独立地选自卤素、CO<sub>2</sub>H 和 CO<sub>2</sub>C<sub>1-6</sub> 烷基的基团取代，其中所述 CO<sub>2</sub>C<sub>1-6</sub> 烷基是线性或分枝的；

[0157] 及其药学上可接受的盐和各非对映体。

[0158] 在本发明中，Ar 优选是苯基，其是未取代的或被 1-5 个取代基取代，所述取代基独立地选自：

[0159] (1) 氟，

[0160] (2) 溴，和

[0161] (3)CF<sub>3</sub>。

[0162] 在本发明中，Ar 更优选选自：

[0163] (1) 苯基，

[0164] (2)2- 氟苯基，

[0165] (3)3,4- 二氟苯基，

[0166] (4)2,5- 二氟苯基，

[0167] (5)2,4,5- 三氟苯基，

[0168] (6)2- 氟 -4-( 三氟甲基 ) 苯基，和

[0169] (7)4- 溴 -2,5- 二氟苯基。

[0170] 在本发明中，R1、R2 和 R3 优选选自：

[0171] (1) 氢，和

[0172] (2)C<sub>1-6</sub> 烷基，其是线性或分枝的并且其是未取代的或被苯基或 1-5 个氟取代。

[0173] 在本发明中，R5 优选是 F、Br 或 CF<sub>3</sub>。

[0174] 本发明的化合物可以含有一个或多个不对称中心，并因此可以以外消旋体和外消旋混合物、单一对映体、非对映体混合物和各非对映体的形式出现。本发明的化合物在 β- 碳原子处具有一个不对称中心。

[0175] 取决于分子中各取代基的性质,可以存在其它的不对称中心。每一个这样的不对称中心将独立地生成两种光学异构体,本发明包括所有可能的光学异构体和非对映体混合物以及纯的或部分纯的化合物。本发明包括这些化合物的所有这些异构形式。

[0176] 在此所述的一些化合物含有烯属双键,除非另有说明,本发明包括E和Z两种几何异构体。

[0177] 在此所述的一些化合物可以以互变异构体的形式存在,其通过伴随一个或多个双键移动具有不同的氢连结点。例如,酮及其烯醇式是酮-烯醇互变异构体。

[0178] 各个互变异构体及其混合物都包括在本发明的化合物内。

[0179] 如本领域已知的通过对在此公开的方法进行合适的改进,可以实现这些非对映体的独立合成或它们的色谱分离。通过晶体产物或衍生化的晶体中间体(如有必要,用含有已知绝对构型的不对称中心的试剂衍生)的X-射线晶体衍射,可以确定它们的绝对立体化学。

[0180] 如果需要的话,可以分离所述化合物的外消旋混合物,以便分离各个对映异构体。可以通过本领域公知的方法进行分离,例如化合物的外消旋混合物与对映异构体纯的化合物偶合以形成非对映体混合物,接着通过标准方法如分级结晶法或色谱法分离各个非对映体。使用对映异构体纯的酸或碱的偶合反应通常生成盐。然后,通过加入的手性残基的裂解,将所述的非对映体衍生物转化为纯对映异构体。所述化合物的外消旋混合物还可以通过使用手性固定相的色谱法进行直接分离,该方法在本领域中是公知的。

[0181] 或者,使用已知构型的光学纯的原材料或试剂,通过本领域公知的方法,通过立体选择性合成可以获得化合物的任何对映体。

[0182] 术语“药学上可接受的盐”是指由药学上可接受的无毒碱或酸(包括无机或有机碱以及无机或有机酸)制得的盐。来源于这些无机碱的盐包括铝、铵、钙、铜、铁、亚铁、锂、镁、三价锰盐、二价锰、钾、钠、锌等盐。特别优选的是铵、钙、镁、钾和钠盐。固态形式的盐可能存在不止一种晶体结构,并且还可以以水合物的形式。来源于药学上可接受的有机无毒碱的盐包括如下化合物的盐:伯、仲和叔胺类,取代胺类,包括天然存在的取代胺类,环胺和阳离子交换树脂,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、葡萄糖胺、葡萄糖胺、组氨酸、哈胺、异丙胺、赖氨酸、甲基葡萄糖胺、吗啉、哌嗪、哌啶、多胺树脂、普鲁卡因、嘌呤、可可碱、三乙胺、三甲胺、三丙胺、氨基丁三醇等。

[0183] 当本发明的化合物是碱性时,盐可以由药学上可接受的无毒酸制得,包括无机酸和有机酸。这些酸包括,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(基)磺酸、乳酸、马来酸、苹果酸、扁桃酸、甲磺酸、粘酸、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、富马酸和酒石酸。

[0184] 可以理解,当在本文中体积式I的化合物时,其是指还包括其药学上可接受的盐。

[0185] 正如本领域熟练技术人员可以理解的,在此所使用的卤代或卤素是用来包括氟、氯、溴和碘。类似地,C<sub>1-8</sub>,当C<sub>1</sub>烷基中被定义以确定在线性或分枝排列中具有1、2、3、4、5、6、7或8个碳的基团,这样C<sub>1</sub>烷基具体地包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、戊基、己基、庚基和辛基。同样,C<sub>0</sub>,在C<sub>0</sub>烷基中被定义成存在直接的共价键。

一种基团,其被称为独立地被取代基取代可以独立地被多个这些取代基取代。在此所使用的术语“杂环基”是用来包括在下列所列范围内的 5- 或 6- 元环体系苯并咪唑基、苯并噁烷基、苯并呋喃基、苯并吡唑基、苯并噻二唑基、苯并三唑基、苯并噻吩基、苯并噁二唑基、苯并噁唑基、咪唑基、咪唑基、咪唑基、二氢吡啶基、噻吩基、吡啶基、二氢吡啶基、吡啶基、吡啶并吡啶基、哒嗪基、吡啶基、嘧啶基、吡咯基、喹啉基、喹啉基、喹啉基、四唑基、噻二唑基、噻唑烷基、噻唑基、噻吩基、三唑基、氮杂环丁烷基、1,4- 二噁烷基、六氢氮杂基、哌嗪基、哌啶基、吡咯烷基、吗啉基、硫代吗啉基、二氢苯并咪唑基、二氢苯并呋喃基、二氢苯并噻吩基、二氢苯并噁唑基、二氢呋喃基、二氢咪唑基、二氢吡啶基、二氢异噁唑基、二氢异噻唑基、二氢噁二唑基、二氢噁唑基、二氢吡嗪基、二氢吡唑基、二氢吡啶基、二氢嘧啶基、二氢吡咯基、二氢喹啉基、二氢四唑基、二氢噻二唑基、二氢噻唑基、二氢噻吩基、二氢三唑基、二氢氮杂环丁烷基、亚甲基二氧基苯甲酰基、四氢呋喃基、四氢咪唑基、四氢异喹啉基和四氢噻吩基。

[0186] 本发明举例说明在实施例和本文中公开的化合物的用途。

[0187] 本发明的具体化合物包括在下列实施例中公开的化合物及其药学上可接受的盐和各非对映体。

[0188] 本发明的化合物用于在需要这种抑制的患者如哺乳动物中抑制二肽基肽酶 -IV 酶的方法中,包括给予有效量的所述化合物。

[0189] 本发明涉及在此公开的化合物作为二肽基肽酶 -IV 酶活性抑制剂的用途。

[0190] 除灵长目动物如人外,本发明的方法可用于治疗多种其它哺乳动物。例如,可以治疗的哺乳动物包括但不限于牛、绵羊、山羊、马、狗、猫、豚鼠、大鼠或其它牛、绵羊、马、犬、猫科、啮齿动物或鼠科物种。然而,该方法还可以用于其它物种如禽类物种(例如,小鸡)。

[0191] 本发明还涉及制备在人和动物中用于抑制二肽基肽酶 -IV 酶活性的药物的方法,包括将本发明的化合物与药物载体或稀释剂混合。

[0192] 本发明方法的治疗对象通常是是需要抑制二肽基肽酶 -IV 酶活性的哺乳动物,优选人,男性或女性。术语“治疗有效量”是指由研究人员、兽医、主治医师或其它临床医师所寻求的将引起组织、系统、动物或人的生物学或医学反应的本发明化合物的数量。

[0193] 在此所使用的术语“组合物”是指包括含有特定数量的特定成分的产物,以及任何直接或间接来自特定数量的特定成分的组合物。术语“药物组合物”是指包括含活性成分、构成载体的惰性成份以及任何产品的产物,其直接或间接地由任何两种或多种成分混合、络合或聚集,或由一种或多种成分分解,或由一种或多种成分的其它类型的反应或相互作用得到。

[0194] 因此,本发明的药物组合物包括通过本发明的化合物与药学上可接受的载体混合获得的任何组合物。术语“药学上可接受的”是指载体、稀释剂或赋形剂必须与制剂的其它成分相容并且对受试者没有毒害。

[0195] 术语“给予化合物”和/或“化合物的给药”应该理解为向需要治疗的个体提供本发明的化合物或本发明化合物的前药。

[0196] 本发明化合物作为二肽基肽酶 -IV 酶活性抑制剂的实用性可以通过本领域已知的方法证明。抑制常数如下测定。使用带底物 Gly-Pro-AMC 的连续荧光测定法,其通

过 DP-IV 裂解而释放荧光 AMC 离去基团。描述此反应的动力参数如下所示： $K_m = 50 \mu\text{M}$ ； $k_{cat} = 75 \text{s}^{-1}$ ； $k_{cat}/K_m = 1.5 \times 10^6 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 。在 100 $\mu\text{l}$  总反应体积中，典型反应包含约 50 pM 酶、50  $\mu\text{M}$  Gly-Pro-AMC 和缓冲液（100 mM HEPES, pH 7.5, 0.1 mg/ml BSA）。使用 360 nm 的激发波长和 460 nm 的发射波长，在 96 孔板荧光计中连续监测 AMC 的释放。在这些条件下，在 25 $^{\circ}\text{C}$  下，在 30 分钟内生成约 0.8  $\mu\text{M}$  AMC。用于这些研究中的酶是在杆状病毒表达系统（Bac-To-Bac, Gibco BRL）中生成的可溶性（跨膜区和细胞质扩充除外）人蛋白。发现 Gly-Pro-AMC 和 GLP-1 的水解动力学常数与天然酶的文献值相符。为了测定化合物的解离常数，向含有酶和底物（最终 DMSO 浓度是 1%）的反应中加入抑制剂在 DMSO 中的溶液。所有实验都是在室温下使用上述标准反应条件进行的。为了测定解离常数 ( $K_i$ )，通过非线性回归将反应速率拟合至竞争性抑制的 Michaelis-Menton 方程式中。解离常数再现的误差典型地小于两倍。

[0197] 特别地，下列实施例的化合物在上述试验中具有抑制二肽基肽酶 -IV 酶的活性，通常  $IC_{50}$  小于约 1  $\mu\text{M}$ 。这种结果表明所述化合物用作二肽基肽酶 -IV 酶活性抑制剂的固有活性。

[0198] 二肽基肽酶 -IV 酶 (DP-IV) 是涉及多种生物学功能的细胞表面蛋白。它具有广泛的组织分布（肠、肾、肝、胰、胎盘、胸腺、脾、上皮细胞、血管内皮、淋巴和骨髓细胞、血清），以及不同的组织和细胞类型表达水平。DP-IV 被确定为 T 细胞激活标记 CD26，它能在体外裂解大量免疫调节的、内分泌的和神经病学的肽。这表明这种肽酶在人体或其它物种中的各种疾病过程中的潜在作用。

[0199] 因此，本发明的化合物可以用于下列疾病、障碍和病症的预防或治疗的方法中。

[0200] II 型糖尿病及相关疾病：现已完全确定，肠降血糖素 GLP-1 和 GIP 在体内被 DP-IV 快速失活。对 DP-IV ( $\sim/\sim$ ) 有缺陷的小鼠和初期临床试验表明：DP-IV 抑制增加了 GLP-1 和 GIP 的稳态浓度，导致葡萄糖耐量提高。与 GLP-1 和 GIP 类似，其它涉及葡萄糖调节的胰高血糖素族肽同样被 DP-IV（例如，PACAP，胰高血糖素）失活。

[0201] 这些肽被 DP-IV 的灭活还可以在葡萄糖体内平衡中起作用。

[0202] 因此，本发明的 DP-IV 抑制剂可用于治疗 II 型糖尿病以及用于治疗 and 预防 II 型糖尿病通常所伴随的许多病症，包括代谢综合征 X、反应性低血糖和糖尿病性血脂异常。下文所述的肥胖症是经常发现伴随 II 型糖尿病的另一症状，它对本发明的化合物的治疗有响应。

[0203] 下列疾病、障碍和病症与 II 型糖尿病有关，因此可以通过用本发明的化合物治疗来治疗、控制或在一些情况中预防：(1) 高血糖症、(2) 低葡萄糖耐量、(3) 胰岛素抗性、(4) 肥胖症、(5) 脂质疾病、(6) 血脂异常、(7) 高脂血症、(8) 高甘油三酯血症、(9) 高胆固醇血症、(10) 低 HDL 水平、(11) 高 LDL 水平、(12) 动脉粥样硬化及其后遗症、(13) 血管再狭窄、(14) 过敏性肠综合征、(15) 肠炎包括克罗恩氏病和溃疡性结肠炎、(16) 其它炎症、(17) 胰腺炎、(18) 腹部肥胖症、(19) 神经变性疾病、(20) 视网膜病、(21) 肾病、(22) 神经病、(23) X 综合症、(24) 雄激素过多症（多囊卵巢综合症）以及其它具有胰岛素抗性的疾病。

[0204] 肥胖症：DP-IV 抑制剂可用于治疗肥胖症。这是基于观察到的 GLP-1 和 GLP-2 对食物摄入和胃排空的抑制作用。人体外源性给予 GLP-1 能显著降低食物摄入和减缓胃排空（Am. J. Physiol. 277, R910-R916 (1999)）。对大鼠和小鼠进行 GLP-1 的 ICV 给药同样对食物

摄入具有深远影响 (Nature Medicine 2,1254-1258(1996))。在 GLP-1R 小鼠中没有观察到这种进食抑制,表明这些作用是通通过脑 GLP-1 受体调节的。与 GLP-1 类似, GLP-2 也可能受 DP-IV 调节。

[0205] 类似于用 GLP-1 观察到的效果, GLP-2 的 ICV 给药同样抑制食物摄入 (Nature Medicine 6,802-807(2000))。

[0206] 生长激素缺乏:基于假说即生长激素释放因子 (GRF) - 一种刺激生长激素从垂体前叶中释放的肽 - 在体内被 DP-IV 酶裂解 (WO 00/56297), DP-IV 抑制可用于治疗生长激素缺乏。下列数据提供了 GRF 是内源性底物的证据:(1)GRF 在体外被有效裂解,生成失活产物 GRF[3-44] (BBA 1122,147-153(1992));(2)GRF 在血浆中快速降解成 GRF[3-44];这被 DP-IV 抑制剂 diprotin A 阻止;以及(3)在人 GRF 转基因猪的血浆中发现 GRF[3-44] (J. Clin. Invest. 83,1533-1540(1989))。因此, DP-IV 抑制剂可用于生长激素促泌剂所认定的相同范围的适应症。

[0207] 肠损伤:研究结果表明胰高血糖素样肽-2 (GLP-2), 一种 DP-IV 的可能内源性底物, 可对肠上皮表现出营养性作用, 这一研究结果说明使用 DP-IV 抑制剂可以潜在用于治疗肠损伤 (Regulatory Peptides 90,27-32(2000))。

[0208] GLP-2 的给药导致啮齿动物小肠重量增加, 并且减弱了在结肠炎和肠炎的啮齿动物模型中的肠损伤。

[0209] 免疫抑制:基于有关 T 细胞激活和趋化因子加工中的 DP-IV 酶的研究以及疾病体内模型中 DP-IV 抑制剂的效力, DP-IV 抑制可用于调节免疫应答。

[0210] DP-IV 已经证明等同于 CD26, 一种激活免疫细胞的细胞表面标记物。CD26 的表达通过免疫细胞的分化和激活状态进行调节。一般认为在 T 细胞激活的体外模型中, CD26 起共同刺激分子的作用。许多趋化因子在倒数第二位置中含有脯氨酸, 估计可能是防止它们被非特异性氨基肽酶降解。这些中的许多已证明在体外受 DP-IV 加工。在若干情况中 (RANTES, LD78-beta, MDC, eotaxin, SDF-1 $\alpha$ ), 裂解导致趋药性和信号试验的改变活性。在一些情况中 (RANTES), 受体选择性也 好象是被改变了。在体外细胞培养体系中, 已经鉴定了一些趋化因子的多 N- 末端截断形式, 包括 DP-IV 水解的预测产物。

[0211] 在移植和关节炎的动物模型中, DP-IV 抑制剂已经证明是有效的免疫抑制剂。异丙二苯哌啶 (Pro Pro- 二苯基 - 磷酸酯), 一种 DP-IV 的不可逆抑制剂, 被证明使双心脏异源移植的大鼠存活 7 到 17 (Transplantation 63,1495-1500(1997))。DP-IV 抑制剂已经在胶原蛋白和烷基二胺诱导的大鼠关节炎中进行了测试并在此模型中表现出后爪肿胀的统计显著性减弱 (Int. J. Immunopharmacology 19,15-24(1997), Immunopharmacology 40, 21-26(1998))。DP-IV 在一些自身免疫疾病包括类风湿性关节炎、多发性硬化、突眼性甲状腺肿和桥本氏甲状腺炎中是上调的 (Immunology Today 20,367-375(1999))。

[0212] HIV 感染:DP-IV 抑制可用于治疗或预防 HIV 感染或 AIDS, 因为抑制 HIV 细胞进入的许多趋化因子是 DP-IV 的潜在底物 (Immunology Today 20,367-375(1999))。在 SDF-1 $\alpha$  的情况中, 裂解减少了抗病毒活性 (PNAS 95,6331-6(1998))。

[0213] 因此, 希望通过抑制 DP-IV 稳定 SDF-1 $\alpha$  而减少 HIV 感染。

[0214] 血细胞生成:因为 DP-IV 可能涉及血细胞生成, 因此 DP-IV 抑制可用于治疗或预防血细胞生成。在环磷酸胺诱发的小鼠模型中, DP-IV 抑制剂

(Val-Boro-Pro) 刺激血细胞生成 (W099/56753)。

[0215] 神经元疾病 : 因为许多与各种神经元过程相关的肽在体外被 DP-IV 裂解, 因此 DP-IV 抑制可用于治疗或预防各种神经元疾病或精神疾病。因此, DP-IV 抑制剂在治疗神经元疾病中具有治疗好处。

[0216] Endomorphin-2、 $\beta$ -酪胺啡肽和 P 物质在体外都被证明是 DP-IV 的底物。在所有情况中, 体外裂解是效率很高的,  $k_{cat}/K_m$  约  $10^6 M^{-1} s^{-1}$  或更大。在大鼠的痛觉丧失电击跳跃测试模型中, DP-IV 抑制剂表现出显著的作用, 该作用与外源性 endomorphin-2 的存在无关 (BrainResearch, 815, 278-286 (1999))。

[0217] 肿瘤侵入和转移 : DP-IV 抑制可用于治疗或预防肿瘤侵入和转移, 因为在正常细胞向恶性表型转化过程中, 已经观察到几种外肽酶 (包括 DP-IV) 表达的增加或减少 (J. Exp. Med. 190, 301-305 (1999))。这些蛋白的上调或下调似乎是组织和细胞类型特异性的。例如, 在 T 细胞淋巴瘤、T 细胞急性淋巴母细胞性白血病、细胞衍生的甲状腺癌、基底细胞癌和乳腺癌上已经观察到 CD26/DP-IV 表达增加。因此, DP-IV 抑制剂可用于治疗这些癌症。

[0218] 良性前列腺肥大 : DP-IV 抑制可用于治疗良性前列腺肥大, 因为在 BPH 患者的前列腺组织中观察到 DP-IV 活性增加 (Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem 30, 333-338 (1992))。

[0219] 精子活力 / 男性避孕 : 因为在精液中, 前列腺、前列腺衍生的对精子活力重要的细胞器具有非常高水平的 DP-IV 活性, 所以 DP-IV 抑制可用于改变精子活力和用于男性避孕 (Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem 30, 333-338 (1992))。

[0220] 齿龈炎 : 因为在龈缝流体和某些与牙周病严重程度相关的研究中发现 DP-IV 活性, 所以 DP-IV 抑制可用于治疗齿龈炎 (Arch. Oral Biol. 37, 167-173 (1992))。

[0221] 骨质疏松症 : 因为 GIP 受体存在于成骨细胞中, 所以 DP-IV 抑制可用于治疗或预防骨质疏松症。

[0222] 本发明的化合物可以用于治疗或预防一种或多种下列病症或疾病 : (1) 高血糖症, (2) 低葡萄糖耐量, (3) 胰岛素抗性, (4) 肥胖症, (5) 脂类疾病, (6) 血脂异常, (7) 高脂血症, (8) 高甘油三酯血症, (9) 高胆固醇血症, (10) 低 HDL 水平, (11) 高 LDL 水平, (12) 动脉粥样硬化及其后遗症, (13) 血管再狭窄, (14) 过敏性肠综合征, (15) 炎性肠病, 包括克罗恩氏病和溃疡性结肠炎, (16) 其它炎性病症, (17) 胰腺炎, (18) 腹部肥胖症, (19) 神经变性疾病, (20) 视网膜病, (21) 肾病, (22) 神经病, (23) X 综合症, (24) 卵巢雄激素过多症 (多囊卵巢综合症), (25) II 型糖尿病, (26) 生长激素缺陷, (27) 嗜中性白血球减少症, (28) 神经元疾病, (29) 肿瘤转移, (30) 良性前列腺肥大, (32) 齿龈炎, (33) 高血压, (34) 骨质疏松症, 以及其它可以通过抑制 DP-IV 进行治疗的病症。

[0223] 本发明的化合物还可以与其它药剂一起用于上述疾病、障碍和病症的预防或治疗的方法中。

[0224] 本发明的化合物可以与一种或多种其它药物组合使用, 所述一种或多种其它药物用于治疗、预防、抑制或改善式 I 的化合物或其它药物可能有效的疾病或病症, 其中所述药物的组合比单独药物更安全或更有效。这些其它药物可以通过一种途径和其通常所使用的数量与式 I 的化合物同时或依次给药。当式 I 的化合物与一种或多种其它药物同时使用时, 优选单位剂型的药物组合物含有这些其它药物和式 I 的化合物。然而, 所述的联合治疗

还可以包括其中将式 I 的化合物和一种或多种其它药物在不同的交错疗程中给药的疗法。还考虑在与一种或多种其它活性成分联合用药时,可以使用比各自单独用药时更低的剂量的本发明的化合物和其它活性成分。因此,除式 I 的化合物外,本发明的药物组合物包括含有一种或多种其它活性成分的那些。

[0225] 可与式 I 的化合物联合用药及或分别给药或同一药用组合物中给药的其它活性成分的例子包括,但不局限于:(a) 其它二肽基肽酶 IV(DP-IV) 抑制剂;(b) 胰岛素敏化剂包括(i) PPAR<sub>γ</sub> 激动剂例如格列酮类(例如曲格列酮、匹格列酮、恩格列酮、MCC-555、罗格列酮等)以及其它 RPAR 配体,包括 PPAR<sub>α</sub>/<sub>γ</sub> 双重激动剂,例如 KRP297 和 PPAR<sub>α</sub> 激动剂例如非诺贝酸衍生物(吉非贝齐、氯贝丁酯、非诺贝特和苯扎贝特),(ii) 双胍类例如二甲双胍和苯乙双胍,和(iii) 蛋白质酪氨酸磷酸酶-1B(PTP-1B) 抑制剂;(c) 胰岛素或胰岛素模拟物;(d) 磺酰脲类以及其它胰岛素促泌剂例如甲苯磺丁脲和格列吡嗪、氯茴苯酸,以及有关物质;(e) α-葡萄糖苷酶抑制剂(例如阿卡波糖);(f) 胰高血糖素受体拮抗剂例如在 WO 98/04528、WO 99/01423、WO 00/39088 和 WO 00/69810 中公开的那些;(g) GLP-1、GLP-1 模拟物和 GLP-1 受体激动剂例如在 W000/42026 和 WO/59887 中公开的那些;(h) GIP 和 GIP 模拟物例如在 WO 00/58360 中公开的那些,以及 GIP 受体激动剂;(i) PACAP、PACAP 模拟物和 PACAP 受体 3 激动剂例如在 WO 01/23420 中公开的那些;(j) 胆固醇下降试剂,例如(i) HMG-CoA 还原酶抑制剂(洛伐他汀、辛伐他汀、帕伐他汀、氟伐地汀、阿伐他汀、立伐他汀、伊伐他汀、罗苏伐他汀、以及其它他汀),(ii) 螯合剂(消胆胺、考来替泊和交联右旋糖酐的二烷基氨基烷基衍生物),(iii) 烟醇、烟酸或其盐,(iv) PPAR<sub>α</sub> 激动剂例如非诺贝酸衍生物(吉非贝齐、氯贝丁酯、非诺贝特和苯扎贝特),(v) PPAR<sub>α</sub>/<sub>γ</sub> 双重激动剂,例如 KRP-297,(vi) 胆固醇吸收抑制剂,例如 β 谷固醇和依泽替米贝,(vii) 脂肪酰辅酶 A:胆固醇酰基转移酶抑制剂,例如阿伐麦布,和(viii) 抗氧化剂,例如普罗布考;(k) PPAR<sub>δ</sub> 激动剂,例如在 WO 97/28149 中公开的那些;(l) 抗肥胖症化合物例如芬氟拉明、右芬氟拉明、芬特明、西布曲明、奥利司他、神经肽 Y5 抑制剂和 3 肾上腺素能受体激动剂;(m) 回肠胆汁酸转运蛋白抑制剂;和(n) 为炎性病症所设计的药物例如阿斯匹林、非甾体抗炎药物、糖皮质激素、柳氮磺胺吡啶和环加氧酶 2 选择性抑制剂。

[0226] 上述组合包括本发明的化合物与不仅一种其它活性化合物的组合,还包括本发明的化合物与两种或多种其它活性化合物的组合。非限制性例子包括式 I 化合物与两种或多种活性化合物的组合,所述两种或多种活性化合物选自双胍类、磺酰脲类、HMG-CoA 还原酶抑制剂、RPAR 激动剂、PTP-1B 抑制剂、其它 DP-IV 抑制剂和抗肥胖症化合物。

[0227] 同样,本发明的化合物可以与其它药物组合,所述其它药物用于治疗/预防/抑制或改善本发明化合物所使用的疾病或病症。这些其它药物可以通过一种途径和其通常所使用的数量与本发明的化合物同时或依次给药。当本发明的化合物与一种或多种其它药物同时使用时,优选除本发明的化合物外还含有这些其它药物的药物组合物。因此,除本发明的化合物外,本发明的药物组合物包括还含有一种或多种其它活性成分的那些。

[0228] 本发明化合物与第二活性组分的重量比可以改变并且将取决于每一组分的有效剂量。通常,将使用每种有效组分的有效剂量。

[0229] 因此,例如,当本发明的化合物与其它药物联合使用时,本发明的化合物与其它药物的重量比通常将在约 1000 : 1- 约 1 : 1000 的范围内,优选在约 200 : 1- 约 1 : 200



的范围内。本发明的化合物以及其它活性成分的联合用药通常也在上述范围之内,但是在每种情况下,应该使用每种活性成分的有效剂量。

[0230] 在这些联合用药中,本发明的化合物以及其它活性剂可以分开给药或同时给药。此外,可以将一种成分在给予其它药物之前、期间或之后给药。

[0231] 本发明的化合物可以通过口服、肠胃外(例如,肌内、腹膜内、静脉内、ICV、脑池内注射或输液、皮下注射或植入)、通过吸入喷雾、鼻腔、阴道、直肠、舌下或局部给药途径,可以单独或一起配制成合适于每种给药途径的常规无毒药理学上可接受的载体、佐剂和赋形剂的合适剂量单位制剂。除治疗温血动物如小鼠、大鼠、马、牛、羊、狗、猫、猴等外,本发明的化合物可以有效地用于人体。

[0232] 用于本发明化合物给药的药物组合物可以方便地以单位剂型的形式存在,并且可以通过制药领域公知的任何方法进行制备。所有方法都包括将活性成分与构成一种或多种助剂的载体混合在一起的步骤。通常,通过将活性成分与液体载体或细碎固体载体或两者均匀和紧密地混合,然后如果需要,制成所需剂型,这样可以制备所述的药物组合物。在所述的药物组合物中,所述的活性目标化合物的量足以对疾病的病程或病症产生预期效果。在此所使用的术语“组合物”是指包括含有具体数量的特定成分的产物,以及任何直接或间接来自具体数量的特定成分的组合的产物。

[0233] 含有所述活性成分的药物组合物可以以适于口服的形式,例如片剂、含片、锭剂、含水或含油悬浮液,可分散性粉剂或粒剂、乳剂、硬或软胶囊、或糖浆或酏剂的形式存在。口服组合物可以根据本领域已知的制备药物组合物的任何方法进行制备,并且这些组合物可以含有一种或多种选自甜味剂、调味剂、着色剂和防腐剂的试剂以便提供药理学上精美的和可口的制剂。片剂含有与适于制备片剂的无毒药理学上可接受的赋形剂掺合的活性成分。这些赋形剂例如可以是惰性稀释剂如碳酸钙、碳酸钠、乳糖、磷酸钙或磷酸钠;造粒剂和崩解剂如玉米淀粉或褐藻酸;粘合剂如淀粉、明胶或阿拉伯胶;以及润滑剂如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石粉。这些片剂可以是未包衣的或者用已知技术进行包衣以延迟在胃肠道中的崩解和吸收,并因此在一个较长时间内提供一种持续作用。例如,可以使用延时材料例如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯。它们还可以使用美国专利号 4,256,108;4,160,452 和 4,265,874 中所述的技术进行包衣,以形成用于控制释放的渗透性治疗片剂。

[0234] 口服制剂还可以是硬胶囊,其中活性成分与惰性固体稀释剂如碳酸钙、磷酸钙或高岭土混合,或者可以是软胶囊,其中活性成分与水或油介质如花生油、液体石蜡或橄榄油混合。

[0235] 水混悬液含有与适于制备水混悬液的赋形剂混合在一起的活性物质。这些赋形剂是悬浮剂,例如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、海藻酸钠、聚乙烯-吡咯烷酮、黄耆胶和阿拉伯胶;分散剂或润湿剂可以是天然存在的磷脂,例如卵磷脂,或烯化氧与脂肪酸的缩合产物,例如聚氧乙烯硬脂酸酯,或环氧乙烷与长链脂肪族醇的缩合产物,例如十七烯氧基鲸蜡醇,或环氧乙烷与来源于脂肪酸和己糖醇偏酯的缩合产物,例如聚氧乙烯山梨糖醇单油酸酯,或环氧乙烷与来源于脂肪酸和己糖醇酸酐的偏酯的缩合产物,例如聚乙烯去水山梨糖醇单油酸酯。所述的水混悬液还可以含有一种或多种防腐剂如对羟基苯甲酸乙酯或对羟基苯甲酸正丙酯、一种或多种着色剂、一种或多种调味剂以及一种或多种甜味剂如蔗糖或糖精。

[0236] 含油悬浮液可以通过如下配制：将活性成分悬浮在植物油如花生油、橄榄油、芝麻油或椰子油中，或将活性成分悬浮在矿物油如液体石蜡中。含油悬浮液可以含有增稠剂如蜂蜡、硬石蜡或鲸蜡醇。可以加入如上所述的甜味剂和调味剂，以提供一种可口的口服制剂。这些组合物可以通过加入抗氧化剂如抗坏血酸进行防腐。

[0237] 适于通过加入水制备水悬浮液的可分散性粉剂和粒剂如下制备：将活性成分与分散剂或润湿剂、悬浮剂和一种或多种防腐剂掺合。合适的分散剂或润湿剂和悬浮剂是上述举例说明的那些。还可以存在其它的赋形剂，例如甜味剂、调味剂和着色剂。

[0238] 本发明的药物组合物还可以是水包油乳化剂的形式。所述的油相可以是植物油如橄榄油或花生油或矿物油如液体石蜡或这些油的混合物。合适的乳化剂可以是天然存在的树胶，例如阿拉伯胶或黄蓍胶，天然存在的磷脂，例如大豆、卵磷脂以及来源于脂肪酸和己糖醇酸酐的酯或偏酯，例如去水山梨糖醇单油酸酯，以及所述偏酯与环氧乙烷的缩合产物如聚氧乙烯去水山梨糖醇单油酸酯。

[0239] 所述乳剂还可以含有甜味剂和调味剂。

[0240] 糖浆和酏剂可以用甜味剂如甘油、丙二醇、山梨糖醇或蔗糖配制。这些制剂还可以含有湿润剂、防腐剂以及调味剂和着色剂。

[0241] 所述的药物组合物可以以无菌可注射含水悬浮液或含油悬浮液的形式存在。根据已知技术使用合适的分散剂或润湿剂以及悬浮剂，可以配制这种悬浮液。无菌可注射制剂还可以是一种在一种无毒的胃肠外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液或悬浮液，例如在 1,3-丁二醇中的溶液。在可接受的赋形剂和溶剂当中，可以使用的是水、林格溶液以及等渗氯化钠溶液。此外，无菌不挥发油通常用作溶剂或悬浮介质。为此，可以使用任何温和的不挥发油，包括合成的甘油一酯和甘油二酯。此外，可以在可注射制剂中使用脂肪酸例如油酸。

[0242] 本发明的化合物还可以以栓剂的形式用于直肠给药。这些组合物可以通过将药物与合适的无刺激性赋形剂混合进行制备，这些组合物在常温下为固体，但其在肛温下为液体，因此在直肠中融化以释放药物。这些材料是可可脂和聚乙二醇。

[0243] 对于局部给药，可以使用含本发明化合物的乳剂、软膏、凝胶剂、溶液或悬浮液等。（对这种应用来说，局部给药应该包括漱口剂和洗口药）。本发明的药物组合物和方法含可以包含在此所述的其它治疗活性化合物，其通常用于上述病理学症状的治疗中。

[0244] 在治疗或预防需要抑制二肽基肽酶-IV 酶活性的病症中，合适的剂量水平通常约为 0.01-500mg 每 kg 患者体重每天，其可以以单剂量或多剂量给药。优选地，所述剂量水平约为 0.1-约 250mg/kg 每日；更优选约为 0.5-约 100mg/kg 每日。合适的剂量水平可以约为 0.01-250mg/kg 每日，约 0.05-100mg/kg 每日，或约 0.1-50mg/kg 每日。在此范围内，所述剂量可以是 0.05-0.5、0.5-5 或 5-50mg/kg 每日。对于口服给药，所述组合物优选以片剂的形式提供，该片剂含有 1.0-1000 毫克的活性成分，特别是 1.0、5.0、10.0、15.0、20.0、25.0、50.0、75.0、100.0、150.0、200.0、250.0、300.0、400.0、500.0、600.0、750.0、800.0、900.0 和 1000.0 毫克的活性成分；根据所治疗患者的症状调节剂量。所述化合物可以以每日 1-4 次，优选每日一次或两次的给药方案给药。

[0245] 当治疗或预防糖尿病和 / 或高血糖症或高甘油三酯血症或本发明的化合物可以治疗的其它疾病时，当本发明的化合物以约 0.1 毫克 - 约 100 毫克每千克动物体重的日剂

量给药,优选单一日剂量或每天 2-6 次的分剂量给药,或以缓释形式给药。对于大多数较大的哺乳动物,总日剂量约为 1.0 毫克 - 约 1000 毫克,优选约 1 毫克 - 约 50 毫克。在 70kg 体重的成年人的情况中,总日剂量通常约为 7 毫克 - 约 350 毫克。可以调节这种剂量方案以提供最佳的治疗反应。

[0246] 然而,可以理解,任何特定患者的具体剂量水平和给药次数可以变化,取决于各种因素包括所使用具体化合物的活性、该化合物的代谢稳定性和作用持续时间、宿主的年龄、体重、一般健康状况、性别、饮食、给药方式和次数、排泄速度、联合用药以及具体病症的严重程度和宿主经历的治疗。

[0247] 下面方案和实施例说明本发明化合物的几种制备方法。初始物质可以根据本领域已知的方法或本文所述的方法进行制备。

[0248] 本发明的化合物可以如方案 1 所示,由  $\beta$  氨基酸中间体例如式 IV 的那些和取代杂环基中间体例如式 V、VI 和 VII 的那些,使用标准肽偶合条件,接着脱保护制备。

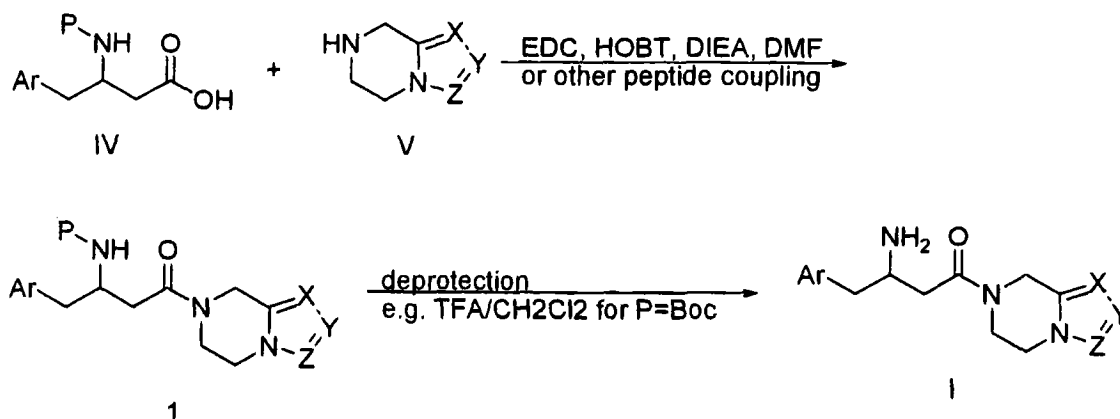
[0249]



[0250] 这些中间体是能买到的。

[0251] 方案 1

[0252]



[0253] 中间体 IV 和 V 如方案 1 所示在标准肽偶合条件下,例如,使用 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺 (EDC)、1-羟基苯并三唑 (HOBT) 和碱,通常二异丙基乙胺,在溶剂例如 N,N-二甲基甲酰胺 (DMF) 或二氯甲烷中在环境温度下偶合 3-48 小时,得到中间体 1。然后,除去保护基,例如在 Boc 的情况中用三氟乙酸或甲醇盐酸 (methanolic hydrogenchloride) 除去保护基,得到所需的胺 I。如果必要的话,通过重结晶、研制、制备性薄层色谱法、如 W. C. Still 等, J. Org. Chem., 43, 2923 (1978) 所述的硅胶快速色谱法或 HPLC, 所述产物除去不需要的副产物。通过 HPLC 提纯的化合物可以以相应盐的形式分离。中间体的提纯同样以相同的方式进行。

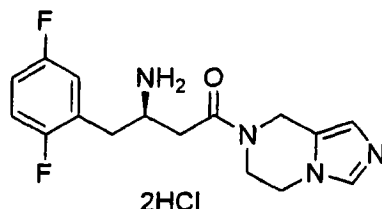
[0254] 在一些情况中,在除去保护基之前,方案 1 中所述的由偶合反应得到的中间体 1 可以进一步修饰,例如,通过变换 X 或 Y 或 Z 上的取代基。这些变换可以包括,但不局限于,本领域熟练技术人员公知的还原、氧化、烷基化、酰化和水解反应。

[0255] 在一些情况中,进行上述反应方案的顺序可以改变以促进反应或避免不需要的反应产物。提供下面的实施例,以便更充分地理解本发明。这些实施例仅仅是说明性的,不应该理解为以任何方式对本发明构成限制。

### 具体实施方式

[0256] 实施例 1

[0257]



[0258] (R)-3-氨基-4-(2,5-二氟苯基)-1-(5,6-二氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-7(8H)-基)丁烷-1-酮二盐酸盐

[0259] 步骤 A. (R)-1-(2,5-二氟苯基)-4-(5,6-二氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-7(8H)-基)-4-氧代丁烷-2-基氨基甲酸叔丁酯

[0260] 在 0 °C 下,向 5,6,7,8-四氢咪唑并[1,5-a]吡嗪 (50.0mg,0.40mmol) 和 Boc-(R)-3-氨基-4-(2,5-二氟苯基)丁酸 (128.0mg,0.40mmol) 在二氯甲烷 (5mL) 中的溶液中加入 HOBT (54.5mg,0.42mmol)。该反应在 0°C 下搅拌 10min,然后加入 EDC (96.6mg,0.50mmol)。除去冰浴后,将该反应在环境温度下搅拌 14h。将混合物浓缩并用 HPLC 提纯 (Gilson;YMC-Pack Pro C18 柱,100x20mm I.D.;溶剂梯度从 10%乙腈、90%水和 0.1%三氟乙酸到 90%乙腈、10%水和 0.1%三氟乙酸),得到 103mg 泡沫状固体形式的标题化合物。

[0261] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDC 13) 1.38 (s, 9H), 2.61 (m, 2H), 2.85 (m, 2H) 3.80 (bs, 1H), 3.86 (m, 1H), 4.05 (m, 4H). 4.65 (m, 2H) 5.30-5.38 (m, 1H) 6.65-6.95 (m, 4H), 7.28 (s, 1H)。LC/MS 421 (M+1)。

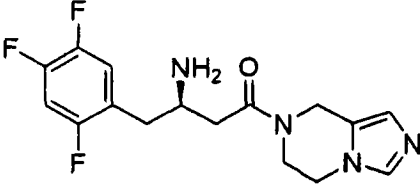
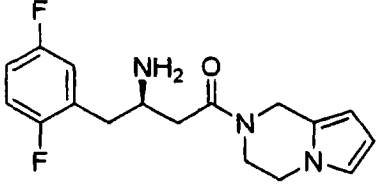
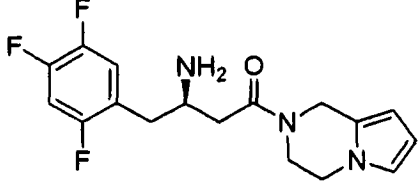
[0262] 步骤 B. (R)-3-氨基-4-(2,5-二氟苯基)-1-(5,6-二氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-7(8H)-基)丁烷-1-酮二盐酸盐

[0263] 该标题化合物由在 1.5mL 甲醇中的用氯化氢饱和的 (R)-1-(2,5-二氟苯基)-4-(5,6-二氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-7(8H)-基)-4-氧代丁烷-2-基氨基甲酸叔丁酯 (100.0mg,0.24mmol, 来自步骤 A) 制备。将所述反应混合物在环境温度下搅拌 1h。蒸除溶剂,得到 78mg 泡沫固体形式的标题化合物。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD3OD) 3.10-3.17 (m, 2H), 2.89-2.99 (m, 2H), 3.94-4.22 (m, 4H), 4.33 (m, 1H), 4.91-5.48 (m, 2H), 6.89-7.20 (m, 3H), 7.48 (s, 1H)。ESI-MS 321 (M+1)。

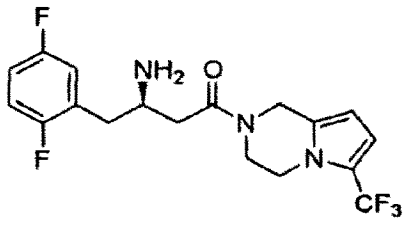
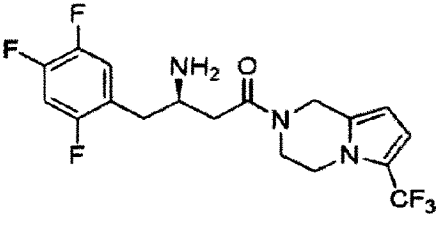
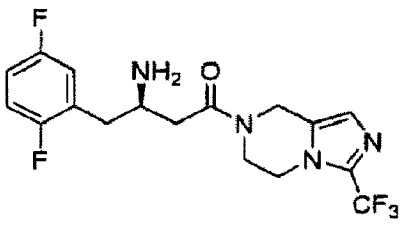
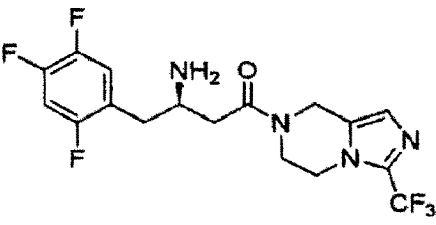
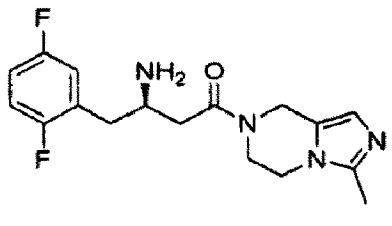
[0264] 基本上按照实施例 1 所列步骤,制得表 1 中所列的化合物。

[0265] 表 1

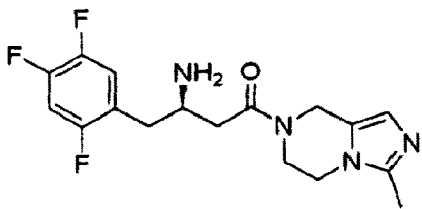
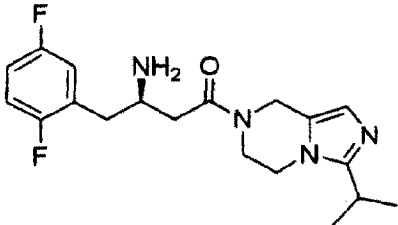
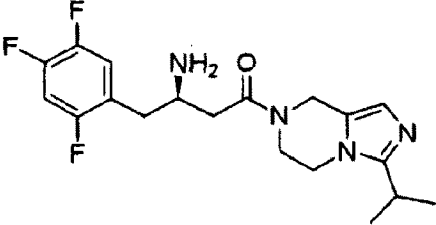
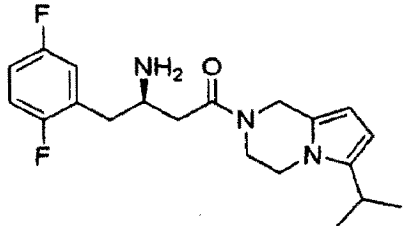
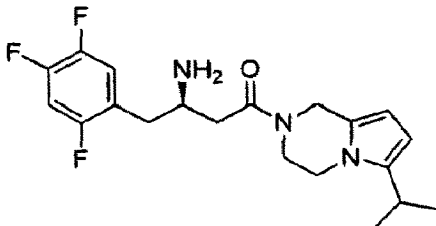
[0266]

实施例	结构	MS(M+1)
2		339
3		320
4		338

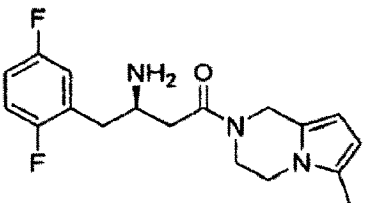
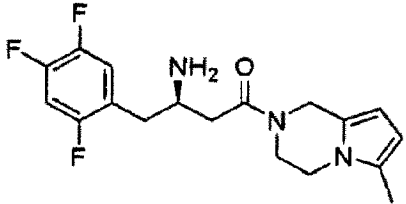
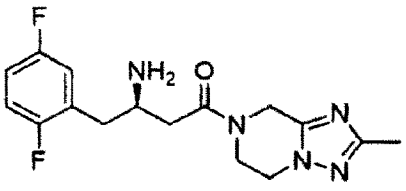
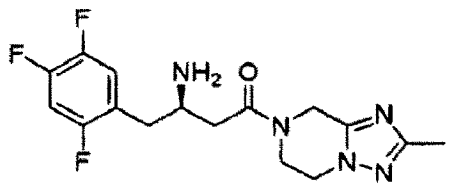
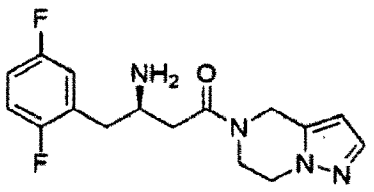
[0267]

5		388
6		406
7		389
8		407
9		335

[0268]

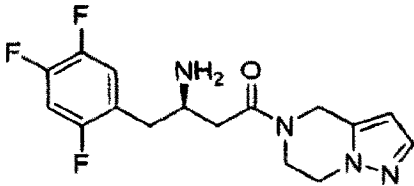
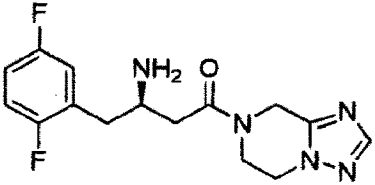
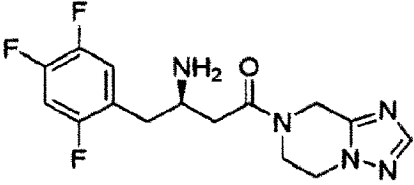
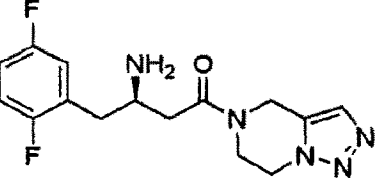
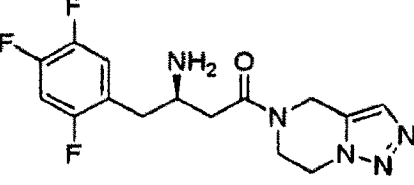
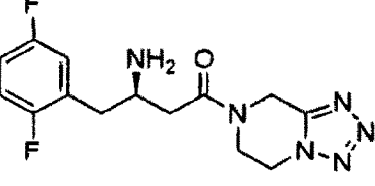
10		353
11		363
12		381
13		362
14		380

[0269]

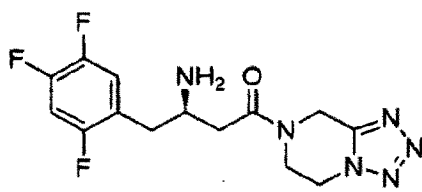
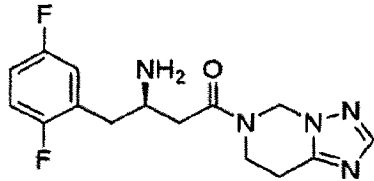
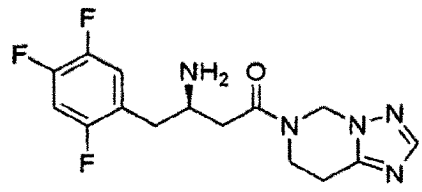
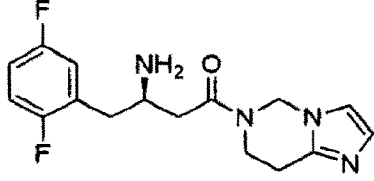
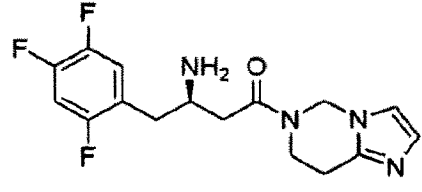
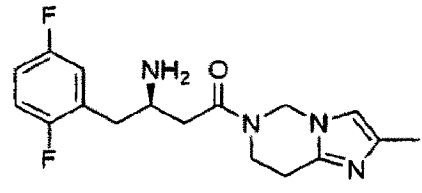
15		334
16		352
17		336
18		354
19		321

[0270]

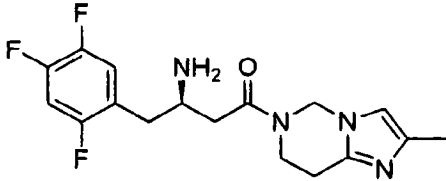
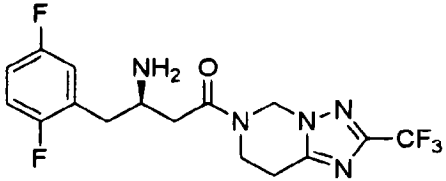
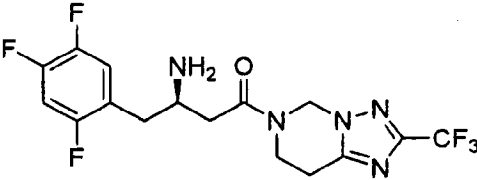
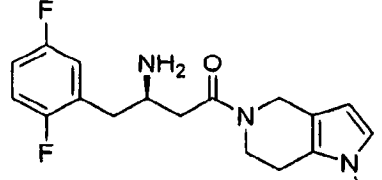
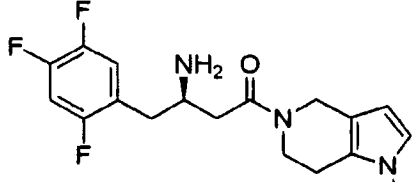


20		339
21		322
22		340
23		322
24		340
25		323

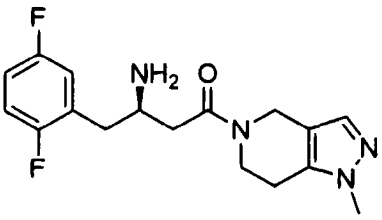
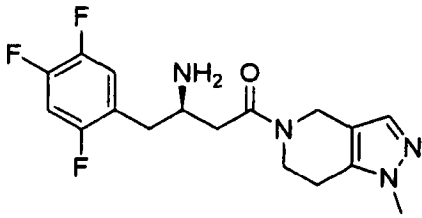
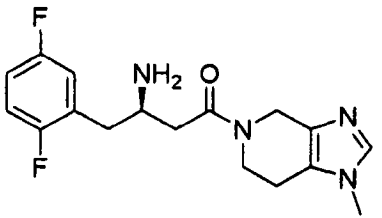
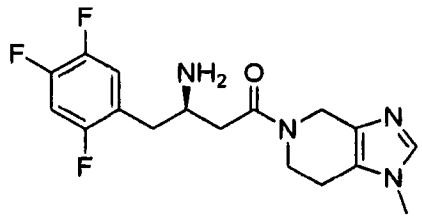
[0271]

26		341
27		322
28		340
29		321
30		339
31		335

[0272]

32		353
33		390
34		408
35		334
36		352

[0273]

37		335
38		353
39		335
40		353

[0274] 虽然通过某些具体实施方案已经对本发明进行了描述和说明,但是本领域熟练技术人员可以理解,在不脱离本发明的精神和范围的情况下,可以对本发明的方法和方案进行各种修改、变化、修饰、替换、删除或增加。例如,可将有效剂量看作是用上述本发明的化合物来治疗哺乳动物的任何所述症状的响应的变化结果,而不是本文前面所述的具体剂量。根据和取决于所选择的具体活性化合物或是否含有药物载体以及所用的制剂类型和给药方式,可观察到具体的药理学响应会变化,而且这些结果中所预期的变化或差别与本发明的目的和实现一致。因此,本发明通过下面的权利要求书进行定义,并且这些权利要求尽可能以广义解释。

[0275] 进行如下检测以测定如上所述的化合物的生物活性。

[0276] 药效学试验

[0277] 实验 1 大鼠血浆中二肽基肽酶 IV (DP-IV) 抑制活性的测定

[0278] 待测化合物溶解于 100% 的 DMSO 中, 用 10% DMSO/H<sub>2</sub>O 稀释到所需的浓度, 作为供试品溶液。以自由饲养的 Wistar 大鼠作为实验用动物, 经口给予载体物和酶抑制剂。在一系列的时间点, 从大鼠的眼窝后静脉丛取血, 采血前用异氟醚对大鼠进行麻醉处理, 采血时间一直延续到给药后 24 小时。采集的血浆添加 EDTA 后进行冷冻处理, 用来测定二肽基肽酶 IV (DP-IV) 的活性, 测定时, 首先在 37 度孵育 10 分钟, 然后对血浆进行 5 倍稀释, 再测定。

[0279] 根据 Dooseop Kim 等人 (Journal of Medicinal Chemistry, vol. 48, pp. 141-151, 2005) 的方法, 本试验选取 Gly-Pro-AMC 作为本研究的酶底物, 该底物经 DP-IV 酶切割后生成具有荧光性的 AMC 基团, 使用连续荧光测定法, 监测 DP-IV 肽酶的活性。在典型的酶反应中, 反应液总体积为 70  $\mu$ L, 其中包括大鼠血浆 35  $\mu$ L, 缓冲液 (100mM 的 HEPES, pH7.5, 0.1mg/mL 的 BSA) 以及 50  $\mu$ M 的 Gly-Pro-AMC。当加入 50  $\mu$ M 的 Gly-Pro-AMC 底物后, 酶反应开始进行。反应释放的 AMC 基团采用 96 孔板荧光计数器 (BMG-Fluostar; BMG-Technologies) 进行连续测定。激发波长设定为 360nm, 发射波长设定为 460nm。通过测定吸光度及其增量 ( $\Delta$  ODs)、该反应混合物不含试验化合物时的吸光度增量 ( $\Delta$  ODc), 以及该反应混合物不含试验化合物和酶的吸光度增量 ( $\Delta$  ODb), 并按下式计算二肽基肽酶 IV 酶活性的抑制百分数 (%) :

$$[0280] \quad \{1 - [(\Delta \text{ODs} - \Delta \text{ODb}) / (\Delta \text{ODc} - \Delta \text{ODb})]\} \times 100$$

[0281] 将试验化合物组的二肽基肽酶 IV 抑制活性表示为 IC<sub>50</sub> 值 (nM), 将测定结果列于下面的表 2 中。

[0282] 表 2 不同试验化合物的 IC<sub>50</sub> 值

[0283]

试验化合物序 列号	IC <sub>50</sub> 值 (nM)	试验化合物序 列号	IC <sub>50</sub> 值 (nM)
1	455	21	465
2	126	22	162
3	468	23	600
4	442	24	210
5	132	25	531
6	87	26	179
7	79	27	564
8	17	28	147
9	144	29	456
10	76	30	137
11	118	31	510
12	67	32	149
13	410	33	135
14	156	34	85
15	453	35	499
16	412	36	127
17	141	37	431
18	63	38	221
19	417	39	439
20	125	40	165

[0284] 另外, 按照上述实验方法, 还测定了 sitagliptin 的 IC<sub>50</sub> 值, 试验结果显示该化合物的 IC<sub>50</sub> 值为 18nM。

[0285] 如上所示, 本发明的化合物均具有优异的二肽基肽酶 IV 抑制活性, 其中化合物 8

和 sitagliptin 的活性最强,明显优于其它化合物;化合物 8 较 Sitagliptin 的抑制活性强。总而言之,上述 40 种化合物可以用作预防或治疗糖尿病等的药剂。

[0286] 试验 2 小鼠的口服糖耐量实验

[0287] 从上述的 DP-IV 酶活性抑制试验中,可见化合物 8 具有优异的二肽基肽酶 IV 抑制活性,因此对其进一步进行了口服糖耐量研究。

[0288] 试验药物:化合物 8。

[0289] 实验动物为雄性昆明种小鼠,7-12 周龄,体重为 20-25g。

[0290] 实验方法:将小鼠随机分为 6 组,每组 10 只,分为 1 个正常组(载物组)、1 个对照组(给予载物和水,不给葡萄糖)以及 4 个供试品组。小鼠实验前禁食 24 小时,不禁水。试验前 1 小时,从小鼠的尾静脉取血,测定小鼠的基线血糖浓度。然后,经口给予 2 组小鼠载体物(0.25%的甲基纤维素,5mL/kg),给予 4 组小鼠上述试验药物(3,1,0.3,0.1mg/kg;5mL/kg)。给药后 1 小时,测定血糖浓度。然后,经口给予小鼠葡萄糖(5g/kg,10mL/kg),但是将 1 组口服载体物的小鼠给予水,作为对照组。给予葡萄糖后 20,40,60 和 120 分钟时,从尾静脉采血测定血糖浓度。绘制从  $t = 0\text{min}$  到  $t = 120\text{min}$  的血糖浓度经时曲线,用来测定曲线下面积(AUC)。

[0291] 试验结果:如图 1a 和图 1b 所示。

[0292] 图 1a 示出了化合物 8 对小鼠经口服葡萄糖后的血糖水平的影响。

[0293] 图 1b 示出了不同给药组中小鼠的血糖 AUC 值(从 0min 到 120min)。

[0294] 由上图 1a 可见,本试验设定的 4 个剂量组均能明显的降低小鼠的糖耐量,图 1b 显示出给药剂量与药物对 DP-IV 酶的抑制活性呈现正相关。结果表明,该化合物能够明显的抑制血糖浓度,可用来治疗糖尿病。

[0295] 总之,上述试验 1 中药物对 DP-IV 抑制活性研究和试验 2 的对化合物 8 的糖耐量研究,均表明上述 40 种化合物具有抑制血糖浓度的生物活性,因此可以作为治疗糖尿病的药物。

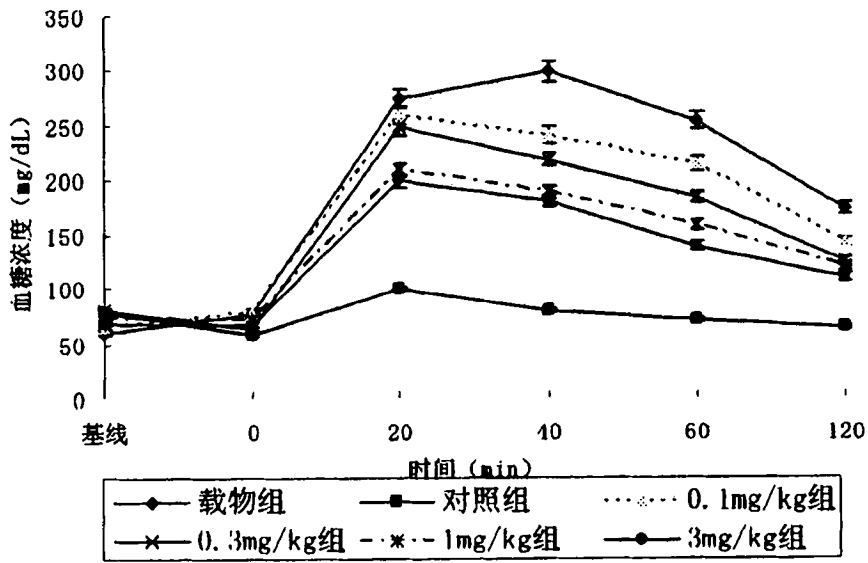


图 1a

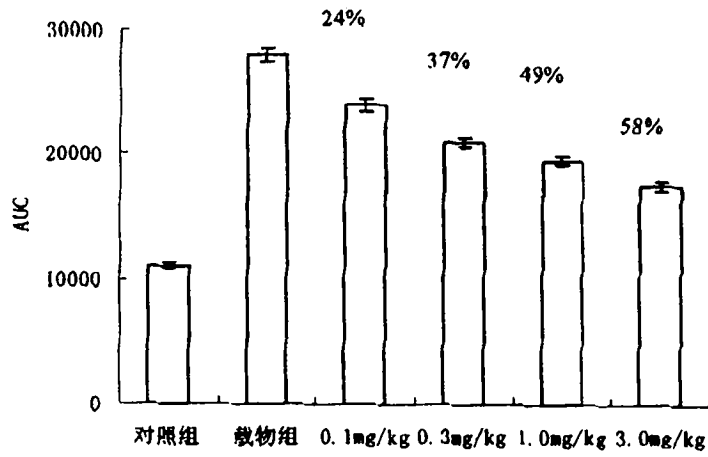


图 1b