



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101084216 B

(45) 授权公告日 2011.09.14

(21) 申请号 200580043035.2

A61K 31/40(2006.01)

(22) 申请日 2005.10.20

A61K 31/425(2006.01)

(30) 优先权数据

60/651,487 2004.10.20 US

(56) 对比文件

Spector AA , Fang X, Snyder GD ,
Weintraub NL..Epoxyeicosatrienoic acids
(EETs) :metabolism and biochemical
function.《Prog Lipid Res》.2004, 第43卷(第
1期),

(85) PCT申请进入国家阶段日

2007.06.14

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2005/038282 2005.10.20

审查员 李跃然

(87) PCT申请的公布数据

W02006/045119 EN 2006.05.26

(73) 专利权人 加利福尼亚大学董事会

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 B·D·哈莫克 金仁惠 C·莫里瑟

渡边卓穗 J·W·纽曼 P·琼斯

黄盛熙 P·威特斯通

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公

司 31100

代理人 余颖

(51) Int. Cl.

C07D 405/12(2006.01)

C07D 207/50(2006.01)

权利要求书 10 页 说明书 117 页 附图 14 页

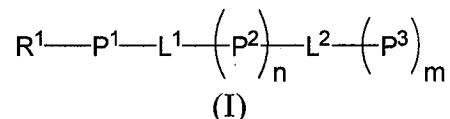
(54) 发明名称

可溶性环氧化物水解酶的改进抑制剂

(57) 摘要

提供了掺有多个药效团并可用于治疗疾病的
可溶性环氧化物水解酶(sEH)的抑制剂。

1. 一种下式所示化合物及其药学上可接受的盐：



式中, R^1 选自金刚烷基、环己基或苯基, 其中, 所述苯基任选用 1-2 个独立选自 C_{1-4} 烷基、卤素、 C_{1-4} 卤代烷基、 C_{1-4} 烷氧基、硝基、 C_{1-4} 卤代烷氧基、 C_{1-4} 硫代烷基、苯基的取代基取代；

P^1 是第一药效团： $-NHC(O)NH-$ ；

P^2 是选自下组的第二药效团： $-NH-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-CH(OH)-$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_q-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-NHC(NH)NH-$ 、 $-NHC(NH)CH_2-$ 、 $-CH_2C(NH)NH-$ 、 $-NHC(O)NH-$ 、 $-OC(O)NH-$ 、 $-NHC(O)O-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 和 $-NHC(S)NH-$ ；

P^3 是选自下组的第三药效团： C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_1-C_6 卤代烷基、芳基、杂芳基、杂环基、 $-O(CH_2CH_2O)_q-R^2$ 、 $-OR^2$ 、 $-C(O)NHR^2$ 、 $-C(O)NHS(O)_2R^2$ 、 $-NHS(O)_2R^2$ 、 $-OC_2-C_4$ 烷基 $-C(O)OR^2$ 、 $-C(O)R^2$ 和 $-C(O)OR^2$, 所述芳基可选地被选自卤素、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{1-4} 烷氧基 $-C_{1-4}$ 烷氧基、 C_{1-4} 卤代烷基、 C_{1-4} 卤代烷氧基和 $-C(O)O-C_{1-4}$ 烷基的取代基取代, 其中 R^2 是选自下组的成员：氢、卤代或未取代的 C_1-C_4 烷基、 C_3-C_8 环烷基、杂环基、芳基和芳基 C_1-C_4 烷基；

下标 n 和 m 各自为 1, 下标 q 是 0-6；

L^1 是亚环己基；

L^2 是选自下组的连接基团： C_1-C_{12} 亚烷基、 C_3-C_6 亚环烷基、亚芳基、杂亚芳基和它们的组合, 所述亚烷基可选地被选自卤素、苯基或 CN 的取代基取代, 所述亚芳基可选地被选自卤素、硝基、 C_{1-4} 卤代烷基和 C_{1-4} 烷氧基的取代基取代, 所述杂亚芳基可选地被选自卤素和 C_{1-4} 卤代烷基的取代基取代；

所述亚芳基即二价芳基, 所述杂亚芳基即二价杂芳基, 所述芳基和杂芳基选自苯基、萘基、联苯基、二苯基甲基、2,2-二苯基-1-乙基、噻吩基、吡啶基和喹啉基；

所述杂环基是含有 1-3 个杂原子的 C_3-C_{12} 环烷基, 所述杂原子各自选自氮、氧、硫。

2. 如权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于, P^2 选自下组： $-CH(OH)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_q-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)NH-$ 和 $-NHC(O)-$ ；

L^2 选自下组： C_1-C_{12} 亚烷基、 C_3-C_6 亚环烷基和亚芳基；

P^3 选自下组： C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_1-C_6 卤代烷基、芳基、杂芳基、杂环基、 OR^2 、 $-C(O)NHR^2$ 、 $-C(O)NHS(O)_2R^2$ 、 $-NHS(O)_2R^2$ 、 $-OC_2-C_4$ 烷基 $-C(O)OR^2$ 、 $-C(O)R^2$ 和 $-C(O)OR^2$ ；

所述亚芳基、芳基、杂芳基、杂环基如权利要求 1 中所述。

3. 如权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于, P^3 选自下组： C_2-C_6 烯基、杂环基、 OR^2 、 $-OC_2-C_4$ 烷基 $-C(O)OR^2$ 和 $-C(O)R^2$, 所述杂环基如权利要求 1 中所述。

4. 如权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于, P^3 选自下组： C_1-C_4 卤代烷氧基、吗啉代、二氧化硫代吗啉基。

5. 如权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于, L^2 选自下组： C_3-C_6 亚环烷基、亚芳基和杂亚芳基；所述亚芳基和杂亚芳基如权利要求 1 中所述。

6. 如权利要求 5 所述的化合物, 其特征在于, L^2 选自下组： C_3-C_6 亚环烷基和杂亚芳基；所述杂亚芳基如权利要求 1 中所述。

7. 如权利要求 1 所述的化合物,其特征在于, P^2 选自下组: $-C(O)O-$ 、 $-CH(OH)-$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_q-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)NH-$ 和 $-NHC(O)-$;

L^2 是 C_1-C_6 亚烷基;

P^3 选自下组: $-C(O)NHR^2$ 、 $-C(O)NHS(O)_2R^2$ 、 $-NHS(O)_2R^2$ 和 $-C(O)OR^2$ 。

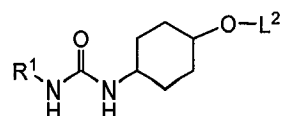
8. 如权利要求 1 所述的化合物,其特征在于, P^2 选自下组: $-O(CH_2CH_2O)_q-$ 和 $-C(O)O-$;

P^3 选自下组:自 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_1-C_6 卤代烷基、芳基、杂芳基、杂环基、 OR^2 、 $-C(O)NHR^2$ 、 $-C(O)NHS(O)_2R^2$ 、 $-NHS(O)_2R^2$ 、 $-OC_2-C_4$ 烷基、 $-C(O)OR^2$ 、 $-C(O)R^2$ 和 $-C(O)OR^2$;

L^2 是 C_1-C_{12} 亚烷基;

所述芳基、杂芳基和杂环基如权利要求 1 中所述。

9. 如权利要求 1 所述的化合物,其特征在于,所述化合物如下式所示:

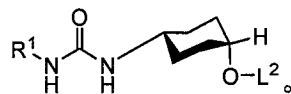


其中, L^2 选自任选用独立选自卤素或 C_1-C_4 卤代烷基的 1-2 个取代基取代的亚苯基、亚甲基亚苯基或杂亚芳基,所述杂亚芳基如权利要求 1 中所述。

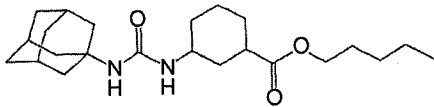
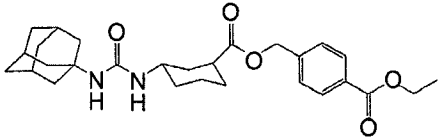
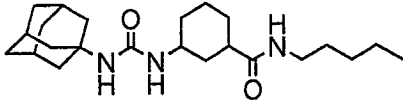
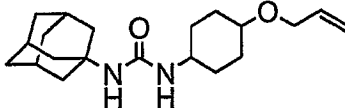
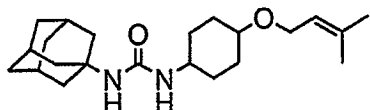
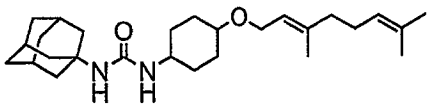
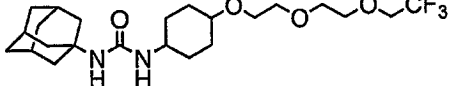
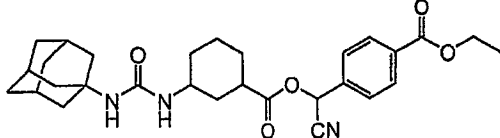
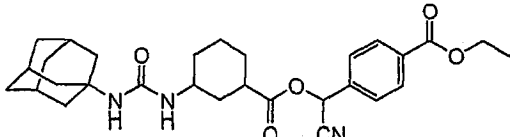
10. 如权利要求 9 所述的化合物,其特征在于,所述化合物如下式所示:

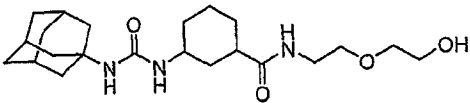

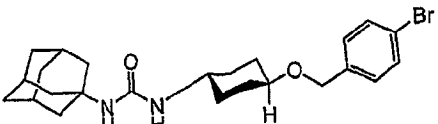

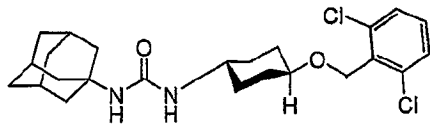
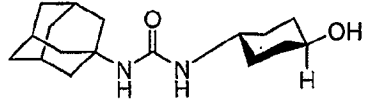


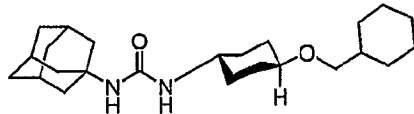
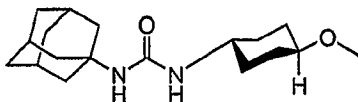
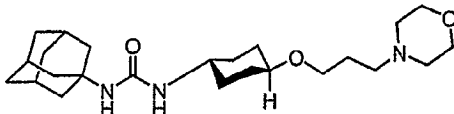
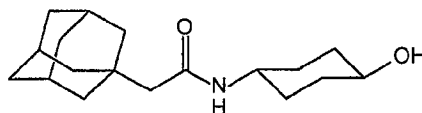


11. 如权利要求 9 所述的化合物,其特征在于,所述化合物如下式所示:

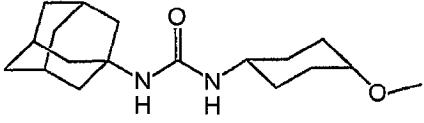
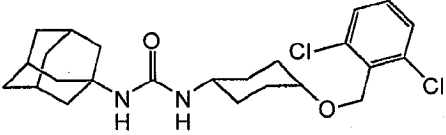
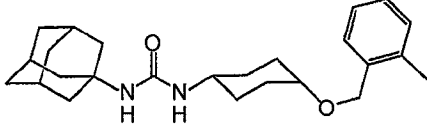
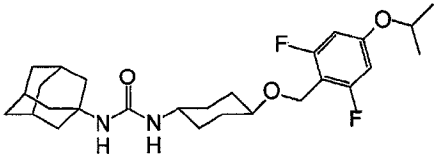
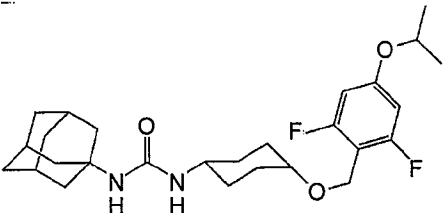
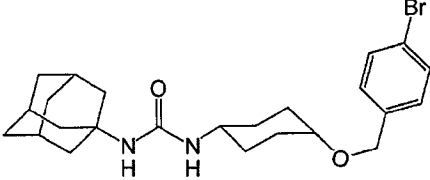
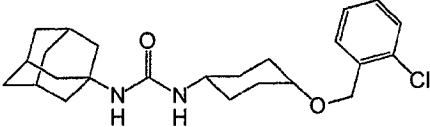
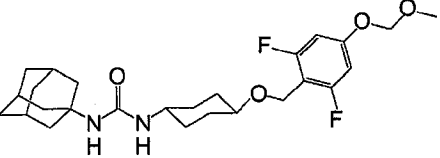
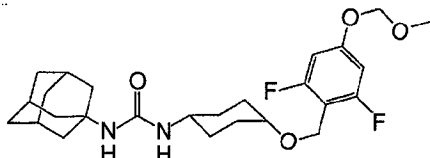


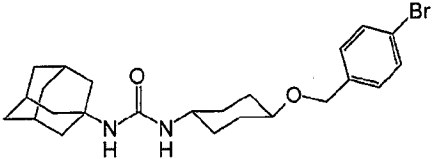
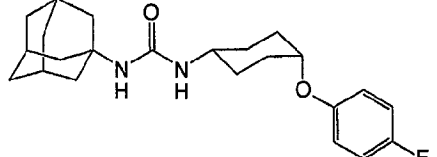
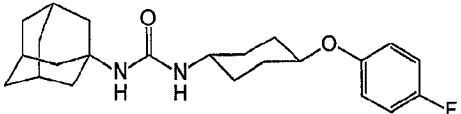
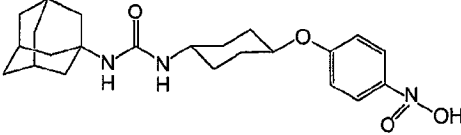
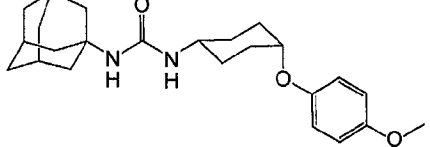
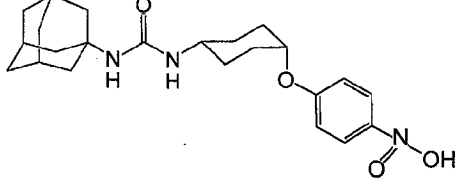
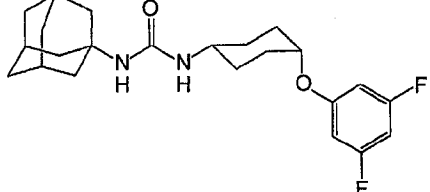
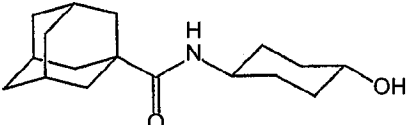
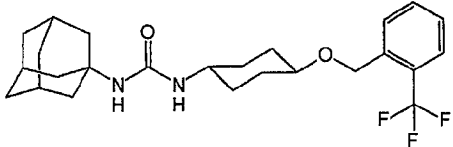
12. 以下所示化合物及它们药学上可接受的盐:

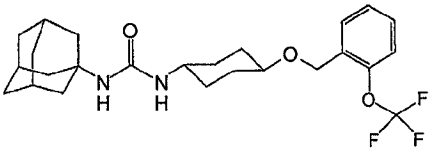
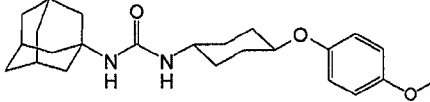
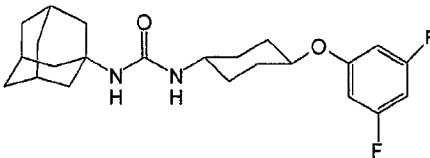
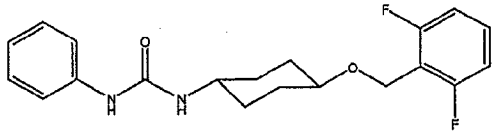
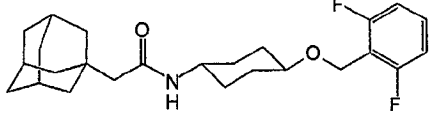
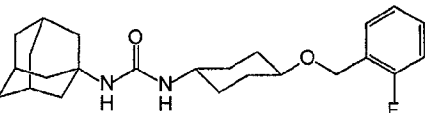
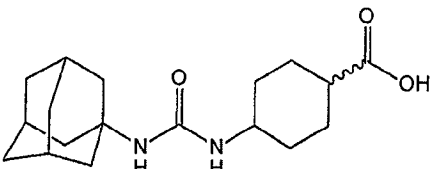
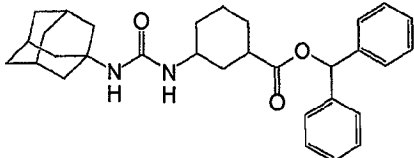
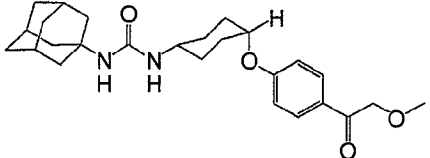
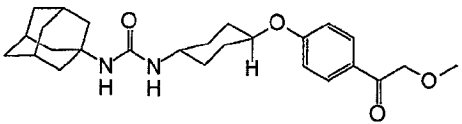
化合物	结构式
906	
942	
960	
982	
983	
984	
985	
1009	
1014	

化合物	结构式
1022	
1032	
1034	
1037	
1038	
1039	
1040	
1047	
1048	
1049	
1061	
1063-1	

化合物	结构式
1066	
1069	
1073	
1074	
1076	
1077	
1078	
1096	
1097	

化合物	结构式
1098	
1099	
1100	
1101	
1102	
1103	
1104	
1105	
1106	

化合物	结构式
1107	
1135	
1136	
1137	
1138	
1140	
1141	
1142	
1143	

化合物	结构式
1144	
1145	
1146	
1147	
1149	
1150	
1173	
1437	
1469	
1470	

化合物	结构式
1513	
1514	
1516	
1517	
1518	
1519	

13. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中, R^1 是金刚烷基。
14. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中, R^1 是环己基。
15. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中, R^1 是苯基。
16. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中, L^1 是 1,3-环亚己基。
17. 如权利要求 16 所述的化合物, 其中, P^2 是 $-O(CH_2CH_2O)_q-$, q 是 0, L^2 选自 $:C_1-C_{12}$ 亚烷基、 C_3-C_6 环亚烷基、亚芳基和杂亚芳基, 所述亚芳基和杂亚芳基如权利要求 1 中所述。
18. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中, L^1 是 1,4-环亚己基。
19. 如权利要求 18 所述的化合物, 其中, P^2 是 $-O(CH_2CH_2O)_q-$, q 是 0,

L^2 选自 $:C_1-C_{12}$ 亚烷基、 C_3-C_6 环亚烷基、亚芳基和杂亚芳基,所述亚芳基和杂亚芳基如权利要求 1 中所述。

20. 如权利要求 19 所述的化合物,其中, L^2 是亚芳基,所述亚芳基如权利要求 1 中所述。

21. 如权利要求 19 所述的化合物,其中, P^3 是 $-C(O)OR^2$ 。

22. 如权利要求 16-21 中任一项所述的化合物,其中, R^1 是金刚烷基。

23. 一种抑制可溶性环氧化物水解酶的方法,所述方法包括使所述可溶性环氧化物水解酶与抑制用量的权利要求 1-22 中任一项所述化合物接触,所述接触在体外试验中进行。

24. 一种含有药学上可接受的赋形剂和权利要求 1-22 中任一项所述化合物的药物组合物。

25. 一种在有可溶性环氧化物水解酶存在下稳定生物学活性环氧化物的方法,所述方法包括使所述可溶性环氧化物水解酶与足以抑制所述可溶性环氧化物水解酶活性和稳定所述生物学活性环氧化物用量的权利要求 1-22 中任一项所述化合物接触,所述接触在体外试验中进行。

26. 一种减少因可溶性环氧化物水解酶作用而形成生物学活性二醇的方法,所述方法包括使所述可溶性环氧化物水解酶与足以抑制所述可溶性环氧化物水解酶活性和减少所述生物学活性二醇形成用量的权利要求 1-22 中任一项所述化合物接触,所述接触在体外试验中进行。

27. 一种监测可溶性环氧化物水解酶活性的方法,所述方法包括使所述可溶性环氧化物水解酶与足以在所述可溶性环氧化物水解酶荧光中产生可检测变化用量的权利要求 1-22 中任一项所述化合物接触,所述变化通过和存在于所述可溶性环氧化物水解酶催化位点中的一个或多个色氨酸残基相互作用产生。

28. 如权利要求 27 所述的方法,其特征在于,所述化合物在选自 R^1 、 P^3 或 L^2 的一个或多个部分具有苯基。

可溶性环氧化物水解酶的改进抑制剂

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求 2004 年 10 月 20 日提交的美国专利申请号 60/651,487 的优先权,其内容纳入本文作为参考。

[0003] 由联邦政府资助的研究或开发所作发明的权利声明

[0004] 按照国家卫生研究院授予的合同 ES02710,美国政府对本发明享有一定权利。参考以光盘提交的“序列表”、表格或计算机程序列表附录

[0005] 不适用

[0006] 发明背景

[0007] 环氧化物水解酶 (EH, EC 3.3.2.3) 通过加入水催化环氧化物或芳烃氧化物水解为其相应的二醇 (参见, Oesch, F. 等, *Xenobiotica*, 1973, 3, 305-340)。一些 EH 在各种化合物的代谢中发挥至关重要的作用,所述化合物包括激素、化疗药物、致癌物、环境污染物、真菌毒素和其它有害的外来化合物。

[0008] 微粒体环氧化物水解酶 (mEH) 和可溶性环氧化物水解酶 (sEH) 是两种充分研究的 EH。这些酶的关系非常远,具有不同的亚细胞定位和不同但部分重叠的底物选择性。已知可溶性和微粒体 EH 形式在降解一些植物天然产物中彼此互补 (参见, Hammock, B. D. 等, *COMPREHENSIVE TOXICOLOGY* (《综合毒理学》), Oxford: Pergamon Press 1977, 283-305 和 Fretland, A. J. 等, *Chem. Biol. Interact* 2000, 129, 41-59)。

[0009] sEH 的主要作用是代谢脂质环氧化物,包括代谢花生四烯酸 (参见, Zeldin, D. C. 等, *J. Biol. Chem.*, 1993, 268, 6402-6407)、亚油酸 (参见, Moghaddam, M. F. 等, *Nat. Med.*, 1997, 3, 562-567), 其中一些是内源性化学介质 (参见, Carroll, M. A. 等, *Thorax*, 2000, 55, S13-16)。花生四烯酸环氧化物 (环氧二十 烷三烯酸 (epoxyeicosatrienoic acid) 或 EET) 和其它脂质环氧化物及二醇是已知的血压效应物 (参见, Capdevila, J. H. 等, *J. Lipid. Res.*, 2000, 41, 163-181) 和血管渗透性调节剂 (参见, Oltman, C. L. 等, *Circ Res.*, 1998, 83, 932-939)。EET 的血管舒张性能与导致血管平滑肌超极化的钙激活钾通道的开放状态概率升高相关 (参见 Fisslthaler, B. 等, *Nature*, 1999, 401, 493-497)。sEH 水解花生四烯酸环氧化物降低了此种活性 (参见 Capdevila, J. H. 等, *J. Lipid. Res.*, 2000, 41, 163-181)。sEH 水解 EET 也能调节 EET 掺入冠状内皮磷脂中,提示 sEH 能调节内皮功能 (参见 Weintraub, N. L. 等, *Am. J. Physiol.*, 1992, 277, H2098-2108)。近年来用选择性 sEH 抑制剂治疗自发高血压大鼠 (SHR) 显示能明显降低它们的血压 (参见 Yu, Z. 等, *Circ. Res.*, 2000, 87, 992-998)。此外,敲除 sEH 雄性小鼠的血压明显低于野生型小鼠 (参见 Sinal, C. J. 等, *J. Biol. Chem.*, 2000, 275, 40504-40510), 进一步支持了 sEH 在血压调节中的作用。

[0010] EET 在内皮细胞中也显示有抗炎特性 (参见 Node, K. 等, *Science*, 1999, 285, 1276-1279 和 Campbell, W. B., *Trends Pharmacol. Sci.*, 2000, 21, 125-127)。相反,衍生自环氧-亚油酸盐 (白细胞毒素) 的二醇干扰膜渗透性和钙稳态 (参见 Moghaddam, M. F. 等, *Nat. Med.*, 1997, 3, 562-567), 从而导致受氧化氮合酶和内皮肽 -1 调节的炎症 (参见

Ishizaki, T. 等, *Am. J. Physiol.*, 1995, 269, L65-70 和 Ishizaki, T. 等, *J. Appl. Physiol.*, 1995, 79, 1106-1611)。据报道,与炎症和缺氧有关(参见 Dudda, A. 等, *Chem. Phys. Lipids*, 1996, 82, 39-51) 的微摩尔浓度白细胞毒素能在体外抑制线粒体呼吸(参见 Sakai, T. 等, *Am. J. Physiol.*, 1995, 269, L326-331) 并在体内导致哺乳动物心肺毒性(参见 Ishizaki, T. 等, *Am. J. Physiol.*, 1995, 269, L65-70; Fukushima, A. 等, *Cardiovasc. Res.*, 1988, 22, 213-218 和 Ishizaki, T. 等, *Am. J. Physiol.*, 1995, 268, L123-128)。白细胞毒素的毒性可导致多种器官衰竭和急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 症状(参见 Ozawa, T. 等, *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1988, 137, 535-540)。在细胞和生物模型中,白细胞毒素介导的毒性依赖于环氧化物水解(参见 Moghaddam, M. F. 等, *Nat. Med.*, 1997, 3, 562-567; Morisseau, C. 等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, 96, 8849-8854; 和 Zheng, J. 等, *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2001, 25, 434-438), 提示 sEH 在调节炎症和血管渗透性中具有作用。这些环氧脂肪酸的生物活性提示抑制邻位 - 二羟基 - 脂质的生物合成可能具有治疗价值, 从而使得 sEH 成为有希望的药物靶标。

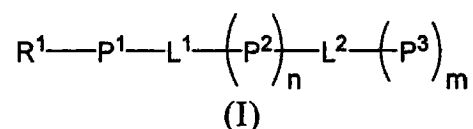
[0011] 近年来,报道了 1,3- 二取代的脲、氨基甲酸酯和酰胺是 sEH 的有效且稳定的新抑制剂(图 1)。参见美国专利号 6,150,415。化合物 192 和 686 是此类抑制剂的代表性结构(图 1)。这些化合物是能以化学计量与纯化的重组 sEH 相互作用,具有纳摩尔 K_i 值的竞争性紧密结合抑制剂(参见 Morisseau, C. 等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, 96, 8849-8854)。根据 X- 射线晶体结构,此类脲抑制剂显示能在抑制剂的脲官能团和 sEH 活性位点残基之间建立氢键和形成盐桥,模拟了与该酶打开环氧化物环等同反应中遇到的特征(参见 Argiriadi, M. A. 等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, 96, 10637-10642 和 Argiriadi, M. A. 等, *J. Biol. Chem.*, 2000, 275, 15265-15270)。这些抑制剂在几种体外和体内模型中能有效降低环氧化物水解(参见 Yu, Z. 等, *Circ. Res.*, 2000, 87, 992-998; Morisseau, C. 等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, 96, 8849-8854; 和 Newman, J. W. 等, *Environ. Health Perspect.*, 2001, 109, 61-66)。尽管这些抑制剂具有高活性,仍需要具有活性相似或提高,溶解性和药物动力学特性能改进以有利于配制和递送的化合物。

[0012] 令人惊奇的是,本发明提供这种化合物及它们的应用和含有它们的组合物。

[0013] 发明简述

[0014] 一方面,本发明提供抑制可溶性环氧化物水解酶的方法,包括使可溶性环氧化物水解酶与抑制用量的下式所示化合物及其药学上可接受的盐接触:

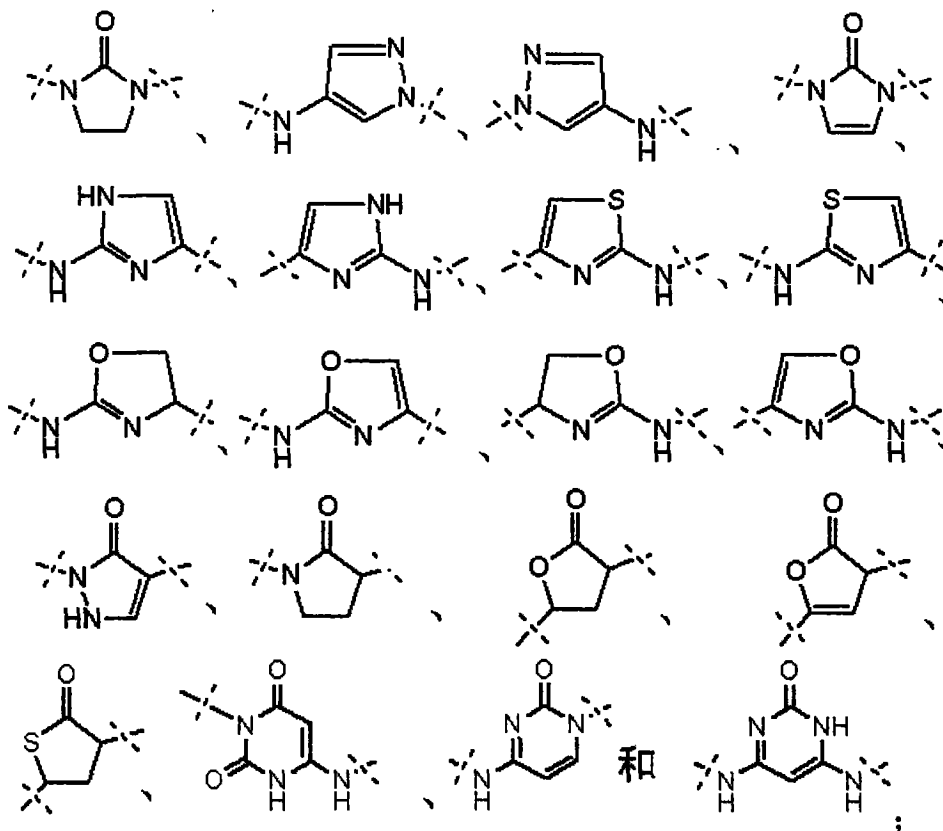
[0015]



[0016] 式中符号 R^1 是选自下组的成员:取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基烷基、取代或未取代的环烷基杂烷基、取代或未取代的芳基烷基、取代或未取代的芳基杂烷基、取代或未取代的 C_5-C_{12} 环烷基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基和其组合,其中所述环烷基部分是单环或多环的; P^1 是选自下组的第一药效团: $-OC(O)O-$ 、 $-OC(O)CH_2-$ 、 $CH_2C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-NHC(NH)NH-$ 、 $-NHC(NH)CH_2-$ 、 $-CH_2C(NH)NH-$ 、 $-NHC(NH)-$ 、 $-C(NH)NH-$ 、 $-NHC(O)NH-$ 、 $-OC(O)NH-$ 、 $-NHC(O)O-$ 、 $-NHC(S)$

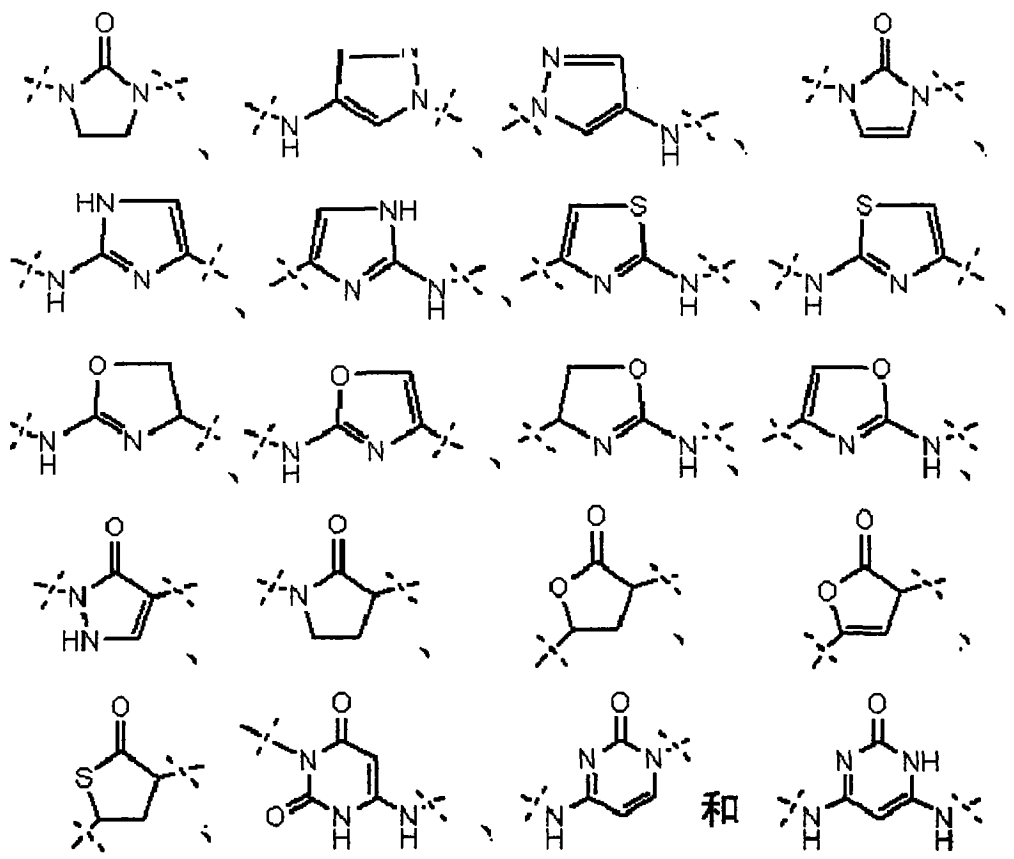
NH-、-NHC(S)CH₂-、CH₂C(S)NH-、-SC(O)CH₂-、-CH₂C(O)S-、-SC(NH)CH₂-、-CH₂C(NH)S-、-N=C
=N-、-CH₂C(O)NH-、-NHC(O)CH₂-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、

[0017]



[0018] P² 是选自下组的第二药效团：-NH-、-OC(O)O-、-C(O)-、-CH(OH)-、-O(CH₂CH₂O)_q-、-C(O)O-、-OC(O)-、-NHC(NH)NH-、-NHC(NH)CH₂-、-CH₂C(NH)NH-、-NHC(O)NH-、-OC(O)NH-、-NHC(O)O-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、-NHC(S)NH-、-NHC(S)CH₂-、CH₂C(S)NH-、-SC(O)CH₂-、-CH₂C(O)S-、-SC(NH)CH₂-、-CH₂C(NH)S-、-N=C=N-、

[0019]



[0020] P^3 是选自下组的第三药效团： C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_1-C_6 卤代烷基、芳基、杂芳基、杂环基、 $-O(CH_2CH_2O)_q-R^2$ 、 $-OR^2$ 、 $-C(O)NHR^2$ 、 $-C(O)NHS(O)_2R^2$ 、 $-NHS(O)_2R^2$ 、 $-OC_2-C_4$ 烷基 $-C(O)OR^2$ 、 $-C(O)R^2$ 、 $-C(O)OR^2$ 和羧酸类似物，其中 R^2 是选自下组的成员：氢、取代或未取代的 C_1-C_4 烷基、取代或未取代的 C_3-C_6 环烷基、取代或未取代的杂环基、取代或未取代的芳基和取代或未取代的芳基 C_1-C_4 烷基； L^1 是选自下组的第一连接基团 (linker)：取代或未取代的 C_1-C_6 亚烷基、取代或未取代的 C_3-C_6 亚环烷基 (cycloalkylene)、取代或未取代的亚芳基和取代或未取代的杂亚芳基 (heteroarylene)； L^2 是选自下组的第二连接基团：取代或未取代的 C_1-C_{12} 亚烷基、取代或未取代的 C_3-C_6 亚环烷基、取代或未取代的亚芳基、取代或未取代的杂亚芳基；氨基酸、二肽和二肽类似物；和它们的组合；或者当 m 是 0 时， L^2 选自 H 或 CH_3 。在上式中，下标 n 和 m 各自独立是 0 或 1， n 或 m 中至少一个是 1，下标 q 是 0-6。当 n 是 0 时， L^1 和 L^2 是组合的。当 m 是 0 时， L^2 可以是 H。

[0021] 再看连接基团，标记 L^1 表示第一连接基团，其可以是取代或未取代的 C_1-C_6 亚烷基、 C_3-C_6 亚环烷基或亚芳基或杂亚芳基；标记 L^2 表示第二连接基团，其可以选自取代或未取代的 C_1-C_{12} 亚烷基、取代或未取代的亚芳基、氨基酸、二肽、二肽类似物和它们的组合；或者当 m 是 0 时， L^2 是 H。

[0022] 在一相关方面，本发明提供治疗受可溶性环氧化物水解酶调节的疾病的方法，该方法包括给予需要这种治疗的对象有效量的选自以上式 (I) 的化学式所示的化合物。

[0023] 在另一方面，本发明提供减轻对象的肾脏衰退的方法，该方法包括给予对象有效量的以上式 (I) 所示的化合物。

[0024] 在一相关方面，本发明提供抑制对象的肾病进展的方法，该方法包括给予对象有效量的以上式 (I) 所示的化合物。

[0025] 在另一方面,本发明提供降低对象的血压的方法,该方法包括给予对象有效量的以上式 (I) 所示的化合物。

[0026] 在一相关方面,本发明提供抑制对象的血管平滑肌细胞增殖的方法,该方法包括给予对象有效量的以上式 (I) 所示的化合物。

[0027] 在另一方面,本发明提供抑制对象的阻塞性肺病、间质性肺病或哮喘的方法,该方法包括给予对象有效量的以上式 (I) 所示的化合物。阻塞性肺病可以是,例如慢性阻塞性肺病 (“COPD”)、肺气肿或慢性支气管炎。间质性肺病可以是,例如特发性肺纤维变性或与职业性粉尘接触有关的疾病。

[0028] 在还有另一方面,本发明提供以上式 (I) 所示化合物以及含有一种或多种所述化合物的药物组合物。

[0029] 附图简述

[0030] 图 1 提供了只具有第一药效团:1-金刚烷基 (adamantyl)-3-环己基脲 (192)、1-金刚烷基-3-十二烷基脲 (686) 的已知 sEH 抑制剂的结构。

[0031] 图 2 提供了定义 sEH 抑制剂第一、第二和第三药效团的结构图。所用的术语指三种药效团和两种取代基 (R 和 R' 基团)。位于 R' 区域的第二和第三药效团距第一药效团以直线显示。第二药效团通常由极性羰基或极性醚基团构成。当第二药效团是羰基时,其位于第一药效团的羰基约 $7.5 \pm 1 \text{ \AA}$ 处,该羰基的两侧 (X 和 Y) 是 CH_2 、O 或 NH。当第二药效团是醚基团时,其最好离第一药效团的羰基再隔一个碳单位。第三药效团也是离第一药效团的羰基约 11 个碳单位 ($17 \pm 1 \text{ \AA}$) 的极性基团,其中 Z 基团是 OH 或取代的胺或醇或杂环或模拟末端酯或酸的非环结构。

[0032] 图 3 提供了能与抑制剂 1-环己基-3-十二烷基脲共结晶的小鼠 sEH 底物结合袋的疏水性图。阴影梯度表明疏水性程度。在该槽 (channel) 的“顶”侧观察到一系列亲水性残基,而该槽的“底”侧是高疏水性,除了催化性天冬氨酸 (Asp^{333}) 外。此结构分析表明在可溶性环氧化物水解酶的底物结合袋中观察到许多可能的氢键位点,这些位点主要位于相对于 Asp^{333} (与底物反应或与第一药效团结合的催化性亲核基团) 的表面。

[0033] 图 4 提供了哺乳动物可溶性环氧化物水解酶蛋白序列比对 (残基 1-340)。

[0034] 图 5 提供了哺乳动物可溶性环氧化物水解酶蛋白序列比对 (残基 341-554)。

[0035] 图 6 描述了 1-金刚烷基-3-十二烷基脲 (686) 和 1-环己基-3-十二烷基脲 (297) 在大鼠肝脏微粒体中的代谢稳定性。微粒体在 NADPH 产生系统存在下与 $1 \mu\text{M}$ 的 686 或 297 培育。数据以一式三份实验的平均值 \pm SD 表示。

[0036] 图 7 描述了 686 和 687 在上述大鼠肝脏微粒体中的代谢稳定性。

[0037] 图 8 描述了 1-金刚烷基-3-十二烷基脲 (686) 在大鼠、小鼠和人肝脏组织微粒体制品中的代谢转化。鉴定到的代谢物是 Ω 羟基 (686-M1)、 Ω 醛 (686-M2)、 Ω 酸 (687) 和单羟基金刚烷基 Ω 羟基化合物的混合物 (686-M3)。

[0038] 图 9 提供了显示碰撞诱导 1-金刚烷基-3-十二烷基脲 (686) 和 3-十二烷酸类似物 (687) 解离的质谱图,提示这些化合物最终可能进入 β 氧化而产生链缩短的抑制剂。

[0039] 图 10 显示了将 5mg/kg 的 687 或 800 口服给予小鼠后 687 的血液浓度与时间分布情况。该酯化合物延迟了达到最高循环剂量的时间,增加了观察到的 687 最高循环浓度。这可解释为该抑制剂的半衰期较长。

[0040] 图 11 提供了对与所述第一药效团具有直线距离的 sEH 底物结合袋中保守性氢键供体的结构评估,进一步描述了官能团距离对与哺乳动物可溶性环氧化物水解酶相互作用的影响。

[0041] 图 12 描述了相对底物转化 (turnover)/ 相对抑制剂效力是末端羧基与底物环氧化物或抑制剂 3- 位氮距离的函数。

[0042] 图 13 是显示在有或没有 687 存在下用血管紧张肽 II 治疗的大鼠中尿类十八烷酸 (octadecanoid) (A) 和尿类二十烷酸 (B) 水平的直方图。

[0043] 图 14 显示了将 0.1-1.0mg/kg 的 950 一次口服给予 70kg 大鼠后,950 的血液浓度与时间分布情况。存在的聚醚第二药效团提高了 950 观察到的最高循环浓度。这可解释为该抑制剂的半衰期较长。

[0044] 图 15 提供了用于药物动力学研究的样品制备方法。将 5 μ l 全血样品在特定时间点加入毛细管,提取各样品,作 LC/MS-MS 分析。

[0045] 图 16 显示了化合物 950 的物理特性 / 参数。

[0046] 图 17 显示了 950 在 (A) 人肝脏微粒体 (无 NADPH)、含 (B)NADPH 的 S9 组分和 (C) 含 NADPH 的肝脏微粒体中的体外代谢情况。950 代谢研究均利用大鼠和人微粒体。羟基代谢物是主要的代谢物。

[0047] 发明详述

[0048] 缩写和定义

[0049] “顺式 - 环氧二十烷三烯酸”(“EET”)是细胞色素 P450 环氧合酶 (epoxygenase) 合成的生物介质。

[0050] “环氧化物水解酶”(“EH”;EC 3.3.2.3)是 α / β 水解酶折叠家族中能将水加入称为环氧化物的 3 元环醚的酶。

[0051] “可溶性环氧化物水解酶”(“sEH”)是存在于内皮、平滑肌和其它细胞类型中能将 EET 转变为称作二羟基二十烷三烯酸 (“DHET”)的二羟基衍生物的酶。小鼠 sEH 的克隆和序列见 Grant 等, J. Biol. Chem. , 268 (23) :17628-17633, (1993)。人 sEH 序列的克隆、序列和登录号见 Beetham 等, Arch. Biochem. Biophys. , 305 (1) :197-201, (1993)。人 sEH 的氨基酸序列也见美国专利号 5, 445, 956 的 SEQ ID NO :2 ;编码人 sEH 的核酸序列见该专利的 SEQ ID NO :1 的核苷酸 42-1703。此基因的演变和术语见 Beetham 等, DNA Cell Biol. , 14 (1) : 61-71, (1995)。可溶性环氧化物水解酶代表了啮齿类和人之间有 90% 以上同源性的一种高度保守的基因产物 (Arand 等, FEBS Lett. , 338 :251-256, (1994))。

[0052] 术语“治疗”、“治疗的”和“治疗方法”指缓解或消除疾病或其伴随症状的任何方法。

[0053] 术语“治疗有效量”指所给予化合物的用量足以防止或降低所治疗疾病、情况或病症的一种或多种症状的发展。

[0054] 术语“调节”指某化合物提高或降低相关活性 (例如,可溶性环氧化物水解酶) 的功能或活性的能力。本文所用各种形式的术语“调节”包括 sEH 相关活性的拮抗剂和部分拮抗剂。sEH 的抑制剂是,例如能结合而部分或完全阻断该酶活性的化合物。

[0055] 本文所用的术语“化合物”不仅包括所述的分子本身,也包括其药学上可接受的药学活性衍生物,包括但不限于盐、药物前体偶联物 (例如酯和酰胺)、代谢物等。

[0056] 本文所用的术语“组合物”包括含有所述量的所述成分的产物,以及从所述量的所述成分组合直接或间接获得的任何产物。“药学上可接受的”表示载体、稀释剂或赋形剂必须与该制剂的其它成分相容,并对其受者无害。

[0057] 本文定义的“对象”包括动物,例如哺乳动物,包括但不限于:灵长类(如,人)、母牛、绵羊、山羊、马、狗、猫、家兔、大鼠、小鼠等。在一些实施方式中,该对象是人。

[0058] 本文所用的术语“sEH介导的疾病或病症”等指特征为sEH活性低于或高于正常的疾病或病症。sEH介导的疾病或病症是通过调节sEH而能对潜在的病症或疾病产生一定作用(例如,sEH抑制剂或拮抗剂能导致至少一些患者的健康状况有一定改善)的疾病或病症。

[0059] “实质”指某器官能与相关结缔组织或支持组织相区别的组织特征。

[0060] “慢性阻塞性肺病”或“COPD”有时也称为“慢性阻塞性气道疾病”、“慢性阻塞性肺疾病”和“慢性气道疾病”。COPD通常定义成特征为最高呼气流速降低和肺部强迫排空减慢的疾病。认为COPD包括两种相关疾病,肺气肿和慢性支气管炎。普通职业医师可用该领域公认的技术,例如患者用力肺活量(forced vitalcapacity) (“FVC”),即最大吸气后强迫排出空气的最大体积来诊断COPD。在普通职业医师的诊疗室中,通常用肺活量计通过6秒最大呼气来估计FVC。COPD、肺气肿和慢性支气管炎的定义、诊断和治疗是本领域熟知的,详细讨论见,例如Honig和Ingram,刊于Harrison's Principles of Internal Medicine(《哈里森内科医学原理》), (Fauci等编,),第14版,1998,McGraw-Hill,纽约,第1451-1460页,(下文称为《哈里森内科医学原理》)。

[0061] “肺气肿”是特征为末端支气管的空间远端永久破坏性扩张但没有明显纤维化的肺病。

[0062] “慢性支气管炎”是特征为每月持续大多数天数、每年持续三个月、持续两年的慢性支气管分泌性肺疾病。

[0063] 如其名称所暗示的,“阻塞性肺病”和“阻塞性肺疾病”指与局限性疾病相对应的阻塞性疾病。这些疾病具体包括COPD、支气管哮喘和小气道疾病。

[0064] “小气道疾病”。明显有少数患者的气道阻塞是仅仅或主要涉及小气道。小气道定义为直径小于2mm的气道,对应的有小软骨支气管、末端细支气管和呼吸细支气管。小气道疾病(SAD)代表了炎症和纤维化改变导致气道阻力增加的腔内阻塞。这种阻塞可以是暂时或永久的。

[0065] “间质性肺病(ILD)”是涉及肺泡壁、肺泡周围(perialveolar)组织和毗邻支持结构的一组疾病。如American Lung Association(美国肺病协会)网站所讨论的,肺气囊之间的组织是间质组织,该组织在疾病中受纤维化影响。患该疾病的人因肺组织僵硬而吸气困难,但与患阻塞性肺病的人相反,没有呼气困难。间质性肺病的定义、诊断和治疗是本领域熟知的,详细讨论见,例如Reynolds,H. Y.,刊于Harrison's Principles of Internal Medicine(《哈里森内科医学原理》),同上,第1460-1466页。Reynolds注意到,尽管ILD有各种诱因,但是肺组织的免疫病理学反应有限,其ILD具有共有特征。

[0066] “特发性肺纤维变性”或“IPF”认为是原型ILD。虽然因其病因未知而称为特发性,Reynolds(同上)注意到该术语指意义明确的临床疾病。

[0067] “支气管肺泡灌洗”或“BAL”是能取出下呼吸道中的细胞并检查这些细胞的一种试

验,其可用于人肺部疾病,例如 IPF 的诊断方法。在人患者中,在支气管镜检期间通常进行该检验。

[0068] 本文所用的术语“烷基”指可以是直链或支链的饱和烃基团(例如,乙基、异丙基、叔戊基或 2,5-二甲基己基)。此定义适用于该术语单独使用或用作复合术语,例如“芳烷基”、“烷基氨基”和类似术语的一部分。在一些实施方式中,烷基是含 1-24 个碳原子的基团。在本说明书和权利要求书中所有数值范围包括它们的上下限。低级烷基指具有 1-4 个碳原子的烷基。此外,烷基和杂烷基可在该烷基和杂烷基上由氢原子占据的任何位置与其它部分相连(例如,2-戊基、2-甲基戊-1-基和 2-丙氧基)。二价烷基可称为“亚烷基”,二价杂烷基可称为“杂亚烷基(heteroalkylene)”,例如在本发明中用作连接基团的基团。烷基、亚烷基和杂烷基也可任选用卤原子或其它基团,例如氧代、氰基、硝基、烷基、烷基氨基、羧基、羟基、烷氧基、芳氧基等取代。

[0069] 术语“环烷基”和“环烯基(cycloalkenyl)”指饱和烃环,包括双环和多环。类似地,用杂原子(例如, N、O 或 S)取代碳环原子的环烷基和环烯基分别称为“杂环烷基”和“杂环烯基(heterocycloalkylene)”。环烷基和杂芳基的例子是,例如环己基、降冰片基(norbornyl)、金刚烷基、吗啉基、硫代吗啉基(thiomorpholinyl)、二氧代硫代吗啉基(dioxothiomorpholinyl)等。环烷基和杂环烷基部分也可任选用卤原子或其它基团,例如硝基、烷基、烷基氨基、羧基、烷氧基、芳氧基等取代。在一些实施方式中,环烷基和环烯基部分是在环中具有 3-12 个碳原子的基团(例如,环己基、环辛基、降冰片基、金刚烷基等)。在一些实施方式中,杂环烷基和杂环烯基部分是在环中具有 1-3 个杂原子的基团(例如吗啉基、硫代吗啉基、二氧代硫代吗啉基、哌啶基等)。此外,术语“(环烷基)烷基”指具有与烷基部分相连的环烷基部分的基团。例子是环己基甲基、环己基乙基和环戊基丙基。

[0070] 本文所用的术语“烯基”指含有一个或多个双键不饱和位点的上述烷基。类似地,本文所用的术语“炔基”指含有一个或多个三键不饱和位点的上述烷基。

[0071] 术语“烷氧基”指也含有能与另一烃基共价连接的氧取代基的上述烷基(例如,甲氧基、乙氧基、芳氧基和叔丁氧基)。

[0072] 术语“芳基”指芳族碳环取代基,其可以是单环或稠合在一起、共价相连或经共有基团,例如亚乙基或亚甲基部分连接的多环。类似地,具有取代碳环原子的杂原子(例如, N、O 或 S)的芳基称为“杂芳基”。芳基和杂芳基的例子是,例如苯基、萘基、联苯基、二苯基甲基、2,2-二苯基-1-乙基、噻吩基、吡啶基和喹啉基。芳基和杂芳基部分也可任选用卤原子或其它基团,例如硝基、烷基、烷基氨基、羧基、烷氧基、苯氧基等取代。此外,芳基和杂芳基可在该芳基和杂芳基上由氢原子占据的任何位置与其它部分相连(例如,2-吡啶基、3-吡啶基和 4-吡啶基)。二价芳基是“亚芳基(arylene)”,二价杂芳基称为“杂亚芳基(heteroarylene)”,例如在本发明中用作连接基团的那些基团。

[0073] 术语“芳基烷基”、“芳基烯基”和“芳氧基烷基”指分别与烷基、烯基或和烷基相连的氧直接相连的芳基。为简明起见,作为上述复合术语的一部分,芳基也包括杂芳基。

[0074] 除非另有表述,术语“卤代”或“卤素”自身或作为另一取代基的一部分表示氟、氯、溴或碘原子。此外,诸如“卤代烷基”的术语包括单卤代烷基和多卤代烷基。例如,术语“C₁-C₆ 卤代烷基”包括三氟甲基、2,2,2-三氟乙基、4-氯丁基、3-溴丙基等。

[0075] “含有杂原子的烷基”(“杂烷基”)或“含杂原子的芳基”(“杂芳基”)中所用的术

语“杂”指其中一个或多个碳原子被除碳以外的原子,例如氮、氧、硫、磷或硅,通常是氮、氧或硫或多个非碳原子(例如磺酰胺)取代的分子、连接(部分)和取代基。类似地,术语“杂烷基”指含杂原子的烷基取代基,术语“杂环”指含杂原子的环状取代基,术语“杂芳基”和“杂芳族”分别指含杂原子的“芳基”和“芳族”取代基等。杂烷基的例子包括烷氧基芳基、烷基硫烷基(alkylsulfanyl)取代的烷基、N-烷基化的氨基烷基等。杂芳基取代基的例子包括吡咯基、吡咯烷基、吡啶基、喹啉基、咪唑基、嘧啶基、咪唑基、1,2,4-三唑基、四唑基等,含杂原子的脂环基团的例子是吡咯烷基(pyrrolidino)、吗啉代、哌嗪子基(piperazino)、哌啶子基(piperidino)等。

[0076] 术语“疏水基团”指能降低分子水溶性的基团。在一些实施方式中,疏水基团是含有至少3个碳原子的基团。

[0077] 术语“羧酸类似物”指具有能模拟羧酸残基的酸性部分的各种基团。这种基团的例子是磺酸、亚磺酸、磷酸、膦酸、次膦酸、磺酰胺,杂环部分例如是咪唑、三唑和四唑。

[0078] 术语“取代的”指用另一原子或原子团取代化合物的某原子或原子团。例如,可用一个或多个以下取代基或基团取代某个原子或原子团:卤素、氰基、硝基、烷基、烷基氨基、羟烷基、卤代烷基、羧基、羟基、烷氧基、烷氧基烷氧基、卤代烷氧基、硫代烷基(thioalkyl)、芳基、芳氧基、环烷基、环烷基烷基、芳基、任选用一个或多个,优选1-3个选自卤素、卤代烷基或烷基的取代基取代的杂芳基、芳烷基、杂芳烷基、含1-2个双键的烯基、含1-2个三键的炔基、烷(烯)(炔)基(alk(en)(yn)yl group)、卤素、氰基、羟基、卤代烷基和多卤代烷基(优选卤代低级烷基,特别是三氟甲基)、甲酰基、烷基羰基、任选用一个或多个,优选1-3个选自卤素、卤代烷基和烷基的取代基取代的芳基羰基、杂芳基羰基、羧基、烷氧基羰基、芳氧基羰基、氨基羰基、烷基氨基羰基、二烷基氨基羰基、芳基氨基羰基、二芳基氨基羰基、芳烷基氨基羰基、烷氧基、芳氧基、全氟烷氧基、烯氧基、炔氧基、芳基烷氧基、氨基烷基、烷基氨基烷基、二烷基氨基烷基、芳基氨基烷基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、芳基氨基、烷基芳基氨基、烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、叠氨基、硝基、巯基、烷硫基(alkylthio)、芳硫基、全氟烷硫基、硫氰基、异硫氰基、烷基亚硫酰基、烷基磺酰基、芳基亚硫酰基、芳基磺酰基、氨基磺酰基、烷基氨基磺酰基、二烷基氨基磺酰基和芳基氨基磺酰基。当术语“取代的”出现于可能的被取代的基团列表之前时,该术语应用于该组的每一个成员。

[0079] 术语“未取代的”指不存在某原子或某原子团被取代的天然化合物。

[0080] 概述:

[0081] 本发明源自发现进一步功能化1,3-二取代的脲(或相应的酰胺或氨基甲酸酯,也称为第一药效团)可提供具有改善物理特性的更有效sEH抑制剂。如本文所述,引入第二和/或第三药效团可提高sEH抑制剂的水溶性和口服利用度(见图2)。组合这三种药效团(参见表18的化合物)可提供水溶性提高的各种化合物。

[0082] 发现第二和第三药效团也可导致采用组合化学方法来产生具有sEH抑制活性的广谱化合物。极性药效团将该分子分为不同区域,利用常规化学方法不难以组合方式操作各区域从而设计出和证实用于治疗诸如高血压和血管炎症疾病的新颖口服可利用治疗剂。本发明制剂可治疗这种疾病,同时增加钠排泄,减轻血管和肾脏炎症、减轻雄性勃起功能障碍。如下文(参见实施例51和图13)所示,溶解性、生物利用度和药理学特性的改变导

致这些化合物改变了对实验动物的脂质调节,从而与环氧花生四烯酸衍生物的二醇产物或促炎和高血压羟基二十烷四烯酸 (hydroxyeicosatetraenoic acid) (HETE) 相比,提高了该衍生物的相对产量。由于环氧花生四烯酸是抗高血压和抗炎性的,改变其脂质比例能降低血压和减轻血管和肾脏炎症。此方法在接近晚期肾病 (ESRD) 的患者中已得到验证,在该疾病中即使用低剂量化合物 800 简单口服治疗也能以阳性方式改变调节性脂质的血清分布。这降低了收缩和舒张血压、极大降低了血尿素氮 (肾脏炎症的一种指标),极大降低了 C 反应蛋白 (血管炎症的一种常规指标) 的血清水平。

[0083] 不想受理论的束缚,参考附图 2、3、4 和 5,认为可以改变第一药效团或 R 的左侧 (图 2) 以获得如同第一药效团能获得的最佳特性,所述第一药效团包含能通过氢键与一侧的催化性天冬氨酸和另一侧的催化性酪氨酸结合的基团 (见图 3)。第一药效团的右侧从效力上可分为 4 个区段:分隔第一和第二药效团的间隔臂 (在本发明中称为 L^1)、第二药效团 (在本发明中称为 P^2) 和侧接有一间隔臂 (L^2) 的第三药效团 (P^3) 和最后的终末基团 Z (总地与第三药效团,如 P^3 一起提供)。第一和第二药效团间的间隔臂优选长 3 个原子单位,而第二药效团可以是离第一药效团的羰基约 7.5\AA ,能与酶形成氢键的例如酮、碳酸酯、酰胺、氨基甲酸酯、脲、醚 / 聚酯、酯或其它官能团。所鉴定的第三药效团由位于第一药效团约 6-11 个碳单位的极性基团构成 (见图 2)。据认为保守性天冬酰胺残基 (Asn^{471} , 参见图 4 和 5) 提供了蛋白质和位于此第三位点的极性官能团之间相互作用的位点。尽管在啮齿类中,苏氨酸 (Thr^{468}) 也位于适合于形成氢键的位置,但在人酶中残基 468 是甲硫氨酸 (图 5)。以第二药效团为例,此基团提高了 sEH 抑制剂的水溶性以及对 sEH 的特异性,能类似地提供或接受氢键的各种官能团,例如酯、酰胺、氨基甲酸酯或类似官能团有助于 (形成) 此极性基团。例如,药物化学中通常用杂环基团来模拟羰基作为氢键供体或受体。当然,可利用合适的间隔臂将第一、第二和第三药效团组合在一个分子中,从而提高活性或提供药物前体的抑制剂。

[0084] 图 11 描述了与特别提到的第一药效团具有直线距离的 sEH 底物结合袋中保守性氢键供体的结构评估。下表提供了图 4 和 5 所示残基的具体距离。

[0085]

表

[0086] 亲水性残基到结合的脲的羰基碳的直线距离

[0087]

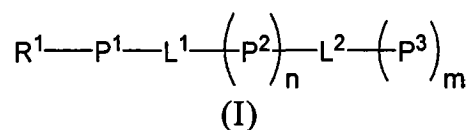
残基	与脲碳的距离	保守的
Asp ³³³	4.7Å	+
Tyr ⁴⁶⁵ O	4.5Å	+
Tyr ³⁸¹ O	4.6Å	+
Trp ³³⁴ N _环	7.1Å	+
Gln ³⁸² N	8.2Å	+
Tyr ⁴⁶⁵ N _{骨架}	10.5Å	+
Thr ⁴⁶⁸	14.9Å	人中是 Met
Asn ⁴⁷¹ N	15.2Å	+
Asn ⁴⁷¹ O	16.7Å	+

[0088] *注意图 11 的距离是从羰基氧到下一药效团直线测量。此表测量了从第一药效团的羰基碳到能与抑制剂形成氢键的氨基酸的三维距离。

[0089] 抑制可溶性环氧化物水解酶的方法

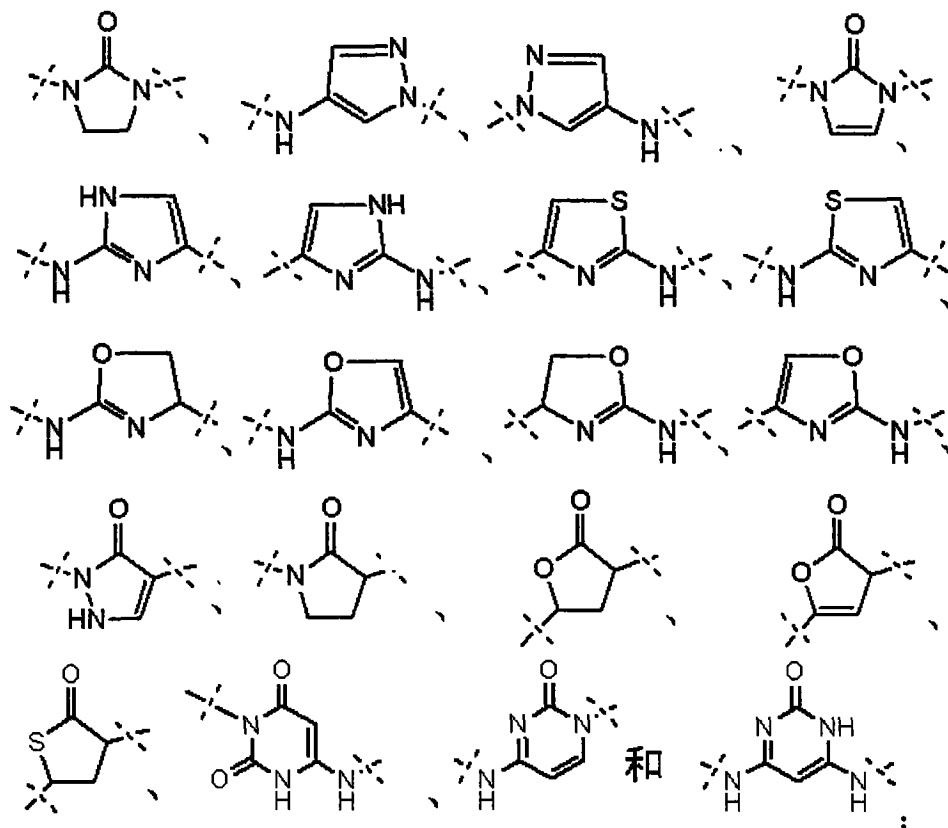
[0090] 鉴于上文,本发明一方面提供抑制可溶性环氧化物水解酶的方法,包括使可溶性环氧化物水解酶与抑制用量的下式所示化合物及其药学上可接受的盐接触:

[0091]



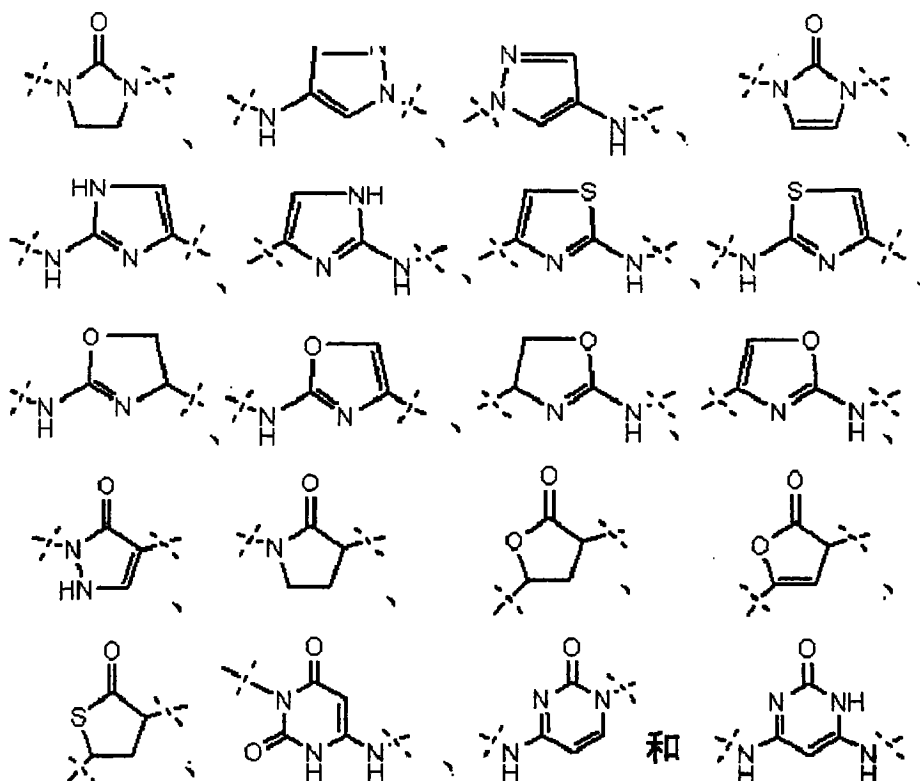
[0092] 式中符号 R^1 是选自下组的成员:取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基烷基、取代或未取代的环烷基杂烷基、取代或未取代的芳基烷基、取代或未取代的芳基杂烷基、取代或未取代的 C_5-C_{12} 环烷基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基和其组合,其中所述环烷基部分是单环或多环的; P^1 是选自下组的第一药效团: $-OC(O)O-$ 、 $-OC(O)CH_2-$ 、 $CH_2C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-NHC(NH)NH-$ 、 $-NHC(NH)CH_2-$ 、 $-CH_2C(NH)NH-$ 、 $-NHC(NH)-$ 、 $-C(NH)NH-$ 、 $-NHC(O)NH-$ 、 $-OC(O)NH-$ 、 $-NHC(O)O-$ 、 $-NHC(S)NH-$ 、 $-NHC(S)CH_2-$ 、 $CH_2C(S)NH-$ 、 $-SC(O)CH_2-$ 、 $-CH_2C(O)S-$ 、 $-SC(NH)CH_2-$ 、 $-CH_2C(NH)S-$ 、 $-N=C=N-$ 、 $-CH_2C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)CH_2-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、

[0093]



[0094] P^2 是选自下组的第二药效团: $-NH-$ 、 $-OC(O)O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-CH(OH)-$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_q-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-NHC(NH)NH-$ 、 $-NHC(NH)CH_2-$ 、 $-CH_2C(NH)NH-$ 、 $-NHC(O)NH-$ 、 $-OC(O)NH-$ 、 $-NHC(O)O-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-NHC(S)NH-$ 、 $-NHC(S)CH_2-$ 、 $CH_2C(S)NH-$ 、 $-SC(O)CH_2-$ 、 $-CH_2C(O)S-$ 、 $-SC(NH)CH_2-$ 、 $-CH_2C(NH)S-$ 、 $-N=C=N-$ 、

[0095]



[0096] P^3 是选自下组的第三药效团： C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_1 - C_6 卤代烷基、芳基、杂芳基、杂环基、 $-O(CH_2CH_2O)_q-R^2$ 、 $-OR^2$ 、 $-C(O)NHR^2$ 、 $-C(O)NHS(O)_2R^2$ 、 $-NHS(O)_2R^2$ 、 $-OC_2-C_4$ 烷基 $-C(O)OR^2$ 、 $-C(O)R^2$ 、 $-C(O)OR^2$ 和羧酸类似物，其中 R^2 是选自下组的成员：氢、取代或未取代的 C_1 - C_4 烷基、取代或未取代的 C_3 - C_8 环烷基、取代或未取代的杂环基、取代或未取代的芳基和取代或未取代的芳基 C_1 - C_4 烷基。在上式中，下标 n 和 m 各自独立是 0 或 1， n 或 m 中至少一个是 1，下标 q 是 0-6。

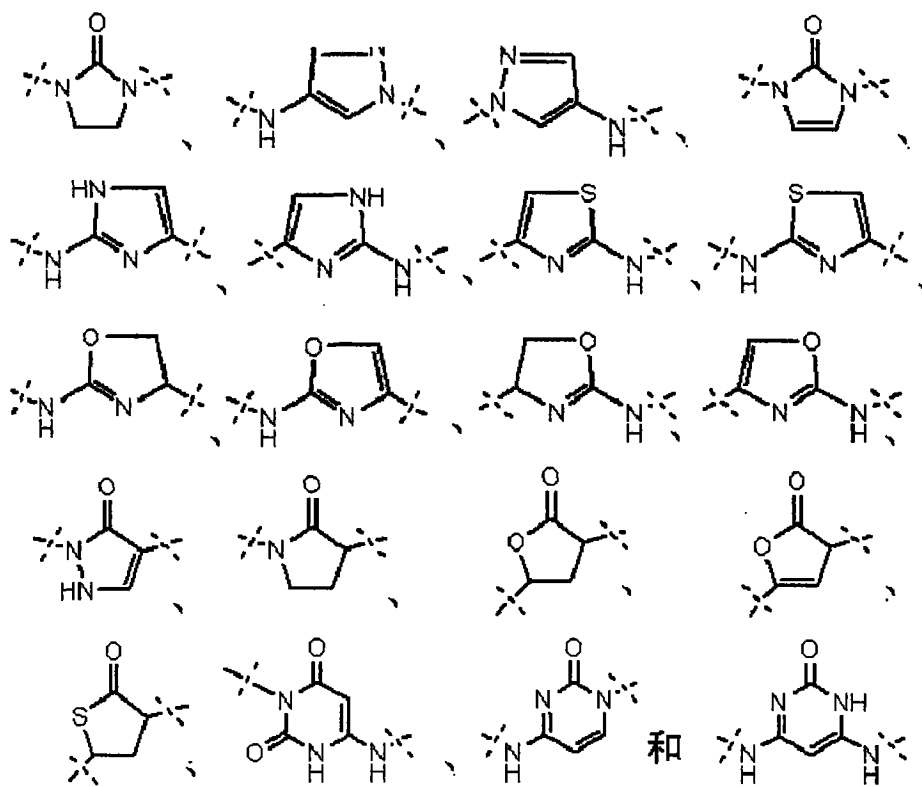
[0097] 再看连接基团，符号 L^1 表示第一连接基团，其可以选自是取代或未取代的 C_1 - C_6 亚烷基、取代或未取代的 C_3 - C_6 - 亚环烷基、取代或未取代的亚芳基和取代或未取代的杂亚芳基；符号 L^2 表示第二连接基团，其可以选自取代或未取代的 C_1 - C_{12} 亚烷基、取代或未取代的 C_3 - C_6 - 亚环烷基、取代或未取代的亚芳基、取代或未取代的杂亚芳基、氨基酸、二肽、二肽类似物和它们的组合；或者当 m 是 0 时， L^2 是 H。这些化合物优选不是 11-(3-环己基脲基)-十一烷酸、11-(3-环己基脲基)-十一烷酸甲酯、11-(3-环己基脲基)-十一烷酸酰胺、12-(3-环己基脲基)-十二烷酸和 12-(3-金刚烷-1-基-脲基)-十二烷酸。

[0098] 在第一组实施方式中， R^1 选自：取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基烷基、取代或未取代的环烷基杂烷基、取代或未取代的芳基烷基和取代或未取代的芳基杂烷基。在另一组实施方式中， R^1 选自 C_5 - C_{12} 环烷基、苯基和萘基。 R^1 更优选选自 C_6 - C_{10} 环烷基和苯基。在一些实施方式中， R^1 是环己基、环庚基、环辛基、降冰片基、金刚烷基、正金刚烷基 (noradamantyl) 和苯基，其中所述苯基未被取代或被 1-3 个选自卤素、低级烷基、低级卤代烷基、低级烷氧基、 C_3 - C_5 环烷基和氰基的取代基取代。

[0099] 再看式 (I)， P^1 优选选自 $-NHC(O)NH-$ 、 $-OC(O)NH-$ 和 $-NHC(O)O-$ 。 P^1 最优选是 $-NHC(O)NH-$ 。在其它实施方式中， P^1 选自 $-OC(O)O-$ 、 $-OC(O)CH_2-$ 、 $CH_2C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-NHC(NH)NH-$ 、 $-NHC(NH)CH_2-$ 、 $-CH_2C(NH)NH-$ 、 $-NHC(NH)-$ 、 $-C(NH)NH-$ 、 $-NHC(S)NH-$ 、 $-NHC(S)CH_2-$ 、 $CH_2C(S)NH-$ 、 $-SC(O)CH_2-$ 、 $-CH_2C(O)S-$ 、 $-SC(NH)$

CH₂-、-CH₂C(NH)S-、-N=C=N-、-NHC(O)CH₂-、

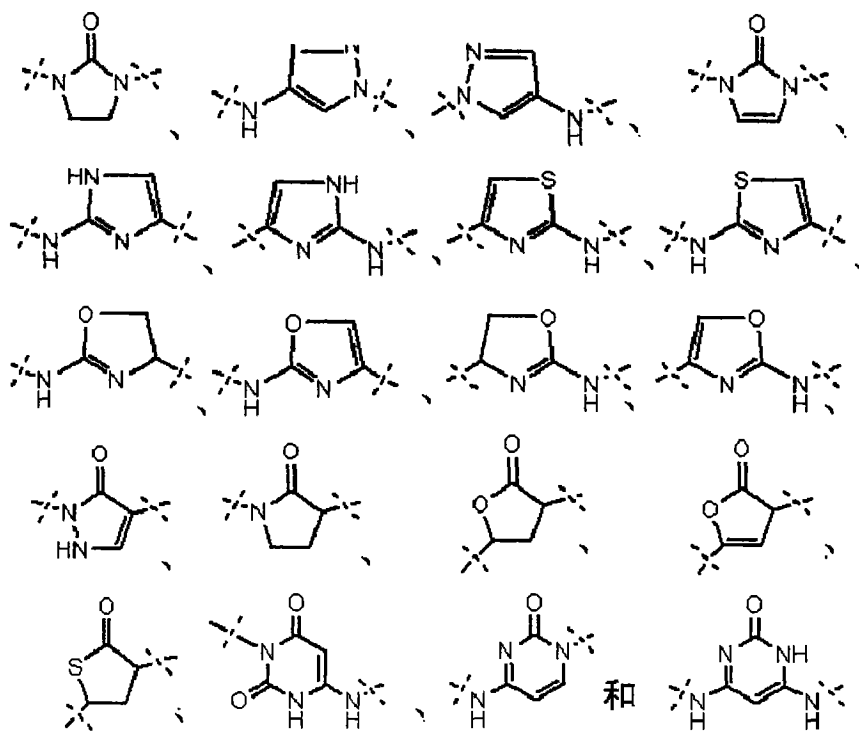
[0100]



[0101] 再看第一连接基团, L¹ 优选选自取代或未取代的 C₁-C₆ 亚烷基, 其中选择 这些取代基以赋予整个组合物所需的特性。例如, 在 R¹ 是特别疏水残基的实施方式中, L¹ 可优选具有亲水性取代基从而在一定程度上弥补非常疏水化合物通常缺乏的水溶性。结果, 在一些实施方式中, L¹ 可具有一个或两个羟基部分作为取代基, 优选只有一个羟基部分取代基。在另一实施方式中, L¹ 可以是上述长度的亚烷基, 亚芳基或亚环烷基连接基团, 其中一个或多个氢原子被氟原子取代从而赋予其它有吸引力的特性, 例如有助于化合物用于支架 (stent) 中从而能从支架缓慢释放化合物以抑制可溶性环氧化物水解酶。取代基的其它例子包括但不限于: 卤素、氰基、硝基、烷基、烷基氨基、羧基、羟基、烷氧基、芳氧基等。在其它实施方式中, L¹ 是 C₂-C₅ 亚烷基, 更优选 C₂-C₄ 亚烷基, 还要优选 C₂-C₃ 亚烷基, 最优选亚乙基连接键。当 L¹ 是 C₃-C₆ 亚环烷基时, 更优选能以 1,3 或 1,4 方式连接的环己基。在某些实施方式中, 选择 L¹ 以使第一药效团羰基部分 (P¹ 中) 和第二药效团羰基部分 (P² 中) 之间的间隔约 $7.5 \pm 2 \text{ \AA}$, 更优选约 $7.5 \pm 1 \text{ \AA}$ 。

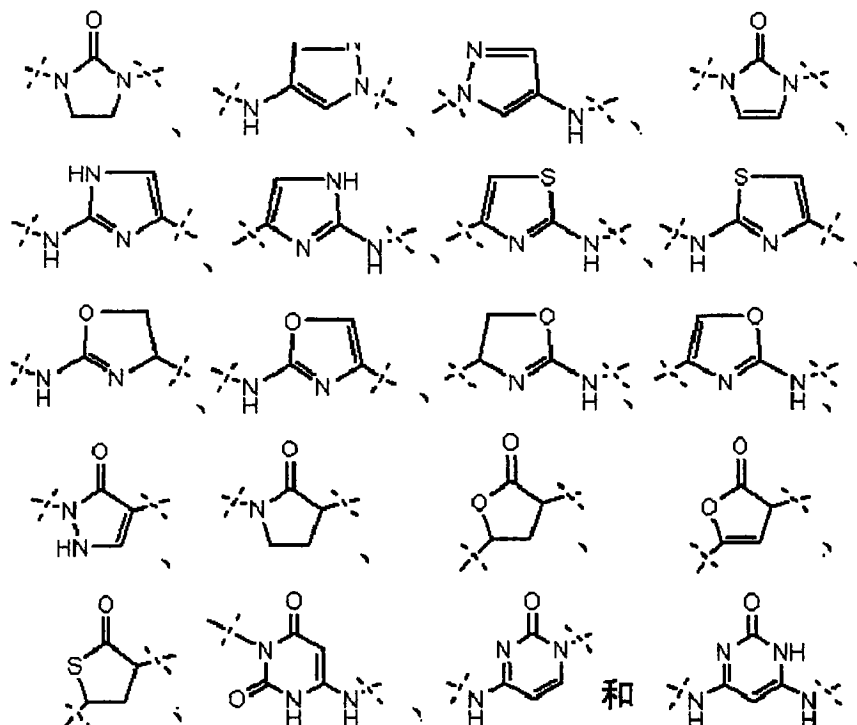
[0102] 当存在第二药效团 P² 时 (n 是 1), 其选自 -NH-、-OC(O)O-、-C(O)-、-CH(OH)-、-O(CH₂CH₂O)_q-、-C(O)O-、-OC(O)-、-NHC(NH)NH-、-NHC(NH)CH₂-、-CH₂C(NH)NH-、-NHC(O)NH-、-OC(O)NH-、-NHC(O)O-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、-NHC(S)NH-、-NHC(S)CH₂-、CH₂C(S)NH-、-SC(O)CH₂-、-CH₂C(O)S-、-SC(NH)CH₂-、-CH₂C(NH)S-、-N=C=N-

[0103]



[0104] 更优选 P^2 选自 $-C(O)-$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_q-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)O-$ 、 $-OC(O)NH-$ 和 $-C(O)NH-$ 。最优选 P^2 选自 $-C(O)-$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_q-$ 和 $-C(O)O-$ 。在另一实施方式中， P^2 选自 $-NH-$ 、 $-OC(O)O-$ 、 $-NHC(NH)NH-$ 、 $-NHC(NH)CH_2-$ 、 $-CH_2C(NH)NH-$ 、 $-NHC(S)NH-$ 、 $-NHC(S)CH_2-$ 、 $CH_2C(S)NH-$ 、 $-SC(O)CH_2-$ 、 $-CH_2C(O)S-$ 、 $-SC(NH)CH_2-$ 、 $-CH_2C(NH)S-$ 、 $-N=C=N-$ 、

[0105]



[0106] 第二连接基团, L^2 选自取代或未取代的 C_1-C_{12} 亚烷基、取代或未取代的亚芳基及其组合。对于不存在第二药效团 (P^2) 的实施方式, 连接基团 L^2 可与 L^1 组合从而在第一药效团和第二药效团之间提供优选约 ≥ 2 且 ≤ 12 个碳原子的间隔。因此, 当 L^1 是亚烷基或 1-4

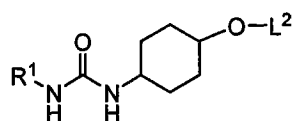
个碳原子的亚烷基连接键的一部分并且 P^2 不存在时, L^2 优选是1-8个碳原子,更优选4-8个碳原子,最优选5、6、7或8个碳原子的亚烷基连接键。对于不存在第三药效团(P^3)的实施方式,连接基团 L^2 可以是H或用氢收尾或是选自上面关于 L^1 中所述的取代基。在这种实施方式中,亚芳基无需是二价的。在一些实施方式中, L^2 可包括亚芳基,优选能以1,2或1,3或1,4方式,优选1,3或1,4方式连接的亚苯基。与 L^1 一样, L^2 的亚烷基部分可以是取代或未取代的。取代基选自上面关于 L^1 中所述的取代基。

[0107] 第三药效团 P^3 是选自下组的第三药效团: C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_1-C_6 卤代烷基、芳基、杂芳基、杂环基、 $-O(CH_2CH_2O)_q-R^2$ 、 $-OR^2$ 、 $-C(O)NHR^2$ 、 $-C(O)NHS(O)_2R^2$ 、 $-NHS(O)_2R^2$ 、 $-OC_2-C_4$ 烷基、 $-C(O)OR^2$ 、 $-C(O)R^2$ 、 $-C(O)OR^2$ 和羧酸类似物,其中 R^2 是选自氢、取代或未取代的 C_1-C_4 烷基、取代或未取代的 C_3-C_8 环烷基、取代或未取代的杂环基、取代或未取代的芳基和取代或未取代的芳基 C_1-C_4 烷基。在某些实施方式中, R^2 是H、甲基、乙基、丙基、烯丙基、3-丙炔基、丁基、2-丙基、1,1-二甲基乙基、2-丁基、2-甲基-1-丙基、金刚烷基-甲基、苄基、2-氯代苄基和萘基甲基。在一组实施方式中, P^3 是 $-C(O)NHR^2$ 、 $-C(O)NHS(O)_2R^2$ 、 $-NHS(O)_2R^2$ 、 $-C(O)OR^2$ 和羧酸类似物,其中 R^2 选自氢、未取代的 C_1-C_4 烷基和未取代的 C_3-C_8 环烷基。 R^2 更优选是H、Me或Et。在一些实施方式中, P^3 是 $-C(O)OR^2$ 和羧酸类似物,其中 R^2 选自氢、Me或Et。在其它实施方案中, P^3 优选 C_2-C_6 烯基、杂环基、 OR^2 、 $-OC_2-C_4$ 烷基、 $-C(O)OR^2$ 和 $-C(O)R^2$,其中 R^2 选自氢、取代或未取代的 C_1-C_4 烷基、取代或未取代的 C_3-C_8 环烷基、取代或未取代的杂环基、取代或未取代的芳基和取代或未取代的芳基 C_1-C_4 烷基。

[0108] 以上提供的实施方式的某些组合代表了具体实施方式。虽然各组(实施方式)的所有组合代表了本发明其它实施方式,但具体实施方式包括其中 P^1 选自 $-NHC(O)NH-$ 、 $-OC(O)NH-$ 和 $-NHC(O)O-$; P^2 选自 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_q-$ 、 $-C(O)NH-$ 和 $-NHC(O)-$; m 是0, L^1 选自未取代的 C_1-C_6 亚烷基的那些实施方式。在另一组具体实施方式中, P^1 选自 $-NHC(O)NH-$ 、 $-OC(O)NH-$ 和 $-NHC(O)O-$; P^2 选自 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_q-$ 、 $-C(O)NH-$ 和 $-NHC(O)-$; n 和 m 各自是1; L^1 选自未取代的 C_1-C_6 亚烷基; L^2 选自取代或未取代的 C_1-C_6 亚烷基; P^3 选自 $-C(O)NHR^2$ 、 $-C(O)NHS(O)_2R^2$ 、 $-NHS(O)_2R^2$ 和 $-C(O)OR^2$,其中 R^2 选自氢、取代或未取代的 C_1-C_4 烷基、取代或未取代的 C_3-C_8 环烷基、取代或未取代的杂环基、取代或未取代的芳基和取代或未取代的芳基 C_1-C_4 烷基。其它具体实施方式中化合物如式(I)所示,其中 P^1 选自 $-NHC(O)NH-$ 、 $-OC(O)NH-$ 和 $-NHC(O)O-$; n 是0; m 是1; L^1 选自未取代的 C_1-C_6 亚烷基; L^2 选自取代或未取代的 C_1-C_6 亚烷基; P^3 选自 $-C(O)NHR^2$ 、 $-C(O)NHS(O)_2R^2$ 、 $-NHS(O)_2R^2$ 和 $-C(O)OR^2$,其中 R^2 选自氢、取代或未取代的 C_1-C_4 烷基、取代或未取代的 C_3-C_8 环烷基、取代或未取代的杂环基、取代或未取代的芳基和取代或未取代的芳基 C_1-C_4 烷基。

[0109] 在一个实施方式中,化合物如下式所示:

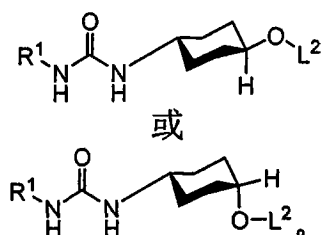
[0110]



[0111] 其中 R^1 选自任选用独立选自烷基、卤素、卤代烷基、烷氧基、硝基、卤代烷氧基、硫代烷基和苯基的1-2个取代基取代的烷基、芳基、烷基芳基、环烷基、环烷基芳基; L^2 选自任选用独立选自卤素和卤代烷基的1-2个取代基取代的亚苯基、亚甲基亚苯基、杂亚芳基。在

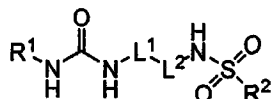
此实施方式中,化合物如下式所示:

[0112]



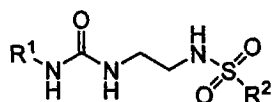
[0113] 在其它实施方式中,化合物如下式所示:

[0114]



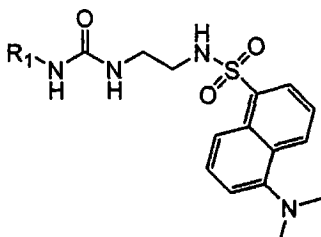
[0115] 其中 R^2 选自取代或未取代的 C_3-C_8 环烷基、取代或未取代的杂环基、取代或未取代的芳基和取代或未取代的芳基 C_1-C_4 烷基。在此实施方式中,化合物优选如下式所示:

[0116]



[0117] 其中 R^2 是取代或未取代的芳基;更优选如下式所示:

[0118]



[0119] 其中 R^1 选自任选用独立选自烷基、卤素、卤代烷基、烷氧基、硝基、卤代烷氧基、硫代烷基和苯基的 1-2 个取代基取代的烷基、芳基、烷基芳基、环烷基、环烷基芳基。

[0120] 在一个实施方式中,本发明该方面所用的化合物是下表,特别是表 5、8-10 和 18 所提供的化合物。

[0121] 在另一组实施方式中,上述式 (I) 所示化合物含有氨基酸或可以是二肽类似物的二肽组分。氨基酸残基自身或作为二肽的一部分按照常规惯例以单字母或三字母名称表示。基因编码的氨基酸的名称如下所示(氨基酸、单字母标记、三字母标记): 丙氨酸、A、Ala;精氨酸、R、Arg;天冬酰胺、N、Asn;天冬氨酸、D、Asp;半胱氨酸、C、Cys;谷氨酰胺、Q、Gln;谷氨酸、E、Glu;甘氨酸、G、Gly;组氨酸、H、His;异亮氨酸、I、Ile;亮氨酸、L、Leu;赖氨酸、K、Lys;甲硫氨酸、M、Met;苯丙氨酸、F、Phe;脯氨酸、P、Pro;丝氨酸、S、Ser;苏氨酸、T、Thr;色氨酸、W、Trp;酪氨酸、Y、Tyr;和缬氨酸、V、Val。常规遇到的非基因编码的氨基酸也可用于本发明。这些氨基酸及它们的缩写包括鸟氨酸(Orn);叔丁基甘氨酸(t-BuG);苯基甘氨酸(PhG);环己基丙氨酸(Cha);正亮氨酸(Nle);2-萘基丙氨酸(2-Nal);1-萘基丙氨酸(1-Nal);2-噻吩基苯胺(2-Thi);N-甲基异亮氨酸(N-Melle)、高精氨酸(Har)、N α -甲基精氨酸(N-MeArg)和肌氨酸(Sar)。本发明使用的所有氨基酸可以是 D- 或 L- 异构体。

[0122] 在一个实施方式中,本发明化合物中 L^2 选自取代或未取代的 C_3-C_6 亚环烷基、取代

或未取代的亚芳基、取代或未取代的杂亚芳基。在其它实施方案中， L^2 优选氨基酸或二肽。二肽优选具有直接与 P^2 相连的 Tyr、His、Lys、Phe 或 Trp 残基。

[0123] 本发明所用的其它化合物中 R^1 、 P^1 和 L^1 选自如上式 (I) 所述的组。式 (I) 所示的具体化合物中， R^1 选自 C_5 - C_{12} 环烷基和苯基。更具体地说， R^1 选自 C_6 - C_{10} 环烷基和苯基。其它实施方式中 R^1 是环己基、环庚基、环辛基、降冰片基、金刚烷基或正金刚烷基 (noradamantyl)。 P^1 优选脲 (-NHC(O)NH-) 或氨基甲酸酯 (-OC(O)NH-)，更优选脲。 L^1 优选取代或未取代的 C_2 - C_5 亚烷基，更优选 C_2 - C_4 亚烷基，还要优选亚乙基或亚丙基连接键。

[0124] 对于其中 L^2 是一个氨基酸的实施方式， L^2 优选 Ala、Arg、Asp、Cys、Glu、Gly、His、Ile、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr 和 Val。 L^2 更优选 His、Ile、Lys、Phe、Trp 和 Tyr，其中该氨基酸与 P^2 相连以提供酰胺连接键和末端羧酸基团。当然，本领域技术人员知道这些氨基酸是指它们相应的甲酯或乙酯以及它们的羧酰胺衍生物（例如，末端 -C(O)NH₂）。最优选表 11 提供的化合物。

[0125] 对于其中 L^1 是二肽的实施方式， P^2 优选与 Tyr、His、Lys、Phe 或 Trp 残基相连，其余的氨基酸选自基因编码的氨基酸，它们的 D- 异构体或类似物（例如，羟酸，如乳酸等）。 L^2 还要优选 TyrAla、TyrArg、TyrAsp、TyrGly、TyrIle、TyrLeu、TyrLys、TyrMet、TyrPhe、TyrPro、TyrSer、TyrThr、TyrTrp、TyrTyr 和 TyrVal。 L^2 更优选 TyrArg、TyrAsp、TyrMet、TyrPhe、TyrSer、TyrTrp、TyrTyr 和 TyrVal，其中 Tyr 氨基酸与 P^2 相连以提供酰胺连接键。如上所述，这些二肽也指它们相应的甲酯或乙酯以及它们的羧酰胺衍生物（例如，末端 -C(O)NH₂）。最优选表 12 提供的化合物。

[0126] 监测可溶性环氧化物水解酶活性的试验：

[0127] 此外，本发明提供用于监测可溶性环氧化物水解酶活性（特别是通过给予一种或多种上述化合物调节活性）的各种试验和相关方法。

[0128] 在一组实施方式中，本发明提供减少因可溶性环氧化物水解酶的作用而产生的生物学活性二醇的方法，所述方法包括使可溶性环氧化物水解酶与足够量的能抑制可溶性环氧化物水解酶活性并减少生物学活性二醇形成的上式 (I) 所示化合物接触。

[0129] 在另一组实施方式中，本发明提供在可溶性环氧化物水解酶存在下稳定生物学活性环氧化物的方法，所述方法包括使可溶性环氧化物水解酶与足够量的能抑制可溶性环氧化物水解酶活性并稳定生物学活性环氧化物的上式 (I) 所示化合物接触。

[0130] 在各组实施方式中，所述方法可作为体外试验的一部分进行，或者可通过监测相应的生物学活性环氧化物或二醇的血液滴度在体内进行。

[0131] 一些脂肪酸的环氧化物和二醇是生物学至关重要的化学介质，参与几种生物学过程。最强的生物学数据支持的氧脂素作用是血管内皮和血管平滑肌之间的化学介质。因此，环氧脂质是抗炎性和抗高血压的。此外，认为这些脂质可通过 β 氧化以及环氧化物水合而代谢。认为可溶性环氧化物水解酶是参与这些氧脂素水解代谢的主要酶。式 (I) 所示化合物能在体外和体内抑制环氧化物水解酶并稳定环氧脂质。该活性降低了四个独立的啮齿类模型的高血压。此外，这些抑制剂显示能减轻高血压模型相关或不依赖性的肾脏炎症。

[0132] 更具体地说，本发明提供同时监测花生四烯酸和亚油酸级联反应中各种脂质来寻址 (address) 该系统的生物学（性质）的方法。可利用 GLC-MS 系统或 LC-MS 方法在一次注射中以定量方式监测 740 种以上的分析物。分析物包括花生四烯酸环氧化物 (EET) 的区域

异构体、二醇 (DHET) 以及包括 HETE 在内的其它 P450 产物。也可监测花生四烯酸和亚油酸系列中的环加氧酶、脂氧合酶和过氧化物酶途径的特征产物。这些方法特别适用于某些疾病状态的预测。可监测给予环氧化物水解酶抑制剂后哺乳动物中的氧脂素。EH 抑制剂增加环氧脂质浓度通常要消耗体液和组织中的二醇浓度。

[0133] 用于本发明该方面的其它化合物是式 (I) 所示抑制剂, 其中第一药效团与第三药效团隔开的距离约为天然底物中末端羧酸与环氧化物官能团之间的距离。

[0134] 治疗受可溶性环氧化物水解酶调节的疾病的方法:

[0135] 在另一方面, 本发明提供治疗疾病, 特别是治疗受可溶性环氧化物水解酶 (sEH) 调节的那些疾病的方法。这些方法通常包括给予需要这种治疗的对象有效量的上式 (I) 所示化合物。给药的剂量、频率和时间在很大程度上取决于所选择的治疗剂、所治疗病症的性质、对象的状况 (包括年龄、体重和存在其它病症或疾病)、所给予的制剂和主治医师的判断。本发明组合物和化合物及其药学上可接受的盐优选经口服、胃肠外、皮下、肌肉内、静脉内或局部途径给予。所给予化合物的剂量范围一般是约 2mg 到约 2,000mg/天, 虽然依照 (如上所述) 疾病靶标、患者和给药途径而必然有所不同。口服给药的剂量范围是约 0.05mg/kg- 约 20mg/kg, 更优选约 0.05mg/kg- 约 2mg/kg, 最优选约 0.05mg/kg- 约 0.2mg/kg 体重/天。局部给药所用的剂量当然取决于所治疗区域的大小。

[0136] 可溶性环氧化物水解酶 (“sEH”) 的抑制剂已显示能降低高血压。参见, 例如美国专利号 6,351,506。这类抑制剂可用于控制具有不良高血压的人, 包括糖尿病患者的血压。

[0137] 在一些实施方式中, 将式 (I) 所示化合物给予需要治疗以下疾病的对象: 高血压, 特别是肾脏、肝脏或肺高血压; 炎症, 特别是肾炎、血管炎和肺炎; 成人呼吸窘迫综合征, 糖尿病并发症, 晚期肾病, 雷诺综合征和关节炎。

[0138] 抑制肾脏恶化 (肾病) 和降低血压的方法:

[0139] 在本发明的另一方面, 如蛋白尿测定显示的, 本发明化合物能降低对肾脏的破坏, 特别是降低对糖尿病对肾脏的破坏。本发明化合物能减轻糖尿病患者, 即使不具有高血压的个体的肾脏恶化 (肾病)。可治疗性给药的病症如上所述。

[0140] 顺式-环氧二十烷三烯酸 (“EET”) 可与本发明化合物联用以进一步减轻肾脏损伤。EET 是花生四烯酸的环氧化物, 已知是血压的效应物、炎症调节剂和血管渗透调节剂。sEH 水解该环氧化物降低了此活性。抑制 sEH 能升高 EET 水平, 因为降低了 EET 水解为 DHET 的速率。不想受理论的束缚, 据信 EET 水平升高可通过微血管改变而干扰对肾细胞的破坏和糖尿病高血糖的其它病理学作用。因此, 据信升高肾脏中的 EET 水平能保护肾脏避免从微白蛋白尿发展为晚期肾病。

[0141] EET 是本领域熟知的。按优先顺序可用于本发明的 EET 包括: 14,15-EET、8,9-EET 和 11,12-EET、和 5,6EET。EET 优选以更稳定的甲酯给予。技术人员应知道 EET 是区域异构体, 例如 8S,9R- 和 14R,15S-EET。8,9-EET、11,12-EET 和 14R,15S-EET 可商业购自, 例如 Sigma-Aldrich (目录号分别是 E5516、E5641 和 E5766, Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO)。

[0142] 内皮产生的 EET 具有抗高血压特性, EET 11,12-EET 和 14,15-EET 可以是内皮衍生的超极化因子 (EDHF)。此外, EET, 例如 11,12-EET 具有血纤蛋白原溶解 (profibrinolytic) 作用、抗炎作用并能抑制平滑肌细胞增殖和迁移。在本发明内容中, 据信在肾脏和心血管疾

病状态期间这些有利特性可保护血管和器官。

[0143] 目前相信能充分抑制 sEH 活性来提高 EET 水平,其本身能提高给予 sEH 抑制剂的作用。这使得在本发明方法中可能联用 EET 与一种或多种 sEH 抑制剂来减轻肾病。还允许联用 EET 与一种或多种 sEH 抑制剂来降低高血压或炎症或二者。因此,可制备能与一种或多种 sEH 抑制剂联合给予的 EET 药物,或者含有一种或多种 sEH 抑制剂的药物可任选含有一种或多种 EET。

[0144] EET 可与 sEH 抑制剂同时给予,或在 sEH 抑制剂给予后给予。应该知道,与所有药物一样,抑制剂的半衰期受到它们在体内代谢或从体内排出速率的限制,抑制剂在给予后的一段时期内其含量足以(维持)有效。因此,如果在给予抑制剂后给予 EET,理想的是在抑制剂的含量能有效延迟 EET 水解期间给予 EET。一般在给予 sEH 抑制剂后的 48 小时内给予一种或多种 EET。优选在给予 sEH 抑制剂后的 24 小时内、甚至更优选在 12 小时内给予一种或多种 EET。按照理想的顺序,一种或多种 EET 可在给予抑制剂后 10、8、6、4、2 小时、1 小时或 0.5 小时内给予。一种或多种 EET 最优选与抑制剂同时给予。

[0145] 在一些实施方式中,EET、本发明化合物或二者用能使它们随时间推移而释放而具有更长作用时间的材料提供。缓释包衣是药学领域熟知的,具体缓释包衣的选择对于实施本发明不是至关重要的。

[0146] EET 易在酸性条件下降解。因此,如果口服给予 EET,需要防止它们在胃中降解。可方便地包衣口服给予的 EET 以使它们能通过胃部的酸性环境进入小肠的碱性环境。这种包衣是本领域熟知的。例如,用所谓的“肠衣”包衣的阿司匹林可随处购得。通过胃部时可利用这种肠包衣保护 EET。示范性的包衣见实施例。

[0147] 虽然 EET 的抗高血压作用已知,但未给予 EET 来治疗高血压,因为认为内源性 sEH 会快速水解 EET 致使它们不能发挥任何有效作用。令人惊讶的是,在本发明基础性研究期间发现外源性给予 sEH 抑制剂成功地充分抑制了 sEH,从而能通过给予外源性 EET 来进一步提高 EET 水平。这些发现奠定了上述共同给予 sEH 抑制剂和 EET 来抑制肾病发生和进展的基础。这是增强治疗作用中的重大改进。虽然预计内源性 EET 水平会随 sEH 抑制剂作用所致 sEH 活性受抑制而升高,从而导致症状或病理至少一些改进,但是不能在所有病例中充分导致完全抑制肾脏破坏的进展或达到所需的程度。这在疾病或其它因素致使内源性 EET 浓度降低至健康个体中正常浓度以下时尤其正确。因此,预计联合给予外源性 EET 和 sEH 抑制剂是有益的能提高 sEH 抑制剂减轻糖尿病性肾病进展的作用。

[0148] 本发明可用于与肾脏或肾功能的进行性损伤有关的任何和所有形式的糖尿病。糖尿病的慢性高血糖与各种器官,特别是眼睛、肾脏、神经、心脏和血管的长期损伤、功能失调和衰竭有关。糖尿病的长期并发症包括可能丧失视力的视网膜病、导致肾脏衰竭的肾病、具有足溃疡、截肢和夏科式(Charcot) 关节风险的周围神经病。

[0149] 此外,患有代谢综合征的人具有发展为 2 型糖尿病的高风险,因此其患糖尿病性肾病的风险高于普通人。因此,需要监测这种个体的微白蛋白尿并给予 sEH 抑制剂和任选一种或多种 EET 作为干预手段来减缓肾病发生。职业医师可等到观察到微白蛋白尿再开始这种干预。如上所述,可诊断患有代谢综合征但血压不是 130/85 或更高的人。血压为 130/85 或更高的人和血压低于 130/85 的人均可从给予 sEH 抑制剂和(任选的)一种或多种 EET 中获益来减缓对他们肾脏损伤的进展。在一些实施方式中,所述人患有代谢综合

征, 血压低于 130/85。

[0150] 血脂失调 (Dyslipidemia) 或脂质代谢紊乱是心脏疾病的另一危险因素。这种紊乱包括 LDL 胆固醇水平升高、HDL 胆固醇水平降低和甘油三酯水平升高。血清胆固醇, 特别是 LDL 胆固醇水平升高与心脏疾病风险增加有关。这种高水平也会损伤肾脏。据信, 甘油三酯水平高与肾脏损伤相关。具体地说, 200mg/dL 以上, 特别是 225mg/dL 以上的胆固醇水平提示应给予 sEH 抑制剂和 (任选的) EET。类似地, 超过 215mg/dL, 特别是 250mg/dL 或更高的甘油三酯水平表明需要给予 sEH 抑制剂和 (任选的) EET。给予本发明化合物 (加或不加 EET) 能降低患者对给予抑制素药物 (HMG-CoA 还原酶抑制剂) 的需求, 或减少所需抑制素的用量。在一些实施方式中, 本发明方法、应用和组合物的候选对象的甘油三酯水平在 215mg/dL 以上, 血压低于 130/85。在一些实施方式中, 候选对象的甘油三酯水平在 250mg/dL 以上, 血压低于 130/85。在一些实施方式中, 本发明方法、应用和组合物的候选对象的胆固醇水平在 200mg/dL 以上, 血压低于 130/85。在一些实施方式中, 候选对象的胆固醇水平在 225mg/dL 以上, 血压低于 130/85。

[0151] 抑制血管平滑肌细胞增殖的方法 :

[0152] 在其它实施方式中, 式 (I) 所示化合物能抑制血管平滑肌 (VSM) 细胞增殖而没有明显的细胞毒性, (例如, 对 VSM 细胞特异)。因为 VSM 细胞增殖是动脉粥样硬化病理生理学中的必需过程, 这些化合物适合于减缓或抑制动脉粥样硬化。这些化合物可用于具有动脉粥样硬化危险的对象, 例如患有心脏病或检验结果显示心脏血液循环降低的个体。可治疗性给药的病症如上所述。

[0153] 本发明方法特别适用于已实施了经皮干预, 例如血管成形术来重新开通变狭窄动脉的患者, 从而能降低或减缓再狭窄所致的重开通血管缩小。在一些实施方式中, 所述动脉是冠状动脉。可将本发明化合物置于支架的聚合包衣中来提供受控局部释放以减少再狭窄。可植入医疗装置, 例如支架的聚合物组合物和将药物包埋在控释聚合物中的方法是本领域已知的, 其指导见, 例如美国专利号 6, 335, 029 ; 6, 322, 847 ; 6, 299, 604 ; 6, 290, 722 ; 6, 287, 285 和 5, 637, 113。在一些实施方式中, 包衣随时间, 优选在数天、数周或数个月中释放抑制剂。选择具体聚合物或其它包衣不是本发明的关键部分。

[0154] 可利用本发明方法减缓或抑制天然和合成血管移植物的狭窄或再狭窄。如上文有关支架的描述, 合成血管移植物优选含有的材料能随时间释放本发明化合物以减缓或抑制 VSM 增殖和随后的移植物再狭窄。血液透析移植物是一具体实施方式。

[0155] 除了这些应用外, 可用本发明方法减缓或抑制患有心脏病或检验结果表明处于心脏病风险中的人的血管狭窄或再狭窄。

[0156] 在一组实施方式中, 可给予本发明化合物来减缓未患高血压的人的 VSM 细胞增殖。在另一组实施方式中, 可用本发明化合物来减缓正治疗 (但不用 sEH 抑制剂) 高血压的人的 VSM 细胞增殖。

[0157] 可用本发明化合物干预显示细胞周期调节不正常的细胞增殖。在一组重要的实施方式中, 所述细胞是癌细胞。可通过使这些细胞与本发明化合物接触来减缓或抑制它们增殖。采用本领域已知的常规试验可确定本发明的具体化合物是否能减缓或抑制任何具体类型癌症的细胞增殖。

[0158] 除了利用本发明化合物外, 可通过加入 EET 来提高 EET 水平。与单独和 EET 或本发

明化合物接触的细胞相比,同时与 EET 和本发明化合物接触的 VSM 细胞显示增殖较慢。因此,如果需要可通过加入 EET 连同本发明化合物来提高本发明化合物对 VSM 细胞(增殖)的减缓或抑制作用。例如,在支架或血管移植物的情况中,这可通过将 EET 连同本发明化合物一起包埋在包衣中而方便地实现,从而一旦将该支架或移植物置于适当位置即可释放二者。

[0159] 抑制阻塞性肺病、间质性肺病或哮喘进展的方法:

[0160] 慢性阻塞性肺病,或 COPD 包括两种病症,肺气肿和慢性支气管炎,二者与空气污染、长期接触化学物质和吸烟所致的肺损伤有关。作为一种疾病,肺气肿涉及肺泡损伤,这种损伤导致肺泡间分隔的丧失和随后气体交换可用的总表面积减少。慢性支气管炎涉及刺激支气管,导致黏蛋白过量产生,随后黏蛋白阻塞了通往肺泡的气道。虽然患有肺气肿的人不一定患有慢性支气管炎或反之亦然,患有所述病症之一的人通常也患有另一种以及其它肺病。

[0161] 可通过给予已知酶,如可溶性环氧化物水解酶或“sEH”的抑制剂来抑制或逆转 COPD、肺气肿、慢性支气管炎和其它阻塞性肺病所致的某些肺损伤。也可通过给予 EET 来提高 sEH 抑制剂的作用。该作用至少超过分别单独给予两种物质之和,实际上可能是协同作用。

[0162] 本文报道的研究显示联用 EET 与 sEH 抑制剂能减轻吸烟、胀大、职业或环境刺激所致的肺部损伤。这些发现表明共同给予 sEH 抑制剂和 EET 能抑制或减缓刺激肺的 COPD、肺气肿、慢性支气管炎或其它阻塞性肺病的发生或进展。

[0163] COPD 的动物模型和患 COPD 的人的免疫调节性淋巴细胞和嗜中性白细胞水平升高。嗜中性白细胞释放导致组织损伤的物质,如果长期不加控制则会有破坏作用。不希望受理论的束缚,据信嗜中性白细胞水平降低能减轻导致阻塞性肺病,例如 COPD、肺气肿和慢性支气管炎的组织损伤。在 COPD 的动物模型中,给予大鼠 sEH 抑制剂导致在肺中发现嗜中性白细胞数量减少。除了 sEH 抑制剂,给予 EET 也降低了嗜中性白细胞水平。有 sEH 抑制剂和 EET 存在时嗜中性白细胞水平的降低超过单独有 sEH 抑制剂存在时。

[0164] 虽然估计内源性 EET 水平因 sEH 抑制剂所致 sEH 活性抑制而升高,从而导致症状或病理至少有一些改善,但不能充分抑制所有病例的 COPD 或其它肺病的进展。这在疾病或其它因素使内源性 EET 浓度降低至健康个体中正常存在的浓度以下时尤其正确。因此,估计联合给予外源性 EET 和 sEH 抑制剂能提高 sEH 抑制剂抑制或减缓 COPD 或其它肺病进展的作用。

[0165] 除了抑制或减缓慢性阻塞性气道病症的进展外,本发明也提供减轻慢性限制性气道疾病的严重性或进展的新方法。虽然阻塞性气道疾病是由于肺实质,特别是肺泡破坏所致,但肺实质中过量胶原沉积易引发限制性疾病。这些限制性疾病通常称为“间质性肺病”或“ILD”,包括诸如特发性肺纤维变性的病症。可采用本发明方法、组合物和应用来减轻 ILD,例如特发性肺纤维变性的严重性或进展。巨噬细胞在刺激间质细胞,特别是成纤维细胞生成胶原中起着关键作用。不希望受理论的束缚,据信嗜中性白细胞参与活化巨噬细胞,在本文报道的研究中发现嗜中性白细胞水平降低证明本发明方法和应用也适用于减轻 ILD 的严重性和进展。

[0166] 在一些实施方式中,所述 ILD 是特发性肺纤维变性。在其它实施方案中,ILD 是

与职业性或环境接触有关的疾病。这种 ILD 的实例是石棉沉着病、矽肺、煤工尘肺和铍中毒 (berylliosis)。此外,据信职业性接触大量无机粉尘和有机粉尘与黏液分泌过多和呼吸疾病有关,包括水泥粉尘、焦炉排放物 (coke oven emission)、云母、岩粉、棉尘和谷物粉尘 (与这些病症相关的职业性粉尘的更全面清单见 Speizer, “Environmental Lung Diseases” (环境肺病), Harrison's Principles of Internal Medicine (《哈里森内科医学原理》), 同上, 第 1429-1436 的表格 254-1)。在其它实施方式中,所述 ILD 是肺结节病。因医学治疗的辐射 (特别是用于乳腺癌的)、和结缔组织或胶原疾病,例如类风湿性关节炎和全身性硬化症也可引发 ILD。据信,本发明方法、应用和组合物可用于这些间质性肺病。

[0167] 在另一组实施方式中,可利用本发明减轻哮喘的严重性和进展。哮喘通常导致黏蛋白过度分泌、导致部分气道阻塞。此外,刺激气道可导致造成气道阻塞的介质释放。虽然在哮喘中募集至肺的淋巴细胞和其它免疫调节细胞不同于因 COPD 或 ILD 而募集的细胞,但是估计本发明可降低免疫调节细胞,如嗜中性白细胞和嗜酸性粒细胞的流入并减轻阻塞程度。因此,估计可用 sEH 抑制剂和联合给予 sEH 抑制剂及 EET 来减轻哮喘所致气道阻塞。

[0168] 在这些疾病和病症中,据信至少一些肺损伤是因嗜中性白细胞释放的能渗透入肺的物质所致。因此,气道中存在嗜中性白细胞表明有因疾病或病症 (所致) 的持续损伤,而嗜中性白细胞数目减少表明损伤或疾病进展降低。因此,有药物存在时气道中的嗜中性白细胞数目减少表明该药物可减轻疾病或病症所致损伤并减缓疾病或病症的进一步发展。可通过,例如支气管肺泡灌洗测定肺中存在的嗜中性白细胞数目。

[0169] 减轻中风损伤的预防性和治疗性方法

[0170] 联合 sEH 抑制剂给予的可溶性环氧化物水解酶 (“sEH”) 抑制剂和 EET 已显示能减轻中风所致的大脑损伤。根据这些结果,我们预计在局部缺血性中风之前服用 sEH 抑制剂将能减小大脑损伤的面积,可能降低随后的损伤程度。损伤面积减小也应与中风影响的较快恢复有关。

[0171] 尽管不同亚型中风的病理生理学不同,但它们均能导致大脑损伤。出血性 中风与局部缺血性中风的区别在于前者的损伤在很大程度上是因血管破裂后血液在颅内有限空间累积压迫组织所致,而局部缺血性中风的损伤在很大程度上是因血块阻断血管造成下游组织丧失供氧所致。局部缺血性中风分为血块阻断大脑血管的血栓形成性中风,和血流将形成的血块携带至身体各处并阻塞该处血管的栓塞性中风 (embolic stroke)。但是在出血性中风和局部缺血性中风中,损伤均是因脑细胞死亡所致。然而,根据我们观察到的结果,我们希望能所有类型中风和所有亚类中至少减轻一些大脑损伤。

[0172] 许多因素与中风风险增加有关。鉴于本发明基础研究的结果,给予具有以下一种或多种病症或风险因素的人 sEH 抑制剂能减少中风所致脑损伤的面积:高血压、吸烟、糖尿病、颈动脉疾病、周围动脉病、心房纤颤、短暂性缺血发作 (TIA)、血液病 (例如红细胞计数高和镰状细胞病)、高血胆固醇、肥胖、女性每日饮酒超过 1 次或男性每日饮酒超过两次、使用可卡因、中风家族史、以前发生过中风或心脏病发作、或衰老。就衰老而言,每 10 年中风风险增加。因此,对于达到 60、70 或 80 的老人,给予 sEH 抑制剂日益具有更佳的潜在益处。如下一章节所述,联合给予 EET 和一种或多种 sEH 抑制剂对进一步减轻大脑损伤有益。

[0173] 在一些应用和方法中,给予具有以下情况的人 sEH 抑制剂和 (任选的) EET:吸烟、患有颈动脉疾病、患有周围动脉病、患有心房纤颤、患有一种或多种短暂性缺血发作 (TIA)、

患有血液病（例如红细胞计数高和镰状细胞病）、具有高血胆固醇、肥胖、女性每日饮酒超过 1 次或男性每日饮酒超过两次、使用可卡因、具有中风家族史、以前发生的中风或心脏病发作但无高血压或糖尿病、或年龄为 60、70 或 80 或更大但无高血压或糖尿病。

[0174] 如果在中风后数小时内给予血块溶解剂，例如组织纤溶酶原激活物（tPA）显示能减轻局部缺血性中风所致的损伤程度。例如，FDA 批准 tPA 用于中风后最初 3 小时。因此，中风所致的至少一些脑损伤不是立即发生的，而是在中风后的一段时期内发生或在中风后的一段时期后消失。因此相信如果在中风发生后 6 小时内，更优选 5、4、3 或 2 小时内（更优选其中各连续较短时间间隔内）给予 sEH 抑制剂和（任选的）EET 也可减轻脑损伤。甚至还要优选在中风后 2 小时或更短或甚至 1 小时或更短给予一种或多种抑制剂以尽可能减轻脑损伤。技术人员熟知如何诊断患者是否患有中风。这种决定通常在医院急诊室中按照标准的区别性诊断方法和成像方法作出。

[0175] 在一些应用和方法中，给予在最近 6 小时内发生中风并具有以下情况的人 sEH 抑制剂和（任选的）EET：吸烟、患有颈动脉疾病、患有周围动脉病、患有心房纤颤、患有一种或多种短暂性缺血发作（TIA）、患有血液病（例如红细胞计数高和镰状细胞病）、具有高血胆固醇、肥胖、女性每日饮酒超过 1 次或男性每日饮酒超过两次、使用可卡因、具有中风家族史、以前发生的中风或心脏病发作但无高血压或糖尿病、或年龄为 60、70 或 80 或更大但无高血压或糖尿病。

[0176] 对于所有这些适应症，治疗性给药的条件如上所述。

[0177] 联合治疗

[0178] 如上所述，本发明化合物在一些情况中可与其它治疗剂联用以得到所需效果。其它药物的选择在很大程度上取决于所需的治疗目标（参见，例如 Turner, N. 等, *Prog. Drug Res.*, (1998), 51 :33-94 ;Haffner, S., *Diabetes Care*, (1998), 21 :160-178 ; 和 DeFronzo, R. 等编, *Diabetes Reviews*, (1997), 第 5 卷, 第 4 册)。许多研究调查了用口服药物联合治疗的效益（参见，例如 Mahler, R., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, (1999), 84 :1165-71 ;United Kingdom Prospective Diabetes Study Group (英国前瞻性糖尿病研究小组) :UKPDS 28, *Diabetes Care*, (1998), 21 :87-92 ;Bardin, C. W. 编, *Current Therapy In Endocrinology And Metabolism* (《最新内分泌学和代谢治疗》), 第六版, (Mosby-Year Book, Inc., St. Louis, MO, 1997) ;Chiasson, J. 等, *Ann. Intern. Med.*, (1994), 121 :928-935 ;Coniff, R. 等, *Clin. Ther.*, (1997), 19 :16-26 ;Coniff, R. 等, *Am. J. Med.*, (1995), 98 :443-451 ;Iwamoto, Y. 等, *Diabet. Med.*, (1996), 13:365-370 ;Kwiterovich, P., *Am. J. Cardiol.*, (1998), 82(12A) :3U-17U)。联合治疗包括给予包含具有式 1 所示通用结构的化合物和一种或多种其它活性药物的一种药物制剂，以及以其各自分开的药物制剂给予式 1 所示化合物和各活性药物。例如，可将式 1 所示化合物和一种或多种以下药物在一种口服剂量组合物（例如，片剂或胶囊）中一起给予人对象，或者可将各药物以分开的口服剂量制剂给予：血管紧张肽受体阻断剂、血管紧张肽转化酶抑制剂、钙通道阻断剂、利尿剂、 α 阻断剂、 β 阻断剂、中枢作用药物（centrally acting agent）、血管肽酶抑制剂（vasopeptidase inhibitor）、肾素抑制剂、内皮肤受体激动剂、AGE 交联阻断剂（breaker）、钠 / 钾 ATP 酶抑制剂、内皮肤受体激动剂、内皮肤受体拮抗剂、血管紧张肽疫苗等。但利用单独剂量制剂时，式 1 所示化合物和一种或多种其它活性药物可以基本上在同一时间（即，

同时)或在分别交错的时间(即,连续)给予。联合治疗应理解为包括所有这些方案。

[0179] 抑制可溶性环氧化物水解酶的化合物:

[0180] 除了上述方法,本发明在另一方面提供能抑制可溶性环氧化物水解酶活性的化合物。具体地说,本发明提供上式(I)所示化合物。化合物优选不是 11-(3-环己基脲基)-十一烷酸、11-(3-环己基脲基)-十一烷酸甲酯、11-(3-环己基脲基)-十一烷酸酰胺、12-(3-环己基脲基)-十二烷酸和 12-(3-金刚烷-1-基-脲基)-十二烷酸。

[0181] 在一个实施方式中,这些化合物是用于所述应用的上述那些化合物。

[0182] 制备方法

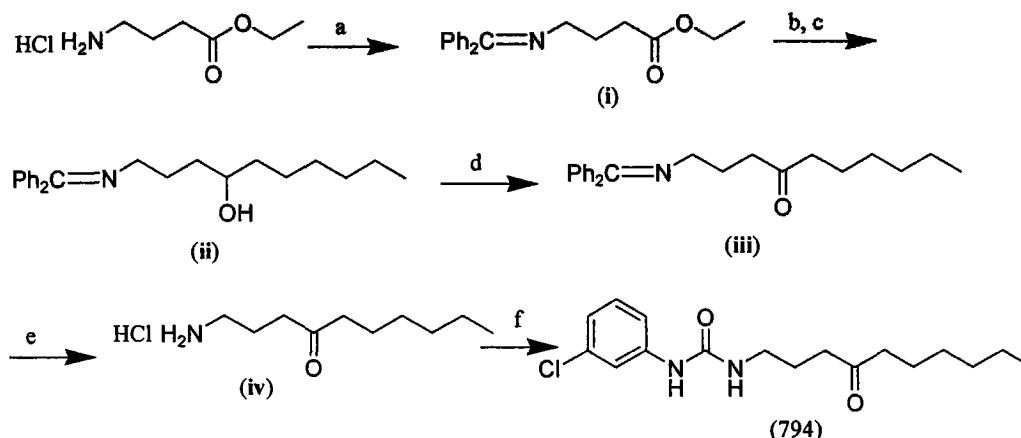
[0183] 可通过以下方案所概述的各种方法制备本发明化合物。

[0184] 方案 1- 引入第二药效团(酮)

[0185] 方案 1 描述了可用于制备具有第二药效团(即酮官能团)的本发明化合物的通用方法。虽然该方案提供了 1-(3-氯苯基)-3-(4-氧代癸基)脲的合成方法,技术人员应知道能用许多可商业购得的异氰酸酯替代异氰酸 3-氯苯酯,也可利用 4-氨基丁酸乙酯或己基溴的较短或较长类似物。

[0186] 方案 1:合成 1-(3-氯苯基)-3-(4-氧代癸基)脲(794)

[0187]

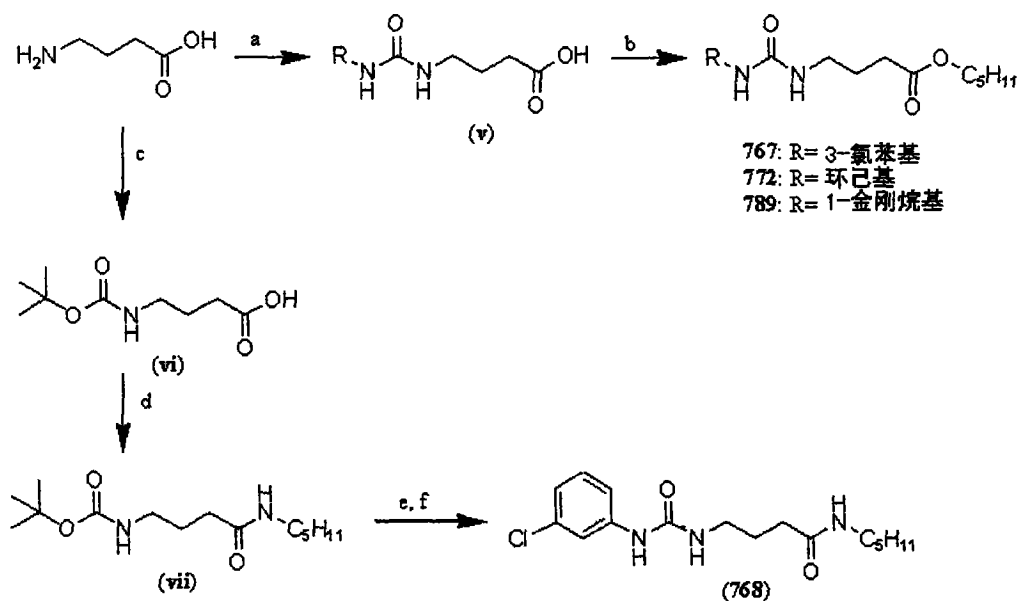


[0188] 方案 1:合成 1-(3-氯苯基)-3-(4-氧代癸基)脲(794):(a) 二苯酮亚胺, CH_2Cl_2 , 室温;(b) DIBAL, THF, -78°C ;(c) Mg/I_2 , 己基溴, THF, 室温;(d) 乙酸酐, DMSO, 室温;(e) 1N HCl/二噁烷, 室温;(f) 异氰酸 3-氯苯酯, TEA, DMF, 室温。

[0189] 如方案 1 所示,将盐酸 4-氨基丁酸乙酯(购自 Aldrich Chemical Co., 密尔沃基, 威斯康星, 美国)与二苯酮亚胺在室温下混合得到中间体(i)。DIBAL 还原酯基团得到未分离的醛部分,然后使其与合适的格利雅试剂(原位制备)反应得到中间体醇(ii)。将醇部分氧化为酮得到(iii),然后使其脱保护形成氨基-酮(iv)。(iv)与合适异氰酸酯反应得到目标化合物(794)。用,例如异氰酸金刚烷酯或异氰酸环己酯(也购自 Aldrich Chemical Co.)代替异氰酸 3-氯苯酯得到本发明的其它化合物。

[0190] 方案 2- 引入第二药效团(酯或酰胺)

[0191]

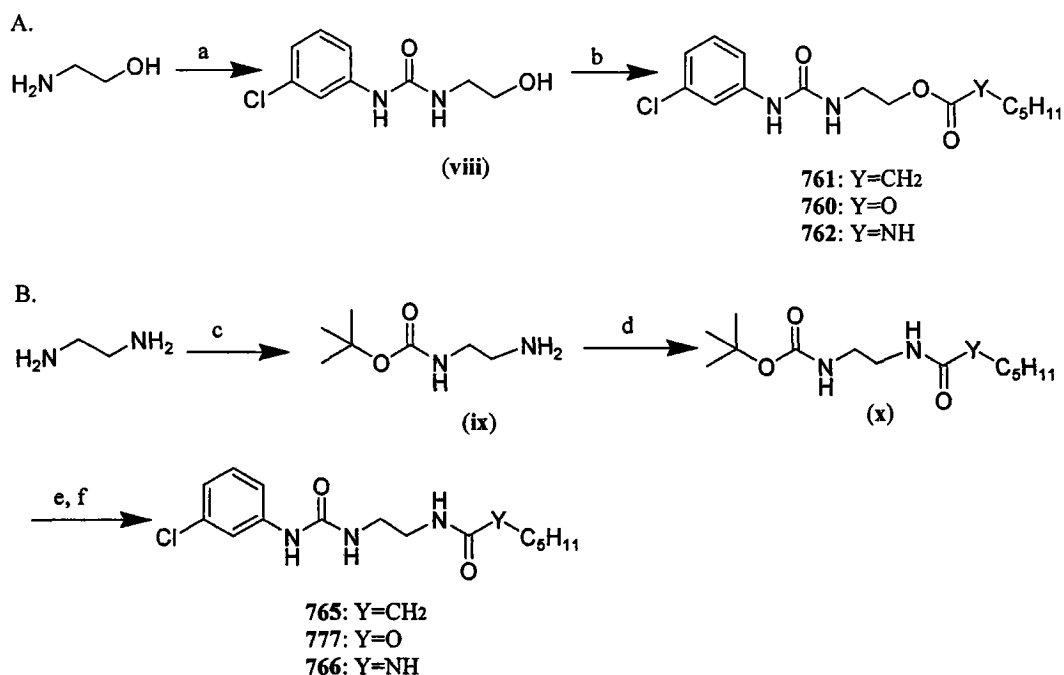


[0192] 方案2:合成1-(芳基或烷基)-3-(3-烷基化的丙基)脲:(a)异氰酸芳酯或烷酯,DMF,室温;(b)溴戊烷, K_2CO_3 ,NaI,乙腈,回流;(c)二碳酸二叔丁酯,二噁烷,50℃;(d)戊胺,氯甲酸异丁酯,NMM,DMF,室温;(e)4M盐酸,二噁烷;(f)异氰酸3-氯苯酯,TEA,DMF,室温。

[0193] 可如方案2所示制备具有第二药效团(酯或酰胺官能团)的各种化合物。开始先用合适的异氰酸芳酯或异氰酸环烷酯处理4-氨基丁酸得到(v)所示的脲中间体,其中R是3-氯苯基、环己基或1-金刚烷基。当然也可利用其它合适的异氰酸酯来制备所需脲中间体。(v)中存在的羧酸与,例如戊基溴经烷基化酯化得到目标化合物767、772和789。可利用各种合适的烷基卤来制备本发明的其它化合物。可采用方案2所示的第二条途径来制备诸如768的化合物以及具有第一药效团(即氨基甲酸酯)的那些化合物。因此,用二碳酸二叔丁酯处理4-氨基丁酸得到叔丁基氨基甲酸(vi),利用戊胺,例如使用氯甲酸异丁酯和N-甲基吗啉(NMM)的温和方法将其转化为所需的酰胺(vii)。除去氨基甲酸酯保护基团(如在本例中所用的),然后用合适的异氰酸酯(本文显示是异氰酸3-氯苯酯)形成脲得到目标化合物(例如,768)。

[0194] 方案3-引入第二药效团(酯、碳酸酯、氨基甲酸酯、酰胺和脲)

[0195]

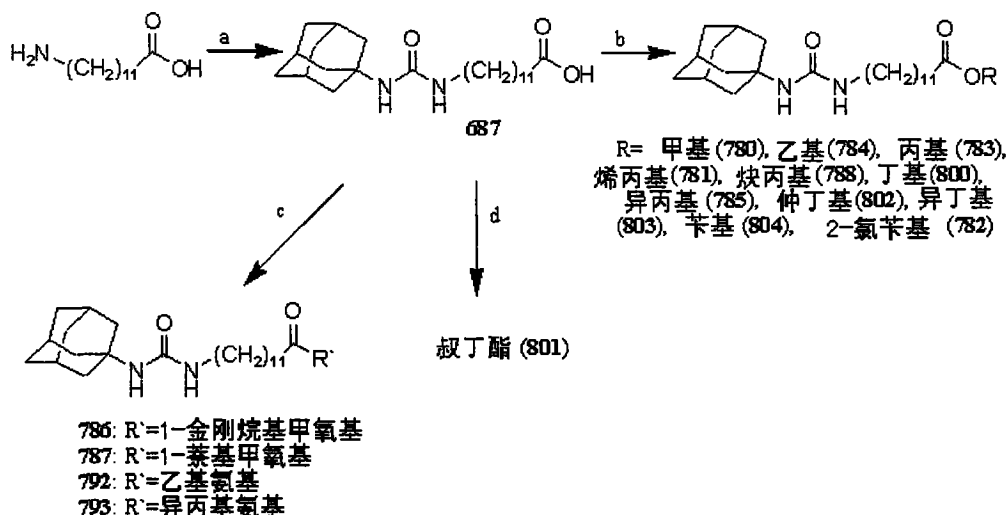


[0196] 方案3:合成1-(3-氯苯基)-3-(2-烷基化乙基)脲:(a)异氰酸3-氯苯酯,DMF,室温;(b)庚酸酐(761),氯甲酸戊酯(760)或异氰酸戊酯(762),TEA,DMF,室温;(c)二碳酸二叔丁酯,二噁烷,室温;(d)庚酸酐(765),氯甲酸戊酯(777)或异氰酸戊酯(766),DMF,室温;(e)4M HCl,二噁烷;(f)异氰酸3-氯苯酯,TEA,DMF,室温。

[0197] 方案3描述了从易于获得的起始物质引入第二药效团(即酯、酰胺、脲、碳酸酯和氨基甲酸酯)的各种方法。在A中,用合适的异氰酸酯处理乙醇胺从而引入第一药效团(即脲),形成中间体(viii)。用酸酐、氯甲酸酯或异氰酸酯处理(viii)分别得到化合物,例如761、760和762。B中采用类似的方法,其中加入了保护/脱保护步骤。因此,将乙二胺单保护为氨基甲酸叔丁基酯。然后用类似于“A”中所用的反应物和条件将游离胺转化为第二药效团,即酰胺、氨基甲酸酯或脲从而得到中间体(x)。(x)脱保护,与合适的异氰酸酯反应得到目标化合物765、777和766。再用除异氰酸3-氯苯酯以外的异氰酸酯得到本发明的其它化合物,而替换,例如(ix)转化为(x)中所用的某些反应物也能得到本发明的其它化合物。

[0198] 方案4-引入第三药效团(酯和酰胺)

[0199]

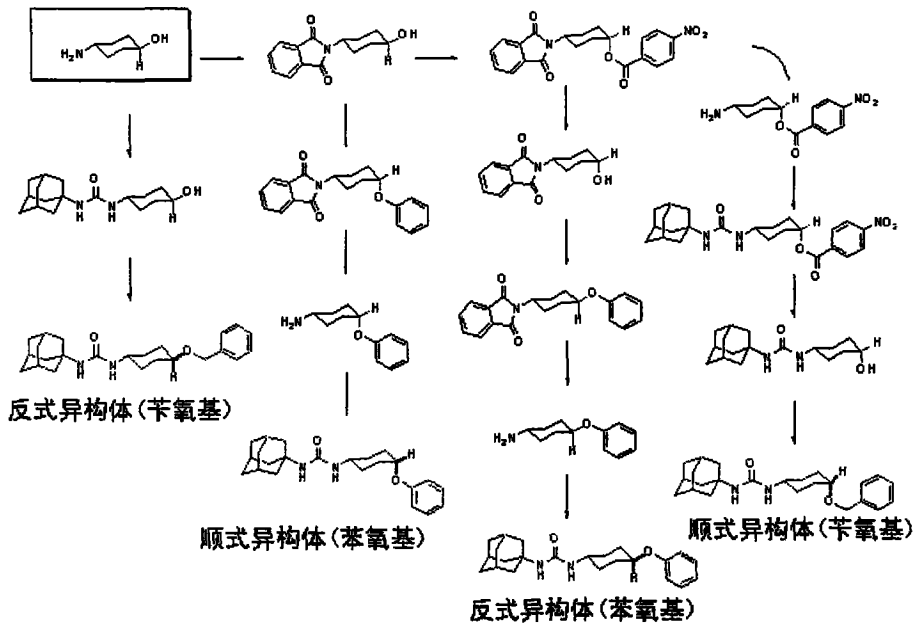


[0200] 方案4:合成1-(1-金刚烷基)-3-(11-烷基化的十一烷基)脲:(a)异氰酸金刚烷酯,氯仿,回流;(b)烷基或芳基卤, K_2CO_3 , NaI, 乙腈, 回流;(c)醇或胺, 氯甲酸异丁酯, TEA, DMF, 室温;(d)叔丁醇, EDCI, DMAP, 二氯甲烷, 室温。

[0201] 方案4描述了引入第三药效团(即酯或酰胺官能团)的途径。在各情况中,羧基团转化为所需的酯或酰胺。如方案4所示,用异氰酸金刚烷酯处理后12-氨基十二烷酸(Aldrich Chemical Co.)转化为脲(687)。与第一药效团一样,本领域技术人员应知道可类似地利用各种异氰酸烷酯、芳酯和环烷酯形成其它脲。类似地,可利用11-氨基十一烷酸或另一种长链氨基脂肪酸替代12-氨基十二烷酸。然后可按照标准方法将羧酸部分酯化或转化为酰胺部分以提供,例如780-785、788和800-804(作为酯类)以及786、787、792和793(作为酯类和酰胺)。

[0202] 方案5描述了合成顺式或反式-苯氧基或苄氧基-环己基化合物的途径。在各情况中,盐酸反式-4-氨基环己醇转化为苯氧基或苄氧基衍生物的所需异构体。可按照标准方法用合适取代的苄基卤烷基化醇部分从而得到相应的苄基醚。类似地,可按照标准方法在有二苯基磷存在下用合适取代的苯酚烷基化醇部分从而得到相应的苯基醚。如方案5所示,可用合适取代的异氰酸酯,例如异氰酸金刚烷酯处理将各异构体转化为相应的脲。与第一药效团一样,本领域技术人员知道可类似地利用各种异氰酸烷酯、芳酯和环烷酯形成其它脲。

[0203]

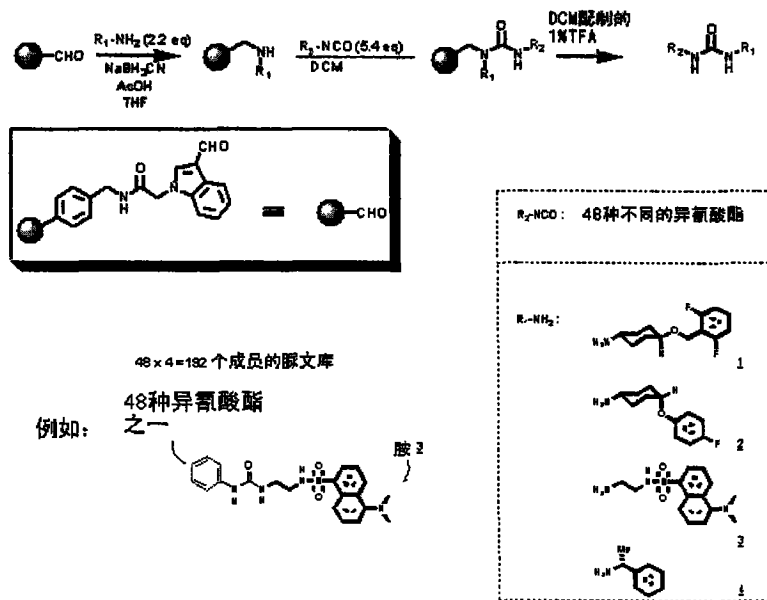


[0204] 方案 5 :合成顺式和反式 - 苯氧基和苄氧基 - 环己基化合物。

[0205] 组合文库合成

[0206] 通过利用 PS- 吲哚 -CHO 树脂的已知两步固相合成法构建 192 个成员的脲文库 (Tetrahedron Letters, 2003, 44, 6099-6102)。如方案 6 所示,利用四种胺和 48 种异氰酸酯来构建结构单元以发现用于 sEH 抑制剂的脲的最佳左侧。在有原甲酸三乙酯存在下利用氰基硼氢化钠用胺类还原胺化得到与树脂结合的仲胺。与异氰酸酯反应得到所需的与树脂结合的脲,在室温用二氯甲烷配制的 1% TFA 通过非常温和的酸性条件可将其从树脂上切下。从吲哚醛树脂制备了 192 种脲化合物,总产率为 20-50%。可通过 LC-MS 进行文库鉴定并测定纯度。纯度超过 80%。纯度低于此水平的化合物从文库中除去。

[0207]



[0208] 方案 6 :脲抑制剂的组合合成。

[0209] 因为本发明聚醚化合物增加了这些化合物的配制容易性、口服利用度和血清半衰期,本发明另一方面提供了增加化合物的配制容易性、口服利用度和血清半衰期的方法,包

括使聚醚取代基与化合物共价连接。

[0210] 提供以下实施例是为描述本发明,而不应限制上文和下文权利要求书所阐明的本发明的任何方面。

[0211] 实施例

[0212] 所有熔点用 Thomas-Hoover 装置 (A. H. Thomas Co.) 测定,未校正。用 LC-MS (Waters 2790) 监测质谱。QE-300 光谱仪记录 $^1\text{H-NMR}$ 图谱,四甲基硅烷用作内标。信号多重性表示为单峰 (s)、双峰 (d)、双重双重峰 (double doublet, dd)、三重峰 (t)、四重峰 (q)、五重峰 (quint)、多重峰 (m)、宽峰 (br) 和宽单峰 (brs)。合成方法如代表性化合物所述。

[0213] 以下实施例中大小写粗体罗马数字指以上方案 1-4 中相应的中间体。所用的化合物号也与各方案以及下文的表格一样。

[0214] 实施例 1

[0215] 合成 1-(3-氯苯基)-3-(4-氧代癸基)脲 (794)

[0216] 在室温将 1.00g (5.52mmol) 二苯酮亚胺、0.94g (5.52mmol) 盐酸 4-氨基丁酸乙酯和 20mL 二氯甲烷搅拌 24 小时。过滤反应混合物以除去 NH_4Cl , 蒸发至干。用醚 (20mL) 萃取 4-氨基丁酸乙酯的二苯酮席夫碱 (i), 用水 (20mL) 洗涤醚溶液, 硫酸钠 (Na_2SO_4) 干燥, 浓缩。通过硅胶柱层析用己烷和乙酸乙酯 (5 : 1) 洗脱纯化残留物得到油状的 i (1.00g, 61%)。-78°C, 在氮气气氛中向二苯酮席夫碱 (i) 的 20mL 四氢呋喃 (THF) 溶液中加入 3.7mL 1M 氢化二异丁基铝 (DIBAL) 的戊烷溶液 (3.73mmol), 反应 (体系) 在室温搅拌 2 小时。室温, 在氮气气氛下向 THF (10mL) 配制的 0.10g magnesium turning (4.07mmol) 和 I_2 (催化量) 中加入 0.48mL 己基溴 (3.39mmol)。搅拌 1 小时后, 在 -78°C 将此反应溶液滴加入上述反应混合物, 溶液边搅拌边升温至室温。室温下搅拌 5 小时后, 向反应 (体系) 中加入 10mL NaHCO_3 水溶液, 然后用醚 (20mL) 萃取烷基化的醇 (ii), 用水 (20mL) 洗涤醚溶液, Na_2SO_4 干燥, 浓缩得到 0.26g (60%) 醇产物 (ii)。

[0217] 向 ii (0.77mmol) 的 5mL 二甲基亚砷 (DMSO) 溶液中加入乙酸酐 (2mL)。混合物在室温静置 12 小时, 浓缩。用醚 (20mL) 萃取残留物, 用水 (20mL) 洗涤醚溶液, Na_2SO_4 干燥, 蒸发得到 0.26g (100%) 酮化合物 (iii)。在室温向 iii 的二噁烷 (5mL) 溶液中加入二噁烷配制的 1mL 1N HCl。反应混合物搅拌 2 小时, 浓缩得到盐酸酮胺 (iv)。然后在室温将 iv 溶解于 5mL 二甲基甲酰胺 (DMF) 中, 用三乙胺 (TEA, 0.27mL, 1.95mmol) 和异氰酸 3-氯苯酯 (0.10mL, 0.78mmol) 的 DMF (3mL) 溶液处理。搅拌 5 小时后, 用醚 (30mL) 萃取产物, 用水 (30mL) 洗涤醚溶液, Na_2SO_4 干燥, 蒸发至干。通过硅胶柱层析用己烷和乙酸乙酯 (3 : 1) 洗脱纯化残留物得到 75mg (30%) 794。 δ (CDCl_3): 0.88 (3H, t, $J = 6.9\text{Hz}$), 1.21-1.29 (6H, m), 1.53-1.58 (2H, m), 1.81 (2H, quint, $J = 6.9\text{Hz}$), 2.43 (2H, t, $J = 6.9\text{Hz}$), 2.49 (2H, t, $J = 6.9\text{Hz}$), 3.23 (2H, t, $J = 6.9\text{Hz}$), 5.10 (1H, s), 6.93 (1H, s), 6.98-7.02 (1H, m), 7.10-7.23 (2H, m), 7.49 (1H, s), $[\text{M}+\text{H}]^+ 325.21$ 。

[0218] 实施例 2

[0219] 合成 1-(3-氯苯基)-3-(3-戊氧基羰基丙基)脲 (767)

[0220] 在室温向 4-氨基丁酸 (1.41g, 13.7mmol) 的 DMF (25mL) 混悬液中加入异氰酸 3-氯苯酯 (0.70g, 4.56mmol; 对于 772 加入异氰酸环己酯, 对于 789 加入异氰酸 1-金刚烷酯)。反

应混合物搅拌 24 小时。向反应（体系）中加入乙酸乙酯（30mL）和 1N HCl 水溶液（30mL），收集溶解了酸产物的乙酸乙酯层。用乙酸乙酯（20mL）从水层萃取产物两次。Na₂SO₄ 干燥合并的有机溶液，蒸发。通过硅胶柱层析用己烷和乙酸乙酯（1 : 1）洗脱纯化残留物得到 0.88g（75%）脲酸（v）。在室温搅拌 v（0.50g, 1.95mmol）、碳酸钾（K₂CO₃, 0.54g, 3.90mmol）、溴戊烷（0.37mL, 2.92mmol）和碘化钠（60mg, 0.39mmol）在 DMF（20mL）中的混合物 20 小时。然后用醚（20mL）萃取产物，用 1N NaOH 水溶液（20mL）和盐水（20mL）洗涤醚（溶液），Na₂SO₄ 干燥，蒸发得到 0.59g（92%）767。

[0221] δ (CDCl₃): 0.90 (3H, t, J = 6.9Hz), 1.26-1.34 (4H, m), 1.62-1.65 (2H, m), 1.88 (2H, quint, J = 6.9Hz), 2.41 (2H, t, J = 6.9Hz), 3.30 (2H, t, J = 6.9Hz), 4.08 (2H, t, J = 6.9Hz), 4.96 (1H, s), 6.62 (1H, s), 7.01-7.04 (1H, m), 7.18-7.22 (2H, m), 7.47 (1H, s), [M+H]⁺326.90。

[0222] 以相似方式制备以下化合物：

[0223] 1-环己基-3-(3-戊氧基羰基丙基)脲 (772)

[0224] δ (CDCl₃): 0.89 (3H, t, J = 6.9Hz), 1.04-1.21 (2H, m), 1.29-1.43 (4H, m), 1.58-1.74 (6H, m), 1.82 (2H, quint, J = 6.9Hz), 2.37 (2H, t, J = 6.9Hz), 3.17-3.24 (2H, m), 3.46-3.48 (1H, m), 4.07 (2H, t, J = 6.9Hz), 4.29 (1H, s), 4.47 (1H, s), [M+H]⁺299.24。

[0225] 1-(1-金刚烷基)-3-(3-戊氧基羰基丙基)脲 (789)

[0226] δ (CDCl₃): 0.92 (3H, t, J = 6.9Hz), 1.29-1.43 (4H, m), 1.64-1.69 (m, 10H), 1.83 (2H, quint, J = 6.9Hz), 1.94-1.98 (6H, m), 2.06-2.09 (3H, m), 2.37 (2H, t, J = 6.9Hz), 3.20 (2H, t, J = 6.9Hz), 4.06-4.14 (3H, m), 4.30 (1H, s), [M+H]⁺251.26。

[0227] 实施例 3

[0228] 合成 1-(3-氯苯基)-3-(3-戊基氨基羰基丙基)脲 (768)

[0229] 向 4-氨基丁酸（2.84g, 27.5mmol）的 DMF（30mL）混悬液中加入 TEA（3.86mL, 27.5mmol）。向此混合物中加入二碳酸二叔丁酯（2.00g, 9.17mmol），同时搅拌。将反应混合物加热至 50℃，持续 12 小时，然后与冰冷的稀盐酸（15mL）一起搅拌 10 分钟。马上用醚（2×30mL）萃取叔丁氧基羰基化的氨基酸（vi）。Na₂SO₄ 干燥有机萃取液，蒸发得到 1.00g（54%）油状的 vi。

[0230] 在室温用氯甲酸异丁酯（0.64mL, 4.92mmol）处理 vi 和 4-甲基吗啉（NMM, 0.54mL, 4.92mmol）的 DMF（10mL）溶液。30 分钟后，加入戊胺（0.57mL, 4.92mmol）。反应混合物搅拌 12 小时。蒸发溶剂，残留物在乙酸乙酯（25mL）和水（25mL）之间分配。用 5% NaHCO₃（10mL）和盐水（20mL）洗涤乙酸乙酯层，Na₂SO₄ 干燥，蒸发。用己烷和乙酸乙酯（2 : 1）洗脱进行硅胶层析纯化残留物得到 0.33g（33%）叔丁氧基羰基化的氨基酰胺（vii）。在室温用二噁烷配制的 4M 盐酸（2mL）处理 vii 的二噁烷（10mL）溶液，混合物搅拌 1 小时。然后将溶剂蒸发至干，残留固体溶解于 DMF（10mL）中，在室温用 TEA（0.51mL, 3.63mmol）和异氰酸 3-氯苯酯（0.15mL, 1.21mmol）处理。搅拌 5 小时后，用醚（30 mL）萃取产物，用水（30mL）洗涤醚（溶液），Na₂SO₄ 干燥，蒸发至干。通过硅胶柱层析用己烷和乙酸乙酯（3 : 1）洗脱纯化残留物得到 0.39g（100%）768。 δ (CDCl₃): 0.89 (t, 3H, J = 6.9Hz), 1.26-1.28 (4H, m), 1.46-1.50 (2H, m), 1.86 (2H, quint, J = 6.9Hz), 2.30 (t, 2H, J = 6.9Hz), 3.23 (t, 2H, J = 6.9Hz), 3.30 (t, 2H, J = 6.9Hz), 5.87 (1H, s), 6.06 (1H, s), 6.93-6.97 (1H, m),

7.12-7.23(2H, m), 7.49(1H, m), 7.73(1H, s), [M+H]⁺326.16。

[0231]

实施例 4

[0232] 合成 1-(3-氯苯基)-3-(2-己基羰氧基乙基)脲(761)

[0233] 在 0℃ 向 2-氨基乙醇(2.98g, 48.8mmol) 的 DMF(30mL) 溶液中加入异氰酸 3-氯酚酯(2.50g, 16.3mmol)。反应混合物在室温搅拌 5 小时。蒸发溶剂, 残留物在醚(30mL) 和 1N 盐酸(20mL) 之间分配, 用盐水洗涤醚层, Na₂SO₄ 干燥, 蒸发。通过硅胶柱层析用己烷和乙酸乙酯(1 : 1) 洗脱纯化残留物得到 1.49g(40%) 白色固体状脲醇(viii)。

[0234] 在室温向 viii(1.00g, 4.60mmol) 和 TEA(0.97mL, 6.90mmol) 的 DMF(15mL) 溶液中加入庚酸酐(2.23g, 9.20mmol) 的 DMF(5mL) 溶液。反应(体系) 搅拌 12 小时, 蒸发溶剂。残留物在醚(30mL) 和冷的 1N 盐酸(20mL) 之间分配。用盐水洗涤醚层, Na₂SO₄ 干燥, 蒸发。利用硅胶柱层析(己烷 : 乙酸乙酯 = 3 : 1) 纯化残留固体得到 1.05g(70%) 761。
δ (CDCl₃) : 0.87(t, 3H, J = 6.9Hz), 1.20-1.29(6H, m), 1.60-1.62(2H, m), 2.22-2.29(2H, m), 3.50-3.55(2H, m), 4.09-4.20(2H, m), 5.32(1H, s), 7.01-7.06(2H, m), 7.16-7.22(2H, m), 7.40(1H, s), [M+H]⁺327.15。

[0235] 采用与化合物 761 相同的方式分别用氯甲酸戊酯和异氰酸戊酯替代庚酸酐制备化合物 760 和 762。

[0236] 1-(3-氯苯基)-3-(2-戊氧基羰氧基乙基)脲(760)

[0237] δ (CDCl₃) : 0.91(t, 3H, J = 6.9Hz), 1.25-1.36(4H, m), 1.63-1.67(2H, m), 3.55-3.60(2H, m), 4.14(3H, t, J = 6.9Hz), 4.25-4.28(2H, m), 5.11(1H, s), 6.50(1H, s), 7.02-7.05(1H, m), 7.19-7.23(2H, m), 7.42(1H, s), [M+H]⁺ 329.09。

[0238] 1-(3-氯苯基)-3-(2-戊基氨基羰氧基乙基)脲(762)

[0239] 1 δ (CDCl₃) : 0.87(3H, t, J = 6.9Hz), 1.30-1.33(4H, m), 1.46-1.50(2H, m), 3.12-3.19(2H, m), 3.50-3.52(2H, m), 4.17-4.20(2H, m), 4.83(1H, s), 5.47(1H, s), 6.96(1H, s), 6.98-7.02(1H, m), 7.18-7.21(2H, m), 7.44(1H, s), [M+H]⁺328.20。

[0240]

实施例 5

[0241] 合成 1-(3-氯苯基)-3-(2-己基羰基氨基乙基)脲(765)

[0242] 在 1 小时期间向 1,2-二氨基乙烷(1.10g, 18.3mmol) 的二噁烷(20mL) 溶液中加入二碳酸二叔丁酯(0.50g, 2.29mmol) 的二噁烷(20mL) 溶液。混合物搅拌 22 小时, 蒸发溶剂至干。向残留物中加入水(30mL), 过滤除去不可溶的双取代产物。用二氯甲烷(3×30mL) 萃取滤液, 蒸发二氯甲烷得到油状 ix(0.35g, 95%)。

[0243] 在室温搅拌庚酸酐(0.91g, 3.75mmol; 对于 777 是氯甲酸戊酯, 对于 766 是异氰酸戊酯) 和 ix(0.50g, 3.13mmol) 的 DMF(20mL) 溶液 2 小时。然后蒸发溶剂。残留物在醚(30mL) 和水(30mL) 之间分配。Na₂SO₄ 干燥醚层, 蒸发。通过硅胶柱层析用己烷和乙酸乙酯(1 : 1) 洗脱纯化残留物得到 0.57g(67%) 烷基化的 N-叔丁氧基羰基胺(x)。

[0244] 在室温用二噁烷配制的 4M 盐酸(2mL) 处理 x 的二噁烷(10mL) 溶液, 混合物搅拌 1 小时。然后将溶剂蒸发至干, 残留固体溶解于 DMF(10mL) 中, 在室温用 TEA(0.58mL, 4.19mmol) 和异氰酸 3-氯苯酯(0.32g, 2.10mmol) 处理。搅拌 5 小时后, 用醚(30mL) 萃取产物, 用水(30mL) 洗涤醚(溶液), Na₂SO₄ 干燥, 蒸发至干。通过硅胶柱层析用己烷和乙酸乙酯(1 : 1) 洗脱纯化残留物得到 0.68g(100%) 765。δ (CDCl₃) : 0.84(t, 3H, J = 6.9Hz),

1.16-1.25(6H, m), 1.55-5.61(2H, m), 2.21-2.24(2H, m), 3.31-3.40(4H, m), 6.27(1H, s), 6.90-6.95(2H, m), 7.18-7.20(2H, m), 7.56(1H, s), 8.07(1H, s), $[M+H]^+$ 326.25。

[0245] 以相似方式制备以下化合物：

[0246] 1-(3-氯苯基)-3-(2-戊氧基羰基氨基乙基)脲(777)

[0247] δ ($CDCl_3$): 0.88(3H, t, $J = 6.9$ Hz), 1.28-1.32(4H, m), 1.44-1.49(2H, m), 3.23-3.33(4H, m), 3.95-3.97(2H, m), 6.01(1H, s), 6.34(1H, s), 6.87-6.91(1H, m), 7.18-7.26(2H, m), 7.78(1H, s), 8.21(1H, s), $[M+H]^+$ 328.22。

[0248] 1-(3-氯苯基)-3-(2-戊基氨基羰基氨基乙基)脲(766)

[0249] δ (丙酮): 0.87(3H, t, $J = 6.9$ Hz), 1.27-1.30(4H, m), 2.04-2.06(2H, m), 3.02-3.05(2H, m), 3.20-3.22(2H, m), 5.74(2H, s), 6.22(1H, s), 7.23-7.29(2H, m), 7.82-7.87(2H, m), 8.67(1H, s), $[M+H]^+$ 327.10。

[0250]

实施例 6

[0251] 合成 1-(1-金刚烷基)-3-(12-十二烷酸)脲(687)

[0252] 将异氰酸 1-金刚烷酯(1.30g, 7.34mmol)和 12-氨基十二烷酸(1.46g, 6.77mmol)在氯仿(30mL)中的混合物回流 10 小时。蒸发除去溶剂,用乙酸乙酯(20mL)洗涤残留物得到 2.66g(100%)白色固体状脲酸产物。 δ ($CDCl_3$): 1.20-1.36(16H, m), 1.42-1.48(2H, m), 1.57-1.65(6H, m), 1.82-1.90(6H, m), 1.94-1.98(3H, m), 2.18(2H, t, $J = 6.9$ Hz), 2.86-2.92(2H, m), 3.45(1H, bs), 5.43(1H, s), 5.587(1H, t, $J = 5.4$ Hz), $[M+H]^+$ 393.28, 熔点 140°C。

[0253]

实施例 7

[0254] 合成 1-(1-金刚烷基)-3-(11-甲氧基羰基十一烷基)脲(780)

[0255] 化合物 687(0.15g, 0.38mmol)、 K_2CO_3 (64mg, 0.46mmol)和碘甲烷(54mg, 0.38mmol)在乙腈(20mL)中的混合物回流 10 小时。然后过滤反应混合物,用盐水(20mL)洗涤滤液, Na_2SO_4 干燥,蒸发。通过硅胶柱层析用己烷和乙酸乙酯(3:1)洗脱纯化残留物得到 0.14g(92%)白色固体状 780。 δ ($CDCl_3$): 1.19-1.34(12H, m), 1.41-1.48(2H, m), 1.58-1.62(4H, m), 1.63-1.75(6H, m), 1.93-2.00(6H, m), 2.04-2.07(3H, m), 2.30(2H, t, $J = 6.9$ Hz), 3.06-3.12(2H, m), 3.67(3H, s), 4.00(1H, s), 4.06(1H, s), $[M+H]^+$ 407.22, 熔点 75°C。

[0256] 以相同方式利用相应的卤化物制备化合物 780、784、783、781、788、800、785、801、802、803、804 和 782,产率范围是 30-95%。

[0257] 1-(1-金刚烷基)-3-(11-乙氧基羰基十一烷基)脲(784)

[0258] δ ($CDCl_3$): 1.21-1.38(12H, m), 1.42-1.68(15H, m), 1.96(6H, bs), 2.06(3H, m), 2.30(2H, t, $J = 6.9$ Hz), 3.06-3.12(2H, m), 3.97-4.01(2H, bs), 4.12(2H, q), $[M+H]^+$ 421.46, 熔点 82°C。

[0259] 1-(1-金刚烷基)-3-(11-丙氧基羰基十一烷基)脲(783)

[0260] δ ($CDCl_3$): 0.94(3H, t, $J = 6.9$ Hz), 1.19-1.34(12H, m), 1.41-1.48(2H, m), 1.58-1.62(4H, m), 1.63-1.75(8H, m), 1.93-2.00(6H, m), 2.04-2.07(3H, m), 2.30(2H, t, $J = 6.9$ Hz), 3.06-3.12(2H, m), 3.95-4.05(4H, m), $[M+H]^+$ 435.52, 熔点 86°C。

[0261] 1-(1-金刚烷基)-3-(11-烯丙氧基羰基十一烷基)脲(781)

[0262] δ (CDCl_3): 1.19-1.34 (12H, m), 1.41-1.48 (2H, m), 1.58-1.73 (13H, m), 1.93-2.00 (6H, m), 2.04-2.07 (3H, m), 2.33 (2H, t, $J = 6.9\text{Hz}$), 3.06-3.12 (2H, m), 3.99 (1H, s), 4.04 (1H, s), 4.57-4.59 (2H, m), $[\text{M}+\text{H}]^+ 433.43$, 熔点 81°C 。

[0263] 1-(1-金刚烷基)-3-(11-炔丙氧基(propagylloxy)羰基十一烷基)脲(788)

[0264] δ (CDCl_3): 1.24-1.31 (12H, m), 1.44-1.46 (2H, m), 1.58-1.67 (11H, m), 1.94-1.98 (6H, m), 2.05-2.07 (3H, m), 2.35 (2H, t, $J = 6.9\text{Hz}$), 3.05-3.12 (2H, m), 3.99 (1H, s), 4.04 (1H, s), 4.67 (2H, s), $[\text{M}+\text{H}]^+ 431.67$, 熔点 79°C 。

[0265] 1-(1-金刚烷基)-3-(11-丁氧基羰基十一烷基)脲(800)

[0266] δ (CDCl_3): 0.95 (3H, t, $J = 6.9\text{Hz}$), 1.23-1.35 (12H, m), 1.44-1.52 (4H, m), 1.57-1.61 (4H, m), 1.66-1.69 (6H, m), 1.96-2.00 (8H, m), 2.07-2.09 (3H, m), 2.30 (2H, t, $J = 6.9\text{Hz}$), 3.09-3.13 (2H, m), 4.02-4.10 (4H, m), $[\text{M}+\text{H}]^+ 449.34$ 。

[0267] 1-(1-金刚烷基)-3-(11-异丙氧基羰基十一烷基)脲(785)

[0268] δ (CDCl_3): 1.19-1.26 (18H, m), 1.41-1.48 (2H, m), 1.58-1.62 (4H, m), 1.63-1.75 (6H, m), 1.94-2.00 (6H, m), 2.03-2.07 (3H, m), 2.30 (2H, t, $J = 6.9\text{Hz}$), 3.06-3.12 (2H, m), 3.67 (3H, s), 4.00 (1H, s), 4.06 (1H, s), 4.94-5.04 (1H, m), $[\text{M}+\text{H}]^+ 435.33$, 熔点 90°C 。

[0269] 1-(1-金刚烷基)-3-(11-仲丁氧基羰基十一烷基)脲(802)

[0270] δ (CDCl_3): 0.89 (3H, t, $J = 6.9\text{Hz}$), 1.19 (3H, d, $J = 6.9\text{Hz}$), 1.23-1.35 (12H, m), 1.44-1.50 (2H, m), 1.57-1.61 (4H, m), 1.66-1.72 (8H, m), 1.96-2.00 (6H, m), 2.07-2.09 (3H, m), 2.27 (2H, t, $J = 6.9\text{Hz}$), 3.09-3.13 (2H, m), 4.00 (1H, s), 4.05 (1H, s), 4.91-4.96 (1H, m); 和 $[\text{M}+\text{H}]^+ 449.29$, 熔点 65°C 。

[0271] 1-(1-金刚烷基)-3-(11-异丁氧基羰基十一烷基)脲(803)

[0272] δ (CDCl_3): 0.93 (6H, d, $J = 6.9\text{Hz}$), 1.23-1.35 (12H, m), 1.45-1.47 (2H, m), 1.56-1.58 (4H, m), 1.65-1.68 (6H, m), 1.94-1.97 (7H, m), 2.06-2.08 (3H, m), 2.31 (2H, t, $J = 6.9\text{Hz}$), 3.07-3.11 (2H, m), 3.85 (2H, d, $J = 6.9\text{Hz}$), 3.99 (1H, s), 4.03 (1H, s), $[\text{M}+\text{H}]^+ 449.32$, 熔点 91°C 。

[0273] 1-(1-金刚烷基)-3-(11-苄氧基羰基十一烷基)脲(804)

[0274] δ (CDCl_3): 1.24-1.28 (12H, m), 1.44-1.48 (2H, m), 1.63-1.68 (10H, m), 1.94-1.97 (6H, m), 2.05-2.07 (3H, m), 2.34 (2H, t, $J = 6.9\text{Hz}$), 3.05-3.13 (2H, m), 4.04 (1H, s), 4.09 (1H, s), 5.12 (2H, s), 7.33-7.37 (5H, m), $[\text{M}+\text{H}]^+ 483.33$, 熔点 49°C 。

[0275] 1-(1-金刚烷基)-3-(11-(2-氯苄基)氧羰基十一烷基)脲(782)

[0276] δ (CDCl_3): 1.24-1.28 (12H, m), 1.44-1.48 (2H, m), 1.63-1.68 (10H, m), 1.94-1.97 (6H, m), 2.05-2.07 (3H, m), 2.39 (2H, t, $J = 6.9\text{Hz}$), 3.07-3.13 (2H, m), 4.00 (1H, s), 4.06 (1H, s), 5.23 (2H, s), 7.27-7.30 (3H, m), 7.39-7.42 (1H, m), $[\text{M}+\text{H}]^+ 517.05$, 熔点 48°C 。

[0277]

实施例 8

[0278] 合成 1-(1-金刚烷基)-3-(11-金刚烷基)甲氧基羰基十一烷基)脲(786)

[0279] 在室温用氯甲酸异丁酯(52mg, 0.38mmol)处理 687(0.15, 0.38mmol)和 TEA(96mg, 0.96mmol)的 DMF(10mL)溶液。30 分钟后,加入金刚烷甲醇(64mg, 0.38mmol)的 DMF(2mL)

溶液。反应混合物搅拌 12 小时。蒸发溶剂,残留物在乙酸乙酯 (25mL) 和水 (25mL) 之间分配。用 5% NaHCO_3 (10mL) 和盐水 (20mL) 洗涤乙酸乙酯层, Na_2SO_4 干燥, 蒸发。用己烷和乙酸乙酯 (5 : 1) 洗脱进行硅胶层析纯化残留物得到 72mg (35%) 白色固体状 786。 δ (CDCl_3) : 1. 23-1. 33 (15H, m), 1. 48-1. 71 (21H, m), 1. 90-1. 96 (8H, m), 2. 04-2. 06 (3H, m), 2. 31 (2H, t, $J = 6. 9\text{Hz}$), 3. 05-3. 12 (2H, m), 3. 67 (2H, s), 4. 00 (1H, s), 4. 05 (1H, s), $[\text{M}+\text{H}]^+ 541. 33$, 熔点 68°C 。

[0280] 以相同方式分别利用乙胺、异丙胺和 1- 萘甲醇替代金刚烷甲醇制备化合物 792、793 和 787。

[0281] 1-(1- 金刚烷基)-3-(11 乙基氨基羰基十一烷基) 脲 (792)

[0282] δ (CDCl_3) : 1. 14 (3H, t, $J = 6. 9\text{Hz}$), 1. 24-1. 31 (12H, m), 1. 43-1. 46 (2H, m), 1. 58-1. 66 (10H, m), 1. 94-1. 98 (6H, m), 2. 05-2. 07 (3H, m), 2. 15 (2H, t, $J = 6. 9\text{Hz}$), 3. 06-3. 12 (2H, m), 3. 25-3. 13 (2H, m), 4. 05 (1H, s), 4. 12 (1H, s), 5. 43 (1H, s), $[\text{M}+\text{H}]^+ 420. 48$, 熔点 119°C 。

[0283] 1-(1- 金刚烷基)-3-(11- 异丙基氨基羰基十一烷基) 脲 (793)

[0284] δ (CDCl_3) : 1. 14 (6H, d, $J = 6. 9\text{Hz}$), 1. 24-1. 31 (12H, m), 1. 43-1. 46 (2H, m), 1. 61-1. 69 (10H, m), 1. 94-1. 98 (6H, m), 2. 07-2. 18 (5H, m), 3. 07-3. 13 (2H, m), 4. 03-4. 10 (2H, m), 4. 14 (1H, s), 5. 26 (1H, s), $[\text{M}+\text{H}]^+ 434. 50$, 熔点 115°C 。

[0285] 1-(1- 金刚烷基)-3-(11-(1- 萘基) 甲氧基羰基十一烷基) 脲 (787)

[0286] δ (CDCl_3) : 1. 20-1. 27 (12H, m), 1. 43-1. 46 (2H, m), 1. 61-1. 67 (10H, m), 1. 96-2. 06 (6H, m), 2. 14-2. 16 (2H, m), 2. 35 (2H, t, $J = 6. 9\text{Hz}$), 3. 06-3. 10 (2H, m), 4. 02 (1H, s), 4. 08 (1H, s), 5. 57 (2H, s), 7. 43-7. 56 (4H, m), 7. 84-7. 87 (2H, m), 7. 90 (8. 02 (1H, m), $[\text{M}+\text{H}]^+ 533. 59$ 。

[0287] 实施例 9

[0288] 合成 1-(1- 金刚烷基)-3-(11- 叔丁氧基羰基十一烷基) 脲 (801)

[0289] 在室温向化合物 687 (0. 10g, 0. 25mmol)、N, N- 二甲基氨基吡啶 (DMAP, 10mg, 0. 13mmol) 和叔丁醇 (23mg, 0. 31mmol) 的二氯甲烷 (20mL) 溶液中加入盐酸 1-(3-(二甲基氨基) 丙基)-3- 乙基碳二亚胺 (EDCI, 50mg, 0. 25mmol)。反应混合物搅拌 20 小时。蒸发溶剂, 残留物在醚 (30mL) 和水 (30mL) 之间分配。 Na_2SO_4 干燥醚层, 蒸发。通过硅胶柱层析用己烷和乙酸乙酯 (3 : 1) 洗脱纯化残留物得到 21mg (18%) 白色固体状叔丁酯。

[0290] δ (CDCl_3) : 1. 23-1. 35 (12H, m), 1. 44-1. 50 (2H, m), 1. 57-1. 61 (13H, m), 1. 66-1. 72 (6H, m), 1. 96-2. 00 (6H, m), 2. 07-2. 09 (3H, m), 2. 27 (2H, t, $J = 6. 9 \text{ Hz}$), 3. 09-3. 13 (2H, m), 3. 96 (1H, s), 4. 01 (1H, s), $[\text{M}+\text{H}]^+ 449. 36$, 熔点 150°C 。

[0291] 实施例 10

[0292] 合成 4-(3- 环己基 - 脲基) - 丁酸 (632)

[0293] 向 4- 氨基丁酸 (2. 16g, 21mmol) 和催化量的 DBU 的 22mL 1. 0N NaOH 冷溶液中一次性加入 2. 5g (20mmol) 异氰酸环己酯。混合物在室温剧烈搅拌过夜。然后用浓盐酸酸化反应 (体系)。过滤收集形成的白色固体。混合物经硅胶柱 (8×3cm) 层析纯化。用 50 : 50 : 1 的己烷 : 乙酸乙酯 : 乙酸混合物洗脱得到纯的目标产物。得到的白色晶体 (3. 46g ; 产率 : 76%) 熔点为 $153. 0-154. 0^\circ\text{C}$ 。 $[\text{M}+\text{H}]^+ 281. 18$ 。

[0294]

实施例 11

[0295] 合成 2-[4-(3-环己基-脲基)-丁基氨基]-3-(4-羟基-苯基)-丙酸 (632-Tyr)

[0296] 向 632 (0.45g, 2.0mmol) 和 1-乙基-3-(3-(二甲基氨基)-丙基) 碳二亚胺 (0.5g, 2.2mmol) 的 15mL DMF 溶液中加入 0.53g (2.3mmol) 酪氨酸甲酯和 2.4mmol 二异丙基乙胺。混合物在 60°C 加热 6 小时。然后加入 50mL 0.1N NaOH, 混合物置于室温过夜。然后用浓盐酸酸化反应混合物, 用 2 : 1 的氯仿 : 甲醇混合物萃取两次。合并有机相, 干燥并蒸发。残留物经硅胶柱 (5×4cm) 层析纯化。用 75 : 25 : 1 的乙酸乙酯 : 甲醇 : 乙酸混合物洗脱得到 140mg (产率 : 18%) 棕色油状液体目标产物。LC-MS-ES 负式 (negative mode) : 390.3 (100%, [M-H]⁻), 290.9 (10%, (M-C₆H₁₀N)⁻), 264.9 (5%, [M-C₇H₁₂NO]⁻) ; 正式 (positive mode) : 392.5 (40%, [M+H]⁺), 264.95 (100%, [M-C₇H₁₀NO]⁺)。

[0297]

实施例 12

[0298] 合成 4-(3-金刚烷-1-基-脲基) 丁酸甲酯 (883)

[0299] 按照 J. Med. Chem., 2004, 47, 2110 所述的方法制备标题化合物。在室温向 4-氨基丁酸 (2.79g, 27.1mmol) 的 DMF (40mL) 混悬液中加入异氰酸 1-金刚烷酯 (1.20g, 6.77mmol)。反应混合物搅拌 24 小时。然后向反应 (体系) 中加入 1N HCl 水溶液 (40mL), 混合物搅拌 30 分钟。过滤固体结晶产物, 用水 (20mL) 和乙酸乙酯 (20mL) 洗涤。用真空烘箱干燥得到的固体得到 1.90g (100%) 白色固体状 4-(3-金刚烷-1-基-脲基) 丁酸 822 : ¹H NMR (CD₃OD) : 1.66-1.75 (8H, m), 1.94-1.97 (6H, m), 2.05-2.07 (3H, m), 2.30 (2H, t, J = 6.9Hz), 3.08 (2H, q, J = 6.9Hz), 3.32 (2H, s) ; LC-MS (ESI) m/z : C₁₅H₂₄N₂O₃ [M+H]⁺ 的计算值为 281.18, 实测值 [M+H]⁺ 为 281.25 ; 熔点 165°C, 分析 (C₁₅H₂₄N₂O₃) C, H, N。

[0300] 在室温搅拌 4-(3-金刚烷-1-基-脲基) 丁酸 822 (0.15g, 0.54mmol)、K₂CO₃ (0.09g, 0.64mmol) 和碘甲烷 (0.04mL, 0.59mmol) 的 DMF (20mL) 混合物 20 小时。然后用醚 (20mL) 萃取该产物, 用 1N NaOH 水溶液 (20mL) 和盐水 (20mL) 洗涤醚 (溶液), Na₂SO₄ 干燥, 蒸发得到 0.15g (95%) 883 : ¹H NMR (CDCl₃) 1.66-1.68 (6H, m), 1.81 (2H, quint, J = 6.9Hz), 1.94-1.97 (6H, m), 2.05-2.07 (3H, m), 2.37 (2H, t, J = 6.9Hz), 3.16 (2H, q, J = 6.9Hz), 3.68 (3H, s), 4.09 (1H, s), 4.25 (1H, s) ; LC-MS (ESI) m/z : C₁₆H₂₆N₂O₃ [M+H]⁺ 的计算值为 295.19, 实测值 [M+H]⁺ 为 295.24 ; 熔点 114°C。分析 (C₁₆H₂₆N₂O₃) C, H, N。

[0301] 以相同方式用相应的溴烷酸乙酯替代碘甲烷制备化合物 857、876、858、877 和 878, 产率 30-95%。

[0302]

实施例 13

[0303] 合成 4-(3-金刚烷-1-基-脲基) 丁酸 3,7-二甲基-辛-6-烯酯 (798)

[0304] 在室温向 4-(3-金刚烷-1-基-脲基) 丁酸 822 (0.10g, 0.36mmol)、4-(二甲基氨基) 吡啶 (DMAP ; 44mg, 0.36mmol) 和 3,7-二甲基-辛-6-烯-1-醇 (61mg, 0.39mmol) 的二氯甲烷 (20mL) 溶液中加入盐酸 1-[3-(二甲基氨基) 丙基]-3-乙基碳二亚胺 (EDCI ; 75mg, 0.39mmol)。搅拌 12 小时后, 用 1N NaOH 水溶液 (15mL) 和水 (30mL) 洗涤反应混合物, Na₂SO₄ 干燥有机层, 浓缩。通过硅胶柱层析用己烷和乙酸乙酯 (3 : 1) 洗脱纯化残留物得到固体状 798 (97mg, 65%) : ¹H NMR (CDCl₃) 0.91 (3H, d, J = 6.9Hz), 1.34-1.37 (2H, m), 1.56-1.60 (9H, m), 1.67-1.69 (8H, m), 1.81 (2H, quint, J = 6.9Hz), 1.94-1.97 (6H, m), 2.05-2.07 (3H, m), 2.35 (2H, t, J = 6.9Hz), 3.16 (2H, q, J = 6.9Hz), 4.05 (1H, s), 4.11 (2H, t, J = 6.9Hz),

4. 21 (1H, s), 5. 09 (1H, t, J = 6. 9Hz); LC-MS (ESI) m/z : $C_{25}H_{42}N_2O_3$ [M+H]⁺ 的计算值为 419. 32, 实测值 [M+H]⁺ 为 419. 22; 熔点 49°C; $C_{25}H_{42}N_2O_3$ 的分析计算值 : C, 71. 73; H, 10. 11; N, 6. 69。实测值 : C, 70. 27; H, 9. 83; N, 6. 39。

[0305]

实施例 14

[0306] 合成 8-[4-(3-金刚烷-1-基-脲基)丁氧基]辛酸乙酯 (879)

[0307] 在室温向 8-溴辛酸 (0. 20g, 0. 89mmol)、DMAP (0. 12g, 0. 99mmol) 和乙醇 (0. 05g, 0. 99mmol) 的二氯甲烷 (20mL) 溶液中加入 EDCI (0. 19g, 0. 99mmol)。搅拌 12 小时后, 用 1N NaOH 水溶液 (15mL) 和水 (30mL) 洗涤反应混合物, Na_2SO_4 干燥有机层, 蒸发得到 8-溴辛酸乙酯 (0. 17g, 75%)。此溴化物以和制备 883 所用相同的方式与 4-(3-金刚烷-1-基-脲基)丁酸 822 反应得到固体状 879 (0. 19g, 65%) : ¹H NMR (CDCl₃) 1. 26 (3H, t, J = 6. 9Hz), 1. 32-1. 35 (6H, m), 1. 59-1. 66 (10H, m), 1. 82 (2H, quint, J = 6. 9Hz), 1. 94-1. 97 (6H, m), 2. 05-2. 07 (3H, m), 2. 28 (2H, t, J = 6. 9Hz), 2. 36 (2H, t, J = 6. 9Hz), 3. 16 (2H, q, J = 6. 9Hz), 4. 05-4. 14 (5H, m), 4. 31 (1H, s); LC-MS (ESI) m/z : $C_{25}H_{42}N_2O_5$ [M+H]⁺ 的计算值为 451. 31, 实测值 [M+H]⁺ 为 451. 20; 熔点 58-59°C。分析 ($C_{25}H_{42}N_2O_5$) C, H, N。

[0308]

实施例 15

[0309] 合成 10-[4-(3-金刚烷-1-基-脲基)丁酰氧基]癸酸乙酯 (880)

[0310] 10-羟基癸酸 (0. 25g, 1. 33mmol; 对于化合物 881 为 11-羟基十一烷酸, 对于化合物 882 为 12-羟基十二烷酸)、乙基溴 (0. 16g, 1. 46mmol) 和碳酸锂 (0. 11g, 1. 46mmol) 的 DMF (25mL) 混合物在 70°C 搅拌 6 小时。然后用醚 (30mL) 萃取产物, 用 1N NaOH 水溶液 (20mL) 和水 (30mL) 洗涤醚溶液, Na_2SO_4 干燥, 浓缩。通过硅胶柱层析用己烷和乙酸乙酯 (3 : 1) 洗脱纯化残留物得到 10-羟基癸酸乙酯 (80mg, 28%)。此醇利用 EDCI/DMAP 偶联剂与 4-(3-金刚烷-1-基-脲基)丁酸 822 反应得到固体状 880 (0. 11g, 60%) : ¹H NMR (CDCl₃) 1. 24-1. 32 (13H, m), 1. 62-1. 68 (10H, m), 1. 80 (2H, quint, J = 6. 9Hz), 1. 94-1. 97 (6H, m), 2. 05-2. 07 (3H, m), 2. 28 (2H, t, J = 6. 9Hz), 2. 36 (2H, t, J = 6. 9Hz), 3. 16 (2H, q, J = 6. 9Hz), 4. 05-4. 14 (5H, m), 4. 25 (1H, s); LC-MS (ESI) m/z : $C_{27}H_{46}N_2O_5$ [M+H]⁺ 的计算值为 479. 34, 实测值 [M+H]⁺ 为 479. 29; 熔点 60-61°C。 $C_{27}H_{46}N_2O_5$ 的分析计算值为 : C, 67. 75; H, 9. 69; N, 5. 85。实测值 : C, 68. 33; H, 9. 92; N, 5. 97。

[0311] 化合物 4-(3-金刚烷-1-基-脲基)丁酸 822 分别与从相应酸制备的 11-羟基十一烷酸乙酯和 12-羟基十二烷酸乙酯偶联得到化合物 881 和 882。

[0312]

实施例 16

[0313] 合成 4-[4-(3-金刚烷-1-基-脲基)丁酰氧基甲基]苯甲酸乙酯 (849)

[0314] 4-甲酰基苯甲酸 (1. 00g, 6. 66mmol)、溴乙烷 (1. 09g, 9. 99mmol) 和 K_2CO_3 (1. 10g, 7. 99mmol) 的乙腈 (30mL) 混合物回流 6 小时。蒸发溶剂后, 用醚 (30mL) 萃取 4-甲酰基苯甲酸乙酯, 用 1N NaOH 水溶液 (20mL) 和水 (30mL) 洗涤有机溶液, Na_2SO_4 干燥, 浓缩得到乙酯产物 (0. 65g, 55%)。无需进一步纯化, 即可在 0°C 向酯溶液中加入乙醇 (20mL) 配制的硼氢化钠 ($NaBH_4$; 0. 05g, 3. 65mmol)。室温搅拌 5 小时后, 用醚 (30mL) 萃取产物, 用水 (30mL) 洗涤醚溶液, Na_2SO_4 干燥, 浓缩。通过硅胶柱层析用己烷和乙酸乙酯 (3 : 1) 洗脱纯化残留物得到油状的 4-羟基甲基苯甲酸乙酯 (0. 30g, 46%)。

[0315] 在室温向 4-(3-金刚烷-1-基-脲基)丁酸 822 (1. 23g, 0. 83mmol)、DMAP (0. 05g,

0.42mmol) 和上述醇 (0.15g, 0.83mmol) 的二氯甲烷 (30mL) 溶液中加入 EDCI (0.16g, 0.83mmol)。搅拌 12 小时后, 用 1N NaOH 水溶液 (15mL) 和水 (30mL) 洗涤反应混合物, Na_2SO_4 干燥有机层, 浓缩。然后通过硅胶柱层析用己烷和乙酸乙酯 (5 : 1) 洗脱纯化残留物得到白色固体状 849 (0.28g, 75%) : $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ 1.40 (3H, t, $J = 6.9\text{Hz}$), 1.66-1.68 (6H, m), 1.84 (2H, quint, $J = 6.9\text{Hz}$), 1.94-1.96 (6H, m), 2.05-2.07 (3H, m), 2.44 (2H, t, $J = 6.9\text{Hz}$), 3.17 (2H, q, $J = 6.9\text{Hz}$), 4.02 (1H, s), 4.17 (1H, s), 4.38 (2H, q, $J = 6.9\text{Hz}$), 5.17 (2H, s), 7.40 (2H, d, $J = 7.8\text{Hz}$), 8.00 (2H, d, $J = 7.8\text{Hz}$) ; LC-MS (ESI) m/z : $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 的计算值为 443.25, 实测值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 为 443.25 ; 熔点 96-99°C。分析 ($\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_5$) C, H, N。

[0316]

实施例 17

[0317] 合成 4-(3-金刚烷-1-基-脲基)丁酸 4-乙氧基羰基甲基苯酯 (852)

[0318] 在室温向 4-(3-金刚烷-1-基-脲基)丁酸 822 (0.15g, 0.54mmol)、DMAP (0.07g, 0.54mmol) 和 4-羟基苯基乙酸 (0.09g, 0.59mmol) 的二氯甲烷 (20mL) 溶液中加入 EDCI (0.11g, 0.59mmol)。搅拌 12h 小时后, 用水 (20mL) 洗涤反应混合物, Na_2SO_4 干燥溶解有产物的二氯甲烷溶液, 浓缩得到偶联的产物。在室温用溴乙烷 (0.15g, 1.34mmol) 和 K_2CO_3 (0.18g, 1.34mmol) 处理在 DMF (30mL) 中的该粗制混合物, 搅拌 12 小时。用醚 (30mL) 萃取乙酯产物, 用 1N NaOH 水溶液 (20mL) 和水 (30mL) 洗涤醚溶液, Na_2SO_4 干燥, 浓缩。通过硅胶柱层析用己烷和乙酸乙酯 (5 : 1) 洗脱纯化残留物得到白色固体状 852 (47mg, 20%) : $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ 1.40 (3H, t, $J = 6.9\text{Hz}$), 1.66-1.68 (6H, m), 1.89-1.95 (8H, m), 2.05-2.07 (3H, m), 2.62 (2H, t, $J = 6.9\text{Hz}$), 3.25 (2H, q, $J = 6.9\text{Hz}$), 3.60 (2H, s), 4.07 (1H, s), 4.16 (2H, q, $J = 6.9\text{Hz}$), 4.29 (1H, s), 7.08-7.10 (2H, m), 7.28-7.30 (2H, m) ; LC-MS (ESI) m/z : $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 的计算值为 443.25, 实测值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 为 443.25 ; 熔点 95-97°C。分析 ($\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_5$) C, H, N。

[0319] 利用 4-羟基苯基丙烯酸替代 4-羟基苯基乙酸以相同方式制备化合物 851。

[0320]

实施例 18

[0321] 合成 N-[12-(3-金刚烷-1-基-脲基)十二烷酰基]甲磺酰胺 (848)

[0322] 在室温向化合物 687 (0.2g, 0.51mmol) 和 N-羟基琥珀酰亚胺 (60mg, 0.56mmol) 的 THF (10mL) 溶液中加入 1,3-二环己基碳二亚胺 (0.12g, 0.56mmol)。反应混合物搅拌 12 小时后过滤。然后经柱层析 (己烷 : 乙酸乙酯 = 1 : 1) 纯化滤液得到 2,5-二氧代吡咯烷基酯 (I) (0.18g, 0.37mmol), 产率 72%。向溶解于 HMPA (10mL) 的该中间体 (I) 中分批加入 4-甲基氨基吡啶 (54mg, 0.44mmol ; DMAP) 和甲磺酰胺 (0.35g, 3.7mmol)。在 90°C 搅拌 2 小时后, 用醚 (30mL) 萃取产物, 用水 (30mL) 洗涤。硫酸镁干燥有机溶液后蒸发, 然后通过硅胶柱层析用己烷和乙酸乙酯 (1 : 1) 洗脱纯化残留物得到化合物 848 (0.16g, 0.34 mmol), 产率 92%。 $^1\text{H NMR } \delta$ (CDCl_3) 1.23-1.35 (12H, m), 1.44-1.52 (4H, m), 1.57-1.61 (2H, m), 1.65-1.69 (6H, m), 1.92-1.98 (6H, m), 2.07-2.09 (3H, m), 2.38 (2H, t, $J = 6.9\text{Hz}$), 3.11 (2H, q, $J = 6.9\text{Hz}$), 3.20 (3H, s), 4.40 (1H, s), 4.48 (1H, s), 10.52 (1H, s), LC-MS (ESI) m/z : $\text{C}_{24}\text{H}_{43}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 的计算值为 469.30, 实测值 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 熔点 103°C。分析 ($\text{C}_{24}\text{H}_{43}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$) C, H, N。

[0323] 采用与制备化合物 687 相同的方法, 利用苯磺酰胺替代甲磺酰胺合成化合物 914。 $^1\text{H NMR } \delta$ (CDCl_3) 1.23-1.35 (12H, m), 1.44-1.52 (4H, m), 1.57-1.61 (2H, m), 1.65-1.69 (6H, m), 1.94-1.98 (6H, m), 2.06-2.09 (3H, m), 2.28 (2H, t, $J = 6.9\text{Hz}$), 3.10 (2H,

q, J = 6.9Hz), 4.39(1H, s), 4.93(1H, s), 5.45(1H, s), 7.50-7.55(2H, m), 7.60-7.62(1H, m), 7.80-7.83(1H, m), 8.05-8.08(1H, m), LC-MS(ESI)m/z :C₂₉H₄₅N₃O₄S[M+H]⁺ 的计算值为 532.31, 实测值 [M+H]⁺ 为 532.34, 熔点 100°C, 分析 (C₂₉H₄₅N₃O₄S)C, H, N。

[0324]

实施例 19

[0325] 合成 2-[12-3-(金刚烷-1-基-脲基)十二烷酰基氨基]十二烷酸(1001)

[0326] 在惰性气氛中将金属钠(3.9g, 0.17mol)在配有水冷凝器的圆底烧瓶中溶解于乙醇(100mL)。然后加入乙酰胺基丙二酸二乙酯(30.4g, 0.14mol), 再加入 1-溴辛烷(36.7g, 0.19mol)。溶液在惰性气氛中回流过夜。将反应混合物倒在碎冰上(600mL), 搅拌。氨基二酯产物沉淀, 过滤收集。然后使粗产物在溶液 HCl : DMF(9 : 1, 200mL) 中回流过夜。过滤收集沉淀的产物, 用冰水洗涤, 真空干燥器中空气干燥得到粗产率 > 90% 的盐酸 α-氨基酸。然后将粗制氨基酸(3.0g, 24.8mmol)溶解于甲醇(100mL)中, 冷却至 0°C。滴加亚硫酸氯(5.0mL, 25.8mmol), 反应(体系)在 0°C 搅拌 10 分钟后回流过夜。反应(体系)冷却至室温, 减压除去挥发物质, 用甲醇研磨粗产物得到外消旋 2-氨基癸酸甲酯, 4.44g, 产率为 89%。

[0327] 将化合物 687(1.04g, 2.65mmol) 和 HBTU(1.0g, 2.64mmol) 溶解于 THF(60mL) 中。加入 DIEA(0.5mL, 2.87mmol)、DMF(约 2mL) 和 2-氨基癸酸甲酯(1.26g, 5.30mmol), 溶液于室温在 N₂ 下搅拌过夜。用 5% 柠檬酸(100mL) 稀释产生的黄色油状物, 用乙酸乙酯(3×50mL) 萃取。合并有机层, 用 5% 柠檬酸(2×50mL), 饱和的碳酸氢钠(NaHCO₃)(2×50mL) 和盐水(1×50mL) 洗涤。硫酸镁干燥有机层, 蒸发得到油状物。粗产物通过柱层析用 1-2% MeOH/DCM 纯化得到黄色油状的甲酯(0.77g, 66% 产率)。将甲酯(0.77g, 1.34mmol) 溶解于 DME(25mL) 和水(10mL) 中。加入固体 LiOH·H₂O(0.33g, 7.86mmol), 溶液在室温搅拌过夜。用 5% 柠檬酸(约 20mL) 酸化(pH = 4) 反应混合物, 用乙酸乙酯萃取(3×30mL) 产物。用盐水(30mL) 洗涤合并的有机层, MgSO₄ 干燥, 蒸发得到黄色油状的化合物 1001(0.34g, 45% 产率)。¹H NMR δ(CDCl₃) 0.82(3H, t, J = 7Hz), 1.16-1.23(28H, bm), 1.41(2H, m), 1.57(2H, bm), 1.60(6H, bs), 1.89(6H, bs), 2.01(3H, bs), 2.18(2H, t, J = 7Hz), 2.98(2H, m), 4.52(1H, dd, J = 7.3, 13.3Hz), 6.46(2H, d, J = 7.6Hz) 8.16(1H, bs)。¹³C NMR δ(CDCl₃) 14.0, 22.5, 25.0, 25.6, 26.7, 28.85, 28.00, 29.06, 29.10, 29.13, 29.24, 29.31, 29.44, 29.56, 31.73, 32.22, 36.27, 36.41, 40.68, 42.29, 50.96, 52.31, 158.70, 173.65, 175.39。LC-MS(ESI)m/z :C₃₃H₅₉N₃O₄ [M+H]⁺ 的计算值为 562.45, 实测值 [M+H]⁺ 为 562.51。

[0328]

实施例 20

[0329] 合成 12-(3-(金刚烷-1-基-脲基)十二烷酸[1-(2,3,4-三羟基-5-羟甲基-环己基氨基甲酰基)壬基]酰胺(1002)

[0330] 在惰性气氛中将 1,2,3,4,6-五-O-乙酰基-α-D-吡喃葡萄糖(5.00g, 12.8mmol) 溶解于 10-15mL 干燥 CH₂Cl₂ 中。加入三甲基甲硅烷基叠氮化物(4.24mL, 32.1mmol) 和氯化锡(IV)(0.75mL, 6.41mmol), 反应(体系)在室温搅拌 18 小时。用 CH₂Cl₂(30mL) 稀释反应混合物, 用饱和 NaHCO₃(20mL) 和盐水(20mL) 洗涤两次。干燥有机相, 过滤, 浓缩得到白色固体状的 2,3,4,6-四-O-乙酰基-α-D-吡喃葡萄糖基叠氮化物(3.92g, 82%)。然后将 2,3,4,6-四-O-乙酰基-α-D-吡喃葡萄糖基叠氮化物(0.30g, 80mmol) 溶解于干燥 THF(15mL), 向

此溶液中加入 Pd/C (约 5%)。混合物在 H₂ 中搅拌过夜。TLC 表明还原完成 (Rf 叠氮化物 = 0.80, Rf 胺 = 0.10)。在另一烧瓶中混合化合物 23 (0.17g, 0.30mmol) 和 0.5M HBTU 的 DMF 溶液 (1.20mL, 0.60mmol), 然后加入 DMF (约 2mL) 和 DIEA (104 μL, 0.60mmol)。然后将此溶液加入反应烧瓶, 反应混合物在 N₂ 下搅拌过夜。得到的混悬液经用乙酸乙酯充分洗涤 (约 100mL) 的硅藻土过滤, 滤液用 5M HCl (50mL)、饱和的 NaHCO₃ (2×50mL) 和盐水 (1×50mL) 洗涤。硫酸镁干燥有机溶液, 过滤, 浓缩。通过硅胶柱层析用 10% MeOH/DCM 洗脱纯化残留物得到 V (0.16g, 59.33)。¹H NMR δ (CDCl₃) 0.78 (3H, t, J = 7Hz), 1.16-1.23 (32H, brm), 1.35 (2H, m), 1.52 (2H, m), 1.57 (6H, brs), 1.86 (6H, brs), 1.91-2.00 (15H, m), 2.14 (2H, m), 2.99 (2H, t, J = 7Hz), 3.75 (2H, m), 3.95-4.07 (3H, m), 4.15-4.29 (4H, m), 4.43-4.38 (1H, m), 4.80 (1H, dd, J = 5, 11Hz), 4.84-4.89 (2H, m), 4.95-5.02 (3H, m), 5.12-5.24 (3H, m), 5.35 (1H, d, J = 3Hz), 5.47 (1H, t, J = 9.8Hz), 6.28 (1H, dd, J = 7.6, 19Hz), 6.60 (1H, d, J = 9.3Hz), 7.18 (1H, d, J = 9.1Hz), 7.34 (1H, d, J = 9.1Hz)。LC-MS (ESI) m/z : C₄₇H₇₈N₄O₁₂ [M+H]⁺ 的计算值为 891.56, 实测值 [M+H]⁺ 为 891.69。

[0331] 向 V (0.16g, 0.18mmol) 的 MeOH (15mL) 溶液中加入金属钠 (0.05g), 混合物在室温搅拌过夜。反应混合物经安伯莱特 (amberlite) 过滤, 用 MeOH (约 150mL) 洗涤。真空蒸发溶剂得到白色细粉状化合物 1002 (0.12g, 95%)。LC-MS (ESI) m/z : C₃₉H₇₀N₄O₈ [M+H]⁺ 的计算值为 724.50, 实测值 [M+H]⁺ 为 724.6。

[0332] 用与制备化合物 1002 相同的方法从化合物 687 而不是化合物 1001 制备化合物 798。

[0333]

实施例 21

[0334] 合成 5-(3-氯-苯基氨基甲酰基)戊酸戊酯 (987)

[0335] 在室温向己二酸 (0.5g, 3.42mmol) 和 DMAP (0.42g, 3.42mmol) 的二氯甲烷 (30mL) 和 DMF (3mL) 溶液中加入 3-氯苯胺 (0.44g, 3.42mmol)。搅拌 10 分钟后, 在室温分批向混合物中加入盐酸 1-[3-(二甲基氨基)丙基]-3-乙基碳二亚胺 (0.65g, 3.42mmol; EDCI)。反应 (体系) 搅拌 12 小时。将 1N HCl 水溶液 (20mL) 倒入反应混合物, 用二氯甲烷 (30mL) 萃取 5-(3-氯苯基氨基甲酰基 (carbamoyl)) 戊酸。用水 (50mL) 洗涤有机溶液, Na₂SO₄ 干燥, 浓缩。此残留物无需进一步纯化即可用于下一反应。

[0336] 在室温向以上氨基甲酰基戊酸 (0.72g, 2.80mmol) 的 DMF (15mL) 溶液中加入 K₂CO₃ (0.58g, 4.21mmol) 和 1-溴戊烷 (0.64g, 4.21mmol)。搅拌 12 小时后, 用醚 (30mL) 萃取产物, 用 1N NaOH 水溶液 (15mL) 和水 (40mL) 洗涤醚溶液, Na₂SO₄ 干燥, 浓缩。利用硅胶柱层析 (己烷: 乙酸乙酯 = 5 : 1) 纯化残留物得到 987 (0.59g, 65%) : ¹H NMR (CDCl₃) 0.91 (3H, t, J = 6.9Hz), 1.29-1.37 (4H, m), 1.60-1.66 (2H, m), 1.70-1.78 (4H, m), 2.35-2.43 (4H, m), 4.08 (H, t, J = 6.9Hz), 7.05-7.09 (1H, m), 7.21-7.23 (1H, m), 7.37-7.40 (1H, m), 7.52-7.55 (1H, m), 7.68 (1H, s); LC-MS (ESI) m/z : C₁₇H₂₄ClNO₃ [M+H]⁺ 的计算值为 326.14, 实测值 [M+H]⁺ 为 326.16, 熔点 82°C。分析 (C₁₇H₂₄ClNO₃) C, H, N。

[0337] 采用与制备化合物 987 相同的方法, 利用金刚烷胺替代 3-氯苯胺制备化合物 13 : ¹H NMR (CDCl₃) 0.91 (3H, t, J = 6.9Hz), 1.29-1.43 (4H, m), 1.64-1.69 (12H, m), 1.94-1.98 (6H, m), 2.06-2.13 (5H, m), 2.32 (2H, t, J = 6.9Hz), 4.06 (H, t, J = 6.9Hz), 5.16 (1H, s); LC-MS (ESI) m/z : C₂₁H₃₅NO₃ [M+H]⁺ 的计算值为 350.26, 实测值 [M+H]⁺ 为

350.30。分析 ($C_{21}H_{35}NO_3$)C, H, N。

[0338]

实施例 22

[0339] 合成 4-(2-氯-苯基)乙酰基氨基丁酸戊酯 (988)

[0340] 在室温向 3-氯苯基乙酸 (0.5g, 2.93mmol) 和 DMAP (0.36g, 2.93mmol) 的二氯甲烷 (30mL) 溶液中加入盐酸 4-氨基丁酸乙酯 (0.49g, 2.93mmol)。搅拌 10 分钟后, 在室温向混合物中分批加入 EDCI (0.56g, 2.93mmol)。反应 (体系) 搅拌 12 小时。将 1N HCl 水溶液 (20mL) 倒入反应混合物, 用醚 (30mL) 萃取 4-[2-(3-氯苯基)乙酰基氨基]丁酸乙酯。用水 (50mL) 洗涤醚溶液, Na_2SO_4 干燥, 浓缩。向溶解于乙醇 (10mL) 的残留物中加入 1N NaOH 水溶液 (6mL), 室温搅拌 12 小时后, 用二氯甲烷 (30mL) 萃取产物。用水 (30mL) 洗涤有机溶液, Na_2SO_4 干燥, 浓缩得到 4-[2-(3-氯苯基)乙酰基氨基]丁酸 (0.6g, 80%)。在室温将此酸 (0.6g, 2.35mmol)、 K_2CO_3 (0.49g, 3.52mmol) 和 1-溴戊烷 (0.53g, 3.52mmol) 在 DMF (20mL) 中的混合物搅拌过夜。用醚 (40mL) 萃取产物, 用水 (50mL) 洗涤醚溶液, Na_2SO_4 干燥, 浓缩。采用硅胶柱层析 (己烷: 乙酸乙酯 = 3 : 1) 纯化残留物得到油状 988 (0.74g, 97%) : 1H NMR ($CDCl_3$) 0.91 (3H, t, $J = 6.9$ Hz), 1.26-1.33 (4H, m), 1.59-1.63 (2H, m), 1.80 (2H, quint, $J = 6.9$ Hz), 2.31 (2H, t, $J = 6.9$ Hz), 3.27 (2H, q, $J = 6.9$ Hz), 3.52 (2H, s), 4.04 (2H, t, $J = 6.9$ Hz), 5.72 (1H, s), 7.13-7.17 (2H, m), 7.27-7.30 (2H, m); LC-MS (ESI) m/z : $C_{17}H_{24}ClNO_3$ $[M+H]^+$ 的计算值为 326.14, 实测值 $[M+H]^+$ 为 326.15。分析 ($C_{17}H_{24}ClNO_3$)C, H, N。

[0341] 采用与制备化合物 988 相同的方法, 利用 1-金刚烷基乙酸或金刚烷-1-羧酸替代 3-氯苯基乙酸制备化合物 837 和 1068。化合物 837 : 1H NMR ($CDCl_3$) 0.91 (3H, t, $J = 6.9$ Hz), 1.29-1.35 (4H, m), 1.35-1.72 (14H, m), 1.84 (2H, quint, $J = 6.9$ Hz), 1.91 (2H, s), 1.97 (3H, m), 2.37 (2H, t, $J = 6.9$ Hz), 3.29 (2H, q, $J = 6.9$ Hz), 4.07 (2H, t, $J = 6.9$ Hz), 5.66 (1H, s); LC-MS (ESI) m/z : $C_{21}H_{35}NO_3$ $[M+H]^+$ 的计算值为 350.26, 实测值 $[M+H]^+$ 为 350.29。分析 ($C_{21}H_{35}NO_3$)C, H, N。

[0342] 化合物 1068 : 1H NMR ($CDCl_3$) 0.91 (3H, t, $J = 6.9$ Hz), 1.29-1.35 (4H, m), 1.60-1.86 (16H, m), 2.03 (3H, m), 2.35 (2H, t, $J = 6.9$ Hz), 3.29 (2H, q, $J = 6.9$ Hz), 4.07 (2H, t, $J = 6.9$ Hz), 5.85 (1H, s); LC-MS (ESI) m/z : $C_{20}H_{33}NO_3$ $[M+H]^+$ 的计算值为 336.25, 实测值 $[M+H]^+$ 为 336.34。分析 ($C_{20}H_{33}NO_3$)C, H, N。

[0343]

实施例 23

[0344] 合成 4-(3-氯-苯基氨基甲酰氧基)丁酸戊酯 (825)

[0345] 室温在氮气气氛中向琥珀酸酐 (3.58g, 35.7mmol) 和 DMAP (4.16g, 34.0mmol) 的 DMF (40mL) 溶液中加入戊醇 (3.0g, 34.0mmol)。搅拌 12 小时后, 用醚 (40mL) 萃取琥珀酸戊酯, 用 1N HCl 水溶液 (20mL) 和水 (40mL) 洗涤醚溶液, 硫酸钠 (Na_2SO_4) 干燥, 浓缩。通过硅胶柱层析用己烷和乙酸乙酯 (3 : 1) 洗脱纯化残留物得到油状的琥珀酸戊酯 (6.07g, 95%)。-10°C 在氮气气氛中向此酸的四氢呋喃 (THF, 60mL) 溶液中加入 1M BH_3 -THF 复合物 (64.53mL, 64.5mmol), 反应混合物在搅拌下温暖至室温。室温搅拌 12 小时后, 向反应 (体系) 中加入 5% $NaHCO_3$ 水溶液 (50mL), 然后用乙酸乙酯 (50mL) 萃取还原的醇 (I)。 Na_2SO_4 干燥乙酸乙酯溶液, 浓缩得到 4-羟基丁酸戊酯 (5.06g, 90%)。

[0346] 在室温将 4-羟基丁酸戊酯 (100mg, 0.57mmol) 加入异氰酸 3-氯苯酯 (88mg,

0.57mmol) 和三乙胺 (0.12mL, 0.86mmol; TEA) 的 DMF (15mL) 溶液中。混合物在室温静置 12 小时, 用醚 (20mL) 萃取产物, 用 1N HCl 水溶液 (20mL) 和水 (30mL) 洗涤醚溶液, Na₂SO₄ 干燥, 浓缩。通过硅胶柱层析用己烷和乙酸乙酯 (5 : 1) 洗脱纯化残留物得到固体状的 9 (94mg, 50%) : ¹H NMR (CDCl₃) 0.90 (3H, t, J = 6.9Hz), 1.26-1.34 (4H, m), 1.62-1.65 (2H, m), 1.71 (2H, quint, J = 6.9Hz), 2.66 (2H, t, J = 6.9Hz), 2.74 (2H, q, J = 6.9Hz), 4.10 (2H, t, J = 6.9Hz), 7.05-7.08 (1H, m), 7.18-7.22 (3H, m), 7.35 (1H, s); LC-MS (ESI) m/z : C₁₆H₂₂ClNO₄ [M+H]⁺ 的计算值为 328.12, 实测值 [M+H]⁺ 为 328.13; 熔点 82 °C。分析 (C₁₆H₂₂ClNO₄) C, H, N。

[0347] 实施例 24

[0348] 合成 -(3-氯-苯基)-3-(1-羟甲基-戊基)-脲 (978)

[0349] 将盐酸 2-氨基己醇 (211mg, 1.37mmol)、异氰酸间-氯苯酯 (211mg, 1.37mmol) 在 THF (10mL) 中与三乙胺 (228 μL) 混合, 搅拌过夜。除去溶剂, 残留物经硅胶层析得到 343mg 目标产物 (93%)。¹H NMR (300MHz, CDCl₃/MeOHd4 1 : 1) δ = 7.50-7.47 (m, 1H), 7.20-7.10 (m, 2H), 6.93 (dt, J = 6.6, 1.6Hz, 1H), 5.76 (d, J = 8.2Hz, 1H), 3.75 (br, 1H), 3.65-3.45 (m, 2H), 1.60-1.20 (m, 6H), 1.87 (m, 3H)。

[0350] 以相同方式利用氨基醇和异氰酸环己酯制备化合物 977。

[0351] 合成 1-(3-氯-苯基)-3-(1-羟甲基-丁基)-脲 (977)

[0352] ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ = 5.41 (m, 2H), 3.8-3.2 (m, 4H), 2.00-0.90 (m, 20H)

[0353] 实施例 25

[0354] 合成 (4-丁基-4,5-二氢-噁唑-2-基)-(3-氯-苯基)-胺 (980)

[0355] 用 POCl₃ (1.0mL) 处理化合物 978 (50mg)。此 (体系) 搅拌过夜。减压蒸馏除去溶剂。用碳酸氢钠水溶液洗涤残留物, 然后溶解于 EtOAc 中。干燥溶剂, 过滤, 蒸发。将残留物溶解于丙酮 (1mL) 中, 与水 (2mL) 回流 1.5 小时。用 EtOAc 萃取溶液, 蒸发有机层, 残留物经硅胶层析得到目标化合物。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ = 7.38 (s, 1H), 7.15 (d, J = 8.0Hz, 1H), 7.05 (br, 1H), 7.00 (d, 7.5Hz, 1H), 4.47 (m, 1H), 3.95 (m, 2H), 1.8-1.2 (m, 6H), 0.95 (m, 3H)。ESIMS = 224.9m/z (M+H)。

[0356] 实施例 26

[0357] 合成 (994)

[0358] 将盐酸氨基戊酸甲酯 (720mg, 4.3mmol) 和二苯甲酮亚胺 (722mg, 4.3mmol) 一起在二氯甲烷中搅拌 18 小时。此时用碳酸氢钠水溶液洗涤反应 (体系), 用 MgSO₄ 干燥有机层, 蒸发得到 1.3g 浓稠的油状物。然后将产物 (530mg, 1.8mmol) 溶解于 THF (15mL), 冷却 (在 N₂ 下) 至 -78 °C。滴加 DIBAL (2.0mL, 1M 溶液), 反应 (体系) 搅拌 1 小时。当 TLC 表明没有酯起始物质存在, 而有醛 (通过 DNP 染色) 存在时, 向反应 (体系) 中加入 1.3 当量的溴化丁基镁。使该 (体系) 在 2.5 小时期间温暖至室温。用碳酸氢盐溶液猝灭反应, 干燥有机层并蒸发得到油状的亚氨基醇 (350mg)。亚氨基醇 (150mg) 与水性 HCl (1M, 1mL) 和二乙醚 (5mL) 搅拌过夜。蒸发水层, 加入 1 当量二氯甲烷 (5mL) 和三乙胺 (0.5mL) 配制的异氰酸 1-金刚烷酯溶液。该 (体系) 搅拌过夜。粗制反应 (产物) 经硅胶层析 (1 : 1EtOAc : 己烷) 得到油状产物 (35mg)。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ = 4.22 (br, 1H), 4.08 (br, 1H), 3.91 (br, 1H), 3.10 (m, 1H), 2.30 (br, 2H), 2.2-1.0 (br m, 32H)。

[0359]

实施例 27

[0360] 合成 (996)

[0361] 将十二烷胺 (500mg, 2.7mmol) 加入二氯甲烷 (20mL) 和水性碳酸氢盐 (20mL, 饱和的) 的双相体系中。搅拌混合物的同时加入三光气 (264mg, 0.9mmol)。反应 (体系) 搅拌 2 小时。取出有机层, 用 EtOAc 作为洗脱剂经硅胶塞过滤。蒸发溶剂得到 564mg 相应的异氰酸酯。将异氰酸酯 (1 当量) 与胺 (15mg, 0.048mmol) 在二氯甲烷中混合。该 (体系) 搅拌过夜。将反应 (产物) 加载于硅胶, 用乙酸乙酯层析得到橙色固体状产物 (22mg, 89%)。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ = 7.69 (d, J = 8.3Hz, 1H), 5.81 (d, J = 8.3Hz, 1H), 5.15 (d, J = 6.72Hz, 1H), 4.70 (m, 1H), 4.60 (m, 1H), 4.00-3.5 (br, 2H), 3.30 (t, J = 6.7Hz, 2H), 3.17 (q, J = 6.6Hz, 2H), 2.4-2.0 (m, 2H), 1.9-0.9 (br m, 32H)。ESIMS = 523m/z (M+H)。

[0362]

实施例 28

[0363] 合成 (997)

[0364] 将 12-氨基十二烷醇 (50mg) 在二氯甲烷中与异氰酸 1-金刚烷酯 (44mg) 搅拌过夜。蒸发反应 (体系), 加入 2mL 乙腈配制的羰基二咪唑 (carbonyldiimidazole)。该 (体系) 回流 5 小时。真空除去溶剂, 将固体在二氯甲烷和水之间分配。用水反复洗涤有机层得到目标化合物 (22mg)。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ = 8.17 (s, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.05 (s, 1H), 4.41 (t, J = 7.5Hz, 2H), 4.32 (br, 1H), 4.21 (br, 1H), 3.08 (q, J = 6.7Hz, 2H), 2.0-1.0 (m, 35H)。

[0365]

实施例 29

[0366] 合成反式-苄氧基异构体的通用方法: 合成反式-1-(4-苄氧基-环己基)-3-三环 [3.3.1.1^{3,7}] 癸-1-基-脲 1032

[0367] 合成反式-1-(4-羟基-环己基)-3-三环 [3.3.1.1^{3,7}] 癸-1-基-脲 1039

[0368] 在 0℃ 向异氰酸 1-金刚烷酯 (10g, 56.4mmol) 和盐酸反式-4-氨基环己醇 (10.3g, 67.7mmol) 的 DMF (300mL) 溶液中加入三乙胺 (6.9g, 67.7mmol)。反应混合物搅拌过夜。将反应混合物倒入水中, 收集得到的沉淀物, 用水洗涤。甲醇/水重结晶粗产物。产率: 15.5g (为理论值的 94%)。熔点: 254℃。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆): 5.48 (d, J = 9Hz, 1H), 5.38 (s, 1H), 4.48 (d, J = 4.7Hz, 1H), 3.42-3.28 (m, 1H), 3.28-3.13 (m, 1H), 2.02-1.93 (m, 3H), 1.87-1.68 (m, 9H), 1.63-1.54 (m, 7H), 1.24-0.93 (4H)。

[0369] 合成反式-1-(4-苄氧基-环己基)-3-三环 [3.3.1.1^{3,7}] 癸-1-基-脲 1032

[0370] 在 0℃ 向化合物 1 的 DMF (10mL) 溶液中加入在油中的 60% 氢化钠 (60mg, 1.5mmol)。10 分钟后, 引入苄基溴 (0.20g, 1.2mmol), 然后温暖至室温, 搅拌过夜。加入水猝灭反应, 收集得到的白色沉淀物, 用水洗涤。DCM/己烷重结晶固体。产率: 0.35g (为理论值的 92%)。熔点: 244℃。¹H NMR (300MHz, CDCl₃): 7.40-7.23 (m, 5H), 4.52 (s, 2H), 4.10-3.92 (m, 2H), 3.58-3.41 (m, 1H), 3.37-3.24 (m, 1H), 2.11-1.81 (m, 13H), 1.50-1.33 (m, 6H), 1.50-1.33 (m, 2H), 1.17-0.99 (m, 2H)。

[0371]

实施例 30

[0372] 合成顺式-苄氧基异构体的通用方法: 合成顺式-1-(4-苄氧基-环己基)-3-三环 [3.3.1.1^{3,7}] 癸-1-基-脲 1078

[0373] 合成顺式-4-硝基-苯甲酸 4-(1,3-二氧代-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-环己

酯

[0374] 在室温向反式-2-(4-羟基-环己基)-异吲哚-1,3-二酮(38g, 154.9mmol)、三苯基膦(65g, 248mmol)和4-硝基苯甲酸(41.4g, 248mmol)的1500mL THF溶液中滴加偶氮二羧酸二异丙酯(50.1g, 248mmol)。反应混合物搅拌过夜。蒸发溶剂, 甲醇重结晶得到的固体。产率: 53g(为理论值的86.7%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃): 8.40-8.36(m, 4H), 7.79(ddd, J = 0.12, 0.02和0.02Hz, 4H), 5.39(s, 1H), 4.37-4.22(m, 1H), 2.82-2.65(m, 2H), 2.27-2.16(m, 2H), 1.84-1.65(m, 4H)。

[0375] 合成反式-4-硝基-苯甲酸4-氨基-环己酯

[0376] 在室温将35重量%水合肼(0.93g, 10.1mmol)加入上述化合物(2.0g, 5.1mmol)的DCM(50mL)溶液中, 然后加入MeOH(50mL)。反应混合物搅拌过夜。滤出得到的白色沉淀物, 真空除去溶剂。将得到的白色固体溶解于1N HCl水溶液中, 用DCM洗涤。用过量的1N NaOH溶液碱化水层, 用DCM萃取。用MgSO₄干燥后, 蒸发溶剂得到固体状的粗制反式-4-硝基-苯甲酸4-氨基-环己酯, 该产物无需进一步纯化即可用于下一步骤。产率: 1.1g(为理论值的89%)。¹H NMR(DMSO-d₆): 8.26(dd, J = 43.5和8.8Hz, 4H), 6.72(d, J = 7.3Hz, 2H), 5.08(s, 1H), 2.00-1.36(m, 9H)。

[0377] 合成反式-4-硝基-苯甲酸4-(3-三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基-脲基)-环己酯 1076

[0378] 在0℃向上述化合物(1.33g, 5.1mmol)的DMF溶液中加入异氰酸1-金刚烷酯(0.82g, 4.6mmol), 然后加入三乙胺(0.47g, 4.6mmol)。反应混合物搅拌过夜。将反应混合物倒入水中, 收集得到的沉淀物, 用水洗涤。DCM/己烷重结晶粗产物。产率: 1.83g(为理论值的90%)。熔点: 124℃。¹H NMR(300MHz, CDCl₃): 8.24(dd, J = 28.7和9.1Hz, 4H), 5.23(s, 1H), 4.13(d, J = 7.2Hz, 1H), 4.05(s, 1H), 3.75-3.61(m, 1H), 2.17-1.41(m, 23H)。

[0379] 合成顺式-1-(4-羟基-环己基)-3-三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基-脲 1077

[0380] 在室温向酯 1076(1g, 2.3mmol)的THF(100mL)溶液中加入1N NaOH溶液(4.6mL, 4.6mmol)。反应混合物搅拌过夜, 然后加入1N HCl溶液(5.5mL)以猝灭反应。过滤收集得到的白色沉淀物, 甲醇/水重结晶。产率: 0.63g(为理论值的95%)。熔点: 205℃。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆): 5.67(d, J = 8.2Hz, 1H), 5.45(s, 1H), 4.41(s, 1H), 3.63-3.51(m, 1H), 3.46-3.36(m, 1H), 2.00-1.92(m, 3H), 1.87-1.72(m, 6H), 1.66-1.28(m, 14H)。

[0381] 合成顺式-1-(4-苄氧基-环己基)-3-三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基-脲 1078

[0382] 如化合物 1032 所述利用苄基溴(0.20g, 1.2mmol)和60%氢化钠(0.06g, 1.5mmol)从化合物 1077(0.29g, 1mmol)合成化合物 1078(2.22g, 60%)。产率: 0.35g(为理论值的92%)。熔点: 181℃。¹H NMR(300MHz, CDCl₃): 7.43-7.24(m, 5H), 4.49(s, 2H), 4.11(d, J = 8.3Hz, 1H), 4.02(s, 1H), 3.66-3.51(m, 2H), 2.23-1.07(m, 23H)。

[0383]

实施例 31

[0384] 合成顺式-苄氧基异构体的通用方法: 合成顺式-1-(4-氟-苄氧基)-环己基]-3-三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基-脲 1135

[0385] 合成顺式-2-[4-(4-氟-苄氧基)-环己基]-异吲哚-1,3-二酮

[0386] 在室温向反式-2-(4-羟基-环己基)-异吲哚-1,3-二酮 3(1.0g, 4.1mmol)、三苯基膦(1.3g, 4.9mmol)和4-氟苯酚(0.55g, 4.9mmol)的40mL THF溶液中滴加偶氮二羧

酸二异丙酯 (0.99g, 4.9mmol)。反应混合物搅拌过夜。12 小时后蒸发溶剂, 甲醇重结晶纯化得到的固体。产率: 1.1g (为理论值的 80%)。¹H NMR (300MHz, CDCl₃): 7.84-7.80 (m, 2H), 7.71-7.67 (m, 2H), 6.98-6.94 (m, 4H), 4.51 (s, 1H), 4.26-4.12 (m, 1H), 2.76-2.60 (m, 2H), 2.18 (d, J = 13Hz, 2H), 1.79-1.49 (m, 4H)。

[0387] 合成顺式-1-[4-(4-氟-苯氧基)-环己基]-3-三环 [3.3.1.1^{3,7}] 癸-1-基-脲 1135

[0388] 在室温将 35 重量% 水合肼 (0.27g, 2.9mmol) 加入上述化合物 (0.5g, 1.5mmol) 的 DCM (15mL) 溶液中, 然后加入 MeOH (15mL)。反应混合物搅拌过夜。滤出得到的白色沉淀物, 真空除去溶剂。将得到的白色固体溶解于 1N HCl 水溶液中, 用 DCM 洗涤。用过量的 1N NaOH 溶液碱化水层, 然后用 DCM 萃取。用 MgSO₄ 干燥后, 蒸发溶剂得到固体状的粗制顺式-4-(4-氟-苯氧基)-环己基胺 10, 该产物无需进一步纯化即可用于下一步骤。

[0389] 在 0°C 向化合物 10 的 DMF 溶液中加入异氰酸 1-金刚烷酯 (0.16g, 0.91mmol), 然后加入三乙胺 (0.10g, 1.0mmol)。反应混合物搅拌过夜。将反应混合物倒入水中, 收集得到的沉淀物, 用水洗涤。DCM/己烷重结晶粗产物。产率: 0.31g (为理论值的 88%)。熔点: 207°C。¹H NMR (300MHz, CDCl₃): 6.98-6.91 (m, 2H), 6.84-6.78 (m, 2H), 4.34 (s, 1H), 4.30 (d, J = 9.8Hz, 1H), 4.20 (s, 1H), 3.71-3.56 (m, 1H), 2.13-1.44 (m, 23H)。

[0390] 实施例 32

[0391] 合成反式-苯氧基异构体的通用方法: 合成反式-1-[4-(4-氟-苯氧基)-环己基]-3-三环 [3.3.1.1^{3,7}] 癸-1-基-脲 1136

[0392] 合成顺式-2-(4-羟基-环己基)-异吲哚-1,3-二酮

[0393] 在室温将 1N NaOH 溶液 (19mL, 19mmol) 加入酯 4 (5g, 12.7mmol) 的 THF (100mL) 溶液。混合物在室温搅拌过夜, 然后加入 1N HCl 溶液 (40mL) 以猝灭反应。减压除去溶剂, 过滤收集形成的白色沉淀物, 将其溶解于 DMF。在室温加入三乙胺 (6.5g, 64mmol) 后, 用微波炉将反应混合物在 150°C 加热 30 分钟。冷却至室温后, 将反应混合物倒入水中, 然后用醚萃取。用水彻底洗涤有机层。MgSO₄ 干燥后, 真空除去溶剂。DCM/己烷重结晶得到的白色固体。产率: 1.9g (为理论值的 60%)。¹H NMR (300MHz, CDCl₃): 7.76 (ddd, J = 37.6, 5.4 和 3.1Hz, 4H), 4.21-4.07 (m, 2H), 2.72-2.55 (m, 2H), 1.96 (d, J = 13.9Hz, 2H), 1.73-1.50 (m, 4H)。

[0394] 合成反式-2-[4-(4-氟-苯氧基)-环己基]-异吲哚-1,3-二酮

[0395] 采用与用 DIAD (0.99g, 4.9mmol)、PPh₃ (1.3g, 4.9mmol) 和 4-氟苯酚 (0.55g, 4.9mmol) 所述相同的方法从以上化合物 (1g, 4.1mmol) 合成反式-2-[4-(4-氟-苯氧基)-环己基]-异吲哚-1,3-二酮。产率: 0.56g (为理论值的 40%)。¹H NMR (300MHz, CDCl₃): 7.77 (ddd, J = 37.6, 5.4 和 3.1Hz, 4H), 7.00-6.84 (m, 4H), 4.30-4.15 (m, 2H), 2.48-2.31 (m, 2H), 2.26 (d, J = 11.4Hz, 2H), 1.89-1.77 (m, 2H), 1.65-1.49 (m, 4H)。

[0396] 合成反式-1-[4-(4-氟-苯氧基)-环己基]-3-三环 [3.3.1.1^{3,7}] 癸-1-基-脲 1136

[0397] 采用与用 15mL DCM 和 15mL MeOH 配制的 35 重量% 肼 (0.27g, 2.95mmol) 所述相同的方法, 然后与 DMF (5mL) 配制的异氰酸 1-金刚烷酯 (0.12g, 0.67mmol) 和三乙胺 (0.07g, 0.74mmol) 反应来合成化合物 1136 (0.5g, 1.5mmol)。产率: 0.24g (为理论值的 93%)。熔

点:243°C。¹H NMR(300MHz, CDCl₃):6.98-6.91(m, 2H), 6.85-6.79(m, 2H), 4.12-3.94(m, 3H), 3.66-3.51(m, 1H), 2.17-1.88(m, 12H), 1.73-1.45(m, 9H), 1.28-1.11(m, 2H)。

[0398]

实施例 33

[0399] 脲抑制剂的组合合成

[0400] 在室温搅拌 PS-吡啶-CHO 树脂(0.5g, 0.46mmol)、THF(3mL)、TEOF(3mL)和伯胺(1.0mmol)的混合物 4 小时。然后加入 NaBH₃CN(1.0mL, 1M)的 THF 和乙酸(0.1mL)配制的溶液。得到的混合物搅拌 2 小时。排出上清液,用 THF(8mL×2)、MeOH(8mL×3)和 DCM(8mL×2)洗涤树脂。

[0401] 向结合树脂的仲胺(0.1g)的(2mL)混悬液中加入异氰酸酯(0.5mmol)。得到的混合物在室温搅拌过夜。排出上清液,用 DMF、MeOH 和 DCM 洗涤树脂。

[0402] 将结合树脂的产物悬浮在 1% (v/v) TFA(3mL, 约 4mol 当量)中,混合物在室温搅拌 4 小时。树脂的颜色变为深紫色。收集上清液,用 DCM(2×2mL)洗涤树脂。浓缩合并的溶液以极好的产率得到纯产物。

[0403]

实施例 34

[0404] 本实施例提供了试验并描述了具有第二药效团(即羧酸或羧酸甲酯官能团)的本发明化合物对小鼠和人可溶性环氧化物水解酶的抑制作用。

[0405] 制备酶

[0406] 在杆状病毒表达系统中产生重组小鼠 sEH 和人 sEH,亲和层析纯化。用 SDS-PAGE 和光密度扫描法判断这些制品至少有 97% 纯。未观察到能干扰该 sEH 试验的可检测酯酶或谷胱甘肽转移酶活性。采用 Pierce BCA 试验,以组分 V 牛血清白蛋白作为校验标准品定量测定蛋白质浓度。

[0407] IC₅₀ 试验条件

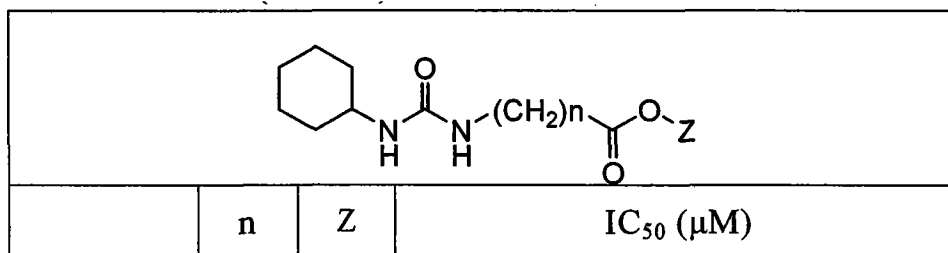
[0408] 可采用两种方法之一测定 IC₅₀ 值。一种方法使用外消旋 4-硝基苯基-反式-2,3-环氧-3-苯基丙基碳酸酯作为底物。30°C,将酶(0.12 μM 小鼠 sEH 或 0.24 μM 人 sEH)与抑制剂在磷酸钠缓冲液,0.1M, pH 7.4 中培育 5 分钟,然后引入底物([S] = 40 μM)。检测 30°C,1 分钟期间 405nm 显示的 4-硝基酚盐阴离子来评估活性(Spectramax 200; Molecular Devices)。试验以一式三份进行。IC₅₀ 是使酶活性降低 50% 的抑制剂浓度,可通过使至少 5 个数据点回归到 IC₅₀ 各侧来检测该值,其中至少两个点应在曲线的线性区域内。从至少三次独立试验(每个试验进行一式三份)产生的曲线获得表 1-表 4 所示的标准偏差(SD)。

[0409] 采用 Analytical Biochemistry, 34366-75, (2005) 所述的方法,用氰基(6-甲氧基-萘-2-基)甲基反式-[(3-苯基环氧乙烷-2-基)甲基]碳酸酯作为底物测定其它 IC₅₀ 值(见表 18b)。30°C,将酶(小鼠 sEH 是 0.88nM,人 sEH 是 0.96nM)与抑制剂([I] = 0.5-10,000nM)在 BisTris-HCl 缓冲液(25mM, pH 7.0,含有 0.1mg/ml BSA)中培育 5 分钟,然后引入底物([S] = 51M)。通过监测 6-甲氧基-2-萘醛的出现检测酶活性。试验进行一式三份。IC₅₀ 值定义为能使酶活性降低 50% 的抑制剂浓度。使至少 5 个数据点回归到 IC₅₀ 值的各侧来检测 IC₅₀ 值,其中至少两个数据点应在曲线的线性区域内。从至少三次独立试验(每个试验进行一式三份)产生曲线。

[0410] 如上所述,用表 1 所示化合物进行试验。

[0411] 表 1 :1-环己基-3-n-(取代的)烷基脲对小鼠和人 sEH 的抑制作用。

[0412]



[0413]

			小鼠 sEH	人 sEH
625	1	H	> 500	> 500
549	1	CH ₃	33±2	70±6
109	2	H	122±2	358±2
635	2	CH ₃	2.5±0.1	78±4
632	3	H	> 500	> 500
774	3	CH ₃	0.33±0.03	6.2±0.5
884	4	H	0.25±0.02	2.4±0.1
854	4	CH ₃	0.13±0.03	5.0±0.6
56	5	H	90±3	253±8

[0414] ^a 酶 (0.12 μM 小鼠 sEH 和 0.24 μM 人 sEH) 于 30°C 与抑制剂在磷酸钠缓冲液 (pH 7.4) 中培育 5 分钟, 然后引入底物 ([S] = 40 μM)。三次独立试验结果的平均值 ±SD。

[0415] 从上表可看出, 将羧酸官能团转化为其甲酯 (549、635 和 774) 增强了对小鼠和人 sEH 的抑制作用。此外, 丁酸的甲酯 (774) 显示对两种酶的活性比乙酸和丙酸酯 (549 和 635) 高 8-100 倍, 这表明位于距离第一脲药效团羰基三个碳单位 (第四碳上的羰基, 离脲羰基约 7.5 Å) 的极性官能团对于制备水溶性改进的强效 sEH 抑制剂有效。此外, 化合物 854 中第一脲药效团的羰基与第二酯药效团的距离约 8.9 Å, 显示第二药效团的位置可能距离第一脲药效团羰基约 7 Å 到约 9 Å。

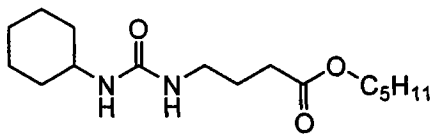
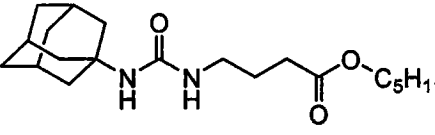
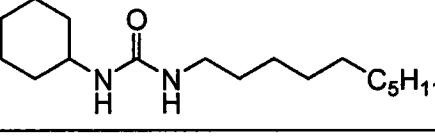
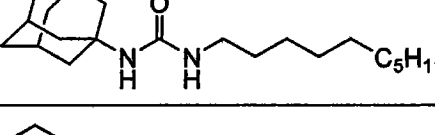
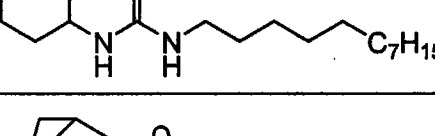
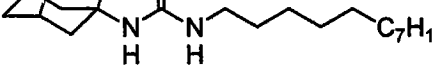
[0416] 实施例 35

[0417] 本实施例描述了与只含有第一药效团的化合物相比, 含有第二药效团的本发明化合物对小鼠和人可溶性环氧化物水解酶的抑制作用。从表 2 所示结果可见, 该活性相对一致。

[0418] 按照已建立的方案 (见上述), 用表 2 所示化合物进行试验。

[0419] 表 2 :1-环烷基-3-烷基脲对小鼠和人 sEH 的抑制作用 ^a

[0420]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)	
		小鼠 sEH	人 sEH
772		0.05 ± 0.01	1.02 ± 0.05
789		0.05 ± 0.01	0.17 ± 0.01
791		0.05 ± 0.01	0.14 ± 0.01
790		0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.01
297		0.05 ± 0.01	0.14 ± 0.01
686		0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.01

[0421] ^a 酶 (0.12 μM 小鼠 sEH 和 0.24 μM 人 sEH) 在 30°C 与抑制剂在磷酸钠缓冲液 (pH 7.4) 中培育 5 分钟, 然后引入底物 ([S] = 40 μM)。三次独立试验结果的平均值 ± SD。

[0422] 如上表所示, 与 3-氯苯基类似物相比 (767, 见下表 3), R 处用环己基 (772) 或金刚烷基 (789) 取代使抑制剂效力增强了 10 倍。此外, 对于小鼠和人酶, 用极性基团功能化的这些化合物具有与非功能化亲脂性抑制剂相同的活性和效力 (例如, 791、790、297 和 686)。给这些化合物加上极性基团通常能增加它们的水溶性, 例如将化合物 772 或 789 与 791 和 790 比较。此外, 将水合的水从酶催化位点除去需要的能量大约等于在抑制剂和酶之间形成新的氢键所需的能量。因此, 如果抑制剂已是强效的, 加入能与靶酶 (形成) 氢键的极性基团并不能显著增强效力。然而, 预计存在额外的极性基团可能通过降低与除第一靶标 (sEH) 以外的生物学分子的疏水结合而显著提高特异性。以此方式将几种活性药效团组合在一个分子中往往能极大提高在复杂生物学系统中的特异性和生物学活性。

[0423]

实施例 36

[0424] 本实施例描述了含有第二药效团的本发明化合物对小鼠和人可溶性环氧化物水解酶的抑制作用, 所述第二药效团是酮、酰胺、醇、碳酸酯、氨基甲酸酯、脲、羧酸酯官能团。

[0425] 根据表 1 所示初始活性, 制备距离第一药效团羰基约 7.5 Å 的含有极性羰基的脲化合物来提高亲脂性 sEH 抑制剂 (192 和 686) 的水溶性。下表显示可提供羰基的各种官能

团,例如酮、酯、酰胺、碳酸酯、氨基甲酸酯和脲,这些官能团称为第二药效团。为测定各种第二药效团的效力,需恒定维持3-氯苯基作为脲药效团的取代基之一。3-氯苯基对于通过层析快速监测化学反应特别有用。优化第二药效团后,可用能得到更有效的抑制剂的环己基、金刚烷基或其它基团取代该芳基取代基。

[0426] 按照已建立的方案(见上述),用表3所示化合物进行试验。

[0427] 表3:1-(3-氯苯基)-3-(2-烷基化乙基)脲对小鼠和人sEH的抑制作用^a

[0428]

编号.	X	Y	IC ₅₀ (μM)	
			小鼠 sEH	人 sEH
794	CH ₂	CH ₂	0.41 ± 0.05	2.1 ± 0.2
767	CH ₂	O	0.37 ± 0.04	2.1 ± 0.07
768	CH ₂	NH	7.2 ± 0.9	32 ± 0.8
761	O	CH ₂	7.7 ± 0.6	26 ± 1
760	O	O	7.6 ± 0.3	22 ± 1
762	O	NH	5.3 ± 0.1	18 ± 0.9
765	NH	CH ₂	100 ± 10	>100
777	NH	O	78 ± 6	>100
766	NH	NH	110 ± 20	>100

[0429] ^a 酶 (0.12 μM 小鼠 sEH 和 0.24 μM 人 sEH) 在 30°C 与抑制剂在磷酸钠缓冲液 (pH 7.4) 中培育 5 分钟,然后引入底物 ([S] = 40 μM)。三次独立试验结果的平均值 ± SD。

[0430] 当羰基(X)的左侧是亚甲基碳时,如果右侧(Y)也有亚甲基碳(酮,794)或氧(酯,767)则能获得最佳抑制作用。通过醇或酸部分或二者的空间位阻作用稳定了酯键(805)。存在氮(酰胺,768)降低了活性。在羰基左侧为氧的化合物中观察到活性降低>10-倍,即使分别用亚甲基碳(酯,761)、氧(碳酸酯,760)或氮(氨基甲酸酯,762)修饰右侧(Y),活性也无任何改变。在左侧为氮的所有化合物(765、777和766)的活性低于794或767。比较化合物767和761,在羰基周围存在亚甲基碳对抑制活性显示了极为不同的作用。在羰基左侧含有亚甲基碳的化合物(767)显示比右侧含有亚甲基碳的(761)抑制作用高20倍。虽然此系列抑制剂的效力等级排序对于小鼠和人sEH相等,但观察到对小鼠酶抑制效力高3-5倍。

[0431]

实施例 37

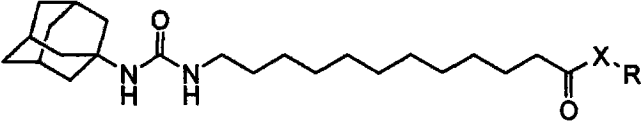




[0432] 本实施例描述了不含有第二药效团,但含有第三药效团的本发明化合物对小鼠和人可溶性环氧化物水解酶的抑制作用,所述第三药效团是酰胺或羧酸酯官能团(含烷基、烯基、炔基、环烷基和芳基烷基酯基团)。

[0433] 发现在十二碳链末端为羧酸基团的化合物 687 是小鼠和人酶的优秀抑制剂。此外,发现酯是合适的第二药效团。因此,合成了距离脲药效团 11 个碳单位处含有羰基的各种酯衍生物,评估了第三药效团(对抑制活性)的贡献。

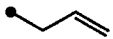
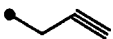
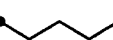



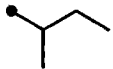
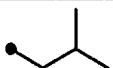

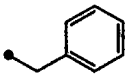
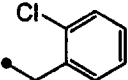
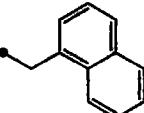
[0434] 按照已建立的方案(见上述),用表 4 所示化合物进行试验。

[0435] 表 4:1-(1-金刚烷基)-3-(11-烷基化的十一烷基)-脲对小鼠和人 sEH 的抑制作用^a

[0436]

				
编号.	X	R	IC ₅₀ (μM)	
			小鼠 sEH	人 sEH
687	O	H	0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.01
780	O		0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.01
784	O		0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.01
792	NH		0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.01
783	O		0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.01

[0437]

781	O		0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.01
788	O		0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.01
800	O		0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.01
785	O		0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.01
793	NH		0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.01
801	O		0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.01
802	O		0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.01
803	O		0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.01
786	O		0.07 ± 0.01	0.23 ± 0.02
804	O		0.07 ± 0.01	0.13 ± 0.01
782	O		0.10 ± 0.01	0.29 ± 0.01
787	O		0.09 ± 0.01	0.21 ± 0.01

[0438] ^a 酶 ($0.12 \mu\text{M}$ 小鼠 sEH 和 $0.24 \mu\text{M}$ 人 sEH) 在 30°C 与抑制剂在磷酸钠缓冲液 (pH 7.4) 中培育 5 分钟, 然后引入底物 ($[\text{S}] = 40 \mu\text{M}$)。三次独立试验结果的平均值 \pm SD。

[0439] 尽管在较短链的末端存在极性基团降低了对两种酶的抑制效力 (见表 1), 但是当用各种脂族基团将羧酸修饰成酯时 (780, 784, 783, 781, 788, 800, 785, 801, 802 和 803), 对两种酶的抑制效力与酸 (687) 的一样高。乙基 (792) 和异丙基 (793) 酰胺衍生物也是强效抑制剂。含有甲基分支脂族链的化合物也是强效的 (785, 801, 802, 803 和 793)。其它更大的基团, 例如 1-金刚烷基甲基 (786)、苄基 (804)、2-氯苄基 (782) 或 2-萘基甲基 (787) 能提供良好的活性水平, 虽然对于两种酶 (的活性) 略微降低 (1.5-3 倍)。这些结果在 sEH 抑制剂结构中鉴定到可能包含第三极性官能团, 即第三药效团的其它位点。

[0440]




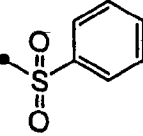
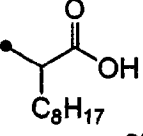
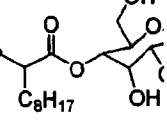
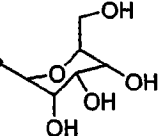
实施例 38

[0441] 为进一步研究能提高水溶性的官能团对这类抑制剂的生物利用度和效力的作用, 合成了含有各种官能团的化合物 687 的 7 种酰胺衍生物。如表 5 所示, 制备了烷基、磺酰基、脂氨基酸 (lipoamino acid) 和葡糖基酰胺衍生物并检测它们对 sEH 的抑制效力、熔点和在水及油中的溶解性。对于小鼠 sEH, 当用烷基 (792 和 793)、磺酰基 (848 和 914)、脂氨基酸 (1001) 或葡糖基 (1002 和 798) 取代化合物 687 的酸官能团时, 抑制活性无变化。令人感兴趣的是, 对于人 sEH, 通过光谱和荧光试验检测观察到当用上述取代基取代化合物 687 的酸 (官能团) 时, 抑制效力有显著差异。虽然引入乙基酰胺基团 (792) 导致效力降低 1.5

倍,但异丙基类似物(793)显示效力ADUA(687)非常相似。表5中相应的酯衍生物784和785显示对人酶的抑制作用提高2-3倍。含有甲基(848)或苯基(914)的两种磺酰胺将化合物4的抑制效力提高约1.5倍。另一方面,当分别用脂氨基酸(1001)或葡糖基(1002和798)取代磺酰胺时观察到效力降低25-倍和3-倍。这提示这种大的(例如葡萄糖)高极性官能团对于保留抑制人sEH的效力无效。比较化合物1002和798,这两个化合物对人酶显示相似的抑制作用,虽然在化合物1002的ADUA和糖部分之间存在辛基,这提示酰胺官能团周围存在相对亲脂性的烷基不会改变抑制剂与酶的结合活性。检测到表5中大多数酰胺的熔点范围在100-140°C,这与酸化合物687的114°C相似,而表5中化合物687的酯衍生物显示熔点比化合物687低23-66°C。例外的化合物是1001,因为我们未能在室温得到其结晶固体。这些结果暗示在降低AUDA衍生物的熔点中酰胺官能团不如酯(基团)有用。与为此项研究制备的酯一样,酰胺不能大幅增强对靶酶的效力。因此,这些酰胺的优点是配制容易、口服利用度和药物动力学改善。当比较三种化合物(848、1001和1002)与化合物4的水溶性时,含有甲磺酰基(848)或葡糖基(1002)的化合物分别显示溶解性低3倍或相似。化合物1001是脂氨基酸缀合物,其溶解性惊人地比化合物687高2.5倍。与687相比,化合物1001的抑制效力降低了25倍表明化合物1001的生物学活性在很大程度上归结于AUDA的产生,而不是AUDA及其脂或酰胺。此外,这些酰胺(化合物)的油溶解性未获得有价值的改善。虽然在7种酰胺衍生物中未观察到这些化合物特性有显著改善,但它们的相对稳定性和抑制效力足以激励进一步研究其它酰胺化合物来开发物理特性改善的生物可利用的抑制剂。我们报道了将强效sEH抑制剂的脲药效团修饰为酰胺官能团未能显著改变抑制效力,观察到这些酰胺抑制剂的水溶性至少提高10倍和熔点降低。(Kim等, *J. Med. Chem.*, 2005, 48, 3621-3629)。这提示随着脲官能团修饰为相应的酰胺药效团,表5中酰胺衍生物的抑制效力和物理特性可能改善。

[0442] 表5.12-(3-金刚烷-1-基-脲基)十二烷酸烷基或磺酰基酰胺衍生物对小鼠和人sEH的抑制作用

[0443]

编号.	R	小鼠 sEH ^a	人 sEH ^a	人 sEH ^b	熔点 ^c (°C)	水溶解性 (μg/mL)	油溶解性 (μg/mL)
		IC ₅₀ (μM)		IC ₅₀ (nM)			
792		0.05±0.01	0.1±0.01	4.3	119	-	-
793		0.05±0.01	0.1±0.01	2.9	115	-	-
848		0.05±0.01	0.1±0.01	2.1	103	10	4,000
914		0.05±0.01	0.1±0.01	1.9	100	-	5,000
1001		0.05±0.01	0.21±0.01	55	油	63	-
1002		0.05±0.01	0.1±0.01	7.5	130-140	38	2,000
798		0.05±0.01	0.22±0.01	7.6	-	-	-

[0444] ^a 光谱试验:酶 (0.12 μM 小鼠 sEH 和 0.24 μM 人 sEH) 在 30°C 与抑制剂在磷酸钠缓冲液 (200 μl; pH 7.4) 中培育 5 分钟, 然后引入底物 ([S] = 40 μM), 三次独立试验结果的平均值 ±SD。

[0445] ^b 荧光试验:酶 (0.88nM 小鼠 sEH 和 0.96nM 人 sEH) 在 30°C 与抑制剂在 Bis-Tris/HCl 缓冲液 (25mM; pH 7.0) 中培育 5 分钟, 然后引入底物 ([S] = 40 μM)。三次独立试验结果的平均值 ±SD。

[0446] ^c 熔点

[0447]

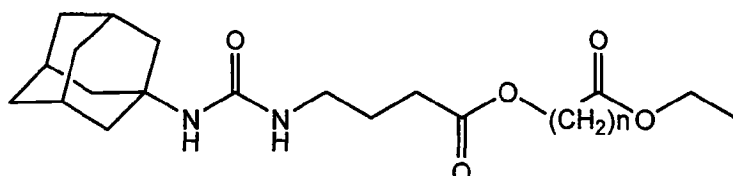
实施例 39

[0448] 本实施例提供了试验并描述了含有第二药效团和第三药效团 (即羧酸酯官能团) 的本发明化合物对小鼠和人可溶性环氧化物水解酶的抑制作用。

[0449] 按照已建立的方案 (见上述), 用表 6 所示化合物进行试验。

[0450] 表 6.4-(3-金刚烷-1-基-脲基)丁酰氧基化合物对小鼠和人 sEH 的抑制作用

[0451]



编号	n	T _A ^a	小鼠 sEH ^b		人 sEH ^b		熔点 (°C)	cLog P ^c
			IC ₅₀ (μM)	IC ₉₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	IC ₉₀ (μM)		
857	1	8	0.05±0.01	0.11±0.01	0.39±0.01	9±2	123	0.98±0.47
876	2	9	0.05±0.01	0.63±0.02	0.54±0.05	9±2	95-97	1.27±0.47
858	3	10	0.05±0.01	0.16±0.01	0.12±0.01	5.0±0.1	89-91	1.55±0.47
877	4	11	0.05±0.01	0.10±0.01	0.13±0.01	1.5±0.1	84-86	1.97±0.47
878	6	13	0.05±0.01	0.13±0.01	0.12±0.01	0.81±0.01	65-67	2.81±0.47
879	7	14	0.05±0.01	0.16±0.02	0.11±0.01	0.72±0.01	58-59	3.22±.47
880	9	16	0.05±0.01	0.26±0.03	0.10±0.01	0.68±0.01	60-61	4.06±0.47
881	10	17	0.05±0.01	0.35±0.05	0.10±0.01	1.2±0.1	54-55	4.48±0.47
882	11	18	0.05±0.01	0.63±0.04	0.10±0.01	1.8±0.2	64-65	4.89±0.47

[0452] ^a 从第一脲药效团的羰基延伸的原子总数, T_A = n+7

[0453] ^b 酶 (0.12 μM 小鼠 sEH 和 0.24 μM 人 sEH) 在 30°C 与抑制剂在磷酸钠缓冲液 (pH 7.4) 中培育 5 分钟, 然后引入底物 ([S] = 40 μM), 三次独立试验结果的平均值 ±SD。

[0454] ^c cLog P: 利用 CS ChemDraw 6.0 版的 Crippen 方法计算的 log P。

[0455] 从上表可看出, 增加第二酯药效团和第三酯药效团间的距离 (549、635 和 774) 提高了对人 sEH 的抑制效力, 但对小鼠 EH 的活性维持相对一致。

[0456] 实施例 40

[0457] 本实施例描述了含有第二药效团的本发明化合物 (式 (I)) 对小鼠和人可溶性环氧化物水解酶的抑制作用。

[0458] 制备距离第一脲药效团羰基不同距离处含有极性醚基团的金刚烷基-脲化合物。制备的这些化合物提高了亲脂性 sEH 抑制剂 (192 和 686) 的水溶性。从表 7 的结果可见, 活性相对一致。

[0459] 按照已建立的方案 (见上述), 用表 7 所示化合物进行试验。

[0460] 表 7. 烷基醚衍生物对小鼠和人 sEH 的抑制作用

[0461]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM) ^a	
		小鼠 sEH	人 sEH
866		0.06±0.01	1.5±0.2
867		0.05±0.01	0.22±0.02
868		0.05±0.01	0.17±0.01
869		0.05±0.01	0.12±0.01
870		0.05±0.01	0.10±0.01

[0462] 如上表所示,用一个醚基团功能化的这些化合物对小鼠和人酶的活性和效力与非功能化亲脂性抑制剂(790,见上表2)的相同。将极性醚基团加入这些化合物提高了它们的水溶性(比较化合物866-870与790)。化合物869中第一脲药效团的羰基与第二醚药效团之间的距离约 8.9 \AA ,显示第二药效团可以距离第一脲药效团约 7 \AA - 约 9 \AA 。

[0463]

实施例 41

[0464] 本实施例描述了与还包含第三药效团的化合物相比,含有第二醚或聚醚药效团的本发明化合物(式(I))对小鼠和人可溶性环氧化物水解酶的抑制作用。

[0465] 由于发现含有第二醚药效团的化合物是小鼠和人酶合适抑制剂,合成了各种聚醚衍生物并评估它们与第三药效团的贡献。从表8的结果可见,活性相对一致。

[0466]

按照已建立的方案(见上述),用表8所示化合物进行试验。

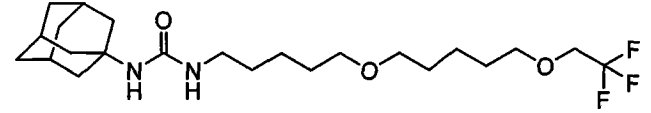
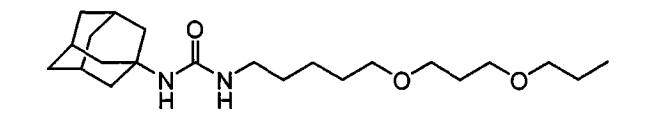
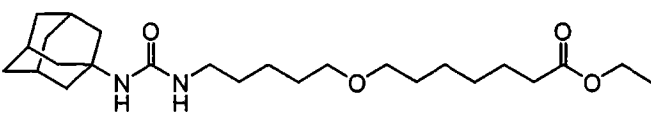
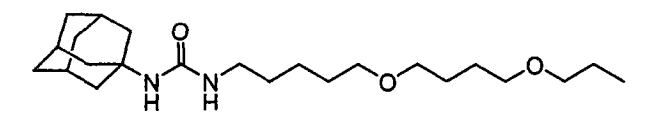
[0467]

表8. 取代的醚衍生物对小鼠和人 sEH 的抑制作用

[0468]

编号	结构	IC ₅₀ (μM) ^a	
		小鼠 sEH	人 sEH
908		0.05 ± 0.01	0.16 ± 0.01
913		0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.01
940		0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.01
941		0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.01
950		0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.01
951		0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.01
952		0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.01
972		0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.01
973		0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.01
975		0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.01
1003		0.05 ± 0.01	0.13 ± 0.01

[0469]

1004		0.05 ±0.01	0.16 ±0.01
1005		0.05 ±0.01	0.10 ±0.01
1006		0.05 ±0.01	0.11 ±0.01
1011		0.05 ±0.01	0.10 ±0.01

[0470] 含有 2-4 个醚基团的化合物 (908、950 和 952) 对小鼠和人酶的抑制效力与非功能化亲脂性抑制剂 (790, 见上表 2) 一样高, 其水溶性增加, 药物动力学改善 (见图 14-24)。含有第三药效团 (的化合物) 也是强效抑制剂, 但其活性未进一步增强 (比较化合物 913 和 940 与 908, 比较化合物 951 与 950)。

[0471] 实施例 42

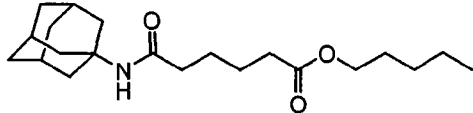
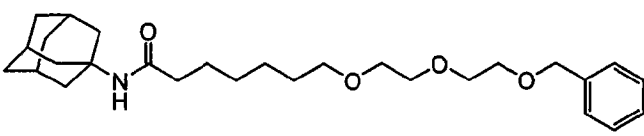
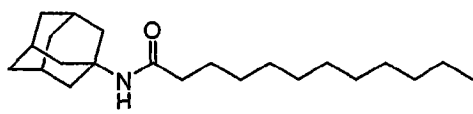
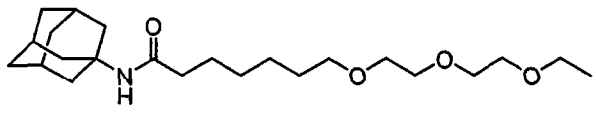
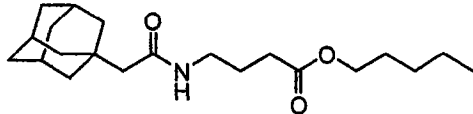
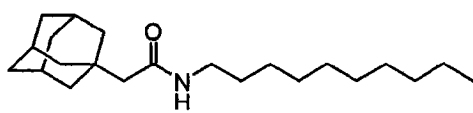
[0472] 本实施例描述了含有第一酰胺药效团的本发明化合物 (式 (I)) 对小鼠和人可溶性环氧化物水解酶的抑制作用。

[0473] 制备距离第一酰胺药效团羰基不同距离处含有极性第二药效团的金刚烷基 - 酰胺化合物。

[0474] 按照已建立的方案 (见上述), 用表 9 所示化合物进行试验。

[0475] 表 9. 金刚烷基 - 酰胺衍生物对小鼠和人 sEH 的抑制作用

[0476]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM) ^a	
		小鼠 sEH	人 sEH
834		0.34±0.01	2.4±0.2
959		0.05±0.01	0.11±0.02
989		0.05±0.01	5.0±0.3
1007		0.05±0.01	2.0±0.2
1017		0.05±0.01	0.43±0.02
1018		0.05±0.01	0.10±0.01

[0477] 如上表所示,用酰胺基团功能化的这些化合物对小鼠和人酶的活性和效力与脲抑制剂一样。酰胺羰基右侧的氮对于活性至关重要。

[0478] 实施例 43

[0479] 本实施例描述了含有亚芳基或亚环烷基接头的本发明化合物(式(I))对小鼠和人可溶性环氧化物水解酶的抑制作用。

[0480] 由于发现在第一和第二药效团之间含有亚烷基的化合物是小鼠和人酶的优良抑制剂,合成了在第一脲和第二药效团之间含有苯基或环己基间隔(基团)的各种金刚烷基衍生物并评估了该接头的作用。

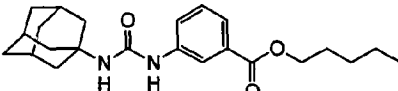
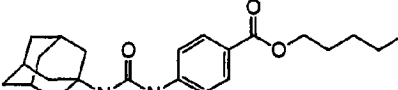
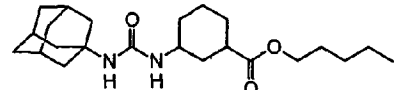
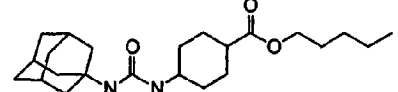
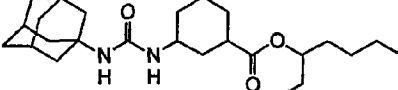
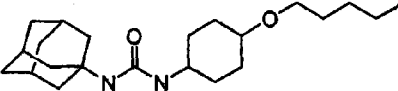
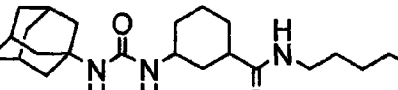
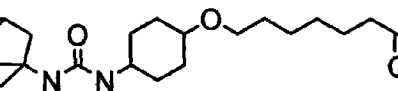
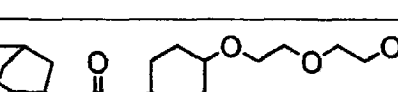
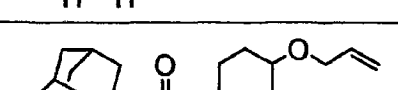
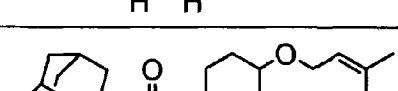
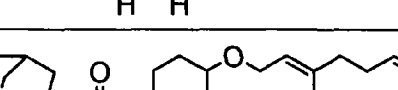
[0481] 按照已建立的方案(见上述),用表 10 所示化合物进行试验。

[0482] 表 10. 取代的苯基和环己基衍生物对小鼠和人 sEH 的抑制作用

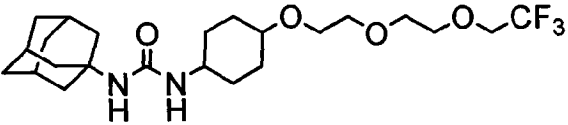
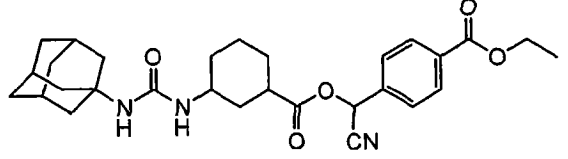
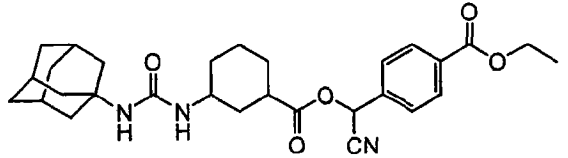
[0483]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM) ^a	
		小鼠 sEH	人 sEH

[0484]

859		0.05±0.01	0.10±0.01
860		0.05±0.01	0.10±0.01
861		0.05±0.01	0.10±0.01
863		0.05±0.01	0.12±0.01
904		0.05±0.01	0.10±0.01
909		0.05±0.01	0.11±0.01
960		0.05±0.01	0.10±0.01
961		0.05±0.01	0.10±0.01
981		0.05±0.01	0.10±0.01
982		0.05±0.01	0.10±0.01
983		0.05±0.01	0.10±0.01
984		0.05±0.01	0.10±0.01

[0485]

985		0.05±0.01	0.10±0.01
1009 反式		0.05±0.01	0.10±0.01
1014- 顺式		0.05±0.01	0.14±0.01

[0486] 不依赖于第二药效团的拓扑结构（比较化合物 859 与 860, 化合物 861 与 863）或类型（比较化合物 860 和 863 与 909），含有亚烷基和亚芳基接头基团的化合物（859 和 861）对于小鼠和人酶的抑制效力高于含有亚烷基接头的化合物（789, 见上表 2, 和 868, 见上表 7）。

[0487]

实施例 44

[0488] 本实施例描述了含有第二药效团, 还含有一个氨基酸部分的本发明化合物（式 (I)）对小鼠可溶性环氧化物水解酶的抑制作用。本实施例还描述了组合方法在化合物制备和评估中的应用。

[0489] 利用表 11 和表 12 的丁酸衍生物与一种或多种天然或合成的氨基酸形成酰胺键来说明组合方法的用途。该方法能快速获得大量高活性且能为小肠肽摄取系统所识别的化合物。如上所述, 当极性基团离脲官能团距离适当时, 可将其掺入二烷基脲 sEH 抑制剂的一个烷基中而不丧失活性。这些修饰可以获得溶解性和利用度更佳的新抑制剂。为扩大对抑制剂精细结构的该项评估, 采用了包括氨基酸的半组合方法。由于氨基酸是具有各种侧链的简单双功能合成子, 合成了 4-(3-环己基-脲基)-丁酸 625 的单肽和二肽衍生物。选择该母体化合物（酸 625）是因其对 sEH 的抑制作用低。此外, 为制备肽键, 使用诸如 1-乙基-3-(3-(二甲基氨基)-丙基)碳二亚胺的反应物, 这些反应物自身或它们的反应产物, 例如 1-乙基-3-(3-(二甲基氨基)-丙基)脲不是 sEH 抑制剂。因此, 观察到的任何抑制作用是靶向的肽衍生物所致。该方法能以分析规模 (10 μmol) 制备化合物, 而无 需纯化产物。经 LC-MS 确认存在所需产物, 利用所需化合物与起始物质的 LC-MS 峰比值估计反应产率。由于各抑制剂存在一个负式电离 (negative mode ionization) 的羧基, 可合理地定量估计产率。

[0490] 以分析级规模合成 4-(3-环己基-脲基)-丁酸 (632) 的氨基酸衍生物。对于每种氨基酸, 反应在 2mL 玻璃小瓶中进行。向 100 μL 的 632 的 DMF 溶液 (100mM (10 μmol)) 中加入 200 μL 的 1-乙基-3-(3-(二甲基氨基)-丙基)碳二亚胺的 DMF 溶液 (100mM (20 μmol))。室温反应 15 分钟后, 加入 400 μL 以 90 : 10 (DMF : 1N NaOH) 配制的氨基酸甲酯溶液 (100mM (40 μmol))。反应（体系）在 40°C 剧烈搅拌过夜。然后加入 300 μL 1N NaOH, 40°C 反应过夜。利用电喷雾离子化质谱 (ESI-MS) 确认各氨基酸的产物形成。反应溶液直接用

于抑制剂效力检测,其理论浓度是 10mM。

[0491] 按照已建立的方案(见上述),用表 11 所示化合物进行试验。

[0492] 表 11.4-(3-环己基-脲基)-丁酸(632)的单氨基酸衍生物对小鼠 sEH 的抑制作用

[0493]

			小鼠 sEH IC ₅₀
MS m/z (Da)			
R:	M _{th}	(M+H) ⁺	(μM)
OH	228.1	对照	> 50
丙氨酸	299.2	229.5	> 50
精氨酸	384.3	385.8	> 50
天冬氨酸	344.2	344.7	> 50
半胱氨酸	331.2	332.8	> 50
谷氨酸	357.2	358.7	> 50
甘氨酸	285.2	286.6	> 50
组氨酸	365.2	366.6	1.9 ± 0.2
异亮氨酸	341.2	342.7	18 ± 3
亮氨酸	341.2	342.7	> 50
赖氨酸	356.3	357.7	2.2 ± 0.5
甲硫氨酸	359.2	360.7	> 50
苯丙氨酸	375.2	376.7	5.6 ± 0.4
脯氨酸	325.2	326.7	> 50
丝氨酸	315.2	316.7	> 50
苏氨酸	329.2	330.7	> 50
色氨酸	414.2	415.8	1.6 ± 0.2
酪氨酸	391.2	392.8	0.59 ± 0.03
缬氨酸	327.2	328.7	> 50

[0494] 结果是三份独立试验的平均值 ± SD

[0495] 芳族衍生物(苯丙氨酸、色氨酸和酪氨酸)、组氨酸和赖氨酸观察到抑制效力明显提高。

[0496] 不想受理论的束缚,据信紧靠第二药效团的色氨酸 334(Trp³³⁴)和含有以上五种氨基酸中四种的芳族部分之间的特异性 pi-pi 堆积作用(stacking)导致此酶与所列五种肽抑制剂相互作用的特异性。此相互作用应能改变此酶的荧光光谱。对于赖氨酸衍生物,因

为可能与其侧链氨基发生反应,得到的产物与含有起着第三药效团作用的酸官能团的以上合成烷基衍生物类似。

[0497]

实施例 45

[0498] 本实施例描述了具有第二药效团,还含有一个二肽部分的本发明化合物(式(I))对小鼠可溶性环氧化物水解酶的抑制作用。

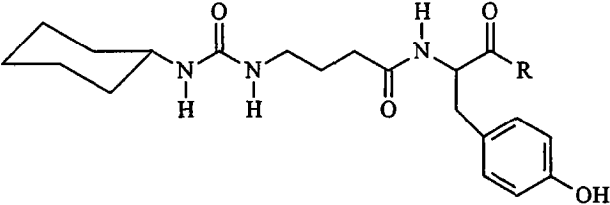
[0499] 在氨基酸衍生物系列化合物中,625-Tyr 显示数百纳摩尔范围的抑制效力,从而使评估加入第二氨基酸的作用。

[0500] 以与上述相似方式合成了分析规模的 2-[4-(3-环己基-脲基)-丁酰基氨基]-3-(4-羟基-苯基)-丙酸(632-Tyr)的氨基酸衍生物,它们是 632 的二肽衍生物的例子。如上所述合成 632 的衍生物,只是简单地将该化合物替换为 632-Tyr。经 ESI-MS 确认产物形成。

[0501] 按照已建立的方案(见上述),用表 12 所示化合物进行试验。

[0502] 表 12. 4-(3-环己基-脲基)-丁酰基-酪氨酸的单氨基酸衍生物对小鼠 sEH 的抑制作用

[0503]

				小鼠 sEH	
R:	MS m/z (Da)			IC ₅₀	IC ₉₀
	M _{th}	(M-H) ⁻	(M-H) ⁻ :m/z _{390.2}	(μM)	
OH	391.5	390.2	对照	0.50	30
丙氨酸	462.6	461.4	3	0.22	25
精氨酸	547.7	546.2	1	0.05	4.0
天冬氨酸	506.6	505.3	1	0.05	1.6
甘氨酸	448.5	447.3	1	0.06	6.5
异亮氨酸	504.6	503.2	3	0.07	12.5
亮氨酸	504.6	503.5	6	0.07	16.0
赖氨酸	519.7	518.4	0.5	0.05	6.3
甲硫氨酸	522.8	521.2	2	0.05	2.0
苯丙氨酸	538.7	537.5	1	0.05	1.6
脯氨酸	488.6	487.4	1	0.06	6.3
丝氨酸	478.6	477.3	1	0.07	3.3
苏氨酸	492.6	491.3	4	0.12	12.5
色氨酸	577.7	576.4	1	0.05	1.0
酪氨酸	554.7	553.4	5	0.05	2.5
缬氨酸	490.6	489.4	2	0.05	3.1

[0504] 结果是三份独立试验的平均值 ± SD

[0505] 除了丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸和苏氨酸以外,几乎测试的所有衍生物均观察到抑制效力明显提高。这些结果表明,该酶紧靠催化中心的特异性比对活性位点沟槽末端的狭窄。发现最佳二肽衍生物的抑制效力类似于相应的烷基抑制剂(参见 C. Morisseau 等, *Biochem. Pharm.*, 63:1599-1608, (2002)),表明这种肽模拟物是优秀的 sEH 抑制剂。由于这些化合物的结构中存在氨基酸衍生物,它们具有优秀的水溶性。此外,与几种肽衍生物药物

观察到的一样,由于肠中存在活性小肽转运系统,可通过这种系统将二肽脲衍生物吸收入肠中(参见,E. Walter 等,Pharm. Res.,12:360-365,(1995)和K. Watanabe 等,Biol. Pharm. Bull.,25:1345-1350,(2002)),故而这些化合物具有优秀的生物利用度。

[0506]

实施例 46

[0507] 本实施例提供涉及某些 sEH 抑制剂的代谢稳定性的研究。

[0508] 为评估这些抑制剂的代谢稳定性,评估了许多强效 sEH 抑制剂的微粒体和 NADPH 依赖性代谢。不同化合物间的代谢速率差别极大,然而在所有含正烷基取代的抑制剂中均观察到有 Ω -末端酸出现。测试时,微粒体制品中强效烷基衍生物(例如,686)被 P450 依赖性加工过程快速代谢(参见图 6),而 Ω 酸衍生物(例如,687)稳定(参见图 6)。在啮齿类和人肝组织制品中,正烷酸代谢转化为正链烷酸(n-alkanoic acid)衍生物的第一步是通过细胞色素 P450 依赖性 Ω 羟化进行的 NADPH 依赖性加工过程(参见图 8)。表 13 给出了鉴定沿此代谢途径的代谢物。当评估体内代谢时,也发现了链烷酸衍生物的 β 氧化证据(参见图 9)。联合这些数据表明 P450 Ω 羟化可导致这些抑制剂的快速体内代谢灭活和排泄。

[0509] 表 13:化合物 686 形成的代谢物的结构

[0510]

编号	X	Y
686	H	CH ₃
686-M1	H	CH ₂ OH
686-M2	H	CHO
687	H	COOH
686-M3	OH	CH ₂ OH

[0511]

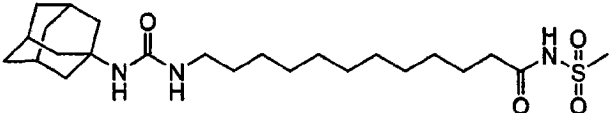
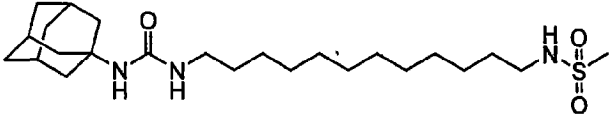
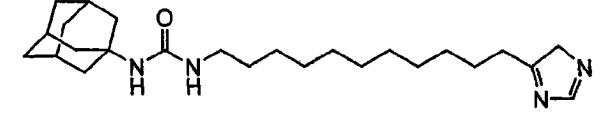
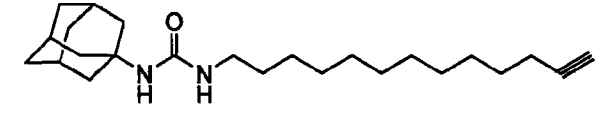
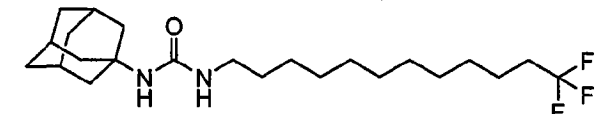
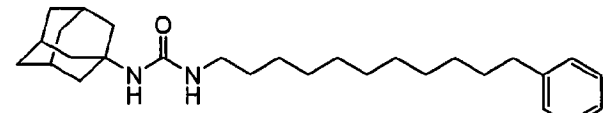
实施例 47

[0512] 本实施例提供了设计用于减缓酯酶依赖性灭活、阻断 β 氧化、阻断细胞色素 P450 依赖性 Ω 羟化或抑制细胞色素 P450 Ω 水解酶的本发明化合物的结构。

[0513] 可用各种方法,例如 α 卤素或 α 支链烷基(806)、环丙烷(807)或芳族基团(808),或用能模拟酯和酸官能团但在体内代谢稳定的其它官能团,例如磺酰胺(809和810)替换酸或酯官能团来阻断 β 氧化。对于氢键供体和受体,采用药理学类似的杂环基团来模拟羧酸和酯(811)。此外,可通过在烷基链的末端包含乙炔基(812)、三氟甲基(813)或芳基(814)来阻断 P450 Ω 羟化。该系列抑制剂也显示同时含有第二和第三药效团时,可用其它官能团作为氢键供体和受体来取代其羰基。

[0514] 表 14:设计用于防止 β -氧化和 P450 Ω 羟化的 sEH 抑制剂结构

[0515]

编号.	结构	作用
809		阻断 β 氧化
810		阻断 β 氧化
811		阻断 β 氧化 阻断 P450 依赖性 Ω 羟化
812		阻断 β 氧化 抑制 P450 Ω 水解酶
813		阻断 P450 依赖性 Ω 羟化
814		阻断 P450 依赖性 Ω 羟化

[0516]

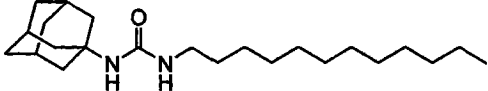
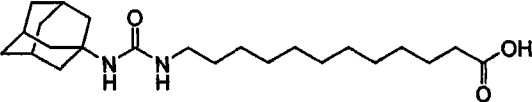
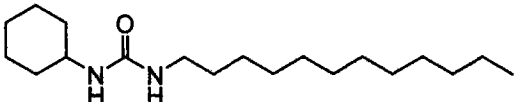
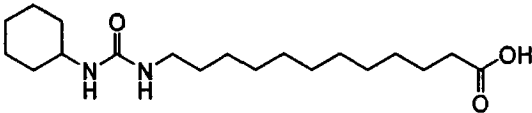
实施例 48

[0517] 本实施例比较了环己基和金刚烷基在稳定性和溶解性中的作用。

[0518] 代谢研究期间另一项一致的观察结果是金刚烷基取代基（均是 192 和 686 取代的）提供了稳定性改善的化合物（参见图 6）。金刚烷基化合物的稳定性惊人地是相应环己基衍生物的两倍（772 对 789, 791 对 790 和 297 对 686, 结构参见表 2）。令人吃惊的是，LC-MS/MS 分析使发生碰撞诱导了含金刚烷基取代基的化合物解离，从而提供了极高丰度的离子，这大大提高了对这些抑制剂的的分析灵敏度（见下表 15）。灵敏度提高的显著优点是可利用体内或体外系统研究药物代谢。此外，金刚烷代表最小的钻石核心，金刚烷基取代基不仅能产生代谢稳定性和药物动力学参数提高的化合物，而且这些化合物极易检测。

[0519] 表 15 :HPLC-MS/MS 分析抑制剂的校验曲线和检测下限 (DL)

[0520]

编号	结构	校验曲线	r ²	DL (ng/mL)
686		$y = 0.067x - 0.003$	0.999	0.05
687		$y = 0.099x - 0.274$	0.999	0.05
297		$y = 0.024x + 0.091$	0.999	0.50
425		$y = 0.009x - 0.003$	0.999	0.50

[0521]

实施例 49

[0522] 本实施例提供用本发明化合物进行的药物动力学研究。

[0523] 评估了小鼠管饲口服后一些最强效 sEH 抑制剂的药物动力学特性。如上所述,利用 1-金刚烷基脲抑制剂获得的精确灵敏度,测定了收集的每只小鼠的连续血液样品中的药物动力学参数(参见表 17)。

[0524] 动物. 6 周龄雄性 Swiss Webster 小鼠购自 Charles River(CA, USA)。经 1-2 周适应期后,根据体重分层随机方法将健康动物分配至各研究组。所有实验用的动物体重范围是 28g-38g。小鼠在受控的温度和湿度条件下维持于 12 小时白天/12 小时黑夜周期,随意进食和饮水。

[0525] 给药和检测. 小鼠的药物动力学研究利用溶解于玉米油和 4% DMSO 的 5mg/kg 剂量的 sEH 抑制剂,口服给药。给药后,用肝素化的 1.5mL 试管收集不同时间点(0.5、1、2、3、4、5、6 和 24 小时)的连续尾部血液样品(5-10 μL),利用 LC-MS/MS: 装有 30×2.1mm 3 μm C18Xterra™ 柱(Waters)的 Waters2790 液相色谱仪和 Micromass Quattro Ultima 三倍四极串联质谱仪(Micromass, 曼彻斯特, 英国)检测母体化合物和它们的代谢物。向收集的样品中加入 100 μL 蒸馏水、25 μL 内标(500ng/mL; 1-环己基-3-十四烷基脲, CTU)和 500 μL 乙酸乙酯。然后 6000rpm 离心样品 5 分钟,在氮气气氛中干燥乙酸乙酯层。用 25 μL 甲醇重建残留物,将等份试样(5 μL)注射到 LC-MS/MS 系统上。

[0526] 利用人对对象的药物动力学研究采用溶解于橄榄油的 0.1-1.0mg/kg 剂量的 sEH 抑制剂(800)或 0.3mg/kg 剂量的 687 口服给予。给药后收集不同时间点(0.5、1、2、4、6、12 和 24 小时)的指尖连续血液样品(3-50 μL),置于 50 μL 肝素化毛细试管中。与以上小鼠

实验一样,利用 LC-MS/MS 检测这些样品的母体化合物和它们的代谢物。向血液样品中加入 400 μ L 蒸馏水和 25 μ L 内标 (500ng/mL, CTU), 旋振。然后用 500 μ L 乙酸乙酯萃取血液样品两次,在氮气气氛中干燥乙酸乙酯层。如上所述用 25 μ L 甲醇重建残留物,将等份试样 (10 μ L) 注射到 LC-MS/MS 系统上。临床化学样品的生物学终点在加利福尼亚大学戴维斯临床实验室 (The University of California Davis Clinical Laboratory) 中进行测试,包括 C 反应性蛋白在内的一系列 6 种炎性标记在加利福尼亚大学戴维斯肾病学系 (the University of California Davis Department of Nephrology) 以盲法检测。

[0527] 分析:利用 SigmaPlot 软件系统 (SPSS science, 芝加哥, 伊利诺斯州) 进行药物动力学分析。采用单房室模型 (one-compartment model) 检测管饲口服剂量的血液浓度-时间分布情况,拟合成以下方程 (参见, Gibson, G. G. 和 Skett, P. : INTRODUCTION TO DRUG METABOLISM (《药物代谢导言》), 第二版, Chapman and Hall, 纽约, 1994, 199-210) :

$$[0528] \quad C = ae^{-bt}$$

[0529] 用以下方程计算清除阶段的半衰期 ($t_{1/2}$) :

$$[0530] \quad t_{1/2} = 0.693/b$$

[0531] 用以下方程计算浓度下面积 (AUC) :

$$[0532] \quad AUC = a/b$$

[0533] 其中 :

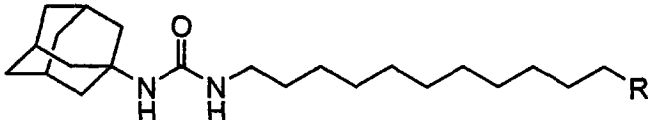



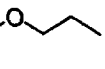
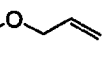
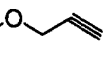
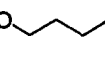


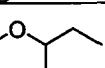
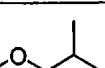
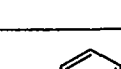
[0534] -C = 时间 t 时的血液总浓度

[0535] -a = 外推的 0 点截距

[0536] -b = 表观一级清除速率常数 (the apparent first-order elimination rateconstant)

[0537] 表 17 : 1-(1-金刚烷基)-3-(11-烷基化的十一烷基) 脲的药物动力学参数^a

[0538]

					
编号.	R	C_{\max}^b (ng/mL)	tC_{\max}^c (小时)	AUC ^d (ng·小时/mL)	$t_{1/2}^e$ (小时)
686	CH ₃	19.8	1	47	2.3
687		26.9	0.5	87	2.3
780		144.3	0.5	168	1.3
784		101.7	1	198	1.5
783		62.6	1	137	1.6
781		45.3	1	111	2
788		39.6	1	130	2.9
800		39.5	1	96	1.5
785		29.6	2	84	1.9
801		5.3	2	10	2.1
802		13.1	2	47	3.8
803		42.9	2	110	2.9
804		42.3	1	141	3

[0539] ^a 口服给予雄性 Swill Webster 大鼠 5mg/kg 剂量的化合物, ^b 最大浓度, ^c 浓度最大时的时间, ^d 浓度下面积, ^e 半衰期。

[0540] 当口服给予时, 酯化合物通常水解为酸化合物 (687)。游离酸出现的时程的一个例子见图 10。当口服给予化合物 687 时, 其在 30 分钟时达到最高浓度 (比 686 高 2 倍), 而化合物 686 在 2 小时达到其最高浓度。此外, 687 的曲线下面积 (AUC) 高两倍, 表明口服生物利用度有改善。伯酯 (primary ester) (780、784、783、781、788、800、803 和 804) 的最

高浓度比 687 高 1.5-5 倍,酯化合物的 AUC 提高 1.2-2.3 倍,表明生物利用度较高。另一方面,在小鼠中,仲酯 (secondaryester) (785 和 802) 显示与 687 相似的最高浓度和生物利用度,而叔酯 (tertiaryester) (801) 显示最高浓度和生物利用度低 4-8 倍。因此,强效酸抑制剂 (687) 经烷基化形成伯酯提高了这些抑制剂的口服生物利用度。

[0541]

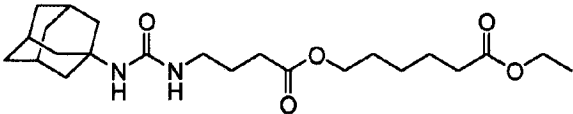
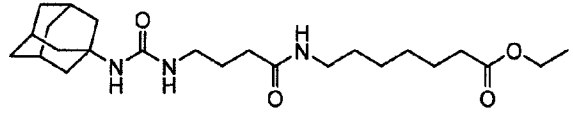
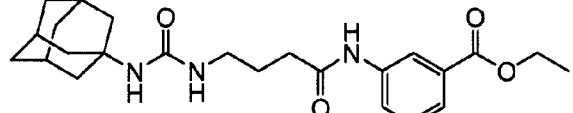
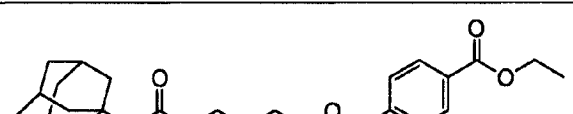
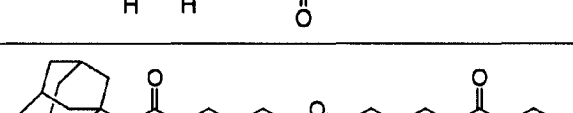
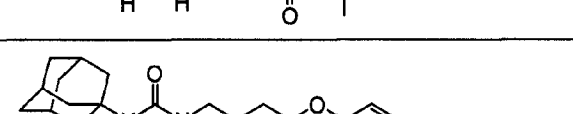
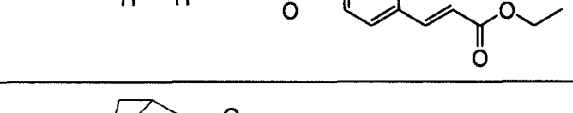
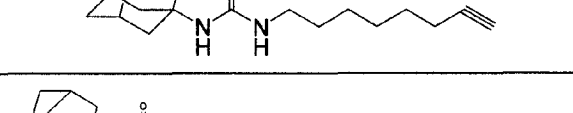
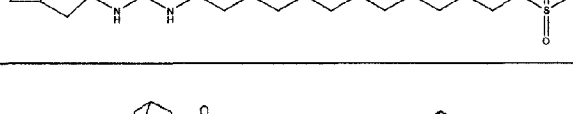
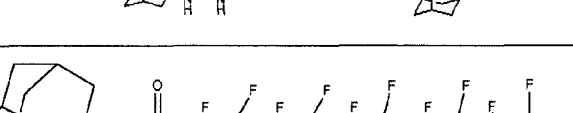
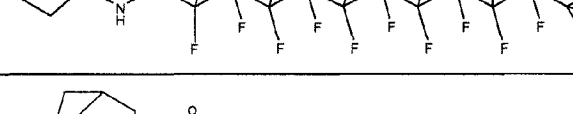
实施例 50

[0542] 本实施例提供了含有所有三种药效团的本发明化合物的结构表。

[0543] 表 18a 和 b:含有第一、第二和第三药效团的其它 sEH 抑制剂结构和对小鼠和人 sEH 的抑制作用

[0544] 表 18a

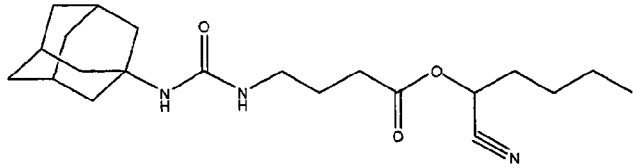
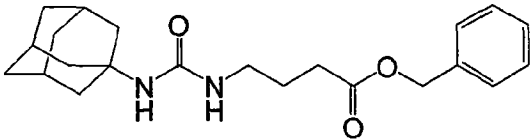
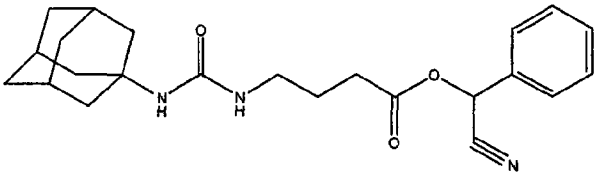
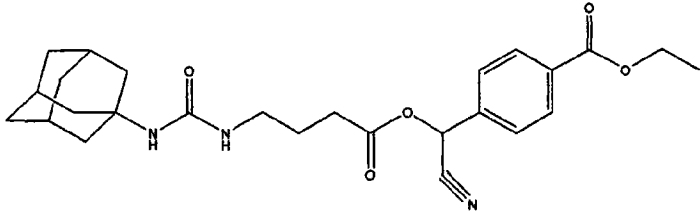
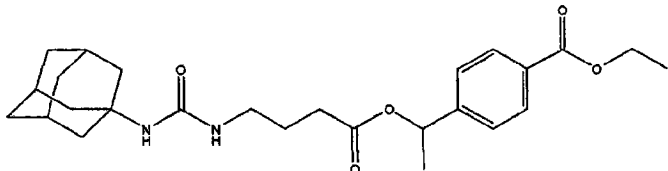
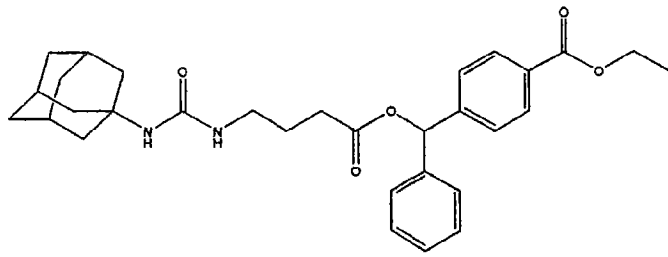
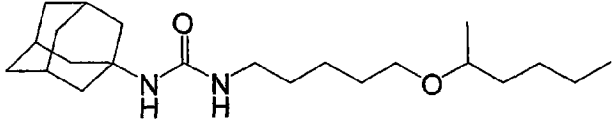
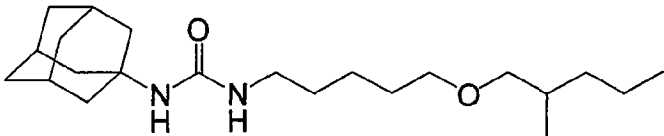
[0545]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM) ^a	
		小鼠 sEH	人 sEH
821		0.06±0.01	
836		0.05±0.01	
846		0.04±0.01	
849		0.01±0.01	
855		0.01±0.01	
851		0.01±0.01	
900		0.05±0.01	0.1±0.01
901		0.07±0.01	0.1±0.01
902		0.45±0.01	0.44±0.01
903		0.1±0.01	0.01±0.01
905		0.13±0.01	0.45±0.01

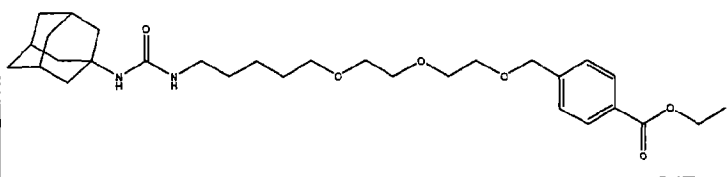
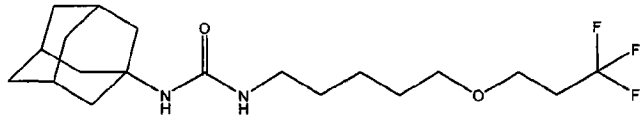
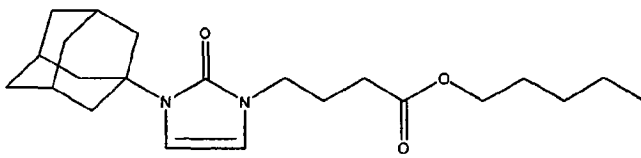
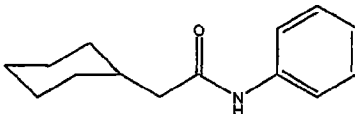
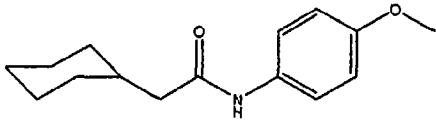
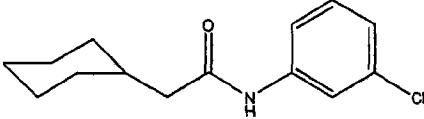
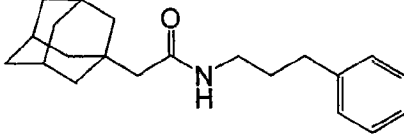
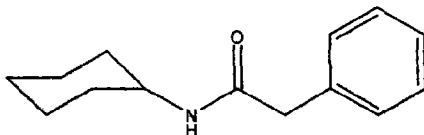
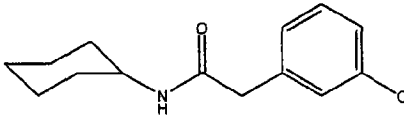
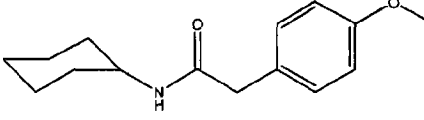
[0546]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM) ^a	
		小鼠 sEH	人 sEH
905		0.13±0.01	0.45±0.01
906		0.05±0.01	0.1±0.01
907		0.4±0.01	0.6±0.01
910		0.05±0.01	0.24±0.01
912		4.1±0.01	35±0.01
914		0.05±0.01	0.1±0.01
915		0.05±0.01	0.12±0.01
916			
942		0.05±0.01	0.1±0.01
943		0.05±0.01	0.13±0.01

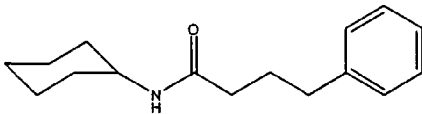
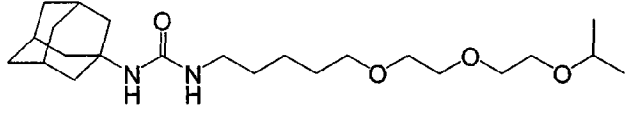
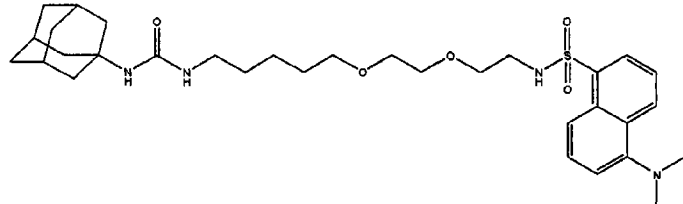
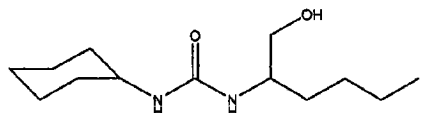
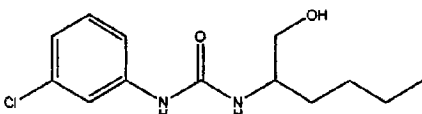
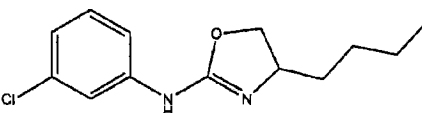
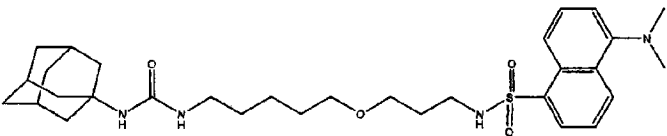
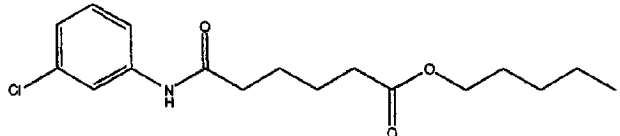
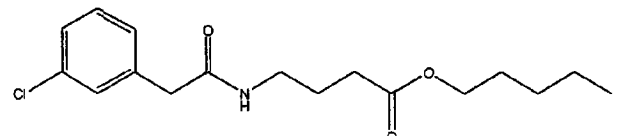
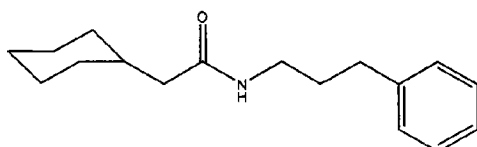
[0547]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM) ^a	
		小鼠 sEH	人 sEH
944		0.05±0.01	0.2±0.01
945		0.05±0.01	0.19±0.01
946		0.05±0.01	0.15±0.01
947		0.07±0.01	0.11±0.01
948		0.08±0.01	0.12±0.01
949		0.05±0.01	0.1±0.01
954		0.05±0.01	0.11±0.01
955		0.05±0.01	0.11±0.01

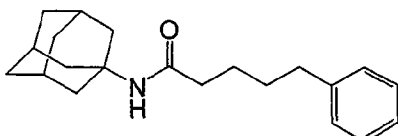
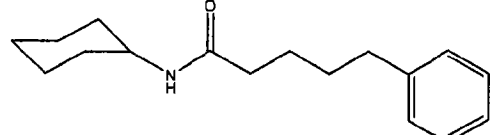
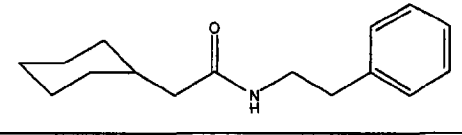
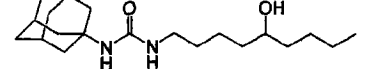
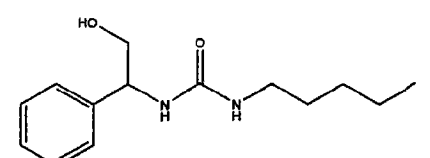
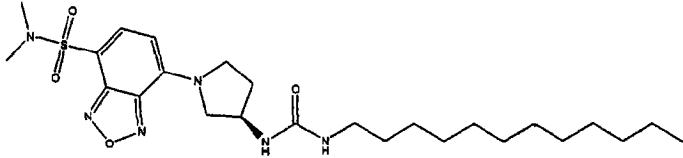
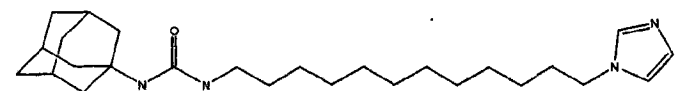
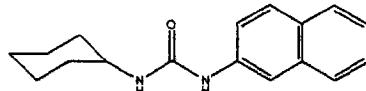
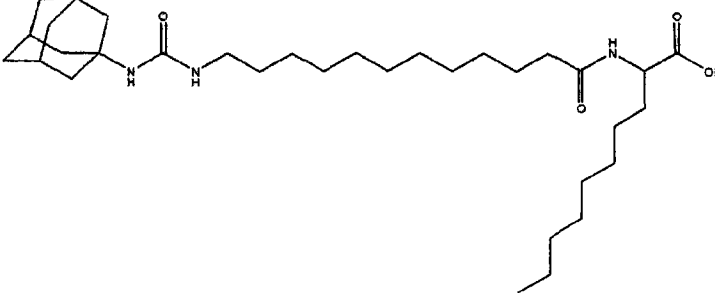
[0548]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM) ^a	
		小鼠 sEH	人 sEH
956		0.05±0.01	0.1±0.01
957		0.05±0.01	0.23±0.01
958		0.7±0.01	17±0.01
964		3.7±0.01	16±0.01
965		0.15±0.01	6.0±0.01
966		0.58±0.01	2.1±0.01
967		0.07±0.01	0.12±0.01
968		2.4±0.01	14±0.01
969		0.56±0.01	38±0.01
970		1.4±0.01	4.8±0.01

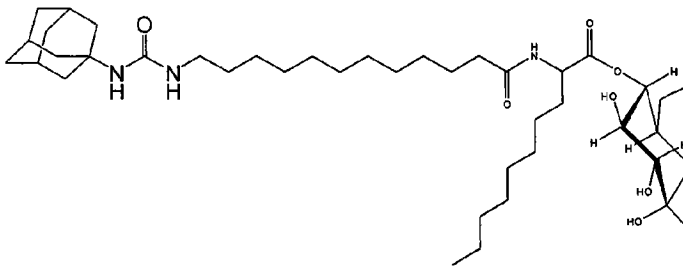
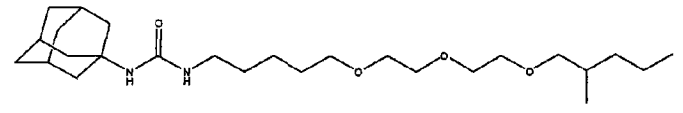
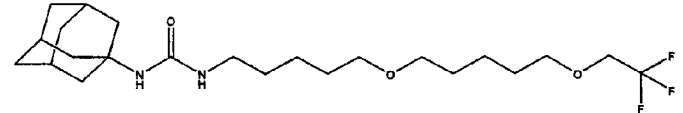
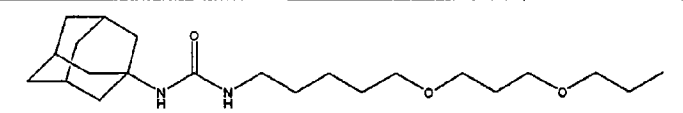
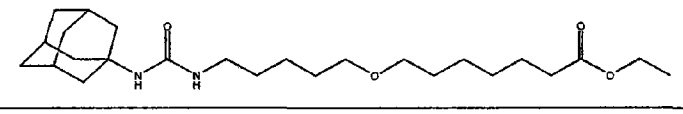
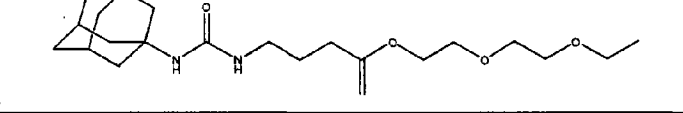
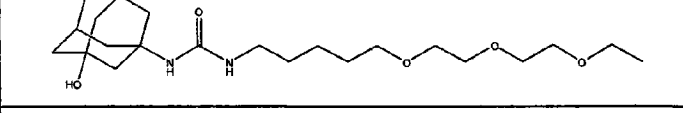
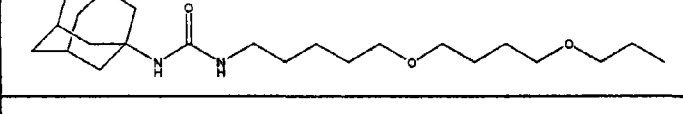
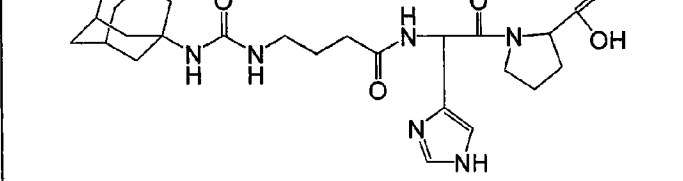
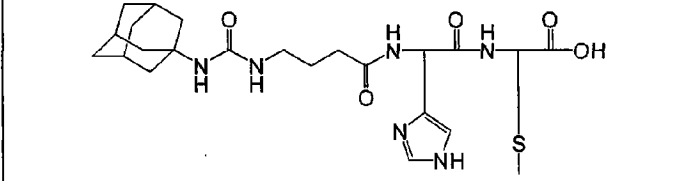
[0549]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM) ^a	
		小鼠 sEH	人 sEH
971		0.11±0.01	1.4±0.01
974		0.05±0.01	0.1±0.01
976		0.05±0.01	0.1±0.01
977		0.1±0.01	0.25±0.01
978		8.4±0.01	1.9±0.01
980		49±0.01	60±0.01
986		0.05±0.01	0.29±0.01
987		1.7±0.01	5.9±0.01
988		2.9±0.01	5±0.01
990		0.73±0.01	1.1±0.01

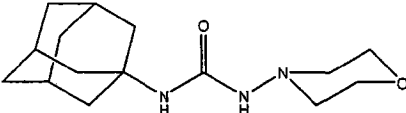
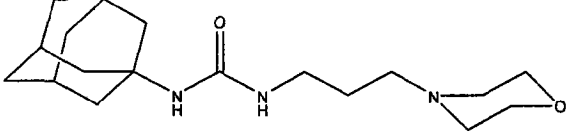
[0550]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM) ^a	
		小鼠 sEH	人 sEH
991		0.06±0.01	0.99±0.01
992		0.05±0.01	1.6±0.01
993		2.1±0.01	4.0±0.01
994		0.05±0.01	0.1±0.01
995		11.0±0.01	22.1±0.01
996		0.17±0.01	0.12±0.01
997		2.3±0.01	63±0.01
998		0.1±0.01	3.7±0.01
1001		0.05±0.01	0.24±0.01

[0551]

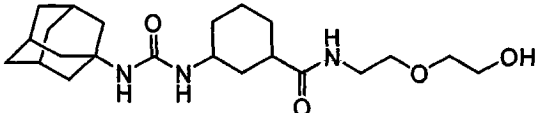
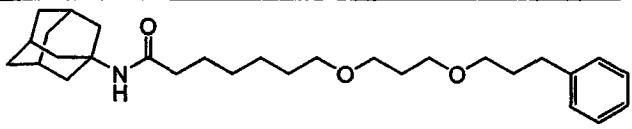
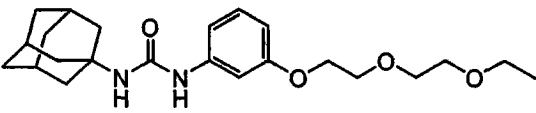
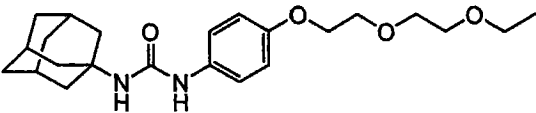
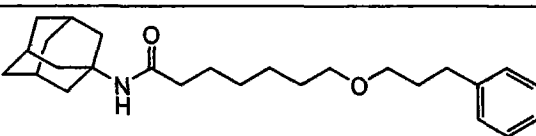
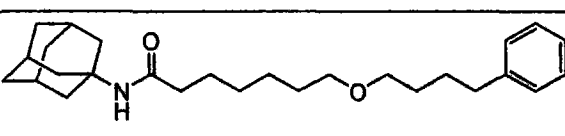
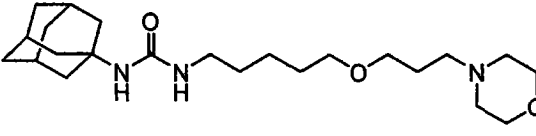
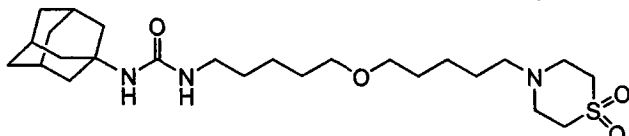
编号.	结构	IC ₅₀ (μM) ^a	
		小鼠 sEH	人 sEH
1002		0.08±0.01	0.05±0.01
1003		0.05±0.01	0.13±0.01
1004		0.05±0.01	0.16±0.01
1005		0.05±0.01	0.1±0.01
1006		0.05±0.01	0.11±0.01
1008		0.05±0.01	0.17±0.01
1010		0.05±0.01	14.4±0.01
1011		0.05±0.01	0.01±0.01
1012		0.09±0.01	100±0.01
1013		0.05±0.01	1.5±0.01

[0552]


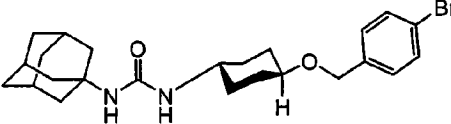
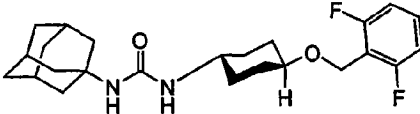

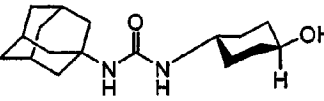
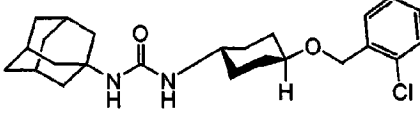
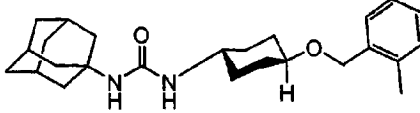
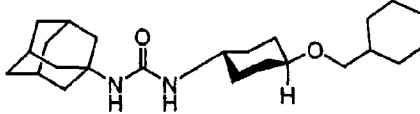
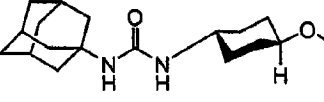
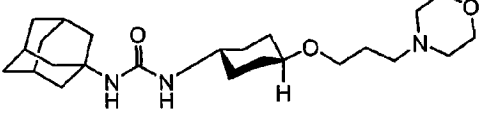
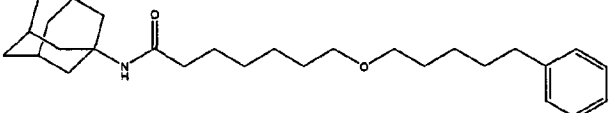
编号.	结构	IC ₅₀ (μM) ^a	
		小鼠 sEH	人 sEH
1015		1.3±0.01	8.7±0.01
1016		0.05±0.01	6.0±0.01

[0553] 表 18b.

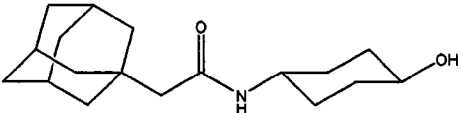
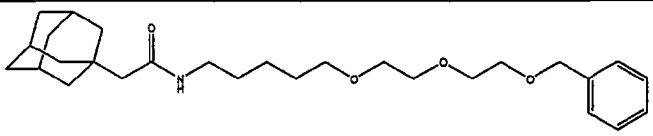
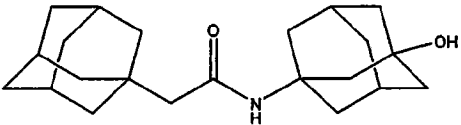
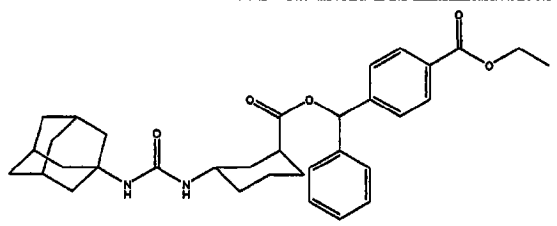
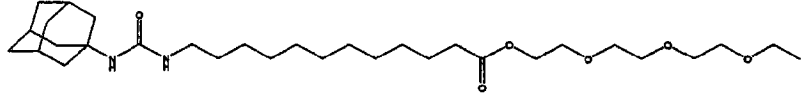
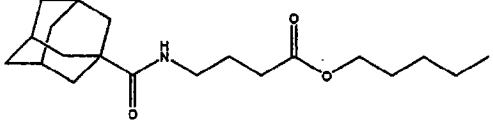
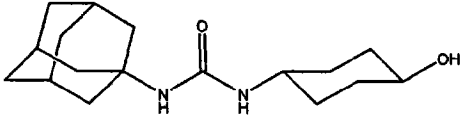
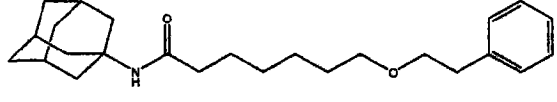
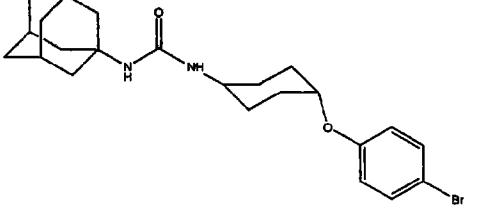
[0554]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1022		0.04±0.01
1023		0.07±0.01
1025		0.01±0.01
1026		0.01±0.01
1027		0.02±0.01
1028		0.01±0.01
1029		0.01±0.01
1031		0.01±0.01

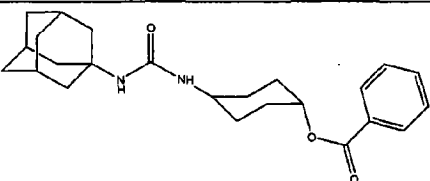
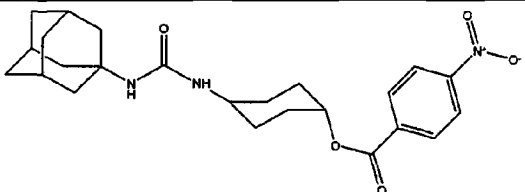
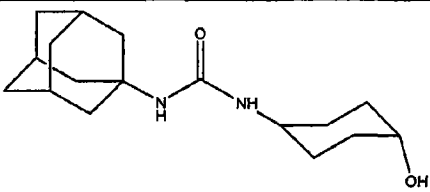
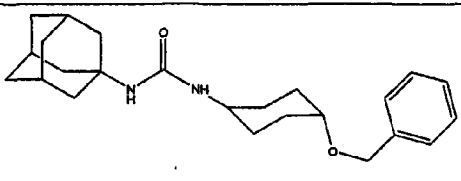
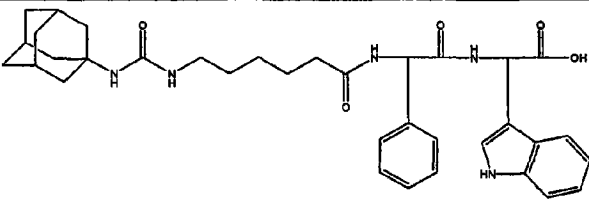
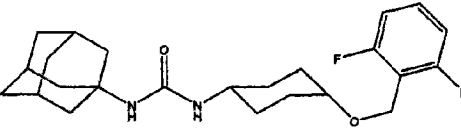
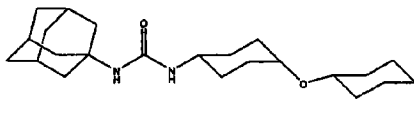
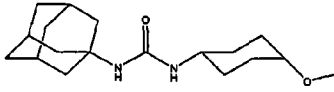
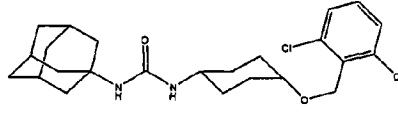
[0555]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1032		0.01±0.01
1034		0.01±0.01
1037		0.01±0.01
1038		0.01±0.01
1039		0.06±0.01
1040		0.01±0.01
1047		0.01±0.01
1048		0.01±0.01
1049		0.01±0.01
1061		0.01±0.01
1062		0.01±0.01

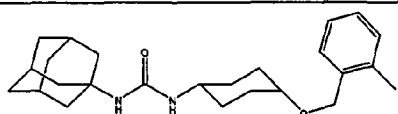
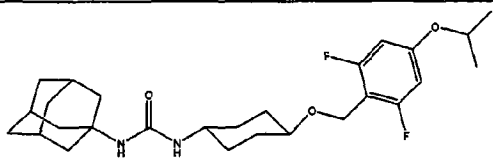
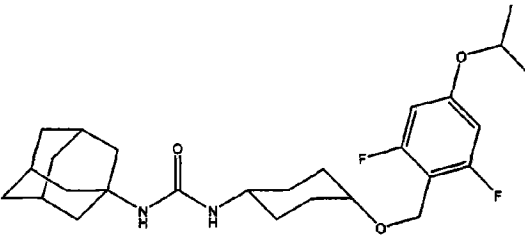
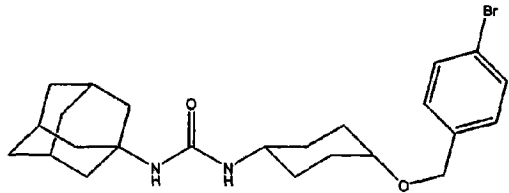
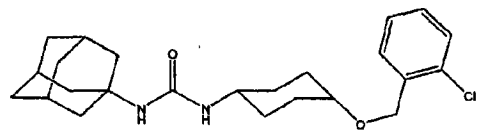
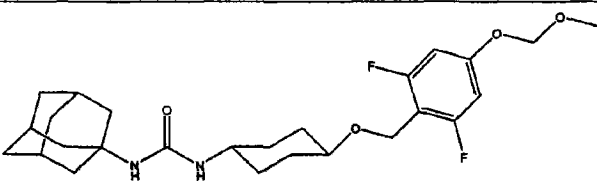
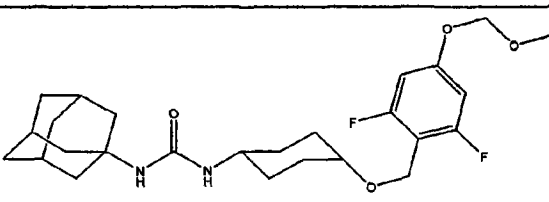
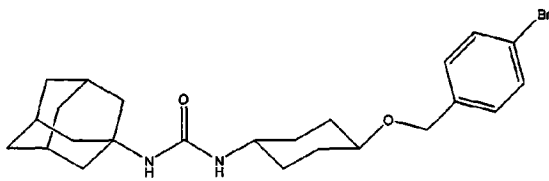
[0556]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1063-1		0.05±0.01
1063-2		0.01±0.01
1064		0.04±0.01
1066		0.01±0.01
1067		0.01±0.01
1068		0.39±0.01
1069		0.01±0.01
1070		0.03±0.01
1073		0.01±0.01

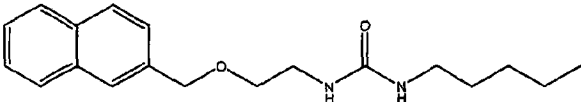
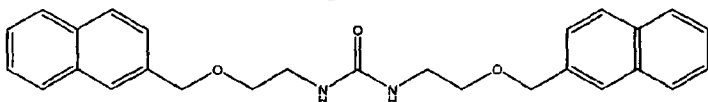
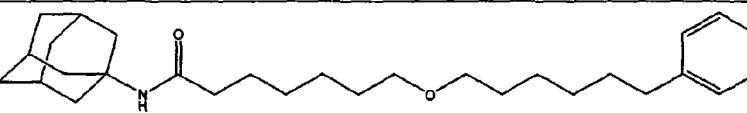
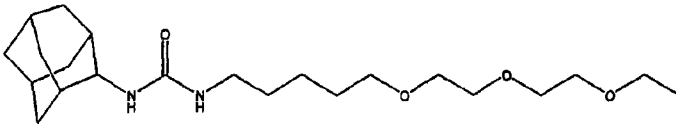
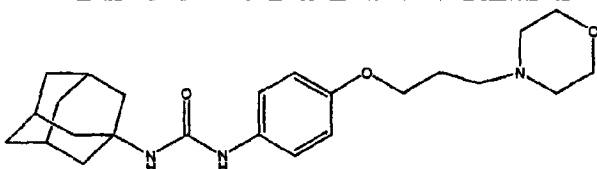
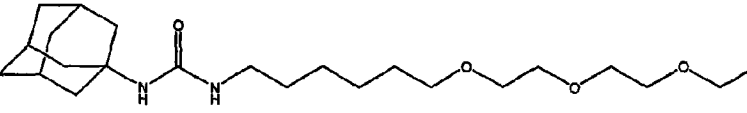
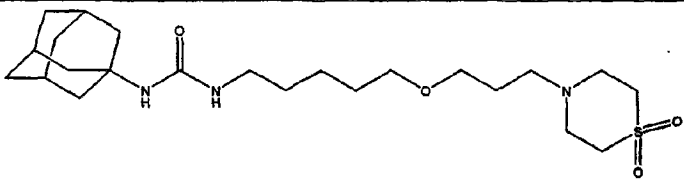
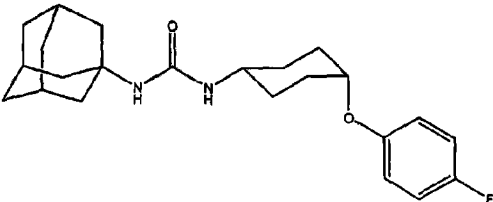
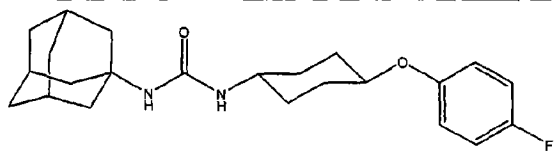
[0557]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1074		0.01±0.01
1076		0.01±0.01
1077		0.01±0.01
1078		0.01±0.01
1084		0.01±0.01
1096		0.01±0.01
1097		0.01±0.01
1098		0.01±0.01
1099		0.01±0.01

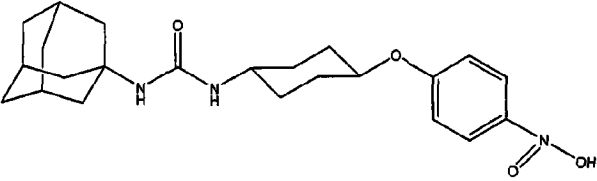
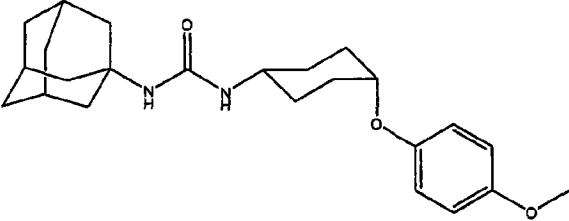
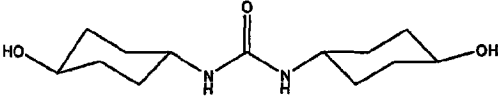
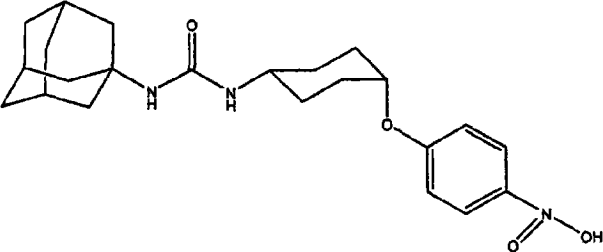
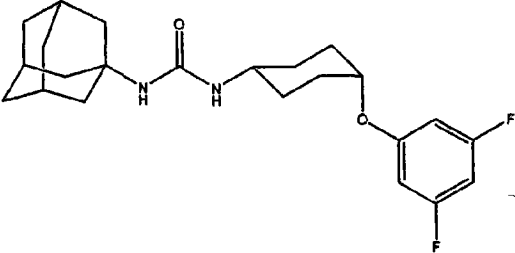
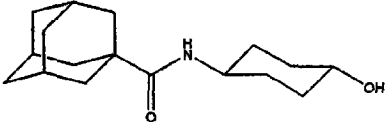
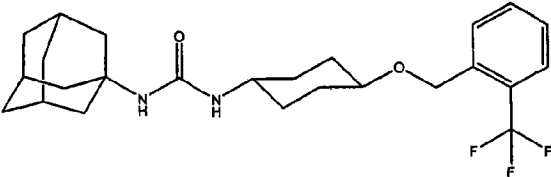
[0558]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1100		0.01±0.01
1101		0.01±0.01
1102		0.01±0.01
1103		0.01±0.01
1104		0.01±0.01
1105		0.01±0.01
1106		0.01±0.01
1107		0.01±0.01

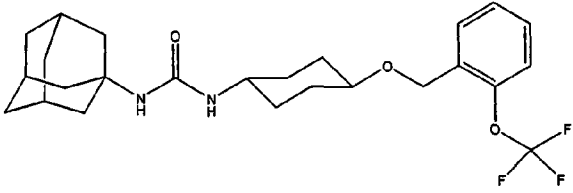
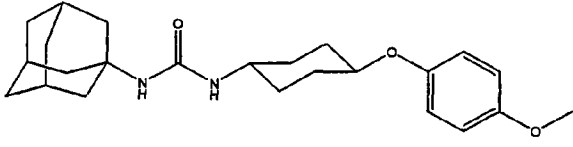
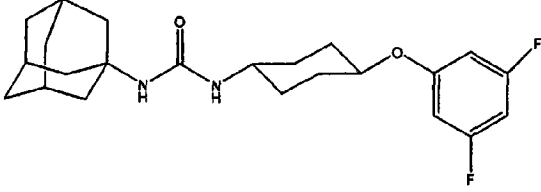
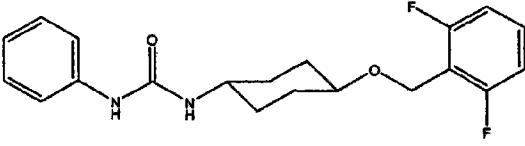
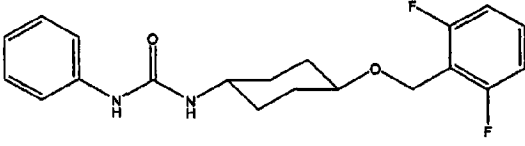
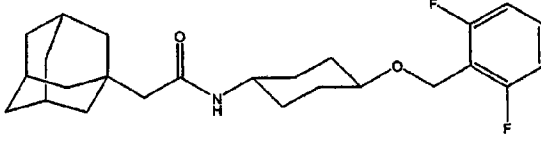
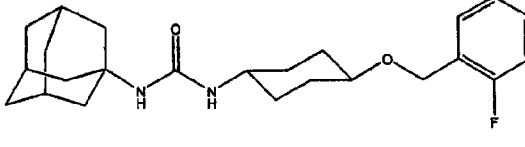
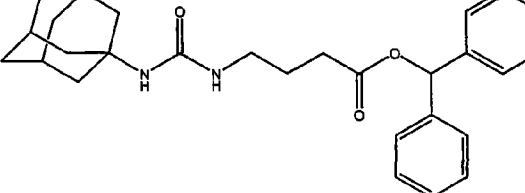
[0559]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1116		0.26±0.01
1117		1.12±0.01
1125		0.01±0.01
1128		0.01±0.01
1129		0.01±0.01
1130		0.01±0.01
1131		0.01±0.01
1135		0.01±0.01
1136		0.01±0.01

[0560]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1137		0.01±0.01
1138		0.01±0.01
1139		3.77±0.01
1140		0.01±0.01
1141		0.01±0.01
1142		0.01±0.01
1143		0.01±0.01

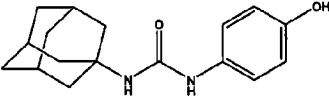
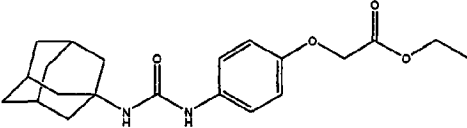
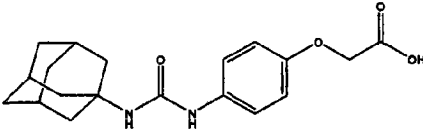
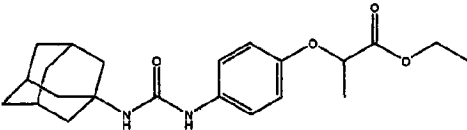
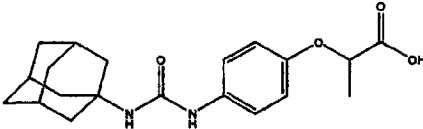
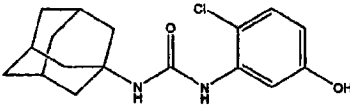
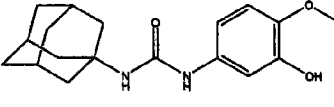
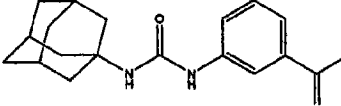
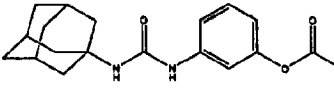
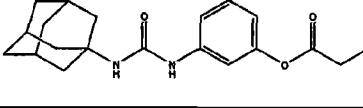
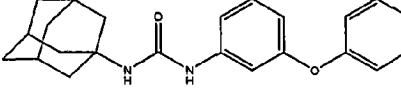
[0561]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1144		0.01±0.01
1145		0.01±0.01
1146		0.01±0.01
1147		0.01±0.01
1148		0.01±0.01
1149		0.01±0.01
1150		0.01±0.01
1164		0.01±0.01

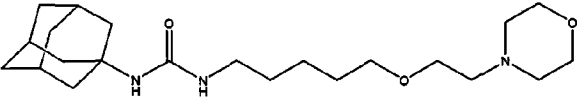
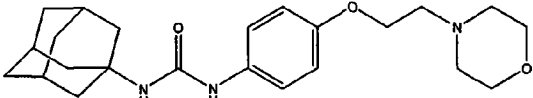
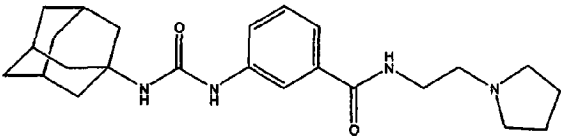
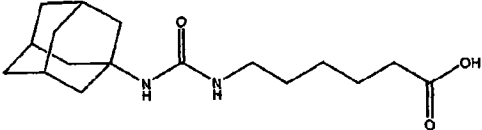
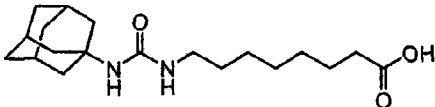
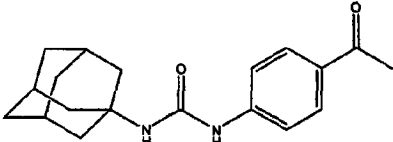
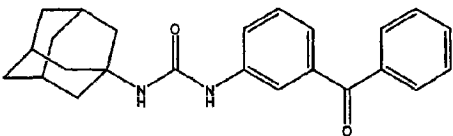
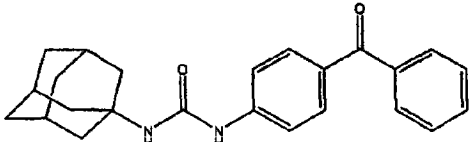
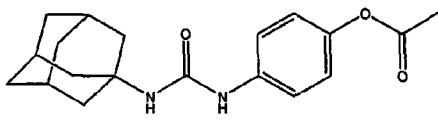
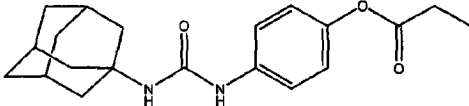
[0562]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1165		0.06±0.01
1166		0.06±0.01
1171		0.01±0.01
1172		0.01±0.01
1173		0.01±0.01
1176		0.01±0.01
1177		0.01±0.01
1178		0.01±0.01
1181		0.21±0.01
1182		0.01±0.01

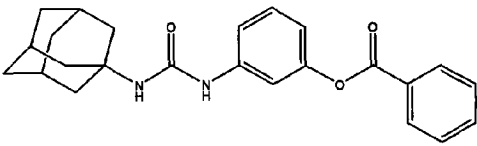
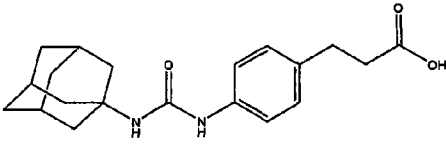
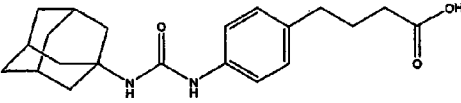
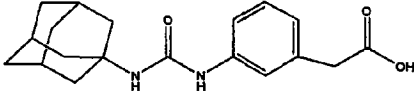
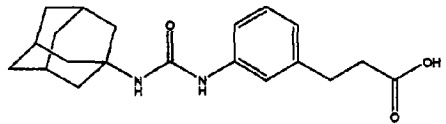
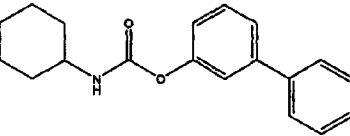
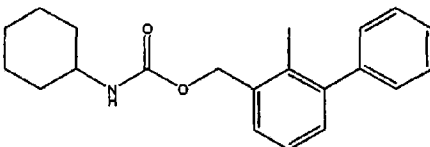
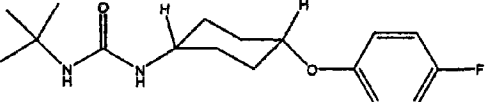
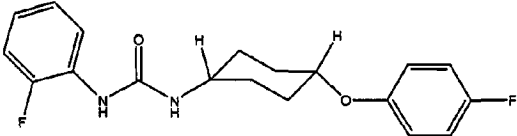
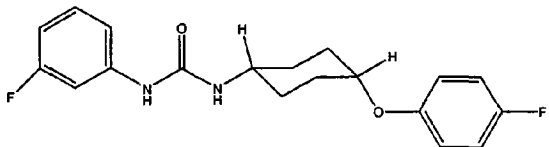
[0563]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1183		0.02±0.01
1184		0.01±0.01
1185		0.14±0.01
1186		0.01±0.01
1187		0.01±0.01
1189		0.02±0.01
1191		0.01±0.01
1192		0.01±0.01
1193		0.01±0.01
1194		0.01±0.01
1195		0.01±0.01

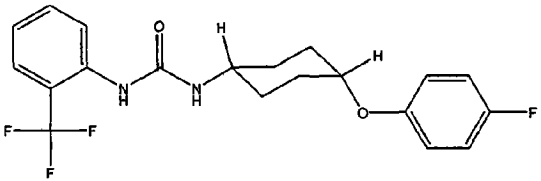
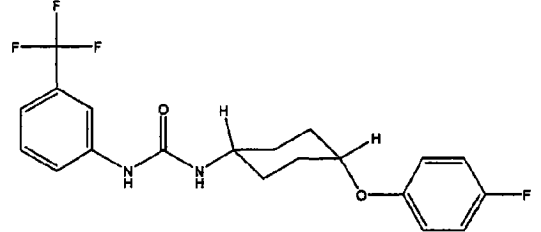
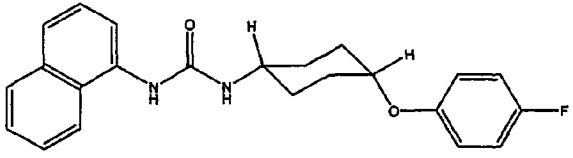
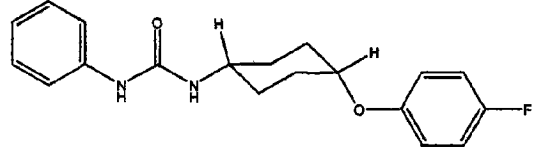
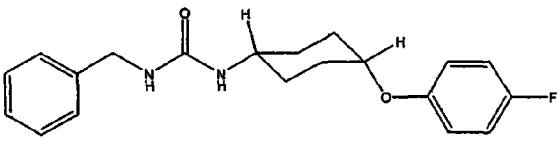
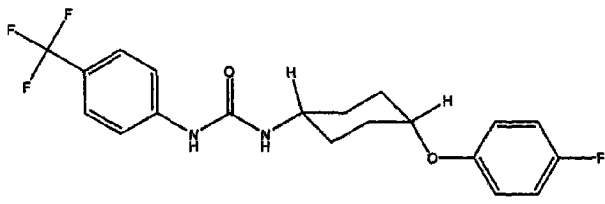
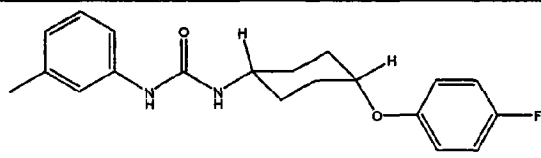
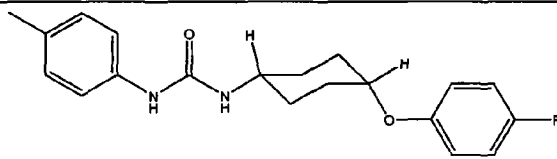
[0564]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1196		0.01±0.01
1197		0.01±0.01
1198		0.01±0.01
1213		0.17±0.01
1214		0.01±0.01
1217		0.01±0.01
1218		0.01±0.01
1219		0.01±0.01
1220		0.01±0.01
1221		0.01±0.01

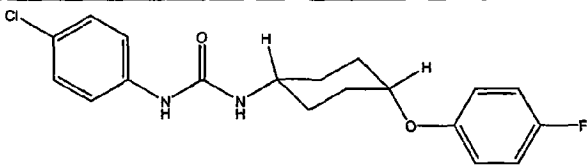
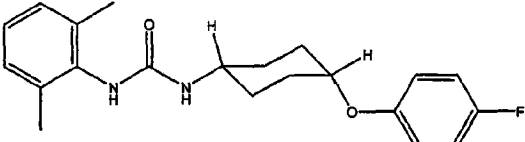
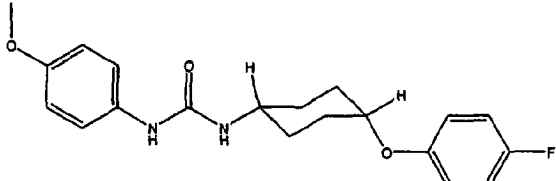
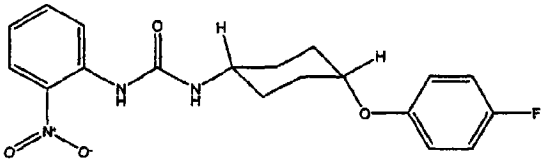
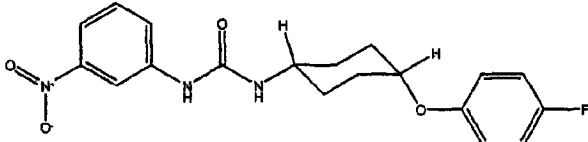
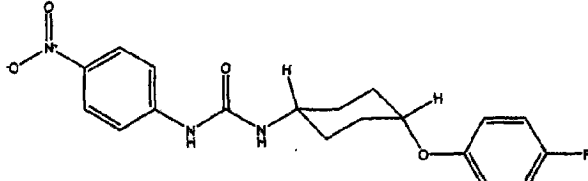
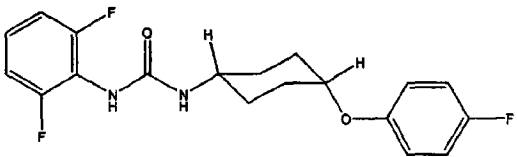
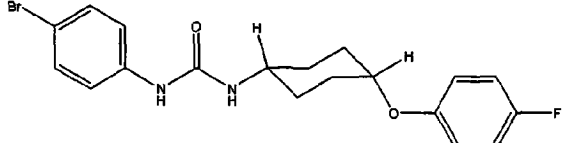
[0565]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1222		0.01±0.01
1223		0.01±0.01
1224		0.01±0.01
1225		0.02±0.01
1226		0.01±0.01
1229		0.92±0.01
1230		0.66±0.01
1233		*
1234		*
1235		*

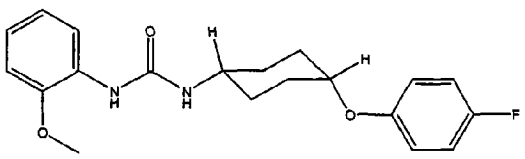
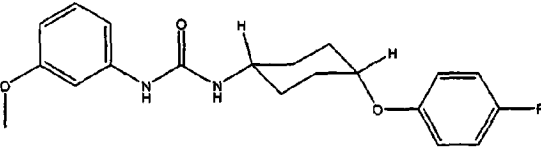
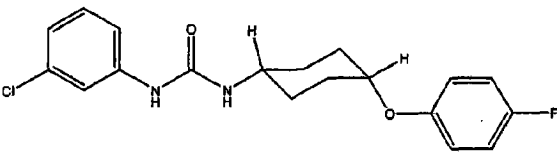
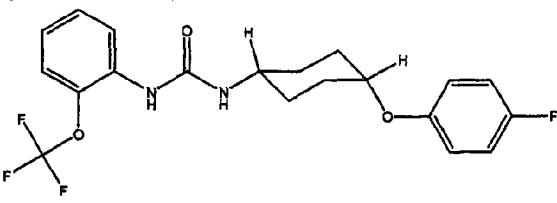
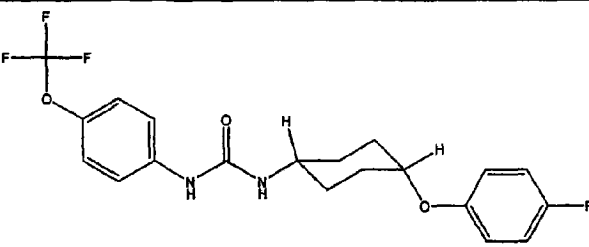
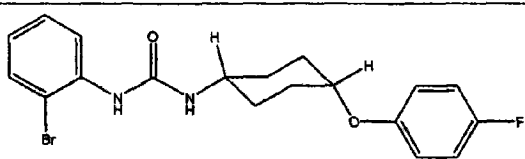
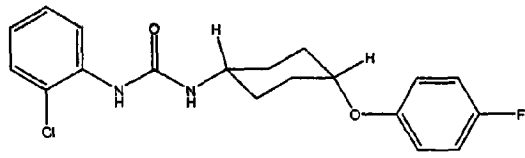
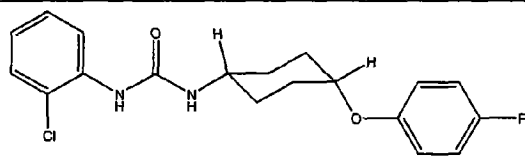
[0566]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1236		*
1237		*
1238		*
1239		*
1240		*
1241		*
1242		*
1243		*

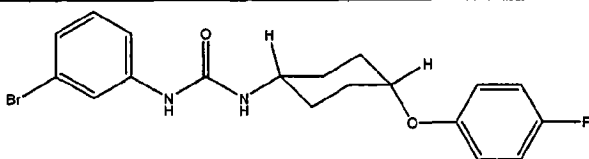
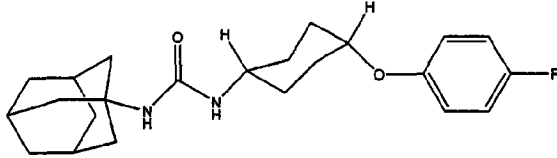
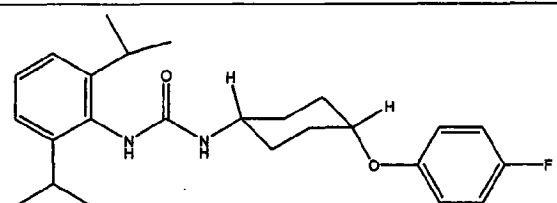
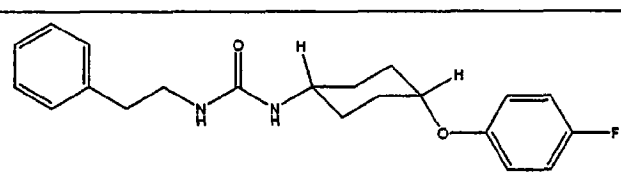
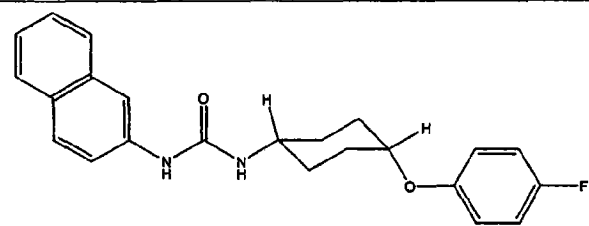
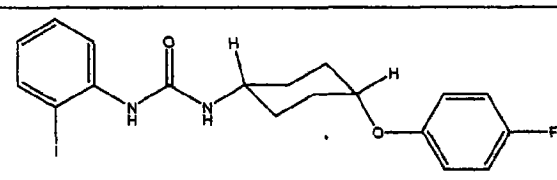
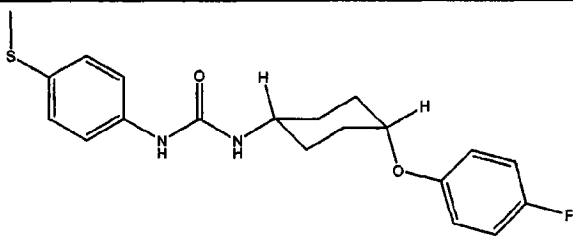
[0567]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1244		*
1245		*
1246		*
1247		*
1248		*
1249		*
1250		*
1251		*

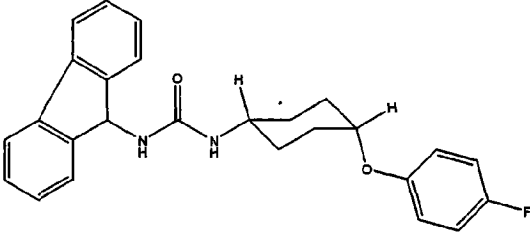
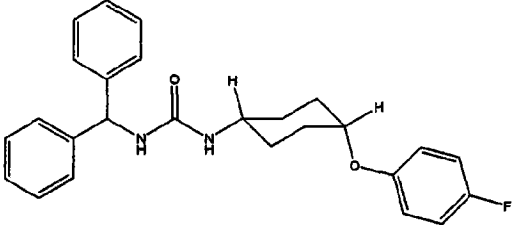
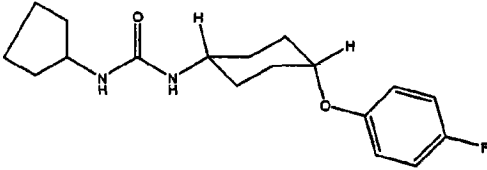
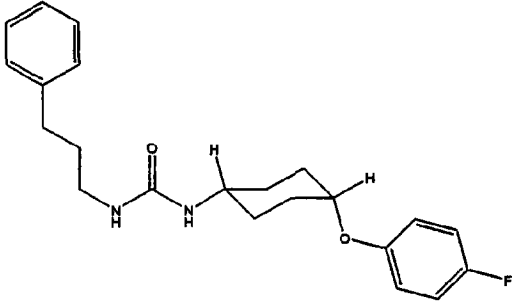
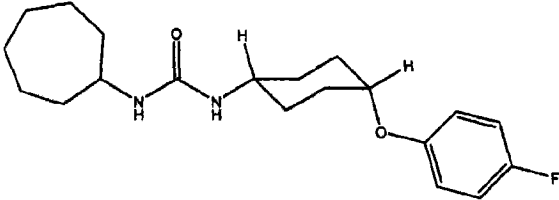
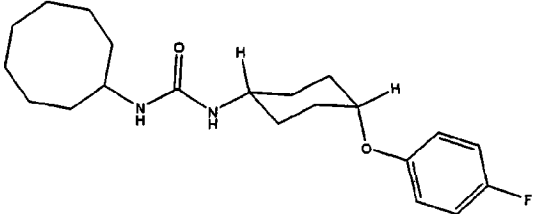
[0568]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1252		*
1253		*
1254		*
1255		*
1256		*
1257		*
1258		*
1259		*

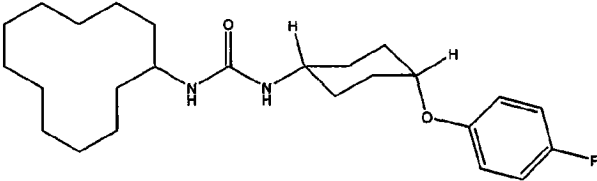
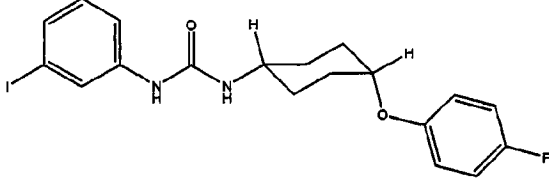
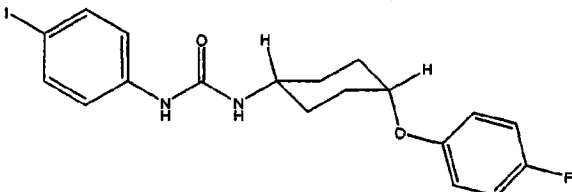
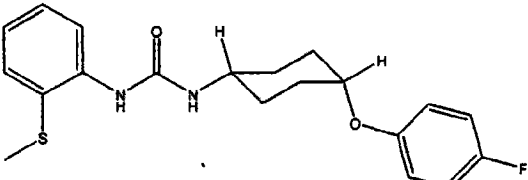
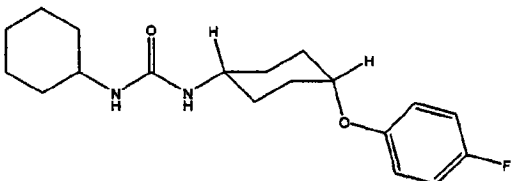
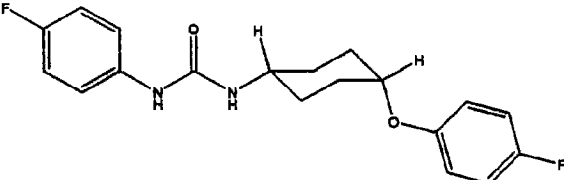
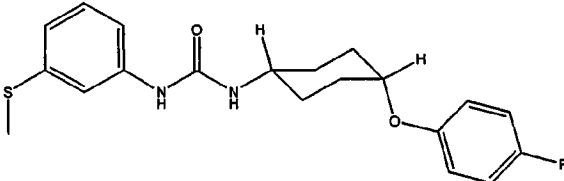
[0569]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1260		*
1261		*
1262		*
1263		*
1264		*
1265		*
1266		*

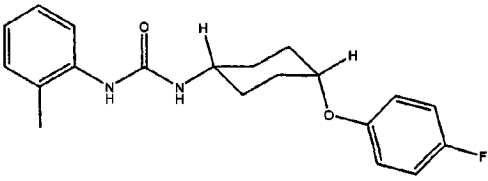
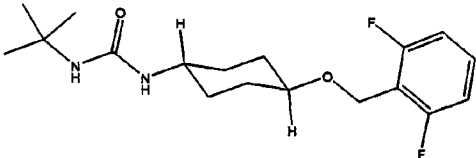
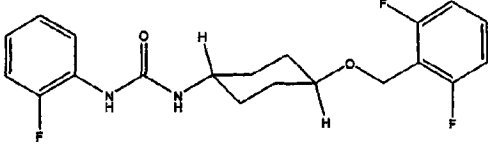
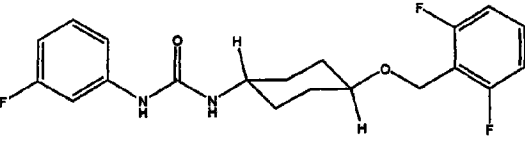
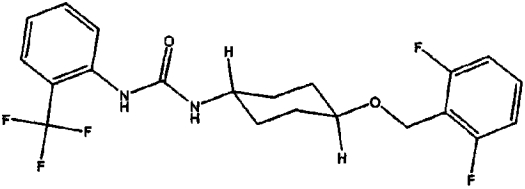
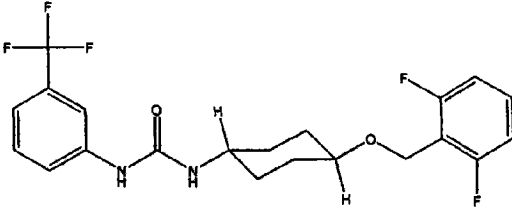
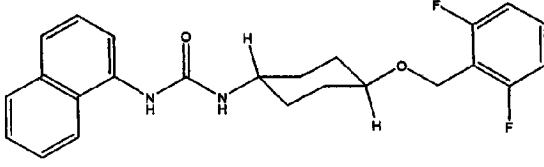
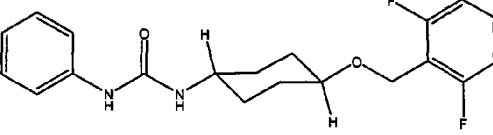
[0570]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1267		*
1268		*
1269		*
1270		*
1271		*
1272		*

[0571]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1273		*
1274		*
1275		*
1276		*
1277		*
1278		*
1279		*

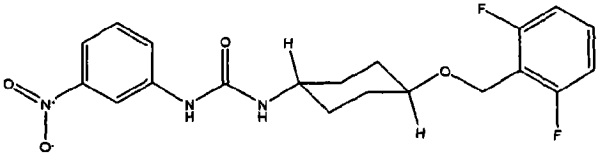
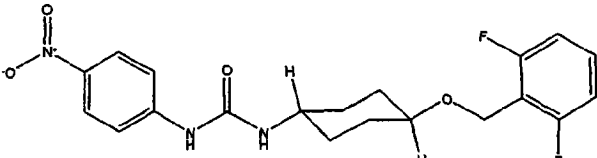
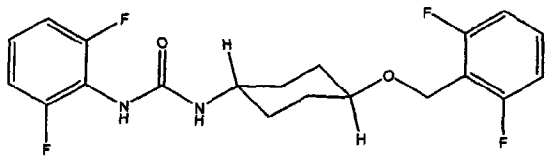
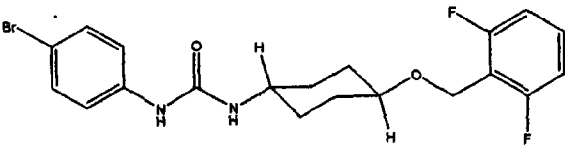
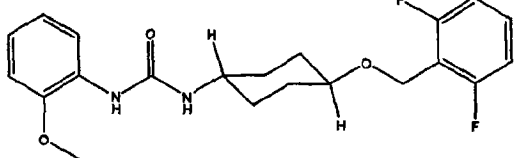
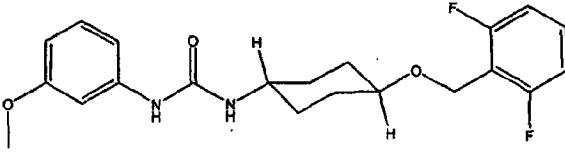
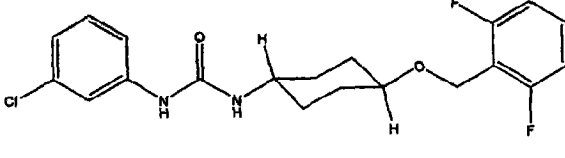
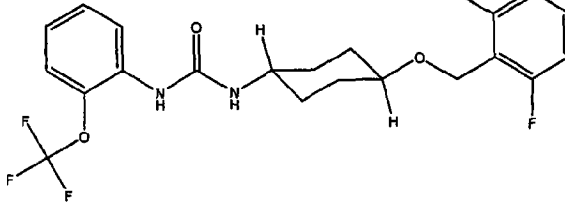
[0572]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1280		*
1281		*
1282		*
1283		*
1284		*
1285		*
1286		*
1287		*

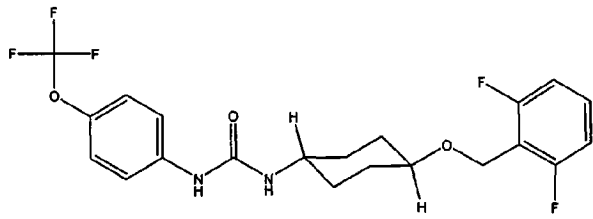
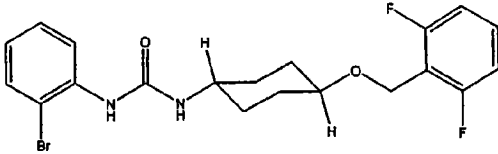
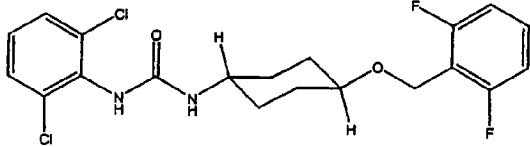
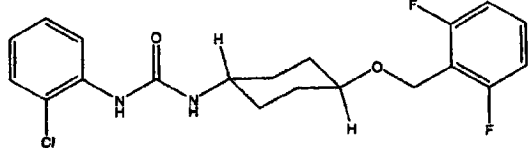
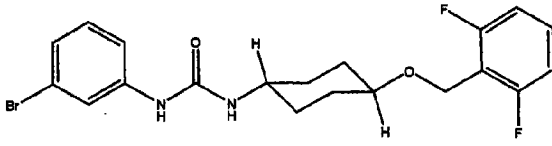
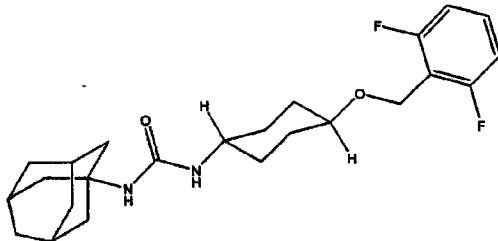
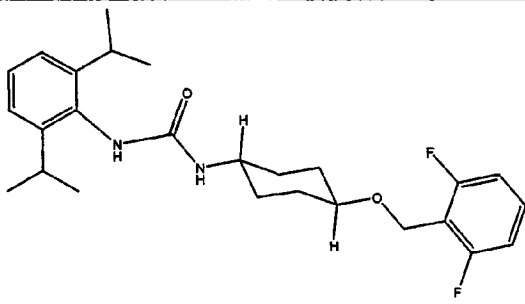
[0573]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1288		*
1289		*
1290		*
1291		*
1292		*
1293		*
1294		*
1295		*

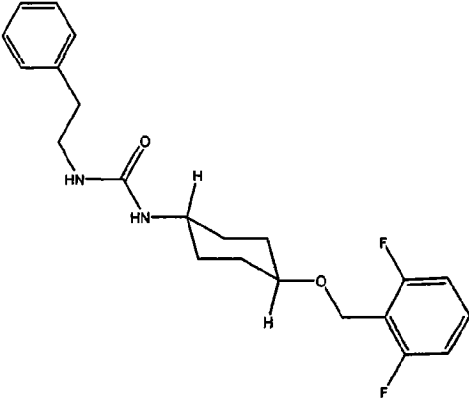
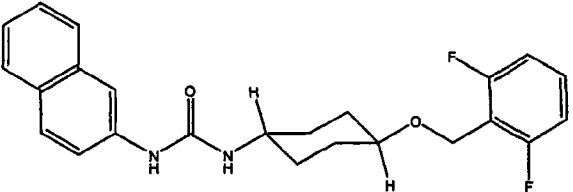
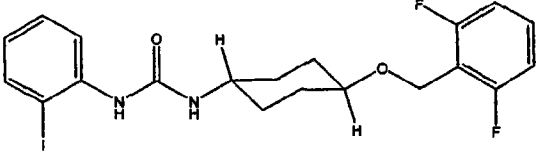
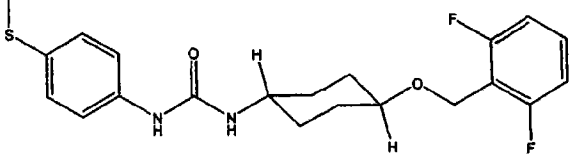
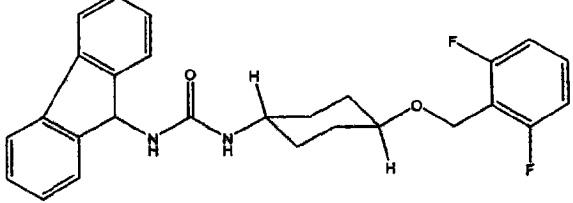
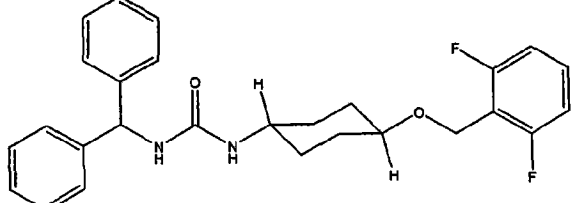
[0574]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1296		*
1297		*
1298		*
1299		*
1300		*
1301		*
1302		*
1303		*

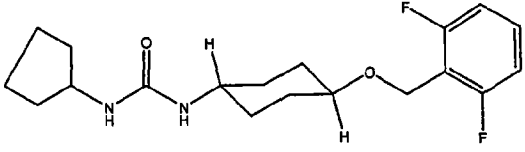
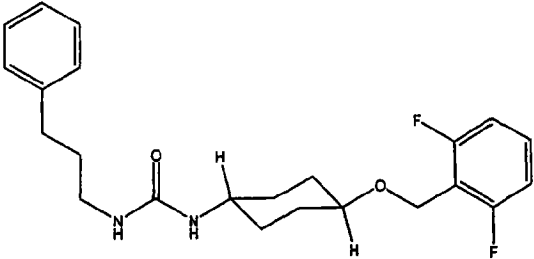
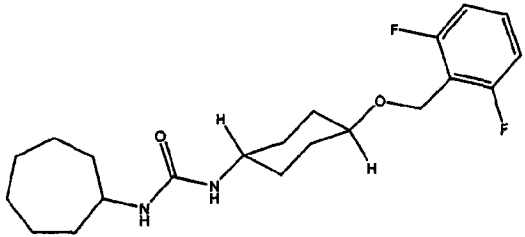
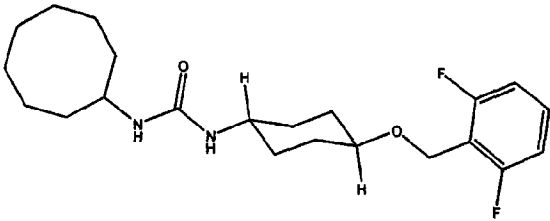
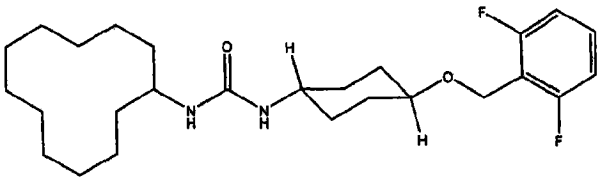
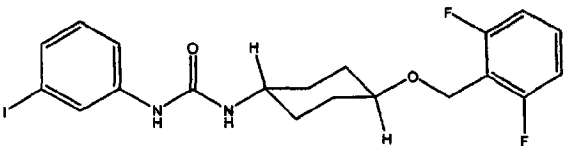
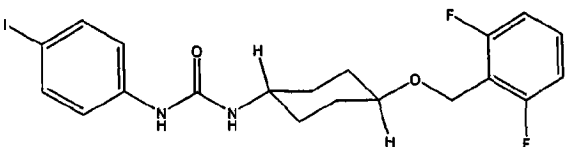
[0575]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1304		*
1305		*
1306		*
1307		*
1308		*
1309		*
1310		*

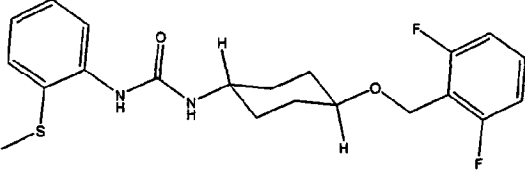
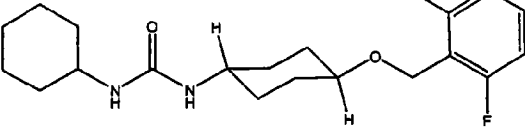
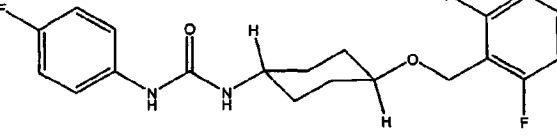
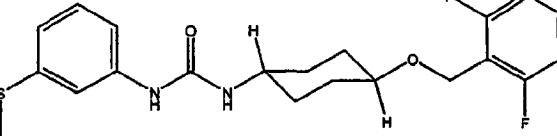
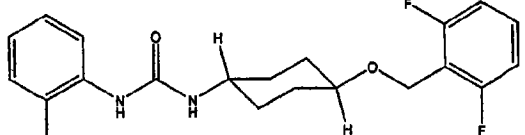
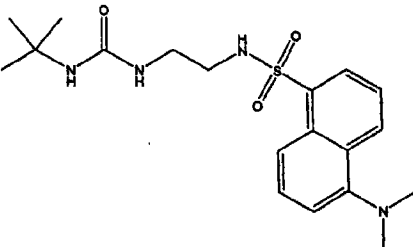
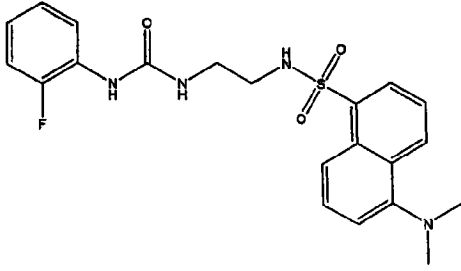
[0576]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1311		*
1312		*
1313		*
1314		*
1315		*
1316		*

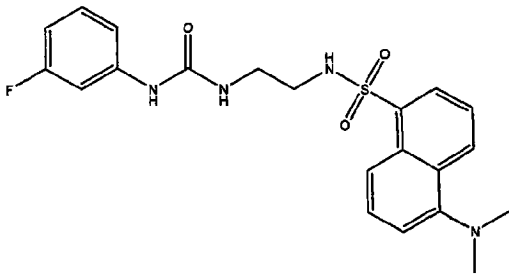
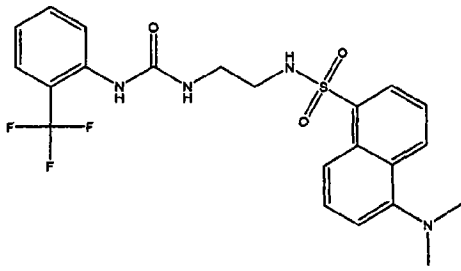
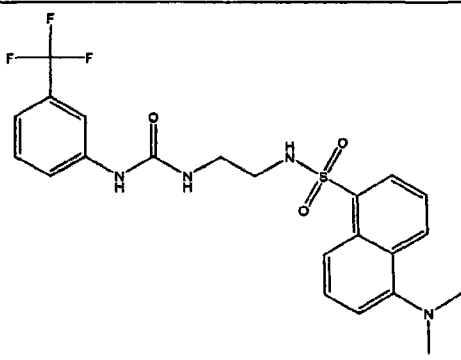
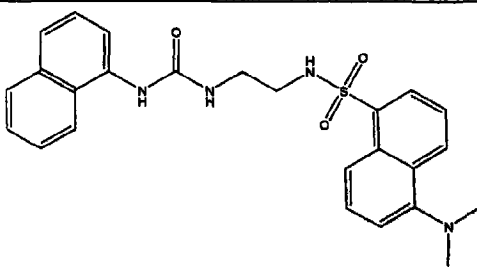
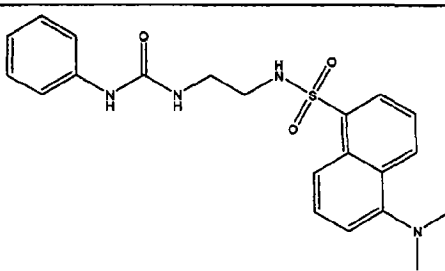
[0577]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1317		*
1318		*
1319		*
1320		*
1321		*
1322		*
1323		*

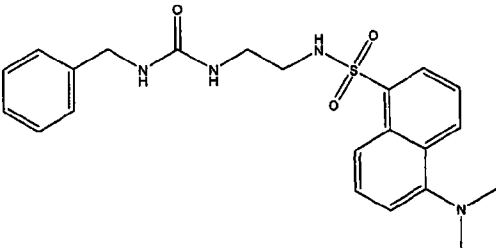
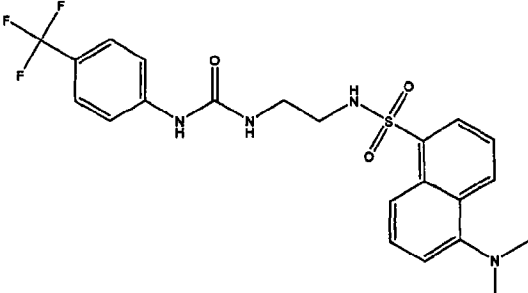
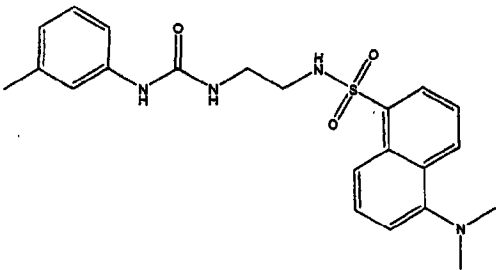
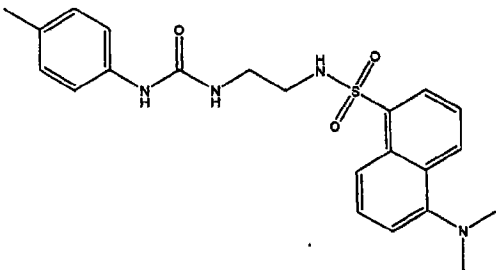
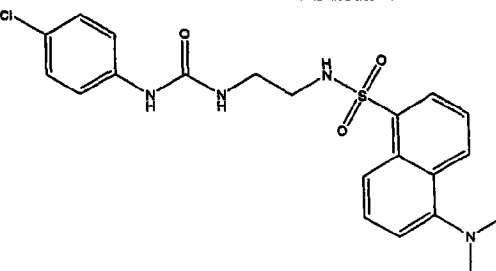
[0578]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1324		*
1325		*
1326		*
1327		*
1328		*
1329		*
1330		*

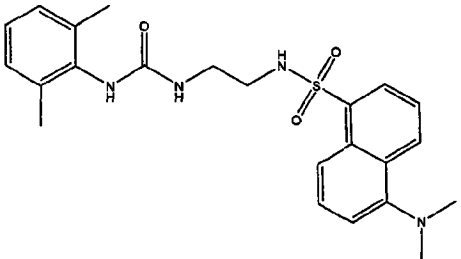
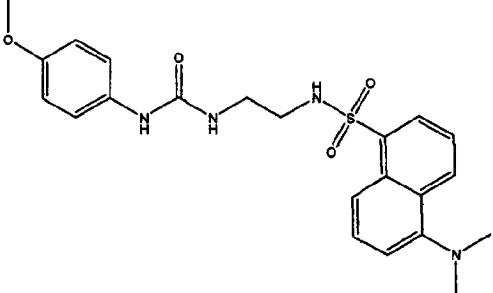
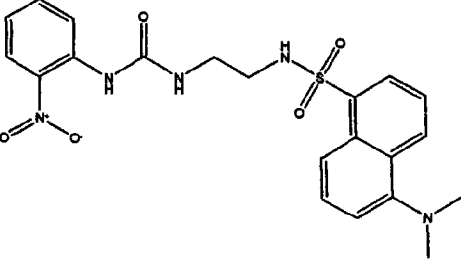
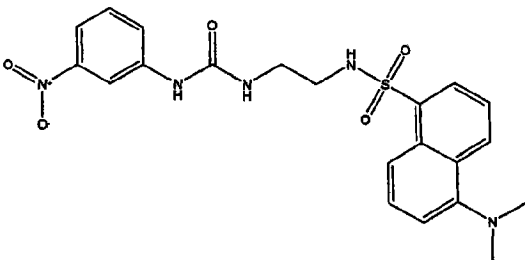
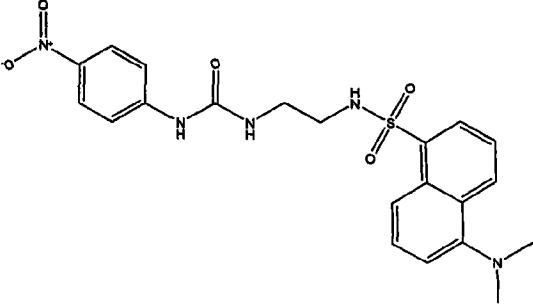
[0579]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1331		*
1332		*
1333		**
1334		*
1335		*

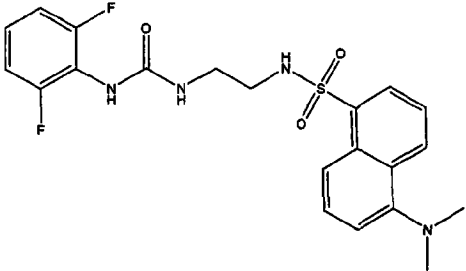
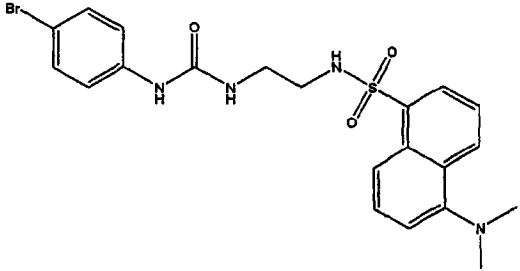
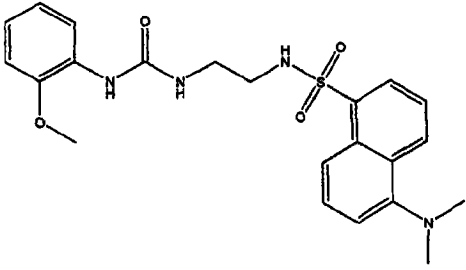
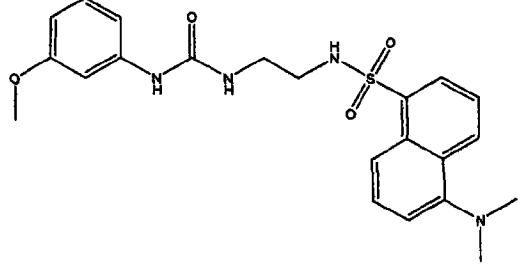
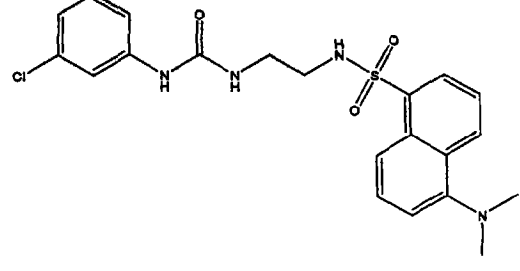
[0580]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1336		*
1337		*
1338		*
1339		*
1340		*

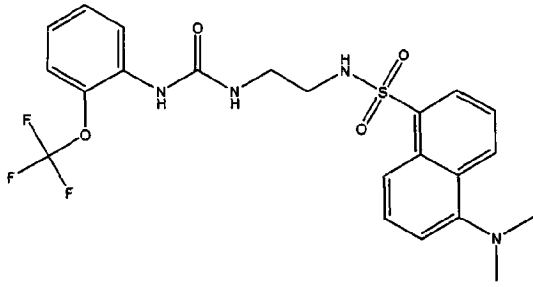
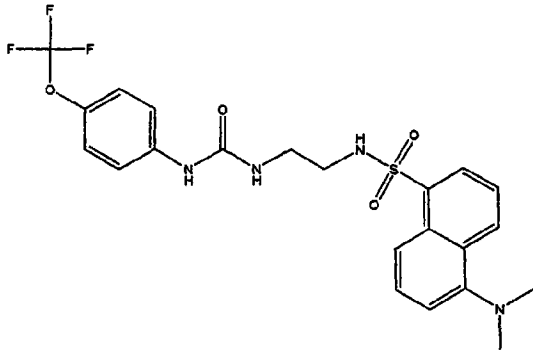
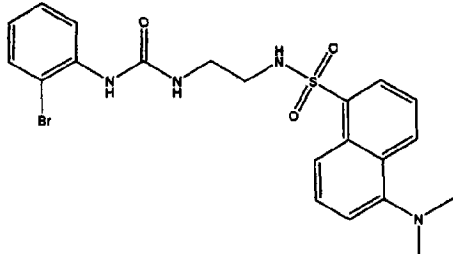
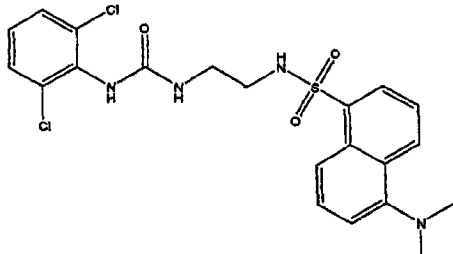
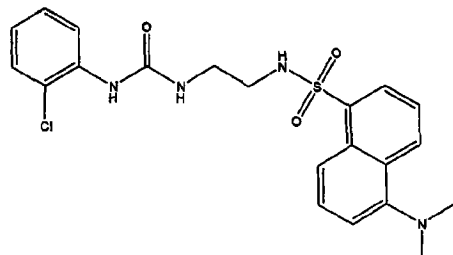
[0581]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1341		*
1342		*
1343		*
1344		*
1345		*

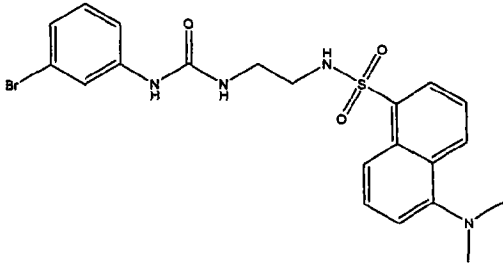
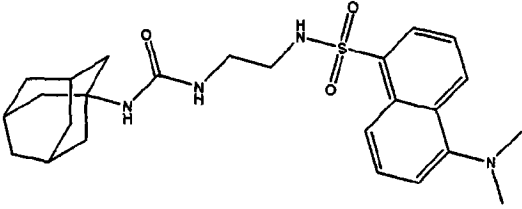
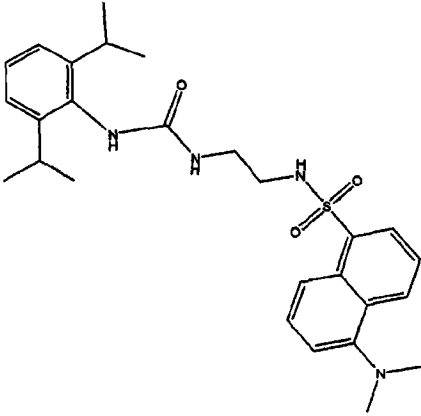
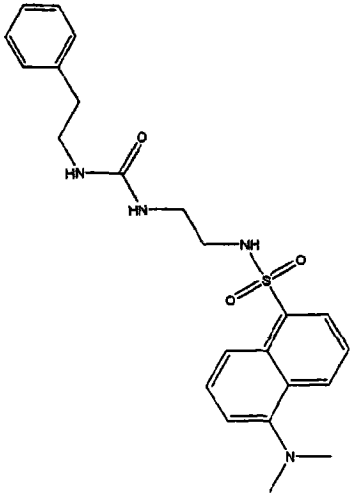
[0582]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1346		*
1347		*
1348		*
1349		*
1350		*

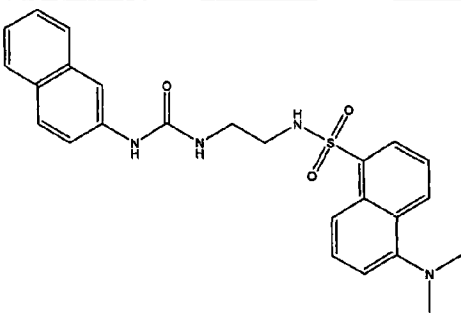
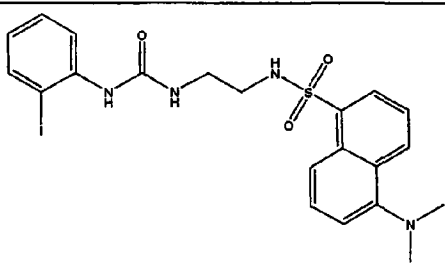
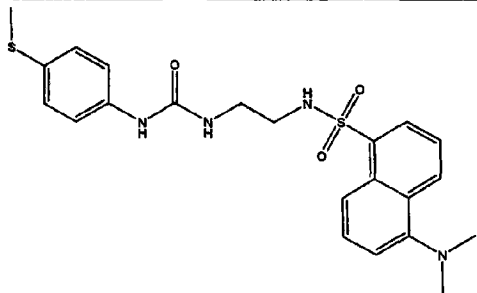
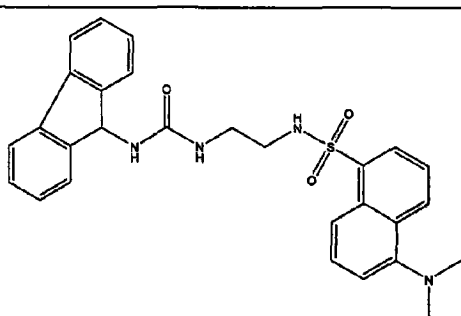
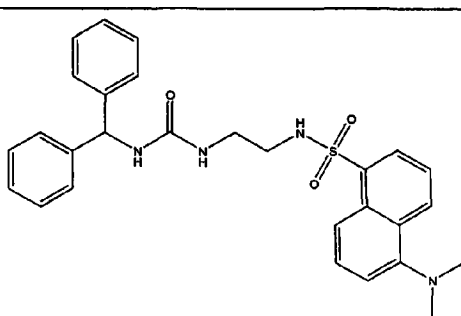
[0583]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1351		*
1352		*
1353		*
1354		*
1355		*

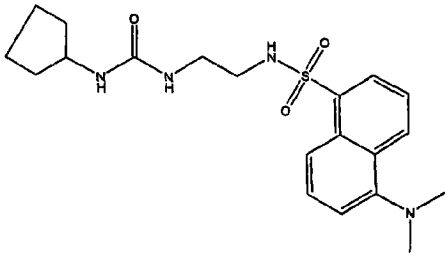
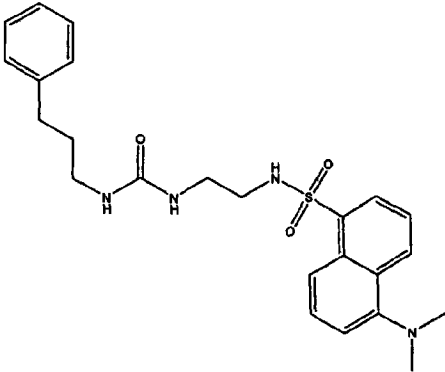
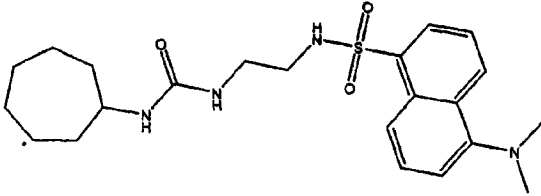
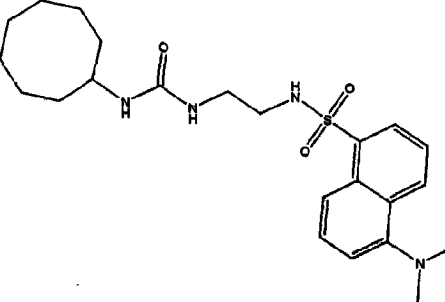
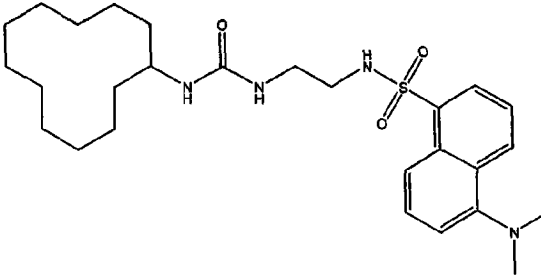
[0584]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1356		*
1357		*
1358		*
1359		*

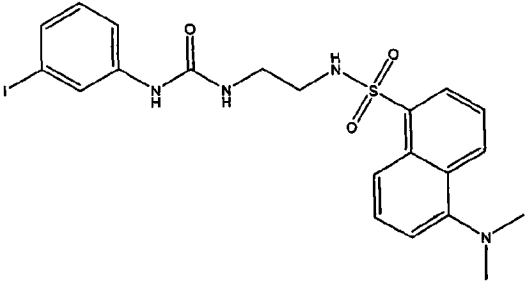
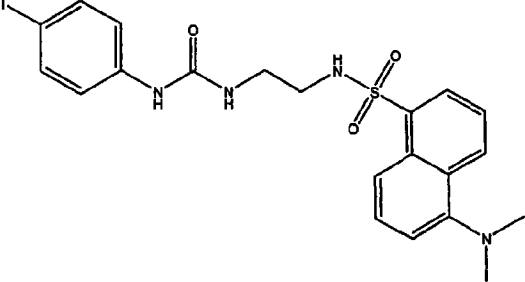
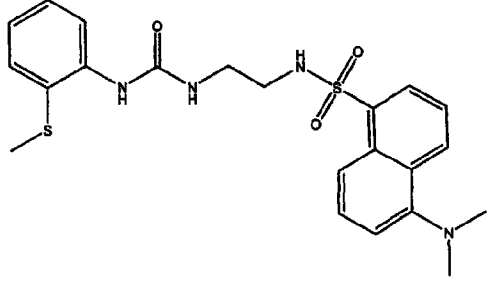
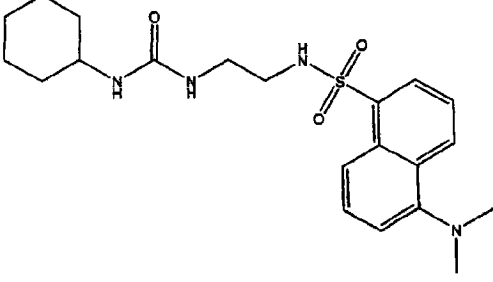
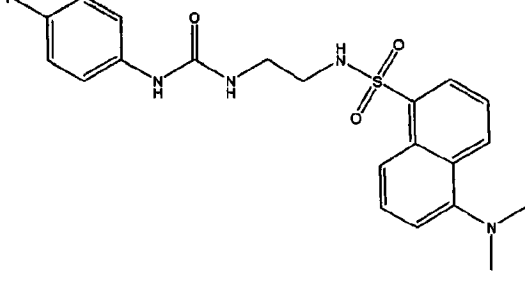
[0585]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1360		*
1361		*
1362		*
1363		*
1364		*

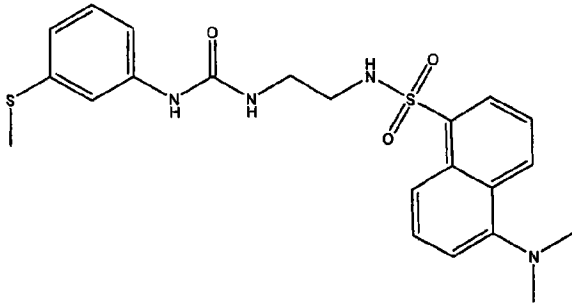
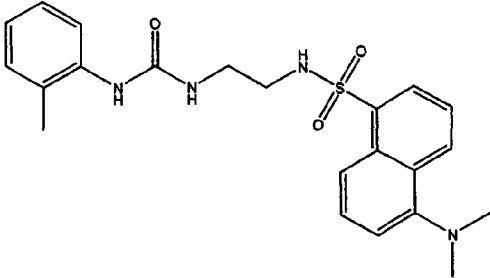
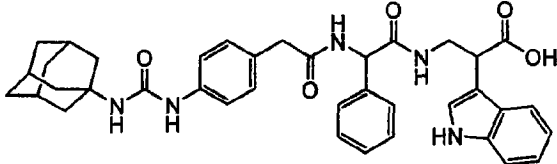
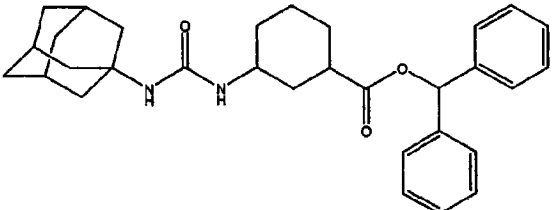
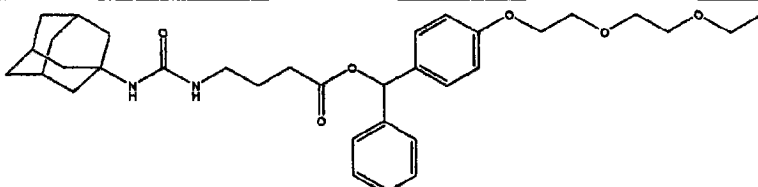
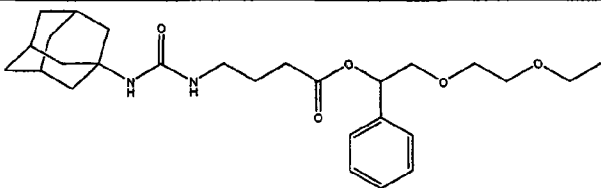
[0586]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1365		*
1366		*
1367		*
1368		*
1369		*

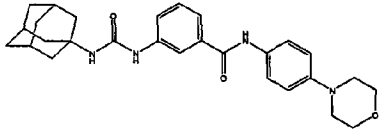
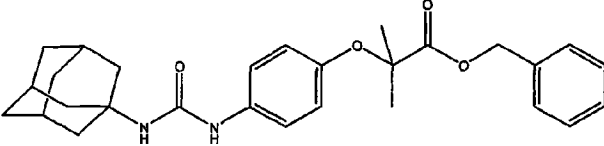
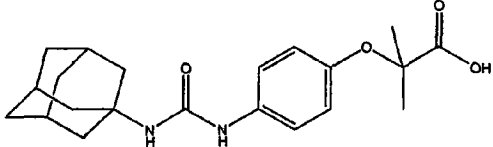
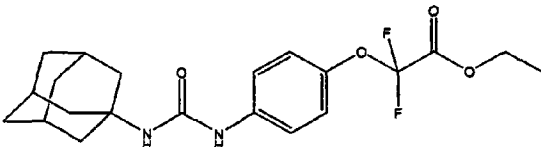
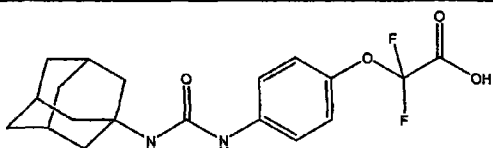
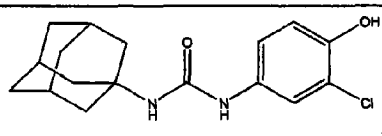
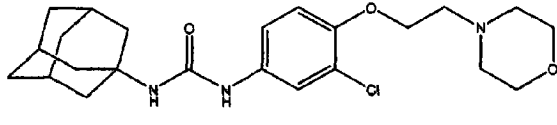
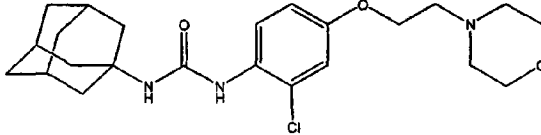
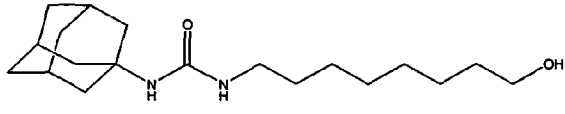
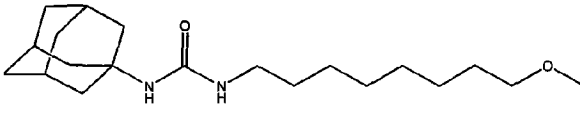
[0587]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1370		*
1371		*
1372		*
1373		*
1374		*

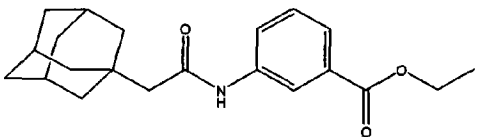
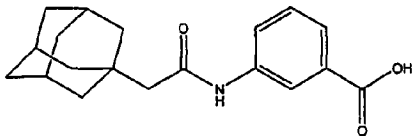
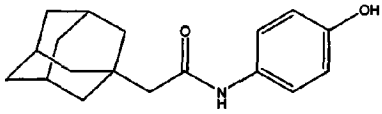
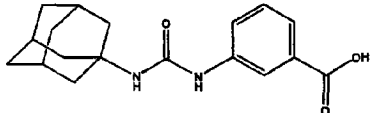
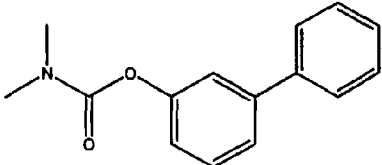
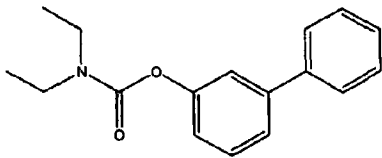
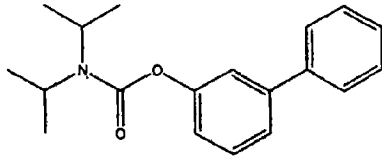
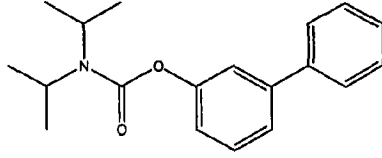
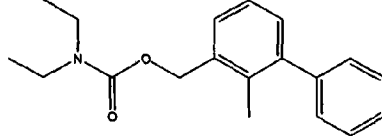
[0588]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1375		*
1376		*
1425		0.01±0.01
1437		0.01±0.01
1438		0.01±0.01
1439		0.01±0.01

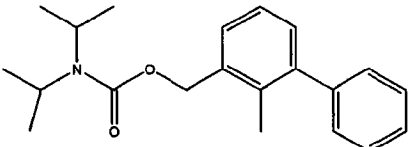
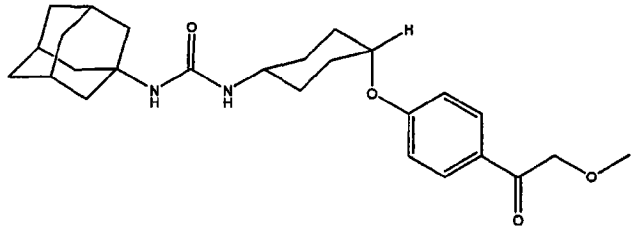
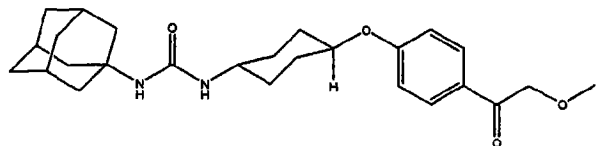
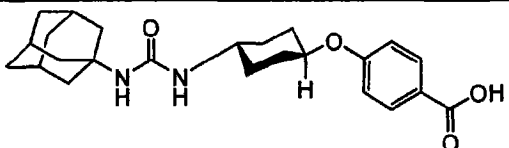
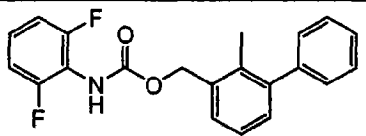
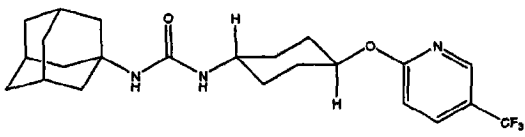
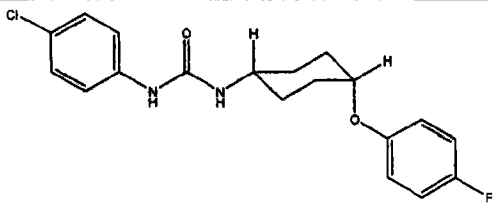
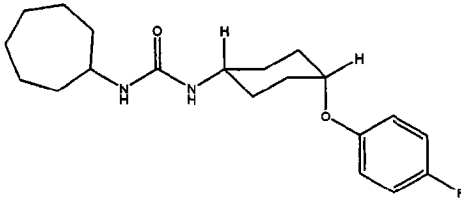
[0589]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1440		0.07±0.01
1441		0.01±0.01
1442		0.15±0.01
1443		0.01±0.01
1444		0.01±0.01
1446		0.01±0.01
1447		0.01±0.01
1448		0.01±0.01
1449		0.01±0.01
1450		0.01±0.01

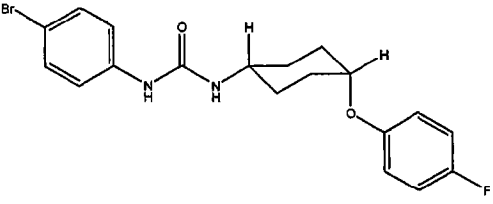
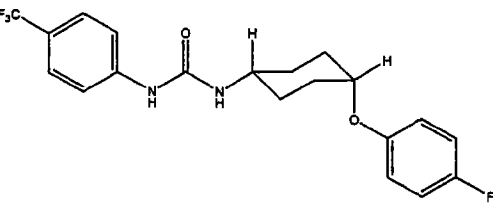
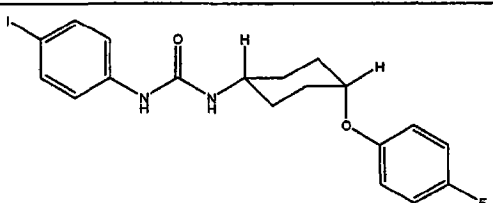
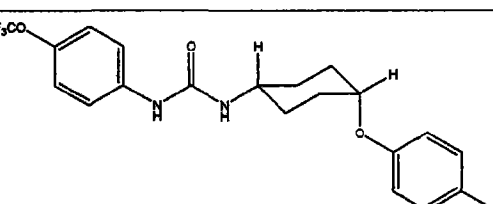
[0590]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1452		0.04±0.01
1453		0.03±0.01
1454		0.03±0.01
1455		0.92±0.01
1458		*
1459		*
1460		10.92±0.01
1463		11.89±0.01
1464		7.19±0.01

[0591]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1465		1.23±0.01
1469		0.01±0.01
1470		0.01±0.01
1471		*
1498		*
1513		0.05±0.01
1514		0.01±0.01
1515		0.01±0.01

[0592]

编号.	结构	IC ₅₀ (μM)
1516		0.01±0.01
1517		0.01±0.01
1518		0.01±0.01
1519		0.01±0.01

[0593] *利用荧光高通量试验测定抑制效力。用含 0.1mg/mL BSA 的 Bis/Tris HCl 缓冲液 (25mM PH7.0) (缓冲液 A) 以 10 倍增幅连续稀释 10mM 抑制剂 DMSO 溶液。向黑色 96-孔板的每孔中加入 20 μL 抑制剂稀释液或缓冲液, 然后向每孔中加入 130 μL 缓冲液 A 配制的约 0.4 μg/mL 的人 sEH 溶液。然后在室温混合与培育平板 5 分钟。随后向每孔中加入 96 : 4 缓冲液 A : DMSO 配制的 50 μL 200 μM 的底物 ((3-苯基-环氧乙烷基)-乙酸氨基-(6-甲氧基-萘-2-基)-甲酯; PHOME) 溶液得到 [S]_{最终} = 50 μM 和 [E]_{最终} = 约 4nM。然后在室温 (约 25°C) 闭光混合与培育平板 90 分钟。利用 SpectraMax M-2 荧光计 (molecularDevices, Sunnyvale CA) 以 316nm 的激发波长和 460nm 的发射波长测定形成的 6-甲氧基-2-萘醛的相对含量来检测活性。结果未报道。

[0594] 也可用酰胺或氨基甲酸酯官能团来改变第一脲药效团 (化合物编号……) 来改善 sEH 抑制剂的物理特性。可如表 14 所示用杂环或无环的氢键受体和供体替代羰基。

[0595] 实施例 51

[0596] 本实施例显示了在啮齿类动物中 sEH 抑制剂对血清和尿氧脂素分布的作用。

[0597] 所述可溶性环氧化物抑制剂显示能调节受治疗动物的环氧和二羟基脂肪酸的相对丰度和含量。该变化的一种这样的例子见图 13。在本实施例中, 通过输注血管紧张肽 (ANGII) 在一组 Sprague-Dawley 大鼠中诱导了高血压。第二组大鼠接受 ANGI 和皮下注射模型 sEH 抑制剂 1-金刚烷基-3-(十二烷酸)脲 (即, 化合物 687)。接触化合物 687 24 小

时后收集尿液样品,利用 LC/MS/MS 分析衍生自环氧化物和二醇的亚油酸盐(图 A)和花生四烯酸盐(图 B)。如图 13 所示,与 ANGI 接触降低了衍生自环氧化物的亚油酸盐(EpOME)和花生四烯酸盐(EET)二者的浓度,提高了衍生自二醇的花生四烯酸盐(DHET)浓度,但不提高衍生自二醇的亚油酸盐(DHOME)浓度。在两类脂质情况中,用化合物 687 治疗动物增加了尿环氧化物的浓度同时降低了二醇的浓度。

[0598]

实施例 52

[0599] 本实施例描述了本发明某些化合物对花生四烯酸级联反应各成员的作用。

[0600] 对于环氧脂肪酸水解,可溶性环氧化物水解酶优选在离羧基末端较远处含有环氧部分的底物。具体地说,对于花生四烯酸的环氧化物,底物优选 14,15-EET > 11,12-EET > 8,9-EET >>> 5,6-EET 的次序。当大鼠肾皮层胞液将 8,9-,11,12- 和 14,15-EET 脂肪酸的 1 : 1 : 2 混合物水解至 30%时,按 0.1 : 8.1 : 14.3 独立计算环氧花生四烯酸盐的相对底物转化。考虑该酶的第一药效团为环氧化物水解的过渡态类似物,目前已开发了含有长链脂族酸的抑制剂。与含有较短链脂族酸的化合物相比,这些化合物是更好的底物和过渡态模拟物。因此,可通过产生含脂族取代基(即,第三药效团)的化合物来获得可溶性最佳的环氧化物水解酶抑制剂,所述脂族取代基与第一药效团隔开的距离与最佳底物中末端羧基和环氧化物隔开的距离相等。在酶活性位点中,预计环氧脂肪酸存在延伸的构象和假线形构象。因此,含有环氧脂肪酸和脂族酸的脲结构均约表现为两维线形,对各类进行了测定。所得的至关重要参数是羧基酯羟基与脲羰基和脲氮的距离(以 Å 计)。

[0601] 1-环己基-3-辛酸的羧酸酯与脲官能团的距离类似于 8,9-EET 中环氧化物与羧基酯的距离。因此,按照该化合物标准化计算的抑制剂效力,得到抑制剂效力排序。然后我们按照相对底物转化率使环氧化物与羰基距离相关而建立了相关回归(correlative regression)。通过在该图上制作相对抑制剂效力图,我们发现羧基与 N'-氮的距离与羧基和环氧化物氧的距离良好相关。这些数据进一步强调说明了抑制剂和底物与可溶性环氧化物水解酶相互作用的相似性。

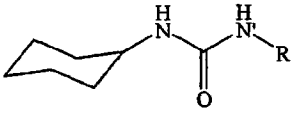
[0602] 程序:

[0603] 利用 ACD/ChemSketch 4.55 版((5/06/2000)Advanced ChemistryDevelopment Inc.,多伦多,安大略,加拿大)画出所有结构,以 MDL MOL 文件输出。利用 ACD/3D 4.52 版(4/10/2000)在相应的 MOL 文件上测量距离。未进行结构最优化。

[0604] 表 19 提供了该项分析的结果(也参见图 12)。

[0605] 表 19. 显示了与大鼠 sEH 中环氧化物和游离酸的距离以及对四种花生四烯酸环氧化物的相对转化速率相比,一系列 sEH 抑制剂的第一和第二药效团间的直线距离和它们对小鼠 sEH(MsEH) 和人 sEH(HsEH) 的效力排序。

[0606]

sEH 抑制剂				内源性 she 底物		
	N' 到 COOH (Å)	MsEH	HsEH	底物	O _{Ep} 到 COOH (Å)	相对 EET 转化
-(CH ₂) ₅ COOH	9.6	0.01	0.01	5,6-EET	8	0.1
-(CH ₂) ₆ COOH	10.9	0.1	0.1			
-(CH ₂) ₈ COOH	12.4	1	1	8,9-EET	12.1	1
-(CH ₂) ₁₁ COOH	16.5	11	4.8	11,12-EET	16.4	8.1
-(CH ₂) ₁₂ COOH	17.8	10	10	14,15-EET	20.7	14.3

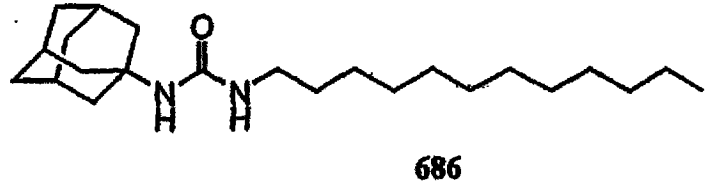
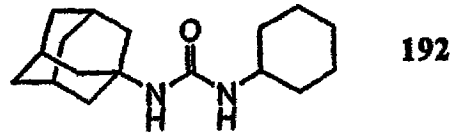
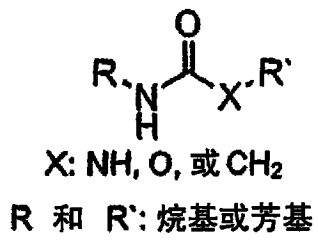


图 1

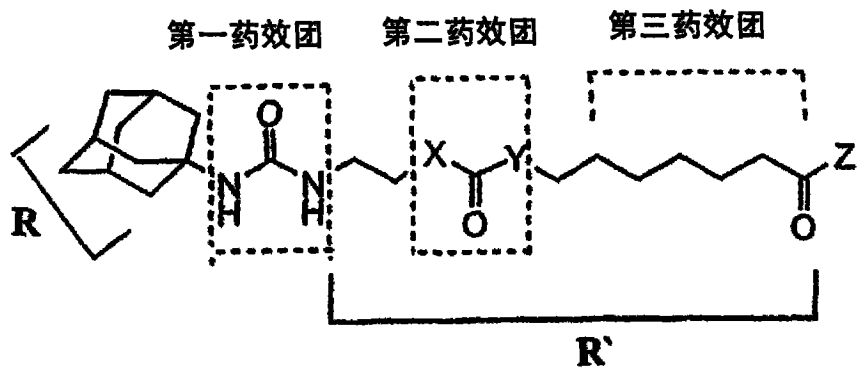
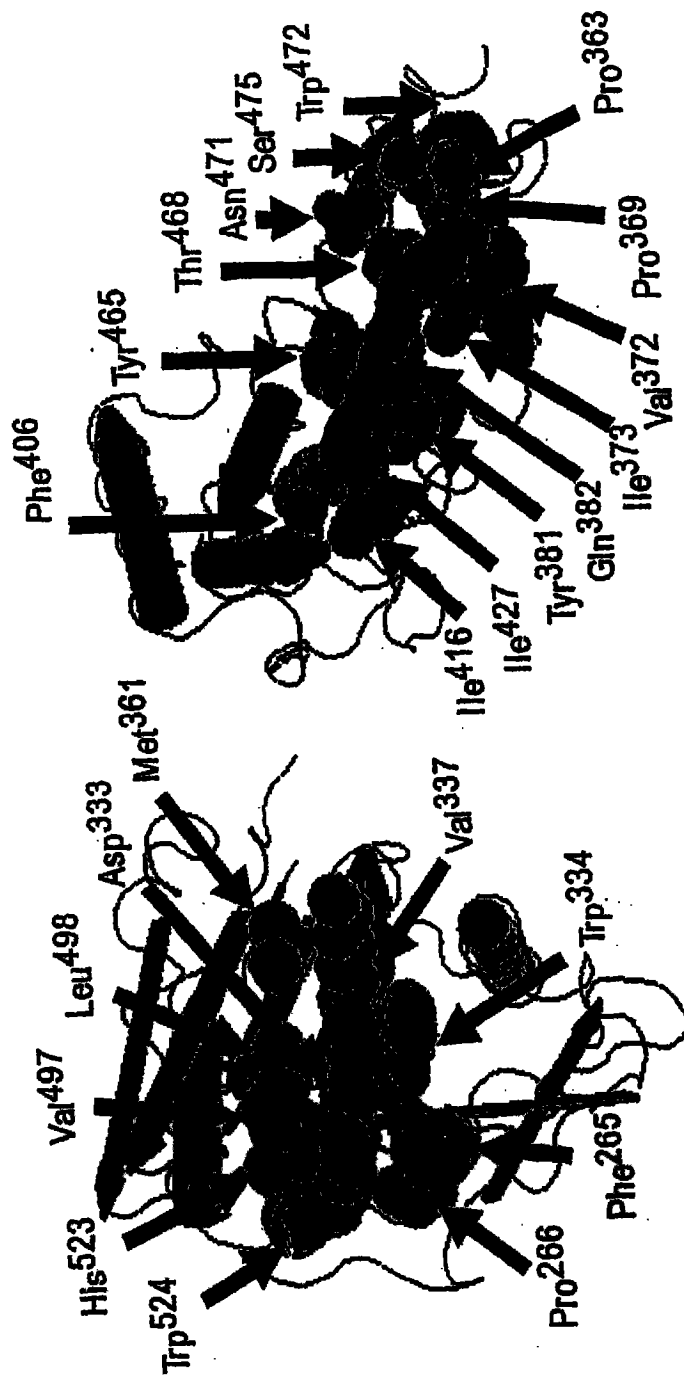


图 2



3

人 (J04711)	MTLRAAVFDLDGVLALP <small>AV</small> FGVLGRTEEALAL <small>PR</small> GLLNDA	40
大鼠 (P80299)	MALRVAAFDLDGVLALP <small>SI</small> AGVLRHTEEALAL <small>PR</small> D <small>DF</small> LLGA	40
小鼠肝 (AAA37555)	MALRVAAFDLDGVLALP <small>SI</small> AGAFRRSEFALAL <small>PR</small> D <small>DF</small> LLGA	40
小鼠卵巢 (ANM28238)	M-----RFAAMAFSVF <small>VSK</small> GLLMNS	22
人 (J04711)	FQKGGPEGATTRLMKGEITLSQ <small>W</small> PLMEENCRKCSETAKV	80
大鼠 (P80299)	FQMKFPEGPT <small>EQ</small> LMKGGKITFSQ <small>W</small> VPLMDESCRKSSKACGA	80
小鼠肝 (AAA37555)	YQTEFPEGPT <small>EQ</small> LMKGGKITFSQ <small>W</small> VPLMDESYRKSSKACGA	80
小鼠卵巢 (ANM28238)	NIWCVGOEGPSQEDTDTIHTSE <small>W</small> VPLMDESYRKSSKACGA	62
人 (J04711)	CLPKNFSIK <small>E</small> IFDKAISARKINR <small>P</small> MLQAAAL <small>LR</small> KKGF <small>TTA</small>	120
大鼠 (P80299)	SLPENFSIS <small>E</small> IFSOANA <small>AK</small> SINR <small>P</small> MLQAAAAL <small>LR</small> KKGF <small>TTA</small>	120
小鼠肝 (AAA37555)	NLPENFSIS <small>Q</small> IFSOANA <small>AK</small> SINR <small>P</small> MLQAAIAL <small>LR</small> KKGF <small>TTA</small>	120
小鼠卵巢 (ANM28238)	NLPENFSIS <small>Q</small> IFSOANA <small>AK</small> SINR <small>P</small> MLQAAIAL <small>LR</small> KKGF <small>TTA</small>	102
人 (J04711)	IVTNNWLD <small>DR</small> AERDGLA <small>Q</small> LM <small>CE</small> LM <small>HD</small> FLIESCOVGM <small>VK</small>	160
大鼠 (P80299)	IVTNNWLD <small>DS</small> DKR <small>D</small> ILA <small>Q</small> M <small>CE</small> LS <small>OH</small> FD <small>FL</small> IESCOVGM <small>IK</small>	160
小鼠肝 (AAA37555)	IVTNNWLD <small>DG</small> DKR <small>DS</small> LA <small>Q</small> M <small>CE</small> LS <small>OH</small> FD <small>FL</small> IESCOVGM <small>IK</small>	160
小鼠卵巢 (ANM28238)	IVTNNWLD <small>DG</small> DKR <small>DS</small> LA <small>Q</small> M <small>CE</small> LS <small>OH</small> FD <small>FL</small> IESCOVGM <small>IK</small>	142
人 (J04711)	PEPQIYK <small>F</small> LDTLKASP <small>SE</small> VVFLDDIG <small>AN</small> LK <small>P</small> ARDLGMVT	200
大鼠 (P80299)	PEPQIYK <small>F</small> LDTLKAKP <small>NE</small> VVFLDDFG <small>SN</small> LK <small>P</small> ARDMGMVT	200
小鼠肝 (AAA37555)	PEPQIYK <small>F</small> LDTLKAKP <small>NE</small> VVFLDDFG <small>SN</small> LK <small>P</small> ARDMGMVT	200
小鼠卵巢 (ANM28238)	PEPQIYK <small>F</small> LDTLKAKP <small>NE</small> VVFLDDFG <small>SN</small> LK <small>P</small> ARDMGMVT	182
人 (J04711)	ILVQD <small>TD</small> TAL <small>RE</small> LEKVTG <small>I</small> QLLNT <small>PA</small> LP <small>PT</small> SCNP <small>SD</small> MSHG	240
大鼠 (P80299)	ILVRD <small>T</small> ASAL <small>RE</small> LEKVTG <small>T</small> QF <small>PE</small> AP <small>LE</small> V <small>PC</small> SPN--DVSHG	238
小鼠肝 (AAA37555)	ILVHNT <small>A</small> SAL <small>RE</small> LEKVTG <small>T</small> QF <small>PE</small> AP <small>LE</small> V <small>PC</small> NP <small>N</small> --DVSHG	238
小鼠卵巢 (ANM28238)	ILVHNT <small>A</small> SAL <small>RE</small> LEKVTG <small>T</small> QF <small>PE</small> AP <small>LE</small> V <small>PC</small> NP <small>N</small> --DVSHG	220
人 (J04711)	YVTVK <small>PR</small> VRLHFV <small>EL</small> GSG <small>PA</small> V <small>CL</small> CHGFP <small>ES</small> W <small>IS</small> WRYQ <small>IP</small> A	279
大鼠 (P80299)	YVTVK <small>PG</small> IRLHFV <small>EM</small> GSG <small>PA</small> L <small>CL</small> CHGFP <small>ES</small> W <small>IS</small> WRYQ <small>IP</small> A	278
小鼠肝 (AAA37555)	YVTVK <small>PG</small> IRLHFV <small>EM</small> GSG <small>PA</small> L <small>CL</small> CHGFP <small>ES</small> W <small>IS</small> WRYQ <small>IP</small> A	278
小鼠卵巢 (ANM28238)	YVTVK <small>PG</small> IRLHFV <small>EM</small> GSG <small>PA</small> L <small>CL</small> CHGFP <small>ES</small> W <small>IS</small> WRYQ <small>IP</small> A	260
人 (J04711)	LAQAG <small>TR</small> VLAIDMKGYG <small>D</small> SS <small>SP</small> PEIEEY <small>AM</small> ELLCKEMV <small>TF</small>	319
大鼠 (P80299)	LAQAG <small>TR</small> VLAIDMKGYG <small>D</small> SS <small>SP</small> PEIEEY <small>AM</small> ELLCKEMV <small>TF</small>	318
小鼠肝 (AAA37555)	LAQAG <small>TR</small> VLAIDMKGYG <small>D</small> SS <small>SP</small> PEIEEY <small>AM</small> ELLCKEMV <small>TF</small>	318
小鼠卵巢 (ANM28238)	LAQAG <small>TR</small> VLAIDMKGYG <small>D</small> SS <small>SP</small> PEIEEY <small>AM</small> ELLCKEMV <small>TF</small>	300
人 (J04711)	LDKLG <small>IP</small> QAVFI <small>GH</small> D <small>WA</small> G <small>VM</small> VW <small>N</small> MALFY <small>PE</small> RVRAVASL <small>NT</small>	359
大鼠 (P80299)	LNKLG <small>IP</small> QAVFI <small>GH</small> D <small>WA</small> G <small>V</small> LW <small>N</small> MALFY <small>PE</small> RVRAVASL <small>NT</small>	358
小鼠肝 (AAA37555)	LDKLG <small>IP</small> QAVFI <small>GH</small> D <small>WA</small> G <small>V</small> NW <small>N</small> MALFY <small>PE</small> RVRAVASL <small>NT</small>	358
小鼠卵巢 (ANM28238)	LDKLG <small>IP</small> QAVFI <small>GH</small> D <small>WA</small> G <small>V</small> MW <small>N</small> MALFY <small>PE</small> RVRAVASL <small>NT</small>	340

蛋白质序列得自NCBI数据库(登录号),显示了哺乳动物蛋白中相同(粗体)和同源(有框)残基。与第一(†)、第二(‡)和第三(°)药效团相互作用的位点在各序列上方标出

图4

		†‡	
人 (J04711)	PFIPANPNMSPLES	IKANPVFDYQLYFOEPGVAEAELEQN	399
大鼠 (P80299)	PLNPPNPEVSPMEVIRS	IPVFNYQLYFOEPGVAEAELEKN	398
小鼠肝 (AAA37555)	PFMPPDPDVSPMKVIRS	IPVFNYQLYFOEPGVAEAELEKN	398
小鼠卵巢 (AAM28238)	PFMPPDPDVSPMKVIRS	IPVFNYQLYFOEPGVAEAELEKN	380
人 (J04711)	LSRTFKSLFRASDES	SVLSM-HKVCEAGGLFVNSPEEPSLS	439
大鼠 (P80299)	MSRTFKSFFRTSDD	MGLLTVNKATEMGGILVGTPEDPKMS	438
小鼠肝 (AAA37555)	MSRTFKSFFRASDET	GFI AVHKATEIGGILVNTPEDPNLS	438
小鼠卵巢 (AAM28238)	MSRTFKSFFRASDET	GFI AVHKATEIGGILVNTPEDPNLS	420
		†	
人 (J04711)	RMVTEEEIQFYV	QOFKKS GFRGPLNWYRNMER NWKNSCKS	479
大鼠 (P80299)	KITTEEEIEEYII	QOFKKS GFRGPLNWYRNMER NWKNSCKA	478
小鼠肝 (AAA37555)	KITTEEEIEEYII	QOFKKT GFRGPLNWYRNMER NWKNSCKG	478
小鼠卵巢 (AAM28238)	KITTEEEISEEYII	QOFKKT GFRGPLNWYRNMER NWKNSCKG	460
人 (J04711)	LGRKILIPALMVTA	KDFVLVPQMSQH MEDWI PHLKR GHI	519
大鼠 (P80299)	LGRKILIPALMVTA	KDIVLRPEMSKNMENWI PFLKR GHI	518
小鼠肝 (AAA37555)	LGRKILIPALMVTA	KDIVLRPEMSKNMEKWI PFLKR GHI	518
小鼠卵巢 (AAM28238)	LGRKILIPALMVTA	KDIVLRPEMSKNMEKWI PFLKR GHI	500
人 (J04711)	EDCGHTQMDKPT	EVNQILIKWLDSIARNPPVVS KM	555
大鼠 (P80299)	EDCGHTQIEKPA	EVNQILIKWLKTEIQNPSVTSKI	554
小鼠肝 (AAA37555)	EDCGHTQIEKPT	EVNQILIKWLQTEVQNP SVTSKI	554
小鼠卵巢 (AAM28238)	EDCGHTQIEKPT	EVNQILIKWLQTEVQNP SVTSKI	536

蛋白质序列得自NCBI数据库(登录号),显示了哺乳动物蛋白中相同(粗体)和同源(有框)残基.与第一(†)、第二(‡)和第三(°)药效团相互作用的位点在各序列上方标出

图 5

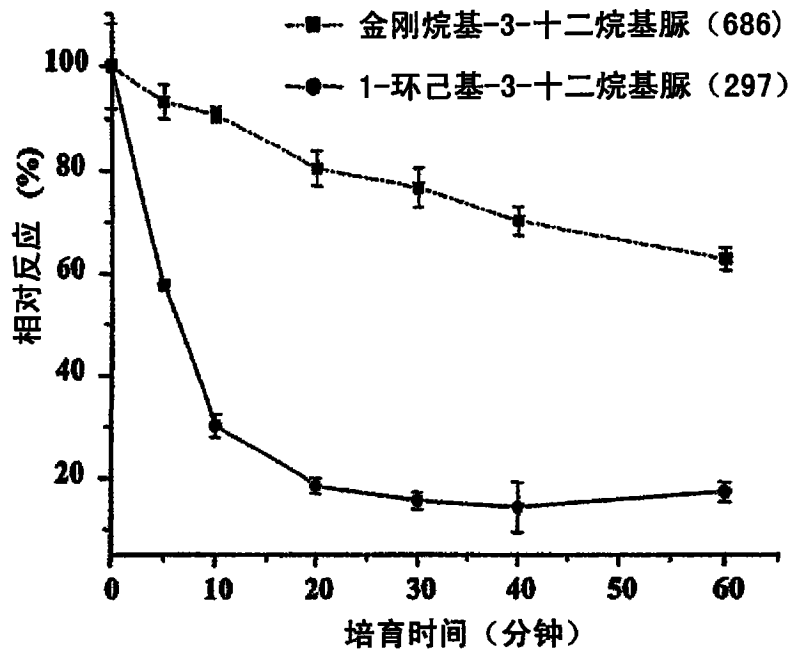


图 6

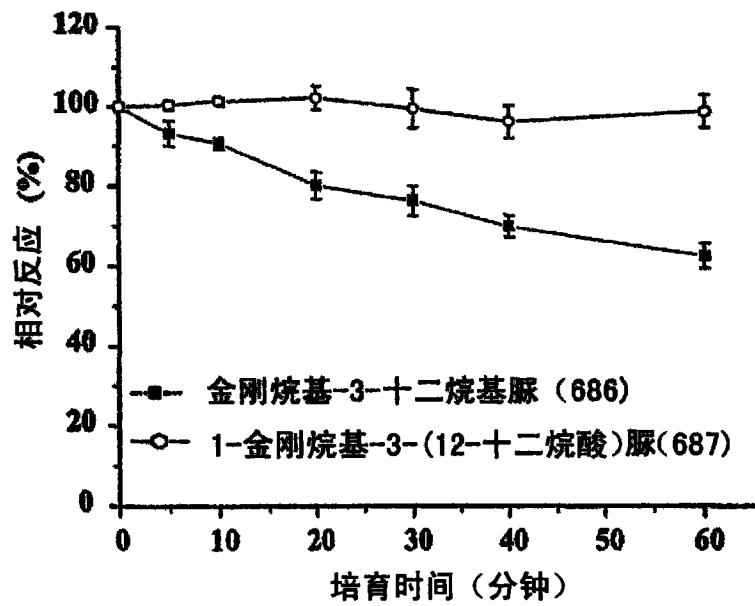


图 7

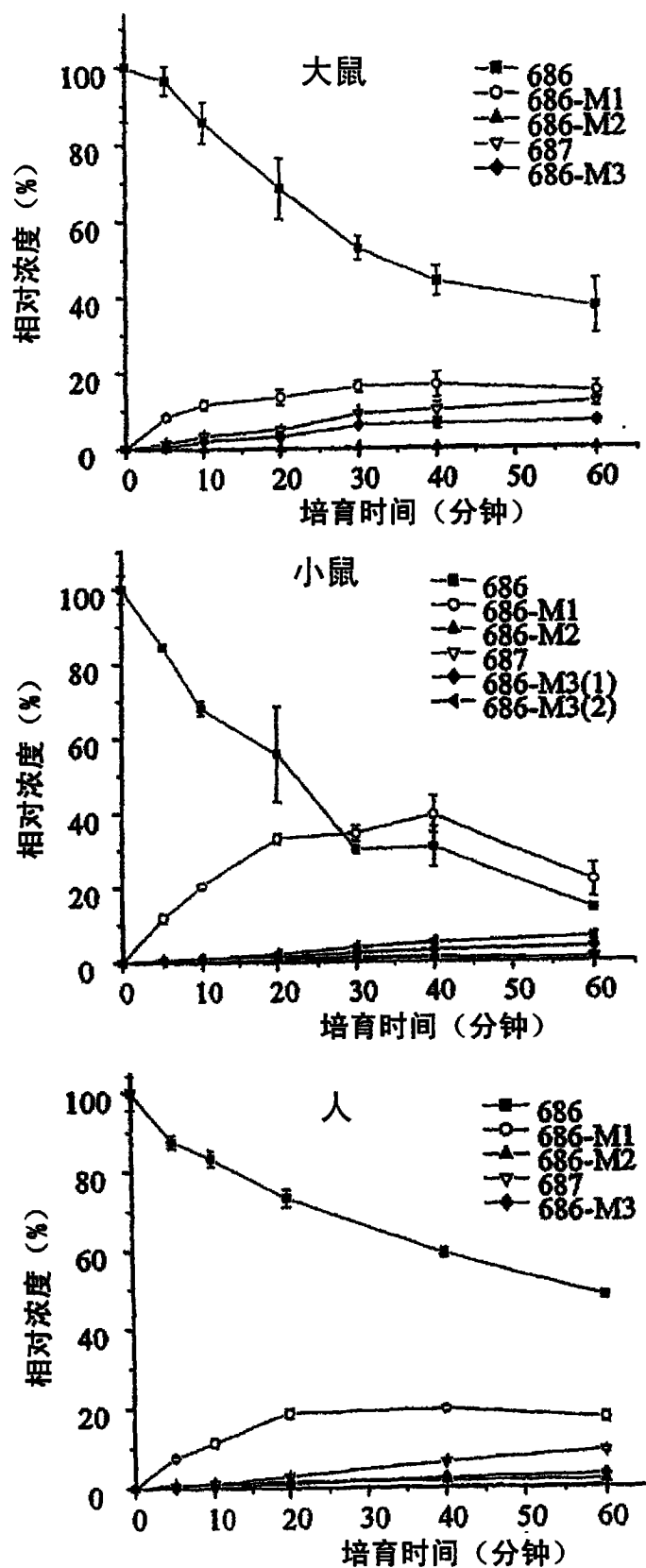


图 8

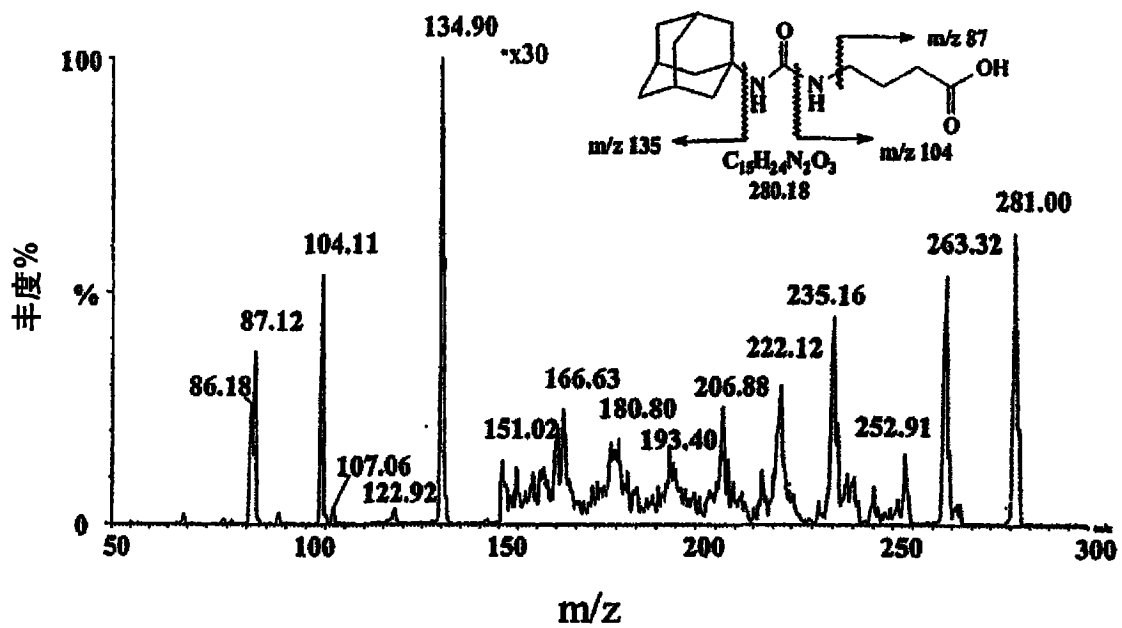


图 9

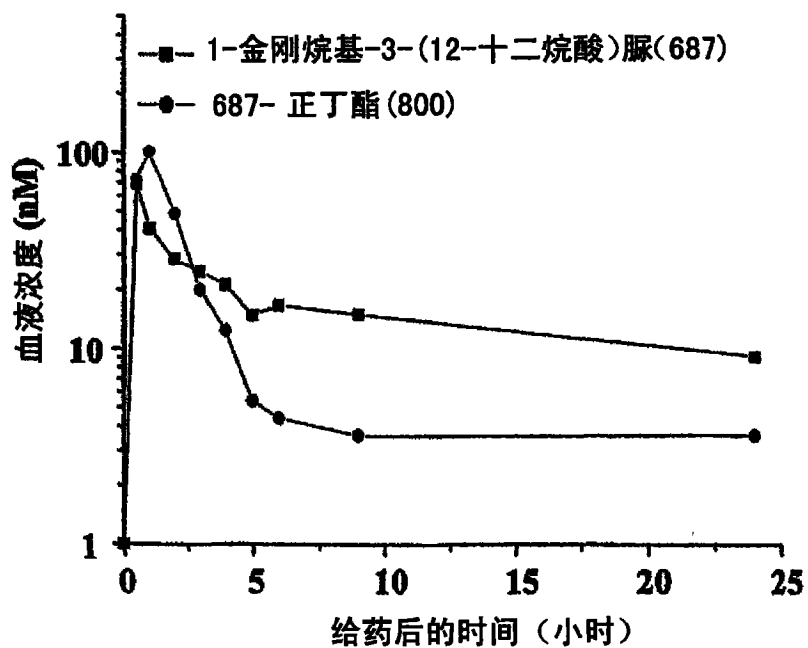


图 10

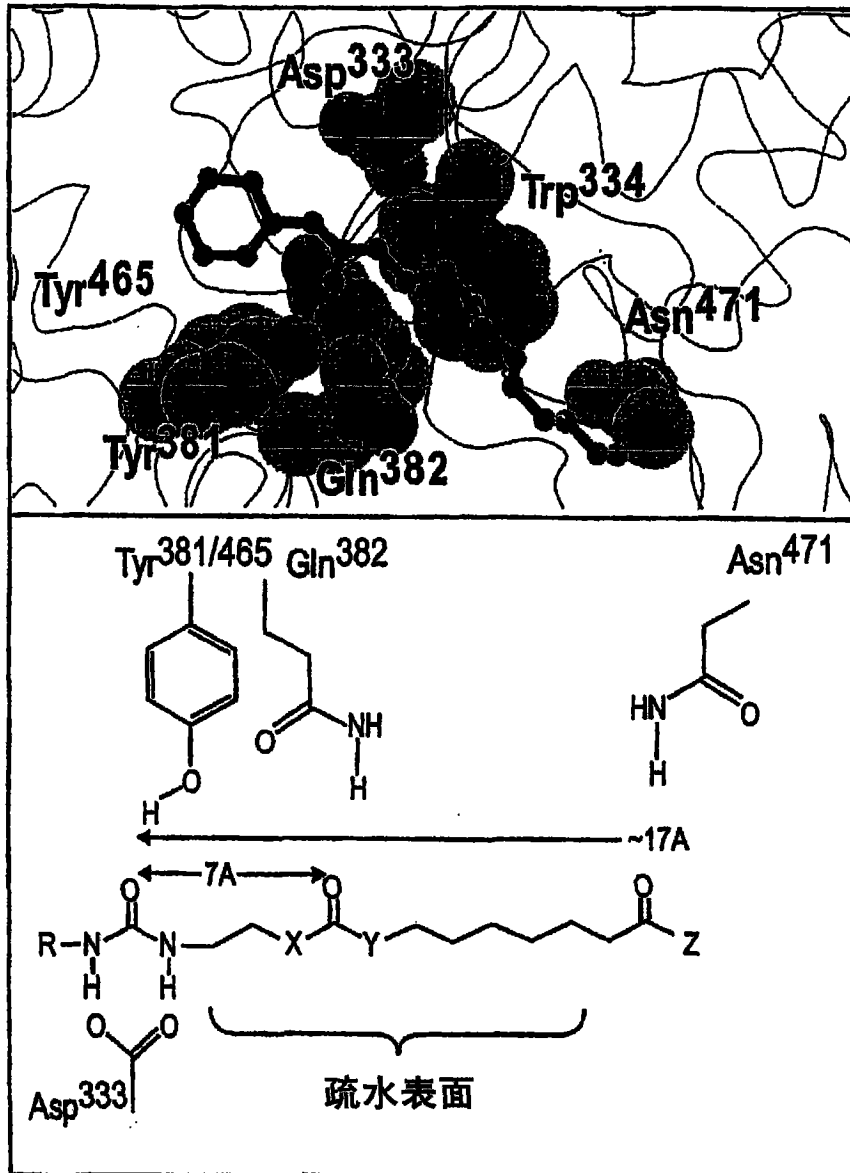


图 11

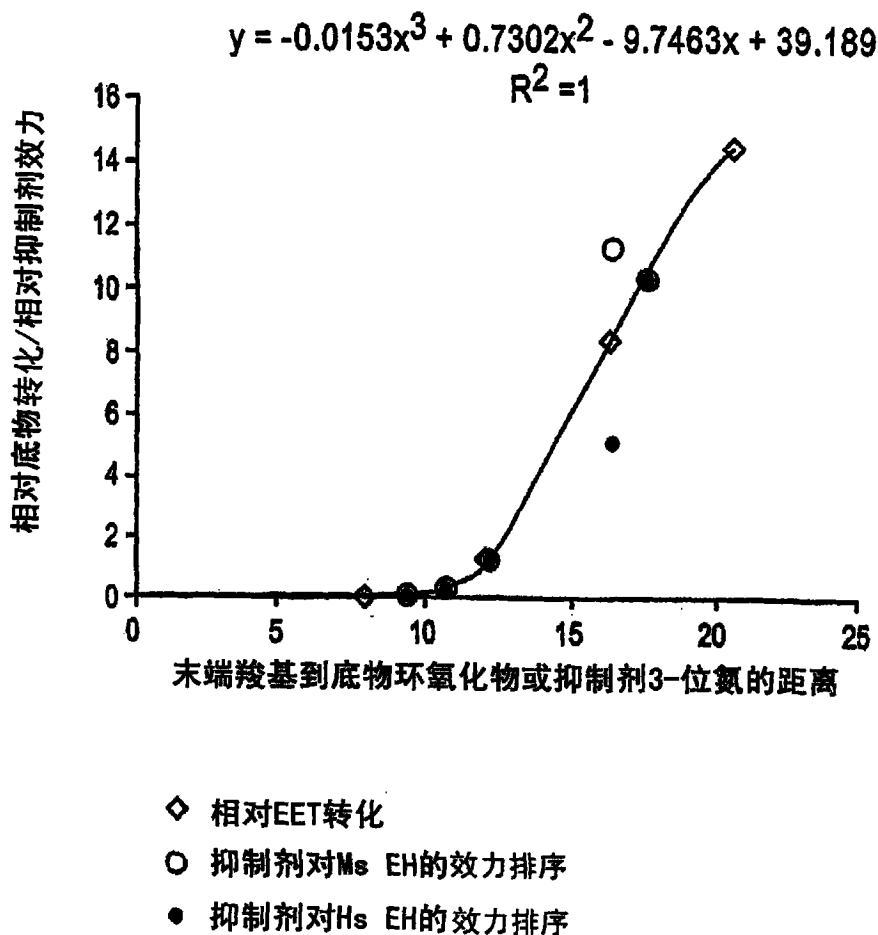


图 12

尿中类十八烷酸

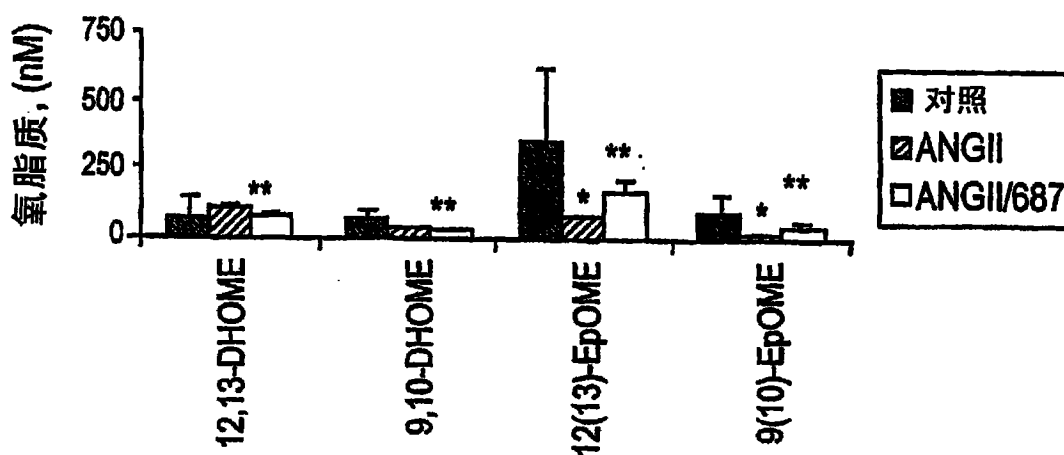


图 13A

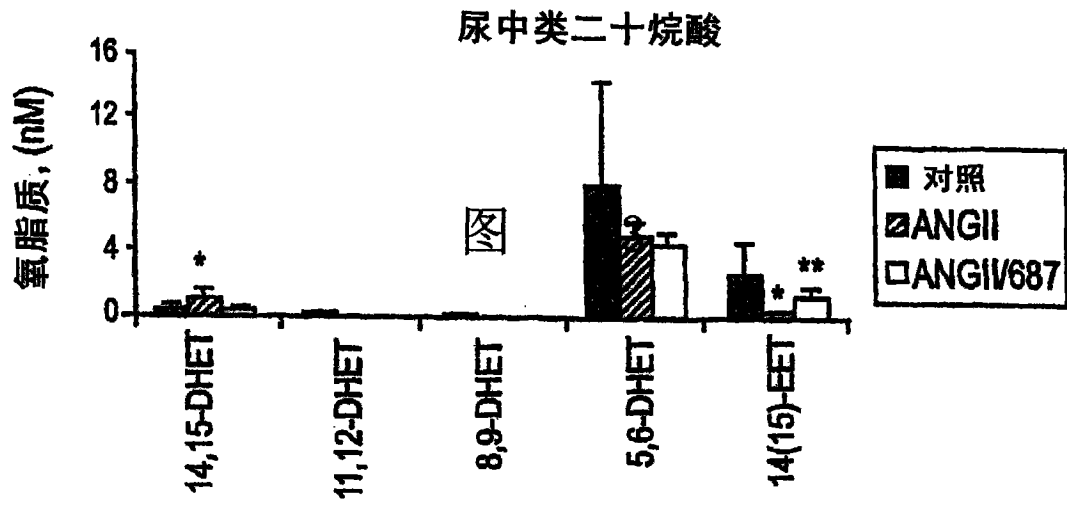


图 13B

三硬脂酸酯 (tristearate) 配制的AUDA口服

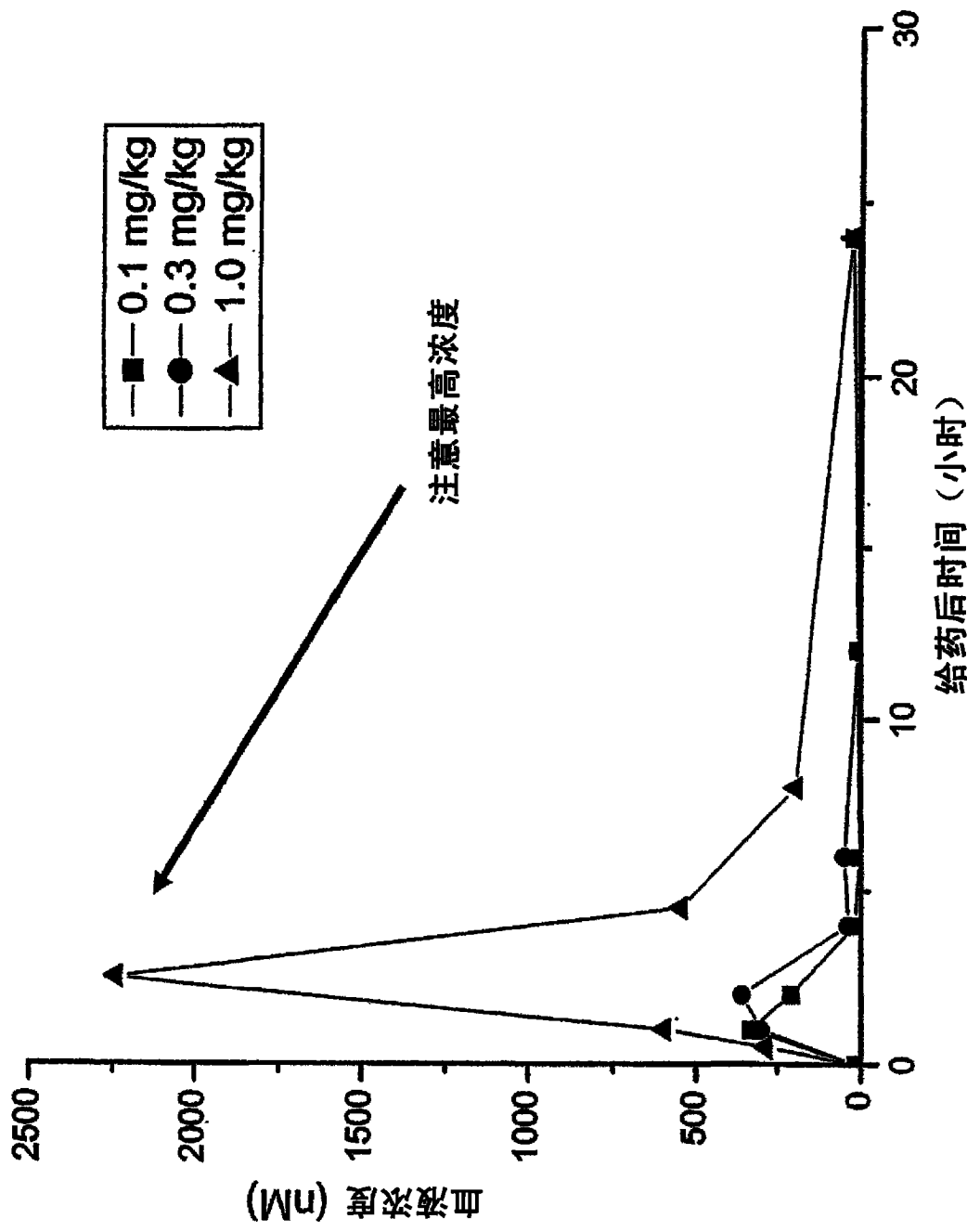


图 14

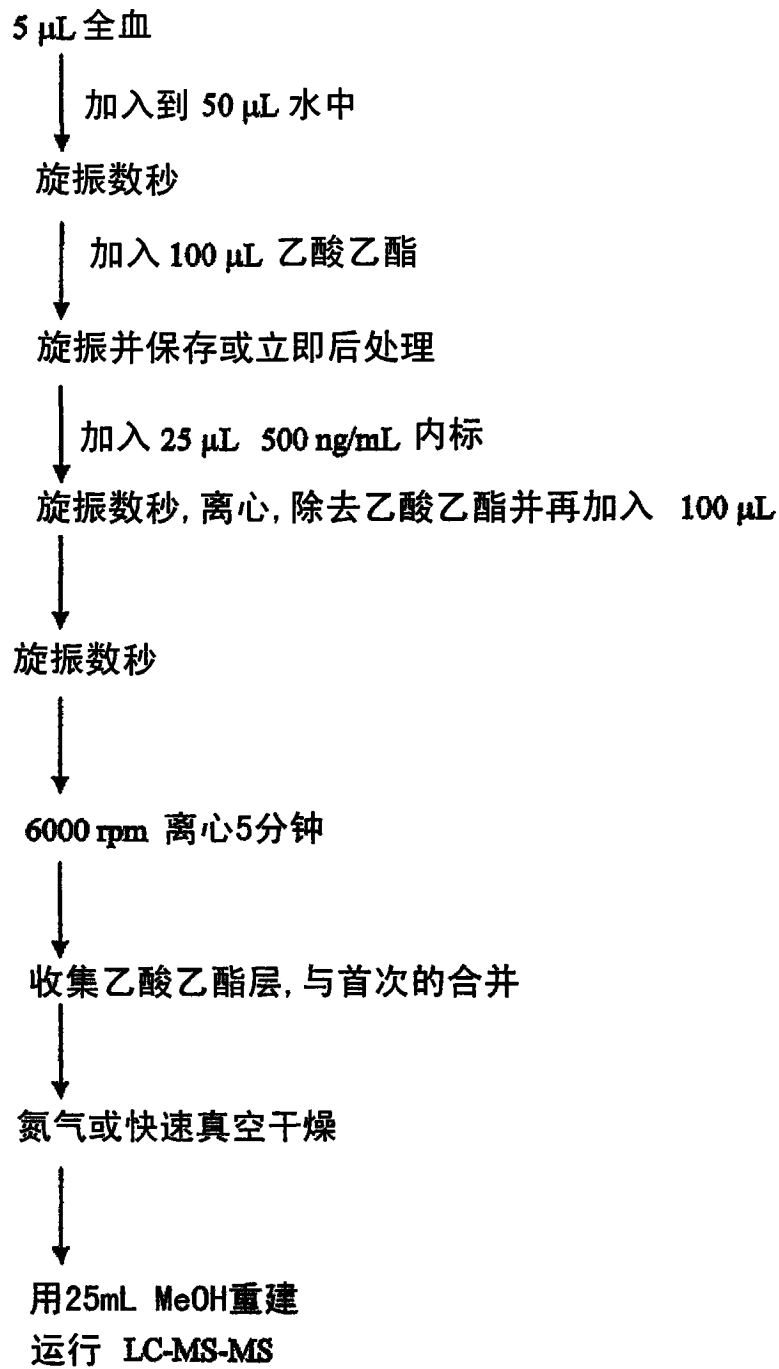
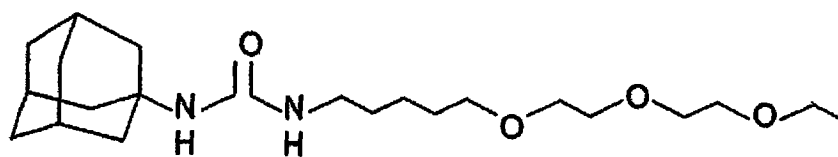


图 15



950

熔点 (°C)	74-75
Ms	396.30
鼠科 sEH IC ₅₀ (μM)	0.10 ± 0.01
鼠科 IC ₉₀ (μM)	2.00 ± 0.20
水溶性 (μg/mL)	120 ± 7.91
Log P	1.86

图 16

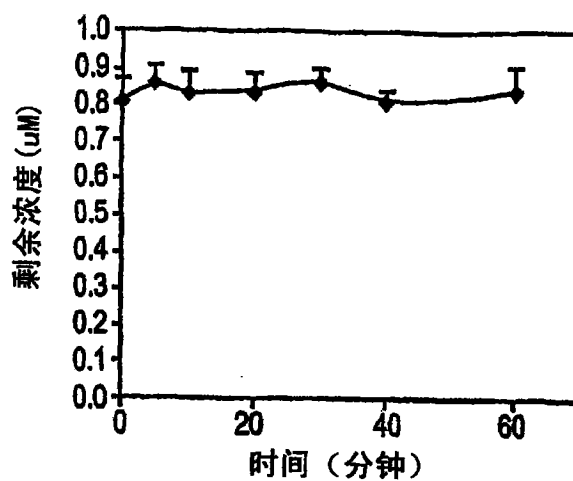
无NADPH时950的
体外代谢稳定性

图 17A

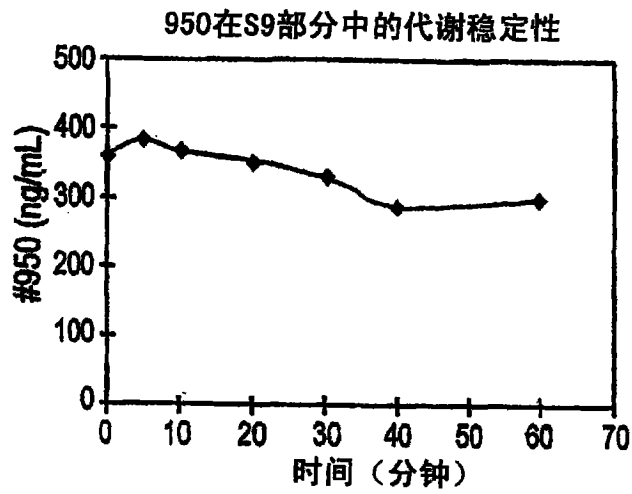


图 17B

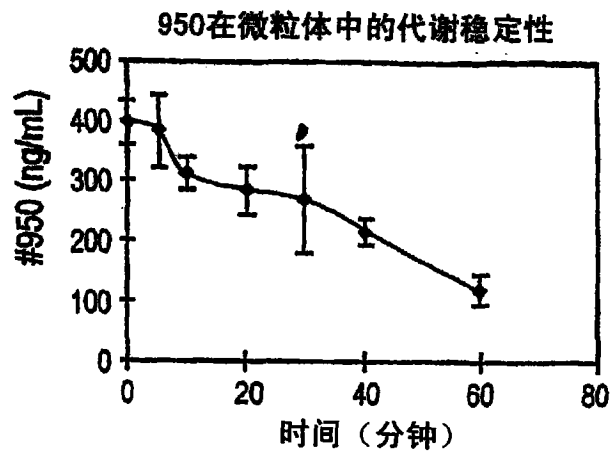


图 17C