(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国 际 局

(43) 国际公布日
2023 年 3 月 30 日 (30.03.2023)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2023/045985 A1

(51) 国际专利分类号:
A61K 31/201 (2006.01) *C07C 57/13* (2006.01)
A61K 31/194 (2006.01) *A61P 3/06* (2006.01)
C07C 55/21 (2006.01) *A61P 3/00* (2006.01)
C07C 55/28 (2006.01) *A61P 9/10* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2022/120315

(22) 国际申请日: 2022 年 9 月 21 日 (21.09.2022)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202111116447.1 2021年9月23日 (23.09.2021) CN

(71) 申请人: 博骥源（上海）生物医药有限公司 (BURGEON THERAPEUTICS CO., LTD.) [CN/CN]; 中国上海市浦东新区中国上海市浦东新区张衡路1999号7号楼, Shanghai 201210 (CN)。

(72) 发明人: 南发俊(NAN, Fajun); 中国上海市浦东新区中国上海市浦东新区张衡路1999号7号楼, Shanghai 201210 (CN)。 李静雅(LI, Jingya); 中国上海市浦东新区中国上海市浦东新区张衡路1999号7号楼, Shanghai 201210 (CN)。 张梅(ZHANG, Mei); 中国上海市浦东新区中国上海市浦东新区张衡路1999号7号楼, Shanghai 201210 (CN)。 谢治富(XIE, Zhifu); 中国上海市浦东新区中国上海市浦东新区张衡路1999号7号楼, Shanghai 201210 (CN)。 张仰明(ZHANG, Yangming); 中国上海市浦东新区中国上海市浦东新区张衡路1999号7号楼, Shanghai 201210 (CN)。

(74) 代理人: 上海一平知识产权代理有限公司 (XU&PARTNERS, LLC.); 中国上海市普陀区真北路958号天地科技广场1号楼106室, Shanghai 200333 (CN)。

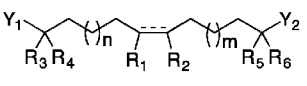
(81) 指定国(除另有指明，要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明，要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:
— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(54) **Title:** LONG-CHAIN COMPOUND AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 长链类化合物及其用途



(I)

(57) **Abstract:** Disclosed are a long-chain compound and the use thereof. The structure of the long-chain compound is as shown in formula (I). The compound can directly inhibit ACLY, has a significant therapeutic effect on metabolic diseases represented by hypercholesterolemia and non-alcoholic steatohepatitis, and can be used for developing and preparing therapeutic drugs for metabolic diseases such as hypercholesterolemia and non-alcoholic steatohepatitis.

(57) 摘要: 一种长链类化合物及其用途，长链类化合物结构如式(I)所示。所述化合物能够直接抑制ACLY，对以高胆固醇血症和非酒精性脂肪肝炎为代表的代谢性疾病具有显著的治疗效果，可用于开发制成高胆固醇血症和非酒精性脂肪肝炎等代谢性疾病的治疗药物。

WO 2023/045985 A1

长链类化合物及其用途

技术领域

本发明涉及一类新型长链脂肪酸类 ACLY 抑制剂、其药学上可接受的盐、药用酯、结晶水合物、溶剂合物或它们中的混合物，以及包含该类抑制剂的药物组合物，在制备高胆固醇血症、非酒精性脂肪肝炎（NASH）、肝纤维化等代谢性疾病治疗药物中的用途。

背景技术

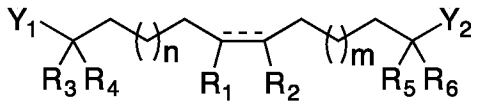
线粒体三羧酸循环（TCA cycle）产生的乙酰辅酶 A 是内源性胆固醇和甘油三酯从头合成的源头底物。三羧酸循环生成的乙酰辅酶 A 通常不能直接穿过线粒体膜进入细胞浆，而是在线粒体中通过柠檬酸合成酶的催化作用生成柠檬酸；柠檬酸借助三羧酸转运体透过线粒体膜进入胞浆，随后被分布于内质网上的 ATP 依赖的柠檬酸裂解酶（adenosine triphosphate citrate lyase, ACLY）裂解为乙酰辅酶 A 和草酰乙酸。其中，草酰乙酸借助 NADH 生成苹果酸，后者借助 NAPDH 进一步生成丙酮酸，苹果酸和丙酮酸可通过各自转运体被运回线粒体；乙酰辅酶 A 则可以作为底物直接参与甘油三酯和胆固醇的从头合成。非酒精脂肪肝炎（NASH）、高胆固醇血症以及动脉粥样硬化等多种代谢性疾病都与肝脏脂质合成水平的异常升高有关。因此，抑制 ACLY 的活性可以显著减少肝细胞脂质从头合成，ACLY 抑制剂可被用于制备代谢性疾病的治疗药物。已知，Bempedoic acid（ETC-1002）是全球首个上市的 ACLY 小分子抑制剂，主要用于他汀不耐受的杂合子家族性高胆固醇血症的治疗；此外，苯磺酰胺类等 ACLY 抑制剂在细胞水平和临床前动物水平也被分别验证具有降脂的药理学活性。

因此为治疗高胆固醇血症、非酒精性脂肪肝炎（NASH）、肝纤维化等代谢性疾病，需要研究 ACLY 抑制剂。

发明内容

本发明的目的在于提供一种长链类化合物的用途，用于治疗胆固醇血症、非酒精性脂肪肝炎（NASH）、肝纤维化、动脉粥样硬化等疾病。

本发明的第一方面，提供一种通式(I)所示的化合物，或其氘代化合物、立体异构体、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或其药学上可接受的盐或通式(I)所示的化合物中的两种或两种以上的化合物组成的混合物的用途，用于制备治疗代谢性疾病的药物；或者用于制备治疗动脉粥样硬化的药物，



(I)

其中，═══表示双键或单键；

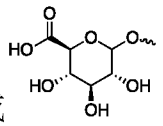
m、n 各自独立地为 1、2、3、4、5 或 6；

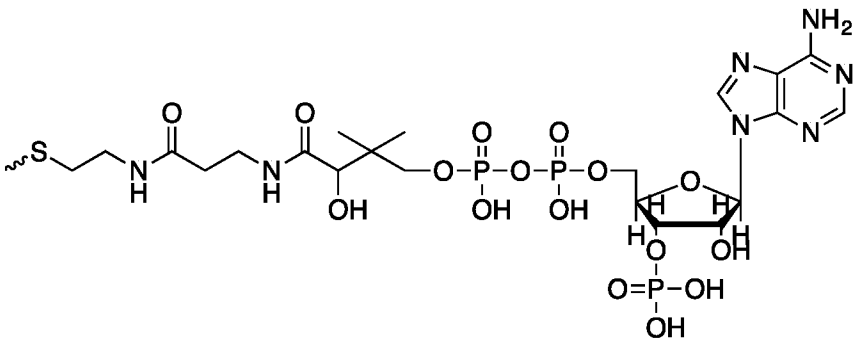
R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6 各自独立地为 H、C1-C4 烷基、C2-C4 烯基、C2-C4 炔基、C3-C7 环烷基、C3-C7 环烯基、苯基或苄基；

或者，R_1 和 R_2 与其相邻的碳原子一起形成 C3-C7 环烷基或 C3-C7 环烯基；

或者，R_5 和 R_6 与其相邻的碳原子一起形成 C3-C7 环烷基或 C3-C7 环烯基；

或者，R_3 和 R_4 与其相邻的碳原子一起形成 C3-C7 环烷基或 C3-C7 环烯基；

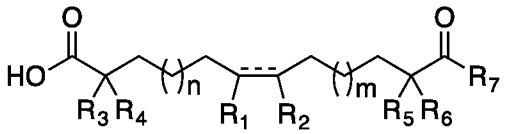
Y_1 和 Y_2 各自独立地选自：-OH、-COOH、-COCoA、-$COOR_7$；其中，R_7 为甲基、乙基或  ；CoA 结构如下所示：



。

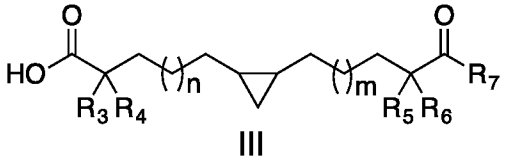
在另一优选例中，═══表示双键，双键构型为顺式或反式。

在另一优选例中，所述化合物具有通式 II 所示的结构：



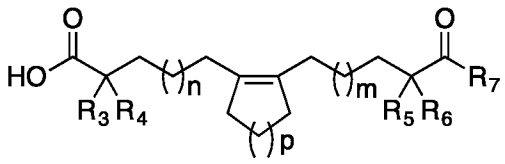
(II)。

在另一优选例中，所述化合物具有通式 III 所示的结构：



(III)。

在另一优选例中，所述化合物具有通式 IV 所示的结构



(IV)，

式中，p 为 0、1、2 或 3。

在另一优选例中，R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6各自独立地为 H、C1-C4 烷基、氘代 C1-C4 烷基、C2-C4 烯基、C2-C4 炔基、C3-C7 环烷基、氘代 C3-C7 环烷基、C3-C7 环烯基、苯基或苄基；

或者，R_1和 R_2与其相邻的碳原子一起形成氘代 C3-C7 环烷基、C3-C7 环烷基或 C3-C7 环烯基；

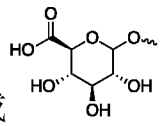
或者，R_5和 R_6与其相邻的碳原子一起形成氘代 C3-C7 环烷基、C3-C7 环烷基或 C3-C7 环烯基；

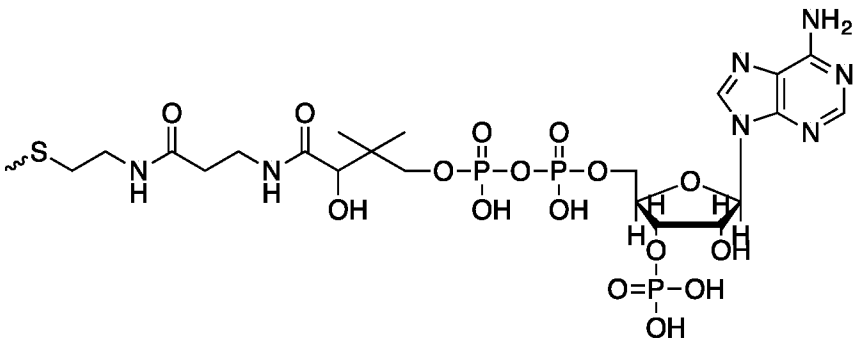
或者，R_3和 R_4与其相邻的碳原子一起形成氘代 C3-C7 环烷基、C3-C7 环烷基或 C3-C7 环烯基。

在另一优选例中，R_1、R_2各自独立地为 H、甲基、乙基、氘代甲基、氘代乙基、氘代丙基或丙基，优选 R_1和 R_2同时为 H 或同时为甲基；或者 R_1和 R_2与其相邻的碳原子一起形成 C3-C6 环烷基、C3-C5 环烷基或 C3-C4 环烷基。

在另一优选例中，R_3、R_4各自独立地为 H、甲基、乙基、氘代甲基、氘代乙基、氘代丙基或丙基，优选 R_3和 R_4同时为 H 或同时为甲基；或者 R_3和 R_4与其相邻的碳原子一起形成 C3-C6 环烷基、C3-C5 环烷基或 C3-C4 环烷基。

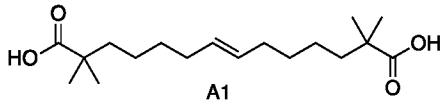
在另一优选例中，R_5、R_6各自独立地为 H、甲基、乙基、氘代甲基、氘代乙基、氘代丙基或丙基，优选 R_5和 R_6同时为 H 或同时为甲基；或者 R_5和 R_6与其相邻的碳原子一起形成 C3-C6 环烷基、C3-C5 环烷基或 C3-C4 环烷基。

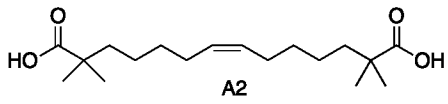
在另一优选例中，Y_1和 Y_2各自独立地为-COOH、-COCoA 或-$COOR_7$；其中，R_7为甲基、乙基或 ；CoA 结构如下所示：

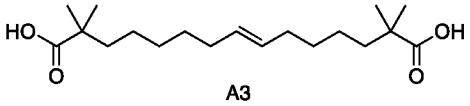


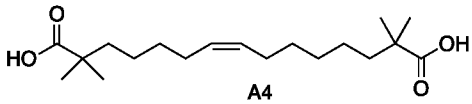
。

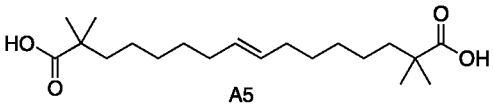
在另一优选例中，所述化合物选自下组：

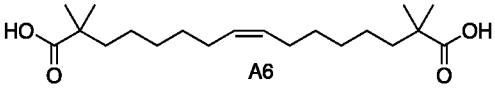

A1

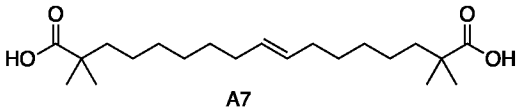

A2

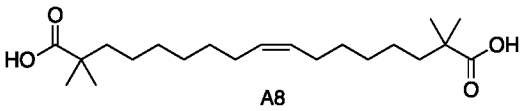

A3

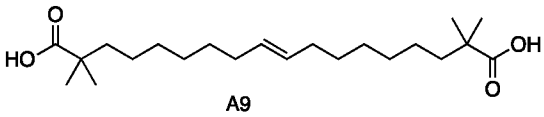

A4

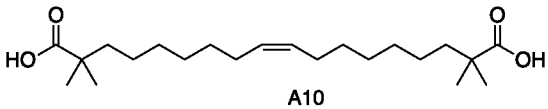

A5

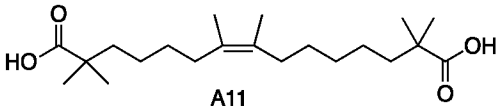

A6

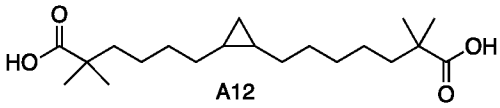

A7

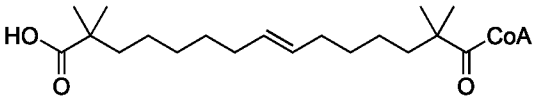

A8

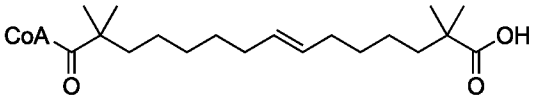

A9

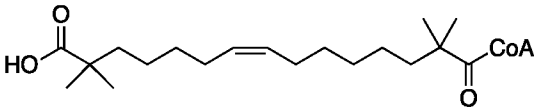

A10

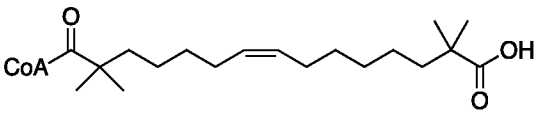

A11

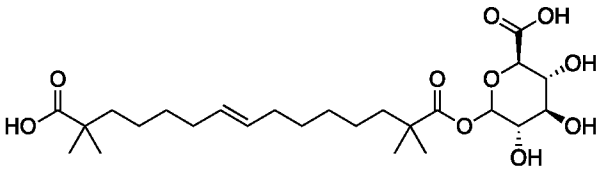

A12

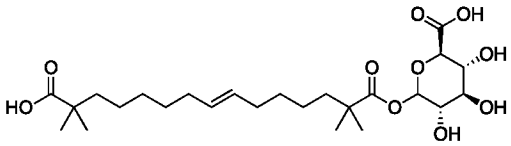


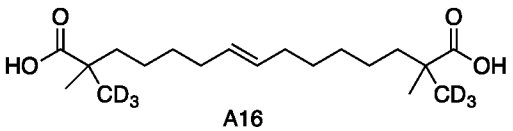


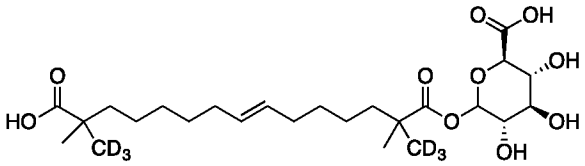


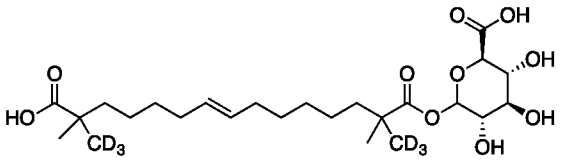




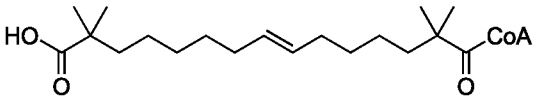



A16

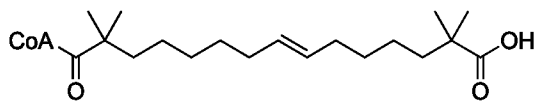


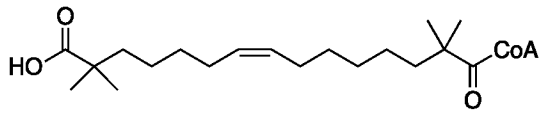
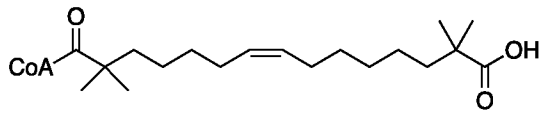
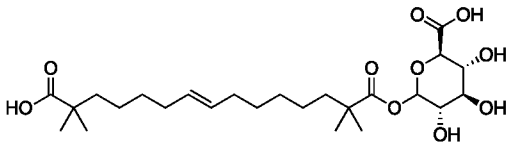
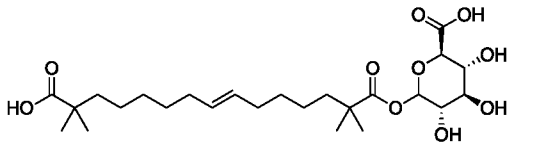
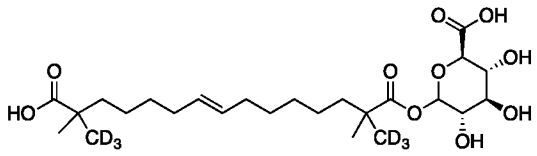
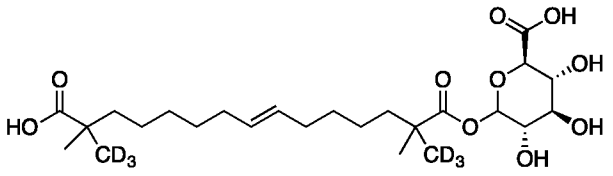

。

在另一优选例中，所述化合物还选自下组：



和

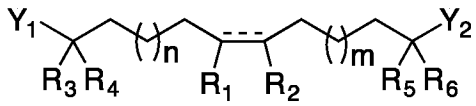

、


和

、

和

、

和

。

在另一优选例中，所述代谢性疾病选自：高胆固醇血症、非酒精性脂肪肝炎（NASH）、肝纤维化。

在另一优选例中，所述动脉粥样硬化由高胆固醇血症引起。

本发明的第二方面，提供一种通式(I)所示的化合物，或其氘代化合物、立体异构体、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或其药学上可接受的盐或通式(I)所示的化合物中的两种或两种以上的化合物组成的混合物，


(I)

其中，---表示双键或单键；

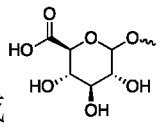
m、n 各自独立地为 1、2、3、4、5 或 6；

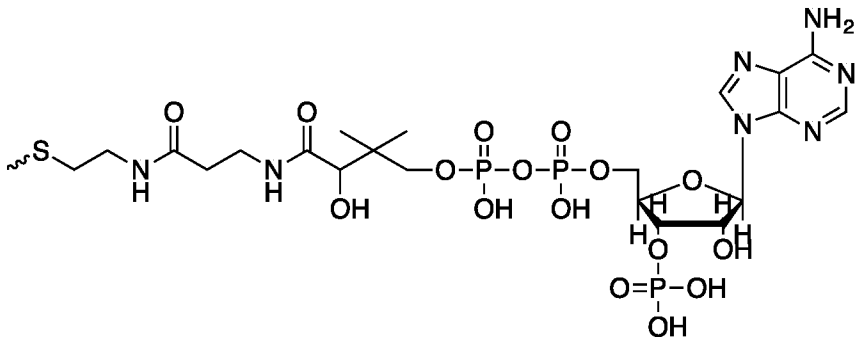
R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6 各自独立地为 H、C1-C4 烷基、C2-C4 烯基、C2-C4 炔基、C3-C7 环烷基、C3-C7 环烯基、苯基或苄基；

或者，R_1 和 R_2 与其相邻的碳原子一起形成 C3-C7 环烷基或 C3-C7 环烯基；

或者，R_5 和 R_6 与其相邻的碳原子一起形成 C3-C7 环烷基或 C3-C7 环烯基；

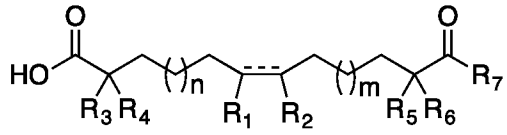
或者，R_3 和 R_4 与其相邻的碳原子一起形成 C3-C7 环烷基或 C3-C7 环烯基；

Y_1 和 Y_2 各自独立地选自：-OH、-COOH、-COCoA、-$COOR_7$；其中，R_7 为甲基、乙基或 ；CoA 结构如下所示：

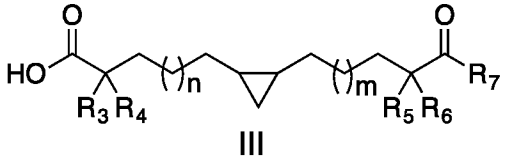


。

在另一优选例中，所述化合物具有通式 II、III 或 IV 所示的结构：

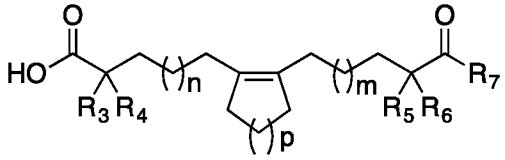


(II)



III

(III)



(IV)，

式中，p 为 0、1、2 或 3。

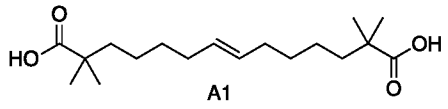
在另一优选例中，R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6 各自独立地为 H、C1-C4 烷基、氘代 C1-C4 烷基、C2-C4 烯基、C2-C4 炔基、C3-C7 环烷基、C3-C7 环烯基、苯基或苄基；

或者，R_1 和 R_2 与其相邻的碳原子一起形成氘代 C3-C7 环烷基、C3-C7 环烷基或 C3-C7 环烯基；

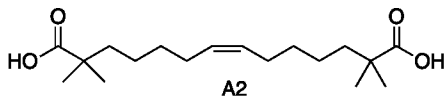
或者，R_5 和 R_6 与其相邻的碳原子一起形成氘代 C3-C7 环烷基、C3-C7 环烷基或 C3-C7 环烯基；

或者，R_3 和 R_4 与其相邻的碳原子一起形成氘代 C3-C7 环烷基、C3-C7 环烷基或 C3-C7 环烯基。

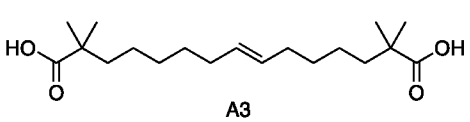
在另一优选例中，所述化合物选自下组：



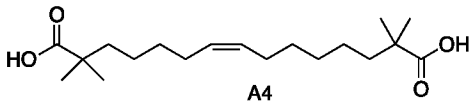
A1



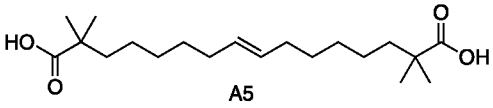
A2



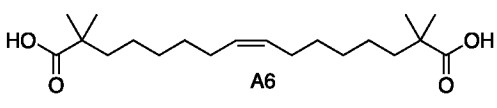
A3



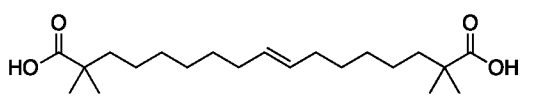
A4



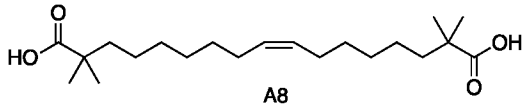
A5



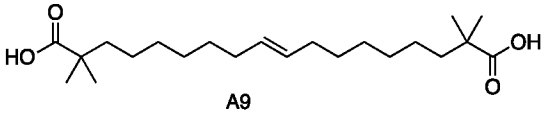
A6



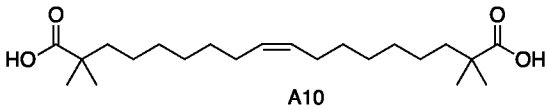
A7



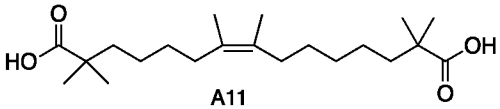
A8



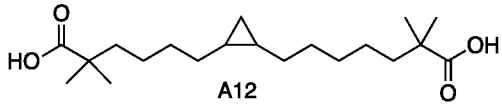
A9



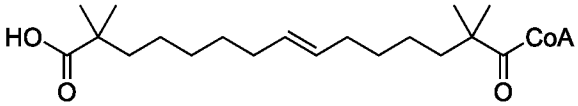
A10

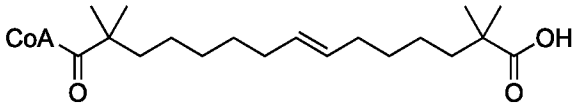


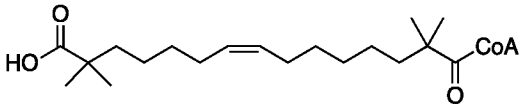
A11

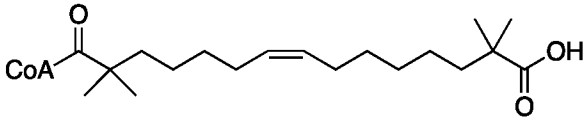


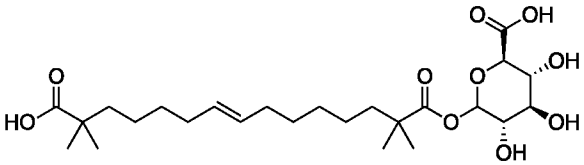
A12

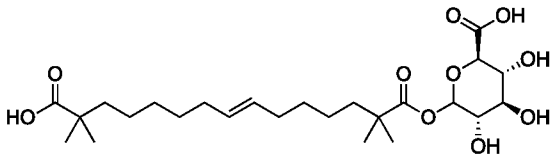


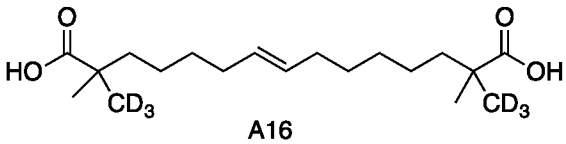




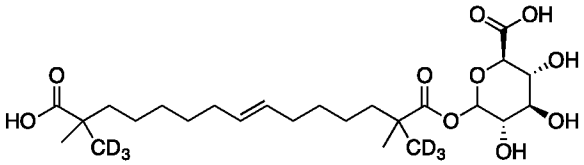


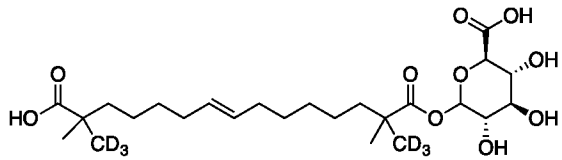






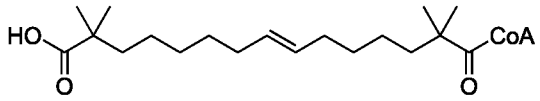
A16

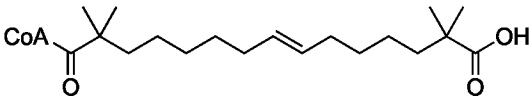




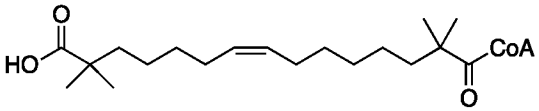
。

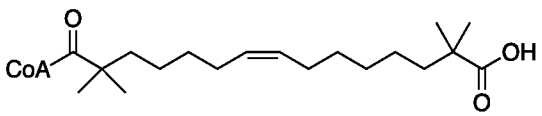
在另一优选例中，所述化合物还选自下组：



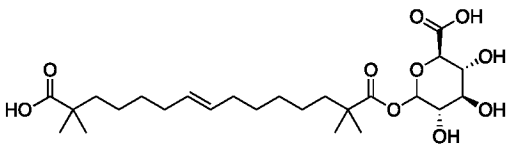


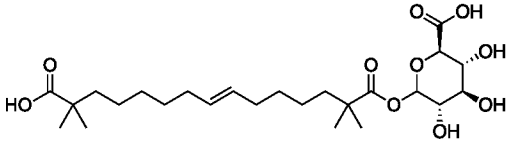
和、



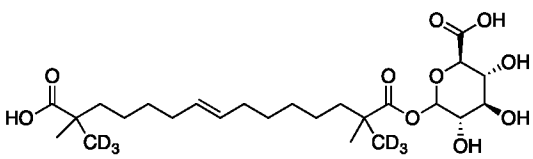


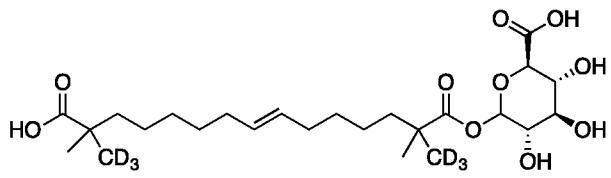
和、





和





和。

本发明的第三方面，提供一种药物组合物，包含第一方面所述的化合物，或其氘代化合物、立体异构体、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或其药学上可接受的盐或通式(I)所示的化合物中的两种或两种以上的化合物组成的混合物；和

药学上可接受的盐。

本发明所述的药物组合的剂型可以是多样的，包括但不限于：片剂、胶囊、颗粒、糖浆、溶液、悬浮液或气雾剂。

本发明的第四方面，提供一种治疗代谢性疾病的方法，包括向有需要的对象施用第二方面所述的化合物，或其氘代化合物、立体异构体、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或其药学上可接受的盐或通式(I)所示的化合物中的两种或两种以上的化合物组成的混合物或第三方面所述的药物组合物。

在另一优选例中，所述代谢性疾病选自：高胆固醇血症、非酒精性脂肪肝炎（NASH）、肝纤维化。

本发明的第五方面，提供一种治疗动脉粥样硬化的方法，包括向有需要的对象施用第二方面所述的化合物，或其立体异构体、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或其药学上可接受的盐或通式(I)所示的化合物中的两种或两种以上的化合物组成的混合物或第三方面所述的药物组合物。

在另一优选例中，所述动脉粥样硬化由高胆固醇血症引起。

有益效果

中国专利申请第 201610105067 号（CN107118098）公开了一类脂肪酸类化合物、其制备方法及其用途，该类化合物具有激活 APMK 活性，具有抑制小鼠原代肝细胞葡萄糖输出的能力，可用于制备治疗肥胖或糖尿病的药物。

发明人意外发现该类化合物具有抑制 ACLY 的活性。进一步的体内外药理学活性评价发现，代表性化合物 A3 在原代肝细胞中可以抑制脂质的从头合成，改善金黄地鼠和 $ApoE^{-/-}$小鼠高脂高胆固醇血症，显著改善高脂高糖高胆固醇饮食诱导的 *ob/ob* 小鼠和食蟹猴的 NASH 症状。研究结果还提示，双键为反式构型的化合物的体内活性要优于双键为顺式构型的化合物；而且，同等口服剂量下化合物 A3 比 Bempedoic acid 的血浆暴露量高出 4 倍多，提示化合物 A3 具有更好的治疗效果。

综上，本申请公开该系列化合物具有良好的 ACLY 抑制活性，可在原代肝细胞中抑制甘油三酯和胆固醇的从头合成，显著改善金黄地鼠及自发性老年恒河猴高脂血症，在啮齿类动物及非人灵长类动物的 NASH 模型上都显示出突出的治疗效果。

该类作为新型 ACLY 小分子抑制剂，对以高胆固醇血症和非酒精性脂肪肝炎为代表的代谢性疾病具有显著的治疗效果，可用于开发制成高胆固醇血症和非酒精性脂肪肝炎等代谢性疾病的治疗药物。

应理解，在本发明范围内中，本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合，从而构成新的或优选的技术方案。说明书中所揭示的各个特征，可以被任何提供相同、均等或相似目的的替代性特征取代。限于篇幅，在此不再一一累述。

附图说明

图 1 示出化合物 A3 对原代肝细胞脂质从头合成的抑制作用评价；其中，A：在 WT 小鼠和 ACLY 敲除小鼠的肝细胞考察化合物 A3 对甘油三酯从头合成的抑制作用；B：在 WT 小鼠和 ACLY 敲除小鼠的肝细胞考察化合物 A3 对甘油三酯从头合成的抑制作用。与对照组相比，*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001，与对应剂量组相比，$^{\#}$P<0.05，$^{\#\#}$P<0.01, $^{\#\#\#}$P<0.001。

图 2 示出化合物 A3 和 A4 多次给药对金黄地鼠血清总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇含量的降低作用评价，其中*，与模型对照组相比，P<0.05；**，与模型对照组相比，P<0.01；***，与模型对照组相比，P<0.001。

图 3 示出受试物化合物 A3 长期给药对 ApoE$^{-/-}$小鼠主动脉斑块形成的影响，其中，*，与模型对照组相比，P<0.05；**，与模型对照组相比，P<0.01；***，与模型对照组相比，P<0.001。

图 4 示出化合物 A3 对 *ob/ob* 小鼠 NASH 的治疗作用评价，其中，A. ob/ob 小鼠肝脏外观及化合物长期给药后肝脏病理分析结果（n=8）；B. CD68 免疫组化病理分析统计图；C：天狼星红染色病理分析统计图。其中，*，与模型对照组相比，P<0.05；**，与模型对照组相比，P<0.01；***，与模型对照组相比，P<0.001。

图 5 示出化合物 A3 长期给药后肝脏 NAS 评分的变化，其中，*，与模型对照组相比， P<0.05；**，与模型对照组相比， P<0.01；***，与模型对照组相比，P<0.001。

具体实施方式

本申请的发明人经过广泛而深入的研究，发现本申请化合物具有 ACLY 抑制活性，该类化合物在原代肝细胞中能抑制脂质的从头合成，并在多种代谢性疾病动物模型上显示出治疗效果，可进一步开发成为高胆固醇血症、非酒精性脂肪肝炎等代谢性疾病的治疗药物，还能用于治疗动脉粥样硬化。在此基础上，完成了本发明。

术语

在本发明中，除非特别指出，所用术语具有本领域技术人员公知的一般含义。

在本发明中，术语“C_1-C_6”是指具有 1、2、3 或 4 个碳原子。术语“C_3-C_7”是指具有 3、4、5、6 或 7 个碳原子。以此类推。

在本发明中，术语“烷基”表示饱和的线性或支链烃部分，例如术语“C1-C4 烷基”是指具有 1 至 4 个碳原子的直链或支链烷基，非限制性地包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基。

在本发明中，术语“烯基”表示包含至少一个双键的直链或支链烃基部分，例如术语“C_2-C_4 烯基”是指具有 2 至 4 个碳原子的含有一个双键的直链或支链烯基，非限制性地包括乙烯基、丙烯基、丁烯基、异丁烯基。

在本发明中，术语“炔基”是指含有一个三键的直链或支链炔基，非限制性地包括乙炔基、丙炔基、丁炔基、异丁炔基等。

在本发明中，术语“环烷基”表示饱和的环状烃基部分，例如术语“C_3-C_7 环烷基”是指在环上具有 3 至 7 个碳原子的环状烷基，非限制性地包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基等。

在本发明中，术语“环烯基”表示包含至少一个双键的环状烃基部分，例如术语“C_3-C_7 环烯基”是指在环上具有 3 至 7 个碳原子的环状烷基，非限制性地包括环丙烯基、环丁烯基、环戊烯基、环己烯基等。

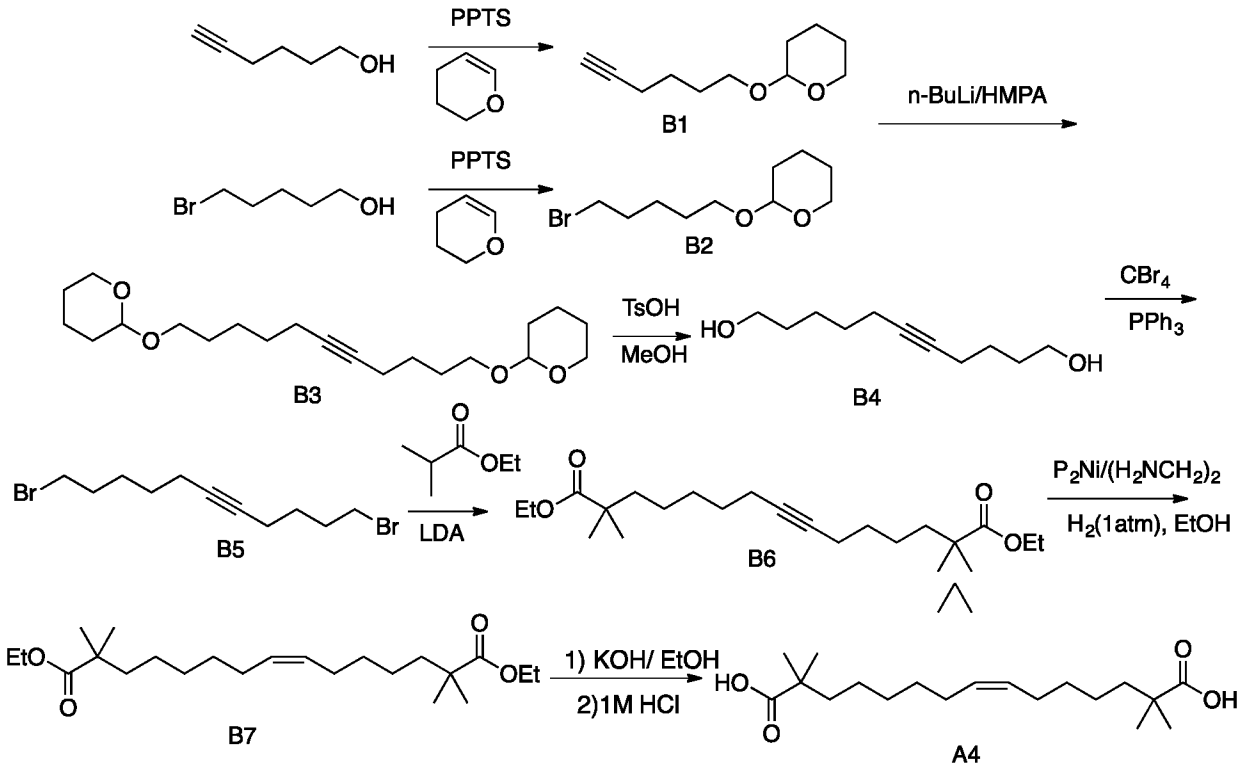
本发明所述药学上可接受的盐可以是阴离子与式 I 化合物上带正电荷的基团形成的盐。合适的阴离子为氯离子、溴离子、碘离子、硫酸根、硝酸根、磷酸根、柠檬酸根、甲基磺酸根、三氟乙酸根、乙酸根、苹果酸根、甲苯磺酸根、酒石酸根、富马酸根、谷氨酸根、葡糖醛酸根、乳酸根、戊二酸根或马来酸根。类似地，可以由阳离子与式 I 化合物上的带负电荷的基团形成盐。合适的阳离子包括钠离子、钾离子、镁离子、钙离子和铵离子，例如四甲基铵离子。

下面结合具体实施例，进一步阐述本发明。应理解，这些实施例仅用于说明本发明而不用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件(如 Sambrook 等人，分子克隆：实验室手册(New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press，1989)中所述的条件)或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明，否则百分比和份数是重量百分比和重量份数。

除非另行定义，文中所使用的所有专业与科学用语与本领域熟练人员所熟悉的意义相同。此外，任何与所记载内容相似或均等的方法及材料皆可应用于本发明方法中。文中所述的较佳实施方法与材料仅作示范之用。

实施例一：化合物合成及表征

化合物 A4 合成



1. 化合物 5-炔-1-己醇（9g, 91mmol）和对甲苯磺酸吡啶盐(25.1g, 100mmol)溶解于 100mL DCM 中，加入四氢吡喃(12.5mL, 126mmol)，室温搅拌过夜。TLC 监测反应完全。除去大部分 DCM，约剩余 30mL，加入约 100mL 乙醚搅拌 0.5h，滤除固体，固体加乙醚洗一次，浓缩滤液，过柱，PE/EA（体积比）=50/1,得产物 B1 油状物 18g，收率>100%.

2. 化合物 5-溴-1-戊醇（15.1g, 91mmol）和对甲苯磺酸吡啶盐(25.1g, 100mmol)溶解于 100mL DCM 中，加入四氢吡喃(12.5mL, 126mmol)，室温搅拌过夜。TLC 监测反应完全。除去大部分 DCM，约剩余 30mL，加入约 100mL 乙醚搅拌 0.5h，滤除固体，固体加乙醚洗一次，浓缩滤液，过柱，PE/EA（体积比）=50/1,得化合物 B2，18g，收率 79%。

3. 化合物 B2(5.4g, 30mmol)溶于 40mL 无水 THF 中，冷却至-40°C，滴加正丁基锂（19mL, 30.4mmol）（约 0.5h 加完），再加入 10mL HMPA，此温度搅拌 1h 后，加入化合物 B2(7.78g, 31mmol)的 10mL THF 溶液。此温度 1h 后，缓慢升至室温搅拌过夜。加入饱和氯化铵溶液猝灭反应，分层，水相再用乙酸乙酯萃取 1 次，合并有机相，加水和饱和食盐水洗涤。干燥浓缩过柱，PE/EA（体积比）=20/1→10/1→5/1，得产物 B3，8.5g，收率 80%。

4.化合物 B3(3g, 8.5mmol) 溶解于 100mL 甲醇和 10mL 中，加入对甲苯磺酸(300mg)，室温搅拌过夜。TLC 监测反应完全。浓缩除去大部分的甲醇，加水稀释，用乙醚萃取 2 次，合并有机相，加水和饱和食盐水洗涤，干燥浓缩过柱，PE/EA（体积比）=2/1→1/1→1/2，得产物 B4，1.1g，收率 70%。

5. 化合物 B4(1.1g, 5.9mmol) 和四溴化碳(5.95g, 17.9mmol)溶于 30mL 无水 DCM 中，冷却至 0℃，滴加三苯基膦(4.7g, 17.9mmol) 的 10mLDCM 溶液，室温搅拌 1h 后，反应完全。浓缩至约 15mL，加入 50mL 乙醚搅拌 0.5h，滤除固体，滤液浓缩，过柱 PE/EA=30/1，得溴代物 B5, 1.84g，收率 100%。

6. 化合物 B5（1.84g, 5.9mmol）和异丁酸乙酯(2.73g, 23.6mmol)溶于 50mL 无水 THF 中，冷却至 0℃，滴加 LDA(15.7mL, 23.6mmol),（约 0.5h 加完），保持此温度 1h 后，升至室温搅拌过夜。TLC 监测反应完全。加饱和氯化铵溶液猝灭反应，分层，水相加 EA 萃取 2 次，合并有机相，加水，饱和食盐水洗涤，干燥浓缩。过柱 PE/EA（体积比）=50/1→20/1，得产物 B6，1.8g，收率 80%。

7. 一个大气压 H_2 下，醋酸镍（749mg,3mmol）悬浮于 20mL 无水乙醇，快速加入硼氢化钠(114mg, 3mmol)，氢气再置换 2 次，溶液变黑。室温搅拌 15 分钟后，加入乙二胺(0.45mL, 6mmol)后加入化合物 B6(1.8g, 4.7mmol)的 10mL 无水乙醇溶液。室温搅拌 2h 后，TLC 监测反应完全。加入 50mL 乙醚稀释，垫硅藻土过滤，滤液浓缩过柱，过柱 PE/EA（体积比）=50/1，得产物 B7，1.7g，收率 95%。

8. 化合物 B7（1.7g, 4.45mmol） 溶于 50ml 乙醇，加入 KOH(2g, 35mmol)的 10mL 水溶液，加热回流 6h，TLC 监测反应完全。冷却后旋转蒸发除去大部分乙醇，加水（40ml）稀释，加乙醚萃取 2 次除杂质。水层加 2N HCl 调至酸性，加 DCM 萃取 4 次，合并有机相，加水和饱和食盐水洗涤，干燥浓缩。过柱 DCM/MeOH（体积比）=100/1，得 A4 1.1g。

A4 ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO) δ5.31-5.32(m, 2H), 1.96-1.98 (m, 4H), 1.40-1.44(m, 4H), 1.22-1.30 (m, 4H), 1.18-1.22 (m, 6H), 1.06 (s, 12H).

替换不同底物，采用与 A4 相类似的合成路线，得到下列化合物

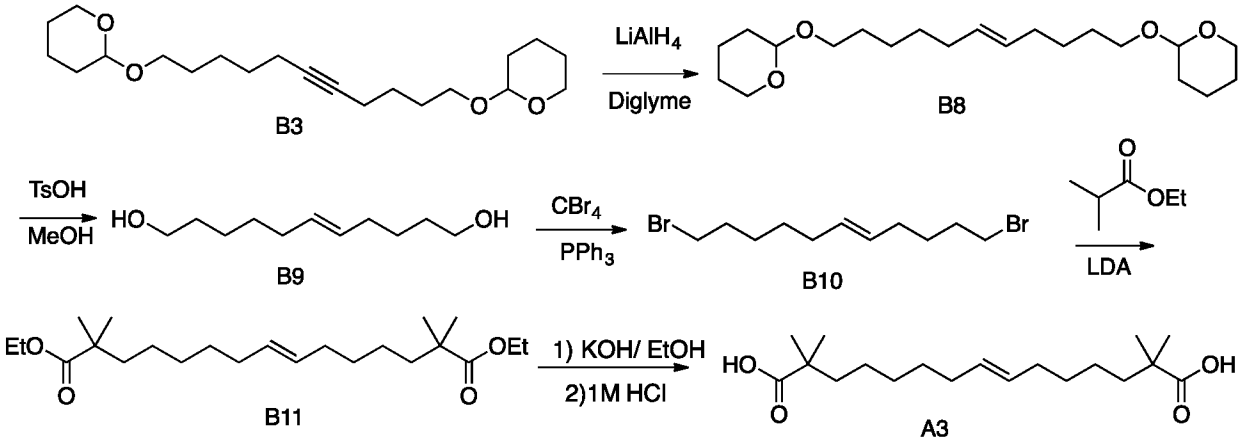
A2 ^{1}H NMR (300 MHz, CD3Cl) δ5.31-5.32(m, 2H), 1.96-1.98 (m, 4H), 1.40-1.44(m, 4H), 1.18-1.22 (m, 8H), 1.06 (s, 12H)

A6 ^{1}H NMR (300 MHz, CD3Cl) δ5.30-5.32(m, 2H), 1.96-1.98 (m, 4H), 1.40-1.45(m, 4H), 1.18-1.22 (m, 12H), 1.06 (s, 12H)

A8 ^{1}H NMR (400 MHz, CDCl3) δ 5.40 – 5.29 (m, 2H), 2.05 – 1.93 (m, 4H), 1.57 – 1.48 (m, 4H), 1.39 – 1.22 (m, 14H), 1.19 (s, 6H), 1.18 (s, 6H).

A10 ^{1}H NMR (300 MHz, CD3Cl) δ5.30-5.32(m, 2H), 1.98-2.02(m, 4H), 1.48-1.53(m, 4H), 1.18-1.22 (m, 16H), 1.06 (s, 12H)

化合物 A3 的合成



1. 氮气保护下，将 350mg 四氢铝锂（9.1mmol）溶于 10ml 二乙二醇二甲醚，将 410mg B2（1.1mmol）溶于 2ml 二乙二醇二甲醚，140℃反应 18 小时，TLC 监测反应完全，加 30ml 乙醚稀释，冰水浴冷却条件下，分批次加入十水硫酸钠至不冒泡为止，硅藻土过滤除去固体，无水乙醚洗涤，无水硫酸钠干燥，浓缩，PE：EA=20：1 过柱，得产物 B8 250mg，无色液体，产率 62%。

2. 化合物 B8(250mg，0.71mmol)溶解于 10mL 甲醇和 11mL 中，加入对甲苯磺酸(25mg)，室温搅拌过夜。TLC 监测反应完全。浓缩除去大部分的甲醇，加水稀释，用乙醚萃取 2 次，合并有机相，加水和饱和食盐水洗涤，干燥浓缩过柱，PE/EA（体积比）=4/1，得产物 B9，100g，收率 75%。

3. 化合物 B9(100mg，0.53mmol) 和四溴化碳(360mg，1.1mmol)溶于 10mL 无水 DCM 中，冷却至 0℃，滴加三苯基膦(256g，0.98mmol) 的 2mLDCM 溶液，室温搅拌 1h 后，反应完全。浓缩过柱，PE/EA（体积比）=20/1，得溴代物 B10，142mg，收率 87%。

4. 化合物 B10（142mg，0.46mmol）和异丁酸乙酯(320mg，2.76mmol)溶于 10mL 无水 THF 中，冷却至 0℃，滴加 LDA(1.84mL，2.76mmol)，（约 0.5h 加完），保持此温度 1h 后，升至室温搅拌过夜。TLC 监测反应完全。加饱和氯化铵溶液猝灭反应，分层，水相加 EA 萃取 2 次，合并有机相，加水，饱和食盐水洗涤，干燥浓缩。过柱 PE/EA（体积比）=50/1，得产物 B11，140mg，收率 80%.

5. 化合物 B11（107mg，0.28mmol） 溶于 10ml 乙醇，加入 KOH(200mg，3.5mmol)的 2mL 水溶液，加热回流 6h，TLC 监测反应完全。冷却后旋转蒸发除去大部分乙醇，加水（10ml）稀释，加乙醚萃取 2 次除杂质。水层加 2N HCl 调至酸性，加 DCM 萃取 4 次，合并有机相，加水和饱和食盐水洗涤，干燥浓缩。过柱 DCM/MeOH（体积比）=100/1，得化合物 A3 70mg。

A3 ^{1}H NMR (600 MHz，DMSO) δ5.35-5.36(m, 2H), 1.92-1.94 (m, 4H), 1.40-1.43 (m, 4H), 1.27-1.29 (m, 4H), 1.17-1.19 (m, 6H),1.18 ppm (s, 12H).

替换不同底物，采用与 A3 相类似的合成路线，得到下列化合物

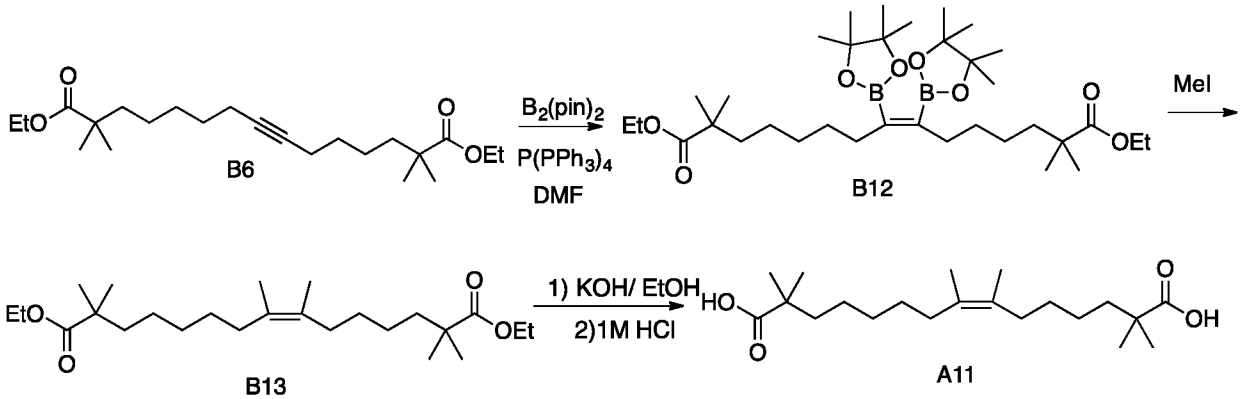
A1 ^{1}H NMR (400 MHz, CDCl3) δ 5.37 – 5.23 (m, 2H), 2.07 – 1.90 (m, 4H), 1.60 – 1.44 (m, 4H), 1.34 – 1.21 (m, 8H), 1.16 (s, 12H).

A5 ^{1}H NMR (400 MHz, CDCl3) δ 5.41 – 5.30 (m, 2H), 2.09 – 1.87 (m, 4H), 1.60 – 1.46 (m, 4H), 1.41 – 1.32 (m, 4H), 1.31 – 1.23 (m, 8H), 1.22 – 1.07 (s, 12H).

A7 ^{1}H NMR (400 MHz, CDCl3) δ 5.40 – 5.28 (m, 2H), 2.06 – 1.88 (m, 4H), 1.57 – 1.48 (m, 4H), 1.40 – 1.20 (m, 14H), 1.18 (s, 12H).

A9 ^{1}H NMR (400 MHz, CDCl3) δ 5.33 – 5.24 (m, 2H), 2.00 – 1.92 (m, 4H), 1.54 – 1.47 (m, 4H), 1.31 – 1.17 (m, 28H).

化合物 A11



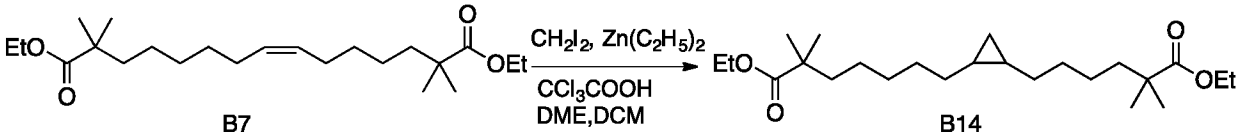
1.频哪醇联硼酸酯（483mg，1.9mmol）和四三苯基磷铂（70mg） 置于 25mL 圆底烧瓶中，氩气置换 3 次后，滴加 B6（660mg,1.74mmol）的 10mL DMF 溶液中，80℃反应过夜。加水稀释，乙醚萃取，合并有机相，加水，饱和食盐水洗涤，干燥浓缩。过柱 PE/EA（体积比）=10/1，得产物 B12，1g，收率 90%.

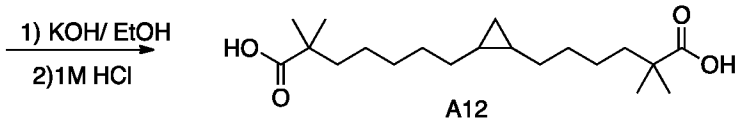
2. 化合物 B12（150mg, 0.23mmol），碘甲烷（0.1mL）和三苯基膦（10mg）溶于 1mL 二氧六环中，氩气置换 3 次后，加入醋酸钯（20mg）,KOH（40mg） 的 0.2mL 水溶液，90℃反应 12h，加水和乙酸乙酯稀释，乙酸乙酯萃取 3 次，合并有机相，加水，饱和食盐水洗涤，干燥浓缩。过柱 PE/EA=50/1，得产物 B13，30mg，收率 31%.

3. 化合物 B13（30mg，0.07mmol） 溶于 5ml 乙醇，加入 KOH(50mg,0.89mmol)的 1mL 水溶液，加热回流 6h，TLC 监测反应完全。冷却后旋转蒸发除去大部分乙醇，加水（4ml）稀释，加乙醚萃取 2 次除杂质。水层加 2N HCl 调至酸性，加 DCM 萃取 4 次，合并有机相，加水和饱和食盐水洗涤，干燥浓缩。过柱 DCM/MeOH（体积比）=100/1，得 A11 15mg.

A11 ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 1.94-1.96 (m, 4H), 1.58(s, 6H), 1.48-1.50 (m, 4H), 1.25-1.33(m, 12H), 1.13 ppm (s, 12H)

化合物 A12 合成



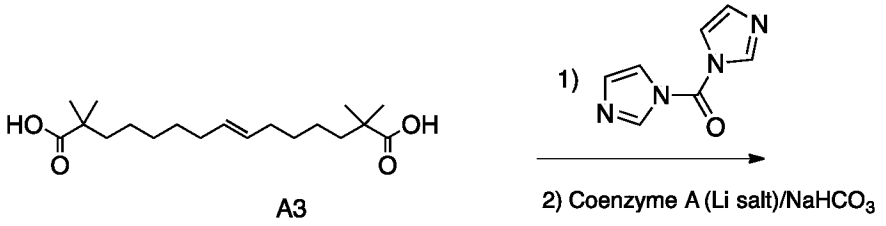


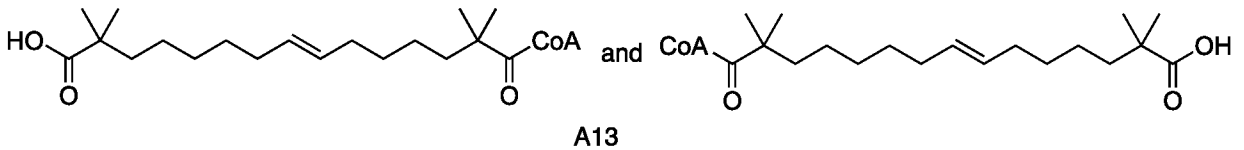
1. 氮气保护下，二乙基锌试剂（1mL,1mmol）在 1mL DCM，冷却至-40℃，5min 后，滴加二碘甲烷（0.54g，2mmol）的 0.5mL DCM 溶液，-40℃反应 1h 后，加入三氯乙酸（16mg，0.1mmol）和 DME（45mg，0.5mmol）,加完升至-15℃反应 1h，加入 B7（193mg，0.5mmol）的 0.5mL DCM 溶液，加完，室温搅拌过夜。加饱和氯化铵溶液淬灭反应，乙酸乙酯萃取 3 次，合并有机相，加水，饱和食盐水洗涤，干燥浓缩。过柱 PE/EA（体积比）=50/1，得产物 B14，120mg，收率 60%.

2. 化合物 B14（100mg，0.25mmol）溶于 5ml 乙醇，加入 KOH (10mg,0.18mmol)的 1mL 水溶液，加热回流 6h，TLC 监测反应完全。冷却后旋转蒸发除去大部分乙醇，加水（4ml）稀释，加乙醚萃取 2 次除杂质。水层加 2N HCl 调至酸性，加 DCM 萃取 4 次，合并有机相，加水和饱和食盐水洗涤，干燥浓缩。过柱 DCM/MeOH（体积比）=100/1，得 A12 65mg.

A12 ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 1.1.45-1.52 (m, 4H), 1.21-1.43(m, 16H), 1.18 (s, 12H), 0.65-0.70ppm (m, 2H)

化合物 A13 合成





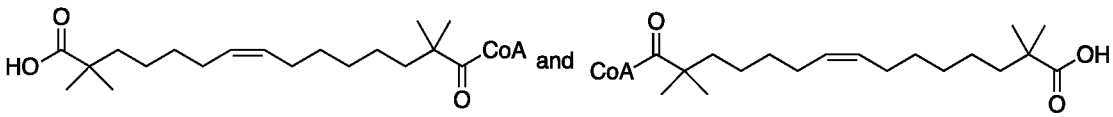
A13

1.化合物 A3(30mg)溶于 CH_2Cl_2 (5.0 mL), 加入 1,1'-羰基二咪唑 (50mg, 30mmol) 室温搅拌 2 h. 加入 5.0 mL CH_2Cl_2 稀释, 加入水 (10 mL 每次, 两次)洗涤。无水硫酸镁干燥后直接进行下步反应。

2.氩气保护下，上述咪唑中间体溶于干燥的 THF (8.5 mL), 滴加辅酶 A 三锂盐 (20 mg, 0.026mmol) 的 $NaHCO_3$ (0.1 M, 3 mL)溶液。 反应液室温搅拌 24 h。反应液加乙酸乙酯萃取 (2 × 3 mL). 水层加 1 M HCl 调至 pH 2。水层(~1 mL)直接过柱 (SPE, Agilent HF Bond Elur C18 柱, size: 5 gm/20 mL, USA)，洗脱液的浓度依次为 0%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 和 100% MeCN (10 mL 每次)。 得到 A13，结构用 ^{1}H NMR spectroscopy　LR-ESI-MS 确证。

化合物 A13: Solvent systems on Zorbax-SB C18 柱, 4.6*50mm, 3.5 μ: Gradient, A:10mM NH_4COOH in H_2O, B: CH_3OH, 0 min: 50% A 和 50% B; 0-30 min: A 50%→0%, B 50%→100%, 0.5mL/min. HPLC 分析: tr = 14.777 min 和 16.074 min; 白色固体 (13 mg, 42%); ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O) δ 8.65 (s, 1H) , 8.58(s, 1H), 8.30(s, 1H), 6.01(d, J = 5.4 Hz, 1H), 5.45-5.42(m, 2H), 4.75-4.74 (m, 2H), 4.48 (bs, 1H), 4.28(bs, 2H), 3.98 (s, 1H), 3.82-3.80 (m, 1H), 3.56-3.52(m, 1H), 3.40-3.38 (m, 2H), 3.20-3.18(m, 2H), 2.25-2.22(m, 2H), 2.33-2.30 (m, 2H), 1.78-1.74(m,4H), 1.42-1.35(m,4H), 1.29-1.20 (m, 10H), 1.06 (s, 12H), 0.80 (s, 3H), 0.65 (s, 3H)ppm; LR-ESI-MS m/z calcd for $C_{40}H_{68}N_7O_{19}P_3S$ $[M–H]^-$: 1074.3, found 1074.3

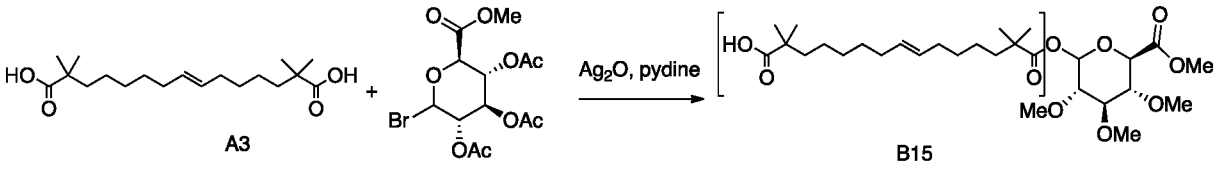
化合物 A14 合成

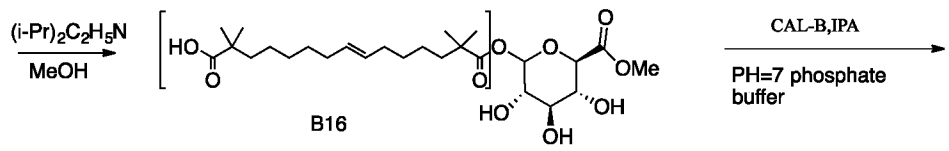


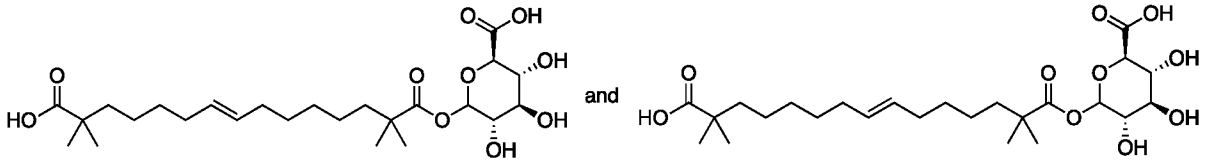
A14

以 A4 为底物，参照化合物 A13 合成方法，得到 A14：^{1}H NMR (400 MHz, D_2O) δ 8.65 (s, 1H) , 8.57(s, 1H), 8.30(s, 1H), 6.02(d, J = 5.4 Hz, 1H), 5.47-5.42(m, 2H), 4.75-4.73 (m, 2H), 4.49 (bs, 1H), 4.27(bs, 2H), 3.98 (s, 1H), 3.82-3.81 (m, 1H), 3.56-3.52(m, 1H), 3.40-3.38 (m, 2H), 3.20-3.18(m, 2H), 2.25-2.20(m, 2H), 2.33-2.29 (m, 2H), 1.78-1.75(m,4H), 1.42-1.35(m,4H), 1.29-1.19 (m, 10H), 1.06 (s, 12H), 0.80 (s, 3H), 0.65 (s, 3H)ppm; LR-ESI-MS m/z calcd for $C_{40}H_{68}N_7O_{19}P_3S$ $[M–H]^-$: 1074.3, found 1074.3

化合物 A15 合成







A15

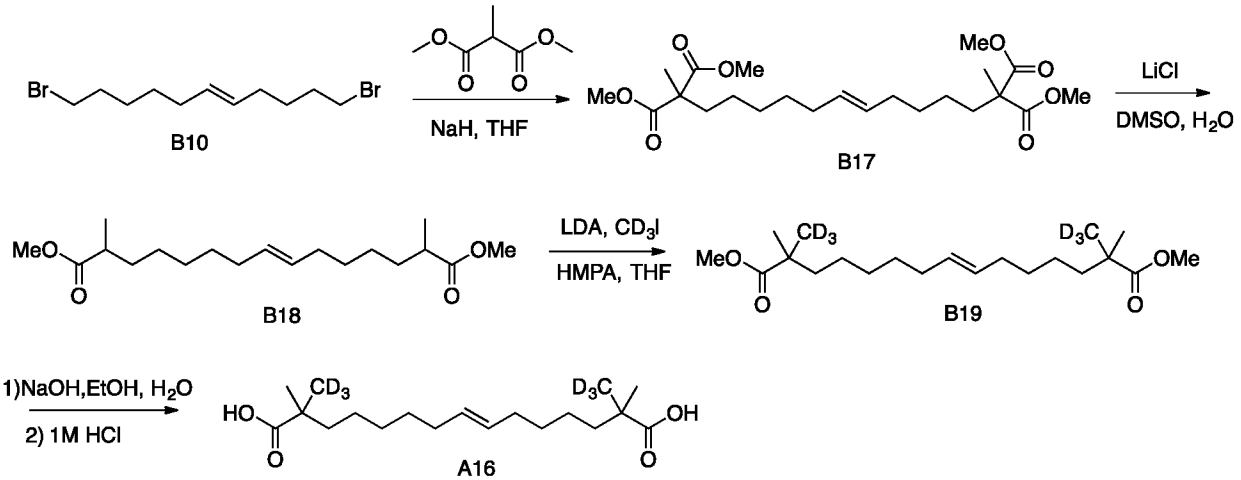
1.化合物 A3（326mg, 1mmol）和(2S,3R,4S,5S,6S)-2-溴-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯（476mg, 1.20mmol）溶解在 10ml 甲苯，冷却至 0℃，加入氧化银（925mg,4mmol）和吡啶（0.35ml,4mmol）,室温搅拌过夜。垫硅藻土过滤，甲苯洗涤，浓缩后，过柱，二氯甲烷/甲基叔丁基醚（体积比）=10/1，得 B15 350mg.

2. B15 （350mg, 0.54mmol）溶解于 5ml 甲醇中，冷却至 0℃，加入二异丙基乙基胺（0.3ml）,室温搅拌 2 天，浓缩后过柱，石油醚/乙酸乙酯/异丙醇（体积比）=50/50/6，得到化合物 B16 100mg.

3. B16 （60mg, 0.17mmol）在异丙醇（0.5ml），加入 PH=7 磷酸的缓冲溶液（5ml）,加入 CAL-B（100mg）,室温搅拌 3 小时，除去少量异丙醇，过滤水洗，乙酸乙酯萃取 2 次，合并有机相，饱和食盐水洗涤后，干燥浓缩，过反相柱，甲醇/水（体积比）=90/10，得到 A15，15mg.

化合物 A15 ^{1}H NMR (400 MHz, CD3OD) δ 5.46 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 5.40 – 5.35 (m, 2H), 3.80 (d, J = 9.5 Hz, 1H), 3.57 – 3.34 (m, 3H), 2.01 – 1.94 (m, 4H), 1.60 – 1.47 (m, 4H), 1.39 – 1.23 (m, 10H), 1.22 – 1.17 (m, 6H), 1.17 – 1.11 (m, 6H) ppm. LR-ESI-MS m/z calcd for $C_{25}H_{42}O_{10}$ $[M–H]^-$: 501.2, found 501.2

化合物 A16 合成



1. NaH(672mg, 16.8mmol)悬浮于 10mL THF 中，冷却至 0℃，滴加甲基丙二酸二甲酯(2.35g，16mmol)（约 0.5h 加完），升至室温搅拌 0.5h 后，再缓慢滴加化合物 B10（730mg，2.3mmol）/ 10mLTHF 溶液。加完，60℃搅拌 7h，TLC 监测反应完全。加饱和氯化铵溶液猝灭反应，分层，水相加 EA 萃取 2 次，合并有机相，

加水，饱和食盐水洗涤，干燥浓缩。过柱 PE/EA（体积比）=50/1，得产物 B17，510mg，收率 50%.

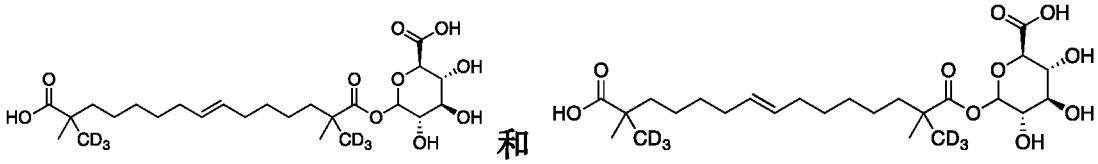
2. 化合物 B17（300mg，0.68mmol） 溶于 5mL DMSO，加入 LiCl((286mg，6.8mmol), H_2O(0.12mL)，微波加热 180℃反应 5 分钟，TLC 监测反应完全。冷却后加水稀释，水相加 EA 萃取 4 次，合并有机相，加水，饱和食盐水洗涤，干燥浓缩。过柱 PE/EA（体积比）=50/1，得产物 B18，166mg，收率 75%。

3. 化合物 B17（140mg，0.43mmol） 溶于 5mL 无水 THF 中，冷却至-78℃，滴加 LDA(1.84mL，2.76mmol)，HMPA(0.4mL)，保持此温度 1h 后，滴加 CD_3I（0.16mL, 2.58mmol）, 升至室温搅拌过夜。TLC 监测反应完全。加饱和氯化铵溶液猝灭反应，分层，水相加 EA 萃取 2 次，合并有机相，加水，饱和食盐水洗涤，干燥浓缩。过柱 PE/EA（体积比）=50/1，得产物 B19，77mg，收率 49%

4. 化合物 B19（77mg，0.21mmol） 溶于乙醇（2mL），加入 NaOH(120mg，3mmol)的 2mL 水溶液，加热回流 6h，TLC 监测反应完全。冷却后旋转蒸发除去大部分乙醇，加水（10ml）稀释，加乙醚萃取 2 次除杂质。水层加 2N HCl 调至酸性，加 DCM 萃取 4 次，合并有机相，加水和饱和食盐水洗涤，干燥浓缩。过柱 DCM/MeOH（体积比）=50/1，得化合物 A16 50mg。

A16 ^{1}H NMR (400 MHz，CD_3Cl) δ5.33-5.34(m, 2H), 1.96-1.99 (m, 4H), 1.51-1.55 (m, 4H), 1.35-1.42 (m, 4H), 1.22-1.28 (m, 6H),1.18 (s, 3H) , 1.17 ppm (s, 3H).

以化合物 A16 为原料，采用与化合物 A15 相类似的合成路线，得到下列化合物 A17。



和

A17

化合物 A17 ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 5.48 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 5.37 – 5.41 (m, 2H), 3.82 (d, J = 9.4 Hz, 1H), 3.58 – 3.55 (t, 1H), 3.48 – 3.44 (t, 1H), 3.42–3.38(m, 1H), 2.01 – 1.94 (m, 4H), 1.60 – 1.44 (m, 4H), 1.39 – 1.21 (m, 10H), 1.19 (s, 3H), 1.15 (s, 3H) ppm. LR-ESI-MS m/z calcd for $C_{25}H_{36}D_6O_{10}$ $[M–H]^-$: 507.2, found 507.2

实施例二：生物学体外活性评价

（1）化合物抑制 ACLY 柠檬酸裂解酶的活性

ACLY 催化柠檬酸裂解过程需要消耗一分子 ATP 来活化柠檬酸。基于该反应原理，发明人利用 ADP-Glo 检测试剂盒，检测 ATP 转化为 ADP 的量来反应

ACLY 的催化活性。经过测活体系的建立、反应条件的优化后，发明人对获得的新型 ACLY 小分子抑制剂进行 ACLY 的抑制活性评价。

测活方案：人源 ACLY 蛋白购北京义翘神州科技有限公司（货号：11769-H07B），ADP-Glo 检测试剂盒购自 Promega（货号：V9102）。反应最终体系见表 1，反应总体积 5 μL，由三部分混合而成：1 μL 2%的 DMSO，底物混合液 2 μL，2 μL 酶（终浓度为 25 nM）。再加入 1 μL 不同浓度的化合物进行孵育。反应条件：30 min，37 ℃。再使用 ADP-Glo Kit 中的 ADP Reagent 2.5 μL，混匀后反应 2 h，加入 ADP Detection 5 μL，离心混匀后，用 Envision 多功能读板仪读取全波长数值。

表 1. 酶促反应体系

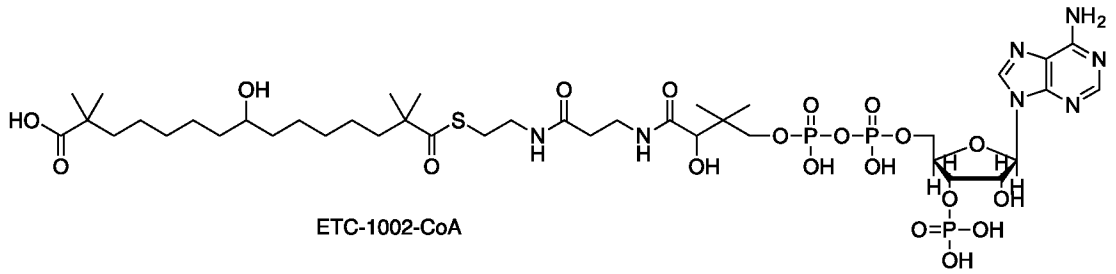
组分	名称	浓度	备注
反应缓冲液	Tris（pH=8.0）	40 mM	
	$MgCl_2$	10 mM	
	DTT	5 mM	
底物混合液	Citrate	50 μM	溶于反应缓冲液
	CoA	15 μM	
	ATP	5 μM	

试验结果：首先计算酶在 30 min 反应时间内荧光强度的累积量 RFU/min，以此代表酶的初速度，然后计算添加化合物后酶的速度（vsample）与不添加化合物的酶速度（vDMSO）的比值，为样品各浓度组的活性百分数（Activity rate %），公式如下：%Activity=(V(sample))/(v(DMSO))×100% 。以浓度的对数值对活性百分数作图，然后采用非线性回归算出拟和曲线，利用软件 GraphPad Prism 8.0 公式 log(inhibitor) vs. response -- Variable slope 拟合曲线，并计算得到 IC_{50} 值，结果如下表：

表 2. 部分化合物对 ACLY 酶活抑制的 IC_{50} 值（mean±SD）

化合物名称	IC_{50} (μM)
A1	42.3±6.5
A2	104.5±7.1
A3	85.4±9.8
A4	53.9±13.8
A5	16.7±1.8
A6	25.5±6.8
A7	12.0±2.2
A8	21.3±9.7
A9	25.8±9.2
A10	9.6±5.1

A11	40.19±2.9
A12	56.90±4.7
A13	5.31±1.2
A14	5.63±1.2
A15	36.7±0.8
ETC-1002-CoA	10.56±2.9



ETC-1002-CoA

以上为阳性对照 ETC-1002-CoA 的结构式。

（2）化合物抑制原代肝细胞脂质从头合成活性评价

ACLY 是负责将线粒体来源的柠檬酸裂解生成乙酰辅酶 A，后者作为细胞脂质合成的关键原料，抑制 ACLY 的活性可以显著降低脂质（甘油三酯和胆固醇）的从头合成。为了进一步评价受试物抑制 ACLY 的引起的功能变化，发明人分离了小鼠原代肝细胞并以[1,2-^{14}C]-乙酸钠为底物示踪进行脂质从头合成能力评价，同时以化合物 ETC-1002 为阳性对照。

试验方案：

肝原代细胞分离及贴壁：无钙灌流液灌洗小鼠肝脏后，利用胶原酶消化小鼠肝脏，并通过密度梯度离心获得小鼠原代肝细胞，以 3x 10^5/ml 密度接于 6 孔板中（接板前先铺 0.2%明胶），接板后细胞贴壁 6 h，换成无血清 LG-DMEM（含 2x 双抗）饥饿过夜。

同位素示踪：第二天换为含有 10 nM 胰岛素的无血清 LG-DMEM，以及对应浓度的化合物（1950 μL，每组 4 复孔）；每孔加入 0.1 μCi 的[1,2-^{14}C]-乙酸盐无血清培养基，置于培养箱孵育 4 小时。

脂质皂化：每孔加入 1.6 mL 冰 PBS 洗 3 次，甩干板子每孔加入 600 μL 0.5 M KOH 裂解，裂解时间为 1h。吸取 480 μL 至预先加入 400 μL 20% KOH（甲醇作为溶剂）玻璃试管中，震荡混匀后置于 95 度水浴皂化 3h；剩余裂解液用于蛋白质浓度测定。每管加入 400 μL 石油醚，移液器吹吸 5-6 次后 2500 rpm 离心 5 min，取 350 μL 上层清液至 EP 管，再加入 400 μL 石油醚重复抽提 2 次（一共为 3 次）。将上层清液完全转移后，每管加入 200 μL 水和 400 μL 5N 硫酸酸化，震荡混匀。每管加入 400 μL 石油醚，移液器吹吸 5-6 次后 2500 rpm 离心 5 min，取 350 μL 上层清液至 EP 管，再加入 400 μL 石油醚重复抽提 2 次（一共为 3 次）。放置于通风橱中，过夜挥干石油醚。

同位素参入定量：每管加入 1700 μL 闪烁液，读数。

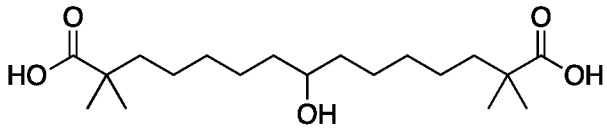
数据处理及分析：首先计算未处理组小鼠原代肝细胞 Control 组在 4 小时内的游离脂肪酸和胆固醇的同位素参入量（R control, 单位：CCPM/mg protein），以此代表基础合成量。然后计算样品各浓度组的脂质合成抑制百分数。

部分化合物（12.5 μM）处理原代肝细胞后，对甘油三酯和胆固醇从头合成的抑制率如下表所示：

表 3. 部分化合物对原代肝细胞的脂质合成抑制率（mean±SD）

化合物名称	脂质合成抑制率（%）
Control	0±19.1
A2	80.9±5.9
A3	71.2±4.3
A4	78.2±4.3
A5	56.6±7.6
A6	68.7±20.9
A8	21.6±1.3
A9	30.9±4.2
A10	21.1±11.7
A12	38.7±11.4
A15*	58.2±7.4
ETC-1002	46.3±15.3

*表示化合物的使用浓度为 8 μM



ETC-1002

以上为阳性对照 ETC-1002 的结构式。

（3）化合物 A3 抑制脂合成的活性对 ACLY 的依赖性

试验方案：为了进一步考察系列化合物抑制脂质从头合成作用对 ACLY 的依赖性，发明人选用了 ACLY 敲除的原代肝细胞进行进一步的脂质从头合成评价，同时以化合物 ETC-1002 为阳性对照。具体是试验方案如前，采用 0.1 μCi/孔 [^{14}C]-柠檬酸进行示踪。

试验结果：在 WT 小鼠原代肝细胞中，ACLY 小分子抑制剂 ETC-1002 及化合物 A3 均可以显著抑制细胞以[^{14}C]-柠檬酸为底物的甘油三脂（图 1 中 A）和胆固醇（图 1 中 B）的从头合成。但是，在 ACLY 敲除的肝细胞中，上述两个化合物抑制甘油三酯和胆固醇从头合成的作用效果显著减弱甚至未体现出抑制作用（图 1）。

实施例三：化合物 A3 和 A4 改善高胆固醇血症的药效

（1）化合物 A3 和 A4 对金黄地鼠高脂高胆固醇血症的改善作用

给药方案：金黄地鼠高脂血症模型是公认的研究高脂血症药物治疗（药效学评价）理想动物模型之一。为了初步考察候选化合物对肝脏脂质代谢平衡存在潜在的调节作用，利用高脂高胆固醇饮食诱导的金黄地鼠高脂血症模型进行初步的药效学评价。具体方案为金黄地鼠 56 只，雄性，高脂高胆固醇饲料（Research diet，货号 C11953）造模两周，预留 8 只为空白对照组。随后进行分组给药（7 组，n=8），即模型对照组、阳性对照 ETC-1002 30 mg/kg 组、化合物 A3 10 mg/kg 和 30 mg/kg 组、化合物 A4 10 mg/kg 和 30 mg/kg 组、空白对照组。各组化合物用生理盐水配置（0.9% NaCl），给药频次为 1 次/天，给药周期为 7 天。

指标检测：给药期间密切监测金黄地鼠体重及摄食变化。各组化合物给药 7 天，分别眼眶取血（饥饿过夜，约 16 小时），离心取血清，低温冷冻保存，检测血清中总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇含量。相关指标的相对两计算方法为：相对量（100%）=给药组的含量/模型对照组的含量*100%。

试验结果：和对照组相比，化合物给药 1 周后：1）化合物 A3 两个剂量组均可以显著降低金黄地鼠血清总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇，高剂量组降低幅度与阳性对照 ETC-1002 30 mg/kg 剂量组效果相当；2）化合物 A4 10 mg/kg 给药组的血清总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇无显著改变，30 mg/kg 给药组可以显著降低血清总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇含量（图 2）。此外，研究发现化合物 A4 在给药过程中出现体重显著降低，摄食明显减少，并伴随活动减慢等不耐受现象。综合上述结果，表明认为化合物 A3 改善高胆固醇血症的有效性和安全性优于化合物 A4，也进一步提示双键为反式构型对高胆固醇血症治疗效果很重要。

（2）化合物 A3 对 ApoE$^{-/-}$小鼠动脉粥样硬化的改善作用

给药方案：高胆固醇血症是动脉粥样硬化发生的重要诱因。在看到化合物 A3 对高脂高胆固醇血症具有显著改善的前提下，发明人进一步发现化合物 A3 可以显著减缓 ApoE$^{-/-}$小鼠动脉粥样硬化的发生。具体方案为 ApoE$^{-/-}$ 小鼠 60 只，雄性，平均分为 6 组（n=10），其中 5 组高胆固醇饲料（Research diet，货号 D12079B）造模喂养，预留 1 组为空白对照组，同时进行长期给药治疗，即模型对照组、阳性对照 ETC-1002 30 mg/kg 组、化合物 A3 15 mg/kg 和 30 mg/kg 及 60 mg/kg 组、空白对照组。各组化合物用生理盐水配置（0.9% NaCl），给药频次为 1 次/天，给药周期为 24 周。

指标检测：给药期间密切监测 ApoE$^{-/-}$小鼠体重及摄食变化。各组化合物给药 24 周，剥离小鼠主动脉血管，进行主动脉斑块苏丹 IV 染色，并用 Image-Pro Plus 软件统计斑块面积。

试验结果：图 3 结果表明，和对照组相比，化合物给药 24 周后，化合物 A3 三个剂量组均可显著性减少 $ApoE^{-/-}$小鼠主动脉主动脉瓣斑块面积（右图为左图的统计图），说明化合物 A3 具有显著改善高胆固醇血症诱导的动脉粥样硬化的发生的作用。

实施例四：化合物 A3 改善饮食诱导的非酒精性脂肪肝炎药效评价

非酒精性脂肪肝炎（NASH）的发病机制研究众多，概括来讲“脂质沉积是基础，炎症是核心，纤维化是病情恶化或者难以控制的关键因素”。一方面，抑制肝细胞 ACLY 的活性可以有效减少肝脏脂质从头合成，减少驱动 NASH 发生的重要因素；另一方面，ACLY 介导组蛋白表观遗传修饰（乙酰化、琥珀酰化等），由此引发免疫细胞代谢重编程、对炎性刺激的响应以及 ROS 的产生等；此外，抑制肝星状细胞的脂质从头合成，可以有效减少研究肝星状细胞（HSC）的活化。基于 NASH 发生的三大特征（脂质累积、炎症、纤维化）的潜在干预，发明人进一步评价了化合物 A3 对 NASH 改善的可行性。

（1）化合物 A3 对高脂高糖高胆固醇饮食诱导的 *ob/ob* 小鼠 NASH 的改善作用

给药方案：7-8 周 *ob/ob* 小鼠 16 只，雄性，平均分为 2 组（n=8），高脂高糖高胆固醇饲料（Research diet，货号 D09100310）造模喂养 8 周，另设一组同窝野生型小鼠为空白对照组。造模 8 周后开始进行长期给药治疗，各组分别为模型对照组、化合物 A3 30 mg/kg 组、空白对照组。各组化合物用生理盐水配置（0.9% NaCl），给药频次为 1 次/天，给药周期为 10 周。

指标检测：给药期间密切监测 ob/ob 小鼠和空白对照小鼠的体重及摄食变化。各组化合物给药 10 周，摘取肝脏，进行 NASH 相应指标的检测（HE 染色、天狼星红染色、炎症信号的免疫组化等）。

试验结果：*ob/ob* 小鼠由于过量的脂质累积而出现发白及颗粒感，化合物 A3 给药后可以显著逆转上述现象（图 4 中 A）；进一步地，发明人将肝脏进行病理分析：和模型对照组相比，H&E 染色研究发现化合物 A3 给药组肝脏脂肪变性和气球样变显著减少（脂肪肝，图 4 中 A）；巨噬细胞 CD68 染色研究发现化合物 A3 给药组肝脏炎症细胞浸润显著变少（炎症，图 4 中 A，4 中 B）；天狼猩红染色研究发现化合物 A3 给药组肝脏胶原沉积程度显著减少（纤维化，图 4 中 A，4 中 C）。以上结果表明化合物 A3 具有显著改善饮食诱导的 *ob/ob* 小鼠 NASH 的药理学活性。

（2）化合物 A3 对高脂高糖高胆固醇饮食诱导的食蟹猴 NASH 的改善作用

进一步地，发明人在非人灵长类动物模型进一步评价化合物 A3 长期给药可对食蟹猴的非酒精性脂肪肝炎的治疗作用。

给药方案：18 只非酒精性脂肪肝炎食蟹猴，雄性，分为 2 组（n=8-10），一组设为模型对照组，一组设为给药组。高脂高糖高胆固醇高饮食喂养 14 周的同时进行给药治疗（20 mg/kg），给药频次为 1 次/天，给药周期为 14 周。

指标检测：给药期间密切监测食蟹猴的体重及摄食变化。化合物给药 14 周，肝脏穿刺进行 NASH 相应指标的病理分析检测。

试验结果：肝脏穿刺结果显示，化合物 A3 长期给药可以显著减少食蟹猴的肝脏脂质累积，并减少炎症和纤维化的发生，非酒精性脂肪性肝病活动性（NAS）评分在给药之后显著降低（图 5）。以上结果表明化合物 A3 具有显著改善食蟹猴非酒精性脂肪肝炎的药理学活性。

实施例五：化合物 A3 口服药代动物参数考察

前期的研究发现，化合物 A3 改善动脉粥样硬化的效果显著优于 ETC-1002，本部分研究将比较两类化合物的口服药物暴露量及相关药代动力学参数。

给药方案：6 只正常 ICR 小鼠，雄性，分为 2 组（n=3），一组口服给予阳性对照 ETC-1002，一组口服给予受试物化合物 A3，给药剂量均为 30 mg/kg；给药前后不同时间点眼眶取血，检测血浆药物浓度。

试验结果：通过检测不同时间的血浆药物浓度，并计算两个化合物的药代动力学参数（表 4）。考察发现，受试物化合物 A3 的血浆暴露量显著高于阳性对照药物 ETC-1002（C_{max}: 13.4 μg/mL vs 3.81 μg/mL；AUC_{0-t}：63.7 h*μg/mL vs 14.4 h*μg/mL，前者为化合物 A3）。

表 4. 化合物 A3 和对照物 ETC-1002 的口服药代动力学参数

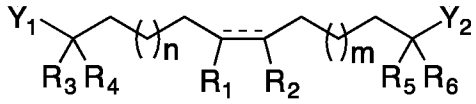
受试物/参数	Tmax（h）	Cmax (μg/mL)	AUC_{0-t} (h*μg/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (h*μg/mL)	$MRT_{0-\infty}$ (h)	$t_{1/2}$ (h)
化合物 A3	0.25	13.4	63.7	74.2	8.01	5.65
ETC-1002	0.25	3.81	14.4	15.6	6.81	4.45

上述试验结果表明，本发明化合物具有抑制 ACLY 的活性。进一步的体内外药理学活性评价发现，代表性化合物 A3 在原代肝细胞中可以抑制脂质的从头合成，改善金黄地鼠和 $ApoE^{-/-}$小鼠高脂高胆固醇血症，显著改善高脂高糖高胆固醇饮食诱导的 *ob/ob* 小鼠和食蟹猴的 NASH 症状。研究结果还提示，双键为反式构型的化合物的体内活性要优于双键为顺式构型的化合物；而且，同等口服剂量下化合物 A3 比 Bempedoic acid 的血浆暴露量高出 4 倍多，提示化合物 A3 具有更好的治疗效果。

综上，本申请的系列化合物具有良好的 ACLY 抑制活性，并在多种代谢性疾病药效模型上显示出良好的治疗效果，可进一步开发成为高胆固醇血症、非酒精性脂肪肝炎等代谢性疾病的治疗药物。

权利要求书

1、一种通式(I)所示的化合物，或其立体异构体、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或其药学上可接受的盐的用途，用于制备治疗代谢性疾病的药物；或者用于制备治疗动脉粥样硬化的药物，



(I)

其中，═══表示双键或单键；

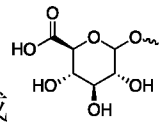
m、n 各自独立地为 1、2、3、4、5 或 6；

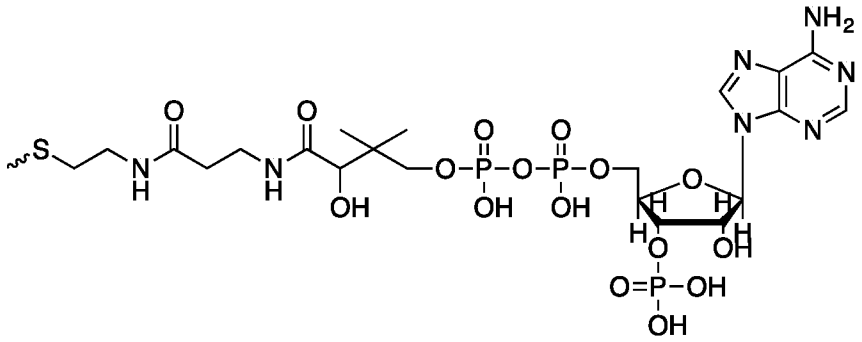
R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6 各自独立地为 H、C1-C4 烷基、C2-C4 烯基、C2-C4 炔基、C3-C7 环烷基、C3-C7 环烯基、苯基或苄基；

或者，R_1 和 R_2 与其相邻的碳原子一起形成 C3-C7 环烷基或 C3-C7 环烯基；

或者，R_5 和 R_6 与其相邻的碳原子一起形成 C3-C7 环烷基或 C3-C7 环烯基；

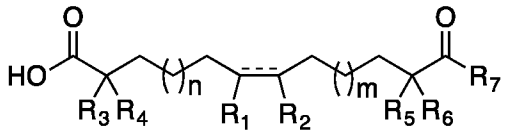
或者，R_3 和 R_4 与其相邻的碳原子一起形成 C3-C7 环烷基或 C3-C7 环烯基；

Y_1 和 Y_2 各自独立地选自：-OH、-COOH、-COCoA、-$COOR_7$；其中，R_7 为甲基、乙基或  ；CoA 结构如下所示：



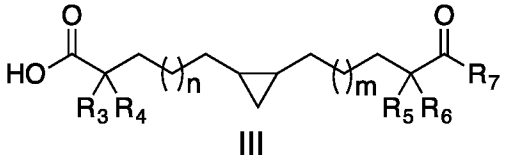
。

2、如权利要求 1 所述的用途，其特征在于，所述化合物具有通式 II 所示的结构：



(II)。

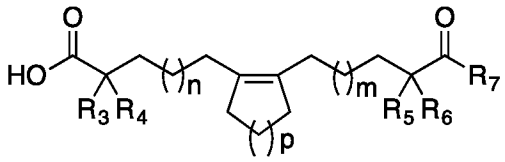
3、如权利要求 1 所述的用途，其特征在于，所述化合物具有通式 III 所示的结构：



III

(III)。

4、如权利要求 1 所述的用途，其特征在于，所述化合物具有通式 IV 所示的结构

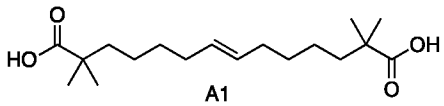


(IV)，

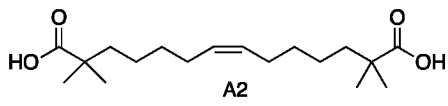
式中，p 为 0、1、2 或 3。

5、如权利要求 1-4 任一项所述的用途，其特征在于，所述化合物为氘代化合物。

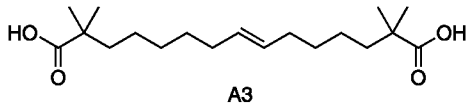
6、如权利要求 1-5 任一项所述的用途，其特征在于，所述化合物选自下组：



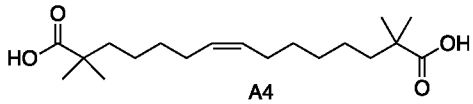
A1



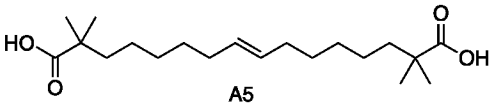
A2



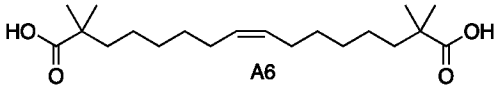
A3



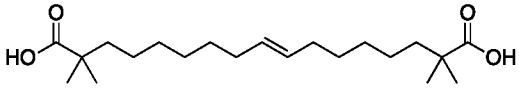
A4



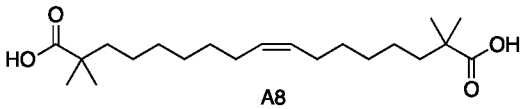
A5



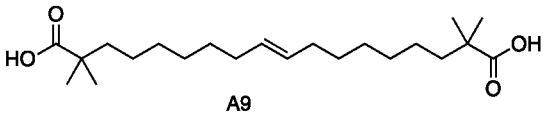
A6



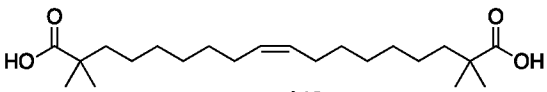
A7



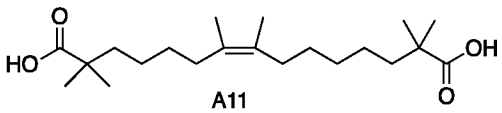
A8



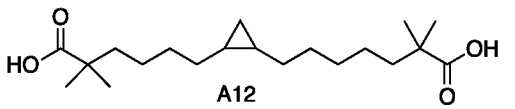
A9



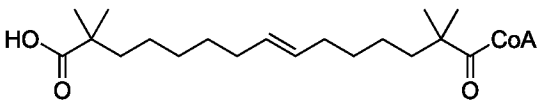
A10

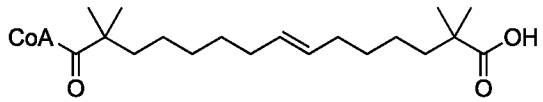


A11

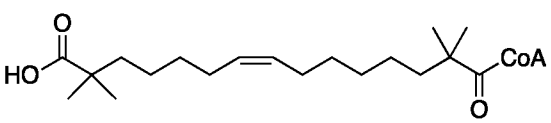


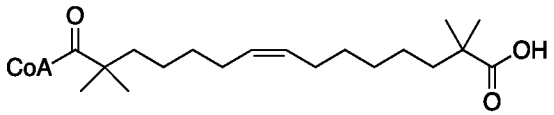
A12

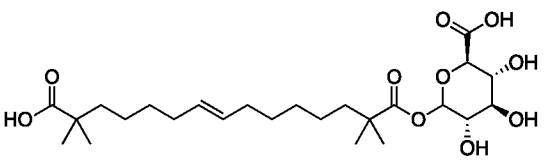


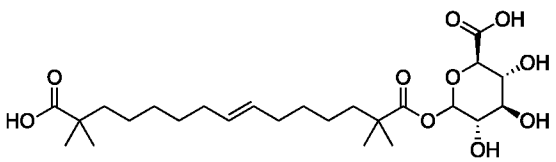


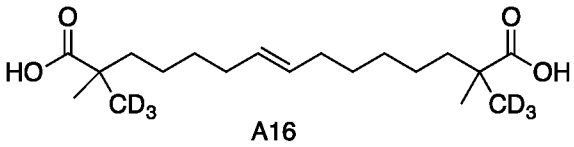
A



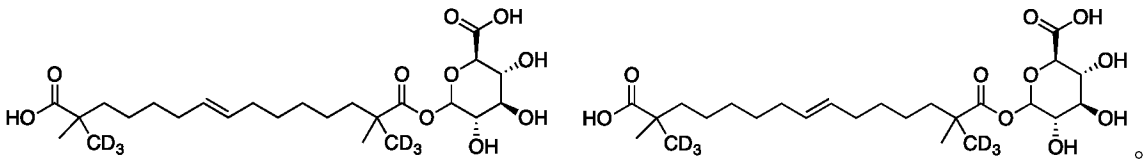








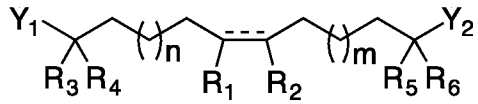
A16



。

7、如权利要求 1 所述的用途，其特征在于，所述代谢性疾病选自：高胆固醇血症、非酒精性脂肪肝炎（NASH）、肝纤维化。

8、一种通式(I)所示的化合物，或其立体异构体、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或其药学上可接受的盐，



(I)

其中，---表示双键或单键；

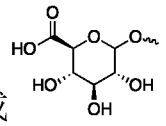
m、n 各自独立地为 1、2、3、4、5 或 6；

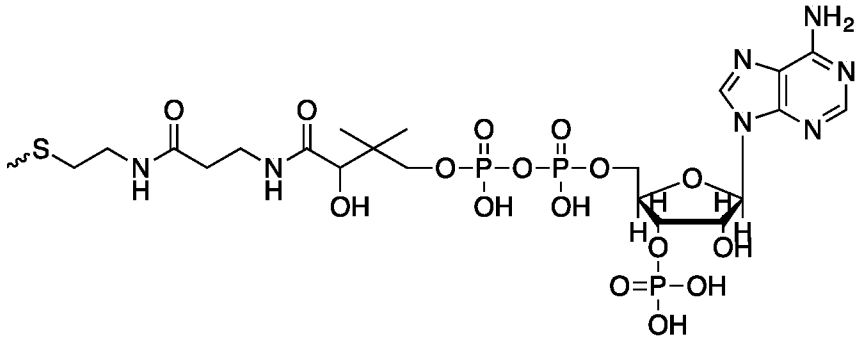
R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6 各自独立地为 H、C1-C4 烷基、C2-C4 烯基、C2-C4 炔基、C3-C7 环烷基、C3-C7 环烯基、苯基或苄基；

或者，R_1 和 R_2 与其相邻的碳原子一起形成 C3-C7 环烷基或 C3-C7 环烯基；

或者，R_5 和 R_6 与其相邻的碳原子一起形成 C3-C7 环烷基或 C3-C7 环烯基；

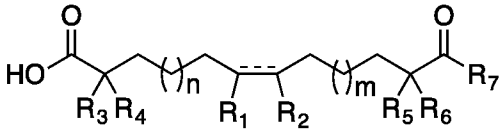
或者，R_3 和 R_4 与其相邻的碳原子一起形成 C3-C7 环烷基或 C3-C7 环烯基；

Y_1 和 Y_2 各自独立地选自：-OH、-COOH、-COCoA、-$COOR_7$；其中，R_7 为甲基、乙基或  ；CoA 结构如下所示：

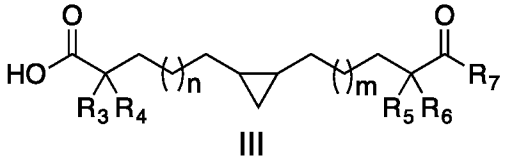


。

9、如权利要求 8 所述的化合物，或其立体异构体、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或其药学上可接受的盐，其特征在于，所述化合物具有通式 II、III 或 IV 所示的结构：

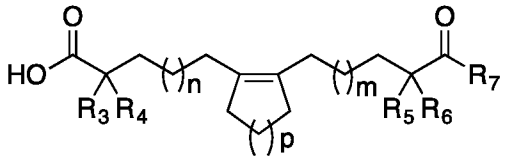


(II)



III

(III)

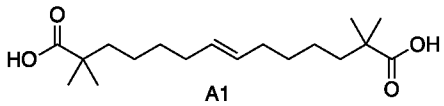


(IV)，

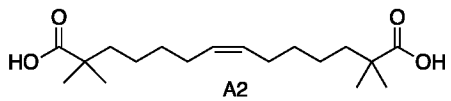
式中，p 为 0、1、2 或 3。

10、如权利要求 8 或 9 所述的化合物，或其立体异构体、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或其药学上可接受的盐，其特征在于，所述化合物为氘代化合物。

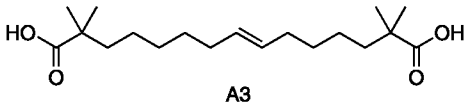
11、如权利要求 8-10 任一项所述的化合物，或其立体异构体、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或其药学上可接受的盐，其特征在于，所述化合物选自下组：



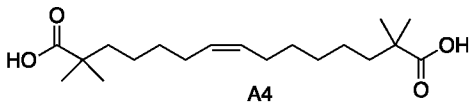
A1



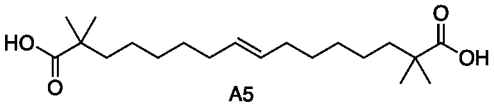
A2



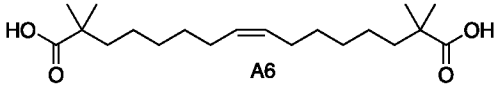
A3



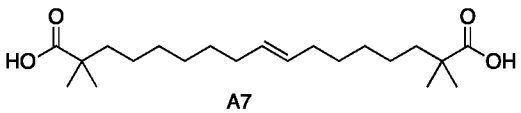
A4



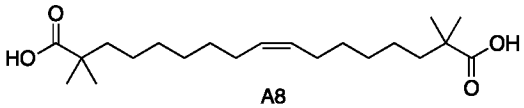
A5



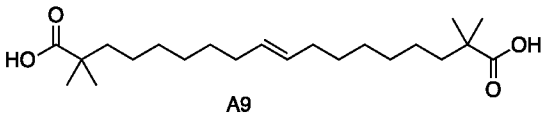
A6



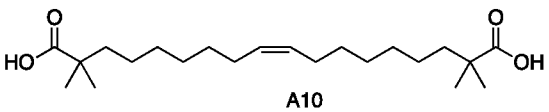
A7



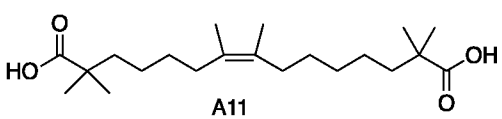
A8



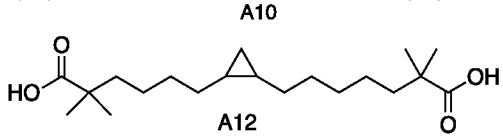
A9



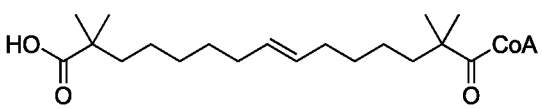
A10

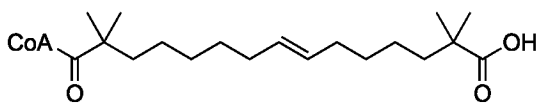


A11

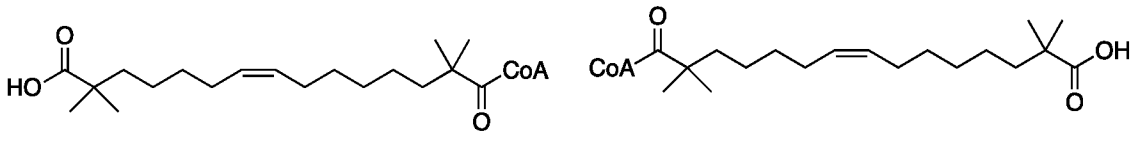


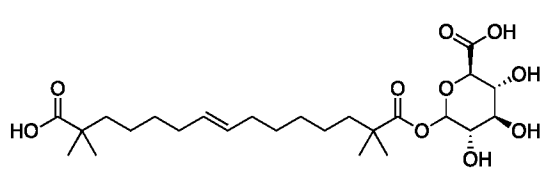
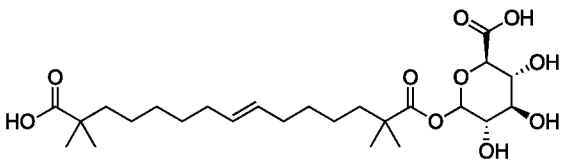
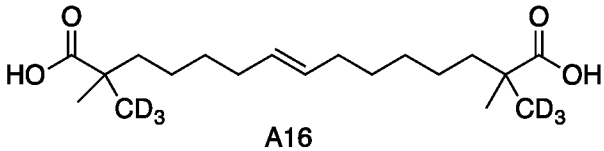
A12



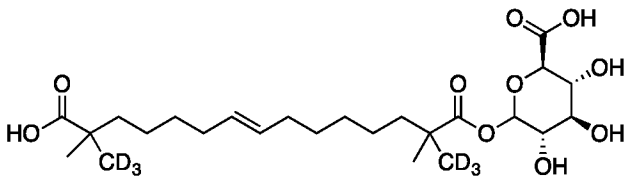
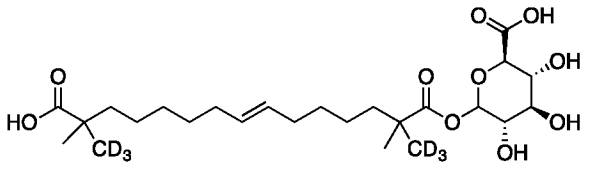


A



A16

。

12、一种药物组合物，包含权利要求 8-11 任一项所述的化合物，或其立体异构体、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或其药学上可接受的盐；和

药学上可接受的盐。

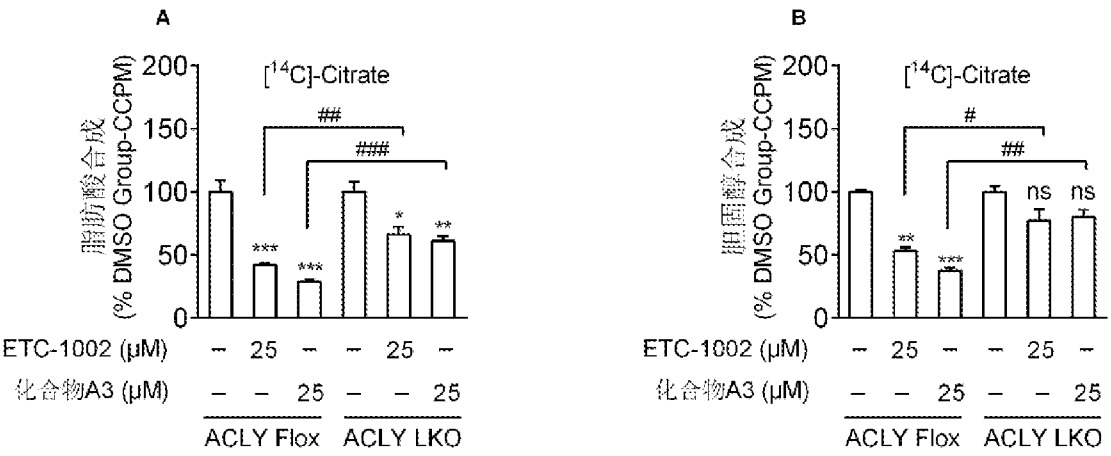

A
[14C]-Citrate
脂肪酸合成
(% DMSO Group-CCPM)
200
150
100
50
0
##
###
***
***
*
**
ETC-1002 (μM) – 25 – – 25 –
化合物A3 (μM) – – 25 – – 25
ACLY Flox
ACLY LKO
B
[14C]-Citrate
胆固醇合成
(% DMSO Group-CCPM)
#
##
**
***
ns
ns
ETC-1002 (μM) – 25 – – 25 –
化合物A3 (μM) – – 25 – – 25
ACLY Flox
ACLY LKO

图 1

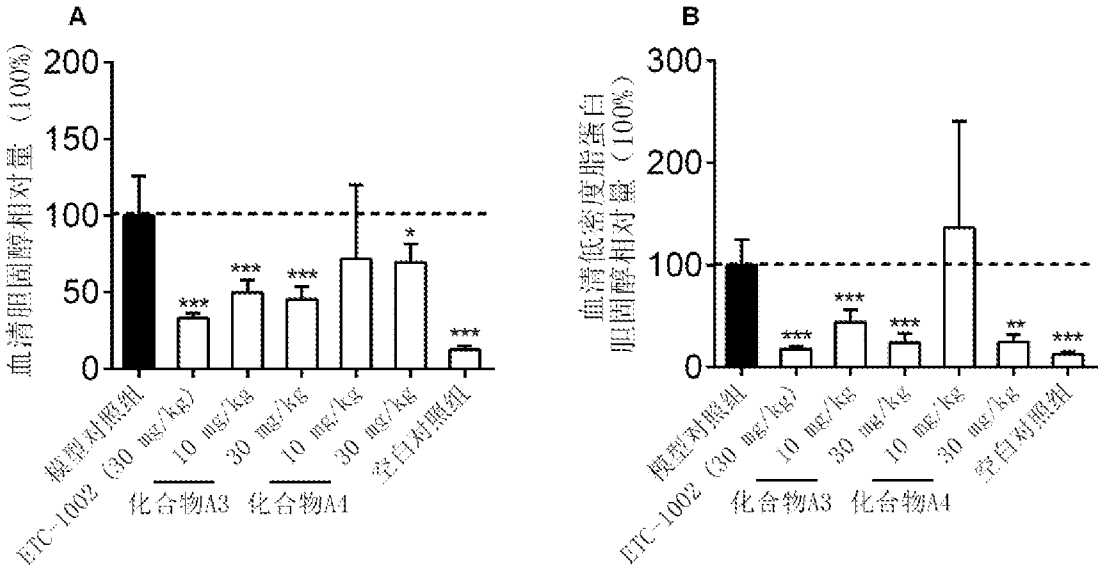

A
血清胆固醇相对量（100%）
200
150
100
50
0
***
***
***
***
*
***
模型对照组
ETC-1002 (30 mg/kg)
10 mg/kg
30 mg/kg
10 mg/kg
30 mg/kg
空白对照组
化合物A3
化合物A4
B
血清低密度脂蛋白
胆固醇相对量（100%）
300
200
100
0
***
***
***
**
***
模型对照组
ETC-1002 (30 mg/kg)
10 mg/kg
30 mg/kg
10 mg/kg
30 mg/kg
空白对照组
化合物A3
化合物A4

图 2

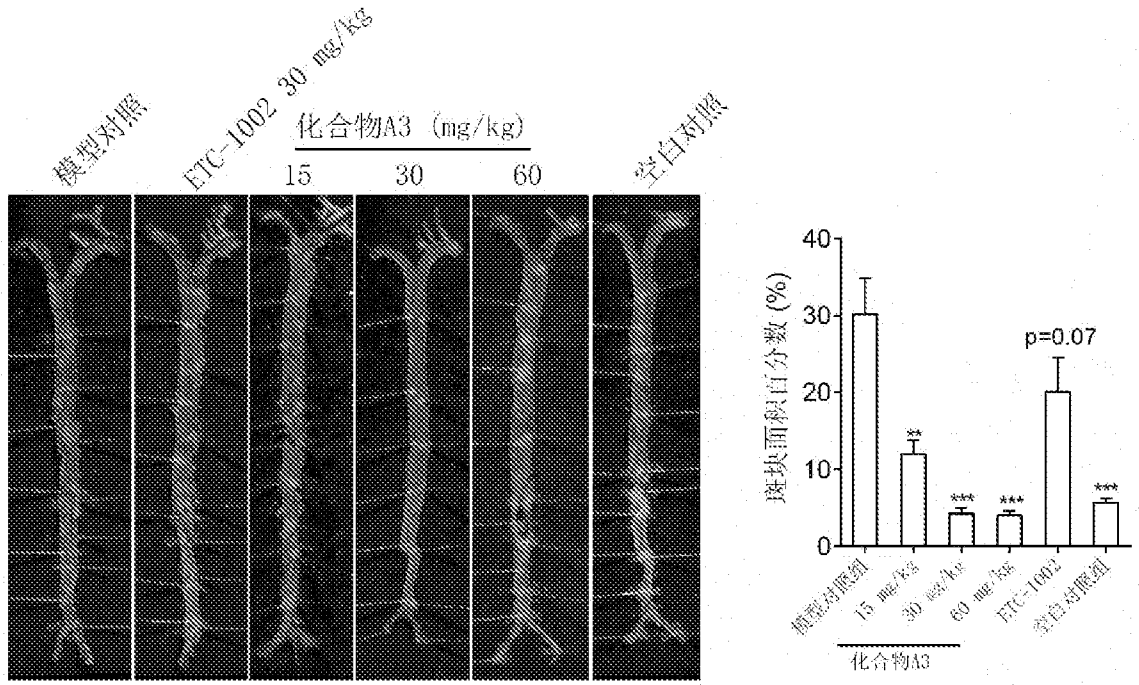

模型对照
ETC-1002 30 mg/kg
化合物A3 (mg/kg)
15
30
60
空白对照
斑块面积百分数 (%)
p=0.07
化合物A3

图 3

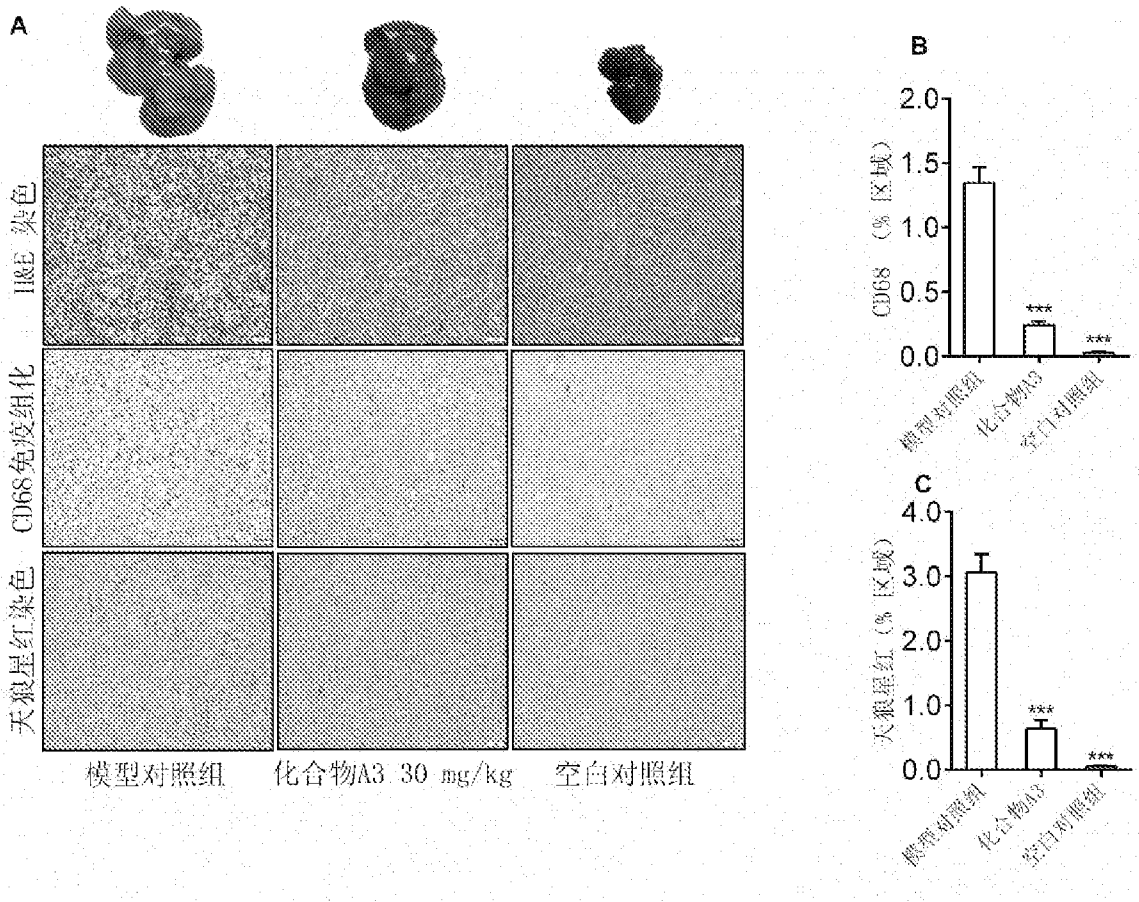

A
H&E 染色
CD68免疫组化
天狼星红染色
模型对照组
化合物A3 30 mg/kg
空白对照组
B
CD68 (% 区域)
C
天狼星红 (% 区域)

图 4

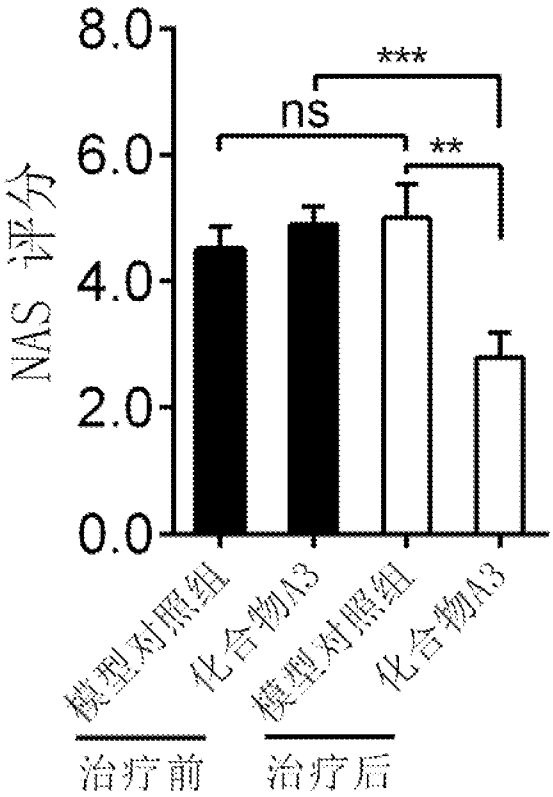


图 5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2022/120315

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/201(2006.01)i; A61K 31/194(2006.01)i; C07C 55/21(2006.01)i; C07C 55/28(2006.01)i; C07C 57/13(2006.01)i; A61P 3/06(2006.01)i; A61P 3/00(2006.01)i; A61P 9/10(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K; C07C; A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNTXT, WPABS, WPABSC, ENTXT, ENTXTC, VCN, VEN, CJFD, CNKI, ISI-WEB OF SCIENCE, PUBMED, BING, STNext, 百度学术, BAIDU SCHOLAR, 读秀, DUXIU: 博骥源, 中国科学院上海药物研究所, BURGEON THERAPEUTICS, 南发俊, 李静雅, 张梅, 谢治富, 张仰明, 长链脂肪酸, ACLY, 柠檬酸裂解酶, adenosine triphosphate citrate lyase, ATP CITRATE LYASE, HYPERCHOLESTEROLEMIA, ATHEROSCLEROSIS, LDL-C, 非酒精性脂肪肝, 非酒精性脂肪性肝, NASH, NAFLD, 高脂血症, 高胆固醇血症, 肝纤维化, 动脉粥样硬化, ETC 1002, 结构检索, structure search

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 107118098 A (SHANGHAI INSTITUTE OF MATERIA MEDICA, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) 01 September 2017 (2017-09-01) abstract, claims 1-6 and 13-14	1-12
Y	CN 107118098 A (SHANGHAI INSTITUTE OF MATERIA MEDICA, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) 01 September 2017 (2017-09-01) abstract, claims 1-6 and 13-14	1-12
X	CN 101677982 A (SYNDROMEX LTD.) 24 March 2010 (2010-03-24) abstract, claims 1-11 and 16-23, description, page 14, second-to-last paragraph, and embodiment 2	1-12
Y	WO 2021021563 A1 (ESPERVITA THERAPEUTICS, INC. et al.) 04 February 2021 (2021-02-04) abstract, and description, paragraphs 0137-0138, 0162, 0293-0302, 0315-0323, and 0358	1-12
Y	US 4634795 A (EPIS S.A.) 06 January 1987 (1987-01-06) abstract, column 2, paragraph 2 to column 4, paragraph 1, and embodiment compound	1-12

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
05 December 2022	**15 December 2022**
Name and mailing address of the ISA/CN **China National Intellectual Property Administration (ISA/CN)** **No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088, China** Facsimile No. **(86-10)62019451**	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2022/120315

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 4711896 A (EPIS S.A.) 08 December 1987 (1987-12-08) abstract, column 1, paragraph 2 to column 2, paragraph 1, and column 7, lines 3-50	1-12
Y	CN 110054562 A (SHENZHEN TARGETRX, INC.) 26 July 2019 (2019-07-26) claims 1-11, and description, paragraphs 0001 and 0004-0026	1-12
X	PINKOSKY, Stephen L. et al.,. "Liver-specific ATP-citrate lyase inhibition by bempedoic acid decreases LDL-C and attenuates atherosclerosis," *NATURE COMMUNICATIONS,* Vol. 7, 28 November 2016 (2016-11-28), pages 1-13, in particular abstract, figure 1, page 3, left column, last paragraph, and page 9, Discussion	8,
Y	PINKOSKY, Stephen L. et al.,. "Liver-specific ATP-citrate lyase inhibition by bempedoic acid decreases LDL-C and attenuates atherosclerosis," *NATURE COMMUNICATIONS,* Vol. 7, 28 November 2016 (2016-11-28), pages 1-13, in particular abstract, figure 1, page 3, left column, last paragraph, and page 9, Discussion	1-12
X	YANG, Weili et al.,. "A distinct type of glycerol-3-phosphate acyltransferase with sn-2 preference and phosphatase activity producing 2-monoacylglycerol," *PNAS,* Vol. 107, No. 26, 29 June 2010 (2010-06-29), pages 12040-12045, in particular table S1	8,
X	Registry,. "RN: 2270230-51-6, 1778735-86-6, 1417624-97-5, 306969-55-1, 97543-02-7," *STN,* 13 February 2019 (2019-02-13), pages 1-2, compound	8-10
Y	SAMSOONDAR, Joshua P. et al.,. "Prevention of Diet-Induced Metabolic Dysregulation, Inflammation, and Atherosclerosis in Ldlr-/- Mice by Treatment With the ATP-Citrate Lyase Inhibitor Bempedoic Acid," *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology,* Vol. 37, No. 4, 02 February 2017 (2017-02-02), pp. 647-656	1-12
PX	XIE, Zhifu et al.,. "Development of the novel ACLY inhibitor 326E as a promising treatment for hypercholesterolemia," *Acta Pharmaceutica Sinica B,* 18 June 2022 (2022-06-18), pp. 1-15	1-12
PX	SONG, Gaolei et al.,. "Discovery of Novel Long-Chain Alkenyl Diacid Derivatives as ACLY Inhibitors," *Chinese Journal of Chemistry,* Vol. 40, 01 August 2022 (2022-08-01), pp. 2663-2670	1-12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2022/120315

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN 107118098 A	01 September 2017	WO 2017143946 A1	31 August 2017
		JP 2019507150 A	14 March 2019
		EP 3421447 A1	02 January 2019
		US 2019039989 A1	07 February 2019
CN 101677982 A	24 March 2010	KR 20100014614 A	10 February 2010
		US 2010240683 A1	23 September 2010
		IN 1780MUMNP2009 A	21 May 2010
		IL 181577 D0	04 July 2007
		EP 2131832 A2	16 December 2009
		JP 2010519290 A	03 June 2010
		WO 2008104975 A2	04 September 2008
		WO 2008104976 A1	04 September 2008
		US 2010113599 A1	06 May 2010
		IL 200570 D0	17 May 2010
		CA 2679416 A1	04 September 2008
WO 2021021563 A1	04 February 2021	KR 20220039754 A	29 March 2022
		EP 4003314 A1	01 June 2022
		CN 114126593 A	01 March 2022
		US 2021269384 A1	02 September 2021
		US 2021221765 A1	22 July 2021
		US 2021024447 A1	28 January 2021
		AU 2020321945 A1	20 January 2022
		IL 289919 A	01 March 2022
		BR 112022000993 A2	07 June 2022
		JP 2022542238 A	30 September 2022
		TW 202118750 A	16 May 2021
		CA 3143294 A1	04 February 2021
US 4634795 A	06 January 1987	DE 3272373 D1	04 September 1986
		JP S58131934 A	06 August 1983
		US 4689344 A	25 August 1987
		CA 1260952 A	26 September 1989
		JP H069385 A	18 January 1994
		IL 64542 D0	31 March 1982
		EP 0081930 A1	22 June 1983
US 4711896 A	08 December 1987	IL 75549 D0	31 October 1985
		ZA 8504684 B	26 February 1986
		JP S61502537 A	06 November 1986
		HU T38892 A	28 July 1986
		GR 851509 B	25 June 1985
		ZA 854684 B	26 February 1986
		DE 3574130 D1	14 December 1989
		ES 544439 A0	01 February 1986
		FI 860711 A0	17 February 1986
		CA 1262552 A	31 October 1989
		EP 0185080 A1	25 June 1986
		DK 75986 A	18 February 1986
		WO 8600298 A1	16 January 1986
		NO 860661 L	21 February 1986
		PT 80681 A	01 July 1985
		AU 4607185 A	24 January 1986

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2022/120315

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		DD 240541 A5	05 November 1986
		DE 3423166 A1	02 January 1986
CN 110054562 A	26 July 2019	WO 2019179494 A1	26 September 2019

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2022/120315

A. 主题的分类

A61K 31/201(2006.01)i; A61K 31/194(2006.01)i; C07C 55/21(2006.01)i; C07C 55/28(2006.01)i; C07C 57/13(2006.01)i; A61P 3/06(2006.01)i; A61P 3/00(2006.01)i; A61P 9/10(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

A61K; C07C; A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称，和使用的检索词（如使用）)

CNTXT, WPABS, WPABSC, ENTXT, ENTXTC, VCN, VEN, CJFD, CNKI, ISI-WEB OF SCIENCE, PUBMED, BING, STNext, 百度学术，读秀：博骥源，中国科学院上海药物研究所，BURGEON THERAPEUTICS，南发俊，李静雅，张梅，谢治富，张仰明，长链脂肪酸，ACLY，柠檬酸裂解酶，adenosine triphosphate citrate lyase，ATP CITRATE LYASE，HYPERCHOLESTEROLEMIA，ATHEROSCLEROSIS，LDL-C，非酒精性脂肪肝，非酒精性脂肪性肝，NASH，NAFLD，高脂血症，高胆固醇血症，肝纤维化，动脉粥样硬化，ETC 1002，结构检索

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
X	CN 107118098 A (中国科学院上海药物研究所) 2017年9月1日 (2017-09-01) 摘要，权利要求1-6、13-14	1-12
Y	CN 107118098 A (中国科学院上海药物研究所) 2017年9月1日 (2017-09-01) 摘要，权利要求1-6、13-14	1-12
X	CN 101677982 A (塞多麦克斯有限公司) 2010年3月24日 (2010-03-24) 摘要，权利要求1-11、16-23，说明书第14页倒数第2段，实施例2	1-12
Y	WO 2021021563 A1 (ESPERVITA THERAPEUTICS, INC.等) 2021年2月4日 (2021-02-04) 摘要，说明书第0137-0138、0162、0293-0302、0315-0323、0358段	1-12
Y	US 4634795 A (EPIS S.A.) 1987年1月6日 (1987-01-06) 摘要，第2栏第2段至第4栏第1段，实施例化合物	1-12
Y	US 4711896 A (EPIS S.A.) 1987年12月8日 (1987-12-08) 摘要，第1栏第2段至第2栏第1段，第7栏第3-50行	1-12

☑ 其余文件在C栏的续页中列出。

☑ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型：

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件，或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件（如具体说明的）

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布，与申请不相抵触，但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件，单独考虑该文件，认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件，当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时，要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期
2022年12月5日	2022年12月15日

ISA/CN的名称和邮寄地址	受权官员
中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088	万光
传真号 (86-10)62019451	电话号码 (86-10)53961859

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
Y	CN 110054562 A (深圳市塔吉瑞生物医药有限公司) 2019年7月26日 (2019-07-26) 权利要求1-11，说明书第0001、0004-0026段	1-12
X	PINKOSKY, Stephen L.等，. "Liver-specific ATP-citrate lyase inhibition by bempedoic acid decreases LDL-C and attenuates atherosclerosis, " NATURE COMMUNICATIONS, , 第7卷，2016年11月28日 (2016-11-28), 第1-13页，尤其是摘要，图1，第3页左栏倒数第1段，第9页Discussion	8
Y	PINKOSKY, Stephen L.等，. "Liver-specific ATP-citrate lyase inhibition by bempedoic acid decreases LDL-C and attenuates atherosclerosis, " NATURE COMMUNICATIONS, , 第7卷，2016年11月28日 (2016-11-28), 第1-13页，尤其是摘要，图1，第3页左栏倒数第1段，第9页Discussion	1-12
X	YANG, Weili等，. "A distinct type of glycerol-3-phosphate acyltransferase with sn-2 preference and phosphatase activity producing 2-monoacylglycerol, " PNAS, , 第107卷，第26期，2010年6月29日 (2010-06-29), 第12040-12045页，尤其是表S1	8
X	REGISTRY, . "RN: 2270230-51-6, 1778735-86-6, 1417624-97-5, 306969-55-1, 97543-02-7, " STN, , 2019年2月13日 (2019-02-13), 第1-2页化合物	8-10
Y	SAMSOONDAR, Joshua P.等，. "Prevention of Diet-Induced Metabolic Dysregulation, Inflammation, and Atherosclerosis in Ldlr-/- Mice by Treatment With the ATP-Citrate Lyase Inhibitor Bempedoic Acid, " Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, , 第37卷，第4期，2017年2月2日 (2017-02-02), 第647-656页	1-12
PX	XIE, Zhifu等，. "Development of the novel ACLY inhibitor 326E as a promising treatment for hypercholesterolemia, " Acta Pharmaceutica Sinica B, , 2022年6月18日 (2022-06-18), 第1-15页	1-12
PX	SONG, Gaolei等，. "Discovery of Novel Long-Chain Alkenyl Diacid Derivatives as ACLY Inhibitors, " Chinese Journal of Chemistry, , 第40卷，2022年8月1日 (2022-08-01), 第2663-2670页	1-12

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2022/120315

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	107118098	A	2017年9月1日	WO	2017143946	A1	2017年8月31日
				JP	2019507150	A	2019年3月14日
				EP	3421447	A1	2019年1月2日
				US	2019039989	A1	2019年2月7日
CN	101677982	A	2010年3月24日	KR	20100014614	A	2010年2月10日
				US	2010240683	A1	2010年9月23日
				IN	1780MUMNP2009	A	2010年5月21日
				IL	181577	D0	2007年7月4日
				EP	2131832	A2	2009年12月16日
				JP	2010519290	A	2010年6月3日
				WO	2008104975	A2	2008年9月4日
				WO	2008104976	A1	2008年9月4日
				US	2010113599	A1	2010年5月6日
				IL	200570	D0	2010年5月17日
				CA	2679416	A1	2008年9月4日
WO	2021021563	A1	2021年2月4日	KR	20220039754	A	2022年3月29日
				EP	4003314	A1	2022年6月1日
				CN	114126593	A	2022年3月1日
				US	2021269384	A1	2021年9月2日
				US	2021221765	A1	2021年7月22日
				US	2021024447	A1	2021年1月28日
				AU	2020321945	A1	2022年1月20日
				IL	289919	A	2022年3月1日
				BR	112022000993	A2	2022年6月7日
				JP	2022542238	A	2022年9月30日
				TW	202118750	A	2021年5月16日
				CA	3143294	A1	2021年2月4日
US	4634795	A	1987年1月6日	DE	3272373	D1	1986年9月4日
				JP	S58131934	A	1983年8月6日
				US	4689344	A	1987年8月25日
				CA	1260952	A	1989年9月26日
				JP	H069385	A	1994年1月18日
				IL	64542	D0	1982年3月31日
				EP	0081930	A1	1983年6月22日
US	4711896	A	1987年12月8日	IL	75549	D0	1985年10月31日
				ZA	8504684	B	1986年2月26日
				JP	S61502537	A	1986年11月6日
				HU	T38892	A	1986年7月28日
				GR	851509	B	1985年6月25日
				ZA	854684	B	1986年2月26日
				DE	3574130	D1	1989年12月14日
				ES	544439	A0	1986年2月1日
				FI	860711	A0	1986年2月17日
				CA	1262552	A	1989年10月31日
				EP	0185080	A1	1986年6月25日
				DK	75986	A	1986年2月18日
				WO	8600298	A1	1986年1月16日
				NO	860661	L	1986年2月21日
				PT	80681	A	1985年7月1日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2022/120315

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
				AU	4607185	A	1986年1月24日
				DD	240541	A5	1986年11月5日
				DE	3423166	A1	1986年1月2日
CN	110054562	A	2019年7月26日	WO	2019179494	A1	2019年9月26日