



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103347508 A

(43) 申请公布日 2013. 10. 09

(21) 申请号 201180064085. 4

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所  
11105

(22) 申请日 2011. 11. 03

代理人 刘国军 张平元

(30) 优先权数据

61/410, 445 2010. 11. 05 US

(51) Int. Cl.

A61K 31/19(2006. 01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

A61P 3/04(2006. 01)

2013. 07. 04

A61P 3/06(2006. 01)

(86) PCT申请的申请数据

A61P 3/10(2006. 01)

PCT/IB2011/002925 2011. 11. 03

A61P 9/10(2006. 01)

(87) PCT申请的公布数据

W02012/059818 EN 2012. 05. 10

C07C 57/03(2006. 01)

(71) 申请人 普罗诺瓦生物医药挪威公司

地址 挪威利萨克

(72) 发明人 R. 霍夫兰 T. 斯克杰雷特

D. A. 弗雷泽

权利要求书3页 说明书12页 附图4页

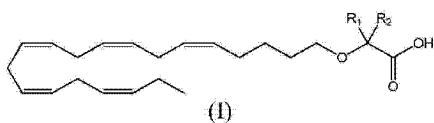
(54) 发明名称

使用脂质化合物的治疗方法

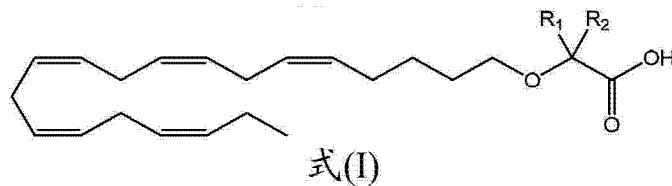
(57) 摘要

本发明公开了在有需要的个体中治疗或预防至少一种疾病或症状的方法,其包括给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐或酯,其中R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>独立选自氢原子或直链、支链和/或环状C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基,条件是R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>不都是氢。这些疾病或症状涉及冠心病(CHD;例如动脉粥样硬化)、代谢综合征/胰岛素抵抗、和/或血脂障碍病症(如高甘油三酯血症(HTG)、LDL-胆固醇升高、总胆固醇升高、Apo B升高及低HDL-胆固醇)。本发明进一步提供一种减缓动脉粥样硬化发展的方法,也公开了包含式(I)化合物的药物组合物。

CN 103347508 A



1. 一种在有需要的个体中治疗或预防至少一种疾病或症状的方法,其包括向该个体给药药学有效量的式(I)化合物:



或其药学上可接受的盐或酯,

其中  $R_1$  和  $R_2$  独立选自氢原子或直链、支链和 / 或环状  $C_1-C_6$  烷基,条件是  $R_1$  和  $R_2$  不都是氢。

2. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述化合物以对映异构体、非对映异构体或其混合物的形式存在。

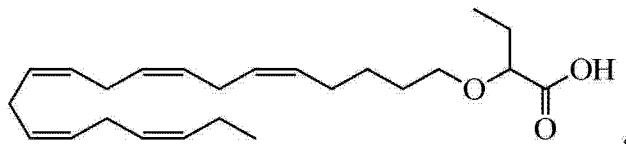
3. 根据权利要求 1 所述的方法,其中  $R_1$  和  $R_2$  选自氢、甲基、乙基、正丙基和异丙基。

4. 根据权利要求 2 所述的方法,其中所述化合物以其 R 构型存在。

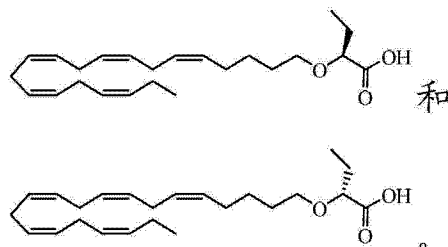
5. 根据权利要求 2 所述的方法,其中所述化合物以其 S 构型存在。

6. 根据权利要求 2 所述的方法,其中所述化合物以其外消旋体形式存在。

7. 根据权利要求 1 所述的方法,其中  $R_1$  是氢且  $R_2$  是乙基,所述分子式为



8. 根据权利要求 7 所述的方法,其中所述化合物以其下式所示的 S 和 / 或 R 构型存在:



9. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述至少一种疾病或症状选自动脉粥样硬化、外周胰岛素抵抗、糖尿病病症或血脂障碍病症。

10. 根据权利要求 9 所述的方法,其中所述至少一种疾病或症状是动脉粥样硬化。

11. 根据权利要求 10 所述的方法,其中降低了血液总胆固醇水平。

12. 根据权利要求 10 所述的方法,其中所述方法降低了动脉粥样硬化损伤的发生率。

13. 根据权利要求 9 所述的方法,其中所述至少一种疾病或症状选自外周胰岛素抵抗或糖尿病病症。

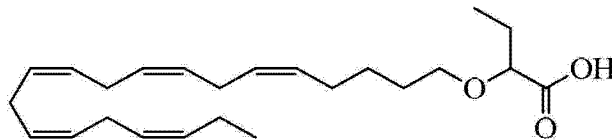
14. 根据权利要求 13 所述的方法,其中所述糖尿病病症是 II 型糖尿病。

15. 根据权利要求 9 所述的方法,其中所述至少一种疾病或症状是血脂障碍病症或血脂异常。

16. 根据权利要求 15 所述的方法,其中所述血脂障碍病症是混合型血脂异常。

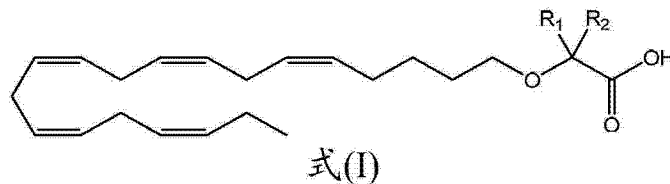
17. 根据权利要求 16 所述的方法,其中降低了甘油三酯水平。

18. 根据权利要求 16 所述的方法,其中增加了高密度脂蛋白 (HDL) 水平。
19. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述式 (I) 化合物的药学有效量每剂量介于约 10mg 至约 500mg 之间。
20. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述个体是人。
21. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述化合物每天给药 1 次。
22. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述化合物被配制成供口服给药的药物组合物。
23. 根据权利要求 22 所述的方法,其中所述药物组合物为明胶胶囊或片剂的形式。
24. 根据权利要求 23 所述的方法,其中所述药物组合物进一步包含至少一种粘合剂、赋形剂、稀释剂或其任意组合。
25. 根据权利要求 22 所述的方法,其中所述药物组合物进一步包含抗氧化剂。
26. 根据权利要求 25 所述的方法,其中所述抗氧化剂是生育酚或 BHA。
27. 一种在有需要的个体中减缓动脉粥样硬化发展的方法,其包括对所述个体给药药学有效量的 2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5, 8, 11, 14, 17-五烯-1-基氧基)丁酸:



或其药学上可接受的盐或酯。

28. 根据权利要求 27 所述的方法,其中所述 2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5, 8, 11, 14, 17-五烯-1-基氧基)丁酸的药学有效量每剂量介于约 10mg 至约 500mg 之间。
29. 根据权利要求 28 所述的方法,其中所述 2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5, 8, 11, 14, 17-五烯-1-基氧基)丁酸是每天给药 1 次。
30. 药学有效量的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐或酯用于在有需要的个体中治疗或预防至少一种疾病或症状的用途:



其中  $R_1$  和  $R_2$  独立选自氢原子或直链、支链和 / 或环状  $C_1-C_6$  烷基,条件是  $R_1$  和  $R_2$  不都是氢。

31. 根据权利要求 30 所述的用途,其中所述至少一种疾病或症状选自动脉粥样硬化、外周胰岛素抵抗、糖尿病病症或血脂障碍病症。
32. 根据权利要求 31 所述的用途,其中所述至少一种疾病或症状是动脉粥样硬化。
33. 根据权利要求 32 所述的用途,其中降低了血液总胆固醇水平。
34. 根据权利要求 32 所述的用途,其中降低了动脉粥样硬化损伤的发生率。
35. 根据权利要求 31 所述的用途,其中所述至少一种疾病或症状选自外周胰岛素抵抗或糖尿病病症。
36. 根据权利要求 35 所述的用途,其中所述糖尿病病症是 II 型糖尿病。

37. 根据权利要求 31 所述的用途,其中所述至少一种疾病或症状是血脂障碍病症或血脂异常。

38. 根据权利要求 37 所述的用途,其中所述血脂障碍病症是混合型血脂异常。

39. 根据权利要求 38 所述的用途,其中降低了甘油三酯水平。

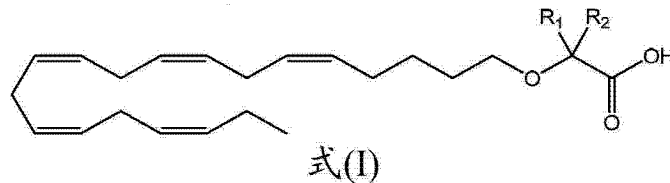
40. 根据权利要求 38 所述的用途,其中增加了高密度脂蛋白 (HDL) 水平。

## 使用脂质化合物的治疗方法

[0001] 本申请要求 2010 年 11 月 5 日提交的美国临时申请 No. 61/410, 445 的优先权, 其内容在此全部引入并作为参考。

[0002] 本发明涉及在有需要的个体中治疗至少一种疾病或症状的方法, 其包括对该个体给药药学有效量的式 (I) 化合物:

[0003]



[0004] 或其药学上可接受的盐或酯,

[0005] 其中  $R_1$  和  $R_2$  独立选自氢原子或直链、支链和 / 或环状  $C_1-C_6$  烷基, 条件是  $R_1$  和  $R_2$  不都是氢。这些疾病和 / 或症状可与如心血管功能、免疫功能和 / 或胰岛素作用有关。本发明也提供治疗动脉粥样硬化及降低和 / 或减缓动脉粥样硬化发展进程的方法。

[0006] 膳食多不饱和脂肪酸 (PUFA) (包括  $\omega-3$  脂肪酸) 对影响正常健康和慢性疾病的多种不同生理过程具有作用, 这些生理过程例如血脂水平、心血管和免疫功能、胰岛素作用、神经元发育及视觉功能的调控。

[0007]  $\omega-3$  脂肪酸 (如 (5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5, 8, 11, 14, 17-五烯酸 (EPA) 和 (4Z, 7Z, 10Z, 13Z, 16Z, 19Z)-二十二碳-4, 7, 10, 13, 16, 19-六烯酸 (DHA)) 调控血脂水平、心血管和免疫功能、胰岛素作用、神经元发育及视觉功能。已经发现  $\omega-3$  脂肪酸对心血管疾病 (例如高血压和高甘油三酯血症 (HTG)) 的风险因子以及凝血因子 VII 磷脂复合体活性具有有益功效。也发现  $\omega-3$  脂肪酸能降低血清甘油三酯、增加血清 HDL 胆固醇、降低收缩期和舒张期血压和 / 或脉搏率及降低凝血因子 VII- 磷脂复合体的活性。

[0008] 在人体内, 胆固醇和甘油三酯是血流中脂蛋白复合体的一部分, 该脂蛋白复合体可经离心分离成高密度脂蛋白 (HDL)、中密度脂蛋白 (IDL)、低密度脂蛋白 (LDL) 及极低密度脂蛋白 (VLDL) 部分。胆固醇和甘油三酯是由肝脏所合成, 并入 VLDL, 随后释出至血浆。以血液胆固醇和 / 或脂质值异常高为特征的病症包括高胆固醇血症、高脂血症 (高脂蛋白血症)、HTG 及混合型血脂异常。高水平的总胆固醇 (total-C)、LDL-C 及载脂蛋白 B100 (LDL 和 VLDL 的细胞膜复合体) 可促使人体发生冠心病 (CHD)。事实上, 国家胆固醇教育计划成人治疗组 III (National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP ATP III)) 的报告特别指出非 HDL 的胆固醇的降低是根本预防 CHD 的主要目的。

[0009] HDL-C 及其转运复合体 (载脂蛋白 A) 水平的降低也与 CHD 的发展有关。人体的心血管发病率和死亡率与总胆固醇和 LDL-C 的水平正相关且与 HDL-C 的水平负相关。

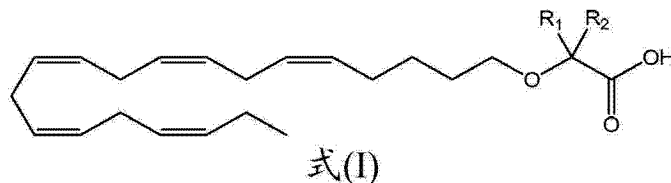
[0010] 诸如高 LDL/ 非 HDL 胆固醇、高甘油三酯血症 (HTG) 及低 HDL 胆固醇的因子是代谢综合征的特征, 该代谢综合征代表有源自代谢的脂质和非脂质 (如高血压) 风险因子的集合。代谢综合征与称为胰岛素抵抗 (其中胰岛素的正常作用受损) 的广义的代谢疾病紧密相关。国家胆固醇教育计划成人治疗组 III (NCEP ATP III) 建议: 处理与代谢综合征有关

的脂质和非脂质因子（如降低 HTG 和非 HDL 胆固醇）是根本预防 CHD 的次要治疗目的。

[0011] 已完全确立长链  $\omega$ -3 脂肪酸 EPA 和 DHA 可用于治疗 HTG, 并且对于与 CHD 有关的其它风险因子（诸如高血压和血栓形成前状态 (prothrombotic state)）能显现有益功效。然而,  $\omega$ -3 脂肪酸 EPA 和 DHA 对其它心血管风险因子（如 LDL）的生物学作用有限, 因此需要改善它们的生物学作用。数个研究组已对  $\omega$ -3 脂肪酸的化学修饰进行研究, 借以影响  $\omega$ -3 脂肪酸的生物学作用。参见如文献 Rossmeisl et al. (Obesity, Jan. 15, 2009)、Flock et al. (Acta Chemica Scandinavica, 53: 436, 1999) 及 Pitt et al. (Synthesis, 1240-42, 1997)。

[0012] 本发明一般涉及一种在有需要的个体中治疗或预防至少一种疾病或症状的方法, 其包括对所述个体给药药学有效量的式 (I) 化合物:

[0013]



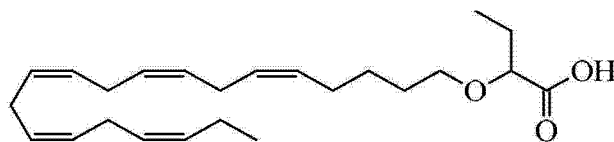
[0014] 或其药学上可接受的盐或酯,

[0015] 其中  $R_1$  和  $R_2$  独立选自氢原子或直链、支链和 / 或环状  $C_1$ - $C_6$  烷基, 条件是  $R_1$  和  $R_2$  不都是氢。

[0016] 在至少一个实施方案中, 所述至少一种疾病或症状选自动脉粥样硬化、外周胰岛素抵抗、糖尿病病症或血脂障碍病症。

[0017] 本发明包括一种在有需要的个体中减缓动脉粥样硬化发展的方法, 该方法包括对该个体给药药学有效量的 2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳 -5, 8, 11, 14, 17- 五烯 -1- 基氧基) 丁酸:

[0018]



[0019] 或其药学上可接受的盐或酯。

#### 附图说明

[0020] 图 1 显示经给药本发明的化合物 A (0.3 mmol/kg) 或 Omacor™ (3.3mmol/kg) 后, APOE\*3 莱顿 (Leiden) 小鼠的胆固醇和甘油三酯水平。

[0021] 图 2 显示经给药本发明的化合物 A 或非诺贝特后, APOE\*3 莱顿 CETP 小鼠的胆固醇和甘油三酯水平。

[0022] 图 3 显示经给药本发明的化合物 A 或非诺贝特后, APOE\*3 莱顿 CETP 小鼠的 HDL 水平。

[0023] 图 4 显示经给药本发明的化合物 A、非诺贝特或阴性对照后, APOE\*3 莱顿 CETP 小鼠的总胆固醇水平。

[0024] 图 5 显示经给药本发明的化合物 A、非诺贝特或阴性对照后, APOE\*3 莱顿 CETP 小

鼠的 HDL 水平。

[0025] 图 6 显示经给药本发明的化合物 A、非诺贝特或阴性对照后, APOE\*3 莱顿 CETP 小鼠的患病损伤的面积。

[0026] 图 7 显示经给药本发明的化合物 A、非诺贝特或对照后, APOE\*3 莱顿 CETP 小鼠的未患病损伤的面积。

[0027] 详述

[0028] 本发明的特别方面将更为详细地说明如下。本申请所使用且本文所阐述的术语和定义表示本发明之中的意义。

[0029] 除非本文另有指明, 单数形式的“一”、“一种(个)”及“该/此”包括复数的含义。

[0030] “近似”和“(大)约”表示与所提及的数字或数值几乎相同。通常理解的是, 本文所使用的“近似”和“(大)约”包括指定量、频率或数值的  $\pm 5\%$ 。

[0031] “治疗”、“处理”及“处置”包括能有益于人或非人哺乳动物的任何治疗应用。对人与兽的治疗皆包含于本发明的范围内。治疗可针对已有病症, 或可为预防性 (prophylactic, 即 preventative)。

[0032] 本文所使用的“给药”、“给予”及“施用”是指 (1) 由医疗执业医师或经其授权的代理人或根据其指示提供、给药、配药和 / 或开立处方本发明的化合物或组合物、及 (2) 由病人或个体本身或非人的哺乳动物纳入、摄取或消耗本发明的化合物或组合物。

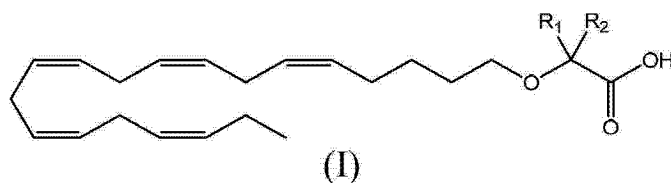
[0033] “药学有效量”表示足以达到所欲的药理和 / 或治疗功效的量 (即达到所需目的所公开化合物的有效量)。虽然各别个体 / 病患的需要可能不同, 但是所公开化合物有效量最佳范围的确定属于现有技术的范畴。通常, 使用本发明所公开的化合物以治疗疾病和 / 或病症的剂量方案可依据许多不同的因素加以决定, 这些因素例如该个体 / 病患的类型、年龄、体重、性别、饮食和 / 或医疗状态。

[0034] “药物组合物”表示适合医疗使用的任何形式的本发明的化合物。

[0035] 式 (I) 化合物可以各种不同的立体异构形式存在, 这些立体异构形式包括对映异构体、非对映异构体或其混合物。应理解, 本发明包含式 (I) 化合物的所有光学异构体及其混合物。因此, 以非对映异构体、外消旋体和 / 或对映异构体存在的式 (I) 化合物属于于本发明的范围。

[0036] 本发明包括一种在有需要的个体中治疗或预防至少一种疾病或症状的方法, 其包括对所述个体给药药学有效量的式 (I) 化合物:

[0037]



[0038] 或其药学上可接受的盐或酯,

[0039] 其中 R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 独立选自氢原子或直链、支链和 / 或环状 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基, 条件是 R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 不都为氢。

[0040] 在至少一个实施方案中, R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 选自氢、甲基、乙基、正丙基或异丙基。

[0041] 在至少一个实施方案中, 该化合物为各种不同的立体异构形式, 如对映异构体 (R

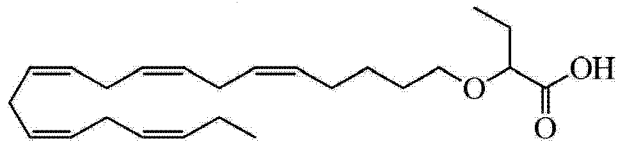
或 S)、非对映异构体或其混合物。

[0042] 在至少一个实施方案中,该化合物为外消旋形式。

[0043] 若式 (I) 化合物是具有至少一个立体产生中心的抗衡离子的盐或具有至少一个立体产生中心的醇的酯,则该化合物可能具有多个立体中心。在这些情况下,本发明的化合物可以非对映异构体存在。因此,在至少一个实施方案中,本发明的化合物以至少一种非对映异构体存在。

[0044] 在至少一个实施方案中,本发明的化合物是 2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5,8,11,14,17-五烯-1-基氧基)丁酸

[0045]



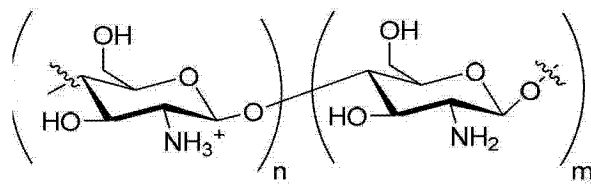
[0046] 在至少一个实施方案中,至少一种疾病或症状选自动脉粥样硬化、外周胰岛素抵抗、糖尿病病症或血脂障碍病症。

[0047] 在至少一个实施方案中,血液胆固醇水平降低,甘油三酯水平降低, HDL 水平升高和 / 或动脉粥样硬化损伤的发生率降低。

[0048] 例如如 PCT 申请案号 PCT/IB10/001251 (2010 年 5 月 7 日提交) 所描述的方法并依据下述的实施例 1 至 11, 可制备式 (I) 化合物。实施例 1 至 11 是例示性的, 且本领域技术人员应了解如何应用这些一般方法以获得式 (I) 范围内的其它化合物。本发明的化合物可为药学上可接受的盐或酯的形式。例如, 该式 (I) 化合物可呈酯的形式, 如磷脂、甘油三酯、1, 2-甘油二酯、1, 3-甘油二酯、1-甘油单酯或 2-甘油单酯。

[0049] 适合本发明的盐包括但不限于  $\text{NH}_4^+$ 、金属离子 (如  $\text{Li}^+$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  或  $\text{Ca}^{2+}$ )、经质子化的伯胺 (如叔丁铵、(3S, 5S, 7S)-金刚烷-1-铵、1, 3-二羟基-2-(羟甲基)丙-2-铵)、经质子化的氨基吡啶 (例如吡啶-2-铵)、经质子化的仲胺 (诸如二乙铵、2, 3, 4, 5, 6-五羟基-N-甲基己-1-铵、N-乙基萘-1-铵)、经质子化的叔胺 (如 4-甲基吗啉-4-铵) 及经质子化的胍 (如氨基((4-氨基-4-羧基丁基)氨基)甲亚铵 (methaniminium)) 或经质子化的杂环 (如 1H-咪唑-3-铵) 的盐。适当盐的其它实例包括经二质子化的仲胺 (如乙-1, 2-二铵或哌嗪-1, 4-二铵) 的盐。本发明的其它盐可包含经质子化的壳聚糖:

[0050]



[0051] 本发明提供在有需要的个体中治疗和 / 或预防至少一种疾病或症状的方法, 其包括对该个体给药药学有效量的式 (I) 化合物。该个体可为人或非人的哺乳动物。本发明的化合物可以药物 (如药物组合物) 的形式给药。

[0052] 本发明的组合物可包含至少一种式 (I) 化合物和任选地至少一种非活性药学成



分（即赋形剂）。非活性成分可使活性成分溶解、悬浮、增稠、稀释、乳化、稳定、防腐、保护、着色、芳香和 / 或成形 (fashion), 成为可给药且有效的制剂, 致使该制剂为安全、方便和 / 或在其他方面适用的制剂。赋形剂的实例包括但不限于溶剂、载剂、稀释剂、粘合剂、填充剂、甜味剂、芳香剂、pH 调节剂、粘度调节剂、抗氧化剂、增量剂、保湿剂、崩解剂、缓溶剂 (solution retarding agent)、加速吸收剂、湿润剂、吸附剂、润滑剂、着色剂、分散剂及防腐剂。赋形剂可具有一种以上的角色或功能或可被归类为一种以上的组 ; 归类仅用于说明而非限制性。在某些实施方案中, 例如, 所述至少一种赋形剂可选自玉米淀粉、乳糖、葡萄糖、微结晶纤维素、硬脂酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、柠檬酸、酒石酸、水、乙醇、甘油、山梨糖醇、聚乙二醇、丙二醇、鲸蜡硬脂醇、羧甲基纤维素或脂肪物质 (如硬脂肪) 或其适当的混合物。在某些实施方案中, 本发明的组合物包含至少一种式 (I) 化合物及至少一种药学上可接受的抗氧化剂 (如生育酚和 3-BHA)。

[0053] 本发明的组合物可配制成口服给药形式, 例如片剂或者软或硬明胶胶囊。该剂型可呈适合口服给药的任何形状, 诸如球形、卵形、椭圆形、立方体形、规则和不规则形状。可使用本领域技术人员公知的常规配制技术以调剂本发明的化合物。在某些实施方案中, 该组合物可呈明胶胶囊或片剂的形式。

[0054] 式 (I) 化合物的适当每日剂量可介于约 5mg 至约 3g。例如, 在某些实施方案中, 每日剂量介于约 5mg 至约 1g、约 10mg 至约 1g、约 10mg 至约 800mg、约 10mg 至约 600mg、约 10mg 至约 500mg、约 50mg 至约 500mg。在至少一个实施方案中, 每日剂量介于约 50mg 至约 500mg。该化合物每日可给药例如 1 次、2 次或 3 次。在至少一个实施方案中, 式 (I) 化合物的给药量介于约 10mg 至约 500mg/ 剂量。在至少一个实施方案中, 所述式 (I) 化合物每日给药 1 次。

[0055] 可给药本发明所公开的式 (I) 化合物以治疗和 / 或预防至少一种与冠心病 (CHD) 有关的疾病、症状或风险因子。例如, 在某些实施方案中, 至少一种疾病或症状选自动脉粥样硬化、外周胰岛素抵抗和 / 或糖尿病病症 (如 II 型糖尿病)、血脂障碍病症 (如高三酸甘油血症 (HTG)、总胆固醇升高、非 HDL 胆固醇升高、LDL- 胆固醇升高、Apo B 升高、低 HDL- 胆固醇、原发性高胆固醇血症 (杂合型家族性和非家族性)、混合型血脂异常 (Fredrickson IIa 和 IIb 型)、原发性异常  $\beta$ - 脂蛋白血症 (Fredrickson III 型))、代谢征候、肥胖症或超重症状 ; 以及脂肪肝疾病 (如非酒精性脂肪肝疾病 (NAFLD))。

[0056] 在至少一个实施方案中, 至少一种疾病或症状是动脉粥样硬化。例如, 本发明进一步涵盖一种降低和 / 或减缓动脉粥样硬化发展进程的方法。本发明的方法可例如在有需要的个体中降低血浆胰岛素、血液葡萄糖及血清甘油三酯中至少一者。本发明亦提供一种在有需要的个体中治疗和 / 或预防甘油三酯水平升高、VLDL/LDL 胆固醇水平升高及低 HDL 胆固醇水平中至少一者的方法。

[0057] 本申请发明人已发现式 (I) 化合物 (如 2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)- 二十碳-5, 8, 11, 14, 17- 五烯-1- 基氧基) 丁酸) 具有显著良好的药学活性。与天然存在的  $\omega$ -3 脂肪酸 (如 EPA 和 DHA) 相比较, 本发明的式 (I) 化合物可显现改良的生物活性。

[0058] 例如在某些实施方案中, 与其它降低胆固醇的药剂 (例如非诺贝特) 相比较, 式 (I) 化合物可显现相当或更高的生物活性, 且不显现与贝特类有关的副作用 (如肌病、胆结石及消化不良)。

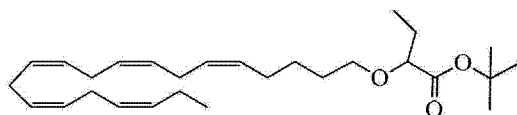
## 实施例

[0059] 本发明可由下述非限制性实施例进一步说明,且在這些实施例中可适当地使用本领域技术人员所熟知的标准技术和类似于这些实施例所描述的技术。应理解,本领域技术人员应当能想象与本发明一致的其它实施方案。

[0060] 除非另有说明,在室温(通常介于 18-25° C)使用无水条件下的 HPLC 级溶剂来进行反应。在真空下由旋转蒸发进行蒸发。通过硅胶快速色谱操作以实施柱色谱。使用 Bruker Avance DPX200 或 300 仪器以记录核磁共振(NMR)位移值,其中峰的多重性描述如下:s,单峰;d,双重峰;dd,双重双峰;t,三重峰;q,四重峰;p,五重峰;m,多重峰;br,宽峰。使用可切换正负离子化模式的 G1956A 质谱仪(电喷雾,3000V)以记录质谱。所报告的产率是例示性的,不必然表示所能得到的最大产率。

[0061] 实施例 1:制备 2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5, 8, 11, 14, 17-五烯-1-基氧基)丁酸叔丁酯:

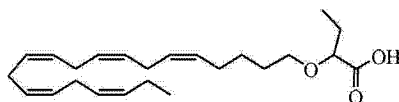
[0062]



[0063] 在常温和氩气下将四丁基氯化铵(0.55g, 1.98mmol)加入至((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5, 8, 11, 14, 17-五烯-1-醇(3.50g, 12.1mmol)的甲苯(35ml)溶液中。在室温和剧烈搅拌下加入氢氧化钠水溶液(50%(w/w)-11.7ml),随后加入 2-溴丁酸叔丁酯(5.41g, 24.3mmol)。所得混合物经加热至 50° C 并分别经 1.5、3.5 及 4.5 小时后各加入另一份 2-溴丁酸叔丁酯(2.70g, 12.1mmol)且总计搅拌 12 小时。经冷却至室温后,加入冰水(25ml)并使所得两相分离。有机相经 NaOH(5%)与盐水的混合物冲洗,干燥(MgSO<sub>4</sub>),过滤并浓缩。将残余物经硅胶快速色谱(其中使用庚烷和乙酸乙酯(100:0 → 95:5)的极性渐增的混合物作为洗脱液)纯化。浓缩适当级分,得到 1.87g 油状的标题化合物(36%产率)。<sup>1</sup>H NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.85-1.10(m, 6H), 1.35-1.54(m, 11H), 1.53-1.87(m, 4H), 1.96-2.26(m, 4H), 2.70-3.02(m, 8H), 3.31(dt, 1H), 3.51-3.67(m, 2H), 5.10-5.58(m, 10H)。

[0064] 实施例 2:制备 2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5, 8, 11, 14, 17-五烯基氧基)丁酸(化合物 A):

[0065]

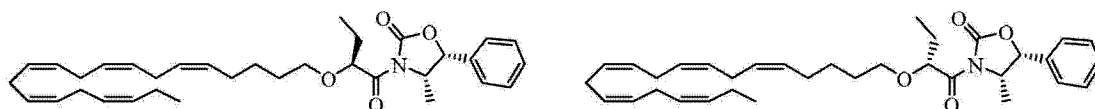


[0066] 将 2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5, 8, 11, 14, 17-五烯-1-基氧基)丁酸叔丁酯(19.6g, 45.5mmol)溶解于二氯甲烷(200ml)中并置于氮气下。加入三氟乙酸(50ml),并将反应混合物在室温搅拌 1 小时。加入水并用二氯甲烷萃取水相 2 次。将合并的有机萃取液经盐水冲洗,干燥(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>),过滤并浓缩。将残余物经硅胶快速色谱(其中使用庚烷、乙酸乙酯及甲酸(90:10:1 → 80:20:1)的极性渐增的混合物作为洗脱液)。浓缩适当级分,得到 12.1g 油状的标题化合物(71%产率)。<sup>1</sup>H-NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.90-1.00(m, 6H), 1.

50 (m, 2H), 1.70 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 2.10 (m, 4H), 2.80-2.90 (m, 8H), 3.50 (m, 1H), 3.60 (m, 1H), 3.75 (t, 1H), 30-5.50 (m, 10H); MS (电喷雾) 373.2 [M-H]<sup>-</sup>。

[0067] 实施例 3: 制备 (4S, 5R)-3-((S)-2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5, 8, 11, 14, 17-五烯基氧基)丁酰基)-4-甲基-5-苯基噁唑烷-2-酮和 (4S, 5R)-3-((R)-2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5, 8, 11, 14, 17-五烯基氧基)丁酰基)-4-甲基-5-苯基噁唑烷-2-酮:

[0068]



[0069] 将 DMAP (1.10g, 8.90mmol) 和 DCC (1.90g, 9.30mmol) 加入至维持于 0°C 和氮气下的 2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5, 8, 11, 14, 17-五烯基氧基)丁酸 (3.20g, 8.50mmol) 的干燥二氯甲烷 (100ml) 混合物中。将所得混合物在 0°C 搅拌 20 分钟。加入 (4S, 5R)-甲基-5-苯基噁唑烷-2-酮 (1.50g, 8.50mmol) 并将所得混浊混合物在常温搅拌 5 天。将该混合物过滤并减压下浓缩得到粗产物, 其含有呈两种非对映异构体的混合物的所需产物。将残余物经硅胶快速色谱 (其中使用 15% 的乙酸乙酯庚烷溶液作为洗脱液) 纯化。将该两种非对映异构体分离, 并浓缩适当级分。首先洗脱出并得到的是 1.1g 油状的 (4S, 5R)-3-((S)-2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5, 8, 11, 14, 17-五烯基氧基)丁酰基)-4-甲基-5-苯基噁唑烷-2-酮 (40% 产率)。得到 0.95g 油状的 (4S, 5R)-3-((R)-2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5, 8, 11, 14, 17-五烯基氧基)丁酰基)-4-甲基-5-苯基噁唑烷-2-酮 (34% 产率)。

[0070] (4S, 5R)-3-((S)-2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5, 8, 11, 14, 17-五烯基氧基)丁酰基)-4-甲基-5-苯基噁唑烷-2-酮 (E1):

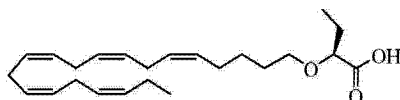
[0071] <sup>1</sup>H-NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 0.90 (d, 3H), 1.00 (t, 3H), 1.07 (t, 3H), 1.45-1.57 (m, 2H), 1.62-1.76 (m, 3H), 1.85-1.95 (m, 1H), 2.05-2.15 (m, 4H), 2.87 (m, 8H), 3.39 (m, 1H), 3.57 (m, 1H), 4.85-4.92 (m, 2H), 5.30-5.45 (m, 10H), 5.75 (d, 1H), 7.32 (m, 2H), 7.43 (m, 3H)。

[0072] (4S, 5R)-3-((R)-2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5, 8, 11, 14, 17-五烯基氧基)丁酰基)-4-甲基-5-苯基噁唑烷-2-酮 (E2):

[0073] <sup>1</sup>H-NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 0.98 (d, 3H), 0.99 (t, 3H), 1.08 (t, 3H), 1.40-1.52 (m, 2H), 1.55-1.75 (m, 3H), 1.80-1.90 (m, 1H), 2.05-2.15 (m, 4H), 2.84 (m, 8H), 3.39 (m, 1H), 3.56 (m, 1H), 4.79 (pent, 1H), 4.97 (dd, 1H), 5.30-5.45 (m, 10H), 5.71 (d, 1H), 7.33 (m, 2H), 7.43 (m, 3H)。

[0074] 实施例 4: 制备 (S)-2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5, 8, 11, 14, 17-五烯基氧基)丁酸 (化合物 B):

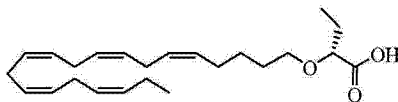
[0075]



[0076] 将过氧化氢 (35% 水溶液, 0.75ml, 8.54mmol) 和氢氧化锂单水合物 (0.18g, 4.27mmol) 加入至维持于 0° C 和氮气下的 (4S, 5R)-3-((S)-2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳 -5, 8, 11, 14, 17-五烯基氧基) 丁酰基)-4-甲基-5-苯基噁唑烷-2-酮 (1.10g, 2.13mmol) 在四氢呋喃 (12ml) 和水 (4ml) 中的溶液中。将反应混合物于 0° C 搅拌 30 分钟。加入 10%Na<sub>2</sub>SO<sub>3(aq)</sub> (30ml), 使用 2M HCl 将 pH 调整至约 2 并将该混合物庚烷 (30ml) 萃取 2 次。将合并的有机萃取物干燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 过滤并浓缩。将残余物进行硅胶快速色谱 (其中使用庚烷和乙酸乙酯 (98:8 → 1:1) 的极性渐增的混合物作为洗脱液)。浓缩适当级分, 得到 0.48g 油状的标题化合物 (60% 产率)。<sup>1</sup>H-NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 0.90-1.00(m, 6H), 1.48(m, 2H), 1.65(m, 2H), 1.85(m, 2H), 2.10(m, 4H), 2.80-2.90(m, 8H), 3.55(m, 1H), 3.60(m, 1H), 3.88(t, 1H), 5.35-5.45(m, 10H); MS(电喷雾): 373.3[M-H]<sup>-</sup>; [□]<sub>p</sub>+37° (c=0.104, 乙醇)。

[0077] 实施例 5: 制备 (R)-2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳 -5, 8, 11, 14, 17-五烯基氧基) 丁酸 (化合物 C):

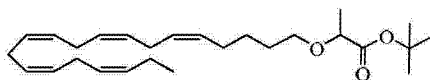
[0078]



[0079] 将过氧化氢 (35% 水溶液, 0.65ml, 7.37mmol) 和氢氧化锂单水合物 (0.15g, 3.69mmol) 加入至维持于 0° C 和氮气下的 (4S, 5R)-3-((R)-2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳 -5, 8, 11, 14, 17-五烯基氧基) 丁酰基)-4-甲基-5-苯基噁唑烷-2-酮 (0.95g, 1.84mmol) 在四氢呋喃 (12ml) 和水 (4ml) 中的溶液中。将反应混合物于 0° C 搅拌 30 分钟。加入 10%Na<sub>2</sub>SO<sub>3(aq)</sub> (30ml), 使用 2M HCl 将 pH 调整至约 2 并将该混合物庚烷 (30ml) 萃取 2 次。将合并的有机萃取物干燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 过滤并浓缩。将残余物进行硅胶快速色谱 (其中使用庚烷和乙酸乙酯 (98:8 → 50:50) 的极性渐增的混合物作为洗脱液)。浓缩适当级分, 得到 0.19g 油状的标题化合物 (29% 产率)。<sup>1</sup>H-NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 0.90-1.00(m, 6H), 1.48(m, 2H), 1.65(m, 2H), 1.85(m, 2H), 2.10(m, 4H), 2.80-2.90(m, 8H), 3.55(m, 1H), 3.60(m, 1H), 3.88(t, 1H), 5.35-5.45(m, 10H); MS(电喷雾): 373.3[M-H]<sup>-</sup>; [□]<sub>p</sub>-31° (c=0.088, 乙醇)。

[0080] 实施例 6: 制备 2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳 -5, 8, 11, 14, 17-五烯基氧基) 丙酸叔丁酯:

[0081]

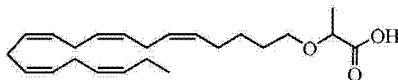


[0082] 将 (5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳 -5, 8, 11, 14, 17-五烯-1-醇 (1.00g, 3.47mmol)、四丁基氯化铵 (0.24g, 0.87mmol) 及溴丙酸叔丁酯 (3.62g, 17.3mmol) 的混合物溶解于甲苯 (36ml) 中并置于氮气下。在剧烈搅拌下缓慢加入氢氧化钠水溶液 (50%, 8ml) 并将所得混合物在常温经搅拌 20 小时。加入水并将混合物用乙醚萃取 3 次。将合并的有机萃取物盐水冲洗, 干燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 过滤并浓缩。将残余物经硅胶快速色谱 (其中使用 2% 的乙酸乙酯庚烷溶液作为洗脱液) 纯化。浓缩适当级分, 得到 1.40g 油状的标题化合物 (90%

产率)。<sup>1</sup>H-NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 0.95(t, 3H), 1.41(d, 3H), 1.48(s, 9H), 1.48-1.66(m, 4H), 2.05(m, 4H), 2.83(m, 8H), 3.35(m, 1H), 3.55(m, 1H), 3.79(q, 1H), 5.32-5.44(m, 10H)。

[0083] 实施例 7: 制备 2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5, 8, 11, 14, 17-五烯基氧基)丙酸:

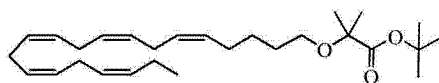
[0084]



[0085] 将三氟乙酸(2ml)加入至保持于氮气下的 2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5, 8, 11, 14, 17-五烯基氧基)丙酸酯(1.40g, 3.36mmol)的二氯甲烷(10ml)溶液中并将反应混合物在室温搅拌 3 小时。加入乙醚(50ml)并将有机相经水(30ml)冲洗,干燥(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)并浓缩。将残余物进行硅胶快速色谱(其中使用庚烷、乙酸乙酯及甲酸(95:5:0.25 → 80:20:1)的极性渐增的混合物作为洗脱液)。浓缩适当级分,得到略微不纯的产物(0.67g)。将该产物溶解于庚烷(15ml)中并经水(5ml)冲洗 3 次,干燥(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>),过滤并浓缩得到 0.50g 油状的标题化合物(41%产率)。<sup>1</sup>H-NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 0.99(t, 3H), 1.40-1.48(m, 5H), 1.67(m, 2H), 2.09(m, 4H), 2.80-2.60(m, 8H), 3.53(m, 2H), 4.01(q, 1H), 5.31-5.47(m, 10H); MS(电喷雾): 359.2[M-H]<sup>-</sup>。

[0086] 实施例 8: 制备 2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5, 8, 11, 14, 17-五烯基氧基)-2-甲基丙酸叔丁酯:

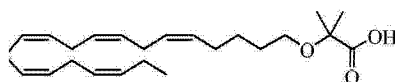
[0087]



[0088] 将(5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5, 8, 11, 14, 17-五烯-1-醇(0.83g, 3.14mmol)、四丁基氯化铵(0.24g, 0.85mmol)及溴异丁酸叔丁酯(3.50g, 15.7mmol)的混合物溶解于甲苯(15ml)中并置于氮气下。在室温和剧烈搅拌下缓慢加入氢氧化钠水溶液(50%, 5ml)。将所得混合物加热至 60°C 并搅拌 6 小时。将该混合物冷却,加入水并经乙醚萃取 3 次。将合并的有机萃取物盐水冲洗,干燥(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>),过滤并浓缩。将残余物经硅胶快速色谱(其中使用 5-10% 的乙酸乙酯庚烷溶液作为梯度洗脱液)纯化。浓缩适当级分,得到 0.60g 油状的标题化合物(44%产率)。MS(电喷雾) 453.3[M+Na]<sup>+</sup>。

[0089] 实施例 9: 制备 2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5, 8, 11, 14, 17-五烯基氧基)-2-甲基丙酸:

[0090]

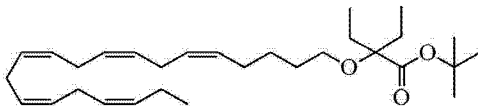


[0091] 将三氟乙酸(5ml)加入至置于氮气下的 2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5, 8, 11, 14, 17-五烯基氧基)-2-甲基丙酸叔丁酯(600mg, 1.39mmol)的二氯甲烷(20ml)溶液中,并将反应混合物于室温搅拌 2 小时。加入水并将水相经二氯甲烷萃取 2 次。将合并的有机萃取液经盐水冲洗,干燥(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>),过滤并浓缩。将残余物经硅胶快速色谱(其中使用庚烷、乙酸乙酯及甲酸(80:20:1)的混合物作为洗脱液)纯化。浓缩适当级分并将残余物(135mg)再经硅胶快速色谱(其中使用乙酸乙酯和甲酸(95:5)的混合物在庚烷

中的 5-10% 溶液作为梯度洗脱液) 纯化。浓缩适当级分, 得到略微不纯的产物 (80mg)。将该产物溶解于庚烷 (5ml) 中并经水 (5ml) 冲洗 2 次, 干燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 过滤并浓缩得到 40m 油状的标题化合物 (8% 产率)。 $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.99 (t, 3H), 1.47 (s, 6H), 1.64 (m, 2H), 2.07 (m, 4H), 2.81-2.88 (m, 8H), 3.46 (t, 2H), 5.29-5.44 (m, 10H); MS (电喷雾): 373.3  $[\text{M-H}]^-$ 。

[0092] 实施例 10: 制备 2-乙基-2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5, 8, 11, 14, 17-五烯-1-基氧基) 丁酸叔丁酯:

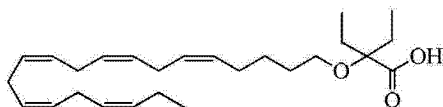
[0093]



[0094] 将 2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5, 8, 11, 14, 17-五烯-1-基氧基) 丁酸叔丁酯 (480mg, 1.11mmol) 经 30 分钟逐滴加入至维持于  $-70^\circ\text{C}$  和氮气下的二异丙基胺基锂 (LDA) (2.0M, 750  $\mu\text{L}$ , 1.50mmol) 的无水四氢呋喃 (10ml) 溶液中。将反应混合物搅拌 30 分钟。一次性加入乙基碘 (312mg, 2.00mmol) 并将所得混合物经 1 小时升温至常温。将反应混合物在常温搅拌 17 小时。将该混合物倒入至饱和  $\text{NH}_4\text{Cl}_{(\text{aq})}$  (50ml) 中并经庚烷 (2x50ml) 萃取。将合并的有机相连续经盐水 (50ml)、0.25M  $\text{HCl}$  (50ml) 及盐水 (50ml) 冲洗, 干燥 ( $\text{MgSO}_4$ ), 过滤并浓缩。将残余物经硅胶快速色谱 (其中使用庚烷和乙酸乙酯 (100:0  $\rightarrow$  95:5) 的极性渐增的混合物作为洗脱液) 纯化。浓缩适当级分, 得到 343mg 油状的标题化合物 (67% 产率)。 $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.84 (t, 6H), 0.99 (td, 3H), 1.35 - 1.55 (m, 11H), 1.54 - 1.69 (m, 2H), 1.68 - 1.87 (m, 4H), 1.99 - 2.24 (m, 4H), 2.74 - 2.99 (m, 8H), 3.31 (t, 2H), 5.23 - 5.52 (m, 10H); MS (电喷雾): 401.3  $[\text{M-1}]^-$ 。

[0095] 实施例 11: 制备 2-乙基-2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5, 8, 11, 14, 17-五烯-1-基氧基) 丁酸:

[0096]

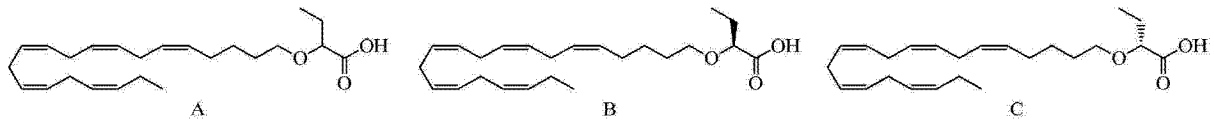


[0097] 将甲酸 (5ml) 和 2-乙基-2-((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-二十碳-5, 8, 11, 14, 17-五烯-1-基氧基) 丁酸叔丁酯 (250mg, 0.55mmol) 的混合物在室温和氮气下经剧烈搅拌 4.5 小时。于真空下除去该甲酸。将残余物经硅胶快速色谱 (其中使用庚烷和乙酸乙酯 (100:0  $\rightarrow$  80:20) 的极性渐增的混合物作为洗脱液) 纯化。浓缩适当级分, 得到 163mg 油状的标题化合物 (74% 产率)。 $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.86 (t, 6H), 0.99 (t, 3H), 1.36 - 1.57 (m, 2H), 1.68 (dd, 2H), 1.73 - 1.98 (m, 4H), 2.11 (tt, 4H), 2.70 - 3.01 (m, 8H), 3.39 (t, 2H), 5.20 - 5.56 (m, 10H)。MS (电喷雾): 481.4  $[\text{M+Na}]^+$ 。

[0098] 实施例 12: 评估活体外 PPAR 的活化

[0099] 一式两份测试 6 种不同浓度的化合物 (A) 至 (C) 及阳性对照:

[0100]



[0101] 阳性对照为 GW7647 (PPAR  $\alpha$ )、GW501516 (PPAR  $\delta$ ) 及罗格列酮 (PPAR  $\gamma$ )。这些对照组的功效设定为 100%。

[0102] 测定在体外进行,其中采用哺乳动物  $\alpha$ -1-杂化测定 (M1H),包括在瞬时转染 HEK293 细胞中的 GAL4-DNA 结合域-PPAR-LBD 融合构建体连同 5xGAL4-位点驱动的北美萤火虫 (*Photinus pyralis*) 萤光素酶报道构建体。将细胞转染 4-6 小时,生长过夜,然后加入化合物。化合物孵育为 16-20 小时。包括组成型启动子驱动的海肾萤光素酶 (*Renilla reniformis luciferase*) 作为内部对照,以改善实验准确性。结果示于表 1。

[0103] 表 1:活体外 PPAR 的活化

[0104]

化合物	PPAR $\alpha$		PPAR $\delta$		PPAR $\gamma$	
	EC <sub>50</sub>	功效	EC <sub>50</sub>	功效	EC <sub>50</sub>	功效
阳性对照组	0.45nM	100%	0.33nM	100%	22nM	100%
A	307nM	82%	未活化	未活化	806nM	22%
B	405nM	86%	未活化	未活化	644nM	27%
C	167nM	54%	未活化	未活化	515nM	25%

[0105] 实施例 13:在血脂异常小鼠模型 (APOE\*3 莱顿 (Leiden) 转基因小鼠) 中评价对体内脂质代谢的作用

[0106] 已经证实血脂异常小鼠模型在血浆脂蛋白水平和其对降血脂药 (例如他汀类药物 (statins) 和贝特类药物 (fibrates)) 的应答以及营养干预方面代表了人的情况。此外,取决于血浆胆固醇水平, APOE\*3 莱顿小鼠在主动脉中发展出动脉粥样硬化损伤,该损伤与在人中发现的那些损伤在细胞组成以及形态学和免疫组织化学特性方面类似。

[0107] 向雌性 APOE\*3 莱顿小鼠给药半合成西式膳食 (WTD, 15% 可可脂, 40% 蔗糖和 0.25% 胆固醇;均是重量比)。在该膳食下,血浆胆固醇水平温和地达到约 12-15mmol/l 的升高水平。4 周的该膳食时段之后,将小鼠再分为几组,每组 10 只小鼠,比较血浆胆固醇、甘油三酯和体重 (t=0)。

[0108] 将测试物质与上述西式膳食的混合物口服给药。为了促进化合物的混合,加入向日葵油,总油体积为 10mL/kg 膳食。以 0.3mmol/kg bw/天测试上述实施例 2 的化合物 (A)。在 3.3mmol/kg bw/天下测试参考化合物 Q-3 脂肪酸乙酯 (Omacor<sup>TM</sup>/Lovaza<sup>TM</sup>)。于 t=0 和第 4 周时,经饥饿 4 小时后采集血液样本以测量血浆胆固醇和甘油三酯。结果示于图 1。

[0109] 实施例 14:在血脂异常小鼠模型 (APOE\*3 莱顿 CETP 转基因小鼠) 中评价对体内脂质代谢的作用

[0110] APOE\*3 莱顿 CETP 转基因小鼠是一种将人胆固醇酯转移蛋白引入 APOE\*3 莱顿转基因小鼠中的模型。这得到更类似于人的脂蛋白分布,并且非常好地适用于测试药物对血浆 HDL 和甘油三酯水平的作用。

[0111] 向雌性 APOE\*3 莱顿 CETP 小鼠给药半合成改良西式膳食 (0.15% 胆固醇和 15% 饱和脂肪, 均是重量比)。在该膳食下, 血浆胆固醇水平温和地达到约 13-15mmol/l 的升高水平并达到约 3mmol/l 的甘油三酯水平。4 周的喂养期之后, 将小鼠再分为几组, 每组 6 只小鼠, 主要比较血浆胆固醇、甘油三酯和体重, 其次比较 HDL-胆固醇 ( $t=0$ )。

[0112] 将测试物质与所述西式膳食的混合物口服给药。在  $t=0$  和 4 周时, 在 4 小时禁食之后采血样用于测量血浆胆固醇、HDL-胆固醇和甘油三酯。

[0113] 实施例 2 的化合物 (A) 按 0.18mmol/kg 体重 / 天进行测试。参照物 (非诺贝特) 按 10mg/kg 体重 / 天进行测试。

[0114] 结果示于图 2 和 3 中。

[0115] 实施例 15 : 在小鼠模型 (APOE\*3 莱顿 CETP 转基因小鼠) 中评价对体内动脉粥样硬化发展的作用

[0116] 已经证实 APOE\*3 莱顿 CETP 转基因小鼠在血浆脂蛋白水平和其对降血脂药 (例如他汀类药物和贝特类药物等) 的应答以及营养干预方面代表了人的情况。APOE\*3 莱顿 CETP 小鼠在主动脉中发展出动脉粥样硬化损伤, 该损伤与在人中发现的那些损伤在细胞组成以及形态学和免疫组织化学特性方面类似。

[0117] 向雌性 APOE\*3 莱顿 CETP 小鼠给药含 0.15% 胆固醇和 15% 饱和脂肪的西式膳食 (WTD); 导致血浆胆固醇水平达到约 13-15mM。3 周的该西式膳食时段之后, 将小鼠再分为 4 组, 每组 15 只小鼠: 对照 (未进行治疗) 组、前述实施例 2 的化合物 A 组、非诺贝特组和低胆固醇膳食组。在 4 小时禁食之后 ( $t=0$ ) 比较这些组的体重、血浆总胆固醇 (TC)、HDL 胆固醇 (HDL-C) 和甘油三酯 (TG)。

[0118] 将测试物质与所述西式膳食的混合物口服给药。为了促进化合物的混合, 加入向日葵油至总油体积为 10mL/kg 膳食。化合物 (A) 最初按 0.1mmol/kg 体重 / 天测试, 在第 4 周时降至 0.04mmol/kg 体重 / 天进行测试。最初剂量基于在先的剂量调查研究, 以建立会使 VLDL/LDL 胆固醇降低 25-30% 的所需剂量。

[0119] 非诺贝特的剂量最初是 10mg/kg 体重 / 天, 而后降至 4.2mg/kg 体重 / 天, 以与化合物 A 导致的 VLDL/LDL 胆固醇降低成正比。

[0120] 在  $t=0$  和  $t=17$  周时, 在 4 小时禁食期之后采血样用于测量血浆胆固醇和甘油三酯。在处死动物时评定在主动脉根部的动脉粥样硬化发展 (总损伤面积)。

[0121] 总胆固醇 (mM)、HDL 胆固醇 (mM)、损伤面积 ( $\mu\text{m}^2*1000$ ) 及未患病的区域 (%) 的结果分别示于图 4、5、6 及 7。

[0122] 如示于图 4 和 5, 与对照组相比较, 化合物 (A) 能显著地降低总胆固醇 ( $p<0.001$ ) 并显著地增加 HDL 胆固醇 ( $p<0.003$ )。与对照组相比较, 化合物 (A) 也显著地降低损伤面积 ( $p<0.003$ ) 和未患病的区域 ( $p<0.003$ ) (图 6 和 7)。

[0123] 这些结果提示: 对 APOE\*3 莱顿 CETP 转基因小鼠, 化合物 (A) 能有利地影响脂质分布并抑制动脉粥样硬化的发展。



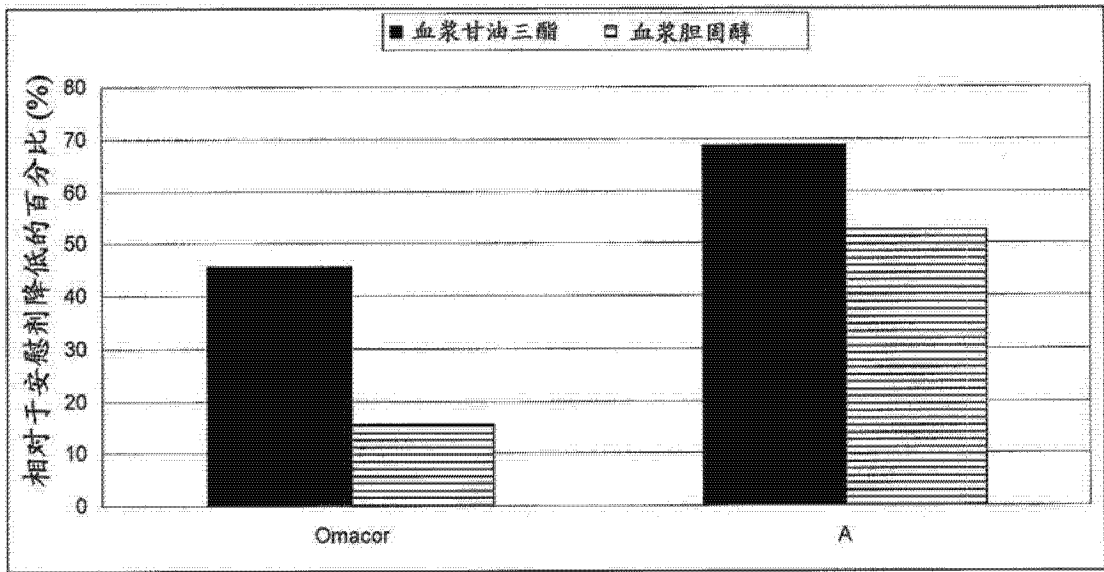


图 1

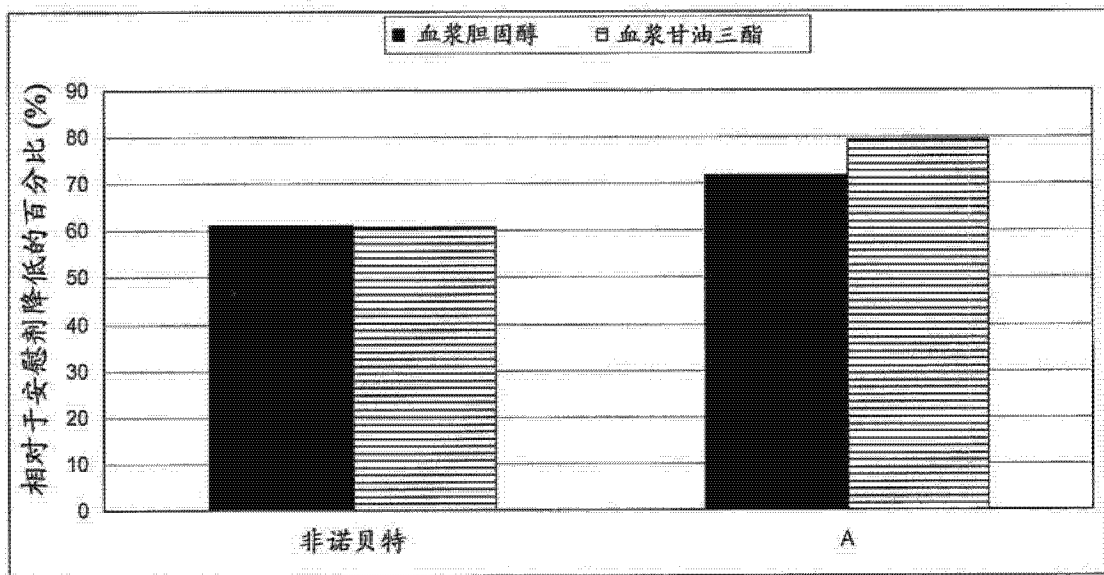


图 2

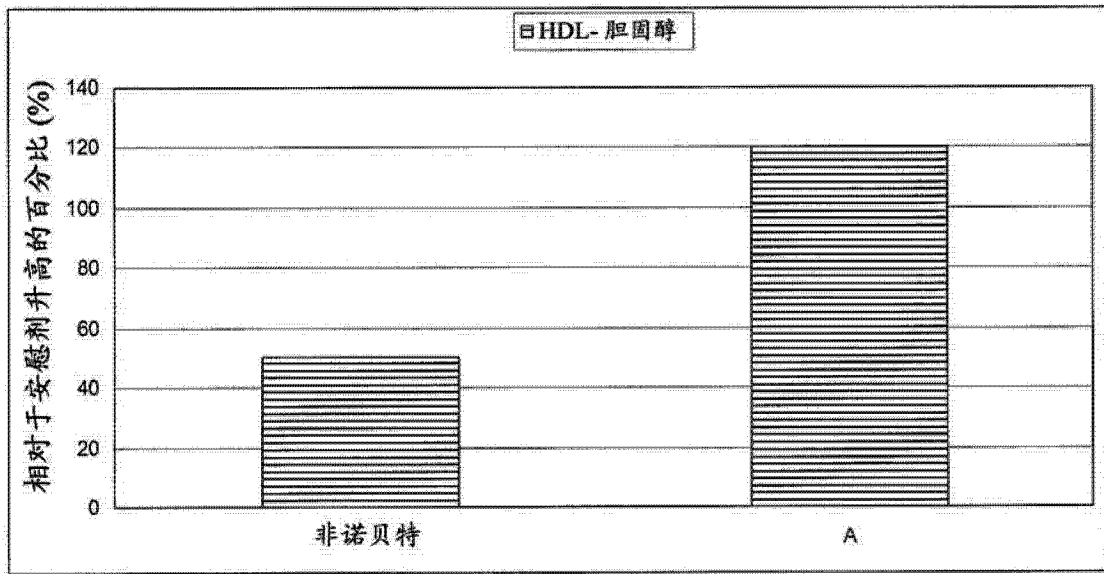


图 3

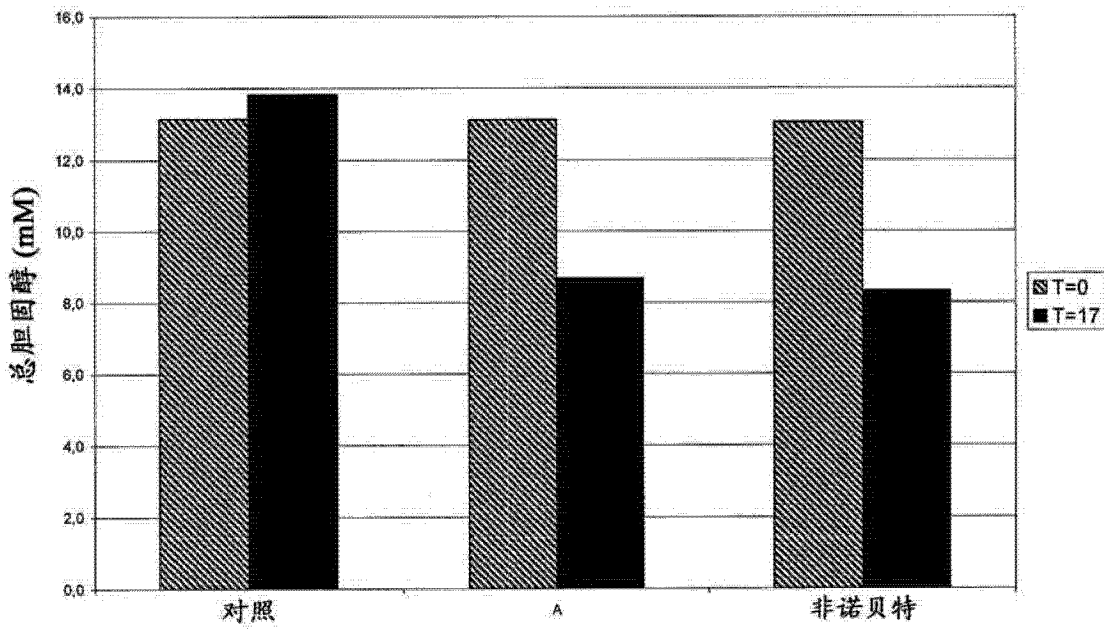


图 4

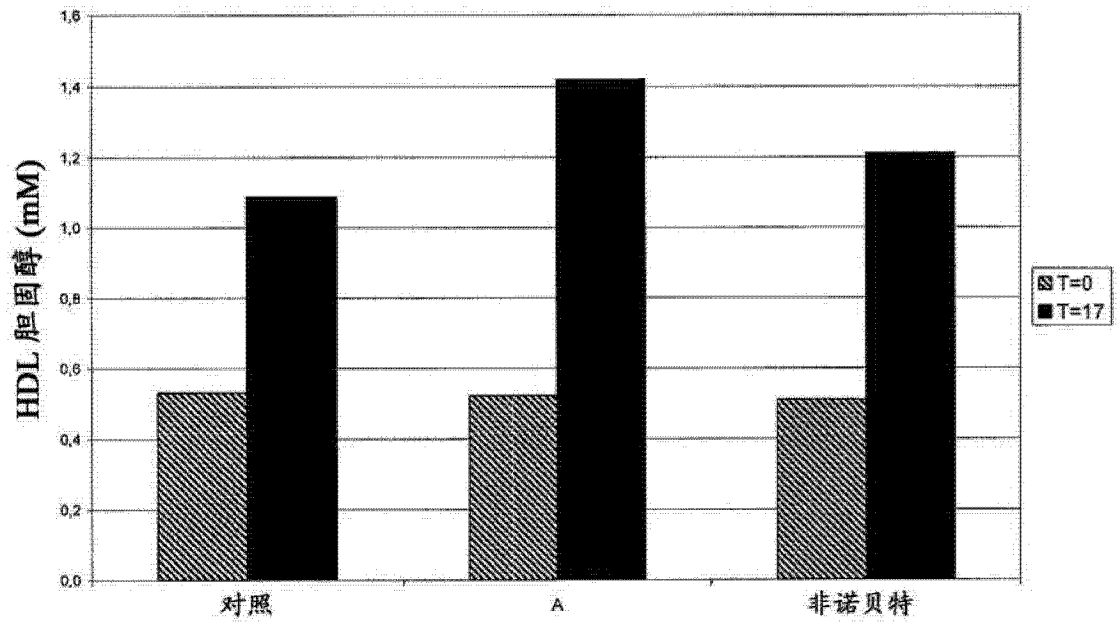


图 5

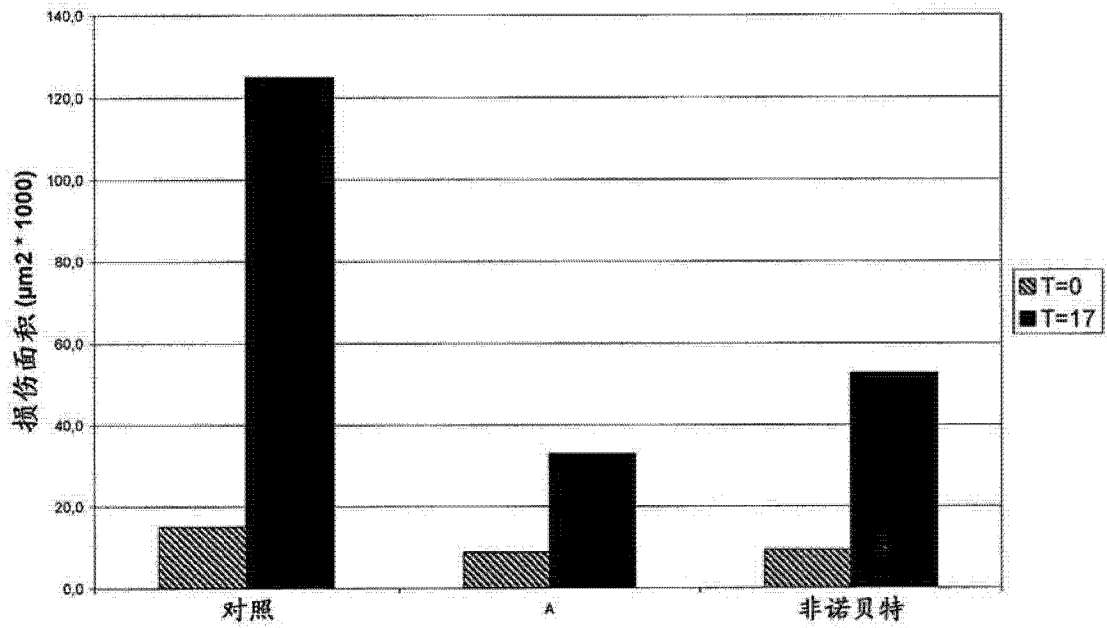


图 6

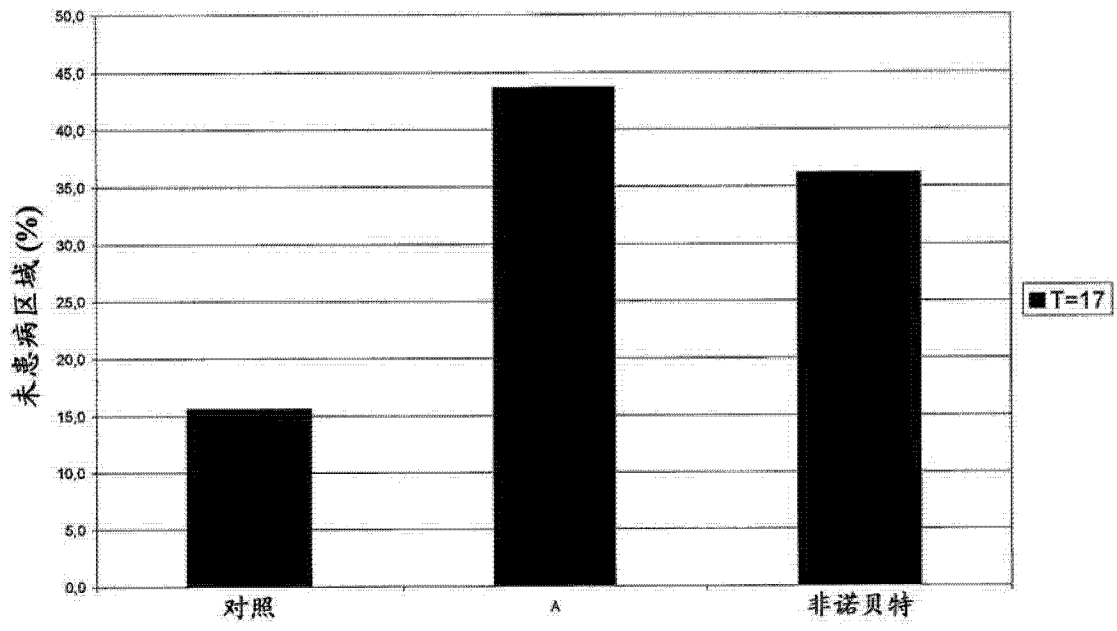


图 7