



## (12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106999456 B

(45)授权公告日 2020.07.10

(21)申请号 201580058623.7

(22)申请日 2015.10.08

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 106999456 A

(43)申请公布日 2017.08.01

(30)优先权数据

62/062597 2014.10.10 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2017.04.27

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/CA2015/000540 2015.10.08

(87)PCT国际申请的公布数据

W02016/054728 EN 2016.04.14

(73)专利权人 里米诺生物科学有限公司

地址 英国剑桥

(72)发明人 L·加尼翁 B·格劳克斯

(74)专利代理机构 北京泛华伟业知识产权代理

有限公司 11280

代理人 郭广迅

(51)Int.Cl.

A61K 31/192(2006.01)

A61P 19/08(2006.01)

A61P 19/10(2006.01)

C07C 57/30(2006.01)

C07C 57/42(2006.01)

C07C 59/84(2006.01)

C07C 59/88(2006.01)

C07C 59/90(2006.01)

(56)对比文件

CN 103347509 A, 2013.10.09,

WO 2006124662 A1, 2006.11.23,

ANNA LUBKOWSKA等. Adiponectin as a

Biomarker of Osteoporosis in

Postmenopausal Women: Controversies.

《DISEASE MARKERS》. 2014,

CELSE MARTINS QUEIROZ-JUNIOR等. A

Controversial Role for IL-12 in Immune

Response and Bone Resorption at Apical

Periodontal Sites.《CLINICAL &amp;

DEVELOPMENTAL IMMUNOLOGY》. 2010,

审查员 张伟

权利要求书3页 说明书37页 附图5页

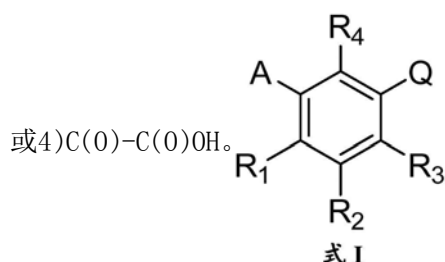
## (54)发明名称

用于预防和治疗骨质疏松症的被取代的芳族化合物和药物组合物

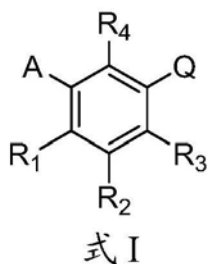
## (57)摘要

本发明涉及化合物在受试者中的诸多用途：用于预防和/或治疗骨质疏松症、用于刺激骨形成、用于刺激骨重塑、用于刺激成骨细胞分化和矿化、用于抑制骨再吸收以及用于调节脂联素的血清水平。已发现由式I表示的化合物以及其药学上可接受的盐具有这些用途。其中A为C<sub>5</sub>烷基、C<sub>6</sub>烷基、C<sub>5</sub>烯基、C<sub>6</sub>烯基、C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CH<sub>3</sub>或CH(OH)-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CH<sub>3</sub>，其中n为3或4；R<sub>1</sub>为H、F或OH；R<sub>2</sub>为H、F、OH、C<sub>6</sub>烷基、C<sub>5</sub>烯基、C<sub>6</sub>烯基、C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CH<sub>3</sub>或CH(OH)-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CH<sub>3</sub>，其中n为3或4；R<sub>3</sub>为H、

F、OH或CH<sub>2</sub>Ph；R<sub>4</sub>为H、F或OH；Q为1)(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>C(O)OH，其中m为1或2，2)CH(F)-C(O)OH，3)CF<sub>2</sub>-C(O)OH，



1. 一种由式I表示的化合物或其药学上可接受的盐的用途,其用于制备用以预防和/或治疗有需要的受试者的骨质疏松症的药物,其中式I为:



其中

A为C<sub>5</sub>烷基、C<sub>6</sub>烷基、C<sub>5</sub>烯基、C<sub>6</sub>烯基、C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CH<sub>3</sub>或CH(OH)-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CH<sub>3</sub>,其中n为3或4;

R<sub>1</sub>为H、F或OH;

R<sub>2</sub>为H、F、OH、C<sub>5</sub>烷基、C<sub>6</sub>烷基、C<sub>5</sub>烯基、C<sub>6</sub>烯基、C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CH<sub>3</sub>或CH(OH)-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CH<sub>3</sub>,其中n为3或4;

R<sub>3</sub>为H、F、OH或CH<sub>2</sub>Ph;

R<sub>4</sub>为H、F或OH;

Q为

1) (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>C(O)OH, 其中m为1或2,

2) CH(F)-C(O)OH,

3) CF<sub>2</sub>-C(O)OH, 或

4) C(O)-C(O)OH.

2. 如权利要求1所述的用途,其中A为C<sub>5</sub>烷基或C<sub>6</sub>烷基。

3. 如权利要求1或2中任一项所述的用途,其中R<sub>2</sub>为H、F、OH、C<sub>5</sub>烷基或C<sub>6</sub>烷基。

4. 如权利要求1至3中任一项所述的用途,其中R<sub>3</sub>为H、OH或CH<sub>2</sub>Ph。

5. 如权利要求1至4中任一项所述的用途,其中Q为(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>C(O)OH, 其中m为1或2。

6. 如权利要求1所述的用途,其中

A为C<sub>5</sub>烷基或C<sub>6</sub>烷基;

R<sub>2</sub>为H、F、OH、C<sub>5</sub>烷基或C<sub>6</sub>烷基;

R<sub>3</sub>为H、OH或CH<sub>2</sub>Ph; 并且

Q为(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>C(O)OH, 其中m为1或2。

7. 如权利要求1所述的用途,其中

A为C<sub>5</sub>烷基;

R<sub>1</sub>为H;

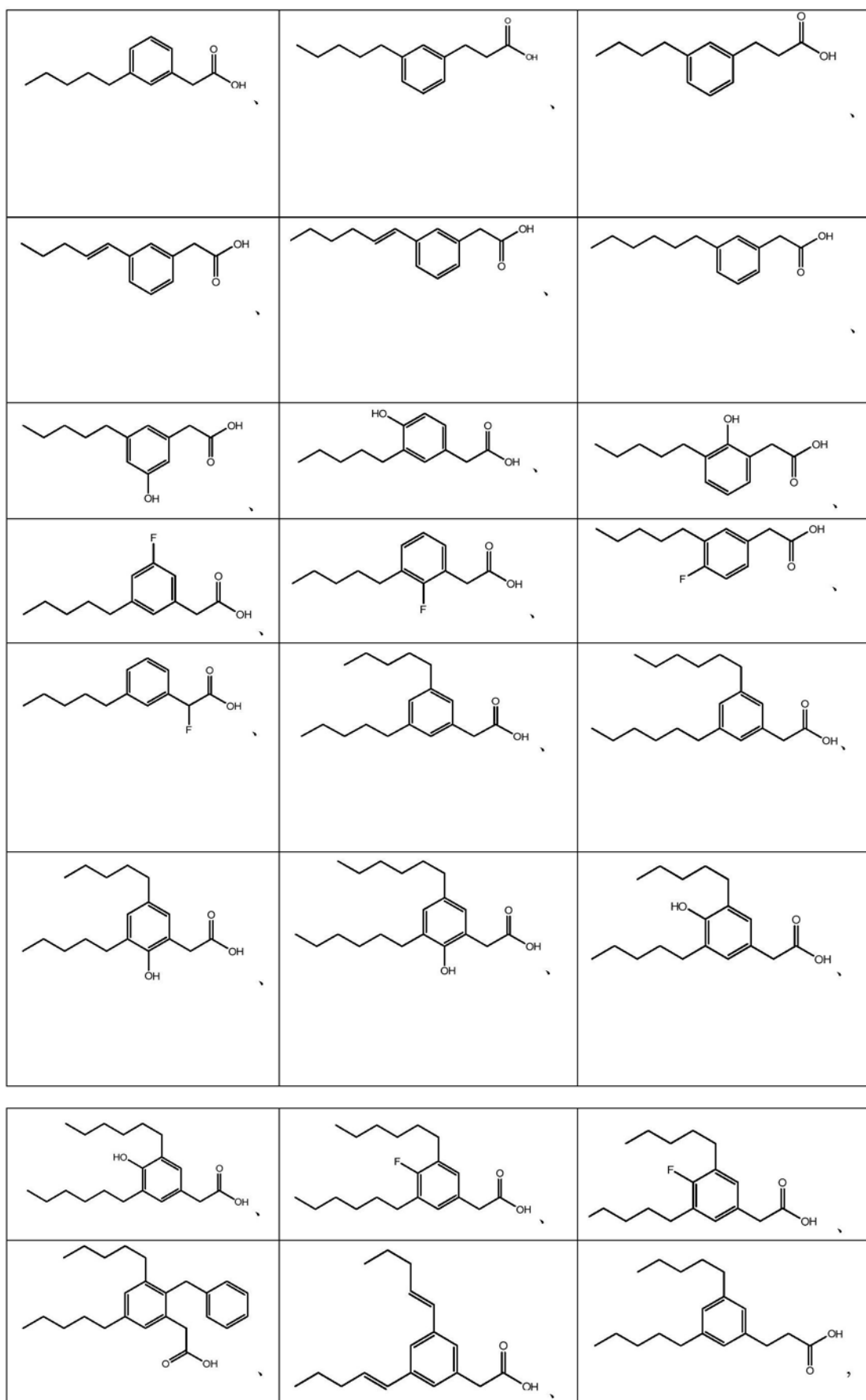
R<sub>2</sub>为H或C<sub>5</sub>烷基;

R<sub>3</sub>为H;

R<sub>4</sub>为H; 并且

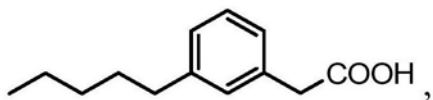
Q为(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>C(O)OH, 其中m为1。

8. 如权利要求1所述的用途,其中所述化合物选自由以下结构表示的化合物组成的群组:



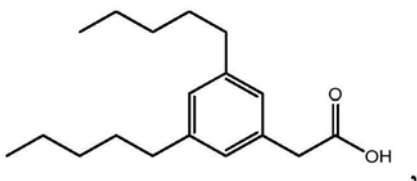
以及其药学上可接受的盐。

9. 如权利要求8所述的用途,其中所述化合物由以下结构表示:



或其药学上可接受的盐。

10. 如权利要求8所述的用途,其中所述化合物由以下结构表示:



或其药学上可接受的盐。

11. 如权利要求1至10中任一项所述的用途,其中所述药学上可接受的盐为包含选自由钠、钾、钙、镁、锂、铵、锰、锌、铁或铜组成的群组的金属反离子的碱加成盐。

12. 如权利要求11所述的用途,其中所述药学上可接受的盐为钠盐。

13. 如权利要求1至12中任一项所述的用途,其中所述骨质疏松症选自由停经后骨质疏松症、原发性2型骨质疏松症、继发性骨质疏松症、异常高破骨细胞生成、骨软化样骨质疏松症、骨量减少、成骨不全症、骨硬化病、骨坏死、佩吉特氏骨病、低磷酸盐血症以及其组合组成的群组。

14. 如权利要求13所述的用途,其中骨质疏松症为停经后骨质疏松症、原发性2型骨质疏松症或继发性骨质疏松症。

15. 如权利要求13所述的用途,其中骨质疏松症为停经后骨质疏松症。

16. 一种如权利要求1至12中任一项所定义的由式I表示的化合物或其药学上可接受的盐的用途,其用于制备用以预防和/或减少有需要的受试者的骨损失的药物。

17. 如权利要求16所述的用途,其中所述化合物减少钙损失。

18. 如权利要求16或17所述的用途,其中所述受试者受骨质疏松症困扰或易患骨质疏松症。

19. 如权利要求1至18中任一项所述的用途,其中所述受试者为停经后女性。

20. 一种如权利要求1至12中任一项所定义的由式I表示的化合物或其药学上可接受的盐的用途,其用于制备用以在有需要的受试者中刺激骨形成和/或刺激骨重塑和/或抑制骨再吸收的药物。

21. 如权利要求1至20中任一项所述的用途,其中将所述化合物与选自由以下各项组成的群组的药物组合使用:双膦酸盐、奥当卡替、阿伦膦酸盐、利塞膦酸盐、依替膦酸盐、唑来膦酸盐、帕米膦酸盐、特立帕肽、他莫昔芬、雷洛昔芬以及地诺单抗。

## 用于预防和治疗骨质疏松症的被取代的芳族化合物和药物组合物

### 发明领域

[0001] 本发明涉及医学领域。本发明的特定方面涉及用于预防或治疗骨质疏松症的化合物、药物组合物以及其用途。

### [0002] 发明背景

[0003] 骨骼为一种高度动态性组织，其通过被称为骨重塑的过程得以不断地更换和置换。骨重塑能力确保老骨或已损伤组织得以更新并且骸骨结构可最有效地适应机械需要。骨重塑起始于在持续若干周的再吸收阶段中由破骨细胞移除老骨。成骨细胞随后移行至侵蚀腔并且在三或四个月内沉积新骨。在正常骸骨中，骨重塑将破骨细胞与成骨细胞的活性结合起来，使得所铺设的新骨的量等于所移除的骨，从而维持健康骨质量。然而，如果骨再吸收超过骨形成，那么存在净骨损失。所造成的病状骨质疏松症的特征在于过度骨再吸收以及随后的低骨质量与增加的易骨折性。

[0004] 骨质疏松症为用于以每单位体积的骨质量减至充分机械支撑所需水平以下的水平为特征的具有多样化病因的骨病的通用术语 (Krane, S.M. 等人, “Metabolic Bone Disease”, Harrison’s Principles of Internal Medicine, 第1889页, 第11版 (1987))。骨质疏松症的一种形式为老年性骨质疏松症，其造成医疗保健经费中有一大部分花费在老年群体上 (Resnick, N.M. 等人, “Senile Osteoporosis Reconsidered”, JAMA 261, 1025-1029 (1989))。骨质疏松症的另外两种最常见形式为停经前或停经后骨质疏松症以及皮质类固醇诱导的骨质疏松症。患有慢性肾病 (CKD) 的患者可发展骨病，所述骨病可包括由于矿质代谢变化和随后的骨结构变化所致的骨质疏松症。这些变化最通常随肾功能的渐进性丧失而恶化。实际上，并且如以下段落中所概括，可发生许多病理学病状，由此增加发展骨质疏松症的概率。骨软化样骨质疏松症具有骨质疏松症的许多症状，诸如钙损失。骨量减少是指低于正常骨密度但未低到骨质疏松症中所观测的骨密度。它被视为骨质疏松症的前兆。成骨不全症为以倾向于骨折的骨脆弱为特征的先天性骨病。骨硬化病为罕见遗传性疾病，其中骨骼硬化但比正常骨骼脆弱。骨坏死为由于对骨骼的血液供应损失而造成骨死亡和萎陷的疾病。佩吉特氏骨病 (Paget’s disease of bone) 是由骨骼过度降解和形成随后扰乱骨重塑而造成。

[0005] 目前已知，多种疾病和病状可能造成骨质疏松症：自体免疫性疾病，其包括类风湿性关节炎、狼疮以及多发性硬化；肠胃病症，其包括乳糜泻、发炎性肠病、胃切除术以及胃肠绕道手术；内分泌/激素病症，其包括糖尿病、甲状旁腺功能亢进、甲状腺毒症以及库欣氏综合征 (Cushing’s syndrome)；血液学病症，其包括白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤、镰状细胞病贫血 (骨髓病症) 以及地中海贫血；癌症，其包括乳癌和前列腺癌；神经系统病症，其包括抑郁、帕金森氏病 (Parkinson’s disease) 以及脊髓损伤；器官病，其包括肺病 (COPD、肺气肿)、肝病以及慢性肾病；关节粘连性脊椎炎；AIDS/HIV；骨折；不良饮食，其包括进食障碍和营养不良；以及停经 (停经前和停经后)。

[0006] 历史上，成骨细胞被视为控制破骨细胞发育并且因此控制骨再吸收的母细胞。现

今,免疫系统的细胞与骨细胞之间的相互作用已重新定义关于骨再吸收调节的考量。对破骨细胞和其在骨破坏方面的作用的鉴定允许靶向疗法来降低其再吸收能力。此类疗法包括使用可干扰NF $\kappa$ B配体受体活性因子(RANKL)的药剂,所述因子为促进破骨细胞分化的关键细胞因子之一。这可通过使用Amgen正在开发的重组Fc骨保护素(Fc-OPG)或人源化抗RANKL抗体(地诺单抗(Denosumab))来实现。两种产品均在骨损失的临床前模型中展示出功效,其中地诺单抗正在进行临床试验;Fc-OPG由于免疫副作用而退出临床试验。破骨细胞活性的其他抑制剂包括双膦酸盐、c-src抑制剂、组织蛋白酶K抑制剂以及氯离子通道CLC7抑制剂(Gillespie, M.T. (2007) *Arthritis Research&Therapy*, 第9卷, 第2期, 第103-105页)。值得注意的是,双膦酸盐已成功用于限制关节炎啮齿动物模型中的骨损失,但应注意,含氮双膦酸盐(其包括阿伦膦酸盐(alendronate)、伊班膦酸盐(ibandronate)、帕米膦酸盐(pamidronate)以及唑来膦酸盐(zoledronate))增强 $\gamma/\delta$ T淋巴细胞的增殖,而非含氮双膦酸盐(例如氯屈膦酸盐(clondronate))则不然(Gillespie, M.T. (2007) *Arthritis Research&Therapy*, 第9卷, 第2期, 第103-105页)。

[0007] 大部分当前治疗策略试图减少骨骼钙损失以延迟骨质疏松症发作(Dawson-Hughes, B.等人, "A controlled trial of the effect of calcium supplementation on bone density in postmenopausal women" *NEJM* 323, 878-883 (1990))。因而,最常用于治疗骨质疏松症的化合物属于双膦酸盐药物类别。它们竭力与骨结合并且由破骨细胞内在化从而抑制骨再吸收。可通过经口或静脉内途径施用双膦酸盐。阿伦膦酸盐(Alendronate) (Fosmax<sup>TM</sup>, 经口)为最常用于治疗停经后骨质疏松症的处方药。其他US FDA批准的双膦酸盐为利塞膦酸盐(Risedronate) (Actonel<sup>TM</sup>, 经口)、依替膦酸盐(Etidronate) (Didronel<sup>TM</sup>, 经口)、唑来膦酸盐(Aclasta<sup>TM</sup>, 输注)以及帕米膦酸盐(Aredial<sup>TM</sup>, 输注)。经口双膦酸盐与胃肠副作用相关。与双膦酸盐相关的副作用一般包括股骨(大腿骨)中而非所述骨骼的头部(最常见骨折部位)的罕见骨折。然而,当与跟骨质疏松症相关的常见髌部骨折的频率相比时,与长期使用双膦酸盐相关的这些骨折为罕见的。尽管如此,仍存在长期双膦酸盐使用可能导致过度抑制骨更换与随后骨中的微裂缝难以痊愈、这些裂缝蔓延以及最终造成非典型骨折的问题。另外,食道癌风险增加与长期使用经口双膦酸盐相关。还已报导双膦酸盐使用(具体地说,唑来膦酸盐和阿伦膦酸盐)为心房颤动的风险因素。最后,静脉内施用双膦酸盐来治疗癌症与颌部骨坏死相关。

[0008] 甲状旁腺激素(1-84PTH)在钙体内平衡方面起重要作用并且在间歇性施用后对骨重塑具有同化作用。由US FDA批准的特立帕肽(Teriparatide) (Forteo)为PTH的一部分(氨基酸1-34)的重组形式,其用于治疗处在高骨折风险下的男性和停经后女性的骨质疏松症。一定程度上其可在标示外用于加速骨折痊愈。特立帕肽增强成骨细胞形成并且防止成骨细胞凋亡。然而,尽管特立帕肽对骨骼具有同化作用,但用于治疗骨质疏松症的用途一直以来因在动物模型中的相关高骨肉瘤发病率而有所保留。因此,不推荐将特立帕肽用于具有增加的骨肿瘤风险的患者。

[0009] 由于长期激素替代疗法具有潜在不利作用(心血管病症、子宫以及癌症等),不再推荐将其用于预防骨质疏松症。因而,通过引入选择性雌激素受体调节剂(SERM)类别的药物(例如他莫昔芬(Tamoxifen)和雷洛昔芬(Raloxifene))在一定程度上替代此药物。US FDA批准将雷洛昔芬盐酸盐(Evista)用于在停经后女性中预防骨质疏松症。事实上,与每日

口服阿伦膦酸盐(双膦酸盐)的直接比较证实每日口服雷洛昔芬在降低骨折风险方面同样有效。然而,雷洛昔芬的副作用包括致命性中风和静脉血栓性栓塞的风险增加。其他不利作用包括腿肿胀、呼吸困难以及视力变化。

[0010] 地诺单抗为用于治疗骨质疏松症、治疗诱导的骨损失、骨转移、多发性骨髓瘤以及骨巨细胞瘤的完全人类单克隆抗体。US FDA已批准将地诺单抗(Prolia)用于在停经后女性中预防骨质疏松症以及(Xgeva)用于在实性肿瘤骨转移患者中预防骸骨相关事件。此抗体结合并抑制RANKL(RANK配体),其为在许多骨损失病状中充当骨移除的主要信号的蛋白质。破骨细胞前体(前体破骨细胞)表达RANK受体。随后的RANKL结合诱导受体活化和前体破骨细胞成熟为破骨细胞。然而,地诺单抗的副作用包括尿道和呼吸道感染、白内障、便秘、皮疹以及关节疼痛。

[0011] 如由上文可见,多种选择可用于预防和/或治疗骨质疏松症,但此选择隐含不存在可用于预防和/或治疗骨质疏松症的通用药物。如由上文还显而易见,所提到的治疗选择各自伴有多种副作用。实际上,科学文献中充分记录了以上被批准供人类使用的药物和副作用。举例来说,一篇相对近期的关于骨质疏松症受试者和当前疗法以及其副作用的综述性论文为"Osteoporosis-a current view of pharmacological prevention and treatment"Das,S.Crockett,J.C.Drug Design,Development and Therapy 7,435-448 (2013)。因而,需要更通用、更安全(尤其是考虑到增加的寿命并且因此增加的药物施用持续时间)的药物来预防和/或治疗骨质疏松症。因此,需要新的治疗方法。

[0012] 颁予AstraZeneca AB的美国专利号6,372,728(2002)描述一种改进的双膦酸盐口服制剂,例如阿伦膦酸盐。根据此专利,许多双膦酸盐的口服生物利用率在膳食之间为1%至10%。所述改良的制剂采用中链甘油酯吸收增强剂。颁予宾夕法尼亚大学(University of Pennsylvania)的美国专利号5,070,108(1991)要求用诸如依曲替酯(etretinate)等类视黄醇来治疗骨质疏松症。尽管最初由FDA批准用于治疗牛皮癣,但依曲替酯已因高出生缺陷风险而被撤出北美市场。奥当卡替(odanacatib)为一种正在临床开发中用于治疗骨质疏松症和骨转移的新颖药物,其为酶组织蛋白酶K的抑制剂。

[0013] 本发明旨在解决受骨质疏松症困扰或易患骨质疏松症的患者对新治疗方法、化合物以及药物组合物的需要。

[0014] 根据对本文中的论述、图以及发明描述的回顾,本发明的额外特征将显而易见。

[0015] 发明概述

[0016] 本发明的一般方面涉及如本文中所定义的根据式I的化合物和其药学上可接受的盐的药物用途。

[0017] 本发明的特定方面涉及化合物和组合物用于预防和/或治疗骨质疏松症的用途。某些方面涉及如本文中所定义的根据式I的化合物和其药学上可接受的盐,其是作为针对受试者中各种形式的骨质疏松症的预防有效和/或治疗有效的药剂。根据特定实施方案,受试者受或易受骨损失、骨折等困扰。

[0018] 根据特定实施方案,本发明的化合物和组合物适用于刺激骨形成和/或刺激骨重塑和/或刺激成骨细胞分化和矿化以及/或者抑制骨再吸收。

[0019] 本发明的一个特定方面涉及一种用于预防和/或治疗骨质疏松症的方法,其包括向有需要的受试者施用如本文中所定义的由式I表示的化合物或其药学上可接受的盐的步

骤。在一些实施方案中,骨质疏松症选自自由停经后骨质疏松症(原发性1型)、原发性2型骨质疏松症、继发性骨质疏松症、异常高破骨细胞生成、骨软化样骨质疏松症、骨量减少、成骨不全症、骨硬化病、骨坏死、佩吉特氏骨病、低磷酸盐血症以及其组合组成的群组。在特定实施方案中,骨质疏松症为停经后骨质疏松症(原发性1型)、原发性2型骨质疏松症或继发性骨质疏松症。在更特定实施方案中,骨质疏松症为停经后骨质疏松症(原发性1型)。

[0020] 本发明还涉及治疗方法,其中本发明的化合物在受试者中展现以下生物活性中的一种或多种:抑制破骨细胞生成;通过受刺激的破骨细胞前体细胞来刺激介白素-12(IL-12)产生;降低骨细胞中的酸性磷酸酶活性(展示破骨细胞生成减少);降低骨中的NF- $\kappa$ B配体受体活化因子(RANKL)/骨保护素(OPG)比率(RANKL/PG比率),其指示破骨细胞生成减少;增加骨中的胶原蛋白含量;以及调节(例如增加)脂联素的血清水平。

[0021] 根据另一方面,本发明的方面涉及一种用于预防和/或减少骨损失的方法,其包括向有需要的受试者施用如本文中所定义的由式I表示的化合物或其药学上可接受的盐的步骤。在一个实施方案中,施用所述化合物减少钙损失。在一个实施方案中,受试者受骨质疏松症困扰或易患骨质疏松症。在一个实施方案中,受试者为经绝后女性。

[0022] 根据另一方面,本发明涉及一种用于抑制破骨细胞生成的方法,其包括使破骨细胞前体细胞与如本文中所定义的由式I表示的化合物或其药学上可接受的盐接触,其中所述化合物抑制前体细胞分化成破骨细胞。

[0023] 根据另一方面,本发明涉及一种通过受刺激的破骨细胞前体细胞来刺激介白素-12(IL-12)产生的方法,其包括使所述受刺激的破骨细胞前体细胞与如本文中所定义的由式I表示的化合物或其药学上可接受的盐接触,其中增加的IL-12产生可在所述化合物存在下测量。

[0024] 根据另一方面,本发明涉及一种用于降低骨细胞中的酸性磷酸酶活性的方法,其包括使骨细胞与如本文中所定义的由式I表示的化合物或其药学上可接受的盐接触,其中降低的磷酸酶活性可在所述化合物存在下测量。

[0025] 根据另一方面,本发明涉及一种用于降低骨细胞中的NF- $\kappa$ B配体受体活化因子/骨保护素比率(RANKL/OPG比率)的方法,其包括使骨细胞与如本文中所定义的由式I表示的化合物或其药学上可接受的盐接触。

[0026] 根据另一方面,本发明涉及一种用于增加骨中的胶原蛋白含量的方法,其包括使所述骨与如本文中所定义的由式I表示的化合物或其药学上可接受的盐接触。

[0027] 根据另一方面,本发明涉及一种用于刺激骨形成和/或用于刺激骨重塑和/或用于刺激成骨细胞分化和矿化以及/或者用于抑制骨再吸收的方法,其包括使所述骨中的成骨细胞与如本文中所定义的由式I表示的化合物或其药学上可接受的盐接触。

[0028] 根据另一方面,本发明涉及一种用于调节受试者中的脂联素血清水平的方法,其包括向有需要的受试者施用如本文中所定义的由式I表示的化合物或其药学上可接受的盐的步骤。在一个实施方案中,受试者为肥胖和/或糖尿病受试者。

[0029] 本发明的其他方面涉及上文所提到的方法,其进一步包括伴随施用选自以下各项组成的群组的药物的步骤:双膦酸盐、奥当卡替、阿伦膦酸盐、利塞膦酸盐、依替膦酸盐、唑来膦酸盐、帕米膦酸盐、特立帕肽、他莫昔芬、雷洛昔芬以及地诺单抗。

[0030] 本发明的另一相关方面涉及包含式I化合物的药物组合物,其用于制造药物,例如

用于预防和/或治疗骨质疏松症的药物。一个特定实例为用于预防或治疗骨质疏松症的药物组合物,其包含如本文中所定义的由式I表示的化合物和药学上可接受的载体。另一特定实例为用于预防或治疗骨质疏松症的药物组合物,其包含如表1中所定义的化合物,并且更具体地说,包含化合物I和/或化合物XXXI的药物组合物。相关方面涉及用于预防和/或治疗骨质疏松症的方法,其包括向患者施用治疗有效量的如本文中所定义的药物组合物。

[0031] 根据另一方面,本发明涉及一种如本文中所定义的由式I表示的化合物或其药学上可接受的盐或包含所述物质的组合物,其用于预防和/或治疗骨质疏松症。

[0032] 根据本文中的以下描述、权利要求书以及概括,本发明的其他方面对于本领域技术人员来说将显而易见。

[0033] 附图简述

[0034] 图1为说明根据实施例2化合物I在RAW264.7细胞中对LPS诱导的破骨细胞生成的影响的一组图片。

[0035] 图2为证实根据实施例2化合物I在受LPS刺激的RAW264.7细胞中诱导IL-12产生的条形图。

[0036] 图3为证实根据实施例3化合物I对卵巢切除 (OVX) 的大鼠的体重的影响的线形图。

[0037] 图4为证实根据实施例4化合物I对卵巢切除 (OVX) 的大鼠的尿液中钙的影响的一组条形图。

[0038] 图5为证实根据实施例4化合物I对卵巢切除 (OVX) 的大鼠的血清中酸性磷酸酶活性的影响的一组条形图。

[0039] 图6为证实根据实施例4化合物I对破骨细胞标记物在卵巢切除 (OVX) 的大鼠的胫骨中的RANKL/OPG mRNA表达的影响的条形图。

[0040] 图7为证实根据实施例4化合物I对大鼠股骨干骺端中的胶原蛋白含量的影响的条形图。

[0041] 图8为说明根据实施例4化合物I对大鼠股骨干骺端中的胶原蛋白含量的影响的一组图片。

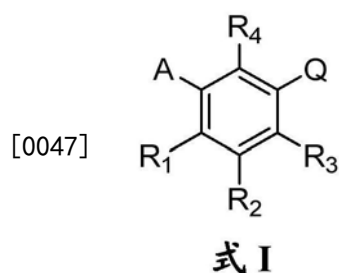
[0042] 图9为证实根据实施例5化合物XIV增加血清脂联素水平 (骨形成和重塑的调节的标记物) 的点图。

[0043] 发明详述

[0044] 本发明公开式I化合物、其药学上可接受的盐、包含所述物质的组合物以及其用途。本发明的各种实施方案包括:

[0045] A) 本发明的化合物

[0046] 根据一个方面,本发明涉及由式I表示的化合物或其药学上可接受的盐的药物用途:



[0048] 其中

[0049] A为C<sub>5</sub>烷基、C<sub>6</sub>烷基、C<sub>5</sub>烯基、C<sub>6</sub>烯基、C(O)–(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>–CH<sub>3</sub>或CH(OH)–(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>–CH<sub>3</sub>,其中n为3或4;或优选为C<sub>5</sub>烷基、C<sub>5</sub>烯基、C(O)–(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>–CH<sub>3</sub>或CH(OH)–(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>–CH<sub>3</sub>,其中n为3;或优选为C<sub>6</sub>烷基、C<sub>6</sub>烯基、C(O)–(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>–CH<sub>3</sub>或CH(OH)–(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>–CH<sub>3</sub>,其中n为4;或优选为直链C<sub>5</sub>烷基、C<sub>6</sub>烷基、C<sub>5</sub>烯基、C<sub>6</sub>烯基、C(O)–(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>–CH<sub>3</sub>或CH(OH)–(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>–CH<sub>3</sub>,其中n为3或4;或优选为直链C<sub>5</sub>烷基、C<sub>5</sub>烯基、C(O)–(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>–CH<sub>3</sub>或CH(OH)–(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>–CH<sub>3</sub>,其中n为3;

[0050] R<sub>1</sub>为H、F或OH;或优选为H或OH;

[0051] R<sub>2</sub>为H、F、OH、C<sub>5</sub>烷基、C<sub>6</sub>烷基、C<sub>5</sub>烯基、C<sub>6</sub>烯基、C(O)–(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>–CH<sub>3</sub>或CH(OH)–(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>–CH<sub>3</sub>,其中n为3或4;或优选为H、F、OH、C<sub>5</sub>烷基、C<sub>5</sub>烯基、C(O)–(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>–CH<sub>3</sub>或CH(OH)–(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>–CH<sub>3</sub>,其中n为3;或优选为H、F、OH、C<sub>6</sub>烷基、C<sub>6</sub>烯基、C(O)–(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>–CH<sub>3</sub>或CH(OH)–(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>–CH<sub>3</sub>,其中n为4;或优选为H、F、OH、直链C<sub>5</sub>烷基、C<sub>6</sub>烷基、C<sub>5</sub>烯基、C<sub>6</sub>烯基、C(O)–(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>–CH<sub>3</sub>或CH(OH)–(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>–CH<sub>3</sub>,其中n为3或4;或优选为H、F、OH、直链C<sub>5</sub>烷基、C<sub>5</sub>烯基、C(O)–(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>–CH<sub>3</sub>或CH(OH)–(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>–CH<sub>3</sub>,其中n为3;或优选为H、OH、F或C<sub>5</sub>烷基;或优选为H、OH、F或直链C<sub>5</sub>烷基;

[0052] R<sub>3</sub>为H、F、OH或CH<sub>2</sub>Ph;或优选为H、F或OH或优选为H或OH;

[0053] R<sub>4</sub>为H、F或OH;或优选为H或OH;

[0054] Q为

[0055] 1) (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>C(O)OH,其中m为1或2;

[0056] 2) CH(F)–C(O)OH;

[0057] 3) CF<sub>2</sub>–C(O)OH;或

[0058] 4) C(O)–C(O)OH。

[0059] 根据一个特定实施方案,A为C<sub>5</sub>烷基或C<sub>6</sub>烷基。

[0060] 根据一个特定实施方案,R<sub>1</sub>为H或OH。

[0061] 根据一个特定实施方案,R<sub>2</sub>为H、F、OH、C<sub>5</sub>烷基或C<sub>6</sub>烷基。

[0062] 根据一个特定实施方案,R<sub>3</sub>为H或OH。

[0063] 根据一个特定实施方案,R<sub>4</sub>为H或OH。

[0064] 根据一个特定实施方案,Q为:

[0065] 1) (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>C(O)OH,其中m为1或2;

[0066] 2) CH(F)–C(O)OH;或

[0067] 3) CF<sub>2</sub>–C(O)OH。

[0068] 根据一个特定实施方案,Q为:

[0069] 1) (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>C(O)OH,其中m为1;

[0070] 2) CH(F)–C(O)OH;

[0071] 3) CF<sub>2</sub>–C(O)OH;或

[0072] 4) C(O)–C(O)OH。

[0073] 根据一个特定实施方案,Q为:

[0074] 1) (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>C(O)OH,其中m为1;

[0075] 2) CH(F)–C(O)OH;或

[0076] 3) CF<sub>2</sub>–C(O)OH。

[0077] 根据一个特定实施方案,Q为(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>C(O)OH,其中m为1或2。

[0078] 根据另一实施方案,所述化合物具有式I,其中A为C<sub>5</sub>烷基或C<sub>6</sub>烷基;R<sub>1</sub>为H、F或OH;R<sub>2</sub>为H、F、OH、C<sub>5</sub>烷基或C<sub>6</sub>烷基;R<sub>3</sub>为H、OH或CH<sub>2</sub>Ph;R<sub>4</sub>为H、F或OH;并且Q为(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>C(O)OH,其中m为1或2。

[0079] 根据另一实施方案,所述化合物具有式I,其中A为C<sub>5</sub>烷基;R<sub>1</sub>为H;R<sub>2</sub>为H或C<sub>5</sub>烷基;R<sub>3</sub>为H;R<sub>4</sub>为H;并且Q为(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>C(O)OH,其中m为1。

[0080] 本发明明确针对对应于A、Q、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>以及R<sub>4</sub>的任何组合或其特定或优选实施方案的式I化合物。

[0081] 如本文中所使用,术语“烷基”意在包括具有呈线性排列的规定数目碳原子的直链饱和脂族烃基。

[0082] 如本文中所使用,术语“烯基”意在意味其中具有规定数目碳原子并且其中至少两个碳原子通过双键彼此键合并且具有E或Z区位化学性质以及其组合的不饱和直链烃基。

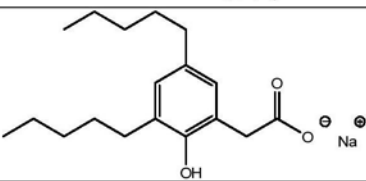
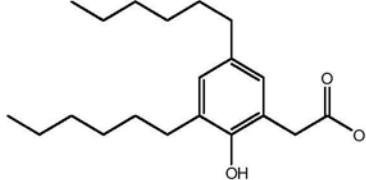
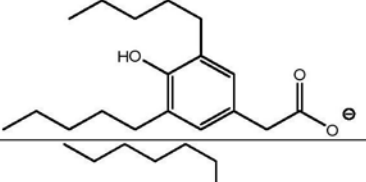
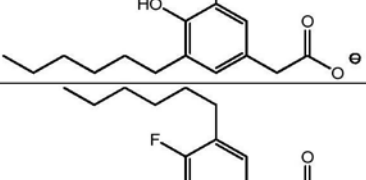
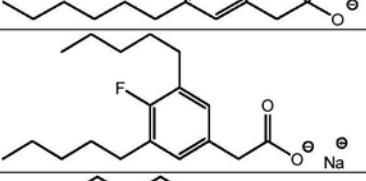
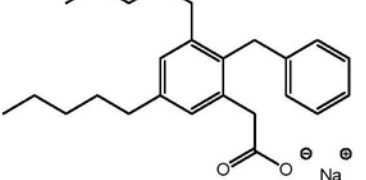
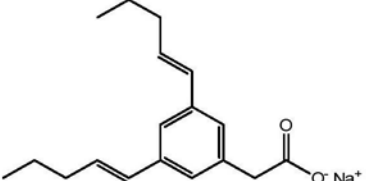
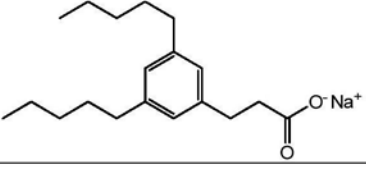
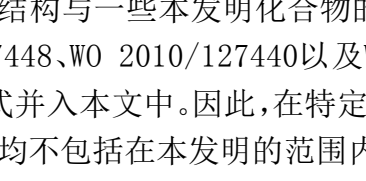
[0083] 式I化合物的实例包括但不限于下文于表1中所列出的化合物I至化合物XXIV。在一个优选实施方案中,所述化合物由化合物I至化合物XXIV中的任一者的酸形式或药学上可接受的盐表示。

[0084] 表1:代表性式I化合物

[0085]

| 化合物  | 结构 |
|------|----|
| I    |    |
| II   |    |
| III  |    |
| IV   |    |
| V    |    |
| VI   |    |
| VII  |    |
| VIII |    |
| IX   |    |
| X    |    |
| XI   |    |
| XII  |    |
| XIII |    |
| XIV  |    |
| XV   |    |

[0086]

| 化合物   | 结构                                                                                  |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| XVI   |    |
| XVII  |    |
| XVIII |    |
| XIX   |    |
| XX    |   |
| XXI   |  |
| XXII  |  |
| XXIII |  |
| XXIV  |  |

[0087] 申请者已在别处描述结构与一些本发明化合物的结构相关的化合物。参考例如国际PCT专利公布号W0 2010/127448、W0 2010/127440以及W0 2014/138906中所公开的化合物,所述文献以全文引用的方式并入本文中。因此,在特定实施方案中,这些PCT申请中所公开的化合物中的任一种或所有均不包括在本发明的范围内。

[0088] 盐

[0089] 如本文中所使用,术语“药学上可接受的盐”意在意味碱加成盐。药学上可接受的

盐的实例还描述于例如Berge等人,“Pharmaceutical Salts”,J.Pharm.Sci.66,1-19 (1977)中。可通过常规化学方法由含有酸性部分的母体药剂合成药学上可接受的盐。一般来说,通过使这些药剂的游离酸形式与化学计量的适当碱在水中或在有机溶剂中或在两者的混合物中反应来制备此类盐。可在原地、在最终分离或纯化药剂期间或通过分别使纯化的本发明化合物以其游离酸形式与所要相应碱反应并且分离因而形成的盐来制备盐。

[0090] 式I化合物的药学上可接受的盐可选自由钠、钾、钙、镁、锂、铵、锰、锌、铁或铜的碱加成盐组成的群组。在优选实施方案中,根据本发明的化合物的药学上可接受的盐可为钠、钾、钙、镁或锂盐。更优选地,药学上可接受的盐为钠盐。

[0091] 所描述的化合物的所有酸、盐以及其他离子和非离子形式均作为本发明化合物被包括在内。举例来说,如果化合物被显示为本文中的酸,那么还包括所述化合物的盐形式。同样,如果化合物被显示为盐,那么还包括酸形式。

[0092] 前药

[0093] 在某些实施方案中,如由通式I表示的本发明化合物(其中所述化合物以游离羧酸形式存在)还可包括所有药学上可接受的盐、等容等效物(诸如四唑)以及其前药形式。后者的实例包括在醇或胺(包括氨基酸)与式I所定义的游离酸的反应后所获得的药学上可接受的酯或酰胺。

[0094] 手性

[0095] 本发明化合物或、其药学上可接受的盐或前药可含有一个或多个不对称中心、手性轴以及手性面,并且因而可能产生对映异构体、非对映异构体以及其他立体异构体形式,并且可依据绝对立体化学加以定义,诸如(R)-或(S)-。本发明意在包括所有此类可能的异构体以及其外消旋和光学纯形式。可使用手性合成子或手性试剂来制备,或使用诸如逆相HPLC的常规技术来拆分光学活性(+)和(-)、(R)-和(S)-异构体。可制备外消旋混合物并且此后分离成单个的光学异构体,或可通过手性合成来制备这些光学异构体。可通过本领域技术人员已知的方法来拆分对映异构体,例如通过形成非对映异构盐,所述非对映异构盐可通过结晶、气-液或液相色谱、一种对映异构体与对映异构体特异性试剂的选择性反应加以分离。本领域技术人员还应了解,在通过分离技术将所要对映异构体转化成另一化学实体的情况下,随后需要额外步骤来形成所要对映异构形式。或者,可通过使用光学活性试剂、底物、催化剂或溶剂的不对称合成,或通过以不对称转化将一种对映异构体转化成另一种对映异构体来合成特定对映异构体。

[0096] 本发明的某些化合物可以两性离子形式存在,并且本发明包括这些化合物的两性离子形式以及其混合物。

[0097] 水合物

[0098] 另外,本发明的化合物还可以水合形式和无水形式存在。本文中所描述的各式中的任一者的水合物均作为本发明化合物被包括在内,其可作为单水合物或以多水合物形式存在。

[0099] B) 制备方法

[0100] 一般来说,所有本发明化合物均可通过任何常规方法,使用容易获得和/或可按惯例制备的起始物质、试剂以及常规合成程序来制备。尤其感兴趣的是Hundertmark, T.; Littke, A.F.; Buchwald, S.L.; Fu, G.C.Org.Lett.12,1729-1731 (2000)的研究。

[0101] 下文的例示部分提供用于合成化合物I至化合物XXIV的一般流程以及特定但非限制性实例。

[0102] C) 药物应用

[0103] 如本文中所指示和例示,本发明化合物具有有益的药物性质,并且这些化合物可在受试者中具有适用的药物应用。本发明所涵盖的医学和药物应用包括但不限于预防和/或治疗各种形式的骨质疏松症。如本文中所使用,术语“骨质疏松症”是指以骨质量和密度下降为特征的渐进性骨病,其可能导致骨折风险增加。术语“骨质疏松症”涵盖原发性1型骨质疏松症或停经后骨质疏松症(在停经之后的女性中最常见)、原发性2型骨质疏松症(发生于女性和男性中,一般在75岁之后)以及继发性骨质疏松症(其可出现在任何年龄,此形式由慢性素因性医学问题或疾病或者长期使用诸如糖皮质激素等药物(所述疾病则可称为类固醇或糖皮质激素诱导的骨质疏松症)引起)。如本文中所使用,“骨质疏松症”还包括涉及骨质量和/或密度损失的骨病症,诸如异常高破骨细胞生成、骨软化样骨质疏松症、骨量减少、成骨不全症、骨硬化病、骨坏死、佩吉特氏骨病、低磷酸盐血症以及其组合。

[0104] 目前已知,多种疾病和病状可能造成骨质疏松症,并且本发明可适用于预防和/或治疗与这些病因中的一种或多种直接或间接相关的骨质疏松症:

[0105] ●自体免疫性疾病,所述自体免疫性疾病包括类风湿性关节炎、狼疮以及多发性硬化;

[0106] ●肠胃病症,所述肠胃病症包括乳糜泻、炎症性肠病、胃切除术以及胃肠绕道手术;

[0107] ●内分泌/激素病症,所述内分泌/激素病症包括糖尿病、甲状旁腺功能亢进、甲状腺毒症以及库欣氏综合征;

[0108] ●血液学病症,所述血液学病症包括白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤、镰状细胞性贫血(骨髓病症)以及地中海贫血;

[0109] ●癌症,所述癌症包括乳癌和前列腺癌;

[0110] ●神经系统病症,所述神经系统病症包括抑郁、帕金森氏病以及脊髓损伤;

[0111] ●器官病,所述器官病包括肺病(COPD、肺气肿)、肝病以及慢性肾病(CKD);

[0112] ●强直性脊椎炎;

[0113] ●AIDS/HIV;

[0114] ●骨折;

[0115] ●不良饮食,所述不良饮食包括进食障碍和营养不良;以及

[0116] ●停经前和停经后骨质疏松症以及皮质类固醇诱导的骨质疏松症。

[0117] 在一个实施方案中,骨质疏松症为原发性1型骨质疏松症或停经后骨质疏松症。在另一实施方案中,骨质疏松症为原发性2型骨质疏松症。

[0118] 术语“受试者”包括可能发生骨质疏松症或易患此类疾病的活生物体。术语“受试者”包括动物,诸如哺乳动物或鸟类。受试者优选为哺乳动物,包括但不限于人类、马、狗以及猫。在一些实施方案中,小鼠不包括在哺乳动物的范围内。受试者更优选为人类。受试者更优选为需要治疗的人类患者。在优选实施方案中,受试者为具有以下状况中的任一种或受其困扰的人士:原发性1型骨质疏松症、停经后骨质疏松症、停经期(停经前和停经后)、原发性2型骨质疏松症、75岁以上、骨折、骨质疏松症、慢性素因性医学问题或疾病、长期使用

诸如糖皮质激素等药物、异常高破骨细胞生成、骨软化样骨质疏松症、骨量减少、成骨不全症、骨硬化病、骨坏死、佩吉特氏骨病、低磷酸盐血症以及其组合。在一个优选实施方案中，受试者为停经后女性。

[0119] 如本文中所使用，“预防 (preventing/prevention)”意在指至少降低罹患疾病或病症的风险 (或易患病性) 的可能性 (即，使得可能暴露于或倾向于患所述疾病但尚未经历或显现所述疾病的症状的患者中不发展所述疾病的至少一种临床症状)。用于鉴别此类患者的生物学和生理学参数在本文中有提供并且还为主治医师所熟知的。在优选实施方案中，“预防 (preventing/prevention)”是指预防骨质量和/或骨密度降低，和/或降低骨折风险。

[0120] 术语“治疗 (treatment/treating)”受试者包括以延迟、稳定、治愈、痊愈、缓解、减轻、改变、医治、减少恶化、改善、改良或影响疾病或病状、疾病或病状的症状或疾病或病状的风险 (或易患病性) 为目的向受试者应用或施用本发明化合物 (或向得自受试者的细胞或组织应用或施用本发明化合物)。术语“治疗”是指对损伤、病理或病状的成功治疗或改善的任何指示，包括任何客观或主观参数，诸如减轻；缓解；减小恶化速率；减轻疾病严重程度；稳定、削弱症状或使损伤、病理或病状对受试者来说更可耐受；减慢退化或衰弱速率；使退化终点不太虚弱；或改善受试者的身体或精神健康。在一些实施方案中，术语“治疗”可包括增加需要额外治疗之前的受试者寿命预期和/或延迟。在优选实施方案中，“治疗 (treatment/treating)”是指增加骨质量和/或骨密度，和/或加快骨折痊愈。

[0121] 此外，在一些实施方案中，所述本发明化合物是用于单一疗法以便预防和/或治疗骨质疏松症。在其他实施方案中，将本发明化合物与已批准的药物组合使用，包括但不限于用于治疗骨质疏松症的药物。可与本发明化合物组合使用的已知骨质疏松症相关药剂的实例包括但不限于双膦酸盐、奥当卡替、阿伦膦酸盐、利塞膦酸盐、依替膦酸盐、唑来膦酸盐、帕米膦酸盐、特立帕肽、他莫昔芬、雷洛昔芬以及地诺单抗。

[0122] 因此，根据本发明的治疗方法还可包括与施用另一治疗有效药剂一起共同施用至少一种根据本发明的化合物或其药学上可接受的盐。因此，本发明的另一方面涉及伴随治疗性治疗受试者的方法，所述方法包括向有需要的受试者施用有效量的第一药剂和第二药剂，其中第一药剂如式I中所定义，并且第二药剂是用于预防或治疗如上文所定义的病症或疾病中的任一种。如本文中所使用，如短语“伴随治疗性治疗”或“伴随一起”中的术语“伴随 (concomitant/concomitantly)”包括在第二药剂存在下施用第一药剂。伴随治疗性治疗方法包括共同施用第一药剂、第二药剂、第三药剂或额外药剂的方法。伴随治疗性治疗方法还包括在第二药剂或额外药剂存在下施用第一药剂或额外药剂的方法，其中第二药剂或额外药剂例如可能已事先施用。可由不同的行动者逐步执行伴随治疗性治疗方法。举例来说，一名行动者可向受试者施用第一药剂，而第二名行动者可向所述受试者施用第二药剂并且可同时或几乎同时或相隔一定时间执行施用步骤，只要第一药剂 (和/或额外药剂) 是在施用第二药剂 (和/或额外药剂) 之后施用即可。行动者和受试者可为同一实体 (例如，人类)。

[0123] 因此，本发明还涉及一种预防、减少或消除上述疾病或病状中任一种的症状或并发症的方法。所述方法包括向有需要的受试者施用包含至少一种本发明化合物的第一药物组合物和包含一种或多种额外活性成分的第二药物组合物，其中所有活性成分均是以足以抑制、减少或消除所要治疗的疾病或病状的一种或多种症状或并发症的量施用。在一个方

面中,第一药物组合物和第二药物组合物的施用短暂间隔至少约两分钟。第一药剂优选为如本文中所定义的式I化合物或其药学上可接受的盐,例如钠盐。第二药剂可选自上文所提供的化合物清单(例如,用于预防和/或治疗骨质疏松症的药剂或药物)。

[0124] 抑制破骨细胞生成

[0125] 破骨细胞为一种可再吸收骨组织的骨细胞类型。破骨细胞通过分泌酸和胶原蛋白酶在分子水平上分解骨骼。此过程被称为骨再吸收。破骨细胞生成是指破骨细胞前体分化成破骨细胞。在预防和/或治疗骨质疏松症时,需要减少破骨细胞生成。

[0126] 成骨细胞为一种合成骨骼的细胞类型。成骨细胞由间质干细胞产生。在预防和/或治疗骨质疏松症时,需要刺激成骨细胞分化。

[0127] 如下文于实例中所示,本发明化合物能够抑制和/或减少破骨细胞生成。这由例如以下各项证实:不存在TRAP细胞(实施例2;图1);受LPS刺激的RAW264.7细胞中的IL-12产生的强诱导(实施例2和实施例3);体内钙损失减少(实施例4;图4);体内酸性磷酸酶活性降低(实施例4;图5);体内RANKL/OPG的mRNA表达减少(实施例4;图6);体内胶原蛋白含量增加(实施例4;图7和图8);以及脂联素血清水平增加(实施例5;图9)。

[0128] 这些结果表明本发明化合物能够经由抑制和/或降低破骨细胞活性而预防/治疗骨质疏松症。

[0129] 所述结果还显示本发明化合物能够预防和/或减少骨损失,包括但不限于钙损失。因此,这些结果进一步表明本发明化合物能够经由刺激成骨细胞分化而预防/治疗骨质疏松症。

[0130] 刺激介白素-12 (IL-12) 产生

[0131] 如下文于实例中所示,本发明化合物在LPS存在下诱导IL-12产生。这些结果表明,这些化合物由于诱导IL-12而能够预防和/或治疗骨质疏松症。这受到诸多科学文献的支持,所述科学文献教导IL-12对破骨细胞生成具有直接抑制作用。

[0132] 因此,在一些实施方案中,本发明的化合物和组合物适用于刺激介白素-12 (IL-12) 产生,包括但不限于由受刺激的破骨细胞前体细胞产生。

[0133] 降低酸性磷酸酶活性

[0134] 如下文于实例中所示,如在卵巢切除的大鼠的血清中所测量,本发明的化合物降低酶酸性磷酸酶活性。这些结果表明,这些化合物由于降低酶酸性磷酸酶活性而能够预防和/或治疗骨质疏松症。

[0135] 因此,在一些实施方案中,本发明的化合物和组合物适用于降低骨细胞中的酸性磷酸酶活性。

[0136] 减少NF- $\kappa$ B配体受体活化因子(RANKL)的表达

[0137] 如下文于实例中所示,如在卵巢切除的大鼠的胫骨中所测量,本发明的化合物减少RANKL的mRNA表达。这些结果表明,这些化合物由于降低RANKL表达和/或生物活性而能够预防和/或治疗骨质疏松症。

[0138] 因此,在一些实施方案中,本发明的化合物和组合物适用于降低骨细胞中的RANKL表达和/或活性。

[0139] 增加胶原蛋白含量

[0140] 如下文于实例中所示,如在卵巢切除的大鼠的股骨干骺端中所测量,本发明的化

合物增加骨中的胶原蛋白含量。这些结果表明,如骨中的胶原蛋白含量增加所证实,这些化合物能够预防和/或治疗骨质疏松症。

[0141] 因此,在一些实施方案中,本发明的化合物和组合物适用于增加活骨中的胶原蛋白含量。

[0142] 增加脂联素的水平

[0143] 如下文于实例中所示,如在肥胖糖尿病小鼠的血清中所测量,本发明的化合物增加脂联素的水平。这些结果表明,这些化合物能够通过刺激骨形成、重塑以及矿化以及/或者通过抑制骨再吸收而预防和/或治疗骨质疏松症。

[0144] 因此,在一些实施方案中,本发明的化合物和组合物适用于刺激骨形成和/或刺激骨重塑和/或刺激成骨细胞分化和矿化以及/或者抑制骨再吸收。

[0145] D) 药物组合物和制剂

[0146] 本发明的一个相关方面涉及包含治疗有效量的本文中所描述的一种或多种本发明化合物(例如式I化合物)的药物组合物。如上文所指示,本发明的药物组合物可适用于:预防和/或治疗骨质疏松症;抑制破骨细胞生成;通过受刺激的破骨细胞前体细胞来刺激介白素-12(IL-12)产生;降低骨细胞中的酸性磷酸酶活性;降低骨细胞中的NF- $\kappa$ B配体受体活化因子(RANKL)的表达;增加骨中的胶原蛋白含量;刺激骨形成;刺激骨重塑;刺激骨矿化;以及/或者抑制骨再吸收。

[0147] 如本文中所使用,术语“治疗有效量”意指当向受试者施用以治疗或预防特定病症、疾病或病状时化合物足以实现对所述病症、疾病或病状的此类治疗或预防的量。剂量和治疗有效量可例如视多种因素而变化,包括所采用的特定药剂的活性、受试者的年龄、体重、一般健康状况、性别以及饮食、施用时间、施用途径、排泄速率以及任何药物组合(适当时)、医学从业者想要化合物对受试者产生的作用(例如,如包括骨质量和/或骨密度增加(其减少或降低)、骨折风险降低等因素证实的总体或部分反应)、化合物的性质(例如生物利用率、稳定性、功效、毒性等)以及受试者所患有的特定病症。另外,治疗有效量可取决于受试者的血液参数(例如钙水平、脂质分布、胰岛素水平、血糖)、疾病状态的严重程度、器官功能或者潜在疾病或并发症。可使用任何可获得的分析法来测定此类适当剂量,包括本文中所描述的分析法。当要向人类施用一种或多种本发明化合物时,主治医师可例如首先开出相对低剂量的处方,随后增加剂量直至获得适当反应。所要施用的剂量最终将由肿瘤学家决定。然而,一般来说,设想本发明化合物的剂量在人类中可在每天约1至约50mg/kg的范围内。在所选实施方案中,所述范围在人类中可在每天1至30mg/kg之间。在所选实施方案中,所述范围在人类中可在每天1至20mg/kg之间。在所选实施方案中,所述范围在人类中可在每天5至18mg/kg之间。在所选实施方案中,所述范围在人类中可在每天1至18mg/kg之间。

[0148] 如本文中所使用,术语“药物组合物”是指存在至少一种如本文中所定义的根据式I的本发明化合物和至少一种药学上可接受的载体、稀释剂、媒介物或赋形剂。如本文中所使用,术语“药学上可接受的载体”、“药学上可接受的稀释剂”或“药学上可接受的赋形剂”意在意指而不限于可接受用于受试者(优选为人类)的任何佐剂、载体、赋形剂、助流剂、甜味剂、稀释剂、防腐剂、染料/着色剂、风味增强剂、表面活性剂、润湿剂、分散剂、悬浮剂、稳定剂、等渗剂、溶剂、乳化剂或封装剂,诸如脂质体、环糊精、封装聚合递送系统或聚乙二醇基质。它优选是指由或可由联邦政府或州政府的管理机构批准或者美国药典

(U.S.Pharmacopoeia)或其他一般认可的药典中所列出的供用于动物并且更具体地说用于人类的化合物或组合物。药学上可接受的媒介物可为含有例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇以及液体聚乙二醇)、其适合的混合物以及植物油的溶剂或分散介质。药学上可接受的媒介物的其他实例包括但不限于:注射用水USP;水性媒介物,诸如但不限于氯化钠注射液、林格氏注射液(Ringer's Injection)、葡萄糖注射液、葡萄糖和氯化钠注射液以及乳酸盐林格氏注射液;水可混溶性媒介物,诸如但不限于乙醇、聚乙二醇以及聚丙二醇;以及非水性媒介物,诸如但不限于玉米油、棉籽油、花生油、芝麻油、油酸乙酯、肉豆蔻酸异丙酯以及苯甲酸苯甲酯。可通过添加抗细菌和抗真菌剂(例如对羟基苯甲酸、氯丁醇、苯酚、抗坏血酸、硫柳汞等)来实现对微生物活动的预防。在许多情况下,组合物中包括等渗剂,例如糖、氯化钠或多元醇,诸如甘露醇和山梨醇。可通过在组合物中包括延迟吸收的药剂(例如单硬脂酸铝或明胶)来延长可注射组合物的吸收。

[0149] 本发明的组合物可包括一种或多种如本文中所定义的式I化合物或其药学上可接受的衍生物、盐、前药、类似物以及异构体或对映异构体。可制备活性化合物的制剂以提供呈适合于经肠、经粘膜(包括舌下、经肺以及经直肠)、肠胃外(包括肌肉内、皮内、皮下以及静脉内)或局部(包括软膏、乳膏或洗液)施用的形式的药物组合物。制剂可在适当时适宜地以离散剂量单位形式存在并且可通过药物配制领域中熟知的任何方法来制备。所有方法均包括使活性药物成分与液体载体或细粉状固体载体或两者(视需要而定)放在一起的步骤。适当时,可改变上述制剂以便提供活性药物成分的持续释放。本领域中所熟知的持续释放制剂包括使用推注、连续输注、生物相容性聚合物或脂质体。

#### [0150] E) 试剂盒

[0151] 可将本发明化合物包装成试剂盒的一部分,任选包括容器(例如包装、盒、小瓶等)。试剂盒可根据本文中所描述的方法在商业上使用,并且可包括用于本发明方法的说明书。其他试剂盒组分可包括酸、碱、缓冲剂、无机盐、溶剂、抗氧化剂、防腐剂或金属螯合剂。其他试剂盒组分以纯组合物形式或以并有一种或多种其他试剂盒组分的水溶液或有机溶液的形式存在。任何或所有试剂盒组分任选进一步包含缓冲液。

[0152] 本发明化合物可能是或可能不是同时或通过相同施用途向患者施用。因此,本发明的方法涵盖当由医学从业者使用时可使向患者施用适量的两种或更多种活性成分简化的试剂盒。

[0153] 本发明的典型试剂盒包含至少一种如由本文中所定义的式I所定义的根据本发明的化合物或其药学上可接受的盐的单位剂型以及至少一种额外活性成分的单位剂型。可与本发明化合物联合使用的额外活性成分的实例包括但不限于上文所指示的可与本发明化合物组合使用的药物(例如,用于治疗骨质疏松症的药物)中的任一种。

[0154] 本发明的试剂盒可进一步包含可用于施用一种或多种活性成分的药学上可接受的媒介物。举例来说,如果活性成分是以必须被复原以用于肠胃外施用的固体形式提供,那么试剂盒可包含密封容器或活性成分可溶解于其中以形成适合于肠胃外施用的无颗粒无细菌溶液的适合的媒介物。上文提供药学上可接受的媒介物的实例。

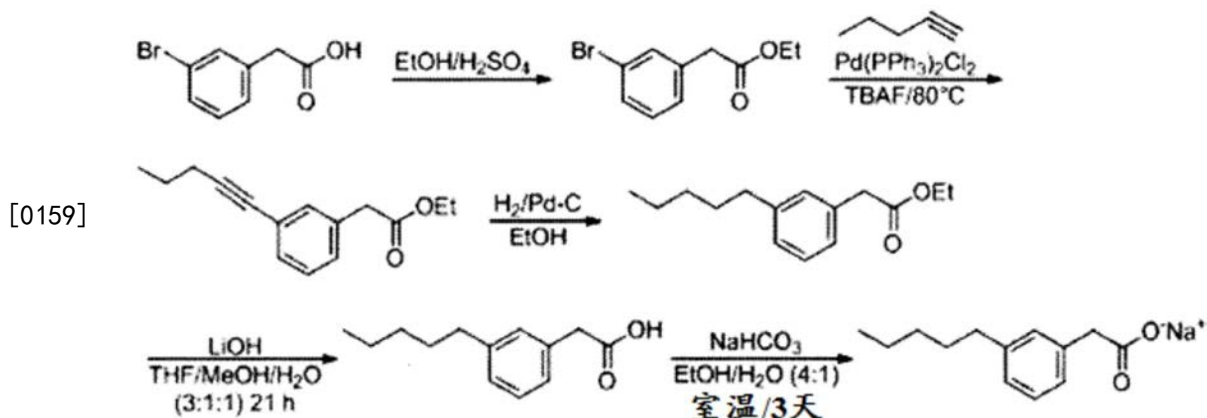
## 实施例

[0155] 以下实施例进一步说明本发明的实施,但不旨在对其具有限制性。

[0156] 实施例1:用于制备某些代表性化合物的实验程序

[0157] 在HP 1100LC-MS Agilent™仪器上使用分析型C18柱(250×4.6mm,5微米)在5min内15%至99%CH<sub>3</sub>CN-H<sub>2</sub>O+0.01%TFA(作为洗脱剂)的梯度和2mL/min的流速下记录所有HPLC色谱图和质谱。

[0158] 化合物I:使用修改过的菌头偶合反应程序(Sonogashira procedure)合成(3-戊基苯基)乙酸的钠盐



[0160] 步骤1

[0161] 在室温下向3-溴苯基乙酸(5.02g, 23.33mmol)于乙醇(100mL)中的溶液/悬浮液中添加浓硫酸(1mL)。随后将无色固体在80℃下搅拌过夜。将溶液在减压下浓缩。将残余物用乙酸乙酯(25mL)、水(25mL)稀释并且分离两个层。将水层用乙酸乙酯(2×25mL)和盐水(20mL)萃取。将合并的有机层用NaHCO<sub>3</sub>饱和溶液(2×25mL)、盐水(25mL)洗涤并且经硫酸钠干燥。在过滤溶液之后,将其蒸发至干燥。由此得到淡黄色油状物(5.4g, 95%)。<sup>1</sup>H-NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ1.26(t, J=4.7Hz, 3H), 3.57(s, 2H), 4.15(q, J=7.0和14.3Hz, 2H), 7.17-7.26(m, 2H), 7.38-7.44(m, 1H), 7.44(d, J=1.56Hz, 1H)。

[0162] 步骤2

[0163] 将(3-溴苯基)乙酸乙酯(0.3g, 1.24mmol)与水合氟化四丁基铵(0.97g, 3.72mmol)的混合物在密封管中用PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(26mg, 0.037mmol; 3摩尔%)和1-戊炔(367μL, 3.72mmol)处理。将管在80℃下加热2h。将混合物用水处理并且用乙醚萃取。将有机萃取物经硫酸钠干燥,过滤并且在真空中蒸发,以得到粗产物。在Biotage™25M柱(硅胶)上纯化,用乙酸乙酯/己烷0:1至2:98洗脱,得到呈浅黄色油状的(3-(戊炔-1-基)苯基)乙酸乙酯(0.23g, 79%)。

[0164] 步骤3

[0165] 在氮气气氛下向含[3-[戊炔-1-基]苯基]-乙酸乙酯(0.23g, 0.98mmol)的乙醇(5mL)中添加Pd/碳(10%, 25mg, 10%w/w)。将混合物在室温下在氢气气氛下剧烈搅拌过夜。将溶液过滤并且将钯/碳用乙醇(20mL)洗涤。将滤液用硅胶浓缩。将粗产物通过急骤色谱法使用10%己烷/乙酸乙酯的混合物纯化。获得透明油状物(0.21g, 90%)。

[0166] 步骤4

[0167] 在0℃下向所述酯(0.2g, 0.9mmol)于四氢呋喃(5mL)、甲醇(1.5mL)以及水(1.5mL)中的溶液中添加氢氧化锂(0.09g, 3.6mmol)。将反应混合物在室温下搅拌过夜。将不溶物过滤并且将滤液在减压下浓缩。随后将残余物用2M HCl处理并且用乙酸乙酯萃取。将有机相

经硫酸钠干燥并且在减压下蒸发。将粗物质在40L Biotage柱(硅胶)上使用乙酸乙酯/己烷(0:10至4:6)作为洗脱剂进行纯化。由此得到呈白色胶状固体状的纯(3-戊基苯基)乙酸(0.19g, 99%)。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  0.90 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 3H), 1.28-1.38 (m, 4H), 1.61 (qt,  $J=7.6\text{Hz}$ , 15.0Hz, 2H), 2.58 (t,  $J=7.6\text{Hz}$ , 2H), 3.56 (s, 2H), 7.07 (m, 3H), 7.20 (m, 1H); LRMS (ESI):  $m/z$  207 ( $\text{MH}^+$ ); HPLC: 4min。

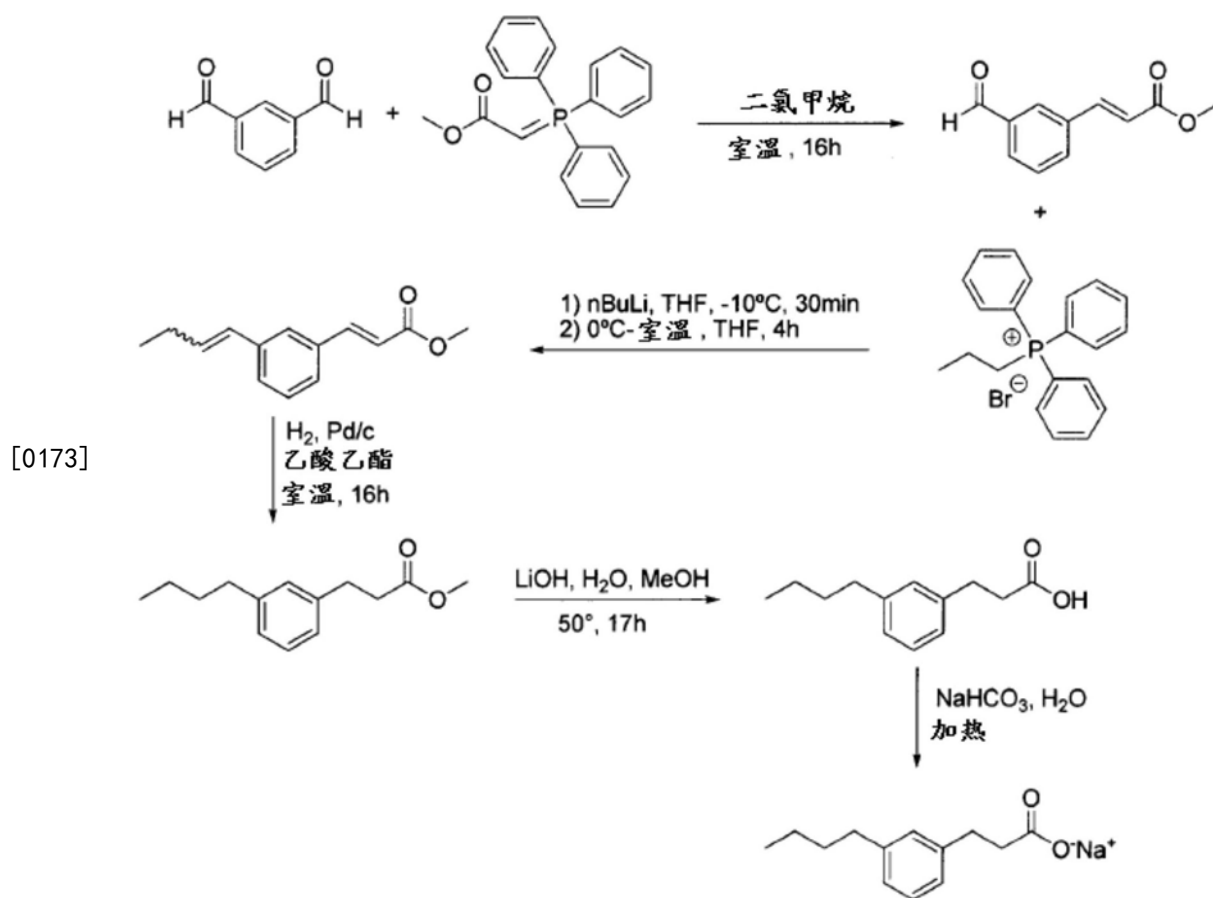
[0168] 步骤5

[0169] 向所述酸(0.19g, 0.82mmol)于乙醇(4mL)和水(1mL)中的搅拌溶液中添加碳酸氢钠(0.07g, 0.82mmol)。将反应混合物在室温下搅拌过夜。将溶剂蒸发并且将白色胶状固体溶解于水中并且将溶液冻干。由此得到呈白色固体状的纯(3-戊基苯基)乙酸钠盐(0.17g, 92%)。熔点 $110^\circ\text{C}$ 至 $112^\circ\text{C}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  0.89 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 3H), 1.28-1.37 (m, 4H), 1.60 (qt,  $J=7.4\text{Hz}$ , 15.0Hz, 2H), 2.56 (t,  $J=7.6\text{Hz}$ , 2H), 3.43 (s, 2H), 6.96 (m, 1H), 7.12 (m, 3H); LRMS (ESI):  $m/z$  207 ( $\text{MH}^+$ ); HPLC: 4min。

[0170] 化合物II: 3-(3-戊基苯基)丙酸的钠盐

[0171] 如同化合物I, 以3-氧代-3-溴苯基丙酸乙酯为起始物质来制备以上化合物。在氢气压力下使用含钨/碳的乙醇同时还原酮基和双键。白色固体;  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.14-7.10 (m, 1H), 7.04-7.00 (m, 2H), 6.95-6.93 (m, 1H), 2.88-2.84 (m, 2H), 2.55 (t,  $J=7.4\text{Hz}$ , 2H), 2.44-2.40 (m, 2H), 1.63-1.55 (m, 2H), 1.35-1.28 (m, 4H), 0.90 (m, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  179.3, 141.2, 140.8, 126.7, 126.4, 124.0, 123.8, 38.6, 34.2, 31.2, 29.9, 29.8, 20.9, 11.7; LRMS (ESI):  $m/z$  203 ( $\text{MH}^+ - \text{CO} - \text{NaOH}$ ); HPLC: 4.5min。

[0172] 化合物III: 3-(3-丁基苯基)丙酸的钠盐



**[0174] 步骤1**

[0175] 在圆底烧瓶(250mL)中依序称入异酞醛(1.0g, 7.5mmol)和二氯甲烷(100mL)。在室温下经由分液漏斗在压力平衡下添加含(三苯基-亚膦基)乙酸甲酯(2.7g, 8.2mmol)的二氯甲烷(25mL)。将反应物在室温下搅拌过夜。将混合物经小硅胶垫过滤并且用二氯甲烷(150mL)洗涤。随后将溶剂在减压下蒸发并且不经进一步纯化即将粗产物用于下一步骤。

**[0176] 步骤2**

[0177] 在氮气下将溴化丙基三苯基磷(3.2g, 8.2mmol)放置于圆底烧瓶中并且添加无水THF(5mL)。将烧瓶在冰/丙酮(-10℃)浴中冷却并且缓慢添加正丁基锂(2.5M己烷溶液, 3.28mL, 8.2mmol)。在搅拌30分钟的情况下, 混合物变成深色。在氮气下将含得自前一步骤的粗反应混合物的无水THF(5mL)放置在冰/丙酮(-10℃)浴中。在-10℃下将磷溶液缓慢添加至醛溶液中, 并且使反应混合物缓慢升温至室温并搅拌4h。添加饱和氯化铵溶液(10mL)并且将有机层用乙酸乙酯(3×)萃取。将有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤并且添加硅胶以获得无水料。将化合物用SP1(乙酸乙酯/己烷)纯化。由此得到预期产物(8.8g, 54%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ7.70-7.65(m, 1H), 7.45-7.24(m, 4.5H), 6.45-6.28(m, 2.5H), 5.70-5.67(m, 0.5H), 3.78(m, 3H), 2.34-2.20(m, 2H), 1.10-1.03(m, 3H)。

**[0178] 步骤3**

[0179] 在圆底烧瓶(25mL)中放置不饱和酯(140mg, 0.65mmol), 溶解于乙酸乙酯(10mL)中。向此溶液中添加10%钯/活性炭Pd/C(10mg)。将烧瓶用隔膜封住并且将氢气气囊放置在顶部。将烧瓶用氢气吹扫三次并且将反应物在室温下搅拌过夜。随后将固体经Celite™过滤。添加硅胶并且制备无水料。通过急骤色谱法, 使用0-20%乙酸乙酯/己烷进行纯化, 得到所要产物(124mg, 87%)。LRMS(ESI): m/z 221(MH<sup>+</sup>); HPLC: 5.0min。

**[0180] 步骤4**

[0181] 在圆底烧瓶中放置所述酯(124mg, 0.56mmol), 随后放置甲醇(4mL)和氢氧化锂(118mg, 2.8mmol)。添加水(1mL)并且将反应物在50℃下在搅拌下加热17h。将反应物转移至分液漏斗中, 用HCl(1M)酸化至pH值低于4, 并且用乙酸乙酯(3×)萃取。将有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤并蒸发。将粗物质通过HPLC/Waters纯化。由此得到白色固体(80mg, 70%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ7.16-7.12(m, 1H), 7.01-6.96(m, 3H), 2.88-2.84(m, 2H), 2.57-2.53(m, 4H), 1.60-1.52(m, 2H), 1.37-1.28(m, 2H), 0.91(t, 3H, J=7.3Hz); LRMS(ESI): m/z 205(M-H); HPLC: 4.2min。

**[0182] 步骤5**

[0183] 在烧瓶(20mL)中放置所述酸(80mg, 0.39mmol), 随后放置NaHCO<sub>3</sub>(33mg, 0.39mmol)和水(8mL)。向混合物中添加乙腈(3mL)并且对反应物进行超声波处理, 加热并搅拌直至几乎所有固体均处于溶液中。将溶液经尼龙过滤器过滤。通过将小瓶倾没在干冰/丙酮浴中将水固化并且冻干过夜。由此得到呈白色固体状的所要产物。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ7.14-7.10(m, 1H), 7.04-6.93(m, 3H), 2.88-2.84(m, 2H), 2.57-2.54(m, 2H), 2.44-2.40(m, 4H), 1.61-1.53(m, 2H), 1.39-1.30(m, 2H), 0.93(t, 3H, J=7.3Hz); <sup>13</sup>C NMR(101MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ142.7, 142.4, 128.2, 128.0, 125.6, 125.4, 125.3, 40.1, 35.5, 33.9, 32.7, 22.2, 13.1; LRMS(ESI): m/z 251.0(m, MNa<sup>+</sup>), 229.0(w, MH<sup>+</sup>), 189.2(100%, 酰阳离子[M-Na<sup>+</sup>+2H<sup>+</sup>-H<sub>2</sub>O]); HPLC: 4.1min。

[0184] 化合物IV:E-(3-戊-1-烯基-苯基)乙酸的钠盐。

[0185] 如同化合物I,以E-(3-戊-1-烯基-苯基)乙酸甲酯为起始物质来制备以上化合物。后者是通过使3-溴苯基乙酸甲酯与反式-1-戊烯基硼酸频哪醇酯在铃木条件(Suzuki condition)下反应来制备。白色固体; $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta=7.32$  (s, 1H), 7.11-7.18 (m, 3H), 6.35 (d,  $J=15.7\text{Hz}$ , 1H), 6.20-6.27 (m, 1H), 3.44 (s, 2H), 2.19 (m, 2H), 1.45-1.54 (m, 2H), 0.96 (t,  $J=7.4$ , 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta=179.26, 138.25, 137.92, 130.32, 130.04, 128.06, 127.59, 126.60, 123.52, 45.21, 35.06, 22.52, 12.89$ ; LRMS (ESI):  $m/z$  205 ( $\text{MH}^+$ ); HPLC: 4.1min。

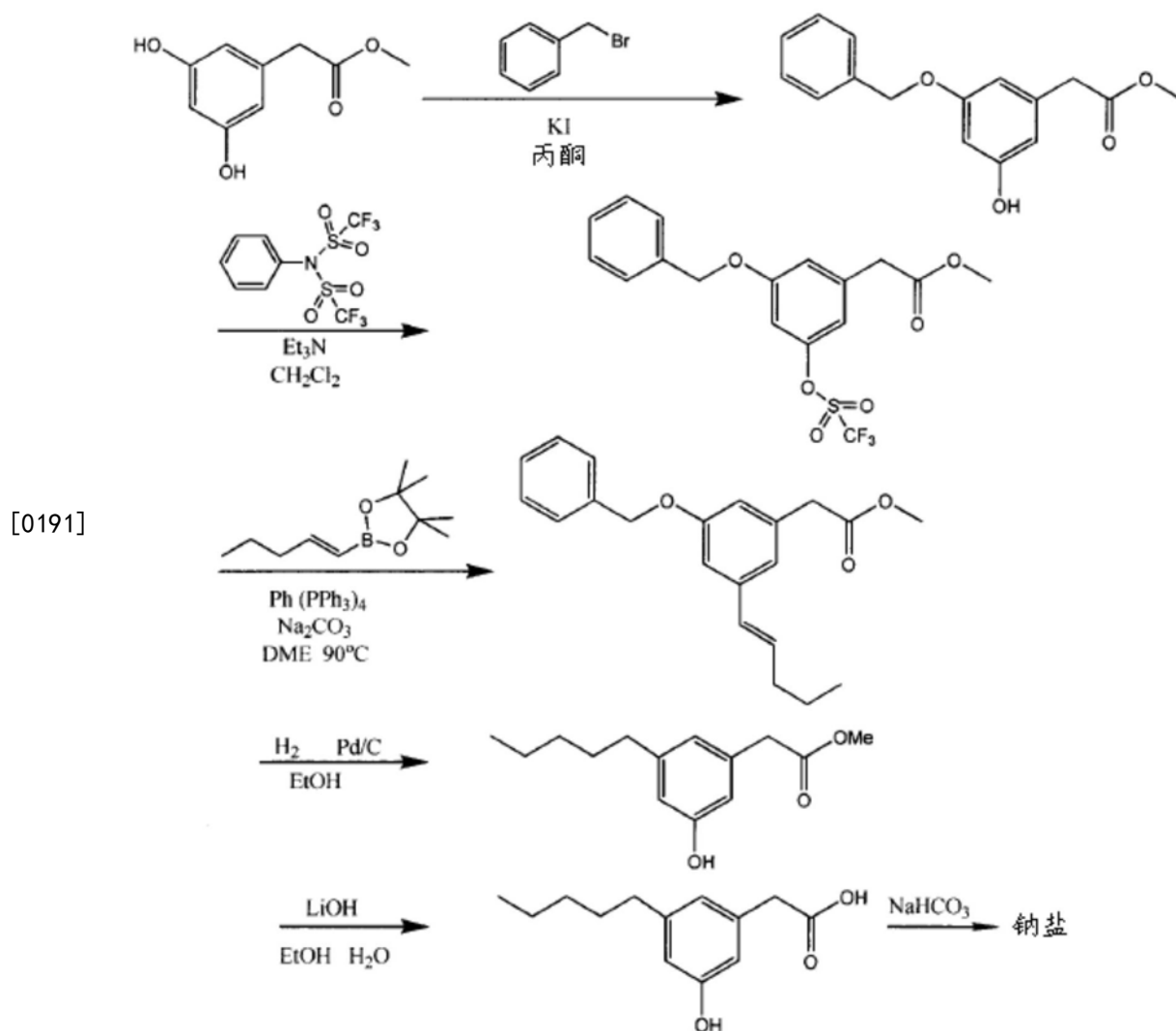
[0186] 化合物V:2-(3-(己-1-烯基)苯基)乙酸的钠盐。

[0187] 通过如同化合物VII使2-(3-溴苯基)乙酸甲酯与(E)-己-1-烯基硼酸频哪醇酯发生铃木偶合,随后如同化合物I进行酯水解和钠盐形成来制备以上化合物。白色固体; $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta 7.33$  (s, 1H), 7.12-7.19 (m, 3H), 6.35 (d,  $J=15.8\text{Hz}$ , 1H), 6.20 (dt,  $J=15.8, 6.8\text{Hz}$ , 1H), 3.46 (s, 2H), 2.17-2.22 (m, 2H), 1.33-1.49 (m, 4H), 0.93 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta 179.35, 138.27, 137.95, 130.27, 130.16, 128.10, 127.61, 126.64, 123.56, 45.24, 32.66, 31.67, 22.16, 13.22$ ; LRMS (ESI):  $m/z$  263.1 (100%,  $\text{M}+\text{Na}^+$ ); HPLC: 4.4min。

[0188] 化合物VI:2-(3-己基苯基)乙酸的钠盐

[0189] 通过如同化合物VII使2-(3-溴苯基)乙酸甲酯与(E)-己-1-烯基硼酸频哪醇酯发生铃木偶合,随后如同化合物I进行氢化、酯水解以及钠盐形成来制备以上化合物。白色固体; $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta 7.14$  (dd,  $J=7.8, 7.6\text{Hz}$ , 1H), 7.01 (s, 1H), 7.00 (d,  $J=7.8\text{Hz}$ , 1H), 6.96 (d,  $J=7.6\text{Hz}$ , 1H), 3.34 (s, 2H), 2.46 (d,  $J=7.5\text{Hz}$ , 2H), 1.41-1.48 (m, 2H), 1.10-1.18 (m, 6H), 0.70 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta 181.23, 143.98, 137.46, 129.47, 128.73, 126.63, 126.48, 44.58, 35.14, 31.12, 30.94, 28.23, 22.13, 13.53$ ; LRMS (ESI):  $m/z$  265 (100%,  $\text{M}+\text{Na}^+$ ); HPLC: 4.6min。

[0190] 化合物VII:3-羟基-5-戊基苯基乙酸的钠盐



## [0192] 步骤1

[0193] 将[3,5-二羟基苯基]乙酸甲酯(2.1g, 11.5mmol)于丙酮(100mL)中的溶液用碳酸钾(2.4g, 17.4mmol)、碘化钾(383mg, 2.31mmol)以及溴甲苯(1.5mL, 12.7mmol)处理,并且将混合物在室温下搅拌过夜。将反应物用水稀释并且用二氯甲烷( $\times 3$ )萃取。将合并的有机萃取物经硫酸钠干燥并且在真空中蒸发。将粗物质在Biotage™40M柱(二氧化硅)上纯化,用40%乙酸乙酯/己烷洗脱,得到[3-苯甲氧基-5-羟基苯基]乙酸甲酯(1.0g, 33%)。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ 7.32–7.42 (m, 5H), 6.48 (d,  $J=1.4\text{Hz}$ , 1H), 6.38–6.39 (m, 2H), 4.99 (s, 2H), 3.69 (s, 3H), 3.53 (s, 2H)。

## [0194] 步骤2

[0195] 在0℃下将所述苯甲醚(1.04g, 3.8mmol)于二氯甲烷(15mL)中的溶液用N-苯基-双(三氟磺酰基)酰亚胺(1.40g, 3.9mmol)处理,并且随后缓慢添加三乙胺(0.6mL, 4.1mmol)。将反应物在0℃下搅拌1h,并且随后在室温下搅拌1h。将反应混合物用水稀释,并且随后用二乙醚( $\times 2$ )萃取。将合并的有机萃取物用1M氢氧化钠水溶液、水( $\times 2$ )以及饱和氯化钠水溶液洗涤,随后经硫酸钠干燥,过滤并且在真空中蒸发,得到粗产物。在Biotage™40M柱(二氧化硅)上纯化,用25%乙酸乙酯/己烷洗脱,得到[3-苯甲氧基-5-三氟甲烷磺酰氧基苯基]乙酸甲酯(1.2g, 79%)。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ 7.36–7.46 (m, 5H), 6.98 (s, 1H), 6.97 (s,

1H), 6.84 (s, 1H), 5.06 (s, 2H), 3.72 (s, 3H), 3.63 (s, 2H)。

[0196] 步骤3

[0197] 将E-1-戊烯-1-基硼酸频哪醇酯 (0.8g, 3.9mmol) 于二甲氧基乙烷 (5mL) 中的溶液用三氟甲烷磺酸酯 (1.2g, 3.0mmol) 于二甲氧基乙烷 (5mL) 中的溶液处理。将溶液用钯 (0) (0.7g, 0.6mmol) 和2M碳酸钠水溶液 (1.3mL, 2.6mmol) 处理。随后将混合物在90℃下加热3天。将反应物冷却至室温并且通过Celite™过滤。将滤液在真空中蒸发, 并且将粗物质在Biotage™25M柱 (二氧化硅) 上纯化, 用5%乙酸乙酯/己烷洗脱, 得到[3-苯甲氧基-5-[戊-1-烯基]苯基]乙酸甲酯 (0.4g, 40%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ7.36-7.47 (m, 5H), 6.90-6.92 (m, 2H), 6.79 (dd, J=2.0, 2.0Hz, 1H), 6.35 (d, J=15.9Hz, 1H), 6.24 (dt, J=15.9, 6.8Hz, 1H), 5.07 (s, 2H), 3.70 (s, 3H), 3.59 (s, 2H), 2.20 (td, J=7.4, 6.8Hz, 2H), 1.51 (dt, J=7.4Hz, 2H), 0.98 (t, J=7.4Hz, 3H)。

[0198] 步骤4

[0199] 将所述烯烃 (0.4g, 1.2mmol) 于乙醇 (13mL) 中的溶液用1%钯/碳 (40mg) 处理。将混合物在室温下在1大气压氢气下搅拌过夜。将反应物过滤, 在真空中蒸发, 并且在Biotage™25S柱 (二氧化硅) 上纯化, 用15%乙酸乙酯/己烷洗脱, 得到[3-羟基-5-戊基苯基]乙酸甲酯 (0.3g, 93%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ6.64 (s, 1H), 6.58-6.60 (m, 2H), 3.70 (s, 3H), 3.55 (s, 2H), 2.51 (t, J=7.7Hz, 2H), 1.55-1.59 (m, 2H), 1.28-1.34 (m, 4H), 0.88 (t, J=7.0Hz, 3H)。

[0200] 步骤5

[0201] 将所述酯 (0.3g, 1.3mmol) 于乙醇 (12mL) 中的溶液用水 (3mL) 和氢氧化锂 (155mg, 6.4mmol) 处理, 并且将混合物在室温下剧烈搅拌过夜。将反应混合物用水 (100mL) 稀释; 用二氯甲烷洗涤; 随后用1M盐酸水溶液酸化至pH 1并且用二氯甲烷 (×3) 萃取。将合并的有机萃取物经硫酸钠 (0.3g, 95%) 干燥。不经进一步纯化即使用此物质。¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ6.66 (s, 1H), 6.58-6.59 (m, 2H), 3.55 (s, 2H), 2.52 (t, J=7.7Hz, 2H), 1.55-1.59 (m, 2H)。

[0202] 步骤6

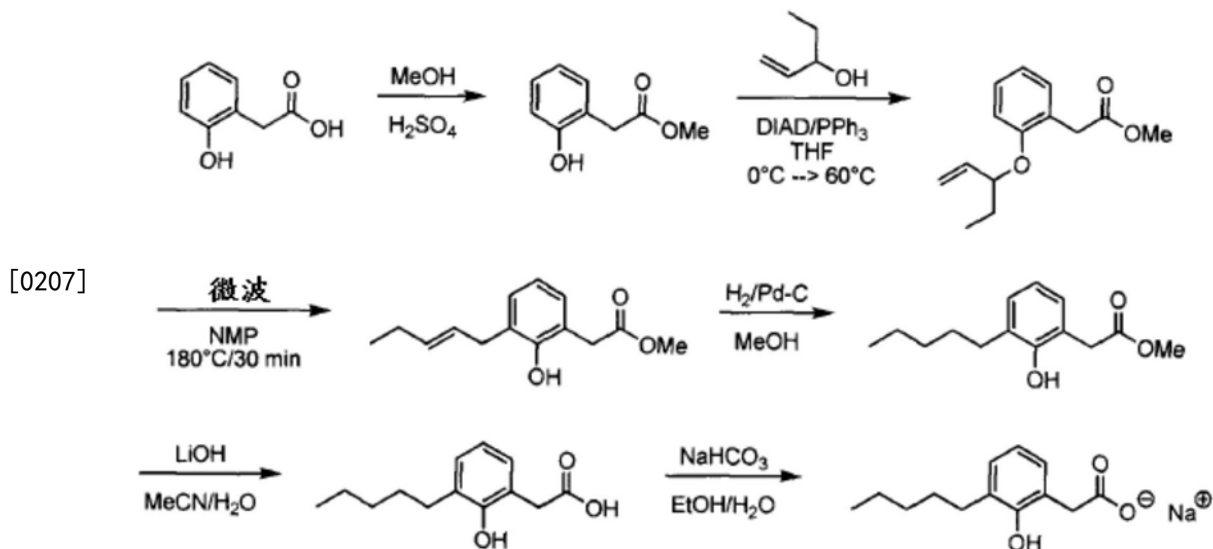
[0203] 将所述酸 (0.27g, 1.23mmol) 于乙醇 (6mL) 和水 (6mL) 中的溶液用碳酸氢钠 (0.1g, 1.2mmol) 处理, 并且将反应物在室温下搅拌数小时。将溶剂在真空中浓缩, 并且将溶液用水稀释, 过滤 (0.2μm), 并且冻干, 得到呈白色固体状的[3-羟基-5-戊基苯基]乙酸钠 (0.3g, 95%)。熔点63℃至66℃; ¹H NMR (400MHz, CD₃OD): δ6.63 (s, 1H), 6.58 (s, 1H), 6.42 (s, 1H), 3.36 (s, 2H), 2.48 (t, J=7.6Hz, 2H), 1.55-1.62 (m, 2H), 1.26-1.38 (m, 4H), 0.89 (t, J=6.8Hz, 3H); ¹³C NMR (101MHz, CD₃OD): δ177.79, 155.31, 142.36, 137.62, 119.08, 111.66, 111.18, 43.70, 34.17, 29.95, 29.56, 20.87, 11.64; LRMS (ESI): m/z 445.2 (2M-2Na⁺+3H⁺), m/z 223 (M-Na⁺+2H⁺); HPLC: 3.5min。

[0204] 化合物VIII: 2-(4-羟基-3-戊基苯基)乙酸的钠盐

[0205] 通过如同实施例VII使2-(4-(苯甲氧基)-3-溴苯基)乙酸苯甲酯与(E)-戊-1-烯基硼酸频哪醇酯发生铃木偶合, 随后进行氢化来制备以上化合物。白色固体; 熔点192℃至195℃; ¹H NMR (400MHz, CD₃OD): δ7.01 (d, J=2.3Hz, 1H), 6.93 (dd, J=8.2, 2.3Hz, 1H), 6.64 (d, J=8.2Hz, 1H), 3.35 (s, 2H), 2.53 (t, J=7.7Hz, 2H), 1.54-1.61 (m, 2H), 1.30-1.37 (m, 4H), 0.90 (t, J=7.2Hz, 3H); ¹³C NMR (101MHz, CD₃OD): δ180.25, 153.20, 130.54, 128.80, 128.76,

127.10, 114.49, 44.45, 31.84, 30.10, 29.73, 22.52, 13.31; LRMS (ESI) :  $m/z$  245.2 (55%,  $MH^+$ ), 177.4 (100%,  $M-CO_2Na$ ); HPLC: 1.9 min.

[0206] 化合物IX: 2-(2-(2-羟基-3-戊基苯基) 乙酸的钠盐



[0208] 步骤1

[0209] 将2-(2-羟基苯基) 乙酸 (3.00g, 19.7mmol) 于甲醇 (40mL) 中的溶液用硫酸 (0.95mL, 17.8mmol) 处理并且将反应物在室温下搅拌18小时。将反应混合物用乙酸乙酯 (250mL) 稀释, 并且将溶液用水 ( $2 \times 150mL$ ) 以及用饱和氯化钠水溶液 (150mL) 洗涤; 经硫酸钠干燥; 过滤并且在真空中蒸发, 得到粗产物。从热己烷中再结晶, 得到2-(2-羟基苯基) 乙酸甲酯 (2.83g, 87%)。 $^1H$  NMR (400MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.20 (ddd,  $J=7.7, 7.4, 1.8Hz$ , 1H), 7.09–7.11 (m, 1H), 6.94 (dd,  $J=8.0, 1.2Hz$ , 1H), 6.88 (ddd,  $J=7.4, 7.4, 1.2Hz$ , 1H), 3.75 (s, 3H), 3.69 (s, 2H)。

[0210] 步骤2

[0211] 在氮气下将2-(2-羟基苯基) 乙酸甲酯 (1.00g, 6.0mmol)、三苯基膦 (2.37g, 9.0mmol) 以及戊-1-烯-3-醇 (0.78g, 9.0mmol) 于四氢呋喃 (30mL) 中的溶液冷却至  $0^\circ C$ , 并且历时10分钟逐滴添加偶氮二甲酸二异丙酯 (1.86mL; 9.0mL)。随后将反应物加热至  $60^\circ C$  后维持21.5小时。将溶剂在真空中蒸发并且将残余物用5%乙酸乙酯/己烷萃取。将萃取物过滤并且在真空中蒸发, 得到粗产物。在Biotage™SP1系统 (120g 二氧化硅滤筒) 上纯化, 用0%至3%乙酸乙酯/己烷洗脱, 得到2-(2-(戊-1-烯-3-基氧基) 苯基) 乙酸甲酯 (0.39g, 28%)。 $^1H$  NMR (400MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.21–7.26 (m, 1H), 7.20 (d,  $J=7.6Hz$ , 1H), 6.91 (ddd,  $J=7.4, 7.4, 1.0Hz$ , 1H), 6.87 (d,  $J=8.0Hz$ , 1H), 5.84 (ddd,  $J=17.4, 10.7, 6.0Hz$ , 1H), 5.26 (d,  $J=17.4Hz$ , 1H), 5.22 (d,  $J=10.7Hz$ , 1H), 4.63 (dt,  $J=6.0, 6.0Hz$ , 2H), 3.70 (s, 3H), 3.68 (s, 2H), 1.71–1.87 (m, 2H), 1.02 (t,  $J=7.5Hz$ , 3H);  $^{13}C$  NMR (101MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  172.58, 156.28, 137.75, 131.19, 128.50, 123.87, 120.52, 116.66, 113.18, 79.76, 52.00, 36.61, 28.71, 9.62。

[0212] 步骤3

[0213] 在Biotage引发器中在  $180^\circ C$  下将2-(2-(戊-1-烯-3-基氧基) 苯基) 乙酸甲酯 (0.24g, 1.0mmol) 于N-甲基-2-吡咯烷酮 (1.0mL) 中的溶液用微波辐射照射30分钟, 随后照

射15分钟。将溶液用乙酸乙酯(25mL)稀释,随后用水( $4 \times 25\text{mL}$ )以及用饱和氯化钠水溶液(25mL)洗涤;经硫酸钠干燥;过滤并且在真空中蒸发,得到粗产物。在Biotage<sup>TM</sup>SP1系统(40g 二氧化硅滤筒)上纯化,用0%至7%乙酸乙酯/己烷洗脱,得到(E)-2-(2-羟基-3-(戊-2-烯基)苯基)乙酸甲酯(0.89g,37%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>): $\delta$ 7.09(s,1H),7.08(dd,J=7.4,1.6Hz,1H),7.01(dd,J=7.6,1.6Hz,1H),6.85(dd,J=7.6,7.4Hz,1H),5.59-5.70(m,2H),3.75(s,3H),3.69(s,2H),3.41(d,J=4.7Hz,2H),2.04-2.11(m,2H),1.01(t,J=7.4Hz,3H);<sup>13</sup>C NMR(101MHz,CDCl<sub>3</sub>): $\delta$ 174.31,153.53,134.44,129.86,129.32,128.62,127.13,121.08,120.82,52.79,37.59,34.17,25.77,13.97。

[0214] 步骤4

[0215] 如同化合物I、步骤3但使用甲醇作为溶剂对(E)-2-(2-羟基-3-(戊-2-烯基)苯基)乙酸甲酯(0.14g,0.6mmol)进行氢化,得到2-(2-羟基-3-戊基苯基)乙酸甲酯(0.11g,76%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>): $\delta$ 7.57(s,1H),7.11(dd,J=7.4,1.6Hz,1H),6.96(dd,J=7.4,1.6Hz,1H),6.84(dd,J=7.4,7.4Hz,1H),3.76(s,3H),3.70(s,2H),2.68(t,J=7.8Hz,2H),1.61-1.67(m,2H),1.36-1.43(m,4H),0.93(t,J=7.0Hz,3H);<sup>13</sup>C NMR(101MHz,CDCl<sub>3</sub>): $\delta$ 175.01,153.48,131.75,129.98,128.75,120.74,120.60,53.01,38.30,32.10,30.50,29.91,22.87,14.34。

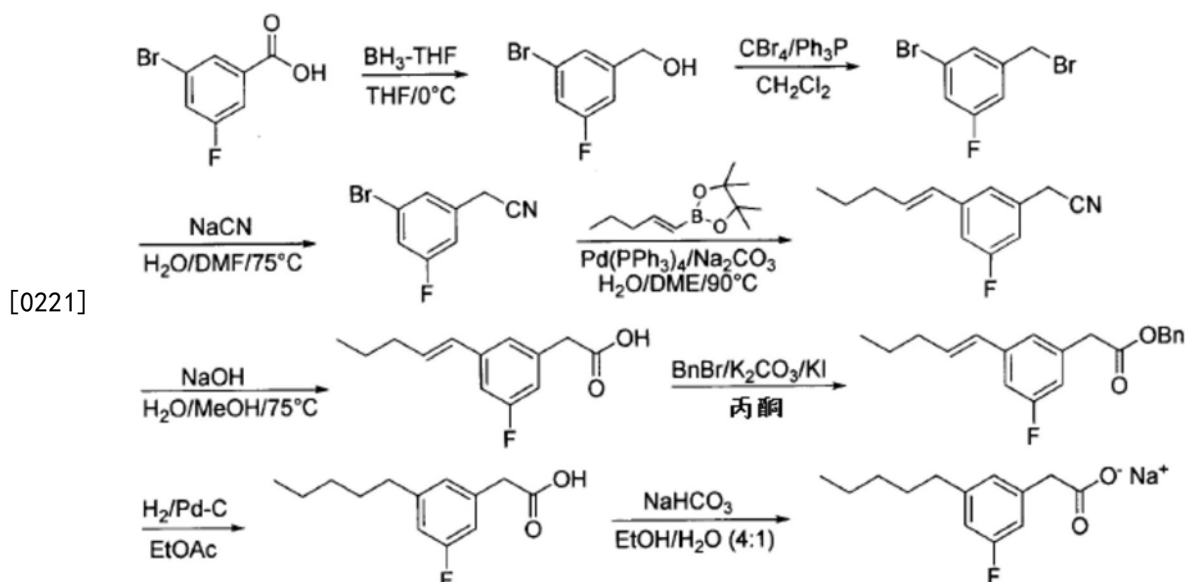
[0216] 步骤5

[0217] 如同化合物I、步骤4,使用乙腈/水(4:1)作为溶剂对2-(2-羟基-3-戊基苯基)乙酸甲酯(0.11g,0.5mmol)进行水解,得到2-(2-羟基-3-戊基苯基)乙酸(0.57g,57%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>): $\delta$ 8.70(br s,1H),7.09(dd,J=7.6,1.6Hz,1H),6.98(dd,J=7.4,1.6Hz,1H),6.84(dd,J=7.6,7.4Hz,1H),3.68(s,2H),2.62(t,J=7.8Hz,2H),1.57-1.65(m,2H),1.31-1.40(m,4H),0.91(t,J=7.0Hz,3H);<sup>13</sup>C NMR(101MHz,CDCl<sub>3</sub>): $\delta$ 179.89,152.79,130.92,130.04,128.98,121.08,120.24,37.74,32.02,30.34,29.78,22.80,14.30。

[0218] 步骤6

[0219] 如同化合物I、步骤5,将2-(2-羟基-3-戊基苯基)乙酸(22mg,0.098mmol)转化成钠盐,得到2-(2-羟基-3-戊基苯基)乙酸钠(24mg,98%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CD<sub>3</sub>OD): $\delta$ 6.91(dd,J=7.5,1.6Hz,1H),6.87(dd,J=7.5,1.6Hz,1H),6.66(dd,J=7.5,7.5Hz,1H),3.49(s,2H),2.59(t,J=7.7Hz,2H),1.55-1.62(m,2H),1.28-1.38(m,4H),0.90(t,J=7.0Hz,3H);<sup>13</sup>C NMR(101MHz,CD<sub>3</sub>OD): $\delta$ 180.26,154.27,130.75,128.21,127.90,124.24,119.23,42.91,31.83,30.21,29.82,22.51,13.29;LRMS(ESI阴离子):m/z 220.8(100%,M-Na<sup>+</sup>);UPLC(系统A):5.0min。UPLC系统A:流动相A=10mM甲酸铵水溶液;流动相B=乙腈;固定相=HSS T3柱;梯度=5%至100%B/A,10min。

[0220] 化合物X:2-(3-氟-5-戊基苯基)乙酸的钠盐



## [0222] 步骤1

[0223] 在 $0^{\circ}\text{C}$ 下,在氮气下将3-溴-5-氟苯甲酸(2.74g,12.5mmol)于四氢呋喃(6mL)中的溶液用甲硼烷-四氢呋喃复合物(1M,15mL,15mmol)以小份处理12min,并且随后将反应物在 $0^{\circ}\text{C}$ 下搅拌70min并且在室温下搅拌22h。通过添加甲醇(10mL)将反应物淬灭,并且将甲醇混合物在室温下搅拌3h,并且随后在真空中蒸发,从甲醇中并且随后从乙酸乙酯中共蒸发,得到粗产物。将所述物质溶解于乙酸乙酯(200mL)中,并且将溶液用0.5M氢氧化钠水溶液(200mL)以及用饱和氯化钠水溶液(100mL)洗涤;随后经硫酸钠干燥;过滤并且在真空中蒸发,得到3-溴-5-氟苯甲醇(1.79g,67%)。 $^1\text{H}$  NMR(400MHz, $\text{CDCl}_3$ ): $\delta$ 7.29(s,1H),7.15(ddd, $J_{\text{HF}}=8.2\text{Hz}$ , $J_{\text{HH}}=2.2,1.8\text{Hz}$ ,1H),7.00-7.02和7.02-7.04(dm, $J_{\text{HF}}=9.2\text{Hz}$ , $J_{\text{HH}}=\text{未拆分}$ ,1H),4.66(s,2H),2.04(br s,1H); $^{19}\text{F}$  NMR(377MHz, $\text{CDCl}_3$ ): $\delta$ -111.05(dd, $J_{\text{HF}}=9.3,8.0\text{Hz}$ ,1F); $^{13}\text{C}$  NMR(101MHz, $\text{CDCl}_3$ ): $\delta$ 162.87(d, $J_{\text{CF}}=250.6\text{Hz}$ ),145.42(d, $J_{\text{CF}}=6.9\text{Hz}$ ),125.45(d, $J_{\text{CF}}=3.1\text{Hz}$ ),122.69(d, $J_{\text{CF}}=9.2\text{Hz}$ ),118.01(d, $J_{\text{CF}}=24.6\text{Hz}$ ),112.51(d, $J_{\text{CF}}=21.5\text{Hz}$ ),63.60(d, $J_{\text{CF}}=2.3\text{Hz}$ )。

## [0224] 步骤2

[0225] 将3-溴-5-氟苯甲醇(1.79g,8.39mmol)和三苯基膦(3.65g,10.10mmol)于二氯甲烷(45mL)中的溶液用四溴化碳(3.34g,10.10mmol)以小份处理10min,并且随后将反应物在室温下搅拌过夜。将溶剂在真空中蒸发,并且将残余物用乙醚(50mL)处理。将所得白色浆液在室温下搅拌,并且随后通过Celite<sup>TM</sup>过滤。将残余物用乙醚(2 $\times$ 50mL)洗涤,并且将合并的滤液和洗涤液在真空中蒸发,得到粗产物。在二氧化硅垫上纯化,用2%乙酸乙酯/己烷洗脱,得到3-溴-5-氟苯甲基溴(2.21g,98%)。 $^1\text{H}$  NMR(400MHz, $\text{CDCl}_3$ ): $\delta$ 7.33(s,1H),7.18(ddd, $J_{\text{HF}}=8.2\text{Hz}$ , $J_{\text{HH}}=2.0,2.0\text{Hz}$ ,1H),7.05(ddd, $J_{\text{HF}}=9.0\text{Hz}$ , $J_{\text{HH}}=1.8,1.6\text{Hz}$ ,1H),4.38(s,2H); $^{19}\text{F}$  NMR(377MHz, $\text{CDCl}_3$ ): $\delta$ -110.19 to -110.14(m,1F); $^{13}\text{C}$  NMR(101MHz, $\text{CDCl}_3$ ): $\delta$ 162.67(d, $J_{\text{CF}}=252.1\text{Hz}$ ),141.61(d, $J_{\text{CF}}=8.5\text{Hz}$ ),128.17(d, $J_{\text{CF}}=3.1\text{Hz}$ ),122.94(d, $J_{\text{CF}}=10.0\text{Hz}$ ),119.39(d, $J_{\text{CF}}=24.6\text{Hz}$ ),115.34(d, $J_{\text{CF}}=22.3\text{Hz}$ ),31.31(d, $J_{\text{CF}}=2.3\text{Hz}$ )。

## [0226] 步骤3

[0227] 将氰化钠(0.38g,7.73mmol)于水(0.35mL)中的悬浮液用3-溴-5-氟苯甲基溴

(1.38g, 5.15mmol) 于二甲基甲酰胺 (2.6mL) 中的溶液处理, 并且将反应物在密封管中在 75℃ 下加热 3h。将反应物冷却至室温并且在乙酸乙酯 (50mL) 与 2.5% w/v 碳酸氢钠水溶液 (100mL) 之间分配。将水相用另一份乙酸乙酯 (50mL) 萃取; 并且将合并的萃取物用水 (2×50mL) 以及用饱和氯化钠水溶液 (50mL) 洗涤; 经硫酸钠干燥; 过滤并且在真空中蒸发, 得到粗产物。在 Biotage™40iM 柱 (二氧化硅) 上纯化, 用 10% 乙酸乙酯/己烷洗脱, 得到 2-[3-溴-5-氟苯基]乙腈 (0.64g, 58%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ7.26-7.28 (m, 1H), 7.17-7.19 & 7.19-7.21 (dm, J<sub>HF</sub>=8.0Hz, J<sub>HH</sub>=未拆分, 1H), 6.98-7.00 & 7.00-7.02 (dm, J<sub>HF</sub>=8.8Hz, J<sub>HH</sub>=未拆分, 1H), 3.73 (s, 2H); <sup>19</sup>F NMR (377MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ-109.46 (dd, J<sub>HF</sub>=8.0, 8.0Hz, 1F); <sup>13</sup>C NMR (101MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ162.90 (d, J<sub>CF</sub>=252.1Hz), 133.95 (d, J<sub>CF</sub>=8.5Hz), 127.24 (d, J<sub>CF</sub>=3.8Hz), 123.53 (d, J<sub>CF</sub>=10.0Hz), 119.22 (d, J<sub>CF</sub>=23.8Hz), 117.00, 114.50 (d, J<sub>CF</sub>=23.1Hz), 23.30 (d, J<sub>CF</sub>=1.5Hz)。

#### [0228] 步骤4

[0229] 将所述芳基溴 (0.55g, 2.58mmol) 和 (E)-1-戊烯-1-基硼酸频哪醇酯 (0.61g, 3.13mmol) 于二甲氧基乙烷 (13mL) 中的溶液用碳酸钠 (0.55g, 5.17mmol) 于水 (3mL) 中的溶液处理。用氮气对溶液进行脱氧, 并且用四 (三苯基膦) 钯 (0.15g, 0.13mmol; 5摩尔%) 处理。随后将混合物在密封管中在 90℃ 下加热 17h。将反应物冷却至室温并且在乙酸乙酯 (50mL) 与 1M 盐酸水溶液 (50mL) 之间分配。将有机相用饱和氯化钠水溶液 (30mL) 洗涤; 经硫酸钠干燥; 过滤并且在真空中蒸发, 得到粗产物。在 Biotage™40iM 柱 (二氧化硅) 上纯化, 用 (3%) 乙酸乙酯/己烷洗脱, 得到 (E)-2-[3-氟-5-[戊-1-烯基]苯基]乙腈 (0.43g, 82%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ7.04 (s, 1H), 6.97 (ddd, J<sub>HF</sub>=9.8Hz, J<sub>HH</sub>=2.0, 1.5Hz, 1H), 6.82-6.85 (m, 1H), 6.31 (d, J=15.8Hz, 1H), 6.25 (ddd, J=15.8, 5.9, 0Hz, 1H), 3.68 (s, 2H), 2.18 (td, J=7.2, 5.4Hz, 2H), 1.49 (qt, J=7.4, 7.4Hz, 2H), 0.95 (t, J=7.4Hz, 3H); <sup>19</sup>F NMR (377MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ-112.93 (dd, J<sub>HF</sub>=10.6, 9.3Hz, 1F); <sup>13</sup>C NMR (101MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ163.43 (d, J<sub>CF</sub>=246.0Hz), 141.44 (d, J<sub>CF</sub>=8.5Hz), 133.99, 132.37 (d, J<sub>CF</sub>=8.5Hz), 128.42 (d, J<sub>CF</sub>=2.3Hz), 121.60 (d, J<sub>CF</sub>=3.1Hz), 117.66, 113.40 (d, J<sub>CF</sub>=23.1Hz), 112.21 (d, J<sub>CF</sub>=22.3Hz), 35.22, 23.49 (d, J<sub>CF</sub>=2.3Hz), 22.51, 13.94。

#### [0230] 步骤5

[0231] 将所述苯基乙腈衍生物 (0.43g, 2.10mmol) 于甲醇 (42mL) 中的溶液用氢氧化钠水溶液 (5M; 21mL, 105mmol) 处理, 并且将混合物在密封管中在 75℃ 下加热 4.5h。将反应混合物冷却至室温, 并且用 6M 盐酸水溶液 (21mL) 淬灭; 在室温下搅拌 10min; 随后用乙酸乙酯 (2×75mL) 萃取。将有机萃取物用饱和氯化钠水溶液 (75mL) 洗涤; 经硫酸钠干燥; 过滤并且在真空中蒸发, 得到粗产物。在 Biotage™40iM 柱 (二氧化硅) 上纯化, 用 70% 乙酸乙酯/己烷洗脱, 得到所有产物的甲酯 (0.09g, 18%) 和约 95% 纯 (E)-2-[3-氟-5-戊-1-烯基]苯基]乙酸 (0.22g, 48%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ11.17 (br s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.98 (ddd, J<sub>HF</sub>=9.8Hz, J<sub>HH</sub>=2.0, 1.8Hz, 1H), 6.85 (ddd, J<sub>HF</sub>=9.0Hz, J<sub>HH</sub>=1.8, 1.6Hz, 1H), 6.33 (d, J=15.8Hz, 1H), 6.25 (dt, J=15.8, 6.4Hz, 1H), 3.62 (s, 2H), 2.17-2.22 (m, 2H), 1.51 (qt, J=7.4, 7.4Hz, 2H), 0.96 (t, J=7.4Hz, 3H); <sup>19</sup>F NMR (377MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ-114.10 (dd, J<sub>HF</sub>=9.3, 9.3Hz, 1F)。

#### [0232] 步骤6

[0233] 将部分纯化过的酸(0.28g, 1.26mmol)于丙酮(5mL)中的溶液用碳酸钾(0.26g, 1.90mmol)、碘化钾(0.04g, 0.25mmol)以及溴甲苯(0.18mL, 1.5mmol)处理,并且将反应物在室温下搅拌18h。将反应混合物在乙酸乙酯(25mL)与1M盐酸水溶液(25mL)之间分配。随后将有机相用饱和氯化钠水溶液(25mL)洗涤;经硫酸钠干燥;过滤并且在真空中蒸发,得到粗产物。在Biotage™40iM柱(二氧化硅)上纯化,用5%乙酸乙酯/己烷洗脱,得到(E)-2-[3-氟-5-[戊-1-烯基]苯基]乙酸苯甲酯(0.3g, 75%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ7.32-7.40 (m, 5H), 7.03 (s, 1H), 6.97 (ddd, J<sub>HF</sub>=10.0Hz, J<sub>HH</sub>=2.3, 1.5Hz, 1H), 6.86 (ddd, J<sub>HF</sub>=9.0Hz, J<sub>HH</sub>=2.0, 1.7Hz, 1H), 6.33 (d, J=15.8Hz, 1H), 6.23 (dt, J=15.8, 6.5Hz, 1H), 5.16 (s, 2H), 3.64 (s, 2H), 2.17-2.23 (m, 2H), 1.52 (qt, J=7.4, 7.4Hz, 2H), 0.97 (t, J=7.4Hz, 3H); <sup>19</sup>F NMR (377MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ-114.34 (dd, J<sub>HF</sub>=9.3, 9.3Hz, 1F); <sup>13</sup>C NMR (101MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ171.08, 163.32 (d, J<sub>CF</sub>=244.4Hz), 140.65 (d, J<sub>CF</sub>=7.7Hz), 136.17 (d, J<sub>CF</sub>=8.5Hz), 135.93, 133.05, 128.95 (d, J<sub>CF</sub>=3.1Hz), 128.84, 128.52 (d, J<sub>CF</sub>=9.2Hz), 128.48, 123.09 (d, J<sub>CF</sub>=2.3Hz), 114.78 (d, J<sub>CF</sub>=22.3Hz), 111.46 (d, J<sub>CF</sub>=22.3Hz), 67.04, 41.26 (d, J<sub>CF</sub>=1.5Hz), 35.27, 22.63, 14.00。

#### [0234] 步骤7

[0235] 将所述苯甲酯(0.16g, 0.50mmol)于乙酸乙酯(2mL)中的溶液用钯/碳(1%w/w Pd; 15mg)处理。用氢气对混合物进行脱气,并且在室温下在1大气压氢气下搅拌过夜。将反应物过滤,并且在真空中蒸发,得到2-[3-氟-5-戊基苯基]-乙酸(0.11g, 97%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ11.47 (br s, 1H), 6.89 (s, 1H), 6.81-6.86 (m, 2H), 3.62 (s, 2H), 2.60 (t, J=7.8Hz, 2H), 1.58-1.66 (m, 2H), 1.28-1.41 (m, 4H), 0.92 (t, J=6.8Hz, 3H); <sup>19</sup>F NMR (377MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ-114.34 (dd, J<sub>HF</sub>=9.3, 9.3Hz, 1F); <sup>13</sup>C NMR (101MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ178.15, 163.08 (d, J<sub>CF</sub>=246.0Hz), 145.02 (d, J<sub>CF</sub>=7.7Hz), 135.04 (d, J<sub>CF</sub>=8.5Hz), 125.49 (d, J<sub>CF</sub>=2.3Hz), 114.49 (d, J<sub>CF</sub>=20.8Hz), 113.83 (d, J<sub>CF</sub>=22.3Hz), 41.01 (d, J<sub>CF</sub>=1.5Hz), 35.87 (d, J<sub>CF</sub>=1.5Hz), 31.67, 31.03, 22.74, 14.24。

#### [0236] 步骤8

[0237] 将所述酸(0.11g, 0.49mmol)于乙醇(3mL)中的溶液用碳酸氢钠(0.041g, 0.49mmol)于水(0.75mL)中的溶液处理,并且将反应物在室温下搅拌17h。将乙醇在真空中蒸发,并且将剩余的水性糖浆用水(10mL)稀释,过滤(0.2μm)并且冻干,得到呈白色固体状的2-[3-氟-5-戊基苯基]乙酸钠(0.12g, 99%)。熔点120℃至123℃; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ6.94 (s, 1H), 6.87 (ddd, J<sub>HF</sub>=9.8Hz, J<sub>HH</sub>=2.0, 2.0Hz, 1H), 6.70 (ddd, J<sub>HF</sub>=10.0Hz, J<sub>HH</sub>=2.0, 2.0Hz, 1H), 3.45 (s, 2H), 2.56 (t, J=7.7Hz, 2H), 1.58-1.63 (m, 2H), 1.26-1.39 (m, 4H), 0.90 (t, J=7.0Hz, 3H); <sup>19</sup>F NMR (377MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ-117.54 (dd, J<sub>HF</sub>=10.0, 10.0Hz, 1F); <sup>13</sup>C NMR (101MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ178.66, 163.04 (d, J<sub>CF</sub>=242.9Hz), 145.07 (d, J<sub>CF</sub>=7.7Hz), 140.42 (d, J<sub>CF</sub>=8.5Hz), 125.03 (d, J<sub>CF</sub>=2.3Hz), 112.99 (d, J<sub>CF</sub>=22.3Hz), 112.30 (d, J<sub>CF</sub>=20.8Hz), 44.96, 35.53 (d, J<sub>CF</sub>=1.5Hz), 31.46, 31.00, 22.45, 13.30; HPLC: 1.2min。

#### [0238] 化合物XI: 2-(2-氟-3-戊基苯基)乙酸的钠盐

[0239] 如同化合物X,以3-溴-2-氟苯甲酸为起始物质来制备以上化合物。白色固体; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ7.13 (ddd, J<sub>HF</sub>=7.0Hz, J<sub>HH</sub>=7.4, 1.9Hz, 2H), 7.03 (ddd, J<sub>HF</sub>=7.0Hz, J<sub>HH</sub>=7.4, 1.9Hz, 1H), 6.97 (dd, J<sub>HH</sub>=7.4, 7.4Hz, 1H), 3.51 (d, J<sub>HF</sub>=1.4Hz, 2H), 2.61 (t, J=

7.6Hz, 2H), 1.56-1.63 (m, 2H), 1.28-1.40 (m, 4H), 0.90 (t, J=6.9Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ 178.21, 159.70 (d,  $J_{\text{CF}}=242.9\text{Hz}$ ), 129.07 (d,  $J_{\text{CF}}=4.6\text{Hz}$ ), 128.88, 128.43 (d,  $J_{\text{CF}}=5.4\text{Hz}$ ), 125.02 (d,  $J_{\text{CF}}=17.7\text{Hz}$ ), 123.31 (d,  $J_{\text{CF}}=4.6\text{Hz}$ ), 37.89 (d,  $J_{\text{CF}}=3.8\text{Hz}$ ), 31.55, 29.98, 28.91 (d,  $J_{\text{CF}}=3.1\text{Hz}$ ), 22.41, 13.26;  $^{19}\text{F}$  NMR (377MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ -126.09 to -126.05 (m, 1F); LRMS (ESI): m/z 220.0 (M-CO<sub>2</sub>Na+乙腈), 179.4 (M-CO<sub>2</sub>Na); HPLC: 1.2min。

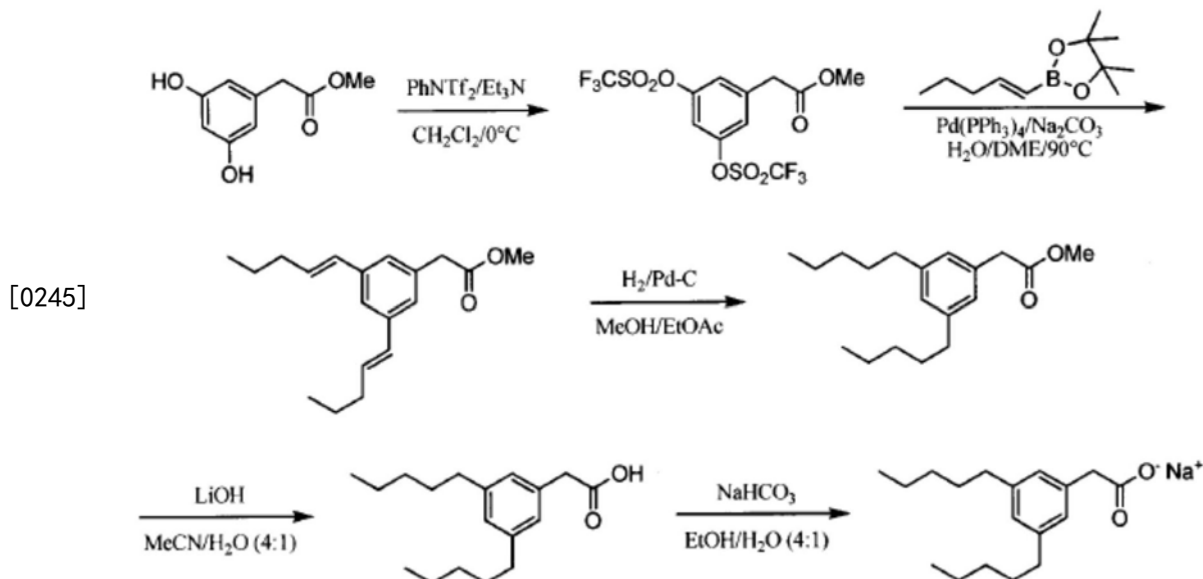
[0240] 化合物XII: 2-(4-氟-3-戊基苯基)乙酸的钠盐

[0241] 由2-(3-溴-4-氟苯基)乙酸甲酯通过如同化合物VII进行铃木偶合;随后如同化合物I来进行氢化、酯水解以及盐形成来制备以上化合物。起始酯是通过2-(3-溴-4-氟苯基)乙酸与甲醇在硫酸存在下的反应来制备。白色固体;  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ 7.16 (dd,  $J_{\text{HF}}=7.4\text{Hz}$ ,  $J_{\text{HH}}=2.3\text{Hz}$ , 2H), 7.08 (ddd,  $J_{\text{HF}}=5.0\text{Hz}$ ,  $J_{\text{HH}}=8.3, 2.3\text{Hz}$ , 1H), 6.88 (dd,  $J_{\text{HF}}=10.1\text{Hz}$ ,  $J_{\text{HH}}=8.3\text{Hz}$ , 1H), 3.40 (s, 2H), 2.59 (t, J=7.7Hz, 2H), 1.55-1.63 (m, 2H), 1.28-1.40 (m, 4H), 0.90 (t, J=7.0Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ 179.12, 159.88 (d,  $J_{\text{CF}}=240.6\text{Hz}$ ), 133.88 (d,  $J_{\text{CF}}=3.8\text{Hz}$ ), 131.26 (d,  $J_{\text{CF}}=4.6\text{Hz}$ ), 128.78 (d,  $J_{\text{CF}}=16.1\text{Hz}$ ), 127.96 (d,  $J_{\text{CF}}=8.5\text{Hz}$ ), 114.26 (d,  $J_{\text{CF}}=23.1\text{Hz}$ ), 44.38, 31.51, 30.00, 28.76 (d,  $J_{\text{CF}}=1.5\text{Hz}$ ), 22.36, 13.18;  $^{19}\text{F}$  NMR (377MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ -126.45 to -126.40 (m, 1F); LRMS (ESI): m/z 225.2 (M-Na<sup>+</sup>+2H<sup>+</sup>); HPLC: 1.9min。

[0242] 化合物XIII: (RS)-2-氟-2-(3-戊基苯基)乙酸的钠盐

[0243] 如同化合物I,由2-氟-2-(3-戊基苯基)乙酸乙酯制备以上化合物。所述酯是通过2-(3-戊基苯基)乙酸乙酯与二异丙基酰胺锂和N-氟苯磺酰胺在-78℃下在四氢呋喃中的反应来制备。白色固体;  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ 7.34 (s, 1H), 7.30 (dd, J=7.6, 1.4Hz, 1H), 7.24 (dd, J=7.6, 7.6Hz, 1H), 7.13 (dd, J=7.4, 1.0Hz, 1H), 5.53 (d,  $J_{\text{HF}}=51.3\text{Hz}$ , 1H), 2.60 (t, J=7.7Hz, 2H), 1.59-1.65 (m, 2H), 1.27-1.39 (m, 4H), 0.76 (t, J=6.9Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ 173.73 (d,  $J_{\text{CF}}=23.9\text{Hz}$ ), 141.34, 136.37 (d,  $J_{\text{CF}}=20.0\text{Hz}$ ), 126.79 (d,  $J_{\text{CF}}=2.3\text{Hz}$ ), 126.40, 125.41 (d,  $J_{\text{CF}}=5.4\text{Hz}$ ), 122.84 (d,  $J_{\text{CF}}=5.4\text{Hz}$ ), 90.34 (d,  $J_{\text{CF}}=183.4\text{Hz}$ ), 34.13, 29.91, 29.65, 20.85, 11.64;  $^{19}\text{F}$  NMR (377MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ -168.83 (d,  $J_{\text{HF}}=51.7\text{Hz}$ , 1F); LRMS (ESI阴离子): m/z 223.0 (100%, M-Na<sup>+</sup>); HPLC: 4.1min。

[0244] 化合物XIV: 2-[3,5-二戊基苯基]乙酸钠



[0246] 步骤1

[0247] 在0℃下,在氮气下将2-[3,5-二羟基苯基]乙酸甲酯(1.00g,5.49mmol)和N-苯基-双(三氟甲基磺酰基)酰亚胺(4.31g,12.1mmol)于二氯甲烷(20mL)中的悬浮液用三乙胺(1.68mL,12.1mmol)处理。形成澄清溶液。随后将反应物在0℃下在氮气下搅拌2h并且在室温下搅拌21h。将反应物用乙酸乙酯(100mL)稀释,并且将溶液用0.5M氢氧化钠水溶液(2×100mL)以及用饱和氯化钠水溶液(75mL)洗涤;随后经硫酸钠干燥;过滤并且在真空中蒸发,得到粗产物。在Biotage™40iM柱(二氧化硅)上纯化,用乙酸乙酯/己烷0:1至1:9洗脱,得到呈浅色油状的2-[3,5-双(三氟甲基磺酰氧基)苯基]乙酸甲酯(2.23g,91%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz,CDCl<sub>3</sub>):δ7.32(d,J=2.2Hz,2H),7.18(dd,J=2.2,2.2Hz,1H),3.72(s,5H);<sup>19</sup>F NMR (377MHz,CDCl<sub>3</sub>):δ-73.20(s,3F);<sup>13</sup>C NMR (101MHz,CDCl<sub>3</sub>):δ170.05,149.48,139.01,122.95,118.87(q,JCF=320.5Hz),114.42,52.62,40.29。

[0248] 步骤2

[0249] 将所述芳基双(三氟甲磺酸酯)(2.23g,4.99mmol)和(E)-1-戊烯-1-基硼酸频哪醇酯(2.45g,12.5mmol)于1,2-二甲氧基乙烷(25mL)中的溶液用碳酸钠(1.59g,15.0mmol)于水(8mL)中的溶液处理。用氮气对溶液进行脱氧,并且随后用四(三苯基膦)钯(0.58g,0.50mmol)处理。将混合物在密封管中在90℃下加热17h。将反应物冷却至室温并且在乙酸乙酯(200mL)与1M盐酸水溶液(150mL)之间分配。将有机相用5%碳酸氢钠水溶液(150mL)以及用饱和氯化钠水溶液(150mL)洗涤;随后经硫酸钠干燥;过滤并且在真空中蒸发,得到粗产物。在Biotage™40iL柱(二氧化硅)上纯化,用乙酸乙酯/己烷0:1至3:97洗脱,得到2-[3,5-二[(E)-1-戊-1-烯基]苯基]乙酸甲酯与过量(E)-1-戊烯-1-基硼酸频哪醇酯的不可分离10:4混合物(1.12g,61%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz,CDCl<sub>3</sub>):δ7.21(s,1H),7.10(d,J=1.3Hz,2H),6.34(d,J=15.8Hz,1H),6.22(dd,J=15.8,6.7Hz,1H),3.65(s,3H),3.55(s,2H),2.18(tdd,J=6.8,6.8,1.0Hz,2H),1.49(qt,J=7.4,7.2Hz,2H),0.96(t,J=7.4Hz,3H);<sup>13</sup>C NMR (101MHz,CDCl<sub>3</sub>):δ172.04,138.59,134.47,131.34,129.97,125.57,122.75,52.07,41.32,35.39,22.77,13.97。

[0250] 步骤3

[0251] 将所述不饱和化合物(1.12g, 78.5%w/w, 3.07mmol)于乙酸乙酯(1mL)和甲醇(1mL)中的溶液用钯/碳(10%w/w Pd; 0.12g)处理。用氢气对混合物进行脱气, 并且在室温下在1大气压氢气下搅拌22h。将反应物过滤, 并且在真空中蒸发, 得到2-[3,5-二戊基苯基]乙酸甲酯与戊基硼酸频哪醇酯(0.86g, 76%)的不可分离10:4混合物。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ6.93 (s, 3H), 3.70 (s, 3H), 3.59 (s, 2H), 2.58 (t, J=7.9Hz, 2H), 1.58-1.66 (m, 2H), 1.32-1.38 (m, 4H), 0.91 (t, J=6.8Hz, 3H)。

[0252] 步骤4

[0253] 将所述甲酯(0.86g, 79%w/w, 2.34mmol)于乙腈(24mL)中的溶液用氢氧化锂(0.28g, 11.7mmol)于水(6mL)中的溶液处理, 并且将反应物在室温下搅拌22h。将反应物用1M盐酸水溶液(55mL)淬灭并且随后用乙酸乙酯(100mL)萃取。将有机萃取物用饱和氯化钠水溶液(50mL)洗涤; 随后经硫酸钠干燥; 过滤并且在真空中蒸发, 得到粗产物。在SilicaSep 二氧化硅柱上纯化, 用乙酸乙酯/己烷0:1至1:4洗脱, 得到呈无色油状的2-[3,5-二戊基]苯基]乙酸(0.55g, 84%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ6.99 (s, 3H), 3.65 (s, 2H), 2.63 (t, J=7.8Hz, 2H), 1.64-1.71 (m, 2H), 1.36-1.44 (m, 4H), 0.97 (t, J=6.9Hz, 3H); <sup>13</sup>C NMR (101MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ178.96, 143.55, 133.21, 127.93, 127.06, 41.47, 36.13, 31.94, 31.47, 22.86, 14.34。

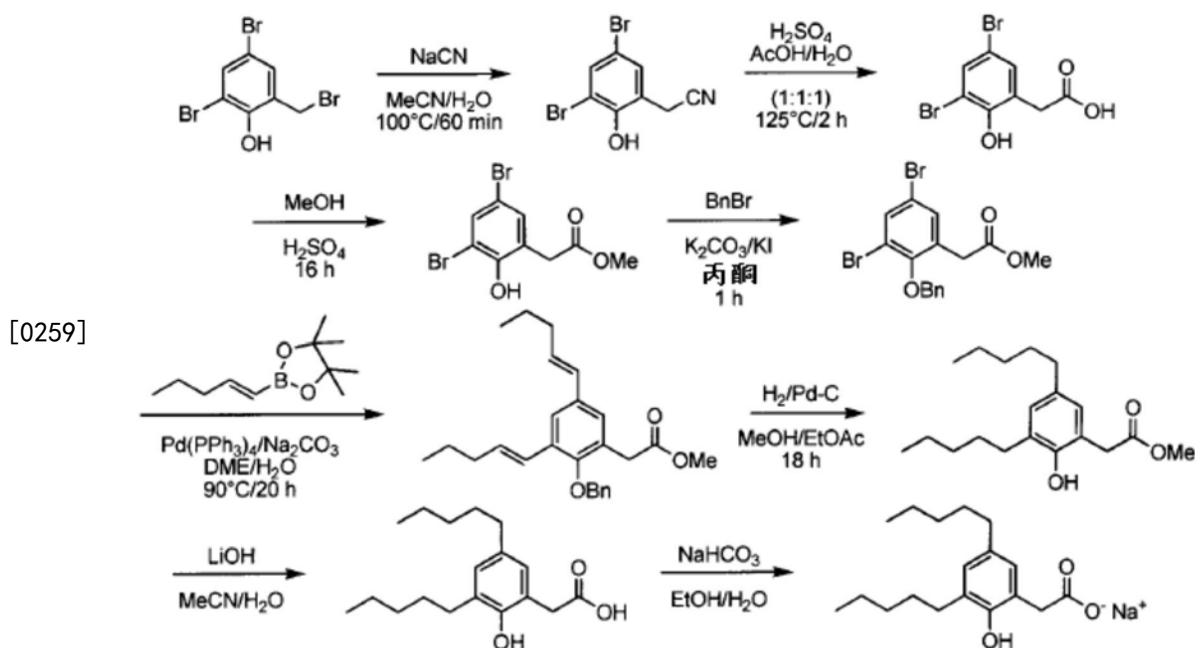
[0254] 步骤5

[0255] 将所述酸(0.48g, 1.75mmol)于乙醇(12mL)中的溶液用碳酸氢钠(0.15g, 1.75mmol)于水(3mL)中的溶液处理, 并且将反应物在室温下搅拌3天。将乙醇在真空中蒸发, 并且将剩余的水性糖浆用水(50mL)稀释, 过滤(PES, 0.2μm)并且冻干, 得到呈白色固体状的2-[3,5-二戊基苯基]乙酸钠(0.52g, 定量)。熔点225℃至230℃; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD+D<sub>2</sub>O): δ6.92 (s, 2H), 6.76 (s, 1H), 3.41 (s, 2H), 2.50 (t, J=7.5Hz, 2H), 1.52-1.59 (m, 2H), 1.23-1.33 (m, 4H), 0.85 (t, J=6.9Hz, 3H); <sup>13</sup>C NMR (101MHz, CD<sub>3</sub>OD+D<sub>2</sub>O): δ179.99, 142.66, 137.63, 126.66, 126.16, 45.11, 35.61, 31.36, 31.19, 22.41, 13.47; LRMS (ESI): m/z 277.5 (w, [M-Na++2H<sup>+</sup>]), 231.1 (100%, 由损失羧基而来的环庚三烯正离子); HPLC: 3.0min。

[0256] 化合物XV: 2-(3,5-二己基苯基)乙酸的钠盐

[0257] 如同化合物XIV, 由(E)-己-1-烯基硼酸频哪醇酯制备以上化合物。白色固体; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ6.96 (s, 2H), 6.79 (s, 1H), 3.43 (s, 2H), 2.54 (d, J=7.7Hz, 4H), 1.55-1.63 (m, 4H), 1.28-1.36 (m, 12H), 0.89 (t, J=6.8Hz, 6H); <sup>13</sup>C NMR (101MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ179.68, 142.38, 137.82, 126.55, 126.07, 45.30, 35.87, 31.83, 31.67, 29.02, 22.61, 13.42; LRMS (ESI): m/z 322.0 (100%, M-Na++H++NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) 和259.0 (35%, M-CO<sub>2</sub>Na); UPLC (系统A): 8.9min。UPLC系统A: 流动相A=10mM碳酸氢铵水溶液; 流动相B=乙腈; 固定相=HSS T3柱; 梯度=5%至100%B/A, 10min。

[0258] 化合物XVI: 2-(2-羟基-3,5-二戊基苯基)乙酸的钠盐



## [0260] 步骤1

[0261] 将2,4-二溴-6-(溴甲基)苯酚(3.5g, 10.0mmol)于乙腈(17mL)中的溶液用氰化钠(2.5g, 50.0mmol)的溶液处理并且将反应物在100°C下在回流下加热1h。将反应混合物冷却至室温并且倾入水(100mL)中。将pH值用1M盐酸水溶液从10调节至8, 并且将混合物用乙酸乙酯(3×250mL)萃取。将合并的萃取物用1M盐酸水溶液(250mL)以及用饱和氯化钠水溶液(250mL)洗涤; 随后经硫酸钠干燥; 过滤并且在真空中蒸发, 得到粗产物。用丙酮萃取; 过滤; 并且在真空中蒸发, 得到2-(3,5-二溴-2-羟基苯基)乙腈(2.6g, 90%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, d6-丙酮): δ8.75(br s, 1H), 7.69(d, J=2.3Hz, 1H), 7.54(d, J=2.3Hz, 1H), 3.92(s, 2H); <sup>13</sup>C NMR(101MHz, d6-丙酮): δ151.31, 134.51, 131.92, 122.80, 117.43, 111.89, 111.53, 18.70。

## [0262] 步骤2

[0263] 将2-(3,5-二溴-2-羟基苯基)乙腈(2.6g, 9.0mmol)用硫酸(2.5mL)、乙酸(2.5mL)与水(2.5mL)的混合物处理, 并且将反应物在125°C下在回流下加热2h。将反应混合物冷却至室温并且倾入冰(50mL)与水(50mL)的混合物中, 并且随后搅拌直至冰已融化。将混合物用乙酸乙酯(250mL)萃取; 并且随后将萃取物用水(100mL)以及用饱和氯化钠水溶液(100mL)洗涤; 经硫酸钠干燥; 过滤并且在真空中蒸发, 得到粗产物2-(3,5-二溴-2-羟基苯基)乙酸(3.1g)。不经进一步纯化或表征即将此物质直接用于下一步骤。

## [0264] 步骤3

[0265] 将粗产物2-(3,5-二溴-2-羟基苯基)乙酸(3.1g, 9.0mmol)于甲醇(17mL)中的溶液用硫酸(0.43mL, 8.1mmol)处理并且将反应物在环境温度下搅拌16h。将甲醇在真空中蒸发, 并且将残余物溶解于乙酸乙酯(270mL)中。将溶液用水(2×200mL)以及用饱和氯化钠水溶液(130mL)洗涤; 经硫酸钠干燥; 过滤并且在真空中蒸发, 得到粗产物。在Biotage™SP1系统(120g二氧化硅滤筒)上纯化, 用0%至20%乙酸乙酯/己烷洗脱, 得到2-(3,5-二溴-2-羟基苯基)乙酸甲酯(1.4g, 49%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ7.52(d, J=2.2Hz, 1H), 7.23(d, J=2.2Hz, 1H), 6.42(br s, 1H), 3.72(s, 3H), 3.65(s, 2H); <sup>13</sup>C NMR(101MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ172.06, 150.60, 133.74, 133.50, 123.94, 112.62, 111.77, 52.78, 36.61。

**[0266] 步骤4**

[0267] 将2-(3,5-二溴-2-羟基苯基)乙酸甲酯(0.5g,1.54mmol)于丙酮(5mL)中的溶液用碳酸钾(0.26g,1.86mmol)、碘化钾(0.05g,0.32mmol)以及溴甲苯(0.20mL,1.7mmol)处理并且将反应物在室温下搅拌1h。将丙酮在真空中蒸发,并且将残余物在乙酸乙酯(50mL)与1M盐酸水溶液(50mL)之间分配。将有机相用饱和氯化钠水溶液(50mL)洗涤;经硫酸钠干燥;过滤并且在真空中蒸发,得到粗产物。在Biotage™SP1系统(40g二氧化硅滤筒)上纯化,用0%至10%乙酸乙酯/己烷洗脱,得到2-(2-(苯甲氧基)-3,5-二溴苯基)乙酸甲酯(0.6g,95%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>): $\delta$ 7.67(d,J=2.4Hz,1H),7.48-7.51(m,2H),7.37(d,J=2.4Hz,1H),7.34-7.43(m,3H),4.99(s,2H),3.66(s,3H),3.60(s,2H);<sup>13</sup>C NMR(101MHz,CDCl<sub>3</sub>): $\delta$ 171.26,153.79,136.56,135.38,133.57,132.04,128.82,128.64,128.52,118.69,117.56,75.53,52.50,35.86。

**[0268] 步骤5**

[0269] 如同化合物I、步骤2,使2-(2-(苯甲氧基)-3,5-二溴苯基)乙酸甲酯(0.3g,0.73mmol)与(E)-戊-1-烯基硼酸频哪醇酯(0.4g,1.79mmol)偶合,得到2-(2-(苯甲氧基)-3,5-二((E)-戊-1-烯基)苯基)乙酸甲酯(0.21mg,72%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>): $\delta$ 7.50(d,J=7.2Hz,2H),7.44(dd,J=7.2,7.2Hz,2H),7.43(d,J=2.1Hz,1H),7.38(dd,J=7.2,7.2Hz,1H),7.18(d,J=2.1Hz,1H),6.72(d,J=15.8Hz,1H),6.39(d,J=15.8Hz,1H),6.32(dt,J=15.8,7.0Hz,1H),6.22(dt,J=15.8,6.8Hz,1H),4.87(s,2H),3.69(s,3H),3.67(s,2H),2.20-2.29(m,4H),1.50-1.60(m,4H),1.01(t,J=7.3Hz,3H),1.00(t,J=7.4Hz,3H);<sup>13</sup>C NMR(101MHz,CDCl<sub>3</sub>): $\delta$ 172.49,153.59,137.58,134.35,132.91,131.91,130.84,129.53,128.78,128.32,128.30,128.24,127.26,125.21,123.89,75.89,52.21,35.94,35.74,35.42,22.87,22.77,14.07,14.06。

**[0270] 步骤6**

[0271] 如同化合物I、步骤3将2-(2-(苯甲氧基)-3,5-二((E)-戊-1-烯基)苯基)乙酸甲酯(0.2g,0.53mmol)氢化,得到2-(2-羟基-3,5-二戊基苯基)乙酸甲酯(0.12g,73%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>): $\delta$ 7.37(s,1H),6.92(d,J=2.1Hz,2H),6.77(d,J=2.1Hz,1H),3.76(s,3H),3.67(s,2H),2.65(t,J=7.8Hz,2H),2.51(t,J=7.8Hz,2H),1.58-1.66(m,4H),1.31-1.41(m,8H),0.93(t,J=7.0Hz,3H),0.92(t,J=6.9Hz,3H);<sup>13</sup>C NMR(101MHz,CDCl<sub>3</sub>): $\delta$ 175.01,151.27,135.14,131.48,129.92,128.52,120.30,52.95,38.35,35.34,32.15,31.86,31.74,30.61,30.03,22.87,22.83,14.34,14.31。

**[0272] 步骤7**

[0273] 如同化合物I、步骤4,将2-(2-羟基-3,5-二戊基苯基)乙酸甲酯(0.2g,0.53mmol)水解,得到粗产物与己内酯化的物质的混合物。将一小份在Biotage™SP1系统(120g二氧化硅滤筒)上纯化,用0%至100%乙酸乙酯/己烷洗脱,得到2-(2-羟基-3,5-二戊基苯基)乙酸(13.5mg)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>): $\delta$ 10.5(br s,1H),6.89(d,J=2.2Hz,1H),6.78(d,J=2.2Hz,1H),6.32(br s,1H),3.66(s,2H),2.58(t,J=7.9Hz,2H),2.48(t,J=7.8Hz,2H),1.52-1.63(m,4H),1.26-1.37(m,8H),0.90(t,J=7.0Hz,3H),0.88(t,J=6.8Hz,3H)。

**[0274] 步骤8**

[0275] 如同化合物I、步骤5,将2-(2-羟基-3,5-二戊基苯基)乙酸(13.5mg,0.046mmol)转

化成钠盐,得到2-(2-羟基-3,5-二戊基苯基)乙酸钠(11mg,77%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz,CD<sub>3</sub>OD): $\delta$  6.72 (d,J=2.0Hz,1H),6.69 (d,J=2.0Hz,1H),3.46 (s,2H),2.56 (t,J=7.6Hz,2H),2.44 (t,J=7.6Hz,2H),1.50-1.61 (m,4H),1.25-1.37 (m,8H),0.90 (t,J=6.8Hz,3H),0.88 (t,J=7.0Hz,3H);<sup>13</sup>C NMR (101MHz,CD<sub>3</sub>OD): $\delta$ 180.33,151.94,133.47,130.37,128.21,127.81,123.99,42.90,34.97,31.81,31.60,31.40,30.25,29.88,22.51,22.45,13.29,13.24;LRMS (ESI阴离子):m/z 291.2 (100%,M-Na<sup>+</sup>);UPLC (系统B):7.7min。UPLC系统B:流动相A=0.1%甲酸水溶液;流动相B=0.1%甲酸/乙腈;固定相=HSS T3柱;梯度=5%至100%B/A,10min。

[0276] 化合物XVII:2-(3,5-二己基-2-羟基苯基)乙酸的钠盐

[0277] 如同化合物XVI,使用(E)-己-1-烯基硼酸频哪醇酯来制备以上化合物。<sup>1</sup>H NMR (400MHz,CD<sub>3</sub>OD): $\delta$ 6.72 (d,J=2.0Hz,1H),6.69 (d,J=2.0Hz,1H),3.46 (s,2H),2.56 (t,J=7.6Hz,2H),2.44 (t,J=7.5Hz,2H),1.50-1.60 (m,4H),1.27-1.37 (m,12H),0.89 (t,J=6.6Hz,3H),0.88 (t,J=6.80Hz,3H);LRMS (ESI阴离子):m/z 319 (100%,M-Na<sup>+</sup>);UPLC (系统B):8.7min。UPLC系统B:流动相A=0.1%甲酸水溶液;流动相B=0.1%甲酸/乙腈;固定相=HSS T3柱;梯度=5%至100%B/A,10min。

[0278] 化合物XVIII:2-(4-羟基-3,5-二戊基苯基)乙酸的钠盐

[0279] 如同化合物XVI,由2-(3,5-二溴-4-羟基苯基)乙酸制备以上化合物。<sup>1</sup>H NMR (400MHz,CD<sub>3</sub>OD): $\delta$ 6.87 (s,2H),3.33 (s,2H),2.55 (t,J=7.7Hz,4H),1.53-1.61 (m,4H),1.31-1.37 (m,8H),0.90 (t,J=7.0Hz,6H);LRMS (ESI阴离子):m/z 291.1 (100%,M-Na<sup>+</sup>);UPLC (系统B):6.8min。UPLC系统B:流动相A=0.1%甲酸水溶液;流动相B=0.1%甲酸/乙腈;固定相=HSS T3柱;梯度=5%至100%B/A,10min。

[0280] 化合物XIX:2-(3,5-二己基-4-羟基苯基)乙酸的钠盐

[0281] 如同化合物XVI,由2-(3,5-二溴-4-羟基苯基)乙酸和(E)-己-1-烯基硼酸频哪醇酯制备以上化合物。<sup>1</sup>H NMR (400MHz,CD<sub>3</sub>OD): $\delta$ 6.72 (d,J=2.0Hz,1H),6.69 (d,J=2.0Hz,1H),3.46 (s,2H),2.56 (t,J=7.6Hz,2H),2.44 (t,J=7.5Hz,2H),1.50-1.60 (m,4H),1.27-1.37 (m,12H),0.89 (t,J=6.6Hz,3H),0.88 (t,J=6.8Hz,3H);LRMS (ESI阴离子):m/z 319.1 (100%,M-Na<sup>+</sup>);UPLC (系统B):7.6min。UPLC系统B:流动相A=0.1%甲酸水溶液;流动相B=0.1%甲酸/乙腈;固定相=HSS T3柱;梯度=5%至100%B/A,10min。

[0282] 化合物XX:2-(4-氟-3,5-二己基苯基)乙酸的钠盐

[0283] 如同化合物XVI,以3,5-二溴-4-氟苯甲基溴和(E)-己-1-烯基硼酸频哪醇酯制备以上化合物。3,5-二溴-4-氟苯甲基溴是通过用N-溴琥珀酰亚胺和偶氮二异丁腈在乙腈中在80℃下对3,5-二溴-4-氟苯进行溴化来制备。<sup>1</sup>H NMR (400MHz,CD<sub>3</sub>OD): $\delta$ 6.98 (d,JHF=7.0Hz,2H),3.38 (s,2H),2.57 (t,J=7.7Hz,4H),1.54-1.61 (m,4H),1.28-1.37 (m,12H),0.89 (t,J=6.7Hz,6H);<sup>19</sup>F NMR (377MHz,CD<sub>3</sub>OD): $\delta$ -132.17 (d,JHF=6.6Hz,1F);<sup>13</sup>C NMR (101MHz,CD<sub>3</sub>OD): $\delta$ 179.44,158.11 (d,JCF=239.8Hz),133.26 (d,JCF=3.8Hz),128.73 (d,JCF=5.4Hz),128.56 (d,JCF=16.9Hz),44.52,31.69,30.35 (d,JCF=1.5Hz),28.98,28.97 (d,JCF=3.1Hz),22.51,13.29;LRMS (ESI阴离子):m/z321.0 (100%,M-Na<sup>+</sup>);UPLC (系统B):9.2min。UPLC系统B:流动相A=0.1%甲酸水溶液;流动相B=0.1%甲酸/乙腈;固定相=HSS T3柱;梯度=5%至100%B/A,10min。

[0284] 化合物XXI: 2-(4-氟-3,5-二戊基苯基)乙酸的钠盐

[0285] 如同化合物XVI, 以3,5-二溴-4-氟苯甲基溴为起始物质来制备以上化合物。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$ 6.98 (d, JHF=6.8Hz, 2H), 3.37 (s, 2H), 2.57 (t, J=7.6Hz, 4H), 1.54-1.62 (m, 4H), 1.28-1.37 (m, 8H), 0.90 (t, J=7.0Hz, 6H); <sup>19</sup>F NMR (377MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$ -132.34 (d, JHF=6.6Hz, 1F); <sup>13</sup>C NMR (101MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$ 179.41, 158.10 (d, JCF=239.8Hz), 133.26 (d, JCF=3.8Hz), 128.72 (d, JCF=4.6Hz), 128.56 (d, JCF=16.9Hz), 44.51, 31.54, 30.07, 28.92 (d, JCF=3.1Hz), 22.38, 13.22; LRMS (ESI阴离子): m/z 293.0 (100%, M-Na<sup>+</sup>); UPLC (系统B): 8.4min。UPLC系统B: 流动相A=0.1%甲酸水溶液; 流动相B=0.1%甲酸/乙腈; 固定相=HSS T3柱; 梯度=5%至100%B/A, 10min。

[0286] 化合物XXII: 2-(2-苯甲基-3,5-二戊基苯基)乙酸的钠盐

[0287] 如同化合物XIV, 由2-(2-苯甲基-3,5-二((E)-戊-1-烯基)苯基)乙酸甲酯制备标题化合物。后者是从放大规模的化合物XIV作为副产物(1.1%产率)而被分离。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$ 7.17 (dd, J=7.3, 7.3Hz, 2H), 7.09 (dd, J=7.3, 7.3Hz, 1H), 6.97-6.99 (m, 3H), 6.86 (d, J=1.8Hz, 1H), 4.13 (s, 2H), 3.40 (s, 2H), 2.55 (t, J=7.7Hz, 2H), 2.49 (t, J=7.8Hz, 2H), 1.59-1.67 (m, 2H), 1.31-1.45 (m, 6H), 1.21-1.26 (m, 4H), 0.91 (t, J=7.0Hz, 3H), 0.82 (t, J=7.0Hz, 3H); <sup>13</sup>C NMR (101MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$ 179.48, 141.46, 141.24, 140.47, 137.46, 133.70, 128.36, 128.05, 127.86, 127.75, 125.42, 43.25, 35.54, 33.90, 33.61, 31.86, 31.65, 31.25, 30.96, 22.49, 22.40, 13.31, 13.23; LRMS (ESI阴离子): m/z 365.0 (20%, M-Na<sup>+</sup>), 321.1 (100%, M-CO<sub>2</sub>Na); UPLC (系统B): 9min。(UPLC系统B: 流动相A=0.1%甲酸水溶液; 流动相B=0.1%甲酸/乙腈; 固定相=HSS T3; 梯度=5%至100%B/A, 10min。)

[0288] 化合物XXIII: 2-[3,5-二((E)-戊-1-烯基)苯基]乙酸钠

[0289] 使用与化合物XIV相同但省略氢化步骤的程序来制备标题化合物。熔点226-30°C; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$ 7.18 (d, J=1.2Hz, 2H), 7.11 (d, J=1.2Hz, 1H), 6.34 (d, J=15.9Hz, 2H), 2.23 (dt, J=15.9, 6.7Hz, 2H), 3.44 (s, 2H), 2.14-2.19 (m, 4H), 1.49 (tq, J=7.4, 7.4Hz, 4H), 0.95 (t, J=7.3Hz, 6H); <sup>13</sup>C NMR (101MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$ 179.41, 138.34, 138.06, 130.30, 130.16, 125.26, 121.60, 45.24, 35.10, 22.55&12.98; LRMS (阴离子模式): m/z 271 (w, [M-Na<sup>+</sup>]), 227.2 (100%, [M-Na<sup>+</sup>-CO<sub>2</sub>]); UPLC: 8min。(UPLC; 条件: 溶剂A=0.1%甲酸/水; 溶剂B=0.1%甲酸/乙腈; 梯度: 5%至100%B/A, 10min, 0.7mL/min。)

[0290] 化合物XXIV: 3-[3,5-二戊基苯基]丙酸钠

[0291] 使用与化合物XIV相同的程序, 以3-[3,5-二溴苯基]丙酸为起始物质来制备标题化合物。熔点211°C至217°C; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$ 6.73 (s, 1H), 6.68 (s, 2H), 2.73-2.77 (m, 2H), 2.42-2.46 (m, 2H), 2.38 (t, J=7.8Hz, 4H), 1.43-1.51 (m, 4H), 1.19-1.28 (m, 8H), 0.83 (t, J=6.9Hz, 6H); <sup>13</sup>C NMR (101MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$ 182.55, 142.93, 141.85, 125.96, 125.77, 39.80, 36.13, 32.77, 31.99, 31.47, 22.79&14.27; LRMS (阴离子模式): m/z 289.4 (100%, [M-Na<sup>+</sup>]); UPLC: 9min。(UPLC; 条件: 溶剂A=0.1%甲酸/水; 溶剂B=0.1%甲酸/乙腈; 梯度: 5%至100%B/A, 10min, 0.7mL/min。)

[0292] 实施例2: 化合物对受LPS刺激的RAW264.7细胞(破骨细胞祖细胞)的影响

[0293] 来源于细菌的细胞壁产物LPS长期以来被认为是骨损失发展中的关键因素。LPS在骨再吸收中起重要作用, 所述骨再吸收涉及炎性细胞的募集、细胞因子(诸如介白素-6 (IL-

6)、IL-12以及肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ))的合成以及破骨细胞形成和分化的活化。

[0294] RAW264.7细胞为破骨细胞的前体并且可由若干因子分化而来,包括NF- $\kappa$ B配体受体活化因子(RANKL)或脂多糖(LPS)。破骨细胞的特征在于高表达或酒石酸盐抗性酸性磷酸酶(TRACP)和基质金属蛋白酶-9(MMP-9),这些物质可用作破骨细胞的标记物。已显示在癸酸存在下孵育的RAW264.7细胞使得IL-12产生增加并且磷酸酶(TRAP)阳性细胞(TRAP表达,一种破骨细胞分化标记)减少(Wang等人,J.Biol.Chem.(2006),第281卷,第45期,第34457-64页)。此外,LPS将可诱导的氧化氮合成酶(iNOS)mRNA水平和氧化氮(NO)产生大幅上调,而癸酸则对其进行抑制。另外,癸酸还抑制单核细胞趋化因子蛋白-1(MCP-1)mRNA表达。

[0295] 与作为破骨细胞生成减少的正对照的癸酸相比较,所选化合物对TRAP(破骨细胞标记物)和IL-12的影响是在鼠类破骨细胞前体细胞系RAW264.7细胞中进行(Park等人,(2011)PLOS One第6卷,第11期,8页)。通过在存在或不存在癸酸或化合物I的情况下与LPS(1 $\mu$ g/ml)一起孵育来使RAW264.7细胞分化。在第3天至第5天,使用酒石酸盐抗性酸性磷酸酶(TRAP)染色来评估破骨细胞形成。

[0296] 图1表示如由高TRAP表达(深色染色)所证实,LPS在RAW264.7细胞中的破骨细胞生成效应。与癸酸和化合物I一起孵育指示不同的表型,其中可观测到对照细胞和LPS诱导的细胞而无TRAP细胞,表明所述细胞在破骨细胞中未分化。

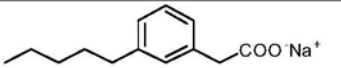
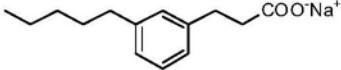
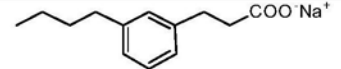
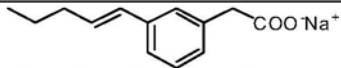
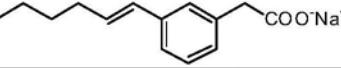
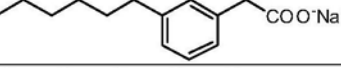
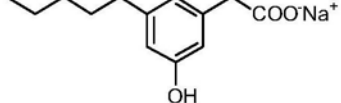
[0297] 还已报导癸酸在受LPS刺激的RAW264.7中增加IL-12的产生(Wang等人,J.Biol.Chem.(2006),第281卷,第45期,第34457-64页)。由于癸酸还为已知破骨细胞生成抑制剂,故进行实验以确定化合物I是否能够促进IL-12产生增加。在存在或不存在化合物的情况下,在37 $^{\circ}$ C下在具有95%空气-5%二氧化碳的湿润气氛中将RAW264.7细胞在存在100ng/mL LPS的情况下培养21小时。使用IL-12ELISA,根据制造商(BD Biosciences)推荐方案来测量培养基中的IL-12浓度。图2说明在存在各种浓度的化合物I的情况下在受LPS刺激的RAW264.7细胞中对IL-12产生的强诱导。

[0298] 实施例3:式I化合物对受LPS刺激的破骨细胞祖细胞RAW264.7细胞中的IL-12产生的影响

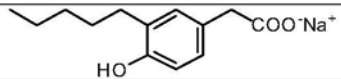
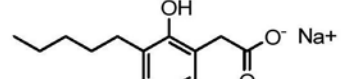
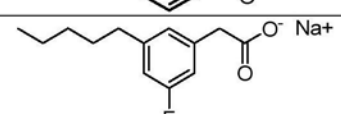
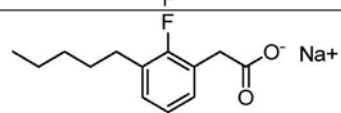
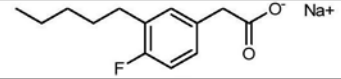
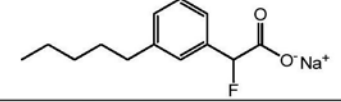
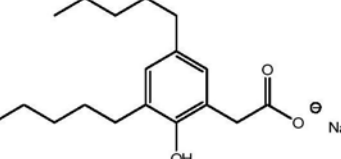
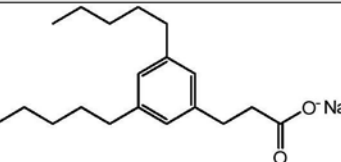
[0299] IL-12还被报导抑制破骨细胞形成(Horwood等人(2001)J.of Immunology,第166卷,第8期,第4915-4921页)。如实施例1中所证实,在化合物I存在下加以孵育的受LPS刺激的RAW264.7增加IL-12并且减少破骨细胞生成(TRAP)。使用体外IL-12产生分析法来筛选潜在的破骨细胞生成抑制剂。表2表示代表性式I化合物对IL-12产生的影响。所有这些化合物均诱导IL-12产生的显著增加。

[0300] 表2:代表性式I化合物对IL-12产生的影响

[0301]

| 化合物 | 结构                                                                                | IL12<br>pg/ml | 化合物浓度   |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------|---------|
| I   |  | 54.34         | 0.50 mM |
| II  |  | 350.65        | 0.50 mM |
| III |  | 62.28         | 0.50 mM |
| IV  |  | 19.31         | 0.50 mM |
| V   |  | 52.5          | 0.50 mM |
| VI  |  | 58.87         | 0.25 mM |
| VII |  | 16.6          | 0.50 mM |

[0302]

|      |                                                                                     |       |          |
|------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|----------|
| VIII |    | 20    | 0.50 mM  |
| IX   |   | 12.57 | 0.1 mM   |
| X    |  | 80    | 0.50 mM  |
| XI   |  | 15    | 0.25 mM  |
| XII  |  | 419.6 | 0.50 mM  |
| XIII |  | 17.6  | 0.25 mM  |
| XVI  |  | 15    | 0.005 mM |
| XXIV |  | 79.9  | 0.0025mM |

[0303] 这些结果证实测试化合物在LPS存在下诱导IL-12产生。能够刺激IL-12产生意味着式I化合物由于诱导IL-12而可适用于预防和/或治疗骨质疏松症。这受到上文在实施例1和实施例2中所提到的参考文献的支持,所述参考文献教导IL-12对破骨细胞生成具有直接抑制作用。

[0304] 实施例4:化合物I在卵巢切除大鼠模型中对骨质疏松症减轻的影响

[0305] 尽管与人类相比,大鼠的骨骼质量在其寿命跨度期间仍稳定较长时期,但可对大鼠进行卵巢切除以使其性激素缺乏,并且刺激停经后女性中发生的加速骨损失。卵巢切除术在大鼠中诱导骨损失并且停经后骨损失都具有许多类似的特征。这些特征包括:骨更换速率增加伴随再吸收超过形成;初始快速骨损失阶段随后为慢得多的阶段;松质骨损失大于皮质骨;钙的肠吸收减少;一定程度上防止由于肥胖所致的骨损失;以及对利用雌激素、他莫昔芬、双膦酸盐、甲状旁腺激素、降血钙素以及锻炼的疗法的类似骨骼反应。这些广泛类似性为卵巢切除大鼠骨损失模型适用于研究与停经后骨损失相关的问题的强有力的证据。

[0306] 在第0天对SD大鼠(250g)进行卵巢切除(OVX)。从第14天至第68天,通过经口管饲法用化合物I(200mg/kg)对大鼠进行治疗。在第68天对不同的参数(体重、钙损失、破骨细胞标记物(RANKL和TRAP mRNA表达)、胶原蛋白含量以及组织学)进行评估。

[0307] 图3说明卵巢切除的大鼠的体重的增加(类似于“停经后肥胖”)。化合物I减轻卵巢切除诱导的肥胖。

[0308] 图4表示化合物I对卵巢切除的大鼠中的钙损失的影响。从第28天至第56天在卵巢切除的大鼠的尿液中检测到钙损失。化合物I显著减轻卵巢切除的大鼠的钙损失。

[0309] 此外,已知血清中的酸性磷酸酶活性为破骨细胞生成的指示(Park等人,(2011) PLOS One第6卷,第11期,第1-8页)。测量血清酸性磷酸酶活性并且在卵巢切除的大鼠中从第28天至第56天此活性显著增加(图5)。然而,化合物I降低卵巢切除的大鼠的血清中的酸性磷酸酶活性(图5),所述降低指示成功减少破骨细胞生成。

[0310] 图6表示在第68天在大鼠胫骨中化合物I对RANKL/OPG mRNA表达比率的影响。如图所示,在罹患骨质疏松症的大鼠中RANKL/OPG mRNA表达有所增加,而在用化合物I治疗的情况下它降低,所述降低指示成功减少破骨细胞生成。

[0311] 作为骨损失的结果,胶原蛋白含量降低。在卵巢切除的大鼠中观测到此结果。化合物I使卵巢切除的大鼠股骨干骺端中的胶原蛋白含量增加,表明骨损失减少(图7)。

[0312] 图8示出了股骨干骺端的组织骨切片的代表性图片。化合物I使股骨干骺端部分中的骨损失减少。

[0313] 实施例5:式I化合物在糖尿病肥胖(db/db)小鼠模型中对血清脂联素水平的影响

[0314] 已记录脂联素刺激骨形成和重塑并且抑制骨再吸收,表明脂联素可为骨质量的负调节剂(Lubkowska等人,(2014) Disease Markers,第2014卷,论文ID975178,14页)。此外,大部分体外研究已证实脂联素刺激成骨细胞分化和矿化以及骨钙素的表达,骨钙素充当调节葡萄糖代谢和脂肪质量的激素(Lubkowska等人(2014))。脂联素对成骨细胞和破骨细胞并且因此对骨重塑的潜在影响可能与内分泌系统与脂肪代谢之间的相互关系有关(Lubkowska等人(2014))。

[0315] 为了确定所选本发明化合物是否可影响血清脂联素水平,使用II型糖尿病/肥胖模型。简单来说,对db/db小鼠(6周龄)进行单侧肾切除并且用化合物XIV(结构在上文的表1中示出)治疗113天。用小鼠脂联素酶联免疫吸附分析试剂盒(R&D Systems)测定血清脂联素水平。

[0316] 图9说明如在肥胖db/db糖尿病小鼠中所测量的血清脂联素水平。在未治疗的db/

db小鼠中血清脂联素水平降低,而用化合物XIV治疗使脂联素水平增加至假手术组动物水平,表明此化合物可预防或减轻骨质疏松症。化合物XIV的变化型式,特别是具有类似化学结构的化合物,也可增加脂联素水平并且预防和/或减轻骨质疏松症。化合物XIV的化学变化型式的非排他性清单包括但不限于以上表1中所示的化合物XV至化合物XXIV (以及其任何药学上可接受的盐)。

[0317] \*\*\*

[0318] 本文中包括标题以供参考和辅助定位某些部分。这些标题不旨在限制其中所描述的概念的范围,并且这些概念可在整个说明书中的其他部分中具有适用性。因而,本发明不旨在受限于本文中所示的实施方案,而是应符合与本文中所公开的原理和新颖特征一致的最广泛范围。

[0319] 除非上下文另外明确规定,否则单数形式“(a/an)”和“所述”包括相应复数参考物。

[0320] 除非另外指示,否则本说明书和权利要求书中用于表述成分的量、反应条件、浓度、性质等等的所有数字均应理解为在所有情况下由术语“约”加以修饰。至少,每个数值参数至少应按照所报导的有效数字的数值并且通过应用一般舍入技术来理解。因此,除非指示为相反的,否则本说明书和所附权利要求书中所阐述的数值参数为可视设法获得的性质而变化的近似值。尽管阐述所述实施方案的广泛范围的数值范围和参数为近似值,但特定实施例中所阐述的数值是尽可能精确地报导。然而,任何数值均固有地含有由实验、测试测量、统计分析等方面的变化而产生的某些误差。

[0321] 应理解,本文中所描述的实施例和实施方案仅是出于说明的目的并且根据其进行的各种修改或变化将被建议给本领域技术人员并且将被包括在本发明和所附权利要求书的范围内。

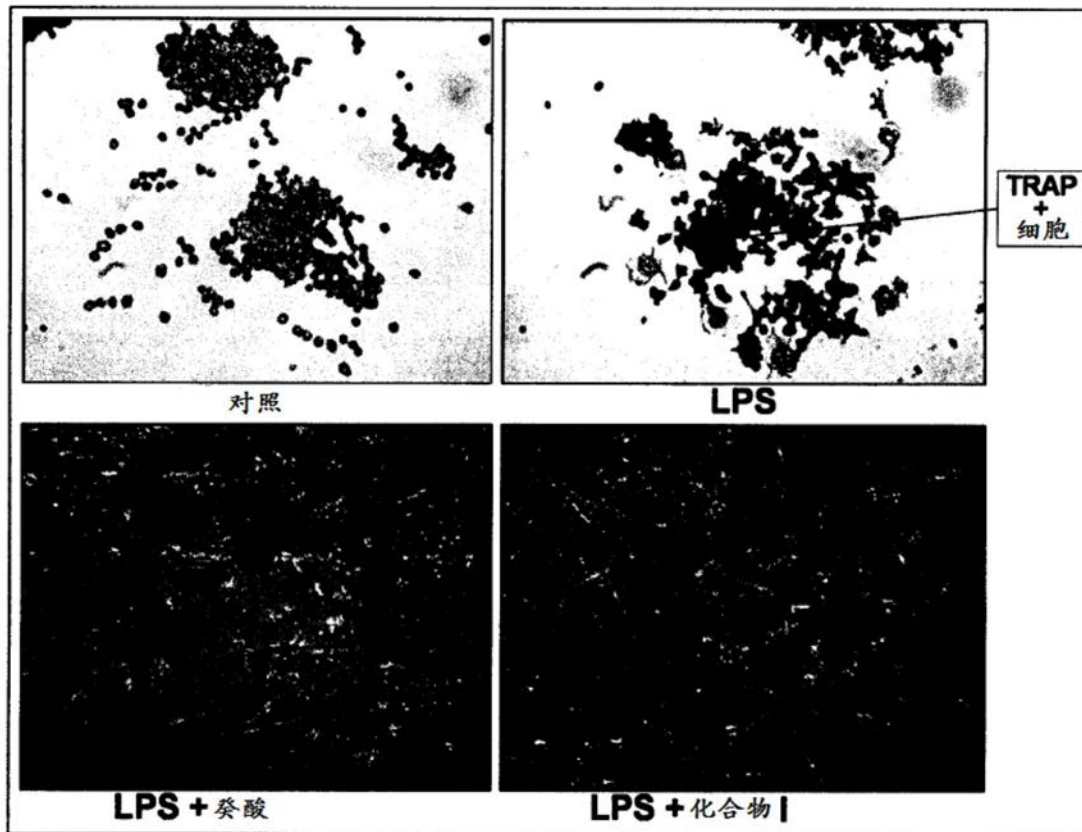


图1

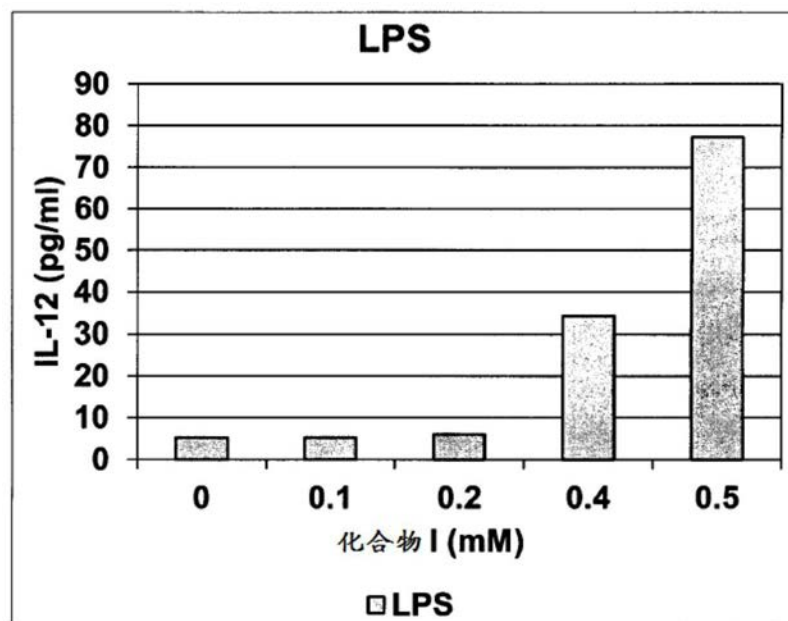


图2

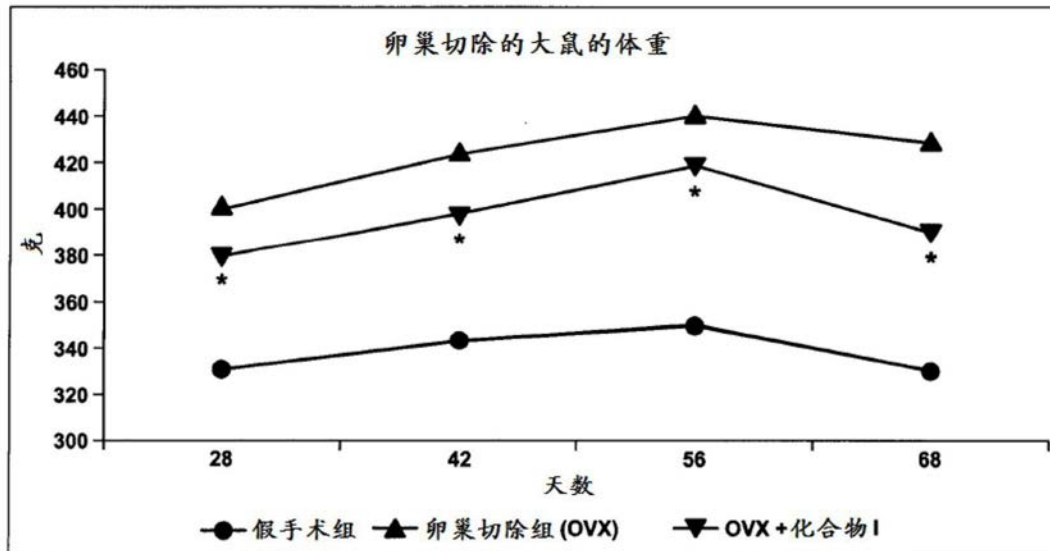


图3

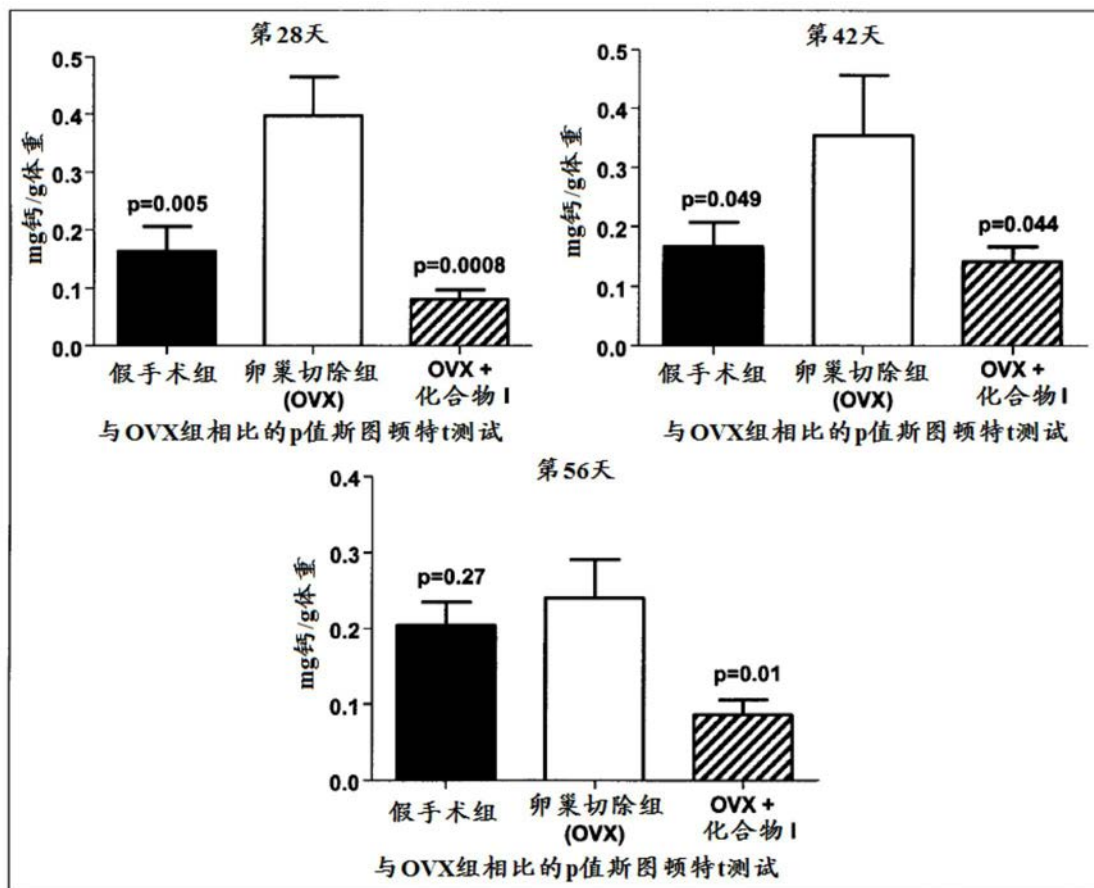


图4

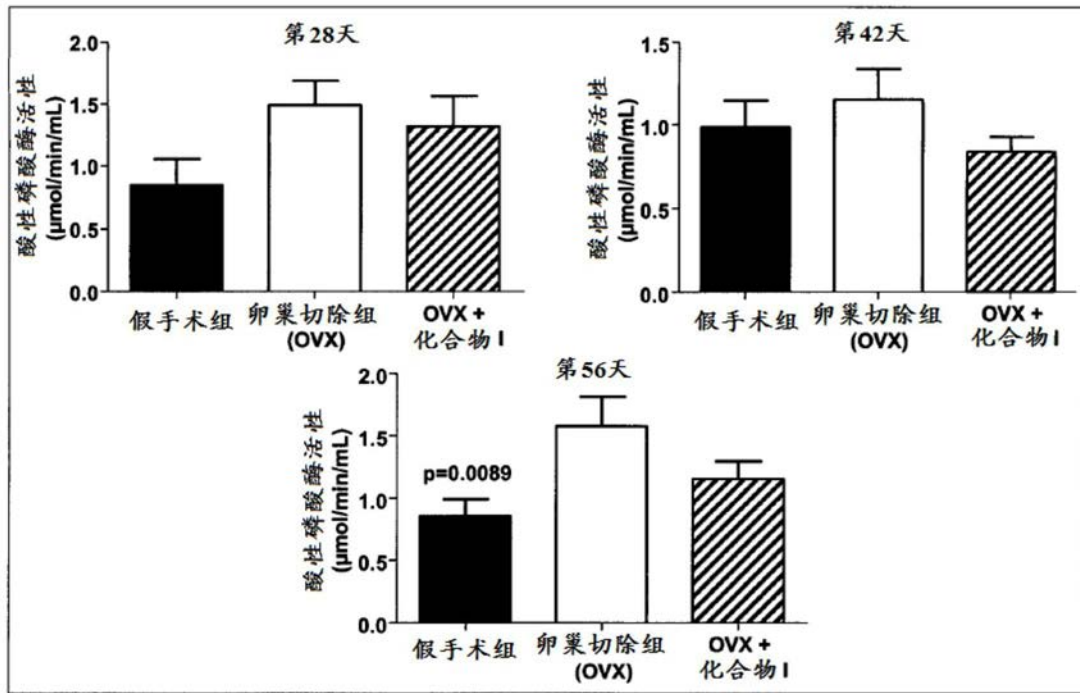


图5

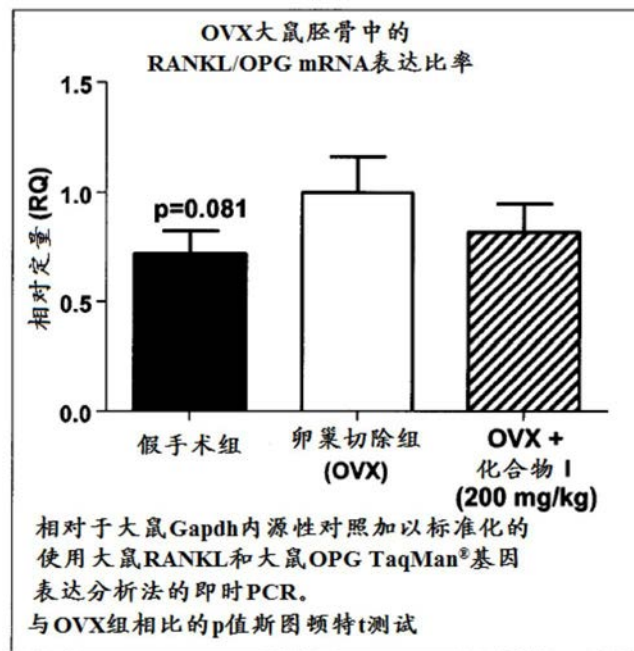


图6

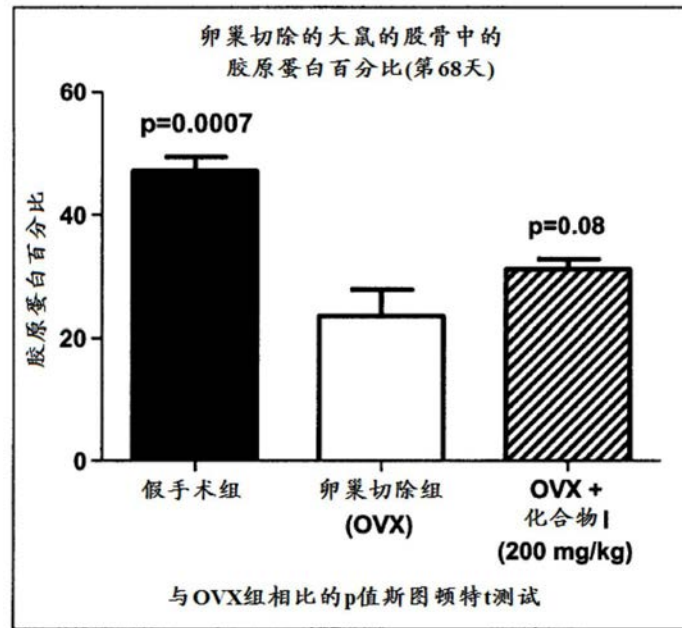


图7

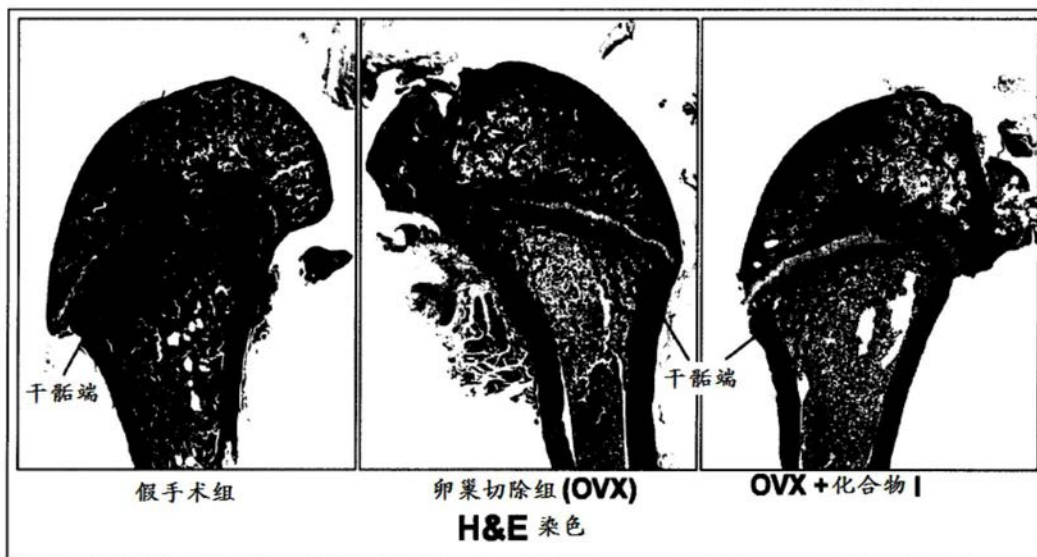


图8

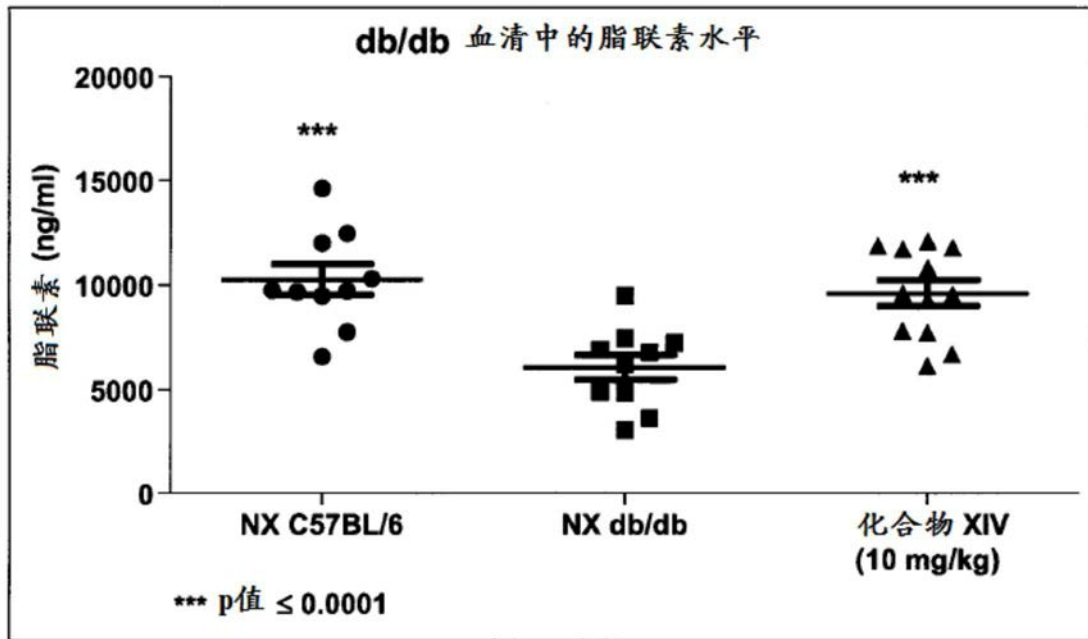


图9