

[19]中华人民共和国专利局

[51]Int.Cl<sup>6</sup>

C07H 17/00

A61K 31/70



# [12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 95106322.7

[45]授权公告日 1998年7月8日

[11] 授权公告号 CN 1039013C

[22]申请日 95.5.18 [24]颁证日 98.4.2

[21]申请号 95106322.7

[30]优先权

[32]94.5.20 [33]US[31]246,655

[73]专利权人 伊莱利利公司

地址 美国印第安纳州

[72]发明人 J·A·多奇 C·A·弗罗力克

T·D·林德斯特龙 C·W·卢加

G·S·施塔滕

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 谭明胜 姜建成

[56]参考文献

US4418068 1983.11.29 A61K31/445

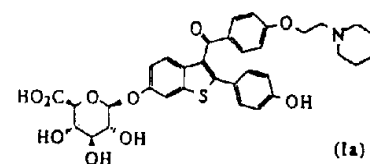
审查员 00 00

权利要求书 4 页 说明书 33 页 附图页数 0 页

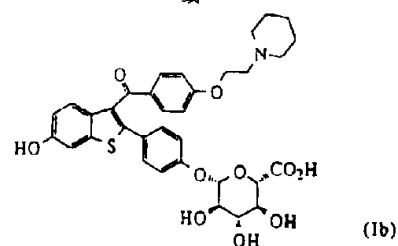
[54]发明名称 吡喃葡糖苷苯并噻吩类化合物及其制备方法和作为药物的用途

[57]摘要

本发明提供了下式化合物或其可药用盐或溶剂化物, 以及它们的使用方法和制备方法。

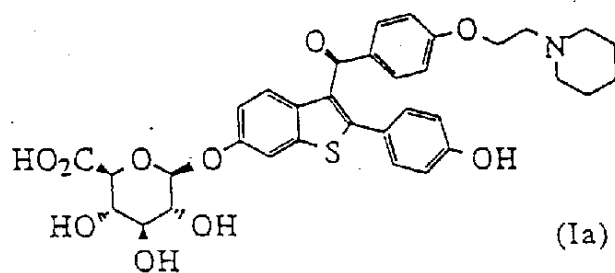


或

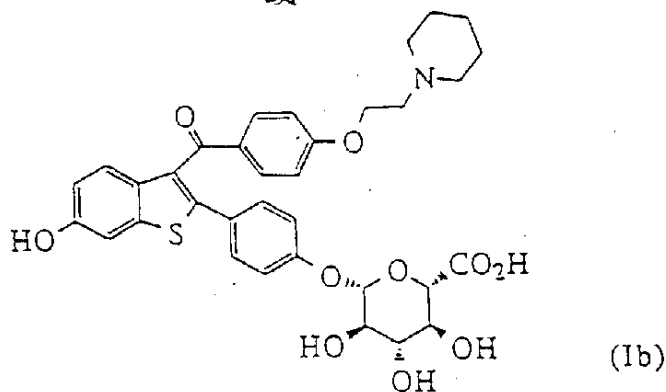


# 权利要求书

1. 下式化合物或其可药用盐：

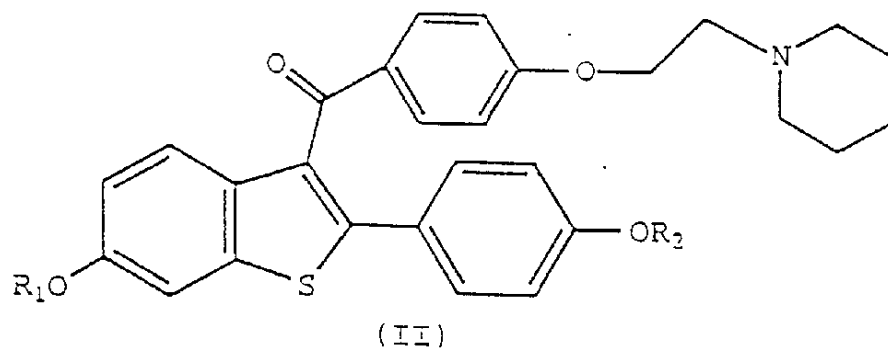


或

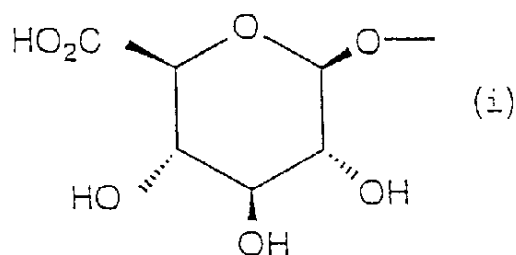


2. 权利要求1所述的化合物，其中所述化合物是其盐酸盐。
3. 权利要求1或2的化合物在制备降低血清脂水平的药物中应用。
4. 权利要求1或2的化合物在制备抑制骨损失药物中的应用。
5. 一种降低血清脂水平或抑制骨损失的药物组合物，该组合物含有权利要求1或2所述的化合物作为活性成分，并含有一种或多种合适的赋形剂、稀释剂或载体。

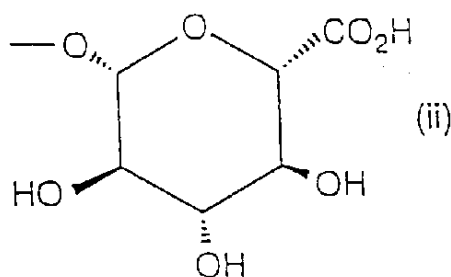
## 6. 式 II 化合物或其盐或溶剂化物的制备方法



其中  $R_1$  是氢或式 i 基团

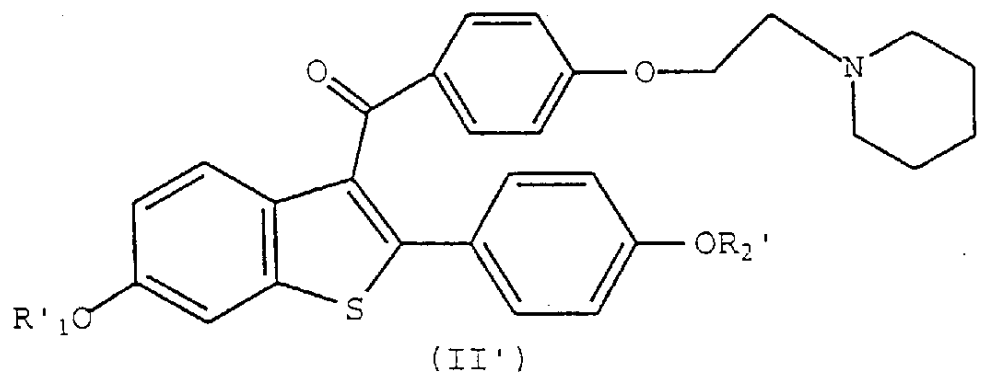


并且  $R_2$  是氢或式 ii 基团

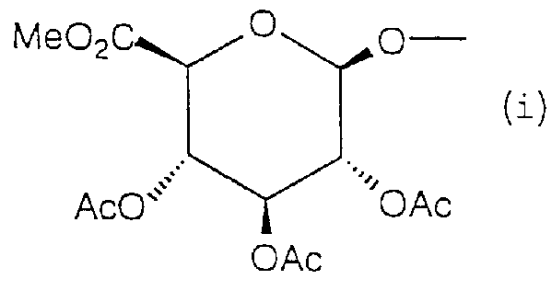


条件是  $R_1$  或  $R_2$  之中一个是氢,

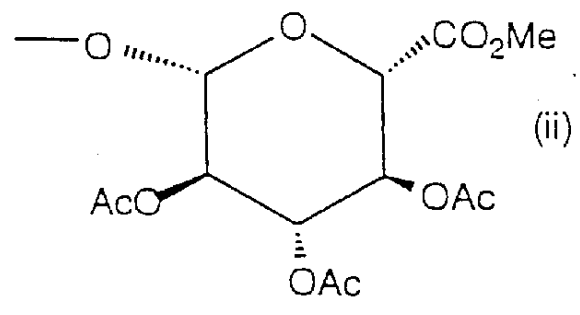
该方法包括: 在极性有机溶剂中, 将 II' 化合物或其盐或溶剂化物与碱和羟基保护基脱除剂在足以制备式 II 化合物的温度下反应,



其中R<sub>1</sub>'是羟基保护基或式i基团



或者R<sub>2</sub>'是羟基保护基或式ii基团



条件是R<sub>1</sub>'和R<sub>2</sub>'之中的一个是羟基保护基。

7. 权利要求6所述的方法, 其中所述羟基保护基是叔丁基二甲基甲硅烷基, 所述碱是氢氧化锂, 所述溶剂是二噁烷。

## 说明书

### 吡喃葡萄糖苷苯并噻吩类化合物 及其制备方法和作为药物的用途

本发明涉及在4'位或6位葡萄糖醛酸苷化的(glucuronidated)苯并噻吩类化合物及其应用和制备方法。

目前为公众关心的主要骨疾病或疾症包括绝经后骨质疏松、老年骨质疏松、长期进行皮质类固醇治疗的患者、糖皮质激素或类固醇治疗中的副作用、库欣综合征患者、性腺发育不全、类风湿关节炎中关节周围糜烂、骨关节炎、佩吉特病、骨质缺乏、骨软化、恶性高钙血、因骨转移所致骨质减少、牙周病和甲状旁腺机能亢进。所有这些病症的特征都是骨损失，是由于骨降解（骨吸收）与健康的新骨形成之间的失调造成的。骨的这种周转正常情况下持续一生，并且骨以这种机制再生。但是，上述疾病将使该平衡倾向于骨损失，这样，吸收掉的骨量不能充分地地被新骨补充，于是造成净的骨损失。

一种最常见的骨疾病是绝经后骨质疏松，仅在美国就有大约2000—2500万妇女患有此病。随着循环雌激素含量下降，绝经后妇女的骨周转速度增加，由此导致净的骨损失。不同骨的骨周转速度不同，在富集小梁骨的部位，例如椎骨和股骨头处速度最快。紧接着绝经之后，这些部位骨损失的量每年可能为4—5%。所造成的骨质降低和骨空间增大导致骨折的危险升高，因为骨的力学完整性迅速衰退。

目前在美国，由于骨质疏松使得2000万人患有可检测的椎骨骨折，并且因为骨质疏松每年有250,000人髌骨骨折。后一种情况在

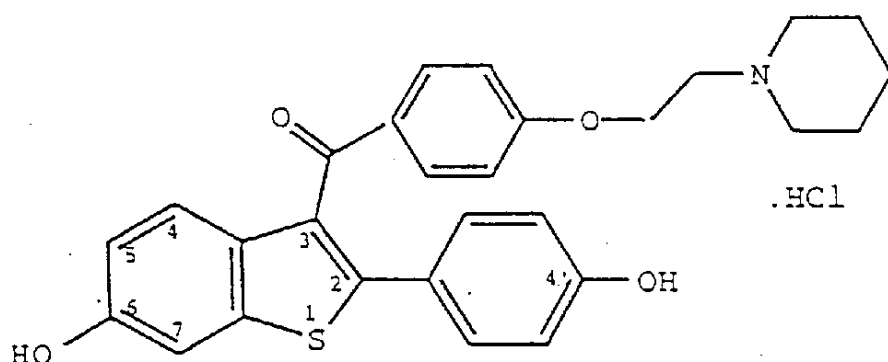
头两年死亡率为12%，并且30%这样的患者在骨折后需要家庭护理。因此，骨疾病的特征是显著的死亡率、幸存者生活质量大大下降以及给家庭造成巨大的经济负担。

几乎上述所有疾症都可得益于用抑制骨吸收的药物进行治疗。骨吸收是通过被称作破骨细胞的特定细胞的活性而进行的。破骨细胞的独特性在于它既能够吸收骨的羟基磷灰石矿物质，也能吸收骨的有机基质。它们与以前称为破软骨细胞的软骨吸收细胞相类似。由于这一原因，破骨骨吸收的有效抑制剂也将抑制类风湿性关节炎以及骨关节炎中所出现的细胞介导的软骨降解。

旨在阻止净骨损失的治疗包括使用雌激素。已经清楚地表明，雌激素终止了绝经后出现的骨损失，并且限制了骨质疏松的发展；但是患者不愿配合，因为雌激素有副作用。这些副作用包括月经恢复、乳房痛、患子宫癌的危险增加，以及可能增加患乳腺癌的危险。

另外也已采用降钙素来治疗骨质疏松患者。橙红色的降钙素已表明能直接抑制哺乳动物破骨细胞的吸收活性，在意大利和日本它已经被普遍地处方使用。但是，对于多数人来说降钙素过于昂贵，并且效力也短暂。也就是说破骨细胞通过下调降钙素受体能够“逃避”降钙素的吸收抑制作用。因此，目前的临床数据表明，用降钙素进行长期治疗对于绝经后的骨损失不可能长期有效。

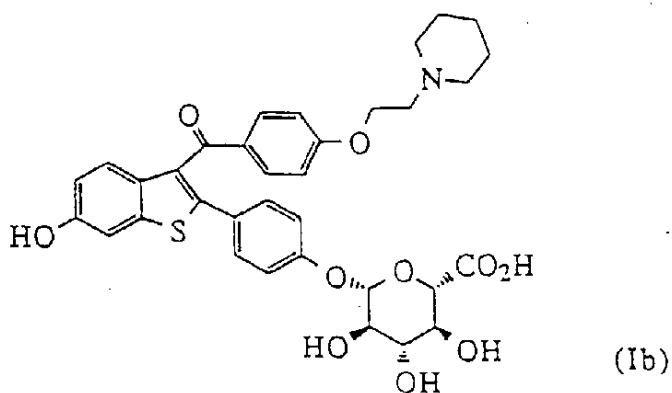
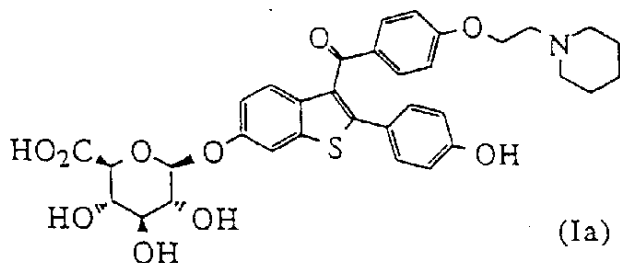
目前在临床实验中用于抑制骨损失和降低脂含量的化合物是雷洛昔芬，其结构式如下：



当给人口服施用雷洛昔芬时，在全身循环系统中达不到可检测的雷洛昔芬浓度。这在很大程度上是由于药物的代谢。遗憾的是，目前还没有分离出纯的准确的人体代谢产物，因此不能明确地建立其结构。

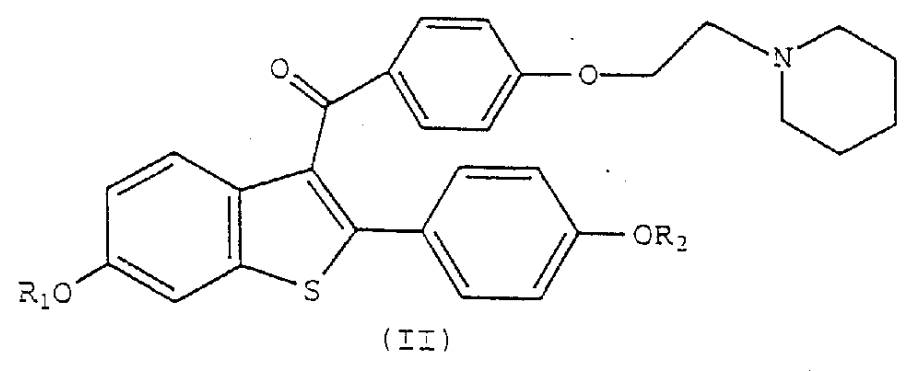
目前已经确定了包括配糖键区域化学和立体化学完整性 ( $\alpha$  对  $\beta$ ) 的两种人体代谢产物的准确结构。

本发明包括由下式 Ia 和 Ib 表示的式 I 化合物或其可药用盐或溶剂化物：

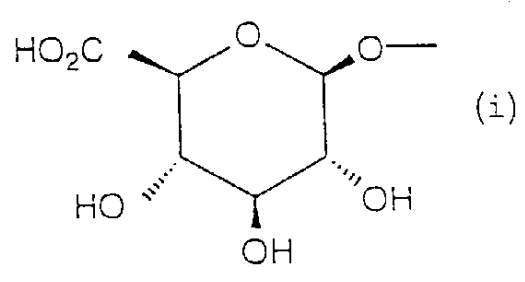




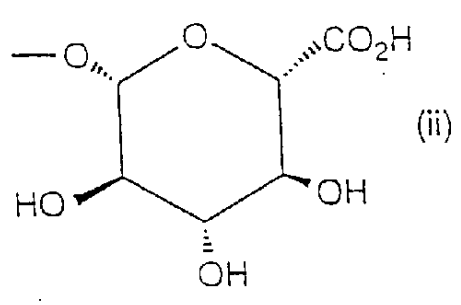
本发明进一步包括制备下式 II 化合物或其盐或溶剂化物的方法:



其中 R<sub>1</sub> 是氢或式 i 基团

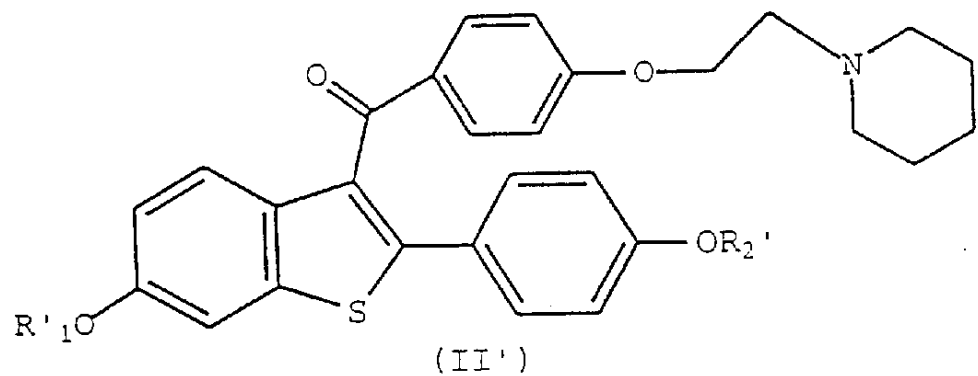


并且 R<sub>2</sub> 是氢或式 ii 基团

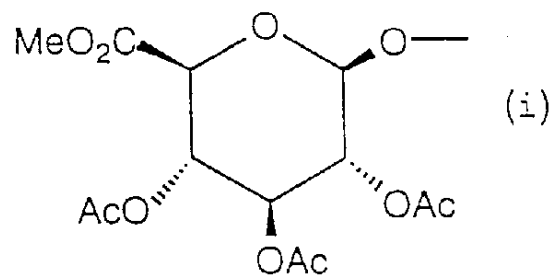


条件是 R<sub>1</sub> 或 R<sub>2</sub> 之中一个是氢,  
 该方法包括: 在合适的极性有机溶剂中, 将式 II' 化合物或其盐或溶剂化物与的碱和羟基保护基脱除剂在足以制备式 II 化合物的

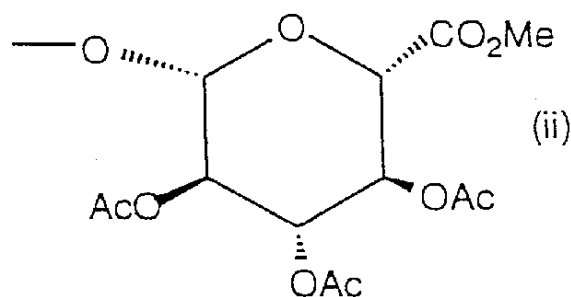
温度下反应,



其中  $R_1'$  是羟基保护基或式 i 基团



或者  $R_2'$  是羟基保护基或式 ii 基团



条件是  $R_1'$  和  $R_2'$  之中的一个是羟基保护基。

本发明还包括上述化合物的使用方法。

本发明发现式 I 化合物适用于降低血清胆固醇含量和抑制骨吸收与骨损失。本发明还提供了使用方法，该方法是通过给需要这种治疗的人施用一定剂量的式 I 化合物或其可药用盐或溶剂化物，以降低胆固醇含量或抑制骨损失或骨吸收来实现的。

已经测定出化合物 I b 是主要的人体代谢产物。

术语“抑制”包括其通常可接受的意义，包括阻止、防止、遏制和减缓、终止或逆转疾病的进程、或严重程度以及抑制和/或治疗现已存在的症状。该方法包括治疗和/或（如果需要）预防治疗。

通常可以将本发明化合物与普通的赋形剂、稀释剂或载体一起配制，并压制成片剂、或者配制成方便口服给药的酞剂或溶液剂；或者通过肌内或静脉内途径给药。该化合物可以经皮给药，并且还适于配制成缓释剂型等。

本发明方法适用于男子和妇女。但是本发明方法优选适用于妇女，尤其是雌激素缺乏的妇女。

本发明方法中使用的化合物可以与多种有机和无机酸、碱生成可药用的酸和碱加成盐，可药用的酸和碱加成盐包括通常用于药物化学上的生理上适用的盐。所述盐也包括在本发明的范围内。用于生成上述盐的典型的无机酸包括盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硝酸、硫酸、磷酸、连二磷酸等。可以应用由有机酸生成的盐，有机酸包括脂肪族一或二羧酸、苯基取代的链烷酸、羟基链烷酸和羟基链烷二酸，以及芳香族酸、脂肪族和芳香族磺酸。因此所述可药用的盐包括乙酸盐、苯基乙酸盐、三氟乙酸盐、丙烯酸盐、抗坏血酸盐、苯甲酸盐、氯代苯甲酸盐、二硝基苯甲酸盐、羟基苯甲酸盐、甲氧基苯甲酸盐、甲基苯甲酸盐、邻乙酰氧基苯甲酸盐、萘-2-苯甲酸盐、

溴化物、异丁酸盐、苯基丁酸盐、 $\beta$ -羟基丁酸盐、丁炔-1,4-二酸盐、己炔-1,4-二酸盐、癸酸盐、辛酸盐、氯化物、肉桂酸盐、柠檬酸盐、甲酸盐、富马酸盐、羟基乙酸盐、庚酸盐、马尿酸盐、乳酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、羟基马来酸盐、丙二酸盐、扁桃酸盐、甲磺酸盐、烟酸盐、异烟酸盐、硝酸盐、草酸盐、邻苯二甲酸盐、对苯二甲酸盐、磷酸盐、磷酸一氢盐、磷酸二氢盐、偏磷酸盐、焦磷酸盐、丙炔酸盐、丙酸盐、苯基丙酸盐、水杨酸盐、癸二酸盐、琥珀酸盐、辛二酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、焦硫酸盐、亚硫酸盐、亚硫酸氢盐、磺酸盐、苯磺酸盐、对溴苯磺酸盐、氯代苯磺酸盐、乙磺酸盐、2-羟基乙磺酸盐、甲磺酸盐、萘-1-磺酸盐、萘-2-磺酸盐、对甲苯磺酸盐、二甲苯磺酸盐、酒石酸盐等。优选的盐是盐酸盐。

可药用的酸加成盐一般可通过式 I 化合物与等摩尔或过量的酸反应制得。反应物通常于互溶剂如乙醚或苯中进行反应。盐一般在约1小时至10天内从溶剂中析出，并且可以经过滤分离，或者按常规方法除去溶剂。

通常用于生成盐的碱包括氢氧化铵、碱金属和碱土金属氢氧化物、碳酸盐，以及脂肪族伯、仲、叔胺和脂肪族二胺。用于制备加成盐的碱包括氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化铵、碳酸钾、甲胺、二乙胺、乙二胺和环己烷。

与化合物（由该化合物衍生得到盐）相比较，可药用的盐通常有提高溶解度的性质，因此通常更适用于配制成液剂或乳剂。

药物制剂可按本技术领域已知的方法制备。例如，将化合物与常用的赋形剂、稀释剂或载体一起配制，并可配制成片剂、胶囊剂、混悬液剂、粉剂、非经胃肠用的混合物等。适用于上述制剂的赋形

剂、稀释剂和载体包括：填充剂和增量剂如淀粉、糖、甘露糖醇以及硅衍生物；粘合剂如羧甲基纤维素和其它纤维素衍生物，藻酸盐、明胶和聚乙烯吡咯烷酮；润湿剂如甘油；崩解剂如碳酸钙和碳酸氢钠；阻滞溶解剂如石蜡；吸收促进剂如季铵化合物；表面活性剂如鲸蜡醇、单硬脂酸甘油酯；吸附载体如高岭土和膨润土；以及润滑剂如滑石、硬脂酸钙和硬脂酸镁以及固体聚乙二醇。

本发明的化合物也可以配制成方便口服给药的酏剂或溶液剂，或者配制成适于非经胃肠道（如经肌内、皮下或静脉内途径）给药的溶液剂。另外，本发明化合物还非常适用于配制成缓释剂型等。缓释制剂可以这样构成，即使它们仅仅或最好在肠道的特定部位，可能在一定时间内释放活性成分。包衣、包膜和保护基质可以由例如聚物质或蜡制成。

抑制骨损失或降低血清胆固醇所需的式 I 化合物的剂量取决于疾病的严重程度、给药途径和有关因素，这些将由主治医生确定。一般来说，有效剂量是约 0.1-1000mg/天。

该组合物优选配制成含有约 0.1-1000mg 的单元剂型。术语“单元剂型”是指用于人或其它哺乳动物的物理独立的单元，例如是片剂或胶囊剂，可以是单元剂量、特别是单元日剂量，每一单元含有计算好的、达到所需疗效的、预定量的活性物质和适合药用的赋形剂。

给人用药的期限和时间将根据症状的程度、患者的健康状况以及有关因素而变化，这将由主治医生确定。预期的疗程是至少 6 个月，更通常是至少 1 年，优选连续治疗。

采用下列剂量范围的制剂实施例：

制剂

制剂1: 明胶胶囊剂

硬明胶胶囊剂按下面方法制备:

成分	量 (mg/ 胶囊)
式 I 化合物	50-150
淀粉, NF	0-650
可流动的淀粉粉末	0-650
硅氧烷流体 (350 厘沲)	0-15

将上述成分混合, 通过美国第 45 目筛, 并将其装入硬明胶胶囊。

具体的胶囊剂实施例包括下列制剂:

制剂2: 式 I 化合物胶囊剂

成分	量 (mg/ 胶囊)
式 I 化合物	60
淀粉, NF	112
可流动的淀粉粉末	225.3
硅氧烷流体 (350 厘沲)	1.7

制剂3: 式 I 化合物胶囊剂

成分	量 (mg/ 胶囊)
式 I 化合物	75
淀粉, NF	108
可流动的淀粉粉末	225.3
硅氧烷流体 (350 厘沲)	1.7

制剂4: 式 I 化合物胶囊剂

成分	量 (mg/ 胶囊)
式 I 化合物	100
淀粉, NF	103
可流动的淀粉粉末	225.3
硅氧烷流体 (350 厘沲)	1.7

制剂5: 式 I 化合物胶囊剂

成分	量 (mg/ 胶囊)
式 I 化合物	125

淀粉, NF	150
可流动的淀粉粉末	397
硅氧烷流体 (350厘沲)	3.0

制剂6: 式 I 化合物胶囊剂

成分	量 (mg/ 胶囊)
式 I 化合物	150
淀粉, NF	150
可流动的淀粉粉末	397
硅氧烷流体 (350厘沲)	3.0

根据合理的改变, 还可以将上述具体的制剂进行变化。

用下列成分制备片剂:

制剂7: 片剂

成分	量 (mg/ 片)
式 I 化合物	60
微晶纤维素	0-650
煅制的二氧化硅	0-650
硬脂酸	0 -15



制剂8: 片剂

---

成分	量(mg/片)
式 I 化合物	75
微晶纤维素	0-650
煅制的二氧化硅	0-650
硬脂酸	0 -15

---

制剂9: 片剂

---

成分	量(mg/片)
式 I 化合物	100
微晶纤维素	0-650
煅制的二氧化硅	0-650
硬脂酸	0 -15

---

制剂10: 片剂

---

成分	量 (mg/片)
式 I 化合物	125
微晶纤维素	0-650
煅制的二氧化硅	0-650
硬脂酸	0 -15

---

制剂11: 片剂

---

成分	量 (mg/片)
式 I 化合物	150
微晶纤维素	0-650
煅制的二氧化硅	0-650
硬脂酸	0 -15

---

将上述各成分混合并压制成片剂。

另外, 每片含 50-150mg 活性成分的片剂可以按下法制备:

制剂12: 片剂

---

成分	量(mg/片)
式 I 化合物	60
淀粉	45
微晶纤维素	35
聚乙烯吡咯烷酮(10%水溶液)	4
羧甲基纤维素钠	4.5
硬脂酸镁	0.5
滑石	1

---

制剂13: 片剂

---

成分	量(mg/片)
式 I 化合物	75
淀粉	45
微晶纤维素	35
聚乙烯吡咯烷酮(10%水溶液)	4
羧甲基纤维素钠	4.5
硬脂酸镁	0.5
滑石	1

---

制剂14: 片剂

---

成分	量(mg/片)
式 I 化合物	100
淀粉	45
微晶纤维素	35
聚乙烯吡咯烷酮(10%水溶液)	4
羧甲基纤维素钠	4.5
硬脂酸镁	0.5
滑石	1

---

制剂15: 片剂

---

成分	量(mg/片)
式 I 化合物	125
淀粉	45
微晶纤维素	35
聚乙烯吡咯烷酮(10%水溶液)	4
羧甲基纤维素钠	4.5
硬脂酸镁	0.5
滑石	1

---

### 制剂16: 片剂

成分	量(mg/片)
式 I 化合物	150
淀粉	45
微晶纤维素	35
聚乙烯吡咯烷酮(10%水溶液)	4
羧甲基纤维素钠	4.5
硬脂酸镁	0.5
滑石	1

将活性成分、淀粉和纤维素通过美国第45目筛,并充分地混合。使聚乙烯吡咯烷酮溶液与得到的粉末混合,然后再通过美国第14目筛,得到的颗粒于50-60℃干燥并通过美国第18目筛。将预先通过美国第60目筛的羧甲基纤维素钠、硬脂酸镁和滑石加到颗粒中,在混合以后将其在压片机上压制成片剂。

每5ml剂量含50-150mg药物的各个混悬液剂如下制备:

### 制剂17: 混悬液剂

成分	量(mg/5ml)
式 I 化合物	60mg
羧甲基纤维素钠	50mg

糖浆		1.25mg
苯甲酸溶液		0.10ml
调味剂		适量
着色剂		适量
纯化水	至	5ml

---

制剂18: 混悬液剂

---

成分		量 (mg/5ml)
式 I 化合物		75mg
羧甲基纤维素钠		50mg
糖浆		1.25mg
苯甲酸溶液		0.10ml
调味剂		适量
着色剂		适量
纯化水	至	5ml

---

制剂19: 混悬液剂

---

成分	量 (mg/5ml)
式 I 化合物	100mg
羧甲基纤维素钠	50mg
糖浆	1.25mg
苯甲酸溶液	0.10ml
调味剂	适量
着色剂	适量
纯化水 至	5ml

---

制剂20: 混悬液剂

---

成分	量 (mg/5ml)
式 I 化合物	125mg
羧甲基纤维素钠	50mg
糖浆	1.25mg
苯甲酸溶液	0.10ml
调味剂	适量
着色剂	适量
纯化水 至	5ml

---

## 制剂 21: 悬浮液剂

成分	量 (mg/5ml)
式 I 化合物	150mg
羧甲基纤维素钠	50mg
糖浆	1.25mg
苯甲酸溶液	0.10ml
调味剂	适量
着色剂	适量
纯化水 至	5ml

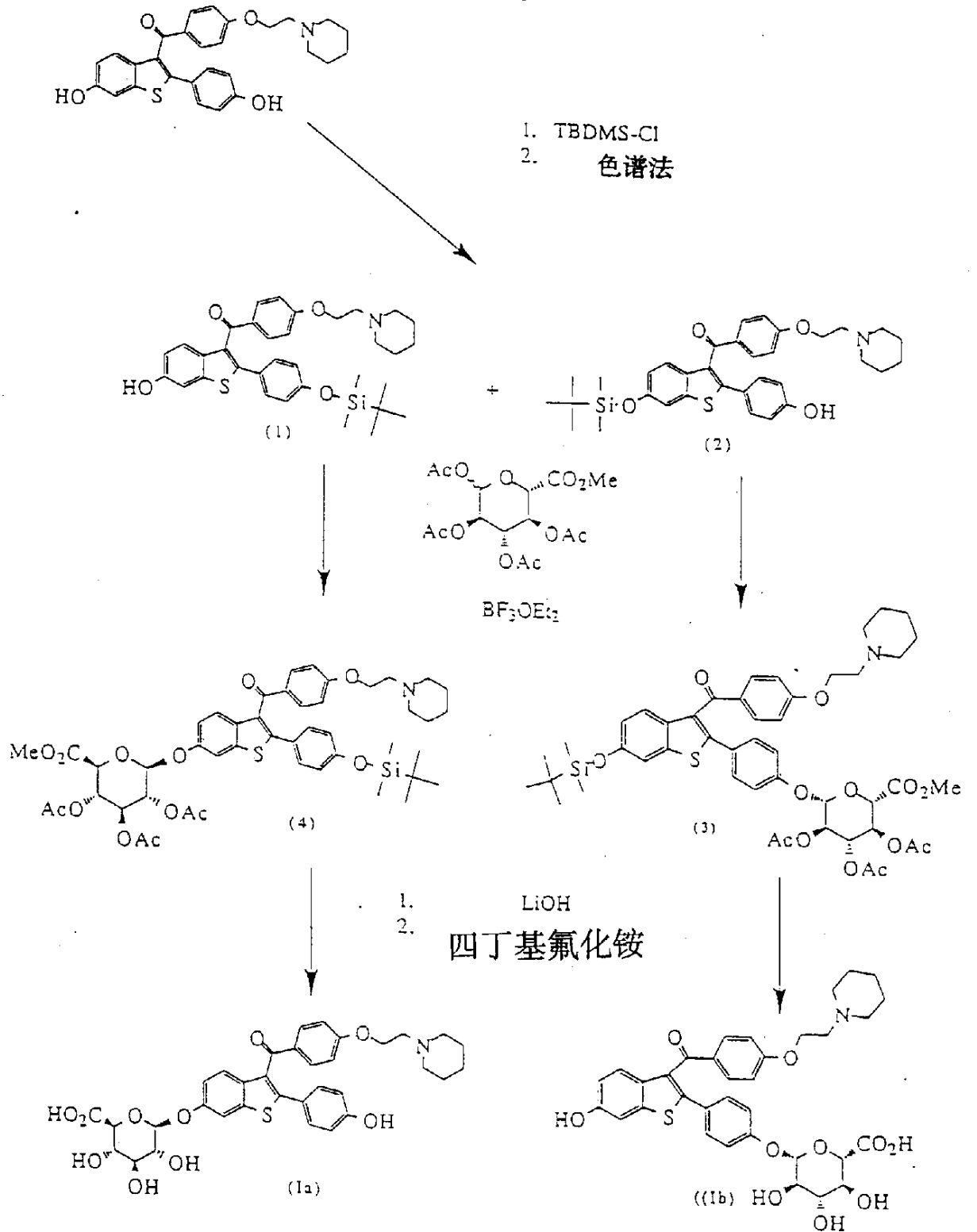
将药物通过美国第 45 目筛并与羧甲基纤维素钠和糖浆混合, 得到均匀的膏体。将苯甲酸溶液、调味剂和着色剂用一些水稀释, 并在搅拌下加入。然后加入足量的水至所需体积。

所需原料化合物可以按已有的方法 (例如 US 4, 133, 814, 4, 418, 068 和 4, 380, 635 中所述的方法, 这些专利引入本文作为参考) 制备。一般, 该方法用具有 6-羟基和 2-(4-羟基苯基) 基团的苯并 [b] 噻吩开始。将起始化合物的羟基保护, 使其 3-位酰基化并将产物脱保护, 得到所需的原料化合物。在上述美国专利中提供了这些化合物的制备实例。

如下列反应路线所列出的那样处理原料。



反应路线



该反应路线中的方法是在基本上无水的条件下进行,这表示反应条件实际上是无水的。因此,在所述方法中在使用之前溶剂要经干燥。合适的极性有机溶剂包括二氯甲烷、氯仿、甲醇、甲苯、和二氯乙烷或三氯乙烷、四氢呋喃(THF)、二甲基亚丙基脲(DMPU)、六甲基磷酰胺(HMPA)、二甲基乙酰胺、四氢吡喃、二噁烷、乙腈、乙醚、二乙基乙酰胺、二甲基亚砷、二甲氧基乙烷及其混合物。

术语“合适的碱”是指伯胺或仲胺或碱金属氢氧化物。可用作亲核试剂的这类合适的碱包括 $C_1-C_7$ 伯胺和 $C_2-C_{14}$ 仲胺,例如甲胺、乙胺、丙胺、丁胺、戊胺、己胺、庚胺、二甲胺、二乙胺、二丙胺、二丁胺、二戊胺、二己胺、二庚胺、甲乙胺、甲丙胺、甲丁胺、甲戊胺、甲己胺、甲庚胺、乙丙胺、乙丁胺、乙戊胺、乙己胺、乙庚胺、丙丁胺、丙戊胺、丙己胺、丙庚胺和苄胺等。其它仲胺的例子包括四氢吡啶和哌啶等。还包括二胺,例如N,N-二乙基乙二胺等。

优选的“合适的碱”包括氢氧化锂和N,N-二乙基乙二胺。

术语“被保护的羟基”和“羟基保护基”是指与常规基团结合的羟基部分,它们对本发明方法的反应条件稳定。这类基团包括甲酰基、二苯甲基、三苯甲基和三甲基甲硅烷基等。在例如下列文献中所述的相似的羟基保护基也是适用的:C. B. Reese和E. Haslam,“有机化学中的保护基”J. F. W. McOmie, Ed., Plenum Press, New York, N. Y., 1973, 第3章和第4章,以及T. W. Greene,“有机合成中的保护基”, John Wiley and Sons, New York, N. Y., 1981, 第2章。所有这些基团还需要能被本领域专业人员取代以及从羟基上除去,而不破坏分子的其它部分。优选的羟基保护基是叔丁基二甲基甲硅烷基(TBDMS)。

该反应路线中的反应可以在约 $-100^{\circ}\text{C}$ 至约 $80^{\circ}\text{C}$ 、优选 $0-25^{\circ}\text{C}$ 的温度下进行。

从本文前述的原料开始，在4'位或6位羟基上引入羟基保护基，留下其它容易被葡萄糖醛酸苷化的羟基。然后将此单羟基被保护的化合物与路易斯酸例如三氟化硼乙醚化物、氯化锡(III)、 $\text{ZnCl}_2$ 和氯化铝，以及合适的吡喃葡萄糖醛酸酯反应。然后将该葡萄糖醛酸苷化的化合物与合适的碱和试剂例如氟化四丁基铵反应，脱去保护基。

下列实施例说明了本发明所用化合物的制备。

### 制备1

6-羟基-2-(4-羟苯基)-3-[4-(2-哌啶子基乙氧基)苯甲酰基]苯并[b]噻吩

将4克6-甲磺酰氧基-2-(4-甲磺酰氧基苯基)-3-[4-(2-哌啶子基乙氧基)-苯甲酰基]苯并[b]噻吩盐酸盐与100ml变性酒精和10ml 5N氢氧化钠混合，并在氮气氛和回流下搅拌1.5小时。然后将反应混合物真空蒸发至干，将残余物溶于200ml水中，并用300ml乙醚洗涤。真空将水层脱气，然后通入氮气以除去痕迹量的醚。用1N盐酸使该混合物酸化，然后用过量的碳酸氢钠使其呈碱性。过滤收集沉淀，用冷水洗涤，得到2.4g粗产物。在 $2 \times 30\text{cm}$ 的硅胶柱上纯化，先用700ml 55%甲醇的氯仿溶液、然后用1升10%甲醇的氯仿溶液洗脱。首先洗出杂质，合并含有产物的馏分，并真空蒸发，得到1.78g黄色的油状物。将此油状物溶于6ml丙酮中，加入晶种，并在冰藏箱中冷却，得到1.2g纯产物，熔点为 $143-147^{\circ}\text{C}$ 。该产物如下证实：

<sup>1</sup>H-NMR谱 (100 MHz, 在dmsO-d<sub>6</sub>中) δ 1.20-1.65 (6H, m, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 2.30-2.45 (4H, m, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 2.60 (2H, t, J=6 Hz, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 4.06 (2H, t, J=6Hz, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 6.68 (2H, d, J=9H, OH邻位的芳族氢); 6.85 (1H, q, J<sub>H4-H5</sub>=9Hz, J<sub>H5-H7</sub>=2 Hz; 苯并噻吩环的H5); 6.90 (2H, d, J=9 Hz, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N邻位的芳族氢); 7.18 (2H, d, J=9 Hz, OH间位的芳族氢); 7.25 (1H, d, J=9z, 苯并噻吩环的H4); 7.66 (2H, d, J=9 Hz, CO邻位的芳族氢); 9.72 (2H, 宽 s, OH). 紫外光谱在乙醇中; λ<sub>max</sub> (ε): 290 nm. (34,000). 电子冲击质谱 M<sub>t</sub> 为 m/e 473.

## 制备2

6-羟基-2-(4-羟基苯基)-3-[4-(2-哌啶子基乙氧基)苯甲酰基]苯并[b]噻吩

将3.6克6-甲磺酰氧基-2-(4-甲磺酰氧基苯基)-3-[4-(2-哌啶子基乙氧基)苯甲酰基]苯并[b]噻吩溶于100ml四氢呋喃和40ml甲醇中, 并加入10ml 5N氢氧化钠。将此混合物在室温下搅拌16小时, 然后按上述实施例1的方法处理, 得到3.5g黄色固体。通过硅胶柱色谱纯化不纯的产物, 用5%甲醇的氯仿溶液至30%甲醇的氯仿溶液梯度洗脱。蒸发含有产物的馏分, 得到1.85g油状产物。将此油状物从丙酮中重结晶, 得到1.25g纯产物, 熔点为141-144℃。

## 制备3

6-羟基-2-(4-羟基苯基)-3-[4-(2-哌啶子基乙氧基)苯甲酰基]苯并[b]噻吩盐酸盐

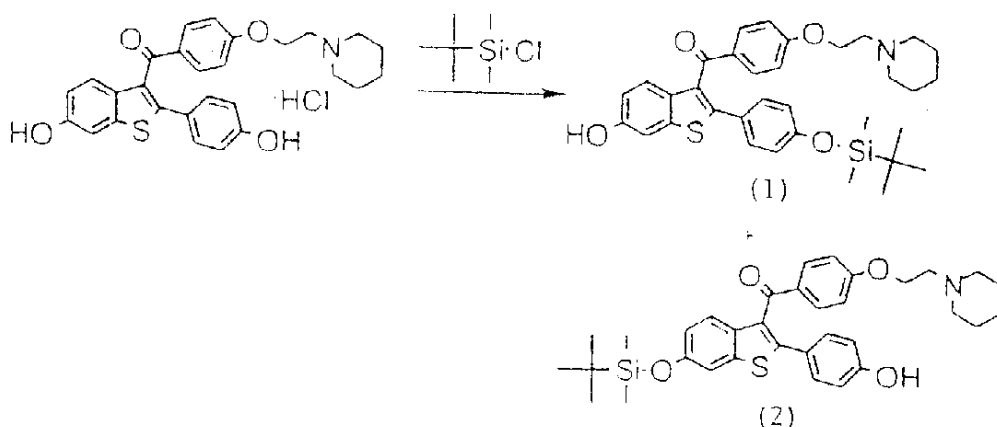
在氮套内, 于70-75℃加热3g 4-(2-哌啶子基乙氧基)苯甲酸

盐酸盐、2滴二甲基甲酰胺、2.5ml亚硫酸氯和40ml氯苯的混合物约1小时。然后蒸馏掉过量的亚硫酸氯和15-20ml溶剂。将剩余的悬浮液冷却到室温，向其中加入100ml二氯甲烷、2.7g 6-甲氧基-2-(甲氧基苯基)苯并[b]噻吩和10g氯化铝。将该溶液搅拌约1小时，加入7.5ml乙硫醇，并将该混合物再搅拌45分钟。然后加入40ml四氢呋喃，再加入15ml 20%盐酸，使其放热回流。加入50ml水和25ml饱和氯化钠水溶液。搅拌该混合物并使其冷却至室温。过滤收集沉淀，依次用30ml水、40ml 25%四氢呋喃水溶液和35ml水洗涤。然后在40℃、于真空下使固体干燥，得到5.05g产物，通过<sup>1</sup>H-NMR证实该产物。

δ1.7 (6H, m, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 2.6-3.1 (2H, m, NCH<sub>2</sub>); 3.5-4.1 (4H, m, NCH<sub>2</sub>); 4.4 (2H, m, OCH<sub>2</sub>); 6.6-7.4 (9H, m, 芳族氢); 7.7 (2H, d, CO邻位的芳族氢); 9.8 (2H, m, OH).

### 实施例1

#### 6-TBDMS-雷洛昔芬和4'-TBDMS-雷洛昔芬



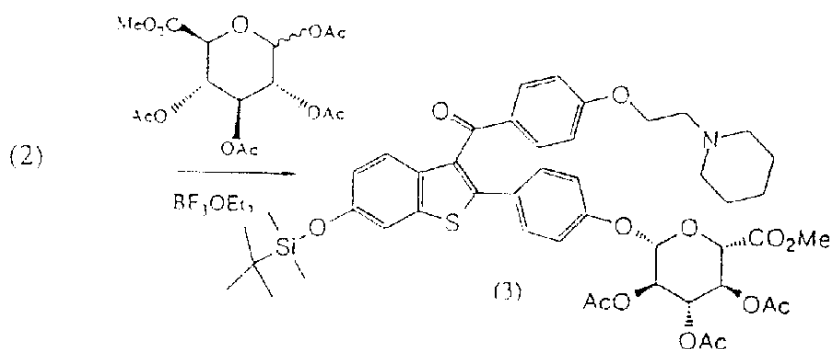
将雷洛昔芬(10.0g, 21.1mmol)和二甲氨基吡啶(6.0g, 49.1mmol)在6:1 THF/DMF(700ml)中的溶液于室温搅拌1小时。将此溶液冷却到0℃,并缓缓加入叔丁基二甲基甲硅烷基氯(2.9g, 19.3mmol)。移去冷浴,并将反应混合物温热至室温。72小时后,用饱和氯化铵水溶液、水和盐水洗涤该混合物。有机提取液用硫酸钠干燥、然后过滤、浓缩。用二氯甲烷研制粗产物,并将所得混合物于室温放置3小时,然后过滤除去未反应的原料。向滤液中加入二氧化硅(500g),并将此料浆小心地浓缩。该物质经闪式色谱法(硅胶,氯仿/甲醇梯度洗脱)纯化,得到5.1g产物1(41%)和4.8g产物2(38%),均为黄色晶状固体。

4'-TBDMS- 雷洛昔芬:  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  7.63 (d,  $J = 8.9$ , 2H), 7.44 (d,  $J = 8.8$ , 1H), 7.20 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 7.17 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H), 6.77 (dd,  $J=8.7$ , 2.2 Hz, 1H), 6.66 (d,  $J=8.5$  Hz, 2H), 6.55 (d,  $J=8.9$  Hz, 2H), 4.07 (t,  $J=5.7$  Hz, 2H), 2.79 (t, 5.6 Hz, 2H), 2.56 (m, 4H), 1.67 (m, 4H), 1.46 (m, 2H), 0.92 (s, 9H), 0.12 (s, 6H); IR ( $\text{CHCl}_3$ ) 2938, 2860, 1643, 1600, 1572, 1535, 1508, 1496, 1469, 1421, 1345, 1304, 1258, 1167, 1038, 907, 841, 808  $\text{cm}^{-1}$ ; 元素分析 计算值: 69.47% C, 7.03% H, 2.38% N. 实测值: 69.19% C, 6.98% H, 2.57% N; FD/MS 587

6-TBDMS- 雷洛昔芬:  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  7.60 (d,  $J=8.9$  Hz, 2H), 7.62 (s, 1H), 7.27 (d,  $J=2.3$  Hz, 1H), 7.15 (d,  $J=8.4$  Hz, 2H), 6.89 (dd,  $J=8.7$ , 2.2 Hz, 1H), 6.64 (d,  $J=7.0$  Hz, 2H), 6.58 (d,  $J=6.9$  Hz, 2H), 4.08 (t,  $J=5.6$  Hz, 2H), 2.77 (t,  $J=5.6$  Hz, 2H), 2.56 (m, 4H), 1.64 (m, 4H), 1.47 (m, 2H), 1.00 (s, 9H), 0.23 (s, 6H). IR 2938, 2860, 1640, 1599, 1573, 1536, 1508, 1467, 1353, 1307, 1257, 1167, 1073, 1041, 944, 840, 829, 815  $\text{cm}^{-1}$ ; 元素分析 计算值: 69.47% C, 7.03% H, 2.38% N. 实测值: 69.28% C, 7.30% H, 2.50% N; FD/MS - 587

## 实施例2

### 1-(4'-TBDMS-6-羟基-雷洛昔芬)-2,3,4-三-O-乙酰基-β-D-吡喃葡萄糖苷糖醛酸甲酯

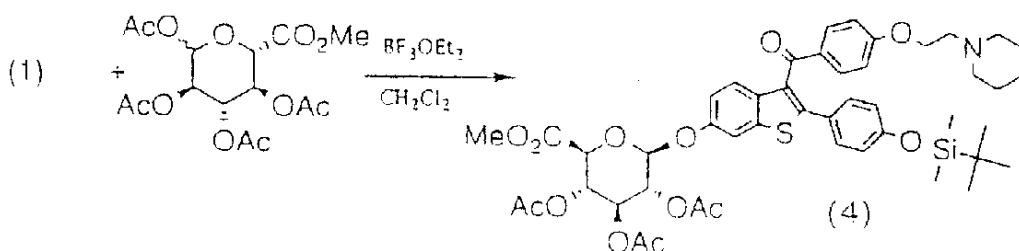


于室温搅拌下，向在无水二氯甲烷(100ml)中的产物2(2.0g, 3.4 mmol)中加入1,2,3,4-四-O-乙酰基-D-吡喃葡萄糖醛酸甲酯(1.3g, 3.4mmol)，然后加入4A分子筛(1.2g)。在室温10分钟后，通过注射器滴加三氟化硼乙醚化物(2.5ml, 20.4mmol)。在室温18小时后，将此暗红色溶液倒入含有饱和碳酸氢钠水溶液和二氯甲烷的分液漏斗中。萃取有机层，并用水和盐水洗涤，然后干燥(硫酸钠)。经闪式色谱法(硅胶, 氯仿至2%甲醇/氯仿梯度洗脱)纯化粗品残余物，得到1.08g(35%)产物3, 为黄色泡沫。

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.66 (d,  $J=8.8$  Hz, 2H), 7.55 (d,  $J=2.1$  Hz, 1H), 7.30 (m, 3H), 6.91 (m, 5H), 5.61 (d,  $J=7.7$  Hz, 1H), 5.38 (m, 1H), 5.01 (m, 2H), 4.64 (d,  $J=9.9$  Hz, 1H), 4.06 (t, 2H), 3.59 (s, 3H), 2.60 (m, 2H), 2.37 (m, 4H), 1.98 (s, 3H), 1.96 (s, 6H), 1.43 (m, 4H), 1.33 (m, 2H), 0.95 (s, 9H), 0.20 (s, 6H); IR (CHCl<sub>3</sub>) 2938, 2859, 1758, 1646, 1598, 1573, 1534, 1508, 1497, 1467, 1374, 1306, 1256, 1167, 1073, 1040, 946, 840  $\text{cm}^{-1}$ ; 元素分析: 计算值: 62.44% C, 6.36% H, 1.55% N. 实测值: 62.66% C, 6.63% H, 1.50% N; FD/MS - 905.

### 实施例3

#### 1-(6-TBDMS-4'-羟基-雷洛昔芬)-2,3,4-三-O-乙酰基-β-D-吡喃葡萄糖苷糖醛酸甲酯



于室温搅拌下,向在无水二氯甲烷(10ml)中的产物1(0.5g, 0.85mmol)中加入1,2,3,4-四-O-乙酰基-D-吡喃葡萄糖醛酸甲酯(0.31g, 0.85mmol),然后加入4A分子筛(0.33g)。在室温10分钟后,通过注射器滴加三氟化硼乙醚化物(0.60ml, 5.10mmol)。在室温18小时后,将反应混合物倒入含有饱和碳酸氢钠水溶液和二氯甲烷的分液漏斗中。快速萃取有机层,并用水和盐水洗涤,用硫酸钠干燥。过滤并浓缩得到粗品固体,经闪式色谱法(硅胶,氯仿至2%甲醇/氯仿梯度洗脱)将其纯化,得到0.18g(23%)产物4,为黄色泡沫。

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ) d 7.76 (s, 1H), 7.58 (d, J=8.7 Hz, 2H), 7.47 (d, J=8.9 Hz, 1H), 7.23 (d, J=8.5 Hz, 2H), 7.05 (d, J=8.8 Hz, 1H), 6.84 (d, J=8.8 Hz, 2H), 6.74 (d, J=8.5 Hz, 2H), 5.70 (d, J=7.9 Hz, 1H), 5.46 (dd, J=9.5, 9.6 Hz, 1H), 5.08 (m, 2H), 4.70 (d, J=10.0 Hz, 1H), 4.01 (t, J=5.4 Hz, 2H), 3.62 (s, 3H), 2.58 (m, 2H), 2.36 (m, 4H), 2.01 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 1.43 (m, 4H), 1.33 (m, 2H), 0.86 (s, 9H), 0.085 (s, 6H); IR (CHCl<sub>3</sub>) 2938, 2859, 1759, 1600, 1572, 1534, 1508, 1497, 1468, 1374, 1255, 1241, 1167, 1073, 1045, 908, 841  $\text{cm}^{-1}$ ;

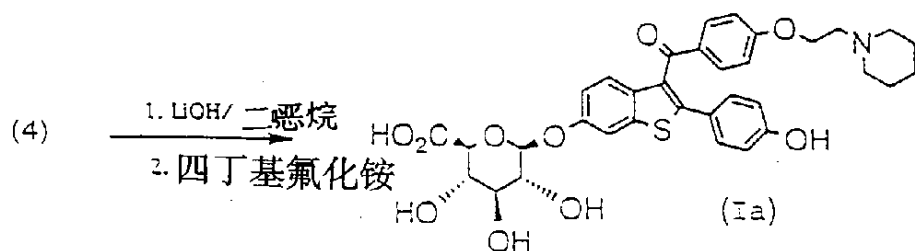
元素分析

计算值: 62.44% C, 6.35% H, 1.55% N. 实测值: 62.68% C, 6.47% H, 1.61% N; FD/MS - 905.



#### 实施例4

#### 6-雷洛昔芬- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷



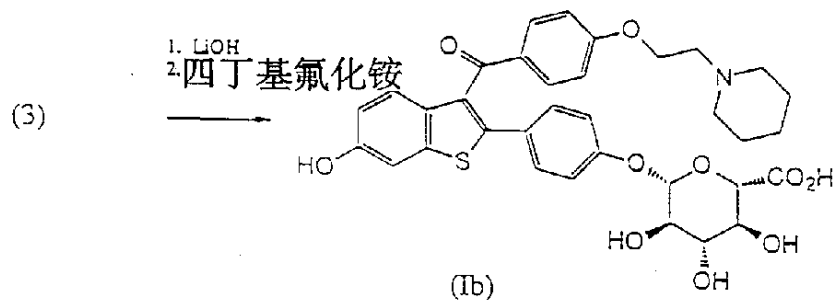
于室温搅拌下,向在二噁烷(100ml)中的产物4(0.50g, 0.55 mmol)中加入氢氧化锂一水合物(0.14g, 3.33mmol)。将反应混合物加热至60℃维持约96小时。将溶液冷却至室温,并加入四丁基氟化铵(1.1ml, 在THF中的1M溶液)。在室温搅拌所得橙色溶液5分钟后,浓缩。向粗产物中加入乙酸铵(30ml, 0.05M, pH=4.0),然后加入足量的甲醇以得到均匀的溶液。在Waters 4000 反相HPLC上,用两个20×100cm Novapak 萃取柱纯化该混合物(波长=290nm, 流速=40ml/分钟, 收集大约20ml馏分, 等效洗脱条件为, 80% 0.05M 乙酸铵(pH=4.0), 20% 甲醇)。重复三次该纯化方法。将该产物浓缩, 并采用常规技术在HP-20树脂上脱盐。浓缩, 得到46mg(13%)产物 Ia, 为黄色晶状固体:

$^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  9.86 (bs, .6H), 7.70 (s, 1H), 7.66 (d, 2H), 7.31 (d, 1H), 7.21 (d, 2H), 7.06 (d, 1H), 6.92 (d, 2H), 6.70 (d, 2H), 5.25 (bs, .8H), 4.97 (bs, .5H), 4.93 (d, 1H,  $J=7.4$ ), 4.08 (t, 2H), 3.42 (d,  $J=10.1$  Hz, 1H), 3.24 (m, 2H), 3.12 (dd,  $J=10.0, 8.3$  Hz, 1H), 2.61 (t, 2H), 2.39 (m, 4H), 1.46 (m, 4H), 1.36 (m, 2H);

高分辨 FAB/MS, 计算值 650.2060, 实测值 650.2036.

### 实施例5

#### 4'-雷洛昔芬- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷



于室温搅拌下, 向在二噁烷(100ml) 中的产物3(0.50g, 0.55 mmol) 中加入氢氧化锂一水合物(0.14g, 3.32mmol)。将反应混合物加热至60℃ 约96小时。将溶液冷却至室温, 并加入四丁基氟化铵(1.1ml, 在THF 中的1M 溶液)。在室温搅拌所得橙色溶液5分钟后, 浓缩。向粗产物中加入乙酸铵(30ml, 0.05M, pH=4.0), 然后向粗产物中加入足量的乙腈以得到均匀的溶液。在Waters 4000 反相HPLC上, 用两个20×100cm Novapak 萃取柱纯化该混合物(波长=290nm, 流速=40ml/分钟, 收集大约20ml 馏分)。合并含有所需产物的馏分, 浓缩, 并通过加入水脱盐。过滤并用水洗涤。然后用甲

醇洗脱产物。浓缩, 得到240mg(67%) 纯产物 I b, 为黄色固体:

$^1\text{H NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.86 (bs, 1H), 7.63 (d, 2H), 7.43 (d, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.23 (d, 2H), 6.89 (d, 3H), 6.85 (d, 2H), 5.34 (bs, 1H), 5.14 (bs, 1H), 5.00 (d,  $J=7.8$  Hz, 1H), 4.16 (m, 2H), 3.67 (d,  $J=9.2$  Hz, 1H), 3.26 (m, 2H), 3.19 (m, 1H), 2.94 (bm, 2H), 2.74 (bm, 4H), 1.61 (m, 4H), 1.43 (m, 2H); **高分辨**  $m/z$  FAB/MS 650.20 (计算值 650.20).

### 实验方法 1

采用绝经后模型, 根据循环类脂类测定不同治疗的作用。

从 Charles River 实验室 (Portage, MI) 得到 75 日龄的雌性 Sprague Dawley 大鼠 (重 200–225g)。在 Charles River 实验室对大鼠进行了双侧卵巢切除术 (OVX), 或者施行了假外科手术, 然后在一周后运出。运抵后, 将其分为每笼 3 或 4 只在金属悬笼中饲养, 并随意喂给食物 (钙含量约为 0.5%) 和水, 共喂养一周。室温保持在  $22.2^\circ\text{C} \pm 1.7^\circ\text{C}$ , 最低相对湿度保持在 40%。室内光照周期为 12 小时光照, 12 小时黑暗。

#### 给药方案/组织采集

经过一周适应期后 (也就是卵巢切除术后两周), 开始用试验化合物每天给药。所有试验化合物均按所列剂量皮下给药。对动物每天用药, 共给药 4 天。完成给药方案后, 将动物称重, 用氯胺酮: 甲苯噻嗪 (2:1, [V:V]) 混合物麻醉, 通过心脏穿刺采集血样。然后通过用二氧化碳窒息处死动物, 通过中线切开取出子宫并测定其湿重。

### 胆固醇分析

在室温放置2小时使血样凝块,以3000 rpm离心十分钟得到血清。用Boehringer Mannheim Diagnostics高效胆固醇分析系统测定血清胆固醇。将胆固醇简单地氧化成胆甾-4-烯-3-酮和过氧化氢。然后在过氧化物酶存在下将过氧化氢与苯酚和4-氨基非那宗反应得到对醌亚胺染料,在500 nm处对此染料进行分光光度法测定。然后根据标准曲线计算胆固醇浓度。整个分析用Biomek Automated Workstation自动进行。

### 子宫嗜曙红细胞过氧化物酶(EPO)分析

子宫中嗜曙红细胞的存在是化合物的雌激素活性的指标。为了保持EPO的活性,在进行酶分析前将子宫保持在4℃。然后在含有0.005% Triton X-100的50倍体积的50 mM Tris缓冲液(pH=8.0)中将子宫打成均浆。一旦加入在Tris缓冲液中的0.01%过氧化氢和10 mM邻苯二胺(最终浓度),即开始在450 nm监测吸收度的增加,共监测1分钟。测定反应曲线开始的线性部分上15秒间隔的最大速度。

治疗结果表示如下。总的来说,与完整的赋形剂治疗对照组相比,大鼠卵巢切除术使血清胆固醇增加。

在这些研究中,所述化合物以剂量依赖的方式引起血清胆固醇下降;但是在接受治疗的动物中,在卵巢切除术对照组中仅表现为子宫重量增加最少和很少或不刺激EPO活性。

化合物	剂量 (mg/kg)	血清胆固醇 下降的% <sup>a</sup>	子宫重量 增加% <sup>b</sup>	EPO 活性 (n OD/分钟) <sup>c</sup>
Ia	0.013	21.7	-21.3	2.0
	0.13	43.8	14.2	2.3
	1.3	44.5	24.1	3.5
Ib	0.013	13.6	-7.7	3.2
	0.13	21.9	14.5	3.1
	1.3	56.8	36.1	4.4

a 血清胆固醇下降的百分数 = (接受治疗的OVX动物的血清胆固醇 - OVX动物的血清胆固醇) ÷ (对照组OVX动物的血清胆固醇) × 100。

b 子宫重量增加百分数 = (接受治疗的OVX动物的子宫重量 - 对照组OVX动物的子宫重量) ÷ (对照组OVX动物的子宫重量) × 100。

c 嗜曙红细胞过氧化物酶的V<sub>max</sub>。

## 实验方法2

为了模拟抑制骨损失的体内环境, 采用可用作破骨细胞分化模型的大鼠骨髓培养技术 (缺乏1, 25 维生素D, 存在骨)。已经发现, 从新生大鼠长骨中得到的骨髓细胞在0.1 μg/ml IL-6存在下, 在4天内将分化并吸收大量的骨。具体的是, 将2日龄的新生骨髓细胞以2 × 10<sup>5</sup>/cm<sup>2</sup>的密度 (在含有20%加热灭活的胎牛血清(Gibco)和0.1 μg/ml IL-6的199培养基中), 在骨片上培养4天。培养后, 使骨

片失活、固定、脱水,并用在1%硼酸钠中的1% 甲苯胺蓝染色1分钟;通过反射偏光显微镜方法对吸收腔隙进行定量。所述化合物抑制这种细胞因子刺激的吸收,并且两种化合物的 $IC_{50}$ 值均为约 10mM。