

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

C07D 311/16 (2006.01)

A61K 31/352 (2006.01)



# [12] 发明专利说明书

专利号 ZL 03813696.1

[45] 授权公告日 2008 年 11 月 26 日

[11] 授权公告号 CN 100436440C

[22] 申请日 2003.4.18 [21] 申请号 03813696.1

[30] 优先权

[32] 2002. 4. 19 [33] US [31] 10/125,965

[32] 2003. 4. 14 [33] US [31] 10/412,997

[86] 国际申请 PCT/US2003/012283 2003.4.18

[87] 国际公布 WO2003/089422 英 2003.10.30

[85] 进入国家阶段日期 2004.12.13

[73] 专利权人 信号药品公司

地址 美国加利福尼亚州

共同专利权人 诺瓦蒂斯有限公司

[72] 发明人 J·A·麦基 S·S·巴瓦特

J·雷诺 M·米斯巴赫

[56] 参考文献

WO0149673A2 2001.7.12

审查员 张 锐

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 王景朝

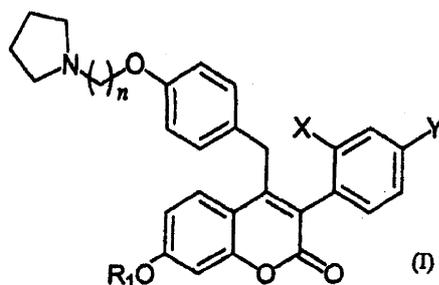
权利要求书 7 页 说明书 52 页

[54] 发明名称

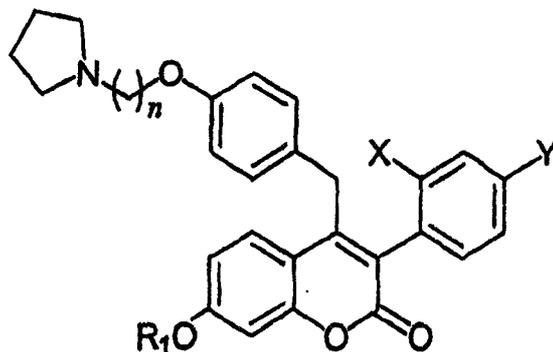
苯并吡喃酮化合物、其组合物以及其治疗方法

[57] 摘要

本发明公开了结构式(I)化合物苯并吡喃酮。将相应的酚甲醚脱甲基化可以制备 R<sub>1</sub> 为 H 的式(I)化合物。所述化合物可用于治疗骨再吸收病、癌症、关节炎或雌激素相关性疾病，例如乳腺癌、骨质疏松症、子宫内膜异位、心血管病、高胆固醇血症、前列腺肥大、前列腺癌、肥胖、潮热、皮肤疾病、情绪波动、失忆以及与接触环境化学品或天然激素不平衡相关的对生殖的有害影响。



1. 一种具有以下结构的化合物或其药学上可接受的盐:



(I)

其中:

n 为 2、3 或 4;

R<sub>1</sub> 为氢、C(=O)R<sub>2</sub>、C(=O)OR<sub>2</sub>、C(=O)NHR<sub>2</sub>、C(=O)NR<sub>2</sub>R<sub>3</sub> 或 S(=O)<sub>2</sub>NR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>;

R<sub>2</sub> 和 R<sub>3</sub> 独立为 C<sub>1-8</sub> 烷基、C<sub>6-12</sub> 芳基、C<sub>7-12</sub> 芳基烷基或包含最多两个选自 O、NR<sub>4</sub> 和 S(O)<sub>q</sub> 的杂原子的五元或六元杂环, 其中以上各个基团任选被 1-3 个独立选自 R<sub>5</sub> 的取代基取代, q 为 0、1 或 2;

R<sub>4</sub> 为氢或 C<sub>1-4</sub> 烷基;

R<sub>5</sub> 为氢、卤素、羟基、C<sub>1-6</sub> 烷基、C<sub>1-4</sub> 烷氧基、C<sub>1-4</sub> 酰氧基、C<sub>1-4</sub> 烷硫基、C<sub>1-4</sub> 烷基亚磺酰基、C<sub>1-4</sub> 烷基磺酰基、(羟基)C<sub>1-4</sub> 烷基、C<sub>6-12</sub> 芳基、C<sub>7-12</sub> 芳烷基、COOH、CN、CONHOR<sub>6</sub>、SO<sub>2</sub>NHR<sub>6</sub>、NH<sub>2</sub>、C<sub>1-4</sub> 烷基氨基、C<sub>1-4</sub> 二烷基氨基、NHSO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、NO<sub>2</sub> 或者五元或六元杂环, 其中各个 R<sub>6</sub> 独立为 C<sub>1-6</sub> 烷基;

X 为氢、卤素或三氟甲基; 和

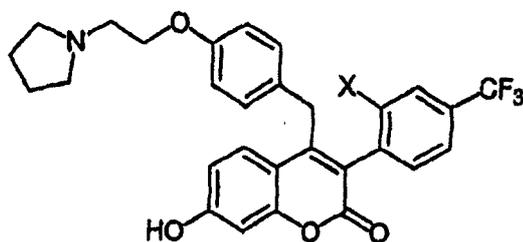
Y 为卤素或三氟甲基。

2. 权利要求 1 的化合物, 其中 Y 为三氟甲基。

3. 权利要求 1 的化合物, 其中 Y 为氟基。

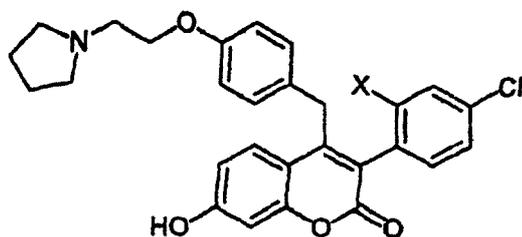
4. 权利要求 1 的化合物, 其中 X 为三氟甲基。

5. 权利要求 1 的化合物, 其中 X 为氯基。
6. 权利要求 1 的化合物, 其中 X 为氢。
7. 权利要求 1 的化合物, 其中 R<sub>1</sub> 为氢。
8. 权利要求 1 的化合物, 其中 R<sub>1</sub> 为 C(=O)R<sub>2</sub>、C(=O)OR<sub>2</sub>、C(=O)NHR<sub>2</sub>、C(=O)NR<sub>2</sub>R<sub>3</sub> 或 S(=O)<sub>2</sub>NR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>。
9. 权利要求 1 的化合物, 其中 n 为 2。
10. 权利要求 1 的化合物, 其中 n 为 3 或 4。
11. 权利要求 1 的化合物, 其具有以下结构:



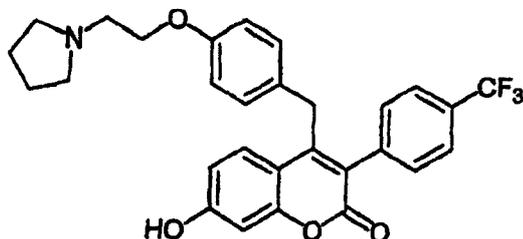
或其药学上可接受的盐。

12. 权利要求 1 的化合物, 其具有以下结构:



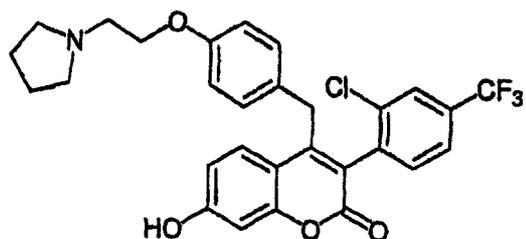
或其药学上可接受的盐。

13. 权利要求 11 的化合物, 其具有以下结构:



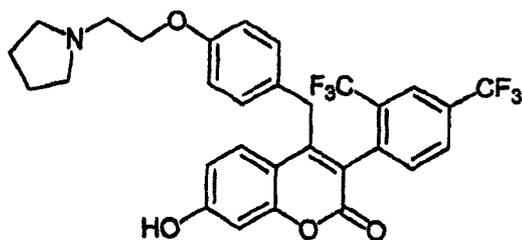
或其药学上可接受的盐。

14. 权利要求 11 的化合物, 其具有以下结构:



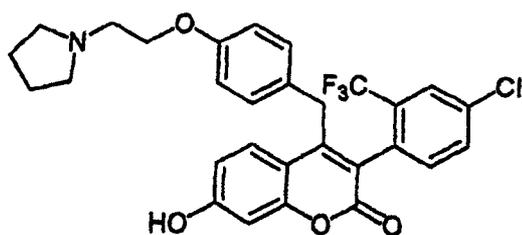
或其药学上可接受的盐。

15. 权利要求 11 的化合物，其具有以下结构：



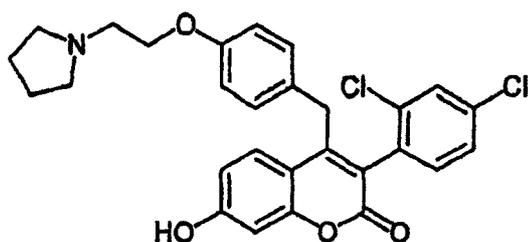
或其药学上可接受的盐。

16. 权利要求 12 的化合物，其具有以下结构：



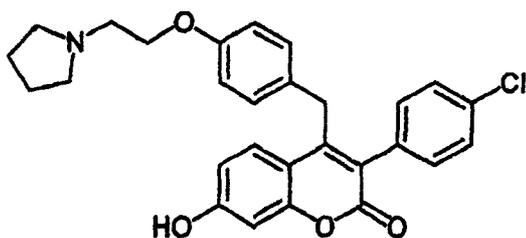
或其药学上可接受的盐。

17. 权利要求 12 的化合物，其具有以下结构：



或其药学上可接受的盐。

18. 权利要求 12 的化合物，其具有以下结构：



或其药学上可接受的盐。

19. 一种组合物，其包含权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐；以及药学上可接受的载体或溶媒。

20. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐用于制备抑制患者的细胞因子的药物的用途。

21. 权利要求 20 的用途，其中所述细胞因子为 IL-6。

22. 权利要求 20 的用途，其中所述细胞因子为 GM-CSF。

23. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐用于制备治疗或预防患者的骨再吸收病的药物的用途。

24. 权利要求 23 的用途，其中所述骨再吸收病为骨质疏松症。

25. 权利要求 23 的用途，其中所述骨再吸收病为转移性骨癌、矫形植入物的溶骨性损害、佩吉特氏病、血钙过多或甲状旁腺机能亢进性骨丢失。

26. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐用于制备治疗或预防患者癌症的药物的用途。

27. 权利要求 26 的用途，其中所述癌症为乳腺癌、前列腺癌、结肠癌、子宫内膜癌、多发性骨髓瘤、肾细胞癌或宫颈癌。

28. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐用于制备治疗或预防患者关节炎的药物的用途。

29. 权利要求 28 的用途，其中所述关节炎为类风湿性关节炎。

30. 权利要求 28 的用途，其中所述关节炎为佐剂性、胶原性、细菌性或抗原性关节炎。

31. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐用于制备调节 ER 表达细胞的基因表达的药物的用途。

32. 权利要求 31 的用途，其中 ER 为 ER- $\alpha$  或 ER- $\beta$ 。

33. 权利要求 31 的用途，其中相对于 ER- $\alpha$ ，所述细胞优先表达 ER- $\beta$ 。

34. 权利要求 31 的用途，其中所述细胞为骨、膀胱、子宫、卵巢、

前列腺、睾丸、附睾、胃肠道、肾、乳房、眼、心脏、血管壁、免疫系统、肺、垂体、海马或下丘脑的细胞。

35. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐用于制备调节表达 ER 的组织中的 ER 的药物的用途。

36. 权利要求 35 的用途，其中 ER 为 ER- $\alpha$  或 ER- $\beta$ 。

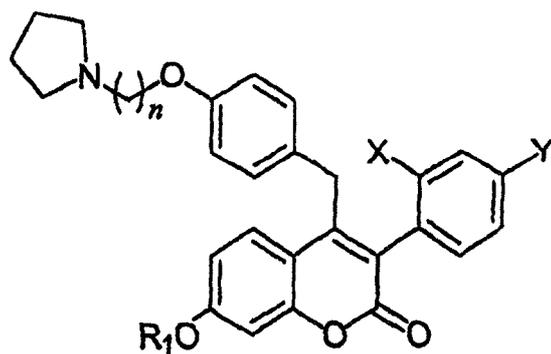
37. 权利要求 35 的用途，其中相对于 ER- $\alpha$ ，所述组织优先表达 ER- $\beta$ 。

38. 权利要求 35 的用途，其中所述组织为骨、膀胱、子宫、卵巢、前列腺、睾丸、附睾、胃肠道、肾、乳房、眼、心脏、血管壁、免疫系统、肺、垂体、海马或下丘脑的组织。

39. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐用于制备治疗或预防患者雌激素相关性疾病的药物的用途。

40. 权利要求 39 的用途，其中所述雌激素相关性疾病为乳腺癌、骨质疏松症、子宫内膜异位、心血管病、高胆固醇血症、前列腺肥大、前列腺癌、肥胖、白内障、潮热、皮肤疾病、情绪波动、失忆、前列腺癌、更年期综合征、II 型糖尿病、阿耳茨海默氏病、尿失禁、胃肠道疾病、精子发生、血管损伤后的保护、子宫内膜异位、学习和记忆、CNS 病症、血浆脂质水平异常、痤疮、多毛症、实体癌、多发性骨髓瘤、淋巴瘤或与接触环境化学品或天然激素不平衡相关的对生殖的有害影响。

41. 一种制备具有以下结构的化合物或其药学上可接受的盐的方法：



(I)

其中:

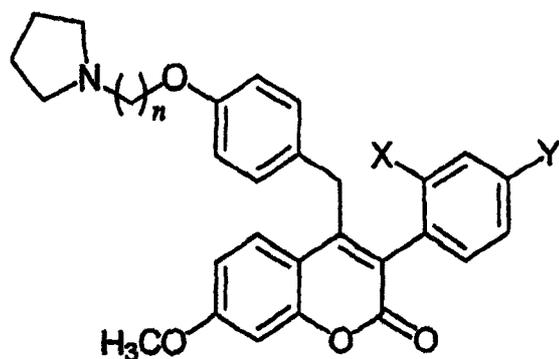
$n$  为 2、3 或 4;

$R_1$  为氢;

$X$  为氢、卤素或三氟甲基; 和

$Y$  为卤素或三氟甲基;

该方法包括将以下结构的化合物或其药学上可接受的盐脱甲基化的步骤:



(II)

其中:

$n$  为 2、3 或 4;

$X$  为氢、卤素或三氟甲基; 和

$Y$  为卤素或三氟甲基。

42. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐用于制备激活骨细胞 ER 功能的药物的用途。

43. 权利要求 42 的用途, 其中所述细胞为骨肉瘤细胞。

44. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐用于制备抑制乳腺癌细胞、卵巢癌细胞、子宫内膜癌细胞、子宫癌细胞、前列腺癌细胞或下丘脑癌细胞的 ER 功能的药物的用途。

45. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐用于制备抑制 IL-6 表达的药物的用途。

46. 权利要求 45 的用途，其中所述细胞为骨细胞。

47. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐用于制备抑制癌细胞或肿瘤细胞生长的药物的用途。

48. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐用于制备降低患者血清胆固醇水平的药物的用途。

## 苯并吡喃酮化合物、其组合物以及其治疗方法

本申请是 2002 年 4 月 19 日申请的美国申请 10/125,965 的部分连续申请，将所述申请通过引用全部结合到本文。

### 1. 发明领域

本发明主要涉及苯并吡喃酮化合物、包含所述苯并吡喃酮化合物的组合物以及治疗骨再吸收病、癌症、关节炎或雌激素相关性疾病的方法，该方法包括给予其需要患者有效量的苯并吡喃酮化合物。

### 2. 发明背景

雌激素对男性及女性的组织都具有广谱效应。这些生物学作用大部分是积极的，包括维持骨密度、保护心血管、中枢神经系统(CNS)功能、以及避免器官系统的老化效应。但是，除了积极作用外，雌激素也是乳房和子宫内膜的有效生长因子，这增加了患癌症的风险。

直到最近，人们还认为雌激素结合细胞中的单一激素受体(ER)。正如下所述，在克隆出第二个 ER(ER- $\beta$ ) (原 ER 被重新命名为 ER- $\alpha$ ) 以及发现了调节 ER 反应的辅助因子后，这种简单的观点有了很大改变。配体可以结合两种不同的 ER，在组织特异性辅激活物和/或辅阻遏物存在下，ER 结合到基因调节区域的雌激素反应单元或结合到其它转录因子。鉴于 ER 信号转导的复杂性和 ER- $\alpha$ 、ER- $\beta$  及其辅助因子的组织特异性表达，现在人们认识到 ER 配体可以起雌激素激动剂和拮抗剂的作用，也就是以组织特异性方式模拟雌激素的积极作用或者阻止雌激素的负面作用。由此导致发现了一种全新类型的药物，被称为选择性雌激素受体调节剂或 SERM。这些药物很有希望用于预防和/或治疗癌症、骨质疏松症以及心血管病和神经变性疾病，例

如阿耳茨海默氏病。

骨再吸收病(例如骨质疏松症)是致人虚弱性疾病,它影响大量人群,但是对其只有有限的治疗。例如,骨质疏松症影响 50 岁以上的美国人中大约 50%的妇女以及大约 10%的男性。在患有骨质疏松症的个体中,骨质量损失的增加导致骨变得易碎,因此骨折的风险更大。其它骨再吸收病(例如佩吉特氏病和转移性骨癌)也呈现类似的状况。

骨是包含多种不同类型细胞的活组织。在健康个体上,成骨细胞产生的骨数量是由破骨细胞除去的骨数量或再吸收的骨数量平衡。在患有骨再吸收病的个体中,这两种细胞的功能失衡。对于这样失衡的例子,大家最了解的大概是经绝后妇女产生的骨再吸收快速增加。这样的骨丢失加速归咎于绝经期的雌激素缺乏。但是,对于雌激素减少如何导致骨再吸收增加的机制长期以来都有争议。

最近,有研究者提出骨再吸收性细胞因子(例如白介素-1(IL-1)和肿瘤坏死因子(TNF))的增加可能为经绝后骨丢失的原因(Kimble 等, *J. Biol. Chem.* 271: 28890-28897, 1996),而且这些细胞因子的抑制剂能够在卵巢切除后的啮齿动物上部分减少骨丢失(Pacific, *J. Bone Miner Res.* 11: 1043-1051, 1996)。此外,有报道指出中止雌激素导致由鼠的骨髓和骨细胞分泌的 IL-6 增加(Girasole 等, *J. Clin. Invest.* 89: 883-891, 1992; Jilka 等, *Science* 257: 88-91, 1992; Kimble 等, *Endocrinology* 136: 3054-3061, 1995; Passeri 等, *Endocrinology* 133: 822-828, 1993), IL-6 的抗体能够抑制雌激素减少的小鼠中破骨细胞前体的增加(Girasole 等, 同上),卵巢切除后骨丢失现象不会出现在缺乏 IL-6 的转基因小鼠上(Poli 等, *EMBO J.* 13: 1189-1196, 1994)。

现有用于减少骨丢失的治疗方法通常涉及给予化合物,例如雌激素、双膦酸盐、降钙素和雷洛昔芬。但是,这些化合物通常用于长期治疗,并且具有不良副作用。此外,这样的治疗方法通常针对成熟破骨细胞的活性,而不是减少它们的形成。例如,雌激素诱导

破骨细胞凋亡,而降钙素使得破骨细胞收缩并且脱离骨表面(Hughes等, *Nat. Med.* 2: 1132-1136, 1996; Jilka等, *Exp. Hematol.* 23: 500-506, 1995)。类似地,双膦酸盐降低破骨细胞活性,改变它们的形态,增加破骨细胞的凋亡(Parfitt等, *J. Bone Miner Res.* 11: 150-159, 1996; Suzuki等, *Endocrinology* 137: 4685-4690, 1996)。

细胞因子也被认为在各种癌症中起重要的作用。例如,在为前列腺癌时,研究者已经证实 IL-6 为自分泌/旁分泌生长因子(Seigall等, *Cancer Res.* 50: 7786, 1999),它提高肿瘤的存活率(Okamoto等, *Cancer Res.* 57: 141-146, 1997),而且中和性 IL-6 抗体减少细胞增殖(Okamoto等, *Endocrinology* 138: 5071-5073, 1997; Borsellino等, *Proc. Annu. Meet. Am. Assoc. Cancer Res.* 37: A2801, 1996)。在为多发性骨髓瘤(Martinez-Maza等, *Res. Immunol.* 143: 764-769, 1992; Kawano等, *Blood* 73: 517-526, 1989; Zhang等, *Blood* 74: 11-13, 1989; Garrett等, *Bone* 20: 515-520, 1997; Klein等, *Blood* 78: 1198-12-4, 1991)、肾细胞癌(Koo等, *Cancer Immunol.* 35: 97-105, 1992; Tsukamoto等, *J. Urol.* 148: 1778-1782, 1992; Weissglas等, *Endocrinology* 138: 1879-1885, 1997)、宫颈癌(Estuce等, *Gynecol. Oncol.* 50: 15-19, 1993; Tartour等, *Cancer Res.* 54: 6243-6248, 1994; Iglesias等, *Am. J. Pathology* 146: 944-952, 1995)时,也报道了与 IL-6 有关的类似结果。

此外,IL-6 也被认为涉及关节炎,特别是佐剂性、胶原性及抗原性关节炎(Alonzi等, *J. Exp. Med.* 187: 146-148, 1998; Ohshima等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 8222-8226, 1998; Leisten等, *Clin. Immunol. Immunopathol* 56: 108-115, 1990),抗 IL-6 抗体已被报道用于治疗关节炎(Wendling等, *J. Rheumatol.* 20: 259-262, 1993)。另外,雌激素已被证实可引起对小鼠的实验性自身免疫性脑脊髓炎和胶原性关节炎的抑制作用(Jansson等, *Neuroimmunol.* 53: 203-207, 1994)。

细胞因子IL-6也被证实为诱导破骨细胞形成的重要因子(Girasole等, 同上; Jilka等(1992), 同上; Jilka等(1995), 同上; Kimble等(1995), 同上; Pacifici等, 同上; Passeri等, 同上)。其他研究者已经证实给予中和性抗体、反义寡核苷酸或IL-6的Sant 5拮抗剂可减少切除卵巢小鼠的小梁状骨中破骨细胞的数量(Devlin等, *J. Bone Miner* 13: 393-399, 1998; Girasole等, 同上; Jilka等(1992), 同上; Schiller等, *Endocrinology* 138: 4567-4571, 1997), 降低人巨细胞再吸收牙质的能力(Ohsaki等, *Endocrinology* 131: 2229-2234, 1993; Reddy等, *J. Bone Min. Res.* 9: 753-757, 1994), 减少人正常骨髓培养物中破骨细胞的形成。还发现通过雌激素受体与转录因子NF- $\kappa$ b和C/EBP $\beta$ 的交互作用, 雌激素下调节IL-6启动子的活性(Stein等, *Mol. Cell Biol.* 15: 4971-4979, 1995)。

粒细胞-巨噬细胞集落刺激性因子(GM-CSF)被认为在破骨前体细胞的增殖中具有一定作用。在人或小鼠的骨髓细胞或外周血细胞的长期培养物中, GM-CSF促进破骨细胞的形成(Kurihara等, *Blood* 74: 1295-1302, 1989; Lorenzo等, *J. Clin. Invest.* 80: 160-164, 1987; MacDonald等, *J. Bone Miner* 1: 227-233, 1986; Shinar等, *Endocrinology* 126: 1728-1735, 1990)。从经绝妇女或者中止雌激素治疗的妇女分离的骨髓细胞比从经绝前妇女分离的细胞的GM-CSF表达水平高(Bismar等, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 80: 3351-3355, 1995)。表达GM-CSF也被证实与矫正性植入物侵蚀患者的骨再吸收破骨细胞的组织分布有关(Al-Saffar等, *Anatomic Pathology* 105: 628-693, 1996)。

正如以上提到的, 以前人们认为雌激素结合到细胞中的单一雌激素受体(ER), 引起导致从热休克蛋白释放的构象变化, 并且为二聚物的受体结合不同基因的启动子区域的所谓雌激素反应单元。另外, 药物学家普遍认为非甾族小分子配体与雌激素竞争性结合ER, 在表达雌激素受体的各种组织中起拮抗剂或激动剂的作用。由此, 这样的配体按惯例被分为纯拮抗剂或激动剂。这种观点不再被认为是正

确的。

当然, 现在已知雌激素通过基因表达调节细胞的药理学, 而且雌激素效能通过雌激素受体介导。如上所述, 目前有两种雌激素受体 ER- $\alpha$  和 ER- $\beta$ 。雌激素受体对基因调节的效能能够通过以下途径介导: ER 与雌激素反应单元(ERE)的直接结合-“经典途径”(Jeltsch 等, *Nucleic Acids Res.* 15: 1401-1414, 1987; Bodine 等, *Endocrinology* 139: 2048-2057, 1998), ER 与其它转录因子(例如 NF- $\kappa$ B、C/EBP- $\beta$  或 AP-1)结合-“非经典途径”(Stein 等, *Mol. Cell Biol.* 15: 4971-4979, 1995; Paech 等, *Science* 277: 1508-1510, 1997; Duan 等, *Endocrinology* 139: 1981-1990, 1998), 以及通过经由可能包括血浆膜 ER 的细胞核外雌激素受体信号转导的非基因体效能(Nadal, A.等, *Trends in Pharmacological Sciences* 22: 597-599, 2001; Wyckoff, M. H.等, *J. Biol. Chem.* 276: 27071-27076, 2001; Chung, Y-L.等, *Int. J. of Cancer* 97: 306-312, 2002; Kelly, M. J.等, *Trends Endocrinol. Metab.* 10: 369-374, 1999; Levin, E. R.等, *Trends Endocrinol. Metab.* 10: 374-377, 1999)。

过去几年的进展已经证实 ER 与辅激活物(例如 SRC-1, CBP 和 SRA)以及辅阻遏物(例如 SMRT 和 N-CoR)有关, 它们还以组织特异性和配体特异性的方式调节 ER 的转录活性。在这样情况下, ER 与调节上述基因的关键性转录因子相互作用。已知由 ER 调节其活性的转录因子包括例如 AP-1、NF- $\kappa$ B、C/EBP 和 Sp-1。另外, 已经鉴定出孤儿核受体, 例如雌激素受体相关性受体  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ (ERR- $\alpha$ 、ERR- $\beta$ 、ERR- $\gamma$ )。尽管雌二醇似乎不是 ERR 的配体, 但是已经证实部分 SERM 和其它传统的 ER-配体结合具有高亲和力的所述受体(Coward, P.等, *Proc. Natl Acad. Sci.* 98: 8880-8884, 2001; Lu, D.等, *Cancer Res.* 61: 6755-6761, 2001; Tremblay, G.B.等, *Endocrinology* 142: 4572-4575, 2001; Chen, S.等, *J. Biol. Chem.* 276: 28465-28470, 2001)。

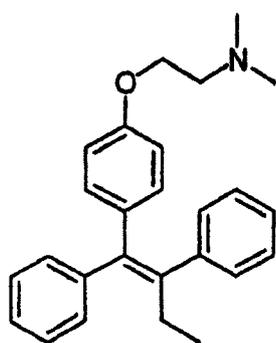
此外, 由于缺少良好的 ER- $\beta$  抗体, 主要通过 RT-PCR 或原位杂交的分析得知 ER- $\alpha$  和 ER- $\beta$  既有重叠的组织分布, 又有不同的组织

分布。但是,上述某些结果存在争论,这可能归因于测量 ER 使用的方法、所分析的物种(大鼠、小鼠、人)和/或所分离的原代细胞的分化状态。组织常常既表达 ER- $\alpha$ , 又表达 ER- $\beta$ , 但是受体位于不同的细胞类型。此外,某些组织(例如肾)仅包含 ER- $\alpha$ , 而其它组织(例如子宫、垂体和附睾)显示主要包含 ER- $\alpha$  (Couse 等, *Endocrinology* 138, 4613-4621, 1997; Kuiper 等, *Endocrinology* 138, 863-870, 1997)。相反,表达高水平 ER- $\beta$  的组织包括前列腺、睾丸、卵巢和脑的某些区域(Brandenberger 等, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 83, 1025-8, 1998; Enmark 等, *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 82, 4258-4265, 1997; Laflamme 等, *J. Neurobiol.* 36, 357-78, 1998; Sar 和 Welsch, *Endocrinology* 140, 963-71, 1999; Shughrue 等, *Endocrinology* 138, 5649-52, 1997a; Shughrue 等, *J. Comp. Neurol.* 388, 507-25, 1997b)。

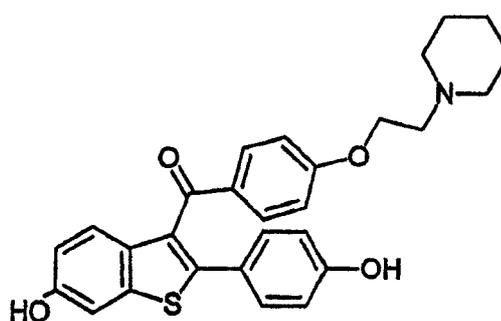
ER- $\alpha$  (Korach, *Science* 266, 1524-1527, 1994)和 ER- $\beta$ (Krege 等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 15677-82, 1998)敲出小鼠的发育进一步证实 ER- $\beta$  在不同的组织具有不同的功能。举例来讲, ER- $\alpha$  敲出小鼠(雄性和雌性)不能生育,雌性没有显示性接受能力并且雄性没有典型的雄性攻击性行为(Cooke 等, *Biol. Reprod.* 59, 470-5, 1998; Das 等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 12786-12791, 1997; Korach, 1994; Ogawa 等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 1476-81, 1997; Rissman 等, *Endocrinology* 138, 507-10, 1997a; Rissman 等, *Horm. Behav.* 31, 232-243, 1997b)。另外,这些小鼠的大脑仍然以类似于野生类小鼠的模式对雌激素作出响应(Shughrue 等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 11008-12, 1997c), 雌激素仍然抑制由机械损害造成的血管损伤(Iafrati 等, *Nature Med.* 3, 545-8, 1997)。相反,缺乏 ER- $\beta$  的小鼠发育正常,能生育,有正常的性行为,但是与野生类小鼠相比,产仔很少并且更小(Krege 等, 1998),乳房发育正常并且乳汁分泌正常。生育能力降低相信是降低了卵巢效力的结果,在卵巢中 ER- $\beta$  是 ER 的主要形式,位于成熟卵泡的粒膜细胞中。

总之，早就认识到用作雌激素拮抗剂或激动剂的化合物在治疗许多雌激素相关性疾病中的重要药用价值，所述疾病包括与脑、骨、心血管系统、皮肤、毛囊、免疫系统、膀胱和前列腺有关的疾病(Barkhem 等, *Mol. Pharmacol.* 54, 105-12, 1998; Farhat 等, *FASEB J.* 10, 615-624, 1996; Gustafsson, *Chem. Biol.* 2, 508-11, 1998; Sun 等, 1999; Tremblay 等, *Endocrinology* 139, 111-118, 1998; Turner 等, *Endocrinology* 139, 3712-20, 1998)。此外，已经介绍了多种乳腺癌和非乳腺癌细胞表达 ER，并且作为特异性雌激素拮抗剂的靶组织(Brandenberger 等, 1998; Clinton 和 Hua, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 25, 1-9, 1997; Hata 等, *Oncology* 55 Suppl 1, 35-44, 1998; Rohlff 等, *Prostate* 37, 51-9, 1998; Simpson 等, *J Steroid Biochem Mol Biol* 64, 137-45, 1998; Yamashita 等, *Oncology* 55 Suppl 1, 17-22, 1998)。

在最近几年，开发了许多与 ER 相互作用的甾族和非甾族化合物。例如，他莫昔芬原本开发为抗雌激素并用于治疗乳腺癌，但是最新发现在子宫、骨和心血管系统起部分雌激素激动剂作用。雷洛昔芬是另一种建议用作 SERM 并且已被批准用于治疗骨质疏松症的化合物。



他莫昔芬



雷洛昔芬

还报道了雷洛昔芬的类似物(Grese 等, *J. Med. Chem.* 40: 146-167, 1997)。

至于基于香豆素的化合物，已经提出了许多结构，包括以下文献提出的: Roa 等, *Synthesis* 887-888, 1981; Buu-Hoi 等, *J. Org. Chem.*

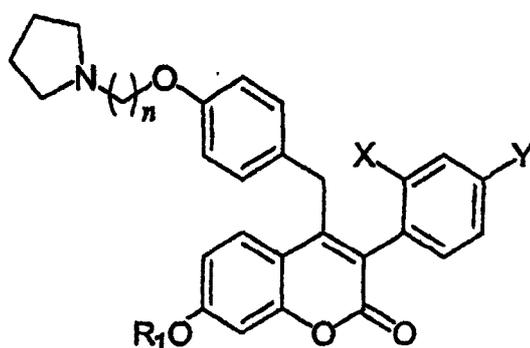
19: 1548-1552, 1954; Gupta 等, Indian J. Exp. Biol. 23: 638-640, 1985; 公开的 PCT 申请 WO 96/31206; Verma 等, Indian J. Chem. 32B: 239-243, 1993; Lednicer 等, J. Med. Chem. 8: 725-726, 1965; Micheli 等, Steroids 5: 321-335, 1962; Brandt 等, Int. J. Quantum Chemistry: Quantum Biol. Symposia 13: 155-165, 1986; Wani 等; J. Med. Chem. 18: 982-985, 1975; Pollard 等, Steroids 11: 897-907, 1968.

因此, 本领域需要用于治疗骨再吸收病、癌症、关节炎或雌激素相关性疾病的化合物。

本申请第 2 部分对任何参考文献的引用或证实并不解释为承认该参考文献是本申请的先有技术。

### 3. 发明概述

本发明涉及具有以下通式(I)结构的化合物及其药学上可接受的盐:



(I)

其中:

$n$  为 2、3 或 4;

$R_1$  为氢、 $C(=O)R_2$ 、 $C(=O)OR_2$ 、 $C(=O)NHR_2$ 、 $C(=O)NR_2R_3$  或  $S(=O_2)NR_2R_3$ ;

$R_2$  和  $R_3$  独立为  $C_{1-8}$  烷基、 $C_{6-12}$  芳基、 $C_{7-12}$  芳基烷基或包含最多两个选自  $O$ 、 $NR_4$  和  $S(O)_q$  的杂原子的五元或六元杂环, 其中以上各个基团任选被 1-3 个独立选自  $R_5$  的取代基取代,  $q$  为 0、1 或 2;

$R_4$  为氢或  $C_{1-4}$  烷基;

$R_5$  为氢、卤素、羟基、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-4}$  烷氧基、 $C_{1-4}$  酰氧基、 $C_{1-4}$  烷硫基( $C_{1-4}$ thio)、 $C_{1-4}$  烷基亚磺酰基、 $C_{1-4}$  烷基磺酰基、(羟基) $C_{1-4}$  烷基、 $C_{6-12}$  芳基、 $C_{7-12}$  芳烷基、COOH、CN、CONHOR<sub>6</sub>、SO<sub>2</sub>NHR<sub>6</sub>、NH<sub>2</sub>、 $C_{1-4}$  烷基氨基、 $C_{1-4}$  二烷基氨基、NHSO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、NO<sub>2</sub> 或者五元或六元杂环, 其中各个  $R_6$  独立为  $C_{1-6}$  烷基;

X 为氢、卤素或三氟甲基;

Y 为卤素或三氟甲基。

本发明还涉及通过脱甲基化式(II)化合物制备  $R_1$  为 H 的式(I)化合物的方法。

本发明还涉及抑制患者的细胞因子的方法, 该方法包括给予其需要患者有效量的式(I)、式(II)化合物或所述化合物的药学上可接受的盐。

本发明还涉及治疗或预防患者骨再吸收病的方法, 该方法包括给予其需要患者有效量的式(I)、式(II)化合物或所述化合物的药学上可接受的盐。

本发明还涉及治疗或预防患者癌症的方法, 该方法包括给予其需要患者有效量的式(I)、式(II)化合物或所述化合物的药学上可接受的盐。

本发明还涉及治疗或预防患者关节炎的方法, 该方法包括给予其需要患者有效量的式(I)、式(II)化合物或所述化合物的药学上可接受的盐。

本发明还涉及调节 ER 表达细胞的基因表达的方法, 该方法包括使所述细胞与有效量的式(I)、式(II)化合物或所述化合物的药学上可接受的盐接触。

本发明还涉及在表达 ER 的组织中调节基因表达的方法, 该方法包括使所述细胞与有效量的式(I)、式(II)化合物或所述化合物的药学上可接受的盐接触。

本发明还涉及激活骨细胞 ER 功能的方法，该方法包括使骨细胞与有效量的式(I)、式(II)化合物或所述化合物的药学上可接受的盐接触。

本发明还涉及抑制乳腺癌细胞、卵巢癌细胞、子宫内膜癌细胞、子宫癌细胞、前列腺癌细胞或下丘脑癌细胞中 ER 的功能的方法，该方法包括使所述细胞与有效量的式(I)、式(II)化合物或所述化合物的药学上可接受的盐接触。

本发明还涉及抑制细胞中表达 IL-6 的方法，该方法包括使能够表达 ER 和 IL-6 的细胞与有效量的式(I)、式(II)化合物或所述化合物的药学上可接受的盐接触。

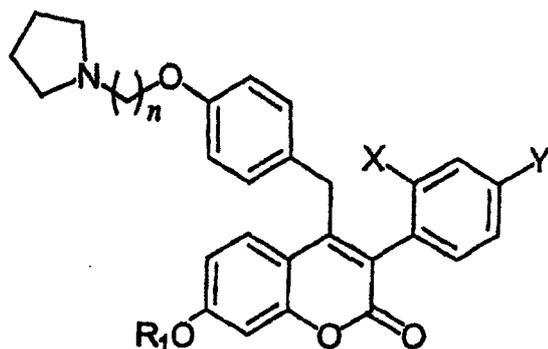
本发明还涉及抑制癌细胞或肿瘤细胞增殖的方法，该方法包括使能够表达 ER 的癌细胞或肿瘤细胞与有效量的式(I)、式(II)化合物或所述化合物的药学上可接受的盐接触。

本发明方法进一步包括给予有效量的另一种治疗药物。其它治疗药物的例子包括但不限于用于治疗或预防雌激素相关性疾病的药物、用于治疗或预防骨丢失病的药物、用于降低患者血清的胆固醇水平的药物以及用于治疗或预防癌症或肿瘤的药物。

可以参考具体说明和实施例更全面地理解本发明，但是它们仅用于举例说明本发明的非限制性实施方案。

#### **4. 发明的具体说明**

本发明涉及下式(I)化合物及其药学上可接受的盐：



(I)

其中:

$n$  为 2、3 或 4;

$R_1$  为氢、 $C(=O)R_2$ 、 $C(=O)OR_2$ 、 $C(=O)NHR_2$ 、 $C(=O)NR_2R_3$  或  $S(=O_2)NR_2R_3$ ;

$R_2$  和  $R_3$  独立为  $C_{1-8}$  烷基、 $C_{6-12}$  芳基、 $C_{7-12}$  芳基烷基或包含最多两个选自 O、 $NR_4$  和  $S(O)_q$  的杂原子的五元或六元杂环, 其中以上各个基团任选被 1-3 个独立选自  $R_5$  的取代基取代,  $q$  为 0、1 或 2;

$R_4$  为氢或  $C_{1-4}$  烷基;

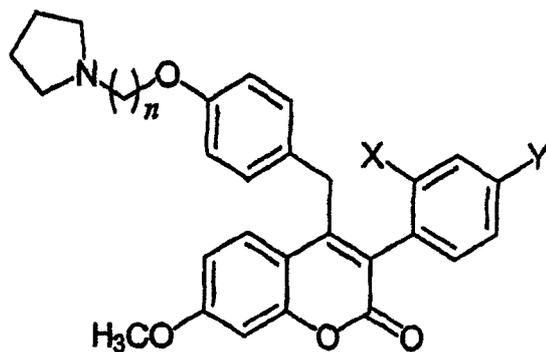
$R_5$  为氢、卤素、羟基、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-4}$  烷氧基、 $C_{1-4}$  酰氧基、 $C_{1-4}$  烷硫基、 $C_{1-4}$  烷基亚磺酰基、 $C_{1-4}$  烷基磺酰基、(羟基) $C_{1-4}$  烷基、 $C_{6-12}$  芳基、 $C_{7-12}$  芳基烷基、 $COOH$ 、 $CN$ 、 $C(=O)NHR_6$ 、 $S(=O_2)NHR_6$ 、 $NH_2$ 、 $C_{1-4}$  烷基氨基、 $C_{1-4}$  二烷基氨基、 $NHSO_2R_6$ 、 $NO_2$  或者五元或六元杂环, 其中各个  $R_6$  独立为  $C_{1-6}$  烷基;

$X$  为氢、卤素或三氟甲基;

$Y$  为卤素或三氟甲基。

在一个优选实施方案中, 式(I)化合物是  $n = 2$  且  $R_1$  为氢的化合物。

本发明还涉及制备  $R_1=H$  的式(I)化合物的方法, 该方法包括将下式(II)化合物或其药学上可接受的盐脱甲基化的步骤:



(II)

其中  $n$  为 2、3 或 4， $X$  和  $Y$  为以上的定义。

可以用本领域已知的使酚甲醚脱去保护的任何方法将式(II)化合物脱甲基化。这样的方法的例子可参见 Greene, T.W., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 第 3 章, John Wiley and Sons, New York, 1981, pp.88-92, 通过引用将其全部内容结合到本文。优选脱甲基化通过包括如下步骤的方法完成: 使式(II)化合物与约 1.0 至约 50.0 摩尔当量脱甲基化试剂接触, 例如碘代三甲基硅烷、吡啶盐酸盐、氢溴酸、盐酸、氢碘酸、Grignard 试剂、Lewis 酸或强亲核试剂。更优选脱甲基化试剂为水性 HBR, 更优选为醋酸中的混合物。在一个更优选的实施方案中, 在脱甲基化试剂存在下, 任选在溶剂(优选羧酸)存在下, 通过加热式(II)化合物或其药学上可接受的盐脱甲基化, 温度为约室温至约 200°C, 优选温度为约 100°C 至约 160°C, 15 min 至约 24 h。在一个实施方案中, 脱甲基化反应容器是封闭的(例如封闭管), 防止溶剂蒸发, 特别是在溶剂的沸点温度低于脱甲基化反应温度时。 $R_1$  为 H 的式(I)化合物的酸盐可以如下获得: 直接从脱甲基化反应物中分离出化合物, 然后可以将其用于制备相应的药学上可接受的盐。将所述酸盐用合适的碱例如氢氧化钠洗涤并分离化合物后可获得游离碱形式。

所得的  $R_1$  为 H 的式(I)化合物(通过脱甲基化式(II)化合物制备)用作细胞因子抑制剂以及用于治疗或预防骨再吸收病、癌症、关节炎或雌激素相关性疾病。 $R_1$  为 H 的式(I)化合物(通过脱甲基化式(II)化

合物制备)还用作合成式(I)化合物的中间体, 其中  $R_1$  为  $C(=O)R_2$ 、 $C(=O)OR_2$ 、 $C(=O)NHR_2$ 、 $C(=O)NR_2R_3$  或  $S(=O_2)NR_2R_3$ 。

式(I)化合物及其药学上可接受的盐(统称为“苯并吡喃酮化合物”)用于治疗或预防骨再吸收病、癌症、关节炎或雌激素相关性疾病。苯并吡喃酮化合物还可用于抑制患者的细胞因子并调节表达 ER 的细胞和/或组织的基因表达。由此, 本发明化合物可以作为治疗性和/或预防性药物给药。

本文使用的“ $C_{6-12}$ 芳基”为含 6-12 个碳原子的芳族部分。在一个实施方案中,  $C_{6-12}$ 芳基选自(但不限于)苯基、四氢萘基和萘基。

“ $C_{7-12}$ 芳烷基”为含 7-12 个碳原子的芳烃, 既有脂肪族单元, 又有芳族单元。在一个实施方案中,  $C_{7-12}$ 芳烷基为通过烷基直接连接的芳基, 例如(但不限于)苄基、乙基苄基(即 $-(CH_2)_2$ 苯基)、丙基苄基和异丁基苄基。

“ $C_{3-12}$ 杂环”含有超过一种原子的环的化合物, 并且其中含 3-12 个碳原子, 包括(但不限于)吡咯烷基、吡咯基、吲哚基、吡唑基、氧杂环丁烷基、吡唑啉基、咪唑基、咪唑啉基、咪唑烷基、噁唑基、噁唑烷基、异噁唑啉基、异噁唑基、噻唑基、噻二唑基、噻唑烷基、异噻唑基、异噻唑烷基、呋喃基、四氢呋喃基、噻吩基、噁二唑基、哌啶基、哌嗪基、2-氧代哌嗪基、2-氧代哌啶基、2-氧代吡咯烷基、2-氧杂吡庚因基、吡庚因基、4-哌啶酮基、吡啶基、N-氧代-吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基、四氢吡喃基、四氢噻喃基、四氢噻喃基磺基、吗啉基、硫代吗啉基、硫代吗啉基亚砷、硫代吗啉基砷、1,3-二氧戊环和四氢-1,1-二氧代噻吩基、二噁烷基、异噻唑烷基、硫杂环丁烷基、硫杂环丙烷基、三嗪基和三唑基。

“ $C_{4-16}$ 杂环烷基”含有连接至  $C_{1-8}$ 烷基的上述  $C_{3-12}$ 杂环的化合物。

“ $C_{1-8}$ 烷基”为含 1-8 碳原子的直链或支链碳链, 包括(但不限于)甲基、乙基、正丙基、正丁基、正戊基、正己基等。类似地, “ $C_{1-x}$

烷基”具有相同含义，但是其中“x”为少于8的碳原子数，例如C<sub>1-6</sub>烷基。

“取代的”C<sub>1-x</sub>烷基、C<sub>6-12</sub>芳基、C<sub>7-12</sub>芳烷基、C<sub>3-12</sub>杂环或C<sub>4-16</sub>杂环烷基部分为至少一个氢原子被取代基取代的C<sub>1-x</sub>烷基、C<sub>6-12</sub>芳基、C<sub>7-12</sub>芳烷基、C<sub>3-12</sub>杂环或C<sub>4-16</sub>杂环烷基。

“取代基”选自卤素、-OH、-R'、-OR'、-COOH、-COOR'、-COR'、-CONH<sub>2</sub>、-NH<sub>2</sub>、-NHR'、-NR'R'、-SH、-SR'、-SOOR'、-SOOH和-SOR'，所出现的各个R'独立选自未取代或取代的C<sub>1-8</sub>烷基、C<sub>6-12</sub>芳基、C<sub>7-12</sub>芳烷基、C<sub>3-12</sub>杂环或C<sub>4-16</sub>杂环烷基。

“卤素”为氟、氯、溴或碘。

苯并吡喃酮化合物可能有手性中心，并且可以为外消旋体、外消旋混合物以及为单独的对映异构体或非对映异构体。所有这样的异构体形式包括在本发明内，包括它们的混合物。另外，苯并吡喃酮化合物的某些晶形可能以多形体存在，它也包括在本发明中。此外，某些苯并吡喃酮化合物也可以与水或其它有机溶剂形成溶剂化物。类似地，这样的溶剂化合物也包括在本发明范围内。

雌激素“激动剂”为在一种或多种组织中结合ER并且摹拟雌激素作用的化合物，而“拮抗剂”是在一种或多种组织中结合ER并且阻止雌激素作用的化合物。更进一步地，术语“雌激素相关性疾病”包括与雌激素、选择性雌激素受体调节剂(SERM)或ER的水平升高或降低有关的任何疾病。在此上下文中，ER包括ER- $\alpha$ 和/或ER- $\beta$ 以及任何对ER具有显著同源性的同工型、突变和蛋白。

“患者”为动物，包括但不限于例如以下动物：母牛、猴子、马、绵羊、猪、小鸡、火鸡、鹤鹑、猫、狗、小鼠、大鼠、兔子和天竺鼠，更优选为哺乳动物，最优选为人。

尽管不受以下理论的限制，特别是在骨再吸收病情况下，但是相信苯并吡喃酮化合物是通过阻止细胞因子产生和/或抑制破骨细胞形成而起作用。

本发明还涉及药用组合物，组合物中包含有效量的苯并吡喃酮化合物以及任选药学上可接受的载体或溶媒，其中药学上可接受的载体或溶媒可以包含赋形剂、稀释剂或它们的混合物。本发明的其它实施方案包括治疗或预防以下疾病的方法：骨再吸收病(包括但不限于骨质疏松症、转移性骨癌和血钙过多)、矫形植入物的溶骨性损害、佩吉特氏病以及甲状旁腺机能亢进性骨丢失；IL-6 相关性疾病，包括各种癌症和关节炎；癌症，包括乳腺癌、前列腺癌、结肠癌、子宫内膜癌、多发性骨髓瘤、肾细胞癌和宫颈癌；关节炎，包括佐剂性、胶原性、细菌性和抗原性关节炎，特别是类风湿性关节炎。这些方法包括给予其需要患者有效量的苯并吡喃酮化合物。

此外，苯并吡喃酮化合物可用于治疗或预防许多雌激素相关性疾病，包括但不限于乳腺癌、骨质疏松症、子宫内膜异位、心血管病、高胆固醇血症、前列腺肥大、前列腺癌、肥胖、潮热、皮肤疾病(skin effects)、情绪波动、失忆、前列腺癌、更年期综合征、脱发、II型糖尿病、阿耳茨海默氏病、尿失禁、胃肠道疾病、精子发生、血管损伤后的保护、子宫内膜异位、学习和记忆、CNS 病症(CNS effects)、血浆脂质水平异常、痤疮、白内障、多毛症、其它实体癌(例如结肠、肺、卵巢、黑素瘤、CNS 和肾的癌症)、多发性骨髓瘤、淋巴瘤以及与接触环境化学品或天然激素不平衡相关的对生殖的有害影响。

本发明苯并吡喃酮化合物还可用于口服避孕；减轻绝经期的症状；预防先兆流产或习惯性流产；缓解痛经；减轻机能性子宫出血；减缓子宫内膜异位；辅助卵巢发育；治疗痤疮；减少妇女体毛的过度生长(多毛症)；预防或治疗心血管病；预防和治疗动脉粥样硬化；预防和治疗骨质疏松症；治疗良性前列腺增生和前列腺癌肥胖；抑制产后乳汁分泌。本发明苯并吡喃酮化合物还对血浆脂质水平具有有益的效果，由此可用于治疗和预防高胆固醇血症。本发明苯并吡喃酮化合物可进一步用于治疗 and 预防乳腺癌和卵巢癌。

在另一个实施方案中，本发明涉及抑制患者的细胞因子的方法，该方法包括给予其需要患者有效量的式(I)、式(II)化合物或所述化合物的药学上可接受的盐。

在另一个实施方案中，本发明涉及在表达 ER(ER- $\alpha$  或 ER- $\beta$ )的细胞中调节基因表达的方法，该方法包括使所述细胞与有效量的式(I)、式(II)化合物或所述化合物的药学上可接受的盐接触。

在另一个实施方案中，本发明涉及在表达 ER(ER- $\alpha$  或 ER- $\beta$ )的组织中调节基因表达的方法，该方法包括使所述细胞与有效量的式(I)、式(II)化合物或所述化合物的药学上可接受的盐接触。

在另一个实施方案中，本发明涉及激活骨细胞 ER 功能的方法，该方法包括使骨细胞与有效量的式(I)、式(II)化合物或所述化合物的药学上可接受的盐接触。激活骨细胞 ER 功能可用于治疗或预防骨质疏松症。

在另一个实施方案中，本发明涉及抑制乳腺癌细胞、卵巢癌细胞、子宫内膜癌细胞、子宫癌细胞、前列腺癌细胞或下丘脑癌细胞中 ER 的功能的方法，该方法包括使所述细胞与有效量的式(I)、式(II)化合物或所述化合物的药学上可接受的盐接触。抑制乳腺癌细胞、卵巢癌细胞、子宫内膜癌细胞、子宫癌细胞、前列腺癌细胞或下丘脑癌细胞中 ER 的功能可用于抑制所述细胞的生长，因此可用于治疗或预防癌症。在一个实施方案中，所述乳腺癌细胞为 MCF-7。在一个实施方案中，所述卵巢癌细胞为 BG-1。

在另一个实施方案中，本发明涉及抑制细胞中表达 IL-6 的方法，该方法包括使能够表达 ER 和 IL-6 的细胞与有效量的式(I)、式(II)化合物或所述化合物的药学上可接受的盐接触。在一个实施方案中，所述表达 ER 和 IL-6 的细胞为骨细胞。在另一个实施方案中，所述表达 ER 和 IL-6 的细胞为用 ER- $\alpha$  稳定转染的人 U-2 OS 骨肉瘤细胞。抑制体内细胞表达 IL-6 可用于治疗骨丢失病或骨癌。在一个实施方案中，所述骨丢失病为骨质疏松症。抑制体外细胞表达 IL-6 可用于

生物学活性筛选分析(例如作为标准),以筛选出抑制 IL-6 的表达的化合物。

在另一个实施方案中,本发明涉及抑制癌细胞或肿瘤细胞增殖的方法,该方法包括使能够表达 ER 的癌细胞或肿瘤细胞与有效量的式(I)、式(II)化合物或所述化合物的药学上可接受的盐接触。能够表达 ER 的癌细胞或肿瘤细胞的例子包括但不限于乳腺细胞、卵巢细胞、子宫内膜细胞、子宫细胞、前列腺细胞和下丘脑细胞。抑制体内这样的癌细胞或肿瘤细胞的增殖可用于治疗或预防癌症。抑制体外这样的癌细胞或肿瘤细胞的增殖可用于抗癌或抗肿瘤药物的生物学活性筛选分析(例如作为标准)或者用于诊断分析。

在另一个实施方案中,本发明涉及降低患者血清胆固醇水平的方法,该方法包括给予其需要患者有效量的式(I)、式(II)化合物或所述化合物的药学上可接受的盐。降低患者血清胆固醇水平可用于治疗或预防心血管病或减小患心血管病的风险。

在另一个实施方案中,本发明方法进一步包括给予有效量的另一种治疗药物。在一个实施方案中,其它治疗药物在给予本发明式(I)、式(II)化合物或其药学上可接受的盐之前、之后或同时给予。在一个实施方案中,本发明式(I)、式(II)化合物或其药学上可接受的盐在患者上产生治疗作用的时间与其它治疗药物在患者上产生治疗作用的时间重叠。

在另一个实施方案中,其它治疗药物可用于治疗或预防雌激素相关性疾病。可用于治疗或预防雌激素相关性疾病的其它治疗药物包括但不限于他莫昔芬、雷洛昔芬、甲羟孕酮、danizol 和乙基羟基二降孕三烯炔酮。

在另一个实施方案中,其它治疗药物可用于治疗或预防骨丢失病(例如骨质疏松症)。可用于治疗或预防骨丢失病的其它药物包括但不限于组织蛋白酶 K 抑制剂(例如组织蛋白酶 K 的前肽)、双磷酸盐(例如 eitodronate、帕米磷酸盐、阿仑磷酸盐、利塞磷酸盐、唑来磷酸盐、

伊班膦酸盐、氯膦酸盐或替鲁膦酸盐)、甲状旁腺激素(“PTH”)或其片断、释放内源性 PTH 的化合物(例如 PTH 释放性激素)以及降钙素或其片断。

在另一个实施方案中,其它治疗药物可用于降低患者的血清胆固醇水平。用于降低患者血清胆固醇水平的其它治疗药物包括但不限于他汀类(例如洛伐他汀、阿伐他汀、普伐他汀)或酰基-辅酶-A 模拟物。

在另一个实施方案中,其它治疗药物可用于治疗或预防癌症或肿瘤(例如乳腺癌、卵巢癌、子宫癌、前列腺癌或下丘脑癌)。可用于治疗或预防癌症或肿瘤的其它治疗药物包括但不限于烷基化剂(例如亚硝基脲)、抗代谢物(例如甲氧蝶呤或羟基脲)、依托泊苷、camptothecins、博来霉素、阿霉素、柔红霉素、秋水仙碱、伊立替康、喜树碱、环磷酰胺、5-氟尿嘧啶、顺铂、卡铂、甲氧蝶呤、三甲曲沙、erbitux、沙利度胺、紫杉醇、长春花属生物碱(例如长春花碱或长春新碱)或微管稳定剂(例如埃坡霉素)。

用于治疗或预防癌症的治疗药物的更多实例包括但不限于:阿西维辛;阿柔比星;盐酸阿考达唑;阿克罗宁;阿多来新;阿地白介素;六甲蜜胺;二霉素;醋酸阿美萘醌;氨鲁米特;安吡啶;阿那曲唑;安曲霉素;天冬酰胺酶;曲林菌素;阿扎胞苷;阿扎替派;含氮霉素;巴马司他;苯佐替派;比卡鲁胺;盐酸比生群;二甲磺酸双奈法德;比折来新;硫酸博来霉素;布喹那钠;溴匹立明;白消安;放线菌素 C;卡普萘酮;卡醋胺;卡贝替姆;卡铂;卡莫司汀;盐酸卡柔比星;卡折来新;西地芬戈;苯丁酸氮芥;西罗霉素;顺铂;克拉屈滨;甲磺酸克立那托;环磷酰胺;阿糖胞苷;达卡巴嗪;更生霉素;盐酸柔红霉素;地西他滨;右奥马铂;地扎胍宁;甲磺酸地扎胍宁;地吡醌;多西他赛;阿霉素;盐酸阿霉素;屈洛昔芬;柠檬酸屈洛昔芬;丙酸屈他雄酮;偶氮霉素;依达曲沙;盐酸依氟鸟氨酸;依沙芦星;恩洛铂;恩普氨酯;依匹哌啶;盐酸表柔比星;

厄布洛唑; 盐酸依索比星; 雌莫司汀; 雌莫司汀磷酸钠; 依他硝唑;  
依托泊苷; 磷酸依托泊苷; 氟苯乙嘧啶; 盐酸法依唑; 法扎拉滨;  
芬维 A 胺; 氟尿苷; 磷酸氟达拉滨; 氟尿嘧啶; 氟西他滨; 磷喹酮;  
福司曲星钠; 吉西他滨; 盐酸吉西他滨; 羟基脲; 盐酸伊达比星;  
异环磷酰胺; 伊莫福新; ImiDs; 白介素 II (包括重组白介素 II 或 rIL2)、  
干扰素-2a; 干扰素  $\alpha$ -2b; 干扰素  $\alpha$ -n1; 干扰素  $\alpha$ -n3; 干扰素  $\beta$ -I a;  
干扰素  $\gamma$ -I b; 异丙铂; 盐酸伊立替康; 醋酸兰瑞肽; 来曲唑; 醋酸  
亮丙瑞林; 盐酸利阿唑; 洛美曲索钠; 罗氮芥; 盐酸洛索萘醌; 马  
索罗酚; 美坦素; 盐酸氮芥; 醋酸甲地孕酮; 醋酸美仑孕酮; 美法  
仑; 美诺立尔; 巯基嘌呤; 甲氨蝶呤; 甲氨蝶呤钠; 氟苯氨啶; 美  
妥替啶; 米丁度胺; 米托卡星; 丝裂红素; 米托洁林; 丝裂马菌素;  
丝裂霉素; 米托司培; 米托坦; 盐酸米托萘醌; 霉酚酸; 诺考达唑;  
诺加霉素; 奥马铂; 奥昔舒仑; 紫杉醇; 培门冬酶; 佩里霉素; 奈  
莫司汀; 硫酸培洛霉素; 培磷酰胺; 哌泊溴烷; 哌泊舒凡; 盐酸吡  
罗萘醌; 普卡霉素; 普洛美坦; 吡吩姆钠; 泊非霉素; 泼尼莫司汀;  
盐酸甲苄肼; 嘌呤霉素; 盐酸嘌呤霉素; 吡唑呋喃菌素; 利波腺苷;  
罗谷亚胺; 沙芬戈; 盐酸沙芬戈; SelCid; 司莫司汀; 辛曲秦; 磷乙  
酰天冬氨酸钠; 稀疏霉素; 盐酸螺旋锗; 螺莫司汀; 螺铂; 链黑菌  
素; 链佐星; 磺氟苯脲; 他利霉素; 替可加兰钠; 替加氟; 盐酸替  
洛萘醌; 替莫泊芬; 替尼泊苷; 替罗昔隆; 鞣内酯; 硫咪嘌呤; 硫  
鸟嘌呤; 替莫唑胺; 替莫唑胺(temodar); 噻替派; 噻唑呋林; 替拉扎  
明; 柠檬酸托瑞米芬; 醋酸曲托龙; 磷酸曲西立滨; 三甲曲沙; 三  
甲曲沙葡萄糖醛酸酯; 曲普瑞林; 盐酸妥布霉素; 乌拉莫司汀; 乌  
瑞替派; 伐普肽; 维替泊芬; 硫酸长春花碱; 硫酸长春新碱; 长春  
地辛; 硫酸长春地辛; 硫酸长春匹定; 硫酸长春甘酯; 硫酸长春罗  
新; 酒石酸长春瑞滨; 硫酸长春罗定; 硫酸长春利定; 伏氟唑; 折  
尼铂; 净司他丁; 盐酸佐柔比星。

用于治疗或预防癌症的其它治疗药物包括但不限于: 20-表-1,25-

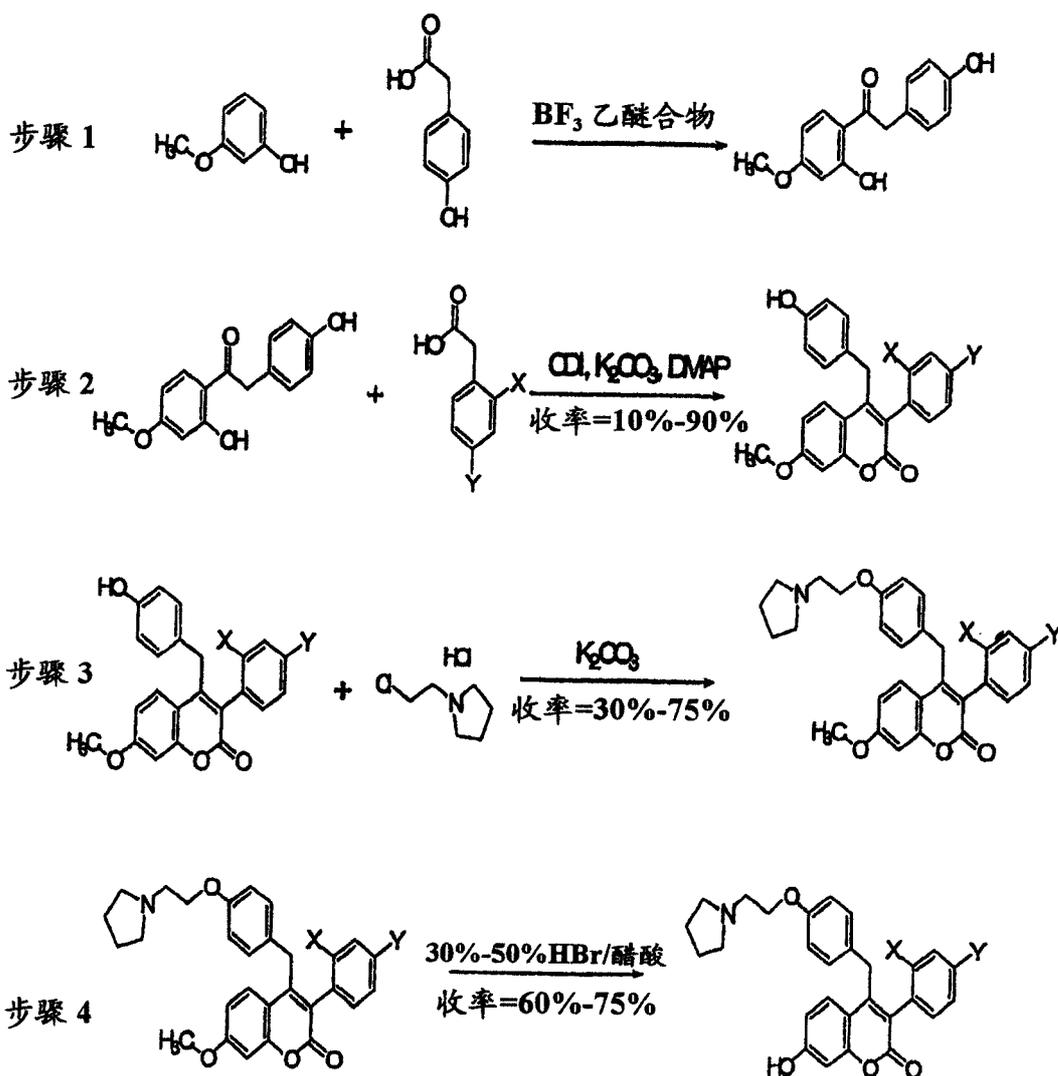
二羟基维生素 D3; 5-乙炔基尿嘧啶; 阿比特龙; 阿柔比星; 酰基富烯; adecyphenol; 阿多来新; 阿地白介素; ALL-TK 拮抗剂; 六甲蜜胺; 氨莫司汀; amidox; 氨磷汀; 氨基乙酰丙酸; 氨柔比星; 安吡啶; 阿那格雷; 阿那曲唑; 穿心莲内酯; 血管生成抑制剂; 拮抗剂 D; 拮抗剂 G; antarelix; 抗背部化(anti-dorsalizing)形态发生蛋白-1; 抗雄激素、前列腺癌; 抗雌激素; 抗癌酮; 甘氨酸阿非迪霉素; 细胞凋亡基因调节剂; 细胞凋亡调节剂; 脱嘌呤核酸; ara-CDP-DL-PTBA; 精氨酸脱氨基酶; asulacrine; 阿他美坦; 阿莫司汀; axinastatin 1; axinastatin 2; axinastatin 3; 阿扎司琼; 阿扎毒素; 重氮酪氨酸; 浆果赤霉素 III 衍生物; balanol; 巴马司他; BCR/ABL 拮抗剂; benzochlorins; 苯甲酰基星形孢菌素;  $\beta$ -内酰胺衍生物;  $\beta$ -alethine; 亚阿克拉霉素 B; 桦木酸; bFGF 抑制剂; 比卡鲁胺; 比生群; 双环乙亚胺精胺; 双奈法德; bistratene A; 比折来新; breflate; 溴匹立明; 布度钛; 丁硫氨酸亚砷胺(buthionine sulfoximine); 卡泊三醇; calphostin C; 喜树碱衍生物; canarypox IL-2; 卡培他滨; 甲酰胺-氨基-三唑; 甲酰胺三唑; CaRest M3; CARN 700; 软骨衍生的抑制剂; 卡折来新; 酪蛋白激酶抑制剂(ICOS); 细胞周期抑制剂(例如 flavopiridol A、tryprostatin B、p19ink4D); 细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂(例如 roscovitine、olomucine 和嘌呤类似物); MAP 激酶抑制剂(CNI-1493); 栗树精胺; 杀菌肽 B; 西曲瑞克; chlorlins; 氯喹啉磺酰胺; 西卡前列素; 顺卞啉; 克拉屈滨; 氯米芬类似物; 克霉唑; collismycin A; collismycin B; 考布他汀 A4; 考布他汀类似物; conagenin; crambescidin 816; 克立那托; cryptophycin 8; cryptophycin A 衍生物; curacin A; cyclopentantraquinones; cycloplatan; cypemycin; 阿糖胞苷 ocfosfate; 溶细胞因子; cytostatin; 达昔单抗; 地西他滨; dehydrodidemnin B; 地洛瑞林; 地塞米松; 右异环磷酰胺; 右雷佐生; 右维拉帕米; 地吡醌; didemnin B; didox; diethylnorspermine; 二氢-5-氮杂胞啶; 9-二氢紫杉醇; dioxamycin; 二苯基螺莫司汀; 多西他赛; 二十二烷醇;

多拉司琼; 去氧氟尿苷; 屈洛昔芬; 屈大麻酚; 倍癌霉素 SA; 依布  
硒啉; 依考莫司汀; 依地福新; 依决洛单抗; 依氟鸟氨酸; 榄香烯;  
乙嘧替氟; 表柔比星; 爱普列特; 雌莫司汀类似物; 雌激素激动剂;  
雌激素拮抗剂; 依他硝唑; 磷酸依托泊苷; 依西美坦; 法倔唑; 法  
扎拉滨; 芬维 A 胺; 非格司亭; 非那雄胺; flavopiridol; 氟卓斯汀;  
fluasterone; 氟达拉滨; 盐酸 fluorodaunorubicin; 福酚美克; 福美司  
坦; 福司曲星; 福莫司汀; texaphyrin 钷; 硝酸镓; 加洛他滨; 加尼  
瑞克; 白明胶酶抑制剂; 吉西他滨; 谷胱甘肽抑制剂; hepsulfam;  
heregulin; 六亚甲基双乙酰胺; 金丝桃素; 伊班磷酸; 伊达比星; 艾  
多昔芬; 伊决孟酮; 伊莫福新; 伊洛马司他; 咪唑并吡啶酮; 咪喹  
莫特; 免疫刺激性肽; 胰岛素样生长因子-1 受体抑制剂; 干扰素激  
动剂; 干扰素; 白介素; 碘苄胍; 碘阿霉素; 4-依波米醇; 伊罗普拉;  
伊索拉定; isobengazole; isohomohalicondrin B; 伊他司琼;  
jasplakinolide; kahalalide F; 三乙酸 lamellarin-N; 兰瑞肽; leinamycin;  
来格司亭; 硫酸香菇多糖; leptolstatin; 来曲唑; 白血病抑制性因子;  
白细胞  $\alpha$  干扰素; 亮丙瑞林+雌激素+孕酮; 亮丙瑞林; 左旋咪唑;  
利阿唑; 线型聚胺类似物; 亲油性二糖肽; 亲油性铂化合物;  
lissoclinamide 7; 洛铂; 蚯蚓磷脂; 洛美曲索; 氟尼达明; 洛索萸醌;  
洛伐他汀; 洛索立宾; 勒托替康; texaphyrin 镱; lysofylline; 溶解  
性肽; 美坦新; 制甘糖酶素 A; 马立马司他; 马索罗酚; maspin; 基  
质溶素(matrilysin)抑制剂; 基质型金属蛋白酶抑制剂; 美诺立尔; 麦  
尔巴隆(merbarone); 美替瑞林; 蛋氨酸(methioninase); 胃复安; MIF  
抑制剂; 米非司酮; 米替福新; 米立司亭; 错配的双链 RNA; 米托  
胍胺; 二溴卫矛醇; 丝裂霉素类似物; 米托萘胺; mitotoxin 成纤维  
细胞生长因子-皂草素; 米托萸醌; 莫法罗汀; 莫拉司亭; 单克隆抗  
体、人绒毛膜促性腺素; 单磷酸基脂质 A+myobacterium 细胞壁 sk;  
莫哌达醇; 多药耐药性基因抑制剂; 基于多肿瘤抑制基因 1 的疗法;  
芥子抗癌症药; 印度洋海绵(mycaperoxide) B; 分枝杆菌细胞壁提取

物; myriaporone; N-乙酰基地那林; N-取代的苯甲酰胺; 那法瑞林; 那瑞替喷(nagrestip); 纳洛酮+喷他佐辛; napavin; naphterpin; 那托司亭; 奈达铂; 奈莫柔比星; 奈立膦酸; 中性肽链内断酶; 尼鲁米特; nisamycin; 一氧化氮调节剂; 硝基氧抗氧剂; nitrullyn; O6-苄基鸟嘌呤; 奥曲肽; okicenone; 低聚核苷酸; 奥那司酮; 昂丹司琼; 昂丹司琼; oracin; 口服细胞因子诱导剂; 奥马铂; 奥沙特隆; 奥沙利铂; oxaunomycin; 紫杉醇; 紫杉醇类似物; 紫杉醇衍生物; palauamine; 棕榈酰根霉素; 帕米磷酸; 人参炔三醇; 帕诺米芬; 副球菌素; 帕折普汀; 培门冬酶; 培得星; 戊聚糖多硫酸钠; 喷司他丁; pentrozole; 全氟溴烷; 培磷酰胺; 紫苏子醇(perillyl alcohol); 苯连氮霉素; 苯基乙酸盐; 磷酸酶抑制剂; 苯胺衍生物; 盐酸匹鲁卡品; 吡柔比星; 吡曲克辛; placetin A; placetin B; 血纤维蛋白溶酶原激活剂抑制剂; 铂络合物; 铂化合物; 铂-三胺络合物; 吡吩姆钠; 泊非霉素; 泼尼松; 丙基双吡啶酮; 前列腺素 J2; 蛋白酶体抑制剂; 基于蛋白 A 的免疫调节剂; 蛋白激酶 C 抑制剂; 蛋白激酶 C 抑制剂, 显微藻类(microalgal); 蛋白酪氨酸磷酸酶抑制剂; 嘌呤核苷磷酸化酶抑制剂; 红紫素; 吡唑并吡啶; pyridoxylated 血红蛋白聚氧化乙烯衍生物; raf 拮抗剂; 雷替曲塞; 雷莫司琼; 视黄酸(例如 9-顺 RA); 组蛋白去乙酰酶抑制剂(例如丁酸钠、辛二酰苯胺异羟肟酸); TRAIL; ras 法尼基蛋白转移酶抑制剂; ras 抑制剂; ras-GAP 抑制剂; 脱甲基化瑞替普酶; 羟乙磷酸铼 Re 186; 根霉素; 核酶; RII retinamide; 罗谷亚胺; rohitukine; 罗莫肽; 罗喹美克; rubiginone B1; ruboxyl; 沙芬戈; saintopin; SarCNU; sarcophytol A; 沙格司亭; 模拟 Sdi 1; 司莫司汀; 衰老性抑制剂 1; 有义寡核苷酸; 信号转导抑制剂; 信号转导调节剂; 单链抗原结合蛋白; 西佐喃; 索布佐生; 硼卡钠; 苯基乙酸钠; solverol; 促生长因子结合蛋白; 索纳明; 膦门冬酸; 穗霉素 D; 螺莫司汀; splenopentin; spongistatin 1; 鱼鲨胺; 干细胞抑制剂; 干细胞分裂抑制剂; stipiamide; 溶基质素抑制剂; sulfinosine;

超活性血管活性肠肽拮抗剂; suradista; 苏拉明; 八氢吲嗪三醇; 合成粘多糖; 他莫司汀; 甲碘化他莫昔芬; 牛磺莫司汀; 他扎罗汀; 替可加兰钠; 替加氟; tellurapyrylium; 端粒酶抑制剂; 替莫泊芬; 替莫唑胺; 替尼泊昔; 十氧化四氯(tetrachlorodecaoxide); tetrazomine; thaliblastine; 噻可拉林; 血小板生成素; 血小板生成素模拟物; 胸腺法新; 胸腺生成素受体激动剂; 胸腺曲南; 甲状腺刺激性激素; 初叶啉乙基锡; 替拉扎明; 二氯环戊二烯钛; topsentin; 托瑞米芬; 全能干细胞因子; 转译抑制剂; 维 A 酸; 三乙酰尿昔; 曲西立滨; 三甲曲沙; 曲普瑞林; 托烷司琼; 妥罗雄脲; 酪氨酸激酶抑制剂; 酪氨酸磷酸化抑制剂; UBC 抑制剂; 乌苯美司; 泌尿生殖器静脉窦衍生的生长抑制因子; 尿激酶受体拮抗剂; 伐普肽; variolin B; 载体系统, 红细胞基因疗法; 维拉雷琐; veramine; verdins; 维替泊芬; 长春瑞滨; vinxaltine; vitaxin; 伏氟唑; 扎诺特隆; 折尼铂; 亚苻维 C; 净司他丁斯酯。优选的其它抗癌药物为 5-氟尿嘧啶和甲酰四氢叶酸。

本发明苯并吡喃酮化合物可以根据以下所示的一般反应流程制备(途径 1 和途径 2)。

**途径 1:****步骤 1: Fries 反应**

反应收率为 40%-55%，该反应已经以克至数千克的规模进行过反应。小规模反应时，将  $\text{BF}_3$  乙醚合物用  $\text{POCl}_3$ (溶剂)和  $\text{ZnCl}_2$  代替。

**步骤 2: 香豆素形成反应概述**

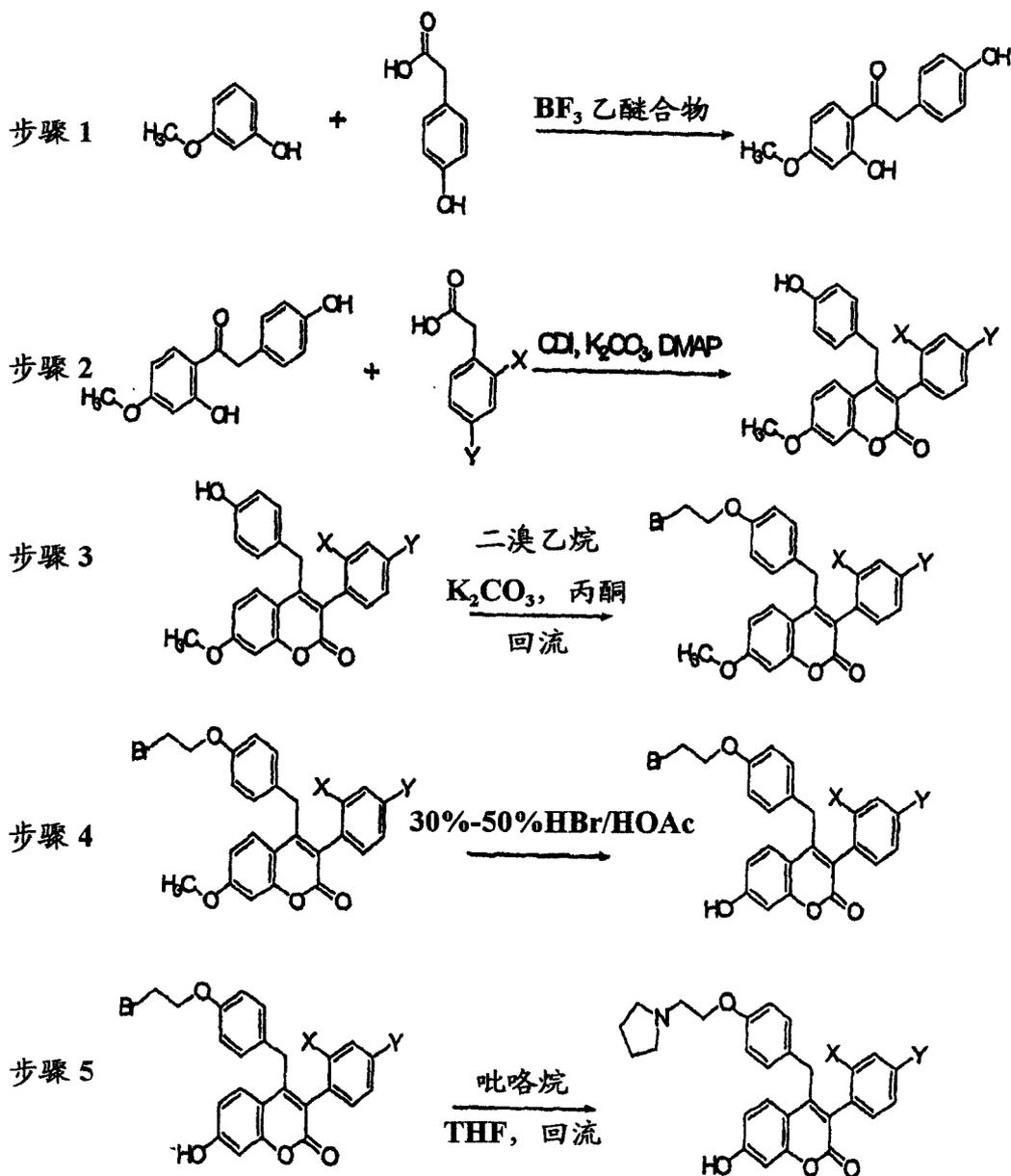
反应收率通常为 10%-90%，该反应已经以数千克的规模进行过反应。粉状  $\text{K}_2\text{CO}_3$  是充分反应所必须的。还以将所有的试剂同时加入的方式进行了反应，而没有预先进行上述酸的活化步骤。在这些条件下，收率略微降低。

### 步骤 3: 侧链引入反应概述

反应收率通常为 30%-70%，该反应已经以数千克的规模进行过反应。粉状  $K_2CO_3$  是必须的，颗粒状原料将导致反应不完全，或者反应时间延长。实施例中提供的反应收率是我们最新获得的，收率低于预期收率。在为二氯类似物的情况下，在快速色谱法处理时产品沉淀在色谱柱上，通常，这是反应顺序中的最高收率步骤。侧链也可按照替代合成流程的方法引入。

### 步骤 4: 脱甲基化反应概述

反应收率通常为 60%-75%。封闭管反应将 HBr 逃逸减至最少，极大地提高了反应速率。完全反应需要在大气压下进行一天或多天。

**途径 2:**

本发明方法涉及给予需要的患者有效量的苯并吡喃酮化合物或包含一种或多种所述化合物的药用组合物，所给予剂量足以治疗目标疾病或病症。为了达到以上目的，术语“治疗”是指将化合物(通常结合适当的给药溶媒或试剂)给予没有显示疾病或病症的症状的患者或者(例如预防性给药)或显示疾病或病症的症状的患者(例如治疗性给药)。此外，短语“有效量”是指在一定时间后获得所需效果的苯并吡喃酮化合物剂量或其它活性试剂剂量。例如在为骨再吸收病

时，有效量使得骨质量在统计学上与用安慰剂治疗的动物相比不同。类似地，对于癌症和关节炎，有效量是足以对癌组织或关节炎组织产生所需效果的用量。在一个实施方案中，“有效量”是能够达到以下效果的剂量：治疗或预防骨再吸收病；治疗或预防癌症；治疗或预防关节炎；调节表达 ER 的细胞或组织的基因表达；激活骨细胞 ER 的功能；抑制乳腺癌细胞、卵巢癌细胞、子宫内膜细胞、子宫细胞、前列腺细胞或下丘脑细胞中的 ER 的功能；抑制表达 ER 和 IL-6 的细胞中的 ER 的功能；抑制癌细胞或肿瘤细胞的细胞增殖；或者降低患者的血清胆固醇水平。

本发明苯并吡喃酮化合物能够以结构(I)或(II)化合物的药学上可接受的盐存在。苯并吡喃酮化合物的药学上可接受的酸加成盐可以制备为所述化合物本身、它的任何酯，所述盐包括药物化学中经常使用的药学上可接受的盐。举例来讲，可以与有机酸或无机酸形成盐。合适的有机酸包括马来酸、富马酸、苯甲酸、抗坏血酸、琥珀酸、甲磺酸、苯磺酸、甲苯磺酸、乙酸、乙二酸、三氟醋酸、丙酸、酒石酸、水杨酸、柠檬酸、葡糖酸、乳酸、扁桃酸、肉桂酸、天门冬氨酸、硬脂酸、棕榈酸、蚁酸、乙醇酸、谷氨酸以及苯磺酸。合适的无机酸包括盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸和硝酸。另外的盐包括盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、酸式硫酸盐、酸式磷酸盐、异烟酸盐、乳酸盐、酸式柠檬酸盐、油酸盐、单宁酸盐、泛酸盐、重酒石酸盐、龙胆酸盐、葡萄糖酸盐、葡萄糖醛酸盐(glucuronate)、蔗糖盐、乙磺酸盐、对甲苯磺酸盐和双羧萘酸盐(即 1,1'-亚甲基-双-(2-羟基-3-萘甲酸盐))。术语“药学上可接受的盐”包括所有可接受的盐形式。

药学上可接受的盐可以通过常规技术和已知技术制备，例如使本发明化合物与上述合适的酸反应。这样的盐通常在中等温度时以高收率获得，常常如下制备：在合成的最后步骤从合适的酸性洗涤液仅分离出所述化合物。盐形成性酸可以溶于适当的有机溶剂，或者水性有机溶剂，例如醇、酮或酯。另一方面，如果苯并吡喃酮化

合物是所需的游离碱形式，可以根据已知技术将其从最终碱性洗涤步骤分离出来。举例来讲，制备盐酸盐的典型技术是将游离碱溶于合适的溶剂，充分干燥溶液(例如用分子筛)，然后经过它通入氯化氢气体。

苯并吡喃酮化合物可以以常规制剂形式口服或胃肠外给予患者，例如为胶囊剂、微胶囊、片剂、粒剂、散剂、锭剂、丸剂、栓剂、注射剂、混悬剂和糖浆剂。合适制剂的制备可以通过常用方法，使用常规有机或无机添加剂，例如赋形剂(例如蔗糖、淀粉、甘露糖醇、山梨糖醇、乳糖、葡萄糖、纤维素、滑石粉、磷酸钙或碳酸钙)、粘合剂(例如纤维素、甲基纤维素、羟甲基纤维素、聚丙吡咯烷酮、聚乙烯吡咯烷酮、明胶、阿拉伯树胶、聚乙二醇、蔗糖或淀粉)、崩解剂(例如淀粉、羧甲基纤维素、羟基丙基淀粉、低取代的羟基丙基纤维素、碳酸氢钠、磷酸钙或柠檬酸钙)、润滑剂(例如硬脂酸镁、轻质无水硅酸、滑石粉或月桂基硫酸钠)、调味剂(例如柠檬酸、薄荷醇、甘氨酸或橙粉末)、防腐剂(例如苯甲酸钠、酸式亚硫酸钠、对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯)、稳定剂(例如柠檬酸、柠檬酸钠或乙酸)、悬浮剂(例如甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮(pyrrolidone)或硬脂酸铝)、分散剂(例如羟基丙基甲基纤维素)、稀释剂(例如水)以及底蜡(例如椰子油、白凡士林或聚乙二醇)。药用组合物中苯并吡喃酮化合物的有效量可以为产生所需效果的水平；例如单位剂量中含约 0.1 mg-100 mg 用于口服和胃肠外给药。

本发明苯并吡喃酮化合物通常一天给予人类患者 1-4 次 0.1 mg-100 mg 的单位剂量，但是上述剂量可以根据患者的年龄、体重和医学病症以及给药类型作适当调整。对人类患者的优选剂量为 0.25 mg-25 mg。优选每天给予一剂。

给予人的苯并吡喃酮化合物的剂量变化相当大，并且与临床医师的判断有关。应该注意的是当苯并吡喃酮化合物以其盐的形式(例如月桂酸盐，盐形成部分具有一定分子量)给药时，需要调节其剂量。

苯并吡喃酮化合物的有效给予速率的一般范围是从约 0.05 mg/天至约 100 mg/天。优选的速率范围是约 0.25 mg/天至 25 mg/天。当然，实际常常将苯并吡喃酮化合物的日剂量分几次在一天的不同时间给药。但是，在任何情况下，给予的苯并吡喃酮化合物剂量将取决于诸如活性成分的溶解性、所用的制剂和给药途径等因素。

因为口服方便，所以通常优选口服给予苯并吡喃酮化合物。但是在特定情况需要时，苯并吡喃酮化合物同样可以经皮给药，或者为直肠吸收的栓剂等效给药。

本发明苯并吡喃酮化合物可以以药用组合物形式给药。组合物可以为以下形式：片剂、可咀嚼片剂、胶囊剂、溶液剂、肠胃外溶液剂、片剂、栓剂和混悬剂。配制的组合物可以在剂量单位中包含日剂量或者合适的部分日剂量，它可以为单一的片剂或胶囊剂或适当体积的液体。

组合物很容易配制为片剂、胶囊剂等；优选用水溶性盐(例如盐酸盐)制备溶液剂。通常，所有的组合物根据药物化学的已知方法制备。胶囊剂如下制备：将苯并吡喃酮化合物与合适的稀释剂混合，然后在胶囊中填装合适量的混合物。常用稀释剂包括惰性粉状物质，例如许多不同种类的淀粉、粉状纤维素(尤其是结晶和微晶纤维素)、糖(例如果糖、甘露糖醇和蔗糖)、谷类面粉以及类似的可食用粉末。

片剂通过直接压缩、湿制粒法或干制粒法制备。它们的制剂通常结合稀释剂、粘合剂、润滑剂和崩解剂以及本发明化合物。典型的稀释剂包括例如各种类型的淀粉、乳糖、甘露糖醇、高龄土、磷酸钙、硫酸钙、无机盐，例如氯化钠和粉状糖。也可使用粉状纤维素衍生物。典型的片剂粘合剂为例如淀粉、明胶和糖(例如乳糖、果糖、葡萄糖等)。也可用天然的和合成的树胶，包括阿拉伯胶、藻酸盐、甲基纤维素、聚乙烯基吡咯烷等。聚乙二醇、乙基纤维素和蜡也可以用作粘合剂。

润滑剂可能是片剂配制中所必须的，用于防止片剂和冲压机粘

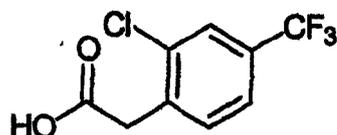
于冲模。润滑剂可以选用光滑的固体如滑石粉、硬脂酸镁、硬脂酸钙、硬脂酸和氢化植物油。片剂崩解剂是在润湿后膨胀使片剂破碎并释放出化合物的物质。它们包括淀粉、粘土、纤维素、褐藻胶和树胶。更具体地讲，可以使用玉米淀粉、马铃薯淀粉、甲基纤维素、琼脂、皂粘土、木纤维素、粉状天然海绵、阳离子交换树脂、藻酸、瓜尔胶、柑橘果肉和羧甲基纤维素以及月桂基硫酸钠。片剂可以用糖作为调味剂和密封剂包衣，或者为改善片剂的溶解特性，用薄膜形成性保护剂包衣。组合物还可以配制为可咀嚼片剂，例如在制剂中使用甘露糖醇。

当需要将苯并吡喃酮化合物以栓剂给药时，可以使用典型的基底。椰子油是传统的栓剂基底，可以加入蜡略微提高其熔点。广泛使用水溶性栓剂基底，特别是不同分子量的聚乙二醇。

本发明苯并吡喃酮化合物的作用可以通过适当制剂延迟或延长。例如，苯并吡喃酮化合物的缓慢溶解性小药丸可以被制备并结合到片剂或胶囊剂，或者作为缓慢释放的可植入装置。所述技术还包括制备多种不同溶解速率的小药丸，用小药物的混合物填装胶囊剂。片剂或胶囊剂可以用能耐受一段预知时间的溶解作用的薄膜包衣。甚至胃肠外制剂也可如下制成长效制剂：将苯并吡喃酮化合物溶解或悬浮于可使其在血清中缓慢分散的油性或乳化溶媒中。

## **5. 实施例**

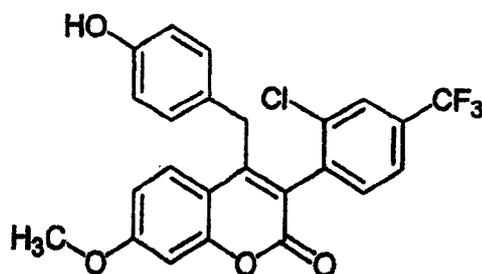
以下实施例用作示例性说明，而非限制性的。

**实施例 1****3-(2-氯-4-三氟甲基苯基)-7-羟基-4-(4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苄基)-苯并吡喃-2-酮****A. (2-氯-4-三氟甲基苯基)-乙酸**

LiHMDS 的甲苯溶液如下制备：将 n-BuLi (357 mL 1.6 M 己烷溶液, 571 mmol) 加入 HMDS (120.5 mL, 571 mmol) 的甲苯 (700 mL) 冷 (-78°C) 溶液。在 30 min 后, 让反应混合物在 1 h 内升至 10°C。在氮气氛下, 将溶液用套管转移到装有 Pd<sub>2</sub>dba<sub>3</sub> (4.18 g, 4.57 mmol) 和 (2'-二环己基磷基联苯基-2-基)-二甲胺 (3.77 g, 9.59 mmol) 的火焰干燥的三颈烧瓶中。将混合物在 15°C 搅拌 15 min, 冷却至 -10°C, 滴加乙酸叔丁酯 (70.5 mL, 525.4 mmol)。在 10 min 后, 加入 3-氯-4-碘代三氟甲苯 (70 g, 228.4 mmol), 将反应混合物升至 28°C。在此温度搅拌 1.5 h 后, 通过硅胶过滤混合物, 用甲苯作为洗脱剂, 真空除去溶剂。残余物用快速色谱法提纯 (硅胶, 98:2 己烷:EtOAc) 获得固体 (2-氯-4-三氟甲基苯基)-乙酸叔丁酯。

将 (2-氯-4-三氟甲基苯基)-乙酸叔丁酯 (40 g, 135.7 mmol) 的含浓 HCl (31.3 mL) 的二噁烷 (100 mL) 溶液在 50°C 搅拌 5 h。混合物冷却至室温后, 将其用 Et<sub>2</sub>O 稀释, 有机层用 H<sub>2</sub>O (3x) 洗涤。干燥 (MgSO<sub>4</sub>) 有机相, 真空除去溶剂。用 AcOEt-己烷重结晶残余物获得固体标题化合物: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.71 (s, 1H), 7.55 (dd, 1H, J = 1.0, 8.0 Hz), 7.47 (d, 1H, J = 8.0 Hz), 3.92 (s, 2H)。MS (ESI) m/z 237 (M-H)<sup>-</sup>。

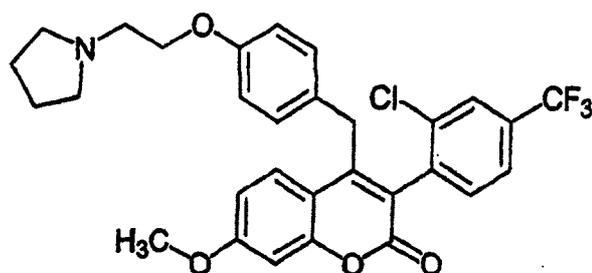
### B. 3-(2-氯-4-三氟甲基苯基)-4-(4-羟基苄基)-7-甲氧基苯并吡喃-2-酮



将 2-(氯-4-三氟甲基苯基)-乙酸(3.2 g, 13.41 mmol)和 1,1'-羰基二咪唑(2.72 g, 16.77 mmol)的 DMF(15mL)混合物加热至 70°C 25 min。冷却反应混合物至 10°C, 加入  $K_2CO_3$  (2.78 g, 20.1 mmol)、1-(2-羟基-4-甲氧基苯基)-2-(4-羟基苯基)-乙-1-酮(1.73 g, 6.7 mmol, 按照实施例 4A 制备)、DMAP (164 mg, 1.34 mmol)和 DMF (10 mL)。在 115°C 搅拌反应混合物 1.5 h 后, 将所得悬浮液冷却至室温, 倾在 AcOEt/H<sub>2</sub>O 上, 分离各层。有机层用 H<sub>2</sub>O, aq 1N HCl 和盐水洗涤, 干燥(MgSO<sub>4</sub>)后真空除去溶剂。所得红色残余物用快速色谱法提纯(硅胶, 2:1-1:2 己烷:Et<sub>2</sub>O)得到白色固体标题化合物:

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.75 (s, 1H), 7.53 (br d, 1H, J = 8.0 Hz), 7.47 (d, 1H, J = 9.0 Hz), 7.33 (d, 1H, J = 8.0 Hz), 6.92-6.85 (m, 3H), 6.80 (d, 1H, J = 2.5, 9.0 Hz), 6.70 (d, 2H, J = 8.5 Hz), 4.95-4.64(非常 br s, 1H), 4.02 (d, 1H, J = 15.5 Hz), 3.88 (s, 3H), 3.76 (d, 1H, J = 15.5 Hz)。MS (ESI) m/z 461(M+H)<sup>+</sup>。

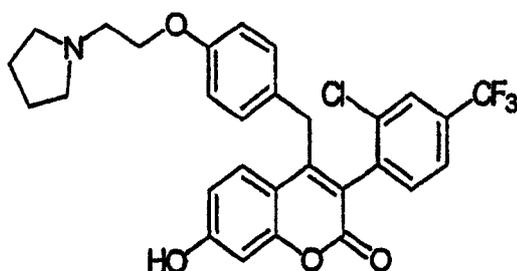
### C. 3-(2-氯-4-三氟甲基苯基)-7-甲氧基-4-(4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苄基)-苯并吡喃-2-酮



将 3-(2-氯-4-三氟甲基苯基)-4-(4-羟基苄基)-7-甲氧基苯并吡喃-2-

酮(460 mg, 1 mmol)、1-(2-氯乙基)吡咯烷盐酸盐(254.7 mg, 1.5 mmol)和  $K_2CO_3$  (413.9 mg, 2.99 mmol)的 EtOH (5mL)混合物搅拌 2 min, 然后加入  $H_2O$  (0.5 mL)。在  $55^\circ C$  搅拌混合物 2.5 h, 然后将其冷却至室温, 倾入  $CHCl_3-H_2O$  中。分离各层, 水相用  $CHCl_3$  (3x) 萃取。合并的有机层用盐水洗涤, 干燥( $MgSO_4$ ), 真空除去溶剂。所得褐色泡沫状物用快速色谱法提纯(硅胶, 19:1  $CH_2Cl_2:MeOH$ )得到淡褐色泡沫状标题化合物:  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$  7.83 (s, 1H), 7.65 (d, 1H,  $J=9.0$  Hz), 7.63 (d, 1H,  $J=8.0$  Hz), 7.51 (d, 1H,  $J=8.0$  Hz), 7.00 (d, 1H,  $J=2.5$  Hz), 6.95 (d, 2H,  $J=8.5$  Hz), 6.89 (dd, 1H,  $J=2.5, 9.0$  Hz), 6.79 (d, 2H,  $J=8.5$  Hz), ), 4.07 (d, 1H,  $J=15.5$  Hz), 4.05 (t, 2H,  $J=5.5$  Hz), 3.90 (s, 3H), 3.83 (d, 1H,  $J=15.5$  Hz), 2.89 (t, 2H,  $J=5.5$  Hz), 2.72-2.60 (m, 4H), 1.90-1.75 (m, 4H)。MS (ESI)  $m/z$  558 ( $M+H$ )<sup>+</sup>。

**D. 3-(2-氯-4-三氟甲基苯基)-7-羟基-4-(4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苄基)-苯并吡喃-2-酮**



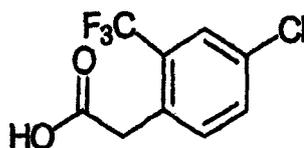
将 3-(2-氯-4-三氟甲基苯基)-7-甲氧基-4-(4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苄基)-苯并吡喃-2-酮(330 mg, 0.59 mmol)溶于 AcOH(2.4 mL) -48% aq HBr (2.4 mL)。在  $130^\circ C$  搅拌混合物 15 h。冷却混合物至室温后, 将其倾在 EtOAc/aq  $NaHCO_3$  上。然后加入 1M aq NaOH 使 pH 达到 8。分离各层, 水层再用 EtOAc (3x)萃取。合并的有机层用盐水洗涤, 干燥( $MgSO_4$ ), 真空除去溶剂。残余物用快速色谱法提纯(硅胶, 5:1  $CH_2Cl_2-MeOH$ )得到黄色泡沫状标题化合物: IR (KBr)  $\nu = 3670-2140, 1709, 1611, 1569, 1511, 1367, 1323, 1247, 1172, 1133, 1081,$

1067, 1044, 1012 $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  7.81 (d, 1H,  $J=1.5$  Hz), 7.61 (dd, 1H,  $J=1.5, 8.0$  Hz), 7.56 (d, 1H,  $J=8.8$  Hz), 7.48 (d, 1H,  $J=8.0$  Hz), 6.93 (d, 2H,  $J=8.5$  Hz), 6.79 (d, 2H,  $J=8.5$  Hz), 6.76 (d, 1H,  $J=2.5$  Hz), 6.73 (dd, 1H,  $J=2.5, 8.8$  Hz), 4.09 (t, 2H,  $J=5.5$  Hz), 4.05 (d, 1H,  $J=15.5$  Hz), 3.80 (d, 1H,  $J=15.5$  Hz), 3.04 (t, 2H,  $J=5.5$  Hz), 2.86-2.78 (m, 4H), 1.92-1.82 (m, 4H). HRMS (ESI)  $\text{C}_{29}\text{H}_{25}\text{ClF}_3\text{NO}_4$  ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$  计算值: 544.1502; 实测值: 544.1504.

## 实施例 2

### 3-(4-氯-2-三氟甲基苯基)-7-羟基-4-(4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苄基)-苯并吡喃-2-酮

#### A. (4-氯-2-三氟甲基苯基)-乙酸

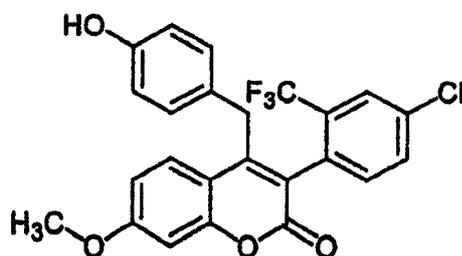


将含 4-氯-1-碘-2-三氟甲基苯(14.98 g, 48.9 mmol),  $\text{Bu}_3\text{SnCH}=\text{CH}_2$  (15.7 mL, 53.7 mmol)和 $(\text{Ph}_3\text{P})_4\text{Pd}$  (2.26 g, 1.955 mmol)的无水甲苯(200 mL)溶液用真空- $\text{N}_2$ 气流(3 x)脱氧。在反应混合物回流 17 h 后, 将其冷却至  $0^\circ\text{C}$ , 在约 5 min 内滴加二-仲-异戊基硼烷-甲基硫化物络合物的甲苯(~1.95 M, 47 mL)溶液。二-仲-异戊基硼烷-甲基硫化物络合物溶液如下制备: 将 2-甲基-2-丁烯(26 mL, 245 mmol)加入硼烷-甲基硫化物络合物(11.6 mL, 122.3 mmol)的无水甲苯(25 mL)冷( $0^\circ\text{C}$ )溶液, 在室温搅拌所得混合物 2 h。撤去冷却浴, 将反应混合物在室温搅拌 3 h。此后, 冷却混合物至  $0^\circ\text{C}$ , 缓慢加入 EtOH (75 mL), 然后加入 2 N aq NaOH (37.5 mL)和 30% aq  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30 mL)。将溶液在室温搅拌 1.5 h, 然后倾在  $\text{Et}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}$  上。分离各层, 有机层用  $\text{H}_2\text{O}$  和盐水洗涤, 干燥( $\text{MgSO}_4$ ), 真空除去溶剂, 同时浴温保持在  $30^\circ\text{C}$  以下。黑色残余物用快速色谱法提纯(硅胶; 4:1 至 3:1 己烷:AcOEt)获得褐色油状 2-(4-氯-

2-三氟甲基-苯基)-乙醇, 将其直接用于下一步骤。

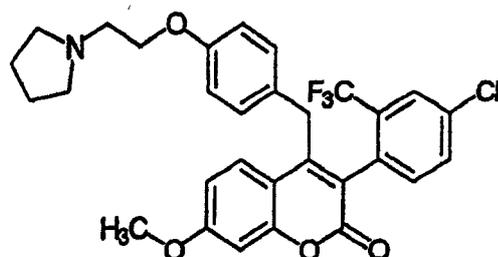
向 0°C 的 2-(4-氯-2-三氟甲基苯基)-乙醇的丙酮(50 mL)溶液滴加 Jones 试剂的溶液(40.3 mL 2.67 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶液)。在 25 min 后, 将混合物倾在 Et<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O 上, 分离各层。有机层用水和盐水洗涤, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>), 真空除去溶剂。所得橙色固体用己烷和庚烷结晶获得固体标题化合物: <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.67 (d, 1H, J = 2.0 Hz), 7.51 (dd, 1H, J = 2.0, 8.0 Hz), 7.34 (d, 1H, J = 8.0 Hz), 3.84(s, 2H)。

### B. 3-(4-氯-2-三氟甲基苯基)-4-(4-羟基苄基)-7-甲氧基-苯并吡喃-2-酮



此化合物按照上述实施例 1B 的方法制备。所得残余物用快速色谱法提纯(硅胶, 1:1 至 55:45 至 3:2 Et<sub>2</sub>O:己烷)得到淡棕色固体标题化合物: <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.76 (d, 1H, J = 1.5 Hz), 7.50 (dd, 1H, J = 1.5, 8.0 Hz), 7.41 (d, 1H, J = 9.0 Hz), 7.15 (d, 1H, J = 8.0 Hz), 6.89 (d, 1H, J = 2.5 Hz), 6.85 (d, 2H, J = 8.5 Hz), 6.77 (dd, 1H, J = 2.5, 9.0 Hz), 6.70 (d, 2H, J = 8.5 Hz), 4.00 (d, 1H, J = 15.5 Hz), 3.87 (s, 3H), 3.61 (d, 1H, J = 15.5 Hz)。MS (ESI) m/z 461(M+H)<sup>+</sup>。

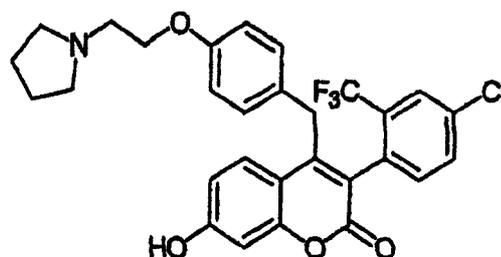
### C. 3-(4-氯-2-三氟甲基苯基)-7-甲氧基-4-(4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苄基)-苯并吡喃-2-酮



此化合物按照上述实施例 1C 的方法制备。所得褐色泡沫状物用

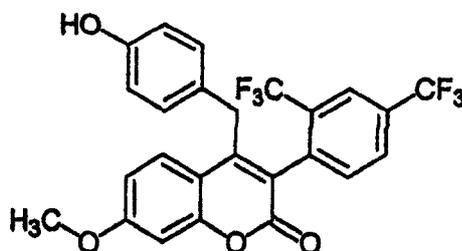
快速色谱法提纯(硅胶, 94:6 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH)得到浅黄色泡沫状标题化合物: <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7.83 (d, 1H, J = 1.7 Hz), 7.61 (dd, 1H, J = 1.7, 8.5 Hz), 7.55 (d, 1H, J = 9.0 Hz), 7.34 (d, 1H, J = 8.5 Hz), 7.00-6.93 (m, 3H), 6.85 (dd, 1H, J = 2.5, 9.0 Hz), 6.81 (d, 2H, J = 9.0 Hz), 4.11 (d, 1H, J = 15.5 Hz), 4.05 (t, 2H, J = 5.5 Hz), 3.88 (s, 3H), 3.61 (d, 1H, J = 15.5 Hz), 2.90 (t, 2H, J = 5.5 Hz), 2.71-2.61 (m, 4H), 1.86-1.77 (m, 4H)。MS (ESI) m/z 558 (M+H)<sup>+</sup>。

**D. 3-(4-氯-2-三氟甲基苯基)-7-羟基-4-(4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苄基)-苯并吡喃-2-酮**

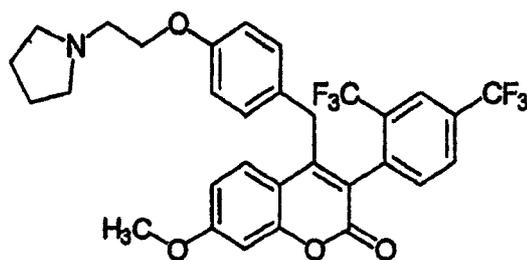


此化合物按照上述实施例 1D 的方法制备。残余物用快速色谱法提纯(硅胶, 5:1 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH)得到黄色固体标题化合物: IR (KBr) ν = 3700-2100, 1721, 1597, 1512, 1467, 1377, 1305, 1265, 1247, 1182, 1136, 1108, 1061, 1046, 1016, 843cm<sup>-1</sup>。 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7.82 (d, 1H, J = 2.0 Hz), 7.59 (dd, 1H, J = 2.0, 8.0 Hz), 7.47 (d, 1H, J = 9.0 Hz), 7.31 (d, 1H, J = 8.0 Hz), 6.96 (d, 2H, J = 8.5 Hz), 6.82 (d, 2H, J = 8.5 Hz), 6.75 (d, 1H, J = 2.5 Hz), 6.69 (dd, 1H, J = 2.5, 9.0 Hz), 4.12-4.06 (m, 3H), 3.59 (d, 1H, J = 15.5 Hz), 3.05 (t, 2H, J = 5.5 Hz), 2.86-2.81 (m, 4H), 1.92-1.84 (m, 4H)。

HRMS (ESI) C<sub>29</sub>H<sub>25</sub>ClF<sub>3</sub>NO<sub>4</sub> (M+H)<sup>+</sup> 计算值: 544.1502; 实测值: 544.1505。

**实施例 3****3-(2,4-双-三氟甲基苯基)-7-羟基-4-(4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苄基)-苯并吡喃-2-酮****A. 3-(2,4-双三氟甲基苯基)-4-(4-羟基苄基)-7-甲氧基苯并吡喃-2-酮**

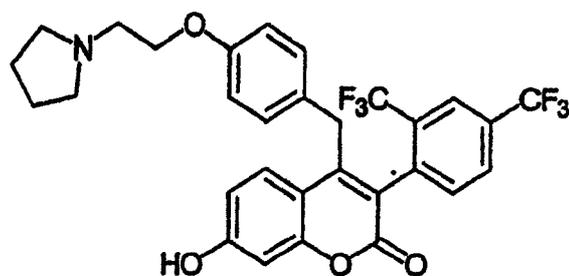
此化合物按照上述实施例 1B 的方法制备。所得残余物用快速色谱法提纯(硅胶, 1:1 至 3:2 Et<sub>2</sub>O:己烷)得到黄色泡沫状标题化合物: <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.03 (s, 1H), 7.78 (d, 1H, J = 8.0 Hz), 7.42 (d, 1H, J = 8.8 Hz), 7.36 (d, 1H, J = 8.0 Hz), 6.90 (d, 1H, J = 2.5 Hz), 6.84 (d, 2H, J = 8.5 Hz), 6.78 (dd, 1H, J = 2.5, 8.8 Hz), 6.70 (d, 2H, J = 8.5 Hz), 4.76 (s, 1H), 4.01 (d, 1H, J = 16.0 Hz), 3.88 (s, 3H), 3.57 (d, 1H, J = 16.0 Hz)。

**B. 3-(2,4-双三氟甲基苯基)-7-甲氧基-4-(4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苄基)-苯并吡喃-2-酮**

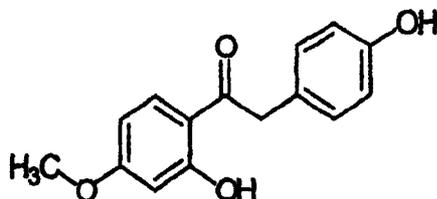
此化合物按照上述实施例 1C 的方法制备。所得褐色泡沫状物用快速色谱法提纯(硅胶, 96:4 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH)得到淡棕色泡沫状标题化合物: <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8.09 (s, 1H), 7.93 (d, 1H, J = 8.5 Hz), 7.59 (d, 1H, J = 8.5 Hz), 7.57 (d, 1H, J = 9.0 Hz), 6.99 (d, 1H, J = 2.5 Hz), 6.97 (d, 2H, J = 8.5 Hz), 6.87 (dd, 1H, J = 2.5, 9.0 Hz), 6.81 (d, 2H, J = 8.5 Hz), 4.13 (d, 1H, J = 16.0 Hz), 4.05 (t, 2H, J = 5.5

Hz), 3.89 (s, 3H), 3.59 (d, 1H,  $J = 16.0$  Hz), 2.89 (t, 2H,  $J = 5.5$  Hz), 2.73-2.58 (m, 4H), 1.87-1.77 (m, 4H)。MS (ESI) 592 (M+H)<sup>+</sup>。

**C. 3-(2,4-双三氟甲基苯基)-7-羟基-4-(4-(2-吡咯烷-1-基乙氧基)-苄基)-苯并吡喃-2-酮**



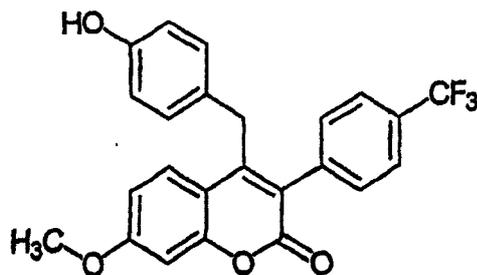
此化合物按照上述实施例 1D 的方法制备。残余物用快速色谱法提纯(硅胶, 3:1 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH)得到黄色泡沫状标题化合物: IR (KBr)  $\nu = 3700-2300, 1714, 1615, 1512, 1462, 1368, 1346, 1300, 1272, 1179, 1133, 1082, 1062, 1045, 1014, 846$  cm<sup>-1</sup>。 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  8.07 (s, 1H), 7.91 (br d, 1H,  $J = 8.5$  Hz), 7.56 (d, 1H,  $J = 8.5$  Hz), 7.49 (d, 1H,  $J = 8.8$  Hz), 6.96 (d, 2H,  $J = 9.0$  Hz), 6.82 (d, 2H,  $J = 9.0$  Hz), 6.77 (d, 1H,  $J = 2.5$  Hz), 6.71 (dd, 1H,  $J = 2.5, 8.8$  Hz), 4.11 (d, 1H,  $J = 16.0$  Hz), 4.11 (t, 2H,  $J = 5.5$  Hz), 3.57 (d, 1H,  $J = 16.0$  Hz), 3.08 (t, 2H,  $J = 5.5$  Hz), 2.90-2.83 (m, 4H), 1.92-1.86 (m, 4H)。HRMS (ESI) C<sub>30</sub>H<sub>25</sub>F<sub>6</sub>NO<sub>4</sub> (M+H)<sup>+</sup>计算值: 578.1766; 实测值: 578.1762。

**实施例 4****3-(4-三氟甲基苯基)-4-(4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)苄基)-7-甲氧基苯并吡喃-2-酮****A. 1-(2-羟基-4-甲氧基苯基)-2-(4-羟基苯基)乙-1-酮**

将 3-甲氧基苯酚(44.69 kg, 360 mol)和 4-羟基苯基乙酸(68.5 kg, 450 mol)的 144 L 氯苯悬浮液用氮气净化。在 20-25℃加入三氟化硼乙醚合物(177 L, 1440 mol)。将悬浮液加热至 80℃, 搅拌 4-5 h, 然后冷却至 5-10℃, 搅拌过夜。

在氮气压下过滤析出的红色/橙色固体(不需要的异构体), 将滤液倾在冰/H<sub>2</sub>O 上猝灭。滤饼用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 洗涤。如下猝灭三氟化硼乙醚合物: 缓慢加入 80% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(aq)直到水溶液的 pH 达到 6-7。观测到气体释放, 产物从溶液中析出。

将橙色悬浮液在 20℃搅拌过夜, 随后过滤。滤饼用水和 MTBE 洗涤, 干燥过夜获得所需的产物(38 kg, 42%收率, HPLC 纯度 95.1% a/a)。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12.30 (s, 1H), 9.31 (s, 1H), 7.99 (d, 1H, J = 9.1 Hz), 7.08 (d, 2H, J = 8.4 Hz), 6.70(d, 2H, J = 8.4 Hz), 6.53 (dd, 1H, J = 2.5, 9.1 Hz), 6.47 (d, 1H, J = 2.5 Hz), 4.18 (s, 2H), 3.81 (s, 3H)。MS (ESI) m/z 259 (M+H)<sup>+</sup>。

**B. 3-(4-三氟甲基苯基)-4-(4-羟基苄基)-7-甲氧基苯并吡喃-2-酮**

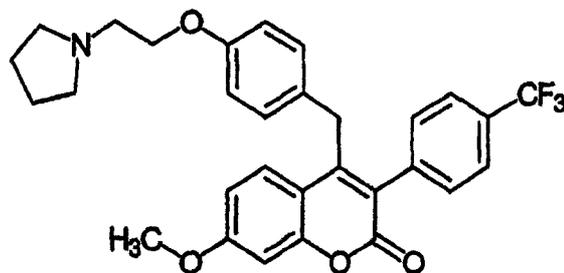
在 25℃, 在 5 min 内将 4-三氟甲基苯基乙酸(15.2 g, 74.45 mmol) 的 120 mL DMF 溶液用分几批的 CDI(13.2 g, 82 mmol)处理。反应混合物升至 40℃ 10 min, 然后冷却至室温。加入 1-(2-羟基-4-甲氧基苯基)-2-(4-羟基苯基)乙-1-酮(9.81 g, 38 mmol)、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (15.7 g, 114 mmol)和 DMAP (0.93 g, 7.6 mmol), 将反应混合物升至 80℃ 2 h。

冷却悬浮液至室温, 加入 200 mL 水。水层用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 萃取, 干燥(MgSO<sub>4</sub>)合并的有机层, 然后真空浓缩。所得固体用快速色谱法提纯(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:EtOAc)得到所需产物(10.2 g, 63%)。

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9.29 (s, 1H), 7.79 (d, 2H, J = 8.7 Hz), 7.57 (d, 2H, J = 8.7 Hz), 7.53 (d, 1H, J = 8.5 Hz), 7.04 (d, 1H, J = 2.3 Hz), 6.93 (d, 2H, J = 8.9 Hz), 6.87 (dd, 1H, J = 8.5, 2.3 Hz), 6.61 (d, 2H, J = 8.9 Hz), 3.90 (s, 2H), 3.84 (s, 3H)。

MS (ESI) m/z 427(M+H)<sup>+</sup>。

### C. 3-(4-三氟甲基苯基)-4-(4-(2-吡咯烷-1-基乙氧基)苄基)-7-甲氧基苯并吡喃-2-酮

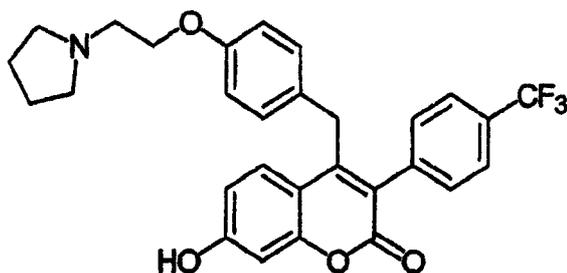


将 3-(4-三氟甲基苯基)-4-(4-羟基苄基)-7-甲氧基苯并吡喃-2-酮 (6.0 g, 14mmol)、1-(2-氯乙基)吡咯烷盐酸盐(3.3 g, 22.5 mmol)和 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (6.6 g, 47.8 mmol)的 30mL DMF 溶液在 120℃加热 2 h。减压除去溶剂。加入水, 水层用乙酸乙酯萃取。干燥合并的有机层, 浓缩得到深褐色油状物。快速色谱法(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:EtOAc:MeOH:TEA)处理得到所需产物(4.7 g, 64%)。 <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.79 (d, 2H, J = 8.1 Hz), 7.58 (d, 2H, J = 8.1 Hz), 7.51 (d, 1H, J = 9.0 Hz), 7.08 (d, 2H, J = 8.9 Hz), 7.06 (d, 1H, J = 2.5 Hz), 6.87 (dd, 1H, J = 2.5, 9.0

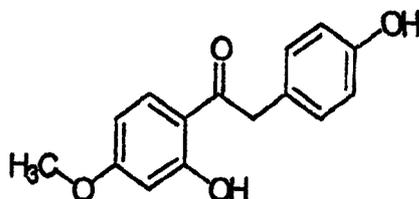
Hz), 6.82 (d, 2H, J = 8.9 Hz), 4.08 (t, 2H, J = 5.0 Hz), 3.96 (s, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.17-3.12 (m, 2H), 2.94-2.88 (m, 4H), 1.83-1.78 (m, 4H)。

MS (ESI) m/z 524(M+H)<sup>+</sup>。

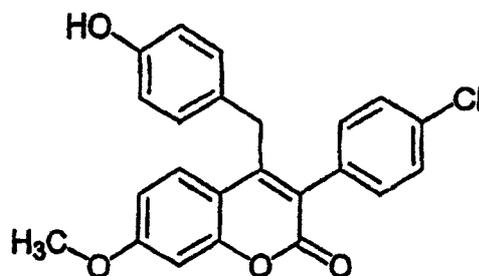
**D. 3-(4-三氟甲基苯基)-4-(4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)苄基)-7-甲氧基苯并吡喃-2-酮**



在封闭管中，将 3-(4-三氟甲基苯基)-4-(4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)苄基)-7-甲氧基苯并吡喃-2-酮(4.2 g, 8.02 mmol)和 25 mL 30% $\text{HBr}/\text{HOAc}$  的溶液在 120 $^{\circ}\text{C}$ 加热 3 h。减压除去溶剂，残余物用  $\text{NaHCO}_3(\text{aq})$  猝灭。水层用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  萃取，浓缩合并的有机层。将粗产物如下提纯：穿过短硅胶柱，然后通过反相制备型 HPLC 得到标题化合物(2.9 g, 71%)。 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$  7.77 (d, 2H, J=8.0 Hz), 7.55 (d, 2H, J=8.0 Hz), 7.44 (d, 1H, J=8.8 Hz), 7.03 (d, 2H, J=8.0 Hz), 6.79 (d, 2H, 8.0 Hz), 6.76 (s, 1H), 6.70 (d, 1H, J=8.5 Hz), 3.97 (t, 2H, J=5.8 Hz), 3.92 (s, 2H), 2.72 (d, 2H, J=5.8 Hz), 2.50-2.47(m, 4H), 1.66-1.64(m, 4H)。MS (ESI) m/z 510(M+H)<sup>+</sup>。

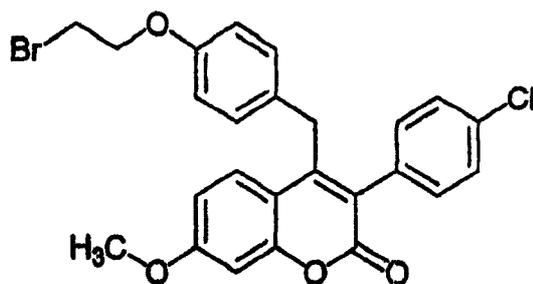
**实施例 5****3-(4-氯苯基)-4-(4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)苄基)-7-羟基苯并吡喃-2-酮**  
**盐酸盐****A. 1-(2-羟基-4-甲氧基苯基)-2-(4-羟基苯基)乙-1-酮**

此化合物按照上述实施例 4A 的方法制备。

**B. 3-(4-氯苯基)-4-(4-羟基苄基)-7-甲氧基苯并吡喃-2-酮**

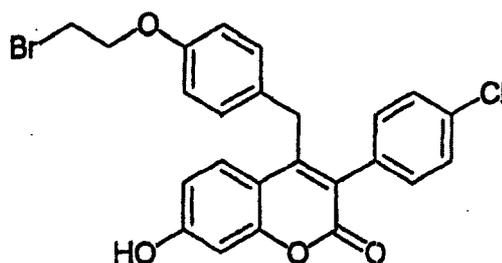
此化合物按照上述实施例 4B 的方法制备。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9.30 (s, 1H), 7.51 (d, 1H, J = 9.1 Hz), 7.47 (d, 2H, J = 8.2 Hz), 7.34 (d, 2H, J = 8.2 Hz), 7.02 (d, 1H, J = 2.2 Hz), 6.91 (d, 2H, J = 8.5 Hz), 6.85 (dd, 1H, J = 9.1, 2.2 Hz), 6.61 (d, 2H, J = 8.5 Hz), 3.91 (s, 2H), 3.83 (s, 3H)。

MS (ESI) m/z 393 (M+H)<sup>+</sup>。

**C. 3-(4-氯苯基)-4-(4-(2-溴乙氧基)苄基)-7-甲氧基苯并吡喃-2-酮**

将 3-(4-氯苯基)-4-(4-羟基苄基)-7-甲氧基苯并吡喃-2-酮(21.2 g, 54 mmol)、二溴乙烷(50.7 g, 270 mmol)和  $K_2CO_3$  (8.3 g, 60 mmol)的 200 mL 丙酮溶液加热回流 12 h。冷却反应混合物至室温，减压除去挥发分。在搅拌下加入己烷(500 mL)，过滤收集生成的固体。产物用己烷(2 x 100 mL)冲洗，收集，真空干燥得到所需产物(22.5 g, 83%)。 $^1H$  NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$  7.50 (d, 1H,  $J = 9.1$  Hz), 7.48 (d, 2H,  $J = 8.2$  Hz), 7.35 (d, 2H,  $J = 8.2$  Hz), 7.07 (d, 2H,  $J = 8.5$  Hz), 7.04 (d, 1H,  $J = 2.6$  Hz), 6.86 (dd, 1H,  $J = 9.1, 2.6$  Hz), 6.82 (d, 2H,  $J = 8.5$  Hz), 4.24 (t, 2H,  $J = 5.8$  Hz), 3.98 (s, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.76 (t, 2H,  $J = 5.8$  Hz)。MS (ESI)  $m/z$  500 (M+H) $^+$ 。

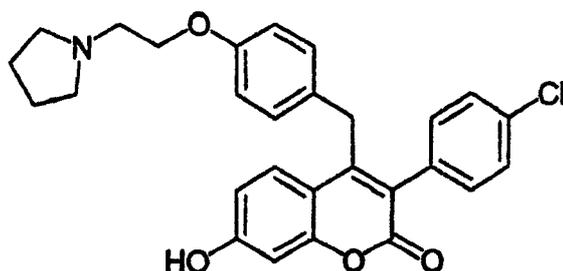
#### D. 3-(4-氯苯基)-4-(4-(2-溴乙氧基)苄基)-7-羟基苯并吡喃-2-酮



在封闭管中，将 3-(4-氯苯基)-4-(4-(2-溴乙氧基)苄基)-7-甲氧基苯并吡喃-2-酮(16.5 g, 33 mmol)和 150 mL 30% HBr/HOAc 溶液在 100  $^{\circ}C$  加热 8 h。冷却反应混合物至室温，倾入 300mL 水中。过滤收集所得固体，用快速色谱法提纯得到所需产物(12.5 g, 78%)。

$^1H$  NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$  10.55 (s, 1H), 7.47 (d, 2H,  $J = 8.5$  Hz), 7.43 (d, 1H,  $J = 8.8$  Hz), 7.33 (d, 2H,  $J = 8.5$  Hz), 7.05 (d, 2H,  $J = 8.5$  Hz), 6.83 (d, 2H,  $J = 8.5$  Hz), 6.75 (d, 1H,  $J = 2.2$  Hz), 6.70 (dd, 1H,  $J = 8.8, 2.2$  Hz), 4.24 (t, 2H,  $J = 5.7$  Hz), 3.94 (s, 2H), 3.76 (t, 2H,  $J = 5.7$  Hz)。MS (ESI)  $m/z$  486 (M+H) $^+$ 。

**E. 3-(4-氯苄基)-4-(4-(2-吡咯烷-1-基乙氧基)苄基)-7-羟基苯并吡喃-2-酮盐酸盐**

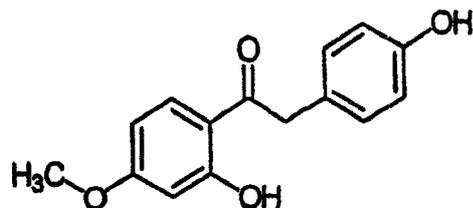


将 3-(4-氯苄基)-4-(4-(2-溴乙氧基)苄基)-7-羟基苯并吡喃-2-酮 (8.3 g, 17.2 mmol) 的 200 mL THF 溶液用 8 mL 吡咯烷处理, 将反应混合物回流加热 5 h。浓缩反应混合物, 粗产物用快速色谱法提纯。将产物悬浮于 250 mL 丙酮, 加入 4 mL 5 M HCl (aq)。在室温搅拌混合物过夜, 过滤收集所得固体。将固体悬浮于 200 mL 乙酸乙酯, 回流加热悬浮液 2 h。冷却溶液至室温, 过滤收集终产物, 真空干燥。最后产量为 4.96 g (56%)。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$  10.62 (s, 1H), 10.42 (s, 1H), 7.47 (d, 2H, J=8.5 Hz), 7.43 (d, 1H, J=8.8 Hz), 7.34 (d, 2H, J=8.5 Hz), 7.09 (d, 2H, J=8.5 Hz), 6.87 (d, 2H, J=8.5 Hz), 6.77 (d, 1H, J=2.5 Hz), 6.71 (dd, 1H, J=2.5, 8.8 Hz), 4.26 (t, 2H, 4.9 Hz), 3.96 (s, 2H), 3.59-3.51 (m, 4H), 3.15-3.02 (m, 2H), 2.03-1.88 (m, 4H)。MS (ESI) m/z 476 (M+H)<sup>+</sup>。

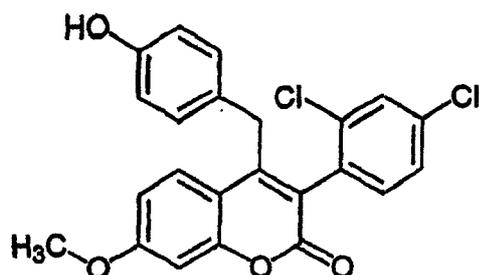
**实施例 6**

**3-(2,4-二氯苄基)-4-(4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)苄基)-7-羟基苯并吡喃-2-酮**

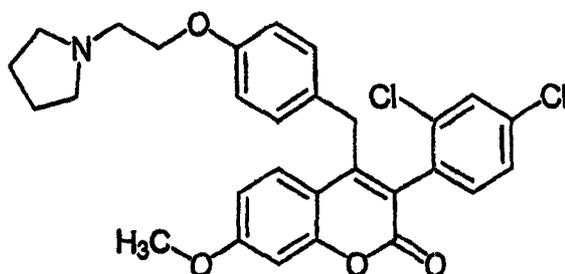
**A. 1-(2-羟基-4-甲氧基苯基)-2-(4-羟基苯基)乙-1-酮**



此化合物按照上述实施例 4A 的方法制备。

**B. 3-(2,4-二氯苯基)-4-(4-羟基苄基)-7-甲氧基苯并吡喃-2-酮**

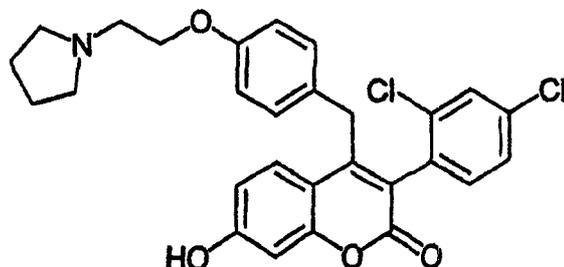
此化合物按照上述实施例 4B 的方法制备。20 g 酮(77.5 mmol)和 31.6 g 酸(155 mmol)得到 27.52 g 产物(83%)。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9.26 (s, 1H), 7.58 (d, 1H, J = 8.8 Hz), 7.50 (dd, 1H, J = 1.9, 8.2 Hz), 7.45 (d, 1H, J = 8.2 Hz), 7.06 (d, 1H, J = 2.2 Hz), 6.90 (d, 3H, J = 8.2 Hz), 6.59 (d, 2H, J = 8.2 Hz), 3.98 (d, 1H, J = 15.4 Hz), 3.85 (s, 3H), 3.69 (d, 1H, J = 15.4 Hz)。MS (ESI) m/z 428 (M+H)<sup>+</sup>。

**C. 3-(2,4-二氯苯基)-4-(4-(2-吡咯烷-1-基乙氧基)苄基)-7-甲氧基苯并吡喃-2-酮**

此化合物按照上述实施例 4C 的方法制备。(27.5 g (64 mmol) 3-(2,4-二氯苯基)-4-(4-羟基苄基)-7-甲氧基苯并吡喃-2-酮得到 13.5 g 产物, 40%收率)。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.75 (d, 1H, J = 1.8 Hz), 7.57 (d, 1H, J = 8.9 Hz), 7.51 (dd, 1H, J = 1.8, 8.2 Hz), 7.47 (d, 1H, J = 8.2 Hz), 7.07 (d, 1H, 2.5 Hz), 7.02 (d, 2H, J = 8.7 Hz), 6.89 (dd, 1H, J = 2.5, 8.9 Hz), 6.78 (d, 2H, J = 8.7 Hz), 4.04 (d, 1H, J = 15.4 Hz), 3.98 (t, 2H, J = 5.8 Hz), 3.85 (s, 3H), 3.74 (d, 1H, J = 15.4 Hz), 2.79 (t, 2H, J = 5.8 Hz), 2.57-2.52 (m, 4H), 1.69-1.65 (m, 4H)。

MS (ESI)  $m/z$  525 ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

**D. 3-(2,4-二氯苯基)-4-(4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)苄基)-7-羟基苯并吡喃-2-酮**



此化合物按照上述实施例 4D 的方法制备。(4.5 g 3-(2,4-二氯苯基)-4-(4-(2-吡咯烷-1-基乙氧基)苄基)-7-甲氧基苯并吡喃-2-酮(8.5 mmol)得到 3.2 g 产物, 73%收率)。

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.49 (d, 1H,  $J=1.9$  Hz), 7.35 (d, 1H,  $J=8.5$  Hz), 7.27 (s, 1H), 7.23 (dd, 1H,  $J=2.2, 8.2$  Hz), 7.04 (d, 1H,  $J=8.2$  Hz), 6.81 (d, 2H,  $J=8.5$  Hz), 6.67 (s, 1H), 6.65 (dd, 1H,  $J=2.2, 8.5$  Hz), 6.56 (d, 2H,  $J=8.5$  Hz), 3.99 (d, 1H,  $J=15.6$  Hz), 3.97 (t, 2H,  $J=5.8$  Hz), 3.71 (d, 1H,  $J=15.6$  Hz), 2.73 (t, 2H,  $J=6.0$  Hz), 2.51-2.46 (m, 4H), 1.68-1.63 (m, 4H)。MS (ESI)  $m/z$  511 ( $M+H$ )<sup>+</sup>。

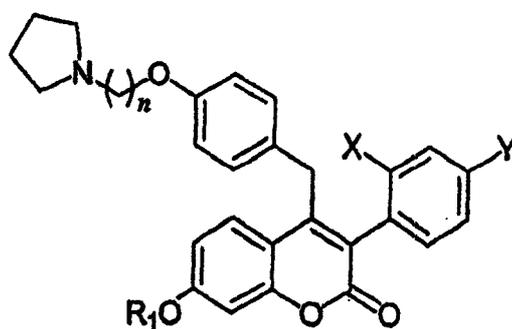
**实施例 7**

**另外的代表性化合物**

下表 1 公开了代表性苯并吡喃酮化合物。这些苯并吡喃酮化合物可以用本文公开的方法获得。

表 1

## 代表性苯并吡喃酮化合物



(I)

| No. | R <sub>1</sub>       | X               | Y               | n |
|-----|----------------------|-----------------|-----------------|---|
| 1   | H                    | F               | CF <sub>3</sub> | 2 |
| 2   | H                    | Br              | CF <sub>3</sub> | 2 |
| 3   | H                    | I               | CF <sub>3</sub> | 2 |
| 4   | C(=O)CH <sub>3</sub> | H               | CF <sub>3</sub> | 2 |
| 5   | C(=O)CH <sub>3</sub> | Cl              | CF <sub>3</sub> | 2 |
| 6   | C(=O)CH <sub>3</sub> | F               | CF <sub>3</sub> | 2 |
| 7   | C(=O)CH <sub>3</sub> | Br              | CF <sub>3</sub> | 2 |
| 8   | C(=O)CH <sub>3</sub> | I               | CF <sub>3</sub> | 2 |
| 9   | C(=O)CH <sub>3</sub> | CF <sub>3</sub> | CF <sub>3</sub> | 2 |
| 10  | H                    | F               | Cl              | 2 |
| 11  | H                    | Br              | Cl              | 2 |
| 12  | H                    | I               | Cl              | 2 |
| 13  | C(=O)CH <sub>3</sub> | H               | Cl              | 2 |
| 14  | C(=O)CH <sub>3</sub> | Cl              | Cl              | 2 |
| 15  | C(=O)CH <sub>3</sub> | F               | Cl              | 2 |
| 16  | C(=O)CH <sub>3</sub> | Br              | Cl              | 2 |
| 17  | C(=O)CH <sub>3</sub> | I               | Cl              | 2 |
| 18  | C(=O)CH <sub>3</sub> | CF <sub>3</sub> | Cl              | 2 |

## **实施例 8**

### **抑制 IL-6 的释放**

测试了示例性苯并吡喃酮化合物抑制 IL-6 从人 U-2 OS 骨肉瘤细胞释放的能力, 所述人 U-2 OS 骨肉瘤细胞用人 ER- $\alpha$  稳定转染。(Stein, B.; Yang, M.X. Mol. Cell. Biol 15: 4971-4979, 1995; Poli, V.等, EMBO J. 13: 1189-1196, 1994)。作为对照, 检测母源非转染 U-2 OS 细胞系的 IL-6 释放, 所述细胞系表达的 ER- $\alpha$  未达到可检出水平。IC<sub>50</sub> < 100 nM 的苯并吡喃酮化合物特别可用作体内的骨再吸收抑制剂。因此, 此分析的化合物(示例说明的苯并吡喃酮化合物)特别可用于治疗治疗骨质疏松症、佩吉特氏病和转移性骨癌。这些化合物还可用作抗癌药物, 用于因为高 IL-6 浓度引起的某些癌症, 例如多发性骨髓瘤、前列腺癌、卵巢癌、肾癌和宫颈癌。

采用标准分子生物学技术, 将人 U-2 OS 骨肉瘤细胞(ATCC)用人全长 ER- $\alpha$  的表达载体稳定转染。产生稳定的亚克隆, 它表达高浓度的 ER- $\alpha$  mRNA。ER- $\alpha$  的表达通过 RNase 保护分析证实。母源 U-2 OS 细胞没有表达任何可检测量的 ER- $\alpha$ 。

将细胞接种到 96-孔板, 密度为 80,000 细胞/孔, 包含酚红游离介质和活性炭吸附性胎牛血清。24 小时后, 细胞用溶媒(0.2%DMSO)或者受试化合物(0.01-1000nm/0.2% DMSO)处理。30 分钟后, 用 2.5 ng/ml TNF $\alpha$  和 1 ng/ml IL-1 $\beta$  刺激细胞。24 小时后, 用市售的 ELISA 试剂盒按照制造商的说明分析培养基上清液的细胞因子产量(IL-6)。存在溶媒的(0.2% DMSO)细胞因子产量设定为 100%。试验结果表达为 IC<sub>50</sub>(nM)值(表 2), 是指相对于仅存在溶媒的 IL-6 产量, 抑制 50% 的 IL-6 产量所需的苯并吡喃酮化合物浓度。结果证实所分析的所有示例苯并吡喃酮化合物具有活性, 因此可用于治疗或预防骨再吸收病(例如骨质疏松症、佩吉特氏病和转移性骨癌)以及癌症(例如多发性骨髓瘤、前列腺癌和卵巢癌)。

## **实施例 9**

### **抑制 MCF-7 乳腺癌细胞增殖**

此实施例证实示例苯并吡喃酮化合物抑制体外 MCF-7 乳腺癌细胞的  $17\beta$ -雌二醇-依赖性生长的能力, 比较它们与参考 SERM 的活性。MCF-7 细胞是用于研究化合物对雌激素依赖性乳腺癌生长的影响的优异体外系统。(May, F.E.B.; Westley, B.R. J. Biol. Chem. 262: 15894-15899, 1987)。 $IC_{50} < 100$  nM 的苯并吡喃酮化合物尤其可用作体内的抗乳腺癌药物。

将 MCF-7 乳腺癌细胞接种到装有酚红游离 DMEM:F-12(1:1)培养基(包含 1%抗生素, 0.05%巯基乙醇, 0.01%乙醇胺, 0.42 ng/mL 亚硒酸钠和 5%活性炭吸附性 FCS)的 24-孔盘, 密度为  $5 \times 10^3$  细胞/孔。

将示例性的苯并吡喃酮化合物(0.1-1000 nM 的 0.2%DMSO 溶液)和 0.1 nM  $17\beta$ -雌二醇加入经培养的 MCF-7 乳腺癌细胞 72 h。随后, 加入  $^3H$ -标记的胸腺嘧啶核甙, 在温育 4 小时后检测它对细胞的结合作用。结果表达为  $IC_{50}$ (nM)值(表 2), 是指相对于对照, 抑制 50%MCF-7 乳腺癌细胞生长所需的苯并吡喃酮化合物浓度。结果证实所分析的所有示例苯并吡喃酮化合物具有活性, 因此可用于治疗或预防患者的乳腺癌。

## **实施例 10**

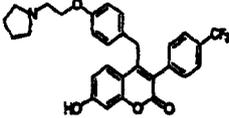
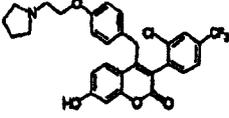
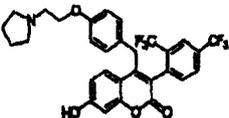
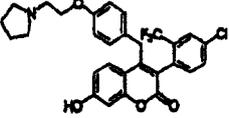
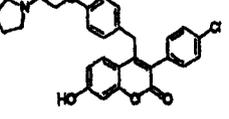
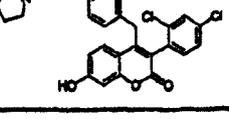
### **抑制 BG-1 卵巢癌细胞增殖**

此分析证实示例苯并吡喃酮化合物抑制体外 BG-1 卵巢癌细胞的  $17\beta$ -雌二醇依赖性生长, 比较它们与参考 SERM 的能力。BG-1 细胞作为有用的体外模型, 用于评价抗雌激素化合物对卵巢肿瘤生长的作用(Greenberger, L.M.等, Clin. Cancer Res. 7: 3166-3177, 2001)。 $IC_{50} < 100$  nM 的苯并吡喃酮化合物尤其可用作体内的抗卵巢癌药物。

将 BG-1 卵巢癌细胞接种到装有酚红游离 DMEM:F-12(1:1)培养

基(包含 1%抗生素, 0.05%巯基乙醇, 0.01%乙醇胺, 0.42 ng/mL 亚硒酸钠和 5%活性炭吸附性 FCS)的 24-孔盘, 密度为  $5 \times 10^3$  细胞/孔。将示例苯并吡喃酮化合物(0.1-1000 nM 的 0.2% DMSO 溶液)和 0.1 nM  $17\beta$ -雌二醇加入经培养的 BG-1 卵巢癌细胞, 温育 72 h。随后, 加入  $^3\text{H}$ -标记的胸腺嘧啶核甙, 在温育 4 小时后检测它对细胞的结合作用。结果表达为  $\text{IC}_{50}$ (nM)值(表 2), 是指相对于对照, 抑制 50%BG-1 卵巢癌细胞生长所需的苯并吡喃酮化合物浓度。结果证实所分析的所有示例苯并吡喃酮化合物具有活性, 因此可用于治疗或预防患者的卵巢癌。

表 2  
体外数据

| 结构  | IC <sub>50</sub> (nM) |       |      |
|---|-----------------------|-------|------|
|   | IL-6 (ER-α)           | MCF-7 | BG-1 |
|    | 1.5                   | 13.6  | 13.6 |
|    | 0.5                   | 4.5   | 4.65 |
|    | 1.0                   | 26    | 5.5  |
|  | 0.40                  | 3.0   | 2.3  |
|  | 0.40                  | 26.0  | 5.8  |
|  | 0.29                  | 6.5   | 1.4  |

因此，以上表 2 说明的实施例 8-10 的体外结果证实本发明苯并吡喃酮化合物可用于治疗或预防骨再吸收病和各种癌症。

### 实施例 11

#### 大鼠药动学(PK)分析

#### 大鼠 PK 盒式标准分析

将式(I)、(II)示例性化合物或其药学上可接受的盐以及内标雷洛昔芬经口管饲法以剂量浓度 5 mg/kg 体重给予。血液采样时间为给药

后 15 min 到 24 h。血液样品通过乙腈沉淀、离心制备，用真空离心机蒸发上清液。将干燥的残余物溶于含 1%甲酸的甲醇/水(60:40 v/v)，通过 HPLC 分析(UPTISPHERE™ 18 反相 HPLC 柱，粒径：3 μm；柱大小：2 x 50 mm)。洗脱液 A 为 10 %乙腈水溶液，含 0.1%甲酸(pH 2.1)，洗脱液 B 为 90 %乙腈/10%水以及 0.1%甲酸(pH 2.1)。线性梯度操作：从 5 到 100% B，7 min，然后在 100% B 保持 3 min，在柱隔室温度恒定为 50℃。流速保持恒定的 0.4mL/min。样品注射体积为 10μL。将 HPLC 系统的流出物直接引入 Agilent 1100 系列 MS-检测器的离子源 (单四极质量分析器)，进行大气压电喷雾电离(正模式)。所有化合物作为质子化准分子离子[M+H]<sup>+</sup>检测。结构相近的相关 SERM 用作分析内标。对化合物血液浓度的定量是基于 7-水平校准曲线(一式三份)，采用已经加入外标母液和内标母液的空白大鼠血液样品。

### **大鼠 PK 盒式检验**

将雷洛昔芬单独 p.o.给予(3 mg/kg)四只雌性大鼠。按照以上的介绍采集血液样品并分析。由此检验研究获得的药动学数据与雷洛昔芬盒式给药试验获得的数据比较，检查可能的药动学交互作用。超过生物变异性典型范围(对于个别的参数最大约 50%)的偏差被认为是明显说明在盒式试验中化合物间有药动学交互作用，舍弃相应的数据。

本发明并不限于各实施例中公开的具体实施方案的范围，实施例仅用于示例说明本发明的几个方面，任何功能上等价的实施方案属于本发明的范围。事实上，除了本文展示和介绍的外，本发明的各种修改对于本领域熟练技术人员是显而易见的，并且这种修改属于所附权利要求的范围。

引用过许多参考文献，将它们的全部公开内容通过引用结合到本文。