



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103492375 A

(43) 申请公布日 2014. 01. 01

(21) 申请号 201280020279. 9

A61K 31/454 (2006. 01)

(22) 申请日 2012. 02. 27

A61P 19/10 (2006. 01)

(30) 优先权数据

10-2011-0018037 2011. 02. 28 KR

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2013. 10. 25

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/KR2012/001457 2012. 02. 27

(87) PCT国际申请的公布数据

W02012/118309 KO 2012. 09. 07

(71) 申请人 梨花女子大学校 产学协力团

地址 韩国首尔

(72) 发明人 裴允秀 李起仁 李智贤 李秀荣

崔善

(74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

72002

代理人 过晓东

(51) Int. Cl.

C07D 401/04 (2006. 01)

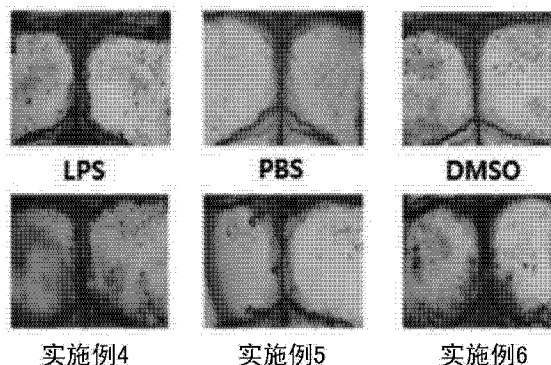
权利要求书7页 说明书22页 附图10页

(54) 发明名称

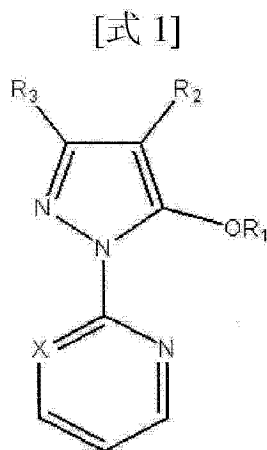
吡唑衍生物、其制备方法以及用于预防和治疗骨质疏松的包含该吡唑衍生物的组合物

(57) 摘要

本发明提供一种吡唑衍生物化合物及其药学可接受的盐。本发明的化合物对于预防和治疗骨质疏松非常有效。



1. 下式 1 所示的化合物：



其中 X 表示 -CH- 或氮；

R₁ 表示氢原子或异丙基氧基羰基氧基甲基；

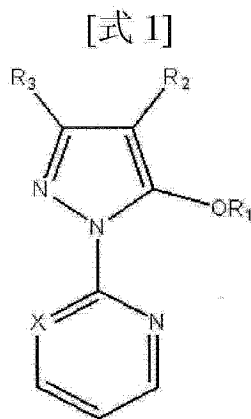
R₂ 表示氢原子、C1-C4 直链或支化的烷基、或者被取代或未被取代的苄基；并且

R₃ 表示苯基、硝基苯基、被取代或未被取代的苯基乙烯基、或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基；

其中当 X 表示 -CH- 且 R₁ 和 R₂ 各自表示氢原子时，R₃ 表示被取代或未被取代的二苯基乙烯基，或者当 X 表示氮原子且 R₁ 和 R₂ 各自表示氢原子时，R₃ 表示硝基苯基或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基；并且

其中取代基为硝基、羟基或甲氧基。

2. 下式 1 所示的化合物的药学可接受的盐：



其中 X 表示 -CH- 或氮；

R₁ 表示氢原子或异丙基氧基羰基氧基甲基；

R₂ 表示氢原子、C1-C4 直链或支化的烷基、或者被取代或未被取代的苄基；并且

R₃ 表示苯基、硝基苯基、被取代或未被取代的苯基乙烯基、或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基；

其中当 R₁ 和 R₂ 各自表示氢原子时，R₃ 表示苯基、硝基苯基、或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基；并且

其中取代基为硝基、羟基或甲氧基。

3. 权利要求 2 的药学可接受的盐，其中所述药学可接受的盐为盐酸盐。

4. 化合物,其选自:

- 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-吡啶-5-醇,
- 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-苄基-1H-吡啶-5-醇,
- 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-(4-硝基苄基)-1H-吡啶-5-醇,
- 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-吡啶-5-醇盐酸盐,
- 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-5-(异丙基氧基羰基氧基甲基氧基)吡啶,
- 1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡啶-5-醇盐酸盐,
- 3-(4-硝基苯基)-3-[2-(嘧啶-2-基)亚胼基]-丙酸乙酯,
- 1-(嘧啶-2-基)-3-(4-硝基苯基)-1H-吡啶-5-醇,
- 1-(吡啶-2-基)-3-(1,2-二苯基-E-乙烯基)-1H-吡啶-5-醇,
- 1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡啶-5-醇,
- 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-1H-吡啶-5-醇盐酸盐;
- 3-(4-甲氧基苯基氨基)-1H-吡啶-5-醇,或者
- 4-亚己基-3-苯基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡啶-5-醇;
- 或者它们的药学可接受的盐。

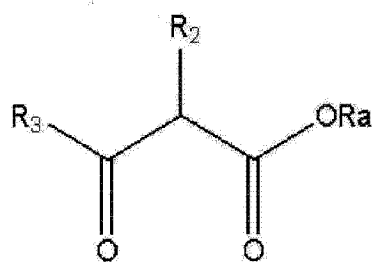
5. 化合物,其选自:

- 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-吡啶-5-醇盐酸盐,
- 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-5-(异丙基氧基羰基氧基甲基氧基)吡啶,
- 1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡啶-5-醇盐酸盐,
- 1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡啶-5-醇,
- 或者
- 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-1H-吡啶-5-醇盐酸盐;
- 或者它们的药学可接受的盐。

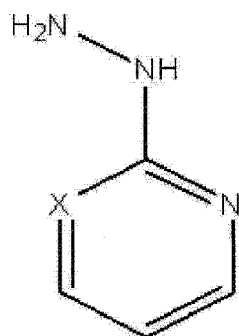
6. 一种制备下式 1 所示的化合物或药学可接受的盐的方法,所述方法包括:

将下式 2 所示的化合物和下式 3 所示的化合物滴加入极性有机溶剂中;以及
加热包含式 2 所示的化合物和式 3 所示的化合物的极性有机溶剂:

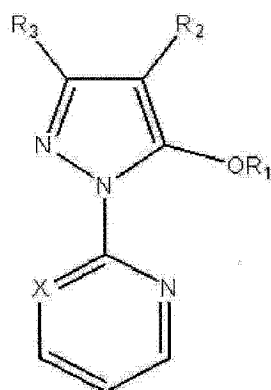
[式 2]



[式 3]



[式 1]



其中 X 表示 -CH- 或氮；

Ra 表示 C1-C4 直链或支化的烷基；

R₁ 表示氢原子或异丙基氧基羰基氧基甲基；

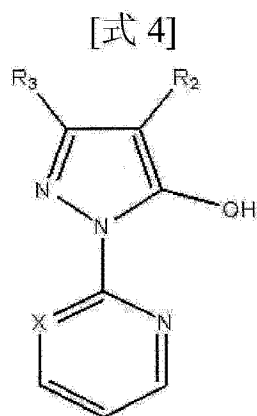
R₂ 表示氢原子、C1-C4 直链或支化的烷基、或者被取代或未被取代的苄基；并且

R₃ 表示苯基、硝基苯基、被取代或未被取代的苯基乙烯基、或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基；

其中当 R₁ 和 R₂ 各自表示氢原子时，R₃ 表示苯基、硝基苯基、或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基；并且

其中取代基为硝基、羟基或甲氧基。

7. 权利要求 6 的方法，其中通过式 2 所示的化合物与式 3 所示的化合物在有机溶剂存在下的反应来制备下式 4 所示的化合物：



其中 X 表示 -CH- 或氮；

R_2 表示氢原子、C1-C4 直链或支化的烷基、或者被取代或未被取代的苄基；并且

R_3 表示苯基、硝基苯基、被取代或未被取代的苯基乙烯基、或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基；

其中当 R_2 表示氢原子时， R_3 表示苯基、硝基苯基、或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基；并且

其中取代基为硝基、羟基或甲氧基。

8. 权利要求 7 的方法，其还包括使式 4 所示的化合物与至少一种选自以下的卤化物在碱的存在下反应：异丙基氧基羰基氧基甲基碘化物、异丙基氧基羰基氧基甲基氯化物和异丙基氧基羰基氧基甲基溴化物。

9. 权利要求 8 的方法，其中式 4 所示的化合物与所述卤化物在相转移催化剂的存在下反应。

10. 权利要求 6 的方法，其中所述极性有机溶剂选自 C1-C4 醇、乙酸和它们的混合物。

11. 权利要求 6 的方法，其中所述加入是在 -4℃ 至 10℃ 下进行。

12. 权利要求 6 的方法，其中所述加热是在 90℃ 至 130℃ 下进行。

13. 权利要求 8 的方法，其中所述碱为选自 4- 二甲基氨基吡啶 (DMAP)、吡啶、三乙胺、咪唑和碳酸盐中的至少一种。

14. 权利要求 6 的方法，其中式 1 所示的化合物或其药学可接受的盐为：

1-(吡啶 -2- 基)-3- 苯基 -4- 丙基 -1H- 吡唑 -5- 醇，

1-(吡啶 -2- 基)-3- 苯基 -4- 苄基 -1H- 吡唑 -5- 醇，

1-(吡啶 -2- 基)-3- 苯基 -4-(4- 硝基苄基)-1H- 吡唑 -5- 醇，

1-(吡啶 -2- 基)-3- 苯基 -4- 丙基 -1H- 吡唑 -5- 醇盐酸盐，

1-(吡啶 -2- 基)-3- 苯基 -4- 丙基 -1H-5-(异丙基氧基羰基氧基甲基氧基) 吡唑，

1-(吡啶 -2- 基)-3-[(3- 甲氧基 -4- 羟基苯基)-E- 乙烯基]-4- 苄基 -1H- 吡唑 -5- 醇盐酸盐，

3-(4- 硝基苯基)-3-[2-(嘧啶 -2- 基) 亚胍基]- 丙酸乙酯，

1-(嘧啶 -2- 基)-3-(4- 硝基苯基)-5-1H- 吡唑 -5- 醇，

1-(吡啶 -2- 基)-3-(1, 2- 二苯基 -E- 乙烯基)-1H- 吡唑 -5- 醇，

1-(吡啶 -2- 基)-3- 苯基 -1H- 吡唑 -5- 醇盐酸盐，

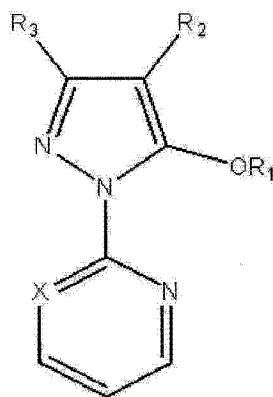
1-(吡啶 -2- 基)-3-[(3- 甲氧基 -4- 羟基苯基)-E- 乙烯基]-4- 苄基 -1H- 吡唑 -5- 醇，

3-(4-甲氧基苯基氨基)-1H-吡唑-5-醇,或者

4-亚己基-3-苯基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-醇。

15. 一种用于预防或治疗骨质疏松的组合物,其包含下式 1 所示的化合物:

[式 1]



其中 X 表示 -CH- 或氮;

R₁ 表示氢原子或异丙基氧基羰基氧基甲基;

R₂ 表示氢原子、C1-C4 直链或支化的烷基、或者被取代或未被取代的苄基;并且

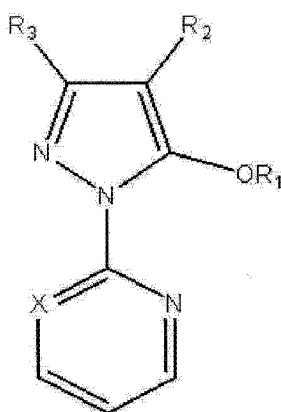
R₃ 表示苯基、硝基苯基、被取代或未被取代的苯基乙烯基、或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基;

其中当 X 表示 -CH- 且 R₁ 和 R₂ 各自表示氢原子时, R₃ 表示被取代或未被取代的二苯基乙烯基,或者当 X 表示氮原子且 R₁ 和 R₂ 各自表示氢原子时, R₃ 表示硝基苯基或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基;并且

其中取代基为硝基、羟基或甲氧基。

16. 一种用于预防或治疗骨质疏松的组合物,其包含下式 1 所示的化合物的药学可接受的盐:

[式 1]



其中 X 表示 -CH- 或氮;

R₁ 表示氢原子或异丙基氧基羰基氧基甲基;

R₂ 表示氢原子、C1-C4 直链或支化的烷基、或者被取代或未被取代的苄基;并且

R₃ 表示苯基、硝基苯基、被取代或未被取代的苯基乙烯基、或者被取代或未被取代的二

苯基乙烯基；

其中当 R_1 和 R_2 各自表示氢原子时, R_3 表示苯基、硝基苯基、或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基；并且

其中取代基为硝基、羟基或甲氧基。

17. 一种用于预防或治疗骨质疏松的组合物, 其包含至少一种选自以下的化合物：

1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-吡唑-5-醇,

1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-苄基-1H-吡唑-5-醇,

1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-(4-硝基苄基)-1H-吡唑-5-醇,

1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-吡唑-5-醇盐酸盐,

1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-5-(异丙基氧基羰基氧基甲基氧基)吡唑,

1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡唑-5-醇盐酸盐,

1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡唑-5-醇,

3-(4-硝基苯基)-3-[2-(嘧啶-2-基)亚胍基]-丙酸乙酯,

1-(嘧啶-2-基)-3-(4-硝基苯基)-5-1H-吡唑-5-醇,

1-(吡啶-2-基)-3-(1,2-二苯基-E-乙烯基)-1H-吡唑-5-醇,

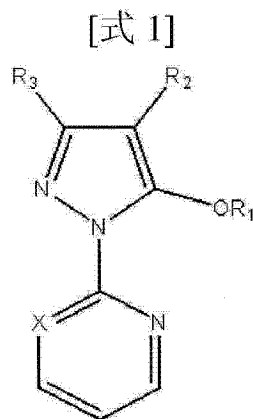
1-(吡啶-2-基)-3-苯基-1H-吡唑-5-醇盐酸盐,

3-(4-甲氧基苯基氨基)-1H-吡唑-5-醇, 和

4-亚己基-3-苯基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-醇；

以及它们的药学可接受的盐。

18. 一种预防或治疗骨质疏松的方法, 所述方法包括向哺乳动物给药下式 1 所示的化合物：



其中 X 表示 -CH- 或氮；

R_1 表示氢原子或异丙基氧基羰基氧基甲基；

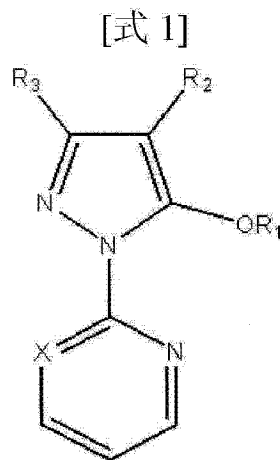
R_2 表示氢原子、C1-C4 直链或支化的烷基、或者被取代或未被取代的苄基；并且

R_3 表示苯基、硝基苯基、被取代或未被取代的苯基乙烯基、或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基；

其中当 X 表示 -CH- 且 R_1 和 R_2 各自表示氢原子时, R_3 表示被取代或未被取代的二苯基乙烯基, 或者当 X 表示氮原子且 R_1 和 R_2 各自表示氢原子时, R_3 表示硝基苯基或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基；并且

其中取代基为硝基、羟基或甲氧基。

19. 一种预防或治疗骨质疏松的方法,所述方法包括向哺乳动物给药下式 1 所示的化合物的药学可接受的盐:



其中 X 表示 -CH- 或氮;

R₁ 表示氢原子或异丙基氧基羰基氧基甲基;

R₂ 表示氢原子、C1-C4 直链或支化的烷基、或者被取代或未被取代的苄基;并且

R₃ 表示苯基、硝基苯基、被取代或未被取代的苯基乙烯基、或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基;

其中当 R₁ 和 R₂ 各自表示氢原子时, R₃ 表示苯基、硝基苯基、或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基;并且

其中取代基为硝基、羟基或甲氧基。

20. 一种预防或治疗骨质疏松的方法,所述方法包括向哺乳动物给药至少一种选自以下的化合物:

1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-吡唑-5-醇,

1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-苄基-1H-吡唑-5-醇,

1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-(4-硝基苄基)-1H-吡唑-5-醇,

1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-吡唑-5-醇盐酸盐,

1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-5-(异丙基氧基羰基氧基甲基氧基)吡唑,

1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡唑-5-醇盐酸盐,

1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡唑-5-醇,

3-(4-硝基苯基)-3-[2-(嘧啶-2-基)亚胍基]-丙酸乙酯,

1-(嘧啶-2-基)-3-(4-硝基苯基)-5-1H-吡唑-5-醇,

1-(吡啶-2-基)-3-(1,2-二苯基-E-乙烯基)-1H-吡唑-5-醇,

1-(吡啶-2-基)-3-苯基-1H-吡唑-5-醇盐酸盐,

3-(4-甲氧基苯基氨基)-1H-吡唑-5-醇,和

4-亚己基-3-苯基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-醇;

以及它们的药学可接受的盐。

吡唑衍生物、其制备方法以及用于预防和治疗骨质疏松的 包含该吡唑衍生物的组合

技术领域

[0001] 本发明涉及一种具有对活性氧物质极佳抑制活性的新吡唑衍生物，其制备方法以及用于预防和治疗骨质疏松的包含该吡唑衍生物的组合。

背景技术

[0002] 骨构建和重塑的过程在骨的发育、生长和代谢中起着重要作用。骨构建从出生开始，然后持续至青春期 / 成年，这时骨骼成熟至个体生长结束，因此在他 / 她二十多岁至三十多岁早期之间达到峰值骨量。从那时开始，包括骨去除和置换的骨重塑过程重复约 3 年，期间骨形成和骨吸收结合以维持之间的平衡。这段时间之后，骨形成不足以跟上骨吸收导致的骨流失，这最终导致每年约 0.3-0.5% 的骨量减少。特别地，妇女在绝经期早期会经历每年 2-3% 的显著骨流失。

[0003] 骨包含四种类型的细胞，例如成骨细胞、破骨细胞、衬细胞和骨细胞。这里，来源于骨髓基质细胞的成骨细胞是合成骨基质的分化细胞，并且在骨形成中起主要作用，而来源于造血干细胞的破骨细胞在骨吸收中起主要作用。

[0004] 骨质疏松是这样的疾病状况，其中随着钙化的骨组织密度降低，密质骨变薄，因此骨髓腔变大。相应地，随着该疾病状况发展，骨变得易碎，因此即使小的冲击也容易发生骨折。骨量受各种因素影响，例如遗传、营养、激素水平的改变、运动和生活方式的差异等，并且已知骨质疏松的主要原因是老化、运动不足、体重过轻、吸烟、低钙饮食摄入、绝经、卵巢切除术等。同时，虽然存在个体差异，但是黑人的骨吸收水平低于白人，因此他们的骨量高于白人。对于大多数人，骨量在 14-18 岁达到峰值，并且在老年时每年减少约 1%。特别地，在女性的情况下，骨流失在 30 岁后持续发生，并且在绝经期间由于激素平衡的改变而快速发展。即在女性到达绝经期时，雌激素水平迅速降低。这时，形成大量 B- 淋巴细胞，看起来通过白介素 =7 (IL-7) 发生，并且前 B 细胞在骨髓中积累，结果引起 IL-6 水平升高，因此导致破骨细胞的活性增加且最终骨量水平降低。

[0005] 因此，虽然骨质疏松的程度有差异，但是其对于老年人，特别是绝经期后的妇女是不可避免的疾病状况。因此，在发达国家，对骨质疏松及其治疗剂的关注随着人口老化而增加。此外，已知全世界在骨疾病的治疗中形成约 1.3×10^{11} 美元的市场，并且预期会进一步增加。因此，全球研究机构和制药公司在开发骨疾病的治疗剂中投入巨资。而且，因为平均预期寿命接近最近 80 岁，韩国骨质疏松的患病率迅速增加。根据最近对当地居民进行的研究，当将研究结果根据全国总人口归一化时，据报道 4.5% 的男性患有骨质疏松，而 19.8% 的女性患有相同疾病。这表明骨质疏松是比糖尿病或心血管疾病更常见的疾病，并且考虑到由于骨折带给患者的痛苦或者用于治疗的费用，骨质疏松是非常重要的公共健康问题。

[0006] 到目前为止，已开发各种物质作为骨质疏松的治疗剂。在那些治疗物质中，最常用作骨质疏松的治疗剂但尚未证实其实际效力的雌激素不利地需要终生给药，并且其长期给药可能导致不良副作用，例如乳腺癌或子宫癌的风险增加。阿仑膦酸盐还具有这样的问题，

对药效的认识不清楚,胃肠道吸收缓慢,并且是胃肠道和食道粘膜炎症的发病机理。已知钙制品具有较少的副作用和极好的效力,但是它是预防剂而不是治疗剂。此外,已知维生素 D 制品如降钙素,但是尚未充分研究它们的效力和副作用。因此,需要开发新的代谢性骨疾病的治疗剂,其具有较少的副作用和极好的效力。

[0007] 同时,最近有研究报道氧化应激引起的活性氧物质 (ROS) 参与骨代谢 (Darden, A. G., et al., J. Bone Miner. Res., 11:671-675, 1996; Yang, S., et al., J. Biol. Chem., 276:5452-5458, 2001; Fraser, J. H., et al., Bone 19:223-226, 1996; 和 Yang, S., et al., Calcif. Tissue Int., 63:346-350, 1998)。此外,已知骨重塑通过骨形成的成骨细胞和骨吸收的破骨细胞 (OC) 之间的相对作用来进行。多核破骨细胞从造血祖细胞的单核细胞 / 巨噬细胞谱系通过多阶段过程分化而来,所述多阶段过程包括细胞粘附、增殖、运动、细胞-细胞接触以及形成多核巨细胞的最终融合。这个过程通过核因子- κ B 受体活化因子 (此后称为“RANK”) 结合至核因子- κ B 配体受体活化因子 (此后称为“RANKL”) 来开始,然后通过激活几个信号级联来传递。激活的信号传导途径包括 NF- κ B、细胞外信号调节激酶 (此后称为“ERK”)、c-Jun N-末端激酶 (此后称为“JNK”) 和 p38 促分裂原活化蛋白 (MAP) 激酶通过肿瘤坏死因子 (TNF) 受体相关因子 6 (此后称为“TRAF6”)。这些信号传导事件对分化的调节和破骨细胞的作用具有直接影响 (Boyle, N. J., et al., Nature, 423:337-342, 2003)。一旦破骨细胞分化,骨吸收通过由于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADPH) 氧化酶产生的 ROS 而加速。NADPH 氧化酶抑制剂导致 ROS 和骨吸收的减少 (Yang, S., et al., Calcif. Tissue Int., 63:346-350, 1998)。这些结果与这样的理论一致,即破骨细胞中 ROS 的产生依赖于 NADPH 氧化酶的活性,并且与破骨细胞的功能直接相关。

[0008] 因此,本发明的发明人基于可以利用抑制活性氧物质 (ROS) 产生的分子机制开发骨质疏松治疗剂的这一事实进行了广泛研究,并且发现本发明的吡唑衍生物表现出对 ROS 产生的极佳抑制活性,并且这些化合物可以用于预防或治疗骨质疏松,从而完成本发明。

发明内容

[0009] 技术问题

[0010] 本发明的目的是提供一种对活性氧物质的产生具有极佳的抑制活性的新吡唑衍生物,其制备方法以及用于治疗骨质疏松的包含该吡唑衍生物的组合物。

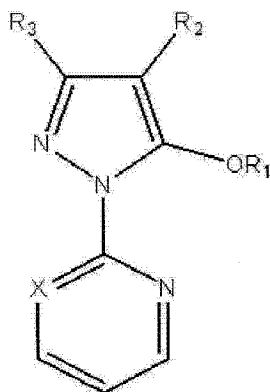
[0011] 本发明的另一目的是提供一种预防或治疗骨质疏松的方法,所述方法包括向有此需要的个体给药本发明的新吡唑衍生物,并且提供本发明的新吡唑衍生物在制备用于预防或治疗骨质疏松的药物制剂中的用途。

[0012] 技术方案

[0013] 本发明提供下式 1 所示的化合物或其药学可接受的盐:

[0014]

[式 1]



[0015] 其中 X 表示 -CH- 或氮；

[0016] R₁ 表示氢原子或异丙基氧基羰基氧基甲基；

[0017] R₂ 表示氢原子、C1-C4 直链或支化的烷基、或者被取代或未被取代的苄基；并且

[0018] R₃ 表示苯基、硝基苯基、被取代或未被取代的苯基乙烯基、或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基；

[0019] 其中当 R₁ 和 R₂ 各自表示氢原子时，R₃ 表示苯基、硝基苯基、或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基；并且

[0020] 其中取代基为硝基、羟基或甲氧基。

[0021] 在本发明的式 1 所示的化合物或其药学可接受的盐中，R₂ 可以优选地表示氢原子、丙基或苄基，并且 R₃ 可以优选地表示苯基、硝基苯基或 1, 2- 二苯基乙烯基。

[0022] 在式 1 所示的化合物中，当 X 表示 -CH- 且 R₁ 和 R₂ 各自表示氢原子时，R₃ 可以优选地表示被取代或未被取代的二苯基乙烯基，或者当 X 表示氮原子且 R₁ 和 R₂ 各自表示氢原子时，R₃ 可以优选地表示硝基苯基或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基。在式 1 所示的化合物的盐中，当 R₁ 和 R₂ 各自表示氢原子时，R₃ 可以优选地表示苯基、硝基苯基或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基。

[0023] 本发明的化合物可以优选为选自以下的化合物：

[0024] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-吡唑-5-醇，

[0025] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-苄基-1H-吡唑-5-醇，

[0026] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-(4-硝基苄基)-1H-吡唑-5-醇，

[0027] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-吡唑-5-醇盐酸盐，

[0028] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-5-(异丙基氧基羰基氧基甲基氧基)吡唑，

[0029] 1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡唑-5-醇盐酸盐，

[0030] 1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡唑-5-醇，

[0031] 3-(4-硝基苯基)-3-[(嘧啶-2-基)亚胍基]-丙酸乙酯，

[0032] 1-(嘧啶-2-基)-3-(4-硝基苯基)-1H-吡唑-5-醇，

[0033] 1-(吡啶-2-基)-3-(1, 2-二苯基-E-乙烯基)-1H-吡唑-5-醇，

- [0034] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-1H-吡唑-5-醇盐酸盐；
- [0035] 3-(4-甲氧基苯基氨基)-1H-吡唑-5-醇，或者
- [0036] 4-亚己基-3-苯基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-醇；
- [0037] 以及它们的药学可接受的盐。
- [0038] 本发明的化合物可以优选为选自以下的化合物：
- [0039] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-吡唑-5-醇盐酸盐，
- [0040] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-5-(异丙基氧基羰基氧基甲基氧基)吡唑，
- [0041] 1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡唑-5-醇，
- [0042] 1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡唑-5-醇盐酸盐，
- [0043] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-1H-吡唑-5-醇盐酸盐；
- [0044] 以及它们的药学可接受的盐。
- [0045] 如本文所用，术语“药学可接受的盐”指常用于制药工业的盐，其实例可以是利用盐酸、硝酸、磷酸、溴酸、碘酸、高氯酸、酒石酸、硫酸等制备的无机酸盐；利用乙酸、三氟乙酸、柠檬酸、马来酸、琥珀酸、草酸、苯甲酸、酒石酸、富马酸、扁桃酸、丙酸、柠檬酸、乳酸、乙醇酸 (glycolic acid)、葡萄糖酸、半乳糖醛酸、谷氨酸、戊二酸、葡糖醛酸、天冬氨酸、抗坏血酸、碳酸、香草酸、氢碘酸等制备的有机酸盐；以及利用甲磺酸、乙磺酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、萘磺酸等制备的磺酸盐。但是，本发明的药学可接受的盐并不受此限制。药学可接受的盐可以优选盐酸盐。
- [0046] 本发明的式 1 所示的化合物、上述化合物或其药学可接受的盐可以通过抑制活性氧物质的产生来预防或治疗骨质疏松。例如，本发明的式 1 所示的化合物、上述化合物或其药学可接受的盐可以通过抑制 NADPH 氧化酶来抑制活性氧物质的产生。破骨细胞的产生可以通过抑制 NADPH 氧化酶来抑制，NADPH 氧化酶是对于巨噬细胞分化为破骨细胞非常重要的物质。
- [0047] 本发明的式 1 所示的化合物、上述化合物或其药学可接受的盐可以通过抑制活性氧物质的产生来预防或治疗骨质疏松。例如，本发明的式 1 所示的化合物、上述化合物或其药学可接受的盐可以通过抑制 NADPH 氧化酶来抑制活性氧物质的产生。
- [0048] 本发明的式 1 所示的化合物、上述化合物或其药学可接受的盐可以通过抑制 NADPH 氧化酶来抑制破骨细胞的产生，NADPH 氧化酶是对于巨噬细胞分化为破骨细胞非常重要的物质。
- [0049] 本发明的式 1 所示的化合物、上述化合物或其药学可接受的盐可以通过抑制骨破坏来治疗或预防骨质疏松。
- [0050] 本发明的式 1 所示的化合物、上述化合物或其药学可接受的盐具有低毒性，并且由于极好的稳定性而在血液中长期不分解，从而在血液中长期保持高水平。即本发明的式 1 所示的化合物、上述化合物或其药学可接受的盐表现出与韩国专利号 KR0942382 公开的化合物相比显著低的毒性和显著高的稳定性，从而能够在骨质疏松的治疗或预防中表现出极好的效果。

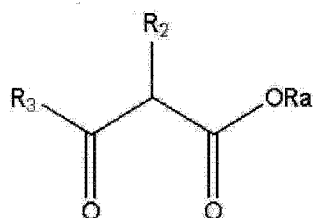
[0051] 本发明提供一种制备下式 1 所示的化合物或其药学可接受的盐的方法,所述方法包括:

[0052] 将下式 2 所示的化合物和下式 3 所示的化合物滴加入极性有机溶剂中;以及

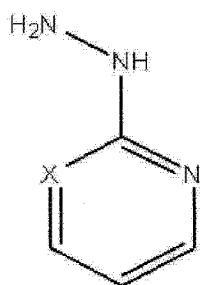
[0053] 加热包含式 2 所示的化合物和式 3 所示的化合物的极性有机溶剂;

[0054]

[式 2]

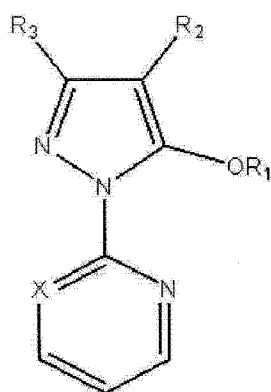


[式 3]



[0055]

[式 1]



[0056] 其中 X 表示 -CH- 或氮;

[0057] Ra 表示 C1-C4 直链或支化的烷基;

[0058] R1 表示氢原子或异丙基氧基羰基氧基甲基;

[0059] R2 表示氢原子、C1-C4 直链或支化的烷基、或者被取代或未被取代的苄基;并且

[0060] R3 表示苯基、硝基苯基、被取代或未被取代的苯基乙烯基、或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基;

[0061] 其中当 R1 和 R2 各自表示氢原子时, R3 表示苯基、硝基苯基、或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基;并且

[0062] 其中取代基为硝基、羟基或甲氧基。

[0063] 根据本发明的制备方法,可以制备以下化合物:

[0064] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-吡啶-5-醇,

[0065] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-苄基-1H-吡啶-5-醇,

[0066] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-(4-硝基苄基)-1H-吡啶-5-醇,

[0067] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-吡啶-5-醇盐酸盐,

[0068] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-5-(异丙基氧基羰基氧基甲基氧基)吡啶,

[0069] 1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡啶-5-醇盐酸盐,

[0070] 1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡啶-5-醇,

[0071] 3-(4-硝基苯基)-3-[(吡啶-2-基)亚胍基]-丙酸乙酯,

[0072] 1-(吡啶-2-基)-3-(4-硝基苯基)-1H-吡啶-5-醇,

[0073] 1-(吡啶-2-基)-3-(1,2-二苯基-E-乙烯基)-1H-吡啶-5-醇,

[0074] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-1H-吡啶-5-醇盐酸盐;

[0075] 3-(4-甲氧基苯基氨基)-1H-吡啶-5-醇,或者

[0076] 4-亚己基-3-苯基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡啶-5-醇;

[0077] 或者它们的药学可接受的盐。

[0078] 在本发明的制备方法中,可以优选地制备以下化合物:

[0079] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-吡啶-5-醇盐酸盐;

[0080] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-5-(异丙基氧基羰基氧基甲基氧基)吡啶;

[0081] 1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡啶-5-醇盐酸盐;

[0082] 1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡啶-5-醇;或者

[0083] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-1H-吡啶-5-醇盐酸盐;

[0084] 或者它们的药学可接受的盐;

[0085] 在本发明的式1所示的化合物、上述化合物或其药学可接受的盐中,用作起始原料的式2所示的化合物 α -取代的 β -酮酯可商购,或者可以根据J. Org. Chem., Vol. 43, No. 10, 1978, 2087-2088所述的方法来制备,具体地通过使可商购的酰基氯衍生物与 Meldrum's 酸反应并且在有机溶剂如甲醇或乙醇的存在下于回流下加热所得的产物以形成 β -酮酯。 α -取代的 β -酮酯可以根据J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, 1986, 1139-1143所述的方法来制备。更具体地,其可以通过在碳酸钾或碳酸铯的存在下 β -酮酯与烷基卤化物的反应容易地制备。

[0086] 在本发明的制备方法中,作为反应物的式3所示的化合物可以商购,并且基于1摩尔当量作为起始原料的式2所示的化合物,可以以约1-3摩尔当量,优选约1-1.3摩尔当量的量使用。

[0087] 在本发明的制备方法中,极性有机溶剂可以选自C1-C4醇如甲醇、乙醇、正丙醇、

异丙醇、正丁醇或叔丁醇,乙酸或者它们的混合物,并且可以优选乙醇或乙酸。

[0088] 在本发明的制备方法中,式 1 所示的化合物的盐可以通过使式 1 所示的化合物与酸性物质反应来制备。所述酸性物质没有特别限制,只要其可以通过与式 1 所示的化合物的反应形成盐。例如,所述酸性物质可以是无机酸如盐酸、硝酸、磷酸、溴酸、碘酸、高氯酸、酒石酸和硫酸;有机酸如乙酸、三氟乙酸、柠檬酸、马来酸、琥珀酸、草酸、苯甲酸、酒石酸、富马酸、扁桃酸、丙酸、柠檬酸、乳酸、乙醇酸、葡萄糖酸、半乳糖醛酸、谷氨酸、戊二酸、葡糖醛酸、天冬氨酸、抗坏血酸、碳酸、香草酸和氢碘酸;以及磺酸如甲磺酸、乙磺酸、苯磺酸、对甲苯磺酸和萘磺酸。并且可以优选盐酸。

[0089] 在本发明的制备方法中,可以在 -4°C 至 10°C 下将式 2 所示的化合物和式 3 所示的化合物滴加入极性有机溶剂中。

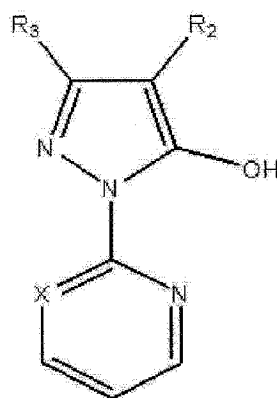
[0090] 在本发明的制备方法中,可以优选将包含式 2 所示的化合物和式 3 所示的化合物的有机溶剂在溶剂的回流温度下,优选在约 100°C –约 130°C 的温度下加热。

[0091] 在本发明的制备方法中,可以优选将包含式 2 所示的化合物和式 3 所示的化合物的有机溶剂加热约 10 分钟–72 小时。

[0092] 在本发明的制备方法中,可以通过在有机溶剂的存在下,使式 2 所示的化合物与式 3 所示的化合物的反应来制备式 4 所示的化合物。

[0093]

[式 4]



[0094] 其中 X 表示 $-\text{CH}-$ 或氮;

[0095] R_2 表示氢原子、C1–C4 直链或支化的烷基、或者被取代或未被取代的苄基;并且

[0096] R_3 表示苯基、硝基苯基、被取代或未被取代的苯基乙烯基、或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基;

[0097] 其中当 R_2 表示氢原子时, R_3 表示苯基、硝基苯基、或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基;并且

[0098] 其中取代基为硝基、羟基或甲氧基。

[0099] 在制备式 1 所示的化合物的方法中,式 4 所示的化合物可以在碱的存在下与卤化物(如异丙基氧基羰基氧基甲基碘化物、异丙基氧基羰基氧基甲基氯化物或异丙基氧基羰基氧基甲基溴化物)反应以制备式 1 所示的化合物,所述式 1 所示的化合物包含键合至吡唑的 5 位的碳的异丙基氧基羰基氧基甲基氧基。

[0100] 在式 4 所示的化合物与卤化物的反应中,碱可以优选 4-二甲基氨基吡啶(DMAP),

吡啶,三乙胺,咪唑,碳酸的金属盐如碳酸钾、碳酸钠或碳酸钙,或者它们的混合物。基于 1 摩尔当量式 2 所示的化合物,碱可以优选以约 0.05-3 摩尔当量,优选约 2-3 摩尔当量的量使用。

[0101] 在式 4 所示的化合物与卤化物的反应中,反应溶剂可以优选水与有机溶剂的混合物,优选水与选自二氯甲烷、乙醚、乙酸乙酯、四氢呋喃 (THF) 和 N,N'-二甲基甲酰胺 (DMF) 中的至少一种有机溶剂的混合物,更优选水与二氯甲烷的混合物。

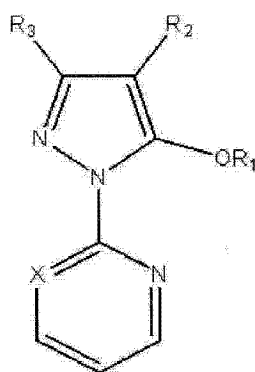
[0102] 式 4 所示的化合物与卤化物的反应可以在相转移催化剂的存在下进行。在这种情况下,通过防止包含位于吡唑基团的 2 位的烷化胺基团的杂质的产生可以获得较高纯度的式 1 所示的化合物。所述相转移催化剂没有特别限制,但是可以优选 Bu_4NHSO_4 。

[0103] 在式 4 所示的化合物与卤化物的反应中,反应温度可以优选约 0-40°C,更优选 15-30°C,并且反应时间可以优选 10-12 小时。但是,根据反应速率,反应温度可以进一步升高,并且反应时间可以进一步延长。

[0104] 本发明提供一种用于预防或治疗骨质疏松的药物组合物,其包含下式 1 所示的化合物或其药学可接受的盐:

[0105]

[式 1]



[0106] 其中 X 表示 -CH- 或氮;

[0107] R_1 表示氢原子或异丙基氧基羰基氧基甲基;

[0108] R_2 表示氢原子、C1-C4 直链或支化的烷基、或者被取代或未被取代的苄基;并且

[0109] R_3 表示苯基、硝基苯基、被取代或未被取代的苯基乙烯基、或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基;

[0110] 其中当 R_1 和 R_2 各自表示氢原子时, R_3 表示苯基、硝基苯基、或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基;并且

[0111] 其中取代基为硝基、羟基或甲氧基。

[0112] 在式 1 所示的化合物中,当 X 表示 -CH- 且 R_1 和 R_2 各自表示氢原子时, R_3 可以优选地表示被取代或未被取代的二苯基乙烯基,或者当 X 表示氮原子且 R_1 和 R_2 各自表示氢原子时, R_3 可以优选地表示硝基苯基或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基。在式 1 所示的化合物的盐中,当 R_1 和 R_2 各自表示氢原子时, R_3 可以优选地表示苯基、硝基苯基或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基。

[0113] 本发明提供一种用于预防或治疗骨质疏松的组合物,其包含选自以下的化合物:

- [0114] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-吡啶-5-醇,
- [0115] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-苄基-1H-吡啶-5-醇,
- [0116] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-(4-硝基苄基)-1H-吡啶-5-醇,
- [0117] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-吡啶-5-醇盐酸盐,
- [0118] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-5-(异丙基氧基羰基氧基甲基氧基)吡啶,
- [0119] 1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡啶-5-醇盐酸盐,
- [0120] 1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡啶-5-醇,
- [0121] 3-(4-硝基苯基)-3-[(嘧啶-2-基)亚胍基]-丙酸乙酯,
- [0122] 1-(嘧啶-2-基)-3-(4-硝基苯基)-1H-吡啶-5-醇,
- [0123] 1-(吡啶-2-基)-3-(1,2-二苯基-E-乙烯基)-1H-吡啶-5-醇,
- [0124] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-1H-吡啶-5-醇盐酸盐;
- [0125] 3-(4-甲氧基苯基氨基)-1H-吡啶-5-醇,或者
- [0126] 4-亚己基-3-苯基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡啶-5-醇;
- [0127] 以及它们的药学可接受的盐。
- [0128] 优选地,本发明提供一种用于预防或治疗骨质疏松的组合物,其包含至少一种选自以下的化合物:
- [0129] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-吡啶-5-醇盐酸盐,
- [0130] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-5-(异丙基氧基羰基氧基甲基氧基)吡啶,
- [0131] 1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡啶-5-醇,
- [0132] 1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡啶-5-醇盐酸盐,或者
- [0133] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-1H-吡啶-5-醇盐酸盐;
- [0134] 或者它们的药学可接受的盐。
- [0135] 如本文所用,术语“骨质疏松”指其中从整个骨排除空缺部分(例如骨髓腔)的骨的绝对数量已减少的疾病状况,并且包括老年性骨质疏松、绝经后骨质疏松、内分泌骨质疏松、先天性骨质疏松、制动性骨质疏松和创伤后骨质疏松。
- [0136] 包含本发明的式1所示的化合物、上述化合物或其药学可接受的盐的组合物可以通过抑制活性氧物质的产生来预防或治疗骨质疏松。例如,包含本发明的式1所示的化合物、上述化合物或其药学可接受的盐的组合物可以通过抑制NADPH氧化酶来抑制活性氧物质的产生。本发明的组合物可以通过抑制NADPH氧化酶来抑制破骨细胞的产生,NADPH氧化酶是对于巨噬细胞分化为破骨细胞非常重要的物质。
- [0137] 包含本发明的式1所示的化合物、上述化合物或其药学可接受的盐的组合物可以通过抑制骨破坏来治疗或预防骨质疏松。
- [0138] 包含本发明的式1所示的化合物、上述化合物或其药学可接受的盐的组合物具有

低毒性,并且由于极好的稳定性而在血液中长期不分解,从而在血液中长期保持高水平。即包含本发明的式 1 所示的化合物、上述化合物或其药学可接受的盐的组合物表现出与韩国专利号 KR0942382 公开的化合物相比显著低的毒性和显著高的稳定性,从而能够在骨质疏松的治疗或预防中表现出极好的效果。

[0139] 本发明的组合物可以包含药学可接受的添加剂,例如稀释剂、粘合剂、崩解剂、润滑剂、pH- 调节剂、抗氧化剂和增溶剂,在不损害本发明的效果的范围内。

[0140] 稀释剂的实例包括糖、淀粉、微晶纤维素、乳糖(乳糖水合物)、葡萄糖、D- 甘露醇、藻酸盐、碱土金属盐、粘土、聚乙二醇、无水磷酸氢钙以及它们的混合物;粘合剂的实例包括淀粉、微晶纤维素、高度分散的二氧化硅、甘露醇、D- 甘露醇、蔗糖、乳糖水合物、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮(聚维酮)、聚乙烯吡咯烷酮共聚物(共聚维酮)、羟丙甲纤维素、羟丙基纤维素、天然树胶、合成树胶、共聚维酮、明胶以及它们的混合物。

[0141] 崩解剂的实例包括淀粉或改性淀粉,例如羟基乙酸淀粉钠、玉米淀粉、马铃薯淀粉和预胶化淀粉;粘土,例如膨润土、蒙脱石和硅酸镁铝;纤维素,例如微晶纤维素、羟丙基纤维素和羧甲基纤维素;藻酸盐如藻酸钠和海藻酸;交联纤维素,例如交联羧甲基纤维素钠;树胶,例如瓜尔胶和黄原胶;交联聚合物,例如交联聚乙烯吡咯烷酮(交联聚维酮);泡腾剂,例如碳酸氢钠和柠檬酸,以及它们的混合物。

[0142] 润滑剂的实例包括滑石、硬脂酸、硬脂酸镁、硬脂酸钙、十二烷基硫酸钠、氢化植物油、苯甲酸钠、硬脂酰醇富马酸钠、甘油二十二烷酸酯、单月桂酸甘油酯、硬脂酸甘油酯、硬脂酸棕榈酸甘油酯、胶态二氧化硅以及它们的混合物。

[0143] pH- 调节剂的实例包括酸化剂,例如乙酸、己二酸、抗坏血酸、抗坏血酸钠、三氟化硼钠(sodium etherate)、苹果酸、琥珀酸、酒石酸、富马酸和柠檬酸;以及碱化剂,例如沉淀碳酸钙、氨水、葡甲胺、碳酸钠、氧化镁、碳酸镁、柠檬酸钠和三代磷酸钙。

[0144] 抗氧化剂的实例包括二丁基羟基甲苯、丁羟茴醚、醋酸生育酚、生育酚、没食子酸丙酯、亚硫酸氢钠和焦亚硫酸钠。可以用于本发明的即释室的增溶剂的实例包括十二烷基硫酸钠、聚氧乙烯脱水山梨糖醇脂肪酸酯(例如聚山梨酯)、多库酯钠和泊洛沙姆。

[0145] 此外,为了制备延迟释放制剂,本发明的组合物可以包含肠溶性聚合物,水不溶性聚合物、疏水化合物和亲水性聚合物。

[0146] 肠溶性聚合物指在低于 pH5 的酸性条件下不溶或稳定并且在 pH5 或更高的特定 pH 条件下溶解或降解的聚合物。例如,肠溶性聚合物可以是肠溶性纤维素衍生物,例如醋酸羟丙基纤维素琥珀酸酯、邻苯二甲酸羟丙基纤维素(邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素)、邻苯二甲酸羟甲基乙基纤维素、邻苯二甲酸醋酸纤维素、醋酸琥珀酸纤维素、马来酸醋酸纤维素、邻苯二甲酸苯甲酸纤维素、邻苯二甲酸丙酸纤维素、邻苯二甲酸甲基纤维素、羧甲基乙基纤维素、邻苯二甲酸乙基羟基乙基纤维素和甲基羟基乙基纤维素;肠溶性丙烯酸共聚物,例如苯乙烯/丙烯酸共聚物、丙烯酸甲酯/丙烯酸共聚物、丙烯酸甲酯/甲基丙烯酸共聚物(例如,丙烯酰基-EZE)、丙烯酸丁酯/苯乙烯/丙烯酸共聚物和丙烯酸甲酯/甲基丙烯酸/丙烯酸辛酯共聚物;肠溶性聚甲基丙烯酸酯共聚物,例如聚(甲基丙烯酸/甲基甲基丙烯酸酯)共聚物(例如,Evonik, Germany 制造的尤特奇 L 或尤特奇 S)和聚(甲基丙烯酸/乙基丙烯酸酯)共聚物(例如,尤特奇 L100-55);肠溶性马来酸共聚物,例如醋酸乙烯酯/马来酐共聚物、苯乙烯/马来酐共聚物、苯乙烯/马来酸单酯共聚物、乙烯基甲基醚/马来酐

共聚物、乙烯 / 马来酐共聚物、乙烯基丁基醚 / 马来酐共聚物、丙烯腈 / 丙烯酸甲酯 / 马来酐共聚物和丙烯酸丁酯 / 苯乙烯 / 马来酐共聚物 ; 以及肠溶性聚乙烯衍生物, 例如邻苯二甲酸聚乙醇醇、邻苯二甲酸聚乙醇醇缩乙醛、邻苯二甲酸聚乙醇醇丁醛和邻苯二甲酸聚乙醇醇乙酰乙酸酯。

[0147] 水不溶性聚合物指控制药物释放的药理学可接受的水不溶性聚合物。例如, 水不溶性聚合物可以是聚醋酸乙烯酯 (例如 Kollicoat SR30D), 水不溶性聚甲基丙烯酸酯共聚物 { 例如聚 (丙烯酸乙酯 - 甲基丙烯酸甲酯) 共聚物 (例如尤特奇 NE30D、聚 (丙烯酸乙酯 - 甲基丙烯酸甲酯 - 三甲基氨基乙基甲基丙烯酸酯) 共聚物 (例如尤特奇 RSP0) 等 }、乙基纤维素、纤维素酯、纤维素醚、丙烯酸纤维素、二丙烯酸纤维素、三丙烯酸纤维素、醋酸纤维素、二醋酸纤维素、三醋酸纤维素等。

[0148] 疏水化合物指控制药物释放的药理学可接受的水不溶性物质。例如, 疏水化合物可以是脂肪酸和脂肪酸酯, 例如硬脂酸棕榈酸甘油酯、甘油硬脂酸酯、甘油二十二烷酸酯、鲸蜡醇十六酸酯、甘油单油酸酯和硬脂酸 ; 脂肪酸醇, 例如十六醇十八醇混合物、鲸蜡醇和十八烷醇 ; 蜡, 例如巴西棕榈蜡、蜂蜡和微晶蜡 ; 以及无机物质, 例如滑石、沉淀碳酸钙、磷酸氢钙、氧化锌、二氧化钛、白陶土、膨润土、蒙脱石和硅酸镁铝。

[0149] 亲水性聚合物指控制药物释放的药理学可接受的水溶性聚合物。例如, 亲水性聚合物可以是糖类, 例如糊精、聚糊精、葡聚糖、果胶和果胶衍生物、藻酸盐、聚半乳糖醛酸、木聚糖、阿拉伯糖基木聚糖、阿拉伯半乳聚糖、淀粉、羟丙基淀粉、直链淀粉和支链淀粉 ; 纤维素衍生物, 例如羟丙甲纤维素、羟丙基纤维素、羟甲基纤维素、羟乙基纤维素、甲基纤维素和羧甲基纤维素钠 ; 树胶, 例如瓜尔胶、刺槐豆胶、黄芪胶、角叉菜聚糖、阿拉伯树胶 (gum acacia)、阿拉伯树胶 (gum arabic)、结冷胶和黄原胶 ; 蛋白, 例如明胶、酪蛋白和玉米蛋白 ; 聚乙烯衍生物, 例如, 聚乙醇醇、聚乙烯吡咯烷酮和聚乙醇醇缩乙醛二乙基氨基乙酸酯 ; 亲水性聚甲基丙烯酸酯共聚物, 例如聚 (甲基丙烯酸丁酯 - (2- 二甲基氨基乙基) 甲基丙烯酸 - 甲基丙烯酸甲酯) 共聚物 (例如 Evonik, Germany 制造的尤特奇 E100) 和聚 (丙烯酸乙酯 - 甲基丙烯酸甲酯 - 三乙基氨基乙基 - 甲基丙烯酸酯氯化物) 共聚物 (例如 Evonik, Germany 制造的尤特奇 RL 和 RS) ; 聚乙烯衍生物, 例如聚乙二醇和聚环氧乙烷 ; 以及卡波姆。

[0150] 此外, 本发明的组合物可以使用药理学可接受的添加剂如选自着色剂和香料的各种添加剂来配制。

[0151] 在本发明中, 可以用于本发明的添加剂的范围并不限于上述添加剂, 本领域技术人员可以适当地选择添加剂, 并且可以使用常规剂量的上述添加剂配制所述组合物。

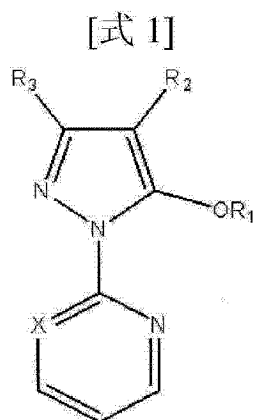
[0152] 本发明的药物组合物可以根据常规已知的方法配制为口服剂型如散剂、颗粒剂、片剂、胶囊剂、混悬剂、乳剂、糖浆剂, 以及气雾剂, 外用药, 栓剂或无菌注射液, 并且可以使用。

[0153] 此外, 本发明提供一种预防或治疗骨质疏松的方法, 所述方法包括向包括哺乳动物在内的个体给药本发明的式 1 所示的化合物、上述化合物或其药理学可接受的盐。如本文所用, 术语“给药”表示通过任何适当的方法将用于预防或治疗骨质疏松的本发明的组合物引入患者。本发明的用于预防或治疗骨质疏松的组合物可以通过任何常规给药途径给药, 只要所述组合物可以到达靶组织。例如, 所述组合物可以口服、腹腔内、静脉内、肌肉内、皮

下、皮内、鼻内、肺内、直肠、腔内、腹腔内或鞘内给药,但并不限于此。

[0154] 本发明提供一种预防或治疗骨质疏松的方法,所述方法包括向哺乳动物给药下式 1 所示的化合物:

[0155]



[0156] 其中 X 表示 -CH- 或氮;

[0157] R₁ 表示氢原子或异丙基氧基羰基氧基甲基;

[0158] R₂ 表示氢原子、C1-C4 直链或支化的烷基、或者被取代或未被取代的苄基;并且

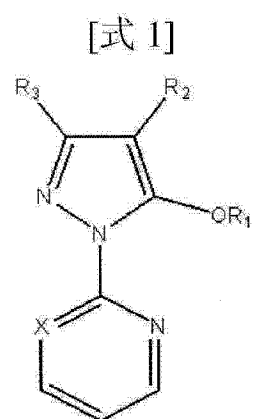
[0159] R₃ 表示苯基、硝基苯基、被取代或未被取代的苯基乙烯基、或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基;

[0160] 其中当 X 表示 -CH- 且 R₁ 和 R₂ 各自表示氢原子时, R₃ 表示被取代或未被取代的二苯基乙烯基,或者当 X 表示氮原子且 R₁ 和 R₂ 各自表示氢原子时, R₃ 表示硝基苯基或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基;并且

[0161] 其中取代基为硝基、羟基或甲氧基。

[0162] 本发明提供一种预防或治疗骨质疏松的方法,所述方法包括向哺乳动物给药下式 1 所示的化合物的药学可接受的盐:

[0163]



[0164] 其中 X 表示 -CH- 或氮;

[0165] R₁ 表示氢原子或异丙基氧基羰基氧基甲基;

[0166] R₂ 表示氢原子、C1-C4 直链或支化的烷基、或者被取代或未被取代的苄基;并且

[0167] R₃ 表示苯基、硝基苯基、被取代或未被取代的苯基乙烯基、或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基;

[0168] 其中当 R_1 和 R_2 各自表示氢原子时, R_3 表示苯基、硝基苯基、或者被取代或未被取代的二苯基乙烯基;并且

[0169] 其中取代基为硝基、羟基或甲氧基。

[0170] 本发明提供一种预防或治疗骨质疏松的方法,所述方法包括向哺乳动物给药至少一种选自以下的化合物:

[0171] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-吡啶-5-醇,

[0172] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-苄基-1H-吡啶-5-醇,

[0173] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-(4-硝基苄基)-1H-吡啶-5-醇,

[0174] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-吡啶-5-醇盐酸盐,

[0175] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-5-(异丙基氧基羰基氧基甲基氧基)吡啶,

[0176] 1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡啶-5-醇盐酸盐,

[0177] 1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡啶-5-醇,

[0178] 3-(4-硝基苯基)-3-[2-(嘧啶-2-基)亚胍基]-丙酸乙酯,

[0179] 1-(嘧啶-2-基)-3-(4-硝基苯基)-5-1H-吡啶-5-醇,

[0180] 1-(吡啶-2-基)-3-(1,2-二苯基-E-乙烯基)-1H-吡啶-5-醇,

[0181] 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-1H-吡啶-5-醇盐酸盐,

[0182] 3-(4-甲氧基苯基氨基)-1H-吡啶-5-醇,和

[0183] 4-亚己基-3-苯基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡啶-5-醇;

[0184] 或者它们的药学可接受的盐。

[0185] 本发明的预防或治疗骨质疏松的组合物可以每天一次给药,或者可以以规律的时间间隔每天两次或更多次给药。

[0186] 本发明的式1所示的化合物、上述化合物或其药学可接受的盐的剂量根据患者的体重、年龄、性别和健康状态,饮食,给药时机,给药途径,排泄率,疾病的严重程度等变化。合适的剂量可以为0.1-100mg/kg/天,更优选10-40mg/kg/天,但是可以根据患者的严重程度、年龄、性别等改变。

[0187] 此外,本发明提供一种抑制活性氧物质的产生的方法,所述方法包括向包括哺乳动物在内的个体给药本发明的式1所示的化合物、上述化合物或其药学可接受的盐。

[0188] 本发明提供一种抑制破骨细胞的产生的方法,所述方法包括向包括哺乳动物在内的个体给药本发明的式1所示的化合物、上述化合物或其药学可接受的盐。

[0189] 本发明还提供式1所示的化合物、上述化合物或其药学可接受的盐在制备用于预防或治疗骨质疏松的药物制剂中的用途。

[0190] 此外,本发明提供包含式1所示的化合物、上述化合物或其药学可接受的盐的保健食品。所述保健食品可以优选为强健骨的保健食品。

[0191] 本发明提供一种抑制活性氧物质的产生的活性氧物质抑制剂,其包含式1所示的化合物、上述化合物或其药学可接受的盐。

[0192] 有利效果

[0193] 本发明的化合物具有极佳的对活性氧物质的产生的抑制活性,并且可以用于治疗或预防骨质疏松而没有常规治疗剂的任何特别的副作用。

附图说明

[0194] 图 1-6 为示出本发明的化合物对破骨细胞分化的抑制效应的视图。

[0195] 图 7 和 8 为示出本发明的化合物对脂多糖 (LPS) 诱导的骨质溶解的抑制效应的视图。

[0196] 图 9-13 为示出本发明的化合物对卵巢切除术导致的骨流失的抑制效应的视图。

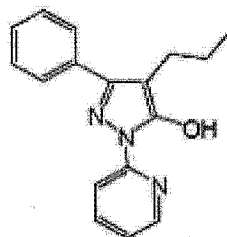
具体实施方式

[0197] 此后,参考以下实施例和实验例更详细地描述本发明。但是,应当理解以下实施例和实验例仅为了说明本发明而提供,并且不应当理解为限制本发明的范围和精神。

[0198] 下文提到的试剂和溶剂是可获得自 Sigma-Aldrich Korea, Alfa Aesar 或 Tokyo Chemical Industry (TCI) 的试剂和溶剂。此外, ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 谱用 JEOL Eclipse FT300MHz 分光计获得,并且质谱用 JEOL MStation JMS700 质谱仪获得。

[0199] 实施例 1 :1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-吡唑-5-醇的合成

[0200]



[式 1-1]

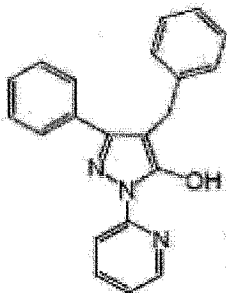
[0201] 将 2-丙基-3-氧代-3-苯基丙酸乙酯 (2.52g, 10.7mmol) 和乙醇 (10mL) 置于圆底烧瓶中,并且在 0℃ 下缓慢地滴加入用乙醇 (10mL) 稀释的 2-胍基吡啶 (1.29g, 11.8mmol)。将所得的溶液在回流下于 100℃ 下加热 3 天。通过在减压下蒸馏来去除溶剂,将所得的固体用己烷和乙酸乙酯洗涤并真空干燥以得到 82% 收率的靶化合物。

[0202] ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 12.50 (1H, s), 8.27-8.25 (1H, m), 8.01 (1H, d, $J=8.5\text{Hz}$), 7.81 (1H, m), 7.69 (2H, m), 7.48-7.34 (3H, m), 7.14-7.10 (1H, m), 2.54 (2H, d, $J=7.5\text{Hz}$), 1.64 (2H, m), 0.93 (3H, t, $J=7.3\text{Hz}$);

[0203] EIMS (70eV) m/z (相对强度) 279 (M^+ , 37), 250 (100).

[0204] 实施例 2 :1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-苄基-1H-吡唑-5-醇的合成

[0205]



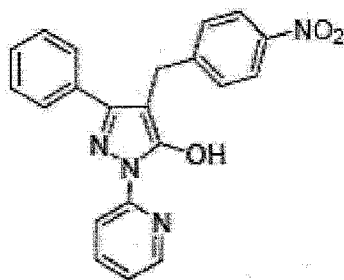
[式 1-2]

[0206] 将2-苄基-3-氧代-3-苯基-丙酸乙酯(530mg, 1.87mmol)和乙醇(7mL)置于圆底烧瓶中,并且在0℃下缓慢地滴加入用乙醇(3mL)稀释的2-胍基吡啶(204mg, 1.87mmol)。将所得的溶液在回流下于100℃下加热2天。通过在减压下蒸馏来去除溶剂,将所得的固体用己烷和乙酸乙酯洗涤并真空干燥以得到92%收率的靶化合物。

[0207] ^1H NMR(300MHz, CDCl_3) δ 12.66(1H, s), 8.27-8.25(1H, m), 8.01(1H, d, $J=8.5\text{Hz}$), 7.81(1H, m), 7.63(2H, m), 7.35-7.12(9H, m), 3.93(2H, s);

[0208] EIMS(70eV) m/z (相对强度)327(M^+ , 100), 250(75), 222(32), 206(20), 195(15)。

[0209] 实施例3:1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-(4-硝基苄基)-1H-吡唑-5-醇的合成
[0210]

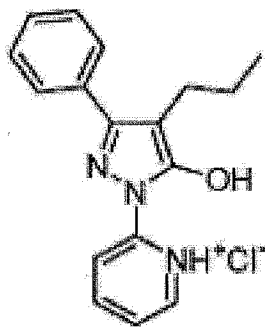


[式 1-3]

[0211] 将2-(4-硝基苄基)-3-氧代-3-苯基-丙酸乙酯(142mg, 0.43mmol)和乙醇(5mL)置于微波反应器小瓶中,并且在0℃下缓慢地滴加入用乙醇(3mL)稀释的2-胍基吡啶(47mg, 0.43mmol)。将所得的溶液在微波反应器中于120℃下加热2天以得到29%收率的靶化合物。

[0212] ^1H NMR(300MHz, CDCl_3) δ 12.82(1H, s), 8.30(1H, d, $J=4.4\text{Hz}$), 8.12-7.48(4H, m), 7.71-7.17(8H, m), 3.01(2H, s); EIMS(70eV) m/z (相对强度)372(M^+ , 0.01), 250(15), 222(12), 189(11), 147(20), 121(78), 105(89)。

[0213] 实施例4:1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-吡唑-5-醇·HCl的合成
[0214]



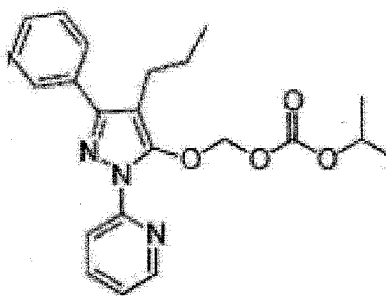
[式 1-4]

[0215] 将实施例1中制备的1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-吡唑-5-醇(280mg)溶于圆底烧瓶中的乙醚(4mL)中,并且在0℃下缓慢地滴加入其中溶有2M HCl的乙醚(0.55mL)。通过真空过滤去除溶剂,将所得的固体用己烷和乙酸乙酯洗涤并真空干燥以得到靶化合物(270mg)。

[0216] ^1H NMR(300MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.44(1H, d, $J=4.2\text{Hz}$), 8.08-8.03(2H, m), 7.66-7.64(2H, m), 7.48-7.42(3H, m), 7.34-7.30(1H, m), 2.49(2H, brs), 2.43(2H, t, $J=7.5\text{Hz}$), 1.48(2H, m), 0.48(3H, t, $J=7.3\text{Hz}$)。

[0217] 实施例 5 :1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-5-(异丙基氧基羰基氧基甲基氧基)吡唑 (18-306) 的合成

[0218]



[式 1-5]

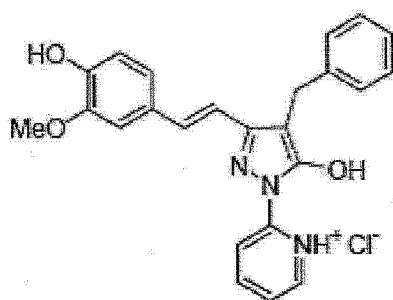
[0219] 将实施例 1 中制备的 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-4-丙基-1H-吡唑-5-醇 (438mg)、 K_2CO_3 (650mg) 和 Bu_4NHSO_4 (532mg) 加入水 (8mL) 和二氯甲烷 (8mL) 的混合溶剂中, 并且向其加入其中异丙基氧基羰基氧基甲基碘化物 (497mg) 溶于二氯甲烷 (2mL) 中的溶液。然后, 将所得的溶液剧烈搅拌过夜, 从而使化合物反应。将通过用二氯甲烷萃取所得的溶液而获得的有机层用水和盐水洗涤并浓缩。将所得的残余物通过柱色谱 (展开溶剂: 己烷 / 乙酸乙酯 (EtOAc)=10/1) 纯化以得到靶化合物 (361mg, 58% 收率)。

[0220] ^1H NMR (300MHz, $CDCl_3$) δ 8.48-8.46 (1H, m), 7.89 (1H, d, $J=8.2$ Hz), 7.80 (1H, m), 7.78-7.68 (2H, m), 7.57-7.34 (3H, m), 7.23-7.16 (1H, m), 5.84 (2H, s), 4.86 (1H, m), 2.55 (2H, d, $J=7.7$ Hz), 1.58 (2H, m), 1.25 (6H, d, $J=6.3$ Hz), 0.91 (3H, t, $J=7.5$ Hz)

[0221] ^{13}C NMR (75MHz, $CDCl_3$) δ 153.6, 152.0, 150.8, 149.3, 147.9, 138.3, 134.0, 128.4, 128.0, 127.6, 121.3, 115.9, 110.0, 92.6, 72.7, 24.7, 22.9, 21.6, 14.1.

[0222] 实施例 6 :1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡唑-5-醇 $\cdot HCl$ 的合成

[0223]



[式 1-6]

[0224] 将 2-苄基-3-氧代-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-丙酸乙酯 (3.55g, 10mmol) 和乙酸 (10mL) 置于圆底烧瓶中, 并且在 $0^\circ C$ 下缓慢地滴加入用乙酸 (3mL) 稀释的 2-胍基吡啶 (1.1g, 10.1mmol)。将所得的溶液在回流下于 $100^\circ C$ 下加热 2 天。通过在减压下蒸馏来去除溶剂, 并且通过柱色谱 (展开溶剂: 己烷 / 乙酸乙酯 (EtOAc)=15/1) 纯化残余物以得到 1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡唑-5-醇 (1.32g)。

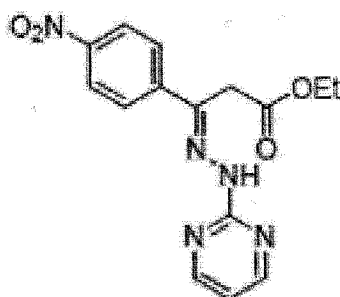
[0225] 将获得的 1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡唑-5-醇 (1.10g) 溶于圆底烧瓶中的乙醚 (15mL) 中, 并且在 $0^\circ C$ 下缓慢地滴加入

其中溶有 2M HCl 的乙醚 (1.5mL)。将所得的溶液在 40℃ 下搅拌 24 小时,通过真空过滤去除溶剂,然后将所得的固体用己烷和乙酸乙酯洗涤并真空干燥以得到靶化合物 (1.1g)。

[0226] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ 8.47-8.45 (1H, m), 8.30 (1H, d, $J=8.4\text{Hz}$), 7.98-7.93 (2H, m), 7.32-6.83 (10H, m), 3.82 (3H, s), 2.72 (2H, s)。

[0227] 实施例 7: 3-(4-硝基苯基)-3-[(嘧啶-2-基)亚肼基]-丙酸乙酯的合成

[0228]



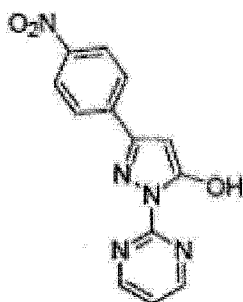
[式 1-7]

[0229] 将 4-硝基苯甲酰基乙酸乙酯 (356mg) 和 2-肼基嘧啶 (182mg) 溶于圆底烧瓶中的乙醇 (15mL) 中。将所得的混合物在回流下于 100℃ 下加热 3 天。将通过用乙酸乙酯萃取所得的溶液而获得的有机层用水和盐水洗涤并浓缩。将所得的残余物通过柱色谱 (展开溶剂: 己烷 / 乙酸乙酯 (EtOAc)=1/1) 纯化以得到靶化合物 (118mg, 24% 收率)。

[0230] ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 9.79 (1H, s), 8.56 (2H, d, $J=4.8\text{Hz}$), 8.26 (2H, d, $J=7.2\text{Hz}$), 8.09 (2H, d, $J=7.0\text{Hz}$), 6.89 (1H, t, $J=4.9\text{Hz}$), 4.28 (2H, q, $J=7.2\text{Hz}$), 3.89 (2H, s), 1.28 (3H, t, $J=7.2\text{Hz}$)。

[0231] 实施例 8: 1-(嘧啶-2-基)-3-(4-硝基苯基)-1H-吡唑-5-醇的合成

[0232]



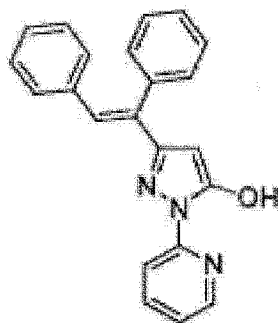
[式 1-8]

[0233] 将实施例 7 中制备的 3-(4-硝基苯基)-3-[2-(嘧啶-2-基)亚肼基]-丙酸乙酯 (100mg) 溶于圆底烧瓶中的乙酸 (15mL) 中。将所得的混合物在回流下于 150℃ 下加热 2 天。将乙酸乙酯加入通过去除溶剂获得的浓缩物中,将有机层用稀 NaHCO_3 水溶液和水洗涤并浓缩。将所得的残余物通过柱色谱 (展开溶剂: 己烷 / 乙酸乙酯 (EtOAc)=1/1) 纯化以得到靶化合物 (61mg, 72% 收率)。

[0234] ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 11.9 (1H, s), 8.83 (2H, d, $J=4.8\text{Hz}$), 8.27 (2H, d, $J=7.2\text{Hz}$), 8.08 (2H, d, $J=7.0\text{Hz}$), 7.30 (1H, t, $J=4.7\text{Hz}$), 6.09 (1H, s)。

[0235] 实施例 9: 1-(吡啶-2-基)-3-[(1,2-二苯基- E -乙烯基)-1H-吡唑-5-醇的合成

[0236]



[式 1-9]

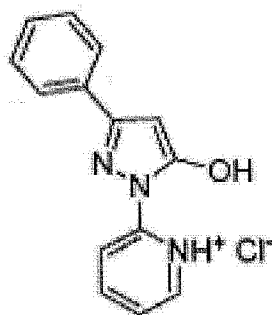
[0237] 将 4,5-二苯基-3-氧代-4-戊烯酸乙酯 (294mg) 和 2-胍基吡啶 (120mg) 溶于圆底烧瓶中的乙酸 (5mL) 中。将所得的混合物在回流下于约 150℃ 下加热 5 小时。去除溶剂后, 将通过用乙酸乙酯萃取所得的溶液而获得的有机层用水和盐水洗涤并浓缩。将所得的残余物通过柱色谱 (展开溶剂: 己烷 / 乙酸乙酯 (EtOAc)=10/1) 纯化以得到靶化合物 (130mg, 38% 收率)。

[0238] ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 12.7 (1H, s), 8.26–7.81 (3H, m), 8.43–7.03 (12H, m), 5.46 (1H, s);

[0239] EIMS (70eV) m/z (相对强度) 339 (M^+ , 100), 310 (6), 262 (23), 217 (21), 202 (24), 178 (18), 121 (48)。

[0240] 实施例 10: 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-1H-吡唑-5-醇·HCl 的合成

[0241]



[式 1-10]

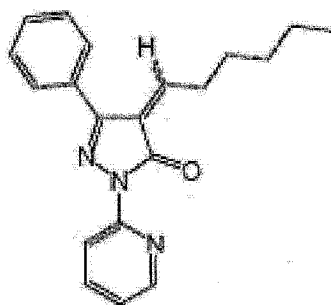
[0242] 将苯甲酰基乙酸乙酯 (1.92g, 9.99mmol) 和乙醇 (10mL) 置于圆底烧瓶中, 并且在 0℃ 下缓慢地滴加入用乙醇 (10mL) 稀释的 2-胍基吡啶 (1.1g, 10.0mmol)。将所得的溶液在回流下于 100℃ 下加热 8 小时。通过在减压下蒸馏来去除溶剂, 将所得的固体用己烷和乙酸乙酯洗涤并真空干燥以得到 87% 收率的 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-1H-吡唑-5-醇。

[0243] 将乙醚 (4mL) 加入圆底烧瓶中的制备的 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-1H-吡唑-5-醇 (237mg) 中, 并且在 0℃ 下缓慢地滴加入其中溶有 2M HCl 的乙醚 (0.55mL)。通过真空过滤去除溶剂, 将所得的固体用己烷和乙酸乙酯洗涤并真空干燥以得到 87% 收率的靶化合物。

[0244] ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.48–8.46 (m, 1H), 8.08 (t, 1H, $J=8.3\text{Hz}$), 7.96 (d, 1H, $J=8.4\text{Hz}$), 7.87 (d, 2H, $J=8.3\text{Hz}$), 7.46–7.35 (m, 4H), 6.64 (br, 4H), 6.14 (s, 1H)。

[0245] 实施例 11: 4-亚己基-3-苯基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-醇的合成

[0246]



[式 1-11]

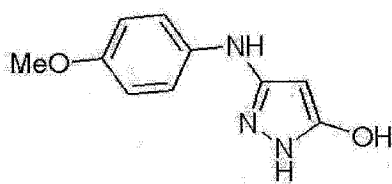
[0247] 将苯甲酰基乙酸乙酯 (1.92g, 9.99mmol) 和乙醇 (10mL) 置于圆底烧瓶中, 并且在 0℃ 下缓慢地滴加入用乙醇 (10mL) 稀释的 2-胍基吡啶 (1.1g, 10.0mmol)。将所得的溶液在回流下于 100℃ 下加热 8 小时。通过在减压下蒸馏来去除溶剂, 将所得的固体用己烷和乙酸乙酯洗涤并真空干燥以得到 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-1H-吡唑-5-醇。

[0248] 将制备的 1-(吡啶-2-基)-3-苯基-1H-吡唑-5-醇 (2.37g) 置于圆底烧瓶中, 并且向其加入己醛 (50mL)。将所得的溶液在回流下于 150℃ 下加热 12 小时, 通过在减压下蒸馏来去除溶剂, 并且将所得的红棕色固体在乙醇中重结晶以得到 76% 收率的靶化合物。

[0249] ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 8.26–7.80 (3H, m), 7.43–7.03 (6H, m), 6.18 (1H, br s), 2.01 (2H, m), 1.34–1.25 (6H, m), 0.97 (3H, t, $J=7.6\text{Hz}$)。

[0250] 实施例 12 : 3-(4-甲氧基苯基氨基)-1H-吡唑-5-醇的合成

[0251]



[式 1-12]

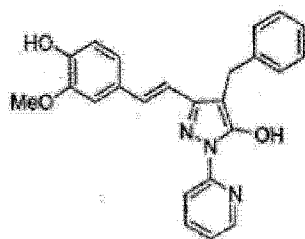
[0252] 将 3-氨基-5-羟基吡唑 (9.91g, 100mmol)、对茴香醚 (15.40g, 125mmol) 和乙酸 (200mL) 置于圆底烧瓶中, 并且在回流下于 140℃ 下加热 4 小时。通过在减压下蒸馏来去除溶剂, 并且向其加入冰水 (70mL)。将所得的固体过滤并在乙醇中重结晶以得到 23% 收率的靶化合物。

[0253] ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.23 (1H, s), 8.49 (1H, s), 7.40 (2H, d, $J=9.0\text{Hz}$), 6.82 (2H, d, $J=9.0\text{Hz}$), 3.67 (3H, s), 3.31 (1H, s);

[0254] EIMS (70eV) m/z (相对强度) 205 (M^+ , 100), 190 (53), 174 (42), 148 (50), 121 (50), 104 (6), 92 (9), 77 (15)。

[0255] 实施例 13 : 1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡唑-5-醇的合成

[0256]



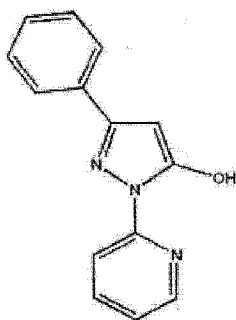
[式 1-13]

[0257] 将 2-苄基-3-氧代-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-丙酸乙酯 (3.55g, 10mmol) 和乙酸 (10mL) 置于圆底烧瓶中, 并且在 0℃ 下缓慢地滴加入用乙酸 (3mL) 稀释的 2-胍基吡啶 (1.1g, 10.1mmol)。将所得的溶液在回流下于 100℃ 下加热 2 天。通过在减压下蒸馏来去除溶剂, 并且通过柱色谱 (展开溶剂: 己烷 / 乙酸乙酯 (EtOAc)=15/1) 纯化残余物以得到 1-(吡啶-2-基)-3-[(3-甲氧基-4-羟基苯基)-E-乙烯基]-4-苄基-1H-吡唑-5-醇 (1.32g)。

[0258] ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 8.26 (1H, m), 7.98 (1H, m), 7.83 (1H, m), 7.37-7.13 (8H, m), 7.11 (1H, d, $J=12.1\text{Hz}$), 6.91 (1H, m), 6.81 (1H, d, $J=12.0\text{Hz}$), 3.93 (2H, s), 3.90 (3H, s)。

[0259] 比较例 1: 3-苄基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-醇的合成

[0260]



[式 5]

[0261] 通过韩国专利号 KR0942382 公开的方法合成 3-苄基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-醇。

[0262] 将苯甲酰基乙酸乙酯 (1 当量) 和乙醇 (4mL) 置于圆底烧瓶中, 并且在 0℃ 下缓慢地滴加入用乙醇 (3mL) 稀释的 2-胍基吡啶 (1.1 当量)。将所得的溶液在回流下加热 20 分钟。通过在减压下蒸馏去除溶剂, 将所得的固体用己烷和乙酸乙酯洗涤并真空干燥以得到 87% 收率的靶化合物。

[0263] 实验例 1: 确定化合物对分化为破骨细胞的抑制效应

[0264] 从 4-5 周龄的雄性小鼠 (C57BL/6J) 收获骨髓细胞。具体地, 将小鼠断颈处死, 在用剪刀去除骨周围粘附的肌肉的同时提取股骨和胫骨并浸泡于磷酸缓冲盐水 (PBS) 中。将装有 α -极限必需培养基 (α -MEM) 的 1mL 注射器推入股骨和胫骨的一端, 然后由此收获骨髓细胞。

[0265] 培养骨髓细胞以获得巨噬细胞。具体地, 将获得的骨髓细胞置于 50mL 管中, 并且以 1500rpm 离心 5 分钟。然后, 去除上清, 加入 Gey's 溶液与 PBS 的 3:1 混合物, 并且在室温下维持约 2-3 分钟。在另一次离心 (1500rpm, 5 分钟) 之后, 去除上清, 加入 α -MEM, 然后搅拌, 然后将细胞在 10cm 细胞培养皿中于 37℃ 下培养 24 小时。在第三次离心 (1500rpm, 5 分钟) 之后, 去除上清, 加入培养基和巨噬细胞分化因子 rhM-CSF (30ng/mL), 然后将细胞在 10cm 细胞培养皿中于 37℃ 下培养 3 天。3 天之后, 刮取粘附至皿的巨噬细胞并收集于管中, 然后离心 (1500rpm, 5 分钟)。

[0266] 培养巨噬细胞以诱导细胞分化为破骨细胞。具体地, 将获得的巨噬细胞以 2×10^4 个细胞 / 孔的密度等分至 48-孔细胞培养皿中, 并且培养 24 小时。将 rhM-CSF (30ng/mL) 和破骨细胞分化因子 RANKL (200ng/mL) 加入培养皿中并培养以诱导细胞分化为破骨细胞。这时, 将实施例 2、3、7、8、9 和 11 中合成的每种化合物以各种浓度加入培养基中, 并且在对照

组中以与上述实施例的化合物相同的浓度加入比较例 1 的化合物用于比较。

[0267] 24 小时之后, 去除 48-孔培养皿中的培养基并用新鲜培养基代替, 并且在 37℃ 下培养, 每两天更换培养基。

[0268] 从将本发明的实施例中合成的每种化合物加入培养基的那天开始进一步培养 5 天之后, 将加入本发明的实施例中合成的每种化合物的培养基和对照组的培养基在 3.7% 福尔马林溶液中固定, 用抗酒石酸酸性磷酸酶 (TRAP) 染色, 并且在光学显微镜下检查。具体地, TRAP 染色进行如下: 将细胞在 3.7% 甲醛中于室温下固定 15 分钟并用蒸馏水洗涤两次, 然后以 200 μ L/孔的剂量加入染色溶液 (通过以 Acid Phosphatase, Leukocyte (TRAP) Kit™ (Sigma Co.) 所附的说明书中描述的比例混合醋酸盐、Fast Gargnet GBC 碱、萘酚 AS-B1 磷酸、氯化钠和酒石酸盐来制备), 之后在 37℃ 下反应 20 分钟。

[0269] 实验结果在图 1-6 中示出。如图 1-6 所示, 可以看到在加入比较例 1 的化合物的对照组中, 更多巨噬细胞分化为破骨细胞, 而加入本发明的实施例中合成的化合物的培养基中的巨噬细胞并未表现出正常地分化为破骨细胞, 或者表现出较少分化为破骨细胞。由此可见本发明的化合物可以抑制巨噬细胞分化为破骨细胞。

[0270] 此外, 可见当本发明的实施例中合成的化合物的浓度增加至 0.1 μ M 或 0.11 μ M、0.33 μ M、1 μ M 和 3 μ M 时, 分化为破骨细胞受到抑制。由此可见本发明的化合物可以以剂量依赖性方式抑制巨噬细胞分化为破骨细胞。

[0271] 实验例 2: 确定化合物对炎症诱导因子导致的破骨细胞活性的抑制效应

[0272] 为了检测化合物对骨流失小鼠模型中脂多糖 (LPS) 诱导的破骨细胞活性的抑制效应, 将 6 周龄的 C57BL/6J 雄性小鼠分为对照组 1-3 和实验组 1-3, 每组包含 3 只小鼠。

[0273] 将每只小鼠麻醉, 将颅骨中间的皮肤切开约 1cm 并用胶原海绵 (0.5mmx0.5mm) 填充。

[0274] 将 PBS 和 DMSO 分别注射入对照组 1 和 2 的海绵, 并且将 LPS (12.5mg/Kg) 注射入对照组 3 的海绵。将 LPS (12.5mg/Kg) 和实施例 4 的化合物 (20mg/Kg) 注射入实验组 1 的海绵, 将 LPS (12.5mg/Kg) 和实施例 5 的化合物 (20mg/Kg) 注射入实验组 2 的海绵, 并且将 LPS (12.5mg/Kg) 和实施例 6 的化合物 (20mg/Kg) 注射入实验组 3 的海绵。

[0275] 然后, 将切口的皮肤缝合, 并且 5 天后从小鼠取出颅骨。将取出的颅骨置于加入 4% 甲醛的 PBS 中并固定 24 小时。然后, 将颅骨在加入 0.5MEDTA 的 PBS 中脱钙并进行 TRAP 染色以在显微镜下观察颅骨的表面, 结果在图 7 中示出。

[0276] TRAP 染色这样进行: 将颅骨置于剂量为 200 μ L/孔的染色溶液中 (所述染色溶液通过以 Acid Phosphatase, Leukocyte (TRAP) Kit™ (Sigma Co.) 所附的说明书中描述的比例混合醋酸盐、Fast Gargnet GBC 碱、萘酚 AS-B1 磷酸、氯化钠和酒石酸盐来制备), 然后在 37℃ 下反应 20 分钟。

[0277] 此外, 将脱钙的颅骨置于石蜡中以形成块, 利用切片机以 0.4 μ m 的厚度切块并在去除石蜡后水合。将切块用苏木精和 TRAP 染色并在显微镜下观察, 结果在图 8 中示出。

[0278] 如从图 7 和 8 可以看到, 实验组 1-3 中的 TRAP 染色程度低于单独用 LPS 处理的对照组 3 中的 TRAP 染色程度。由此可见本发明的化合物可以通过减少 LPS 导致的炎症的程度来抑制破骨细胞的形成, 从而有效地抑制骨破坏。

[0279] 实验例 3: 确定化合物对卵巢切除术导致的骨流失的抑制效应

[0280] 为了检测化合物对卵巢切除的小鼠模型中卵巢切除术诱导的骨流失的抑制效应,将 8 周龄的雌性小鼠分为对照组 1 和 2 以及实验组 1,每组包含 5 只小鼠。

[0281] 通过剖腹术使对照组 1 和实验组 1 中的小鼠接受卵巢切除术,使对照组 2 中的小鼠以与对照组 1 和实验组 1 相同的方式接受剖腹术但不接受卵巢切除术,用作假手术对照。

[0282] 从手术恢复 7 天后将实施例 13 的化合物以 2 天的间隔向实验组 1 的小鼠腹腔内给药 3 周。证实切除小鼠的卵巢之后,从实验组 1 以及对照组 1 和 2 的小鼠收获两根胫骨,利用 μ -CT (Skyscan1076, SKYS CAN N.V.) 和 V- 工作程序 (Cybermed) 将其横截面连续成像并重建为 3 维图像。然后,利用图像分析程序定量骨体积、骨密度和骨小梁的数量,并且结果在图 9-11 中示出。

[0283] 在实验结果和利用 ANOVA (变量的单路分析) 进行的统计学分析中,如果利用 $p < 0.1 (*)$ 或 $p < 0.15 (**)$ 水平或更低的水平验证 Newman-Kulseu (Newman-Keuls 检验) 显著性得到证实,则进行显著性检验。

[0284] 在图 9 中,骨体积表示为收获的胫骨的骨体积 (BV) 比总骨体积 (TV) 的百分比 (BV/TV%),并且在图 11 中,骨小梁的数量表示为每 1 毫米 (mm) 的骨小梁数量。

[0285] 此外,将收获的胫骨置于加入甲醛的 PBS 中并固定 24 小时,然后在加入 0.5M EDTA 的 PBS 中脱钙。然后,将胫骨置于石蜡中以形成块,利用切片机以 $0.4 \mu\text{m}$ 的厚度切块并在去除石蜡后水合。将切块用苏木精和 TRAP 染色并在显微镜下观察,结果在图 12 中示出。此外,在显微镜下利用 Osteomeasure 软件程序 (Osteometrics Inc., USA) 分析破骨细胞的数量,并且结果在图 13 中示出,其中破骨细胞的定量表示为每骨表面 1 毫米 (mm) 的破骨细胞数量。

[0286] 在实验结果和利用 ANOVA (变量的单路分析) 进行的统计学分析中,如果利用 $p < 0.1 (*)$ 水平或更低的水平验证 Newman-Kulseu (Newman-Keuls 检验) 显著性得到证实,则进行显著性检验。

[0287] 如从图 9-11 可以看到,在注射实施例 13 的化合物的实验组 1 的情况下,胫骨骨体积的减少少于进行相同卵巢切除术的对照组 1 的胫骨骨体积减少,并且其表现出较高的骨密度和较高的骨小梁数量。由此可见本发明的化合物可以通过抑制骨流失来有效地治疗骨质疏松。

[0288] 此外,如从图 12 可以看到,实验组 1 中用 TRAP 染色的程度低于对照组 1,导致较少形成破骨细胞。而且,如从图 13 可以看到,在实验组 1 中,破骨细胞的数量与未进行卵巢切除术的对照组 2 相似,并且与进行卵巢切除术的对照组 1 相比,破骨细胞的形成被抑制约 60%。由此可见本发明的化合物可以通过抑制破骨细胞的形成来有效地预防和治疗骨质疏松。

[0289] 工业应用

[0290] 本发明的化合物具有极佳的对活性氧物质的产生的抑制活性,并且可以用于治疗或预防骨质疏松而没有常规治疗剂的任何特别的副作用。

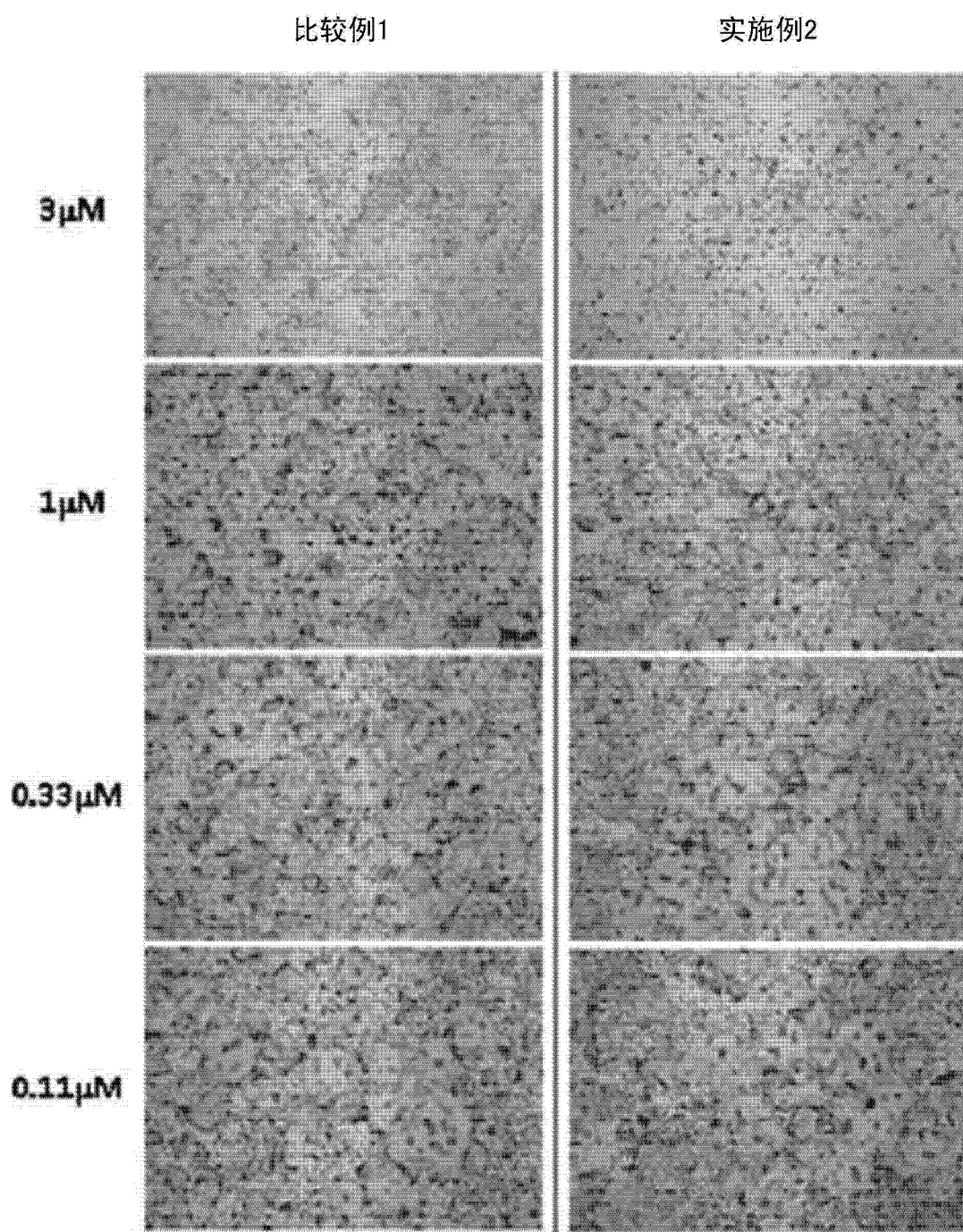


图 1

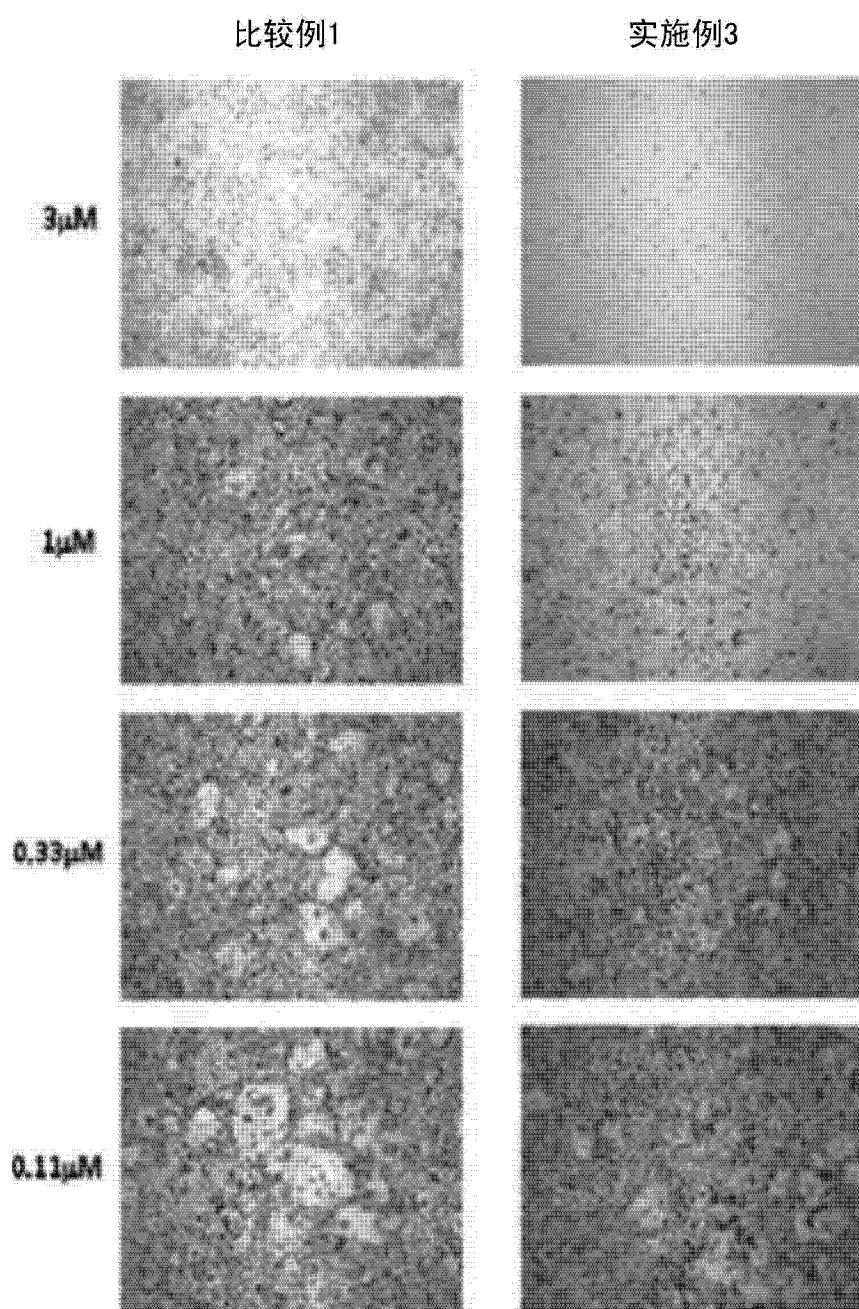


图 2

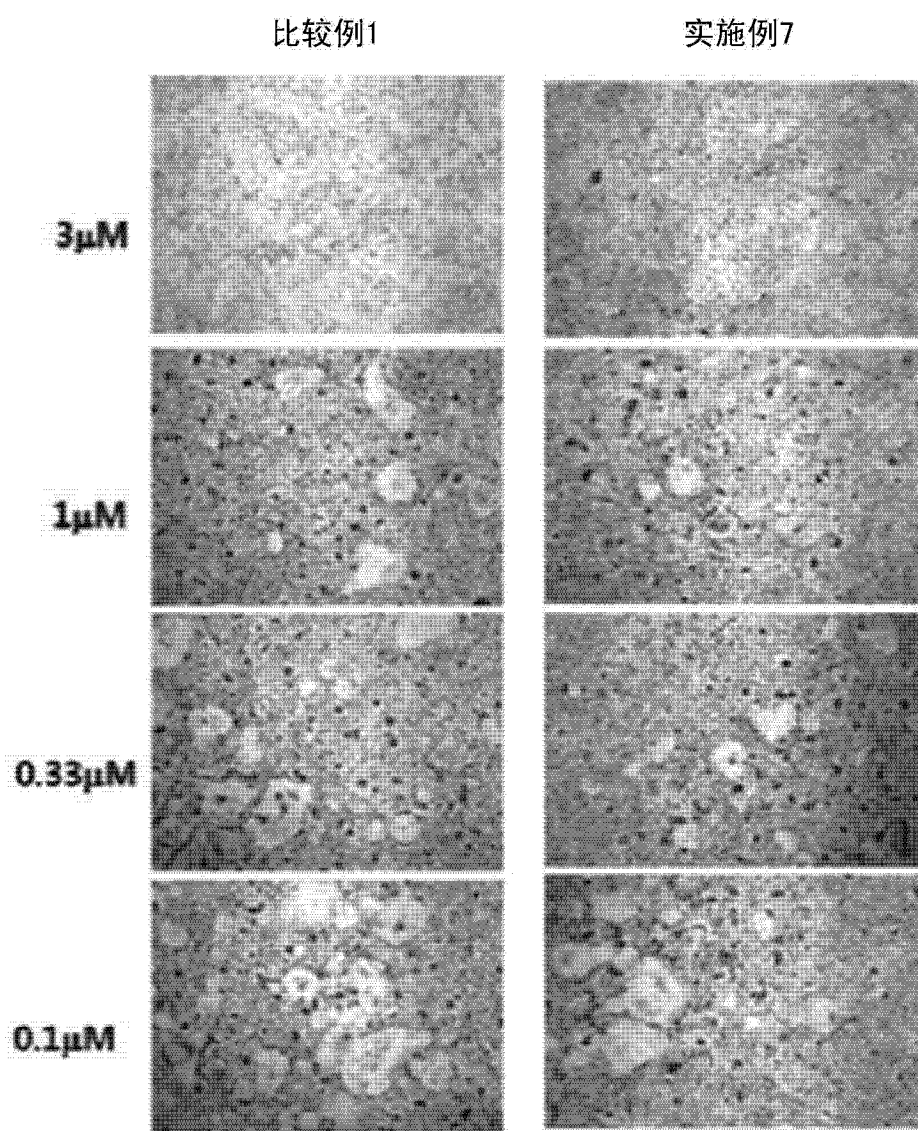


图 3

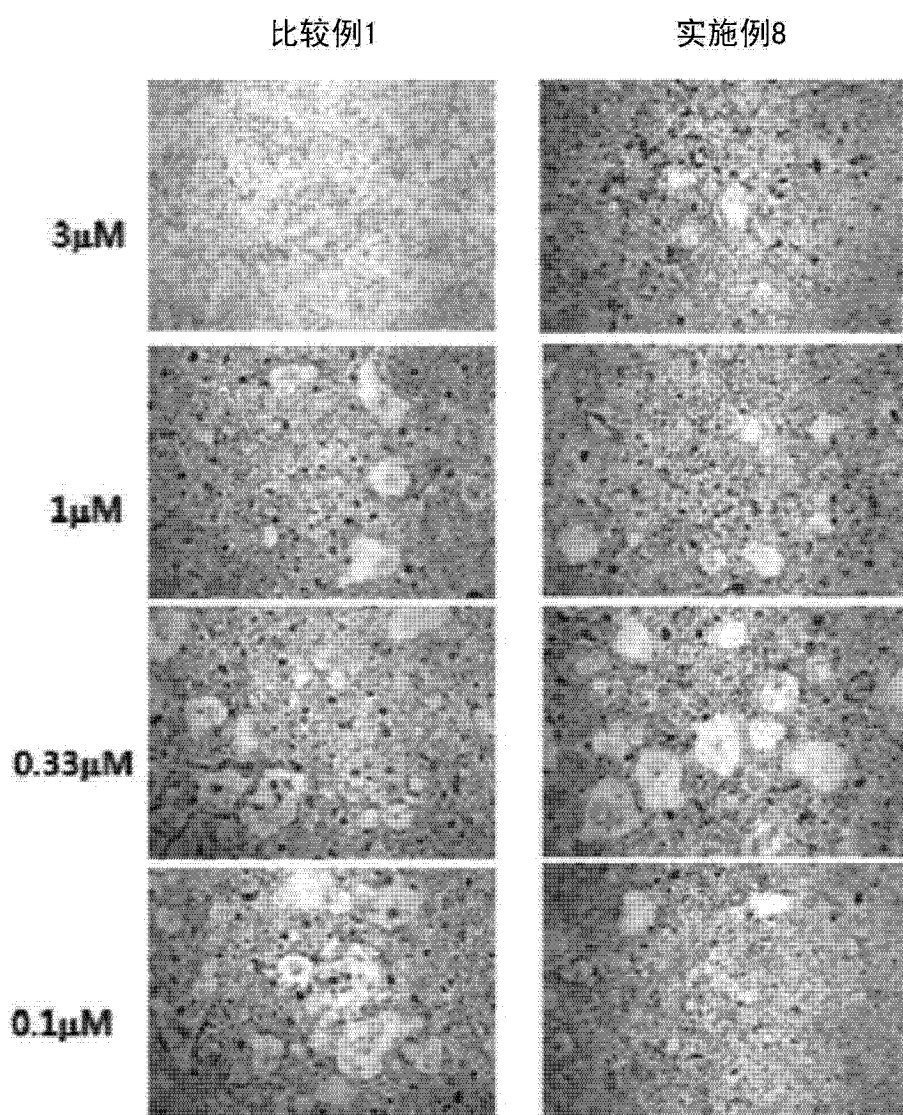


图 4

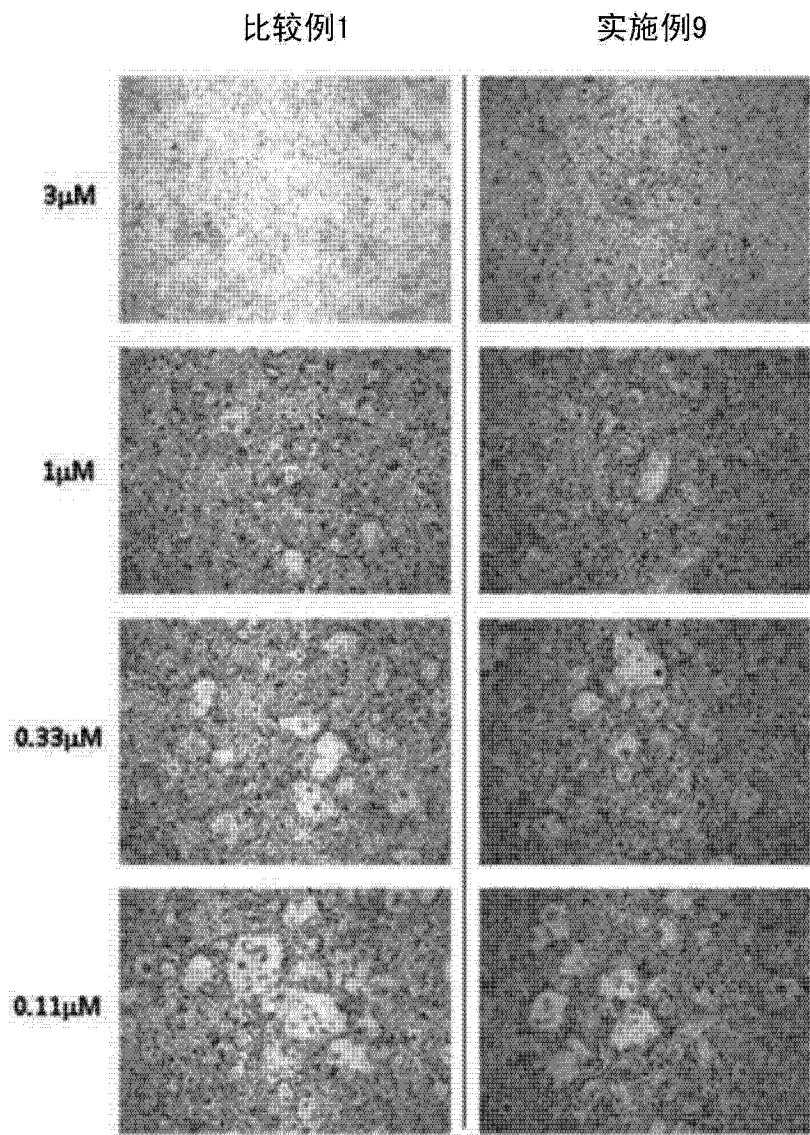


图 5

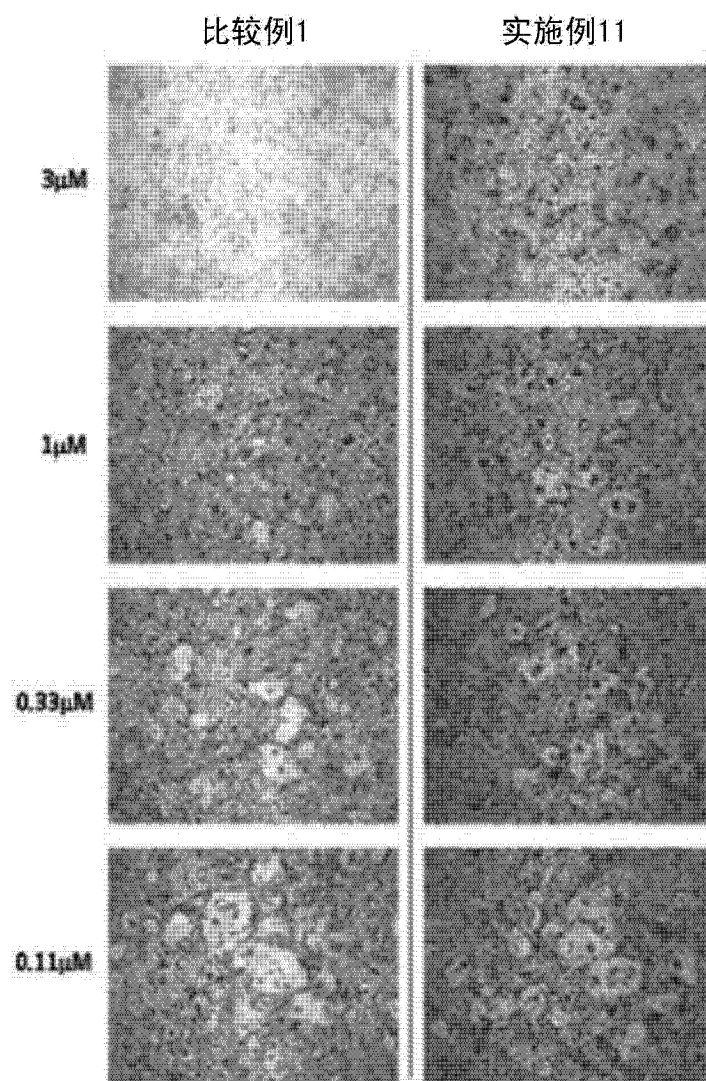


图 6

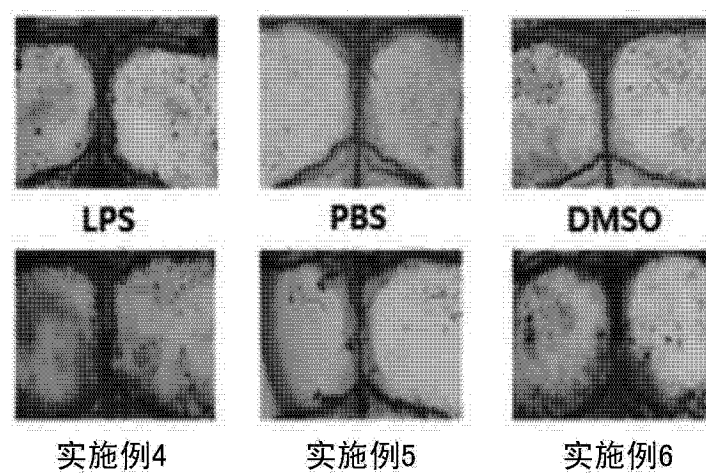


图 7

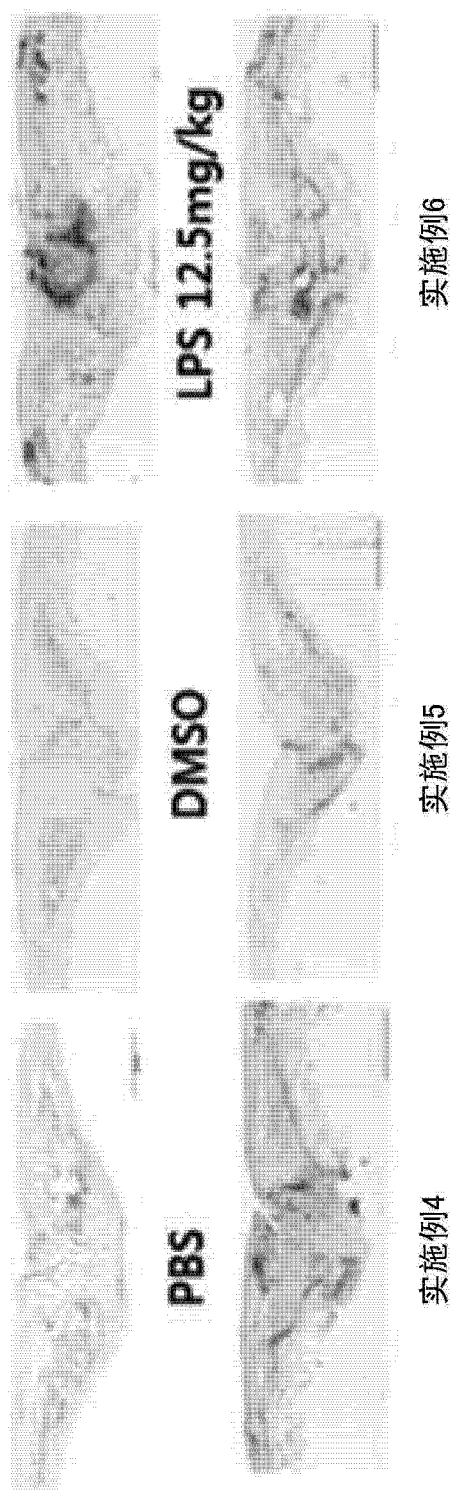


图 8

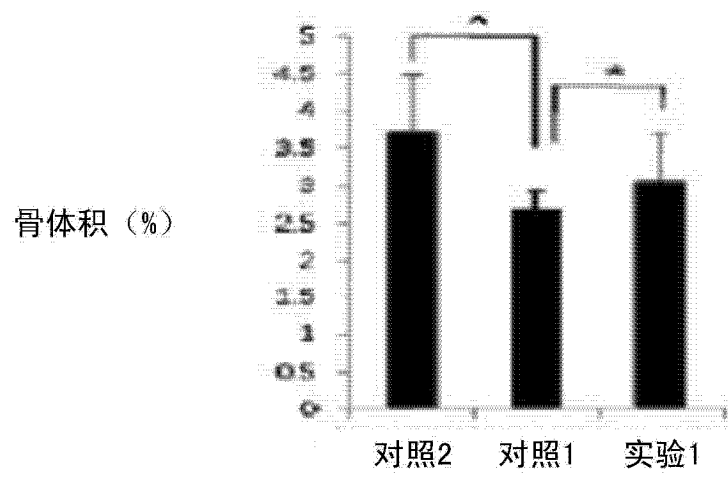


图 9

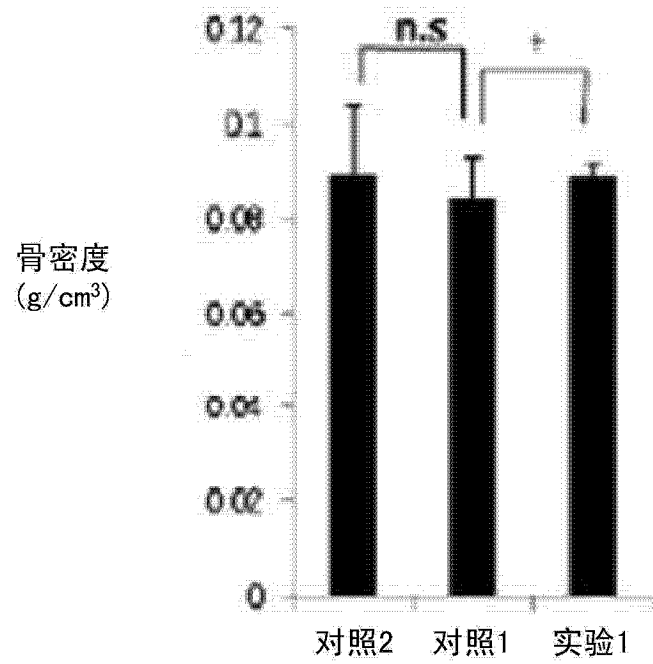


图 10

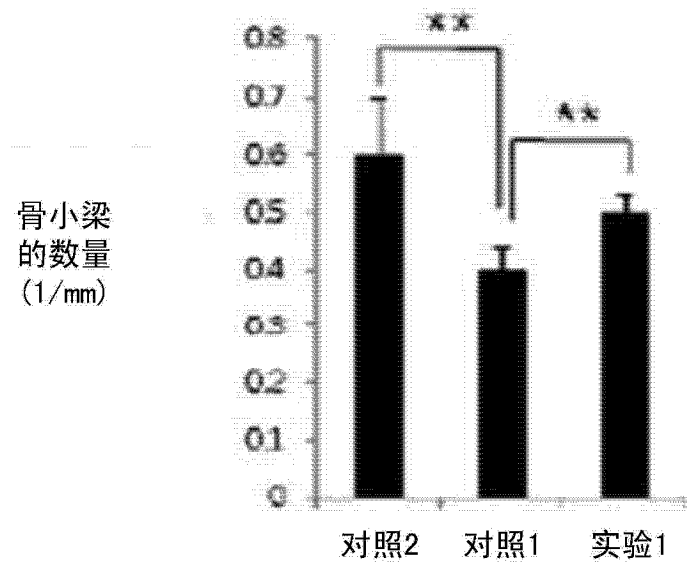


图 11

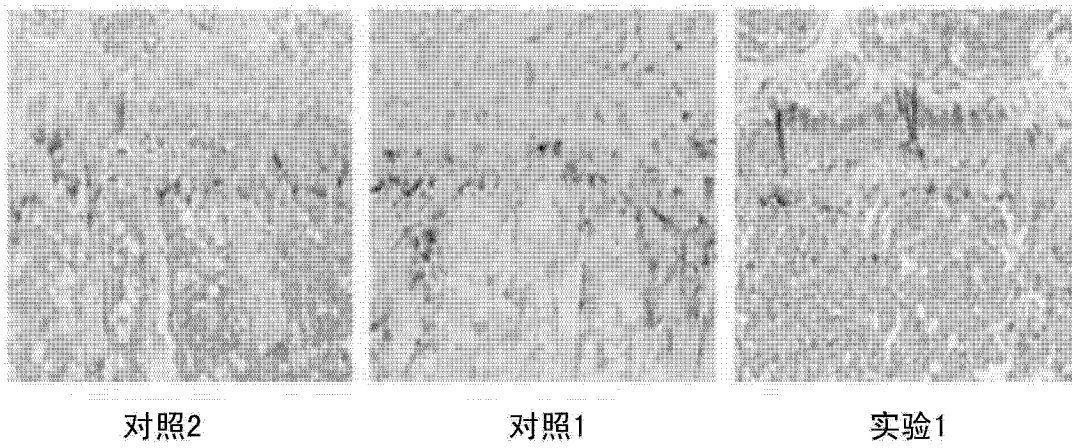


图 12

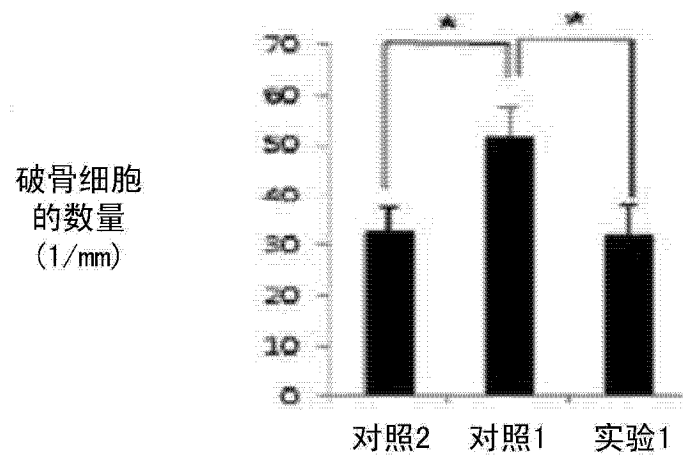


图 13