



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 116283648 B

(45) 授权公告日 2024. 03. 19

(21) 申请号 202310207274.7

C07C 231/02 (2006.01)

(22) 申请日 2023.03.07

C07C 231/12 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

A61P 3/10 (2006.01)

申请公布号 CN 116283648 A

A61P 3/04 (2006.01)

(43) 申请公布日 2023.06.23

(56) 对比文件

(73) 专利权人 中国医学科学院药用植物研究所

US 5294643 A ,1994.03.15

地址 100193 北京市海淀区马连洼北路151号

US 5084466 A,1992.01.28

审查员 王化邦

(72) 发明人 田瑜 姜保平 尚海

(74) 专利代理机构 北京精金石知识产权代理有限公司 11470

专利代理师 宋秀兰

(51) Int. Cl.

C07C 235/34 (2006.01)

C07C 233/11 (2006.01)

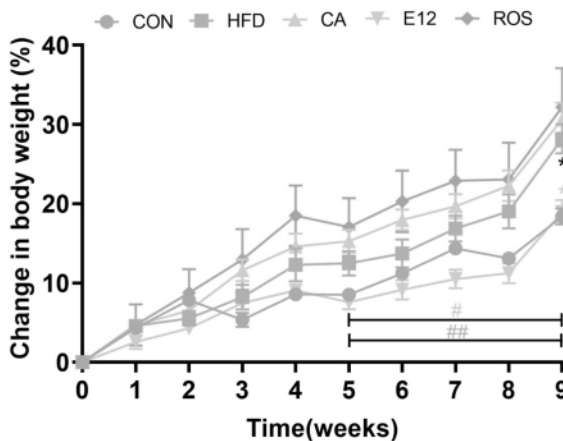
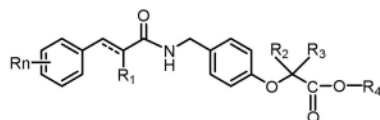
权利要求书2页 说明书13页 附图4页

(54) 发明名称

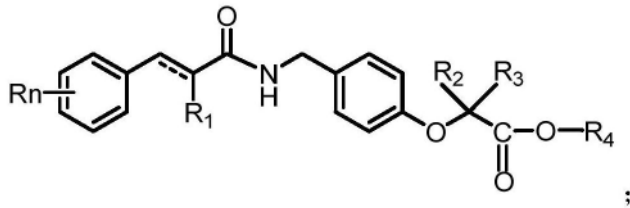
一种取代的苯丙烯酰基或苯丙酰基苯乙胺类化合物及其制备方法和应用

(57) 摘要

本发明涉及有机合成技术领域,具体涉及一种取代的苯丙烯酰基或苯丙酰基苯乙胺类化合物及其制备方法和应用,所述化合物结构如下,其中,R_n表示取代基R有n个,n=1~4,R选自氢、羟基、卤素、三氟甲基、甲氧基、C1~C5烷基中的至少一种;“=”表示为双键或者单键;R₁选自H或C1~C5烷基;R₂和R₃各自独立地选自C1~C3烷基;R₄选自H或C1~C10烷基,来源易得,合成路线简单,同时在降低血糖和改善肥胖方面具有优异的效果。



1. 一种取代的苯丙烯酰基或苯丙酰基苯乙胺类化合物,其结构如下:



其中,Rn表示取代基R有n个,n=1~4,R选自氢、羟基、卤素、三氟甲基、甲氧基、C1~C5烷基中的至少一种;“=”表示为双键或者单键;R₁选自H或C1~C5烷基;R₂和R₃各自独立地选自C1~C3烷基;R₄选自H或C1~C10烷基。

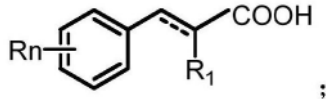
2. 根据权利要求1所述的化合物,其特征在于,n=1或2,R选自氢、羟基、卤素、三氟甲基、甲氧基和甲基中的至少一种;R₁选自H或甲基;;R₂和R₃均为甲基;R₄选自H或乙基。

3. 一种权利要求1或2所述的化合物的制备方法,包括如下步骤:

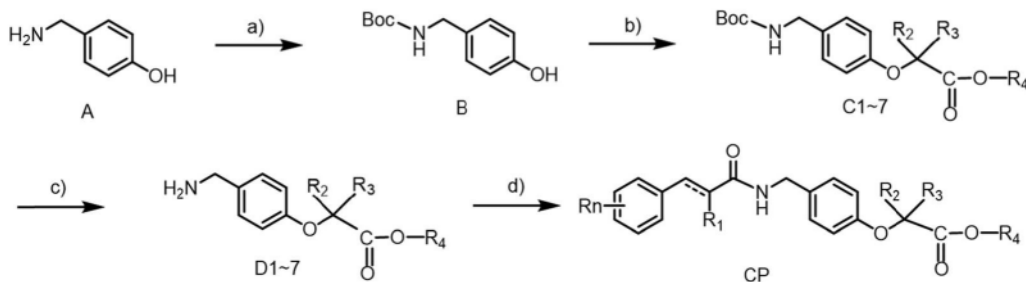
- 以化合物A对羟基苯乙胺为起始原料,与(Boc)₂O反应,得到中间体B;
- 中间体B与 α 取代的溴代羧酸酯反应,得到中间体C;
- 中间体C在酸性条件下脱Boc,得到中间体D;
- 中间体D与化合物P反应,得到化合物CP,即为取代的苯丙烯酰基或苯丙酰基苯乙胺类化合物;

所述 α 取代的溴代羧酸酯选自 α -溴-2-甲基丙酸乙酯、 α -溴丙酸乙酯、 α -溴戊酸乙酯、 α -溴异戊酸乙酯、 α -溴乙酸乙酯、 α -溴丁酸乙酯和 α -溴苯乙酸乙酯中的至少一种;

所述化合物P的结构如下:



反应路线如下:



4. 根据权利要求3所述的制备方法,其特征在于,步骤a)中,还加入1-5当量的碳酸氢钠、碳酸氢钾、三乙胺、4-二甲氨基吡啶、N,N-二异丙基乙胺中的至少一种进行反应。

5. 根据权利要求3所述的制备方法,其特征在于,步骤b)中,在碱性条件下进行反应。

6. 根据权利要求5所述的制备方法,其特征在于,步骤b)中,由碳酸钾、碳酸钠、碳酸铯、氢氧化钾、氢氧化钠中的至少一种提供碱性条件;碱与中间体B的摩尔比为1-5:1。

7. 根据权利要求3所述的制备方法,其特征在于,步骤b)中, α 取代的溴代羧酸酯与中间体B的摩尔比为1-3:1。

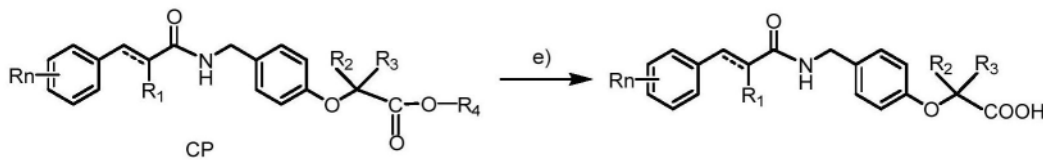
8. 根据权利要求3所述的制备方法,其特征在于,步骤c)中,由三氟乙酸、三氟化硼乙

醚、氯化锌中的至少一种提供酸性条件,水解实现脱Boc。

9. 根据权利要求3所述的制备方法,其特征在于,步骤d)中,还加入BOP、BOP-Cl、HOBt、HATU、HBTU、TBTU、TATU、EDCI、DMAP和N,N-二异丙基乙胺中的至少两种,在溶剂中进行反应。

10. 根据权利要求9所述的制备方法,其特征在于,步骤d)中,所述溶剂包括DMF和DCM中的至少一种。

11. 根据权利要求3所述的制备方法,其特征在于,当R₄不为H时,还包括步骤e):将化合物CP在碱性条件下水解,得到相应的羧酸,反应路线如下:



12. 权利要求1-2任一所述的化合物在制备降低血糖和/或改善肥胖的药物中的应用。

13. 权利要求1-2任一所述的化合物在制备治疗肥胖和/或 II 型糖尿病的药物中的应用。

14. 根据权利要求13所述的应用,所述肥胖和/或 II 型糖尿病是由高脂饮食诱发的。

一种取代的苯丙烯酰基或苯丙酰基苯乙胺类化合物及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及有机合成技术领域,具体涉及一种取代的苯丙烯酰基或苯丙酰基苯乙胺类化合物及其制备方法和应用。

背景技术

[0002] 3,4-二羟基苯丙烯酸又名咖啡酸,是一种天然存在的酚酸类化合物,广泛存在于水果、谷物、蔬菜等植物界中,近年来逐步开始应用在食品、医药及化妆品等领域中。作为一种天然抗氧化剂,3,4-二羟基苯丙烯酸具有很多生物活性,如心血管保护作用、抗菌、抗病毒、抗肿瘤等活性。3,4-二羟基苯丙烯酸的许多天然或人工合成的衍生物也具有与咖啡酸类似的药理作用,如提自蜂胶的咖啡酸苯乙酯(CAPE),为含有3,4-二羟基苯丙烯酰基片段的天然产物,近来研究发现其具有与3,4-二羟基苯丙烯酸类似甚至更强的抗炎、抗氧化、免疫调节等生物活性。

[0003] 近年来在调节血糖、血脂代谢紊乱疾病的预防及治疗中,传统中草药的应用份额越来越重,研究学者们对中草药活性成分的研究也越来越深入。但是作为天然产物来开发药物,其活性相对有限,保留其生物活性片段,并在其结构基础上进行结构改造,有利于发现活性更强的化合物。苯氧乙酸类调脂药用于调节脂代谢紊乱,对于改善肥胖、降低体重具有非常好的疗效,其结构中的苯氧乙酸或苯氧乙酸酯是该类化合物的活性必需基团。而临床常用的降糖药物如噻唑烷二酮类降糖药罗格列酮等,容易出现体重增加等副作用。

[0004] 因此,开发一种能解决上述技术问题的化合物是非常必要的。

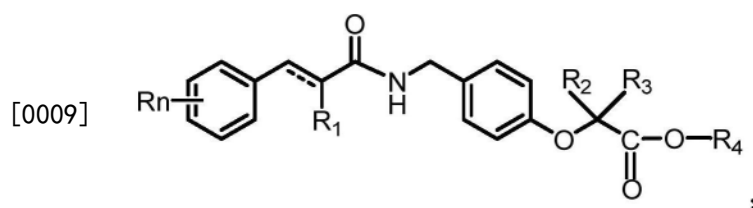
发明内容

[0005] 本发明的目的是克服现有技术的不足而提供一种取代的苯丙烯酰基或苯丙酰基苯乙胺类物质,来源易得,合成路线简单,同时在降低血糖和改善肥胖方面具有优异的效果,无副作用。

[0006] 本发明通过合成制备一种取代的苯丙烯酰基或苯丙酰基苯乙胺类物质,进而进行降糖生物活性研究。对于任何一种天然化合物,单纯依靠天然植物资源,均不利于可持续发展,扩大其化学改造以及合成途径势在必行,同时改善了天然产物功效弱,以及临床降糖药物副作用大等问题。

[0007] 本发明是通过以下技术方案予以实现的:

[0008] 一种取代的苯丙烯酰基或苯丙酰基苯乙胺类化合物,其结构如下:



[0010] 其中, R_n 表示取代基R有n个, $n=1\sim 4$, R选自氢、羟基、卤素、三氟甲基、甲氧基、C1~C5烷基中的至少一种; “ \equiv ”表示为双键或者单键均可; R_1 选自H或C1~C5烷基; R_2 和 R_3 各自独立地选自C1~C3烷基; R_4 选自H或C1~C10烷基。

[0011] 当 R_n 表示2个以上的取代基R时, 不同位置取代基R的类型可以相同, 也可以不同。

[0012] 优选地, $n=1$ 或2。

[0013] 优选地, R选自氢、羟基、卤素、三氟甲基、甲氧基和甲基中的至少一种。

[0014] 优选地, R_1 选自H或甲基。

[0015] 优选地, R_2 和 R_3 均为甲基。

[0016] 优选地, R_4 选自H或乙基。

[0017] 本发明还涉及上述化合物的制备方法, 包括如下步骤:

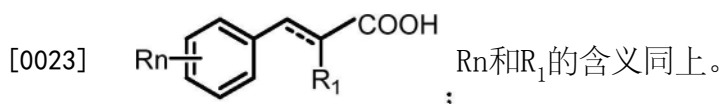
[0018] a) 以化合物A对羟基苯乙胺为起始原料, 与 $(\text{Boc})_2\text{O}$ 反应, 得到中间体B;

[0019] b) 中间体B与 α 取代的溴代羧酸酯反应, 得到中间体C;

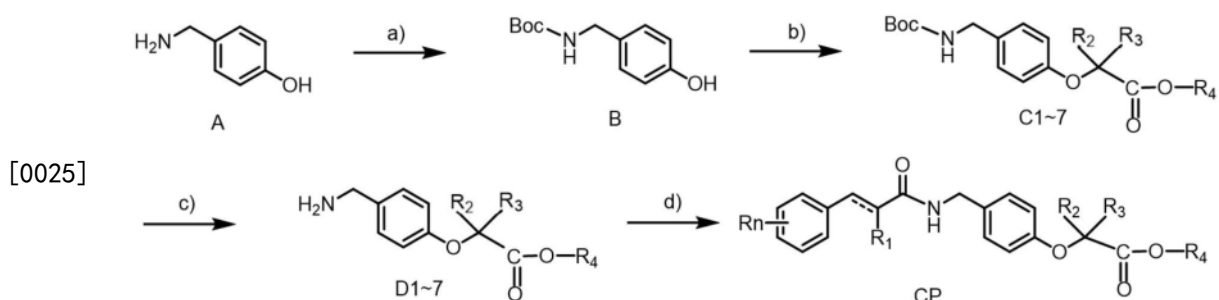
[0020] c) 中间体C在酸性条件下脱Boc, 得到中间体D;

[0021] d) 中间体D与化合物P反应, 得到化合物CP, 即为取代的苯丙烯酰基或苯丙酰基苯乙胺类化合物;

[0022] 所述化合物P的结构如下:



[0024] 反应路线如下:



[0026] 优选地, 步骤a) 中, 还加入碳酸氢钠、碳酸氢钾、三乙胺、4-二甲氨基吡啶、N,N-二异丙基乙胺中的至少一种进行反应。

[0027] 更优选地, 碳酸氢钠、碳酸氢钾、三乙胺、4-二甲氨基吡啶、N,N-二异丙基乙胺中的至少一种与化合物A的摩尔比为1-5:1。

[0028] 优选地, 步骤b) 中, 在碱性条件下进行反应。由有机碱或无机碱提供碱性条件均可。

[0029] 更优选地, 步骤b) 中, 由碳酸钾、碳酸钠、碳酸铯、氢氧化钾、氢氧化钠中的至少一种提供碱性条件。

[0030] 更优选地, 步骤b) 中, 提供碱性条件的碱与中间体B的摩尔比为1~5:1。

[0031] 优选地, 步骤b) 中, α 取代的溴代羧酸酯包括1~10个长链或支链碳取代的溴代羧酸酯。

[0032] 更优选地, α 取代的溴代羧酸酯包括 α -溴-2-甲基丙酸乙酯、 α -溴丙酸乙酯、 α -溴戊

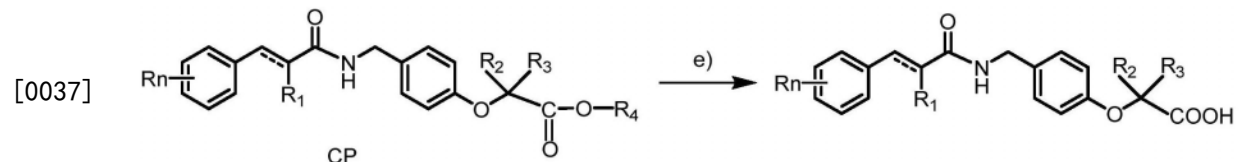
酸乙酯、 α -溴异戊酸乙酯、 α -溴乙酸乙酯、 α -溴丁酸乙酯和 α -溴苯乙酸乙酯中的至少一种。

[0033] 优选地,步骤c)中,由三氟乙酸、三氟化硼乙醚、氯化锌中的至少一种提供酸性条件,水解实现脱Boc。

[0034] 优选地,步骤d)中,还加入BOP、BOP-Cl、HOBt、HATU、HBTU、TBTU、TATU、EDCI、DMAP和N,N-二异丙基乙胺中的至少两种,在溶剂中进行反应。

[0035] 更优选地,步骤d)中,所述溶剂包括DMF和DCM中的至少一种。

[0036] 优选地,当 R_4 不为H时,还包括步骤e):将化合物CP在碱性条件下水解,得到相应的羧酸,反应路线如下:



[0038] 本发明选定对羟基苯乙胺为起始原料,经过氨基保护,醚化反应,脱掉氨基保护基,成酰胺,以及水解合成系列的苯丙烯酰基或苯丙酰基苯乙胺类物质。

[0039] 本发明还涉及上述的化合物或上述的制备方法制备得到的化合物在制备降低血糖和/或改善肥胖的药物中的应用。

[0040] 本发明还涉及上述的化合物或上述的制备方法制备得到的化合物在制备治疗肥胖和/或II型糖尿病的药物中的应用。

[0041] 优选地,所述肥胖和/或II型糖尿病是由高脂饮食诱发的。

[0042] 发明人在前期研究过程中发现,3,4-二羟基苯丙烯酸酯类衍生物具有很好的调节血脂血糖等活性,且与原型天然产物3,4-二羟基苯丙烯酸活性相当,说明3,4-二羟基苯丙烯酰基片段具有一定的调节糖脂代谢等活性。

[0043] 本发明选取植物中广泛存在的天然产物绿原酸或咖啡酸活性片段(其结构中包含3,4-二羟基苯丙烯酰基片段),以3,4-二羟基苯丙烯酰基片段为基础,结合贝特类调脂药活性片段苯氧乙酸或苯氧乙酸酯,通过药物设计的拼合原理及最小结构修饰原则,运用生物电子等排和前药原理,针对不健康饮食诱发血糖和体重增加而设计合成了一系列苯丙烯酰基或苯丙酰基苯乙胺类化合物CP1~CP32,包括苯环上的羟基被氟、氯、溴取代的化合物,以及含有不同取代基的苯氧乙酸酯片段的化合物,最终发现一系列具有研究价值的调节糖脂活性良好的化合物。

[0044] 该类化合物的抗糖尿病作用已在胰岛素抵抗细胞模型和高脂饮食诱导的2型糖尿病动物模型(由于靶组织的胰岛素抵抗而出现高血糖症和/或糖耐量降低)中有很好的提示,与噻唑烷二酮类降糖药物作用相当,持续使用1周便可有效地降低高脂饮食诱导的小鼠空腹血糖增加、改善糖耐量受损和胰岛素耐量的下降,增加胰岛素敏感性,减轻其高胰岛素血症,并可延缓高脂饮食小鼠糖尿病发展。在2-3个月的实验周期中本品在动物模型上降糖作用稳定。动物研究提示,与噻唑烷二酮类阳性药相比,本发明产品在降低血糖的同时,没有噻唑烷二酮类药物引起动物体重增加的副作用,反而能有效降低高脂饮食诱发的体重增加,对血脂增加和肝脏脂肪的积累有明显的改善作用,因此在高脂高糖饮食诱发的2型糖尿病和肥胖方面具有非常好的开发和应用前景。

[0045] 本发明的有益效果是:

[0046] 本发明以对羟基苯乙胺为起始原料,以贝特类调脂药活性片段苯氧乙酸为基础,结合实验室前期研究发现的3,4-二羟基肉桂酰基片段,通过药物设计的拼合原理及最小结构修饰原则,运用生物电子等排和前药原理,通过对苯环上的羟基用氟、氯、溴取代,以及含不同取代基的苯氧乙酸酯或羧酸片段,设计合成了一系列苯丙烯酰基或苯丙酰基苯乙胺类物质,合成方法简便,产物纯度高。与先导物咖啡酸比较而言,本发明提供的苯丙烯酰基或苯丙酰基苯乙胺类物质具有以下优点:1、来源易得,合成路线简便;2、具有相比于原型较好的生物活性和稳定性;3、结构全新;4、同时在降低血糖和改善肥胖方面具有优异的效果,无副作用。

附图说明

[0047] 图1为CP系列化合物改善胰岛素抵抗并促进糖吸收活性体外筛选结果。

[0048] 图2为CP11化合物对高脂饮食小鼠体重的影响。

[0049] 图3为CP11化合物对高脂饮食小鼠葡萄糖和胰岛素耐量的影响。

[0050] 图4为CP11化合物对高脂饮食诱发高血糖小鼠糖化血清蛋白和胰岛素水平的影响。

具体实施方式

[0051] 下面结合具体实施例来进一步描述本发明,本发明的优点和特点将会随着描述而更为清楚。但这些实施例仅是范例性的,并不对本发明的范围构成任何限制。本领域技术人员应该理解的是,在不偏离本发明的精神和范围下可以对本发明技术方案的细节和形式进行修改或替换,但这些修改和替换均落入本发明的保护范围内。

[0052] 实施例1

[0053] 1、苯丙烯酰基或苯丙酰基苯乙胺类物质的制备

[0054] 1) 中间体B的合成

[0055] 于圆底烧瓶中称取48.0g (0.39mol) 对羟基苯乙胺A,加入甲醇搅拌溶解,随后称取132.0g (1.57mol) 碳酸氢钠加入反应液中并充分搅拌。在氮气保护下,向反应液中缓慢加入98mL (Boc)₂O,并于室温下搅拌反应12h。反应结束后,抽滤除去碳酸氢钠固体,减压整除滤液,残余物通过硅胶柱色谱纯化,石油醚-乙酸乙酯(8:1)洗脱得到B中间体79g,黄色油状物,收率为91%。

[0056] 2) 中间体C的合成


[0057] 于圆底烧瓶中准确称取4.0g (18mmol) 中间体B,各种 α 取代的溴代羧酸乙酯(α -溴-2-甲基丙酸乙酯、 α -溴丙酸乙酯、 α -溴戊酸乙酯、 α -溴异戊酸乙酯、 α -溴乙酸乙酯、 α -溴丁酸乙酯、 α -溴苯乙酸乙酯)(22mmol),以及无水碳酸钾固体7.0g (54mmol),加入无水丙酮150mL搅拌均匀。于氮气保护下回流反应,直到TLC监测反应结束,展开剂为石油醚-乙酸乙酯(4:1),反应冷却至室温,抽滤不溶物,丙酮冲洗滤饼。滤液减压蒸除溶剂,残余物通过硅胶柱色谱纯化,石油醚-乙酸乙酯(10:1)洗脱分别得到7种无色油状物中间体C1~C7。3) 中间体D1~D7系列化合物的合成

[0058] 分别于圆底烧瓶中准确称取中间体C1~C7(15mmol),均加入200mL二氯甲烷溶解,于冰浴下缓慢加入三氟乙酸25mL(0.3mmol),加毕后于室温下搅拌反应1h至Boc保护脱掉。

蒸除溶剂,加入饱和碳酸钠水溶液,氯仿萃取,合并有机层,无水硫酸镁干燥,抽滤,滤液浓缩,残余物通过硅胶柱色谱纯化,石油醚-乙酸乙酯(2:1)洗脱分别得到7种无色油状物中间体D1~D7。

[0059] 4) 目标化合物CP1~CP32的合成

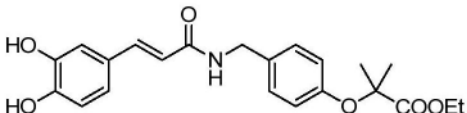
[0060] 于圆底烧瓶中准确称取10mmol化合物P,加入30mL无水DMF溶解,并滴加入DIEA 1.6mL(18mmol)充分搅拌。化合物P结构如下:

[0061]  , 其中,Rn表示取代基R有n个,n=1~3,R选自氢、羟基、卤素、三氟甲基、甲氧基、C1~C3烷基中的至少一种;“”表示为双键或者单键均可;R1选自H或C1~C3烷基。

[0062] 准确称取2.3g(10mmol)BOP,并溶解于无水二氯甲烷中,随后再分别加入2.2g(10mmol)中间体D1~D7充分搅拌均匀。在冰浴下,将上述含有BOP和中间体D1~D7的二氯甲烷溶液缓慢滴加入反应瓶中,然后于室温下搅拌反应,TLC监测反应结束,展开剂为二氯甲烷-甲醇(10:1)。蒸除溶剂二氯甲烷,残余物用蒸馏水稀释,乙酸乙酯萃取,再依次用1N HCl、饱和碳酸氢钠水溶液、饱和食盐水洗,合并有机层,无水硫酸镁干燥,抽滤,滤液浓缩,残余物通过硅胶柱色谱纯化,二氯甲烷-甲醇(50:1),得到目标产物CP1~CP32。

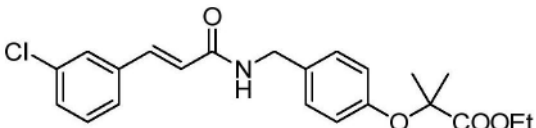
[0063] 制备得到的化合物CP1~CP32氢谱数据如下:

[0064] 化合物CP1(Et表示乙基):

[0065] 

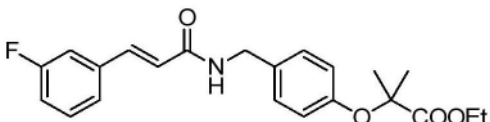
[0066] 淡黄色粉末,收率38.9%。¹H-NMR(600MHz,DMSO)δ:8.42(1H,t,J=6.0Hz),7.27(1H,d,J=15.9Hz),7.17(2H,d,J=8.6Hz),6.94(1H,d,J=2.0Hz),6.83(1H,dd,J=2.1Hz,8.2Hz),6.80(1H,d,J=8.3Hz),6.76~6.73(3H,m),6.37(1H,d,J=15.9Hz),4.30(2H,d,J=5.9Hz),4.18~4.14(2H,m),1.50(6H,s),1.17(1H,t,J=7.1Hz)。

[0067] 化合物CP2:

[0068] 

[0069] 白色粉末,收率60.1%。¹H-NMR(600MHz,CDC1₃)δ:7.59(1H,d,J=15.9Hz),7.48~7.47(1H,m),7.36~7.34(1H,m),7.32~7.28(2H,m),7.19~7.18(2H,m),6.82~6.80(2H,m),6.39(1H,d,J=15.6Hz),5.90(1H,t),4.49(2H,d,J=5.7Hz),4.23(2H,q,J=7.1Hz),1.58(6H,s),1.26(1H,t,J=7.2Hz)。

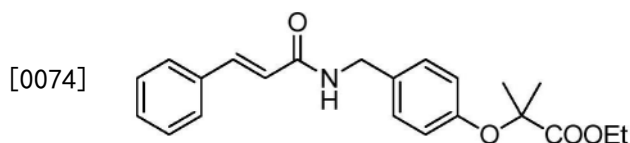
[0070] 化合物CP3:

[0071] 

[0072] 白色粉末,收率52.9%。¹H-NMR(600MHz,CDC1₃)δ:7.58(1H,d,J=15.7Hz),7.47~

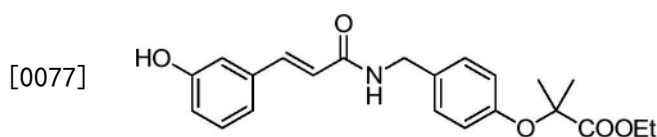
7.46 (1H, m), 7.34 ~ 7.33 (1H, m), 7.31 ~ 7.27 (2H, m), 7.18 ~ 7.17 (2H, m), 6.81 ~ 6.79 (2H, m), 6.41 (1H, d, J=15.6Hz), 6.03 (1H, t), 4.48 (2H, d, J=5.6Hz), 4.22 (2H, q, J=7.0Hz), 1.58 (6H, s), 1.26 (1H, t, J=7.0Hz)。

[0073] 化合物CP4:



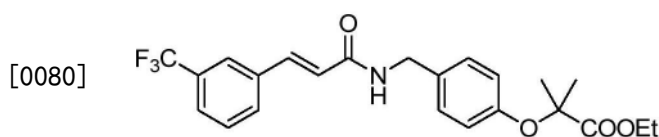
[0075] 白色粉末, 收率61.5%。¹H-NMR (600MHz, CDCl₃) δ: 7.67 (1H, d, J=15.8Hz), 7.50 ~ 7.49 (2H, m), 7.38 ~ 7.34 (3H, m), 7.21 ~ 7.19 (2H, m), 6.83 ~ 6.81 (2H, m), 6.39 (1H, d, J=15.4Hz), 5.80 (1H, t), 4.51 (2H, d, J=5.7Hz), 4.23 (2H, q, J=7.1Hz), 1.59 (6H, s), 1.26 (1H, t, J=7.1Hz)。

[0076] 化合物CP5:



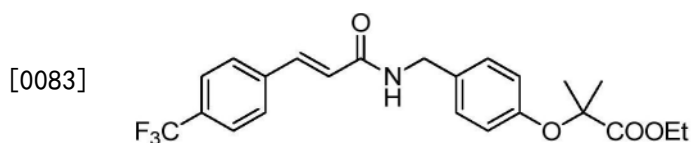
[0078] 白色粉末, 收率43.3%。¹H-NMR (600MHz, CD₃OD) δ: 7.49 (1H, d, J=16.0Hz), 7.21 ~ 7.17 (3H, m), 7.01 ~ 7.00 (1H, m), 6.98 ~ 6.97 (1H, m), 6.81 ~ 6.79 (3H, m), 6.57 (1H, d, J=15.9Hz), 4.41 (1H, t), 4.19 (2H, q, J=7.2Hz), 1.53 (6H, s), 1.22 (1H, t, J=7.3Hz)。

[0079] 化合物CP6:



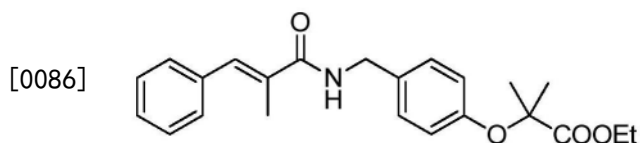
[0081] 白色粉末, 收率46.7%。¹H-NMR (600MHz, CDCl₃) δ: 7.73 (1H, m), 7.66 (1H, d, J=15.5Hz), 7.63 ~ 7.57 (2H, m), 7.49 ~ 7.46 (1H, m), 7.19 ~ 7.16 (2H, m), 6.81 ~ 6.78 (2H, m), 6.49 (1H, d, J=15.9Hz), 6.13 (1H, t), 4.48 (2H, d, J=5.5Hz), 4.22 (2H, q, J=7.0Hz), 1.57 (6H, s), 1.25 (1H, t, J=7.0Hz)。

[0082] 化合物CP7:



[0084] 白色粉末, 收率51.2%。¹H-NMR (600MHz, CDCl₃) δ: 7.69 (1H, d, J=15.7Hz), 7.62 ~ 7.58 (4H, m), 7.26 ~ 7.19 (2H, m), 6.83 ~ 6.81 (2H, m), 6.46 (1H, d, J=15.7Hz), 5.91 (1H, t), 4.50 (2H, d, J=5.6Hz), 4.23 (2H, q, J=7.1Hz), 1.59 (6H, s), 1.26 (1H, t, J=7.1Hz)。

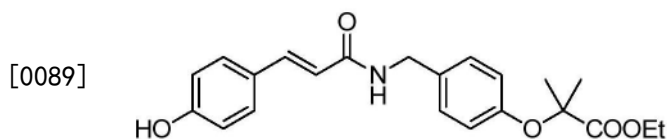
[0085] 化合物CP8:



[0087] 白色粉末, 收率39.9%。¹H-NMR (600MHz, CDCl₃) δ: 7.38 ~ 7.36 (3H, m), 7.33 ~ 7.32

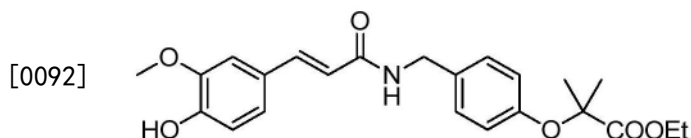
(2H,m), 7.30~7.28(2H,m), 7.22~7.20(2H,m), 6.84~6.81(2H,m), 6.13(1H,t), 4.49(2H,d, J=5.6Hz), 4.23(2H,q, J=7.2Hz), 2.11~2.10(3H,m), 1.59(6H,s), 1.26(1H,t, J=7.1Hz)。

[0088] 化合物CP9:



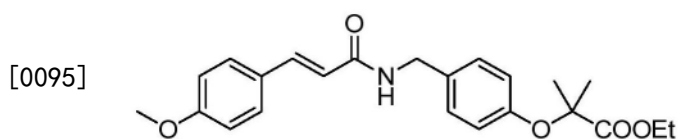
[0090] 白色粉末, 收率41.5%。¹H-NMR (600MHz, CDCl₃) δ: 7.60(2H,d, J=15.6Hz), 7.40~7.38(2H,m), 7.20~7.19(2H,m), 6.84~6.80(4H,m), 6.25(2H,d, J=15.6Hz), 5.77(1H,t), 4.50(2H,d, J=5.6Hz), 4.23(2H,q, J=7.1Hz), 1.58(6H,s), 1.26(1H,t, J=7.1Hz)。

[0091] 化合物CP10:



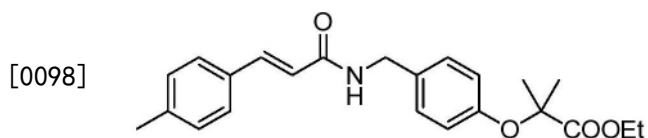
[0093] 白色粉末, 收率38.2%。¹H-NMR (600MHz, CDCl₃) δ: 7.56(2H,d, J=15.6Hz), 7.17~7.16(2H,m), 7.02(1H,d, J=1.9Hz, 8.3Hz), 6.95(1H,d, J=1.9Hz), 6.87(1H,d, J=8.2Hz), 6.80~6.78(2H,m), 6.28(2H,d, J=15.6Hz), 6.10(1H,s), 6.04(1H,t), 4.46(2H,d, J=5.6Hz), 4.21(2H,q, J=7.0Hz), 3.86(3H,s), 1.57(6H,s), 1.24(1H,t, J=7.0Hz)。

[0094] 化合物CP11:



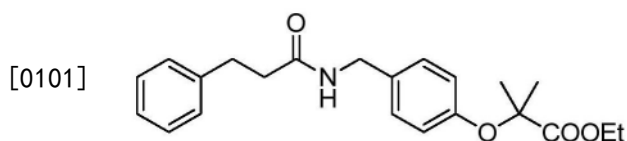
[0096] 白色粉末, 收率42.6%。¹H-NMR (600MHz, CDCl₃) δ: 7.61(2H,d, J=15.7Hz), 7.44~7.42(2H,m), 7.19~7.18(2H,m), 6.88~6.87(2H,m), 6.81~6.80(2H,m), 6.27(2H,d, J=15.6Hz), 5.88(1H,t), 4.82(2H,d, J=5.6Hz), 4.22(2H,q, J=7.0Hz), 3.82(3H,s), 1.58(6H,s), 1.25(1H,t, J=7.1Hz)。

[0097] 化合物CP12:



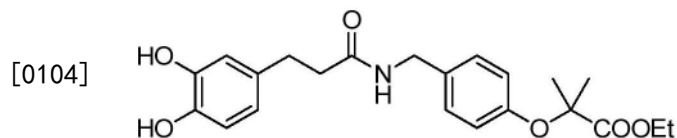
[0099] 白色粉末, 收率39.4%。¹H-NMR (600MHz, CDCl₃) δ: 7.63(2H,d, J=15.6Hz), 7.39~7.38(2H,m), 7.19~7.15(4H,m), 6.82~6.80(2H,m), 6.35(2H,d, J=15.6Hz), 5.87(1H,t), 4.49(2H,d, J=5.6Hz), 4.23(2H,q, J=7.1Hz), 2.36(3H,s), 1.58(6H,s), 1.25(1H,t, J=7.1Hz)。

[0100] 化合物CP13:



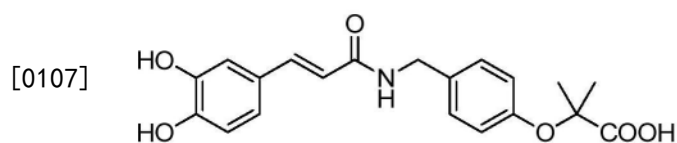
[0102] 白色粉末,收率34.6%。¹H-NMR (600MHz,CDCl₃) δ:7.31~7.28(2H,m),7.25~7.20(3H,m),7.03~7.01(2H,m),6.78~6.77(2H,m),5.75(1H,t),4.33(2H,d,J=5.5Hz),4.25(2H,q,J=7.2Hz),3.00(1H,t,J=7.7Hz),2.52(1H,t,J=7.7Hz),1.60(6H,s),1.28(1H,t,J=7.0Hz)。

[0103] 化合物CP14:



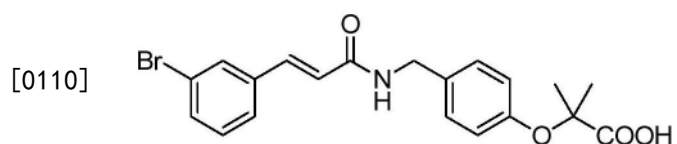
[0105] 白色粉末,收率30.2%。¹H-NMR (600MHz,CD₃OD) δ:6.99~6.97(2H,m),6.76~6.74(2H,m),6.67~6.65(2H,m),6.52~6.51(1H,m),4.24~4.19(4H,m),2.78(1H,t,J=7.4Hz),2.45(1H,t,J=7.5Hz),1.53(6H,s),1.23(1H,t,J=7.0Hz)。

[0106] 化合物CP15:



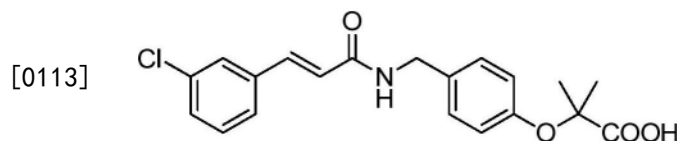
[0108] 白色粉末,收率55.5%。¹H-NMR (400MHz,CD₃OD) δ:7.41(1H,d,J=15.7Hz),7.18~7.16(2H,m),7.01~7.00(1H,m),6.91~6.83(3H,m),6.77~6.75(1H,m),6.39(1H,d,J=15.7Hz),4.39(2H,s),1.51(6H,s)。

[0109] 化合物CP16:



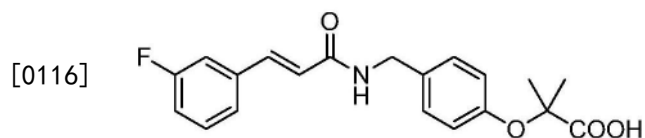
[0111] 白色粉末,收率74.8%。¹H-NMR (600MHz,CD₃OD) δ:7.71(1H,m),7.50~7.47(3H,m),7.29~7.26(1H,m),7.22~7.21(2H,m),6.88~6.86(2H,m),6.63(1H,d,J=15.7Hz),4.41(2H,s),1.54(6H,s)。

[0112] 化合物CP17:



[0114] 白色粉末,收率72.8%。¹H-NMR (600MHz,CD₃OD) δ:7.61(1H,d,J=15.5Hz),7.47(1H,m),7.35~7.29(3H,m),7.21~7.20(2H,m),6.91~6.89(2H,m),6.40(1H,d,J=15.5Hz),5.98(2H,t),4.49(1H,d,J=5.6Hz),1.60(6H,s)。

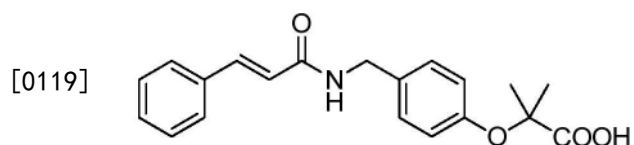
[0115] 化合物CP18:



[0117] 白色粉末,收率65.3%。¹H-NMR (600MHz,CDCl₃) δ:7.49(1H,d,J=15.7Hz),7.41~7.40(2H,m),7.22~7.20(2H,m),6.82~6.78(4H,m),6.44(1H,d,J=15.7Hz),4.41(2H,s),

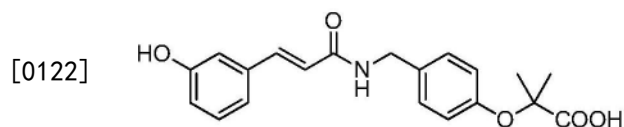
1.54 (6H, s)。

[0118] 化合物CP19:



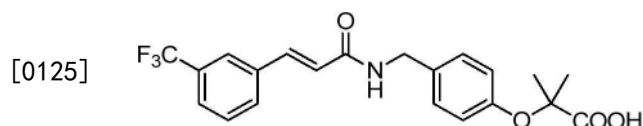
[0120] 白色粉末,收率69.0%。¹H-NMR (600MHz, CD₃OD) δ: 7.58 ~ 7.54 (3H, m), 7.39 ~ 7.35 (3H, m), 7.23 ~ 7.22 (2H, m), 6.89 ~ 6.87 (2H, m), 6.83 (1H, d, J=15.5Hz), 4.42 (2H, s), 1.54 (6H, s)。

[0121] 化合物CP20:



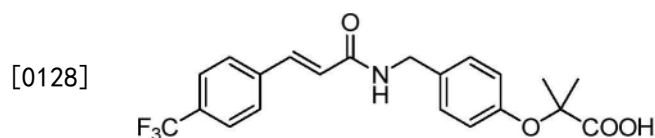
[0123] 白色粉末,收率51.5%。¹H-NMR (600MHz, CD₃OD) δ: 7.49 (1H, d, J=15.6Hz), 7.22 ~ 7.17 (3H, m), 7.02 ~ 6.97 (2H, m), 6.88 ~ 6.86 (2H, m), 6.81 ~ 6.79 (1H, m), 6.57 (1H, d, J=15.6Hz), 4.41 (2H, s), 1.54 (6H, s)。

[0124] 化合物CP21:



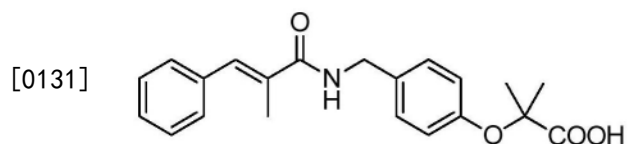
[0126] 白色粉末,收率63.3%。¹H-NMR (600MHz, CD₃OD) δ: 7.84 ~ 7.81 (2H, m), 7.66 ~ 7.57 (3H, m), 7.24 ~ 7.22 (2H, m), 6.89 ~ 6.87 (2H, m), 6.73 (1H, d, J=15.7Hz), 4.43 (2H, s), 1.54 (6H, s)。

[0127] 化合物CP22:



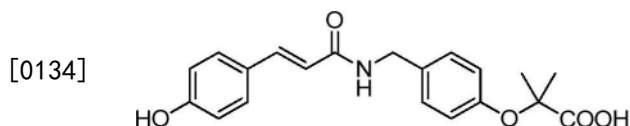
[0129] 白色粉末,收率64.9%。¹H-NMR (600MHz, CD₃OD) δ: 7.73 ~ 7.70 (2H, m), 7.66 ~ 7.65 (2H, m), 7.61 ~ 7.58 (1H, m), 7.23 ~ 7.21 (2H, m), 6.89 ~ 6.87 (2H, m), 6.74 (1H, d, J=15.7Hz), 4.42 (2H, s), 1.54 (6H, s)。

[0130] 化合物CP23:



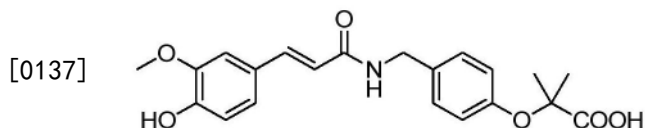
[0132] 白色粉末,收率53.9%。¹H-NMR (600MHz, CD₃OD) δ: 7.39 ~ 7.35 (4H, m), 7.30 ~ 7.28 (2H, m), 7.24 ~ 7.23 (2H, m), 6.88 ~ 6.87 (2H, m), 4.42 (2H, s), 1.55 (6H, s)。

[0133] 化合物CP24:



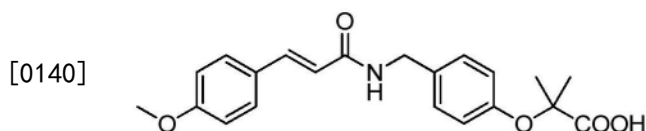
[0135] 白色粉末,收率50.0%。¹H-NMR (600MHz,CD₃OD) δ:7.49 (1H,d,J=15.7Hz),7.41~7.40 (2H,m),7.21~7.20 (2H,m),6.88~6.87 (2H,m),6.79~6.78 (2H,m),6.44 (1H,d,J=15.9Hz),4.41 (2H,s),1.54 (6H,s)。

[0136] 化合物CP25:



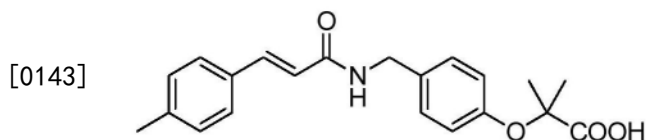
[0138] 白色粉末,收率47.2%。¹H-NMR (600MHz,CD₃OD) δ:7.49 (1H,d,J=15.7Hz),7.20~7.19 (2H,m),7.09 (1H,d,J=1.8Hz),7.01 (1H,dd,J=1.8Hz,8.2Hz),6.87~6.85 (2H,m),6.79 (1H,d,J=8.2Hz),6.47 (1H,d,J=15.7Hz),4.40 (2H,s),1.53 (6H,s)。

[0139] 化合物CP26:



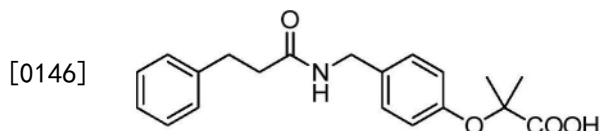
[0141] 白色粉末,收率55.4%。¹H-NMR (600MHz,CD₃OD) δ:7.52~7.47 (3H,m),7.22~7.20 (2H,m),6.93~6.86 (4H,m),6.79 (1H,d,J=8.2Hz),6.48 (1H,d,J=15.8Hz),4.41 (2H,s),3.80 (3H,s),1.54 (6H,s)。

[0142] 化合物CP27:



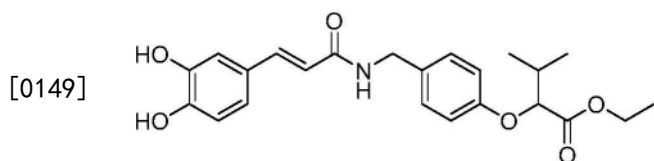
[0144] 白色粉末,收率59.4%。¹H-NMR (600MHz,CD₃OD) δ:7.53 (1H,d,J=15.9Hz),7.43~7.42 (2H,m),7.22~7.17 (4H,m),6.88~6.86 (2H,m),6.57 (1H,d,J=15.9Hz),4.41 (2H,s),2.33 (3H,s),1.54 (6H,s)。

[0145] 化合物CP28:



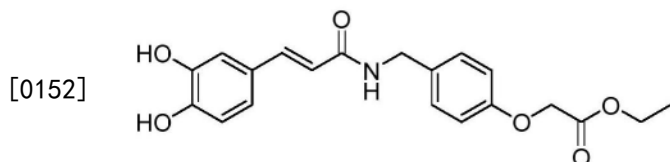
[0147] 白色粉末,收率63.3%。¹H-NMR (600MHz,CD₃OD) δ:7.25~7.23 (2H,m),7.21~7.18 (2H,m),6.98~6.97 (2H,m),6.80~6.78 (2H,m),4.23 (2H,s),2.92 (1H,t,J=7.6Hz),2.52 (1H,t,J=7.6Hz),1.53 (6H,s)。

[0148] 化合物CP29:



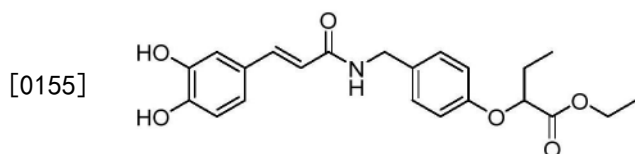
[0150] 白色粉末, 收率65.2%。¹H-NMR (600MHz, MeOD) δ : 7.42 (1H, d, J=15.6Hz, CH=CH), 7.23~7.21 (2H, m, Ph'-H-2', 6'), 7.00 (1H, d, J=2.0Hz, Ph-H-2), 6.90 (1H, d, J=8.2Hz, 1.9Hz, Ph-H-6), 6.85~6.83 (2H, m, Ph'-H-3', 5'), 6.76 (1H, d, J=8.2Hz, Ph-H-5), 6.39 (1H, d, J=15.7Hz, CH=CH), 4.45 [1H, d, J=5.4Hz, (CH₃)₂CH-CH-COOEt], 4.40 (2H, s, NH-CH₂), 4.18 (1H, q, J=7.1Hz, COOCH₂CH₃), 2.27~2.21 [1H, m, (CH₃)₂CH-CH-COOEt], 1.23 (3H, t, J=7.1Hz, COOCH₂CH₃), 1.07~1.05 [6H, m, (CH₃)₂CH-CH-COOEt]。

[0151] 化合物CP30:



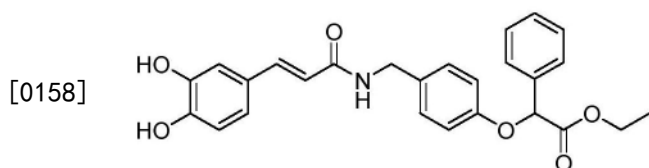
[0153] 白色粉末, 收率69.3%。¹H-NMR (600MHz, MeOD) δ : 7.42 (1H, d, J=15.7Hz, CH=CH), 7.25~7.24 (2H, m, Ph'-H-2', 6'), 7.01 (1H, d, J=1.8Hz, Ph-H-2), 6.91~6.88 (3H, m, Ph-H-6, Ph'-H-3', 5'), 6.76 (1H, d, J=8.2Hz, Ph-H-5), 6.39 (1H, d, J=15.6Hz, CH=CH), 4.67 (2H, s, CH₂-COOEt), 4.41 (2H, s, NH-CH₂), 4.23 (2H, q, J=7.2Hz, COOCH₂CH₃), 1.27 (3H, t, J=7.2Hz, COOCH₂CH₃)。

[0154] 化合物CP31:



[0156] 白色粉末, 收率61.2%。¹H-NMR (600MHz, MeOD) δ : 7.43 (1H, d, J=15.7Hz, CH=CH), 7.23~7.21 (2H, m, Ph'-H-2', 6'), 7.01 (1H, d, J=1.9Hz, Ph-H-2), 6.90 (1H, dd, J=8.2Hz, 2.0Hz, Ph-H-6), 6.84~6.83 (2H, m, Ph'-H-3', 5'), 6.77 (1H, d, J=8.2Hz, Ph-H-5), 6.40 (1H, d, J=15.6Hz, CH=CH), 4.64~4.62 (1H, m, CH₃-CH₂-CH-COOEt), 4.39 (2H, s, NH-CH₂), 4.17 (2H, q, J=7.1Hz, COOCH₂CH₃), 1.98~1.88 (2H, m, CH₃-CH₂-CH-COOEt), 1.22 (3H, t, J=7.1Hz, COOCH₂CH₃), 1.04 (3H, t, J=7.5Hz, CH₃-CH₂-CH-COOEt)。

[0157] 化合物CP32:



[0159] 白色粉末, 收率57.6%。¹H-NMR (600MHz, MeOD) δ : 7.55~7.54 (2H, m, Ph''-H-3'', 5''), 7.42 (1H, d, J=15.7Hz, CH=CH), 7.39~7.34 (3H, m, Ph''-H-2'', 4'', 6''), 7.23~7.21 (2H, m, Ph'-H-2', 6'), 7.01 (1H, d, J=1.9Hz, Ph-H-2), 6.93~6.89 (3H, m, Ph-H-6, Ph'-H-3', 5'), 6.76 (1H, d, J=8.2Hz, Ph-H-5), 6.38 (1H, d, J=15.6Hz, CH=CH), 5.75 (1H, s, Ph''-CH-COOEt), 4.39 (2H, s, NH-CH₂), 4.19~4.11 (2H, m, COOCH₂CH₃), 1.22 (3H, t, J=7.1Hz, COOCH₂CH₃)。

[0160] 实施例2药理部分

[0161] 1. 实验方法

[0162] 1.1体外细胞实验筛选方法

[0163] 人正常肝细胞(L02)细胞株,取生长状态好,处于指数生长期的L02细胞,以一定浓度接种于96孔板中,用含有10%胎牛血清和1%青霉素/1%链霉素的RPMI1640培养基,于37℃,5%二氧化碳的培养箱中培养。待细胞融合至80%,将培养基换成2%胎牛血清和25mol/L的石胆酸(LCA)刺激细胞24h,制成肝细胞胰岛素抵抗模型;随后给予不同的咖啡酸衍生物,即化合物CP1~CP32(10或100 μ mol/L)处理,设置一个空白对照组(Control)及模型组(Model),每组设置10个复孔,孵育24h。随后吸弃孔内液体,用PBS缓冲液洗2次,用含110-7mol/L胰岛素的100mol/L2-NBDG处理细胞,并于37℃孵育30min,在全自动酶标仪激发波长/发射波长(Ex/Em)为488nm/520nm的条件下检测,通过细胞内荧光强度的变化来评估化合物对胰岛素刺激下细胞糖吸收的影响,进而筛选出能改善LCA诱导胰岛素抵抗促进细胞糖吸收的活性化合物。

[0164] 1.2活性化合物体内降糖效果验证

[0165] 50只6周龄的雄性C57BL/6J小鼠,适应性喂养一周后,分为对照组(CON,10只,给予标准饲料Cat#D12492)和高脂饮食组(40只,给予高脂饲料Cat#D12450J)喂养6周,将高脂饮食组按空腹血糖组分为4组:模型组(HFD,给予高脂饮食),咖啡酸组(CA,给予HFD+100mg/kg CA),活性化合物组(CP11,给予HFD+100mg/kg CP11),阳性药罗格列酮组(Ros.,给予HFD+25mg/kg Ros.),每组10只,给药处理6周。动物饲养期间,每周测一次体重。在给药处理第7周和第8周分别进行12小时和4小时进行OGTT和ITT实验,分别进行腹腔注射2g/kg的葡萄糖和0.75U/kg的胰岛素,尾静脉采血检测0min、30min、60min、90min和120min的血糖。灌胃给药,每天一次,连续9周,禁食12h,麻醉、取血,用于后期生化指标检测。

[0166] 2.实验结果

[0167] 2.1体外胰岛素抵抗细胞模型筛选化合物改善胰岛素抵抗降血糖作用

[0168] 细胞糖摄取实验结果显示,CP系列化合物能改善细胞胰岛素抵抗,促进糖吸收作用筛选。一些衍生物能明显改善LCA诱导的L02细胞胰岛素抵抗,并能显著提高细胞糖摄取。如图1所示,化合物CP9和CP14在10 μ mol/L浓度下处理胰岛素抵抗细胞24小时,能显著增加细胞糖摄取;化合物CP7,CP10,CP11和CP13在10和100 μ mol/L的浓度下,处理细胞24小时,均能明显增加细胞糖摄取,其中CP11和CP13化合物效果最为明显,表明化合物CP11和CP13可能有改善胰岛素抵抗,治疗2型糖尿病的作用。

[0169] 图1中,*与对照组相比 $p<0.05$,**与对照组相比 $p<0.01$,***与对照组相比 $p<0.001$;****与对照组相比 $p<0.0001$;#与模型组相比 $p<0.05$,##与模型组相比 $p<0.01$,###与模型组相比 $p<0.001$,####与模型组相比 $p<0.0001$ 。

[0170] 2.2活性化合物CP11对高脂饮食小鼠体重的影响

[0171] 结果如图2所示,对照组、模型组与各给药组小鼠体重随周龄的增加,而逐步增长,高脂饮食模型组(HFD组)小鼠在接受高脂饮食9周后体重明显高于对照组,且具有显著性差异;高脂饮食小鼠自第6周接受药物处理(CA,CP11和Ros.),咖啡酸CA组,小鼠体重与HFD组相当;与HFD组相比Ros.处理小鼠4周后,小鼠体重开始显著增加,表明Ros.有增加小鼠体重的作用;而CP11组小鼠,在CP11处理5周后体重显著低于HFD组,表明CP11能明显抑制高脂饮食引起的小鼠体重增加。

[0172] 图2中,*与对照组(CON)相比 $p<0.05$;#与高脂饮食组(HFD)相比 $p<0.05$,##与HFD相

比 $p < 0.01$ 。

[0173] 2.3活性化合物CP11对高脂饮食诱导的小鼠高血糖和胰岛素敏感性的影响

[0174] 如图3中的A,B所示,与对照组小鼠相比,HFD组小鼠表现出明显的葡萄糖耐受不良,与HFD组相比,药物干预组小鼠的葡萄糖耐受不良得到显著改善;且与CA组合Ros.组相比,CP11组小鼠展现出更好地葡萄糖耐受。如图3C,D所示,与对照组小鼠相比,HFD组小鼠注射胰岛素后血糖下降慢且幅度较低,说明小鼠出现了明显的胰岛素抵抗;而与HFD组相比,药物干预组小鼠的胰岛素耐受被明显改善。

[0175] 图3中,*与对照组(CON)相比 $p < 0.05$,**与对照组(CON)相比 $p < 0.01$,***与CON相比 $p < 0.001$,****与CON相比 $p < 0.0001$;#与高脂饮食组(HFD)相比 $p < 0.05$,##与HFD相比 $p < 0.01$,###与HFD相比 $p < 0.001$;+CA与CP11相比 $p < 0.05$,+CP11与Ros.相比 $p < 0.05$ 。

[0176] 与此结果一致的是,如图4所示,与HFD组相比,CP11和Ros.处理组小鼠血清中糖化血清蛋白的含量显著降低,表明CP11能有效的控制高脂饮食小鼠血糖的增加并改善小鼠空腹血糖受损,具有很好的降血糖作用。另外,药物处理组小鼠血清中胰岛素含量显著低与HFD组,其中CP11处理组胰岛素含量降低最为明显,小鼠的胰岛素抵抗指数显著降低而胰岛素敏感指数则显著增加,表明药物干预,尤其是CP11治疗后,小鼠的胰岛素敏感性显著增加。

[0177] 图4中,****与CON相比 $p < 0.0001$,#与HFD相比 $p < 0.05$,##与HFD相比 $p < 0.01$,###与HFD相比 $p < 0.001$,####与HFD相比 $p < 0.0001$ 。

[0178] 结论:

[0179] 以上体内外实验结果揭示,CP11化合物能很好地改善高脂饮食诱发的小鼠胰岛素抵抗,增加小鼠胰岛素敏感性,并能很好地治疗和控制高脂饮食引起的高血糖,其治疗效果显著且略优于阳性药Ros.(罗格列酮),最重要的是:CP11还可以有效抑制高脂饮食引起的小鼠体重增加,而Ros.不仅不能抑制高脂饮食带来的小鼠体重增加,反而能显著增加小鼠的体重,表明本发明中的CP11具有降血糖和抑制体重增加的双重作用,具有治疗肥胖或高脂饮食诱发2型糖尿病和肥胖的应用前景。

[0180] 上述详细说明是针对本发明其中之一可行实施例的具体说明,该实施例并非用以限制本发明的专利范围,凡未脱离本发明所为的等效实施或变更,均应包含于本发明技术方案的范围之内。

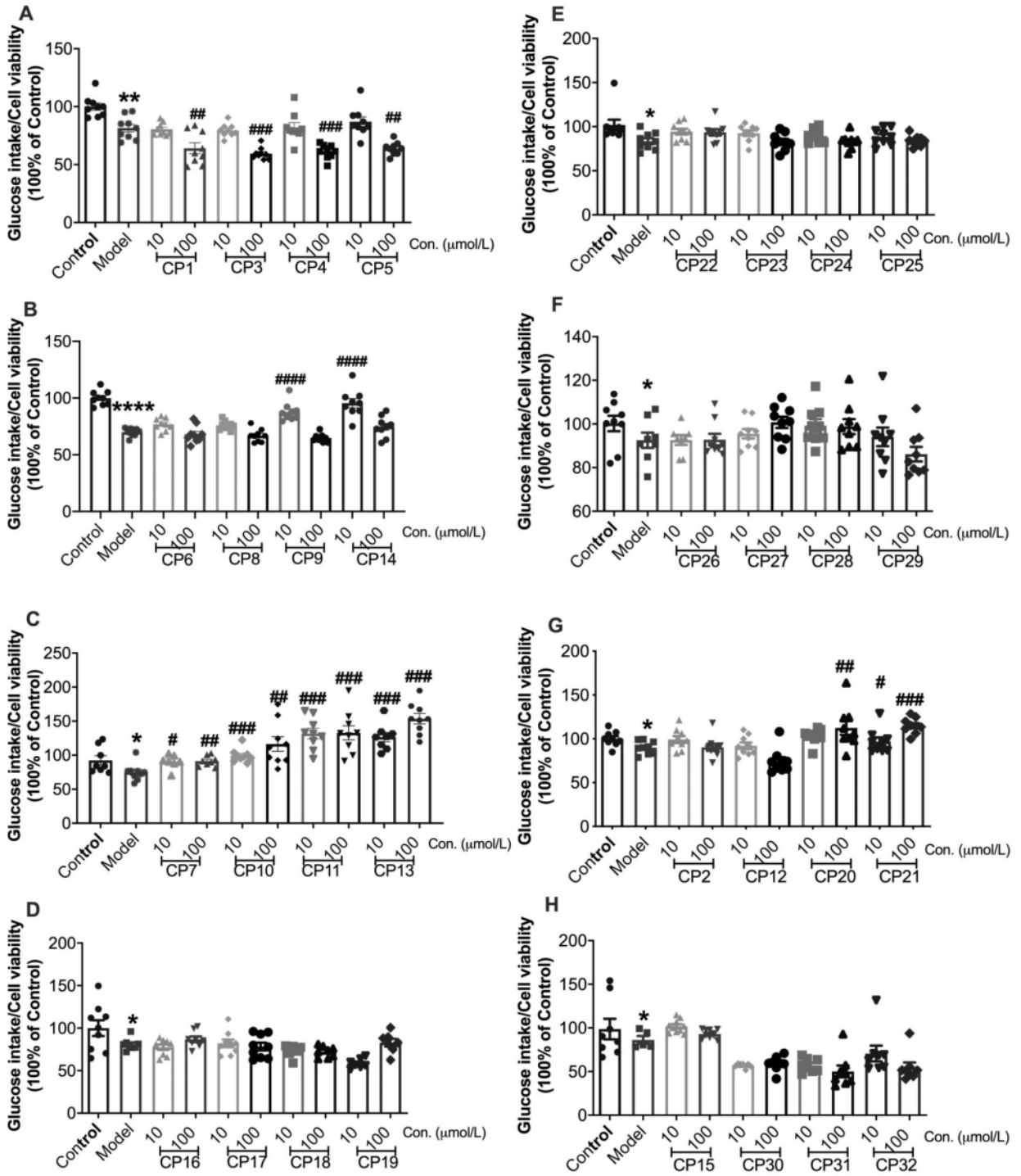


图1

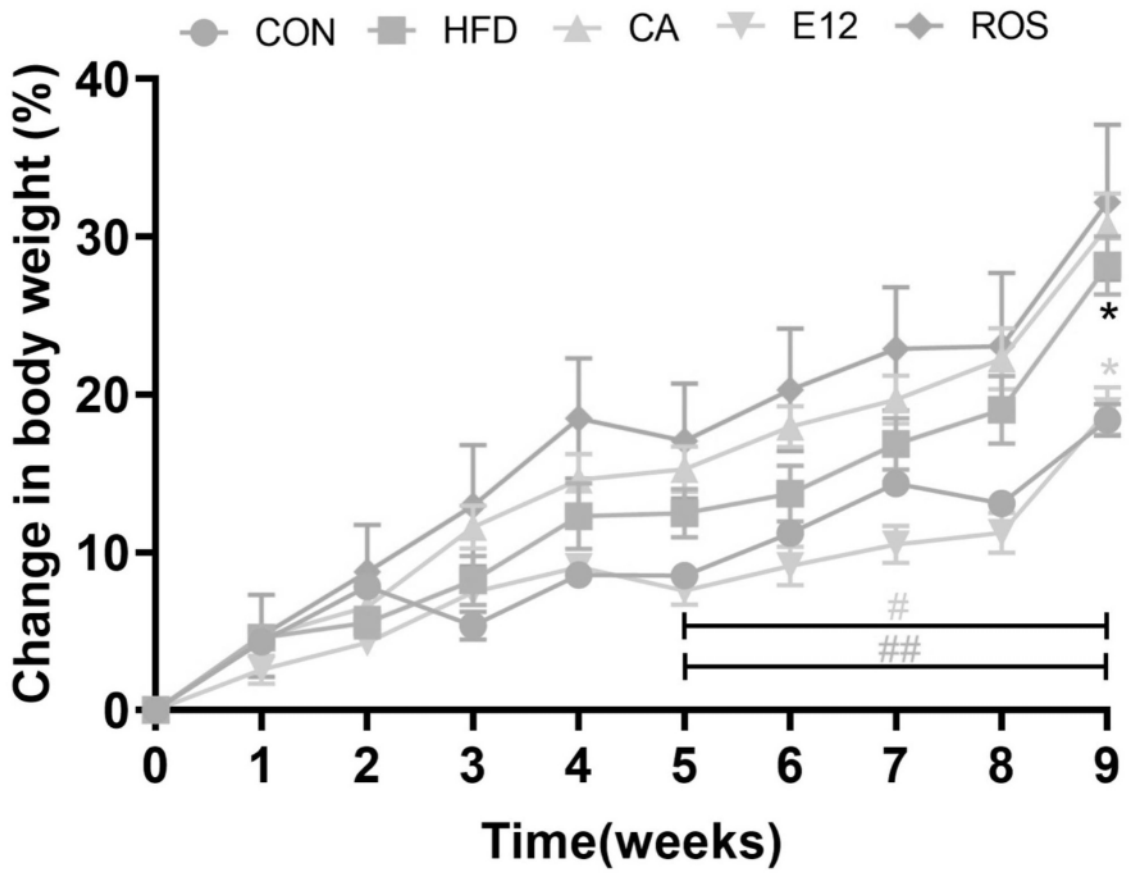


图2

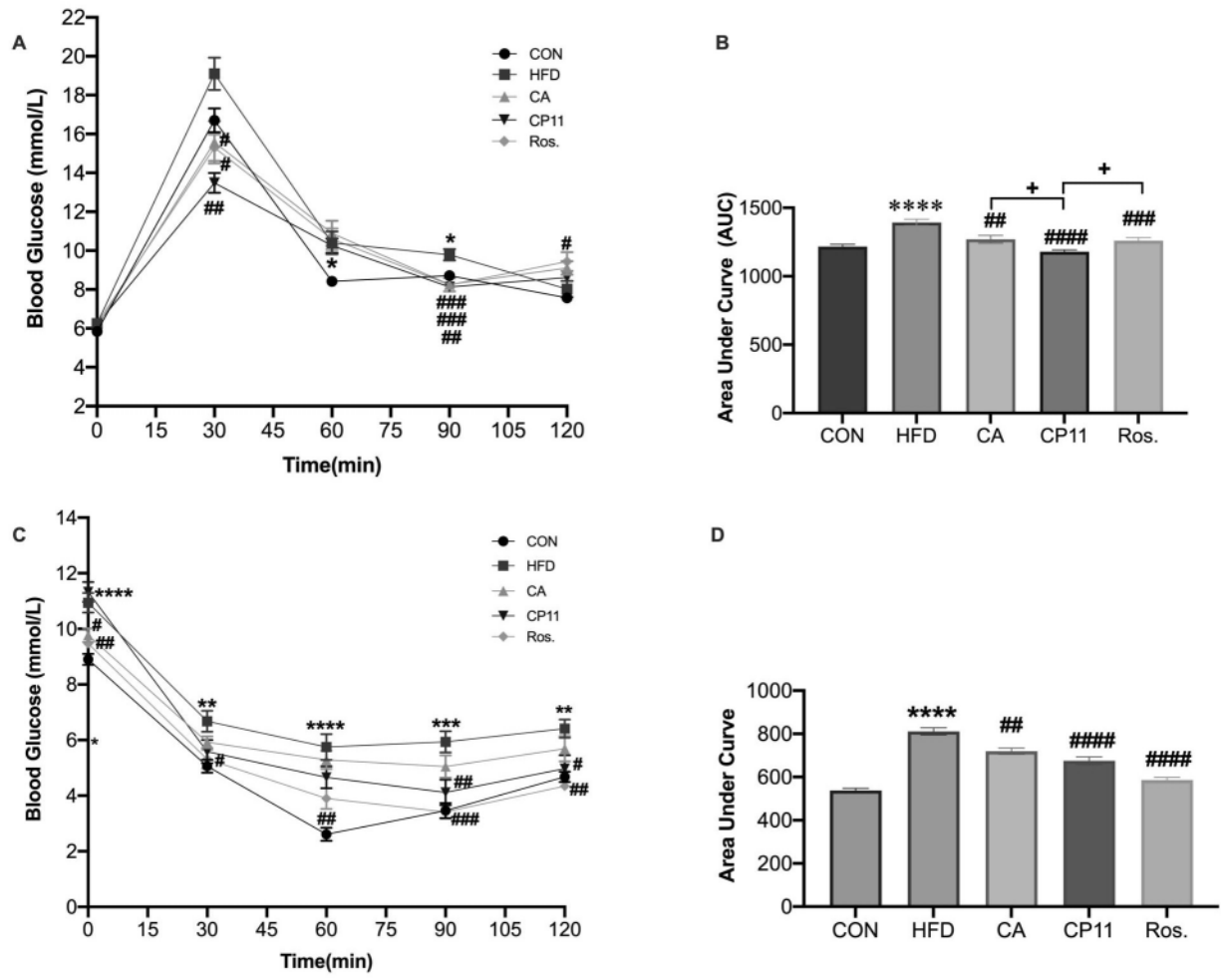


图3

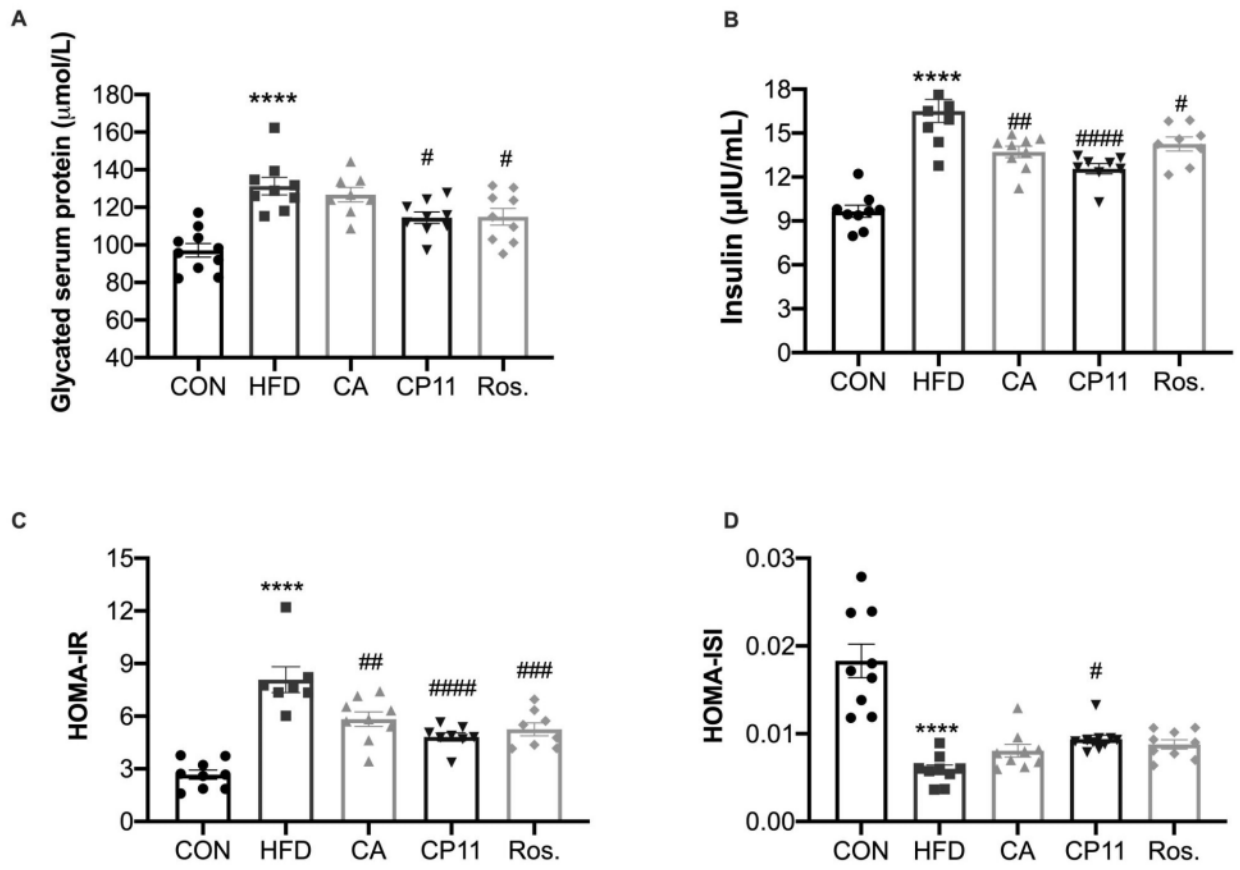


图4