



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108623555 A

(43)申请公布日 2018.10.09

(21)申请号 201810190512.7

(22)申请日 2018.03.09

(66)本国优先权数据

201710150155.7 2017.03.17 CN

(71)申请人 中国医学科学院药物研究所

地址 100050 北京市宣武区南纬路甲2号

(72)发明人 方唯硕 申竹芳 张国宁 环奕

(51)Int.Cl.

C07D 313/08(2006.01)

A61K 31/335(2006.01)

A61P 3/06(2006.01)

A61P 3/10(2006.01)

A61P 1/16(2006.01)

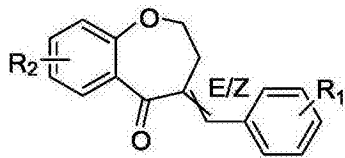
权利要求书2页 说明书10页 附图1页

(54)发明名称

一种苯并氧杂萘类化合物、及其制备方法和药物组合物与用途

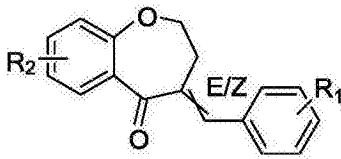
(57)摘要

本发明公开了如式I所示的苯并氧杂萘类化合物,苯并氧杂萘类化合物的制备方法,含有这类化合物的组合物以及这类化合物在制备法尼酯X受体拮抗剂、肝脏保护剂、防治高血脂、防治2型糖尿病的药物中的用途。



式I

1. 如式I所示的苯并氧杂萘类化合物及其药学上可接受的盐，



式 I

其中特征在于，

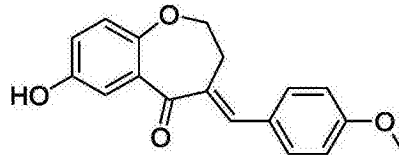
R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>分别独立选自单取代或多取代的羟基、C1-5烷氧基、C3-5烯氧基，R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>相同或不同。

2. 根据权利要求1的化合物及其药学上可接受的盐，其特征在于，

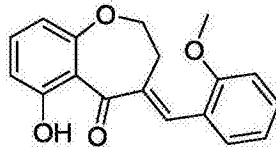
所述的C1-5烷氧基选自甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、戊烷氧基，所述的C3-5烯氧基选自丙烯氧基、丁烯氧基、戊烯氧基；所述的多取代包括双取代、三取代、四取代、五取代；环外双键的构型包括E式或Z式。

3. 根据权利要求1-2任一项的化合物及其药学上可接受的盐，其特征在于，所述的化合物选自：

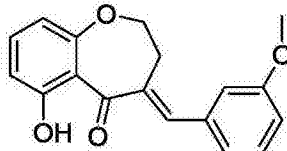
7-羟基-4- (4-甲氧基苯基亚甲基)  
苯并-1-氧杂萘-5-酮



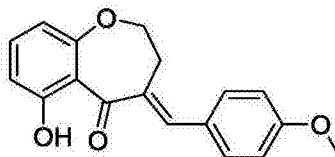
6-羟基-4- (2-甲氧基苯基亚甲基)  
苯并-1-氧杂萘-5-酮



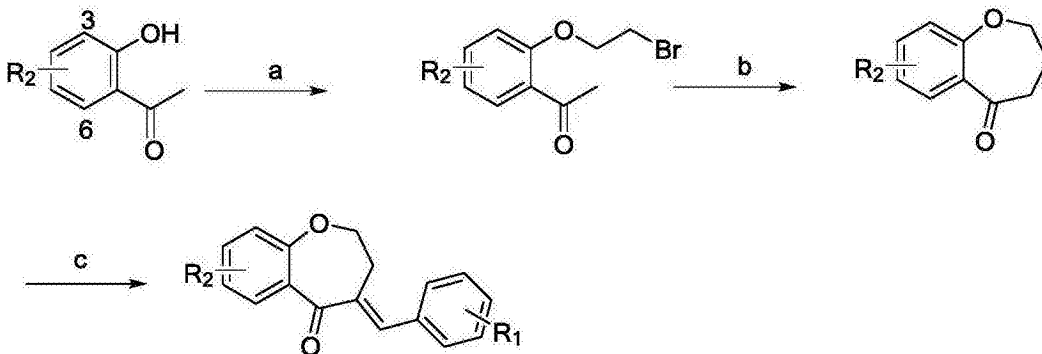
6-羟基-4- (3-甲氧基苯基亚甲基)  
苯并-1-氧杂萘-5-酮



6-羟基-4- (4-甲氧基苯基亚甲基)  
苯并-1-氧杂萘-5-酮



4. 权利要求1-3任一项所述化合物的制备方法，其特征在于，包括如下步骤：



(a) 邻羟基的苯乙酮和二溴乙烷在碱作用下得到邻2-溴乙撑基苯乙酮，

(b) 邻2-溴乙撑基苯乙酮在碱作用下关环得到苯并氧杂萘，

(c) 苯并氧杂萘和取代的苯甲醛在碱性条件缩合，

R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>分别独立选自单取代或多取代的羟基、C1-5烷氧基、C3-5烯氧基，R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>相同或不同，

步骤(a)中所使用的碱包括碳酸钾、碳酸铯、钠氢、丁基锂、双(三甲基硅基)氨基锂DBU(1,8二氮杂二环[5.4.0]十一碳-7-烯)、氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化锂、哌啶；

步骤(b)中所使用的碱包括钠氢、丁基锂、双(三甲基硅基)氨基锂、DBU(1,8二氮杂二环[5.4.0]十一碳-7-烯)；

步骤(c)中所使用的碱包括哌啶、哌嗪、氢氧化钠、DBU(1,8二氮杂二环[5.4.0]十一碳-7-烯)、氢氧化钾。

5. 一种药物组合物，其特征在于，所述的组合物包括权利要求1-3任一项所述的化合物及其药学上可接受的盐以及药学上可接受的载体或赋形剂。

6. 权利要求1-3任一项所述的化合物及其药学上可接受的盐或权利要求5所述的药物组合物在制备预防或/和治疗2型糖尿病或高血脂症药物中的应用。

7. 根据权利要求6的应用，其特征在于，所述的高血脂症包括高甘油三酯血症或高胆固醇血症。

8. 权利要求1-3任一项所述的化合物及其药学上可接受的盐或权利要求5所述的组合物在制备肝脏保护药物中的应用。

9. 根据权利要求8的应用，其特征在于，所述的肝脏保护包括降低谷草转氨酶、谷丙转氨酶水平产生的保肝作用。

10. 权利要求1-3任一项所述的化合物及其药学上可接受的盐或权利要求5所述的组合物在制备法尼酯X受体拮抗剂中的应用。

## 一种苯并氧杂萘类化合物、及其制备方法和药物组合物与用途

### 技术领域

[0001] 本发明公开了一类多羟基多烷氧基取代的苯并氧杂萘类化合物,这类苯并氧杂萘的制备方法,含有这类化合物的组合物以及这类化合物作为FXR拮抗剂用于制备防治2型糖尿病、高血脂和保肝药物新用途,属于医药技术领域。

### 背景技术

[0002] 糖尿病是一种严重危害人类健康的最常见的慢性病之一。随着科技进步和人们生活方式的改变,其发病率呈逐年增强的趋势。据澳大利亚贝克心脏病与糖尿病研究所预测,到2030年全球糖尿病发病率将达到7.7%,共有4.39亿人将患糖尿病;从2010年到2030年,发展中国家成人糖尿病发病率将增加69%,发达国家成人糖尿病发病率将增加20%。【参见:Shaw J E, Sicree R A, Zimmet P Z. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030[J]. Diabetes research and clinical practice, 2010, 87(1): 4-14.】

[0003] 现代医学认为糖尿病主要可分为两种:即1型糖尿病和2型糖尿病,其中2型糖尿病所占比例大,危害严重。我国糖尿病患者中近90%为2型糖尿病。对于2型糖尿病的病因探究中,脂代谢紊乱是一大热点,尤其以高甘油三酯为甚。很大一部分患者在患糖尿病之前已经存在血脂紊乱,特别是甘油三酯水平升高。因此,血脂代谢紊乱和2型糖尿病经常同时发生,我国40-50%的糖尿病患者合并脂质代谢异常。【参见:赵进喜,王世东,傅强. 2型糖尿病脂代谢紊乱的中医治疗进展[J]. 药品评价, 2011, 8(9): 50-53.】另外,高血糖和高甘油三酯血症也是心脑血管疾病的独立危险因素。【参见:李珊,王苏英,季康玉,等. 人群体重指数变化对心血管病危险因素的影响[J]. 心脑血管病防治, 2007, 7(2): 115-117.】但是目前临床上使用的治疗糖尿病的药物从作用方式上主要分为三类:促使胰脏增加胰岛素的分泌量;增加细胞对胰岛素的敏感性;减少肠胃道吸收葡萄糖的速率。这些药物都是单一针对于高血糖这一指标,而缺少同时对甘油三酯的调节,并且很多抗糖尿病药物存在较广泛的不良反应,如肝毒性、乳酸中毒、维生素B<sub>12</sub>缺乏和严重低血糖等。因此,寻找能够同时对血糖和血脂产生代谢调节的药物具有重要的临床意义和应用价值。

[0004] 法尼酯X受体(FXR)是一种核受体,在体内与配体结合后,通过激活下游靶基因的转录对体内生理过程产生广泛的调节作用,其中最重要的是维持体内胆汁酸和胆固醇的稳态。另外它还能够调节糖类和脂质代谢。目前,FXR配体奥贝胆酸已被FDA批准用于治疗原发性胆汁性肝硬化和非酒精性脂肪性肝病。此外,有多个以FXR为靶标的小分子化合物处于临床研究,用于治疗原发性胆汁酸性肝硬化和高血脂症。另外,研究表明治疗2型糖尿病的药物曲格列酮也是一种FXR拮抗剂【参见:Kaimal, R.; Song, X.; Yan, B.; King, R.; Deng, R. Differential modulation of farnesoid X receptor signaling pathway by the thiazolidinediones[J]. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2009, 330, 125-134】。因此,作用于FXR的小分子化合物有望被开发成为治疗代谢性疾病的药物。

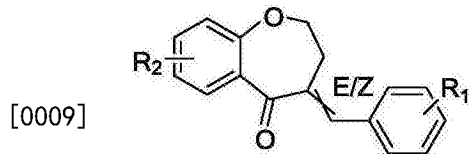
[0005] 本发明涉及的多羟基多烷氧基取代的苯并氧杂萘类化合物通过对FXR的拮抗作用,具有用于治疗以糖尿病为代表的代谢性疾病的潜力。

### 发明内容

[0006] 本发明要解决的一个技术问题是提供一类苯并氧杂萘类化合物及其药学上可接受的盐,其制备方法,其药物组合和其制备预防和/或治疗2型糖尿病和/或高血脂的药物和/或保肝药物或FXR拮抗剂中的应用。

[0007] 为解决上述技术问题,本发明采用如下技术方案,

[0008] 本发明技术方案的第一方面是提供了一类苯并氧杂萘类化合物如通式I所示



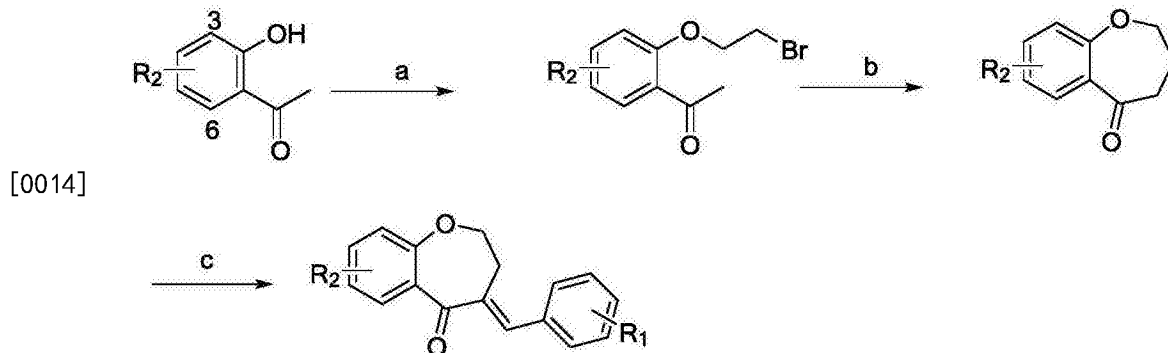
式 I

[0010]  $R_1$ 和 $R_2$ 分别独立选自单取代或多取代的羟基、C1-5烷氧基、C3-5烯氧基,  $R_1$ 和 $R_2$ 相同或不同。

[0011] 所述的C1-5烷氧基选自甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、戊烷氧基,所述的C3-5烯氧基选自丙烯氧基、丁烯氧基、戊烯氧基;所述的多取代包括双取代、三取代、四取代、五取代。

[0012] 环外双键的构型包括E-型和Z-型。

[0013] 本发明技术方案的第二方面是提供了第一方面所述化合物的制备方法,下面反应通式给予具体说明,



[0015] (a) 邻羟基的苯乙酮和二溴乙烷在碳酸铯等碱作用下得到邻2-溴乙撑基苯乙酮,

(b) 邻2-溴乙撑基苯乙酮在钠氢作用下关环得到苯并氧杂萘,

[0016] (c) 苯并氧杂萘和取代的苯甲醛和催化量哌啶在无溶剂条件缩合得到目标产物。 $R_1$ 和 $R_2$ 分别独立选自单取代或多取代的羟基、C1-5烷氧基、C3-5烯氧基, $R_1$ 和  $R_2$ 相同或不同,

[0017] 步骤(a)中所使用的碱包括碳酸钾、碳酸铯、钠氢、丁基锂、双(三甲基硅基)氨基锂DBU(1,8二氮杂二环[5.4.0]十一碳-7-烯)、氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化锂、哌啶。

[0018] 步骤(b)中所使用的碱包括钠氢、丁基锂、双(三甲基硅基)氨基锂、DBU(1,8二氮杂二环[5.4.0]十一碳-7-烯)。

[0019] 步骤(c)中所使用的碱包括哌啶、哌嗪、氢氧化钠、DBU(1,8-二氮杂二环[5.4.0]十一碳-7-烯)、氢氧化钾。

[0020] 本发明技术方案的第三方面是提供了包含本发明第一方面所述苯并氧杂萘类化合物及其药学上可接受的盐以及药学上可接受的载体或赋形剂的药物组合物。该药物组合物可根据本领域公知的方法制备。可通过将本发明化合物与一种或多种药学上可接受的固体或液体赋形剂和/或辅剂结合,制成适于人或动物使用的任何剂型。本发明化合物在其药物组合物中的含量通常为0.1-95重量%。

[0021] 本发明技术方案的第四方面是提供了本发明技术方案的第三方面所述的药物或药物组合物在制备预防和治疗2型糖尿病和高血脂的药物或肝脏保护药物方面的应用。本发明技术方案还提供了苯并吡喃类化合物在制备预防和治疗2型糖尿病和高血脂的药物或肝脏保护药物方面的用途。在细胞实验和动物实验中,通式I所示的化合物具有显著的药理活性。能够对CDCA(鹅去氧胆酸,FXR内源性配体)诱导的法尼酯X受体激活产生拮抗作用,并能够降低小鼠血糖、甘油三酯和谷丙转氨酶水平,具有用于2型糖尿病和肝损伤治疗的潜力。

[0022] 有益技术效果:

[0023] 申请人发现上述式I所示的苯并氧杂萘类化合物在10 $\mu$ M浓度下,能够对 CDCA(10 $\mu$ M)诱导的法尼酯X受体激活产生强烈的拮抗作用,具有良好的药物应用前景。本发明还发现,部分苯并氧杂萘类化合物在糖尿病KKAy小鼠模型中,连续给药28天后显著降低糖尿病小鼠血清总甘油三酯、肝脏总甘油三酯和谷草转氨酶ALT水平,具有明显的降脂护肝作用,具有开发成肝脏保护药物的潜力;对 KKAy小鼠血糖、胰岛素耐量实验、口服葡萄糖耐量实验有一定降低趋势,具有开发为抗糖尿病药物和治疗肝损伤的潜力。

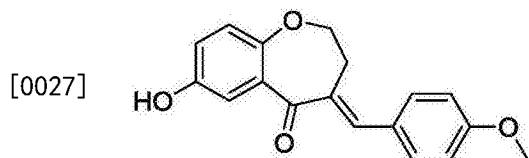
## 附图说明

[0024] 图1化合物11对KKAy小鼠血浆及肝脏甘油三酯水平、谷草转氨酶、谷丙转氨酶水平的影响

## 具体实施方式

[0025] 下面的实施例用来进一步说明本发明,但是这并不意味着对本发明的任何限制。

[0026] 实施例1 7-羟基-4-(4-甲氧基苯基亚甲基)苯并-1-氧杂萘-5-酮1i



[0028] (1) 2-羟基-5-甲氧亚甲氧基-苯乙酮的制备

[0029] 氩气保护下,将2,5-二羟基苯乙酮(350mg,2.30mmol),溶于20mL无水二氯甲烷,冷却到-10 $^{\circ}$ C,加入DIEA(0.76mL,4.60mmol)和MOMCl(0.26mL,3.45mmol),搅拌4.5小时。加入20mL乙酸乙酯,依次用饱和碳酸氢钠、水和饱和食盐水各 30mL洗涤,有机层用无水硫酸钠干燥,蒸干,柱层析得产物。<sup>1</sup>HNMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ (ppm):11.91(s,1H),7.39(d,J=2.7Hz,1H),7.23(dd,J=9.0,3.0Hz,1H),6.93(d,J=9.0Hz,1H),5.13(s,2H),3.50(s,3H),2.61

(s, 3H)。

[0030] (2) 2-(2-溴乙氧基)-5-甲氧亚甲氧基苯乙酮的制备

[0031] 将2-羟基-5-甲氧亚甲氧基-苯乙酮溶于DMF (50mg/mL), 加入碳酸铯 (2eq.) 和1, 2-二溴乙烷 (4eq.), 在氩气保护下, 80℃搅拌5h。补加加入碳酸铯 (2eq.) 和 1, 2-二溴乙烷 (4eq.), 继续搅拌3h。加入乙酸乙酯80mL, 依次用1N盐酸、饱和食盐水 (各30mL) 洗涤。有机相用无水硫酸钠干燥, 蒸干柱层析得产物。<sup>1</sup>HNMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) 7.43 (d, J=3.5Hz, 1H), 7.15 (dd, J=8.5, 2.5Hz, 1H), 6.85 (d, J=9.0Hz, 1H), 5.13 (s, 2H), 4.36 (t, J=5.5Hz, 2H), 3.69 (t, J=6.0Hz, 2H), 3.47 (s, 3H), 2.68 (s, 3H); <sup>13</sup>CNMR (125MHz, CDCl<sub>3</sub>): 199.1, 152.4, 151.4, 129.3, 121.8, 118.0, 11.7, 95.3, 68.8, 56.0, 32.2, 29.0。

[0032] (3) 7-羟基苯并-1-氧杂萘5-酮的制备

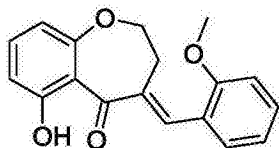
[0033] 在氩气保护下, 0℃, 将NaH (5eq., 60%, 分散在矿物油中) 溶于四氢呋喃 (15 mg/mL) 中, 加入2-(2-溴乙氧基)-5-甲氧亚甲氧基苯乙酮的四氢呋喃溶液 (50 mg/mL)。缓慢升温至66℃, 搅拌1.5-6h。将反应液冷却至室温, 倒入碎冰块中, 加入乙酸乙酯80mL萃取, 依次用饱和氯化铵和饱和食盐水 (各40mL) 洗涤。有机相用无水硫酸钠干燥, 蒸干柱层析得产物。<sup>1</sup>HNMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) 7.42 (d, J=1.5Hz, 1H), 7.13-7.11 (dd, J=9.0, 3.0Hz, 1H), 7.02 (d, J=8.5Hz, 1H), 5.14 (s, 2H), 4.18 (t, J=6.5Hz, 2H), 3.47 (s, 3H), 2.88 (t, J=7.0Hz, 2H), 2.18-2.15 (m, 2H); <sup>13</sup>CNMR (125MHz, CDCl<sub>3</sub>): 200.7, 156.8, 152.9, 130.2, 123.2, 122.4, 115.9, 95.2, 72.9, 56.3, 40.6, 26.1。

[0034] (4) 7-羟基-4-(4-甲氧基苯基亚甲基) 苯并-1-氧杂萘-5-酮的制备

[0035] 将7-羟基苯并-1-氧杂萘5-酮溶于1mL二氯甲烷中, 分别加入甲氧基苯甲醛 (1:1 w/w) 和1滴哌啶, 蒸除溶剂。150℃反应2.5h。冷却至80℃, 加入甲醇和盐酸 (3M) 的混合溶液 (30mL/100mg底物, 5:2, v/v), 回流20min。加入乙酸乙酯80mL 萃取, 依次用饱和氯化铵和食盐水 (各40mL) 洗涤。有机相用无水硫酸钠干燥, 蒸干柱层析得产物。<sup>1</sup>HNMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) 7.71 (s, 1H), 7.43-7.41 (m, 3H), 7.03-6.94 (m, 4H), 4.33 (t, J=6.0Hz, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.00 (t, J=6.0Hz, 2H); <sup>13</sup>CNMR (125MHz, CDCl<sub>3</sub>): 195.1, 160.2, 152.2, 150.1, 138.1, 134.9, 131.8, 131.5, 127.8, 123.1, 121.8, 115.9, 114.2, 71.3, 55.4, 28.2; ESI-MS: [M+H]<sup>+</sup>: 297.1, [M+Na]<sup>+</sup>: 319.1。

[0036] 实施例2 6-羟基-4-(2-甲氧基苯基亚甲基) 苯并-1-氧杂萘5-酮1j

[0037]



[0038] (1) 2-羟基-6-甲氧亚甲氧基-苯乙酮的制备

[0039] 氩气保护下, 将2, 6-二羟基苯乙酮 (350mg, 2.30mmol), 溶于20mL无水二氯甲烷, 冷却到-10℃, 加入DIEA (0.76mL, 4.60mmol) 和MOMCl (0.26mL, 3.45mmol), 搅拌4.5小时。加入20mL乙酸乙酯, 依次用饱和碳酸氢钠、水和饱和食盐水各 30mL洗涤, 有机层用无水硫酸钠干燥, 蒸干, 柱层析得产物。<sup>1</sup>HNMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 13.10 (s, 1H), 7.32 (m, 1H), 6.60 (m, 2H), 5.28 (s, 2H), 3.52 (s, 3H), 2.72 (s, 3H)。

[0040] (2) 2-(2-溴乙氧基)-6-甲氧亚甲氧基苯乙酮的制备

[0041] 将2-羟基-6-甲氧亚甲氧基-苯乙酮溶于DMF (50mg/mL),加入碳酸铯(2eq.) 和1,2-二溴乙烷(4eq.),在氩气保护下,80℃搅拌5h。补加加入碳酸铯(2eq.)和1,2-二溴乙烷(4eq.),继续搅拌3h。加入乙酸乙酯80mL,依次用1N盐酸、饱和食盐水(各30mL)洗涤。有机相用无水硫酸钠干燥,蒸干柱层析得产物。<sup>1</sup>HNMR (500MHz,CDCl<sub>3</sub>):δ (ppm) 7.22 (t, J=8.0Hz, 1H), 6.78 (d, J=8.5Hz, 1H), 6.55 (d, J=8.0Hz, 1H), 5.15 (s, 2H), 4.29 (t, J=6.5Hz, 2H), 3.60 (t, J=6.5Hz, 2H), 3.45 (s, 3H), 2.53 (s, 3H); <sup>13</sup>CNMR (125MHz, CDCl<sub>3</sub>): 202.1, 162.5, 155.0, 154.1, 130.5, 108.2, 105.9, 94.6, 68.5, 56.2, 32.5, 28.9。

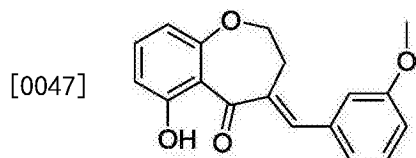
[0042] (3) 6-羟基苯并-1-氧杂萘-5-酮的制备

[0043] 在氩气保护下,0℃,将NaH(5eq.,60%,分散在矿物油中)溶于四氢呋喃(15 mg/mL)中,加入2-(2-溴乙氧基)-6-甲氧亚甲氧基苯乙酮的四氢呋喃溶液(50 mg/mL)。缓慢升温至66℃,搅拌1.5-6h。将反应液冷却至室温,倒入碎冰块中,加入乙酸乙酯80mL萃取,依次用饱和氯化铵和饱和食盐水(各40mL)洗涤。有机相用无水硫酸钠干燥,蒸干柱层析得产物。<sup>1</sup>HNMR (500MHz,CDCl<sub>3</sub>):δ (ppm) 7.28-7.25 (m, 2H), 6.89 (d, J=8.5Hz, 1H), 6.73 (d, J=8.5Hz, 1H), 5.18 (s, 2H), 4.19 (m, J=6.5Hz, 2H), 3.49 (s, 3H), 2.80 (t, J=6.5Hz, 2H), 2.15-2.10 (m, 2H); <sup>13</sup>CNMR (125MHz, CDCl<sub>3</sub>): 201.7, 159.8, 155.9, 132.6, 122.7, 114.8, 111.3, 95.8, 72.1, 56.6, 41.9, 26.2。

[0044] (4) 6-羟基-4-(2-甲氧基苯基亚甲基)苯并-1-氧杂萘-5-酮的制备

[0045] 将6-羟基苯并-1-氧杂萘-5-酮溶于1mL二氯甲烷中,加入2-甲氧基苯甲醛(1:1 w/w)和1滴哌啶,蒸除溶剂。150℃反应2.5h。冷却至80℃,加入甲醇和盐酸(3M)的混合溶液(30mL/100mg底物,5:2,v/v),回流20min。加入乙酸乙酯80mL萃取,依次用饱和氯化铵和食盐水(各40mL)洗涤。有机相用无水硫酸钠干燥,蒸干柱层析得产物。<sup>1</sup>HNMR (500MHz,CDCl<sub>3</sub>):δ (ppm) 12.13 (s, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.36 (m, 2H), 7.32 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.00 (d, J=2.5Hz, 1H), 6.95 (d, J=8.0Hz, 1H), 6.77 (d, J=7.5Hz, 1H), 6.60 (d, J=8.0Hz, 1H), 4.34 (t, J=6.0Hz, 2H), 3.87 (s, 3H), 2.93 (t, J=6.0Hz, 2H); <sup>13</sup>CNMR (125MHz, CDCl<sub>3</sub>): 199.2, 163.0, 159.8, 158.1, 138.3, 135.9, 134.8, 130.4, 129.6, 124.2, 120.2, 115.5, 113.1, 112.3, 110.8, 71.8, 55.5, 29.0; ESI-MS: [M+H]<sup>+</sup>: 297.1, [M+Na]<sup>+</sup>: 319.1。

[0046] 实施例3 6-羟基-4-(3-甲氧基苯基亚甲基)苯并-1-氧杂萘-5-酮1k



[0048] (1) 按照实施例2(1)-(3)制备6-羟基苯并-1-氧杂萘-5-酮

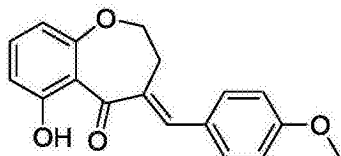
[0049] (2) 6-羟基-4-(3-甲氧基苯基亚甲基)苯并-1-氧杂萘-5-酮的制备将6-羟基苯并-1-氧杂萘-5-酮溶于1mL二氯甲烷中,加入3-甲氧基苯甲醛(1:1 w/w)和1滴哌啶,蒸除溶剂。150℃反应2.5h。冷却至80℃,加入甲醇和盐酸(3M)的混合溶液(30mL/100mg底物,5:2,v/v),回流20min。加入乙酸乙酯80mL萃取,依次用饱和氯化铵和食盐水(各40mL)洗涤。有机相用无水硫酸钠干燥,蒸干柱层析得产物。<sup>1</sup>HNMR (500MHz,CDCl<sub>3</sub>):δ (ppm) 12.04 (s, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.39-7.32 (m, 4H), 7.02 (d, J=7.5Hz, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.92 (d, J=8.5Hz, 1H), 6.77 (d, J=8.5Hz, 1H), 6.01 (d, J=7.5Hz, 1H), 4.36 (t, J=6.0Hz, 2H), 3.83 (s, 3H), 2.99



(t, J=6.0Hz, 2H);  $^{13}\text{C}$ NMR (125MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 199.4, 162.9, 159.8, 159.6, 138.9, 138.1, 136.6, 136.2, 129.7, 121.7, 115.3, 115.0, 114.3, 113.2, 112.4, 71.6, 55.3, 29.1; ESI-MS:  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 297.1,  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : 319.1。

[0050] 实施例4 6-羟基-4-(4-甲氧基苯基亚甲基)苯并-1-氧杂萘-5-酮11

[0051]



[0052] (1) 按照实施例2(1)-(3)制备6-羟基苯并-1-氧杂萘-5-酮

[0053] (2) 6-羟基-4-(4-甲氧基苯基亚甲基)苯并-1-氧杂萘-5-酮的制备将6-羟基苯并-1-氧杂萘-5-酮溶于1mL二氯甲烷中,加入4-甲氧基苯甲醛(1:1 w/w)和1滴哌啶,蒸除溶剂。150℃反应2.5h。冷却至80℃,加入甲醇和盐酸(3M)的混合溶液(30mL/100mg底物,5:2, v/v),回流20min。加入乙酸乙酯80mL萃取,依次用饱和氯化铵和食盐水(各40mL)洗涤。有机相用无水硫酸钠干燥,蒸干柱层析得产物。 $^1\text{H}$ NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) 12.13 (s, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.43 (d, J=8.5Hz, 2H), 7.36 (m, 1H), 6.96 (d, J=8.5Hz, 2H), 6.77 (d, J=8.5Hz, 1H), 6.60 (d, J=8.0Hz, 1H), 4.39 (t, J=6.0Hz, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.02 (t, J=6.0Hz, 2H);  $^{13}\text{C}$ NMR (125MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 199.4, 162.9, 160.2, 159.7, 138.2, 136.6, 135.9, 131.5, 127.7, 115.3, 114.2, 113.1, 112.2, 71.5, 55.3, 29.2; ESI-MS:  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 297.1。

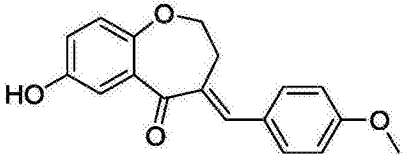
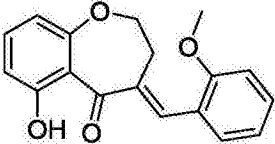
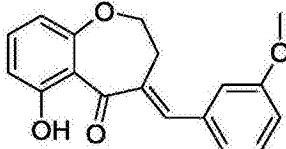
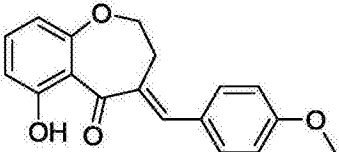
[0054] 药理实验

[0055] 实验例1部分化合物细胞水平FXR拮抗活性的测试

[0056] 用转染和荧光报告实验测试了1a-11这12个化合物的FXR拮抗活性,并计算得到了部分化合物的 $\text{IC}_{50}$ 值。化合物的浓度分别为1 $\mu\text{M}$ , 5 $\mu\text{M}$ , 10 $\mu\text{M}$ , 25 $\mu\text{M}$ ,所用的细胞系是293T细胞。

[0057] 取对数期293T细胞以25,000/孔接种至96孔板。过夜培养后,表达载体 pCMV-GAL4-DBD-hFXR-LBD (5ng/孔), pFR-Luciferase报告基因 (25ng/孔) 以及 Renilla-Luciferase (RL) 质粒 (5ng/孔), 按照0.25 $\mu\text{L}$ /孔的Lipofectamine进行瞬时转染。转染18小时后,用含有CDCA (25 $\mu\text{M}$ ) 的0.5%活性炭处理的FBS的MEM培养液,然后加如待测化合物的DMSO溶液。继续培养24小时后,根据 Dual-Luciferase报告基因说明书检测Luciferase酶活性。以RL酶活性为内参。

[0058] 表1.代表化合物的FXR拮抗活性

化合物	结构	Antagonist rate at 10 $\mu$ M (%)
1i		8.2
1j		15.0
1k		21.3
1l		70.3

[0060] 细胞转染和荧光报告实验表明该类查尔酮在10 $\mu$ M浓度下,能够对CDCA(鹅去氧胆酸,FXR内源性配体)诱导的法尼酯X受体激活产生强烈的拮抗作用。部分化合物FXR拮抗作用的IC<sub>50</sub>值达到10 $\mu$ M以下。

[0061] 实验例2化合物11对2型糖尿病KKay小鼠血糖和血脂的的调节作用药效学实验:

[0062] 通过体内实验确证了化合物11对糖尿病模型KKay小鼠血清TG,肝脏TG及ALT有显著降低作用(见图1),对KKay小鼠非禁食血糖、禁食血糖、胰岛素耐量实验、口服葡萄糖耐量实验有明显降低趋势。

[0063] 实验所使用的动物模型是自发性2型糖尿病KKay小鼠,雌性(购于中国医学科学院动物中心)。依据胰岛素耐量实验,按40分钟血糖下降百分数、空腹血糖、体重、血浆甘油三酯和胆固醇水平随机分为两组。

[0064] 两组KKay小鼠分别为Con组,以水灌胃(0.05ml/10g体重);化合物11组,灌胃给药(0.05ml/10g体重,剂量为200mg/kg)。每天1次,连续28天。实验期间,定时称量体重,每天记录食水。

[0065] 于给药第6天,第10天和第16天测定非禁食血糖和禁食血糖。

[0066] 于给药第10天进行胰岛素耐量实验(Insulin tolerance test,ITT)。

[0067] 于给药第16天进行口服葡萄糖耐量实验(Oral glucose tolerance test,OGTT)。

[0068] 于给药第16天及第28天进行血TG和Cholesterol的测定。

[0069] 于给药第22天及第28天进行血ALT和AST的测定

[0070] 于给药28天停药并处理动物,取肝脏组织,称重,测定肝脏中TG含量。

[0071] 以上结果见表2--表11

[0072] 表2. 11对KKAy小鼠非禁食血糖的影响 (mean ± sd, n=10)

[0073]

组别	剂量 (mg/kg)	非禁食血糖 (mg/dl)		
		第 6 天	第 10 天	第 16 天
Con	--	437.0±89.3	410.4±84.8	459.5±78.7
11	200	403.2±105.1	397.3±97.3	384.6±114.5

[0074] 表3. 11对KKAy小鼠禁食血糖的影响 (mean ± sd, n=10)

[0075]

组别	剂量 (mg/kg)	禁食血糖 (mg/dl)		
		第 6 天	第 10 天	第 16 天
Con	--	281.2±83.6	305.9±105.9	302.4±73.2
11	200	290.0±72.8	268.4±69.7	268.9±51.2

[0076] 表4. 11对KKAy小鼠胰岛素耐量实验的影响 (mean ± sd, n=10)

[0077]

组别	剂量 (mg/kg)	血糖 (mg/dl)			AUC (mg/dl.hr.)
		0min	40min	90min	
Con	--	305.9±105.9	289.9±125.3	272.1±85.9	432.8±161.9
11	200	268.4±69.7	229.5±51.5	221.5±58.6	353.9±84.1

[0078] 表5. 11对KKAy小鼠口服葡萄糖耐量实验的影响 (mean ± sd, n=10)

[0079]

组别	剂量 (mg/kg)	血糖 (mg/dl)				AUC (mg/dl.hr.)
		0min	30min	60min	120min	
Con	--	302.4±73.2	460.9±59.2	361.5±83.5	314.1±50.6	734.2±131.0
11	200	268.9±51.2	447.8±47.3	312.8±59.1	264.6±83.3	658.1±109.4

[0080] 表6. 11对KKAy小鼠血清TG的影响 (mean ± sd, n=10)

	组别	剂量 (mg/kg)	TG (mg/dl)	
			第 16 天	第 28 天
[0081]	Con	--	337.4±81.1	508.0±99.7
	<b>II</b>	200	225.1±91.5*	367.3±126.9*

[0082] \*,与Con组相比,P<0.05;\*\* ,与Con组相比,P<0.01

[0083] 表7. 11对KKAy小鼠肝脏TG的影响 (mean±sd,n=10)

[0084]

组别	剂量 (mg/kg)	TG (mg/g tissue)
Con	--	158.2±17.6
<b>II</b>	200	108.2±9.37*

[0085] \*,与Con组相比,P<0.05,\*\* ,与Con组相比,P<0.01。

[0086] 表8. 11对KKAy小鼠血清ALT及AST的影响 (mean±sd,n=10)

[0087]

组别	剂量 (mg/kg)	ALT (U/L)		AST (U/L)	
		第 22 天	第 28 天	第 22 天	第 28 天
Con	--	54.4±12.5	73.5±17.4	132.9±36.2	130.9±29.6
<b>II</b>	200	37.8±18.5*	56.5±11.0*	124.6±10.9	126.3±28.0

[0089] \*,与Con组相比,P<0.05

[0090] 表9. 11对KKAy小鼠体重的影响 (mean±sd,n=10)

[0091]

组别	剂量 (mg/kg)	体重 (g)			
		第 6 天	第 10 天	第 16 天	第 22 天
Con	--	45.2±3.9	44.8±3.7	45.7±3.4	47.3±3.0
<b>II</b>	200	44.8±3.1	43.9±3.1	44.1±3.2	46.0±3.0

[0092] 表10 11对KKAy小鼠体重变化的影响 (mean±sd,n=10)

[0093]

组别	剂量 (mg/kg)	体重变化 (g)			
		第 6 天	第 10 天	第 16 天	第 22 天
Con	--	0.0±0.7	-0.4±0.8	0.5±0.8	2.2±2.3
<b>II</b>	200	0.1±1.5	-0.8±1.6	-0.7±2.2	1.2±2.3

[0094] 表11. II对KKAy小鼠摄食量及饮水量的影响 (mean±sd, n=10)

[0095]

组别	剂量 (mg/kg)	摄食量 (g/天/只)	饮水量 (g/天/只)
Con	--	4.31±0.49	8.80±1.62
<b>II</b>	200	4.02±0.51	8.40±1.11

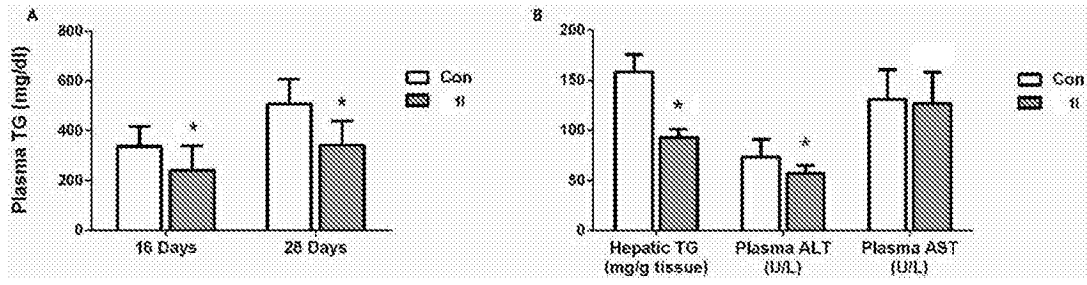


图1