



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102516219 B

(45) 授权公告日 2014. 12. 03

(21) 申请号 201110332718. 7

(22) 申请日 2011. 10. 28

(73) 专利权人 沈阳药科大学

地址 110136 辽宁省沈阳市沈北新区道义大街 168 号

(72) 发明人 高慧媛 王立新 许佑君 黄健 孙博航

(74) 专利代理机构 沈阳杰克知识产权代理有限公司 21207

代理人 李宇彤

(51) Int. Cl.

C07D 311/86(2006. 01)

A61P 3/10(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101455674 A, 2009. 06. 17, 权利要求 4.

CN 101455674 A, 2009. 06. 17, 权利要求 4.

JP 平 4 - 139179 A, 1992. 05. 13, 说明书第 1 页.

Zhong Dai et al.. 3, 4, 5, 6-Tetrahydroxyxanthone prevents vascular endothelial cell apoptosis induced by high glucose. 《Naunyn-Schmiedeberg, s Arch Pharmacol》. 2004, 第 370 卷第 314-319 页.

廖洪利等. 芒果苷的结构修饰. 《华西药理学杂志》. 2008, 第 23 卷 (第 4 期), 第 385 - 387 页.

Chutima Kuhakarn et al.. Friedel - Crafts-Type Alkylation with Bromodifluoro (phenylsulfanyl)methane through

α -Fluorocarbo-cations: Syntheses of Thioesters, Benzophenones and Xanthones. 《Eur. J. Org. Chem.》. 2011, 第 5911 - 5918 页.

Chutima Kuhakarn et al.. Friedel - Crafts-Type Alkylation with Bromodifluoro (phenylsulfanyl)methane through

α -Fluorocarbo-cations: Syntheses of Thioesters, Benzophenones and Xanthones. 《Eur. J. Org. Chem.》. 2011, 第 5911 - 5918 页.

Kurduker, Rajeshwar et al.. Physiologically active compounds. VI. Synthesis of halo and nitro derivatives of dihydroxyxanthones. 《Proceedings - Indian Academy of Sciences, Section A》. 1963, 第 57 卷 (第 5 期), 第 280 - 287 页.

Kurduker, Rajeshwar et al.. Physiologically active compounds. VI. Synthesis of halo and nitro derivatives of dihydroxyxanthones. 《Proceedings - Indian Academy of Sciences, Section A》. 1963, 第 57 卷 (第 5 期), 第 280 - 287 页.

Andrew P. A. Crew et al.. Synthesis of a Stable Mimic for the Ring Closed Form of Gallein, Featuring a Novel One Pot Boron Tribromide Mediated Intramolecular Cyclisation Process. 《Synlett》. 1999, (第 7 期), 第 1133 - 1135 页.

Andrew P. A. Crew et al.. Synthesis of (续)

审查员 李敏

权利要求书 1 页 说明书 14 页

(54) 发明名称

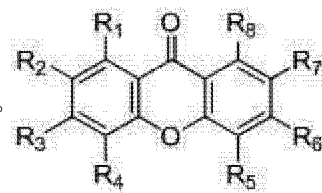
卤代多羟基山酮衍生物及其制备方法与用途

(57) 摘要

本发明属于药物合成领域, 涉及通式 I 所示的溴代、氯代多羟基口山酮类化合物和衍生物的制备方法及其用途. 本发明的通式如(I)所示, 其中取代基 R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、R₇、R₈具有在说明书中给出的含义. 体外抗糖尿病活性实验表明, 本发明

所述的化合物显示了良好的活性, 可进一步研制开发为新型治疗和 / 或预防糖尿病及由糖尿病所

引起的并发症的药物。



I

[转续页]

[接上页]

(56) 对比文件

a Stable Mimic for the Ring Closed Form of Gallein, Featuring a Novel One Pot Boron Tribromide Mediated Intramolecular Cyclisation Process. 《Synlett》.1999, (第7

期), 第 1133 - 1135 页.

吴玮峰. 芒果苷元衍生物的合成及其生物活性研究. 《中国优秀硕士学位论文全文数据库 医药卫生科技辑》. 2009, (第10期), 第E057-25页.

1. 卤代多羟基山酮衍生物,所述的衍生物为 2- 溴 -3, 4, 5, 6- 四羟基山酮。
2. 权利要求 1 所述的卤代多羟基山酮衍生物在制备 α -葡萄糖苷酶抑制剂和晚期糖基化蛋白 AGEs 生成抑制剂中的应用。

卤代多羟基山酮衍生物及其制备方法与用途

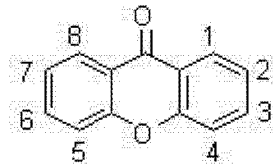
技术领域

[0001] 本发明属于药物化学领域,具体涉及新型卤素羟基山酮类(双苯吡酮类)衍生物的制备及其用途,具体涉及新的卤素、羟基、烷氧基山酮类化合物及其制备方法和在医学上的应用。

背景技术

[0002] 山酮的骨架属于含氧杂环,是藤黄属植物中鉴于文献报道最多的一类化合物,其基本母核主要有以下几种:简单异戊烯基取代的山酮类、吡喃并山酮类、呋喃并山酮类、双山酮类以及笼状多异戊烯基山酮类化合物,其中取代基多为羟基、甲氧基、烷基和链状异戊烯基。

[0003]



[0004] 对于大多数山酮化合物来说,在其母核上出现酚性官能团经常表现出广泛的生物或药理活性。

[0005] (1) 止痛作用:从 *P. cyparissias* 分离得到的 1,7-二羟基-2,3-二甲氧基山酮,具有抑制由乙酸诱发的腹部痉挛作用。

[0006] (2) 抗真菌活性:从 *P. nyikensis* 中分离得到的 1,7-二羟基-4-甲氧基山酮和 1,7-二羟基-3,5,6-三甲氧基山酮具有抑制植物病原真菌的作用,其抗真菌活性的大小与 A 环和 C 环上羟基数目有关,如果羟基被烷基取代,则活性降低,且烷基侧链越长,活性越低。

[0007] (3) 单胺氧化酶(MAO)抑制作用:一般来说,1,3,5,8-和 1,3,7,8-取代类型的山酮具有单胺氧化酶(MAO)抑制作用。以 5-羟色胺和 β -苯乙胺分别作为 A 型和 B 型 MAO 的相对特异性底物,而以 1,3-二羟基-7-甲氧基山酮和其 3-O-葡萄糖苷为 A 型 MAO 和 B 型 MAO 的非选择性抑制剂,两者的抑制作用与相应底物属于完全竞争性抑制,并且苷元具有更好的抑制作用。

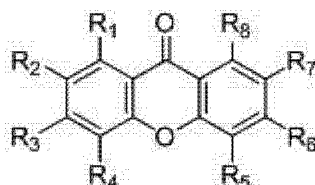
[0008] 我们前期体外抗糖尿病及其并发症的活性筛选研究发现,具有山酮母核结构的天然产物芒果苷具有很好的抑制 α -葡萄糖苷酶(α -glucosidase)及晚期糖基化终产物(advanced glycation end-products, AGEs)生成的活性。基于其为碳苷水溶性、脂溶性都不理想,并根据山酮母核的活性,通过化学合成设计并合成了一种以卤素作为主要取代基的新型的山酮衍生物,活性表明部分合成产物有望作为治疗或辅助性治疗糖尿病及并发症的药物。

发明内容

[0009] 本发明的目的是提供卤素、羟基、烷氧基或苄基山酮类化合物及其制剂在制药领域的应用,特别是在防治糖尿病及糖尿病并发症药物中的应用。

[0010] 本发明中化合物的结构如通式(I)所示:式中 R_2 (或 R_7)为卤素或 C_1-C_{10} 烷氧基, R_1 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_8 为 C_1-C_{10} 烷氧基, C_3-C_{10} 环烷氧基,羟基、氢、卤素、苄基氧基,其中在 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 中至少有一个是羟基或烷氧基或苄基氧基。

[0011]



[0012] 通式 I

[0013] 本发明优选如下化合物:

[0014] R_2 为氯或溴;

[0015] R_1 , R_3 为氢, 卤素, 羟基, 独立地选自 C_1-C_4 的烷氧基, C_3-C_6 的环烷氧基;

[0016] 或 R_1 , R_3 中至少有一个为羟基或 $C_1\sim C_4$ 的烷氧基或苄基氧基;

[0017] $R_4\sim R_6$, R_7 , R_8 为氢, 卤素, 羟基, 独立地选自 C_1-C_{10} 烷氧基, C_3-C_{10} 环烷氧基;

[0018] 或 $R_4\sim R_6$, R_7 (或 R_2), R_8 中至少有一个为羟基或 $C_1\sim C_{10}$ 的烷氧基, C_3-C_{10} 环烷氧基或苄基氧基。

[0019] 本发明还优选如下化合物:

[0020] R_7 为氯或溴;

[0021] R_1 , R_3 为氢, 卤素, 羟基, 独立地选自 C_1-C_4 的烷氧基, C_3-C_6 的环烷氧基;

[0022] 或 R_1 , R_3 中至少有一个为羟基或 $C_1\sim C_4$ 的烷氧基或苄基氧基;

[0023] $R_4\sim R_6$, R_2 , R_8 为氢, 卤素, 羟基, 独立地选自 C_1-C_{10} 烷氧基, C_3-C_{10} 环烷氧基;

[0024] 或 $R_4\sim R_6$, R_2 , R_8 中至少有一个为羟基或 $C_1\sim C_{10}$ 的烷氧基, C_3-C_{10} 环烷氧基或苄基氧基。

[0025] 按照本发明, 特别优选的式 I 的卤代多羟基山酮衍生物包括:

[0026] 2-氯-3,4,5,6-四羟基山酮

[0027] 2-溴-3,4,5,6-四羟基山酮

[0028] 2-氯-3,4,5,6-四甲氧基山酮

[0029] 2-溴-3,4,5,6-四甲氧基山酮

[0030] 2-氯-3,4,5,6-四丙氧基山酮

[0031] 2-溴-3,4,5,6-四丙氧基山酮

[0032] 2-氯-3,4,5,6-四乙氧基山酮

[0033] 2-溴-3,4,5,6-四乙氧基山酮

[0034] 2-氯-3,4,5,6-四异丁氧基山酮

[0035] 2-氯-3,4,5,6-四正丁氧基山酮

[0036] 2-溴-3,4,5,6-四正丁氧基山酮

[0037] 3,4,5,6-四正丁氧基山酮

- [0038] 3, 4, 5, 6- 四异丁氧基山酮
 [0039] 3, 4, 5, 6- 四乙氧基山酮
 [0040] 3, 4, 5, 6- 四甲氧基山酮
 [0041] 3, 4, 5, 6- 四苄氧基山酮
 [0042] 7- 溴 -6- 甲氧基 -3, 4, 5- 三正丁氧基山酮
 [0043] 7- 氯 -6- 甲氧基 -3, 4, 5- 三正丁氧基山酮
 [0044] 7- 溴 -6- 甲氧基 -3, 4, 5- 三异丁氧基山酮
 [0045] 7- 氯 -6- 甲氧基 -3, 4, 5- 三异丁氧基山酮
 [0046] 7- 溴 -6- 甲氧基 -3, 4, 5- 三乙氧基山酮
 [0047] 2- 氯 -3, 4, 5, - 三羟基 -6- 癸氧基山酮
 [0048] 2- 氯 -3, 4, 5, - 三羟基 -6- 环己氧基山酮

[0049] 本发明中化合物的合成方法可通过如下技术方案予以实施：

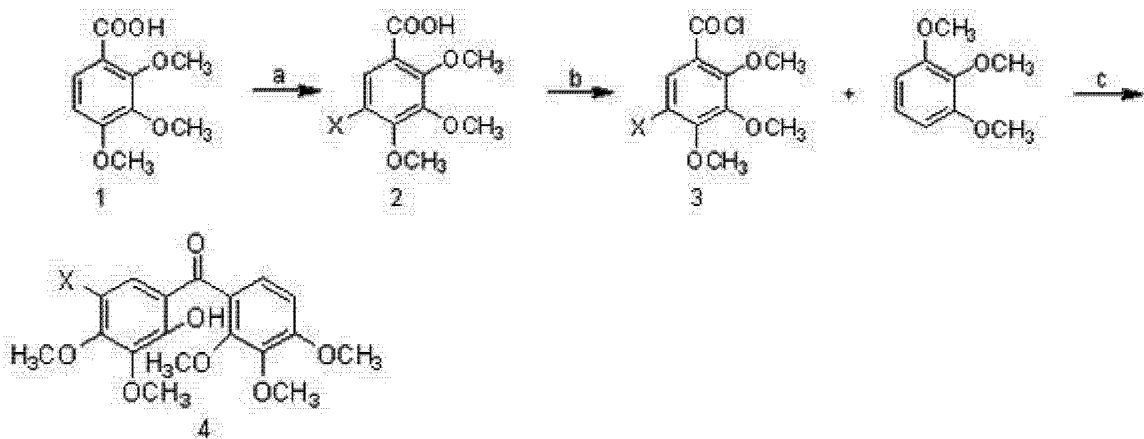
[0050] 以邻甲氧基苯甲酸为起始原料，进行卤化，再酰化，与多甲氧基苯进行 Friedel-Crafts 缩合反应生成相应的二苯甲酮中间体，再环合得到二苯甲酮，脱甲基化得到多羟基山酮，最后进行衍生化。每步过程条理清晰，反应条件较温和，便于实验控制和结构确定。

[0051] 下面合成路线描述了本发明的式 I 化合物的制备，所有的原料都是通过这些示意图中描述的方法、通过有机化学领域普通技术人员熟知的方法制备的或者可商购，实施案例可以帮助本领域的技术人员更全面的理解本发明，但不以任何方式限制本发明。

[0052] (1) 2- 氯 (溴) -3, 4, 5, 6- 四羟基山酮的制备方法包括如下步骤：

[0053] 2- 氯 (溴) -3, 4, 5, 6- 四羟基山酮的制备：

[0054]

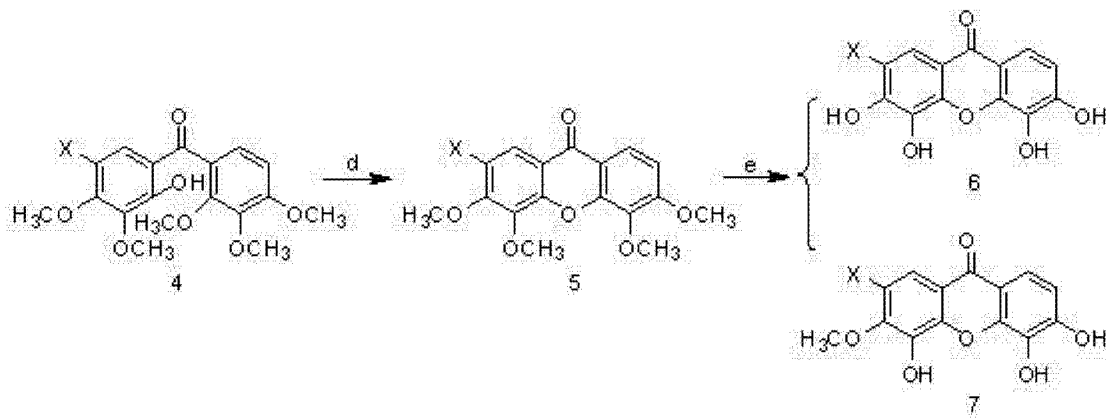


[0055] a. 2, 3, 4- 三甲氧基苯甲酸与 NCS (NBS) 在室温下反应，生成中间体 2

[0056] b. 中间体 2 与氯化亚砷进行酰氯化，得到中间体 3

[0057] c. 中间体 3 和 1, 2, 3- 三甲氧基苯进行 Friedel-Crafts 缩合反应生成中间体 4

[0058]

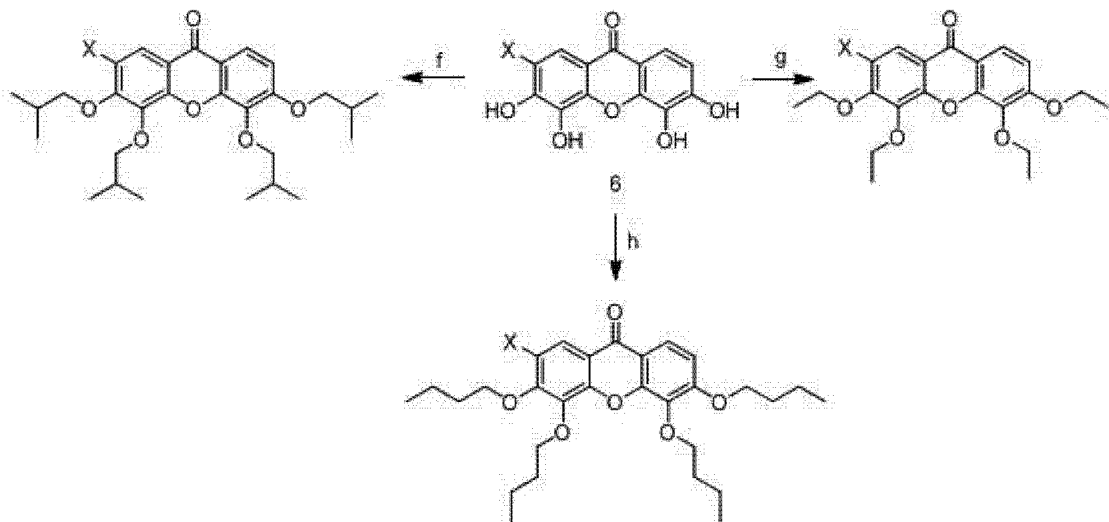


[0059] d. 中间体 4 在碱性条件下环合得到中间体 5

[0060] e. 中间体 5 在酸性条件下脱甲基得到中间体 6 和 7

[0061] 2- 氯 (溴)-3, 4, 5, 6- 四羟基山酮的衍生化 :

[0062]



[0063] f. 中间体 6 在碱性条件下,生成 2- 氯 (溴)-3, 4, 5, 6- 四异丁氧基山酮

[0064] g. 中间体 6 在碱性条件下,生成 2- 氯 (溴)-3, 4, 5, 6- 四乙氧基山酮

[0065] h. 中间体 6 在碱性条件下,生成 2- 氯 (溴)-3, 4, 5, 6- 四正丁氧基山酮

[0066] 7- 氯 (溴)-6- 甲氧基 -3, 4, 5- 三羟基山酮的衍生化与上述类似。

[0067] 本发明具体步骤如下 :

[0068] a :2, 3, 4- 三甲氧基苯甲酸在乙腈或 THF 中与 NCS(NBS) 反应, 温度为 25~45℃, NCS(NBS) 的用量为 1.05~1.12 倍, 反应结束后, 蒸出乙腈, 得到中间体 2。

[0069] 步骤 b :在溶剂中, 中间体 2 与与氯化亚砷进行酰氯化, 反应结束蒸出溶剂, 得到粉红色固体中间体 3。

[0070] 步骤 c :中间体 3 和 1, 2, 3- 三甲氧基苯在冰水浴条件下, 分批次加入无水 AlCl₃, 内温 < 5℃或将中间体 3 与无水 AlCl₃ 在乙醚中混匀, 滴加 1, 2, 3- 三甲氧基的乙醚溶液, 反应完全后, 将反应液倒入 HCl 中搅拌, EA 萃取, 截原点, 浓缩, 得黄色油状物, 甲醇重结晶得到中间体 4。

[0071] 步骤 d :中间体 4 在 K₂CO₃ 甲醇水溶液环合得到中间体 5 ;环合反应缩合剂有 KOH 甲

醇水溶液, NaOH 甲醇水溶液, K_2CO_3 甲醇水溶液, 三乙胺水溶液, 回流时间 2.5~12h 不等。

[0072] 步骤 e: 中间体 5 在氢碘酸 / 苯酚的条件下回流 5h, 得到中间体 6; 脱甲基试剂有氢溴酸 / 冰醋酸, 氢碘酸 / 苯酚, 无水 $AlCl_3$ / 甲苯, 根据反应时间的长短得到不同程度的去甲基化产物。

[0073] 步骤 f, g, h: 中间体 6 在 DMF 为溶剂, K_2CO_3 为缚酸剂与溴代异(正)丁烷(溴乙烷)进行衍生化反应。

具体实施方式

[0074] 实施例 1 2-氯-3,4,5,6-四甲氧基山酮的合成

[0075] (1) 5-氯-2,3,4-三甲氧基苯甲酸的制备

[0076] 2,3,4-三甲氧基苯甲酸 2.12g(0.01mol) 置于 100ml 两口瓶中, 加入 1.4g NCS 和 15ml 乙腈, 氩气保护下, 35℃ 搅拌直至反应完全。反应结束后, 蒸出乙腈, 用乙酸乙酯稀释, 加水萃取, 水层再有 EA 萃取三次, 合并有机层上无水硫酸钠干燥柱, 浓缩得针状晶体, 经质谱确认为 5-氯-2,3,4-三甲氧基苯甲酸。

[0077] (2) 5-氯-2-羟基-2',3,4,3',4'-五甲氧基二苯甲酮的制备

[0078] 称取 5-氯-2,3,4-三甲氧基苯甲酸 2.2g(0.009mol) 置于 100ml 两口瓶中, 加入 25ml 甲苯, 氩气保护下滴加 4ml $SOCl_2$, 回流 3 小时, 蒸出甲苯, 得粉红色固体。

[0079] 上述酰氯在搅拌下加入 30ml 处理过的乙醚和 1,2,3-三甲氧基苯 1.66g(0.0099mol), 冰水浴和氩气保护下分批次加入摩尔质量为 3.3 倍量的无水 $AlCl_3$, 内温低于 5℃, 加入 $AlCl_3$ 时会逐渐出现絮状物, 搅拌一会出现分层现象, 冰水浴继续搅拌直至原料完全反应完, 展开剂为二氯甲烷。反应完全后, 将反应液倒入 2M HCl 中搅拌, EA 萃取, 有机层用水反复萃取三次, 合并有机层截原点, 浓缩得红色针状晶体, 用甲醇重结晶, 得类白色粒状晶体, 经 ESI-MS 确认为 5-氯-2-羟基-2',3,4,3',4'-五甲氧基二苯甲酮。

[0080] (3) 2-氯-3,4,5,6-四甲氧基山酮的合成

[0081] 将上述得到的氯代二苯甲酮置于 100ml 圆底瓶中加入 10ml 甲醇和 30ml 蒸馏水, 搅拌下加入 2.0g K_2CO_3 , 反应液由黄色变为黄绿色, 回流 2h, 有白色絮状物出现, UV 检测直至反应完全, 抽滤, 得白色层状固体, 经 ESI-MS 确认为 2-氯-3,4,5,6-四甲氧基山酮。

[0082] ESI-MS (m/z): 350.0

[0083] 1H -NMR ($CDCl_3$): δ : 8.10 (1H, s), δ : 8.07 (1H, d, $J=9.0$ Hz), δ : 7.05 (1H, d, $J=9.0$ Hz), δ : 4.10 (12H, s)

[0084] 实施例 2 制备 2-氯-3,4,5,6-四羟基山酮

[0085] 称取 5.0g 苯酚置于 100ml 两口瓶, 加热 45℃ 至熔融, 加入 2-氯-3,4,5,6-四甲氧基山酮 0.5g(0.0014mol) 使其完全溶解, 滴加 8ml HI, 回流 5h, 反应过程中有固体析出, UV 检测直至反应完全, 抽滤, 得土黄色固体, 经 ESI-MS 确认为 2-氯-3,4,5,6-四羟基山酮。

[0086] ESI-MS (m/z): 293.9

[0087] 1H -NMR (CD_3OD): δ : 7.70 (1H, s), δ : 7.65 (1H, d, $J=9.0$ Hz), δ : 6.93 (1H, d, $J=9.0$ Hz)

[0088] 实施例 3 制备 2-氯-3,4,5,6-四乙氧基山酮

[0089] 将 0.1g(0.00034mol) 2-氯-3,4,5,6-四羟基山酮, 10ml DMF, 1.4ml 溴乙烷置于

50ml 两口瓶内,氩气保护下加入 2g K_2CO_3 和 0.1g KI,80℃下搅拌,反应 3h 反应结束,用大量水洗反应液,乙酸乙酯萃取,水层 EA 洗三次,合并有机层,截原点,浓缩,回收溶剂,得白色絮状固体,反应液为浅黄色,TLC 跟踪点板,展开剂为石油醚:乙酸乙酯=3:1。反应结束,用大量水洗反应液,乙酸乙酯萃取,水层 EA 洗三次,合并有机层,截原点,浓缩,回收溶剂,得白色片层状固体。通过制备薄层,ESI-MS 确认为 2-氯-3,4,5,6-四乙氧基山酮。

[0090] ESI-MS (m/z): 406.1

[0091] 1H -NMR ($CDCl_3$): δ :8.09(1H, s), δ :8.03(1H, d, $J=9.0$ Hz), δ :7.01(1H, d, $J=9.0$ Hz), δ :4.30(8H, m), δ :1.51(12H)

[0092] 实施例 4 制备 2-氯-3,4,5,6-四丙氧基山酮

[0093] 将 0.1g(0.00034mol) 2-氯-3,4,5,6-四羟基山酮,10mlDMF,1.4ml 1-溴丙烷置于 50ml 两口瓶内,氩气保护下加入 2g K_2CO_3 和 0.1g KI,70℃下搅拌,反应 4h 反应结束,用大量水洗反应液,乙酸乙酯萃取,水层 EA 洗三次,合并有机层,截原点,浓缩,回收溶剂,得白色絮状固体。反应液为浅黄色,TLC 跟踪点板,展开剂为石油醚:乙酸乙酯=3:1。反应结束,用大量水洗反应液,乙酸乙酯萃取,水层 EA 洗三次,合并有机层,截原点,浓缩,回收溶剂,得白色片层状固体。通过制备薄层,ESI-MS 确认为 2-氯-3,4,5,6-四丙氧基山酮。

[0094] ESI-MS(m/z): 462.9

[0095] 1H -NMR ($CDCl_3$): δ :7.12(1H, s), δ :7.08(1H, d, $J=9.0$ Hz), δ :6.48(1H, d, $J=9.0$ Hz), δ :3.95(8H, d), δ :1.75(8H, m), δ :0.96(12H, m)

[0096] 实施例 5 制备 2-氯-3,4,5,6-四异丁氧基山酮

[0097] 将 0.1g(0.00034mol) 5-氯-3,4,5,6-四羟基山酮,10mlDMF,2.0ml 溴代异丁烷置于 50ml 两口瓶内,氩气保护下加入 1g K_2CO_3 和 0.1g KI,80℃下搅拌,反应 3h,反应液为棕绿色,TLC 跟踪点板,展开剂为石油醚:乙酸乙酯=3:1。反应结束,用大量水洗反应液,乙酸乙酯萃取,水层 EA 洗三次,合并有机层,截原点,浓缩,回收溶剂,得黄色油状物。通过柱层析分离纯化,以石油醚:乙酸乙酯=20:1 进行洗脱,得到类白色固体,经 ESI-MS 确认为 2-氯-3,4,5,6-四异丁氧基山酮。

[0098] ESI-MS (m/z): 518.3

[0099] 1H -NMR ($CDCl_3$): δ :8.08(1H, s), δ :8.03(1H, d, $J=9.0$ Hz), δ :7.00(1H, d, $J=9.0$ Hz), δ :3.95(8H, d), δ :2.20(4H, m), δ :1.10(24H, m)

[0100] 实施例 6 制备 7-氯-6-甲氧基-3,4,5-三异丁氧基山酮

[0101] 同理,7-氯-6-甲氧基-3,4,5-三异丁氧基山酮的制备同上,也是 UV 检测时为下面的蓝色斑点,极性变大,通过柱色谱分离纯化,经 ESI-MS 和 1H -NMR 确认为 7-氯-6-甲氧基-3,4,5-三异丁氧基山酮。

[0102] ESI-MS (m/z): 476.2

[0103] 1H -NMR ($CDCl_3$): δ :8.08(1H, s), δ :8.05(1H, d, $J=9.0$ Hz), δ :7.03(1H, d, $J=9.0$ Hz), δ :3.99 (9H, m), δ :2.19(3H, m), δ :1.11(18H, m)

[0104] 实施例 7 制备 2-氯-3,4,5,6-四正丁氧基山酮

[0105] 将 0.1g(0.00034mol) 5-氯-3,4,5,6-四羟基山酮,10mlDMF,1.8ml 溴代正丁烷置于 50ml 两口瓶内,氩气保护下加入 1g K_2CO_3 和 0.1g KI,80℃下搅拌,反应 3h,反应液为黄色,TLC 跟踪点板,展开剂为石油醚:乙酸乙酯=3:1。反应结束,用大量水洗反应液,

乙酸乙酯萃取,水层 EA 洗三次,合并有机层,截原点,浓缩,回收溶剂,得黄色油状物。通过柱色谱分离纯化,以石油醚:乙酸乙酯=20:1 进行洗脱,得到类白色固体,经 ESI-MS 确认为 2-氯-3,4,5,6-四正丁氧基山酮。

[0106] ESI-MS(m/z):518.3

[0107] $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ :8.03(1H, s), δ :8.01(1H, d, $J=9.0\text{Hz}$), δ :7.01(1H, d, $J=9.0\text{Hz}$), δ :4.21(8H, m) 为, δ :1.86(8H, m), δ :1.58(8H, m), δ :1.02(12H, m)

[0108] 实施例 8 制备 7-氯-6-甲氧基-3,4,5-三正丁氧基山酮

[0109] 同理,7-氯-6-甲氧基-3,4,5-三正丁基山酮的制备同上,也是 UV 检测时为下面的蓝色斑点,极性变大,通过制备薄层,ESI-MS 确认为 7-氯-6-甲氧基-3,4,5-三正丁氧基山酮。

[0110] 通过柱色谱分离纯化,采用 200~300 目硅胶,依次用 100:0,50:1,20:1,10:1 的石油醚/乙酸乙酯进行洗脱,最后用乙酸乙酯洗脱,每 8~10ml 收集,浓缩得纯产品,总收率为 30.7%。

[0111] ESI-MS(m/z):476.3

[0112] $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ :8.08(1H, s), δ :8.03(1H, d, $J=9.0\text{Hz}$), δ :7.02(1H, d, $J=9.0\text{Hz}$), δ :4.22(6H, m), δ :4.01(3H, s), δ :1.85(6H, m), δ :1.58(6H, m), δ :1.02(9H, t)

[0113] 实施例 9 制备 2-溴-3,4,5,6-四甲氧基山酮的合成

[0114] (1) 5-溴-2,3,4-三甲氧基苯甲酸的制备

[0115] 称 2,3,4-三甲氧基苯甲酸 2.12g(0.01mol) 置于 100ml 两口瓶中,加入 2.0g NBS 和 15ml 乙腈,氩气保护下,35℃ 搅拌直至反应完全。反应结束后,蒸出乙腈,用乙酸乙酯稀释,加水萃取,水层再有 EA 萃取三次,合并有机层上无水硫酸钠干燥柱,浓缩得针状晶体,经质谱确认为 5-溴-2,3,4-三甲氧基苯甲酸。

[0116] (2) 5-溴-2-羟基-2',3,4,3',4'-五甲氧基二苯甲酮的制备

[0117] 称取 5-溴-2,3,4-三甲氧基苯甲酸 2.5g(0.0086mol) 置于 100ml 两口瓶中,加入 25ml 甲苯,氩气保护下滴加 4ml SOCl_2 ,回流 3 小时,蒸出甲苯,冷却得红色固体。

[0118] 上述酰氯在搅拌下加入 30ml 处理过的乙醚,冰水浴和氩气保护下加入摩尔质量为 3.3 倍量的无水 AlCl_3 ,内温低于 5℃,将 1,2,3-三甲氧基苯 1.66g(0.0099mol) 溶解于 10ml 乙醚中,滴加,搅拌一会出现分层现象,冰水浴继续搅拌直至原料完全反应完,展开剂为二氯甲烷。反应完全后,将反应液倒入 2M HCl 中搅拌,EA 萃取,有机层用水反复萃取三次,合并有机层截原点,浓缩得深红色针状晶体,用甲醇重结晶,得乳白色粒状晶体,经 ESI-MS 确认为 5-溴-2-羟基-2',3,4,3',4'-五甲氧基二苯甲酮。

[0119] (3) 2-溴-3,4,5,6-四甲氧基山酮的合成

[0120] 将上述得到的溴代二苯甲酮置于 100ml 圆底瓶中加入 10ml 甲醇和 30ml 蒸馏水,搅拌下加入 2.0g K_2CO_3 ,反应液由黄色变为黄绿色,回流 2h,有白色絮状物出现,UV 检测直至反应完全,抽滤,得白色层状固体,经 ESI-MS 和 $^1\text{H-NMR}$ 确认为 2-溴-3,4,5,6-四甲氧基山酮。

[0121] ESI-MS (m/z): 394.0

[0122] $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ :8.28(1H, s), δ :8.09(1H, d, $J=9.0\text{Hz}$), δ :7.05(1H, d,

$J=9.0\text{Hz}$), δ :4.10 (12H, s)

[0123] 实施例 10 制备 2-溴-3,4,5,6-四羟基山酮

[0124] 称取 5.0g 苯酚置于 100ml 两口瓶中, 加热至 45 °C 使其熔融, 加入 5-溴-3,4,5,6-四甲氧基山酮 0.5g (0.0013mol) 使其完全溶解, 滴加 7.5ml HI, 回流 5h, 反应过程中有固体析出, UV 检测直至反应完全, 抽滤, 得土黄色固体, 经 ESI-MS 和 $^1\text{H-NMR}$ 确认为 2-溴-3,4,5,6-四羟基山酮。

[0125] ESI-MS (m/z): 337.9

[0126] $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): δ :7.89 (1H, s), δ :7.66 (1H, d, $J=9.0\text{Hz}$), δ :6.94 (1H, d, $J=9.0\text{Hz}$)

[0127] 实施例 11 制备 2-溴-3,4,5,6-四乙氧基山酮

[0128] 将 0.1g (0.0003mol) 2-溴-3,4,5,6-四羟基山酮, 10ml DMF, 1.2ml 溴乙烷置于 50ml 两口瓶内, 氩气保护下加入 1g K_2CO_3 和 0.1g KI, 80 °C 下搅拌, 反应 3h, 反应液为棕绿色, TLC 跟踪点板, 展开剂为石油醚:乙酸乙酯=3:1。通过柱色谱分离纯化, 采用 200~300 目硅胶, 依次用 100:0, 50:1, 20:1, 10:1 的石油醚/乙酸乙酯进行洗脱, 最后用乙酸乙酯洗脱, 每 8~10ml 收集, 浓缩得纯产品, 经 ESI-MS 和 $^1\text{H-NMR}$ 确认为 2-溴-3,4,5,6-四乙氧基山酮。

[0129] ESI-MS (m/z): 450.0

[0130] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ :8.27 (1H, s), δ :8.04 (1H, d, $J=9.0\text{Hz}$), δ :7.01 (1H, d, $J=9.0\text{Hz}$), δ :4.29 (8H, m), δ :1.51 (12H, t)

[0131] 实施例 12 制备 7-溴-6-甲氧基-3,4,5-三乙氧基山酮

[0132] 同理, 7-溴-6-甲氧基-3,4,5-三乙基山酮的制备、分离纯化同上。

[0133] ESI-MS (m/z): 436.0

[0134] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ :8.27 (1H, s), δ :8.07 (1H, d, $J=9.0\text{Hz}$), δ :7.03 (1H, d, $J=9.0\text{Hz}$), δ :4.30 (6H, m), δ :4.02 (3H, s), δ :1.52 (9H, m)

[0135] 实施例 13 制备 2-溴-3,4,5,6-四丙氧基山酮

[0136] 将 0.1g (0.0003mol) 2-溴-3,4,5,6-四羟基山酮, 10ml DMF, 1.2ml 1-溴丙烷置于 50ml 两口瓶内, 氩气保护下加入 1g K_2CO_3 和 0.1g KI, 70 °C 下搅拌, 反应 4h, 反应液为棕绿色, TLC 跟踪点板, 展开剂为石油醚:乙酸乙酯=3:1。通过柱色谱分离纯化, 采用 200~300 目硅胶, 依次用 50:1, 20:1, 10:1 的石油醚/乙酸乙酯进行洗脱, 最后用乙酸乙酯洗脱, 每 8~10ml 收集, 浓缩得纯产品, 经 ESI-MS 确认为 2-溴-3,4,5,6-四丙氧基山酮。

[0137] ESI-MS (m/z): 506.1

[0138] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ :7.28 (1H, s), δ :7.15 (1H, d, $J=9.0\text{Hz}$), δ :6.75 (1H, d, $J=9.0\text{Hz}$), δ :3.84 (8H, d), δ :1.82 (8H, m), δ :1.09 (12H, m)

[0139] 实施例 14 制备 2-溴-3,4,5,6-四正丁氧基山酮

[0140] 将 0.3g (0.0009mol) 2-溴-3,4,5,6-四羟基山酮, 20ml DMF, 6.0ml 溴代正丁烷置于 50ml 两口瓶内, 氩气保护下加入 4g K_2CO_3 和 0.4g KI, 80 °C 下搅拌, 反应 3h, 反应液由棕红色变为粉色, TLC 跟踪点板, 展开剂为石油醚:乙酸乙酯=3:1。反应结束, 用大量水洗反应液, 二氯甲烷萃取, 水层用二氯甲烷洗三次, 合并有机层, 截原点, 浓缩, 回收溶剂, 得黄色油状物后析出少量粒状固体。通过柱色谱分离纯化, 经 ESI-MS 和 $^1\text{H-NMR}$ 确认为 2-溴-3,4,5,6-四正丁氧基山酮。

[0141] ESI-MS(m/z):564.3

[0142] $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ :8.26(1H, s), δ :8.03(1H, d, $J=9.0\text{Hz}$), δ :7.02(1H, d, $J=9.0\text{Hz}$), δ :4.20(8H, t), δ :1.88(8H, m), δ :1.60(8H, m), δ :1.02(12H, t)

[0143] 实施例 15 制备 7-溴-6-甲氧基-3,4,5-三正丁基山酮

[0144] 同理,7-溴-6-甲氧基-3,4,5-三正丁基山酮的制备同上。通过柱色谱分离纯化,采用 200~300 目硅胶,依次用 100:0,50:1,20:1,10:1 的石油醚/乙酸乙酯进行洗脱,最后用乙酸乙酯洗脱,每 8~10ml 收集,浓缩得纯产品。

[0145] ESI-MS(m/z):521.2

[0146] $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ :8.27(1H, s), δ :8.07(1H, d, $J=9.0\text{Hz}$), δ :7.03(1H, d, $J=9.0\text{Hz}$), δ :4.24(6H, m), δ :4.02(3H, s), δ :1.86(6H, m), δ :1.57(6H, m), δ :1.03(9H, t)

[0147] 实施例 16 3,4,5,6-四甲氧基口山酮的合成

[0148] (1) 2-羟基-2',3,4,3',4'-五甲氧基二苯甲酮的制备

[0149] 称取 2,3,4-三甲氧基苯甲酸 10.6g(0.05mol),用 120ml 无水甲苯将其溶解,在氩气保护下滴加 18ml SOCl_2 ,回流 3h,回收甲苯,得到酰氯。

[0150] 上述酰氯在搅拌下,加入 1,2,3-三甲氧基苯 7.6g,无水乙醚 150ml,冰水浴内温控制在 0℃以下,氩气保护下分批次加入无水 AlCl_3 20g(0.15mol),转移至 25℃油浴锅中搅拌过夜,后升温至回流,TLC 跟踪反应,二氯甲烷为展开剂。反应完毕,萃取分离棕色有机层,将有机层倒入 200ml 10% HCl 中,二氯甲烷萃取,水层有二氯甲烷洗三次,合并有机层,截原点,并用无水硫酸钠干燥,浓缩,回收溶剂,得黄色油状物,TLC 检查为两个点,经柱色谱分离,得黄绿色晶体,经质谱确认为产品 2-羟基-2',3,4,3',4'-五甲氧基二苯甲酮。

[0151] (2) 3,4,5,6-四甲氧基山酮的合成

[0152] 将上步得到的二苯甲酮 10.54g(0.03mol),100ml 甲醇和 50ml 蒸馏水置于 500ml 三颈瓶中,搅拌下加入无水 K_2CO_3 12.5g,反应液逐渐变澄清,回流 4h,出现絮状白色固体,补加 20ml 甲醇,TLC 跟踪,二氯甲烷为展开剂,直至反应完全,UV 灯下为亮蓝色暗斑。将反应混合物用 2M HCl 调 pH 至 2~3,产生大量白色固体,由于晶型过碎,不易抽滤,加二氯甲烷将其溶解,萃取,水层用二氯甲烷洗三次,合并有机相,上柱子截原点,浓缩,回收溶剂,得到白色固体,甲醇重结晶,得白色固体,经 ESI-MS 和 $^1\text{H-NMR}$ 确认为 3,4,5,6-四甲氧基山酮。

[0153] ESI-MS (m/z): 316.1

[0154] $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ :8.08(2H, d, $J=9.0\text{Hz}$), δ :7.02(2H, d, $J=9.0\text{Hz}$), δ :4.06(6H, s)

[0155] 实施例 17 制备 3,4,5,6-四羟基山酮

[0156] 将 30g 苯酚置于 100ml 的两口瓶内,氩气保护下加热至 45℃,熔融状态下加入 2.0g(0.0063mol) 3,4,5,6-四甲氧基山酮,滴加 20ml HI ,滴加完毕,反应液为橘红色,回流 6h,有固体逐渐析出,TLC 跟踪,直至完全反应,展开剂为 $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}=3:1$ 加 3 滴冰醋酸。反应结束,冷却,将析出固体抽滤,并用乙酸乙酯洗涤滤饼,直至滤液无色,干燥,粗品用甲醇重结晶,得土黄色固体粉末,经 ESI-MS 和 $^1\text{H-NMR}$ 确认结构为 3,4,5,6-四羟基山酮。

[0157] ESI-MS (m/z): 259.9

[0158] $^1\text{H-NMR}(\text{CD}_3\text{OD})$: δ :7.66(2H, d, $J=9.0\text{Hz}$), δ :6.92(2H, d, $J=9.0\text{Hz}$)

[0159] 实施例 18 制备 3, 4, 5, 6- 四正丁氧基山酮

[0160] 将 0.1g(0.00038mol) 3, 4, 5, 6- 四羟基山酮, 10mlDMF, 2ml 溴代正丁烷置于 50ml 两口瓶内, 氩气保护下加入 2g K_2CO_3 和 0.2g KI, 85°C 下搅拌, 反应 1h, 反应液为棕绿色, TLC 跟踪点板, 展开剂为石油醚: 乙酸乙酯=3:1。反应结束, 用大量水洗反应液, 乙酸乙酯萃取, 水层 EA 洗三次, 合并有机层, 截原点, 浓缩, 回收溶剂, 得棕色油状物。通过柱层色谱分离纯化, 得到透明块状晶体, 经 ESI-MS 和 1H -NMR 确认为 3, 4, 5, 6- 四正丁氧基山酮。

[0161] ESI-MS (m/z): 484.4

[0162] 1H -NMR ($CDCl_3$): δ : 8.04 (2H, d, $J=9.0$ Hz), δ : 6.98 (2H, d, $J=9.0$ Hz), δ : 4.18 (8H, m), δ : 1.87 (8H, m), δ : 1.58 (8H, m), δ : 1.03 (12H, t)

[0163] 实施例 19 3, 4, 5, 6- 四异丁氧基山酮的合成

[0164] 将 0.2g(0.00077mol) 3, 4, 5, 6- 四羟基山酮, 20mlDMF, 4ml 溴代异丁烷置于 50ml 两口瓶内, 氩气保护下加入 4g K_2CO_3 和 0.4g KI, 85°C 下搅拌, 反应 3h, 反应液为棕黑色, TLC 跟踪点板, 展开剂为石油醚: 乙酸乙酯=3:1。反应结束, 用大量水洗反应液, 乙酸乙酯萃取, 水层 EA 洗三次, 合并有机层, 截原点, 浓缩, 回收溶剂, 得棕色油状物。通过柱层色谱分离纯化, 得到透明针状晶体, 经 ESI-MS 和 1H -NMR 确认为 3, 4, 5, 6- 四异丁氧基山酮。

[0165] ESI-MS (m/z): 484.3

[0166] 1H -NMR ($CDCl_3$): δ : 8.03 (2H, d, $J=6.0$ Hz), δ : 6.98 (2H, d, $J=6.0$ Hz), δ : 3.94 (8H, d, $J=6.0$ Hz), δ : 2.21 (4H, m), δ : 1.12 (24H, d, $J=3.0$ Hz)

[0167] 实施例 20 3, 4, 5, 6- 四乙氧基山酮的合成

[0168] 将 0.1g(0.00038mol) 3, 4, 5, 6- 四羟基山酮, 10mlDMF, 1.4ml 溴乙烷置于 50ml 两口瓶内, 氩气保护下加入 2g K_2CO_3 和 0.1g KI, 80°C 下搅拌, 反应 3h, 反应液为棕绿色, TLC 跟踪点板, 展开剂为石油醚: 乙酸乙酯=3:1。反应结束, 用大量水洗反应液, 乙酸乙酯萃取, 水层 EA 洗三次, 合并有机层, 截原点, 浓缩, 回收溶剂, 得到片层状白色固体, 经 ESI-MS 和 1H -NMR 确认为 3, 4, 5, 6- 四乙氧基山酮。

[0169] ESI-MS (m/z): 372.3

[0170] 1H -NMR ($CDCl_3$): δ : 8.04 (2H, d, $J=9.0$ Hz), δ : 6.98 (2H, d, $J=9.0$ Hz), δ : 4.27 (8H, m), δ : 1.52 (12H, m)

[0171] 实施例 21 制备 7- 溴 -6- 甲氧基 -3, 4, 5- 三异丁氧基山酮

[0172] 将 0.1g(0.00029mol) 7- 溴 -6- 甲氧基 -3, 4, 5- 三羟基山酮, 10mlDMF, 2.0ml 溴代异丁烷置于 50ml 两口瓶内, 氩气保护下加入 1g K_2CO_3 和 0.1g KI, 80°C 下搅拌, 反应 3h, 反应液为浅绿色, TLC 跟踪点板, 展开剂为石油醚: 乙酸乙酯=3:1。反应结束, 用大量水洗反应液, 乙酸乙酯萃取, 水层乙酸乙酯洗三次, 合并有机层, 截原点, 浓缩, 回收溶剂, 得黄色油状物。通过柱层色谱分离纯化得到, 采用 200~300 目硅胶, 依次用 100:0, 50:1, 20:1, 10:1 的石油醚 / 乙酸乙酯进行洗脱, 最后用乙酸乙酯洗脱, 每 8~10ml 收集, 浓缩得纯产品, 经 ESI-MS 和 1H -NMR 确认为 7- 溴 -6- 甲氧基 -3, 4, 5- 三异丁氧基山酮。

[0173] ESI-MS (m/z): 520.2

[0174] 1H -NMR ($CDCl_3$): δ : 8.23 (1H, s), δ : 8.04 (1H, d, $J=9.0$ Hz), δ : 7.02 (1H, d, $J=9.0$ Hz), δ : 3.98 (9H, m), δ : 2.20 (3H, m), δ : 1.11 (18H, d)

[0175] 实施例 22 3, 4, 5, 6- 四苄基氧基山酮的合成

[0176] 将 0.5g(0.0019mol) 3,4,5,6-四羟基山酮,20mlDMF,5.0ml 溴苄置于 50ml 两口瓶内,氩气保护下加入 5g K_2CO_3 和 0.5g KI,80℃下搅拌,反应 3h,反应液为浅黄色,TLC 跟踪点板,展开剂为石油醚:乙酸乙酯=3:1。反应结束,降温析出固体,抽滤,滤饼用乙酸乙酯淋洗 3 次,减压干燥,除去苄醇和溴苄,最后得到类白色固体,经 ESI-MS 和 1H -NMR 确认为 3,4,5,6-四苄基山酮。

[0177] ESI-MS (m/z):620.3

[0178] 1H -NMR ($CDCl_3$): δ :8.07(1H, d, $J=9.0$ Hz), δ :8.04(1H, d, $J=9.0$ Hz), δ :7.08(1H, d, $J=9.0$ Hz), δ :7.05(1H, d, $J=9.0$ Hz), δ :7.43 (20H, m), δ :5.25(8H, t)

[0179] 实施例 23 2-氯-3,4,5,-三羟基-6-癸氧基山酮的合成

[0180] 将 0.1g 2-氯-3,4,5,6-四羟基山酮,10mlDMF,2ml 溴代正癸烷置于 50ml 两口瓶内,氩气保护下加入 2g K_2CO_3 和 0.2g KI,85℃下搅拌,反应 1h,反应液为褐色,TLC 跟踪点板,展开剂为石油醚:乙酸乙酯=5:1。反应结束,用大量水洗反应液,乙酸乙酯萃取,水层 EA 洗三次,合并有机层,截原点,浓缩,回收溶剂,得灰色油状物。通过柱层色谱分离纯化,得到白色粉末状固体,经 MS 和 1H -NMR 确认为 2-氯-3,4,5,-三羟基-6-癸氧基山酮。

[0181] MS (m/z): 434.1

[0182] 1H -NMR ($CDCl_3$): δ :7.06 (1H, s), δ :6.98 (1H, d, $J=9.0$ Hz), δ :6.88 (1H, d, $J=9.0$ Hz), δ :1.05(3H, t), δ :1.35(16H, m), δ :3.88 (2H, t)

[0183] 实施例 24 2-氯-3,4,5,-三羟基-6-环己氧基山酮的合成

[0184] 将 0.1g 2-氯-3,4,5,6-四羟基山酮,10mlDMF,2ml 溴代环己烷置于 50ml 两口瓶内,氩气保护下加入 2g K_2CO_3 和 0.2g KI,85℃下搅拌,反应 1h,反应液为棕色,TLC 跟踪点板,展开剂为石油醚:乙酸乙酯=2:1。反应结束,用大量水洗反应液,乙酸乙酯萃取,水层 EA 洗三次,合并有机层,截原点,浓缩,回收溶剂,得灰色油状物。通过柱层色谱分离纯化,得到透明块状固体,经 MS 和 1H -NMR 确认为 2-氯-3,4,5,-三羟基-6-环己氧基山酮。

[0185] MS (m/z): 376.8

[0186] 1H -NMR ($CDCl_3$): δ :7.16 (1H, s), δ :7.38 (1H, d, $J=9.0$ Hz), δ :6.68 (1H, d, $J=9.0$ Hz), δ :1.55(8H, t), δ :1.35(2H, m), δ :3.88 (1H, m)

[0187] 实施例 25 体外抗糖尿病活性

[0188] (1) α -葡萄糖苷酶抑制活性测试

[0189] 试剂的配制

[0190] 1) 磷酸缓冲液的配制

[0191] 用 $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ 和 $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ 作为溶质,溶于双重蒸馏水中,用 1000ml 容量瓶定容,配置成 0.2mol/L 溶液,按一定比例调至 pH=6.8,避光保存。

[0192] 2) α -葡萄糖苷酶溶液的配制

[0193] 适量称取,用双重蒸馏水溶解,保证酶溶液的活力单位为 0.02U/ μ l。配制好后将其在 4℃下冷冻、避光保存。本次实验取 30u1 后加 270u1 缓冲液(稀释 10 倍)。

[0194] 3) 底物 (PNPG) 溶液的配制

[0195] 称取 30mgPNPG,溶于 5ml 磷酸缓冲液中(6 μ g/ μ l),用超声波将其振荡 20 分钟,溶解后用黑色塑料袋将其包裹,严密避光,冷藏保存。

[0196] 4) Na_2CO_3 终止液的配制

[0197] 取 21.2g Na_2CO_3 溶于蒸馏水中，配成 0.2mol/L 的溶液。

[0198] 活性测定方法：

[0199] 将 30 μl α -葡萄糖苷酶溶液，20 μl 抑制剂加入试管中，37 $^\circ\text{C}$ 温浴 5min，加入 150 μl PNPG，800 μl 磷酸缓冲盐。密封，放入 37 $^\circ\text{C}$ 温浴 30min。加 2ml Na_2CO_3 终止液，停止反应。用酶标仪在 450nm 下测 OD 值。做空白对照，用阿卡波糖做阳性对照。

[0200] 酶活性抑制率 = $[A_{\text{空白}} - (A_{\text{样品}} - A_{\text{背景}})] / A_{\text{空白}} \times 100\%$

[0201] A 空白：不加样品反应后的吸收值；

[0202] A 样品：加入样品反应后的吸收值；

[0203] A 背景：只加样品的吸收值；

[0204] 实验结果：

[0205] 表 1，合成化合物的 α -葡萄糖苷酶的抑制活性

[0206]

实施例	IC_{50} (μM)
3, 4, 5, 6-四丁氧基山酮	0.27 \pm 0.01
3, 4, 5, 6-四异丁氧基山酮	0.77 \pm 0.02
3, 4, 5, 6-四乙氧基山酮	0.79 \pm 0.04
3, 4, 5, 6-四甲氧基山酮	1.77 \pm 0.15
3, 4, 5, 6-四羟基山酮	0.13 \pm 0.05
2-氯-3, 4, 5, 6-四甲氧基山酮	0.27 \pm 0.02
2-溴-3, 4, 5, 6-四甲氧基山酮	0.50 \pm 0.07
2-氯-3, 4, 5, 6-四羟基山酮	0.09 \pm 0.01
2-溴-3, 4, 5, 6-四羟基山酮	0.03 \pm 0.02
2-溴-3, 4, 5, 6-四丁氧基山酮	1.79 \pm 0.03
7-溴-6-甲氧基-3, 4, 5-三丁氧基山酮	0.47 \pm 0.05
2-氯-3, 4, 5, 6-四氧基丁山酮	0.21 \pm 0.06
2-氯-3, 4, 5, 6-四丙基氧山酮	0.29 \pm 0.02
2-溴-3, 4, 5, 6-四丙基氧山酮	0.38 \pm 0.06
7-氯-6-甲氧基-3, 4, 5-三丁氧基山酮	0.31 \pm 0.06
7-溴-6-甲氧基-3, 4, 5-三异丁氧基山酮	0.31 \pm 0.06
2-氯-3, 4, 5, 6-四异丁氧基山酮	0.14 \pm 0.04
7-氯-6-甲氧基-3, 4, 5-三丁氧基山酮	0.73 \pm 0.05
2-氯-3, 4, 5, 6-四乙氧基山酮	0.57 \pm 0.02
2-溴-3, 4, 5, 6-四乙氧基山酮	0.29 \pm 0.05
7-溴-6-甲氧基-3, 4, 5-三乙氧基山酮	0.70 \pm 0.07
3, 4, 5, 6-苄基氧基山酮	0.33 \pm 0.05
2-氯-3, 4, 5, -三羟基-6-癸氧基山酮	0.64 \pm 0.04
2-氯-3, 4, 5, -三羟基-6-环己氧基山酮	0.43 \pm 0.07
阿卡波糖	1.02 \pm 0.34

[0207] (2) 抑制晚期糖基化蛋白 AGEs 生成活性

[0208] 材料与amp;方法

[0209] 葡萄糖

天津市博迪化工有限公司

[0210] 牛血清白蛋白

沈阳宝信生物有限公司

[0211] 青、链霉素

东北制药有限公司

[0212] 荧光分光光度计

天津博天胜达科技发展有限公司

[0213] 其他试剂均为国产分析纯。

[0214] 试剂的配制

[0215] 1) 缓冲液:取 0.2mol/L 的 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 71.64g 和 0.2mol/L $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 31.21g 分别溶于 1L 蒸馏水中,分别取 810ml 和 190ml 配成 pH=7.4 的缓冲液 1L 备用。

[0216] 2) 葡萄糖:取 36g 溶于 1LPBS 中,浓度为 200mmol/l。

[0217] 3) 牛血清白蛋白:浓度为 40g/L

[0218] 4) 青、链霉素:均配成浓度为 0.2g/L

[0219] 5) 样品浓度配制:分别配制浓度为 1.0,0.1,0.01 mg/ml。

[0220] AGEs 抑制剂的活性筛选模型:葡萄糖的醛基或其它醛基和蛋白质的氨基的氨基基团发生非酶化学反应形成可逆的早期糖基化产物希夫碱,这种希夫碱会重排成更稳定的 Amadori 型早期糖基化产物,然后经过一系列的化学重排反应后形成不可逆的 AGEs,有特征的荧光特性,在 370nm 激发,440nm 释放荧光,测定其产生的荧光值就可以定量 AGEs 生成量。

[0221] 活性测定方法:

[0222] 三种浓度分别取 1mL 加入三个试管中。分别取 450 μL 葡萄糖溶液,450 μL 牛血清白蛋白溶液,50 μL 青霉素,50 μL 链霉素溶液加入试管中,用缓冲溶液加至 2mL。用氨基胍做阳性对照,并作空白对照。电热恒温培养箱 37°C 培养 14 天。用荧光分光光度计测荧光值。(激发光波长 370nm,发射光波长 440nm)

[0223] $\text{IR} = \{ \text{药物管 A(F)} - \text{对照 2A(F)} - \text{对照 3A(F)} \} / \text{对照 1A(F)} \times 100\%$

[0224] 对照 1:不加样品的完整系统

[0225] 对照 2:加样品不加牛血清白蛋白

[0226] 对照 3:加样品不加葡萄糖

[0227] 实验结果:

[0228] 表 2 实施实例的 AGEs 生成抑制活性结果

[0229]

实施例	IC_{50} (μM)
3,4,5,6-四丁氧基山酮	1.78 \pm 0.14
3,4,5,6-四异丁氧基山酮	1.91 \pm 0.15
3,4,5,6-四乙氧基山酮	1.70 \pm 0.24
3,4,5,6-四甲氧基山酮	1.40 \pm 0.19
3,4,5,6-四羟基山酮	1.29 \pm 0.27
2-氯-3,4,5,6-四甲氧基山酮	2.74 \pm 0.28
2-溴-3,4,5,6-四甲氧基山酮	1.14 \pm 0.19
2-氯-3,4,5,6-四羟基山酮	1.76 \pm 0.15
2-溴-3,4,5,6-四羟基山酮	1.99 \pm 0.24
2-溴-3,4,5,6-四丁氧基山酮	1.55 \pm 0.21
7-溴-6-甲氧基-3,4,5-三丁氧基山酮	1.33 \pm 0.19
2-氯-3,4,5,6-四氧基丁山酮	1.89 \pm 0.25
2-氯-3,4,5,6-四丙基氧山酮	1.56 \pm 0.16
2-溴-3,4,5,6-四丙基氧山酮	2.02 \pm 0.28
7-氯-6-甲氧基-3,4,5-三丁氧基山酮	1.63 \pm 0.26
7-溴-6-甲氧基-3,4,5-三异丁氧基山酮	1.23 \pm 0.17
2-氯-3,4,5,6-四异丁氧基山酮	1.37 \pm 0.24
7-氯-6-甲氧基-3,4,5-三丁氧基山酮	1.60 \pm 0.19
2-氯-3,4,5,6-四乙氧基山酮	2.03 \pm 0.22
2-溴-3,4,5,6-四乙氧基山酮	1.90 \pm 0.21
7-溴-6-甲氧基-3,4,5-三乙氧基山酮	2.09 \pm 0.24

3, 4, 5, 6- 苄基氧基山酮	2.74±0.26
2- 氯 -3, 4, 5, - 三羟基 -6- 癸氧基山酮	1.44±0.05
2- 氯 -3, 4, 5, - 三羟基 -6- 环己氧基山酮	2.03±0.04
氨基胍	1.16±0.11

[0230] 从上述实验结果可以清楚地看出,本发明所要保护的通式 I 的化合物,具有良好的体外抗糖尿病活性,因此本发明的化合物具有很好的医药及工业应用前景。