

α -苄基取代的琥珀酸单酰胺类化合物的设计、合成与生物活性

王亚楼^{1*}, 钟 铮¹, 巫冠中², 常 颖¹

(中国药科大学 1. 药物化学教研室, 2. 药理学教研室, 江苏 南京 210009)

摘要: 为寻找效果更好的降血糖药物以及进一步研究列奈类化合物的构效关系, 以米格列奈为先导物, 设计、合成具有降血糖活性的 α -苄基取代的琥珀酸单酰胺类化合物。以丁二酸二乙酯和各种取代苯甲醛为原料, 经缩合、水解得苯亚甲基丁二酸, 再进行酸酐化、胺解和氢化等反应合成了 12 个目标化合物, 化合物结构通过元素分析、IR、¹H NMR 和 ESI-MS 得以确证, 并测定了它们的降血糖活性。初步药理试验表明所合成的化合物中 **6c**、**6e** 和 **6g** 降糖作用较明显, 其中 **6e** 较为突出, 其降糖作用与那格列奈相当。

关键词: α -苄基琥珀酸衍生物; 合成; 降糖药; 列奈类

中图分类号: R916

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2009) 05-0491-05

Design, synthesis and hypoglycemic activity of α -benzylsuccinic acid derivatives

WANG Ya-lou^{1*}, ZHONG Zheng¹, WU Guan-zhong², CHANG Ying¹

(1. Department of Medicinal Chemistry, 2. Department of Pharmacology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract: Based on the SAR of glinide agents, mitiglinide has been modified to study the SAR of glinides. α -Benzylsuccinic acid derivatives which were designed and synthesized in order to find some more hypoglycemic active agents and further investigate the SAR of this class of compounds. From ethyl succinate and substituted benzaldehydes, twelve new target compounds were synthesized by condensation, hydrolysis, anhydridization, amidation and hydrogenization reactions, and their hypoglycemic activity were evaluated with glucose oxidase kit. All the compounds were characterized by elemental analysis, IR, ¹H NMR and ESI-MS. The preliminary pharmacological test showed that the compounds have good hypoglycemic activity, especially **6c**, **6e** and **6g**, **6e** showed the same hypoglycemic potency as nateglinide.

Key words: α -benzylsuccinic acid derivative; synthesis; hypoglycemic agent; glinides

口服非磺酰脲类快速促胰岛素分泌药物是目前治疗 2 型糖尿病的主要药物之一, 新型的短效口服促胰岛素分泌药物是以细胞为介导的餐时血糖调节剂, 通过与不同的受体结合以关闭 β -细胞膜中 ATP-依赖性钾通道, 使 β -细胞去极化, 打开钙通道, 使钙内流增加, 诱导 β -细胞分泌胰岛素。模拟生理胰岛素分泌, 起效快, 持续时间短, 并且是仅在进餐时服用, 故严重的低血糖发生率显著低于磺酰脲类药物。

米格列奈 (mitiglinide) 是由日本 Kisses 制药公

司研制的一种治疗糖尿病新药^[1], 于 2004 年 5 月在日本首次上市, 用于治疗 2 型糖尿病, 其作用机制是通过关闭胰腺 β 细胞膜上的 ATP 依赖的 K⁺通道 (K_{ATP}) 来刺激胰岛素的分泌, 具有很强的降血糖作用^[2]。米格列奈是继瑞格列奈、那格列奈后第 3 个上市的列奈类药物, 与瑞格列奈、那格列奈以及传统磺酰脲类药物相比, 具有作用机制新颖、起效更快、作用持续时间更短、疗效更强的优势^[3]。

米格列奈抗高血糖活性构效关系初步研究结果显示, 米格列奈具有近似于 U 型的三维结构, U 型的二个顶端是二个疏水环, 与苯环相连的酸性基团对

收稿日期: 2008-10-29.

*通讯作者 Tel: 13851634375, E-mail: wang_yalou@tom.com

促胰岛素分泌是必需的,一般可以是丙酸或甲酸。在药物与胰岛 β -细胞受体相互作用中,疏水性起着重要作用,分子疏水性的大小对活性有直接影响,疏水性可增强与 SUR1 受体的亲和力以及相对于 SUR2 的选择性^[4,5]。为了探索米格列奈类分子结构与治疗糖尿病的关系,作者对其结构进行修饰改造,在苯环的不同位置引入疏水性取代基,并以结构较为简单且亲脂性较大的胺类替换顺式六氢异喹啉,设计并合成了 12 个新的米格列奈类似物,并考察其降血糖活性。

以丁二酸二乙酯 (**1**) 为原料,在乙醇钠催化下与取代的苯甲醛 (**2a~2g**) 缩合,经氢氧化钠水解后得 2-亚苄基丁二酸(**3a~3g**), (**3a~3g**) 与乙酸酐反应得到 2-亚苄基丁二酸酐 (**4a~4g**), (**4a~4g**) 再与各种胺反应得到单酰胺物 (**5a~5l**),最后经催化氢化得到目标化合物 (**6a~6l**),合成路线见图 1。

结果与讨论

1 化合物的合成

3a~3g 的合成属于经典的 Stobbe 反应,由于丁二酸酯既有 α 氢质子,又有较好的离去基团,故在乙醇钠作用下可以发生自身缩合和多聚反应,同时苯甲醛在碱性条件下也会发生 Cannizzaro 反应,所以产率一般较低^[6]。

一般认为这类反应在醚类溶剂中进行效果较好^[6],但是根据作者的实验结果,用乙醚或乙醇作溶剂差别不大,而用乙醚作溶剂操作比较复杂,所以实验中用与醇钠相一致的醇做溶剂比较合理。该反应的反应机制表明缩合剂的碱性与产率有关,一般是 $t\text{-BuOK} > \text{MeONa} > \text{C}_2\text{H}_5\text{ONa}$ 。

由于该反应副反应较多,对于如何提高其产率,本文尝试了 4 种方法:① 经典的“Horning”法^[7],

该方法通过过量碱来促进反应。由于乙醇钠碱性相对较弱,碳负离子的生成是可逆的,增加碱量可促进反应平衡向右,本法的缺点是金属钠用量过多不经济;② 将文献报道的常温加料改为在回流下加料,产率与①接近;③ 按照该中间体的一个类似物的合成方法予以改进^[8],但效果不理想;④ 以乙醚作溶剂,所得产品较纯,不需重结晶可直接用于下步反应,但操作复杂。经综合比较,最后选择方法①用于本实验。

另外,根据该反应的反应机制,似乎具有吸电子取代基的苯甲醛产率应该更高,但是作者的实验结果以及文献^[9]报道都与此相反,具有供电子取代基的醛类产率较高,推测可能是因为反应的决速步是在中间体环合一步,吸电子取代基不利氧负离子进攻酯基导致产率降低。

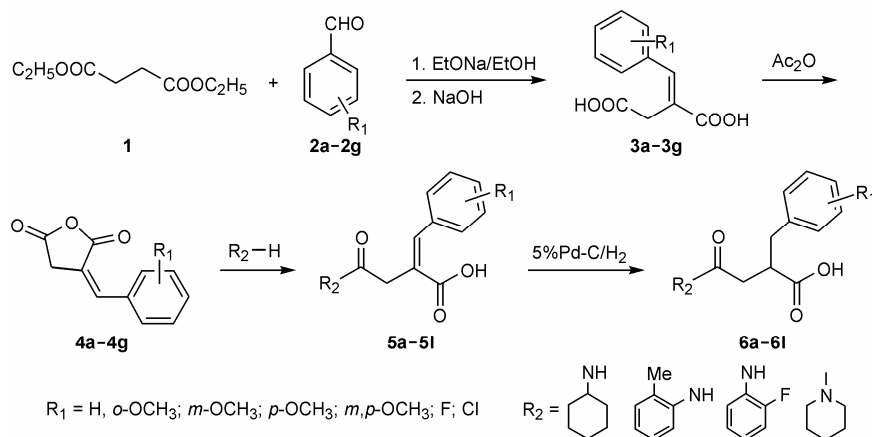
文献^[10]报道 **4a~4g** 的合成方法有两种:① 用乙酸酐作脱水剂;② 用 SOCl_2 作脱水剂,二氯甲烷作溶剂。经过实验比较后发现方法①操作简便,但所得产品颜色较深,可能与反应温度较高有关系;方法②所得产品纯度较好,但 SOCl_2 的毒性和腐蚀性较大,不易处理。

化合物 **4a~4g** 与各种胺反应,蒸去溶剂,残渣重结晶即得 **5a~5l**。**5a~5l** 经催化氢化即得目标物 **6a~6l**,其中 **5l** 反应时催化剂 5% Pd/C 的用量减少为 0.07 g,同时严格控制反应时间,可以减少脱氯副反应发生。

中间体和目标化合物的理化常数和光谱分析数据见表 1~3。

2 化合物的生物活性

对所合成的部分目标化合物进行了初步的活性试验,以那格列奈 (NA) 为对照,用葡萄糖氧化酶法测定了空腹小鼠给药前后血糖值的变化,结果见表 4。



Scheme 1 Synthetic route of the target compounds

Table 1 Physical data and yields of compounds **3a–3g**, **4a–4g** and **5a–5l**

Compd.	mp/°C	Yield/%	Compd.	mp/°C	Yield/%	Compd.	mp/°C	Yield/%
3a	184–186	60.6	4a	164–166	85.0	5a	169–172	72.8
3b	190–192	50.8	4b	170–172	80.2	5b	152–154	96.7
3c	204	42.0	4c	178–180	68.3	5c	183–186	85.9
3d	207–208	52.1	4d	168–170	72.9	5d	190–192	84.6
3e	163–165	55.9	4e	173–175	73.8	5e	178–180	61.1
3f	172	45.0	4f	184–186	79.8	5f	189–191	67.1
3g	176–179	49.1	4g	180–182	64.0	5g	170–172	62.8
						5h	189–191	84.7
						5i	185–188	94.1
						5j	181–183	74.6
						5k	174–176	45.1
						5l	165–166	10.3

Table 2 Physical data, yields and elemental analysis data of compounds **6a–6l**

Compd.	R ₁	R ₂	mp/°C	Yield/%	Elemental analysis(%, calcd.)		
					C	H	N
6a	H		115–117	79.4	70.23 (70.56)	7.85 (8.01)	5.13 (4.84)
6b	H		118–120	59.6	72.43 (72.71)	6.96 (6.44)	4.28 (4.71)
6c	<i>o</i> -CH ₃ O		127–128	79.5	67.32 (67.69)	7.54 (7.89)	4.30 (4.39)
6d	<i>o</i> -CH ₃ O		136–138	84.5	69.58 (69.71)	6.69 (6.47)	4.64 (4.28)
6e	<i>m</i> -CH ₃ O		90–92	74.0	67.48 (67.69)	7.66 (7.89)	4.17 (4.39)
6f	<i>m</i> -CH ₃ O		122–124	74.5	65.37 (65.25)	5.27 (5.48)	4.48 (4.23)
6g	<i>p</i> -CH ₃ O		122–124	44.7	67.51 (67.69)	7.64 (7.89)	4.61 (4.39)
6h	<i>p</i> -CH ₃ O		161–163	59.6	69.93 (69.71)	6.28 (6.47)	4.02 (4.28)
6i	<i>p</i> -F		146–148	81.3	66.72 (66.43)	7.06 (7.21)	4.82 (4.56)
6j	<i>p</i> -F		110–112	59.6	65.26 (65.51)	6.58 (6.87)	4.95 (4.78)
6k	<i>m, p</i> -CH ₃ O		95–97	49.7	67.44 (67.21)	6.23 (6.49)	4.16 (3.92)
6l	<i>p</i> -Cl		168–169	85.2	61.07 (60.81)	4.25 (4.50)	4.39 (4.17)

Table 3 Spectral data of compounds **6a–6l**

Compd.	IR/cm ⁻¹ (C=O)	ESI-MS*	¹ H NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ or CDCl ₃) δ
6a	1 691, 1 606	290	1.09–1.88 (m, 10H, CH ₂), 2.36–2.38 (d, 2H, <i>J</i> = 6 Hz, CH), 2.78–2.80 (dd, 1H, <i>J</i> = 6, 10 Hz, CH), 3.15–3.19 (d, 2H, <i>J</i> = 10 Hz, CH ₂), 3.72–3.74 (m, 1H, CH), 5.51–5.53 (s, 1H, NH), 7.17–7.32 (m, 5H, Ph-H)
6b	1 698, 1 650	298	2.16 (s, 3H, CH ₃), 2.47–3.30 (m, 5H, CH ₂ and CH), 7.03–7.3 (m, 9H, Ph-H), 7.63–7.65 (s, 1H, NH)
6c	1 691, 1 641	320	1.11–1.72 (m, 10H, CH ₂), 2.38–2.41 (m, 2H, CH ₂), 2.79–2.83 (m, 1H, CH), 3.17–3.25 (m, 2H, CH ₂), 3.75 (s, 1H, NCH), 3.83 (s, 3H, OCH ₃), 5.54 (s, 1H, NH), 6.86–7.28 (m, 4H, Ph-H)
6d	1 701, 1 654	328	2.18 (s, 3H, CH ₃), 2.49–3.79 (m, 5H, CH and CH ₂), 3.83 (s, 3H, OCH ₃), 6.83–7.31 (m, 8H, Ph-H), 7.69–7.72 (s, 1H, NH)
6e	1 696, 1 610	320	1.07–1.88 (m, 10H, CH ₂), 2.37–2.39 (m, 2H, CH ₂), 2.74–2.79 (m, 1H, CH), 3.11–3.16 (m, 2H, CH ₂), 3.71–3.74 (m, 1H, NCH), 3.78 (s, 3H, OCH ₃), 5.56 (s, 1H, NH), 6.73–7.26 (m, 4H, Ph-H)
6f	1 708, 1 607	332	2.25–3.32 (m, 5H, CH and CH ₂), 3.76 (s, 3H, OCH ₃), 6.75–7.74 (m, 8H, Ph-H), 8.21 (s, 1H, NH)
6g	1 694, 1 606	320	1.07–1.87 (m, 10H, CH ₂), 2.35–2.37 (m, 2H, CH ₂), 2.73–2.76 (m, 1H, CH), 3.09–3.12 (m, 2H, CH ₂), 3.72–3.74 (m, 1H, NCH), 3.78 (s, 3H, OCH ₃), 5.52 (s, 1H, NH), 6.82–7.26 (m, 4H, Ph-H)
6h	1 695, 1 650	328	2.23 (s, 3H, CH ₃), 2.46–3.20 (m, 5H, CHCH ₂), 3.77 (s, 3H, OCH ₃), 6.81–7.64 (m, 8H, Ph-H), 8.01 (s, 1H, NH)
6i	1 698, 1 605	308	1.09–1.87 (m, 10H, CH ₂), 2.35–2.37 (m, 2H, CH ₂), 2.72–2.74 (m, 1H, CH), 3.08–3.13 (m, 2H, CH ₂), 3.74 (s, 1H, NCH), 5.53 (s, 1H, NH), 6.79–7.10 (m, 4H, Ph-H)
6j	1 705, 1 609	294	1.06–1.89 (m, 10H, CH ₂), 2.26–2.97 (m, 5H, CH and CH ₂), 3.64 (m, 1H, NCH), 7.14–7.30 (m, 4H, Ph-H)
6k	1 715, 1 649	358	2.18 (s, 3H, CH ₃), 2.50–3.28 (m, 5H, CH and CH ₂), 3.83 (s, 6H, OCH ₃), 6.74–7.23 (m, 7H, Ph-H), 7.65 (s, 1H, NH)
6l	1 712, 1 634	337	2.53–3.33 (m, 5H, CH and CH ₂), 7.05–7.39 (m, 8H, Ph-H), 8.24 (s, 1H, NH)

*It is the [M+H]⁺ peak of MS

Table 4 Hypoglycemic effect of the target compounds in mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Group	Dose/mg·kg ⁻¹	Blood glucose concentration/mmol·L ⁻¹			
		0	0.5 h	1 h	3 h
Control	–	8.279 ± 1.063	10.082 ± 0.740	9.481 ± 1.017	8.232 ± 1.480
NA	100	8.186 ± 0.740	6.706 ± 0.324**	5.642 ± 0.740**	5.180 ± 1.248**
6a	100	7.908 ± 1.480	9.250 ± 1.202*	8.471 ± 0.647**	8.140 ± 1.387
6c	100	7.677 ± 1.942	8.556 ± 0.740	7.353 ± 1.618	7.122 ± 0.971
6e	100	7.816 ± 2.081	7.677 ± 1.433*	6.614 ± 1.618**	6.151 ± 1.295**
6f	100	8.695 ± 1.526	9.944 ± 0.786	8.186 ± 1.665*	8.648 ± 1.480
6g	100	6.845 ± 2.636	7.307 ± 0.878**	6.891 ± 0.971**	6.894 ± 1.063
6h	100	8.232 ± 2.497	10.313 ± 1.480	8.510 ± 0.601	9.018 ± 0.508

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control. NA: Nateglinide

试验结果表明,所有受试化合物相对空白对照均显示了一定的降糖作用,化合物**6c**、**6e**和**6g**降糖作用比较明显,尤以**6e**较为突出,其降糖作用与那格列奈相当,而化合物**6b**、**6f**和**6h**活性较低。说明与羰基相连胺应以脂环胺为宜,引入苯环或取代苯环将使活性降低。而在苯丙酸主链的苯环上引入单个甲氧基后均显示了降糖活性,其中以间位取代活性最好。

实验部分

熔点用 Mt1-temp 熔点仪测定,温度未经校正。IR 用 Nicolet Impact 410 型红外光谱仪测定, KBr 压片或液膜。¹H NMR 谱用 Bruker AV-500 型核磁共振仪测定, TMS 为内标。质谱仪为 Agilent 1100 型 ESI-MS 质谱仪。薄层色谱 (TLC) 板采用硅胶 GF₂₅₄ (青岛海洋化工厂) 与浓度 0.8% CMC-Na 蒸馏水溶液按 30 g : 100 mL 的比例铺板,经 105~110 °C 活化 1 h 后置入干燥器内保存备用。试剂均为市售化学纯或分析纯产品,除特别说明外,不经处理直接使用。

1 2-苯基亚甲基-丁二酸 (3a) 的制备

将自制的 C₂H₅ONa (17 g, 0.25 mol) 溶于 120 mL 无水乙醇中,搅拌回流下滴加苯甲醛 (21.2 g, 0.2 mol) 与丁二酸二乙酯 (34 g, 0.2 mol) 的混合液,加完后回流反应 3 h,减压浓缩,残液溶于 900 mL 水中,用乙醚洗涤 3 次,用稀盐酸酸化,乙醚提取 3 次,干燥后蒸除乙醚得粗品 36 g。将所得粗品溶于 150 mL 1 mol·L⁻¹ NaOH 溶液中,室温搅拌 24 h,乙醚洗 3 次,再用稀盐酸酸化,乙醚提取 3 次,醚层合并、干燥,蒸去乙醚得产品 29 g,用乙醇重结晶得白色固体 25 g,产率 61%,熔点 184~186 °C。

用类似方法制备化合物 **3b**~**3g**。化合物的产率和熔点见表 1。

2 苯亚甲基丁二酸酐 (4a) 的制备

苯亚甲基丁二酸 (2.06 g, 0.1 mol) 和 30 mL 乙

酸酐混合,在 60 °C 加热搅拌反应 1 h,减压蒸出过量的乙酸酐和生成的乙酸,得到橘黄色固体,用苯-石油醚重结晶,得浅黄色粉末状固体 1.6 g,产率 85%,熔点 164~166 °C。

用类似方法制备 **4b**~**4g**。化合物的产率和熔点见表 1。

3 2-苯亚甲基-3- (环己氨基) 羧基丙酸 (5a) 的制备

苯亚甲基丁二酸酐 (1.35 g, 7.18 mmol) 溶于 20 mL 二氯甲烷中,混合物冰浴冷却至 0 °C,滴加环己胺 (1.6 mL, 14.01 mmol),加完后搅拌反应 2 h,然后再缓慢升温至室温搅拌反应 12 h。蒸除溶剂,残渣用乙酸乙酯重结晶得产品 1.5 g,产率 72.8%,熔点 169~172 °C。

用类似方法制备 **5b**~**5l**,化合物的产率和熔点见表 1。

4 2-苄基-3- (环己氨基) 羧基丙酸 (6a) 的制备

2-苯亚甲基-3- (环己氨基) 羧基丙酸 (**5a**) (1 g, 3.48 mmol) 溶于 20 mL 甲醇中,加入 0.1 g 5% Pd/C,在常温常压下进行催化氢化,反应至不吸氢为止,滤去催化剂,滤液减压下浓缩得到粗品,用乙酸乙酯重结晶得产品 0.8 g,收率 79.4%,熔点 115~117 °C。

用类似方法制备 **6b**~**6l**,所有化合物的物理性质、收率和元素分析数据见表 2, IR、MS 和 ¹H NMR 数据见表 3。

5 生物活性实验

受试动物:昆明种小鼠 20~30 g,雌雄各半,饲用商业饲料,任意饮水。在实验室适应 3 d 后,取体表无损伤,一般情况良好,反应灵活的小鼠用于试验。

实验方法:取体健小鼠 80 只,随机分为 8 组,每组 10 只,禁食 12 h,溶剂对照组给予 0.5% CMC,其余各给药组均为 100 mg·kg⁻¹, ig,按实验分组给药。

分别在小鼠给药前、给药后不同时间经小鼠眼眶静脉丛取血, 葡萄糖氧化酶法测定血糖值。

统计学方法: 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 显著性检验采用 Students *t*-test。

References

- [1] Yamaguchi T, Yanagi T, Hokari H, et al. Preparation of optically active succinic acid derivatives. II. Efficient and practical synthesis of KAD-1229 [J]. Chem Pharm Bull, 1998, 46: 337–340.
- [2] Ohnota H, Koizumi T, Tsutsumi N, et al. Novel rapid- and short-acting hypoglycemic agent, a calcium (2*S*)-2-benzyl-3-(*cis*-hexahydro-2-isoindolinylicarbon-yl) propionate (KAD-1229) that acts on the sulfonylurea receptor: comparison of effects between KAD-1229 and gliclazide [J]. J Pharmacol Exp Ther, 1994, 269: 489–495.
- [3] Malaisse WJ, Sato F. Insulinotropic action of (2*S*)-2-benzyl-3-(*cis*-hexahydro-2-isoindolinylicarbon-yl) propionate I. Secretory and cationic aspects [J]. Gen Pharmacol, 1995, 26: 1313–1318.
- [4] Lins L, Brasseur R, Malaisse WJ. Conformational analysis of non-sulfonylurea hypoglycemic agents of the meglitinide family [J]. Biochem Pharm, 1995, 50: 1879–1884.
- [5] Bakkali-Nadi A, Malaisse-Lagae F, Malaisse WJ. Insulinotropic action of meglitinide analogs: concentration response relationship and nutrient dependency [J]. Diabetes Res, 1994, 27: 81–87.
- [6] Johnson WS, Daud GH. The Stobbe condensation [J]. Org React, 1965, 6: 1.
- [7] Horning EC, Walker GN. Cyclization of benzylsuccinic acids [J]. J Am Chem Soc, 1952, 74: 5147–5151.
- [8] El-Abbady AM, Doss SH, Moussa HH, et al. The Stobbe condensation with *o*- and *p*-chlorobenzaldehyde [J]. J Org Chem, 1961, 26: 4871–4873.
- [9] Bagvant G, Gole SR, Joshi VW, et al. Studies on antiinflammatory and analgesic activities of itaconic acid systems. Part 1: itaconic acids and diesters [J]. Indian J Pharm Sci, 1994, 56: 80–85.
- [10] Harada H, Yamaguchi T, Iyobe A, et al. A practical synthesis of the [(2*R*)-3-(morpholinocarbonyl)-2-(1-naphthyl-methyl) propionyl]-L-histidine moiety (P4-P2) in renin inhibitors [J]. J Org Chem, 1990, 55: 1679–1682.