

一类新型的四氢异喹啉类 PPAR α/γ 受体激动剂的设计、合成与活性研究

于 然, 周艳丽, 环 奕, 刘 泉, 申竹芳, 刘站柱*

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 北京 100050)

摘要: 为得到更高效的 PPAR (过氧化物酶体增殖激活受体) α/γ 受体激动剂, 设计合成了新型的四氢异喹啉类化合物, 通过 ^1H NMR、HR-MS 对化合物结构进行了确证, 并测定了化合物的体外 PPAR α/γ 受体激动活性。其中化合物 **8a** 具有 PPAR α/γ 双受体激动活性, 其 PPAR α/γ 受体激动活性与阳性对照品 WY14643、罗格列酮相比活性更强。

关键词: 四氢异喹啉; PPAR 激动剂; 抗糖尿病; 合成

中图分类号: R916

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2011) 03-0311-06

Design, synthesis, and PPAR α/γ agonistic activity of novel tetrahydroisoquinoline derivatives

YU Ran, ZHOU Yan-li, HUAN Yi, LIU Quan, SHEN Zhu-fang, LIU Zhan-zhu*

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: A series of tetrahydroisoquinoline derivatives were prepared and their peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) α/γ agonistic activities were evaluated to obtain more potent PPAR agonist. All of them were new compounds, and their structures were confirmed by ^1H NMR and HR-MS. Three compounds exhibited higher agonistic activities of PPAR γ than that of the comparison, six compounds exhibited higher agonistic activities of PPAR α than that of the comparison, and compound **8a** was discovered as a highly potent PPAR α/γ agonist that is much more active than that of WY14643 and rosiglitazone. The development of potent PPAR agonists may offer a new choice for the treatment of diabetes.

Key words: tetrahydroisoquinoline; PPAR agonist; antidiabetic; synthesis

糖尿病是人群中的常见病、高发病, 糖尿病是以胰岛素分泌不足或胰岛素抵抗引起的高血糖为特征的内分泌代谢疾病, 现已成为仅次于心血管病和癌症的第三大危害人类健康的疾病^[1]。噻唑烷二酮类化合物为 PPAR γ (过氧化物酶体增殖激活受体) 完全激动剂, 具有显著的降糖作用。但是噻唑烷二酮类结构会导致该类药物治疗糖尿病的过程中出现血容

量增加、血液稀释、水肿和体重增加等副作用, 这些都限制了噻唑烷二酮类药物的临床应用, 使其难以成为治疗糖尿病的一线药物^[2]。研究发现 PPAR α/γ 双激动剂类化合物在实现良好降糖作用的同时有效降低了药物的副作用, 显示出很好的应用前景^[3]。

PPAR α 高水平表达在肝细胞、心肌细胞、肠细胞及肾近曲小管细胞^[4], 可以调节脂质代谢, 包括脂肪酸的结合、吸收、氧化以及脂蛋白的聚集、转运, 从而可以降低 LDL 的水平, 同时提高 HDL 的含量。PPAR α/γ 双激动剂, 可以同时起到降糖、降脂的作用, 且没有出现体重增加等 PPAR γ 激动剂类药物常见的副作用。Xu (Lilly Research Laboratories) 等^[5]研究发

收稿日期: 2010-11-24.

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项综合性新药研究开发技术大平台资助项目 (2009ZX09301-003-12-1).

*通讯作者 Tel: 86-10-63165253, Fax: 86-10-63017757,

E-mail: liuzhanzhu@imm.ac.cn

现 PPAR α/γ 双激动剂 (I, 图 1) 可以提高体内胰岛素的敏感性, 降低血糖浓度同时也使体内脂质代谢调节平衡。Lohray 等^[6]合成出的 PPAR α/γ 双激动剂 (II, 图 1), 该化合物同时具有降糖和降脂作用。 β -芳基- α -羟基丙酸及其衍生物具有 PPAR α/γ 双激动剂的作用, 2001 年 Lohray 等^[7]合成了吩噻嗪类双激动剂 (III, 图 1), 此化合物口服有效, 并同时具有降糖和降低甘油三酯的作用。

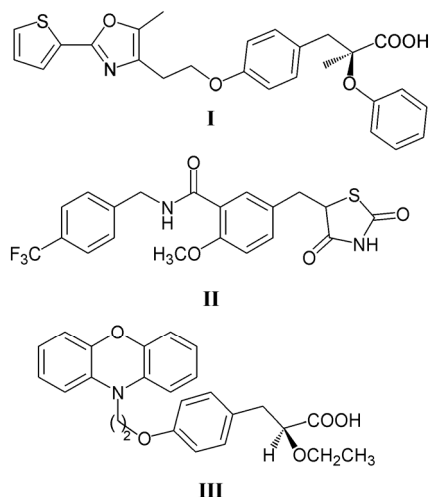


Figure 1 Structures of some PPAR α/γ agonist

PPAR 受体激动剂的构效关系研究表明, 这类分子的结构主要由极性基团部分 (酸性结构部分) 和亲脂性部分组成。PPAR 受体主要功能区为 AF-2 转录活性功能区域。受体激动剂分子中的极性基团部分与该螺旋结构上的相应氨基酸残基形成氢键。这个氢键可以起到稳定 AF-2 区域构象的作用, 此活性构象可以结合并活化蛋白进而启动基因转录^[8]。下图 (图 2) 为 PPAR 受体激动剂类化合物的一般结构^[9]。

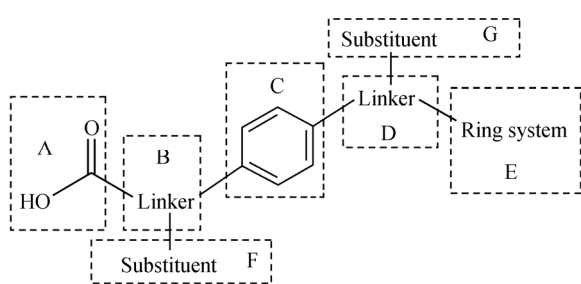


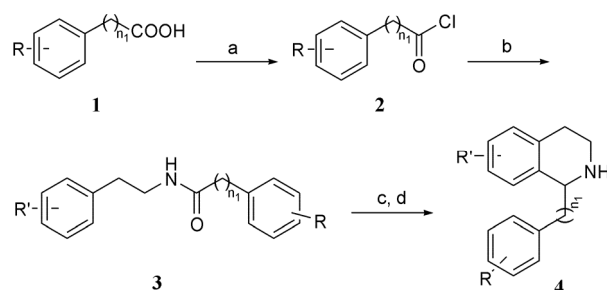
Figure 2 The general structure of PPAR agonist

PPAR 受体结构类似“Y”型的“口袋”, 可以结合很多种脂肪酸配体以及合成的配体。PPAR α 和 PPAR γ 要求配体结合受体时为 U 形构象, PPAR α 拥有较大的“Y”型口袋和较强的亲脂性, PPAR γ 与

PPAR α 相比极性有所增大, “Y”型口袋减小。此结构使 PPAR γ 可以结合具有多重分支或具有单一分支但具有多重构象的配体。PPAR 口袋可以被分为 3 部分, 第一部分主要有极性残基和 AF-2 转录活性功能区域组成, 可以与受体激动剂中的极性部分结合。PPAR 受体的第二部分是亲脂性的, 第三部分具有部分亲脂性, 可以与受体激动剂中的亲脂性部分结合^[8]。

本文根据 PPAR 类受体激动剂已有的构效关系, 设计合成了以四氢异喹啉母核作为亲脂性结构片段、芳香羧酸结构作为极性结构片段的化合物, 因 PPAR γ 受体“口袋”空间相对 PPAR α 较小, 主要通过改变四氢异喹啉母核取代基的结构以及饱和碳链的长度设计合成不同空间大小的化合物, 并对此类化合物的 PPAR α/γ 受体激动活性和构效关系进行研究, 得到的化合物值得进一步研究。

取代芳香酸类化合物 1 在二氯亚砷的作用下制备相应的酰氯 2, 继而与苯乙胺反应得到相应的酰胺化合物 3。所得的酰胺类化合物发生 Bischler-Napieralski 环合反应得到二氢异喹啉中间体, 再经 NaBH₄ 还原得到四氢异喹啉类化合物 4。4 与取代的烷氧基苯丙酸甲酯 6 反应得到四氢异喹啉类化合物 7, 再经酯水解得到取代的四氢异喹啉类化合物盐酸盐 8a~8j。目标化合物的合成见合成路线 1 和 2, 结构见表 1。



Reagents and conditions: (a) SOCl₂, toluene, reflux, 2 h; (b) substituted phenylethylamine, NaOH, CH₂Cl₂, r.t., 5 h; (c) POCl₃, toluene, reflux, 2 h; (d) NaBH₄, CH₃OH, r.t., 1 h.

Scheme 1 Synthetic route of tetrahydroisoquinoline 4a-4j

结果与讨论

1 四氢异喹啉类化合物的合成

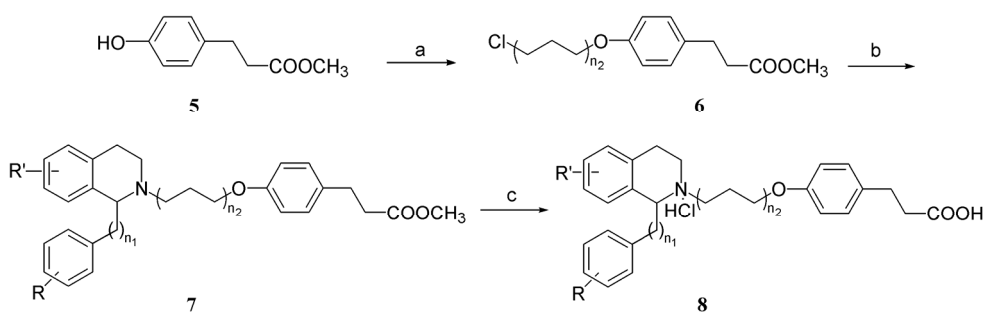
目标化合物的结构通过 ¹H NMR、HR-MS 确证, 理化数据和波谱数据见表 1、2。

2 PPAR 受体活性和构效关系

8a~8j 化合物 PPAR 受体激动活性见表 1。化合物 8a、8b、8d、8h、8i、8j 的 PPAR α 的受体激动活性超过了对照药物 WY14643, 化合物 8a、8f、8g 的

Table 1 Physical and PPAR α/γ agonistic activity data of compounds **8a–8j**. a: The concentration of target compound is 1×10^{-5} mol·L $^{-1}$

Compd.	Structure	Formula	Yield/%	mp/°C	PPAR γ transcriptional activity ^a	PPAR α transcriptional activity ^a
8a		C ₂₉ H ₃₂ NO ₅ F ₂ Cl	54	125–126	114.72%	254.29%
8b		C ₃₁ H ₃₈ NO ₇ Cl	59	106–108	91.61%	214.66%
8c		C ₂₉ H ₃₄ NO ₅ Cl	48	105–106	65.73%	82.06%
8d		C ₃₀ H ₃₆ NO ₇ Cl	42	215–216	78.74%	122.36%
8e		C ₃₀ H ₃₆ NO ₅ Cl	45	115–121	66.88%	88.86%
8f		C ₂₇ H ₃₀ NO ₃ Cl	56	105–112	117.72%	70.52%
8g		C ₂₉ H ₃₄ NO ₅ Cl	55	121–122	133.83%	60.58%
8h		C ₃₂ H ₄₀ NO ₇ Cl	51	109–116	12.60%	108.74%
8i		C ₃₀ H ₃₄ NO ₇ Cl	50	116–122	53.36%	101.41%
8j		C ₂₈ H ₃₀ NO ₅ Cl	49	128–129	38.44%	129.02%
Rosiglitazone		C ₁₈ H ₁₉ N ₃ O ₃ S		153–155	100%	
WY 14643		C ₁₄ H ₁₄ ClN ₃ O ₂ S		146–151		100%



Reagents and conditions: (a) K_2CO_3 , alkylogenhaloalkane, $CH_3CH_2COCH_3$, reflux, 2 h; (b) K_2CO_3/DMF , **4**, r.t., $80\text{ }^\circ\text{C}$, 2 h; (c) KOH , CH_3OH , reflux, 1 h, HCl .

Scheme 2 Synthetic route of the target compounds **8a–8j**

Table 2 1H NMR and HR-MS data of compounds **8a–8j**

Compd.	HR-MS, m/z [$M+H$] ⁺ (calcd.)	1H NMR (DMSO- d_6)
8a	512.225 8 (512.224 3)	7.47–7.35 (m, 2H, Ar-H), 7.16–7.13 (m, 1H, Ar-H), 7.10 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 6.92 (s, 1H, Ar-H), 6.79 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 6.25 (s, 1H, Ar-H), 5.90 (s, 1H, 1-H), 4.10–3.98 (m, 2H, 13-H), 3.78 (s, 3H, OCH_3), 3.57 (s, 3H, OCH_3), 3.52–3.46 (m, 2H, 3-H), 3.46–3.41 (m, 2H, 11-H), 3.40–3.24 (m, 1H, 4-H), 3.05–2.94 (m, 1H, 4-H), 2.74 (t, 2H, $J = 8.2$ Hz, 22-H), 2.48 (t, 2H, $J = 8.2$ Hz, 21-H), 2.32–2.31 (m, 2H, 12H)
8b	536.264 5 (536.264 8)	7.33 (s, 1H, Ar-H), 7.12 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 7.00–6.93 (m, 2H, Ar-H), 6.89 (s, 1H, Ar-H), 6.76 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 6.14 (s, 1H, Ar-H), 5.66 (s, 1H, 1-H), 4.04–3.94 (m, 2H, 13-H), 3.78 (s, 3H, OCH_3), 3.76 (s, 3H, OCH_3), 3.74 (s, 3H, OCH_3), 3.72 (s, 3H, OCH_3), 3.57–3.54 (m, 1H, 3-H), 3.43–3.31 (m, 2H, 11-H), 3.22–3.17 (m, 1H, 3-H), 3.11–3.09 (m, 1H, 4-H), 3.02–2.96 (m, 1H, 4-H), 2.74 (t, 2H, $J = 8.1$ Hz, 22-H), 2.48 (t, 2H, $J = 8.2$ Hz, 21-H), 2.28–2.20 (m, 2H, 12H)
8c	476.243 4 (476.275 0)	7.32–7.29 (m, 3H, Ar-H), 7.20 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 7.14–7.11 (m, 2H, Ar-H), 6.92 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 6.79 (s, 1H, Ar-H), 5.65 (s, 1H, Ar-H), 4.85 (s, 1H, 1-H), 3.97–3.84 (m, 2H, 12-H), 3.73 (s, 3H, OCH_3), 3.53–3.49 (m, 2H, 3-H), 3.37 (m, 1H, 4-H), 3.23 (s, 3H, OCH_3), 3.12–2.96 (m, 2H, 11H), 2.95–2.90 (m, 1H, 4-H), 2.77 (t, 2H, $J = 8.2$ Hz, 21-H), 2.48 (t, 2H, $J = 8.2$ Hz, 20-H)
8d	522.248 8 (522.249 2)	10.51 (s, 1H, COOH), 9.66 (s, 1H, COOH), 7.84 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, Ar-H), 7.54–7.50 (dd, 1H, $J = 1.8, 8.7$ Hz, Ar-H), 7.38 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz, Ar-H), 6.90 (s, 1H, Ar-H), 6.21 (s, 1H, Ar-H), 6.00–5.98 (m, 4H, Ar-H), 5.89 (s, 1H, 1-H), 3.58–3.55 (m, 2H, 13-H), 3.38 (s, 3H, CH_3O), 3.33 (s, 3H, CH_3O), 3.27–3.21 (m, 2H, 3-H), 3.17–3.16 (m, 2H, 4-H), 3.17 (t, 2H, $J = 5.4$ Hz, 22-H), 3.00 (t, 2H, $J = 5.4$ Hz, 21-H), 2.94 (m, 2H, 11-H), 2.08 (m, 2H, 12-H)
8e	490.257 4 (490.259 3)	7.25–7.20 (m, 5H, Ar-H), 7.10 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 6.68 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 6.62 (s, 1H, Ar-H), 6.46 (s, 1H, Ar-H), 3.77 (m, 1H, 1-H), 3.70 (s, 3H, CH_3O), 3.64–3.59 (m, 2H, 13-H), 3.29–3.17 (m, 2H, 3-H), 2.96–2.83 (m, 1H, 4-H), 2.73 (t, 2H, $J = 8.1$ Hz, 22-H), 2.65–2.55 (m, 1H, H-4), 2.47 (t, 2H, $J = 8.1$ Hz, 21-H), 2.44–2.34 (m, 2H, 1'-H), 1.68–1.62 (m, 2H, 12-H)
8f	416.223 0 (416.222 6)	12.07 (s, 1H, COOH), 7.49–7.40 (m, 5H, Ar-H), 7.37–7.30 (m, 3H, Ar-H), 7.09 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 6.74 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 6.60 (m, 1H, Ar-H), 5.88 (s, 1H, 1-H), 4.04–4.01 (m, 2H, 13-H), 3.94–3.70 (m, 1H, 3-H), 3.75–3.60 (m, 1H, 3-H), 3.54–3.52 (m, 2H, 11-H), 3.39–3.29 (m, 1H, 4-H), 3.28 (m, 1H, 4-H), 2.73 (t, 2H, $J = 7.2$ Hz, 22-H), 2.49 (t, 2H, $J = 7.2$ Hz, 21-H), 2.29–2.22 (m, 2H, 12-H)
8g	476.245 0 (476.244 0)	7.47–7.37 (m, 5H, Ar-H), 7.10 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz, Ar-H), 6.92 (s, 1H, Ar-H), 6.77 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz, Ar-H), 6.15 (s, 1H, Ar-H), 5.79 (t, 1H, $J = 4.8$ Hz, 1-H), 3.96–3.80 (m, 2H, 13-H), 3.78 (s, 3H, OCH_3), 3.60–3.56 (m, 2H, 11-H), 3.47 (s, 3H, OCH_3), 3.30–3.20 (m, 1H, 3-H), 3.10–3.07 (m, 1H, 3-H), 3.06–3.01 (m, 2H, 4-H), 2.74 (t, 2H, $J = 8.1$ Hz, 22-H), 2.47 (t, 2H, $J = 8.0$ Hz, 21-H), 2.27–2.20 (m, 2H, 12-H)
8h	550.280 9 (550.280 5)	7.13 (m, 2H, Ar-H), 6.89–6.83 (m, 3H, Ar-H), 6.78 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz, Ar-H), 6.64 (s, 1H, Ar-H), 5.87 (s, 1H, Ar-H), 4.67–4.66 (m, 1H, 1-H), 4.01–3.97 (m, 2H, 13-H), 3.73 (s, 3H, OCH_3), 3.72 (s, 3H, OCH_3), 3.68 (s, 3H, OCH_3), 3.65 (s, 3H, OCH_3), 3.48–3.42 (m, 1H, 3-H), 3.33–3.32 (m, 1H, 3-H), 3.10–3.20 (m, 1H, 4-H), 3.04–2.96 (m, 2H, 11-H), 2.96–2.90 (m, 1H, 4-H), 2.73 (t, 2H, $J = 7.2$ Hz, 22-H), 2.47 (t, 2H, 1'-H), 2.44 (t, 2H, $J = 7.2$ Hz, 20-H), 2.35–2.33 (m, 2H, 12-H)
8i	520.242 7 (520.233 5)	7.27 (s, 1H, Ar-H), 7.10 (d, 2H, $J = 7.1$ Hz, Ar-H), 6.82–6.66 (m, 5H, Ar-H), 6.13 (s, 1H, Ar-H), 5.92 (s, 2H, OCH_2O), 5.11 (s, 1H, 1-H), 4.13–4.10 (m, 2H, 13-H), 3.89 (s, 3H, OCH_3), 3.66 (s, 3H, OCH_3), 3.41–3.40 (m, 1H, 3-H), 3.30–3.20 (m, 1H, 3-H), 3.17–3.10 (m, 2H, 12-H), 2.88 (t, 2H, $J = 7.2$ Hz, 22-H), 2.58 (t, 2H, $J = 7.2$ Hz, 21-H), 2.40 (m, 1H, 4-H), 2.39–2.30 (m, 1H, 4-H), 1.98–1.85 (m, 2H, 12-H)
8j	460.212 3 (460.212 4)	7.54–7.36 (m, 5H, Ar-H), 7.11 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 6.90 (s, 1H, Ar-H), 6.75 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 6.05 (s, 1H, Ar-H), 5.96 (s, 2H, OCH_2O), 5.75 (d, 1H, $J = 4.0$ Hz, 1-H), 4.06–3.97 (m, 2H, 13-H), 3.95–3.93 (m, 1H, 3-H), 3.67–3.62 (m, 1H, 3-H), 3.56–3.42 (m, 1H, 4-H), 3.26–3.23 (m, 2H, 11-H), 3.16–2.97 (m, 1H, 4-H), 2.73 (t, 2H, $J = 8.2$ Hz, 22-H), 2.49 (t, 2H, $J = 8.2$ Hz, 21-H), 2.29–2.20 (m, 2H, 12-H)

PPAR γ 受体激动活性超过了对照药物罗格列酮。其中化合物**8a**的PPAR α/γ 受体激动活性都超过了对照药物,为PPAR受体的双激动剂,并显示出了很高的激动活性。

四氢异喹啉1位取代基结构较小的化合物具有较好的PPAR γ 受体激动活性,例如化合物**8a**、**8b**、**8f**、**8g**。PPAR α 受体结合口袋空间比PPAR γ 的受体结合空间大,对化合物结构的要求较低,多种1位取

代的四氢异喹啉类化合物都具有较好的 PPAR α 受体激动活性。

四氢异喹啉母核部分的取代基为 3, 4-(OCH₃)₂ 时, 化合物具有 PPAR γ 受体激动活性, 而为 3, 4-OCH₂O- 时则具有较好的 PPAR α 激动活性且不具有 PPAR γ 激动活性, 推测因 3, 4-OCH₂O- 取代基增大了分子结构, 更适合 PPAR α 受体的空间结构要求, 具有较好的 PPAR α 激动活性。

二碳饱和结构连接的化合物 PPAR α/γ 活性较三碳饱和结构连接的化合物活性低, 推测此类化合物中三碳饱和碳链的长度更好地满足了 PPAR 受体的空间结构要求, 例如化合物 **8c**、**8e**。

3 小结

根据 PPAR 受体激动剂已有构效关系设计合成了一系列四氢异喹啉类衍生物, 其中化合物 **8a** 和 **8b** 的 PPAR α 受体激动活性超过对照药物 WY14643 的 2 倍。化合物 **8a** 的 PPAR γ 受体激动活性超过对照药罗格列酮, PPAR α 受体激动作用达到对照药物 WY14643 两倍以上, 是值得进一步研究的 PPAR α/γ 双激动剂先导化合物。

实验部分

熔点用 Yanaco 500 型显微熔点仪测定, 温度未校正; 核磁共振仪为 Varian Mercury 300 型, TMS 为内标; 质谱仪为 LC/MSD TOF (Agilent Technologies); 薄层色谱板用硅胶 GF254 自制, 或使用高效 TLC 板, 均为青岛海洋化工厂产品。

1 化合物 **8a**~**8j** 的合成

1.1 四氢异喹啉 **4a 的制备** 100 mL 茄型瓶中加入 5.0 g 2, 4-二氟苯甲酸 (0.032 mol)、11 mL 二氯亚砷和 20 mL 甲苯, 电磁搅拌, 加热回流 5 h, 减压蒸除溶剂得深色油状物, 加 20 mL 二氯甲烷溶解, 所得溶液滴加到 5.8 g (0.032 mol) 3, 4-二甲氧基苯乙胺、1.54 g (0.038 mol) 氢氧化钠 (溶于 10 mL 水中) 和 20 mL 二氯甲烷的混合溶液中, 冰浴条件下 0.5 h 滴加完毕, 室温搅拌 2 h, 分出有机相, 分别以 10% 盐酸、1 mol·L⁻¹ NaOH、水及饱和食盐水洗, 硫酸钠干燥, 减压蒸干得白色块状酰胺类化合物, 石油醚-乙酸乙酯 2:1 重结晶得白色固体 9.95 g, 收率 98%。取 4.0 g (0.012 mol) 酰胺放入 100 mL 茄型瓶中, 加入 4.0 mL 三氯氧磷和 20 mL 甲苯, 加热回流 5 h, 减压蒸除溶剂, 反复加水、乙酸乙酯洗, 合并水相用浓氨水碱化, 出现白色沉淀, 二氯甲烷提取, 饱和食盐水洗, 硫酸

钠干燥, 蒸干得 3.54 g (0.012 mol)。将未经纯化的上述中间体放入 100 mL 圆底烧瓶中, 加入 20 mL 甲醇, 冰浴条件下分批加入 1.4 g NaBH₄ (0.035 mol), 加毕, 室温搅拌 2 h, 减压蒸除溶剂, 加水, 二氯甲烷提取, 减压蒸干, 残余物溶于 20 mL 甲醇中, 滴加浓盐酸至 pH 1 左右, 蒸干溶剂, 用甲醇-乙醇 (1:1) 混合溶剂重结晶得产物 3.4 g, 收率 79%, mp 150~154 °C。

1.2 化合物 **6a 的制备** 100 mL 圆底烧瓶中加入 4.0 g (0.022 mol) 对羟基苯丙酸甲酯、9.2 g 碳酸钾 (0.066 mol)、5 mL 2-丁酮和 1-氯-3-溴丙烷, 少量碘化钾做催化剂, 加热回流 4 h, 减压蒸除溶剂, 加水, 乙酸乙酯萃取, 硫酸钠干燥, 硅胶柱色谱 (乙酸乙酯-石油醚) 分离得无色油状液体 5.1 g, 收率 90%。

1.3 化合物 **7a 的制备**^[10] 50 mL 圆底烧瓶中加入 550 mg (2.14 mmol) **6a**、654 mg (2.14 mmol) **4a**、886 mg (6.42 mmol) 碳酸钾和 20 mL DMF, 加少量碘化钾作为催化剂, 电磁搅拌, 80 °C 反应 4 h, 加水, 二氯甲烷提取, 水洗 6 次, 饱和食盐水洗, 硫酸钠干燥, 减压蒸干, 残余物用硅胶柱色谱 (乙酸乙酯-石油醚) 纯化, 得浅黄色油状液体 1.04 g, 收率 92%。

1.4 化合物 **8a 的制备** 50 mL 圆底烧瓶中放入 100 mg (0.19 mmol) **7a**、42.6 mg 氢氧化钾 (0.76 mmol) 和 10 mL 甲醇, 加入几滴水促进水解反应的进行, 加热回流 2 h, 减压蒸除溶剂, 加水, 滴加浓盐酸至 pH 1 左右, 出现白色沉淀, 过滤, 乙酸乙酯-甲醇重结晶得浅黄色固体 89 mg, 收率 85%, mp 125~126 °C。

化合物 **8b**~**8j** 的制备方法与化合物 **8a** 制备方法相同。

2 PPAR α/γ 活性试验

本课题采用 293ET 细胞瞬时转染 PPAR α/γ 、RXR 及 PPRE 质粒, 荧光素酶 (luciferase) 检测方法筛选 PPAR 调节剂, 其中 PPAR γ 阳性对照药为罗格列酮, PPAR α 阳性对照为 WY14643^[11] (工具药), 构建表达 PPAR α/γ 、RXR 的真核表达质粒载体以及 PPAR α/γ 、RXR 的应答元件 PPRE 调控的荧光素酶报告基因质粒载体 (PPRE-luciferase)。用脂质体转染的方法 (Lipofectamine 2000, invitrogen), 共转染 PPAR α/γ 、RXR、PPRE-luciferase 表达质粒进哺乳动物细胞系 293ET 细胞, 转染方法按照 invitrogen 产品手册推荐。转染的 3 种质粒摩尔比为 1:1:2。293ET 细胞转染 24 h 后, 用胰酶消化, 计数细胞后均分成若干份, 分别与加入样品的培养基混合, 在合适的培养板中继续培养 24 h, 此步须设立阴性对照 (加 DMSO), 阳性

对照 (WY14643/rosiglitazone), 每个样品设立平行组。根据需要样品浓度设置若干梯度。加药 24~48 h 后, 用细胞裂解液充分裂解细胞, 收集培养板中各孔细胞裂解液, 加入荧光素酶反应底物 (Luciferase Assay System, Promega), 用化学发光检测仪 (Biotek, Synergy 2, 美国) 立即测量荧光读数。阳性药物在转染后的 293ET 细胞中激活报告基因表达的活性设为 100%, 测试样品的报告基因激活活性与阳性药物 100% 相比所得的相对百分比, 为测试样品的相对活性。

PPAR γ 活性以罗格列酮活性作为参照 (100%), 其中活性超过对照药物的有 3 个; PPAR α 活性以 WY14643 活性为参照 (100%), 其中活性超过对照药物的有 6 个; 化合物 **8a** 的 PPAR α/γ 激动活性超过对照药物, 为 PPAR α/γ 双激动剂类化合物。

References

- [1] Zhong CB, Zhu XJ, Liu ZR, et al. Design, synthesis and insulin-sensitizing activity of some peroxisome proliferator-activated γ agonists [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2005, 40: 136–140.
- [2] Shi GQ, Dropinski JF, Mckeever BM, et al. Design and synthesis of α -aryloxyphenylacetic acid derivatives: a novel class of PPAR α/γ dual agonists with potent antihyperglycemic and lipid modulating activity [J]. J Med Chem, 2005, 48: 4457–4468.
- [3] Koyama H, Miller DJ, Boueres JK, et al. (2R)-2-Ethylchromane-2-carboxylic acids: discovery of novel PPAR α/γ dual agonists as antihyperglycemic and hypolipidemic agents [J]. J Med Chem, 2004, 47: 3255–3263.
- [4] Cai ZF, Guo ZR. Peroxisome poliferator-activated receptors and their modulators [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2004, 39: 158–160.
- [5] Xu YP, Etgen GJ, Ardecky RJ, et al. Design and synthesis of α -aryloxy- α -methylhydrocinnamic acids: a novel class of dual peroxisome proliferator-activated receptor α/γ agonists [J]. J Med Chem, 2004, 47: 2422–2425.
- [6] Kline BJ, Saenz J, Stanković N, et al. Polymorph and particle size control of PPAR compounds PF00287586 and AG035029 [J]. Org Process Res Dev, 2006, 10: 203–211.
- [7] Lohray BB, Lohray VB, Bajji AC, et al. (-)-3-[4-[2-(Phenoxazin-10-yl)ethoxy]phenyl]-2-ethoxypropanoic acid [(-)DRF 2725]: a dual PPAR agonist with potent antihyperglycemic and lipid modulating activity [J]. J Med Chem, 2001, 44: 2675–2678.
- [8] Markt P, Petersen RK, Flindt EN, et al. Discovery of novel PPAR ligands by a virtual screening approach based on pharmacophore modeling, 3D shape, and electrostatic similarity screening [J]. J Med Chem, 2008, 51: 6303–6317.
- [9] Wei ZL, Petukhov PA, Bizik F, et al. Isoxazolyl-serine-based agonists of peroxisome proliferator-activated receptor: design, synthesis, and effects on cardiomyocyte differentiation [J]. J Am Chem Soc, 2004, 126: 16714–16715.
- [10] Morishita S, Saito T, Hirai Y, et al. Synthesis and hypolipidemic activity of 2-substituted isobutyric acid derivatives [J]. J Med Chem, 1988, 31: 1205–1209.
- [11] Lin Q, Ruuska SE, Shaw NS, et al. Ligand selectivity of the peroxisome proliferator-activated receptor α [J]. Biochemistry, 1999, 38: 185–190.