

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2018 年 12 月 27 日 (27.12.2018)



(10) 国际公布号
WO 2018/232805 A1

(51) 国际专利分类号:

C07D 407/04 (2006.01) **A61P 9/12** (2006.01)
C07D 493/14 (2006.01) **A61P 9/04** (2006.01)
A61K 31/352 (2006.01) **A61P 3/10** (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2017/093148

(22) 国际申请日: 2017 年 7 月 17 日 (17.07.2017)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201710464386.5 2017 年 6 月 19 日 (19.06.2017) CN

(71) 申请人: 山东大学 (SHANDONG UNIVERSITY)
[CN/CN]; 中国山东省济南市历下区文化西路 44 号, Shandong 250100 (CN)。

(72) 发明人: 娄红祥 (LOU, Hongxiang); 中国山东省济南市历下区文化西路 44 号, Shandong 250100 (CN)。 孙斌 (SUN, Bin); 中国山东省济南市历

下区文化西路 44 号, Shandong 250100 (CN)。 崔昌义 (CUI, Changyi); 中国山东省济南市历下区文化西路 44 号, Shandong 250100 (CN)。

(74) 代理人: 济南圣达知识产权代理有限公司 (JINAN SHENGDA INTELLECTUAL PROPERTY AGENCY CO., LTD.); 中国山东省济南市历下区经十路 17703 号华特广场 B308, Shandong 250061 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(54) Title: PUERARIN DERIVATIVE, PREPARATION METHOD THEREFOR, AND USE THEREOF FOR PREVENTION AND TREATMENT OF CARDIOVASCULAR AND CEREBROVASCULAR DISEASES OR DIABETES AND COMPLICATIONS THEREOF

(54) 发明名称: 葛根素衍生物及其制备方法和在预防、治疗心脑血管疾病或糖尿病及其并发症中的用途

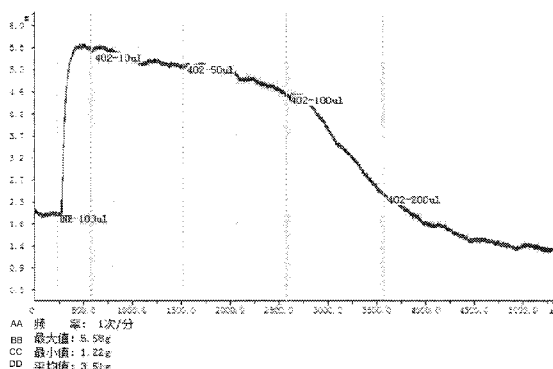
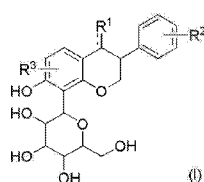
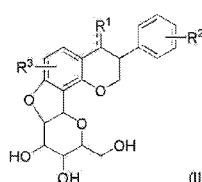


图 3

(57) Abstract: Provided are a puerarin derivative represented by formula (I) or formula (II) or a pharmaceutically acceptable salt thereof, a preparation method therefor, and a use thereof for the prevention and treatment of cardiovascular and cerebrovascular diseases or diabetes and complications thereof. (III) may represent a single bond or a double bond; R¹ represents an oxygen atom, a hydrogen atom, a hydroxyl group, an alkoxy group, or a halogen atom; and R² and R³ individually represent a hydrogen atom, a hydroxyl group, a hydroxymethyl group, a halogen atom, -O(O)CR⁴, -OSOR⁴, -OSO₂R⁴, or -O(O)PO₂R⁴. A medical composition of the above compound and a salt thereof can be used for the prevention and treatment of cardiovascular and cerebrovascular diseases or diabetes and complications thereof. The compound can be used as a main ingredient for the preparation of a corresponding oral formulation and injection. The compound can also be used with other drugs in combined therapy regimes for treating cardiovascular and cerebrovascular diseases.



(I)



(II)

--- (III)

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(57) 摘要: 提供了式(I)或式(II)所示的葛根素衍生物或其药学上可接受的盐、其制备方法和在预防、治疗心脑血管疾病或糖尿病及其并发症中的用途。其中, (III)可代表是单键或双键; R^1 代表: 氧原子、氢原子、羟基、烷氧基和卤素原子; R^2 和 R^3 分别代表: 氢原子、羟基、羟甲基、卤素原子、 $-O(O)CR^4$ 、 $-OSOR^4$ 、 $-OSO_2R^4$ 、 $-O(O)PO_2R^4R^5$; 上述化合物及其盐的医疗组合物可用于心脑血管疾病、糖尿病及并发症的预防和治疗, 可以所述化合物作为主要成分制备相应的口服制剂和注射剂等, 也可用于与其他心脑血管疾病治疗药物的联合治疗法。

葛根素衍生物及其制备方法和在预防、治疗心脑血管疾病或糖尿病及其并发症中的用途

技术领域

本发明涉及心脑血管和糖尿病治疗领域以及化合物的制备领域，具体的，本发明涉及葛根素新型衍生物的结构及其制备方法以及这类衍生物在治疗和预防心脑血管疾病或糖尿病及其并发症中的用途。

背景技术

葛根素是从分布于豆科植物野葛和甘葛藤根中的一种黄酮类化合物，是中药葛根的主要活性成分之一。研究表明，葛根素是一类 β 受体阻断剂和钙离子拮抗剂，具有扩张冠状动脉、降血压、抗心律失常、降血糖、降血脂、舒张平滑肌、抑制血小板聚集和抗氧化等药理作用，临床上主要用于高血压、冠心病、心绞痛、急性脑梗死和高粘血症等心脑血管疾病的治疗。此外，葛根素与降糖物质根皮苷结构相似，两者均为黄酮类化合物，有研究证明葛根素也具有一定的降血糖功能。葛根素因其毒性低、安全范围广、疗效好等特点而具有重要的临床应用价值。

目前，葛根素在临床使用过程中存在水溶性差和口服生物利用度低等缺点，限制了其在临床上的使用范围。尤其是葛根素的水溶性较低，仅为 4.5 g/L，在临床使用中葛根素注射液大多需要加入高浓度的丙二醇以及赖氨酸、精氨酸、组氨酸和烟酰胺等作为助溶剂，而且这类助溶剂效果有限，同时还可能会引起人体的过敏反应以及肝肾损伤等毒副作用。因此，对葛根素进行结构改造和修饰，开发新型心脑血管保护药物以及降血糖药物，以增强其水溶性，提高生物利用度和生物学活性，具有重大应用价值和市场潜力。现有技术也公开了多种对葛根素进行结构修饰或改造来增强其水溶性的衍生物及相应制备方法，如 CN101712676A 公开了通过设计和合成高水溶新葛根素衍生物前药如葛根素磷酸盐、磺酸盐等来增强药物水溶性；CN103382203A 公开了通过增强药物靶点性修饰改善葛根素水溶性和脂溶性；CN103694229A 制备了水溶性和脂溶性良好的葛根素衍生物。葛根素的 8 位上连有一个吡喃葡萄糖碳苷，7，4' 位上各有一个酚羟基，为葛根素的活性基团，是目前葛根素结构修饰的集中位点。

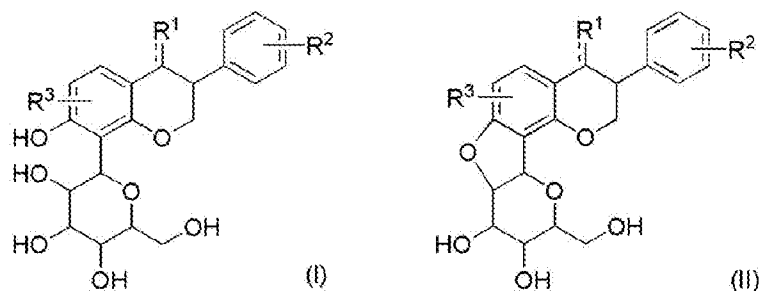
发明内容

针对现有技术存在的问题，为了克服葛根素水溶性差的缺点和不足，本发明以葛根素为原料，首先通过对其骨架进行改造，还原 C 环 α ， β 不饱和双键，破坏分子刚性结构，提高其溶解性；其次，通过进一步还原酮羰基为羟基，提高分子极性和水溶性。最终得到了若干个水溶性良好的葛根素衍生物。本发明提供了一种葛根素新型衍生物，该药物具有水溶性好，

活性高，制备成本低廉等特点，可以作为预防和治疗心脑血管疾病很有前景的药物。

具体的，本发明涉及以下技术方案：

首先，本发明的一个目的在于，提供一种式（I）或式（II）所示的化合物或其药学上可接受的盐，

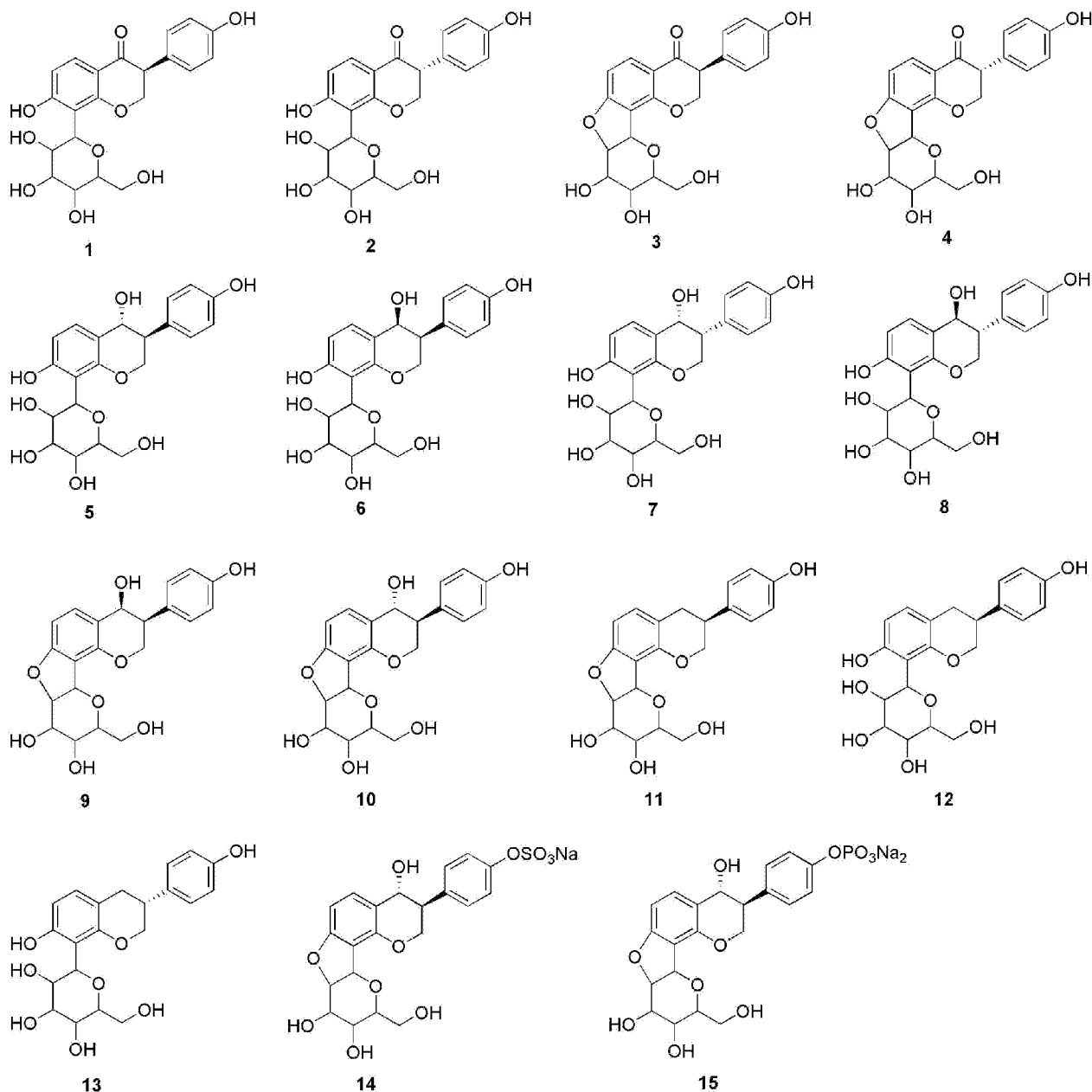


其中，==可代表是单键，也可代表双键； R^1 代表：氧原子、氢原子、羟基、烷氧基和卤素原子； R^2 和 R^3 分别代表：氢原子、羟基、羟甲基、卤素原子， $-O(O)CR^4$ 、 $-OSO_3R^4$ 、 $-O(O)PO_2R^4R^5$ ； R^4 和 R^5 可以独立选自氢原子、 (C_1-C_4) 烷基、氨基、金属离子，如钠离子、钾离子、镁离子、钙离子或锌离子等。

本发明优选的实施方案中，==仅代表是单键。

本发明所述葛根素衍生物，是对葛根素骨架进行改造，还原C环 α ， β 不饱和双键，破坏分子刚性结构，提高了其溶解性；进一步的，通过还原酮羰基为羟基，提高分子极性和水溶性。其中示例性的，本发明葛根素衍生物（化合物1-10）的水溶性较葛根素有显著提高（4.5 g/L），其中化合物5至10的水溶性最好，为20-25 g/L，化合物1至4的水溶性略低，均为10 g/L左右，但较葛根素溶解性有明显提升。本发明所述葛根素衍生物，在保持或提高葛根素生理活性的同时，有效的改善了其水溶性，提高生物利用度，适于做注射剂。

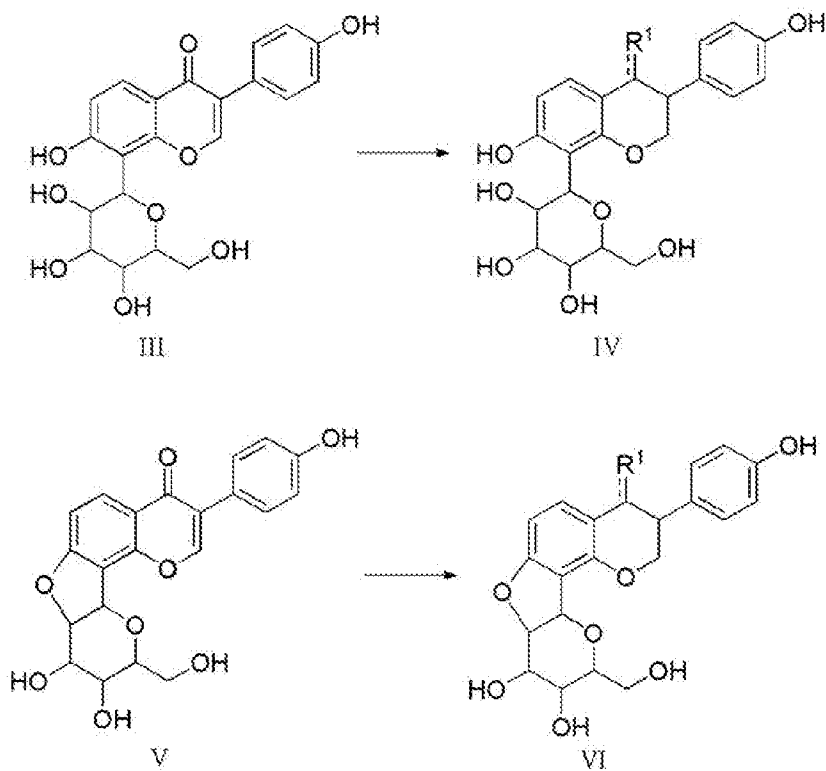
本发明优选的实施方案中，所述化合物可以是选自下列结构的化合物：



更为优选的实施方案中，本发明所示的化合物选自化合物 5、6、10。

优选的实施方案中，本发明所述化合物药学上可接受的盐，也是本发明的保护范围，所述化合物药学上可接受的盐为所述化合物与无机碱，例如氢氧化钾、氢氧化钠、碳酸钾、碳酸钠、氯化钙、醋酸钙或氯化镁形成的盐，或者与有机碱，例如氨基丁三醇、氨基乙醇、赖氨酸或精氨酸等形成的盐。

其次，本发明的目的之二在于提供上述化合物或其药学上可接受的盐的制备方法，所述化合物的制备方法包括如下反应，



通过式 (III) 或 (V) 所示的化合物经催化氢化反应得到式 (IV) 或式 (VI) 所示的化合物，其中 --- 可代表是单键，也可代表双键； R^1 代表：氧原子、氢原子、羟基、烷氧基和卤素原子。

优选的实施方案中，式 (IV) 或式 (VI) 所示的化合物的制备分别是以葛根素 (III) 或式 7,2''-脱水葛根素 (V) 为起始原料，通过以下方法制得：葛根素或脱水葛根素在钨碳催化下，在甲醇或乙酸乙酯溶液中，通过控制反应时间得到不同还原程度的如式 (IV) 或式 (VI) 所示的化合物，其中 --- 可代表是单键，也可代表双键； R^1 代表：氧原子、氢原子和羟基。

本发明的再一个目的在于，提供一种包含上述化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物。既可以作为单体使用，也可以作为异构体的混合物使用。医药组合物所用的辅料可为固态或液态。固态形式的制剂包括粉剂、片剂、分散颗粒、胶囊、药丸及栓剂。粉剂及片剂可包含约 5% 至约 95% 的活性成分。适当的固体辅料可以是碳酸镁、硬脂酸镁、滑石粉、糖或者乳糖。片剂、粉剂、药丸及胶囊为适于口服用的固态剂型。液态形式的制剂包括溶液、悬浮液及乳液，其实例为非经肠注射用水溶液或水-丙二醇溶液，或添加甜味剂及造影剂的口服溶液。此外，还可制成注射用小水针、注射用冻干粉针、大输液或小输液。

本发明的另一个目的在于，提供上述式 (I) 或式 (II) 化合物或其药学上可接受的盐在制备预防和/或治疗心脑血管疾病药物或降血糖药物中的用途。这些心脑血管疾病包括高血

压、心绞痛、心脏衰竭、心肌梗死、中风和脑出血疾病等，此外还有糖尿病及其并发症。

本发明的又有一个目的在于，包括上述式 (I) 或式 (II) 化合物或其药学上可接受的盐与至少一种其它心血管疾病药物或降糖药物合用。所涵盖的其它心血管疾病药物或降糖药物的原子组成或结构均异于式 (I) 或式 (II) 的化合物。可与本发明新颖化合物组合使用的其它心血管疾病药物包括具有抗血栓形成、抗血小板聚集、抗动脉粥样硬化、抗再狭窄症及/或抗凝血、血管舒张活性的药物，以及糖尿病及其并发症。

本发明取得了以下有益效果：

(1) 本发明以葛根素为原料，通过对其骨架进行改造，还原 C 环 α , β 不饱和双键，破坏分子刚性结构，提高其溶解性；其次，通过进一步还原酮羰基为羟基，提高分子极性和水溶性，最终得到了若干个水溶性良好的葛根素衍生物。

(2) 通过动物实验证实，本发明所述组合物能增加豚鼠的冠脉血流量、对去甲肾上腺素所致的动脉收缩有舒张作用、对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤具有保护作用，在提高葛根素生物利用性的同时，有效的保持或提高了葛根素生理活性。

(3) 本发明所述化合物制备简单易行，具有化合物活性高，制备成本低廉等特点，可以作为预防和治疗心脑血管疾病很有前景的药物。

附图说明

图 1：去甲肾上腺素对动脉收缩的影响—空白对照

图 2：葛根素对由去甲肾上腺素引起的动脉收缩的舒张作用

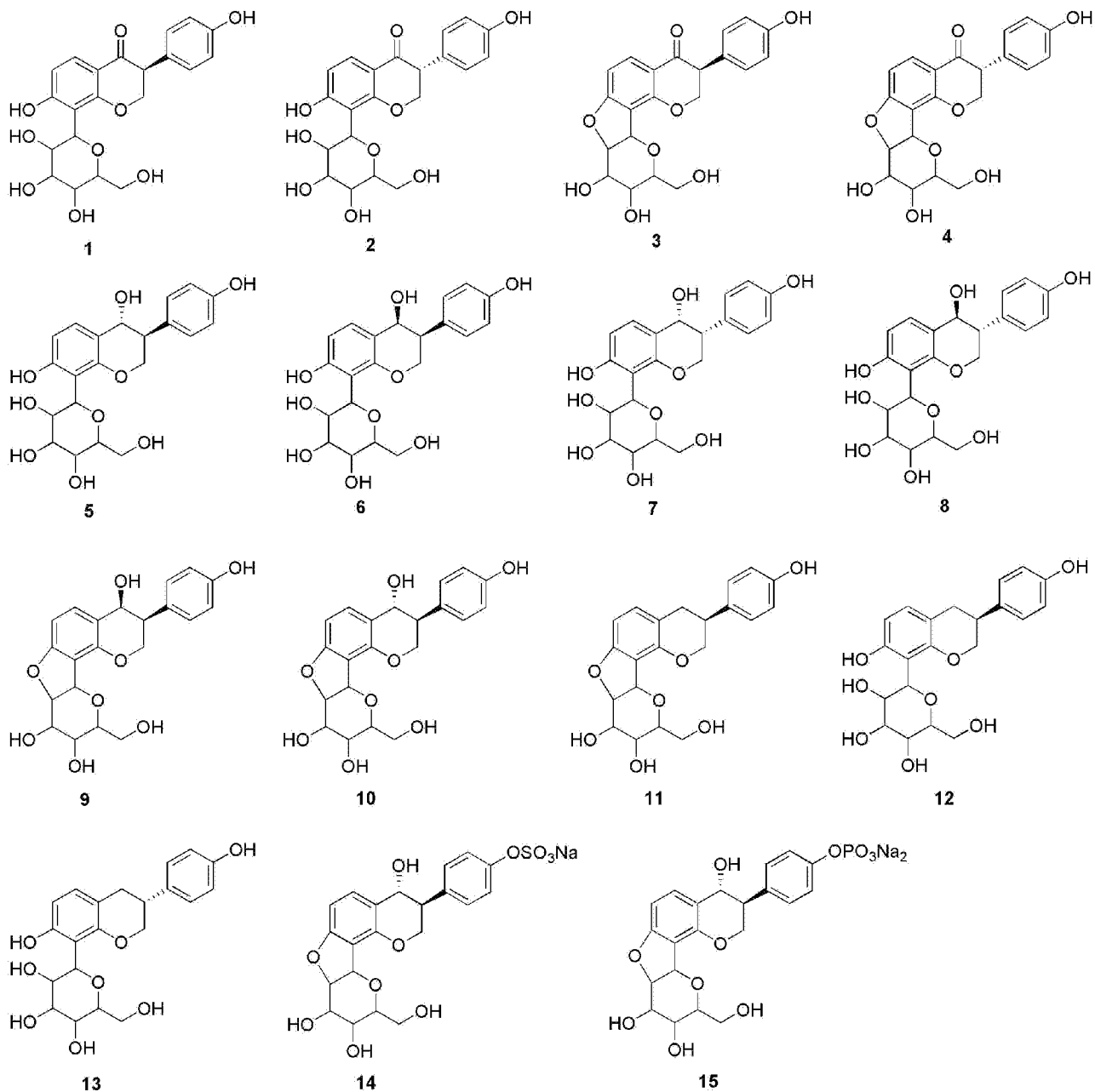
图 3：化合物 10 对由去甲肾上腺素引起的动脉收缩的舒张作用

图 4：化合物 5 和 6 混合物对由去甲肾上腺素引起的动脉收缩的舒张作用

具体实施方式

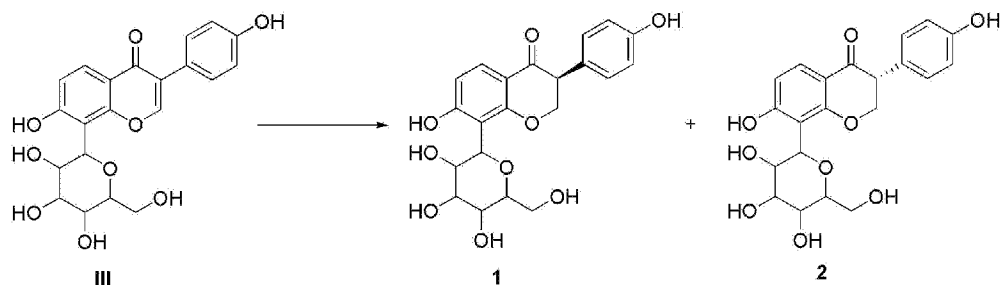
本发明列举实施例如下，对本发明作进一步详细说明，但本发明的实施方式不限于此。对于本领域的技术人员来说，本发明可以有各种更改和变化，凡在本发明的精神和原则之内，所作的任何修改、等同替换或改进等，均应包含在本发明的保护范围之内。

实施例一：本发明所述化合物的结构如下：



上述化合物药学上可接受的盐为所述化合物与无机碱，例如氢氧化钾、氢氧化钠、碳酸钾、碳酸钠、氯化钙、醋酸钙或氯化镁形成的盐，或者与有机碱，例如氨基丁三醇、氨基乙醇、赖氨酸或精氨酸等形成的盐。

实施例二：化合物 1 和 2 的制备

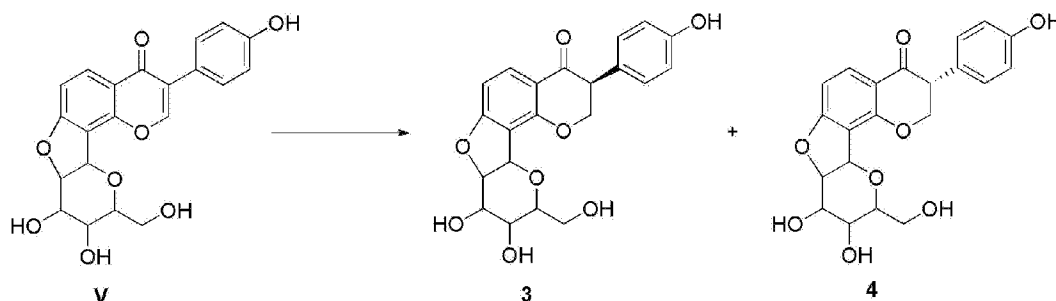


称取化合物葛根素 (III) 置于干燥圆底烧瓶中, 加入乙酸乙酯加以溶解, 随后加入 10% 钨碳, 室温下搅拌反应 6 小时, TLC 监测反应进程, 反应结束后, 滤除钨碳, 蒸除溶剂, 所得产物过 Flash 反相柱, 流动相为甲醇/水梯度洗脱, 最后减压蒸去溶剂, 得白色固体化合物 1 和 2。

化合物 1: MS m/z : 419 ($M+1$); ^1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 7.75 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.08 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.75 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.54 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 4.93 – 4.88 (m, 2H), 4.63 – 4.52 (m, 2H), 4.04 (s, 1H), 3.87 (dd, $J = 11.9, 1.9$ Hz, 1H), 3.73 (dd, $J = 11.9, 4.9$ Hz, 1H), 3.50 – 3.36 (m, 3H).

化合物 2: MS m/z : 419 ($M+1$); ^1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 7.75 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.12 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.74 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.55 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 4.95 – 4.89 (m, 2H), 4.64 – 4.54 (m, 2H), 4.01 (s, 1H), 3.87 (dd, $J = 12.0, 2.0$ Hz, 1H), 3.77 – 3.70 (m, 1H), 3.50 – 3.37 (m, 3H).

实施例三: 化合物 3 和 4 的制备

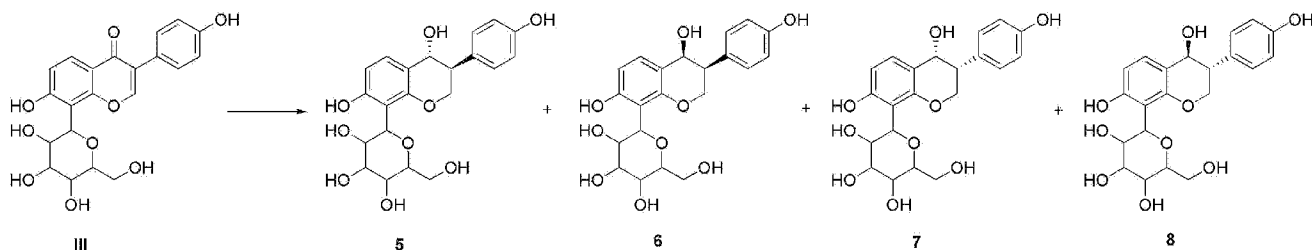


称取化合物脱水葛根素 (V) 置于干燥圆底烧瓶中, 加入乙酸乙酯加以溶解, 随后加入 10% 钨碳, 室温下搅拌反应 6 小时, TLC 监测反应进程, 反应结束后, 滤除钨碳, 蒸除溶剂, 所得产物过 Flash 反相柱, 流动相为甲醇/水梯度洗脱, 最后减压蒸去溶剂, 得白色固体化合物 3 和 4。

化合物 3: MS m/z : 401 ($M+1$); ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ 7.92 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.08 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.77 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.68 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 5.18 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 4.70 – 4.55 (m, 3H), 4.00–3.97 (m, 2H), 3.84 (dd, $J = 12.1, 2.5$ Hz, 1H), 3.64 (dd, $J = 12.1, 5.7$ Hz, 1H), 3.60 (t, $J = 9.4$ Hz, 1H), 3.35 (ddd, $J = 9.3, 5.7, 2.3$ Hz, 1H).

化合物 4: MS m/z : 401 ($M+1$); ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ 7.92 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.09 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.74 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.68 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 5.18 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 4.71 – 4.63 (m, 3H), 3.98 (dd, $J = 9.5, 4.8$ Hz, 1H), 3.88 (dd, $J = 7.4, 5.3$ Hz, 1H), 3.84 (dd, $J = 12.0, 2.4$ Hz, 1H), 3.64 (dd, $J = 12.1, 5.8$ Hz, 1H), 3.59 (t, $J = 9.4$ Hz, 1H), 3.35 (ddd, $J = 8.0, 5.8, 2.4$ Hz, 1H).

实施例四: 化合物 5-8 的制备



称取化合物葛根素 (III) 置于干燥圆底烧瓶中, 加入乙酸乙酯加以溶解, 随后加入 10% 钨碳, 室温下搅拌反应 48 小时, TLC 监测反应进程, 反应结束后, 滤除钨碳, 蒸除溶剂, 所得产物过硅胶反相柱, 流动相为甲醇/二氯甲烷梯度洗脱, 减压蒸去溶剂, 得化合物 5、6、7 和 8 的混合物。最后通过 HPLC 反相柱, 流动相为乙腈/水, 分别得到化合物 5、6、7 和 8 纯品。

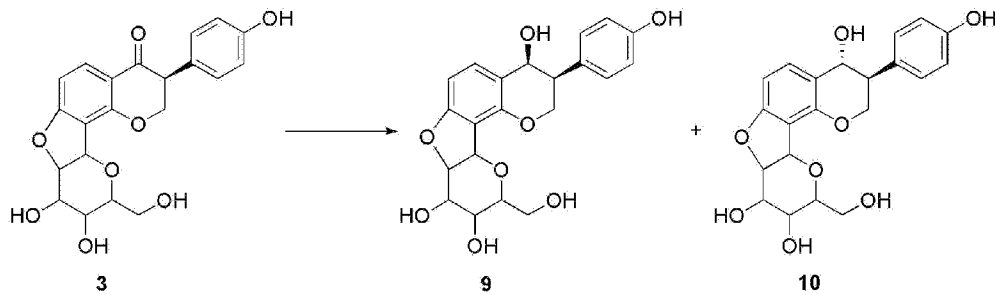
化合物 5: MS m/z : 421 ($M+1$); ^1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 7.24 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.07 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.73 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.46 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 4.77 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 4.29 (dd, $J = 11.1, 3.6$ Hz, 1H), 4.17 (dd, $J = 11.0, 8.6$ Hz, 1H), 4.01 – 3.91 (m, 1H), 3.84 (dd, $J = 11.8, 1.8$ Hz, 1H), 3.74 (dd, $J = 12.1, 5.0$ Hz, 1H), 3.46 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 3.40-3.36 (m, 1H), 3.01 (td, $J = 8.1, 3.5$ Hz, 1H).

化合物 6: MS m/z : 421 ($M+1$); ^1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 7.12 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.08 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 6.76 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.44 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.60 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 4.47 (dd, $J = 11.9, 10.7$ Hz, 1H), 4.22 (dd, $J = 10.3, 2.6$ Hz, 1H), 3.99 (t, $J = 8.9$ Hz, 1H), 3.85 (dd, $J = 12.1, 2.2$ Hz, 1H), 3.75 (dd, $J = 12.1, 4.9$ Hz, 1H), 3.49 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 3.40-3.36 (m, 1H), 3.11 (dt, $J = 12.0, 3.2$ Hz, 1H).

化合物 7: MS m/z : 421 ($M+1$); ^1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 7.12 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.09 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.76 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.44 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.61 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 4.45 (dd, $J = 12.0, 10.5$ Hz, 1H), 4.25 (dd, $J = 10.3, 2.4$ Hz, 1H), 3.99 (t, $J = 8.7$ Hz, 1H), 3.85 (dd, $J = 12.0, 2.1$ Hz, 1H), 3.76 (dd, $J = 12.0, 4.8$ Hz, 1H), 3.48 (t, $J = 8.3$ Hz, 2H), 3.43 – 3.37 (m, 1H), 3.15 (dt, $J = 12.1, 3.2$ Hz, 1H).

化合物 8: MS m/z : 421 ($M+1$); ^1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 7.21 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.11 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 6.73 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 6.45 (dd, $J = 8.4, 3.1$ Hz, 1H), 4.71 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 4.30 (dd, $J = 11.1, 3.7$ Hz, 1H), 4.22 (dd, $J = 11.1, 7.8$ Hz, 1H), 3.96 (t, $J = 8.9$ Hz, 1H), 3.85 (dd, $J = 12.0, 2.2$ Hz, 1H), 3.76 (dd, $J = 12.1, 4.7$ Hz, 1H), 3.48 (t, $J = 8.1$ Hz, 2H), 3.43 – 3.37 (m, 1H), 2.99 (td, $J = 7.4, 3.7$ Hz, 1H).

实施例五: 化合物 9 和 10 的制备



称取化合物 **3** 置于干燥圆底烧瓶中，加入乙酸乙酯加以溶解，随后加入 10% 钨碳，室温下搅拌反应 36 小时，TLC 监测反应进程，反应结束后，滤除钨碳，蒸除溶剂，所得产物过硅胶反相柱，流动相为甲醇/二氯甲烷梯度洗脱，减压蒸去溶剂，得化合物 **9** 和 **10** 的混合物。最后通过 HPLC 反相柱，流动相为乙腈/水，分别得到化合物 **9** 和 **10** 纯品。

化合物 **9**: MS m/z : 403 ($M+1$); ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ 7.36 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.08 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.73 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.53 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 5.07 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 4.80 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 4.52 (dd, $J = 4.7, 3.4$ Hz, 1H), 4.35 (dd, $J = 11.1, 3.7$ Hz, 1H), 4.27 (dd, $J = 11.1, 8.4$ Hz, 1H), 3.93 (dd, $J = 9.5, 4.8$ Hz, 1H), 3.84 (dd, $J = 12.0, 2.3$ Hz, 1H), 3.60 (dd, $J = 12.1, 6.1$ Hz, 1H), 3.55 (t, $J = 9.4$ Hz, 1H), 3.34 – 3.32 (m, 1H), 3.03 (td, $J = 7.9, 3.6$ Hz, 1H).

化合物 **10**: MS m/z : 403 ($M+1$); ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.09 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.08 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.68 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.43 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 4.92 (d, $J = 3.1$ Hz, 1H), 4.52 – 4.40 (m, 3H), 4.35 (dd, $J = 4.8, 3.1$ Hz, 1H), 4.21 – 4.10 (m, 1H), 3.76 (dd, $J = 9.4, 4.7$ Hz, 1H), 3.68 – 3.55 (m, 1H), 3.42–3.38 (m, 1H), 3.13 (ddd, $J = 8.9, 5.3, 1.9$ Hz, 1H), 3.05 (dt, $J = 12.3, 2.9$ Hz, 1H).

化合物 1-10 室温 (25°C) 进行水溶性试验，葛根素衍生物 (化合物 1-10) 的水溶性较葛根素有显著提高 (4.5 g/L)，其中化合物 5 至 10 的水溶性最好，为 20-25 g/L，化合物 1 至 4 的水溶性略低，均为 10 g/L 左右，取水溶性较好的化合物 10、化合物 5、6 进行后续试验。

实施例六：式 (I) 或式 (II) 化合物对离体豚鼠冠脉流量的影响

1. 材料:

动物：豚鼠

仪器：恒温装置、供氧系统、恒压装置、主动脉套管、手术器械

药品：葛根素注射液、化合物 **10**、化合物 **5** 和 **6** 混合物，分别用无菌生理盐水溶解成 10mg/ml 和 5mg/ml，腹腔注射和灌胃体积为 0.5mL/100g。

2. 方法:

(1) 豚鼠雌雄各半，体重 250-350g，随机分为正常组、葛根素组 (50mg/kg)，化合物 **10** 低剂量组 (25mg/kg)、化合物 **10** 高剂量组 (50mg/kg)、化合物 **5** 和 **6** 混合物低剂量组

(25mg/kg)、化合物 **5** 和 **6** 混合物高剂量组 (50mg/kg) 每组 4-5 只, 分别腹腔注射, 每天一次, 共 10 天。

另外还有正常组、化合物 **10** 高剂量组 (50mg/kg)、化合物 **5** 和 **6** 混合物高剂量组 (50mg/kg) 分别灌胃给药, 共 7 天。

(2) 采用 Langendorff 法观察化合物对冠脉流量的影响, 调节恒温恒压灌流仪器: 温度 $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$, 氧气 2-3 个/s, 压力 40-60cm 水柱。

(3) 于末次给药 30min 后, 20%乌拉坦 (0.5ml/100g) 麻醉, 剪胸部皮肤, 自剑突处剪开胸骨, 迅速打开胸腔, 暴露心脏, 左手轻轻拿住心脏, 剪断上下腔静脉、肺动脉、主动脉及心脏周围的组织, 摘出心脏。置于充氧的 4°C 任洛氏液的培养皿中, 用手指轻轻挤压心脏, 使心室内残血排出, 去除心包膜, 找到主动脉。修剪连接在心脏上的肺叶、气管等累赘物, 主动脉挂在主动脉套管上, 供给离体条件。稳定 10min 后连续测定 20min 的每分冠脉流量。

3. 结果:

葛根素组 (50mg/kg), 化合物 **10** 低剂量组 (25mg/kg)、化合物 **10** 高剂量组 (50mg/kg)、化合物 **5** 和 **6** 混合物低剂量组 (25mg/kg)、化合物 **5** 和 **6** 混合物高剂量组 (50mg/kg) 与正常组相比, 都能增加豚鼠的冠脉血流量。化合物 **5** 和 **6** 混合物高剂量组 (50mg/kg) 与正常组相比有统计学意义 (腹腔注射 * $P<0.05$; 灌胃 ** $P<0.01$)。与葛根素组相比, 化合物 **5** 和 **6** 混合物高剂量组 (50mg/kg) 对豚鼠的冠脉血流量的增加更明显, 具体结果见表 1。

表 1: 葛根素衍生物对离体豚鼠冠脉流量的影响

组别	动物数 (只)	剂量 (mg/kg)	给药方式	给药时间 (d)	冠脉流量 ml/min/kg 20min 内
正常组	3	等容量 N.S	腹腔注射	10	25.07
葛根素组	4	50	腹腔注射	10	30.57
化合物 10 低剂量组	3	25	腹腔注射	10	28.31
化合物 10 高剂量组	4	50	腹腔注射	10	29.70
5 和 6 混合物低剂量组	5	25	腹腔注射	10	30.32
5 和 6 混合物高剂量组	5	50	腹腔注射	10	34.26*
正常组	2	等容量 N.S	灌胃	7	23.32
化合物 10 高剂量组	4	50	灌胃	7	31.48
5 和 6 混合物高剂量组	4	50	灌胃	7	31.08**

与相同给药途径的正常组相比: * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

4. 结论: 葛根素衍生物 **5** 和 **6** 混合物对豚鼠的冠脉血流量的增加更明显。

实施例七：式 (I) 或式 (II) 化合物对家兔主动脉环的作用**1. 方法：**

取家兔，棒击致昏，颈动脉放血致死，迅速开胸取出胸主动脉，置冷克亨氏液中，分离周围的组织，剪成 0.5mm 大小的环，备用，将其动脉环置恒温浴槽中（内有 10ml 克亨氏液），并与压力换能器链接，（前负荷定为 2g），将其电信号传入电脑。37 度恒温，通 O₂，稳定 2 小时后，给予 10⁻⁶mmol/L 去甲肾上腺素，待其是动脉收缩达高峰后，分别加入累加浓度的葛根素、化合物 **10**、化合物 **5** 和 **6** 混合物 0.1mg/ml、0.5mg/ml、1mg/ml、2mg/ml （生理盐水组加入同体积的生理盐水），观察血管的舒张情况。

2. 结果

具体结果如图 1 至图 4 所示，其中纵坐标代表动脉血管收缩张力，数值越高，血管收缩力越大。横坐标代表时间。由结果可知，化合物 **10** 以及化合物 **5** 和 **6** 混合物对去甲肾上腺素所致的动脉收缩有舒张作用。

实施例八：式 (I) 或式 (II) 化合物对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤保护作用的药效学观察**1. 方法：**

取 90 只 SD 雄性大鼠，体重 280-320g，随机分为 5 组，实验前 12 小时，禁食不禁水。2%戊巴比妥钠溶液 0.2ml/100g 腹腔注射麻醉，仰位固定，用栓线法制作局灶性脑缺血再灌注损伤模型（缺血 2 小时再灌注 24 小时），缺血后即刻静脉注射给药（葛根素、化合物 **10**、化合物 **5** 和 **6** 混合物均为 100mg/kg，sham 组和模型组给予同容量的 NS；402 为腹腔注射），24 小时后观察神经学评分；心脏取血（4000 转/min 离心 10min，取血清备用），断头取脑，冰箱冷冻 30min，将鼠脑横切成 6 片，置 TTC 染液中，37 度水浴中 30min，取出拍照，用捷达 801 形态分析软件计算梗塞面积百分比。用生化法检测 SOD 和 MDA 含量。

2. 结果

具体实验结果如表 2 和表 3 所示：

表 2：化合物 **10**、化合物 **5** 和 **6** 混合物对脑缺血再灌注损伤的保护作用（ $\bar{x} \pm s$ ）

组别	剂量 (mg/kg)	神经学评分	梗塞面积(%, n=10)
假手术组	NS 2ml/kg	0.00 ± 0.0 (n=11)	0.00 ± 0.00
模型组	NS 2ml/kg	2.56 ± 0.96 ^{###} (n=16)	35.11 ± 5.20 ^{###}
葛根素组	100mg/kg	1.69 ± 0.95 [*] (n=13)	23.20 ± 6.78 ^{**}
化合物 10 组	100mg/kg	1.71 ± 0.99 [*] (n=14)	25.23 ± 7.09 ^{**}
5 和 6 混合物组	100mg/kg	1.77 ± 0.83 [*] (n=14)	25.69 ± 4.98 ^{**}

注：^{###} p<0.001, vs 假手术组；^{*} p<0.05, ^{**} p<0.01, ^{***} p<0.001, vs 模型组。

表 3: 化合物 10、化合物 5 和 6 混合物对脑缺血再灌注损伤血清 SOD、MDA 的影响

组别	剂量 (mg/kg)	n	SOD (U/ml)	MDA (nmol/ml)
假手术组	NS 2ml/kg	7	524.28±39.08	15.51±1.22
模型组	NS 2ml/kg	7	291.68±45.66 ^{###}	20.49±1.13 ^{###}
葛根素组	100mg/kg	7	262.30±65.76	20.01±3.83
化合物 10 组	100mg/kg	7	394.22±44.29 ^{***}	16.48±1.35 ^{***}
5 和 6 混合物组	100mg/kg	7	343.68±41.72	19.23±2.60

注: ^{###}p<0.001, vs 假手术组; ^{***}p<0.001, vs 模型组。

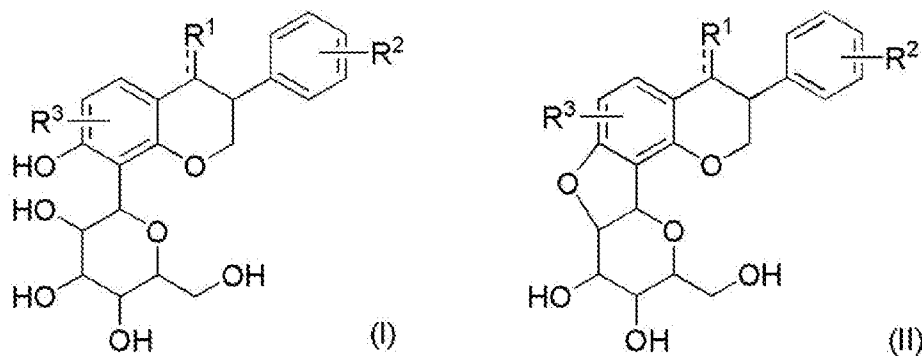
3. 结论

(1) 化合物 10、化合物 5 和 6 混合物都可以减小大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤所致的脑梗塞面积, 降低神经学评分。

(2) 化合物 10、化合物 5 和 6 混合物都可以升高局灶性脑缺血再灌注损伤所致的血清 SOD 含量, 降低其 MDA 含量。

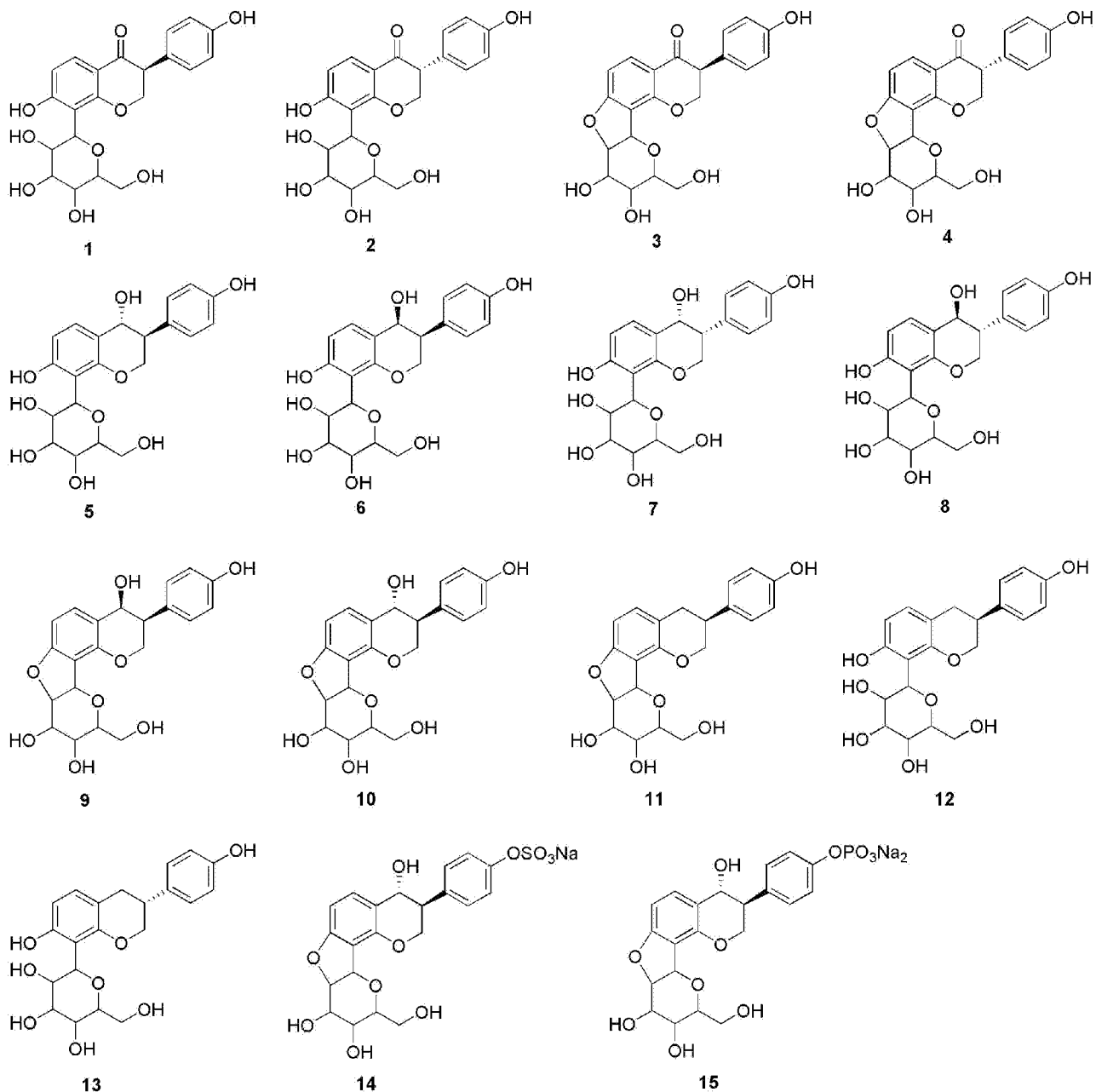
权利要求书

- 1、一种结构如式 (I) 或式 (II) 所示的化合物或其药学上可接受的盐；



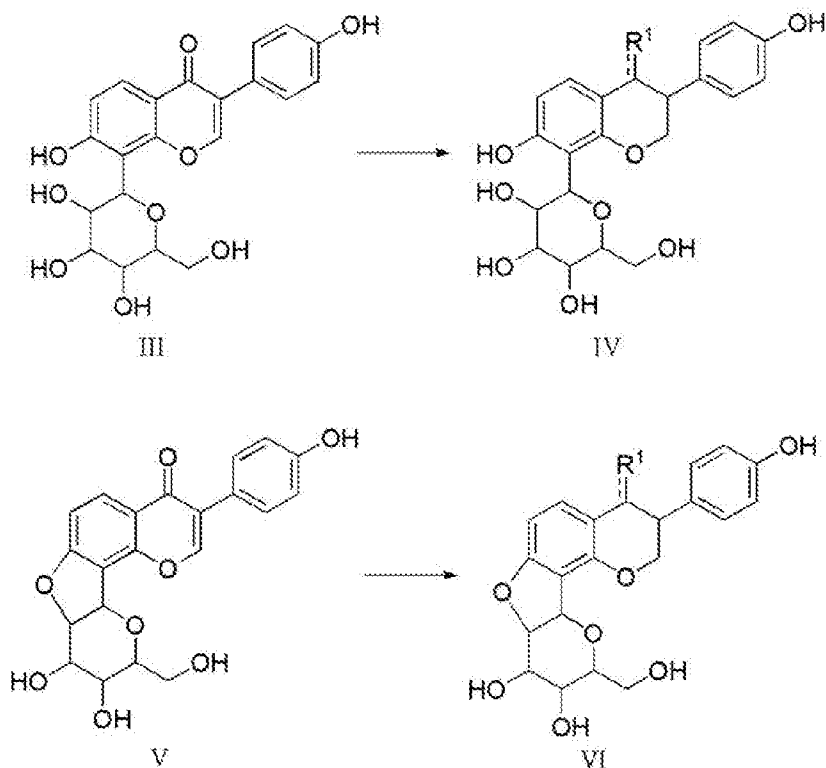
其中， $==$ 可代表是单键，也可代表双键； R^1 代表：氧原子、氢原子、羟基、烷氧基和卤素原子中的一种； R^2 和 R^3 分别代表：氢原子、羟基、羟甲基、卤素原子， $-O(O)CR^4$ 、 $-OSO_3R^4$ 、 $-O(O)PO_2R^4R^5$ ， R^4 和 R^5 可以独立选自氢原子、 (C_1-C_4) 烷基、钠离子、钾离子、镁离子、钙离子、锌离子或氨基。

2、根据权利要求 1 所述的化合物或其药学上可接受的盐，所述化合物是选自下列结构的化合物：



3、根据权利要求 1 或 2 任意一项所述的化合物或其药学上可接受的盐，其特征在于，所述化合物药学上可接受的盐为所述化合物与无机碱形成的盐，或者与有机碱形成的盐，优选的，无机碱选自氢氧化钾、氢氧化钠、碳酸钾、碳酸钠、氯化钙、醋酸钙或氯化镁，有机碱选自氨基丁三醇、氨基乙醇、赖氨酸或精氨酸。

4、一种权利要求 1-3 中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐的制备方法，其特征在于，所述化合物的制备方法包括如下反应，



通过式 (III) 或 (V) 所示的化合物经催化氢化反应得到式 (IV) 或式 (VI) 所示的化合物，其中 --- 可代表是单键，也可代表双键； R^1 代表：氧原子、氢原子、羟基、烷氧基和卤素原子。

5、根据权利要求 4 所述的制备方法，其特征在于，式 (IV) 或式 (VI) 所示的化合物的制备分别是以葛根素 (III) 或 7,2''-脱水葛根素 (V) 为起始原料，通过以下方法制得：葛根素或 7,2''-脱水葛根素在钨碳催化下，在甲醇或乙酸乙酯溶液中，通过控制反应时间得到不同还原程度的如式 (IV) 或式 (VI) 所示的化合物。

6、一种药物组合物，其包含权利要求 1-3 中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐，其作为单体使用，或者作为异构体混合物使用。

7、根据权利要求 6 所述的药物组合物，其特征在于，所述药物组合物还包括一种或多种药学上可接受的载体、赋形剂、助溶剂和/或稀释剂。

8、根据权利要求 6 或 7 所述的药物组合物，其特征在于，所述药物组合物为固体口服制剂、液体口服制剂或注射剂。

9、根据权利要求 6 至 8 中任一项所述的药物组合物，其特征在于，所属药物组合物为片剂、分散片、肠溶片、咀嚼片、口崩片、胶囊、糖衣剂、颗粒剂、干粉剂、口服溶液剂、注射用小水针、注射用冻干粉针、大输液或小输液。

10、根据权利要求 1 至 3 中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐或者权利要求 6-9 任一项所述的药物组合物的用途，所述用途为在制备预防和/治疗心脑血管疾病和/糖尿病及其并发症药物中的应用，

优选的，心脑血管疾病选自动脉粥样硬化、再狭窄症、高血压、心绞痛、心脏衰竭、心肌梗死、中风和脑出血；

优选的，权利要求 1 至 3 中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐或者权利要求 6-9 任一项所述的药物组合物与其他心脑血管疾病治疗药物或其他糖尿病治疗药物在临床上的联合应用。

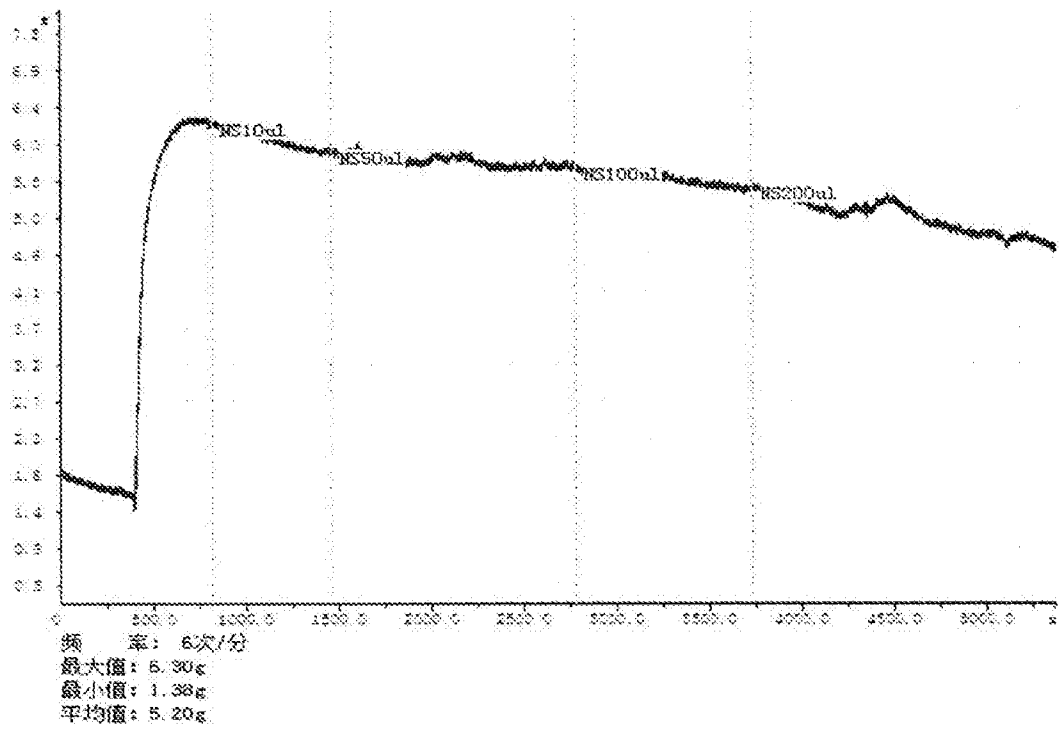


图 1

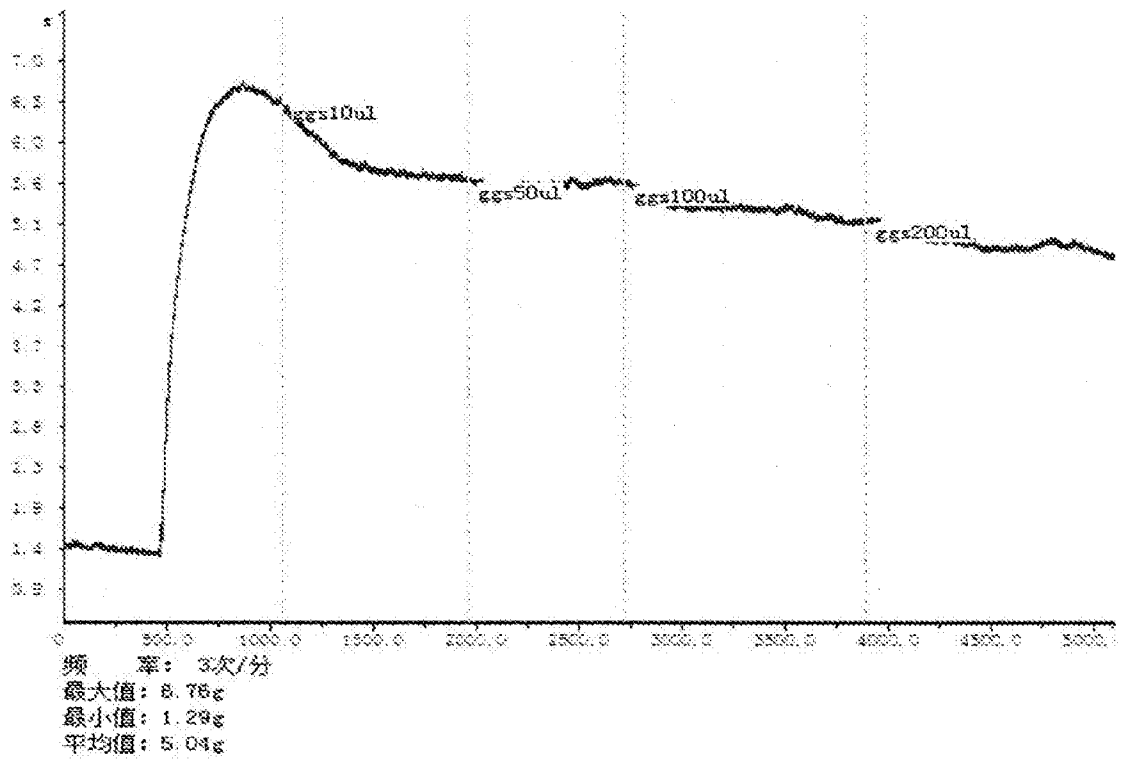


图 2

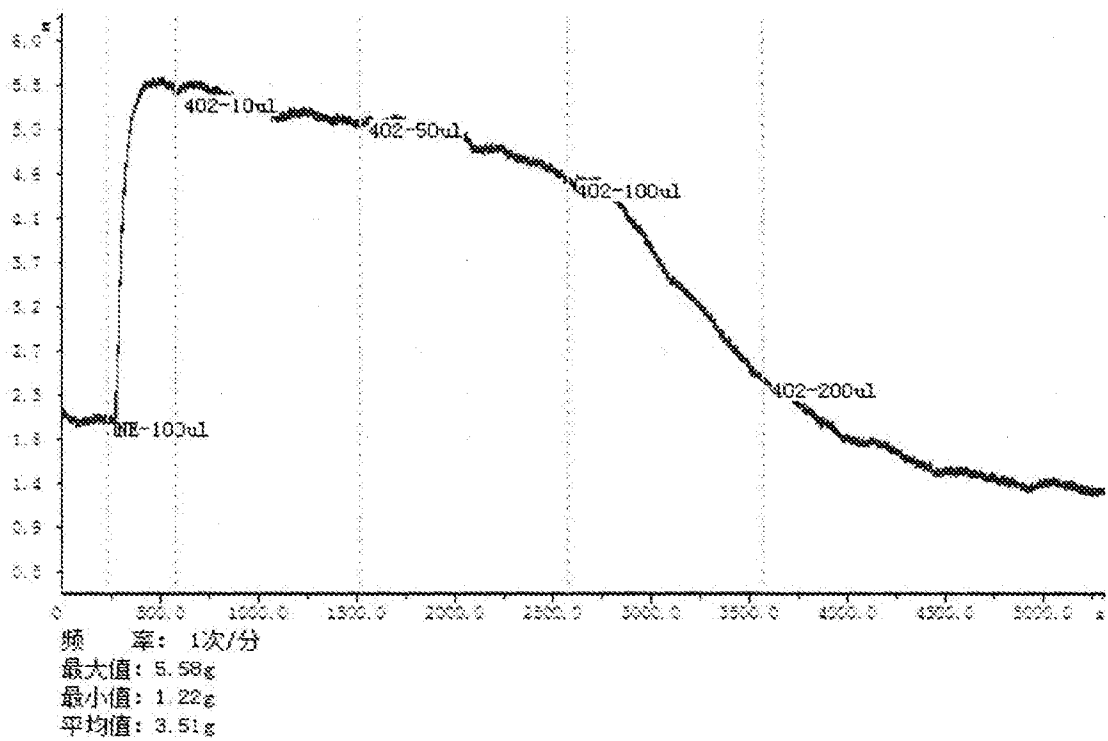


图 3

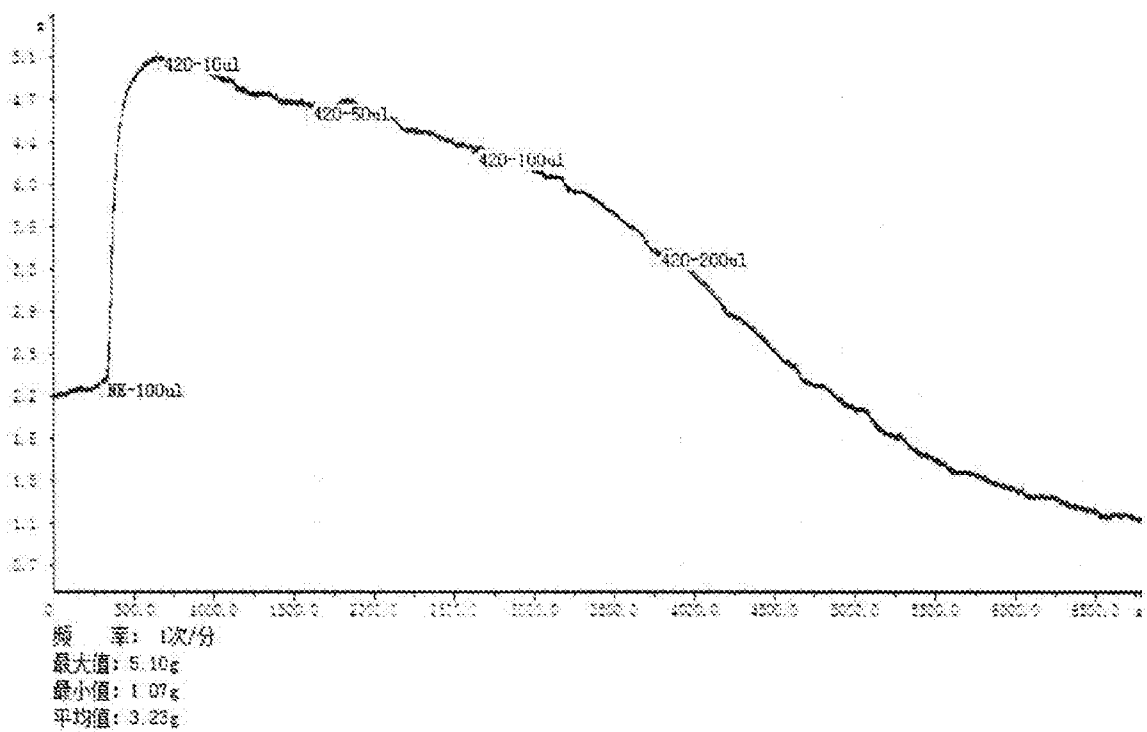


图 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2017/093148

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 407/04 (2006.01) i; C07D 493/14 (2006.01) i; A61K 31/352 (2006.01) i; A61P 9/10 (2006.01) i; A61P 9/12 (2006.01) i; A61P 9/04 (2006.01) i; A61P 3/10 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D; A61K; A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS, SIPOABS, DWPI, CNKI, ISI web of science, STN, 葛根素, 葛根黄素, 二氢, 氢化, 脱水, 异黄酮, 糖苷, 吡喃葡萄糖, puerarin, dihydro, dehydrate, isoflavanone, glucoside, glucose

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KATO, Eisuke et al. Glucose Uptake Enhancing Activity of Puerarin and the Role of C-glucoside Suggested From Activity of Related Compounds. Bioorg. Med. Chem. Lett. 17 June 2010 (17.06.2010), vol. 20, pp. 4333-4336	1-10
X	HE, Xianzhi et al. A Genomic Approach to Isoflavone Biosynthesis in Kudzu (Pueraria lobata). Planta. 11 January 2011 (11.01.2011), vol. 233, pp. 843-855	1
X	AHMAT, Norizan et al. Isoflavanone Glycoside From the Leaf of Mangifera Indica L. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 31 December 2015 (31.12.2015), 7(3), pp. 246-249	1
A	CN 101921282 A (SHANDONG UNIVERSITY) 22 December 2010 (22.12.2010), the abstract, description, paragraphs [0006]-[0021], embodiments 1-3, tests 1 and 2	1-10

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search 07 March 2018	Date of mailing of the international search report 15 March 2018
Name and mailing address of the ISA State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10) 62019451	Authorized officer ZHAO, Qiqi Telephone No. (86-10) 53962234

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2017/093148

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
E	CN 107098893 A (SHAANXI UNIVERSITY OF CHINESE MEDICINE) 29 August 2017 (29.08.2017)	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2017/093148

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 101921282 A	22 December 2010	CN 101921282 B	04 July 2012
		JP 5460874 B2	02 April 2014
		WO 2011134119 A1	03 November 2011
		JP 2013504605 A	07 February 2013
CN 107098893 A	29 August 2017	None	

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2017/093148

A. 主题的分类 C07D 407/04(2006.01)i; C07D 493/14(2006.01)i; A61K 31/352(2006.01)i; A61P 9/10(2006.01)i; A61P 9/12(2006.01)i; A61P 9/04(2006.01)i; A61P 3/10(2006.01)i 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类		
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) C07D; A61K; A61P 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用)) CNABS, SIPOABS, DWPI, CNKI, ISI web of science, STN, 葛根素, 葛根黄素, 二氢, 氢化, 脱水, 异黄酮, 糖苷, 吡喃葡萄糖, puerarin, dihydro, dehydrate, isoflavanone, glucoside, glucose		
C. 相关文件		
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	KATO, Eisuke等. "Glucose uptake enhancing activity of puerarin and the role of C-glucoside suggested from activity of related compounds" Bioorg. Med. Chem. Lett., 第20卷, 2010年 6月 17日 (2010 - 06 - 17), 第4333-4336页	1-10
X	HE, Xianzhi等. "A genomic approach to isoflavone biosynthesis in kudzu (Pueraria lobata)" Planta, 第233卷, 2011年 1月 11日 (2011 - 01 - 11), 第843-855页	1
X	AHMAT, Norizan等. "Isoflavanone glycoside from the leaf of Mangifera indica L." Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 第7卷, 第3期, 2015年 12月 31日 (2015 - 12 - 31), 第246-249页	1
A	CN 101921282 A (山东大学) 2010年 12月 22日 (2010 - 12 - 22) 摘要, 说明书第[0006]-[0021]段, 实施例1-3, 试验1-2	1-10
E	CN 107098893 A (陕西中医药大学) 2017年 8月 29日 (2017 - 08 - 29)	1-10
☐ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。		
* 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 "T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 "&" 同族专利的文件		
国际检索实际完成的日期		国际检索报告邮寄日期
2018年 3月 7日		2018年 3月 15日
ISA/CN的名称和邮寄地址		受权官员
中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451		赵奇奇 电话号码 (86-10)53962234

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2017/093148

检索报告引用的专利文件				公布日 (年/月/日)		同族专利		公布日 (年/月/日)	
CN	101921282	A	2010年 12月 22日	CN	101921282	B	2012年 7月 4日		
				JP	5460874	B2	2014年 4月 2日		
				WO	2011134119	A1	2011年 11月 3日		
				JP	2013504605	A	2013年 2月 7日		
CN 107098893 A 2017年 8月 29日				无					