

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A01N 37/10 (2006.01)



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 01805608.3

[45] 授权公告日 2009年5月6日

[11] 授权公告号 CN 100484400C

[22] 申请日 2001.2.5 [21] 申请号 01805608.3

[30] 优先权

[32] 2000.2.4 [33] US [31] 60/180,340

[32] 2000.8.17 [33] US [31] 09/642,618

[86] 国际申请 PCT/US2001/003797 2001.2.5

[87] 国际公布 WO2001/056382 英 2001.8.9

[85] 进入国家阶段日期 2002.8.26

[73] 专利权人 卡里克斯治疗公司

地址 美国加利福尼亚州

[72] 发明人 P·尼奥吉 B·纳格 D·德伊

S·麦迪彻拉

[56] 参考文献

JP9059245A 1997.3.4

CN1105967A 1995.8.2

审查员 胡 振

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 李华英

权利要求书 2 页 说明书 22 页 附图 28 页

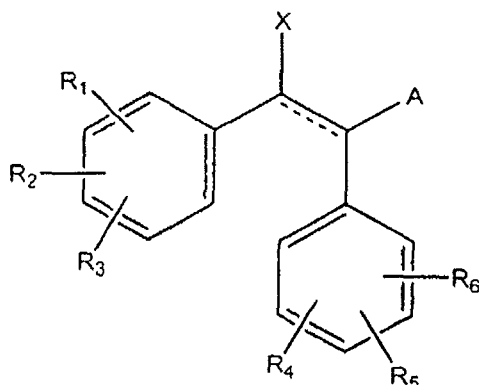
[54] 发明名称

二苯基乙烯化合物

[57] 摘要

本发明提供经口服给药以降低葡萄糖的循环浓度的新二苯基乙烯化合物。还显示出其对胰岛素抵抗大鼠的作用。还显示出其对脂质和苗条蛋白浓度的影响。该化合物是口服有效的抗糖尿病药物，其可以使患有糖尿病的对象中的葡萄糖和脂质代谢正常化。

1. 用于治疗糖尿病的药物组合物，其包含在生理学可接受载体中的治疗有效量下式的化合物或其混合物：



其中用虚线表示的键可以是单键或双键，其中穿过双键的几何结构可以是 E 或 Z；

A = -COOR，其中 R 为 H、C₁-C₂₀ 直链或支链烷基或药学可接受的抗衡离子；

X = H；

R₁、R₂ 和 R₄ 独立地是 OH；C₁-C₂₀ 烷氧基；C₁-C₂₀ 酰氨基；或卤素；

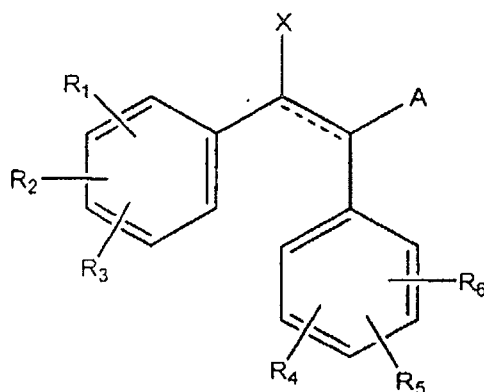
R₃、R₅ 和 R₆ 为 H。

2. 按照权利要求 1 的药物组合物，其中 R₁ 和 R₂ 一起是 3,5-二甲氧基且虚线表示双键。

3. 按照权利要求 2 的药物组合物，其中 R₄ 是对羟基，且穿过所述双键的几何结构为 E 构型。

4. 按照权利要求 2 的药物组合物，其中 R₄ 是对羟基，且穿过所述双键的几何结构为 Z 构型。

5. 下式的化合物或其混合物用于制备治疗糖尿病的药物用途：



其中用虚线表示的键可以是单键或双键，其中穿过双键的几何结构可以是 E 或 Z；

A = -COOR，其中 R 为 H、C₁-C₂₀ 直链或支链烷基或药学可接受的抗衡离子；

X = H；

R₁、R₂ 和 R₄ 独立地是 OH；C₁-C₂₀ 烷氧基；C₁-C₂₀ 酰氨基；或卤素；

R₃、R₅ 和 R₆ 为 H。

6. 按照权利要求 5 的用途，其中 R₁ 和 R₂ 一起是 3,5-二甲氧基且虚线表示双键。

7. 按照权利要求 6 的用途，其中 R₄ 是对羟基，且穿过所述双键的几何结构为 E 构型。

8. 按照权利要求 6 的用途，其中 R₄ 是对羟基，且穿过所述双键的几何结构为 Z 构型。

9. 按照权利要求 7 的用途，其中 R 为 H 或药学可接受的抗衡离子。

10. 按照权利要求 8 的用途，其中 R 为 H 或药学可接受的抗衡离子。

二苯基乙烯化合物

发明领域

本发明的领域是新的二苯基乙烯化合物及其在治疗糖尿病和相关病症中的应用。

发明背景

囊状紫檀树 (*Pterocarpus marsupium* Roxb.) (豆科) 也称作印度奇诺 (Kino) 树, 其叶、花的提取物以及树胶传统地被用来治疗腹泻、牙痛、发热和泌尿系及皮肤感染。其树皮的提取物长期以来被认为可以有效治疗糖尿病。Manickam 等 (*J. Nat. Prod.* 1997; 60: 609-610) 报告称从从囊状紫檀的心材中分离的天然蝶芪, 反式-1-(3,5-二甲氧基苯基)-2-(4-羟苯基)-乙烯具有某些降血糖活性。然而, 这种蝶芪不溶于水且在糖尿病的治疗中未显出有效。

人们仍然不了解 I 型和 II 型糖尿病的原因, 而遗传和环境因素似乎均参与其中。I 型糖尿病 (或胰岛素依赖型糖尿病) 是一种自身免疫性疾病, 其中决定性自身抗原仍然未知。患有 I 型糖尿病的患者需要经非肠道摄取胰岛素才能生存。II 型糖尿病 (也称作非胰岛素依赖型糖尿病, NIDDM) 是一种由于机体无能力产生足够的胰岛素或者不能适当利用已经生成的胰岛素而导致的代谢紊乱。胰岛素分泌和胰岛素抵抗被认为是主要代谢缺陷, 但是所涉及的确切遗传因素仍然不清楚。

患有糖尿病的对象通常具有一种或多种下列缺陷:

- 胰腺生产胰岛素不足;
- 肝脏过度分泌葡萄糖;
- 葡萄糖转运蛋白缺陷;
- 胰岛素受体脱敏;
- 多糖代谢分解缺陷;

除了经非肠道给药的胰岛素以外, 目前可用于糖尿病的药物包括 4

类下表所列的口服降血糖药物。

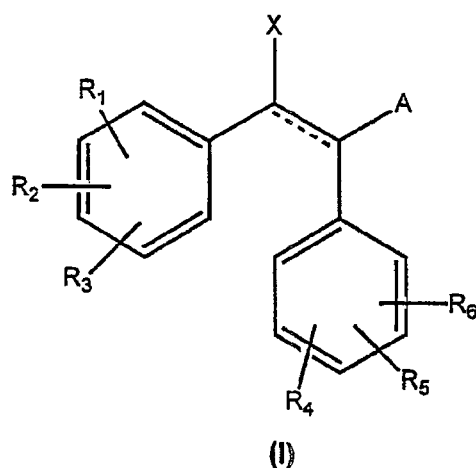
种类	市售药物	作用机理	局限性
磺酰脲类	第一代:2 第二代:3	向 β 细胞发出信号以释放更多的胰岛素	耐药性的发生 低血糖
双胍类	二甲双胍	减少肝脏葡萄糖产生	提高对胰岛素的敏感性 肝脏副作用 乳酸酸中毒 不良的胃肠道作用
葡萄糖苷酶抑制剂	阿卡波糖	减少肠对葡萄糖的吸收	只在餐后起效 GI 副作用
噻唑烷二酮	曲格列酮 (撤消) 罗格列酮 (Rosiglitazone) 吡格列酮	降低胰岛素抵抗	在 25% 的对象中无效 需要经常作肝功测试 具有非常长的起效时间 造成体重增加

从上表所示显而易见地看出，现有糖尿病治疗药存在缺点。所以，人们继续对鉴定和开发可用于治疗糖尿病的新的药物感兴趣，特别是口服给药的、水溶性的化合物。

除了上面讨论的蝶芪以外，(-)-表儿茶素也已经由 Sheehan 等从囊状紫檀中分离出来(J. Nat. Prod. 1983 ; 46 : 232)并且报导其具有降血糖功效(也参见 Chakravarthy 等, Life Sciences 1981 ; 29 : 2043-2047)。Maurya 等(J Nat. Prod. 1984 ; 47 : 179-181)、Jahromi 等(J. Nat. Prod. 1993 ; 56 : 989-994)和 Maurya 等(Heterocycles 1982 ; 19 : 2103-2107)已从囊状紫檀中分离出其他酚类化合物。

发明概述

一类具有通式(I)和(II)的化合物具有降低血糖的活性：



在式 I 的化合物中，用虚线表示的键可以是任选的双键，并且穿过该键的几何结构可以是 E 或 Z；

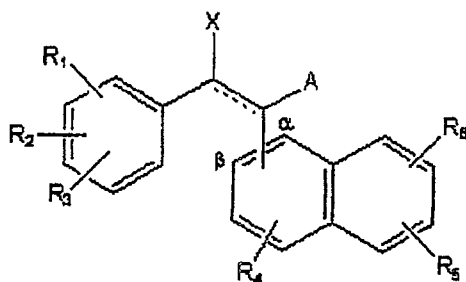
式 I 和 II 中，A = -COOR、-CONR'R''、-CN 或 -COR₇，其中 R、R'、R'' 和 R₇ 定义如下：

X = H、OH 或 C₁-C₁₀ 直链或支链烷基或链烯基，其可以被 COOR、羰基或卤素取代；

R = H、直链或支链 C₁-C₂₀ 烷基或芳基或芳烷基、Na、K，或其他药学可接受抗衡离子，例如钙、镁、铵、氨丁三醇等；

R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆ 和 R₇ 独立地是 H；被任选取代的 C₁-C₂₀ 直链或支链烷基或链烯基，COOR；NR'R'' 或 CONR'R''，其中 R' 和 R'' 可以独立地是 H 或 C₁-C₂₀ 直链或支链烷基或芳基；OH；C₁-C₂₀ 烷氧基；C₁-C₂₀ 酰氨基；C₁-C₂₀ 酰氧基；C₁-C₂₀ 烷酰基；C₁-C₂₀ 烷氧羰基；卤素；NO₂；SO₂R''；CZ₃，其中各 Z 独立地是卤素原子、H、烷基、氯取代或氟取代的烷基；或 SR''，其中 R'' 可以是 H 或直链或支链 C₁-C₂₀ 烷基；或 R₂ 和 R₃ 一起，或 R₅ 和 R₆ 一起，可以连接形成亚甲二氧基或亚乙二氧基。

在式 II 的化合物中，用虚线表示的键可以是任选的双键，并且穿过该键的几何结构可以是 E 或 Z；和萘基可以连接在 α 或 β 位。



(II)

还提供式 I 和/或 II 的化合物的药物组合物用于治疗糖尿病，其含有存在于药学可接受载体中的治疗有效量的所述化合物。

本发明还提供一种治疗糖尿病的方法，包括经口服给予患有糖尿病病症的对象治疗有效量的式 I 和/或 II 的化合物。

附图简述

图 1 显示化合物 Ia 在患有链脲佐菌素诱导的糖尿病的大鼠中降低血糖浓度。

图 2 显示化合物 Ia 在 ob/ob 小鼠中降低血糖浓度。

图 3A、B、C 显示化合物 Ia 在 ob/ob 小鼠中降低胰岛素、甘油三酯和游离脂肪酸浓度。

图 4 显示化合物 Ia 在 db/db 小鼠中降低血糖浓度。

图 5A、B、C 显示化合物 Ia 在 db/db 小鼠中降低甘油三酯和游离脂肪酸浓度。

图 6 显示经口服给药的化合物 Ia 在维持降低的血糖浓度方面上比 IP 施用更有效。

图 7A、B 显示化合物 Ia 在雌性肥胖 (fa/fa) Zucker 大鼠中降低血糖浓度但不影响体重。

图 8A、B、C、D 显示化合物 Ia 提高雌性肥胖 fa/fa Zucker 大鼠的葡萄糖耐量。

图 9A、B 显示化合物 Ia 在雌性肥胖 Zucker fa/fa 大鼠中降低血清胰岛素，并提高苗条蛋白浓度。

图 10 显示化合物 Ia 在雌性 Zucker fa/fa 大鼠中降低胆固醇、甘油三酯和游离脂肪酸浓度。

图 11A、B、C、D 显示化合物 Ia(每天 20mg/kg)在雄性肥胖 Zucker fa/fa 大鼠中降低胰岛素、甘油三酯、游离脂肪酸和胆固醇浓度。

图 12A、B 显示化合物 Ia 在正常动物中不降低葡萄糖浓度。

图 13A、B 显示化合物 Ia 刺激脂肪细胞中葡萄糖摄取。

图 14A、B、C、D 显示化合物 Ia 增加 3T3-L1 细胞中 GLUT-1 和 GLUT-4 转运蛋白。

图 15A、B、C 分别显示对 Swiss Webster 小鼠在第 0 天施用 16.7、167 和 333mg/kg/BW 剂量的化合物 Ia 进行的致死效应研究的结果。

图 16 显示渥曼青霉素(一种已知的 PI-3 激酶抑制剂)阻断脂肪细胞中化合物 Ia 介导的葡萄糖摄取。

图 17 显示化合物 Ia 刺激 CHO. IR 细胞中胰岛素受体 β 亚基和胰岛素受体底物 1 的磷酸化作用。

图 18 显示化合物 Ia 不刺激 CHO. IGF-1 R 细胞中 IGF-1 受体的磷酸化作用。

图 19 显示化合物 Ia 刺激 CHO. 1R 细胞中 Akt(蛋白激酶 B)的磷酸化作用。

图 20 举例说明显示渥曼青霉素抑制化合物 Ia 刺激的 Akt 磷酸化作用的蛋白质印迹。

图 21 显示化合物 Ia 不增量调节 3T3-L1 脂肪细胞中 PPAR- γ 的表达。

图 22 概括了结合试验的结果,其显示化合物 Ia 不是核 PPAR 的激动剂。

图 23 显示化合物 Ia 抑制胰岛素与胰岛素受体的结合。

图 24A、24B 显示两种异构体 Ia 和 Ib(E 和 Z)刺激大鼠脂肪细胞中快速葡萄糖摄取。

图 25A、B 显示在 Sprague-Dawley 大鼠中化合物 Ia 的药物动力学研究的结果。

图 26 是一张图表,概括了在 Good Laboratory Practice regulations 下对化合物 Ia 进行的毒理学研究的结果。

优选实施方式的描述

所属领域公知的合成方法可以提供式 I 和 II 的化合物。参见 Pettit 等在 J. Nat. Prod., 1988, 51(3), pp517-527 中所述的一种制备类似于 Ia 的 E-异构体的方法和 Kessar 等在 Indian J. of Chem., 1981, 20B, pp1-3 中所述的制备类似于 Ib 的 Z-异构体的方法。

优选其中 $A = -COOR$; $R_1, R_4, R_6 = H$, 而 R_2 和 $R_3 =$ 甲氧基 (OCH_3) 和 $R = H$ 和 $R_5 = OH$ 以及虚线表示 E 或 Z 构型的碳-碳双键的式 I 化合物。更优选的式 I 化合物是, 其中 $R_1, R_4, R_6 = H$, 和 $R_2 = OCH_3$ 位于 3 位, 和 $R_3 = OCH_3$ 位于 5 位, 和 $R_5 = OH$ 位于 4 位以及虚线表示 E 或 Z 构型的碳-碳双键, $X = H$, 和 $R = H$ 或药理学可接受阳离子如锂、钠、钾、钙、镁、铵、氨丁三醇等, 其可以经口服或非肠道给予对象。

还优选式 II 的化合物, 其中 $A = -COOR$; $R_1, R_4, R_6 = H$, 并且 R_2 和 $R_3 =$ 甲氧基 (OCH_3) 和 $R = H$ 和 $R_5 = OH$ 并且虚线表示 E 或 Z 构型的碳-碳双键。更优选的式 II 的化合物其中 $R_1, R_4, R_6 = H, R_2 = OCH_3$ 位于 3 位和虚线表示 E 或 Z 构型的碳-碳双键; $X = H$, 而 $R = H$ 或药理学可接受阳离子如锂、钠、钾、钙、镁、铵、氨丁三醇等, 其可以经口服或经非肠道给予对象。

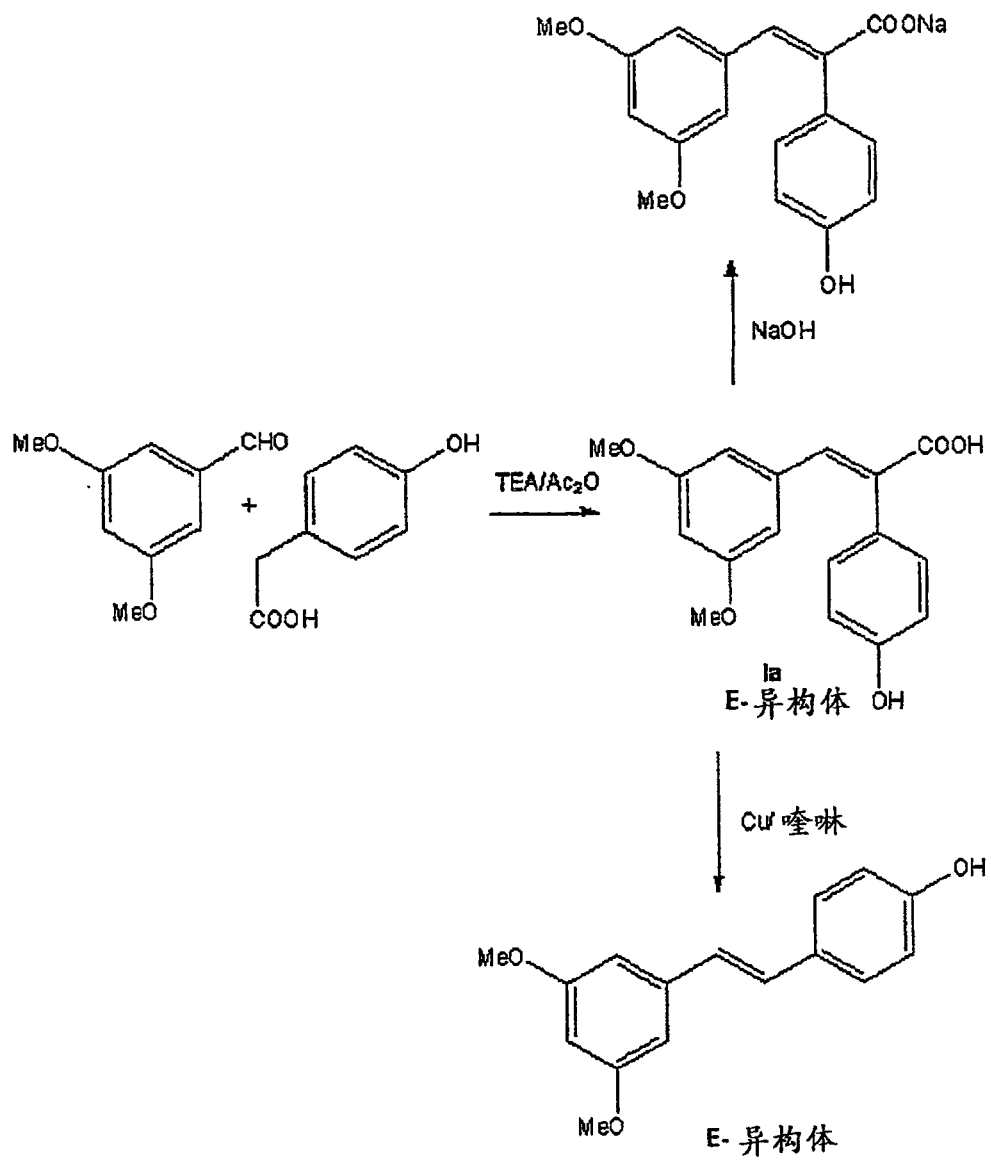
通常, 式 I 的化合物可以通过以下缩合来制备: A) 适当 (R_1, R_2, R_3) 取代的苯甲醛或二苯甲酮与适当 (R_4, R_5, R_6) 取代的苯乙酸或苯乙酸酯; B) 适当 (R_1, R_2, R_3) 取代的苯甲醛或二苯甲酮与适当 (R_4, R_5, R_6) 取代的苯乙酰胺; C) 适当 (R_1, R_2, R_3) 取代的苯甲醛或二苯甲酮与适当 (R_4, R_5, R_6) 取代的苯乙腈。

通常, 式 II 的化合物可以通过缩合下列物质来制备:

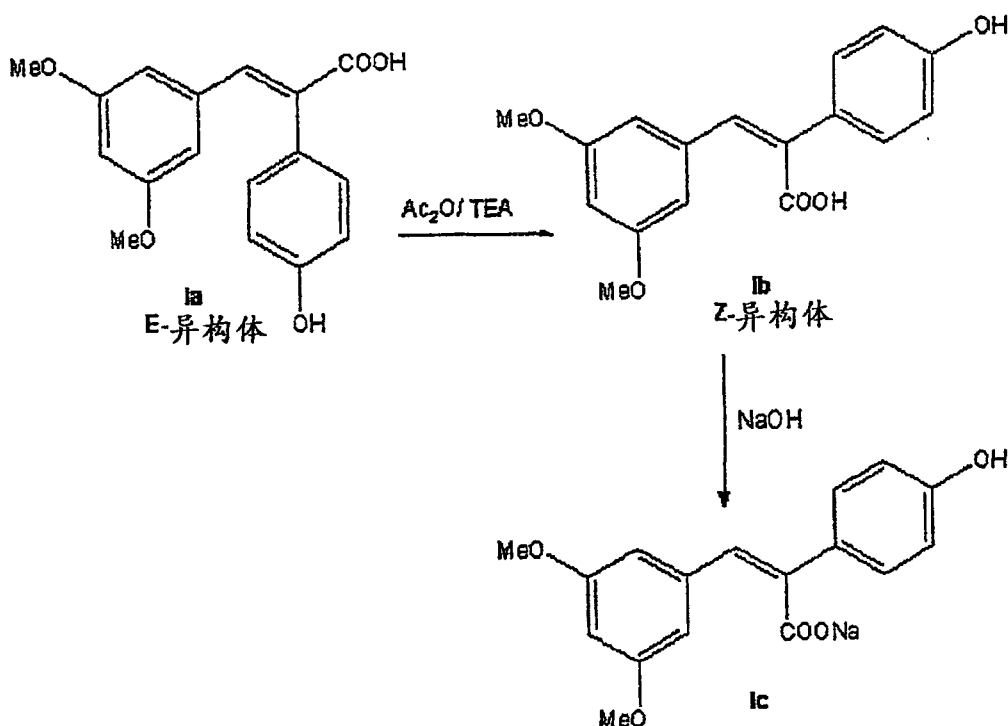
A) 适当 (R_1, R_2, R_3) 取代的苯甲醛或二苯甲酮与适当 (R_4, R_5, R_6) 取代的苯乙酸或苯乙酸酯; B) 适当 (R_1, R_2, R_3) 取代的苯甲醛或二苯甲酮与适当 (R_4, R_5, R_6) 取代的苯乙酰胺; C) 适当 (R_1, R_2, R_3) 取代的苯甲醛或二苯甲酮与适当 (R_4, R_5, R_6) 取代的苯乙腈。

在路线 I 中, 化合物 Ia 的合成作为例举的合成。Ia 转化为其 Z-异构体的示例合成如路线 II 所示。

路线 I

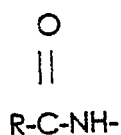


路线 II



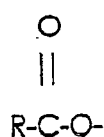
在式 I 和 II 的化合物中，烷基可以是直链或支链烷基，包括但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、仲丁基、正丁基、戊基、异戊基等。1-20 个碳原子的链烯基包括但不限于：乙烯基、丙烯基、丁烯基、异丁烯基等。芳基包括苯基，和其他多环芳族结构。烷氧基包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、异丁氧基、亚甲二氧基、亚乙二氧基等。卤素包括溴、氯、氟、碘。

酰氨基包括基团



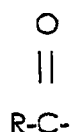
其中 R 是氢、烷基或芳基。

酰氧基包括基团



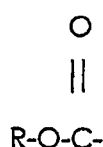
其中 R 是氢、烷基或芳基。

烷酰基包括基团



其中 R 可以是氢、烷基或芳基。

烷氧羰基包括基团



其中 R 可以是烷基、芳基或芳烷基。

按照本发明的化合物可以与药学可接受载体和赋形剂联合成为适合口服或非肠道给药的各种组合物。特别优选的组合物形式是口服给药的胶囊或溶液，其中所述的化合物在水、盐水或磷酸盐缓冲液中运送；或还含有各种填充剂和粘合剂的片剂或胶囊形式的冻干粉末。所属领域普通技术人员可以选择所述化合物在组合物中的有效剂量且可以凭经验决定。

本发明的化合物可用于治疗特征在于存在血糖浓度升高的疾病，即高血糖疾病，如糖尿病，包括 I 型和 II 型糖尿病，以及其他与高血糖有关的疾病，例如肥胖、胆固醇浓度增高和肾病。

“治疗”是指施用所述化合物至少使患有高血糖疾病的对象的血糖浓度降低；所述的化合物还可以降低胰岛素或脂质浓度或同时降低这两者。化合物所施用的量足以使血糖浓度降低至可接受的范围，其中可接受的范围是指介于该物种对象的正常平均血糖浓度的约±10%内。除人以外许多种对象可以用所述的化合物治疗来降低血糖浓度，例如家畜、珍奇或稀有动物和宠物。可以使用任何给药技术把所述的化合物施用给患有高血糖疾病的对象，包括静脉内、真皮内、肌肉内、皮下或口服给药。然而，特别优选口服给药途径。施用给对象的剂量将取决于化合物的给药途径，但一般对于 70kg 人来说是 5 - 500mg，通常对于 70kg 人来说约 50 - 200mg。

特别令人感兴趣的是治疗人类高血糖疾病如糖尿病(I型和II型)的方法,其中将所述的化合物施用给患有高血糖疾病的人以至少使该对象的血糖浓度降低至约人体的正常血糖浓度范围;所述的化合物还可以降低胰岛素或脂质浓度或同时降低两者。

下列实施例作为举例说明而并不以任何方式限定本发明。

实施例 1

E-3-(3,5-二甲氧基-苯基)-2-(4-羟基-苯基)-丙烯酸的合成

向3,5-二甲氧基苯甲醛(30 mmol)和对羟基苯乙酸(30 mmol)的混合物中加入5mL乙酸酐和2.5mL三乙胺(TEA)。在130-140℃下搅拌24小时后,使该混合物冷却至室温并用25mL浓HCl淬灭并用CH₂Cl₂萃取。有机萃取物进一步用1N NaOH萃取,随后将NaOH萃取液用CH₂Cl₂洗涤,并将水层用浓HCl酸化且用水洗涤得到粗产物。粗产物由乙醇/水重结晶得到酸Ia。

通过HPLC在Intersil ODS-3(GL Sciences)柱,250×4.6 mm上分离如上制备的四个批次的Ia(E-异构体)40μl样本,并且用62体积%洗脱剂A和38体积%洗脱剂B洗脱。洗脱剂A是0.1%甲酸的水溶液;B是0.1%甲酸的ACN溶液。所有样本在相对保留时间1.073±0.001出现主要量的E-异构体,以及次要量的Ib(Z-异构体)。通过这种方法,估计在这些样本中存在0.27% - 3.09%的Z-异构体。

Z-3-(3,5-二甲氧基-苯基)-2-(4-羟基-苯基)-丙烯酸的合成

通过Kessar等(上文)所述方法合成的Z酸Ib,其表明通过在碱性条件下延长加热可以使E-α-苯基肉桂酸转化为相似的Z-α-苯基肉桂酸。将E-酸Ia(1.2g, 4.0mmol)溶解在三乙胺(5.0ml)和乙酸酐(0.5ml)的混合物中且加热回流24小时。随后冷却该混合物,用乙酸乙酯稀释,并且首先用5% HCl(水溶液)后用2N NaOH和水依次萃取。将合并的碱性水溶液用乙酸酸化至pH为5并冷却,过滤固体。滤液进一步用浓HCl酸化。

冷却时出现沉淀。通过过滤收集固体并用新鲜水洗涤。风干固体化合物得到 Ib。

对两种异构体进行 NMR、pKa、HPLC 和 UV 光谱分析。

E-异构体：E-异构体的游离酸形式显示出烯质子的化学位移（在 DMSO-d₆ 中）为 δ 7.59。游离酸的熔点是 225-227℃，pKa 为 6.2。

Z-异构体：如上制备的 Z-异构体作为在 DMSO-d₆ 中的游离酸的 ¹H NMR 分析显示烯质子的化学位移是 δ 6.81。游离酸形式的熔点为 135-137℃ 和 pKa 为 5.3。

产生的异构体的比较：如上制备的 E-和 Z-异构体的烯质子的化学位移分别为 δ 7.59 和 δ 6.81。Gadre 和 Marathe 在 Synth Commun 1988 ; 18 : 1015-1027 中报告，具有较高烯质子化学位移的化合物是 E-异构体，而所制备的化合物的各化学位移与其吻合。

对于苯乙酸与苯甲醛（一种相似的化合物）的 Perkin 反应产物的分析表明， α -苯基肉桂酸异构体的 pKa 对于 E-异构体来说是 6.1 而对于 Z-异构体来说是 4.8，Fieser LF 和 Williamson KL, Exp. In Org. Chem (3rd ed.), Lexington, MA ; Heath and Company, 1955, p182。所以，在两种异构体之间，具有较高 pKa 的一种异构体是 E-异构体。

HPLC 和 UV 光谱分析

利用 0.1% 甲酸/水/乙腈体系通过线性梯度在 G.L. Sciences Intersil ODS-3 柱 (250×4.6 mm, 5 μ m) 上进行 E-和 Z-异构体的反相 HPLC 分析，在 280nm 下监测。在这种体系中，E-和 Z-异构体分别在 17.4 和 17.9 分钟时洗脱。

各个异构体具有不同的 UV 光谱。E-异构体的 λ_{\max} 值是 227nm 和 284nm，而 Z-异构体的 λ_{\max} 值是 221nm 和 303nm。

E-4-[2-(3,5-二甲氧基-苯基)-乙烯基]-苯酚的合成

为将 Ia 脱去羧基，在 N₂ 下将 3g 的 Cu 粉和 30mL 喹啉加入 1g 的 Ia 并搅拌回流 4 小时（仍然在 N₂ 下）。过滤该反应混合物，用浓 HCl 酸

化,并且用 CH_2Cl_2 萃取。有机层用饱和 NaCl 水溶液洗涤,干燥和浓缩。该脱羧基产物通过快速色谱法在硅胶上纯化。

E-3-(3,5-二甲氧基-苯基)-2-(4-羟基-苯基)-丙烯酸钠盐的合成

为了将酸 Ia 转化为钠盐,在室温下将 NaOH 溶液加入 1g 的 Ia; 振荡该混合物且冷冻干燥得到 Ia 的钠盐。

实施例 2

3-(3,4-二甲氧基-苯基)-2-(4-羟基-苯基)-丙烯酸的合成

在氩气氛下向 3,4-二甲氧基苯甲醛(9.97g, 60mmol)和对羟基苯乙酸(10.0g, 65mmol)的混合物加入乙酸酐(12mL)和三乙胺(8.0mL, 58mmol)。在 140°C 下搅拌该混合物 18 小时。使该反应混合物冷却至 5°C 并加入二氯甲烷(100mL)。向这种黄色悬浮液加入浓 HCl (20 ml)且搅拌该悬浮液 20 分钟。过滤出被分离的固体,溶解在氢氧化钠水溶液(2M, 225mL)且用浓 HCl (40mL)再沉淀。过滤黄色固体并用水($2\times 30\text{mL}$)洗涤,由水-乙醇混合物重结晶上述湿的固体。

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$): δ 12.38 (br, 1 H), 9.47 (br, 1H), 7.61 (s, 1H), 6.96 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 6.81-6.77 (重叠, 4H), 6.54 (br, 1H), 3.40 (s, 3H) 和 3.37 (s, 3H)。

3-(3,5-二甲氧基-苯基)-2-(4-氟-对苯基)-丙烯酸的合成

在氩气氛下向 3,5-二甲氧基苯甲醛(4.98g, 30mmol)和对氟苯乙酸(4.62g, 30mmol)的混合物加入乙酸酐(5mL)和三乙胺(5.0mL, 36mmol)。该混合物在 140°C 下搅拌 18 小时。将该反应混合物冷却至室温并加入乙醚(100mL)。将该乙醚溶液进一步冷却至 10°C 且用浓 HCl (35mL)酸化。弃去水层且有机层用氢氧化钠水溶液(2M, $3\times 75\text{mL}$)萃取。将水层合并在一起且用浓 HCl (40mL)酸化。过滤所得的沉淀,用水($2\times 30\text{mL}$)洗涤并由水-乙醇混合物重结晶。

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$): δ 12.73 (br, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.22 (d, $J=7.2\text{Hz}$, 4H), 6.38 (t, $J=2.5\text{Hz}$, 1H), 6.23 (d, 2.5Hz , 2H), 和

3.33 (s, 6H).

2-(4-乙酰氨基-苯基)-3-(3,5-二甲氧基-苯基)-丙烯酸的合成

在氩气氛下向 3,5-二甲氧基苯甲醛 (2.5g, 15mmol) 和对氨基苯乙酸 (2.28g, 15mmol) 的混合物加入乙酸酐 (5mL) 和三乙胺 (3.4mL, 24mmol)。该混合物在 140℃ 下搅拌 2 小时。使该反应混合物冷却至室温并加入氯仿 (50mL)。使该氯仿溶液进一步冷却至 10℃ 且用浓 HCl (10mL) 酸化。弃去水层且有机层用氢氧化钠水溶液 (2M, 3×50mL) 萃取。合并水层并用浓 HCl 酸化至 pH 为 1。过滤出所得的沉淀, 用水 (2×30mL) 洗涤且由水-乙醇混合物重结晶。

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): δ 12.70 (br, 1H), 10.04 (s, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.54 (d, $J=7.5\text{Hz}$, 2H), 7.08 (d, $J=7.5\text{Hz}$, 2H), 6.36 (t, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 6.25 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 2H), 3.56 (s, 6H) 和 2.04 (s, 3H)。

3-(3,4-二甲氧基-苯基)-2-(4-羟基-苯基)-丙酸的合成

将 3-(3,4-二甲氧基-苯基)-2-(4-羟基-苯基)-丙烯酸溶解在乙醇 (100mL) 中且加入炭载钨 (10%, 50%水分, 0.3g)。在室温、氩气下搅拌该混合物过夜。经 Celite[®] 硅藻土垫过滤该反应混合物且蒸发溶剂。

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): δ 12.15 (br, 1H), 9.22 (br, 1H), 7.10 (d, $J=8.6\text{Hz}$, 2H), 6.67 (d, $J=8.6\text{Hz}$, 2H), 6.31 (d, $J=2.2\text{Hz}$, 2H), 6.27 (t, $J=2.2\text{Hz}$, 1H), 3.70 (s, 6H), 3.14 (dd, $J=13.3$ 和 8.6Hz , 2H), 和 2.80 (dd, $J=13.3$ 和 8.6Hz , 2H)。

实施例 3

通过 IV 注射的 60mg 链脲佐菌素在 Sprague-Dawley (SD) 雄性大鼠 (平均体重, 180g) 中引起糖尿病。5 天之后, 平均葡萄糖浓度为约 350-400mg/dL。随后将大鼠分为 5 组 ($n=7$), 每天经口服给予磷酸盐缓冲盐水 (PBS) (赋形剂) 或给予化合物 Ia (10, 20, 40 或 80mg/kg 体重) 共 8 天。以剂量为 20、40 或 80mg/kg Ia 的治疗从第 2 至第 6 天降低这些大鼠的血糖浓度 (与那些用赋形剂处理的对照组的血糖浓度相比)。这种降低作用在给予 80mg/kg 的大鼠中于第 4 天和第 6 天在统计

学上是显著的($p < 0.05$)。结果如图 1 所示。

实施例 4

肥胖(ob/ob)小鼠自发发生糖尿病,其葡萄糖浓度在 200 - 300mg/dL 之间。在这个试验中,将 Ia 每天以 0(只有赋形剂)、10、20、40 或 80mg/kg 体重的剂量给予 ob/ob 小鼠共 4 天。至第 4 天,给予 Ia 的动物的血糖浓度比只给予赋形剂的动物的血糖浓度低;20 和 40mg/kg 给药组之间的差异具有统计学意义。结果如图 2 所示。

实施例 5

每天用 20mg/kg 体重的剂量口服治疗 7 天后,在第 8 天测定 ob/ob 小鼠中胰岛素、甘油三酯和游离脂肪酸(FFA)的血清浓度。血清胰岛素浓度在 Ia 处理的动物中比赋形剂处理的动物(A)低 42%。血清甘油三酯浓度在 Ia 处理的小鼠中比赋形剂处理的小鼠(B)低 24%。血清 FFA 浓度未显著降低(C)。结果如图 3A、B、C 所示。

实施例 6

进一步在 db/db 小鼠中检测 Ia 降低葡萄糖浓度的能力。将平均血糖浓度为 280-300mg/dL 的 8 周龄 db/db 小鼠用赋形剂或 Ia(每天单剂量 20mg/kg 共 20 天;每天 2 个 20mg/kg 剂量共 8 天;和每天 2 个 50mg/kg 剂量共 5 天)处理。在第一个 20 天处理结束时,给予 Ia 的小鼠中的血糖浓度比给予赋形剂的小鼠降低了 20%。利用较高剂量 Ia 的治疗不能增强降糖作用。结果如图 4 所示。

实施例 7

图 5A、B、C 显示来自图 4 中所示试验的用 Ia 处理的 db/db 小鼠中的血清胰岛素、甘油三酯和游离脂肪酸(FFA)浓度(在试验结束时进行分析)。虽然 IA 处理组和赋形剂处理组中的胰岛素浓度没有差异(A),但是甘油三酯(B)和 FFA(C)浓度在用 Ia 处理的小鼠中明显低于

用赋形剂处理的小鼠，其甘油三酯浓度比赋形剂处理的小鼠低 32%，并且游离脂肪酸浓度比赋形剂处理的小鼠低 28%。

实施例 8

以 20mg/kg 的剂量经口服或腹腔内 (IP) 将化合物 Ia 施用于 db/db 小鼠共 22 天。第 9 天后，IP 给药的 Ia 的降糖作用消失，但经口服给药的 Ia 的降糖作用仍然保持。口服 Ia 的小鼠与 IP 给予 Ia 的小鼠之间的差异在第 13 和 15 天具有统计学意义 ($p < 0.05$)。结果如图 6 所示。

实施例 9

在雌性 Zucker (fa/fa) 大鼠 (被认为是一种研究胰岛素抵抗糖尿病的好的自发遗传模型) 中研究 Ia 的功效。对雌性 fa/fa 大鼠每天施用赋形剂或 Ia (20mg/kg) 共 58 天。(A) 从第 10 天至试验结束给予 Ia 的大鼠的血糖浓度低于给予赋形剂的大鼠的血糖浓度，而在第 9 天至第 34 天上述差异存在统计学意义。(B) 在整个试验过程中，大鼠的体重在两个处理组中实际上相同。结果如图 7A、B 所示。

实施例 10

对 Zucker fa/fa 大鼠每天给予赋形剂或 Ia (20 mg/kg) 共 58 天；在第 3、14、30 和 44 天时，进行葡萄糖耐量试验 (葡萄糖，2mg/kg 在水中)。这些试验的结果表明，处理组之间的差异在第 14 天刺激后 30 和 180 分钟时 (B) 和在第 30 天葡萄糖刺激后 30 和 60 分钟时 (C) 具有统计学意义 ($p < 0.05$)。至第 44 天，Ia 对葡萄糖耐量的作用已消失。结果如图 8A-D 所示。

实施例 11

(A) 用 Ia (20mg/kg) 处理 58 天的 Zucker fa/fa 大鼠 (参见图 7) 的血清胰岛素浓度比只用赋形剂处理的大鼠降低 70-78% ($p < 0.05$)。这提示 Ia 作用于糖尿病的机理涉及胰岛素敏化。

(B)此外, IA 处理的大鼠的血清苗条蛋白浓度比用赋形剂处理的大鼠高 45%。结果如图 9A、B 所示。

实施例 12

在每天给予赋形剂或 Ia(20mg/kg)共 58 天的 Zucker fa/fa 大鼠中还测定了甘油三酯、游离脂肪酸和胆固醇的血清浓度(另参见图 7 和 9)。在研究结束时,在给予 Ia 的大鼠中的甘油三酯、游离脂肪酸和胆固醇浓度比给予赋形剂的大鼠分别降低 70%、89%和 68%。结果如图 10 所示。

实施例 13

当利用每天用赋形剂或 Ia(20mg/kg)处理 65 天的雄性肥胖 Zucker fa/fa 大鼠进行联系图 7-10 所述的试验时,用 Ia 处理的动物的葡萄糖浓度、葡萄糖耐量和苗条蛋白浓度与赋形剂处理的动物没有差异。然而,在该试验结束时在 Ia 处理的大鼠中的胰岛素、甘油三酯、游离脂肪酸和胆固醇浓度均比赋形剂处理的动物低。结果如图 11A-D 所示。

实施例 14

化合物 Ia 不降低正常动物的血糖浓度。这在使用大鼠和狗的两项研究中得到证实。每天口服 Ia 28 天不引起该化合物的任何降血糖活性,甚至在非常高的剂量下(高至 1000mg/kg)。结果如图 12A、B 所示。

实施例 15

测定在指定浓度的 Ia 存在下由 Sprague-Dawley(SD)大鼠(170g)的附睾脂肪垫新制备的正常脂肪细胞(A)中,和已分化 3T3-L1 脂肪细胞(B)中的葡萄糖摄取。在两个试验中均用胰岛素作为阳性对照。在这两种情况中 Ia 以类似于胰岛素的方式刺激葡萄糖摄取。结果如图 13A、B 所示。

实施例 16

为了测定 Ia 处理是否影响葡萄糖转运蛋白 GLUT-1 和 GLUT-4 的表达, 将分化的 3T3-L1 脂肪细胞用 Ia、胰岛素或赋形剂单独处理。使细胞溶解, 经过 4-20% 梯度 SDS-PAGE, 电印迹, 和用抗-GLUT-1 或抗-GLUT-4 单克隆抗体探针检测。如下图所示, GLUT-1(A) 和 GLUT-4(B) 两者在 3T3-L1 细胞中经过细胞与 Ia 的接触均上调。结果如图 14A-D 所示。

实施例 17

分化的 3T3-L1 脂肪细胞在缺乏血清条件下保持 3 小时且随后用赋形剂(单用介质)或浓度 $10\mu\text{M}$ 的 Ia 在 37°C 处理 30 分钟。细胞用磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤, 用甲醇在 -20°C 下固定 20 分钟, 用 PBS 漂洗 3 次, 并且与含 10% 小牛血清的 PBS 在 37°C 下培养 30 分钟。将玻片与抗-GLUT-4 多克隆抗体(1:50 稀释)在 10% 小牛血清中 37°C 下温育 2 小时。该温育之后, 玻片用 PBS 漂洗 3 次, 随后与偶联 Alexa-Fluor (EXmax 495 nm ; $E_{m_{\max}}$ 519 nm) 的二级抗体温育 30 分钟。最后, 玻片用 PBS 漂洗且用延长抗褪色封固剂封固。利用连接图像分析仪的 Nikon confocal PCM 2000 显微镜得到的图片显示出用 Ia 处理的细胞中的高荧光。细胞膜中出现荧光染色, 表明用 Ia 处理促进了 GLUT-4 葡萄糖转运蛋白向细胞表面的转移。

实施例 18

9 只健康雄性 Swiss Webster 小鼠分为三个研究组, 每组 3 只。在研究的第 0 天, 第一组(图 15A)接受剂量为 16.7mg/kg/BW 的化合物 Ia, 第二研究组(图 15B)接受 167mg/kg/BW 的剂量, 而第三研究组(图 15C)接受 333mg/kg/BW 的剂量。使小鼠在整个研究期间保持有规律的食物和水。在该研究中, 小鼠处于密切观察下, 并且监测其行为、大体生理学和死亡率/存活率。图 15A、15B 和 15C 显示, 在研究过程中这些小鼠的存活率为 100%。

实施例 19

渥曼青霉素是一种已知的磷脂酰肌醇 3 激酶(PI 3 激酶)抑制剂,该酶是一种胰岛素信号途径需要的酶。在这个试验中,测定渥曼青霉素抑制 Ia 刺激的葡萄糖摄取的能力。将新制的脂肪细胞与不同浓度的胰岛素或 Ia, 在存在或不存在 4 μ M 渥曼青霉素的条件下温育。随后利用 14 C-脱氧葡萄糖示踪剂监测脂肪细胞摄取葡萄糖的能力。如本文所示,用渥曼青霉素对脂肪细胞的处理强有力地抑制了胰岛素或 Ia 依赖性葡萄糖摄取。这种结果提示 Ia 影响到 PI-3 激酶途径。结果如图 16 所示。

实施例 20

将过度表达人胰岛素受体的中国仓鼠卵巢细胞(CHO. IR 细胞)在含 10%胎牛血清(FBS)的 F12 Ham 氏培养基中于 37 $^{\circ}$ C 在 5%CO₂ 中生长。细胞在缺少血清的条件下保持 6 小时,并且随后与赋形剂、胰岛素(10 nM)或 Ia(12.5, 25, 或 50 μ M)在 37 $^{\circ}$ C 下温育 30 分钟。此后细胞用冷磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤,将 13 μ g 的全细胞溶解产物通过电泳(4-20% SDS-PAGE)分离,印迹到硝化纤维素膜上,并且用磷酸酪氨酸的单克隆抗体(Transduction Laboratories, clone PY20)检测磷酸化作用。蛋白质印迹用增强化学发光检测体系显色,结果通过扫描定量,表示为任意单位(arbitrary units)。这些结果表明 Ia 以剂量依赖方式磷酸化胰岛素受体和胰岛素受体底物 1(如同胰岛素)。结果如图 17 所示。

实施例 21

将过度表达人胰岛素样生长因子 1 受体的中国仓鼠卵巢细胞(CHO. IGF-1 R 细胞)在含 10%胎牛血清(FBS)的 F12 Ham 氏培养基中于 37 $^{\circ}$ C 在 5%CO₂ 中生长。细胞在缺少血清条件下保持 6 小时,随后与赋形剂、IGF-1(100nM)、1-丁基-3-对甲苯磺酰基脲(50 μ M)或 Ia(12.5, 25, 或 50 μ M)在 37 $^{\circ}$ C 下温育 30 分钟。随后细胞用冷磷酸盐缓冲盐水(PBS)

洗涤, 将 21 μ g 的全细胞溶解产物通过电泳(4-20% SDS-PAGE)分离且印迹到硝化纤维素膜上; 用磷酸酪氨酸的单克隆抗体(Transduction Laboratories, clone PY20)检测磷酸化作用。结果显示 Ia 不会使 CHO. IGF-1 R 细胞中的胰岛素样生长因子 1 受体或胰岛素受体底物 1 磷酸化。结果如图 18 所示。

实施例 22

将过度表达人胰岛素受体的中国仓鼠卵巢细胞(CHO. IR)在含 10% 胎牛血清(FBS)的 F12 Ham 氏培养基中于 37 $^{\circ}$ C 和 5%CO₂ 下生长。细胞在缺少血清条件下保持 6 小时, 随后与赋形剂、胰岛素(10nM)、1-丁基-3-对甲苯磺酰基脲(50 μ M)或三种不同剂量之一的 Ia(12.5, 25, 或 50 μ M)在 37 $^{\circ}$ C 下温育 30 分钟。随后细胞用冷磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤, 将 25 μ g 的全细胞溶解产物通过电泳(4-20% SDS-PAGE)分离且印迹到硝化纤维素膜上; 用抗磷酸-Akt(Ser 473)(New England Biolabs)的抗体(A)检测。蛋白质印迹用增强化学发光检测体系显色, 并且结果通过扫描定量且随后表示为任意单位。结果表明在 Ia 存在下 Akt 的磷酸化作用出现剂量依赖性增高。结果如图 19 所示。

实施例 23

经缺乏血清 6 小时的中国仓鼠卵巢(CHO)细胞与赋形剂、胰岛素(10nM)、1-丁基-3-对甲苯磺酰基脲(50 μ M)或三种剂量之一的 Ia(12.5, 25, 或 50 μ M)在 37 $^{\circ}$ C 下温育 30 分钟。两组事先与 100nM 渥曼青霉素(7 和 8 道)一起预温育, 并在此时加入胰岛素(10 nM)和 Ia(50 μ M)。随后细胞用冷磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤, 将 20 μ g 的全细胞溶解产物通过电泳(4-20% SDS-PAGE)分离且印迹到膜上; Akt-磷酸化作用用抗体[抗磷酸-Akt(Ser 473), New England Biolab]检测。结果显示渥曼青霉素抑制由胰岛素和由 Ia 刺激的 Akt-磷酸化作用。结果如图 20 所示。

实施例 24

已知所有噻唑烷二酮化合物刺激葡萄糖摄取，其机理包括结合核受体转录因子并增加其表达，该因子称作过氧化物酶体增殖因子激活的受体- γ (PPAR- γ)。为了测定 Ia 是否是通过涉及 PPAR- γ 的机理上调葡萄糖摄取，将 3T3-L1 脂肪细胞与赋形剂、Ia (5 μ M) 或曲格列酮 (5 μ M) 一起温育 48 小时。通过免疫印迹评估 PPAR- γ 的表达。蛋白质印迹用增强化学发光检测体系显色，并且结果通过扫描定量且随后表示为任意单位。图中的结果显示曲格列酮使 PPAR- γ 增加，而 Ia 不诱导 PPAR- γ 升高超过这种转录因子的基础水平。结果如图 21 所示。

实施例 25

成纤维细胞向脂肪细胞的分化涉及 PPAR- γ 的表达。噻唑烷二酮类抗糖尿病化合物的所有成员均能够刺激 PPAR- γ 的表达并促进成纤维细胞向脂肪细胞的分化。类似地，胰岛素也刺激成纤维细胞向脂肪细胞的分化。为了测试 Ia 对这种分化过程的影响，令 3T3-L1 成纤维细胞与 Ia (1 μ M)、胰岛素 (0.17mM) 或两者的组合一起温育。温育之后，溶解细胞，并且 PPAR- γ 的表达量通过 ECL 印迹分析用抗 PPAR- γ 抗体分析。用 Ia 处理成纤维细胞并不加强该分化过程。在阳性对照中，对成纤维细胞的胰岛素处理刺激这些细胞向脂肪细胞的分化，与 PPAR- γ 水平增高有关。

实施例 26

图 22 显示用于测定 Ia 是否是核 PPAR 受体的激动剂的三个试验的结果。利用放射性配体结合分析显示 Ia 结合人重组 PPAR- α 、PPAR- γ 或 PPAR- δ 的能力，其测量建成的放射性标记配体的置换。在该分析中，所有三种核受体的 IC 值均大于 50 μ M。已知配体引起 PPAR 构象变化可以促进辅激活物分子的结合。通过时间分辨荧光 (HTRF) 分析法测定辅因子的缔合作用，这种分析法利用两个相邻分子之间的能量转移来测定 Ia 促进 PPAR 与辅因子蛋白缔合的能力。最后，进行基于细胞的反

式激活功能试验以测定 Ia 对生物体系中 PPARs 的作用。在这个试验中，具嵌合受体的 COS 细胞用 Ia 处理，并且通过荧光素酶活性的增加测定转录活性。没有观察到 Ia 对 PPARs 的激活。这些结果均证实 Ia 不是这些 PPAR 的激动剂。

实施例 27

将分化的 3T3-L1 细胞(一式三份孔)以指定浓度用 Ia 或冷胰岛素于 37℃ 下处理 1 小时。温育后，洗除过量的化合物，并且细胞与固定量的 ^{125}I -胰岛素(10pM; 2000 Ci/mmol)一起在 4℃ 下温育 12 小时。洗涤细胞，随后用 0.1%SDS 溶解且在闪烁计数器中计数。正如所料，提高冷胰岛素的剂量抑制放射性胰岛素的结合，而用 Ia 预温育出现 45% 抑制。结果如图 23 所示。

实施例 28

Ia 与胰岛素受体的实时直接结合作用通过使用 Biocore 3000(其测定表面胞质团共振)来证实。其上具有一薄层溶液的金属表面所反射出的光的强度和波长受到液体表面界面上组分的质量浓度的影响。液相中分子的相互作用改变了反射光在特定角度上的强度。在这个试验中，含有 α 和 β 亚基的纯化胰岛素受体被固定在 Biocore 3000 的流式细胞 2 的具有金膜的传感器表面；流式细胞 1 用作背景对照。当将 Ia 以浓度 200 μM 、100 μM 和 10 μM 注射时，在数秒内可以观看到表示与胰岛素受体结合的反应(结合曲线)，其类似于由胰岛素得到的结合曲线。

实施例 29

测定在 Ia 或 Ib 的 E 或 Z 异构体存在下由 SD 大鼠的附睾脂肪垫新制备的正常脂肪细胞中的葡萄糖摄取。所述细胞与指定浓度的异构体预温育 30 分钟之后，加入 ^{14}C -脱氧葡萄糖，并且继续温育该标本 5 分钟。图 24A 显示出两种异构体刺激的葡萄糖摄取的程度相似。图 24B

表示 Z 型 (Ib) 的刺激作用是对胰岛素作用的补充, 并且该作用受到渥曼青霉素阻断 (15 分钟预温育), 如同上面 E 型的 (Ia) 所示 (参见图 16)。

实施例 30

开发了一种检测 Sprague-Dawley (SD) 大鼠血清中 Ia 的高度敏感的方法, 其中可以检测到 10-25ng 水平的 Ia。在大鼠模型中研究了药物吸收和从循环中廓清的动力学。对 SD 大鼠给予口服剂量的 Ia (20mg/kg)。在不同的时间间隔, 取血且分析血清中的 Ia。如图所示, 在口服药物后 1 小时 Ia 达到最大吸收并且至 24 小时从循环中被廓清。结果如图 25A、B 所示。

实施例 31

已经完成了各种毒理学研究, 并且其情况和结果概括在图 26。施用了高达 1000mg/kg 的剂量, 但是没有发现严重的毒性问题。

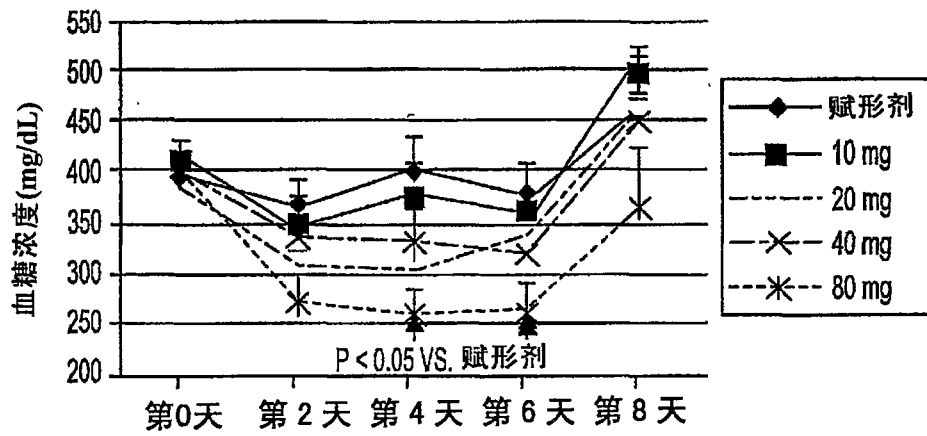


图 1

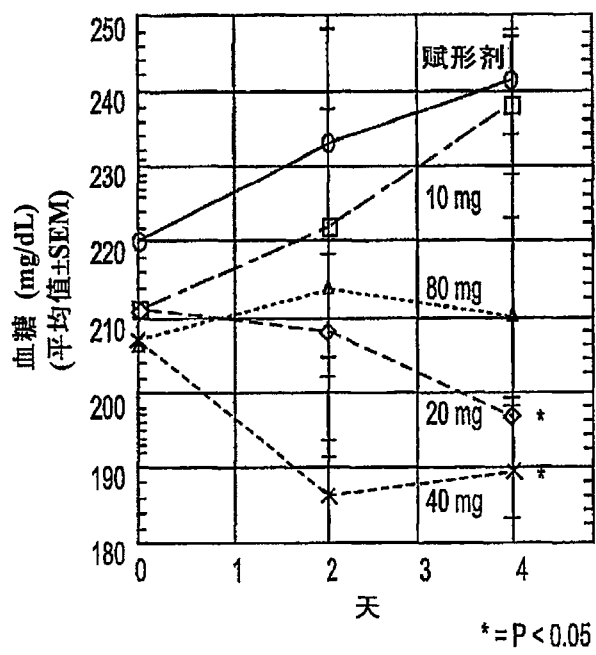


图 2

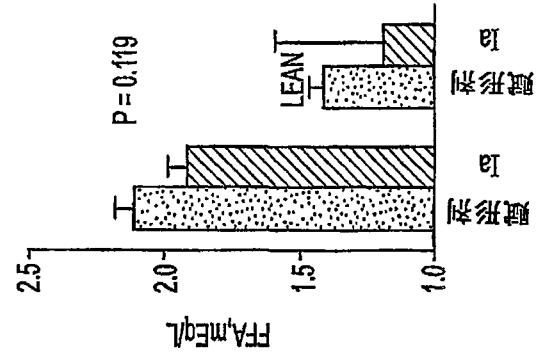


图 3C

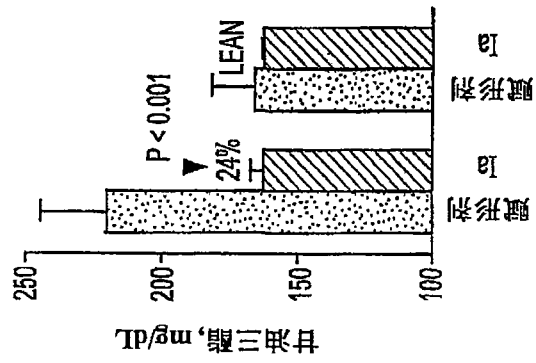


图 3B

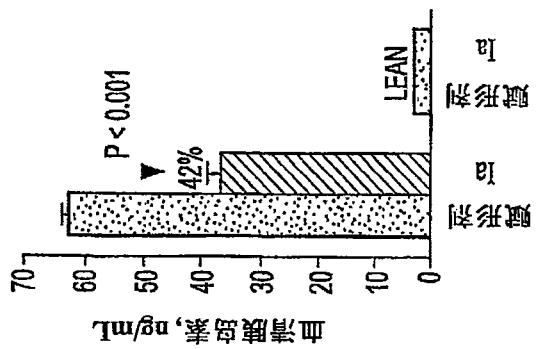


图 3A

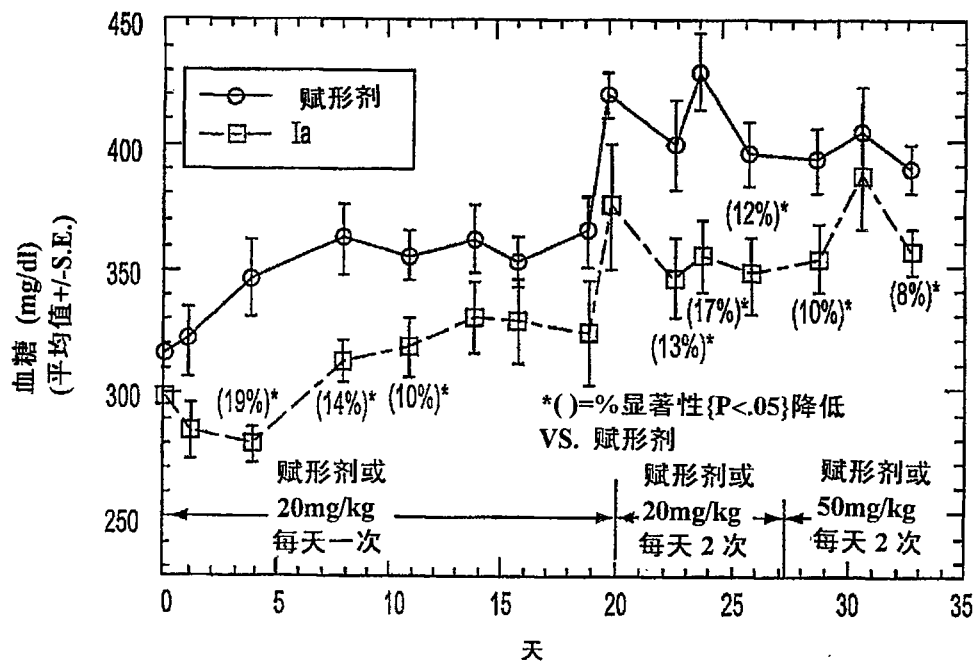


图 4

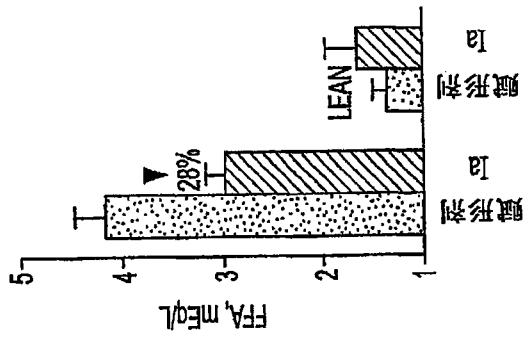


图 5C

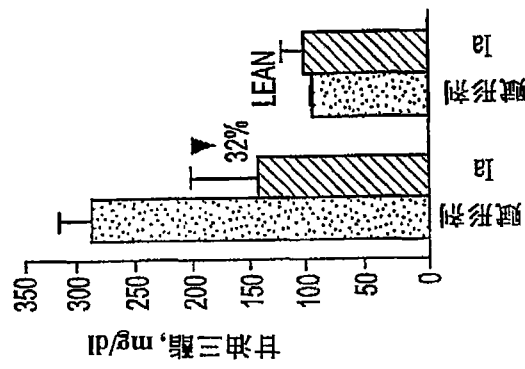


图 5B

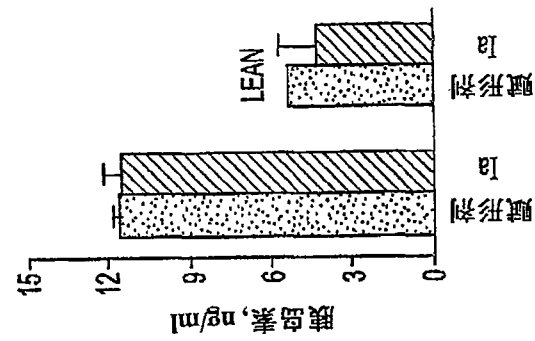


图 5A

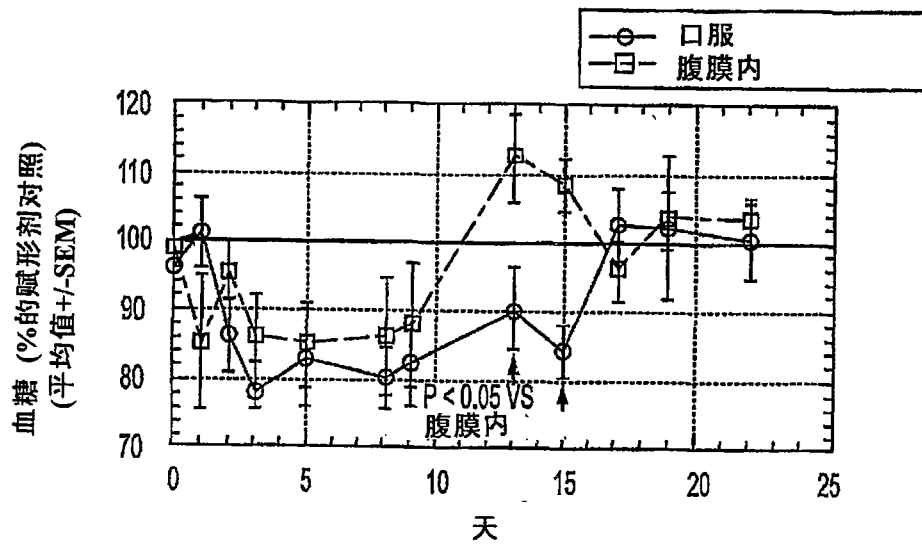


图 6

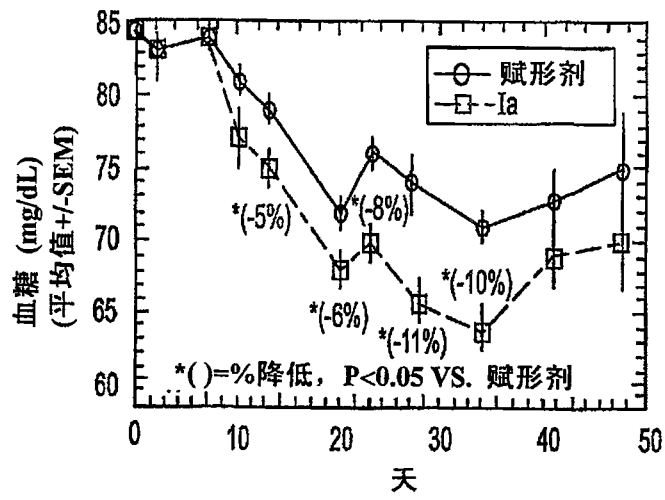


图 7A

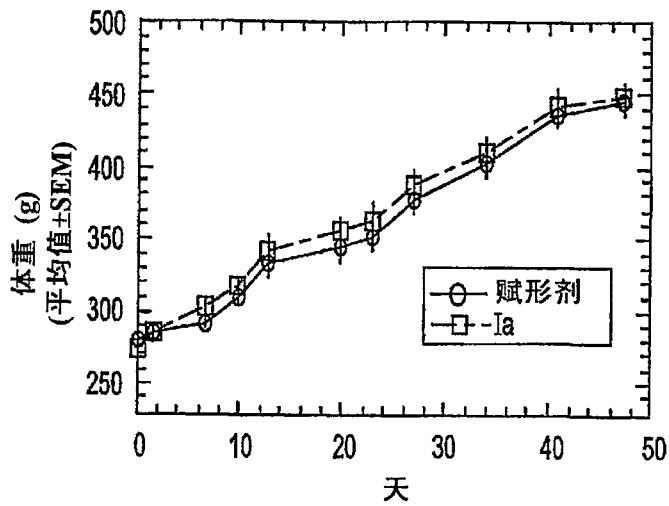


图 7B

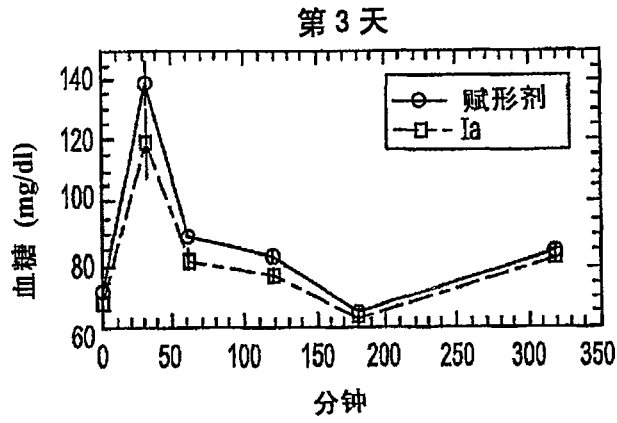


图 8A

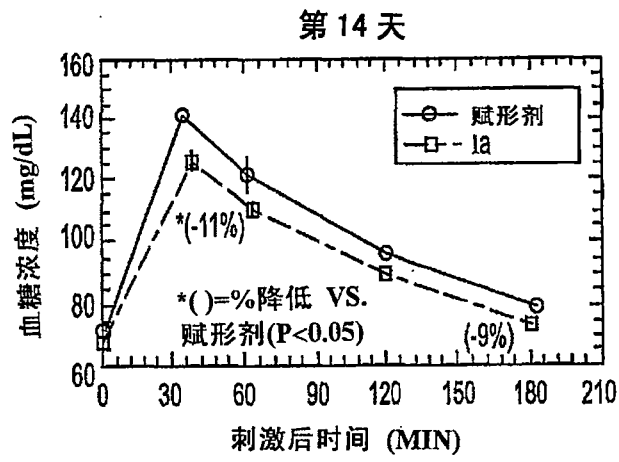
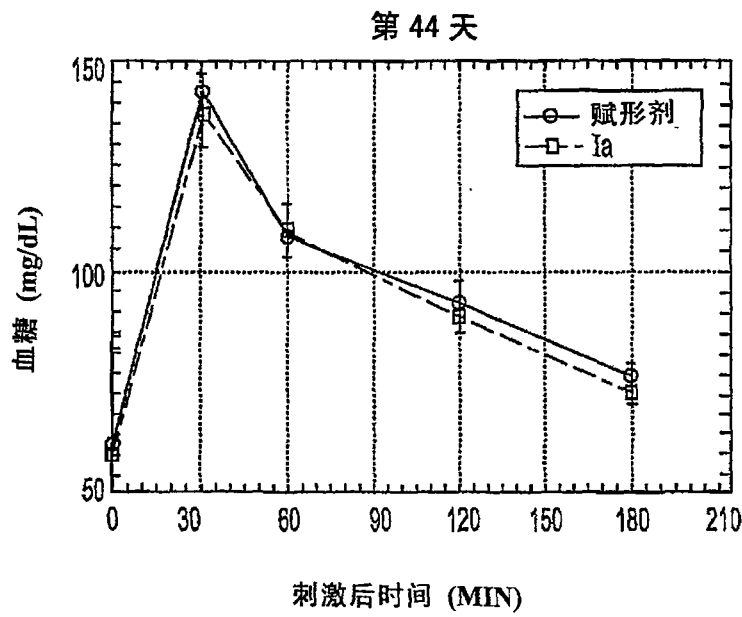
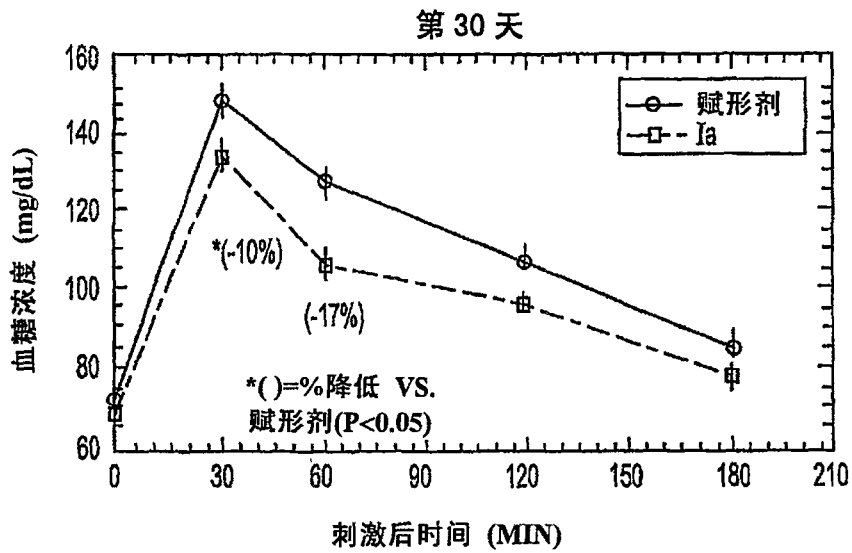


图 8B



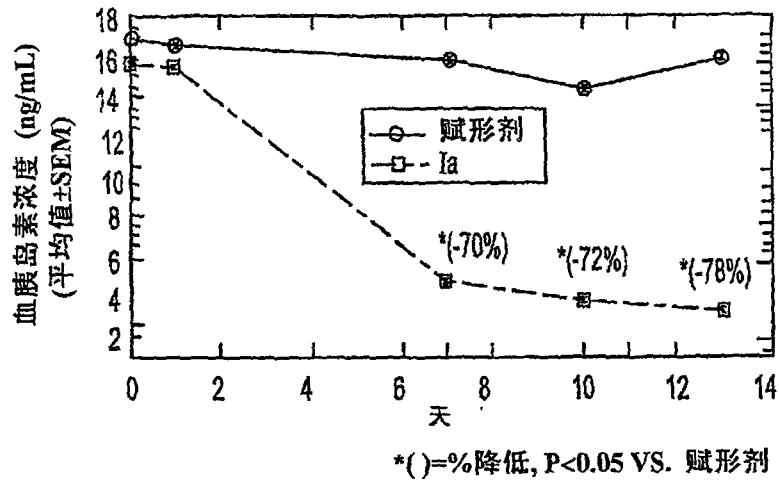


图 9A

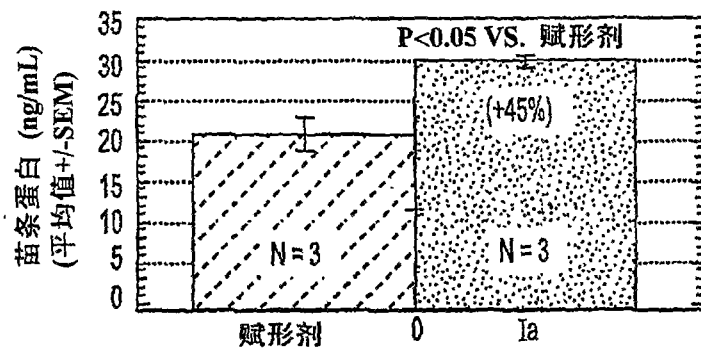


图 9B

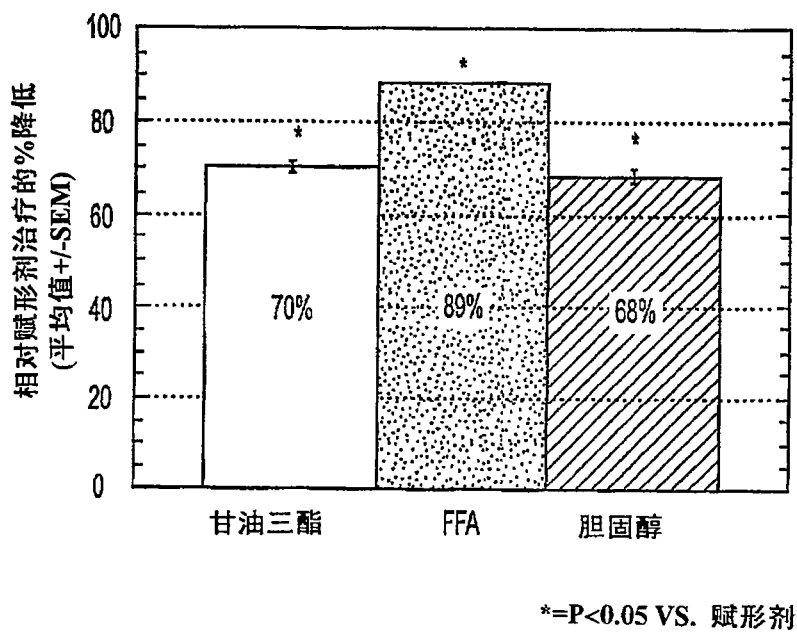


图 10

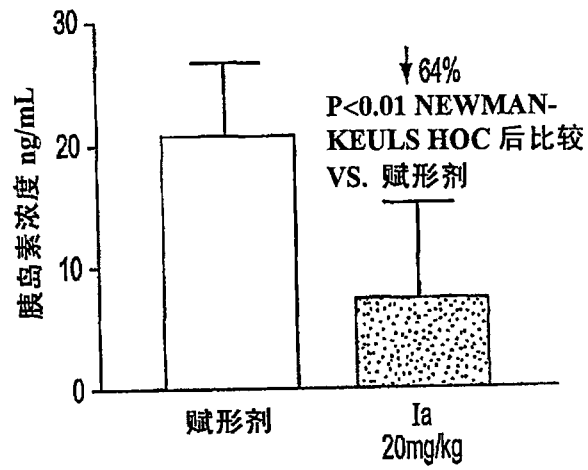


图 11A

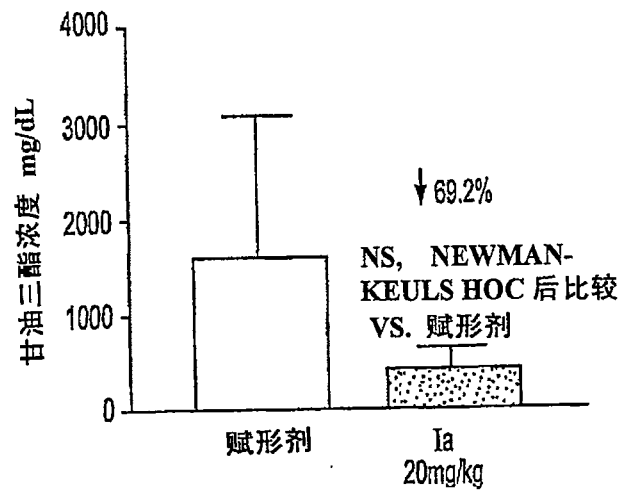


图 11B

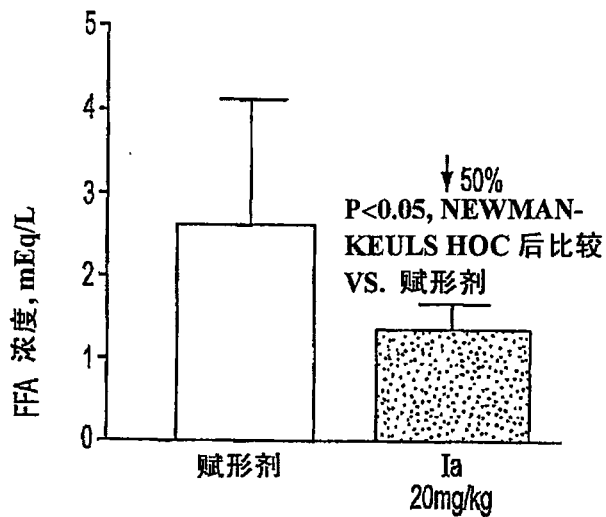


图 11C

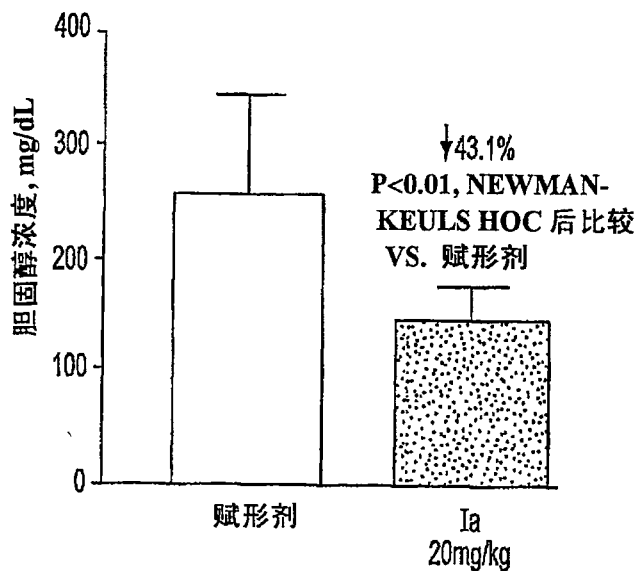


图 11D

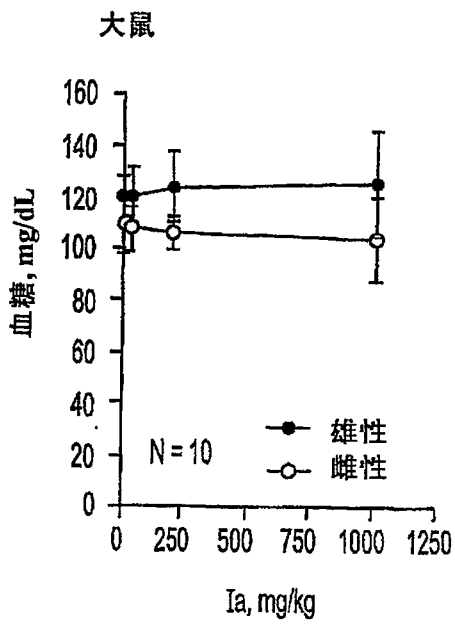


图 12A

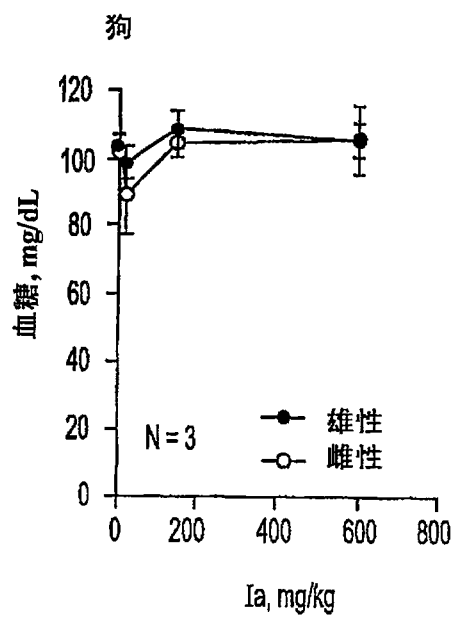


图 12B

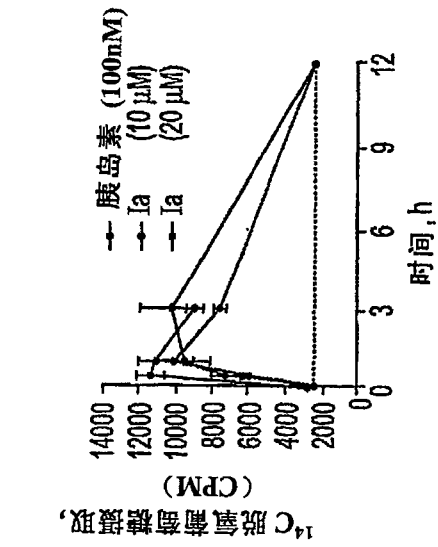


图 13B

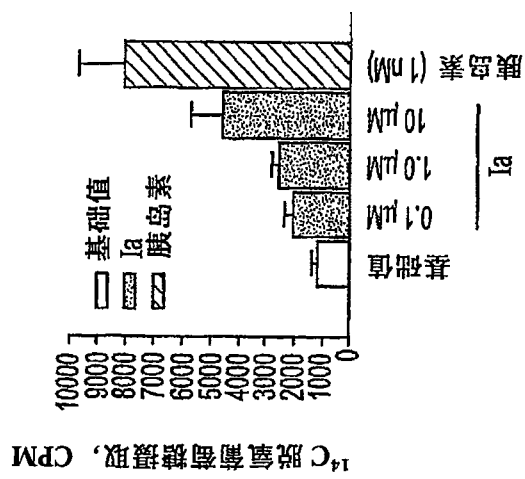


图 13A

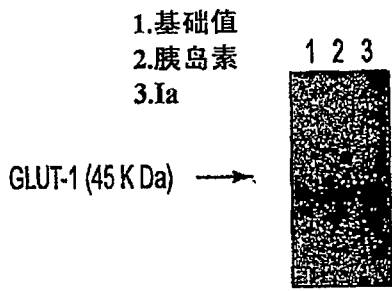


图 14A

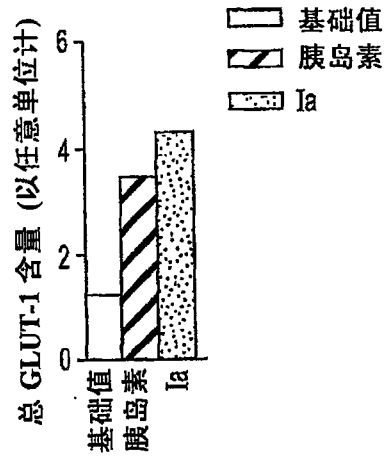


图 14B

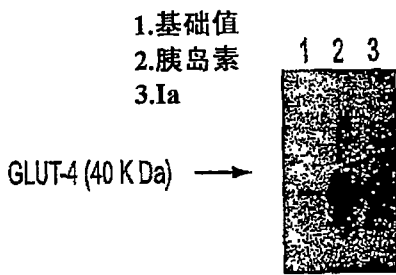


图 14C

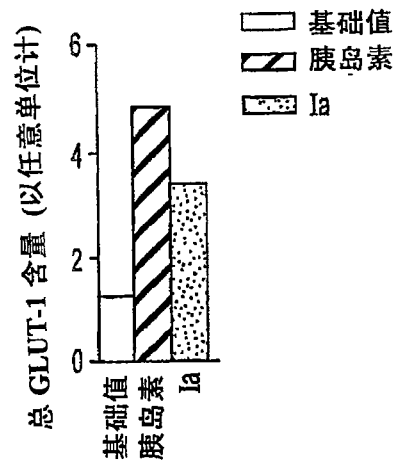


图 14D

研究-1 (500ug/小鼠)

天	活动物
0	3
1	3
2	3
3	3
4	3

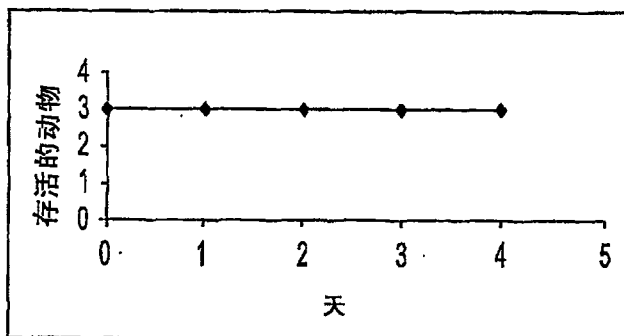


图 15A

研究-2 (5mg/小鼠)

天	活动物
0	3
1	3
2	3
3	3
4	3

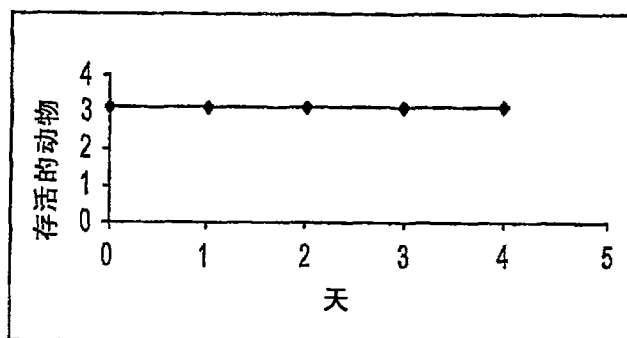


图 15B

研究-3 (10mg/小鼠)

天	活动物
0	3
1	3
2	3
3	3
4	3

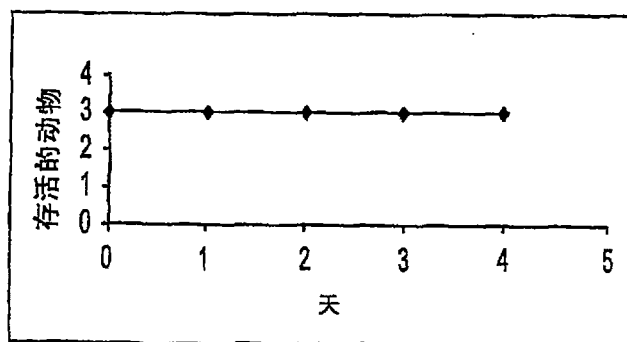


图 15C

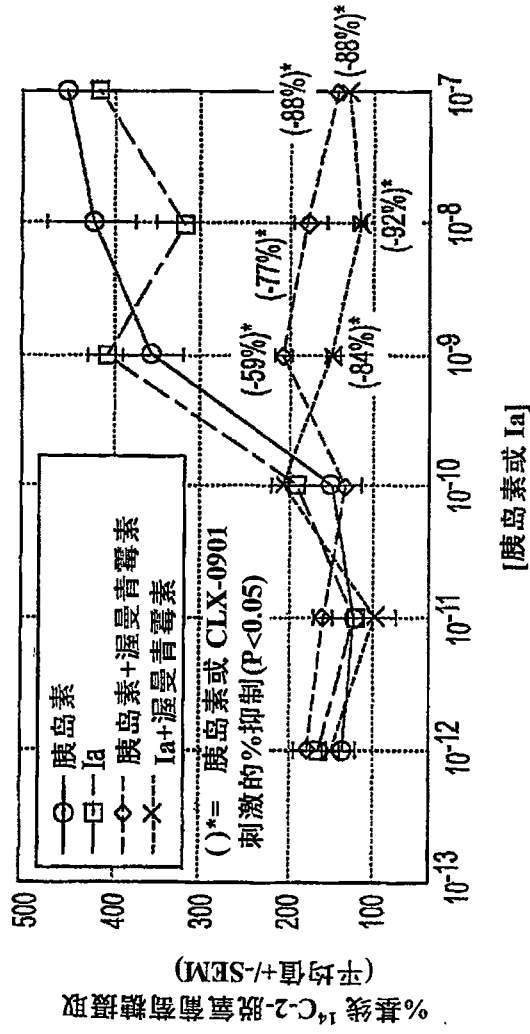


图 16

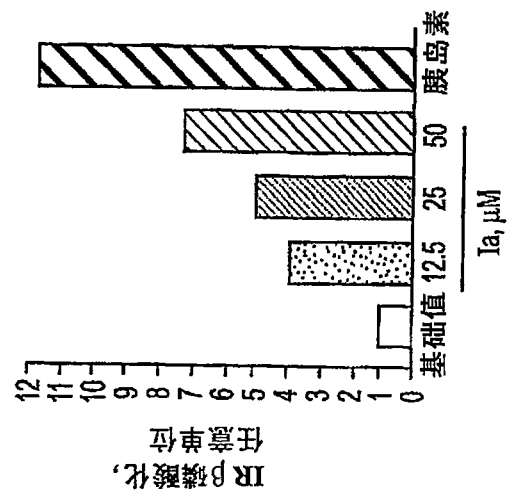


图17

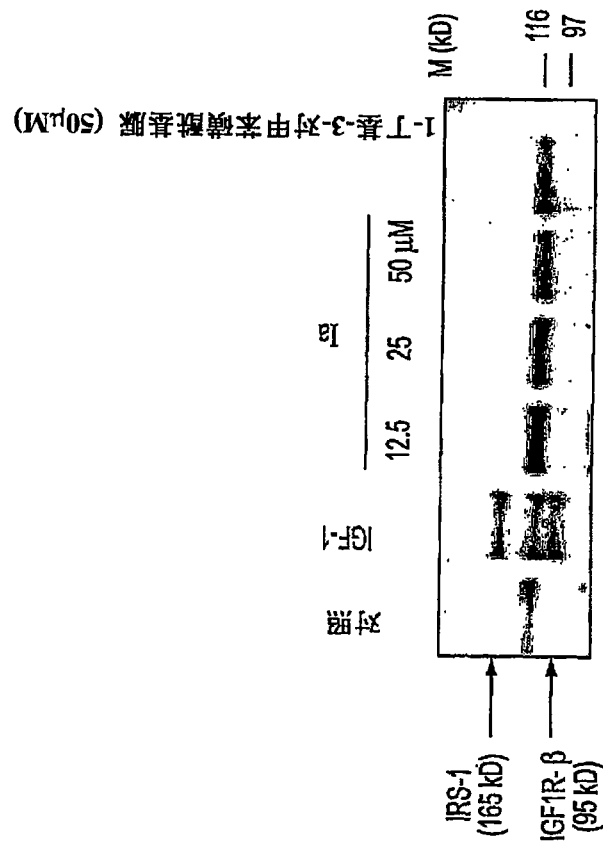


图 18

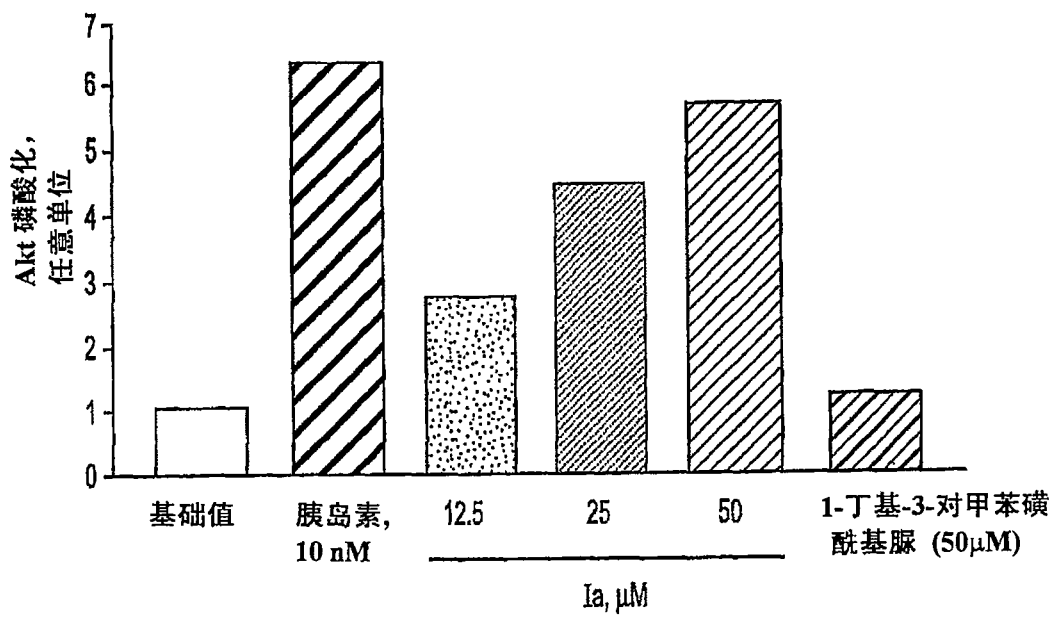


图 19

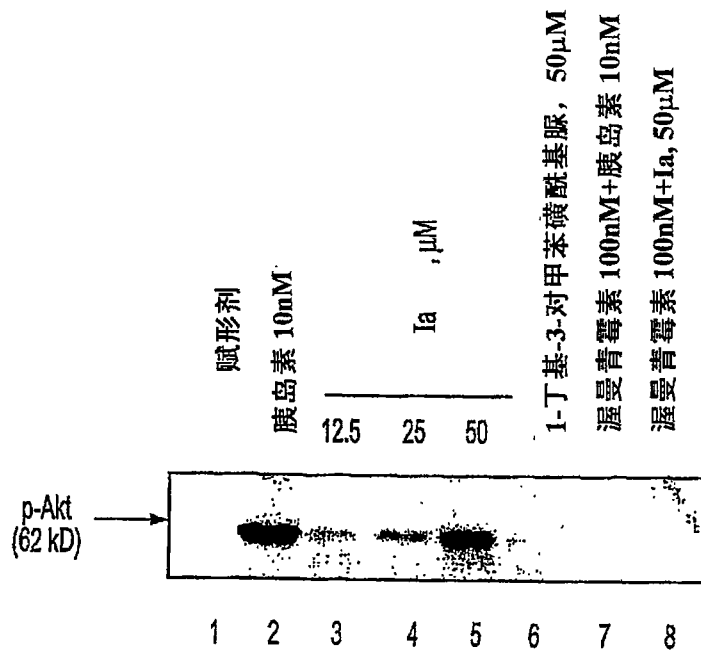


图 20

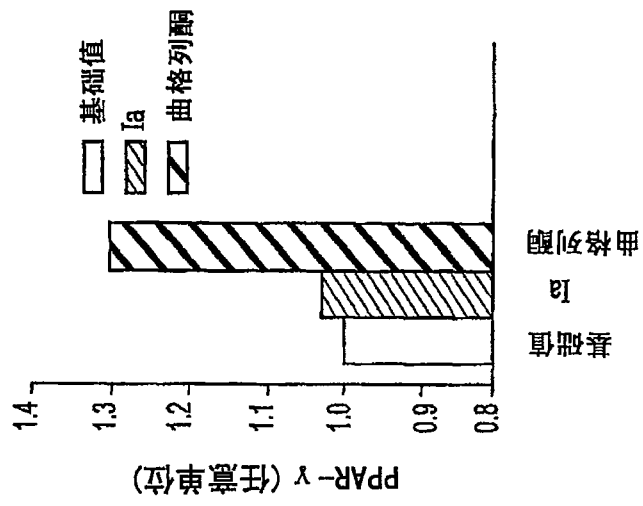


图 21

PPAR	结合试验 IC ₅₀ (μM)	辅因子缔合 EC ₅₀ (μM)	反式激活 EC ₅₀ (μM)
PPAR-α (人)	>50	>50	无活性
PPAR-α (小鼠)	---	--	无活性
PPAR-γ (人)	>50	>50	无活性
PPAR-δ (人)	>50	---	---

图 22

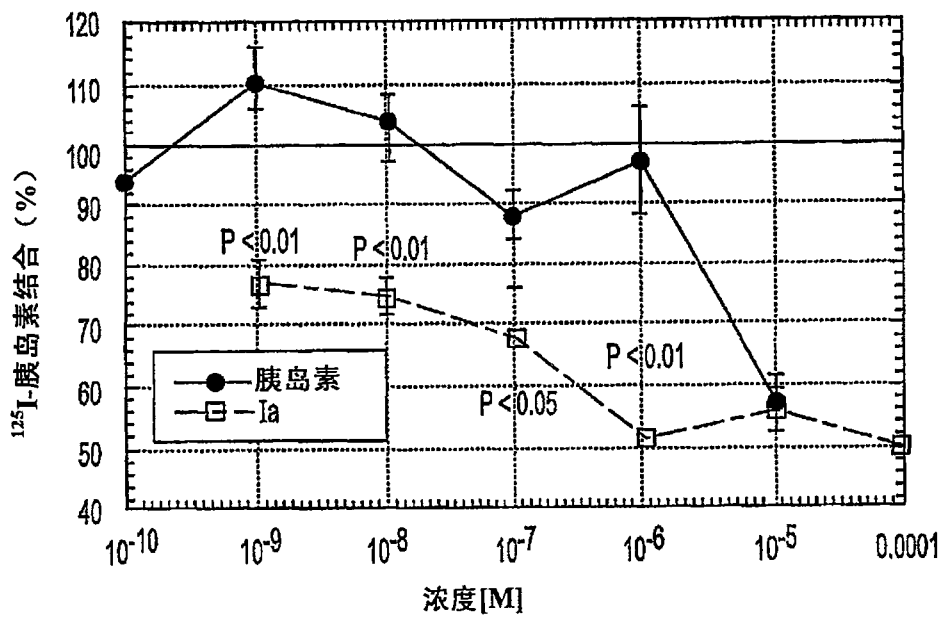


图 23

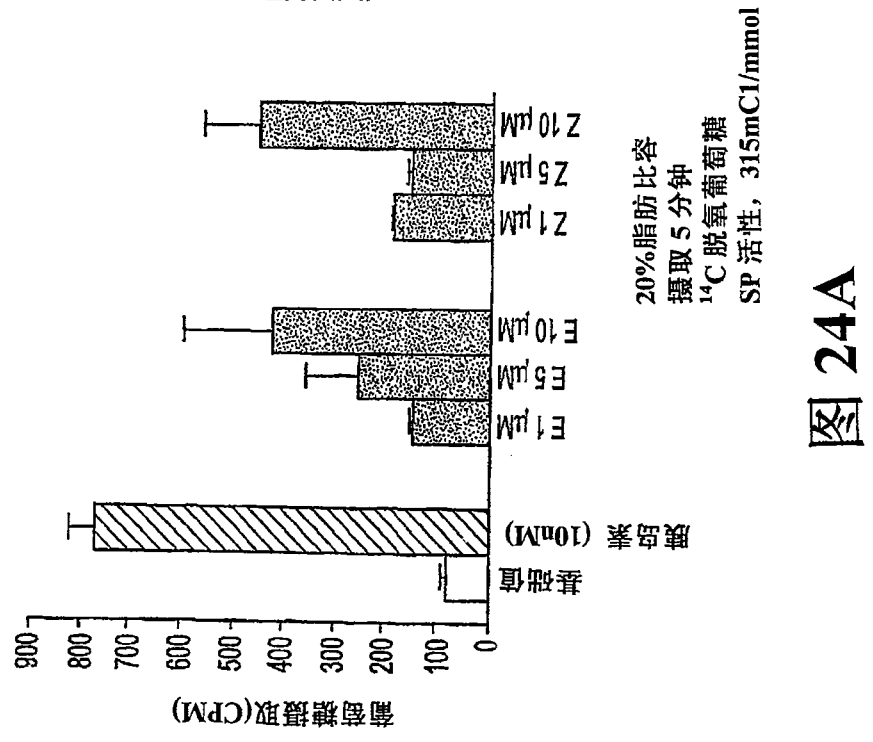


图 24A

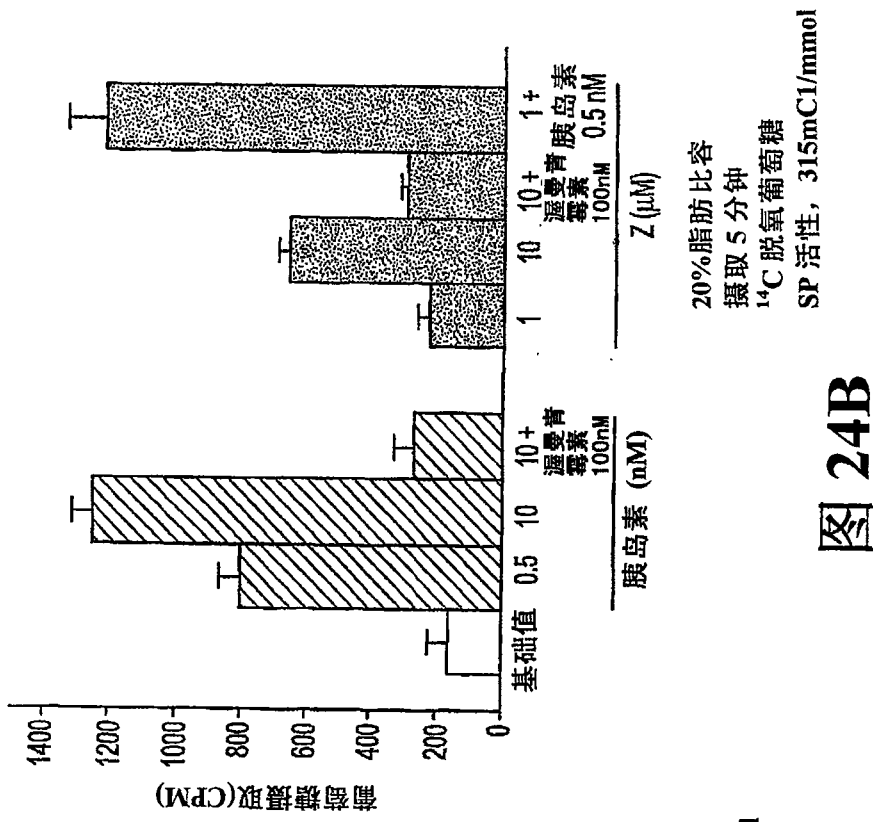


图 24B

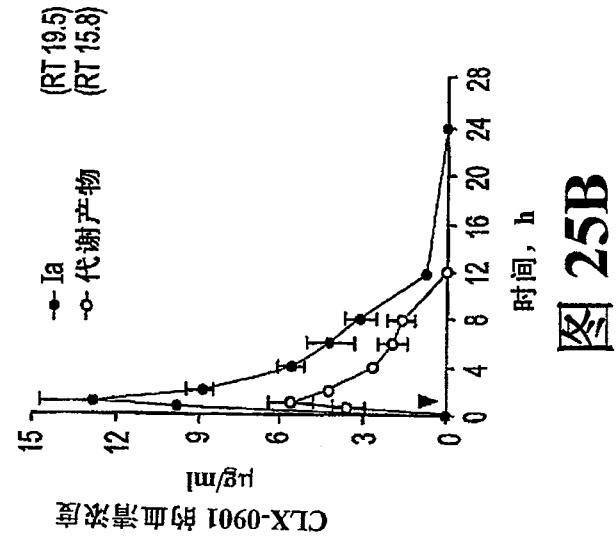


图 25B

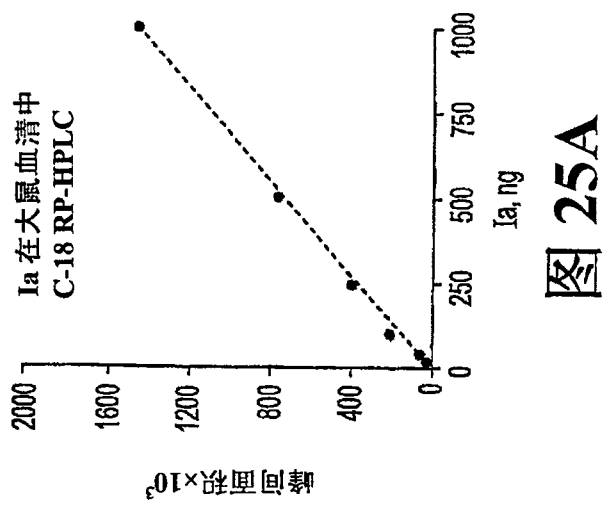


图 25A

研究	状态	发现
AMES 诱变性 (有和无代谢活化作用)	完成	无明显毒性
急性 (单剂量) 研究, 大鼠	完成	无明显毒性
28 天研究, 大鼠 剂量: 20,200,1000 mg/kg	完成	无明显毒性
心血管研究, 狗	完成	无明显毒性
剂量范围-发现研究, 狗 剂量: 100,200,400,1000 mg/kg	完成	无明显毒性
28 天研究, 狗 剂量: 20,150,600 mg/kg	完成	无明显毒性

图 26