

(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



PCT



(10) 国际公布号

WO 2011/106924 A1

(43) 国际公布日
2011 年 9 月 9 日 (09.09.2011)

(51) 国际专利分类号:

C07D 311/36 (2006.01) A61P 3/06 (2006.01)

A61K 31/352 (2006.01) A61P 3/10 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

(21) 国际申请号:

PCT/CN2010/070808

(22) 国际申请日:

2010 年 3 月 1 日 (01.03.2010)

(25) 申请语言:

中文

(26) 公布语言:

中文

(71) 申请人 (对除美国外的所有指定国): 中国药科大学 (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY)

[CN/CN]; 中国江苏省南京市童家巷 24 号, Jiangsu 210009 (CN)。南京医科大学附属脑科医院 (NANJING MEDICAL UNIVERSITY AFFILIATED BRAIN HOSPITAL) [CN/CN]; 中国江苏省南京市广州路 264 号, Jiangsu 210029 (CN)。

(72) 发明人; 及

(75) 发明人/申请人 (仅对美国): 向华 (XIANG, Hua)

[CN/CN]; 中国江苏省南京市童家巷 24 号, Jiangsu 210009 (CN)。赵维 (ZHAO, Wei) [CN/CN]; 中国江苏省南京市童家巷 24 号, Jiangsu 210009 (CN)。

肖红 (XIAO, Hong) [CN/CN]; 中国江苏省南京市广州路 264 号, Jiangsu 210029 (CN)。姚瑶 (YAO, Yao) [CN/CN]; 中国江苏省南京市广州路 264 号, Jiangsu 210009 (CN)。

马仁玲 (MA, Renling) [CN/CN]; 中国江苏省南京市童家巷 24 号, Jiangsu 210009 (CN)。钱磊 (QIAN, Lei) [CN/CN]; 中国江

苏省南京市童家巷 24 号, Jiangsu 210009 (CN)。李骁博 (LI, Xiaobo) [CN/CN]; 中国江苏省南京市童家巷 24 号, Jiangsu 210009 (CN)。尤启冬 (YOU, Qidong) [CN/CN]; 中国江苏省南京市童家巷 24 号, Jiangsu 210009 (CN)。廖清江 (LIAO, Qingjiang) [CN/CN]; 中国江苏省南京市童家巷 24 号, Jiangsu 210009 (CN)。

(74) 代理人: 南京经纬专利商标代理有限公司 (NANJING JINGWEI PATENT & TRADEMARK AGENCY CO., LTD); 中国江苏省南京市鼓楼区中山路 179 号 12 楼 B 座, Jiangsu 210005 (CN)。

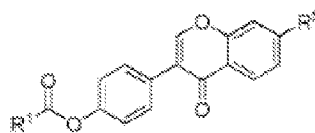
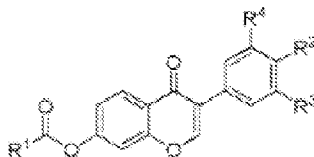
(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, 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。

(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, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲 (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,

[见续页]

(54) Title: ISOFLAVONE FATTY ACID ESTER DERIVATIVES, PREPARATION METHOD AND PHARMACEUTICAL USES THEREOF

(54) 发明名称: 异黄酮脂肪酸酯类衍生物、其制备方法和医药用途



(57) Abstract: Isoflavone fatty acid ester derivatives of formula (I) or (II), the preparation method thereof and the pharmaceutical compositions containing such compounds are disclosed. The uses of such compounds in preparation of medicaments for preventing or treating hyperlipidemia, obesity or type II diabetes are also disclosed.

(57) 摘要:

公开了一类通式为 (I) 或 (II) 的异黄酮脂肪酸酯类衍生物、它们的制备方法、含有这些化合物的药物组合物。还公开了这些化合物用于制备预防或治疗高脂血症、肥胖症或 II 型糖尿病的药物的用途。



WO 2011/106924 A1

SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, **本国际公布:**

GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

异黄酮脂肪酸酯类衍生物、其制备方法和医药用途

技术领域

本发明涉及药物化学领域，具体涉及异黄酮脂肪酸酯类衍生物。本发明还公开了它们的制备方法和药理活性、含有这些化合物的药用组合物以及它们的医药用途，特别是作为预防或治疗高脂血症、肥胖症、II型糖尿病药物的用途。

背景技术

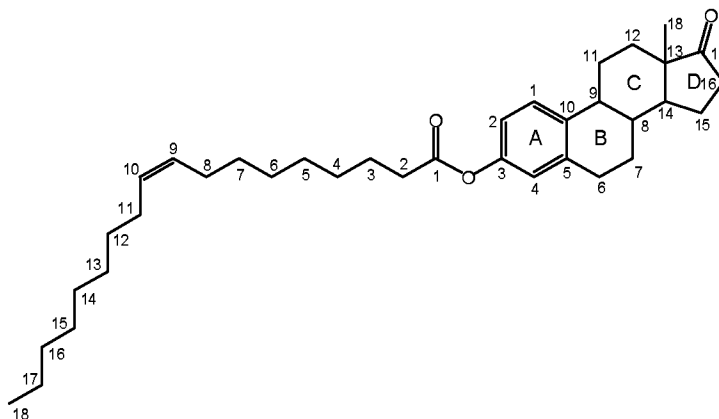
肥胖症是一种最常见的慢性内分泌代谢疾病，在当今世界人群中发病率呈逐年上升的趋势，已成为全球性的公共健康难题。肥胖症能引发许多健康问题，不仅会增大高脂血症、高血压、冠心病、II型糖尿病的发病率和死亡率，还易引起呼吸系统并发症、骨关节炎以及精神方面的疾病。各种实验结果显示适度的体重减轻（5-10%）可明显降低糖尿病、肿瘤和心血管系统的危险系数。

肥胖的病因十分复杂，涉及到遗传、环境、心理、行为等多种因素的相互作用，肥胖症通常采用综合措施治疗，包括饮食疗法、运动疗法、行为疗法、外科疗法和药物疗法。药物疗法是前几种疗法效果不佳或复发率高时的有用选择。减肥药的种类很多，多数还处于临床或临床前研究阶段，按作用机制可分为三类：①抑制食欲药物，通常作用于中枢神经或外周神经，通过影响食欲来减少摄食量；②抑制肠道消化吸收药物，主要作用于胃肠道，减少能量吸收；③增加能量消耗药物，作用于代谢过程，加快能量的消耗。以上三类药物中只有西布曲明（Sibutramine）和奥利司他（Orlistat）两种药物是FDA批准可长期使用的减肥药。西布曲明是5-羟色胺再摄取抑制剂，作用于中枢神经系统，通过增强饱感及提高代谢率来减少食物的摄入。奥利司他是脂肪酶抑制剂，可阻止食物脂肪在肠内的吸收。虽然这两种药物被允许长期使用，但仍存在一定的副作用：前者易引起血压升高、心率失常，后者会导致大便油腻、脂溶性维生素吸收不良和结肠损害。所以，需要研究和寻求新作用机制、更为安全的减肥药。

由肥胖，特别是中心性肥胖引起代谢综合征（Metabolic Syndrome, MS）已经成为现代社会的一大健康杀手。代谢综合征一般是指肥胖、2型糖尿病、高血脂、高血压等病理现象聚集于一身的症候群。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferators activated receptor γ , PPAR γ)属于转录因子的核

受体超家族成员之一，主要在脂肪组织中表达，是脂肪细胞基因表达和胰岛素细胞间信号转导的主要调节者，在调节脂肪细胞分化、葡萄糖摄取、脂肪酸代谢中起重要作用。PPAR γ 被激活后具有促进脂肪细胞分化，调整脂肪沉积，提高胰岛素敏感性，调节体内糖和脂类平衡，减少炎症的发生等作用。噻唑烷二酮（thiazolidinediones, TZDs）类药物是作为胰岛素增敏剂应用于糖尿病治疗的 PPAR γ 激动剂，可以显著改善 II 型糖尿病患者的胰岛素抵抗。但是，由于同时存在着体重增加、液体潴留、水肿、充血性心力衰竭等副作用，其临床应用受到了很大限制。

雌酮油酸酯（Oleoyl-estrone, OE）是天然存在的内源性酰基雌酮类（Acyl-estrone）化合物，临床前动物实验研究结果显示其有显著的减轻体重作用，且不受饮食变化的影响。同时还具有明显的降血脂和调节血糖平衡的作用。OE 被溶解在植物油中或制备成脂质体剂型进行给药，口服给药效果优于静脉注射。



Oleoyl-estrone 结构式

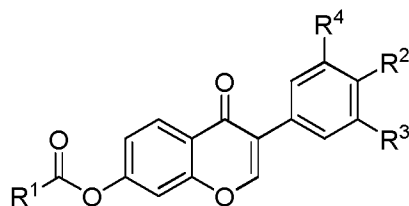
OE 是动物体内源性雌酮的主要存在形式，当细胞充满脂肪时，脂肪组织（主要是白色脂肪组织）便合成 OE，发送信号给大脑降低食欲，这一功能非常类似于瘦素（Leptin）。美国 Manhattan Pharmaceuticals 进行的动物实验研究结果显示 OE 的作用机理并非直接与雌酮的释放有关，而是在于维持血浆中 OE 与雌酮的平衡。雌酮水平高，有利于脂肪沉积；低脂肪量的身体环境有助于 OE 转化为雌酮。肥胖动物血浆中雌酮水平较高，长期的高雌酮水平易打破 OE 与雌酮的平衡，使体内的脂肪细胞并不能产生足够高水平的 OE 通知下丘脑的体重调节器（Ponderostat）抑制食欲以减轻体重。对 SD 大鼠的实验证实 OE 减肥效果依赖服用剂量，口服给药实验中未发现体内蛋白质含量的显著变化。给予标记 OE 一小时后测得下丘脑中 OE 含量远高于其在血液、肝脏、白色脂肪组织中的含量，该结果支持 OE 作为“体重调节信号”的推论。口服给药

时 OE 在体内大部分以原药形式被吸收, 但仍有 17% 以游离雌酮、12% 以雌酮的水溶性酯形式被吸收。静脉注射半衰期为 250 秒, 口服半衰期未测出 (Cullell-Young M. *Drugs of Future*, 2002, 27(7): 648-654)。Manhattan Pharmaceuticals 在完成 OE 治疗肥胖症的 IIa 期临床研究后宣布终止进一步的研究(www.manhattanpharma.com/ 7K 2007-7-9)。

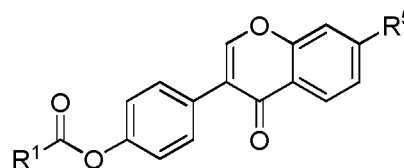
发明内容

本发明公开了通式 I 或通式 II 的一类异黄酮脂肪酸酯类衍生物, 经初步动物实验研究显示, 本发明化合物对肥胖大鼠有降血脂、减轻体重的作用, 同时也具有一定的清除自由基、抗氧化损伤、降低胰岛素抵抗性、调节血糖平衡的作用。在体外实验中, 本发明化合物可以明显抑制前脂肪细胞的分化和增殖, 并可以激活 PPAR γ 2-mRNA 的表达。

本发明的化合物结构式如下:



I



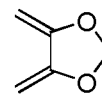
II

其中 R¹CO 代表 C₁₁-C₃₀ 脂肪酰基, 所述脂肪酰基由 C₁₁-C₃₀ 饱和或不饱和脂肪酸脱去羟基形成;

R²、R³、R⁴ 各自独立地代表 H、OH、OR'、SR'、NHR'、N(CH₃)₂、NO₂、卤素、CF₃ 或 C(O)R', 其中, R' 代表 C₁-C₄ 烷基, 并且当 R³、R⁴ 同时代表 H 时, R² 不代表 OH;

R⁵ 代表 H、OR'、SR'、NHR'、N(CH₃)₂、NO₂、卤素、CF₃ 或 C(O)R', 其中, R' 代表 C₁-C₄ 烷基;

当 R⁴ 代表 H 时, R² 和 R³ 还可与它们结合的碳原子一起形成:



上述 R¹CO 优选代表由油酸、亚油酸、十一烯酸、亚麻酸、共轭亚油酸、硬脂酸、棕榈油酸、二十碳四烯酸、二十碳五烯酸、二十碳酸、二十二碳六烯酸、月桂酸、癸酸、辛酸或蜂王酸脱去羟基形成的脂肪酰基。

R¹CO 更优选代表油酰基、亚油酰基、亚麻酰基、共轭亚油酰基或棕榈油

酰基。

其中 R^2 优选代表 H、OH、OCH₃、SCH₃、NHCH₃、N(CH₃)₂、NO₂、卤素、CF₃ 或 C(O)CH₃。

R^2 更优选代表 OCH₃。

R^3 、 R^4 优选代表 H、OH 或 OCH₃。

R^3 、 R^4 更优选代表 H。

R^5 优选代表 H、OCH₃、SCH₃、NHCH₃、N(CH₃)₂、NO₂、卤素、CF₃ 或 C(O)CH₃。

R^5 更优选代表 OCH₃。

本发明部分化合物如下：

4'-甲氧基-7-O-油酰基大豆黄素（代号：I-1，下同）

4'-甲氧基-7-O-亚油酰基大豆黄素（I-2）

4'-甲氧基-7-O-硬脂酰基大豆黄素（I-3）

4'-甲氧基-7-O-棕榈酰基大豆黄素（I-4）

4'-甲氧基-7-O-十一烯酰基大豆黄素（I-5）

3',4'-二甲氧基-7-O-油酰基大豆黄素（I-6）

7-甲氧基-4'-O-油酰基大豆黄素（II-1）

7-甲氧基-4'-O-亚油酰基大豆黄素（II-2）

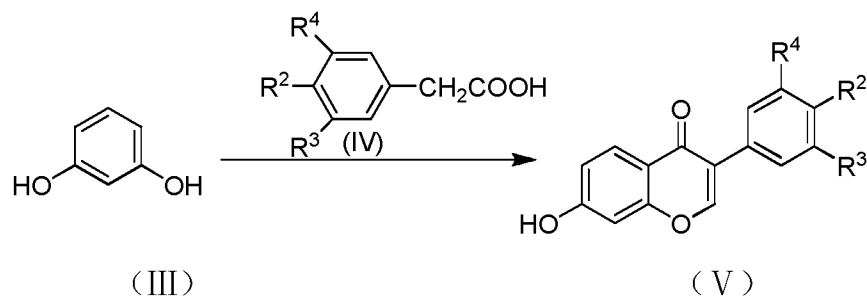
7-甲氧基-4'-O-硬脂酰基大豆黄素（II-3）

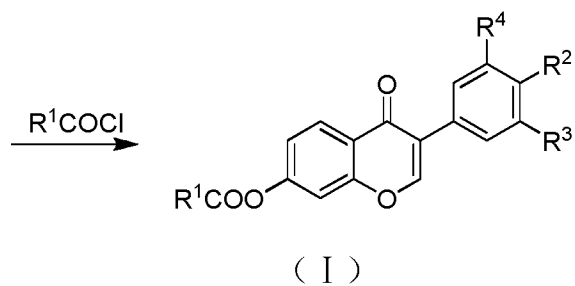
7-甲氧基-4'-O-棕榈酰基大豆黄素（II-4）

7-甲氧基-4'-O-十一烯酰基大豆黄素（II-5）

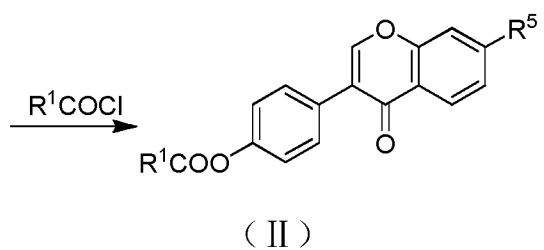
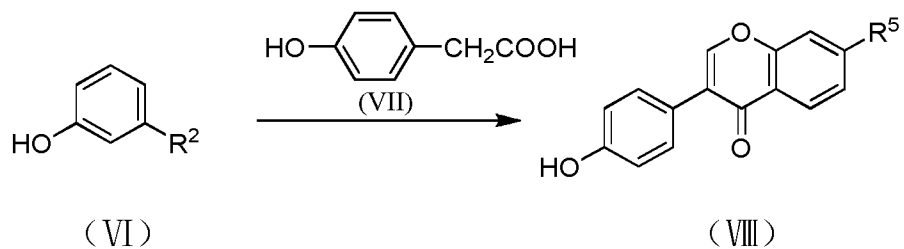
下面药理实验中化合物的代号等同于此处的代号所对应的化合物结构。

本发明通式 I 和 II 的化合物可以由以下方法制备：

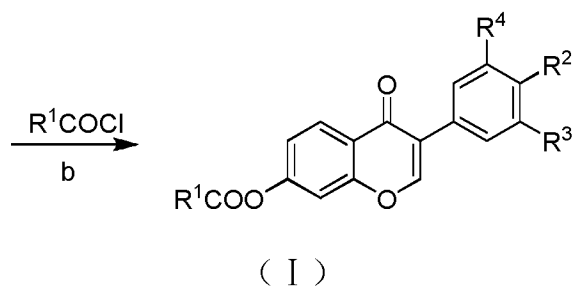
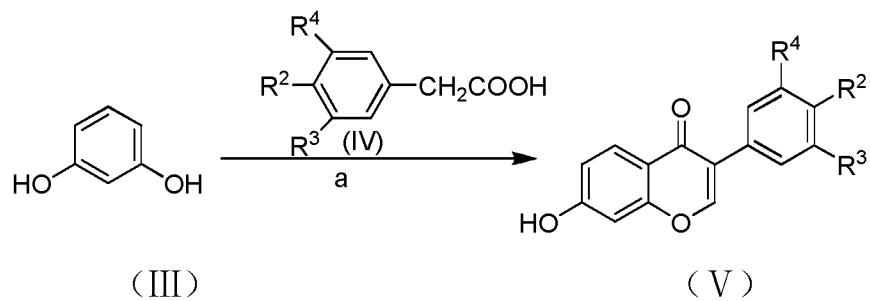




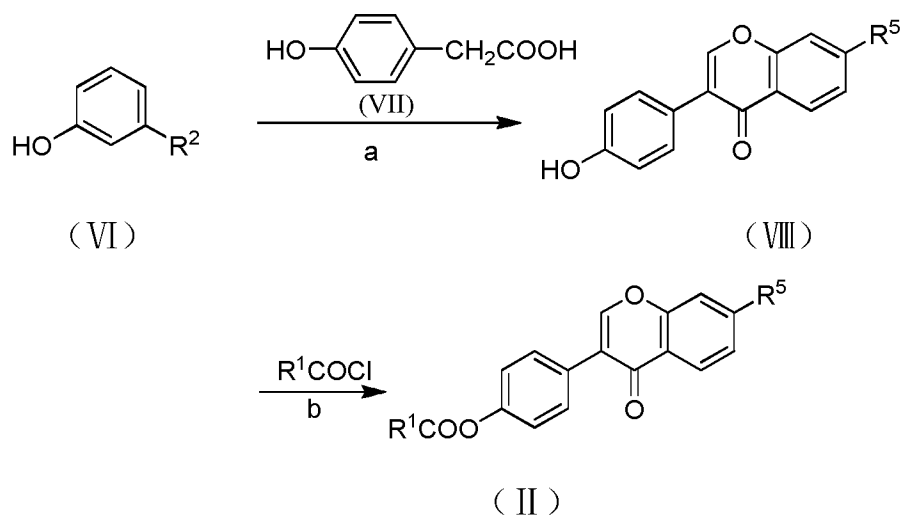
或:



更为优选的制备方法是:



或:



其中 a 和 b 代表反应条件:

a 条件下, 催化剂为: 对甲苯磺酸、三氟化硼乙醚、氯化锌、氯化氢气体、原乙酸三乙酯、六氢吡啶、N,N-二甲基甲酰胺二甲缩醛、三氯化磷、五氯化磷、三氯氧磷或甲基磺酰氯。

反应溶剂为: 三氟化硼乙醚、乙醚、N,N-二甲基甲酰胺、二甲亚砜、苯、甲苯、甲醇、乙醇、吡啶、甲酸乙酯、乙酸乙酯或上述溶剂之中的两种或两种以上的混合溶剂。

反应温度为: 15℃至回流。

b 条件下, 催化剂为: 吡啶、甲醇钠、乙醇钠、氨基钠、氢化钠、氢化钾、氢化碱、叔丁醇钾、氢氧化钠或氢氧化钾。

反应溶剂为: 二氯甲烷、氯仿、N,N-二甲基甲酰胺、二甲亚砜、吡啶、苯、甲苯或上述溶剂之中的两种或两种以上的混合溶剂。

反应温度为: 室温至回流。

下面是本发明部分化合物的部分药理学试验及结果:

1、SD 大鼠减肥、降血脂活性测定

实验参考徐叔云等编写的《药理实验方法学》(第三版), 人民卫生出版社 2002: 1189-1201 的方法, 略加改动。

1.1 试验方法

SD 大鼠 (体重 80g-100g, 雄性, 清洁级), 按体重随机分为以下各组:

空白对照组 (普通饲料组); 模型对照组 (高脂饲料组); 西布曲明, 1.0mg/kg ; I-1 组, 25mg/kg; I-2 组, 25mg/kg; I-3 组, 25mg/kg; II-1 组, 25mg/kg ; II-2 组, 25mg/kg; II-3 组, 25mg/kg。

除了空白对照组, 其余各组均饲以高脂饲料二个月。第三个月, 各组按

要求灌胃给药，空白对照组和模型对照组予以适当体积赋形剂，每天一次，连续一个月。给药结束后，大鼠放血处死，取股动脉血分离血浆，按照试剂盒说明统一操作规程测定各参数。把腹腔、生殖器围脂肪全部取下，称其湿重，并测定体重。

1.2 实验结果

本发明化合物能显著降低血清总胆固醇（TC）、甘油三酯（TG）、游离脂肪酸（FFA）、脂肪指数及体脂量。

表 1. I 系列部分化合物对高脂大鼠体重和血脂的影响 (mean±SD, n=10)

	给药结束体重 (g)	脂肪指数 (g/100g)	甘油三酯 TG (mmol/l)	总胆固醇 TC (mmol/l)	游离脂肪酸 FFA (μmol/l)
空白对照组	275±34	4.6±1.9	0.61±0.16	1.44±0.19	604.2±57.4
模型对照组	355±36 ^{##}	6.4±1.4 ^{##}	1.25±0.23 ^{##}	1.86±0.31 ^{##}	785.6±175.8
西布曲明组	301±41*	4.3±1.7*	0.97±0.31*	1.32±0.29*	609.6±138.3*
I-1 组	309±36*	5.0±1.6*	0.91±0.22*	1.31±0.27**	606.7±144.7*
I-2 组	307±32*	4.3±1.5*	0.99±0.21*	1.28±0.26**	603.8±163.5*
I-3 组	320±34	5.4±1.2	1.19±0.30	1.57±0.30	730.2±186.0
II-1 组	328±32	5.6±1.6	1.01±0.24*	1.65±0.25	696.3±205.4*
II-2 组	318±28	5.1±1.3*	1.03±0.21*	1.67±0.23	658.8±201.2*
II-3 组	352±47	6.0±2.1	1.35±0.35	1.71±0.34	738.1±196.0

数据均以均数±标准差表示，对各组数据进行方差分析及 t 检验。* P<0.05, ** P<0.01，与模型对照组比较；# P<0.05, ## P<0.01，与空白对照组比较。

2、ICR 小鼠减肥、降血脂、调节血糖平衡活性测定

实验参考 Raquel Ferrer-Lorente 等人 (European Journal of Pharmacology, 2005, 513: 243–248) 的方法，略加改动。

2.1 试验方法

2.1.1 造模方法：取 40 只 ICR 小鼠（雄性，体重 13-15g）按体重随机分成 2 大组，一个普通饲料组 (n=10)，一个高脂高糖模型组 (n=30)；普通饲料组给予普通饲料，每日皮下注射生理盐水，高脂高糖模型组给予高脂高糖饲料，每日皮下注射胰岛素 (0.5U/kg)。不限制饮食，每日定时测定摄食量，每周称一次体重连续喂养 7 周。

2.1.2 实验处理：造模 7 周后，普通饲料组不变，高脂高糖模型组分成模型对照组 (n=10)，I-1 给药组 (n=10)，I-2 给药组 (n=10)，各组饲料不变，

给药组给予相应化合物，剂量为 50mg/kg，空白组给予等容积的空白溶剂。各组连续灌胃给药 30 天。末次给药后禁食 12h 称重，摘眼球取血，制备血清，测定血脂（甘油三酯 TG、游离脂肪酸 FFA、总胆固醇 TC、低密度脂蛋白胆固醇 LDL-C、高密度脂蛋白胆固醇 HDL-C、）含量以及血胰岛素含量，并检测血液中氧化损伤的指标（丙二醛 MAD 和超氧化物歧化酶 SOD）。脱颈椎处死小鼠，分离肾周，睾丸，肠系膜及腹股沟处(皮下)的白色脂肪组织，冷生理盐水洗干净后滤纸吸干，然后称重。

2.2 实验结果

本发明化合物可明显降低肥胖小鼠的体重以及体脂重量，同时，可改善血脂水平、降低血清胰岛素浓度、增强 SOD 的活性，降低 MDA 含量，表明其具有清除体内自由

表 2. 给药前后小鼠的体重变化情况 (n=10, $\bar{x} \pm s$)

	给药前(g)	1星期后(g)	2星期后(g)	3星期后(g)
普通空白组	32.1±1.6	33.0±2.3	31.3±1.8	32.9±3.1
模型对照组	42.4±5.5 ^{##}	41.2±5.5 ^{##}	37.6±3.7 ^{##}	37.9±1.8 [#]
I-1组	41.8±5.7	39.1±5.2	33.8±3.7*	31.5±2.0**
I-2组	42.0±4.4	39.1±4.1	32.9±5.7*	29.5±2.3**

[#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$, 与普通空白组比较; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与高脂空白组比较

表 3. 给药后对小鼠的体脂重量影响情况 (n=10, $\bar{x} \pm s$)

	附睾脂肪(g)	肾周脂肪(g)	肠系膜脂肪(g)	腹腔总脂肪(g)	皮下脂肪(g)
普通空白组	0.339±0.077	0.131±0.079	0.192±0.042	0.662±0.117	0.145±0.045
模型对照组	0.804±0.161 ^{##}	0.245±0.079 ^{##}	0.244±0.024 ^{##}	1.292±0.226 ^{##}	0.294±0.116 ^{##}
I-1组	0.382±0.230**	0.078±0.050**	0.135±0.047**	0.595±0.172**	0.136±0.065*
I-2组	0.212±0.239**	0.059±0.057**	0.058±0.101**	0.329±0.403**	0.099±0.071**

[#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$, 与普通空白组比较; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与高脂空白组比较

表 4. 给药后小鼠血脂指标变化情况 ($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

	TG(mmol/l)	FFA(mmol/l)	TC(mmol/l)	LDL-C(mmol/l)	HDL-C(mmol/l)
普通空白组	1.78±0.21	0.89±0.15	3.13±0.27	1.174±0.460	1.53±0.22
模型对照组	1.67±0.40	0.75±0.20	4.32±0.66 [#]	1.470±0.660 [#]	2.21±0.22 ^{##}
I-1组	0.97±0.21*	0.55±0.14	2.79±0.39**	1.068±0.636	1.70±0.53
I-2组	0.71±0.22**	0.43±0.04*	3.18±0.46*	0.880±0.655*	1.56±0.29*

[#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$, 与普通空白组比较; * $P<0.05$, ** $P<0.01$, 与高脂空白组比较

表 5. 给药后小鼠血清胰岛素浓度变化情况 ($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

	普通空白组	模型对照组	I-1组	I-2组
INS(U/ml)	25.39±5.20	70.81±47.16 ^{##}	20.26±2.69**	22.32±6.39*

[#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$, 与普通空白组比较; * $P<0.05$, ** $P<0.01$, 与高脂空白组比较

表 6 给药后小鼠血清氧化损伤指标变化情况 ($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

	普通空白组	模型对照组	I-1组	I-2组
SOD(U/ml)	538.8±114.1	608.7±150.5	382.3±200.9*	424.1±192.8
MDA(nmol/l)	0.556±0.193	1.383±0.203 [#]	0.810±0.162*	1.288±0.145

[#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$, 与普通空白组比较; * $P<0.05$, ** $P<0.01$, 与高脂空白组比较

3、KM 种小鼠急性毒性试验

3.1 I-1 对小鼠灌胃给药 (ig) 的急性毒性试验

I-1 的急性毒性试验结果表明:

小鼠灌胃 (ig) 给药的 LD₅₀ 值为 2163.8mg/kg。小鼠的中毒症状表现异常反应: 自发活动减少, 常匍卧不动, 体重增长较为缓慢, 动物安静而亡。在给药后约 1 小时动物开始出现死亡, 死亡出现在给药后 1~2 天内, 死亡小鼠肉眼尸检, 脏器未见明显病变。约 48 小时后, 小鼠活动开始增加并恢复正常。

3.2 I-1 对小鼠皮下注射 (sc) 的急性毒性试验

I-1 的急性毒性试验结果表明:

在最大给药容量和最大给药浓度条件下,小鼠 *sc* I-1 2000mg/kg 后动物无死亡,小鼠的中毒症状表现为自发活动减少,常匍卧不动。约 48 小时后,小鼠活动开始增加。与对照组比较,在以后的观察期内体重增长较为缓慢。

4、3T3-L1 细胞培养实验

4.1. 实验方法

4.1.1 MTT 法测定细胞增殖实验

将 3T3-L1 细胞接种于 96 孔细胞培养板中。常规培养 2 d 后,换成含不同浓度(25、50、100、200 μ mol/L) I 系列化合物的 DMEM 培养液,对照组为含 0.1%(V/V)的乙醇(96%)的培养液,每组每个浓度设 3 复孔,处理 2 d。弃去孔中培养液,每孔加 20 μ L MTT 液,37 $^{\circ}$ C 培养 4 h,弃孔中液体,每孔加入 100 μ L DMSO,充分振摇,立即在酶联免疫检测仪上测定吸光度(*A*),测定波长为 570 nm。

4.1.2 油红染色比色实验

4.1.2.1 3T3-L1 细胞在常规培养基中培养,细胞完全汇合后 2 d (此时为分化第 0 d)换分化培养基 I (含 15% FBS、0.5 mmol/L IBMX、10 mg/L 胰岛素、1 μ mol/L DEX 的 DMEM 培养液)培养 2 d。分化第 2 天,换分化培养基 II (含 15% FBS、10 mg/L 胰岛素的 DMEM 培养液)培养细胞。分化第 6 d 及以后相应换液为含 I 系列化合物 DMEM 培养液,对照组为未加药的完全培养液。

4.1.2.2. 油红 O 染色

分化第 8 d 弃孔内培养液, PBS 清洗两次,加入含 10% 甲醛固定细胞 2 h。PBS 清洗两次,0.5% 油红染色 2 h。PBS 清洗 3 次。于 37 $^{\circ}$ C 干燥,加入异丙醇,萃取 10 min,萃取液于 492nm 测定吸光值。

4.1.3 逆转录-聚合酶链式反应 (RT-PCR) 实验

提取分化完全的 3T3-L1 细胞总 RNA,逆转录成 cDNA。引物设计如下:

PPAR γ 2 上游序列: 5'- ACCACTCGCATTCCTTTGAC-3',

下游序列: 5'- TCAGCGGGAAGGACTTTATG-3',

目标产物长度为 567 bp。

GAPDH 上游序列: 5'- GTTCCAGTATGACTCTACCC -3',

下游序列: 5'- AGTCTTCTGAGTGGCAGTGATGGC -3',

目标产物长度为 424 bp。

PCR 扩增条件:预变性 94 $^{\circ}$ C, 5 min。然后 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 57 $^{\circ}$ C 退火 40 s, 72

℃延伸 50 s,共 30 个循环。终末 72 ℃延伸 10 min。然后 1.5%琼脂糖凝胶电泳分析。其中 GAPDH 为内参,以消减不同样品之间的误差。以目的条带的光密度值与同时扩增的 GAPDH 条带的光密度值进行比较分析。

4.2 实验结果

MTT 实验显示本发明化合物对前脂肪细胞 3T3-L1 增殖有显著的抑制作用($P < 0.05$), 见图 1 (母核 4'-甲氧基大豆黄素作对照, *表示与空白组相比 OD 值有显著差异, $p \leq 0.05$)。油红染色比色结果见图 2、图 3 (母核 4'-甲氧基大豆黄素作对照, *表示与空白组相比抑制率有显著差异, $p \leq 0.05$)。图 2 中 A 是 3T3-L1 细胞正常分化过程形态变化 B 是给予 I-1 后 3T3-L1 细胞分化过程形态变化, 其中 A 中的 a、b、c、d 各表示: a. 分化前, 低密度 3T3-L1 细胞形态; b. 分化第 4 天, 较多的 3T3-L1 细胞已经分化成为成熟脂肪细胞, 胞内可以看到“戒环状”脂滴, 有的细胞已经出现大脂滴; c. 分化第 8 天, 90%的细胞已经分化成为成熟脂肪细胞, 细胞进一步增大, 呈圆形, 胞浆丰富, 胞内充满了大脂滴; d. 分化第 8 天, 油红染色, 可见大量红色“戒环状”脂滴。B 中的 a、b、c、d 各表示: a. 分化前, 低密度 3T3-L1 细胞形态; b. 分化第 4 天, 较多的 3T3-L1 细胞已经分化成为成熟脂肪细胞, 出现大脂滴, 与正常分化第 4 天相比, 无明显差别; c. 分化第 8 天, 给药第 2 天, 脂滴较正常分化第 8 天少且小; d. 分化第 8 天, 油红染色, 红色“戒环状”脂滴明显减少。图 2、图 3 表明本发明化合物均具有显著的抑制脂肪分化作用($P < 0.05$)。

RT-PCR 结果显示 (图 4), 在前脂肪细胞 3T3-L1 分化过程中, 经 I-系列化合物 I-1、I-2 作用后, PPAR γ 2-mRNA 表达量升高, 化合物 I-3、I-4 作用后的 PPAR γ 2-mRNA 表达量明显降低。表明化合物 I-1、I-2 可能通过激活 PPAR γ 发挥其生理活性。化合物 I-1、I-2 含不饱和脂肪酸侧链, 而 I-3、I-4 含饱和脂肪酸侧链, 推测 PPAR γ 2-mRNA 的表达量与侧链结构相关。

5. 结论

药理实验显示, 本发明化合物均可减缓高脂受试鼠的体重增长, 减少体内脂肪重量, 能降低血清中总胆固醇量、甘油三酯量和游离脂肪酸含量, 具有一定的减肥、降血脂活性。尤其 I-1 和 I-2, 药理活性最强。

初步药理实验结果显示, 本发明化合物可改善血脂水平、降低血清胰岛素浓度、增强 SOD 的活性, 降低 MDA 含量, 表明其具有清除体内自由基、降低胰岛素抵抗性、调节血糖平衡的作用, 同样适用于 II 型糖尿病。

体外实验显示本发明化合物 I-1 可明显抑制脂肪细胞的分化和增殖, 激活 PPAR γ 2- mRNA 表达, 显示其可能是一个选择性 PPAR γ 调节剂。

与噻唑烷二酮类药物(胰岛素增敏剂)相比, 本发明化合物可以提高胰岛素敏感性, 但同时也可抑制脂肪细胞的分化和增殖, 没有体重增加的副作用, 为糖尿病治疗药物的研发开拓了一个新的方向。

本发明化合物用于预防或治疗肥胖症、高脂血症、清除体内自由基、降低胰岛素抵抗性和调节血糖平衡的作用机制、作用强度和作用时间还需要在进一步的研究中阐明。

本发明进一步涉及通式 (I) 或 (II) 的化合物与药学上可接受的载体组成的药用组合物。

本发明化合物可以单独或与一种或一种以上的药学上可以接受的载体组合制成制剂以供给药。可以用口服剂型给药, 如普通片剂和胶囊、缓释片剂和胶囊、控释片剂和胶囊、滴丸、可分散粉末、颗粒剂等; 也可制备成注射制剂。这些药用制剂中可以含有与载体组合的例如 0.05% 至 90% 重量的活性成分, 更常见约 15% 至 60% 之间重量的活性成分。本发明化合物剂量可以是 0.001~100mg/kg/天, 也可根据疾病程度的不同或剂型的不同偏离此剂量范围。

附图说明

图 1 MTT 法检测 I 系列化合物对前脂肪细胞增殖的影响

图 2 3T3-L1 细胞分化过程形态变化

图 3 本发明部分化合物对前脂肪细胞分化过程的影响

图 4 本发明部分化合物对 3T3-L1 细胞中 PPAR γ 2-mRNA 表达的影响 (1: 空白对照组, 2: I-1 (100 μ mol/L), 3: 母核 (100 μ mol/L), 4: I-2 (100 μ mol/L), 5: pioglitazone (100 μ mol/L), 6: I-3 (100 μ mol/L), 7: I-4 (100 μ mol/L).)

具体实施方式

部分化合物的制备实例如下:

熔点用 XT4 型显微熔点测定仪; 核磁共振氢谱仪为 Bruker AV 500 型(TMS 为内标); 质谱仪为岛津 GCMS-QP2010 型质谱仪; 红外光谱仪为 Nicolet Impact 410 型 (KBr 压片); 元素分析仪为 Elementar Vario EL III。

实施例 1

4'-甲氧基大豆黄素的制备

用新蒸的三氟化硼乙醚溶液 50ml 溶解间苯二酚 3.60g (32.5mmol)，再加入对甲氧基苯乙酸 5.00g (30.0mmol)。混合物在 100℃ 反应 1 个小时。冷却后加入乙醚 100ml 稀释，用饱和碳酸氢钠溶液洗萃取三次，有机相加入无水硫酸钠干燥过夜。减压浓缩除去溶剂，粗品用无水乙醇重结晶，得到类白色粉末 5.95g，产率 77%，mp150-152℃，MS (EI) m/e: 259[M+H]⁺。

取上步产物 5.16g (20.0mmol)、DMF-DMA (N,N-二甲基甲酰胺二甲缩醛) 4.80g (40.0mmol) 溶入无水甲苯 60ml 中，加热回流 2 个小时，静置冷却析出固体。过滤后用 95% 的乙醇重结晶，得到淡黄色产物 4'-甲氧基大豆黄素 4.02g，产率 75%，mp256-258℃。MS (ESI) m/e: 269[M+H]⁺。

实施例 2

4'-甲氧基-7-O-油酰基大豆黄素(I-1)的制备

将 4'-甲氧基大豆黄素 1.0g(3.7mmol)溶解于二氯甲烷 20ml 中，加入无水吡啶 2ml，加热升温至回流 60℃。加入油酰氯 2.24g(7.5mmol)，反应 2 个小时。反应液用稀盐酸溶液洗涤三次，有机相用无水硫酸钠干燥过夜。浓缩除去溶剂，所得粗品用无水乙醇重结晶。得到白色细粒状固体(I-1) 1.81g，产率 92%，mp76-80℃。

IR (KBr) 1743cm⁻¹, 1645cm⁻¹。

¹H-NMR(CDCl₃) δ0.88(t, 3H -CH₃), δ2.60(t 2H -CO-CH₂-), δ3.84(s 3H -OCH₃), δ5.37(m 2H -CH=CH-), δ7.15(dd 1H C6-H), δ7.28(d 1H C8-H), δ7.97(s 1H C2-H), δ8.31(d 1H C5-H)。

MS(EI) m/e: 532。

元素分析: C₃₄H₄₄O₅ 理论: C:76.66% H:8.32%; 实测: C:76.22% H:8.03%。

实施例 3

4'-甲氧基-7-O-亚油酰基大豆黄素(I-2) 的制备

加入亚油酰氯 2.22g (7.5mmol)，类似化合物(I-1)的方法，得到白色细粒状固体(I-2) 1.13g，产率 57%，mp68-74℃。

IR (KBr) 1761cm⁻¹, 1638cm⁻¹。

¹H-NMR(CDCl₃) δ0.88(t, 3H -CH₃), δ2.60(t 2H -CO-CH₂-), δ3.85(s 3H -OCH₃), δ7.14(dd 1H C6-H), δ7.28(d 1H C8-H), δ7.97(s 1H C2-H), δ8.31(d 1H C5-H)。

MS(EI) m/e: 530。

元素分析: $C_{34}H_{42}O_5 \cdot 0.5H_2O$ 理论: C:75.66% H:8.03%; 实测: C:76.08% H:8.03%。

实施例 4

4'-甲氧基-7-O-硬脂酰基大豆黄素(I-3) 的制备

加入硬脂酰氯 2.25g(7.5mmol), 类似化合物(I-1)的方法, 得到白色细粒状固体(I-3) 1.59g, 产率 80%, mp98-100°C。

IR (KBr) $1762cm^{-1}$, $1638cm^{-1}$ 。

1H -NMR($CDCl_3$) δ 0.88(t, 3H -CH₃), δ 2.61(t 2H -CO-CH₂-), δ 3.85(s 3H -OCH₃), δ 7.15(dd 1H C6-H), δ 7.29(d 1H C8-H), δ 7.98(s 1H C2-H), δ 8.31(d 1H C5-H)。

MS(EI) m/e: 534。

元素分析: $C_{34}H_{46}O_5 \cdot 0.5H_2O$ 理论: C:75.10% H:8.71%; 实测: C:75.08% H:8.78%。

实施例 5

4'-甲氧基-7-O-棕榈酰基大豆黄素(I-4) 的制备

加入棕榈酰氯 2.05g(7.5mmol), 类似化合物(I-1)的方法, 得到白色丝状结晶(I-4) 1.38g, 产率 73%, mp102-104°C。

IR (KBr) $1763cm^{-1}$, $1638cm^{-1}$ 。

1H -NMR($CDCl_3$) δ 0.92(t, 3H -CH₃), δ 2.65(t 2H -CO-CH₂-), δ 3.89(s 3H -OCH₃), δ 7.19(dd 1H C6-H), δ 7.32(d 1H C8-H), δ 8.02(s 1H C2-H), δ 8.35(d 1H C5-H)。

MS(EI) m/e: 506。

元素分析: $C_{32}H_{42}O_5$ 理论: C:75.86% H:8.35%; 实测: C:75.90% H:8.67%。

实施例 6

4'-甲氧基-7-O-十一烯酰基大豆黄素(I-5) 的制备

加入十一烯酰氯 1.51g(7.5mmol), 类似化合物(I-1)的方法, 得到白色片状结晶(I-5) 1.07g, 产率 66%, mp79-82°C。

IR (KBr) $1744cm^{-1}$, $1646cm^{-1}$ 。

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 2.60(t 2H -CO-CH₂-), δ 3.83(s 3H -OCH₃), δ 4.95(dd 2H CH₂=), δ 5.82(m 1H -CH=), δ 7.14(dd 1H C6-H), δ 7.27(d 1H C8-H), δ 7.96(s 1H C2-H), δ 8.30(d 1H C5-H)。

MS(EI) m/e: 434。

元素分析: C₂₇H₃₀O₅ 理论: C:74.63% H:6.96%; 实测: C:74.53% H:6.93%。

实施例 7

7-甲氧基大豆黄素的制备

用新蒸的三氟化硼乙醚溶液 36ml 溶解对羟基苯乙酸 9.00g(59.0mmol), 再加入间甲氧基苯酚 9.6ml(88.0mmol)。混合物在 102℃ 反应 3 个小时。冷却后慢慢倾入饱和碳酸氢钠溶液 150ml 中, 剧烈搅拌, 滤出析出的红色的固体, 用无水乙醇重结晶, 得到 2-羟基-4-甲氧基-4'-羟基脱氧安息香的类白色粉末 7.52g, 产率 48.6%, mp150-152℃。

MS(EI) m/e: 258。

取上步产物 6.00g(23.0mmol)、DMF-DMA(N,N-二甲基甲酰胺二甲缩醛)8.00g(67.0mmol)溶入无水甲苯 20ml 中, 加热回流 2 个小时, 静置冷却析出固体。过滤后所得粗品用无水甲醇重结晶, 得到 7-甲氧基大豆黄素的浅黄色粉末 5.11g, 产率 82%, mp215-218℃。

MS(ESI) m/e: 269[M+H]⁺。

实施例 8

7-甲氧基-4'-O-油酰基大豆黄素(II-1)的制备

将 7-甲氧基大豆黄素 1.0g(3.7mmol) 溶解于二氯甲烷 20ml 中, 加入无水吡啶 2ml, 加热升温至回流。滴加油酰氯 2.24g(7.5mmol), 反应 2 个小时。反应液用稀盐酸溶液洗涤三次, 有机相用无水硫酸钠干燥过夜。浓缩除去溶剂, 所得粗品用无水乙醇重结晶。得到白色细粒状固体(II-1) 1.61g, 产率 81%, mp76-78℃。

IR (KBr) 1746cm⁻¹, 1639cm⁻¹。

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 0.88(t, 3H -CH₃), δ 2.56(t 2H -CO-CH₂-), δ 3.92(s 3H -OCH₃), δ 5.36(m 2H -CH=CH-), δ 6.85(d 1H C8-H), δ 6.99(dd 1H C6-H), δ 7.94(s 1H C2-H), δ 8.21(d 1H C5-H)。

MS(EI) m/e: 532。

元素分析: $C_{34}H_{44}O_5$ 理论: C:76.66% H:8.32%; 实测: C:76.86% H:8.48%。

实施例 9

7-甲氧基-4'-O-亚油酰基大豆黄素(II-2)的制备

加入亚油酰氯 2.22g(7.5mmol), 类似化合物(II-1)的方法, 得到白色细粒状固体(II-2) 1.36g, 产率 69%, mp58-62℃。

IR (KBr) 1746cm^{-1} , 1639cm^{-1} 。

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 0.88(t, 3H -CH₃), δ 2.56(t 2H -CO-CH₂-), δ 3.90(s 3H -OCH₃), δ 6.85(d 1H C8-H), δ 6.99(dd 1H C6-H), δ 7.93(s 1H C2-H), δ 8.21(d 1H C5-H)。

MS(EI) m/e: 530。

元素分析: $C_{34}H_{42}O_5$ 理论: C:76.95% H:7.98%; 实测: C:76.64% H:8.02%。

实施例 10

7-甲氧基-4'-O-硬脂酰基大豆黄素 (II-3)的制备

加入硬脂酰氯 2.25g(7.5mmol), 类似化合物(II-1)的方法, 得到白色细粒状固体(II-3)1.69g, 产率 85%, mp98-102℃。

IR (KBr) 1746cm^{-1} , 1639cm^{-1} 。

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 0.88(t, 3H -CH₃), δ 2.57(t 2H -CO-CH₂-), δ 3.92(s 3H -OCH₃), δ 6.87(d 1H C8-H), δ 7.00(dd 1H C6-H), δ 7.95(s 1H C2-H), δ 8.21(d 1H C5-H)。

MS(EI) m/e: 534。

实施例 11

7-甲氧基-4'-O-棕榈酰基大豆黄素 (II-4) 的制备

加入棕榈酰氯 2.05g(7.5mmol), 类似化合物 (II-1) 的方法, 得到白色固体 (II-4) 1.72g, 产率 91%, mp96-100℃。

IR (KBr) 1745cm^{-1} , 1638cm^{-1} 。

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 0.88(t, 3H -CH₃), δ 2.56(t 2H -CO-CH₂-), δ 3.92(s 3H -OCH₃), δ 6.86(d 1H C8-H), δ 7.00(dd 1H C6-H), δ 7.94(s 1H C2-H), δ 8.21(d 1H C5-H)。

MS(EI) m/e: 506。

实施例 12

7-甲氧基-4'-O-十一烯酰基大豆黄素 (II-5) 的制备

加入十一烯酰氯 1.51g(7.5mmol), 类似化合物 (II-1) 的方法, 得到白色固体 (II-5) 1.21g, 产率 75%, mp88-90°C。

IR (KBr) 1746cm⁻¹, 1639cm⁻¹。

¹H-NMR(CDCl₃) δ2.56(t 2H -CO-CH₂-), δ3.92(s 3H -OCH₃), δ4.96(dd 2H CH₂=), δ5.81(m 1H -CH=), δ6.86(d 1H C8-H), δ7.00(dd 1H C6-H), δ7.94(s 1H C2-H), δ8.21(d 1H C5-H)。

MS(EI) m/e: 434。

元素分析: C₂₇H₃₀O₅ 理论: C:74.63% H:6.96%; 实测: C:74.63% H:7.04%。

实施例 13

3',4'-二甲氧基大豆黄素的制备

用新蒸的三氟化硼乙醚溶液 50ml 溶解间苯二酚 3.60g (32.5mmol), 再加入 3,4-二甲氧基苯乙酸 5.88g (30.0mmol)。混合物在 100°C 反应 1 个小时。冷却后加入乙醚 100ml 稀释, 用饱和碳酸氢钠溶液洗萃取三次, 有机相加入无水硫酸钠干燥过夜。减压浓缩除去溶剂, 粗品用无水乙醇重结晶, 得到类白色粉末 6.0g, 产率 70%, mp150-154°C, MS (EI) m/e: 289[M+H]⁺。

取上步产物 5.76g (20mmol)、DMF-DMA (N,N-二甲基甲酰胺二甲缩醛) 4.80g (40.0mmol) 溶入无水甲苯 60ml 中, 加热回流 2 个小时, 静置冷却析出固体。过滤后用 95%的乙醇重结晶, 得到淡黄色产物 3',4'-二甲氧基大豆黄素 4.0g, 产率 67%, mp258-260°C。MS (ESI) m/e: 299[M+H]⁺。

实施例 14

3',4'-二甲氧基-7-O-油酰基大豆黄素(I-6)的制备

将 3',4'-二甲氧基大豆黄素 1.1g(3.7mmol)溶解于二氯甲烷 20ml 中, 加入无水吡啶 2ml, 加热升温至回流 60°C。加入油酰氯 2.24g(7.5mmol), 反应 2 个小时。反应液用稀盐酸溶液洗涤三次, 有机相用无水硫酸钠干燥过夜。浓缩除去溶剂, 所得粗品用无水乙醇重结晶。得到白色细粒状固体(I-6) 1.6g, 产率 77%, mp74-76°C。

IR (KBr) 1745cm⁻¹, 1645cm⁻¹。

¹H-NMR(CDCl₃) δ0.88(t, 3H -CH₃), δ2.60(t 2H -CO-CH₂-), δ3.85(s 6H

-OCH₃), δ 5.37(m 2H -CH=CH-), δ 7.17(dd 1H C6-H), δ 7.30(d 1H C8-H), δ 8.01(s 1H C2-H), δ 8.30(d 1H C5-H)。

MS(EI) m/e: 562。

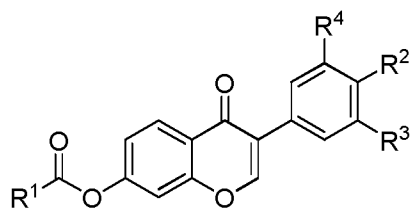
元素分析: C₃₅H₄₆O₆ 理论: C:74.70% H:8.24%; 实测: C:74.67% H:8.25%。

实施例 15

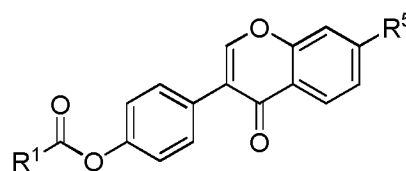
取实施例 2 方法中制备的化合物 25g, 大豆油 35g, 混合均匀制成囊化液, 常规方法制备囊壳液, 压制软胶囊。

权利要求书

1、下列通式 I 或 II 的化合物、其药学上可接受的盐或其前药：



I



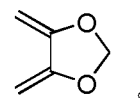
II

其中 R^1CO 代表 C_{11} - C_{30} 脂肪酰基，所述脂肪酰基由 C_{11} - C_{30} 饱和或不饱和脂肪酸脱去羟基形成；

R^2 、 R^3 、 R^4 各自独立地代表 H、OH、OR'、SR'、NHR'、 $N(CH_3)_2$ 、 NO_2 、卤素、 CF_3 或 $C(O)R'$ ，其中， R' 代表 C_1 - C_4 烷基，并且当 R^3 、 R^4 同时代表 H 时， R^2 不代表 OH；

R^5 代表 H、OR'、SR'、NHR'、 $N(CH_3)_2$ 、 NO_2 、卤素、 CF_3 或 $C(O)R'$ ，其中， R' 代表 C_1 - C_4 烷基；

当 R^4 代表 H 时， R^2 和 R^3 还可与它们结合的碳原子一起形成：



2、根据权利要求 1 所述的化合物、其药学上可接受的盐或其前药，其中 R^1CO 代表由油酸、亚油酸、十一烯酸、亚麻酸、共轭亚油酸、硬脂酸、棕榈油酸、二十碳四烯酸、二十碳五烯酸、二十碳酸、二十二碳六烯酸、月桂酸、癸酸、辛酸或蜂王酸脱去羟基形成的脂肪酰基。

3、根据权利要求 2 所述的化合物、其药学上可接受的盐或其前药，其中 R^1CO 代表油酰基、亚油酰基、亚麻酰基、共轭亚油酰基或棕榈油酰基。

4、根据权利要求 1 所述的化合物、其药学上可接受的盐或其前药，其中 R^2 代表 H、OH、 OCH_3 、 SCH_3 、 $NHCH_3$ 、 $N(CH_3)_2$ 、 NO_2 、卤素、 CF_3 或 $C(O)CH_3$ 。

5、根据权利要求 4 所述的化合物、其药学上可接受的盐或其前药，其中 R^2 代表 OCH_3 。

6、根据权利要求 1 所述的化合物、其药学上可接受的盐或其前药，其中 R^3 、 R^4 代表 H、OH 或 OCH_3 。

7、根据权利要求 1 所述的化合物、其药学上可接受的盐或其前药，其中 R^5 代表 H、 OCH_3 、 SCH_3 、 $NHCH_3$ 、 $N(CH_3)_2$ 、 NO_2 、卤素、 CF_3 或 $C(O)CH_3$ 。

8、根据权利要求 7 所述的化合物、其药学上可接受的盐或其前药，其中 R^5 代表 OCH_3 。

9、一种药物组合物，其中含有权利要求 1 至 8 中任一项的化合物、其药学上可接受的盐或其前药及药学上可接受的载体。

10、权利要求 1 至 8 中任一项的化合物、其药学上可接受的盐或其前药用于制备预防或治疗高脂血症、肥胖症或 II 型糖尿病的药物用途。

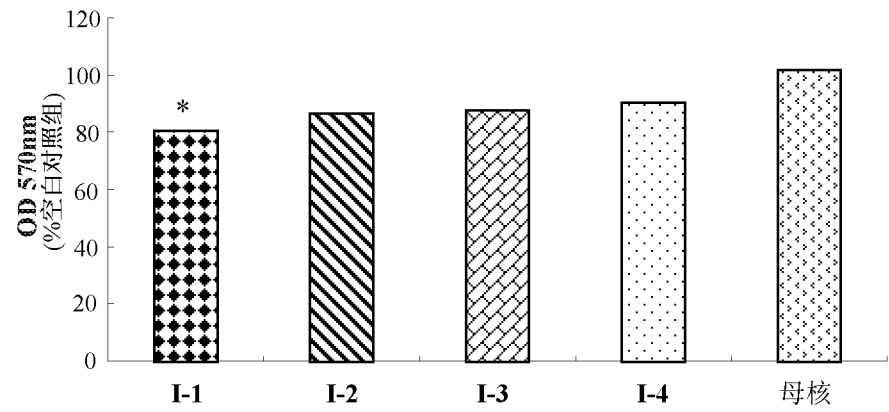


图 1

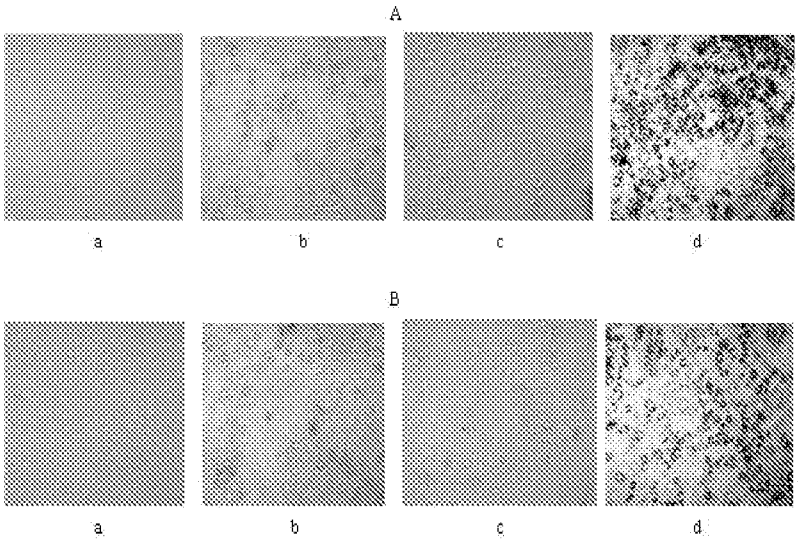


图 2

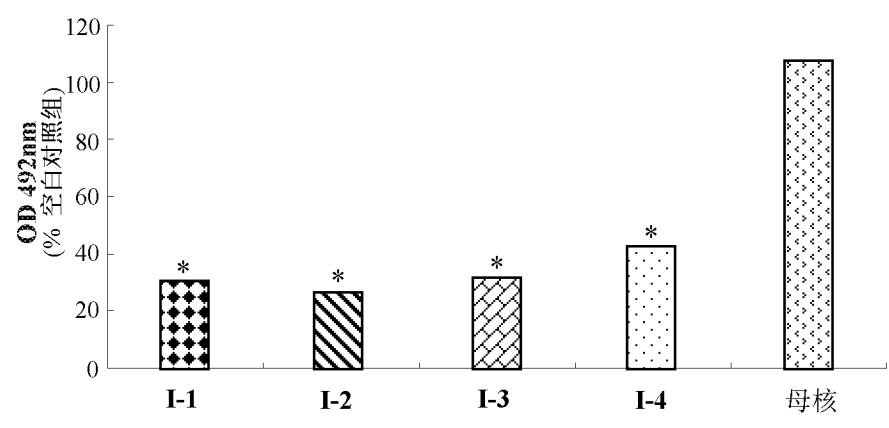
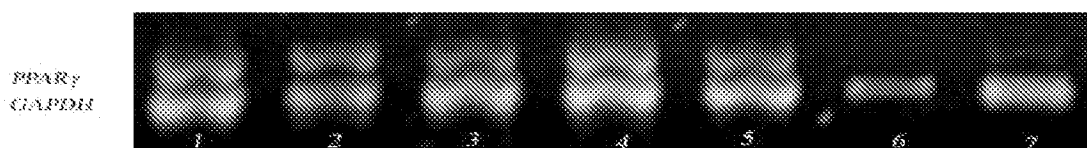


图 3

A



B

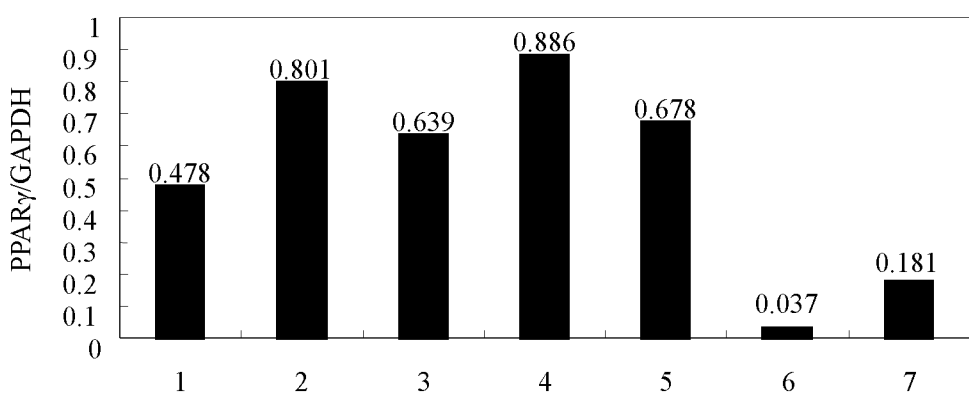


图 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2010/070808

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See extra sheet

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)

IPC: C07D311/36, A61P3/04, A61P3/06, A61P3/10

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)

CNPAT, CNKI, WPI, EPODOC, REG, CAPLUS, daidzein, isoflavone, hyperlipidemia, obesity, diabetes, PPAR, substructure search according to formulae I and II**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
E	CN101712671 A (UNIV CHINA PHARM) 26 May 2010 (26.05.2010), see the whole document	1-10
X	WO2009026657 A1 (UNIV SYDNEY) 5 Mar. 2009 (05.03.2009), see formulae 1 and 1a, pages 16-21 and 82 in the description, and claims 17-25	1-10
A	LEWIS, P. T., et al., "Synthesis of Antioxidant Isoflavone Fatty Acid Esters", Tetrahedron, 2000, Vol. 56, No. 39, pages 7805-7810	1-10
A	JP2009001515 A (FUTAMURA Y) 08 Jan. 2009 (08.01.2009), see formulae 1-4	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	"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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
"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)	"&" document member of the same patent family
"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	

Date of the actual completion of the international search
06 Aug. 2010 (06.08.2010)Date of mailing of the international search report
25 Nov. 2010 (25.11.2010)Name and mailing address of the ISA/CN
The State Intellectual Property Office, the P.R.China
6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing, China
100088
Facsimile No. 86-10-62019451

Authorized officer

XU Chi

Telephone No. (86-10)62086336

International application No.
PCT/CN2010/070808

Form PCT/ISA /210 (patent family annex) (July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2010/070808

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

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

C07D311/36 (2006.01) i

A61K31/352 (2006.01) i

A61P3/04 (2006.01) i

A61P3/06 (2006.01) i

A61P3/10 (2006.01) i

A. 主题的分类

参见附加页

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)

IPC: C07D311/36, A61P3/04, A61P3/06, A61P3/10

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))

CNPAT, CNKI, WPI, EPODOC, REG, CAPLUS, 大豆黄素, 异黄酮, 肥胖, 高脂血, 糖尿病, daidzein, isoflavone, hyperlipidemia, obesity, diabetes, PPAR, 根据式 I 和 II 进行了结构式检索

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
E	CN101712671 A (中国药科大学) 26.5 月 2010 (26.05.2010), 参见全文	1-10
X	WO2009026657 A1(UNIV SYDNEY) 05.3 月 2009 (05.03.2009), 参见式 1 和 1a, 说明书第 16-21 和 82 页, 权利要求 17-25	1-10
A	LEWIS, P. T.等, "Synthesis of Antioxidant Isoflavone Fatty Acid Esters", Tetrahedron, 2000 年, 第 56 卷, 第 39 期: 7805-7810 页	1-10
A	JP2009001515 A (FUTAMURA Y) 08.1 月 2009 (08.01.2009), 参见式 1-4	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

06.8 月 2010 (06.08.2010)

国际检索报告邮寄日期

25.11 月 2010 (25.11.2010)

ISA/CN 的名称和邮寄地址:

中华人民共和国国家知识产权局

中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088

传真号: (86-10)62019451

受权官员

徐赤

电话号码: (86-10) 62086336

关于同族专利的信息

PCT/CN2010/070808

PCT/ISA/210 表(同族专利附件) (2009 年 7 月)

A. 主题的分类

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

C07D311/36 (2006.01) i

A61K31/352 (2006.01) i

A61P3/04 (2006.01) i

A61P3/06 (2006.01) i

A61P3/10 (2006.01) i