



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108117545 A

(43)申请公布日 2018.06.05

(21)申请号 201810012320.7

(22)申请日 2018.01.05

(71)申请人 张玉叶

地址 250001 山东省济南市历下区文化西路44号山东大学东门小东村

(72)发明人 张玉叶

(51) Int. Cl.

C07D 405/04(2006.01)

A61P 3/10(2006.01)

A61P 3/04(2006.01)

权利要求书1页 说明书7页

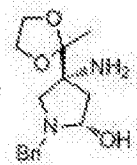
(54)发明名称

一种G蛋白偶联受体激动剂及其在治疗糖尿病中的应用

(57)摘要

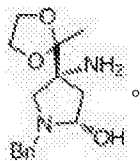
本发明公开了一种化合物的结构,其结构式

为:

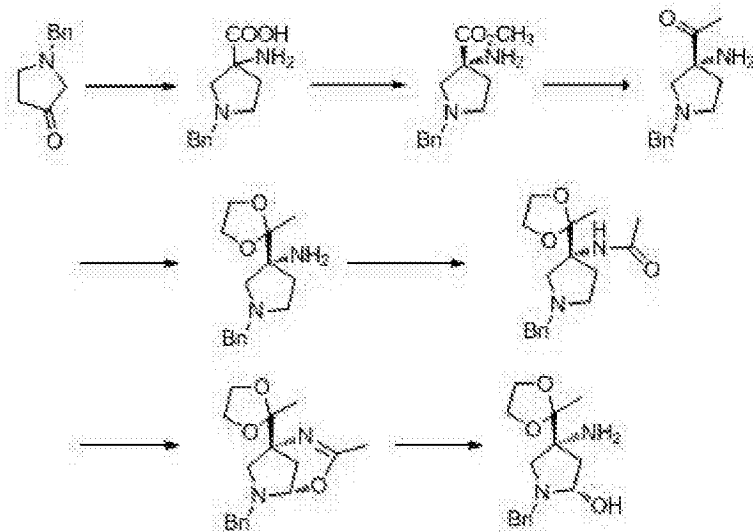


,本结构经过活性测定发现具有G蛋白偶联受体119激动剂的作用,G蛋白偶联受体119激动剂具有不引起患者低血糖以及促进GLP-1分泌的功能,本发明化合物可以作为抗糖尿病药物进一步研发。此外,本发明还公开了所述化合物的合成路线和合成方法。

1. 一种化合物,其结构式为:



2. 如权利要求1所述的化合物,其合成路线为:



3. 如权利要求1所述的化合物作为G蛋白偶联受体119激动剂的应用。

4. 如权利要求1所述的化合物在糖尿病治疗中的应用。

5. 如权利要求1所述的化合物在制备减轻体重药物中的应用。

一种G蛋白偶联受体激动剂及其在治疗糖尿病中的应用

技术领域

[0001] 本发明属于药物设计和化学合成领域,涉及一种G蛋白偶联受体119激动剂及其在糖尿病中的应用。

背景技术

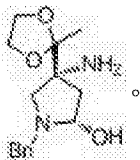
[0002] 研究发现,部分G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPCRs)对胰岛B细胞有刺激效应,它们在胰岛B细胞中有高水平表达。其中G蛋白偶联受体119(GPR119)是近年发现的治疗糖尿病重要靶标。GPR119与激动剂结合后,通过cAMP信号转导途径,促进葡萄糖依赖性胰岛素和肠肽激素的分泌,是新一代治疗2型糖尿病药物靶点。

[0003] GPR119受体是G蛋白偶联受体超家族中的一员,能与油酰基乙醇酰胺(OEA)、十八烯酸单甘油酯(20G)和大麻素结合,促进体内GLP-1和GIP水平,使胰岛β细胞增殖,促进胰岛素分泌,降低食欲,延迟胃排空,从而使葡萄糖依赖的刺激胰岛素释放增加,降血糖的同时抑制食欲和减轻体重。

[0004] GPR119作为一个很有前景的抗糖尿病新靶点,近年来受到广泛关注。GPR119激动剂具有不引起患者低血糖以及促进GLP-1分泌的功能,因此较传统抗糖尿病药物有很大优势。此外,还有研究报道该类激动剂具有改善胰岛B细胞功能及减轻体重等作用。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供一种化合物,其结构式为:

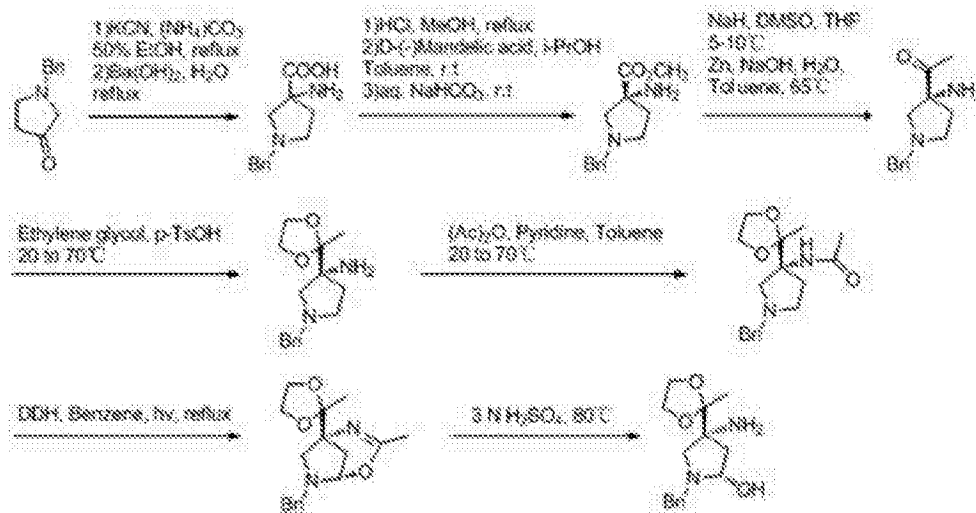


[0006] 本发明的另一目的在于提供所述的化合物作为G蛋白偶联受体119激动剂的应用。

[0007] 本发明的另一目的在于提供所述化合物在糖尿病治疗中的应用,所述化合物在制备治疗糖尿病药物中的应用,所述化合物在制备降低血糖和降低糖尿药物中的应用。

[0008] 本发明的另一目的在于提供所述化合物在制备减轻体重药物中的应用。

[0009] 本发明的另一目的在于提供一种所述化合物的合成路线:



[0010] 本发明的另一目的在于提供一种所述化合物的合成方法，具体是4-氨基-1-苄基-4-(2-甲基-1,3-二氧戊环-2-基)吡咯烷-2-醇的合成，其合成步骤如下：

1) 将1-苄基吡咯烷-3-酮、氰化钾和碳酸铵加至乙醇中，加热回流，然后在氮气保护下，与氢氧化钡加至水中，加热回流。然后加水，用硫酸调节pH至酸性，过滤干燥即可得3-氨基-1-苄基吡咯烷-3-羧酸；

2) 将3-氨基-1-苄基吡咯烷-3-羧酸加到无水甲醇中，冰浴下通入氯化氢至饱和，加热回流，用饱和碳酸氢钠水溶液调节pH至弱碱性，经甲苯的提取，无水硫酸钠干燥，过滤后。将其加入到甲苯和异丙醇的混合液中，加入*D*-(-)-扁桃酸得到具有一定构型的产品(R)-3-氨基-1-苄基吡咯烷-3-羧酸甲酯；

3) 氮气保护下将NaH加至DMSO和THF的混合液中，再滴入(R)-3-氨基-1-苄基吡咯烷-3-羧酸甲酯的THF溶液，搅拌，加水和浓盐酸调节pH至酸性，再经过洗涤，干燥，过滤，得到黄色油状物，然后，在装有锌粉、水和氢氧化钠的溶液中滴入如上所得的热甲苯溶液，再经搅拌、过滤、调节pH，静置，提取，干燥过滤后得(R)-1-(3-氨基-1-苄基吡咯烷-3-基)-2-(甲基亚磺酰基)乙-1-酮；

4) 将步骤1-3得到的产物、乙二醇和对甲苯磺酸溶于甲苯中，加热回流，依次经过洗涤，干燥，过滤，浓缩，结晶得到(R)-1-苄基-3-(2-甲基-1,3-二氧戊环-2-基)吡咯烷-3-胺；

5) 将上一步的产物加入吡啶和乙酸酐，搅拌，过滤，滤饼干燥，得白色粉末状固体(R)-N-(1-苄基-3-(2-甲基-1,3-二氧戊环-2-基)吡咯烷-3-基)乙酰胺；

6) 氮气保护下将上面的产物溶于无水苯中，加热回流，加入DDQ然后置于500 W紫外灯下搅拌，依次经过洗涤，萃取，干燥，过滤，剩余物再经柱色谱分离，得橙色固体(R)-6-苄基-3-甲基-1-(2-甲基-1,3-二氧戊环-2-基)-4-氧杂-2,6-二氮杂双环[3.2.1]辛-2-烯；

7) 将上一步的产物和硫酸加热，30个小时后冷却至50℃，再经过洗涤，提取，调至pH，洗涤，干燥，过滤，剩余物经硅胶柱色谱分离，得橙红色粉末状固体(R)-4-氨基-1-苄基-4-(2-甲基-1,3-二氧戊环-2-基)吡咯烷-2-醇。

[0011] 进一步地，步骤1)中的乙醇的百分含量是指40-80%，优选50%，调节溶液pH为酸性时用的硫酸的浓度范围可以是3-8mol/L，优选6mol/L，调节溶液pH为碱性时可以用氢氧化钠，碳酸氢钠，三乙胺，优选三乙胺。

[0012] 进一步地，步骤2)中调节溶液pH为碱性时可以用氢氧化钠，碳酸氢钠，三乙胺，优

选碳酸氢钠。

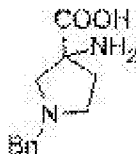
[0013] 进一步地,步骤4)中洗涤用的碳酸钠水溶液浓度为0.01-0.1mol/L,优选0.05mol/L。

[0014] 进一步地,步骤6)中洗脱液用的是甲醇和二氯乙烷,比例为1:39-1:69,优选1:49。步骤7)中洗脱液用的是甲醇和二氯甲烷,比例为1:9-1:29,优选1:19。

[0015] 进一步地,步骤7)中硫酸浓度范围为2-5 mol/L,优选3 mol/L。

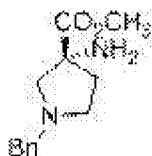
具体实施方式

[0016] 实施例1:3-氨基-1-苄基吡咯烷-3-羧酸的合成



1-苄基吡咯烷-3-酮(8.76g,0.05mol)、氰化钾(5.86g,0.09mol)和碳酸铵(50.7 g, 0.65mol)加至50%乙醇(135mL)中,加热回流3个小时。常压蒸除乙醇,剩余物冷却析晶,过滤,得棕色粉末状固体3-氨基-1-苄基吡咯烷-3-甲腈(8.09 g,80.4%)。氮气保护下,将如上所得化合物和氢氧化钡(63.40 g,0.37 mol)加至水(300 mL)中,加热回流36个小时。冷却至室温,加入水(100 mL),用6 mol/L硫酸(约100 mL)调节pH为3。过滤,滤液中加入三乙胺(约40 mL)调至pH=6,静置析晶后过滤,滤饼干燥,得棕色粉末状固体3-氨基-1-苄基吡咯烷-3-羧酸(7.42 g,83.8%)。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.49(s, 1H), 1.87(s, 1H), 1.94(m, 1H), 2.32(m, 1H), 2.51(m, 1H), 2.67(d, 1H), 2.90-3.02(m, 2H), 3.50(s, 1H), 4.32(s, 1H), 7.19-7.31(m, 5H)。¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 35.96, 50.76, 63.18, 63.23, 69.59, 127.17, 128.27, 128.74, 138.57, 176.81。LC-MS (ESI, pos, ion) m/z: 221 [M+H]。

[0017] 实施例2:(R)-3-氨基-1-苄基吡咯烷-3-羧酸甲酯的合成

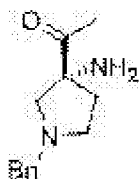


3-氨基-1-苄基吡咯烷-3-羧酸(4.41 g,0.02 mol)加至无水甲醇(99 mL)中,冰浴下通入氯化氢至饱和,加热回流10个小时。减压蒸除甲醇,剩余物中加入水(160 mL),用饱和碳酸氢钠水溶液(约120 mL)调至pH=8~9。用甲苯(60 mL×3)提取,合并有机层,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液蒸除甲苯,得黄色油状物3-氨基-1-苄基吡咯烷-3-羧酸甲酯(3.51 g, 75.0%)。直接用于下一步反应。

[0018] 如上所得3-氨基-1-苄基吡咯烷-3-羧酸甲酯(3.51 g,0.015 mol)加入到甲苯(60.5 mL)和异丙醇(6.6 mL)的混合液中。加入D-(-)-扁桃酸(2.49 g,0.015 mol),室温搅拌3个小时,过滤,滤饼加入0.5 mol/L碳酸钠水溶液(50 mL)中。用甲苯(10 mL×3)提取,合并有机相,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压蒸除甲苯,得白色油状物(R)-3-氨基-1-苄基吡咯烷-3-羧酸甲酯(1.97 g,56%), $[\alpha]_{D26} -7.62^{\circ}$ (c 1.03, CHCl₃)。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.47(s, 1H), 1.94-2.05(m, 2H), 2.45-2.63(m, 2H), 2.76-2.92(m, 2H),

3.04 (d, 1H), 3.45 (s, 1H), 3.67 (s, 3H), 4.28 (s, 1H), 7.20-7.29 (m, 5H). ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 34.59, 50.76, 52.61, 61.94, 62.02, 63.23, 127.17, 128.27, 128.74, 138.57, 176.23. LC-MS (ESI, pos, ion) m/z: 235 [M+H].

[0019] 实施例3: (R)-1-(3-氨基-1-苄基吡咯烷-3-基)乙-1-酮的合成



氮气保护下将60%NaH(0.52 g, 0.022 mol)加至DMSO(3 mL)和THF(4 mL)的混合液中,加热至65℃搅拌1.5个小时。冷却至5~10℃。氮气保护下滴入(R)-3-氨基-1-苄基吡咯烷-3-羧酸甲酯(1.97 g, 8.4 mmol)的THF(4 mL)溶液,滴毕同温搅拌1个小时。加入水(22.5 mL),用浓盐酸(约5 mL)调至pH=2.5。用甲苯(20 mL×2)洗涤,加入7.5 mol/L氢氧化钠水溶液(约8 mL),用乙酸乙酯提取(10 mL×3),合并有机层,依次用饱和食盐水(10 mL)和水(10 mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压蒸除溶剂,得黄色油状物(R)-1-(3-氨基-1-苄基吡咯烷-3-基)-2-(甲基亚磺酰基)乙-1-酮(1.89 g, 80.1%)。

[0020] 把锌粉(1.31 g, 0.02 mol)加至水(13.5 mL)中,加热至65℃,滴入7.5 mol/L氢氧化钠水溶液(6.7 mL),滴毕搅拌1个小时。滴入如上所得(R)-1-(3-氨基-1-苄基吡咯烷-3-基)-2-(甲基亚磺酰基)乙-1-酮(1.89 g, 6.74 mmol)的热甲苯(33.7 mL)溶液,65℃搅拌2个小时。过滤,滤液中加1 mol/L盐酸(约3 mL)调至pH=9.0,静置分层,分离有机相。水层用甲苯(7.5 mL)提取,合并有机相,无水硫酸钠干燥后过滤,滤液浓缩,剩余物冷却析晶,过滤,滤饼用甲苯洗涤,干燥后得到白色固体(R)-1-(3-氨基-1-苄基吡咯烷-3-基)乙-1-酮(1.12 g, 76%)。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.48 (s, 1H), 1.60 (s, 1H), 1.86-1.95 (m, 1H), 2.10 (s, 3H), 2.28-2.52 (m, 2H), 2.66-2.84 (m, 2H), 2.94 (d, 1H), 3.39 (s, 1H), 4.21 (s, 1H), 7.20-7.31 (m, 5H). ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 24.32, 32.25, 50.76, 63.23, 63.58, 68.73, 127.17, 128.27, 128.74, 138.57, 209.36. LC-MS (ESI, pos, ion) m/z: 219 [M+H].

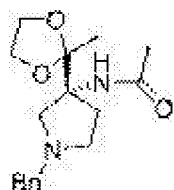
[0021] 实施例4: (R)-1-苄基-3-(2-甲基-1,3-二氧戊环-2-基)吡咯烷-3-胺的合成



(R)-1-(3-氨基-1-苄基吡咯烷-3-基)乙-1-酮(0.41 g, 1.86 mmol)、乙二醇(2.54 mL)和对甲苯磺酸(0.11 g, 0.62 mmol)溶于甲苯(75 mL)中,加热回流分液除水4个小时。反应液依次用水(20 mL)、0.05 mol/L碳酸钠水溶液(30 mL)和水(30 mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液浓缩,剩余物冷却析晶,过滤,滤饼用甲苯洗涤,干燥后得黄色固体(R)-1-苄基-3-(2-甲基-1,3-二氧戊环-2-基)吡咯烷-3-胺(0.40 g, 81.2%), $[\alpha]_{D27} -291.4^\circ$ (c 0.01, CHCl₃)。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.27 (s, 3H), 1.60-1.75 (m, 2H), 1.98 (s, 1H), 2.10-2.21 (m, 1H), 2.35-2.66 (m, 3H), 2.87 (m, 1H), 3.47 (s, 1H), 3.76-3.96 (m, 4H), 4.25 (s, 1H), 7.20-7.31 (m, 5H). ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 21.13, 30.35,

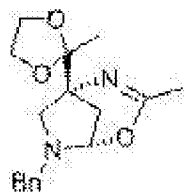
51.74, 61.90, 63.23, 66.26, 109.28, 127.17, 128.27, 128.74, 138.57. LC-MS (ESI, pos, ion) m/z : 263[M+H].

[0022] 实施例5: (R)-N-(1-苄基-3-(2-甲基-1,3-二氧戊环-2-基)吡咯烷-3-基)乙酰胺的合成



将(R)-1-苄基-3-(2-甲基-1,3-二氧戊环-2-基)吡咯烷-3-胺(0.35g, 1.33mmol)加入吡啶(0.68 g, 8.61 mmol)和乙酸酐(0.38 g, 3.72 mmol)中,室温搅拌1个小时后冷却至5℃。过滤,滤饼干燥,得白色粉末状固体(R)-N-(1-苄基-3-(2-甲基-1,3-二氧戊环-2-基)吡咯烷-3-基)乙酰胺(0.32 g, 77.6%), $[\alpha]_{D27}^{20} -291.4^\circ$ (c 0.01, CHCl₃)。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.27 (s, 3H), 1.85 (s, 3H), 1.90 (m, 1H), 2.09-2.19 (m, 1H), 2.37 (d, 1H), 2.46-2.65 (m, 2H), 2.80 (m, 1H), 3.53 (s, 1H), 3.75-3.94 (m, 4H), 4.24 (s, 1H), 5.55 (s, 1H), 7.18-7.27 (m, 5H)。¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 21.25, 23.08, 30.28, 51.89, 60.63, 63.23, 66.26, 108.95, 127.17, 128.27, 128.74, 138.57, 171.90. LC-MS (ESI, pos, ion) m/z : 305[M+H].

[0023] 实施例6: (R)-6-苄基-3-甲基-1-(2-甲基-1,3-二氧戊环-2-基)-4-氧杂-2,6-二氮杂双环[3.2.1]辛-2-烯的合成



氮气保护下将(R)-N-(1-苄基-3-(2-甲基-1,3-二氧戊环-2-基)吡咯烷-3-基)乙酰胺(0.26 g, 0.85 mmol)溶于无水苯(200 mL)中,加热至回流,加入1,3-二溴-5,5-二甲基海因(DDH, 0.43 g, 1.51 mmol),置500 W紫外灯下搅拌20分钟,依次用饱和碳酸钠水溶液(80 mL)和热水(80 mL)洗涤,再用3 mol/L盐酸溶液(75 mL×3)洗涤。合并盐酸层,用氯仿萃取(75 mL×3),合并有机相,依次用水(150 mL)和饱和碳酸钠水溶液(150 mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压蒸去溶剂,剩余物经柱色谱[洗脱液:甲醇/二氯甲烷(1:49)]分离,得橙色固体(R)-6-苄基-3-甲基-1-(2-甲基-1,3-二氧戊环-2-基)-4-氧杂-2,6-二氮杂双环[3.2.1]辛-2-烯(0.21 g, 80.9%)。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.16 (s, 3H), 1.27 (s, 3H), 1.73 (dd, 1H), 1.96 (dd, 1H), 2.34 (d, 1H), 3.25 (d, 1H), 3.77 (s, 1H), 3.78-3.86 (m, 2H), 3.88-3.96 (m, 2H), 4.29 (s, 1H), 5.70 (t, 1H), 7.20-7.29 (m, 5H)。¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 20.28, 22.79, 42.19, 55.36, 59.45, 66.26, 93.86, 108.36, 127.56, 128.45, 128.67, 137.93. LC-MS (ESI, pos, ion) m/z : 303[M+H].

[0024] 实施例7: (R)-4-氨基-1-苄基-4-(2-甲基-1,3-二氧戊环-2-基)吡咯烷-2-醇的合成



(R)-6-苄基-3-甲基-1-(2-甲基-1,3-二氧戊环-2-基)-4-氧杂-2,6-二氮杂双环[3.2.1]辛-2-烯(0.18 g, 0.595 mmol)和3 mol/L硫酸(44 mL)加热至80℃,30个小时后冷却至50℃,用乙酸乙酯(20 mL×3)洗涤,洗液再用水(10 mL×3)洗涤。合并水层,加3 mol/L氢氧化钠水溶液(约20 mL)调至pH=5,用氯仿(40 mL×3)提取。合并有机相,依次用饱和碳酸钠水溶液(80 mL)、水(80 mL)和饱和食盐水(80 mL)洗涤,无水硫酸钠干燥后过滤,滤液减压蒸除溶剂,剩余物经硅胶柱色谱[洗脱液:甲醇/二氯甲烷(1:19)]分离,得橙红色粉末状固体(R)-4-氨基-1-苄基-4-(2-甲基-1,3-二氧戊环-2-基)吡咯烷-2-醇(0.14 g, 84.7%), $[\alpha]_{D27+207}^{\circ}$ (c0.1, CHCl₃)。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 0.95(q, 1H), 1.27(s, 3H), 1.57(s, 1H), 1.61(s, 1H), 1.86(s, 1H), 2.37(d, 1H), 2.62(d, 1H), 2.94(q, 1H), 3.42(s, 1H), 3.75-3.95(m, 4H), 3.48(s, 1H), 4.76(t, 1H), 7.19-7.28(m, 5H)。¹³C-NMR(125 MHz, CDCl₃) δ: 21.13, 41.65, 55.75, 60.53, 66.26, 90.15, 109.86, 127.56, 128.45, 128.67, 137.93。LC-MS(ESI, pos, ion) m/z: 279[M+H]。

[0025] 试验例1:化合物体外对GPR119的激动活性

一、细胞系的建立

GPR119的激动活性通常采用稳定表达嵌合人/小鼠GPR119细胞系进行,本细胞系由原山东医科大学赠送,为常规方法,具体描述如下,将编码FLAG附加表位、人GPR119的前198个氨基酸和小鼠受体的C末端137个氨基酸的3个拷贝的人-小鼠嵌合GPR119表达构建体克隆至四环素可诱导载体pcDNA5/FRT/TO(Invitrogen#V6520-20)中,其包含耐潮霉素的标记物。通过将此构建体稳定整合至表达四环素抑制子的特异性宿主细胞系Flp-In-T-Rex-HEK293(Invitrogen)的基因组中,实现精密控制的受体表达。一产生稳定的耐潮霉素的细胞系,将细胞在37℃维持于加湿的5%CO₂气氛和培养基中。该培养基由补充有2mL-谷氨酰胺、10%胎牛血清、200μg/ml潮霉素B和15μg/ml稻瘟素(blasticidin)的达尔伯克改良伊格尔培养基(Dulbecco's modified Eagle's medium)(DMEM,Invitrogen)组成。

[0026] 二、试验步骤

在进行cAMP累积测定48小时之前,将稳定表达嵌合人/小鼠GPR119构建体的细胞以4×10³细胞/孔的密度接种至384孔聚-D-赖氨酸涂布的固体白板(BD第35-6661号)中,并使其于37℃在加湿的5%CO₂气氛和补充有1μg/ml四环素的培养基中生长以诱发受体表达。在测定当天,移除培养基并于37℃在加湿5%CO₂气氛和20μl/孔测定缓冲液(具有Ca²⁺和Mg²⁺的磷酸盐缓冲液、12mM葡萄糖、0.1mM异丁基-甲基-黄嘌呤、0.1%不含脂肪酸的牛血清白蛋白)中将细胞孵育50min,该测定缓冲液具有期望浓度的从溶解在二甲亚砜(DMSO)中的浓缩储备液添加的化合物以在测定中得到1%DMSO的最终浓度。使用CisBio均相时间分辨荧光(HTRF)测定试剂盒,遵循制造商的规程测量cAMP累积。简而言之,向每个孔中各自添加10μl cAMP-HTRF荧光检测试剂,且将样品于室温孵育40min。在320nm激发荧光且在665nm和620nm使用Envision仪器(PerkinElmer)测量。计算665/620的荧光比并通过从cAMP标准曲线内插将其转化为每一孔中的cAMP的纳摩尔浓度。采用Excel/XLfit软件(Microsoft和

IDBS) 利用四参数对数曲线拟合方程计算浓度-应答曲线, 得到EC₅₀。

[0027] 测试结果见下表。

化合物	EC ₅₀ (nM)
实施例4	27.4
实施例5	48.6
实施例6	19.6
实施例7	5.2

[0028] 由结果可以看出, 实施例7体外对GPR119激动活性的EC₅₀为5.2nM。活性测定说明实施例7具有G蛋白偶联受体119激动剂的作用, G蛋白偶联受体119激动剂具有不引起患者低血糖以及促进GLP-1分泌的功能, 本发明化合物可以作为抗糖尿病药物进一步研发。