

## 摘要

内源性大麻素是一种神经递质分子，可以与大麻素 1 (cannabinoid 1, CB1) 受体特异结合, 导致食欲增强、饮食增多, 是饮食诱导的肥胖的重要原因, 因此抑制 CB1 受体能够有效减少机体对食物的摄取, 并增加能量的消耗, 是治疗肥胖的新靶点。随着利莫那班的开发成功, CB1 受体拮抗剂成为目前减肥药物领域研发的热点。本文概述了 CB1 受体作为治疗肥胖的靶点的作用机制以及其抑制剂目前的研究状况。重点研究了利莫那班的合成路线并对其进行了优化改造, 根据其构效关系设计合成了一系列新的利莫那班的衍生物, 并对其进行了对 CB1 受体亲和力的药理筛选实验。

主要研究内容如下:

### 1. 打通利莫那班的合成路线并对其优化改造。

在打通利莫那班的合成路线的基础上, 通过对中间体 4-(4-氯苯基)-3-甲基-2, 4-二酮基丁酸乙酯 (1) 的新法合成, 以及对其他各步反应的优化改造, 最终使利莫那班的生产价格大幅度降低, 而且合成路线更适合于工业生产。

### 2. 利莫那班的衍生物的合成及其对 CB1 受体亲和力的药理筛选实验。

通过对利莫那班构效关系的研究, 设计合成了 14 个利莫那班的衍生物, 其结构经过质谱和核磁共振氢谱、碳谱确认。对合成新化合物进行了对 CB1 受体亲和力的药理筛选, 并通过对筛选结果的讨论研究确定了下步的工作方向。

关键词: 大麻素受体; CB1 受体拮抗剂; 利莫那班; 衍生物

## ABSTRACT

The endocannabinoid is a neurotransmitter molecule. It can lead to increase appetite and diet through specifically binding with the cannbinoid one(CB1) receptor, and it is an important reason of diet-induced obesity. Inhibiting CB1 receptor can effectively reduce the body's intake of food and increase energy consumption. So CB1 receptor is a new target of treatment of obesity. With the development of the drug of Rimonabant, CB1 receptor inhibitor becomes a hot field in the reseach and development of anti-obesity drug. In this paper, the mechanism, reseach and development of CB1 receptor inhibitor were summarized. Synthetic route of Rimonabant was studied and optimized. A new series of Rimonabant's derivatives were designed and synthesized. The CB1 receptor affinities of these new compounds were tested.

The main contents and conclusions of this paper are discussed as follows:

The synthetic route of Rimonabant was got through and optimized by a new synthesis method of 4-(4-Chloro-phenyl)-3-methyl-2,4-dioxo-butyric acid ethylester and the improvement of other reactions. Finally,the price of Rimonabant is substantially lowered and the synthetic route is more suitable for industrial production.

About 14 of Rimonabant's derivatives were designed and synthesized according to structure-activity relationship study. The structures of new compounds were confirmed by mass spectrum,nulclear magnetic resonance hydrogen and carbon spectrum.

The CB1 receptor affinities of these new compounds were tested. And the next step of the study was determined through the discussions of the screening results.

**Key Words :** cannbinoid receptor; CB1 receptor inhibitor; Rimonabant; derivatives

## 学位论文独创性声明


本人声明所呈交的学位论文是本人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得 南昌大学 或其他教育机构的学位或证书而使用过的材料。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示谢意。

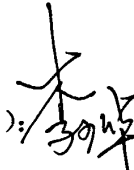
学位论文作者签名(手写):  签字日期: 2007年5月25日

## 学位论文版权使用授权书

本学位论文作者完全了解 南昌大学 有关保留、使用学位论文的规定，有权保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和磁盘，允许论文被查阅和借阅。本人授权 南昌大学 可以将学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文。

(保密的学位论文在解密后适用本授权书)

学位论文作者签名(手写): 

导师签名(手写): 

签字日期: 2007年5月25日

签字日期: 2007年5月25日

学位论文作者毕业后去向:

工作单位:

电话:

通讯地址:

邮编:

## 第一章 综述

### 1.1 前言

#### 1.1.1 肥胖的发病率及其危害

由于科学的飞速发展，物质生活条件的改善和饮食结构的不尽合理，肥胖病在发达国家及经济迅速发展的发展中国家像瘟疫一样蔓延开来，发病率逐年攀升且出现年轻化态势。全世界肥胖症患者目前至少有 12 亿，且将以每五年翻一番的速度增加。美国 1988-1994 年的统计数字表明，共有 8000 万人患有程度不同的肥胖症，大约 20% 的男性和 25% 的女性肥胖，造成每年 30 万人死亡，而每年用于治疗肥胖症的费用高达 990 亿美元。据 MONICA 项目 1982-1986 年调查发现欧洲的肥胖率为：男性 15%，女性 22%，而且女性超重比男性更普遍。35-65 岁之间的欧洲人口中，体重超重或肥胖者比例达到 38%-50% 左右，英国是肥胖增长率最高的国家之一，过去的 20 年中，成年人的肥胖比率已增长三倍，肥胖儿童数量增长了一倍。肥胖的日趋流行并不仅限于欧美，在过去的二十年中，中国、日本和东南亚国家超重和肥胖的人口数量显著增加，此外，儿童和青少年肥胖问题日益突出<sup>[1]</sup>。

世界卫生组织已明确认定肥胖是全球成年人最大的慢性疾病，被列为世界四大医学社会问题之一，而且肥胖还是许多严重疾病的主要危险因素。如：肥胖增加患慢性疾病如 II 型糖尿病和心血管疾病的风险。肥胖还会引起很多并发症，包括糖尿病、高血压、高血脂、动脉粥样硬化等。肥胖人口发展为 II 型糖尿病的比例急剧上升，约 90% 的 II 型糖尿病患者超重或肥胖。据美国疾病控制中心估计：美国每年有 112000 例死亡与肥胖有关<sup>[2]</sup>。

#### 1.1.2 肥胖与代谢综合症

1998 年世界卫生组织制定了代谢综合症 (metabolic syndrome, MS) 的工作定义：糖尿病、糖耐量异常、空腹血糖升高或存在胰岛素抵抗，加上下列 2

项或以上者可确诊：中心性肥胖，腰围粗（男性 $\geq 90\text{cm}$ 、女性 $> 85\text{cm}$ ）和（或）体重指数（BMI） $\geq 30\text{kg/m}^2$ ；血压 $\geq 140/90\text{mmHg}$ ；甘油三酯 $\geq 1.695\text{mmol/L}$ 或高密度脂蛋白男性 $< 0.9\text{mmol/L}$ ，女性 $< 1.0\text{mmol/L}$ ；微量白蛋白尿，尿白蛋白排泄率 $\geq 20\text{Pg/分钟}$ 或尿白蛋白/尿肌酐比值 $\geq 20\text{mg/mol}$ 。代谢综合症也可指出一系列临床指标异常为标识的多因子疾病，这些临床指标异常包括：I型和II型糖尿病、高血脂、高血压、肥胖、前炎症和前血栓状态等。MS使心血管疾病发病和死亡危险增加近2倍<sup>[3]</sup>。

流行病学资料显示，MS的5个危险因素中，肥胖是核心环节。Lorenzo等<sup>[4]</sup>调查了西班牙（1339例）和美国德州圣安东尼奥地（2947例）的MS发病情况，发现MS与肥胖的发病率有着相当的一致性<sup>[5]</sup>。圣安东尼奥心脏研究显示，腰臀比、体重指数可以很好地预测MS的发生<sup>[6]</sup>。此外，儿童时期和青春期的肥胖也预示着成年后MS的发生<sup>[7]</sup>；在体重减轻后，MS发生率下降<sup>[8]</sup>。Maison等<sup>[9]</sup>随访937例健康志愿者4.5年，分组分析显示，体重指数是导致MS发病的主要危险因素。由此可见，肥胖在MS的发生、发展中起着重要作用，因此控制肥胖是防治MS的最佳切入点。

## 1.2 国内外减肥药市场情况

虽然目前市场上减肥药很多，但真正经美国FDA批准用于减肥治疗的药只有2种：西布曲明和奥利司他。

西布曲明是一种单胺类神经递质再摄取抑制剂，它作用于中枢神经系统以减少摄食而降低体重。1998年在美国首先上市，由于其疗效好，很快便引领了世界减肥产品的潮流，2000年6月，“曲美”（盐酸西布曲明胶囊）成为中国国家食品药品监督管理局批准的第一个国药准字减肥药，在2002年全国药品零售市场中销售额排名第一，销售额已突破3亿元，在竞争激烈的减肥市场初步确立了龙头老大的地位。西布曲明的副作用主要是引起血压升高和心率加快，其长期效果也有待进一步评价。

奥利司他是一种脂酶抑制剂，可抑制胃肠道中胰脂酶的活性，商品名为赛尼可，1998年后在美国上市，当年销售额达到1.46亿美元，到2005年奥利司他的全球总销售额达到5.1亿美元。2001年2月进入中国市场，数据表明，短短的两个月间，赛尼可往上海、北京、广州三地的西药房的铺货率已经分别达到86

%、53%和33%，可以预见，赛尼可必将逐渐成为中国减肥药市场的另一强势品种。由于其抑制肠道脂酶活性，使脂肪不能吸收而直接由粪便排出。但又因其会引起油样便与腹泻，并可造成脂溶性维生素缺乏，这使该药的应用受到一定限制。

据IMS Therapy Forecaster的报道：抗肥胖药物市场是发达国家中增长最快的市场之一，在今后的十年，世界减肥药物的规模预计将成倍增长，减肥药物总的零售和医院处方药物销售额将增长到10亿美元，到2011年达16亿美元。在我国，从北京召开的第一届国际减肥大会上获悉，全国减肥市场容量应为677亿元，而目前减肥产品年销售不到100亿元，蕴藏着巨大的潜力<sup>[1]</sup>。

### 1.3 减肥药的研究进展

近年来，减肥药物的发展趋势不仅是降低体重，更重要的是要降低患心血管疾病和糖尿病的风险，改善血脂和血糖的生化指标。随着对肥胖症研究的深入，国内外学者发现了不少减肥药新的作用靶点，一些有苗头的化合物已进入临床或临床前开发，新的药物作用靶点的发现促成了一些有治疗潜力的新药的开发。

#### 1.3.1 调节能量摄入的分子靶点

##### 1. 调节食物摄取的中枢神经系统分子靶点

1994年纽约洛克菲勒大学的Zhang等<sup>[10]</sup>首先克隆出小鼠和人的肥胖基因产物—瘦素。瘦素主要由脂肪组织产生，作为一个传入信号通过血脑屏障进入下丘脑，与下丘脑中的瘦素受体结合，调节下丘脑不同神经肽的活性。现已发现瘦素可下调神经肽Y、agouti—相关蛋白、黑色素浓缩素及食欲素的表达和活性，上调前皮质素原、可卡因—安非他明转录调节肽和促肾上腺皮质激素释放素的表达。神经肽Y、agouti—相关蛋白、黑色素浓缩素和食欲素可以刺激食物的摄取，而前皮质素原和可卡因—安非他明转录调节肽有抑制摄食的作用。目前，这一系列与瘦素相关的分子都在被作为减肥药作用靶点进行新药研究开发。主要包括瘦素及瘦素受体激动剂<sup>[11]</sup>、瘦素增敏剂—蛋白酪氨酸磷酸化酶1B抑制剂<sup>[12]</sup>、睫状神经营养因子类似物<sup>[13]</sup>、大麻素受体1拮抗剂<sup>[14]</sup>、神经肽Y<sub>5</sub>受体拮抗剂

[16]等。

## 2. 调节食物摄取的外周分子靶点

已发现一些来源于胃肠道的多肽可提供饱感信号,包括胆囊收缩素、bombesin家族的多肽、胰高血糖素样肽-1、肠抑制素等,这些多肽可以局限在外周起作用,也可以被释放进入循环像内源性因子一样起作用。这些分子的类似物都有可能成为减肥药物。其中,胰高血糖素样肽-1受体激动剂的研究颇受瞩目。胰高血糖素样肽-1是回肠内分泌细胞分泌的一种脑肽,可刺激胰岛素分泌,抑制胰高血糖素分泌和抑制胃排空。目前主要作为2型糖尿病药物作用的靶点。由于胰高血糖素样肽-1可抑制胃排空,减少肠蠕动,故有助于控制摄食,减轻体重<sup>[16]</sup>。该类药物目前开发进展最迅速的是Amylin制药公司合成的胰高血糖素样肽-1受体激动剂Exenatide(又名exendin-4)。

### 1.3.2 调节能量消耗的分子靶点

增加能量消耗,刺激机体产热是减肥的另一大思路。机体内肾上腺素与甲状腺激素都是促进脂肪代谢的内源性物质。都具有脂肪动员作用。但由于它们的作用太广泛,在减轻体重的同时也会产生严重的不良反应。因此,近年来研究人员致力于研发 $\beta_3$ -肾上腺素受体与甲状腺激素 $\beta$ 受体的选择性激动剂。

#### 1. $\beta_3$ -肾上腺素受体激动剂。

$\beta_3$ -肾上腺素受体激动剂与 $\beta_3$ 受体结合后,可提高白色和棕色脂肪组织中cAMP的水平,导致激素敏感的脂酶活化,脂肪酸氧化增加,并通过活化解偶联蛋白而增加产热。解偶联蛋白位于棕色脂肪组织的线粒体上,它可使氧化磷酸化解偶联,使合成ATP的能量用于产热。由于 $\beta_3$ -肾上腺素受体激动剂能显著减轻啮齿动物体重,在白色脂肪组织中分解脂肪,并加强棕色脂肪组织非颤栗性产热作用,降低血糖,也不影响摄食,因此被认为是较理想的抗肥胖和抗糖尿病药物<sup>[17]</sup>。目前研究中的 $\beta_3$ -肾上腺素受体激动剂,以Wyeth-Ayerst公司研制的CL316243(又称BTA-243)效果较好,已进入II期临床实验,是第一个在人体内具有高度选择性的 $\beta_3$ -肾上腺素受体激动剂,对 $\beta_3$ -受体有高度的亲和力。另有研究者通过人重组 $\beta_3$ -肾上腺素受体筛选了一种选择性与亲和力均明显高于CL316243的 $\beta_3$ -肾上腺素受体激动剂N-5984,该化合物由Kyorin公司开发,目前处于I期临床实验阶段。此外,许多中药或天然药物都有减肥、降脂作用。

因此。从中药或天然药物中分离、提取具减肥作用的有效成分，一直是减肥药研究的一个重要方向。国内有研究者报道，柳茶有类似肾上腺素样促进脂肪分解、释放游离脂肪酸作用，该作用可被普奈洛尔部分拮抗<sup>[18]</sup>。提示柳茶可能激活 $\beta_3$ -肾上腺素受体，以此促进脂肪的动员分解。

### 2. 甲状腺激素 $\beta$ 受体激动剂。

甲状腺激素(包括T3、T4)是机体内一种重要的内分泌激素。甲状腺分泌的甲状腺激素进入血液循环后，到达作用靶器官如心脏、肝脏、垂体等，通过与靶细胞核内相应的受体结合，调节相关基因的转录与表达，从而发挥生理效应。目前认为，甲状腺激素受体有 $\alpha$ 受体和 $\beta$ 受体两种亚型， $\alpha$ 受体主要与心脏作用有关(加快心率)， $\beta$ 受体主要与调节肝脏胆固醇代谢及抑制TSH有关。虽然甲状腺激素 $\beta$ 受体调节代谢率的作用机制尚未明确，但有研究者通过合成一个与T3结构相似的化合物KB-141，证实其为甲状腺激素 $\beta$ 受体的选择性激动剂，并与T3进行了对比研究。表明该化合物具有明显的减轻体重、降低胆固醇等作用，而增加心率作用甚微<sup>[19]</sup>。

### 1.3.3 调节脂肪吸收的分子靶点

#### 1. 脂酶抑制剂

前面所说的奥利司他(商品名: Xenical, 赛尼可)是脂酶抑制剂的一个成功例子: 由于其抑制肠道脂酶活性, 使脂肪不能吸收而直接由粪便排出。但又因其会引起油样便与腹泻, 并可造成脂溶性维生素缺乏, 这使该药的应用受到一定限制。但总体来说, 其全身性副作用明显低于现有减肥药, 是这类药物的一大优势。另一种研发中的脂酶抑制剂是英国Alizyme公司开发的ATL-962, 是目前继奥利司他后唯一处于临床实验阶段的脂酶抑制剂。其作用机制与罗氏公司的奥利司他类似, 但其不良反应如油性便、大便失禁及胃肠胀气等比奥利司他少。另外, 由于其生产成本较低, 预计市售价也将低于奥利司他, 因而会有竞争优势<sup>[20]</sup>。

#### 2. 脂肪酸转运蛋白4抑制剂

脂肪酸转运蛋白(fatty acid transport proteins, FATP)是一类跨膜蛋白, 主要生理功能是促进长链和超长链脂肪酸转运入细胞内。人体含有6种高度同源的FATP, 即FATP1~FATP6<sup>[21]</sup>。其中, FATP4是唯一在小肠中表达的FATP, 位于



小肠上皮细胞的刷状缘上,主要负责食物来源的脂肪酸的吸收<sup>[22]</sup>。因此, FATP4 抑制剂可能成为一类新型减肥药。由于这类药物不影响脂肪在肠道中消化成脂肪酸,只是阻止脂肪酸被小肠吸收,因而其副作用可能比脂酶抑制剂更小。目前这类药物尚处于早期研究阶段。

### 1.3.4 其它新减肥药

除了以上述及的之外,研究中的减肥药尚有经典的食欲抑制剂如单胺类神经递质再摄取抑制剂,这类药物如苯二甲吗啉(phendimetrazine)、苯甲苯丙胺(benzphetamine)、马吲哚(mazindol)等。由于这类药物的作用机制都是影响神经系统内去甲肾上腺素和(或)5-羟色胺神经递质的功能,因而副作用较其它减肥药更大更多,已不再是开发的方向。过氧化物酶增殖体激活受体 $\gamma$ (peroxisome proliferators activated receptor gamma, PPAR $\gamma$ )是胰岛素增敏剂如曲格列酮、罗格列酮、吡格列酮等的作用靶点。近年来发现PPAR $\gamma$ 受体在控制肥胖中起重要作用<sup>[23]</sup>,因此,进一步研究这种受体的选择性激动剂,可能开发出一类新的减肥药。

### 1.3.5 大麻素受体1(cannabinoid receptor 1, CB1)拮抗剂

CB1受体拮抗剂是目前最成熟、最热门的减肥药研究领域。到目前已有一个上市,两个进入III期临床,数个进入I-II临床试验中。

内源性大麻素系统是普遍存在的脂质类信号系统,在所有脊椎动物起着重要的调节功能,是一类由花生四烯酸, N-花生四烯酸氨基乙醇和2-花生四烯酸甘油(2-arachi-donoylglycerol, 2-AG)衍生而来的小分子物质,能与G蛋白介导的大麻素受体(cannabinoid receptor, CB)相结合<sup>[24]</sup>。内源性大麻素系统主要包括内源性大麻素及其受体,其功能与调节机制复杂,内源性大麻素是一种神经递质分子,可以与大麻素样受体特异结合,进而改变细胞功能。目前明确克隆得到的大麻素受体共2种:CB1受体与CB2受体,其分布与生理功能各不相同。另外,推测还有一种非CB1、非CB2的受体,但至今尚未得到确认<sup>[25]</sup>。

研究认为,肥胖的产生与内源性大麻素系统长期过度活化有关,这种过度活化促进了脂肪在脂肪细胞的储存,并伴有胰岛素抵抗、糖耐量降低、甘油三脂升高等一系列心血管疾病危险因素的产生,因此,调节内源性大麻素系统对

机体食物摄入、能量储存和释放等过程的控制有重要意义<sup>[26, 27]</sup>。CB1受体属G蛋白偶联的膜受体,包含473个氨基酸,由17个跨膜区组成<sup>[28]</sup>,该受体在进化中有着高度保守性和重要性。CB1受体羧基末端的近侧细胞膜区域与Gi/o蛋白的激活密切相关,当Gi/o蛋白偶联的CB1受体与内源性大麻素样物质特异性识别结合后,能调节第二信使物质,抑制腺苷酸环化酶,使cAMP的含量降低,同时还能激活细胞分裂素活化蛋白激酶<sup>[29]</sup>,减少Ca<sup>2+</sup>内流,增加K<sup>+</sup>外流。此外,CB1受体还可通过调控N、L、Q/P型电压依赖性Ca<sup>2+</sup>通道的开启与关闭,抑制谷氨酸、γ-氨基丁酸等体内多种神经递质的释放,影响突触后膜分别产生兴奋性或抑制性作用。同时还参与调节体内的其它信号传导途径<sup>[30]</sup>。CB1受体主要位于中枢和外周的神经元或神经细胞上,中枢神经系统包括基底核、海马、大脑皮质和小脑<sup>[31]</sup>;其中伏核和下丘脑室旁核区域表达的CB1受体与调节食欲和机体代谢密切相关<sup>[29]</sup>。内源性大麻素物质与CB1受体结合后,可调节食物摄入、能量储存和消耗。研究认为,肥胖者细胞表面CB1受体过度活跃,体内产生的内源性大麻素和CB1受体结合后可以释放多巴胺,通过系列信号传导通路刺激肥胖者更多进食,这被称为“奖赏系统”,因此抑制CB1受体能够有效减少机体对食物的摄取,并增加能量的消耗,为治疗肥胖提供了新靶点<sup>[32, 33]</sup>。

CB1受体主要存在于中枢神经系统,参与疼痛、呕吐、欣赏、学习记忆等重要生理功能的调节<sup>[14]</sup>。研究表明CB1受体的激动在饮食诱导的肥胖的发展中起重要作用<sup>[29]</sup>。进一步研究表明,内源性大麻素不仅与摄食控制有关,也参与了外周代谢调节。抑制CB1受体能够有效减少机体对食物的摄取,并增加能量的消耗<sup>[34]</sup>。特异性CB1受体拮抗剂可以阻断内源性大麻素与CB1受体之间的结合,通过中枢神经系统和外周组织两种不同的作用机制,最终导致体重减轻等一系列与肥胖相关的机体功能改善。

法国Sanofi-Synthelabo公司开发的选择性内源性大麻素CB1受体拮抗剂Rimonabant(SR141716A,商品名:Acomplia)。临床实验结果表明Rimonabant不仅能有效降低体重,减少甘油三酯的生成,还可同时作用于与心脏疾病有关的另两种风险因子—吸烟和高胆固醇。由于临床上肥胖病人常伴发心脏损害,该药的治疗将对患者带来更大的益处,因此Rimonabant成为目前最有前景的减肥药物之一<sup>[35-37]</sup>。

### 1.3.6 CB1受体拮抗剂的研究现状

随着对CB受体尤其是CB1受体研究的深入，CB1受体拮抗剂的研究被许多制药公司所重视<sup>[33]</sup>。下面就CB1受体拮抗剂的研究现状进行简述。

首先，Sanofi-Aventis(原Sanofi-Synthelabo)公司开发的首个用于肥胖治疗的CB1受体拮抗剂利莫那班(Rimonabant, Acomplia, SR141716)是目前开发CB1受体拮抗剂的最成功的例子，已于2006年2月获FDA批准上市。

利莫那班是高效的选择性CB1受体拮抗剂，在肥胖、戒烟以及代谢综合征治疗中具有良好的作用，是目前惟一用于临床控制食欲和降低体重的大麻素受体拮抗剂，它不仅能有效减肥，还可同时作用于与心脏疾病有关的另两种风险因子——吸烟和高胆固醇。将对患者带来更大的益处，因此是目前最有前景的减肥药物之一<sup>[38-40]</sup>。

其次，Merck公司开发的MK-0364，Pfizer公司的CP-945598均已进入III期临床阶段。

Sanofi-Aventis公司还在开发Rimonabant的后续药物SR147778，AVE-1625(结构尚未公开)，Solvay制药公司研发的SLV-319，目前正处于II期临床阶段。

Vernalis公司的V-24343，Solvay制药公司的SLV-326等也已进入I期临床阶段，此外，还有许多其它开发类似结构的化合物也正处于进行临床前的申报准备阶段，更有许多的制药企业正在或准备投入到CB1受体拮抗剂的开发中来。

总之，基于CB1受体开发的减肥药物中，Rimonabant已经上市，目前市场反应良好，MK-0364和CP-945598已进入III期临床，SR147778、AVE-1625和SLV-319进入II期临床，V-24343、SLV-326进入I期临床等等，可看出CB1受体拮抗剂是目前减肥药领域中开发成果最多、前景最光明的一类药物。

## 1.4 过氧化物酶体增殖物激活受体(PPARs)及PPAR $\alpha$ 的作用机制

### 1.4.1 PPARs简介

过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferators-activated receptors, PPARs)是一种激素激活核受体转录因子。PPAR最初由Isseman和Green用一段定位于核受体高度保守C区的cDNA序列作探针筛选肝cDNA文库时获得。其编码的蛋白质与其它核受体具有相似的功能结构域<sup>[41]</sup>。研究者进一步发

现一些类似过氧化物酶体增值物的化合物是这种新型核受体的高效配体，因此将这种受体命名为脂质过氧化物酶体增值物激活受体- $\alpha$  (PPAR $\alpha$ )。PPAR $\alpha$ 一经克隆后不久，另外两个与之有高度同源序列的PPAR亚型也被相继克隆并被命名为PPAR $\beta$ 、 $\delta$ 和PPAR $\gamma$ 。PPARs是调节脂质代谢、脂肪生成、胰岛素敏感、炎症反应、细胞生长和分化的重要因子<sup>[42]</sup>。重要的是它也参与代谢综合症的发生，包括胰岛素抵抗、糖耐量受损、肥胖、高脂血症、高血压病、动脉硬化症和微量蛋白尿等。大量研究表明，PPARs的激动剂和拮抗剂有望成为2型糖尿病、肥胖、高血压病、高脂血症、动脉粥样硬化等疾病的治疗药物。

### 1.4.2 PPAR $\alpha$ 的作用机制

越来越多的证据表明PPAR $\alpha$ 是代谢综合症的一个重要调节因子，并且成为代谢综合症及其心血管并发症的治疗靶点。PPAR $\alpha$ 活化可以调节众多基因的转录，包括线粒体脂质过氧化物酶体和微粒体中与脂肪酸氧化有关的基因。例如，在 $\beta$ -氧化和 $\omega$ -氧化途径中关键酶的转录多由PPAR $\alpha$ 直接调节，包括乙酰辅酶A氧化酶、肉碱酯酰转移酶 I、线粒体羟甲基戊二酸单酰辅酶A合成酶和细胞色素P450 4A酶<sup>[41, 42]</sup>。PPAR $\alpha$ 的配体可以通过增加这些基因的表达明显激活肝脏脂肪酸的氧化，相反，PPAR $\alpha$ 基因失活则导致肝脏大量的脂质聚集，引起严重的低血酮症、低血糖症、低体温，并增加血浆游离脂肪酸水平。这些证据清楚地表明PPAR $\alpha$ 是机体调控脂肪酸代谢的重要因子。

PPAR $\alpha$ 在脂质代谢中也起着关键的调节作用。PPAR $\alpha$ 已知的靶基因几乎与脂质代谢的所有方面有关，包括脂肪酸摄取、结合、氧化，脂蛋白装配，脂质运输<sup>[41]</sup>。人工合成的PPAR $\alpha$ 配体，如吉非贝齐、非诺贝特、氯贝丁酯，已被临床作为降脂药使用了三十余年。

贝特类通过作用于一些PPAR $\alpha$ 靶基因包括载脂蛋白A- I、载脂蛋白A- II、脂蛋白脂酶、三磷酸腺苷结合盒转运体 (ABC)、I型B组清道夫受体、CLA-1等，增加高密度脂蛋白 (High Density Lipoproteins, HDL) 的合成，从而增加HDL-C的保护作用而取得临床疗效。PPAR $\alpha$ 的活化也增加脂肪酸摄取，降低甘油三酯水平，促进极低密度脂蛋白 (Very Low Density Lipoproteins, VLDL) -甘油三酯脂解作用。总之，PPAR $\alpha$ 就像一个脂质传感器，在脂质代谢中发挥非常有益的调节作用。

PPAR $\alpha$ 的功能改变与肥胖和胰岛素抵抗的发病机制有密切关系。在啮齿动物PPAR $\alpha$ 的活化可以减少体重的增加,而其失活则导致迟发性肥胖。用高脂饮食处理PPAR $\alpha$ 缺失的小鼠会导致体重显著性的增加,进一步证实了PPAR $\alpha$ 基因可能与肥胖的发生有关。近来的研究证据显示PPAR $\alpha$ 也是调节胰岛素敏感性的一个重要因素。在II型糖尿病db/db小鼠和OLETF肥胖大鼠,用PPAR $\alpha$ 激动剂处理可以明显改善胰岛素抵抗和血糖水平。同样,在肥胖糖尿病大鼠,PPAR $\alpha$ 激动剂苯扎贝特可以明显改善糖耐量受损和胰岛素抵抗,更重要的是,Koh等近来报道用非诺贝特处理胰岛素抵抗的肥胖型OLETF大鼠能阻止糖尿病的发展<sup>[43]</sup>。虽然潜在的机制还不清楚,但是上述结果都表明PPAR $\alpha$ 在胰岛素敏感性的体内调节中有着重要作用,并且其活化可能延缓II型糖尿病的发展。

PPAR $\alpha$ 与血压调节和血管炎症有关<sup>[44]</sup>。PPAR $\alpha$ 在培养的血管内皮细胞和平滑肌细胞均有表达,其活化可通过阻断NF- $\kappa$ B、TGF $\beta$ /Smad、有丝分裂活化蛋白激酶途径,而抑制血管炎症、氧化反应、细胞生长和迁移,在体研究进一步证实PPAR $\alpha$ 激动剂能明显改善内皮细胞的功能紊乱从而减轻大鼠血管紧张素诱导的高血压的发生。此外,PPAR $\alpha$ 改善高血压的另一个可能的原因是PPAR $\alpha$ 的活化影响了肾脏盐的运输。现已发现PPAR $\alpha$ 与花生四烯酸CYP450 4A酶都在肾近曲小管中有高水平的表达,而CYP450 4A单氧化酶是PPAR $\alpha$ 的靶基因<sup>[45]</sup>,CYP450 4A14基因敲除小鼠呈现雄激素依赖性高血压,而CYP450 4A10小鼠则呈现盐敏感性高血压。因此PPAR $\alpha$ 对CYP4A的调节可能在盐平衡和血压调节中发挥着重要作用。

最后,PPAR $\alpha$ 的激动剂贝丁酸能有效地防止动脉粥样硬化的发生<sup>[45]</sup>。更重要的是经过贝丁酸治疗的病人,其代谢综合征(糖尿病、糖耐量受损或高胰岛素血症、高血压病、肥胖、高甘油三酯或低HDL-C)的症状均得到明显改善,从而使冠状动脉疾病相关死亡、非致死性心肌梗死或中风的发病风险降低了50%。这些证据表明,PPAR $\alpha$ 激动剂贝丁酸可能成为治疗代谢综合征心血管并发症的有效药物。

综上所述,PPAR $\alpha$ 参与了许多生物学过程的调节,包括脂质代谢、能量动态平衡、炎症、血压调节和胰岛素敏感性调节等。因此它可能是代谢综合征发病机制中的重要调节因子。PPAR $\alpha$ 的活化可以促进脂肪酸氧化并改善胰岛素抵抗,从而防止II型糖尿病的发生。

## 第2章 论文设计部分

### 2.1 设计思路

基于减肥药的发展趋势不仅是降低体重，更重要的是要降低患心血管疾病和糖尿病的风险，改善血脂和血糖的生化指标。本研究通过对 CB1 受体拮抗剂和 PPAR $\alpha$  激动剂—贝特类的构效关系进行研究，拟开发出不仅具有减肥作用，而且能在降血脂、血糖等代谢综合症的指标方面也能起到很好作用的具有创新结构的化合物。

### 2.2 CB1受体拮抗剂的构效关系研究

Rimonabant结构式如图2.1所示，据文献<sup>[46-51]</sup>报道其构效关系如下。

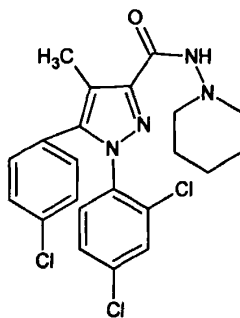


图2.1 Rimonabant的结构式

此类化合物的结构通常保留了中性吡唑环，而将1, 3, 4位置换，或将5位的取代基置换为烷基侧链，或其他在传统三环CB化合物中有强效激动活性的取代基。结构式如图2.2—图2.4所示，构效关系如表2.1—表2.3所示。

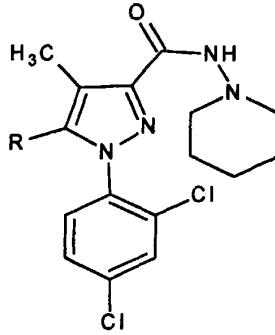


图2.2 结构式1

表2.1 构效关系表1

R	$K_j(\text{nM})^a$		$K_i$ ratio CB1:CB2
	CB1	CB2	
Ph	123	217	1:1.8
p-NO <sub>2</sub> -Ph	57.5	252	1:4.4
o-NO <sub>2</sub> -Ph	255	691	1:2.7
p-NH <sub>2</sub> -Ph	81.5	958	1:12
o-NH <sub>2</sub> -Ph	346	931	1:2.7
p-I-Ph	7.49	2290	1:306
o-I-Ph	53.8	577	1:11
p-Br-Ph	16.8	1430	1:85
Et	183	744	1:4.1
p-Cl-Ph	11.5	1640	1:143

由表2.1<sup>[52]</sup>可知,吡唑环5位取代基的苯基对受体亲和力和抑制活性而言是非常重要的;对位与 $\Delta^9$ -THC的戊基侧链可能存在重叠<sup>[53]</sup>,保留其结构也很重要,删除对位氯将大大降低受体亲和力<sup>[52]</sup>,用碘等基团进行置换能提高亲和力<sup>[53]</sup>。因此,5位取代与受体识别和受体的抑制活性都有密切的关系。

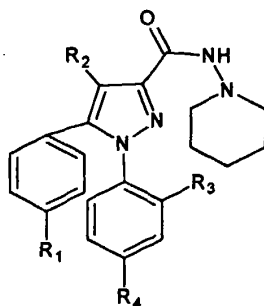


图2.3 结构式2

表2.2 构效关系表2

R1	R2	R3	R4	$K_j + SEM(nM)$
Cl	H	Cl	Cl	9.0±1
Cl	Br	Cl	Cl	1.4±0.2
OCH3	F	Cl	H	18.2±1.4
Cl	CH3	Cl	Cl	1.8±0.2

由表2.2知吡唑环4位由溴取代可以提高亲脂性从而提高亲和性，氢、氟作为取代基降低了亲脂性也就使亲和性降低，即4位的高亲脂性可提高亲和性<sup>[54]</sup>。

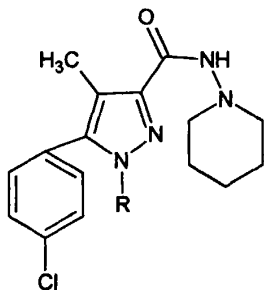


图2.4 结构式3

表2.3 构效关系表3

R	$K_j(nM)^a$		$K_i$ ratio CB1:CB2
	CB1	CB2	
4-Cl-Ph	60.4	836	1:14
2,4-di-Cl-Ph	11.5	1640	1:143



由表2.3<sup>[52]</sup>可看出1位是另一个与抑制活性有关的位置,与 $\Delta^9$ -THC相比,SR141716的2,4-二氯苯环是它最独特的区域<sup>[53]</sup>,而且是“抑制作用给予”的区域,在1位结构的微小改变就能导致抑制活性的丧失,这个区域对受体识别和抑制活性来说是很重要的。

### 2.3 PPAR $\alpha$ 激动剂—贝特类的结构特征

因为胆固醇在体内的生物合成以乙酸为起始原料,因而通过设计合成大量的乙酸衍生物来寻找可干扰胆固醇合成的降胆固醇药物,结果在苯氧基烷酸衍生物中找到了主要能降低甘油三酯及具有一定的降胆固醇作用的贝特类药物。代表药物如吉非罗齐、非诺贝特、氯贝丁酯、苯氯贝特等,结构式如图2.5所示。

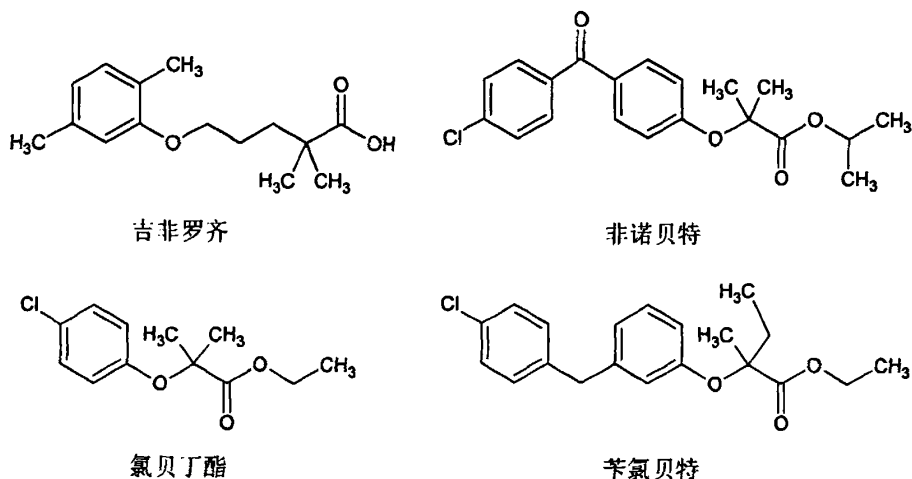


图2.5 吉非罗齐、非诺贝特、氯贝丁酯、苯氯贝特的结构式

对贝特类化合物的结构进行研究总结,可归纳得出贝特类药物是以氧基烷酸(酯)结构为基本结构特征的一类药物。

### 2.4 论文化合物的设计与确定

鉴于 CB1 受体拮抗剂是目前减肥药领域最有前途的一类化合物,而 Rimonabant 是目前 CB1 受体拮抗剂中唯一上市的药物,且市场反应良好,因此我们拟以 Rimonabant 母体结构为基础进行 me-too 开发,同时参考 PPAR $\alpha$  激动

剂—贝特类的结构特征，合成具有创新结构的衍生物，以其得到不但具有类似 Rimonabant 的减肥作用，而且能在降血脂等代谢综合症的指标方面有很好作用新化合物。

根据对 CB1 受体拮抗剂和贝特类化合物的构效关系的分析，在 Rimonabant 的母体结构上引入贝特类化合物的药效团—氧基烷酸（酯）结构进行设计。本研究拟合成化合物的结构如图 2.6 所示。

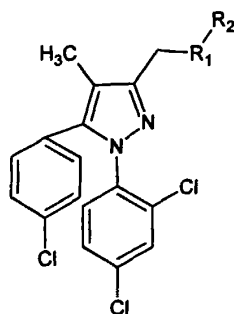


图 2.6 拟合成化合物的结构式

这里， $R_1$  基团为 O、S、N、C 原子， $R_2$  基团为乙酸或乙酸酯的衍生物。

### 第3章 目标化合物及中间体的合成工艺研究选择

文献报道<sup>[52, 66-59]</sup>的Rimonabant的合成路线及通过查阅文献<sup>[60, 61]</sup>确定的合成目标化合物的路线如图3.1所示。

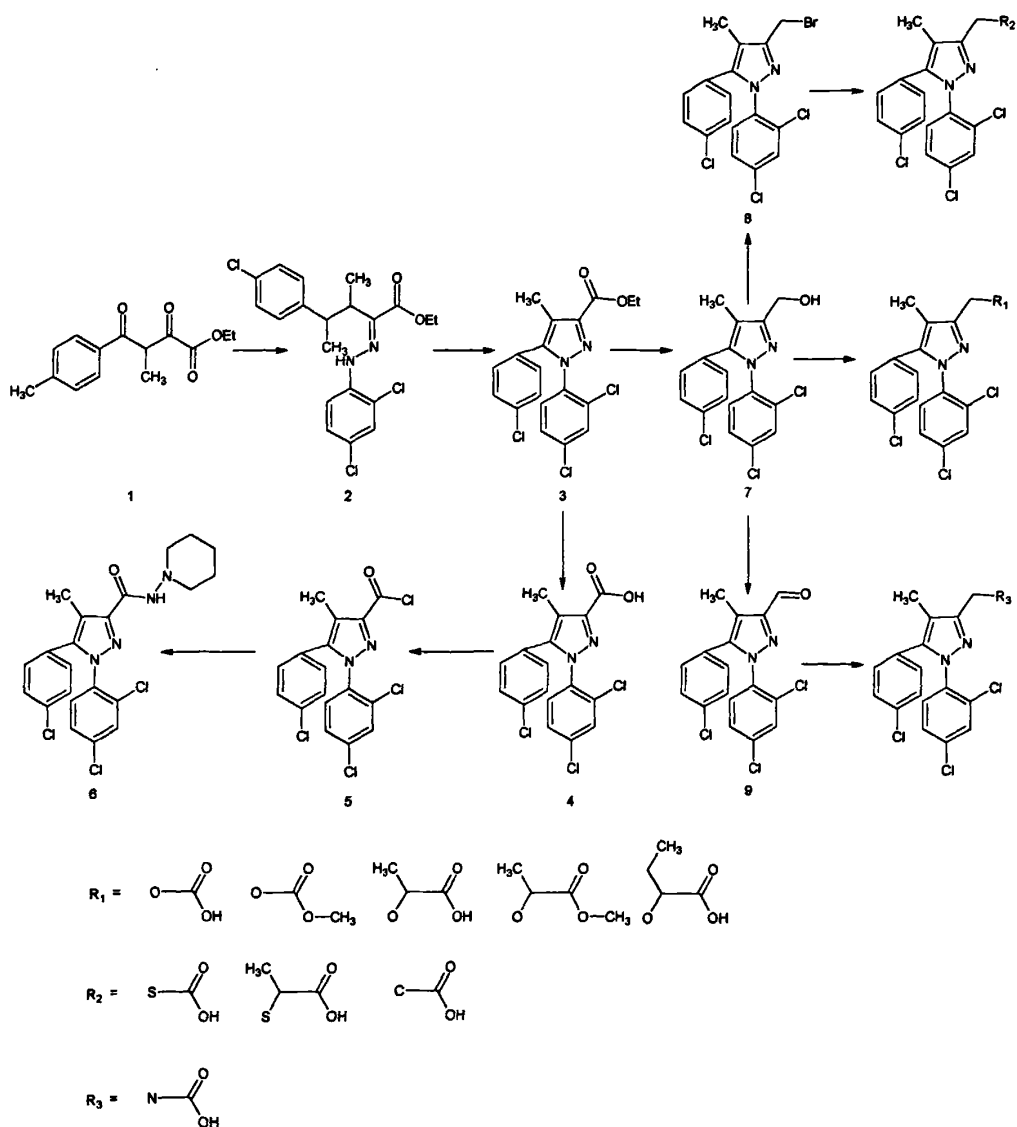


图 3.1 Rimonabant 合成路线

### 3.1 中间体的合成工艺研究

4-(4-氯苯基)-3-甲基-2, 4-二酮基丁酸乙酯 (1) 是本研究中的重要中间体, 文献报道的合成化合物 1 的方法为: 以对氯苯丙酮为原料, 与草酸二乙酯在六甲基双硅氨基锂的催化下制得, 如图 3.2 所示。

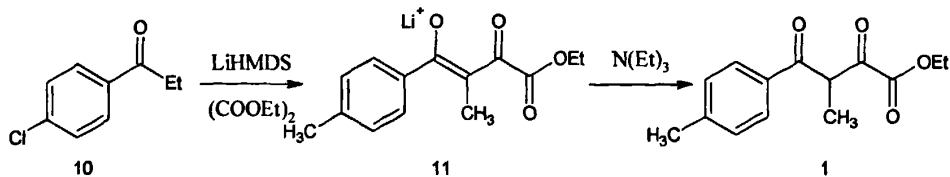


图 3.2 化合物 1 的报道合成路线

此方法存在的主要问题是:

1. 反应需要在 $-78^{\circ}\text{C}$ 的低温和无水无氧条件下进行, 反应条件苛刻且对操作要求比较高;
2. 催化剂六甲基双硅氨基锂价格昂贵且容易失效, 增加生产成本。

参照文献<sup>[62-67]</sup>, 本研究采用将对氯苯丙酮 (10) 先制成烯醇硅醚 (12), 然后与草酰氯反应得呋喃二酮 (13), 醇解即可得化合物 1, 可克服上述缺点。设计路线如图 3.3 所示。

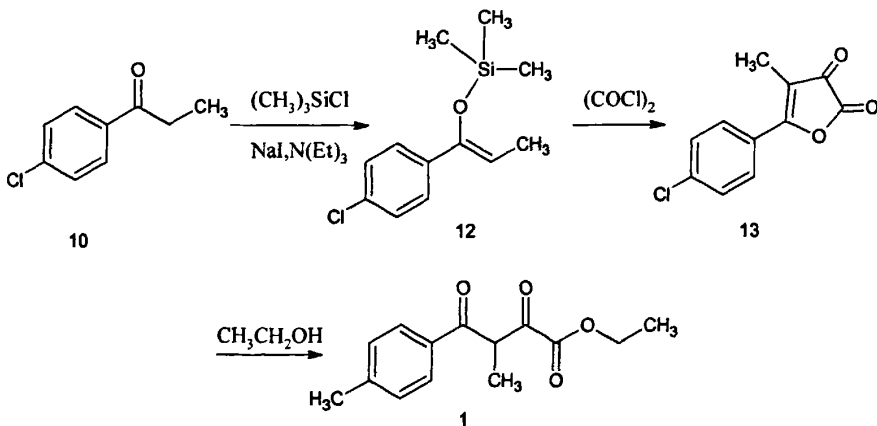


图 3.3 化合物 1 的设计合成路线

此合成路线与文献报道的化合物 1 路线比较具有明显的优点: 1、反应条件温和, 操作简便; 2、生产成本大幅降低; 3、后处理简单。

### 3.2 目标化合物的合成

根据拟合成的化合物,本研究参考相关文献设计确定在化合物 3 的基础上先合成中间体 5-(4-氯苯基)-3-羟甲基-1-(2,4-二氯苯基)-4-甲基吡唑(7)、3-溴甲基-5-(4-氯苯基)-1-(2,4-二氯苯基)-4-甲基吡唑(8)、1-(2,4-二氯苯基)-5-(4-氯苯基)-4-甲基吡唑-3-甲醛(9),结构式如图 2.1 所示,然后在 7、8、9 的基础上分别合成目标化合物。经查阅所合成的目标化合物均未经文献报道,为新化合物。

## 第4章 新化合物的药理筛选

对合成的新化合物进行初步筛选,来判断化合物的对 CB1 受体的亲和力,为 CB1 受体拮抗剂的研发打下基础。

### 4.1 实验原理

本实验利用化合物与同位素标记的已知配体 $[^3\text{H}]\text{-CP55940}$ 对 CB1 受体的竞争结合来判断化合物对受体的亲和程度。化合物对受体的亲和程度高,同位素配体的结合就弱,读数相应减低;反之如果化合物对受体的亲和程度低,则同位素配体的结合就强,读数相应较高。

### 4.2 实验步骤

1. 将稳定表达 CB1 受体的 CHO 细胞种到 96 孔板上, 37°C 孵育过夜。
2. 用无血清培养基替代正常培养基, 37°C 孵育 2 小时。
3. 加入一定浓度的化合物 (8 个浓度梯度, 3 复孔) 或已知的 CB1 拮抗剂 Rimonabant, 室温孵育 10 分钟。溶剂 DMSO 为阴性对照。
4. 加入同位素标记配体 $[^3\text{H}]\text{-CP55940}$ , 终浓度为 1.7 nM, 室温孵育 30 分钟。
5. 用缓冲液冲洗细胞 3 次。
6. 裂解细胞, 加入适量闪烁液, 在 Micro-Beta 液闪计数仪上读板。
7. 数据处理, 以 10  $\mu\text{M}$  Rimonabant 对 1.7 nM  $[^3\text{H}]\text{-CP55940}$  的抑制率为 100%, 使用 GraphPad Prism 软件进行曲线拟合, 获得化合物  $\text{IC}_{50}$ , 计算  $\text{K}_i$  值及 95% 可信限。

### 4.3 实验结果

一、初筛 (化合物浓度为 10  $\mu\text{M}$ , 4 复孔) 结果如图 4.1 和表 4.1 所示。

CHO/CB1 Competitive Binding Assay

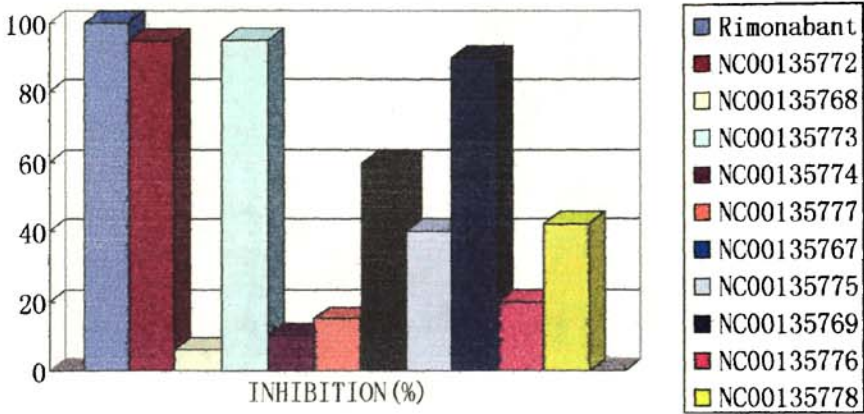
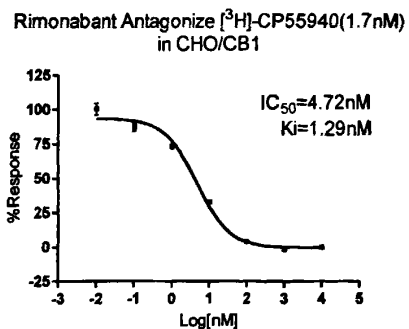


图 4.1 对 CB1 受体亲和度的初筛结果

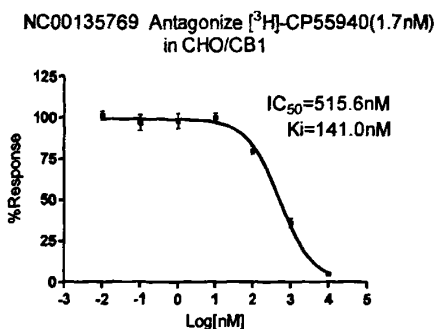
表 4.1 对 CB1 受体亲和度的初筛结果

名称	实验中的编号	抑制率	备注
Rimonabant	Rimonabant	100%	阳性药
化合物 14	NC00135772	95%	>70%
化合物 15	NC00135768	6%	
化合物 16	NC00135773	95%	>70%
化合物 17	NC00135774	10%	
化合物 18	NC00135777	15%	
化合物 19	NC00135767	60%	
化合物 20	NC00135775	40%	
化合物 22	NC00135769	90%	>70%
化合物 25	NC00135776	20%	
化合物 27	NC00135778	42%	

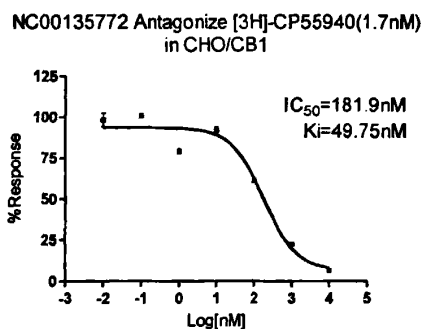
二、对初筛抑制率>70%的化合物进行 8 梯度, 3 复孔复筛, 结果如图 4.2 和表 4.2 所示。



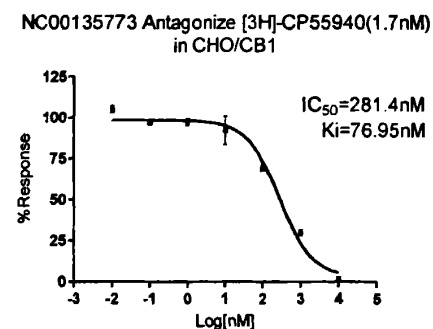
Rimonabant 的复筛结果



化合物 22 的复筛结果



化合物 14 的复筛结果



化合物 16 的复筛结果

图 4.2 对 CB1 受体亲和度的复筛结果

表 4.2 对 CB1 受体亲和度的复筛结果

名称	实验中的编号	IC <sub>50</sub> (nM)	Ki (nM)
Rimonabant	Rimonabant	4.72	1.29
化合物 22	NC00135769	515.6	141.0
化合物 14	NC00135772	181.9	49.75
化合物 16	NC00135773	281.4	76.95



## 第 5 章 结果与讨论

### 5.1 工艺路线的讨论

在制备化合物 1 时, 在工艺路线设计时本研究就指出文献的弊端, 因此设计由化合物 7 先生成硅醚, 然后得呋喃二酮, 最后直接醇解即得化合物 1, 此设计反应条件温和, 操作简便, 后处理简单, 而且使生产成本大幅降低, 更适合工业生产, 达到设计目的。

### 5.2 实验方法的讨论

1. 在制备氧代衍生物时, 先由化合物 3 还原得中间体 7, 然后与相应的卤代化合物反应制得。因为卤代化合物相对中间体 7 价格便宜, 用此种制备方法可使生产成本最低。

2. 在制备硫代衍生物时, 是由中间体 7 卤代得中间体 8, 然后与相应的巯基化合物反应制得, 而不是先把中间体硫代, 然后与相应的卤代化合物反应。选择这样的制备方法也是考虑到生产成本最低。

3. 在制备氮代衍生物时, 由中间体 7 卤代得中间体 8, 然后与相应的氨基化合物反应得到的是氮上二取代的化合物, 故须先把中间体 7 氧化得中间体 9, 然后由醛与相应的氨基化合物反应制得。

### 5.3 新化合物的药理筛选的结果的讨论

1. 分别对化合物 14 和 15, 化合物 16 和 17 的筛选结果进行比较可知, 酯基结构的化合物比羧基结构的化合物抑制率好。下步工作考虑设计酯基结构。

2. 通过上述化合物 14 和 15, 化合物 16 和 17 的筛选结果进行比较知酯基结构的化合物比羧基结构的化合物抑制率好, 推测可能是化合物 14、16 分别比相对应的化合物 15、17 极性小, 其极性与其抑制率成反比。以此考虑下步工作应设计极性更小的酯基结构。

3. 由化合物 14 和 16 的筛选结果进行比较, 化合物 14 为直链结构而化合物 16 带有支链结构, 但化合物 14 的抑制率比化合物 16 的抑制率高, 可能是由于化合物 16 的支链结构产生位阻, 从而使其抑制率降低。由此可知, 下步工作应

选择设计直链结构而不带支链的化合物。

4. 分别对化合物 15、19 和 27，化合物 17 和 20 的筛选结果进行比较可知，O、S、N 分别取代的类似结构中以 S 取代的化合物的抑制率最好。基于此可以考虑把 S 取代的化合物做成极性较小的酯以考察其活性是否更好。

## 第6章 合成实验及结构表征

### 6.1 仪器及试剂

BRUKER AVANCE 400M 核磁共振仪; ThermoFinnigan LCQ ADVANTAGE 质谱分析仪; 所用化学药品均为市售化学纯或分析纯。

### 6.2 中间体的合成实验及结构表征

#### 1- (4-氯苯基) -1-三甲基硅烷氧基丙烯 (12)

在氩气保护下, 将 10 (11.2g, 66.5mmol) 溶于乙腈 (25ml) 中, 室温搅拌下加入三乙胺 (13.43g, 133mmol) 和三甲基氯硅烷 (14.43g, 133mmol), 加完后滴加碘化钠 (15g, 99.75 mmol) 的乙腈 (100ml) 溶液, 滴加完毕室温搅拌约 3 小时后, 真空浓缩, 过滤, 甲基叔丁基醚洗涤, 浓缩干得油状物 14.8g (93%)。

MS(ESI): $m/z=239(M^+)$ 。

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ : $\delta=0.13(\text{s}, 9\text{H}), 1.7(\text{d}, 3\text{H}), 5.28(\text{q}, 1\text{H}), 7.21-7.39(\text{m}, 4\text{H})$ 。

#### 4- (4-氯苯基) -3-甲基-2, 4-二酮基丁酸乙酯 (1)

室温下把 12 (14.5g, 60.3mmol) 溶于甲基叔丁基醚 (50ml) 中, 磁力搅拌下, 慢慢滴加草酰氯 (3.83g, 30.15mmol), 约 1 小时滴加完毕, 搅拌约 5 小时后冷却静置, 然后过滤, 甲基叔丁基醚洗涤, 母液浓缩后再过滤。室温下把所得固体溶于乙醇 (35ml) 中, 磁力搅拌至反应物溶解, 浓缩后得白色固体 12.8g (76%)。

MS(ESI): $m/z=267(M^+)$ 。

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ : $\delta=1.32(\text{t}, J=7.1\text{Hz}, 3\text{H}), 1.47(\text{d}, J=7.2\text{Hz}, 3\text{H}), 4.29(\text{q}, J=7.1\text{Hz}, 2\text{H}),$

$5.04(\text{q}, J=7.2\text{Hz}, 1\text{H}), 7.50-7.97(\text{m}, 4\text{H})$ 。

$^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3)$ : $\delta=12.66, 13.84, 50.91, 62.93, 129.29, 130.15, 133.43, 140.41, 160.36, 190.23, 196.88$ 。

#### 5- (4-氯苯基) -1- (2, 4-二氯苯基) -4-甲基吡唑-3-甲酸乙酯 (3)

室温下把 2, 4-二氯苯胍盐酸盐 (2.533g, 11.88mmol) 和三乙胺 (1.2g, 11.88mmol) 加入乙醇 (30ml) 中, 搅拌至溶解, 然后加入到 1 的乙醇 (20ml) 液中, 搅拌约 20 小时后, 过滤, 滤饼分别用水和乙醇洗涤, 母液再浓缩过滤, 所得固体真空干燥。然后把所得固体溶于乙酸 (40ml) 中回流约 24 小时, 然后把反应混合物倒入冷水 (40ml) 中, 乙酸乙酯萃取, 合并有机相, 分别用饱和碳

酸氢钠溶液和饱和食盐水洗涤,无水硫酸镁干燥,过滤,浓缩,正己烷/乙酸乙酯中重结晶得白色固体 2.6g (53%)。

MS(ESI): $m/z=409(M^+)$ 。

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ : $\delta=1.43(\text{t},J=5.7\text{Hz},3\text{H}),2.34(\text{s},3\text{H}),4.45(\text{q},J=5.7\text{Hz},2\text{H}),7.07-7.38(\text{m},7\text{H})$ 。

$^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3)$ : $\delta=9.78,14.55,61.07,119.25,127.17,127.87,128.99,130.20,130.84,130.99,133.16,135.11,136.03,136.14,142.98,143.08,162.85$ 。

5-(4-氯苯基)-3-羟甲基-1-(2,4-二氯苯基)-4-甲基吡唑 (7)

3 (8.19g,0.02mmol)溶于四氢呋喃(250ml)中,冷却到 $0^\circ\text{C}$ ,强力搅拌下,向其中分次加入氢化锂铝(1.9g,0.05mol),加完后,在 $0^\circ\text{C}$ 保温15分钟后,向其中加入乙酸乙酯(15ml),然后加入饱和氯化铵溶液(100ml),搅拌片刻后,过滤,用甲基叔丁基醚(100ml)洗涤,分出有机相,分别用5%盐酸和饱和食盐水洗涤,无水硫酸镁干燥,过滤,浓缩,正乙烷/乙酸乙酯中重结晶得白色固体 6.69g (91%)。

MS(ESI): $m/z=367(M^+)$ 。

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ : $\delta=2.17(\text{s},3\text{H}),2.86(\text{s},1\text{H}),4.79(\text{s},2\text{H}),7.07-7.44(\text{m},7\text{H})$ 。

$^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3)$ : $\delta=8.29,57.62,113.84,127.82,127.99,128.83,130.19,130.52,130.69,132.97,134.49,135.38,136.31,141.92,152.28$ 。

3-溴甲基-5-(4-氯苯基)-1-(2,4-二氯苯基)-4-甲基吡唑 (8)

7 (3.675g,0.01mmol)溶于苯(100ml)中,然后逐滴加入三溴化磷(13.55g,0.05mol)的苯(100ml)溶液,滴加完毕后,回流1小时,冷却,倒入冰水(100ml)中,乙醚萃取,合并有机相,10%碳酸氢钠溶液洗涤,无水硫酸镁干燥,过滤,浓缩,正乙烷中重结晶得白色固体 3.72g (86%)。

MS(ESI): $m/z=429(M^+)$ 。

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ : $\delta=2.17(\text{s},3\text{H}),4.59(\text{s},2\text{H}),7.07-7.41(\text{m},7\text{H})$ 。

$^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3)$ : $\delta=8.54,24.01,114.77,127.76,127.83,128.87,130.21,130.57,130.68,132.97,134.67,135.54,136.17,142.13,148.94$ 。

1-(2,4-二氯苯基)-5-(4-氯苯基)-4-甲基吡唑-3-甲醛 (9)

将吡啶(5.37g,0.068mol)溶于二氯甲烷(45ml)中,冷却到 $0^\circ\text{C}$ ,然后边搅拌边加入三氧化铬(3.4g,0.034mol),然后在 $0^\circ\text{C}$ 下,再慢慢加入7(1.679g,0.00457mol)的二氯甲烷(40ml)溶液,加完后保温30分钟,然后升

至室温,硅藻土过滤,二氯甲烷洗涤,分出有机相,浓缩蒸干后,加入乙醚(30ml),分别用10%氢氧化钠、5%盐酸和饱和食盐水洗涤,无水硫酸镁干燥,过滤,浓缩,正乙烷/乙醚中重结晶得白色固体0.7g(40%)。

MS(ESI): $m/z=365(M^+)$ 。

$^1\text{H-NMR}(\text{DMSO})$ :  $\delta=2.29(\text{s},3\text{H}),7.27-7.82(\text{m},7\text{H}),10.09(\text{s},1\text{H})$ 。

$^{13}\text{C-NMR}(\text{DMSO})$ :  $\delta=9.09,116.99,126.89,128.96,129.30,130.25,131.74,132.05,132.29,134.57,135.89,136.02,143.61,149.52,188.44$ 。

### 6.3 新化合物的合成实验及结构表征

[1-(2,4-二氯苯基)-5-(4-氯苯基)-4-甲基吡啶-3-甲氧基]-乙酸甲酯(14)  
7(0.5g,1.36mmol)溶于四氢呋喃(15ml)中,向其中加入氢化钠(0.082g,2.04mmol),搅拌溶解后,再向其中加入氯乙酸甲酯(0.16g,1.50mmol),反应完全后,浓缩蒸干,分别加入氯仿(15ml)和水(15ml),分出有机相,干燥,过滤,浓缩,柱层析(正己烷:乙酸乙酯2:1)分离,洗脱液浓缩后得白色固体。

MS(ESI): $m/z=439(M^+)$ 。

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ :  $\delta=2.22(\text{s},3\text{H}),3.81(\text{s},3\text{H}),4.24(\text{s},2\text{H}),4.79(\text{s},2\text{H}),7.09-7.45(\text{m},7\text{H})$ 。

$^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3)$ :  $\delta=8.33,51.84,65.68,66.95,115.21,127.79,127.99,128.82,130.19,130.54,130.66,133.07,134.51,135.41,136.34,141.98,148.79,170.77$ 。

[1-(2,4-二氯苯基)-5-(4-氯苯基)-4-甲基吡啶-3-甲氧基]-乙酸(15)

氢氧化钾(0.152g,2.7mmol)溶于甲醇(15ml)中,然后向其中加入14(0.3g,0.6mmol),加热回流,反应完全后,冷却,倒入水(15ml),10%盐酸调PH=4,析出固体,过滤,真空干燥得白色固体。

MS(ESI): $m/z=425(M^+)$ 。

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ :  $\delta=2.18(\text{s},3\text{H}),4.22(\text{s},2\text{H}),4.81(\text{s},2\text{H}),7.09-7.43(\text{m},7\text{H})$ 。

$^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3)$ :  $\delta=8.25,65.29,66.83,114.98,127.61,127.89,128.87,130.21,130.58,130.74,133.05,134.74,135.69,135.81,142.32,148.66,173.77$ 。

2-[1-(2,4-二氯苯基)-5-(4-氯苯基)-4-甲基吡啶-3-甲氧基]-丙酸甲酯(16)

氢化钠(0.036g,0.90mmol)溶于四氢呋喃(15ml)中,向其中加入7

(0.3g,0.82mmol), 搅拌溶解后, 再向其中加入  $\alpha$ -溴丙酸甲酯(0.136g,0.90mmol), 反应完全后, 浓缩蒸干, 分别加入苯(15ml)和水(15ml), 分出有机相, 干燥, 过滤, 浓缩, 柱层析(正己烷: 乙酸乙酯 5: 1)分离, 洗脱液浓缩后得白色固体。

MS(ESI): $m/z=453(M^+)$ 。

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ : $\delta=1.48(\text{d}, J=6.9\text{Hz}, 3\text{H}), 2.21(\text{s}, 3\text{H}), 3.78(\text{s}, 3\text{H}), 4.21(\text{q}, J=6.9\text{Hz}, 1\text{H}), 4.62(\text{d}, J=11.4\text{Hz}, 1\text{H}), 4.81(\text{d}, J=11.4\text{Hz}, 1\text{H})$ 。

$^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3)$ : $\delta=8.32, 18.65, 51.88, 64.66, 73.86, 127.76, 128.10, 128.78, 128.83, 130.14, 130.53, 130.71, 133.00, 134.62, 135.29, 136.40, 141.83, 149.12, 173.53$ 。

2-[1-(2, 4-二氯苯基)-5-(4-氯苯基)-4-甲基吡啶-3-甲氧基]-丙酸(17)

氢氧化钾(0.3g,5.36mmol)溶于甲醇(15ml)中, 然后向其中加入 16(0.3g,0.67mmol), 加热回流, 反应完全后, 冷却, 倒入水(15ml), 5%盐酸调 PH=4, 析出固体, 过滤, 真空干燥得白色固体。

MS(ESI): $m/z=439(M^+)$ 。

$^1\text{H-NMR}(\text{DMSO})$ : $\delta=1.35(\text{d}, J=6.8\text{Hz}, 3\text{H}), 2.13(\text{s}, 3\text{H}), 4.10(\text{q}, J=6.8\text{Hz}, 1\text{H}), 4.50(\text{d}, J=11.1\text{Hz}, 1\text{H}), 4.69(\text{d}, J=11.1\text{Hz}, 1\text{H})$ 。

$^{13}\text{C-NMR}(\text{DMSO})$ : $\delta=8.47, 18.90, 64.09, 73.75, 115.04, 128.53, 128.71, 129.15, 130.06, 131.32, 132.17, 132.52, 133.75, 134.86, 136.75, 141.60, 149.44$ 。

2-[1-(2, 4-二氯苯基)-5-(4-氯苯基)-4-甲基吡啶-3-甲氧基]-丁酸(18)

化钠(0.04g,0.98mmol)溶于四氢呋喃(15ml)中, 向其中加入 7(0.3g,0.82mmol), 搅拌溶解后, 再向其中加入 2-溴丁酸甲酯(0.18g,0.98mmol), 反应完全后, 浓缩蒸干, 分别加入氯仿(15ml)和水(15ml), 分出有机相, 干燥, 过滤, 浓缩, 柱层析(正己烷: 乙酸乙酯 6: 1)分离, 洗脱液浓缩后得白色固体。将此固体溶于氢氧化钾(0.3g,5.36mmol)的甲醇(20ml)溶液中, 加热回流, 反应完全后, 浓缩蒸干, 加入水(15ml), 5%盐酸调 PH=4, 析出固体, 过滤, 真空干燥得白色固体。

MS(ESI): $m/z=453(M^+)$ 。

$^1\text{H-NMR}(\text{DMSO})$ : $\delta=0.92(\text{t}, J=7.4\text{Hz}, 3\text{H}), 1.62-1.78(\text{m}, 2\text{H}), 2.13(\text{s}, 1\text{H}), 3.90(\text{t}, J=6\text{Hz}, 1\text{H}), 4.44(\text{d}, J=11.2\text{Hz}, 1\text{H}), 4.70(\text{d}, J=11.2\text{Hz}, 1\text{H}), 7.19-7.77(\text{m}, 7\text{H})$ 。

$^{13}\text{C-NMR}(\text{DMSO})$ : $\delta=8.55, 10.25, 26.04, 64.24, 79.16, 115.06, 128.56, 128.73, 129.16, 130.07, 131.32, 132.19, 132.50, 133.71, 134.83, 136.76, 141.58, 149.62, 174.07$ 。

## [1-(2,4-二氯苯基)-5-(4-氯苯基)-4-甲基吡唑-3-甲巯基]-乙酸(19)

巯基乙酸(0.063g,0.767mmol)溶于甲醇(5ml)中,向其中加入甲醇钠(0.083g,1.53mmol),搅拌溶解后,再向其中加入8(0.3g,0.767mmol)的四氢呋喃(5ml)溶液,反应完全后,甲醇的氯化氢溶液调PH=4,浓缩蒸干,分别加入氯仿(10ml)和水(10ml),分出有机相,干燥,过滤,浓缩,柱层析(氯仿:甲醇 10:1)分离,洗脱液浓缩后得白色固体。

MS(ESI): $m/z=441(M^+)$ 。

$^1H$ -NMR( $CDCl_3$ ): $\delta=2.10(s,3H),3.24(s,2H),3.92(s,2H),7.04-7.37(m,7H)$ 。

$^{13}C$ -NMR( $CDCl_3$ ): $\delta=8.42,27.09,29.69,33.01,114.10,127.62,127.91,128.85,130.18,130.60,130.83,133.12,134.74,135.62,135.62,135.64,143.36,149.06,174.04$ 。

## 2-[1-(2,4-二氯苯基)-5-(4-氯苯基)-4-甲基吡唑-3-甲巯基]-丙酸(20)

2-巯基丙酸(0.148g,1.40mmol)溶于甲醇(20ml)中,向其中加入甲醇钠(0.15g,2.8mmol),搅拌溶解后,再向其中加入8(0.4g,0.93mmol),反应完全后,乙醇的氯化氢溶液调PH=4,浓缩蒸干,加入水(10ml)和少量氢氧化钾,5%盐酸调PH=4,析出固体,过滤,干燥,柱层析(正己烷:乙酸乙酯 7:1,氯仿:甲醇 10:1)分离,洗脱液浓缩后加入水(10ml)和少量氢氧化钾,5%盐酸调PH=4,析出固体,过滤,真空干燥得白色固体。

MS(ESI): $m/z=455(M^+)$ 。

$^1H$ -NMR(DMSO): $\delta=1.37(d,J=7.1Hz,3H),2.09(s,3H),3.51(q,J=7.1Hz,1H),3.91(d,J=13.3Hz,1H),3.95(d,J=13.3Hz,1H),7.19-7.77(m,7H)$ 。

$^{13}C$ -NMR(DMSO): $\delta=8.64,18.05,26.81,41.777,113.96,128.51,128.71,129.16,130.08,131.32,132.14,132.65,133.72,134.79,136.75,141.53,149.29,174.61$ 。

## {双-[1-(2,4-二氯苯基)-5-(4-氯苯基)-4-甲基吡唑-3-甲基]-氨基}-乙酸甲酯(21)

甘氨酸甲酯盐酸盐(0.095g,0.757mmol)溶于甲醇(20ml)中,向其中加入甲醇钠(0.082g,1.51mmol),搅拌溶解后,再向其中加入8(0.326g,0.697mmol),反应完全后,调PH=6,浓缩蒸干,加入水(20ml),过滤,干燥,浓缩,柱层析(正己烷:乙酸乙酯 4:1)分离,洗脱液浓缩后得白色固体。

MS(ESI): $m/z=786(M^+)$ 。

$^1H$ -NMR(DMSO): $\delta=2.03(s,6H),3.529(s,2H),3.63(s,3H),3.90(s,4H),7.17-7.76(m,14H)$ 。

$^{13}\text{C-NMR}(\text{DMSO})$ : $\delta=8.36,49.24,51.48,53.29,114.96,128.69,129.15,130.08,131.25,132.12,132.66,133.64,134.75,136.86,141.48,150.19,171.56$ 。

{双-[1-(2,4-二氯苯基)-5-(4-氯苯基)-4-甲基吡唑-3-甲基]-氨基}-乙酸(22)

氢氧化钾(0.03g,0.528mmol)溶于甲醇(10ml)中,然后向其中加入21(0.13g,0.165mmol),加热回流,反应完全后,冷却,倒入水(10ml),10%盐酸调PH=4,析出固体,过滤,真空干燥得白色固体。

MS(ESI): $m/z=772(\text{M}^+)$ 。

$^1\text{H-NMR}(\text{DMSO})$ : $\delta=1.99(\text{s},6\text{H}),3.43(\text{s},2\text{H}),3.91(\text{s},4\text{H}),7.14(\text{d},J=8.3\text{Hz},4\text{H}),7.40(\text{d},J=8.3\text{Hz},4\text{H}),7.48-7.72(\text{m},6\text{H})$ 。

$^{13}\text{C-NMR}(\text{DMSO})$ : $\delta=8.41,49.08,53.17,115.06,128.67,128.71,129.15,130.09,131.27,132.13,132.68,133.66,134.78,136.85,141.51,150.02,172.41$ 。

{[1-(2,4-二氯苯基)-5-(4-氯苯基)-4-甲基吡唑-3-甲基]- (甲苯-4-磺酰基)-氨基}-乙酸甲酯(23)

对甲苯磺酰甘氨酸甲酯(0.34g,1.39mmol)溶于氯仿(20ml)中,向其中加入氯化钠(0.056g,1.39mmol),搅拌溶解后,再向其中加入8(0.3g,0.697mmol),反应完全后,倒入水(20ml)中,分出有机相,干燥,过滤,浓缩,加入少量甲苯,析出固体,过滤,母液浓缩,柱层析(正己烷:乙酸乙酯7:1)分离,洗脱液浓缩后得白色固体。

MS(ESI): $m/z=592(\text{M}^+)$ 。

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ : $\delta=2.17(\text{s},3\text{H}),2.47(\text{s},3\text{H}),3.55(\text{s},3\text{H}),4.12(\text{s},2\text{H}),4.61(\text{s},2\text{H}),7.07(\text{d},J=8.5\text{Hz},2\text{H}),7.21(\text{d},J=8.5\text{Hz},1\text{H}),7.28-7.43(\text{m},6\text{H}),7.80(\text{d},J=8.3\text{Hz},2\text{H})$ 。

$^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3)$ : $\delta=8.23,21.56,44.05,47.10,51.91,115.39,127.47,127.78,128.86,129.58,130.19,130.53,130.57,133.02,134.52,135.48,136.19,136.35,142.02,143.53,146.88,169.10$ 。

{[1-(2,4-二氯苯基)-5-(4-氯苯基)-4-甲基吡唑-3-甲基]- (甲苯-4-磺酰基)-氨基}-乙酸(24)

氢氧化钾(0.3g,5.36mmol)溶于甲醇(20ml)中,然后向其中加入23(0.3g,0.51mmol),加热回流,反应完全后,浓缩蒸干,加入水(15ml),5%盐酸调PH=4,析出固体,过滤,真空干燥得白色固体。

MS(ESI): $m/z=578(\text{M}^+)$ 。



$^1\text{H-NMR(DMSO)}$ :

$\delta=1.95(\text{s},3\text{H}),2.35(\text{s},3\text{H}),3.95(\text{s},2\text{H}),4.52(\text{s},2\text{H}),7.11(\text{d},J=8.4\text{Hz},2\text{H}),$   
 $7.33(\text{d},J=8.1\text{Hz},2\text{H}),7.42-7.73(\text{m},7\text{H})$ 。

$^{13}\text{C-NMR(CDCl}_3)$ : $\delta=8.35,21.43,43.32,47.91,114.82,127.49,128.33,128.69,129.17,$   
 $129.86,130.07,131.30,131.97,132.52,133.79,134.89,136.55,137.53,141.52,143.30,$   
 $147.21,170.36$ 。

[1-(2,4-二氯苯基)-5-(4-氯苯基)-4-甲基吡唑-3-甲基]-丙二酸乙酯 (25)

丙二酸二乙酯 (0.3g,1.88mmol) 溶于四氢呋喃 (25ml) 中, 向其中加入氯化钠 (0.075g,1.88mmol), 搅拌溶解后, 再向其中加入 8 (0.536g,1.25mmol), 反应完全后, 浓缩蒸干, 分别加入氯仿 (20ml) 和水 (20ml), 分出有机相, 干燥, 过滤, 浓缩, 柱层析 (正己烷: 乙酸乙酯 10: 1) 分离, 洗脱液浓缩后得油状物。

MS(ESI): $m/z=509(\text{M}^+)$ 。

$^1\text{H-NMR(CDCl}_3)$ : $\delta=1.27(\text{t},J=7.1\text{Hz},6\text{H}),2.10(\text{s},3\text{H}),3.31(\text{d},J=7.8\text{Hz},2\text{H}),$   
 $4.07(\text{t},J=7.8\text{Hz},1\text{H}),4.20(\text{q},J=7.1\text{Hz},4\text{H}),7.04-7.41(\text{m},7\text{H})$ 。

$^{13}\text{C-NMR(CDCl}_3)$ : $\delta=8.39,14.05,25.75,50.96,61.39,113.88,127.62,128.35,128.71,$   
 $128.83,130.11,130.52,133.06,134.26,134.99,136.63,141.18,149.61,169.12$ 。

[1-(2,4-二氯苯基)-5-(4-氯苯基)-4-甲基吡唑-3-]-丙酸 (26)

氢氧化钾 (0.21g,3.75mmol) 溶于乙醇 (20ml) 中, 然后向其中加入 25 (0.64g,1.25mmol), 加热回流, 反应完全后, 冷却, 浓缩蒸干, 加入水 (20ml), 调 PH=4, 析出固体, 过滤, 真空干燥得白色固体。将此固体溶于苯 (25ml) 中, 加热回流 20 小时, 反应完全后, 冷却, 浓缩, 柱层析 (氯仿: 甲醇 50: 1) 分离, 洗脱液浓缩后得白色固体。

MS(ESI): $m/z=409(\text{M}^+)$ 。

$^1\text{H-NMR(DMSO)}$ : $\delta=2.05(\text{s},3\text{H}),2.68(\text{t},J=7.6\text{Hz},2\text{H}),2.89(\text{t},J=7.6\text{Hz},2\text{H}),$   
 $7.17-7.71(\text{m},7\text{H})$ 。

$^{13}\text{C-NMR(DMSO)}$ : $\delta=8.54,22.08,32.61,79.64,113.45,128.61,128.81,129.09,130.04,$   
 $131.23,132.09,132.57,133.59,134.55,137.00,141.12,151.70,174.27$ 。

{[1-(2,4-二氯苯基)-5-(4-氯苯基)-4-甲基吡唑-3-甲基]-氨基}-乙酸 (27)

9 (0.276g,0.755mmol) 溶于二氯甲烷 (15ml) 中, 向其中加入甘氨酸乙酯盐酸盐 (0.105g,0.755mmol) 和三乙胺 (0.076g,0.755mmol) 的混和液, 再向其中

加入无水硫酸镁 (1g), 最后加入硼氢化钾 (0.082g, 1.51mmol) 反应完全后, 过滤, 滤液中加入水 (15ml) 中, 分出有机相, 干燥, 过滤, 浓缩, 柱层析 (正己烷: 乙酸乙酯 5: 1) 分离, 洗脱液浓缩后得白色固体。将此固体溶于氢氧化钾 (0.3g, 5.36mmol) 的甲醇 (20ml) 溶液中, 加热回流, 反应完全后, 浓缩蒸干, 加入水 (15ml), 5% 盐酸调 PH=4, 析出固体, 过滤, 真空干燥得白色固体。MS(ESI): m/z=424(M<sup>+</sup>)。

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO): δ=2.09(s, 3H), 3.32(s, 2H), 4.04(s, 2H), 7.21(d, J=8.3Hz, 2H), 7.47(d, J=8.3Hz, 2H), 7.55-7.79(m, 3H)。

<sup>13</sup>C-NMR(DMSO): δ=8.48, 43.33, 49.62, 114.58, 128.38, 128.79, 129.21, 130.12, 131.32, 132.13, 132.49, 133.82, 134.93, 136.67, 141.62, 147.96, 170.10。

## 致谢

三年的研究生生活即将过去。借此论文结尾之处，向关心、帮助和鼓励我的老师、同学、亲人和朋友说一声谢谢。

首先要感谢的人是我的导师李少华老师。这三年的学习期间中，李老师不仅为我提供良好的学习与工作环境，而且还在生活等各方面都给予了我很大的支持和帮助，在此，我要真诚的对李老师说一声谢谢。

另外，本论文的实验内容是在浙江海正药业完成的。我在此要特别感谢海正药业技术中心副主任金春华老师，感谢他在实验中给予我无微不至的关怀和指导。

最后借此机会向所有帮助支持我的亲人、朋友、同学们表示诚挚的感谢！

李峰  
2007年5月

## 参考文献

- [1] 郑玉斌. 减肥药市场. 上海医药情报研究, 2004, 72 (1): 17~20
- [2] 庞小翼, 董志, 傅洁民. 大麻素受体 1 阻断剂在治疗肥胖症中的作用. 中国临床药理学与治疗学, 2006, 11 (6): 606~608
- [3] 邹大进, 王森. 大麻素受体 1 阻断剂在治疗代谢综合症中的作用. 世界临床药物, 2005, 6 (26), 360~363
- [4] Lorenzo C, Serrano-Rios M, Martinez-Larrad MT, et al. Central adiposity determines prevalence differences of the metabolic syndrome. *Obes Res*, 2003, 11(12): 1480~1487
- [5] Von-Eyben FE, Mouritsen E, Holm J, et al. Intra-abdominal obesity and metabolic risk factors: a study of young adults. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 2003, 27(8): 941~949
- [6] Han TS, Williams K, Satar N, et al. Analysis of obesity and hyperinsulinemia in the development of metabolic syndrome: San Antonio Heart Study. *Obes Res*, 2002, 10(9): 923~931
- [7] Vanhala M J, Vanhala P T, Keinanen, Kiukaanniemi S M, et al. Relative weight gain and obesity as a child predict metabolic syndrome as an adult. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 1999, 23(6): 656~659
- [8] Steinberger J. Diagnosis of the metabolic syndrome in children. *Curr Opin Lipidol*, 2003, 14(6): 555~559
- [9] Maison P, Byrne C D, Hales C N. et al. Do different dimensions of the metabolic syndrome change together over time? Evidence supporting obesity as the central feature. *Diabetes Care*, 2001, 24(10): 1758~1763
- [10] Zhang Y R, Proenca M, Maffel M, et al. Positional cloning of the mouse gene and its human homologue. *Nature*, 1994, 372(6505): 425~432
- [11] Caro J F, Kolaczynski J W, Nyce M R, et al. Decreased cerebrospinal-fluid / serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. *Lancet*, 1996, 348(9021): 159~161
- [12] Lund I K, Hansen J A, Andersen H S, et al. Mechanism of protein tyrosine phosphatase 1B-mediated inhibition of leptin signaling. *J Mol Endocrinol*, 2005, 34(2): 339~351
- [13] Lambert P D, Anderson K D, Sleeman M W, et al. Ciliary neurotrophic factor activates leptin-like pathways and reduces body fat, without cachexia or rebound weight gain, even in leptin-resistant obesity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(8): 4652~4657
- [14] Sugiura T, Waku K. Cannabinoid receptors and their endogenous ligands. *J Biochem (Tokyo)*, 2002, 132(1): 7~12
- [15] Gong H X, Guo X R, Fei L, et al. Lipolysis and apoptosis of adipocytes induced by neuropeptide Y-Y5 receptor antisense oligodeoxynucleotides in obese rats. *Acta Pharmacol Sin*, 2003, 24(6): 569~575
- [16] Naslund E, King N, Mansten S, et al. Prandial subcutaneous injections of glucagon-like

- peptide-1 cause weight loss in obese human subjects. *Br J Nutr*, 2004, 91(3): 439~446
- [17] Giacobino J P. Beta 3-adrenoceptor: an update. *Eur J Endocrinal*, 1995, 132(4): 377~385
- [18] 徐颖. 中药减肥作用的实验研究. *中成药*, 1997, 19(10): 38~39
- [19] Grover G J, Mellstrom K, Ye L, et al. Selective thyroid hormone receptor-beta activation: a strategy for reduction of weight, cholesterol, and lipoprotein (a) with reduced cardiovascular liability. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(17): 10067~10072
- [20] 曾凡新, 董志, 傅洁民. 减肥药的作用新靶点及相关新药研发近况. *药学进展*, 2006, 1(30): 23~29
- [21] Fisher R M, Certow K. Fatty acid transport proteins and insulin resistance. *Curr Opin Lipidol*, 2005, 16(2): 173~178
- [22] Stahl A, Hirsch D J, Gimeno R E, et al. Identification of the major intestinal fatty acid transport protein. *Mol Cell*, 1999, 4(3): 299~308
- [23] Kolehmainen M, Uusitupa M I, Alhava E, et al. Effect of the Prol2 Ala polymorphism in the peroxisome proliferator activated receptor(PPAR)gamma2 gene on the expression of PPARgamma target genes in adipose tissue of massively obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88(4): 1717~1722
- [24] Rodriguez de Fonseca F, Del Arco I, Bermudez-Silva F J, et al. The endocannabinoid system: physiology and pharmacology. *Alcohol*, 2005, 40: 2~14
- [25] Giuffrida A, Beltramo M, Piomelli D. Mechanisms of endocannabinoid inactivation: biochemistry and pharmacology. *J Pharmacol Exp Ther*, 2001, 298(1): 7~14
- [26] KVASNICKA T. Endocannabinoids-the new option in the treatment of metabolic syndrome and in smoking cessation. *Cas Lek Cesk*, 2005, 144(2): 81~84
- [27] 史爱欣. 选择性1型大麻素受体阻滞剂利莫那班. *中国新药杂志*, 2006, 18(15): 1593~1595
- [28] Matsuda L A, Lolait S J, Brownstein M J, et al. Structure of a cannabinoid receptor and a functional expression of the cloned cDNA. *Nature*, 1990, 346(6284): 561~564
- [29] Schwartz M W, Woods S C, Porte D J, et al. Central nervous system control of food intake. *Nature*, 2000, 404: 661~671
- [30] Christie M J, Vanhan C W. Cannabinoid act backwards. *Nature*, 2001, 410(6828) : 527~530
- [31] 邹大进, 王森. 大麻素受体1阻断剂在治疗代谢综合症中的作用. *世界临床药物*, 2005, 6(26), 360~363
- [32] Maldonado R, Rodriguez de Fonseca F. Cannabinoid addiction: Behavioral model and correlate. *J Neurosci*, 2002, 22(9): 3326~3331
- [33] 顾佩菲, 吴春福. 内源性大麻素样物质的可能作用机制. *中国药理学通报*, 2003, 19(11): 1223~1226
- [34] Ravinet T C, Delgorge C, Menet C, et al. CB1 cannabinoid receptor knockout in mice leads to leanness, resistance to diet-induced obesity and enhanced leptin sensitivity. *Int J Obes Relat*

- Metab Disord, 2004, 28(4): 640~648
- [35] Cota D, Marsicano G, Tschop M, et al. The endogenous cannabinoid system affects energy balance via central orexigenic drive and peripheral lipogenesis. *J Clin Invest*, 2003, 112(3): 423~431
- [36] Carpino PA, Griffith DA, Sakya S. New bicyclic cannabinoid receptor-1 (CB1-R) antagonists. *Bioorg Med Chem Lett*, 2006, 16(3): 731~736
- [37] Fernandez J R, Allison D B. Rimonabant Sanofi-Synthelabo. *Curr Opin Investig Drugs*, 2004, 5(4):430~435
- [38] 刘梦佳, 郑志兵, 李松. *Foreign Medical sciences section of Pharmacy*, 2006, 33(4): 290~293
- [39] Bass C E, Griffin G, Grier M, et al. SR-141716A-induced stimulation of locomotor activity. A structure-activity relationship study. *Pharmacol Biochem Behav*, 2002, 74(1): 31~40
- [40] Shim J Y, Welsh W J, Cartier E, et al. Molecular interaction of the antagonist N-(piperidin-1-yl)-5-(4-chlorophenyl)-1-(2,4-dichlorophenyl)-4-methyl-1H-pyrazole-3-carboxamide with the CB1 cannabinoid receptor. *J Med Chem*, 2002, 45(7): 1447~1459
- [41] Guan Y, Breyer M D. Peroxisome proliferators-activated receptors(PPARs): novel therapeutic targets in renal disease. *Kidney Int*, 2001, 60: 14~30
- [42] Guan Y, Breyer M D. Targeting Peroxisome proliferators-activated receptors(PPARs) in kidney and urologic disease. *Minerva Urol Nefrol*, 2002, 54: 65~79
- [43] Koh E H, Kim M S, Park J Y, et al. Peroxisome proliferators-activated receptors(PPAR)-alpha activation prevents diabetes in OLETF rats: comparison with PPAR-gamma activation. *Diabetes*, 2003, 52: 2331~2337
- [44] Diep Q N, Touyz R M, Schiffrin E L. Docosahexaenoic acid, a peroxisome proliferators-activated receptor-alpha ligand, induces apoptosis in vascular smooth muscle cells by stimulation of P38 mitogen-activated protein kinase. *Hypertension*, 2000, 36: 851~855
- [45] Duez H, Chao Y S, Hernandez M, et al. Reduction of atherosclerosis by the peroxisome proliferators-activated receptor-alpha agonist fenofibrate in mice. *J Biol Chem*, 2002, 277: 48051~48057
- [46] Donohue S R, Halldin C, Pike V W. Synthesis and structure-activity relationships (SARs) of 1,5-diarylpyrazole cannabinoid type-1 (CB1) receptor ligands for potential use in molecular imaging. *Bioorg Med Chem*, 2006, 14(11): 3712~3720
- [47] Lange J H, Stuijvenberg H H, Coolen H K, et al. Bioisosteric replacements of the pyrazole moiety of rimonabant: synthesis, biological properties, and molecular modeling investigations of thiazoles, triazoles, and imidazoles as potent and selective CB1 cannabinoid receptor antagonists. *J Med Chem*, 2005, 48(6): 1823~1838
- [48] Reggio P H. Pharmacophores for ligand recognition and activation/inactivation of the cannabinoid receptors. *Curr Pharm Des*, 2003, 9(20): 1607~1633
- [49] Katoch-Rouse R, Pavlova O A, Caulder T, et al. Synthesis, structure-activity relationship, and evaluation of SR141716 analogues: development of central cannabinoid receptor ligands with lower lipophilicity. *J Med Chem*, 2003, 46(4): 642~645

- [50] Ross R A, Gibson T M, Brockie H C, et al. Structure-activity relationship for the endogenous cannabinoid, anandamide, and certain of its analogues at vanilloid receptors in transfected cells and *vas deferens*. *Br J Pharmacol*, 2001, 132(3): 631~640
- [51] Lange J H, Kruse C G. Keynote review: Medicinal chemistry strategies to CB1 cannabinoid receptor antagonists. *Drug Discov Today*, 2005, 10(10): 693~702
- [52] Lan R, Liu Q, Fan P, et al. Structure-activity relationships of pyrazole derivatives as cannabinoid receptor antagonists. *J Med Chem*, 1999, 42(4): 769~776
- [53] Thomas B F, Gilliam A F, Burch D F, et al. Comparative receptor binding analyses of cannabinoid agonists and antagonists. *J Pharmacol Exp Ther*, 1998, 285(1): 285~292
- [54] Katoch-Rouse R, Pavlova O A, Caulder T, et al. Synthesis, structure-activity relationship, and evaluation of SR141716 analogues: development of central cannabinoid receptor ligands with lower lipophilicity. *J Med Chem*, 2003, 46(4): 642~645
- [55] Francisco M E, Seltzman H H, Gilliam A F, et al. Synthesis and structure-activity relationships of amide and hydrazide analogues of the cannabinoid CB(1) receptor antagonist N-(piperidinyl)-5-(4-chlorophenyl)-1-(2,4-dichlorophenyl)-4-methyl-1H-pyrazole-3-carboxamide(SR141716). *J Med Chem*, 2002, 45(13): 2708~2719
- [56] Lange J H, Coolen H K, van Stuivenberg H H, et al. Synthesis, biological properties, and molecular modeling investigations of novel 3,4-diarylpyrazolines as potent and selective CB(1) cannabinoid receptor antagonists. *J Med Chem*, 2004, 47(3): 627~643
- [57] Mussinu J M, Ruiu S, Mule A C, et al. Tricyclic pyrazoles. Part 1: synthesis and biological evaluation of novel 1,4-dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-based ligands for CB1 and CB2 cannabinoid receptors. *Bioorg Med Chem*, 2003, 11(2): 251~263
- [58] Murineddu G, Ruiu S, Mussinu J M, et al. Tricyclic pyrazoles. Part 2: Synthesis and biological evaluation of novel 4,5-dihydro-1H-benzo[g]indazole-based ligands for cannabinoid receptors. *Bioorg Med Chem*, 2005, 13(9): 3309~3320
- [59] Murineddu G, Ruiu S, Loriga G, et al. Tricyclic pyrazoles. Part 3. Synthesis, biological evaluation, and molecular modeling of analogues of the cannabinoid antagonist 8-chloro-1-(2',4'-dichlorophenyl)-N-piperidin-1-yl-1,4,5,6-tetrahydrobenzo[6,7]cyclohepta[1,2-c]pyrazole-3-carboxamide. *J Med Chem*, 2005, 48(23): 7351~7362
- [60] Murray W V, Hadden S K, Wachter M P. Synthesis of 3-(1,5-diphenyl-3-pyrazolyl)aryl propanoates. *J Heterocyclic Chem*, 1990, 27: 1933~1940
- [61] Zimmer H, Amer A. Some novel observations on the reaction of 1-hydrozinophthalazine with polycarbonyl compounds. *Heterocycles*, 1987, 26(5): 1177~1182
- [62] Murai S, Hasegawa K, Sonoda N. Synthesis and thermal decarbonylation of 2,3-furandiones. *Angew Chem internat Edit*, 1975, 14(9): 636~637
- [63] Saithoh T, Oyama T, Horiguchi Y, et al. Thermal addition reaction of aroylketenes with cyclic enol ethers. *Chem Pharm Bull*, 1996, 44(7): 1298~1304
- [64] Schweizer E E, Hayes J E, Lee K J, et al. Reaction of azines.10.Synthesis of 4H,6H-

参考文献

---

- pyrazolo[1,5-c]oxazol-4-ylidines,4H-pyrrolo[1,2-b]pyrazol-4-ones,and/or  
4H,8H-pyrazolo[1,5-c][1,3]oxazepin-4-ones. *J Org Chem*, 1987, 52(7): 1324~1332
- [65] Hnach M, Aycard J P, Zineddine H. Synthesis and <sup>13</sup>C FT NMR spectroscopy of furan-2,3-  
dione derivatives. *Bull Soc Chim Fr*, 1991, 128: 393~396
- [66] Roux C L, Mandrou S, Dubac J. First catalytic c-acylation of enoxysilanes:an eddicient route  
to β-diketones. *J Org Chem*, 1996, 61(11): 3885~3887
- [67] Tirpak R E, Rathke M W. Acylation of ketone silyl enol ethers with acid chloridse. *J Org  
Chem*, 1982, 47(26): 5099~5102



附录 A 新化合物 14-27 的结构图谱

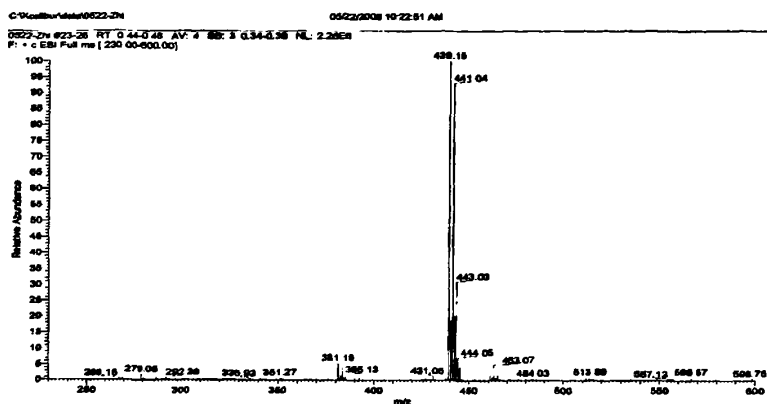


图 A1 化合物 14 的质谱

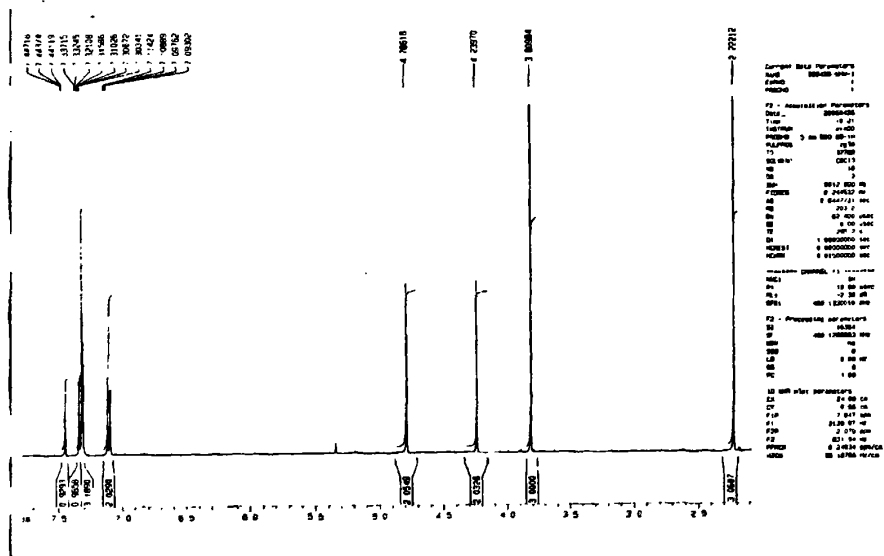


图 A2 化合物 14 的氢谱

附录 A 新化合物 14-27 的结构图谱

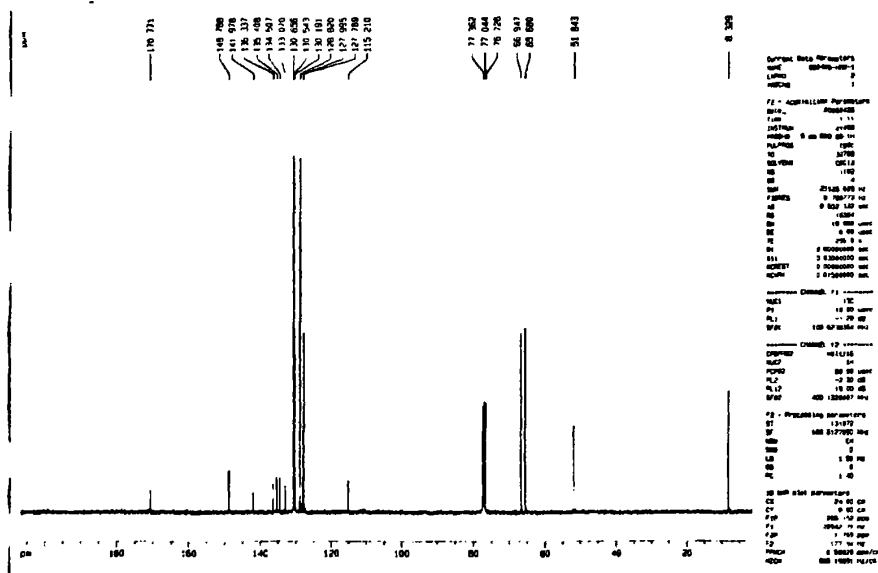


图 A3 化合物 14 的碳谱

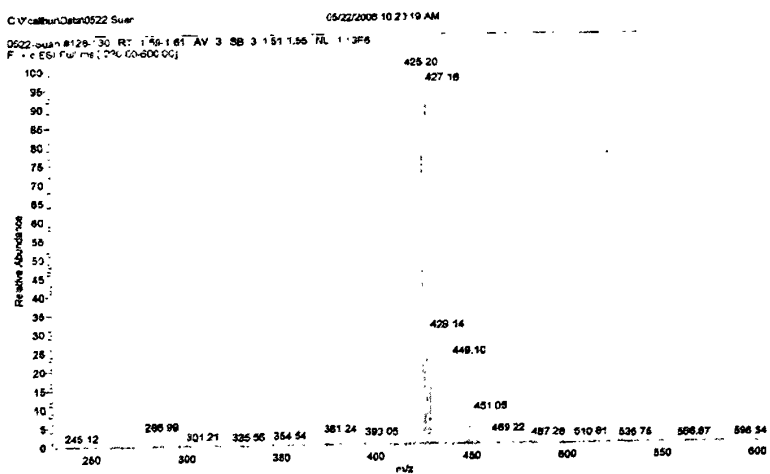


图 A4 化合物 15 的质谱

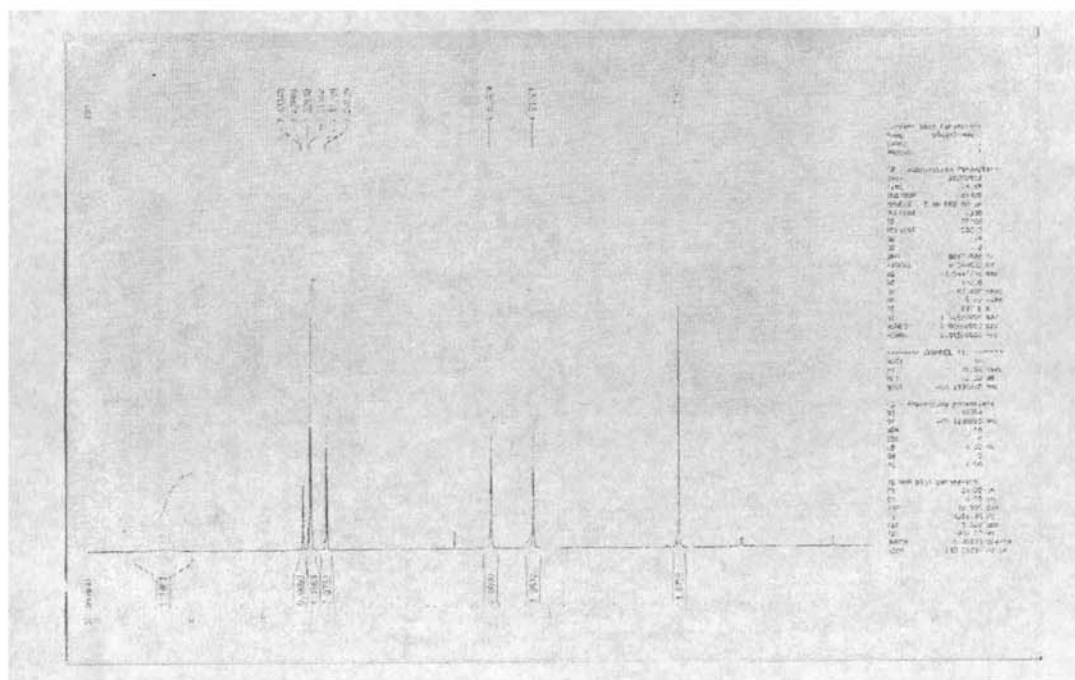


图 A5 化合物 15 的氢谱

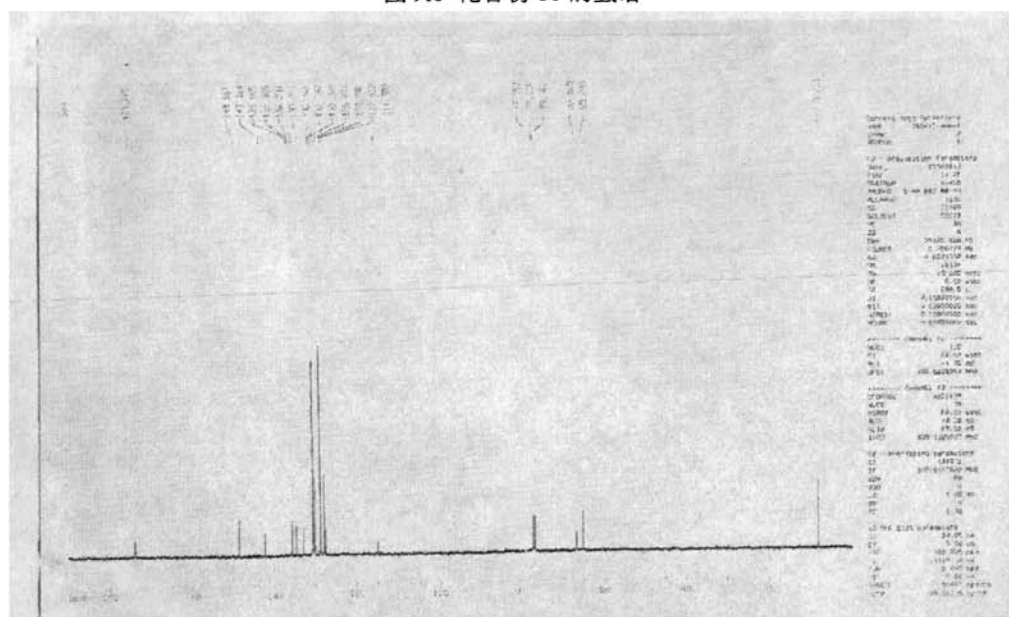


图 A6 化合物 15 的碳谱

附录 A 新化合物 14-27 的结构图谱

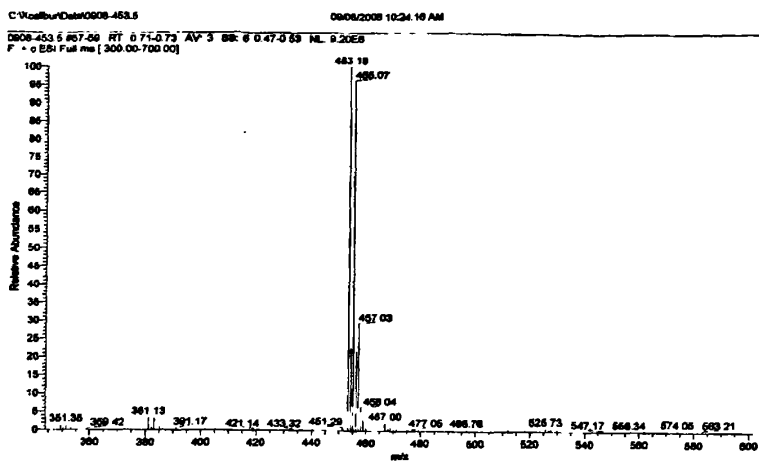


图 A7 化合物 16 的质谱

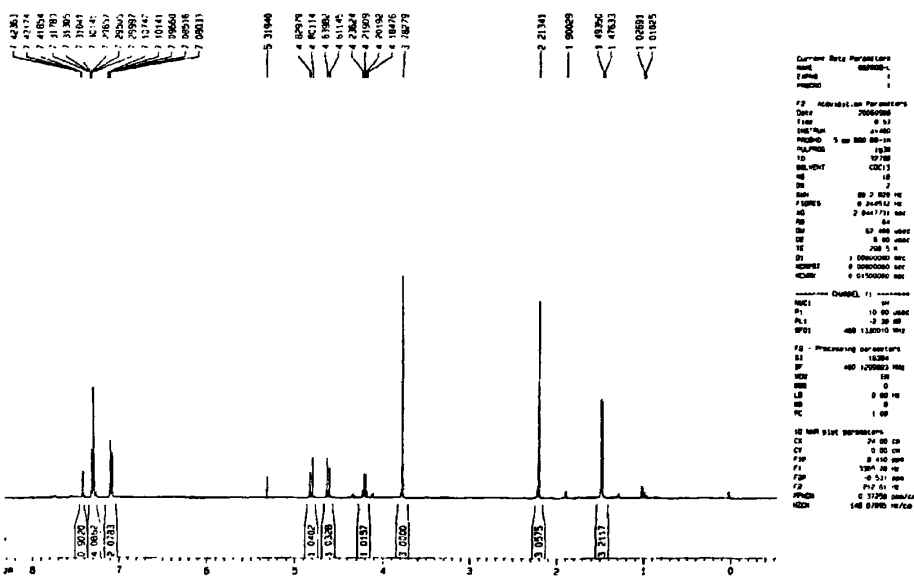


图 A8 化合物 16 的氢谱

# 附录 A 新化合物 14-27 的结构图谱

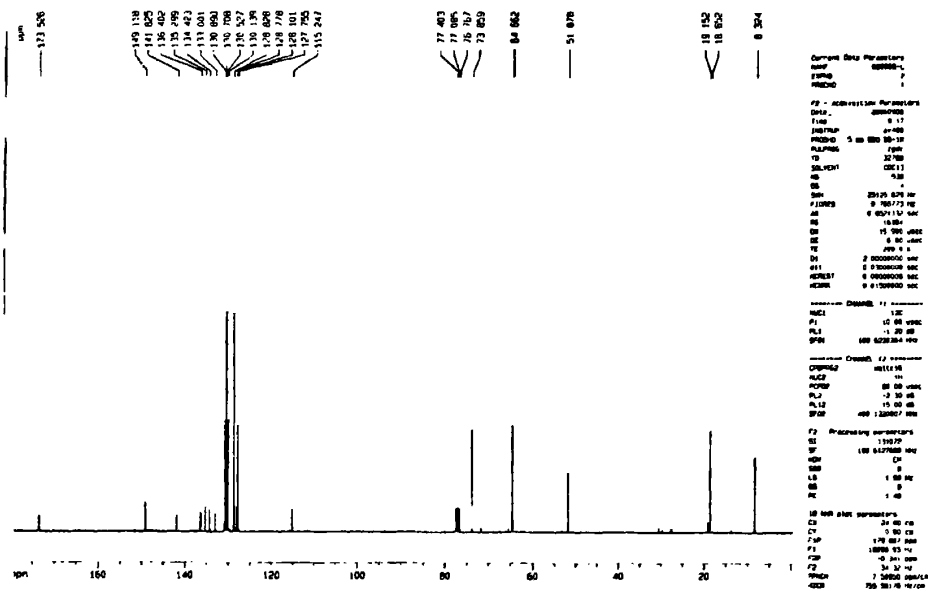


图 A9 化合物 16 的碳谱

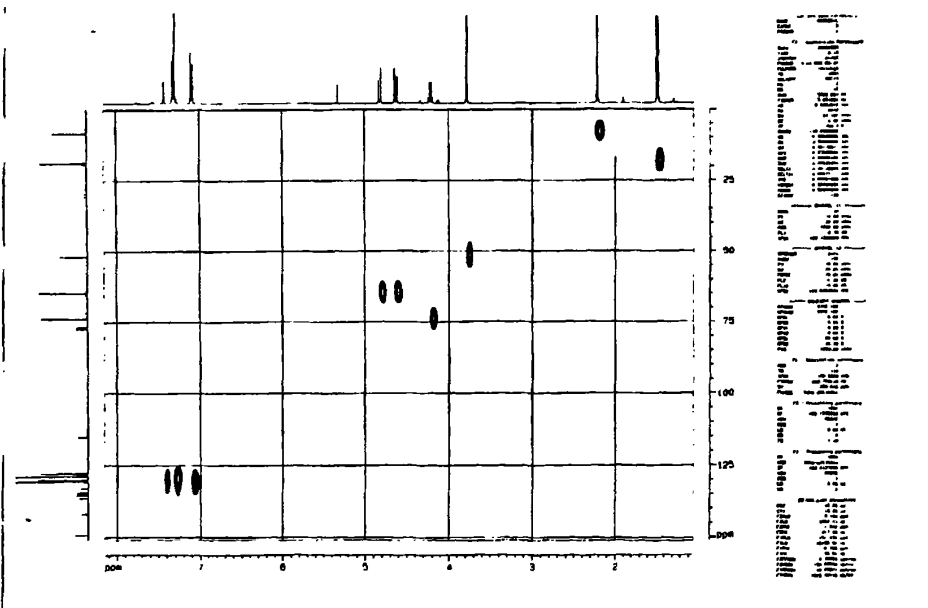


图 A10 化合物 16 的碳氢相关谱

附录 A 新化合物 14-27 的结构图谱

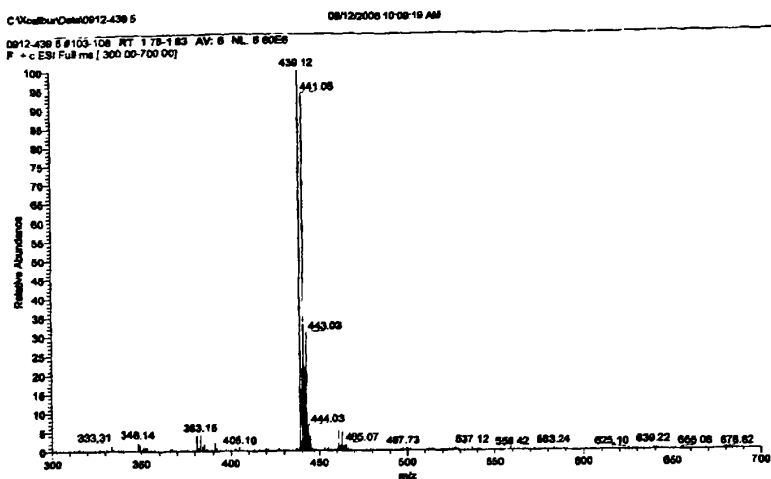


图 A11 化合物 17 的质谱

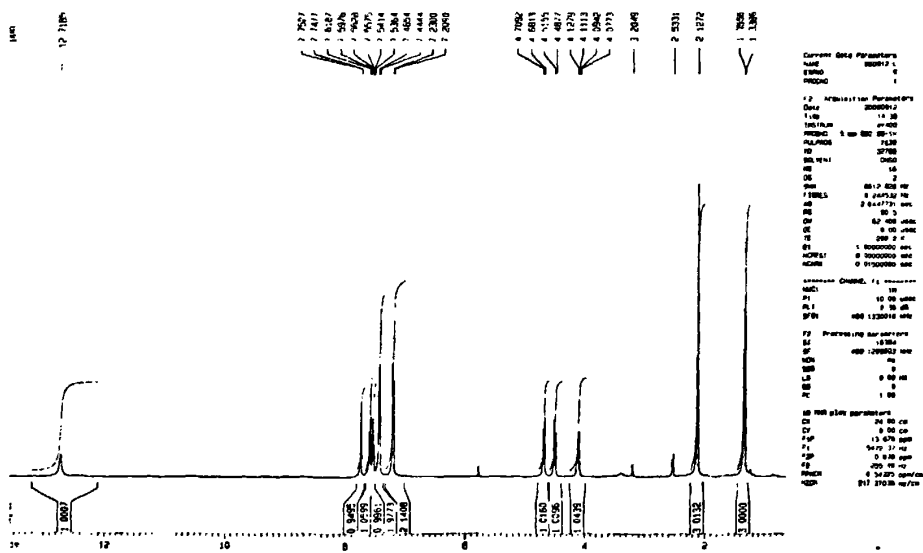


图 A12 化合物 17 的氢谱

附录 A 新化合物 14-27 的结构图谱

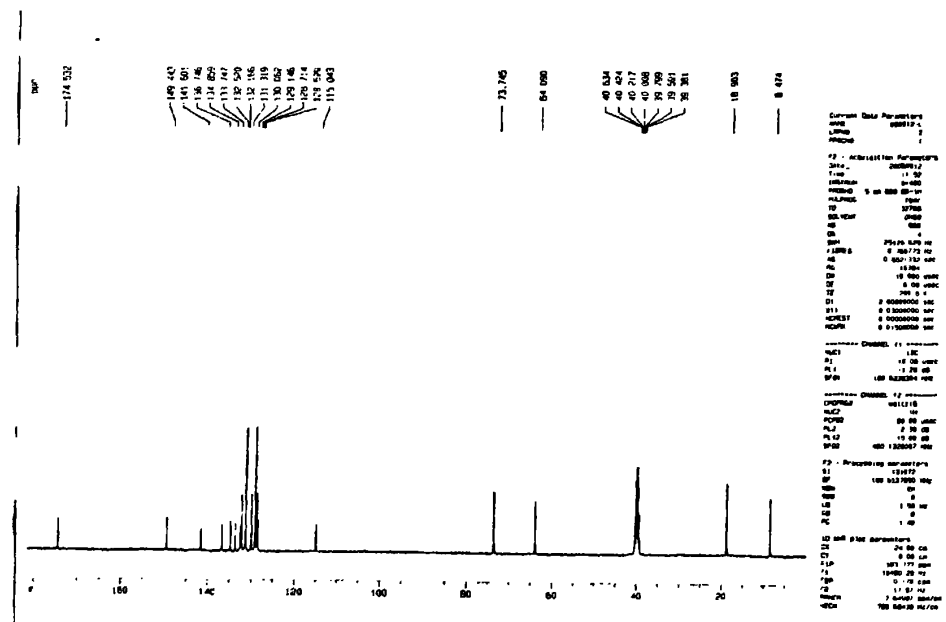


图 A13 化合物 17 的碳谱

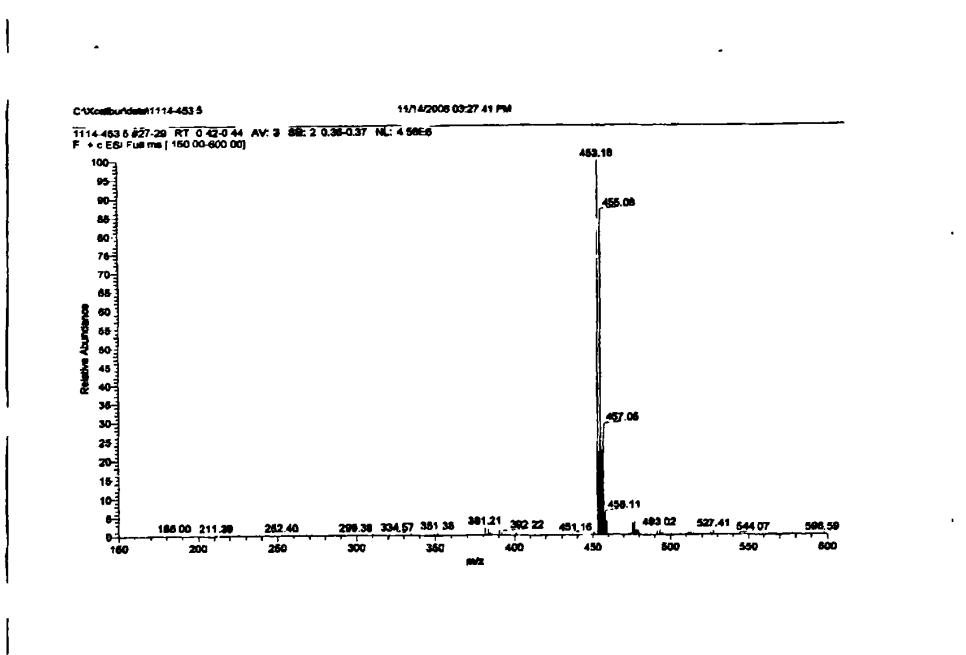


图 A14 化合物 18 的质谱

附录 A 新化合物 14-27 的结构图谱

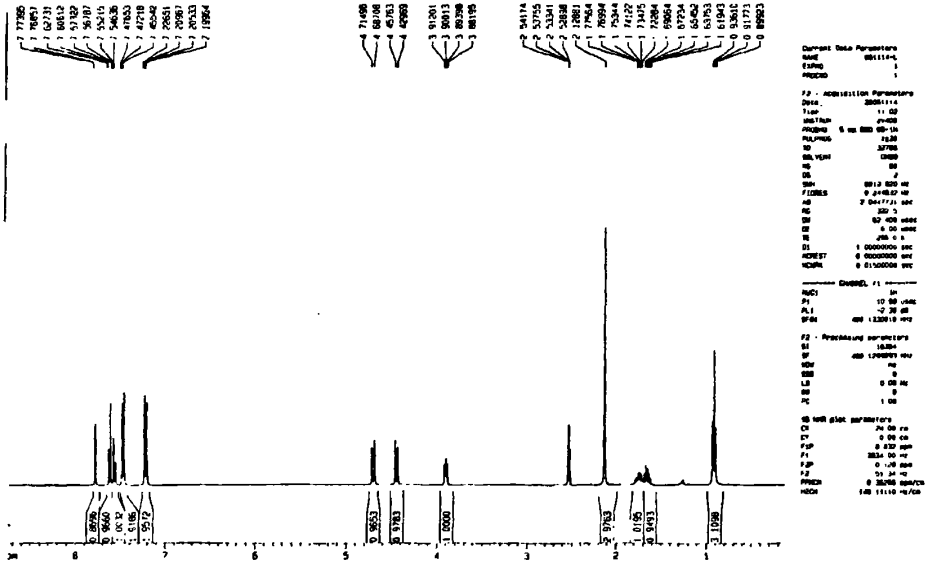


图 A15 化合物 18 的氢谱

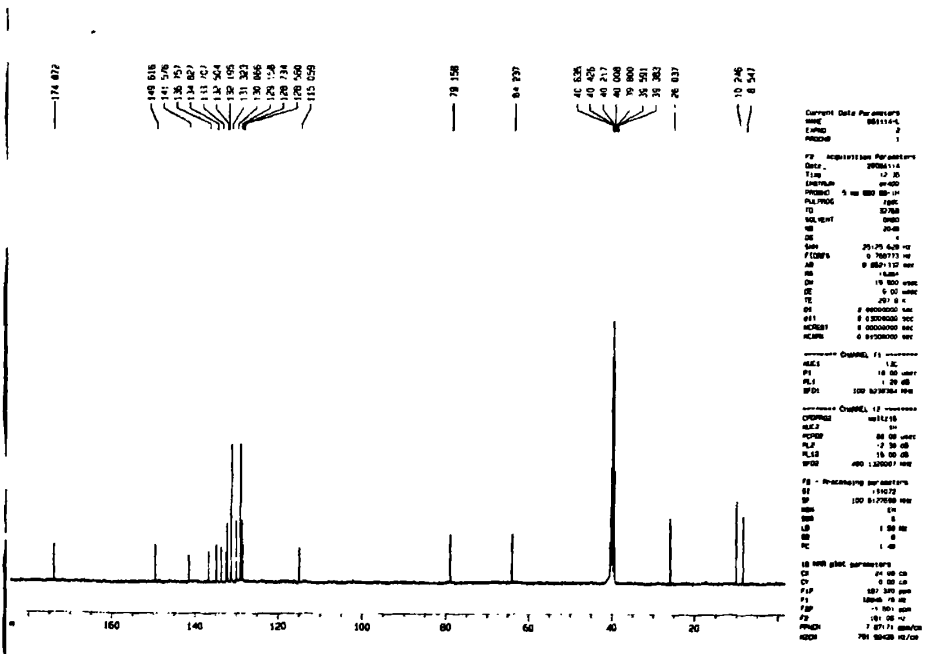


图 A16 化合物 18 的碳谱



附录 A 新化合物 14-27 的结构图谱

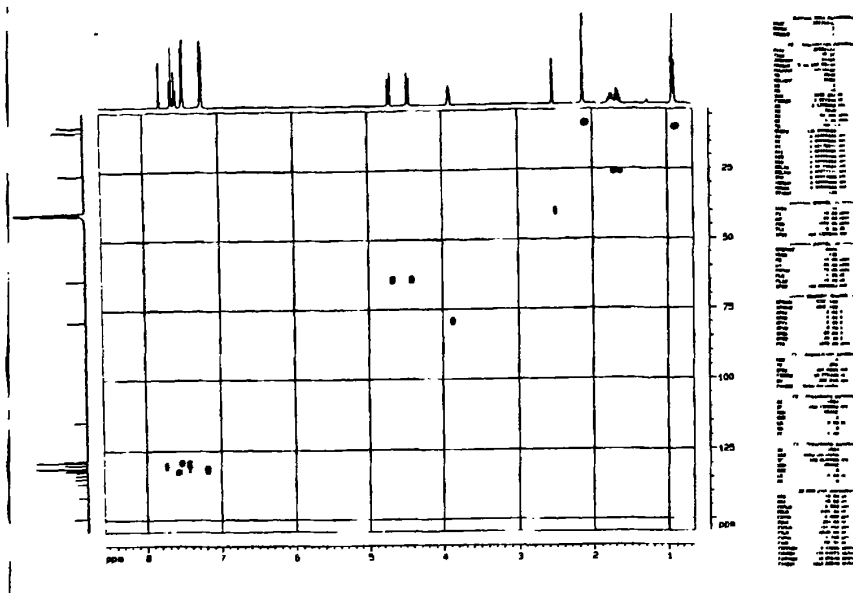


图 A17 化合物 18 的碳氢相关谱

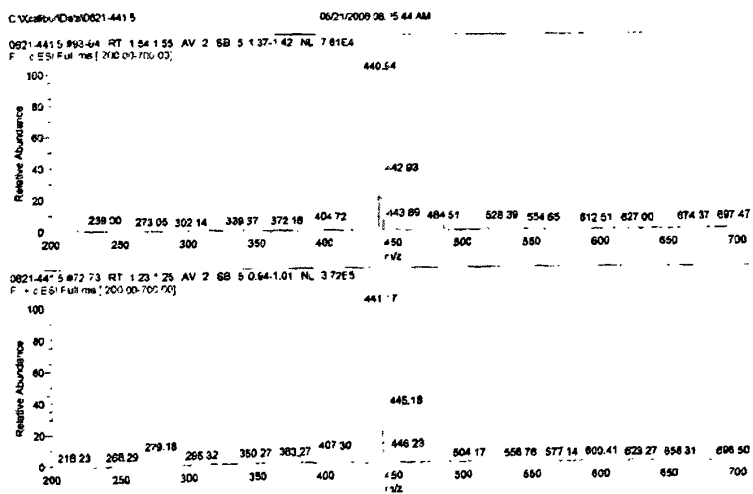


图 A18 化合物 19 的质谱

附录 A 新化合物 14-27 的结构图谱

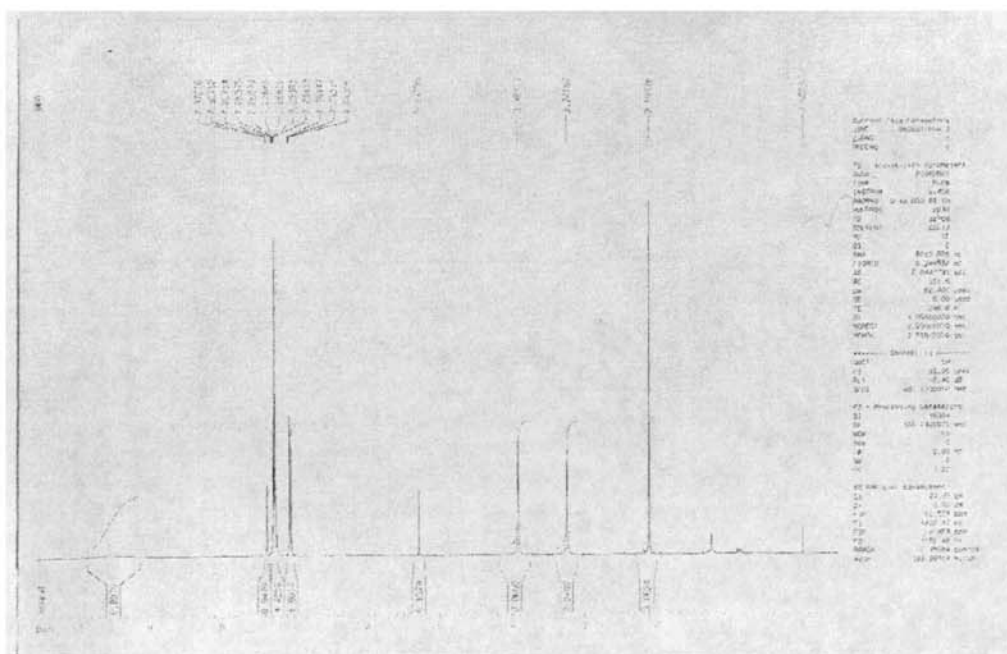


图 A19 化合物 19 的氢谱

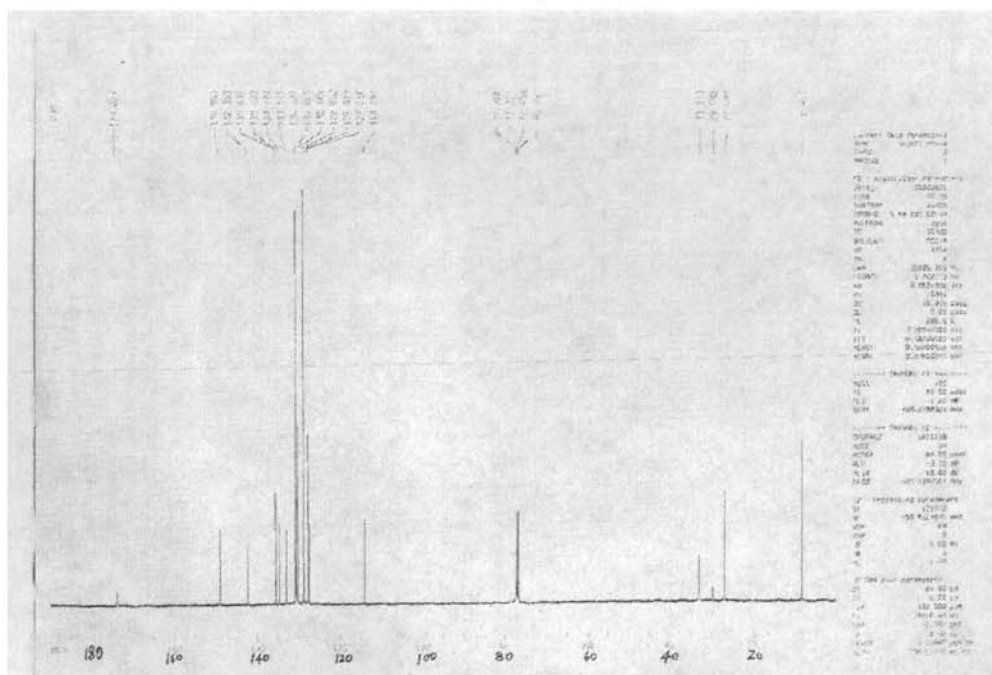


图 A20 化合物 19 的碳谱

附录 A 新化合物 14-27 的结构图谱

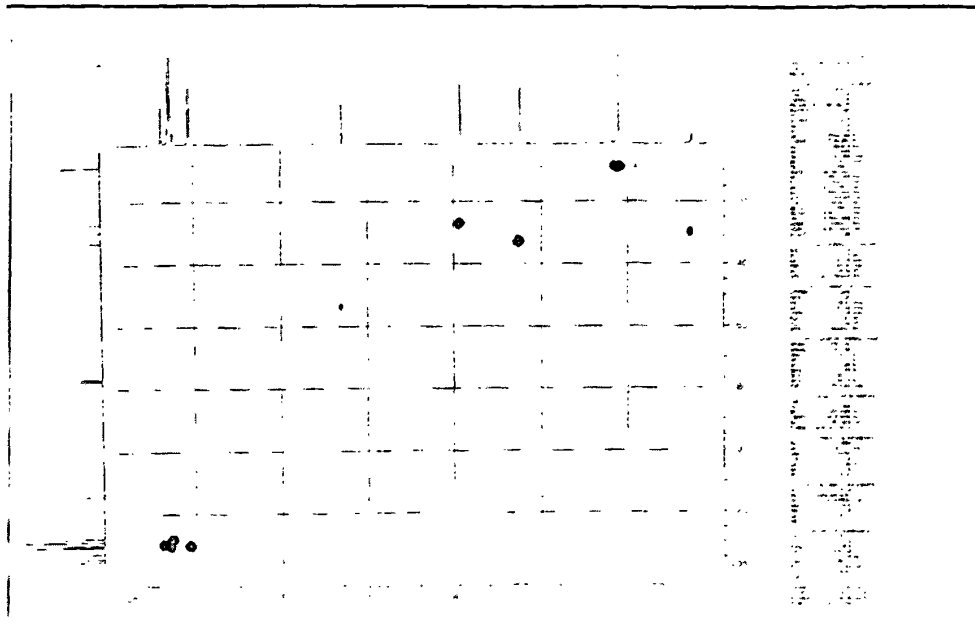


图 A21 化合物 19 的碳氢相关谱

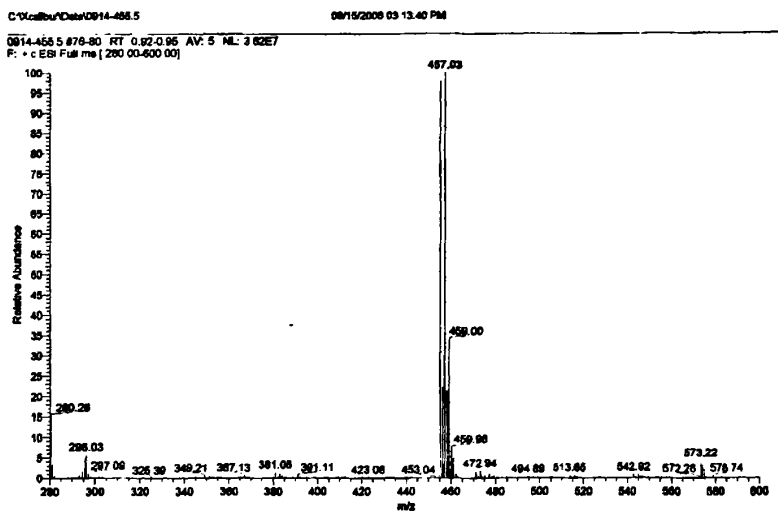


图 A22 化合物 20 的质谱

附录 A 新化合物 14-27 的结构图谱

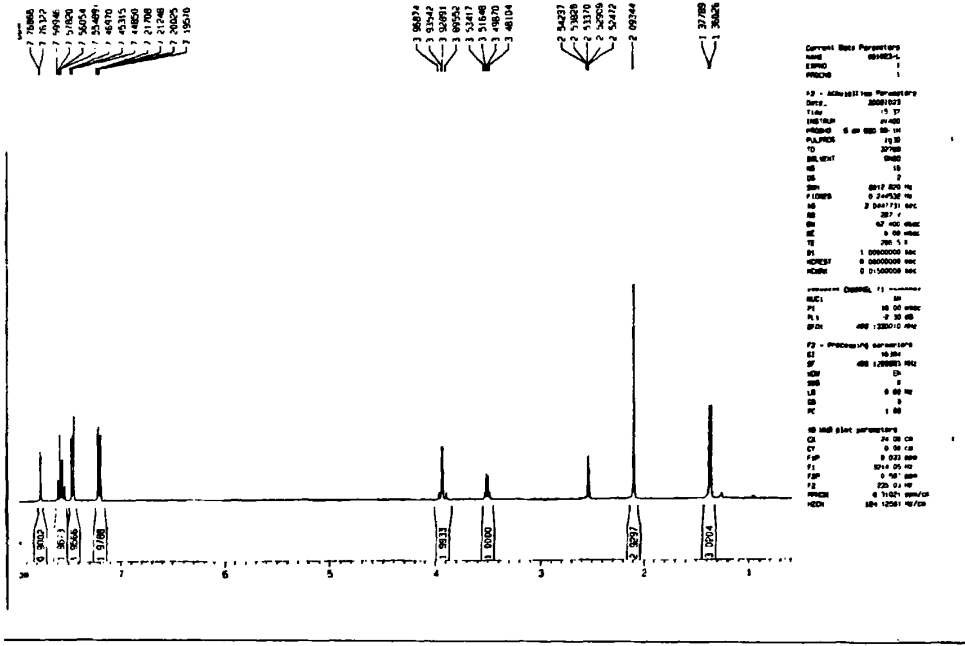


图 A23 化合物 20 的氢谱

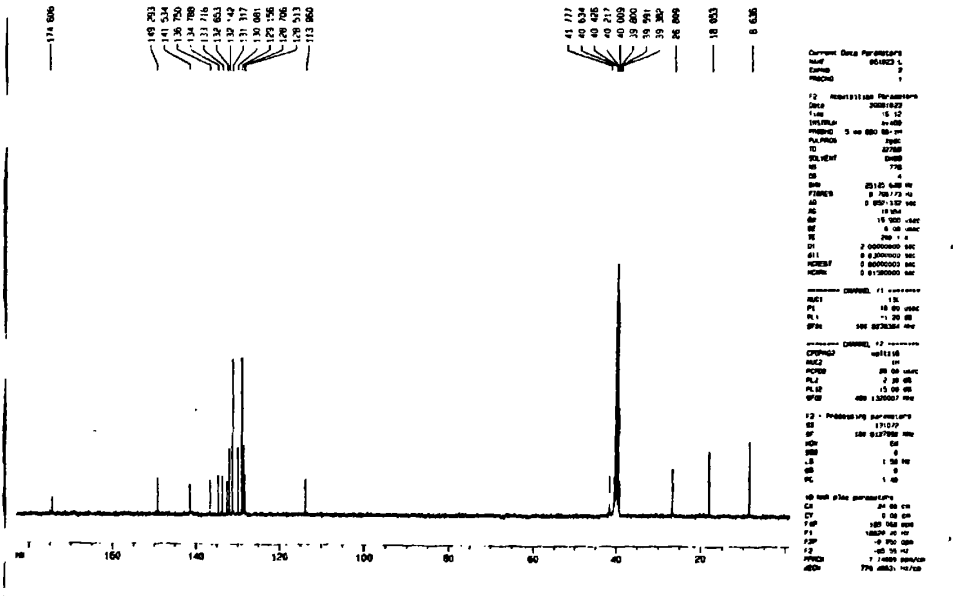


图 A24 化合物 20 的碳谱

附录 A 新化合物 14-27 的结构图谱

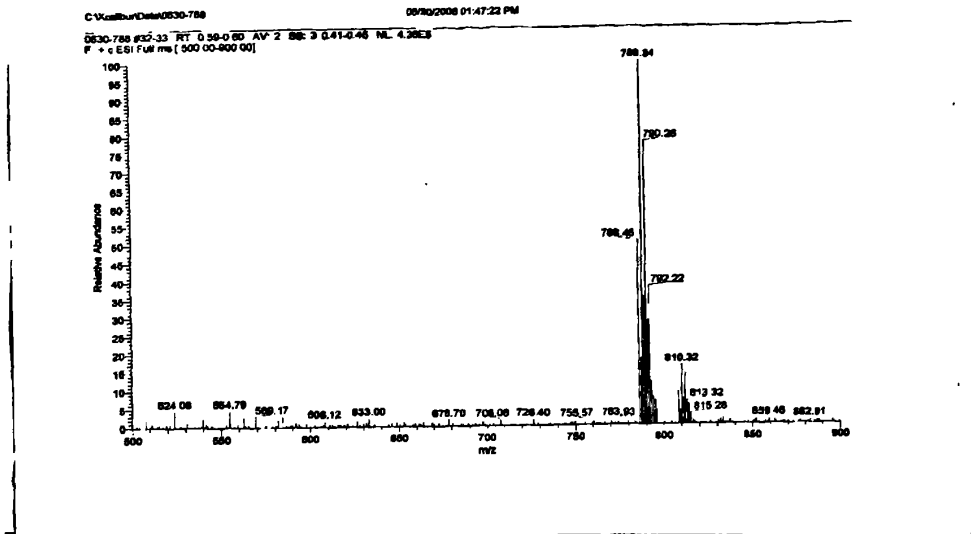


图 A25 化合物 21 的质谱

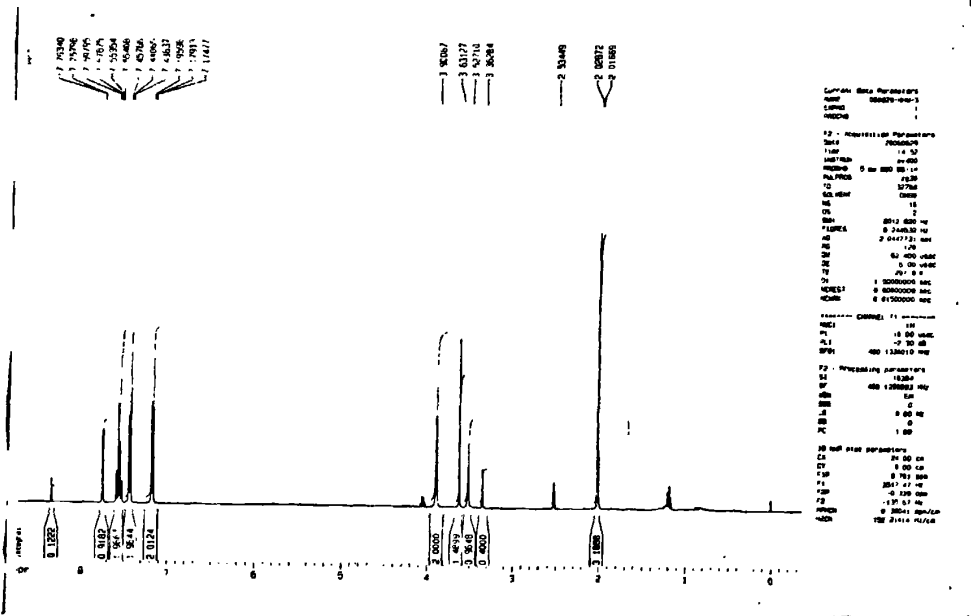


图 A26 化合物 21 的氢谱

附录 A 新化合物 14-27 的结构图谱

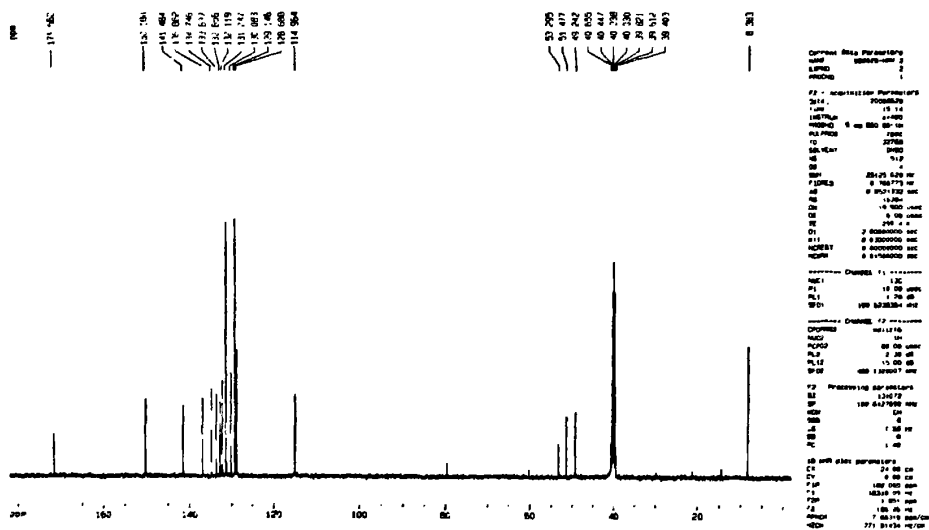


图 A27 化合物 21 的碳谱

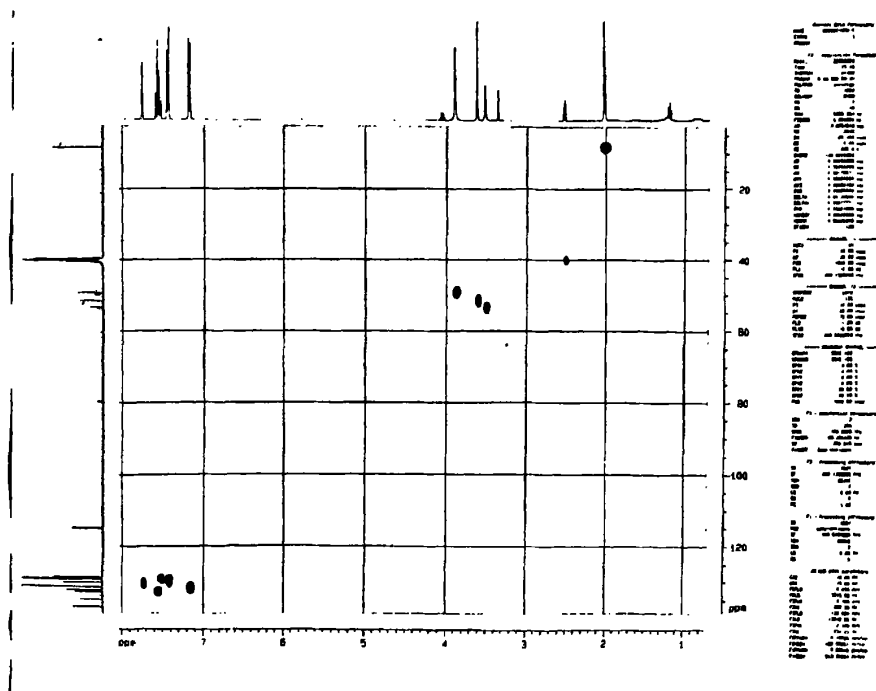


图 A28 化合物 21 的碳氢相关谱

附录 A 新化合物 14-27 的结构图谱

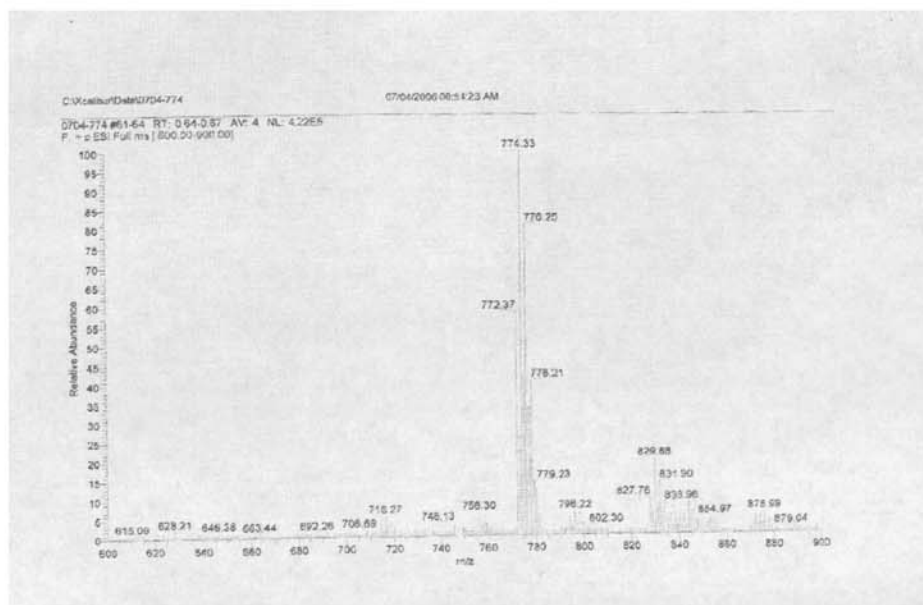


图 A29 化合物 22 的质谱

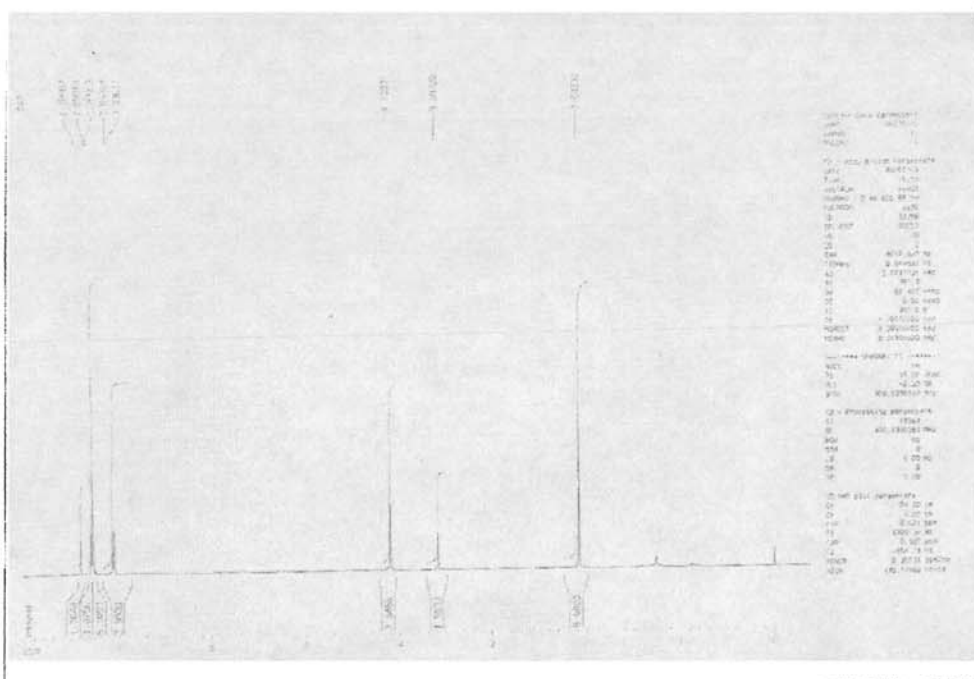


图 A30 化合物 22 的氢谱

附录 A 新化合物 14-27 的结构图谱

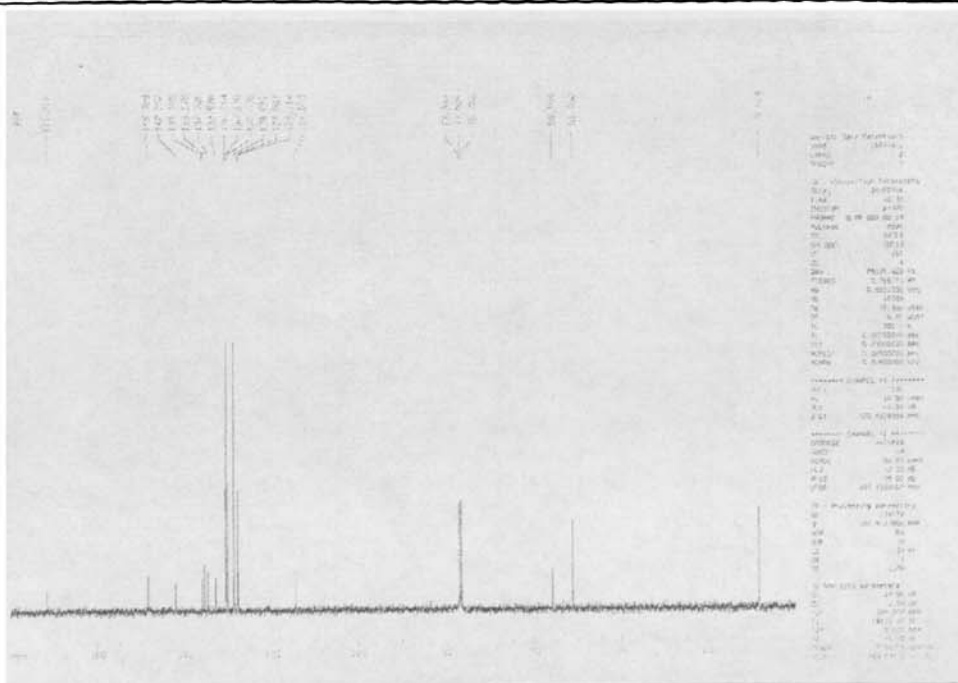


图 A31 化合物 22 的碳谱

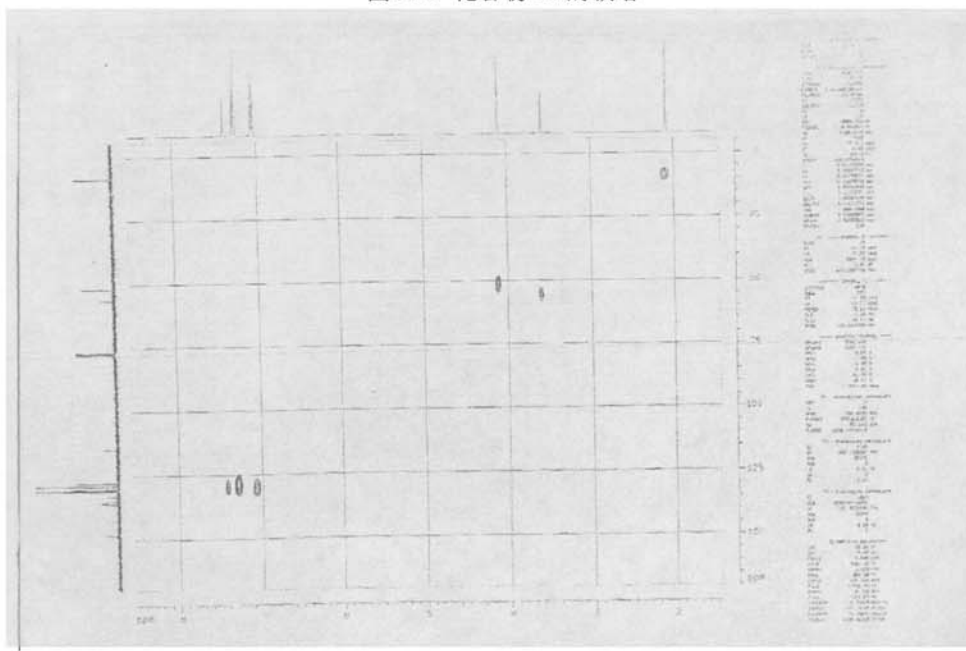


图 A32 化合物 22 的碳氢相关谱



附录 A 新化合物 14-27 的结构图谱

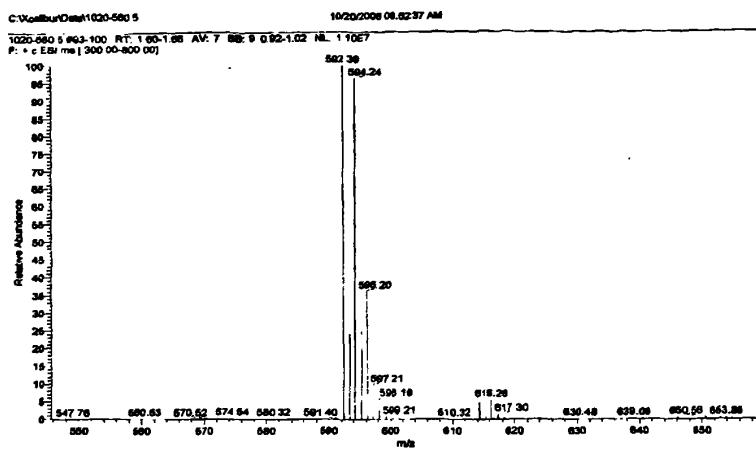


图 A33 化合物 23 的质谱

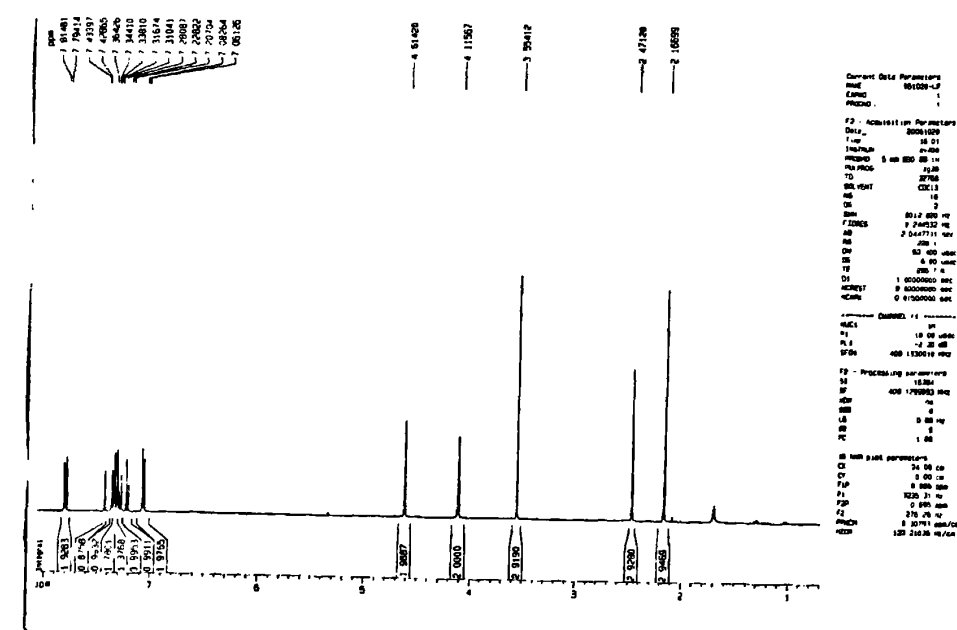


图 A34 化合物 23 的氢谱

附录 A 新化合物 14-27 的结构图谱

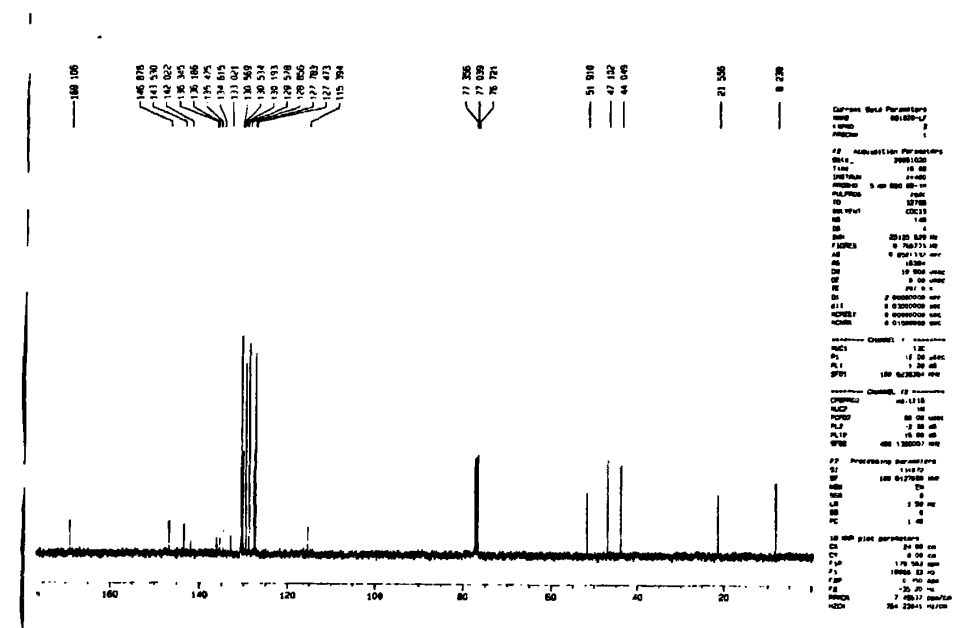


图 A35 化合物 23 的碳谱

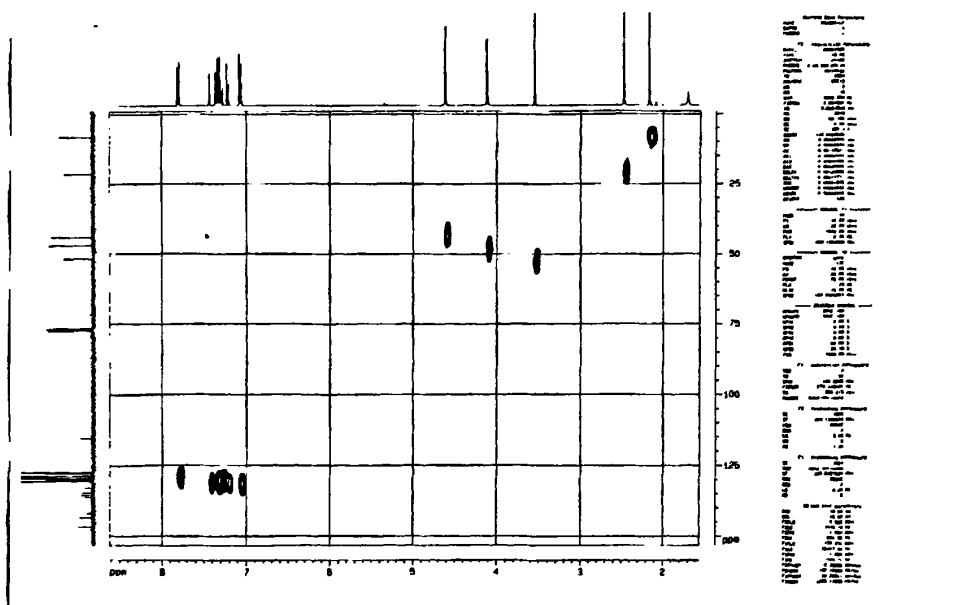


图 A36 化合物 23 的碳氢相关谱

附录 A 新化合物 14-27 的结构图谱

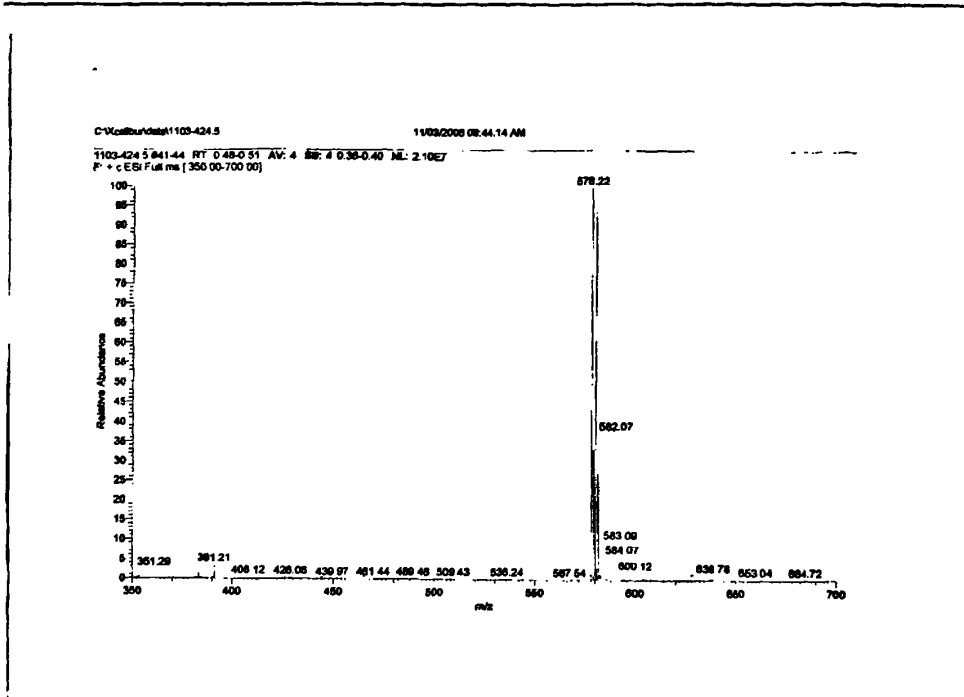


图 A37 化合物 24 的质谱

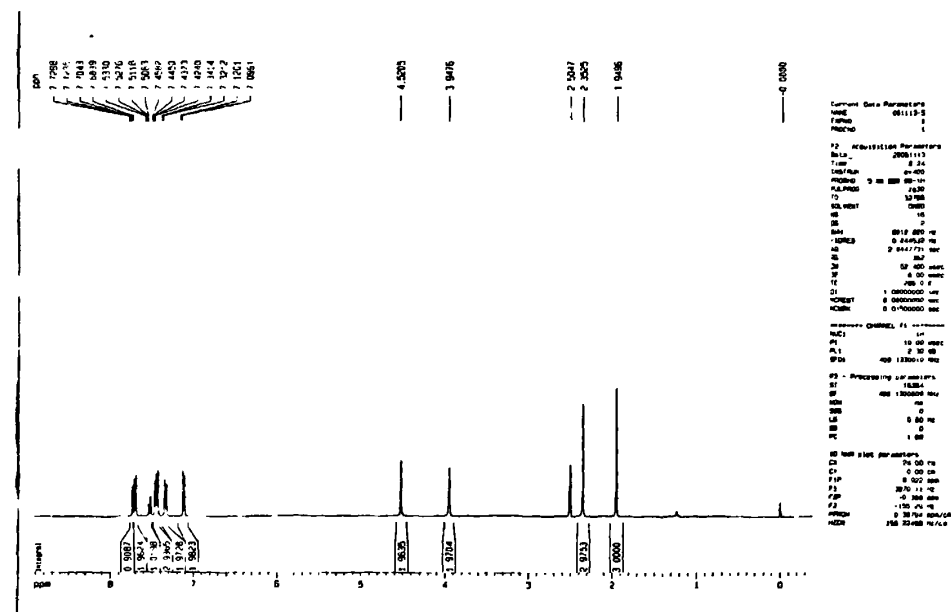


图 A38 化合物 24 的氢谱

附录 A 新化合物 14-27 的结构图谱

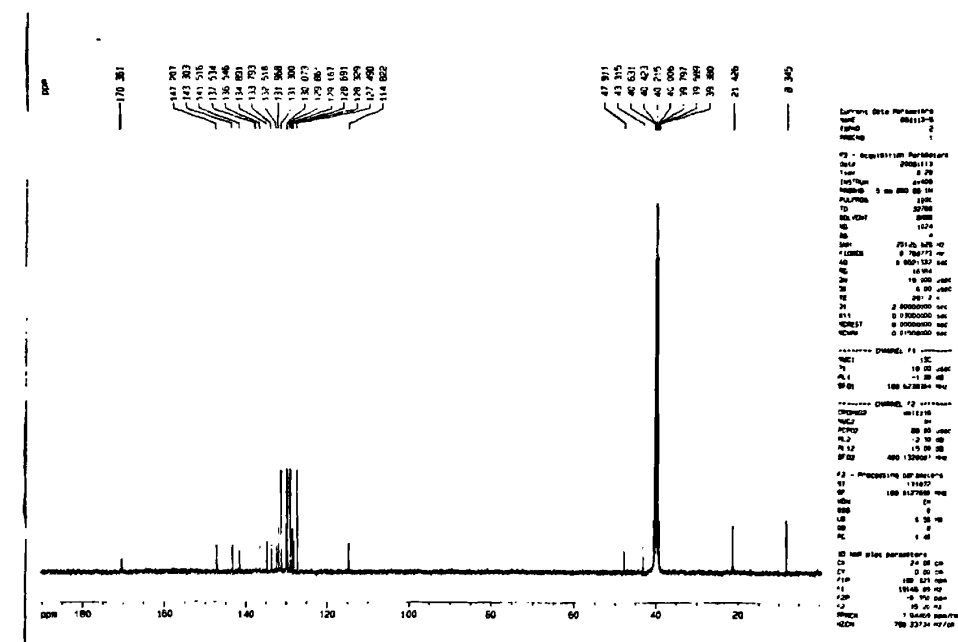


图 A39 化合物 24 的碳谱

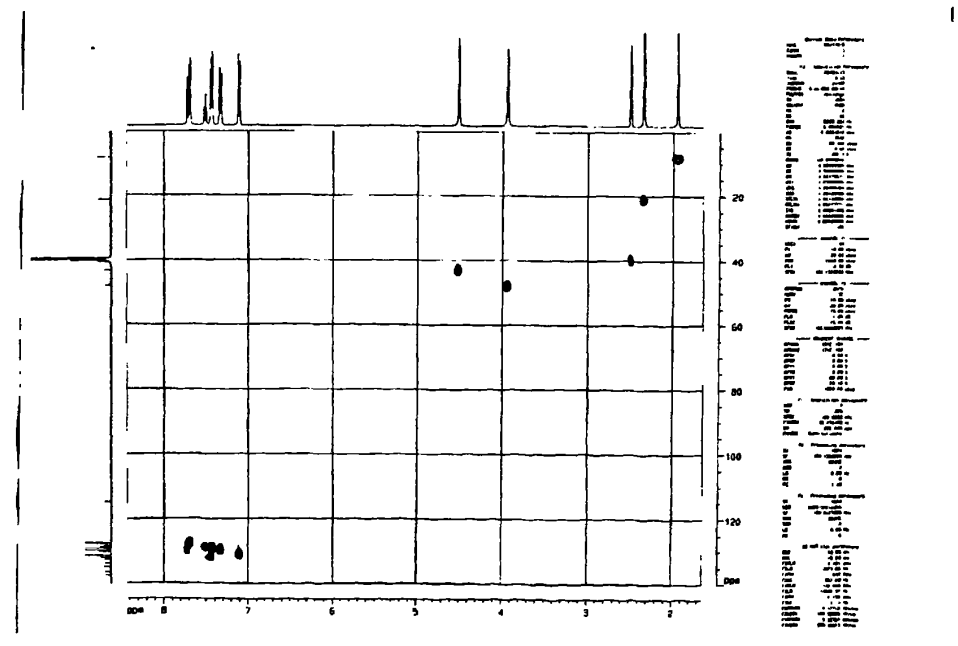


图 A40 化合物 24 的碳氢相关谱

# 附录 A 新化合物 14-27 的结构图谱

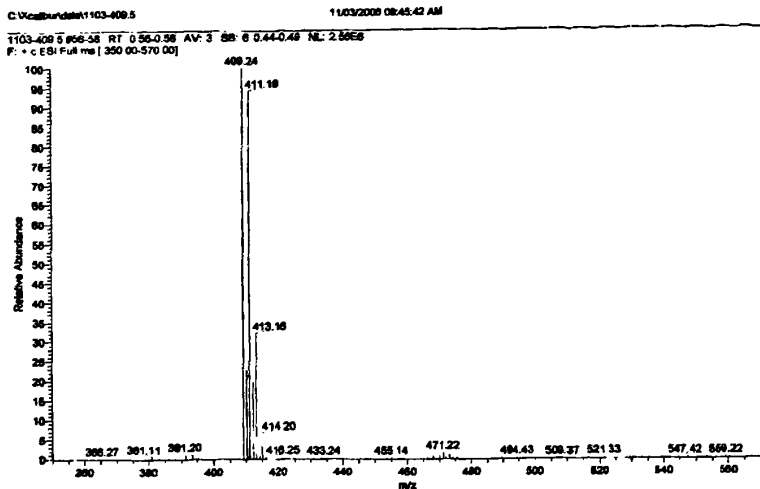
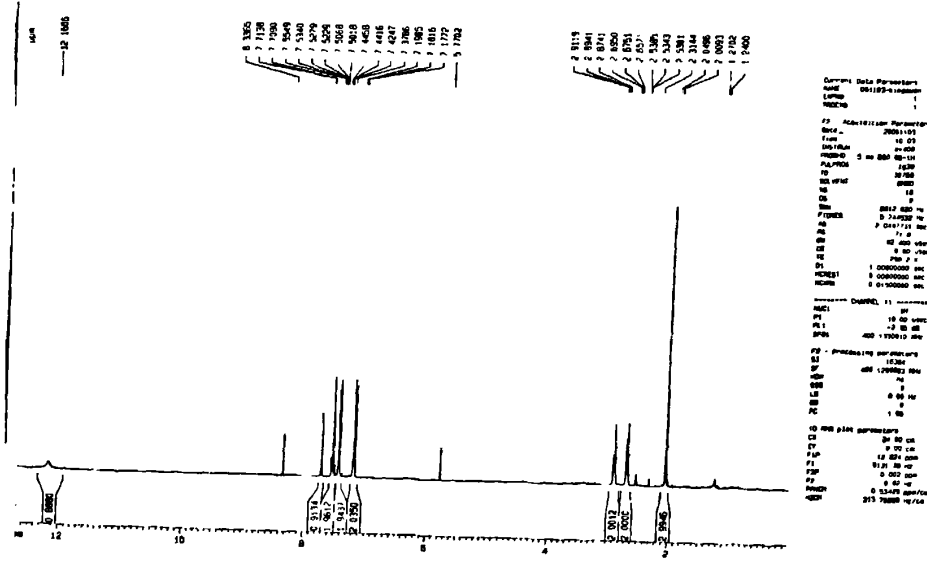


图 A41 化合物 25 的质谱



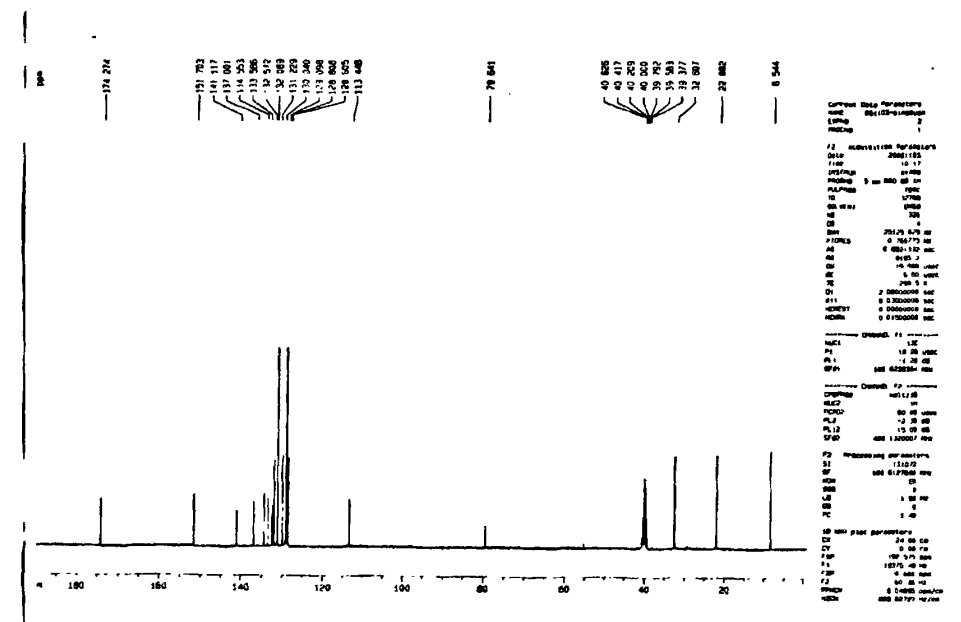


图 A43 化合物 25 的碳谱

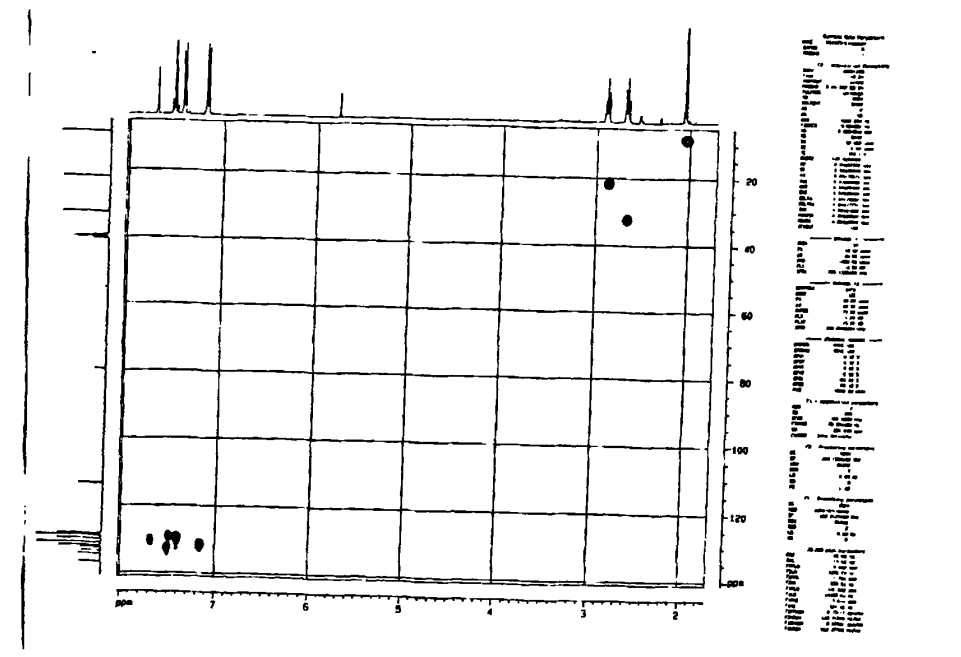


图 A44 化合物 25 的碳氢相关谱



附录 A 新化合物 14-27 的结构图谱

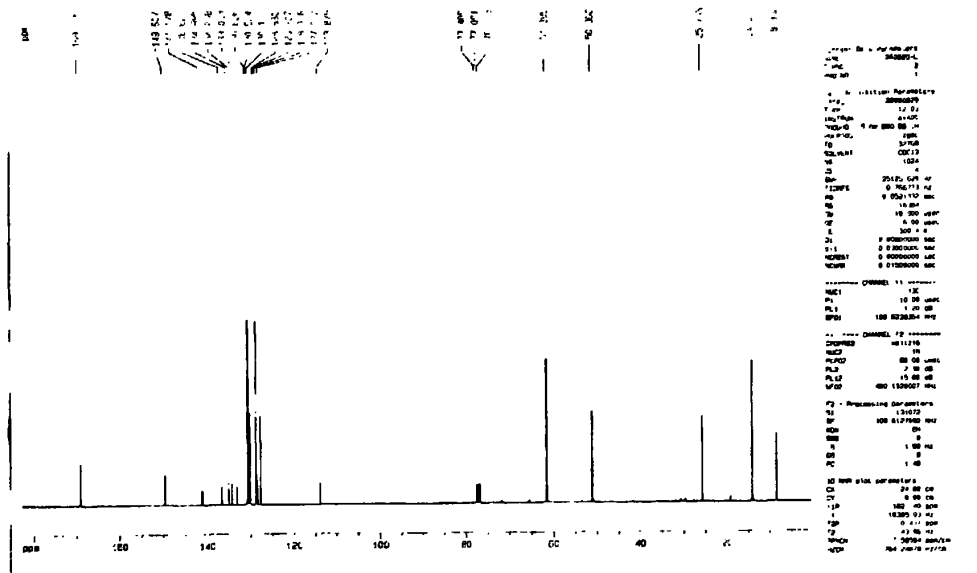


图 A47 化合物 26 的碳谱

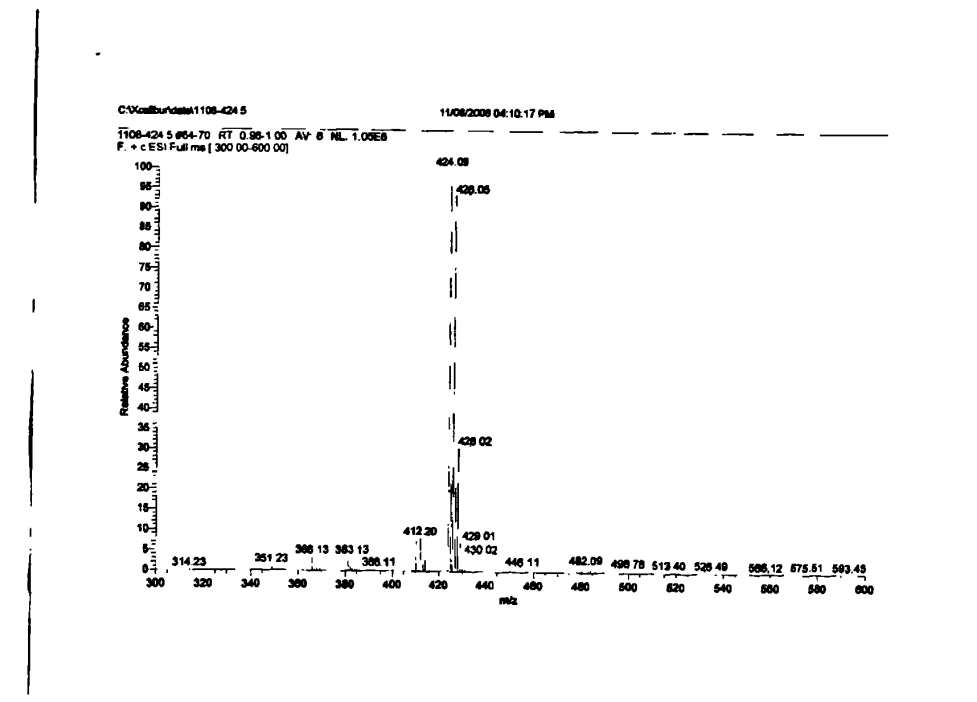


图 A51 化合物 27 的质谱





附录 A 新化合物 14-27 的结构图谱

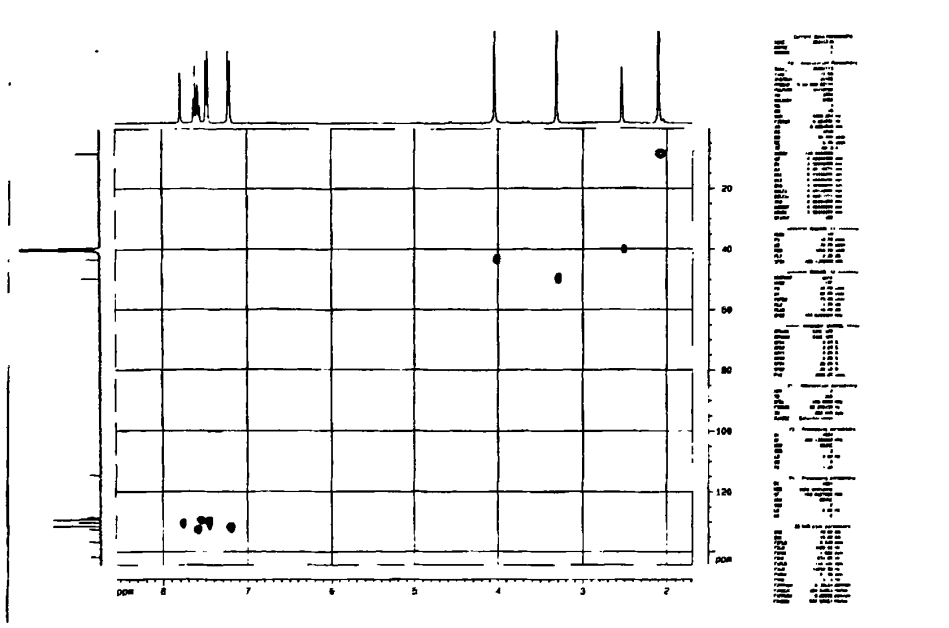


图 A54 化合物 27 的碳氢相关谱

## 攻读学位期间的研究成果

已发表论文:

[1] 李峰, 李少华. 4-(4-氯苯基)-3-甲基-2, 4-二酮基丁酸乙酯的制备. 江西医学院学报, 2007, 47(2): 87

[2] 李峰, 李少华. 减肥药物的研究进展. 实用临床医学, 2006, 7(12): 301~302