含 3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮结构查尔酮衍生物的合成及
蛋白酪氨酸磷酸酯酶 1B 抑制活性研究孙良鹏^a 姜哲^b 高立信^c 李英哲^a 孙立云^a
李 佳^{*,c} 朴虎日^{*,a}(^a 长白山生物资源与功能分子教育部重点实验室 延边大学药学院 延吉 133002)(^b 延边大学附属医院 延吉 133002)(^c 国家新药筛选中心 中国科学院上海药物研究所 上海 201203)

摘要 蛋白酪氨酸磷酸酯酶 1B (PTP1B) 作为胰岛素和瘦素信号转导通路的负调节因子, 已成为治疗糖尿病和肥胖症的潜在靶标. 为了寻找非磷酸酯类 PTP1B 抑制剂, 设计、合成了一系列含 3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮结构的新型查尔酮衍生物, 并对化合物进行了 PTP1B 抑制活性测定. 结果显示, 所有化合物对 PTP1B 均显示出较强的抑制活性, 其中化合物 (*E*)-6-{4-[3-(4-氯苯基)-3-氧代-1-丙烯基]苄氧基}-3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮(**4e**)和(*E*)-6-{4-[3-(3-溴苯基)-3-氧代-1-丙烯基]苄氧基}-3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮(**4i**)活性最佳, IC₅₀ 分别为(4.64±0.38)和(4.36±0.41) μmol/L.

关键词 查尔酮; 3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮; PTP1B 抑制剂

Synthesis and Protein Tyrosine Phosphatase 1B Inhibitory Activity of
Novel Chalcone Derivatives Containing
3,4-Dihydroquinolin-2(1*H*)-one MoietySun, Liangpeng^a Jiang, Zhe^b Gao, Lixin^c Li, Yingzhe^a Sun, Liyun^a
Li, Jia^{*,c} Piao, Huri^{*,a}(^a Key Laboratory of Natural Resources of Changbai Mountain & Functional Molecules, Ministry of Education,
College of Pharmacy, Yanbian University, Yanji 133002)(^b Yanbian University Hospital, Yanji 133002)(^c National Center for Drug Screening, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences,
Shanghai 201203)

Abstract Protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) has recently been identified as new drug target for type II diabetes and obesity due to it is a negative regulator of the insulin and leptin-signaling pathway. In order to find new nonphosphonate-based pTyr mimetics, a series of novel chalcone derivatives bearing the 3,4-dihydroquinolin-2(1*H*)-one moieties (**4a**~**4n**) were designed, synthesized, and evaluated for their PTP1B inhibitory activity. The results demonstrated that all compounds presented potent inhibitory activities against PTP1B, among which compounds **4e** and **4i** exhibited most potent with IC₅₀ value of (4.64±0.38) and (4.36±0.41) μmol/L, respectively.

Keywords chalcone; 3,4-dihydroquinolin-2(1*H*)-one; PTP1B inhibitor

蛋白酪氨酸磷酸酯酶(protein tyrosine phosphatases, PTPs)是一个在细胞内催化蛋白质中磷酸化酪氨酸去磷酸化的酶家族, 而蛋白质酪氨酸激酶(protein tyrosine

kinases, PTKs)负责将特定蛋白质底物中的酪氨酸残基磷酸化, 两者共同作用, 动态地调节蛋白质中酪氨酸残基的磷酸化水平, 从而控制细胞内各类信号通路的开启

* E-mail: piaohuri@ybu.edu.cn; jli@mail.shnc.ac.cn

Received June 18, 2012; revised July 16, 2012; published online July 19, 2012.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 20962021, 81125023).

国家自然科学基金(Nos. 20962021, 81125023)资助项目.

与关闭, 在细胞的生长、分化、代谢、凋亡等生理活动中发挥着至关重要的作用^[1]. 蛋白酪氨酸磷酸酯酶 1B (protein tyrosine phosphatase 1B, PTP1B) 是第一个从人体细胞中分离鉴别的 PTPs 家族成员. 它能专一的水解蛋白质中磷酸化酪氨酸(pTyr)上的磷酸基团, 是胰岛素激活信号传导通路的负调控因子. 敲除 PTP1B 基因^[2]或运用反义核苷酸(ASO)抑制体内 PTP1B 蛋白及 mRNA 的表达^[3,4], 不仅可以显著提高受试小鼠对胰岛素的敏感性, 而且能明显降低肥胖症的患病几率, 这归结于 PTP1B 基因的缺失增强了胰岛素(IR)和胰岛素受体底物(IRS)对胰岛素信号的传导能力. PTP1B 基因缺失不影响小鼠正常的发育和寿命^[5]. 基于以上实验结论, PTP1B 是目前得到最充分证实的治疗糖尿病和肥胖相关疾病的重要的药物靶点. 因此, 小分子 PTP1B 抑制剂极有希望成为有效治疗 2 型糖尿病和肥胖症的药物.

目前, 采用高通量筛选技术或运用基于 PTP1B 酶三维结构的设计方法, 已经获得大量小分子 PTP1B 抑制剂^[6]. 其中基于底物结构设计的酪氨酸磷酸酯(I, pTyr)的模拟物可大致分为三类(图 1), 即二氟亚甲基磷酸类(II, Difluoro-methylene phosphonates, DFMP), 2-草酰氨基苯甲酸类(III, Oxalaminobenzoic acids, OBA)和 *O*-羧甲基-水杨酸类(IV, Carboxymethylsalicylic acids, CMS). 其中, 很多化合物对 PTP1B 的抑制活性已经达到了纳摩尔级. 然而, 令人遗憾的是, 这些化合物本身具有较高的负电荷, 在生物体内主要以负离子的形式存在, 不利于透过细胞膜, 导致生物利用度差. 这些因素限制了它们被开发成为有治疗价值的药物. 对于小分子抑制剂的研发, 不仅要不断地总结结构效关系, 以得到分子水平高活性、高选择性抑制剂, 还要同时考虑到抑制剂的类药性, 包括分子量大小、溶解性、带电基团、分子表面极性理化性质和细胞膜通透性等问题. 因此, 寻找非酸类 PTP1B 抑制剂先导化合物对于 PTP1B 抑制剂的研究具有重要意义.

图 1 已知的酪氨酸磷酸酯的模拟物的结构
Figure 1 Structures of some known pTyr mimetics

查尔酮, 其基本骨架结构为 1,3-二芳基丙烯酮, 广泛存在于天然植物中. 查尔酮类化合物分子具有较大的柔性且能与不同的受体结合, 使其本身具有重要的药理作用, 包括抗癌^[7]、抗菌^[8]、抗炎^[9]、抗氧化^[10]、抗疟疾^[11]、抗肿瘤^[12]、抗抑郁^[13]等多种生物活性. 很多来自天然物的查尔酮已经被证实, 对 PTP1B 显示良好的抑制作用^[14-16]. 此外, 3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮结构也具有优良的生物活性^[17], 其环上的羰基及 *N* 原子可以参与生物体中氢键的形成, 增加药物与受体的亲和力和选择性^[18]. 鉴于不同活性的结构在同一分子中聚集有时可以改善化合物的生物活性, 将 3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮和查尔酮构筑于同一分子中, 以期找到活性更好的先导化合物.

本研究合成了 14 个未见报道的化合物, 其结构经 IR, ¹H NMR, ¹³C NMR 和 MS 测试确认. 活性筛选结果表明该类化合物具有较好的 PTP1B 抑制活性, 合成路线如 Scheme 1 所示.

Reagents and conditions: (a) 4-methylbenzaldehyde, EtOH, 10% KOH, r.t.; (b) NBS, CCl₄, AIBN, hv, 2 h; (c) 6-hydroxy-3,4-dihydroquinolin-2(1*H*)-one, K₂CO₃, acetone, reflux, 4 h

Scheme 1

1 结果与讨论

1.1 目标化合物的合成与表征

本研究以不同取代的苯乙酮为起始原料经过 Claisen-Schmidt 反应, 合成了 (*E*)-1-取代苯基-3-(4-甲基苯基)-2-丙烯-1-酮(2a~2n), 再在 AIBN 的作用下, 与 NBS 反应得到了 (*E*)-3-(4-溴甲基苯基)-1-取代苯基-2-丙烯-1-酮(3a~3n), 最后与 3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮缩合得到目标化合物 4a~4n, 并通过 ¹H NMR, ¹³C NMR, IR 和

MS 等分析方法对所合成的化合物进行了表征. ^1H NMR 谱图中, 所有的化合物在 δ 2.6 和 2.9 左右出现了 3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮两个亚甲基的质子信号, δ 5.06 左右出现了醚键亚甲基的质子信号, δ 6.60~8.30 处出现了芳环-H 和查尔酮双键的质子信号; ^{13}C NMR 谱图中, 所有的化合物在 δ 190 左右出现了查尔酮的羰基上碳原子的吸收峰, δ 170 左右出现了喹啉酮的羰基上碳原子的吸收峰, δ 156 左右出现了喹啉酮的 C-6 的吸收峰, δ 70 左右出现了醚键亚甲基的吸收峰, δ 25, 30 左右出现了喹啉酮的两个亚甲基的吸收峰; IR 谱图中, 所有的化合物在 3300 cm^{-1} 左右出现了酰胺键的吸收峰, 1690 cm^{-1} 左右出现了共轭双键的羰基峰, 1650 cm^{-1} 左右出现了喹啉酮的羰基的吸收峰, 1580 cm^{-1} 左右出现了查尔酮中双键的吸收峰; MS 谱图中, 所有的化合物均出现了 $[\text{M}+1]^+$ 峰.

1.2 生物活性测试

目标化合物首先在 $20\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的浓度下, 对 PTP1B 进行初筛, 对于抑制率高于 50% 的化合物进行复筛, 得到 IC_{50} . 从表 1 可知, 所有化合物对 PTP1B 均显示了抑活性, 在 $20\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的浓度下, 抑制率为 66.63%~95.63%, IC_{50} 为 $(4.36\pm 0.41)\sim(27.82\pm 4.12)\text{ }\mu\text{mol/L}$, 其中化合物 **4e** 和 **4i** 活性与阳性对照物 $[(3.20\pm 0.31)\text{ }\mu\text{mol/L}]$ 相当. 比较化合物 **4k** ($\text{R}=\text{H}$), 化合物 **4a**~**4j** 和 **4l**~**4n** 都显示较强的抑制活性, 表明查尔酮 A 环上取代基对活性影响显著. 另外, 化合物 **4a**~**4i** 的活性优于 **4l**~**4n**, 表明吸电子基比供电子基更有利于活性的提

表 1 化合物 **4a**~**4n** 对 PTP1B 的抑制活性

Table 1 Inhibitory activity of compounds **4a**~**4n** against PTP1B

Compd.	R	PTP1B	
		Inhibition rate ^a /%	IC_{50} ^b /($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)
4a	2-F	72.85	17.28 ± 1.91
4b	4-F	88.95	7.39 ± 0.47
4c	2-Cl	75.93	10.50 ± 1.89
4d	3-Cl	95.63	7.39 ± 0.50
4e	4-Cl	94.15	4.64 ± 0.38
4f	2,4-Cl ₂	89.48	8.75 ± 0.48
4g	4-NO ₂	91.56	6.32 ± 0.51
4h	2-Br	93.89	10.53 ± 0.73
4i	3-Br	92.81	4.36 ± 0.41
4j	4-Br	89.92	18.60 ± 3.76
4k	H	93.59	27.82 ± 4.12
4l	3-OCH ₃	66.63	19.97 ± 2.51
4m	4-OCH ₃	71.25	21.45 ± 2.63
4n	4-OCH ₂ OCH ₃	79.57	12.13 ± 1.17
Ursolic acid ^c		98.45	3.20 ± 0.31

^a Values tested at $20\text{ }\mu\text{g/mL}$ concentration. ^b The pNPP assay. IC_{50} values were determined by regression analyses and expressed as means $\pm$ SD of three replications. ^c Positive control.

高. 构效分析表明, 化合物的活性与苯环上的取代基性质有关, 说明其基团的引入改善了化合物与酶的亲合性, 从而提高了对 PTP1B 的抑制活性. 其他活性测试正在进行中.

2 结论

以查尔酮为母体, 在 B 环上引入 3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮结构, 设计合成了 14 个新型的 (*E*)-6-[4-(3-取代苯基-3-氧代-1-丙烯基)苄氧基]-3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮衍生物. 活性结果表明, 该类化合物具有较强的 PTP1B 抑制作用, 更重要的是, 其结构中不含负电荷, 与已知的 PTP1B 抑制剂相比具有较好的脂溶性, 值得进一步进行结构优化, 以发现更高活性的化合物.

3 实验部分

3.1 仪器和试剂

熔点用毛细管法测定, 温度计未经校正; IR 用 FI-IR1730 型红外分光光度计测定 (KBr 压片); ^1H NMR, ^{13}C NMR 用 BRUKER AV-300 型核磁共振仪测定 (TMS 为内标, CDCl_3 或 $\text{DMSO}-d_6$ 为溶剂); ESI-MS 用 Agilent 1100LC/DAD/MSD 型液相色谱质谱联用仪; 酶标仪为 Bio-RAD 680 型. 本实验所用试剂均为 AR 级或 CP 级.

3.2 化合物的合成

3.2.1 (*E*)-3-(4-溴甲基苯基)-1-取代苯基-2-丙烯-1-酮 (**3a**~**3n**) 的合成

查尔酮 **3a**~**3n** 根据文献[19]报道的方法制备.

3.2.2 (*E*)-6-[4-(3-取代苯基-3-氧代-1-丙烯基)苄氧基]-3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮 (**4a**~**4n**) 的合成

在装有 10 mL 干燥丙酮的 25 mL 的圆底烧瓶中, 加入 1 mmol 查尔酮衍生物 **3**, 1 mmol 3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮, 1.2 mmol 无水碳酸钾, 氮气保护, 搅拌回流 4 h, TCL 监测至反应完毕, 抽滤, 减压蒸除溶剂后得到粗品. 粗品经硅胶柱层析分离 [V (二氯甲烷): V (甲醇)=60:1], 得黄色粉末状固体 **4a**~**4n**. 化合物 **4a**~**4n** 的产率, 熔点及波谱数据如下:

(*E*)-6-[4-[3-(2-氟苯基)-3-氧代-1-丙烯基]苄氧基]-3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮 (**4a**): 黄色固体, 产率 82%. m.p. $152\sim 154\text{ }^\circ\text{C}$; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 2.61 (t, $J=14.9\text{ Hz}$, 2H, CH_2), 2.93 (t, $J=14.9\text{ Hz}$, 2H, CH_2), 5.06 (s, 2H, CH_2), 6.67 (d, $J=8.4\text{ Hz}$, 1H, ArH), 6.76 (t, $J=12.9\text{ Hz}$, 2H, ArH), 7.17 (d, $J=10.5\text{ Hz}$, 1H, ArH), 7.20 (d, $J=16.5\text{ Hz}$, 1H, C=C), 7.37~7.44 (m, 3H, ArH), 7.47 (d, $J=16.5\text{ Hz}$, 1H, C=C), 7.63 (d, $J=8.1\text{ Hz}$, 2H, ArH), 7.72~7.82 (m, 2H, ArH), 7.98 (s, 1H, NH); ^{13}C NMR

(CDCl₃, 75 MHz) δ : 188.51, 171.17, 159.08, 154.03, 143.81, 139.33, 133.91, 133.56, 130.79, 130.53, 128.35 (2 $\times$ C), 127.28 (2 $\times$ C), 125.33, 125.24, 124.63, 124.09, 116.22, 115.92, 114.45, 113.05, 69.45, 30.08, 25.20; IR (KBr) ν : 3280 (N—H), 1722 (C=O), 1677 (C=O), 1586 (C=C) cm⁻¹; MS m/z : 402 ([M+1]⁺). Anal. calcd for C₂₅H₂₀FNO₃: C 74.80, H 5.02, N 3.49; found C 74.71, H 5.12, N 3.59.

(*E*)-6-{4-[3-(4-氟苯基)-3-氧代-1-丙烯基]苄氧基}-3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮(**4b**): 黄色固体, 产率 85%. m.p. 153~154 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 2.61 (t, J =14.9 Hz, 2H, CH₂), 2.94 (t, J =14.9 Hz, 2H, CH₂), 5.07 (s, 2H, CH₂), 6.67 (d, J =8.4 Hz, 1H, ArH), 6.77 (t, J =11.4 Hz, 2H, ArH), 7.18 (t, J =17.1 Hz, 3H, ArH), 7.46 (d, J =7.2 Hz, 1H, ArH), 7.49 (d, J =15.6 Hz, 1H, C=C), 7.65 (d, J =8.1 Hz, 2H, ArH), 7.79 (d, J =15.6 Hz, 1H, C=C), 7.95 (s, 1H, NH), 8.04 (q, J =14.1 Hz, 2H, ArH); ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ : 191.27, 172.61, 160.17, 157.53, 147.64, 144.92, 141.15, 136.55, 134.94, 133.52 (2 $\times$ C), 132.45 (2 $\times$ C), 130.36 (2 $\times$ C), 129.81 (2 $\times$ C), 127.35, 124.07, 121.16, 118.22, 117.16, 72.38, 31.23, 26.96; IR (KBr) ν : 3282 (N—H), 1725 (C=O), 1675 (C=O), 1580 (C=C) cm⁻¹. MS m/z : 402 ([M+1]⁺). Anal. calcd for C₂₅H₂₀FNO₃: C 74.80, H 5.02, N 3.49; found C 74.69, H 5.09, N 3.58.

(*E*)-6-{4-[3-(2-氯苯基)-3-氧代-1-丙烯基]苄氧基}-3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮(**4c**): 黄色固体, 产率 89%. m.p. 156~157 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 2.60 (t, J =14.9 Hz, 2H, CH₂), 2.93 (t, J =14.9 Hz, 2H, CH₂), 5.05 (s, 2H, CH₂), 6.68 (d, J =8.4 Hz, 1H, ArH), 6.75 (t, J =13.2 Hz, 2H, ArH), 7.11 (t, J =15.9 Hz, 1H, C=C), 7.36~7.40 (m, 1H, ArH), 7.44 (d, J =6.3 Hz, 5H, ArH), 7.49 (d, J =15.9 Hz, 1H, C=C), 7.57 (d, J =8.1 Hz, 2H, ArH), 8.15 (s, 1H, NH); ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ : 197.86, 175.03, 158.23, 150.15, 144.62, 143.19, 138.08, 136.36, 135.83, 135.23, 134.54, 133.51, 133.06 (2 $\times$ C), 132.08 (2 $\times$ C), 131.29, 130.56, 129.19, 120.58, 118.91, 117.74, 74.00, 35.02, 30.03; IR (KBr) ν : 3276 (N—H), 1735 (C=O), 1665 (C=O), 1576 (C=C) cm⁻¹. MS m/z : 418 ([M+1]⁺). Anal. calcd for C₂₅H₂₀ClNO₃: C 71.85, H 4.82, N 3.35; found C 71.98, H 4.91, N 3.47.

(*E*)-6-{4-[3-(3-氯苯基)-3-氧代-1-丙烯基]苄氧基}-3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮(**4d**): 黄色固体, 产率 81%. m.p. 158~159 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 2.61 (t, J =14.7 Hz, 2H, CH₂), 2.94 (t, J =14.7 Hz, 2H, CH₂), 5.07

(s, 2H, CH₂), 6.66 (d, J =8.4 Hz, 1H, ArH), 6.77 (d, J =11.7 Hz, 2H, ArH), 7.43~7.48 (m, 3H, ArH), 7.49 (t, J =15 Hz, 1H, C=C), 7.55 (d, J =8.1 Hz, 1H, ArH), 7.66 (d, J =8.1 Hz, 2H, ArH), 7.80 (d, J =15 Hz, 1H, C=C), 7.88 (t, J =11.1 Hz, 2H, ArH), 7.98 (s, 1H, NH); ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ : 194.26, 173.41, 156.31, 148.52, 144.78, 144.31, 139.18, 137.96, 136.11, 135.25, 134.13, 133.56 (2 $\times$ C), 132.48 (2 $\times$ C), 130.85, 128.44, 126.51, 124.67, 121.29, 119.13, 116.54, 75.38, 35.22, 29.64; IR (KBr) ν : 3264 (N—H), 1742 (C=O), 1676 (C=O), 1585 (C=C) cm⁻¹. MS m/z : 418 ([M+1]⁺). Anal. calcd for C₂₅H₂₀ClNO₃: C 71.85, H 4.82, N 3.35; found C 71.98, H 4.92, N 3.46.

(*E*)-6-{4-[3-(4-氯苯基)-3-氧代-1-丙烯基]苄氧基}-3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮(**4e**): 黄色固体, 产率 87%. m.p. 157~158 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 2.59 (t, J =14.8 Hz, 2H, CH₂), 2.91 (t, J =14.8 Hz, 2H, CH₂), 5.07 (s, 2H, CH₂), 6.67 (d, J =8.4 Hz, 1H, ArH), 6.77 (t, J =11.1 Hz, 2H, ArH), 7.42 (d, J =15 Hz, 1H, C=C), 7.52 (dd, J =8.4, 6.0 Hz, 4H), 7.65 (d, J =8.1 Hz, 2H, ArH), 7.79 (d, J =15 Hz, 1H, C=C), 7.95 (d, J =8.7 Hz, 2H, ArH), 8.02 (s, 1H, NH); ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ : 195.33, 172.45, 156.93, 147.37, 143.88, 140.62, 137.42, 135.47, 134.98 (2 $\times$ C), 134.02 (2 $\times$ C), 133.21 (2 $\times$ C), 132.36 (2 $\times$ C), 128.29, 126.34, 124.58, 120.02, 117.82, 116.57, 73.86, 30.17, 26.91; IR (KBr) ν : 3279 (N—H), 1746 (C=O), 1675 (C=O), 1579 (C=C) cm⁻¹. MS m/z : 418 ([M+1]⁺). Anal. calcd for C₂₅H₂₀ClNO₃: C 71.85, H 4.82, N 3.35; found C 71.93, H 4.71, N 3.43.

(*E*)-6-{4-[3-(2,4-二氯苯基)-3-氧代-1-丙烯基]苄氧基}-3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮(**4f**): 黄色固体, 产率 88%. m.p. 152~153 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 2.60 (t, J =14.6 Hz, 2H, CH₂), 2.93 (t, J =14.8 Hz, 2H, CH₂), 5.06 (s, 2H, CH₂), 6.66 (d, J =8.1 Hz, 1H, ArH), 6.76 (d, J =12.3 Hz, 2H, ArH), 7.09 (d, J =16.2 Hz, 1H, C=C), 7.37 (d, J =8.4 Hz, 1H, ArH), 7.43 (t, J =17.4 Hz, 4H, ArH), 7.50 (d, J =16.2 Hz, 1H, C=C), 7.57 (d, J =7.8 Hz, 2H, ArH), 7.83 (s, 1H, NH); ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ : 196.69, 175.08, 158.27, 150.36, 144.70, 141.60, 141.10, 137.96, 136.44, 136.19, 134.64, 134.38, 133.08 (2 $\times$ C), 132.04 (2 $\times$ C), 131.60, 130.14, 129.21, 120.54, 118.92, 117.70, 74.01, 30.01, 26.86; IR (KBr) ν : 3283 (N—H), 1722 (C=O), 1668 (C=O), 1552 (C=C) cm⁻¹. MS m/z : 453 ([M+1]⁺). Anal. calcd for C₂₅H₁₉Cl₂NO₃: C 66.38, H 4.23, N 3.10; found C 66.27, H 4.34, N 3.19.

(*E*)-6-{4-[3-(4-硝基苯基)-3-氧代-1-丙烯基]苄氧基}-3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮(**4g**): 黄色固体, 产率 73%. m.p. 162~164 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 2.61 (t, J =14.8 Hz, 2H, CH₂), 2.94 (t, J =14.8 Hz, 2H, CH₂), 5.08 (s, 2H, CH₂), 6.68 (d, J =8.4 Hz, 1H, ArH), 6.77 (d, J =11.7 Hz, 2H, ArH), 7.46 (d, J =15.6 Hz, 1H, C=C), 7.49 (s, 2H, ArH), 7.67 (d, J =7.8 Hz, 2H, ArH), 7.83 (d, J =15.6 Hz, 1H, C=C), 8.06 (s, 1H, NH), 8.13 (d, J =8.4 Hz, 2H, ArH), 8.37 (d, J =8.4 Hz, 2H, ArH); ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ : 188.49, 170.81, 154.01, 149.63, 145.77, 142.51, 139.94, 133.50, 130.73, 128.94 (2×C), 128.49 (2×C), 127.39 (2×C), 124.75, 123.42 (2×C), 120.95, 115.64, 114.53, 113.02, 69.39, 30.10, 25.23; IR (KBr) ν : 3287 (N—H), 1718 (C=O), 1673 (C=O), 1544 (C=C) cm⁻¹. MS m/z : 429 ([M+1]⁺). Anal. calcd for C₂₅H₂₀N₂O₅: C 70.08, H 4.71, N 6.54; found C 70.23, H 4.59, N 6.36.

(*E*)-6-{4-[3-(2-溴苯基)-3-氧代-1-丙烯基]苄氧基}-3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮(**4h**): 黄色固体, 产率 80%. m.p. 169~171 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 2.60 (t, J =15 Hz, 2H, CH₂), 2.93 (t, J =15 Hz, 2H, CH₂), 5.05 (s, 2H, CH₂), 6.66 (d, J =8.4 Hz, 1H, ArH), 6.76 (t, J =11.4 Hz, 2H, ArH), 7.08 (d, J =16.2 Hz, 1H, C=C), 7.31~7.37 (m, 1H, ArH), 7.42 (d, J =3.9 Hz, 4H, ArH), 7.46 (d, J =16.2 Hz, 1H, C=C), 7.57 (d, J =8.1 Hz, 2H, ArH), 7.66 (d, J =7.8 Hz, 1H, ArH), 7.99 (s, 1H, NH); ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ : 194.02, 170.28, 153.47, 145.73, 139.89, 133.32, 132.91, 131.59, 131.05, 130.91, 128.61, 128.31 (2×C), 127.32 (2×C), 127.04, 125.65, 124.44, 118.76, 115.82, 114.16, 112.99, 69.25, 30.26, 25.27; IR (KBr) ν : 3289 (N—H), 1730 (C=O), 1655 (C=O), 1557 (C=C) cm⁻¹. MS m/z : 463 ([M+1]⁺). Anal. calcd for C₂₅H₂₀BrNO₃: C 64.95, H 4.36, N 3.03; found C 64.87, H 4.45, N 3.14.

(*E*)-6-{4-[3-(3-溴苯基)-3-氧代-1-丙烯基]苄氧基}-3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮(**4i**): 黄色固体, 产率 78%. m.p. 166~168 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 2.61 (t, J =14.9 Hz, 2H, CH₂), 2.94 (t, J =14.9 Hz, 2H, CH₂), 5.07 (s, 2H, CH₂), 6.67 (d, J =8.4 Hz, 1H, ArH), 6.76 (t, J =11.7 Hz, 2H, ArH), 7.37~7.47 (m, 3H, ArH), 7.49 (d, J =15.6 Hz, 1H, C=C), 7.66~7.73 (m, 3H, ArH), 7.80 (d, J =15.6 Hz, 1H, C=C), 7.92 (d, J =7.8 Hz, 2H, ArH), 8.14 (s, 1H, NH); ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ : 192.99, 175.07, 158.28, 149.32, 144.46, 144.17, 139.89, 138.44, 136.31, 135.61, 134.66, 133.12 (2×C), 132.08 (2×C),

131.35, 129.20, 127.15, 125.77, 120.59, 118.94, 117.76, 74.07, 35.01, 30.03; IR (KBr) ν : 3275 (N—H), 1746 (C=O), 1678 (C=O), 1582 (C=C) cm⁻¹; MS m/z : 463 ([M+1]⁺). Anal. calcd for C₂₅H₂₀BrNO₃: C 64.95, H 4.36, N 3.03; found C 64.82, H 4.45, N 3.12.

(*E*)-6-{4-[3-(4-溴苯基)-3-氧代-1-丙烯基]苄氧基}-3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮(**4j**): 黄色固体, 产率 83%. m.p. 219~220 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 2.59 (t, J =14.6 Hz, 2H, CH₂), 2.91 (t, J =14.6 Hz, 2H, CH₂), 5.07 (s, 2H, CH₂), 6.66 (d, J =8.4 Hz, 1H, ArH), 6.77 (d, J =12.6 Hz, 2H, ArH), 7.46 (d, J =8.4 Hz, 2H, ArH), 7.51 (d, J =15.3 Hz, 1H, C=C), 7.65 (d, J =8.1 Hz, 4H, ArH), 7.79 (d, J =15.3 Hz, 1H, C=C), 7.79 (s, 1H, NH), 7.88 (d, J =7.8 Hz, 2H, ArH); ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ : 193.26, 174.94, 158.23, 148.97, 144.38, 141.11, 138.44, 136.39, 136.18 (2×C), 134.39 (2×C), 133.07 (2×C), 132.09 (2×C), 129.19, 127.08, 125.85, 120.58, 118.92, 117.75, 74.06, 30.05, 26.86; IR (KBr) ν : 3266 (N—H), 1734 (C=O), 1661 (C=O), 1572 (C=C) cm⁻¹. MS m/z : 463 ([M+1]⁺). Anal. calcd for C₂₅H₂₀BrNO₃: C 64.95, H 4.36, N 3.03; found C 64.82, H 4.23, N 3.14.

(*E*)-6-[4-(3-苯基-3-氧代-1-丙烯基)苄氧基]-3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮(**4k**): 黄色固体, 产率 88%. m.p. 148~150 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 2.61 (t, J =14.9 Hz, 2H, CH₂), 2.94 (t, J =14.9 Hz, 2H, CH₂), 5.07 (s, 2H, CH₂), 6.66 (d, J =8.1 Hz, 1H, ArH), 6.77 (t, J =11.7 Hz, 2H, ArH), 7.46 (d, J =15.6 Hz, 1H, C=C), 7.49~7.60 (m, 5H, ArH), 7.65 (d, J =8.1 Hz, 2H, ArH), 7.79 (d, J =15.6 Hz, 1H, C=C), 7.82 (s, 1H, NH), 8.01 (d, J =8.4 Hz, 2H, ArH); ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ : 190.01, 170.83, 155.63, 143.80, 139.13, 134.13, 132.37, 130.70, 128.21 (2×C), 128.18 (2×C), 128.03 (2×C), 127.31 (2×C), 124.69, 122.46, 121.78, 115.68, 114.51, 113.04, 69.48, 30.09, 25.22; IR (KBr) ν : 3285 (N—H), 1756 (C=O), 1669 (C=O), 1561 (C=C) cm⁻¹. MS m/z : 384 ([M+1]⁺). Anal. calcd for C₂₅H₂₁NO₃: C 78.31, H 5.52, N 3.65; found C 78.16, H 5.59, N 3.76.

(*E*)-6-{4-[3-(3-甲氧基苯基)-3-氧代-1-丙烯基]苄氧基}-3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮(**4l**): 黄色固体, 产率 79%. m.p. 166~167 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 2.59 (t, J =14.9 Hz, 2H, CH₂), 2.91 (t, J =14.9 Hz, 2H, CH₂), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 5.07 (s, 2H, CH₂), 6.67 (d, J =8.4 Hz, 1H, ArH), 6.77 (t, J =13.5 Hz, 2H, ArH), 7.15 (d, J =8.1 Hz, 1H, ArH), 7.42~7.49 (m, 4H, ArH), 7.54 (d, J =15.9 Hz, 1H, C=C), 7.59 (d, J =7.5 Hz, 1H, ArH), 7.65 (d, J =8.1

Hz, 2H, ArH), 7.84 (d, $J=15.9$ Hz, 1H, C=C), 7.97 (s, 1H, NH); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ : 189.72, 171.14, 159.45, 154.04, 143.83, 139.17, 139.07, 134.09, 130.79, 129.12, 128.22 ($2\times\text{C}$), 127.31 ($2\times\text{C}$), 124.64, 121.78, 120.57, 118.85, 115.81, 114.46, 113.04, 112.45, 69.46, 55.02, 30.11, 25.21; IR (KBr) ν : 3287 (N—H), 1763 (C=O), 1675 (C=O), 1594 (C=C) cm^{-1} . MS m/z : 414 ($[\text{M}+1]^+$). Anal. calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{23}\text{NO}_4$: C 75.53, H 5.61, N 3.39; found C 75.37, H 5.78, N 3.26.

(*E*)-6-[4-[3-(4-甲氧基苯基)-3-氧代-1-丙烯基]苄氧基]-3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮(**4m**): 黄色固体, 产率 79%. m.p. 169~171 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 2.61 (t, $J=14.9$ Hz, 2H, CH_2), 2.94 (t, $J=14.9$ Hz, 2H, CH_2), 3.90 (s, 3H, OCH_3), 5.06 (s, 2H, CH_2), 6.66 (d, $J=8.1$ Hz, 1H, ArH), 6.77 (t, $J=13.8$ Hz, 2H, ArH), 6.97 (d, $J=8.7$ Hz, 2H, ArH), 7.45 (d, $J=8.1$ Hz, 2H, ArH), 7.53 (d, $J=15.6$ Hz, 1H, C=C), 7.65 (d, $J=8.1$ Hz, 2H, ArH), 7.79 (s, 1H, NH), 7.83 (d, $J=15.6$ Hz, 1H, C=C), 8.03 (d, $J=8.7$ Hz, 2H, ArH); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ : 188.54, 170.65, 162.23, 154.56, 145.46, 138.57, 133.55, 130.23, 129.78, 128.81 ($2\times\text{C}$), 126.44 ($2\times\text{C}$), 125.47 ($2\times\text{C}$), 122.75, 121.68, 117.25, 116.22 ($2\times\text{C}$), 114.59, 112.31, 70.25, 55.46, 30.28, 25.51; IR (KBr) ν : 3269 (N—H), 1774 (C=O), 1680 (C=O), 1578 (C=C) cm^{-1} . MS m/z : 414 ($[\text{M}+1]^+$). Anal. calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{23}\text{NO}_4$: C 75.53, H 5.61, N 3.39; found C 75.44, H 5.73, N 3.23.

(*E*)-6-[4-[3-(4-甲氧基苯基)-3-氧代-1-丙烯基]苄氧基]-3,4-二氢-2(1*H*)-喹啉酮(**4n**): 黄色固体, 产率 85%. m.p. 178~179 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 2.61 (t, $J=14.9$ Hz, 2H, CH_2), 2.93 (t, $J=14.9$ Hz, 2H, CH_2), 3.50 (s, 3H, OCH_3), 5.06 (s, 2H, CH_2), 5.26 (s, 2H, CH_2), 6.67 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, ArH), 6.77 (t, $J=11.4$ Hz, 2H, ArH), 7.11 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, ArH), 7.45 (d, $J=8.1$ Hz, 2H, ArH), 7.51 (d, $J=15.6$ Hz, 1H, C=C), 7.64 (d, $J=8.1$ Hz, 2H, ArH), 7.78 (d, $J=15.6$ Hz, 1H, C=C), 7.92 (s, 1H, NH), 8.01 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, ArH); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ : 188.30, 171.04, 160.58, 154.04, 143.12, 138.95, 134.25, 131.47, 130.78, 130.23 ($2\times\text{C}$), 128.14 ($2\times\text{C}$), 127.29 ($2\times\text{C}$), 124.64, 121.55, 115.77, 115.41 ($2\times\text{C}$), 114.46, 113.04, 93.64, 69.48, 55.81, 30.10, 25.21; IR (KBr) ν : 3264 (N—H), 1735 (C=O), 1642 (C=O), 1588 (C=C) cm^{-1} . MS m/z : 444 ($[\text{M}+1]^+$). Anal. calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{25}\text{NO}_5$: C 73.12, H 5.68, N 3.16; found C 73.07, H 5.74, N 3.25.

3.3 PTP1B 抑制活性的测试

药理筛选由中国国家新药筛选中心完成. 利用分子生物学手段在大肠杆菌系统表达人源蛋白质酪氨酸磷酸酯酶 1B (hpPTP1B)催化结构域, 经纯化后的 hpPTP1B 重组蛋白能水解底物对硝基苯磷酸二钠(*p*NPP)的磷酸键, 得到的产物对硝基苯酚(*p*NP)在 405 nm 处有很强的光吸收, 因此可以通过直接检测 405 nm 处光吸收的变化以观察酶的活性变化以及化合物对酶活性的抑制情况. PTP1B 筛选体系为: 30 nmol/L GST-PTP1B, 2 mmol/L *p*NPP, 50 mmol/L Mops pH 6.5, 2 mmol/L DTT, 1 mmol/L EDTA, 2% DMS.

具体测试方法参照文献[20], 以 *p*NPP 为底物, 熊果酸(Ursolic Acid, UA)为阳性对照药物, 以相对活性对化合物浓度作图, 经公式 $v/v_0=100/(1+b[\text{I}]/\text{IC}_{50})$ 拟合, 得出 IC_{50} 值.

致谢 活性筛选试验由中国国家新药筛选中心协助测定, 在此对他们的帮助表示诚挚的谢意.

References

- [1] (a) Neel, B. G.; Tonks, N. K. *Curr. Opin. Cell Biol.* **1997**, *9*, 193.
(b) Hunter, T. *Cell* **2000**, *100*, 113.
(c) Tonks, N. K.; Neel, B. G. *Curr. Opin. Cell Biol.* **2001**, *13*, 182.
- [2] (a) Elchebly, M.; Payette, P.; Michaliszyn, E.; Cromlish, W.; Collins, S.; Loy, A. L.; Normandin, D.; Cheng, A.; Himms-Hagen, J.; Chan, C. C.; Ramachandran, C.; Gresser, M. J.; Tremblay, M. L.; Kennedy, B. P. *Science* **1999**, *283*, 1544.
(b) Klamann, L. D.; Boss, O.; Peroni, O. D.; Kim, J. K.; Martino, J. L.; Zabolotny, J. M.; Moghal, N.; Lubkin, M.; Kim, Y. B.; Sharpe, A. H.; Stricker-Krongrad, A.; Shulman, G. I.; Neel, B. G.; Kahn, B. B. *Mol. Cell Biol.* **2000**, *20*, 5479.
- [3] Zinker, B. A.; Rondinone, C. M.; Trevillyan, J. M.; Gum, R. J.; Clampitt, J. E.; Waring, J. F.; Xie, N.; Wilcox, D.; Jacobson, P.; Frost, L.; Kroeger, P. E.; Reilly, R. M.; Koterski, S.; Oppenorth, T. J.; Ulrich, R. G.; Crosby, S.; Butler, M.; Murray, S. F.; McKay, R. A.; Bhanot, S.; Monica, B. P.; Jirousek, M. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2002**, *99*, 11357.
- [4] Rondinone, C. M.; Trevillyan, J. M.; Clampitt, J. E.; Gum, R. J.; Berg, C.; Kroeger, P.; Frost, L.; Zinker, B. A.; Reilly, R.; Ulrich, R.; Butler, M.; Monica, B. P.; Jirousek, M. R.; Waring, J. F. *Diabetes* **2002**, *51*, 2405.
- [5] Ramachandran, C.; Kennedy, B. P. *Curr. Top. Med. Chem.* **2003**, *3*, 749.
- [6] Combs, A. P. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 2333.
- [7] Vogel, S.; Ohmayer, S.; Brunner, G.; Heilmann, J. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 4286.
- [8] (a) Chen, Z. H.; Zheng, C. J.; Sun, L. P.; Piao, H. R. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 5739.
(b) Liu, X. F.; Zheng, C. J.; Sun, L. P.; Liu, X. K.; Piao, H. R. *Eur.*

- J. Med. Chem.* **2011**, 46, 3469.
- [9] Chiaradia, L. D.; dos Santos, R.; Vitor, C. E.; Vieira, A. A.; Leal, P. C.; Nunes, R. J.; Calixto, J. B.; Yunes, R. A. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16, 658.
- [10] Vogel, S.; Heilmann, J. *J. Nat. Prod.* **2008**, 71, 1237.
- [11] Domínguez, J. N.; León, C.; Rodrigues, J.; Gamboa de Domínguez, N.; Gut, J.; Rosenthal, P. J. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 3654.
- [12] Daskiewicz, J. B.; Depeint, F.; Viornery, L.; Bayet, C.; Comte-Sarrazin, G.; Comte, G.; Gee, J. M.; Johnson, I. T.; Ndjoko, K.; Hostettmann, K.; Barron, D. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 2790.
- [13] Sui, X.; Quan, Y. C.; Chang, Y.; Zhang, R. P.; Xu, Y. F.; Guan, L. P. *Med. Chem. Res.* **2011**, 20, 1.
- [14] Chen, R. M.; Hu, L. H.; An, T. Y.; Li, J.; Shen, Q. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, 12, 3387.
- [15] Yoon, G.; Lee, W.; Kim, S. N.; Cheon, S. H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19, 5155.
- [16] Liu, Z.; Lee, W.; Kim, S. N.; Yoon, G.; Cheon, S. H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, 21, 3755.
- [17] Ge, H. X.; Wang, L. C. *Prog. Pharm. Sci.* **2005**, 29, 310 (in Chinese).
(葛海霞, 王礼琛, *药学报*, **2005**, 29, 310.)
- [18] Patil, V.; Tilekar, K.; Mehendale-Munj, S.; Mohan, R.; Ramaa, C. *S. Eur. J. Med. Chem.* **2010**, 49, 4539.
- [19] Meng, F. L.; Zheng, C. J.; Li, Y. J.; Sun, L. P.; Liu, X. K.; Zhang, T. Y.; Piao, H. R. *Chin. J. Org. Chem.* **2012**, 32, 183 (in Chinese).
(孟凡领, 郑昌吉, 李因晶, 孙良鹏, 刘学坤, 张天一, 朴虎日, *有机化学*, **2012**, 32, 183.)
- [20] (a) Shi, L.; Yu, H. P.; Zhou, Y. Y.; Du, J. Q.; Shen, Q.; Li, J. Y.; Li, J. *Acta Pharmacol. Sin.* **2008**, 29, 278.
(b) Zhang, W.; Hong, D.; Zhou, Y. Y.; Zhang, Y. N.; Shen, Q.; Li, J. Y.; Hu, L. H.; Li, J. *Biochim. Biophys. Acta* **2006**, 1760, 1505.
- (Qin, X.)