

## 金雀花碱衍生物的设计、合成及降糖活性研究

戴志廷, 张 勇, 唐 胜, 李迎红, 孔维佳, 宋丹青\*

(中国医学科学院、北京协和医学院医药生物技术研究所, 北京 100050)

**摘要:** 本研究以具有独特桥环骨架的生物碱天然产物—金雀花碱为先导物, 以细胞糖消耗为活性导向, 共设计合成了 30 个 12N 上不同类型取代的金雀花碱衍生物, 其中化合物 **3d**、**3g** 和 **6h** 降糖活性最为显著。药代动力学研究显示, 化合物 **3d** 具有较好的体内药代参数。初步作用机制显示, 化合物 **3d** 和 **6h** 增加细胞糖消耗可能与上调葡萄糖转运蛋白 Glut4 表达和 AMPK 激活有关。研究结果为此类桥环天然产物发展成一类新型降糖候选物提供了科学数据。

**关键词:** 金雀花碱; 构效关系; 糖消耗; 合成; AMPK

中图分类号: R916

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2018) 03-0416-09

## Design, synthesis and evaluation of cytisinic derivatives for hypoglycemic activity

DAI Zhi-ting, ZHANG Yong, TANG Sheng, LI Ying-hong, KONG Wei-jia, SONG Dan-qing\*

(Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

**Abstract:** Taking cytosine, an unique natural product alkaloid as the lead, we designed thirty cytisinic derivatives with different types of 12N-substituents, which were synthesized and evaluated for their activity in the regulation of glucose metabolism *in vitro*. The compounds **3d**, **3g** and **6h** exhibited the potential hypoglycemic activity and compound **3d** had a good pharmacokinetics profile. In terms of mechanism of glucose consumption, the compounds **3d** and **6h** increased cellular glucose consumption, which might be associated with up-regulation of glucose transporter Glut4 expression and activation of AMPK. The results revealed important roles of these new skeleton compounds as potential new drug candidates for control of blood glucose.

**Key words:** cytisinic derivatives; structure-activity relationship; glucose consumption; synthesis; AMPK

据国际糖尿病联盟最新统计, 糖尿病目前已成为全球影响人数最为广泛的慢性疾病, 2017 年共有 4.25 亿人罹患糖尿病, 到 2035 年患病人数将达到 5.92 亿人次<sup>[1]</sup>。我国糖尿病患病呈井喷态势, 成人患病率从 2002 年的 2.6% 上升到 2016 年的 11.6%; 潜在患者人数高达 50.1%。其中 2 型糖尿病虽表现为简单

血糖异常, 但发病机制异常复杂<sup>[2, 3]</sup>; 罹患 2 型糖尿病患者与健康人相比, 出现心血管疾病的风险要高出 2~4 倍。目前临床一线用药—生物碱天然产物山羊豆碱衍生的二甲双胍<sup>[4]</sup>, 是一个多靶点降糖药物, 适宜于更广的患者人群。陆续上市的单靶点药物, 如促胰岛素分泌剂<sup>[5-7]</sup>、 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂<sup>[8]</sup>、PPAR $\alpha$ -激动剂噻唑烷二酮类<sup>[9]</sup>、GLP-1 受体激动剂<sup>[10]</sup>、新上市的 DPP-4 抑制剂<sup>[11]</sup>与 SGLT-2 抑制剂<sup>[12]</sup>, 在临床发挥重要的作用, 仍难以满足发病机制异常复杂的庞大患者人群; 同时, 这些药物还存在不同程度不良反应, 限制了其使用范围<sup>[13]</sup>。2 型糖尿病作为一种影响

收稿日期: 2017-12-18; 修回日期: 2018-01-17.

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程资助项目 (2016-12M-3-009).

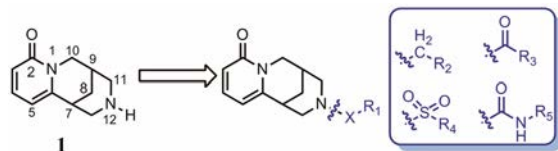
\*通讯作者 Tel / Fax: 86-10-63165268,

E-mail: songdanqingsdq@hotmail.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2017-1257

终生的疾病, 仍需更多有效的治疗和控制手段。

金雀花碱 (cytisine, **1**, 结构见图 1), 又名野靛碱或乌乐碱, 是从豆科槐属植物苦豆子中提取的一种生物碱单体。临床用 0.15% 的金雀花碱水溶液肌肉或静脉注射, 抢救因手术和各种创伤引起的反射性呼吸暂停、休克和新生儿窒息等<sup>[14]</sup>, 其安全性已得到普遍证实。另外, 金雀花碱还具有抗心率失常、抗溃疡以及抗肿瘤等多种生物活性<sup>[15]</sup>。本课题组长期致力于从生物碱天然产物中寻找创新药物, 并首次发现具有独特桥环骨架的金雀花碱具有微弱的降糖活性。鉴于其独特的化学结构以及良好的成药性特征, 本文以金雀花碱为先导化合物, 以细胞糖消耗为活性导向, 分别在其 12N-位上引入不同类型的取代基, 如烷基、苄基、酰基、磺酰基以及苯胺甲酰基等, 着重考察 12N-位氮原子上不同取代基对降糖活性的影响, 总结构效关系。同时对代表性化合物开展体内药代动力学与初步作用机制研究。



**Figure 1** Structures of cytisine and strategies of the structural modifications

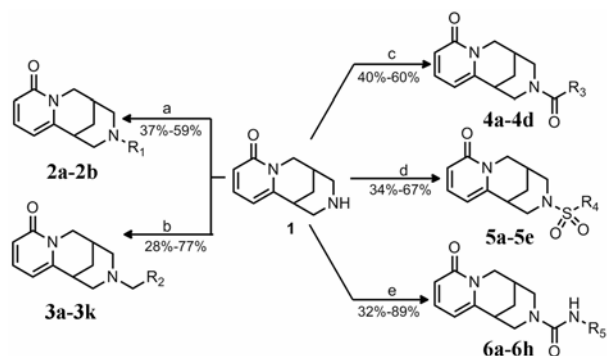
## 结果与讨论

### 1 化合物的合成

目标化合物的合成如合成路线 1 所示。以市售的金雀花碱 **1** 为原料, 二氯甲烷为反应溶剂, 三乙胺为缚酸剂, 分别滴加不同取代基的碘代烷、溴苄、酰氯、磺酰氯或异氰酸酯, 制得目标化合物 12N-烷基取代 **2a~2b** (收率介于 37%~59%)、12N-苄基 **3a~3k** (28%~77%)、12N-苯甲酰基 **4a~4d** (40%~60%)、12N-芳香磺酰基 **5a~5e** (34%~57%) 以及 12N-苯胺甲酰基 **6a~6h** (32%~89%)。所有最终产物均经快速柱色谱方法分离纯化, 使其收率均有所降低。本研究共设计合成金雀花碱衍生物 30 个, 其中 21 个化合物未见文献报道, 分别为 **3b**、**3d**、**3e**、**3g**、**3i**、**3j**、**4a~4d**、**5b~5e**、**6a~6d** 和 **6f~6h**。所有化合物结构均经 <sup>1</sup>H NMR、<sup>13</sup>C NMR 和 HR-MS 确证。

### 2 金雀花碱衍生物降糖活性

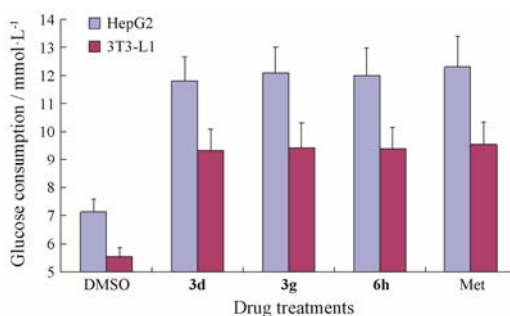
选取同样来自生物碱天然产物的二甲双胍作为阳性对照药, 所有新合成的目标化合物结构与在肌肉细胞 L6 的糖消耗活性结果见表 1。活性结果表明,



**Scheme 1** Synthetic routes to target compounds. Reagents and conditions: a)  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ , NaH, alkyl iodides, THF, r.t. or  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; b) TEA, benzyl bromide,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , r.t.; c) TEA, benzoyl chloride,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , r.t.; d) TEA, benzenesulfonyl chloride,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , r.t.; e) TEA, isocyanate,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , rt.

12N 上引入苄基 (**3a~3k**) 的活性优于烷基 (**2a~2b**), 苄基对位吸电子取代优于邻位吸电子取代, 其中化合物 **3d** 和 **3g** 表现出显著的降糖作用。12N 上引入不同的磺酰基, 所得 12N-磺酰基衍生物 **5a~5e** 的活性均未见明显提高; 12N 上引入酰基 (**4a~4d**) 或者酰胺基 (**6a~6g**) 时, 衍生物如 **4a** 和 **6g** 的活性有所提高, 尤其化合物 **6h** 的活性明显增强, 提示苯环 3 位引入卤素氯原子有利于提升降糖活性。

选取活性较好的 3 个代表性化合物 **3d**、**3g** 和 **6h** 分别在肝脏细胞 HepG2 和脂肪细胞 3T3 中进一步验证其体外降糖活性, 结果见图 2。结果表明化合物 **3d**、**3g** 和 **6h** 在  $25\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度下的糖消耗与二甲双胍在  $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的活性相当, 提示 3 个代表性化合物均表现出了良好的体外降糖活性。

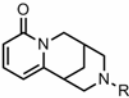


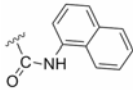
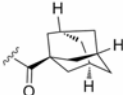
**Figure 2** Hypoglycemic activity of compounds **3d**, **3g** and **6h** in HepG2 and 3T3 Cell (**3d**, **3g** and **6h**  $25\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectively; Met  $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )

### 3 代表性化合物的体内药代参数测定

选取不同结构类型的代表性化合物, 12N-苄基取代 **3d** 和 12N-酰基取代 **6h** 进行 SD 大鼠体内主要药代参数的测定。选用雄性 SD 大鼠两组 ( $n=3$ ), 分别口服给予  $25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  待测化合物, 给药后按规定时间

**Table 1** Hypoglycemic activity of cytosine derivatives in L6 cells. The concentration of target compound is 25  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , and metformin is 5  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$

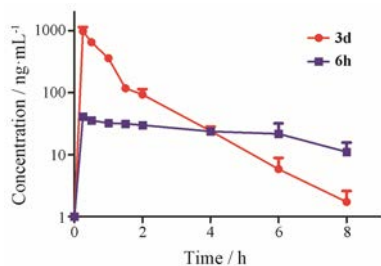


Compd.	R	Glucose consumption / $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	Compd.	R	Glucose consumption / $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$
DMSO		4.14 $\pm$ 0.25	<b>4c</b>	2-OCF <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CO	5.33 $\pm$ 0.30
<b>1</b>		4.81 $\pm$ 0.5	<b>4d</b>	2,4-F <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CO	5.28 $\pm$ 0.40
<b>2a</b>	CH <sub>3</sub>	4.55 $\pm$ 0.38	<b>5a</b>	4-CH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> SO <sub>2</sub>	5.47 $\pm$ 0.46
<b>2b</b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	5.27 $\pm$ 0.41	<b>5b</b>	3-CH <sub>2</sub> COC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> SO <sub>2</sub>	5.48 $\pm$ 0.46
<b>3a</b>	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CH <sub>2</sub>	4.61 $\pm$ 0.59	<b>5c</b>	4-CH <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> SO <sub>2</sub>	5.31 $\pm$ 0.72
<b>3b</b>	2-CNC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CH <sub>2</sub>	5.56 $\pm$ 0.43	<b>5d</b>	4-OCH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> SO <sub>2</sub>	5.34 $\pm$ 0.71
<b>3c</b>	4-OCH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CH <sub>2</sub>	5.79 $\pm$ 0.37	<b>5e</b>	2-thienylSO <sub>2</sub>	5.60 $\pm$ 0.84
<b>3d</b>	4-CF <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CH <sub>2</sub>	6.62 $\pm$ 1.10	<b>6a</b>	3-CH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> NHCO	5.11 $\pm$ 0.33
<b>3e</b>	2,6-F <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CH <sub>2</sub>	5.32 $\pm$ 0.42	<b>6b</b>		4.92 $\pm$ 0.65
<b>3f</b>	2,6-Cl <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CH <sub>2</sub>	5.61 $\pm$ 0.73	<b>6c</b>	3,5-Cl <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> NHCO	5.64 $\pm$ 0.42
<b>3g</b>	4-IC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CH <sub>2</sub>	6.75 $\pm$ 0.48	<b>6d</b>	2,6-( <i>i</i> -Pr) <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> NHCO	5.41 $\pm$ 0.42
<b>3h</b>	4-FC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CH <sub>2</sub>	6.02 $\pm$ 0.37	<b>6e</b>	4-FC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> NHCO	5.17 $\pm$ 0.72
<b>3i</b>	4-BrC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CH <sub>2</sub>	5.86 $\pm$ 0.71	<b>6f</b>	2-CH <sub>3</sub> ,5-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> NHCO	5.54 $\pm$ 0.53
<b>3j</b>	4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CH <sub>2</sub>	5.52 $\pm$ 0.06	<b>6g</b>	4-CF <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> NHCO	4.80 $\pm$ 0.56
<b>3k</b>	4-NO <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CH <sub>2</sub>	4.76 $\pm$ 0.46	<b>6h</b>	3-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> NHCO	7.27 $\pm$ 0.70
<b>4a</b>	4-OCH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CO	6.09 $\pm$ 0.56	Met		8.18 $\pm$ 0.25
<b>4b</b>		5.21 $\pm$ 0.39			

点 (0、0.25、0.5、1、1.5、2、4、6、8 h) 分别进行颈静脉插管取血测定, 结果见表 2 和图 3。结果表明化合物 **3d** 表现出较好的口服药代动力学性质。化合物 **6h** 的主要药代参数  $C_{\text{max}}$  与 AUC 均低于相应苄基取代 **3d**, 这可能是由于化合物 **6h** 中的酰胺键在体内容易水解断裂所致。

**Table 2** Pharmacokinetic profiles of representative compounds after oral administration (25  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )

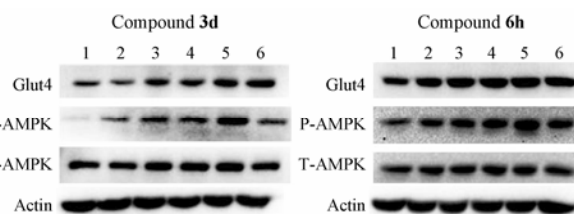
Compd.	$t_{\text{max}}$ /h	$C_{\text{max}}$ / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{AUC}_{0-t}$ / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}$	$\text{AUC}_{0-\infty}$ / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}$	MRT /h	$t_{1/2}$ /h
<b>3d</b>	0.25	2.81	2.50	2.52	1.48	1.72
<b>6h</b>	2.17	0.13	0.78	0.81	7.53	4.8



**Figure 3** Mean plasma concentration versus time curve of **3d** and **6h** after oral administration at 25  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  to mice ( $n = 3$ ), respectively

#### 4 初步降糖机制探究

为了探讨此类桥环天然产物发挥降糖活性的作用机制, 选取代表性化合物 **3d** 和 **6h** 进行进一步研究。鉴于葡萄糖转运蛋白 Glut4 是在葡萄糖消耗过程中细胞摄取葡萄糖的关键蛋白, AMPK 是促进葡萄糖有氧氧化的关键激酶, 本研究开展了激活 Glut4 和 AMPK 的活性评价研究。从图 4 可知, 化合物 **3d** 和 **6h** 均可上调葡萄糖转运蛋白 Glut4 表达水平及 AMPK 磷酸化水平, 并呈现一定的剂量依赖性, 而总的 AMPK 水平无明显变化。该结果提示, 化合物 **3d** 和 **6h** 可能是通过上调 Glut4 表达以及激活 AMPK 激酶从而增加细胞糖消耗量。



**Figure 4** Compounds **3d** and **6h** show potency on Glut4 and AMPK activation. 1: DMSO; 2–5: Drug concentration of 5, 10, 25 and 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  respectively; 6: Met 5  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$

## 小结

本研究以生物碱天然产物—金雀花碱为先导物, 共设计合成 30 个具有独特桥环骨架的金雀花碱衍生物, 其中 21 个是未见文献报道的全新化合物, 评价了其体外糖消耗活性。初步降糖构效关系表明, 12-位氮原子上引入适当的取代基有利于降糖活性的提高, 如引入三氟甲基苄基 **3d**、碘苄基 **3g**、甲氧基苯甲酰基 **4a** 以及氯苯胺甲酰基 **6h** 金雀花碱衍生物均表现出显著的降糖作用。代表性化合物 **3d**、**3g** 和 **6h** 的体外降糖活性在不同的细胞系如肝脏细胞 HepG2 和脂肪细胞 3T3 中得到进一步验证。其中化合物 **3d** 不仅表现良好的降糖活性, 还拥有良好的药代动力学参数, 值得进一步研究。初步作用机制显示, 化合物 **3d** 增加细胞糖消耗量可能是通过上调了 Glut4 的表达以及激活了 AMPK 的活性。本研究结果为此类化合物的进一步结构修饰与优化提供了有益的科学数据, 有关深入的作用机制研究正在进行中。

## 实验部分

熔点用梅特勒 MP90 熔点仪系统测定, 未经校正;  $^1\text{H}$  NMR 和  $^{13}\text{C}$  NMR 用 Bruker Avance III 400、500、600 核磁共振仪测定, 溶剂为 DMSO- $d_6$  或  $\text{CDCl}_3$ , TMS 为内标; HR-MS 用 Autospec Ultima-TOF 质谱测定仪测定; Flash 柱分离纯化用 Combiflash Rf200 快速制备液相; 荧光检测用 ZF-20D 暗箱式紫外分析仪; 薄层色谱 (TLC) 采用 E-Merck 公司预铺硅胶铝箔卷; 试剂均为分析纯。

### 1 化学合成

#### 1.1 12N-甲基金雀花碱 (2a)

将金雀花碱 400 mg (2.1 mmol) 置于 100 mL 茄型瓶中, 加入四氢呋喃 20 mL 溶解, 加入氢化钠 100 mg (4.2 mmol), 室温搅拌 30 min, 然后加入碘甲烷 355 mg (2.5 mmol), 室温搅拌, 反应过夜, 减压蒸干反应溶剂, 残留物加二氯甲烷溶解, 过滤, 硅胶拌样, 以二氯甲烷和甲醇为流动相, 经 Flash 柱色谱纯化, 得目标产物白色固体 **2a**, 收率 37%, 熔点: 139~141 °C。  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.40~7.27 (m, 1H), 6.20 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 1H), 6.07 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 1H), 3.77 (d,  $J$  = 15.2 Hz, 1H), 3.68 (dd,  $J$  = 15.1, 6.3 Hz, 1H), 3.00 (s, 1H), 2.83 (d,  $J$  = 10.1 Hz, 1H), 2.73 (d,  $J$  = 9.6 Hz, 1H), 2.37 (s, 1H), 2.16 (d,  $J$  = 10.3 Hz, 1H), 2.11 (d,  $J$  = 10.6 Hz, 1H), 2.04 (s, 3H), 1.78 (d,  $J$  = 11.8 Hz, 1H), 1.65 (d,  $J$  = 12.1 Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  162.8, 152.8, 139.5, 116.0, 104.5, 62.9,

62.4, 50.3, 46.5, 35.1, 27.9, 25.3; HR-MS: Calcd. for  $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{ON}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 205.133 5, Found: 205.132 9。

#### 1.2 12N-丙基金雀花碱 (2b)

将金雀花碱 400 mg (2.1 mmol) 置于 100 mL 茄型瓶中, 加入四氢呋喃 20 mL 溶解, 加入氢化钠 100 mg (4.2 mmol), 室温搅拌 30 min, 然后加入碘丙烷 425 mg (2.5 mmol), 加入至 50 °C 反应过夜, 蒸干反应溶剂, 残留物加二氯甲烷溶解, 过滤, 硅胶拌样, 以二氯甲烷和甲醇为流动相, 经 Flash 柱色谱纯化, 得目标产物白色固体 **2b**。收率 59%, 熔点: >200 °C。  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.59 (s, 1H), 7.44 (t,  $J$  = 7.7 Hz, 1H), 6.39 (d,  $J$  = 8.9 Hz, 1H), 6.29 (d,  $J$  = 6.3 Hz, 1H), 3.96 (d,  $J$  = 15.7 Hz, 1H), 3.83 (dd,  $J$  = 15.7, 6.9 Hz, 1H), 3.54 (d,  $J$  = 12.2 Hz, 1H), 3.41 (s, 2H), 3.34 (dd,  $J$  = 16.3, 6.4 Hz, 1H), 3.22 (t,  $J$  = 10.2 Hz, 1H), 3.01~2.91 (m, 2H), 2.73 (s, 1H), 1.98 (d,  $J$  = 12.9 Hz, 1H), 1.87 (d,  $J$  = 12.8 Hz, 1H), 1.69~1.52 (m, 2H), 0.83 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  162.9, 148.4, 140.6, 117.1, 108.2, 59.3, 56.9, 56.6, 48.9, 32.6, 26.3, 23.1, 17.0, 11.5; HR-MS: Calcd. for  $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{ON}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 233.164 8, Found: 233.164 0。

#### 1.3 12N-取代苄基金雀花碱 (3a~3k)

将金雀花碱 400 mg (2.1 mmol) 置于 100 mL 茄型瓶中, 加入二氯甲烷 20 mL 溶解, 搅拌下依次加入三乙胺 0.51 g (6.3 mmol) 和取代溴苄 (2.1 mmol), 室温搅拌 3 h, TLC 监测, 反应完毕后, 反应液加入二氯甲烷 20 mL, 然后依次以水 (50 mL×3) 和饱和食盐水 (50 mL×3) 洗涤, 无水硫酸钠干燥。过滤, 减压浓缩, 以二氯甲烷和甲醇为流动相, 经 Flash 柱色谱纯化, 得目标产物 **3a~3k**。

**1.3.1 12N-苄基金雀花碱 (3a)** 白色固体, 收率 51%, 熔点: 148~150 °C。  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.28 (dd,  $J$  = 7.6, 5.5 Hz, 1H), 7.21~7.14 (m, 3H), 7.03~6.96 (m, 2H), 6.49 (dd,  $J$  = 9.0, 1.1 Hz, 1H), 5.92 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 1H), 4.11 (d,  $J$  = 15.3 Hz, 1H), 3.89 (dd,  $J$  = 15.3, 6.6 Hz, 1H), 3.47~3.38 (m, 2H), 2.94 (d,  $J$  = 10.0 Hz, 2H), 2.85 (dd,  $J$  = 10.6, 1.1 Hz, 1H), 2.43 (d,  $J$  = 2.4 Hz, 1H), 2.37 (d,  $J$  = 11.0 Hz, 1H), 2.31 (d,  $J$  = 10.5 Hz, 1H), 1.91 (d,  $J$  = 12.7 Hz, 1H), 1.79 (d,  $J$  = 12.7 Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  163.7, 151.3, 138.6 (2), 128.4, 128.2 (3), 127.1, 116.6, 104.8, 62.0 (2), 59.9, 49.9, 35.4, 28.1, 25.9; HR-MS: Calcd. for  $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{ON}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 281.164 8, Found: 281.164 7。

**1.3.2 12N-*o*-氰基苄基金雀花碱 (3b)** 白色固体, 收率 78%, 熔点: 114~116 °C。  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.55 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 7.39 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 1H),

7.30~7.25 (m, 2H), 7.08 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 6.50 (d,  $J = 8.9$  Hz, 1H), 5.93 (d,  $J = 6.7$  Hz, 1H), 4.09 (d,  $J = 15.3$  Hz, 1H), 3.89 (dd,  $J = 15.3, 6.5$  Hz, 1H), 3.69~3.61 (m, 2H), 2.98 (s, 1H), 2.93 (d,  $J = 10.7$  Hz, 1H), 2.86 (d,  $J = 10.4$  Hz, 1H), 2.50 (t,  $J = 10.8$  Hz, 3H), 1.94 (d,  $J = 12.7$  Hz, 1H), 1.84 (d,  $J = 12.8$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  163.6, 151.0, 142.1, 138.6, 132.7 (2), 129.1, 127.6, 117.5, 116.8, 112.2, 104.8, 60.3, 59.9, 59.4, 49.9, 35.5, 28.1, 25.8; HR-MS: Calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{ON}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  306.160 1, Found: 306.159 9。

**1.3.3 12*N*-*p*-甲氧苄基金雀花碱 (3c)** 白色固体, 收率 77%, 熔点: 101~103 °C。 $^1\text{H}$ NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.27 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 6.91 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 6.73 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 6.48 (d,  $J = 8.9$  Hz, 1H), 5.91 (d,  $J = 6.6$  Hz, 1H), 4.08 (d,  $J = 15.3$  Hz, 1H), 3.88 (dd,  $J = 15.3, 6.5$  Hz, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.40~3.31 (m, 2H), 2.92 (s, 2H), 2.84 (d,  $J = 10.2$  Hz, 1H), 2.42 (s, 1H), 2.31 (t,  $J = 12.4$  Hz, 2H), 1.90 (d,  $J = 12.4$  Hz, 1H), 1.78 (d,  $J = 12.5$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  163.6, 158.6, 151.5, 138.6 (2), 129.4, 116.5, 113.6 (3), 104.7, 61.4, 59.9 (2), 55.2, 50.0, 35.5, 28.1, 26.0; HR-MS: Calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{O}_2\text{N}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  311.175 4, Found: 311.175 1。

**1.3.4 12*N*-*p*-三氟甲苄基金雀花碱盐酸盐 (3d)** 白色固体, 收率 41%, 熔点: 103~105 °C。 $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  10.35 (s, 1H), 7.84 (s, 4H), 7.47 (dd,  $J = 8.7, 7.2$  Hz, 1H), 6.47 (d,  $J = 8.9$  Hz, 1H), 6.33 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 4.47 (d,  $J = 11.7$  Hz, 1H), 4.39 (d,  $J = 11.8$  Hz, 1H), 4.01 (d,  $J = 15.7$  Hz, 1H), 3.86 (dd,  $J = 15.7, 7.0$  Hz, 1H), 3.50 (d,  $J = 11.7$  Hz, 1H), 3.43 (s, 1H), 3.33 (s, 1H), 3.24~3.14 (m, 1H), 2.77 (s, 1H), 1.94 (d,  $J = 12.9$  Hz, 1H), 1.87 (d,  $J = 12.8$  Hz, 1H), 1.23 (s, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  162.7 (2), 148.1, 140.4, 133.3 (2), 126.0 (2), 125.6, 123.4, 117.0, 107.8, 59.5, 56.5, 56.4, 48.6, 32.4, 26.2, 22.8; HR-MS: Calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{ON}_2\text{F}_3\cdot\text{HCl}$   $[\text{M}-\text{HCl}+\text{H}]^+$  349.152 2, Found: 349.152 0。

**1.3.5 12*N*-2',6'-二氟苄基金雀花碱 (3e)** 白色固体, 收率 54%, 熔点: 158~160 °C。 $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.27 (dd,  $J = 6.5, 2.5$  Hz, 1H), 7.25~7.18 (m, 1H), 6.89~6.82 (m, 2H), 6.44 (dd,  $J = 9.0, 1.3$  Hz, 1H), 5.96 (dd,  $J = 6.8, 1.2$  Hz, 1H), 4.00 (d,  $J = 15.3$  Hz, 1H), 3.87 (dd,  $J = 15.2, 6.9$  Hz, 1H), 3.68~3.61 (m, 2H), 2.92 (t,  $J = 11.7$  Hz, 2H), 2.43~2.36 (m, 2H), 1.82 (d,  $J = 12.8$  Hz, 1H), 1.66 (d,  $J = 12.7$  Hz, 1H), 1.25 (s, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  162.6 (2), 160.8, 152.4, 139.2, 130.5, 115.7 (2), 111.9, 111.7, 104.1, 59.4,

58.8, 50.0, 48.3, 34.8, 27.6, 25.1; HR-MS: Calcd. for  $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{ON}_2\text{F}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  317.146 0, Found: 317.145 7。

**1.3.6 12*N*-2',6'-二氯苄基金雀花碱 (3f)** 白色固体, 收率 41%, 熔点: 138~140 °C。 $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  7.21~7.18 (m, 3H), 7.06 (dd,  $J = 8.4, 7.6$  Hz, 1H), 6.47~6.38 (m, 1H), 5.88 (dd,  $J = 6.8, 0.8$  Hz, 1H), 3.71 (d,  $J = 12.5$  Hz, 1H), 3.59 (d,  $J = 12.5$  Hz, 1H), 2.93 (d,  $J = 1.7$  Hz, 1H), 2.87~2.82 (m, 2H), 2.61 (dd,  $J = 10.7, 1.6$  Hz, 1H), 2.54 (d,  $J = 10.9$  Hz, 1H), 2.38 (s, 1H), 1.91~1.86 (m, 1H), 1.82~1.78 (m, 1H), 1.25 (s, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  162.6, 152.3, 138.8, 136.4 (2), 133.7, 130.2, 128.8 (2), 115.6, 103.8, 60.2, 59.4, 55.8, 50.0, 35.0, 27.7, 25.4; HR-MS: Calcd. for  $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{ON}_2\text{Cl}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  349.086 9, Found: 349.087 2。

**1.3.7 12*N*-*p*-碘苄基金雀花碱盐酸盐 (3g)** 白色固体, 收率 32%, 熔点: 160 °C。(dec.)  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  9.96 (s, 1H), 7.82 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.46~7.30 (m, 3H), 6.38 (d,  $J = 8.9$  Hz, 1H), 6.24 (d,  $J = 6.6$  Hz, 1H), 4.42~4.15 (m, 2H), 3.95 (d,  $J = 15.7$  Hz, 1H), 3.82 (dd,  $J = 15.6, 6.9$  Hz, 1H), 3.51~3.38 (m, 2H), 3.33~3.13 (m, 2H), 2.75 (s, 1H), 1.91 (d,  $J = 12.4$  Hz, 1H), 1.85 (d,  $J = 12.2$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  162.7, 148.0, 140.2, 138.0 (3), 134.6, 129.2, 117.2, 107.4, 97.5, 59.7, 56.4, 56.2, 48.5, 32.3, 26.2, 22.9; HR-MS: Calcd. for  $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{ON}_2\text{I}\cdot\text{HCl}$   $[\text{M}-\text{HCl}+\text{H}]^+$  407.061 5, Found: 407.060 0。

**1.3.8 12*N*-*p*-氟苄基金雀花碱 (3h)** 白色固体, 收率 64%, 熔点: 159~161 °C。 $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  7.34 (dd,  $J = 8.9, 6.9$  Hz, 1H), 7.04~6.97 (m, 4H), 6.26 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H), 6.03 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 3.83 (d,  $J = 15.3$  Hz, 1H), 3.70 (dd,  $J = 15.3, 6.5$  Hz, 1H), 3.43 (d,  $J = 13.8$  Hz, 1H), 3.37 (d,  $J = 9.5$  Hz, 1H), 3.00 (s, 1H), 2.87 (d,  $J = 10.6$  Hz, 1H), 2.73 (d,  $J = 10.4$  Hz, 1H), 2.39 (s, 1H), 2.31~2.23 (m, 2H), 1.83 (d,  $J = 12.6$  Hz, 1H), 1.70 (d,  $J = 12.6$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  162.6, 160.6, 152.5, 139.2, 134.7, 130.2, 130.1, 115.7, 115.3, 115.1, 104.3, 60.7, 60.0, 59.8, 50.1, 35.0, 27.8, 25.6; HR-MS: Calcd. for  $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{ON}_2\text{F}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  299.155 4, Found: 299.154 4。

**1.3.9 12*N*-*p*-溴苄基金雀花碱 (3i)** 白色固体, 收率 43%, 熔点: 100~102 °C。 $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  7.40~7.32 (m, 3H), 6.91 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 6.26 (dd,  $J = 9.0, 1.2$  Hz, 1H), 6.03 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 3.84 (d,  $J = 15.3$  Hz, 1H), 3.69 (dd,  $J = 15.3, 6.4$  Hz, 1H), 3.42 (d,  $J = 14.1$  Hz, 1H), 3.36 (d,  $J = 2.8$  Hz, 1H), 3.00 (s, 1H), 2.87 (d,  $J = 10.6$  Hz, 1H), 2.73~2.69

(m, 1H), 2.38 (d,  $J = 2.3$  Hz, 1H), 2.33~2.23 (m, 2H), 1.83 (d,  $J = 12.6$  Hz, 1H), 1.70 (d,  $J = 12.7$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  162.8, 152.6, 139.4, 138.4, 131.6 (2), 130.8 (2), 120.4, 115.9, 104.5, 60.9, 60.1 (2), 50.3, 35.1, 28.0, 25.8; HR-MS: Calcd. for  $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{ON}_2\text{Br}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  359.075 4, Found: 359.074 2。

**1.3.10 12*N*-*p*-氯苄基金雀花碱 (3j)** 白色固体, 收率 28%, 熔点: 120~122 °C。 $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.34 (dd,  $J = 8.9, 6.9$  Hz, 1H), 7.24 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 6.97 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 6.26 (dd,  $J = 9.0, 1.2$  Hz, 1H), 6.03 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 3.84 (d,  $J = 15.3$  Hz, 1H), 3.70 (dd,  $J = 15.3, 6.5$  Hz, 1H), 3.44 (d,  $J = 14.1$  Hz, 1H), 3.38 (s, 1H), 3.00 (s, 1H), 2.87 (d,  $J = 10.6$  Hz, 1H), 2.73~2.69 (m, 1H), 2.38 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H), 2.33~2.23 (m, 2H), 1.83 (d,  $J = 12.6$  Hz, 1H), 1.70 (d,  $J = 12.7$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  162.6, 152.4, 139.2, 137.8, 131.7, 130.2 (2), 128.4 (2), 115.7, 104.3, 60.6, 59.9 (2), 50.1, 35.0, 27.9, 25.6; HR-MS: Calcd. for  $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{ON}_2\text{Cl}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  315.125 9, Found: 315.125 8。

**1.3.11 12*N*-*p*-硝基苄基金雀花碱 (3k)** 白色固体, 收率 32%, 熔点: 129~131 °C。 $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.04 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 7.37 (dd,  $J = 9.0, 6.9$  Hz, 1H), 7.21 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 6.30 (dd,  $J = 9.0, 1.2$  Hz, 1H), 6.04 (dd,  $J = 6.8, 1.0$  Hz, 1H), 3.89 (d,  $J = 15.3$  Hz, 1H), 3.71 (dd,  $J = 15.2, 7.1$  Hz, 1H), 3.61 (d,  $J = 15.0$  Hz, 1H), 3.52 (d,  $J = 15.0$  Hz, 1H), 3.02 (s, 1H), 2.94~2.86 (m, 1H), 2.73~2.67 (m, 1H), 2.43~2.37 (m, 2H), 2.32 (dd,  $J = 10.7, 1.8$  Hz, 1H), 1.85 (d,  $J = 12.7$  Hz, 1H), 1.73 (d,  $J = 12.7$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  162.8, 152.5, 147.6, 147.1, 139.4, 129.5, 123.8, 116.0, 104.5, 60.7, 60.2, 56.6, 50.3, 35.1, 28.1, 27.0, 25.7, 19.2; HR-MS: Calcd. for  $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{O}_3\text{N}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  326.149 9, Found: 326.148 8。

#### 1.4 12*N*-取代苯甲酰基金雀花碱 (4a~4d)

将金雀花碱 400 mg (2.1 mmol) 置于 100 mL 茄型瓶中, 加入二氯甲烷 20 mL 溶解, 搅拌下依次加入三乙胺 0.51 g (6.3 mmol) 和取代苯甲酰氯 (2.5 mmol), 室温搅拌 3 h, TLC 监测, 反应完毕后, 反应液加入二氯甲烷 20 mL, 然后依次以水 (50 mL $\times$ 1), 5% NaOH 水溶液 (50 mL $\times$ 1) 和饱和食盐水 (50 mL $\times$ 3) 洗涤, 无水硫酸钠干燥。过滤, 减压浓缩, 以二氯甲烷和甲醇为流动相, 经 Flash 柱色谱纯化, 得目标产物 4a~d。

**1.4.1 12*N*-*p*-甲氧基苯甲酰基金雀花碱 (4a)** 白色固体, 收率 59%, 熔点: > 200 °C。 $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,

DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.32 (t,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 6.85 (s, 4H), 6.30 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H), 6.03 (s, 1H), 4.25 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.64 (s, 2H), 3.09 (s, 2H), 2.46 (s, 1H), 1.95 (m, 2H), 1.23 (s, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  170.2, 162.6, 160.4, 150.0, 139.4, 128.7 (3), 128.1, 116.5, 113.9, 105.3, 55.7 (3), 49.0, 34.6, 27.5, 25.7; HR-MS: Calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_3\text{N}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  325.154 7, Found: 325.154 8。

**1.4.2 12*N*-*p*-金刚烷基苯甲酰基金雀花碱 (4b)** 白色固体, 收率 54%, 熔点: > 200 °C。 $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.32 (t,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 6.21 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 4.55 (d,  $J = 12.9$  Hz, 1H), 4.42 (d,  $J = 12.1$  Hz, 1H), 3.89 (d,  $J = 15.5$  Hz, 1H), 3.61 (dd,  $J = 15.5, 6.2$  Hz, 1H), 3.15 (d,  $J = 11.7$  Hz, 2H), 2.90 (d,  $J = 12.9$  Hz, 1H), 2.45 (s, 1H), 1.95~1.84 (m, 5H), 1.63 (m, 12H);  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  175.9, 162.5, 150.0, 139.2, 116.4, 105.4, 51.9, 50.3, 48.8, 41.6, 38.7 (3), 36.4 (3), 34.7, 28.3 (3), 27.6, 26.0; HR-MS: Calcd. for  $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_2\text{N}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  353.222 4, Found: 353.221 0。

**1.4.3 12*N*-*o*-三氟甲氧基苯甲酰基金雀花碱 (4c)** 白色固体, 收率 40%, 熔点: > 200 °C。 $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.61~7.28 (m, 4H), 7.20 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 6.34 (m, 1H), 6.27~6.14 (m, 1H), 4.60 (m, 1H), 3.66 (m, 2H), 3.41 (m, 2H), 3.23 (d,  $J = 11.8$  Hz, 1H), 3.09 (m, 1H), 2.55 (s, 1H), 1.99 (m, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  165.3, 162.6, 149.6, 143.9, 139.5, 131.6, 129.5, 128.5, 127.6, 121.1, 116.7, 105.6, 105.3, 53.6, 49.1, 47.7, 34.4, 27.4, 25.3; HR-MS: Calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{O}_3\text{N}_2\text{F}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  379.126 4, Found: 379.125 0。

**1.4.4 12*N*-2',4'-二氟苯甲酰基金雀花碱 (4d)** 白色固体, 收率 58%, 熔点: > 200 °C。 $^1\text{H}$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.36~7.01 (m, 3H), 6.41~6.18 (m, 2H), 5.91 (d,  $J = 5.9$  Hz, 1H), 4.68 (d,  $J = 12.4$  Hz, 1H), 4.52 (d,  $J = 12.0$  Hz, 1H), 3.75~3.67 (m, 1H), 3.55~3.43 (m, 1H), 3.23 (s, 1H), 3.08~3.02 (m, 1H), 2.55 (s, 1H), 2.35 (s, 1H), 2.02~1.92 (m, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  164.5, 162.7, 150.1, 149.7, 139.5, 130.2, 116.9, 116.6, 112.5, 105.4, 105.2, 104.9, 54.3, 49.2, 48.0, 34.7, 27.6, 25.6; HR-MS: Calcd. for  $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_2\text{N}_2\text{F}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  331.125 3, Found: 331.124 1。

#### 1.5 12*N*-取代磺酰基金雀花碱 (5a~5e)

将金雀花碱 400 mg (2.1 mmol) 置于 100 mL 茄型瓶中, 加入二氯甲烷 20 mL 溶解, 搅拌下依次加入三乙胺 0.51 g (6.3 mmol) 和取代磺酰氯, 室温搅拌 3 h, TLC 监测, 反应完毕后, 反应液加入二氯甲烷 20 mL, 然后依次以水 (50 mL), 5% NaOH 水溶液

(50 mL×2) 和饱和食盐水 (50 mL×2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥。过滤, 减压浓缩, 以二氯甲烷和甲醇为流动相, 经 Flash 柱色谱纯化, 得目标产物 **5a~5e**。

**1.5.1 12N-p-甲基苯磺酰基金雀花碱 (5a)** 白色固体, 收率 67%, 熔点: > 200 °C。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.48 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.28~7.23 (m, 3H), 6.46 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 5.99 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 3.97 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 3.88 (dd, *J* = 15.6, 6.5 Hz, 1H), 3.77 (t, *J* = 9.9 Hz, 2H), 3.06 (s, 1H), 2.78~2.69 (m, 2H), 2.53 (s, 1H), 2.42 (s, 3H), 1.93 (d, *J* = 13.1 Hz, 1H), 1.73 (d, *J* = 13.1 Hz, 1H); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 163.3, 148.5, 143.9, 138.8, 133.5, 129.8 (2), 127.4 (2), 117.7, 105.4, 52.6, 51.9, 48.9, 34.2, 27.1, 25.2, 21.6; HR-MS: Calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>S [M+H]<sup>+</sup> 345.126 7, Found: 345.126 7。

**1.5.2 12N-m-乙酰基苯磺酰基金雀花碱 (5b)** 白色固体, 收率 52%, 熔点: 178~180 °C。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.21~8.09 (m, 2H), 7.73 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.58 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.29~7.20 (m, 1H), 6.38 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 5.98 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 3.87 (m, 4H), 3.07 (s, 1H), 2.86 (t, *J* = 11.8 Hz, 2H), 2.64 (s, 3H), 2.55 (s, 1H), 1.95 (d, *J* = 12.9 Hz, 1H), 1.77 (d, *J* = 13.1 Hz, 1H); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 196.3, 163.1, 148.2, 138.7, 137.9 (2), 132.4, 131.0, 129.8, 126.8, 117.8, 105.2, 52.7, 51.9, 48.8, 34.1, 27.0, 26.7, 25.0; HR-MS: Calcd. for C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>S [M+H]<sup>+</sup> 373.121 7, Found: 373.121 7。

**1.5.3 12N-p-甲磺酰基苯磺酰基金雀花碱 (5c)** 白色固体, 收率 42%, 熔点: > 200 °C。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.99 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.71 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.27 (s, 1H), 6.40 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.02 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H), 3.92~3.68 (m, 4H), 3.19 (s, 3H), 3.11~2.97 (m, 3H), 2.52 (s, 1H), 1.96 (d, *J* = 12.5 Hz, 1H), 1.82 (d, *J* = 12.8 Hz, 1H); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 163.0, 148.2, 144.4, 143.0, 138.9, 128.6 (2), 127.6 (2), 117.9, 105.4, 52.8, 51.8, 48.8, 44.4, 34.1, 26.9, 25.0; HR-MS: Calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup> 409.088 7, Found: 409.088 9。

**1.5.4 12N-p-甲氧基苯磺酰基金雀花碱 (5d)** 白色固体, 收率 46%, 熔点: > 200 °C。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.52 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.30~7.25 (m, 1H), 6.92 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.46 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 5.98 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 4.00~3.84 (m, 5H), 3.76 (t, *J* = 13.2 Hz, 2H), 3.06 (s, 1H), 2.76 (m, 2H), 2.53 (s, 1H), 1.93 (d, *J* = 13.1 Hz, 1H), 1.74 (d, *J* = 13.1 Hz, 1H); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 163.2 (2), 148.5, 138.8, 129.5 (2), 128.0, 117.7, 114.3 (2), 105.3, 55.7, 52.6, 51.8, 48.9,

34.2, 27.0, 25.1; HR-MS: Calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>S [M+H]<sup>+</sup> 360.161 7, Found: 360.161 7。

**1.5.5 12N-p-噻吩基磺酰基金雀花碱 (5e)** 白色固体, 收率 34%, 熔点: > 200 °C。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.05 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.61~7.55 (m, 1H), 7.38 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.28 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H), 6.27 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 6.19 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 3.83 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 3.75 (dd, *J* = 15.5, 6.2 Hz, 1H), 3.68 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H), 3.56 (d, *J* = 10.7 Hz, 1H), 3.21 (s, 1H), 2.65 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H), 2.62~2.53 (m, 2H), 1.84 (d, *J* = 12.7 Hz, 1H), 1.73 (d, *J* = 12.7 Hz, 1H); <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 162.8, 150.3, 139.7, 135.6, 134.7, 133.7, 129.0, 116.9, 105.2, 53.5, 52.6, 49.4, 33.7, 26.9, 24.4; HR-MS: Calcd. for C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup> 337.067 5, Found: 337.067 3。

## 1.6 12N-取代苯胺甲酰基金雀花碱 (6a~6h)

将金雀花碱 400 mg (2.1 mmol) 置于 100 mL 茄型瓶中, 加入二氯甲烷 20 mL 溶解, 然后缓慢滴加异氰酸酯 (2.5 mmol), 室温搅拌 1 h 后, 加入三乙胺 0.17 g (2.1 mmol), TLC 监测, 反应完毕后, 反应液加入二氯甲烷 20 mL, 然后依次以水 (50 mL×2) 和饱和食盐水 (50 mL×2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥。过滤, 减压浓缩, 以二氯甲烷和甲醇为流动相, 经 Flash 柱色谱纯化, 得目标产物 **6a~6h**。

**1.6.1 12N-m-甲基苯胺甲酰基金雀花碱 (6a)** 白色固体, 收率 45%, 熔点: 177~179 °C。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.28 (s, 1H), 7.34~7.29 (m, 1H), 7.09~7.01 (m, 3H), 6.71 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 6.19 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 6.15 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 4.26 (d, *J* = 12.8 Hz, 1H), 4.11 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 4.05 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 3.69 (dd, *J* = 15.4, 6.4 Hz, 1H), 3.18~3.12 (m, 1H), 3.06 (t, *J* = 12.9 Hz, 2H), 2.46 (s, 1H), 2.20 (s, 3H), 1.91 (s, 2H); <sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 162.7, 155.7, 150.7, 140.6, 139.3, 137.7, 128.5, 123.0, 121.00, 117.5, 116.2, 105.1, 51.2, 50.3, 49.0, 34.4, 27.4, 25.6, 21.6; HR-MS: Calcd. for C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>O<sub>2</sub>N<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup> 324.170 6, Found: 324.169 6。

**1.6.2 12N-萘胺甲酰基金雀花碱 (6b)** 白色固体, 收率 32%, 熔点: 117~119 °C。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.49 (s, 1H), 7.85 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.68 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.50~7.27 (m, 5H), 7.13 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 6.38 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 6.25 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 4.41 (d, *J* = 12.9 Hz, 1H), 4.26 (d, *J* = 12.6 Hz, 1H), 4.12 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 3.77 (dd, *J* = 15.5, 6.3 Hz, 1H), 3.18 (m, 2H), 2.89 (s, 1H), 2.73 (s, 1H), 1.98 (s, 2H); <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 162.8, 156.2,

150.8, 139.6, 136.0, 134.1, 130.2, 128.1, 126.1, 125.8 (2), 125.5, 124.1, 123.4, 116.2, 105.7, 51.3, 49.9, 49.2, 34.7, 27.5, 25.8; HR-MS: Calcd. for  $C_{22}H_{21}O_2N_3$  [M+H]<sup>+</sup> 360.170 7, Found: 360.169 4。

**1.6.3 12*N*-3',5'-二氯苯胺甲酰基金雀花碱 (6c)** 白色固体, 收率 57%, 熔点: > 200 °C。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.70 (s, 1H), 7.37 (d, *J* = 1.8 Hz, 2H), 7.31 (dd, *J* = 8.9, 6.9 Hz, 1H), 7.08 (s, 1H), 6.16 (t, *J* = 8.4 Hz, 2H), 4.24 (d, *J* = 13.0 Hz, 1H), 4.10 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H), 4.05 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 3.68 (dd, *J* = 15.4, 6.3 Hz, 1H), 3.16 (d, *J* = 11.7 Hz, 2H), 3.10 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 2.47 (s, 1H), 1.93 (s, 2H); <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 162.8, 155.2, 150.5, 143.5, 139.5, 134.2 (2), 121.3, 117.9 (2), 116.5, 105.4, 51.5, 50.4, 49.1, 34.5, 27.5, 25.7; HR-MS: Calcd. for  $C_{18}H_{17}O_2N_3Cl_2$  [M+H]<sup>+</sup> 378.077 1, Found: 378.075 7。

**1.6.4 12*N*-2',6'-二异丙基苯胺甲酰基金雀花碱 (6d)** 白色固体, 收率 49%, 熔点: > 200 °C。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.58 (s, 1H), 7.34 (dd, *J* = 8.8, 7.0 Hz, 1H), 7.14 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.01 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 6.25 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 6.13 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 4.33 (d, *J* = 12.9 Hz, 1H), 4.22 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H), 3.92 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 3.76 (dd, *J* = 15.5, 6.5 Hz, 1H), 3.09 (t, *J* = 14.6 Hz, 3H), 2.78~2.64 (m, 2H), 2.44 (s, 1H), 1.92 (s, 2H), 1.06 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.00 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H), 0.91 (dd, *J* = 15.1, 6.7 Hz, 6H); <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 162.9, 156.1, 150.9, 147.6, 147.4, 139.2, 134.4, 127.4, 123.1 (2), 116.5, 105.2, 50.7, 49.9, 49.3, 34.7, 28.3 (2), 27.5, 25.9, 24.3, 24.2, 24.1, 23.8; HR-MS: Calcd. for  $C_{24}H_{31}O_2N_3$  [M+H]<sup>+</sup> 394.248 9, Found: 394.247 5。

**1.6.5 12*N*-*p*-氟苯胺甲酰基金雀花碱 (6e)** 白色固体, 收率 87%, 熔点: 184~186 °C。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.39 (s, 1H), 7.31 (dd, *J* = 9.0, 6.9 Hz, 1H), 7.27~7.21 (m, 2H), 7.01 (t, *J* = 8.9 Hz, 2H), 6.21~6.13 (m, 2H), 4.26 (d, *J* = 12.9 Hz, 1H), 4.11 (d, *J* = 12.7 Hz, 1H), 4.05 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 3.69 (dd, *J* = 15.4, 6.4 Hz, 1H), 3.15~3.03 (m, 3H), 2.46 (s, 1H), 1.91 (s, 2H); <sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 162.6, 158.7, 157.1, 155.7, 150.6, 139.3, 137.0, 122.2, 116.2, 115.2, 115.0, 105.1, 51.2, 50.3, 48.9, 34.4, 27.4, 25.6; HR-MS: Calcd. for  $C_{18}H_{18}O_2N_3F$  [M+H]<sup>+</sup> 328.145 6, Found: 328.146 7。

**1.6.6 12*N*-2'-甲基-5'-氯苯胺甲酰基金雀花碱 (6f)** 白色固体, 收率 78%, 熔点: > 200 °C。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.97 (s, 1H), 7.32 (dd, *J* = 8.8, 7.0 Hz, 1H), 7.14 (s, 2H), 6.81 (s, 1H), 6.20 (dd, *J* = 39.8, 7.8 Hz, 2H), 5.18 (s, 1H), 4.84 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 4.15

(d, *J* = 15.4 Hz, 1H), 3.67 (dd, *J* = 15.4, 6.3 Hz, 1H), 3.38 (d, *J* = 12.8 Hz, 1H), 3.29~3.20 (m, 2H), 2.56 (s, 1H), 2.04 (d, *J* = 12.7 Hz, 1H), 1.93 (d, *J* = 12.6 Hz, 1H), 1.80 (s, 3H); <sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 182.1, 162.7, 149.7, 141.5, 139.2, 135.5, 131.8, 129.9, 128.6, 126.5, 116.6, 105.4, 54.5, 53.7, 48.5, 35.1, 28.3, 25.9, 17.4; HR-MS: Calcd. for  $C_{19}H_{20}ON_3ClS$  [M+H]<sup>+</sup> 374.108 8, Found: 374.109 1。

**1.6.7 12*N*-*p*-三氟甲基苯胺甲酰基金雀花碱 (6g)** 白色固体, 收率 79%, 熔点: > 200 °C。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.75 (s, 1H), 7.53 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.48 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.33~7.28 (m, 1H), 6.17 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H), 4.29 (d, *J* = 12.9 Hz, 1H), 4.14 (d, *J* = 12.2 Hz, 1H), 4.07 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 3.69 (dd, *J* = 15.4, 6.4 Hz, 1H), 3.17~3.08 (m, 3H), 2.48 (s, 1H), 1.93 (s, 2H); <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 162.8, 155.4, 150.6, 144.8, 139.5 (2), 126.1 (2), 119.7 (3), 116.4, 105.3, 51.5, 50.5, 49.1, 34.5, 27.5, 25.7; HR-MS: Calcd. for  $C_{19}H_{18}O_2N_3F_3$  [M+H]<sup>+</sup> 378.142 4, Found: 378.142 2。

**1.6.8 12*N*-*m*-氯苯胺甲酰基金雀花碱 (6h)** 白色固体, 收率 89%, 熔点: > 200 °C。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.54 (s, 1H), 7.41 (s, 1H), 7.34~7.28 (m, 1H), 7.23~7.17 (m, 2H), 6.97~6.90 (m, 1H), 6.17 (dd, *J* = 11.9, 8.0 Hz, 2H), 4.26 (d, *J* = 12.9 Hz, 1H), 4.14~4.03 (m, 2H), 3.69 (dd, *J* = 15.4, 6.4 Hz, 1H), 3.18~3.06 (m, 3H), 2.47 (s, 1H), 1.92 (s, 2H); <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 162.8, 155.5, 150.7, 142.5, 139.5, 133.2, 130.5, 122.0, 119.6, 118.5, 116.4, 105.3, 51.4, 50.4, 49.2, 34.5, 27.52, 25.74; HR-MS: Calcd. for  $C_{18}H_{18}O_2N_3Cl$  [M+H]<sup>+</sup> 344.116 0, Found: 344.115 7。

## 2 生物学实验

### 2.1 体外降糖活性测定

将稳定传代的肌肉细胞 L6、肝脏细胞 HepG2 或脂肪细胞 3T3 (MEMα + 10% FBS + 1% P/S), 按照每毫升  $2.0 \times 10^5$  个细胞铺 96 孔板, 每个样品 5 个复孔。置于细胞培养箱中, 培养 24 h, 换无血清培养基饥饿 8 h, 然后, 用含有一定终浓度的无血清培养基换液继续处理 24 h (即药物处理 24 h), 用葡萄糖氧化酶法 (葡萄糖检测试剂盒, 北京九强生物科技有限公司) 检测培养基上清中葡萄糖剩余量。细胞糖消耗量即为培养基总糖量减去培养基中剩余葡萄糖量。

### 2.2 初步药代动力学评价

取健康雄性 SD 大鼠, 每组 3 只 (雄性, 体重 200~250 g), 分别口服给药  $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 给药体积为  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。给药溶液为给药前 1 h 内配置。给药后

按规定时间点 (0、0.25、0.5、1、1.5、2、4、6 和 8 h) 经颈静脉插管取全血约 0.3 mL, 置含有 EDTA-K3 为抗凝剂的离心管中, 全血样品采出后离心分离血浆。血浆样品经有机溶剂处理后采用液相色谱串联质谱法测定, 并计算药动力学参数。样品分析期间, 血浆样品收集后置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

### 2.3 降糖机制初步探究

将稳定传代的 L6 细胞, 按照每毫升  $1.0\times 10^5$  个细胞铺 6 孔板, 培养 48 h 后至汇合度达到 90% 以上, 换 2% FBS 诱导培养基, 继续诱导分化培养 4 天, 每两天换液一次。然后换无血清培养基饥饿过夜, 第二天加药处理, 24 h 后收样。Western blot 分析 Glut4 及 p-AMPK 表达水平的变化。

**致谢:** 核磁共振氢谱和碳谱由中国医学科学院药物研究所分析测试中心测定, 高分辨质谱由中国医学科学院医药生物技术研究所分析测试中心测定。

### References

- [1] Pelletier C, Dai S, KC Roberts, et al. Report summary. Diabetes in Canada: facts and figures from a public health perspective [J]. *Chronic Dis Inj Can*, 2012, 33: 53–54.
- [2] Sabatino A, Regolisti G, Cosola C, et al. Intestinal microbiota in type 2 diabetes and chronic kidney disease [J]. *Curr Diab Rep*, 2017, 17: 16.
- [3] Xia C, Rao X, Zhong J. Role of T lymphocytes in type 2 diabetes and diabetes-associated inflammation [J]. *J Diabetes Res*, 2017, 2017: 6494795.
- [4] Song R. Mechanism of metformin: a tale of two sites [J]. *Diabetes Care*, 2016, 39: 187–189.
- [5] Tang WL, Wang YM, Du WM, et al. Analysis of adverse drug reaction of antidiabetic agents according to documents within forty-two years in China [J]. *Chin J New Drugs Clin Remed* (中国新药与临床杂志), 2002, 21: 753–756.
- [6] Bolen S, Feldman L, Vassy J, et al. Systematic review: comparative effectiveness and safety of oral medications for type 2 diabetes mellitus [J]. *Ann Intern Med*, 2007, 147: 386–399.
- [7] Roumie CL, Hung AM, Greevy RA, et al. Comparative effectiveness of sulfonylurea and metformin monotherapy on cardiovascular events in type 2 diabetes mellitus: a cohort study [J]. *Ann Intern Med*, 2012, 157: 601–610.
- [8] Coniff RF, Shapiro JA, Seaton TB. Long-term efficacy and safety of acarbose in the treatment of obese subjects with non-insulin-dependent diabetes mellitus [J]. *Arch Intern Med*, 1994, 154: 2442–2448.
- [9] Nissen SE, Wolski K. Rosiglitazone revisited: an updated meta-analysis of risk for myocardial infarction and cardiovascular mortality [J]. *Arch Intern Med*, 2010, 170: 1191–1201.
- [10] Bettge K, Kahle M, Abd El, et al. Occurrence of nausea, vomiting and diarrhoea reported as adverse events in clinical trials studying glucagon-like peptide-1 receptor agonists: A systematic analysis of published clinical trials [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2017, 19: 336–347.
- [11] Mascolo A, Rafaniello C, Sportiello L, et al. Dipeptidyl peptidase (DPP)-4 inhibitor-induced arthritis/arthritis: a review of clinical cases [J]. *Drug Safety*, 2016, 39: 401.
- [12] Redford C, Doherty L, Smith J, et al. SGLT2 inhibitors and the risk of diabetic ketoacidosis [J]. *Pract Diabetes*, 2015, 32: 263–264a.
- [13] Lan JQ, Zhu CJ. Recent advances in pharmacological intervention for prediabetes [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2015, 50: 1565–1572.
- [14] Zheng Z. Oral atomized liquid with nicotine replacing cytosine and preparation method thereof: CN, 078913 [P]. 2014-12-24.
- [15] Canu Boido C, Sparatore F. Synthesis and preliminary pharmacological evaluation of some cytosine derivatives [J]. *Farmaco*, 1999, 54: 438–451.