

苯并嘧啶衍生物的合成和抗糖尿病活性评价

徐远涛¹, 王军栋², 关丽^{3*}, 赵宁³, 李伟泽³

(¹陕西盘龙药业集团股份有限公司, 柞水 714000; ²山东省烟台市食品药品检验检测中心, 烟台 264000;
³西安医学院药学院, 西安 710021)

摘要 硫氧还蛋白相互作用蛋白(thioredoxin-interacting protein, TXNIP)主要调节胰岛β细胞中葡萄糖的稳态, 是治疗糖尿病的新颖靶点。本研究以4-羟基苯并嘧啶为原料, 通过不同长度的碳链, 引入吡唑、甲基哌嗪、咪唑、吗啡啉等4种含氮杂环, 设计合成靶向TXNIP的苯并嘧啶骨架拼合含氮杂环的衍生物, 并考察化合物对棕榈酸(palmitic acid, PA)刺激的胰岛β细胞损伤的保护作用。共设计合成20个苯并嘧啶衍生物, 结构经¹H NMR、ESI-MS确证; 药理活性表明大部分化合物对胰岛β细胞有保护作用, 其中化合物C-1、C-2、C-4、D-2保护作用较强, 相较PA模型组细胞活力为38.3%, 这4个化合物细胞活力高于70%, 其中化合物D-2细胞活力最高, 达到87.2%; 化合物D-2可以作为潜在的抗糖尿病新化学实体。

关键词 糖尿病; 硫氧还蛋白相互作用蛋白抑制剂; 苯并嘧啶衍生物; 细胞保护

中图分类号 R914; R965 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2023)05-0569-08

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.2023041701

引用本文 徐远涛, 王军栋, 关丽, 等. 苯并嘧啶衍生物的合成和抗糖尿病活性评价[J]. 中国药科大学学报, 2023, 54(5): 569–576.

Cite this article as: XU Yuantao, WANG Jundong, GUAN Li, et al. Synthesis and antidiabetic activity evaluation of benzopyrimidine derivatives[J]. J China Pharm Univ, 2023, 54(5): 569–576.

Synthesis and antidiabetic activity evaluation of benzopyrimidine derivatives

XU Yuantao¹, WANG Jundong², GUAN Li^{3*}, ZHAO Ning³, LI Weize³

¹Shaanxi Panlong Pharmaceutical Group Co., Ltd., Zhazhui 714000; ²Shandong Yantai Food and Drug Inspection and Testing Center, Yantai 264000; ³College of Pharmacy, Xi'an Medical University, Xi'an 710021, China

Abstract Thioredoxin-interacting protein (TXNIP), which mainly regulates glucose homeostasis in pancreatic β cells, is a novel target in the treatment of diabetes. In this study, 4-hydroxybenzopyrimidine was used as the raw material, four nitrogen-containing rings (imidazole, methylpiperazine, pyrazole, morpholine) were introduced, benzopyrimidine skeleton with nitrogen-containing rings derivatives targeting TXNIP was designed and synthesized, and the protective effect of compounds on palmitic acid-stimulated islet β cells was investigated. A total of 20 benzopyrimidine derivatives were designed and synthesized, and the structures were confirmed by ¹H NMR and ESI-MS. Pharmacological studies showed that most of the compounds exhibited protective effects on islet β cells, with better activity for compounds C-1, C-2, C-4 and D-2 (cell survival rate > 70%) compared with PA model group (38.3%). Among the four compounds, D-2 had the highest activity of 87.2%, so it could become a potential new anti-diabetic chemical entity.

Key words diabetes; thioredoxin interaction protein inhibitor; benzopyrimidine derivative; cell protection

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 82004075); the Project of Shaanxi Provincial Department of Science and Technology (No. 2023-JC-QN-0827); the Youth Innovation Team Construction Project for Universities in Shaanxi Province (Shaanxi Education [2019] No. 90); and the Science and Technology Innovation Team Project of Xi'an Medical University (No. 2021TDPT04)

收稿日期 2023-04-17 *通信作者 Tel: 15291817591 E-mail: guanli0246@163.com

基金项目 国家自然科学基金资助项目(No. 82004075); 陕西省科技厅资助项目(No. 2023-JC-QN-0827); 陕西高校青年创新团队建设资助项目(陕教[2019]90号); 西安医学院科技创新团队配套项目(No. 2021TDPT04)

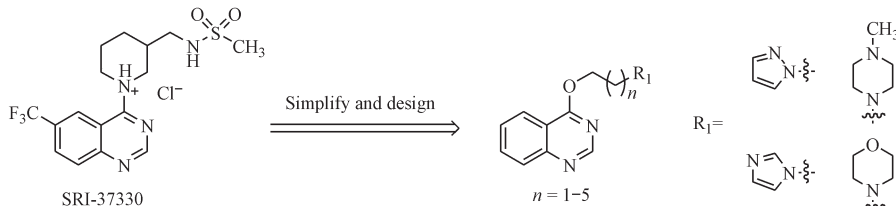
糖尿病已经成为影响我国居民健康的重大公共卫生问题。截至2019年,全球有4.63亿成年人(占全球总人数1/11)患有糖尿病。到2030年,糖尿病患者预计达到5.78亿。糖尿病的特征主要包括高血糖,功能性胰岛 β 细胞数量的丢失,降糖激素胰岛素的缺乏以及 α 细胞持续分泌升糖激素胰高血糖素^[1]。糖尿病的发生与氧化应激密切相关。有研究指出,小鼠胰腺中抗氧化酶的含量明显低于其他组织,胰岛 β 细胞中抗氧化酶的表达较低,因此对氧化应激更为敏感^[2]。糖尿病患者中,胰岛氧化还原稳态失衡,大量活性氧簇(ROS)的堆积爆发氧化应激,这种状态与硫氧还蛋白相互作用蛋白(thioredoxin-interacting protein, TXNIP)的过表达密切相关^[3]。

TXNIP是一种内源性的细胞氧化还原调节剂,含有391个氨基酸,编码在人类1号染色体和小鼠3号染色体上^[4]。1999年,Nishiyama等^[5]发现TXNIP在体内可以通过与硫氧还蛋白(thioredoxin, TRX)结合而抑制其功能和表达。与TXNIP发生结合作用的TRX是一种在体内广泛存在的氧化还原

蛋白,具有抗氧化作用,TXNIP通过与TRX中的两个半胱氨酸残基结合抑制TRX的抗氧化活性,调节细胞氧化还原状态并诱导氧化应激^[6]。

糖尿病小鼠的高血糖会促使TXNIP表达上升,引发功能性TRX含量下降,最终爆发氧化应激^[7]。2002年,Shalev等^[8]发现,在6000多个人胰岛基因中,TXNIP是葡萄糖诱导的反应基因中上调表达最高的,上调约11倍。TXNIP经葡萄糖诱导而表达上升并导致胰岛 β 细胞凋亡,TXNIP缺乏可以保护胰岛 β 细胞对抗葡萄糖毒性^[9]。

这些研究证据提示抑制TXNIP的表达可能是2型糖尿病治疗的一种具有吸引力的新方法,但目前尚无TXNIP抑制剂可用。文献调研发现,目前仅报道了一种小分子TXNIP抑制剂——苯并嘧啶磺酰胺类化合物SRI-37330,该分子是研究人员通过高通量筛选从30万个小分子化合物中筛选出的一种可口服的抗糖尿病的小分子^[10]。如路线1所示,SRI-37330分子中除了苯并嘧啶结构还有含氮杂环,提示苯并嘧啶骨架拼合含氮杂环结构可能是TXNIP的有效抑制剂。



Scheme 1 Design of target compounds

因此,本研究以4-羟基苯并嘧啶为原料,通过不同长度的碳链,引入吡唑、甲基哌嗪、咪唑、吗啡啉4种含氮杂环,设计合成了20种苯并嘧啶骨架拼合含氮杂环的衍生物。药理活性测试方法为通过棕榈酸(palmitate acid, PA)刺激小鼠胰岛 β 细胞造成细胞损伤模型^[11];再测试所合成的苯并嘧啶衍生物对PA刺激的小鼠胰岛 β 细胞损伤的保护作用,通过比较给药组相对模型组的细胞活力大小判断化合物是否具有胰岛细胞保护作用。

1 合成路线

苯并嘧啶衍生物的制备如路线2所示。首先将4-羟基苯并嘧啶与不同长度的二溴烷烃反应得到中间体A-E,再与不同的含氮杂环反应获得20个苯并嘧啶骨架拼合含氮杂环的衍生物A-1~E-4。

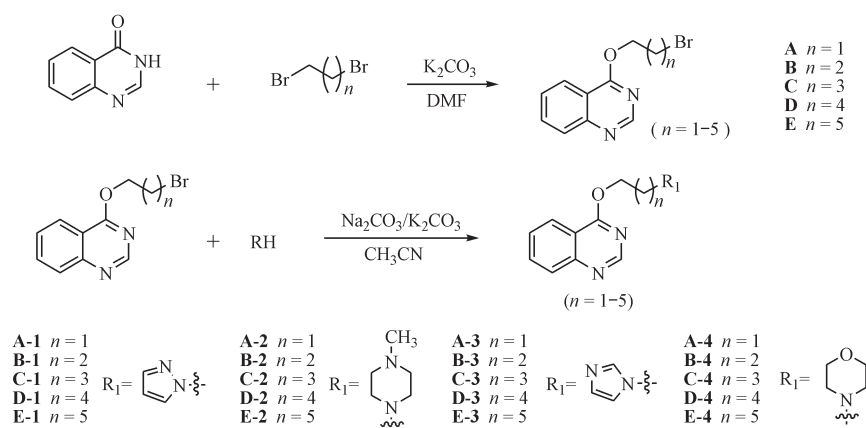
2 实验部分

2.1 仪器与试剂

NMR Avance-300MHz核磁共振仪(德国布鲁克公司);ESI-MS质谱仪(美国安捷伦公司);TR6000全自动酶标仪(深圳雷杜公司);LC-2010高效液相色谱仪(日本岛津公司),YMC-Pack ODS-A柱(日本维美希公司)。小鼠胰岛 β 细胞Min6(上海青旗生物技术发展有限公司);DMEM培养基(大连美仑生物技术有限公司),硅胶GF₂₅₄薄层预制板(青岛海洋化工厂);柱色谱硅胶(上海谱振生物科技有限公司);DMSO(国药集团化学试剂有限公司);其他试剂均属于市售化学或分析纯类。

2.2 化学合成

2.2.1 中间体4-(2-溴乙氧基)苯并嘧啶(A) 先量



Scheme 2 Synthetic route of benzopyrimidine derivatives

取 1,2-二溴乙烷 2.10 mL(24.63 mmol)和缚酸剂 K_2CO_3 4.17 g(30.17 mmol)于茄形瓶中,加入 DMF 约 30 mL,置于磁力搅拌器中搅拌。再将 4-羟基苯并嘧啶 3.00 g(20.12 mmol)溶解于 DMF 10 mL,在室温下缓慢滴加。待 4-羟基苯并嘧啶的 DMF 溶液滴加完成后约 0.5 h,反应完全。反应体系中加入乙酸乙酯 50 mL,有机层用水萃取(50 mL $\times$ 3)后,用无水 Na_2SO_4 干燥,减压浓缩;柱色谱分离(石油醚-丙酮,7:1)得到白色晶体 **A** 2.00 g,收率 38.5%。mp: 99 ~ 100 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.31 (1H, dd, $J = 1.2$ Hz, 8.0 Hz, H-8), 8.10 (1H, s, H-2), 7.79 (1H, td, $J = 1.4$ Hz, 7.5 Hz, H-6), 7.74 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-5), 7.53 (1H, dt, $J = 1.2$ Hz, 7.5 Hz, H-7), 4.39 (2H, t, $J = 5.8$ Hz, OCH_2-), 3.78 (2H, t, $J = 5.8$ Hz, CH_2Br); ESI-MS m/z : 252.9[M+H] $^+$ 。

2.2.2 中间体 4-(3-溴丙氧基)苯并嘧啶(**B**) 量取 1,3-二溴丙烷 3.41 mL(32.85 mmol)、 K_2CO_3 5.67 g (41.05 mmol)于茄形瓶中,加入 DMF 约 30 mL,置于磁力搅拌器中搅拌;再将 4-羟基苯并嘧啶 4.00 g (26.82 mmol)溶解于 DMF 10 mL,在室温下缓慢滴加。待 4-羟基苯并嘧啶的 DMF 溶液滴加完成后约 0.5 h,反应完全。后处理方法同化合物 **A**,得白色晶体 **B** 1.56 g,收率 21.4%。mp: 115 ~ 116 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.31 (1H, dd, $J = 1.0$ Hz, 8.0 Hz, H-8), 8.11 (1H, s, H-2), 7.78 (1H, td, $J = 1.5$ Hz, 7.5 Hz, H-6), 7.72 (1H, dd, $J = 0.8$ Hz, 8.1 Hz, H-5), 7.52 (1H, td, $J = 2.1$ Hz, 7.5 Hz, H-7), 4.19 (2H, t, $J = 6.7$ Hz, OCH_2-), 3.45 (2H, t, $J = 6.1$ Hz, CH_2Br), 2.46 ~ 2.36 (2H, m, $-CH_2-$); ESI-MS m/z : 266.9[M+H] $^+$ 。

2.2.3 中间体 4-(4-溴丁氧基)苯并嘧啶(**C**) 量取 1,4-二溴丁烷 1.66 mL(13.41 mmol)、 K_2CO_3 (2.78 g, 20.11 mmol)于茄形瓶中,加入 DMF 约 30 mL,置于磁力搅拌器中搅拌;再将 4-羟基苯并嘧啶 2.00 g (13.41 mmol)溶解于 DMF 10 mL,在室温下缓慢滴加。待 4-羟基苯并嘧啶的 DMF 溶液滴加完成后约 0.5 h,反应完全。后处理方法同化合物 **A**,得白色晶体 **C** 1.31 g,收率 35.5%。mp: 75 ~ 77 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.32 (1H, dd, $J = 1.2$ Hz, 8.0 Hz, H-8), 8.04 (1H, s, H-2), 7.77 (1H, td, $J = 1.4$ Hz, 7.5 Hz, H-6), 7.72 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-5), 7.52 (1H, td, $J = 1.3$ Hz, 7.6 Hz, H-7), 4.05 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, OCH_2-), 3.45 (2H, t, $J = 6.3$ Hz, CH_2Br), 1.97 (4H, t, $J = 3.6$ Hz, $-CH_2CH_2-$); ESI-MS m/z : 281.0[M+H] $^+$ 。

2.2.4 中间体 4-((5-溴戊基)氧基)苯并嘧啶(**D**) 量取 1,5-二溴戊烷 2.24 mL(16.09 mmol)、 K_2CO_3 2.78 g (20.11 mmol)于茄形瓶中,加入 DMF 约 30 mL,置于磁力搅拌器中搅拌;再将 4-羟基苯并嘧啶 2.00 g (13.41 mmol)溶解于 DMF 10 mL,在室温下缓慢滴加。待 4-羟基苯并嘧啶的 DMF 溶液滴加完成后约 0.5 h,反应完全。后处理方法同化合物 **A**,得白色晶体 **D** 2.06 g,收率 52.0%。mp: 55 ~ 56 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.31 (1H, dd, $J = 1.1$ Hz, 8.0 Hz, H-8), 8.04 (1H, s, H-2), 7.77 (1H, td, $J = 1.4$ Hz, 7.5 Hz, H-6), 7.71 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-5), 7.52 (1H, td, $J = 1.2$ Hz, 7.5 Hz, H-7), 4.05 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, OCH_2-), 3.45 (2H, t, $J = 6.3$ Hz, CH_2Br), 1.96 ~ 1.80 (6H, m, $-CH_2CH_2CH_2-$); ESI-MS m/z : 294.9[M+H] $^+$ 。

2.2.5 中间体4-((6-溴己基)氧基)苯并嘧啶(**E**) 量取1, 6-二溴己烷5.21 mL(13.41 mmol)、 K_2CO_3 2.78 g(40.96 mmol)于茄形瓶中,加入DMF约30 mL,置于磁力搅拌器中搅拌;再将4-羟基苯并嘧啶4.00 g(26.82 mmol)溶解于DMF 10 mL,在室温下缓慢滴加。待4-羟基苯并嘧啶的DMF溶液滴加完成后约0.5 h,反应完全。后处理方法同化合物**A**,得白色晶体**E**4.13 g,收率48.8%。mp: 67 ~ 68 °C; 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.32(1H, dd, J = 1.0 Hz, 8.0 Hz, H-8), 8.03(1H, s, H-2), 7.76(1H, td, J = 1.5 Hz, 7.5 Hz, H-6), 7.71(1H, dd, J = 0.8 Hz, 8.0 Hz, H-5), 7.52(1H, td, J = 1.3 Hz, 7.4 Hz, H-7), 4.01(2H, t, J = 7.3 Hz, OCH_2-), 3.40(2H, t, J = 6.9 Hz, CH_2Br), 1.90 ~ 1.79(4H, m, $-CH_2CH_2-$), 1.53 ~ 1.40(4H, m, $-CH_2CH_2-$); ESI-MS m/z : 309.1 $[M+H]^+$ 。

2.2.6 4-(2-(1*H*-吡唑-1-基)乙氧基)苯并嘧啶(**A-1**) 取中间体**A** 250 mg(0.99 mmol)和吡唑80 mg(1.16 mmol)溶解于乙腈10 mL,加入 K_2CO_3 410 mg(2.97 mmol),于80 °C反应。约40 h后,反应物反应完全。溶液浓缩后加入水30 mL,用乙酸乙酯进行萃取(30 mL $\times$ 3),将有机层用无水 Na_2SO_4 干燥,减压浓缩;得白色晶体**A-1** 200 mg,收率84.3%。mp: 117 ~ 119 °C; 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.15(1H, d, J = 7.6 Hz, H-8), 8.08(1H, s, H-2), 7.70(1H, t, J = 7.6 Hz, H-6), 7.60(1H, s, H-5), 7.58(1H, d, J = 5.2 Hz, pyrazole), 7.42(1H, t, J = 7.6 Hz, H-7), 6.32(1H, s, pyrazol), 4.14(2H, t, J = 4.7 Hz, OCH_2-), 3.40(2H, t, J = 4.7 Hz, CH_2N-); ESI-MS m/z : 242.1 $[M+H]^+$;采用HPLC检测纯度,流动相乙腈-水(90:10),流速为1 mL/min,纯度99.8%, t_R = 3.69 min。

2.2.7 4-(2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙氧基)苯并嘧啶(**A-2**) 取中间体**A** 250 mg(0.99 mmol)、1-甲基哌嗪134.0 μ L(1.18 mmol)溶解于乙腈10 mL,加入 Na_2CO_3 310 mg(2.92 mmol)。于80 °C反应约8 h反应完全。后处理方式同化合物**A-1**,得到黄色油状液体**A-2** 220 mg,收率81.8%。 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.31(1H, dd, J = 1.0 Hz, 8.0 Hz, H-8), 8.07(1H, s, H-2), 7.76(1H, td, J = 1.4 Hz, 7.5 Hz, H-6), 7.71(1H, d, J = 7.3 Hz, H-5), 7.50(1H, td, J = 1.3 Hz, 7.4 Hz, H-7), 4.09(2H, t, J = 5.9 Hz, OCH_2-), 2.72(2H, t, J = 6.0 Hz, CH_2N-), 2.56(4H, s,

NCH_2CH_2N), 2.44(4H, s, NCH_2CH_2N), 2.27(3H, s, $-CH_3$); ESI-MS m/z : 273.1 $[M+H]^+$;采用HPLC检测纯度,流动相乙腈-水(90:10),流速为1 mL/min,纯度99.9%, t_R = 3.45 min。

2.2.8 4-(2-(1*H*-咪唑-1-基)乙氧基)苯并嘧啶(**A-3**) 取中间体**A** 230 mg(0.91 mmol)、咪唑80 mg(1.16 mmol)溶解于乙腈10 mL,加入 Na_2CO_3 310 mg(2.92 mmol)。80 °C反应约40 h反应完全。后处理方式同化合物**A-1**,得白色晶体**A-3** 110 mg,收率50.4%。mp: 140 ~ 141 °C; 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.32(1H, dd, J = 1.3 Hz, 8.0 Hz, H-8), 7.79(1H, td, J = 1.4 Hz, 7.6 Hz, H-6), 7.69(1H, d, J = 8.1 Hz, H-5), 7.55(1H, t, J = 8.0 Hz, H-7), 7.46(1H, s, H-8), 7.39(1H, s, imidazol), 7.09(1H, s, imidazol), 6.87(1H, s, imidazol) 4.42(2H, t, J = 5.5 Hz, OCH_2-), 4.3(2H, t, J = 5.4 Hz, CH_2N-); ESI-MS m/z : 241.1 $[M+H]^+$;采用HPLC检测纯度,流动相乙腈-水(90:10),流速为1 mL/min,纯度99.8%, t_R = 3.14 min。

2.2.9 4-(2-(苯并嘧啶-4-基氧基)乙基)吗啉(**A-4**) 取中间体**A** 250 mg(0.99 mmol)、吗啡啉105.4 μ L(1.18 mmol)溶解于乙腈10 mL,加入 Na_2CO_3 310 mg(2.92 mmol)。80 °C反应约40 h反应完全。后处理方式同化合物**A-1**,浓缩得到白色晶体**A-4** 220 mg,收率85.8%。mp: 74 ~ 76 °C; 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.31(1H, dd, J = 1.3 Hz, 8.0 Hz, H-8), 8.07(1H, s, H-2), 7.77(1H, td, J = 1.4 Hz, 7.5 Hz, H-6), 7.71(1H, d, J = 7.8 Hz, H-5), 7.51(1H, td, J = 1.2 Hz, 7.4 Hz, H-7), 4.10(2H, t, J = 5.9 Hz, OCH_2-), 3.68(4H, t, J = 4.5 Hz, NCH_2CH_2O) 2.72(2H, t, J = 6.0 Hz, CH_2N-), 2.52(4H, d, J = 4.5 Hz, NCH_2CH_2O); ESI-MS m/z : 260.1 $[M+H]^+$;采用HPLC检测纯度,流动相乙腈-水(90:10),流速为1 mL/min,纯度99.6%, t_R = 2.87 min。

2.2.10 4-(3-(1*H*-吡唑-1-基)丙氧基)苯并嘧啶(**B-1**) 取中间体**B** 220 mg(0.82 mmol)、吡唑80 mg(1.16 mmol)溶解于乙腈10 mL,加入 K_2CO_3 390 mg(2.82 mmol)。80 °C反应约35 h反应完全。后处理方式同化合物**A-1**,得到黄色油状液体**B-1** 190 mg,收率91.1%。 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.31(1H, td, J = 1.1 Hz, 6.9 Hz, H-8), 8.10(1H, d, J = 8.1 Hz, H-2), 7.78(1H, m, H-6), 7.72(1H, t, J = 5.3 Hz, H-5), 7.63(1H, d, J = 1.9 Hz, pyrazole), 7.52

(1H, td, $J = 1.3$ Hz, 7.4 Hz, H-7), 6.27(1H, t, $J = 2.0$ Hz, pyrazol), 2.44 ~ 2.38(2H, m, OCH₂-), 2.05 ~ 1.99(2H, m, CH₂N-); ESI-MS m/z : 255. 1[M+H]⁺; 采用HPLC检测纯度, 流动相乙腈-水(90:10), 流速为1 mL/min, 纯度99.5%, $t_R = 3.71$ min。

2.2.11 4-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙氧基)苯并咪唑(**B-2**) 取中间体**B** 250 mg(0.93 mmol)、1-甲基哌嗪 127.0 μ L(1.12 mmol)溶解于乙腈 10 mL, 加入Na₂CO₃ 300 mg(2.83 mmol)。80 °C反应约8 h反应完全。后处理方式同化合物**A-1**, 得黄色油状液体**B-2** 170 mg, 收率81.8%。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 8.31(1H, dd, $J = 1.0$ Hz, 8.0 Hz, H-8), 8.14(1H, s, H-2), 7.76(1H, td, $J = 1.5$ Hz, 7.6 Hz, H-6), 7.71(1H, dd, $J = 0.8$ Hz, 8.1 Hz, H-5), 7.51(1H, td, $J = 1.3$ Hz, 7.5 Hz, H-7), 4.09(2H, t, $J = 6.6$ Hz, OCH₂-), 2.44(4H, s, NCH₂CH₂N), 2.38(2H, t, $J = 6.6$ Hz, CH₂N-), 2.27(3H, s, -CH₃), 2.44 ~ 2.27(4H, m, NCH₂CH₂N); ESI-MS m/z : 287. 1[M+H]⁺; 采用HPLC检测纯度, 流动相乙腈-水(90:10), 流速为1 mL/min, 纯度99.8%, $t_R = 3.41$ min。

2.2.12 4-(3-(1H-咪唑-1-基)丙氧基)苯并咪唑(**B-3**) 取中间体**B** 250 mg(0.93 mmol)、咪唑 80 mg(1.16 mmol)溶解于乙腈 10 mL, 加入Na₂CO₃ 300 mg(2.83 mmol)。80 °C反应约35 h反应完全。后处理方式同化合物**A-1**, 得到黄色油状液体**B-3** 150 mg, 收率63.1%。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 8.31(1H, dd, $J = 1.4$ Hz, 7.4 Hz, H-8), 7.95(1H, s, H-2), 7.79(1H, td, $J = 1.5$ Hz, 7.6 Hz, H-6), 7.72(1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-5), 7.58(1H, s, imidazol), 7.54(1H, td, $J = 1.2$ Hz, 7.5 Hz, H-7), 7.12(1H, s, imidazol), 7.00(1H, s, imidazol) 4.09(2H, t, $J = 7.0$ Hz, OCH₂-), 4.01(2H, t, $J = 7.2$ Hz, CH₂N-), 2.38 ~ 2.30(1H, m, -CH₂-), 2.26(1H, t, $J = 7.2$ Hz, -CH₂-); ESI-MS m/z : 255. 1[M+H]⁺; 采用HPLC检测纯度, 流动相乙腈-水(90:10), 流速为1 mL/min, 纯度99.4%, $t_R = 2.73$ min。

2.2.13 4-(3-(苯并咪唑-4-基氧基)丙基)吗啉(**B-4**) 取中间体**B** 250 mg(0.93 mmol)、吗啉 100 μ L(1.12 mmol)溶解于乙腈 10 mL, 加入Na₂CO₃ 300 mg(2.83 mmol)。80 °C反应约6 h反应完全。后处理方式同化合物**A-1**, 得到黄色油状液体**B-4** 250 mg, 收率98.1%。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 8.31

(1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-8), 8.13(1H, s, H-2), 7.76(1H, td, $J = 2.1$ Hz, 6.9 Hz, H-6), 7.70(1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 7.51(1H, t, $J = 7.7$ Hz, H-7), 4.10(2H, t, $J = 6.6$ Hz, OCH₂-), 3.67(4H, s, NCH₂CH₂O), 2.41(4H, d, $J = 2.4$ Hz, NCH₂CH₂O), 2.39(2H, t, $J = 6.5$ Hz, CH₂N-); ESI-MS m/z : 274. 1[M+H]⁺; 采用HPLC检测纯度, 流动相乙腈-水(90:10), 流速为1 mL/min, 纯度99.6%, $t_R = 2.60$ min。

2.2.14 4-(4-(1H-吡唑-1-基)丁氧基)苯并咪唑(**C-1**) 取中间体**C** 100 mg(0.36 mmol)、吡唑 60 mg(0.87 mmol)溶解于乙腈 10 mL, 加入K₂CO₃ 230 mg(2.17 mmol)。80 °C反应约35 h反应完全。后处理方式同化合物**A-1**, 得到白色晶体**C-1** 90 mg, 收率82.9%, mp: 106 ~ 108 °C。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 8.31(1H, td, $J = 1.2$ Hz, 7.9 Hz, H-8), 8.04(1H, s, H-2), 7.77(1H, td, $J = 1.5$ Hz, 7.5 Hz, H-6), 7.71(1H, dd, $J = 0.6$ Hz, 8.0 Hz, H-5), 7.51(1H, t, $J = 1.3$ Hz, 7.4 Hz, H-7), 6.27(1H, t, $J = 2.0$ Hz, pyrazol), 4.03(2H, t, $J = 7.3$ Hz, OCH₂-), 2.14 ~ 1.98(2H, m, CH₂N-), 1.25(4H, t, $J = 3.6$ Hz, -CH₂CH₂-); ESI-MS m/z : 269. 1[M+H]⁺; 采用HPLC检测纯度, 流动相乙腈-水(90:10), 流速为1 mL/min, 纯度99.5%, $t_R = 3.75$ min。

2.2.15 4-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)丁氧基)苯并咪唑(**C-2**) 取中间体**C**(300 mg, 1.1 mmol)、1-甲基哌嗪(130 μ L, 1.2 mmol)溶解于乙腈 10 mL, 加入K₂CO₃(440 mg, 3.20 mmol)。80 °C反应约8 h反应完全。后处理方式同化合物**A-1**, 得到黄色油状液体**C-2** 10 mg, 收率31.1%。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 8.31(1H, dd, $J = 1.0$ Hz, 7.9 Hz, H-8), 8.04(1H, s, H-2), 7.76(1H, td, $J = 1.5$ Hz, 7.5 Hz, H-6), 7.71(1H, dd, $J = 0.8$ Hz, 7.6 Hz, H-5), 7.51(1H, td, $J = 1.3$ Hz, 7.4 Hz, H-7), 4.03(2H, t, $J = 7.3$ Hz, OCH₂-), 2.45(4H, s, NCH₂CH₂N), 2.39(2H, t, $J = 7.4$ Hz, CH₂N-), 2.28(3H, s, -CH₃), 1.87 ~ 1.79(2H, m, -CH₂CH₂-), 1.65 ~ 1.51(2H, m, -CH₂CH₂-), 1.25(4H, s, NCH₂CH₂N); ESI-MS m/z : 301. 1[M+H]⁺; 采用HPLC检测纯度, 流动相乙腈-水(90:10), 流速为1 mL/min, 纯度99.6%, $t_R = 3.53$ min。

2.2.16 4-(4-(1H-咪唑-1-基)丁氧基)苯并咪唑(**C-3**) 取中间体**C** 200 mg(0.71 mmol)、咪唑 60 mg(0.87 mmol)溶解于乙腈 10 mL, 加入Na₂CO₃ 230 mg

(2.17 mmol)。80 °C反应约35 h反应完全。后处理方式同化合物 **A-1**, 得到黄色油状液体 **C-3** 110 mg, 收率57.2%。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 8.30 (1H, dd, *J* = 0.8 Hz, 8.0 Hz, H-8), 8.00(1H, s, H-2) 7.78(1H, td, *J* = 1.4 Hz, 7.6 Hz, H-6), 7.72(1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5), 7.69(1H, s, imidazol), 7.53(1H, t, *J* = 7.0 Hz, H-7), 7.50(1H, s, imidazol), 7.10(2H, s, CH₂N-), 6.92(1H, s, imidazol), 4.02(2H, t, *J* = 7.0 Hz, OCH₂-), 1.88 ~ 1.80(4H, m, -CH₂CH₂-); ESI-MS *m/z*: 269.1[M+H]⁺; 采用HPLC检测纯度, 流动相乙腈-水(90:10), 流速为1 mL/min, 纯度99.8%, *t_R* = 2.88 min。

2.2.17 4-(4-(苯并咪唑-4-基氧基)丁基)吗啉(**C-4**) 取中间体 **C** 200 mg(0.71 mmol)、吗啡啉 62 μL(0.73 mmol)溶解于乙腈10 mL, 加入Na₂CO₃ 230 mg(2.17 mmol)。80 °C反应约6 h反应完全。后处理方式同化合物 **A-1**, 得到白色晶体 **C-4** 220 mg, 收率85.8%。mp: 81 ~ 82 °C; ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 8.31(1H, dd, *J* = 1.0 Hz, 8.0 Hz, H-8), 8.04(1H, s, H-2), 7.76(1H, td, *J* = 1.5 Hz, 7.8 Hz, H-6), 7.71(1H, d, *J* = 7.7 Hz, H-5), 7.51(1H, td, *J* = 1.3 Hz, 7.2 Hz, H-7), 4.04(2H, t, *J* = 6.6 Hz, OCH₂-), 3.70(4H, t, *J* = 4.6 Hz, NCH₂CH₂O), 2.42(4H, t, NCH₂CH₂O), 2.38(2H, t, *J* = 7.4 Hz, CH₂N-), 1.91 ~ 1.79(2H, m, -CH₂-), 1.60 ~ 1.56(2H, m, -CH₂-); ESI-MS *m/z*: 288.1[M+H]⁺; 采用HPLC检测纯度, 流动相乙腈-水(90:10), 流速为1 mL/min, 纯度99.7%, *t_R* = 2.69 min。

2.2.18 4-((5-(1*H*-吡唑-1-基)戊基)氧基)苯并咪唑(**D-1**) 取中间体 **D** 200 mg(0.68 mmol)、吡唑 51 mg(0.74 mmol)溶解于乙腈10 mL, 加入K₂CO₃ 280 mg(2.02 mmol)。80 °C反应约40 h反应完全。后处理方式同化合物 **A-1**, 得到白色晶体 **D-1** 160 mg, 收率83.1%。mp: 93 ~ 94 °C; ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 8.31(1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-8), 7.99(1H, s, H-2), 7.76(1H, td, *J* = 1.2 Hz, 7.6 Hz, H-6), 7.71(1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-5), 7.52(1H, t, *J* = 7.9 Hz, H-7), 7.49(1H, s, pyrazol), 7.34(1H, dd, *J* = 2.1 Hz, 8.4 Hz, pyrazol), 6.21(1H, t, *J* = 2.1 Hz, pyrazol), 3.97(2H, t, *J* = 7.3 Hz, OCH₂-), 4.03(2H, t, *J* = 7.3 Hz, OCH₂-), 2.09 ~ 1.98(2H, m, CH₂N-), 1.85 ~ 1.79(2H, m, -CH₂-), 1.41 ~ 1.33(2H, m, -CH₂-),

1.28 ~ 1.24(2H, m, -CH₂-); ESI-MS *m/z*: 283.1[M+H]⁺; 采用HPLC检测纯度, 流动相乙腈-水(90:10), 流速为1 mL/min, 纯度99.4%, *t_R* = 3.79 min。

2.2.19 4-((5-(4-甲基哌嗪-1-基)戊基)氧基)苯并咪唑(**D-2**) 取中间体 **D** 200 mg(0.68 mmol)、1-甲基哌嗪 83 μL(0.75 mmol)溶解于乙腈10 mL, 加入K₂CO₃ 280 mg(2.02 mmol)。80 °C反应约8 h反应完全。后处理方式同化合物 **A-1**, 得到白色晶体 **D-2** 120 mg, 收率56.1%。mp: 85 ~ 86 °C; ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 8.31(1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-8), 8.03(1H, s, H-2), 7.76(1H, td, *J* = 1.2 Hz, 7.5 Hz, H-6), 7.71(1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-5), 7.51(1H, t, *J* = 6.9 Hz, H-7), 4.00(2H, t, *J* = 7.4 Hz, OCH₂-), 2.46(4H, s, NCH₂CH₂N), 2.34(2H, t, *J* = 7.6 Hz, CH₂N-), 2.28(3H, s, -CH₃), 1.85 ~ 1.79(2H, m, -CH₂-), 1.60 ~ 1.52(2H, m, -CH₂-), 1.44 ~ 1.36(2H, m, -CH₂-); ESI-MS *m/z*: 315.1[M+H]⁺; 采用HPLC检测纯度, 流动相乙腈-水(90:10), 流速为1 mL/min, 纯度99.6%, *t_R* = 3.51 min。

2.2.20 4-((5-(1*H*-咪唑-1-基)戊基)氧基)苯并咪唑(**D-3**) 取中间体 **D** 300 mg(1.02 mmol)、咪唑 80 mg(1.16 mmol)溶解于乙腈10 mL, 加入Na₂CO₃ 320 mg(3.02 mmol)。80 °C反应约35 h反应完全。后处理方式同化合物 **A-1**, 得到黄色油状液体 **D-3** 120 mg, 收率46.6%。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 8.31(1H, dd, *J* = 1.2 Hz, 8.0 Hz, H-8), 8.00(1H, s, H-2), 7.77(1H, td, *J* = 1.5 Hz, 7.5 Hz, H-6), 7.72(1H, s, imidazol), 7.71(1H, d, *J* = 2.9 Hz, H-5), 7.52(1H, td, *J* = 1.2 Hz, 7.0 Hz, H-7), 7.50(1H, s, imidazol), 6.92(1H, s, imidazol), 4.04 ~ 3.92(2H, m, OCH₂-), 1.89 ~ 1.81(4H, m, -CH₂CH₂-), 1.42 ~ 1.36(2H, m, -CH₂-); ESI-MS *m/z*: 283.1[M+H]⁺; 采用HPLC检测纯度, 流动相乙腈-水(90:10), 流速为1 mL/min, 纯度99.9%, *t_R* = 2.69 min。

2.2.21 4-(5-(苯并咪唑-4-基氧基)戊基)吗啉(**D-4**) 取中间体 **D** 300 mg(1.02 mmol)、吗啡啉 99 μL(1.11 mmol)溶解于乙腈10 mL, 加入Na₂CO₃ 320 mg(3.02 mmol)。80 °C反应约6 h反应完全。后处理方式同化合物 **A-1**, 得到白色晶体 **D-4** 200 mg, 收率65.4%。mp: 81-82 °C; ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 8.31(1H, dd, *J* = 1.0 Hz, 8.0 Hz, H-8), 8.03(1H, s, H-2), 7.76(1H, td, *J* = 1.5 Hz, 7.5 Hz, H-6), 7.71

(1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-5), 7.51(1H, td, $J = 1.2$ Hz, 7.5 Hz, H-7), 4.01(2H, t, $J = 7.3$ Hz, OCH_2 -), 3.70(4H, t, $J = 4.6$ Hz, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.41(4H, t, $J = 4.6$ Hz, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.33(2H, t, $J = 7.4$ Hz, CH_2N -), 1.89 ~ 1.77(2H, m, $-\text{CH}_2$ -), 1.60 ~ 1.50(2H, m, $-\text{CH}_2$ -), 1.48 ~ 1.36(2H, m, $-\text{CH}_2$ -); ESI-MS m/z : 302.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 采用HPLC检测纯度, 流动相乙腈-水(90:10), 流速为1 mL/min, 纯度99.3%, $t_R = 2.43$ min。

2.2.22 4-((6-(1H-吡唑-1-基)己基)氧基)苯并咪唑(E-1) 取中间体E 240 mg(0.78 mmol)、吡唑80 mg(1.18 mmol)溶解于乙腈10 mL, 加入 K_2CO_3 400 mg(2.89 mmol)。80 °C反应约50 h反应完全。后处理方式同化合物A-1, 得到白色晶体E-1 110 mg, 收率47.7%。mp: 63 ~ 64 °C; ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ : 8.31(1H, dd, $J = 1.08$ Hz, 8.0 Hz, H-8), 8.00(1H, s, H-2), 7.76(1H, td, $J = 1.4$ Hz, 7.5 Hz, H-6), 7.71(1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-5), 7.5(1H, td, $J = 1.2$ Hz, 7.5 Hz, H-7), 7.48(1H, d, $J = 1.5$ Hz, pyrazol), 7.35(1H, d, $J = 2.0$ Hz, pyrazol), 6.22(1H, t, $J = 2.0$ Hz, pyrazol), 4.12(2H, t, $J = 7.0$ Hz, OCH_2 -), 3.97(2H, t, $J = 7.3$ Hz, CH_2N -), 4.03(2H, t, $J = 7.3$ Hz, OCH_2 -), 1.93 ~ 1.85(2H, m, $-\text{CH}_2$ -), 1.89 ~ 1.85(2H, m, $-\text{CH}_2$ -), 1.40 ~ 1.34(4H, m, $-\text{CH}_2\text{CH}_2$ -); ESI-MS m/z : 297.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 采用HPLC检测纯度, 流动相乙腈-水(90:10), 流速为1 mL/min, 纯度99.6%, $t_R = 3.81$ min。

2.2.23 4-((6-(4-甲基哌嗪-1-基)己基)氧基)苯并咪唑(E-2) 取中间体E 300 mg(0.97 mmol)、1-甲基哌嗪110 μL (0.97 mmol)溶解于乙腈10 mL, 加入 Na_2CO_3 310 mg(2.92 mmol)。80 °C反应约8 h反应完全。后处理方式同化合物A-1, 得到白色晶体E-2 230 mg, 收率72.0%。mp: 47 ~ 48 °C; ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ : 8.31(1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-8), 8.03(1H, s, H-2), 7.76(1H, td, $J = 1.5$ Hz, 7.5 Hz, H-6), 7.71(1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-5), 7.51(1H, t, $J = 8.1$ Hz, H-7), 4.00(2H, t, $J = 7.3$ Hz, OCH_2 -), 2.4(4H, s, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 2.34(2H, d, $J = 4.4$ Hz, CH_2N -), 2.28(3H, s, $-\text{CH}_3$), 1.86 ~ 1.79(2H, m, $-\text{CH}_2$ -), 1.58 ~ 1.42(2H, m, $-\text{CH}_2$ -), 1.40 ~ 1.36(4H, m, $-\text{CH}_2\text{CH}_2$ -); ESI-MS m/z : 329.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 采用HPLC检测纯度, 流动相乙腈-水(90:10), 流速为1 mL/min, 纯度99.5%, $t_R = 3.76$ min。

2.2.24 4-((6-(1H-咪唑-1-基)己基)氧基)苯并咪唑(E-3) 取中间体E 300 mg(0.97 mmol)、咪唑70 mg(1.02 mmol)溶解于乙腈10 mL, 加入 Na_2CO_3 310 mg(2.92 mmol)。80 °C反应约35 h反应完全。后处理方式同化合物A-1, 得到黄色油状液体E-3 110 mg, 收率48.1%。 ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ : 8.31(1H, dd, $J = 1.1$ Hz, 8.0 Hz, H-8), 8.01(1H, s, H-2), 7.77(1H, td, $J = 1.5$ Hz, 7.5 Hz, H-6), 7.71(1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-5), 7.52(1H, td, $J = 1.2$ Hz, 7.5 Hz, H-7), 7.46(1H, s, imidazol), 7.04(1H, s, imidazol), 6.89(1H, s, imidazol), 3.99(2H, t, $J = 7.3$ Hz, $-\text{CH}_2\text{N}$), 3.99(2H, t, $J = 7.0$ Hz, OCH_2 -), 1.83 ~ 1.75(4H, m, $-\text{CH}_2\text{CH}_2$ -), 1.44 ~ 1.34(4H, m, $-\text{CH}_2\text{CH}_2$ -); ESI-MS m/z : 297.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 采用HPLC检测纯度, 流动相乙腈-水(90:10), 流速为1 mL/min, 纯度99.7%, $t_R = 2.92$ min。

2.2.25 4-(6-(苯并咪唑-4-基氧基)己基)吗啉(E-4) 取中间体E 300 mg(0.97 mmol)、吗啡啉103 μL (1.16 mmol)溶解于乙腈10 mL, 加入 Na_2CO_3 310 mg(2.92 mmol)。80 °C反应约6 h反应完全。后处理方式同化合物A-1, 得到白色晶体E-4 300 mg, 收率97.8%。mp: 56 ~ 58 °C; ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ : 8.31(1H, dd, $J = 1.1$ Hz, 8.1 Hz, H-8), 8.03(1H, s, H-2), 7.76(1H, td, $J = 1.5$ Hz, 7.5 Hz, H-6), 7.71(1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-5), 7.51(1H, td, $J = 1.3$ Hz, 7.5 Hz, H-7), 4.00(2H, t, $J = 7.3$ Hz, OCH_2 -), 3.70(4H, t, $J = 4.5$ Hz, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.42(4H, s, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.31(2H, t, $J = 7.8$ Hz, CH_2N -), 1.85 ~ 1.77(2H, m, $-\text{CH}_2$ -), 1.55 ~ 1.45(2H, m, $-\text{CH}_2$ -), 1.42 ~ 1.36(4H, m, $-\text{CH}_2\text{CH}_2$ -); ESI-MS m/z : 316.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 采用HPLC检测纯度, 流动相乙腈-水(90:10), 流速为1 mL/min, 纯度99.9%, $t_R = 2.67$ min。

2.3 活性测试

胰岛细胞通过分泌胰岛素发挥降血糖作用, 保护胰岛细胞可以改善糖尿病。PA可以诱发胰岛 β 细胞死亡, 因此本文采用PA刺激建立糖尿病损伤模型。通过对比化合物组和PA损伤模型组的细胞活力, 判断化合物是否对胰岛 β 细胞有保护作用。

小鼠胰岛Min6细胞融合度达到80%时, 将细胞均匀接种于96孔培养板中, 于37 °C、5% CO_2 培养箱中培养过夜。模型组加入300 $\mu\text{mol/L}$ PA工

作液,其他组加入 300 $\mu\text{mol/L}$ PA 工作液和 100 $\mu\text{mol/L}$ 待测化合物;刺激 24 h 后采用 CCK-8 试剂测细胞活力。

Table 2 Anti-apoptosis activity of benzopyrimidine derivatives at a concentration of 100 $\mu\text{mol/L}$

Compd.	Cell viability/%	Compd.	Cell viability/%	Compd.	Cell viability/%
A-1	64.7	B-4	28.8	D-3	62.1
A-2	58.1	C-1	71.5	D-4	62.6
A-3	36.2	C-2	70.9	E-1	32.8
A-4	27.6	C-3	40.3	E-2	26.7
B-1	67.0	C-4	71.4	E-3	26.3
B-2	45.7	D-1	42.7	E-4	70.5
B-3	39.5	D-2	87.2	Model	38.3

Model: 300 $\mu\text{mol/L}$ palmitate acid

3 结果与讨论

本研究以 4-羟基苯并嘧啶为原料,通过不同长度的二溴碳链引入吡唑、甲基哌嗪、咪唑、吗啡啉 4 种含氮杂环,设计合成了 20 种苯并嘧啶骨架拼合含氮杂环的衍生物(**A-1** ~ **E-4**);并测试所合成的苯并嘧啶衍生物对 PA 刺激的小鼠胰岛 β 细胞损伤的保护作用,通过比较给药组相对模型组的细胞活力判断化合物是否具有胰岛细胞保护作用。

药理活性表明,大部分化合物对胰岛 β 细胞有保护作用,其中化合物 **C-1**、**C-2**、**C-4**、**D-2** 保护作用较强,采用 PA 刺激建立糖尿病损伤模型后,用上述化合物处理的胰岛 β 细胞活力高于 70%,其中化合物 **D-2** 活性最高,化合物 **C-1** 次之。构效关系分析表明,在 $n = 3$ 或 4 时,目标化合物对 β 细胞有显著的保护作用,而在 $n = 5$ 时,除 R_1 为吗啉环外,无明显的细胞保护活性。除 R_1 为咪唑环或吗啉环外,当烷烃链长为 1 或 2 时,化合物均有细胞保护作用。本研究为苯并嘧啶衍生物治疗糖尿病提供了思路,有关活性化合物的抗糖尿病机制研究正在进行中。

References

- [1] Guthrie RA, Guthrie DW. Pathophysiology of diabetes mellitus [J]. *Crit Care Nurs Q*, 2004, **27**(2): 113-125.
- [2] Lenzen S, Drinkgern J, Tiedge M. Low antioxidant enzyme gene expression in pancreatic islets compared with various other mouse tissues[J]. *Free Radic Biol Med*, 1996, **20**(3): 463-466.
- [3] Kehm R, Jähnert M, Deubel S, *et al.* Redox homeostasis and cell cycle activation mediate beta-cell mass expansion in aged, diabetes-prone mice under metabolic stress conditions: role of thioredoxin-interacting protein (TXNIP)[J]. *Redox Biol*, 2020, **37**: 101748.
- [4] Chen JQ, Couto FM, Minn AH, *et al.* Exenatide inhibits beta-cell apoptosis by decreasing thioredoxin-interacting protein[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, **346**(3): 1067-1074.
- [5] Nishiyama A, Matsui M, Iwata S, *et al.* Identification of thioredoxin-binding protein-2/vitamin D(3) up-regulated protein 1 as a negative regulator of thioredoxin function and expression[J]. *J Biol Chem*, 1999, **274**(31): 21645-21650.
- [6] Junn E, Han SH, Im JY, *et al.* Vitamin D3 up-regulated protein 1 mediates oxidative stress via suppressing the thioredoxin function[J]. *J Immunol*, 2000, **164**(12): 6287-6295.
- [7] Schulze PC, Yoshioka J, Takahashi T, *et al.* Hyperglycemia promotes oxidative stress through inhibition of thioredoxin function by thioredoxin-interacting protein[J]. *J Biol Chem*, 2004, **279**(29): 30369-30374.
- [8] Shalev A, Pise-Masison CA, Radonovich M, *et al.* Oligonucleotide microarray analysis of intact human pancreatic islets: identification of glucose-responsive genes and a highly regulated TGF β signaling pathway[J]. *Endocrinology*, 2002, **143**(9): 3695-3698.
- [9] Shalev A. Lack of TXNIP protects beta-cells against glucotoxicity[J]. *Biochem Soc Trans*, 2008, **36**(Pt 5): 963-965.
- [10] Thielen LA, Chen JQ, Jing G, *et al.* Identification of an anti-diabetic, orally available small molecule that regulates TXNIP expression and glucagon action[J]. *Cell Metab*, 2020, **32**(3): 353-365.
- [11] Zheng S, Chen NX, Kang XJ, *et al.* Irisin alleviates FFA induced β -cell insulin resistance and inflammatory response through activating PI3K/AKT/FOXO1 signaling pathway[J]. *Endocrine*, 2022, **75**(3): 740-751.