

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2017 年 8 月 10 日 (10.08.2017)



(10) 国际公布号
WO 2017/133464 A1

- (51) 国际专利分类号:
C07D 307/80 (2006.01) *A61K 31/405* (2006.01)
C07D 405/12 (2006.01) *A61P 19/06* (2006.01)
A61K 31/343 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2017/071614
- (22) 国际申请日: 2017 年 1 月 19 日 (19.01.2017)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201610076098.8 2016 年 2 月 3 日 (03.02.2016) CN
- (71) 申请人: 中国药科大学 (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国江苏省南京市鼓楼区童家巷 24 号陈君, Jiangsu 210009 (CN)。
- (72) 发明人: 陈君 (CHEN, Jun); 中国江苏省南京市鼓楼区童家巷 24 号陈君, Jiangsu 210009 (CN)。
- (74) 代理人: 北京科亿知识产权代理事务所 (普通合伙) (BEIJING KEYI INTELLECTUAL PROPERTY FIRM); 中国北京市北京市海淀区蓟门里和景园 1-2-502 号汤东风, Beijing 100088 (CN)。

- (81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。
- (84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

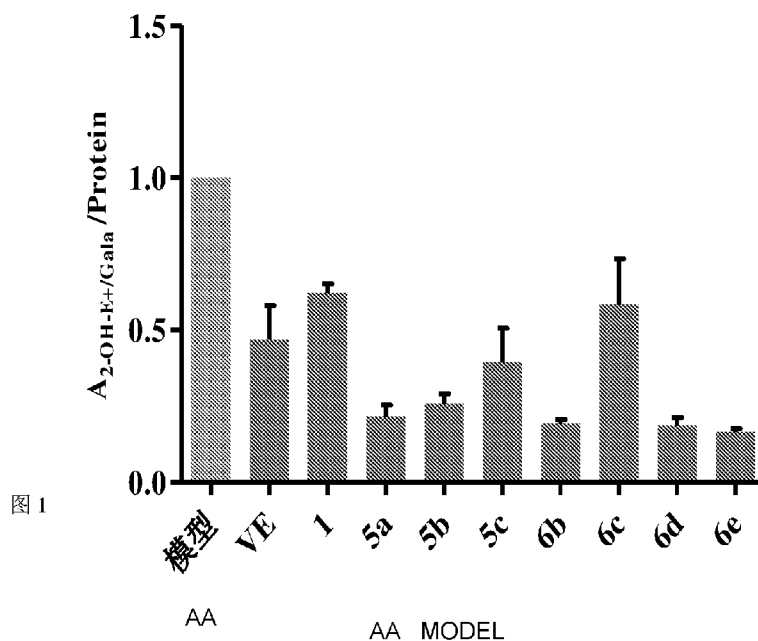
根据细则 4.17 的声明:

- 关于发明人身份(细则 4.17(i))
- 关于申请人有权申请并被授予专利(细则 4.17(ii))
- 发明人资格(细则 4.17(iv))

[见续页]

(54) Title: AMIDATED ARYLBENZOFURAN DERIVATIVES AND PHARMACEUTICAL USE THEREOF

(54) 发明名称: 一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物及医药用途



(57) Abstract: Disclosed are amidated arylbenzofuran derivatives, pharmaceutical use thereof and a preparation method therefor. The derivatives have antioxidant activity and xanthine oxidase inhibitory activity, and can be used for preparing compositions, drugs and health supplements for antioxidation and the treatment of gout and hyperuricemia.

(57) 摘要: 本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物及医药用途、制备方法, 该衍生物具备抗氧化的活性, 具备黄嘌呤氧化酶抑制活性, 能用于制备抗氧化、治疗痛风及高尿酸血症的组合物、药物、保健品。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

一种芳基苯并咪唑类酰胺化衍生物及医药用途

技术领域

本发明属于药物化学领域，特别涉及一种芳基苯并咪唑类酰胺化衍生物及其制备方法，该衍生物具备抗氧化的活性，该衍生物具备黄嘌呤氧化酶抑制活性，该衍生物能用于制备治疗或预防痛风及高尿酸血症的组合物、药物、保健品。

技术背景

随着人们生活水平的不断提高，生活方式及饮食结构也发生了很大变化，过多的摄入嘌呤和蛋白质饮食使高尿酸血症和痛风的患病率正呈逐渐上升的趋势，已成为一种常见病、多发病。痛风常与其他代谢性疾病相伴发生，如冠心病、高血压、高血脂、糖尿病等，给人类生命健康和财产带来严重危害（张建明，郑州大学学报，2009，44（1）：174）。痛风，作为一种严重影响公共健康的代谢性疾病，在我国，尤其是南方地区，发病率正呈现逐步上升的趋势，其预防工作也不断引起人们的重视，安全有效的治疗方法与药物迫在眉睫。痛风是由生物机体内嘌呤代谢紊乱和/或尿酸排泄减少引起的一种晶体性关节炎，临床主要表现为高尿酸血症和尿酸盐结晶沉积所致的特征性急性关节炎、痛风石、痛风石性慢性关节炎，并可发生尿酸盐肾病、尿酸性尿路结石等病症（王宇，中国药房，2009，20（22）：1748-1750）。

高尿酸血症是诱发痛风的重要生理生化基础，主要表现为血清尿酸浓度过高，其产生的主要原因有两个方面：一是尿酸生成过多，二是尿酸排泄减少。持续性的高尿酸血症是痛风的前兆和潜在的诱因。因此，治疗痛风患者的高尿酸血症在治疗痛风过程中有着举足轻重的作用（吴新荣，中国药理学通报，2010，26（11）：1414-1417）。然而，黄嘌呤氧化酶（Xanthine Oxidase，简称 XOD）是尿酸合成过程中的关键酶，是治疗高尿酸血症的重要药物靶点之一。XOD 是一种复合黄素酶，由两个相同的亚基组成，存在于多种生物体内，是机体内核酸代谢过程中至关重要的一种酶。它广泛分布于人体心、肝、肺等组织细胞浆中，可催化次黄嘌呤生成黄嘌呤，并进一步催化黄嘌呤氧化产生尿酸和超氧阴离子（周达，食品科技，2009，34（6）：174-178）。在非布索坦上市以前，别嘌醇（Allopurinol）是临床上应用的唯一能够抑制尿酸生成的药物，但其有肝肾功能损伤等毒副作用。而非布索坦（Febuxostat）是由美国 FDA 批准的抗痛风新药，可用于长期控制痛风患者的高尿酸血症。它是一种高选择性的黄嘌呤氧化酶抑制剂，不作用于嘌呤和嘧啶代谢途径中的其他相关酶，不影响机体内嘌呤与嘧啶的正常代谢，但其也有肝功能异常、关节疼痛等不良反应发生，这在一定程度上也影响了其临床应用（张静，中国药理学杂志，2010，45（15）：1197-1198）。因此，发现和寻找新的安全有效的黄嘌呤氧化酶抑制剂对于高尿酸血症和痛风等相关疾病的治疗及人体代谢学研究等方面具有重要意义。

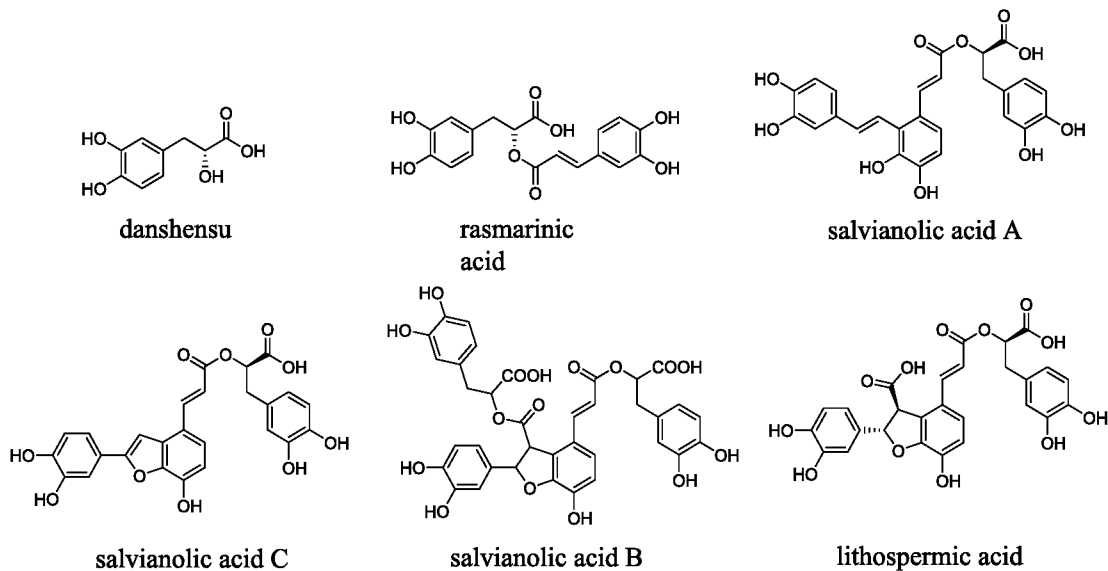
天然产物一直都是治疗各类疾病药物的重要源泉，如川芎嗪、阿魏酸钠、长春西汀等心血管药物，鬼臼毒素、紫杉醇等抗肿瘤药物均来自于天然产物。此外，一些天然产物具有水溶性差，毒副作用大，体内代谢快，生物半衰期短等缺陷，但经过结构优化后，也成为临床使用的一线药物，如丹参酮 IIA 磺酸钠、依托泊苷、多烯紫杉醇等药物。因此，对天然产物中的活性成分进行适当的结构修饰是新药研发的重要途径。

丹参为唇形科鼠尾草属植物丹参（*Salvia miltiorrhiza* Bge.）的干燥根及根茎，全国大部分地区都有分布。丹参具有活血化瘀、调经止痛、清热安神等多种功效，是中医常用的活血化瘀药。用于胸痹心痛，脘腹胁痛，癥瘕积聚，热痹疼痛，心烦不眠，月经不调，痛

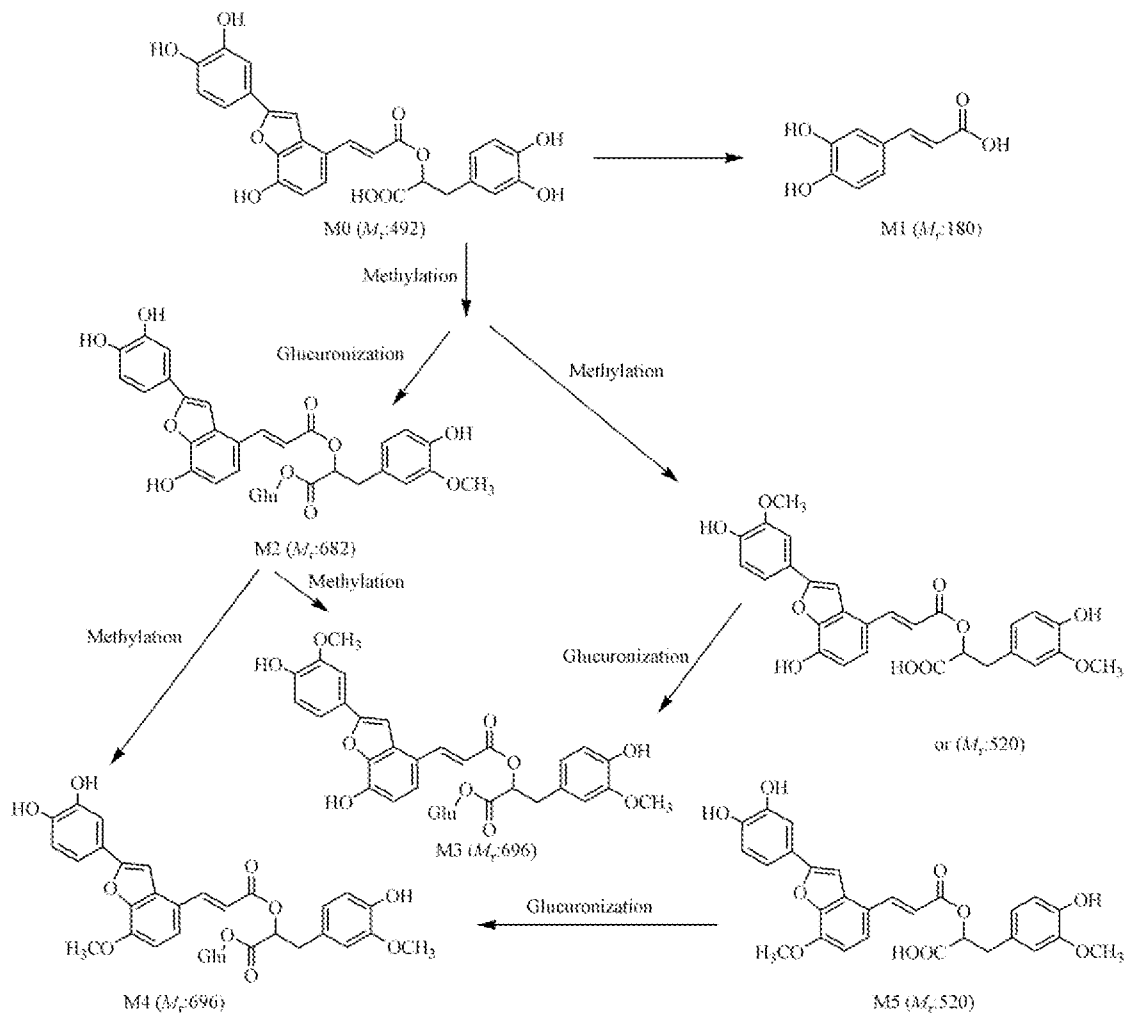
经经闭，疮疡肿痛（中华人民共和国药典〔2010年版〕）。丹参制剂对许多疾病都有着显著的疗效，临床上广泛用于治疗冠心病、高胆固醇血症、高血压、心律失常、肝炎、周围性血管疾病、肺血管疾病、肝硬化等疾病（吴浩，沈阳药科大学学报，2006，23（1）：60-64）。根据丹参化学成分的性质，主要可以分为两大类：水溶性成分和脂溶性成分。其中，脂溶性成分主要集中在以丹参酮为代表的二萜醌类化合物，而水溶性成分则多具有酚酸类结构，是丹参发挥良好药效的主要物质基础之一，并在化学成分、药代动力学及药理学等方面已被广泛研究（张伟伟，中国中药杂志，2010，35（3）：389-392）。研究表明，丹酚酸类成分通过多种作用机制而发挥药理作用，如抑制血小板聚集、抗血栓形成、防止动脉粥样硬化斑块形成、抑制细胞内源性胆固醇合成、清除自由基、减少自由基对机体的损伤而产生保护作用等（杜冠华，基础医学与临床，2000，20（5）：10-14）。

最初分离出的水溶性成分为丹参素（ β -3,4-二羟基苯乳酸）是各种丹酚酸类化合物的基本化学结构（杜冠华，基础医学与临床，2000，20（5）：10-14），如丹酚酸A是由一分子丹参素与两分子咖啡酸缩合而成，丹酚酸B为三分子丹参素与一分子咖啡酸缩合而成，而丹酚酸C由两分子丹参素缩合而成。丹参中其它酚酸类化合物还包括丹酚酸D、丹酚酸E、丹酚酸F、丹酚酸G、丹酚酸H、丹酚酸I、迷迭香酸、紫草酸等。朱大元等发现，丹参中的丹酚酸B、紫草酸、迷迭香酸和丹参素这些酚酸类物质具有黄嘌呤氧化酶抑制作用，并能降低高尿酸血症小鼠的血清尿酸水平（CN 200410084620.4）。

本课题组前期研究发现，丹酚酸 C 具有较强的黄嘌呤氧化酶抑制活性，且抑制作用明显优于丹酚酸 A（燕玉婷，中国药科大学学报，2013，44（5）：442-446）。丹酚酸 C 可以作为黄嘌呤氧化酶抑制剂用于防治痛风和高尿酸血症及其并发症（CN 201210000772.6）。



燕玉婷等对丹酚酸 C 在大鼠体内的代谢过程进行了研究，运用 HPLC-QTOF-MS/MS 的方法从大鼠血液及尿液中检测得到五种代谢产物，并根据化合物裂解规律对丹酚酸 C 在大鼠体内的药物代谢途径进行了初步推测（燕玉婷，中国药科大学学报，2013，44（5）：442-446）。



丹酚酸 C 可能存在的体内代谢途径

综上所述，可以推测： β -3,4-二羟基苯乳酸的结构单元与黄嘌呤氧化酶的抑制活性可能具有一定的相关性。但是，丹酚酸 C 还具有芳基苯并呋喃的结构骨架。芳基苯并呋喃类化合物，一直以来都是研究者们所关注的热点。它是一类具有新木质素骨架类型的化合物，分布于自然界多种高等植物中，且具有广泛的生物学活性，如抗病毒、抗肿瘤、抗真菌、抗氧化、免疫调节及心血管疾病方面等。综述近年来对芳基苯并呋喃类化合物的研究进展，其研究工作多集中在苯并呋喃类骨架化合物的分离鉴定、衍生物库的构建合成及构效关系的探讨、生物活性的筛选及作用机制的深入研究，尤其是构建苯并呋喃环新方法的不断发现（蒲文臣，2-芳基苯并呋喃衍生物的生物活性与合成策略，有机化学，2011，31，155-165）。

基于以上内容，仍有一些尚且未知的研究问题需要探讨解决。（1）芳基苯并呋喃环对具有此骨架类型的化合物（如丹酚酸 C 等）所表现出的生物活性（如黄嘌呤氧化酶抑制活性、抗氧化活性）具有怎样的影响；（2）不同取代基（如吸电子基、供电子基等）取代时对芳基苯并呋喃环类化合物的相关药理活性的影响暂不可知；即针对特定的生物活性，其具体的构效关系仍不明确；（3）本领域技术人员暂不能确定：不含有 β -3,4-二羟基苯乳酸结构而仅含有芳基苯并呋喃类化合物是否也具备与 β -3,4-二羟基苯乳酸类化合物类

似的生物活性，例如具备抑制黄嘌呤氧化酶的活性；同时，本领域技术人员也不能肯定：不含有 β -3,4-二羟基苯乳酸结构而仅含有芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物是否也具备与含有 β -3,4-二羟基苯乳酸结构类化合物类似的生物活性，例如具备抑制黄嘌呤氧化酶的活性。

此外，丹酚酸 C 水溶性较强，对空气、强酸、强碱等较敏感，物理化学稳定性较差，且体内过程易被代谢，生物半衰期较短，其临床应用有一定局限性。因此，我们以丹酚酸 C 结构中所含的 2-芳基苯并呋喃环的母核结构为目标，设计并合成了系列芳基苯并呋喃类衍生物，并对其相关的生物活性进行了深入探讨，具有一定的研究价值。

发明内容

本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物。

本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物抗氧化的活性。

本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物清除自由基的活性。

本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物具备黄嘌呤氧化酶的抑制活性。

本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物具备降低尿酸的活性。

本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物具备治疗或预防痛风的活性。

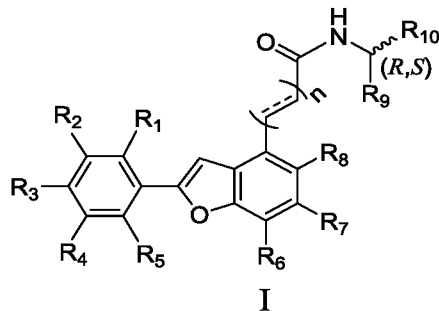
本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物用于制备治疗或预防痛风、和、或高尿酸血症的组合物、药物、保健品。

本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物用于制备治疗或预防痛风及高尿酸血症的组合物、药物、保健品。

本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物的制备方法。

本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物。

本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，其结构通式如式 I 所示：

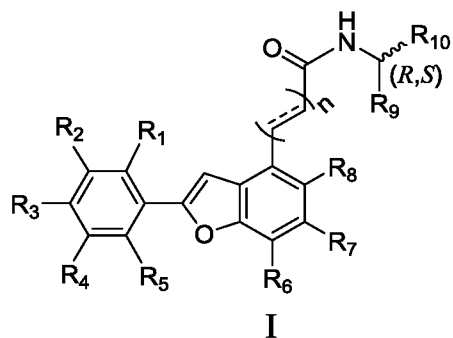


$R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8$ 各自独立为氢，羟基，卤素，硝基，苄基，未取代或经卤素、羟基、硝基、 C_{1-2} 烷氧基中选出 1~3 个取代基取代的 C_{1-4} 烷基，未取代或经卤素、羟基、硝基、 C_{1-2} 烷氧基中选出 1~2 个取代基取代的 C_{1-3} 烷氧基；

R_9 为氢，未取代或经卤素、羟基、巯基、 C_{1-3} 烷基、 C_{1-2} 烷氧基中选出 1~3 个取代基取代的 C_{1-4} 烷基，未取代或经卤素、羟基取代的 3-乙基-1H-吡啶，未取代或经卤素、羟基、 C_{1-2} 烷氧基取代的苯基，未取代或经卤素、羟基、 C_{1-2} 烷氧基取代的苄基，未取代或经卤素、羟基、 C_{1-2} 烷氧基取代的其他芳基（其中，所述卤素 $X = F, Cl, Br, n=1, 2, 3$ ），如 3,4-二羟基苄基，3,4-二甲氧基苄基，4-羟基苄基，4-甲氧基苄基等；

R_{10} 为氢、 $-COOH$ 、 $-COOCH_3$ 、 $-COOCH_2CH_3$ 、 $-COOCH(CH_3)_2$ 、 $-COO(CH_2)_2CH_3$ 或经卤素、羟基、 C_{1-3} 烷基、 C_{1-2} 烷氧基中选出 1~3 个取代基取代的 C_{1-4} 烷基。

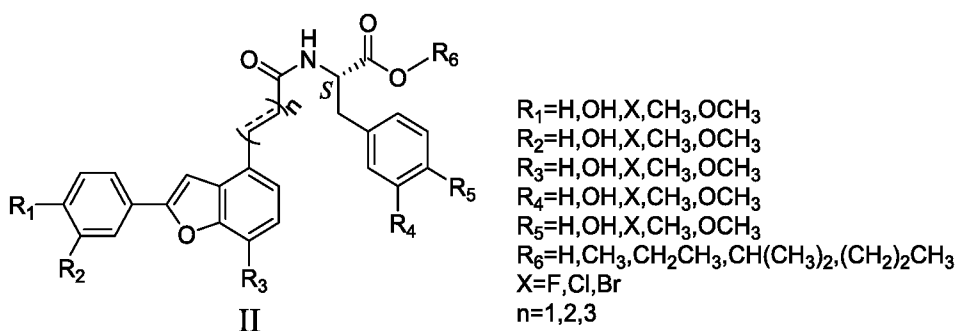
本发明公开了式 I 所示一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，其特征在于：



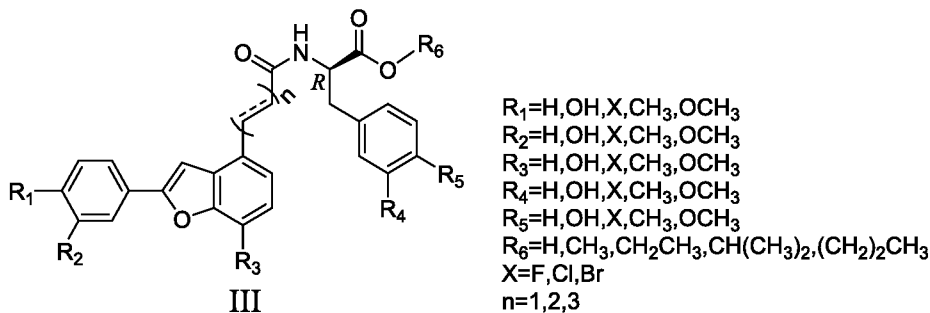
其中：R₃，或、和、R₄为羟基以外的其他取代基；

其中：R₉，或、和、R₁₀为氢以外的其他取代基。

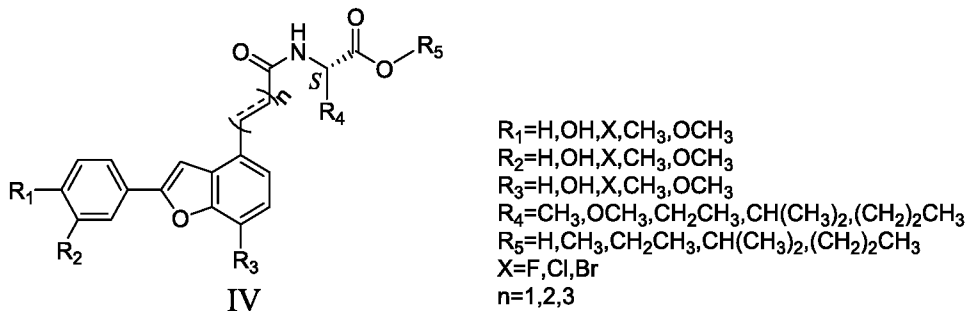
本发明公开了一类芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，结构通式如式 II 所示：



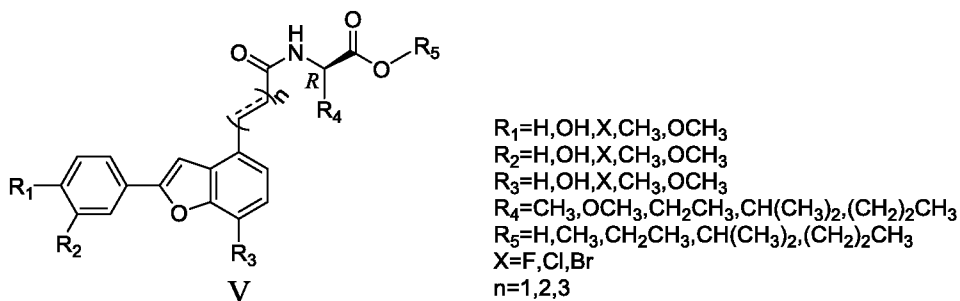
本发明公开了一类芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，结构通式如式 III 所示：



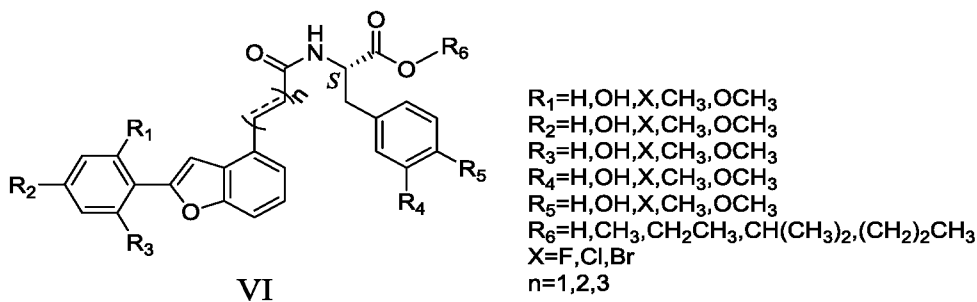
本发明公开了一类芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，结构通式如式 IV 所示：



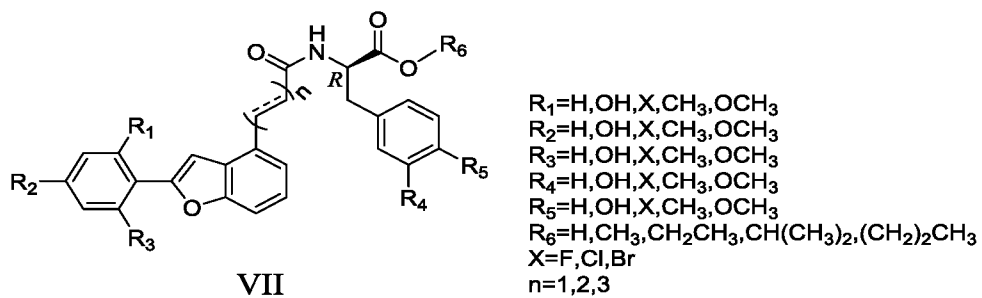
本发明公开了一类芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，结构通式如式 V 所示：



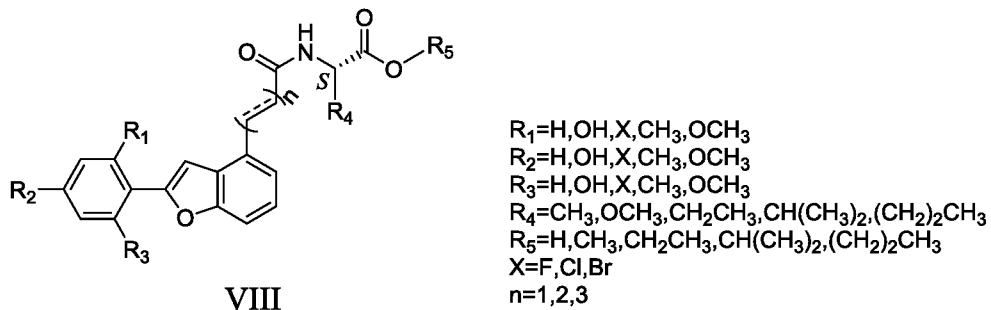
本发明公开了一类芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，结构通式如式 VI 所示：



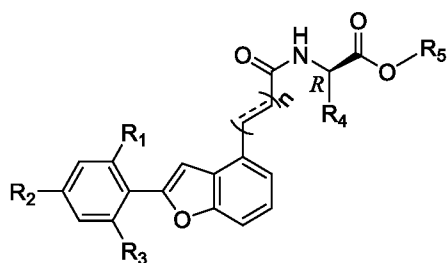
本发明公开了一类芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，结构通式如式 VII 所示：



本发明公开了一类芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，结构通式如式 VIII 所示：



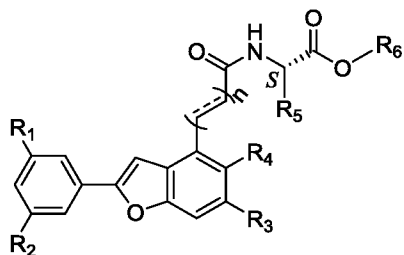
本发明公开了一类芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，结构通式如式 IX 所示：



IX

$R_1 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_2 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_3 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_4 = \text{CH}_3, \text{OCH}_3, \text{CH}_2\text{CH}_3, \text{CH}(\text{CH}_3)_2, (\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$
 $R_5 = \text{H, CH}_3, \text{CH}_2\text{CH}_3, \text{CH}(\text{CH}_3)_2, (\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$
 $\text{X} = \text{F, Cl, Br}$
 $n = 1, 2, 3$

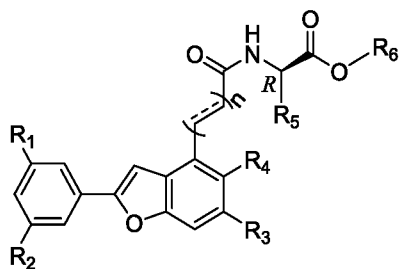
本发明公开了一类芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，结构通式如式 X 所示：



X

$R_1 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_2 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_3 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_4 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_5 = \text{CH}_3, \text{OCH}_3, \text{CH}_2\text{CH}_3, \text{CH}(\text{CH}_3)_2, (\text{CH}_2)_2\text{CH}_3, \text{Aryl}$
 $R_6 = \text{H, CH}_3, \text{CH}_2\text{CH}_3, \text{CH}(\text{CH}_3)_2, (\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$
 $\text{X} = \text{F, Cl, Br}$
 $n = 1, 2, 3$

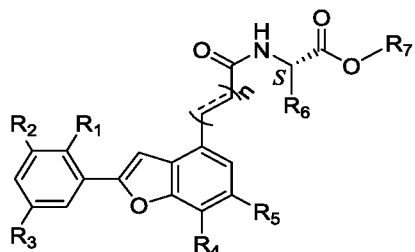
本发明公开了一类芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，结构通式如式 XI 所示：



XI

$R_1 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_2 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_3 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_4 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_5 = \text{CH}_3, \text{OCH}_3, \text{CH}_2\text{CH}_3, \text{CH}(\text{CH}_3)_2, (\text{CH}_2)_2\text{CH}_3, \text{Aryl}$
 $R_6 = \text{H, CH}_3, \text{CH}_2\text{CH}_3, \text{CH}(\text{CH}_3)_2, (\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$
 $\text{X} = \text{F, Cl, Br}$
 $n = 1, 2, 3$

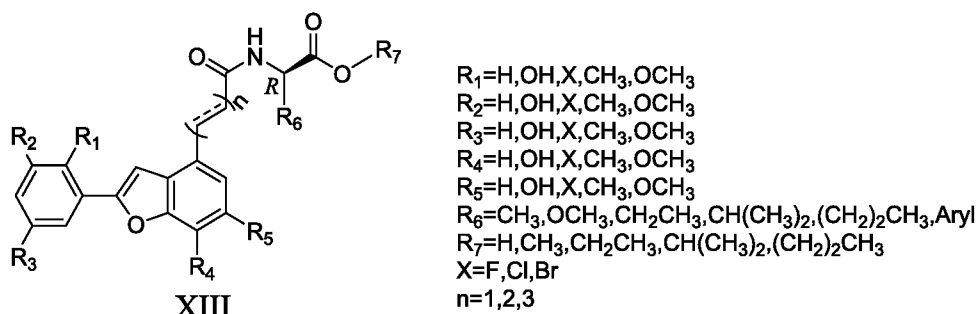
本发明公开了一类芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，结构通式如式 XII 所示：



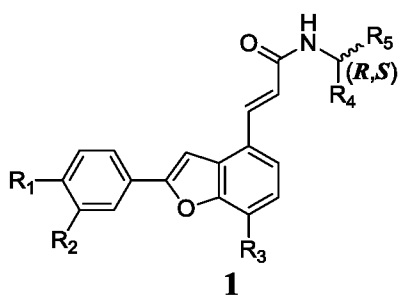
XII

$R_1 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_2 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_3 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_4 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_5 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_6 = \text{CH}_3, \text{OCH}_3, \text{CH}_2\text{CH}_3, \text{CH}(\text{CH}_3)_2, (\text{CH}_2)_2\text{CH}_3, \text{Aryl}$
 $R_7 = \text{H, CH}_3, \text{CH}_2\text{CH}_3, \text{CH}(\text{CH}_3)_2, (\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$
 $\text{X} = \text{F, Cl, Br}$
 $n = 1, 2, 3$

本发明公开了一类芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，结构通式如式 XIII 所示：



本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，其特征在于：
结构通式如式 1 所示，

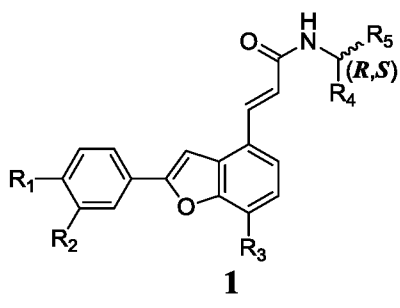


其中 R_1, R_2, R_3 各自独立为未取代或经卤素、羟基取代的 C_{1-4} 烷基，未取代或经卤素、羟基取代的 C_{1-3} 烷氧基，卤素，硝基，苄基；

R_4 为氢，未取代或经卤素、羟基、巯基取代的 C_{1-4} 烷基，3-乙基-1H-吡唑，未取代或经卤素、羟基取代的苯基，未取代或经卤素、羟基取代的苄基，未取代或经卤素、羟基取代的其他芳基（其中，卤素 $X = F, Cl, Br$ ），如 3,4-二羟基苄基，3,4-二甲氧基苄基，4-羟基苄基，4-甲氧基苄基等；

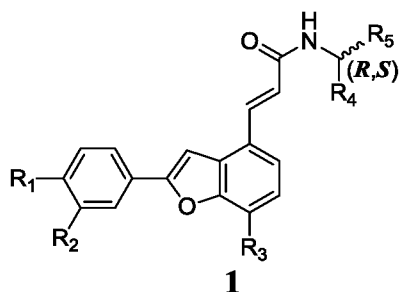
R_5 为氢， $-COOH$ 、 $-COOCH_3$ 、 $-COOCH_2CH_3$ 、 $-COOCH(CH_3)_2$ 、 $-COO(CH_2)_2CH_3$ 或者为氢、 C_{1-4} 烷基。

本发明公开了式 1 所示一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，其特征在于：
结构通式如式 1 所示：



其中 R_1, R_2, R_3 各自独立为氢，羟基； R_4 为氢； R_5 为氢。

本发明公开了式 1 所示的一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，其特征在于：

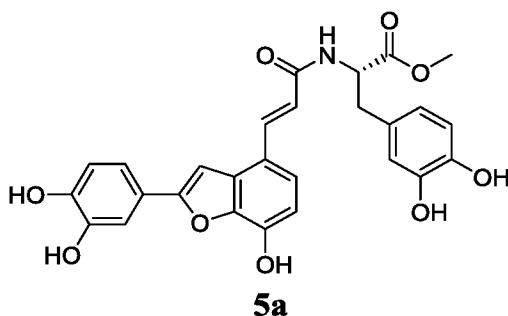


其中 R_1 , R_2 , R_3 各自独立为未取代或经卤素、羟基取代的 C_{1-4} 烷基, 未取代或经卤素、羟基取代的 C_{1-3} 烷氧基, 卤素, 硝基, 苄基;

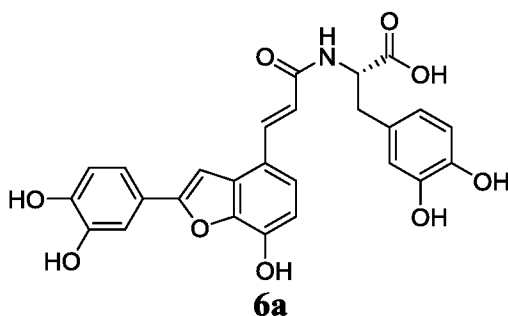
R_4 为未取代或经卤素、羟基、巯基取代的 C_{1-4} 烷基, 3-乙基-1H-吡唑, 未取代或经卤素、羟基取代的苯基, 未取代或经卤素、羟基取代的苄基, 未取代或经卤素、羟基取代的其他芳基 (其中, 卤素 $X = F, Cl, Br$), 如 3,4-二羟基苄基, 3,4-二甲氧基苄基, 4-羟基苄基, 4-甲氧基苄基;

R_5 为 $-COOH$ 、 $-COOCH_3$ 、 $-COOCH_2CH_3$ 、 $-COOCH(CH_3)_2$ 、 $-COO(CH_2)_2CH_3$ 或者为氢、 C_{1-4} 烷基。

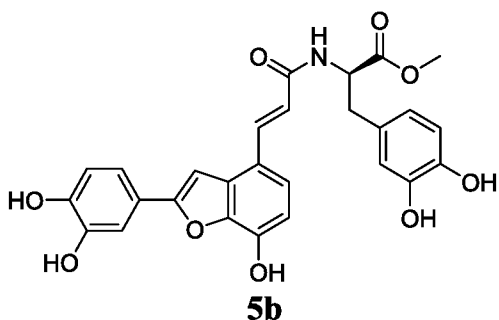
本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物, 结构式如式 **5a** 所示:



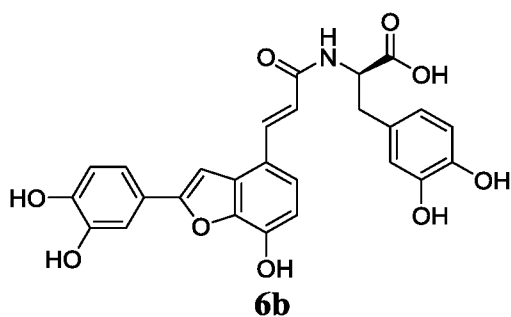
本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物, 结构式如式 **6a** 所示:



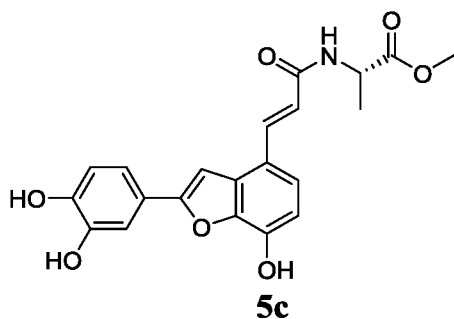
本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物, 结构式如式 **5b** 所示:



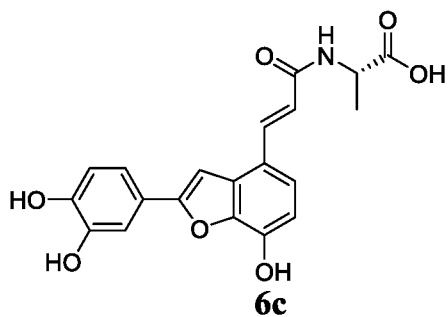
本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，结构式如式 **6b** 所示：



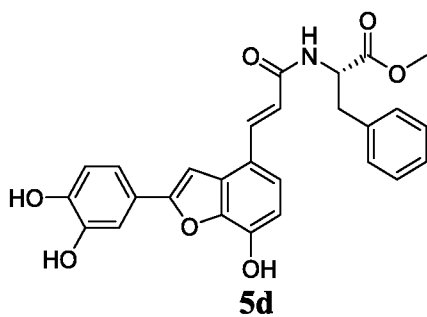
本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，结构式如式 **5c** 所示：



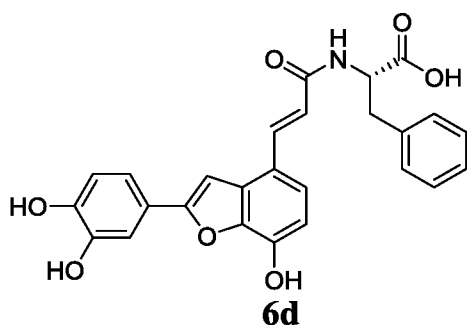
本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，结构式如式 **6c** 所示：



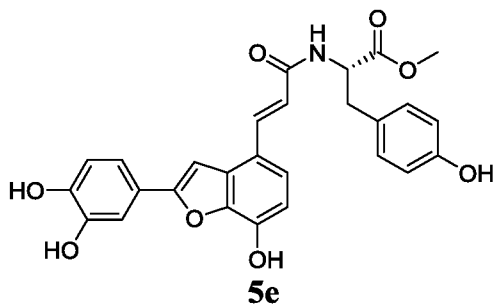
本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，结构式如式 **5d** 所示：



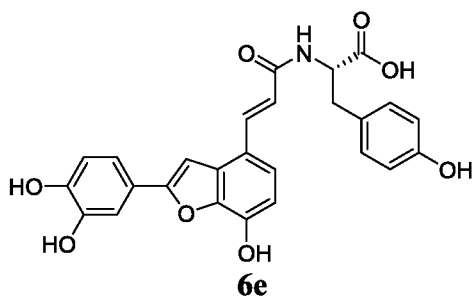
本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，结构式如式 **6d** 所示：



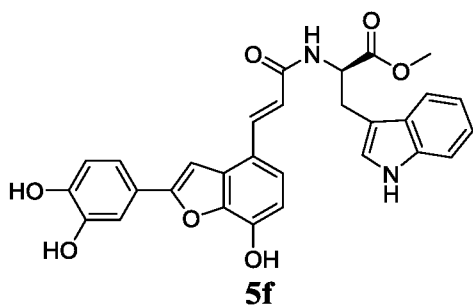
本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，结构式如式 **5e** 所示：



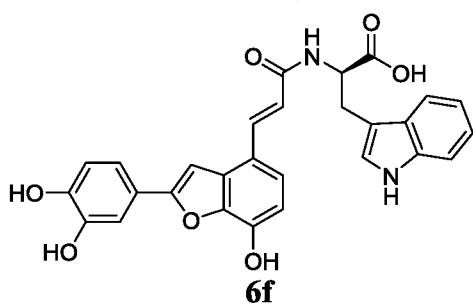
本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，结构式如式 **6e** 所示：



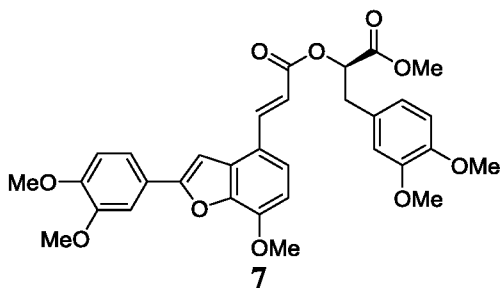
本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，结构式如式 **5f** 所示：



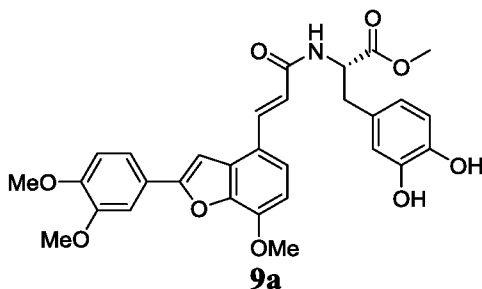
本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，结构式如式 **6f** 所示：



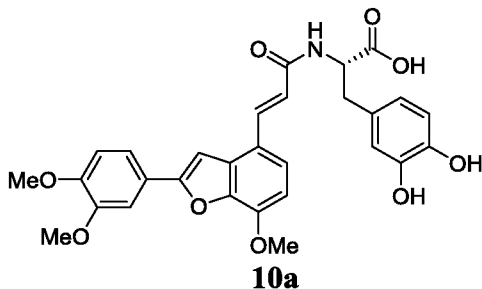
本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，结构式如 **7** 式所示：



本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，结构式如 **9a** 所示：



本发明公开了一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，结构式如 **10a** 所示：



本发明的一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物的合成方法如下：

(1) 将丹酚酸 C 与无机碱混合，超声溶解于混合溶剂中，加热不断检测反应，待反应完全后，硅胶柱色谱分离，得到中间体 Tournefollic acid A (**2**)；

(2) 将 SOCl_2 冰浴冷却下加入有机溶剂中，反应 30 min 后，加入丙氨酸、苯丙氨酸、半胱氨酸、酪氨酸、甲硫氨酸、色氨酸、D/L-DOPA 等氨基类化合物，室温搅拌，浓缩蒸干溶剂并洗涤干燥，得系列羧基保护的氨基衍生物；

(3) 将中间产物 Tournefollic acid A 在缩合剂作用下分别与系列氨基衍生物以摩尔比 1: 1.1~2 混合，溶于有机溶剂中，室温搅拌，反应后处理后经硅胶柱色谱分离，得到系列的芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物；

(4) 在系列芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物中加入无机碱，混合溶剂超声溶解，室温搅拌或加热回流，TLC 不断监测反应，样品混合物经后处理，再经过硅胶柱色谱或制备型高效液相色谱分离纯化，得到系列高纯度的苯并呋喃类酰胺化衍生物。

所述的第 1 步中的无机碱水解可选择 LiOH, NaOH, KOH 等，有机溶媒为 THF, MeOH, H_2O 或为其混合溶剂，优选为混合溶剂 MeOH/ H_2O ，且溶剂体积比优选为 3: 1~5: 1，反应时间优选为 8~12 h。

所述的第 1 步中的分离纯化方法具体为：硅胶柱层析，用氯仿/甲醇/甲酸 (10: 1: 0.1, v/v/v) 等度洗脱得到中间体 Tournefollic acid A (**2**)。

所述的第 2 步中的氨基类化合物为各种 D/L 构型的氨基酸及其它手性氨基衍生物，有

机溶剂为甲醇、乙醇及异丙醇等试剂，反应时间优选为 18~24 h。

所述的第 2 步中的分离纯化方法具体为：甲醇和乙醚分别多次交互洗涤样品并浓缩蒸干。

所述的第 3 步中的缩合剂可以为 DCC/ HoBt, EDCI/HoBt, HATU, HBTU, PyBOP, 优选为 EDCI/HoBt, 有机溶剂优选为混合溶剂 DMF/CH₂Cl₂ (3: 1~5: 1 v/v), 反应时间优选为 8~12 h。

所述的第 3 步中的分离纯化方法具体为：硅胶柱层析，氯仿/甲醇梯度洗脱得目标衍生物。

所述的第 4 步中的无机碱可以为 LiOH, NaOH, KOH, 优选为 NaOH, 有机溶媒为 THF, MeOH, H₂O 或为其混合溶剂，优选为 MeOH/H₂O (3: 1~5: 1 v/v), 反应时间优选为 8~12 h。

所述的第 4 步中部分芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物具体的分离纯化方法为：硅胶柱层析分离纯化，流动相为氯仿/甲醇/甲酸梯度洗脱；或高效液相制备型色谱柱分离纯化样品混合物，其中，色谱柱 (Agilent, zorbax-C₁₈, 5 μm, 9.4 × 250 mm), 色谱条件优选为：流速：8 mL/min, 检测波长：281 nm, 柱温：30 °C, 流动相：乙腈-0.1%甲酸-水。

本制备方法中所得的化合物，均通过质谱和核磁共振等光谱学方法进行结构鉴定，并利用 HPLC 法进行了纯度检测。

本发明的芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物及其药物上可接受的成盐化产物可与药用常见辅料和载体结合，制备痛风及高尿酸血症药物的组合物，从而达到预防或治疗的效果。上述药物可根据实际的需要选择合适的剂型，如片剂、注射剂、栓剂、气雾剂、纳米制剂等。

与现有技术相比较，本发明具有如下有益效果：

(1) 本发明通过以丹酚酸 C 为底物进行了化学结构修饰，得到了系列芳基苯并呋喃类衍生物。经体外生物活性筛选及细胞活性验证，本发明的芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物整体上均表现出较强的黄嘌呤氧化酶的抑制活性及抗氧化活性，为痛风与高尿酸血症及其并发症的防治提供了物质基础。

(2) 本发明的芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物结构新颖，对黄嘌呤氧化酶具有良好的抑制效果。与丹酚酸 C 相比，不同程度改善了水溶性，并在一定程度上增加了化合物的物理化学稳定性，毒副作用较低，具备一定开发应用价值。

附图说明：

图 1：芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物 **5a**, **5b**, **5c**, **6b**, **6c**, **6d**, **6e** 以及 Salvianolic acid C (1) 和 Ve 对 LPS 刺激巨噬细胞 RAW 264.7 中超氧阴离子的清除作用

图 2：衍生物 **5b** 和 **6e** 和 Salvianolic acid C (1) 对细胞中尿酸的抑制作用

图 3：活性化合物与黄嘌呤氧化酶分子对接实验结果

图 3 的具体解释：图 3 是由 A 部分、B 部分、C 部分、D 部分、E 部分、F 部分组合而成，分别表示不同化合物与黄嘌呤氧化酶分子对接实验结果，(A) Febuxostat (B) Allopurinol (C) **6b** (D) **6e** (E) Salvianolic acid C (1) (F) **5b**。

具体实施方式

下面结合实施例对本发明作进一步详细描述，但本发明的实施方式不限于此。

本文中使用的测定仪器：

高分辨率质谱用美国 Agilent G1969 TOF/MS 质谱仪；

核磁共振用瑞士 Bruker AV-300 或 500 核磁共振仪；

反应试剂均购自 Sigma-Aldrich 或 Aladdin 试剂公司，试剂均为分析纯或化学纯，氘代试剂购自美国剑桥 CIL 试剂公司。

实施例 1

1. 芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物 5a, 6a 的合成

(1) Tournefollic acid A

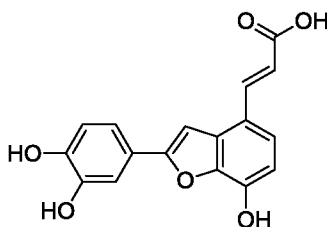
准确称取 Salvianolic acid C (1) (245 mg, 0.498 mmol) 于二颈圆底瓶中，加入 MeOH/H₂O 20 mL (5: 1 v/v)，超声至样品完全溶解，加入准确称取适量的无机碱 (NaOH 或 KOH)，加热条件下不断 TLC (氯仿/甲醇/甲酸 8: 1: 1 v/v/v) 监测反应，直至原料完全消失。待反应完全后，放置至室温，蒸干溶剂 MeOH，加入 15 mL 蒸馏水稀释，冰浴冷却下，逐滴滴加 10% HCl 水溶液并不断搅拌，至 pH 3 ~ 4，停止滴加。加入乙酸乙酯 (20 mL × 3) 萃取，合并有机层，饱和 NaCl 溶液洗涤，MgSO₄ 干燥，减压浓缩，得反应产物粗品。经硅胶柱层析等度洗脱 (氯仿/甲醇/甲酸 10: 1: 0.1 v/v/v)，得产物 Tournefollic acid A (138 mg, yield 89%)。

对步骤 (1) 中得到的反应产物进行结构解析。

理化性质：深黄色粉末 (TLC R_f = 0.42 氯仿/甲醇/甲酸 8: 1: 1)。

波谱信息：¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz) δ 7.92 (d, 1H, *J* = 15.9 Hz), 7.41-7.29 (m, 3H), 7.18 (s, 1H), 6.88 (d, 1H, *J* = 8.1 Hz), 6.73 (d, 1H, *J* = 8.1 Hz), 6.43 (d, 1H, *J* = 15.9 Hz); ¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz) δ 171.3, 159.3, 148.0, 146.7, 145.7, 144.6, 144.3, 132.5, 126.1, 123.4, 119.7, 118.7, 116.7, 116.0, 113.3, 111.7, 99.2. HR-MS (ESI) *m/z*: found 311.0563 [M-H]⁻, calcd. for C₁₇H₁₂O₆ 311.0561.

据以上波谱信息，可鉴定化合物 Tournefollic acid A 化学式为 C₁₇H₁₂O₆，其结构如下式。



(2) Methyl (S)-2-amino-3-(3,4-dihydroxyphenyl)propanoate hydrochloride (4a)

准确量取无水甲醇 5 mL 于圆底烧瓶中，冰浴冷却 15 min，缓慢逐滴加入 SOCl₂ (493 μL, 6.780 mmol)，0 °C 搅拌 30 min 后，加入准确称取的 L-DOPA (800 mg, 4.520 mmol)，放置至室温，搅拌反应 24 h。待反应完全后，蒸干溶剂和反应剩余的 SOCl₂，用 MeOH 和 Et₂O 分别洗涤样品三次，蒸干，得反应产物 L-多巴甲酯盐酸盐 (1.03 g, yield 93%)。

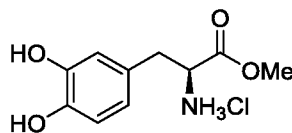
对步骤 (2) 中得到的反应产物进行结构解析。

理化性质：白色粉末 (TLC R_f = 0.64 氯仿/甲醇 10: 1)。

波谱信息：¹H NMR (D₂O, 300 MHz) δ 6.78 (d, 1H, *J* = 8.2 Hz), 6.78 (d, 1H, *J* = 1.8 Hz),

6.68 (dd, 1 H, $J = 1.8, 8.1$ Hz), 4.35 (t, 1 H, $J = 6.6$ Hz), 3.82 (s, 3H), 3.18 (dd, 1H, $J = 5.9, 14.6$ Hz), 3.06 (dd, 1 H, $J = 7.7, 14.6$ Hz). ^{13}C NMR (D_2O , 75 MHz) δ 170.6, 144.8, 144.2, 126.6, 122.3, 117.4, 117.1, 54.8, 54.0, 35.4. ESI-MS m/z : 212.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

据以上波谱信息, 可鉴定化合物 **4a** 化学式为 $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{ClNO}_4$, 结构如下式。



4a

(3) Methyl (*S,E*)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-(3-(2-(3,4-dihydroxyphenyl)-7-hydroxybenzofuran-4-yl)acrylamido)propanoate (**5a**)

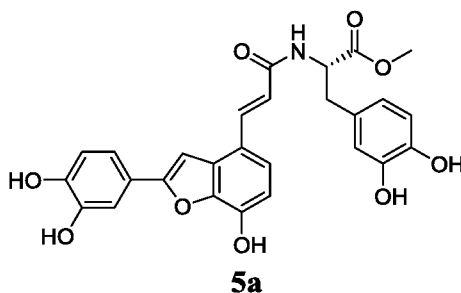
准确称取 Tournefollic acid A (36 mg, 0.115 mmol) 于圆底烧瓶中, 加入 DMF/ CH_2Cl_2 4 mL (4: 1 v/v), 超声溶解, 冰浴冷却, 加入准确称量的 EDCI (33.1 mg, 0.173 mmol), HoBt (23.3 mg, 0.173 mmol), 冰浴冷却 10 min, 并不断搅拌。加入准确称取的 L-多巴甲酯盐酸盐 (34.1 mg, 0.138 mmol), Et_3N (34.8 mg, 0.345 mmol), 冰浴中反应 30 min 后置室温搅拌, TLC (氯仿/甲醇/甲酸 8: 1: 1 v/v/v) 不断监测反应, 直至原料基本消失。待停止反应后, 蒸干溶剂, 加 15 mL 蒸馏水稀释样品, 冰浴冷却, 滴加几滴 10% HCl 水溶液, 充分震荡。用乙酸乙酯 (15 mL $\times$ 4) 萃取, 合并有机层, 减压浓缩, 饱和食盐水洗涤, MgSO_4 干燥。样品混合物经硅胶柱分离纯化样品 (氯仿/甲醇 15: 1 $\rightarrow$ 10: 1 v/v), 得产物 **5a** (29.6 mg, yield 51%)。

对步骤 (3) 中得到的反应产物进行结构解析。

理化性质: 黄绿色粉末 (TLC $R_f = 0.61$ 氯仿/甲醇/甲酸 8: 1: 1)。

波谱信息: ^1H NMR (CD_3OD , 300 MHz) δ 7.74 (d, 1H, $J = 15.6$ Hz), 7.39 (s, 1H), 7.34 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz), 7.28 (s, 1H), 6.87 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz), 6.74-6.63 (m, 4H), 6.55 (d, 1H, $J = 7.2$ Hz), 4.76-4.72 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.11-3.00 (dd, 1H, $J = 13.5, 6.0$ Hz), 2.99-2.89 (dd, 1H, $J = 13.5, 7.5$ Hz); ^{13}C NMR (CD_3OD , 75 MHz) δ 173.8, 169.3, 159.1, 147.9, 146.8, 146.3, 145.3, 145.3, 144.5, 140.7, 132.0, 129.5, 126.0, 123.5, 121.7, 120.2, 118.6, 118.4, 117.3, 116.7, 116.4, 113.4, 111.6, 99.5, 55.8, 52.6, 38.2. HR-MS (ESI) m/z : found 504.1302 $[\text{M}-\text{H}]^-$, calcd. for $\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{NO}_9$ 504.1300.

据以上波谱信息, 可鉴定化合物 **5a** 化学式为 $\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{NO}_9$, 其结构式如下。



5a

(4) (*S,E*)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-(3-(2-(3,4-dihydroxyphenyl)-7-hydroxybenzofuran-4-yl)acrylamido)propanoic acid (**6a**)

准确称取化合物 **5a** (18 mg, 0.036 mmol) 于二颈烧瓶中, 加入 MeOH/ H_2O 5 mL

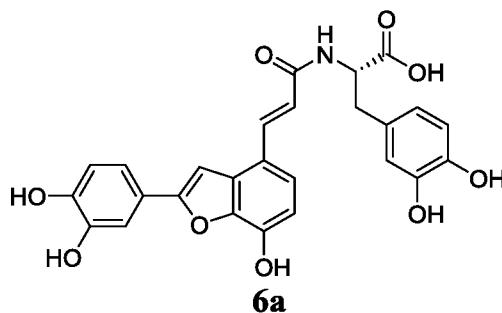
(4: 1 v/v) 溶解, 加入 NaOH (17.4 mg, 0.44 mmol), 加热回流, TLC (氯仿/甲醇/甲酸 8: 1: 1) 监测反应至反应完全。待反应停止, 冰浴冷却反应混合液, 滴加 10% HCl 水溶液并不断搅拌, 至 pH 3~4, 浓缩蒸干, 加入蒸馏水 10 mL, 用乙酸乙酯 (10 mL × 4) 萃取, 合并有机层, 减压浓缩, 饱和食盐水洗涤, MgSO₄ 干燥。样品混合物经制备型液相色谱 (Agilent zorbax-C₁₈, 5 μm, 20 × 250 mm) 分离, 流速 8 mL/min, 检测波长 281 nm, 流动相: 乙腈-0.1% 甲酸-水, 得目标产物 **6a** (11.6 mg, yield 66%)。

对步骤 (1) 中得到的反应产物进行结构解析。

理化性质: 黄绿色粉末 (TLC R_f = 0.48 氯仿/甲醇/甲酸 8: 1: 1)。

波谱信息: ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 8.15 (br s, 4H), 7.54 (d, 1H, *J* = 15.9 Hz), 7.43 (s, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.28 (d, 1H, *J* = 8.1 Hz), 7.23 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz), 6.88 (d, 1H, *J* = 8.1 Hz), 6.79-6.72 (q, 2H, *J* = 15.9 Hz), 6.65-6.60 (m, 2H), 6.50 (d, 1H, *J* = 8.1 Hz), 4.50 (m, 1H), 3.00-2.91 (d, 1H, *J* = 14.1, 5.1 Hz), 2.84-2.74 (d, 1H, *J* = 13.5, 8.7 Hz); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ 173.3, 165.6, 156.9, 146.9, 145.7, 145.0, 143.9, 143.8, 142.7, 137.8, 129.6, 128.3, 125.7, 121.1, 119.9, 119.2, 118.6, 117.0, 116.5, 116.1, 115.4, 112.4, 110.6, 99.0, 53.9, 36.7. HR-MS (ESI) *m/z*: found 492.1296 [M+H]⁺, calcd. for C₂₆H₂₁NO₉ 492.1289.

据以上波谱信息, 可鉴定化合物 **6a** 化学式为 C₂₆H₂₁NO₉, 其结构式如下。



实施例 2

2. 芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物 **5b**, **6b** 的合成

(1) - (2) 同实施例 1 中制备中间体的方法。

(3) Methyl (*R,E*)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-(3-(2-(3,4-dihydroxyphenyl)-7-hydroxybenzofuran-4-yl)acrylamido)propanoate (**5b**)

准确称取 Tournefollic acid A (32 mg, 0.103 mmol) 于圆底烧瓶中, 加入 DMF/CH₂Cl₂ 3.5 mL (5: 1 v/v), 超声至样品溶解, 冰浴冷却, 加入准确称量的 EDCI (31.6 mg, 0.165 mmol), HoBt (22.3 mg, 0.165 mmol), 冰浴冷却 10 min, 并不断搅拌。加入准确称取的 D-多巴甲酯盐酸盐 (30.5 mg, 0.124 mmol), Et₃N (31.2 mg, 0.309 mmol), 冰浴中反应 30 min 后置室温搅拌, TLC (氯仿/甲醇/甲酸 8: 1: 1) 监测反应至原料基本消失。待停止反应后, 蒸干溶剂, 加 15 mL 蒸馏水稀释样品, 冰浴冷却, 滴加几滴 10% HCl 水溶液, 充分震荡。用乙酸乙酯 (15 mL × 4) 萃取, 合并有机层, 减压浓缩, 饱和食盐水洗涤, MgSO₄ 干燥。样品混合物经硅胶柱纯化 (氯仿/甲醇 15: 1 → 10: 1 v/v) 得产物 **5b** (30 mg, yield 58%)。

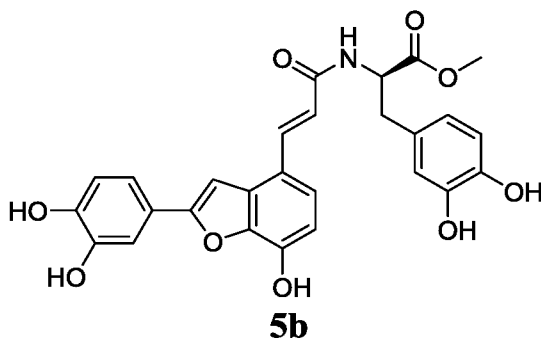
对步骤 (1) 中得到的反应产物进行结构解析。

理化性质: 黄绿色粉末 (TLC R_f = 0.6 氯仿/甲醇/甲酸 8: 1: 1)。

波谱信息: ¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz) δ 7.74 (d, 1H, *J* = 15.6 Hz), 7.39 (s, 1H), 7.37-7.32

(d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 7.29-7.24 (m, 2H), 6.87 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz), 6.73-6.65 (m, 4H), 6.55 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 5.08 (m, 1H), 4.06 (s, 3H), 4.00 (s, 3H), 3.94 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.23 (m, 1H), 2.93 (m, 1H); ^{13}C NMR (CD_3OD , 75 MHz) δ 172.4, 165.6, 157.0, 146.9, 145.7, 145.0, 144.5, 143.9, 142.7, 138.0, 129.7, 127.8, 125.7, 121.1, 119.8, 118.7, 118.4, 117.0, 116.4, 116.1, 115.4, 112.3, 110.6, 96.9, 54.0, 51.8, 36.7. HR-MS (ESI) m/z : found 504.1311 $[\text{M}-\text{H}]^-$, calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{NO}_9$ 504.1300.

据以上波谱信息, 可鉴定化合物 **5b** 化学式为 $\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{NO}_9$, 其结构式如下。



(4) (*R,E*)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-(3-(2-(3,4-dihydroxyphenyl)-7-hydroxybenzoyl)acrylamido)propanoic acid (**6b**)

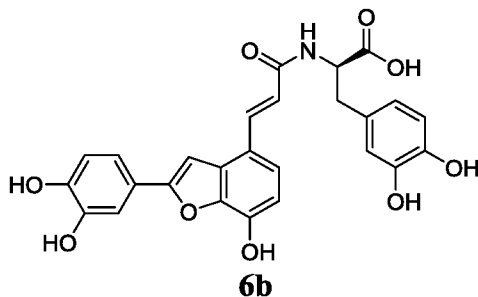
准确称取化合物 **5b** (18 mg, 0.036 mmol) 于二颈烧瓶中, 加入 $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ 5 mL (3: 1 v/v) 溶解, 准确称取 NaOH (17.1 mg, 0.428 mmol) 加入上述溶液中, 加热回流, TLC (氯仿/甲醇/甲酸 8: 1: 1) 监测反应, 直至反应完全。待停止反应, 冰冷却反应液, 滴加 10% HCl 溶液并搅拌, 至 pH 3~4, 蒸干, 加入蒸馏水 10 mL, 用乙酸乙酯 (10 mL $\times$ 4) 萃取, 合并有机层, 浓缩, 饱和食盐水洗涤, MgSO_4 干燥, 样品混合物经制备型液相色谱 (Agilent zorbax- C_{18} , 5 μm , 20 $\times$ 250 mm) 分离, 流速 8 mL/min, 检测波长 281 nm, 流动相: 乙腈-0.1%甲酸-水, 得产物 **6b** (9.5 mg, yield 54%)。

对步骤 (1) 中得到的反应产物进行结构解析。

理化性质: 黄色粉末 (TLC $R_f = 0.46$ 氯仿/甲醇/甲酸 8: 1: 1)。

波谱信息: ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz) δ 8.21 (br s, 4H), 7.53 (d, 1H, $J = 15.9$ Hz), 7.43 (s, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.23 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz), 7.22 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz), 6.87 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 6.80-6.70 (q, 2H, $J = 15.9$ Hz), 6.65-6.59 (m, 2H), 6.43 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 4.50 (m, 1H), 2.98-2.91 (d, 1H, $J = 14.2, 4.9$ Hz), 2.81-2.73 (d, 1H, $J = 14.2, 8.3$ Hz); ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 75 MHz) δ 173.6, 165.4, 156.9, 146.9, 145.7, 144.9, 143.8, 143.8, 142.7, 137.6, 129.5, 128.5, 125.7, 121.0, 119.9, 119.3, 118.6, 116.9, 116.6, 116.1, 115.3, 112.4, 110.5, 99.0, 54.2, 36.8. HR-MS (ESI) m/z : found 492.1293 $[\text{M}+\text{H}]^+$, calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{NO}_9$ 492.1289.

根据以上高分辨质谱及核磁谱信息, 可鉴定化合物 **6b** 的化学式为 $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{NO}_9$, 其结构式如下。



实施例 3

3. 芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物 **5c**, **6c** 的合成

(1) - (2) 同实施例 1 中制备中间体的方法。

(3) Methyl (*E*)-[3-(2-(3,4-dihydroxyphenyl)-7-hydroxybenzofuran-4-yl)acryloyl]-L-alaninate (**5c**)

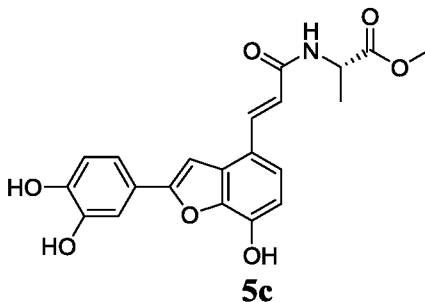
准确称取 Tournefollic acid A (35 mg, 0.112 mmol) 于圆底烧瓶中, 加入 DMF/CH₂Cl₂ 4 mL (3: 1 v/v), 超声至样品溶解, 冰浴冷却至 0 °C, 加入 EDCI (32.3 mg, 0.168 mmol), HoBt (22.6 mg, 0.168 mmol), 冰浴冷却 10 min, 并不断搅拌。加入准确称取的 L-丙氨酸甲酯盐酸盐 (18.7 mg, 0.134 mmol), Et₃N (33.9 mg, 0.336 mmol), 冰浴中反应 30 min 后放置至室温搅拌, TLC (氯仿/甲醇/甲酸 8: 1: 1) 不断监测反应, 直至原料基本消失。待停止反应后, 蒸干溶剂, 加 15 mL 蒸馏水稀释样品, 冰浴冷却, 滴加几滴 10% HCl 水溶液, 充分震荡。用乙酸乙酯 (15 mL × 4) 萃取, 合并有机层, 减压浓缩, 饱和食盐水洗涤, MgSO₄ 干燥。样品混合物经硅胶柱 (氯仿/甲醇 20: 1 → 8: 1 v/v) 纯化, 得产物 **5c** (28.4 mg, yield 64%)。

对步骤 (3) 中得到的反应产物进行结构解析。

理化性质: 淡绿色粉末 (TLC R_f = 0.65 氯仿/甲醇/甲酸 8: 1: 1)。

波谱信息: ¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz) δ 7.77 (d, 1H, *J* = 15.9 Hz), 7.39 (s, 1H), 7.35 (d, 1H, *J* = 8.1 Hz), 7.32-7.25 (m, 2H), 6.87 (d, 1H, *J* = 8.1 Hz), 6.75-6.70 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz), 6.70-6.63 (d, 1H, *J* = 15.9 Hz), 4.62-4.53 (dd, 1H, *J* = 14.7, 7.5 Hz), 3.75 (s, 3H), 1.46 (d, 3H, *J* = 7.2 Hz); ¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz) δ 174.9, 169.2, 159.1, 148.0, 146.8, 145.4, 144.5, 140.7, 132.1, 125.9, 123.5, 120.2, 118.6, 118.4, 116.7, 113.4, 111.7, 99.5, 52.8, 49.7, 17.7. HR-MS (ESI) *m/z*: found 396.1089 [M-H]⁻, calcd for C₂₁H₁₉NO₇ 396.1089.

根据以上高分辨质谱及核磁谱信息, 可鉴定化合物 **5c** 的化学式为 C₂₁H₁₉NO₇, 其结构式如下。



(4) (*E*)-[3-(2-(3,4-dihydroxyphenyl)-7-hydroxybenzofuran-4-yl)acryloyl]

-L-alanine (**6c**)

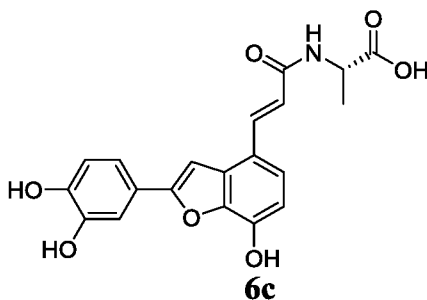
准确称取化合物 **5c** (19 mg, 0.048 mmol) 于二颈烧瓶中, 加入 MeOH/H₂O 5 mL (3: 1 v/v) 溶解, 加入 NaOH (19.1 mg, 0.478 mmol), 加热回流, 并 TLC (氯仿/甲醇/甲酸 8: 1: 1) 监测反应, 至反应完全。待停止反应后, 冰浴冷却反应混合液, 滴加 10% HCl 水溶液并不断搅拌, 至 pH 3~4, 浓缩蒸干 MeOH, 加入蒸馏水 10 mL, 用乙酸乙酯 (10 mL × 4) 萃取, 合并有机层, 浓缩, 饱和食盐水洗涤, MgSO₄ 干燥, 样品混合物经制备型液相色谱 (Agilent zorbax-C₁₈, 5 μm, 20 × 250 mm) 分离, 流速 8 mL/min, 检测波长 281 nm, 流动相: 乙腈-0.1% 甲酸-水, 得衍生物 **6c** (13.1 mg, yield 71%)。

对步骤 (1) 中得到的反应产物进行结构解析。

理化性质: 黄绿色粉末 (TLC R_f = 0.48 氯仿/甲醇/甲酸 8: 1: 1)。

波谱信息: ¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz) δ 7.53 (d, 1H, *J* = 15.6 Hz), 7.44 (s, 1H), 7.36 (s, 1H), 7.32-7.20 (m, 2H), 6.83 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz), 6.82 (t, 2H, *J* = 15.6 Hz), 4.38 (m, 1H), 1.35 (d, 3H, *J* = 6.6 Hz); ¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz) δ 174.5, 165.5, 157.0, 147.0, 145.8, 143.9, 142.8, 137.8, 129.6, 125.8, 121.1, 119.3, 118.7, 117.0, 116.2, 112.4, 110.6, 99.0, 48.7, 17.8. HR-MS (ESI) *m/z*: found 382.0941 [M-H]⁻, calcd. for C₂₀H₁₇NO₇ 382.0932.

据以上波谱信息, 可鉴定化合物 **6c** 化学式为 C₂₀H₁₇NO₇, 其结构式如下。



实施例 4

4. 芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物 **5d**, **6d** 的合成

(1) - (2) 同实施例 1 中制备中间体的方法。

(3) Methyl (*E*)-(3-(2-(3,4-dihydroxyphenyl)-7-hydroxybenzofuran-4-yl)acryloyl)-L-phenylalaninate (**5d**)

准确称取 Tournefollic acid A (35 mg, 0.112 mmol) 于 25 mL 圆底烧瓶中, 加入 DMF/CH₂Cl₂ 3 mL (4: 1 v/v), 超声至样品溶解, 冰浴冷却, 加入 EDCI (30.2 mg, 0.157 mmol), HoBt (21.2 mg, 0.157 mmol), 冰浴冷却 10 min, 并不断搅拌。加入 L-苯丙氨酸甲酯盐酸盐 (28.9 mg, 0.134 mmol), Et₃N (33.9 mg, 0.336 mmol), 冰浴中反应 30 min 后放置至室温搅拌, TLC (氯仿/甲醇/甲酸 8: 1: 1) 不断监测反应, 直至原料基本消失。待停止反应后, 蒸干溶剂, 加 15 mL 蒸馏水稀释样品, 冰浴冷却下滴加几滴 10% HCl 水溶液, 充分震荡。用乙酸乙酯 (15 mL × 3) 萃取, 合并有机层, 浓缩, 饱和食盐水洗涤, MgSO₄ 干燥, 混合物经硅胶柱 (氯仿/甲醇 20: 1 → 10: 1 v/v) 纯化, 得反应产物 **5d** (24.3 mg, yield 46%)。

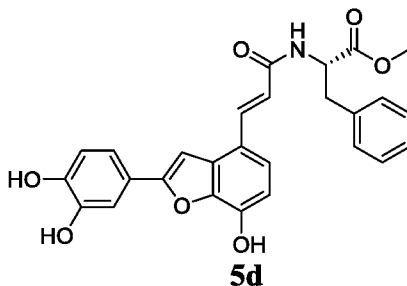
对步骤 (1) 中得到的反应产物进行结构解析。

理化性质: 黄绿色粉末 (TLC R_f = 0.69 氯仿/甲醇/甲酸 8: 1: 1)。

波谱信息: ¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz) δ 7.73 (d, 1H, *J* = 15.9 Hz), 7.39 (s, 1H), 7.34 (d,

^1H , $J = 9.0$ Hz), 7.31-7.18 (m, 7H), 6.87 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz), , 6.71 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 6.65 (d, 1H, $J = 15.9$ Hz), 4.95-4.86 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.27-3.17 (dd, 1H, $J = 13.5, 5.7$ Hz), 3.12-3.01 (dd, 1H, $J = 13.5, 8.4$ Hz); ^{13}C NMR (CD_3OD , 75 MHz) δ 173.7, 169.3, 159.1, 148.0, 146.8, 145.3, 140.8, 138.2, 132.1, 130.2, 130.2, 129.5, 129.5, 127.9, 126.0, 123.5, 121.8, 120.2, 118.6, 118.3, 116.7, 113.4, 111.6, 99.5, 55.6, 52.7, 38.7. HR-MS (ESI) m/z : found 472.1414 $[\text{M}-\text{H}]^-$, calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{NO}_7$ 472.1402.

据以上波谱信息, 可鉴定化合物 **5d** 化学式为 $\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{NO}_7$, 其结构式如下。



(4) (*E*)-(3-(2-(3,4-dihydroxyphenyl)-7-hydroxybenzofuran-4-yl)acryloyl)-L-phenylalanine (**6d**)

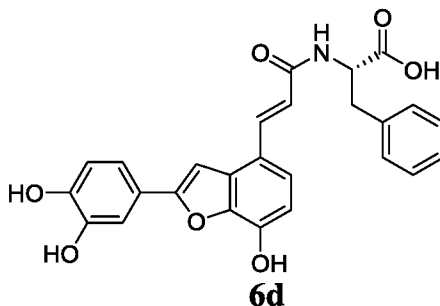
准确称取化合物 **5d** (16 mg, 0.034 mmol) 于二颈烧瓶中, 加入 $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ 5 mL (4: 1 v/v) 溶解, 加入 NaOH (14.9 mg, 0.372 mmol), 加热回流, 并 TLC (氯仿/甲醇/甲酸 8: 1: 1) 监测反应, 至反应完全。待停止反应后, 冰浴冷却反应液, 滴加 10% HCl 水溶液, 并不断搅拌至 pH 3~4, 浓缩蒸干, 加入蒸馏水 10 mL, 乙酸乙酯 (10 mL $\times$ 4) 萃取, 合并有机层, 浓缩, 饱和食盐水洗涤, MgSO_4 干燥, 样品混合物经制备型液相色谱 (Agilent zorbax- C_{18} , 5 μm , 20 $\times$ 250 mm) 分离, 流速 8 mL/min, 检测波长 281 nm, 流动相: 乙腈-0.1%甲酸-水, 得反应产物 **6d** (8.1 mg, yield 52%)。

对步骤 (1) 中得到的反应产物进行结构解析。

理化性质: 黄绿色粉末 (TLC $R_f = 0.53$ 氯仿/甲醇/甲酸 8: 1: 1)。

波谱信息: ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz) δ 8.20 (br s, 2H), 7.54 (d, 1H, $J = 15.9$ Hz), 7.42 (s, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.30-7.20 (m, 7H), 6.88 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz), 6.79-6.69 (t, 2H, $J = 15.9$ Hz), 4.63 (m, 1H), 3.16-3.08 (m, 1H), 3.01-2.91 (m, 1H); ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 75 MHz) δ 173.2, 165.5, 156.9, 146.9, 145.7, 143.8, 142.7, 137.73, 137.68, 129.6, 129.1, 129.1, 128.2, 128.2, 126.4, 125.6, 121.0, 119.0, 118.5, 116.9, 116.1, 112.4, 110.5, 96.9, 53.7, 37.2. HR-MS (ESI) m/z : found 458.1252 $[\text{M}-\text{H}]^-$, calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{NO}_7$ 458.1245.

据以上波谱信息, 可鉴定化合物 **6d** 化学式为 $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{NO}_7$, 其结构式如下。



实施例 5

5. 芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物 **5e**, **6e** 的合成

(1) - (2) 同实施例 1 中制备中间体的方法。

(3) Methyl (*E*)-(3-(2-(3,4-dihydroxyphenyl)-7-hydroxybenzofuran-4-yl)acryloyl)-L-tyrosinate (**5e**)

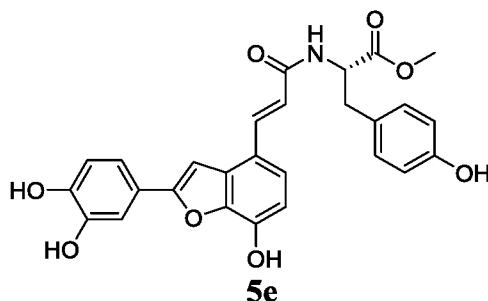
准确称取 Tournefollic acid A (33 mg, 0.106 mmol) 于圆底烧瓶中, 加入 DMF/CH₂Cl₂ 4 mL (3: 1 v/v), 超声至样品完全溶解, 冰浴冷却, 加入 EDCI (30.4 mg, 0.158 mmol), HoBt (21.5 mg, 0.159 mmol), 冰浴冷却 10 min, 并不断搅拌。加入 L-酪氨酸甲酯盐酸盐 (29.4 mg, 0.127 mmol), Et₃N (32.1 mg, 0.318 mmol), 冰浴中反应 30 min 后至室温搅拌, TLC (氯仿/甲醇/甲酸 8: 1: 1) 不断监测反应, 直至原料基本消失。待停止反应后, 蒸干溶剂, 加 15 mL 蒸馏水稀释样品, 冰浴冷却, 滴加 10% HCl 水溶液, 充分震荡。用乙酸乙酯 (15 mL × 4) 萃取, 合并有机层, 减压浓缩, 饱和食盐水洗涤, MgSO₄ 干燥。样品混合物经硅胶柱 (氯仿/甲醇 15: 1 → 10: 1 v/v) 分离纯化, 得衍生物 **5e** (28.0 mg, yield 54%)。

对步骤 (3) 中得到的反应产物进行结构解析。

理化性质: 黄绿色粉末 (TLC R_f = 0.64 氯仿/甲醇/甲酸 8: 1: 1)。

波谱信息: ¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz) δ 7.73 (d, 1H, *J* = 16.2 Hz), 7.39 (s, 1H), 7.37-7.32 (d, 1H, *J* = 8.1 Hz), 7.26 (s, 1H), 7.06 (d, 2H, *J* = 8.4 Hz), 6.90-6.82 (m, 2H, *J* = 7.5 Hz), 6.74-6.64 (m, 4H), 4.69-4.58 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.16-3.07 (dd, 1H, *J* = 13.5, 6.0 Hz), 3.02-2.94 (dd, 1H, *J* = 13.5, 8.1 Hz); ¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz) δ 174.5, 169.2, 159.3, 155.7, 147.3, 146.6, 145.2, 143.9, 141.7, 130.2, 130.2, 129.2, 124.3, 123.0, 122.0, 121.6, 120.2, 119.8, 116.9, 115.8, 115.8, 114.2, 108.4, 99.8, 56.2, 52.0, 38.2. HR-MS (ESI) *m/z*: found 488.1353 [M-H]⁻, calcd. for C₂₇H₂₃NO₈ 488.1351.

据以上波谱信息, 可鉴定化合物 **5e** 化学式为 C₂₇H₂₃NO₈, 其结构式如下。



(4) (*E*)-(3-(2-(3,4-dihydroxyphenyl)-7-hydroxybenzofuran-4-yl)acryloyl)-L-tyrosine (**6e**)

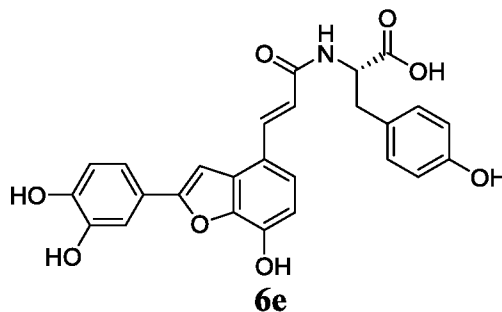
准确称取化合物 **6e** (19 mg, 0.039 mmol) 于二颈烧瓶中, 加入 MeOH/H₂O 5 mL (4: 1 v/v) 溶解, 加入 NaOH (14.0 mg, 0.350 mmol), 加热回流反应, 并 TLC (氯仿/甲醇/甲酸 8: 1: 1) 监测反应至反应完全。停止反应后, 冰浴冷却反应液, 滴加 10% HCl 水溶液并不断搅拌, 至 pH 3~4, 浓缩蒸干, 加入蒸馏水 10 mL, 用乙酸乙酯 (10 mL × 4) 萃取, 合并有机层, 减压浓缩, 饱和食盐水洗涤, MgSO₄ 干燥。样品混合物经制备型液相色谱 (Agilent zorbax, SB-C₁₈, 5 μm, 20 × 250 mm) 分离, 流速 8 mL/min, 检测波长 281 nm, 流动相: 乙腈-0.1%甲酸-水, 得反应产物 **6e** (11.8 mg, yield 62%)。

对步骤（1）中得到的反应产物进行结构解析。

理化性质：黄绿色粉末（TLC R_f = 0.5 氯仿/甲醇/甲酸 8: 1: 1）。

波谱信息： ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 7.95 (br s, 1H), 7.50 (d, 1H, J = 16.2 Hz), 7.47 (s, 1H), 7.36 (s, 1H), 7.28 (d, 1H, J = 8.1 Hz), 7.20 (d, 1H, J = 8.1 Hz), 7.06-6.98 (m, 2H), 6.87 (d, 1H, J = 8.1 Hz), 6.79 (d, 1H, J = 16.2 Hz), 6.74 (d, 1H, J = 8.1 Hz), 6.65-6.59 (m, 2H), 4.66 (m, 1H), 3.09-3.01 (q, 1H), 2.89-2.80 (q, 1H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ 174.3, 165.2, 156.9, 155.7, 147.0, 145.8, 143.8, 142.7, 137.3, 130.1, 130.1, 129.4, 128.4, 125.8, 121.0, 119.6, 118.6, 116.9, 116.2, 114.8, 114.8, 112.5, 112.5, 99.1, 54.8, 36.8. HR-MS (ESI) m/z : found 474.1201 [M-H] $^-$, calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{NO}_8$ 474.1194.

据以上波谱信息，可鉴定化合物 **6e** 化学式为 $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{NO}_8$ ，其结构式如下。



实施例 6

6. 芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物 **5f**, **6f** 的合成

(1) - (2) 同实施例 1 中制备中间体的方法。

(3) Methyl (*E*)-(3-(2-(3,4-dihydroxyphenyl)-7-hydroxybenzofuran-4-yl)acryloyl)-L-tryptophanate (**5f**)

准确称取 Tournefollic acid A (41 mg, 0.131 mmol) 于圆底烧瓶中，加入 DMF/ CH_2Cl_2 5 mL (5: 1 v/v)，超声至样品完全溶解，冰浴冷却至 0 °C，加入准确称量的 EDCI (37.8 mg, 0.197 mmol)，HoBt (26.5 mg, 0.196 mmol)，冰浴冷却 10 min，并不断搅拌。加入准确称取的 L-色氨酸甲酯盐酸盐 (39.9 mg, 0.157 mmol)， Et_3N (39.7 mg, 0.393 mmol)，冰浴中反应 30 min 后放置至室温搅拌，TLC (氯仿/甲醇/甲酸 8: 1: 1) 不断监测反应，直至原料基本消失。待停止反应后，蒸干溶剂，加 15 mL 蒸馏水稀释样品，滴加 10% HCl 水溶液，冰浴冷却下充分震荡。用乙酸乙酯 (15 mL $\times$ 4) 萃取，合并有机层，减压浓缩，饱和食盐水洗涤， MgSO_4 干燥。样品混合物经硅胶柱分离纯化 (氯仿/甲醇 20: 1 $\rightarrow$ 12: 1 v/v)，得衍生物 **5f** (28.2 mg, yield 42%)。

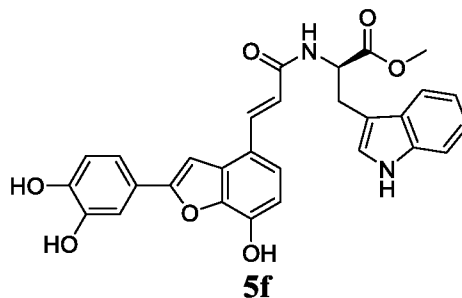
对步骤（3）中得到的反应产物进行结构解析。

理化性质：黄绿色粉末（TLC R_f = 0.71 氯仿/甲醇/甲酸 8: 1: 1）。

波谱信息： ^1H NMR (CD_3OD , 300 MHz) δ 7.74 (d, 1H, J = 15.6 Hz), 7.56 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 7.40-7.29 (m, 3H), 7.28-7.20 (m, 2H), 7.11 (s, 1H), 7.10-7.05 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 7.04-6.98 (t, 1H, J = 7.5, 7.2 Hz), 6.86 (d, 1H, J = 6.6 Hz), 6.75-6.69 (d, 1H, J = 6.0 Hz), 6.69-6.62 (d, 1H, J = 15.6 Hz), 4.95-4.89 (m, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.43-3.35 (m, 1H), 3.29-3.20 (m, 1H); ^{13}C NMR (CD_3OD , 75 MHz) δ 174.2, 169.4, 159.1, 148.2, 147.0, 145.9, 144.7, 140.8, 138.9, 138.1, 132.0, 128.8, 126.1, 124.4, 123.5, 122.5, 120.0, 119.9, 119.2, 118.6, 118.3, 117.3, 116.7, 113.4, 112.3, 111.8, 99.5, 55.2, 52.7, 28.8. HR-MS (ESI) m/z : found 511.1508 [M-H] $^-$, calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{NO}_7$

511.1511.

据以上波谱信息，可鉴定化合物 **5f** 化学式为 $C_{29}H_{24}N_2O_7$ ，其结构式如下。



(4) (*E*)-[3-(2-(3,4-dihydroxyphenyl)-7-hydroxybenzofuran-4-yl)acryloyl]-D-tryptophan (**6f**)

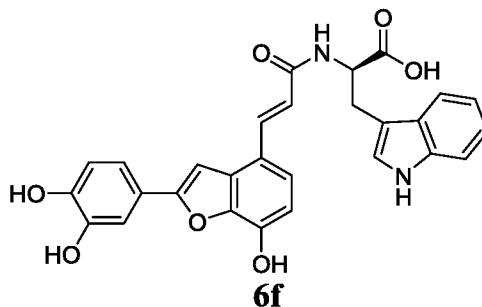
准确称取化合物 **5f** (20 mg, 0.039 mmol) 于二颈烧瓶中，加入 MeOH/H₂O 5 mL (4: 1 v/v) 溶解，加入 NaOH (18.8 mg, 0.469 mmol)，加热回流反应，并 TLC (氯仿/甲醇/甲酸 8: 1: 1) 监测反应，至反应完全。待反应停止，冰浴冷却反应混合液，滴加 10% HCl 液并不断搅拌，至 pH 3~4，浓缩蒸干，加入蒸馏水 10 mL，用乙酸乙酯 (10 mL × 4) 萃取，合并有机层，浓缩，饱和食盐水洗涤，MgSO₄ 干燥。样品混合物经制备型液相色谱 (Agilent zorbax-C₁₈, 5 μm, 20 × 250 mm) 分离，流速 8 mL/min，检测波长 281 nm，流动相：乙腈-0.1%甲酸-水，得反应产物 **6f** (10.7 mg, yield 55%)。

对步骤 (1) 中得到的反应产物进行结构解析。

理化性质：黄绿色粉末 (TLC R_f = 0.58 氯仿/甲醇/甲酸 8: 1: 1)。

波谱信息：¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 10.85 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.62-7.56 (t, 2H, *J* = 16.2 Hz), 7.44 (s, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.34 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz), 7.29 (d, 1H, *J* = 8.7 Hz), 7.24 (d, 1H, *J* = 8.1 Hz), 7.18 (s, 1H), 7.09-7.03 (t, 1H, *J* = 7.5 Hz), 7.01-6.96 (t, 1H, *J* = 7.5 Hz), 6.89 (d, 1H, *J* = 8.1 Hz), 6.80 (d, 1H, *J* = 16.2 Hz), 6.75 (d, 1H, *J* = 9.3 Hz), 4.72 (dd, 1H, *J* = 12.8, 7.4 Hz), 3.69 (dd, 1H, *J* = 14.4, 4.8 Hz), 3.29-3.20 (dd, 1H, *J* = 14.4, 7.8 Hz); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ 173.7, 165.7, 157.0, 147.0, 145.8, 143.9, 142.8, 137.9, 136.2, 129.6, 127.4, 125.9, 123.6, 121.1, 121.0, 119.3, 118.7, 118.5, 118.4, 117.0, 116.2, 112.4, 111.5, 110.6, 110.0, 99.1, 53.2, 27.6. HR-MS (ESI) *m/z*: found 497.1368 [M-H]⁻, calcd. for C₂₈H₂₂N₂O₇ 497.1354.

据以上波谱信息，可鉴定化合物 **6f** 化学式为 $C_{28}H_{22}N_2O_7$ ，其结构式如下。



实施例 7

7. 芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物 **7** 的合成

(2*R*)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)-1-methoxy-1-oxopropan-2-yl (2*E*)-3-[2-(3,4-

dimethoxyphenyl)-7-methoxy-1-benzofuran-4-yl]prop-2-enoate (7)

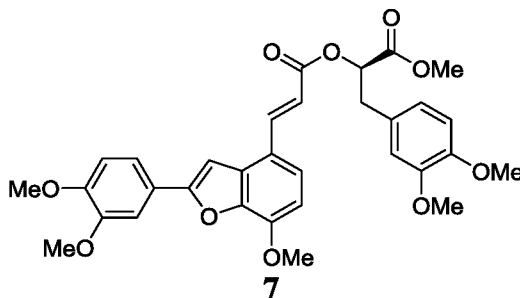
准确称取 Salvianolic acid C (206 mg, 0.419 mmol) 于圆底二颈烧瓶中, 加 15 mL Me₂CO 超声溶解, 准确称 (量) 取 K₂CO₃ (1.16 g, 8.374 mmol), Me₂SO₄ (714.5 mL, 7.542 mmol) 加入 salvianolic acid C 样品溶液中, 回流反应, 并 TLC (环己烷/乙酸乙酯 1: 1) 监测, 直至反应原料基本消失。待反应终止, 蒸干溶剂, 饱和 NH₄Cl 水溶液 (20 mL) 稀释, 用乙酸乙酯 (20 mL × 4) 萃取, 合并有机层, 饱和食盐水洗涤, MgSO₄ 干燥, 减压浓缩, 得混合物样品。用硅胶柱梯度洗脱 (环己烷/乙酸乙酯 10: 1, 5: 1 v/v), 得反应产物 7 (431 mg, yield 92%)。

对步骤 (1) 中得到的反应产物进行结构分析。

理化性质: 黄色粉末 (TLC R_f = 0.62 环己烷/乙酸乙酯 1: 1)。

波谱信息: ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.96 (d, 1H, *J* = 15.9 Hz), 7.53 (dd, 1H, *J* = 8.4, 2.1 Hz), 7.39 (m, 2H), 7.17 (s, 1H), 6.97 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz), 6.82 (m, 4H), 6.50 (d, 1H, *J* = 15.9 Hz), 5.41 (q, 1H, *J* = 13.2, 7.5, 5.4 Hz), 4.09 (s, 3H), 4.03 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 3.21 (dd, 2H, *J* = 5.1, 2.1 Hz); ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 170.5, 166.7, 157.6, 150.1, 149.2, 148.8, 148.8, 146.9, 144.1, 143.7, 130.7, 128.4, 125.8, 122.7, 121.4, 121.4, 118.5, 114.9, 112.5, 111.3, 111.2, 108.2, 106.6, 99.2, 73.1, 56.2, 56.2, 56.0, 55.8, 55.8, 52.4, 37.2. HR-MS (ESI) *m/z*: found 577.2068 [M+H]⁺, calcd. for C₃₂H₃₂O₁₀ 577.2079.

根据以上波谱信息, 可鉴定化合物 7 化学式为 C₃₂H₃₂O₁₀, 其结构如下式。



实施例 8

8. 芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物 9a 的合成

Methyl (*S,E*)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-(3-(2-(3,4-dimethoxyphenyl)-7-methoxybenzofuran-4-yl)acrylamido)propanoate (9a)

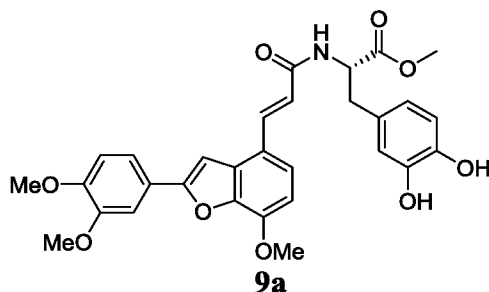
准确称取反应中间体于圆底烧瓶中, 加入 DMF/CH₂Cl₂ 5 mL (v/v 2: 5), 超声至样品溶解, 冰浴冷却至 0 °C, 加入 EDCI (27.4 mg, 0.143 mmol), HoBt (19.3 mg, 0.143 mmol), 冰浴冷却 10 min 并不断搅拌。加入 L-丙氨酸甲酯盐酸盐 (30.3 mg, 0.169 mmol), Et₃N (36.1 mg, 0.357 mmol), 冰水浴中反应 30 min 后放置至室温, TLC (环己烷/乙酸乙酯 5: 2 v/v) 监测反应, 至原料基本消失。待反应完全, 蒸干溶剂, 加入蒸馏水 15 mL 稀释样品, 滴加几滴 10% HCl 水溶液, 充分震荡。用乙酸乙酯 (15 mL × 3) 萃取, 得有机层, 浓缩, 并依次用饱和 NaHCO₃ 水溶液和饱和食盐水洗涤, MgSO₄ 干燥, 得样品混合物。经硅胶柱层析 (氯仿/甲醇 80: 1) 等度洗脱, 得到反应产物 9a (37.7 mg, yield 52%)。

对步骤 (1) 中得到的反应产物进行结构解析。

理化性质: 黄绿色粉末 (TLC R_f = 0.57 环己烷/乙酸乙酯 5: 2)。

波谱信息: ^1H NMR (CD_3OD , 300 MHz) δ 7.71 (d, 1H, $J = 15.6$ Hz), 7.46 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz), 7.42 (s, 1H), 7.37-7.26 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz), 7.01 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz), 6.83 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz), 6.73-6.65 (t, 3H, $J = 15.6$ Hz), 6.56 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz), 4.77-4.60 (dd, 1H, $J = 14.4, 7.8$ Hz), 4.02 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.13-3.01 (dd, 1H, $J = 13.2, 5.4$ Hz), 2.99-2.91 (dd, 1H, $J = 13.2, 7.8$ Hz); ^{13}C NMR (CD_3OD , 75 MHz) δ 173.8, 169.0, 158.5, 151.5, 150.8, 147.8, 146.3, 145.4, 140.5, 131.4, 129.5, 126.2, 124.4, 122.7, 121.7, 121.6, 119.54, 119.49, 117.3, 116.4, 113.2, 109.8, 107.9, 100.3, 56.71, 56.67, 56.5, 55.8, 52.7, 38.2. HR-MS (ESI) m/z : found 546.1777 $[\text{M}-\text{H}]^-$, calcd. for $\text{C}_{30}\text{H}_{29}\text{NO}_9$ 546.1770.

根据以上波谱信息, 可鉴定化合物 **9a** 化学式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{29}\text{NO}_9$, 其结构如下。



实施例 9

9. 芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物 **10a** 的合成

(*S,E*)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-(3-(2-(3,4-dimethoxyphenyl)-7-methoxybenzofuran-4-yl)acrylamido)propanoic acid (**10a**)

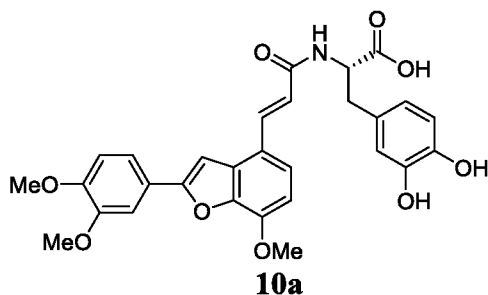
准确称取化合物 **9a** (20 mg, 0.039 mmol) 于二颈烧瓶中, 加入 $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ 5 mL (4: 1 v/v) 溶解, 加入 NaOH (18.8 mg, 0.469 mmol), 加热回流, 并 TLC (环己烷/乙酸乙酯/甲酸 2: 1: 0.1% v/v/v) 监测反应至反应完全。待反应停止, 冰浴冷却反应液, 滴加 10% HCl 液并不断搅拌, 至 pH 3~4, 浓缩蒸干, 加入蒸馏水 10 mL, 乙酸乙酯 (10 mL $\times$ 4) 萃取, 合并有机层, 浓缩, 饱和食盐水洗涤, MgSO_4 干燥。样品经制备型液相色谱 (Agilent zorbax- C_{18} , 5 μm , 20 $\times$ 250 mm) 分离, 流速 8 mL/min, 检测波长 281 nm, 流动相: 乙腈-0.1%甲酸-水, 得反应产物 **10a** (10.7 mg, yield 55%)。

对步骤 (1) 中得到的反应产物进行结构解析。

理化性质: 黄绿色粉末 (TLC $R_f = 0.36$ 环己烷/乙酸乙酯/甲酸 4: 1: 0.1%)。

波谱信息: ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz) δ 8.20-8.09 (t, 1H, $J = 7.8$ Hz), 7.68 (s, 1H), 7.62 (d, 1H, $J = 15.9$ Hz), 7.55-7.45 (m, 2H), 7.41 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz), 7.11 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz), 6.98 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 6.82 (d, 1H, $J = 15.9$ Hz), 6.67-6.58 (m, 2H), 6.49 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz), 4.58-4.46 (dd, 1H, $J = 13.6, 7.4$ Hz), 4.01 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.00-2.92 (dd, 1H, $J = 14.1, 4.8$ Hz), 2.83-2.75 (dd, 1H, $J = 13.6, 7.4$ Hz); ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 75 MHz) δ 173.4, 165.2, 156.5, 149.9, 149.2, 145.7, 144.9, 143.9, 143.0, 136.8, 129.5, 128.4, 124.6, 122.2, 120.6, 120.3, 119.9, 117.9, 116.6, 115.3, 112.1, 108.4, 107.2, 100.0, 56.0, 55.8, 55.7, 54.2, 36.7. HR-MS (ESI) m/z : found 532.1620 $[\text{M}-\text{H}]^-$, calcd. for $\text{C}_{29}\text{H}_{27}\text{NO}_9$ 532.1613.

根据以上波谱信息, 可鉴定化合物 **10a** 的化学式为 $\text{C}_{29}\text{H}_{27}\text{NO}_9$, 其结构如下式。



实施例 10

10. 芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物 **9b** 的合成

Methyl (*R,E*)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-(3-(2-(3,4-dimethoxyphenyl)-7-methoxybenzofuran-4-yl)acrylamido)propanoate (**9b**)

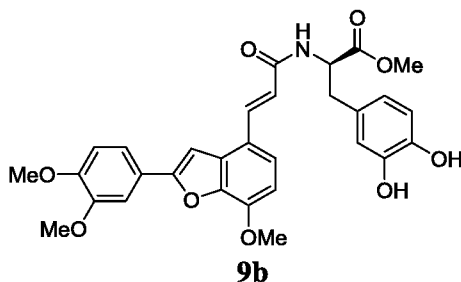
准确称取反应中间体于圆底烧瓶中，加入 DMF/CH₂Cl₂ 5 mL (v/v 2: 5)，超声至样品溶解，冰浴冷却至 0 °C，加入 EDCI (31.4 mg, 0.152 mmol)，HoBt (26.3 mg, 0.167 mmol)，冰浴冷却 10 min 并不断搅拌。加入 D-丙氨酸甲酯盐酸盐 (37 mg, 0.181 mmol)，Et₃N (39 mg, 0.371 mmol)，N₂ 保护，冰浴中反应 30 min 后放置至室温，TLC (环己烷/乙酸乙酯 5: 2 v/v) 不断监测反应，直至原料基本消失。待反应完全后，蒸干溶剂，加入蒸馏水 15 mL 稀释样品，滴加几滴 10% HCl 水溶液，充分震荡。用乙酸乙酯 (15 mL × 3) 萃取，得有机层，浓缩，并依次用饱和 NaHCO₃ 水溶液和饱和食盐水洗涤，MgSO₄ 干燥，得样品混合物。经硅胶柱层析 (环己烷/乙酸乙酯 12: 1) 等度洗脱，得到反应产物 **9b** (45.7 mg, yield 66%)。

对步骤 (1) 中得到的反应产物进行结构解析。

理化性质：黄绿色粉末 (TLC R_f = 0.56 环己烷/乙酸乙酯 5: 2)。

波谱信息：¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.61 (d, 1H, *J* = 15.3 Hz), 7.46-7.39 (m, 1H), 7.37-7.28 (m, 2H), 7.12 (d, 1H, *J* = 8.1 Hz), 6.93-6.89 (m, 2H), 6.65-6.60 (d, 2H, *J* = 8.1 Hz), 6.53-6.48 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz), 6.28 (d, 1H, *J* = 15.3 Hz), 5.02-4.90 (dd, 1H, *J* = 13.8, 4.8 Hz), 3.97 (s, 3H), 3.91 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 3.49 (s, 3H), 3.24-3.11 (dd, 1H, *J* = 14.4, 5.4 Hz), 3.09-2.95 (dd, 1H, *J* = 14.4, 4.8 Hz); ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 172.5, 167.2, 157.3, 150.0, 149.3, 146.5, 144.4, 143.9, 140.1, 136.0, 130.9, 127.9, 124.1, 122.9, 121.2, 119.8, 118.6, 117.3, 116.3, 115.4, 111.4, 108.4, 106.6, 99.0, 56.3, 56.2, 56.1, 54.0, 52.6, 37.3. HR-MS (ESI) *m/z*: found 546.1777 [M-H]⁻, calcd. for C₃₀H₂₉NO₉ 546.1770.

根据以上波谱信息，可鉴定化合物 **9b** 化学式为 C₃₀H₂₉NO₉，其结构如下。



实施例 11

芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物及反应试剂（氨基衍生物）的黄嘌呤氧化酶抑制活性测定

11.1 试剂与标准溶液的配制

(1) 75 mM 磷酸缓冲液 (PB, pH 7.4) : 含 KH_2PO_4 0.0956 g, K_2HPO_4 0.6946 g, EDTA 1.862 mg, 用纯水稀释至 50 mL, 用于稀释样品和其它试剂;

(2) XOD 溶液: 取 25 U/2.6 mL 的 XOD, 用 75 mM 的 PB 溶液稀释至 0.08 U/mL 的 XOD 工作液, 用移液枪吹匀, 置于冰上保存, 待用;

(3) 底物配制: 精密称取适量黄嘌呤 (XA) 加入 0.1 N NaOH 溶液 5 mL 中, 超声溶解, 后者中加入 75 mM PB 溶液 95 mL, 配制终浓度为 0.48 mM 的底物母液, 涡旋混匀 1 min, 每次实验前新鲜配制;

(4) 供试药物配制: 精密称取受试药物适量, 用 DMSO 溶解配制为 10 mM 的储备液, 于 -20 °C 避光保存。实验前用 PB 稀释至不同浓度 (0~100 mM), DMSO 含量小于 0.1%。

11.2 实验步骤

(1) 在 96 孔板上加入不同浓度的待测样品溶液 100 μL , 再加入 0.08 U/mL XOD 50 μL , 并以相同体积的 PB 作为空白对照, 以别嘌呤醇 (Allopurinol) 为阳性对照, 在酶标仪上 37 °C 孵育 3 min, 每组平行设置 4 个复孔。

(2) 加入底物 0.48 mM XA 50 μL 启动反应, 在波长 295 nm 处每隔 15 s 读数一次, 记录吸光值, 共计 7 min。数据处理: 使用 Excel 分析处理数据, 并用 GraphPad Prism 6.0.2 计算得到半数抑制浓度 (IC_{50})。

(3) 测定结果如表 1 所示, 合成得到的多数苯并呋喃酰胺化衍生物均具有较显著地黄嘌呤氧化酶抑制活性。

表 1 苯并呋喃类酰胺化衍生物对黄嘌呤氧化酶的抑制活性

Compound	IC_{50} (μM)	Compound	IC_{50} (μM)
^a			
Allopurinol ^b	2.31	Salvianolic acid C	8.26
5a	9.88	6a	4.81
5b	3.99	6b	12.12
5c	10.8	6c	6.36
5d	14.91	6d	6.04
5e	13.48	6e	4.51
5f	31.72	6f	4.98
7	>60	9a	>60
9b	>60	10a	>60
L-dopa	>60	D-dopa	>60
L-phe	>60	L-ala	>60
L-trp	>60	L-tyr	>60
L-cys	>60	L-met	>60

^a IC_{50} 值均为四次平行实验的均结果;

^b 文献报道: $\text{IC}_{50} = 2.55 \mu\text{M}$;

实施例 12

采用 DPPH 自由基清除实验对合成得到的苯并呋喃类酰胺化衍生物进行抗氧化活性评价。

12.1 试剂与标准溶液的配制

(1) DPPH 溶液的配制：精密称取适量 DPPH，加入 MeOH 超声溶解，配制 10 mM 储备液，-20 °C 保存。实验前用 MeOH 稀释至 0.1 mM，避光保存；

(2) 供试药物的配制：精密称取受试药物适量，用 MeOH 溶解配制 10 mM 储备液，-20 °C 避光保存。实验前用 MeOH 稀释至不同浓度 (0~100 mM)。

12.2 实验步骤

(1) 在 96 孔板上加入不同浓度的待测样品溶液 100 μ L，再加入 0.1 mM DPPH 溶液 100 μ L，并以相同体积的 MeOH 作为空白对照，以槲皮素 (Quercetin) 作为阳性对照，在酶标仪上 37 °C 摇晃混匀 1 min 后，暗处放置 30 min，每组平行设置 3 个复孔。

(2) 在波长 517 nm 处用酶标仪记录其吸光值，数据处理：使用 Excel 分析处理数据，并用 GraphPad Prism 6.0.2 计算得到半数抑制浓度 (IC₅₀)。

(3) 测定结果如表 2 所示，大部分芳基苯并呋喃衍生物均具有较明显的抗氧化作用，由其结构可推测邻酚羟基对其清除自由基能力有着重要影响。

表 2 苯并呋喃类酰胺化衍生物抗氧化活性

Compound	IC ₅₀ (μ M) ^a	Compound	IC ₅₀ (μ M) ^a
Quercetin ^b	6.0	Salvianolic acid C	6.87
5a	8.79	6a	4.52
5b	3.9	6b	5.61
5c	11.95	6c	3.27
5d	8.66	6d	4.2
5e	47.25	6e	6.47
5f	12.37	6f	3.86
7	>100	9a	14.52
9b	19.04	10a	17.19

^a IC₅₀ 值均为三次平行实验的均结果；

^b 文献报道 IC₅₀= 9.1 μ M；

实施例 13

采用细胞模型评价合成得到的苯并呋喃类酰胺化衍生物的抗氧化活性评价（清除超氧阴离子的能力）。

哺乳动物巨噬细胞在吞噬细菌、衰老变性细胞、免疫复合物或氧化低密度脂蛋白后，吞噬细胞进入功能活化状态，细胞内溶酶体功能增强、ROS 水平增加，分泌合成炎症性细胞因子。脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS) 是革兰阴性菌细胞壁的主要成分，也是其致病的主要物质基础，可通过刺激单核/巨噬细胞产生并释放大量的活性氧（主要包括 O₂⁻ 和 H₂O₂）、一氧化氮 (NO)、IL-1 β 以及肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等炎症因子参与机体急性期应答，引起机体炎性损伤。本发明利用 LPS 刺激巨噬细胞模型来评价苯并呋喃类酰胺化衍生物在细胞水平清除超氧阴离子的抗氧化活性。

13.1 试剂与标准溶液的配制

(1) 待测药物: 精密称取受试药物适量, 用 DMSO 配制为 10 mM 的样品储备液, 并于 -20 °C 保存备用。

(2) LPS: 精密称取造模剂 LPS 适量, 用 DMEM 配制为 0.1 µg/mL 的样品储备液, 并于 -20 °C 保存备用。

(3) 探针稳定剂 DTPA: 精密称取 DTPA 适量, 用 DMSO 配制为 20 mM 的样品储备液, 并用 PB 稀释成 100 µM, 于 4 °C 保存备用。

(4) HE: 在厌氧、避光条件下用二甲基亚砷溶解探针配制成 20 mmol/L 的储备溶液, 于 -80 °C 条件下避光保存。使用前取出, 用 DMEM 配制成 10 µmol/L 溶液, 置于冰上避光保存备用。

13.2 实验步骤

LPS 刺激巨噬细胞 RAW 264.7 造模并给药:

(1) RAW 264.7 细胞接种于培养皿 (60 mm), 每皿 4 mL, 置于饱和湿度, 37 °C 的 5% CO₂ 孵箱中培养。实验分为空白组、模型组和给药组, 其中模型组和给药组分别加入造模剂 LPS (以 DMEM 配制为), 实验优选的 LPS 浓度为 0.1 µg/mL, 造模时间 24 h, 以维生素 E 为阳性对照。

(2) 细胞培养 12 h 后, 吸弃去上清液, 加入含 0.1 µg/mL LPS 培养基配置的终浓度为 10 µM 的待测药物, 每个待测样品分别设两个平行复孔。

(3) 继续置于细胞培养箱中培养 24 h 后, 弃去上清液, 用 PBS 冲洗细胞, 加入含有探针 HE (10 µM) 的 DMEM 培养基, 避光培养 30 min。

(4) 随后用冰冷的 PBS/ (100 µM) DTPA 冲洗细胞两次, 再加入 1 mL PBS/ (100 µM) DTPA, 用刮刀将细胞分为两份 (700 µL 和 300 µL) 分别收集至 EP 管中, 4 °C, 13000 rpm 离心 10 min, 去除上清液, 将细胞团块置于 -80 °C 保存待用。其中前者含 700 µL 细胞液用于检测物 2-OH-E⁺ 的 LC-MS 含量测定, 后者含 300 µL 细胞液用于细胞蛋白浓度的测定。

13.3 LC-MS 分析条件、待测样品前处理及数据处理方法

(1) LC-MS 色谱条件: 仪器: Agilent 1100 series LC-QMS; 色谱柱: Agilent Zorbax SB-Aq (4.6 × 50 mm, 1.8µm); 流动相: 0.1%甲酸-水 (A 相); 0.1%甲酸-乙腈 (B); 梯度条件: 0~2 min, 5%~30%B; 2~5 min, 30%B; 5~7 min, 30%~100%B; 7~10 min, 100%B; 流速: 1 mL/min; MS 条件: positive ion mode, SIM (SIM1: 1.2~3 min [M+H]⁺288 (加兰他敏); 3~10 min [M]⁺330 (2-OH-E⁺)); 裂解电压: 120 V; 氮气流速: 10.0 L/min;

(2) 待测样品前处理: 每个 EP 管中加入 500 µL 乙腈, 避光, 超声 (10 s, 八个循环, 100W), 并于 4 °C, 12,000 g 离心 10 min 后, 取其上清液转移到 1.5 mL EP 管中, 真空干燥 1 h, 得红色干燥物并用 100 µL 质谱水复溶样品, 同时加入内标物加兰他敏, 使其待测样品终浓度为 0.1 µM。待测样品于 4 °C, 13,000 rpm 离心 10 min, 进 LC-MS 分析。

(3) 超氧阴离子清除率的计算: 通过峰面积/蛋白浓度来评价产物 2-OH-E⁺ 的生成量。化合物对 XOD 抑制率或 O₂^{•-} 的清除率按以下公式计算: O₂^{•-} 自由基清除率 = $\frac{[A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}]}{A_{\text{blank}}} \times 100\%$, 其中 A_{blank} 为对照组 2-OH-E⁺ 的峰面积值/蛋白浓度; A_{sample} 为样品组 2-OH-E⁺ 的峰面积值/蛋白浓度。

13.4 数据结果分析：结果如表 3 所示，与模型组相比，2-芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物 **5a**, **5b**, **5c**, **6b**, **6c**, **6d**, **6e** 及 Salvianolic acid C 对 LPS 刺激巨噬细胞 RAW 264.7 产生的超氧阴离子有较明显的清除作用。与 Ve 相比，衍生物 **5a**, **5b**, **5c**, **6b**, **6d** 和 **6e** 表现出更好的超氧阴离子清除活性。显示出芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物具有较好的抗氧化活性，尤其是衍生物 **5a**, **5b**, **5c**, **6b**, **6d** 和 **6e** 表现出优于 Ve 的超氧阴离子清除活性。

表 3 芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物对 RAW 264.7 中超氧阴离子的清除活性评价

Compounds	Decrease of 2-OH-E ⁺ (%)
Ve	53.18
Salvianolic acid C	37.82
5a	78.59
5b	74.16
5c	60.54
6b	80.81
6c	41.65
6d	81.27
6e	83.41

实施例 14

采用细胞模型评价苯并呋喃类酰胺化衍生物对尿酸生成的影响。

(1) 供试药物配制：精密称取受试药物适量，用 DMSO 配制为 10 mM 的样品储备液，并于 4 °C 保存备用。

(2) 实验步骤：正常肝细胞 L02 接种于 6 孔板中培养（铺板密度 1×10^6 个/mL），铺板 4 h 后，进行细胞实验。实验分为空白组、模型组和给药组，其中模型组和给药组分别加入造模剂黄嘌呤（以 DMSO 配制为储备液待用），空白组加入相同体积 DMSO，并以非布索坦（Febuxostat）作为阳性对照。阳性对照药非布索坦取 5 μM，受试药物用培养基稀释至所需浓度（10 μM，30 μM，50 μM）后，加入 6 孔板中，37 °C 度孵育 15 min 后，模型组、给药组分别加入终浓度为 10 μM 的黄嘌呤，每组分别设两个复孔，置于细胞培养箱中培养 24 h 后，收集培养基 100 μL 进行 LC-MS 分析。

(3) 质谱分析前处理：取 100 μL 收集的培养基，加入 MeOH 400 μL、CHCl₃ 100 μL 和 H₂O 300 μL，涡旋混匀，20000 g 离心 10 min，取上层浓缩干燥。H₂O 100 μL 复溶，并加入内标加兰他敏（1.25 μM）10 μL（终浓度为 0.125 μM），13000 rpm 离心 10 min，取上层进行 LC-MS 分析。

(3) 测定结果如表 4 所示，芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物 **5b**, **6e** 和 Salvianolic acid C (**1**) 对由黄嘌呤造模形成的肝细胞模型中尿酸的生成有较为明显的抑制作用，并呈现出一定的浓度依赖性。

表 4 苯并呋喃类酰胺化衍生物 **5b**, **6e** 对细胞模型中尿酸的抑制作用

Compound	浓度(μM)	抑制率(%)
Febuxostat	5	78.7
Salvianolic acid C (1)	10	15.2
	30	24.7
	50	31.2
5b	10	28.6
	30	46.1
	50	62.6
6e	10	31.5
	30	41.6
	50	57.2

实施例 15

采用氧嗪酸钾诱导的高尿酸血症动物模型评价苯并呋喃类酰胺化衍生物对小鼠血尿酸的影响

(1) 实验动物：昆明小鼠由扬州大学实验动物中心提供。给药前 12 h 及试验期间禁食，实验过程中不限制饮水。

(2) 供试药物配制：精密称取受试药物适量，用相应体积的生理盐水超声溶解至溶液澄清，配制为储备液，并于 4 °C 保存备用。

(3) 实验步骤：小鼠随机分为 9 组，每组 10 只：①正常对照组，②模型对照组，③衍生物 **5b** 低剂量组：20 mg/kg，④衍生物 **5b** 中剂量组：40 mg/kg，⑤衍生物 **5b** 高剂量组：80 mg/kg，⑥衍生物 **6e** 低剂量组：20 mg/kg，⑦衍生物 **6e** 中剂量组：40 mg/kg，⑧衍生物 **6e** 高剂量组：80 mg/kg，⑨阳性对照组：别嘌醇 20 mg/kg。供试药物用 0.5% 羧甲基纤维素钠 (CMC-Na) 配制成适宜浓度，正常组小鼠腹腔注射 0.5% 羧甲基纤维素钠，其余各组小鼠腹腔注射氧嗪酸钾 300 mg/kg。1 h 后正常组和模型组小鼠腹腔注射 0.5% 羧甲基纤维素钠，其余各组腹腔注射供试药物 10 mL/kg。给药 2 h 后摘眼球取血 500 μL ，室温放置 1 h，3000 rpm 离心 5 min，取上层血清于 -4 °C 保存。按尿酸检测试剂盒说明书方法测定小鼠血清中尿酸水平。同时取小鼠肝脏，生理盐水漂洗，取 100 mg，加 900 μL 预冷的生理盐水匀浆，离心，取上清按试剂盒说明书方法测定肝脏匀浆中黄嘌呤氧化酶活力。

(4) 测定结果如表 5 所示：小鼠腹腔注射氧嗪酸钾后，血中尿酸水平显著升高，与正常组相比，有显著性差异，表明造模成功。给药后，血清中的尿酸水平和肝脏中 XOD 活性均与浓度呈现一定的剂量依赖性。

表 5 衍生物 **5b**, **6e** 对氧嗪酸钾所致小鼠高尿酸血症模型的影响

组别	血清尿酸值 (mg/dl)	肝脏中黄嘌呤氧化 酶活性 (U/g 蛋白)
正常组	3.16±0.54	15.8±1.9
模型对照组	4.81±0.66	16.1±2.4
衍生物 5b 低剂量组	3.87±0.31 ^a	14.1±2.8 ^{**}
衍生物 5b 中剂量组	3.61±0.25 ^{**}	13.7±1.6 [*]
衍生物 5b 高剂量组	3.30±0.46 ^{**}	11.6±1.7 ^{**}
衍生物 6e 低剂量组	3.82±0.62 ^{**}	14.7±2.2 [*]
衍生物 6e 中剂量组	3.54±0.26 [*]	13.2±2.9 [*]
衍生物 6e 高剂量组	3.26±0.44 ^{**}	11.3±1.6 ^{**}
阳性对照组	3.18±0.50 ^{**}	10.2±1.4 ^{**}

^a 给药组与模型组相比: *P<0.05, **P<0.01。

实施例 16

为初步阐明所合成的系列 2-芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物与黄嘌呤氧化酶可能的结合模式及相互作用位点, 采用分子对接的方法 (Molecular docking experiment) 初步对 2-芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物 **6e**, **6b**, **5b** 和 Salvianolic acid (**1**) 与黄嘌呤氧化酶进行了作用机制研究。黄嘌呤氧化酶 (PDB code: 1FIQ) 由 A、B、C 三条亚基构成, 其中包含有三个活性结构域, 分别为 A 链中的 Fe/S 中心结构域, B 链中的 FAD 结构域和 C 链中的钼蝶呤结构域。在对接实验中, 使用 Febuxostat 和 Allopurinol 这两个已知黄嘌呤氧化酶抑制剂作为对照。分析分子对接结果, 根据打分函数确定, 认为化合物单体与黄嘌呤氧化酶结合能最低的对接构象为其优势构象。对接结果如图 3: 化合物 **1**, **6e**, **6b**, **5b** 及 Febuxostat 和 Allopurinol 的对接打分分别为 -7.1, -7.42, -7.25, -7.1, -8.19, -5.21。由图 3 可以看出, 化合物 **1**, **6e**, **6b** 和 Febuxostat 与多个相同的氨基酸残基发生相互作用, 如 Lys249, Lys256, Leu257, Val259, Ile264, Ile353, Arg394 和 Leu404, 表明化合物 **1**, **6e**, **6b** 可能与阳性药 Febuxostat 相似, 结合于黄嘌呤氧化酶相同的结构域而发挥着抑制该酶的活性。由图 3 还可以看出, 衍生物 **5b** 则与氨基酸残基 Pro1076, Phe1009, Thr1010, Arg880, Val1011, Leu1014, Glu802, Ser876, Glu879 发挥着相互作用, 且与残基 Phe1009, Thr1010 and Glu879 形成三个氢键, 这与阳性药 Allopurinol 相似, 可能作用于黄嘌呤氧化酶共同的结构域而发挥着酶抑制作用。同时还观察到, 氢键的形成和疏水性相互作用对于维系蛋白受体-配体构象的稳定发挥重要作用。

在图 3 活性化合物与黄嘌呤氧化酶分子对接实验结果中, (A) Febuxostat (B) Allopurinol (C) **6b** (D) **6e** (E) Salvianolic acid C (**1**) (F) **5b**。

实施例 17

衍生物 **5b** 的制剂

(1) 本发明的衍生物 **5b** 的片剂:

衍生物 **5b** 2 mg, 淀粉 88 g, 硬脂酸镁 3 g

制备工艺: 取本发明的衍生物 **5b** 过 100 目筛, 加淀粉、硬脂酸镁混合均匀, 制成颗粒, 干燥, 压片, 即得。

(2) 本发明的衍生物 **5b** 的胶囊

衍生物 **5b** 2 mg, 淀粉 88 g, 硬脂酸镁 3 g

制备工艺: 取本发明的衍生物 **5b** 过 100 目筛, 加淀粉、硬脂酸镁混合均匀, 制成颗粒, 干燥, 装胶囊, 即得。

(3) 本发明的衍生物 **5b** 的软胶囊

衍生物 **5b** 10 mg, 大豆卵磷脂 100 g

制备工艺: 取本发明的衍生物 **5b**, 加大豆软磷脂, 胶体磨混匀, 抽真空, 压制, 即得软胶囊。

(4) 本发明的衍生物 **5b** 的冻干粉:

衍生物 **5b** 2 g, 亚硫酸钠 4 g, 乙醇 50 mL, 加水定容至 1000 mL;

制备工艺: 取本发明的衍生物 **5b** 分散在乙醇中, 亚硫酸钠溶于水, 在超声或搅拌条件下将亚硫酸钠溶液逐渐加入, 使成澄清透明溶液; 补加水定容至足量; 经 0.22 μ m 微孔滤膜过滤, 冷冻干燥得到。

实施例 18

衍生物 **6e** 的制剂

(1) 本发明的衍生物 **6e** 的片剂:

衍生物 **6e** 2 mg, 淀粉 88 g, 硬脂酸镁 3 g

制备工艺: 取本发明的衍生物 **6e** 过 100 目筛, 加淀粉、硬脂酸镁混合均匀, 制成颗粒, 干燥, 压片, 即得。

(2) 本发明的衍生物 **6e** 的胶囊

衍生物 **6e** 2 mg, 淀粉 88 g, 硬脂酸镁 3 g

制备工艺: 取本发明的衍生物 **6e** 过 100 目筛, 加淀粉、硬脂酸镁混合均匀, 制成颗粒, 干燥, 装胶囊, 即得。

(3) 本发明的衍生物 **6e** 的软胶囊

衍生物 **6e** 10 mg, 大豆卵磷脂 100 g

制备工艺: 取本发明的衍生物 **6e**, 加大豆软磷脂, 胶体磨混匀, 抽真空, 压制, 即得软胶囊。

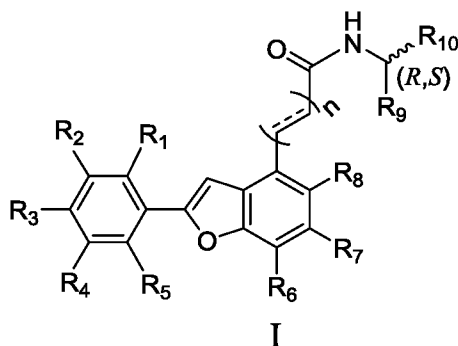
(4) 本发明的衍生物 **6e** 的冻干粉:

衍生物 **6e** 2 g, 亚硫酸钠 4 g, 乙醇 50 mL, 加水定容至 1000 mL;

制备工艺: 取本发明的衍生物 **6e** 分散在乙醇中, 亚硫酸钠溶于水, 在超声或搅拌条件下将亚硫酸钠溶液逐渐加入, 使成澄清透明溶液; 补加水定容至足量; 经 0.22 μ m 微孔滤膜过滤, 冷冻干燥得到。

上述实施例为本发明具有代表性的实施方案的举例说明, 仅仅是示例性的说明, 但本发明的实施方式并不受上述实施例的限制, 其他任何未背离本发明的精神实质与原理下所作的改变、修饰、替代、组合、简化, 均应为等效的置换方式, 都包含在本发明的保护范围之内。

1、一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，其结构通式如式 I 所示：

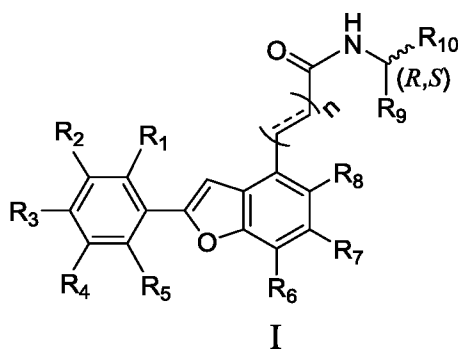


$R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8$ 各自独立为氢，羟基，卤素，硝基，苄基，未取代或经卤素、羟基、硝基、 C_{1-2} 烷氧基中选出 1~3 个取代基取代的 C_{1-4} 烷基，未取代或经卤素、羟基、硝基、 C_{1-2} 烷氧基中选出 1~2 个取代基取代的 C_{1-3} 烷氧基；

R_9 为氢，未取代或经卤素、羟基、巯基、 C_{1-3} 烷基、 C_{1-2} 烷氧基中选出 1~3 个取代基取代的 C_{1-4} 烷基，未取代或经卤素、羟基取代的 3-乙基-1H-吡啶，未取代或经卤素、羟基、 C_{1-2} 烷氧基取代的苯基，未取代或经卤素、羟基、 C_{1-2} 烷氧基取代的苄基，未取代或经卤素、羟基、 C_{1-2} 烷氧基取代的其他芳基（其中，所述卤素 $X = F, Cl, Br, n=1, 2, 3$ ），如 3,4-二羟基苄基，3,4-二甲氧基苄基，4-羟基苄基，4-甲氧基苄基等；

R_{10} 为氢、 $-COOH$ 、 $-COOCH_3$ 、 $-COOCH_2CH_3$ 、 $-COOCH(CH_3)_2$ 、 $-COO(CH_2)_2CH_3$ 或经卤素、羟基、 C_{1-3} 烷基、 C_{1-2} 烷氧基中选出 1~3 个取代基取代的 C_{1-4} 烷基。

2、根据权利要求 1 的一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，其特征在于：

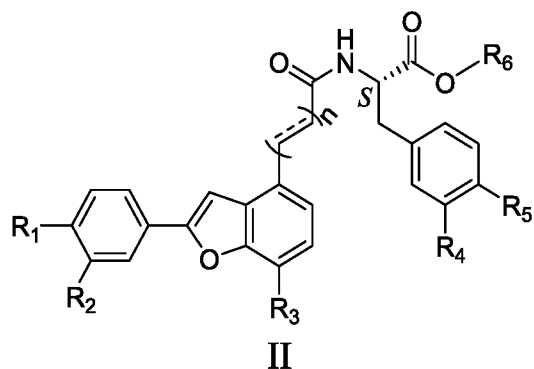


其中： R_3 ，或、和、 R_4 为羟基以外的其他取代基；

其中： R_9 ，或、和、 R_{10} 为氢以外的其他取代基；

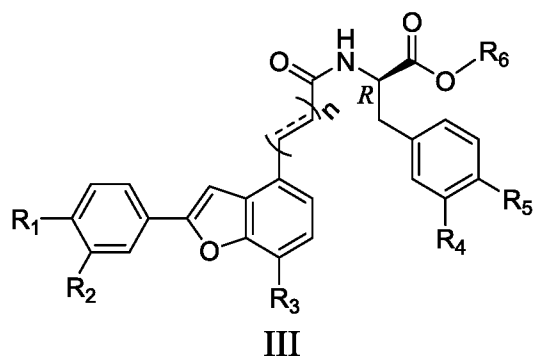
或；一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物：

结构通式如下任意一项所示：



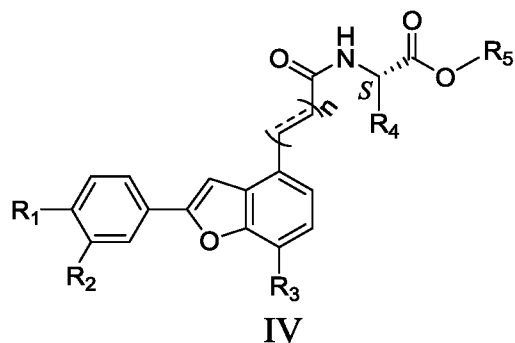
$R_1 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_2 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_3 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_4 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_5 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_6 = \text{H, CH}_3, \text{CH}_2\text{CH}_3, \text{CH}(\text{CH}_3)_2, (\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$
 $\text{X} = \text{F, Cl, Br}$
 $n = 1, 2, 3$

;



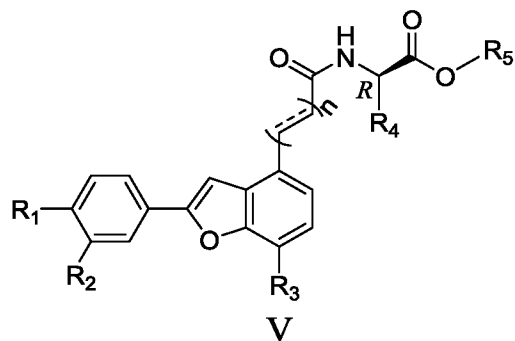
$R_1 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_2 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_3 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_4 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_5 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_6 = \text{H, CH}_3, \text{CH}_2\text{CH}_3, \text{CH}(\text{CH}_3)_2, (\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$
 $\text{X} = \text{F, Cl, Br}$
 $n = 1, 2, 3$

;



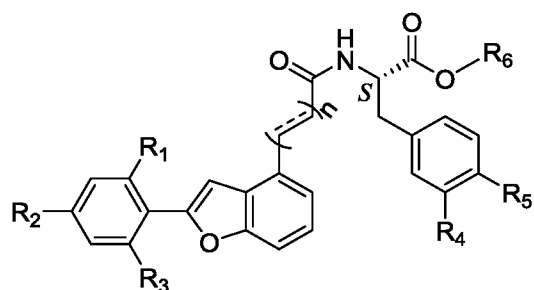
$R_1 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_2 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_3 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_4 = \text{CH}_3, \text{OCH}_3, \text{CH}_2\text{CH}_3, \text{CH}(\text{CH}_3)_2, (\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$
 $R_5 = \text{H, CH}_3, \text{CH}_2\text{CH}_3, \text{CH}(\text{CH}_3)_2, (\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$
 $\text{X} = \text{F, Cl, Br}$
 $n = 1, 2, 3$

;



$R_1 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_2 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_3 = \text{H, OH, X, CH}_3, \text{OCH}_3$
 $R_4 = \text{CH}_3, \text{OCH}_3, \text{CH}_2\text{CH}_3, \text{CH}(\text{CH}_3)_2, (\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$
 $R_5 = \text{H, CH}_3, \text{CH}_2\text{CH}_3, \text{CH}(\text{CH}_3)_2, (\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$
 $\text{X} = \text{F, Cl, Br}$
 $n = 1, 2, 3$

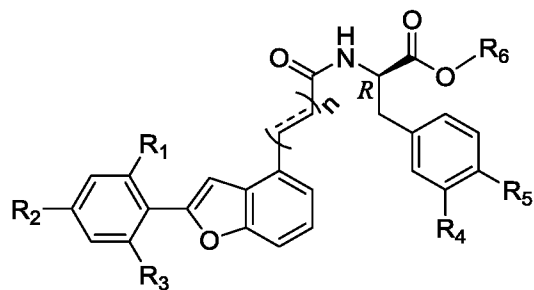
;



VI

$R_1 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_2 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_3 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_4 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_5 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_6 = H, CH_3, CH_2CH_3, CH(CH_3)_2, (CH_2)_2CH_3$
 $X = F, Cl, Br$
 $n = 1, 2, 3$

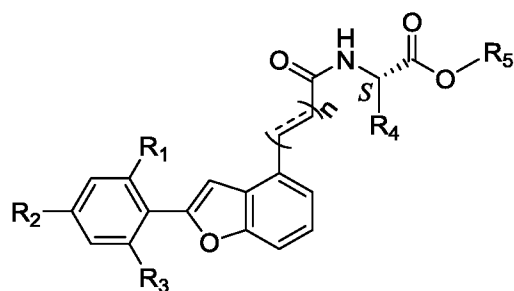
;



VII

$R_1 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_2 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_3 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_4 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_5 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_6 = H, CH_3, CH_2CH_3, CH(CH_3)_2, (CH_2)_2CH_3$
 $X = F, Cl, Br$
 $n = 1, 2, 3$

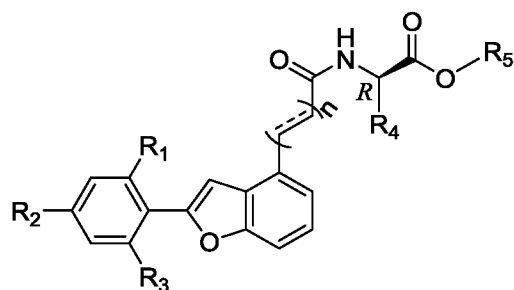
;



VIII

$R_1 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_2 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_3 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_4 = CH_3, OCH_3, CH_2CH_3, CH(CH_3)_2, (CH_2)_2CH_3$
 $R_5 = H, CH_3, CH_2CH_3, CH(CH_3)_2, (CH_2)_2CH_3$
 $X = F, Cl, Br$
 $n = 1, 2, 3$

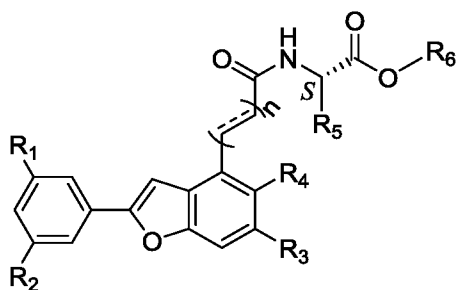
;



IX

$R_1 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_2 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_3 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_4 = CH_3, OCH_3, CH_2CH_3, CH(CH_3)_2, (CH_2)_2CH_3$
 $R_5 = H, CH_3, CH_2CH_3, CH(CH_3)_2, (CH_2)_2CH_3$
 $X = F, Cl, Br$
 $n = 1, 2, 3$

;

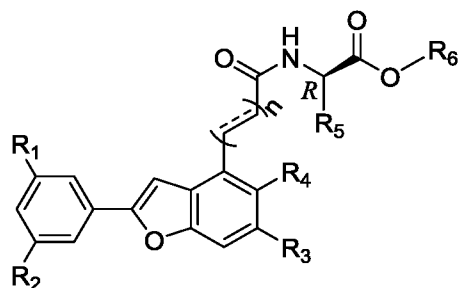


X

$R_1 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_2 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_3 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_4 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_5 = CH_3, OCH_3, CH_2CH_3, CH(CH_3)_2, (CH_2)_2CH_3, \text{Aryl}$
 $R_6 = H, CH_3, CH_2CH_3, CH(CH_3)_2, (CH_2)_2CH_3$
 $X = F, Cl, Br$
 $n = 1, 2, 3$

;

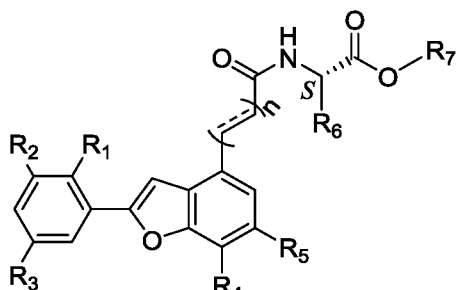
结构通式如式 XI 所示:



XI

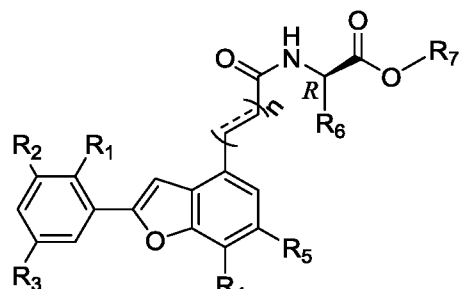
$R_1 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_2 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_3 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_4 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_5 = CH_3, OCH_3, CH_2CH_3, CH(CH_3)_2, (CH_2)_2CH_3, \text{Aryl}$
 $R_6 = H, CH_3, CH_2CH_3, CH(CH_3)_2, (CH_2)_2CH_3$
 $X = F, Cl, Br$
 $n = 1, 2, 3$

结构通式如式 XII 所示:



XII

$R_1 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_2 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_3 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_4 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_5 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_6 = CH_3, OCH_3, CH_2CH_3, CH(CH_3)_2, (CH_2)_2CH_3, \text{Aryl}$
 $R_7 = H, CH_3, CH_2CH_3, CH(CH_3)_2, (CH_2)_2CH_3$
 $X = F, Cl, Br$
 $n = 1, 2, 3$

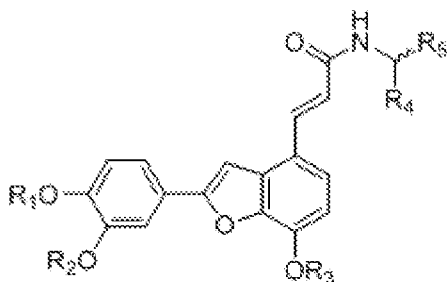


XIII

$R_1 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_2 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_3 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_4 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_5 = H, OH, X, CH_3, OCH_3$
 $R_6 = CH_3, OCH_3, CH_2CH_3, CH(CH_3)_2, (CH_2)_2CH_3, \text{Aryl}$
 $R_7 = H, CH_3, CH_2CH_3, CH(CH_3)_2, (CH_2)_2CH_3$
 $X = F, Cl, Br$
 $n = 1, 2, 3$

或; 一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物:

结构通式如式 1 所示:



式 1

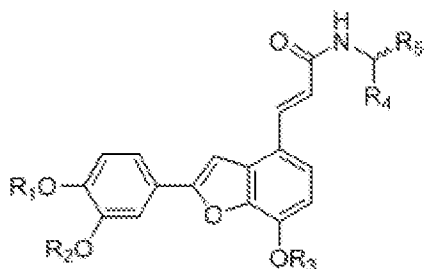
其中 R_1, R_2, R_3 各自独立为未取代或经卤素、羟基取代的 C_{1-4} 烷基, 未取代或经卤素、羟基取代的 C_{1-3} 烷氧基, 卤素, 硝基, 苄基;

R_4 为氢, 未取代或经卤素、羟基、巯基取代的 C_{1-4} 烷基, 3-乙基-1H-吡啶, 未取代或经卤素、羟基取代的苯基, 未取代或经卤素、羟基取代的苄基, 未取代或经卤素、羟基取代的其他芳基 (其中, 卤素 $X = F, Cl, Br$), 如 3,4-二羟基苄基, 3,4-二甲氧基苄基, 4-羟基苄基,

4-甲氧基苄基等；

R_5 为氢， $-\text{COOH}$ 、 $-\text{COOCH}_3$ 、 $-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{COOCH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{COO}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$ 或者为氢、 C_{1-4} 烷基；

或；一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物：

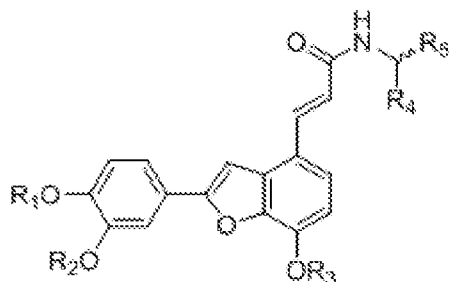


式 1

其中 R_1 , R_2 , R_3 各自独立为氢，羟基；

R_4 为氢； R_5 为氢；

或；一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物：



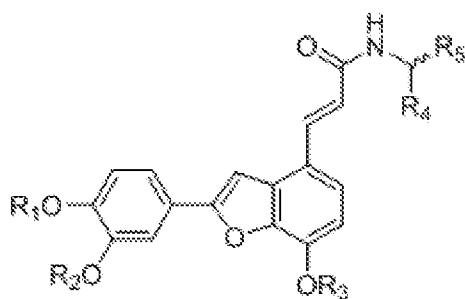
式 1

其中 R_1 , R_2 , R_3 各自独立为未取代或经卤素、羟基取代的 C_{1-4} 烷基，未取代或经卤素、羟基取代的 C_{1-3} 烷氧基，卤素，硝基，苄基；

R_4 为氢，未取代或经卤素、羟基、巯基取代的 C_{1-4} 烷基，3-乙基-1H-吡啶，未取代或经卤素、羟基取代的苯基，未取代或经卤素、羟基取代的苄基，未取代或经卤素、羟基取代的其他芳基（其中，卤素 $X = \text{F}, \text{Cl}, \text{Br}$ ），如 3,4-二羟基苄基，3,4-二甲氧基苄基，4-羟基苄基，4-甲氧基苄基等；

R_5 为氢， $-\text{COOH}$ 、 $-\text{COOCH}_3$ 、 $-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{COOCH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{COO}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$ 或者为氢、 C_{1-4} 烷基；

或；一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物：



式 1

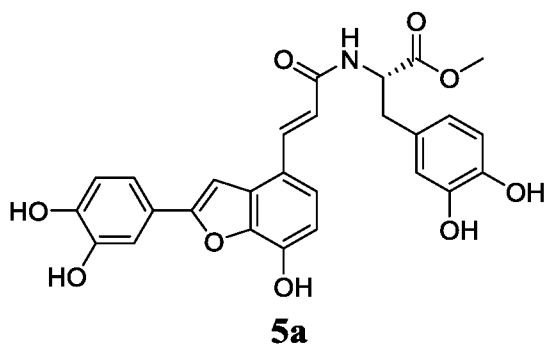
其中 R_1 , R_2 , R_3 各自独立为未取代或经卤素、羟基取代的 C_{1-4} 烷基, 未取代或经卤素、羟基取代的 C_{1-3} 烷氧基, 卤素, 硝基, 苄基;

R_4 为未取代或经卤素、羟基、巯基取代的 C_{1-4} 烷基, 3-乙基-1H-吡啶, 未取代或经卤素、羟基取代的苯基, 未取代或经卤素、羟基取代的苄基, 未取代或经卤素、羟基取代的其他芳基 (其中, 卤素 $X = F, Cl, Br$), 如 3,4-二羟基苄基, 3,4-二甲氧基苄基, 4-羟基苄基, 4-甲氧基苄基;

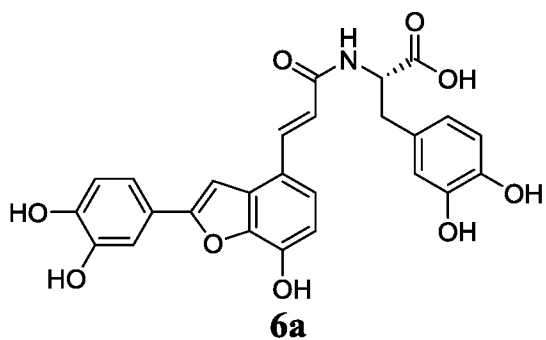
R_5 为 $-COOH$ 、 $-COOCH_3$ 、 $-COOCH_2CH_3$ 、 $-COOCH(CH_3)_2$ 、 $-COO(CH_2)_2CH_3$ 或者为氢、 C_{1-4} 烷基;

或; 一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物:

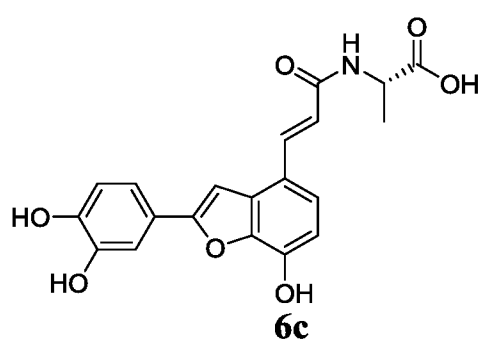
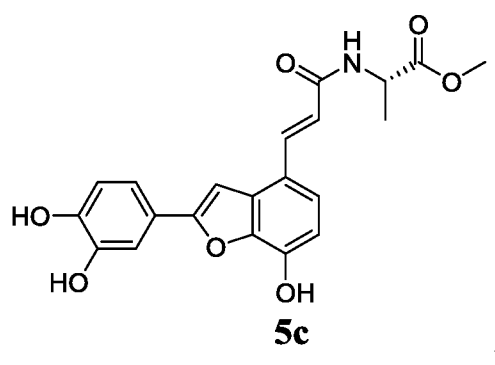
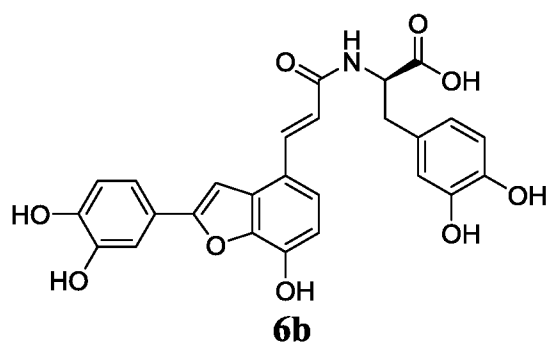
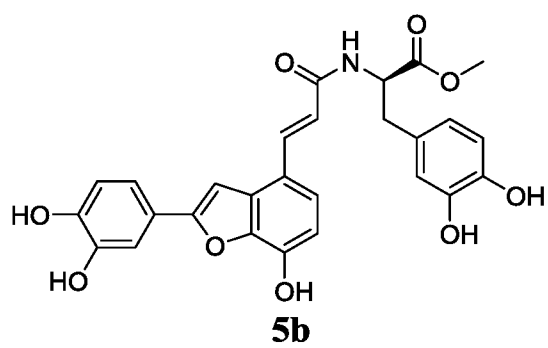
结构通式如下任意一项所示:

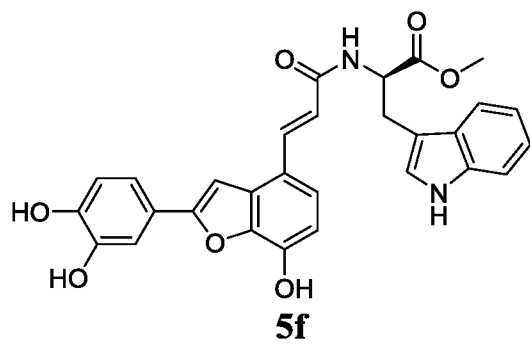
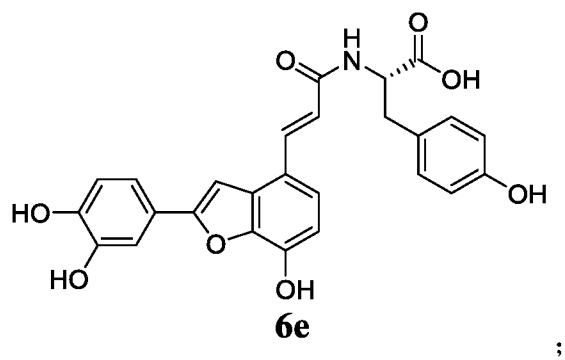
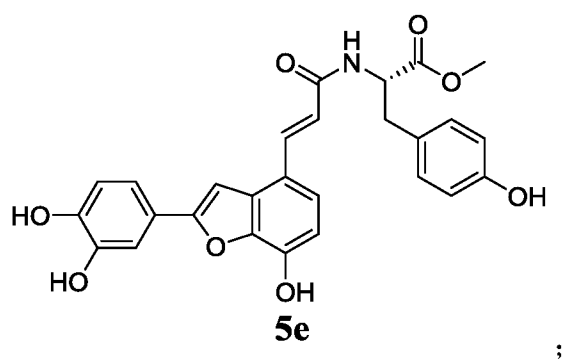
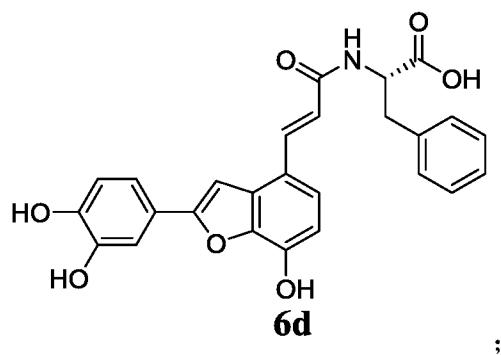
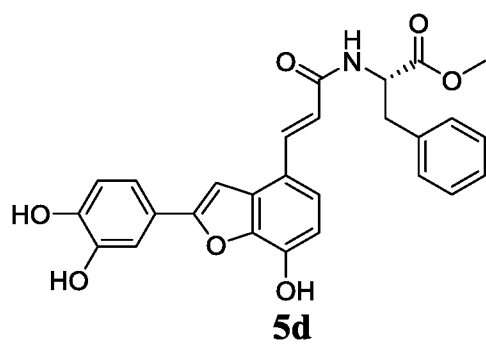


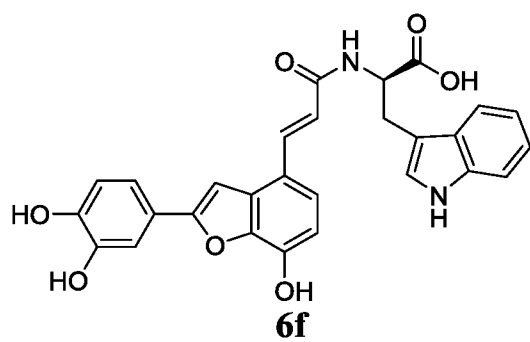
;



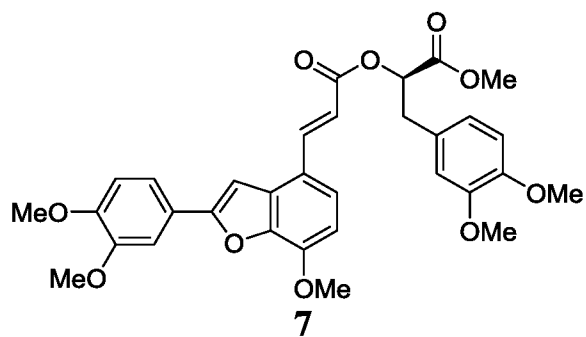
;



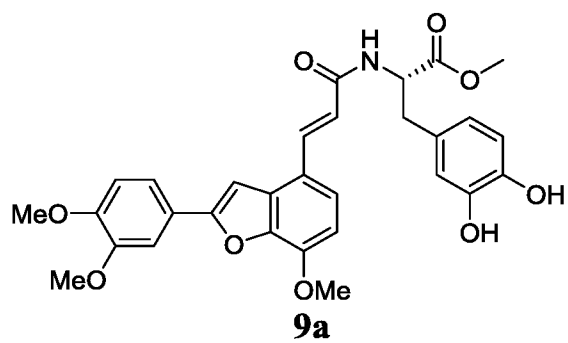




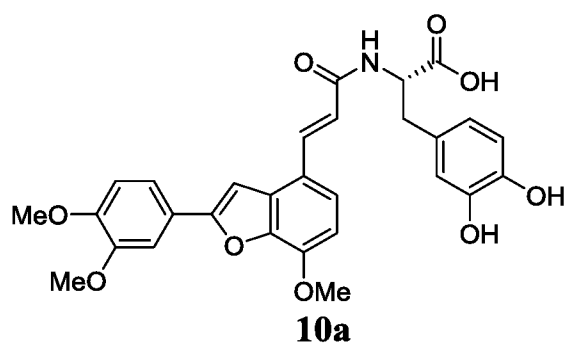
;



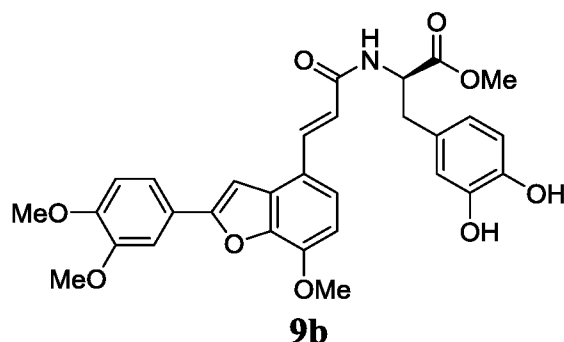
;



;



;



3、根据权利要求 1-2 的一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，其特征在于：其用于制备抗氧化、制备清除自由基、制备黄嘌呤氧化酶抑制剂、治疗痛风、或、治疗高尿酸血症的组合物、药物、保健品上的应用。

4、根据权利要求 1-2 的一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，其特征在于：合成方法如下：

(1) 将丹酚酸 C 与无机碱混合，超声溶解于混合溶剂中，加热不断检测反应，待反应完全后，硅胶柱色谱分离，得到中间体 Tournefollic acid A；

(2) 将 SOCl_2 冰浴冷却下加入有机溶剂中，反应 30 min 后，加入丙氨酸、苯丙氨酸、半胱氨酸、酪氨酸、甲硫氨酸、色氨酸、D/L-DOPA 等氨基类化合物，室温搅拌，浓缩蒸干溶剂并洗涤干燥，得系列羧基保护的氨基衍生物；

(3) 将中间产物 Tournefollic acid A 在缩合剂作用下分别与系列氨基衍生物以摩尔比 1: 1.1~2 混合，溶于有机溶剂中，室温搅拌，反应后处理后经硅胶柱色谱分离，得到系列的芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物；

(4) 在系列芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物中加入无机碱，混合溶剂超声溶解，室温搅拌或加热回流，TLC 不断监测反应，样品混合物经后处理，再经过硅胶柱色谱或制备型高效液相色谱分离纯化，得到系列高纯度的苯并呋喃类酰胺化衍生物。

5、根据权利要求 4 的一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物，其特征在于：合成方法如下：

所述的第 1 步中的无机碱水解可选择 LiOH, NaOH, KOH 等，有机溶媒为 THF, MeOH, H_2O 或为其混合溶剂，优选为混合溶剂 MeOH/ H_2O ，且溶剂体积比优选为 3: 1~5: 1，反应时间优选为 8~12 h；

所述的第 1 步中的分离纯化方法具体为：硅胶柱层析，用氯仿/甲醇/甲酸 (10: 1: 0.1, v/v/v) 等度洗脱得到中间体 Tournefollic acid A；

所述的第 2 步中的氨基类化合物为各种 D/L 构型的氨基酸及其它手性氨基衍生物，有机溶剂为甲醇、乙醇及异丙醇等试剂，反应时间优选为 18~24 h；

所述的第 2 步中的分离纯化方法具体为：甲醇和乙醚分别多次交互洗涤样品并浓缩蒸干；

所述的第 3 步中的缩合剂可以为 DCC/ HoBt, EDCI/HoBt, HATU, HBTU, PyBOP, 优

选为 EDCI/HoBt, 有机溶剂优选为混合溶剂 DMF/CH₂Cl₂ (3: 1 ~5: 1 v/v), 反应时间优选为 8~12 h;

所述的第 3 步中的分离纯化方法具体为: 硅胶柱层析, 氯仿/甲醇梯度洗脱得目标衍生物;

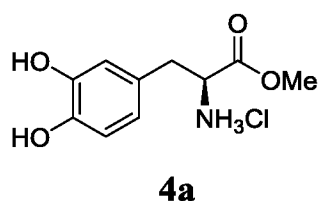
所述的第 4 步中的无机碱可以为 LiOH, NaOH, KOH, 优选为 NaOH, 有机溶媒为 THF, MeOH, H₂O 或为其混合溶剂, 优选为 MeOH/H₂O (3: 1~5: 1 v/v), 反应时间优选为 8~12 h。

6、根据权利要求 4 的一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物, 其特征在于: 分离纯化方法如下:

硅胶柱层析分离纯化, 流动相为氯仿/甲醇/甲酸梯度洗脱; 或制备型液相色谱柱分离纯化样品混合物, 其中, 色谱柱为 (Agilent, Zorbax-C₁₈, 5 μm, 9.4 × 250 mm), 色谱条件优选为: 流速: 8 mL/min, 检测波长: 281 nm, 柱温: 30 °C, 流动相: 乙腈-0.1%甲酸-水。

7、根据权利要求 4 的一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物, 其特征在于:

L-多巴甲酯盐酸盐的结构是:



8、根据权利要求 4 的一种芳基苯并呋喃类酰胺化衍生物, 其特征在于:

L-多巴甲酯盐酸盐的制备方法为: 准确量取无水甲醇 5 mL 于 25 mL 圆底烧瓶中, 冰水浴冷却 15 min, 缓慢逐滴加入 SOCl₂ (493 μL, 6.780 mmol), 0 °C 搅拌 30 min 后, 加入准确称取的 L-DOPA (800 mg, 4.520 mmol), 放置至室温, 搅拌反应 24 h, 待反应完全后, 蒸干溶剂 MeOH 和反应剩余的 SOCl₂, 用 MeOH 和 Et₂O 多次交互洗涤样品, 浓缩蒸干, 得反应产物 L-多巴甲酯盐酸盐。

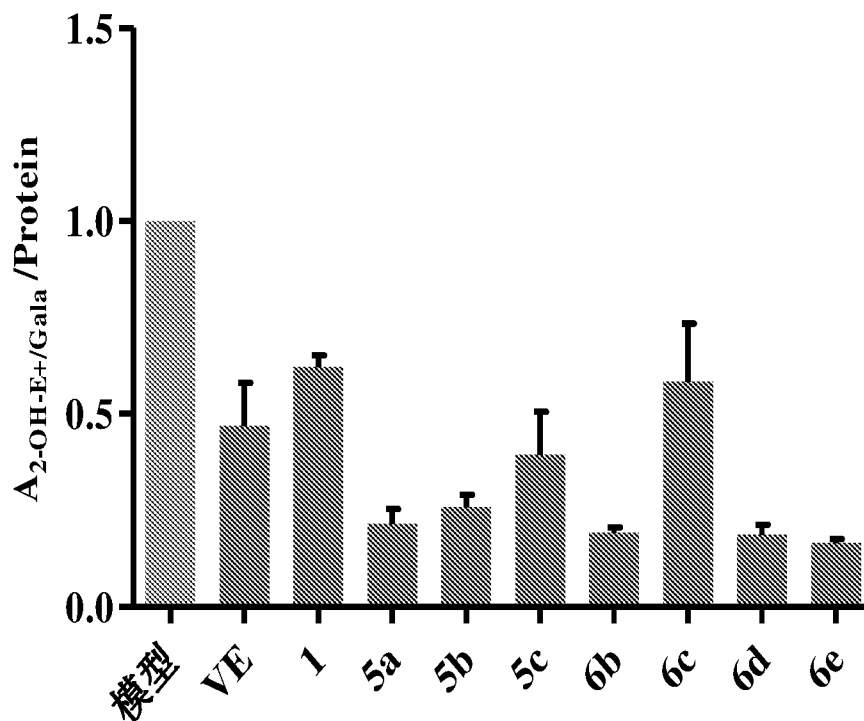


图 1

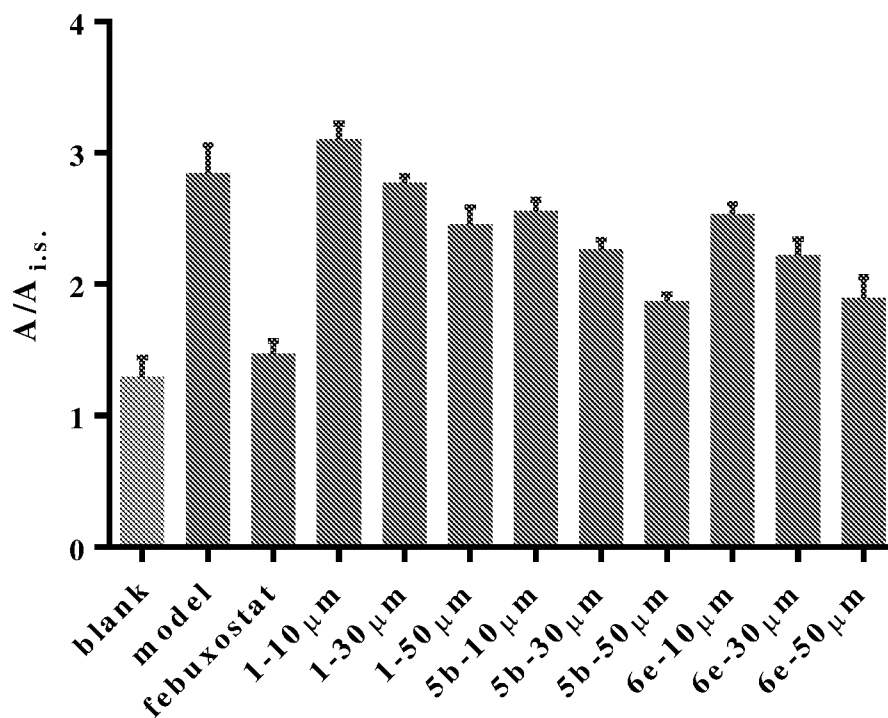


图 2

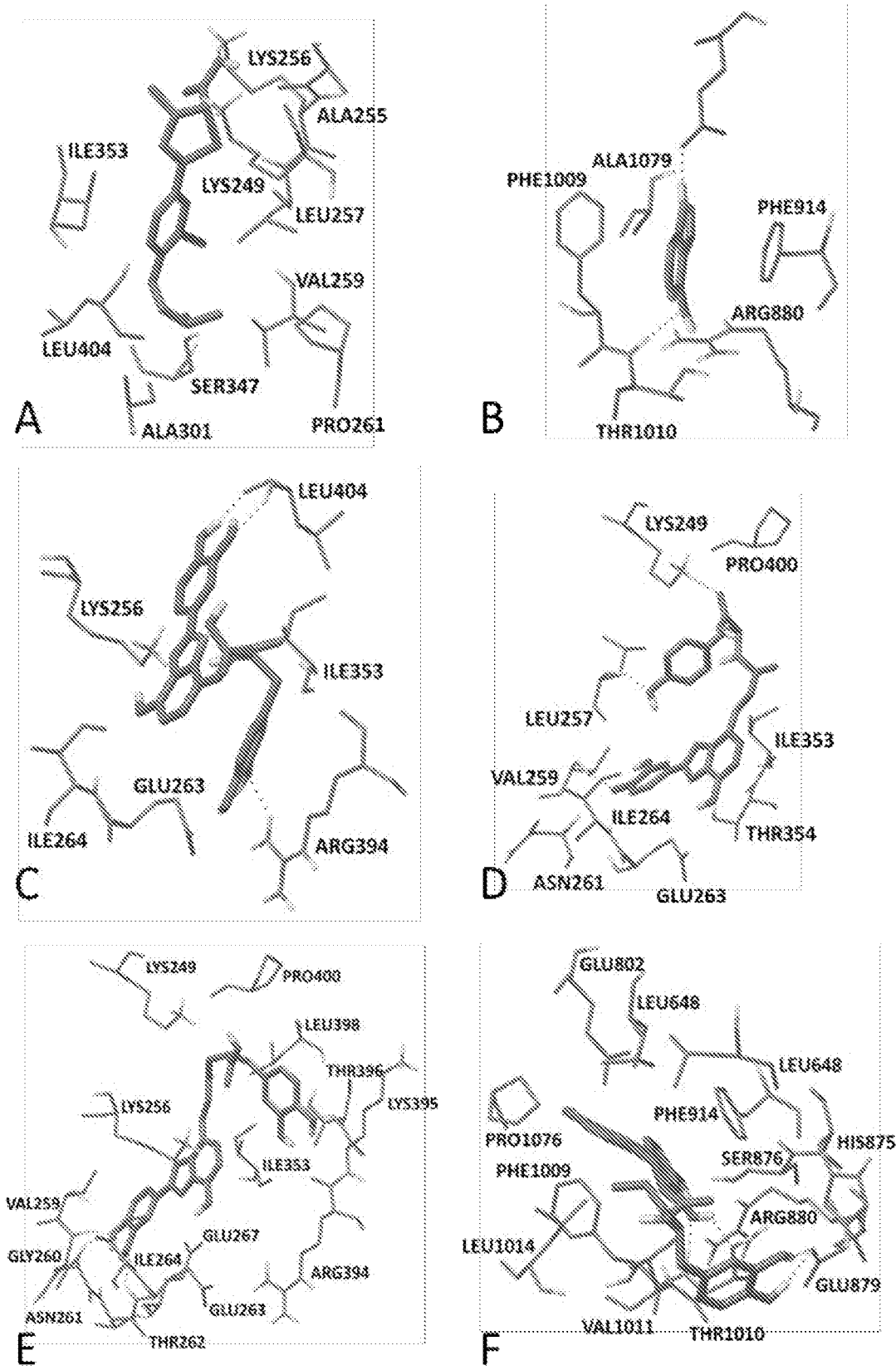


图 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2017/071614

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 307/80 (2006.01) i; C07D 405/12 (2006.01) i; A61K 31/343 (2006.01) i; A61K 31/405 (2006.01) i; A61P 19/06 (2006.01) i
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D 307/-; C07D 405/-; A61K 31/-; A61P 19/-

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS, CPRSABS, DWPI, SIPOABS, CAPLUS, REGISTRY, CNKI: benzofuran, xanthine oxidase, antigout, hyperuricemia, structure search

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 102423310 A (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY), 25 April 2012 (25.04.2012), see description, embodiment 2	1-8
PX	CN 105859667 A (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY), 17 August 2016 (17.08.2016), see the whole description	1-8
PX	TANG, Hongjin et al., "Synthesis and evaluation of xanthine oxidase inhibitory and antioxidant activities of 2-arylbenzo[b]furan derivatives based on salvianolic acid C", EUROPEAN JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 124, 31 August 2016 (31.08.2016), ISSN: 0223-5234, pages 637-648	1-8

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 29 March 2017 (29.03.2017)	Date of mailing of the international search report 14 April 2017 (14.04.2017)
Name and mailing address of the ISA/CN: State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No.: (86-10) 62019451	Authorized officer FEI, Jia Telephone No.: (86-10) 01062084374

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2017/071614

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 102423310 A	25 April 2012	CN 102423310 B	12 December 2012
CN 105859667 A	17 August 2016	None	

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2017/071614

A. 主题的分类		
C07D 307/80(2006.01)i; C07D 405/12(2006.01)i; A61K 31/343(2006.01)i; A61K 31/405(2006.01)i; A61P 19/06(2006.01)i		
按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类		
B. 检索领域		
检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)		
C07D307/-; C07D 405/-; A61K 31/-; A61P 19/-		
包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献		
在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))		
CNABS, CPRSABS, DWPI, SIPOABS, CAPLUS, REGISTRY, CNKI: 苯并呋喃, benzofuran, 黄嘌呤氧化酶, xanthine oxidase, 痛风, antigout, 高尿酸血症, hyperuricemia, structure search		
C. 相关文件		
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CN 102423310 A (中国药科大学) 2012年 4月 25日 (2012 - 04 - 25) 参见说明书实施例2	1-8
PX	CN 105859667 A (中国药科大学) 2016年 8月 17日 (2016 - 08 - 17) 参见说明书全文	1-8
PX	TANG Hong-Jin等. "Synthesis and evaluation of xanthine oxidase inhibitory and antioxidant activities of 2-arylbenzo[b]furan derivatives based on salvianolic acid C" European Journal of Medicinal Chemistry, 第124卷, 2016年 8月 31日 (2016 - 08 - 31), ISSN: 0223-5234, 第637-648页	1-8
☐ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。		
* 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 "T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 "&" 同族专利的文件		
国际检索实际完成的日期		国际检索报告邮寄日期
2017年 3月 29日		2017年 4月 14日
ISA/CN的名称和邮寄地址		受权官员
中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088		费嘉
传真号 (86-10)62019451		电话号码 (86-10)01062084374

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2017/071614

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
CN	102423310	A	2012年 4月 25日	CN 102423310 B	2012年 12月 12日
CN	105859667	A	2016年 8月 17日	无	