



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102846598 A

(43) 申请公布日 2013. 01. 02

(21) 申请号 201210275878. 7 *A61P 9/00* (2006. 01)

(22) 申请日 2012. 08. 03 *A61P 27/12* (2006. 01)

(71) 申请人 广州康臣药物研究有限公司 *A61P 25/16* (2006. 01)

地址 510760 广东省广州市广州经济技术开发区东区东鹏大道 71 号 *A61P 1/02* (2006. 01)

A61P 35/00 (2006. 01)

(72) 发明人 郑兆广 朱荃 石兴华 黄晓玲 *A61K 8/49* (2006. 01)

王汝上 汤丹 何宝 程慧荃 *A61K 8/69* (2006. 01)

段婷婷 顾斐 钟俊玲 朱家校 *A61Q 19/08* (2006. 01)

吴安国 黄艳霞 冉凤 *A61Q 19/00* (2006. 01)

A23B 4/20 (2006. 01)

(74) 专利代理机构 广州华进联合专利商标代理有限公司 44224

代理人 郑彤 万志香

(51) Int. Cl.

A61K 31/37 (2006. 01)

A61P 29/00 (2006. 01)

A61P 19/02 (2006. 01)

A61P 25/28 (2006. 01)

A61P 13/12 (2006. 01)

A61P 9/10 (2006. 01)

A61P 3/10 (2006. 01)

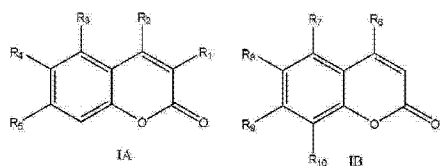
权利要求书 2 页 说明书 29 页 附图 3 页

(54) 发明名称

香豆素在制备 AGEs 形成抑制剂中的应用

(57) 摘要

本发明公开了一种具有式 IA 或 IB 结构的香豆素在制备 AGEs 形成抑制剂中的应用, 该类化合物可用于治疗和预防 AGEs 形成和交联而导致的各种慢性病, 也可以用于制备抑制 AGEs 形成和交联而具有表皮和乳头真皮的抗衰老和重塑活性, 和 / 或抗体皱活性的化妆品, 还可以用于制备预防食物中蛋白质变质的化学剂。



基香豆素、4- 苯甲酰氧基 -6, 7- 二甲氧基香豆素、4- 羟基 -7- 甲氧基 -5- 苯基香豆素、4, 5, 7- 三羟基香豆素、4- 羟基 -6, 7- 二甲基香豆素、4- 羟基 -6- 甲基香豆素、6- 溴 -4- 羟基香豆素、6- 氯 -4- 羟基香豆素、6, 8- 二氯 -4- 羟基香豆素、6- 氟 -4- 羟基香豆素、4, 7- 二羟基香豆素、4- 羟基 -7- 硝基香豆素、4- 羟基 -5- 苯甲酰基香豆素、4- 甲氧基香豆素、4- 乙氧基 -7- 溴甲基香豆素、4- 氨基香豆素、4- 乙氨基香豆素、4- 胍基香豆素、4- 对氯苯氨基香豆素、4- 氨基 -7- 羟基香豆素、6- 氯 -4- 氨基香豆素、7- 甲氧基 -4- 环丙基氨基香豆素、7- 二乙氨基 -4-(哌嗪 -1- 基)- 香豆素、4- 羟基 -7- 氨基香豆素、4- 羟基 -6- 乙氨基香豆素、4- 羟基 -6- 丙酰氨基香豆素、4- 氨基 -6- 甲氧基 -5- 环己烷基香豆素、4- 羟基 -6- 甲氧基 -7-(吡啶 -4- 基)- 香豆素、4- 氨基 -5-(四氢呋喃 -3- 基)- 香豆素、4- 羟基 -7- 烯丙基香豆素、4- 氨基 -6- 乙炔基香豆素、4- 羟基 -7- β - 萘基香豆素、4- 羟基 -6- 甲氧基 -7-(二氢化茛 -5- 基)- 香豆素、4- 羟基 -7-(5, 6, 7, 8- 四氢喹啉 -3- 基)- 香豆素、4- 羟基 -5- 甲基 -7-(2, 3- 二氢苯吡啶 -5- 基)- 香豆素、4- 羟基 -6- 甲氧基 -5-(1, 2, 3, 4- 四氢 -1, 8 二氮萘 -6- 基)- 香豆素、4- 羟基 -7- 氰基香豆素。

4. 一种预防和治疗 AGEs 形成和交联而导致的疾病的药物组合物, 其特征在于, 由权利要求 1-3 任一项所述具有式 IA 或 IB 结构的香豆素及药学上可接受的载体组成。

5. 根据权利要求 4 所述的药物组合物, 其特征在于, 所述疾病包括类风湿性关节炎、阿尔兹海默氏病、尿毒症、神经退行性疾病、动脉粥样硬化、糖尿病的微血管并发症、大血管并发症、糖尿病性视网膜病、由糖尿病性肾病引起的肾衰竭、微血管病变、大血管病变、白内障、与透析或阿尔兹海默氏病相关的淀粉样变性、帕金森氏病、牙龈炎、龋齿、口腔 - 牙齿病症、糖尿病性溃疡、慢性肾衰竭、慢性肾透析、炎症性疾病、年龄相关的风湿性疾病、卟啉病、早期癌症。

6. 根据权利要求 4 所述的药物组合物, 其特征在于, 所述药物组合物的剂型为片剂、胶囊剂、颗粒剂、滴丸或口服液。

7. 权利要求 1-3 任一项所述的具有式 IA 或 IB 结构的香豆素在化妆品中的应用。

8. 一种化妆品组合物, 其特征在于, 其活性成分为权利要求 1-3 任一项所述的具有式 IA 或 IB 结构的香豆素。

9. 权利要求 1-3 任一项所述的具有式 IA 或 IB 结构的香豆素在制备预防食物中蛋白质变质化学剂中的应用。

10. 一种预防食物中蛋白质变质的化学剂, 其特征在于, 其活性成分为权利要求 1-3 任一项所述的具有式 IA 或 IB 结构的香豆素。

香豆素在制备 AGEs 形成抑制剂中的应用

技术领域

[0001] 本发明涉及化学医药领域,特别是涉及一种香豆素在制备 AGEs 形成抑制剂中的应用。

背景技术

[0002] 晚期糖基化终末产物 (advanced glycation endproducts, AGEs), 是指蛋白质、脂质或核酸等大分子在没有酶参与的情况下, 自发地与葡萄糖或其它还原单糖反应所生成的稳定的共价加成物 (Bierhaus et al., 1998)。该反应过程称为非酶糖基化反应 (也叫做 Maillard 反应)。AGEs 的形成是一缓慢过程, 首先是游离氨基与糖分子中的醛基反应形成 schiff 碱, 然后发生重排产生可逆的早期糖基化产物 -amadori 产物, 后者再发生复杂的分子重排, 最后形成不可逆的晚期糖基化终末产物。越来越多的证据表明, AGEs 与糖尿病并发症的发生、发展以及机体老化都有着密不可分的联系。有学者利用 D- 半乳糖衰老模型证明 AGEs 可以引起机体衰老 (Song 等, Mechanisms of Ageing and Development 1999, 108(3) : 239-251)。AGEs 的病理作用比较复杂, 不仅包括由于糖基化修饰直接导致蛋白质理化性质改变、脂质过氧化甚至基因突变所产生的病理变化 (直接病理作用), 还包括 AGEs 通过其受体或其它结合蛋白的介导引起不同组织、细胞发生的一系列病理改变 (间接病理作用)。

[0003] 大量的研究已证明, AGEs 增加的形成和累积与下述疾病的发生相关: 白内障 (Miyata 等, Kidney int. 1999, 55 : 389), 动脉粥样硬化 (Kume 等, Am. J. Pathol. 1995, 147 : 654 ; Stitt 等, Mol. Med. 1997, 3 : 617), 阿尔兹海默氏病 (munch 等, Biochem. Soc. Trans. 2003, 31(6) : 1397 ; Luth 等, Cerebral Cortex 2005, 15(2) : 211), 帕金森氏症 (Webster 等, Neurotoxicity Res. 2005, 172 : 95), 炎症性疾病 (Anderson 等, J. Clin. Invest. 1999, 104 : 103), 年龄相关的风湿病以及最重要的是糖尿病临床并发症 (Brownlee, M. Ann. Rev. Med 1995, 461 : 223 ; Brinkmann 等, J. Biol Chem. 1998, 273 : 18714)。血糖升高并持续的糖尿病患者中交联蛋白质水平也升高, 这通过对涉及蛋白质的结构和功能的修饰而导致组织损伤。此外, AGEs 与膜受体结合并刺激细胞应答。由于美拉德在上世纪初的发现, 人们已相信葡萄糖是参与交联反应的糖。然而, 更近些时候, 人们已将注意力集中到 α -二羰基化合物作为体内和体外的活性交联剂, 例如丙酮醛 (methyglyoxal, MGO)、乙二醛 (glyoxal, GO) 和 3-脱氧葡萄糖醛酮 (3-deoxyglucosone, 3-DG)。人们相信 MGO 的主要来源是丙糖-磷酸二羟基丙酮 (dihydroxyacetone phosphate) 和甘油醛-3-磷酸 (glyceraldehyde-3-phosphate) 的非酶促去磷酸化, 它们均为葡萄糖代谢产物。一些研究也证实了通过葡萄糖自身氧化而产生 α -二羰基。人们相信 α -二羰基可在酮胺转化期间形成, 所述酮胺即所谓的 Amadori 产物, 其为美拉德反应中的关键中间体。此酮胺自身通过 Schiff 碱加合物的转化而形成, 所述 Schiff 碱在葡萄糖与胺的反应期间最先形成。此外, 有报道细菌产生 MGO。多不饱和脂肪酸的脂质过氧化也产生活性羰基化合物, 例如 MGO 和 GO 以及那些特征性的脂质, 比如丙二醛 (MDA) 和 4-羟基壬烯醛。一般而言, 这些高活性二羰基结合蛋白质的氨基、胍基和巯基并且不可逆地形成 AGEs

比如 N_{ϵ} -(1-羧乙基)赖氨酸 (CEL)、 N_{ϵ} -(1-羧甲基)赖氨酸 (CML)、来源于甲基乙二醛的氢咪唑酮 N_{δ} -(5-氢-5-甲基-4-咪唑酮-2-基)-鸟氨酸 (MG-H₁)、来源于乙二醛的氢咪唑酮 (G-H₁)、精氨酸嘧啶 (argpyrimidine)、来源于乙二醛的赖氨酸二聚体 1,3-二 (N^{ϵ} -赖氨酰)咪唑盐 (GOLD)、以及来源于甲基乙二醛的赖氨酸二聚体 1,3-二 (N^{ϵ} -赖氨酰)-4-甲基咪唑盐 (MOLD)。人们已努力地研究了这些二羰基化合物的体内作用机制,以理解有机体内美拉德反应的进程。在糖尿病对象中,发生 AGEs 形成和积累的增加,因此导致一系列糖尿病的长期并发症,比如肾病、视网膜病、神经病、溃疡以及微血管和大血管并发症 (Bucala 等, *Diabetes Reviews* 1995, 3 :258 ;Ulrich 等, *Recent Prog. Horm. Res.* 2001, 56 :1 ;Porta 等, *Diabetologia* 2002, 45 :1617 ;Lorenzi 等, *Diabetologia* 2001, 44 :791 ;Ziegler 等, *Int. Rev. Neurobiol.* 2002, 50 :451 ;Thornallay, P. J. *Int. Rev. Neurobiol.* 2002, 50 :37 ;Chiarelli 等, *Diab. Nutr. Mrtab.* 2000, 13 :192)。更特别地,由 AGEs 引起的肾组织损伤导致肾功能的进行性损失 (Makita Z. 等, *N. Eng. J. Med.* 1991, 325 :836)。实际上,在糖尿病患者 (1 型和 2 型) 中,丙酮醛的血浆浓度证实为正常对象的 2 至 6 倍 (McLellan 等, *Clin. Sci.* 1994, 87 :21)。

[0004] 氧化应激是与衰老和慢性疾病的当前标准相关的另一个因素,所述的慢性疾病如糖尿病、动脉粥样硬化和相关的血管疾病、类风湿性关节炎和尿毒症。氧化应激被定义为在抗氧化剂和氧化剂形成系统间的显著失衡。氧化应激的增加可对脂蛋白的修饰和转录、以及细胞的功能和代谢产生深远的影响。氧化应激可通过几种与氧自由基过度产生相关的机制产生,例如葡萄糖和糖化蛋白的自氧化以及抗氧化酶的糖基化。实际上,已报道在糖基化反应中 MGO 产生活性氧 (ROS) (自由基)。因此,可以说氧化应激和 AGEs 形成不可分离地结合在一起。

[0005] 通常,乙二醛酶系统 (乙二醛酶 I 和乙二醛酶 II) 和醛糖还原酶催化这些 α -二羰基解毒成 D-乳酸、乙醇酸和丙酮醇。然而,这种解毒代谢的功能紊乱导致机体中活性 α -二羰基所形成的 AGEs 量增加。

[0006] AGEs 形成的抑制可延缓 AGEs 相关病症的病理生理学进程并改善衰老期间的生活质量。因此可设想在防止糖尿病并发症中对 α -二羰基化合物的药理学清除是一种有价值的治疗策略。存在大量文献与这种事实相关:抗交联之长期后果的早期药理干预阻止糖尿病晚期并发症的发展,即 AGEs 形成抑制剂不能治愈其背后的病理学过程,它们应该延缓由基础病症导致的并发症的发展。在专门开发的作为 AGEs 形成抑制剂的药物中,氨基胍 (匹马吉定, aminoguanidine, AG) 是研究最多的一个药物,AG 是一种具有两个关键活性官能团的亲核化合物,所述两个关键活性官能团即亲核性胍官能团 $-\text{NH}_2\text{NH}_2$ 和 α -二羰基导向的官能团 $-\text{NH}-\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 。这两种官能团结合在一起共同形成活性双官能团的丙酮醛、乙二醛和 3-脱氧葡萄糖醛酮的清除剂 (Brownlee 等, *Science* 1986, 232 :1629)。尽管 AG 抗糖尿病并发症的有益效果已在糖尿病大鼠模型中被大量证实,但 AG 是一种公知的一氧化氮 (NO) 选择性抑制剂,由于安全性的关系,与通过 AG 防止糖尿病肾病进程相关的临床试验被放弃 (Oturai 等, *APMIS* 1996, 104 :259 ; Monnier, V. M. *Arch. Biochem. Biophys.* 2003, 419 :1)。吡哆胺 (吡啶酮) 是另一种能防止糖尿病大鼠并发症的试剂,其比 AG 更有效且其能清除脂质过氧化产物和 α -二羰基化合物 (Metz 等, *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2003, 419 :41)。二甲双胍,一种广泛用于 2 型糖尿病控制的降糖药,也通过

丙氧基香豆素、6-甲氧基-7-溴丙氧基香豆素、6-甲氧基-7-乙酰氧基香豆素、6-甲氧基-7-苯甲酰氧基香豆素、4-甲基-6,7-二甲氧基香豆素、4-苯基-7-羟基香豆素、4-对硝基苯基-7-羟基香豆素、4-甲基-7-二乙氨基香豆素、4,6-二甲基-7-二乙氨基香豆素、补骨脂素、4,7-二羟基-3-硝基香豆素、7-乙酰氨基香豆素、4-甲基-7-羟基-6-氯-3-苄基香豆素、7-氨基-4-三氟甲基香豆素、7-氨基-4-苯基香豆素、7-羟基-3-溴香豆素、3-对溴苯基-6,7-二羟基香豆素、4-甲基-7-氨基甲酸氯甲酯香豆素、5,7-二羟基香豆素、4-甲基-5,7-二羟基香豆素、4-对硝基苯基-5,7-二羟基香豆素、5,7-二甲氧基香豆素、4-氯甲基-5,7-二羟基香豆素、5-羟基-7-氨基香豆素、4-苯基-5,7-二乙酰氧基香豆素、5-氨基-7-羟基香豆素、7-羟基-6-乙氨基香豆素、7-氨基-6-丙酰氨基香豆素、4-甲基-7-羟基-5-环己烷基香豆素、7-羟基-6-甲氧基-4-(吡啶-4-基)-香豆素、7-氨基-4-(四氢呋喃-3-基)-香豆素、7-羟基-6-烯丙基香豆素、7-氨基-5-乙炔基香豆素、7-羟基-5-β-萘基香豆素、7-羟基-6-甲氧基-4-(二氢化茛-5-基)-香豆素、7-羟基-5-(5,6,7,8-四氢喹啉-3-基)-香豆素、7-羟基-4-甲基-6-(2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-香豆素、7-羟基-4-甲基-6-(1,2,3,4-四氢-1,8-二氮萘-6-基)-香豆素、4-羟基香豆素、4-羟基-6,7-二甲氧基香豆素、4,7-二羟基-6-甲氧基香豆素、4-乙酰氧基-6,7-二甲氧基香豆素、4-苯甲酰氧基-6,7-二甲氧基香豆素、4-羟基-7-甲氧基-5-苯基香豆素、4,5,7-三羟基香豆素、4-羟基-6,7-二甲基香豆素、4-羟基-6-甲基香豆素、6-溴-4-羟基香豆素、6-氯-4-羟基香豆素、6,8-二氯-4-羟基香豆素、6-氟-4-羟基香豆素、4,7-二羟基香豆素、4-羟基-7-硝基香豆素、4-羟基-5-苯甲酰基香豆素、4-甲氧基香豆素、4-乙氧基-7-溴甲基香豆素、4-氨基香豆素、4-乙氨基香豆素、4-肼基香豆素、4-对氯苯氨基香豆素、4-氨基-7-羟基香豆素、6-氯-4-氨基香豆素、7-甲氧基-4-环丙基氨基香豆素、7-二乙氨基-4-(哌嗪-1-基)-香豆素、4-羟基-7-氨基香豆素、4-羟基-6-乙氨基香豆素、4-羟基-6-丙酰氨基香豆素、4-氨基-6-甲氧基-5-环己烷基香豆素、4-羟基-6-甲氧基-7-(吡啶-4-基)-香豆素、4-氨基-5-(四氢呋喃-3-基)-香豆素、4-羟基-7-烯丙基香豆素、4-氨基-6-乙炔基香豆素、4-羟基-7-β-萘基香豆素、4-羟基-6-甲氧基-7-(二氢化茛-5-基)-香豆素、4-羟基-7-(5,6,7,8-四氢喹啉-3-基)-香豆素、4-羟基-5-甲基-7-(2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-香豆素、4-羟基-6-甲氧基-5-(1,2,3,4-四氢-1,8-二氮萘-6-基)-香豆素、4-羟基-7-氰基香豆素。

[0018] 本发明的另一目的是提供一种预防和治疗 AGEs 形成和交联而导致的疾病的药物组合物。

[0019] 具体的技术方案如下：

[0020] 一种预防和治疗 AGEs 形成和交联而导致的疾病的药物组合物，由权利要求 1-3 任一项所述具有式 IA 或 IB 结构的香豆素及药学上可接受的载体组成。

[0021] 在其中一些实施例中，所述疾病包括类风湿性关节炎、阿尔兹海默氏病、尿毒症、神经退行性疾病、动脉粥样硬化、糖尿病的微血管并发症、大血管并发症、糖尿病性视网膜病、由糖尿病性肾病引起的肾衰竭、微血管病变、大血管病变、白内障、与透析或阿尔兹海默氏病相关的淀粉样变性、帕金森氏病、牙龈炎、龋齿、口腔-牙齿病症、糖尿病性溃疡、慢性肾衰竭、慢性肾透析、炎性疾病、年龄相关的风湿性疾病、卟啉病、早期癌症。

[0022] 在其中一些实施例中，所述药物组合物的剂型为片剂、胶囊剂、颗粒剂、滴丸或口

服液。

[0023] 本发明的另一目的是提供具有式 IA 或 IB 结构的香豆素在化妆品中的应用。

[0024] 具体的技术方案如下：

[0025] 具有式 IA 或 IB 结构的香豆素在化妆品中的应用。

[0026] 本发明的另一目的是提供一种化妆品组合物。

[0027] 具体的技术方案如下：

[0028] 一种化妆品组合物，其活性成分为上述具有式 IA 或 IB 结构的香豆素。

[0029] 本发明的另一目的是提供具有式 IA 或 IB 结构的香豆素在制备预防食物中蛋白质变质化学剂中的应用。

[0030] 具体的技术方案如下：

[0031] 具有式 IA 或 IB 结构的香豆素在制备预防食物中蛋白质变质化学剂中的应用。

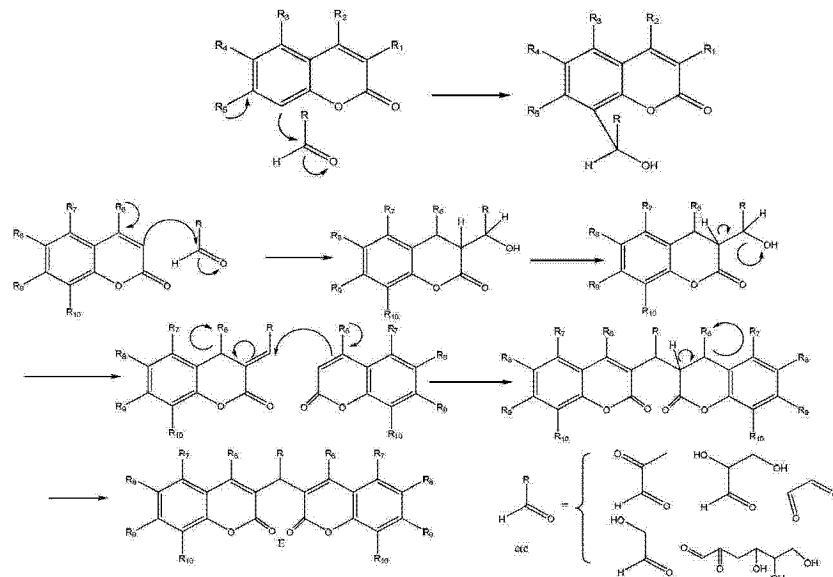
[0032] 本发明的另一目的是提供一种预防食物中蛋白质变质的化学剂。

[0033] 具体的技术方案如下：

[0034] 一种预防食物中蛋白质变质的化学剂，其活性成分为上述具有式 IA 或 IB 结构的香豆素。

[0035] 用于 AGEs 形成抑制作用的 IA 型和 IB 型香豆素化合物主要是通过消除活性 α -二羰基化合物来达到的，这些活性的 α -二羰基化合物主要包括丙酮醛、乙二醛、乙醇醛、甘油醛和 3-脱氧丙酮糖醛等，其中 IA 型香豆素通过羟醛缩合反应消除活性 α -二羰基化合物，而 IB 型香豆素则是通过羟醛缩合、脱水和迈克尔加成反应来消除活性 α -二羰基化合物，其反应原理如下式所示：

[0036]



[0037] 高活性 α -二羰基化合物被消除，则蛋白质、脂质化合物和磷脂等就不会被修饰而失去活性，而经药理验证的高致病的 AGEs 形成就会受到抑制，从而用于预防食物中蛋白质变质的用途，制备可接受赋形剂的药物或化妆品的组合物。IA 和 IB 型香豆素化合物用作药物可作为活性羰基化合物的清除剂，有利地为晚期糖基终末化产物形成的抑制剂，用于预防和/或治疗由于晚期糖基终末化产物形成或蛋白质交联而导致的病况或疾病，用于预防和/或治疗机体衰老的有害效应，所述效应为晚期糖基终末化产物形成或蛋白质交联，

或用于减缓或停止患者中由糖尿病导致的并发症的进展,所述并发症由晚期糖基终末化产物形成或蛋白质交联引起。其中所述药物意在治疗、预防和/或减缓患者中选自以下疾病的进展:类风湿性关节炎、阿尔兹海默氏病、尿毒症、神经退行性疾病、动脉粥样硬化、糖尿病的微血管并发症和大血管并发症包括糖尿病性视网膜病和由糖尿病性肾病引起的肾衰竭、微血管病变和大血管病变、白内障、与透析或阿尔兹海默氏病相关的淀粉样变性、帕金森氏病、牙龈炎、龋齿、口腔-牙齿病症、糖尿病性溃疡、慢性肾衰竭、慢性肾透析、炎症性疾病、年龄相关的风湿性疾病和卟啉病,以及意在治疗早期癌症。

[0038] 本发明的优点是:

[0039] 1、香豆素类成分为天然产物中的一大家族成员,IA和IB类型香豆素大部分为天然产物,其安全性高,毒副作用小。

[0040] 2、IA和IB类型香豆素为首次发现的可消除活性 α -二羰基化合物从而抑制AGEs的生成,从而用于治疗 and 预防与AGES息息相关的各种慢性病如类风湿性关节炎、阿尔兹海默氏病、尿毒症、神经退行性疾病、动脉粥样硬化、糖尿病的微血管并发症和大血管并发症包括糖尿病性视网膜病和由糖尿病性肾病引起的肾衰竭、微血管病变和大血管病变、白内障、与透析或阿尔兹海默氏病相关的淀粉样变性等。

[0041] 3、胺类AGEs抑制剂AG、哆吡胺、二甲双胍等与活性 α -二羰基化合物作用时其反应常是可逆的,而IA和IB类型香豆素特别是IB类型的香豆素经羟醛缩合、脱水和迈克尔加成后生成的产物是不可逆的,因而效果更佳。

[0042] 4、本专利实验证明IB类型香豆素活性 α -二羰基化合物消除作用较AGEs抑制剂AG作用强大。

[0043] 5、香豆素成熟的合成方法为此类型香豆素的合成和应用提供广阔的前景。

附图说明

[0044] 图1为化合物1与MGO作用1440min的MS总离子流图(1,2为产物峰,3为化合物1峰);

[0045] 图2为化合物1与MGO作用1440min峰1的MS色谱图;

[0046] 图3为化合物1与MGO作用1440min峰2的MS色谱图;

[0047] 图4为化合物47与MGO作用的LC-MS总离子流图(A 0min;B 1440min;C分离的产物47P;峰1:化合物47;峰3,4为产物峰);

[0048] 图5为化合物47与MGO作用产物峰3的MS色谱图;

[0049] 图6为化合物47与MGO作用产物峰3的MS²色谱图;

[0050] 图7为本发明产物香豆素抑制MGO对胰岛素修饰作用图;

[0051] 图8为现有技术的活性羰基抑制剂抑制MGO对胰岛素修饰作用图。

具体实施方式

[0052] 以下通过具体实施例对本发明做进一步的阐述。









[0053] 本发明优选的化合物如表1所示,其中R₁-R₅代表的IA结构的基团,除标出外其余均为氢,R₆-R₁₀代表的IB结构的基团,除标出外其余均为氢:

[0054] 表1

[0055]

化合物 编号	取代基 R ₁ -R ₁₀	类型	m.p.(°C)
1	R ₅ =-OH	IA	230
2	R ₄ =-OMe, R ₅ =-OH	IA	204
3	R ₂ =Me, R ₅ =-OH	IA	189
4	R ₄ =R ₅ =-OH	IA	272
5	R ₅ =-NH ₂	IA	121
6	R ₅ =-OMe	IA	119
7	R ₂ =Me, R ₅ =-NHCOOCH ₂ CH ₃	IA	187
8	R ₂ =Me, R ₅ =-NH ₂	IA	222
9	R ₄ =-OMe, R ₅ =-OCH ₂ CH=CH ₂	IA	198
10	R ₄ =-OMe, R ₅ =-OCH ₂ CH ₂ CH ₂ Br	IA	116
11	R ₄ =-OMe, R ₅ =-OCOCH ₃	IA	170
12	R ₄ =-OMe, R ₅ =-OCOPh	IA	133
13	R ₂ =Me, R ₄ =R ₅ =-OMe	IA	141
14	R ₂ =Ph, R ₅ =-OH	IA	248
15	R ₂ =(pNO ₂)Ph, R ₅ =-OH	IA	>250
16	R ₂ =-Me, R ₅ =(CH ₃ CH ₂) ₂ N	IA	72
17	R ₂ =R ₄ =-Me, R ₅ =(CH ₃ CH ₂) ₂ N	IA	73
18	R ₄ , R ₅ =-CH=CHO-	IA	161
19	R ₂ =R ₅ =OH, R ₁ =NO ₂	IA	272
20	R ₅ =-NHCOCH ₃	IA	226
21	R ₁ =-CH ₂ Ph, R ₂ =-Me, R ₄ =-Cl, R ₅ =-OH	IA	>250
22	R ₂ =CF ₃ , R ₅ =NH ₂	IA	221
23	R ₁ =Ph, R ₅ =NH ₂	IA	227
24	R ₁ =Br, R ₅ =OH	IA	209



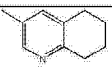
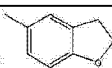

[0056]

25	$R_1=-(pBr)Ph, R_4=R_5=-OH$	IA	>250
26	$R_2=Me, R_5=-NHCOCH_2Cl$	IA	>250
27	$R_3=R_5=-OH$	IA	>250
28	$R_2=Me, R_3=R_5=-OH$	IA	>250
29	$R_2=-(pNO_2)Ph, R_3=R_5=-OH$	IA	207
30	$R_3=R_5=-OMe$	IA	148
31	$R_2=-CH_2Cl, R_3=R_5=-OH$	IA	>250
32	$R_3=-OH, R_5=NH_2$	IA	>250
33	$R_2=-Ph, R_3=R_5=-OCOCH_3$	IA	>250
34	$R_3=-NH_2, R_5=-OH$	IA	233
35	$R_4=-NHCH_2CH_3, R_5=-OH$	IA	226
36	$R_4=-NHCOCH_2CH_3, R_5=-NH_2$	IA	>250
37	$R_2=-CH_3, R_3=$  , $R_5=-OH$	IA	248
38	$R_4=-OCH_3, R_2=$  , $R_5=-OH$	IA	>250
39	$R_2=$  , $R_5=-NH_2$	IA	>250
40	$R_4=-CH=CHCH_3, R_5=-OH$	IA	178
41	$R_3=-C\equiv CH, R_5=-NH_2$	IA	219
42	$R_3=$  , $R_5=-OH$	IA	>250
43	$R_3=$  , $R_4=OCH_3, R_5=-OH$	IA	>250
44	$R_2=$  , $R_5=-OH$	IA	>250
45	$R_2=-CH_3, R_4=$  , $R_5=-OH$	IA	>250
46	$R_2=-CH_3, R_4=$  , $R_5=-OH$	IA	>250
47	$R_6=-OH$	IB	212
48	$R_6=-OH, R_8=R_9=-OMe$	IB	250
49	$R_6=R_9=-OH, R_8=-OMe$	IB	>250
50	$R_6=-OCOCH_3, R_8=R_9=-OMe$	IB	170
51	$R_6=-OCOPh, R_8=R_9=-OMe$	IB	133

[0057]

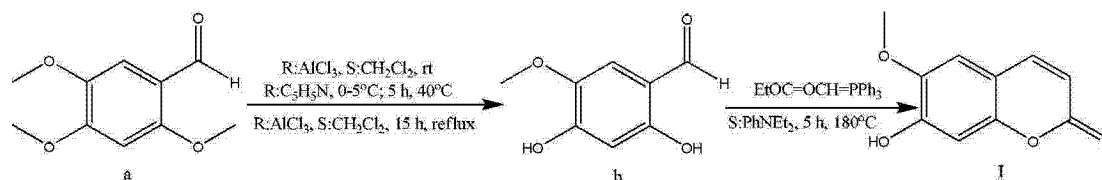
52	$R_6 = -OH, R_7 = Ph, R_9 = -OMe$	IB	>250
53	$R_6 = R_7 = R_9 = -OH$	IB	245
54	$R_6 = -OH, R_8 = R_9 = -Me$	IB	146
55	$R_6 = -OH, R_8 = -Me$	IB	>250
56	$R_6 = -OH, R_8 = -Br$	IB	>250
57	$R_6 = -OH, R_8 = -Cl$	IB	>250
58	$R_6 = -OH, R_8 = R_{10} = -Cl$	IB	183
59	$R_6 = -OH, R_8 = -F$	IB	249
60	$R_6 = -OH, R_9 = -OH$	IB	210
61	$R_6 = -OH, R_9 = -NO_2$	IB	>250
62	$R_6 = -OH, R_7 = -COPh$	IB	>250
63	$R_6 = -OMe$	IB	124
64	$R_6 = -OCH_2CH_3, R_9 = -CH_2Br$	IB	166
65	$R_6 = -NH_2$	IB	233
66	$R_6 = -NHCH_2CH_3$	IB	149
67	$R_6 = -NHNH_2$	IB	173
68	$R_6 = -NH(p-Cl)Ph$	IB	227
69	$R_6 = -NH_2, R_9 = -OH$	IB	233
70	$R_6 = -NH_2, R_8 = -Cl$	IB	163
71	$R_6 = \text{---} \triangleleft, R_9 = -OMe$	IB	210
72	$R_6 = \text{---} \text{C}_6\text{H}_5, R_9 = -N(CH_2CH_3)_2$	IB	>250
73	$R_6 = -OH, R_9 = -NH_2$	IB	194
74	$R_6 = -OH, R_8 = -NHCH_2CH_3$	IB	186
75	$R_6 = -OH, R_9 = -NHCOCH_2CH_3$	IB	>250
76	$R_6 = -NH_2, R_8 = -OCH_3, R_7 = \text{---} \text{C}_6\text{H}_5$	IB	>250
77	$R_6 = -OH, R_7 = -OCH_3, R_9 = \text{---} \text{C}_6\text{H}_5$	IB	>250
78	$R_6 = -NH_2, R_7 = \text{---} \text{C}_5\text{H}_5$	IB	>250
79	$R_6 = -OH, R_9 = -CH=CHCH_3$	IB	140
80	$R_6 = -NH_2, R_8 = -C\equiv CH$	IB	180

[0058]

81	$R_6=-OH, R_9=$ 	IB	>250
82	$R_6=-OH, R_8=OCH_3, R_9=$ 	IB	>250
83	$R_6=-OH, R_9=$ 	IB	>250
84	$R_6=-OH, R_7=-CH_3, R_9=$ 	IB	>250
85	$R_6=-OH, R_8=-OCH_3, R_7=$ 	IB	>250
86	$R_6=-OH, R_9=-CN$	IB	187

[0059] 实施例 1 :7-羟基-6-甲氧基香豆素 (东莨菪内酯 socopoletin, 化合物 2) 的制备

[0060]



[0061] 室温下, 在一搅拌的三氯化铝 (67g, 0.5mol) 的干燥二氯甲烷 (350mL) 的悬浮液中滴加 2, 4, 5-三甲氧基苯甲醛 (24.53g, 0.125mol) 的干燥二氯甲烷 (125mL) 溶液。滴加完毕后, 在室温下继续搅拌反应 4 小时, 再加入另一三氯化铝 (67g, 0.5mol) 的干燥二氯甲烷 (150mL) 分散液。混合液搅拌反应 19h 后倒入 1kg 加有 45mL 浓盐酸的冰中, 分离得有机层, 水层分别用 200mL 二氯甲烷洗涤两次, 合并有机层, 用硅胶过滤, 蒸干, 乙酸乙酯重结晶得化合物 b 即 2, 4-二羟基-5-甲氧基苯甲醛。将 2, 4-二羟基-5-甲氧基苯甲醛 (13.44g, 80mol) 和三苯基磷叶立德 (36.24g, 104mol) 溶解在 250mL 的 N, N-二乙基苯胺中, 搅拌。在氮气保护下, 将反应在 180°C 下加热反应 5 小时, 反应液剧烈回流。然后自然冷却至室温, 将形成的晶体过滤, 用无水乙醚洗涤得到粗品 1 (7.5g) 将滤液减压蒸除溶剂 (回收 N, N-二乙基苯胺) 得到棕黑色稠状液体, 加入二氯甲烷萃取, 并滴入 5% 的稀盐酸, 用 pH 试纸测上层水层的 pH, 直至上层水液为微酸性已充分除去残留的 N, N-二乙基苯胺。将下层的有机层分离出来, 然后用一定量的水反洗, 直至上层水层为中性, 将下层的有机层分离出来, 加入一定量的无水硫酸钠干燥。然后过滤, 减压浓缩, 制砂, 经硅胶柱层析, 用乙酸乙酯/石油醚洗脱分离, 得到粗品 2 (5.3g)。将两部分的粗品合并, 用甲醇和石油醚重结晶, 即得到产物 9.7g, 收率为 63.2%。

[0062] 淡黄色粉末, 分子式: $C_9H_6O_5$, m. p. 203-205 °C; ESI-MS, m/z : 195 [M+H]⁺; ¹HNMR (CDCl₃, 400MHz) δ : 10.33 (1H, s, OH), 7.91 (1H, d, J=9.5Hz, H-4), 7.26 (1H, s, H-5), 6.78 (1H, s, H-8), 6.26 (1H, d, J=9.5Hz, H-3), 3.90 (3H, s, -CH₃); ¹³CNMR (CDCl₃, 100MHz) δ : 161.44 (C-2), 150.26 (C-7), 149.73 (C-9), 144.04 (C-6), 143.29 (C-4), 113.38 (C-3), 111.49 (C-10), 107.52 (C-5), 103.19 (C-8), 56.41 (-OCH₃)。

[0063] 实施例 2 :7-甲氧基香豆素的制备 (7-methoxycoumarin, 化合物 6)

[0064] 取茵陈药材,水煎煮 3 次,每次 2 小时,合并水煎液,减压浓缩至小体积,加入 3 倍量 95%乙醇,冰箱中放置过夜;回收乙醇,水液用氯仿得干浸膏,干浸膏与约 2 倍量硅胶混合均匀后,上样于硅胶柱,以氯仿为洗脱剂,分别收集;将收集部分合并至小体积,放置,析出乳白色片状结晶;收集,干燥,即得。

[0065] ^1H NMR(CDCl_3 , 400MHz) δ :3.79 (3H, s, OCH_3), 6.23 (1H, d, $J=9.6\text{Hz}$, H-3) 和 7.43 (1H, d, $J=9.6\text{Hz}$, H-4), 6.93 (2H Ph-H), 7.07 (1H, Ph-H);

[0066] ^{13}C NMR(100M, DMSO-d_6) δ :167.9 (C-2), 149.6 (C-7), 146.3 (C-9), 144.1 (C-4), 127.0 (C-5), 120.9 (C-6), 116.2 (C-3), 114.2 (C-8), 112.1 (C-10), 58.4 (C-11).

[0067] 实施例 3:4-甲基-7-氨基甲酸乙酯香豆素 (4-methyl-7-carbethoxyaminocoumarin, 化合物 7) 的制备

[0068] 取乙酰乙酸乙酯 (5.62g, 43mmol) 与 3-羟基苯氨基甲酸乙酯 (6.5g, 36mmol) 悬浮在 88mL 70% H_2SO_4 中,室温下搅拌反应 4 小时,将此黄色的反应清液倒进 400mL 的冰水中,得到白色长卷状的晶体沉淀,过滤,无水乙醇重结晶得 7.4g 目标产物 (产率 83%), m. p. 187°C。

[0069] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 400MHz) : δ 1.398 (t, 3H, $J=7.0\text{Hz}$, CH_2CH_3), 2.321 (d, 3H, $J=1.4\text{Hz}$, 4- CH_3), 3.836 (q, 2H, $J=7.0\text{Hz}$, CH_2CH_3), 5.541 (q, 1H, $J=1.4\text{Hz}$, H-3), 6.520 (dd, 1H, $J=7.4, 2.0\text{Hz}$, H-5), 6.649 (d, 1H, $J=2.0\text{Hz}$, H-8), 6.765 (d, 1H, $J=7.4\text{Hz}$, H-6), 8.800 (brs, 1H, NH)。

[0070] 实施例 4:4-甲基-7-氨基香豆素 (4-methyl-7-aminocoumarin, 化合物 8) 的制备

[0071] 取实施例 3 中制备所得的化合物 7 (7.0g, 28mmol) 置 25g 浓 H_2SO_4 和 25g 冰醋酸溶液中,室温下搅拌反应 4 小时,冷却,得一黄色沉淀,将反应液倒进 100mL 的冰水中放置过夜,悬浮液以 50% NaOH 调至微碱性并加冰块冷却,过滤得黄色沉淀,以冰水洗三次 (3*50mL),乙醇结晶得黄色晶针即为目标产物 (4.9g, 99%), m. p. 222°C。

[0072] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 400MHz) : δ 2.421 (d, 3H, $J=1.4\text{Hz}$, 4- CH_3), 5.846 (q, 1H, $J=1.4\text{Hz}$, H-3), 6.524 (dd, 1H, $J=7.4, 2.0\text{Hz}$, H-5), 6.643 (d, 1H, $J=2.0\text{Hz}$, H-8), 6.565 (d, 1H, $J=7.4\text{Hz}$, H-6), 6.306 (brs, 2H, NH_2)。

[0073] 实施例 5:7-0-烯丙基东莨菪内酯 (7-0-allylscooletin, 化合物 9) 的制备

[0074] 取实施例 1 中的东莨菪内酯 576mg (3mM)、1008mg 丙烯酰碘 (6mM) 和 1242mg 无水碳酸钾 (9mM, 注:2-3 倍 I 原料),溶于 9mL 乙腈中,于 80°C (回流下) 搅拌反应 60min,混合液冷至室温,过滤,滤液减压回收,残渣用 3mL 乙酸乙酯溶解,搅拌下加入适量 KOH 反应 2h 以除去未反应的原料,过滤,滤液减压回收即得目标产物,产物经乙酸乙酯重结晶即得纯品目标产物。

[0075] 土黄色粉末,分子式: $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{O}_4$, m. p. 197-198°C;ESI-MS, m/z :233 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$;IR(KBr): 3083, 1702 (C=O), 1613, 1560, 1509, 1391, 1205, 1176, 1150 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 400MHz) : δ 3.808 (s, 3H, OCH_3), 4.667 (d, 2H, $J=5.6\text{Hz}$, H-1'), 5.296 (dd, 1H, $J=1.6, 10.4\text{Hz}$, H-3'), 5.431 (ddd, 1H, $J=1.6, 3.2, 17.2\text{Hz}$, H-3'), 6.052 (m, 1H, H-2'), 6.289 (d, 1H, $J=9.6\text{Hz}$, H-3), 7.053 (s, 1H, H-5), 7.260 (s, 1H, H-8), 7.946 (d, 1H, $J=9.6$, H-4)。

[0076] 实施例 6:7-0-(3-溴丙基)-东莨菪内酯 (7-0-(3-bromopropyl)-scooletin, 化

合物 10)

[0077] 取实施例 1 中的东莨菪内酯 576mg (3mM)、300mg 1,3-二溴丙烷 (1.5mM) 和 1242mg 无水碳酸钾 (9mM), 溶于 9mL 乙腈中, 于 80°C (回流下) 搅拌反应 24h, 混合液冷至室温, 过滤, 滤液减压回收, 残渣用 3mL 乙酸乙酯溶解, 搅拌下加入适量 KOH 反应 2h 以除去未反应的原料, 过滤, 滤液减压回收即得目标混合产物, 混合物主要有三个斑点包括包括两个产物和一个原料斑点, 以 200-300 目硅胶进行柱层析分离, 分别以石油醚-乙酸乙酯 10 : 1, 5 : 1 洗脱, TLC 检测得两黄绿色粉末, 得率分别为 55% 和 21% (9)。

[0078] 黄绿色粉末, 分子式: $C_{13}H_{13}BrO_4$, m. p. 116-117 °C; ESI-MS, m/z : 313[M+H]⁺; IR(KBr) : 3422, 2919, 2849, 1718 (C=O), 1600, 1461, 1380, 1263, 1146cm⁻¹; ¹H-NMR (CD₃OD, 400MHz) : δ 2.13 (m, 2H, H-2'), 3.808 (s, 3H, OCH₃), 3.514 (t, 2H, J=6.4Hz, H-1'), 4.242 (t, 2H, J=6.4Hz, H-1'), 6.254 (d, 1H, J=9.6Hz, H-3), 7.106 (s, 1H, H-5), 7.236 (s, 1H, H-8), 7.975 (d, 1H, J=9.6, H-4)。

[0079] 实施例 7 : 7-羟基-4-苯基香豆素制备 (7-hydroxy-4-phenylcoumarin, 化合物 14) 的制备

[0080] 取 1,3-二苯酚 5mM, 苯甲酰乙酸乙酯 5mM 和磷钨酸 (反应原料总摩尔数的 1%) 置 10mL 甲苯中回流加热 20 分钟, 放冷, 过滤, 沉淀用乙酸乙酯提取, 滤去不溶物, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩干燥即得粗产物, 粗产物经乙酸乙酯或甲醇等重结晶即得纯目标产物。

[0081] 土黄色粉末, 分子式: $C_{15}H_9O_6$, m. p. 247-248 °C; ESI-MS, m/z : 239[M+H]⁺; IR(KBr) : 3103, 1686 (C=O), 1592, 1377, 1109cm⁻¹; ¹H-NMR (DMSO-d₆, 400MHz) : δ 6.129 (s, 1H, H-3), 6.768 (dd, 1H, J=2.4, 8.8Hz, H-6), 6.797 (d, 1H, J=2.0Hz, H-8), 7.257 (d, 1H, J=8.4Hz, H-5), 7.480 (dd, 2H, J=2.4, 5.6Hz, ArH-2', 6'), 7.537 (m, 3H, ArH-3', 4', 5'), 10.642 (s, 1H, OH)。

[0082] 实施例 8 : 4-甲基-7-二乙氨基香豆素 (4-methyl-7-diethylaminocoumarin, 化合物 16) 的制备

[0083] 在配有回流冷凝管及分水器的干燥的四口烧瓶中, 加入二乙替间氨基酚 165g (1mol), β-丁酮酸乙酯 195g (1.5mol), 油浴升温至 60°C, 分别加入 6.0g 金属锌粉、四氯化钛 21g 和乙酸酐 10.2g。于 75-80°C 保温 2h, 继续加热至反应物回流, 并收集挥发液。在温度 110°C 反应 4h, 直至无挥发液产生。反应物冷却后 (<50°C), 立即加入盛有 65g 石油醚溶液的容器内, 夹套冷却至 10°C 以下, 析出固体, 经精制、低温减压干燥得 197.5g 4-甲基-7-二乙氨基香豆素, 产物的收率为 85.6%。产物的熔点为 72°C。

[0084] ¹H-NMR (DMSO-d₆, 400MHz) : δ 1.15 (t, 6H, J=6.4Hz, 2CH₃), 2.434 (s, 3H, 4-CH₃), 3.423 (q, 4H, J=6.4Hz, 2CH₂), 6.234 (s, 1H, H-3), 6.528 (dd, 1H, J=2.4, 8.8Hz, H-6), 6.697 (d, 1H, J=2.0Hz, H-8), 7.492 (d, 1H, J=8.4Hz, H-5)。

[0085] 实施例 9 : 4,7-二羟基-3-硝基香豆素 (4,7-dihydroxy-3-nitro-coumarin, 化合物 19) 的制备

[0086] 室温下搅拌条件下, 将 15mL 发烟硝酸滴加至 3.0g 的 4,7-二羟基香豆素单水化合物的 150mL 氯仿溶液中, 滴加约 1 小时, 滴加完毕后继续反应 2 小时, 减压蒸去溶剂, 加入 50mL 6N 盐酸, 过滤, 滤渣以乙醇重结晶即得目标产物, m. p. 255°C。

[0087] ¹H-NMR (DMSO-d₆, 400MHz) : 6.624 (d, 1H, J=2.0Hz, H-8), 6.762 (dd, 1H, J=2.4,

8.8Hz, H-6), 7.572(d, 1H, J=8.4Hz, H-5), 12.642(s, 1H, 4-OH), 5.023(s, 1H, 7-OH)。

[0088] 实施例 10 :7-乙酰氨基香豆素 (7-acetamidocoumarin, 化合物 20) 的制备

[0089] 取甲酰乙酸乙酯 (4.98g, 43mmol)、3-乙酰氨基苯酚 (5.4g, 36mmol) 和 0.5g 锌粉悬浮在 100mL 乙醇中, 加热回流搅拌反应 4 小时, 将此黄色的反应清液倒进 400mL 的冰水中, 得到白色长卷状的晶体沉淀, 过滤, 无水乙醇重结晶得 3.14g 目标产物 (产率 43%), m. p. 226°C。

[0090] ^1H NMR(CDCl_3 , 400MHz) δ :2.04(3H, s, OCH_3), 6.21(1H, d, J=9.6Hz, H-3) 和 7.79(1H, d, J=9.6Hz, H-4), 7.12(2H Ph-H), 7.27(1H, Ph-H)。

[0091] 实施例 11 :7-氨基-4-三氟甲基香豆素 (7-amino-4-trifluoromethyl-coumarin, 化合物 22) 的制备

[0092] 取三氟乙酰乙酸乙酯 (7.91g, 43mmol)、3-羟基苯胺 (3.9g, 36mmol) 和 0.5g 锌粉悬浮在 100mL 乙醇中, 加热回流搅拌反应 4 小时, 将此黄色的反应清液倒进 400mL 的冰水中, 得到白色长卷状的晶体沉淀, 过滤, 无水乙醇重结晶得 3.71g 目标产物 (产率 45%), m. p. 221°C。

[0093] ^1H -NMR(DMSO- d_6 , 400MHz) : δ 6.273(brs, 2H, NH_2), 6.357(d, 1H, J=2.0Hz, H-8), 6.567(dd, 1H, J=2.4, 8.8Hz, H-6), 7.019(s, 1H, H-3), 7.429(d, 1H, J=8.4Hz, H-5)。

[0094] 实施例 12 :7-氨基-4-苯基香豆素 (7-amino-4-phenylcoumarin, 化合物 23) 的制备

[0095] 取苯乙酰乙酸乙酯 (6.91g, 43mmol)、3-羟基苯胺 (3.9g, 36mmol) 和 0.5g 锌粉悬浮在 100mL 乙醇中, 加热回流搅拌反应 4 小时, 将此黄色的反应清液倒进 400mL 的冰水中, 得到白色长卷状的晶体沉淀, 过滤, 无水乙醇重结晶得 3.41g 目标产物 (产率 40%), m. p. 227°C。

[0096] ^1H -NMR(DMSO- d_6 , 400MHz) : δ 6.192(s, 1H, H-3), 6.273(brs, 2H, NH_2), 6.786(dd, 1H, J=2.4, 8.8Hz, H-6), 6.779(d, 1H, J=2.0Hz, H-8), 7.275(d, 1H, J=8.4Hz, H-5), 7.467(dd, 2H, J=2.4, 5.6Hz, ArH-2', 6'), 7.548(m, 3H, ArH-3', 4', 5')。

[0097] 实施例 13 :5,7-二甲氧基香豆素 (5,7-dimethoxycoumarin, 化合物 30) 的制备

[0098] 取新采集的佛手 6kg, 95%工业乙醇回流提取 4h, 70%工业乙醇回流提取 2 次, 每次 3h), 提取液合并减压浓缩, 浓缩后得浸膏, 加适量水, 分别用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取。石油醚部分 (26g) 硅胶柱石油醚/丙酮梯度洗脱得目标化合物, 乙醇中重结晶, 得纯化合物, m. p. 148°C。

[0099] 白色晶体, IR(KRr) ν max 3358, 1711(C=O), 1611, 1496, 1469, 1454, 1362, 1222, 1205, 1152, 1117, 817 cm^{-1} ; ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) δ 3.86(s, 3H, OCH_3), 3.90(s, 3H, OCH_3), 6.15(d, 1H, J=9.5Hz, H-3), 6.28(d, 1H, J=2.0Hz, H-6), 6.41(d, J=2.0Hz, H-8), 7.96(d, 1H, J=9.5Hz, H-4); ^{13}C NMR(125Hz, CDCl_3) δ 163.7(C-2), 110.9(C-3), 138.6(C-4), 157.0(C-5), 94.7(C-6), 161.4(C-7), 92.8(C-8), 156.8(C-9), 103.9(C-10), 55.9, 55.7(2 \times OCH_3)。

[0100] 实施例 14 :5-羟基-7-氨基香豆素 (5-hydroxy-7-aminocoumarin, 化合物 32) 的制备

[0101] 取甲酰乙酸乙酯 (4.98g, 43mmol)、3,5-二羟基苯胺 (4.5g, 36mmol) 和 0.5g 锌粉

悬浮在 100mL 乙醇中,加热回流搅拌反应 4 小时,将此黄色的反应清液倒进 400mL 的冰水中,得到黄色沉淀,过滤,无水乙醇重结晶得 2.49g 目标产物(产率 39%), m. p. 232°C。

[0102] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) δ 5.82(d, 1H, J=2.0Hz, H-6), 6.01(d, J=2.0Hz, H-8), 6.19(d, 1H, J=9.5Hz, H-3), 6.25(brs, 2H, NH_2) 7.95(d, 1H, J=9.5Hz, H-4)

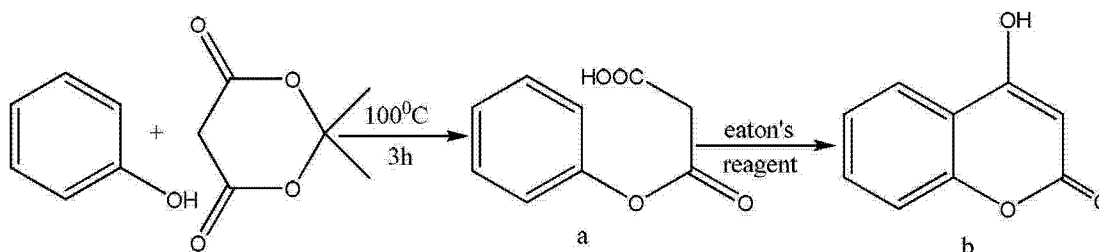
[0103] 实施例 15:7-羟基-5- β -萘基香豆素(7-hydroxy-5- β -naphthylcoumarin, 化合物 42) 的制备

[0104] 取甲酰乙酸乙酯(4.17g, 36mmol)、5- β -萘基-1,3-苯二酚(8.5g, 36mmol) 和 0.5g 锌粉悬浮在 100mL 乙醇中,加热回流搅拌反应 4 小时,将此黄色的反应清液倒进 400mL 的冰水中,得到黄色沉淀,过滤,无水乙醇重结晶得 5.49g 目标产物(产率 53%), m. p. >250°C。

[0105] ^1H NMR(400MHz, DMSO-d_6) δ 5.35(brs, 1H, -OH), 5.97(d, 1H, J=9.5Hz, H-3), 6.58(s, 1H, H-8), 6.91(s, 1H, H-6), 7.55-7.61(m, 3H, H-Naphthyl), 7.79(d, 1H, J=9.5Hz, H-4), 8.04-8.55(m, 4H, H-Naphthyl)。

[0106] 实施例 16:4-羟基香豆素(4-hydroxycoumarin, 化合物 47) 的制备

[0107]

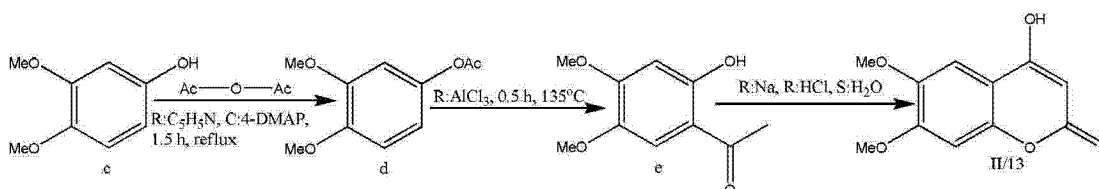


[0108] 取苯酚(0.480g, 5.1mmol) 和米氏酸(0.720g, 5.0mmol) 加热至 100°C, 搅拌 3h 后反应完全(TLC 监测), 减压除去残留的丙酮, 残余物用苯-正己烷重结晶得丙二酸单苯基酯(a)。取 a(0.180g, 1mmol) 和 3mL Eaton 试剂在 70°C 搅拌加热 4h, 然后冷却, 加入 20mL 冰水, 沉淀经过滤、水洗、干燥, 用乙醇-水重结晶得到目标产物 4-羟基香豆素, 产率为 78.8%, m. p. 214°C。

[0109] IR(KBr) ν : 3394(OH), 1694(C=O) cm^{-1} ; ^1H NMR(CDCl_3 , 500MHz) δ : 5.60(s, 1H, H-3), 7.36-7.30(m, 2H, H6, H8), 7.79(d, 1H, J=12Hz, H-5), 7.65-7.60(m, 1H, H-7), 12.58(brs, OH)。

[0110] 实施例 17:4-羟基-6,7-二甲氧基香豆素(4-hydroxy-6,7-dimethoxy-coumarin, 化合物 48) 的制备

[0111]



[0112] 3,4-二甲氧基苯基乙酸酯 d 的合成

[0113] 取 3,4-二甲氧基苯酚 65g(0.54mol), 乙酸酐 171.2g(158.4mL, 1.68mol), 吡啶 2g(2mL, 24mM) 和 4-二甲氨基吡啶(DMAP) 6.6g(54.0mM), 搅拌加热(139°C) 回流 1.5h, 反应液放冷后倒入 40mL 2% HCl 溶液/27g 冰中, 水层用乙醚(9mL) 萃取 4 次, 合并有机层, 用

7mL 2% NaOH 水溶液洗涤 4 次,无水硫酸钠干燥,蒸去溶剂,残余物在 b. p. 125°C /0.004mm 蒸馏得到无色油状物即为目标产物 d(收率约为 68%)。

[0114] 2-羟基-4,5-二甲氧基苯乙酮 e 的合成

[0115] 将三氯化铝 30.0g(22.4mM) 分部分地加入到 30.0g(14.0mM) 化合物 d 中,缓慢升温到 135°C 下,当达到温度后反应 30min,反应结束后冷却到室温,固相化的混合反应物以冰和稀盐酸水解,加入乙醚萃取三次,每次 20mL,合并萃取液,以稀 NaOH 洗涤除去副产物,无水硫酸钠干燥,浓缩,得膏状反应目标产物 e(66%)。

[0116] 4-羟基-6,7-二甲氧基香豆素 II 的合成

[0117] 将 e(20g),碳酸二乙酯(400mL)和钠粉 7.5g 混合于蒸汽浴中加热并加振摇 30min,冷却到室温后,混合物用 500mL 醚稀释,得到颗粒性的目标产物的钠盐,干燥,溶于 300mL 水上中,用盐酸酸化得到无色棱镜状沉淀 18g,该香豆素可溶于乙腈,略溶于乙酸乙酯和氯仿,易溶于碳酸氢钠水溶液。

[0118] ESI-MS, m/z :223[M+H]⁺;IR(KBr) :3300,1719(C=O),1616,1488,1211,1005cm⁻¹; ¹H-NMR(DMSO-d₆,400MHz) : δ 3.800(s,1H, OCH₃),3.846(s,1H, OCH₃),5.485(s,1H, H-3),6.988(s,1H, H-5),7.158(s,1H, H-8)。

[0119] 实施例 18 :4,7-二羟基-6-甲氧基香豆素(4,7-dihydroxy-6-methoxy-coumarin, 化合物 49) 的制备

[0120] 取实施例 16 产物 624mg(3mM) 和 20mL 干燥的二氯甲烷,搅拌助溶,于 -20°C 下滴入 BBr₃(1mol/L 的 CH₂Cl₂ 溶液) 15mL,在室温反应 2h,TLC(Petrol : EtOAc 3 : 2) 检测原料完全反应,反应物加入 150mL 冰中,待冰融化,搅拌。用 150mL×3 乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,蒸去溶剂,得固体产物, Petrol : EtOAc 1 :1 重结晶得目标产物,紫红色粉末。

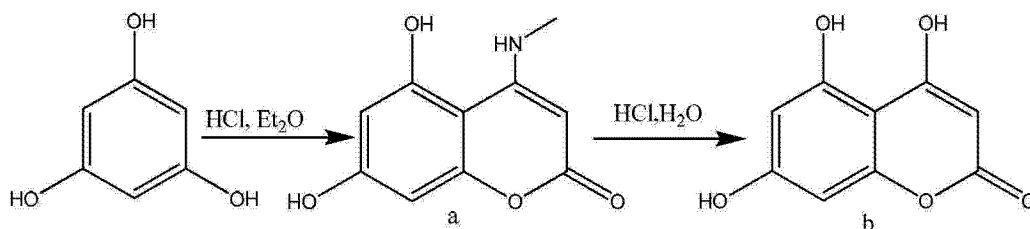
[0121] 分子式 :C₁₀H₈O₅, m. p. >250 °C ;ESI-MS, m/z :209[M+H]⁺;IR(KBr) :3241,3100,1645(C=O),1569,1238cm⁻¹; ¹H-NMR(DMSO-d₆,400MHz) : δ 3.448(brs, OCH₃),5.366(s,1H, H-3),6.205(s,1H, H-5),7.038(s,1H, H-8),9.404(brs,1H, OH),10.118(brs,1H, OH)。

[0122] 实施例 19 :4-乙酰氧基-6,7-二甲氧基香豆素(4-acetoxy-6,7-dimethoxycoumarin, 化合物 50) 的制备

[0123] 将 1.11g 实施例 16 产物(5mM) 置于含有 25mL 二氯甲烷和 0.9mL(6mM) 三乙胺的 50mL 圆底烧瓶中,冰盐浴下,将 0.471g(6mM) 乙酰氯用注射器缓慢注入反应瓶中,室温下搅拌反应 4h,过滤除去沉淀,反应液经 0.1mol/LHCl、0.1mol/L NaHCO₃、饱和食盐水、水洗并经过无水硫酸钠干燥后,减压除去溶剂,得到固体粗产物,经等体积乙醇-水(或其它溶剂体系)重结晶即得目标产物

[0124] 土黄色粉末,分子式 :C₁₈H₁₄O₆, m. p. 170-171°C ;ESI-MS, m/z :327[M+H]⁺;IR(KBr) :3065,2943,1752(C=O),1718(C=O),1571,1421,1201,1168,1127cm⁻¹; ¹H-NMR(DMSO-d₆,400MHz) : δ 2.296(s,3H, CH₃),3.825(s,3H, OCH₃),6.480(d,1H, J=9.6Hz, H-3),7.301(s,1H, H-5),7.469(s,1H, H-8),8.016(d,1H, J=9.6, H-4)。

[0125] 实施例 20 :4,5,7-三羟基香豆素(4,5,7-dihydroxycoumarin, 化合物 53) 的制备
[0126]



[0127] 干燥氯化氢（由浓硫酸滴加到氯化钠产生）持续 4 小时通过 3.0g 间苯三酚和 3.0g (0.035mol) 腈乙酸的干燥乙醚溶液中。反应混合溶液变成浅红色，2 小时后出现结晶化合物，过滤分离，50% 乙醇重结晶得 2.0g 5,7-dihydroxyketamide (a)。将 a 置于 20mL 36% 盐酸中回流加热 1 小时，放冷，得絮状结晶，过滤，溶于乙酸乙酯中，过滤，减压蒸干，以热水重结晶得 1.2g (得率 54%) 黄绿色粉末，即目标产物。

[0128] 分子式： $C_9H_6O_5$ ，m. p. 245–246 °C；ESI-MS， m/z : 195 $[M+H]^+$ ；IR (KBr) : 3300, 1700 (C=O), 1640 cm^{-1} ；¹H-NMR (DMSO- d_6 , 400MHz) : δ 4.853 (s, 1H, OH), 6.087 (d, 1H, J=2.4Hz, H-8), 6.156 (d, 1H, J=2.4Hz, H-6), 6.205 (s, 1H, H-3), 7.301 (s, 2H, 2OH)。

[0129] 实施例 21 : 4-羟基-6-甲基香豆素 (4-hydroxy-6methylcoumarin, 化合物 55) 的制备

[0130] 取对甲基苯酚 (0.551g, 5.1mmol) 和米氏酸 (0.720g, 5.0mmol) 加热至 100°C，搅拌 3h 后反应完全 (TLC 监测)，减压除去残留的丙酮，残余物用苯-正己烷重结晶得丙二酸单苯基酯 (a)。取 a (0.180g, 1mmol) 和 3mL Eaton 试剂在 60°C 搅拌加热 2h，然后冷却，加入 20mL 冰水，沉淀经过滤、水洗、干燥，用乙醇-水重结晶得到灰白色粉末即为目标产物，产率为 78%，m. p. 261°C。

[0131] IR (KBr) ν : 3446 (OH), 1693 (C=O) cm^{-1} ；¹H NMR (MDSO- d_6 , 500MHz) δ : 2.35 (s, 3H, ArCH₃), 5.55 (s, 1H, H-3), 7.25 (d, J=1.25Hz, 1H, H-5), 7.44–7.46 (m, 1H, H-7), 7.60 (d, 1H, J=8.55Hz, H-8), 12.40 (brs, 1H, OH)。

[0132] 实施例 22 : 6-氯-4-羟基香豆素 (6-chloro-4-hydroxycoumarin, 化合物 57) 的制备

[0133] 用对氯苯酚 (0.653g, 5.1mmol) 代替对甲基苯酚，按实施实例 20 的制备方法制得白色目标产物，产率 72%。m. p. >250°C。

[0134] ¹H NMR (MDSO- d_6 , 500MHz) δ : 5.67 (s, 1H, H-3), 7.36 (d, 1H, J=8.55Hz, H-8), 7.594–7.64 (m, 1H, H-7), 7.95 (d, 1H, J=1.25Hz, H-5), 12.40 (brs, 1H, OH)。

[0135] 实施例 23 : 6,8-二氯-4-羟基香豆素 (6,8-dichloro-4-hydroxycoumarin, 化合物 58) 的制备

[0136] 用 2,4-二氯苯酚 (0.826g, 5.1mmol) 代替对甲基苯酚，按实施实例 20 的制备方法制得白色目标产物，产率 71%。m. p. 183°C。

[0137] ¹H NMR (MDSO- d_6 , 500MHz) δ : 5.76 (s, 1H, H-3), 7.63 (d, 1H, J=1.25Hz, H-7), 7.97 (d, 1H, J=1.25Hz, H-5), 12.40 (brs, 1H, OH)。

[0138] 实施例 24 : 4-羟基-7-硝基香豆素 (4-hydroxy-7-nitrocoumarin, 化合物 61) 的制备

[0139] 用间硝基苯酚 (0.708g, 5.1mmol) 代替对甲基苯酚，按实施实例 20 的制备方法制得淡红色目标产物，产率 65%。m. p. > 250°C。

[0140] $^1\text{H NMR}$ (MDSO-d_6 , 500MHz) δ 5.86 (s, 1H, H-3), 7.85 (d, 1H, $J=6.8\text{Hz}$, H-5), 7.90-7.96 (m, 1H, H-6), 8.21 (d, 1H, $J=1.25\text{Hz}$, H-8), 12.40 (brs, 1H, OH)。

[0141] 实施例 25 :4-羟基-5-苯甲酰基香豆素 (4-hydroxyl-5-benzoylcoumarin, 化合物 62) 的制备

[0142] 用间苯甲酰基苯酚 (1.009g, 5.1mmol) 代替对甲基苯酚, 按实施实例 20 的制备方法制得黄色固体, 置硅胶和 LH-20 色谱柱上反复纯化得目标产物, 产率 45%。m. p. $>250^\circ\text{C}$ 。

[0143] $^1\text{H NMR}$ (MDSO-d_6 , 500MHz) δ :5.93 (s, 1H, H-3), 7.55-7.86 (m, 8H, ArH), 12.42 (brs, 1H, OH)。

[0144] 实施例 26 :4-氨基香豆素 (4-aminocoumarin, 化合物 65) 的制备

[0145] 将 4-羟基香豆素 (50.0mmol, 8.10g) 和干燥的醋酸氨 (500.0mmol, 38.7g) 倒进 50 冰醋酸中, 室温下搅拌反应 2 小时, 冷却, 倒进 300mL 水中, 在 5-10 $^\circ\text{C}$ 中放置数小时至反应溶液变为无色, 过滤, 用水洗几遍, 乙酸乙酯重结晶, 得产物 4.67g (得率 58%), m. p. 233°C 。

[0146] $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500MHz) δ :2.02 (brs, 2H, NH_2), 5.02 (s, 1H, H-3), 7.42-7.45 (m, 2H, H-6, H-8), 7.65-7.60 (m, 1H, H-7), 7.97 (d, 1H, $J=12\text{Hz}$, H-5)。

[0147] 实施例 27 :4-乙氨基香豆素 (4-ethylaminocoumarin, 化合物 66) 的制备

[0148] 取 4-氯香豆素 (1.89g, 10mmol) 与乙胺 (0.9g, 20mmol) 室温搅拌下反应 2 小时, 反应固体产物以乙醇结晶即得目标产物 1.44g (得率 76%)。

[0149] $^1\text{HNMR}$ (DMSO-d_6) : δ :0.84 (t, 3H, $J=5.6\text{Hz}$, CH_3), 2.73 (q, 2H, CH_2), 5.23 (s, 1H, H-3), 7.36-7.40 (m, 2H, H-6, 8), 7.65-7.60 (m, 1H, H-7), 7.81 (s, 1H, NH; disappeared with D_2O), 8.12 (d, 1H, $J=12\text{Hz}$, H-5)。

[0150] 实施例 28 :7-羟基-4-乙氨基香豆素 (7-hydroxy-4-ethylaminocoumarin, 化合物 69) 的制备

[0151] 取 4-氯-7-羟基香豆素 (1.96g, 10mmol) 与氨水 (0.51g, 30mmol) 室温搅拌下反应 2 小时, 反应固体产物以乙醇结晶即得目标产物 1.27g (得率 72%)。

[0152] $^1\text{HNMR}$ (DMSO-d_6) : δ :5.20 (s, 1H, H-3), 5.35 (brs, 1H, OH), 6.63-6.69 (m, 2H, H-6, 8), 7.81 (s, 2H, NH; disappeared with D_2O), 7.89 (d, 1H, $J_{5,6}=9\text{Hz}$, H-5)。

[0153] 实施例 29 :4-环丙基氨基-7-甲氧基香豆素 (4-cyclopropylamino-7-methoxycoumarin, 化合物 71) 的制备

[0154] 取 4-氯-7-甲氧基香豆素 (2.1g, 10mmol) 与环丙基氨 (1.14g, 20mmol) 室温搅拌下反应 2 小时, 反应固体产物以乙醇结晶即得目标产物 1.69g (得率 73%)。IR (KBr) ν :3300 (NH), 1680 (CO), 1618, 1548, 1496 cm^{-1} ; $^1\text{HNMR}$ (DMSO-d_6) : δ :0.56-0.68 and 0.80-0.92 (2m, 2H+2H, cyclopropyl CH_2 ' s), 2.57 (m, 1H, cyclopropyl CH), 3.85 (s, 3H, OCH_3), 5.33 (s, 1H, H-3), 6.85-6.96 (m, 2H, H-6, 8), 7.81 (s, 1H, NH, disappeared with D_2O), 7.93 (d, 1H, $J_{5,6}=9\text{Hz}$, H-5)。

[0155] 实施例 30 :4-羟基-7- β -萘基香豆素 (4-hydroxyl-7- β -naphthylcoumarin, 化合物 81) 的制备

[0156] 将化合物 2-羟基-5- β -萘基苯乙酮 (20g), 碳酸二乙酯 (400mL) 和钠粉 7.5g 混合于蒸汽浴中加热并时加振摇 30min, 冷却到室温后, 混合物用 500mL 醚稀释, 得到颗粒性的目标产物的钠盐, 干燥, 溶于 300mL 水上中, 用盐酸酸化得到黄色棱镜状沉淀 23g 即为目

标产物。

[0157] ^1H NMR(DMSO- d_6) : δ 6.33(s, 1H, H-3), 7.5-8.0(m, 10H, Ar-H), 12.40(brs, 1H, OH)。

[0158] 实施例 31 :4-羟基-7-氰基香豆素(4-hydroxyl-7-cyanocoumarin, 化合物 86) 的制备

[0159] 将化合物 2-羟基-5-氰基苯乙酮(20g), 碳酸二乙酯(400mL) 和钠粉 7.5g 混合于蒸汽浴中加热并时加振摇 30min, 冷却到室温后, 混合物用 500mL 醚稀释, 得到颗粒性的目标产物的钠盐, 干燥, 溶于 300mL 水上中, 用盐酸酸化得到黄色棱镜状沉淀 17g 即为目标产物。

[0160] ^1H NMR(DMSO- d_6) : δ 5.84(s, 1H, H-3), 7.80(d, 1H, J=6.8Hz, H-5), 7.92-7.98(m, 1H, H-6), 8.25(d, 1H, J=1.25Hz, H-8), 12.42(brs, 1H, OH)。

[0161] 实施例 32 :制备可局部使用的化妆品组合物

[0162] 在本实施例中, “本发明产物”代表本发明所述的活性产物中的至少一种, 特别是优选的化合物 1-86。

[0163] 将本品用于美容用于水包油乳剂型的配方 :

[0164] 配方 32a

[0165]

A	水	加至 100%
	丁二醇	2
	甘油	3
	二羟基鲸蜡醇磷酸基醚	
	异丙基羟鲸蜡基醚	2
B	乙二醇硬脂酸酯 SE	14
	三异壬精	5
	椰油酸辛酯	6
C	丁二醇	
	对羟基苯甲酸甲酯	
	对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯	
	PH 调至 5.5	2
D	本发明产物	0.001-10%

[0166] 将本品用于表皮和乳头真皮的抗衰老和重塑, 和 / 或抗体皱, 效果显著。

[0167] 配方 32b

[0168]

A	水	加至 100%
	丁二醇	2
	甘油	3
	聚丙烯酰胺、异链烷烃	
	月桂醇聚醚-7	2.8
B	丁二醇	
	对羟基苯甲酸甲酯	
	对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯	2
	苯氧乙醇	
	对羟基苯甲酸甲酯	
	对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸丁酯	
	对羟基苯甲酸乙酯	2
C	丁二醇	0.5
D	本发明产物	0.001-10%

[0169]

[0170] 将本品涂于面部皮肤 1 个月后,目测观察,皮肤变得红润饱满、弹性好,细纹得到明显改善。

[0171] 将本品用于美容用于油包水乳剂型的配方:

[0172] 配方 32c

[0173]

A	PEG-30	
	二聚羟基硬脂酸酯	3
	癸酸甘油三酯	3
	鲸蜡醇磷酸辛酸酯	4
	己二酸二丁酯	3
	葡萄籽油	1.5
	霍霍巴油	1.5
	苯氧乙醇	
	对羟基苯甲酸甲酯	
	对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸丁酯	
	对羟基苯甲酸乙酯	0.5
B	甘油	3
	丁二醇	3
	硫酸镁	0.5
	乙二胺四乙酸	0.05
	水	加至 100%
C	环聚二甲基硅氧烷	1
	二甲基硅氧烷	1
D	香料	0.3
E	本发明产物	0.001-10%

[0174]

[0175] 将本品用于表皮和乳头真皮的抗衰老和重塑,和 / 或抗体皱,1 个月后,目测观察,皮肤变得红润饱满、弹性好,细纹得到明显改善。

[0176] 将本品用于美容用于水基凝胶(眼霜)的配方:

[0177] 配方 32d

[0178]

A	水	加至 100%
	卡波姆	0.5
	丁二醇	15
	苯氧乙醇、对羟基苯甲酸甲酯	
	对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸丁酯	
	对羟基苯甲酸乙酯	0.5
B	本发明产物	0.001-10%

[0179] 本品能减低黑眼圈、眼袋,同时也具备改善皱纹、细纹的功效,对眼袋、黑眼圈、鱼尾纹等都有一定的效用,

[0180] 实施例 33 :制备抑制 AGEs 形成的药物组合物

[0181] 在下列实施例中,“本发明产物”代表本发明所述的活性产物中的至少一种,特别是优选的化合物 1-86。

[0182] 33a 本发明药物组合物片剂的制备

[0183] 每片含有下述成分:

[0184]	本发明产物	12mg
[0185]	乳糖	175mg
[0186]	玉米淀粉	50mg
[0187]	硬脂酸镁	3mg

[0188] 制备方法:将本发明产物、乳糖和淀粉混合,用水均匀湿润,把湿润后的混合物过筛并干燥,再过筛,加入硬脂酸镁,然后将混合物压片,每片重 240mg,活性成分含量为 12mg。该片剂用于类风湿性关节炎、阿尔兹海默氏病、尿毒症、神经退行性疾病、动脉粥样硬化、糖尿病的微血管并发症和大血管并发症包括糖尿病性视网膜病和由糖尿病性肾病引起的肾衰竭、微血管病变和大血管病变、白内障、与透析或阿尔兹海默氏病相关的淀粉样变性、帕金森氏病、牙龈炎、龋齿、口腔-牙齿病症、糖尿病性溃疡、慢性肾衰竭、慢性肾透析、炎症疾病、年龄相关的风湿性疾病和卟啉病,以及意在治疗早期癌症治疗,具有良好的效果。

[0189] 33b 本发明药物组合物胶囊的制备

[0190] 步骤如下:

[0191] A. 取蜂蜡 4.2g,加月见草油 125g,80℃水浴下熔融混匀,冷却至室温(25℃)后加入叔丁基对羟基茴香醚和枸橼酸适量,充分混匀;

[0192] B. 加入过 100 目筛的本发明产物 0.25g、卵磷脂 5g,加月见草油至 250g,充分混匀,作为囊心液,压制成 1000 粒胶囊。

[0193] 本实施例所得胶囊用于治疗高血糖症、糖尿病肾病等具有良好的效果。

[0194] 33c 本发明药物组合物滴丸的制备

[0195] 取本发明产物 15g,经超微粉碎过 200 目筛后得细粉,加入至熔融的 15g 聚乙二醇 4000 基质中,搅匀,以二甲苯硅油为冷却剂,滴制法制丸,干燥,制得本发明产物滴丸。该滴

丸用于血肌酐增多尿肌酐排出减少症、糖尿病肾病的治疗有着良好的效果。

[0196] 33d 本发明药物组合物分散片的制备

[0197] 精密称取处方量的本发明产物 280g、乳糖 40g、微晶纤维素 70g、交联聚维酮 5.25g、阿斯巴甜 2.5g、聚维酮 6g、碳酸氢钠 4g,按等量递加法将主药混合物与各种辅料先手工混合均匀。过 80 目筛两遍。混匀后的物料置适当容器中,加入含 15% (g/100ml) 聚乙二醇 6000 的 75%乙醇溶液适量,制软材。20 目挤压过筛制湿颗粒。湿颗粒平摊于搪瓷盘中,置鼓风恒温干燥箱中,70℃干燥 2 小时。精确称量干燥颗粒的重量,加入 2.25g 剩余交联聚维酮,按 1%的量加入十二烷基硫酸钠 (SDS),混匀后,7mm 圆形冲模压制制成 1000 片。即得本发明产物分散片 1000 片。用于治疗糖尿病肾病及并发症,具有良好的效果。

[0198] 33e 本发明药物组合物片剂的制备

[0199] 本发明产物 :70g

[0200] 微晶纤维素 0.4g

[0201] 制成 1000 片

[0202] 制备方法 :将活性成分和微晶纤维素混合,用水均匀湿润制成软材,把湿润后的混合物制粒,过 20 目筛,80℃烘干,加入滑石粉,再过筛,然后将混合物压片,每片重 70.4mg,活性成分含量为 70mg。本品口服用于治疗类风湿性关节炎、阿尔兹海默氏病、尿毒症、神经退行性疾病、动脉粥样硬化、糖尿病的微血管并发症和大血管并发症包括糖尿病性视网膜病和由糖尿病性肾病引起的肾衰竭、微血管病变和大血管病变、白内障、与透析或阿尔兹海默氏病相关的淀粉样变性、帕金森氏病、牙龈炎、龋齿、口腔 - 牙齿病症、糖尿病性溃疡、慢性肾衰竭、慢性肾透析、炎症疾病、年龄相关的风湿性疾病和哮喘病,以及意在治疗早期癌症,具有良好的效果。

[0203] 本发明药物组合物的剂型还可以按照常规方法制备成颗粒剂或口服液。

[0204] 实施例 34 :制备预防食物蛋白质变质的化学剂

[0205] 在本实施例中,“本发明产物”代表本发明所述的活性产物中的至少一种,特别是优选的化合物 1-86。

[0206] 34a 固体粉末化学剂的制备

[0207] 本发明产物 10g

[0208] 淀粉 60g

[0209] 将以上两者混合均匀,用时洒于如鱼、肉等富含蛋白的食物表面贮存,通过测量防止蛋白质变质的效果指数 K 值与不使用本预防食物蛋白质变质化学剂的食物比较,添加本化学剂后 K 值随时间变化显著变小,同时能保持食物的光鲜不易腐败,有效地防止食物中蛋白质的变质。

[0210] 34b 液体化学剂的制备

[0211] 本发明产物 10g

[0212] 聚乙二醇 30g

[0213] 上述两者溶于 1L 水中,将鱼、肉等富含蛋白的食物泡于其中,通过测量防止蛋白质变质的效果指数 K 值与不使用本预防食物蛋白质变质化学剂的相应食物比较,添加本化学剂后 K 值随时间变化显著变小,能有效地防止食物中蛋白质的变质。

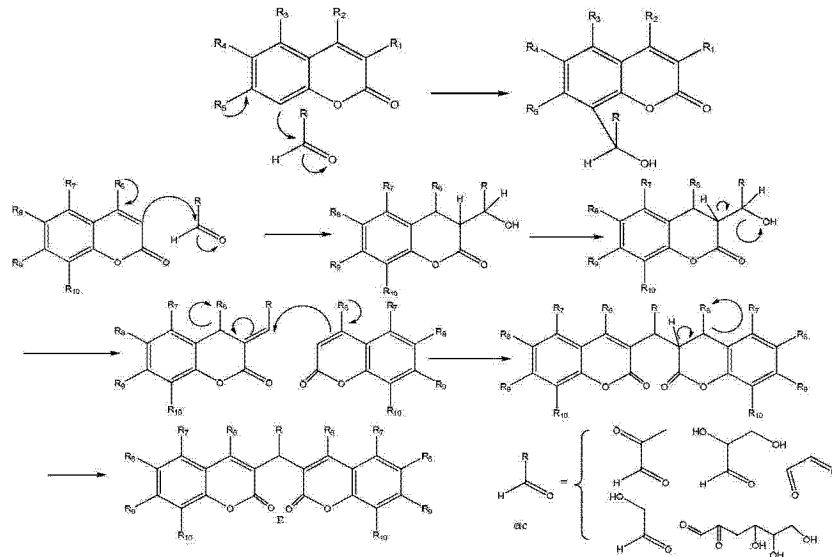
[0214] 实施例 35 :生物化学和生物学结果

[0215] 通过以下方式说明根据本发明的化合物的有效性：

[0216] 1 香豆素对丙酮醛的消除作用研究

[0217] 主要研究简单香豆素对丙酮醛(MGO)的消除作用,模拟人体生理条件,在 10mM pH 7.4PBS 条件下香豆素与丙酮醛于 37℃下孵育,于不同的时间点(0, 10, 30, 60, 120, 240, 480 和 1440min)取样,以邻苯二胺对剩余的 MGO 进行衍生生成 2-甲基喹啉,利用 HPLC 方法检测 2-甲基喹啉量以间接计算剩余的 MGO 的量,从而反映香豆素捕获消除 MGO 能力。统计结果见表 1,香豆素清除 MGO 的能力越强,提示其抑制 AGEs 的生成物作用越强,香豆素 IA 香豆素的消除作用与 AG 相当,而 IB 型香豆素的作用较 AG 强。IB 型香豆素的作用远远强于 IA,特别是化合物 47,50,57,58,61,81 和 86。为检验其反应机理,本发明专利还利用 LC-ESI-MS 技术检验化合物 1 和 47 与 MGO 作用 1440min 后的产物,结果见图 1-3 和图 4-6,从 MS 及 MS2 可推断化合物 1 是通过羟醛缩合消除 MGO,而 47 则是通过羟醛缩合、脱水和迈克尔加成反应从而消除 MGO 的,其原理如下式所示：

[0218]



[0219]

表1 香豆素对 MGO 的消除作用(MGO 剩余量, %)

化合物	作用时间 (min)							化合物类型	
	0	10	30	60	120	240	480		
1	100.04±1.30	87.92±0.30	78.67±0.38	76.29±0.84	75.97±3.62	76.43±4.07	68.33±0.86	60.18±0.62	IA
6	100.23±0.93	99.47±2.78	91.14±3.95	89.96±3.74	87.15±3.74	85.75±0.39	85.23±0.79	77.02±0.64	IA
7	100.09±1.83	94.23±1.06	90.26±1.83	87.20±1.85	85.49±3.39	79.08±4.41	74.20±1.06	72.08±1.94	IA
8	100.53±0.50	98.56±1.03	95.79±1.80	90.09±1.21	88.05±1.96	78.87±2.87	73.47±2.20	70.99±0.72	IA
10	100.09±1.50	95.13±2.27	93.35±2.95	90.63±4.53	89.44±2.02	79.22±2.20	72.06±2.33	68.60±2.71	IA
14	99.15±2.03	97.58±0.76	94.26±2.38	89.05±2.38	85.32±0.31	77.83±0.51	69.58±4.46	63.36±1.27	IA
16	100.22±1.01	90.24±0.50	89.99±0.50	85.34±4.59	78.68±0.77	78.42±2.21	74.02±0.69	68.36±0.77	IA
19	100.55±2.23	86.57±0.90	79.65±0.97	77.62±3.80	75.44±0.78	70.61±0.61	66.41±1.18	64.57±1.36	IA
20	100.38±0.76	99.69±1.71	89.31±0.40	80.46±0.97	79.09±2.70	72.33±0.64	75.17±3.28	73.33±0.19	IA
22	100.27±0.58	91.00±2.89	90.06±0.97	89.90±4.15	82.40±1.10	82.06±0.52	79.66±4.98	69.24±0.58	IA
23	99.89±2.17	85.06±1.54	85.13±2.59	84.61±0.39	70.48±0.19	71.23±4.03	74.28±4.73	73.76±5.00	IA
32	100.11±0.49	98.08±0.19	92.18±2.23	89.23±0.34	85.08±0.33	81.96±0.20	80.75±4.54	72.32±0.24	IA
42	100.0±1.31	87.92±0.38	78.67±0.38	76.92±2.35	75.05±3.01	76.34±4.70	68.23±0.68	63.05±0.65	IA
47	100.33±0.90	85.96±1.68	73.02±0.36	58.35±0.32	48.87±2.84	42.35±0.32	39.43±2.34	39.28±0.68	IB
49	100.55±2.23	88.57±0.90	79.66±0.96	77.62±3.80	69.44±0.78	61.61±0.61	60.41±1.18	51.57±1.36	IB
50	99.87±0.27	81.05±0.55	74.96±0.24	73.80±0.24	58.68±0.78	57.58±1.76	54.23±1.99	44.17±0.73	IB
53	99.72±0.50	85.21±0.08	83.54±0.08	80.56±0.54	78.26±1.07	76.65±3.73	76.73±5.43	62.39±0.08	IB
55	100.26±0.87	101.20±4.31	99.82±0.35	99.60±0.27	98.84±5.84	81.38±1.27	76.48±0.39	55.81±0.61	IB
57	100.01±1.54	97.29±2.17	89.40±1.45	79.31±1.09	69.89±2.65	54.78±1.82	36.18±2.19	32.20±4.90	IB
58	99.93±2.27	88.82±1.78	75.42±2.73	54.08±2.51	41.30±4.30	13.48±2.32	9.80±4.01	6.20±1.78	IB
61	100.47±2.78	97.65±1.76	87.19±2.31	68.09±1.76	42.52±2.48	24.11±2.85	22.87±1.86	18.24±2.26	IB
66	100.15±2.80	82.03±2.33	78.07±3.10	71.51±2.29	65.55±1.93	55.53±0.51	53.37±2.80	46.43±1.85	IB
69	100.82±3.02	94.28±0.88	94.03±4.01	89.81±0.26	87.79±2.60	83.07±0.23	76.82±0.31	54.90±2.82	IB
71	99.94±0.26	87.78±0.20	78.78±4.43	71.80±0.68	69.08±3.42	57.71±1.93	51.90±0.28	48.00±1.25	IB
81	99.39±2.58	88.98±1.86	75.42±2.73	54.08±2.51	41.30±4.30	31.48±2.32	29.80±4.01	26.20±1.58	IB
86	100.05±2.78	98.65±1.76	85.19±2.31	68.09±1.76	42.52±2.48	25.11±2.85	23.87±1.78	15.24±2.57	IB
Lysine	100.33±2.17	97.91±3.17	95.67±2.65	93.88±2.41	92.97±2.81	90.57±2.96	84.13±1.33	78.20±1.45	-
Aminoguanidine	100.34±1.50	86.46±2.07	81.09±0.55	79.08±1.97	76.73±1.50	75.22±2.49	71.06±2.87	64.04±3.69	-

表 2 香豆素对 AGEs(MGO-BSA) 生成抑制作用 (RFU)

化合物	作用时间 (h)								化合物类型
	0	8	24	72	120	240	360	480	
Blank	0	98±0.30	895.13±6.95	984.61±4.39	1060.41±8.11	1799.66±4.98	2261.61±4.16	2769.24±5.08	-
1	0	87.92±0.35	887.67±2.83	967.29±4.08	975.79±6.32	1276.43±7.04	1468.23±8.60	1604.18±6.20	IA
6	0	78.29±0.53	878.76±8.23	985.54±3.54	995.54±5.45	1296.35±6.04	1526.32±5.36	1740.81±4.32	IA
7	0	98.08±5.55	990.98±6.56	1087.20±8.25	1185.49±5.36	1479.45±4.41	1674.65±2.59	1972.08±3.65	IA
8	0	91.23±5.21	895.79±5.20	990.09±5.45	998.05±4.56	1278.87±2.87	1573.47±2.20	1770.99±3.54	IA
10	0	88.57±5.84	893.35±2.95	990.63±4.53	999.44±2.02	1279.22±2.20	1472.06±2.33	1668.60±2.71	IA
16	0	89.05±4.56	889.99±4.55	985.34±4.59	986.35±4.78	1278.42±2.21	1574.02±4.68	1668.36±5.87	IA
19	0	85.21±3.54	879.65±5.36	977.62±3.80	975.44±4.58	1170.61±4.58	1466.41±1.18	1664.57±1.36	IA
20	0	90.26±1.83	989.31±5.68	1080.46±4.56	1179.09±2.70	1572.33±3.57	1775.17±3.28	1973.33±4.35	IA
22	0	85.79±1.80	790.06±5.65	889.90±4.15	982.40±1.10	1082.06±6.54	1279.66±4.98	1569.24±4.53	IA
23	0	93.35±2.95	885.13±2.59	984.61±6.39	1070.48±4.53	1171.23±4.03	1374.28±4.73	1673.76±5.00	IA
32	0	94.23±5.06	892.18±2.23	989.23±6.34	1085.08±0.33	1281.96±3.56	1280.75±4.54	1772.32±3.24	IA
42	0	86.92±1.25	882.67±2.83	967.29±4.08	978.79±6.32	1276.43±7.04	1486.23±8.60	1604.18±5.23	IA
47	0	78.56±1.03	673.02±3.54	758.35±6.32	848.87±2.84	942.35±6.32	1039.43±2.34	1339.28±5.35	IB
49	0	85.13±2.27	779.66±4.56	877.62±3.80	969.44±2.35	1061.61±4.56	1160.41±5.18	1451.57±3.56	IB
50	0	89.31±5.65	874.96±5.64	973.80±8.24	1058.68±5.65	1057.58±5.76	1254.23±1.99	1544.17±6.65	IB
53	0	90.06±4.53	883.54±5.65	980.56±4.53	1078.26±3.53	1176.65±3.73	1276.73±5.43	1462.39±5.58	IB
55	0	85.13±2.59	899.82±5.35	999.60±4.27	1098.84±5.84	1181.38±8.27	1276.48±4.39	1455.81±7.61	IB
57	0	72.18±2.23	589.40±5.45	679.31±1.09	769.89±2.65	854.78±1.82	936.18±2.19	1232.20±4.90	IB
58	0	65.06±1.54	475.42±2.73	554.08±2.51	741.30±4.30	813.48±2.32	899.80±4.01	1126.20±1.78	IB
61	0	79.82±5.36	587.19±2.31	668.09±1.76	742.52±2.48	824.11±2.85	922.87±1.86	1218.24±2.26	IB
66	0	89.40±1.45	778.07±3.10	771.51±2.29	865.55±1.93	955.53±4.55	1153.37±2.80	1546.43±2.56	IB
69	0	79.42±2.73	694.03±4.01	789.81±5.85	787.79±2.60	854.96±4.58	1076.82±2.81	1454.90±2.82	IB
71	0	87.19±2.31	678.78±4.43	771.80±8.55	869.08±3.42	957.71±1.93	1151.90±6.54	1548.00±7.25	IB
81	0	88.06±1.58	675.42±2.98	754.08±2.51	791.30±4.30	813.48±2.32	899.80±4.01	1426.20±1.78	IB
86	0	79.82±5.36	487.19±2.31	688.09±1.45	742.52±2.48	824.11±2.85	922.87±1.86	1284.24±2.86	IB
Lysine	0	99.90±4.15	995.67±2.65	993.88±2.41	1092.97±2.81	1690.57±2.96	2084.13±5.63	2478.20±5.45	-
Aminoguanidine	0	84.61±4.58	891.09±4.53	979.08±1.97	976.73±5.66	1275.22±2.49	1471.06±2.87	1664.04±3.69	-

[0221] 2 香豆素对 AGEs(MGO-HSA) 生成的抑制作用

[0222] 将 HSA (1.4mg/mL)、500 μM 丙二醛与 1.5mM 本发明产物香豆素的 PBS(10mM, pH7.4)

溶液置于 37℃ 孵育, 孵育前加入 0.3mL 的链霉素和青霉素溶液以抑制细菌的生长, 分别于 0, 8, 24, 72, 120, 240, 360 和 480h 取 400 μ L 混合液冻存, 制备各个时间点不加入本发明产物的空白样品, 各样品重复三次, 取样完毕后, 将样品解冻, 用 14kDa 透析膜透析除去未反应的小分子化合物, Analyst™ AD 测定其 AGEs 含量水平, 检测波长为 Ex/Em 370/440nm。结果见表 2。

[0223] 从表中可见, AG 和本发明的香豆素产物均能很好的抑制 MGO-BSA 的生成, 其中 IA 型的香豆素与 AG 的抑制作用相当, 而 IB 型香豆素的抑制作用较 AG 的作用强, 其中化合物 47, 57, 58, 61, 81 和 87 的作用最强, 480 小时的抑制率达到 50% 以上。

[0224] 3 丙二醛对胰岛素的修饰和根据本发明的化合物的抑制效应: 这些产物与现有技术中抑制剂量的比较

[0225] 将人胰岛素 (Ins) 与丙酮醛在生理条件下孵育, 24 小时后, 胰岛素完全被修饰, 结果见图 7。

[0226] 另一方面, 在等摩尔量的根据本发明的 AGEs 抑制剂存在下, 于生理条件下将胰岛素与 MGO 孵育, 24 小时后, 胰岛素的修饰显着减少, 结果见图 7。

[0227] 图 8 举例证明一些已知的活性二羰基清除剂抑制通过 MGO 对胰岛素修饰的有效性。

[0228] 4 根据本发明和现有技术的 MGO 清除剂和 / 或丙酮醛存在下 EA 细胞的生长

[0229] 用于此实验的细胞来自 EA.hy 926 细胞系, 其为通过人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 与肺癌细胞 (A549) 杂交得到的内皮细胞。将 EA.hy 926 内皮细胞培养于 10% 胎牛血清的 Dulbecco's 改良的 Eagle's 培养基 (DMEM) 中。所述细胞在 12 孔板中孵育, 每一孔起初包含 100000 个细胞, 在添加或不添加各种潜在抑制剂 (1mM) 和 / 或丙酮醛 (600 μ M) 后, 通过 2ml 培养基中于 37℃ 在含 5% CO₂ 的潮湿气氛中孵育 48 小时而获得细胞的生长。

[0230] 通过以下的方法评价细胞数目:

[0231] 使用溴化 (4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基四氮唑 (MTT) 分析法对细胞进行染色, MTT 在其被转变为甲贍时渗入细胞, 形成的甲贍与活细胞的数目成正比。

[0232] 结果以处理后细胞数目与未处理的对照细胞数目相比的相对百分数表示 [100*OD(处理细胞)/OD(对照细胞)], UV/ 可见分光光度法在 570nm 进行检测。

[0233] 原理: MTT (黄色) 渗透细胞并通过由活细胞线粒体脱氢酶切割其四氮唑环而转变为不溶性的蓝色化合物甲贍, 将甲贍以异丙醇溶解, 细胞数目与所形成的的甲贍量及其吸光度成比例。

[0234] 结果总结于以下表 3 中。

[0235] 表 3 在 MGO 和 MGO 清除剂存在或不存在下的细胞生长

[0236]

MGO 清除剂	细胞+ MGO 清除剂 (A)	SD	细胞+ MGO 清除剂 +MGO (B)	SD	差 值 B-A
Blank	100	0	24	0	-76
氨基胍	97	6	92	5	-5
肌肽	99	2	50	3	-49
二甲双胍	91	4	45	4	-46
L-Lys	81	2	43	2	-38
1	98	3	90	3	-8
6	95	2	89	1	-6
7	85	3	78	2	-7
8	83	3	77	6	-6
9	89	2	85	0.9	-4
10	89	1	80	0.5	-9
14	90	3	84	0.6	-5
16	85	2	78	0.3	-7
19	83	1	75	0.8	-8

[0237]

20	84	0.5	77	0.6	-7
22	95	0.8	92	1	-3
23	87	0.6	78	3	-9
30	90	6	88	2	-2
32	88	0.9	80	6	-8
42	92	1.2	85	0.8	-7
47	99	0.5	96	0.9	-3
48	96	0.6	90	0.5	-6
49	98	0.3	94	3	-4
50	92	2	87	1	-5
53	99	1	95	2	-4
55	96	3	91	3	-5
57	87	0.6	90	3	+3
58	85	0.3	85	0.6	0
61	80	2	86	0.3	+6
62	87	1	82	2	-5
65	85	2	85	2	0
66	80	2	78	1	-2
69	87	1	82	0.5	-5
71	80	0.8	82	2	+2
81	90	1.5	83	1.8	-7
86	88	2.0	86	2.5	-2

[0238] 3 次试验的平均值

[0239] 添加氨基胍 (AG) 以一种特别的方式抑制此过程, AG 是一种已知的 MGO 清除剂, 同样的抑制趋势也可用根据本发明的化合物香豆素观察到, 尤其是化合物 1 和 IB 型香豆素 47, 48, 57, 58, 62 和 86 等化合物。其它已知的 MGO 清除剂如肌肽和二甲双胍在此试验中其活性较差。

[0240] 这此结果表明根据本发明的得到的香豆素类化合物对 EA 细胞是基本上是无毒的, 这些化合物与没有加入任何产物的对照细胞生长的数目相比, 细胞数量降低小于 20%。此外还可以注意到二甲双胍是一种弱的清除剂, 尽管此分子在此浓度下具有非常低的毒性。

[0241] 以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式, 其描述较为具体和详细, 但并不

不能因此而理解为对本发明专利范围的限制。应当指出的是,对于本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干变形和改进,这些都属于本发明的保护范围。因此,本发明专利的保护范围应以所附权利要求为准。

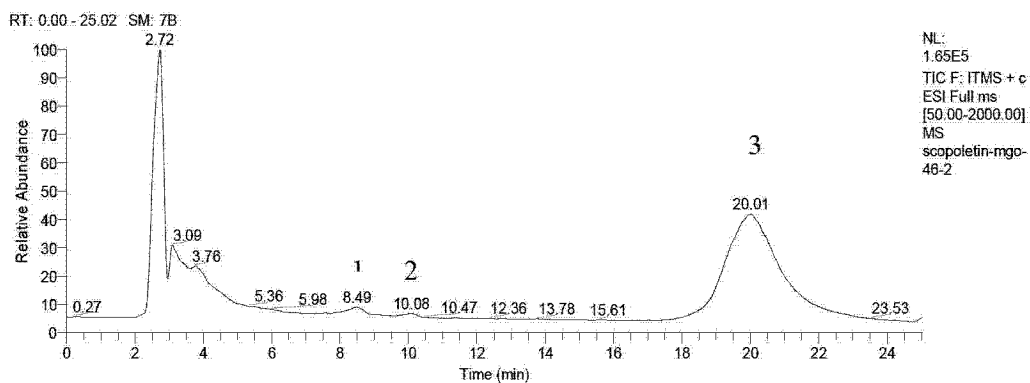


图 1

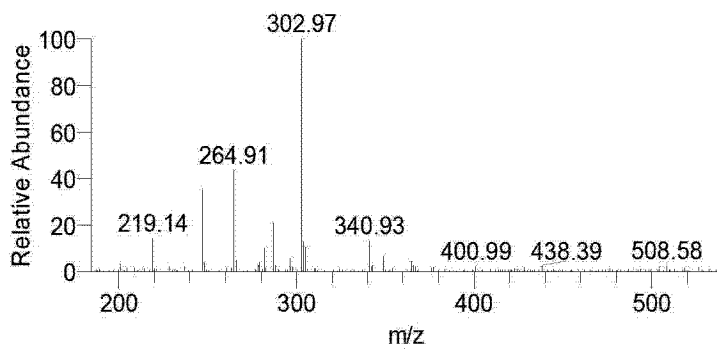


图 2

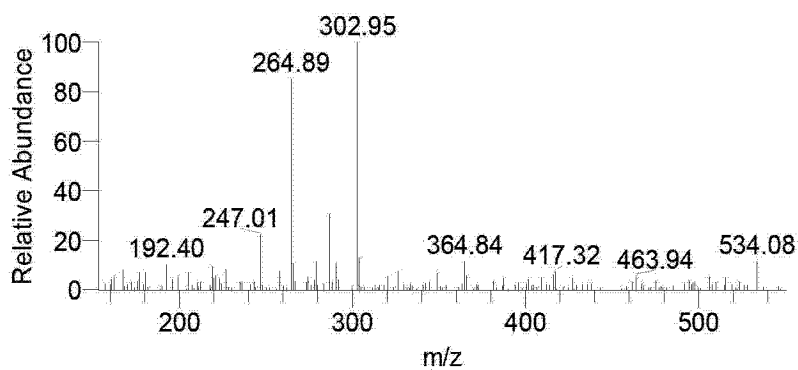


图 3

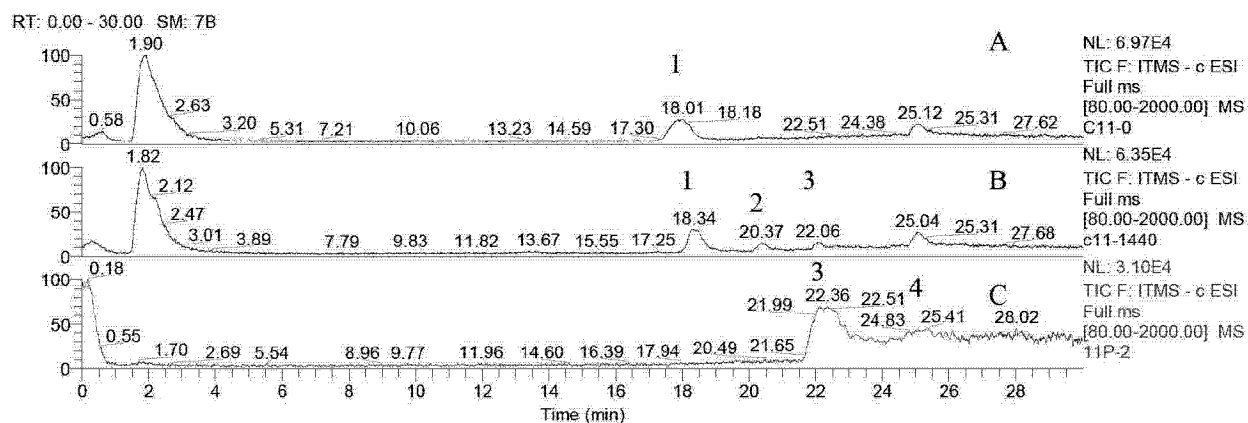


图 4

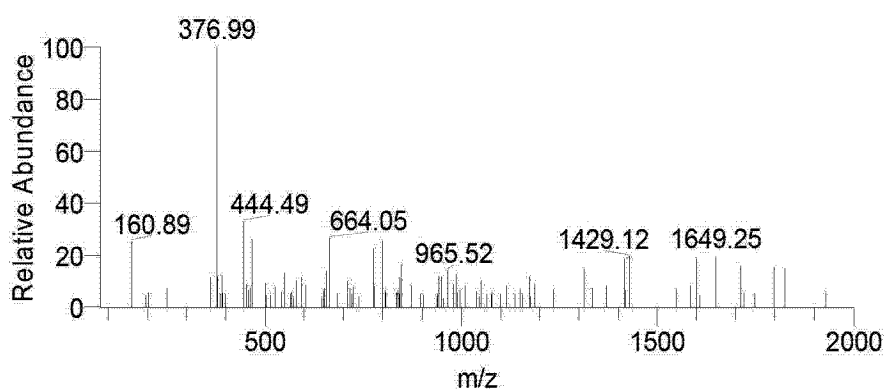


图 5

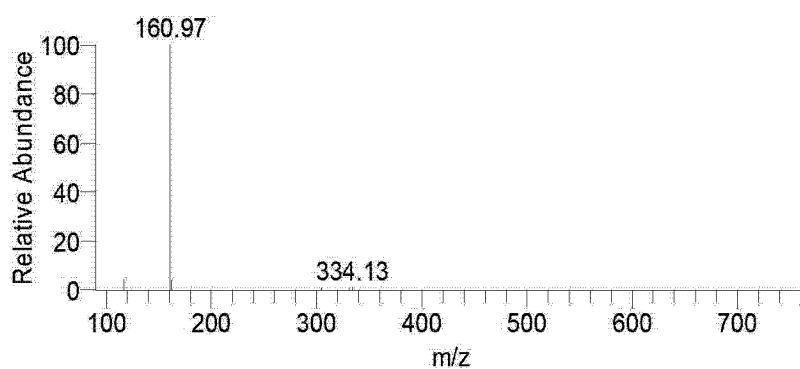


图 6

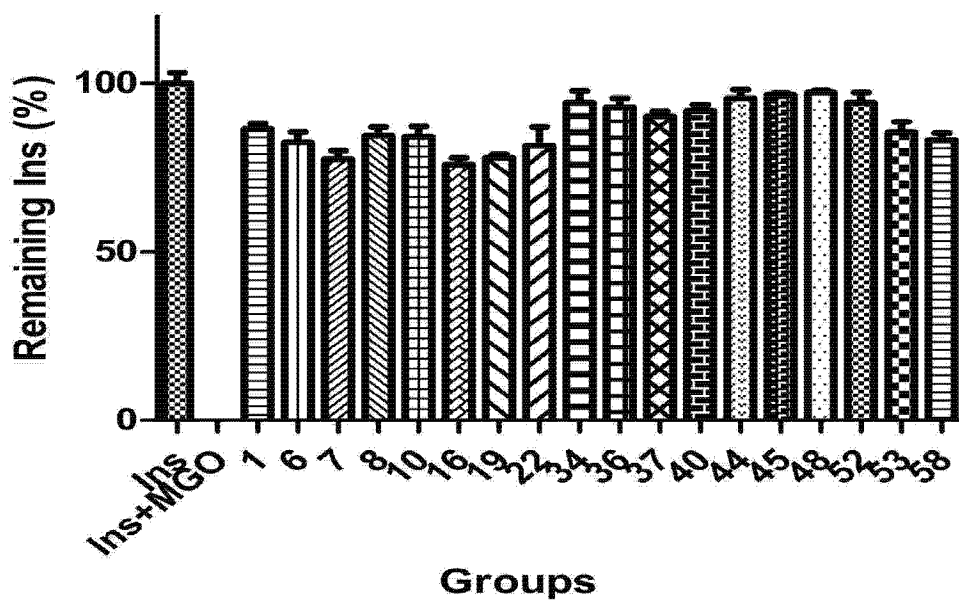


图 7

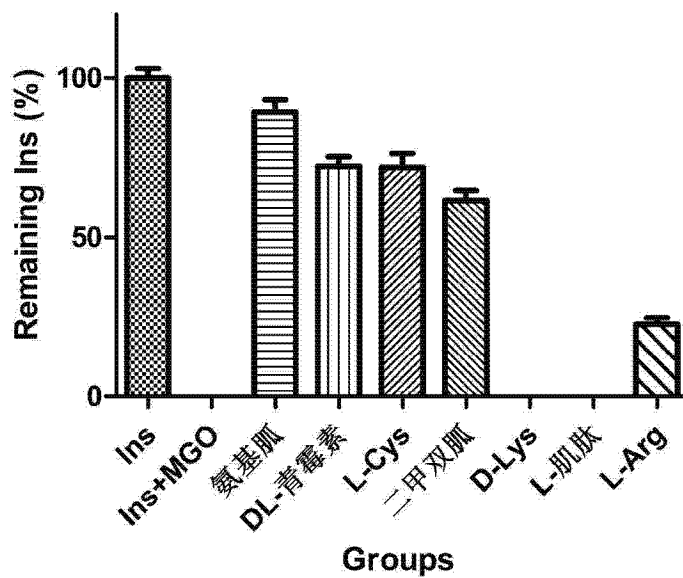


图 8