



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101906090 A

(43) 申请公布日 2010.12.08

(21) 申请号 201010195208.5

A61P 31/04(2006.01)

(22) 申请日 2010.06.04

(71) 申请人 中科院广州化学有限公司

地址 510650 广东省广州市天河区兴科路
368 号

(72) 发明人 邹永 孙捷 丁为现 张克云
高艳明 高蓝

(74) 专利代理机构 广州市华学知识产权代理有
限公司 44245

代理人 杨晓松 付晔

(51) Int. Cl.

C07D 311/20(2006.01)

A61K 31/37(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

A61P 39/06(2006.01)

A61P 31/00(2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 13 页

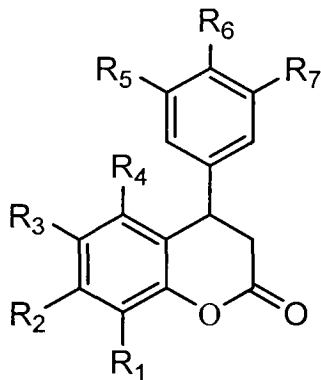
(54) 发明名称

一种 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物及其
制备方法和用途

(57) 摘要

本发明公开了一种 3,4-二氢-4-芳基香豆素
衍生物及其制备方法和用途。以取代苯甲醛及丙
二酸为原料,在吡啶与哌啶存在条件下加热,发生
Perkin 反应及脱羧反应,得到取代苯基丙烯酸衍
生物;然后取代苯基丙烯酸衍生物与酚类化合物
在三氟化硼乙醚与三氯氧磷的催化下进行反应,
得到 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物。此类化
合物可用于制备抗肿瘤、抗血管异常增生、抗菌、
抗氧化药物。

1. 一种 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物,其结构式为:



其中, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_7 为 H、 OCH_3 或 OH, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_7 可以相同也可以不同; R_6 为 OCH_3 。

2. 一种权利要求 1 所述的 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物的制备方法,其特征在于包括下述步骤:

(1) 在吡啶和六氢吡啶存在条件下,丙二酸和取代苯甲醛发生 Perkin 缩合和脱羧反应,再经分离纯化,得到取代苯基丙烯酸类化合物;

(2) 在三氯氧磷和三氟化硼乙醚存在条件下,所述取代苯基丙烯酸类化合物和酚类化合物发生环合反应,再经分离纯化,得到 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物。

3. 根据权利要求 2 所述的 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物的制备方法,其特征在于:步骤 1 中,丙二酸与取代苯甲醛的摩尔比为 (1 ~ 1.5) : 1;吡啶与六氢吡啶的摩尔比为 20 : (1 ~ 6);吡啶与丙二酸的摩尔比为 (1 ~ 5) : 1;反应温度为 70 ~ 90°C,反应时间为 4 ~ 12 小时。

4. 根据权利要求 2 所述的 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物的制备方法,其特征在于:步骤 1 中,所述分离纯化是将步骤 1 的反应产物冷却 10min ~ 30min,加入 1 ~ 5M 盐酸溶液,放置时间不少于 2 小时,抽滤,用水洗涤沉淀,得到取代苯基丙烯酸类化合物粗品;再用无水乙醇重结晶,得到纯化后的取代苯基丙烯酸类化合物。

5. 根据权利要求 2 所述的 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物的制备方法,其特征在于:步骤 2 中,取代苯基丙烯酸类化合物:酚类化合物:三氯氧磷:三氟化硼乙醚的摩尔比为 1 : (1 ~ 1.2) : (2 ~ 3) : (3 ~ 6);所述环合反应的温度为 0 ~ 40°C,反应时间为 4 ~ 18 小时。

6. 根据权利要求 2 所述的 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物的制备方法,其特征在于:步骤 2 中,所述分离纯化是将步骤 2 的反应液倒入冰水中,用乙醚萃取,旋干除去乙醚,得 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物粗品;再用丙酮-水或乙酸乙酯-石油醚重结晶粗品,得到纯化后的 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物;或用硅胶柱层析分离粗品,洗脱液为石油醚:乙酸乙酯=1 : 1,得到纯化后的 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物。

7. 一种药物组合物,其特征在于:活性组分是权利要求 1 所述的 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物,以及一种或多种惰性无毒可药用的载体。

8. 一种权利要求 1 所述的 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物的用途,其特征在于:是在制备抗肿瘤、抗血管异常增生、抗氧化、抗菌药物中的应用。

一种 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物及其制备方法和用途

技术领域

[0001] 本发明涉及化工领域,特别涉及一种 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物及其制备方法和用途。

背景技术

[0002] 芳基香豆素 (arylcoumarin, 芳基-2H-1-苯并吡喃-2-酮) 主要包括 3-芳基香豆素和 4-芳基香豆素两大类,是一些天然产物的基本结构。由于它与众多活性天然产物如异黄酮、二苯乙烯类化合物等具有相似的骨架结构,因而受到研究人员的关注。研究表明,芳基香豆素类化合物具有多种有益的生理活性,如抗白血病 (Leuk. Res. 2008, 32 : 1914 ;J. Med. Chem, 2003, 46 :5437 ;Exp. Hema, 2008, 36 :1625), 抗真菌 (Life. Sci. 2002, 71 :1449 ;Microbiology, 2005, 151 :1691), 抗凝血 (Bioorg. Med. Chem. Lett, 2006, 16 : 257), 抗氧化 (Bioorg. Med. Chem, 2007, 15 :1516), 抗病毒 (Nat. Prod. Res. 2002, 17(2) : 91)、抗炎 (Nat. Prod. Res, 2007, 21(12) :1104 ;Immu. Inve. 2007, 36 :203) 及抗糖尿病活性 (Phytochemistry, 2007, 68 :2087) 等。2003 年,日本东京大学的 Minpei Kuroda 等人发现了多个具有 PPAR- γ 配体结合活性的 3-芳基香豆素,这些 3-芳基香豆素可以通过激活 PPAR- γ 受体从而降低糖尿病小鼠的血糖水平 (Bioorg. Med. Chem. Lett. 2003, 13 :4267)。同年,Christian Bailly 等人证实 4-芳基香豆素类化合物具有明显的细胞毒性,能抑制微管蛋白的组装,从而使肿瘤细胞死亡 (J. Med. Chem. 2003. 46 :5437)。

[0003] 然而,3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物作为一种氢化的 4-芳基香豆素衍生物,关于其生物活性的研究报道较少。2005 年, Ajit Kumar 发现 4-芳基香豆素可以作为蛋白乙酰转移酶底物时提到 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物作用与 4-芳基香豆素相似 (Bioorg. Med. Chem. 2005, 13 :4300)。同年 Frederik Roelens 等人发现 4-(4'-羟基苯基)-5,7-二羟基-8-烷基-3,4-二氢香豆素具有雌激素样活性 (Eur. J. Med. Chem. 2005, 40 :1042)。3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物在结构上与 Combretastatin A-4、鬼臼毒素具有一定的相似性,因而其生物活性研究和进一步的结构修饰工作非常值得关注。现有的 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物的制备方法多数都存在反应条件剧烈,产率不高等缺点,而此类分子在剧烈条件下并不稳定,这使得现有的多数方法在使用上受到限制。

发明内容

[0004] 本发明的目的在于克服现有技术中存在的缺点,提供一种 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物。

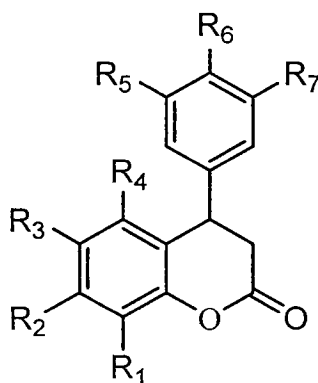
[0005] 本发明的另一目的在于提供一种上述 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物的制备方法。

[0006] 本发明的再一目的在于提供一种上述 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物的用途。

[0007] 本发明的目的通过下述技术方案实现:

[0008] 一种 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物,其结构式为式 1:

[0009]



式 1

[0010] 式 1 中, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_7 为 H、 OCH_3 或 OH, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_7 可以相同也可以不同; R_6 为 OCH_3 。

[0011] 上述 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物的制备方法,包括下述步骤:

[0012] (1) 在吡啶和六氢吡啶存在条件下,丙二酸和取代苯甲醛发生 Perkin 缩合和脱羧反应,再经分离纯化,得到取代苯基丙烯酸类化合物;

[0013] (2) 在三氯氧磷 ($POCl_3$) 和三氟化硼乙醚 ($BF_3 \cdot Et_2O$) 存在条件下,所述取代苯基丙烯酸类化合物和酚类化合物发生环合反应,再经分离纯化,得到 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物。

[0014] 步骤 1 中,丙二酸与取代苯甲醛的摩尔比为 (1 ~ 1.5) : 1,优选为 1.2 : 1;吡啶与六氢吡啶的摩尔比为 20 : (1 ~ 6);吡啶与丙二酸的摩尔比为 (1 ~ 5) : 1;反应温度为 70 ~ 90°C,反应时间为 4 ~ 12 小时。

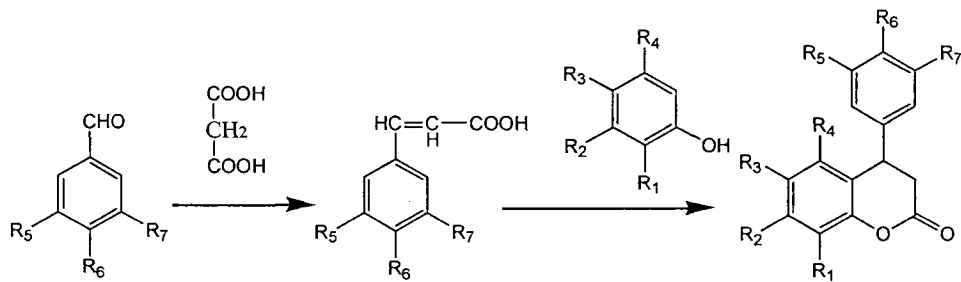
[0015] 步骤 1 中,所述分离纯化是将步骤 1 的反应产物冷却 10min ~ 30min,加入 1 ~ 5M 盐酸溶液,放置时间不少于 2 小时,抽滤,用水洗涤沉淀,得到取代苯基丙烯酸类化合物粗品;再用无水乙醇重结晶,得到纯化后的取代苯基丙烯酸类化合物。

[0016] 步骤 2 中,取代苯基丙烯酸类化合物:酚类化合物:三氯氧磷:三氟化硼乙醚的摩尔比为 1 : (1 ~ 1.2) : (2 ~ 3) : (3 ~ 6);所述环合反应的温度为 0 ~ 40°C,反应时间为 4 ~ 18 小时。

[0017] 步骤 2 中,所述分离纯化是将步骤 2 的反应液倒入冰水中,用乙醚萃取,旋干除去乙醚,得 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物粗品;再用丙酮-水或乙酸乙酯-石油醚重结晶粗品,得到纯化后的 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物;也可以用硅胶柱层析分离粗品,洗脱液为石油醚:乙酸乙酯=1 : 1,得到纯化后的 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物。

[0018] 所述 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物的制备方法,可采用下述反应式表示:

[0019]



[0020] 一种药物组合物,活性组分是上述 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物,还含有一种或多种惰性无毒可药用的载体。

[0021] 上述 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物的用途,是在制备抗肿瘤、抗血管异常增生、抗氧化、抗菌药物中的应用。

[0022] 本发明与现有技术相比具有如下优点和效果:

[0023] (1) 本发明提供的 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物,具有与顺式二苯乙烯类化合物、鬼臼毒素等类似的化学结构及相关生物活性。

[0024] (2) 本发明的制备方法,操作简单,收率高。

[0025] (3) 本发明提供的 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物可用于制备抗肿瘤、抗血管异常增生、抗菌、抗氧化药物。

具体实施方式

[0026] 下面结合实施例对本发明做进一步详细的描述,但本发明的实施方式不限于此。

[0027] 实施例 1

[0028] 3,4-二甲氧基苯基丙烯酸制备:

[0029] 在 100ml 的双口反应瓶中加入 2.08g (0.02mol) 丙二酸, 2.8g (0.017mol) 3,4-二甲氧基苯甲醛, 3ml (0.037mol) 吡啶, 0.3ml (0.003mol) 六氢吡啶, 加热至 95℃ 后回流 3h, 反应完毕, 冷却 10min, 加入 50ml 3mol/L 盐酸溶液, 放置 2h, 抽滤, 用 200ml 水洗涤沉淀, 得到粗品; 粗品用无水乙醇重结晶, 得纯品 3,4-二甲氧基苯基丙烯酸 3.1g, 收率 88.3%。

[0030] 实施例 2

[0031] 3-羟基-4-甲氧基苯基丙烯酸制备:

[0032] 在 100ml 的双口反应瓶中加入 12.98g (0.125mol) 丙二酸, 12.65g (0.083mol) 3-羟基-4-甲氧基苯甲醛, 15ml (0.168mol) 吡啶, 1.5ml (0.015mol) 六氢吡啶, 加热至 95℃ 后回流 3h, 反应完毕, 冷却 10min, 加入 50ml 3mol/L 盐酸溶液, 放置 2h, 抽滤, 用 1000ml 水洗涤沉淀, 得到粗品; 粗品用无水乙醇重结晶, 得纯品 3-羟基-4-甲氧基苯基丙烯酸 14.63g, 收率 90.6%。

[0033] 实施例 3

[0034] 4-(3',4'-二甲氧基苯基)-7-羟基-3,4-二氢香豆素的制备:

[0035] 将 100ml 的双口反应瓶置于冰浴中, 然后加入 2.08g (0.01mol) 3,4-二甲氧基苯基丙烯酸, 1.1g (0.01mol) 间苯二酚, 3g (0.02mol) 三氯氧磷, 5.6g (0.04mol) 三氟化硼乙醚, 搅拌均匀, 10min 后撤去冰浴, 常温搅拌 (15-30℃), TLC 监测反应进程 (展开剂: 石油醚: 乙酸乙酯 = 2:1), 12h 后停止反应, 倒入冰水中, 用乙醚萃取, 旋干除去乙醚, 得粗品; 用

丙酮和水重结晶得纯品 4-(3',4'-二甲氧基苯基)-7-羟基-3,4-二氢香豆素 1.82g,产率 60.7%。

[0036] IR :3429(OH),1761(CO),1626,1597,1516,1462,1419,1335,1271,1244,1159,1103,1024,991,847and 812 cm^{-1}

[0037] $^1\text{HNMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ :2.98(2H, m, C-3H),3.79and 3.84(6H,2s,3H and 3H each, $2\times\text{OCH}_3$),4.20(1H, t, $J = 6.0\text{Hz}$, C-4H),6.56(1H, dd,2.4and 8.4Hz, C-6H)6.63-6.67(3H,m,C-6'H,C-5'H,C-5H),6.80and 6.82(2H, $2\times\text{d}$, $J = 2.4\text{Hz}$, C-8H and C-2' H).

[0038] Ms :m/Z :300(M^+),282($\text{M}^+-\text{H}_2\text{O}$),267($\text{M}^+-\text{CH}_3-\text{H}_2\text{O}$),257,243,227,190,163,129.

[0039] 实施例 4

[0040] 4-(3',4',5'-三甲氧基苯基)-6-羟基-3,4-二氢香豆素的制备:

[0041] 将 100ml 的双口反应瓶置于冰浴中,然后加入 4.76g(0.02mol)3,4,5-三甲氧基苯基丙烯酸,2.2g(0.02mol)间苯二酚,6g(0.04mol)三氯氧磷,11.2g(0.08mol)三氟化硼乙醚,搅拌均匀,10min 后撤去冰浴,常温搅拌(15-30 $^{\circ}\text{C}$),TLC 监测反应进程(展开剂:石油醚:乙酸乙酯=2:1),18h 后停止反应,倒入冰水中,用乙醚萃取,旋干除去乙醚,得粗品;用丙酮和水重结晶得纯品 4-(3',4',5'-三甲氧基苯基)-6-羟基-3,4-二氢香豆素 4.71g,产率 71.4%。

[0042] IR :3421(OH),1757(CO),1504,1454,1232,1195and 1122 cm^{-1}

[0043] $^1\text{HNMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ :2.98(2H, m, C-3H),3.77and 3.80(9H,2s,6H and 3H each, $3\times\text{OCH}_3$),4.17(1H, t, $J = 6.4\text{Hz}$, C-4H),6.33(2H, s, C-2' H and C-6' H),6.55(1H, dd, $J = 2.4\text{Hz}$ and 8.6Hz, C-6H),6.64(1H, d, $J = 2.4\text{Hz}$, C-8H),6.85(1H, d, $J = 8.6\text{Hz}$, C-5H)

[0044] Ms :m/Z :330(M^+),312($\text{M}^+-\text{H}_2\text{O}$),297($\text{M}^+-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3$),257,213,181,128.

[0045] 实施例 5

[0046] 4-(3'-羟基-4'-甲氧基苯基)-7-羟基-3,4-二氢香豆素的制备:

[0047] 将 100ml 的双口反应瓶置于冰浴中,然后加入 1.94g(0.01mol)3-羟基-4-甲氧基苯基丙烯酸,1.1g(0.01mol)间苯二酚,3g(0.02mol)三氯氧磷,5.6g(0.04mol)三氟化硼乙醚,搅拌均匀,10min 后撤去冰浴,常温搅拌(15-30 $^{\circ}\text{C}$),TLC 监测反应进程(展开剂:石油醚:乙酸乙酯=2:1),12h 后停止反应,倒入冰水中,用乙醚萃取,旋干除去乙醚,得粗品;粗品用硅胶柱层析分离,洗脱液石油醚:乙酸乙酯=1:1,得纯品 4-(3'-羟基-4'-甲氧基苯基)-7-羟基-3,4-二氢香豆素 1.58g,产率 55.2%。

[0048] IR :3513(OH),3334,1733(CO),1627,1597,1513,1450,1300,1273,1223,1151,815 cm^{-1}

[0049] $^1\text{HNMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ :2.98(2H, m, C-3H),3.86(3H, s, OCH_3),4.16(1H, t, $J = 6.4\text{Hz}$, C-4H),6.54and 6.59(2H, $2\times\text{dd}$, $J = 2.4\text{Hz}$ and 8.4Hz C-6' H and C-6H),6.61and 6.69(2H, $2\times\text{d}$, $J = 2.4\text{Hz}$, C-2' H and C-8H),6.77-6.83(2H, $2\times\text{d}$, $J = 8.4\text{Hz}$, C-5' H and C-5H)

[0050] Ms :m/Z :286(M^+),268($\text{M}^+-\text{H}_2\text{O}$),253($\text{M}^+-\text{CH}_3-\text{H}_2\text{O}$),243,227,213,176.115.

[0051] 实施例 6

[0052] 4-(3'-羟基-4'-甲氧基苯基)-7,8-二羟基-3,4-二氢香豆素的制备:

[0053] 将 100ml 的双口反应瓶置于冰浴中, 然后加入 1.94g(0.01mol) 3-羟基-4-甲氧基苯基丙烯酸, 1.26g(0.01mol) 连苯三酚, 4g(0.026mol) 三氯氧磷, 5.6g(0.04mol) 三氟化硼乙醚, 搅拌均匀, 10min 后撤去冰浴, 常温搅拌 (15-30°C), TLC 监测反应进程 (展开剂: 石油醚: 乙酸乙酯 = 2:1), 12h 后停止反应, 倒入冰水中, 陈化 4h 后直接抽滤, 得粗品; 再用石油醚与乙酸乙酯重结晶得纯品 4-(3'-羟基-4'-甲氧基苯基)-7,8-二羟基-3,4-二氢香豆素 2.1g, 产率 69.5%。

[0054] IR : 3498 (OH), 3417, 1753 (CO), 1516, 1468, 1271, 1198, 1174 and 1126cm⁻¹

[0055] ¹HNMR(400MHz, CDCl₃) δ : 2.99(2H, m, C-3H), 3.86(3H, s, OCH₃), 4.19(1H, t, J = 6.4Hz, C-4H), 6.43 and 6.65(2H, 2×d, J = 8.4Hz, C-6' H and C-5' H), 6.59 and 6.78(2H, 2×d, J = 8Hz, C-6H and C-5H), 6.69(1H, s, C-2H),

[0056] Ms : m/Z : 302 (M⁺), 284 (M⁺-H₂O), 269 (M⁺-CH₃-H₂O), 259, 243, 229, 194. 179.

[0057] 实施例 7

[0058] 4-(3',4'-二甲氧基苯基)-7,8-二羟基-3,4-二氢香豆素的制备:

[0059] 将 100ml 的双口反应瓶置于冰浴中, 然后加入 2.08g(0.01mol) 3,4-二甲氧基苯基丙烯酸, 1.26g(0.01mol) 连苯三酚, 4g(0.026mol) 三氯氧磷, 5.6g(0.04mol) 三氟化硼乙醚, 搅拌均匀, 10min 后撤去冰浴, 常温搅拌 (15-30°C), TLC 监测反应进程 (展开剂: 石油醚: 乙酸乙酯 = 2:1), 12h 后停止反应, 倒入冰水中, 陈化 4h 后直接抽滤, 得粗品; 再用石油醚与乙酸乙酯重结晶得纯品 4-(3',4'-二甲氧基苯基)-7,8-二羟基-3,4-二氢香豆素 2.3g, 产率 72.8%。

[0060] IR : 3423 (OH), 1755 (CO), 1516, 1468, 1275, 1238, 1192, 1169 and 1020cm⁻¹

[0061] ¹HNMR(400MHz, CDCl₃) δ : 3.03(2H, m, C-3H), 3.81 and 3.85(6H, s, 3H and 3H each, 2×OCH₃), 4.24(1H, dd, J = 7.6Hz and 6.4Hz, C-4H), 6.41, 6.66 and 6.80(4H, 4×d, J = 8.4Hz, C-6' H, C-5' H, C-6H and C-5H), 6.64(1H, s, C-2H)

[0062] Ms : m/Z : 316 (M⁺), 298 (M⁺-H₂O), 283 (M⁺-CH₃-H₂O), 273, 259, 243, 190.

[0063] 实施例 8

[0064] 4-(3',4',5'-三甲氧基苯基)-7,8-二羟基-3,4-二氢香豆素的制备:

[0065] 将 100ml 的双口反应瓶置于冰浴中, 然后加入 1.19g(0.005mol) 3,4,5-三甲氧基苯基甲氧基丙烯酸, 0.63g(0.005mol) 连苯三酚, 2.3g(0.015mol) 三氯氧磷, 2.8g(0.02mol) 三氟化硼乙醚, 搅拌均匀, 10min 后撤去冰浴, 常温搅拌, TLC 监测反应进程 (展开剂: 石油醚: 乙酸乙酯 = 2:1), 12h 后停止反应, 倒入冰水中, 陈化 4h 后直接抽滤, 得粗品; 再用石油醚与乙酸乙酯重结晶得纯品 4-(3',4',5'-三甲氧基苯基)-7,8-二羟基-3,4-二氢香豆素 0.91g, 产率 52.6%。

[0066] IR : 3471 (OH), 1751 (CO), 1597, 1512, 1466, 1311, 1246, 1122 and 1007cm⁻¹

[0067] ¹HNMR(400MHz, CDCl₃) δ : 3.03(2H, m, C-3H), 3.78(6H, s, 2×OCH₃), 3.82(3H, s, OCH₃), 4.22(2H, dd, J = 6Hz and 7.6Hz), 6.33(2H, s, 2' H and 6' H), 6.45 and 6.67(2H, 2×d, J = 8.8Hz, C-5H and C-6H).

[0068] Ms : m/Z : 346 (M⁺), 328 (M⁺-H₂O), 313 (M⁺-CH₃-H₂O), 273, 257, 243, 229, 181, 115.

[0069] 实施例 9

[0070] 4-(4'-甲氧基苯基)-7,8-二羟基-3,4-二氢香豆素的制备:

[0071] 将 100ml 的双口反应瓶置于冰浴中, 然后加入 0.89g (0.005mol) 4-甲氧基苯基丙烯酸, 0.63g (0.05mol) 连苯三酚, 2.3g (0.015mol) 三氯氧磷, 2.8g (0.02mol) 三氟化硼乙醚, 搅拌均匀, 10min 后撤去冰浴, 常温搅拌, TLC 监测反应进程 (展开剂: 石油醚: 乙酸乙酯 = 2:1), 12h 后停止反应, 倒入冰水中, 陈化 4h 后直接抽滤, 得粗品; 再用石油醚与乙酸乙酯重结晶得纯品 4-(4'-甲氧基苯基)-7,8-二羟基-3,4-二氢香豆素 0.89g, 产率 62.2%。

[0072] IR: 3413 (OH), 1751 (CO), 1612, 1514, 1311, 1284, 1247, 1180, 1144 and 1007 cm^{-1}

[0073] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 3.01 (2H, m, C-3H), 3.78 (3H, s, OCH_3), 4.24 (1H, t, $J = 6.8\text{Hz}$, C-4H), 6.39 (2H, $2 \times d$, $J = 8.4\text{Hz}$, C-5H and C-6H), 6.85 and 7.04 (4H, $2 \times d$, $J = 8.8\text{Hz}$, C-2' H, C-6' H, C-3' H and C-5' H).

[0074] Ms: m/z : 286 (M^+), 268 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 243, 229, 200, 115.

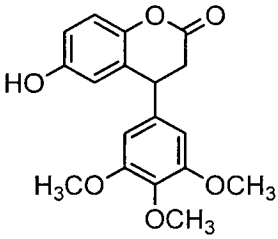
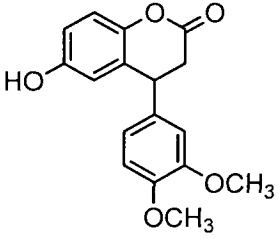
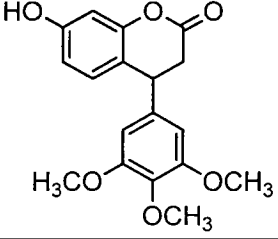
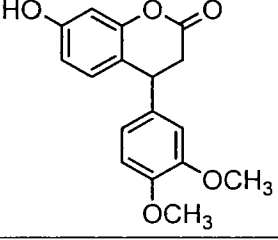
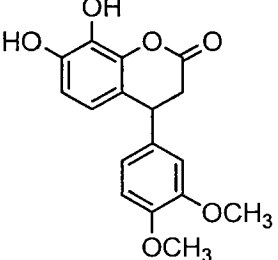
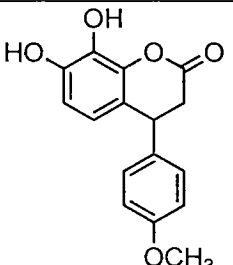
[0075] 实施例 10

[0076] 本发明合成的 3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物的抗肿瘤活性的测定

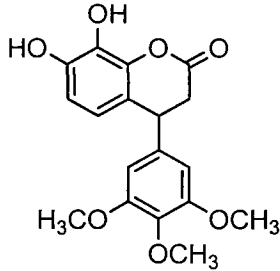
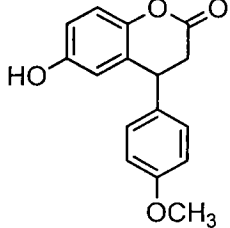
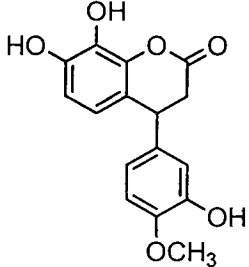
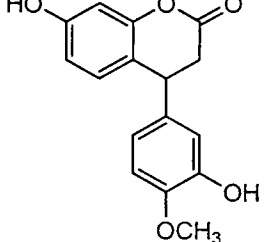
[0077] 样品用 DMSO 溶解后, 用培养液 (含 10% 小牛血清和 1% 双抗的 RPMI-1640 培养液) 按一定浓度稀释, 实验 DMSO 的浓度控制在 1.5% (V/V) 之内。取 96 孔细胞培养板, 每孔中加 50 μl 含约 5000 个肿瘤细胞 (胃癌细胞 BGC823) 的培养液, 在 37°C 5% CO_2 的饱和水汽二氧化碳培养箱中培养 2 小时让细胞贴壁。每孔加 50 μl 一定浓度的样品, 每个样品 3 个重复孔。对照孔 6 个: 3 个阳性对照孔, 每孔加 50 μl 氯氨铂 (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$), 3 个阴性对照孔每孔加 50 μl 培养液。在 37°C 5% CO_2 的饱和水汽二氧化碳培养箱中培养 48 小时。每孔加 10 μl MTT (5mg/ml) 染液。在 37°C 5% CO_2 的饱和水汽二氧化碳培养箱中培养 4h 后加入 100 μl 10% (W/V) SDS, 过夜培养, 测其在 570nm 下的吸光度值。根据下式计算出样品对细胞增殖的抑制率 (IR): $\text{IR} = 1 - \text{ODr} / \text{ODc}$ (ODr: 实验组; ODc: 阴性对照组) 根据标准曲线计算样品的 IC_{50} , 测定结果用 $\bar{x} \pm \text{SD}$ 表示, 如表 1 所示:

[0078] 表 1: 抗肿瘤活性的测定结果

[0079]

化合物名称	化学结构	IC ₅₀ (μg/ml)
4-(3', 4', 5'-三甲氧基苯基)-6-羟基-3, 4-二氢香豆素		129 ± 29
4-(3', 4'-二甲氧基苯基)-6-羟基-3, 4-二氢香豆素		>300
4-(3', 4', 5'-三甲氧基苯基)-7-羟基-3, 4-二氢香豆素		>300
4-(3', 4'-二甲氧基苯基)-7-羟基-3, 4-二氢香豆素		>300
4-(3', 4'-二甲氧基苯基)-7, 8-二羟基-3, 4-二氢香豆素		>300
4-(4'-甲氧基苯基)-7, 8-二羟基-3, 4-二氢香豆素		68 ± 19

[0080]

4-(3', 4', 5'-三甲氧基苯基)-7, 8-二羟基-3, 4-二氢香豆素		>300
4-(4'-甲氧基苯基)-6-羟基-3, 4-二氢香豆素		120 ± 25
4-(3'-羟基-4'-甲氧基苯基)-7, 8-二羟基-3, 4-二氢香豆素		41 ± 6
4-(3'-羟基-4'-甲氧基苯基)-7-羟基-3, 4-二氢香豆素		220 ± 25

[0081] 从表 1 中可以看出, 3, 4-二氢-4-芳基香豆素类化合物对胃癌细胞具有不同程度的杀伤活性。其中 4-(4'-甲氧基苯基)-7, 8-二羟基-3, 4-二氢香豆素, 4-(3'-羟基-4'-甲氧基苯基)-7, 8-二羟基-3, 4-二氢香豆素等化合物抗肿瘤活性较强。

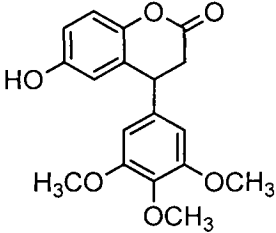
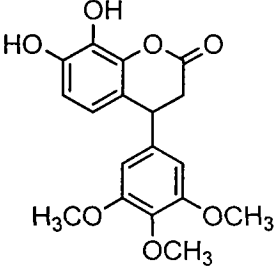
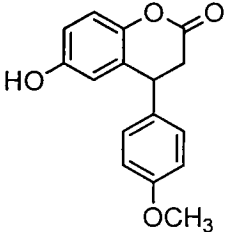
[0082] 实施例 11

[0083] 本发明合成的 3, 4-二氢-4-芳基香豆素类化合物的抗氧化活性的测定:

[0084] 称量 DPPH(WaKo 公司生产) 5mg, 定容到 50ml 无水乙醇中, 实验时稀释到 10 μg/mL, 吸取 100 μl 加入 96 孔板中, 并与等体积用无水乙醇按一定浓度配制的样品混合, 在酶标仪中每隔 1min 测定一次 517nm 波长下的吸光度值, 阴性对照加入 100 μl 无水乙醇, 每组实验做三个重复, 抗坏血酸钠 (Vc) 设置为阳性对照组。样品在某一时刻对 DPPH 自由基的清除率 (Y) 按下式计算: $Y(\%) = [(ODc - ODs) / ODc] \times 100$ (ODc: 阴性对照在 517nm 处的吸光度值; ODs: 样品在 517nm 处的吸光度值), 根据样品在 30min 处的清除率, 计算样品的半数抑制剂量 EC₅₀, 测定结果用 $\bar{x} \pm SD$ 表示, 如表 2 所示:

[0085] 表 2: 清除 DPPH 自由基的活性

[0086]

化合物名称	化学结构	EC ₅₀ (μmol/L)
4-(3', 4', 5'-三甲氧基苯基)-6-羟基-3, 4-二氢香豆素		925.6 ± 83.3
4-(3', 4', 5'-三甲氧基苯基)-7, 8-二羟基-3, 4-二氢香豆素		3.17 ± 0.12
4-(4'-甲氧基苯基)-6-羟基-3, 4-二氢香豆素		365.2 ± 23.3
BHT		136.10 ± 0.67
Vc		4.42 ± 0.33

[0087] 表 2 数据显示, 3, 4-二氢-4-芳基香豆素类化合物具有不同程度的清除自由基能力。其中以 4-(3', 4', 5'-三甲氧基苯基)-7, 8-二羟基-3, 4-二氢香豆素的活性为最强。

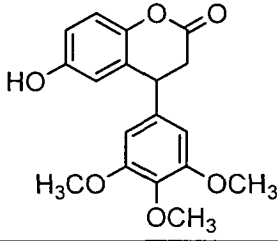
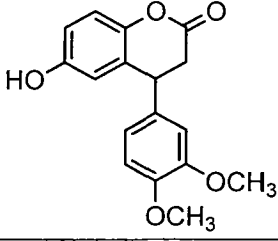
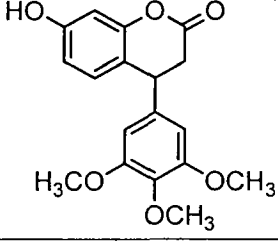
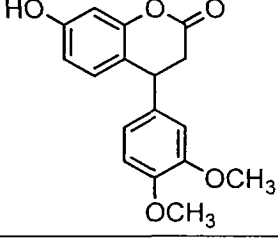
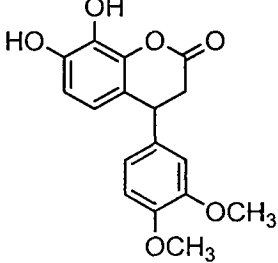
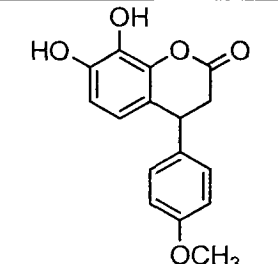
[0088] 实施例 12

[0089] 本发明合成的 3, 4-二氢-4-芳基香豆素类化合物的抗菌活性的测定:

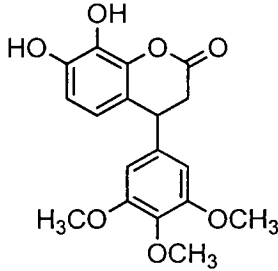
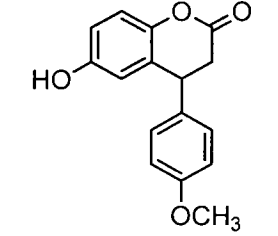
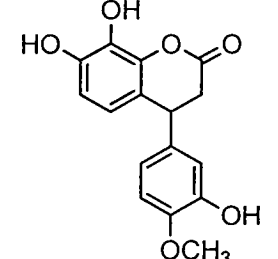
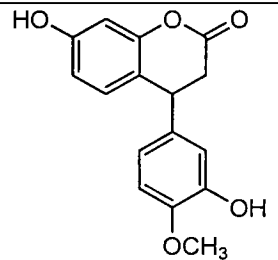
[0090] 将每毫升含 10⁶ 细菌或孢子的菌液均匀涂布于固体细菌培养基表面, 将经过灭菌的 0.5cm 直径的滤纸片置于培养基表面, 滴加 2.5 μl 100 μg/μl 的待测样品溶液, 于 37°C 培养 18-20h, 观察抑菌圈形成与否, 有抑菌圈形成的表明有抗菌活性。供试菌包括: 大肠杆菌 *Escherichia coli* (ATCC25922), 金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* (ATCC2592), 枯草芽孢杆菌 *Bacillus dysenteriae*, 以及白色念珠菌 *Candida albicans* (ATCC43300)。测定结果如表 3 所示:

[0091] 表 3: 抑菌活性的测定结果

[0092]

化合物名称	化学结构	金黄色葡萄球菌	白色念珠菌	大肠杆菌	枯草芽孢杆菌
4-(3', 4', 5'-三甲氧基苯基)-6-羟基-3, 4-二氢香豆素		++	+	-	+
4-(3', 4'-二甲氧基苯基)-6-羟基-3, 4-二氢香豆素		+++	++	+	++
4-(3', 4', 5'-三甲氧基苯基)-7-羟基-3, 4-二氢香豆素		-	+	-	+
4-(3', 4'-二甲氧基苯基)-7-羟基-3, 4-二氢香豆素		+	+	+	+
4-(3', 4'-二甲氧基苯基)-7, 8-二羟基-3, 4-二氢香豆素		++	++	++	+
4-(4'-甲氧基苯基)-7, 8-二羟基-3, 4-二氢香豆素		+++	++	++	++

[0093]

4-(3', 4', 5'-三甲氧基苯基)-7, 8-二羟基-3, 4-二氢香豆素		++	++	++	+
4-(4'-甲氧基苯基)-6-羟基-3, 4-二氢香豆素		+++	++	+	++
4-(3'-羟基-4'-甲氧基苯基)-7, 8-二羟基-3, 4-二氢香豆素		+++	++	+++	++
4-(3'-羟基-4'-甲氧基苯基)-7-羟基-3, 4-二氢香豆素		++	+	+	+

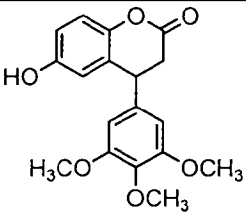
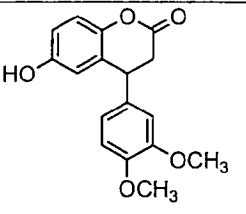
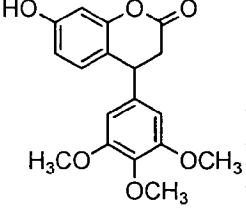
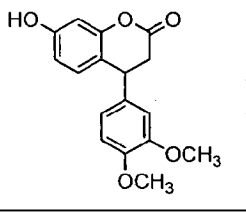
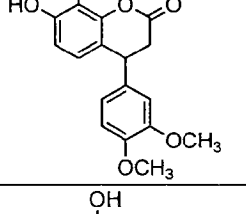
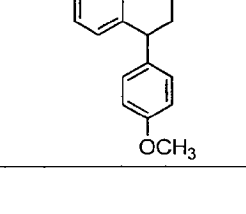
[0094] 注：“-”表示没有抑菌圈；“+”表示抑菌圈大小0~0.2cm之内；“++”表示抑菌圈大小在0.2~0.5cm范围内；“+++”表示抑菌圈大于0.5cm。

[0095] 表3数据说明,3,4-二氢-4-芳基香豆素类化合物具有不同程度的抗菌活性。选取表3中有抑菌圈的样品测定其最小抑菌浓度和最小杀菌浓度。

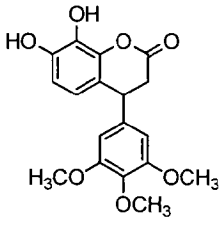
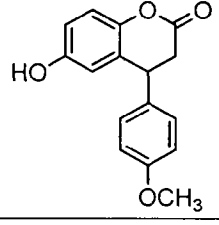
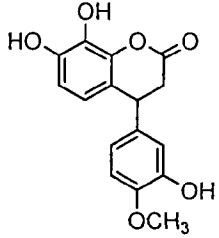
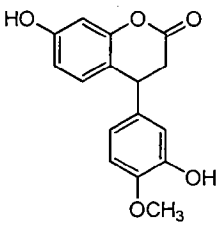
[0096] 供试菌在LB培养液中37℃过夜培养后,用无菌LB液稀释成 10^5 CFU/ml菌体浓度,取 $190\mu\text{l}$ 种在96孔板中,加入 $10\mu\text{l}$ 用DMSO二倍稀释的样品(浓度在 $48\sim 25000\mu\text{g/ml}$ 范围)。37℃培养24h,对微生物生长产生明显抑制作用的最低样品浓度记为最小抑菌浓度MIC(Minimum Inhibitory Concentration),吸取 $10\mu\text{l}$ 样品处理后的菌液,滴加在LB平板上,观察是否有菌落形成,37℃培养48h后没有菌落形成或者只有一个菌落形成的最低样品浓度记为最低杀菌浓度MBC(Minimum Bactericidal Concentration)。阴性对照为5%(v/v)DMSO,阳性对照为加入 $10\mu\text{l}$ 用DMSO配制的氨苄青霉素和氯霉素(Amresco),每次试验在96孔板的四个角各设计一个无菌验证孔($200\mu\text{l}$ 的LB培养基)。MICs结果用有抑菌效果孔和相邻的无效孔对应的样品浓度的均值显示,MICs和MBCs结果见表4。

[0097] 表4. 样品的抑菌试验

[0098]

化合物名称	化学结构	金黄色葡萄球菌		白色念珠菌		大肠杆菌		枯草芽孢杆菌	
		MICs ($\mu\text{g/ml}$)	MBCs ($\mu\text{g/ml}$)	MICs ($\mu\text{g/ml}$)	MBCs ($\mu\text{g/ml}$)	MICs ($\mu\text{g/ml}$)	MBCs ($\mu\text{g/ml}$)	MICs ($\mu\text{g/ml}$)	MBCs ($\mu\text{g/ml}$)
4-(3', 4', 5'-三甲氧基苯基)-6-羟基-3, 4-二氢香豆素		469	>1250	312.5	>1250	>1250	>1250	469	>1250
4-(3', 4'-二甲氧基苯基)-6-羟基-3, 4-二氢香豆素		156	625	469	>1250	117	1250	117	625
4-(3', 4', 5'-三甲氧基苯基)-7-羟基-3, 4-二氢香豆素		>1250	>1250	1250	>1250	>1250	>1250	937.5	>1250
4-(3', 4'-二甲氧基苯基)-7-羟基-3, 4-二氢香豆素		937.5	>1250	1250	>1250	>1250	>1250	937.5	>1250
4-(3', 4'-二甲氧基苯基)-7, 8-二羟基-3, 4-二氢香豆素		469	1250	469	1250	39	>1250	469	1250
4-(4'-甲氧基苯基)-7, 8-二羟基-3, 4-二氢香豆素		312.5	625	312.5	>1250	78	625	117	625

[0099]

4-(3', 4', 5'-三甲氧基苯基)-7, 8-二羟基-3, 4-二氢香豆素		937.5	>1250	234	>1250	58.5	312.5	117	>1250
4-(4'-甲氧基苯基)-6-羟基-3, 4-二氢香豆素		117	312.5	117	312.5	39	>1250	14.6	156
4-(3'-羟基-4'-甲氧基苯基)-7, 8-二羟基-3, 4-二氢香豆素		234	625	117	>1250	58.5	625	156	625
4-(3'-羟基-4'-甲氧基苯基)-7-羟基-3, 4-二氢香豆素		625	1250	469	>1250	469	>1250	234	>1250
氯苄青霉素		<1.95	<1.95	<1.95	3.9	23	125	29	125
氯霉素		<1.95	7.8	2.9	125	<1.95	<1.95	<1.95	31

[0100] 从表 4 可以看出, 3, 4-二氢-4-芳基香豆素类化合物具有不同程度的抗菌活性。其中 4-(4'-甲氧基苯基)-6-羟基-3, 4-二氢香豆素等化合物对枯草芽孢杆菌具有很强抑制作用, 尤为值得关注。

[0101] 实施例 13: 药物组合物

[0102] 制备每片含有 10mg 活性组分的 100 片片剂的配方:

- | | |
|--|-------|
| [0103] (1) 4-(3', 4'-二甲氧基苯基)-7, 8-二羟基-3, 4-二氢香豆素 | 1.0g |
| [0104] (2) 羟丙基纤维素 | 0.2g |
| [0105] (3) 小麦淀粉 | 1.0g |
| [0106] (4) 乳糖 | 10.0g |
| [0107] (5) 硬脂酸镁 | 0.3g |
| [0108] (6) 滑石粉 | 0.3g |

[0109] 实施例 14

[0110] 剂型为散剂: 将 4-(3', 4'-二甲氧基苯基)-7, 8-二羟基-3, 4-二氢香豆素 100 克和乳糖 100 克经研磨、100 目过筛、混合均匀后分装成 1000 包 (每包 200 毫克, 含活性物质 100 毫克)。