



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104974123 A

(43) 申请公布日 2015. 10. 14

(21) 申请号 201510410101. 0

A61K 31/37(2006. 01)

(22) 申请日 2015. 07. 13

A61P 25/00(2006. 01)

A61P 35/00(2006. 01)

(71) 申请人 渤海大学

A61P 7/02(2006. 01)

地址 121000 辽宁省锦州市高新技术开发区  
科技路 19 号

A61P 39/00(2006. 01)

A61P 29/00(2006. 01)

(72) 发明人 王道林 钟镇锴 邢锦娟

(74) 专利代理机构 沈阳亚泰专利商标代理有限公司 21107

代理人 郭元艺

(51) Int. Cl.

C07D 311/56(2006. 01)

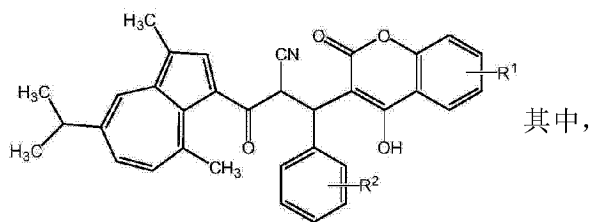
权利要求书1页 说明书11页

(54) 发明名称

具有抗氧化活性的香豆素类化合物及其制备方法与应用

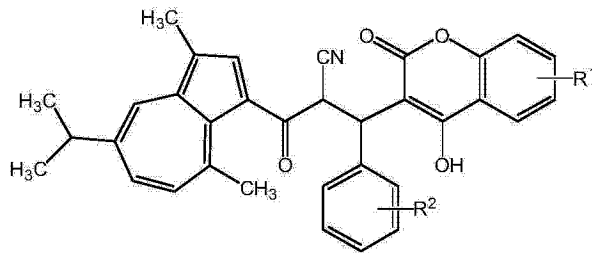
(57) 摘要

本发明属于医药技术领域, 特别涉及一种具有抗氧化活性的香豆素类化合物及其制备方法以及该类化合物在用于神经保护、抗肿瘤、抗凝血、抗辐射和抗炎作用药物制备中的应用; 香豆素类化合物具有如下结构通式:



R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>为H、烷基、烷氧基、羟基、卤素、硝基、氰基、羧酸及其酯中的一种。本发明以乙醇或乙酸为溶剂, 在醋酸铵的催化下, 通过4-羟基香豆素及其取代物、1-氰乙酰基愈创兰烃萘及芳香醛三组分反应制得。本发明制备方法操作简单, 目标产物收率高, 对自由基具有较强消除作用, 适于规模化生产。

1. 一种具有抗氧化活性的香豆素类化合物,其特征在于具有如下结构通式:



其中,  $R^1$ ,  $R^2$  为 H、烷基、烷氧基、羟基、卤素、硝基、氰基、羧酸及其酯中的一种。

2. 根据权利要求 1 所述具有抗氧化活性的香豆素类化合物的制备方法,其特征在于,按如下步骤实施:

(1) 以乙醇或乙酸为溶剂,在醋酸铵的催化下,通过 4-羟基香豆素及其取代物、1-氰乙酰基愈创兰烃萹及芳香醛三组分反应,反应 2 ~ 40 小时;

(2) 反应完毕后,通过直接过滤或将反应液浓缩得到粗产物;

(3) 得到的粗产物通过重结晶纯化,得到目的产物。

3. 根据权利要求 2 所述具有抗氧化活性的香豆素类化合物的制备方法,其特征在于:所述 4-羟基香豆素及其取代物、1-氰乙酰基愈创兰烃萹及芳香醛的摩尔比依次为 1:1 ~ 2:1 ~ 3。

4. 根据权利要求 3 所述具有抗氧化活性的香豆素类化合物的制备方法,其特征在于:所述 1-氰乙酰基愈创兰烃萹的结构式为:



5. 根据权利要求 4 所述具有抗氧化活性的香豆素类化合物的制备方法,其特征在于:所述芳香醛为苯甲醛、4-甲基苯甲醛、3-甲氧基苯甲醛、3,4-二甲氧基苯甲醛、3-甲氧基-4-羟基苯甲醛、4-氯苯甲醛、4-氟苯甲醛或糠醛中的一种。

6. 一种如权利要求 1 所述具有抗氧化活性的香豆素类化合物在用于神经保护、抗肿瘤、抗凝血、抗辐射和抗炎作用药物制备中的应用。

## 具有抗氧化活性的香豆素类化合物及其制备方法与应用

### 技术领域

[0001] 本发明属于医药技术领域,特别涉及一种具有抗氧化活性的香豆素类化合物及其制备方法以及该类化合物在用于神经保护、抗肿瘤、抗凝血、抗辐射和抗炎作用药物制备中的应用。

### 背景技术

[0002] 自由基是生物体新陈代谢过程中产生的一类可单独存在,具有高度氧化活性、带有一个或几个不配对电子的分子或原子,如超氧阴离子自由基( $O_2^{\cdot-}$ )、羟基自由基( $HO\cdot$ )、脂质过氧化自由基( $ROO\cdot$ )和单线态氧( $^1O_2$ ),在生物体衰老与疾病、正常的免疫代谢、细胞信号传导等过程中都起着重要的作用。研究表明,过量的自由基在机体中引起一系列生物学反应,导致组织细胞、亚细胞和分子结构的破坏,对核酸、脂类、蛋白质、酶、糖等生物大分子产生损害,并随着破坏层次逐渐扩展造成功能损伤,引起心血管疾病、癌症和衰老等,它是构成很多疾病的病理学基础。抗氧化活性成分能够清除自由基、还原氧化物质,起到保护机体的作用。寻找和开发能够清除氧自由基的抗氧化物质已成为当今生物、医学、化学、药剂学等领域的重要研究课题。

[0003] 香豆素(2H-1-苯并吡喃-2-酮,Coumarin),广泛存在于天然植物中,具有抗肿瘤、抗艾滋病、阿尔茨海默氏病、抗菌、抗凝血、抗炎、降血压、抗辐射等药理活性((a)Janis, R. A.; Siler, P. J.; Triggle, D. D. *Adv. Drug Res.* 1987, 16, 309;(b)Mitra, A. K.; De, A.; Karchaudhuri, N.; Misra, S. K.; Mukhopadhyay, A. K. *J. Indian Chem. Soc.* 1998, 75, 666;(c)Romine, K. R.; Morris, J. K.; Howe, W. J.; Tomich, P. K.; Horng, M. M.; Chong, K. T.; Hinshaw, R. R.; Anderson, D. J.; Strohbach, J. W.; Turner, S. R.; Mizsak, S. A. *J. Med. Chem.* 1996, 39, 4125),被广泛应用于生物、医药、尤其是在医药领域。一些香豆素类化合物如华法林(Warfarin)、亮菌甲素(Armillarisin A)、羟甲香豆素(Hymecromone)、氯达香豆素(Chloridarol)、卡波罗孟(Carbochromen)等已广泛应用于临床。其中,4-羟基香豆素被认为是起主要作用的结构部(Skulnick, H. I.; Johnson, P. D.; Schwende, F. J.; Howard, G. M.; Zaya, R. M.; Dalga, R. J.; Williams, M. G.; Romines, K. R. *J. Med. Chem.* 1997, 40, 1149)。

[0004] 4-羟基香豆素类化合物具有多个反应位点,易于进行结构修饰并能方便地引入各种功能基团,具有多种药理作用,如神经保护、抗肿瘤、抗诱变和抗炎作用等,这些作用均与香豆素分子结构中所含的酚羟基能够影响体内自由基的形成和清除,从而影响自由基介导的氧化损伤有关。因此对4-羟基香豆素的结构化学修饰或结构改造,得到具有更高药理活性的化合物,将有助于寻找具有高效、低毒的新药,这对香豆素类化合物在生物医药领域的发展和临床医学应用都有重要的实际意义。

[0005] 愈创兰烃萹(1,4-二甲基-7-异丙基萹,Guaiazulene)是洋菊花的有效成分,具有很强的抗胃蛋白酶、抗炎、抗过敏、促进黏膜新陈代谢的作用((a)Jung, F. *Pharmazie*, 1951, 6, 192;(b)Kouichi, N.; Tomio, N.; Hiroyuki, Y.; Shogo, I.; Yoshiaki, K. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2003, 56, 347),它的许多衍生物都表现出良好的生物活性((a)

Kurokawa, S. Chem. Lett. 1981, 1569. (b) Kurokawa, S. Bull. Chem. Soc. Jpn. 1983, 56, 2311)。  
 [0006] 在生物、医学、化学等领域,目前迫切需要开发新的能够清除氧自由基的抗氧化物质。香豆素类化合物来源广阔(天然物提取或人工合成),通过对香豆素分子的结构修饰,是获得新型高活性功能化合物的重要途径,具有广阔的应用前景。

### 发明内容

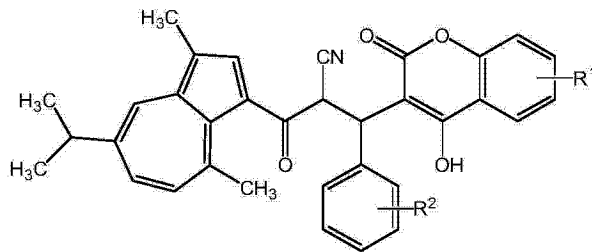
[0007] 本发明的目的在于提供一种对自由基具有较强消除作用的具有抗氧化活性的香豆素类化合物及其制备方法。

[0008] 本发明另一目的在于提供一种上述化合物在用于神经保护、抗肿瘤、抗凝血、抗辐射和抗炎作用等药物制备方面的应用。

[0009] 为解决上述技术问题,本发明是这样实现的:

[0010] 一种具有抗氧化活性的香豆素类化合物,具有如下结构通式:

[0011]



[0012] 其中,  $R^1, R^2$  为 H、烷基、烷氧基、羟基、卤素、硝基、氰基、羧酸及其酯中的一种。

[0013] 上述具有抗氧化活性的香豆素类化合物的制备方法,可按如下步骤实施:

[0014] (1) 以乙醇或乙酸为溶剂,在醋酸铵的催化下,通过 4-羟基香豆素及其取代物、1-氰乙酰基愈创兰烃萘及芳香醛三组分反应,反应 2 ~ 40 小时;

[0015] (2) 反应完毕后,通过直接过滤或将反应液浓缩得到粗产物;

[0016] (3) 得到的粗产物通过重结晶纯化,得到目的产物。

[0017] 作为一种优选方案,本发明所述 4-羟基香豆素及其取代物、1-氰乙酰基愈创兰烃萘及芳香醛的摩尔比依次为 1:1 ~ 2:1 ~ 3。

[0018] 进一步地,本发明所述 1-氰乙酰基愈创兰烃萘的结构式为:

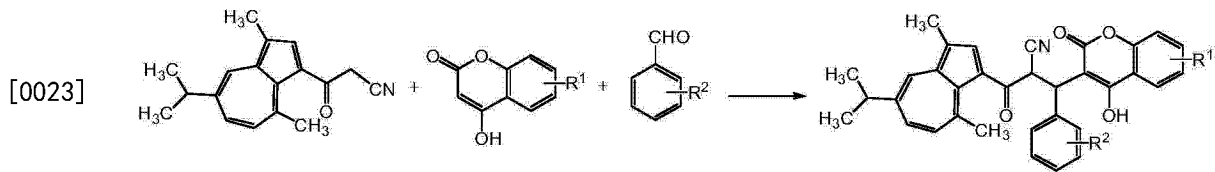
[0019]



[0020] 进一步地,本发明所述芳香醛为苯甲醛、4-甲基苯甲醛、3-甲氧基苯甲醛、3,4-二甲氧基苯甲醛、3-甲氧基-4-羟基苯甲醛、4-氯苯甲醛、4-氟苯甲醛或糠醛中的一种。

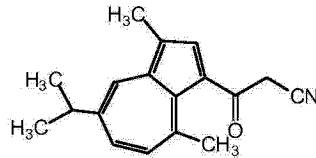
[0021] 上述具有抗氧化活性的香豆素类化合物在用于神经保护、抗肿瘤、抗凝血、抗辐射和抗炎作用药物制备中的应用。

[0022] 本发明合成原理:



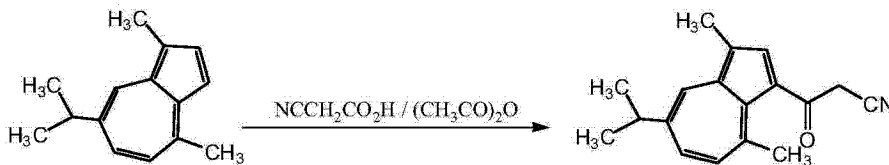
上述合成过程中所述的 1- 氰乙酰基愈创兰烃萘为具有如下结构的化合物：

[0024]



[0025] 该化合物可按照文献（王道林, 李帝, 曹亮, 有机化学, 2012, 32, 1741）方法，以愈创兰烃萘为原料, 通过氰乙酸和醋酸酐的酰基化反应制得：

[0026]



[0027] 本发明的含愈创兰烃萘结构的香豆素新化合物, 经自由基消除能力的测定表明, 本发明提供的化合物表现出强的抗氧化活性, 具有明显的清除超氧阴离子自由基  $O_2^{\cdot-}$  和 DPPH $\cdot$  自由基的作用, 具有较强的开发应用前景, 可望能进一步发展成为用于神经保护、抗肿瘤、抗凝血、抗辐射和抗炎作用等药物的制备。另外, 本发明制备方法操作简单, 目标产物收率高, 适于规模化生产。

[0028] 本发明将以下面实施例作进一步说明, 但本发明的内容并不受此实施例的限制。

### 具体实施例

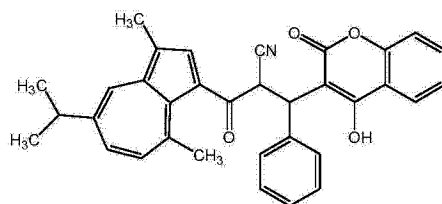
[0029] 实施例 1

[0030] 3-(4-羟基香豆素-3-基)-2-(3,8-二甲基-6-异丙基萘-1-基-羰基)-3-苯基丙腈 (A<sub>1</sub>) 的合成。

[0031] 将醋酸铵 (15mg, 0.2mmol) 加入到 4-羟基香豆素 (162mg, 1.0mmol), 1-氰乙酰基愈创兰烃萘 (318mg, 1.2mmol) 和苯甲醛 (127mg, 1.2mmol) 的乙醇 (25mL) 溶液中, 加热回流 24 小时 (用硅胶层析板 (TLC) 监控反应)。反应完毕后, 将反应混合物减压浓缩, 残余物加水, 过滤、水洗涤、干燥, 得到粗产物。乙醇重结晶得到目的产物 423mg, 收率 82%。

[0032] 结构分析如下：

[0033]



[0034]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  : 1.46 (d,  $J = 6.6\text{Hz}$ , 6H), 2.64 (s, 3H), 3.09 (s,

3H), 3.21 ~ 3.26 (m, 1H), 5.02 (d, J = 11.6Hz, 1H), 5.75 (d, J = 11.6Hz, 1H), 7.19-7.32 (m, 4H), 7.35-7.42 (m, 5H), 7.48 ~ 7.51 (m, 2H), 7.78 (s, 1H), 8.26 (s, 1H)。

[0035] IR(KBr)  $\nu$ : 3410(OH), 2215(CN), 1732(C=O), 1636(C=O)  $\text{cm}^{-1}$ 。

[0036] MS(ESI)  $m/z$ : 516  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0037] 元素分析 ( $\text{C}_{34}\text{H}_{29}\text{NO}_4$ ): 实测值 (理论值), C 79.34(79.20), H 5.79(5.67), N 2.81(2.72)。

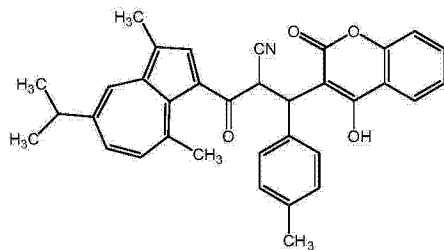
[0038] 实施例 2

[0039] 3-(4-羟基香豆素-3-基)-2-(3,8-二甲基-6-异丙基萹-1-基-羰基)-3-(4-甲基苯基)丙腈 ( $\text{A}_2$ ) 的合成。

[0040] 将醋酸铵 (23mg, 0.3mmol) 加入到 4-羟基香豆素 (162mg, 1.0mmol), 1-氰乙酰基愈创兰烃萹 (318mg, 1.2mmol) 和 4-甲基苯甲醛 (144.0mg, 1.2mmol) 的乙醇 (40mL) 溶液中, 加热回流 22 小时 (用硅胶层析板 (TLC) 监控反应)。反应完毕后, 将反应混合物减压浓缩, 残余物加水, 过滤、水洗涤、干燥, 得到粗产物。乙醇重结晶得到目的产物 450mg, 收率 85%。

[0041] 结构分析如下:

[0042]



[0043]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.46 (d, J = 6.6Hz, 6H), 2.64 (s, 3H), 2.90 (s, 3H), 3.10 (s, 3H), 3.21 ~ 3.24 (m, 1H), 5.02 (d, J = 11.6Hz, 1H), 5.75 (d, J = 11.6Hz, 1H), 7.21-7.43 (m, 8H), 7.46 ~ 7.52 (m, 2H), 7.79 (s, 1H), 8.30 (s, 1H)。

[0044] IR(KBr)  $\nu$ : 3327(OH), 2211(CN), 1741(C=O), 1638(C=O)  $\text{cm}^{-1}$ 。

[0045] MS(ESI)  $m/z$ : 530  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0046] 元素分析 ( $\text{C}_{35}\text{H}_{31}\text{NO}_4$ ): 实测值 (理论值), C 79.50(79.37), H 5.98(5.90), N 2.72(2.64)。

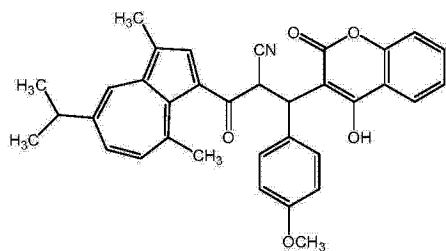
[0047] 实施例 3

[0048] 3-(4-羟基香豆素-3-基)-2-(3,8-二甲基-6-异丙基萹-1-基-羰基)-3-(4-甲氧基苯基)丙腈 ( $\text{A}_3$ ) 的合成。

[0049] 将醋酸铵 (15mg, 0.2mmol) 加入到 4-羟基香豆素 (162mg, 1.0mmol), 1-氰乙酰基愈创兰烃萹 (265mg, 1.0mmol) 和 4-甲氧基苯甲醛 (163mg, 1.2mmol) 的乙醇 (30mL) 溶液中, 加热回流 18 小时 (用硅胶层析板 (TLC) 监控反应)。反应完毕后, 将反应混合物减压浓缩, 残余物加水, 过滤、水洗涤、干燥, 得到粗产物。乙醇重结晶得到目的产物 468mg, 收率 86%。

[0050] 结构分析如下:

[0051]



[0052]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  : 1.46 (d,  $J = 6.6\text{Hz}$ , 6H), 2.64 (s, 3H), 3.10 (s, 3H), 3.21 ~ 3.24 (m, 1H), 3.91 (s, 3H), 5.13 (d,  $J = 11.6\text{Hz}$ , 1H), 5.64 (d,  $J = 11.6\text{Hz}$ , 1H), 7.03 (d,  $J = 8.0\text{Hz}$ , 2H), 7.31-7.43 (m, 6H), 7.52 ~ 7.61 (m, 2H), 7.78 (s, 1H), 8.26 (s, 1H)。

[0053] IR (KBr)  $\nu$  : 3324 (OH), 2219 (CN), 1752 (C = O), 1630 (C = O)  $\text{cm}^{-1}$ 。

[0054] MS (ESI)  $m/z$  : 546  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0055] 元素分析 ( $\text{C}_{35}\text{H}_{31}\text{NO}_5$ ) : 实测值 (理论值), C 77.17 (77.04), H 5.80 (5.73), N 2.70 (2.57)。

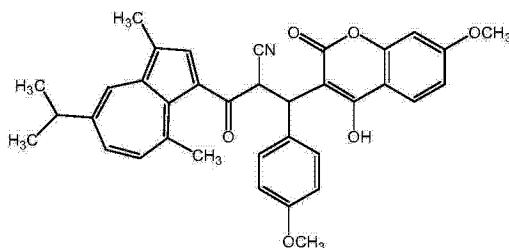
[0056] 实施例 4

[0057] 3-(4-羟基-7-甲氧基香豆素-3-基)-2-(3,8-二甲基-6-异丙基-1H-吲哚-2-羰基)-3-(4-甲氧基苯基)丙腈 ( $\text{A}_4$ ) 的合成。

[0058] 将醋酸铵 (15mg, 0.2mmol) 加入到 4-羟基-7-甲氧基香豆素 (192mg, 1.0mmol), 1-氰乙酰基愈创兰烃-3-基-2-(3,8-二甲基-6-异丙基-1H-吲哚-2-羰基)-3-(4-甲氧基苯基)丙腈 (318mg, 1.2mmol) 和 4-甲氧基苯甲醛 (163mg, 1.2mmol) 的乙醇 (30mL) 溶液中, 加热回流 16 小时 (用硅胶层析板 (TLC) 监控反应)。反应完毕后, 将反应混合物冷却, 过滤、水洗涤、干燥, 得到粗产物。乙醇重结晶得到目的产物 472mg, 收率 82%。

[0059] 结构分析如下:

[0060]



[0061]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  : 1.46 (d,  $J = 6.6\text{Hz}$ , 6H), 2.64 (s, 3H), 3.10 (s, 3H), 3.21 ~ 3.24 (m, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.98 (s, 3H), 5.10 (d,  $J = 11.6\text{Hz}$ , 1H), 5.66 (d,  $J = 11.6\text{Hz}$ , 1H), 7.11 (d,  $J = 8.0\text{Hz}$ , 2H), 7.16 (s, 1H), 7.30-7.46 (m, 4H), 7.58 ~ 7.64 (m, 2H), 7.83 (s, 1H), 8.38 (s, 1H)。

[0062] IR (KBr)  $\nu$  : 3338 (OH), 2245 (CN), 1749 (C = O), 1636 (C = O)  $\text{cm}^{-1}$ 。

[0063] MS (ESI)  $m/z$  : 576  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0064] 元素分析 ( $\text{C}_{36}\text{H}_{33}\text{NO}_6$ ) : 实测值 (理论值), C 75.18 (75.11), H 5.83 (5.78), N 2.50 (2.43)。

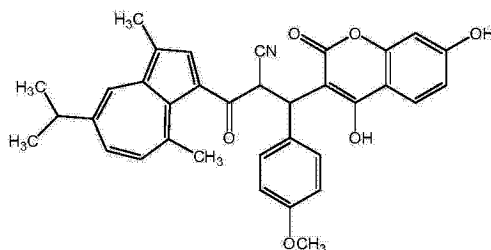
[0065] 实施例 5

[0066] 3-(4,7-二羟基香豆素-3-基)-2-(3,8-二甲基-6-异丙基-1H-吲哚-2-羰基)-3-(4-甲氧基苯基)丙腈 ( $\text{A}_5$ ) 的合成。

[0067] 将醋酸铵 (15mg, 0.2mmol) 加入到 4,7-二羟基香豆素 (178mg, 1.0mmol), 1-氰乙酰基愈创兰烃萹 (318mg, 1.2mmol) 和 4-甲氧基苯甲醛 (163mg, 1.2mmol) 的乙醇 (40mL) 溶液中, 加热回流 14 小时 (用硅胶层析板 (TLC) 监控反应)。反应完毕后, 将反应混合物冷却, 过滤、水洗涤、干燥, 得到粗产物。乙醇重结晶得到目的产物 450mg, 收率 80%。

[0068] 结构分析如下:

[0069]



[0070]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.46 (d,  $J = 6.6\text{Hz}$ , 6H), 2.64 (s, 3H), 3.14 (s, 3H), 3.20 ~ 3.25 (m, 1H), 3.94 (s, 3H), 5.13 (d,  $J = 11.6\text{Hz}$ , 1H), 5.67 (d,  $J = 11.6\text{Hz}$ , 1H), 7.15 (d,  $J = 8.0\text{Hz}$ , 2H), 7.28 (s, 1H), 7.34-7.47 (m, 4H), 7.56 ~ 7.62 (m, 2H), 7.87 (s, 1H), 8.41 (s, 1H)。

[0071] IR (KBr)  $\nu$ : 3346 (OH), 2241 (CN), 1743 (C=O), 1631 (C=O)  $\text{cm}^{-1}$ 。

[0072] MS (ESI)  $m/z$ : 562  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0073] 元素分析 ( $\text{C}_{35}\text{H}_{31}\text{NO}_6$ ): 实测值 (理论值), C 74.96 (74.85), H 5.63 (5.56), N 2.57 (2.49)。

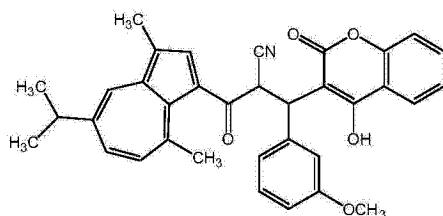
[0074] 实施例 6

[0075] 3-(4-羟基香豆素-3-基)-2-(3,8-二甲基-6-异丙基萹-1-基-羰基)-3-(3-甲氧基苯基)丙腈 ( $\text{A}_6$ ) 的合成。

[0076] 将醋酸铵 (15mg, 0.2mmol) 加入到 4-羟基香豆素 (162mg, 1.0mmol), 1-氰乙酰基愈创兰烃萹 (318mg, 1.2mmol) 和 3-甲氧基苯甲醛 (190mg, 1.4mmol) 的乙醇 (50mL) 溶液中, 加热回流 25 小时 (用硅胶层析板 (TLC) 监控反应)。反应完毕后, 将反应混合物减压浓缩, 残余物加水, 过滤、水洗涤、干燥, 得到粗产物。乙醇重结晶得到目的产物 414mg, 收率 76%。

[0077] 结构分析如下:

[0078]



[0079]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.46 (d,  $J = 6.6\text{Hz}$ , 6H), 2.64 (s, 3H), 3.08 (s, 3H), 3.20 ~ 3.22 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 5.10 (d,  $J = 11.6\text{Hz}$ , 1H), 5.68 (d,  $J = 11.6\text{Hz}$ , 1H), 7.12 (s, 1H), 7.26-7.46 (m, 7H), 7.56 ~ 7.75 (m, 2H), 7.76 (s, 1H), 8.25 (s, 1H)。

[0080] IR (KBr)  $\nu$ : 3326 (OH), 2212 (CN), 1743 (C=O), 1636 (C=O)  $\text{cm}^{-1}$ 。

[0081] MS (ESI)  $m/z$ : 546  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。



[0082] 元素分析 ( $C_{35}H_{31}NO_5$ ): 实测值 (理论值), C 77.13(77.04), H 5.84(5.73), N 2.73(2.57)。

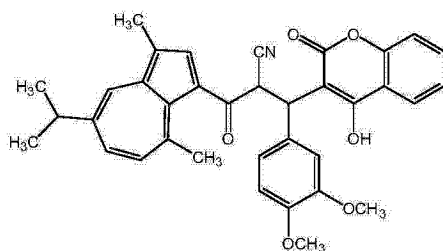
[0083] 实施例 7

[0084] 3-(4-羟基香豆素-3-基)-2-(3,8-二甲基-6-异丙基萹-1-基-羰基)-3-(3,4-二甲氧基苯基)丙腈 ( $A_7$ ) 的合成。

[0085] 将醋酸铵 (23mg, 0.3mmol) 加入到 4-羟基香豆素 (142mg, 1.0mmol), 1-氰乙酰基愈创兰烃萹 (318mg, 1.2mmol) 和 3,4-二甲氧基苯甲醛 (216mg, 1.3mmol) 的乙酸 (30mL) 溶液中, 加热回流 20 小时 (用硅胶层析板 (TLC) 监控反应)。反应完毕后, 将反应混合物减压浓缩, 残余物加水, 过滤、水洗涤、干燥, 得到粗产物。乙酸重结晶得到目的产物 483mg, 收率 84%。

[0086] 结构分析如下:

[0087]



[0088]  $^1H$  NMR (400MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 1.46 (d,  $J = 6.6$ Hz, 6H), 2.62 (s, 3H), 3.10 (s, 3H), 3.20 ~ 3.22 (m, 1H), 3.98 (s, 3H), 4.01 (s, 3H), 5.10 (d,  $J = 11.6$ Hz, 1H), 5.64 (d,  $J = 11.6$ Hz, 1H), 7.14 (s, 1H), 7.21-7.46 (m, 6H), 7.55 ~ 7.71 (m, 2H), 7.80 (s, 1H), 8.22 (s, 1H)。

[0089] IR (KBr)  $\nu$ : 3335 (OH), 2218 (CN), 1749 (C=O), 1630 (C=O)  $cm^{-1}$ 。

[0090] MS (ESI)  $m/z$ : 576  $[M+H]^+$ 。

[0091] 元素分析 ( $C_{36}H_{33}NO_6$ ): 实测值 (理论值), C 75.25(75.11), H 5.86(5.78), N 2.59(2.43)。

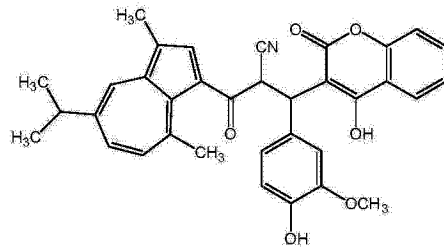
[0092] 实施例 8

[0093] 3-(4-羟基香豆素-3-基)-2-(3,8-二甲基-6-异丙基萹-1-基-羰基)-3-(3-甲氧基-4-羟基苯基)丙腈 ( $A_8$ ) 的合成。

[0094] 将醋酸铵 (23mg, 0.3mmol) 加入到 4-羟基香豆素 (142mg, 1.0mmol), 1-氰乙酰基愈创兰烃萹 (318mg, 1.2mmol) 和 3-甲氧基-4-羟基苯甲醛 (197mg, 1.3mmol) 的乙酸 (35mL) 溶液中, 加热回流 18 小时 (用硅胶层析板 (TLC) 监控反应)。反应完毕后, 将反应混合物减压浓缩, 残余物加水, 过滤、水洗涤、干燥, 得到粗产物。乙酸重结晶得到目的产物 489mg, 收率 87%。

[0095] 结构分析如下:

[0096]



[0097]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  : 1.46 (d,  $J = 6.6\text{Hz}$ , 6H), 2.66 (s, 3H), 3.15 (s, 3H), 3.21 ~ 3.24 (m, 1H), 3.99 (s, 3H), 5.13 (d,  $J = 11.6\text{Hz}$ , 1H), 5.68 (d,  $J = 11.6\text{Hz}$ , 1H), 6.92 (s, 1H), 7.22-7.45 (m, 6H), 7.58 ~ 7.73 (m, 2H), 7.85 (s, 1H), 8.29 (s, 1H)。

[0098] IR(KBr)  $\nu$  : 3346 (OH), 2218 (CN), 1749 (C = O), 1630 (C = O)  $\text{cm}^{-1}$ 。

[0099] MS(ESI)  $m/z$  : 562  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0100] 元素分析 ( $\text{C}_{35}\text{H}_{31}\text{NO}_6$ ) : 实测值 (理论值), C 74.97 (74.85), H 5.70 (5.56), N 2.63 (2.49)。

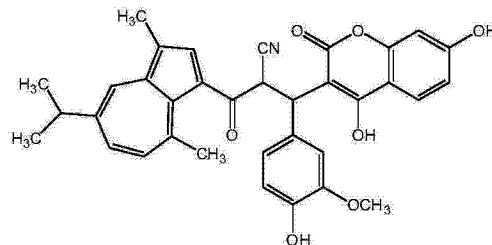
[0101] 实施例 9

[0102] 3-(4,7-二羟基香豆素-3-基)-2-(3,8-二甲基-6-异丙基萹-1-基-羰基)-3-(3-甲氧基-4-羟基苯基)丙腈 ( $\text{A}_9$ ) 的合成。

[0103] 将醋酸铵 (23mg, 0.3mmol) 加入到 4,7-二羟基香豆素 (178mg, 1.0mmol), 1-氰乙酰基愈创兰烃萹 (318mg, 1.2mmol) 和 3-甲氧基-4-羟基苯甲醛 (197mg, 1.3mmol) 的乙酸 (35mL) 溶液中, 加热回流 20 小时 (用硅胶层析板 (TLC) 监控反应)。反应完毕后, 将反应混合物冷却至室温, 过滤、水洗涤、干燥, 得到粗产物。乙酸重结晶得到目的产物 485mg, 收率 84%。

[0104] 结构分析如下 :

[0105]



[0106]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  : 1.45 (d,  $J = 6.6\text{Hz}$ , 6H), 2.65 (s, 3H), 3.18 (s, 3H), 3.21 ~ 3.24 (m, 1H), 3.99 (s, 3H), 5.16 (d,  $J = 11.6\text{Hz}$ , 1H), 5.73 (d,  $J = 11.6\text{Hz}$ , 1H), 6.71 (s, 1H), 7.16 (s, 1H), 7.20-7.43 (m, 4H), 7.63 ~ 7.78 (m, 2H), 7.86 (s, 1H), 8.47 (s, 1H)。

[0107] IR(KBr)  $\nu$  : 3342 (OH), 2210 (CN), 1742 (C = O), 1626 (C = O)  $\text{cm}^{-1}$ 。

[0108] MS(ESI)  $m/z$  : 578  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0109] 元素分析 ( $\text{C}_{35}\text{H}_{31}\text{NO}_7$ ) : 实测值 (理论值), C 72.83 (72.78), H 5.59 (5.41), N 2.53 (2.42)。

[0110] 实施例 10

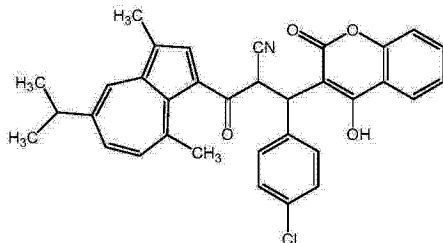
[0111] 3-(4-羟基香豆素-3-基)-2-(3,8-二甲基-6-异丙基萹-1-基-羰基)-3-(4-氯苯基)丙腈 ( $\text{A}_{10}$ ) 的合成。

[0112] 将醋酸铵 (31mg, 0.4mmol) 加入到 4-羟基香豆素 (162mg, 1.0mmol), 1-氰乙酰基

愈创兰烃萹 (344mg, 1.3mmol) 和 4-氯苯甲醛 (196mg, 1.4mmol) 的乙酸 (20mL) 溶液中, 加热回流 28 小时 (用硅胶层析板 (TLC) 监控反应)。冷却, 过滤、水洗、干燥, 得到粗产物。乙酸重结晶得到目的产物 395mg, 收率 72%。

[0113] 结构分析如下:

[0114]



[0115]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.46 (d,  $J = 6.6\text{Hz}$ , 6H), 2.64 (s, 3H), 3.08 (s, 3H), 3.21 ~ 3.24 (m, 1H), 5.15 (d,  $J = 11.6\text{Hz}$ , 1H), 5.64 (d,  $J = 11.6\text{Hz}$ , 1H), 7.25~7.37 (m, 4H), 7.41 (d,  $J = 8.0\text{Hz}$ , 2H), 7.49 (d,  $J = 8.0\text{Hz}$ , 2H), 7.53 ~ 7.69 (m, 2H), 7.84 (s, 1H), 8.34 (s, 1H)。

[0116] IR(KBr)  $\nu$ : 3346 (OH), 2218 (CN), 1749 (C = O), 1630 (C = O)  $\text{cm}^{-1}$ 。

[0117] MS(ESI)  $m/z$ : 550  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0118] 元素分析 ( $\text{C}_{34}\text{H}_{28}\text{ClNO}_4$ ): 实测值 (理论值), C 74.42 (74.24), H 5.27 (5.13), N 2.68 (2.55)。

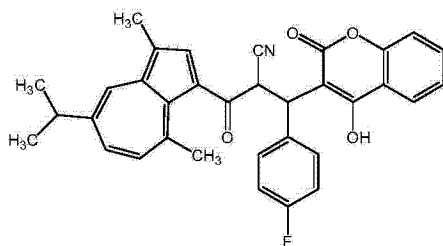
[0119] 实施例 11

[0120] 3-(4-羟基香豆素-3-基)-2-(3,8-二甲基-6-异丙基萹-1-基-羰基)-3-(4-氟苯基)丙腈 ( $\text{A}_{11}$ ) 的合成。

[0121] 将醋酸铵 (31mg, 0.4mmol) 加入到 4-羟基香豆素 (162mg, 1.0mmol), 1-氰乙酰基愈创兰烃萹 (344mg, 1.3mmol) 和 4-氟苯甲醛 (161mg, 1.3mmol) 的乙酸 (20mL) 溶液中, 加热回流 26 小时 (用硅胶层析板 (TLC) 监控反应)。反应完毕后, 将反应混合物减压浓缩, 残余物加水, 过滤、水洗涤、干燥, 得到粗产物。乙醇重结晶得到目的产物 431mg, 收率 81%。

[0122] 结构分析如下:

[0123]



[0124]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.47 (d,  $J = 6.6\text{Hz}$ , 6H), 2.61 (s, 3H), 3.03 (s, 3H), 3.21 ~ 3.24 (m, 1H), 5.14 (d,  $J = 11.6\text{Hz}$ , 1H), 5.65 (d,  $J = 11.6\text{Hz}$ , 1H), 7.13~7.45 (m, 8H), 7.52 ~ 7.73 (m, 2H), 7.80 (s, 1H), 8.42 (s, 1H)。

[0125] IR(KBr)  $\nu$ : 3331 (OH), 2210 (CN), 1751 (C = O), 1635 (C = O)  $\text{cm}^{-1}$ 。

[0126] MS(ESI)  $m/z$ : 534  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0127] 元素分析 ( $\text{C}_{34}\text{H}_{28}\text{FNO}_4$ ): 实测值 (理论值), C 76.62 (76.53), H 5.38 (5.29), N

2.73(2.62)。

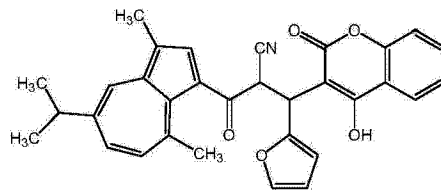
[0128] 实施例 12

[0129] 3-(4-羟基香豆素-3-基)-2-(3,8-二甲基-6-异丙基萹-1-基-羰基)-3-(呋喃-2-基)丙腈(A<sub>13</sub>)的合成。

[0130] 将醋酸铵(38mg, 0.5mmol)加入到4-羟基香豆素(162mg, 1.0mmol), 1-氰乙酰基愈创兰烃萹(344mg, 1.3mmol)和糠醛(144mg, 1.5mmol)的乙醇(25mL)溶液中, 加热回流27小时(用硅胶层析板(TLC)监控反应)。冷却, 减压浓缩, 乙醇重结晶得到目的产物338mg, 收率67%。

[0131] 结构分析如下:

[0132]



[0133] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.46(d, J = 6.6Hz, 6H), 2.64(s, 3H), 3.08(s, 3H), 3.21~3.24(m, 1H), 5.16(d, J = 11.6Hz, 1H), 5.60(d, J = 11.6Hz, 1H), 6.65~6.68(1H, m), 7.10~7.42(m, 6H), 7.46~7.65(m, 2H), 7.86(s, 1H), 8.61(s, 1H)。

[0134] IR(KBr) ν: 3317(OH), 2226(CN), 1753(C=O), 1635(C=O) cm<sup>-1</sup>。

[0135] MS(ESI)m/z: 506[M+H]<sup>+</sup>。

[0136] 元素分析(C<sub>32</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>5</sub>): 实测值(理论值), C 76.62(76.02), H 5.38(5.38), N 2.73(2.77)。

[0137] 实施例 13

[0138] DPPH·自由基、O<sup>2-</sup>·自由基的清除能力的测定。

[0139] 试验样品: 实施例 1-12 制得的化合物 A<sub>1</sub>-A<sub>12</sub>。

[0140] 对照品: 维生素 C(Vc) 购自 Aladdin 公司。

[0141] 试验方法:

[0142] 1、对 DPPH· 的清除能力测定

[0143] 溶液的配制: 1×10<sup>-4</sup>mol/L 的 DPPH 溶液的配制: 准确称取 10mg DPPH(1,1-二苯基-2-三硝基苯肼), 置于干净的小烧杯中, 用少量无水乙醇溶解, 转入容量瓶中, 用无水乙醇定容至刻度, 混匀, 避光, 置于冰箱保存。

[0144] 供试液的配制: 精密取各样品适量, 以乙醇为溶剂, 分别配制 100、80、60、40、20mg/L 的待测溶液。

[0145] 在 10mL 具塞试管中, 取 1mL 不同浓度的样品溶液, 分别与 3mL 1×10<sup>-4</sup>mol/L 的 DPPH 溶液混合, 避光放置 30min, 在 517nm 处测吸光度(A<sub>i</sub>)。以相应溶剂代替样品作为空白对照, 吸光度为 A<sub>0</sub>, 相应样品溶液的吸光度为 A<sub>j</sub>。

[0146] DPPH 自由基清除活性按下式计算(结果见表 1):

[0147] 清除率 = [1 - (A<sub>i</sub> - A<sub>j</sub>) / A<sub>0</sub>] × 100%

[0148] 2、对 O<sup>2-</sup>· 清除能力测定

[0149] 超氧阴离子自由基清除试验采用碱性条件下邻苯三酚的自氧化产生 O<sup>2-</sup>· 自由基

体系。在 10mL 具塞试管中,分别加入 pH 8.2,0.05mol/L Tris-HCl 缓冲液 4.5mL 和不同体积的样品溶液,摇匀,置于 25℃水浴中预热 30min,加入 25℃预热过的  $3 \times 10^{-3}$ mol/L 邻苯三酚溶液 1mL,混匀后于 25℃水浴中反应 5min,加入 8mol/L 的盐酸 1mL 终止反应,用蒸馏水定容,立即在 318nm 处测定吸光度 ( $A_1$ ),空白对照组 ( $A_0$ ) 以相同体积的蒸馏水代替样品,对应浓度样品的吸光度 ( $A_j$ ) 为参照溶液,结果见表 1。

[0150] 清除率 =  $[1 - (A_1 - A_j) / A_0] \times 100\%$

[0151] 表 -1 化合物  $A_1$ - $A_{12}$  的抗氧化活性

[0152]

实施例所合成的化合物	DPPH 法 $IC_{50} (\mu M)$	超氧阴离子自由基法 $IC_{50} (\mu M)$
$A_1$	102.2	133.2
$A_2$	54.8	100.8
$A_3$	49.5	116.7
$A_4$	46.6	144.6
$A_5$	24.2	128.5
$A_6$	83.1	149.1
$A_7$	107.9	103.7
$A_8$	31.8	105.6
$A_9$	25.7	89.3
$A_{10}$	75.6	126.9
$A_{11}$	37.3	121.7
$A_{12}$	56.4	184.6
Vc (对照品)	29.2	97.2

[0153] 实验结果表明,实施例中所合成的新化合物含愈创兰烃萘结构的香豆素衍生物,具有较强抗氧化、清除自由基活性。其中化合物  $A_5$ 、 $A_8$ 、 $A_9$  和  $A_{11}$  ( $IC_{50} = 24.2 \sim 37.3$ ), 对 DPPH· 的清除能力与商业应用的 Vc ( $IC_{50} = 29.2$ ) 活性相当,甚至强于其活性 [ $A_5$  ( $IC_{50} = 24.2$ ),  $A_9$  ( $IC_{50} = 25.7$ )] ;  $A_2$ 、 $A_7$ 、 $A_8$  和  $A_9$  ( $IC_{50} = 89.3 \sim 105.6$ ), 对  $O^{2-}$ · 清除能力与 Vc ( $IC_{50} = 97.2$ ) 活性相当,甚至强于其活性 [ $A_9$  ( $IC_{50} = 89.3$ )]。化合物  $A_9$  的抗氧化性尤为突出: 同时对  $O^{2-}$ · 和 DPPH· 的清除能力强于 Vc, 因而具有较强的开发应用前景,可望能进一步发展成为新的抗氧化剂,用于神经保护、抗肿瘤、抗凝血、抗辐射和抗炎作用等药物的制备。