

文章编号:1674-2974(2016)12-0088-05

## 4-甲基伞形内酯衍生物的合成与生物活性研究\*

汪秋安<sup>†</sup>, 乔艳欣, 毛炎, 刘多

(湖南大学 化学化工学院, 湖南长沙 410082)

**摘要:**4-甲基伞形内酯(4-甲基-7-羟基香豆素, **1**)是一种具有重要生物活性的香豆素类天然产物。本文以间苯二酚和乙酰乙酸乙酯为原料,经 Pechmann 反应合成 4-甲基伞形内酯(**1**)。然后以 4-甲基伞形内酯(**1**)为底物,分别经 Mannich 反应、乙酰化、Fries 重排、O-甲基化、Baeyer-Villiger 氧化、O-异戊烯基化和 Claisen 重排等反应步骤,合成了一系列 4-甲基伞形内酯衍生物 **2**~**10**。并对所合成的化合物进行了人宫颈癌 Hela 细胞的抑制活性测试,结果发现新化合物 4-甲基-5-异戊烯基-8-羟基-7-甲氧基香豆素(**10**)对 Hela 细胞的抑制活性( $IC_{50} = 28.58 \mu\text{mol/L}$ ),高于阳性对照药物顺铂( $IC_{50} = 41.25 \mu\text{mol/L}$ ),具有进一步研究开发的價值。

**关键词:**4-甲基伞形内酯; 香豆素衍生物; 合成; 生物活性

**中图分类号:**O625.12

**文献标识码:**A

## Synthesis and Biological Activity of 4-Methylumbelliferone Derivatives

WANG Qiu-an<sup>†</sup>, QIAO Yan-xin, MAO Yan, LIU Duo

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan Univ, Changsha, Hunan 410082, China)

**Abstract:** 4-Methylumbelliferone (4-methyl-7-hydroxycoumarin, **1**) is a coumarins natural product with important biological activity. Firstly, 4-methylumbelliferone (**1**) was synthesized from resorcinol and ethyl acetoacetate by Pechmann reaction. Nine coumarin derivatives (**2**~**10**) were then synthesized through Mannich reaction, acetylation, Fries rearrangement, O-methylation, Baeyer-Villiger oxidation, O-prenylation and Claisen rearrangement from 4-methylumbelliferone (**1**). Their inhibitory activities on human cervical carcinoma Hela cells were evaluated in vitro. The biological testing results showed that 4-methyl-5-prenyl-8-hydroxy-7-methoxycoumarin (**10**,  $IC_{50} = 28.58 \mu\text{mol/L}$ ) displayed stronger activity than the positive control drug cis-Platin ( $IC_{50} = 41.25 \mu\text{mol/L}$ ), which is worthy of further study.

**Key words:** 4-methylumbelliferone; coumarin derivatives; synthesis; biological activity

香豆素是一类具有抗肿瘤、抗病毒、抗菌和抗凝血作用等重要生物活性的天然产物。例如, Kashman 等从马来西亚热带雨林树木藤黄科胡桐树

(*Calophyllum lanigerum*)中分离出来的 Calandide 具有很强的抗艾滋病毒活性<sup>[1]</sup>。2003 年 Lee 等从缅甸的 *Kayea Ossamica* 树皮中分离得到的新香豆素

\* 收稿日期:2016-05-13

基金项目:国家自然科学基金资助项目(J1210040), National Natural Science Foundation of China (J1210040)

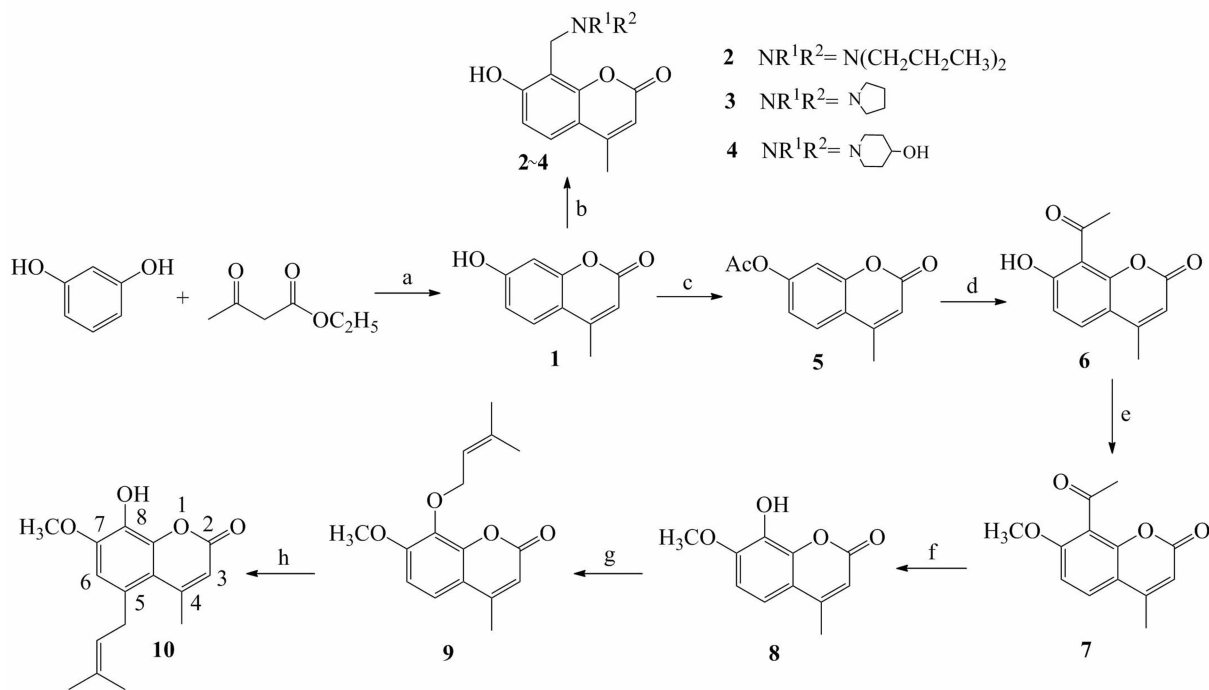
作者简介:汪秋安(1962-),男,湖南常德人,湖南大学教授

<sup>†</sup> 通讯联系人, E-mail: WangQA@hnu.edu.cn

Theraphins A, B 和 C 显示出很好的抗 Co12, KB 和 LNCaP 人肿瘤细胞活性<sup>[2]</sup>. 张庆林等从蛇床子 (*Cnidium monnieri*) 中分离出的 3 种香豆素对耐药的肿瘤细胞 KBV200 具有明显的逆转作用<sup>[3]</sup>. Itoigawa 等从 *C. inophyllum* 中分离出的 10 种 4-苯基香豆素对肿瘤细胞 Epstein-Barr Virus (EBV) 具有显著抑制活性<sup>[4]</sup>.

4-甲基伞形内酯 (**1**) 是一种简单的天然香豆素, 它对各种肿瘤细胞具有抑制活性, 同时也是一种新型利胆药物<sup>[5-6]</sup>. 由于它的分子量小、合成简便且生物利用度高, 由 4-甲基伞形内酯所衍生出来的香豆素衍生物显示出良好的生物活性和药理作用, 已引起人们的广泛关注<sup>[7-10]</sup>. 现有的研究表明, 异戊烯基、甲氧基和含氮碱基对香豆素类化合物的生物

活性具有增强效果, 例如, 蛇床子素 (osthol, 7-甲氧基-8-异戊烯基香豆素) 是近年来发现的一种很有潜力的高效抗肿瘤的异戊烯基香豆素<sup>[11]</sup>. 为了进一步研究 4-甲基伞形内酯衍生物的生物活性及适应新药开发的需要, 我们首先以间苯二酚和乙酰乙酸乙酯为原料, 经 Pechmann 反应合成了 4-甲基伞形内酯 (**1**), 然后对 4-甲基伞形内酯进行结构修饰, 分别经 Mannich 反应、乙酰化、Fries 重排、*O*-甲基化、Baeyer-Villiger 氧化、*O*-异戊烯基化和 Claisen 重排等反应, 合成了一系列 4-甲基伞形内酯衍生物 **2~10**. 并对所合成的 4-甲基伞形内酯衍生物进行了人宫颈癌 Hela 细胞的抑制活性测试. 4-甲基伞形内酯 (**1**) 及其衍生物 **2~10** 的合成路线如图 1 所示.



Reagents and conditions: a.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , r. t.; b. 37%  $\text{HCHO}(\text{aq})$ , amine,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ,  $\text{H}^+$ , microwave (600 W, 80  $^\circ\text{C}$ ); c.  $\text{Ac}_2\text{O}$ , DMAP; d.  $\text{AlCl}_3$ ,  $\Delta$ ; e.  $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$ , acetone,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ; f.  $\text{H}_2\text{O}_2$ ; g. prenyl bromide, acetone,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ; h. microwave (600 W, 200  $^\circ\text{C}$ ), DEA.

图 1 4-甲基伞形内酯 (**1**) 及其衍生物 **2~10** 的合成路线

Fig. 1 Synthetic routes of 4-methylumbelliferone (**1**) and its derivatives **2~10**

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

熔点在 XRC-1 型显微熔点仪上测定 (温度计未校正); NMR 用 Bruker Am-400 型核磁共振仪测定 (溶剂  $\text{CDCl}_3$  或  $\text{DMSO}-d_6$ , TMS 为内标); MS 用 Agilent 1100 液-质联用仪或 ZAB-HS 型仪测定记录 (EI 模式); IR 用 FD-5DX 仪 (KBr 压片法) 测定; 微波加热用 XH-MC-1 实验室微波合成仪 (北京

祥鹤科技发展有限公司); 薄层和柱层析用硅胶均为青岛海洋化工厂产品; 所用试剂和溶剂为化学纯和分析纯, 要求无水的溶剂都经过干燥剂或分子筛除水和重蒸处理.

4-甲基-7-羟基香豆素 (**1**) 按文献以间苯二酚和乙酰乙酸乙酯为原料合成<sup>[12]</sup>.

### 1.2 4-甲基-7-羟基-8-亚甲基 (1-二正丙胺) 香豆素 (**2**) 合成

首先将 0.8 mL 甲醛、0.8 mL 二正丙胺、5 滴浓盐酸溶于 5 mL 乙醇中, 室温下搅拌 10 min, 再称

取化合物 **1** (200 mg, 1.14 mmol) 于 100 mL 加有磁子的圆底烧瓶中, 将 20 mL 无水乙醇加入其中, 微波条件(600 W, 80 °C)下溶解原料, 回流 30 min 左右, 反应完毕, 旋干反应液, 加水, 用乙酸乙酯萃取 3 次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋蒸除溶剂, 用乙酸乙酯-石油醚重结晶, 得到黄色固体 165 mg, 产率 50%, m. p. 125 ~ 127 °C, <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.24 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, 5-H), 6.57 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, 6-H), 5.88 (s, 1H, 3-H), 3.91 (s, 2H, NCH<sub>2</sub>), 2.41 (t, *J* = 6.9 Hz, 4H, NCH<sub>2</sub>), 2.25 (s, 3H, 4-CH<sub>3</sub>), 1.46~1.49 (m, 4H, CH<sub>2</sub>), 0.78 (t, *J* = 6.7 Hz, 6H, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 163.09, 160.84, 153.22, 152.20, 124.28, 113.16, 111.59, 109.98, 108.08, 55.47, 50.79, 19.18, 18.55, 11.55. MS (EI), *m/z*: 289 [M]<sup>+</sup>. Anal. calcd for C<sub>17</sub>H<sub>23</sub>O<sub>3</sub>N: C 70.56, H 8.01, N 4.84; found C 70.48, H 7.98, N 4.81.

### 1.3 4-甲基-7-羟基-8-亚甲基(1-吡咯烷)香豆素(3)的合成

合成方法同(2)得到黄色固体 201 mg, 产率 68%, m. p. 223 ~ 225 °C, <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 13.08 (s, 1H, OH), 7.32 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, 5-H), 6.67 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, 6-H), 5.97 (s, 1H, 3-H), 4.10 (s, 2H, NCH<sub>2</sub>), 2.65 (s, 4H, NCH<sub>2</sub>), 2.30 (s, 3H, 4-CH<sub>3</sub>), 1.81 (s, 4H, CH<sub>2</sub>). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 163.13, 161.37, 153.46, 152.02, 124.49, 113.37, 111.91, 110.34, 108.60, 77.46, 77.14, 76.82, 53.60, 51.43, 23.70, 18.83. MS (EI), *m/z*: 259 [M]<sup>+</sup>. Anal. calcd for C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>O<sub>3</sub>N: C 69.48, H 9.51, N 7.77; found C 69.57, H 9.38, N 7.83.

### 1.4 4-甲基-7-羟基-8-亚甲基(4-羟基哌啶)香豆素(4)的合成

合成方法同(2)得到黄色固体 214 mg, 产率 65%, m. p. 150 ~ 152 °C, <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.39 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, 5-H), 6.75 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, 6-H), 6.05 (s, 1H, 3-H), 4.04 (s, 2H, NCH<sub>2</sub>), 3.84 (s, 1H, CH(OH)), 2.92 (s, 2H, NCH<sub>2</sub>), 2.37 (s, 5H, NCH<sub>2</sub> and 4-CH<sub>3</sub>), 1.95 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.68 (s, 2H, CH<sub>2</sub>). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 162.71, 161.36, 153.48, 152.40, 124.60, 113.44, 112.16, 110.49, 107.72, 53.81, 33.84, 29.92, 18.79. MS (EI), *m/z*: 289 [M]<sup>+</sup>. Anal. calcd for C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>O<sub>4</sub>N: C 66.42, H 6.62, N 4.84; found C 66.36, H 6.70, N 4.75.

### 1.5 4-甲基-7-乙酰氧基香豆素(5)的合成

称取化合物 **1** (500 mg, 2.85 mmol), 催化量的 4-二甲氨基吡啶于 100 mL 圆底烧瓶中, 加入 15 mL 乙酸酐, 50 °C 反应 2 h, 原料点几乎消失, 停止反应, 旋干反应液, 用乙酸乙酯萃取 3 次, 饱和食盐水洗涤, 干燥, 旋干溶剂, 最后用二氯甲烷-石油醚重结晶, 得到白色固体 497 mg, 产率 80%, m. p. 142~144 °C, <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.54 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, 5-H), 7.07~6.98 (m, 2H, 6-H and 8-H), 6.20 (s, 1H, 3-H), 2.36 (s, 3H, 4-CH<sub>3</sub>), 2.28 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 167.80, 159.51, 153.09, 151.97, 150.96, 124.40, 117.10, 116.82, 113.47, 109.44, 20.12, 17.74. MS (EI), *m/z*: 218 [M]<sup>+</sup>. Anal. calcd for C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>: C 66.05, H 4.62; found C 65.96, H 4.63.

### 1.6 4-甲基-8-乙酰基-7-羟基香豆素(6)的合成

称取化合物 **5** (500 mg, 2.29 mmol), AlCl<sub>3</sub> (1 g, 7.49 mmol), 适量 NaCl 于 100 mL 圆底烧瓶中, 在 140 °C 下反应 24 h, 冷却, 滴加 10% 稀盐酸至酸性, 抽滤, 干燥, 用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 溶解, 过滤, 最后重结晶, 得到黄色固体 324 mg, 产率 65%, m. p. 166~168 °C, <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 13.45 (s, 1H, OH), 7.57 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, 5-H), 6.79 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, 6-H), 6.05 (s, 1H, 3-H), 2.82 (s, 3H, 4-CH<sub>3</sub>), 2.33 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 204.32, 166.56, 159.31, 155.06, 153.07, 131.28, 115.06, 111.82, 110.98, 109.18, 33.91, 19.19. MS (EI), *m/z*: 218 [M]<sup>+</sup>. Anal. calcd for C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>: C 66.05, H 4.62; found C 66.10, H 4.57.

### 1.7 4-甲基-8-乙酰基-7-甲氧基香豆素(7)的合成

将化合物 **6** (500 mg, 2.29 mmol), 碳酸钾 (1.90 g, 13.74 mmol) 放于圆底烧瓶中, 加入 20 mL 丙酮, 40 °C 下加热使原料溶解, 滴加 2 mL 硫酸二甲酯, 5 h 后, 原料点几乎没有, 停止反应, 旋干滤液, 重结晶, 得白色固体 425 mg, 产率 80%, m. p. 95~97 °C, <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.57 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, 5-H), 6.89 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, 6-H), 6.11 (s, 1H, 3-H), 3.89 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.57 (s, 3H, 4-CH<sub>3</sub>), 2.38 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 199.47, 159.95, 158.37, 152.24, 150.51, 126.50, 119.19, 113.87, 112.41, 107.47, 56.28, 32.42, 18.73. MS (EI), *m/z*: 232 [M]<sup>+</sup>. Anal. calcd for C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>: C 67.23, H 5.21; found C 67.16, H 5.25.

### 1.8 4-甲基-8-羟基-7-甲氧基香豆素(8)的合成

称量化合物 **7** (200 mg, 0.86 mmol) 于 100 mL 圆底烧瓶中, 加入 15 mL 二氧六环, 12 mL 4% 氢氧化钠溶液, 40 °C 加热, 使原料溶解, 冰浴条件下将 10 mL 30% 的双氧水溶液滴入其中, 反应 3 h 左右, 用冰的稀盐酸进行酸化使 pH=1, 原料点几乎没有, 停止反应, 加水, 用二氯甲烷萃取 3~4 次, 萃取后, 饱和食盐水洗涤有机层, 干燥, 旋除溶剂, 最后重结晶, 得黄色固体 89 mg, 产率 50%, m. p. 80~82 °C,  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.12 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H, 5-H), 6.87 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H, 6-H), 6.14 (d,  $J = 0.9$  Hz, 1H, 3-H), 3.98 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 2.39 (d,  $J = 1.1$  Hz, 3H, 4- $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  160.17, 152.85, 149.30, 141.61, 132.75, 115.24, 114.38, 112.18, 107.30, 56.40, 18.61. MS(EI),  $m/z$ : 206  $[\text{M}]^+$ . Anal. calcd for  $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_4$ : C 64.07, H 4.89; found C 64.11, H 4.78.

### 1.9 4-甲基-7-甲氧基-8-异戊烯氧基香豆素(9)的合成

称量化合物 **8** (200 mg, 0.97 mmol), 无水碳酸钾(800 mg, 5.80 mmol)于 100 mL 圆底烧瓶中, 加入 15 mL 丙酮, 40 °C 加热, 使原料溶解, 滴加 0.2 mL 异戊烯基溴, 反应 4 h 左右, 停止反应, 过滤, 旋转蒸除溶剂, 用二氯甲烷-石油醚重结晶, 得到黄色固体 226 mg, 产率 85%, m. p. 66~68 °C,  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.29 (d,  $J = 8.9$  Hz, 1H, 5-H), 6.87 (d,  $J = 8.9$  Hz, 1H, 6-H), 6.13 (s, 1H, 3-H), 5.59 (td,  $J = 7.3, 1.3$  Hz, 1H, CH), 4.64 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2$ ), 3.94 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 2.38 (s, 3H, 4- $\text{OCH}_3$ ), 1.73 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.69 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  159.68, 154.80, 151.55, 147.13, 138.23, 133.96, 119.02, 118.43, 113.70, 111.32, 106.94, 69.00, 55.30, 24.80, 17.75, 16.97. MS(EI),  $m/z$ : 274  $[\text{M}]^+$ . Anal. calcd for  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_4$ : C 70.06, H 6.61; found C 70.11, H 6.55.

### 1.10 4-甲基-5-异戊烯基-8-羟基-7-甲氧基香豆素(10)的合成

称量化合物 **9** (200 mg, 0.73 mmol)于 100 mL 圆底烧瓶中, 加入 15 mL 无水 *N,N*-二乙基苯胺, 微波条件(600 W, 200 °C)下加热, 反应 2 h 左右, 原料点消失, 停止反应, 冷却至室温, 加入 4% 稀盐酸, 用二氯甲烷萃取 3 次, 萃取后用饱和 NaCl 溶液洗涤有机层, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋蒸除

溶剂, 硅胶柱层析 ( $V_{\text{石油醚}} : V_{\text{乙酸乙酯}} = 6 : 1$ ), 得到黄色固体 70 mg, 产率 35%, m. p. 123~125 °C,  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.60 (s, 1H, 6-H), 6.04 (s, 1H, 7-H), 5.99 (s, 1H, CH), 5.06 (s, 1H, OH), 3.87 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.56 (d,  $J = 5.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.52 (s, 3H, 4- $\text{CH}_3$ ), 1.62 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.75 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  158.79, 153.83, 147.35, 142.27, 132.34, 130.81, 130.41, 122.29, 112.66, 111.83, 109.85, 55.21, 33.57, 24.54, 23.50, 17.13. MS(EI),  $m/z$ : 274  $[\text{M}]^+$ . Anal. calcd for  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_4$ : C 70.06, H 6.61; found C 69.95, H 6.59.

### 1.11 生物活性测试

采用 CCK-8 法对合成化合物 **1~10** 进行体外抗肿瘤细胞 HeLa(宫颈癌细胞)的活性筛选. 以顺铂(*cis*-Platin)作为阳性对照. 实验流程如下: 将每 5 000 个肿瘤细胞接种到 96 孔板中(每一孔板接种 5 000 个细胞), 待细胞贴壁之后(一般过夜或 12 h)给药, 起始给药浓度 100  $\mu\text{mol/L}$ , 3 倍或 4 倍浓度进行梯度稀释, 一共稀释 8 个浓度(如: 稀释 4 倍, 分别是 100  $\mu\text{mol/L}$ , 25  $\mu\text{mol/L}$ , 6.25  $\mu\text{mol/L}$ , 1.56  $\mu\text{mol/L}$ , 0.39  $\mu\text{mol/L}$ , 0.097 6  $\mu\text{mol/L}$ , 0.024 4  $\mu\text{mol/L}$ , 0.006 1  $\mu\text{mol/L}$ ), 给药后孵育培养 48 h, 弃去培养基, 加入含 10% CCK-8(检测线号, 只与活细胞结合, 结合越多, 吸光度越大)的 1640 培养基(体外培养细胞所需的营养物质, 主要有糖、氨基酸和维生素三大类)100  $\mu\text{L}$ , 孵育 1~2 h, 检测波长范围 450~490 nm, 酶联免疫检测仪(Bio-Rad 680)读取各孔光吸收值, 记录结果, 以浓度为横坐标, 细胞存活率为纵坐标绘制细胞生长曲线, 应用两点法(Reed and Muench 法)计算化合物的  $\text{IC}_{50}$  值.

## 2 结果与讨论

首先, 以间苯二酚和乙酰乙酸乙酯为原料, 经香豆素合成的经典反应 Pechmann 反应合成 4-甲基伞形内酯(**1**). 然后, 4-甲基伞形内酯(**1**)分别与二正丙胺、吡咯烷和 4-羟基哌啶等 3 种二级胺和水合甲醛的酸性醇溶液, 在微波加热(600 W, 80 °C)下进行 Mannich 反应, 因香豆素 **1** 环上 8 位上的电子云密度较大, 且处于酚羟基的邻位, 易发生具有亲电特征的 Mannich 反应, 生成 8-位胺甲基取代的香豆素衍生物 **2~4**, 这 3 种产物的结构通过  $^1\text{H NMR}$  谱确证, 其中 8 位上的氢峰消失, 出现了  $\delta$  2.41,

4.10和4.04 胺甲基氢的吸收峰. 微波促进的 Mannich 反应已见文献报道<sup>[13]</sup>, 该法可大大缩短反应时间, 且副产物少, 产率高.

4-甲基伞形内酯(1)与乙酸酐在催化量二甲基吡啶(DMAP)作用下, 发生乙酰化反应得到化合物 5. 化合物 5 在 Lewis 酸无水  $\text{AlCl}_3$  催化作用下, 发生 Fries 重排, 可得邻位、对位羟基芳香酮类化合物, 本文的化合物 5 中因对位被占据, 故得到邻位重排产物 6. 曾选用  $\text{CS}_2$  或硝基苯作溶剂, 产率较低, 可能是溶剂中含有少量的水, 使部分无水  $\text{AlCl}_3$  吸潮水解, 而使产率较低. 在无溶剂条件下, 于  $140\text{ }^\circ\text{C}$  反应 24 h 产率最高. 化合物 6 的 7-位经 *O*-甲基化作用得化合物 7. 化合物 7 在双氧水中经 Baeyer-Villiger 氧化得 8-位有酚羟基的化合物 8. 化合物 8 与异戊烯基溴在无水  $\text{K}_2\text{CO}_3$  丙酮体系中, 经亲核取代反应得 *O*-异戊烯基化合物 9. 化合物 9 溶于无水 *N,N*-二乙基苯胺(DEA)溶剂中, 在微波加热( $600\text{ W}$ ,  $200\text{ }^\circ\text{C}$ )条件下, 发生 Claisen 重排得 4-甲基-5-异戊烯基-7-甲氧基-8-羟基香豆素(10). 对所合成的 4-甲基伞形内酯及其衍生物进行了体外抗人子宫癌细胞 Hela 细胞株的活性筛选, 采用 CCK-8 法<sup>[14]</sup>, 以顺铂(*cis*-Platin)为阳性对照物, 其结果见表 1. 从表 1 的生物活性结果可以看出, 化合物 1, 5, 6, 7 和 10 对 Hela 细胞增殖具有抑制作用, 其中化合物 10( $\text{IC}_{50} = 28.58\ \mu\text{mol/L}$ )的活性高于阳性对照药物顺铂( $\text{IC}_{50} = 41.25\ \mu\text{mol/L}$ ), 也高于其母体香豆素 4-甲基伞形内酯( $\text{IC}_{50} = 71.99\ \mu\text{mol/L}$ ).

表 1 化合物 1~10 对 Hela 细胞株的半数抑制浓度 [ $\text{IC}_{50}$ ]  
Tab. 1 Half-inhibitory concentration [ $\text{IC}_{50}$ ]  
of compounds 1~10 on the Hela cells

化合物	$\text{IC}_{50}$ / $(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	化合物	$\text{IC}_{50}$ / $(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$
1	71.99	7	68.68
2	>100	8	>100
3	>100	9	>100
4	>100	10	28.58
5	96.70	<i>cis</i> -Platin <sup>a</sup>	41.25
6	87.08		

<sup>a</sup> used for positive control.

### 3 结 论

天然香豆素 4-甲基伞形内酯经 Mannich 反应、乙酰化、Fries 重排、*O*-甲基化、Baeyer-Villiger 氧化、*O*-异戊烯基化和 Claisen 重排等反应, 合成了一系列 4-甲基伞形内酯衍生物 2~10. 所合成的目标

化合物经测试对人宫颈癌 Hela 细胞株的抑制活性, 发现异戊烯基香豆素 10 的活性 ( $\text{IC}_{50} = 28.58\ \mu\text{mol/L}$ ) 高于阳性对照物顺铂 ( $\text{IC}_{50} = 41.25\ \mu\text{mol/L}$ ), 具有进一步研究开发的价值.

### 参 考 文 献

- [1] KASHMAN Y, CUSTAFSON K R, FULLER R W, *et al.* The calandides, a novel HIV-inhibitory class of coumarin derivatives from the tropical rainforest tree, *Calophyllum lanigerum* [J]. Journal of Medicinal Chemistry, 1992, 35(15): 2735-2738.
- [2] LEE K H, CHAI H B, TAMEZ P A, *et al.* Biologically active alkylated coumarins from *Kayea assamica* [J]. Phytochemistry, 2003, 64(2):535-541.
- [3] 张庆林, 赵静华, 毕建进, 等. 蛇床子中 3 种逆转肿瘤细胞多药耐药活性香豆素 [J]. 中草药, 2003, 34(2):104-106. ZHANG Qing-lin, ZHAO Jing-hua, BI Jian-jin, *et al.* Three coumarins from seed of *cnidium monnieri* and their multidrug resistance reversal effects [J]. China Traditional and Herbal Drugs, 2003, 34(2):104-106. (In Chinese)
- [4] ITOIGAWA M, ITO C, TAN H T, *et al.* Cancer chemopreventive agents, 4-phenylcoumarins from *Calophyllum inophyllum* [J]. Cancer Letter, 2001, 169(1):15-19.
- [5] MARESC A, SUPURAN C T. Coumarins incorporating hydroxyl- and chloro-moieties selectively inhibit the transmembrane, tumor-associated carbonic anhydrase isoforms IX and XII over cytosolic ones I and II [J]. Bioorganic Medicinal Chemistry Letters, 2010, 20(15):4511-4514.
- [6] DOUGLAS M Y, TACOB J C W, KENNETH M D. Green synthesis of a fluorescent natural product [J]. Journal of Chemistry Education, 2011, 88(3):319-321.
- [7] MARIA J, ALYSSA B, JAMES M, *et al.* Synthesis and biological evaluation of isoprenylated coumarins as potential anti-pancreatic cancer agents [J]. Bioorganic Medicinal Chemistry Letters, 2014, 24:4654-4658.
- [8] KONTOGIORGIS C A, HADJIPAVIOU-LITINA D T. Synthesis and anti-inflammatory activity of coumarin derivatives [J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2005, 48:6400-6408.
- [9] MAZZEI M, NIEDDU E, MIELE M, *et al.* Activity of Mannich bases of 7-hydroxycoumarin against Flaviviridae [J]. Bioorganic Medicinal Chemistry, 2008, 16(5):2591-2605.
- [10] LIU D, CAI S L, WANG Q A, *et al.* Synthesis of long chain fatty acids acylated coumarin glycoside esters with lipase as catalyst [J]. Chemical Research in Chinese Universities, 2015, 31(4):534-538.
- [11] YOU L S, AN R, WANG X H, *et al.* Discovery of novel osteohole derivatives as potential anti-breast cancer treatment [J]. Bioorganic Medicinal Chemistry Letters, 2010, 20:7426-7428.
- [12] WU ZH, FU X L, WANG Q A, *et al.* Synthesis and fluorescence properties of coumarin glycosides and triazolylglycosides [J]. Chemical Research in Chinese Universities, 2013, 29(3):460-465.
- [13] PENG Y Q, DOU R L, SONG G H, *et al.* Dramatically accelerated synthesis of  $\beta$ -aminoketones via aqueous mannich reaction under combined microwave and ultrasound irradiation [J]. ChemInform, 2006, 37(4):2245-2247.
- [14] XUAN L N, WANG P, ZHANG K, *et al.* Synthesis and *in vitro* antiproliferative activity of novel benzioselenazolone derivatives [J]. Medicinal Chemistry Research, 2015, 24(2):543-552.