

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200510028624.5

[51] Int. Cl.

C07D 311/76 (2006.01)

C07D 311/78 (2006.01)

C07D 493/04 (2006.01)

A61K 31/366 (2006.01)

A61P 5/50 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

[43] 公开日 2007 年 2 月 14 日

[11] 公开号 CN 1911925A

[51] Int. Cl. (续)

A61P 3/10 (2006.01)

[22] 申请日 2005.8.9

[21] 申请号 200510028624.5

[71] 申请人 中国科学院上海药物研究所

地址 201203 上海市浦东张江高科技园区祖  
冲之路 555 号

[72] 发明人 李欣 李佳 周越洋 凌青  
沈竞康 李静雅 张薇

[74] 专利代理机构 上海开祺知识产权代理有限公司

代理人 费开逵 张萍

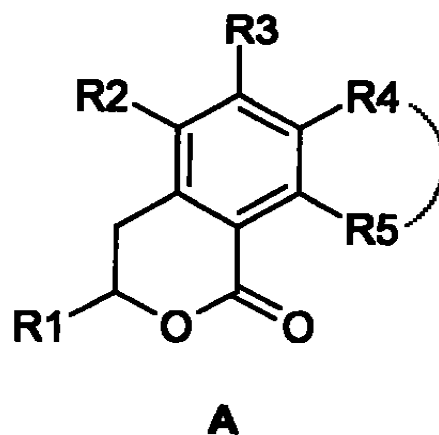
权利要求书 6 页 说明书 16 页

[54] 发明名称

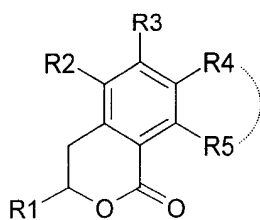
一类 3,4-二氢-1H-2-苯并吡喃-1-酮类  
化合物、制备方法和用途

[57] 摘要

本发明涉及具有以下结构通式的一类 3,4-二氢-1H-2-苯并吡喃-1-酮化合物 A。本发明还提供了该类化合物的制备方法,及其对 LAR 和 PTP $\sigma$  的抑制作用,可用于治疗各种糖尿病、肥胖症及其并发症,还可用于治疗 PTP-LAR 和/或 PTP $\sigma$  活性或表达量过高导致的其他疾病,如肿瘤和神经退行性疾病。

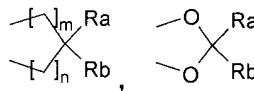


1. 一类具有如下结构式的 3, 4 - 二氢 - 1H - 2 - 苯并吡喃 - 1 - 酮的衍生物,



A

其中 R1 为氢原子, C1 - C6 烷基, 羟基, C1 - C6 羟烷基; R2 为 CHO, COOH, CONH<sub>2</sub>, CN, CH<sub>2</sub>OH; R3 为氢原子, 羟基, C1 - C6 烷氧基; R4 和 R5 可相同或不同, 分别为氢

原子, C1 - C6 烷基, C1 - C6 烷氧基; 或 R4 和 R5 共同为 , 其中 m 为 0 - 2, n 为 0 - 2, Ra 和 Rb 可相同或不同, 分别为氢原子, C1 - C6 烷基。

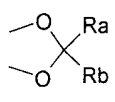
2. 根据权利要求 1 所述的一类 3, 4 - 二氢 - 1H - 2 - 苯并吡喃 - 1 - 酮的衍生物, 其特征在于其中 C1 - C6 烷基为 1 - 6 个碳原子的饱和或不饱和、取代或非取代的直链、支链烷烃, CH<sub>3</sub>-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>-, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH-, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)CH-, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>-, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C-, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)CH-, (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)CHCH<sub>2</sub>-, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CCH<sub>2</sub>-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C-, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)CH-, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>(CH<sub>3</sub>)CH-, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)CHCH<sub>2</sub>-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)CH(CH<sub>3</sub>)CH-, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)CH-, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)CHCH<sub>2</sub>-, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)CH-, (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>-, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C-, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C(CH<sub>3</sub>)CH-, (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>C-, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)CH-。这些基团中, 以 CH<sub>3</sub>-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>-, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH-, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)CH-, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>-, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C-碳原子数为 1 - 4 个的烷基为佳, 以 CH<sub>3</sub>-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>-, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH-为更佳, 以 CH<sub>3</sub>-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>-为最佳。

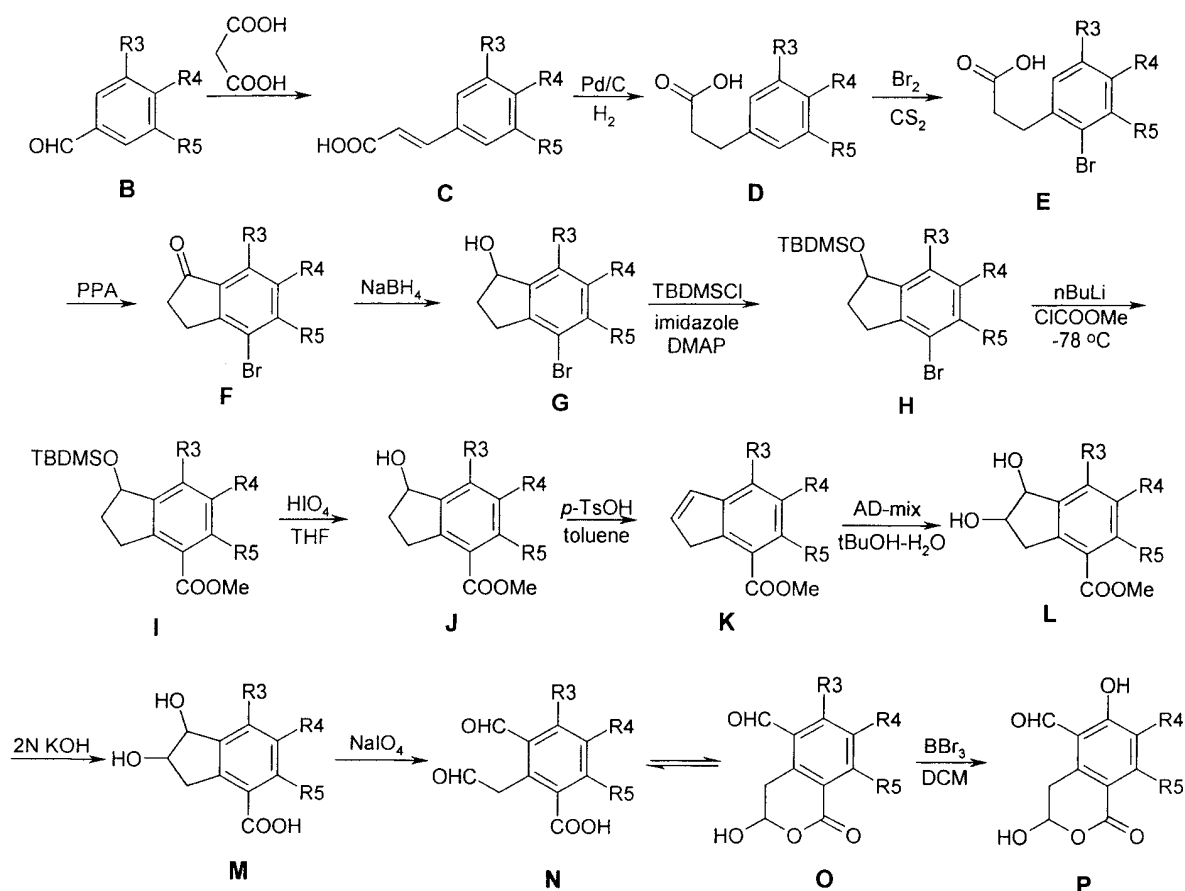
C1 - C6 烷氧基为 1 - 6 个碳原子的饱和或不饱和、取代或非取代的直链、支链烷氧基, CH<sub>3</sub>O-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O-, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>O-, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CHO-, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>O-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)CHO-, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>O-, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CO-, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>O-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)CHO-, (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CHO-, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CCH<sub>2</sub>O-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)CHCH<sub>2</sub>O-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO-, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)CHO-, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>O-, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>O-, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>(CH<sub>3</sub>)CHO-, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)CHCH<sub>2</sub>O-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)CH(CH<sub>3</sub>)CHO-, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)CHO-, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)CHCH<sub>2</sub>O-,

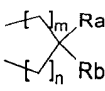
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_3\text{CH}_2)\text{CHO}-$ ,  $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{CHCH}_2\text{O}-$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2\text{CO}-$ ,  $(\text{CH}_3)_3\text{C}(\text{CH}_3)\text{CHO}-$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{CH}_3\text{CH}_2)\text{CHO}-$ ,  $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{CH}_3\text{CO}-$ ; 这些基团中, 以  $\text{CH}_3\text{O}-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-$ ,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{O}-$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{CHO}-$ ,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{O}-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}_3)\text{CHO}-$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{O}-$ ,  $(\text{CH}_3)_3\text{CO}-$  碳原子数为 1 - 4 个的烷基为佳, 以  $\text{CH}_3\text{O}-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-$ ,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{O}-$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{CHO}-$  为更佳, 以  $\text{CH}_3\text{O}-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-$  为最佳;

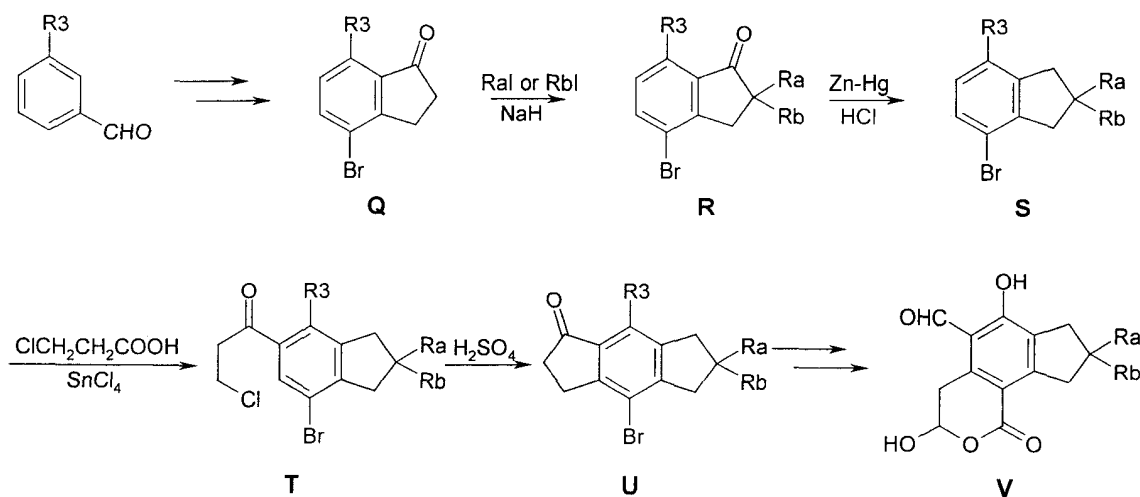
C1 - C6 羟烷基为 1 - 6 个碳原子的饱和或不饱和、取代或非取代的直链、支链烷烃上含有一个羟基,  $\text{HOCH}_2-$ ,  $\text{HOCH}_2\text{CH}_2-$ ,  $\text{HOCH}_2(\text{CH}_2)_2-$ ,  $\text{HOCH}_2(\text{CH}_3)\text{CH}-$ ,  $\text{HOCH}_2(\text{CH}_2)_3-$ ,  $\text{CH}_3(\text{HO})\text{CH}(\text{CH}_2)_2-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{HO})\text{CHCH}_2-$ ,  $\text{HOCH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_3)\text{CH}-$ ,  $\text{CH}_3(\text{HO})\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{HOCH}_2)\text{CH}-$ ,  $\text{HOCH}_2(\text{CH}_3)_2\text{C}-$ ,  $\text{HOCH}_2(\text{CH}_3)\text{CHCH}_2-$ ,  $\text{HOCH}_2(\text{CH}_2)_4-$ ,  $\text{HOCH}_2(\text{CH}_2)_5-$ ; 在这些基团中, 以  $\text{HOCH}_2-$ ,  $\text{HOCH}_2\text{CH}_2-$ ,  $\text{HOCH}_2(\text{CH}_2)_2-$ ,  $\text{HOCH}_2(\text{CH}_3)\text{CH}-$  为佳。

3. 如权利要求 1 所述的一类 3, 4 - 二氢 - 1H - 2 - 苯并吡喃 - 1 - 酮的衍生物的制备方法, 当 R3 为羟基和烷氧基, R4 和 R5 同时或分别为氢原子、C1 - C6 烷基、C1 - C6

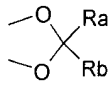
烷氧基, 或共同为  时, 其中 Ra 和 Rb 所代表的和上述所示相同, 以 R1 为羟基, R2 为 CHO 的结构为代表, 包括以下步骤:

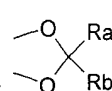


当 R3 为羟基和烷氧基, R4 和 R5 共同为  时, 其中 m、n、Ra 和 Rb 所代表的和上述所示相同, 以 m 和 n 同时为 1, Ra 和 Rb 同时为烷基的结构为代表, 合成中间体 4 - 溴 - 6,6 - 二烷基 - 8 - 烷氧基 - 3,5,6,7 - 四氢 - 2H - s - indacene - 1 - 酮 (结构通式 U), 括以下步骤:

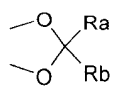


4、根据权利要求 3 所述的一类 3,4 - 二氢 - 1H - 2 - 苯并吡喃 - 1 - 酮的衍生物的制备方法, 其特征在于:

(1). 3 位 R3 取代, 4 位 R4 取代和 5 位 R5 取代苯甲醛化合物与丙二酸反应, 得到 3 位 R3 取代, 4 位 R4 取代和 5 位 R5 取代的肉桂酸化合物, 其中 R3 为氢原子, 或 C1 - C6 烷氧基, R4 和 R5 同时或分别为氢原子, C1 - C6 烷基, C1 - C6 烷氧基, 或共同为 , 其中 Ra 和 Rb 同时或分别为氢原子, C1 - C6 烷基;

(2). 3 位 R3 取代, 4 位 R4 取代和 5 位 R5 取代的肉桂酸化合物经还原将其转化成 3 位 R3 取代, 4 位 R4 取代和 5 位 R5 取代的苯丙酸化合物, 此步还原可采用 Pd/C 催化加氢, 其中 R3 为氢原子, 或 C1 - C6 烷氧基, R4 和 R5 同时或分别为氢原子, C1 - C6 烷基, C1 - C6 烷氧基, 或共同为 , 其中 Ra 和 Rb 同时或分别为氢原子, C1 - C6 烷基;

(3). 3 位 R3 取代, 4 位 R4 取代和 5 位 R5 取代的苯丙酸化合物与溴反应, 生成 3 位 R5 取代, 4 位 R4 取代和 5 位 R3 取代的 2 - 溴 - 苯丙酸化合物, 其中 R3 为氢原子, 或 C1 - C6 烷氧基, R4 和 R5 同时或分别为氢原子, C1 - C6 烷基, C1 - C6 烷氧基, 或共同为



，其中 Ra 和 Rb 同时或分别为氢原子， C1- C6 烷基；

(4). 3 位 R5 取代, 4 位 R4 取代和 5 位 R3 取代的 2 - 溴 - 苯丙酸化合物用多聚磷酸处理, 得到 5 位 R5 取代, 6 位 R4 取代和 7 位 R3 取代的 4 - 溴 - 1 - 茛酮化合物, 其中 R3 为氢原子, 或 C1 - C6 烷氧基, R4 和 R5 同时或分别为氢原子, C1- C6 烷基, C1 - C6 烷

氧基, 或共同为 , 其中 Ra 和 Rb 同时或分别为氢原子, C1- C6 烷基;

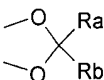
(5). 5 位 R5 取代, 6 位 R4 取代和 7 位 R3 取代的 4 - 溴 - 1 - 茛酮化合物经硼氢化钠还原, 生成 5 位 R5 取代, 6 位 R4 取代和 7 位 R3 取代的 4 - 溴 - 1 - 茛醇化合物, 其中 R3 为氢原子, 或 C1 - C6 烷氧基, R4 和 R5 同时或分别为氢原子, C1- C6 烷基, C1 - C6

烷氧基, 或共同为 , 其中 Ra 和 Rb 同时或分别为氢原子, C1- C6 烷基;

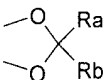
(6). 5 位 R5 取代, 6 位 R4 取代和 7 位 R3 取代的 4 - 溴 - 1 - 茛醇化合物中的羟基用 TBDMSCl 保护, 然后与正丁基锂和氯甲酸甲酯反应, 再经高碘酸处理, 脱除 TBDMS 保护基, 5 位 R5 取代, 6 位 R4 取代和 7 位 R3 取代的 4 - 羧基甲酯 - 1 - 茛醇化合物, 其中 R3 为氢原子, 或 C1 - C6 烷氧基, R4 和 R5 同时或分别为氢原子, C1- C6 烷基, C1 - C6

烷氧基, 或共同为 , 其中 Ra 和 Rb 同时或分别为氢原子, C1- C6 烷基;

(7). 5 位 R5 取代, 6 位 R4 取代和 7 位 R3 取代的 4 - 羧基甲酯 - 1 - 茛醇化合物与对甲苯磺酸共热, 生成 4 位 R3 取代, 5 位 R4 取代和 6 位 R5 取代的 7 - 羧基甲酯 - 1H - 茛化合物, 其中 R3 为氢原子, 或 C1 - C6 烷氧基, R4 和 R5 同时或分别为氢原子, C1- C6

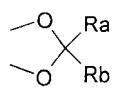
烷基, C1 - C6 烷氧基, 或共同为 , 其中 Ra 和 Rb 同时或分别为氢原子, C1- C6 烷基;

(8). 4 位 R3 取代, 5 位 R4 取代和 6 位 R5 取代的 7 - 羧基甲酯 - 1H - 茛化合物用 AD-mix 氧化, 得到 5 位 R5 取代, 6 位 R4 取代和 7 位 R3 取代的 2 - 羟基 - 4 - 羧基甲酯 - 1 - 茛醇化合物, 其中 R3 为氢原子, 或 C1 - C6 烷氧基, R4 和 R5 同时或分别为氢原子,

C1- C6 烷基, C1 - C6 烷氧基, 或共同为 , 其中 Ra 和 Rb 同时或分别为氢原子, C1- C6 烷基;

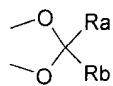
(9). 5 位 R5 取代, 6 位 R4 取代和 7 位 R3 取代的 2 - 羟基 - 4 - 羧基甲酯 - 1 - 茛醇化合物碱性条件水解后, 用高碘酸钠氧化, 再经平衡得到 6 位 R3 取代, 7 位 R4 取代和 8 位

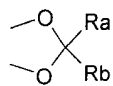
R5 取代的 3 - 羟基 - 5 - 醛基 - 1H - 2 - 苯并吡喃 - 1 - 酮化合物, 其中 R3 为氢原子, 或 C1 - C6 烷氧基, R4 和 R5 同时或分别为氢原子, C1 - C6 烷基, C1 - C6 烷氧基, 或共同为



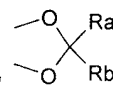
, 其中 Ra 和 Rb 同时或分别为氢原子, C1 - C6 烷基。

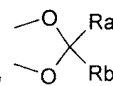
(10). 7 位 R4 取代和 8 位 R5 取代的 3 - 羟基 - 5 - 醛基 - 6 - 甲氧基 - 1H - 2 - 苯并吡喃 - 1 - 酮化合物用三溴化硼处理, 得到 7 位 R4 取代和 8 位 R5 取代的 3 - 羟基 - 5 - 醛基 - 6 - 羟基 - 1H - 2 - 苯并吡喃 - 1 - 酮化合物, 其中 R4 和 R5 同时或分别为氢原子,



C1 - C6 烷基, C1 - C6 烷氧基, 或共同为 , 其中 Ra 和 Rb 同时或分别为氢原子, C1 - C6 烷基。

(11). 6 位 R3 取代, 7 位 R4 取代和 8 位 R5 取代的 3 - 羟基 - 5 - 醛基 - 1H - 2 - 苯并吡喃 - 1 - 酮化合物经硼氢化钠还原, 得到 6 位 R3 取代, 7 位 R4 取代和 8 位 R5 取代的 3 - 羟基 - 5 - 羟甲基 - 1H - 2 - 苯并吡喃 - 1 - 酮化合物, 其中 R3 为氢原子, 或 C1 - C6



烷氧基, R4 和 R5 同时或分别为氢原子, C1 - C6 烷基, C1 - C6 烷氧基, 或共同为 , 其中 Ra 和 Rb 同时或分别为氢原子, C1 - C6 烷基

5. 根据权利要求 3 所述的 3, 4 - 二氢 - 1H - 2 - 苯并吡喃 - 1 - 酮化合物的制备方法, 其特征在于中间体化合物 6 位 Ra, Rb 取代和 8 位 R3 取代的 4 - 溴 - 3, 5, 6, 7 - 四氢 - 2H - s - indacene - 1 - 酮的制备, 包括以下步骤:

(1). 7 位 R3 取代的 4 - 溴 - 1 - 茛酮化合物经烷基化, 生成 2 位 Ra, Rb 取代和 7 位 R3 取代的 4 - 溴 - 1 - 茛酮化合物, 其中 R3 为氢原子, 或 C1 - C6 烷氧基, Ra 和 Rb 同时或分别为 C1 - C6 烷基;

(2). 2 位 Ra, Rb 取代和 7 位 R3 取代的 4 - 溴 - 1 - 茛酮化合物中的羰基用新鲜制备的锌汞齐还原, 得到 2 位 Ra, Rb 取代和 7 位 R3 取代的 4 - 溴 - 1, 2 - 二氢化茛, 其中 R3 为氢原子, 或 C1 - C6 烷氧基, Ra 和 Rb 同时或分别为氢原子, C1 - C6 烷基;

(3). 2 位 Ra, Rb 取代和 7 位 R3 取代的 4 - 溴 - 1, 2 - 二氢化茛经傅氏酰基化, 然后在浓硫酸中共热, 得到 6 位 Ra, Rb 取代和 8 位 R3 取代的 4 - 溴 - 3, 5, 6, 7 - 四氢 - 2H - s - indacene - 1 - 酮, 其中 R3 为氢原子, 或 C1 - C6 烷氧基, Ra 和 Rb 同时或分别为氢原子, C1 - C6 烷基;

6. 如权利要求 1 所述的 3, 4 - 二氢 - 1H - 2 - 苯并吡喃 - 1 - 酮化合物的用途为 LAR 抑制剂。

7. 如权利要求 1 所述的 3, 4 - 二氢 - 1H - 2 - 苯并吡喃 - 1 - 酮化合物的用途为 PTPσ 抑制剂。

8. 根据权利要求 6 所述的 3, 4 - 二氢 - 1H - 2 - 苯并吡喃 - 1 - 酮化合物的用途是作

为胰岛素增敏剂。

9. 根据权利要求6所述的3,4-二氢-1H-2-苯并吡喃-1-酮化合物的用途,其特征在于在制备治疗糖尿病、肥胖症及其并发症的药物中的应用。

10. 根据权利要求6所述的3,4-二氢-1H-2-苯并吡喃-1-酮化合物的用途,其特征在于在制备治疗LAR表达和/或活性过高导致疾病的药物中的应用。

11. 根据权利要求7所述的3,4-二氢-1H-2-苯并吡喃-1-酮化合物的用途,其特征在于在制备PTP $\sigma$ 表达和/或活性过高导致疾病的药物中的应用。

## 一类 3, 4-二氢 - 1H-2- 苯并吡喃 - 1 - 酮类化合物、制备方法和用途

### 技术领域

本发明涉及一类有机化合物的合成及用途,更具体地说涉及一类 3, 4-二氢 - 1H-2- 苯并吡喃 - 1 - 酮化合物的制备方法和用途。该类化合物可作为白细胞共同抗原相关蛋白(LAR)和蛋白酪氨酸磷酸酯酶 $\sigma$ (PTP $\sigma$ )抑制剂,可用于治疗各种糖尿病、肥胖症及其并发症,还可用于治疗 LAR 和/或 PTP $\sigma$  活性或表达量过高导致的其他疾病,如肿瘤和神经退行性疾病。

### 背景技术

I 型糖尿病病人由于第 6 对染色体短臂上的 HLA-D 基因决定了遗传易感性,对环境因素,特别是病毒感染或化学毒性物质刺激的反应异常,直接或间接通过自身免疫反应,引起胰岛  $\beta$  细胞破坏,以致胰岛素不足。临床特点是起病急,多食、多尿、多饮、体重减轻等症状较明显,有发生酮症酸中毒的倾向,必须依赖胰岛素治疗维持生命。

II 型糖尿病也有很强的遗传性和环境因素,并呈显著的异质性,发病机制多样而复杂,各病人间存在较大差异。总的来说可概括为胰岛素分泌的相对不足和胰岛素抵抗。对 II 型糖尿病人,尤其是肥胖性糖尿病患者的一系列研究证实,胰岛素抵抗是 II 型糖尿病发生、发展过程中的关键因素。在研究脂肪细胞和肌肉细胞内胰岛素信号传导途径的基础上,设计开发胰岛素增敏剂,以改善胰岛素抵抗状态,是目前 II 型糖尿病新药研究的重点,也是其主要方向之一。

二型糖尿病的特征是胰岛素敏感组织如骨骼肌、肝、脂肪组织对胰岛素作用的抵抗。虽然其具体机制尚不清楚,但胰岛素信号在其传导通路中的减弱甚至阻断必定是直接因素。胰岛素通过与其受体胞外 $\alpha$ 亚单位结合激活受体胞内 $\beta$ 亚单位内在的酪氨酸激酶活性,导致调节结构域中关键的酪氨酸残基自身磷酸化,从而完全激活胰岛素受体酪氨酸激酶活性,胰岛素受体酪氨酸激酶再通过磷酸化其底物将信号传递下去。随着对细胞内胰岛素作用通路中可逆性酪氨酸磷酸化认识的加深,蛋白酪氨酸磷酸酯酶(PTPases)在平衡该通路中相关蛋白酪氨酸磷酸化水平中的作用越来越受到重视。PTPases 可能作用于该通路中多个环节,例如将自身磷酸化活化的胰岛素受体(IR)去磷酸化,从而降低受体激酶活性;或将诸如胰岛素受体底物 1(IRS-1)、胰岛素受体底物 2(IRS-2)、Shc 等胰岛素受体的底物中蛋白酪氨酸残基去磷酸化,从而负调控胰岛素作用受体后通路。特定 PTPases 和胰岛素通路中酪氨酸激酶间酶活性的不平衡可能是引起二型糖尿病胰岛素抵抗的原因。因此,通过寻找选择性作用于该通路中 PTPases 的抑制剂抑制其活性,加强和延长胰岛素信号,成



为越来越受重视的治疗二型糖尿病的新途径。

PTPases 包括一大家族跨膜（受体型）和胞内（非受体型）酶，参与调控一系列重要生命过程。虽然多种 PTPases 在胰岛素敏感的组织中有表达，如跨膜的白细胞共同抗原（CD45）和白细胞共同抗原相关蛋白（LAR）等；胞内的 SHP1、SHP2、PTP1B、PTP1C 等，但只有几种 PTPases 可能在胰岛素通路中受体或受体后环节影响正常胰岛素作用。目前的研究主要集中在 LAR、SHP2 和 PTP1B。

LAR 大量表达于胰岛素敏感组织，并参与生理条件下胰岛素作用的调节。目前大多认为这种调节主要是通过与胰岛素受体的直接作用。重组的 LAR 催化结构域在体外就表现了对胰岛素受体激酶结构域的选择性作用。由于 LAR 是跨膜蛋白，定位于细胞膜，其胞内结构域便于催化调节胰岛素受体激酶结构域的磷酸化。而将 LAR 反义核苷酸转染肝细胞，显著减少 LAR 的表达，并导致胰岛素刺激的 PI3 激酶活性显著升高。减少 LAR 表达同样导致其它受体后反应升高，如胰岛素受体底物 1（IRS-1）的磷酸化，IRS-1 与 PI3 激酶 P85 亚基复合物的形成，IRS-1 相关 PI3 激酶的活性，MAPKK（MEK）和 MAPK 的活化。胰岛素刺激后，减少的 LAR 表达与 IRS-1 磷酸化水平及 IR 自身磷酸化水平的显著升高相关。这些都表明 LAR 直接作用于 IR。另有研究提供了第一手证据，LAR 需要跨膜定位直接与 IR 相互作用，在临近位点负调控胰岛素信号通路。最近，LAR 与胰岛素受体在生理条件下的相互作用也通过其抗体免疫沉淀和与胰岛素受体免疫印迹得到证明。

选择性在骨骼肌中过量表达人源 LAR 的转基因小鼠的血浆中，胰岛素浓度较野生型小鼠升高 2.5 倍，葡萄糖水平却维持正常。整体葡萄糖利用及骨骼肌葡萄糖摄取减少了 39-50%。虽然骨骼肌中胰岛素受体和 IRS-1 酪氨酸磷酸化水平正常，胰岛素受体底物 2（IRS-2）磷酸化水平下降 62%，与 IRS-1、IRS-2 酪氨酸磷酸化相关的 PI3 激酶活性也显著降低。因此，骨骼肌中 LAR 过表达会引起整体胰岛素抵抗，这很可能是由于胰岛素受体底物蛋白中调节型磷酸化酪氨酸的去磷酸化。插入突变产生的 LAR 基因敲除小鼠总体正常，但体重比对照组显著降低。它们血浆中葡萄糖水平比对照降低 50%左右，胰岛素浓度相应的从 0.3 ng/mL 降低到检测限以下，而肝脏中葡萄糖产生速率也降低了，这些都表明胰岛素敏感性大大增强。因此，LAR 已经成为治疗糖尿病的一个新靶点。目前，国外许多大制药公司和研究机构正在寻找其特异性抑制剂。

另外，大量的实验证据证明 LAR 与肿瘤的发生和转移密切相关。例如，在小细胞肺癌和结肠癌等一些人类肿瘤中，LAR 的一些染色体定位被扩增或突变。在甲状腺肿瘤和乳腺癌中，LAR 的表达量显著增高。LAR 表达量与乳腺癌转移诊断也可能相关。LAR 与钙粘蛋白-连环蛋白复合物相联，维持上皮完整和抑制肿瘤在裸鼠中的形成。虽然，仍需要更多的工作以明确在不同的肿瘤中 LAR 表达量的增高到底是通过抑制了原癌激酶的活性而有益处，还是由于不正常的活性会导致肿瘤发生而有害，但如果是后面一种情况，LAR 选择性抑制剂将同样可能有益于肿瘤的治疗。

PTP $\sigma$  同属于膜类蛋白酪氨酸磷酸酯酶, 且与 LAR 和 PTP $\delta$  高度同源, 组成了一个亚家族。最近发现 PTP $\sigma$  可抑制小鼠外周神经系统轴突的延伸和神经的再生。这一发现提出了一个可能: 这一酶成为神经退行性疾病和神经系统修复的治疗靶点, PTP $\sigma$  选择性抑制剂可能有益于神经退行性疾病的治疗。

到目前为止, 文献报道的 LAR 和 PTP $\sigma$  抑制剂均为钒酸类无机化合物或肽类化合物, 在作用强度、选择性和类药性方面都遇到问题, 这些无疑为我们寻找新的小分子非肽类有机化合物作为其抑制剂提供了机遇。

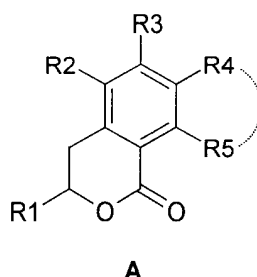
### 发明内容

本发明的目的是公开一类 3, 4-二氢-1H-2-苯并吡喃-1-酮类化合物。

本发明的另一目的是提供该类化合物的制备方法。

本发明的再一目的是提供该类化合物的用途。

本发明涉及一类 3, 4-二氢-1H-2-苯并吡喃-1-酮化合物, 这些化合物具有以下结构通式 A:



其中 R1 为氢原子、C1 - C6 烷基、羟基、C1 - C6 羟烷基;

其中 R2 为氢原子、CHO、COOH、CONH<sub>2</sub>、CN、CH<sub>2</sub>OH;

其中 R3 为氢原子、羟基、C1 - C6 烷氧基;

其中 R4 和 R5 可相同或不同, 分别为氢原子、C1 - C6 烷基、C1 - C6 烷氧基, 或 R4

和 R5 共同为  $\begin{matrix} \text{---} \text{C} \text{---} \text{Ra} \\ | \\ \text{---} \text{C} \text{---} \text{Rb} \end{matrix}$ , 其中 m 为 0 - 2, n 为 0 - 2, Ra 和 Rb 可相同或不同, 分别为氢原子、C1 - C6 烷基。

除非特别注明, 本文所用术语具有如下定义:

“C1 - C6 烷基”表示含有 1 - 6 个碳原子的饱和或不饱和、取代或非取代的直链、支链烷烃, 具体地可举例如 CH<sub>3</sub>-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>-, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH-, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)CH-, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>-, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C-, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)CH-, (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)CHCH<sub>2</sub>-, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CCH<sub>2</sub>-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C-, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)CH-, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>(CH<sub>3</sub>)CH-, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)CHCH<sub>2</sub>-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)CH(CH<sub>3</sub>)CH-, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)CH-, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)CHCH<sub>2</sub>-, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-,

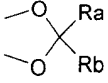
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_3\text{CH}_2)\text{CH}-$ ,  $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{CHCH}_2-$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2\text{C}-$ ,  $(\text{CH}_3)_3\text{C}(\text{CH}_3)\text{CH}-$ ,  $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{CH}_3\text{C}-$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{CH}_3\text{CH}_2)\text{CH}-$ 等。这些基团中, 以  $\text{CH}_3-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2-$ ,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2-$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{CH}-$ ,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}_3)\text{CH}-$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2-$ ,  $(\text{CH}_3)_3\text{C}-$ 等碳原子数为 1 - 4 个的烷基为佳, 以  $\text{CH}_3-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2-$ ,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2-$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{CH}-$ 为更佳, 以  $\text{CH}_3-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2-$ 为最佳。

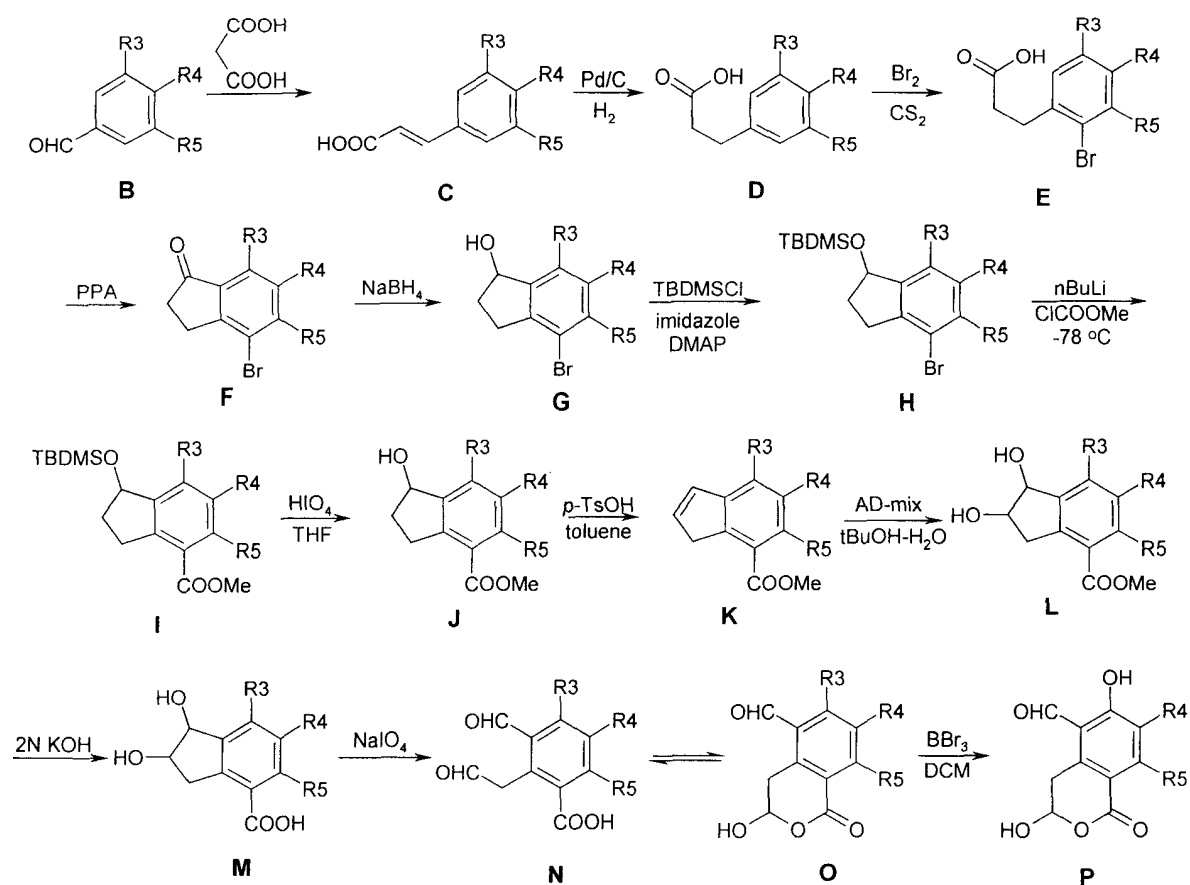
“C1 - C6 烷氧基”表示含有 1 - 6 个碳原子的饱和或不饱和、取代或非取代的直链、支链烷氧基, 具体地可举例如  $\text{CH}_3\text{O}-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-$ ,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{O}-$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{CHO}-$ ,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{O}-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}_3)\text{CHO}-$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{O}-$ ,  $(\text{CH}_3)_3\text{CO}-$ ,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{O}-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_3)\text{CHO}-$ ,  $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{CHO}-$ ,  $(\text{CH}_3)_3\text{CCH}_2\text{O}-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}_3)\text{CHCH}_2\text{O}-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}_3)_2\text{CO}-$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CHO}-$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{CH}_2)_2\text{O}-$ ,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{O}-$ ,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3(\text{CH}_3)\text{CHO}-$ ,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_3)\text{CHCH}_2\text{O}-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}_3)\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ ,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_3)_2\text{CO}-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CHO}-$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2(\text{CH}_3)\text{CHO}-$ ,  $(\text{CH}_3)_3\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CHCH}_2\text{O}-$ ,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_3\text{CH}_2)\text{CHO}-$ ,  $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{CHCH}_2\text{O}-$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2\text{CO}-$ ,  $(\text{CH}_3)_3\text{C}(\text{CH}_3)\text{CHO}-$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{CH}_3\text{CH}_2)\text{CHO}-$ ,  $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{CH}_3\text{CO}-$ , 等。这些基团中, 以  $\text{CH}_3\text{O}-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-$ ,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{O}-$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{CHO}-$ ,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{O}-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}_3)\text{CHO}-$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{O}-$ ,  $(\text{CH}_3)_3\text{CO}-$ 等碳原子数为 1 - 4 个的烷基为佳, 以  $\text{CH}_3\text{O}-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-$ 为更佳, 以  $\text{CH}_3\text{O}-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-$ 为最佳。

“C1 - C6 羟烷基”表示含有 1 - 6 个碳原子的饱和或不饱和、取代或非取代的直链、支链烷烃上含有一个羟基, 具体地可举例如  $\text{HOCH}_2-$ ,  $\text{HOCH}_2\text{CH}_2-$ ,  $\text{HOCH}_2(\text{CH}_2)_2-$ ,  $\text{HOCH}_2(\text{CH}_3)\text{CH}-$ ,  $\text{HOCH}_2(\text{CH}_2)_3-$ ,  $\text{CH}_3(\text{HO})\text{CH}(\text{CH}_2)_2-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{HO})\text{CHCH}_2-$ ,  $\text{HOCH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_3)\text{CH}-$ ,  $\text{CH}_3(\text{HO})\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{HOCH}_2)\text{CH}-$ ,  $\text{HOCH}_2(\text{CH}_3)_2\text{C}-$ ,  $\text{HOCH}_2(\text{CH}_3)\text{CHCH}_2-$ ,  $\text{HOCH}_2(\text{CH}_2)_4-$ ,  $\text{HOCH}_2(\text{CH}_2)_5-$ 等。在这些基团中, 以  $\text{HOCH}_2-$ ,  $\text{HOCH}_2\text{CH}_2-$ ,  $\text{HOCH}_2(\text{CH}_2)_2-$ ,  $\text{HOCH}_2(\text{CH}_3)\text{CH}-$ 为佳。

本发明提供上述结构通式 A 的两种制备方法。

a. 当 R3 为羟基和烷氧基, R4 和 R5 同时或分别为氢原子、C1 - C6 烷基、C1 - C6 烷

氧基, 或共同为  时, 其中 Ra 和 Rb 所代表的和上述所示相同, 以 R1 为羟基, R2 为 CHO 的结构为代表, 说明第一种制备方法, 包括以下步骤:



(1). 由 3 位 R<sub>3</sub> 取代, 4 位 R<sub>4</sub> 取代和 5 位 R<sub>5</sub> 取代的苯甲醛化合物 (结构通式 **B**) 出发, 与丙二酸反应, 得到 3 位 R<sub>3</sub> 取代, 4 位 R<sub>4</sub> 取代和 5 位 R<sub>5</sub> 取代的肉桂酸化合物 (结构通式 **C**), 其中 R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> 和 R<sub>5</sub> 所代表的和上述所示相同, 也可用丙二酸二乙酯或 Meldrum 酸代替丙二酸, 适合的溶剂和有机碱为吡啶, 哌啶, N - 甲基哌啶, 吗啉, N - 甲基吗啉等, 适合的反应温度 10 - 150 °C, 反应时间为 0.1 - 48 小时;

(2). 3 位 R<sub>3</sub> 取代, 4 位 R<sub>4</sub> 取代和 5 位 R<sub>5</sub> 取代的肉桂酸化合物 (结构通式 **C**) 经还原将其转化成 3 位 R<sub>3</sub> 取代, 4 位 R<sub>4</sub> 取代和 5 位 R<sub>5</sub> 取代的苯丙酸化合物 (结构通式 **D**), 其中 R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> 和 R<sub>5</sub> 所代表的和上述所示相同, 此步还原可采用 Pd/C 催化加氢, 溶剂为甲醇, 乙醇, 水等质子溶剂或它们按适当比例组成的混合溶剂, 反应时间为 0.1 - 24 小时;

(3). 3 位 R<sub>3</sub> 取代, 4 位 R<sub>4</sub> 取代和 5 位 R<sub>5</sub> 取代的苯丙酸化合物 (结构通式 **D**) 与溴反应, 生成 3 位 R<sub>5</sub> 取代, 4 位 R<sub>4</sub> 取代和 5 位 R<sub>3</sub> 取代的 2 - 溴 - 苯丙酸化合物 (结构通式 **E**), 其中 R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> 和 R<sub>5</sub> 所代表的和上述所示相同, 反应溶剂为二硫化碳, 二氯甲烷, 二氯乙烷, 氯仿等, 反应温度 -10 - 100 °C, 反应时间为 0.1 - 24 小时;

(4). 3 位 R<sub>5</sub> 取代, 4 位 R<sub>4</sub> 取代和 5 位 R<sub>3</sub> 取代的 2 - 溴 - 苯丙酸化合物 (结构通式 **E**) 用多聚磷酸处理, 得到 5 位 R<sub>5</sub> 取代, 6 位 R<sub>4</sub> 取代和 7 位 R<sub>3</sub> 取代的 4 - 溴 - 1 - 茚酮化合物 (结构通式 **F**), 其中 R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> 和 R<sub>5</sub> 所代表的和上述所示相同, 反应温度 -10 - 150 °C, 反应时间为 0.01 - 24 小时;

(5). 5 位 R5 取代, 6 位 R4 取代和 7 位 R3 取代的 4 - 溴 - 1 - 茛酮化合物 (结构通式 **F**) 经硼氢化钠还原, 生成 5 位 R5 取代, 6 位 R4 取代和 7 位 R3 取代的 4 - 溴 - 1 - 茛醇化合物 (结构通式 **G**), 其中 R3, R4 和 R5 所代表的和上述所示相同, 溶剂为甲醇, 乙醇等质子溶剂, 反应温度  $-10 - 100^{\circ}\text{C}$ , 反应时间为 0.1 - 24 小时;

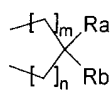
(6). 5 位 R5 取代, 6 位 R4 取代和 7 位 R3 取代的 4 - 溴 - 1 - 茛醇化合物 (结构通式 **G**) 中的羟基用 TBDMSCl 保护, 然后与正丁基锂和氯甲酸甲酯反应, 再经高碘酸处理, 脱除 TBDMS 保护基, 得到 5 位 R5 取代, 6 位 R4 取代和 7 位 R3 取代的 4 - 羧基甲酯 - 1 - 茛醇化合物 (结构通式 **J**), 其中 R3, R4 和 R5 所代表的和上述所示相同, 羟基保护基还可以为 TMSCl, TESCl, TIPSCl, TBDPSCl 等, 脱除保护基, 还可以应用 TBAF, KF, HF,  $\text{NH}_4\text{F}$  等;

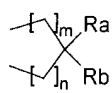
(7). 5 位 R5 取代, 6 位 R4 取代和 7 位 R3 取代的 4 - 羧基甲酯 - 1 - 茛醇化合物 (结构通式 **J**) 与对甲苯磺酸共热, 生成 4 位 R3 取代, 5 位 R4 取代和 6 位 R5 取代的 7 - 羧基甲酯 - 1H - 茛化合物 (结构通式 **K**), 其中 R3, R4 和 R5 所代表的和上述所示相同, 溶剂为甲苯, 苯, 氯苯等, 反应温度  $0 - 100^{\circ}\text{C}$ , 反应时间为 0.1 - 24 小时;

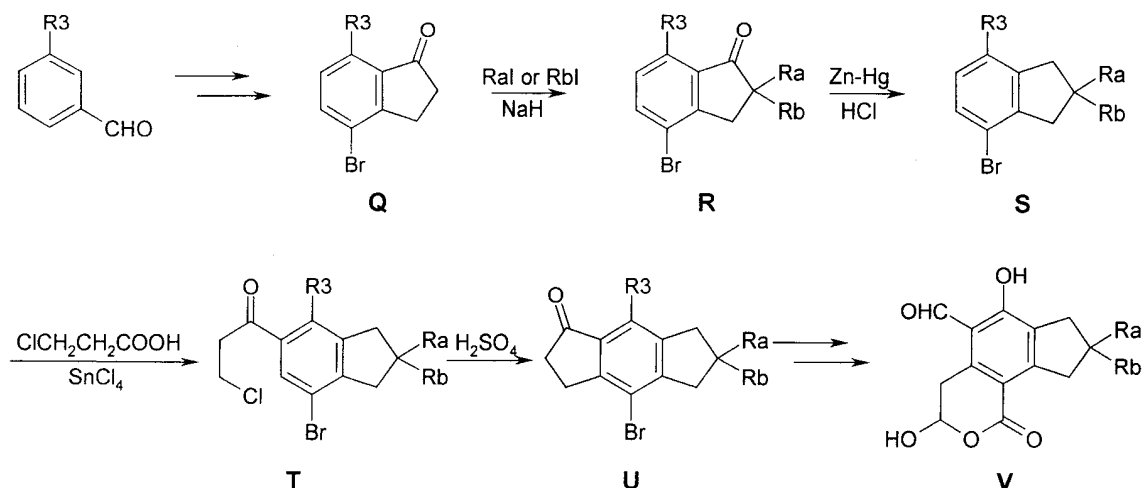
(8). 4 位 R3 取代, 5 位 R4 取代和 6 位 R5 取代的 7 - 羧基甲酯 - 1H - 茛化合物 (结构通式 **K**) 中的双键用 AD-mix 氧化, 得到 5 位 R5 取代, 6 位 R4 取代和 7 位 R3 取代的 2 - 羟基 - 4 - 羧基甲酯 - 1 - 茛醇 (结构通式 **L**), 其中 R3, R4 和 R5 所代表的和上述所示相同;

(9). 5 位 R5 取代, 6 位 R4 取代和 7 位 R3 取代的 2 - 羟基 - 4 - 羧基甲酯 - 1 - 茛醇 (结构通式 **L**) 碱性条件水解后, 再进一步用高碘酸钠氧化, 经平衡得到 6 位 R3 取代, 7 位 R4 取代和 8 位 R5 取代的 3 - 羟基 - 5 - 醛基 - 1H - 2 - 苯并吡喃 - 1 - 酮化合物 (结构通式 **O**), 其中 R3, R4 和 R5 所代表的和上述所示相同。

(10). 7 位 R4 取代和 8 位 R5 取代的 3 - 羟基 - 5 - 醛基 - 6 - 甲氧基 - 1H - 2 - 苯并吡喃 - 1 - 酮化合物用三溴化硼处理, 得到 7 位 R4 取代和 8 位 R5 取代的 3 - 羟基 - 5 - 醛基 - 6 - 羟基 - 1H - 2 - 苯并吡喃 - 1 - 酮化合物 (结构通式 **P**), 其中 R3, R4 和 R5 所代表的和上述所示相同。



b. 当 R3 为羟基和烷氧基, R4 和 R5 共同为  时, 其中 m、n、Ra 和 Rb 所代表的和上述所示相同, 以 m 和 n 同时为 1, Ra 和 Rb 同时为烷基的结构为代表, 说明第二种制备方法, 合成中间体 4 - 溴 - 6, 6 - 二烷基 - 8 - 烷氧基 - 3, 5, 6, 7 - 四氢 - 2H - s - indacene - 1 - 酮 (结构通式 **U**), 括以下步骤:

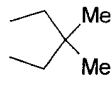


(1). 按第一种制备方法, 由3位R<sub>3</sub>取代的苯甲醛出发, 合成得到7位R<sub>3</sub>取代的4-溴-1-茚酮(结构通式 **Q**), 其中R<sub>3</sub>所代表的和上述所示相同;

(2). 7位R<sub>3</sub>取代的4-溴-1-茚酮(结构通式 **Q**)经烷基化, 生成2位Ra和Rb取代, 3位R<sub>3</sub>取代的4-溴-1-茚酮(结构通式 **R**), 其中R<sub>3</sub>, Ra和Rb所代表的和上述所示相同, 溶剂为乙二醇二甲醚, 乙醚, 四氢呋喃等, 碱为氢化钠, 金属钠, 叔丁醇钾等, 卤代烷烃为碘甲烷, 碘乙烷, 碘丙烷, 烯丙基溴等, 反应温度-10-100℃, 反应时间为0.1-48小时;

(3). 2位Ra和Rb取代, 3位R<sub>3</sub>取代的4-溴-1-茚酮(结构通式 **R**)中的羰基用新鲜制备的锌汞齐还原, 得到2位Ra和Rb取代, 3位R<sub>3</sub>取代的4-溴-1,2-二氢茚(结构通式 **S**), 其中R<sub>3</sub>, Ra和Rb所代表的和上述所示相同;

(4). 2位Ra和Rb取代, 3位R<sub>3</sub>取代的4-溴-1,2-二氢茚(结构通式 **S**)经傅氏酰基化, 然后与浓硫酸共热, 得到6位Ra, Rb取代和8位R<sub>3</sub>取代的4-溴-3,5,6,7-四氢-2H-s-indacene-1-酮(结构通式 **U**), 其中R<sub>3</sub>, Ra和Rb所代表的和上述所示相同, 傅氏酰基化反应所用酰基化试剂可为3-氯丙酰氯, 3-氯丙酸酐, 丙烯酰氯, 丙烯酸酐, 2-甲基-3-氯丙酰氯, 甲基丙烯酰氯, 甲基丙烯酸酐等, 路易斯酸可为SnCl<sub>4</sub>, AlCl<sub>3</sub>等, 溶剂为硝基甲烷, 硝基苯等, 反应温度-10-100℃, 反应时间为0.1-48小时;

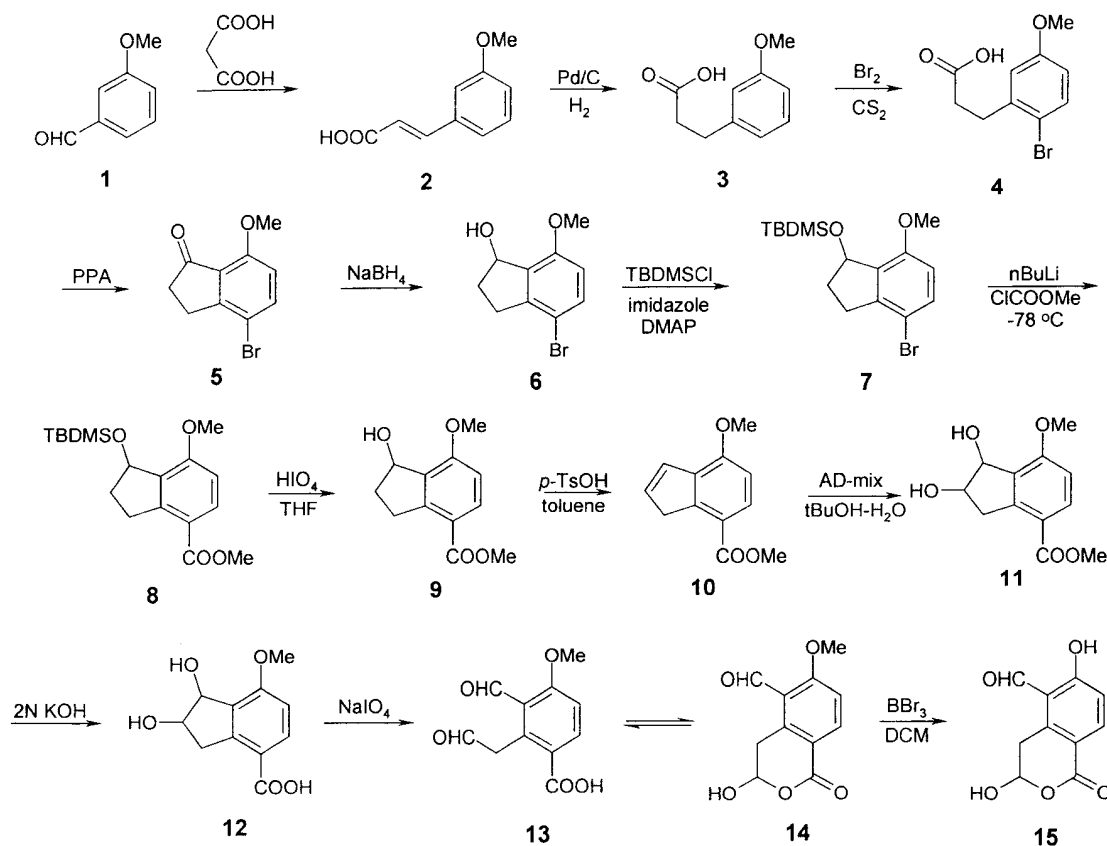
(5). 再继续按第一种制备方法, 合成得到7位R<sub>4</sub>和8位R<sub>5</sub>共同为取代的3-羟基-5-醛基-6-羟基-1H-2-苯并吡喃-1-酮化合物(结构通式 **V**)。

## 具体实施方式

### 实施例

在所有实施例中, 熔点用上海精密科学仪器公司的SWG X-4显微熔点仪测定, 温度计未校正; <sup>1</sup>H-NMR用Varian Mercury 300核磁共振仪记录, 化学位移以δ(ppm)表示, 分离用硅胶未说明的均为200-300目。

I. 下面我们以制备化合物 3-羟基-5-醛基-6-甲氧基-1H-2-苯并吡喃-1-酮 (结构式 **14**) 和 3-羟基-5-醛基-6-羟基-1H-2-苯并吡喃-1-酮 (结构式 **15**) 为具体实施例, 进一步阐述上述第一种制备方法, 但不以任何方式限制本专利。



### 1、化合物 **2** 的合成

称取 33g 丙二酸, 用 75ml 吡啶溶解, 加入 19ml 间甲氧基苯甲醛, 1.5ml 哌啶。所得混合物在  $100^\circ\text{C}$  搅拌反应 3h, 然后  $130^\circ\text{C}$  反应 10min。冷却至室温, 加入水 100ml, 用浓盐酸酸化至 pH2-3, 产生大量白色沉淀, 过滤, 水洗, 干燥。得 25.9g 产物 **2**, 白色固体, 产率 93%。

熔点:  $115-118^\circ\text{C}$

$^1\text{H}$ NMR (300M,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.7 (d,  $J=16\text{Hz}$ , 1H), 7.35-7.29 (m, 1H), 7.16-6.94 (m, 3H), 6.4 (d,  $J=16\text{Hz}$ , 1H), 3.8 (s, 3H)

### 2、化合物 **3** 的合成

4g 化合物 **2** 溶解于 84ml 的 95%乙醇中, 用 0.224g 10% Pd-C, 在 1atm 下, 室温加氢反应 6h。硅藻土过滤, 滤液浓缩蒸干, 得 4.0g 产物 **3**, 白色晶体, 产率 99%。

熔点:  $44-46^\circ\text{C}$

$^1\text{H}$ NMR (300M,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.25-7.19 (m, 1H), 6.82-6.76 (m, 3H), 3.80 (s, 3H), 2.94 (t,  $J=7.7\text{Hz}$ , 2H), 2.69 (t,  $J=7.7\text{Hz}$ , 2H)

### 3、化合物 4 的合成

4g 化合物 3 溶解于 80ml 二硫化碳。1.147ml 溴用浓硫酸干燥，溶解于 10ml 二硫化碳，0℃下滴入化合物 3 的二硫化碳溶液中，加完再搅拌 0.5h。蒸去二硫化碳，冷却至室温，所得黄色固体研细，用正己烷洗涤，过滤，得 5.4g 白色固体产物 4，产率 95%。

熔点：81-84℃

$^1\text{H}$ NMR (300M,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.42 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 6.83 (d,  $J=2.7\text{Hz}$ , 1H), 6.66 (dd,  $J=2.7$  和  $8.8\text{Hz}$ , 1H), 3.78 (s, 3H), 3.03 (t,  $J=7.8\text{Hz}$ , 2H), 2.71 (t,  $J=7.8\text{Hz}$ , 2H)

### 4、化合物 5 的合成

10g 化合物 4 加入到 94.6g, 90℃的 PPA 中，混合物在 90℃搅拌反应 5min 后，倒入 200ml 冰水中，搅拌，静置析出大量固体，过滤。固体用 10%NaOH 洗涤，过滤，干燥，浓缩，柱层析纯化得 7.4g 化合物 5，产率 80%。

熔点：131-132℃，

$^1\text{H}$ NMR (300M,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.65 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 6.75 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 3.9 (s, 3H), 3.01 (m, 2H), 2.72 (m, 2H)

### 5、化合物 6 的合成

500mg 化合物 5 溶于 35ml 无水甲醇，冷却至 0℃，加入 170mg 固体  $\text{NaBH}_4$ ，搅拌 1h 后，用 100ml 水淬灭。二氯甲烷提取，饱和 NaCl 洗。干燥，浓缩，得 496mg 化合物 6，产率 99%。

$^1\text{H}$ NMR (300M,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.38 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H), 6.62 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H) 5.46 (m, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.08 (m, 1H), 2.78 (m, 1H), 2.44 (m, 1H), 2.05 (m, 1H)

### 6、化合物 7 的合成

300mg 化合物 6，溶于 5ml。二氯甲烷，加入 126mg 咪唑，7.8mg DMAP，279mg  $\text{TBDMSCl}$ ，室温搅拌 36h，加入正己烷 10ml，使咪唑盐沉淀，过滤，滤液浓缩，残余物柱层析纯化得 430mg 化合物 7，产率 97%。

$^1\text{H}$ NMR (300M,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.3 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H), 6.6 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H) 5.4 (m, 1H), 3.8 (s, 3H), 3.16-3.05 (m, 1H), 2.81-2.73 (m, 1H), 2.35-2.22 (m, 1H), 2.04-1.95 (m, 1H), 0.9 (s, 9H), 0.13 (s, 3H), 0.08 (s, 3H)



### 7、化合物 8 的合成

0.100g 化合物 7 溶解于 2ml 无水 THF, -78℃下搅拌 15min 后, 滴加 0.286ml n-BuLi (1.6M), 搅拌 20min, 加入 0.071ml 氯甲酸甲酯, 0.5h 后, 升至室温, 搅拌 0.5h。用 5ml 水淬灭。乙酸乙酯提取 3 次, 饱和 NaHCO<sub>3</sub> 洗。干燥, 浓缩, 柱层析得 0.084g 化合物 8, 产率 90%。

<sup>1</sup>HNMR (300M, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.9 (d, *J*=8.4Hz, 1H), 6.7 (d, *J*=8.4Hz, 1H) 5.3 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.44-3.36 (m, 1H), 3.21-3.13 (m, 1H), 2.3-2.2 (m, 1H), 2.04-1.97 (m, 1H), 0.9 (s, 9H), 0.1 (s, 3H), 0.08 (s, 3H)

### 8、化合物 9 的合成

80mg 化合物 8 溶解于 3ml 四氢呋喃, 加入 10 滴 1M 高碘酸水溶液, 室温搅拌过夜。加入 10ml 水, 乙酸乙酯提取 3 次, 饱和 NaHCO<sub>3</sub> 洗。干燥, 浓缩, 柱层析得 51mg 化合物 9, 产率 96%。

<sup>1</sup>HNMR (300M, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.9 (d, *J*=8.7Hz, 1H), 6.7 (d, *J*=8.7Hz, 1H) 5.45 (m, 1H), 3.9 (s, 3H), 3.8 (s, 3H), 3.5-3.3 (m, 1H), 3.2-3.1 (m, 1H), 2.5-2.4 (m, 1H), 2.1-2.0 (m, 1H)

### 9、化合物 10 的合成

51mg 化合物 9 溶解在 5ml 无水甲苯中, 加入 0.25mg 对甲苯磺酸, 加热 80℃反应 10min, 冷却, 浓缩至少量, 柱层析得 44mg 化合物 10, 产率 95%。

<sup>1</sup>HNMR (300M, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.9 (d, *J*=8.6Hz, 1H), 7.02 (m, 1H) 6.8 (d, *J*=8.6Hz, 1H), 6.55 (m, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.91 (s, 3H), 3.7 (m, 2H)

### 10、化合物 11 的合成

254mg AD-mix 溶解于 0.9ml 水和 0.9ml t-BuOH 混合液中, 搅拌, 加入 17.2mg 甲磺酰胺, 搅拌, 冷至 0℃, 加入 37mg 化合物 10, 搅拌过夜, 冷至 0℃, 加入 272mg 亚硫酸钠, 搅拌 30min。二氯甲烷提取, 2N KOH 洗。干燥, 浓缩, 柱层析得 38mg 化合物 11, 产率 90%。

<sup>1</sup>HNMR (300M, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.0 (d, *J*=8.4Hz, 1H), 6.8 (d, *J*=8.4Hz, 1H) 5.2 (d, *J*=5.4Hz, 1H), 4.53 (m, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.48-3.31 (m, 2H)

### 11、化合物 12 的合成

0.100g 化合物 11 溶解于 1.5ml 2N KOH 的乙醇溶液中, 80℃搅拌 2.5h, 40ml 饱和 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 稀释, 乙酸乙酯提取, 干燥, 浓缩, 得 89mg 化合物 12, 产率 95%。

$^1\text{H}$ NMR (300M, DMSO- $d^6$ ):  $\delta$  7.85 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H), 6.91 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H) 4.81-4.71 (m, 2H), 4.15 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 2.91 (m, 1H)

## 12、化合物 14 的合成

23mg 化合物 12 溶解于 2ml 70%的 1, 4-二氧六环水溶液, 加入固体高碘酸钠 26.5mg, 室温搅拌反应 2h, 加水 10ml, 二氯甲烷提取 4 次, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 得 22.7mg 化合物 14, 产率 100%。

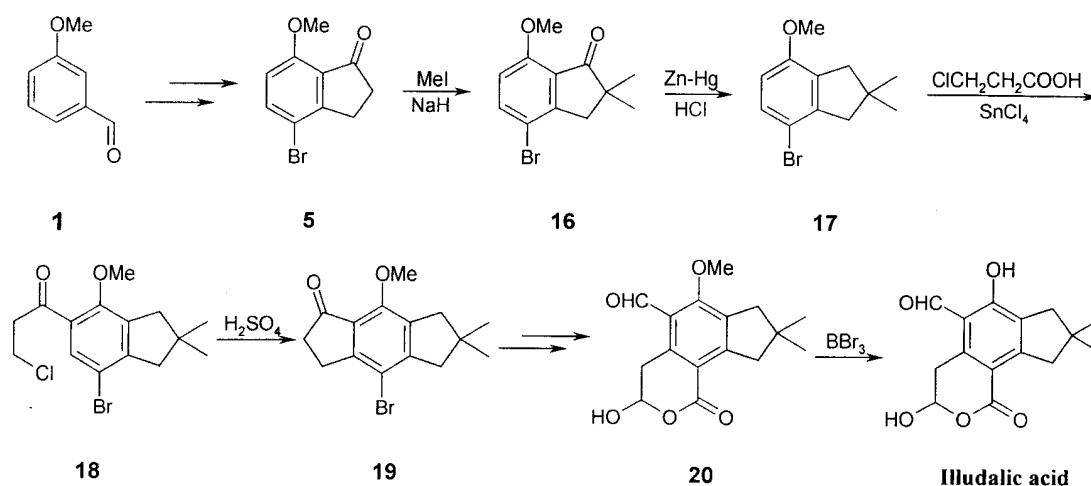
$^1\text{H}$ NMR (300M,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  10.5 (s, 1H), 8.3 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H) 7.2 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 5.9 (m, 1H), 4.0 (s, 3H), 3.6 (m, 2H)

## 13、化合物 15 的合成

101mg 化合物 14 溶解于 5ml 无水二氯甲烷, 加入 0.12ml  $\text{IBr}_3$ , 混合物搅拌 2.5h 后, 加 20ml 水。二氯甲烷提取, 无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥, 浓缩, 柱层析得 22.7mg 化合物 15, 产率 24%。

$^1\text{H}$ NMR (300M,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  12.4 (s, 1H), 10.3 (s, 1H) 8.1 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 7.4 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 5.9 (m, 1H), 3.5 (m, 2H)

II. 下面我们以制备中间体化合物 4 - 溴 - 8 - 甲氧基 - 6, 6 - 二甲基 - 3, 5, 6, 7 - 四氢 - 2H - s - indacene - 1 - 酮 (结构式 19) 为具体实施例, 进一步阐述上述第二种制备方法, 但不以任何方式限制本专利。



## 14、化合物 16 的合成

2g 化合物 5 溶解于 70ml 无水乙二醇二甲醚中, 氮气保护下, 滴加到 1g NaH (60%) 与 20ml 无水乙二醇二甲醚形成的混合物中, 加毕, 搅拌 10min 后, 冰水冷却, 滴加 1.55ml 碘甲烷。搅拌过夜, 反应物用 100ml 水淬灭, 50ml 乙醚提取 3 次, 饱和 NaCl 洗, 无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥, 浓缩, 柱层析纯化得 2.0g 化合物 16, 淡黄色固体, 产率 90%。

熔点: 172-175°C

$^1\text{H}$ NMR (300M,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.67 (d,  $J=8.9\text{Hz}$ , 1H), 6.75 (d,  $J=8.9\text{Hz}$ , 1H), 3.9 (s, 3H), 2.87 (s, 2H), 1.2 (s, 6H)

#### 15、化合物 17 的合成

40.4g 新制的锌汞齐中, 加入蒸馏水 13.4ml, 乙醇 3.8ml, 浓盐酸 40.6ml, 混合物 80°C 加热回流。6.2g 化合物 16 用 48.7ml 乙醇溶解后回流下, 滴加到锌汞齐混合物中。回流过夜, 冷却, 倒出液体, 锌汞齐固体先后用适量水洗, 乙醚洗。液体合并, 分出有机相, 水相再用乙醚提取 3 次, 有机相再水洗, 饱和  $\text{NaHCO}_3$ , 饱和  $\text{NaCl}$  洗。干燥, 浓缩, 柱层析得 4.9g 化合物 17, 无色油状物, 产率 84%。

$^1\text{H}$ NMR (300M,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.2 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H), 6.6 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H), 3.8 (s, 3H), 2.76 (s, 2H), 2.75 (s, 2H), 1.18 (s, 6H)

#### 16、化合物 18 的合成

2g 化合物 17 溶解于 20ml 硝基甲烷, 冰浴冷却, 加入 1.37ml  $\text{SnCl}_4$ 。取 0.75ml 3-氯丙酰氯, 溶解于 5ml 硝基甲烷, 滴加到化合物 17 的混合液中。室温搅拌 8h。加入 2ml 浓盐酸, 40ml 冰水。二氯甲烷提取, 1N 盐酸洗涤, 饱和  $\text{NaCl}$  洗, 无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥, 浓缩, 柱层析纯化得 2.05g 化合物 18, 黄色油状液体, 产率 76%。

$^1\text{H}$ NMR (300M,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.64 (s, 1H), 3.85 (t,  $J=6.7\text{Hz}$ , 2H), 3.8 (s, 3H), 3.41 (t,  $J=6.7\text{Hz}$ , 2H), 2.9 (s, 2H), 2.7 (s, 2H), 1.2 (s, 6H)

#### 17、化合物 19 的合成

100mg 化合物 18 用 1ml 二氯甲烷溶解, 滴加到 0.237ml 浓硫酸中, 85°C 搅拌反应 2.5h, 加入 4ml 冰水, 乙醚提取饱和  $\text{NaHCO}_3$ , 饱和  $\text{NaCl}$  洗。干燥, 浓缩, 柱层析得 54mg 化合物 19, 橙色结晶, 产率 20%。

熔点: 89-92°C

$^1\text{H}$ NMR (300M,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.9 (s, 3H), 2.96 (m, 2H), 2.85 (s, 2H), 2.78 (s, 2H), 2.7 (m, 2H), 1.18 (s, 6H)

#### 18、化合物 20 的合成

化合物 20 的合成方法, 和前面的合成方法相同。即采用从化合物 5, 到化合物 14 同样的合成步骤和制备方法, 由化合物 19, 合成得固体化合物 20。

熔点: 140-148°C

$^1\text{H}$ NMR (300M,  $\text{CDCl}_3$ ): 10.21 (s, 1H), 5.85 (m, 1H), 4.00 (s, 3H), 3.52 (m,

2H), 3.2 (s, 2H), 2.8 (s, 2H), 1.2 (s, 6H)

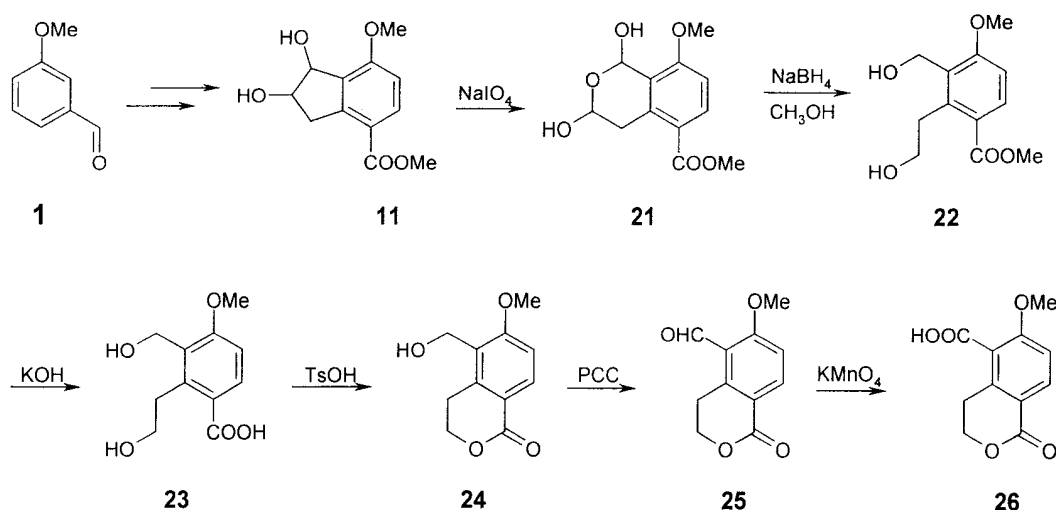
### 19、Illudalic acid 的合成

66mg 化合物 **20** 溶解于 2.5ml 无水二氯甲烷, 加入 0.06ml BBr<sub>3</sub>, 混合物搅拌 2.5h 后, 加 10ml 水。二氯甲烷提取, 无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 浓缩, 柱层析得 16mg 化合物 Illudalic acid, 产率 25%。

熔点: 195-210°C

<sup>1</sup>HNMR (300M, CDCl<sub>3</sub>): δ 12.43 (s, 1H), 10.21 (s, 1H), 5.85 (m, 1H), 3.52 (m, 2H), 3.2 (s, 2H), 2.8 (s, 2H), 1.2 (s, 6H)

III. 下面我们以制备具有结构通式 A 特征结构的化合物 **24**、化合物 **25** 和化合物 **26** 为具体实施例, 进一步阐述结构通式 A 类化合物的制备方法, 但不以任何方式限制本专利。



### 20、化合物 **21** 的合成

124mg 化合物 **11** 溶解于 8ml 70%的 1,4-二氧六环水溶液, 加入固体高碘酸钠 134mg, 室温搅拌反应 2h, 加水 20ml, 二氯甲烷提取 4 次, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 得 124mg 化合物 **14**, 白色固体, 产率 94%。

<sup>1</sup>HNMR (300M, CDCl<sub>3</sub>): δ 10.5 (s, 1H), 9.8 (s, 1H), 8 (d, J=8.8Hz, 1H) 6.8 (d, J=8.8Hz, 1H), 4.4 (s, 2H), 3.9 (s, 3H), 3.85 (s, 3H)

### 21、化合物 **22** 的合成

100mg 化合物 **21** 溶解于 6.5ml 无水甲醇, 加入 62mg 固体 NaBH<sub>4</sub>, 室温搅拌反应 36h, 加水 30ml, 二氯甲烷提取 4 次, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 柱层析得 54mg 化合物 **22**, 白色粉末固体, 产率 59%。

熔点: 120-122°C

$^1\text{H}$ NMR (300M,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.12 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H) 6.92 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 4.72 (s, 2H), 4.5 (t,  $J=6.1\text{Hz}$ , 2H), 3.92 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.18 (t,  $J=6.1\text{Hz}$ , 2H)

## 22、化合物 **23** 的合成

0.032g 化合物 **22** 溶解于 0.5ml 2N KOH 的乙醇溶液中, 80℃ 搅拌 2.5h, 20ml 饱和  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  稀释, 乙酸乙酯提取 4 次, 干燥, 浓缩, 得 27mg 化合物 **23**, 黄色固体, 产率 90%。

熔点: 150-152℃

$^1\text{H}$ NMR (300M,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.12 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 6.92 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 4.72 (s, 2H), 4.5 (t,  $J=6.1\text{Hz}$ , 2H), 3.92 (s, 3H), 3.18 (t,  $J=6.1\text{Hz}$ , 2H)

## 23、化合物 **24** 的合成

18mg 化合物 **23** 溶解于 1ml 二氯甲烷中, 加入 1.8mg 对甲苯磺酸, 室温搅拌 1h, 加饱和  $\text{NaHCO}_3$  溶液 5ml, 二氯甲烷提取 4 次, 浓缩, 柱层析得 16mg 化合物 **24**, 白色固体, 产率 96%。

熔点: 96-98℃

$^1\text{H}$ NMR (300M,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.12 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 6.93 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 4.74 (s, 2H), 4.5 (t,  $J=6.1\text{Hz}$ , 2H), 3.9 (s, 3H), 3.2 (t,  $J=6.1\text{Hz}$ , 2H)

## 24、化合物 **25** 的合成

13mg 化合物 **24** 溶解于 1ml 二氯甲烷中, 25mg PCC 溶解于 2ml 二氯甲烷中。室温下, 化合物 **24** 的二氯甲烷溶液滴入 PCC 的二氯甲烷溶液中, 搅拌 2h, 过滤, 固体用二氯甲烷洗 2 次, 滤液浓缩, 柱层析得 10mg 化合物 **25**, 粉红色固体, 产率 96%。

熔点: 137-138℃

$^1\text{H}$ NMR (300M,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.35 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 7.05 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 4.46 (t,  $J=6.1\text{Hz}$ , 2H), 4 (s, 3H), 3.5 (t,  $J=6.1\text{Hz}$ , 2H)

## 25、化合物 **26** 的合成

10mg 化合物 **25** 溶解于 1ml 丙酮中, 加入 0.2ml 水, 15mg  $\text{KMnO}_4$ 。室温搅拌 2.5h, 2ml 的 1N HCl 酸化, EtOAc 提取 5 次, 浓缩, 柱层析得 8mg 化合物 **26**, 淡黄色固体, 产率 74%。

熔点: 164-165℃

$^1\text{H}$ NMR (300M,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.25 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 7 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 4.5 (t,  $J=6.1\text{Hz}$ , 2H), 4 (s, 3H), 3.25 (t,  $J=6.1\text{Hz}$ , 2H)

分子水平抑制活性测试:

重组人源 PTP1B (residues 1-321)、TC-PTP (residues 2-346)、PTP-PEST (residues 2-304)、PTP $\alpha$ -D1 (residues 167-503)、Cdc25A (residues 336-523)、Cdc25B (residues 351-540)、JSP-1 (184 residues)、SHP1 (residues 201-523)、LAR-D1 (residues 1275-1613) 和鼠源 PTP $\sigma$ D1D2 (residues 1205-1907) 的目的基因构建于 pGEX-KG 载体上, 转入大肠杆菌表达菌株 BL21(DE3), IPTG 诱导表达, 破胞后经 glutathione agarose 亲和层析柱纯化得到 GST 融合蛋白, 经由 thrombin 切割释放 GST 并纯化后得到目的蛋白。经 12% SDS-PAGE 胶分离鉴定, 其纯度均达到 90%以上。进一步分析其酶学性质 ( $K_m$ 、 $k_{cat}$ ) 均与文献报道的天然或重组蛋白一致。

分别测定以下化合物对十种 PTP 酶的抑制活性, PTP $\alpha$  测活反应体系为 50 mM NaOAC (pH 5.5), 36 nM PTP $\alpha$ , 20  $\mu$ M OMFP; Cdc25A 和 Cdc25B 测活反应体系为 50 mM Tris·HCl (8.0/9.0), 1 mM EDTA, 2 mM DTT, 50 mM NaCl, 300 nM Cdc25A/ 50 nM Cdc25B, 10  $\mu$ M OMFP; JSP-1 测活反应体系为 50 mM Bis-Tris (pH6.0), 1 mM EDTA, 2 mM DTT, 40 nM JSP-1, 10  $\mu$ M OMFP; PTP1B 的测活反应体系为 50 mM Tris·HCl (pH7.0), 1 mM EDTA, 2 mM DTT, 40 nM PTP1B, 2mM PNPP; TC-PTP 的测活反应体系为 50 mM MES (pH 6.5), 1 mM EDTA, 2 mM DTT, 40 nM TC-PTP, 2mM PNPP; SHP1 的测活反应体系为 50 mM Bis-Tris (pH6.0), 1 mM EDTA, 2 mM DTT, 40 nM SHP1, 2mM PNPP; PTP-PEST 的测活反应体系为 50 mM NaOAC (pH 5.5), 1 mM EDTA, 2 mM DTT, 100 nM PTP-PEST, 20  $\mu$ M OMFP; LAR 测活反应体系为 50 mM MES (pH 6.0), 1 mM EDTA, 2 mM DTT, 2 mM PNPP, 200 nM LAR; mPTP $\sigma$  的测活反应体系为 50 mM NaOAC (pH 5.0), 1 mM EDTA, 2 mM DTT, 30 nM PTP $\sigma$ -D1D2, 20  $\mu$ M OMFP。PTP1B、TC-PTP、SHP2 和 LAR 催化结构域重组蛋白能水解底物 pNPP 的磷酸键, 得到的产物在 410 nm 处有很强的光吸收, 因此可以通过直接检测 410 nm 处光吸收的变化以观察酶的活性以及化合物对酶活性的抑制情况。PTP $\alpha$ 、Cdc25A、Cdc25B、JSP-1、PTP-PEST 和 mPTP $\sigma$  催化结构域重组蛋白能水解底物 OMFP 的磷酸键, 得到的产物经 485 nm 激发、于 538 nm 产生荧光, 因此可以通过动态检测激发光 485 nm、发射光 538 nm 的荧光强度的变化以观察酶的活性以及化合物对酶活性的抑制情况。反应体系的加样顺序为: 先将 DMSO/化合物加入 96 孔板中, 然后将缓冲液、酶加入测活体系, 最后加入底物混匀后启动酶促反应。对于以 pNPP 为反应底物的检测体系, 立即放入 SpectraMAX340 (Molecular Devices), 在 30°C、3 分钟之内动态检测激发 410 nm 的光吸收变化; 对于以 OMFP 为反应底物的检测体系, 启动酶促反应后立即放入 Flexstation II 384 (Molecular Devices) 在 37°C, 3 分钟之内动态检测激发光 485 nm、发射光 538 nm 的荧光强度的变化 (RFU/sec)。将只有 DMSO 的反应初速度的平均值作为 100%酶活性, 以不同抑制剂浓度下的相对活性对样品浓度作图, 经公式拟合, 得出 IC<sub>50</sub> 值。

表 1. Illudalic Acid 及其类似物对 LAR 和 mPTP 的抑制作用

化合物	IC <sub>50</sub> (μM) (LAR)	IC <sub>50</sub> (μM) (mPTP )
<b>Illudalic Acid</b>	1.1 ± 0.06	0.22 ± 0.04
<b>20</b>	1.96±0.29	1.86±0.34
<b>14</b>	21.85±1.02	22.62±1.27
<b>24</b>	>100	>100
<b>25</b>	>100	>100
<b>26</b>	>100	>100

表 2. Illudalic Acid 对不同蛋白酪氨酸磷酸酯酶的抑制作用。

PTPs	IC <sub>50</sub> (μM)
LAR-D1	1.1 ± 0.06
mPTP	0.22 ± 0.04
PTP-1B	> 72
TCPTP	> 72
cdc25 A	> 72
cdc25 B	10.8 ± 5.4
SHP1	> 72
JSP1	> 72
PTPα	> 72
PTP-PEST	9.82 ± 3.33