

香豆素-7-磺酰脲类化合物的合成及降血糖活性研究

祁刚¹, 屠树滋² (1.盐城工学院化生学院, 江苏 盐城 224003; 2.中国药科大学药物化学教研室, 南京 210009)

摘要: 目的 寻找新型降糖活性的化合物。方法 运用拼合原理将磺酰脲类降糖活性化合物的药效团磺酰脲基与有降糖活性的香豆素拼合, 设计合成了香豆素磺酰脲类化合物。结果 设计并合成了 6 个新的化合物, 该类化合物未见文献报道, 结构均经 IR、¹H-NMR、MS 鉴定。结论 初步药理实验表明 MSU-3 在 2 h 和 4 h 对正常小鼠都有明显的降血糖作用 ($P<0.01$, 与 0.5%CMC-Na 组比较)。

关键词: 香豆素-7-磺酰脲; 合成; 降血糖活性

中图分类号: R916.4

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2010)03-0199-04

Synthesis of Coumarin-7-sulfonylurea and Study on its Hypoglycemic Activity

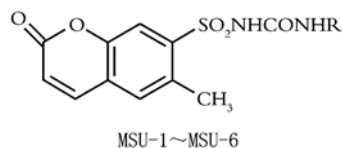
QI Gang¹, TU Shuzi² (1.Department of Chemistry and Biology, Yancheng Institute of Technology, Yancheng 224003, China; 2.Department of Medicinal Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To search some new compounds which have hypoglycemic activities. **METHODS** Novel coumarin-7-sulfonylurea compounds were designed and synthesized by combining the active moieties of hypoglycemic drugs. Their hypoglycemic activities were evaluated in mice. **RESULTS** These 6 targeted compounds were synthesized and characterized by FT-IR, ¹H-NMR and MS spectra. **CONCLUSION** The preliminary results showed that MSU-3 exhibited evident hypoglycemic effect ($P<0.01$, CMC-Na as negative control) at the dose of 50 mg·kg⁻¹, suggesting the promising potential for further investigation.

KEY WORDS: coumarin-7-sulfonylureas; synthesis; hypoglycemic activity

非胰岛素依赖型糖尿病在中老年中相当常见, 由于病因各异, 单一降糖药疗效欠佳, 联合用药有效控制病情, 取得较好疗效^[1]。磺酰脲类化合物是常用的降血糖药, 对正常人及糖尿病患者均有降血糖作用, 但它要求体内必须存在胰腺细胞能分泌胰岛素, 因此该类对 1 型糖尿病患者或者对四氧嘧啶高血糖鼠动物模型无降血糖作用^[2], 而实验表明^[3]香豆素对正常鼠动物模型和四氧嘧啶高血糖鼠动物模型均有降血糖作用, 说明其作用机制与磺酰脲类降血糖药不同。文献[4]运用拼合原理, 以具有降血糖活性的香豆素为母环, 在其结构中引入磺酰脲基团, 发现该类化合物具有明显降血糖作用。本试验

在文献[4]基础上, 改变香豆素母环上磺酰脲基取代位置, 使其在 7-位取代代替 6-位取代, 以便考察磺酰脲基取代位置对降血糖活性的影响, 由此设计了 6-甲基香豆素磺酰脲系列化合物, 共合成 6 个化合物(MSU-1~MSU-6), 其结构见表 1, 并考察了它们的降血糖活性, 期望能获得新型降血糖药物。所有目标化合物未经文献报道, 其结构均经 IR、¹H-NMR、MS 鉴定。



基金项目: 江苏省留学奖学金和教育厅资助项目(08KJD350005)

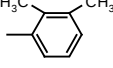
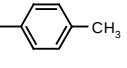
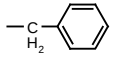
作者简介: 祁刚, 男, 博士, 副教授

Tel: (0515)88160693

E-mail: qigang@ycit.cn

表1 香豆素-7-磺酰脲化合物结构(MSU-1~MSU-6)

Tab 1 Coumarin-7-sulfonylurea compounds (MSU-1—MSU-6)

化合物	R	化合物	R
MSU-1		MSU-4	
MSU-2		MSU-5	
MSU-3		MSU-6	-CH ₂ CH ₂ CH ₃

1 合成方法

合成香豆素-7-磺酰脲类化合物方法是先合成6位取代的甲基香豆素,并将其作为原料,经氯磺化,氨化反应得到香豆素-7-磺胺,再与异脲酸酯反应得到目标物。分析在香豆素的苯环上当发生亲电取代反应时应首先取代在6位置,当6位被甲基取代时,亲电取代反应则会在7位置,此设想经实验结果验证。具体合成路线见图1。

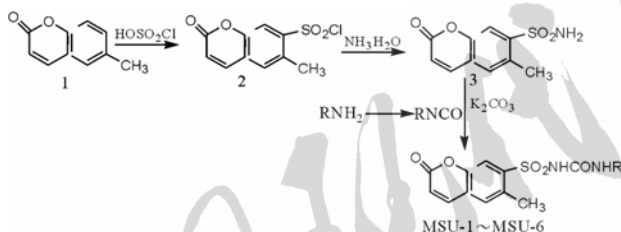


图1 香豆素-7-磺酰脲化合物的合成路线

Fig 1 Synthetic route of coumarin-7-sulfonylurea compounds

2 实验部分

2.1 仪器与实验动物

熔点用XT-4型双目显微熔点仪测定,温度计未经校正。红外光谱仪用Nicolet Impact 410型,固体KBr压片;核磁共振仪用Broker ACF-300型,TMS为内标;质谱仪用HP1100 LC/MSD型;高分辨质谱仪用Mariner型(Applied Biosystem公司);试剂盒(批号:V2000-06,南京宏汇医学用品有限公司)。

实验动物:昆明种小鼠,♀♂不拘,体重18~22 g,由中国药科大学动物饲养室提供,动物合格证号:97004。

2.2 合成步骤

2.2.1 6-甲基香豆素(1) 将40 mL质量分数为72%的浓硫酸预热至80 °C后,加入对甲酚20 g (0.185 mol)和富马酸21.5 g (0.185 mol)的混合物,再升温至160 °C,反应3 h,冷却,然后将反应物倒入

冰水中,搅拌,过滤,得到黑色粘稠物质,转移至烧瓶中,水蒸汽蒸馏,得到白色针状晶体11.8 g,产率40%,mp 73~75 °C。

2.2.2 6-甲基香豆素磺酰氯(2) 在冰水浴下将10 g 化合物 1(0.06 mol)加入到 9 mL 氯磺酸(0.15 mol)中,维持温度低于10 °C,加毕,室温搅拌至固体完全溶解,再加热至90~95 °C继续反应4 h,冷却至室温,剧烈搅拌下倾至20 g 碎冰中,抽滤得固体,水洗2次,粗品直接用于下步反应。

2.2.3 6-甲基香豆素磺酰胺(3) 所得化合物 2 加至冰水冷却的15 mL 浓氨水中,室温搅拌8 h,用稀盐酸调节pH至中性,水重结晶得白色粉末2.30 g,收率16%,mp 245~247 °C。ESI-MS: 262 [M+Na]⁺。

2.2.4 异脲酸酯的合成通法 将12 g 三光气(0.04 mol)溶于50 mL 氯仿中,搅拌溶解后,冰浴冷却下滴加10 mL 对应胺(0.02 mol)的氯仿溶液,加毕,室温反应1 h,再加热回流6 h,蒸馏得相应的产物。

2.2.5 MSU-1~MSU-6的合成通法 将1 g 化合物 3(3.29 mmol)和20 mL 丙酮混合,加入1.12 g K₂CO₃(8.11 mmol)后加热回流1 h,再滴加异脲酸酯(3.62 mmol)的丙酮溶液,加毕回流6 h,冷却,过滤,滤饼加水20 mL 溶解,用浓酸酸化pH至1左右,有固体产生,过滤,用水洗涤至中性,烘干得相应产品。另取适量产品经硅胶柱分离,以乙酸乙酯-石油醚(1:4)为展开剂展开,得到纯品用于分析,目标化合物 MSU-1~MSU-6 的收率、熔点、红外光谱、质谱、高分辨质谱数据如下: ①N-(6-甲基香豆素-7-磺酰基)-N'-(3-甲基苯基)脲(MSU-1): 收率:54%,mp 126~128 °C。IR (KBr) vcm⁻¹: 3 359, 3 084, 1 732, 1 616, 1 555, 1 347, 1 145。ESI-MS: 371(M-1), HR-ESI-MS: 373.085 1(M+1)(FW 373.085 2)。¹H-NMR: 2.15 (3H, s, -CH₃), 2.39 (3H, s, -CH₃), 6.43~6.53 (1H, m, ArH), 6.90~6.95 (1H, t, ArH), 7.14~7.16 (1H, d, ArH), 7.28 (1H, s, ArH), 7.52 (1H, s, ArH), 7.87 (1H, s, ArH), 7.98~8.01 (1H, d, ArH), 8.41 (1H, s, ArH)。②N-(6-甲基香豆素-7-磺酰基)-N'-(4-甲基苯基)脲(MSU-2): 收率:47%,mp 108~110 °C。IR (KBr) vcm⁻¹: 3 370, 1 739, 1 646, 1 604, 1 538, 1 350, 1 145。ESI-MS: 371(M-1)。¹H-NMR: 2.15 (3H, s, -CH₃), 2.39 (3H, s, -CH₃), 6.46~6.52 (1H, t, ArH), 6.86~6.91 (1H, t, ArH), 7.26~7.29 (2H, dd, ArH),

7.50~7.58(1H, d, ArH), 7.75 (1H, s, ArH), 7.98~8.03(1H, m, ArH), 8.34~8.42 (1H, d, ArH)。

③N-(6-甲基香豆素-7-磺酰基)-N'-(2-甲基苯基)脲(MSU-3): 收率: 50%, mp 106~108 °C。IR (KBr) vcm^{-1} : 3 368, 3 069, 1 731, 1 614, 1 539, 1 347, 1 145。ESI-MS: 371(M-1)。HR-ESI-MS: 371.073 0 (M-1) (FW 371.069 6)。 $^1\text{H-NMR}$: 2.12(3H, s, $-\text{CH}_3$), 2.43 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 6.59~6.62 (1H, d, ArH), 6.93~7.14 (3H, m, ArH), 7.50~7.53 (1H, d, ArH), 7.84 (1H, s, ArH), 7.95 (1H, s, ArH), 8.07~8.14 (2H, m, ArH), 11.16(1H, br, $-\text{NH}$)。④N-(6-甲基香豆素-7-磺酰基)-N'-(2, 3-二甲基苯基)脲(MSU-4): 收率: 42%, mp 202~204 °C。IR (KBr) vcm^{-1} : 3 368, 3 065, 1 728, 1 626, 1 610, 1 552, 1 350, 1 142。HR-ESI-MS: 385.083 6 (M-1) (FW 385.085 2)。 $^1\text{H-NMR}$: 1.99 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 2.19 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 2.41(3H, s, $-\text{CH}_3$), 6.55~6.61(1H, t, ArH), 6.83~6.92(2H, m, ArH), 7.34(1H, s, ArH), 7.75(1H, s, ArH), 7.91(1H, s, ArH), 8.05~8.10(H, m, ArH)。

⑤N-(6-甲基香豆素-7-磺酰基)-N'-苄基脲(MSU-5): 收率: 45%, mp 96~98 °C。IR(KBr) vcm^{-1} : 3 372, 3 063, 1 732, 1 638, 1 604, 1 555, 1 342, 1 149。ESI-MS: 371(M-1)。 $^1\text{H-NMR}$: 2.41(3H, s, $-\text{CH}_3$), 4.22~4.24(2H, s, $-\text{NCH}_2$), 6.59~6.63(1H, d, ArH), 6.86(1H, br-NH), 7.09~7.31(5H, m, ArH), 7.79 (1H, s, ArH), 7.89(1H, s, ArH), 8.08~8.11(1H, d, ArH)。

⑥N-(6-甲基香豆素-7-磺酰基)-N'-正丙基脲(MSU-6): 收率: 43%, mp 140~143 °C。IR(KBr) vcm^{-1} : 3 350, 3 095, 1 746, 1 666, 1 625, 1 555, 1 344, 1 145。SI-MS: 323(M-1)。 $^1\text{H-NMR}$: 0.71~0.76 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 1.14~1.33(2H, m, $-\text{CH}_2-$), 2.41(3H, s, $-\text{CH}_3$), 2.85~2.89(2H, t, $-\text{NCH}_2$), 6.28(1H, br, $-\text{NH}$), 6.55~6.58 (1H, d, ArH), 7.75(1H, s, ArH), 7.87(1H, s, ArH), 8.06~8.09(1H, d, ArH)。

2.3 目标化合物的降糖作用

对正常小鼠血糖的影响: 将60只小鼠按体重随机分为6组, 每组10只。目标化合物MSU-1~MSU-6的给药剂量为50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 给药前用0.5%CMC-Na配置成混悬液供动物灌胃, 阳性对照为优降糖50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 阴性对照为等量的0.5%CMC-Na。灌胃给药后2 h和4 h分别测定各鼠的血糖浓度。方法如下: 用毛细玻管从小鼠眼眶后静脉丛取血, 3 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min后, 取血清10 mL, 用血糖

定量测定法(GOD-PAP法)测定葡萄糖浓度, 结果见表2。

表2 香豆素-7-磺酰脲化合物对血糖的影响($n=10$, $\bar{x} \pm s$)
Tab 2 Effect of the coumarin-7-sulfonylurea compounds on blood glucose level of normal mice ($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 $/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	血糖浓度/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	
		2 h	4 h
对照组	50	64.30 $\pm$ 19.22	77.15 $\pm$ 17.89
优降糖组	50	27.47 $\pm$ 9.14 ²⁾	33.48 $\pm$ 14.39 ²⁾
MSU-1	50	104.34 $\pm$ 30.59 ²⁾	103.19 $\pm$ 21.11 ²⁾
MSU-2	50	102.17 $\pm$ 31.90 ²⁾	94.66 $\pm$ 33.81 ¹⁾
MSU-3	50	33.92 $\pm$ 8.04 ²⁾	32.80 $\pm$ 25.94 ²⁾
MSU-4	50	39.37 $\pm$ 26.10 ¹⁾	83.42 $\pm$ 31.33
MSU-5	50	54.43 $\pm$ 28.28	72.62 $\pm$ 30.55
MSU-6	50	96.58 $\pm$ 20.32 ²⁾	96.78 $\pm$ 32.95 ¹⁾

注: 与对照组相比, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$

3 结果与讨论

降糖实验结果表明化合物MSU-3在2 h和4 h对正常小鼠都有明显的降血糖作用, 与0.5%CMC-Na组比较 $P<0.01$, 原因可能是香豆素磺酰脲类活性化合物的优势构象一般呈“U”型^[5], 而MSU-3的脲基取代基苯环上的邻位甲基有利于这样的结构形成, 导致其活性较高; 此外, MSU-4在2 h时也有降血糖作用, $P<0.01$ 。将MSU-3与优降糖组比较, 降血糖效果相当, 但有作用时间延长的趋势, 有进一步研究的前景, 将所有香豆素-7-磺酰脲类化合物的降糖活性与文献[5]香豆素-6-磺酰脲类化合物的降糖活性对照, 发现活性差别无明显规律, 其工作还需进一步研究。

在合成过程中还发现6-甲基香豆素氯磺化反应产率非常低, 曾尝试改变不同反应条件来提高收率, 文献[6]报道在氯磺化一类反应中, 反应体系粘稠, 可以加入惰性有机溶剂, 由于溶剂的分散作用, 增强流动性, 而提高反应收率。但在实验中加入有机溶剂并没有提高反应收率, 增加温度可以使反应收率有所提高, 但收率仍较低。

REFERENCES

- [1] WENG J P, HUANG Z M. Combined application of 2 type diabetes oral drugs [J]. China J Gen Pract (中华全科医师杂志), 2004, 3(1): 47-48.
- [2] WANG X C. The standard of clinical drug (临床药学大典)[M]. Qindao: Qindao press, 1995: 785.
- [3] SHANAI J, GOLDSCHMIED A, JOSEPH B, et al. Hypoglycaemic effect of trigonella graecum and lupinus termis seeds and their major alkaloids in alloxan-diabetic and normal rats [J]. Arch Int Pharmacodyn, 1974, 210(1): 27-37.

- [4] HAN Y, TU S Z, JI N N. QSAR for hypoglycemic activity among coumarin-6-sulfonylureas [J]. J Comput Appl Chem(计算机与应用化学), 2004, 21(5): 786-788.
- [5] ZHOU W F, WANG Q J, HAN Y, et al. Hypoglycemic effect of coumarin-6-sulfonylureas [J]. J China Pharm Univ (中国药

科大学学报), 2003, 34(2): 160-162.

- [6] SU Y X, YANG J Q. Improved technology for synthesis of *p*-acetanm idobenzenesulfonyl chloride [J]. J Hebei Norm Univ (河北师范大学学报), 2002, 26(2): 162-166.

收稿日期: 2009-03-17