

3-苯基-4(1H)喹啉酮羟基衍生物的合成及其抗骨质疏松活性

王晓莉*, 徐鸣夏**, 邓力, 周国川, 郑虎

(四川大学华西药学院, 四川 成都 610041)

摘要: 目的 设计并合成 7-羟基-3-(取代)苯基-4(1H)喹啉酮化合物及其相应的 5-羟基-3-(取代)苯基-4(1H)喹啉酮化合物并考察其抗骨质疏松活性。方法 以间氨基酚为原料,选择改良的 Gould+Jacobs 反应路线同时合成 7-羟基-3-(取代)苯基-4(1H)喹啉酮 4 个(A_{1-4})及其相应的 5-羟基-3-(取代)苯基-4(1H)喹啉酮 4 个(B_{1-4}),通过骨细胞筛选实验以及羟磷灰石吸附实验分别考察其促骨形成作用和趋骨性。结果 共合成了新化合物 8 个(A_{1-4}, B_{1-4}),其结构经 IR, MS, 1 H NMR 和元素分析确证。骨细胞筛选实验结果表明, B_3 有促骨形成作用,但作用弱于芒柄花黄素;羟磷灰石吸附实验结果表明,羟磷灰石对 B_1, B_2 和 B_4 有一定的吸附,其中对 B_1 和 B_2 的吸附作用强于四环素。结论 5-羟基-3-(取代)苯基-4(1H)喹啉酮化合物有促骨形成作用并具有一定的趋骨活性。

关键词: 3-苯基-4(1H)喹啉酮衍生物; 抗骨质疏松; 促骨形成; 趋骨性; 羟磷灰石

中图分类号: R916.41; R962.1 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2002)12-0938-04

骨质疏松症是老年病中的常见病、多发病。雌激素作为绝经后妇女的替代疗法(常用雌二醇),可预防和治疗绝经后引起的骨质疏松,但长期使用有诱发乳腺癌及子宫内膜癌的危险,因此,将药物预防、治疗骨质疏松症的作用与其副作用分开,是抗骨质疏松药物研究的一个重要方面。大豆黄素、芒柄花黄素(fomononetin)、鸡豆黄素等与雌二醇具有相似的空间结构,且同样具有雌激素活性,被称为异黄酮植物雌激素^[1]。植物雌激素对于内源性雌激素水平较低的个体表现出雌激素样作用,而对雌激素水平较高的个体则呈现抗雌激素样作用^[2],因此从植物雌激素入手有望找到既具有抗骨质疏松作用又不引起生殖系统癌变的可供临床应用的安全药物。7-异丙氧异黄酮(ipriflavone)就是这类药物的代表,作为骨质疏松防治药物已在日本和意大利上市。它的作用是直接抑制骨吸收和协同雌激素促进降钙素分泌,降钙素本身又能抑制骨再吸收。另外,异丙氧异黄酮除了能抑制破骨细胞活性外,还能促进成骨细胞的形成和增殖,并能迅速改善骨质疏松引起的腰背痛^[3]。

3-苯基-4(1H)喹啉酮类化合物是异黄酮类化合物的电子等排体,同样与雌二醇等雌激素具有相似

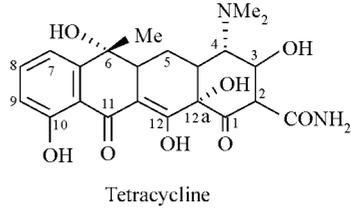
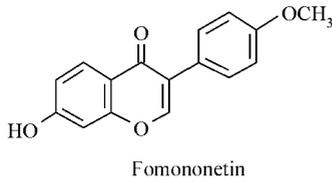
的空间结构,因此推测 3-苯基-4(1H)喹啉酮类化合物也可能具有雌激素样作用。3-(取代)苯基-4(1H)喹啉酮的 7 位和雌激素的 3 位在空间结构上处于同一位置,故设计并合成 7-羟基-3-(取代)苯基-4(1H)喹啉酮 A_{1-4} ,考察其是否具有促骨形成作用,其中 A_2 是芒柄花黄素的电子等排体。四环素类化合物有确切的金属络合能力,四环素(tetracycline)结构中的 C_{10} -酚羟基, C_{11}, C_{12} - β 二酮能与 Ca^{2+} 和其他金属离子形成络合物。四环素进入人体内后同骨组织中的羟磷灰石晶体中的 Ca^{2+} 形成配位键,强大的吸附力使四环素不易离去,因此沉积在骨、牙等组织中,这种沉积的特性即是四环素的趋骨性^[4]。四环素的趋骨性已被用于骨组织疾病的研究和诊断^[5]。目前所使用的骨靶向药物的载体,如聚丙烯酸盐或酯、柠檬酸等^[6]多具有 1,3 或 1,5-羰基、羧基、酚羟基以及这些基团的组合,这些基团都具有络合能力,结合 3-(取代)苯基-4(1H)喹啉酮的结构特点,5-羟基-3-(取代)苯基-4(1H)喹啉酮的 4 位羰基与 5 位羟基刚好构成 1,3-羟基与羰基的组合,可能具有络合作用,它们与四环素相比结构更简单,性质更稳定,故设计并合成 B_{1-4} ,通过与羟磷灰石的吸附活性来考察其是否具有趋骨性。 A_{1-4} 因不具备 1,3-羟基与羰基组合的这种结构,不可能与 Ca^{2+} 络合,故不考察其与羟磷灰石的吸附活性。 B_{1-4} 与 A_{1-4} 相比,仅是羟基位置不同,而同样具有异黄酮的骨架结构,因此也考察其是否具有促骨形成作用。

收稿日期: 2001-10-30.

* 通讯作者 Tel: (028)2900432, Fax: (028)2900615,

E-mail: wx1197007@yahoo.com.cn

** 现址:成都地奥制药集团新药部,成都 610041.



精巧的是在以间氨基酚为原料,选用改良的 Gould-Jacobs 反应路线^[7],可同时制备 7-羟基衍生物与 5-羟基衍生物。因为中间体 α -(取代)苯基- β -(3-羟基)苯氨基丙烯酸乙酯在高温下发生环合反应时,羰基碳即可进攻羟基的对位生成 7-羟基衍生物,也可进攻羟基的邻位生成 5-羟基衍生物,羟基的对位位阻小,7-羟基衍生物应为主产物。

Jacobs 反应可同时制备 7-羟基-3-(取代)苯基-4(1H)喹啉酮及 5-羟基-3-(取代)苯基-4(1H)喹啉酮。当 3 位苯环上无甲氧基取代时,7-羟基化合物为主产物,但随着苯环上甲氧基的增加,反应的选择性降低,当取代苯环上的 2 位与 5 位同时存在甲氧基时,5-羟基化合物甚至变为主产物。通过¹H NMR 鉴别 7-羟基与 5-羟基,作者已另文^[8]详细报道,以上化合物的理化性质及波谱数据见表 1 和表 2。

实验结果表明,间氨基酚经过改良的 Gould-

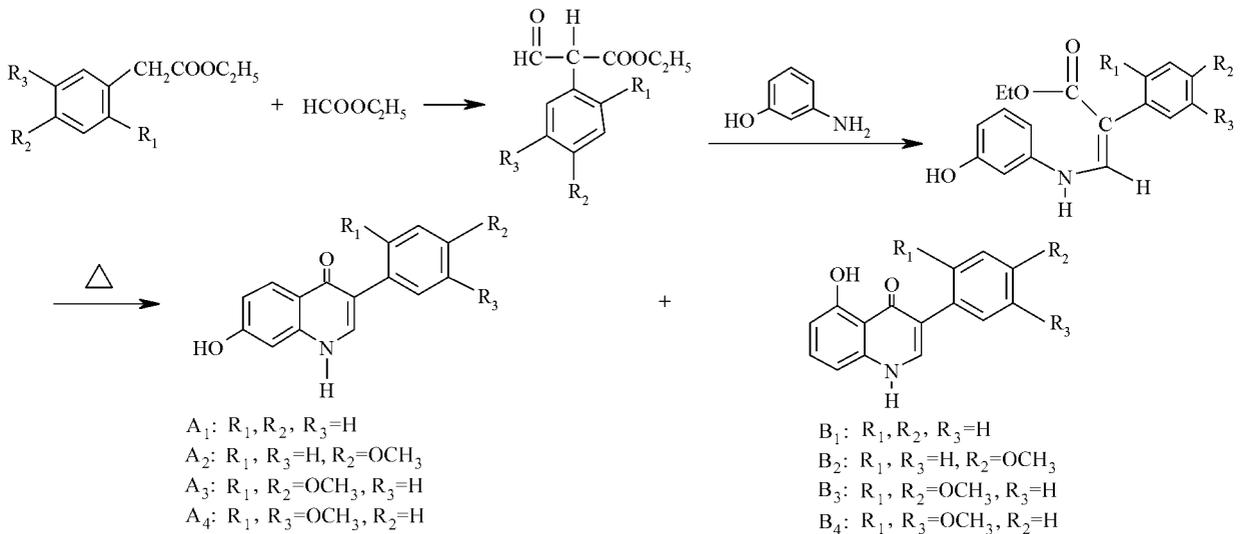
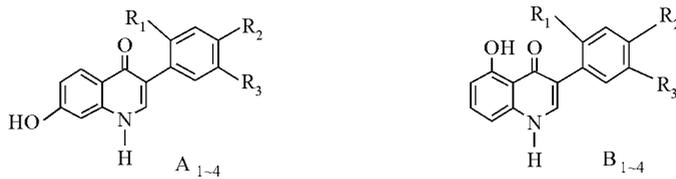


Figure 1 Route of synthesis of compounds A_{1-4} and B_{1-4}

Table 1 Physical constants and elemental analysis of compounds A_{1-4} , B_{1-4}



Compd.	Formular	R_1	R_2	R_3	Yield/ %	MP/ °C	Elemental analysis / %					
							Calculated			Measured		
							C	H	N	C	H	N
A_1	$C_{15}H_{11}NO_2$	H	H	H	40.1	286 ~ 287(dec)	75.87	4.65	13.54	75.94	4.67	13.49
A_2	$C_{16}H_{13}NO_3$	H	OCH_3	H	52.1	282 ~ 284(dec)	71.48	5.18	17.82	71.90	4.90	17.96
A_3	$C_{17}H_{15}NO_4$	OCH_3	OCH_3	H	25.6	295 ~ 296(dec)	68.68	5.09	21.53	68.32	5.28	21.78
A_4	$C_{17}H_{15}NO_4$	OCH_3	H	OCH_3	42.3	325(dec)	68.68	5.09	21.53	68.43	5.15	21.81
B_1	$C_{15}H_{11}NO_2$	H	H	H	21.1	228 ~ 230	75.87	4.65	13.54	75.61	4.78	13.85
B_2	$C_{16}H_{13}NO_3$	H	OCH_3	H	33.3	200 ~ 201	71.48	5.18	17.82	71.62	4.83	18.01
B_3	$C_{17}H_{15}NO_4$	OCH_3	OCH_3	H	36.9	244 ~ 246	68.68	5.09	21.53	68.41	5.35	21.47
B_4	$C_{17}H_{15}NO_4$	OCH_3	H	OCH_3	30.6	221 ~ 222	68.68	5.09	21.53	68.49	5.27	21.74

Table 2 Data of ¹HNMR, MS and IR of compounds A₁₋₄, B₁₋₄

Compd.	¹ HNMR δ	MS	IR(KBr)/cm ⁻¹
A ₁	6.88(d,1H), 6.92(d,1H), 7.38~7.74(m,5H), 7.94(d,1H), 8.22(d,1H), 9.42(s,1H), 10.84(d,1H)	237	3 340, 3 043, 1 621, 1 544, 1 492, 1 464
A ₂	3.77(s,3H), 6.77(d,1H), 6.84(d,1H), 6.96~7.64(dd,4H), 8.00(d,1H), 8.08(d,1H), 10.29(s,1H), 11.73(d,1H)	267	3 224, 3 075, 1 624, 1 595, 1 558, 1 511
A ₃	3.68(s,3H), 3.78(s,3H), 6.58~6.80(m,4H), 7.20(d,1H), 7.71(d,1H), 7.97(d,1H), 10.24(s,1H), 11.53(d,1H)	297	3 234, 3 118, 2 965, 2 839, 1 612, 1 556, 1 505
A ₄	3.70(s,3H), 3.83(s,3H), 6.76~7.04(m,5H), 7.80(d,1H), 7.99(d,1H), 10.27(s,1H), 11.62(d,1H)	297	3 119, 2 937, 2 836, 1 621, 1 554, 1 490
B ₁	6.60(d,1H), 7.00(d,1H), 7.27(m,3H), 7.49(t,1H), 7.71(d,2H), 8.19(d,1H), 12.52(d,1H), 14.75(s,1H)	237	3 200, 3 075, 1 642, 1 613, 1 558, 1 492
B ₂	3.78(s,3H), 6.57(d,1H), 7.17(m,3H), 7.50(t,1H), 7.64(d,2H), 8.19(d,1H), 12.47(d,1H), 14.79(s,1H)	267	3 430, 3 100, 3 015, 2 980, 2 860, 2 810, 1 640, 1 613, 1 550, 1 520
B ₃	3.71(s,3H), 3.79(s,3H), 6.54(d,1H), 6.58(d,1H), 6.62(d,1H), 6.92(d,1H), 7.21(d,1H), 7.48(t,1H), 7.95(d,1H), 12.30(d,1H), 14.66(s,1H)	297	3 437, 3 089, 2 924, 1 641, 1 612, 1 559, 1 503
B ₄	3.68(s,3H), 3.82(s,3H), 6.59~6.86(m,5H), 7.50(dd,1H), 8.04(d,1H), 12.40(d,1H), 14.78(s,1H)	297	3 470, 3 075, 2 920, 2 840, 1 621, 1 540, 1 500, 1 480

以不加药物组作阴性对照组(促骨形成作用为零), 芒柄花黄素组作阳性对照组, 考察了化合物 A₂ 和 B₃ 的促骨形成作用。从被染色的骨结节面积来看, A₂ 无促骨形成作用, B₃ 为 5%~10%, 芒柄花黄素为 15%~20%。A₂ 虽有早期促老龄大鼠成骨细胞(aged osteoblast, AOB) 增殖作用, 但在基质成熟期(7~12 d) 使细胞脱落, 因此无促骨形成作用; B₃ 在浓度为 1 × 10⁻⁸ ~ 1 × 10⁻⁹ mol · L⁻¹ 时无促骨形成作用, 在 1 × 10⁻⁶ ~ 1 × 10⁻⁷ mol · L⁻¹ 时对 AOB 有促骨形成作用, 作用强度与浓度成正比; 芒柄花黄素在浓度为 1 × 10⁻⁸ ~ 1 × 10⁻⁹ mol · L⁻¹ 时也无促骨形成作用, 在 1 × 10⁻⁶ ~ 1 × 10⁻⁷ mol · L⁻¹ 时对 AOB 的促骨形成作用仍与浓度成正比。其余化合物的促骨形成作用实验待做。

用羟磷灰石吸附实验考察化合物 B₁, B₂ 和 B₄ 的趋骨性, 以四环素为阳性对照, 结果见表 3。

Table 3 The absorption results with hydroxyapatite to tetracycline and the compounds B_{1,2,4}

Compds.	Solvent	Wavelength/nm	Equili. conc./mmol · L ⁻¹	Absorption/μmol
Tetracyclin	EtOH/DMF	384.4	1.7 × 10 ⁻²	1.98
B ₁	EtOH/DMF	319.7	1.0 × 10 ⁻²	3.62
B ₂	EtOH/DMF	222.9	1.4 × 10 ⁻²	2.92
B ₄	EtOH/DMF	311.4	2.3 × 10 ⁻²	0.48

从表 3 可看出, 羟磷灰石对 B₁, B₂ 和 B₄ 均有一定的吸附, 其中对 B₁ 和 B₂ 的吸附作用强于四环素, 而对 B₄ 的吸附性弱于四环素, 这可能是由于苯环上甲氧基的取代导致空间位阻增大, 从而阻碍羟磷灰石与 1,3-羟基-羰基组合物(4-羰基-5-羟基) 的络合

作用, 因而减弱了羟磷灰石对 B₄ 的吸附, 羟磷灰石对 B₃ 的吸附实验待做。

实验部分

熔点用 RD-1 型及 1A 6304 型电熔点仪测定, 温度未校正; 核磁共振用 Varian INOVA-400 型核磁共振仪测定, TMS 为内标, 除 A₁ 用 d₆-CH₃COCH₃ 作溶剂外, 其他均用 d₆-DMSO 为溶剂; 质谱用 GS/MS 4510 型质谱仪测定; 红外光谱 PE-983 型红外光谱仪测定; 紫外光谱用 UV-2201 型紫外吸收光谱仪测定; 元素分析用 Carlo Erba 1106 型元素分析仪测定。

1 7-羟基-3-苯基-4(1H)喹啉酮(A₁)及 5-羟基-3-苯基-4(1H)喹啉酮(B₁)的制备

称取间氨基酚 4.36 g(0.04 mol) 于反应瓶中, 加入 10% 的盐酸 25 mL, 搅拌溶解后滴加等量自制 α-苯基丙醛酸乙酯, 滴加过程中析出沉淀, 滴加完后继续反应 2 h, 过滤, 精制得 α-苯基-β-(3-羟基)苯氨基丙烯酸乙酯 9.75 g, mp 145~147 °C, 产率为 86.1%。

取 α-苯基-β-(3-羟基)苯氨基丙烯酸乙酯 5.6 g(0.02 mol) 于反应瓶中, 加入二苯醚 100 mL, 加热沸腾 30 min, 自然冷却, 析出固体, 过滤, 滤饼用少量乙醇洗涤, 得黄色粉末 4.0 g, TLC 检测为两斑点, 经硅胶柱色谱分离纯化得 A₁ 1.9 g, mp 286~287 °C(dec); B₁ 1.0 g, mp 228~230 °C。A₁ 与 B₁ 的产率比为 1.9:1, 证实 A₁ 为主产物。

2 其他化合物的制备

按类似方法制备 A₂, A₃ 和 A₄ 及相应的 B₂, B₃ 和 B₄。A₂: B₂ = 1.6:1; A₃: B₃ = 0.7:1; A₄: B₄ = 1.4:1。

3 促骨形成作用实验

选用 ♀ Wistar 老龄大鼠的头盖骨分离培养的成

骨细胞(AOB)作为实验对象,将样品 A_2 (苜蓿花黄素的电子等排体)与 B_3 (5-羟基-3-(2,4-二甲氧基)苯基-4(1H)喹啉酮以及苜蓿花黄素的浓度分别配制成 1×10^{-6} , 1×10^{-7} , 1×10^{-8} 和 1×10^{-9} mol·L⁻¹,于细胞增殖期连续 3 d 加药。加药后培养 18 d, Von Kossa 染色,以被染成茶褐色的骨结节面积作为骨形成指标,考察样品有无促骨形成作用。

4 羟磷灰石吸附实验

合成羟磷灰石由华西医科大学卫生部口腔医学工程国家重点实验室廖运茂教授提供,化学式为 Ca₁₀(OH)₂(PO₄)₆,用沸腾的蒸馏水反复洗涤进行纯化,真空干燥而得;四环素市购(四川制药厂,批号为 971101),重结晶后使用。重结晶方法:将四环素碱 2 g 悬于水中,1 mol·L⁻¹ HCl 调 pH 至 2~3,滤除不溶物,再用 2 mol·L⁻¹ 氨水调 pH 为 4.7,有结晶析出,滤集,60℃干燥 6 h 得无水产品,待测化合物为 B_1 , B_2 与 B_3 ;仪器用 Sartorius BS210s 型电子天平(精确度为万分之一)及 Shimadzu UV-2200 型双波长分光光度计。

用 Misra DN^[9]报道的直接法,测定一定浓度的化合物与羟磷灰石吸附前后浓度的变化来计算羟磷灰石对化合物的吸附值。

分别称取四环素和待测品 B_1 , B_2 , B_3 , 用溶剂 DMF/EtOH(1:1)配制成 12.5 mmol·L⁻¹,其中 3 份加入羟磷灰石 200 mg,另一份为空白对照。在超声震荡器中震荡 1 min,放于暗处,室温平衡 16 h 后,离心,用移液管量取上层澄清液 1 mL 至 50 mL 容量瓶中,稀释至刻度,得到 25 μmol·L⁻¹ 的澄清液,空白和

滤液用 UV-2200 型双波长分光光度计测定浓度。

吸附量的计算: $A = V_{\Delta}C/W$, V 为溶液体积, ΔC 为标液与平衡液浓度差, W 为羟磷灰石重量。

REFERENCES:

- [1] Hassanein RR, Elmougy SA, Elgharmry MI. Biological activity of phytoestrogen [J]. *Planta Med*, 1972, 22(4): 412 - 417.
- [2] Wang GJ, Han ZK. Studing progress in isoflavons of plants [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 1994, 6(3): 81 - 83.
- [3] Orme MW, Labroo VM. Synthesis of β estrodial-3-benzoate-17-(succinyl-12A-tetracycline): a potential bone-seeking estrogen [J]. *Bioog Med Chem Lett*, 1994, 4(11): 1375 - 1380.
- [4] Sasaki T, Ramamurth NS, Golub LM. Tetracycline administration increases collagen sythesis in osteoclasts of streptozotocin induced diabetic rats [J]. *Calcif Tissue Int*, 1992, 50(5): 411 - 419.
- [5] Wilson TM, Paul SC, Anthony DB, et al. Bone targeted drugs 1. Identification of heterocycles with hydroxyapatite affinity [J]. *Bioog Med Chem Lett*, 1996, 6(9): 1043 - 1046.
- [6] Javis MF, Burns CJ, Pauls HW, et al. Characterization of bisphosphate recognition site on hydroxyapatite using radioligand binding techniques with [¹⁴C] citric acid [J]. *Calcif Tissue Int*, 1993, 52(5): 372 - 377.
- [7] Long KH, Kong J. Synthesis of 7-hydroxy-8-methoxy-4(1H)-quinolinone derivatives [J]. *Acta Sci Nat Univ Sunyatseni* (中山大学学报), 1989, 28(1): 105 - 109.
- [8] Xu MX, Wang XL, Zheng H. ¹H NMR of 3-phenyl-4(1H)-quinolinone derivatives [J]. *Chin J Magn Resonance* (波谱学杂志), 1999, 16(2): 169 - 172.
- [9] Misra DN. Adsorption and Orientation of tetracycline on hydroxyapatite [J]. *Calcif Tissue Int*, 1991, 48(5): 362 - 367.

SYNTHESIS AND ANTIOSTEOPOROSIS ACTIVITY OF 3-PHENYL-4(1H) QUINOLINONE DERIVATIVES

WANG Xiao li, XU Ming-xia, DENG Li, ZHOU Guo-chuan, ZHENG Hu

(West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

ABSTRACT: **AIM** To design and synthesize 7-hydroxy-3-(substituted) phenyl-4(1H) quinolinone and 5-hydroxy-3-(substituted) phenyl-4(1H) quinolinone and to study the antiosteoporosis activity of these compounds. **METHODS** The compounds of 7-hydroxy and 5-hydroxy were prepared simultaneously by improved Gould-Jacobs reaction and resorcin was used as starting material. Eight compounds (A_{-4} , B_{-4}) were synthesized and their chemical structures were determined by IR, MS, ¹H NMR and elemental analysis. Their osteoplastic activity was evaluated by the absorptive test to Ca²⁺ of hydroxyapatite crystal. **RESULTS** Compounds (A_{-4} , B_{-4}) are new compounds. Compounds B_1 and B_2 showed antiosteoporosis activities and was stronger than the control drug of tetracycline. **CONCLUSION** Compounds B_1 and B_2 are worthy to be intensively studied.

KEY WORDS: 3-phenyl-4(1H) quinolinone derivatives; antiosteoporosis; osteoplastic activity; osteocyte chemotaxis; hydroxyapatite