

石杉碱甲类似物的合成及药理研究

I. (±)-14-氟石杉碱甲

曾繁星 蒋华良 杨玉社 刘东祥 陈建忠
唐希灿 刘 静 沈竞康 陈凯先* 嵇汝运

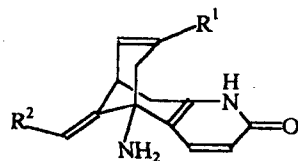
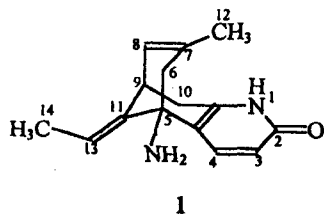
(中国科学院上海药物研究所 上海 200031)

摘要 用两种方法合成了(±)-14-氟石杉碱甲(6),并测定了其抑制乙酰胆碱酯酶的生物活性.其抑制活性是(-)-石杉碱甲(1)的1/62.

关键词 石杉碱甲,氟化,乙酰胆碱酯酶,生物活性

(-)-石杉碱甲(1)是从千层塔的酚性生物碱部分分离得到的一种生物碱,其抑制乙酰胆碱酯酶(AChE)的药理研究表明:石杉碱甲是高效的可逆性乙酰胆碱酯酶抑制剂^[1,2].它通过抑制 AChE 对乙酰胆碱的水解作用而提高突触前乙酰胆碱的水平.由于其作用时间长、副作用小、选择性好,因而受到人们的极大关注,是一个较有发展前途的、用以治疗早老性痴呆症(Alzheimer's Disease, AD)的药物^[3].

人们对石杉碱甲进行了大量的结构改造工作,希望能开发出更好的药物用以治疗 AD 等疾病,其中, Satoru Kaneko 等报道了四种氟取代的石杉碱甲类似物(2,3,4,5)的合成及其对 AChE 的抑制活性^[4].在这四种衍生物中,(±)-14,14,14-三氟石杉碱甲(3)的活性是(-)-石杉碱甲(1)的1/200.(-)-石杉碱甲-AChE 复合物的 X 射线衍射晶体结构^[5]表明:石杉碱甲 13 位的甲基与 AChE 中 His440 的羰基之间有氢键相互作用,因此我们以 CH₂F 基团代替石杉碱甲 13 位的甲基,在保留上述氢键作用的前提下,考察是否由于氟的诱导作用能增强 13 位甲基与 AChE 之间的氢键相互作用,从而增强其抑制 AChE 的活性.本文以(±)-14-氟石杉碱甲(6)为目标化合物,报道了其合成方法及药理分析.



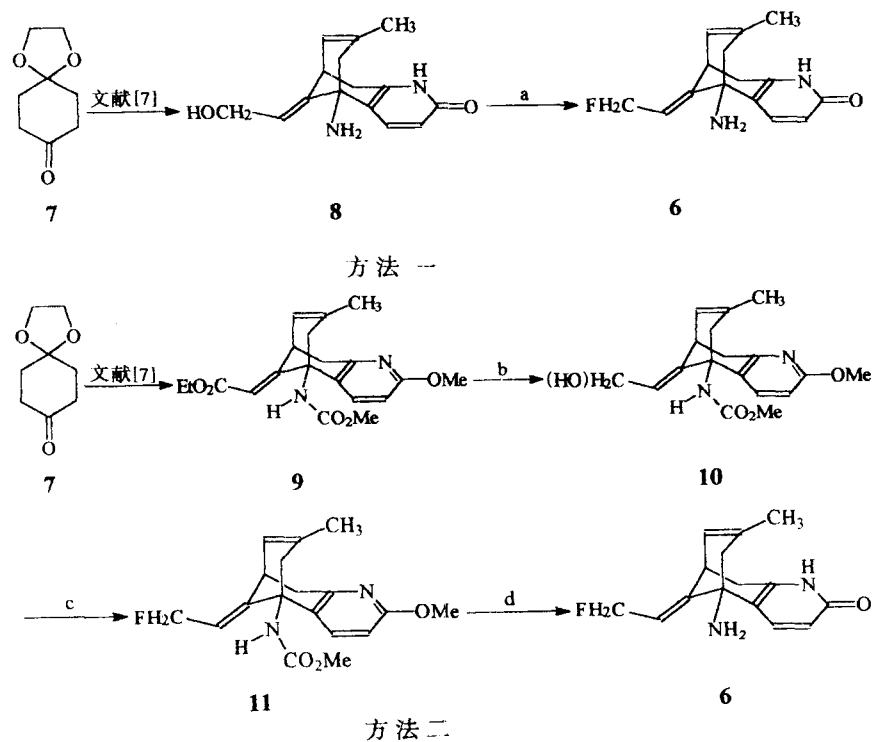
- 2 R¹=CF₃, R²=Me; 3 R¹=Me, R²=CF₃;
4 R¹=R²=CF₃; 5 R¹=CH₂F, R²=Me;
6 R¹=Me, R²=CH₂F

我们用两种方法合成了(±)-14-氟石杉碱甲(6).因为二乙基三氟硫胺(DAST)^[6]是一

* 男,55岁,研究员,博士生导师

收稿日期:1998-04-13,修回日期:1998-06-04,国家“863”高科技项目基金(863-103-04-1)资助课题

个较好的将醇羟基转变为氟原子的试剂,因此,在第一种方法(方法一)中,我们由 **7** 按照 Kozikowski 的方法^[7]得到了(±)-14-羟基石杉碱甲(**8**),然后一步氟取代得到目标化合物 **6**. 然而,可能由于存在活泼基团(NH_2 , $\text{NHC}=\text{O}$),致使反应条件要求高(-78°C),产率低(25%). 于是我们设计了第二种方法(方法二),即用 **7** 按照 Kozikowski 的方法^[7]合成得 **9**,然后得到 14 位羟基取代的化合物 **10**,再氟化得 **11**,最后脱去保护基,这样也得到了目标化合物 **6**,且提高了产率.

a) DAST, CH_2Cl_2 , -78°C ;b) DIBALH, THF, -78°C ;c) DAST, CH_2Cl_2 , 0°C ;d) TMSI, CHCl_3 , 回流, MeOH, 回流

1 实验

1.1 仪器与试剂

IR 用 Perkin-Elmer 599B 型仪测定, KBr 压片. ^1H NMR 用 Bruker AM-400 型仪测定, ^{13}C NMR 用 Bruker AC-100 型仪测定, CDCl_3 为溶剂, TMS 为内标. MS 用 MAT-711 型仪测定, HRMS 用 MAT-212 型仪测定. 柱层析硅胶为 200~300 mesh, 青岛海洋化工厂生产. 所用试剂均为分析纯级试剂.

1.2 按方法一合成 **6**

由 1,4-二氧杂螺[4,5]癸-8-酮(**7**)按照 Kozikowski 的方法^[7]合成了(±)-14-羟基石杉碱甲(**8**).

将 51.5 μL DAST 溶于 4 mL 干燥的 CH_2Cl_2 中.另称取 50 mg (0.194 mmol) (\pm)-14-羟基石杉碱甲(8)溶于 4 mL 干燥的 CH_2Cl_2 中,并将其于 -78°C 在 Ar_2 保护下滴加到上述 DAST 溶液中.混合物继续反应 5 h 后,加 NaHCO_3 饱和溶液,乙酸乙酯提取,饱和 NaCl 溶液洗涤,经干燥、浓缩,残余物用 50:45:5 氯仿-丙酮-甲醇为洗脱剂进行柱层析,得 12.6 mg (\pm)-14-氟石杉碱甲(6),产率 25%.

1.3 按方法二合成 6

1.3.1 (\pm)-2-甲氧基-5-甲氧甲酰氨基-7-甲基-5,9-羟亚丙烯基-5,6,9,10-四氢环辛并[b]吡啶(10)的合成 由 1,4-二氧杂螺[4,5]癸-8-酮(7)按照 Kozikowski 的方法^[7]合成了(\pm)-2-甲氧基-5-甲氧甲酰氨基-7-甲基-5,9-乙酯亚乙烯基-5,6,9,10-四氢环辛烯并[b]吡啶(9).

将 0.363 mol 二异丁基氢化铝(DIBALH)($1.0\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ 正己烷溶液)于 -78°C 在 Ar_2 保护下滴加到溶有 13.5 mg (0.0363 mmol) 9 的 1 mL 干燥 THF 中,反应 2 h 后,加入饱和酒石酸钠溶液,升至室温,继续搅拌 4 h,乙酸乙酯萃取,有机层用无水 Na_2SO_4 干燥,减压蒸去溶剂,用 5:3 二氯甲烷-乙酸乙酯为洗脱剂进行柱层析得 9.36 mg 10,产率 78%, m. p. $214\sim 215^\circ\text{C}$. $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$ (计算值: C, 65.44; H, 6.71; N, 8.48. 实测值: C, 65.38; H, 6.99; N, 7.99). ν_{\max} : 3442 (s, OH), 3288 (m, NH), 1712 (s, C=O), 1597, 1570, 1475 (s, 吡啶环), 1263, 1030 (s, OCH_3) cm^{-1} . δ_{H} : 7.51 (1H, d, $J = 8.7\text{Hz}$, 4-H), 6.53 (1H, d, $J = 8.7\text{Hz}$, 3-H), 5.52 (1H, t, $J = 6.8\text{Hz}$, 13-H), 5.41 ~ 5.43 (1H, m, 8-H), 5.18 (1H, s, NH), 4.26 [2H, d, $J = 7.0\text{Hz}$, $2\times(14\text{-H})$], 3.86 (3H, s, OCH_3), 3.64 (1H, m, 9-H), 3.59 (3H, s, CO_2CH_3), 3.09 (1H, d, $J = 16.9\text{Hz}$, 10-H), 2.90 (1H, dd, $J = 16.9, 1.9\text{Hz}$, 10-H), 2.62 ~ 2.54 (1H, m, 6-H), 2.26 (1H, d, $J = 15.6\text{Hz}$, 6-H), 1.49 (3H, s, 7- CH_3). m/z : 331 ($[\text{M}+1]^+$, 100%), 312 ($[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 22), 255 ($[\text{M}-\text{NHCO}_2\text{Me}-\text{H}]^+$, 27), 237 (29), 224 (47).

1.3.2 (\pm)-2-甲氧基-5-甲氧甲酰氨基-7-甲基-5,9-氟亚丙烯基-5,6,9,10-四氢环辛并[b]吡啶(11)的合成 将溶有 13.7 mg 10 的 1 mL 干燥 CH_2Cl_2 溶液于 -78°C 在 Ar_2 保护下滴加到溶有 11 μL DAST 的 1 mL CH_2Cl_2 中,然后在 0°C 下反应 5 h,加入 NaHCO_3 饱和溶液使 $\text{pH} = 7$,乙酸乙酯提取,饱和 NaCl 溶液洗涤,干燥、浓缩,残余物用 10:3 石油醚-乙酸乙酯为洗脱剂进行柱层析,得 12.23 mg 11,产率 89%. ν_{\max} : 3419 (br, NH), 1739 (s, C=O), 1635 (s, C=C), 1598, 1573, 1477 (s, 吡啶环), 1269, 1032 (s, OCH_3), 1075 (m, CF) cm^{-1} . δ_{H} : 7.52 (1H, d, $J = 8.5\text{Hz}$, 4-H), 6.53 (1H, d, $J = 8.5\text{Hz}$, 3-H), 5.62 (1H, m, 13-H), 5.41 ~ 5.43 (1H, m, 8-H), 5.16 (1H, s, NH), 5.05 [2H, dd, $J = 47, 6.3\text{Hz}$, $2\times(14\text{-H})$], 3.88 (3H, s, OCH_3), 3.65 (1H, m, 9-H), 3.61 (3H, s, CO_2CH_3), 3.08 (1H, d, $J = 16.8\text{Hz}$, 10-H), 2.90 (1H, dd, $J = 16.8, 1.9\text{Hz}$, 10-H), 2.62 ~ 2.55 (1H, m, 6-H), 2.26 (1H, d, $J = 15.9\text{Hz}$, 6-H), 1.50 (3H, s, 7- CH_3). m/z : 332 (M^+ , 56%), 312 ($[\text{M}-\text{HF}]^+$, 42), 237 (66), 224 ($[\text{M}-\text{FCH}_2-\text{NHCO}_2\text{Me}-\text{H}]^+$, 100). HRMS $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{FN}_2\text{O}_3$ 计算值: 332.1535, 实测值: 332.1534.

1.3.3 (\pm)-14-氟石杉碱甲(6)的合成 将 22 mg 11 溶于 2.5 mL 干燥的 CHCl_3 , 0.11 mL 三甲基碘硅烷(TMSI)于室温在 Ar_2 保护下滴加入上述溶液中,混合物加热回流 6 h 后,蒸去 CHCl_3 ,加 3 mL 无水甲醇, Ar_2 下继续回流 18 h, NaHCO_3 中和, CHCl_3 萃取,无水 Na_2SO_4 干燥、浓缩, 50:45:5 氯仿-丙酮-甲醇为洗脱剂进行柱层析,得 9.5 mg 6,产率 56%. ν_{\max} : 3385 (m, NH_2), 3277, 1655, 1614 (吡啶酮环), 1078 (m, CF), 980 (s, C=C) cm^{-1} . δ_{H} : 7.90 (1H, d, $J = 9.4\text{Hz}$, 4-

H), 6.41(1H, d, $J = 9.5\text{Hz}$, 3-H), 5.62(1H, tt, $J = 10.2\text{Hz}$, 13-H), 5.46(1H, m, 8-H), 5.10(2H, dd, $J = 47, 6.3\text{Hz}$, 13-CH₂F), 3.58(1H, m, 9-H), 2.90(1H, dd, $J = 16.8, 5.0\text{Hz}$, 10-H), 2.75(1H, d, $J = 15.7\text{Hz}$, 10-H), 2.15[2H, br, s, $2 \times (6-H)$], 1.55(3H, s, 7-CH₃). δ_F (300MHz, CF₃COOH为内标): -132.5(t, $J = 47\text{Hz}$). m/z : 260(M⁺, 25%), 240([M-HF]⁺, 15), 227([M-FCH₂]⁺, 100), 217(27) 185(43). HRMS C₁₅H₁₇FN₂O 计算值: 260.1324, 实测值: 260.1330.

2 结果与讨论

2.1 生物活性的测定

根据 Ellman 等^[8]的方法,我们对(±)-14-氟石杉碱甲(**6**)进行了体外抗 AChE 活性的测定, IC₅₀为 10 μmol·dm⁻³. **1**和 **3**的 IC₅₀各为 0.08 和 32^[4] μmol·dm⁻³.

2.2 结果分析

测试结果表明**6**的抑制活性是**3**的3倍.由于**6**是外消旋体,因此我们认为它的活性是**1**的1/62.这一结果说明13位甲基对石杉碱甲类似物的活性起很重要的作用.与**3**不同,**6**在14位上保留了两个氢原子,因而仍能与AChE形成氢键,这就是为什么**6**的AChE抑制活性是**3**的3倍的一个很重要的原因.另一方面,根据我们进行的模型分子的量化计算,如果简单地考虑石杉碱甲13位甲基与AChE His 440的羰基之间的氢键相互作用,**6**对AChE抑制活性应该比**1**高.然而,药理结果与预测的不符,这表明石杉碱甲类似物14-C位置与AChE之间的相互作用敏感而复杂,除了氢键作用外,其它的相互作用如静电作用和疏水性可能对14位原子与AChE之间的作用产生一定的影响.这方面的工作正在进行.

至此,我们第一次成功地合成了一种石杉碱甲类似物(±)-14-氟石杉碱甲(**6**),并测定了其生物活性.**6**的体外AChE抑制活性的分析必将有助于今后石杉碱甲的结构改造及新型的AChE抑制剂的设计.

References

- 1 J.S.Liu, Y.L.Zhu, C.M.Yu, Y.Z.Zhou, Y.Y.Han, F.W.Wu, B.F.Qi, *Can. J. Chem.*, **1986**, *64*, 837.
- 2 A.P.Kozikowski, E.Thiels, X.C.Tang, I.Hanin, *Acta Med. Chem.*, **1992**, *1*, 175.
- 3 X.C.Tang, P.De Sarno, K.Sugaya, E.Giacobini, *J. Neurosci. Res.*, **1989**, *24*, 276.
- 4 a) S.Kaneko, N.Nakajima, M.Shikano, T.Kato, S.Terashima, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1996**, *6*, 1927.
b) S.Kaneko, M.Shikano, T.Kato, S.Terashima, *Synth. Lett.*, **1997**, *5*, 447.
- 5 M.L.Raves, M.Harel, Y.P.Pang, I.Silman, A.P.Kozikowski, J.L.Sussman, *Nat. Struct. Biol.*, **1997**, *4*, 57.
- 6 W.J.Middleton, *J. Org. Chem.*, **1975**, *40*, 574.
- 7 A.P.Kozikowski, G.Campiani, L.Q.Sun, P.Aagaard, M.McKinney, *J. Org. Chem.*, **1993**, *59*, 7660.
- 8 G.L.Ellman, D.Courtney, V.Andres, R.M.Featherston, *Biochem. Pharmacol.*, **1961**, *7*, 88.

Syntheses and Pharmacological Studies of Huperzine A Analogues

I. (±) - 14 - Fluorohuperzine A

ZENG Fan - Xing JIANG Hua - Liang YANG Yu - She LIU Dong - Xiang

CHEN Jian - Zhong TANG Xi - Can LIU Jing SHEN Jing - Kang

CHEN Kai - Xian* JI Ru - Yun

(Shanghai Institute of Materia Medica, The Chinese Academy of Sciences, Shanghai, 200031)

Abstract The synthesis of (±) - 14 - Fluorohuperzine A (**6**) has been accomplished and the activity of this agent to inhibit the activity of acetylcholinesterase has been measured. Taking into account its racemic form, this compound is 62 times less potent than that of natural (−) - huperzine A.

Keywords huperzine A, fluorinated, acetylcholinesterase, biological activity

(Ed. WANG Zhi - Bei SHEN Hong)