4(6)-{2-[4-(2,3,4-三甲氧苄基)哌嗪-1-基]-2-氧代乙氧基}芳甲酰胍类化合物的合成及其 Na^+/H^+ 交换器 1 抑制活性靳璐^a 姜向敏^a 何广卫^{*,b} 徐文婷^a 龚国清^c 徐云根^{*,a}^(a) 中国药科大学药物化学教研室 南京 210009^(b) 合肥医工医药有限公司 合肥 230088^(c) 中国药科大学药理学教研室 南京 210009

摘要 NHE1 (Na^+/H^+ 交换器 1) 抑制剂对于心肌缺血再灌注损伤具有较好的保护作用. 以苯(或吡啶)甲酰胍为母核, 利用拼合原理, 在苯(或吡啶)甲酰胍母环上引入 4-(2,3,4-三甲氧苄基)哌嗪-1-甲基, 设计并合成了 8 个未见文献报道的目标化合物. 其结构经 MS, IR, ^1H NMR 和元素分析确证. 体外血小板肿胀模型(PSA)试验结果表明, 大部分目标化合物显示出较好的 NHE1 抑制活性.

关键词 NHE1 抑制剂; 缺血再灌注损伤; 苯(或吡啶)甲酰胍; 合成

Synthesis and Na^+/H^+ Exchanger-1-Inhibitory Activity of 4(6)-{2-[4-(2,3,4-Trimethoxybenzyl)piperazin-1-yl]-2-oxoethoxy}-aroylguanidine DerivativesJin, Lu^a Jiang, Xiangmin^a He, Guangwei^{*,b} Xu, Wenting^aGong, Guoqing^c Xu, Yungen^{*,a}^(a) Department of Medicinal Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009^(b) Hefei Yi Gong Medicine Technology Company Limited, Hefei 230088^(c) Department of Pharmacology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009

Abstract Na^+/H^+ exchanger 1 (NHE1) inhibitors have a protective effect against myocardial ischemic-reperfusion injury. By choosing benzoyl (or pyridine-3-carbonyl) guanidine as main structure, and introducing 4-(2,3,4-trimethoxybenzyl)piperazine-1-yl to its benzene (or pyridine) ring, eight compounds were designed and synthesized. All the target compounds have not been reported and their structures have been confirmed by IR, ^1H NMR, MS and elemental analysis. The rat platelet swelling assay (PSA) results showed that most of the tested compounds exhibited potent NHE1 inhibitory effects.

Keywords NHE1 inhibitor; ischemia-reperfusion injury; benzoyl (or pyridine-3-carbonyl) guanidine; synthesis

Na^+/H^+ 交换器(NHE)存在于所有真核细胞中, 是调节细胞内 pH 的重要跨膜蛋白. 到目前为止, 已有 9 个 NHE 亚型被确证, 分别是 NHE1~NHE9, 它们分布于人体各器官. 大量的实验证明, 在哺乳动物的心肌细胞上以 NHE1 为主, 其在心肌缺血再灌注过程中起着重要作用^[1]. NHE1 抑制剂通过抑制 Na^+/H^+ 交换, 避免过多 Na^+ 进入细胞内, 进而使 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换减少, 防止细胞内 Ca^{2+} 过度增加引起细胞挛缩、坏死^[2,3].

对各类 NHE1 抑制剂的构效关系分析表明, 酰基胍部分对于 NHE1 抑制活性是非常重要的. 目前正在研究中的 NHE1 抑制剂大多含有芳甲酰胍结构^[4,5], 如: 卡立泊来德(cariporide)和沙泊来德(sabiporide) (Scheme 1). 我们^[6~8]曾报道在苯甲酰胍的苯环的 2 或 4 位通过亚甲基(或亚乙基氧基等)与 4-(2,3,4-三甲氧基)苄基哌嗪-1-基(曲美他嗪的主体结构)进行偶联, 同时引入卤素、硝基和取代酰胺基等(Scheme 1), 所得的化合物具有较好的

* E-mail: xyg64@126.com; Tel.: 025-83271480.

Received August 5, 2011; revised October 22, 2011; accepted November 1, 2011.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30672512).

国家自然科学基金(No. 30672512)资助项目.

NHE1 抑制活性. 本文选取苯甲酰肼为母核, 以 2-氧代亚乙基基作为连接臂与 4-(2,3,4-三甲氧基)苄基哌嗪-1-基进行偶联, 同时在苯甲酰肼的芳环上引入烷基、卤素和硝基等基团, 设计合成了 4 个未见文献报道的化合物; 为了考察酰肼基所在芳环对活性的影响, 本文以吡啶环替代苯环, 设计合成了 4 个新的吡啶酰肼衍生物, 旨在寻找活性更强的 NHE1 抑制剂. 合成路线见 Scheme 2.

Scheme 1

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

熔点用毛细管法测定, 温度计未校正; BRUKER Tensor 27 型红外光谱仪, KBr 压片; BRUKER AM-300 型核磁共振仪, 内标 TMS; Agilent 1100 系列 LC/MSD Trap SL; Elementar Vario EL III 元素分析仪.

1.2 1-氯乙酰基-4-(2,3,4-三甲氧基苄基)哌嗪(2)的合成

将游离的曲美他嗪(10 g, 0.037 mol)溶于 20 mL 二氯甲烷中, 加入三乙胺(5 mL). 在 0~5 °C 下滴加氯乙酰氯(4.5 g, 0.037 mol)的二氯甲烷溶液 20 mL, 滴毕结束反应. 反应液依次用饱和碳酸氢钠溶液和饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压蒸干得 11.8 g 近白色油状物, 直接投入下步反应, 粗品收率 92%.

1.3 中间体 4a~4h 的合成

1.3.1 中间体 4a~4d 的合成

4-{2-[4-(2,3,4-三甲氧基苄基)哌嗪-1-基]-2-氧代乙氧基}苯甲酸乙酯(4a)的合成: 将对羟基苯甲酸乙酯(3a)(0.86 g, 0.005 mol)溶于 15 mL 无水乙腈中, 搅拌下加入研细的碳酸钾粉末(2.1 g, 0.015 mol), 再一次性投入 2 (1.7 g, 0.005 mol), 回流反应 4 h. 抽滤, 减压蒸干滤液得黄色油状物, 柱层析[洗脱剂: *V*(石油醚): *V*(丙酮): *V*(三乙胺)=4:1:0.1]得 0.65 g 近白色油状物 4a, 收率 27.5%. 同法可制得 4b~4d, 其波谱数据见表 1.

Compd.	X	A	R	Compd.	X	A	R
4a	C	4-O	H	4e	N	6-O	H
4b	C	4-O	3-NO ₂	4f	N	6-O	5-Br
4c	C	4-OI	3-Br	4g	N	6-O	5-Cl
4d	C	4-O	3-Cl	4h	N	4-O	6-CH ₃

Compd.	X	A	R	Compd.	X	A	R
6a	C	4-O	H	6e	N	6-O	H
6b	C	4-O	3-NO ₂	6f	N	6-O	5-Br
6c	C	4-OI	3-Br	6g	N	6-O	5-Cl
6d	C	4-O	3-Cl

Scheme 2

4-{2-[4-(2,3,4-三甲氧基苄基)哌嗪-1-基]-2-氧代乙氧基}-3-硝基苯甲酸乙酯(4b): 白色固体, 收率 24%. m.p. 114~116 °C.

表 1 化合物 4a~4h 和 5a~5h 的氢谱数据
Table 1 ^1H NMR spectral data of compounds 4a~4h and 5a~5g

Compd.	^1H NMR δ
4a	300 MHz, CDCl_3 : 1.38 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, CH_3), 2.44~2.46 (m, 4H, piperazin), 3.47 (s, 2H, CH_2), 3.53~3.62 (m, 4H, piperazin), 3.86 (s, 3H, OCH_3), 3.87 (s, 3H, OCH_3), 3.88 (s, 3H, OCH_3), 4.33 (q, $J=7.2$ Hz, 2H, CH_2), 4.74 (s, 2H, CH_2), 6.63 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, ArH), 6.94~6.97 (m, 3H, ArH), 8.00 (dd, $J=1.95$, 7.05 Hz, 2H, ArH)
4b	300 MHz, CDCl_3 : 1.40 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, CH_3), 2.41~2.48 (m, 4H, piperazin), 3.46 (s, 2H, CH_2), 3.60~3.67 (m, 4H, piperazin), 3.86 (s, 3H, OCH_3), 3.87 (s, 3H, OCH_3), 3.88 (s, 3H, CH_3), 4.39 (q, $J=7.2$ Hz, 2H, CH_2), 4.91 (s, 2H, CH_2), 6.63 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, ArH), 6.95 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, ArH), 7.22 (d, $J=8.7$ Hz, 1H, ArH), 8.19 (dd, $J=2.1$, 8.7 Hz, 1H, ArH), 8.51 (d, $J=2.1$ Hz, 1H, ArH)
4c	300 MHz, CDCl_3 : 1.38 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, CH_3), 2.41~2.49 (m, 4H, piperazin), 3.46 (s, 2H, CH_2), 3.61~3.62 (m, 4H, piperazin), 3.86 (s, 3H, OCH_3), 3.87 (s, 3H, OCH_3), 3.88 (s, 3H, OCH_3), 4.35 (q, $J=7.2$ Hz, 2H, CH_2), 4.84 (s, 2H, CH_2), 6.63 (d, $J=8.7$ Hz, 1H, ArH), 6.94~7.00 (m, 2H, ArH), 7.96 (dd, $J=2.1$ Hz, 8.7 Hz, 1H, ArH), 8.24 (d, $J=2.1$ Hz, 1H, ArH)
4d	500 MHz, CDCl_3 : 1.38 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, CH_3), 2.41~2.48 (m, 4H, piperazin), 3.46 (s, 2H, CH_2), 3.59~3.61 (m, 4H, piperazin), 3.86 (s, 3H, OCH_3), 3.87 (s, 3H, OCH_3), 3.88 (s, 3H, OCH_3), 4.34 (q, $J=7.2$ Hz, 2H, CH_2), 4.83 (s, 2H, CH_2), 6.63 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, ArH), 6.94 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, ArH), 7.01 (d, $J=8.6$ Hz, 1H, ArH), 7.90 (dd, $J=2.0$, 8.4 Hz, 1H, ArH), 8.05 (d, $J=2.0$ Hz, 1H, ArH)
4e	300 MHz, CDCl_3 : 1.35 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, CH_3), 2.47~2.57 (m, 4H, piperazin), 3.52 (s, 2H, CH_2), 3.55~3.65 (m, 4H, piperazin), 3.86 (s, 3H, OCH_3), 3.88 (s, 3H, OCH_3), 3.89 (s, 3H, OCH_3), 4.31 (q, $J=7.2$ Hz, 2H, CH_2), 4.78 (s, 2H, OCH_2CO), 6.56 (d, $J=9.6$ Hz, 1H, ArH), 6.65 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, ArH), 6.98 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, ArH), 7.89 (dd, $J=2.4$, 9.6 Hz, 1H, ArH), 8.15 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, ArH)
4f	300 MHz, CDCl_3 : 1.35 (t, $J=6.9$ Hz, 3H, CH_3), 2.52~2.60 (m, 4H, piperazin), 3.56 (s, 2H, CH_2), 3.62~3.64 (m, 4H, piperazin), 3.87 (s, 3H, OCH_3), 3.88 (s, 3H, OCH_3), 3.90 (s, 3H, OCH_3), 4.31 (q, $J=6.9$ Hz, 2H, CH_2), 4.82 (s, 2H, OCH_2CO), 6.66 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, ArH), 7.00 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, ArH), 8.15 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, ArH), 8.29 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, ArH)
4g	300 MHz, CDCl_3 : 1.35 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, CH_3), 2.50~2.57 (m, 4H, piperazin), 3.52 (s, 2H, CH_2), 3.58~3.64 (m, 4H, piperazin), 3.87 (s, 3H, OCH_3), 3.88 (s, 3H, OCH_3), 3.90 (s, 3H, OCH_3), 4.31 (q, $J=7.2$ Hz, 2H, CH_2), 4.82 (s, 2H, OCH_2CO), 6.65 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, ArH), 7.00 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, ArH), 8.08 (d, $J=2.1$ Hz, 1H, ArH), 8.11 (d, $J=2.1$ Hz, 1H, ArH)
4h	300 MHz, CDCl_3 : 1.35 (t, $J=6.9$ Hz, 3H, CH_3), 2.18 (s, 3H, CH_3), 2.28~2.55 (m, 4H, piperazin), 3.53 (s, 2H, CH_2), 3.50~3.64 (m, 4H, piperazin), 3.87 (s, 3H, OCH_3), 3.88 (s, 3H, OCH_3), 3.90 (s, 3H, OCH_3), 4.31 (q, $J=6.9$ Hz, 2H, CH_2), 4.74 (s, 2H, OCH_2CO), 6.33 (s, 1H, ArH), 6.66 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, ArH), 6.97 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, ArH), 8.03 (s, 1H, ArH)
5a	300 MHz, CDCl_3 : 2.61~2.67 (m, 4H, piperazin), 3.47 (s, 2H, CH_2), 3.63~3.70 (m, 4H, piperazin), 3.86 (s, 3H, OCH_3), 3.87 (s, 3H, OCH_3), 3.88 (s, 3H, OCH_3), 4.84 (s, 2H, CH_2), 6.64 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, ArH), 6.94~6.97 (m, 3H, ArH), 8.05 (d, $J=8.7$ Hz, 2H, ArH)
5b	300 MHz, CDCl_3 : 2.61~2.67 (m, 4H, piperazin), 3.46 (s, 2H, CH_2), 3.71~3.77 (m, 4H, piperazin), 3.86 (s, 3H, OCH_3), 3.87 (s, 3H, OCH_3), 3.88 (s, 3H, OCH_3), 4.91 (s, 2H, CH_2), 6.63 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, ArH), 6.95 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, ArH), 7.24 (d, $J=8.7$ Hz, 1H, ArH), 8.39 (dd, $J=2.1$, 8.7 Hz, 1H, ArH), 8.75 (d, $J=2.1$ Hz, 1H, ArH)
5c	500 MHz, CDCl_3 : 2.61~2.67 (m, 4H, piperazin), 3.67~3.75 (m, 6H, CH_2 , piperazin), 3.86 (s, 3H, OCH_3), 3.87 (s, 3H, OCH_3), 3.88 (s, 3H, OCH_3), 4.83 (s, 2H, CH_2), 6.64 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, ArH), 6.97~7.03 (m, 2H, ArH), 7.97 (dd, $J=2.0$, 8.6 Hz, 1H, ArH), 8.27 (d, $J=2.0$ Hz, 1H, ArH)
5d	500 MHz, CDCl_3 : 2.61~2.67 (m, 4H, piperazin), 3.46 (s, 2H, CH_2), 3.67~3.75 (m, 4H, piperazin), 3.86 (s, 3H, OCH_3), 3.87 (s, 3H, OCH_3), 3.88 (s, 3H, OCH_3), 4.83 (s, 2H, CH_2), 6.64 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, ArH), 6.97~7.03 (m, 2H, ArH), 7.97 (dd, $J=2.0$, 8.6 Hz, 1H, ArH), 8.27 (d, $J=2.0$ Hz, 1H, ArH)
5e	300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$: 3.16 (s, 2H, CH_2), 3.24~3.38 (m, 4H, piperazin), 3.77 (s, 3H, OCH_3), 3.82 (s, 3H, OCH_3), 3.87 (s, 3H, OCH_3), 4.06~4.27 (m, 4H, piperazin), 4.93 (s, 2H, OCH_2CO), 6.42 (d, $J=9.6$ Hz, 1H, ArH), 6.88 (d, $J=8.1$ Hz, 1H, ArH), 7.30 (s, 1H, ArH), 7.80 (dd, $J=2.4$, 9.6 Hz, 1H, ArH), 8.34 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, ArH), 12.71 (br s, 1H, COOH)
5f	300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$: 3.15 (s, 2H, CH_2), 3.24~3.38 (m, 4H, piperazin), 3.76 (s, 3H, OCH_3), 3.81 (s, 3H, OCH_3), 3.86 (s, 3H, OCH_3), 4.03~4.19 (m, 4H, piperazin), 5.04 (s, 2H, OCH_2CO), 6.87 (d, $J=8.7$ Hz, 1H, ArH), 7.36 (d, $J=8.7$ Hz, 1H, ArH), 8.17 (d, $J=2.1$ Hz, 1H, ArH), 8.40 (d, $J=2.1$ Hz, 1H, ArH), 12.92 (br s, 1H, COOH)
5g	300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$: 2.73~3.02 (m, 4H, piperazin), 3.16 (s, 2H, CH_2), 3.39~3.56 (m, 4H, piperazin), 3.76 (s, 3H, OCH_3), 3.81 (s, 3H, OCH_3), 3.84 (s, 3H, OCH_3), 5.05 (s, 2H, OCH_2CO), 6.85 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, ArH), 7.28 (s, 1H, ArH), 8.02 (d, $J=2.1$ Hz, 1H, ArH), 8.40 (d, $J=2.1$ Hz, 1H, ArH), 12.11 (brs, 1H, COOH)

4-{2-[4-(2,3,4-三甲氧基苄基)哌嗪-1-基]-2-氧代乙氧基}-3-溴苯甲酸乙酯(**4c**): 白色固体, 收率 44%, m.p. 69~71 °C.

4-{2-[4-(2,3,4-三甲氧基苄基)哌嗪-1-基]-2-氧代乙氧基}-3-氯苯甲酸乙酯(**4d**): 白色油状物, 收率 57%.

1.3.2 中间体 **4e**~**4h** 的合成

6-{2-[4-(2,3,4-三甲氧基苄基)哌嗪-1-基]-2-氧代乙氧基}-3-吡啶羧酸乙酯(**4e**)的合成: 将 6-羟基烟酸乙酯 **3e** (0.5 g, 0.003 mol)溶于 15 mL 无水 DMF 中, 搅拌下加入研细的无水碳酸钾粉末(2.1 g, 0.015 mol), 搅拌 0.5 h 后滴加 **2** (1.03 g, 0.003 mol)的无水 DMF 溶液 5 mL, 滴毕, 升温至 40 °C 反应 1 h. 抽滤, 将滤液倒入 50 mL 水中, 乙酸乙酯萃取(50 mL×3), 合并酯层, 饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥过夜. 抽滤, 减压蒸干滤液得淡黄色油状物, 柱层析[洗脱剂: *V*(石油醚): *V*(丙酮): *V*(三乙胺)=3:1:0.1]得 1.17 g 白色固体 **4e**, 收率 82.3%, m.p. 62~65 °C. 同法可制得 **4f**~**4h**, 其波谱数据见表 1.

6-{2-[4-(2,3,4-三甲氧基苄基)哌嗪-1-基]-2-氧代乙氧基}-5-溴-3-吡啶羧酸乙酯(**4f**): 白色固体, 收率 80.2%, m.p. 75~77 °C.

6-{2-[4-(2,3,4-三甲氧基苄基)哌嗪-1-基]-2-氧代乙氧基}-5-氯-3-吡啶羧酸乙酯(**4g**): 白色固体, 收率 53.3%, m.p. 152~155 °C.

4-{2-[4-(2,3,4-三甲氧基苄基)哌嗪-1-基]-2-氧代乙氧基}-6-甲基-3-吡啶羧酸乙酯(**4h**): 白色固体, 收率 66.5%, m.p. 162~164 °C.

1.4 中间体 **5a**~**5g** 的合成

4-{2-[4-(2,3,4-三甲氧基苄基)哌嗪-1-基]-2-氧代乙氧基}苯甲酸(**5a**)的合成: 将 **4a** (0.60 g, 1.27 mmol)和 60%甲醇水溶液(36 mL)搅拌混合后加热至回流, 溶解后, 加入无水碳酸钾粉末(0.53 g, 3.8 mmol), 反应 0.5 h 后减压蒸除甲醇, 2%盐酸调 pH 约为 7(等电点), 黄色油状物析出, 用 50 mL 氯仿萃取油状物, 饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 抽滤, 减压蒸干滤液得 0.28 g 白色油状物 **5a**, 收率 50%. 同法可制得 **5b**~**5g**. 其波谱数据见表 1.

4-{2-[4-(2,3,4-三甲氧基苄基)哌嗪-1-基]-2-氧代乙氧基}-3-硝基-苯甲酸(**5b**): 黄色油状物, 收率 56.3%.

4-{2-[4-(2,3,4-三甲氧基苄基)哌嗪-1-基]-2-氧代乙氧基}-3-溴-苯甲酸(**5c**): 白色固体, 收率 53%, m.p. 57~60 °C.

4-{2-[4-(2,3,4-三甲氧基苄基)哌嗪-1-基]-2-氧代乙氧基}-3-氯-苯甲酸(**5d**): 白色油状物, 收率 48%.

6-{2-[4-(2,3,4-三甲氧基苄基)哌嗪-1-基]-2-氧代乙氧基}-3-吡啶羧酸(**5e**): 白色固体, 收率 93.0%, m.p. 146~148 °C.

6-{2-[4-(2,3,4-三甲氧基苄基)哌嗪-1-基]-2-氧代乙氧基}-5-溴-3-吡啶羧酸(**5f**): 白色固体, 收率 88.5%, m.p. 178~180 °C.

6-{2-[4-(2,3,4-三甲氧基苄基)哌嗪-1-基]-2-氧代乙氧基}-5-氯-3-吡啶羧酸(**5g**): 白色固体, 收率 90.7%, m.p. 218~220 °C.

1.5 目标物 **6a**~**6h** 的合成

1.5.1 目标物 **6a**~**6g** 的合成

4-{2-[4-(2,3,4-三甲氧基苄基)哌嗪-1-基]-2-氧代乙氧基}苯甲酰肼(**6a**)的合成: 将 **5a** (0.307 g, 0.68 mmol)溶于 2 mL 无水 DMF 中, 加入 1-羟基苯并三唑(HOBT) (0.09 g, 0.68 mmol)和 1-乙基-3-(3-二甲胺基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDCI) (0.13 g, 0.68 mmol), 搅拌溶解后, 加入水(2 mL), 加毕, 快速加入游离肼(0.16 g, 2.7 mmol), 室温反应 2 h. 将反应液搅拌下倒入 *V*(乙酸乙酯): *V*(水)=3:2 的混合溶液 50 mL 中, 乙酸乙酯萃取(50 mL×3). 合并酯层, 饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸镁干燥, 抽滤, 减压蒸干滤液得黄色油状物, 柱层析[洗脱剂: *V*(乙酸乙酯): *V*(甲醇): *V*(三乙胺)=15:1:0.1]分离, 得 0.17 g 白色固体 **6a**, 收率 50.6%, m.p. 62~64 °C. 同法可制得目标物 **6b**~**6g**, 其元素分析见表 2, 波谱数据见表 3.

4-{2-[4-(2,3,4-三甲氧基苄基)哌嗪-1-基]-2-氧代乙氧基}-3-硝基苯甲酰肼(**6b**): 黄色固体, 收率 45%, m.p. 164~167 °C.

4-{2-[4-(2,3,4-三甲氧基苄基)哌嗪-1-基]-2-氧代乙氧基}-3-溴苯甲酰肼(**6c**): 白色固体, 收率 40%, m.p. 205~207 °C.

4-{2-[4-(2,3,4-三甲氧基苄基)哌嗪-1-基]-2-氧代乙氧基}-3-氯苯甲酰肼(**6d**): 白色固体, 收率 48%, m.p. 198~201 °C.

6-{2-[4-(2,3,4-三甲氧基苄基)哌嗪-1-基]-2-氧代乙氧基}-3-吡啶甲酰肼(**6e**): 白色固体, 收率 34.2%, m.p. 231~233 °C.

6-{2-[4-(2,3,4-三甲氧基苄基)哌嗪-1-基]-2-氧代乙氧基}-5-溴-3-吡啶甲酰肼(**6f**): 白色固体, 收率 31.9%, m.p. 218~220 °C.

6-{2-[4-(2,3,4-三甲氧基苄基)哌嗪-1-基]-2-氧代乙氧基}-5-氯-3-吡啶甲酰肼(**6g**): 白色固体, 收率 40.6%, m.p. 247~249 °C.

表 2 化合物 6a~6h 的元素分析和生物活性
Table 2 Elemental analysis and characterization data of compounds 6a~6h

Compd.	Formula	Elemental analysis, found (calcd)			IC ₅₀ ^a /(nmol·L ⁻¹)
		C	H	N	
6a	C ₂₄ H ₃₀ N ₆ O ₈	57.98 (58.29)	6.59 (6.52)	14.03 (14.16)	7.48
6b	C ₂₄ H ₃₁ N ₅ O ₆	54.14 (54.33)	5.63 (5.69)	15.76 (15.84)	0.104
6c	C ₂₄ H ₃₀ BrN ₅ O ₆	50.52 (50.26)	5.48 (5.45)	12.16 (12.21)	1.27
6d	C ₂₄ H ₃₀ N ₅ O ₆ Cl	55.35 (55.43)	6.03 (5.81)	13.39 (13.46)	0.835
6e	C ₂₃ H ₃₀ N ₆ O ₆	56.54 (56.78)	6.05 (6.21)	17.19 (17.27)	94.3
6f	C ₂₃ H ₂₉ N ₆ O ₆ Br	48.73 (48.86)	5.13 (5.17)	14.59 (14.86)	11.7
6g	C ₂₃ H ₂₉ N ₆ O ₆ Cl	52.76 (53.03)	5.46 (5.61)	16.09 (16.13)	16.1
6h	C ₂₄ H ₃₂ N ₆ O ₆	57.34 (57.59)	6.57 (6.44)	16.55 (16.79)	1200

^a IC₅₀ value of cariporide in the same testing was 30.7 nmol·L⁻¹.

表 3 化合物 6a~6h 的 IR, MS 和 ¹H NMR 数据
Table 3 IR, MS and ¹H NMR data of compounds 6a~6h

Compd.	IR ν/cm ⁻¹	ESI-MS <i>m/z</i>	¹ H NMR δ
6a	3360, 1735, 1465, 1352, 1094, 789	486.2 [M+H] ⁺	300 MHz, CDCl ₃ : 2.45~2.47 (m, 4H, piperazin), 3.47 (s, 2H, CH ₂), 3.54~3.63 (m, 4H, piperazin), 3.86 (s, 3H, OCH ₃), 3.87 (s, 3H, OCH ₃), 3.88 (s, 3H, OCH ₃), 4.75 (s, 2H, CH ₂), 6.64 (d, <i>J</i> =8.7 Hz, 1H, ArH), 6.91 (d, <i>J</i> =8.7 Hz, 2H, ArH), 6.96 (d, <i>J</i> =8.4 Hz, 1H, ArH), 8.11 (d, <i>J</i> =8.7 Hz, 2H, ArH)
6b	3442, 1705, 1495, 1343, 1095, 796	531.2 [M+H] ⁺	300 MHz, CDCl ₃ : 2.42~2.47 (m, 4H, piperazin), 3.46 (s, 2H, CH ₂), 3.61~3.67 (m, 4H, piperazin), 3.86 (s, 3H, OCH ₃), 3.87 (s, 3H, OCH ₃), 3.88 (s, 3H, OCH ₃), 4.89 (s, 2H, CH ₂), 6.50 (br s, 4H, NH), 6.63 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1H, ArH), 6.94 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1H, ArH), 7.11 (d, <i>J</i> =8.8 Hz, 1H, ArH), 8.31 (dd, <i>J</i> =2.0, 8.8 Hz, 1H, ArH), 8.67 (d, <i>J</i> =2.0 Hz, 1H, ArH)
6c	3451, 1651, 1494, 1349, 1094, 788	566.1 [M+H] ⁺	500 MHz, CDCl ₃ : 2.41~2.48 (m, 4H, piperazin), 3.46 (s, 2H, CH ₂), 3.59~3.61 (m, 4H, piperazin), 3.86 (s, 3H, OCH ₃), 3.87 (s, 3H, OCH ₃), 3.88 (s, 3H, OCH ₃), 4.82 (s, 2H, CH ₂), 6.63 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1H, ArH), 6.64 (brs, 4H, NH), 6.89 (d, <i>J</i> =8.7 Hz, 1H, ArH), 6.95 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1H, ArH), 8.06 (dd, <i>J</i> =2.0, 8.7 Hz, 1H, ArH), 8.39 (d, <i>J</i> =2.0 Hz, 1H, ArH)
6d	3449, 1650, 1494, 1349, 1095, 789	520.1 [M+H] ⁺	500 MHz, CDCl ₃ : 2.42~2.48 (m, 4H, piperazin), 3.46 (s, 2H, CH ₂), 3.59~3.61 (m, 4H, piperazin), 3.86 (s, 3H, OCH ₃), 3.87 (s, 3H, OCH ₃), 3.88 (s, 3H, OCH ₃), 4.81 (s, 2H, CH ₂), 6.53 (br s, 4H, NH), 6.63 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1H, ArH), 6.91~6.96 (m, 2H, ArH), 8.00 (dd, <i>J</i> =1.7, 8.5 Hz, 1H, ArH), 8.21 (d, <i>J</i> =1.7 Hz, 1H, ArH)
6e	3425, 1664, 1542, 1353, 1096, 796	487.2 [M+H] ⁺	300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ : 2.35~2.44 (m, 4H, piperazin), 3.17 (s, 2H, CH ₂), 3.33 (s, 3H, OCH ₃), 3.44~3.48 (m, 4H, piperazin), 3.74 (s, 3H, OCH ₃), 3.79 (s, 3H, OCH ₃), 4.88 (s, 2H, OCH ₂ CO), 6.33 (d, <i>J</i> =9.3 Hz, 1H, ArH), 6.78 (d, <i>J</i> =8.7 Hz, 1H, ArH), 7.00 (d, <i>J</i> =8.7 Hz, 1H, ArH), 7.98 (d, <i>J</i> =9.3 Hz, 1H, ArH), 8.23 (d, <i>J</i> =2.0 Hz, 1H, ArH)
6f	3429, 1652, 1536, 1352, 1096, 724	567.0 [M+H] ⁺	300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ : 2.35~2.44 (m, 4H, piperazin), 3.32 (s, 2H, CH ₂), 3.44~3.48 (m, 4H, piperazin), 3.74 (s, 3H, OCH ₃), 3.78 (s, 3H, OCH ₃), 3.79 (s, 3H, OCH ₃), 4.98 (s, 2H, OCH ₂ CO), 6.78 (d, <i>J</i> =8.7 Hz, 1H, ArH), 7.00 (d, <i>J</i> =8.7 Hz, 1H, ArH), 8.28 (d, <i>J</i> =2.1 Hz, 1H, ArH), 8.43 (d, <i>J</i> =2.1 Hz, 1H, ArH)
6g	3430, 1651, 1533, 1354, 1096, 742	521.2 [M+H] ⁺	300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ : 2.35~2.45 (m, 4H, piperazin), 3.33 (s, 2H, CH ₂), 3.44~3.48 (m, 4H, piperazin), 3.74 (s, 3H, OCH ₃), 3.78 (s, 3H, OCH ₃), 3.79 (s, 3H, OCH ₃), 4.98 (s, 2H, OCH ₂ CO), 6.78 (d, <i>J</i> =8.7 Hz, 1H, ArH), 7.00 (d, <i>J</i> =8.7 Hz, 1H, ArH), 8.24 (d, <i>J</i> =2.1 Hz, 2H, ArH)
6h	3422, 1647, 1534, 1467, 1343, 1095, 774	501.4 [M+H] ⁺	300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ : 2.22 (s, 3H, CH ₃), 3.37~3.47 (m, 8H, piperazin), 3.59 (s, 2H, CH ₂), 3.71 (s, 3H, OCH ₃), 3.74 (s, 3H, OCH ₃), 3.78 (s, 3H, OCH ₃), 5.28 (s, 2H, OCH ₂ CO), 6.50 (s, 1H, ArH), 6.78 (d, <i>J</i> =8.7 Hz, 1H, ArH), 7.00 (d, <i>J</i> =8.7 Hz, 1H, ArH), 7.47 (brs, 1H, NH), 8.59 (s, 1H, ArH)

1.5.2 4-(2-氧-2-(4-(2,3,4-三甲氧基苄基)-咪唑-1-基)乙氧基)-5-甲基-3-吡啶甲酰胺(6h)的合成

将游离胍(0.48 g, 8.1 mmol)溶于 5 mL 无水异丙醇中, 室温下滴加 **4h** (0.2 g, 0.41 mmol) 的无水异丙醇溶液 5 mL, 室温反应 1 h. 减压蒸去溶剂, 以 10 mL 乙酸乙酯稀释, 搅拌有固体析出, 抽滤, 得白色固体, 柱层析[洗脱剂: $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{甲醇}):V(\text{三乙胺})=8:1:0.1$] 分离, 真空干燥得 0.06 g 白色固体 **6h**, 收率 29.2%, m.p. 205~208 °C. 目标物 **6h** 的元素分析见表 2, 波谱数据见表 3.

1.6 药理分析

药理筛选由中国药科大学药理实验中心完成, 所用动物为 Sprague-Dawley 大鼠, 雌雄各半, 体重 160~250 g, 测试仪器为 Thermo Multiscan Spectrum. 采用血小板肿胀模型(PSA), 以卡立泊来德为阳性对照药, 对所合成的 8 个目标化合物进行体外 NHE1 抑制活性初步筛选. 其中大鼠血小板的肿胀由丙酸钠缓冲液 (pH 6.7) 所诱导, 实验方法参照 Rosskopf 等^[9]报道的方法, 稍作修正. 受试化合物的 IC_{50} 值根据浓度的 $\log$ 值和 NHE1 活性之间的线性关系部分通过线性回归分析而得.

2 结果与讨论

2.1 合成

当我们按照合成 **6a**~**6g** 的方法制备 **6h** 时, 遇到了困难. 将 **4h** 水解成相应的酸 **5h**, 而后加入 EDCI/HOBt

作为缩合剂, 再与游离胍进行反应. TLC 跟踪反应, 发现原料酸并没有与 EDCI/HOBt 反应生成活性酯. 改用 DCC/DMAP 作为缩合剂, 也没有发生反应. 分析原因, 可能是羧基与邻位氧原子之间形成了氢键(Scheme 2), 使反应难以进行.

5h

Scheme 2

为此, 我们将 **4h** 直接与游离胍进行反应, 以无水异丙醇为溶剂, 室温搅拌 1 h, 经后处理得到 **6h**. 此法的优点是可以省去酯水解一步反应, 但游离胍用量大(20 倍), 产物的分离提纯困难, 收率较低^[6]. 由 **4h** 制备 **6h** 的反应式见 Scheme 3.

2.2 药理活性

血小板肿胀模型试验结果见表 2, 结果显示, 8 个化合物对 NHE1 均有不同程度的抑制作用, 其中 **6b** 和 **6d** 活性显著高于阳性药卡立泊来德.

2.3 构效关系

从血小板肿胀模型试验结果可以看出: 以苯甲酰胍为母核的化合物活性要优于以吡啶甲酰胍为母核的化合物. 苯甲酰胍的苯环上连有不同的取代基, 其对活性的影响顺序大致为: $3\text{-NO}_2 > 3\text{-Cl} > 3\text{-Br} > \text{H}$.

Scheme 3

References

- [1] Malo, M. E.; Fliegel, L. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **2006**, *84*, 1081.
- [2] Masereel, B.; Pochet, L.; Laeckmann, D. *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, *38*, 547.
- [3] Karmazyn, M.; Sawyer, M.; Fliegel, L. *Curr. Drug Targets Cardiovasc. Haematol. Disord.* **2005**, *5*, 323.
- [4] Park, H. S.; Lee, B. K.; Park, S.; Kim, S. U.; Lee, S. H.; Baik, E. J.; Lee, S.; Yi, K. Y.; Yoo, S. E.; Moon, C. H.; Jung, Y. S. *Brain Res.* **2005**, *1061*, 67.
- [5] Zhang, R.; Lei, L.; Xu, Y. G.; Hua, W. Y.; Gong, G. Q. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 2430.
- [6] Jiang, X. M.; Du, P.; Xu, Y. G.; Zhang, D.; Gong, G. Q.; You, Q. D.

- Chin. J. Org. Chem.* **2008**, 28(12), 2142 (in Chinese).
(姜向敏, 杜萍, 徐云根, 张迪, 尤启冬, 有机化学, **2008**, 28(12), 2142.)
- [7] Xu, W. T.; Jin, N.; Xu, J.; Xu, Y. G.; Wang, Q. J.; You, Q. D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19, 3283.
- [8] Jin, L.; Jiang, X. M.; Du, P.; Xu, J.; Gong, G. Q.; Wang, Q. J.; Xu, Y. G. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, 46, 4107.
- [9] Rosskopf, D.; Morgenstern, E.; Scholz, W.; Osswald, U.; Siffert, W. *J. Hypertens* **1991**, 9, 231.

(Qin, X.)