

1-甲基-1,2,3,4-四氢异喹啉衍生物的合成及抗日本血吸虫活性评价

王文龙^{a,b,#} 宋丽君^{c,#} 王古平^a 范文华^b 殷旭仁^c
余传信^{*,c} 冯柏年^{*,a,b}

(^a 江南大学药学院 无锡 214122)

(^b 江苏艾凡生物医药有限公司 无锡 214122)

(^c 江苏省寄生虫病防治研究所 无锡 214064)

摘要 大规模使用抗血吸虫病药物吡喹酮产生的耐药性问题备受关注. 为了寻找新型的抗血吸虫病药物, 设计、合成了一类 1-甲基-1,2,3,4-四氢异喹啉衍生物 **2~10**, 并对化合物进行了体外抗日本血吸虫活性评价. 结果显示, 含有氯乙酰基取代的衍生物 **10** 表现了优于吡喹酮的杀虫活性, 可以作为开发新型抗血吸虫病药物的先导化合物.

关键词 吡喹酮; 1-甲基-1,2,3,4-四氢异喹啉衍生物; 日本血吸虫; 杀虫活性

Synthesis and Evaluation of the Antischistosomal Activity against *S. japonicum* of 1-Methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline Derivatives

Wang, Wenlong^{a,b,#} Song, Lijun^{c,#} Wang, Guping^a Fan, Wenhua^b
Yin, Xuren^c Yu, Chuanxin^{*,c} Feng, Bainian^{*,a,b}

(^a School of Pharmaceutical Science, Jiangnan University, Wuxi 214122)

(^b Jiangshu Alpha Biopharmaceuticals, Inc., Wuxi 214122)

(^c Jiangsu Institute of Parasitic Diseases, Wuxi 214064)

Abstract Due to widespread and intensive use of antischistosomal drug, praziquantel (PZQ), there is serious concern that drug-resistant mutants of the parasite may emerge. To develop novel antischistosomal agents, a series of 1-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline derivatives were designed, synthesized, and evaluated for their antischistosomal activity against *S. japonicum* *in vitro*. The results indicated that compound **10** with chloroacetyl group showed better antischistosomal activity than PZQ.

Keywords praziquantel; 1-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline derivatives; *Schistosoma japonicum*; antischistosomal activity

血吸虫病至今仍是严重危害人类身体健康的一种重要人兽共患寄生虫病, 是热带与亚热带地区的重要公共卫生问题. 有 5 种血吸虫寄生在人体, 它们是日本血吸虫、曼氏血吸虫、埃及血吸虫、间接血吸虫和眉公血吸虫^[1]. 全世界约有 76 个国家有血吸虫病流行, 有 6 亿多人口受到血吸虫感染的威胁, 有 2000 万人感染了血吸虫, 每年有 20 余万人死于血吸虫病^[2]. 日本血吸虫严

重危害我国人民的身体健康. 至今, 我国还有 28 万人深受血吸虫病的折磨. 由于缺乏有效的预防血吸虫感染的疫苗, 目前血吸虫病防治主要采取以化疗结合媒介控制为主的综合性防治措施, 查病治病、消灭传染源是我国当前血吸虫病防治工作的核心^[3]. 20 世纪 70 年代, 德国的怡默克与拜耳药厂合作研发了广谱抗蠕虫药吡喹酮, 该药对寄生于人体和动物的多种寄生虫, 特别是对血吸

* E-mail: fengbainian@jiangnan.edu.cn; chxnyu@163.com

Received August 14, 2013; revised September 28, 2013; published online October 10, 2013.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30972581), the Natural Science Foundation of Jiangsu Province (No. BK2008110), the Health Promotion Project Foundation of Jiangsu Province (No. ZX201108), and the Fundamental Research Funds for the Central Universities (No. JUSRP1040).

国家自然科学基金(No. 30972581)、江苏省自然科学基金(No. BK2008110)、江苏省兴卫工程平台(No. ZX201108)和中央高校基本科研业务费(No. JUSRP1040)资助项目.

#并列第一作者(These authors contributed equally to this work).

虫、华支睾吸虫、卫氏并殖吸虫、姜片吸虫及绦虫的成虫都有显著的杀灭作用,并且具有毒性低、疗程短、可以口服用药等诸多优点,很适用于现场大规模普治^[4]. 现在吡喹酮已在全世界的血吸虫病及其它寄生虫病治疗中得到广泛使用,在控制血吸虫病流行中发挥了关键的作用,已成为当前治疗血吸虫病唯一的有效治疗药物^[4]. 由于吡喹酮大规模的使用,已经出现了曼氏血吸虫和埃及血吸虫的耐药株^[5],在实验室也诱导出日本血吸虫的耐药株^[5]. 如果继续大规模使用,血吸虫病人中很可能会出现吡喹酮耐药株流行的局面,在没有新的治疗血吸虫病有效药物问世的情况下,将给全世界未来的血吸虫病防治带来严重的困难与挑战.

为了寻找新型的抗血吸虫病药物,学术界主要从以下三个方向进行研究: (1)寻找具有全新结构骨架的天然药物^[6]; (2)发现抗血吸虫药物研究的疾病靶点,建立药物筛选模型^[7]; (3)设计、合成新型的吡喹酮类似物^[8,9]. 作为一个成熟的抗血吸虫病药物,一方面,人们不清楚吡喹酮确切的生物学作用机制^[6a]; 另一方面,为了应对日益紧迫的耐药性问题,学术界围绕吡喹酮的 5 个位点进行结构修饰(图 1),做了大量的结构与活性的关系(structure-activity-relationships)研究,发现了一些新型的吡喹酮衍生物. 由于研究人员所处地域的血吸虫种属差异,大部分化合物的体外抗血吸虫的活性数据来源于曼氏血吸虫^[8]. 最近,我国学者发现了一些具有抗日本血吸虫活性的吡喹酮类似物^[9]. 例如苏州大学乔春华研究小组^[9a]对吡喹酮的 10 位进行官能团化,将青蒿素结构单元偶联到吡喹酮上,合成的化合物对日本血吸虫的幼虫、成虫均产生了优于吡喹酮的杀虫活性. 2013 年,乔春华研究小组^[9b]又围绕吡喹酮的苯环做了系统的构效关系研究,发现了一些具有良好杀日本血吸虫活性的化合物. 最近,我们研究小组发现了一类含有氯乙酰基的吡喹酮衍生物,它们的体外杀虫活性也明显优于吡喹酮^[10].

为了进一步拓展吡喹酮结构改造的空间,开发全新的分子骨架,本文通过断裂 1 位碳与 2 位氮之间的 C—N 键,设计并合成了一类 1-甲基-1,2,3,4-四氢异喹啉衍生物(图 2),共 9 个化合物,其结构经 ¹H NMR 和 MS 分析测试确认. 体外抗血吸虫活性筛选结果表明该类化合物显示了一定的抑制血吸虫生长和杀虫活性.

1 结果与讨论

1.1 目标化合物的合成与表征

本研究来源于 Aldrich 的消旋体化合物 1-甲基-1,2,3,4-四氢异喹啉(**1**)为起始原料,经过与叔丁氧羰基(Boc)保护的甘氨酸偶联,得到中间体 **2a**;之后,在三氟

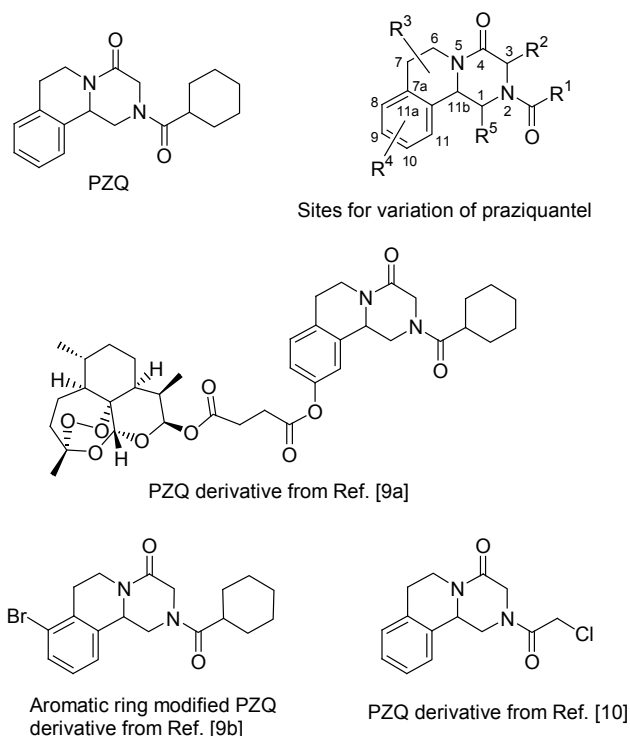


图 1 吡喹酮及其一些已知的衍生物
Figure 1 Chemical structure of praziquantel (PZQ) and reported derivatives

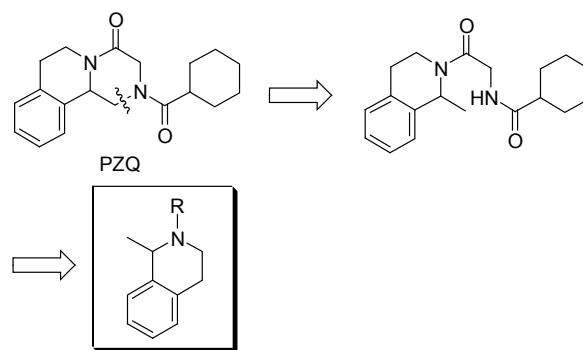
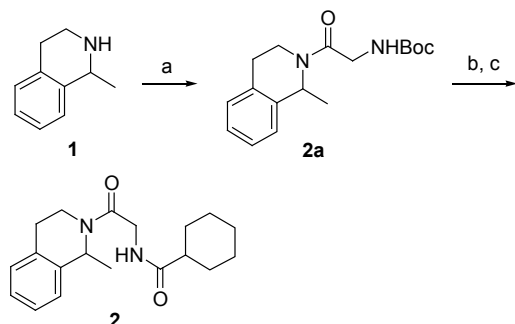


图 2 目标化合物的设计
Figure 2 The design of target compounds

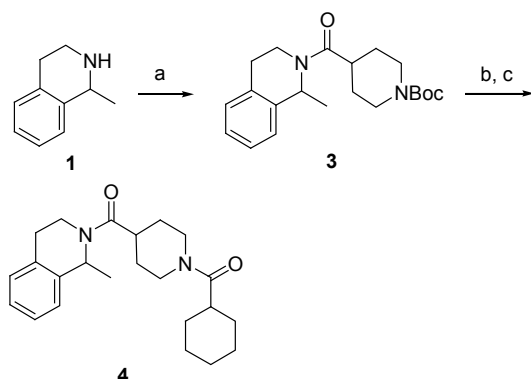
醋酸作用下,脱除保护基 Boc,随后与环己基甲酰氯反应,得到化合物 **2** (Scheme 1). 或者化合物 **1** 在缩合剂 EDCI 存在的条件下与 1-Boc-4-哌啶甲酸偶联,得到化合物 **3**,之后,经过脱除保护基 Boc、与环己基甲酰氯反应,得到化合物 **4** (Scheme 2). 或者化合物 **1** 分别直接与环己基甲酰氯、苯甲酰氯、噻吩甲酰氯、环己基异硫氰酸酯以及氯乙酰氯反应得到化合物 **5~10** (Eq. 1). 此外,将脯氨酸甲酯的氨基氯乙酰化,得到化合物 **11** (Eq. 2). 通过 ¹H NMR 和 MS 等分析方法对所合成的化合物进行了表征. ¹H NMR 谱图中,当原料 1-甲基-1,2,3,4-四氢异喹啉 2 位的胺基转变成衍生物中的酰胺键后,衍生物的核磁出现了以下特点: (1) 1 位 C 上的甲基在分别在 δ

1.4 和 1.5 附近出现两组 d 峰, 耦合常数为 6.8 Hz, 积分比例为 1:2; (2) 2 位 C 上的 CH 在 δ 5.7 和 5.1 附近出现两组 q 峰, 耦合常数为 6.8 Hz, 积分比例为 2:1; (3) 对于 3 位 CH_2 和 4 位 CH_2 以及含酰基侧链上的氢也相应的出现对应的裂分. 事实上, 当杂环胺酰基化后, 化合物容易产生旋转异构体(rotamers)现象^[11]. MS 谱图中, 所有的化合物均出现了 $[\text{M}+1]^+$ 峰.



Reagents and conditions: (a) $\text{BocNHCH}_2\text{COOH}$, EDCI, DMAP, DMF, 87%; (b) TFA, DCM, 100%; (c) cyclohexanecarbonyl chloride, Et_3N , DCM, 80%.

Scheme 1

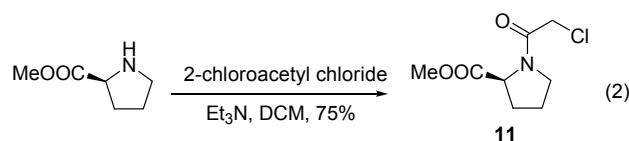
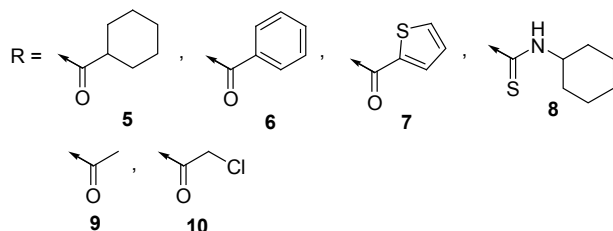
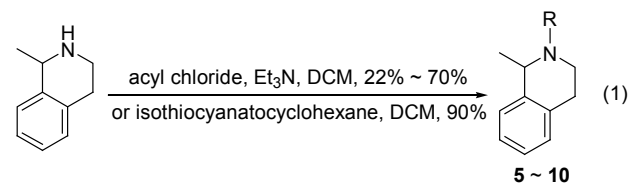


Reagents and conditions: (a) 1-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidine-4-carboxylic acid, EDCI, DMAP, DMF, 62%; (b) TFA, DCM, 83%; (c) cyclohexanecarbonyl chloride, Et_3N , DCM, 32%.

Scheme 2

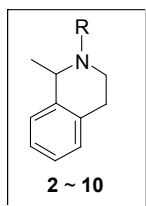
1.2 生物活性测试

体外抗血吸虫活性评价的结果如表 1 所示. 比较吡喹酮和开环类似物 2 的活性, 可以发现, 1 位与 2 位之间的 C—N 键断裂, 对化合物的抗血吸虫活性不利, 化合物 2 只能使血吸虫的活力降低, 而没有杀虫活性. 将 Boc 保护的哌啶甲酰基偶联到化合物 1 的氮原子上, 形成化合物 3. 化合物 3 只能在高浓度 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 表现很弱的麻痹虫体的活性. 如果将化合物 3 的保护基 Boc 替换成环己基甲酰基形成化合物 4, 其麻痹虫体的活性相对于化合物 3 有所提高, 但是没有体现杀虫活性. 将环己基甲酰基直接偶联到化合物 1 的氮原子上, 产生化



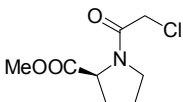
合物 5. 化合物 5 在高浓度 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 下, 体现了一定杀虫活性, 相对于化合物 2~4, 抗血吸虫活性有所提高. 比较化合物 5~7, 含环己基的化合物 5 在 50 和 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 表现了较强的麻痹虫体和杀虫活性, 而含芳香环的化合物 6 和 7 表现了较弱的麻痹虫体的活性, 说明在化合物 1 的胺上引入芳香环不利于化合物的杀虫活性的提高. 在化合物 1 的胺上引入环己基胺硫羰基形成化合物 8, 其在 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 下, 表现了强于化合物 5 的杀虫活性. 在化合物 1 的胺上引入乙酰基形成化合物 9, 在 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 下, 该化合物没有表现麻痹和杀虫活性. 有意思的是, 化合物 1 的胺上引入氯乙酰基形成化合物 10 (文献[12]报道该化合物具有除草剂活性), 其表现了优于吡喹酮的麻痹和杀虫活性, 在 $3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下, 72 h 后, 有 40% 的血吸虫出现了重度麻痹, 有 60% 的血吸虫死亡, 与我们之前报道的化合物活性相仿^[10]. 事实上, 氯乙酰基经常出现在一些活性化合物中^[13], 例如, 曾经进入临床的源于天然产物 Fumagilin 的抗肿瘤药物 TNP470^[14]. 我们也测试了氯乙酸乙酯的抗血吸虫活性, 发现在 $25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下, 72 h 后, 只发现 30% 的血吸虫出现重度麻痹现象, 没有出现血吸虫死亡结果, 说明氯乙酸乙酯的麻痹和杀灭血吸虫的活性比较弱. 将脯氨酸甲酯氯乙酰化得到化合物 11, 发现 11 在 $25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下, 72 h 后, 对血吸虫产生了重度麻痹作用, 没有出现血吸虫死亡结果, 说明化合物 11 的麻痹和杀灭血吸虫的活性比较弱. 以上的这些结果初步说明引入氯乙酰基的化合物 10 形成了独特的杀虫活性药效团, 而与氯乙酰基本身结构的关系不大, 其具体的杀虫机制正在研究之中.

表1 化合物2~11的体外抗日本血吸虫活性

Table 1 Antischistosomal activity on *S. japonicum* adult worms *in vitro* by compounds 2~11

化合物	R	浓度/ (mol·L ⁻¹)	条数	24 h			48 h			72 h		
				活力减轻程度		死亡条数/%	活力减轻程度		死亡条数/%	活力减轻程度		死亡条数/%
				轻度	重度		轻度	重度		轻度	重度	
1640		—	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1% DMSO		—	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PZQ		10	7	0	7	0	0	6	1 (14.3)	0	4	4 (57.1)
		25	9	0	9	0	0	8	1 (11.1)	0	5	4 (44.4)
		50	9	0	8	1 (11.1)	0	6	3 (33.3)	0	4	5 (55.6)
		100	8	0	5	3 (37.5)	0	4	4 (50.0)	0	3	5 (62.5)
2^a		50	10	0	0	0	2	2	0	0	4	0
		100	10	1	0	0	4	0	0	2	3	0
3^a		50	8	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		100	8	1	0	0	0	1	0	0	1	0
4^a		50	8	2	0	0	3	0	0	0	6	0
		100	8	1	0	0	3	0	0	0	4	0
5^a		50	8	2	0	0	0	3	0	0	2	0
		100	8	1	0	0	0	4	0	0	4	2 (25.0)
6^{a,c}		50	9	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		100	9	0	0	0	2	0	0	0	0	0
7^a		50	8	2	0	0	2	0	0	3	0	0
		100	8	1	0	0	1	0	0	0	0	0
8^a		50	9	6	0	0	0	0	0	7	0	0
		100	7	0	7	0	0	0	3 (42.9)	0	2	5 (71.4)
9^{a,c}		50	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		100	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		1	7	0	0	0	0	0	0	0	1	0
10^{b,c}		3	10	10	0	0	0	7	3 (30.0)	0	4	6 (60.0)
		5	8	8	0	0	0	5	3 (37.5)	0	1	7 (87.5)
		8	8	0	0	8 (100)	0	0	8 (100)	0	0	8 (100)
		10	8	0	0	8 (100)	0	0	8 (100)	0	0	8 (100)
		25	9	0	0	9 (100)	0	0	9 (100)	0	0	9 (100)

续表

化合物	R	浓度/ (mol·L ⁻¹)	条数	24 h			48 h			72 h		
				活力减轻程度		死亡条数/%	活力减轻程度		死亡条数/%	活力减轻程度		死亡条数/%
				轻度	重度		轻度	重度		轻度	重度	
11^c		50	8	0	0	8 (100)	0	0	8 (100)	0	0	8 (100)
		100	8	0	0	8 (100)	0	0	8 (100)	0	0	8 (100)
		10	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		25	9	0	0	0	0	0	0	0	9	0
		50	8	0	2	7 (87.5)	0	0	8 (100)	0	0	8 (100)
		100	7	0	0	7 (100)	0	0	7 (100)	0	0	7 (100)

^a 在 50 μmol·L⁻¹ 浓度以下没有表现麻痹血吸虫的活性, 数据重复 3 遍, 取均值; ^b 在 10 μmol·L⁻¹ 下表现 100% 的杀虫活性, 测试浓度下调到 1 μmol·L⁻¹, 并且数据重复 3 遍, 取均值; ^c 化合物为文献报道化合物。

2 结论

通过简化吡嗪酮的分子骨架, 我们以化合物 1-甲基-1,2,3,4-四氢异喹啉(**1**)为起始原料, 在 2 位的胺基上引入不同的酰基, 合成了 9 个具有全新分子骨架的抗血吸虫化合物, 其中含氯乙酰基的化合物 **10** 具有优于吡嗪酮的杀血吸虫生物活性, 可以作为开发新型抗日本血吸虫药物的先导化合物。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

¹H NMR 用 BRUKER AVIII-400 型核磁共振仪测定(TMS 为内标, CDCl₃ 和 DMSO-*d*₆ 为溶剂); ESI-MS 用 Waters Micromas Platform LCZ 型液相色谱质谱联用仪; ESI-HRMS 用 Waters MALDI SYNAPT Q-ToF 质谱仪。本实验所用试剂均为 AR 级或 CP 级。

3.2 化合物的合成

3.2.1 *N*-[2-(1-甲基-3,4-二氢异喹啉-2(1*H*)-基)-2-氧代乙基]-环己基甲酰胺(**2**)的合成

在装有 *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF) (20 mL) 的圆底烧瓶中, 依次加入化合物 **1** (1.98 g, 13.5 mmol), EDCI (3.89 g, 20.3 mmol), 4-二甲氨基吡啶(DMAP) (0.33 g, 2.7 mmol), Boc-甘氨酸 (2.36 g, 13.5 mmol), 常温搅拌。TCL 监测至反应完毕, 反应液经乙酸乙酯稀释(200 mL), 水洗后(50 mL×6), 干燥得粗品 **2a** (3.55 g, 87%)。化合物 **2a** (3.55 g, 11.7 mmol) 溶于二氯甲烷(DCM) (40 mL) 中, 随后加入三氟乙酸(TFA) (10 mL), 常温搅拌至反应结束, 饱和碳酸钠溶液淬灭反应, 水相用 DCM (100 mL×3) 萃取, 浓缩干燥, 得中间体(2.38 g, 100%)。将中间体 (2.38 g, 11.7 mmol) 溶于 DCM (10 mL) 中, 冰浴条件下依次加入环己基甲酰氯(1.34 mL, 10 mmol)、三乙胺(2.09 mL, 15 mmol)后, 常温搅拌。反应完毕后, 经柱纯化 [*V*(石油醚): *V*(乙酸乙酯)=3:1] 得白色固体 **2** (2.94 g, 80.0%)。¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): mixture of 2 rotamers δ : 1.18~1.36 (m, 5H), 1.40, 1.53 (each d, *J*=6.8

Hz, total 3H), 1.65~1.77 (m, 5H), 2.23~2.29 (m, 1H), 2.72~2.98 (m, 2H), 3.07~3.14, 3.46~3.53 (each m, total 1H), 3.83~3.88, 4.43~4.46 (each m, total 1H), 4.02~4.09 (m, 2H), 5.14, 5.47 (each q, *J*=6.8 Hz, total 1H), 7.18~7.28 (m, 4H), 7.82 (t, *J*=6.4 Hz, 1H); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): mixture of 2 rotamers, major (M) and minor (m) δ : 21.7 (M, CH₃), 22.9 (m, CH₃), 25.7 (M, CH₂), 25.8 (m, CH₂), 28.3 (m, CH₂), 29.0 (M, CH₂), 29.6 (CH₂), 35.6 (m, CH₂), 38.8 (M, CH₂), 41.3 (m, CH), 41.5 (M, CH), 45.2 (CH₂), 49.2 (M, CH), 51.0 (m, CH), 126.5 (m, CH), 126.6 (M, CH), 126.7 (CH), 126.9 (M, CH), 127.0 (m, CH), 128.6 (M, CH), 129.2 (m, CH), 132.9 (M, C), 133.6 (m, C), 136.9 (m, C), 137.9 (M, C), 166.5 (C), 176.1 (m, C), 176.2 (M, C); MS (ESI) *m/z*: 315.5 [M+H]⁺; HRMS (ESI) calcd for C₁₉H₂₆N₂NaO₂ [M+Na]⁺ 337.1886, found 337.1840。

3.2.2 4-(1-甲基-1,2,3,4-四氢异喹啉-2-羰基)-哌啶-1-碳酸叔丁基酯(**3**)的合成

在装有 DMF (10 mL) 的圆底烧瓶中, 依次加入化合物 **1** (0.5 g, 3.4 mmol), EDCI (0.98 g, 5.1 mmol), DMAP (80 mg, 0.7 mmol), 1-Boc-4-哌啶甲酸(0.78 g, 3.4 mmol), 常温搅拌, TCL 监测至反应完毕, 反应液经乙酸乙酯稀释(250 mL)、水洗(50 mL×3)、2 mol/L HCl 酸洗, 干燥得白色固体 **3** (0.76 g, 62%)。 ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) mixture of 2 rotamers δ : 1.42, 1.58 (each d, *J*=6.8 Hz, total 3H), 1.46 (s, 9H), 1.62~1.74 (m, 4H), 2.68~2.95 (m, 5H), 3.01~3.09, 3.49~3.56 (each m, total 1H), 3.89~3.94, 4.67~4.70 (each m, total 1H), 4.11~4.18 (m, 2H), 5.05, 5.65 (each q, *J*=6.8 Hz, total 1H), 7.10~7.21 (m, 4H); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): mixture of 2 rotamers, major (M) and minor (m) δ : 21.6 (M, CH₃), 23.7 (m, CH₃), 28.4 (CH₃), 28.5 (M, CH₂), 29.0 (m, CH₂), 29.8 (CH₂), 35.2 (CH), 38.9 (M, CH₂), 39.0 (m, CH₂), 39.3 (M, CH₂), 43.3 (m, CH₂), 48.6 (M, CH), 51.8 (m, CH), 79.5 (C), 126.3 (m, CH), 126.4 (M, CH), 126.5 (M, CH), 126.6

(m, CH), 126.9 (m, CH), 127.2 (M, CH), 128.5 (M, CH), 129.3 (m, CH), 133.0 (M, C), 134.4 (m, C), 137.5 (m, C), 138.7 (M, C), 154.7 (C), 172.7 (M, C), 173.1 (m, C); MS (ESI) m/z : 359.4 $[M+H]^+$; HRMS (ESI) calcd for $C_{21}H_{30}N_2NaO_3$ $[M+Na]^+$ 381.2149, found 381.2118.

3.2.3 (1-环己烷羰基-哌啶-4-基)-[1-甲基-3,4-二氢异喹啉-2(1*H*)-基]-甲酮(4)的合成

将化合物 **3** (2.0 g, 5.6 mmol)溶于 DCM (25 mL)中, 冰浴下滴加三氟乙酸(6 mL), 常温搅拌至反应结束, 饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 值到 7, 经 DCM/MeOH ($V/V=5/1$)的混合溶液(200 mL)萃取得中间体(1.2 g, 83%). 将中间体(0.6 g, 2.3 mmol)溶于 DCM (5 mL)中, 冰浴条件下加入环己基甲酰氯(301 μ L, 2.3 mmol)后, 常温搅拌. 反应完毕后, 碱洗得淡黄色固体 **4** (0.27 g, 32%). 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): mixture of 2 rotamers δ : 1.20~1.30 (m, 4H), 1.43, 1.58 (each d, $J=6.8$ Hz, total 3H), 1.47~1.55 (m, 2H), 1.63~2.08 (m, 9H), 2.45~2.51 (m, 1H), 2.73~2.99 (m, 5H), 3.03~3.10, 3.50~3.57 (each m, total 1H), 3.90~4.02 (m, 1H), 4.61~4.71 (m, 1H), 5.04 (brs), 5.64 (q, $J=6.8$ Hz) (total, 1H), 7.12~7.21 (m, 4H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): mixture of 2 rotamers, major (M) and minor (m) δ : 21.6 (M, CH_3), 23.7 (m, CH_3), 25.9 (CH_2), 28.5 (M, CH_2), 29.3 (M, CH_2), 29.6 (m, CH_2), 29.9 (m, CH_2), 35.2 (M, CH_2), 38.9 (m, CH_2), 39.0 (m, CH_2), 39.3 (M, CH_2), 40.5 (CH_2), 41.2 (CH), 44.8 (CH), 48.6 (CH), 126.3 (m, CH), 126.4 (M, CH), 126.5 (m, CH), 126.6 (M, CH), 126.9 (m, CH), 127.2 (M, CH), 128.5 (M, CH), 129.3 (m, CH), 132.9 (C), 138.6 (C), 172.3 (C), 174.5 (C); MS (ESI) m/z : 369.2 $[M+H]^+$; HRMS (ESI) calcd for $C_{23}H_{33}N_2O_2$ $[M+H]^+$ 369.2542, found 369.2537.

3.2.4 (1-甲基-3,4-二氢-1*H*-异喹啉-2-基)-取代基-甲酮(5~7, 9, 10)的合成

将化合物 **1** (3.4 mmol)溶于 DCM (10 mL)中, 冰浴条件下加入的各酰氯(2.8 mmol)后, 常温搅拌, TCL 监测至反应完成. 经酸洗、碱洗以及柱层析纯化后得目标产物 **5~7** 和 **9~10**.

环己基-[1-甲基-3,4-二氢异喹啉-2(1*H*)-基]-甲酮(**5**): 淡棕色固体, 产率 54%. 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): mixture of 2 rotamers δ : 1.21~1.31 (m, 4H), 1.42, 1.55 (each d, $J=6.8$ Hz, total 3H), 1.71~1.81 (m, 6H), 2.50~2.63 (m, 1H), 2.71~2.88 (m, 2H), 2.89~3.06, 3.45~3.52 (each m, total 1H), 3.91~3.94, 4.68~4.71 (each m, total 1H), 5.05, 5.66 (each q, $J=6.8$ Hz, total 1H), 7.09~7.19 (m, 4H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): mixture of 2 rotamers, major (M) and minor (m) δ : 21.6 (M, CH_3), 23.6

(m, CH_3), 25.4 (m, CH_2), 25.8 (m, CH_2), 25.9 (M, CH_2), 26.0 (M, CH_2), 28.6 (m, CH_2), 28.9 (M, CH_2), 29.3 (m, CH_2), 29.4 (M, CH_2), 29.9 (M, CH_2), 30.1 (m, CH_2), 35.0 (m, CH_2), 39.2 (M, CH_2), 41.0 (M, CH), 42.9 (m, CH), 48.4 (M, CH), 51.7 (m, CH), 126.1 (m, CH), 126.2 (M, CH), 126.5 (M, CH), 126.7 (m, CH), 126.8 (m, CH), 127.3 (M, CH), 128.5 (M, CH), 129.2 (m, CH), 133.2 (M, C), 134.6 (m, C), 137.9 (m, C), 138.9 (M, C), 174.4 (M, C), 174.9 (m, C); MS (ESI) m/z : 257.7 $[M+H]^+$; HRMS (ESI) calcd for $C_{17}H_{24}NO$ $[M+H]^+$ 258.1858, found 258.1721.

[1-甲基-3,4-二氢异喹啉-2(1*H*)-基]-苯基-甲酮(**6**)^[11b]: 白色固体, 产率 22%. 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): mixture of 2 rotamers δ : 1.50~1.62 (m, 3H), 2.69~3.80 (m, 4H), 4.80~4.84, 5.78~5.80 (each m, total 1H), 6.89~7.42 (m, 9H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): mixture of 2 rotamers, major (M) and minor (m) δ : 21.6 (M, CH_3), 23.3 (m, CH_3), 28.4 (m, CH_2), 29.7 (M, CH_2), 35.3 (m, CH_2), 40.9 (M, CH_2), 48.7 (M, CH), 53.7 (m, CH), 126.6 (M, CH), 127.3 (m, CH), 128.6 (CH), 128.9 (C), 129.5 (CH), 133.0 (C), 136.7 (CH), 138.4 (C), 170.2 (M, C), 170.7 (m, C); MS (ESI) m/z : 251.7 $[M+H]^+$; HRMS (ESI) calcd for $C_{17}H_{18}NO$ $[M+H]^+$ 252.1388, found 252.1315.

[1-甲基-3,4-二氢异喹啉-2(1*H*)-基]-噻吩-2-基-甲酮(**7**): 白色固体, 产率 70%. 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ : 1.62 (d, $J=8.0$ Hz, 3H), 2.80~2.84 (m, 1H), 3.06~3.15 (m, 1H), 3.37~3.59 (m, 1H), 4.25~4.44 (m, 1H), 5.46~5.65 (m, 1H), 7.07 (dd, $J=3.6, 4.8$ Hz, 1H), 7.14~7.19 (m, 4H), 7.36 (d, $J=3.2$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J=4.8$ Hz, 1H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ : 22.1, 29.3, 40.2, 50.5, 126.5, 126.6, 126.8, 127.0, 128.3, 128.4, 129.0, 133.5, 137.6, 138.2, 163.4; MS (ESI) m/z : 257.7 $[M+H]^+$; HRMS (ESI) calcd for $C_{15}H_{16}NOS$ $[M+H]^+$ 258.0953, found 258.0889.

1-[1-甲基-3,4-二氢异喹啉-2(1*H*)-基]-乙酮(**9**)^[15a]: 淡黄色固体, 产率 40%. 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): mixture of 2 rotamers δ : 1.45, 1.55 (each d, $J=6.8$ Hz, total 3H), 2.17, 2.20 (each s, total 3H), 2.72~2.95 (m, 2H), 3.00~3.07, 3.50~3.57 (each m, total 1H), 3.78~3.84, 4.66~4.71 (each m, total 1H), 4.95, 5.65 (each q, $J=6.8$ Hz, total 1H), 7.10~7.20 (m, 4H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): mixture of 2 rotamers, major (M) and minor (m) δ : 21.2 (m, CH_3), 21.4 (M, CH_3), 21.6 (M, CH_3), 22.5 (m, CH_3), 28.3 (m, CH_2), 29.1 (M, CH_2), 34.7 (m, CH_2), 40.2 (M, CH_2), 48.2 (M, CH), 52.5 (m, CH), 126.0

(m, CH), 126.1 (M, CH), 126.3 (M, CH), 126.4 (m, CH), 126.5 (m, CH), 126.9 (M, CH), 128.3 (M, CH), 128.9 (m, CH), 132.9 (M, C), 134.0 (m, C), 137.4 (m, C), 138.4 (M, C), 168.6 (C); MS (ESI) m/z : 190.1 $[M+H]^+$; HRMS (ESI) calcd for $C_{12}H_{16}NO$ $[M+H]^+$ 190.1232, found 190.1165.

2-氯-1-[1-甲基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-乙酮(**10**)^[12]: 淡黄色固体, 产率 48%. 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): mixture of 2 rotamers δ : 1.47, 1.61 (each d, $J=6.8$ Hz, total 3H), 2.75~2.98 (m, 2H), 3.03~3.18, 3.55~3.62 (each m, total 1H), 3.86~3.92, 4.62~4.67 (each m, total 1H), 4.13 (AB, $J=12.4$ Hz, 2H), 5.01, 5.58 (each q, $J=6.8$ Hz, total 1H), 7.12~7.24 (m, 4H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): mixture of 2 rotamers, major (M) and minor (m) δ : 21.4 (m, CH_3), 23.3 (M, CH_3), 28.2 (m, CH_2), 29.3 (M, CH_2), 35.8 (m, CH_2), 40.4 (M, CH_2), 41.2 (m, CH_2), 41.5 (M, CH_2), 49.3 (M, CH), 52.8 (m, CH), 126.5 (m, CH), 126.6 (M, CH), 126.7 (CH), 127.1 (CH), 128.6 (M, CH), 129.2 (m, CH), 132.9 (M, C), 133.8 (m, C), 137.2 (m, C), 137.9 (M, C), 165.0 (M, C), 165.1 (m, C); MS (ESI) m/z : 224.1/226.4 $[M+H]^+$; HRMS (ESI) calcd for $C_{12}H_{15}ClNO$ $[M+H]^+$ 224.0842/ 226.0813, found 224.0783/226.0767.

3.2.5 *N*-环己基-1-甲基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-硫代酰胺(**8**)的合成

将化合物 **1** (0.5 g, 3.4 mmol)溶于无水乙醇(5 mL)中, 冰浴条件下加入环己基异硫氰酸酯(0.96 g, 6.8 mmol)后, 常温搅拌. 反应完毕后浓缩反应液, 粗产品经柱层析纯化[V (石油醚): V (乙酸乙酯)=4:1]得淡黄色固体 **8** (0.88 g, 90%). 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): mixture of 2 rotamers δ : 1.12~1.21 (m, 3H), 1.33~1.39 (m, 2H), 1.43, 1.49 (each d, $J=6.8$ Hz, total 3H), 1.64~1.71 (m, 2H), 1.81~1.89 (m, 1H), 2.07~2.17 (m, 2H), 2.92~2.95 (m, 1H), 3.43~3.47 (m, 1H), 3.62~3.67 (m, 1H), 3.82~3.87, 3.92~4.00 (each m, total 1H), 4.20~4.30 (m, 1H), 5.14~5.17, 5.51~5.65 (each m, total 1H), 7.10~7.21 (m, 4H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ : 21.5, 25.0, 25.6, 28.4, 33.3, 42.3, 54.3, 54.8, 126.6, 126.7, 126.8, 128.4, 134.0, 138.5, 179.4; MS (ESI) m/z : 289.3 $[M+H]^+$; HREIMS calcd for $C_{17}H_{23}N_2S$ $[M+H]^+$ 289.1738, found 289.1684.

3.2.6 (*S*)-1-(2-氯乙酰基)吡咯烷-2-甲酸甲酯(**11**)的合成

将 *L*-脯氨酸甲酯(0.2 g, 1.5 mmol)和三乙胺(216 μ L, 1.5 mmol)溶于二氯甲烷(2 mL)中, 冰浴下, 慢慢加入氯乙酰氯(0.12 mL, 1.5 mmol), 随后常温搅拌过夜. 反应

液经乙酸乙酯稀释(250 mL)、水洗(50 mL $\times$ 3)、无水硫酸镁干燥, 减压蒸馏得淡黄色油状物质 **11**^[15b] (0.24 g, 75%). 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): mixture of 2 rotamers δ : 1.93~2.30 (m, 4H), 3.61~3.72 (m, 2H), 3.74, 3.79 (each s, total 3H), 4.05~4.12 (m, 2H), 4.54 (dd, $J=3.6$, 8.4 Hz), 4.60 (dd, $J=3.2$, 7.2 Hz) (total 1H); MS (ESI) m/z : 206.5/208.5 $[M+H]^+$.

3.3 体外抗血吸虫活性测试

体外抗血吸虫活性测试方法参照文献[16]. 日本血吸虫尾蚴(江苏株)自人工感染的钉螺逸出, 血吸虫感染性钉螺由江苏省血吸虫病防治研究所钉螺室提供. ICR 小鼠, 体重 20~22 g, 购自扬州大学医学动物中心. 每只小鼠经腹部感染日本血吸虫尾蚴 50 条后, 35 d 后剖杀小鼠, 经门静脉灌注收集成虫. 血吸虫成虫用普通的 RPMI 1640 培养基冲洗干净后, 立即转移到预先加好培养基的 24 孔板中, 培养基成份为 RPMI 1640, 含 20 mmol $\cdot$ L⁻¹ HEPES (PH 7.5), 青霉素 100 IU/mL, 链霉素 100 μ g/L, 10%胎牛血清(Gibco), 体积为 2 mL. 每孔加入两对雌雄合抱的成虫或者两条雌虫和两条雄虫. 在含 5% CO₂ 的 37 $^{\circ}$ C 培养箱中, 培养 30~60 min 后, 加入不同浓度的各化合物(10 mmol $\cdot$ L⁻¹ 的储存液用 RPMI 1640 稀释成浓度为 10, 25, 50, 100 μ mol $\cdot$ L⁻¹), 同时设定 RPMI 1640 (购于 GIBCO 公司), 1%二甲基亚砜(DMSO) (购自上海生工生物有限公司)阴性对照及 PZQ 阳性对照 (购于 Sigma 公司), 分别于 24, 48, 72 h 观察虫体活力及死亡情况. 其中, RPMI1640 为不加任何药物和溶剂的阴性对照; 1% DMSO 为 10 mmol $\cdot$ L⁻¹ 的药物储存液用 RPMI 1640 稀释为四个浓度时最高的 DMSO 浓度, 即在 RPMI 1640 中 DMSO 的浓度为 1%的溶剂对照; PZQ 为吡喹酮, 其在 RPMI 1640 中处于不同浓度时对成虫的杀伤作用, 作为阳性对照. 实验重复 3 次. 虫体活力减轻程度, 轻度即为虫体活力与对照相比稍减轻, 虫体挛缩, 虫体内部结构清晰可见; 重度即为虫体基本无活动, 仅有吸盘蠕动, 虫体膨大, 内部结构模糊; 虫体死亡定义为观察 2 min 内虫体无活动, 伴有形态学改变: 虫体膨大, 表皮有散在的空泡, 内部结构模糊等.

References

- [1] Danso-Appiah, A.; Olliaro, P. L.; Donegan, S.; Sinclair, D.; Utzinger, J. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2013**, 2, CD000528.
- [2] Gryseels, B.; Polman, K.; Clerinx, J.; Kestens, L. *Lancet* **2006**, 368, 1106.
- [3] Zheng, H.; Zhang, L.-J.; Zhu, R.; Xu, J.; Li, S.-Z.; Guo, J.-G.; Xiao, N.; Zhou, X.-N. *Chin. J. Schistosomiasis Control* **2012**, 24, 621 (in Chinese).
(郑浩, 张利娟, 朱蓉, 许静, 李石柱, 郭家钢, 肖宁, 周晓农, 中国血吸虫病防治杂志, **2012**, 24, 621.)
- [4] Caffrey, C. R.; Secor, W. E. *Curr. Opin. Infect. Dis.* **2011**, 24, 410.

- [5] (a) Stelma, F. F.; Talla, I.; Sow, S.; Kongs, A.; Niang, M.; Polman, K.; Deelder, A. M.; Gryseels, B. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **1995**, *53*, 167.
 (b) Liang, Y.-S.; Li, H.-J.; Dai, J.-R.; Wang, W.; Qu, G.-L.; Tao, Y.-H.; Xing, Y.-T.; Li, Y.-Z.; Qian, K.; Wei, J.-Y. *Chin. J. Schistosomiasis Control* **2011**, *23*, 605 (in Chinese).
 (梁幼生, 李洪军, 戴建荣, 汪伟, 曲国立, 陶永辉, 邢云天, 李幼子, 钱科, 魏剑英, 中国血吸虫病防治杂志, **2012**, *23*, 605.)
- [6] (a) Caixeta, S. C.; Magalhaes, L. G.; de Melo, N. I.; Wakabayashi, K. A.; Aguiar Gde, P.; Aguiar Dde, P.; Mantovani, A. L.; Alves, J. M.; Oliveira, P. F.; Tavares, D. C.; Groppo, M.; Rodrigues, V.; Cunha, W. R.; Veneziani, R. C. S.; Silva Filho, A. A.; Crotti, A. E. *M. Chem. Biodiversity* **2011**, *8*, 2149.
 (b) Moraes, J.; Almeida, A. A.; Brito, M. R.; Marques, T. H.; Lima, T. C.; Sousa, D. P.; Nakano, E.; Mendonca, R. Z.; Freitas, R. M. *Planta Med.* **2013**, *79*, 253.
 (c) Porto, T. S.; da Silva Filho, A. A.; Magalhaes, L. G.; dos Santos, R. A.; Furtado, N. A.; Arakawa, N. S.; Said, S.; de Oliveira, D. C.; Gregorio, L. E.; Rodrigues, V.; Veneziani, R. C.; Ambrosio, S. R. *Chem. Biodiversity* **2012**, *9*, 1465.
 (d) Ndjonka, D.; Rapado, L. N.; Silber, A. M.; Liebau, E.; Wrenger, C. *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, *14*, 3395.
- [7] (a) Jao, S. C.; Chen, J.; Yang, K.; Li, W. S. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 304.
 (b) Sayed, A. A.; Simeonov, A.; Thomas, C. J.; Inglese, J.; Austin, C. P.; Williams, D. L. *Nat. Med.* **2008**, *14*, 407.
 (c) Liu, J.; Dyer, D.; Wang, J.; Wang, S.; Du, X.; Xu, B.; Zhang, H.; Wang, X.; Hu, W. *PLoS One* **2013**, *8*, e64984.
 (d) Song, L. J.; Li, J. H.; Xie, S. Y.; Qian, C. Y.; Wang, J.; Zhang, W.; Yin, X. R.; Hua, Z. C.; Yu, C. X. *PLoS One* **2012**, *7*, e31456.
- [8] (a) Domling, A.; Khoury, K. *ChemMedChem* **2010**, *5*, 1420.
 (b) Andrews, P.; Thomas, H.; Pohlke, R.; Seubert, J. *Med. Res. Rev.* **1983**, *3*, 147.
 (c) Patra, M.; Ingram, K.; Pierroz, V.; Ferrari, S.; Spingler, B.; Keiser, J.; Gasser, G. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 8790.
 (d) Dong, Y. X.; Chollet, J.; Vargas, M.; Mansour, N. R.; Bickle, Q.; Alnouti, Y.; Huang, J. G.; Keiser, J.; Vennerstrom, J. L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 2481.
 (e) Patra, M.; Ingram, K.; Pierroz, V.; Ferrari, S.; Spingler, B.; Gasser, R. B.; Keiser, J.; Gasser, G. *Chemistry* **2013**, *19*, 2232.
 (f) Ronketti, F.; Ramana, A. V.; Chao-Ming, X.; Pica-Mattoccia, L.; Cioli, D.; Todd, M. H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 4154.
 (g) Sadhu, P. S.; Kumar, S. N.; Chandrasekharam, M.; Pica-Mattoccia, L.; Cioli, D.; Rao, V. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 1103.
- [9] (a) Duan, W. W.; Qiu, S. J.; Zhao, Y.; Sun, H.; Qiao, C.; Xia, C. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 1587.
 (b) Wang, Z. X.; Chen, J. L.; Qiao, C. *Chem. Biol. Drug Des.* **2013**, *82*, 216.
- [10] Wang, W.-L.; Song, L.-J.; Chen, X.; Yin, X.-R.; Fan, W.-H.; Wang, G.-P.; Yu, C.-X.; Feng, B. *Molecules* **2013**, *18*, 9163.
- [11] (a) Benassi, R.; Folli, U.; Schenetti, L.; Taddei, F. *Adv. Heterocycl. Chem.* **1987**, *41*, 75.
 (b) Canfield, L. M.; Crabb, T. A. *J. Chem. Res., Synop.* **1997**, 381.
- [12] (a) Alt, G. H.; Hakes, H. R.; Brinker, R. J. *EP 230871*, **1987** [*Chem. Abstr.* **1988**, *108*, 150324].
 (b) Martin, H. *EP 236268*, **1987** [*Chem. Abstr.* **1988**, *108*, 70630].
- [13] (a) Bissinger, E. M.; Heinke, R.; Spannhoff, A.; Eberlin, A.; Metzger, E.; Cura, V.; Hassenboehler, P.; Cavarelli, J.; Schule, R.; Bedford, M. T.; Sippl, W.; Jung, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 3717.
 (b) Kim, D. J.; Reddy, K.; Kim, M. O.; Li, Y.; Nadas, J.; Cho, Y. Y.; Kim, J. E.; Shim, J. H.; Song, N. R.; Carper, A.; Lubet, R. A.; Bode, A. M.; Dong, Z. *Cancer Prev. Res.* **2011**, *4*, 1842.
 (c) Nam, K. N.; Koketsu, M.; Lee, E. H. *Eur. J. Pharmacol.* **2008**, *589*, 53.
- [14] Kruger, E. A.; Figg, W. D. *Expert Opin. Invest. Drugs* **2000**, *9*, 1383.
- [15] (a) Leroy, C.; Dupas, G.; Bourguignon, J.; Queguiner, G. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 13135.
 (b) Laws, S. W.; Scheerer, J. R. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 2422.
- [16] Xiao, S. H.; Mei, J. Y.; Jiao, P. Y. *Parasitol. Res.* **2009**, *106*, 237.

(Li, L.; Fan, Y.)