

噻二唑类衍生物的合成与耐缺氧活性

朱占洲¹,高翔¹,朱海²,赵俊¹,朱驹¹,吕加国¹,周有骏¹ (1. 第二军医大学药学院药物化学教研室,上海 200433; 2. 第二军医大学药物评价中心,上海 200433)

[摘要] 目的 设计并合成一类新型的噻二唑类衍生物,评价其耐缺氧活性。方法 以氨基硫脲为起始原料,经过三步反应合成目标化合物;采用缺氧耐受实验测定目标化合物的耐缺氧活性。结果与结论 合成了 7个新型的噻二唑类衍生物,其耐缺氧活性经过评价,其中 1个化合物的耐缺氧活性突出,具有进一步研究的前景。

[关键词] 噻二唑类衍生物;合成;耐缺氧活性

[中图分类号] TQ460.31

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2010)03-0220-03

Synthesis and anoxia endurance activity of thiadiazole derivatives

ZHU Zhan-zhou¹, GAO Xiang¹, ZHU Hai², ZHAO Jun¹, ZHU Ju¹, Lu Jia-guo¹, ZHOU You-jun¹ (1. Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Center for New Drug Evaluation, Faculty of Basic Medical Sciences, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To design and synthesize novel thiadiazole derivatives and evaluate their anoxia endurance activity. **Methods** Beginning with thiosemicarbazide, title compounds were synthesized in three steps, then the anoxia endurance activity was evaluated. **Results and Conclusion** Seven novel thiadiazole derivatives were synthesized and their anoxia endurance activity was evaluated. One of the title compounds exhibited the same anoxia endurance activity as that of acetazolamide, which can be used as the lead for further study.

[Key words] thiadiazole derivatives; synthesis; the anoxia endurance activity

目前公认在海拔 3 000 m 以上地区多数人会因高原低氧而在数小时至数天内出现临床证候群,即高原反应^[1]。人们进入高原后,轻症会影响正常活动,重症可危及生命。提高对低压缺氧环境的习服能力,对初进高原人员预防严重高原反应和急性高原病有重要意义。目前抗高原反应方面还没有活性强副反应小的药物。

噻二唑类代表药乙酰唑胺(acetazolamide, ACZ)具有抗高原反应方面的作用^[2],但乙酰唑胺不良反应较多^[3],常见不良反应有嗜睡、面部和四肢麻木、震颤、头痛眩晕、肾及尿道结石,严重的会出现肾功能衰竭^[4]。

笔者以乙酰唑胺为先导物,依据电子等排原理,保留噻二唑母核结构与侧链乙酰基,改造磺酰氨基,设计合成了噻二唑类新结构衍生物,并进行耐缺氧活性测试,以期寻找到高效、低毒的新型抗高原反应化合物。

1 实验部分

以氨基硫脲与二硫化碳为原料经环合制得中间体 2-氨基-5-巯基-1,3,4-噻二唑(AMT),再与冰醋酸在多聚磷酸催化下制得关键中间体 2-乙酰氨基-5-巯基-1,3,4-噻二唑(AMTD),AMTD 与卤代化合物反应得目标化合物。共合成 7个未见文献报道的噻二唑类衍生物,并对其耐缺氧活性进行考察。

1.1 仪器与试剂

1.1.1 合成反应中的仪器与试剂 熔点采用毛细管法测定,温度未经校正。核磁共振氢谱采用 Bruker ARX-300 型核磁共振仪测定,以 TMS 为内标。实验所用试剂均为市售化学纯或分析纯,部分试剂进行了无水处理。

1.1.2 药理实验中的仪器与试剂 DT250 型电子天平,美国双杰兄弟有限公司; 722S 可见光分光光度计,上海精密科学仪器有限公司制造; XW280A 旋涡混合器,上海医科大学仪器厂; HH1W211Cr600 型恒温箱,北京长安科学仪器厂;微量移液器,上海求精生化试剂仪器有限公司; LDZ42018 自动平衡微型离心机,北京离心机厂制造;盐酸普萘洛尔片,湖北华中药业有限公司,批号

[基金项目] 第二军医大学大学生创新能力培养基金重点项目(ZD2008035)。

[作者简介] 朱占洲(1987-),男,药学本科 2006 级学员。E-mail: zhanzhouzhu@163.com。

[通讯作者] 吕加国。E-mail: ljg20060508@yahoo.com.cn。周有骏。E-mail: zhouyjun2005@yahoo.com.cn。

20090113; 1%羧甲基纤维素钠, 国药集团化学试剂有限公司, 批号 20070919; 胆碱酯酶 (T-ChE) 测定试剂盒 (批号 20080828) 和总抗氧化能力 (T-AOC) 测定试剂盒 (批号 20080831), 均购自南京建成生物工程研究所。

1.2 中间体与目标化合物的合成 (见图 1)

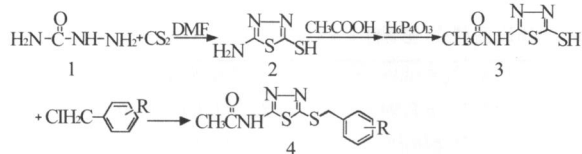


图 1 噻二唑类衍生物合成路线图

1.2.1 中间体 AMT 的合成 参照文献^[5]方法合成, 产率 83%, 熔点 232 ~ 234 (文献值 230 ~ 233^[5])。

1.2.2 中间体 AMTD 的合成 参照文献^[5]方法合成, 产率 79%, 熔点 276 ~ 278 (文献值 277 ~ 282^[5])。

1.2.3 目标化合物 4 的合成 取 AMTD 0.5 g (3.5 mmol) 于 50 ml 圆底烧瓶, 加吡啶 10 ml, 再加邻氯氟苯 0.7 g (4.3 mmol), 冰水浴, 搅拌至反应完毕 (TLC 检测)。将反应液旋转蒸发, 除去大部分吡啶, 加入冰水, 混悬固体过滤得粗品, 丙酮重结晶得目标化合物 4a。依此方法, 采用相应的卤代化合物合成目标化合物 4b ~ 4g。

1.3 耐缺氧活性实验

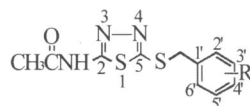
1.3.1 实验动物 昆明种健康成年小鼠 70 只, 体重 (20 ± 2) g, 雌雄各半, 由复旦大学动物实验中心提供, 许可证号为 SCXK 沪 20070002。

1.3.2 实验方法 小鼠称重后随机分为 1% 羧甲基纤维素钠对照组、乙酰唑胺对照组和待测样品组, 每组 10 只。各组分别灌胃 1% 羧甲基纤维素钠、乙酰唑胺和待测样品组均 0.2 ml/10 g。小鼠连续灌胃用药 5 d 并于实验前 12 h 禁食, 最后一天于实验前 1 h 灌药。常压缺氧耐受实验严格按实验常规要求在室温 25 (空调) 条件下进行, 测定并记录各小鼠在缺氧瓶中存活时间。动物缺氧死亡时马上断头取血, 连续 5 min 离心 3 000 r/min, 取上清血清, 按试剂盒说明书程序操作, 用 722 分光光度计测定 OD 值, 再按如下公式计算血清 T-ChE 和 T-AOC: T-ChE (U/ml) = (测定管 OD - 对照管 OD) / 0.01 ÷ 30 × 反应液总体积 (ml) / 取样量 (ml) × 样本测试前稀释倍数; T-AOC (U/ml) = (测定管 OD - 对照管 OD) / 0.01 ÷ 30 × 反应液总体积 (ml) / 取样量 (ml) × 测试前稀释倍数。数据处理与统计: 最后结果以“均数 ± 标准差” ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用两均数比较的 *t* 检验。统计软件为 PEMS 2.1。

2 结果

2.1 目标化合物表征 (见表 1)

表 1 化合物 4a ~ 4g 的结构、物理性质和光学数据



化合物编号	取代基	产率 (%)	熔点 (°C)	¹ H-NMR (300MHz, DMSO)
4 a	2-Cl	69	299	12.62 (m, 1H, NH), 7.28 ~ 7.49 (m, 4H, ArH), 4.53 (s, 2H, CH ₂), 2.16 (s, 3H, CH ₃)
4 b	4-F	81	283	12.59 (m, 1H, NH), 7.12 ~ 7.45 (m, 4H, ArH), 4.46 (s, 2H, CH ₂), 2.15 (s, 3H, CH ₃)
4 c	2-CH ₃	32	279	12.60 (m, 1H, NH), 7.10 ~ 7.29 (m, 4H, ArH), 4.47 (s, 2H, CH ₂), 2.49 (s, 3H, Ar-CH ₃), 2.16 (s, 3H, CH ₃)
4 d	2-F	75	283	12.61 (m, 1H, NH), 7.12 ~ 7.46 (m, 4H, ArH), 4.47 (s, 2H, CH ₂), 2.16 (s, 3H, CH ₃)
4 e	4-Cl	68	299	12.59 (m, 1H, NH), 7.35 ~ 7.43 (m, 4H, ArH), 4.46 (s, 2H, CH ₂), 2.15 (s, 3H, CH ₃)
4 f	2-Cl, 4-Cl	37	333	12.63 (m, 1H, NH), 7.28 ~ 7.60 (m, 4H, ArH), 4.58 (s, 2H, CH ₂), 2.16 (s, 3H, CH ₃)
4 g	4-NO ₂	47	310	12.61 (m, 1H, NH), 7.64 ~ 8.19 (m, 4H, ArH), 4.60 (s, 2H, CH ₂), 2.15 (s, 3H, CH ₃)

2.2 活性评价 (见表 2)

3 讨论

笔者依据生物电子等排原理设计合成了 7 个未见文献报道的噻二唑类衍生物, 并采用昆明小鼠缺氧耐受实验模型, 以存活时间、T-AOC 及 T-ChE 为指标对其缺氧耐受活性进行了评价。

研究结果表明: 苯环上供电子基甲基取代的化

合物 4c 的缺氧耐受性最高, 在存活时间、T-AOC 及 T-ChE 水平上与空白对照组相比均有显著性差异; 苯环上强吸电子基硝基取代的化合物 4g 的缺氧耐受性最弱。表明苯环上供电子基团取代对缺氧耐受活性有利。这可能与苯环上的电子云密度升高使化合物与可能的受体亲和力增强有关。而苯环上卤原子取代的化合物活性弱于供电子基取代的化合物 4c, 这可能是卤原子的吸电子诱导作用致使苯环上

的电子云密度降低造成的。其中苯环上邻位氟取代化合物 4d的活性弱于邻位氯取代化合物 4a,这同样可能是由氟吸电子诱导作用强于氯致使 4d的苯环上电子云密度低于 4a的苯环上电子云密度而引起的。而苯环上邻对位二氯取代的化合物 4f也因其苯环上电子云密度低于单氯取代化合物 4a或 4e

的电子云密度而活性降低。

结果提示苯环上有供电子基取代时活性较高,对化合物 4c进行更深入的毒性评价,有望找到高效、低毒的新型抗高原反应药物。此外,利用不同电性基团对苯环进行取代,可能会找到活性更高的化合物。

表 2 乙酰唑胺对小鼠存活时间、T-AOC活性和 T-ChE活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	用药剂量 g/(kg·d)	存活时间 (t/s)	T-AOC(U/ml)	T-ChE(U/ml)
1%羧甲基纤维素钠	0.2	1 628.4 ±189.5	15.13 ±1.94	31.09 ±1.26
乙酰唑胺	0.2	2 011.1 ±445.7	18.14 ±0.76	36.14 ±1.77
4 a	0.2	1 763.4 ±144.6	18.19 ±1.25 ²⁾	35.46 ±1.00 ²⁾
4 b	0.2	1 696.5 ±313.2	17.78 ±2.30 ¹⁾	35.28 ±3.04 ²⁾
4 c	0.2	1 989.1 ±209.8 ²⁾	18.27 ±1.57 ²⁾	36.09 ±1.57 ²⁾
4 d	0.2	1 259.3 ±118.9 ²⁾⁴⁾	14.75 ±1.22 ⁴⁾	34.49 ±3.31 ²⁾
4 e	0.2	1 556.7 ±149.3 ⁴⁾	13.38 ±0.35 ¹⁾⁴⁾	30.45 ±5.25 ⁴⁾
4 f	0.2	1 489.9 ±111.0 ⁴⁾	12.74 ±1.79 ¹⁾⁴⁾	35.98 ±1.33 ²⁾
4 g	0.2	1 600.4 ±141.8 ¹⁾	10.88 ±0.68 ²⁾⁴⁾	29.07 ±1.55 ²⁾⁴⁾

¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$,与 1%羧甲基纤维素钠组比较; ³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$,与乙酰唑胺组比较。

【参考文献】

[1] Wicks S, Bain N, Duttaray A, *et al* Hypoxia rescues early mortality conferred by superoxide dismutase deficiency[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2009, 215(46): 176.
 [2] Chow T, Browne V, Heilesen HL, *et al* Ginkgo biloba and acetazolamide prophylaxis for acute mountain sickness: a randomized, placebo-controlled trial [J]. Archives of Internal Medicine, 2005, 165(3): 296.

[3] 王川平,孙莉,苏春平.乙酰唑胺临床应用中罕见的不良反应[J].中国综合临床,2001,17:567.
 [4] Korzet A, Gafer U, Floru S, *et al* Deteriorating renal function with acetazolamide in a renal transplant patient with pseudotumor cerebri[J]. Am J Kidney Dis, 1993, 21: 322.
 [5] 谢建伟,许建岷,徐天有.乙酰唑胺药物中间体的合成研究[J].化工生产与技术,2004,11(6),17.

[收稿日期] 2009-11-25
 [修回日期] 2010-02-22

(上接第 210页)

3.2 综合上述提取工艺的得率和各个提取物的药效学实验结果,再结合生产过程中考虑工艺的繁简、节约能源、节约成本等因素,采用 14号浸膏的提取工艺最为理想,即 50%乙醇、8倍量、提取 3次、每次 1 h的工艺,所得浸膏相对较高,药效学实验效果最好。

3.3 本院制剂室复方水牛角颗粒的原提取工艺与 2号工艺相同,与本实验所选出的工艺相比较,浸膏的得率基本相同,但所选出的工艺的药效学效果则明显不如后者,故可考虑对原工艺进行进一步研究后改进。

3.4 中药制剂的质量和提取工艺有很大的关系,在优选制剂的工艺时,一般以制剂的某一活性成分为指标,选取活性成分含量高,浸膏得率高的工艺为最佳工艺。但在对于一些传统的药味多、药量少、疗效好的复方制剂,但暂时还无法确定其活性成分或指标性用于质量控制时,根据相应的药效学实验的结

果来选择提取工艺是一个值得提倡的方法。另外,中药制剂发挥作用,往往不是单一活性成分起作用,而是多成分在多靶点综合作用的结果,这是目前大家所公认的。因此以药效学的结果为导向,进行工艺优选就显得更为合理。

【参考文献】

[1] 孟昭亭. 痛风 [M]. 北京:北京医科大学出版社,1997:51.
 [2] 孙晓波,李会芳,代竹青,等. 藏药桑当抗痛风作用的试验研究 [J]. 四川中医,2005,6(23):19.
 [3] 董玉秀,张村,熊国良. 水牛角四种不同提取方法的实验研究 [J]. 河南中医药学刊,1996,11(1):27.
 [4] 陈赤. 水牛角的研究与应用 [J]. 广西中医学院学报 2004,7(4):72
 [5] 李保国,杜雪,张孝卫. 正交实验优选水牛角酶解的提取工艺研究 [J]. 中国当代医药,2009,16(14):24.

[收稿日期] 2009-12-25
 [修回日期] 2010-05-14