

双哌嗪类化合物的合成及钙通道阻滞活性

王祖定¹, 邓兰^{2*}, 徐鸣夏³¹昆明滇虹药业有限公司, 昆明 650106; ²四川滇虹医药开发有限公司, 成都 611731;³四川大学华西药学院, 成都 610041)

摘要 为寻求活性更好、毒性更低的新结构类型钙通道阻滞剂, 以氟桂利嗪为先导化合物, 设计合成了一系列双哌嗪类新化合物, 并经光谱证明其结构。初步药理实验结果表明, 9 个新化合物在 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 跨膜内流动药理实验中, 对大鼠主动脉电压依赖型钙离子通道(PDC)均有钙阻滞活性, 且部分化合物的活性强于阳性对照药硝苯吡啶。

关键词 双哌嗪化合物; 合成; 钙通道阻滞活性; 放射性核素 ^{45}Ca ; 跨膜内流技术

中图分类号 R914.5; R965 **文献标识码** A **文章编号** 1000-5048(2011)06-0503-04

Synthesis and calcium channel blocking activities of dipiperazine compounds

WANG Zu-ding¹, DENG Lan^{2*}, XU Ming-xia³

¹Kunming Dihon Pharmaceutical Co., Ltd., Kunming 650106; ²Sichuan Dihon Pharmaceutical Development Co., Ltd., Chengdu 611731; ³West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China

Abstract With using flunarizine as a lead compound to search for calcium channel blockers with fewer side effects and improved potency, a series of dipiperazine compounds were prepared with their structures being confirmed by spectrometry. Their inhibitory effect on potential-dependent calcium channels(PDC) and Ca^{2+} antagonistic effect in rat aorta were determined by $^{45}\text{Ca}^{2+}$ transmembrane influx technique. Preliminary results showed that all the nine new compounds possessed calcium channel blocking activities. Some compounds exhibited stronger inhibitory effect on PDC than nifedipine.

Key words dipiperazine compounds; synthesis; calcium channel blocking activity; radionuclide $^{45}\text{Ca}^{2+}$; $^{45}\text{Ca}^{2+}$ transmembrane influx technique

钙通道阻滞剂(calcium channel blocker)是在通道水平上选择性地阻滞 Ca^{2+} 经细胞膜上的钙离子选择性通道进入细胞内, 从而减少细胞内 Ca^{2+} 浓度的药物。其广泛用于治疗劳力型、变异型及不稳定性心绞痛和无症状性心肌缺血等缺血性综合症, 心肌梗死、高血压及其危象, 脑血管痉挛, 脑梗死等疾病^[1-4]。传统的钙通道阻滞剂主要有二氢吡啶类、苯烷胺类、地尔硫草类等结构类型化合物, 由于在临床应用中此类药物普遍存在着与血流动力学效应有关的继发作用, 并且由于患者的个体差异, 不同结构类型药物显效不一, 因此, 对新结构类型钙通道阻滞剂的研究成为近年来心血管药物研究领域的热点之一^[5-7]。

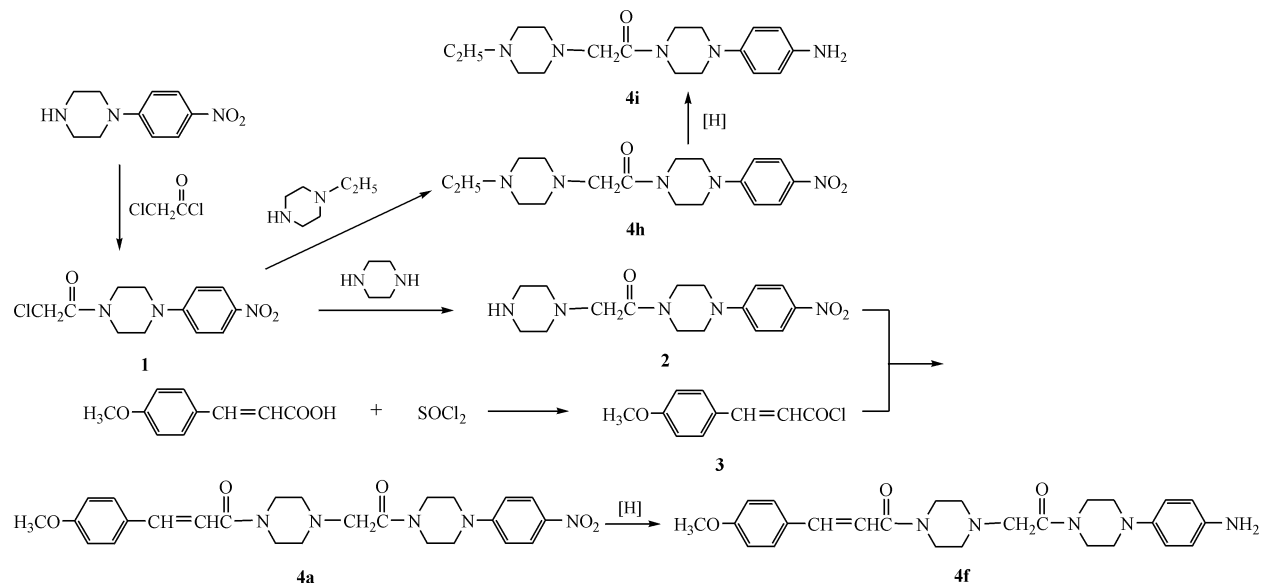
在钙通道阻滞剂中, 双苯哌嗪类是最早应用于

临床的作用于脑的药物。以其代表药物氟桂利嗪(flunarizine)为例, 长期被用于治疗偏头痛、脑动脉缺血性疾病, 如眩晕、耳鸣、注意力涣散、精神混乱等, 还可用于脑血栓形成、脑栓塞、动脉硬化、脑出血恢复期、脑外伤后遗症等, 由于末梢循环不良引起的疾患。其作用特点: 一是扩张血管, 无心脏抑制作用, 能有效防止脑血管痉挛; 二是对病理性钙超载有抑制作用, 在细胞膜水平不影响正常细胞功能; 三是保护神经膜内外离子环境稳定, 增强对缺血缺氧耐受性。但该类药物的钙阻滞作用较弱, 特异性较差, 虽广泛用于临床, 但严格的临床实验报道较少。本文以氟桂利嗪为先导化合物, 并将双哌嗪结构引入心脑血管药物的设计中, 设计并合成了一系列双哌嗪类化合物, 运用 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 跨膜内流动

测定技术^[8],考察了这些化合物对大鼠主动脉电压依赖型钙离子通道(PDC)的钙阻滞作用。

1 合成路线

以对-硝基苯基哌嗪为起始原料,与氯乙酰氯反应得到 1-(氯乙酰基)-4-(4-硝基苯基)哌嗪(**1**),(**1**)与哌嗪反应得到 1-(2-哌嗪基乙酰基)-4-(4-硝基苯基)哌嗪(**2**),(**2**)再与不同取代的肉桂酰氯或取代苯甲酰氯反应得到 **4a~4e**;**4a** 和 **4c** 经还原硝基后得到 **4f** 和 **4g**;**1** 与乙基哌嗪反应得到 **4h**,**4h** 经还原后得到 **4i**。具体合成路线见路线



Scheme 1 Synthesis of the target compounds **4a-4i**

Table 1 Structures of the target compounds **4a-4i**

$\text{R}_1-\text{N}(\text{CH}_2)_2\text{N}-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{CH}_2)_2\text{N}-\text{R}_2$					
Compd.	R ₁	R ₂	Compd.	R ₁	R ₂
4a			4f		
4b			4g		
4c			4h	$-\text{C}_2\text{H}_5$	
4d			4i	$-\text{C}_2\text{H}_5$	
4e					

2.2 合成实验

1-(氯乙酰基)-4-(4-硝基苯基)哌嗪(**1**) 将对-硝基

苯基哌嗪 6 g(0.03 mol)溶于氯仿 60 mL 中,室温下滴加氯

2 实验部分

2.1 仪器与材料

熔点用天津分析仪器厂的 RD-1 型熔点测定仪测定(温度计未校正),质谱用 HP 5988A 型质谱仪测定,红外光谱用 PE-983 型测定,溴化钾压片;核磁共振谱用 Bruker AC-E200 型核磁共振仪测定。柱色谱用硅胶 H(160~200 目,青岛海洋化工厂生产),TLC 用高效硅胶板 GF₂₅₄(烟台化工研究所)。所用试剂均为市售分析纯和化学纯。

乙酰氯 3 mL(0.038 mol),反应 2 h,抽滤,用少量氯仿洗涤

固体,得黄色固体 7.8 g,收率:92.6%,mp:180~181 °C。

1-(2-哌嗪基乙酰基)-4-(4-硝基苯基)哌嗪(**2**) 将1-(氯乙酰基)-4-(4-硝基苯基)哌嗪(**1**) (5 g,0.018 mol),无水哌嗪 6 g(0.072 mol)溶于无水甲醇 100 mL 中,回流反应 9 h,蒸去溶剂,水洗残留物,然后用 CH₂Cl₂ (30 mL×3) 提取水液,无水硫酸钠干燥,经硅胶柱色谱得黄色固体 1.95 g,收率 80%,mp:167~169 °C。

1-[(4-甲氧基)肉桂酰基]-4-[(4-(4-硝基苯基)-1-哌嗪基)羰基亚甲基]哌嗪(**4a**) 将1-(2-哌嗪基乙酰基)-4-(4-硝基苯基)哌嗪(**2**) (1 g,0.003 mol)溶于无水丙酮 100 mL 中,分批加入对甲氧基肉桂酰氯(**3**)0.6 g(0.003 mol),室温反应 8 h,蒸去溶剂,经硅胶柱色谱得黄色针状晶体 1.3 g,收率 90%,mp:216~218 °C(dec)。元素分析 C₂₆H₃₁N₅O₅:C 63.75(计算值 63.89),H 6.76(计算值 6.55),N 13.69(计算值 13.80);¹H NMR(CDCl₃,200 MHz):6.80~8.20(4H,m,*p*-NO₂-pH),6.65~7.80(4H,m,*p*-CH₃O-pH),7.62(1H,d,*J*=15.2 Hz,CH=),6.90(1H,d,*J*=15.2 Hz,=CH),3.55(3H,s,CH₃O),3.30(2H,s,CH₂),3.62~4.00(8H,m,piperazine H),2.20~2.90(8H,m,piperazine H);EI-MS:494[M+1]⁺,392,334,161,133,70。

1-[(2,4-二氯)-2-甲基肉桂酰基]-4-[(4-(4-硝基苯基)-1-哌嗪基)羰基亚甲基]哌嗪(**4b**) 采用类似方法合成,得到黄色针状晶体,收率 68%,mp:83~84 °C。元素分析 C₂₆H₂₉N₅O₄Cl₂:C 57.05(计算值 57.15),H 5.48(计算值 5.35),N 12.78(计算值 12.82);¹H NMR(CDCl₃,200 MHz):6.80~8.20(4H,m,*p*-NO₂-pH),7.20~7.40(3H,m,2Cl-pH),6.50(1H,s,CH=),3.55(2H,s,CH₂),2.00(3H,s,CH₃),3.45~4.00(8H,m,piperazine H),2.60~2.80(8H,m,piperazine H);EI-MS:546[M+1]⁺,516,418,311,213,115。

1-[(4-甲基)肉桂酰基]-4-[(4-(4-硝基苯基)-1-哌嗪基)羰基亚甲基]哌嗪(**4c**) 采用类似方法合成,得到黄色粉末,收率 71%,mp:205~207 °C。元素分析 C₂₆H₃₁N₅O₄:C 65.25(计算值 65.39),H 6.72(计算值 6.54),N 14.52(计算值 14.67);¹H NMR(CDCl₃,200 MHz):6.80~8.20(4H,m,*p*-NO₂-pH),7.20~7.40(4H,m,*p*-CH₃-pH),7.60(1H,d,*J*=15.0 Hz,CH=),6.90(1H,d,*J*=15.0 Hz,=CH),3.55(2H,s,CH₂),3.51~4.00(8H,m,piperazine H),2.20~2.50(8H,m,piperazine H),2.20(3H,s,CH₃);EI-MS:477[M]⁺,396,333,209,146,92。

1-[间氯肉桂酰基]-4-[(4-(4-硝基苯基)-1-哌嗪基)羰基亚甲基]哌嗪(**4d**) 采用类似方法合成,得到黄色粉末,收率 65%,mp:183~184 °C。元素分析 C₂₅H₂₈N₅O₄Cl:C 60.06(计算值 60.30),H 5.85(计算值 5.67),N 14.01(计算值 14.06);¹H NMR(CDCl₃,200 MHz):6.80~8.20(4H,m,*p*-NO₂-pH),7.20~7.80(4H,m,*m*-Cl-pH),7.40

(1H,d,*J*=15.4 Hz,CH=),7.01(1H,d,*J*=15.4 Hz,=CH),3.30(2H,s,CH₂),3.60~4.00(8H,m,piperazine H),2.20~2.90(8H,m,piperazine H);EI-MS:497[M]⁺,369,275,235,207,165,125。

1-[对甲氧基苯甲酰基]-4-[(4-(4-硝基苯基)-1-哌嗪基)羰基亚甲基]哌嗪(**4e**) 采用类似方法合成,得到黄色粉末,收率 73%,mp:166~168 °C。元素分析 C₂₄H₂₉N₅O₅:C 61.49(计算值 61.66),H 6.39(计算值 6.25),N 14.85(计算值 14.98);¹H NMR(CDCl₃,200 MHz):6.95~8.20(4H,m,*p*-CH₃O-pH),6.80~8.00(4H,m,*p*-NO₂-pH),3.65(3H,s,CH₃O),3.30(2H,s,CH₂),3.80~4.00(8H,m,piperazine H),2.60~2.80(8H,m,piperazine H),3.40~3.60(8H,m,piperazine H);EI-MS:468[M+1]⁺,334,249,135,107。

1-[(4-甲氧基)肉桂酰基]-4-[(4-(4-氨基苯基)-1-哌嗪基)羰基亚甲基]哌嗪(**4f**) 将化合物 **4a** 1 g(0.002 mol)溶于无水甲醇 100 mL 中,分批加入 12 mol/L 盐酸 5 mL(0.06 mol),锌粉 2 g(0.03 mol),室温反应 20 h,直至反应液澄清无色,蒸去甲醇,反应液加氨水 100 mL,用二氯甲烷(30 mL×3)提取,提取液干燥,浓缩,经柱色谱得产品 0.50 g,类白色粉末,收率 50%,mp:56~58 °C。元素分析 C₂₆H₃₃N₅O₃:C 67.25(计算值 67.36),H 7.36(计算值 7.18),N 15.32(计算值 15.11);¹H NMR(CDCl₃,200 MHz):7.6~7.7(1H,d,*J*=15.2 Hz,=CH),7.48(2H,d,*J*=8.6 Hz,*p*-CH₃O-pH),6.90(2H,d,*J*=9.2 Hz,*p*-NH₂-pH),6.85(2H,s,NH₂),6.80(2H,d,*J*=8.6 Hz,*p*-CH₃O-pH),6.70~6.80(1H,d,d,*J*=15.2 Hz,=CH),6.65(2H,d,*J*=9.2 Hz,*p*-NH₂-pH),3.82(3H,s,CH₃O),3.60~3.80(8H,m,piperazine H),3.30(2H,s,CH₂),2.80~3.20(4H,m,piperazine H),2.51~2.63(4H,m,piperazine H);EI-MS:463[M]⁺,259,219,189,175,161,121。

1-[(4-甲基)肉桂酰基]-4-[(4-(4-氨基苯基)-1-哌嗪基)羰基亚甲基]哌嗪(**4g**) 采用类似方法合成,得到类白色粉末,收率 45%,mp:115~116 °C。元素分析 C₂₆H₃₃N₅O₂:C 69.65(计算值 69.77),H 7.58(计算值 7.43),N 15.52(计算值 15.65);¹H NMR(CDCl₃,200 MHz):7.20~7.50(4H,m,*p*-CH₃-pH),6.60~6.90(4H,m,*p*-NH₂-pH),7.70(1H,d,*J*=15.0 Hz,CH=),6.95(1H,d,*J*=15.0 Hz,=CH),3.15(2H,s,CH₂),3.10~3.90(8H,m,piperazine H),2.20~2.60(8H,m,piperazine H),2.35(3H,s,CH₃);EI-MS:447[M]⁺,342,322,269,178,145。

1-乙基-4-[(4-(4-硝基苯基)-1-哌嗪基)羰基亚甲基]哌嗪(**4h**) 将1-(氯乙酰基)-4-(4-硝基苯基)哌嗪(**1**) 1 g(0.004 mol)和乙基哌嗪 0.5 g(0.004 mol)、氯仿 20 mL 和三乙胺 1 mL,回流反应 5 h,蒸去溶剂,用乙醇-氯仿(1:1)重结晶,得黄色固体 0.9 g,收率 62%,mp:55~57 °C。元素分析 C₁₈H₂₇N₅O₃:C 59.75(计算值 59.81),H 7.69(计算值

7.53), N 19.25 (计算值 19.38); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 200 MHz): 6.80 ~ 8.20 (4H, m, *p*-NO₂-pH), 3.40 (2H, s, COCH₂), 3.20 ~ 3.90 (8H, m, piperazine H), 2.00 ~ 2.80 (8H, m, piperazine H), 2.6 (2H, m, CH₂), 1.05 (3H, t, *J* = 6.8 Hz, CH₃); EI-MS: 362 [M + 1]⁺, 349, 293, 221, 167, 127.

1-乙基-4-[(4-(4-氨基苯基)-1-哌嗪基)羰基亚甲基]哌嗪 (**4i**) 将化合物 **4h** 1 g (0.003 mol) 溶于 12 mol/L 盐酸 3 mL 中, 分批加入锌粉 1.2 g (0.018 mol), 室温反应 10 h, 加氨水 100 mL, 用二氯甲烷 (30 mL × 3) 提取, 提取液干燥, 浓缩, 用 60% 乙醇精制, 得类白色粉末 0.55 g, 收率: 61%, mp: 94 ~ 95 °C。元素分析 C₁₈H₂₉N₅O: C 65.10 (计算值 65.23), H 8.96 (计算值 8.82), N 21.01 (计算值 21.13); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 200 MHz): 6.60 ~ 6.90 (4H, m, *p*-NH₂-pH), 3.55 (2H, s, COCH₂), 3.00 ~ 3.80 (8H, m, piperazine H), 1.80 ~ 2.60 (8H, m, piperazine H), 2.4 (2H, m, CH₂), 1.05 (3H, t, *J* = 6.8 Hz, CH₃); EI-MS: 332 [M + 1]⁺, 288, 247, 191, 128, 85。

2.3 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 跨膜内流动实验

击昏大鼠取出胸主动脉, 并在 PSS 液中去除结缔组织, 每条动脉管剪切成 6 段, 迅速放入 37 °C 盛有 PSS 生理液 2.0 mL 的安瓿管中, 恒温通氧平衡 40 min, 此过程是保持组织细胞生物活力, 恢复手术和剪切造成的细胞损伤。然后将动脉管迅速转移到加有被测样品 (浓度为 25 mmol/L) 的 PSS 液 2 mL 中, 恒温通氧 20 min (被测样品为 20 μL)。再将其移入含 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 和被测样品 (20 μL) 的 2 mL PSS 液中, 预处理 10 min, 让 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 进入细胞及间隙。再次转移至含 20 μL 样品的高钾 PSS 液中处理 10 min, 恒温通氧。最后将动脉管转移至 0 °C 无 Ca^{2+} -EDTA 中, 洗去细胞间隙中的 $^{45}\text{Ca}^{2+}$, 洗涤 3 次, 间隔时间为 20 min。取出动脉管后, 用滤纸吸干, 置于称量瓶中, 用分析天平精确称出动脉管的质量。然后向装有动脉管的安瓿瓶中分别依次加入 70% HClO₄ 25 μL 和 30% H₂O₂ 50 μL, 恒温 70 °C 消化 20 ~ 30 min。此步旨在分解细胞组织, 分解蛋白质、糖类等, 让细胞中的 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 全部游离出来, 瓶内防止进水。观察动脉管是否消化完全 (消化液至澄清), 如未消化完全, 则可酌加 HClO₄ 和 H₂O₂ 继续加热消化。冷却后分别加入甲苯闪烁液 3.5 ~ 4 mL, 密闭, 在黑暗中放置 3 h。最后用 FJ-210P 型液体闪烁计数器测量 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 计数率 (cpm), 采用外标准道比法 (ESCR) 对样品进行淬灭校正。

3 结果与讨论

以硝苯吡啶作为阳性对照, 生理盐水作为阴性

对照, 应用 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 跨膜流动测定技术测定了 9 个新化合物对细胞膜钙通道的作用, 结果见表 2。

Table 2 Effect of compound **4a-4i** (10 mg/mL) on Ca^{2+} transmembrane influx in rat aorta ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Compd.	Ca^{2+} influx/(μmol/kg)
Control	324.34 ± 31.35
Nifedipine	257.26 ± 9.42
4a	228.98 ± 5.75**
4b	221.65 ± 8.51**
4c	240.15 ± 12.23*
4d	245.16 ± 6.72*
4e	242.76 ± 15.97*
4f	234.64 ± 6.98**
4g	241.12 ± 9.58*
4h	255.45 ± 7.86
4i	252.12 ± 10.15

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs nifedipine group

结果表明, 9 个新化合物对大鼠主动脉电压依赖性钙离子通道均有阻滞作用, 且化合物 **4a**、**4b**、**4f** 的活性强于阳性对照药硝苯吡啶, 且有极显著性差异 ($P < 0.01$)。

致谢: 药理实验工作在四川大学七二〇所莫尚武教授、杨远友老师指导和协助下完成。

参考文献

- [1] Lederballe O, Ibsen H. The effect of calcium channel blockers for hypertension [J]. *Ugeskr Laeger*, 2011, **173**(23): 1 647 - 1 650.
- [2] Thomé C, Seiz M, Schubert GA, et al. Nicardipine pellets for the prevention of cerebral vasospasm [J]. *Acta Neurochir Suppl*, 2011, **110**(Pt 2): 209 - 211.
- [3] Nishigaki K, Inoue Y, Yamanouchi Y, et al. Prognostic effects of calcium channel blockers in patients with vasospastic angina: a meta-analysis [J]. *Circ J*, 2010, **74**(9): 1 943 - 1 950.
- [4] Alcocer L, Bendersky M, Acosta J, et al. Use of calcium channel blockers in cardiovascular risk reduction: issues in Latin America [J]. *Am J Cardiovasc Drugs*, 2010, **10**(3): 143 - 154.
- [5] Zamponi GW, Feng ZP, Zhang LY, et al. Scaffold-based design and synthesis of potent N-type calcium channel blockers [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, **19**(22): 6 467 - 6 472.
- [6] Kim HS, Kim Y, Doddareddy MR, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of 1, 3-dioxisoindoline-5-carboxamide derivatives as T-type calcium channel blockers [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, **17**(2): 476 - 481.
- [7] 贾宏钧 (Jia HJ), 王钟林 (Wang ZL), 杨期东 (Yang QD). 离子通道与心脑血管疾病 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 73 - 87.
- [8] 莫尚武 (Mo SW), 刘宁 (Liu N), 张坐奎 (Zhang ZK), 等. 瓜蒌皮提取物对大鼠主动脉 PDC Ca^{2+} 内流的影响 [J]. *中草药 (Chin Tradit Herb Drugs)*, 1999, **30**(9): 674 - 675.