

## 4-(2-乙酰氧基苯甲酰氨基)丁酸酯类化合物的设计、合成及抗癫痫活性研究

刘文虎<sup>1</sup>, 贺 殿<sup>2</sup>, 阴新强<sup>1</sup>, 刘 毅<sup>1\*</sup>

(1. 川北医学院药理教研室, 四川 南充 637000; 2. 兰州大学药学院药物化学研究所, 甘肃 兰州 730000)

**摘要:** 以中枢抑制性神经递质  $\gamma$ -氨基丁酸 (GABA) 受体调节位点为靶点, 以 GABA (**1**) 为原料设计合成了 12 个未见文献报道的 4-(2-乙酰氧基苯甲酰氨基) 丁酸及酯类化合物 (**7a**~**7k**)。目标化合物经 IR、<sup>1</sup>H NMR、EI-MS 及元素分析确证了结构。初步体外活性表明, 所合成的化合物具有不同程度的抗癫痫活性, 其中化合物 **7i**~**7k** 具有很好的抗癫痫活性, 值得进一步研究, 化合物 **4**、**7d**~**7h** 显示较好的抗癫痫活性。在此基础上, 初步讨论了该类化合物的构效关系。

**关键词:** 4-(2-乙酰氧基苯甲酰氨基) 丁酸酯类; 合成; 抗癫痫活性; GABA 受体

中图分类号: R916

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2011) 03-0299-06

## Design, synthesis and antiepileptic activity of 4-(2-acetoxybenzoylamino) butyrate derivatives

LIU Wen-hu<sup>1</sup>, HE Dian<sup>2</sup>, YIN Xin-qiang<sup>1</sup>, LIU Yi<sup>1\*</sup>

(1. Department of Pharmacology, North Sichuan Medical College, NanChong 637000, China;

2. Institute of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Lanzhou University, Lanzhou 73000, China)

**Abstract:** A series of 4-(2-acetoxybenzoylamino) butyrate derivatives were designed and synthesized. All of the novel 12 compounds (**7a**~**7k**) were synthesized from  $\gamma$ -aminobutyric acid (**1**) as starting material, and their structures were confirmed with IR, <sup>1</sup>H NMR, EI-MS and elemental analysis. Preliminary pharmacological test *in vitro* showed that most of these title compounds possessed antiepileptic activity. Compounds **7i**~**7k** displayed strong antiepileptic activity and are worth for further development. Compounds **4**, **7d**~**7h** showed moderate antiepileptic activity. The structure-activity relationship of 4-(2-acetoxybenzoylamino) butyrate derivatives is also discussed preliminarily.

**Key words:** 4-(2-acetoxybenzoylamino) butyrate derivatives; synthesis; antiepileptic activity; GABA receptor

癫痫是脑部神经元高度同步化且常具自发性的异常放电所致, 以发作性、短暂性、重复性及通常为刻板性的中枢神经功能失调为特征的综合症。据 WHO 公布, 全球约有 3 000 多万癫痫患者, 我国就有 700 多万, 而且有升高趋势。癫痫与脑内抑制性神经递质  $\gamma$ -氨基丁酸 (GABA) 的减少关系密切。已有的 GABA 类抗癫痫药如加巴喷丁 (gabapentin, **I**)、氨

己烯酸 (vigabatrin, **II**)、巴氯芬 (baclofen, **III**) 及普瑞巴林 (pregabalin, **IV**) (图 1) 的治疗靶标都与  $\gamma$ -氨基丁酸受体 (GABAR) 相关, 药物与 GABAR 结合并激动受体, 对中枢神经产生抑制效应, 从而起到治疗癫痫的作用<sup>[1]</sup>。

本研究以 GABA 为前体物质设计合成其类似物, 由于 GABA 的脂水分配系数 ( $\lg P$ ) 仅为 -0.82, 而中枢的  $\lg P$  为 2.0, 因此外源性的 GABA 不易进入中枢。为此, 设计将 GABA 和某种适宜的载体相连接, 经载体的转运进入中枢而发挥作用。

收稿日期: 2010-09-14.

\*通讯作者 Tel: 86-817-3352025, E-mail: liuyi19@yahoo.com.cn

阿斯匹林 (ASA) 具有神经保护作用, 能抑制兴奋性神经递质的释放、增加脑内 ATP 含量、调节一氧化氮合酶 (NOS) 表达<sup>[2]</sup>。癫痫发作时, 脑内兴奋性氨基酸浓度升高, NOS 生成增多, 产生大量羟自由基 (OH·) 而具有严重的神经毒性, 而 ASA 的代谢物水杨酸可清除 OH· 的作用; ASA 还可增加脑内 ATP 浓度, 抑制谷氨酸的逆转运, 促进癫痫发作后神经元功能的恢复<sup>[3]</sup>。ASA 能够抑制人类  $\beta$  淀粉样蛋白 (A $\beta$ ) 在脑内的沉积, 改变神经原纤维  $\beta$  折叠片的构型, 减少或推迟兴奋性神经递质的释放, 有效抑制癫痫病灶的发展。据此, 以 ASA 为载体设计合成了 4-(2-乙酰氧基苯甲酰氨基)丁酸 (**4**), 但 **4** 的极性大, 不易进入中枢, 妨碍了药效的发挥。ASA 可以平衡 GABA 的亲水性, 其结构中的羧基与 GABA 结构中的氨基生成的酰胺键降低了 GABA 的极性。另外, 为使化合物易进入中枢发挥作用, 将 GABA 亲水性较大的羧基可修饰为亲脂性较大的酯基。因此利用“前药原理”将其羧基酯化增大亲脂性, 体内经酶催化后酯键断裂还原为原药发挥药效。

以 GABA 为原料于氮气保护下, 用三甲基氯硅烷 (TMSCl) 保护羧基和氨基, 2-(乙酰氧基) 苯甲酰氯置换, NaOH 脱保护得目标化合物 **4**, 收率 39.9%。见合成路线 1。用 NaOH 脱保护是得到 **4** 的关键, 多次实验表明, 用 2% NaOH 脱保护效果最好, 浓度高酰胺键易断裂, 浓度低脱保护不完全, 都会影响其收率。

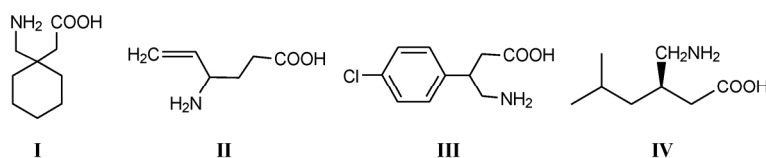
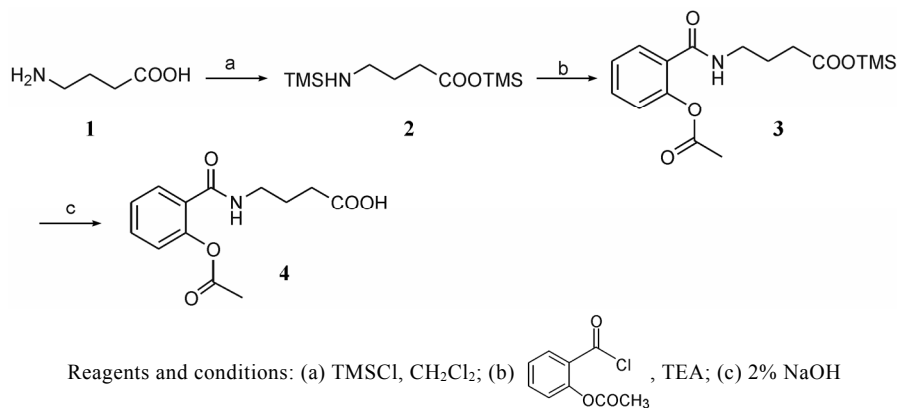


Figure 1 Chemical structures of compounds I-IV



Scheme 1 Synthetic route of 4-(2-(2-acetoxybenzoylamino)butanoic acid

由于化合物 **4** 的活性大, 直接进行酯化反应副反应较多, 所得产物杂质较多, 不利于纯化, 因此选择以对甲苯磺酸 (*p*-TsOH) 为催化剂, 将 GABA 和醇反应制备  $\gamma$ -氨基丁酸酯对甲苯磺酸盐, 以三乙胺 (TEA) 为缚酸剂, 用甲苯携带反应体系中生成的水, 加热回流 4~8 h, 反应后过量的 *p*-TsOH 易除去, 操作简单, 产品收率高于 70%。得到产物再与 2-(乙酰氧基) 苯甲酰氯反应得 **6a~6k**, 再经乙酰化可得目标物 **7a~7k**, 目标产物收率高于 40%。见合成路线 2。

## 结果与讨论

### 1 化学部分

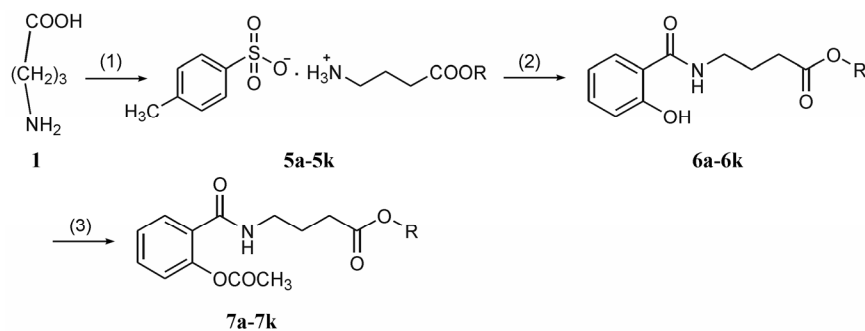
合成化合物的光谱数据见表 1、2。

### 2 药理部分

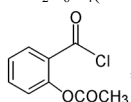
**2.1 活性筛选** 抗癫痫实验采用美国国立卫生研究院的抗癫痫药开发流程<sup>[4, 5]</sup>, 先进行初步活性筛选, 对活性较好的化合物作进一步研究, 测定各化合物的 ED<sub>50</sub>、LD<sub>50</sub> (方法见药理实验部分)。初步筛选显示, 在 240 mg·kg<sup>-1</sup> 剂量下有 9 个化合物对癫痫的治疗率大于 60%, 统计分析, 该剂量下化合物组与模型组之间存在显著性差异 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ) (表 3)。

**2.2 ED<sub>50</sub>、LD<sub>50</sub> 的测定** 对初选活性较好的化合物采用 Karber 法分别测定 ED<sub>50</sub>、LD<sub>50</sub> 及 ED<sub>50</sub> 和 LD<sub>50</sub> 的 95% 置信区间。方法见“药理实验部分”。

结果表明, 有 9 个化合物的 ED<sub>50</sub> 值比阳性药的



a: R=C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>; b: R=CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; c: R=(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>; d: R=CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>; e: R=CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>; f: R=CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>(*o*-OCH<sub>3</sub>); g: R=CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>(*m*-OCH<sub>3</sub>); h: R=CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>(*p*-OCH<sub>3</sub>); i: R=CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>(*o*-Cl); j: R=CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>(*m*-Cl); k: R=CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>(*p*-Cl)

Reagents and conditions: (1) *p*-TsOH, R-OH; (2) , TEA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 50 °C, 18 h; (3) TEA, AcCl, 0 °C, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, rt

**Scheme 2** Synthetic route of target compounds

**Table 1** Experimental results and IR, MS and elemental analysis data of target compounds

Compd.	Yield /%	IR (KBr) /cm <sup>-1</sup>	Elemental analysis (% , calcd.)			EI-MS ( <i>m/z</i> )
			C	H	N	
<b>4</b>	39.9	3 381, 3 087, 1 738	58.78 (58.86)	5.62 (5.70)	5.21 (5.28)	222.9 [M-43]
<b>7a</b>	54.5	3 326, 1 735, 1 645	61.60 (61.42)	6.62 (6.53)	4.84 (4.78)	293.0
<b>7b</b>	47.9	3 376, 1 703, 1 643	62.42 (62.53)	6.76 (6.89)	4.45 (4.56)	307.0
<b>7c</b>	47.8	3 386, 1 713, 1 659	63.52 (63.54)	7.18 (7.21)	4.31 (4.36)	321.2
<b>7d</b>	44.4	3 378, 1 709, 1 641	65.58 (65.69)	7.11 (7.25)	3.98 (4.03)	347.0
<b>7e</b>	40.4	3 316, 1 741, 1 635	67.44 (67.59)	5.79 (5.96)	3.85 (3.94)	355.2
<b>7f</b>	43.9	3 314, 1 734, 1 642	65.42 (65.44)	5.98 (6.02)	3.60 (3.63)	385.0
<b>7g</b>	45.6	3 316, 1 736, 1 645	65.63 (65.44)	6.12 (6.02)	3.74 (3.63)	385.0
<b>7h</b>	47.8	3 315, 1 733, 1 648	65.49 (65.44)	6.09 (6.02)	3.670 (3.63)	385.0
<b>7i</b>	44.7	3 372, 1 702, 1 644	61.70 (61.62)	5.26 (5.17)	3.62 (3.59)	390.0
<b>7j</b>	46.6	3 378, 1 710, 1 648	61.45 (61.62)	5.06 (5.17)	3.52 (3.59)	390.0
<b>7k</b>	51.3	3 382, 1 706, 1 650	61.47 (61.62)	5.08 (5.17)	3.51 (3.59)	390.0

**Table 2** <sup>1</sup>H NMR data of target compounds

Compd.	<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> )
<b>4</b>	1.95 (m, 2H, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 2.15 (s, 3H, OCCH <sub>3</sub> ), 2.29 (t, 2H, <i>J</i> = 5.4 Hz, CH <sub>2</sub> COOH), 3.48 (m, 2H, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 6.77–6.96 (m, 2H, Ar-H), 7.21–7.38 (m, 2H, A-H), 9.92 (br s, 1H, NH)
<b>7a</b>	1.22 (t, 3H, <i>J</i> = 6.9 Hz, CH <sub>3</sub> ), 1.92 (m, 2H, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 2.13 (s, 3H, CH <sub>3</sub> CO), 2.25 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.42 (t, 2H, <i>J</i> = 6.9 Hz, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 3.47 (m, 2H, <i>J</i> = 6.6 Hz, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 4.09 (q, 2H, <i>J</i> = 6.9 Hz, CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ), 6.77–7.53 (m, 4H, Ar-H), 7.15 (br s, 1H, NH)
<b>7b</b>	1.23 (d, 6H, <i>J</i> = 6.4 Hz, (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ), 1.96 (t, 2H, <i>J</i> = 6.4 Hz, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 2.17 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.44 (m, 2H, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 3.50 (t, 2H, <i>J</i> = 6.8 Hz, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 5.01 (m, 1H, CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ), 6.84–7.44 (m, 4H, Ar-H), 7.35 (br s, 1H, NH)
<b>7c</b>	0.90 (t, 3H, <i>J</i> = 7.2 Hz, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ), 1.33 (m, 2H, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ), 1.58 (m, 2H, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ), 1.95 (m, 2H, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 2.11 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.45 (t, 2H, <i>J</i> = 6.8 Hz, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO), 3.49 (q, 2H, <i>J</i> = 6.4 Hz, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 4.06 (t, 2H, <i>J</i> = 6.4 Hz, OCH <sub>2</sub> C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> ), 6.80–7.48 (m, 4H, Ar-H), 7.40 (br s, 1H, NH)
<b>7d</b>	1.26–1.52 (m, 5H, cyclohexanyl), 1.70 (t, 2H, cyclohexanyl), 1.80 (m, 2H, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 2.23 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.42 (t, 2H, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO), 3.28 (t, 2H, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 4.73 (t, 2H, cyclohexanyl), 6.84–7.42 (m, 4H, Ar-H), 7.21 (br s, 1H, NH)
<b>7e</b>	1.97 (m, 2H, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 2.17 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.46 (t, 2H, <i>J</i> = 6.8 Hz, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO), 3.50 (q, 2H, <i>J</i> = 6.4 Hz, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 5.34 (s, 1H, CH <sub>2</sub> -Ar), 6.82–6.97 (m, 4H, Ar-H), 7.18–7.44 (m, 4H, Ar-H), 7.18 (br s, 1H, NH)
<b>7f</b>	1.98 (m, 2H, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 2.17 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.51 (t, 2H, <i>J</i> = 6.8 Hz, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO), 3.47 (q, 2H, <i>J</i> = 6.0 Hz, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 3.80 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 5.08 (s, 2H, CH <sub>2</sub> -Ar), 6.79–6.97 (m, 4H, Ar-H), 7.23–7.40 (m, 4H, Ar-H), 7.20 (br s, 1H, NH)
<b>7g</b>	1.99 (m, 2H, <i>J</i> = 6.8 Hz, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 2.17 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.51 (t, 2H, <i>J</i> = 6.8 Hz, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO), 3.48 (m, 2H, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 3.81 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 5.12 (s, 2H, CH <sub>2</sub> -Ar), 6.81–7.04 (m, 4H, Ar-H), 7.34–7.40 (m, 4H, Ar-H), 7.40 (br s, 1H, NH)
<b>7h</b>	1.97 (m, 2H, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 2.18 (s, 3H, OCCH <sub>3</sub> ), 2.51 (t, 2H, <i>J</i> = 7.2 Hz, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO), 3.49 (q, 2H, <i>J</i> = 6.0 Hz, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 3.81 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 5.12 (s, 2H, CH <sub>2</sub> -Ar), 6.81–7.04 (m, 4H, Ar-H), 7.26–7.40 (m, 4H, Ar-H), 7.30 (br s, 1H, NH)
<b>7i</b>	2.03 (m, 2H, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 2.17 (s, 3H, OCCH <sub>3</sub> ), 2.55 (t, 2H, <i>J</i> = 6.8 Hz, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO), 3.52 (q, 2H, <i>J</i> = 6.0 Hz, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 5.23 (s, 2H, CH <sub>2</sub> -Ar), 6.82–6.98 (m, 4H, Ar-H), 7.24–7.38 (m, 4H, Ar-H), 7.24 (br s, 1H, NH)
<b>7j</b>	1.97 (m, 2H, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 2.16 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.52 (t, 2H, <i>J</i> = 6.8 Hz, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO), 3.49 (q, 2H, <i>J</i> = 6.4 Hz, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 5.07 (s, 2H, CH <sub>2</sub> -Ar), 6.81–7.20 (m, 4H, Ar-H), 7.24–7.39 (m, 4H, Ar-H), 7.19 (br s, 1H, NH)
<b>7k</b>	2.01 (m, 2H, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 2.18 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.50 (q, 2H, <i>J</i> = 6.4 Hz, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO), 3.50 (q, 2H, <i>J</i> = 6.0 Hz, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 5.07 (s, 2H, CH <sub>2</sub> -Ar), 6.81–7.27 (m, 4H, Ar-H), 7.30–7.40 (m, 4H, Ar-H), 7.30 (br s, 1H, NH)

**Table 3** The effective ratio of the target compounds at different doses. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs model group

Compd.	Positive rate/%		
	80 mg·kg <sup>-1</sup>	160 mg·kg <sup>-1</sup>	240 mg·kg <sup>-1</sup>
4	0	25	62.5*
7a	0	12.5	25
7b	0	12.5	25
7c	0	12.5	25
7d	0	50*	87**
7e	0	37.5	87**
7f	0	25	67*
7g	0	25	67*
7h	0	25	67*
7i	12.5	50*	87**
7j	12.5	50*	87**
7k	12.5	50*	87**
Sodium valproate	12.5	50*	87**

**Table 4** ED<sub>50</sub> values and LD<sub>50</sub> values and 95% confidence interval of target compounds

Compd.	ED <sub>50</sub>	95% confidence	LD <sub>50</sub>	95% confidence
	/mmol·kg <sup>-1</sup>	interval	/mmol·kg <sup>-1</sup>	interval
4	0.724 2	163.9-210.1	1.574 3	355.0-452.0
7d	0.466 0	142.5-183.9	1.215 6	363.2-481.4
7e	0.465 7	144.9-189.0	1.301 6	398.9-526.3
7f	0.490 1	178.7-199.5	1.146 6	380.1-503.7
7g	0.490 1	178.7-199.5	1.146 6	380.1-503.7
7h	0.490 1	178.7-199.5	1.146 6	380.1-503.7
7i	0.396 4	134.3-177.7	1.270 7	453.1-555.5
7j	0.396 4	134.3-177.7	1.270 7	453.1-555.5
7k	0.396 4	134.3-177.7	1.270 7	453.1-555.5
Sodium valproate	1.043 7	131.2-172.6	3.675 5	485.4-574.6

ED<sub>50</sub> 值小 (等摩尔比较), 其中化合物 **7i**~**7k** 的 ED<sub>50</sub> 值比阳性药的 ED<sub>50</sub> 低 1.6 倍, 显示很好的抗癫痫活性, 具有深入研究的价值 (表 4)。

初步体外活性实验表明: ① 目标物的作用强弱与取代基 R 体积大小有关, 当 R 的体积较大时, 化合物的抗癫痫活性显著, 以空间位阻较大的环己酯、苯酯、甲氧基取代苯酯、氯代苯酯的活性较好, R 体积较小时活性也低, 这可能与化合物的脂溶性有关。② 当 R 为有氯取代的苯环时活性较好, 但苯环氯的取代位次对作用强度没有明显影响, 其机制尚不明确。③ 取代基 R 的芳环引入供电子基团活性降低, 引入吸电子基团活性增强, R 中同时含有吸电子基团和供电子基团时, 取决于两者对电子效应的能力, 但以吸电子基团对活性的影响显著。④ R 若为杂环取代基, 活性显著增强, 以含 N、O 的五元和六元杂环时活性

较好 (目前在研的部分化合物显示 ③、④ 的性质)。由于本文所涉及的化合物数量有限, 讨论构效关系的样本数不是很充足, 因此构效关系研究还需进一步实验验证。

## 小结

本研究以中枢抑制性神经递质 GABA<sub>A</sub> 调节位点为靶点, 设计合成 12 个 4-(2-乙酰氧基苯甲酰氨基) 丁酸酯类化合物, 经光谱技术确证其结构。初步药理活性显示该类化合物具有较好的抗癫痫活性, 有 9 个化合物的抗癫痫活性比阳性对照药丙戊酸钠强 0.4~1.6 倍 (折合等摩尔)。本实验设计的化合物结构新颖独特, 与传统抗癫痫药均不同, 且活性显著, 具有深入研究的价值。

## 实验部分

YRT-3 型熔点测定仪 (天津大学精密仪器厂), 温度未校正; ZF<sub>8</sub> 三用紫外分析仪 (上海康华生化仪器制造厂); Varian Mercury-400 型核磁共振仪 (美国 Varian 技术中国有限公司), TMS 为内标; LCQ Deca XP plus 型离子阱质谱仪 (美国 Thermo 公司); Nexus 670 FI-IR 型傅里叶变换红外光谱仪 (Nicolet 公司); Carlo-Erba 1106 型元素分析仪 [香港兴万电子仪器 (厦门) 有限公司]; 其他试剂均为分析纯。

### 1 化学合成

**1.1 2-(乙酰氧基) 苯甲酰氯的制备**<sup>[6]</sup> 100 mL 三颈瓶中加入 2-(乙酰氧基) 苯甲酸 9.01 g (0.05 mol), 于 50 °C 以下滴入 SOCl<sub>2</sub> 4.00 mL, 吡啶 0.02 mL, 逐渐升温至 90 °C 搅拌回流 3 h。冷却, 90 °C 减压除去过量的 SOCl<sub>2</sub>, 冷却得白色黏稠状物 9.43 g, 收率 90%, 隔绝密封待用。

**1.2 4-(2-乙酰氧基苯甲酰氨基) 丁酸 (4) 的合成**<sup>[7-10]</sup> N<sub>2</sub> 保护下于 100 mL 三颈瓶中加入 GABA 1.03 g (10 mmol)、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 20 mL 和 TMSCl 2.07 g (20.05 mmol), 回流 1 h, 反应液冷却至室温, 置于冰-水浴中依次滴入三乙胺 (TEA) 2.1 mL (15 mmol) 和溶有 1.99 g (10 mmol) 2-(乙酰氧基) 苯甲酰氯的 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 10 mL。冰-水浴中继续搅拌 30 min, 升至室温, 继续搅拌 1 h。蒸出过量的二氯甲烷, 得褐色油状液体, 将其置于冰浴中, 加入 2 mol·L<sup>-1</sup> 冷藏的 NaOH 溶液 10 mL, 移去冰浴, 继续搅拌 2 h 得到清澈溶液, 2 mol·L<sup>-1</sup> 的 HCl 酸化, 于 5 °C 环境中冷藏 1 h, 析出白色固体, 过滤,

固体用 70% EtOH-H<sub>2</sub>O (v/v) 重结晶, 得白色针状固体 1.06 g (收率 39.9%)。mp 101.2~102.2 °C。

**1.3  $\gamma$ -氨基丁酸酯对甲基苯磺酸盐 (5a~5k) 的合成通法<sup>[11-13]</sup>** 100 mL 反应瓶中加入 GABA 2.06 g (20 mmol)、*p*-TsOH 3.96 g (22.88 mmol)、醇 25 mmol 和甲苯 25 mL, 加热回流 4~8 h, 以甲苯为夹带剂除去反应中生成的水。反应完毕, 减压除去过量醇、甲苯。加入无水乙醚 100 mL 冷藏放置过夜, 得白色固体, 无水乙醇/乙醚重结晶得精品, 收率 72.9%~93.4%。

**1.4 4-(2-羟基苯甲酰氨基) 丁酸酯 (6a~6k) 的合成<sup>[11-13]</sup>**  $\gamma$ -氨基丁酸酯对甲苯磺酸盐 20 mmol 加入装有 60 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 的三口瓶中, 将新制的 2-(乙酰氧基)苯甲酰氯 4.47 g (22 mmol) 溶于 8 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 中, 滴入上述混悬液中, 同时滴入 TEA 15 mL, 置于 60 °C 油浴中回流 18~24 h, 并用 TLC (硅胶板、石油醚、乙酸乙酯) 监测反应, 待新斑点无明显变化时停止加热, 室温冷却, 分别用 5% NaHCO<sub>3</sub> (2×20 mL)、H<sub>2</sub>O (3×30 mL) 洗涤有机层, 有机相加入适量活性炭煮沸 10 min 退色, 无水 MgSO<sub>4</sub> 干燥过夜, 减压除去 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 得油状物, 用少量丙酮溶解, 粗硅胶拌样, 石油醚/乙酸乙酯混合液作流动相柱色谱分离, 收集第二蓝色组分, 减压回收溶剂得油状物 (收率 54.8%~59.1%)。

**1.5 4-(2-乙酰氧基苯甲酰氨基) 丁酸酯 (7a~7k) 的合成<sup>[11-13]</sup>** 将 4-(2-羟基苯甲酰氨基) 丁酸酯 10.6 mmol 溶解于盛有 50 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 的三颈瓶中, 缓慢搅拌加入 5 mL TEA, 置反应于冰-水浴中保持 10 min, 将溶有 1.5 mL (21.2 mmol) 乙酰氯的 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 溶液 5 mL 缓慢滴入, 移去冰水浴, 反应逐渐恢复至室温, 继续搅拌, TLC 监测反应, 反应完毕, 加水 20 mL 猝灭反应, 分层, 有机层水洗 (2×30 mL), 有机层用无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥过夜, 减压除去 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 得 4-(2-乙酰氧基苯甲酰氨基) 丁酸酯类化合物 (收率 40.4%~54.5%)。

## 2 药理实验部分

**2.1 模型建立<sup>[14, 15]</sup>** 昆明种小鼠, 雌雄各半, 体重 18~22 g。将 4-氨基吡啶 (4-AP) 溶于聚乙二醇 400 (PEG400), 按 7 mg·kg<sup>-1</sup> 剂量腹腔注射, 8 min 后小鼠出现呼吸加粗, 活动增多, 面部抽搐伴全身性阵挛, 发出吱吱叫声, 伴随追逐攻击行为, 竖立对峙, 相互撕咬, 阵发性痉挛, 后腿僵直伴跌倒症状, 此行为持续 30 min 后逐渐消失, 表明致痫成功。

**2.2 给药方法** 所用药物及各受试化合物都溶解于 PEG400 后腹腔注射。空白组 (20 mL·kg<sup>-1</sup> PEG400);

模型组 (7 mg·kg<sup>-1</sup> 4-AP); 阳性组 (100 mg·kg<sup>-1</sup> sodium valproate); 化合物组 (按设定剂量溶于 PEG400 后注射, 15 min 后再注射 4-AP)。

**2.3 活性筛选** 成年昆明种小鼠, 雌雄各半, 随机分为空白组、模型组、阳性组及化合物组, 每组 8 只小鼠。各化合物分低剂量组 (80 mg·kg<sup>-1</sup>)、中剂量组 (160 mg·kg<sup>-1</sup>) 和高剂量组 (240 mg·kg<sup>-1</sup>) 分别腹腔注射, 15 min 后腹腔注射 4-AP, 记录小鼠不同剂量时的阳性数, 计算阳性率 (表 3)。

**2.4 ED<sub>50</sub>、LD<sub>50</sub> 的测定** 成年昆明种小鼠, 雌雄各半, 随机分为空白组、阳性组和化合物组, 每组 8 只小鼠。方法为先探讨各化合物的给药剂量范围, 在某剂量下, 阳性反应率为高于 80% 时的剂量定为最大剂量, 阳性反应率低于 20% 时的剂量定为最小剂量。各化合物分 5 个剂量, 相邻剂量间隔依照等比数列划分, 并计算公比。实验设定 ED<sub>50</sub> 测定给药剂量分别为 100、120、144、173 和 207 mg·kg<sup>-1</sup>; LD<sub>50</sub> 测定给药剂量分别为 300、360、432、518 和 622 mg·kg<sup>-1</sup>。按“给药方法”分别腹腔给药, 观察并记录小鼠出现的阳性数, 计算阳性率, 根据 Karber 法计算化合物的 ED<sub>50</sub>、LD<sub>50</sub> 及 ED<sub>50</sub> 和 LD<sub>50</sub> 的 95% 置信区间 (表 4)。

$$ED_{50} = \lg^{-1} [X_m - i(\sum P - 0.5)],$$

$$95\% \text{ 置信线} = \lg^{-1} (\lg ED_{50} \pm 1.96 S_{X_{50}})$$

$$LD_{50} = \lg^{-1} [X_m - i(\sum P - 0.5)],$$

$$95\% \text{ 置信线} = LD_{50} \pm 4.5 LD_{50} \cdot S_{X_{50}}$$

式中  $S_{X_{50}} = i \times (\sum P - \sum P^2/n - 1)^{1/2}$ ;  $X_m$ : 最大剂量的常用对数值;  $i$ : 相邻两组比值的对数 ( $\lg r$ );  $P$ : 各组动物的有效率;  $\sum P$ : 各组动物有效率总和;  $n$ : 每组动物数;  $S_{X_{50}}$  为  $\lg ED_{50}$  的标准误,  $X_{50} = \lg ED_{50}$ 。

## References

- [1] Rogawski MA. Diverse mechanisms of antiepileptic drugs in the development pipeline [J]. *Epilepsy Res*, 2006, 69: 273-294.
- [2] Xu T, Qu F. Neuroprotective effect of acetylsalicylic acid [J]. *Chin J Clin Neurosci* (中国临床神经科学), 2004, 12: 220-222.
- [3] Tang ZY. Neuroprotective effect of acetylsalicylic acid [J]. *Foreign Med Sci (Neurol Neurosurg)* (国外医学 神经病学神经外科学分册), 2002, 29: 100-102.
- [4] Krall RL, Penry JK, White BG, et al. Antiepileptic drug development: II. Anticonvulsant drug screening [J]. *Epilepsia*, 1978, 19: 409-428.

- [5] Porter RJ, Cereghino JJ, Gladding GD, et al. Antiepileptic drug development program [J]. Cleve Clin Q, 1984, 51: 293-305.
- [6] Stranix BR, Lavallée JF, Sévigny G, et al. Lysine sulfonamides as novel HIV-protease inhibitors: Nepsilon-acyl aromatic alpha-amino acids [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2006, 16: 3459-3462.
- [7] Leone-Bay A, Freeman J, O'Toole D, et al. Studies directed at the use of parallel synthesis matrix to increase throughput in an *in vivo* assay [J]. J Med Chem, 2000, 43: 3573-3576.
- [8] Leone-Bay A, Ho KK, Agarwal R, et al. 4-[4-[(2-Hydroxybenzoyl) amino]phenyl] butyric acid as a novel oral delivery agent for recombinant human growth hormone [J]. J Med Chem, 1996, 39: 2571-2578.
- [9] Leone-Bay A, Paton DR, Freeman J, et al. Synthesis and evaluation of compounds that facilitate the gastrointestinal absorption of heparin [J]. J Med Chem, 1998, 41: 1163-1171.
- [10] Ho KK, Wang NF, Lercara C, et al. Solution phase preparation of highly pure amide mixtures via in-situ chlorotrimethylsilane protection and activation [J]. Syn Commun, 1997, 27: 883-895.
- [11] Aldrich NK, Lau L, Miller L, et al. Release of the neurotransmitters glutamate and  $\gamma$ -aminobutyric acid from an electrode. Catalysis of slow redox propagation through a polymer film [J]. J Am Chem Soc, 1983, 105: 5278-5284.
- [12] Poras H, Kunesch G, Barrière JC, et al. Synthesis and *in vitro* antibacterial activity of catechol spiramycin conjugates [J]. J Antibiot, 1998, 51: 786-794.
- [13] Dahlgren MK, Kauppl AM, Olsson IM, et al. Design, synthesis, and multivariate quantitative structure-activity relationship of salicylanilides-potent inhibitors of type III secretion in Yersinia [J]. J Med Chem, 2007, 50: 6177-6188.
- [14] Xu JH, Cao H, Zheng JH. Intracerebral ventricular injection of 4-aminopyridine induced convulsion in rabbits [J]. Acta Pharm Sin (药学期刊), 1993, 28: 801-807.
- [15] Xu JH, Liu HC, Zhang YP. 4-Aminopyridine induced rage reaction in mice [J]. Acta Pharmacol Sin, 1991, 12: 155-159.

### 关于推荐 2011 年中国药学会-赛诺菲安万特青年生物药物奖的通知

中国药学会-赛诺菲安万特青年生物药物奖是中国药学会与赛诺菲-安万特公司共同设立的青年生物药物奖,旨在奖励中国优秀青年生物药物工作者,致力于生物药物新药研究。该奖项面向全国,从 2009 年起每年评选一次,每次奖励 8 名从事生物药物研究的青年学者,奖励金额(含税)为每人 20000 元人民币,同时颁发获奖证书。

有关评奖条件、申报方式和推荐材料要求等事宜可从中国药学会网站 ([www.cpa.org.cn](http://www.cpa.org.cn)) 查询相关通知。

#### 申报截止日期:

2011 年 4 月 30 日,以邮戳为准。

#### 联系方式:

地 址: 北京市朝阳区建外大街四号建外 SOHO 九号楼 1802 室; 邮 编: 100022

联系人: 孙文虹 (010-58699280-819)、范玫杉 (010-58699280-820)

E-mail: [sunwenhong2002@163.com](mailto:sunwenhong2002@163.com); [yxfms@163.com](mailto:yxfms@163.com)