

文章编号: 1674-8085(2016)01-0098-04

含哌嗪基团的芳氧乙酸酯类化合物的合成 及其促学习记忆作用的研究

宋明霞, * 邓先清

(井冈山大学医学院, 江西, 吉安 343009)

摘要: 目的 合成一系列 2-[1-(2-吡啶) 乙氧基]乙酸 2-[4-取代哌嗪]乙酯类化合物, 对其促小鼠学习记忆作用进行研究。方法 将 2-乙基吡啶进行 NBS 溴代反应, 得到 α -溴代 2-乙基吡啶 (2), 化合物 2 与 α -羟基乙酸乙酯反应得到芳氧乙酸乙酯 (3), 化合物 3 与 1-取代-4-羟乙基哌嗪 (5a-5g) 进行酯交换得到目标化合物 2-[1-(2-吡啶) 乙氧基]乙酸 2-[4-取代哌嗪]乙酯 (6a-6g)。挑选两个化合物 6a 和 6d, 对其进行小鼠水迷宫实验, 评价其促小鼠学习记忆活性。结果 合成了一系列含哌嗪基团的芳氧乙酸酯类化合物, 通过 $^1\text{H-NMR}$ 和红外光谱确证了其结构。结论 小鼠水迷宫实验结果表明化合物 6a 和 6d 对乙醇所致小鼠学习记忆再现困难具有明显改善作用($P < 0.05$)。

关键词: 芳氧乙酸酯; 哌嗪; 学习记忆; 水迷宫

中图分类号: R914

文献标识码: A

DOI:10.3969/j.issn.1674-8085.2016.01.020

SYNTHESIS AND EFFECTS ON LEARNING AND MEMORY FACILITATION OF PIPERAZINE-CONTAINED ARYLOXY ACETATE DERIVATIVES

SONG Ming-xia, * DENG Xian-qing

(School of Medicine, Jinggangshan University, Ji'an, Jiangxi 343009, China)

Abstract Objective: To synthesize a series of 2-(4-(4-substituted) piperazin-1-yl) ethyl 2-(1-(pyridin-2-yl) ethoxy) acetates, and study its effects on learning and memory facilitation in mice. **Methods:** The compounds 2-(4-(4-substituted)piperazin-1-yl)ethyl 2-(1-(pyridin-2-yl)ethoxy)acetates (6a-6g) were prepared by using 2-ethylpyridine as the starting material, which reacted with NBS to obtain compound 2. Compound 2 treated by 2-hydroxyacetic acid ethyl ester to give compound 3. The reaction of intermediate 3 and compounds 5a-5g produced the targets 6a-6g. The effects of compounds 6a and 6d on learning and memory in mice were tested by using swimming maze test. **Results:** A series of piperazine-contained aryloxy acetates were designed and synthesized, and the structures of these compounds were confirmed by IR and $^1\text{H-NMR}$ spectrum. **Conclusion:** The pharmacological results showed that compound 6a and 6d could significantly improve the aquired dysmnnesia of mice caused by 400 mL/L ethanol ($P < 0.05$).

Key words: aryloxy acetate; Piperazine; learning and memory; water maze

收稿日期: 2015-11-01; 修改日期: 2015-12-01

基金项目: 江西省自然科学基金项目(20142BAB215022)

作者简介: 宋明霞(1983-), 女, 山西介休人, 讲师, 博士, 主要从事抗菌化合物的设计、合成及其活性研究(E-mail: freexiaoxiao83@aliyun.com);

*邓先清(1984-), 男, 湖南衡阳人, 讲师, 博士, 主要从事抗癫痫先导物的发现、优化及其活性研究(E-mail: dengxianqing1121@126.com).

学习记忆能力是人类和动物区别于其他物种的重要特征之一。学习是指经验和经历使得自身行为发生适应性变化,而记忆则是大脑对过去经验的保持和提取。学习记忆能力是人类与生俱来的能力。但是随着年龄的不断增长,学习和记忆能力却是逐渐下降,尤其是现代社会,人口老龄化日益严重,将会有越来越多的人受到学习和记忆能力下降症状的困扰。寻找和开发治疗学习记忆能力下降的药物成为了新的研究热点。

目前已上市的增强学习记忆的药物主要有乙酰胆碱酯酶抑制剂、脑循环改善剂、脑代谢赋活剂、抗氧化剂、神经血管调节药、钙拮抗剂等。在这些药物中临床常见的有他克林、多奈哌齐、吡拉西坦、奥拉西坦、美金刚胺、银杏叶制剂、尼麦角林、维生素 E、尼莫地平等。但这些现有的药物都存在不同程度的副作用。乙酰胆碱酯酶抑制剂具有外周胆碱能的副作用从而导致肌痉挛、头晕、头痛、恶心、呕吐等^[1]。脑循环改善剂如西坦类药物同样具有胃肠道副作用和肝毒性,并且有报道精神病患者使用吡拉西坦会加重病情^[2]。除了毒副作用的限制,现有药物的药效也有待进一步提高,因此研究新的促学习记忆药物仍然十分需要。

在寻找结构新颖的促学习记忆药物过程中,李明洙等人发现了芳基(代)甲氧基乙酸酯类对小鼠学习记忆有很强的促进作用^[3-8]。为了进一步研究该类衍生物的构效关系并寻找到活性更强毒性更低的促学习记忆药物,本实验设计合成了含哌嗪基团的芳氧乙酸酯类化合物。目标化合物的制备是以 2-乙基吡啶为起始原料,对其进行 NBS 溴代反应,得到 α -溴代 2-乙基吡啶(2),化合物 2 与 α -羟基乙酸乙酯在醇钠作用下反应得到芳氧乙酸乙酯(3),化合物 3 与 1-取代-4-羟乙基哌嗪(5a-5g)进行酯交换得到目标化合物 2-[1-(2-吡啶)乙氧基]乙酸 2-[4-取代哌嗪]乙酯(6a-6g)。目标化合物采用薄层层析方法纯化后,其结构被红外光谱、核磁共振氢谱确证。在合成的 7 个化合物中挑选了两个代表化合物 6a 和 6d,采用小鼠水迷宫实验评价其促小鼠学习记忆活性。

相关化合物的合成路线如图 1 所示:

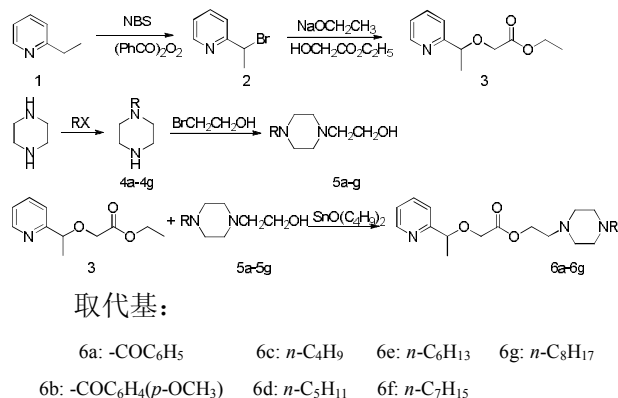


图 1 目标化合物的合成路线

Fig.1 The synthesis route of target compounds

1 合成实验

1.1 试剂与仪器

2-乙基吡啶(99%, Aldrich), 二丁基氧化锌、N-溴代丁二酰亚胺、羟基乙酸乙酯(分析纯, 阿拉丁试剂公司), 四氯化碳、二氧六环等溶剂(分析纯, 沈阳化学试剂厂)。核磁共振仪为Bruke AV-300型, 化合物测试溶剂为 CDCl_3 , 红外光谱采用液膜法测定(FT-IR1801)。

1.2 化合物(3)的合成^[7]

将 2-乙基吡啶(2.7 g, 25 mmol)、N-溴代丁二酰亚胺(4.5 g, 25 mmol)和过氧化苯甲酰(45 mg, 0.19 mmol)溶于 12 mL 四氯化碳中。反应液于 80°C 下反应 2 h 左右, TLC 跟踪反应, 反应完成后趁热抽滤, 滤饼用 5 mL 四氯化碳洗涤得到含化合物(2)的滤液备用。

在新蒸的乙醇(12 mL)中加入钠(0.65 g, 28 mmol), 待钠溶解后, 冰水浴冷却下滴入羟基乙酸乙酯(2.7 mL, 26 mmol), 室温搅拌 4 h。减压蒸出乙醇得到白色固体备用。

将上述白色固体与四氯化碳滤液混合, 在 50°C 下搅拌 18 h 左右, TLC 跟踪反应, 反应完成后倾入冰水中。三氯甲烷萃取(30 mL $\times$ 3), 合并有机层, 无水硫酸镁干燥。硅胶柱层析纯化(淋洗液: 石油醚-乙酸乙酯 = 4: 1), 得 2.8 g 化合物(3), 为浅棕色油状物。

1.3 1-苯甲酰基哌嗪(4a-4b)的合成^[9]

称取 0.86 g 无水哌嗪(0.01 mol)和 10 mL 冰

醋酸置于圆底烧瓶中, 搅拌至哌嗪完全溶解, 加入苯甲酰氯或对甲氧基苯甲酰氯 (0.01 mol), 常温下搅拌 2 h 左右, TLC 跟踪反应, 反应完全后, 加入 10 mL 水, 用氢氧化钠溶液调 pH 至 12, 有白色固体析出, 抽滤, 滤液用二氯甲烷萃取 (30 mL×3), 合并有机层, 无水 MgSO_4 干燥, 抽滤, 蒸除溶剂得到白色固体, 与滤饼合并得到化合物 4a、4b。

1.4 1-烷基取代哌嗪 (4c-4g) 的合成

称取 2.58 g 无水哌嗪 (0.03 mol) 溶解于 20 mL 无水乙醇中, 依次加入相应的卤代烷 (0.01 mol) 和 NaOH (0.8 g, 0.02 mol), 回流搅拌反应 4 h 左右, TLC 跟踪反应 (碘熏显色), 卤代烷消失后停止反应。减压蒸除溶剂后加水溶解, 调 pH 至 12, 二氯甲烷萃取 (30 mL×3), 合并有机层, 无水 MgSO_4 干燥。抽滤, 蒸除溶剂, 得到化合物 4c-4g。

1.5 2-[4-取代哌嗪]乙醇 (5a-5g) 的合成

称取 1.25 g 溴乙醇 (0.01 mol) 溶于 10 mL 乙醇中, 依次加入相应的 1-取代哌嗪 (0.01 mol) 和 NaOH (0.8 g, 0.02 mol), 升温至 50℃ 搅拌反应 8 h。反应完成后减压蒸除乙醇, 残渣加水溶解, 调 pH 至 9, 二氯甲烷萃取 (30 mL×3), 合并二氯甲烷层, 无水 MgSO_4 干燥, 柱层析分离得化合物 5a-5g。

1.6 2-[1-(2-吡啶) 乙氧基]乙酸 2-[4-苯甲酰基哌嗪]乙酯 (6a) 的合成

称取 0.31 g 化合物 3 (0.001 mol) 溶解于 10 mL 新蒸的二氧六环中, 依次加入化合物 5a (0.001 mol) 和 0.05 g 催化剂 $\text{SnO}(\text{C}_4\text{H}_9)_2$ 。升温至 85℃ 左右, 搅拌反应 8 h 后停止反应, 减压蒸除二氧六环, 残渣加入 10 mL CH_2Cl_2 , 搅拌后抽滤除掉催化剂, 滤液旋干后得油状物, 薄层层析分离 (CH_2Cl_2 : $\text{CH}_3\text{COCH}_3 = 2:1$), 得到棕色液体 206 mg, 结构确证为化合物 6a。

化合物 2-[1-(2-吡啶) 乙氧基]乙酸 2-[4-(4-甲氧基苯甲酰) 哌嗪]乙酯 (6b), 2-[1-(2-吡啶) 乙氧基]乙酸 2-[4-丁基哌嗪]乙酯 (6c), 2-[1-(2-吡啶) 乙氧基]乙酸 2-[4-戊基哌嗪]乙酯 (6d), 2-[1-(2-吡啶) 乙氧基]乙酸 2-[4-己基哌嗪]乙酯 (6e), 2-[1-(2-吡啶) 乙氧基]乙酸 2-[4-庚基哌嗪]乙酯 (6f), 2-[1-(2-吡啶) 乙氧基]乙酸 2-[4-辛基哌嗪]乙酯 (6g) 制法同 6a, 都是棕色油状物。

化合物 6a-6g 的收率及波谱数据见表 1。

表 1 化合物 6a-6g 的收率及波谱数据

Table 1 The yield and spectrum data of compound 6a-6g			
化合物	收率%	IR(v, cm^{-1})	$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ)
6a	37.3%	1629 (NC=O), 1753 (C=O)	1.55 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz, CHCH_3), 2.50 (s, 4H, piperazine-H), 2.65 (t, 2H, $J = 5.6$ Hz, NCH_2), 3.41-3.99 (m, 4H, piperazine-H), 4.06 (q, 2H, $J = 15.2$ Hz, OCH_2CO), 4.26 (t, 2H, $J = 5.6$ Hz, COOCH_2), 4.67 (q, 1H, $J = 6.5$ Hz, CH), 7.18-8.54 (m, 9H, Ar-H). 1.54 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz, CHCH_3), 2.49 (s, 4H, piperazine-H), 2.65 (t, 2H, $J = 5.7$ Hz, NCH_2), 3.58 (s, 4H, piperazine-H), 3.82 (s, 3H, OCH_3), 4.06 (q, 2H, $J = 15.3$ Hz, OCH_2CO), 4.27 (t, 2H, $J = 5.7$ Hz, COOCH_2), 4.67 (q, 1H, $J = 6.6$ Hz, CH), 6.89-8.54 (m, 8H, Ar-H)
6b	36.7%	1627 (NC=O), 1753 (C=O)	0.87 (t, 3H, $J = 7.3$ Hz, CH_2CH_3), 1.26-1.42 (m, 4H, $(\text{CH}_2)_2$), 1.51 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz, CHCH_3), 2.30 (t, 2H, $J = 6.8$ Hz, NCH_2), 2.50 (br.s, 8H, piperazine-H), 2.60 (t, 2H, $J = 5.9$ Hz, NCH_2), 4.03 (q, 2H, $J = 15.4$ Hz, OCH_2CO), 4.23 (t, 2H, $J = 5.9$ Hz, COOCH_2), 4.64 (q, 1H, $J = 6.5$ Hz, CH), 7.14-8.52 (m, 4H, Ar-H).
6c	54.8%	1752 (C=O)	0.89 (t, 3H, $J = 7.3$ Hz, CH_2CH_3), 1.28-1.50 (m, 6H, $(\text{CH}_2)_3$), 1.55 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz, CHCH_3), 2.32 (t, 2H, $J = 6.8$ Hz, NCH_2), 2.55 (br.s, 8H, piperazine-H), 2.64 (t, 2H, $J = 5.9$ Hz, NCH_2), 4.06 (q, 2H, $J = 15.4$ Hz, OCH_2CO), 4.27 (t, 2H, $J = 5.9$ Hz, COOCH_2), 4.68 (q, 1H, $J = 6.5$ Hz, CH), 7.19-8.56 (m, 4H, Ar-H).
6d	60.7%	1755 (C=O)	0.86 (t, 3H, $J = 6.4$ Hz, CH_2CH_3), 1.27-1.46 (m, 2H, $(\text{CH}_2)_2$), 1.54 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz, CHCH_3), 2.31 (t, 2H, $J = 6.9$ Hz, NCH_2), 2.52 (br.s, 8H, piperazine-H), 2.62 (t, 2H, $J = 5.9$ Hz, NCH_2), 4.05 (q, 2H, $J = 15.3$ Hz, OCH_2CO), 4.26 (t, 2H, $J = 5.9$ Hz, COOCH_2), 4.66 (q, 1H, $J = 6.5$ Hz, CH), 7.17-8.54 (m, 4H, Ar-H).
6e	48.2%	1756 (C=O)	0.84 (t, 3H, $J = 6.4$ Hz, CH_2CH_3), 1.24-1.44 (m, 2H, $(\text{CH}_2)_2$), 1.51 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz, CHCH_3), 2.28 (t, 2H, $J = 6.9$ Hz, NCH_2), 2.47 (br.s, 8H, piperazine-H), 2.60 (t, 2H, $J = 5.9$ Hz, NCH_2), 4.03 (q, 2H, $J = 15.4$ Hz, OCH_2CO), 4.24 (t, 2H, $J = 5.9$ Hz, COOCH_2), 4.64 (q, 1H, $J = 6.6$ Hz, CH), 7.15-8.52 (m, 4H, Ar-H).
6f	53.6%	1755 (C=O)	0.85 (t, 3H, $J = 6.5$ Hz, CH_2CH_3), 1.25-1.45 (m, 2H, $(\text{CH}_2)_2$), 1.53 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz, CHCH_3), 2.51 (br.s, 8H, piperazine-H), 2.61 (t, 2H, $J = 5.9$ Hz, NCH_2), 4.04 (q, 2H, $J = 15.4$ Hz, OCH_2CO), 4.25 (t, 2H, $J = 5.9$ Hz, COOCH_2), 4.64 (q, 1H, $J = 6.6$ Hz, CH), 7.16-8.53 (m, 4H, Ar-H).
6g	54.7%	1754 (C=O)	

2 药理实验

2.1 材料

水迷宫由中国医学科学院药物研究所提供。乙醇为市售分析纯; 实验动物为昆明种小鼠, 体重为 (23 ± 3) g, 雌雄各半, 由延边大学医学部实验动物中心提供。

2.2 方法

采用通道式水迷宫法测定小鼠学习记忆能力。实验前 2 d 使小鼠适应实验室环境, 80 只小鼠随机分为 8 个组, 每组 10 只, 分别为正常对照组、模

型组、脑复康组及化合物 6a 大、小剂量组和化合物 6d 大、小剂量组。正常对照组和模型组小鼠灌胃给予蒸馏水 (0.2 mL/10 g), 脑复康组小鼠给予 3 g/kg 脑复康 (0.2 mL/10 g), 化合物 6a 大、小剂量组小鼠分别给予 60、30 mg/kg 化合物 6a, 化合物 6d 的大、小剂量组小鼠分别给予 60、30 mg/kg 化合物 6d (0.2 mL/10 g), 每天单次给药, 连续 7 d。在给药第 4 天开始训练小鼠, 给予小鼠记忆。第 7 天正常灌胃 1 h 后, 正常组小鼠灌胃给予蒸馏水 (0.1 mL/10 g), 其他组小鼠均给予 400 mL/L 乙醇 (0.1 mL/10 g) 诱导小鼠学习记忆障碍, 并于 30 min 后进行水迷宫实验, 记录每只动物 2 min 内错误次数和到达时间, 时间超过 2 min 的按 2 min 计。结果采用 SPSS11.0 软件进行统计处理, 以均数 $\pm$ 标准偏差 ($\bar{x} \pm SD$) 表示, 并进行组间 t 检验。具体实验数据见表 1。

2.3 结果

本研究合成的 7 个化合物从结构上可以分成两类: 苯甲酰基和烷烃取代化合物。为了评价这两类化合物的促学习记忆活性, 选取了两个化合物 6a 和 6d 进行药理实验研究。其水迷宫实验结果见表 1: 模型组与空白对照组比较, 到达时间由 14.88 s 延长至 76.38 s, 错误次数也明显增加, 均具有显著性差异, 说明本实验乙醇诱导学习记忆障碍造模成功; 给药组与模型组比较, 化合物 6a 和 6d 的大、小剂量组小鼠到达时间显著缩短, 错误次数显著减少, 均有统计学意义。化合物 6a 和 6d 的大、小剂量组之间没有显著性差异, 脑复康组的促学习记忆活性与化合物 6a, 6d 相当。

表 2 化合物 6a 和 6d 对乙醇所致小鼠学习记忆再现困难的影响 ($\bar{x} \pm SD$)

Table 2 Effects of compounds 6a and 6d on memory disorder induced by alcohol in mice

组别	例数	剂量(mg/kg)	到达时间 (s)	错误次数
正常组	10	—	14.88 $\pm$ 7.91	14.50 $\pm$ 6.98
模型组	10	—	76.38 $\pm$ 41.18 [#]	30.38 $\pm$ 19.09 [#]
化合物 6a	10	60	28.57 $\pm$ 24.32 [*]	11.29 $\pm$ 7.80 [*]
化合物 6a	10	30	33.00 $\pm$ 23.74 [*]	10.50 $\pm$ 5.26 [*]
化合物 6d	10	60	27.88 $\pm$ 14.54 ^{**}	11.00 $\pm$ 6.07 [*]
化合物 6d	10	30	32.38 $\pm$ 14.48 [*]	12.13 $\pm$ 7.64 [*]
脑复康组	10	3000	31.00 $\pm$ 17.29 [*]	16.75 $\pm$ 7.70 [*]

注: 与空白组比较, $P^{\#} < 0.01$; 与模型组比较, $P^* < 0.05$, $P^{**} < 0.01$

3 讨论

水迷宫法属于建立空间辨别性学习记忆的行

为模型, 需要动物确定一定的参照物, 经过反复识认, 在其脑内将参照物与空间方位联系起来。从而获得辨别空间方位的能力。相对于其他学习记忆模型如一次性被动回避、避暗法、跳台法等, 水迷宫法具有操作方便, 设施简易、不引起应激反应等优点, 是最适于建立空间辨别性学习记忆的一种动物模型, 可综合反映动物的学习和记忆能力^[10]。本研究采用水迷宫法评价化合物的促学习记忆作用。实验中采用 40%乙醇成功诱导小鼠学习记忆障碍, 化合物 6a 和 6d 水迷宫试验中到达时间和错误次数都要小于阳性对照药脑复康, 尽管 t 检验没有显著性差异。化合物 6a 和 6d 大小剂量组均显著逆转乙醇导致的小鼠学习记忆障碍, 说明对具有较好的促学习记忆活性, 有进一步开发研究的价值。

参考文献:

- [1] Colombres M, Sagal J P, Inestrosa N C. An overview of the current and novel drugs for Alzheimer's disease with particular reference to anti-cholinesterase compounds[J]. Current Pharmaceutical Design. 2004, 10(25): 3121-30.
- [2] Rao MG, Holla B, Varambally S, et al. Piracetam treatment in patients with cognitive impairment[J]. General Hospital Psychiatry, 2013, 35(4): 451.e5-451.e6
- [3] 夏玉明, 罗惠善, 李明洙, 等. 苯氧乙酸-2-二烷氨基乙酯盐酸盐合成及其对小鼠学习记忆的促进作用[J]. 中国医药工业杂志, 1999, 30(8): 357-340.
- [4] 张红英, 金善玉, 李明洙, 等. (2-碘苯氧基)乙酸-2-二烷氨基乙酯盐酸盐的合成及其对小鼠学习记忆的促进作用[J]. 中国医药工业杂志, 1993, 24(12): 544-547.
- [5] 李明洙, 宋哲洙, 罗惠善, 等. 1-萘甲氧基乙酸-2-二烷氨基乙酯盐酸盐的合成及其对小鼠学习记忆的促进作用[J]. 延边医学院学报, 1991, 14(1): 32-33.
- [6] 吕晚香, 姜京爱, 李明洙. 3-噻吩甲氧基乙酸 2-二烷氨基乙酯盐酸盐的合成及其对小鼠学习记忆能力的影响[J]. 延边医学院学报, 2006, 29(4): 261-263.
- [7] 宋妍, 李明洙. 2-[1-(2-吡啶)乙氧基]乙酸及其衍生物的合成[J]. 延边大学学报: 自然科学版, 2008, 34(1): 30-34.
- [8] 宋明霞, 邓先清, 李明洙. 2-[1-(2-吡啶)乙氧基]乙酸-2-取代氨基乙酯的合成及其对小鼠学习记忆能力的影响[J]. 井冈山大学学报: 自然科学版, 2014, 35(3): 35-37.
- [9] Reisberg B, Doody R, Stoffer A, et al. Memantine in moderate-to-severe Alzheimer's disease [J]. The New England journal of medicine, 2003, 349(2): 609-610.
- [10] 冯力民, 吴真, 佟也芒. 用水迷宫建立大鼠空间辨别性学习记忆模型[J]. 北华大学学报: 自然科学版, 2007, 8(1): 46-49.