

## 新型地氯雷他定衍生物的合成, 生物活性与分子对接

汪小涧<sup>1,2</sup>, 付继华<sup>3</sup>, 汤依群<sup>3</sup>, 尹大力<sup>1,2\*</sup>, 尤启冬<sup>3\*\*</sup>

(<sup>1</sup>中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 北京 100050;

<sup>2</sup>中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 活性物质发现与适药化研究北京市重点实验室, 北京 100050;

<sup>3</sup>中国药科大学药学院, 南京 210009)

**摘要** 以三环类组胺 H<sub>1</sub> 受体拮抗剂地氯雷他定为先导化合物, 设计并合成了 7 个地氯雷他定衍生物, 其结构均通过核磁共振氢谱和高分辨质谱表征确定。豚鼠回肠收缩实验显示: 两性化合物 **9a** 拮抗组胺 H<sub>1</sub> 受体的活性高于阳性对照药物地氯雷他定。化合物 **9a** 对 hERG 的抑制活性较弱, 并且对豚鼠心率以及心电图各个间期的影响较小, 提示其不具有潜在的心脏毒性。

**关键词** 组胺 H<sub>1</sub> 受体拮抗剂; 合成; 豚鼠回肠收缩; hERG; 心脏毒性

**中图分类号** R914.5 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2013)01-0039-05

## Synthesis, biological evaluation and molecule docking of novel desloratadine derivatives

WANG Xiaojian<sup>1,2</sup>, FU Jihua<sup>3</sup>, TANG Yiqun<sup>3</sup>, YIN Dali<sup>1,2\*</sup>, YOU Qidong<sup>3\*\*</sup>

<sup>1</sup>State Key Laboratory of Bioactive Substances and Functions of Natural Medicines, Institute of Materia Medica, Peking Union Medical College & Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050; <sup>2</sup>Beijing Key Laboratory of Active Substances Discovery and Drugability Evaluation, Institute of Materia Medica, Peking Union Medical College & Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050; <sup>3</sup>School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

**Abstract** Seven target compounds were designed and synthesized according to the structure of lead compound—desloratadine. The structures of the compounds were identified by <sup>1</sup>H NMR and HR-MS. The *in vitro* results based on histamine-induced contraction of guinea-pig ileum showed that zwitterionic compound **9c** had stronger antihistamine activity than positive control desloratadine. The human ether-à-go-go related gene (hERG) inhibition and guinea-pig langendorff model indicated that compound **9a** had low inhibitory activity on hERG and yet no effect on the period of electrocardiogram, demonstrating that compound **9a** may not cause the potential cardiotoxicity.

**Key words** H<sub>1</sub> receptor antagonists; synthesis; contraction of guinea-pig ileum; hERG; cardiotoxicity

This study was supported by China National Key High-Tech Innovation Project for the R&D of Novel Drugs(No. 2009ZX09301-003)

过敏性疾病是影响人类健康的主要疾病, 开发并获得药效更强、不良反应更低的抗过敏药物一直是全世界药物工作者的研究重点之一。H<sub>1</sub> 受体拮抗剂是临床治疗过敏性疾病的主要药物<sup>[1-2]</sup>。构效关系研究表明: H<sub>1</sub> 受体拮抗剂一般由芳环区、连接段与碱性胺区域构成<sup>[3]</sup>。根据其结构类型可大致分为乙二胺类、氨烷基醚类、丙胺类和三环类

药物<sup>[4]</sup>。

H<sub>1</sub> 受体拮抗剂在临床应用的过程中主要不良反应集中在中枢抑制以及心脏毒性这两个方面。前者是因为 H<sub>1</sub> 受体拮抗剂分子的脂溶性较高, 容易透过血-脑脊液屏障而引起镇静催眠作用。后者是因为某些 H<sub>1</sub> 受体拮抗剂可以抑制由 ether-à-go-go-related 基因(hERG)编码的人心肌细胞上的

\* 收稿日期 2012-11-05 通信作者 \* Tel: 010-63037952 E-mail: yindali@imm.ac.cn

\*\* Tel: 025-83271351 E-mail: youqidong@gmail.com

基金项目 国家“重大新药创制”科技重大专项资助项目(No. 2009ZX09301-003)

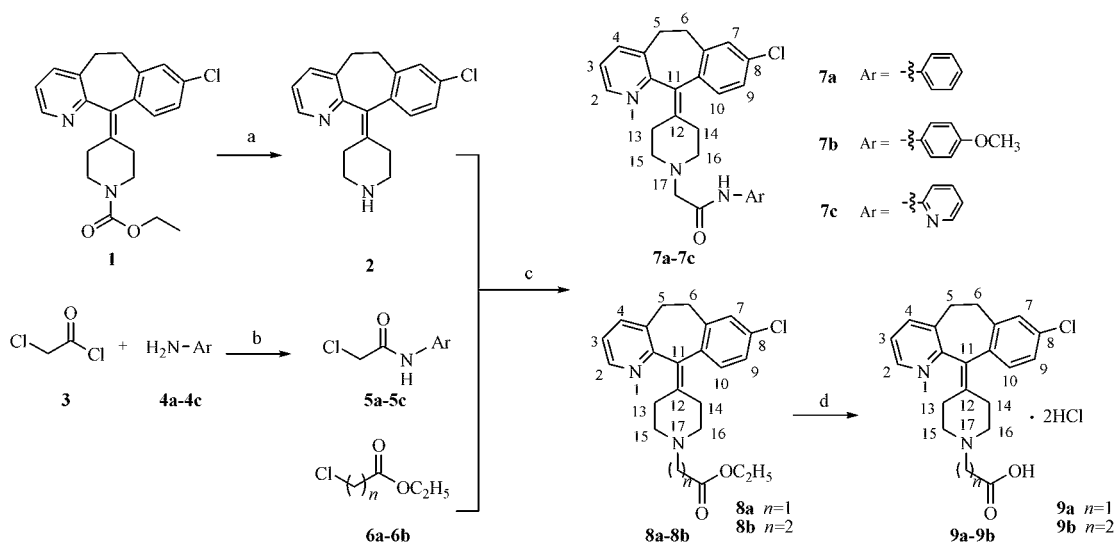
延迟整流钾电流钾离子通道,导致心电图 QT 间期延长,同时诱发尖端扭转型室性心动过速(torsades de pointes,TdP),引发致命性心律失常。其中  $H_1$  受体拮抗剂阿司咪唑与特非拉定由于心脏毒性的问题已经撤出市场<sup>[5-6]</sup>。

本文在地氯雷他定的哌啶氮原子引入乙酰芳氨基、乙酯基、羧基等亲水与亲酯基团以考察其对  $H_1$  受体拮抗活性的影响。共合成地氯雷他定衍生物 7 个,其中两性目标化合物 **9a** 对  $H_1$  受体的拮抗活性强于阳性对照物地氯雷他定。且对 *h*ERG 的抑制活性很弱,并且对 *h*ERG 的抑制以及豚鼠心率

以及心电图各个间期的影响较小,表明其不存在潜在的肝脏毒性。

## 1 目标化合物的结构与合成路线

地氯雷他定衍生物的合成是以氯雷他定为起始原料,在氢氧化钾和乙醇中脱去其哌啶氮原子上的乙酰基得到地氯雷他定(**2**)。另一方面,氯乙酰氯在三乙胺与二氯甲烷中与取代苯胺反应得到化合物 **5a**~**5c**。与化合物 **6a**~**6b** 反应得到化合物 **8a**~**8b**。化合物进一步利用 6 mol/L 盐酸水解得目标化合物 **9a**~**9b**(路线 1)。



Scheme 1 Synthetic routes of the target compounds

Reagent and conditions: (a) KOH, ethanol reflux 12 h; (b)  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , r. t., 12 h; (c)  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , DMF, 100 °C, 2 h; (d) 6 mol/L HCl, reflux, 6 h

## 2 实验部分

### 2.1 仪器与试剂

Advance 300 型核磁共振仪(TMS 为内标,  $\text{CDCl}_3$  为溶剂,德国 Bruker 公司);LC/MSD TOF 质谱仪(美国 Agilent 公司);熔点用 Yanaco 显微熔点仪测定,温度未校正。薄层色谱板制板用硅胶  $\text{GF}_{254}$ ,高效 TLC 板(青岛海洋化工厂)。所用试剂,溶剂均为分析纯度,经常规方法处理。

### 2.2 化学合成

中间体地氯雷他定 **2** 的制备<sup>[7]</sup> 在 100 mL 圆底烧瓶中加入氯雷他定(**1**, 3.82 g, 10 mmol)加入乙醇-水(4:1)混合溶液 100 mL 中常温搅拌至溶解,分批加入氢氧化钾(1.12 g, 20 mmol),搅拌升温至回流,12 h 后停止反应冷却至常温。将反应液倒入大量水中。乙酸乙酯萃取,有机相用饱和食

盐水洗涤 3 次,无水硫酸钠干燥过夜,柱色谱分离(石油醚-乙酸乙酯,1:1)得产物 2.3 g。收率 75%,mp 154~155 °C。

中间体 **5a**~**5c** 的制备通法(以化合物 **5a** 为例) 将苯胺 **4a**(7.4 g, 80 mmol)溶于乙腈-10%  $\text{K}_2\text{CO}_3$ (1:1)30 mL 中。常温搅拌条件下,滴加氯乙酰氯(9.8 g, 80 mmol)的乙腈溶液 10 mL,约 20 min 滴加完毕,室温搅拌 1 h,将反应液倒入水 400 mL 中,有大量固体析出,抽滤,滤饼用水洗涤两次,烘干得化合物 **5a**(白色固体)12.3 g,收率 91.1%,mp 136~137 °C。

化合物 **5b** 以化合物 **4b**(9.8 g, 80 mmol)、氯乙酰氯(9.8 g, 80 mmol)为起始原料,得产物 **5b**(白色固体)15.4 g,收率 97%,mp 121~122 °C。

化合物 **5c** 以化合物 **4c**(7.5 g, 80 mmol)、氯乙酰氯(9.8 g, 80 mmol)为起始原料,得产物 **5c**

(白色固体)12.7 g,收率93.3%,mp 122~124℃。

化合物**7a**~**7c**,**8a**~**8b**的制备通法(以化合物**7a**为例) 将地氯雷他定(**2**,310.5 mg,1 mmol)、化合物**5a**(170 mg,1 mmol)依次加入乙腈-10% K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(5:1)30 mL中,N<sub>2</sub>保护,搅拌待固体全部溶解后,加热至70℃,保温反应2 h。TLC监测发现反应完毕。停止反应,冷却至室温,倒入大量水中,乙酸乙酯提取,分出有机层,无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥。柱色谱分离(PE-EA,2:1)得产物**7a**(黄色固体)345 mg,收率78%,mp 180~182℃。

化合物**7b** 以化合物**2**(310.5 mg,1 mmol)和化合物**5b**(200 mg,1 mmol)为起始原料,得产物**7b**(黄色固体)359 mg,收率76%,mp 185-186℃。

化合物**7c** 以化合物**2**(310.5 mg,1 mmol)和化合物**5c**(200 mg,1 mmol)为起始原料,得产物**7c**(黄色固体)344 mg,收率78%,mp 90~94℃。

化合物**8a** 以化合物**2**(310.5 mg,1 mmol)和

氯乙酸乙酯**6a**(122 mg,1 mmol)为起始原料,得产物**8a**(黄色固体)309mg,收率78%,mp 82~83℃。

化合物**8b** 以化合物**2**(310.5 mg,1 mmol)和氯丙酸乙酯**6b**(136 mg,1 mmol)为起始原料,得产物**8b**(黄色固体)270.6 mg,收率66%,mp 62~65℃。

化合物**9a**~**9b**制备通法(以化合物**9a**为例) 将化合物**8a**(792 mg,2 mmol)悬浮于6 mol/L HCl中,搅拌条件下,加热至回流,保温反应12 h,反应完毕,撤去油浴,将反应液冷却至常温,减压浓缩溶剂得黄色固体,异丙醇重结晶,得化合物**9a**(类白色固体)634 mg,收率72%,mp >200℃。

化合物**9b** 以化合物**8b**(820 mg,2 mmol)为起始原料得化合物**9b**(类白色固体)591 mg,收率65%,mp >200℃。

目标化合物的结构通过<sup>1</sup>H NMR、HR-MS确证,数据见表1。

**Table1** <sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ and HR-MS of the synthesized desloratadine derivatives

Compd.	<sup>1</sup> H NMR(CDCl <sub>3</sub> ) δ	HR-MS( <i>m/z</i> ) [M + H] <sup>+</sup>
<b>7a</b>	2.05-2.65(m,6H,-CH <sub>2</sub> ,-CH <sub>2</sub> CCH <sub>2</sub> ),2.77-2.92(m,4H,-CH <sub>2</sub> NCH <sub>2</sub> ),3.13(s,2H,NCH <sub>2</sub> ),3.34-3.47(m,2H,-CH <sub>2</sub> ),7.09-7.18(m,5H,Ar-H),7.32-7.37(t,2H,J=8.4 Hz,Ar-H),7.44-7.46(d,1H,J=7.8 Hz,Ar-H),7.56-7.59(d,2H,J=7.8 Hz,Ar-H),8.40-8.42(d,1H,J=4.8 Hz,J=1.5 Hz,Ar-H),9.25(br,1H,-NH-)	444.185 5
<b>7b</b>	2.35-2.47(m,6H,-CH <sub>2</sub> ,-CH <sub>2</sub> CCH <sub>2</sub> ),2.81-3.00(m,4H,-CH <sub>2</sub> NCH <sub>2</sub> ),3.12(s,2H,NCH <sub>2</sub> ),3.36-3.42(m,2H,-CH <sub>2</sub> ),3.8(s,3H,-OCH <sub>3</sub> ),6.66-6.89(d,1H,J=9 Hz,Ar-H),7.09-7.18(m,5H,Ar-H),7.44-7.5(m,3H,Ar-H),8.40-8.42(d,1H,J=4.8 Hz,Ar-H),9.2(s,1H,-NH-)	474.192 5
<b>7c</b>	2.38-2.64(m,6H,-CH <sub>2</sub> ,-CH <sub>2</sub> CCH <sub>2</sub> ),2.81-2.88(m,4H,-CH <sub>2</sub> NCH <sub>2</sub> ),3.16(s,2H,NCH <sub>2</sub> ),3.36-3.41(m,2H,-CH <sub>2</sub> ),7.04-7.16(m,5H,Ar-H),7.43-7.46(d,1H,J=7.5 Hz,Ar-H),7.67-7.723(t,1H,J=7.5 Hz,Ar-H),8.22-8.25(d,1H,J=8.4 Hz,Ar-H),8.30-8.32(d,1H,J=4.2 Hz,Ar-H),8.40-8.41(d,1H,J=3.6 Hz,Ar-H),9.66(br,1H,-NH-)	445.172 6
<b>8a</b>	1.23-1.28(t,3H,J=7.2 Hz,-OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ),2.34-2.60(m,6H,-CH <sub>2</sub> ,-CH <sub>2</sub> CCH <sub>2</sub> ),2.74-2.84(br,4H,-CH <sub>2</sub> NCCH <sub>2</sub> ),3.23(s,2H,NCH <sub>2</sub> ),3.31-3.45(m,2H,-CH <sub>2</sub> ),4.14-4.21(m,2H,J=7.2 Hz,-OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ),7.06-7.15(br,4H,Ar-H),7.41-7.44(dd,1H,Ar-H),8.39-8.40(d,1H,J=4.8 Hz,Ar-H)	397.169 0
<b>8b</b>	1.149-1.196(t,3H,J=6.9 Hz,-OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ),2.037-2.106(m,2H,-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ),2.12-2.48(m,6H,-CH <sub>2</sub> ,-CH <sub>2</sub> CCH <sub>2</sub> ),2.59-3.38(m,6H,-CH <sub>2</sub> NCH <sub>2</sub> ,NCH <sub>2</sub> ),3.24-3.38(m,2H,-CH <sub>2</sub> ),4.02-4.09(q,2H,J=6.9 Hz,-OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ),6.98-7.07(m,4H,Ar-H),7.34-7.37(d,1H,J=7.5 Hz,Ar-H),8.33(d,1H,J=3.6 Hz,Ar-H)	478.182 1
<b>9a</b>	2.53-3.10(m,6H,-CH <sub>2</sub> ,-CH <sub>2</sub> CCH <sub>2</sub> ),3.25-3.74(br,8H,-CH <sub>2</sub> NCH <sub>2</sub> ,NCH <sub>2</sub> ,-CH <sub>2</sub> ),7.21(s,2H,Ar-H),7.34(s,1H,Ar-H),7.84-7.88(dd,1H,Ar-H),8.36-8.39(d,1H,J=7.8 Hz,Ar-H),8.58-8.60(d,1H,J=4.8 Hz,Ar-H)	369.136 4
<b>9b</b>	2.44-2.56(br,8H,-CH <sub>2</sub> ,-CH <sub>2</sub> CCH <sub>2</sub> ,-CH <sub>2</sub> ),2.76-3.00(m,6H,-CH <sub>2</sub> NCH <sub>2</sub> ,NCH <sub>2</sub> ),3.29-3.44(m,2H,-CH <sub>2</sub> ),6.91-7.18(m,4H,Ar-H),7.44-7.47(d,1H,J=6.9 Hz,Ar-H),8.4(d,1H,J=3.9 Hz,Ar-H)	383.151 8

## 2.3 生物活性

2.3.1 豚鼠回肠收缩活性 按照文献[8]测定目标化合物对豚鼠离体回肠收缩活动的影响,初步评

价目标化合物的体外抗过敏活性。

结果表明,两性离子化合物**9a**具有较强的拮抗组胺的活性,强于阳性对照药物地氯雷他定;而

羧基取代的化合物 **9a**, **9b** 的活性明显高于酯基取代的化合物 **8a**, **8b**, 而哌啶氮原子上引入乙酰取代芳胺类化合物 **7a** ~ **7c** 的活性较弱(表2), 说明体积较小的亲水性基团的引入可维持或增加化合物拮抗组胺的活性。化合物 **9a**, **9b** 拮抗组胺的活性较高, 其中 **9a** 的组胺拮抗活性明显高于 **9b**, 说明取代碳原子的数目对活性有一定的影响。

**Table 2** Receptor binding and antihistamine activity of synthesized desloratadine derivatives

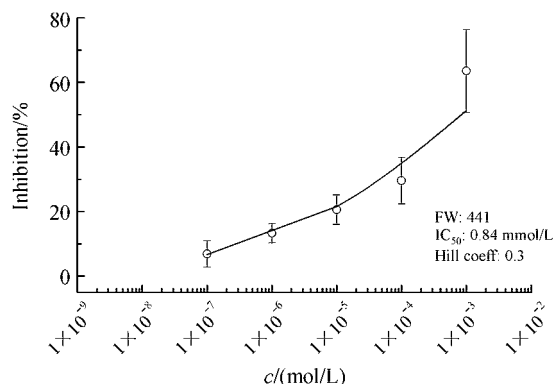
Compd.	Inhibition/%	IC <sub>50</sub> /( $\mu$ mol/L)
<b>7a</b>	19.2	ND
<b>7b</b>	33.2	ND
<b>7c</b>	16.3	ND
<b>8a</b>	45.8	0.513
<b>8b</b>	25.7	ND
<b>9a</b>	86.0	0.028 8
<b>9b</b>	47.7	0.550
Desloratadine	84.0	0.072 1

ND: not detected

**2.3.2 化合物 9a 对 hERG 抑制活性** 取稳定表达 hERG 的 HEK-293 细胞, 在室温下用全细胞膜片记录 hERG 钾通道电流。计算不同药物浓度对 hERG 钾电流的抑制程度, 抑制率(%) =  $[1 - (I/I_0)] \times 100$ 。其中,  $I$  和  $I_0$  分别表示在加药后和加药前 hERG 钾通道电流。

结果显示, 化合物 **9a** 对 hERG 抑制活性很弱

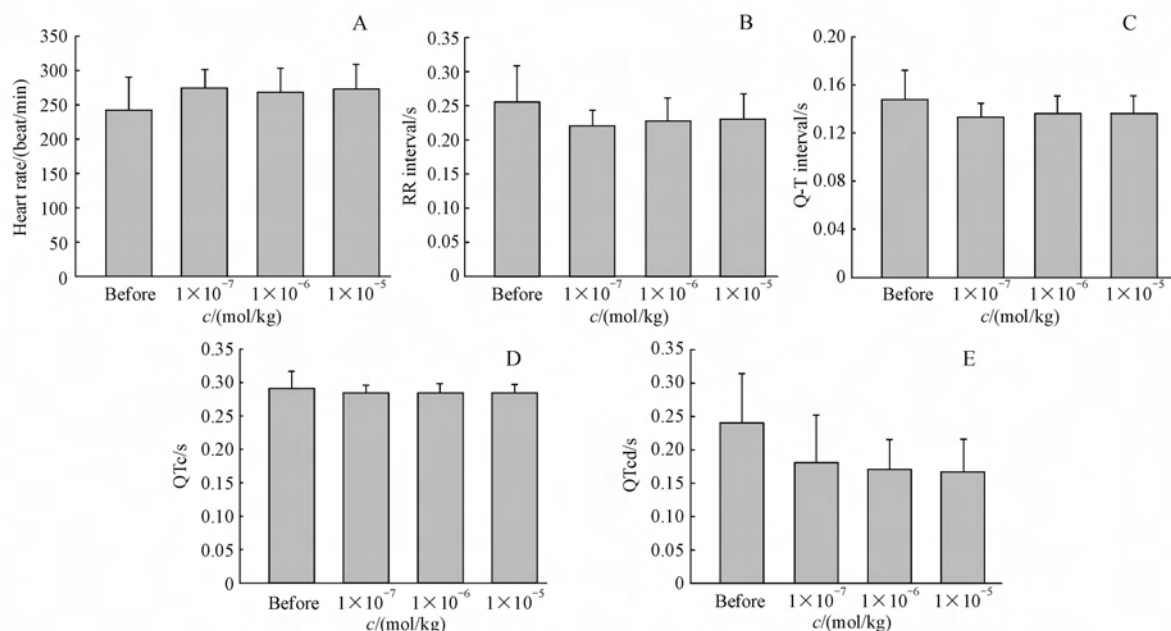
(IC<sub>50</sub>  $\geq 840$  mol/L), 产生心脏毒性的概率较小(图1), 说明两性离子化合物 **9a** 由于其跨膜能力弱, 因对 hERG 的抑制作用较低。



**Figure 1** hERG inhibitory activity of compound **9a** ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

**2.3.3 化合物 9a 对豚鼠心率以及心电图各期的影响** 取 SD 雄性大鼠(250  $\pm$  20 g)的心脏, 建立大鼠离体心脏缺血再灌注损伤 langendorff 模型<sup>[9]</sup>, 评价化合物 **9a** 对豚鼠心率以及心电图各期的影响。

结果显示, 在化合物 **9a** 在  $1 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-6}$ ,  $1 \times 10^{-7}$  mol/L 浓度时对豚鼠心率以及豚鼠心电图 RR 间期、QT 间期、QTc、QTcd 等各项指标无明显影响, 各给药剂量间也没有统计学差异(图2), 说明化合物 **9a** 对心电复极过程影响极小。



**Figure 2** Effect of compound **9c** on heart rate(A), RR period(B), QT period(C), RR period(D) and QTc dispersion(E) in guinea-pig langendorff model ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

### 3 分子对接

已有相关文献报道了  $H_1$  受体蛋白的晶体结构(PDB code:3RZE)<sup>[10]</sup>。进一步利用 CDock 软件进行分子对接研究发现:化合物 **9a** 的哌啶氮原子能够与的  $H_1$  受体 Asp107 产生静电作用,芳环区可以与疏水性氨基酸: Phe424、Tyr431、Phe435、Phe199 通过疏水作用或  $\pi$ - $\pi$  叠合作用与受体结合。

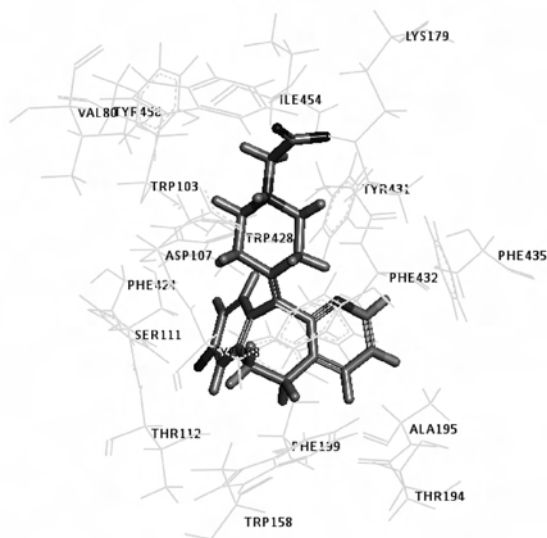


Figure 3 Predicted binding modes for compound **9a** and  $H_1$  receptor

### 4 结论

本文共合成 7 个三环类地氯雷他定衍生物,豚鼠回肠收缩实验结果表明:化合物 **9a** 的活性与阳性对照药物地氯雷他定的活性相当。构效关系研究表明:哌啶氮原子上与羧基之间间隔 1 个碳原子可提高化合物拮抗组胺的活性。进一步的  $hERG$  抑制活性实验以及豚鼠心肌缺血再灌注实验结果表明:化合物 **9a** 对  $hERG$  抑制活性很弱,且对豚鼠正常心率以及心电图各间期无显著影响,不具备潜在的心脏毒性,安全性较高。分子对接研究结果表明:化合物 **9a** 通过静电、疏水以及  $\pi$ - $\pi$  叠合作用与  $H_1$  受体蛋白结合。结合前期研究结果发现:哌啶氮原子上取代体积较小的亲水基团可提高化合物

抗组胺活性,并可显著降低潜在的  $hERG$  抑制活性<sup>[11]</sup>。本研究结果对避免  $hERG$  抑制的先导化合物结构优化有一定的指导意义。

### 参考文献

- [1] Hill SJ, Ganellin CR, Timmerman H, et al. International union of pharmacology. XIII. Classification of histamine receptors [J]. *Pharmacol Rev*, 1997, **49**(3): 253–278.
- [2] Hill SJ. Distribution, properties, and functional characteristics of three classes of histamine receptor [J]. *Pharmacol Rev*, 1990, **42**(1): 45–83.
- [3] Ter Laak AM, Venhorst J, Donne-Op den Kelder GM, et al. The histamine  $H_1$ -receptor antagonist binding site. A stereoselective pharmacophoric model based upon (semi-) rigid  $H_1$ -antagonists and including a known interaction site on the receptor [J]. *J Med Chem*, 1995, **38**(17): 3351–3360.
- [4] Simons FE, Simons KJ. The pharmacology and use of  $H_1$ -receptor-antagonist drugs [J]. *N Engl J Med*, 1994, **330**(23): 1663–1670.
- [5] Suessbrich H, Waldegger S, Lang F, et al. Blockade of  $hERG$  channels expressed in *Xenopus oocytes* by the histamine receptor antagonists terfenadine and astemizole [J]. *FEBS Lett*, 1996, **385**(1/2): 77–80.
- [6] Zhou Z, Vorperian VR, Gong Q, et al. Block of  $hERG$  potassium channels by the antihistamine astemizole and its metabolites desmethyastemizole and norastemizole [J]. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 1999, **10**(6): 836–843.
- [7] Liu GZ, Xu HW, Chen GW, et al. Stereoselective synthesis of desloratadine derivatives as antagonist of histamine [J]. *Bioorg Med Chem*, 2010, **18**(4): 1626–1632.
- [8] Magnus R. Studies in the isolated functioning small intestine of mammals [J]. *Pflügers Archiv*, 1904, **102**(3): 123–151.
- [9] Broadley KJ. The Langendorff heart preparation—reappraisal of its role as a research and teaching model for coronary vasoactive drugs [J]. *J Pharmacol Meth*, 1979, **2**(2): 143–156.
- [10] Shimamura T, Shiroishi M, Weyand S, et al. Structure of the human histamine  $H_1$  receptor complex with doxepin [J]. *Nature*, 2011, **475**(7354): 65–70.
- [11] Wang XJ, Zhang FR, Cheng GF, et al. Synthesis, biological evaluation and molecular docking of novel tricyclic desloratadine derivatives [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2012, **43**(3): 193–198.