

文章编号: 1673-3851 (2012) 05-0730-04

1-苯基-3-(2-羟基苯基-5-芳基)-2-吡唑啉的合成与生物活性

江银枝, 石雅义, 邹 洋, 梁大伟, 周 俊

(浙江理工大学化学系, 杭州 310018)

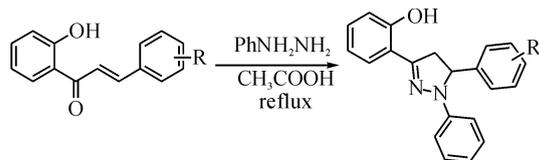
摘 要: 研究 1-苯基吡唑啉类化合物的合成及其 *EcMetAP* 酶活抑制活性。以查尔酮衍生物与苯肼为原料合成咪唑啉类化合物。利用 IR、¹H NMR 和 MS 对它们进行表征。利用分光光度法测试化合物的 *EcMetAP* 酶活性抑制作用, 利用生物分子结构分析软件 FieldTemplater 和 FieldAlign 计算化合物和已知的 *EcMetAP* 酶抑制剂的空间作用力场的相似性。共合成了 6 个 1-苯基-3-(2-羟基苯基-5-芳基)-2-吡唑啉类化合物, 但只有化合物 5 对 *EcMetAP* 酶活性有抑制作用, 抑制率为 31.62%, 空间作用力场的相似度为 0.615。说明化合物 5 可作为先导化合物进行结构优化, 得到优良的 *EcMetAP* 酶抑制活性化合物。

关键词: 吡唑啉; 合成; 大肠杆菌甲硫酰胺酶; 构效关系 1-Phenyl-3-(2-Hydroxyl-Phenyl)-5-Diaryl-2-

中图分类号: R914 **文献标识码:** A

0 引 言

含有不同取代基的吡唑啉类化合物在药物等领域有着广泛的应用, 如已经商品化的药物: Topramazon 与 Fripronil。2002 年, F Manna 等^[1] 合成了一系列 N-酰基取代的吡唑啉类化合物, 并研究了这些化合物对胺氧化酶的抑制活性, 发现这些化合物均具有一定的胺氧化酶抑制活性。2004 年, T S Jeong 等^[2] 进行了吡唑啉类化合物构效关系研究, 发现它们对低密度蛋白氧化具有一定的抑制作用。鉴于此, 对此类化合物进行合成、结构与新的活性研究, 具有十分重要的意义。关于吡唑啉类衍生物的合成已有很多文献报道, 是基于 α, β -不饱和羰基与肼进行反应合成吡唑啉类衍生物^[3-4]。本文报道以查尔酮类化合物和苯肼为原料, 合成化合物 1、2、3、4、5、6(图 1), 对其进行熔点、红外、核磁、质谱等分析, 测试化合物对大肠杆菌甲硫酰胺酶的抑制活性, 使用生物分子结构分析软件 FieldTemplater 和 FieldAlign 考察目标化合物的与大肠杆菌甲硫酰胺酶作用的分子力场。



1R=H; 2R=2'-OH; 3R=4'-C(NH₂)₂; 4R=4'-OH; 5R=2', 4'-Cl; 6R=4'-OCH₃

图 1 化合物 1, 2, 3, 4, 5, 6 的合成

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

中间体查尔酮自行合成, 参照文献^[5]; 其余原料均为市售商品未经进一步纯化。

Avatar 370 FT-IT (Nicolet) 红外光谱仪 (KBr 压片); Bruker 400 UltraShield™ (400 MHz) 核磁共振仪 (TMS 内标); Saturn 2200 Mass 质谱仪; XT-1 型显微熔点测定仪 (温度未校正)。

1.2 化合物的合成通法^[3-4]

向 100 mL 的单口烧瓶中加入 1.1 中合成的查尔酮 (10 mmol)、苯肼 (50 mmol)、冰醋酸 (30 mL), 搅拌混合均匀, 加热回流 (TLC 跟踪反应进程), 结束反应, 将反应混合物混合物倒入冰水中, 搅拌, 抽

收稿日期: 2012-03-29

基金项目: 国家自然科学基金项目 (20901067); 浙江科技厅钱江人才计划项目 B 类 (1106323-E)

作者简介: 江银枝 (1973-), 女, 湖北鄂州人, 博士, 副教授, 主要从事有机化学、配位化学、药物化学的研究。

滤,水洗,甲醇重结晶,得最终产物。

化合物 1:1-苯基-5-苯基-3-邻羟基苯基-2-吡啶啉,白色固体,产率为 90%,熔点 161~162°C;IR(KBr, cm^{-1}): 3 427(O-H), 3 159(N-H), 1 614($\text{C}=\text{N}$), 1 594($\text{C}=\text{C}$), 1 049(C-N); ^1H NMR(CDCl_3) δ : 3.26(1H, dd, $J=7.2, 17.2$ Hz, 4-Htrans), 3.97(1H, dd, $J=12.0, 17.2$ Hz, 4-Hcis), 5.23(1H, dd, $J=7.2, 12.0$ Hz, 5-H), 6.82~7.38(14H, m, Ar-H), 10.81(1H, s, -OH)。

化合物 2:1-苯基-5-(2'-羟基苯基)-3-邻羟基苯基-2-吡啶啉,白色固体,产率为 90%,熔点 194~195°C;IR(KBr, cm^{-1}): 3 369(O-H), 3 330(N-H), 1 622($\text{C}=\text{N}$), 1 598($\text{C}=\text{C}$), 1 034(C-N); ^1H NMR(CDCl_3) δ : 3.35(1H, dd, $J=10.4, 16.8$ Hz, 4-Htrans), 3.93(1H, dd, $J=11.6, 16.8$ Hz, 4-Hcis), 5.17(1H, dd, $J=10.4, 11.6, 5$ -H), 6.89~7.31(13H, m, Ar-H), 10.77(1H, s, -OH)。

化合物 3:1-苯基-5-(4'-二甲氨基苯基)-3-邻羟基苯基-2-吡啶啉,白色固体,产率为 86%,熔点 186~188°C;IR(KBr, cm^{-1}): 3 427(O-H), 3 174(N-H), 1 618($\text{C}=\text{N}$), 1 594($\text{C}=\text{C}$), 1 073(C-N); ^1H NMR(CDCl_3) δ : 2.95(6H, s, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 3.23(1H, dd, $J=7.2, 17.2$ Hz, 4-Htrans), 3.90(1H, dd, $J=12.0, 17.2$ Hz, 4-Hcis), 5.16(1H, dd, $J=7.2, 12.0$ Hz, 5-H), 6.72~7.26(13H, m, Ar-H), 10.87(1H, s, -OH)。

化合物 4:1-苯基-5-(4'-羟基苯基)-3-邻羟基苯基-2-吡啶啉,白色固体,产率为 80%,熔点 210~212°C;IR(KBr, cm^{-1}): 3 404(O-H), 3 380(N-H), 1 614($\text{C}=\text{N}$), 1 602($\text{C}=\text{C}$), 1 073(C-N); ^1H NMR(CDCl_3) δ : 3.23(1H, dd, $J=7.6, 17.2$ Hz, 4-Htrans), 3.92(1H, dd, $J=12.4, 17.2$ Hz, 4-Hcis), 5.18(1H, dd, $J=7.6, 12.4$ Hz, 5-H), 6.80~7.29(13H, m, Ar-H), 10.83(1H, s, Ar-OH)。

化合物 5:1-苯基-5-(2'4'-二氯苯基)-3-邻羟基苯基-2-吡啶啉,白色固体,产率为 85%,熔点 172~173°C;IR(KBr, cm^{-1}): 3 431(O-H), 3 186(N-H), 1 614($\text{C}=\text{N}$), 1 594($\text{C}=\text{C}$), 1 049(C-N), 860(C-Cl); ^1H NMR(CDCl_3) δ : 3.14(1H, dd, $J=7.2, 17.2$ Hz, 4-Htrans), 4.07(1H, dd, $J=12.4, 17.2$ Hz, 4-Hcis), 5.55(1H, dd, $J=7.2,$

12.4 Hz, 5-H), 6.86~7.49(12H, m, Ar-H), 10.64(1H, s, -OH);CI-MS m/z (CH_3OH): 384 ($\text{M}+1, 100.00\%$)。

化合物 6:1-苯基-5-(4'-甲氧基苯基)-3-邻羟基苯基-2-吡啶啉,白色固体,产率为 86%,熔点 170~171°C;IR(KBr, cm^{-1}): 3 431(O-H), 3 136(N-H), 1 614($\text{C}=\text{N}$), 1 598($\text{C}=\text{C}$), 1 030(C-N); ^1H NMR(CDCl_3) δ : 3.23(1H, dd, $J=7.6, 17.2$ Hz, 4-Htrans), 3.79(3H, s, $-\text{OCH}_3$), 3.93(1H, dd, $J=12.0, 17.2$ Hz, 4-Hcis), 5.19(1H, dd, $J=7.6, 12.0$ Hz, 5-H), 6.82~7.35(13H, m, Ar-H)。

1.3 生物活性测定

1.3.1 大肠杆菌甲硫酰胺酶(*EcMetAP*)的抑制活性实验

EcMetAP 可以水解底物 Met-S-C-Phe 的硫脂键,产生 Met-SH,后者可快速与过量的 5,5'-二硫双(2-硝基苯甲酸)(DTNB)反应,生成在 412 nm 处有吸收的 3-羟基-4-硝基硫代苯酚盐,通过测定 412 nm 处的吸光度的降低来确定酶抑制剂对酶的抑制活性。

1.3.2 构效关系理论计算

使用生物分子结构分析软件 FieldTemplater 以已知生物活性较好的化合物为模板,分析较好活性的分子空间构型,然后使用生物分子结构分析软件 FieldAlign 理论计算目标化合物的空间区域相似度。

2 结果与讨论

2.1 化合物 2,4,5 对 *EcMetAP1* 抑制活性

对化合物 2,4,5 进行了 *EcMetAP1* 的抑制活性测试,实验结果见表 1。

表 1 化合物 2,4,5 的 *EcMetAP1* 抑制活性作用

Compound	<i>EcMetAP1</i> inhibit-activities/%
2	0
4	0
5	31.62

注:*EcMetAP1* 的浓度 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 溶剂 DMSO。

表 1 的数据说明,化合物 5 对 *EcMetAP* 均有一定程度的抑制作用,且抑制活性超过 30%;化合物 2,4 对 *EcMetAP* 均无抑制作用。

2.2 化合物 5 生物活性的构效关系处理

假设两个分子与靶体之间的作用力场区域构型是相似的,那么它们作用于靶体的同一位点,从而具

有相似的药物活性。基于这种假设,在无需蛋白质结构条件下,研究不同分子与靶体之间的作用力场区域相似性对于新药的开发具有重要意义。这种方法成功运用于胆囊收缩素 2 拮抗剂的结合形式的研究^[6]。将图 2 给出的 3 个化合物的二维结构图导入软件 FieldTemplater^[7],计算其具有 *EcMetAP1* 抑制活性的最优空间力场(与靶体作用的电荷区、氢键区、 π 电子堆积区)(图 3)。以此空间力场为模板导入 FieldAlign 软件^[8],将化合物 5 的空间力场与之进行比较(看它们与靶体作用的电荷区、氢键区、 π 电子堆积区是否重叠),见图 4。

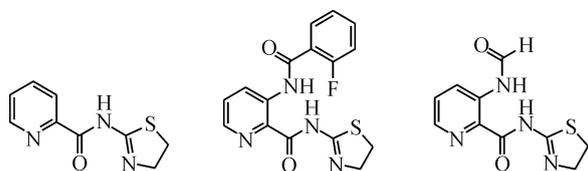


图 2 几种 *EcMetAP1* 抑制剂

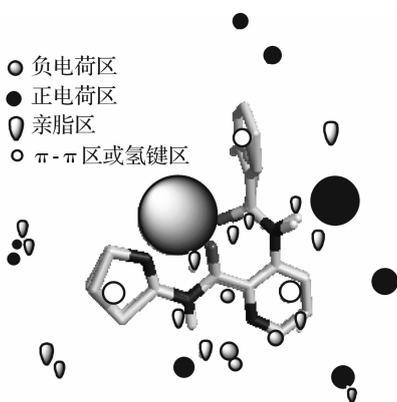


图 3 *EcMetAP1* 抑制剂的模板

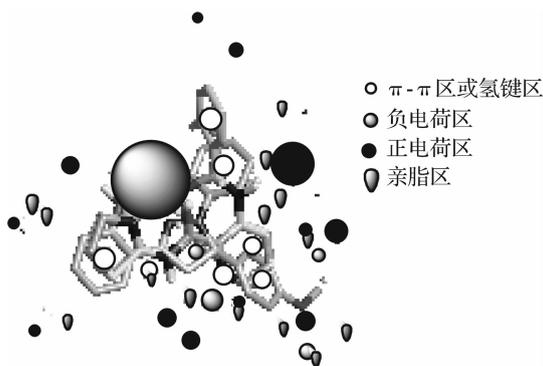


图 4 化合物 5 和 *EcMetAP1* 抑制剂模板的区域叠加

从图 3、图 4 可见化合物 5 的空间作用构型分布与已知活性较好化合物的空间作用构型具有一定程度的相似性,经计算相似度为 0.615。发现化合物 5 与 *EcMetAP* 酶作用下的 π - π 堆积区域为 1 位芳基、3 位芳基和 5 位芳基,其中 3 位芳基和 5 位芳基的 π - π 堆积区域与已知的酶抑制剂的 π - π 堆积区

域重叠较好。发现增加吡啶环的负电性和 1 位苯环的正电性,有利于化合物与 *EcMetAP* 酶的电荷作用,提高化合物的酶抑制活性。所以以化合物 5 为先导化合物,对其吡啶环或其 1 位苯环进行电荷优化,增加咪唑环负电性或增加 1 位芳基的正电性有望得到 *EcMetAP* 酶抑制活性更优良的化合物。

3 结论

合成 6 个比唑啉类化合物,对其进行了熔点、红外、核磁、质谱等表征。对化合物 2、4、5 进行了 *EcMetAP1* 的抑制活性测试,发现化合物 5 对 *EcMetAP* 均有一定程度的抑制作用,且抑制活性为 31.62%;化合物 2、4 对 *EcMetAP* 均无抑制作用。利用 FieldTemplater 和 FieldAlign 软件对化合物 5 的上述活性构效关系进行了分析,初步认为增加化合物的 5 的吡啶环的负电性和 1 位苯环的正电性,有利于化合物与 *EcMetAP* 酶的电荷作用,提高化合物的酶抑制活性。所以以化合物 5 为先导化合物,对其吡啶环或其 1 位苯环进行电荷优化,增加咪唑环负电性或增加 1 位芳基的正电性有望得到 *EcMetAP* 酶抑制活性更优良的化合物。

致谢:感谢 Cresset 公司免费提供的生物分子结构分析软件 FieldTemplater 与 FieldAlign;感谢上海国家药物筛选中心免费进行的活性筛选。

参考文献:

- [1] Fedele M, Franco C, Adriana B, et al. Inhibition of amine oxidases activity by 1-acetyl-3,5-diphenyl-4,5-dihydro-(1H)-pyrazole derivatives[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2002, 12(24): 3629-3633.
- [2] Jeong T S, Kim K S, Kim J R, et al. Novel 3,5-diaryl pyrazolines and pyrazole as low-density lipoprotein (LDL) oxidation inhibitor[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2004, 14(11):2719-2723.
- [3] Cabrera M, Simoens M, Falchi G, et al. Synthetic chalcones, flavanones, and flavones as antitumoral agents: biological evaluation and structure-activity relationships [J]. Bioorg Med Chem, 2007, 5(10):3356-3367.
- [4] Tran T D, Park H, Kim H P, et al. Inhibitory activity of prostaglandin E2 production by the synthetic 2'-hydroxychalcone analogs: synthesis and SAR study[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2009, 19(6):1650-1653.
- [5] Stirrett K L, Ferreras J A, Jayaprakash V, et al. Small molecules with structural similarities to siderophores as novel antimicrobials against Mycobacterium tuberculosis and Yersinia pestis[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2008,

- 18(8):2662-2668.
- [6] Low C M R, Vinter J G. Rationalizing the activities of diverse cholecystinin 2 receptor antagonists using molecular field points[J]. *J Med Chem*, 2008, 51(3):565-573.
- [7] 罗群力. 甲硫氨酰氨肽酶抑制剂设计合成及构效关系研究[D]. 上海: 中国科学院上海药物研究所, 2004.
- [8] 徐 杰. I型甲硫氨酰氨肽酶抑制剂相关机理研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2005.

Synthesis and Biological Activities of 1-Phenyl-3-(2-hydroxyphenyl)-5-diaryl-2-pyrazoline

JIANG Yin-zhi, SHI Ya-yi, ZOU Yang, LIANG Da-wei, ZHOU Jun

(Department of Chemistry, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

Abstract: The synthesis and inhibition activities of pyrazoline derivatives were investigated. A pyrazoline derivative was synthesized from a chalcone derivative and phenylhydrazine. The compounds were characterized by IR spectra, MS spectra, and $^1\text{H-NMR}$ spectra. *Escherichia coli* methionine aminopeptidase (*EcMetAP*) inhibition activities were determined by UV-vis spectroscopy. The similarity of the molecular force field was investigated by *FieldTemplater* and *FieldAlign* software. Six 1-phenyl-3-(2-hydroxyphenyl)-5-diaryl-2-pyrazoline derivatives were obtained and characterized. Only compound 5 possessed *EcMetAP* inhibition activity at a rate of 31.62%. The similarity between the molecular force fields of compound 5 and the *EcMetAP* inhibitor was 0.615. Therefore, compound 5 can be used as a lead compound for discovering compounds with good *EcMetAP* inhibition activities by lead optimization.

Key words: pyrazoline; synthesis; *EcMetAP*; structure-activity relationship

(责任编辑: 许惠儿)