

3-甲基芬太尼衍生物的合成、镇痛活性 及其与受体亲和力关系的研究

金文桥 徐 珩 朱友成 方苏南
夏兴林 黄忠明 葛邦翰 池志强

(中国科学院上海药物研究所)

摘 要

本文报道了 3-甲基芬太尼类衍生物的合成及镇痛活性(小鼠,腹腔注射,热板法)。化合物 7302,即顺-N-[1-(β -羟基- β -苯乙基)-3-甲基-4-哌啶基]-N-丙酰苯胺(3-甲基/4-丙酰苯胺为顺式)为其中最强者(ED_{50} 为 0.0022 毫克/公斤),强度是芬太尼的 28 倍,即达吗啡 6300 倍。用高压液相法测定了 10 个该类化合物的油/水分配系数,它们的 $\log P$ 值在 3 左右。其镇痛强度和油/水分配系数之间无规律性变化。其中 8 个化合物的小鼠脑突触浆膜(P_2 部分)的受体结合试验表明:受体亲和力和镇痛强度之间具有良好的线性关系($r = 0.998$)。文中证实了该类化合物的镇痛强度主要取决于与受体的结合能力。

芬太尼系一强效镇痛剂,具有强度高、作用快、持续时间短的特点^[1,2],现已广泛应用于临床。已知 4-苯基哌啶类镇痛剂 3-位引入甲基后,其镇痛强度显著增加(表 1)^[3]。作者设想在芬太尼 3-位引入甲基后,也可能使镇痛强度增加。1972 年我们首先合成了 4 个 3-甲基芬太尼衍生物。果然,顺-3-甲基芬太尼的镇痛强度为芬太尼的 5 倍。其后,对该类化合物的各个位置的结构进行了广泛的改变,合成了三种类型的衍生物,并进行了药理研究。一般说来,药物的镇痛强度主要与两个因素有关:1. 与化合物的脂溶性有关,一般脂溶性较大的化合物容易通过血脑屏障而渗入到作用部位。2. 与受体亲和力有关。为此我们用高压液相层析法测定了一系列具有代表性的 3-甲基芬太尼衍生物的油/水分配系数,并测定了其中一部分化合物的受体亲和力,以确定该类化合物的镇痛强度与油/水分配系数、受体亲和力之间的关系。

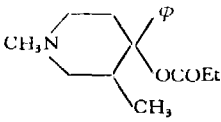
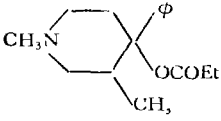
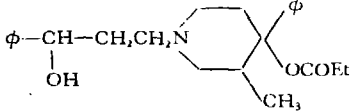
一、化 学 部 分

1. 合成

我们采用 N-苯基-3-甲基哌啶酮(I)为原料,按图 1 的合成路线进行。在合成了 3-甲基芬太尼的基础上,还对 3-甲基芬太尼哌啶环上的 1-氮原子上的取代基和 4-丙酰苯胺基上苯环部分进行了广泛的结构改造,到目前为止,共合成了 83 个化合物,其主要类型有 IX, X, XI

三种。

表 1

化 合 物	镇痛强度(吗啡=1)
 度冷丁	$\frac{1}{8}$
 α-普鲁丁(反)	1
 β-普鲁丁(顺)	5
 	1000

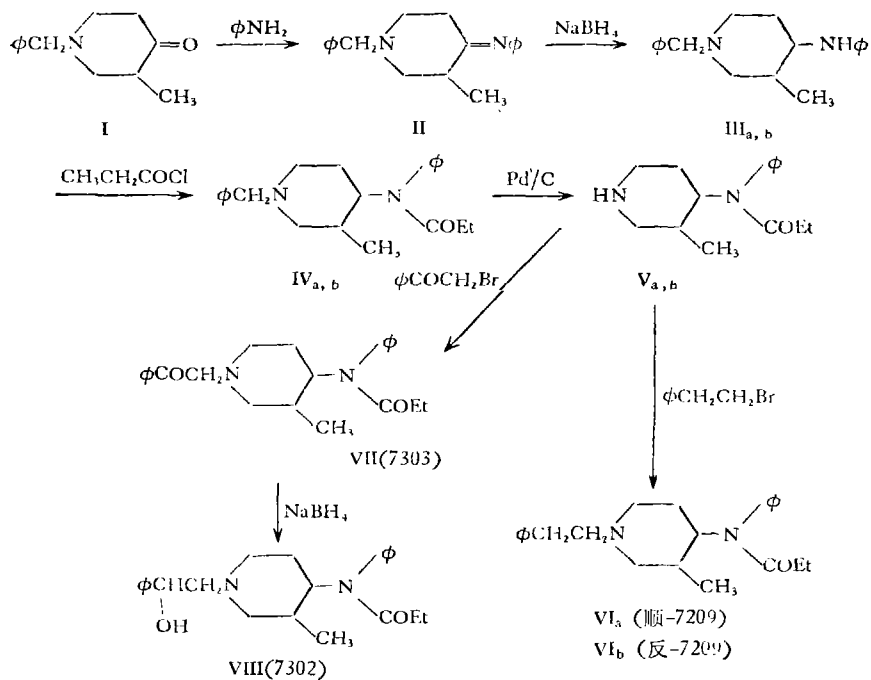
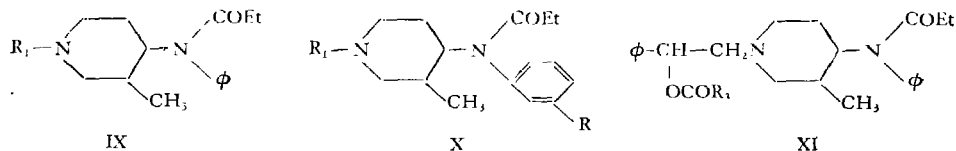


图 1



在合成 3-甲基芬太尼的过程中, Schiff 碱经还原后应得到顺、反二个异构体, 哌啶环以椅式构型为最稳定, 且 4-N-COEt 基以平伏键占优势, 当 3-甲基处于竖键时, 为顺式构型; 当



3-甲基处于平伏键时, 则为反式构型。用分步结晶法从化合物 IV 分得二个异构体 (IV_a 和 IV_b)。顺、反异构体是通过 100MHz 核磁共振光谱确定的。为了减少酰基质子对其它部分的干扰, 将高熔点化合物 IV_a 用 48% 氢溴酸水解脱酰基转回到化合物 III_a, 然后测定其核磁共振。经添加位移试剂、双照射处理后, 确证了 3-位质子化学位移中心 $\delta 2.09$; 4-位质子 $\delta 3.27$; $J_{H_3, H_4} = 5\text{cps}$ 。为此, 我们确定此化合物为顺式异构体, 而另一低熔点化合物为反式构型。

在制得的 3-甲基芬太尼的二个异构体中, 顺式异构体的镇痛强度为芬太尼的 5.6 倍; 而反式的强度为芬太尼的 1.5 倍 (表 2)。这些结果与后来看到的 Riley 等^[4]和 Van Bever 等^[5]所报道的结果是一致的。基于上述药理结果, 我们后来合成的其他苯胺基苯环上无取代的衍生物都是顺式的。它们绝大部分也都具有吗啡样活性。

表 2 某些 3-甲基芬太尼衍生物的镇痛活性 (小鼠, 热板法, 腹腔注射)

化合物编号	化 合 物 结 构	ED ₅₀ 毫克/公斤	强 度 比	
			芬太尼 = 1	吗啡 = 1
	吗 啡	13.9	0.0044	1
	芬 太 尼	0.062	1	220
顺-7209		0.011	5.6	1300
反-7209		0.041	1.5	340
7207		0.045	1.1	310
7222		0.019	3.3	730
7302		0.0022	28	6300

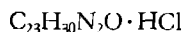
续 表 2

化合物编号	化 合 物 结 构	ED ₅₀ 毫克/公斤	强 度 比	
			芬太尼 = 1	吗啡 = 1
7303		0.320	0.19	43
7312		5(-)		
7319		1.0(2/10)		
7403		0.012	5.2	1200
7408		0.014	4.4	990
7503		1.2	0.05	12
7533		0.035	1.8	400
7550		30(3/5)		
7552		0.185	0.31	75
7557		4.7	0.013	5

将顺式的脱苯物 V_a 与各种卤代物反应, 可制得各种哌啶 N-取代的衍生物。在苯乙基的 β -位上引入一个羟基可以得到该类化合物中镇痛强度最大的化合物顺-N-[1-(β -羟基- β -苯乙基)-3-甲基-4-哌啶基]-N-丙酰苯胺(表 2, 7302), 其镇痛强度为芬太尼的 28 倍, 为吗啡的 6300 倍。鉴于此化合物的高镇痛强度, 我们还合成了一系列 β -羟基的酯化衍生物(第 XI 类)。它们都仍能保持一定强度的镇痛活性, 但不如 7302 强。在 4-位丙酰苯胺基的苯环上引入各种取代基, 无明显优点。本文仅报道其中代表化合物 7302 等的合成。详细的结构活性关系另行报道。

2. 实验步骤¹⁾

顺-N-[3-甲基-1-(2-苯乙基)-4-哌啶基]-N-苯丙酰胺 (VI_a): 将 V_a 2 克, β -溴代苯乙烷 1.8 克, 150 毫升甲苯及三乙胺 2 毫升的混合物加热回流 24 小时, 析出白色三乙胺氢溴酸盐, 过滤, 滤液用稀盐酸提取, 碳酸钾碱化, 析出油状物, 氯仿提取, 碳酸钾干燥, 蒸去氯仿后制成盐酸盐, 经甲醇-醋酸乙酯重结晶后, 得 1.5 克 VI_a (47%), 熔点 164—166°C。



计算值% C71.39; H8.08; N7.24

实验值% 71.51; 7.98; 7.08

反式异构体的制法与顺式相同, 由 3.5 克 V_b 制得 VI_b 盐酸盐 1 克 (18%), 熔点 191—193°C。



计算值% C71.39; H8.08; N7.24

实验值²⁾% 71.07; 8.20; 7.69

N-[3-甲基-1-苯甲酰甲基-4-哌啶基]-N-苯丙酰胺 (VII): 将 2.5 克 V_a , ω -溴代苯乙酮 2.5 克, 三乙胺 5 毫升及无水苯 100 毫升的混合物加热回流 1 小时, 滤去三乙胺氢溴酸盐, 滤液用水洗二次, 用稀盐酸提取, 碳酸钾碱化, 苯提取, 碳酸钾干燥, 蒸去溶剂, 残留物用 60—90°C 石油醚重结晶得 2 克 VII (54%), 熔点 96—97°C。

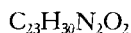
盐酸盐用异丙醇重结晶, 熔点 225—226°C。



计算值% C68.89; H7.29; N7.00

实验值% 69.16; 7.30; 7.00

N-[1-(β -羟基- β -苯乙基)-3-甲基-4-哌啶基]-N-丙酰苯胺 (VIII): 将 2.3 克 VII 溶于 100 毫升甲醇中, 加入硼氢化钾 1 克。加毕后回流 1 小时, 蒸去甲醇, 加入约 100 毫升水, 乙醚提取, 碳酸钾干燥, 除去乙醚, 得白色固体化合物 VIII 1 克, 熔点 138—140°C (60—90°C 石油醚重结晶)。



计算值% C75.37; H8.25; N7.64

实验值% 75.57; 8.22; 7.48

1) 本文中熔点未校正。元素分析数据除注明外均用经典法测得, 误差小于 0.3%。

2) 系自动分析仪测, 仪器误差为 0.5%。

二、药理部分

1. 3-甲基芬太尼衍生物的油/水分配系数

(1) 仪器和层析条件 我所自制 GYS-3 型高压液相层析仪,由一台高压气动泵和单波长紫外检测器(254 毫微米)组成。层析柱为长 50 厘米、内径 3 毫米的不锈钢管,固定相为 Permaphase ODS。冲洗液是 58%, 30% 甲醇-水,并以氨水调节 pH 到 7.4。层析箱恒温控制在 26—27°C。冲洗液流速为 1.4 毫升/分。检测器灵敏度相当于 0.05 消光值满偏度。

(2) 样品配制 样品以甲醇溶解,溶液的浓度根据吸收峰大小决定,每个样品中加入甲酰胺以决定 t_0 。如样品是盐酸盐,则先碱化后再测定。

(3) 标准曲线的建立和未知样品 $\log P$ 值的测定 根据方程式 $\log P = \log k' + \log K$ (式中 K 为常数, k' 与冲洗时间有关, $k' = [t_r - t_0]/t_0$)^[6,7]。选择二组已知 $\log P$ 值(正辛醇-水系统)的化合物,分别在 58%, 30% 甲醇-水溶液中进行层析,求出已知化合物的 $\log k'$ 。结果表明, $\log k'$ 与文献 $\log P$ 值之间有良好的线性关系,经计算后可分别得到二个线性回归方程:

58% 甲醇-水 (pH = 7.4)

$$\log P = 3.490 + 1.343 \log k' \quad (n = 8, r = 0.990)$$

30% 甲醇-水 (pH = 7.4)

$$\log P = 2.137 + 1.131 \log k' \quad (n = 7, r = 0.993)$$

利用上述溶剂系统及建立的线性方程,通过测定未知品的 $\log k'$ 即可算得未知品的 $\log P$ 值。

(4) 实验结果 一系列 3-甲基芬太尼衍生物的油/水分配系数见表 3。从表 3 可见,它们的脂溶性都很大,其 $\log P$ 值都在 3 左右,有的可达 4.32。可以认为,这些化合物均易透过血脑屏障而到达作用部位。此外,虽然被测化合物的 $\log P$ 值相差不大,但它们的镇痛强度的差异最大可达近万倍。这说明当化合物的脂溶性超过一定数值时,它们的脂溶性差异不再影响它们的镇痛强度。

表 3 芬太尼及一些 3-甲基芬太尼衍生物的 $\log P$ 值

化合物编号	$\log k'$	$\log P$ (实验)	$\log P$ (计算)
芬太尼*	-0.5741	2.72	标准化合物
7209*	-0.3085	3.08	3.22
7222*	0.1512	3.69	3.52
7312*	-0.3803	2.98	3.21
7302	0.7373	2.97	标准化合物
7550*	0.6218	4.32	3.85
7533	0.6711	2.90	2.95
7552	0.0649	2.21	2.30
7503	0.9217	3.18	3.47
7207*	-0.3358	3.04	3.27
7557	0.6642	2.89	2.63

* 为 58% 甲醇-水系统,其它均为 30% 甲醇-水系统。

2. 一些 3-甲基芬太尼衍生物对阿片受体的亲和力

(1) 受体结合试验 雄性小鼠, 体重 18—20 克, 断头后迅速取脑, 除去小脑及部分大脑皮层, 在 1:10 (W/V) 冷却的 0.32M 蔗糖溶液中匀浆, 合并匀浆液, 1000g 离心 10 分钟, 上清液用 20000g 离心 20 分钟, 将沉淀悬于冰冷的 pH7.7 的 50mM tris 缓冲液中, 10000g 离心 10 分钟, 将沉淀再悬于冰冷的 tris 缓冲液中, 1500g 离心 10 分钟, 沉淀在冰冷的 tris 缓冲液中匀浆, 用 Lowry 法测定蛋白含量 (以牛白蛋白为标准)。用 tris 缓冲液稀释匀浆, 使蛋白含量为 10 毫克/毫升。

每管加 200 微升 (相当于 2 毫克蛋白) 小鼠脑突触浆膜受体匀浆, 加 20 微升 ^3H -DHM (37.8Ci/mM, 中国科学院上海原子核研究所合成) 使最终浓度为 $2.0 \times 10^{-9}\text{M}$; 载体管加吗啡溶液 20 微升, 使最终浓度为 $5.0 \times 10^{-6}\text{M}$; 样品管加待测药物溶液 20 微升; 对照管不加药物。各管用 tris 缓冲液加至总体积为 0.4 毫升, 混合物在 30℃ 恒温孵育 20 分钟, 取出后立即置冰浴中冷却, 1500g 离心 10 分钟, 弃去上清液, 沉淀加 0.4 毫升冰冷的 tris 缓冲液用电磁搅拌充分洗涤, 1500g 离心 10 分钟, 弃去上清液, 沉淀用 0.1 毫升甲酸消化, 冷却, 用 8 毫升亲水性闪烁液将消化液转移到闪烁杯, 用国产 Fj-353 液体闪烁计数器测定放射性。

对照管代表总结合值, 载体管代表非特异性结合值, 对照管测定值减去载体管测定值即是特异性结合值。

被测药物抑制特异性结合的百分率为:

$$\frac{\text{对照管计数} - \text{样品管计数}}{\text{对照管计数} - \text{载体管计数}} \times 100\%$$

每个药物选用四组不同的浓度, 每组浓度为四复管, 取平均值, 误差不超过 10%。

(2) 实验结果 一些 3-甲基芬太尼衍生物抑制 ^3H -DHM 特异性结合的浓度-抑制率曲线见图 2。从图 2 可见, 这些化合物抑制特异性结合的能力和药物浓度有良好的线性关系, 并且都与吗啡的反应曲线相平行, 这说明了 3-甲基芬太尼衍生物与吗啡作用于同一受体部位。

从图 2 得到的这些衍生物抑制 50% ^3H -DHM 特异性结合的浓度 (IC_{50}) 列于表 4。从表 4 可见, 镇痛作用强的化合物, 如 7302, 7209, 与受体的亲和力也强, 其 IC_{50} 分别只有 $2.6 \times 10^{-10}\text{M}$ 与 $7.9 \times 10^{-10}\text{M}$; 而镇痛作用弱的化合物, 如 7550, 7557, 与受体的亲和力弱, 其 IC_{50} 分别为 $7.9 \times 10^{-7}\text{M}$ 与 $1.0 \times 10^{-7}\text{M}$; 镇痛强度居中的化合物, 如 7303, 7503, 与受体的亲和力也居中, 其 IC_{50} 分别为 $2.5 \times 10^{-8}\text{M}$ 与 $3.6 \times 10^{-8}\text{M}$ 。如果将这些化合物的 IC_{50} 对镇痛 ED_{50} 作图, 则可得到很好的线性关系 (图 3), 其相关系数 $r = 0.998$ 。

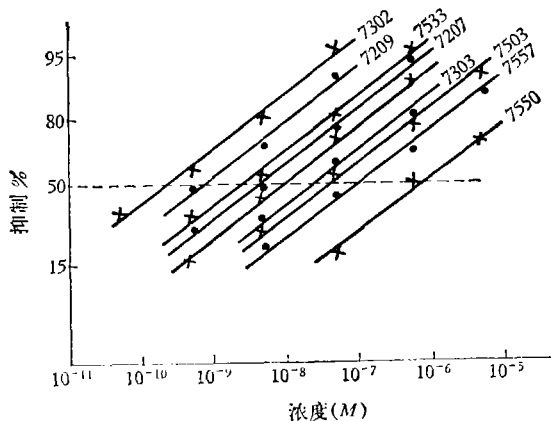
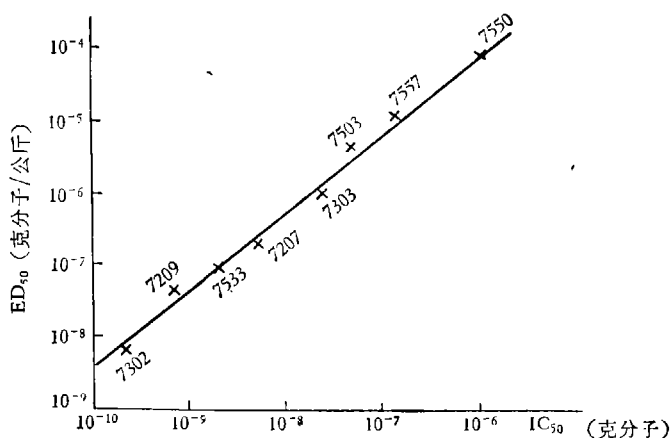
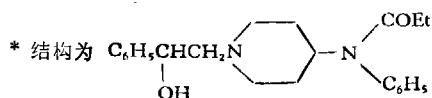


图2 3-甲基芬太尼衍生物对 ^3H -DHM 特异性结合的影响

表 4 一些 3-甲基芬太尼衍生物的 $\log P$, IC_{50} 与镇痛 ED_{50} 之间的关系

化 合 物 编 号	$\log P$	小鼠腹腔热板法 ED_{50} (克分子/公斤)	IC_{50} (克分子)
7302	2.97	5.5×10^{-9}	2.6×10^{-10}
7209	3.08	3.1×10^{-8}	7.9×10^{-10}
7533	2.90	8.3×10^{-8}	2.4×10^{-9}
7207	3.04	1.2×10^{-7}	4.2×10^{-9}
7303	3.01	8.0×10^{-7}	2.5×10^{-8}
7503	3.18	2.9×10^{-6}	3.6×10^{-8}
7557	2.89	1.1×10^{-5}	1.0×10^{-7}
7550	4.32	6.9×10^{-5}	7.9×10^{-7}
7922*	2.54	1.4×10^{-6}	7.6×10^{-6}

图 3 3-甲基芬太尼衍生物的 IC_{50} 值与镇痛 ED_{50} 值的线性关系 ($r = 0.998$)

三、讨 论

综合以上结果, 3-甲基芬太尼类化合物为一类强度极大的吗啡样药物, 它们都有很高的脂溶性, 决定它们镇痛强度的主要因素是它们与受体的亲和力。

如表 3 所示, 从测得的油/水分配系数来看, 我们发现, 有些化合物的实验 $\log P$ 值显著大于用 Hansch 的 π 值相加法所计算得到的 $\log P$ 值。特别明显的是化合物 7302, 其所测得的 $\log P$ 值为 2.97, 较之未引入 β -羟基时的 3-甲基芬太尼的 $\log P$ 值略小。若以 3-甲基芬太尼为标准化合物用 Hansch π 加和法按下式计算^[6], 算得的 $\log P$ 为:

$$\begin{aligned}\log P(7302) &= \log P(7209) + \text{脂肪第 II 醇羟基} \\ &= 3.08 + (-1.39) = 1.67,\end{aligned}$$

较之实验值低得多。而一般认为, 大多数具有中枢活性的药物的最适亲脂值 ($\log P_0$) 在 2 左右 (正辛醇-水系统)。这一异常的 $\log P$ 值为该化合物具有特别强的镇痛活性创造了一个必要条件。我们推测, 由于 β -苯乙基上的羟基与哌啶环上的氮原子可能存在着分子内氢键, 从而

使该化合物的 $\log P$ 值较之计算值显著增加^[9]。

由于药物的镇痛强度与它们的受体亲和力之间存在良好的线性关系,因此我们可以在受体水平来解释这些药物间的结构变化规律。从各种结果分析来看,哌啶环的3-位甲基在这一系列化合物与受体结合时有着重要意义。Portoghese 等^[10]指出,在4-苯基-4-丙酰氧基哌啶结构中,哌啶环3-位引入甲基后提高镇痛活性的原因是由于3-位甲基的影响可能使4-苯基处于负的象限。同时,在 β -普鲁丁结构(顺4-苯基/3-甲基)中,顺-3-甲基可能与受体上的一个疏水性小穴相结合。在芬太尼结构中,引入3-甲基后,亦可能具有类似的作用,其真正的影响如何,有待进一步研究。

此外,我们还对比了化合物7302和7922(即7302的结构中少一个3-甲基)的镇痛强度和受体亲和力。从表4中可以清楚地看到,当芬太尼的3-位引入甲基时,强度仅增加5倍左右,而当芬太尼苯乙基侧链上引入 β -羟基时(7922),受体亲和力和镇痛强度甚至稍有下降。只有同时在3-位引入一个顺-甲基及 β -位上引入羟基时,强度才发生戏剧性的变化,达到吗啡的6300倍,但它们的油/水分配系数都大于2,说明它们之间的强度差异仍然是决定于它们与受体的亲和力。很显然,化合物7302除了符合该类化合物与受体结合的基本结构要求外,还有顺-3-甲基及 β -羟基二个结构部位。可能当其与受体结合时,由于3-甲基及 β -羟基的同时存在,使受体发生构象变化,使之更适合与其结合,从而大大地增加了活性。关于7302的立体化学正在研究中。

其他学者的研究工作也表明,阿片类镇痛剂的镇痛活性与其受体亲和力之间一般存在着良好的线性关系,但有些结果由于化合物之间存在代谢上或脂溶性方面的差异,其相关性较差些。Leysen 等^[11]将各种类型的22个化合物的实验结果作统计处理,得到这些化合物的受体亲和力和镇痛强度的相关系数是0.872。Wilson 等^[12]在N-烷基去甲勃眠酮同一类型中试验了10个化合物,其中8个化合物的相关系数达0.951。由于我们选择了油/水分配系数都很大的同一类化合物,排除了血脑屏障的影响,并且是在3-甲基芬太尼同类中选择结构基本上相仿而镇痛活性相差较悬殊的药物进行试验,减少了药物在代谢转化上的差异,因此我们所得到的这些化合物的受体亲和力和镇痛强度之间的线性关系较之文献上报道的为好。

参 考 文 献

- [1] Janssen, P., *Brit. J. Anaesth.*, **34**(1962), 260.
- [2] Gardocki, J. K. et al., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **6**(1964), 593.
- [3] Janssen, P. A. J., *Drugs Affecting the Central Nervous System* (ed. Burger, A.), Dekker, New York, II, 1968, 25.
- [4] Riley, T. N. et al., *J. Pharm. Sci.*, **62**(1973), 983.
- [5] Van Bever, W. F. M. et al., *J. Med. Chem.*, **17**(1974), 1047.
- [6] McCall, J. M., *J. Med. Chem.*, **18**(1975), 549.
- [7] 徐修容等, 药学学报, **14** (1979), 246.
- [8] Tute, M. S. et al., *Adv. Drug Res.* (ed. Harper, N. J. et al.), Acad. Press, London and New York, **6**(1971), 1.
- [9] 徐修容等, 药学通报, 待发表.
- [10] Portoghese, P. S., *Accounts of Chem. Res.*, **11**(1978), 21.
- [11] Leysen, J. et al., *Eur. J. Pharmacol.*, **43**(1977), 253.
- [12] Wilson, R. S. et al., *J. Med. Chem.*, **18**(1975), 240.