

· 研究论文 ·

新型苯并异喹啉类衍生物的设计、合成及抗辐射活性

杨洋^{1,2}, 黄林峰³, 梁妍³, 李铭东^{3*},
吴诗^{4*}, 胡文祥^{4,5*}, 李庶心^{2*}, 陈梦雅^{2,4*}

(1. 广东药科大学药学院, 广东广州 510006; 2. 军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所, 北京 100850;
3. 江西中医药大学药学院, 江西南昌 330006; 4. 湖北科技学院药学院, 湖北咸宁 437100;
5. 北京神剑天军医学科学院京东祥鸽微波化学联合实验室, 北京 101601)

摘要: 分别以 5-氯戊酸或 4-(氯甲基)苯甲酸为原料, 经取代、成酰胺和水解反应合成了 14 个新型苯并异喹啉类衍生物(I₁ ~ I₇ 和 II₁ ~ II₇), 其结构经¹H NMR 和 HR-MS(ESI)表征。通过 MTS 法检测 HUVEC 细胞在辐射照射后的增殖活性, 结果显示: 化合物 I₁ 和 I₂ 具有抗辐射活性, 其细胞存活率分别为 64.68 ± 1.04^{**} 和 58.95 ± 1.34^{**}。

关键词: 2-(((4-(1,3-二氧代-1*H*-苯并[异]异喹啉-2(3*H*)-基)丁基)氨基)磺酰基)-苯甲酸; 溶血磷脂酸 2 受体; 抗辐射; 合成; 苯并异喹啉

中图分类号: O621.3

文献标志码: A

DOI: 10.15952/j.cnki.cjsc.1005-1511.19315

Design, Synthesis and Anti-radiation Activities Evaluation of Novel Benzoisoquinoline Derivatives

YANG Yang^{1,2}, HUANG Lin-feng³, LIANG Yan³, LI Ming-dong^{3*},
WU Shi^{4*}, HU Wen-xiang^{4,5*}, LI Shu-xin^{2*}, CHEN Meng-ya^{2,4*}

(1. School of Pharmacy, Department of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;
2. Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Academy of Military Sciences, Beijing 100850, China; 3. School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China; 4. School of Pharmacy, Hubei University of Science and Technology, Xianning 437100, China; 5. Jingdong Xianghu Microwave Chemistry, The Joint Laboratory of Beijing Excalibur Space Military Academy of Medical Sciences, Beijing 101601, China)

Abstract: Using 5-chloropentanoic acid or 4-(chloromethyl) benzoic acid as raw materials, 14 new benzoisoquinoline derivatives (I₁ ~ I₇ and II₁ ~ II₇) were synthesized through substitution, amide formation and hydrolysis reactions. The structures were characterized by ¹H NMR and HR-MS(ESI). The anti-radiation activity of the compounds was evaluated by MTS assay. Preliminary pharmacological results had shown that compounds I₁ and I₂ have anti-radiation activity, and their cell survival rates were 64.68 ± 1.04^{**} and 58.95 ± 1.34^{**}, respectively.

Keywords: 2-(((4-(1,3-Dioxo-1*H*-benz[de] isoquinolin-2(3*H*)-yl) butyl) amino) sulfonyl)-benzoic acid; lysophosphatidic acid 2 (LPA₂) receptor; anti-radiation; synthesis; benzoisoquinoline

收稿日期: 2019-03-25; 修订日期: 2019-04-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81573344)

第一作者简介: 杨洋(1993-), 男, 汉族, 安徽宣城人, 硕士研究生, 主要从事新药研究。

通信联系人: 吴诗, 副教授, E-mail: 775209450@qq.com; 胡文祥, 教授, E-mail: huwx66@163.com; 李庶心, 教授, E-mail: llsx28@163.com; 李铭东, 副教授, E-mail: 151828455@qq.com; 陈梦雅, E-mail: 974297682@qq.com

近年来,辐射对人体危害愈发严重^[1],辐射损伤细胞、组织、器官,从而诱发多种疾病,如:白血病、肿瘤、早衰等^[2],辐射已成为当今危害人类健康的致病源之一。近年来,各国研究的新型抗辐射药物包括:PrC-210、Ex-RAD、5-AED等,PrC-210是一种氨基硫醇类化合物,用于预防放射性皮炎^[3-5];Ex-RAD是一种氯苄基砷衍生物,用于保护⁶⁰Co γ 辐射^[6-7];5-AED是一种肾上腺皮质类固醇激素,用于治疗ARS^[8-9]。但临床研究表明现有抗辐射药物仍存在诸多缺点,如稳定性差、毒副作用大、疗效低等。现有研究通过基因敲除实验证明,溶血磷脂酸2(G protein-coupled lysophosphatidic acid 2, LPA₂)受体是与辐射敏感性相关的靶标,是保护辐射损伤的重要基础^[10-12],是抗辐射研究的理想靶标。DBIBB(2-(((4-(1,3-二氧代-1*H*-苯并[异]异喹啉-2(3*H*)-基)氨基)磺酰基)-苯甲酸)是LPA₂受体的特异性激动剂^[13-15],它能抑制除LPA₂外的其他LPA受体且其缺乏LPA₃拮抗作用,在LPA₂的DBIBB药理学表征显示具有纳摩尔效力[半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC₅₀₋₁₀₀ nmol/L),比GRI977143增加33倍]^[15],是第一个能够降低由造血和胃肠道急性放射综合征引起死亡的小分子候选药物^[16]。

根据DBIBB在LPA₂受体的药效团中模型的结构特点^[15-16],以其为先导化合物进行结构优化与改造(Chart 1):(1)头部保留芳酸或在羧酸间位引入氟、氯和溴等卤族元素,以增强芳酸的酸性或将头部芳酸替换为链状羧酸以增强与相应残基的结合;(2)连接基团替换为酰胺或保留磺酰基,以保留连接基团原有的氢键结合位点;(3)连接部保留四碳链状基团或以疏水芳环替换,促进化合物的刚性来增强其选择特异性;(4)尾部保留1,8-萘二甲酰亚胺或以(*E*)-4-(丙-1-烯-1-基)苯酚替换,保留尾部的芳香性、疏水性和 π - π 相互作用,增加化合物的作用效力;合成了14个新型苯并异喹啉类衍生物,其结构经¹H NMR和HR-MS(ESI)表征,并评价了化合物对HUVEC细胞在辐射照射后的增殖活性的作用。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

RY-1型熔点仪;JNM-ECA-400 MHz型核磁

共振仪(DMSO-*d*₆为溶剂,TMS为内标);Agilent 1100型四级杆液相色谱质谱联用仪。

9 实验室自制^[17-19];人脐静脉内皮细胞,药理课题组馈赠;其余所用试剂均为分析纯。

1.2 合成

(1) 2和5的合成(以5为例)

将4-(氯甲基)苯甲酸10.0 g(73.26 mmol)加入到100 mL单口瓶中,二氯甲烷为溶剂,加入2 eq.的氯化亚砷并以*N,N*-二甲基甲酰胺作催化剂室温搅拌0.5 h,蒸干体系后加入少量二氯甲烷,溶清后蒸干(重复此操作3次)得淡黄色油状液体10.9 g,收率98.3%,直接用于下一步。

用类似方法合成2,得油状液体10.8 g,收率95.0%。

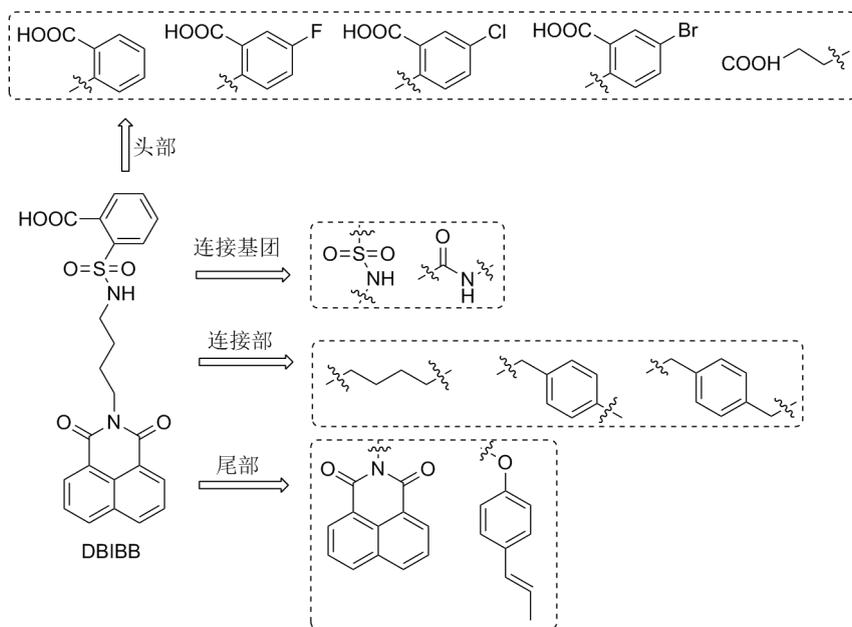
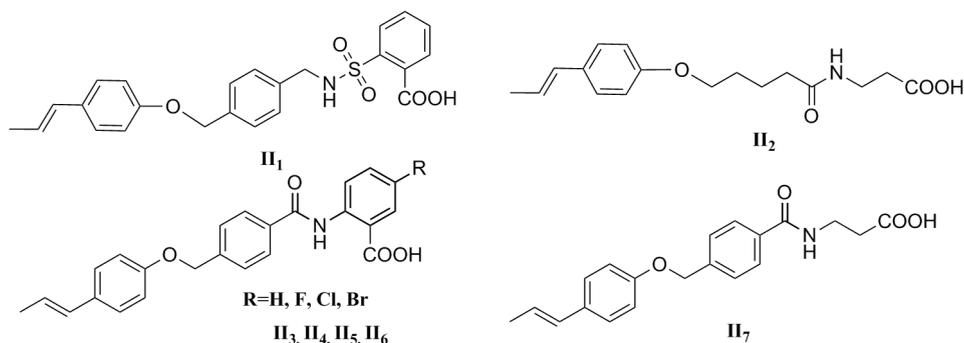
(2) 3、6a~6d和7的合成(以3为例)

氮气保护下,将3-氨基丙酸乙酯2.0 g(13.25 mmol),二氯甲烷(10 mL)加入到50 mL三口烧瓶中搅拌,冰盐浴下,缓慢滴加5-氯戊酰氯2.5 g(16.13 mmol)和三乙胺3.3 g(32.67 mmol)的二氯甲烷溶液(10 mL),滴毕,室温反应2 h。冰水淬灭反应,分液,水层用二氯甲烷(3×20 mL)萃取,合并有机相,依次用水(3×20 mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩后经硅胶柱层析[洗脱剂:*V*(石油醚)/*V*(乙酸乙酯)=2/1]纯化得淡黄色油状液体3 3.1 g,收率87.2%, m. p. 51~53 °C。

用类似方法合成6a:白色固体0.5 g,收率82.9%, m. p. 158~160 °C;6b:白色固体0.5 g,收率92.9%, m. p. 127~129 °C;6c:白色固体0.5 g,收率89.1%, m. p. 71~73 °C;6d:白色固体0.5 g,收率94.0%, m. p. 173~175 °C;7:白色固体0.6 g,收率85.4%, m. p. 78~80 °C。

(3) 8的合成

在氮气保护下,将2-[4-(氯甲基)苄基]-1*H*-苯并[异]异喹啉-1,3(2*H*)-二酮3.0 g(15.23 mmol),1,4-双(氯甲基)苯3.1 g(18.25 mmol),碳酸钾5.3 g(8.41 mmol)和*N,N*-二甲基甲酰胺(20 mL)依次加入到100 mL三口烧瓶中搅拌,70 °C反应5 h。加入到30 mL冰水中,产生大量固体,抽滤,滤饼用水洗涤至中性,晾干得灰白色固体3.9 g,收率88.8%, m. p. 191~193 °C。



(4) **9** 的合成^[17-19]

在氮气保护下,将 2-(氯磺酰基)苯甲酸甲酯 2.0 g (9.3 mmol) 和乙腈 (10 mL) 加入到 50 mL 三口烧瓶中,将体系冷却至 0 °C,滴加 8 mL 氨水溶液,室温搅拌 1 h,减压浓缩后晾干,得白色固体 **9** 1.5 g,收率 82.4%, m. p. 123 ~ 125 °C。

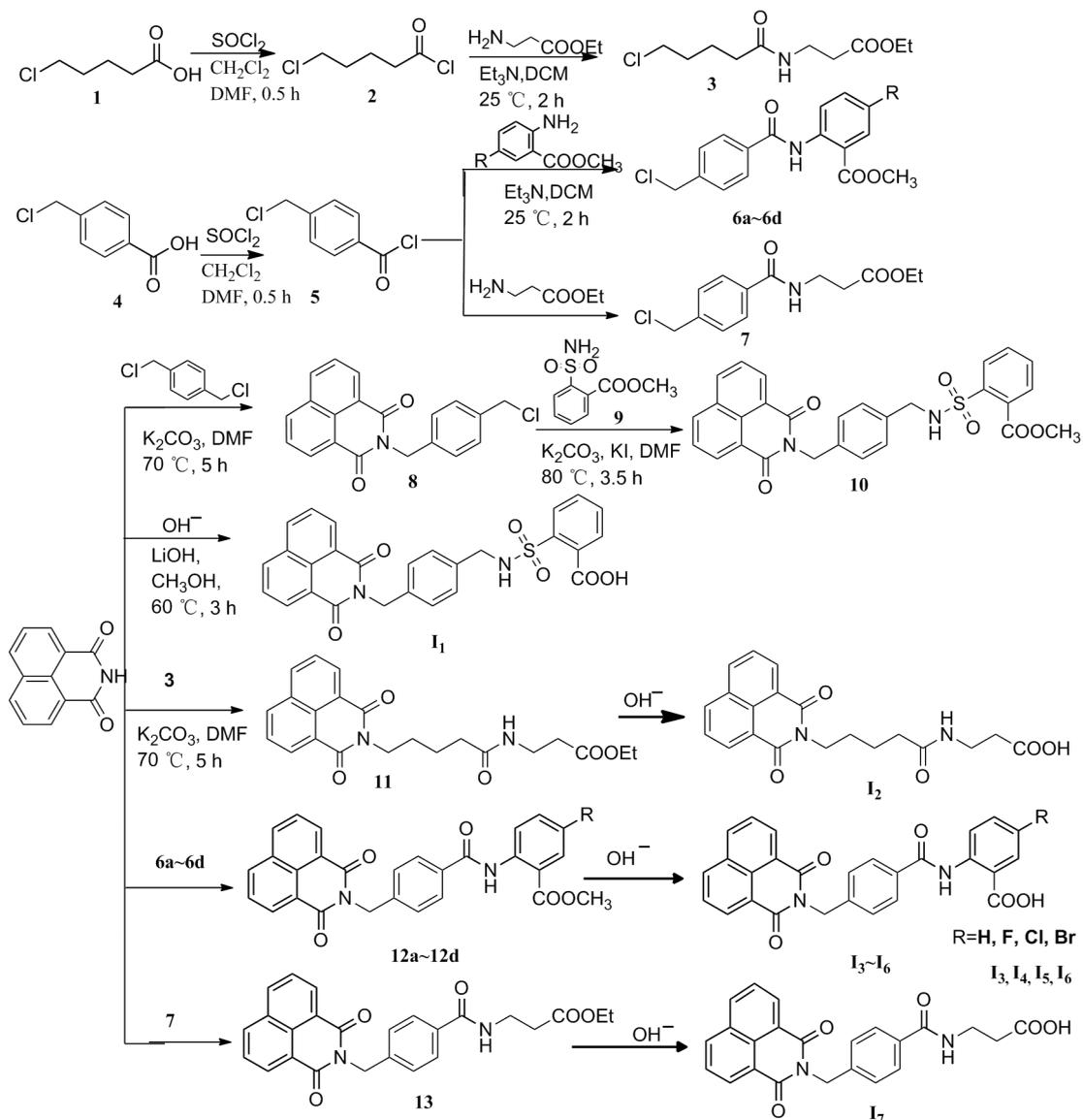
(5) **10** 的合成

氮气保护下,将 **8** 0.5 g (1.74 mmol), **9** 0.6 g (2.58 mmol), 碳酸钾 0.6 g (4.35 mmol), 碘化钾 0.03 g (0.18 mmol) 和 *N,N*-二甲基甲酰胺 (6 mL) 依次加入到 50 mL 三口烧瓶中,80 °C 反应 3.5 h。体系冷却至室温后加冰水淬灭,分液,水层用乙酸乙酯 (3 × 20 mL) 萃取,合并有机相,依次用水 (3 × 20 mL) 洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩得白色固体 0.7 g,收率 87.7%, m. p. 155 ~ 157 °C。

(6) **11**、**12a** ~ **12d** 和 **13** 的合成 (以 **11** 为例)

氮气保护下,将 1,8-萘二甲酰亚胺 0.2 g (1.02 mmol), **7** 0.3 g (1.11 mmol), 碳酸钾 0.4 g (2.54 mmol) 和二氯甲烷 (5 mL) 依次加入到 50 mL 三口烧瓶中,75 °C 反应 5 h。冷却至室温后加入冰水中淬灭,分液,水层用乙酸乙酯 (3 × 20 mL) 萃取,合并有机相,依次用水 (3 × 20 mL) 洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩后经硅胶柱层析 [洗脱剂: *V*(石油醚)/*V*(乙酸乙酯) = 3/1] 纯化得白色固体 **11** 0.3 g,收率 77.1%, m. p. 118 ~ 120 °C。

用类似方法合成 **12a**: 灰色固体 0.5 g, 收率 97.8%, m. p. 264 ~ 266 °C; **12b**: 白色固体 0.2 g, 收率 87.5%, m. p. 265 ~ 267 °C; **12c**: 白色固体 0.2 g, 收率 88.0%, m. p. 289 ~ 291 °C; **12d**:



Scheme 1

白色固体 0.3 g, 收率 89.3%, m. p. $300 \sim 302\text{ }^\circ\text{C}$; **13**: 白色固体 0.3 g, 收率 73.2%, m. p. $175 \sim 177\text{ }^\circ\text{C}$.

(7) 2- $\{N$ -[(4-(1,3-二氧化代-1H-苯并[异]异喹啉-2(3H)-基)甲基)苄基]氨磺酰基}苯甲酸 (I_1) 的合成

将 **10** 0.1 g (0.27 mmol) 和甲醇 (3 mL) 加入到 50 mL 单口瓶中, 室温下滴入氢氧化锂 0.03 g (0.55 mmol) 的水溶液 2 mL, $60\text{ }^\circ\text{C}$ 反应 3 h。减压浓缩后加入 8 mL 水, 用 5% 稀盐酸调至 pH 为弱酸性, 产生大量白色固体, 抽滤, 滤饼经水洗至中性, 干燥得 2- $\{N$ -[4-(1,3-二氧化代-1H-苯并[异]异喹啉-2(3H)-基)甲基)苄基]氨磺酰基} (I_1): 白色固体, 收率 77.7%, m. p. $259 \sim 261\text{ }^\circ\text{C}$;

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 13.54 (s, 1H), 8.48 (dd, $J = 14.9\text{ Hz}, 7.8\text{ Hz}$, 4H), 7.90 ~ 7.82 (m, 2H), 7.75 ~ 7.68 (m, 1H), 7.59 ~ 7.44 (m, 3H), 7.31 ~ 7.25 (m, 1H), 7.20 (d, $J = 7.8\text{ Hz}$, 2H), 7.11 (d, $J = 7.8\text{ Hz}$, 2H), 5.17 (s, 2H), 4.00 (d, $J = 5.8\text{ Hz}$, 2H); MS (ESI) m/z : Calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ $\{[\text{M} - \text{H}]^-\}$ 500.1000, found 499.0982。

用类似的方法合成 $\text{I}_2 \sim \text{I}_7$, $\text{II}_1 \sim \text{II}_7$:

3- $\{5$ -[1,3-二氧化代-1H-苯并[异]异喹啉-2(3H)-基]戊酰胺基}丙酸 (I_2): 白色固体, 收率 69.9%, m. p. $203 \sim 205\text{ }^\circ\text{C}$; $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 12.08 (s, 1H), 8.51 ~ 8.37 (m, 4H), 7.90 ~ 7.77 (m, 3H), 4.00 (t, $J = 7.0\text{ Hz}$,

2H), 3.16(dd, $J=12.6$ Hz, 6.9 Hz, 2H), 2.31(t, $J=6.9$ Hz, 2H), 2.06(t, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.62~1.44(m, 4H); MS(ESI) m/z : Calcd for $C_{20}H_{20}N_2O_5$ $\{[M-H]^{-}\}$ 368.1400, found 367.1281。

2-[4-[(1,3-二氧代-1*H*-苯并[异]异喹啉-2(3*H*)-基)甲基]苯甲酰氨基]苯甲酸(**I₃**): 白色固体, 收率 81.4%, m. p. 273~275 °C; 1H NMR(DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 12.58(s, 1H), 8.64(d, $J=8.4$ Hz, 1H), 8.48(dd, $J=14.5$ Hz, 7.8 Hz, 4H), 8.00(dd, $J=7.9$ Hz, 1.4 Hz, 1H), 7.86(t, $J=7.6$ Hz, 4H), 7.60~7.53(m, 1H), 7.52(d, $J=8.2$ Hz, 2H), 7.12(t, $J=7.6$ Hz, 1H), 5.30(s, 2H); MS(ESI) m/z : Calcd for $C_{27}H_{18}N_2O_5$ $\{[M-H]^{-}\}$ 450.1200, found 449.1178。

2-[4-[(1,3-二氧代-1*H*-苯并[异]异喹啉-2(3*H*)-基)甲基]苯甲酰氨基]-5-氟苯甲酸(**I₄**): 白色固体, 收率 84.4%, m. p. 291~293 °C; 1H NMR(DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 14.09(bs, 1H), 11.97(s, 1H), 8.62(dd, $J=9.3$ Hz, 5.2 Hz, 1H), 8.53~8.45(m, 4H), 7.91~7.81(m, 4H), 7.71(dd, $J=9.4$ Hz, 3.1 Hz, 1H), 7.53(d, $J=8.3$ Hz, 3H), 5.31(s, 2H); MS(ESI) m/z : Calcd for $C_{27}H_{17}N_2O_5F$ $\{[M-H]^{-}\}$ 468.1100, found 467.1083。

5-氯-2-[4-[(1,3-二氧代-1*H*-苯并[异]异喹啉-2(3*H*)-基)甲基]苯甲酰氨基]苯甲酸(**I₅**): 淡黄色固体, 收率 85.7%, m. p. 293~295 °C; 1H NMR(DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 12.66(s, 1H), 8.65(d, $J=9.0$ Hz, 1H), 8.52~8.42(m, 4H), 7.93(d, $J=2.6$ Hz, 1H), 7.90~7.81(m, 4H), 7.61(dd, $J=9.0$ Hz, 2.6 Hz, 1H), 7.51(d, $J=8.3$ Hz, 2H), 5.30(s, 2H); MS(ESI) m/z : Calcd for $C_{27}H_{17}N_2O_5Cl$ $\{[M-H]^{-}\}$ 484.0800, found 483.0788。

5-溴-2-[4-[(1,3-二氧代-1*H*-苯并[异]异喹啉-2(3*H*)-基)甲基]苯甲酰氨基]苯甲酸(**I₆**): 灰色固体, 收率 90.8%, m. p. 286~288 °C; 1H NMR(DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 13.22(s, 1H), 8.59(d, $J=9.0$ Hz, 1H), 8.47(dd, $J=12.8$ Hz, 7.8 Hz, 4H), 8.08(d, $J=2.3$ Hz, 1H), 7.85(t, $J=7.6$ Hz, 4H), 7.67(dd, $J=9.0$ Hz, 2.3 Hz, 1H), 7.51(d, $J=8.2$ Hz, 2H), 5.29

(s, 2H); MS(ESI) m/z : Calcd for $C_{27}H_{17}N_2O_5Br$ $\{[M-H]^{-}\}$ 528.0300, found 527.0250。

3-[4-[(1,3-二氧代-1*H*-苯并[异]异喹啉-2(3*H*)-基)甲基]苯甲酰氨基]丙酸(**I₇**): 白色固体, 收率 81.3%, m. p. 255~257 °C; 1H NMR(DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 12.20(s, 1H), 8.46(dd, $J=12.0$ Hz, 7.8 Hz, 5H), 7.90~7.80(m, 2H), 7.72(d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.39(d, $J=8.3$ Hz, 2H), 5.25(s, 2H), 3.39(dd, $J=12.6$ Hz, 6.9 Hz, 2H), 2.44(d, $J=7.0$ Hz, 2H); MS(ESI) m/z : Calcd for $C_{23}H_{18}N_2O_5$ $\{[M-H]^{-}\}$ 402.1200, found 401.1159。

(*E*)-2-[*N*-[4-[(4-(丙-1-烯-1-基)苯氧基)甲基]苄基]氨磺酰基]苯甲酸(**II₁**): 白色固体, 收率 81.9%, m. p. 213~215 °C; 1H NMR(DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 9.58(s, 1H), 7.70(d, $J=7.7$ Hz, 1H), 7.63(d, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.51(t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.45~7.08(m, 8H), 6.87(d, $J=8.7$ Hz, 1H), 6.29(d, $J=16.6$ Hz, 1H), 6.13~6.02(m, 1H), 5.00(s, 2H), 3.86(d, $J=3.7$ Hz, 2H), 1.77(d, $J=5.8$ Hz, 3H); MS(ESI) m/z : Calcd for $C_{24}H_{23}NO_5S$ $\{[M-H]^{-}\}$ 437.1300, found 436.1267。

(*E*)-3-[5-[4-(丙-1-烯-1-基)苯氧基]戊酰胺基]丙酸(**II₂**): 白色固体, 收率 75.5%, m. p. 150~152 °C; 1H NMR(DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 12.13(s, 1H), 7.86(t, $J=5.4$ Hz, 1H), 7.24(d, $J=8.7$ Hz, 2H), 6.81(d, $J=8.7$ Hz, 2H), 6.29(dd, $J=15.8$ Hz, 1.5 Hz, 1H), 6.13~6.02(m, 1H), 3.89(t, $J=6.0$ Hz, 2H), 3.19(dd, $J=12.6$ Hz, 6.8 Hz, 2H), 2.33(t, $J=6.9$ Hz, 2H), 2.07(t, $J=7.0$ Hz, 2H), 1.77(dd, $J=6.6$ Hz, 1.5 Hz, 3H), 1.68~1.51(m, 4H); MS(ESI) m/z : Calcd for $C_{17}H_{23}NO_4$ $\{[M-H]^{-}\}$ 305.1600, found 304.1542。

(*E*)-2-[4-[(4-(丙-1-烯-1-基)苯氧基)甲基]苯甲酰氨基]苯甲酸(**II₃**): 白色固体, 收率 85.6%, m. p. 252~255 °C; 1H NMR(DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 15.49(s, 1H), 8.66(d, $J=7.5$ Hz, 1H), 8.05(d, $J=8.2$ Hz, 3H), 7.59(d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.37~7.27(m, 3H), 7.03~6.93(m, 3H), 6.34(dd, $J=15.8$ Hz, 1.5 Hz, 1H), 6.18~6.08(m, 1H), 5.19(s, 2H), 1.81

(dd, $J=6.6$ Hz, 1.5 Hz, 3H); MS(ESI) m/z : Calcd for $C_{24}H_{21}NO_4 \{ [M-H]^- \}$ 387.1500, found 386.1421。

(*E*)-5-氟-2-[4-(4-(丙-1-烯-1-基)苯氧基)甲基]苯甲酰氨基}苯甲酸(**II₄**): 白色固体, 收率 84.6%, m. p. 243 ~ 245 °C; 1H NMR(DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 14.13(s, 1H), 12.00(s, 1H), 8.64(dd, $J=9.2$ Hz, 5.2 Hz, 1H), 7.93(d, $J=8.2$ Hz, 2H), 7.73(dd, $J=9.3$ Hz, 3.1 Hz, 1H), 7.61(d, $J=8.1$ Hz, 2H), 7.52(td, $J=9.0$ Hz, 3.1 Hz, 1H), 7.27(d, $J=8.6$ Hz, 2H), 6.93(d, $J=8.7$ Hz, 2H), 6.38~6.22(m, 1H), 6.17~6.02(m, 1H), 5.17(s, 2H), 1.77(d, $J=6.5$ Hz, 3H); MS(ESI) m/z : Calcd for $C_{24}H_{20}NO_4F \{ [M-H]^- \}$ 405.1400, found 404.1341。

(*E*)-5-氯-2-[4-(4-(丙-1-烯-1-基)苯氧基)甲基]苯甲酰氨基}苯甲酸(**II₅**): 白色固体, 收率 82.5%, m. p. 245 ~ 247 °C; 1H NMR(DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 14.18(s, 1H), 12.35(s, 1H), 8.67(d, $J=9.0$ Hz, 1H), 7.95(dd, $J=10.6$ Hz, 5.5 Hz, 3H), 7.67(dd, $J=9.0$ Hz, 2.6 Hz, 1H), 7.61(d, $J=8.2$ Hz, 2H), 7.27(d, $J=8.7$ Hz, 2H), 6.93(d, $J=8.7$ Hz, 2H), 6.31(d, $J=15.9$ Hz, 1H), 6.16~6.04(m, 1H), 5.17(s, 2H), 1.78(dd, $J=6.5$ Hz, 1.4 Hz, 3H); MS(ESI) m/z : Calcd for $C_{24}H_{20}NO_4Cl \{ [M-H]^- \}$ 421.1100, found 420.1054。

(*E*)-5-溴-2-[4-(4-(丙-1-烯-1-基)苯氧基)甲基]苯甲酰氨基}苯甲酸(**II₆**): 白色固体, 收率 86.6%, m. p. 238 ~ 240 °C; 1H NMR(DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 14.21(s, 1H), 12.31(s, 1H), 8.62(d, $J=9.0$ Hz, 1H), 8.09(d, $J=2.5$ Hz, 1H), 7.93(d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.81(dd, $J=9.0$ Hz, 2.5 Hz, 1H), 7.61(d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.28(d, $J=8.7$ Hz, 2H), 6.93(d, $J=8.8$ Hz, 2H), 6.30(dd, $J=15.8$ Hz, 1.5 Hz, 1H), 6.14~6.06(m, 1H), 5.17(s, 2H), 1.77(dd, $J=6.6$ Hz, 1.4 Hz, 3H); MS(ESI) m/z : Calcd for $C_{24}H_{20}NO_4Br \{ [M-H]^- \}$ 465.0600, found 464.0579。

(*E*)-3-[4-(4-(丙-1-烯-1-基)苯氧基)甲基]苯甲酰氨基}丙酸(**II₇**): 灰白色固体, 收率

85.2%, m. p. 215 ~ 217 °C; 1H NMR(DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 8.60(t, $J=5.3$ Hz, 1H), 7.84(d, $J=8.2$ Hz, 2H), 7.50(d, $J=8.2$ Hz, 2H), 7.30(d, $J=8.7$ Hz, 2H), 6.94(d, $J=8.7$ Hz, 2H), 6.33(dd, $J=15.8$ Hz, 1.3 Hz, 1H), 6.18~6.08(m, 1H), 5.15(s, 2H), 3.44(dd, $J=12.5$ Hz, 6.9 Hz, 2H), 2.46(t, $J=7.1$ Hz, 2H), 1.81(dd, $J=6.5$ Hz, 1.3 Hz, 3H); MS(ESI) m/z : Calcd for $C_{20}H_{21}NO_4 \{ [M-H]^- \}$ 339.1500, found 338.1420。

1.3 体外抗辐射活性^[20-21]

通过 MTS 法检测 HUVEC 细胞在辐射照射后的增殖活性用于评价化合物的抗辐射活性。实验分为空白组(只含空白培养基)、照射对照组(细胞只照射不给药)、阴性对照组(细胞不照射不给药)、DBIBB 组和化合物组。取对数生长期的 HUVEC 细胞, 0.25% 胰蛋白酶消化接种, 用含 10% 胎牛血清的 1640 培养液制成细胞悬液, 在显微镜下调整细胞密度为 $5 \times 10^6/L$, 将 $100 \cdot L$ 细胞悬液接种到 96 孔板上, 每一化合物含有 3 个平行孔并设不含细胞的空白培养基孔做空白对照, 于 37 °C, 5% CO_2 细胞培养箱培养 24 h 后加药。空白组、照射对照组和阴性对照组每孔加入 $100 \cdot L$ 空白培养基, DBIBB 组和化合物组每孔加入 $100 \cdot L$ 含药培养基(DMSO 溶解至 100 mmol/L 加药前稀释至 $5 \cdot mol/L$)。治疗给药组在细胞于 8.0 Gy ^{60}Co γ 射线照射后 3 h 进行加药, 完成后立即将细胞放回细胞培养箱培养; 预防给药组加药 24 h 后将细胞置于 8.0 Gy ^{60}Co γ 射线下一次性照射, 照射完毕立即放回细胞培养箱。照后 3 d, 采用 MTS 比色法检测各组细胞存活率, 每孔加入 $20 \cdot L$ MTS, 0.5 h 后用酶标仪检测 490 nm 的吸光度值(A_{490}), 计算细胞存活率。

2 结果与讨论

2.1 合成

在 **5** 的合成中, 直接用氯化亚砷室温搅拌, 或以乙酸乙酯作溶剂, 2 eq. 的氯化亚砷室温搅拌或在此条件下加入催化剂 *N,N*-二甲基甲酰胺进行反应, 或将上述均升温处理, 均未得到 **5**。最后用二氯甲烷作溶剂加入 2 eq. 的氯化亚砷并以 *N,N*-二甲基甲酰胺作催化剂室温搅拌 0.5 h, 反应彻底

表 1 $I_1 \sim I_7$ 和 $II_1 \sim II_7$ 在 8.0 Gy ^{60}Co γ 照射下的细胞存活率

Table 1 Cell viabilities of $I_1 \sim I_7$ and $II_1 \sim II_7$ under 8.0 Gy ^{60}Co γ irradiation

化合物	预防给药存活率/%	治疗给药存活率/%
DBIBB	62.30 ± 1.53 [*]	57.55 ± 1.20
I_1	54.38 ± 2.87 [#]	64.68 ± 1.04 ^{*#}
I_2	52.80 ± 3.10 [#]	58.95 ± 1.34
I_3	39.28 ± 3.21 ^{*#}	22.66 ± 0.59 ^{*#}
I_4	43.15 ± 2.06 ^{*#}	28.55 ± 3.82 ^{*#}
I_5	43.39 ± 1.43 ^{*#}	25.08 ± 2.24 ^{*#}
I_6	48.95 ± 3.91 ^{*#}	32.73 ± 1.85 ^{*#}
I_7	42.88 ± 1.12 ^{*#}	49.62 ± 2.15 ^{*#}
II_1	60.35 ± 1.10	56.89 ± 2.02
II_2	53.98 ± 4.76 [#]	56.35 ± 2.23
II_3	30.23 ± 1.61 ^{*#}	30.14 ± 1.45 ^{*#}
II_4	45.76 ± 1.59 ^{*#}	40.87 ± 3.77 ^{*#}
II_5	42.89 ± 1.84 ^{*#}	38.68 ± 1.68 ^{*#}
II_6	41.55 ± 1.10 ^{*#}	49.37 ± 2.83 ^{*#}
II_7	49.96 ± 1.81 ^{*#}	42.15 ± 2.06 ^{*#}
照射对照组	56.12 ± 1.79	58.16 ± 2.12

* $P < 0.05$, 与照射对照组相比, $\bar{x} \pm s$, $n = 3$; # $P < 0.05$, 与 DBIBB 组相比, $\bar{x} \pm s$, $n = 3$ 。

且产率较高。推测原因为原料溶解性差异造成。

2.2 化合物的抗辐射活性

表 1 为 $I_1 \sim I_7$ 和 $II_1 \sim II_7$ 在 8.0 Gy ^{60}Co γ 射线照射后的细胞增殖活性。由表 1 可见, I_1 在治疗给药时的细胞存活率 64.68 ± 1.04^{*#}, 与 DBIBB 组 57.55 ± 1.20 和照射对照组 58.16 ± 2.12 相比均上升, 具有抗辐射活性; I_2 在治疗给药时的细胞存活率 58.95 ± 1.34^{*#}, 与 DBIBB 组 57.55 ± 1.20 和照射对照组 58.16 ± 2.12 相比有提升(差异均有统计学意义), 具有抗辐射活性。由此可见连接基团为酰胺基、头部为链状羧酸时具有抗辐射活性。 $I_3 \sim I_7$ 和 $II_1 \sim II_7$ 的细胞存活率在预防给药和治疗给药时与 DBIBB 组和照射对照组相比均下降, 表明当连接部为疏水芳环时化合物无抗辐射活性, 甚至出现细胞毒性作用, 从而抑制细胞的生长, 但不排除化合物分子的细胞毒性与钴源的辐射损伤作用相叠加, 使此类化合物细胞存活率下降明显。

3 结论

以 DBIBB 为先导化合物设计合成了 14 个新型苯并异噻啉类衍生物($I_1 \sim I_7$ 和 $II_1 \sim II_7$), 并对其进行了活性考察, 结果表明: 在 8.0 Gy ^{60}Co γ 射线照射下经照前预防给药和照后治疗给药的细胞增殖活性结果显示化合物 I_1 和 I_2 具有较好的体外抗辐射活性。化合物 I_1 是将连接部替换为疏水芳环结构, 在治疗给药时的细胞存活率 64.68 ± 1.04^{*#}, 优于阳性对照组, 化合物 I_2 是将先导化合物 DBIBB 的连接基团氨磺酰基替换为酰胺基、头部替换为链状羧酸, 在治疗给药时的细胞存活率 58.95 ± 1.34^{*#}, 优于阳性对照组, 说明 I_1 和 I_2 具有一定的抗辐射活性。

参考文献

- [1] YAMINI K, GOPAL V. Natural radioprotective agents against ionizing radiation-an overview [J]. *Inter J Pharmtech Res*, 2010, **2**(2): 1421 - 1426.
- [2] 李敏, 赵德华, 王继生. 抗辐射药物研究进展[J]. *实用药物与临床*, 2017, **20**(12): 1 - 2. (LI M, ZHAO D H, WANG J S, *et al.* Progress in anti-radiation drugs[J]. *Practical Pharmacy And Clinical Remedies*, 2017, **20**(12): 1 - 2.)
- [3] COPP R R, PEEBLES D D, SOREF C M, *et al.* Radioprotective efficacy and toxicity of a new family of aminothiols analogs[J]. *International Journal of Radiation Biology*, 2013, **89**(7): 485 - 492.
- [4] PEEBLES D D, SOREF C M, COPP R R, *et al.* ROS-scavenger and radioprotective efficacy of the new PrC-210 aminothiol[J]. *Radiation Research*, 2012, **178**(1): 57 - 68.
- [5] SOREF C M, HACKER T A, FAHL W E. A new orally active, aminothiol radioprotector-free of nausea and hypotension side effects at its highest radioprotective doses[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2012, **82**(5): e701 - e707.
- [6] SUMAN S, DATTA K, DOIRON K, *et al.* Radio protective effects of ON 01210. Na upon oral administration[J]. *Journal of Radiation Research*, 2012, **53**(3): 368 - 376.
- [7] GHOSH S P, PERKINS M W, HIEBER K, *et al.* Radiation protection by a new chemical entity, Ex-RadTM: Efficacy and mechanisms [J]. *Radiation Research*, 2009, **171**(2): 173 - 179.
- [8] SINGH V K, NEWMAN V L, ROMAINE P L P, *et*

- al. Radiation countermeasure agents: An update (2011-2014) [J]. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 2014, **24**(11): 1229 - 1255.
- [9] STICKNEY D R, GROOTHUIS J R, AHLEM C, *et al.* Preliminary clinical findings on NEUMUNE as a potential treatment for acute radiation syndrome [J]. *Journal of Radiological Protection Official Journal of the Society for Radiological Protection*, 2010, **30**(4): 687 - 698.
- [10] DENG W, BALAZS L, WANG D, *et al.* Lysophosphatidic acid protects and rescues intestinal epithelial cells from radiation and chemotherapy induced apoptosis [J]. *Gastroenterology*, 2002, **123**(1): 206 - 216.
- [11] JI W C, HERR D R, NOGUCHI K, *et al.* LPA receptors: Subtypes and biological actions [J]. *Annual Review of Pharmacology & Toxicology*, 2010, **50**(1): 157 - 186.
- [12] LIN F T, LAI Y J, MAKAROVA N, *et al.* The lysophosphatidic acid 2 receptor mediates down-regulation of Siva-1 to promote cell survival. [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2007, **282**(52): 37759 - 37769.
- [13] FUJIWARA Y, SARDAR V, TOKUMURA A, *et al.* Identification of residues responsible for ligand recognition and regioisomeric selectivity of lysophosphatidic acid receptors expressed in mammalian cells [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2005, **280**(41): 35038 - 35050.
- [14] SARDRA V M, BAUTISTA D L, FISCHER D J, *et al.* Molecular basis for lysophosphatidic acid receptor antagonist selectivity [J]. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 2002, **1582**(1-3): 309 - 317.
- [15] PATIL R, SZABO E, FELS J I, *et al.* Combined mitigation of the gastrointestinal and hematopoietic acute radiation syndromes by a novel LPA2 receptor-specific non-lipid agonist [J]. *Chemistry & Biology*, 2015, **22**(2): 206 - 216.
- [16] PATIL R, FELS J, SZABO E, *et al.* Design and synthesis of sulfamoylbenzoic acid analogues with subnanomolar agonist activity specific to the LPA2 receptor [J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2014, **57**(16): 7136 - 7140.
- [17] PATIL V, KALE M, RAICHURKAR A, *et al.* Design and synthesis of triazolopyrimidine acylsulfonamides as novel anti-mycobacterial leads acting through inhibition of acetohydroxyacid synthase [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, **24**(9): 2222 - 2225.
- [18] YOSHIKAWA Y, KAWAII S, KANAUCHI M, *et al.* Chavicol and related compounds as nematocides [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2014, **57**(9): 1572 - 1574.
- [19] OHIGASHI H, KOSHIMIZU K. As a larva-growth inhibitor, from *Viburnum japonicum* Spreng [J]. *Agricultural Chemical Society of Japan*, 1976, **40**(11): 2283 - 2287.
- [20] GHOSH S P, SHILPA K, PERKINS M W, *et al.* Amelioration of radiation-induced hematopoietic and gastrointestinal damage by Ex-RAD[®] in mice [J]. *Journal of Radiation Research*, 2012, **53**(4): 526 - 536.
- [21] 周玉美, 唐林, 张首国, 等. 香豆素苜(亚) 酚类化合物的合成及其抗辐射活性评价 [J]. *国际药学研究杂志*, 2017, **44**(5): 427 - 431.
(ZHOU Y M, TANG L, ZHANG S G, *et al.* Synthesis and anti-radiation activity evaluation of coumarin benzyl(subsulfonate) compounds [J]. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 2017, **44**(5): 427 - 431.)