

• 实验研究 •

## 萘甲基三唑羧酸类化合物的合成及其抑制 URAT1 活性的研究

范成鑫<sup>1</sup>, 陈会慧<sup>2</sup>, 李川<sup>2</sup>, 谢亚非<sup>2</sup>, 徐为人<sup>1,2</sup>, 刘巍<sup>2</sup>, 刘长鹰<sup>2\*</sup>

1. 天津中医药大学, 天津 300193

2. 天津药物研究院 天津市新药设计与发现重点实验室, 天津 300193

**摘要:** 目的 设计合成一类含萘甲基三唑结构的羧酸类化合物, 并对其抑制尿酸转运体 1 (URAT1) 的活性进行研究。方法 以 4-溴甲基萘、1*H*-1,2,4-三氮唑-3-硫醇和溴乙酸甲酯为起始原料, 通过取代、水解等反应合成目标化合物, 并对其抑制 URAT1 的活性进行研究。结果 设计并合成了 3 个目标化合物, 结构经 <sup>1</sup>H-NMR 和 MS 确证。活性测试结果显示化合物 **F-2** 和 **G-2** 具有比阳性对照药 lesinurad 还要强的 URAT1 抑制活性。结论 设计了一条合成目标化合物的简易路线, 该路线操作简便、路线短、收率高。目标化合物也具有一定的生物活性。

**关键词:** 萘甲基三唑羧酸类化合物; URAT1 抑制剂; 尿酸; 痛风

中图分类号: R914.2; R966 文献标志码: A 文章编号: 1674 - 5515(2017)07 - 1165 - 06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2017.07.001

## Synthesis of naphthyl triazole carboxylic acid compounds and their inhibitory activities against URAT1

FAN Cheng-xin<sup>1</sup>, CHEN Hui-hui<sup>2</sup>, LI Chuan<sup>2</sup>, XIE Ya-fei<sup>2</sup>, XU Wei-ren<sup>1,2</sup>, LIU Wei<sup>2</sup>, LIU Chang-ying<sup>2</sup>

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. Tianjin Key Laboratory of Molecular Design and Drug Discovery, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

**Abstract: Objective** To design and synthesize naphthyl triazole carboxylic acid compounds and study their inhibitory activities against URAT1. **Methods** 4-Bromomethyl-naphthalene, [1,2,4]triazole-3-thiol, and methyl bromoacetate were used as a starting material to synthesize the target compounds by substitution and hydrolysis reaction. And their URAT1 inhibitory activities were tested. **Results** Three target compounds were designed and synthesized, and their chemical structures were confirmed by <sup>1</sup>H-NMR and MS. Activities test showed that compounds **F-2** and **G-2** had stronger URAT1 inhibitory activities than positive control drug lesinurad. **Conclusion** A facile route for synthesis of target compound is developed, which has the advantages of simple operating procedure, easy post-processing, and high-yield. And target compounds have a certain biological activities.

**Key words:** naphthyl triazole carboxylic acid compounds; URAT1 inhibitor; uric acid; gout

痛风是嘌呤代谢紊乱和(或)尿酸排泄减少引起的一种晶体性关节炎, 临床表现有腹型肥胖、高脂血症、高血压、2 型糖尿病及心血管病等<sup>[1]</sup>。尿酸转运体 1 (URAT1) 位于肾脏近曲小管的上皮细胞的刷状缘上, 是近年来发现的位于肾脏的重要尿酸转运体, 负责肾脏中尿酸的重吸收<sup>[2]</sup>。尿酸在肾

脏的转运主要依靠肾小管上皮细胞刷状缘侧和基底侧膜上各种转运体, 因此转运体的功能异常直接影响尿酸在肾脏的转运。抑制 URAT1 就会抑制肾脏中尿酸的重吸收、增加尿液中尿酸的排泄, 进而达到降低血尿酸和控制痛风发作的目的<sup>[3]</sup>。对于急性痛风期治疗药物有秋水仙素、非甾体抗炎药 (NSAIDs)、

收稿日期: 2017-02-15

基金项目: 天津市科技支撑计划重点项目 (16YFZCSY00910)

作者简介: 范成鑫 (1991—), 男, 河南郑州人, 硕士研究生。E-mail: 870438439@qq.com

\*通信作者 刘长鹰, 副研究员。Tel: (022)23006869 Email: 150130138@qq.com

糖皮质激素、炎症因子等；对于慢性痛风期药物有嘌呤类似物、黄酮类化合物等<sup>[4]</sup>，现有的痛风治疗药物不足之处很多。目前已经上市的药物 lesinurad 为全球首个 URAT1 抑制剂，结构上属于萘基三唑羧酸类化合物，具有药效强选择性高的特点<sup>[5-6]</sup>，但依然存在腹泻、恶心和便秘等很多副作用<sup>[7]</sup>。此外，本课题组前期研究中也公开了一种可用于痛风和高尿酸

血症治疗的含萘甲基三唑结构的 URAT1 抑制剂<sup>[8]</sup>。因此，深入研究含有上述结构的化合物使其具有高选择性、低毒性的 URAT1 抑制活性具有十分重要的实际意义。本研究以 4-溴甲基萘、1*H*-1,2,4-三氮唑-3-硫醇和溴乙酸甲酯为起始原料，通过取代、水解等反应得到目标产物，并对其体外抑制 URAT1 的活性进行研究，合成路线见图 1。

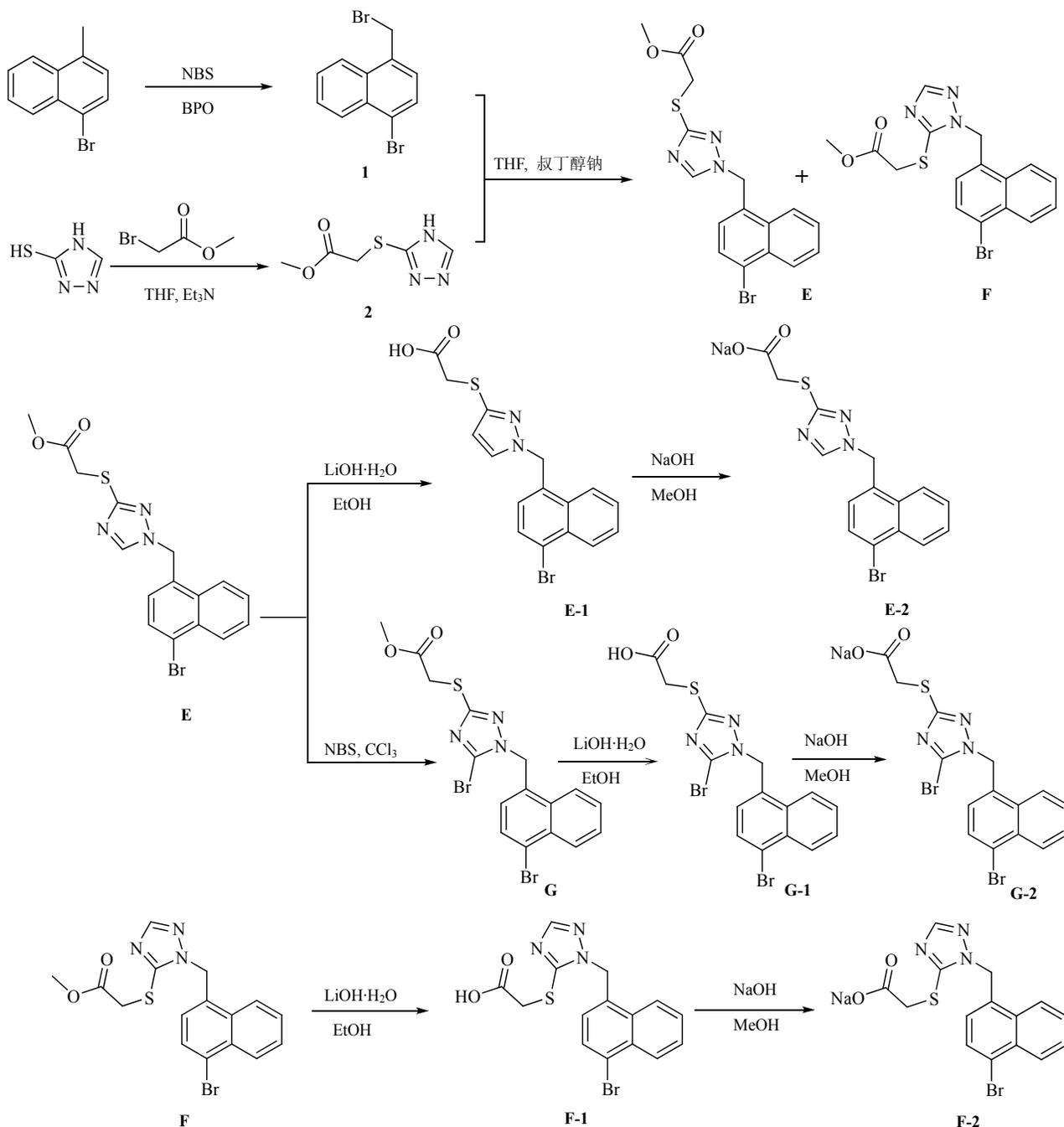


图 1 目标化合物的合成路线

Fig. 1 Synthetic route of target compounds

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

薄层色谱硅胶 GF254、柱色谱硅胶 (100~200 目, 青岛海洋化工厂); RY-2 显微熔点测定仪 (天津天光光学仪器有限公司); AV 400MHz 型核磁共振仪、Vector 22 型傅里叶变换红外光谱仪 (瑞士 Bruker 公司); Q-TOF6510 型高分辨质谱仪 (美国 Agilent 公司); BS124S 分析天平 (瑞士 Sartorius 公司); Tri-Carb 2910 TR 放射性液体闪烁仪 (美国 PerKin Elmer 公司); HERAcCell 150i 二氧化碳培养箱 (美国 Thermo Scientific)。

### 1.2 试剂

合成部分试剂均为国产市售分析纯。Hanks 缓冲盐溶液 (HBSS, Gibco 公司); 基础培养基 (DMEM, Gibco 公司); 青链霉素混合液 (Solarbio 公司); 尿酸[8-<sup>14</sup>C] (Moravek 公司); 二甲基亚砜 (DMSO, Solarbio 公司); 苯溴马隆 (Sigma 公司); 阳性对照药 lesinurad (自制, 质量分数为 66.67%)。HEK293A 细胞来源于中国科学院细胞库。

## 2 合成部分

### 2.1 化合物 1-溴-4-溴甲基萘 (1) 的合成

室温下向一只干燥的 1 L 的圆底烧瓶中加入正己烷 (400 mL), 搅拌下加入 4-溴甲基萘 (35.37 g, 160 mmol)、过氧化苯甲酰 (BPO, 0.775 g, 3.2 mmol) 和 NBS (34.17 g, 192 mmol), 搅拌升温至回流, 醋酸乙酯 - 石油醚 (1:1) 为展开剂, TLC 监测反应。反应结束后, 将体系降至室温, 搅拌 2 h 后抽滤, 滤饼加入 800 mL 水中室温搅拌 1 h, 抽滤, 滤液弃去, 滤饼再次加入 800 mL 水中室温搅拌 1 h, 抽滤, 滤液弃去。所得滤饼用 800 mL 正己烷打浆搅拌 2 h, 抽滤, 滤饼干燥, 得白色固体 (34.56 g), 收率 72%, mp 104.0~105.5 °C。ESI-MS  $m/z$ : 299.9  $[M+H]^+$ 。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 8.20~8.26 (m, 2H, Ar-H), 7.86 (d, 1H,  $J=8.0$  Hz, Ar-H), 7.72~7.78 (m, 2H, Ar-H), 7.62 (d, 1H,  $J=7.6$  Hz, Ar-H), 5.21 (s, 2H, CH<sub>2</sub>)。

### 2.2 (4H-[1,2,4]三氮唑-2-硫基)-乙酸甲酯 (2) 的合成

室温下向一只干燥的 1 L 圆底烧瓶中加入四氢呋喃 (500 mL), 搅拌下加入化合物 1H-1,2,4-三氮唑-3-硫醇 (8 g, 0.079 mol) 和溴乙酸甲酯 (16 g, 0.105 mol), 所得混合物在 -5 °C 冷阱中降到 0 °C。向反应体系中滴加三乙胺 (16.5 mL), 滴毕, 反应体系放入 60 °C 油浴中加热 1 h, 然后室温搅拌 12 h。

醋酸乙酯 - 石油醚 (2:1) 为展开剂, TLC 监测反应。反应完成后, 将反应液滤过, 滤液浓缩至黏稠油状物, 加入 100 mL 醋酸乙酯室温搅拌 3 h, 然后滤过, 滤饼收集, 40 °C 干燥, 得白色固体 (8.4 g), 收率 61%。ESI-MS  $m/z$ : 173.1  $[M+H]^+$ 。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 14.04 (s, 1H, NH), 8.44 (s, 1H, CH), 4.00 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.62 (s, 3H, CH<sub>3</sub>)。

### 2.3 1-(4-溴萘-1-硫基)-1H-[1,2,4]三氮唑-3-硫基]-乙酸甲酯 (E) / [1-(4-溴萘-1-硫基)-1H-咪唑-2-硫基]-乙酸甲酯 (F) 的合成

室温下向一只干燥的 1 L 圆底烧瓶中加入四氢呋喃 (100 mL)、搅拌下加入化合物 1 (13.9 g, 0.046 mol)、化合物 2 (8 g, 0.046 mol) 和叔丁醇钠 (4.46 g, 0.046 mol), 室温搅拌 18 h, 甲醇 - 醋酸乙酯 (1:5) 为展开剂, TLC 监测反应。反应混合物倾倒入水 (300 mL) 中, 二氯甲烷 (100 mL×3) 萃取, 合并萃取相, 5%氯化钠水溶液 (100 mL) 洗涤, 无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥。干燥后的有机相在旋转蒸发仪上蒸去溶剂, 得到的残余物石油醚 - 醋酸乙酯 (1:0~5:1) 梯度洗脱, 硅胶色谱柱分离得到化合物 E; 石油醚 - 醋酸乙酯 (3:1) 洗脱, 硅胶色谱柱分离得到化合物 F。

化合物 E: 白色固体 3.2 g, 收率 17.7%。ESI-MS  $m/z$ : 392.0  $[M+H]^+$ 。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 8.69 (s, 1H, CH), 8.20~8.25 (m, 2H, Ar-H), 7.90 (d, 1H,  $J=7.6$  Hz, Ar-H), 7.68~7.75 (m, 2H, Ar-H), 7.27 (d, 1H,  $J=7.6$  Hz, Ar-H), 5.84 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.94 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.55 (s, 3H, CH<sub>3</sub>)。

化合物 F: 白色固体, 0.7 g, 收率 3.89%。ESI-MS  $m/z$ : 392.2  $[M+H]^+$ 。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 8.20~8.25 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 8.00 (s, 1H, Ar-H), 7.89 (d, 1H,  $J=7.6$  Hz, Ar-H), 7.68~7.76 (m, 2H, Ar-H), 7.10 (d, 1H,  $J=7.6$  Hz, Ar-H), 5.80 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.13 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.62 (s, 3H, CH<sub>3</sub>)。

### 2.4 [1-(4-溴萘-1-硫基)-1H-吡唑-3-硫基]-乙酸甲酯 (E-1) 的合成

化合物 E (0.2 g, 0.51 mmol) 加入乙醇 (8 mL) 中, 室温下搅拌, 加入由 LiOH·H<sub>2</sub>O (43 mg, 1.02 mmol) 和水 (2 mL) 配成的溶液, 室温下搅拌, 氯仿 - 醋酸乙酯 (1:2) 为展开剂, TLC 监测反应。

反应完成后,将反应混合物倾倒入冰水(20 mL)中,搅拌,用盐酸调节 pH 值为 2~3,用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL×4) 萃取。合并有机相,用 5%氯化钠水溶液(20 mL)洗涤,无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥。干燥后的有机相在旋转蒸发仪上蒸去溶剂,得到白色固体(104 mg),收率 53.9%。ESI-MS  $m/z$ : 376.99  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 12.70 (s, 1H, CH), 8.68 (s, 1H, CH), 8.20~8.26 (m, 2H, Ar-H), 7.89 (d, 1H,  $J=7.6$  Hz, Ar-H), 7.69~7.75 (m, 2H, Ar-H), 7.26 (d, 1H,  $J=7.6$  Hz, Ar-H), 5.84 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.88 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ )。

### 2.5 钠盐 E-2 的合成

化合物 E-1 (104 mg, 0.275 mmol) 溶于甲醇(12 mL)中,室温下搅拌,慢慢加入由 NaOH(11 mg, 0.275 mmol) 和水(0.25 mL)配制的溶液,加完后,反应混合物在室温下继续搅拌 10 min。反应混合物在旋转蒸发仪上蒸干,得到的残余物用甲醇(10 mL×2)溶解后再蒸干以便除去残余物中的水,得到的残余物进一步在真空油泵上 35 °C 的水浴中干燥 12 h,得到白色固体(78 mg),收率 70.9%。ESI-MS  $m/z$ : 392.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 8.57 (s, 1H, CH), 8.21~8.27 (m, 1H, Ar-H), 8.19~8.20 (m, 1H, Ar-H), 7.90 (d, 1H,  $J=7.6$  Hz, Ar-H), 7.68~7.75 (m, 2H, Ar-H), 7.26 (d, 1H,  $J=8.0$  Hz, Ar-H), 5.81 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.57 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ )。

### 2.6 [2-(4-溴萘-1-硫基)-2H-[1,2,4]三氮唑-3-硫基]-乙酸甲酯(F-1)的合成

化合物 F (0.2 g, 0.51 mmol) 加入乙醇(8 mL)中,室温下搅拌,加入由  $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (43 mg, 1.02 mmol) 和水(2 mL)配成的溶液,室温下搅拌,醋酸乙酯-石油醚(2:1)为展开剂, TLC 监测反应。反应完成后,反应混合物倾倒入冰水(40 mL)中,搅拌,用盐酸调节 pH 值至 2~3,用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL×4) 萃取。合并有机相,用 5%氯化钠水溶液(20 mL)洗涤,无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥。干燥后的有机相在旋转蒸发仪上蒸去溶剂,得到白色固体(100 mg),收率 51.8%。ESI-MS  $m/z$ : 376.99  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 12.90 (s, 1H, OH), 8.20~8.26 (m, 2H, Ar-H), 7.99 (s, 1H, Ar-H), 7.88 (d, 1H,  $J=7.6$  Hz, Ar-H), 7.6~7.75 (m, 2H, Ar-H), 7.11 (d, 1H,  $J=7.6$  Hz, Ar-H), 5.79 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 4.05 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ )。

### 2.7 钠盐 F-2 的合成

化合物 F-1 (100 mg, 0.265 mmol) 溶于甲醇(12 mL)中,室温下搅拌,慢慢加入由 NaOH(10.6 mg, 0.265 mmol) 和水(0.25 mL)配制的溶液,加完后,反应混合物在室温下继续搅拌 10 min。反应混合物在旋转蒸发仪上蒸干,得到的残余物用甲醇(10 mL×2)溶解后再蒸干以便除去残余物中的水,得到的残余物进一步在真空油泵上 35 °C 的水浴中干燥 12 h,得到白色固体(72 mg),收率 68.1%。ESI-MS  $m/z$ : 400.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 8.26~8.28 (m, 1H, Ar-H), 8.19~8.22 (m, 1H, Ar-H), 7.90 (s, 1H, Ar-H), 7.87 (d, 1H,  $J=7.6$  Hz, Ar-H), 7.69~7.75 (m, 2H, Ar-H), 7.02 (d, 1H,  $J=7.6$  Hz, Ar-H), 5.75 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.71 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ )。

### 2.8 [5-溴-1-(4-溴萘-1-硫基)-H[1,2,4]三氮唑-3-硫基]-乙酸甲酯(G)的合成

化合物 E (2 g, 5.1 mmol) 溶于氯仿(20 mL)中,室温下搅拌,加入 NBS(1.27 g, 7.1 mmol),继续在室温下搅拌,醋酸乙酯-石油醚(2:1)为展开剂, TLC 监测反应。反应混合物倾倒入冰水(50 mL)中,搅拌,用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL×3) 萃取。合并有机相,依次用饱和  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液(10 mL×3)和 5%氯化钠水溶液(20 mL)洗涤,无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥。干燥后的有机相在旋转蒸发仪上蒸去溶剂,得到的残余物经过柱色谱纯化,得到白色固体(1.05 g),收率 43.7%。ESI-MS  $m/z$ : 471.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 8.20~8.23 (m, 2H, Ar-H), 7.89 (d, 1H,  $J=7.6$  Hz, Ar-H), 7.71~7.76 (m, 2H, Ar-H), 7.03 (d, 1H,  $J=7.6$  Hz, Ar-H), 5.85 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.97 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.56 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ )。

### 2.9 [5-溴-1-(4-溴萘-1-硫基)-1H-[1,2,4]三氮唑-3-硫基]-乙酸(G-1)的合成

化合物 G (0.9 g, 1.9 mmol) 加入乙醇(20 mL)中,室温下搅拌,加入由  $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$  (175 mg, 4.2 mmol) 和水(20 mL)配成的溶液,室温下搅拌,醋酸乙酯-石油醚(2:1)为展开剂, TLC 监测反应。反应完成后,反应混合物倾倒入冰水(40 mL)中,搅拌,用盐酸调节 pH 值至 2~3,用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL×4) 萃取。合并有机相,用 5%氯化钠水溶液(20 mL)洗涤,无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥。干燥后的有机相在旋转蒸发仪上蒸去溶剂,得到的残余物经过柱色谱

纯化, 得到白色固体 (0.76 g), 收率 87.3%。ESI-MS  $m/z$ : 457.1  $[M+H]^+$ 。 $^1H$ -NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 12.79 (s, 1H, OH), 8.21~8.25 (m, 2H, Ar-H), 7.88 (d, 1H,  $J=8.0$  Hz, Ar-H), 7.71~7.78 (m, 2H, Ar-H), 7.01 (d, 1H,  $J=8.0$  Hz, Ar-H), 5.86 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.91 (s, 2H, CH<sub>2</sub>)。

### 2.10 钠盐 G-2 的合成

化合物 G-1 (0.76 g, 1.67 mmol) 溶于甲醇 (12 mL) 中, 室温下搅拌, 慢慢加入由 NaOH (0.072 g, 1.67 mmol) 和水 (0.25 mL) 配制的溶液, 加完后, 反应混合物在室温下继续搅拌 10 min。反应完成后, 反应混合物在旋转蒸发仪上蒸干, 得到的残余物用甲醇 (10 mL×2) 溶解后再蒸干以便除去残余物中的水, 得到的残余物进一步在真空泵泵上 35 °C 的水浴中干燥 12 h, 得到白色固体 (0.749 g), 收率 94.1%。ESI-MS  $m/z$ : 479.1  $[M+H]^+$ 。 $^1H$ -NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 8.21~8.26 (m, 2H, Ar-H), 7.89 (d, 1H,  $J=7.6$  Hz, Ar-H), 7.71~7.78 (m, 2H, Ar-H), 7.00 (d, 1H,  $J=7.6$  Hz, Ar-H), 5.82 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.57 (s, 2H, CH<sub>2</sub>)。

### 3 体外抑制 URAT1 活性

将稳定表达人 URAT1 基因的细胞 (HEK293A-URAT1) 和 mock 细胞 (HEK293A-pcDNA3.1) 经过复苏和传代培养后, 选取生长良好的贴壁细胞用胰酶消化使其分散为单细胞悬液, 用培养基调节细胞密度至  $1.5 \times 10^5$  个/mL, 然后以 1 mL/孔的量均匀接种于赖氨酸包被的 24 孔培养板上, 在 37 °C、5%

CO<sub>2</sub>、饱和空气湿度的培养箱内培养 2~3 d 使细胞长满各孔。移去培养板内培养液, 将培养细胞用 1 mL/孔的 HBBS 清洗 2 次, 并在 37 °C 温浴 10 min, 弃去清洗液, 然后以 500  $\mu$ L/孔含有放射性标记的底物 ( $[8-^{14}C]$ 尿酸) 和 0.01、0.1、1、5、10、100  $\mu$ mol/L 的待测化合物溶液置换 HBBS,  $[8-^{14}C]$ 尿酸的浓度为 10  $\mu$ mol/L, 每孔放射强度为 0.867  $\mu$ Ci。孵育 2 min 后, 用冷 HBBS 缓冲液中止反应, 并清洗 3 次, 然后各孔添加 400  $\mu$ L 0.1 mol/L NaOH 裂解细胞, 提取裂解液于闪烁瓶中, 添加 3 mL 的闪烁液, 并用 Tri-Carb2910TR 型液闪仪测定样品中的放射性强度。计算待测化合物相对于对照 lesinurad 对 URAT1 的抑制率 (In)。

$$In = (U - U_0) / (U_c - U_0)$$

其中,  $U_0$  为 mock 细胞加放射性底物 ( $[8-^{14}C]$ 尿酸) 所对应的放射性强度。 $U_c$  为稳定表达了 URAT1 的 HEK293 细胞加放射性底物 ( $[8-^{14}C]$ 尿酸) 但是不加待测化合物的孔所对应的放射性强度。 $U$  为稳定表达了 URAT1 的 HEK293 细胞加放射性底物 ( $[8-^{14}C]$ 尿酸) 和待测化合物的孔所对应的放射性强度。

每一给药浓度均设置两个重复, 每个 In 值代表了两个重复孔的平均值。根据待测化合物在不同浓度下的 In 值使用 PRISM 软件计算待测化合物对 URAT1 抑制的 IC<sub>50</sub> 值。活性测试结果显示化合物 F-2 和 G-2 具有比阳性对照药 lesinurad 还要强的 URAT1 抑制活性。见表 1。

表 1 目标化合物对 URAT1 的抑制活性

Table 1 Inhibitory activities of target compounds against URAT1

化合物	抑制率/%						IC <sub>50</sub> /( $\mu$ mol·L <sup>-1</sup> )
	0.01 $\mu$ mol/L	0.1 $\mu$ mol/L	1 $\mu$ mol/L	5 $\mu$ mol/L	10 $\mu$ mol/L	100 $\mu$ mol/L	
E-2	6.21±1.49	11.80±1.00	18.27±1.01	27.18±1.05	33.18±2.35	91.55±1.67	34.66±6.4
F-2	6.05±3.51	24.78±3.73	33.81±3.05	48.86±7.29	51.04±10.44	86.39±5.28	4.77±1.2
G-2	7.77±1.38	27.68±2.69	33.94±6.58	54.54±7.00	72.24±3.17	88.72±2.07	3.93±1.0
lesinurad	3.86±1.63	9.88±1.44	23.20±1.44	39.39±5.16	69.23±4.00	91.19±3.61	7.30±1.9

### 4 讨论

本课题组以 1H-1,2,4-三氮唑-3-硫醇、溴乙酸甲酯和 4-溴甲基萘为起始原料, 通过一系列化学合成得到 3 种新型萘甲基三唑结构的羧酸类 URAT1 抑制剂, 经 MS 和  $^1H$ -NMR 确证了结构, 并对其进行了体外抗痛风活性研究。化合物 F 生成化合物 G 的

合成路线中, 用氯仿、乙腈等不同的反应溶剂进行试验, 结果发现均得不到目标产物 G, 因此不对该反应进行后续操作。该合成方法除了生成产物 E 和产物 F 需要柱色谱分离之外, 其他合成过程不需要柱色谱, 反应条件温和, 操作简单易行; 在各反应过程中, 出现的副产物比较少, 得到的产物纯度高,

进而终产物的收率高。由表 1 可知,合成的抑制剂有一定的生物活性,其中目标化合物 **F-2** 和 **G-2** 具有比阳性对照 lesinurad 还要强的活性。综上所述,本课题对新化合物的成功合成与其抗痛风的生物活性研究为开发更好的抗痛风新药奠定了基础。

#### 参考文献

- [1] 承良凤, 陆进明. 痛风药物治疗新进展 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2015, 20(9): 1066-1071.
- [2] Cal-Kocikowska J, Nawrocka M, Bogdański P. Gout-from pathogenesis to treatment-progress in the XXI century [J]. *Pol Merkur Lekarski*, 2015, 38(228): 354-359.
- [3] 陈光亮, 徐叔云. 高尿酸血症研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2003, 19(10): 1088-1092.
- [4] 辛雅雯, 曾正英, 陈国良. 痛风治疗药物及其研究进展 [J]. 中国药物化学杂志, 2012, 22(5): 416-423.
- [5] 陈琛, 刘宁宁, 缪子敬. Lesinurad: 一种选择性尿酸再吸收抑制剂 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(2): 324-328.
- [6] 耿艳艳, 于冰, 徐为人, 等. 新型痛风治疗药物 lesinurad sodium [J]. 现代药物与临床, 2014, 29(6): 685-689.
- [7] 尧贵林, 王海勇, 陆涛. 促尿酸排泄药物研究进展 [J]. 中国药科大学学报, 2016, 47(4): 491-496.
- [8] 赵桂龙, 张宪生, 商倩, 等. 含二芳基甲烷结构的羧酸类 URAT1 抑制剂、制备方法及其在高尿酸血症和痛风治疗上的用途 [P]. 中国: 106187926A, 2015-04-30.