

• 实验研究 •

## 奥拉西坦衍生物的合成及其促智作用的研究

宋艳玲, 孙 乔, 李柏娜, 刘晓娟  
沈阳化工大学 制药工程教研室, 辽宁 沈阳 110142

**摘要:** 目的 设计并合成一系列奥拉西坦衍生物, 并对其促智作用进行研究。方法 以氯乙酰乙酸乙酯为起始原料, 通过还原、取代、环合、氨解反应得到目标产物。通过 Morris 水迷宫测试法测定小鼠的逃避潜伏期以评估小鼠的学习记忆能力。结果 合成了 3 个目标化合物 1~3, 其结构经 MS、<sup>1</sup>H-NMR 确证。Morris 水迷宫测试表明化合物 1~3 可明显缩短阿尔茨海默病 (AD) 小鼠的逃避潜伏期 ( $P < 0.01$ )。结论 化合物 1~3 具有一定的促智活性, 对进一步开展奥拉西坦衍生物的结构改造和促智作用研究提供参考。

**关键词:** 奥拉西坦; 氯乙酰乙酸乙酯; 合成; 促智活性; 逃避潜伏期

**中图分类号:** R914; R964 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674 - 5515(2014)11 - 1195 - 04

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-5515.2014.11.001

## Synthesis of oxiracetam derivatives and their nootropic activities

SONG Yan-ling, SUN Qiao, LI Bai-na, LIU Xiao-juan

Department of Pharmaceutical Engineering, Shenyang University of Chemical Technology, Shenyang 110142, China

**Abstract: Objective** To design and synthesize a series of oxiracetam derivatives, and to assay their nootropic activities. **Methods** Chlorine ethylacetoacetate was used as starting material to synthesize the target compounds by reduction, alkylation, condensation, and ammonolysis reactions. To study the nootropic effects of target compounds, the escape latency was used to evaluate the memory ability of mice. **Results** The target compounds 1—3 were synthesized and characterized by MS and <sup>1</sup>H-NMR. Water maze results showed that compounds 1—3 could shorten the escape latency of AD mice ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** Compounds 1—3 have the property of improving memory ability of mice, and provide some practical reference value for the further development on the structure modification of oxiracetam derivatives and nootropic activity.

**Key words:** oxiracetam; chlorine ethylacetoacetate; synthesis; nootropic activity; escape latency

西坦类药物是一类具有吡咯烷酮结构的促智药, 代表药物包括吡拉西坦、奥拉西坦和普拉西坦等。奥拉西坦, 化学名为 4-羟基-2-氧代-1-吡咯烷基乙酰胺, 1987 年由意大利 ISF 公司开发上市, 临床上用于治疗健忘症、老年性痴呆、血管性痴呆等, 其药效活性是吡拉西坦的 3~5 倍<sup>[1-2]</sup>, 其结构见图 1。根据已有药物的构效关系研究发现, 吡咯烷环上的羟基可能会提高药物活性, 同时乙酰胺氨基上的取代可能通过提高药物生物利用度从而提高药效活性<sup>[3]</sup>。本课题组以奥拉西坦为先导化合物, 通过在母体结构中乙酰胺的氨基上引入取代氨基乙基侧链,

设计并合成了 3 个全新结构的化合物 1~3, 合成路线见图 2。并通过 Morris 水迷宫测试, 以小鼠的逃避潜伏期为指标, 对化合物化合物 1~3 的促智活性进行了研究。

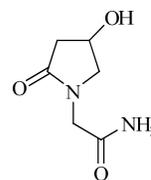


图 1 奥拉西坦的结构

Fig. 1 Structure of oxiracetam

收稿日期: 2014-08-04

基金项目: 辽宁省教育厅基金资助项目 (L2012146)

作者简介: 宋艳玲 (1977—), 女, 吉林省通化人, 副教授, 研究方向为新药及中间体的研发。Tel: 13840387750 E-mail: yanlingsong521@126.com

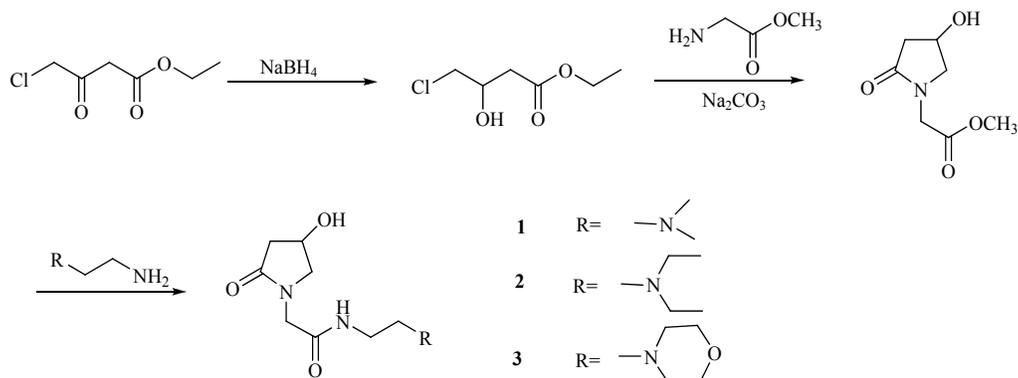


图 2 奥拉西坦衍生物的合成路线

Fig. 2 Synthetic route of oxiracetam derivatives

## 1 仪器与材料

X—4 显微熔点测定仪 (北京泰克仪器有限公司); ARX—300 型核磁共振仪测定 (德国 Bruker 公司); Agilent 1100 SL 型离子阱质谱仪测定 (美国安捷伦公司); Morris 水迷宫测试仪 (北京众实迪创科技发展有限公司)。

奥拉西坦 (质量浓度 98%, 生产批号 20120223, 沈阳摩尔医药技术有限公司), 所用试剂均为市售分析纯。AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O (美国 Sigma 公司)。

雄性昆明种小鼠, 体质量 18~22 g, 购自中国医科大学实验动物部, 动物合格证号 SCXK (辽) 2003-0009。

## 2 奥拉西坦衍生物的合成

### 2.1 4-氯-3-羟基丁酸乙酯的合成

将氯乙酰乙酸乙酯 (5.00 g, 3.0 mmol) 和甲醇 20 mL 加至 100 mL 带温度计的三口瓶中, 搅拌, 冰盐浴冷却至 0 °C 以下, 分批加入硼氢化钠 (1.36 g, 3.6 mol), 控制温度不超过 5 °C。加毕, 升温至室温, 继续反应 3 h。加入 15 mL 10% 稀盐酸终止反应, 减压抽除溶剂, 用二氯甲烷 (20 mL×3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸镁干燥, 抽滤, 减压蒸馏去除溶剂, 真空干燥, 得 4.22 g 淡黄色油状液体, 收率 85%。ESI-MS *m/z*: 167.0 [M+H]<sup>+</sup>。

### 2.2 4-羟基-2-氧代吡咯烷基乙酸甲酯的合成

将 4-氯-3-羟基丁酸乙酯 (1.67 g, 10 mmol)、甘氨酸甲酯盐酸盐 (1.26 g, 10 mmol)、乙醇 20 mL 和碳酸钠 (0.83 g, 10 mmol) 加入到 100 mL 带温度计与滴液漏斗的三口瓶中, 加热至回流, 保持回流反应 20 h, 反应结束后, 趁热抽滤, 用乙醇冲洗滤饼, 滤液减压蒸除溶剂, 柱色谱分离, 甲醇-二

氯甲烷 (1:10) 洗脱, 得 0.55 g 橘黄色油状液体, 收率 32%。ESI-MS *m/z*: 174.1 [M+H]<sup>+</sup>。

### 2.3 N-(2-(二甲基氨基)乙基)-2-(4-羟基-2-氧代吡咯烷基)乙酰胺 (1) 的合成

将 4-羟基-2-氧代吡咯烷基乙酸甲酯 (1.73 g, 10 mmol)、N,N-二甲基乙二胺 (0.88 g, 10 mmol) 和 20 mL 乙醇加至 100 mL 三口瓶中, 升温至回流, 持续回流反应 10 h, 反应完全后, 减压去除溶剂, 柱色谱分离, 甲醇-二氯甲烷 (1:15) 洗脱, 得 0.69 g 橘黄色油状物, 收率 30%, 总收率为 8.2%。ESI-MS *m/z*: 230.1 [M+H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.15 (1H, s, NH), 4.16 (2H, s, N-CH<sub>2</sub>-CO), 3.67~3.78 (2H, m, 环 O-CH、环 N-CH), 3.45 (1H, m, 环 N-CH), 3.14 (2H, m, 乙酰胺 N-CH<sub>2</sub>), 2.52 (3H, m, N-CH<sub>2</sub>、环 CO-CH), 2.21 (7H, m, N-CH<sub>3</sub>、环 CO-CH)。

### 2.4 N-(2-(二乙基氨基)乙基)-2-(4-羟基-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酰胺 (2) 的合成

将 2-(4-羟基-2-氧代-吡咯烷-1-基)乙酸甲酯 (1.73 g, 10 mmol)、N,N-二乙基乙二胺 (1.16 g, 10 mmol) 和 20 mL 乙醇加至 100 mL 三口瓶中, 升温至回流, 持续回流反应 12 h, 反应完全后, 减压去除溶剂, 柱色谱分离, 甲醇-二氯甲烷 (1:15) 洗脱, 得 0.82 g 橘黄色油状, 收率 32%, 总收率为 8.7%。ESI-MS *m/z*: 258.1 [M+H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.17 (1H, s, NH), 4.14 (2H, s, N-CH<sub>2</sub>-CO), 3.62~3.73 (2H, m, 环 O-CH、环 N-CH), 3.40~3.48 (1H, m, 环 N-CH), 3.16 (2H, m, 乙酰胺 N-CH<sub>2</sub>), 2.45 (7H, m, N-CH<sub>2</sub>×3、环 CO-CH), 2.29 (1H, m, 环 CO-CH), 0.99 (6H, t, N-CH<sub>3</sub>)。

### 2.5 2-N-(2-吗啉代乙基)-2-(4-羟基-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酰胺 (3) 的合成

将 2-(4-羟基-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸甲酯 (1.73 g, 10 mmol)、N,N-二甲基乙二胺 (1.30 g, 10 mmol) 与 20 mL 乙醇加至 100 mL 三口瓶中, 升温至回流, 持续回流反应 10 h, 反应完全后, 减压去除溶剂, 柱色谱分离, 甲醇-二氯甲烷 (1:15) 洗脱, 得 0.95 g 橘黄色油状, 收率 35%, 总收率为 9.5%。ESI-MS  $m/z$ : 272.1  $[M+H]^+$ 。 $^1H$ -NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.05 (1H, s, NH), 4.12 (2H, s, N-CH<sub>2</sub>-CO), 3.60~3.78 (6H, m, 吗啉环 O-CH<sub>2</sub>×2、吡咯烷酮环 O-CH、吡咯烷酮环 N-CH), 3.45 (1H, m, 吡咯烷酮环 N-CH), 3.18 (2H, m, 乙酰胺 N-CH<sub>2</sub>), 2.52 (3H, m, N-CH<sub>2</sub>、吡咯烷酮环 CO-CH), 2.32 (4H, m, 吗啉环 N-CH<sub>2</sub>×2), 2.18 (1H, m, 吡咯烷酮环 CO-CH)。

## 3 促智活性研究

### 3.1 分组及给药

雄性昆明种小鼠 60 只随机分为对照组、阿尔茨海默病 (AD) 模型组、奥拉西坦组、化合物 1~3 组, 每组 10 只。AD 模型组和给药组小鼠 ip 1.0% 戊巴比妥钠进行麻醉, 每只小鼠右侧脑室注射 3 mL  $AlCl_3$  溶液 (体积浓度 2.5%), 对照组注射同体积的

生理盐水, 动物清醒后归笼饲养<sup>[4-6]</sup>。造模 10 d 后, 用生理盐水分别将奥拉西坦、化合物 1~3 溶解并稀释至 0.25 mol/L, 按 0.2 mL/10 g 剂量 ig 给药, 对照组和 AD 模型组给予同体积蒸馏水, 每天给药一次。

### 3.2 Morris 水迷宫测试

小鼠给药 14 d 后, 通过 Morris 水迷宫法检测小鼠的学习记忆能力。将小鼠依次从不同的入水点面向池壁放入水中, 记录小鼠从入水至找到并爬上平台的时间 (即逃避潜伏期)。测试时间 120 s, 动物爬上平台 10 s 后, 计算机停止跟踪。120 s 内小鼠未找到平台, 人为将小鼠置于平台上停留 10 s, 逃避潜伏期记录为 120 s。每天各训练 1 次, 训练 5 d 后, 开始记录逃避潜伏期, 共记录 4 d。

### 3.3 统计学处理

检测结果用 SPSS 11.5 统计软件分析, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用单因素方差分析。

### 3.4 结果

与对照组比较, AD 模型组逃避潜伏期明显增加, 表现出了明显的记忆缺陷, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 提示模型成功。与模型组比较, 奥拉西坦、化合物 1~3 组小鼠的逃避潜伏期明显缩短 ( $P < 0.01$ ), 化合物 3 具有和奥拉西坦相当的缩短小鼠逃避潜伏期能力, 见表 1。

表 1 Morris 水迷宫测试的小鼠逃避潜伏期 ( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 1 Escape latency of mice in water maze test ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/(mg·g <sup>-1</sup> )	逃避潜伏期/s				
		第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	平均值
对照	—	36.78 ± 15.87	35.69 ± 17.51	33.78 ± 18.32	34.65 ± 19.13	35.23 ± 17.70
AD 模型	—	70.98 ± 35.19 <sup>△△</sup>	80.23 ± 31.85 <sup>△△</sup>	86.78 ± 29.27 <sup>△△</sup>	79.75 ± 32.87 <sup>△△</sup>	79.44 ± 32.30 <sup>△△</sup>
奥拉西坦	0.79	35.71 ± 20.72 <sup>**</sup>	33.78 ± 21.38 <sup>**</sup>	34.23 ± 19.87 <sup>**</sup>	31.98 ± 20.67 <sup>**</sup>	33.93 ± 20.66 <sup>**</sup>
化合物 1	1.15	38.12 ± 20.35 <sup>**</sup>	40.78 ± 16.32 <sup>**</sup>	39.54 ± 20.37 <sup>**</sup>	36.88 ± 21.43 <sup>**</sup>	38.83 ± 19.62 <sup>**</sup>
化合物 2	1.29	42.48 ± 21.87 <sup>**</sup>	40.25 ± 24.87 <sup>**</sup>	36.78 ± 22.23 <sup>**</sup>	39.78 ± 25.37 <sup>**</sup>	39.82 ± 23.59 <sup>**</sup>
化合物 3	1.36	33.72 ± 24.15 <sup>**</sup>	34.54 ± 25.32 <sup>**</sup>	32.23 ± 20.87 <sup>**</sup>	30.98 ± 21.53 <sup>**</sup>	32.87 ± 22.97 <sup>**</sup>

与对照组比较: <sup>△△</sup> $P < 0.01$ ; 与 AD 模型组比较: <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$

<sup>△△</sup> $P < 0.01$  vs control group; <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs AD model group

## 4 讨论

随着现代社会老龄化形势不断加剧, 老年痴呆已成为危及老年人生命的继心、脑血管疾病、癌症之后的第 4 大病因<sup>[7]</sup>, 促智药物的研究具有重大意义。本研究以奥拉西坦为先导化合物设计并合成了 3 个全新结构的化合物 1~3, 总收率分别为 8.2%、8.7%、9.5%。目标化合物的结构经 MS、 $^1H$ -NMR

确证, 该合成路线新颖, 并且操作方便。采用 Morris 水迷宫测试法, 对所合成的 3 个目标化合物进行促智活性研究。结果表明, 与模型组比较, 奥拉西坦、化合物 1~3 组小鼠的逃避潜伏期均明显缩短 ( $P < 0.01$ )。化合物 3 具有和奥拉西坦相当的缩短小鼠逃避潜伏期能力, 化合物 1~3 的促智活性尚待进一步研究。

## 参考文献

- [1] Diana S, Woodruff P. Preclinical experiments on cognition enhancement in Alzheimer's disease: drugs affecting nicotinic acetylcholine receptors [J]. *Drug Develop Res*, 2002, 56(3): 335-346.
- [2] 吴海宽, 王晓青. 奥拉西坦和吡拉西坦治疗老年脑出血后认知功能障碍的疗效比较 [J]. *现代药物与临床*, 2014, 29(10): 1117-1120.
- [3] Claus J J, Ludwig C, Mohr E, *et al*. Nootropic drugs in Alzheimer's disease: symptomatic treatment with pramiracetam [J]. *Neurology*, 1991, 41(4): 570-574.
- [4] Pitsikas N, Algeri S. Effect of oxiracetam on scopolamine induced amnesia in the rat in aspatial learning task [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 1992, 43(3): 949-951.
- [5] 程欣, 马刘红, 徐建兵, 等. 三种阿尔茨海默病小鼠模型的建立和比较 [J]. *中国老年学杂志*, 2011, 31(19): 3749-3753.
- [6] 马龙, 杨勇, 周晓辉, 等. 鞘内注射三氯化铝建立阿尔茨海默病大鼠模型 [J]. *中国药理学和毒理学杂志*, 2006, 20(5): 426-432.
- [7] 杨娜. 抗老年性痴呆药物的研究进展 [J]. *中国疗养医学*, 2011, 20(9): 820-821.