

尿酸盐转运体 1 抑制剂的设计、合成及活性研究

王永成, 杨亚军, 候现新, 杨颖, 肖志艳*

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 活性物质发现与适药化研究北京市重点实验室, 北京 100050)

摘要: 尿酸盐转运体 1 (urate transporter 1, URAT1) 是抗高尿酸血症的有效靶点。基于目前处于临床 II 期的 URAT1 抑制剂 URC-102 的结构, 设计合成了 14 个 URC-102 类似物, 其中 4 个化合物 (**9b**、**9c**、**10e**、**10g**) 显示较强的 URAT1 抑制活性, 化合物 **9b** 对 URAT1 的半数抑制浓度 IC_{50} 达到 $0.061 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 显著强于雷西纳德和苯溴马隆。初步的构效关系研究为后续结构优化提供了依据。

关键词: URAT1 抑制剂; 高尿酸血症; 痛风; URC-102 类似物

中图分类号: R916 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2019)06-1069-06

Design, synthesis and biological evaluation of inhibitors of urate transporter 1 (URAT1)

WANG Yong-cheng, YANG Ya-jun, HOU Xian-xin, YANG Ying, XIAO Zhi-yan*

(Beijing Key Laboratory of Active Substance Discovery and Druggability Evaluation, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: Urate transporter 1 (URAT1) is a validated target for the treatment of hyperuricemia. Based on the structure of URC-102, which is currently under a phase II clinical trial, fourteen novel analogs were designed and synthesized. Among them, four compounds (**9b**, **9c**, **10e** and **10g**) exhibited substantial inhibitory effect against URAT1. The most active compound **9b** showed an IC_{50} value of $0.061 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, which is significantly more potent than Lesinurad and Benzbromarone. Preliminary SAR was drawn, providing clues for further structural optimization.

Key words: URAT1 inhibitors; hyperuricemia; gout; URC-102 analogs

高尿酸血症是由体内嘌呤代谢紊乱造成的血清中尿酸盐 (serum urate, sUA) 浓度过高的代谢性疾病^[1]。高尿酸血症是痛风形成的直接诱因, 当血清尿酸浓度持续过高, 尿酸盐出现结晶沉积在软组织或关节, 继而引起炎症反应, 诱发痛风。目前, 痛风在北美和欧洲等发达国家的发病率超过 1%^[2]。随着生活水平的提高, 我国的高尿酸血症和痛风发病率也在持续增高, 已经成为影响人们健康和生活质量的重要疾病之一^[3]。

高尿酸血症通常是由于尿酸产生过多和 (或) 尿酸排泄减少引起, 其中后者在高尿酸血症患者中约占

90%^[4]。因此, 通过增加尿酸排泄的途径来降低 sUA 是行之有效的降尿酸治疗 (urate-lowering therapy) 方法。尿酸盐转运体 1 (urate transporter 1, URAT1) 是调控尿酸重吸收的重要蛋白^[5]。URAT1 抑制剂通过抑制尿酸重吸收来增加尿酸排泄, 从而降低 sUA。目前, 已上市的促尿酸排泄药物主要有丙磺舒 (Probenecid)、苯溴马隆 (Benzbromarone) 和雷西纳德 (Lesinurad) (图 1)。但是丙磺舒活性弱, 半衰期短, 会降低肾小球滤过率, 而且与常用药物 (如: 非甾体类抗炎药、 β -内酰胺类、肝素等) 之间存在显著的药物相互作用, 这些缺点限制了其临床应用^[6,7]。苯溴马隆活性较强, 但由于肝毒性等原因, 2003 年已经在欧洲撤市^[8,9]。URAT1 抑制剂雷西纳德于 2015 年 12 月上市, 联合黄嘌呤氧化酶抑制剂用于高尿酸血症和痛风的治疗^[10]。雷西纳德的上

收稿日期: 2019-03-27; 修回日期: 2019-04-15.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (21871295).

*通讯作者 Tel / Fax: 86-10-63189228, E-mail: xiaoz@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2019-0208

市也有力促进了新型 URAT1 抑制剂的研究和开发, Verinurad (RDEA3170)、SHR4640、URC-102 (图 1) 等 URAT1 抑制剂先后进入了临床研究阶段^[11-14]。

URAT1 为跨膜阴离子转运蛋白, 其结构目前尚未被解析。由已上市和处于临床研究的 URAT1 抑制剂 (图 1) 可知: URAT1 抑制剂结构中都存在羧基、酚羟基或是三氟甲基磺酰胺等在体内正常生理情况下可以去离子化形成一个阴离子中心的结构单元, 而此阴离子中心是 URAT1 抑制剂保持活性的必需药效团。因此, 本文以目前处于临床 II 期的 URAT1 抑制剂 URC-102 为模板, 设计得到了一系列 URC-102 的类似物 (图 2)。首先通过生物电子等排将 URC-102 结构中的吡啶环替换为苯环, 并将吗啉环替换为哌啶环或吡咯烷环, 以实现骨架跃迁。进一步对 *N*-苯甲酰基进行衍生化, 依据药效团要求, 在苯环上引入羧基 (8)、酚羟基 (9) 或三氟甲基磺酰胺 (10a、10c、10e 及 10g) 等可形成阴离子的片段, 然后将三氟甲基磺酰胺结构替换为三氟乙酰胺 (10b、10d、10f 及 10h) 和甲基磺酰胺 (10i)。本文共设计合成了 14 个 URC-102 类似物, 并初步研究了该类化合物的构效关系。

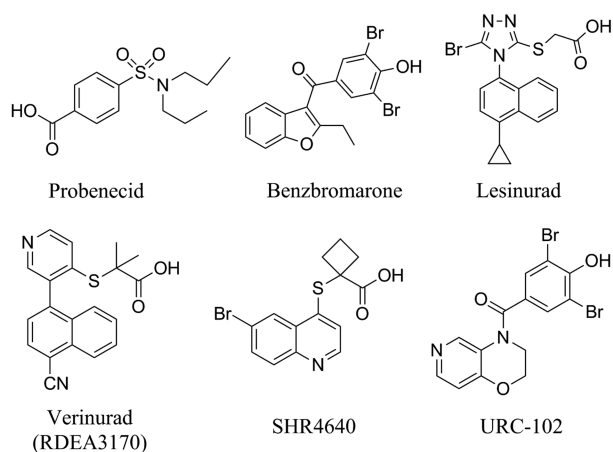


Figure 1 URAT1 inhibitors launched or in clinical trials

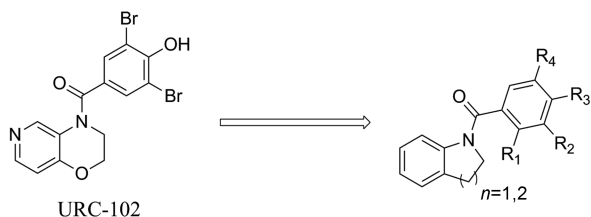


Figure 2 Molecular design of URC-102 analogs

采用三条不同的合成路线得到了 14 个 URC-102 类似物。如路线 1 所示, 目标化合物 8a、8b、9a~9c 均由四氢喹啉 (1a) 与相应的苯甲酸衍生物形成酰胺 (中间体 2 和 5), 并进一步水解得到。化合物 10a~10i 则

由四氢喹啉 (1a) 或吲哚啉 (1b) 与硝基苯甲酸形成酰胺类化合物 (6), 并经 Pd-C 催化下的氢化还原得到 7, 化合物 7 通过 *N*-酰化得到化合物 10b、10d、10f 和 10h, *N*-磺酰化得到 10a、10c、10e、10g 和 10i。

结果与讨论

1 目标化合物的结构确证

采用上述合成路线共合成了 14 个 URC-102 衍生物, 除化合物 9c 外, 所有化合物均未见文献报道。目标化合物结构均经 ¹H NMR 和 HR-ESI-MS 确证, 其理化性质和谱学数据见表 1 和表 2。

Table 1 Physical data of the target compounds

Compd.	Yield/%	mp/°C	HR-ESI-MS (<i>m/z</i>)	
			Found [M+H] ⁺	Calcd. [M+H] ⁺
8a	62	180–182	282.112 0	282.112 5
8b	58	166–168	282.112 0	282.112 5
9a	71	155–158	332.027 4	332.028 1
9b	65	221–223	409.939 1	409.938 6
9c	61	208–210	322.039 7	322.039 6
10a	52	141–143	385.082 0	385.082 8
10b	69	156–158	349.115 0	349.115 8
10c	44	165–166	371.066 5	371.067 2
10d	58	136–137	335.099 2	335.100 2
10e	67	183–184	385.082 2	385.082 8
10f	51	153–156	349.115 4	349.115 8
10g	39	171–172	371.066 5	371.067 2
10h	56	193–195	335.099 5	335.100 2
10i	37	150–151	317.095 0	317.095 4

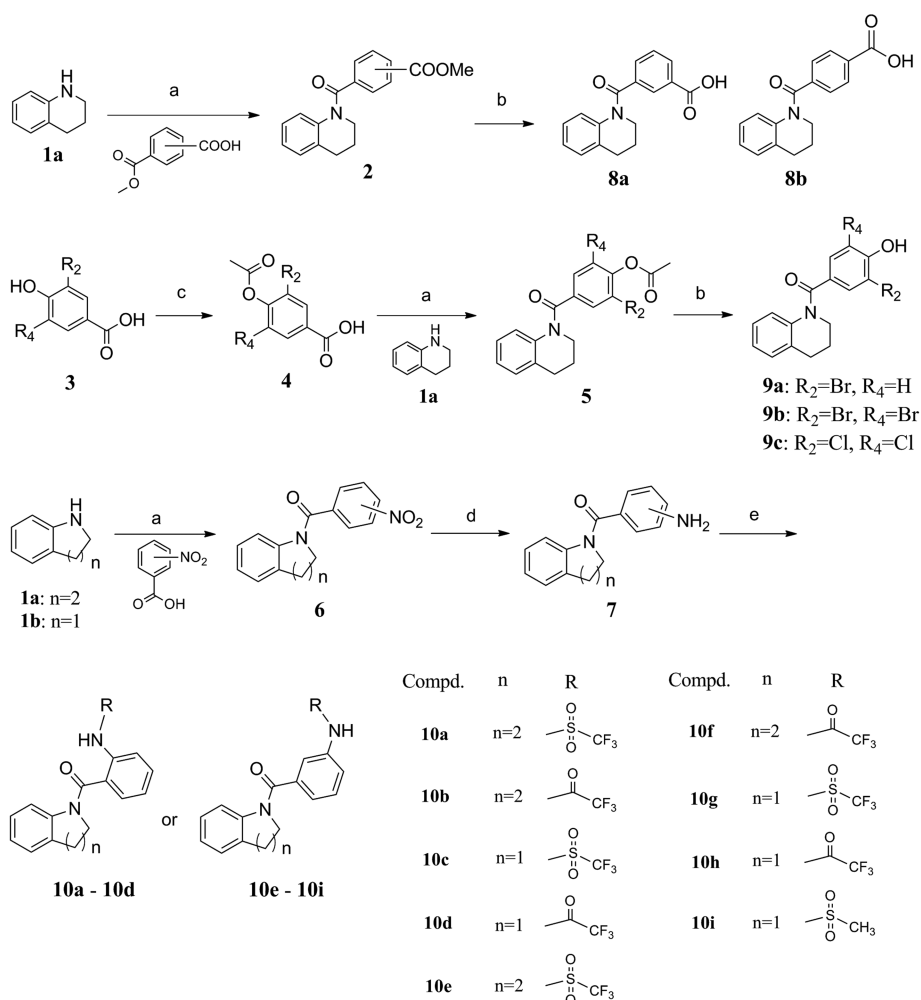
2 目标化合物的 URAT1 抑制活性

本文以雷西纳德和苯溴马隆为阳性对照, 测定了所有目标化合物在 10 μmol·L⁻¹ 浓度下对 URAT1 的抑制活性, 对部分活性较好的化合物测试了其 IC₅₀ 值。活性结果如表 3 所示。

由表 3 可知: 将 URC-102 结构中的吡啶环和吗啉环分别替换为苯环和哌啶环, 对 URAT1 的抑制活性影响不大 (URC-102 vs 9b), 将吡啶环进一步缩环为吡咯烷环, 活性依旧保持 (10a vs 10c; 10e vs 10g)。但 *N*-苯甲酰基结构中苯环上的取代基对活性有至关重要的影响, 取代基的类型及取代基位置都能显著影响此类化合物对 URAT1 的抑制强度。苯环上为羧基取代时, 无论羧基在苯环的间位 (8a) 还是对位 (8b), 其活性都较差; 苯环上存在酚羟基时, 含有双卤素取代的化合物活性优于单卤素取代的化合物 (9b vs 9a), 且双溴取代优于双氯取代 (9b vs 9c); 苯环上为三氟甲基磺酰胺基取代时活性较好 (10a、10c、10e 及 10g), 若替换为三氟乙酰胺基 (10b、10d、10f 及 10h) 和甲基磺酰胺基 (10i) 则活性丧失; 三氟甲基磺酰胺基间位取代时活性优于邻位取代 (10e vs 10a, 10g vs 10c)。

Table 2 Spectral data of the target compounds

Compd.	¹ H NMR and ¹³ C NMR data
8a	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 13.12 (s, 1H), 7.95 (d, <i>J</i> = 7.2 Hz, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.52 (d, <i>J</i> = 6.9 Hz, 1H), 7.44 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 1H), 7.20 (d, <i>J</i> = 7.1 Hz, 1H), 7.00 (t, <i>J</i> = 7.1 Hz, 1H), 6.88 (t, <i>J</i> = 7.1 Hz, 1H), 6.76 (s, 1H), 3.76 (t, <i>J</i> = 5.8 Hz, 2H), 2.82 (t, <i>J</i> = 5.8 Hz, 2H), 1.96 (t, <i>J</i> = 5.8 Hz, 2H). ¹³ C NMR (126 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 168.44, 166.68, 138.63, 136.89, 132.39, 131.69, 130.82, 130.69, 129.00, 128.54, 128.53, 125.52, 125.13, 124.57, 44.46, 26.28, 23.65.
8b	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 13.19 (s, 1H), 7.88 (d, <i>J</i> = 8.2 Hz, 2H), 7.43 (d, <i>J</i> = 8.1 Hz, 2H), 7.20 (d, <i>J</i> = 7.4 Hz, 1H), 7.00 (t, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 6.88 (t, <i>J</i> = 7.5 Hz, 1H), 6.75 (s, 1H), 3.75 (t, <i>J</i> = 6.4 Hz, 2H), 2.82 (t, <i>J</i> = 6.6 Hz, 2H), 2.00–1.90 (m, 2H). ¹³ C NMR (126 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 168.53, 166.76, 140.71, 138.49, 131.72, 129.17 (2C), 128.56, 128.23 (2C), 125.52 (2C), 125.03, 124.64, 44.38, 26.25, 23.58.
9a	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 10.75 (s, 1H), 7.45 (d, <i>J</i> = 2.1 Hz, 1H), 7.19 (d, <i>J</i> = 7.4 Hz, 1H), 7.12 (dd, <i>J</i> = 2.1, 8.4 Hz, 1H), 7.00 (td, <i>J</i> = 1.2, 7.4 Hz, 1H), 6.93 (td, <i>J</i> = 1.5, 7.9 Hz, 1H), 6.84 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H), 6.74 (d, <i>J</i> = 7.9 Hz, 1H), 3.73 (t, <i>J</i> = 6.4 Hz, 2H), 2.79 (t, <i>J</i> = 6.6 Hz, 2H), 1.99–1.88 (m, 2H). ¹³ C NMR (126 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 167.80, 155.79, 139.16, 133.48, 131.39, 129.46, 128.47, 128.27, 125.51, 124.96, 124.24, 115.47, 108.66, 44.45, 26.27, 23.70.
9b	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 10.43 (s, 1H), 7.44 (s, 2H), 7.21 (d, <i>J</i> = 7.3 Hz, 1H), 7.03 (td, <i>J</i> = 1.3, 7.4 Hz, 1H), 6.96 (td, <i>J</i> = 1.6, 7.8 Hz, 1H), 6.79 (d, <i>J</i> = 7.9 Hz, 1H), 3.73 (t, <i>J</i> = 6.5 Hz, 2H), 2.80 (t, <i>J</i> = 6.5 Hz, 2H), 1.99–1.89 (m, 2H). ¹³ C NMR (126 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 166.23, 152.28, 138.66, 132.59 (2C), 131.72, 130.12, 128.50, 125.56, 125.06, 124.58, 111.04 (2C), 44.53, 26.24, 23.61.
9c ^[15]	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 10.70 (s, 1H), 7.27 (s, 2H), 7.21 (d, <i>J</i> = 7.4 Hz, 1H), 7.03 (td, <i>J</i> = 1.3, 7.4 Hz, 1H), 6.95 (td, <i>J</i> = 1.6, 7.8 Hz, 1H), 6.78 (d, <i>J</i> = 8.1 Hz, 1H), 3.73 (t, <i>J</i> = 6.5 Hz, 2H), 2.81 (t, <i>J</i> = 6.6 Hz, 2H), 2.00–1.88 (m, 2H). ¹³ C NMR (126 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 166.55, 150.66, 138.69, 131.72, 128.91 (2C), 128.72, 128.51, 125.57, 125.02, 124.56, 121.58 (2C), 44.51, 26.24, 23.60.
10a	¹ H NMR (400 MHz, Acetone- <i>d</i> ₆) δ 10.13 (s, 1H), 7.59–7.47 (m, 2H), 7.26–7.20 (m, 3H), 7.06–6.91 (m, 3H), 3.84 (t, <i>J</i> = 6.4 Hz, 2H), 2.89 (t, <i>J</i> = 6.4 Hz, 2H), 2.08–2.02 (m, 2H). ¹³ C NMR (126 MHz, CDCl ₃) δ 168.73, 138.45, 135.67, 132.14, 131.97, 130.15, 128.87, 126.28, 125.84, 125.62, 125.26, 124.95, 122.94, 119.92 (q, <i>J</i> = 323.0 Hz), 44.97, 26.87, 24.01.
10b	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 11.29 (s, 1H), 7.51–7.41 (m, 2H), 7.35–7.05 (m, 4H), 6.99 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 1H), 6.96–6.83 (m, 1H), 3.70 (brs, 2H), 2.79 (t, <i>J</i> = 6.6 Hz, 2H), 1.97–1.90 (m, 2H). ¹³ C NMR (126 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 166.83, 154.94 (q, <i>J</i> = 37.0 Hz), 138.27, 132.87, 130.35 (2C), 129.16, 128.52, 126.63, 126.09, 125.35 (2C), 124.53, 124.36, 115.90 (q, <i>J</i> = 288.6 Hz), 39.52, 26.33, 23.21.
10c	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 8.14 (d, <i>J</i> = 8.2 Hz, 1H), 7.56–7.44 (m, 2H), 7.41–7.31 (m, 2H), 7.29–7.25 (m, 1H), 7.22 (d, <i>J</i> = 8.9 Hz, 1H), 7.11–7.03 (m, 1H), 3.82 (t, <i>J</i> = 8.4 Hz, 2H), 3.04 (t, <i>J</i> = 8.4 Hz, 2H). ¹³ C NMR (126 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 165.37, 142.64, 135.24, 132.74, 130.52, 127.75, 127.63, 127.02 (2C), 124.96 (2C), 124.08, 119.69 (q, <i>J</i> = 325.2 Hz), 116.75, 49.83, 27.70.
10d	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 11.32 (s, 1H), 8.04 (d, <i>J</i> = 6.4 Hz, 1H), 7.64 (d, <i>J</i> = 6.4 Hz, 1H), 7.56 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 1H), 7.48 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 7.43 (t, <i>J</i> = 7.1 Hz, 1H), 7.27 (d, <i>J</i> = 7.3 Hz, 1H), 7.21 (brs, 1H), 7.11–6.76 (m, 1H), 3.97 (t, <i>J</i> = 8.2 Hz, 2H), 3.07 (t, <i>J</i> = 8.2 Hz, 2H). ¹³ C NMR (126 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 165.99, 155.16 (q, <i>J</i> = 36.8 Hz), 142.79, 132.72, 131.87, 130.34, 127.67, 127.08 (2C), 126.99, 126.28, 124.93, 123.99, 116.81, 115.87 (q, <i>J</i> = 288.5 Hz), 50.16, 27.83.
10e	¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃) δ 9.65 (s, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.41 (ddd, <i>J</i> = 0.8, 2.2, 8.2 Hz, 1H), 7.18 (d, <i>J</i> = 7.5 Hz, 1H), 7.13 (t, <i>J</i> = 7.9 Hz, 1H), 7.05 (td, <i>J</i> = 1.0, 7.5 Hz, 1H), 6.89 (t, <i>J</i> = 6.3 Hz, 2H), 6.66 (brs, 1H), 3.95 (t, <i>J</i> = 6.6 Hz, 2H), 2.85 (t, <i>J</i> = 6.6 Hz, 2H), 2.12–2.04 (m, 2H). ¹³ C NMR (126 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 168.23, 138.58, 137.87, 135.02, 131.72, 129.57, 128.47, 125.97, 125.51, 124.87, 124.59, 123.71, 121.83, 119.65 (q, <i>J</i> = 324.1 Hz), 44.37, 26.21, 23.63.
10f	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 11.33 (s, 1H), 7.79 (t, <i>J</i> = 1.7 Hz, 1H), 7.72 (dd, <i>J</i> = 1.6, 7.8 Hz, 1H), 7.34 (t, <i>J</i> = 7.9 Hz, 1H), 7.20 (d, <i>J</i> = 7.3 Hz, 1H), 7.09 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 7.01 (td, <i>J</i> = 1.0, 7.4 Hz, 1H), 6.97–6.89 (m, 1H), 6.83 (d, <i>J</i> = 7.4 Hz, 1H), 3.75 (t, <i>J</i> = 6.4 Hz, 2H), 2.81 (t, <i>J</i> = 6.6 Hz, 2H), 1.99–1.91 (m, 2H). ¹³ C NMR (126 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 168.68, 154.58 (q, <i>J</i> = 37.0 Hz), 138.67, 137.36, 136.49, 131.44, 128.82, 128.57, 125.52, 125.05, 124.90, 124.49, 122.27, 120.53, 115.71 (q, <i>J</i> = 288.7 Hz), 44.63, 26.25, 23.62.
10g	¹ H NMR (400 MHz, Acetone- <i>d</i> ₆) δ 10.44 (brs, 1H), 8.10 (brs, 1H), 7.62–7.53 (m, 4H), 7.26 (d, <i>J</i> = 8.6 Hz, 1H), 7.16 (s, 1H), 7.04 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 1H), 4.06 (t, <i>J</i> = 8.3 Hz, 2H), 3.14 (t, <i>J</i> = 8.3 Hz, 2H). ¹³ C NMR (126 MHz, CDCl ₃) δ 168.67, 141.94, 137.40, 135.64, 132.43, 129.94, 127.91, 125.52, 125.46, 124.99, 124.56, 122.29, 120.01 (q, <i>J</i> = 322.9 Hz), 118.42, 51.42, 28.50.
10h	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 11.42 (s, 1H), 8.07 (brs, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.81 (d, <i>J</i> = 8.1 Hz, 1H), 7.56–7.51 (m, 1H), 7.45 (d, <i>J</i> = 8.0 Hz, 1H), 7.29 (d, <i>J</i> = 8.0 Hz, 1H), 7.18 (brs, 1H), 7.07–7.01 (m, 1H), 4.01 (t, <i>J</i> = 8.2 Hz, 2H), 3.09 (t, <i>J</i> = 8.2 Hz, 2H). ¹³ C NMR (126 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 167.28, 154.70 (q, <i>J</i> = 37.1 Hz), 142.52, 137.68, 136.52, 132.75, 129.34, 126.91, 125.07, 124.05 (2C), 122.57, 119.55 (2C), 115.75 (q, <i>J</i> = 288.7 Hz), 50.45, 27.77.
10i	¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃) δ 8.22 (brs, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.47–7.37 (m, 3H), 7.36–7.29 (m, 1H), 7.22 (d, <i>J</i> = 8.0 Hz, 1H), 7.04 (brs, 1H), 4.05 (brs, 2H), 3.12 (t, <i>J</i> = 8.2 Hz, 2H), 2.98 (s, 3H). ¹³ C NMR (126 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 167.48, 142.60, 138.66, 138.03, 132.81, 129.63, 126.89, 125.08, 123.98, 122.02, 120.95, 117.75, 116.88, 50.53, 50.38, 27.72.



Scheme 1 Synthesis of compounds **8–10**. Reagents and conditions: (a) $(\text{COCl})_2$, DMF, DCM, RT, 1 h; Et_3N , RT, 2 h; (b) NaOH, THF–MeOH– H_2O (2:2:1), RT, 2 h; $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl; (c) CH_3COCl , Et_3N , THF, RT, 2 h; (d) Pd/C (10%), H_2 , MeOH, RT, 4 h; (e) Et_3N , DCM, RT, 2 h

Table 3 Inhibitory activities of the target compounds against URAT1. NA: Inhibition <20%, $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; ND: Not determined; $^*\text{IC}_{50}$ $0.1\text{--}1.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ [15]

Compd.	Inhibition/ $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{IC}_{50}/10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$	Compd.	Inhibition/ $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{IC}_{50}/10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$
8a	NA	ND	10c	47%	ND
8b	NA	ND	10d	NA	ND
9a	68%	ND	10e	82%	1.51
9b	99%	0.061	10f	NA	ND
9c*	94%	0.182	10g	77%	2.19
10a	62%	ND	10h	NA	ND
10b	NA	ND	10i	NA	ND
Lesinurad	ND	39.00	Benzbromarone	ND	0.49
URC-102	ND	0.023 ^[16]			

3 小结

本文以处于 II 期临床研究的 URC-102 分子为模板, 通过生物电子等排及骨架跃迁的策略, 设计合成了 14 个目标化合物, 并测定了它们对 URAT1 的抑制活性。其中 4 个化合物 (**9b**、**9c**、**10e**、**10g**) 显示出较好的抑制率, 化合物 **9b** 对 URAT1 的半数抑制浓度 IC_{50} 达

到 $0.061 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 活性优于雷西纳德和苯溴马隆。初步的构效关系研究表明, URC-102 结构中的吡啶并喹啉环结构允许一定的结构变化 (如: 可替换为苯环并喹啉环及苯环并吡咯烷环), 但 *N*-苯甲酰基结构中苯环上的取代基 (包括取代基的类型及取代基位置) 对活性有至关重要的影响。苯环上存在可形成阴离子中心

的取代基为保持 URAT1 抑制作用的必要但不充分条件。上述构效关系为 URAT1 小分子抑制剂的发现和结构优化提供了参考。

实验部分

熔点采用 Fisher Scientific 显微熔点仪测定, 温度未校正, 核磁氢谱采用 VarianMercury 400 型核磁共振仪测定, TMS 为内标。质谱采用 LC/MDC-MS 串联质谱仪 (Thermo, USA) 测定。柱色谱分离采用硅胶 H (200~300 目), 薄层色谱硅胶为烟台江友硅胶开发有限公司所产的 GF 254 型硅胶板。实验所用试剂为化学纯或分析纯, 购买后未作进一步处理, 直接使用。所用溶剂均为分析纯, 其中无水溶剂均经美国创新科技 (Innovative Technology) 无水溶剂纯化系统除水后使用, 其他溶剂未特别指出则未经处理。

1 化合物的合成

1.1 中间体 2a 的制备 将间羧基苯甲酸甲酯 (216 mg, 1.2 mmol) 溶于无水二氯甲烷 5 mL 中, 加入 3 滴 DMF, 然后缓慢加入草酰氯 (254 mg, 2.0 mmol) 室温反应 1 h。减压浓缩除去反应溶剂和过量的草酰氯, 再将其溶于无水二氯甲烷 5 mL 中备用。将原料 **1a** (133 mg, 1.0 mmol) 溶解于无水二氯甲烷中, 加入三乙胺 (202 mg, 2.0 mmol), 然后在冰浴下缓慢加入上述制备的酰氯, 室温下反应 2 h。TLC 监测反应完全, 将反应液用 50 mL 二氯甲烷稀释, 然后水洗, 有机相用无水硫酸钠干燥, 蒸除溶剂后柱色谱分离 (石油醚-乙酸乙酯 10:1) 得到化合物 **2a**, 收率: 61%。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.10~8.06 (m, 1H), 8.03~7.96 (m, 1H), 7.48~7.41 (m, 1H), 7.35~7.27 (m, 1H), 7.14 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H), 7.01~6.93 (m, 1H), 6.88~6.78 (m, 1H), 6.66 (brs, 1H), 3.93~3.81 (m, 5H), 2.88~2.80 (m, 2H), 2.10~1.97 (m, 2H)。

采用类似方法合成了中间体 **2b**、**5** 及 **6**。

1.2 中间体 4c 的制备 将化合物 **3c** (2 070 mg, 10 mmol) 加入无水四氢呋喃 30 mL 中, 加入三乙胺 (1 515 mg, 15 mmol), 然后在冰浴下缓慢加入乙酰氯 (942 mg, 12 mmol), 室温下反应 2 h。TLC 监测反应完全, 向反应液中缓慢加入冰水 50 mL 将其淬灭, 然后用乙酸乙酯萃取 3 次, 饱和氯化钠洗 1 次, 有机相用无水硫酸钠干燥, 减压浓缩得到化合物 **4c**, 可直接用于下一步, 收率: 92%。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.71 (s, 1H), 8.03 (s, 2H), 2.45 (s, 3H)。

采用类似的方法合成了中间体 **4a**、**4b**。

1.3 中间体 5c 的制备 制备方法与中间体 **2a** 的类似, 不同之处在于将原料相应的替换, 收率: 56%。HR-MS (ESI) m/z : Calcd. for C₁₈H₁₆Cl₂NO₃ [M+H]⁺ 364.044 1,

Found 364.043 2。

采用类似的方法合成了中间体 **5a**、**5b**。

1.4 中间体 7 的制备 将化合物 **6** (268 mg, 1.0 mmol) 加入甲醇 5 mL 中, 然后缓慢加入 10% 钨碳 50 mg, 将反应体系用氢气置换 3 次, 室温反应 4 h。TLC 监测反应完全, 将反应液用硅藻土过滤, 减压浓缩干燥得到化合物 **7**, 可直接用于下一步。

1.5 目标化合物 8a 的制备 将化合物 **2a** (295 mg, 1.0 mmol) 加入四氢呋喃-甲醇-水 (2:2:1) 的混合溶剂 10 mL 中, 然后加入氢氧化钠 (80 mg, 2.0 mmol), 室温反应 2 h。TLC 监测反应完全, 减压浓缩除去反应体系中大部分的有机溶剂, 然后加水稀释, 用 1 mol·L⁻¹ 盐酸缓慢调节 pH 至 3~4, 析出固体, 抽滤干燥得粗品, 然后用乙醇-水体系重结晶得到目标化合物 **3a**。

采用类似方法合成了 **8b**、**9a**、**9b**、**9c**。目标化合物 **8a**、**8b**、**9a**、**9b**、**9c** 的理化性质和谱学数据见表 1 和 2。

1.6 目标化合物 10g 的制备 将相应的中间体 **7** (119 mg, 0.5 mmol) 加入无水二氯甲烷 5 mL 中, 再加入吡啶 (79 mg, 1.0 mmol), 然后在冰浴下缓慢滴加三氟甲磺酸酐 (169 mg, 0.6 mmol), 室温反应 2 h。TLC 监测反应完全, 将反应液用二氯甲烷稀释, 水洗, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩, 柱色谱分离 (石油醚-乙酸乙酯 5:1) 得到目标化合物 **10g**。

采用类似方法合成了 **10a**~**10f**、**10h**、**10i**。目标化合物 **10a**~**10i** 的理化性质和谱学数据见表 1 和 2。

2 体外 URAT1 抑制活性实验

培养稳定表达 hURAT1 的 HEK-293T 细胞株 (DMEM 培养基+10% 胎牛血清+500 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ G418+1% P/S), 将细胞接种到 96 孔细胞培养板中, 培养 12~24 h。化合物用 DMSO 配成 10 mmol·L⁻¹ 浓度的母液, 再用缓冲液稀释成 1 mmol·L⁻¹, 进一步进行 4 倍等比稀释。待 96 孔板中细胞培养贴壁后即可进行 ¹⁴C-尿酸在稳定表达 hURAT1 细胞中的吸收试验。每孔加入 50 μL 相应化合物和 0.1 Ci·mL⁻¹ ¹⁴C-尿酸溶液, 在 37 °C 培养箱中孵育 5 min 后, 立即加入 150 μL 冰冷的缓冲液以终止吸收。每孔加入 50 μL 的裂解液到所有孔中, 置于振荡器上以 900 r·min⁻¹ 的速度振荡 5 min; 每孔加入 150 μL 闪烁液 Microsint 40, 以 900 r·min⁻¹ 的速度振荡 5 min; 采用 MicroBeta Trilux (PerkinElmer 公司生产) 仪器测定放射活性, 并用 XL-fit 软件进行分析数据。

References

- [1] Dalbeth N, Merriman TR, Stamp LK. Gout [J]. The Lancet, 2016, 388: 2039-2052.

- [2] Kuo CF, Grainge MJ, Zhang W, et al. Global epidemiology of gout: prevalence, incidence and risk factors [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2015, 11: 649-662.
- [3] Liu H, Zhang XM, Wang YL, et al. Prevalence of hyperuricemia among Chinese adults: a national cross-sectional survey using multistage, stratified sampling [J]. *J Nephrol*, 2014, 27: 653-658.
- [4] Richette P, Bardin T. Gout [J]. *The Lancet*, 2010, 375: 318-328.
- [5] Enomoto A, Kimura H, Chairoungdua A, et al. Molecular identification of a renal urate-anion exchanger that regulates blood urate levels [J]. *Nature*, 2002, 417: 447-452.
- [6] Robinson PC, Nicola D. Advances in pharmacotherapy for the treatment of gout [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2015, 16: 533-546.
- [7] Reinders MK, Roon ENV, Houtman PM, et al. Biochemical effectiveness of allopurinol and allopurinol-probenecid in previously benzbromarone-treated gout patients [J]. *Clin Rheumatol*, 2007, 26: 1459-1465.
- [8] Lee MH, Graham GG, Williams KM, et al. A benefit-Risk assessment of benzbromarone in the treatment of gout [J]. *Drug Safety*, 2008, 31: 643-665.
- [9] van Der Klauw MM, Houtman PM, Stricker BH, et al. Hepatic injury caused by benzbromarone [J]. *J Hepatol*, 1994, 20: 376-379.
- [10] Hoy SM. Lesinurad: First global approval [J]. *Drugs*, 2016, 76: 509-516.
- [11] Tan PK, Liu S, Gunic E, et al. Discovery and characterization of verinurad, a potent and specific inhibitor of URAT1 for the treatment of hyperuricemia and gout [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 665.
- [12] Peng J, Hu Q, Gu C, et al. Discovery of potent and orally bioavailable inhibitors of human uric acid transporter 1 (hURAT1) and binding mode prediction using homology model [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26: 277-282.
- [13] Ahn SO, Ohtomo S, Kiyokawa J, et al. Stronger uricosuric effects of the novel selective URAT1 inhibitor UR-1102 lowered plasma urate in tufted capuchin monkeys to a greater extent than benzbromarone [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2016, 357: 157-166.
- [14] Pan Y, Kong LD. Urate transporter URAT1 inhibitors: a patent review (2012-2015) [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2016, 26: 1-10.
- [15] Kazuki M, Fuyuki A, Masaki S, et al. Pharmaceutical composition comprising nitrogenated fused cyclic compound: JP, 2008056702 [P]. 2008-03-13.
- [16] An CW, Piao ZX, Ren JH, et al. Heterocyclic derivatives: CN, 102015726 [P]. 2011-04-13.