

6-(4-取代乙酰氨基苯基)-4,5-二氢-3(2H)吡嗪酮衍生物的合成及其抑制血小板聚集活性

孙亮¹, 黄晓瑾², 范颂杰², 俞世冲¹, 吴秋业¹ (1. 第二军医大学药学院有机化学教研室, 上海 200433; 2. 中国人民解放军第85医院, 上海 200052)

摘要 目的: 研究引入杂环类基团对6-(4-取代乙酰氨基苯基)-4,5-二氢-3(2H)吡嗪酮类化合物抗血小板凝集活性的影响。方法: 设计合成未见报道的目标化合物10个, 所有化合物均经过¹H-NMR谱等确证; 参考Born方法进行体外药理实验。结果: 所有化合物都具有抗血小板凝集的活性, 其中化合物(5), (9)和(10)的抗血小板凝集活性明显优于MCI-154。结论: 杂环基团的空间位阻和亲水性对化合物抗血小板凝集的活性有影响。

关键词 合成; 吡嗪酮类; 体外抗血小板聚集活性

中图分类号: R914.5 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2008)04-0278-04

Synthesis and the antiplatelet aggregative activity of 6-(4-substituted acetamido-phenyl)-4,5-dihydro-3(2H)-pyridazinones

SUN Liang¹, HUANG Xiao-jin², FAN Song-jie², YU Shi-chong¹, WU Qiu-ye¹ (1. Department of Organic Chemistry, College of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. The No. 85th Hospital of PLA, Shanghai 200052, China)

ABSTRACT **Objective:** To study the antiplatelet aggregative activity of 6-(4-substituted acetamido-phenyl)-4,5-dihydro-3(2H)-pyridazinones with different heterocyclic groups. **Methods:** Ten target compounds were designed and synthesized. All of them were confirmed by ¹H-NMR spectra. Born method was applied for preliminary pharmacological test *in vitro*. **Results:** All of the target compounds were reported. The results of preliminary pharmacological test showed that all the target compounds exhibited potent antiplatelet aggregative activity to a certain extent. Compound (5), (9) and (10) were better than MCI-154 *in vitro*. **Conclusion:** The stereospecific blockade and hydrophilicity of different heterocyclic groups impacted the antiplatelet aggregative activity.

KEY WORDS synthesis; pyridazinones; antiplatelet aggregation

1 前言

心脑血管疾病是严重威胁人类生命健康的常见病, 其发病率、致残率和致死率都居各类疾病之首, 而大多数心脑血管疾病都与血栓形成和血栓栓塞有着密切的联系, 因此, 临床上迫切需要高效、低毒的抗血小板聚集药物。

吡嗪酮类化合物是一类具有多种生物活性的化合物, 但在天然产物中并不存在, 1886年Fischer采用乙酰丙酸苯胺自身缩合的办法首次合成了吡嗪酮。1976年Baehman等报道吡嗪酮类化合物具有降压等作用后, 对其的研究日益深入, 发现此类化合物有很好的抗血小板聚集的作用, 能有效的治疗血

栓栓塞性疾病。它的主要作用机理是通过抑制细胞CAMP磷酸二酯酶Ⅲ(PDEⅢ), 提高CAMP的水平, 发挥抑制血小板聚集和正性肌力作用, 从而发挥抗血小板聚集及强心的作用^[1-3], 现已发现多种抗血小板活性比较好的化合物如MCI-154^[4], 匹莫苯(Pimobendan)^[5]、左西孟旦(Levosimendan)^[6]等。

本课题引入不同的杂环基团设计合成了10个化合物, 并对所合成的目标化合物进行抑制血小板凝集活性筛选, 其合成路线见图1。

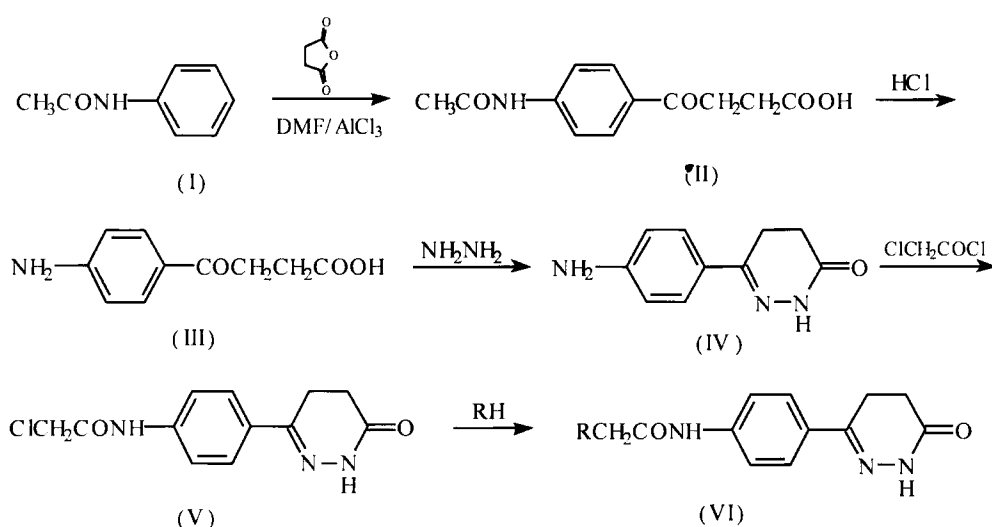
2 合成实验

熔点采用毛细管法在Yamato model MP-21型熔点测定仪上测定, 温度未经校正。红外光谱用Bruker Vector 22型红外光谱仪测定。KBr压片。核磁共振氢谱用Bruker SpectmSpin AC-P300型核磁共振仪测定, DMSO-d₆为溶剂, TMS为内标。对照品MCI-

基金项目: 上海市长宁区科委资助课题(20054Y17001)。

作者简介: 孙亮(1980-), 男, 硕士研究生, Tel: 13585798616, E-mail: sl_0_1980@sohu.com.

154 由第二军医大学药学院有机教研室合成。所用 试剂均为市售分析纯。



R =

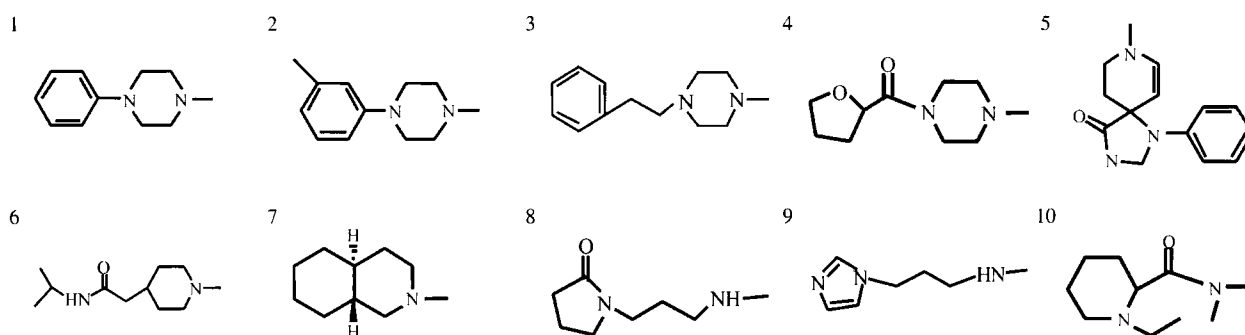


图 1 目标化合物的合成路线

2.1 6-[4-(对氯乙酰氨基)苯基]-4,5-二氢-3(2H)吡嗪酮的合成 此中间体的合成参考文献方法制备^[7]。

2.1.1 制备 3-(4-乙酰氨基苯甲酰基)丙酸(II) 将无水氯化铝 133.5 g (1.0 mol) 和乙酰苯胺 (I) 13.5 g (0.1 mol) 倒入三颈瓶中, 逐滴加入 *N,N*-二甲基甲酰胺 20 mL (2.5 mol), 加毕, 再加入琥珀酸酐 10.0 g (0.1 mol), 升温到 70 °C 反应 1 h。反应毕, 将反应液趁热倒入冰水中, 加入浓盐酸 60 mL, 放置至析出固体, 过滤水洗数次, 烘干后用 *N,N*-二甲基甲酰胺/水重结晶, 烘干得到米黄色固体 14.5 g, 收率为 61.7%, 熔点: 203.4 ~ 205.0 °C (文献^[7]: mp 202 ~ 203 °C)。

2.1.2 制备 3-(4-氨基苯甲酰基)丙酸(III) 将 3-(4-乙酰氨基苯甲酰基)丙酸 22.4 g (0.01 mol) 放入三颈瓶中, 加入浓盐酸 100 mL, 加毕升温至 110 °C 反应回流 2 h, 反应毕加冰适量, 用无水碳酸钠调节 pH

值到 4, 放置使固体析出完全, 过滤水洗数次, 烘干得浅棕色固体 17.6 g, 收率为 95.7%, 熔点: 186.5 ~ 188.3 °C (分解) (文献^[4]: mp 186 ~ 188 °C)。

2.1.3 制备 6-(4-氨基苯基)-4,5-二氢-3(2H)吡嗪酮(IV) 将 3-(4-氨基苯甲酰基)丙酸 11.6 g (0.06 mol), 85% 水合肼 3.6 g (0.072 mol) 和 150 mL 无水乙醇放入 250 mL 三颈瓶中, 升温回流 (温度大约在 95 °C) 反应 6 h, 冷却有固体析出, 过滤乙醇洗, 干燥用 *N,N*-二甲基甲酰胺/水重结晶, 烘干得褐色固体 8.7 g, 收率为 76.6%, 熔点: 237.2 ~ 238.8 °C (分解) (文献^[4]: mp 237 ~ 238 °C)。

2.1.4 制备 6-(4-对氯乙酰氨基苯基)-4,5-二氢-3(2H)吡嗪酮(V) 将 6-(4-氨基苯基)-4,5-二氢-3(2H)吡嗪酮 13.5 g (0.07 mol) 放入三颈瓶中, 加入甲苯 170 mL, 逐滴加入氯乙酰氯 11 mL, 加热回流 6 h, 反应毕冷却过滤, 用甲苯洗数次再用水洗数次, 用 *N,N*-二甲基甲酰胺/水重结晶, 烘

干得类白色固体 17.7 g, 收率为 93.4%, 熔点: 227.9 ~ 229.7 °C (文献^[4]: mp 227 ~ 229 °C)。

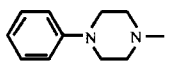
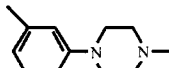
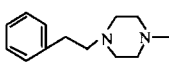
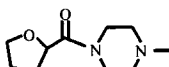
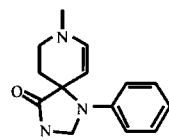
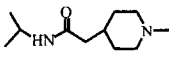
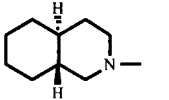
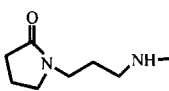
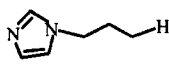
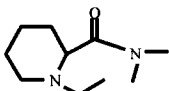
2.2 目标化合物的合成

2.2.1 制备 6-[4-(对苯基哌嗪基乙酰氨基)苯基]-4,5-二氢-3(2H)吡嗪酮(1) 将 6-[4-(氯乙酰氨基)苯基]-4,5-二氢-3(2H)-吡嗪酮 0.20 g (0.75 mmol) 与 *N,N*-二甲基甲酰胺 8 mL 放入 50 mL 圆底烧瓶中, 开始搅拌, 室温条件下滴加对苯

基哌嗪 0.2 g, 反应 6 h, 用薄层点板跟踪反应直到完全, 反应完毕, 加水 50 mL 用玻璃棒搅拌均匀, 放入冰箱中过夜, 有固体析出, 过滤, 产品用水洗数次, 烘干得类白色粉末 0.26 g, 产率 76.5%, 熔点: 183.3 ~ 184.7 °C。

2.2.2 其它目标化合物均按此法合成。 10 个目标化合物经光谱确证其结构, 其理化及光谱数据见表 1。

表 1 目标化合物的结构、熔点和光谱数据

编号	R	mp(°C)	得率(%)	¹ H-NMR(DMSO-d ₆) δ
1		183.3-184.7	76.5	2.411-2.453 (2H, t, CH ₂), 2.673-2.697 (4H, t, 2CH ₂), 2.900-2.947 (2H, t, CH ₂), 3.210 (2H, s, NCH ₂ CO), 3.119-3.241 (4H, t, 2CH ₂), 6.755-7.231 (5H, m, PhH), 7.704 (4H, s, PhH), 9.839 (1H, s, CONH)
2		197.7-199.2	96.1	1.062-1.078 (3H, d, CH ₃), 2.250 (3H, s, CH ₃), 2.393-2.950 (8H, m, 4CH ₂), 3.054-3.116 (2H, q, CH ₂), 3.234-3.273 (2H, q, CH ₂), 3.923-3.954 (1H, m, CH), 6.585-7.120 (4H, m, PhH), 7.669-7.736 (4H, m, PhH), 9.763 (1H, s, CONH), 10.775 (1H, s, CONH)
3		180.2-182.4 (分解)	86.4	2.430-2.472 (2H, t, CH ₂), 2.512-2.572 (10H, m, 5CH ₂), 2.730-2.769 (2H, t, CH ₂), 2.916-2.958 (2H, t, CH ₂), 3.148 (2H, s, NCH ₂ CO), 7.185-7.308 (5H, m, PhH), 7.685-7.737 (4H, m, PhH), 9.787 (1H, s, CONH), 10.797 (1H, s, CONH)
4		115.0-116.3	84.5	1.803-1.860 (2H, m, CH ₂), 1.947-2.041 (2H, m, CH ₂), 2.425-2.466 (2H, t, CH ₂), 2.519-2.527 (6H, m, 3CH ₂), 2.901-2.943 (2H, t, CH ₂), 3.179 (2H, s, NCH ₂ CO), 3.524-3.569 (4H, m, 2CH ₂), 4.623-4.657 (1H, m, CH), 7.649-7.716 (4H, m, PhH), 9.856 (1H, s, CONH), 10.789 (1H, s, CONH)
5		> 250	83.6	1.591-1.625 (2H, d, CH ₂), 2.416-2.457 (2H, t, CH ₂), 2.640-2.652 (2H, m, CH ₂), 2.811 (2H, br, CH ₂), 2.908-2.968 (4H, m, 2CH ₂), 3.196 (2H, s, NCH ₂ CO), 4.594 (2H, s, CH ₂), 6.793-7.293 (5H, m, PhH), 7.718 (4H, s, PhH), 8.567 (1H, s, CONH), 9.919 (1H, s, CONH), 10.773 (1H, s, CONH)
6		228.7-230.2	54.3	1.063-1.079 (6H, d, 2CH ₃), 2.409-2.451 (2H, t, CH ₂), 2.496-2.504 (2H, m, CH ₂), 2.496-2.500 (1H, m, CH), 2.564-2.574 (4H, d, 2CH ₂), 2.887-72.938 (4H, q, 2CH ₂), 3.124 (2H, s, NCH ₂ CO), 3.856-3.891 (1H, m, CH), 7.325-7.344 (1H, d, NH), 7.660-7.713 (4H, m, PhH), 9.768 (1H, s, CONH), 10.770 (1H, s, CONH)
7		197.8-199.3 (分解)	82.3	2.45 (2H, t, CH ₂), 2.70 (4H, t, NCH ₂), 2.81 (4H, t, SCH ₂), 2.94 (2H, t, CH ₂ CO), 3.18 (2H, s, NCH ₂ CO), 7.72 (4H, s, PhH), 9.77 (1H, s, CONH), 10.79 (1H, s, CONH)
8		186.2-187.9 (分解)	62.5	1.647-1.681 (2H, m, CH ₂), 1.926-1.964 (2H, m, CH ₂), 2.215-2.255 (2H, t, CH ₂), 2.466-2.571 (8H, m, 4CH ₂), 2.936-2.977 (2H, t, CH ₂), 3.347-3.382 (2H, t, CH ₂), 7.739-7.755 (4H, s, PhH), 9.907 (1H, br, CONH), 10.799 (1H, s, CONH)
9		201.2-202.8	82.3	1.61-1.67 (8H, m, CH ₂), 2.46 (2H, t, CH ₂), 2.75 (4H, t, NCH ₂), 2.95 (2H, t, CH ₂ CO), 3.29 (2H, s, NCH ₂ CO), 7.72 (4H, s, PhH), 9.74 (1H, s, CONH), 10.80 (1H, s, CONH)
10		167.2-169.0 (分解)	73.4	0.969-1.004 (3H, t, CH ₃), 1.084-1.119 (3H, t, CH ₃), 1.405-1.655 (4H, m, 2CH ₂), 2.208-2.331 (2H, m, CH ₂), 2.423-2.464 (2H, t, CH ₂), 2.709-2.866 (2H, m, CH ₂), 2.709-2.866 (1H, t, CH), 2.902-2.944 (2H, t, CH ₂), 3.129 (2H, s, NCH ₂ CO), 3.208-3.267 (2H, m, CH ₂), 3.298-3.363 (2H, t, CH ₂), 7.704-7.760 (4H, q, PhH), 9.985 (1H, s, CONH), 10.787 (1H, s, CONH)

3 药理实验

参考 Born 比浊法^[8],测定对照物 MCI-154(由本教研室合成)和目标化合物对 ADP 诱导的新西兰大白兔血小板凝集的 IC₅₀。取新西兰大白兔心脏血,离心制备富含血小板血浆 (PRP) 和贫血小板血浆 (PPP)。接通聚集仪电源,使之预热 30 min,恒温在 37 ± 0.1 °C,取 2 只比色杯,1 只加入 PPP 200 μL,另 1 只加入 PRP 200 μL,置聚集仪中预热 5 min,分别向两杯中加入空白溶剂 DMSO 1 μL,用 PPP 杯调节透光率为 100%,用 PRP 杯调节透光率为 0。于装有 PRP 杯中加入配制好的不同浓度的 ADP 溶液,搅拌下观察 3 min 血小板的最大聚集程度,从而摸出诱导剂的阈剂量,将目标化合物配成不同浓度的 DMSO 溶液,加入含 200 μL PRP 的比色管中,同上条件观察血小板的最大聚集程度,计算血小板聚集的抑制百分率,并用回归法求出各目标化合物的 IC₅₀。体外抑制血小板聚集的活性数据见表 2。

表 2 目标化合物的体外抗血小板聚集活性

编号	IC ₅₀ (μmol/L)	编号	IC ₅₀ (μmol/L)
1	11.08	7	7.93
2	7.36	8	6.53
3	6.68	9	2.59
4	11.14	10	3.14
5	3.02	MCI-154	13.95
6	5.44		

4 结果与讨论

经初步的体外抗血小板凝集实验表明,所有目标化合物均对 ADP 引起的血小板聚集有不同程度

的抑制作用,其中化合物(5),(9)和(10)的 IC₅₀ 值分别为 3.02,2.59 和 3.14 μmol/L,抗血小板聚集活性明显比参照化合物强(参照化合物 MCI-154 的 IC₅₀ 为 13.95 μmol/L)。从上面的药理活性数据来看,R 基团引入取代杂环可以增强其血小板聚集的抑制作用,但由于目标化合物的数目有限,难以得出构效关系的结论,有待于进一步的研究。

参考文献:

- [1] 赵东明,刘超美. 6-取代乙酰氨基嘧啶苯基二氢嘧啶酮化合物的合成及其抑制血小板的作用[J]. 第二军医大学学报, 2003,24(5):510.
- [2] 覃军,王祥志,刘毅敏,等. 6-(4-取代苯基)-5-甲基-4,5-二氢-3(2H)嘧啶酮类化合物的合成及其抑制血小板聚集的作用[J]. 化学研究与应用,2006,18(9):1088.
- [3] 王腾,王礼琛,董颖. 嘧啶酮类化合物的药用研究进展[J]. 药学进展,2006,30(6):246.
- [4] Yang GM, Liu LM, Xu J. Effects of MCI-154 on Vascular Reactivity and Its Mechanisms After Hemorrhagic Shock in Rats [J]. Journal of Cardiovascular,2006,47(6):751.
- [5] De Hert SG, Lorsomradee S, Cronheercke S, et al. The Effects of Levosimendan in Cardiac Surgery Patients with Poor Left Ventricular Function [J]. Anesthesia & Analgesia (Hagerstown, MD, United States),2007,104(4):766.
- [6] Thyges M, Lehmann HD, Gries J, et al. 6-Aryl-4,5-dihydro-3(2H)-pyridazinones. A new class of compounds with platelet aggregation inhibiting and hypotensive activities [J]. J Med Chem,1983,26(6):800.
- [7] Thyges M, Lehmann HD, Gries J, et al. 6-Aryl-4,5-dihydro-3(2H)-pyridazinones. A new class of compounds with platelet aggregation inhibiting and hypotensive activities [J]. J Med Chem,1983,26(6):800.
- [8] Born GVR. Aggregation of bloodplatelets by adenosine diphosphate and its reversal [J]. Nature, 1962,164(4832):927.

收稿日期:2008-04-14

(上接第 268 页)

化合物Ⅶ白色粉末(EtOAc),mp:287~289 °C。分子式:C₃₅H₆₀O₆。FAB-MS m/z:577(M⁺+1);(-)ESI-MS m/z:415。IR(KBr,cm⁻¹):3425,2955,1640,1075,1025。在高效薄层层析板上与胡萝卜苷标准品对照,其 R_f 值及显色行为相同,混合测定熔点不下降,鉴定为胡萝卜苷(daucosterol)。

参考文献:

- [1] 吴航宇,李琳,徐江平,等. 益智复方对学习记忆障碍模型的影响及 β 淀粉样肽细胞毒性的保护作用[J]. 中药材, 2003,26(7):495.

- [2] Xu JP, Wu HY, Li L. Effects of compound Yi-Zhi on D-galactose-induced learning and memory deficits in mice [J]. Chin J Clin Pharmacol Ther,2003,8(1):31.
- [3] 吴航宇,徐江平,靳铁敏. 益智复方对东莨菪碱所致学习记忆障碍模型的影响[J]. 中华临床新医学,2003,3(3):193.
- [4] Yang XW, Gu ZHM, Ma CHM, et al. A New Indole Derivative Isolated from the Root of Tuber Fleecflower (*Polygonum multiflorum*) [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs,1998,29(1):5.
- [5] 王本祥. 人参研究进展 83-88 [M]. 天津:天津科学技术出版社,1991:29.
- [6] 于明,赵余庆. 人参果中一对构型异构体的分离与鉴定 [J]. 中草药,2002,33(5):404.

收稿日期:2007-10-26