

4, 5-二氢-3(2H)-吡嗪酮类化合物的合成及其对血小板聚集的抑制作用

许勇¹, 黄晓瑾¹, 徐建明², 蔡灵芝², 宋琰², 赵庆杰², 吴秋业² (1. 中国人民解放军第85医院药械科, 上海 200052; 2. 第二军医大学药学院有机化学教研室, 上海 200433)

摘要 目的: 合成新的吡嗪酮类化合物, 并研究其抗血小板凝集活性。方法: 在 6-(4-氯乙酰氨基苯基)-4, 5-二氢-3(2H)吡嗪酮引入不同取代哌嗪, 合成一系列化合物, 并经过 ¹H-NMR 等确证; 参考 Bom 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 (1)、(4) 的抗血小板凝集活性明显优于 MCF154。结论: 4 位取代哌嗪环基的引入对化合物抗血小板凝集的活性有显著影响。

关键词 化学合成; 吡嗪酮; 抗血小板聚集活性; 体外

中图分类号: R914.5 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2008)03-0175-04

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

XU Yong¹, HUANG Xiao-jin¹, XU Jian-ming², CAI Ling-zhi², SONG Yan², ZHAO Qing-jie², Wu Qiu-ye² (1. No. 85 Hospital of PLA, Shanghai, 200052, China; Department of Organic Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai, 200433, China)

ABSTRACT Objective: To study the antiplatelet aggregative activity of 6-(4-substituted acetamido-phenyl)-4, 5-dihydro-3(2H)-pyridazinones in letting different piperazine groups **Methods:** Ten target compounds were designed and synthesized. All of them were confirmed by ¹H-NMR spectra. Bom 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 (1) / (4) and performed better than MCF154 *in vitro*. **Conclusion:** The carbocyclic length of piperazine's 4-substituted groups impacted the antiplatelet aggregative activity prominently.

KEY WORDS chemical synthesis; pyridazinones; antiplatelet aggregative activity; *in vitro*

1 前言

自 1886 年 Fischer 采用乙酰丙酸苯胺自身缩合的方法首次合成吡嗪酮类以来, 研究者们发现吡嗪酮类化合物具有广泛的药理作用, 如强心、抗血小板聚集、抗炎和抗肿瘤作用, 并先后发现了一批活性比较好的抗血小板化合物如 CF914^[1]、CCF17810^[2]、MCF154 以及匹莫苯^[3]等。为了深入的研究二氢吡嗪酮类化合物的构效关系, 本研究以 MCF154 (化学结构见图 1) 为先导化合物, 设计合成了 10 个 6-(4-氯乙酰氨基苯基)-4, 5-二氢-3(2H)吡嗪酮化合物, 并进行了初步的体外药理实验。

本研究以乙酰苯胺为原料, 经傅克反应、水解反应及水合肼环合反应得 6-(4-哌嗪基苯基)-4, 5-二氢-3

(2H) 吡嗪酮, 与氯乙酰氯反应, 再与胺反应得目标化合物 (见表 1)。合成路线见图 2。物理数据见表 1。

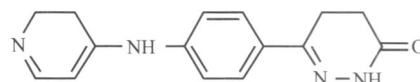


图 1 MCF154 的化学结构

2 实验部分

2.1 仪器和材料 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。核磁共振氢谱用 Bruker Spectm sp in AC-P300 型核磁共振仪测定, DMS-d₆ 为溶剂, TMS 为内标。药理实验动物为新西兰雄性大白兔, ADP 为美国 Sigma 公司产品, 对照品 MCF154 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。

2.2.1 6-(4-氨基苯基)-4, 5-二氢-3(2H)吡嗪酮的制备 6-[4-(乙酰氨基)苯基]-4, 5-二氢-3(2H)吡嗪酮的制备参考文献方法制备^[4]。

基金项目: 上海市长宁区科委资助课题 (No. 20054Y17001)。

作者简介: 许勇 (1976-), 男, 硕士在读。

通讯作者: 赵庆杰. E-mail: smilewang@126.com.

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		181.1 ~ 182.3	72.70	1.41 ~ 1.58 (6H, m, piperazine), 2.43 (2H, t, CH ₂), 2.45 ~ 2.54 (8 H, m, piperazine), 2.92 (2H, t, CH ₂ CO), 3.12 (4H, s, NCH ₂ CO), 4.40 ~ 4.46 (4H, m, piperazine), 7.68 ~ 7.69 (4H, m, PhH), 9.76 (1H, s, CONH), 10.77 (1H, s, CONH)
2		197.0 ~ 197.6	97.02	2.43 (2H, t, CH ₂), 2.45 ~ 2.55 (8H, m, piperazine), 2.92 (2H, t, CH ₂ CO), 3.13 (2H, s, NCH ₂ CO), 3.52 (2H, s, pyridine), 7.32 ~ 7.66 (2H, m, pyridine), 7.68 ~ 7.69 (4H, m, PhH), 8.45 ~ 8.49 (2H, m, pyridine), 9.76 (1H, s, CONH), 10.77 (1H, s, CONH)
3		190.8 ~ 191.6	97.10	2.43 (2H, t, CH ₂), 2.60 (4H, t, piperazine), 2.92 (2H, t, CH ₂ CO), 3.21 (2 H, s, NCH ₂ CO), 3.73 (4 H, t, piperazine), 6.60-6.62 (1 H, m, furan), 6.97 ~ 6.98 (1H, m, furan), 7.70 (4H, s, PhH), 7.80 ~ 7.81 (1H, m, furan), 9.86 (1H, s, CONH), 10.77 (1H, s, CONH)
4		204.9 ~ 205.8 (分解)	97.20	2.43 (2H, t, CH ₂), 2.49 ~ 2.56 (8H, m, piperazine), 2.92 (2H, t, CH ₂ CO), 3.11 (2H, s, CH ₂ CHCH ₂ -), 3.13 (2H, s, NCH ₂ CO), 6.26 ~ 6.56 (2H, m, CH=CH), 7.22 ~ 7.43 (5H, m, PhH), 7.66 ~ 7.71 (4H, m, PhH), 9.76 (1H, s, CONH), 10.77 (1H, s, CONH)
5		229.2 ~ 230.5 (分解)	53.80	2.43 (2H, t, CH ₂), 2.55 ~ 2.62 (4H, m, piperazine), 2.92 (2H, t, CH ₂ CO), 3.13 (2H, s, NCH ₂ CO), 3.42 ~ 3.48 (4H, m, piperazine), 7.64 ~ 7.68 (4H, m, PhH), 7.98 (1H, s, HCO), 9.76 (1H, s, CONH), 10.72 (1H, s, CONH)
6		172.9 ~ 173.9	37.5	2.43 (2H, t, CH ₂), 2.45 (2H, t, NCH ₂), 2.45 ~ 2.50 (8H, m, piperazine), 2.90 (2H, t, CH ₂ CO), 3.09 (2H, s, NCH ₂ CO), 3.20 (3H, s, OCH ₃), 3.41 (2H, t, OCH ₂), 7.61 ~ 7.69 (4H, m, PhH), 9.79 (1H, s, CONH), 10.77 (1H, s, CONH)
7		200.0 ~ 201.1	95.50	2.43 (2H, t, CH ₂), 2.73 (4H, t, piperazine), 2.90 (2H, t, CH ₂ CO), 3.06 (4H, t, piperazine), 3.23 (2H, s, NCH ₂ CO), 7.01 ~ 7.41 (4H, m, PhH), 7.71 (4H, s, PhH), 9.85 (1H, s, CONH), 10.78 (1H, s, CONH)
8		243.0 ~ 243.7 (分解)	91.20	2.43 (2H, t, CH ₂), 2.59 (4H, t, piperazine), 2.92 (2H, t, CH ₂ CO), 3.20 (2H, s, NCH ₂ CO), 3.81 (4H, t, piperazine), 6.59 ~ 6.60 (1H, m, pyridine), 7.70 (4H, s, PhH), 8.34 ~ 8.35 (2H, m, pyridine), 9.85 (1H, s, CONH), 10.77 (1H, s, CONH)
9		233.0 ~ 234.1 (分解)	80.90	2.11 (3H, s, CH ₃), 2.17 (3H, s, CH ₃), 2.43 (2H, t, CH ₂), 2.67 (4H, t, piperazine), 2.92 (2H, t, CH ₂ CO), 3.14 (4H, t, piperazine), 3.20 (2H, s, NCH ₂ CO), 6.64 ~ 6.97 (3H, m, PhH), 7.71 (4H, s, PhH), 9.84 (1H, s, CONH), 10.77 (1H, s, CONH)
10		228.3 ~ 228.9 (分解)	70.40	2.43 (2H, t, CH ₂), 2.67 (4H, t, piperazine), 2.92 (2H, t, CH ₂ CO), 3.20 (2H, s, NCH ₂ CO), 3.65 (4 H, t, piperazine), 6.92 ~ 7.40 (3H, m, PhH), 7.67 ~ 7.73 (4H, m, PhH), 9.84 (1H, s, CONH), 10.77 (1H, s, CONH)

注:元素分析结果显示,C,H,O 分析结果误差在计算值的0.3%以内。

2.2.2 6-[4-(哌啶基乙酰基哌嗪基乙酰氨基)苯基]-4,5-二氢-3(2H)吡嗪酮 (1)的制备 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)和 N,N-二甲基甲酰胺 8 mL放入圆底烧瓶中,室温搅拌,滴加对甲氧基苯基哌嗪 0.20

(0.83 mmol),反应 5 h, TLC显示反应完毕,加冰水 50 mL,搅拌,冰箱中过夜,析出固体,过滤,产品用水洗 3次,DMF/水重结晶,得白色晶体,烘干,得 0.25 g,产率 72.7%,熔点: 181.1~182.3。其它目标化合物均按此法合成。

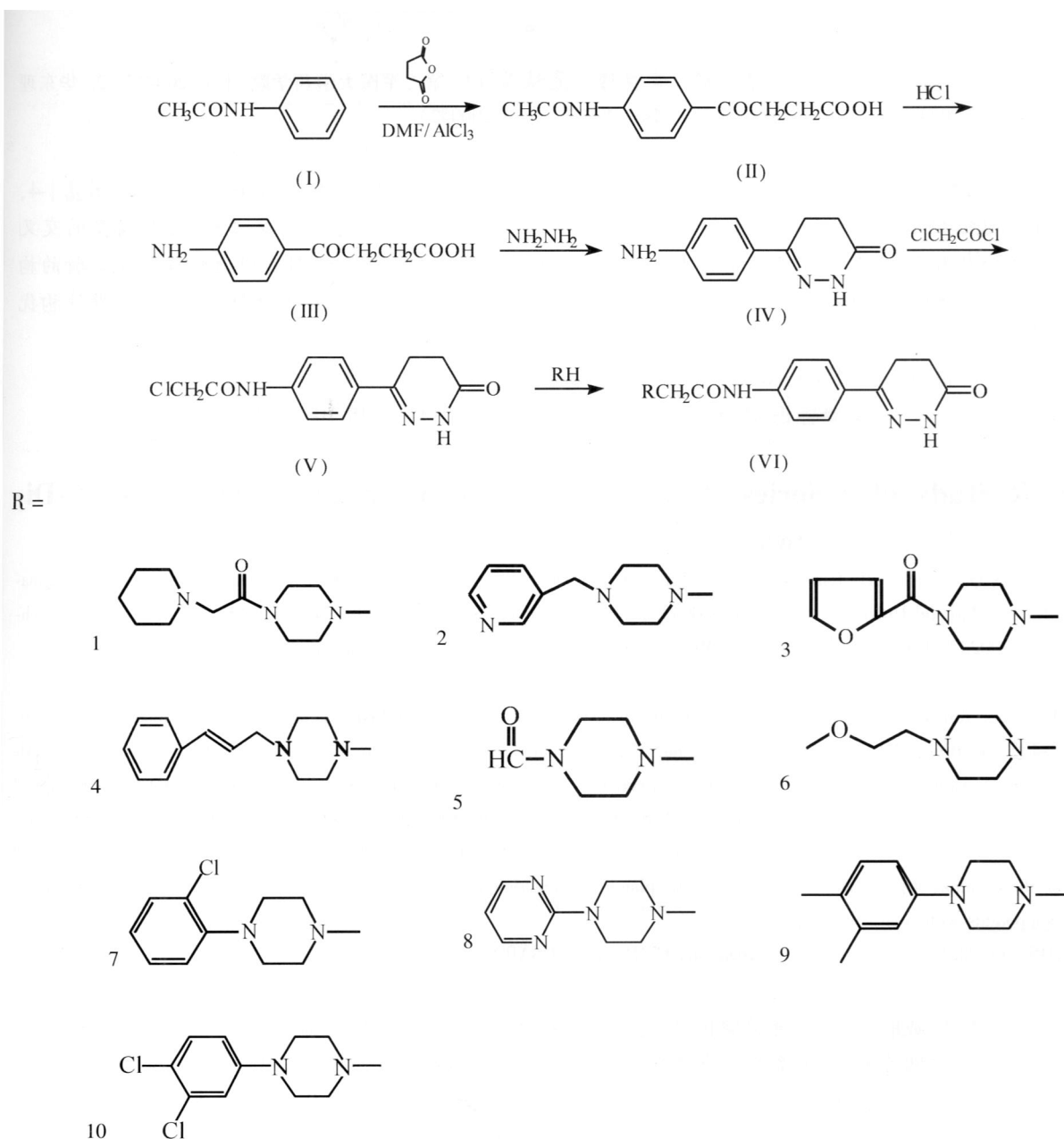


图 2 目标化合物的合成路线

2.3 药理实验 参考 Bom比浊法^[5],测定参照化合物 MCF-154和 10个目标化合物抑制 ADP诱导的新西兰雄性大白兔血小板聚集的 IC₅₀。具体方法为:取新西兰雄性大白兔心脏血制备富含血小板血浆 (PRP)和贫血小板血浆 (PPP),用 PRP和 PPP调整血小板聚集仪,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 3~5

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。在装有 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,将目标化合物配成浓度依次为 10、5、1 μmol/L的 DMSO溶液,加入至含 (下转第 190页)

中药胡黄连原出于《唐本草》谓其“大寒”，“主骨蒸劳热，补脾胆，明目”。《新修本草》曰“主骨蒸劳热，补肝胆，明目，……厚肠胃”。它被传统地用于治疗肝病、呼吸系统疾病、消化系统疾病和蝎子螫伤等。有研究报道胡黄连提取物有保肝降酶作用^[8]，胡黄连总苷对小鼠急性化学性肝损伤的保护作用^[9]。

注射用西黄总苷是以采用先进的提取分离纯化技术从西藏胡黄连中提取出的胡黄连苷 II 为主要成分的粉针剂型，具有性状稳定，便于贮存等优点，达到国家新药标准。本研究中，我们采用皮下注射 25% CCl_4 花生油溶液 5 mL / kg，每周 2 次，共 3 周，造成慢性肝损伤模型，造模前 3 天预先静脉注射西黄总苷及阳性对照茵栀黄注射液，每日 1 次，连续给药 3 周。于末次给药后 1 h 取血测血清 AST、ALT、TP 及 ALB，处死动物取肝脏做病理组织学检查，观测其对 CCl_4 所致慢性肝功能损伤的预保护作用。我们的结果表明：西黄总苷各剂量组与模型组相比，可显著降低 CCl_4 引起的血清 AST、ALT 升高，显著抑制 CCl_4 引起的血清总蛋白 (TP) 和白蛋白 (ALB) 降低，经统计学分析，均有非常或极显著性差异 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)，说明受试药物有显著抑制血清转氨酶升高及血清总蛋白和白蛋白降低的作用，

对 CCl_4 所致大鼠慢性肝功能损伤的有预防保肝作用，为进一步把注射用西黄总苷研制成治疗药物性肝损伤新药提供实验依据。

参考文献：

- [1] Monograph *Picrorhiza kurroa* [J]. *Altem Med Rev*, 2001, 6 (3): 319.
- [2] 中华人民共和国卫生部药政管理局. 中药新药研究指南 (药理学 毒理学) [J]. 1994. 82.
- [3] 李瑞芬, 范玉明, 王希海. 茵栀黄注射液对大鼠实验性肝损伤的治疗作用 [J]. *中药药理与临床*, 2001, 17 (2): 23.
- [4] 卢春风, 陈廷玉, 王淑香, 等. 丹参与三七配伍对大鼠慢性肝损伤的作用 [J]. *黑龙江医药科学*, 2003, 26 (5): 32.
- [5] 黄华, 陈会松, 杨晋辉. 实验性急性肝损伤血清 L-18、NO 的检测意义及作用机制研究 [J]. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2003, 12 (4): 343.
- [6] Jeffrey DB, Jay DH. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury [J]. *JCI*, 2004, 114 (2): 147.
- [7] 赵明河, 殷军. 大鼠肝硬变模型的建立 [J]. *实验动物科学与管理*, 1998, 15 (2): 20.
- [8] 王志坚, 唐大轩, 曹毓, 等. 西藏胡黄连提取物的保肝降酶、降脂的实验研究 [J]. *中药药理与临床*, 2003, 19 (6): 19.
- [9] 颜天华, 张朝晖, 禹道春, 等. 胡黄连总苷对小鼠急性化学性肝损伤的保护作用 [J]. *南京军医学院学报*, 2002, 24 (3): 145.

收稿日期: 2008-03-03

(上接第 177 页)

200 μ L 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 IC_{50} (见表 2)。

表 2 目标化合物的体外抗血小板凝集活性

编号	IC_{50} / (μ mol)	编号	IC_{50} / (μ mol)
1	2.82	7	20.74
2	4.40	8	5.33
3	4.95	9	7.14
4	2.89	10	6.94
5	3.57	MCF154	13.95
6	3.04		

3 结果和讨论

初步的体外药理实验结果表明，化合物 1 ~ 10 都有不同程度的抑制 ADP 诱导的新西兰大白兔血小板聚集活性，且大部分化合物的活性比对照物 MCF154 强，其中化合物 1、4 的活性最强，为对照物 MCF154 的 4.5 倍。化合物 5、6 也有较强的活性。综合药理活性结果分析，4 位引入取代哌嗪可以增

强目标化合物的血小板聚集的抑制作用。当分子中引入苯乙酮基时，可能由于羰基极性较大，影响分子的亲脂性，使得目标化合物的活性减弱。但是由于目标化合物数量有限，进一步的构效关系有待于更深入的研究。

参考文献：

- [1] Thompson P, Manganiello V, Degen E. Re-discovering PDE3 inhibitors—New opportunities for a long neglected target [J]. *Curr Top Med Chem*, 2007, 7 (4): 421.
- [2] De Hert S, Lorscheide S, Cramhecke S. The effects of levosimendan in cardiac surgery patients with poor left ventricular function [J]. *Anesth Analg*, 2007, 104 (4): 766.
- [3] 王恩思, 沈家聪. 新型强心药匹莫莫的合成 [J]. *中国药物化学杂志*, 1997, 7 (3): 185.
- [4] 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.
- [5] Bom GVR. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal [J]. *Nature*, 1962, 194 (4832): 927.

收稿日期: 2007-09-24