

吡嗪酮类新衍生物的合成及其对血小板聚集的抑制作用

王曙东¹, 陈兴东¹, 赵庆杰², 邹燕², 胡宏岗², 俞世冲², 汪亭², 柴晓云², 任海祥¹ (1. 南京军区南京总医院, 江苏南京 210002; 2. 第二军医大学药学院, 上海 200433)

[摘要] 目的 研究引入取代仲胺类基团对 6-(4-取代乙酰氨基苯基)-5-甲基-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; 参考文献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 9c, 9f 和 9j 的抗血小板凝集活性明显优于对照药 MCI-154 和 CCI-17910。结论 取代仲胺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; 体外活性

[中图分类号] R914 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2011)05-0362-04

Synthesis and platelet aggregation inhibition activity of new derivatives of pyridazinone

WANG Shu-dong¹, CHEN Xing-dong¹, ZHAO Qing-jie², ZOU Yan², HU Hong-gang², YU Shi-chong, WANG Ting², CHAI Xiaoyun², REN Hai-xiang¹ (1. The Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, Nanjing 210002, China; 2. School of pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai, 200433, China)

[Abstract] **Objective** To study the antiplatelet aggregative activity of 6-(4-substituted acetamino-phenyl 4, 5-dihydro-3(2H)-pyridazinones with different substituted secondary amines. **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 not reported. The results of preliminary pharmacological test showed that all the target compounds exhibited potent antiplatelet aggregative activity to a certain extent. Compounds 9c, 9f and 9j were better than MCI-154 and CCI-17910 *in vitro*. **Conclusion** The steric hindrance and hydrophilicity of different substituted secondary amines impact the anti-platelete aggative activity.

[Key words] synthesis; pyridazinones; platelet aggregation *in vitro*

血小板聚集在血栓形成中起着关键的作用, 严重威胁人类生命健康的心脑血管疾病多数与血栓形成和血栓栓塞有着密切的联系^[1]。二氢吡嗪酮类化合物对抑制血小板聚集有较强的药理活性, 对二磷酸腺苷(ADP)、花生四烯酸(AA)、血小板活化因子(PAF)和胶原引起的血小板聚集均有抑制作用。深入研究二氢吡嗪酮类化合物的构效关系, 寻找高效低毒的药物, 是开发新型心脑血管系统疾病药物的重要研究方向之一。

为进一步探讨二氢吡嗪酮类化合物的构效关系, 以期寻找药理活性更强的血小板聚集抑制剂, 笔者设计合成了 10 个 6-(4-取代苯甲酰氨基苯基)-5-甲基-4, 5-二氢-3(2H)-吡嗪酮类衍生物。参考文献方法^[2~4]以乙酰苯胺为原料经付克酰化反应、氧化、水解、水合肼环化反应得 6-(4-氨基苯基)-5-甲基-

4, 5-二氢-3(2H)-吡嗪酮, 将其与不同酰卤反应得目标化合物, 并测定了其体外由 ADP 诱导的人血小板聚集的抑制。

1 化合物设计

由 6-(4-取代苯基)-4, 5-二氢-3(2H)-吡嗪酮类化合物的作用机制及其构效关系可知^[3]: 二氢吡嗪酮环中酰胺氮上的氢必须处于游离状态, 烷基取代后活性降低或消失; 二氢吡嗪酮环 6 位取代苯基的对位可以为吸电子基, 也可以为供电子基, 但必须处于对位。我们以 CCI-17810 和 MCI-154 为先导化合物(图 1), 保留了此类化合物中抗血小板聚集药理活性的基本结构二氢吡嗪酮, 同时保持了二氢吡嗪酮环中酰胺氮上的氢必须处于游离状态。通过对 R 基团的结构改造, 设计并合成了 10 个化合物, 以期寻找具有较强抗血小板凝集活性的吡嗪酮类衍生物。其合成路线见图 2。

2 实验部分

[基金项目] 上海市科委课题 (20054Y1700)。

[作者简介] 王曙东 (1963-), 男, 医学博士。

[通讯作者] 任海祥。E-mail: renhaixiang@126.com。

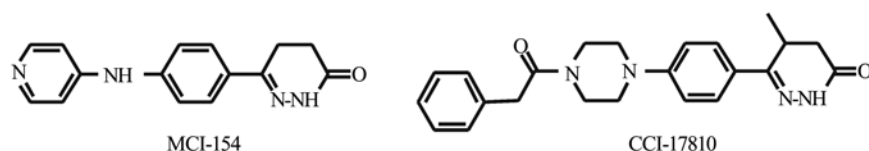


图1 MCI-154 和 CCI-17810 的结构

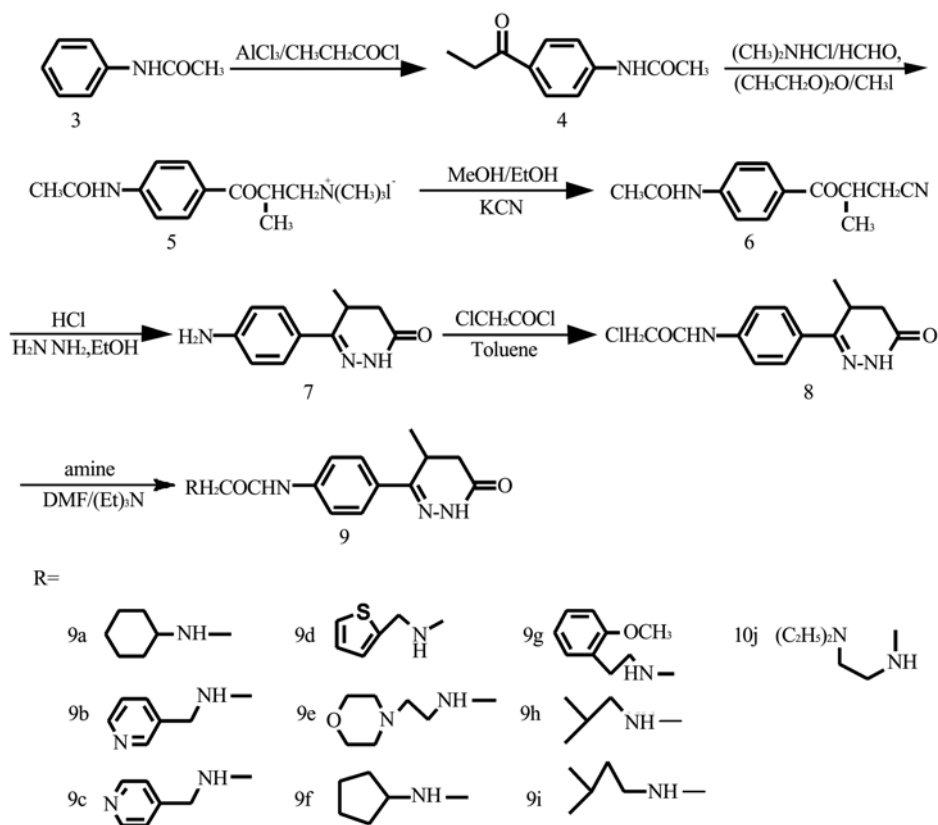


图2 6-(4-取代乙酰氨基苯基)-4,5-二氢-3(2H)-咪嗪酮的合成路线

柳本显微熔点测定仪,温度未经校正;元素分析用 Elementa Varoo EL III 测定;红外光谱用 Shimadzu 型红外光谱仪测定;核磁图谱用 Bruker AC-300D 型核磁共振仪测定,DMSO-d₆ 为溶剂,TMS 为内标;G 薄层层析(TLC)用硅胶 H(10-40 μ);PAM2-PPP 型自动平衡血小板聚集仪。新西兰大白兔, δ 。ADP(美国 Sigma 公司);CCI-17810 为 6-[4-(4 苯乙酰基)哌嗪基]苯基]-5-甲基-4,5-二氢-3(2H)-咪嗪酮,由第二军医大学有机化学教研室合成。

2.1 6-[4-(氯乙酰氨基)苯基]-4,5-二氢-3(2H)-咪嗪酮的制备

2.1.1 6-(4-氨基苯基)-4,5-二氢-3(2H)-咪嗪酮的制备 参考蒋勤等^[2]研究方法由乙酰苯胺合成,mp 194 ~ 195 $^{\circ}$ C,产率 61.28% (蒋勤等^[2]研究表明,mp 194 ~ 195 $^{\circ}$ C,收率 58.2%)。

2.1.2 6-[4-(氯乙酰氨基)苯基]-4,5-二氢-3

(2H)-咪嗪酮的制备 6-(4-氨基苯基)-4,5-二氢-3(2H)-咪嗪酮 1.00 g(5.29 mmol),加入 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)15 ml 和三乙胺 0.74 ml,于 0 ~ 5 $^{\circ}$ C 缓慢滴加氯乙酰氯 0.43 ml(5.30 mmol)和 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)2 ml 的混合液,加毕,室温搅拌 5 h,TLC(展开剂氯仿:甲醇 20:1)跟踪反应,反应完毕加适量水,有沉淀析出,过滤,水洗数次,用无水乙醇重结晶,干燥得 1.09 g,mp 232 ~ 235 $^{\circ}$ C,收率 77.61% (文献^[2]报道,mp 233 $^{\circ}$ C,收率 70.12%)。

2.2 6-[4-(环己基乙酰氨基)苯基]-4,5-二氢-3(2H)-咪嗪酮的制备 6-[4-(氯乙酰氨基)苯基]-4,5-二氢-3(2H)-咪嗪酮 0.20 g(0.7 mmol)加入 8 ml DMF 中,室温条件下滴加环己胺 0.10 ml(0.9 mmol),反应 4 h,TLC(展开剂氯仿:甲醇 20:1)跟踪,反应毕,将反应液倾入水中,放置 3 ~ 4 h,过滤得

化合物 9a 0.18 g, 收率 84%。合成 10 个化合物的 理化和波谱数据详见表 1。

表 1 目标化合物的理化和波谱数据

Compd	Mp(°C)	Yield(%)	MS(ESI)	IR(KBr) ν cm^{-1}	$^1\text{H-NMR}$ (DMSO, TMS) δ
1	201-203	84	343.21	3 335, 3 240, 1 701 1 596, 837	1.04-1.06 (d, 3H, CH ₃ , $J=4.5$ Hz); 2.18-2.24 (m, 1H, CH); 2.47-2.66 (m, 8H, cyclohexane); 3.12 (s, 2H, CH ₂ C=O), 3.26 (s, 2H, CH ₂ C=O); 6.81-7.02 (d-d, 4H, Ph-H, $J=8$ Hz); 9.82 (s, 1H, NH), 10.90 (s, 1H, NH)
2	195-197	83	372.15	3 341, 3 210, 1 715 1 580, 842	1.03-1.06 (d, 3H, CH ₃ , $J=4.5$ Hz); 2.18-2.24 (m, 1H, CH); 3.20 (s, 2H, CH ₂ C=O); 3.35 (s, 2H, CH ₂ C=O); 6.60-6.99 (m, 2H, pyridine-H); 7.71-7.72 (m, 4H, Ph-H); 7.82-7.83 (m, 2H, furan-H); 9.82 (s, 1H, NH), 10.89 (s, 1H, NH)
3	161-163	80	372.10	3 320, 3 240, 1 730 1 600, 848	1.03-1.06 (d, 3H, CH ₃ , $J=4.5$ Hz), 2.18-2.24 (m, 1H, CH); 3.20 (s, 2H, CH ₂ C=O), 3.36 (s, 2H, CH ₂ C=O); 6.60-6.99 (m, 2H, pyridine-H); 7.71-7.72 (m, 4H, Ph-H); 7.82-7.83 (m, 2H, furan-H); 9.82 (s, 1H, NH), 10.89 (s, 1H, NH)
4	173-175	85	357.13	3 330, 3 210, 1 709 1 596, 839	1.03-1.06 (d, 3H, CH ₃ , $J=4.5$ Hz), 2.18-2.24 (m, 1H, CH); 3.20 (s, 2H, CH ₂ C=O), 3.36 (s, 2H, CH ₂ C=O); 6.60-6.99 (m, 2H, thiophene-H); 7.71-7.72 (m, 4H, Ph-H); 7.82-7.83 (m, 1H, thiophene-H); 9.82 (s, 1H, NH), 10.89 (s, 1H, NH)
5	182-185	88	374.21	3 335, 3 240, 1 701 1 596, 837	1.03-1.06 (d, 3H, CH ₃ , $J=4.5$ Hz); 2.18-2.23 (m, 1H, CH); 2.25-2.40 (m, 4H, CH ₂ CH ₂); 2.47-2.7 (m, 8H, morpholine), 3.01 (s, 2H, CH ₂ C=O); 3.36 (d, 2H, CH ₂ C=O); 3.64-3.65 (m, 2H, morpholine-CH); 7.66-7.75 (m, 4H, Ph-H); 9.89 (s, 1H, NH); 10.90 (s, 1H, NH)
6	191-192	90	329.10	3 339, 3 230, 1 740 1 596, 827	0.86-0.90 (m, 8H, cyclopentyl-H); 1.03-1.06 (d, 3H, CH ₃ , $J=4.5$ Hz); 2.18-2.23 (m, 1H, CH); 2.25-2.40 (m, H, CH-N); 3.01 (s, 2H, CH ₂ C=O); 3.37 (d, 2H, CH ₂ C=O); 7.66-7.75 (m, 4H, Ph-H); 9.89 (s, 1H, NH); 10.90 (s, 1H, NH)
7	174-176	80	395.20	3 330, 3 249, 1 721 1 590, 837	1.03-1.06 (d, 3H, CH ₃ , $J=4.5$ Hz); 2.18-2.23 (m, 1H, CH); 2.25-2.40 (m, 4H, CH ₂ CH ₂); 3.01 (s, 2H, CH ₂ C=O); 3.34 (s, 2H, CH ₂ C=O); 3.71 (s, 3H, -OCH ₃); 7.15-7.30 (m, 4H, Ph-H); 7.66-7.75 (m, 4H, Ph-H); 9.89 (s, 1H, NH); 10.90 (s, 1H, NH)
8	188-190	87	318.19	3 340, 3 230, 1 711 1 580, 820	0.84-0.90 (m, 7H, CH ₃ CHCH ₃); 1.03-1.06 (d, 3H, CH ₃ , $J=4.5$ Hz); 2.18-2.23 (m, 1H, CH); 2.70-2.71 (m, 2H, CH ₂ -N); 3.01 (s, 2H, CH ₂ C=O); 3.35 (s, 2H, CH ₂ C=O); 7.66-7.75 (m, 4H, Ph-H); 9.89 (s, 1H, NH); 10.90 (s, 1H, NH)
9	168-170	81	332.21	3 310, 3 240, 1 701 1 580, 837	0.84-0.90 (m, 7H, CH ₃ CHCH ₃); 0.93-1.00 (m, 2H, CH ₂ CH ₂ -N); 1.03-1.06 (d, 3H, CH ₃ , $J=4.5$ Hz); 2.18-2.23 (m, 1H, CH); 2.70-2.71 (m, 2H, CH ₂ -N); 3.01 (s, 2H, CH ₂ C=O); 3.35 (s, 2H, CH ₂ C=O); 7.66-7.75 (m, 4H, Ph-H); 9.89 (s, 1H, NH); 10.90 (s, 1H, NH)
10	173-172	82	361.24	3 305, 3 190, 1 765 1 590, 900	0.74-0.82 (m, 6H, CH ₃ CH ₂ -N); 1.03-1.06 (d, 3H, CH ₃ , $J=4.5$ Hz); 2.18-2.23 (m, 1H, CH); 2.45-2.60 (m, 4H, CH ₃ CH ₂ -N); 2.50-2.82 (m, 4H, N-CH ₂ CH ₂ -N); 3.01 (s, 2H, CH ₂ C=O); 3.33-3.36 (d, 2H, CH ₂ C=O); 7.66-7.75 (m, 4H, Ph-H); 9.89 (s, 1H, NH); 10.90 (s, 1H, NH)

2.3 药理实验 参考 Born 比浊法^[2], 我们以先导化合物 MCI-154, CCI-17 810 为阳性对照, 测定了所有目标化合物对 ADP 诱导的新西兰大白兔血小板聚集的 IC₅₀ 值。取新西兰大白兔心脏血, 离心制备富含血小板的血浆 (PRP) 和贫血小板的血浆 (PPP); 用 PRP 和 PPP 调整血小板聚集仪; 取 200 μl PRP 于比色管中, 加入 1 μl 二甲亚砜 (DMSO), 37 $^{\circ}\text{C}$ 温孵 10 min, 搅拌 40 s 后, 分别加入不同剂量的 ADP, 搅拌下观察 5 min 内血小板的最大聚集程度, 从而摸出诱导剂的阈剂量; 再将供试品 10、5、1、0.5、0.25 $\mu\text{mol/L}$ 的 DMSO 溶液, 加入到含 200 PRP

的比色管中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 温孵 10 min, 搅拌 40 s 后, 加入阈剂量的 ADP, 搅拌下观察 5 min 内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 IC₅₀。结果见表 2。

表 2 目标化合物的生物活性数据 ($\mu\text{mol/L}$)

Compound	IC ₅₀	Compound	IC ₅₀
9a	1.2	9g	0.9
9b	0.5	9h	1.4
9c	0.2	9i	1.2
9d	2.0	9j	0.6
9e	1.9	MCI-154	2.5
9f	0.1	CCI-17810	3.3

3 讨论

所合成的10个目标化合物均未见文献报道,其结构经元素分析、红外光谱和核磁共振谱所证实,数据见表1。在以乙酰苯胺制备中间体6-(4-氨基苯基)-4,5-二氢-3(2H)-咪嗪酮时,反应中间产物可不经精制,直接投入下步反应,简化了操作。在目标化合物制备过程中,把反应液直接倾入到水中,过滤即得目标化合物,避免了文献报道的柱层析等复杂的操作。初步的体外药理结果表明(表2),所有目标化合物都有不同程度的体外抑制ADP诱导的新西兰大白兔血小板聚集作用,且都强于对照化合物MCI-154和CCI-17810。其中化合物9f的活性最强,IC₅₀为MCI-154的25倍,是CCI-17810的33倍,此外,化合物9b、9c、9j也显示了较强的活性。化合物9f等的作用机制及其他药理作用还有待于进一步的研究。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] Bristol JA, Sircar L, Moos WH, et al. Cardiotonic agents. 1. 4, 5-Dihydro-6-[4-(1H-imidazol-1-yl) phenyl]-3(2H)-pyridazinones: novel positive inotropic agents for the treatment of congestive heart failure[J]. J Med Chem, 1984, 27(9): 1099.
- [2] 蒋勤, 孙常晟. 6-(4-取代苯基)-4,5-二氢-3(2H)-咪嗪酮类化合物的合成及其抑制血小板的作用[J]. 药学报, 1990, 25(8): 598.
- [3] Mikashima H, Nakao T, Goto K. Y-590 (A new pyridazinone derivative), a potent anti-thrombotic agent-I. Effect on platelet function[J]. Thromb Res, 1983, 31(4): 599.
- [4] 王恩思, 沈家聪. 新型强心药匹莫苯的合成[J]. 中国药物化学杂志, 1997, 7(3): 185.
- [5] Bom GVR. Aggregation of bloodplatelets by adenosine diphosphate and its reversal[J]. Nature, 1962, 194(4832): 927.

[收稿日期] 2011-05-10

[修回日期] 2011-08-26

(上接第357页)

3 讨论

3.1 阿奇霉素晶体的制备 以乙醇-水为溶剂体系可以制备出一水阿奇霉素晶体。结晶时如果改变体系的温度、压强或结晶方式,获得的固体阿奇霉素样品的DTA图谱及XRD图谱不同,这可为阿奇霉素多晶型的制备或生产提供理论参考。

3.2 分析方法比较 通过比较粉末X-ray衍射图谱可以看出,XRD图谱可以提供更加丰富、细致的粉末晶体的数据,但是无法从单一的图谱上区分化合物的晶体是单晶还是混晶,而借助DTA图谱,这种差异(峰位置、大小、形体、数量等)就显得简单、直观,不需要再通过与单晶的数据进行比较。在难以得到单晶数据的情况下,使用DTA及TG/DTG图谱表征、判断晶体的情况比XRD法更加方便。

从DTA和X-ray衍射图谱可以看出,以乙醇-水为溶剂,改变制备条件会得到不同晶型的阿奇霉素,可见在生产固体阿奇霉素的时候需要严格控制工艺参数。不同的阿奇霉素晶型具有不同的吸湿性^[6,7],多晶型的存在往往使临床准确用量产生困难,因而单一晶型的制备或混晶的纯化工作具有非

常现实的意义。

【参考文献】

- [1] 王英杰,李玉琴. 阿奇霉素的一般药理研究[J]. 山东医药工业, 2000, 19(1): 76.
- [2] Ghobad M, Hadi V, Mohammad BJ, et al. Development of azithromycin-PLGA nanoparticles; Physicochemical characterization and antibacterial effect against Salmonella typhi[J]. Colloid Surface B, 2010, 80: 34.
- [3] Gandhi R, Pillai O, Thilagavathi R, et al. Characterization of Azithromycin hydrates[J]. Eur J Pharm Sci, 2002, 16: 175.
- [4] Blanco M, Valdés D, Bayod MS, et al. Characterization and analysis of polymorphs by near-infrared spectrometry[J]. Anal Chim Acta, 2004, 502: 221.
- [5] Zhang Z, Zhu YH, Yang XL, et al. Preparation of azithromycin microcapsules by a layer-by-layer self-assembly approach and release behaviors of azithromycin[J]. Colloid Surface A, 2010, 362: 135.
- [6] 辉瑞产品公司. 阿奇霉素的晶型[P]. 中国专利. CN1780847A, 2006-05-31.
- [7] 韩国药品株式会社. 阿奇霉素水合物与1,2-丙二醇的包合物,其制备方法及其包含其的药物组合物[P]. 中国专利. CN1505629A, 2004-06-16.

[收稿日期] 2011-03-01

[修回日期] 2011-05-24