

## 6-[4-(取代氨基乙酰胺基苯基)]-4,5-二氢-3(2H)吡嗪酮类化合物的合成及其抗血小板聚集活性研究

柴晓云<sup>1</sup>, 张晨曦<sup>2</sup>, 胡宏岗<sup>1</sup>, 赵庆杰<sup>1</sup>, 但志刚<sup>1</sup>, 邹燕<sup>1</sup>, 俞世冲<sup>1</sup>, 吴秋业<sup>1</sup> (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 305 医院, 北京 100017)

**摘要** 目的: 合成新的含有氨基的吡嗪酮类化合物, 并研究其对抗血小板聚集活性的影响。方法: 以乙酰基为连接片段, 引入不同的取代氨基, 设计合成未见报道的目标化合物 8 个, 所有化合物均经过 <sup>1</sup>H-NMR 谱等确证; 体外药理实验参考 Born 方法进行。结果: 所有化合物都具有体外抑制血小板聚集的活性, 其中化合物 (1), (3) 和 (8) 的活性较强, 化合物 (3) 的活性是 MCI-154 的 6 倍。结论: 引入不同的取代氨基, 对化合物抑制血小板聚集的活性有影响。

**关键词** 化学合成; 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)05-0444-04

## Synthesis and antiplatelet aggregative activity of 6-[4-(substituted amino acet-amido-phenyl)]-4,5-dihydro-3(2H)-pyridazinones

CHAI Xiao-yun<sup>1</sup>, ZHANG Chen-xi<sup>2</sup>, HU Hong-gang<sup>1</sup>, ZHAO Qing-jie<sup>1</sup>, DAN Zhi-gang<sup>1</sup>, ZOU Yan<sup>1</sup>, YU Shi-chong<sup>1</sup>, WU Qiu-ye<sup>1</sup> (1. Department of Organic Chemistry, College of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. NO. 305 hospital of PLA, Beijing 100017, China)

**ABSTRACT Objective:** To synthesize new pyridazinone derivatives substituted by different amino groups. **Methods:** Eight target compounds were designed and synthesized by inletting different substituted amino groups connecting through the acetyl fragment. All of them were confirmed by <sup>1</sup>H-NMR spectra. Born method was applied for preliminary pharmacological test *in vitro*. **Results:** All of the target compounds were reported for the first time. The results of preliminary pharmacological test showed that all the target compounds exhibited potent antiplatelet aggregative activity to a certain extent. Compounds (1), (3) and (8) have better activities; compound (3) showed a 6 times higher activity than that of MCI-154. **Conclusion:** Inletting different substituted amino groups can enhance the antiplatelet aggregation activity of the compounds.

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

### 1 前言

血栓性疾病是一种常见的心脑血管病, 常表现为心肌梗死、缺血性脑梗死、静脉血栓栓塞。每年每千人中有 1~3 人发生不同形式的血栓性疾病, 严重影响人类健康。目前有效的血小板功能抑制剂对血栓栓塞性心脏血管疾病有明显的治疗学意义。但现有的抗血小板药由于其作用的局限性, 不能完全阻止病理状态下血小板的粘附聚集和血栓形成。因此, 临床上迫切需要高效、低毒的抗血小板药物。

吡嗪酮类化合物是一类具有多种生物活性的化

合物, 但其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。但吡嗪酮类化合物的研究一直发展缓慢。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 (PDE III), 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<sup>[1,2]</sup>, 现已发现多种抗血小板活性比较好的化合物如 MCI-154<sup>[3]</sup>、匹莫苯 (Pimobendan)<sup>[4]</sup>、左西孟旦 (Levosimendan)<sup>[5]</sup> 等。

对吡嗪酮类化合物的构效关系研究表明: ①吡嗪酮类化合物的吡嗪酮环为抗血小板聚集作用的必需结构, 吡嗪酮环中酰胺氮上的氢必须处于游离状态,

基金项目: 上海市长宁区科委科研项目 (20054Y17001); 上海市重点学科资助项目 (B906)。

作者简介: 柴晓云 (1982-), 女, 硕士研究生。

通讯作者: 吴秋业. E-mail: wuqysmmu@sohu.com.

烷基取代后活性降低或消失;②在哒嗪酮环 5 位引入取代基使抗血小板聚集活性大大增加,而在 4 位引入取代基则使活性减弱;③哒嗪酮环 6 位取代苯基的对位可以是吸电子基,也可以是供电子基,但必须处于

对位,生物活性好的化合物多呈链状结构<sup>[6]</sup>。我们在保留其活性基团的基础上,引入不同的取代胺基,设计合成了 8 个化合物,并对所合成的目标化合物进行了初步的体外药理实验,其合成路线见图 1。

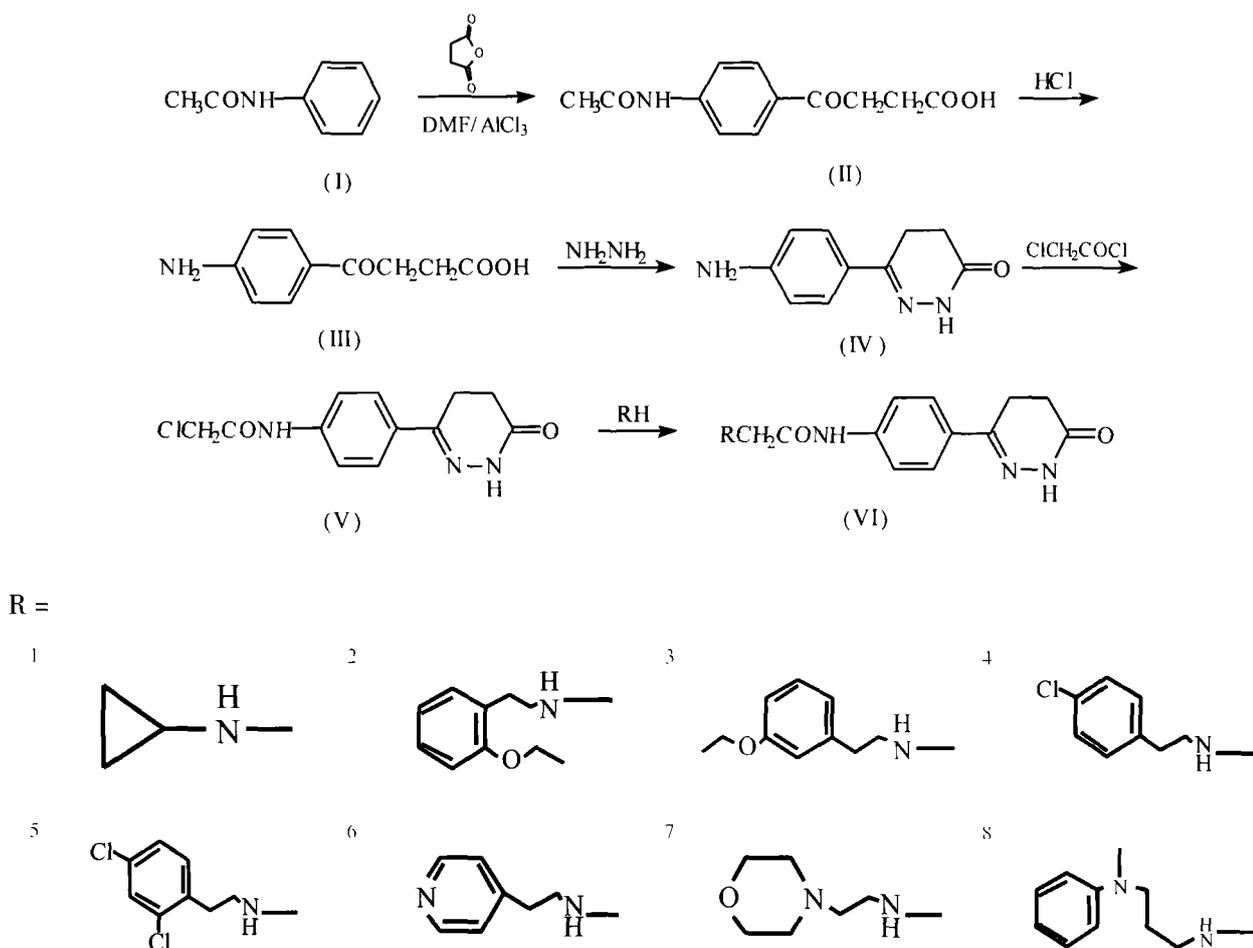


图 1 目标化合物的合成路线

## 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 Spectmspin AC - P300 型核磁共振仪测定,DMSO-d<sub>6</sub> 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 MCI-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。

### 2.2 目标化合物的合成

**2.2.1 6-[4-(对氯乙酰胺基)苯基]-4,5-二氢-3(2H)哒嗪酮的合成** 此中间体的合成参考文献方法制备<sup>[7]</sup>。

**2.2.2 制备 6-[4-(环丙胺基乙酰胺基)苯基]-4,5-二氢-3(2H)哒嗪酮(1)** 将 6-[4-(氯乙酰胺基)苯基]-4,5-二氢-3(2H)-哒嗪酮 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,室温条件下滴加环丙胺 0.06 g (1.05 mmol),反应约 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 0.20 g,产率 93%,熔点:173.9 ~ 174.9 °C。

其它目标化合物均按此法合成。

8 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。

**2.3 药理实验** 参考 Born 比浊法<sup>[8]</sup>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 IC<sub>50</sub>。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  $\mu\text{L}$ ,另1只加入 PRP 200  $\mu\text{L}$ ,置聚集仪中预热 5 min,分别向两杯中加入空白溶剂 DMSO 1  $\mu\text{L}$ ,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,加入至含 200  $\mu\text{L}$  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  $\text{IC}_{50}$ 。体外抑制血小板聚集的活性数据见表 2。

表 1 目标化合物的结构、物理常数和  $^1\text{H-NMR}$

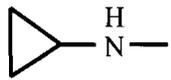
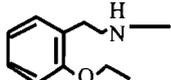
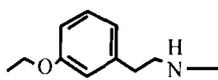
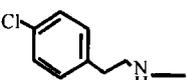
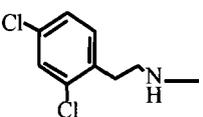
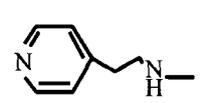
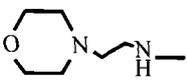
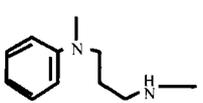
编号	R	mp ( $^{\circ}\text{C}$ )	得率 (%)	$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- $d_6$ ) $\delta$
1		173.9-174.9	93.0	0.30(2H, m, $\text{CH}_2$ ), 0.38(2H, m, $\text{CH}_2$ ), 2.18(1H, m, CH), 2.43(2H, t, $\text{CH}_2$ ), 2.92(2H, t, $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.35(2H, s, $\text{NCH}_2\text{CO}$ ), 7.66-7.71(4H, q, PhH), 9.83(1H, s, CONH), 10.76(1H, s, CONH)
2		114.3-115.1	70.0	1.29(3H, s, $\text{CH}_3$ ), 2.42(2H, t, $\text{CH}_2$ ), 2.72(2H, t, $\text{NCH}_2$ ), 2.78(2H, t, $\text{PhCH}_2$ ), 2.91(2H, t, $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.31(2H, s, $\text{NCH}_2\text{CO}$ ), 4.00(2H, q, $\text{OCH}_2$ ), 6.83-6.92(4H, m, PhH), 7.64-7.74(4H, q, PhH), 9.90(1H, s, CONH), 10.77(1H, s, CONH)
3		142.3-142.9	97.7	1.30(3H, t, $\text{CH}_3$ ), 2.43(2H, t, $\text{CH}_2$ ), 2.71(2H, t, $\text{NCH}_2$ ), 2.80(2H, t, $\text{PhCH}_2$ ), 2.91(2H, t, $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.31(2H, s, $\text{NCH}_2\text{CO}$ ), 3.98(2H, q, $\text{OCH}_2$ ), 6.74-7.20(4H, m, OPhH), 7.56-7.69(4H, q, PhH), 9.90(1H, s, CONH), 10.77(1H, s, CONH)
4		137.6-138.2	96.6	2.42(2H, t, $\text{CH}_2$ ), 2.72(2H, t, $\text{NCH}_2$ ), 2.80(2H, t, $\text{PhCH}_2$ ), 2.91(2H, t, $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.30(2H, s, $\text{NCH}_2\text{CO}$ ), 7.26-7.34(4H, m, PhH), 7.54-7.69(4H, q, PhH), 9.79(1H, s, CONH), 10.74(1H, s, CONH)
5		69.2-70.1	43.8	2.43(2H, t, $\text{CH}_2$ ), 2.81(2H, t, $\text{NCH}_2$ ), 2.84(2H, t, $\text{PhCH}_2$ ), 2.92(2H, t, $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.33(2H, s, $\text{NCH}_2\text{CO}$ ), 7.34-7.53(3H, m, PhH), 7.57-7.70(4H, q, PhH), 9.90(1H, s, CONH), 10.72(1H, s, CONH)
6		122.0-123.6	84.6	2.43(2H, t, $\text{CH}_2$ ), 2.77(2H, t, $\text{NCH}_2$ ), 2.85(2H, t, ), 2.92(2H, t, $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.32(2H, s, $\text{NCH}_2\text{CO}$ ), 7.26-8.46(4H, m, ), 7.57-7.70(4H, q, PhH), 9.90(1H, s, CONH), 10.77(1H, s, CONH)
7		120.8-122.3	88.9	2.36(4H, t, $\text{NCH}_2$ ), 2.41(2H, t, $\text{NCH}_2$ ), 2.43(2H, t, $\text{CH}_2$ ), 2.66(2H, t, $\text{NCH}_2$ ), 2.92(2H, t, $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.32(2H, s, $\text{NCH}_2\text{CO}$ ), 3.56(4H, t, $\text{OCH}_2$ ), 7.65-7.71(4H, m, PhH), 9.90(1H, s, CONH), 10.76(1H, s, CONH)
8		89.6-90.1	63.3	1.68(2H, m, $\text{CH}_2$ ), 2.43(2H, t, $\text{CH}_2$ ), 2.60(2H, t, $\text{NCH}_2$ ), 2.87(3H, s, $\text{CH}_3$ ), 2.92(2H, t, $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.30(2H, s, $\text{NCH}_2\text{CO}$ ), 3.38(2H, t, $\text{NCH}_2$ ), 6.56-7.16(5H, m, PhH), 7.65-7.71(4H, q, PhH), 9.90(1H, s, CONH), 10.73(1H, s, CONH)

表 2 目标化合物的  $\text{IC}_{50}$  值

编号	$\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol})$	编号	$\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol})$
1	4.35	6	5.36
2	7.01	7	4.60
3	2.28	8	4.16
4	8.20	MCI-154	13.95
5	8.69		

### 3 结果与讨论

初步的体外药理实验结果表明,所有目标化合物均有不同程度的抑制 ADP 诱导的新西兰大白兔血小板聚集活性,且活性都比对照物 MCI-154 强,其

中化合物 (3) 的  $\text{IC}_{50}$  值为 2.28  $\mu\text{mol/L}$ ,是对照物 MCI-154 的 6 倍,化合物 (1) 和 (8) 的  $\text{IC}_{50}$  值分别为 4.35 和 4.16  $\mu\text{mol/L}$ ,抗血小板聚集活性也明显比参照化合物强(参照化合物 MCI-154 的  $\text{IC}_{50}$  为 13.95  $\mu\text{mol/L}$ )。

综合以上药理活性结果分析,引入环丙胺基等脂肪胺基,化合物的活性较好,当在脂肪胺引入芳环时,间位取代活性最好,邻位对位取代活性较差。由于合成目标化合物的数量有限,尚不能得出构效关系的结论,有待于进一步的研究工作。

(下转第 467 页)

治(小牛血去蛋白提取物)组液体时,患者出现全身发冷、发抖,并有出汗现象,神志清楚,HR 108 次/分,BP 168/105 mmHg,立即停止输液,更换输液器具,予以静滴 0.9% 氯化钠注射液,静注地塞米松 5 mg。10 min 后,患者发冷、发抖症状明显减轻,HR 98 次/分,BP 160/80 mmHg,护士已封存残余液体,怀疑是爱维治的输液反应。笔者查阅病历发现,患者为脑梗塞后康复期,当天静滴的药物分别是舒血宁、奥扎格雷、爱维治,爱维治已是最后一组液体。笔者再赶到病床前观察病人,约 20 min 后,患者症状完全消失,仔细询问陪护家属发生反应的前后经过,得知在开始静滴第二组液体奥扎格雷时,患者已出现轻微发冷不适症状,但当时未告知护士,随后症状逐渐加重。因此,笔者考虑患者的反应很可能是舒血宁(10 mL 的舒血宁加入 100 mL 0.9% 氯化钠注射液中)所致,患者高龄,使用中药注射剂易致不良反应,将情况反馈临床,建议停用舒血宁。第二天,医嘱停用舒血宁后,果然患者继续使用奥扎格雷、爱维治未出现不适反应。而后残余的爱维治液体经送检亦未发现异常情况。通过药师深入临床,解决临床用药过程中的问题,体现出药师的工作价值。

#### 4 切入点之四:及时、全面、准确地提供药学咨询服务,解决临床用药疑问

深入开展药学咨询服务,对临床科室反映的问题或临床用药中的疑问,临床药师应予以及时、全面的解答。透析中心的护士长咨询,近期个别血透病人反复出现高血钾,未能查明原因,询问是否和服用中药降磷散有关。经过查阅相关文献后,笔者认为,降磷散成分是海螵蛸,其入药部分每克含钾 0.423 mg<sup>[2]</sup>,按每日 10 g 的使用量,摄入钾为 4 mg,不足

以成为患者高血钾的主要原因。血透病人反复高血钾的原因,一是外源性钾摄入过多,包括含钾丰富的食物或药物如血管紧张素转换酶抑制剂、重组人红细胞生成素、中药饮片(这几个患者均服用中药煎液),二是内源性原因,是否存在透析不充分、酸中毒、合并局部或全身感染等高分解代谢状态,这些情况均可导致血钾升高。因病人除高血钾外暂无特殊状况,笔者建议,①仔细调查病人的饮食状况;②药物使用是否严格遵照医嘱;③行血气分析,查有无酸中毒,血浆 pH 每下降 0.1,血钾可升高 0.6~0.8 mmol/L<sup>[3]</sup>;可以考虑暂停中药的辅助治疗。对此答复,护士长表示满意和感谢。

体会:临床药师要成为医疗团队中的一分子,在不断完善和提高自身专业素养的同时,应不畏艰苦,深入临床一线,可通过上述工作方式,积极寻求与医师、护士的良好合作。沟通是第一要素,尤其是面对医师、护士的咨询时,应尽最大限度做到及时、准确、全面,这为今后进一步的协作打下很好的基础。同时,临床药师要耐心地直接面对病人,可以获知真实的第一手资料,有助于分析判断。另外,临床药师在提出自己的建议时,应注意时机、措词、语气,让对方认识到双方的工作目的是是一致的,切忌给人以生硬、命令式的感觉,从而避免产生不必要的误会。

#### 参考文献:

- [1] 李秋,艾华,王珊,等.开展医院药学服务的有效方法探讨[J].医药导报,2005,24(5):455.
- [2] 赵云涛,李琨,黄燕,等.海螵蛸入药部分和废弃部分 8 种无机元素分析[J].微量元素与健康研究,2003,20(2):26
- [3] 赵武,李旭萍,付宇,等.终末期肾病维持性血液透析患者高钾血症 62 例抢救分析[J].中国综合临床,2006,22(3):206.

收稿日期:2008-05-14

(上接第 446 页)

#### 参考文献:

- [1] 赵东明,刘超美.6-取代乙酰氨基哌嗪苯基二氢吡嗪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] 王腾,王礼琛,董颖.吡嗪酮类化合物的药用研究进展[J].药学进展,2006,30(6):246.
- [3] Yang Guangming, Liu Liangming, Xu Jing. Effects of MCI-154 on Vascular Reactivity and Its Mechanisms After Hemorrhagic Shock in Rats [J]. Journal of Cardiovascular Pharmacology, 2006, 47(6), 751.
- [4] Thompson Philip E, Manganiello Vincent, Degerman Eva. Rediscovering PDE3 inhibitors-new opportunities for a long neglected target [J]. Current Topics in Medicinal Chemistry (Sharjah, United Arab Emirates), 2007, 7(4), 421.

ted target [J]. Current Topics in Medicinal Chemistry (Sharjah, United Arab Emirates), 2007, 7(4), 421.

- [5] De Hert Stefan G, Lorsonradee Suraphong, Cromheecke Stefanie, 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] 任海洋,吴秋业,宋炳生,等.二氢吡嗪酮类化合物的研究进展[J].华西药理学杂志,2003,8(5):356.
- [7] 蔡灵芝,徐建明,吴秋业,等.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抗血小板凝集活性[J].中国药物化学杂志,2007,17(4):209.
- [8] Born GVR Aggregation of bloodplatelets by adenosine diphosphate and its reversal [J]. Nature, 1962, 164(4832): 927.

收稿日期:2008-10-08