

哒嗪酮类化合物的合成及其抗血小板聚集活性

章杰兵<sup>1</sup>, 柴晓云<sup>2</sup>, 俞世冲<sup>2</sup>, 古卓良<sup>1</sup>, 周国华<sup>1</sup>

1. 南京军区联勤部药品仪器检验所, 南京 210002
2. 第二军医大学药学院有机化学教研室, 上海 200433

**[摘要]** **目的:** 研究不同取代氨基侧链的引入对哒嗪酮类化合物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, 设计合成一系列化合物; 体外药理实验参考 Born 方法进行。**结果:** 设计合成了 10 个目标化合物, 其中 8 个未见报道, 所有化合物均经过<sup>1</sup>HNMR 等确证; 所有化合物都具有抗血小板聚集的活性, 其中化合物(6f)、(6g)、(6h)和(6j)的抗血小板聚集活性较强, 化合物(6g)和(6j)的活性是 6-[4-(吡啶基-4-氨基)苯基]-4,5-二氢-3(2H)哒嗪酮(MCI-154)的 5 倍。**结论:** 引入不同的取代氨基对哒嗪酮类化合物抗血小板聚集的活性有影响。

**[关键词]** 化学合成; 哒嗪酮类; 血小板聚集抑制剂; 体外研究

**[中图分类号]** R 973.2      **[文献标志码]** A      **[文章编号]** 0258-879X(2009)07-0821-04

Synthesis of pyridazinone derivatives and study of their antiplatelet aggregation activity

ZHANG Jie-bing<sup>1</sup>, CHAI Xiao-yun<sup>2</sup>, YU Shi-chong<sup>2</sup>, GU Zhuo-liang<sup>1</sup>, ZHOU Guo-hua<sup>1</sup>

1. Institute of Drug and Instrument Inspection, Joint Service Division of PLA Nanjing Military Area Command, Nanjing 210002, China
2. Department of Organic Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433

**[ABSTRACT]** **Objective:** To study the influence of different amino group introductions on the antiplatelet aggregation activities of pyridazinone derivatives. **Methods:** The target compounds were designed and synthesized by inletting different substitution amino groups using acetyl fragment as the connecting segment. Born method was used for preliminary pharmacological test *in vitro*. **Results:** Ten target compounds were designed and synthesized; 8 of them were reported firstly and all of them were confirmed by <sup>1</sup>HNMR spectra. The results of preliminary pharmacological test showed that all the target compounds exhibited potent antiplatelet aggregation activity. The antiaggregation activities of compounds (6f), (6g), (6h) and (6j) were stong; compounds (6g) and (6j) showed a 5-time higher activity than 6-[4-(pyridin-4-yl-amino) phenyl]-4, 5-dihydro-3 (2H)-pyridazinone (MCI-154). **Conclusion:** Inletting different substitution amino groups can enhance the antiplatelet aggregation activity of the compounds.

**[KEY WORDS]** chemical synthesis; pyridazinones; platelet aggregation inhibitors; *in vitro*

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(7):821-824]

心脑血管疾病是严重威胁人类生命健康的主要病症之一, 具有发病率高、致残率高、死亡率高、复发率高、并发症多的特点。全世界每年死于心脑血管疾病的人数高达 1 500 万人, 居各种死因首位。目前, 我国心脑血管疾病患者已经超过 2.7 亿人。研究表明, 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。

哒嗪酮类化合物有很好的抗血小板聚集的作

用, 能有效地治疗血栓栓塞性疾病。现已发现多种抗血小板聚集活性比较好的哒嗪酮类化合物, 如 6-[4-(吡啶基-4-氨基)苯基]-4,5-二氢-3(2H)哒嗪酮(MCI-154)<sup>[1]</sup>、左西孟旦(levosimendan)<sup>[2]</sup>、匹莫苯(pimobendan)<sup>[3]</sup>等。此类化合物的主要作用机制是通过抑制细胞 cAMP 磷酸二酯酶Ⅲ(PDEⅢ), 提高 cAMP 的水平, 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>[4-5]</sup>。

我们根据哒嗪酮类化合物的作用机制和构效关

**[收稿日期]** 2009-02-20      **[接受日期]** 2009-03-13

**[基金项目]** 上海市长宁区科委科研项目(20054Y17001). Supported by Program of Science and Technology Committee of Changning District, Shanghai(20054Y17001).

**[作者简介]** 章杰兵, 副主任药师. E-mail: Jbz2007@yahoo. com. cn

系,以 MCI-154 为先导化合物,保留了吡嗪酮类化合物的基本药效基团:吡嗪酮环、吡嗪酮环 2-位游离氢,吡嗪酮环 6-位取代苯基,取代苯基的对位取代,设计合成了具有 MCI-154 母核的一系列化合物。我们在吡嗪酮 6-位苯基的对位引入不同取代的氨基侧链,以期得到高效、低毒的抗血小板聚集活性药物。

## 1 仪器和试剂

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。元素分析采用 Elementa Vario EL III 型元素分析仪测定。对照品 MCI-154 由第二军医大学药学院有机化学教研室合成,纯度>98%。所用试剂均为市售分析纯。

## 2 方法和结果

以乙酰苯胺(1)为起始原料,经傅-克反应、水解反应及水合肼环合反应得到中间体 6-(4-氨基苯基)-4,5-二氢-3(2H)-吡嗪酮(4)。(4)与氯乙酰氯反应后得中间体(5)<sup>[6]</sup>,中间体(5)与不同取代的氨基反应得到目标化合物 6a~6j。合成路线见图 1。

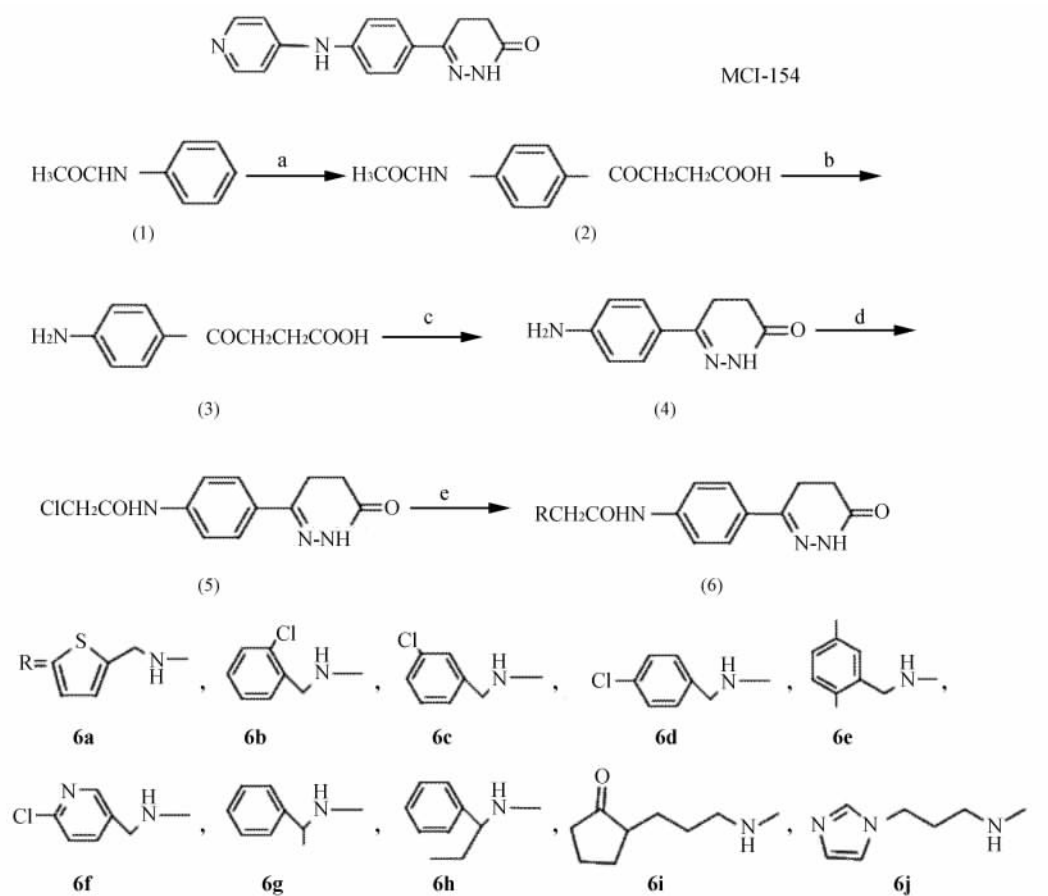


图 1 化合物的合成路线

Fig 1 Synthetic route of title compounds

Conditions; a: AlCl<sub>3</sub>, succinic anhydride, DMF, 70℃; b: Hydrochloric acid, reflux 2 h; c: 85% hydrazine hydrate, ethanol, reflux 6 h; d: Chloroacetyl chloride, toluene, reflux 6 h; e: Secondary amine, toluene

2.1 3-(4-乙酰氨基苯甲酰基)-丙酸(2)的制备 将无水氯化铝 133.5 g(1.0 mol)、乙酰苯胺(1)13.5 g(0.1 mol)倒入三颈瓶中,搅拌条件下逐滴加入 N,N-二甲基甲酰胺 20 ml(2.5 mol),然后再分批加入琥珀酸酐 10.0 g(0.1 mol),搅拌,升温到 70℃(外

浴)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,得粗品。用 N,N-二甲基甲酰胺/水重结晶,得到米黄色固体(2),过滤烘干得 14.5 g,收率 61.7%,m. p. 为 203.4~205.0℃(文献[6]值:202~

203℃)。

2.2 3-(4-氨基苯甲酰基)-丙酸(**3**)的制备 将3-(4-乙酰氨基苯甲酰基)-丙酸(**2**) 22.4 g(0.01 mol)放入三颈瓶中,加入浓盐酸 100 ml,搅拌,加毕升温至 110℃,回流反应 2 h,反应毕,放冷,加冰适量,用无水碳酸钠调节 pH 值为 4 左右,放置使固体析出完全,过滤,水洗数次直至中性,得浅棕色固体(**3**),烘干得 17.6 g,收率 95.7%,m. p. 为 186.5~188.3℃(dec.)(文献[6]值:186~188℃)。

2.3 6-(4-氨基苯基)-4,5-二氢-3(2H)-哒嗪酮(**4**)的制备 将3-(4-氨基苯甲酰基)-丙酸(**3**) 11.6 g(0.06 mol),85%(W/V)水合肼 3.6 g(0.072 mol)和 150 ml 无水乙醇放入 250 ml 三颈瓶中,加热回流反应 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,得褐色固体(**4**),烘干得 8.7 g,收率 76.6%,m. p. 为 237.2~238.8℃(氧化分解)(文献[6]值:237~238℃)。

2.4 6-(4-对氯乙酰氨基苯基)-4,5-二氢-3(2H)-哒嗪酮(**5**)的制备 将6-(4-氨基苯基)-4,5-二氢-3(2H)-哒嗪酮(**4**) 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(0.14 mol),加热回流反应 6 h,反应毕冷却过滤,分别用甲苯和水洗数次,用 N,N-二甲基甲酰胺/水重结晶,得类白色固体(**5**),烘干得 17.7 g,收率 93.4%,m. p. 为 227.9~229.7℃(文献[6]值:227~229℃)。

2.5 6-[4-(对氯苯甲胺基乙酰氨基)苯基]-4,5-二氢-3(2H)哒嗪酮(**6a**)的制备 将6-[4-(氯乙酰氨基)苯基]-4,5-二氢-3(2H)-哒嗪酮(**5**)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 2-氨基苯噻吩 0.10 g(0.92 mmol),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 0.17 g,产率 69.2%,m. p. 为 133.3~134.4℃。其他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,其物理数据见表 1。

2.6 药理实验 参考 Born 比浊法<sup>[7]</sup>测定对照物 MCI-154 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)℃,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,加入至含 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 IC<sub>50</sub>。化合物 **6a**~**6j** 的 IC<sub>50</sub> 值分别为 6.86、6.53、7.79、6.95、7.08、4.40、2.81、4.15、6.53、2.59 μmol/L,参照化合物 MCI-154 的 IC<sub>50</sub> 值为 13.95 μmol/L。

初步的体外药理实验结果显示,所有目标化合物均不同程度地抑制 ADP 诱导的新西兰大白兔血小板聚集活性,且活性均比对照物 MCI-154 强。其中化合物(**6g**)和(**6j**)的 IC<sub>50</sub> 值分别为 2.81 和 2.59 μmol/L,是对照物 MCI-154 的 5 倍,化合物(**6f**)和(**6h**)的 IC<sub>50</sub> 值分别为 4.40 和 4.15 μmol/L,抗血小板聚集活性也明显比参照化合物强。

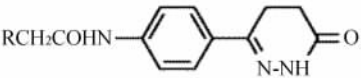
### 3 讨论

测试结果表明,本课题设计合成的 10 个目标化合物均有不同程度地抑制 ADP 诱导的新西兰大白兔血小板聚集活性,且活性均比对照物 MCI-154 强,说明酰胺侧链的引入有利于化合物活性的提高。从以上几个目标化合物结构和活性来看,引入的侧链中都有氨基,且化合物活性较 MCI-154 活性好,可能是侧链氨基上氮原子容易生成氢键,有利于化合物与受体的结合。另外,引入侧链中的芳环和其他杂环都是疏水性基团,可能疏水侧链的引入对化合物的活性也是有利的。由于合成目标化合物的数量有限,其构效关系还有待进一步研究。

(志谢 感谢第二军医大学药学院仪器测试中心、上海医药工业研究院仪器室的各位老师对化合物结构鉴定方面给予的大力帮助)

表 1 目标化合物的母核结构及物理数据

Tab 1 Parent nucleus,physical properties and <sup>1</sup>HNMR spectral data of target compounds



| Compd. | m.p. θ/℃    | Yield(%) | Elem. Anal                        | <sup>1</sup> HNMR(DMSO-d <sub>6</sub> )δ                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|--------|-------------|----------|-----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 6a     | 133.3-134.4 | 69.2     | C: 59.38,<br>H: 5.22,<br>N: 16.57 | 2.45 (2H, t, CH <sub>2</sub> ), 2.91 (2H, t, CH <sub>2</sub> CO), 3.25 (2H, d, NHCH <sub>2</sub> CO), 3.96 (2H, s, Thiophene-CH <sub>2</sub> ), 6.96-7.40 (3H, m, Thiophene-H), 7.65-7.72 (4H, q, PhH), 9.90 (1H, s, CONH), 10.77 (1H, s, CONH)                                                              |
| 6b     | 186.6-187.8 | 85.7     | C: 61.45,<br>H: 4.95,<br>N: 15.39 | 2.43 (2H, t, CH <sub>2</sub> ), 2.92 (2H, t, CH <sub>2</sub> CO), 3.35 (2H, s, NCH <sub>2</sub> CO), 3.86 (2H, s, PhCH <sub>2</sub> ), 7.26-7.58 (4H, m, PhH), 7.64-7.71 (4H, q, PhH), 9.91 (1H, s, CONH), 10.77 (1H, s, CONH)                                                                               |
| 6c     | 128.5-129.8 | 60.7     | C: 61.74,<br>H: 4.99,<br>N: 15.02 | 2.43 (2H, t, CH <sub>2</sub> ), 2.91 (2H, t, CH <sub>2</sub> CO), 3.31 (2H, s, NCH <sub>2</sub> CO), 3.79 (2H, s, PhCH <sub>2</sub> ), 7.33-8.56 (4H, m, PhH), 7.67-7.79 (4H, q, PhH), 9.90 (1H, s, CONH), 10.77 (1H, s, CONH)                                                                               |
| 6d     | 172.5-173.2 | 92.9     | C: 61.29,<br>H: 5.22,<br>N:14.99  | 2.42 (2H, t, CH <sub>2</sub> ), 2.90 (2H, t, CH <sub>2</sub> CO), 3.27 (2H, s, NCH <sub>2</sub> CO), 2.71 (2H, s, PhCH <sub>2</sub> ), 7.35-7.38 (4H, m, ClPhH), 7.64-7.71 (4H, m, PhH), 9.90 (1H, s, CONH), 10.77 (1H, s, CONH)                                                                             |
| 6e     | 173.5-174.5 | 85.2     | C: 69.37,<br>H: 6.44,<br>N: 15.33 | 2.26 (6H, s, PhCH <sub>3</sub> ), 2.44, (2H, t, CH <sub>2</sub> ), 2.92 (2H, t, CH <sub>2</sub> CO), 3.34 (2H, s, NCH <sub>2</sub> CO), 3.69 (H, s, PhCH <sub>2</sub> ), 6.94-7.14 (3H, m, PhH), 7.65-7.72 (4H, q, PhH), 9.90 (1H, s, CONH), 10.77 (1H, s, CONH)                                             |
| 6f     | 195.0-196.8 | 82.1     | C: 58.12,<br>H: 4.94,<br>N: 18.71 | 2.43 (2H, t, CH <sub>2</sub> ), 2.92 (2H, t, CH <sub>2</sub> CO), 3.31 (2H, s, NCH <sub>2</sub> CO), 3.79 (2H, s, NCH <sub>2</sub> ), 7.45-8.39 (3H, m, Pyridine-H), 7.65-7.71 (4H, m, PhH), 9.88 (1H, s, CONH), 10.77 (1H, s, CONH)                                                                         |
| 6g     | 151.1-152.3 | 88.5     | C: 68.26,<br>H: 6.34,<br>N: 15.73 | 1.32 (3H, d, CH <sub>3</sub> ), 2.43 (2H, t, CH <sub>2</sub> ), 2.92 (2H, t, CH <sub>2</sub> CO),3.18(2H, s, NCH <sub>2</sub> CO), 3.76 (1H, q,CH), 7.19-7.36 (5H, m, PhH), 7.36-7.69 (4H, q,PhH), 9.82(1H, s, CONH), 10.73 (1H, s, CONH)                                                                    |
| 6h     | 148.2-149.0 | 59.3     | C: 69.37,<br>H: 6.89,<br>N: 15.64 | 0.79 (3H, t, CH <sub>3</sub> ), 1.68 (2H, m, CH <sub>2</sub> ), 2.42 (2H, t, CH <sub>2</sub> ), 2.91 (2H, t, CH <sub>2</sub> CO), 3.17 (2H, q, NCH <sub>2</sub> CO), 3.52 (1H, t, CH), 7.22-7.34 (5H, m, PhH), 7.61-7.70 (4H, q, PhH), 9.86 (1H, s, CONH), 10.76 (1H, s, CONH)                               |
| 6i     | 186.0-187.4 | 67.5     | C: 61.29,<br>H: 6.66,<br>N: 18.69 | 1.64-1.69 (2H, m, CH <sub>2</sub> ), 1.92-1.95 (2H, m, CH <sub>2</sub> ), 2.21-2.26 (2H, t, CH <sub>2</sub> ), 2.47-2.57 (8H, m, 4CH <sub>2</sub> ), 2.94-2.98 (2H, t, CH <sub>2</sub> ), 3.35-3.38 (2H, t, CH <sub>2</sub> ), 7.74-7.76 (4H, s, PhH), 9.91 (1H, b <sub>r</sub> , CONH), 10.80 (1H, s, CONH) |
| 6j     | 201.2-202.8 | 82.3     | C: 60.87,<br>H: 6.13,<br>N: 23.58 | 1.62-1.66 (8H, m, CH <sub>2</sub> ), 2.45 (2H, t, CH <sub>2</sub> ), 2.73 (4H, t, NCH <sub>2</sub> ), 2.96 (2H, t, CH <sub>2</sub> CO), 3.28 (2H, s, NCH <sub>2</sub> CO), 7.70 (4H, s, PhH), 9.73 (1H, s, CONH), 10.76 (1H, s, CONH)                                                                        |

[参考文献]

[1] Yang G M, Liu L M, Xu J, Li T. Effects of MCI-154 on vascular reactivity and its mechanisms after hemorrhagic shock in rats [J]. J Cardio Pharmacol, 2006, 47, 751-757.

[2] De Hert S G, Lørsomradee S, Cromheecke S, Van der Linden P J. The Effects of levosimendan in cardiac surgery patients with poor left ventricular function[J]. Anesth Analg, 2007, 104, 766-773.

[3] Thompson P E, Manganiello V, Degerman E. Re-discovering PDE3 inhibitors—new opportunities for a long neglected target [J]. Cur Topics Med Chem, 2007, 7, 421-436.

[4] 王 腾,王礼琛,董 颖. 哒嗪酮类化合物的药用研究近况[J]. 药学进展, 2006, 30: 246-251.

[5] 蔡灵芝,徐建明,胡宏岗,宋 琰,孙 亮,俞世冲,等. 6-(4-取代乙酰氨基苯基)-4,5-二氢-3(2H)-哒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: 209-212.

[6] Thyes M, Lehmann H D, Gries J, Koenig H, Kretzschmar R, Kunze 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: 800-807.

[7] Born G V R. Aggregation of bloodplatelets by adenosine diphosphate and its reversal[J]. Nature, 1962, 194: 927-929.