

3-羟基-1(3H)-异苯并硒吩酮的合成及其 抗血小板聚集和抗氧化活性

方建根¹, 王旭亮¹, 凌菁菁², 尹伟¹, 徐进宜^{3*}, 季晖^{2**}, 张奕华¹

(中国药科大学¹新药研究中心; ²药理学教研室; ³药物化学教研室, 南京 210009)

摘要 邻苯二甲酰氯(1)与硒氢化铝锂反应制备1,3-异苯并硒吩二酮(2),然后与格式试剂加成、水解得3-羟基-3-羟基-1(3H)-异苯并硒吩酮(**3a~3h**),最后在氢碘酸作用下得到目标化合物**4a~4h**,结构经MS及¹H NMR确证。采用Born氏比浊法检测目标物对二磷酸腺苷(ADP)诱导的血小板聚集抑制活性;采用黄嘌呤氧化酶法和邻二氮菲法检测目标化合物的抗氧化活性。结果表明,化合物**4a~4h**对ADP诱导的血小板聚集显示了不同程度的抑制作用,其中化合物**4f**的血小板聚集抑制活性最强,优于丁苯酞。此外,化合物**4f**还显示了较强的体外清除羟基自由基的能力,活性与依达拉奉相当,值得进一步研究。

关键词 丁苯酞; 硒代; 合成; 抗血小板聚集活性; 自由基; 抗氧化活性

中图分类号 R914; R965 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2015)05-0552-04

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20150506

Synthesis and antiplatelet aggregation/antioxidant activity of 3-alkyl-benzo[c] selenophen-1(3H)-ones

FANG Jiangen¹, WANG Xuliang¹, LING Jingjing², YIN Wei¹, XU Jinyi^{3*}, JI Hui^{2**}, ZHANG Yihua¹

¹Center of Drug Discovery; ²Department of Pharmacology; ³Department of Medicinal Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract Phthaloyl dichloride (**1**) was reacted with LiAlSeH₂ to give benzo[*c*] selenophene-1, 3-dione (**2**), which was treated with the Grignard reagents to generate hydroxyl compounds **3a~3h**. These compounds were finally converted to target products **4a~4h** by treatment with hydriodic acid. The structures of **4a~4h** were confirmed by MS and ¹H NMR. Their inhibitory activity against adenosine diphosphate (ADP)-induced platelet aggregation was evaluated by Born's turbidimetric assay; free radical scavenging activity was assayed by xanthine oxidase method and 1, 10-phenanthroline spectrophotometric method. It was found that compound **4f** displayed more potent inhibitory effect on platelet aggregation than 3-*n*-butylphthalide and comparable hydroxyl free radical scavenging activity *in vitro* to that of edaravone. Therefore, compound **4f** might be the candidate for further investigation.

Key words 3-*n*-butylphthalide; selenium substitution; synthesis; antiplatelet aggregation activity; free radical; antioxidant activity

动脉粥样硬化、血栓形成等是导致缺血性脑卒中的重要病理基础^[1]。目前治疗此类疾病的主要手段之一是使用抗血栓药物,其中抗血小板药物占有极其重要的地位^[2]。但是现有的药物并不能取得令人满意的疗效,故寻找新型抗血小板聚集化合物已成为研发抗缺血性脑卒中药物

的热点之一^[3]。3-正丁基-1(3H)-异苯并呋喃酮,简称丁苯酞(NBP),是我国研制并用于缺血性脑卒中治疗的一类新药。NBP具有抗血小板聚集、抗氧化等作用,可阻断缺血性脑卒中所致脑损伤的多个病理环节,具有较强的抗脑缺血、缩小脑梗死面积、减轻脑水肿、保护脑神经等功

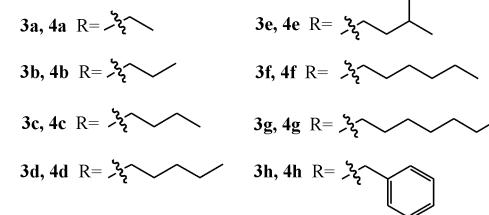
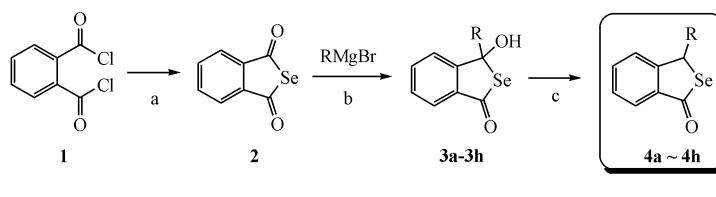
效^[4]。NBP 虽然用药安全,但需要与其他抗血小板聚集、抗氧化药物等联用才能发挥更好的疗效^[5]。因此,寻找活性更强的抗血小板聚集和抗氧化活性的化合物具有重要意义。

生物电子等排取代是对先导化合物进行优化的有效策略之一。本课题组先前曾运用此原理,将 NBP 的 2 位氧用硫原子取代,同时在苯环的 3 位引入不同的烃基,合成了一系列 3-羟基-1(3H)-异苯并噻吩酮化合物^[6]。药理研究结果显示,大多数化合物比 NBP 具有更强的抗血小板聚集、抗血栓和抗氧化活性。考虑到硒和氧、硫同属第 VIA 族元素,且硒类化合物已被发现具有抗氧化、抗炎和保护心脑血管活性^[7],本研究将硒原子取代 1(3H)-

异苯并呋喃酮的 2 位氧原子,同时在 3 位引入不同的烃基侧链进行修饰,设计、合成了 8 个 3-羟基-1(3H)-异苯并硒吩酮化合物,期望它们比 NBP 具有更强的抗血小板聚集和抗氧化活性。

1 目标化合物的合成路线

以邻苯二甲酰氯 1 为起始原料,与硒氢化铝锂 (LiAlSeH_2) 反应,制得 1,3-异苯并硒吩二酮 2,再与不同的格氏试剂发生加成、水解反应,得到中间体 3-羟基-3-烃基-1(3H)-异苯并硒吩酮 3a~3h,最后与 57% 氢碘酸发生脱水、还原反应,得到目标化合物 4a~4h(路线 1)。所有目标物均未见文献报道,结构经 MS 及 ^1H NMR 确证。



Scheme 1 Synthetic route of the target compounds

Reagents and conditions: (a) LiAlSeH_2 , THF, r. t., 5 h; (b) ether, reflux, 2 h, r. t., 6 h; (c) AcOH , aqueous HI (57%), 125°C , 1 h

2 合成实验

熔点采用 RY-1 熔点仪测定(温度未校正);质谱采用 Hewlett-Packard 1100 LC/MSD 质谱仪测定;核磁共振氢谱采用 Bruker-ACF 300Q 型核磁共振仪测定(CDCl_3 为溶剂,TMS 为内标)。实验所用试剂均为市售化学纯或分析纯,除特别说明外,不经处理直接使用。

2.1 1,3-异苯并硒吩二酮(2)的合成

在含无水四氢呋喃 50 mL 的 250 mL 圆底烧瓶中加入硒粉(10.4 g, 0.13 mol)和氢化铝锂(5.0 g, 0.13 mol),0 ℃ 下搅拌 0.5 h, 制得硒氢化铝锂(LiAlSeH_2),然后向反应体系中加入邻苯二甲酰氯(1)26.4 g(0.13 mol),室温搅拌 5 h。反应结束后,小心加入水 150 mL,水层用乙酸乙酯(50 mL × 3)萃取,合并有机相, Na_2SO_4 干燥,过滤,快速柱色谱(乙酸乙酯-石油醚,1:20),分离得到黄色油状物 3a~3g 和黄色固体 3 h($\text{mp}:64\sim66^\circ\text{C}$)。化合物 3a~3h 的收率、质谱及核磁共振氢谱数据见表 1。

2.2 3-羟基-3-烃基-1(3H)-异苯并硒吩酮(3a~3h)的合成通法

向含中间体 2(1.0 mol)的无水乙醚溶液 250 mL 中逐滴加入相应的格氏试剂(1.5 mol),滴毕,加热回流 2 h,冷却至室温搅拌 6 h。向反应液中小心加入饱和氯化铵溶液 150 mL 淬灭反应,然后加入 2 mol/L HCl 调 pH 2~3,分出有机相,无水 Na_2SO_4 干燥,过滤,快速柱色谱(乙酸乙酯-石油醚,1:20),分离得到黄色油状物 3a~3g 和黄色固体 3 h($\text{mp}:64\sim66^\circ\text{C}$)。化合物 3a~3h 的收率、质谱及核磁共振氢谱数据见表 1。

2.3 3-烃基-1(3H)-异苯并硒吩酮(4a~4h)的合成通法

将中间体 3a~3h(1.0 mol)溶于冰醋酸 10 mL 中,加入 57% 氢碘酸溶液 5 mL,升温至 125°C 回流 1 h,冷却后向反应混合液中加入 5% NaHSO_3 溶液 50 mL,乙醚(50 mL × 3)萃取,合并有机层,无水 Na_2SO_4 干燥,过滤,快速柱色谱(乙酸乙酯-石油醚,1:50),分离得到黄色油状产物 4a~4h,其收率、质谱及核磁共振氢谱数据见表 2。

Table 1 Yield, MS and ^1H NMR data of the intermediate compounds **3a–3h**

Compd.	Yield/%	MS (m/z)	^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ
3a	26	241 [M – H] [–]	0.99 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, CH_3), 2.13–2.22 (1H, m, CH), 2.39–2.50 (1H, m, Ar-H), 7.52–7.65 (2H, m, Ar-H), 7.79 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, Ar-H)
3b	33	255 [M – H] [–]	0.99 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, CH_3), 1.43–1.61 (1H, m, CH), 2.10–2.19 (1H, m, CH), 2.39–2.50 (1H, m, CH), 7.42–7.48 (1H, m, Ar-H), 7.52–7.65 (2H, m, Ar-H), 7.79 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, Ar-H)
3c	41	269 [M – H] [–]	1.06 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, CH_3), 1.41–1.61 (4H, m, $2 \times \text{CH}_2$), 2.10–2.18 (1H, m, CH), 2.39–2.50 (1H, m, CH), 7.30–7.38 (1H, m, Ar-H), 7.51–7.65 (2H, m, Ar-H), 7.80 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, Ar-H)
3d	34	283 [M – H] [–]	0.98 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, CH_3), 1.32–1.67 (6H, m, $3 \times \text{CH}_2$), 2.16–2.23 (1H, m, CH), 2.40–2.52 (1H, m, CH), 7.42–7.48 (1H, m, Ar-H), 7.52–7.68 (2H, m, Ar-H), 7.80 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, Ar-H)
3e	41	283 [M – H] [–]	0.89–1.05 (6H, m, $2 \times \text{CH}_3$), 1.25–1.70 (3H, m, CH_2 , CH), 1.84–1.97 (1H, m, CH), 2.41–2.53 (1H, m, CH), 5.08–5.12 (1H, m, SeCH), 7.36–7.41 (1H, m, Ar-H), 7.53–7.63 (2H, m, Ar-H), 7.77 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, Ar-H)
3f	35	297 [M – H] [–]	0.89 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, CH_3), 1.32–1.57 (8H, m, $4 \times \text{CH}_2$), 2.19–2.24 (1H, m, CH), 2.40–2.52 (1H, m, CH), 7.42–7.48 (1H, m, Ar-H), 7.52–7.63 (2H, m, Ar-H), 7.80 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, Ar-H)
3g	43	311 [M – H] [–]	0.88 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, CH_3), 1.32–1.55 (10H, m, $5 \times \text{CH}_2$), 2.19–2.24 (1H, m, CH), 2.40–2.52 (1H, m, CH), 7.42–7.48 (1H, m, Ar-H), 7.52–7.63 (2H, m, Ar-H), 7.80 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, Ar-H)
3h	53	303 [M – H] [–]	3.58–2.83 (2H, m, CH_2), 7.26–7.36 (5H, m, Ar-H), 7.44–7.52 (1H, m, Ar-H), 7.58–7.64 (2H, m, Ar-H), 7.68 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, Ar-H)

Table 2 Yield, MS and ^1H NMR data of the target compounds **4a–4h**

Compd.	Yield/%	MS (m/z)	^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ
4a	76	249 [M + Na] ⁺	1.23 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, CH_3), 1.86–1.96 (1H, m, CH), 2.37–2.49 (1H, m, CH), 5.08–5.12 (1H, m, SeCH), 7.39 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, Ar-H), 7.52–7.63 (2H, m, Ar-H), 7.76 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, Ar-H)
4b	86	263 [M + Na] ⁺	1.01 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, CH_3), 1.40–1.69 (2H, m, CH_2), 1.86–1.96 (1H, m, CH), 2.37–2.49 (1H, m, CH), 5.08–5.12 (1H, m, SeCH), 7.39 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, Ar-H), 7.52–7.63 (2H, m, Ar-H), 7.76 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, Ar-H)
4c	77	277 [M + Na] ⁺	0.89 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, CH_3), 1.35–1.56 (4H, m, $2 \times \text{CH}_2$), 1.74–1.87 (1H, m, CH), 2.26–2.35 (1H, m, CH), 5.07–5.11 (1H, m, SeCH), 7.39–7.45 (1H, m, Ar-H), 7.53 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, Ar-H), 7.63–7.68 (1H, m, Ar-H), 7.79 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, Ar-H)
4d	75	291 [M + Na] ⁺	0.90 (3H, t, $J = 6.6$ Hz, CH_3), 1.34–1.60 (6H, m, $3 \times \text{CH}_2$), 1.84–1.96 (1H, m, CH), 2.40–2.48 (1H, m, CH), 5.08–5.12 (1H, m, SeCH), 7.37–7.42 (1H, m, Ar-H), 7.52–7.63 (2H, m, Ar-H), 7.76 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, Ar-H)
4e	79	291 [M + Na] ⁺	0.82–0.98 (6H, m, $2 \times \text{CH}_3$), 1.25–1.70 (3H, m, CH_2 , CH), 1.84–1.97 (1H, m, CH), 2.41–2.53 (1H, m, CH), 5.08–5.12 (1H, m, SeCH), 7.37–7.42 (1H, m, Ar-H), 7.53–7.63 (2H, m, Ar-H), 7.77 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, Ar-H)
4f	69	305 [M + Na] ⁺	0.87 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, CH_3), 1.25–1.65 (8H, m, $4 \times \text{CH}_2$), 1.84–1.96 (1H, m, CH), 2.44–2.48 (1H, m, CH), 5.08–5.12 (1H, m, SeCH), 7.36–7.41 (1H, m, Ar-H), 7.52–7.62 (2H, m, Ar-H), 7.76 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, Ar-H)
4g	35	297 [M + H] ⁺	0.89 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, CH_3), 1.25–1.65 (10H, m, $5 \times \text{CH}_2$), 1.84–1.96 (1H, m, CH), 2.44–2.48 (1H, m, CH), 5.08–5.12 (1H, m, SeCH), 7.36–7.41 (1H, m, Ar-H), 7.52–7.62 (2H, m, Ar-H), 7.76 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, Ar-H)
4h	72	289 [M + H] ⁺	4.52–4.59 (1H, m, CH), 4.65–4.69 (1H, m, CH), 5.05–5.09 (1H, m, SeCH), 7.24–7.36 (5H, m, Ar-H), 7.42–7.50 (2H, m, Ar-H), 7.58–7.66 (1H, m, Ar-H), 7.80 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, Ar-H)

3 活性评价

3.1 抗血小板聚集活性

以阿司匹林(Asp)和NBP为阳性对照药,采用Born氏比浊法,测试目标化合物**4a~4h**对ADP诱

导的血小板聚集抑制活性。家兔用利多卡因局部麻醉后,手术分离颈总动脉取血,用3.8%枸橼酸钠1:9抗凝,以500 r/min 离心10 min,制备富血小板血浆(PRPP),剩余部分再以3 000 r/min 离心10 min,制备贫血小板血浆(PPP),按比浊法进行

血小板聚集实验。测定管中加入 PRP 240 μL 、受试药物 30 μL (终浓度 0.1 mmol/L),温孵 5 min,以 ADP(终浓度 10 $\mu\text{mol/L}$)30 μL 为诱导剂,观察记录 5 min 内最大聚集率。用 1% DMSO 作对照,计算各药物对 ADP 诱导的血小板聚集的抑制率。结果如表 3 所示。

Table 3 Effect of the target compounds (0.1 mmol/L) on the ADP (10 $\mu\text{mol/L}$)-induced platelet aggregation *in vitro*

Compd.	Max aggregation at 5 min/%	Inhibition/%
Control	41.08 \pm 2.85	-
Aspirin	37.18 \pm 1.89	9.5
NBP	37.63 \pm 2.97	8.4
4a	38.76 \pm 2.23	5.6
4b	38.90 \pm 3.01	5.3
4c	38.95 \pm 2.87	5.2
4d	39.03 \pm 3.05	5.0
4e	38.47 \pm 3.08	6.4
4f	33.40 \pm 3.61 *	18.8 ^{##}
4g	35.21 \pm 1.77 *	14.2 [#]
4g	39.75 \pm 2.51	3.2

NBP; *n*-Butylphthalide; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.01$, ^{##} $P < 0.001$ vs NBP group

由表 3 可见,化合物 **4a**~**4h** 不同程度地抑制了 ADP 诱导的血小板聚集,化合物 **4f** 和 **4g** 的抑制作用明显优于 NBP 和 Asp,其中化合物 **4f** 的抑制活性最强。当浓度为 0.1 mmol/L 时,化合物 **4f** (18.8%) 的抑制率约是 NBP(8.4%) 的两倍。

3.2 体外抗氧化活性

对血小板聚集抑制活性最好的化合物 **4f**,本研究采用黄嘌呤氧化酶法和邻二氮菲法,检测其对超氧阴离子自由基和羟基自由基的清除能力。阳性对照药为 NBP 和依达拉奉。结果如表 4 所示。

Table 4 Hydroxyl and superoxide radical scavenging effects of **4f**

Compd.	IC ₅₀ /(mmol/L)	
	Hydroxyl radical scavenging	Superoxide radical scavenging
Edaravone	2.12	1.05
NBP	14.44	>100
4f	2.18	>100

表 4 表明,虽然化合物 **4f** 体外清除超氧阴离子自由基能力与 NBP 相当,但其清除羟基自由基的能力 (IC₅₀ = 2.18 mmol/L) 比 NBP (IC₅₀ = 14.44

mmol/L) 强得多,与临床应用的依达拉奉 (IC₅₀ = 2.12 mmol/L) 相当。

4 结果与讨论

构效关系研究表明,随着 3 位羟基碳链的延长,目标物 **4a**~**4h** 抗血小板聚集活性基本呈上升趋势,当碳原子数为 6 (**4f**) 时,活性最强。当 3 位羟基位阻增大时 (**4h**),化合物抗血小板聚集活性显著下降。结果提示,此类化合物的抗血小板聚集活性可能与 3 位羟基与体内受体结合时的空间要求相关。此外,与 NBP 相比,3-羟基-1(3H)-异苯并硒吩酮 **4a**~**4h** 总体上有较好的抗血小板聚集活性和抗氧化能力,推测是由于 1(3H)-异苯并硒吩酮母核结构中硒原子在体积大小及电子云密度与 1(3H)-异苯并呋喃酮上氧原子的差异所致。研究结果表明,化合物 **4f** 的抗血小板聚集活性优于 NBP,且清除羟基自由基的能力与依达拉奉相当,具有进一步研究的价值。

参 考 文 献

- [1] William AS, Wang X, Pancras CW. New advances in treating thrombotic diseases [J]. *Drug Discov Today*, 2014, **19** (9): 1433–1434.
- [2] Leys D, Balucani C, Cordonnier C. Antiplatelet drugs for ischemic stroke prevention [J]. *Cerebrovasc Dis*, 2009, **27**: 120–125.
- [3] Yang CY, Huang ZJ, Ling JJ, et al. Synthesis and evaluation of carbamate-isosorbide-3-*n*-butylphthalide ring opening derivative trihybrids as novel platelet aggregation inhibitor [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2013, **44** (3): 202–206.
- [4] Zhang Y, Wang L, Li J, et al. 2-(1-Hydroxypentyl)-benzoate increases cerebral blood flow and reduces infarct volume in rats model of transient focal cerebral ischemia [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, **317** (3): 973–979.
- [5] Zhu Y, Tan S. Observation of dl-3-*n*-butylphthalide combined edaravone treating 36 patients with progressive cerebral infarction [J]. *Chin J Pract Nerv Dis* (中国实用神经疾病), 2010, **13**: 10–12.
- [6] Wu J, Ling JJ, Wang XL, et al. Discovery of a potential anti-ischemic stroke agent: 3-pentylbenzo[*c*] thiophen-1(3H) one [J]. *J Med Chem*, 2012, **55** (16): 7173–7181.
- [7] Thomson CD. Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: a review [J]. *Eur J Clin Nutr*, 2004, **58** (3): 391–402.