

川芎嗪/查耳酮类杂合物的设计、合成及抗血小板聚集活性

高 洋[#], 尹 伟[#], 刘靖超, 康峰华, 简琰琳, 周金培^{*}, 黄张建, 张奕华^{**}

(中国药科大学新药研究中心, 南京 210009)

摘要 基于药物设计的生物电子等排和拼合原理, 设计、合成了一系列川芎嗪/查耳酮类杂合物(**2~26**), 以期得到活性较强的抗血小板聚集药物。结果表明, 目标化合物对二磷酸腺苷(ADP)和花生四烯酸(AA)诱导的血小板聚集均显示不同程度的抑制, 其中化合物**8**活性最强, 对ADP诱导的血小板聚集的抑制作用($IC_{50}=0.14\text{ mmol/L}$)是川芎嗪的9.1倍, 查耳酮的10.5倍; 对AA诱导的血小板聚集的抑制作用($IC_{50}=0.09\text{ mmol/L}$)是川芎嗪的8.8倍, 查耳酮的10.0倍, 且略优于阿司匹林($IC_{50}=0.15\text{ mmol/L}$)。

关键词 川芎嗪; 查耳酮; 杂合; 阿司匹林; 抗血小板聚集; 合成

中图分类号 R914; R965 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2017)01-0023-08

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20170104

引用本文 高洋, 尹伟, 刘靖超, 等. 川芎嗪/查耳酮类杂合物的设计、合成及抗血小板聚集活性[J]. 中国药科大学学报, 2017, 48(1):28-35.

Cite this article as: GAO Yang, YIN Wei, LIU Jingchao, et al. Design, synthesis and antiplatelet evaluation of tetramethylpyrazine/chalcone hybrids [J]. J China Pharm Univ, 2017, 48(1):28-35.

Design, synthesis and antiplatelet evaluation of tetramethylpyrazine/chalcone hybrids

GAO Yang[#], YIN Wei[#], LIU Jingchao, KANG Fenghua, JIAN Yanlin, ZHOU Jinpei^{*}, HUANG Zhangjian, ZHANG Yihua^{**}

Center of Drug Discovery, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract In order to search for new antiplatelet agents with higher potency, a series of tetramethylpyrazine (TMP)/chalcone hybrids (**2-26**) were synthesized and evaluated based on the principle of bioisostere and hybridization. They exerted inhibitory activity against adenosine diphosphate (ADP)-induced and arachidonic acid (AA)-induced platelet aggregation to varied extent. Among them, compound **8** was the most potent with IC_{50} of 0.14 mmol/L on ADP-induced platelet aggregation (9.1 folds of TMP and 10.5 folds of chalcone) and 0.09 mmol/L on AA-induced platelet aggregation (8.8 folds of TMP and 10.0 folds of chalcone), which was superior to clinically used anti-platelet drug aspirin (ASP, $IC_{50}=0.15\text{ mmol/L}$).

Key words tetramethylpyrazine; chalcone; hybridization; aspirin; antiplatelet; synthesis

[#]GAO Yang and YIN Wei contributed equally to this work

缺血性脑卒中(ischemic stroke)系脑部血流供应障碍, 脑组织缺血、缺氧而引起的局部脑组织坏死。研究表明, 动脉粥样硬化与血栓的形成是导致缺血性脑卒中的重要病理基础, 其中血小板与动脉

粥样硬化病灶的相互作用是血栓形成的关键^[1]。目前此类疾病的主要治疗手段之一是应用抗血小板药物^[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]。

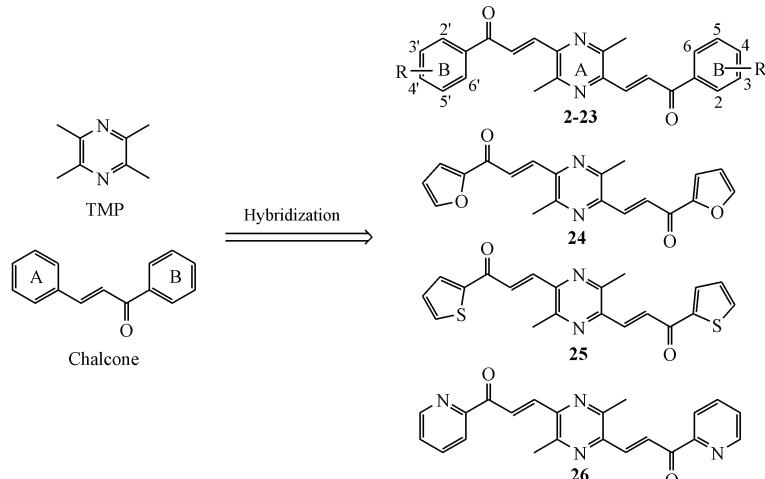
川芎嗪是中药川芎的活性成分,具有清除自由基、改善微循环、抑制钙离子内流、抗炎、抗血小板聚集等作用^[4-6],其对缺血性脑卒中的治疗作用主要体现在改善供血和保护缺血组织两方面。由于川芎嗪的总体疗效不高,为提高其疗效,临幊上常与其他药物联合用药^[7]。

查耳酮类化合物是一类含1,3-二苯基丙烯酮的

天然黄酮类化合物,具有抗血小板聚集、舒张血管平滑肌、抗氧化和抗炎等作用^[8-9]。目前对该类化合物的结构修饰及改造主要集中在以下几方面:A、B环的生物电子等排替换、A、B环引入不同取代基、 α 、 β -不饱和酮的修饰改造以及查耳酮的环化等^[10]。

基于上述背景,本研究根据拼合和生物电子等排原理,设计、合成了川芎嗪/查耳酮类杂合物2~26,期望该类化合物具有更强的抗血小板聚集活性。

Table 1 Chemical structures of compounds 2-26



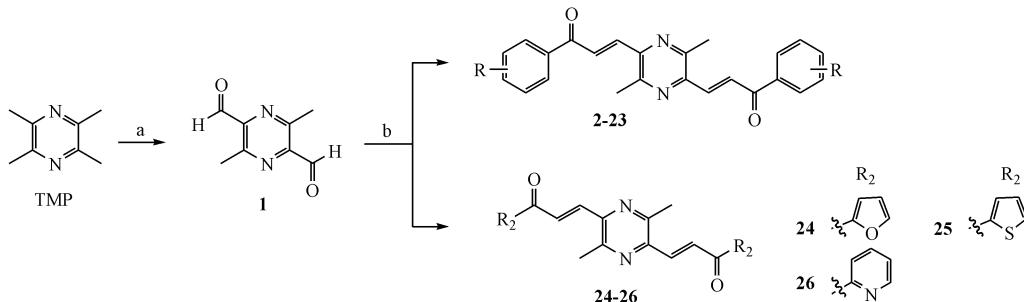
Compd.	R				
	2/2'	3/3'	4/4'	5/5'	6/6'
2	H	H	H	H	H
3	H	H	CH ₃	H	H
4	H	H	OCH ₃	H	H
5	H	H	Cl	H	H
6	H	Cl	H	H	H
7	Br	H	H	H	H
8	H	H	Br	H	H
9	CH ₃	H	H	H	H
10	OCH ₃	H	H	OCH ₃	H
11	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H
12	H			H	H
13	Cl	H	H	H	H
14	H	H	F	H	H
15	H	Br	H	H	H
16	OCH ₃	H	H	H	H
17	H	CH ₃	H	H	H
18	OCH ₃	H	OCH ₃	H	H
19	OCH ₃	H	H	H	OCH ₃
20	H	OCH ₃	H	H	H
21	OCH ₃	H	H	CH ₃	H
22	OCH ₃	H	H	Cl	H
23	CH ₃	H	CH ₃	H	H

TMP: tetramethylpyrazine

1 合成路线

以川芎嗪(TMP)为原料,在氧化剂二氧化硒

作用下生成2,5-二醛基-3,6-二甲基吡嗪(1),然后与各种取代的芳香乙酮经羟醛缩合得到目标化合物2~26。



Scheme 1 Synthetic route of the target compounds 2-26

Reagents and conditions: (a) SeO_2 , dioxane, water, r. t. ; (b) NaOH , EtOH , corresponding aromatic ethyl ketones, r. t.

目标化合物立体结构根据其双键两边质子的偶合常数($14.9 \sim 15.3$ Hz)均为E构型。

2 化学实验

2.1 材料

核磁共振氢谱采用Bruker ACF-300型磁共振仪测定(CDCl_3 为溶剂,TMS为内标);质谱采用Hewlett-Packard 1100 LC/MSD质谱仪测定;IR用Nicolet Impact 410型红外光谱仪测定,KBr压片法;熔点采用RY-1熔点仪测定(温度未经校正)。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。化合物1参照文献[11]合成。

2.2 合成实验

$(2E,2'E)-3,3'-(3,6-二甲基吡嗪-2,5-二基)双(1-苯基丙-2-烯-1-酮)(2)$ 将化合物1(1.0 g, 6.09 mmol)溶于适量乙醇中,加入苯乙酮(1.8 g, 15.23 mmol)和NaOH固体(0.73 g, 18.27 mmol),室温下混合搅拌,TLC监测至反应完全,反应液减压蒸干,柱色谱(CH_2Cl_2 - MeOH ,50:1)得黄色固体2(0.99 g, 2.74 mmol),产率45%。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 8.30(d, $J = 15.0$ Hz, 2H), 8.14~8.11(m, 4H), 8.02(d, $J = 15.0$ Hz, 2H), 7.72~7.59(m, 2H), 7.59~7.46(m, 4H), 2.77(s, 6H); ESI-MS: 391.15 [M + Na]⁺; IR(KBr, ν): 3 023, 1 661, 1 597, 1 389, 1 295, 1 217, 1 109 cm⁻¹; mp: 256~258 °C。

$(2E,2'E)-3,3'-(3,6-二甲基吡嗪-2,5-二基)双[1-(对甲苯基)丙-2-烯-1-酮](3)$ 参照化合物2合

成方法,由化合物1(1.0 g, 6.09 mmol)与4-甲基苯乙酮(2.0 g, 15.23 mmol)反应得黄色固体3(1.1 g, 2.86 mmol),产率47%。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 8.34(d, $J = 15.0$ Hz, 2H), 8.04(d, $J = 7.5$ Hz, 4H), 8.00(d, $J = 15.0$ Hz, 2H), 7.33(d, $J = 8.0$ Hz, 4H), 2.76(s, 6H), 2.45(s, 6H); ESI-MS: 419.18 [M + Na]⁺; IR(KBr, ν): 3 003, 1 657, 1 604, 1 357, 1 308, 1 274, 1 234, 1 167 cm⁻¹; mp: 294~296 °C。

$(2E,2'E)-3,3'-(3,6-二甲基吡嗪-2,5-二基)双[1-(4-甲氧基苯基)丙-2-烯-1-酮](4)$ 参照化合物2合成方法,由化合物1(1.0 g, 6.09 mmol)与4-甲氧基苯乙酮(2.3 g, 15.23 mmol)反应得黄色固体4(1.1 g, 2.56 mmol)产率42%。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 8.29(d, $J = 14.9$ Hz, 2H), 8.14(d, $J = 8.9$ Hz, 4H), 8.01(d, $J = 14.9$ Hz, 2H), 7.01(d, $J = 8.9$ Hz, 4H), 3.91(s, 6H), 2.76(s, 6H); ESI-MS: 451.17 [M + Na]⁺; IR(KBr, ν): 3 047, 1 665, 1 613, 1 395, 1 318, 1 288, 1 212, 1 117 cm⁻¹; mp: 293~295 °C。

$(2E,2'E)-3,3'-(3,6-二甲基吡嗪-2,5-二基)双[1-(4-氯苯基)丙-2-烯-1-酮](5)$ 参照化合物2合成方法,由化合物1(1.0 g, 6.09 mmol)与4-氯苯乙酮(2.3 g, 15.23 mmol)反应得深黄色固体5(1.3 g, 2.86 mmol),产率47%。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 8.25(d, $J = 14.9$ Hz, 2H), 8.08(d, $J = 8.7$ Hz, 4H), 8.07(d, $J = 14.9$ Hz, 2H), 7.51(d, $J = 8.7$ Hz, 4H), 2.77(s, 6H); ESI-MS: 459.07 [M + Na]⁺; IR(KBr, ν): 3 007, 1 656, 1 607, 1 388,

1 316, 1 287, 1 214, 1 133 cm^{-1} ; mp: 269~271 $^{\circ}\text{C}$ 。

(2E,2'E)-3,3'-(3,6-二甲基吡嗪-2,5-二基)双[1-(3-氯苯基)丙-2-烯-1-酮](6) 参照化合物2合成方法,由化合物1(1.0 g, 6.09 mmol)与3-氯苯乙酮(2.3 g, 15.23 mmol)反应得深黄色固体6(1.1 g, 2.56 mmol),产率42%。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 8.23(d, J = 14.9 Hz, 2H), 8.10~8.07(m, 2H), 8.03(d, J = 14.9 Hz, 2H), 8.01~7.98(m, 2H), 7.61~7.58(m, 2H), 7.49(t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.77(s, 6H); ESI-MS: 459.09 [M + Na] $^+$; IR(KBr, ν): 3 021, 1 658, 1 602, 1 395, 1 315, 1 293, 1 196, 1 124 cm^{-1} ; mp: 235~237 $^{\circ}\text{C}$ 。

(2E,2'E)-3,3'-(3,6-二甲基吡嗪-2,5-二基)双[1-(2-溴苯基)丙-2-烯-1-酮](7) 参照化合物2合成方法,由化合物1(1.0 g, 6.09 mmol)与2-溴苯乙酮(3.0 g, 15.23 mmol)反应得橙黄色固体7(1.4 g, 2.68 mmol),产率44%。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 7.87~7.70(m, 4H), 7.67(dd, J = 7.8, 1.3 Hz, 2H), 7.52(dd, J = 7.5, 1.9 Hz, 2H), 7.44(td, J = 7.4, 1.3 Hz, 2H), 7.40~7.31(m, 2H), 2.65(s, 6H); ^{13}C NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 193.58, 186.73, 151.12, 146.16, 138.01, 133.62, 131.92, 131.51, 129.49, 127.49, 119.69, 21.18; ESI-MS: 546.97 [M + Na] $^+$; IR(KBr, ν): 3 050, 1 664, 1 600, 1 392, 1 308, 1 295, 1 206, 1 138 cm^{-1} ; mp: 228~230 $^{\circ}\text{C}$ 。

(2E,2'E)-3,3'-(3,6-二甲基吡嗪-2,5-二基)双[1-(4-溴苯基)丙-2-烯-1-酮](8) 参照化合物2合成方法,由化合物1(1.0 g, 6.09 mmol)与4-溴苯乙酮(3.0 g, 15.23 mmol)反应得橙黄色固体8(1.6 g, 2.98 mmol),产率49%。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 8.24(d, J = 14.9 Hz, 2H), 8.04~7.94(m, 4H), 7.76(d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.68(d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.57(d, J = 8.4 Hz, 2H), 2.76(s, 6H); ^{13}C NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 188.83, 137.75, 132.09, 131.85, 130.25, 129.57, 127.43, 21.25; ESI-MS: 546.97 [M + Na] $^+$; IR(KBr, ν): 3 023, 1 664, 1 605, 1 585, 1 396, 1 307, 1 296, 1 202, 1 136 cm^{-1} ; mp: 287~289 $^{\circ}\text{C}$ 。

(2E,2'E)-3,3'-(3,6-二甲基吡嗪-2,5-二基)双[1-(邻甲苯基)丙-2-烯-1-酮](9) 参照化合物2合成方法,由化合物1(1.0 g, 6.09 mmol)与2-甲

基苯乙酮(2.0 g, 15.23 mmol)反应得黄色固体9(1.3 g, 3.22 mmol),产率53%。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 7.94(d, J = 15.1 Hz, 2H), 7.80(d, J = 15.1 Hz, 2H), 7.69(d, J = 15.1 Hz, 2H), 7.46~7.41(m, 2H), 7.33(t, J = 7.2 Hz, 4H), 2.69(s, 6H), 2.54(s, 6H); ESI-MS: 419.18 [M + Na] $^+$; IR(KBr, ν): 3 023, 1 664, 1 605, 1 585, 1 396, 1 307, 1 296, 1 202, 1 136 cm^{-1} ; IR(KBr, ν): 3 001, 1 645, 1 607, 1 389, 1 303, 1 288, 1 211, 1 122 cm^{-1} ; mp: 251~253 $^{\circ}\text{C}$ 。

(2E,2'E)-3,3'-(3,6-二甲基吡嗪-2,5-二基)双[1-(2,5-二甲氧基苯基)丙-2-烯-1-酮](10) 参照化合物2合成方法,由化合物1(1.0 g, 6.09 mmol)与2,5-二甲氧基苯乙酮(2.7 g, 15.23 mmol)反应得黄色固体10(1.4 g, 2.86 mmol),产率47%。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 8.21(d, J = 15.0 Hz, 2H), 7.87(d, J = 15.0 Hz, 2H), 7.84(d, J = 8.6 Hz, 2H), 6.58(d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.51(s, 2H), 3.94(s, 6H), 3.89(s, 6H), 2.72(s, 6H); ^{13}C NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 191.69, 153.60, 153.17, 150.74, 146.44, 135.56, 132.68, 129.19, 120.02, 114.41, 113.43, 56.44, 55.87, 21.39; ESI-MS: 511.19 [M + Na] $^+$; IR(KBr, ν): 3 029, 1 657, 1 598, 1 560, 1 390, 1 280, 1 207, 1 145 cm^{-1} ; mp: 211~213 $^{\circ}\text{C}$ 。

(2E,2'E)-3,3'-(3,6-二甲基吡嗪-2,5-二基)双[1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-丙-2-烯-1-酮](11) 参照化合物2合成方法,由化合物1(1.0 g, 6.09 mmol)与2,4,5-三甲氧基苯乙酮(3.2 g, 15.23 mmol)反应得黄色固体11(1.9 g, 3.47 mmol),产率57%。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 8.32(d, J = 14.9 Hz, 2H), 7.99(d, J = 14.9 Hz, 2H), 7.39(s, 4H), 3.98(s, 12H), 3.96(s, 6H), 2.82(s, 6H); ESI-MS: 571.21 [M + Na] $^+$; IR(KBr, ν): 2 997, 1 664, 1 599, 1 378, 1 301, 1 299, 1 214, 1 130 cm^{-1} ; mp: 198~200 $^{\circ}\text{C}$ 。

(2E,2'E)-3,3'-(3,6-二甲基吡嗪-2,5-二基)双[1-(苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-基)丙-2-烯-1-酮](12) 参照化合物2合成方法,由化合物1(1.0 g, 6.09 mmol)与3,4-亚甲二氧苯乙酮(2.5 g, 15.23 mmol)反应得黄色固体12(1.6 g, 3.41 mmol),产率56%。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 8.25(d, J = 14.8 Hz, 2H), 8.00(d, J = 14.8 Hz,

2H), 7.79 (dd, $J = 8.2, 1.6$ Hz, 2H), 7.62 (d, $J = 1.5$ Hz, 2H), 6.95 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 6.11 (s, 4H), 2.77 (s, 6H); ^{13}C NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 187.71, 136.86, 127.76, 125.35, 108.45, 108.00, 101.97, 21.27; ESI-MS: 479.13 [M + Na]⁺; IR (KBr, ν): 3 037, 1 659, 1 602, 1 593, 1 491, 1 398, 1 369, 1 296, 1 133 cm⁻¹; mp: 280 ~ 282 °C。

(2E,2'E)-3,3'-(3,6-二甲基吡嗪-2,5-二基)双[1-(2-氯苯基)丙-2-烯-1-酮] (13) 参照化合物2合成方法,由化合物1(1.0 g, 6.09 mmol)与2-氯苯乙酮(2.3 g, 15.23 mmol)反应得深黄色固体13(1.2 g, 2.98 mmol),产率49%。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.80 (d, $J = 15.2$ Hz, 2H), 7.70 (d, $J = 15.2$ Hz, 2H), 7.61 ~ 7.55 (m, 2H), 7.50 ~ 7.38 (m, 6H), 2.69 (s, 6H); ESI-MS: 459.07 [M + Na]⁺; IR (KBr, ν): 3 012, 1 659, 1 610, 1 589, 1 495, 1 390, 1 323, 1 221, 1 114 cm⁻¹; mp: 224 ~ 226 °C。

(2E,2'E)-3,3'-(3,6-二甲基吡嗪-2,5-二基)双[1-(4-氟苯基)丙-2-烯-1-酮] (14) 参照化合物2合成方法,由化合物1(1.0 g, 6.09 mmol)与4-氟苯乙酮(2.3 g, 15.23 mmol)反应得黄色固体14(1.3 g, 3.22 mmol),产率53%。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.28 (d, $J = 14.8$ Hz, 2H), 8.22 ~ 8.10 (m, 4H), 7.94 (d, $J = 14.8$ Hz, 2H), 7.19 ~ 7.11 (m, 4H), 2.69 (s, 6H); ESI-MS: 427.13 [M + Na]⁺; IR (KBr, ν): 3 014, 1 664, 1 593, 1 387, 1 301, 1 287, 1 235, 1 119 cm⁻¹; mp: 267 ~ 269 °C。

(2E,2'E)-3,3'-(3,6-二甲基吡嗪-2,5-二基)双[1-(3-溴苯基)丙-2-烯-1-酮] (15) 参照化合物2合成方法,由化合物1(1.0 g, 6.09 mmol)与3-溴苯乙酮(3.0 g, 15.23 mmol)反应得橙黄色固体15(1.5 g, 2.80 mmol),产率46%。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.23 (d, $J = 14.9$ Hz, 2H), 8.10 ~ 8.07 (m, 2H), 8.03 (d, $J = 14.9$ Hz, 2H), 8.01 ~ 7.98 (m, 2H), 7.61 ~ 7.58 (m, 2H), 7.49 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 2.77 (s, 6H); ESI-MS: 546.97 [M + Na]⁺; IR (KBr, ν): 3 007, 1 659, 1 602, 1 599, 1 489, 1 387, 1 334, 1 286, 1 123 cm⁻¹; mp: 239 ~ 241 °C。

(2E,2'E)-3,3'-(3,6-二甲基吡嗪-2,5-二基)双[1-(2-甲氧基苯基)丙-2-烯-1-酮] (16) 参照化合物2合成方法,由化合物1(1.0 g, 6.09 mmol)与

2-甲氧基苯乙酮(2.3 g, 15.23 mmol)反应得黄色固体16(1.2 g, 2.92 mmol),产率48%。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.26 (d, $J = 14.9$ Hz, 2H), 8.00 (d, $J = 14.9$ Hz, 2H), 7.72 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.62 (s, 2H), 7.45 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.17 (dd, $J = 8.4, 2.7$ Hz, 2H), 3.90 (s, 6H), 2.76 (s, 6H); ESI-MS: 451.17 [M + Na]⁺; IR (KBr, ν): 3 013, 1 664, 1 613, 1 592, 1 493, 1 367, 1 255, 1 133 cm⁻¹; mp: 207 ~ 209 °C。

(2E,2'E)-3,3'-(3,6-二甲基吡嗪-2,5-二基)双[1-(间甲苯基)丙-2-烯-1-酮] (17) 参照化合物2合成方法,由化合物1(1.0 g, 6.09 mmol)与3-甲基苯乙酮(2.0 g, 15.23 mmol)反应得黄色固体17(1.3 g, 3.41 mmol),产率56%。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.29 (d, $J = 14.9$ Hz, 2H), 8.00 (d, $J = 14.9$ Hz, 2H), 7.93 (s, 4H), 7.44 ~ 7.42 (m, 4H), 2.78 (s, 6H), 2.47 (s, 6H); ESI-MS: 419.18 [M + Na]⁺; IR (KBr, ν): 2 997, 1 659, 1 610, 1 587, 1 398, 1 288, 1 121 cm⁻¹; mp: 258 ~ 260 °C。

(2E,2'E)-3,3'-(3,6-二甲基吡嗪-2,5-二基)双[1-(2,4-二甲氧基苯基)丙-2-烯-1-酮] (18) 参照化合物2合成方法,由化合物1(1.0 g, 6.09 mmol)与2,4-二甲氧基苯乙酮(2.7 g, 15.23 mmol)反应得黄色固体18(1.6 g, 3.22 mmol),产率53%。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.21 (d, $J = 15.0$ Hz, 2H), 7.87 (d, $J = 15.0$ Hz, 2H), 7.84 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.58 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.51 (s, 2H), 3.94 (s, 6H), 3.89 (s, 6H), 2.72 (s, 6H); ESI-MS: 511.19 [M + Na]⁺; IR (KBr, ν): 2 996, 1 659, 1 609, 1 590, 1 489, 1 402, 1 279, 1 159, 1 176 cm⁻¹; mp: 201 ~ 203 °C。

(2E,2'E)-3,3'-(3,6-二甲基吡嗪-2,5-二基)双[1-(2,6-二甲氧基苯基)丙-2-烯-1-酮] (19) 参照化合物2合成方法,由化合物1(1.0 g, 6.09 mmol)与2,6-二甲氧基苯乙酮(2.7 g, 15.23 mmol)反应得深黄色固体19(1.6 g, 3.29 mmol),产率54%。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.63 (d, $J = 15.3$ Hz, 2H), 7.56 (d, $J = 15.3$ Hz, 2H), 7.34 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 6.61 (d, $J = 8.4$ Hz, 4H), 3.80 (s, 12H), 2.69 (s, 6H); ESI-MS: 511.19 [M + Na]⁺; IR (KBr, ν): 3 012, 1 656, 1 602, 1 577, 1 442, 1 367

cm^{-1} ; mp: 208~210 $^{\circ}\text{C}$ 。

(2E,2'E)-3,3'-(3,6-二甲基吡嗪-2,5-二基)双[1-(3-甲氧基苯基)丙-2-烯-1-酮](20) 参照化合物2合成方法,由化合物1(1.0 g, 6.09 mmol)与3-甲氧基苯乙酮(2.3 g, 15.23 mmol)反应得深黄色固体20(1.5 g, 3.41 mmol),产率56%。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 8.29(d, J = 14.9 Hz, 2H), 8.01(d, J = 14.9 Hz, 2H), 7.73(d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.64~7.62(m, 2H), 7.46(t, J = 7.9 Hz, 2H), 7.18(dd, J = 7.7, 2.0 Hz, 2H), 3.91(s, 6H), 2.77(s, 6H); ESI-MS: 451.17 [M + Na]⁺; IR(KBr, ν): 3 001, 1 665, 1 599, 1 389, 1 318, 1 196, 1 138 cm^{-1} ; mp: 232~234 $^{\circ}\text{C}$ 。

(2E,2'E)-3,3'-(3,6-二甲基吡嗪-2,5-二基)双[1-(2-甲氧基-5-甲基苯基)丙-2-烯-1-酮](21) 参照化合物2合成方法,化合物1(1.0 g, 6.09 mmol)与2-甲氧基-5-甲基苯乙酮(2.7 g, 15.23 mmol)反应得深黄色固体21(1.7 g, 3.59 mmol),产率59%。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 8.08(d, J = 15.1 Hz, 2H), 7.84(d, J = 15.1 Hz, 2H), 7.50(d, J = 1.8 Hz, 2H), 7.29(dd, J = 8.4, 1.8 Hz, 2H), 6.91(d, J = 8.4 Hz, 2H), 3.91(s, 6H), 2.69(s, 6H), 2.33(s, 6H); ESI-MS: 479.20 [M + Na]⁺; IR(KBr, ν): 2 997, 1 654, 1 612, 1 390, 1 301, 1 289, 1 201, 1 112 cm^{-1} ; mp: 234~236 $^{\circ}\text{C}$ 。

(2E,2'E)-3,3'-(3,6-二甲基吡嗪-2,5-二基)双[1-(5-氯-2-甲氧基苯基)丙-2-烯-1-酮](22) 参照化合物2合成方法,由化合物1(1.0 g, 6.09 mmol)与2-甲氧基-5-氯苯乙酮(2.8 g, 15.23 mmol)反应得深黄色固体22(1.3 g, 2.56 mmol),产率42%。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 8.04(d, J = 15.0 Hz, 2H), 7.85(d, J = 15.0 Hz, 2H), 7.66(d, J = 2.6 Hz, 2H), 7.45(dd, J = 8.8, 2.6 Hz, 2H), 6.96(d, J = 8.8 Hz, 2H), 3.93(s, 6H), 2.70(s, 6H); ^{13}C NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 189.50, 136.08, 133.06, 132.16, 130.26, 113.21, 56.16, 21.35; ESI-MS: 519.10 [M + Na]⁺; IR(KBr, ν): 2 996, 1 651, 1 610, 1 591, 1 498, 1 398, 1 285, 1 249, 1 195, 1 186 cm^{-1} ; mp: 249~251 $^{\circ}\text{C}$ 。

(2E,2'E)-3,3'-(3,6-二甲基吡嗪-2,5-二基)双[1-(2,4-二甲基苯基)丙-2-烯-1-酮](23) 参照化合物2合成方法,由化合物1(1.0 g, 6.09 mmol)

与2,4-二甲基苯乙酮(2.3 g, 15.23 mmol)反应得黄色固体23(1.2 g, 2.80 mmol),产率46%。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 7.96(d, J = 15.1 Hz, 2H), 7.80(d, J = 15.1 Hz, 2H), 7.65(d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.15~7.09(m, 4H), 2.68(s, 6H), 2.52(s, 6H), 2.39(s, 6H); ^{13}C NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 193.86, 150.76, 146.26, 141.96, 138.60, 136.95, 135.51, 132.65, 131.75, 129.39, 126.28, 21.48, 21.24, 20.99; ESI-MS: 447.22 [M + Na]⁺; IR(KBr, ν): 3 053, 1 656, 1 612, 1 560, 1 448, 1 390 cm^{-1} ; mp: 257~259 $^{\circ}\text{C}$ 。

(2E,2'E)-3,3'-(3,6-二甲基吡嗪-2,5-二基)双[1-(呋喃-2-基)丙-2-烯-1-酮](24) 参照化合物2合成方法,由化合物1(1.0 g, 6.09 mmol)与2-乙酰基呋喃(1.7 g, 15.23 mmol)反应得黄色固体24(1.2 g, 3.53 mmol),产率58%。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 8.15(d, J = 15.1 Hz, 2H), 8.03(d, J = 15.1 Hz, 2H), 7.72(s, 2H), 7.47~7.45(m, 2H), 6.67~6.62(m, 2H); ESI-MS: 371.11 [M + Na]⁺; IR(KBr, ν): 3 024, 1 656, 1 560, 1 480, 1 312, 1 216, 1 101 cm^{-1} ; mp: 290~292 $^{\circ}\text{C}$ 。

(2E,2'E)-3,3'-(3,6-二甲基吡嗪-2,5-二基)双[1-(噻吩-2-基)丙-2-烯-1-酮](25) 参照化合物2合成方法,由化合物1(1.0 g, 6.09 mmol)与2-乙酰基噻吩(1.9 g, 15.23 mmol)反应得黄色固体25(1.6 g, 3.83 mmol),产率62%。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 8.25(d, J = 15.1 Hz, 2H), 8.10(d, J = 15.1 Hz, 2H), 7.76(s, 2H), 7.47~7.45(m, 2H), 6.93~6.91(m, 2H); ESI-MS: 403.07 [M + Na]⁺; IR(KBr, ν): 3 021, 1 660, 1 600, 1 494, 1 380, 1 312, 1 256 cm^{-1} ; mp: 271~273 $^{\circ}\text{C}$ 。

(2E,2'E)-3,3'-(3,6-二甲基吡嗪-2,5-二基)双[1-(吡啶-2-基)丙-2-烯-1-酮](26) 参照化合物2合成方法,由化合物1(1.0 g, 6.09 mmol)与2-乙酰基吡啶(1.8 g, 15.23 mmol)反应得黄色固体26(1.2 g, 3.29 mmol),产率54%。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 8.85(d, J = 15.3 Hz, 2H), 8.80(d, J = 4.6 Hz, 2H), 8.21(d, J = 7.86 Hz, 2H), 8.11(d, J = 15.3 Hz, 2H), 7.93~7.87(m, 2H), 7.54~7.50(m, 2H); ESI-MS: 393.14 [M + Na]⁺; IR(KBr, ν): 3 053, 1 659, 1 601, 1 367, 1 295, 1 206 cm^{-1} ; mp: 260~262 $^{\circ}\text{C}$ 。

3 抗血小板聚集活性测试

采用 Born 氏比浊法^[12]测定目标化合物 2~26 对 ADP 和 AA 诱导的血小板聚集抑制活性, 阳性药为川芎嗪(TMP)、阿司匹林(ASP)及查耳酮。

取禁食 12~18 h 家兔, 用 20% 乌拉坦溶液腹腔注射麻醉, 分离颈总动脉, 插入聚乙烯管取血, 注入含 1/10 容量的 3.8% 枸橼酸钠溶液的硅化离心管中, 将血液与抗凝剂轻轻混均, 以 1 000 r/min, 离心 15 min, 吸出上层米黄色悬液即为富血小板血浆(PRP)。余下的血浆再以 3 000 r/min, 离心 15 min, 吸取上清液, 制得贫血小板血浆(PPP), 以

PPP 调 PRP 使血小板数为每毫升 1×10^8 个。取 PRP 260 μL 于比浊管中, 随后分别加入不同浓度的待测化合物、阳性对照药或生理盐水 10 μL , 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下孵育 5 min, 再依次加入诱导剂 30 μL , 诱导剂二磷酸腺苷(ADP)终浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$, 诱导剂花生四烯酸(AA)终浓度为 1 mmol/L 。采用血小板聚集仪测定对照管和测试管 5 min 内的最大聚集率, 血小板聚集抑制率(IRPA) = (对照组血小板聚集率 - 实验组血小板聚集率)/对照组血小板聚集率 $\times 100\%$

目标化合物 2~26 及对照药 ASP、TMP、查耳酮的 IC_{50} 见表 2。

Table 2 IC_{50} values of target compounds against platelet aggregation *in vitro*

Compd.	$\text{IC}_{50}/(\text{mmol/L})$		Compd.	$\text{IC}_{50}/(\text{mmol/L})$	
	ADP	AA		ADP	AA
ASP	-	0.15 ± 0.09	13	2.65 ± 0.27	2.34 ± 0.21
TMP	1.27 ± 0.22	0.79 ± 0.14	14	1.16 ± 0.14	0.71 ± 0.13
Chalcone	1.47 ± 0.15	0.90 ± 0.08	15	1.98 ± 0.19	1.62 ± 0.11
2	2.94 ± 0.23	2.59 ± 0.19	16	1.24 ± 0.13	0.98 ± 0.08
3	1.16 ± 0.09	0.66 ± 0.05	17	2.17 ± 0.06	1.75 ± 0.18
4	2.36 ± 0.16	2.03 ± 0.12	18	1.56 ± 0.15	1.44 ± 0.13
5	1.38 ± 0.15	0.88 ± 0.11	19	3.53 ± 0.36	3.32 ± 0.29
6	2.05 ± 0.24	1.58 ± 0.19	20	2.15 ± 0.16	1.66 ± 0.19
7	0.85 ± 0.08	0.66 ± 0.06	21	1.22 ± 0.14	0.88 ± 0.06
8	0.14 ± 0.02	0.09 ± 0.03	22	0.90 ± 0.04	0.60 ± 0.06
9	1.17 ± 0.15	0.94 ± 0.12	23	0.88 ± 0.03	0.79 ± 0.04
10	0.31 ± 0.05	0.23 ± 0.05	24	2.02 ± 0.10	1.70 ± 0.24
11	1.43 ± 0.17	0.81 ± 0.20	25	2.28 ± 0.30	1.64 ± 0.24
12	0.84 ± 0.09	0.62 ± 0.11	26	1.06 ± 0.13	0.83 ± 0.11

ADP: Adenosine diphosphate; AA: Arachidonic acid; ASP: Aspirin

从表 2 可以看出, 川芎嗪/双查耳酮类衍生物均可不同程度地抑制 ADP、AA 诱导的血小板聚集, 部分化合物如 7、8、10、12、22 和 23, 其抑制活性优于川芎嗪。其中化合物 8 对 ADP 诱导的血小板聚集抑制作用($\text{IC}_{50} = 0.14 \text{ mmol/L}$)是川芎嗪($\text{IC}_{50} = 1.27 \text{ mmol/L}$)的 9.1 倍, 查耳酮($\text{IC}_{50} = 1.47 \text{ mmol/L}$)的 10.5 倍; 对 AA 诱导的血小板聚集抑制作用($\text{IC}_{50} = 0.09 \text{ mmol/L}$)是川芎嗪($\text{IC}_{50} = 0.79 \text{ mmol/L}$)的 8.8 倍, 查耳酮($\text{IC}_{50} = 0.90 \text{ mmol/L}$)的 10.0 倍, 且略优于阿司匹林($\text{IC}_{50} = 0.15 \text{ mmol/L}$)。

进一步比较化合物 8 与川芎嗪及查耳酮单独给药或与后二者联合用药对血小板聚集的影响。如图 1 所示, 化合物 8 的体外血小板聚集活性最强, 其在 1 mmol/L 浓度下对 ADP 和 AA 诱导的体

外血小板聚集抑制率均达 100%, 显著优于川芎嗪、查耳酮单独作用或二者联合用药, 其中川芎嗪(1 mmol/L)对 ADP 和 AA 诱导的血小板聚集抑制率分别为 53.67% 和 61.07%, 查耳酮(2 mmol/L)为 57.94% 和 74.09%, 二者联合用药则分别为 61.25% 和 81.58%。

3 结果与讨论

研究结果表明, 川芎嗪/双查耳酮类衍生物均可不同程度地抑制 ADP、AA 诱导的血小板聚集, 部分化合物如 7、8、10、12、22 和 23, 其抑制活性优于川芎嗪。其中化合物 8 对 ADP 诱导的血小板聚集抑制作用强于川芎嗪和查耳酮, 对 AA 诱导的血小板聚集抑制作用也强于川芎嗪和查耳酮, 且略优于 ASP。

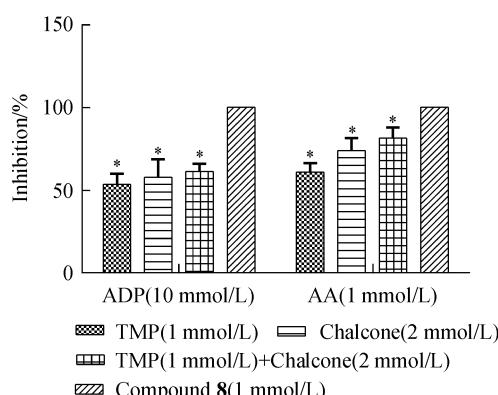


Figure 1 Inhibitory effects of TMP, chalcone, TMP + chalcone and compound 8 on ADP/AA-induced platelet aggregation *in vitro* analyzed by ANOVA followed by *post hoc* Tukey test ($\bar{x} \pm s, n=5$)

* $P < 0.05$ vs compound 8

进一步研究表明,1 mmol/L 化合物 8 抑制 ADP/AA 诱导的血小板聚集优于 1 mmol/L 的川芎嗪和 2 mmol/L 的查耳酮单独给药,也优于川芎嗪(1 mmol/L)和查耳酮(2 mmol/L)联合用药,提示川芎嗪与查耳酮杂合可有效提高化合物的抗血小板聚集活性。

初步构效关系研究表明,杂环化合物活性优于无取代芳环化合物(如 24, 25, 26 vs 2),提示杂原子的引入,对化合物抗血小板聚集活性的提高可能有所帮助;有趣的是,当苯环上有单取代基时,对位取代时活性最佳,邻位和间位取代的化合物活性大致相当;此外,在苯环对位单取代的化合物中,卤素取代的化合物活性优于甲氧基取代的化合物(如 5, 8, 14 vs 4),提示吸电子基团引入对化合物活性可能有利。

参考文献

[1] Ohira T, Shahar E, Chambliss LE, et al. Risk factors for ischemic stroke subtypes the atherosclerosis risk in communities study[J].

Stroke, 2006, 37(10):2493-2498.

- [2] Uchiyama S, Demaerschalk BM, Goto S, et al. Stroke prevention by cilostazol in patients with atherothrombosis: meta-analysis of placebo-controlled randomized trials[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2009, 18(6):482-490.
- [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 inhibitors[J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2013, 44(3):202-206.
- [4] Ren Y, Liu EH, Lan L, et al. Protective effects and possible mechanism of *Xingxiong* sodium chloride injection on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats[J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2015, 46(6):719-723.
- [5] Deng L, Guo X, Zhai L, et al. Ligustrazine derivatives. part 4: design, synthesis, and biological evaluation of novel ligustrazine-based stilbene derivatives as potential cardiovascular agents[J]. *Chem Biol Drug Des*, 2012, 79(5):731-739.
- [6] Li G, Xu X, Xu K, et al. Ligustrazinyl amides: a novel class of ligustrazine-phenolic acid derivatives with neuroprotective effects[J]. *Chem Cent J*, 2015, 9(1):1-9.
- [7] Benzhong M. Analysis of clinical efficacy of ligustrazine and xuesaitong on the treatment of ischemic stroke[J]. *Med Innov Chin* (中国医学创新), 2013, 10(9):32-33.
- [8] Hu WY, Chen J, Jiang ZY, et al. Synthesis and biological activity of chalcone derivatives as potent activators of Nrf2[J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2016, 47(6):666-672.
- [9] Wu CM, Lin KW, Teng CH, et al. Chalcone derivatives inhibit human platelet aggregation and inhibit growth in human bladder cancer cells[J]. *Biol Pharm Bull*, 2014, 37(7):1191-1198.
- [10] Sahu NK, Balbhadra SS, Choudhary J, et al. Exploring pharmacological significance of chalcone scaffold: a review[J]. *Curr Med Chem*, 2012, 19(2):209-225.
- [11] Schumann H, Luo HK. 2,5-Dimethyl-3,6-bis[(2,6-diisopropylphenylimino)methyl]-and 2,6-Bis[(2,6-diisopropylphenylimino)methyl] pyrazine: two new chelating ligands for transition metal complexes[J]. *Z Naturforsch B*, 2014, 60(1):22-24.
- [12] Born GVR, Cross MJ. The aggregation of blood platelets[J]. *J Physiol*, 1963, 168(1):178-195.