

咪唑芳酸衍生物的合成及抗血小板聚集活性

周鹏, 何勇, 李家明*, 许勤龙, 盛日正(安徽中医学院药学院, 安徽省现代中药重点实验室, 合肥 230031)

摘要: 目的 合成4个咪唑芳酸衍生物。方法 以香草酸、丁香酸为起始原料, 经Williamson醚化、亲核取代和水解反应, 合成咪唑芳酸衍生物4a~4d。结果 目标化合物的结构经IR、¹H-NMR、¹³C-NMR及MS确证。结论 初步的药理实验结果显示, 在12 mmol·L⁻¹浓度下, 化合物4a的血小板抑制率达到84.5%。

关键词: 咪唑芳酸衍生物; 抗血小板聚集; 合成

中图分类号: R916.691; R916.41

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2011)05-0446-05

Synthesis of Imidazole-Aromatic Acid Derivatives and Their Inhibitory Effect on Platelet Aggregation

ZHOU Peng, HE Yong, LI Jiaming*, XU Qinlong, SHENG Rizheng(Department of Pharmacy, Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Anhui Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230031, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To synthesize four new compounds of imidazole-aromatic acid derivatives. **METHODS** Imidazole-aromatic acid derivatives were prepared from vanillic acid, syringic acid via Williamson etherification, nucleophilic substitution, and hydroxylation. **RESULTS** The structures of the target compounds were confirmed by IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR and MS. **CONCLUSION** Preliminary pharmacological results showed that the inhibitory effect on platelet aggregation of compound 4a at 12 mmol·L⁻¹ was 84.5%.

KEY WORDS: imidazole-aromatic acid derivatives; platelet aggregation inhibitory; synthesis

近年来, 随着人口老龄化进程的日趋严重, 以冠状血栓和脑血栓为主的血栓栓塞性疾病发病率呈上升趋势。血栓的形成是多种疾病的病因或并发症, 如肺血栓栓塞症、动脉粥样硬化、冠心病、脑血管疾病、手术或外伤后的深静脉血栓等^[1], 因此研究和开发疗效更好的用于治疗此类疾病的新药有重要意义。

血小板聚集是正常凝血机制中的一个关键环节, 血小板的黏附、聚集和释放将导致血栓形成。抗血小板聚集药物能够抑制血小板的黏附和聚集功能, 抑制血栓形成, 因此在治疗血栓病中发挥重要作用, 一直是人们研究的热点。临床研究结果表明, 许多心血管疾病的发生与血栓素花生四烯酸(TXA₂)的过多生成有关。由于TXA₂的生成需要TXA₂合成酶的参与, 因此, 研制TXA₂合成酶抑制剂有着十分重要的临床意义。奥扎格雷和达唑氧苯为选择性的TXA₂合成酶抑制剂, 具有很强的抗血小板聚集作用^[2-5], 结构特征均为一端是以咪

唑基作为碱性基团, 另一端是以芳酸基作为酸性基团^[6], 见图1。

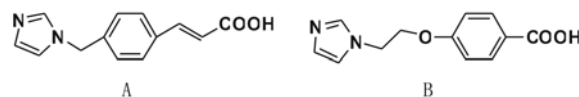


图1 奥扎格雷(A)和达唑氧苯(B)的化学结构

Fig 1 The structures of ozagrel (A) and dazoxiben (B)

奥扎格雷和达唑氧苯均属于咪唑类 TXA₂ 合成酶的抑制剂, 其他含咪唑基团的衍生物还有CS-518, 达美格雷, 吡吗格雷都具有很好的活性^[7], 见图2。从中可以看出咪唑基是一个很好的活性基团。

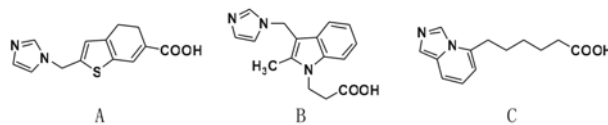


图2 CS-518(A)、达美格雷(B)、吡吗格雷(C)的化学结构

Fig 2 The structures of CS-518(A), dazmagrel(B) and pirmagrel(C)

基金项目: 国家科技重大专项重大新药创制项目(2009ZX09103-123); 安徽省自然科学基金项目(070413118)

作者简介: 周鹏, 男, 硕士生 Tel: 13956096756 E-mail: zp0108@126.com *通信作者: 李家明, 男, 博士, 教授 Tel: 13705694971 E-mail: lijiaming2004@sina.com

本试验以达唑氧苯为模型化合物,按照生物电子等排体原理和拼合原理,以具有活性的咪唑基团作为碱性基团,用中药酚酸中的香草酸或丁香酸替代模型化合物中的苯甲酸得到相应的目标化合物。以中药酚酸的芳酸酯类为起始原料,经过 Williamson 醚化、取代、水解反应即得目标化合物。依照此法共合成了 4 个目标化合物(4a~4d),结构均经 $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, IR 和 MS 确认,并对其抗血小板聚集活性进行了研究。设计的合成路线见图 3。

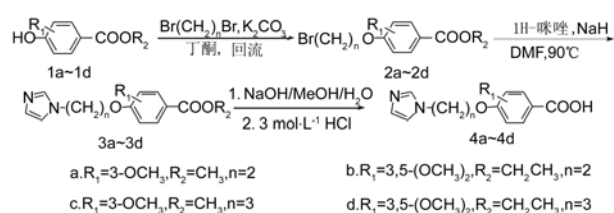


图 3 咪唑芳酸衍生物的合成路线

Fig 3 The synthesis route of imidazole-aromatic acid derivatives

1 仪器与试剂

LCQ ADVANTAGE MAX 液质连用质谱仪(FINNIGA 公司); Nicolet Avatar 370DTGS 型红外光谱仪(Therm-Electron corporation); Bruker 300 MHz 超导核磁共振仪, Bruker 400 MHz 超导核磁共振仪, TMS 为内标, CDCl_3 、 D_2O 为溶剂; BS 224s 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司); 80-2 台式低速离心机[上海医疗器械(集团)有限公司手术器械厂]; LG-PABER-1 型血小板聚集仪(北京世帝科学仪器公司)。WRS-1B 数字熔点仪、SGW X-4 型显微熔点仪(上海精密科学仪器有限公司), 温度未校正。香草酸甲酯为化学纯, 丁香酸乙酯自制, 奥扎格雷钠(莱奥, $40\text{ mg}\cdot\text{支}^{-1}$, 大连美罗大药厂), 其余试剂为分析纯。

2 合成方法

2.1 4-(2-溴乙氧基)-3-甲氧基苯甲酸甲酯(2a)的合成^[3]

将 1,2-二溴乙烷(10 g , 0.054 mol)、无水碳酸钾(7.5 g , 0.054 mol)、 75 mL 丁酮加入三口烧瓶中, 搅拌并升温至回流, 分 3 批加入香草酸甲酯(5 g , 0.027 mol), 回流反应 6 h 后, TLC[展开剂为石油醚-乙酸乙酯(4:1)]检测显示反应基本完全, 冷却

后, 过滤除去无机盐, 用少量丁酮洗涤滤饼, 减压回收丁酮后得淡黄色油状物, 经硅胶柱洗脱分离, 石油醚-乙酸乙酯(4:1)为洗脱剂, 得白色固体 4.7 g , 收率 59.5%, mp $70.5\sim70.8\text{ }^\circ\text{C}$; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 7.66(1H, dd, $J=8.4\text{ Hz}$, 1.8 Hz, ArH), 7.58(1H, d, $J=1.8\text{ Hz}$, ArH), 6.91(1H, d, $J=8.4\text{ Hz}$, ArH), 4.39(2H, t, $J=6.6\text{ Hz}$, CH_2O), 3.69(2H, t, $J=6.6\text{ Hz}$, BrCH_2), 3.92(6H, s, $2\times\text{OCH}_3$); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 75.5 MHz) δ : 166.7, 151.5, 149.2, 123.4, 113.0, 112.8, 68.9, 56.2, 52.1, 28.5; IR(KBr) ν : 3 092.1, 2 946.3, 2 872.9, 2 838.6, 1 743.0, 1 711.6, 1 598.2, 1 516.1, 1 461.6, 1 430.9, 1 387.3, 1 345.9, 1 276.2, 1 222.4, 1 183.3, 1 134.7, 1 007.5, 869.1, 760.5 cm^{-1} 。

用类似方法制得 2b~2d:

4-(2-溴乙氧基)-3, 5-二甲氧基苯甲酸乙酯(2b): 白色固体, 收率 53.0%, mp $49.0\sim51.0\text{ }^\circ\text{C}$; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 7.31(2H, s, ArH), 4.43~4.31 (4H, m, $\text{BrCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ 和 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 3.92 (6H, s, $2\times\text{OCH}_3$), 3.62(2H, t, $J=7.2\text{ Hz}$, BrCH_2), 1.41(3H, t, $J=7.2\text{ Hz}$, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 75.5 MHz) δ : 166.1, 152.9, 140.1, 126.1, 106.7, 72.6, 61.2, 56.3, 29.5, 14.4; IR(KBr) ν : 2 981.8, 2 840.4, 1 714.7, 1 593.4, 1 502.9, 1 460.9, 1 415.0, 1 294.1, 1 334.6, 1 181.2, 1 131.8, 1 033.8, 8 64.8, 759.5 cm^{-1} 。

4-(3-溴丙氧基)-3-甲氧基苯甲酸甲酯(2c): 白色固体, 收率 62.5%, mp $112\sim113\text{ }^\circ\text{C}$; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 7.65(d, $J=8.4\text{ Hz}$, 1H, ArH), 7.55(s, 1H, ArH), 6.91(d, $J=8.4\text{ Hz}$, 1H, ArH), 4.21(t, $J=6.0\text{ Hz}$, 2H, CH_2O), 3.90(s, 6H, $2\times\text{OCH}_3$), 3.63(t, $J=6.3\text{ Hz}$, 2H, BrCH_2), 2.39~2.36(m, 2H, $\text{BrCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$); $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ : 166.8, 152.2, 149.0, 123.5, 123.1, 112.6, 112.0, 66.5, 56.0, 52.0, 32.3, 29.8; IR(KBr) ν : 3 031.8, 2 951.4, 2 880.8, 2 838.3, 1 708.3, 1 596.0, 1 516.4, 1 467.9, 1 431.6, 1 391.2, 1 345.8, 1 276.4, 1 299.1, 1 221.0, 1 184.9, 1 155.2, 1 127.9, 1 022.6, $761.2, 725.3\text{ cm}^{-1}$ 。

4-(3-溴丙氧基)-3, 5-二甲氧基苯甲酸乙酯(2d): 无色液体, 收率 65.2%; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 7.28 (s, 2H, ArH), 7.55(s, 1H, ArH),

4.37(q, $J=7.2$ Hz, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 4.16(t, $J=6.0$ Hz, 2H, CH_2O), 3.90(s, 6H, $2\times\text{OCH}_3$), 3.71(t, $J=6.3$ Hz, 2H, BrCH_2), 2.26~2.23(m, 2H, $\text{BrCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 1.39(t, $J=7.2$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$); ^{13}C -NMR(75.5 MHz, CDCl_3) δ : 166.1, 153.1, 141.0, 125.7, 106.7, 70.9, 61.1, 56.2, 34.9, 33.5, 31.0, 30.5, 14.4; IR(KBr) ν : 3 069.9, 2 975.7, 2 840.2, 1 705.2, 1 596.0, 1 515.4, 1 435.1, 1 343.9, 1 291.2, 1 264.9, 1 220.3, 1 111.4, 1 029.6, 965.5, 876.3, 762.9 cm^{-1} .

2.2 4-[2-(1*H*-咪唑-1-基)乙氧基]-3-甲氧基苯甲酸甲酯(**3a**)的合成^[8]

将咪唑(1 g, 15 mmol)、NaH(0.4 g, 16.6 mmol)、20 mL 无水 DMF 加入三口烧瓶中, 磁力搅拌并升温至 90 $^{\circ}\text{C}$, 保温 30 min 后, 加入 4-(2-溴乙氧基)-3-甲氧基苯甲酸甲酯(4.0 g, 13.9 mmol), 保温 6 h, TLC[展开剂为石油醚-乙酸乙酯(4:1)]检测显示反应基本完全, 冷却后, 加入水和乙酸乙酯, 分出有机相, 水相用乙酸乙酯萃取, 合并有机相, 水洗, 无水硫酸钠干燥, 减压回收乙酸乙酯得淡黄色油状物, 经硅胶柱洗脱分离, 甲醇-乙酸乙酯(1:4)为洗脱剂, 得淡黄色固体 2.1 g, 收率 55.3%, mp 95.8~98.1 $^{\circ}\text{C}$; ^1H -NMR(CDCl_3 , 400 MHz) δ : 7.67(1H, s, 咪唑环 2-H), 7.62(1H, dd, $J=8.4$, 1.6 Hz, ArH), 7.56(1H, d, $J=1.6$ Hz, ArH), 7.11(1H, s, 咪唑环 4-H), 7.07(1H, s, 咪唑环 5-H), 7.11(1H, s, ArH), 6.79(1H, d, $J=8.4$ Hz, ArH), 4.40(2H, t, $J=5.0$ Hz, OCH_2), 4.30(2H, t, $J=5.0$ Hz, NCH_2), 3.90(6H, s, OCH_3 和 COOCH_3); ^{13}C -NMR(CDCl_3 , 100 MHz) δ : 166.6, 151.4, 149.2, 137.7, 129.5, 123.9, 123.3, 119.6, 112.8, 112.4, 68.4, 56.1, 52.0, 46.4; IR(KBr) ν : 3 429.6, 2 952.0, 1 711.9, 1 659.3, 1 598.9, 1 563.6, 1 461.5, 1 438.4, 1 344.3, 1 273.9, 1 221.8, 1 178.2, 1 105.6, 1 135.7, 1 073.0, 1 032.6, 977.5, 902.0, 875.7, 819.8, 764.8, 733.6, 665.8 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 277.10 $[\text{M}^++\text{H}]$.

用类似方法制得 **3b**~**3d**:

4-[2-(1*H*-咪唑-1-基)乙氧基]-3, 5-二甲氧基苯甲酸乙酯(**3b**): 淡黄色固体, 收率 51.0%; mp 81.5~82.1 $^{\circ}\text{C}$; ^1H -NMR(CDCl_3 , 400 MHz) δ : 7.66(1H, s, 咪唑环 2-H), 7.28(2H, s, ArH), 7.11(1H,

s, 咪唑环 4-H), 7.06(1H, s, 咪唑环 5-H), 4.38(2H, q, $J=7.2$ Hz, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 4.36(4H, s, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.84(6H, s, OCH_3), 1.39(3H, t, $J=7.2$ Hz, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); ^{13}C -NMR(CDCl_3 , 100 MHz) δ : 166.1, 152.8, 140.3, 137.7, 129.0, 126.1, 119.5, 106.8, 72.1, 61.2, 56.1, 47.3, 14.4; IR(KBr) ν : 3 401.9, 2 942.5, 2 843.2, 1 710.4, 1 592.7, 1 506.5, 1 461.5, 1 417.0, 1 365.8, 1 334.5, 1 224.1, 1 184.9, 1 129.2, 1 028.7, 866.4, 823.8, 763.7, 666.2, 625.5 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 321.04 $[\text{M}^++\text{H}]$.

4-[3-(1*H*-咪唑-1-基)丙氧基]-3-甲氧基苯甲酸甲酯(**3c**): 淡黄色液体, 收率为 56.3%; ^1H -NMR(CDCl_3 , 400 MHz) δ : 7.62(d, $J=8.4$ Hz, 1H, ArH), 7.55(s, 1H, ArH), 7.47(s, 1H, 咪唑环 2-H), 7.06(s, H, 咪唑环 4-H), 6.92(s, H, 咪唑环 5-H), 6.80(d, 1H, $J=8.4$ Hz, 1H, ArH), 4.21(t, $J=6.8$ Hz, 2H, OCH_2), 3.97(t, $J=6.0$ Hz, 2H, NCH_2), 3.91(s, 3H, OCH_3), 3.87(s, 3H, OCH_3), 2.27~2.23(m, 2H, CH_2); ^{13}C -NMR(100 MHz, CDCl_3) δ : 166.7, 151.8, 149.0, 137.3, 123.4, 123.3, 112.4, 112.1, 64.8, 55.9, 51.9, 43.2, 30.5; IR(KBr) ν : 2 937.5, 2 877.8, 1 712.3, 1 665.3, 1 597.7, 1 516.0, 1 463.9, 1 350.0, 1 300.2, 1 278.1, 1 224.5, 1 181.1, 1 141.7, 1 100.7, 1 035.8, 992.2, 955.3, 918.53, 879.3, 832.4, 765.12 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 291.12 $[\text{M}^++\text{H}]$.

4-[3-(1*H*-咪唑-1-基)丙氧基]-3, 5-二甲氧基苯甲酸乙酯(**3d**): 白色固体, 收率为 45.7%, mp 81.5~82.1 $^{\circ}\text{C}$; ^1H -NMR(CDCl_3 , 400 MHz) δ : 7.56(s, 1H, 咪唑环 2-H), 7.31(s, 2H, ArH), 7.06(s, H, 咪唑环 4-H), 6.98(s, H, 咪唑环 5-H), 4.39(q, $J=7.2$ Hz, 2H, OCH_2CH_3), 4.29(t, $J=6.8$ Hz, 2H, OCH_2), 3.99(t, $J=5.6$ Hz, 2H, NCH_2), 3.91(s, 3H, OCH_3), 2.15~2.12(m, 2H, CH_2); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 166.1, 153.0, 140.6, 137.6, 129.4, 125.9, 118.9, 106.6, 68.9, 61.1, 56.1, 43.3, 31.8, 14.3; IR(KBr) ν : 2 939.0, 1 705.6, 1 589.7, 1 504.5, 1 461.1, 1 414.5, 1 366.4, 1 329.0, 1 249.2, 1 223.3, 1 184.3, 1 123.7, 1 033.5, 944.3, 869.0, 827.9, 760.5, 665.3 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 335.10 $[\text{M}^++\text{H}]$.

2.3 4-[2-(1*H*-咪唑-1-基)乙氧基]-3-甲氧基苯甲酸(**4a**)合成

将氢氧化钠(0.3 g, 7.5 mmol)的 10 mL 水溶液

加入 **3a**(1.5 g, 5.4 mmol)与 10 mL 甲醇溶液中, 室温搅拌 2 h 后, TLC[展开剂为甲醇-乙酸乙酯(1:3)]检测显示反应基本完全, 减压回收溶剂, 冷却后用 3 mol·L⁻¹ HCl 调节 pH 至 4~5, 立即有白色沉淀出现, 抽滤、水洗, 干燥得白色晶体, 收率 86.0%, mp 194.9~195.9 °C; ¹H-NMR(D₂O, 400 MHz) δ: 8.76(1H, s, 咪唑环 2-H), 7.54(1H, s, 咪唑环 4-H), 7.52(1H, d, *J*=8.4 Hz, ArH), 7.43(1H, s, ArH), 7.41(1H, s, 咪唑环 5-H), 6.94(1H, d, *J*=8.4 Hz, ArH), 4.63(2H, t, *J*=4.8 Hz, OCH₂), 4.47(2H, t, *J*=4.8 Hz, NCH₂), 3.77(3H, s, OCH₃); ¹³C-NMR(D₂O, 100 MHz) δ: 169.9, 150.9, 148.1, 135.1, 124.0, 123.3, 122.2, 119.6, 112.9, 112.7, 66.9, 55.8, 48.6; IR(KBr)ν: 2 937.9, 2 825.9, 2 591.1, 1 690.6, 1 599.5, 1 516.3, 1 461.9, 1 425.4, 1 391.8, 1 268.4, 1 226.5, 1 133.2, 1 040.3, 906.3, 818.8, 759.6 cm⁻¹; ESI-MS *m/z*: 263.12[M⁺+H]。

用类似方法制得 **4b~4d**:

4-[2-(1*H*-咪唑-1-基)乙氧基]-3, 5-二甲氧基苯甲酸(**4b**): 白色固体, 收率为 88.1%, mp 238.9~240.5 °C; ¹H-NMR(D₂O, 400 MHz) δ: 8.77(1H, s, 咪唑环 2-H), 7.54(1H, s, 咪唑环 4-H), 7.45(1H, s, 咪唑环 5-H), 7.06(2H, s, ArH), 4.49(2H, t, *J*=4.8 Hz, OCH₂), 4.34(2H, t, *J*=4.8 Hz, NCH₂), 3.69(6H, s, OCH₃); ¹³C-NMR(D₂O, 100 MHz) δ: 169.4, 151.9, 138.9, 135.2, 125.9, 122.1, 119.3, 106.7, 70.5, 55.7, 49.4; IR(KBr)ν: 3 108.6, 3 005.4, 2 942.9, 2 844.6, 2 618.0, 1 697.1, 1 589.1, 1 503.0, 1 452.9, 1 413.9, 1 321.0, 1 223.9, 1 124.6, 1 053.0, 834.0, 770.9 cm⁻¹; ESI-MS *m/z*: 293.06[M⁺+H]。

4-[3-(1*H*-咪唑-1-基)丙氧基]-3-甲氧基苯甲酸(**4c**): 白色固体, 收率 87.5%, mp 169.2~170.0 °C; ¹H-NMR(D₂O, 400 MHz) δ: 8.63(s, 1H, 咪唑环 2-H), 7.41(s, 1H, 咪唑环 4-H), 7.36(s, 1H, 咪唑环 5-H), 7.27(d, *J*=8.4 Hz, 1H, ArH), 7.11(s, 1H, ArH), 6.64(d, *J*=8.4 Hz, 1H, ArH), 4.31(t, *J*=6.8 Hz, OCH₂), 3.94(t, *J*=5.6 Hz, 2H, NCH₂), 3.63(s, 3H, OCH₃), 2.26~2.22(m, 2H, CH₂); ¹³C-NMR(100 MHz, D₂O) δ: 169.5, 151.2, 147.4, 134.5, 123.9, 121.9, 121.8, 119.6, 111.8, 111.3, 65.5, 55.2, 46.7, 28.6; IR(KBr)ν: 3 540.0, 3 385.7, 2 930.1, 1 705.7, 1 657.9, 1 597.7, 1 514.4,

1 464.8, 1 392.3, 1 366.1, 1 272.6, 1 216.3, 1 133.0, 1 022.6, 910.8, 874.0, 814.9, 762.2, 660.5, 626.8 cm⁻¹; ESI-Mass *m/z*: 277.08[M⁺+H]。

4-[3-(1*H*-咪唑-1-基)丙氧基]-3, 5-二甲氧基苯甲酸盐(**4d**): 白色固体, 收率 89.2%, mp 192.5~193.0 °C; ¹H-NMR(D₂O, 400 MHz) δ: 8.68(s, 1H, 咪唑环 2-H), 7.47(s, 1H, 咪唑环 4-H), 7.43(s, 1H, 咪唑环 5-H), 7.00(s, 2H, ArH), 4.39(t, *J*=6.8 Hz, 2H, OCH₂), 3.87(t, *J*=5.6 Hz, 2H, NCH₂), 3.72(s, 6H, OCH₃), 2.20~2.17(m, 2H, CH₂); ¹³C-NMR(100 MHz, D₂O) δ: 169.2, 152.1, 139.4, 134.6, 125.5, 121.8, 119.7, 106.8, 69.2, 55.7, 46.2, 29.6; IR(KBr)ν: 2 939.8, 2 839.5, 1 697.4, 1 590.4, 1 540.0, 1 502.8, 1 463.6, 1 415.4, 1 383.4, 1 226.5, 1 124.7, 1 073.7, 947.7, 869.1, 768.1, 664.2 cm⁻¹; ESI-MS *m/z*: 307.09[M⁺+H]。

2.4 咪唑芳酸类衍生物的抗血小板聚集实验^[9]

将大耳白家兔[♂, 由南京市江宁区青龙山动物养殖厂提供, 许可证号: SCXK(苏)2007-0008]随机分组, 每组 6 只。分别给予化合物 **4a~4d**, 奥扎格雷钠(阳性对照组)和生理盐水(空白对照组), 给药浓度为 12 mmol·L⁻¹, 给药体积为 2 mL·kg⁻¹。以 3%戊巴比妥钠静脉麻醉家兔, 颈动脉插管取血, 以 3.8%枸橼酸钠为抗凝剂(*v*:*v*=1:9), 以 800 r·min⁻¹ 离心 10 min, 制备富血小板血浆(PRP); 剩余部分以 3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 制备贫血小板血浆(PPP), 聚集诱导剂用 ADP(终浓度 30 μmol·L⁻¹)。每管 270 μL PRP 温育 5 min, 然后加入 ADP 诱导聚集, 用 LG-PABER-1 型血小板聚集仪检测血小板最大聚集率。

血小板聚集抑制率按下列公式计算: 抑制率(%)=(空白对照管聚集率-给药管聚集率)/空白对照管聚集率×100%。

3 结果与讨论

目标化合物的体内抗血小板聚集实验结果见表 1, 化合物 **4a~4d** 对 ADP 诱导的血小板聚集具有很好的抑制活性, 均强于阳性药奥扎格雷, 其中 **4a** 的血小板抑制率明显高于 **4b**, **4c** 和 **4d**。

化合物 **4a**, **4b** 从咪唑的末端氮原子到羧基碳原子间隔 9 个原子, 与奥扎格雷和达唑氧苯从咪唑末端氮原子到羧基碳原子间隔原子数是一致的, 该分子长度正好适合插入到 TXA₂ 合成酶的结合

表1 化合物 4a~4d 对血小板聚集的抑制活性($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 1 The inhibitory effect on platelet aggregation of compounds 4a~4d($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

组别	血小板 最大聚集率/%	抑制率/%
空白对照组	38.0±6.3	—
阳性对照组	28.6±3.8 ¹⁾	24.7
化合物 4a	5.9±1.6 ²⁾	84.5
化合物 4b	14.3±2.5 ²⁾	62.5
化合物 4c	17.4±2.9 ²⁾	64.1
化合物 4d	15.2±1.9 ²⁾	60.0

注：与空白对照组比较，¹⁾ $P<0.05$ ，²⁾ $P<0.01$

Note: Compared with blank control group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$

合区域^[2]。化合物 4c 和 4d 相应间隔 10 个原子，分子长度的增加，可能是造成抑制率降低的原因。

从所合成的小分子化合物的初步构效关系可以看出，分子结构中碱性基团和羧基之间的距离是影响抗血小板聚集活性的主要因素之一，详细的构效关系仍在进一步研究之中。

REFERENCES

[1] ZHAO X L, WU F. Research progress in the clinical application of antithrombotic drugs [J]. Clin Med J (临床药物治疗杂志), 2009, 7(3): 6-12.

[2] LIZUKA K, AKAHANE K, MOMOSE D, et al. Highly selective inhibitors of thromboxane synthase imidazole derivatives [J]. J Med Chem, 1981, 24(10): 1139-1148.

[3] ACKERLEY N, BREWSTER A G, BROWN G R, et al. A novel approach to dual-acting thromboxane receptor antagonist/synthase inhibitors based on the link of 1, 3-dioxane thromboxane receptor antagonists and thromboxane synthase inhibitors [J]. J Med Chem, 1995, 38(10): 1608-1628.

[4] TETSUO A, TAISUKE H, YUKITERU S, et al. Structure-activity relationship study on the 6-membered heteroaromatic ring system of diphenylpyrazine-type prostacyclin receptor agonist [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2007, 17(23): 6588-6592.

[5] PAUL W M, NIGEL M A, ROBERT F G B, et al. Structure-activity relationships in an imidazole-based series of thromboxane synthase inhibitors [J]. J Med Chem, 1987, 30(4): 1588-1595.

[6] KATO K, OHKAWA S, TERAOKA S, et al. Thromboxane synthetase inhibitors (TXSI) design, synthesis, and evaluation of a novel series of omega-pyridylalkenoic acids [J]. J Med Chem, 1985, 28(3): 287-294.

[7] LIU X J, FANG L, CHENG M S. Progress of TXSIs and TXA₂ receptor antagonists [J]. Prog Pharm Sci (药理学进展), 2002, 26(3): 143-146.

[8] CROSS P E, DICKINSON R P, PARRY M J, et al. Selective thromboxane synthetase inhibitors 1,1-[(Aryloxy)alkyl]-1H-imidazoles [J]. J Med Chem, 1985, 28(10): 1427-1432.

[9] KONG Y, PAN W J, HUANG Y J, et al. Effects of Fufang Sanqi pills on hemorheological parameters, platelet aggregation and thrombus formation in experimental animals [J]. Mod Chin Med(中国现代中药), 2006, 8(1): 8-10.

收稿日期：2010-08-12