

• 实验研究 •

4-甲基-(3'S, 4'S)-凯林硫代内酯衍生物的合成及其体外抗血小板聚集活性研究

胡梦楠, 闫超群, 何素海, 梁泰刚*, 李青山*

山西医科大学 药学院, 山西 太原 030001

摘要: **目的** 设计并合成凯林硫代内酯衍生物, 并测定其体外血小板聚集抑制活性。**方法** 以 7-羟基-4-甲基香豆素为原料, 经亲核取代、克莱森重排、硫化反应、sharpless 不对称羟基化、酯化反应制备目标化合物 **5a~5h**; 采用微量反应板酶标仪比浊法评价目标化合物的抗血小板聚集活性。**结果** 合成了 8 个新化合物, 其结构经 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 及 MS 确证。活性测试结果表明, 化合物 **5h**、**5b** 的活性强于阳性对照药奥扎格雷钠, 具有抗血小板聚集活性。**结论** 4-甲基-(3'S, 4'S)-凯林硫代内酯衍生物具有良好的抗血小板聚集活性, 值得进一步研究。

关键词: 凯林硫代内酯; 7-羟基-4-甲基香豆素; 奥扎格雷钠; 合成; 抗血小板聚集活性

中图分类号: R914; R973 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2015)09-1051-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2015.09.001

Synthesis of 4-methyl-(3'S, 4'S)-khelthiolactone derivatives and their anti-platelet aggregation activities *in vitro*

HU Meng-nan, YAN Chao-qun, HE Su-hai, LIANG Tai-gang, LI Qing-shan

School of Pharmaceutical Science, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

Abstract: **Objective** To design and synthesize khelthiolactone derivatives, and to evaluate their anti-platelet aggregation activities *in vitro*. **Methods** 7-Hydroxy-4-methyl coumarin was used as starting material to synthesize the target compounds by nucleophilic substitution reaction, claisen rearrangement, sulfuration reaction, sharpless asymmetrical dihydroxylation, and esterification reactions. The anti-platelet aggregation activities of the synthesized compounds were evaluated by microplate reader method. **Results** Eight novel khelthiolactone derivatives were synthesized and characterized by $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, and MS data. The *in vitro* assay indicated that compounds **5h** and **5b** exhibited remarkable anti-platelet aggregation activities, and they were better than control drug ozagrel sodium. **Conclusion** 4-Methyl-(3'S, 4'S)-khelthiolactone derivatives have good anti-platelet aggregation activities, which could be a valuable candidate for further development.

Key words: khelthiolactone; 7-hydroxy-4-methyl coumarin; ozagrel sodium; synthesis; anti-platelet aggregation activity

凯林内酯类化合物在结构上属于 7, 8-吡喃型香豆素, 主要存在于前胡属植物中^[1-2]。此类化合物具有抗心肌缺血、改善心脏功能、降低血压、祛痰、抗菌、抗肿瘤等活性^[3], 还发现部分凯林内酯衍生物具有明确的抗血小板聚集活性^[4]。此外, 炎症的促凝作用与血管内皮细胞损伤是导致血栓的重要因

素^[5-6], 有报道发现香豆素类化合物 2 位氧原子经硫原子取代的化合物如 4-甲基硫代香豆素衍生物具有显著的抗炎、抗脂质过氧化及保护血管内皮细胞的作用^[7-8]。本文以 7-羟基-4-甲基香豆素为原料, 经亲核取代、克莱森重排、硫化反应、sharpless 不对称羟基化、酯化反应合成了一系列 4-甲基凯林硫代

收稿日期: 2015-05-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81101687)

作者简介: 胡梦楠 (1989—), 女, 吉林松原人, 硕士研究生。E-mail: hmn0624@163.com

*通信作者 梁泰刚 (1978—), 男, 山西省文水人, 副教授, 硕士生导师, 主要从事基于机制的药物设计与合成研究。E-mail: ltaigang@163.com
李青山 (1965—), 男, 湖南衡阳人, 教授, 博士生导师, 主要从事基于机制的药物设计与合成研究。E-mail: sxyxlqs@163.com

内酯衍生物 **5a**~**5h**, 旨在寻找有较高抗血小板聚集活性的新化合物, 并探讨其构效关系。

1 材料

1.1 仪器

X-4 数字显示显微熔点测定仪; Bruker Avance 600 MHz 超导核磁共振波谱仪; API 3200 QTRAP 液质联用仪; 美国 Perkin-Elmer 241 旋光仪; 日本岛津 LC-10A 高效液相色谱仪; 美国 BIO-RAD 680 型全自动酶标仪。

1.2 试剂

7-羟基-4-甲基香豆素(质量分数≥98%, 阿拉丁化学试剂公司); *N,N*-二乙基苯胺、钼酸钾二水合物(质量分数≥99%, 阿拉丁化学试剂公司); 甲烷磺酰胺(质量分数≥97%, 安耐吉化学试剂公司); 3-氯-3-甲基-1-丁炔、4-二甲氨基吡啶、二环己基碳二亚胺(质量分数≥99%, 安耐吉化学试剂公司); (DHQD)₂-PYR(质量分数≥97%, Sigma-Aldrich 化学试剂公司); 铁氰化钾、碳酸钾、碘化钾(天津市风船化学试剂科技有限公司); 其余有机酸均为阿拉丁化学试剂公司提供, 质量分数≥97%。注射用奥扎格雷钠(质量分数≥95%, 产品批号 13102731, 扬子江药业集团有限公司)。

1.3 动物

家兔, 雄性, 体质量 2.0~2.5 kg, 由山西医科大学动物实验中心提供, 动物许可证号 SYXK(晋) 2013-0002。

2 方法和结果

2.1 合成部分

2.1.1 4-甲基邪蒿素(2)的合成 以 7-羟基-4-甲基香豆素(5 mmol)为原料, 30 mL 丙酮作为溶剂, 4 mL *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)作为助溶剂, 加入无水碳酸钾(12.5 mmol)、碘化钾(5 mmol)、四丁基溴化铵(TBAB, 0.5 mmol)、3-氯-3-甲基-1-丁炔(5 mL), 70~80 °C 反应 72 h, 石油醚-丙酮(3:1)为展开剂, TLC 监测反应完全。冷却至室温, 滤过, 滤液加入 100 mL 醋酸乙酯稀释, 水(50 mL×4)洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 滤过, 去除干燥剂, 减压蒸出溶剂, 得到浓缩物, 不经处理直接投入下一步反应。

将上一步的浓缩物加入 20 mL *N,N*-二乙基苯胺中, 回流约 20 h, 石油醚-丙酮(3:1)为展开剂, 监测反应完全^[9-12]。反应液冷却至室温, 150 mL 醋酸乙酯稀释反应液, 依次用 10%盐酸水溶液、蒸馏

水、氯化钠水溶液(50 mL×3)洗涤, 收集有机相, 减压蒸出溶剂, 经硅胶柱色谱纯化, 石油醚-醋酸乙酯(12:1)洗脱, 得到白色固体 **2**, 收率 25%, mp 140~142 °C (文献值^[13]: mp 141~143 °C)。

2.1.2 4-甲基-硫代内酯邪蒿素(3)的合成^[14] 将 4-甲基邪蒿素(0.5 mmol)溶于 10 mL 甲苯中, 加入劳森试剂(0.3 mmol), 回流 4 h, 石油醚-丙酮(3:1)为展开剂, TLC 监测反应完全。减压蒸出溶剂, 经硅胶柱色谱纯化, 石油醚-醋酸乙酯(10:1)洗脱, 得到黄色固体 **3**, 收率为 33%, mp 188~190 °C。

2.1.3 4-甲基-(3'S, 4'S)-凯林硫代内酯(4)的合成 将铁氰化钾(0.75 mmol)、碳酸钾(0.75 mmol)、手性催化剂(DHQD)₂-PYR(0.005 mmol)、二水合钼酸钾(5 nmol)依次加入 5 mL 叔丁醇-水(1:1)溶液中, 室温搅拌 10 min。降温至 0 °C, 加入甲烷磺酰胺(0.25 mmol), 待溶液由浅黄色变为橘色后, 加入 4-甲基-硫代内酯邪蒿素(0.25 mmol), 0 °C 反应 24 h。向反应液中加入偏重亚硫酸钠(1 g)、蒸馏水(2.5 mL)、二氯甲烷(2.5 mL), 自然升至室温, 反应 4 h^[15-16]。反应液用二氯甲烷(10 mL×3)萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 滤过, 去除干燥剂, 减压蒸出溶剂, 得到黄色固体 **4**, 收率为 57%, mp 134~136 °C, 对映体超量(ee)为 77%。

2.1.4 4-甲基-(3'S,4'S)-二苯甲酰氧基-3',4'-(-)-凯林硫代内酯(5a)的合成 将 4-甲基-(3'S, 4'S)-凯林硫代内酯(0.5 mmol)溶于 10 mL 无水二氯甲烷中, 加入苯甲酸(2 mmol)、4-二甲氨基吡啶(DMAP, 0.064 mmol)、二环己基碳二亚胺(DCC, 2 mmol), 40~50 °C 反应 4 h, 石油醚-丙酮(3:1)为展开剂, TLC 监测反应完全^[17]。滤过, 减压蒸出溶剂, 所得固体经硅胶柱色谱纯化, 石油醚-丙酮(9:1)洗脱得到目标化合物 **5a**。收率为 34%, mp 186~187 °C, $[\alpha]_D^{20} -78.7$ (*c* 0.7, CH₂Cl₂), ESI-MS *m/z* 501.1 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 7.57 (d, *J*=8.9 Hz, 1H, H-5), 7.46~7.53 (m, 2H, Ar-H), 7.29~7.35 (m, 4H, Ar-H), 7.05 (d, *J*=4.9 Hz, 1H, H-4'), 6.96 (d, *J*=8.9 Hz, 1H, H-6), 6.94 (s, 1H, H-3), 5.71 (d, *J*=5.0 Hz, 1H, H-3'), 2.29 (s, 3H, CH₃-4), 1.64 (s, 3H, CH₃-2'), 1.53 (s, 3H, CH₃-2'); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 198.56, 168.30, 168.25, 159.76, 158.783, 146.61, 136.21, 135.69, 132.83, 132.76, 132.71, 132.18, 131.27, 131.04, 129.90, 128.93, 118.43, 118.23,

109.77, 80.86, 73.74, 64.22, 28.05, 25.66, 20.94。

2.1.5 4-甲基-(3'S,4'S)-二邻氯苯甲酰氧基-3',4'-(-)-凯林硫代内酯(**5b**)的合成 按照化合物**5a**的合成方法,由化合物**4**与邻氯苯甲酸反应,粗品经硅胶柱色谱纯化,石油醚-丙酮(7:1)洗脱得到目标化合物**5b**。收率为42%, mp 186~188 °C, $[\alpha]_D^{20}$ -94.1 (*c* 0.8, CH₂Cl₂), ESI-MS *m/z* 588.8 [M+NH₄]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 7.85 (d, 1H, Ar-H), 7.79 (d, 1H, Ar-H), 7.56 (d, *J*=8.9 Hz, 1H, H-5), 7.31~7.48 (m, 5H, Ar-H), 7.17~7.19 (m, 1H, Ar-H), 7.04 (d, 1H, *J*=4.9 Hz, H-4'), 7.01 (s, 1H, H-3), 6.92 (d, *J*=8.9 Hz, 1H, H-6), 5.74 (d, *J*=4.9 Hz, 1H, H-3'), 2.31 (s, 3H, CH₃-4), 1.60 (s, 6H, CH₃-2'×2)。¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 198.71, 169.13, 168.89, 159.82, 158.81, 146.73, 143.85, 143.64, 135.65, 135.19, 134.77, 134.60, 134.27, 133.45, 133.15, 132.29, 131.55, 129.90, 128.86, 128.51, 128.17, 118.29, 80.78, 73.53, 63.96, 24.48, 24.17, 20.95。

2.1.6 4-甲基-(3'S,4'S)-二间氯苯甲酰氧基-3',4'-(-)-凯林硫代内酯(**5c**)的合成 按照化合物**5a**的合成方法,由化合物**4**与间氯苯甲酸反应,粗品经硅胶柱色谱纯化,石油醚-丙酮(7:1)洗脱得到目标化合物**5c**。收率为29%, mp 159~160 °C, $[\alpha]_D^{20}$ -24.0 (*c* 0.8, CH₂Cl₂), ESI-MS *m/z* 588.8 [M+NH₄]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 7.76~7.82 (m, 4H, Ar-H), 7.59 (d, *J*=8.9 Hz, 1H, H-5), 7.45~7.53 (m, 2H, Ar-H), 7.28~7.34 (m, 2H, Ar-H), 7.02 (d, *J*=4.9 Hz, 1H, H-4'), 6.98 (d, *J*=9.0 Hz, 1H, H-6), 6.96 (s, 1H, H-3), 5.69 (d, *J*=4.9 Hz, 1H, H-3'), 2.31 (s, 3H, CH₃-4), 1.62 (s, 3H, CH₃-2'), 1.52 (s, 3H, CH₃-2')。

2.1.7 4-甲基-(3'S,4'S)-二对氯苯甲酰氧基-3',4'-(-)-凯林硫代内酯(**5d**)的合成 按照化合物**5a**的合成方法,由化合物**4**与对氯苯甲酸反应,粗品经硅胶柱色谱纯化,石油醚-丙酮(8:1)洗脱得到目标化合物**5d**。收率为33%, mp 173~175 °C, $[\alpha]_D^{20}$ -19.4 (*c* 0.8, CH₂Cl₂), ESI-MS *m/z* 588.8 [M+NH₄]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 7.77~7.82 (m, 4H, Ar-H), 7.58 (d, *J*=8.90 Hz, 1H, H-5), 7.27~7.35 (m, 4H, Ar-H), 7.00 (d, *J*=4.9 Hz, 1H, H-4'), 6.97 (d, *J*=9.0 Hz, 1H, H-6), 6.95 (s, 1H, H-3), 5.68 (d, *J*=4.9 Hz, 1H, H-3'),

2.30 (s, 3H, CH₃-4), 1.60 (s, 3H, CH₃-2'), 1.52 (s, 3H, CH₃-2')。 ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 198.46, 167.52, 167.41, 159.69, 158.73, 156.98, 139.83, 138.22, 134.05, 131.71, 131.48, 131.15, 129.90, 129.01, 118.50, 118.22, 80.82, 73.81, 64.64, 60.40, 25.85, 25.58, 20.91。

2.1.8 4-甲基-(3'S,4'S)-二邻甲苯甲酰氧基-3',4'-(-)-凯林硫代内酯(**5e**)的合成 按照化合物**5a**的合成方法,由化合物**4**与邻甲基苯甲酸反应,粗品经硅胶柱色谱纯化,石油醚-丙酮(11:1)洗脱得到目标化合物**5e**。收率为29%, mp 212~214 °C, $[\alpha]_D^{20}$ -87.3 (*c* 1.1, CH₂Cl₂), ESI-MS *m/z* 529.1 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 7.78 (d, 1H, Ar-H), 7.67 (d, 1H, Ar-H), 7.55 (d, *J*=8.8 Hz, 1H, H-5), 7.27~7.36 (m, 2H, Ar-H), 7.03~7.20 (m, 4H, Ar-H), 7.03 (d, *J*=4.9 Hz, 1H, H-4'), 6.98 (s, 1H, H-3), 6.94 (d, *J*=8.8 Hz, 1H, H-6), 5.70 (d, *J*=4.9 Hz, 1H, H-3'), 2.48 (d, 6H, CH₃-Ar), 2.30 (s, 3H, CH₃-4), 1.62 (s, 3H, CH₃-2'), 1.55 (s, 3H, CH₃-2')。 ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 198.62, 168.11, 167.74, 159.71, 158.77, 146.69, 136.32, 135.58, 135.09, 134.97, 134.45, 134.20, 133.69, 133.48, 133.31, 129.95, 129.52, 129.30, 129.12, 127.63, 118.34, 109.57, 80.64, 74.77, 64.86, 28.08, 27.47, 25.57, 25.13, 16.98。

2.1.9 4-甲基-(3'S,4'S)-二对溴苯甲酰氧基-3',4'-(-)-凯林硫代内酯(**5f**)的合成 按照化合物**5a**的合成方法,由化合物**4**与对溴苯甲酸反应,粗品经硅胶柱色谱纯化,石油醚-丙酮(8:1)洗脱得到目标化合物**5f**。收率为38%, mp 224~225 °C, $[\alpha]_D^{20}$ -236.1 (*c* 0.5, CH₂Cl₂), ESI-MS *m/z* 680.7 [M+Na]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 7.70~7.74 (m, 4H, Ar-H), 7.58 (d, *J*=8.9 Hz, 1H, H-5), 7.44~7.51 (m, 4H, Ar-H), 7.00 (d, *J*=4.9 Hz, 1H, H-4'), 6.97 (d, *J*=8.9 Hz, 1H, H-6), 6.95 (s, 1H, H-3), 5.67 (d, *J*=4.9 Hz, 1H, H-3'), 2.30 (s, 3H, CH₃-4), 1.60 (s, 3H, CH₃-2'), 1.52 (s, 3H, CH₃-2')。

2.1.10 4-甲基-(3'S,4'S)-二邻溴苯甲酰氧基-3',4'-(-)-凯林硫代内酯(**5g**)的合成 按照化合物**5a**的合成方法,由化合物**4**与邻溴苯甲酸反应,粗品经硅胶柱色谱纯化,石油醚-丙酮(9:1)洗脱得到目标化合物**5g**。收率27%, mp 212~213 °C, $[\alpha]_D^{20}$ -78.2

(*c* 1.3, CH₂Cl₂), ESI-MS *m/z* 659.0 [M+H]⁺. ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7.76~7.84 (m, 2H, Ar-H), 7.60~7.62 (m, 1H, Ar-H), 7.57 (d, *J*=8.9 Hz, 1H, H-5), 7.51~7.53 (m, 1H, Ar-H), 7.22~7.32 (m, 4H, Ar-H), 7.02~7.03 (d, *J*=4.7 Hz, 2H, H-4', 3), 6.92 (d, *J*=8.9 Hz, 1H, H-6), 5.75 (d, *J*=4.8 Hz, 1H, H-3'), 2.32 (s, 3H, CH₃-4), 1.61 (d, 6H, CH₃-2'×2). ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 198.62, 168.53, 168.21, 159.73, 158.78, 146.76, 136.94, 136.64, 135.57, 135.07, 134.98, 134.47, 130.10, 129.99, 124.21, 123.97, 118.37, 109.49, 80.73, 74.82, 65.03, 28.77, 25.33, 20.94.

2.1.11 4-甲基-(3'S,4'S)-二-(2,4-二氯苯甲酰氧基)-3',4'-(-)-凯林硫代内酯(5h)的合成 按照化合物**5a**的合成方法,由化合物**4**与2,4-二氯苯甲酸反应,粗品经硅胶柱色谱纯化,石油醚-丙酮(6:1)洗

脱得到目标化合物**5h**。收率48%, mp 193~194 °C, [α]_D²⁰ -209.2 (*c* 0.3, CH₂Cl₂), ESI-MS *m/z* 679.5 [M+K]⁺. ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7.80 (d, 1H, Ar-H), 7.76 (d, 1H, Ar-H), 7.58 (d, *J*=8.9 Hz, 1H, H-5), 7.43 (d, 1H, Ar-H), 7.35 (d, 1H, Ar-H), 7.25~7.27 (m, 1H, Ar-H), 7.17~7.19 (m, 1H, Ar-H), 7.01 (s, 1H, H-3), 6.98 (d, *J*=4.9 Hz, 1H, H-4'), 6.93 (d, *J*=8.9 Hz, 1H, H-6), 5.71 (d, *J*=4.9 Hz, 1H, H-3'), 2.32 (s, 3H, CH₃-4), 1.57 (d, 6H, CH₃-2'×2). ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 198.55, 167.32, 166.84, 159.65, 158.71, 146.83, 141.62, 140.95, 137.57, 137.13, 136.01, 135.66, 133.78, 133.37, 129.94, 129.25, 118.42, 118.37, 109.22, 80.55, 74.83, 65.18, 28.43, 25.28, 20.93.

目标化合物**5a~5h**的合成路线见图1。

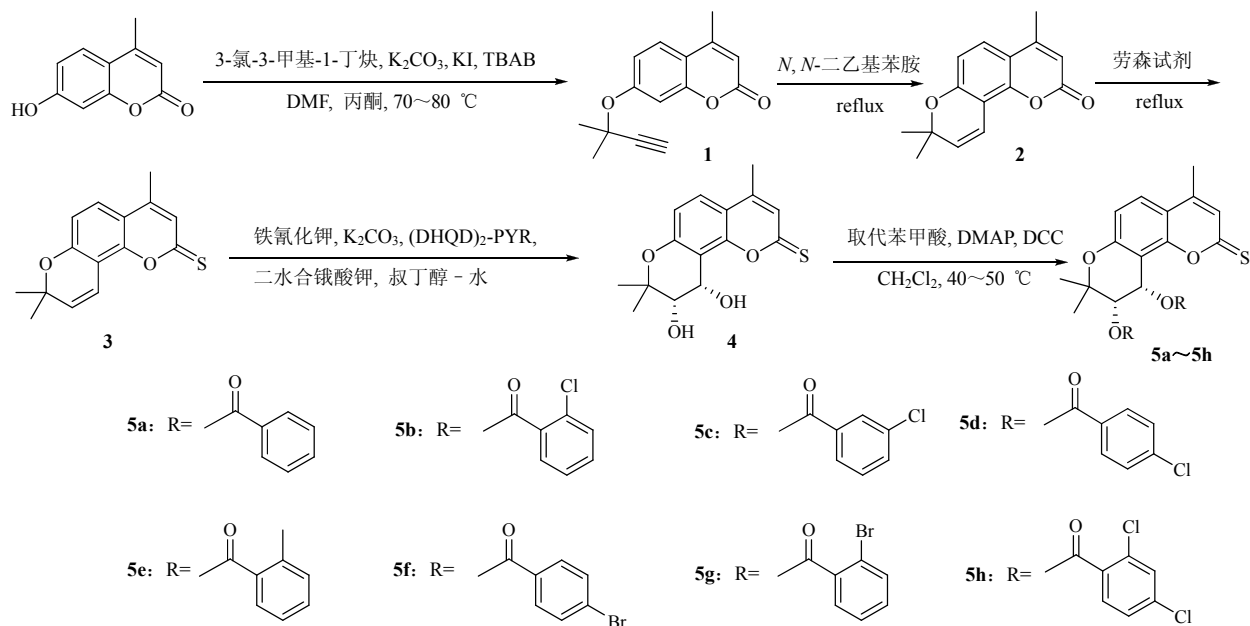


图1 目标化合物**5a~5h**的合成路线

Fig. 1 Synthetic route of target compounds **5a — 5h**

2.2 体外血小板聚集抑制试验

以奥扎格雷钠为阳性对照药,采用微量反应板酶标仪比浊法测定血小板聚集抑制率。枸橼酸钠真空采血管采集家兔腹主动脉血。1 000 r/min离心5 min,分离制备富血小板血浆(PRP),分离PRP后,再以3 000 r/min离心15 min,分离制备贫血小板血浆(PPP)。10% DMSO-甲醇溶液溶解待测样品,分别配成400、200、100、50 μmol/L待测溶液,取90 μL PRP置96孔板中,加入5 μL待测溶液和空

白溶剂,37 °C孵育5 min。96孔板置酶标仪上快速震荡10 s,570 nm下测吸光度(*A*)值,30 s测1次,连续测3次,均值记为*A*₀。继续加入5 μmol/L二磷酸腺苷(ADP)5 μL,30 s测1次至*A*值不再变化,记平行孔的吸光度均值为*A*₁。计算血小板聚集率(AR)及血小板聚集抑制率(AIR)^[18-20],用直线回归法计算半数抑制浓度(IC₅₀),见表1。

$$AR = (A_0 - A_1) / (A_0 - A_{PPP})$$

$$AIR = (1 - AR_{\text{样品}} / AR_{\text{对照}})$$

表1 凯林硫代内酯衍生物的血小板聚集抑制活性

Table 1 Inhibitory activities of khelthiolactone derivatives against aggregation of platelets

化合物	50 $\mu\text{mol/L}$		100 $\mu\text{mol/L}$		200 $\mu\text{mol/L}$		400 $\mu\text{mol/L}$		$\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$
	AR/%	AIR/%	AR/%	AIR/%	AR/%	AIR/%	AR/%	AIR/%	
5a	64.93	7.25	54.68	21.88	47.60	32.00	21.43	69.39	289.89
5b	62.43	10.81	56.81	18.84	26.29	62.44	7.69	89.02	194.00
5c	63.62	9.11	49.32	29.55	43.61	37.70	41.76	40.34	491.42
5d	53.49	23.59	48.29	31.02	37.77	46.05	30.17	56.90	315.52
5e	59.22	1.30	55.64	7.26	52.88	11.86	40.22	32.97	593.52
5f	44.76	25.40	41.12	31.46	35.69	40.51	34.03	43.29	440.38
5g	56.09	6.51	44.31	26.15	33.17	44.72	32.21	46.32	394.48
5h	50.85	15.25	34.02	43.30	18.28	69.54	11.70	80.49	177.26
4	64.97	14.51	60.94	19.81	53.85	29.15	45.67	39.91	503.59
4-甲基凯林内酯	63.18	16.87	61.97	18.46	47.66	37.29	37.63	50.49	352.78
奥扎格雷钠	71.17	6.36	48.24	36.53	33.60	55.79	21.86	71.24	254.22

血小板聚集抑制活性筛选结果显示, 化合物 **5h**、**5b** 的 IC_{50} 值分别为 177.26、194.00 $\mu\text{mol/L}$, 强于阳性对照药奥扎格雷钠的 IC_{50} 值 (254.22 $\mu\text{mol/L}$)。

凯林硫代内酯衍生物 3', 4'位羟基与不同的苯甲酸成酯, 血小板聚集抑制活性有显著性差异, 当与氯原子取代的苯甲酸成酯时, 化合物表现出良好的血小板聚集抑制活性, 如邻、对位双氯苯甲酸酯 (**5h**) 活性最高, 其次为邻氯苯甲酸酯 (**5b**), 而属于给电子的邻甲基苯甲酸酯 (**5e**) 则活性最低;

溴原子取代的苯甲酸酯衍生物 (**5f**、**5g**) 活性则低于苯甲酸酯衍生物 (**5a**), 说明化合物的活性一定程度上还受到取代基空间位阻的影响, 位阻增大不利于化合物的抗血小板聚集抑制活性。

对比化合物 **4** 与 4-甲基凯林内酯^[21] (结构见图 2) 的生物活性, 凯林内酯类化合物母核 2-位氧原子被硫原子替换会导致母核的抗血小板聚集抑制作用减弱, 而酯化后除 **5e** 外, 所有化合物活性均强于化合物 **4**, 且当 4-甲基凯林硫代内酯 3', 4'位连接氯取代苯甲酰氧基后, 化合物活性显著提高, 高于 4-甲基凯林内酯。

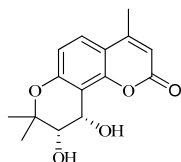


图2 4-甲基凯林内酯的结构

Fig. 2 Structure of 4-methylkhellactone

3 讨论

文献中制备化合物 **2** 的过程中多使用 DMF 做溶剂, 后处理过程采用醋酸乙酯稀释, 水洗除 DMF。上述方法存在 DMF 水洗不完全, 且产物大量损失的问题。后经方法改进, 以丙酮为溶剂, DMF 为助溶剂, 加入 TBAB 相转移催化剂后, 不仅减少了 DMF 的用量, 而且后处理过程容易, 收率也得到提高。

药理实验结果表明, 凯林硫代内酯衍生物有一定的血小板聚集抑制活性, 且当凯林硫代内酯衍生物 3', 4'位与氯取代苯甲酸成酯时, 化合物显示较好的血小板聚集抑制活性, 这有可能成为此类化合物结构修饰的主要策略。

参考文献

- [1] 孔令义, 裴月湖, 李 锐, 等. 凯林内酯类香豆素的研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 1994, 6(1): 50-65.
- [2] 陈政雄, 黄宝山, 余其龙, 等. 中药白花前胡化学成分的研究-四种新香豆素的结构 [J]. 药学学报, 1979, 14(8): 486-496.
- [3] 何冬梅, 吴斐华, 孔令义. 白花前胡药理作用的研究进展 [J]. 药学与临床研究, 2007, 15(3): 167-170.
- [4] Chen I S, Chang C T, Sheen W S, et al. Coumarins and antiplatelet aggregation constituents from *Formosan Peucedanum japonicum* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 41(2): 525-530.
- [5] 朱凤磊. 炎症介质与血栓形成和凝血的关系 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2008, 16(10): 838-840.
- [6] 顾杨洪. 内皮细胞与血栓形成关系的研究进展 [J]. 国

- 外医学: 生理病理科学与临床分册, 1989(1): 15-18.
- [7] Roussaki M, Zelianaios K, Kavetsou E, *et al.* Structural modifications of coumarin derivatives: determination of antioxidant and lipoxygenase (LOX) inhibitory activity [J]. *Bioorg Med Chem*, 2014, 22(23): 6586-6594.
- [8] Kumar S, Singh B K, Kalra N, *et al.* Novel thiocoumarins as inhibitors of TNF- α induced ICAM-1 expression on human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) and microsomal lipid peroxidation [J]. *Bioorg Med Chem*, 2005, 13(5): 1605-1613.
- [9] Hlubucek, J, Ritchie E, Taylor W C. Synthesis of 2, 2-dimethylchromenes [J]. *Aust J Chem*, 1971, 10(17): 2347-2354.
- [10] 章维华, 蒋木庚. TBAB 相转移催化合成 7-烷氧基香豆素 [J]. 合成化学, 2008, 16(5): 561-563.
- [11] Murray R D H, Ballantyne M M, Mathai K P. Claisen rearrangements—III: convenient synthesis of the coumarins, osthonol, demethylsuberosin and coumurrayin [J]. *Tetrahedron*, 1971, 27(6), 1247-1251.
- [12] 马建洲, 谢 蓝. 抗 HIV 活性物质 3-和 3', 4'-二取代 (+)-*cis*-khellactone 衍生物的合成 [J]. 有机化学, 2003, 23(z1): 142.
- [13] Xie L, Takeuchi Y, Cosentino M L, *et al.* Anti-AIDS agents. 37. synthesis and structure activity relationships of (3'R,4'R)-(+)-*cis*-khellactone derivatives as novel potent anti-HIV agents [J]. *J Med Chem*, 1999, 42(14): 2662-2672.
- [14] Yang Z Y, Xia Y, Xia P, *et al.* Anti-AIDS agents 31.1 synthesis and anti-HIV activity of 4-substituted 3', 4'-di-*O*-(*-*)-camphanoyl-(+)-*cis*-khellactone (DCK) thiolactone analogs [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 1998, 8(12): 1483-1486.
- [15] Xie L, Crimmins M T, Lee K H. Asymmetric synthesis of 3',4'-di-*O*-(*-*)-camphanoyl-(+)-*cis*-khellactone (DCK), A potent anti-HIV agent [J]. *Tetrahedron Lett*, 1995, 36(26): 4529-4532.
- [16] 孙晓莉, 李晓晔, 张生勇. 催化的不对称二羟基化反应 [J]. 化学通报, 1998(12): 10-20.
- [17] 吴献礼, 孔令义, 闵知大. 白花前胡丙素的结构修饰研究 [J]. 药学学报, 2002, 37(7): 527-534.
- [18] Sun J B, Qu W, Wang P, *et al.* Degraded limonoids and quinoline alkaloids from *Dictamnus angustifolius* G. Don ex Sweet and their anti-platelet aggregation activity [J]. *Fitoterapia*, 2013, 90: 209-213.
- [19] Yang X Z, Yang W H, Xu Y G, *et al.* Synthesis and antithrombotic evaluation of novel dabigatran prodrugs containing a cleavable moiety with anti-platelet activity [J]. *Eur J Med Chem*, 2012, 57: 21-28.
- [20] Chen H F, Li G N, Zhan P, *et al.* Ligustrazine derivatives. Part 5: design, synthesis and biological evaluation of novel ligustrazinyloxy-cinnamic acid derivatives as potent cardiovascular agents [J]. *Eur J Medicinal Chem*, 2011, 46(11): 5609-5615.
- [21] Ren L, Du X, Hu M, *et al.* Design, synthesis and antitumor activity of novel 4-methyl-(3'S,4'S)-*cis*-khellactone derivatives [J]. *Molecules*, 2013, 18(4), 4158-4169.