

川芎嗪衍生物构效关系研究进展

汪林¹, 王鹏龙², 绪扩², 程亚涛², 李强², 雷海民^{1*}

北京中医药大学中药学院 中药化学系, 北京 100102

摘要: 川芎嗪已广泛用于心脑血管疾病的治疗, 但其构效关系和结构优化的系统研究报道较少, 需要更深入的研究和总结。综述了 92 个川芎嗪衍生物, 包括衍生物醚类、酯类、哌嗪类和茛菪类, 系统地分析了川芎嗪衍生物构效关系, 为进一步开发川芎嗪先导化合物提供了一定的参考。

关键词: 川芎嗪; 川芎嗪衍生物; 先导化合物; 构效关系; 结构修饰

中图分类号: R284 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)19-2766-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.19.025

Research progress on structure-activity relationship of ligustrazine derivatives

WANG Lin¹, WANG Peng-long², XU Kuo², CHENG Ya-tao², LI Qiang², LEI Hai-min¹

Department of Chinese Materia Medica Chemistry, College of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China

Key words: ligustrazine; ligustrazine derivatives; leading compound; structure-activity relationship; structural modification

川芎嗪 (ligustrazine) 又称四甲基吡嗪 (tetramethylpyrazine, TMP), 是从植物川芎中分离得到的生物碱单体, 是川芎的有效成分之一^[1]。川芎嗪具有抑制血管平滑肌痉挛、改善心肌缺血、抑制血小板聚集、改善血液流变性^[2-7]等作用。然而, 药动学研究发现川芎嗪在动物体内代谢快、半衰期短 ($t_{1/2}=2.89\text{ h}$)、生物利用度低; 临床常连续给药以保证血浆中川芎嗪浓度保持一定水平, 但同时增加了药物毒性^[8]。因此, 有必要对川芎嗪进行化学结构修饰和药理活性筛选研究。构效关系 (SAR) 研究发现, 川芎嗪分子中的吡嗪环可能是其主要的药效基团, 其取代基可能是其发挥药理作用的主要贡献基团^[9]。依据药物化学的生物电子等排 (bioisosteres) 原理和前药理论 (prodrug principle), 可以用类似官能团取代川芎嗪的甲基基团, 从而获得具有新的药理作用的川芎嗪衍生物。本文综述国内外近几年以川芎嗪为先导化合物, 通过化学结构修饰获得的川芎嗪衍生物, 结合构效关系分析, 以期获得生物活性好、选择性高、毒副作用小、应用更广的新药。

1 母核上的结构改造

20 世纪 60 年代, Klein 等^[10-11]进行了川芎嗪 1-*N*-氧化物 (1) 和 1, 4-*N, N'*-二氧化物 (2) 的合成 (图 1)。陈学敏等^[12]对其抗血小板聚集性进行了研究, 发现川芎嗪 1-*N*-氧化物对血小板聚集的抑制作用弱于川芎嗪, 而川芎嗪 1, 4-*N, N'*-二氧化物几乎没有抑制作用。证明了川芎嗪分子中 N 上孤对电子的存在与抑制血小板聚集作用有直接关系。

2 侧链的结构改造

2.1 川芎嗪的体内代谢产物

陈欣等^[13]对家兔体内代谢产物进行研究, 发现了 2 种代谢产物: 2-羟甲基-3, 5, 6-三甲基吡嗪 (3) 和 3, 5, 6-三甲基吡嗪-2-甲酸 (4) (图 2)。江骥等^[14]对大鼠体内代谢产物进行研究, 发现了 3 种代谢产物: 2-羟甲基-3, 5, 6-三甲基吡嗪 (3)、5-羟甲基-3, 6-二甲基吡嗪-2-甲酸 (5) 和 3, 5, 6-三羟甲基吡嗪-2 甲酸 (6) (图 2); 叶云鹏等^[15]在人体尿中发现 2-醛基-3, 5, 6-三甲基吡嗪 (7) 和 2, 3, 5-三羟甲基-6-甲基吡嗪 (8) (图 2)。同时对代谢产物进行体外活性研究, 发现 2-羟甲基-3, 5, 6-三甲基吡嗪

收稿日期: 2013-05-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81173519); 北京中医药大学创新团队支持 (2011-CXTD-15)

作者简介: 汪林 (1989—), 男, 北京人, 硕士研究生, 中药先导化合物发现研究。Tel: 18810481507 E-mail: wanglin431@126.com

*通信作者 雷海民 (1968—), 男, 北京人, 博士生导师, 主要从事先导化合物发现研究。

能显著降低全血高切变黏度、全血低切变黏度、血浆高切变黏度，降低血小板黏附率，该化合物具有改善心肌耐缺氧能力、降压和抗凝等作用，且毒性

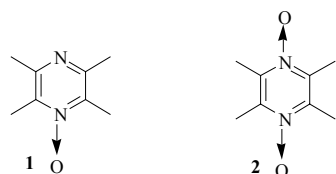
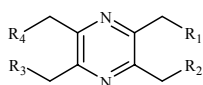


图1 川芎嗪氧化物结构式

Fig. 1 Structures of ligustrazine oxide



- 3 R₁=H R₂=OH R₃=H R₄=H
- 4 R₁=H R₂=COOH R₃=H R₄=H
- 5 R₁=H R₂=OH R₃=H R₄=COOH
- 6 R₁=OH R₂=OH R₃=OH R₄=COOH
- 7 R₁=H R₂=CHO R₃=H R₄=H
- 8 R₁=OH R₂=OH R₃=OH R₄=H

图2 川芎嗪体内代谢产物结构式

Fig. 2 Structures of ligustrazine metabolites *in vivo*

比川芎嗪低，水溶性更高，提示 2-羟甲基-3, 5, 6-三甲基吡嗪可能是川芎嗪在体内代谢的活性物质而发挥作用，也为川芎嗪的结构修饰提供了线索。代谢产物 3, 5, 6-三甲基吡嗪-2-甲酸具有降低血清胆固醇及血清低密度脂蛋白水平的作用，发挥药理作用的机制目前尚不清楚。

以上对川芎嗪代谢产物的 SAR 研究表明：川芎嗪很容易被氧化，生成极性和水溶性较大的代谢产物而迅速排出体外。这是川芎嗪在体内的主要代谢途径，也是其在体内代谢快、半衰期短的根本原因。

2.2 川芎嗪醚类衍生物

奥扎格雷 (Ozagrel) 是临床疗效很好的抗血小板聚集的药物，Chen 等^[16]对其结构特征进行了深入研究，利用生物电子等排体原理，用吡嗪环替代咪唑基，对川芎嗪进行了结构修饰，合成了一系列川芎嗪-肉桂酸衍生物 (图 3)。

2.2.1 凝血作用 Chen 等^[16]合成了川芎嗪-肉桂酸衍生物 (9~28, 图 4)，并对其抗血小板聚集活性进行评价。结果发现化合物 13、14、15、17、18、

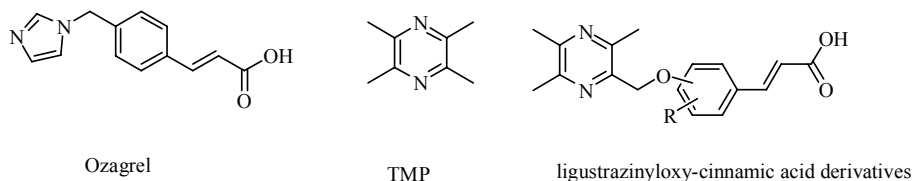


图3 奥扎格雷、川芎嗪及其衍生物

Fig. 3 Structures of Ozagrel, ligustrazine, and its derivatives

20 和 21 具有很高的抗血小板聚集活性。其中，化合物 14、18 和 20 活性优于对照药奥扎格雷。并且还发现衍生物的酸类化合物抗凝血活性要高于对应的酯类结构，表明裸露的羧酸基是其血小板聚集的活性基团。化合物 9、17 和 19 中四甲基吡嗪位于肉桂酸的邻位、间位和对位，活性评价发现邻位 > 间位 > 对位；并且在对位取代化合物中发现肉桂酸苯环有羟基、羟甲基和二羟甲基取代，其活性要明显高于无取代基的化合物 9。化合物 11、13 和 15 比较发现邻位单甲氧基取代抗凝活性在三者中最好；但邻位被溴取代后活性反而降低。化合物 19、20、21、22、23、24、25 和 26 中四甲基吡嗪均位于肉桂酸的邻位，但化合物 20 活性最高，邻位引入甲氧基反而降低活性，若带有吸电子基化合物活性基本消失。从构效关系结果可以推测：给电子基如-OH 和-OCH₃ 能增强相应的活性，肉桂酸苯环上带有吸

电子基如-Br 和-Cl，会降低活性。

2.2.2 心血管内皮细胞保护作用 在川芎嗪-肉桂酸衍生物 (9~28) 中，化合物 10、12 和 18 抗氧化活性最强，特别是化合物 18 的活性是川芎嗪的 30 倍，并且具有明显的抑制细胞增殖活性。抗氧化实验研究表明，苯酚型结构是活性的关键结构；抑制细胞增殖实验发现化合物的构效关系与抗凝血实验结果保持一致。

2.3 川芎嗪酯类衍生物

刘新泳等^[4,17]以 2-羟甲基-3, 5, 6-三甲基吡嗪为先导化合物，根据药物化学中的前药原理和拼合原理 (combination principle)，在其分子上引入了在心脑血管疾病方面具有良好活性的药效基团 (阿魏酸基、烟酰基、乙酰水杨酸基等)，合成了一系列 2-酰氧甲基-3, 5, 6-三甲基吡嗪衍生物 (图 5)。这些化合物可有效刺激正常胎儿脐静脉血管内皮细胞 (HUVECs) 增殖，并且对过氧化损伤的 HUVECs

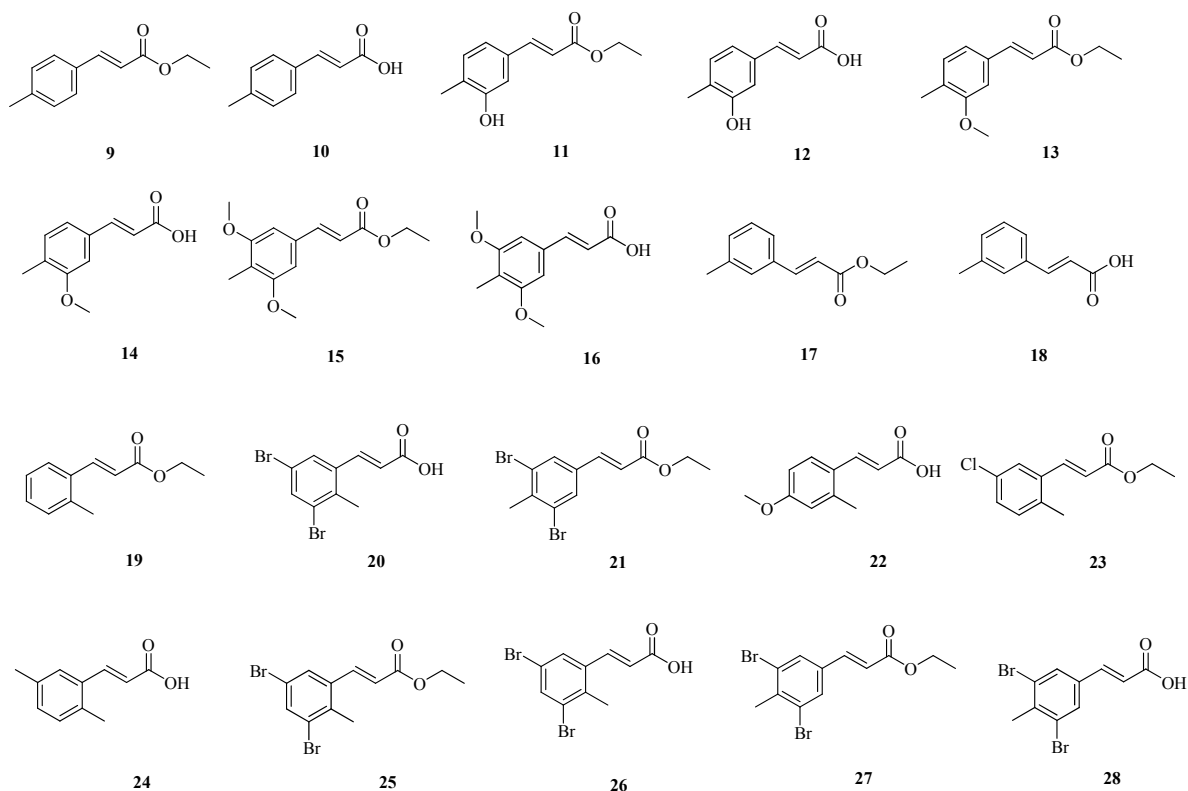


图4 川芎嗪-肉桂酸衍生物

Fig. 4 Structures of ligustrazinyloxy-cinnamic acid derivatives

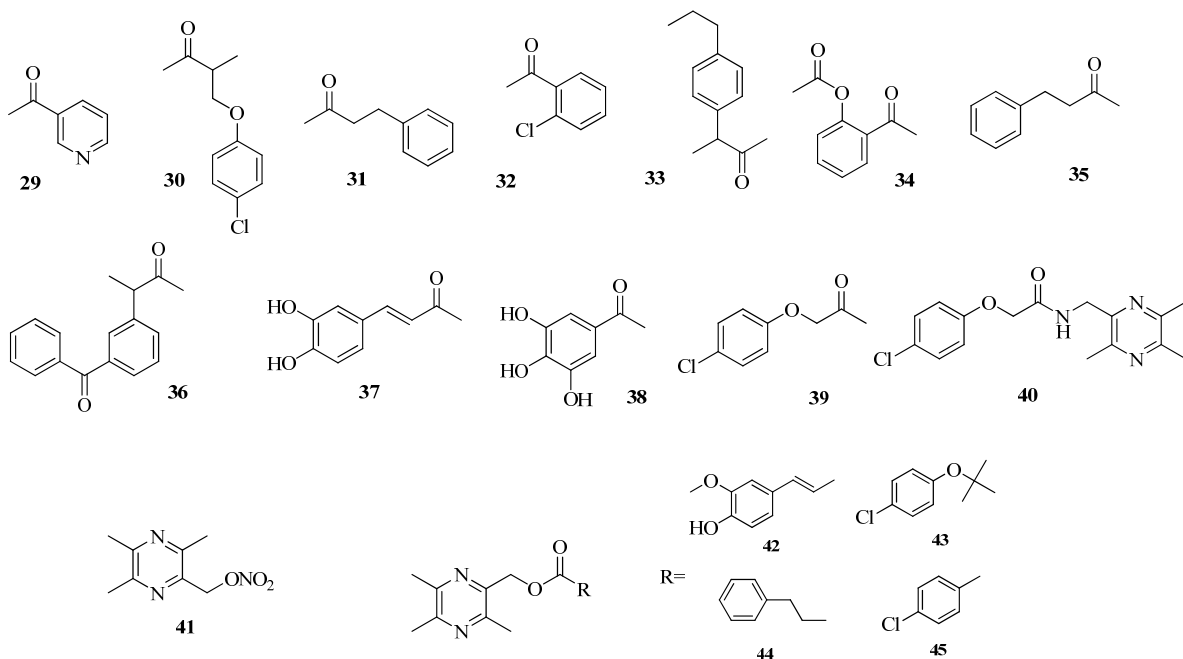


图5 川芎嗪酯类衍生物结构式

Fig. 5 Structures of ligustrazine ester derivatives

有保护作用，其活性是川芎嗪的1.5~4.5倍，其中2-烟酰氧甲基-3,5,6-三甲基吡嗪在0.1 mmol/L浓度时，最大增殖率为88.57%，2-阿魏酸氧甲基-3,5,6-

三甲基吡嗪最大增殖率为83.87%。

以布洛芬(Buprofen)和川芎嗪为原料合成布洛芬川芎嗪酯，避免了布洛芬对胃肠道的直接刺激

作用，并且该化合物分解产生的川芎嗪对胃溃疡具有保护作用^[18]。马涛等^[19]研究发现，布洛芬川芎嗪酯 ig 给药对冰醋酸、甲醛所致小鼠炎症性疼痛有显著抑制作用，能够明显抑制二甲苯所致小鼠耳肿胀和角叉菜胶致足肿胀，降低醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性的增加，作用与布洛芬相似，但胃刺激性小于布洛芬。

对川芎嗪酯类衍生物做进一步的构效关系研究^[4]发现：(1) 2-取代肉桂酰氧基-3, 5, 6-三甲基吡嗪活性较高，当苯环甲氧基取代增多时，活性逐渐降低；(2) 肉桂酰基被二氢肉桂酰基（苯丙酰基）替换，活性增强；(3) 在 2-取代苯甲酰氧甲基-3, 5, 6-三甲基吡嗪中，苯环甲氧基取代有适度活性，苯环氯取代时活性严重消弱，但 4 位氯取代时活性很强，2 位碘取代比氯取代活性要强些，苯环溴取代时完全丧失活性；(4) 二氢肉桂酰基被苯乙酰基替换，活性降低，说明芳烷酰基侧链长度的重要性。

2.4 川芎嗪哌嗪衍生物

典型的钙离子通道拮抗剂利桂嗪（Cinnarizine）和氟桂嗪（Flunarizine）是临床疗效很好的治疗心脑血管疾病药物，与川芎嗪结构比较，其中哌嗪部分是共同结构特征，被认为是发挥药效作用的官能团。基于钙离子通道拮抗剂的结构特征，川芎嗪-

哌嗪与不同的药效基团（乙酰水杨酸、烟酰、肉桂酰、糠酰、水杨酰等）拼合形成新的活性分子^[3]。化合物 46~75（图 6）用于正常胎儿 HUVECs 增殖的活性评价，结果发现化合物 48、55、56、65 和 75 保护 HUVECs 具有很高活性；其中化合物 76 活性最高，与其对应的化合物 46（乙酰水杨酸化）却显示出很低的活性，可能原因是由于苯环的羟基发挥抗氧化作用。化合物 47 和 48 比较发现异烟肼取代基具有相对较高的活性，而衍生物 48 活性较低。糠酰基、没食子酰基和 2-(4-氯代苯氧基)-2-甲基-丙酰基确定是刺激正常胎儿 HUVECs 增殖的药效基团，但是 2-(4-氯代苯氧基)-2-甲基-丙酰基与川芎嗪-哌嗪拼合后却没有发现其原来的活性。研究发现化合物 57、69 和 71 的活性顺序为 71>69>57，原因可能与苯环和羰基之间的碳原子数有关，相隔 2 个碳原子可能最佳；另外，磺酰基化合物并没有发现具有很强的活性。在川芎嗪哌嗪衍生物中构效关系的研究还不够系统，具体的作用机制还需要进一步完善，但已经明确的是苯环与羰基之间的碳原子个数能影响化合物的活性，其中连接 2 个碳原子最为有利。目前对洛美利嗪（Lomerizine）（图 7）的构效关系研究比较明确，因此可以借鉴设计更好的川芎嗪哌嗪类衍生物分子。增加二苯基氮即 N₁ 上的电

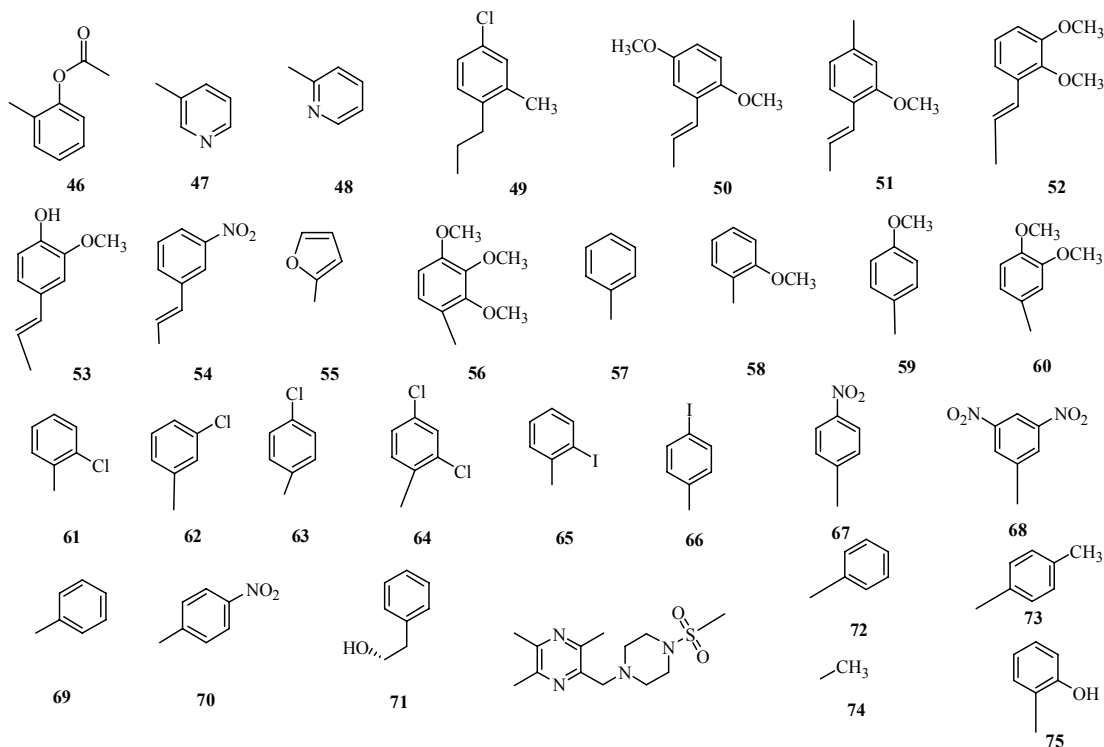


图 6 川芎嗪哌嗪衍生物结构式

Fig. 6 Structures of ligustrazine piperazine derivatives

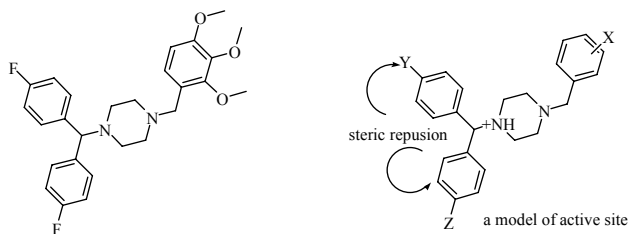


图7 洛美利嗪结构式及活性部位模型

Fig. 7 Structures of lomerizine and model of active site

子云密度,以及在苯基的对位引入空间位阻小的取代基,不仅能增强药物的亲和力,还可以提高心脑血管扩张强度以及延长作用时间。其活性部位的模型中(图7),活性部位像一个疏水口袋,口袋中有一个阴离子作用位点,即可与带有正电荷的二苯甲基氮原子结合。苯基对位取代基(Y和Z)的引入有利于提高活性,它们与活性部位之间的疏水作用取决于Y和Z的空间相斥作用,Y和Z若为大的基团,则降低阴离子与哌嗪氮原子的结合作用。一般Y和Z以氢和卤素取代为好,尤其以Y=Z=F时最好^[20-21]。化合物46~75是根据药物化学的拼合原理,保留川芎嗪和哌嗪不变,在哌嗪环的另一个氮原子上引入一些具有心脑血管活性的药效团,如乙酰水杨酰基、烟酰基、异烟酰基、[(4-氯苯氧基)-2-甲基-]丙酰基、肉桂酰基、

呋喃甲酰基、没食子酰基和取代苯甲酰基等,以期发挥药物的加和或协同作用,增加药效,同时也为以后进行SAR研究提供有价值的线索。

2.5 川芎嗪芪类衍生物

芪类衍生物具有抗血小板聚集、降血压等广泛的心脑血管活性,其代表化合物为白藜芦醇(resveratrol)。邓利娟^[22]以白藜芦醇为结构模型,在保持其基本骨架不变的前提下,在川芎嗪侧链上引入苯乙烯基,设计了一系列芪类似物(图8)。这些基于白藜芦醇结构设计的川芎嗪芪类衍生物具有以下结构特点:(1)设计合成的都为反式川芎嗪芪类似物,这是由于白藜芦醇虽有顺反构型,但活性研究表明反式结构活性明显高于顺式;(2)设计合成了羟基和非羟基芪类化合物,这是由于白藜芦醇的心脑血管活性都与其结构上的酚羟基密切联系,以比较合成的两类化合物的构效关系;(3)有研究报道具有抗血栓活性的芪类前列腺素酶抑制剂除了分子中有酚羟基外,还含有甲氧基等,所以化合物中也设计了一系列甲氧基取代化合物。

虽然合成了一系列的芪类似物,但明确的构效关系研究还需大量的实验数据加以分析;但可以明确的是川芎嗪芪类化合物可以是今后研究川芎嗪的另一个很好的方向。

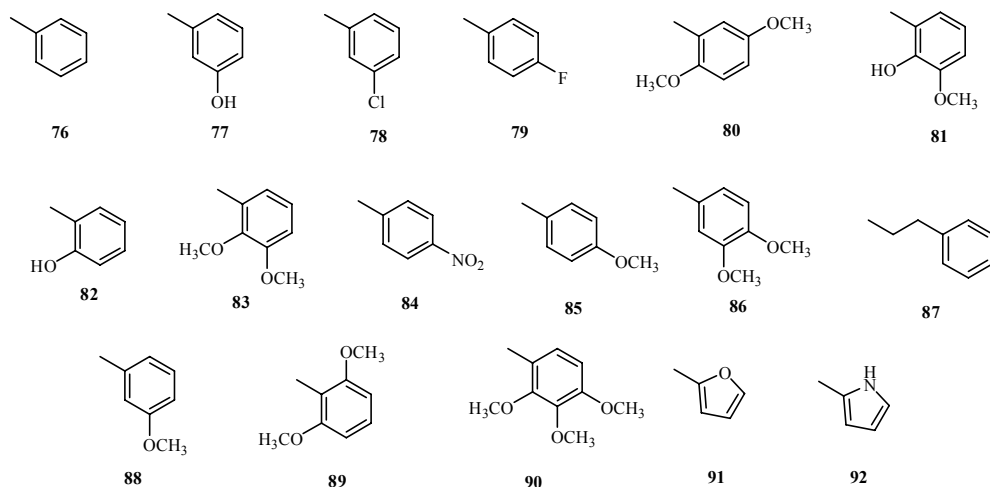


图8 川芎嗪芪类似物

Fig. 8 Structures of ligustrazine stilbene derivatives

3 总结与展望

川芎嗪是治疗心脑血管疾病的代表药物,其药理作用广泛,疗效确切,但是由于一直没有明确的药物作用靶点,在很大程度上限制了其在现代药物设计上的应用,其结构改造和优化的研究报道较

少,目前尚未有文献对川芎嗪的结构改造和优化进行系统的报道。本文综述了92个川芎嗪衍生物,并较为详细地分析了其基本构效关系;从增加药物活性、改善药动学性质角度出发,参考在临床上具有疗效好的心脑血管药物的基本骨架,以此对川芎

嗪衍生物进行结构优化, 寻找新颖的先导化合物。

分析川芎嗪醚类衍生物的构效关系发现, 化合物 **18** 在抗凝血和保护血管内皮细胞方面均表现出较高的生物活性 (其中抗凝血作用优于阳性药奥扎格雷, 并且具有明显的抑制血管内皮细胞增殖活性)。根据药物化学的前药原理和拼合原理设计的川芎嗪酯类衍生物中, 化合物 **29** 和 **42** 对过氧化损伤的 HUVECs 有较强的保护作用, 且其最大抑制率分别达到 88.57% 和 83.87%。目前的文献研究表明, 吡嗪环是决定川芎嗪及其衍生物药效的重要部分, 是其药效基团; 川芎嗪侧链主要影响其体内的吸收、分布和代谢, 是其药动学基团。保留药效基团 (母核), 对其药效学基团 (侧链) 进行结构修饰, 使其延长作用时间, 增加药效, 以期获得新型、高效、低毒的心脑血管药物。

参考文献

- [1] 李秋怡, 干国平, 刘焱文. 川芎的化学成分及药理研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(7): 1298-1299.
- [2] Tan Z. Neural protection by naturopathic compounds-an example of tetramethylpyrazine from retina to brain [J]. *J Ocul Biol Dis Infor*, 2009, 2: 137-144.
- [3] Cheng X C, Liu X Y, Xu W F. *et al.* Ligustrazine derivatives. Part 3: design, synthesis and evaluation of novel acylpiperazinyl derivatives as potential cerebrocardiac vascular agents [J]. *Bioorg Med Chem*, 2009, 17: 3018-3024.
- [4] Liu X Y, Zhang R, Xu W, *et al.* Synthesis of the novel ligustrazine derivatives and their protective effect on injured vascular endothelial cell damaged by hydrogen peroxide [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2003, 13: 2123-2126.
- [5] Song Y N, Guo X L, Zheng B B, *et al.* Ligustrazine derivative DLJ14 reduces multidrug resistance of K562/A02 cells by modulating GST pi activity [J]. *Toxicol In Vitro*, 2011, 25: 937-943.
- [6] Xue Y, Tie C R, Li J, *et al.* Ligustrazine inhibits lipopolysaccharide-induced proliferation by affecting P27, Bcl-2 expression in rat mesangial cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 665: 8-12.
- [7] Shan A L, Kwan Y W, Kwork C C. *et al.* Mechanisms responsible for the *in vitro* relaxation of ligustrazine on porcine left anterior descending coronary artery [J]. *Pharmacology*, 2003, 468: 199-207.
- [8] 徐睿, 李源, 黄熙. 川芎嗪药物代谢动力学研究进展 [J]. 安徽中医学院学报, 2002, 21(1): 58-61.
- [9] 江骥, 胡蓓, 李晓明, 等. 人体内川芎药代动力学参数的稳定同位素法测定 [J]. 中国药学杂志, 1994, 29(7): 416-418.
- [10] Klein B, Berkowitz J, Pyrazines I, *et al.* Preparation and spectral characteristics [J]. *J Am Chem Soc*, 1959, 81(19): 5160-5166.
- [11] Klein B, Berkowitz J, hetman N E. The rearrangement of pyrazine-*n*-oxide [J]. *Pyrazines J Org Chem*, 1961, 26(1): 126-130.
- [12] 陈学敏, 谢人明, 郑旭光, 等. 川芎嗪氮上取代对抗血小板聚集性的影响 [J]. 西北药学杂志, 2001, 16(4): 164-166.
- [13] 陈欣, 董善年. 川芎嗪在兔体内代谢产物的研究 [J]. 药学报, 1996, 31(8): 617-621.
- [14] 江骥, 姜国辉, 叶云鹏, 等. 川芎嗪的体内代谢 [J]. 中国医学科学院学报, 1993, 15(2): 79-81.
- [15] 叶云鹏, 王世真, 江骥. 人体尿中川芎嗪代谢产物的研究 [J]. 中国医学科学院学报, 1996, 18(4): 288-291.
- [16] 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 potential cardiovascular agents [J]. *Eur J Med Chem*, 2011, 46: 5609-5615.
- [17] 刘新泳, 徐文芳, 张蕊, 等. 川芎醇酯类衍生物及其制备方法和含有川芎醇酯类衍生物的药物组合物与应用: 中国专利, ZL02135989X [P]. 2003-06-18.
- [18] 董雪姣, 姜伊鸣, 皮荣标, 等. 川芎嗪衍生物及其药理活性研究进展 [J]. 中南药学, 2012, 4(10): 294-299.
- [19] 马涛, 曹颖林, 郑雪娜, 等. 布洛芬川芎嗪酯的抗炎镇痛作用 [J]. 沈阳药科大学学报, 2004, 21(1): 62-64.
- [20] Ohtaka H, Kanazawa T, Ito K. Benzylpiperazine derivatives. iv. Synthesis and cerebral vasodilating activities of 1-benzyl-4-dihenylmethyl-piperazine derivatives [J]. *Chem Pharm Bull*, 1987, 35(8): 3270-3275.
- [21] Ohtaka H, Tsukamoto G. Benzylpiperazine derivatives. V. Quantitative structure-activity relationships of 1-benzyl-4-diphenyl piperazine derivatives for cerebral vasodilating activity [J]. *Chem Pharm Bull*, 1987, 35(10): 4117-4123.
- [22] 邓利娟. 川芎嗪类衍生物的设计、合成及其生物活性研究 [D]. 济南: 山东大学, 2007.