9-乙酰氧基乙基-6-烷氨基-2-烷硫基嘌呤的合成及抗血小板凝集活性评估

何琦文 杜洪光*

(北京化工大学理学院 北京 100029)

摘要 以 2-氨基-6-氯嘌呤(1)为原料, 与 2-溴乙基乙酸酯反应得到 9-乙酰氧基乙基-2-氨基-6-氯嘌呤(2); 2 经重氮-烷硫化得到 9-乙酰氧基乙基-2-烷硫基-6-氯嘌呤(3); 3 经胺解反应得到 14 个未见报道的 9-乙酰氧基乙基-6-烷氨基-2-烷硫基嘌呤化合物 4. 这些化合物的结构经 IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR 及 HRMS 得到表征, 同时进行了抗血小板凝集活性测试.

关键词 6-烷氨基-2-烷硫基嘌呤; 合成; 结构表征; 抗血小板凝集

Synthesis of 9-Acetoxyethyl-6-alkylamino-2-alkylthio Purines and Their Anti-platelet Aggregation Activity

He, Qiwen Du, Hongguang*

(College of Science, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029)

Abstract 2-Amino-6-chloropurine (1) as the starting material was treated with 2-bromoethyl acetate to yield 9-acetoxyethyl-2-amino-6-chloropurine (2). Compound 2 was diazotized and reacted with disulfides to afford 9-acetoxyethyl-2-alkylthio-6-chloropurine (3). 9-Acetoxyethyl-6-alkylamino-2-alkylthio purines (4) were acquired by aminolysis reaction of compounds 3. Their structures were determined by IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR and HRMS techniques. Meanwhile, the anti-platelet aggregation rates of compounds 4 were measured.

Keywords 6-alkylamino-2-alkylthio purine; synthesis; characterization; anti-platelet aggregation

嘌呤类化合物在自然界中广泛存在, 它们不仅在生命体的遗传和代谢等多种生命活动中起着至关重要的作用^[1], 同时在抗病毒、抗肿瘤和抗血栓等方面也具有较好的生物活性^[2~5], 因此对于嘌呤化合物的研究一直是人们关注的焦点. 经研究表明, 在嘌呤环上引入某些基团, 可以得到具有某些生物活性的医药中间体和重要药物^[6,7]. 如已用于临床的抗疱疹病毒药物阿昔洛韦^[8], 其替代药物更昔洛韦和喷昔洛韦^[9]以及抗血栓药物坎格雷洛和替卡格雷洛等^[10,11].

早在 1973 年, Kikugawa 研究小组^[12]就对 2-烷硫基嘌呤核苷化合物进行了抗血小板凝集活性的研究, 结果表明 2-烷硫基腺苷类化合物可以很好的抑制 ADP 诱导的血小板凝聚. 之后 Ingall 等^[13]通过研究发现, 在嘌呤环的 C-6 位上引入烷氨基也可对抗血小板凝集活性的提高有一定作用.

2003 年 Kim 等^[14]报道了以 2-氨基-6-氯嘌呤为原料经 9 位光延反应, 2 位重氮化反应和 6 位胺化反应得到多取代的嘌呤化合物, 并研究了其对 P2Y_1 受体的抑制作

用. 2006 年 Rehse 等^[15]制备了一系列的 2-酰胺基-6-取代氨基-9-苄基嘌呤类化合物, 并对这些化合物进行了抑制血小板凝聚活性的评价, 筛选出了一种对抑制 ADP 诱导的血小板凝集有显著效果的化合物, 其 $\text{IC}_{50} = 0.00045 \mu\text{mol/L}$.

在 2011 年, 我们研究小组^[16,17]分别报道了以鸟苷为原料经羟基保护、重氮化、水解、O-烷基化和胺解反应合成 2-烷氧基腺苷化合物和以腺嘌呤为原料合成 2-烷硫基腺嘌呤化合物, 同时测试了部分化合物的抗血小板凝集活性, 得到了一个血小板最大凝集率仅为 6.15% 的 6-烷氨基腺苷化合物^[16].

然而到目前为止, 对于 6-烷氨基-2-烷硫基嘌呤化合物的合成及生物活性的研究仍相对较少. 本文以 2-氨基-6-氯嘌呤(1)为原料设计合成了 14 种未见报道的 9-乙酰氧基乙基-6-烷氨基-2-烷硫基嘌呤化合物, 并通过 IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR 及 HRMS 等手段对其结构进行了表征, 且对这 14 种化合物的抗血小板凝集活性进行了测试. 合成路线如 Scheme 1 所示.

* E-mail: dhg@mail.buct.edu.cn

Received March 9, 2012; revised April 22, 2012; published online May 22, 2012.

Scheme 1

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

XT-4A 型显微熔点测定仪, 上海精密科学仪器有限公司(温度计未校正); 岛津-4000 型傅里叶变换红外光谱仪, 日本岛津公司; Varian 300 MHz 核磁共振仪, 美国 Varian 公司; Bruker 400 MHz 核磁共振仪, 德国 Bruker 公司; Agilent TOF-6210 型高分辨质谱仪, 美国 Agilent 公司. 2-氨基-6-氯嘌呤, 济南明鑫制药有限公司; 青岛海洋化工厂硅胶(200~300 目); 溴乙醇、亚硝酸异戊酯、二甲基二硫醚、二乙基二硫醚、苄胺、三乙胺、无水碳酸钾等为化学纯; 2-溴乙基乙酸酯按文献[18]方法制备.

1.2 实验方法

1.2.1 9-乙酰氧基乙基-2-氨基-6-氯嘌呤(2)的合成

将 10.0 g (59.0 mmol) 2-氨基-6-氯嘌呤、10.0 g (72.4 mmol) 无水碳酸钾和 14.8 g (88.6 mmol) 2-溴乙基乙酸酯加入到 150 mL DMF 中, 室温搅拌反应 20 h. 将过量的碳酸钾滤出, 减压蒸馏除去 DMF, 粗产物再用水洗 3 次, 干燥后加入 300 mL 无水乙醇重结晶, 得到 10.5 g 白色固体 **2**, 产率 65.6%. m.p. 179~181 °C; ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.15 (s, 1H, H-8), 6.95 (bs, 2H, NH₂), 4.40~4.28 (m, 4H, NCH₂CH₂O), 1.97 (s, 3H, COCH₃); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 170.11, 159.78, 154.23, 149.33, 143.29, 123.20, 61.66, 42.25, 20.51.

1.2.2 9-乙酰氧基乙基-2-烷硫基-6-氯嘌呤(3)的合成

将 0.5 g (2.0 mmol) 化合物 **2** 和 1.2 g (11.8 mmol) 二甲基二硫醚加入到 20 mL 无水乙腈中, 在氮气保护下室温搅拌 10 min, 之后加入 2.4 g (19.6 mmol) 亚硝酸异戊酯继续搅拌 5 min, 然后置于 65 °C 的油浴中反应 3 h. 减压蒸除溶剂, 经柱色谱分离[V (乙酸乙酯): V (石油醚)=1:2~2:3]得到化合物 **3a**. 参照上述方法用二乙基二硫醚代替二甲基二硫醚即可得到化合物 **3b**.

9-乙酰氧基乙基-2-甲硫基-6-氯嘌呤(**3a**): 白色固体, 产率 64.2%. m.p. 110~112 °C; ^1H NMR (400 MHz,

CDCl_3) δ : 7.99 (s, 1H, H-8), 4.52~4.44 (m, 4H, NCH₂CH₂O), 2.64 (s, 3H, SCH₃), 2.05 (s, 3H, COCH₃); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 170.33, 166.60, 152.63, 150.85, 143.92, 128.41, 61.87, 43.02, 20.70, 14.75.

9-乙酰氧基乙基-2-乙硫基-6-氯嘌呤(**3b**): 淡黄色固体, 产率 59.8%. m.p. 75~77 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.95 (s, 1H, H-8), 4.43~4.40 (m, 4H, NCH₂CH₂O), 3.18 (q, $J=7.3$ Hz, 2H, SCH₂), 2.00 (s, 3H, COCH₃), 1.40 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, SCH₂CH₃); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 170.33, 166.23, 152.64, 150.92, 143.89, 128.47, 61.87, 43.02, 25.97, 20.70, 14.27.

1.2.3 9-乙酰氧基乙基-6-烷氨基-2-烷硫基嘌呤(4)的合成

在装有电磁搅拌、温度计和回流冷凝管的三口瓶中, 加入 300.0 mg (1.1 mmol) 化合物 **3a**, 170.0 mg (1.6 mmol) 苄胺, 160.0 mg (1.6 mmol) 三乙胺和 15 mL 乙醇, 回流 1.5 h. 减压除去溶剂后, 加入 50 mL 水并调节 pH 至中性, 用 15 mL 乙酸乙酯萃取 3 次后, 经柱色谱分离[V (乙酸乙酯): V (二氯甲烷)=1.0:1.5]得到化合物 **4a**, 参照上述方法分别用对氟苄胺、苄乙胺、对氟苄乙胺、丙胺、正丁胺、正己胺等代替苄胺制得化合物 **4a**₂~**4a**₇. 同理, 用 **3b** 分别与上述胺反应可得到化合物 **4b**₁~**4b**₇.

9-乙酰氧基乙基-6-苄氨基-2-甲硫基嘌呤(**4a**₁): 白色固体, m.p. 171~173 °C, 产率 91.2%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.42 (s, 1H, H-8), 7.36~7.25 (m, 5H, ArH), 6.72 (bs, 1H, NH), 4.84 (bs, 2H, NHCH₂), 4.40~4.32 (m, 4H, NCH₂CH₂O), 2.55 (s, 3H, SCH₃), 2.01 (s, 3H, COCH₃); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 170.49, 165.87, 153.96, 149.34, 138.93, 138.84, 128.58, 127.77, 127.37, 117.15, 62.37, 44.43, 42.38, 20.77, 14.60; IR (KBr) ν : 3254, 2921, 1724, 1617, 1577, 1337, 1299, 1227, 771 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ [$\text{M}+\text{H}$]⁺ 358.1332, found 358.1333.

9-乙酰氧基乙基-6-对氟苄氨基-2-甲硫基嘌呤(**4a**₂): 白色固体, m.p. 132~134 °C, 产率 86.5%. ^1H NMR (400

MHz, CDCl_3) δ : 7.51 (s, 1H, H-8), 7.32~7.27 (m, 2H, ArH), 7.00~6.95 (m, 2H, ArH), 6.61 (s, 1H, NH), 4.80 (bs, 2H, NHCH_2), 4.42~4.35 (m, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.54 (s, 3H, SCH_3), 2.02 (s, 3H, COCH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 170.47, 165.91, 160.88, 153.85, 150.45, 138.97, 134.58, 129.43, 129.35, 117.13, 115.47, 115.26, 62.35, 43.74, 42.40, 20.74, 14.55; IR (KBr) ν : 3258, 2924, 1726, 1617, 1579, 1338, 1299, 1221, 770 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{FN}_5\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 376.1238, found 376.1237.

9-乙酰氧基乙基-6-苯乙氨基-2-甲硫基嘌呤(**4a₃**): 白色固体, m.p. 124~126 $^{\circ}\text{C}$, 产率 79.8%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.54 (s, 1H, H-8), 7.31~7.19 (m, 5H, ArH), 6.05 (bs, 1H, NH), 4.43~4.35 (m, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.89 (bs, 2H, NHCH_2), 2.97 (t, $J=7.1$ Hz, 2H, ArCH_2), 2.59 (s, 3H, SCH_3), 2.03 (s, 3H, COCH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 170.50, 165.79, 154.08, 138.78, 128.84, 128.62, 126.46, 117.24, 62.41, 42.37, 41.99, 35.99, 20.78, 14.60; IR (KBr) ν : 3269, 2925, 1743, 1614, 1581, 1332, 1301, 1228, 772 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 372.1489, found 372.1492.

9-乙酰氧基乙基-6-对氟苯乙氨基-2-甲硫基嘌呤(**4a₄**): 白色固体, m.p. 112~114 $^{\circ}\text{C}$, 产率 87.5%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.59 (s, 1H, H-8), 7.21~7.16 (m, 2H, ArH), 7.01~6.94 (m, 2H, ArH), 5.89 (bs, 1H, NH), 4.43~4.36 (m, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.87 (bs, 2H, NHCH_2), 2.95 (t, $J=7.1$ Hz, 2H, ArCH_2), 2.59 (s, 3H, SCH_3), 2.03 (s, 3H, COCH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 170.49, 165.83, 160.43, 154.05, 138.83, 134.64, 130.27, 130.19, 117.23, 115.50, 115.29, 62.39, 42.38, 42.04, 35.17, 20.77, 14.57; IR (KBr) ν : 3268, 2925, 1743, 1612, 1582, 1327, 1302, 1220, 770 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{FN}_5\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 390.1395, found 390.1399.

9-乙酰氧基乙基-6-丙氨基-2-甲硫基嘌呤(**4a₅**): 白色固体, m.p. 166~168 $^{\circ}\text{C}$, 产率 88.7%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.66 (s, 1H, H-8), 5.91 (bs, 1H, NH), 4.42~4.34 (m, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.57 (bs, 2H, NHCH_2), 2.54 (s, 3H, SCH_3), 2.01 (s, 3H, COCH_3), 1.67 (sextet, $J=7.2$ Hz, 2H, NHCH_2CH_2), 0.97 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, $\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 170.46, 165.97, 154.00, 150.04, 138.66, 116.76, 62.33, 42.45, 39.60, 22.97, 20.75, 14.47, 11.42; IR (KBr) ν : 3263, 2959, 2923, 1730, 1621, 1578, 1339, 1298, 1238 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 310.1332, found

310.1332.

9-乙酰氧基乙基-6-正丁氨基-2-甲硫基嘌呤(**4a₆**): 白色固体, m.p. 134~136 $^{\circ}\text{C}$, 产率 84.5%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.60 (s, 1H, H-8), 5.79 (bs, 1H, NH), 4.40~4.34 (m, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.61 (bs, 2H, NHCH_2), 2.54 (s, 3H, SCH_3), 2.00 (s, 3H, COCH_3), 1.61 (quintet, $J=7.3$ Hz, 2H, NHCH_2CH_2), 1.39 (sextet, $J=7.4$ Hz, 2H, $\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$), 0.91 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, $\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 170.47, 165.77, 154.25, 138.62, 117.16, 62.40, 42.34, 40.26, 31.83, 20.75, 20.04, 14.52, 13.81; IR (KBr) ν : 3274, 2962, 2927, 1731, 1618, 1578, 1338, 1297 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 324.1489, found 324.1491.

9-乙酰氧基乙基-6-正己氨基-2-甲硫基嘌呤(**4a₇**): 白色固体, m.p. 125~127 $^{\circ}\text{C}$, 产率 78.7%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.60 (s, 1H, H-8), 5.76 (bs, 1H, NH), 4.41~4.34 (m, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.60 (bs, 2H, NHCH_2), 2.55 (s, 3H, SCH_3), 2.01 (s, 3H, COCH_3), 1.62 (quintet, $J=7.3$ Hz, 2H, NHCH_2CH_2), 1.41~1.33 (m, 2H, $\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$), 1.32~1.25 (m, 4H, $\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{CH}_2$), 0.86 (t, $J=6.9$ Hz, 3H, $\text{NH}(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 170.48, 165.80, 154.26, 138.61, 117.19, 62.41, 42.35, 40.57, 31.55, 29.70, 26.60, 22.59, 20.76, 14.52, 14.03; IR (KBr) ν : 3268, 2960, 2923, 1732, 1621, 1580, 1339, 1297, 1235 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 352.1802, found 352.1803.

9-乙酰氧基乙基-6-苄氨基-2-乙硫基嘌呤(**4b₁**): 白色固体, m.p. 166~168 $^{\circ}\text{C}$, 产率 85.1%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.55 (s, 1H, H-8), 7.37~7.26 (m, 5H, ArH), 6.20 (bs, 1H, NH), 4.84 (bs, 2H, NHCH_2), 4.42~4.36 (m, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.14 (q, $J=7.3$ Hz, 2H, SCH_2), 2.03 (s, 3H, COCH_3), 1.37 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, SCH_2CH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 170.48, 165.45, 154.03, 150.30, 138.94, 138.80, 128.60, 127.71, 127.38, 117.24, 62.39, 44.45, 42.39, 25.66, 20.77, 14.92; IR (KBr) ν : 3254, 2968, 2923, 1727, 1616, 1577, 1335, 1303, 1237, 770 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 372.1489, found 372.1492.

9-乙酰氧基乙基-6-对氟苄氨基-2-乙硫基嘌呤(**4b₂**): 白色固体, m.p. 148~150 $^{\circ}\text{C}$, 产率 81.1%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.52 (s, 1H, H-8), 7.33~7.27 (m, 2H, ArH), 7.01~6.95 (m, 2H, ArH), 6.55 (bs, 1H, NH), 4.80 (bs, 2H, NHCH_2), 4.42~4.34 (m, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.13 (q, $J=7.3$ Hz, 2H, SCH_2), 2.02 (s, 3H, COCH_3), 1.37 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, SCH_2CH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

δ : 170.46, 165.49, 160.89, 153.93, 150.36, 138.98, 134.59, 129.35, 129.27, 117.20, 115.49, 115.28, 62.37, 43.78, 42.41, 25.62, 20.74, 14.88; IR (KBr) ν : 3255, 2924, 1726, 1616, 1579, 1333, 1302, 1241, 820 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{FN}_5\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 390.1395, found 390.1397.

9-乙酰氧基乙基-6-苯乙氨基-2-乙硫基嘌呤(**4b₃**): 白色固体, m.p. 117~119 $^{\circ}\text{C}$, 产率 82.4%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.53 (s, 1H, H-8), 7.32~7.17 (m, 5H, ArH), 6.13 (bs, 1H, NH), 4.42~4.33 (m, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.88 (bs, 2H, NHCH_2), 3.19 (q, $J=7.3$ Hz, 2H, SCH_2), 2.97 (t, $J=7.0$ Hz, 2H, ArCH_2), 2.03 (s, 3H, COCH_3), 1.43 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, SCH_2CH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 170.49, 165.37, 154.16, 139.07, 138.78, 128.82, 128.61, 126.45, 117.30, 62.42, 42.37, 41.98, 36.01, 25.65, 20.78, 15.02; IR (KBr) ν : 3265, 2928, 1743, 1614, 1581, 1304, 1229, 772 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 386.1645, found 386.1649.

9-乙酰氧基乙基-6-对氟苯乙氨基-2-乙硫基嘌呤(**4b₄**): 白色固体, m.p. 94~96 $^{\circ}\text{C}$, 产率 85.0%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.60 (s, 1H, H-8), 7.22~7.16 (m, 2H, ArH), 7.01~6.96 (m, 2H, ArH), 5.75 (bs, 1H, NH), 4.43~4.35 (m, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.87 (bs, 2H, NHCH_2), 3.17 (q, $J=7.3$ Hz, 2H, SCH_2), 2.95 (t, $J=7.1$ Hz, 2H, ArCH_2), 2.04 (s, 3H, COCH_3), 1.42 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, SCH_2CH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 170.50, 165.39, 162.86, 160.43, 154.11, 138.81, 134.64, 130.26, 130.18, 117.25, 115.51, 115.30, 62.41, 42.39, 35.20, 25.63, 20.78, 14.97; IR (KBr) ν : 3269, 2926, 1740, 1613, 1581, 1327, 1302, 1226, 825 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{FN}_5\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 404.1551, found 404.1554.

9-乙酰氧基乙基-6-丙氨基-2-乙硫基嘌呤(**4b₅**): 白色固体, m.p. 134~136 $^{\circ}\text{C}$, 产率 87.5%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.60 (s, 1H, H-8), 5.83 (bs, 1H, NH), 4.40~4.32 (m, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.57 (bs, 2H, NHCH_2), 3.13 (q, $J=7.3$ Hz, 2H, SCH_2), 2.00 (s, 3H, COCH_3), 1.65 (sextet, $J=7.3$ Hz, 2H, NHCH_2CH_2), 1.38 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, SCH_2CH_3), 0.96 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, $\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 170.46, 165.33, 154.35, 150.09, 138.63, 117.21, 62.41, 42.34, 25.60, 23.04, 20.75, 14.93, 11.43; IR (KBr) ν : 3272, 2967, 2926, 1731, 1618, 1578, 1302, 1236 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 324.1489, found 324.1492.

9-乙酰氧基乙基-6-正丁氨基-2-乙硫基嘌呤(**4b₆**): 白色固体, m.p. 120~122 $^{\circ}\text{C}$, 产率 82.8%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.59 (s, 1H, H-8), 5.77 (bs, 1H, NH), 4.40~4.33 (m, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.60 (bs, 2H, NHCH_2), 3.14 (q, $J=7.3$ Hz, 2H, SCH_2), 2.01 (s, 3H, COCH_3), 1.61 (quintet, $J=7.3$ Hz, 2H, NHCH_2CH_2), 1.45~1.36 (m, 5H, $\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$, SCH_2CH_3), 0.92 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, $\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 170.46, 165.34, 154.32, 150.07, 138.62, 117.23, 62.41, 42.34, 40.28, 31.86, 25.60, 20.75, 20.06, 14.95, 13.81; IR (KBr) ν : 3268, 2956, 2928, 1738, 1620, 1579, 1337, 1300, 1235 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 338.1645, found 338.1651.

9-乙酰氧基乙基-6-正己氨基-2-乙硫基嘌呤(**4b₇**): 白色固体, m.p. 108~110 $^{\circ}\text{C}$, 产率 80.6%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.60 (s, 1H, H-8), 5.73 (bs, 1H, NH), 4.42~4.34 (m, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.60 (bs, 2H, NHCH_2), 3.14 (q, $J=7.3$ Hz, 2H, SCH_2), 2.02 (s, 3H, COCH_3), 1.63 (quintet, $J=7.3$ Hz, 2H, NHCH_2CH_2), 1.42~1.35 (m, 5H, $\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$, SCH_2CH_3), 1.32~1.26 (m, 4H, $\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{CH}_2$), 0.87 (t, $J=6.9$ Hz, 3H, $\text{NH}(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 170.48, 165.37, 154.31, 138.62, 117.27, 62.42, 42.35, 40.62, 31.57, 29.75, 26.62, 25.62, 22.60, 20.76, 14.96, 14.04; IR (KBr) ν : 3274, 2962, 2926, 1732, 1618, 1580, 1336, 1301, 1238 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 366.1958, found 366.1972.

1.3 化合物 4 的抗血小板凝集活性测试

采用健康人的血浆对 14 个 9-乙酰氧基乙基-6-烷氨基-2-烷硫基嘌呤化合物进行了抗血小板凝集活性测试。

血浆获取方法如下: 在含有 3.8% 柠檬酸钠的抗凝液中加入新鲜的静脉血, 混合比例为 6:1 (V/V), 之后以 300 r/min 离心 20 min, 得到上层富含血小板的血浆 (PRP), 下层血液再以 900 r/min 离心 10 min, 得到贫血小板血浆 (PPP)。

检测方法如下: 首先在 PRP 中分别加入二甲基亚砜和待检测化合物 (终浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$), 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下温育 3 min 后再加入二磷酸腺苷 (ADP), 以 PPP 为对照放入血小板凝集仪中测定最大血小板凝集率。其中二甲基亚砜为阴性参照物, AR-C69931 为阳性参照物。通过所得到的血小板凝集率来评估待测化合物对 ADP 诱导血小板凝集的抵抗作用。

2 结果与讨论

2.1 中间体 2 和 3 及化合物 4 的合成

在化合物 1 与 2-溴乙基乙酸酯进行的亲核取代反应中, 由于化合物 1 的溶解性很差, 原文献加入相转移催化剂四丁基碘化铵来提高反应的进程与速度. 但是经实验发现四丁基碘化铵的加入并不能显著的提高反应的速度和产率, 反而会导致后处理繁琐. 经进一步研究发现使用碳酸钾就可以取得较好的效果, 后处理也更加容易.

在重氮-烷硫化的反应中经 TLC 监测发现, 原料 2 始终存在, 即使大量使用二硫醚和延长反应时间也不能将原料反应完全. 本文通过研究 3a 的合成来优化此反应条件, 实验结果表明, 二硫醚的合适用量是 6 equiv., 反应的合适时间是 3 h.

实验发现, 在 3 的烷氨化反应中, 除了有目标产物 4 的生成, 还会生成 9 位酯基水解的产物. 这是因为在三乙胺及胺化试剂的作用下, 产物 4 发生了酯的水解, 水解产物会随着时间增长而增多. 如果延长反应时间至 24 h, 便可得到水解完全的产物. 因此为了得到高产率的目标产物就必须严格控制反应时间, 尽可能的减少水解产物的生成. 使用 TLC 监测反应进程发现, 在反应时间为 1.5 h 时, 原料化合物 3 已反应完全, 副产物仅有少量生成.

2.2 化合物 4 的波谱分析

以化合物 4a₁ 为例, ¹H NMR 中显示 δ 6.72 处存在一质子的宽峰归属于 NH, δ 4.40~4.32 处存在四质子的多重峰属于嘌呤环 9 位支链的 CH₂CH₂O, δ 2.55 处存在三质子的单峰归属于 SCH₃ 以及 δ 2.01 处存在三质子的单峰归属于乙酰基 COCH₃. 在 ¹³C NMR 中 δ 170.49, 62.37, 42.38, 20.77 代表了嘌呤环 9 位支链的碳骨架, δ 128.58, 127.77, 127.37, 44.43 和 14.60 分别代表了苄胺和甲硫基碳骨架. 其 IR 谱图中, 3254 和 1724 cm⁻¹ 处有强峰表明有胺基和羰基的存在. 同时 HRMS 测量值与计算值相吻合更加印证了 4a₁ 的结构. 同理, 化合物 4a~4b 的结构经 ¹H NMR, ¹³C NMR, IR 和 HRMS 得到确认.

2.3 抗血小板凝集活性

14 个化合物的抗血小板凝集活性测试结果见表 1. 测试结果表明, 在相同取代基下, 4a 组 4b 组活性相差不多, 活性较低. 推测其原因可能为嘌呤环 N-9 位的酯基影响了嘌呤化合物生物活性的发挥, 文献中嘌呤化合物的 N-9 位大多为核糖环一类的亲水性基团, 所以接下来可通过改造 N-9 位, 如去除 9-位乙酰基等方式来寻求活性更高的嘌呤化合物.

表 1 化合物 4a~4b 的活性数据

Table 1 The activity data of compounds 4a~4b

Entry	Compd.	R ¹	R ²	PAR _{max} ^a /%
1	4a ₁	Me	PhCH ₂	100.00
2	4a ₂	Me	<i>p</i> -FC ₆ H ₄ CH ₂	79.23
3	4a ₃	Me	PhCH ₂ CH ₂	74.61
4	4a ₄	Me	<i>p</i> -FC ₆ H ₄ CH ₂ CH ₂	61.54
5	4a ₅	Me	<i>n</i> -Pr	60.98
6	4a ₆	Me	<i>n</i> -Bu	102.31
7	4a ₇	Me	<i>n</i> -Hexyl	103.66
8	4b ₁	Et	PhCH ₂	92.68
9	4b ₂	Et	<i>p</i> -FC ₆ H ₄ CH ₂	101.67
10	4b ₃	Et	PhCH ₂ CH ₂	93.08
11	4b ₄	Et	<i>p</i> -FC ₆ H ₄ CH ₂ CH ₂	96.15
12	4b ₅	Et	<i>n</i> -Pr	88.46
13	4b ₆	Et	<i>n</i> -Bu	77.69
14	4b ₇	Et	<i>n</i> -Hexyl	93.90
15	AR-C69931			0

^a Maximum platelet aggregation rate.

References

- [1] Legraverend, M. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 8585.
- [2] Matsuda, A.; Shinozaki, M.; Yamaguchi, T.; Homma, H.; Nomoto, R.; Miyasaka, T.; Watanabe, Y.; Abiru, T. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 241.
- [3] Sagi, G.; Otvos, L.; Ikeda, S.; Andrei, G.; Snoeck, R.; De Clercq, E. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 1307.
- [4] Koh, Y. H.; Shim, J. H.; Wu, J. Z.; Zhong, W. D.; Hong, Z.; Girardet, J. L. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 2867.
- [5] Tchilibon, S.; Joshi, B. V.; Kim, S. K.; Duong, H. T.; Gao, Z. G.; Jacobson, K. A. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 1745.
- [6] Laufer, S. A.; Domeyer, D. M.; Scior, T. R. F.; Albrecht, W.; Harser, D. R. J. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 710.
- [7] Bremond, P.; Audran, G.; Monti, H.; De Clercq, E. *Synthesis* **2008**, 3253.
- [8] Elion, G. B.; Furman, P. A.; Fyfe, J. A.; Miranda, P. D.; Beauchamp, L.; Schaeffer, H. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1977**, *74*, 5716.
- [9] De Clercq, E.; Andrei, G.; Snoeck, R.; de Bolle, L.; Naesens, L.; Degreve, B.; Balzarini, J.; Zhang, Y.; Schols, D.; Leyssen, P.; Ying, C.; Neyts, J. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2001**, *20*, 271.
- [10] Diaz-Ricart, M.; Colar, G. *Drugs Future* **2008**, *3*, 101.
- [11] Springthorpe, B.; Bailey, A.; Barton, P.; Birkinshaw, T. N.; Bonnert, R. V.; Brown, R. C.; Chapman, D.; Dixon, J.; Guile, S. D.; Humphries, R. G.; Hunt, S. F.; Ince, F.; Ingall, A. H.; Kirk, I. P.; Leeson, P. D.; Leff, P.; Lewis, R. J.; Martin, B. P.; McGinnity, D. F.; Mortimore, M. P.; Paine, S. W.; Pairedeau, G.; Patel, A.; Rigby, A. J.; Riley, R. J.; Teobald, B. J.; Tomlinson, W.; Webborn, P. J. H.; Willis, P. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 6013.
- [12] Kikugawa, K.; Iizuka, K.; Ichino, M. *J. Med. Chem.* **1973**, *16*, 358.
- [13] Ingall, A. H.; Dixon, J.; Bailey, A.; Coombs, M. E.; Cox, D.; McNally, J. I.; Hunt, S. F.; Kindon, N. D.; Teobald, B. J.; Willis, P. A.; Humphries, R. G.; Leff, P.; Clegg, J. A.; Smith, J. A.; Tomlinson, W. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 213.
- [14] Kim, H. S.; Ohno, M.; Kim, H. O.; Choi, Y.; Ji, X. D.; Maddileti, S.; Marquez, V. E.; Harden, T. K.; Jacobson, K. A. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 4974.
- [15] Maersch, K.; Rehse, K. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2006**, *339*, 115.

- [16] Wu, Z. J.; Li, S. L.; Ding, Z. R.; Du, H. G. *Chin. J. Org. Chem.* **2011**, *31*(10), 1618 (in Chinese).
(吴兆军, 李顺来, 丁忠仁, 杜洪光, 有机化学, **2011**, *31*(10), 1618.)
- [17] Wang, X. Y.; Li, S. L.; Du, H. G. *J. Beijing Univ. Chem. Technol.* **2011**, *38*(6), 29 (in Chinese).
(王馨悦, 李顺来, 杜洪光, 北京化工大学学报(自然科学版), **2011**, *38*(6), 29.)
- [18] Wang, Z. W.; Song, S.-S.; Bao, W.; Liu, P. *CN 101671249*, **2010** [*Chem. Abstr.* **2010**, *152*, 453722].

(Li, L.; Lu, Z.)