6-烷氧基-2-丙硫基-8-氮杂嘌呤核苷的合成及抗血小板凝聚活性评价

邓聪迺 李顺来 刘祥伟 杜洪光*

(北京化工大学理学院 北京 100029)

摘要 2-硫代巴比妥酸(**1**)经过巯基的烷基化、嘧啶环硝化以及羟基的氯代三步反应得到 5-硝基-2-丙硫基-4,6-二氯嘧啶(**4**); 1-*O*-乙酰基-2,3,5-三-*O*-苯甲酰基- β -D-呋喃核糖(**5**)经过叠氮取代及叠氮的还原反应得到 1-氨基-2,3,5-三-*O*-苯甲酰基- β -D-呋喃核糖(**7**); 化合物 **7** 与 **4** 经过亲核取代、硝基还原、重氮化及偶联反应得到 9-[(2',3',5'-三-*O*-苯甲酰基)- β -D-呋喃核糖基]-2-丙硫基-6-氯-8-氮杂嘌呤(**10**); 化合物 **10** 与醇进行亲核取代及脱保护反应后, 得到 10 个未见报道的 6-烷氧基-2-丙硫基-8-氮杂嘌呤核苷化合物(**11**). 化合物的结构经过 ^1H NMR, ^{13}C NMR, IR 以及 HRMS 得到表征, 并进行了抗血小板凝聚活性测试.

关键词 8-氮杂嘌呤核苷; 合成; 结构表征; 抗血小板凝聚

Synthesis of 6-Alkoxy-2-propylthio-8-azapurine Nucleosides and Their Antiplatelet Aggregation Activity Evaluation

Deng, Conger Li, Shunlai Liu, Xiangwei Du, Hongguang*

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

Abstract 2-Thiobarbituric acid (**1**) was converted to 4,6-dichloro-5-nitro-2-propylthiopyrimidine (**4**) via S-alkylation, nitration and chlorination. Followed by azide and reduction reaction of azido, 1-*O*-acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoyl- β -D-ribofuranose (**5**) was converted to 1-amino-2,3,5-tri-*O*-benzoyl- β -D-ribofuranose (**7**). 9-[(2',3',5'-Tri-*O*-benzoyl)- β -D-ribofuranosyl]-6-chloro-2-propylthio-8-azapurine (**10**) was obtained via nucleophilic substitution of **7** with **4**, reduction, diazotization and coupling reaction. Nucleophilic displacement of the chloride in **10** with various alcohols and deprotection afforded 6-alkoxy-2-propylthio-8-azapurine nucleosides (**11**). Their structures were identified by ^1H NMR, ^{13}C NMR, IR and HRMS techniques. Moreover, the antiplatelet aggregation activities of compounds **11** were measured.

Keywords 8-azapurine nucleosides; synthesis; characterization; antiplatelet aggregation

血小板的粘附聚集对于血栓的形成起着重要的作用^[1]. 在临床医学上, 抗血小板药物使用最广, 占抗血栓药物的一半以上. 抗血小板药物治疗血栓病的作用机理是通过抑制血小板活化, 避免血小板粘附聚集起到抗血栓效应. 目前临床医学上主要应用的抗血小板药物有: 血栓素抑制剂阿司匹林、二磷酸腺苷受体拮抗剂氯吡格雷与噻氯吡啶、磷酸二酯酶抑制剂双嘧达莫以及血小板膜糖蛋白 IIb/IIIa 受体拮抗剂阿昔单抗和埃替巴肽等^[2~4]. 但是这些药物在功效上并不令人十分满意, 且存在个体性差异以及副作用, 因此寻找高效稳定且副作用小的新型抗血小板药物成为了人们研究的热点.

8-氮杂嘌呤核苷类化合物在临床医学上有着重要

的研究价值, 它在抗病毒^[5~7]、抗肿瘤^[8]和治疗血栓性疾病方面^[9,10]都有着良好的医药活性. 近年来, 阿斯利康公司通过对 8-氮杂嘌呤核苷核糖环的 5'-位进行官能团修饰, 以及对嘌呤环 2,6-位进行烷硫基或烷氨基取代, 合成了一系列 8-氮杂嘌呤核苷化合物, 并对这些化合物进行了抗血小板聚集的筛选^[11,12]. AR-C78511 与 AZD6140 (Scheme 1)在筛选中都表现出了非常好的抗血小板聚集活性. 尤其是 AZD6140, 作为一种新的 P2Y₁₂ 拮抗剂, 对 ADP 引起的小血小板聚集有明显的抑制作用. 而 AR-C78511 则在具有出众的血小板聚集抑制能力的同时, 还具有很好的反相激动性^[13].

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

Received March 11, 2013; revised April 4, 2013; published online April 17, 2013.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21272022).

国家自然科学基金(No. 21272022)资助项目.

Scheme 1

近年来, 本课题组对嘌呤衍生物^[14,15]和 8-氮杂嘌呤衍生物的合成和抗血小板凝聚活性进行了研究. 到目前为止, 对 6-位为烷氧基的 8-氮杂嘌呤核苷的合成和生物活性研究很少. 本文以 2-硫代巴比妥酸与 1-*O*-乙酰基-2,3,5-三-*O*-苯甲酰基- β -*D*-呋喃核糖为起始原料, 设计合成了 10 种未见报道的 6-烷氧基-2-丙硫基-8-氮杂嘌呤核苷化合物, 通过 ^1H NMR, ^{13}C NMR, IR 和 HRMS 等对其结构进行表征, 并且对这 10 种化合物进行了抗血小板

凝聚活性的测试. 合成路线如 Scheme 2 所示.

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); Nicolet 5700 型傅里叶变换红外光谱仪, 美国 Thermo Electron Corporation; Bruker 400 MHz 核磁共振仪(TMS 为内标), 德国 Bruker 公司; Agilent TOF-6210 型高分辨质谱仪, 美国 Agilent 公司; Chrono-Log Model 400VS 血小板聚集仪, 美国 Chrono-Log 公司. 2-硫代巴比妥酸, 河南新乡金牛精细化工有限公司; 1-*O*-乙酰基-2,3,5-三-*O*-苯甲酰基- β -*D*-呋喃核糖, 河南新乡一梅化工有限公司; 碘丙烷、无水四氯化锡、三氯氧磷、*N,N*-二异丙基乙胺等为分析纯.

1.2 实验方法

1.2.1 4,6-二羟基-2-丙硫基嘧啶(2)的合成

搅拌下将 NaOH 固体 27.8 g (0.7 mol) 缓慢地加入 200 mL 水中. 待其完全溶解, 整个反应体系冷却至室温后, 补加 100 mL 水和 100 mL 乙醇. 将 2-硫代巴比妥酸 100.0 g (0.7 mol) 缓慢加入反应体系中, 待完全溶解后, 滴加碘代正丙烷 68 mL (0.7 mol). 室温下反应 72 h, 反应体系中有大量絮状沉淀生成. 减压蒸除体系中的大部分溶剂, 用 4 mol/L 稀盐酸调节 pH=3. 减压抽滤, 并用水和少量乙醇洗涤滤出物, 干燥后得到 90.2 g 白色固体 2^[16], 产率为 70%. m.p. 159~178 °C(文献值^[16] 160~180 °C).

Scheme 2

1.2.2 5-硝基-4,6-二羟基-2-丙硫基嘧啶(3)的合成

称取 20.0 g (0.1 mol) 的化合物 2, 取其中的一小部分置于三口烧瓶中, 加入 200 mL 冰醋酸使其溶解, 然后再加入浓硝酸 15 mL (0.3 mol), 搅拌下缓慢升温至 50 °C. 少量多次地向反应体系中加入剩下的化合物 2, 控制加料速度保持体系温度在 50~60 °C 之间. 投料完毕后控制温度在 55 °C 左右, 反应 1 h 后停止加热. 待体系温度冷却至室温后, 将反应液缓慢倒入足量的冰水混合物中, 有大量的沉淀生成. 减压抽滤, 并用大量的水冲洗滤饼得到 17.4 g 淡黄色固体 3, 产率为 70%. m.p. 197~198 °C (文献值^[16] 197~198 °C).

1.2.3 5-硝基-2-丙硫基-4,6-二氯嘧啶(4)的合成

称取 5.0 g (21.6 mmol) 化合物 3 置于三口烧瓶中, 加入三氯氧磷 17 mL (182.9 mmol) 使其溶解. 缓慢滴加 *N,N*-二甲基苯胺 6.0 mL (47.5 mmol), 滴加完毕后升温至回流. 保持回流反应 1 h 后停止加热, 体系冷却至室温. 将反应液缓慢滴加入大量冰水混合物中, 控制体系温度在 10 °C 以下. 滴加完毕后搅拌 30 min, 充分水解掉过量的三氯氧磷. 用二氯甲烷(15 mL×3)对水解液进行萃取, 合并有机相. 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压蒸除溶剂后, 粗产物经柱色谱(二氯甲烷/石油醚, *V*:*V*=1:8)分离提纯后得到 5.5 g 黄色液体 4^[17], 产率为 94%.

1.2.4 1-叠氮基-2,3,5-三-*O*-苯甲酰基-β-*D*-呋喃核糖(6)的合成

称取 10.0 g (19.8 mmol) 化合物 5 置于单口烧瓶中, 加入 100 mL 二氯甲烷将其溶解后, 加入 1.5 g (22.6 mmol) NaN₃ 和无水四氯化锡 4 mL (34.2 mmol), 常温下搅拌反应. TLC 监测反应(乙酸乙酯/石油醚, *V*:*V*=1:10), 反应结束后, 向体系中加入 40 mL 水, 用 2 mol/L 的 NaOH 调节 pH 至中性. 用二氯甲烷(15 mL×3)对反应液进行萃取, 合并有机相. 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压蒸除溶剂后得到无色粘稠产物. 粗产物经柱色谱(乙酸乙酯/石油醚, *V*:*V*=1:10)分离提纯后得到 8.2 g 蜡状白色固体 6^[18], 产率为 85%.

1.2.5 4-[(2',3',5'-三-*O*-苯甲酰基)-β-*D*-呋喃核糖基]氨基-5-硝基-2-丙硫基-6-氯嘧啶(8)的合成

称取 20.0 g (41.0 mmol) 化合物 6 置于三口烧瓶中, 加入 250 mL 乙酸乙酯将其溶解后, 加入 0.2 g Pd/C, 并向体系中通入氢气, 室温下搅拌反应 12 h. 由于生成的化合物 7 在室温下非常不稳定, 所以无需分离, 直接进行下一步反应.

称取 11.0 g (41.0 mmol) 化合物 4 置于三口烧瓶中, 加入 20 mL 四氢呋喃与 11 mL (63.0 mmol) *N,N*-二异丙基乙胺, 常温下搅拌反应. 将化合物 7 通过加有硅藻土及无水硫酸钠的滴液漏斗加入反应体系, 油浴条件下升

温至 40 °C, 反应 5 h. 反应完成后减压蒸除溶剂, 粗产物经柱色谱(乙酸乙酯/石油醚, *V*:*V*=1:8)分离提纯后得到 15.4 g 浅黄色固体 8, 产率为 54%, m.p. 138~140 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.35 (d, *J*=7.4 Hz, 1H, NH), 8.10~7.95 (m, 6H, *o*-ArH), 7.59~7.54 (m, 3H, *p*-ArH), 7.47~7.35 (m, 6H, *m*-ArH), 6.32 (dd, *J*=7.4, 4.2 Hz, 1H, H-3'), 5.88~5.84 (m, 2H, H-1', H-2'), 4.74~4.62 (m, 3H, H-4', H-5'α, H-5'β), 3.10~2.97 (m, 2H, SCH₂CH₂-CH₃), 1.68 (sextet, *J*=7.2 Hz, 2H, SCH₂CH₂-CH₃), 0.94 (t, *J*=7.3 Hz, 3H, SCH₂CH₂CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 174.56, 166.20, 165.31, 165.25, 155.07, 154.72, 133.81, 133.71, 133.47, 129.89, 129.78, 129.72, 129.32, 128.65, 128.56, 128.54, 124.09, 84.93, 79.70, 74.63, 71.62, 63.74, 33.73, 22.20, 13.38; IR (KBr) *v*: 3429, 2965, 1727, 1565, 1511, 1326, 1268, 1227, 1112, 1069, 710 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₃₃H₃₀ClN₄O₉S [M+H]⁺ 693.1422, found 693.1407.

1.2.6 5-氨基-4-[(2',3',5'-三-*O*-苯甲酰基)-β-*D*-呋喃核糖基]氨基-2-丙硫基-6-氯嘧啶(9)的合成

称取 15.4 g (22.2 mmol) 化合物 8 溶于 200 mL 冰醋酸中, 加入 10.0 g (179.1 mmol) 还原铁粉, 常温下搅拌反应 48 h. 加水后, 用乙酸乙酯(15 mL×3)对反应液进行萃取, 合并有机相. 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压蒸除溶剂后得到粗产物. 粗产物经柱色谱(乙酸乙酯/石油醚, *V*:*V*=1:5)分离提纯后得到 13.0 g 黄色粘稠状液体 9^[12], 产率为 88%.

1.2.7 9-[(2',3',5'-三-*O*-苯甲酰基)-β-*D*-呋喃核糖基]-2-丙硫基-6-氯-8-氮杂嘌呤(10)的合成

称取 13.3 g (20.0 mmol) 化合物 9 溶于 200 mL 冰醋酸中. 向反应体系中加入 20 mL 水, 在冰盐浴条件下将反应体系温度降至 0 °C. 将 1.6 g (23.2 mmol) 亚硝酸钠溶于 5 mL 水中, 缓慢滴加入反应体系, 滴加过程控制反应体系温度在 5 °C 以下. 滴加完毕后, 在 5 °C 以下反应 1 h, 然后转移至 50 °C 的恒温水浴中继续反应 1.5 h. 加水后, 用二氯甲烷(15 mL×3)对反应液进行萃取, 合并有机相. 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压蒸除溶剂后得到粗产物. 粗产物经柱色谱(乙酸乙酯/石油醚, *V*:*V*=1:8)分离提纯后得到 11.5 g 淡黄色固体 10, 产率为 85%. m.p. 122~124 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.99~7.97 (m, 6H, *o*-ArH), 7.60~7.53 (m, 3H, *p*-ArH), 7.42~7.37 (m, 6H, *m*-ArH), 6.79 (d, *J*=2.5 Hz, 1H, H-1'), 6.55 (q, *J*=2.8 Hz, 1H, H-2'), 6.34 (t, *J*=6.0 Hz, 1H, H-3'), 4.93 (q, *J*=4.8 Hz, 1H, H-4'), 4.82~4.78 (m, 1H, H-5'α), 4.66~4.62 (m, 1H, H-5'β), 3.30~3.20 (m, 2H, SCH₂CH₂CH₃), 1.80 (sextet, *J*=7.3 Hz, 2H, SCH₂-

CH₂CH₃), 1.05 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, SCH₂CH₂CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 173.11, 166.07, 165.11, 165.03, 153.39, 150.62, 133.93, 133.73, 133.31, 132.06, 129.87, 129.83, 129.71, 129.24, 128.62, 128.55, 128.44, 88.42, 80.69, 74.19, 71.46, 63.26, 33.87, 21.89, 13.41; IR (KBr) ν : 3435, 3061, 2961, 2875, 1723, 1711, 1587, 1554, 1452, 1268, 1141, 1128, 1093, 1068, 979, 710 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₃₃H₂₈ClN₅NaO₇S [M + Na]⁺ 696.1296, found 696.1290.

1.2.8 6-烷氧基-2-丙硫基-8-氮杂嘌呤核苷(**11a**~**11j**)的合成

合成方法 A: 将 0.04 g (1.9 mmol) 金属钠丝加入到 15 mL 甲醇中, 适当加热形成甲醇钠-甲醇的溶液体系. 将 0.5 g (0.7 mmol) 化合物 **10** 溶于甲醇中, 加入制备好的甲醇钠-甲醇的溶液, 室温下反应 4 h. 减压蒸除溶剂, 向得到的粗产物中加入 20 mL 水, 用冰醋酸调节 pH=6. 用乙酸乙酯(15 mL×3)进行萃取, 合并有机相. 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压蒸除溶剂后得到粗产物. 粗产物经柱色谱(乙酸乙酯/石油醚, $V:V=2:1$)分离提纯, 乙酸乙酯与石油醚重结晶得到化合物 **11a**.

参照上述方法分别用乙醇、正丙醇、异丙醇、正丁醇、异丁醇、仲丁醇代替甲醇制得化合物 **11b**~**11g**.

6-甲氧基-2-丙硫基-8-氮杂嘌呤核苷(**11a**): 白色固体, 产率为 39%. m.p. 103~105 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.21 (d, $J=4.8$ Hz, 1H, H-1'), 5.66 (d, $J=5.8$ Hz, 1H, OH-2'), 5.35 (d, $J=5.6$ Hz, 1H, OH-3'), 4.91 (q, $J=5.1$ Hz, 1H, H-2'), 4.83 (t, $J=5.8$ Hz, 1H, OH-5'), 4.38 (q, $J=5.1$ Hz, 1H, H-3'), 4.20 (s, 3H, OCH₃), 4.05 (q, $J=4.8$ Hz, 1H, H-4'), 3.69~3.64 (m, 1H, H-5' α), 3.56~3.50 (m, 1H, H-5' β), 3.27~3.16 (m, 2H, SCH₂CH₂CH₃), 1.78 (sextet, $J=7.2$ Hz, 2H, SCH₂CH₂CH₃), 1.05 (t, $J=7.4$ Hz, 3H, SCH₂CH₂CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 170.43, 160.14, 151.35, 123.63, 89.67, 85.99, 72.82, 70.56, 61.75, 55.04, 32.66, 22.08, 13.18; IR (KBr) ν : 3421, 3264, 2965, 2942, 2872, 1593, 1483, 1451, 1395, 1335, 1283, 1230, 1204, 1175, 1082, 1037 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₃H₂₀N₅O₅S [M + H]⁺ 358.1185, found 358.1183.

6-乙氧基-2-丙硫基-8-氮杂嘌呤核苷(**11b**): 白色固体, 产率为 41%. m.p. 160~161 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.17 (d, $J=4.8$ Hz, 1H, H-1'), 5.61 (d, $J=5.8$ Hz, 1H, OH-2'), 5.31 (d, $J=5.6$ Hz, 1H, OH-3'), 4.87 (q, $J=5.2$ Hz, 1H, H-2'), 4.79 (t, $J=5.6$ Hz, 1H, OH-5'), 4.66 (q, $J=7.0$ Hz, 2H, OCH₂CH₃), 4.33 (q, $J=4.9$ Hz, 1H, H-3'), 4.01 (q, $J=4.9$ Hz, 1H, H-4'), 3.65~3.59 (m,

1H, H-5' α), 3.51~3.46 (m, 1H, H-5' β), 3.24~3.12 (m, 2H, SCH₂CH₂CH₃), 1.75 (sextet, $J=7.2$ Hz, 2H, SCH₂CH₂CH₃), 1.45 (t, $J=7.0$ Hz, 3H, OCH₂CH₃), 1.02 (t, $J=7.4$ Hz, 3H, SCH₂CH₂CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 170.38, 159.78, 151.41, 123.64, 89.65, 85.99, 72.77, 70.55, 64.16, 61.74, 32.64, 22.14, 14.05, 13.19; IR (KBr) ν : 3442, 3310, 2971, 2941, 2869, 2831, 1586, 1486, 1435, 1379, 1342, 1263, 1200, 1051, 1010 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₄H₂₂N₅O₅S [M + H]⁺ 372.1342, found 372.1349.

6-正丙氧基-2-丙硫基-8-氮杂嘌呤核苷(**11c**): 白色固体, 产率为 39%. m.p. 82~84 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.17 (d, $J=4.7$ Hz, 1H, H-1'), 5.61 (d, $J=5.8$ Hz, 1H, OH-2'), 5.31 (d, $J=5.5$ Hz, 1H, OH-3'), 4.87 (q, $J=5.0$ Hz, 1H, H-2'), 4.79 (t, $J=5.7$ Hz, 1H, OH-5'), 4.57 (t, $J=6.0$ Hz, 2H, OCH₂CH₂CH₃), 4.33 (q, $J=4.9$ Hz, 1H, H-3'), 4.01 (q, $J=4.9$ Hz, 1H, H-4'), 3.65~3.59 (m, 1H, H-5' α), 3.51~3.46 (m, 1H, H-5' β), 3.24~3.12 (m, 2H, SCH₂CH₂CH₃), 1.86 (sextet, $J=7.1$ Hz, 2H, OCH₂CH₂CH₃), 1.75 (sextet, $J=7.3$ Hz, 2H, SCH₂CH₂CH₃), 1.04~1.00 (m, 6H, SCH₂CH₂CH₃, OCH₂CH₂CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 170.36, 159.93, 151.43, 123.62, 89.66, 85.99, 72.78, 70.55, 69.44, 61.74, 32.65, 22.15, 21.45, 13.20, 10.11; IR (KBr) ν : 3372, 2959, 2926, 2869, 2846, 1587, 1442, 1374, 1335, 1280, 1191, 1076 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₅H₂₄N₅O₅S [M + H]⁺ 386.1498, found 386.1493.

6-异丙氧基-2-丙硫基-8-氮杂嘌呤核苷(**11d**): 白色固体, 产率为 35%. m.p. 129~130 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.17 (d, $J=4.9$ Hz, 1H, H-1'), 5.65~5.59 [m, 2H, OH-2', OCH(CH₃)₂], 5.31 (d, $J=5.6$ Hz, 1H, OH-3'), 4.87 (q, $J=5.1$ Hz, 1H, H-2'), 4.79 (t, $J=5.8$ Hz, 1H, OH-5'), 4.33 (q, $J=4.9$ Hz, 1H, H-3'), 4.01 (q, $J=4.9$ Hz, 1H, H-4'), 3.65~3.59 (m, 1H, H-5' α), 3.51~3.46 (m, 1H, H-5' β), 3.23~3.12 (m, 2H, SCH₂CH₂CH₃), 1.75 (sextet, $J=7.4$ Hz, 2H, SCH₂CH₂CH₃), 1.45 [d, $J=6.2$ Hz, 6H, OCH(CH₃)₂], 1.02 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, SCH₂CH₂CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 170.34, 159.40, 151.49, 123.79, 89.66, 85.99, 72.76, 71.96, 70.55, 61.74, 32.65, 22.24, 21.45, 13.20; IR (KBr) ν : 3369, 2959, 2928, 2872, 1585, 1441, 1384, 1329, 1282, 1196, 1077 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₅H₂₄N₅O₅S [M + H]⁺ 386.1498, found 386.1506.

6-正丁氧基-2-丙硫基-8-氮杂嘌呤核苷(**11e**): 白色固体, 产率为 38%. m.p. 76~78 °C; ¹H NMR (400 MHz,

DMSO- d_6) δ : 6.17 (d, $J=4.8$ Hz, 1H, H-1'), 5.61 (d, $J=5.9$ Hz, 1H, OH-2'), 5.31 (d, $J=5.5$ Hz, 1H, OH-3'), 4.87 (q, $J=5.1$ Hz, 1H, H-2'), 4.79 (t, $J=5.7$ Hz, 1H, OH-5'), 4.62 (t, $J=6.7$ Hz, 2H, OCH₂CH₂CH₂CH₃), 4.33 (q, $J=5.0$ Hz, 1H, H-3'), 4.01 (q, $J=4.9$ Hz, 1H, H-4'), 3.65~3.59 (m, 1H, H-5' α), 3.51~3.46 (m, 1H, H-5' β), 3.24~3.12 (m, 2H, SCH₂CH₂CH₃), 1.86~1.71 (m, 4H, OCH₂-CH₂CH₂CH₃, SCH₂CH₂CH₃), 1.46 (sextet, $J=7.5$ Hz, 2H, OCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.02 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, SCH₂CH₂-CH₃), 0.96 (t, $J=7.4$ Hz, 3H, OCH₂CH₂CH₂CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 170.36, 159.92, 151.43, 123.63, 89.66, 85.99, 72.78, 70.55, 67.73, 61.74, 32.65, 30.03, 22.15, 18.54, 13.54, 13.19; IR (KBr) ν : 3392, 2961, 2929, 2869, 1587, 1443, 1375, 1334, 1282, 1192, 1077 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₆H₂₆N₅O₅S [M+H]⁺ 400.1655, found 400.1652.

6-异丁氧基-2-丙硫基-8-氮杂嘌呤核苷(**11f**): 白色固体, 产率为 25%. m.p. 72~74 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.17 (d, $J=4.8$ Hz, 1H, H-1'), 5.61 (d, $J=5.8$ Hz, 1H, OH-2'), 5.31 (d, $J=5.6$ Hz, 1H, OH-3'), 4.87 (q, $J=5.0$ Hz, 1H, H-2'), 4.78 (t, $J=5.7$ Hz, 1H, OH-5'), 4.41 [d, $J=6.7$ Hz, 2H, OCH₂CH(CH₃)₂], 4.34 (q, $J=5.0$ Hz, 1H, H-3'), 4.01 (q, $J=5.0$ Hz, 1H, H-4'), 3.65~3.59 (m, 1H, H-5' α), 3.51~3.45 (m, 1H, H-5' β), 3.23~3.12 (m, 2H, SCH₂CH₂CH₃), 2.18 [heptet, $J=6.7$ Hz, 1H, OCH₂-CH(CH₃)₂], 1.76 (sextet, $J=7.3$ Hz, 2H, SCH₂CH₂CH₃), 1.04~0.99 [m, 9H, SCH₂CH₂CH₃, OCH₂CH(CH₃)₂]; ¹³C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 170.34, 159.99, 151.45, 123.59, 89.67, 85.98, 73.60, 72.78, 70.55, 61.74, 32.64, 27.27, 22.15, 18.75, 13.20; IR (KBr) ν : 3340, 2962, 2926, 2873, 1587, 1442, 1388, 1333, 1288, 1194, 1080 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₆H₂₆N₅O₅S [M+H]⁺ 400.1655, found 400.1654.

6-仲丁氧基-2-丙硫基-8-氮杂嘌呤核苷(**11g**): 白色固体, 产率为 30%. m.p. 98~100 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.16 (d, $J=4.8$ Hz, 1H, H-1'), 5.61 (d, $J=5.8$ Hz, 1H, OH-2'), 5.47 [sextet, $J=6.2$ Hz, 1H, OCH(CH₃)CH₂CH₃], 5.31 (d, $J=5.6$ Hz, 1H, OH-3'), 4.87 (q, $J=5.1$ Hz, 1H, H-2'), 4.78 (t, $J=5.7$ Hz, 1H, OH-5'), 4.32 (q, $J=4.9$ Hz, 1H, H-3'), 4.00 (q, $J=4.9$ Hz, 1H, H-4'), 3.65~3.59 (m, 1H, H-5' α), 3.51~3.45 (m, 1H, H-5' β), 3.23~3.11 (m, 2H, SCH₂CH₂CH₃), 1.86~1.73 [m, 4H, SCH₂CH₂CH₃, OCH(CH₃)CH₂CH₃], 1.41 [d, $J=6.2$ Hz, 3H, OCH(CH₃)CH₂CH₃], 1.02 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, SCH₂CH₂CH₃), 0.96 [t, $J=7.4$ Hz, 3H, OCH(CH₃)CH₂-

CH₃]; ¹³C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 170.32, 159.69, 151.51, 123.77, 89.65, 85.99, 76.31, 72.75, 70.55, 61.74, 32.66, 28.12, 22.23, 18.95, 13.21, 9.45; IR (KBr) ν : 3336, 2966, 2928, 2869, 1585, 1445, 1383, 1331, 1288, 1194, 1079 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₆H₂₆N₅O₅S [M+H]⁺ 400.1655, found 400.1655.

合成方法 B^[19]: 将 130.0 mg (0.9 mmol) NaI, 200.0 mg (5.0 mmol) NaOH 和 761.0 mg (5.0 mmol) 4-甲氧基苯乙醇溶于无水乙腈中, 室温下反应 1 h. 向反应体系中加入 600.0 mg (0.9 mmol) 化合物 **10**, 室温下反应 48 h. 减压蒸除溶剂, 向得到的粗产物中加入 20 mL 水, 用冰醋酸调节 pH=6. 用乙酸乙酯(15 mL×3)进行萃取, 合并有机相. 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压蒸除溶剂后得到粗产物. 粗产物经柱色谱(乙酸乙酯/石油醚, $V:V=2:1$)分离提纯, 乙酸乙酯与石油醚重结晶得到固体 **11h**.

参照上述方法分别用 4-氟苯乙醇, 2-噻吩乙醇代替 4-甲氧基苯乙醇制得化合物 **11i**~**11j**.

6-(4-甲氧基苯乙氧基)-2-丙硫基-8-氮杂嘌呤核苷(**11h**): 白色固体, 产率为 26%. m.p. 68~70 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.27~6.87 (m, 4H, Ar), 6.16 (d, $J=4.7$ Hz, 1H, H-1'), 5.61 (d, $J=5.7$ Hz, 1H, OH-2'), 5.31 (d, $J=5.6$ Hz, 1H, OH-3'), 4.86 (q, $J=5.0$ Hz, 1H, H-2'), 4.80~4.76 (m, 3H, OH-5', OCH₂CH₂), 4.33 (q, $J=4.7$ Hz, 1H, H-3'), 4.01 (q, $J=4.4$ Hz, 1H, H-4'), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 3.65~3.59 (m, 1H, H-5' α), 3.51~3.45 (m, 1H, H-5' β), 3.20~3.09 (m, 4H, OCH₂CH₂, SCH₂CH₂CH₃), 1.74 (sextet, $J=7.2$ Hz, 2H, SCH₂CH₂CH₃), 1.01 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, SCH₂CH₂CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 170.36, 159.75, 157.96, 151.46, 129.90, 129.27, 123.56, 113.85, 89.64, 86.00, 72.79, 70.55, 68.57, 61.74, 54.97, 33.29, 32.65, 22.11, 13.20; IR (KBr) ν : 3395, 2959, 2930, 2869, 1586, 1513, 1442, 1336, 1247, 1184, 1078, 1041 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₂₁H₂₈N₅O₆S [M+H]⁺ 478.1760, found 478.1750.

6-(4-氟苯乙氧基)-2-丙硫基-8-氮杂嘌呤核苷(**11i**): 白色固体, 产率为 25%. m.p. 93~95 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.41~7.12 (m, 4H, Ar), 6.16 (d, $J=4.6$ Hz, 1H, H-1'), 5.61 (d, $J=5.8$ Hz, 1H, OH-2'), 5.31 (d, $J=5.5$ Hz, 1H, OH-3'), 4.88~4.77 (m, 4H, H-2', OH-5', OCH₂CH₂), 4.33 (q, $J=4.8$ Hz, 1H, H-3'), 4.01 (q, $J=4.7$ Hz, 1H, H-4'), 3.65~3.59 (m, 1H, H-5' α), 3.51~3.45 (m, 1H, H-5' β), 3.20~3.12 (m, 4H, OCH₂CH₂, SCH₂CH₂-CH₃), 1.74 (sextet, $J=7.2$ Hz, 2H, SCH₂CH₂CH₃), 1.01 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, SCH₂CH₂CH₃); ¹³C NMR (100 MHz,

DMSO- d_6) δ : 170.36, 162.24, 159.70, 151.47, 133.76, 130.71, 123.53, 115.00, 89.64, 86.00, 72.79, 70.55, 68.27, 61.73, 33.28, 32.65, 22.09, 13.19; IR (KBr) ν : 3363, 2962, 2928, 2869, 1586, 1510, 1442, 1336, 1221, 1186, 1077, 1050 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{FN}_5\text{O}_5\text{S}$ [$\text{M}+\text{H}$] $^{+}$ 466.1560, found 466.1551.

6-(2-噻吩乙氧基)-2-丙硫基-8-氮杂嘌呤核苷(**11j**): 棕色固体, 产率为 21%. m.p. 73~75 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.37 (d, $J=4.7$ Hz, 1H, H-5"), 7.01~6.98 (m, 2H, H-3", H-4"), 6.16 (d, $J=4.4$ Hz, 1H, H-1'), 5.61 (d, $J=5.6$ Hz, 1H, OH-2'), 5.31 (d, $J=5.4$ Hz, 1H, OH-3'), 4.88~4.78 (m, 4H, H-2', OH-5', OCH_2CH_2), 4.33 (q, $J=4.7$ Hz, 1H, H-3'), 4.01 (q, $J=4.4$ Hz, 1H, H-4'), 3.65~3.59 (m, 1H, H-5' α), 3.51~3.46 (m, 1H, H-5' β), 3.41 (t, $J=6.1$ Hz, 2H, OCH_2CH_2), 3.24~3.13 (m, 2H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.75 (sextet, $J=7.1$ Hz, 2H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.01 (t, $J=7.4$ Hz, 3H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 170.36, 159.64, 151.51, 139.44, 127.01, 125.96, 124.59, 123.55, 89.65, 86.02, 72.79, 70.55, 68.05, 61.73, 32.67, 28.48, 22.12, 13.20; IR (KBr) ν : 3364, 2959, 2927, 2866, 1587, 1442, 1335, 1279, 1218, 1189, 1078, 772 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}_2$ [$\text{M}+\text{H}$] $^{+}$ 454.1219, found 454.1209.

1.3 化合物 11 的抗血小板凝聚活性测试

抽取健康人的血液对 10 个 6-烷氧基-2-丙硫基-8-氮杂嘌呤核苷化合物进行了抗血小板凝聚活性测试.

血小板提取与制备: 血液来自两周内未服用过抗血小板药物的志愿者, 抽取肘部静脉血, 以 1:6(体积比)的右旋枸橼酸 ACD (2.5 g 枸橼酸钠, 1.5 g 枸橼酸, 2 g 葡萄糖溶于 100 mL 去离子水中)抗凝. 混合均匀后, 常温 300 g 离心 20 min, 分离得到富血小板血浆(platelet rich plasma, PRP). 将 PRP 在常温 900 g 离心 8 min, 分离得到血小板, 重悬在含 0.01 $\mu\text{mol/mL}$ 三磷酸腺苷双磷酸酶

(Apyrase)的苔氏液(Tyrode buffer)溶液中(Apyrase/Tyrode buffer, $V:V=1:2000$). 生理盐水作为贫血小板血浆(PPP)用以空白对照.

抗血小板聚集试验: 首先将血小板聚集仪预热至 37 $^{\circ}\text{C}$, 以 PPP 为对照, 在血小板悬液中分别加入纤维蛋白原(Fibrinogen)以及溶于 DMSO 的待测样品(终浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$), 3 min 后加入二磷酸腺苷(ADP), 测定最大血小板凝聚率. 通过得到的血小板凝聚率评估待测化合物对 ADP 诱导的血小板凝聚的抵抗作用. 试验过程中, AR-C69931MX 为阳性对照物, DMSO 为阴性对照物.

2 结果与讨论

2.1 中间体 9-[(2',3',5'-三-*O*-苯甲酰基)- β -*D*-呋喃核糖基]-2-丙硫基-6-氯-8-氮杂嘌呤(10)的合成

化合物 10 的合成中, 最初采用了 Silyl-Hilbert-Johnson 核苷合成法^[20]. 如 Scheme 3 所示, 通过 8-氮杂嘌呤与 1-*O*-乙酰基-2,3,5-三-*O*-苯甲酰基- β -*D*-呋喃核糖在 Lewis 酸催化剂无水 SnCl_4 存在条件下反应, 得到化合物 10. 但通过实验发现, 该方法会得到嘌呤环上 7,8,9-位分别被取代的三种异构体, 从而对分离提纯造成了很大的困难, 同时也降低了 9-位取代产物的产率.

为了提高化合物 10 的产率, 降低其分离提纯难度, 我们尝试通过先接核糖环, 然后再进行重氮化与偶联的方法制备化合物 10. 在进行核糖环与嘧啶环的对接试验中, 我们最开始尝试使用 Route 2 的合成方法, 通过使用化合物 16 与化合物 17 进行亲核取代反应合成化合物 8 (Scheme 4). 但通过实验发现, 无论是有机碱 Et_3N 或是强碱 NaH , 反应都未能得到目标产物, 其原因可能是嘧啶及嘧啶环上取代基(硝基和卤原子)的吸电子诱导效应及吸电子共轭效应导致氨基的亲核性降低, 从而很难发生亲核取代反应. 考虑到嘧啶环上 4-位卤素比较活泼, 容易与亲核试剂发生亲核取代反应, 我们设计了

Scheme 3

Scheme 4

Route 3 的合成路线, 在 *N,N*-二异丙基乙胺作为缚酸剂的条件下, 化合物 **7** 作为亲核试剂与化合物 **4** 反应, 顺利得到化合物 **8**。

对比 Route 1 与 Route 3, 由于得到 3 种异构体, Route 1 制备化合物 **10** 的总产率仅为 11.6%, 而 Route 3 的总产率则为 34.3%。因此我们最终选用了 Route 3。

2.2 化合物 11a~11j 的波谱分析

以化合物 **11a** 为例, ^1H NMR 中显示在 δ 6.21, 5.66 和 5.35 处存在 3 组双峰分别归属于核糖环上的 1'-位氢以及 2'-, 3'-位的羟基; δ 4.91, 4.38 以及 4.05 处存在 3 组四重峰分别归属于核糖环上 2'-, 3'-和 4'-位氢; 5'-位的羟基则以三重峰的形式出现在 δ 4.83; 由于两个氢原子的化学不等价和受到邻位氢以及羟基氢的影响, 核糖环上 5'-位亚甲基的两个氢分别以多重峰的形式出现在 δ 3.53 和 3.66 附近; δ 4.20 处的单峰属于嘌呤环 6 位取代的 OCH_3 ; δ 1.05 的三重峰, δ 1.78 的六重峰以及 δ 3.21 附近的多重峰则为嘌呤 2-位丙硫基的特征峰。 ^{13}C NMR 中显示, 化学位移 δ 32.66, 22.08, 13.18 为丙硫基的特征峰; 化学位移 δ 55.04 为嘌呤环 6 位取代的甲氧基的特征峰; 化学位移 δ 89.67, 85.99, 72.82, 70.56, 61.75 为核糖环的特征峰; 化学位移 δ 170.43, 160.14, 151.35, 123.63 为嘧啶环的特征峰。同时 HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 358.1185, found 358.1183 表明了 **11a** 的结构。同理, 化合物 **11b**~**11j** 的结构也经过 ^1H NMR, ^{13}C NMR, IR 和 HRMS 得到确认。

2.3 抗血小板凝聚活性评价

10 个化合物的抗血小板凝聚活性测试结果如表 1 所示。对比 **11a**, **11b**, **11c** 和 **11e** 4 个化合物, 可以发现取代基碳链越长, 化合物的抗血小板凝聚活性越好, 尤其是当取代基为丙基时, 化合物表现出最好的抗血小板凝聚活性。对比 **11c**, **11d** 与 **11e**, **11f**, **11g** 两组化合物, 当取代基中碳的个数相同时, C-6 位被直链烷氧基取代的化合物 **11c** 与 **11e** 比 C-6 位被支链烷氧基取代的化合物 **11d**, **11f**, **11g** 具有更好的抗血小板凝聚活性。结果还显

示, 相比于 C-6 位为烷氧基的化合物 **11a**~**11g**, C-6 位被芳烷氧基或杂环烷氧基取代的化合物 **11h**~**11j** 表现出更好的抗血小板凝聚活性。

表 1 化合物 **11a**~**11j** 的抗血小板凝聚活性

Table 1 The antiplatelet aggregation activities of compounds **11a**~**11j**

Entry	Compd.	R	PAR _{max} ^a /%
1	11a	Me	112.50
2	11b	Et	93.33
3	11c	<i>n</i> -Pr	53.33
4	11d	<i>iso</i> -Pr	86.67
5	11e	<i>n</i> -Bu	67.29
6	11f	<i>iso</i> -Bu	68.57
7	11g	<i>sec</i> -Bu	80.00
8	11h	<i>p</i> -MeOC ₆ H ₄ CH ₂ CH ₂	39.02
9	11i	<i>p</i> -FC ₆ H ₄ CH ₂ CH ₂	56.58
10	11j		53.95
11	AR-C69931MX		0

^a Maximum platelet aggregation rate.

References

- [1] Jennings, L. K. *Am. J. Cardiol.* **2009**, *103*, 4A.
- [2] Awtry, E. H.; Loscalzo, J. *Circulation* **2000**, *101*, 1206.
- [3] Cattaneo, M. *Drug News Perspect* **2006**, *19*, 253.
- [4] James, E.; David, E.; Cindy, L. *Circulation* **2003**, *108*, 1316.
- [5] Aerschot, A.; Mamos, P.; Weyns, J. *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 2938.
- [6] Sagi, G.; Otvos, L.; Ikeda, S. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 1307.
- [7] Smith, W. C.; Sidwell, W. R.; Robins, K. R. *J. Med. Chem.* **1972**, *15*, 883.
- [8] Montgomery, A. J.; Thomas, J. H. *J. Med. Chem.* **1972**, *15*, 305.
- [9] Matsuda, A.; Shinozaki, M.; Yamaguchi, T. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 241.
- [10] Estep, G. K.; Josef, A. K.; Bacon, R. E. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2582.
- [11] Cox, D.; Ingall, A.; Willis, P. *WO 9703084*, **1997** [*Chem. Abstr.* **1997**, *126*, 186328].
- [12] Zhang, H. C.; Maryanoff, B. E.; Ye, H.; Chen, C. L. *WO 2008054795*, **2008** [*Chem. Abstr.* **2008**, *148*, 517743].
- [13] Ding, Z. R.; Kim, S.; Kunapuli, S. P. *Mol. Pharm.* **2005**, *69*, 338.
- [14] Wu, Z. J.; Li, S. L.; Ding, Z. R.; Du, H. G. *Chin. J. Org. Chem.* **2011**, *31*, 1618 (in Chinese).

- (吴兆军, 李顺来, 丁忠仁, 杜洪光, 有机化学, **2011**, 31, 1618.)
- [15] He, Q. W.; Du, H. G. *Chin. J. Org. Chem.* **2012**, 32, 1678 (in Chinese).
- (何琦文, 杜洪光, 有机化学, **2012**, 32, 1678.)
- [16] Du, H. G.; Chen, L.; Wang, S. M. *CN 102250097*, **2011** [*Chem. Abstr.* **2011**, 155, 683474].
- [17] Bonnert, R.; Ingall, A.; Springthorpe, B.; Willis, P. *WO 9828300*, **1998** [*Chem. Abstr.* **1998**, 129, 95506].
- [18] Storer, R.; Gosselin, G.; Griffon, J. F.; Pierra, C. *WO 2007144686*, **2006** [*Chem. Abstr.* **2006**, 148, 79268].
- [19] Volpini, R.; Marucci, G.; Buccioni, M.; Ben, D. D.; Lambertucci, C.; Lammi, C.; Mishra, R. C.; Thomas, A.; Cristalli, G. *ChemMedChem* **2011**, 6, 1074.
- [20] Niedballa, U.; Vorbrüggen, H. *J. Org. Chem.* **1976**, 41, 2084.

(Li, L.; Fan, Y.)