

文章编号: 1000-5862(2014)04-0346-04

# *N*-烯丙基-*N*-(1-(5-溴-2-((4-氯苄基)氧基)苄基)-4-哌啶基)吡啶甲酰胺的合成及表征

程德军, 黄 斌, 李明田

(四川理工学院材料与化学工程学院 四川 自贡 643000)

**摘要:** 趋化因子受体 CCR5 是 HIV-1 病毒进入人体细胞的主要辅助受体, CCR5 拮抗剂可作为一种靶向制剂, 以防治人类 HIV-1 感染. 目前, 非肽类小分子化合物 CCR5 拮抗剂的研究占据主导地位. 以 4-氯苄氯、5-溴水杨醛为原料, 通过消去、还原及溴化合成了 4-溴-2-溴甲基-1-((4-溴苄基)氧)苯(中间体 3), 以哌啶-4-酮合成了 *N*-烯丙基-*N*-(4-哌啶基)吡啶甲酰胺(中间体 7), 通过中间体 3 和 7 合成了一种有望用作 CCR5 拮抗剂的非肽类小分子化合物 *N*-烯丙基-*N*-(1-(5-溴-2-((4-氯苄基)氧基)苄基)-4-哌啶基)吡啶甲酰胺, 该产物有一定的生物活性, 并对该产物进行了  $^1\text{H}$  NMR、 $^{13}\text{C}$  NMR、IR 及 MS 表征.

**关键词:** HIV-1; 拮抗剂; 非肽类小分子化合物

中图分类号: O 629

文献标志码: A

## 0 引言

在 HIV 进入白细胞过程中, 结构正常的辅助受体 CCR5 蛋白质起到促进 HIV 进入白细胞的功能. 特定的突变基因型 CCR5 具有抗 HIV 感染的能力. 焦诗卉等<sup>[1-5]</sup>提出 CCR5 作为一种可利用的新靶点, 以防治人类 HIV 感染. 目前, 辅助受体 CCR5 的拮抗剂主要为非肽类小分子化合物. 日本 Takeda 公司研发了 TAK-779 非肽类小分子拮抗剂, 在 TAK-779 基础之上又合成了另外 2 种小分子拮抗剂 TAK-220 和 TAK-652, 该类突变基因型 CCR5 拮抗剂具有抗 HIV 感染的能力<sup>[6]</sup>. 针对辅助受体 CCR5 的拮抗剂已受到相当的关注.

本文以苄基保护氨基法, 通过还原胺化, 逐步引入酰氯得到 *N*-烯丙基-*N*-(4-哌啶基)吡啶甲酰胺中间产物; 通过 NBS 溴化得 4-溴-2-溴甲基-1-((4-溴苄基)氧)苯, 最后通过氨基与溴代物消去, 合成了一种新的非肽类小分子化合物, 由于采用了较短的合成路线及温和的反应条件, 使合成总产率较高, 同时比生产其他小分子蛋白的成本低. 其结构经  $^1\text{H}$  NMR、 $^{13}\text{C}$  NMR、IR 及 MS 确证. 同时, 对产物进

行了生物活性测试. 实验路线见图 1.

CCR5 小分子拮抗剂结构类型多样, 相对于其他 CCR5 拮抗剂, 产物在结构上有鲜明的特征: 1) CCR5 拮抗剂能以季铵盐形式存在, 这种季铵盐在生理 pH 值条件下都可能被质子化, 该小分子含有 2 个季氮原子, 其中一个为活性的哌啶环; 2) 该拮抗剂不但含有特征的酰胺结构, 同时, 与酰胺相连的是有活性杂原子取代的苯环; 3) 中间连接键含有 3~5 个碳原子的直链或环状结构, 产物的中间结构是有生物活性的哌啶; 4) CCR5 拮抗剂的另一端一般存在疏水基团, 与其他的拮抗剂引入氮杂原子相比, 本产物引入了溴和氯原子, 提高了产物的受体结合性和抗病毒活性.

## 1 实验部分

### 1.1 主要试剂与仪器

3-氯苄氯、5-溴水杨醛、碳酸钾、哌啶-4-酮、DMF、NBS、硼氢化钠、烯丙胺盐酸盐、苯乙酰氯、二氯甲烷、甲醇、丙酮、三氟乙酸、二碳酸二叔丁酯((Boc)<sub>2</sub>O), 以上药品均为市售分析纯, 使用时没有进一步纯化.

收稿日期: 2014-04-15

基金项目: 国家自然科学基金(51303115)资助项目.

作者简介: 程德军(1976-), 男, 四川仁寿人, 讲师, 主要从事药物合成研究.

Bruker AV600 核磁共振波谱仪(德国), AGILENT 变换红外光谱仪(德国).  
 LENT 质谱仪(MSD VL, 美国), TENSOR27 傅里叶

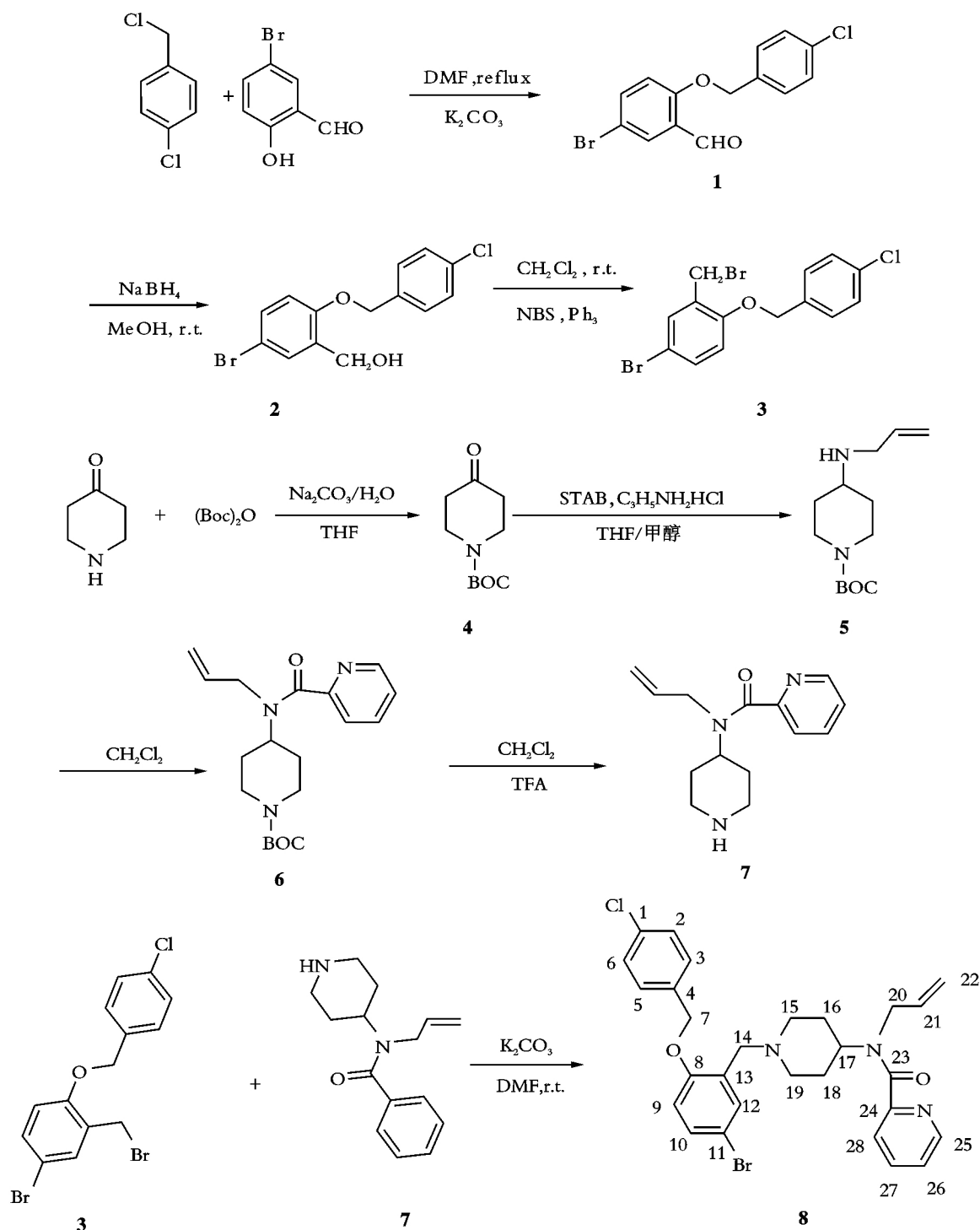


图1 *N*-烯丙基-*N*-(1-(5-溴-2-(4-氯苄基)氧基)苄基)-4-哌啶基)吡啶甲酰胺的合成路线

## 1.2 4-溴-2-溴甲基-1-(4-氯苄基)氧)苯的合成

1.2.1 5-溴-2-(4-氯苄基)氧)苯甲醛(1)的合成  
 向250 mL三口瓶中加入对氯苄氯4.86 g (0.03 mol)、5-溴-水杨醛5.00 g (0.025 mol)、碳酸钾4.25 g (0.03 mol)、DMF 100 mL,搅拌下发生回流反应; TLC检测无原料后结束反应。冷却至室温,将反应液倒入约

150 mL乙酸乙酯中,摇匀、分液,下层水溶液再用150 mL乙酸乙酯萃取,合并有机相,然后用饱和NaHCO $_3$ 溶液、饱和NaCl洗涤,最后用无水Na $_2$ SO $_4$ 干燥,得灰白色固体(1)7.30 g,产率为90.1%<sup>[7]</sup>。

1.2.2 5-溴-2-(4-氯苄基)氧)苯甲醇(2)的合成  
 向250 mL三口瓶中加入6.48 g (0.02 mol)中间产物1和

100 mL 甲醇,完全溶解后再分批加入 0.92 g (0.024 mol) 硼氢化钠,在室温条件下搅拌 1.5 h,当 TLC 检测无原料后结束反应.用 2 mol · L<sup>-1</sup> NaOH 溶液淬灭反应,形成白色沉淀,过滤、干燥得白色固体(2) 6.02 g,产率为 92.3%<sup>[7]</sup>.

1.2.3 4-溴-2-溴甲基-1-(4-氯苄基)氧)苯(3)的合成 在 250 mL 三口瓶中加入 100 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>、7.50 g (0.023 mol) 中间体 2 和 5.30 g (0.029 mol) NBS,完全溶解后,在 0 °C 和剧烈搅拌条件下,于 30 min 内分批加入 7.8 g (0.029 mol) PPh<sub>3</sub>,在室温下反应 5.5 h 后做 TLC 检测,无原料后结束反应.用正己烷洗涤反应液,有黄色沉淀出现,过滤除去沉淀,再用饱和食盐水洗涤,无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,最后浓缩,柱层析分离,蒸干得白色固体(3) 8.80 g, m. p.: 226.3 ~ 230.7 °C,产率为 98.7%<sup>[7]</sup>.

### 1.3 N-烯丙基-N-(4-哌啶基)吡啶甲酰胺的合成

1.3.1 N-叔丁氧羰基-4-哌啶酮(4)的合成 在 250 mL 三口瓶中依次加入 4-哌啶酮盐酸盐 15.28 g (0.100 mol)、水 300 mL 及丙酮 50 mL,室温搅拌 10 min.另将含 (Boc)<sub>2</sub>O 22.92 g (0.110 mol) 的 50 mL 丙酮溶液缓慢加入到反应体系中,反应 12 h 后蒸干溶剂,用乙酸乙酯及水分液,水层用少量乙酸乙酯洗涤,合并有机相,用无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,蒸干溶剂得白色粉末(4) 19.77 g,产率为 99.2%.

1.3.2 1-N-Boc-4-烯丙胺哌啶(5)的合成 取中间体 4 4.98 g (0.025 mol) 及烯丙基氨 1.60 g (0.028 mol) 于 THF 60 mL 和甲醇 10 mL 的混合溶液中,室温搅拌 10 min.然后在 30 min 内分批加入三乙酰氧基硼氢化钠 7.95 g (0.038 mol),反应完毕后用乙酸乙酯加少量水萃取,无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤后蒸干得黄色油状化合物(5) 3.36 g,产率为 56.0%<sup>[8-9]</sup>.

1.3.3 N-烯丙基-N-(4-(N-Boc)哌啶基)吡啶甲酰胺(6)的合成 取中间体 5 1.20 g (0.005 mol) 溶于 20 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>和 2.5 mL 三乙胺的溶液中,缓慢滴加新鲜制备的吡啶-2-甲酰氯 1.00 g,室温搅拌下完成反应,蒸干溶剂,用乙酸乙酯和水分液,无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,柱层析提纯,得油状化合物(6) 1.30 g,产率为 75.3%<sup>[10-11]</sup>.

1.3.4 N-烯丙基-N-(4-哌啶基)吡啶甲酰胺(7)的合成 取中间体 6 0.48 g 溶于 10 mL 二氯甲烷中,滴入 1 mL 的三氟乙酸,室温下搅拌,TLC 检测反应,反应完成后,蒸干溶剂,加入 10 mL 二氯甲烷,旋蒸带出多余的三氟乙酸,得中间体 7 0.30 g,产率为

87.9%.

### 1.4 N-烯丙基-N-(1-(5-溴-2-(4-氯苄基)氧基)苄基)-4-哌啶基)吡啶甲酰胺(8)的合成

在 50 mL 单口瓶中加入中间体 3 0.40 g (0.001 mmol)、中间体 7 0.25 g (0.001 mmol)、碳酸钾 0.17 g (0.0012 mmol) 及溶剂 DMF 10 mL,搅拌下于室温中反应 2 ~ 5 h,TLC 检测无原料后结束反应,将反应液用乙酸乙酯萃取,饱和食盐水洗 3 次,无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,浓缩后过柱分离,得无色油状物(8) 0.40 g,产率为 71.1%.

### 1.5 受体拮抗剂的活性检测

对合成的目标产物 N-烯丙基-N-(1-(5-溴-2-(4-氯苄基)氧基)苄基)-4-哌啶基)吡啶甲酰胺进行了相应的受体结合活性、抗病毒活性测试,以检测 CCRS 受体拮抗剂的生物活性,受体结合活性检测了 Calcium Flux Assay 和 SPA GTPγS Assay, PBMC 细胞上的抗病毒活性测试.

## 2 结果与讨论

### 2.1 中间体 3 的结构表征

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 4.50 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) 5.09 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) 6.77 (d, J = 2.6 Hz, 1H, Ar—H) 7.34 ~ 7.41 (m, J = 2.6 Hz, 5H, Ar—H) 7.46 (s, 1H, J = 1.5, 2 Hz, Ar—H). <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 29.4, 72.6, 114.5, 116.8, 129.2, 129.8, 132.4, 133.2, 133.8, 134.8, 157.5.

MS(ESI): 413.20 (M + Na)<sup>+</sup>.

以上分析测试结果表明中间体 3 即是 4-溴-2-溴甲基-1-(4-氯苄基)氧)苯.

### 2.2 产物 8 的结构表征

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.77 ~ 1.87 (m, 5H) 2.22 (t, 1H) 2.87 (d, 1H) 2.96 (d, 1H) 3.49 (s, 2H) 4.09 (d, 2H) 4.99 (s, 2H) 5.08 ~ 5.14 (m, 1H) 5.22 ~ 5.28 (m, 1H) 5.81 ~ 5.87 (m, 1H) 6.74 (dd, 1H) 7.31 ~ 7.32 (d, 2H) 7.35 (s, 1H) 7.45 (m, 2H) 7.51 ~ 7.56 (m, 2H) 7.65 ~ 7.68 (m, 2H) 8.56 (d, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 29.7, 30.9, 44.2, 46.8, 52.7, 53.0, 53.2, 55.6, 57.0, 69.6, 113.4, 113.6, 116.1, 123.0, 123.3, 124.0, 128.4, 128.5, 128.7, 129.4, 130.6, 131.9, 132.0, 132.1, 132.9, 134.7, 135.2, 136.0, 136.7, 148.0, 148.4,

155.3, 155.7, 169.0, 169.3.

MS(ESI): 554.18, 556.21 ( $M^+$ ).

IR(KBr): 3053.4 (C—H), 1654.2 (C=O), 1602.0, 1574.0, 1495.5, 1484.3 (C=C), 1279.4 (C—O—C)  $\text{cm}^{-1}$ .

以上分析测试结果表明产物8即是目标产物 *N*-烯丙基-*N*-(1-(5-溴-2-(4-氯苄基)氧基)苄基)-4-哌啶基)吡啶甲酰胺,总产率约为21.2%.

### 2.3 活性检测结果

目标产物8的相应的受体结合活性结果为 Calcium Flux Assay( $IC_{50} = 23.6 \text{ nM}$ )和SPA GTP $\gamma$ S Assay( $IC_{50} = 7.28 \text{ nM}$ ),PBMC细胞上的抗病毒活性测试( $EC_{50} = 53.5 \text{ nM}$ ),可以看出该化合物都显示了较好的结合活性和抗病毒活性<sup>[12-13]</sup>.

## 3 结论

本文采用分段合成方法分别合成了2种中间产物,最终得到了1种新的非肽类小分子化合物 *N*-烯丙基-*N*-(1-(5-溴-2-(4-氯苄基)氧基)苄基)-4-哌啶基)吡啶甲酰胺,合成总产率为21.2%,合成步骤相对较少,反应条件要求不高,其结构经 $^1\text{H}$  NMR、 $^{13}\text{C}$  NMR、IR及MS确证,产物经受体结合活性(Calcium Flux Assay( $IC_{50} = 23.6 \text{ nM}$ ),SPA GTP $\gamma$ S Assay( $IC_{50} = 7.28 \text{ nM}$ ))和抗病毒活性测试( $EC_{50} = 53.5 \text{ nM}$ ),显示了较好的生物活性.

目前,国际上把研究非肽类小分子化合物CCR5抑制剂作为重要手段,以有效控制HIV-1病毒的感染,哌啶基吡啶甲酰胺类小分子拮抗剂有效好的结合活性和抗病毒活性,可能在抗HIV感染或生物医药领域内具有潜在应用价值,且具有通过静脉注射方式给药的优势,其应用前景广泛.

## 4 参考文献

- [1] 焦诗卉,何淼. HIV辅助受体CCR5常见小分子抑制剂抑制效果的综合评价[J]. 中山大学学报:自然科学版, 2012, 51(6): 97-102.
- [2] Mohsen Shahaei, Alireza Pourhossein. Modeling of CCR5 antagonists as anti HIV agents using combined genetic algorithm and adaptive neuro-fuzzy inference system (GAFANFIS) [J]. Med Chem Res, 2013, 22(9): 4423-4436.
- [3] Mohammed Abdul Rasheed, Nagul Meera Shaik, Nirogi R. Concise and simple synthesis of M1 allosteric agonist TB-

PB [J]. Synthetic Communications, 2013, 43(13): 1796-1801.

- [4] Ji Yongjun, Shu Mao, Lin Yong, et al. Combined 3D-QSAR modeling and molecular docking study on azacycles CCR5 antagonists [J]. Journal of Molecular Structure, 2013, 1045(3): 35-41.
- [5] Renato Skerlj, Gary Bridger, Zhou Yuanxi, et al. Design and synthesis of pyridin-2-ylmethylaminopiperidin-1-ylbutyl amide CCR5 antagonists that are potent inhibitors of M-tropic (R5) HIV-1 replication [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2011, 21(23): 6950-6954.
- [6] Lavina Gharu, Rajesh Ringe, Jayanta Bhattacharya. HIV-1 clade C envelopes obtained from late stage symptomatic Indian patients varied in their ability towards relative CD4 usages and sensitivity to CCR5 antagonist TAK-779 [J]. Virus Research, 2011, 158(1): 216-224.
- [7] Lu Shoufu, Chen Binglong, Dave Davey, et al. CCR5 receptor antagonists: Discovery and SAR of novel 4-hydroxypiperidine derivatives [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2007, 17(7): 1883-1887.
- [8] Richard R G, John F W W, Brown K, et al. 1,3-dihydro-2,1,3-benzothiadiazol-2,2-diones and 3,4-dihydro-1*H*-2,1,3-benzothidiazin-2,2-diones as ligands for the NOP receptor [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2004, 14(20): 5045-5050.
- [9] Paul E F, Bryan O, Sander G M. Antagonists of the human CCR5 receptor as anti-HIV-1 agents. Part 4: Synthesis and structure-activity relationships for 1-[*N*-(methyl)-*N*-(phenylsulfonyl)amino]-2-(phenyl)-4-(4-(*N*-(alkyl)-*N*-(benzyloxycarbonyl)amino)piperidin-1-yl)butanes [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2001, 11(18): 2475-2479.
- [10] Christopher K A, Saheem A Z, Zhang Zhu, et al. Design syntheses, and characterization of pharmacophore based chemokine receptor CCR5 antagonists as anti prostate cancer agents [J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2013, 69: 647-658.
- [11] Mark A Ashwell, Jean-Marc Lapierre, Alan Kaplan. The design preparation and SAR of novel small molecule sodium ( $\text{Na}^+$ ) channel blockers [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2004, 14(9): 2025-2030.
- [12] 王涛, 黄海金, 罗劲, 等. 2*E*-3-苯基丙烯酰氧基烷基膦酸二乙酯的合成与生物活性研究 [J]. 江西师范大学学报:自然科学版, 2011, 35(1): 15-17.
- [13] 汪淼. CCR5受体拮抗剂的设计、合成与生物活性研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2009.

(下转第357页)

- 合成水杨酸异戊酯 [J]. 江西师范大学学报: 自然科学版, 1999, 23(1): 34-37.
- [4] 徐景士, 陈慧宗. 稀土固体超强酸催化合成地羟基苯甲酸酯 [J]. 江西师范大学学报: 自然科学版, 2000, 24(2): 144-146.
- [5] 庞松, 侯书恩, 张涛.  $\text{Y}_2\text{O}_3$  和  $\text{CeO}_2$  复合掺杂  $\text{ZrO}_2$  纳米晶的制备与表征 [J]. 中国稀土学报, 2007, 25(6): 755.
- [6] 邓国才, 李庆刚, 陈荣梯. 在  $\text{La-TiO}_2$  催化剂上由苯酚直接氧化制取邻苯二酚的研究 [J]. 中国稀土学报, 1999, 17(2): 116.
- [7] 崔秀兰, 郭福海, 林明丽. 镧改性固体超强酸  $\text{SO}_4^{2-}/\text{ZrO}_2\text{-TiO}_2/\text{La}^{3+}$  催化剂的制备及性能研究 [J]. 中国稀土学报, 2003, 21(4): 460.
- [8] 陈波. 新型固体酸催化剂的设计、制备及其在烷基化反应中的应用研究 [D]. 上海: 华东师范大学, 2004.
- [9] Arata K. Preparation of superacids by metal oxides for reactions of butanes and pentanes [J]. Appl Catal, 1996, 146: 3.
- [10] 闫鹏, 郭福海, 舒华. 固体超强酸  $\text{SO}_4^{2-}/\text{SnO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3$  的红外光谱研究 [J]. 化学研究与应用, 2006, 18(6): 638-642.
- [7] 崔秀兰, 郭福海, 林明丽. 镧改性固体超强酸  $\text{SO}_4^{2-}/\text{ZrO}_2\text{-}$

## The Preparation ,Characterization of $\text{SO}_4^{2-}/\text{ZrO}_2\text{-Nd}_2\text{O}_3$ Solid Acid Catalyst and It's Application in Synthesis of Butyl Lactate

LIU Mu-wei ,CHANG Jing-jie ,XU Jing-shi\*

( College of Chemistry & Chemical Engineering ,Jiangxi Normal University ,Nanchang Jiangxi 330022 ,China)

**Abstract:** The  $\text{SO}_4^{2-}/\text{ZrO}_2\text{-Nd}_2\text{O}_3$  solid acid catalysts had been successfully synthesized by microwave method and characterized by XRD ,DTA-TG. Synthesis of butyl lactate by the catalysts was studied. The experimental results showed that the catalytic activity of  $\text{SO}_4^{2-}/\text{ZrO}_2\text{-Nd}_2\text{O}_3$  catalysts is higher than  $\text{SO}_4^{2-}/\text{ZrO}_2$  catalysts'. The reutility property and stabilization of  $\text{SO}_4^{2-}/\text{ZrO}_2\text{-Nd}_2\text{O}_3$  is fine.

**Key words:** solid acid catalyst; rare earth;  $\text{SO}_4^{2-}/\text{ZrO}_2\text{-Nd}_2\text{O}_3$ ; butyl lactate

( 责任编辑: 刘显亮)

( 上接第 349 页)

## The Synthesis and Structural Characterization of *N*-Allyl-*N*-( 1-( 5-Bromo-2-( ( 4-Chlorobenzyl) Oxy) Benzyl) Piperidin-4-yl) Picolinamide

CHENG De-jun ,HUANG Bin ,LI Ming-tian

( Department of Materials and Chemical Engineering ,Sichuan University of Science & Engineering Zigong Sichuan 643000 ,China)

**Abstract:** Chemokine receptor CCR5 is a major coreceptor for HIV-1 entry into cell ,CCR5 antagonists can be used as a targeting preparation in the prevention of human HIV-1 infection. At present ,the peptide of small molecule compounds CCR5 antagonists research occupy the leading position. 4-bromo-2-( bromomethyl) -1-( ( 4-chlorobenzyl) oxy) benzene( intermediate **3**) was synthesized from 1-chloro-4-( chloromethyl) benzene and 5-bromo-2-hydroxy-benzaldehyde by elimination reaction ,reduction reaction and bromization. *N*-allyl-*N*-( piperidin-4-yl) picolinamide ( intermediate **7**) was prepared from piperidin-4-one. Further reaction of intermediate **3** with intermediate **7** gave a novel non-peptide CCR5 antagonist *N*-allyl-*N*-( 1-( 5-bromo-2-( ( 4-chlorobenzyl) oxy) benzyl) piperidin-4-yl) picolinamide. The product has a certain biological activity ,the compounds were characterized by  $^1\text{H}$  NMR , $^{13}\text{C}$  NMR ,IR and MS.

**Key words:** HIV-1; antagonist; non-peptide small molecular compounds

( 责任编辑: 刘显亮)