

一种 HCV 抑制剂中间体 9-羟基-6-氧-4-甲基菲啶的全合成

杨碧娟^{1,2}, 刘广锦³, 郭晶晶^{2,4}, 景晨旭², 陈铎之², 郝小江²

(1. 云南大学 化学科学与工程学院, 云南 昆明 650091; 2. 南京农业大学 动物医学院, 江苏 南京 210095;
3. 中国科学院昆明植物研究所 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650201;
4. 云南中医学院 中药学院, 云南 昆明 650500)

摘要: 石蒜碱具有明显的抗丙肝病毒感染 HCV(hepatitis C virus, HCV) 活性, 在对石蒜碱衍生物进行抗 HCV 活性研究时发现其中菲啶类化合物普遍具有比较良好的抗 HCV 活性, 由于此类化合物活性优良, 毒性较低, 因此有必要对其进行深入的结构修饰与构效关系研究. 对菲啶类衍生物重要合成中间体 9-羟基-6-氧-4-甲基菲啶进行了全合成, 该方法以 2-溴-5-甲氧基苯甲酸为原料, 包括酰胺化、偶联反应、以及脱甲基等 3 步, 其中钯催化芳基-芳基, N-芳基一步偶联为该合成方法关键步骤, 该方法步骤简便, 原料简单易得, 收率较高(总收率 54%) 可以为后续研究提供稳定的化合物来源.

关键词: 全合成; 9-羟基-6-氧-4-甲基菲啶; 钯催化烷基-烷基; N-芳基一步偶联
中图分类号: O621.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-8513(2016)06-0499-04

丙肝病毒感染已成为损害人类健康的重要疾病^[1-4], 对 HCV 感染者进行有效的抗 HCV 治疗显得尤为迫切. 前期研究表明, 部分菲啶类化合物具有比较良好的抗 HCV 活性^[5-7], 进一步的构效关系(SAR) 研究表明, 该类化合物 C-9 位羟基以及 C-4 位的取代对此类化合物活性影响显著^[8-12]. 基于前期研究, 对菲啶类化合物进行进一步的结构改造就势在必行, 前期所涉及菲啶类化合物主要通过石蒜碱(lycorine) 半合成得到, 而受天然产物本身结构限制, 要想进一步对菲啶类化合物进行结构改造与构效关系研究, 必须通过全合成方式, 因此本文对此类化合物的重要中间体之一 9-羟基-6-氧-4-甲基菲啶进行了全合成研究. 以 2-溴-5-甲氧基苯甲酸为原料, 经酰胺化、偶联反应^[13]、以及脱甲基后成功全合成出重要的菲啶类中间体化合物 1. 其中钯催化芳基-芳基, N-芳基一步偶联为该合成方法关键步骤, 该方法步骤简便, 原料简单易得, 收率较高后成功全合成出

重要的菲啶类中间体 9-羟基-6-氧-4-甲基菲啶(总收率 54%), 可以为后续研究提供稳定的化合物来源.

1 实验

1.1 原料、试剂及仪器

2-溴-5-甲氧基苯甲酸(质量分数 98%), 日本东京化成工业株式会社(TCI); 邻碘甲苯(质量分数 98%), 麦克林公司; 降冰片烯(质量分数 99%), 麦克林公司. 实验其他试剂均为分析纯. ESI 及高分辨质谱分别利用 Finnigan MAT 90 和 VG Auto Spec-3000 质谱仪测定; 核磁谱分别利用 Bruker AM-400, DRX-500 及 Avance III 600 型核磁仪测定, 氘代氯仿与氘代甲醇做为溶剂, Me₄Si 作为内标; HPLC: Hypersil Gold RP-C₁₈ column (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, USA).

1.2 全合成路线

9-羟基-6-氧-4-甲基菲啶的全合成路线

收稿日期: 2016-09-05.

基金项目: 国家自然科学基金(81402828).

作者简介: 杨碧娟(1992-), 女, 硕士研究生. 主要研究方向: 药物合成.

通信作者: 郝小江(1951-), 男, 博士, 研究员, 博士生导师. 主要研究方向: 天然药物化学.

如图1所示. 试剂与反应条件: (a) SOCl_2 、DMF、 $50\text{ }^\circ\text{C}$ 、4 h; (b) CH_3NH_2 (30%)、 $5\text{ }^\circ\text{C}$ 、2 h、90%; (c) K_2CO_3 、norbomene、 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ 、TFP、MeCN、 $85\text{ }^\circ\text{C}$ 、12 h、80%; (d) BBr_3 、 CH_2Cl_2 、 $-78\text{ }^\circ\text{C}$ 、4 h、75%.

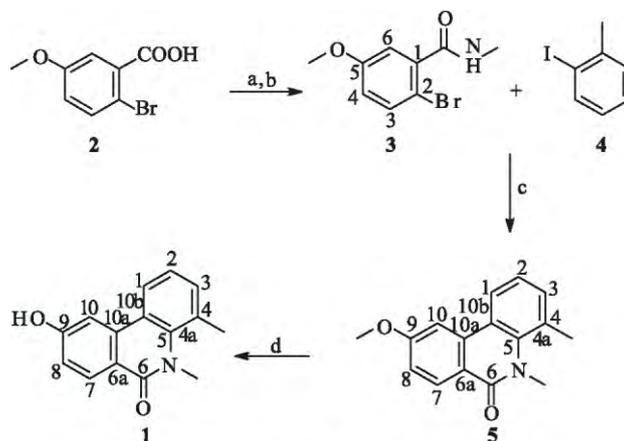


图1 9-羟基-6-氧-4-甲基菲啶的全合成路线

1.3 目标化合物合成方法及波谱数据

1.3.1 2-溴-5-甲氧基-N-甲基苯甲酰胺(3)的合成

取2-溴-5-甲氧基苯甲酸(2) (500 mg, 2.2 mmol) 溶于 CH_2Cl_2 (20 mL) 中, 然后加入 DMF (0.5 mL) 与氯化亚砷 (0.55 mL, 4.4 mmol), 反应液 $50\text{ }^\circ\text{C}$ 下搅拌 4 h 后减压蒸去多余的 CH_2Cl_2 , 残余物在 $5\text{ }^\circ\text{C}$ 下逐滴加入到体积分数为 30% 甲胺溶液 (20 mL) 中, 继续搅拌 2 h 后过滤, 将滤饼以柱色谱纯化得到化合物 3 (450 mg, 收率 90%), 白色粉末, m. p. $152\text{ }^\circ\text{C}$. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.43 (d, $J = 8.8\text{ Hz}$, 1H), 7.07 (d, $J = 3.1\text{ Hz}$, 1H), 6.81 (dd, $J = 3.1, 8.8\text{ Hz}$, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.00 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): δ 168.0 (C), 158.8 (C), 138.3 (C), 134.1 (CH), 117.8 (CH), 114.6 (CH), 109.3 (C), 55.6 (CH₃), 26.7 (CH₃); HREIMS (m/z): 242.9889 $[\text{M}]^+$ ($\text{C}_9\text{H}_{10}\text{BrNO}_2$ 242.9895).

1.3.2 9-甲氧基-6-氧-4-甲基菲啶(5)的合成

在氮气保护下将醋酸钨 (22.4 mg, 0.1 mmol)、TFP (46.4 mg, 0.2 mmol)、无水碳酸钾 (690 mg, 5 mmol)、化合物 3 (243 mg, 1 mmol) 及邻碘甲苯 4 (1 mmol) 加入到圆底烧瓶中, 无水乙腈溶解后加入含有降冰片烯 (188 mg, 2 mmol) 的水溶液烧瓶并且在 $85\text{ }^\circ\text{C}$ 下搅拌 12 h, 反应完成后冷却至室温, 加入饱和氯化铵溶液 (30 mL) 后用乙酸乙酯 (15 mL) 萃取 3 次, 有机相浓缩后以硅胶柱层析纯化, 得到化合物 5 (195 mg, 收率: 80%), 深黄色固体, m. p. $98\text{ }^\circ\text{C}$. $^1\text{H NMR}$

(CDCl_3 , 400 MHz): δ 8.13 (d, $J = 9.0\text{ Hz}$, 1H), 8.01 (d, $J = 7.8\text{ Hz}$, 1H), 7.91 (d, $J = 2.8\text{ Hz}$, 1H), 7.31 (dd, $J = 9.0, 2.8\text{ Hz}$, 1H), 7.28–7.23 (m, 1H), 7.19 (m, 1H), 3.95 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 2.66 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): δ 164.0 (C), 159.4 (C), 138.5 (C), 132.8 (CH), 127.6 (C), 126.7 (C), 126.1 (C), 123.7 (CH), 122.9 (CH), 122.3 (CH), 121.4 (C), 120.5 (CH), 108.8 (CH), 55.71 (CH₃), 38.5 (CH₃), 23.6 (CH₃), HREIMS (m/z): 253.1102 $[\text{M}]^+$ ($\text{C}_9\text{H}_{10}\text{BrNO}_2$ 253.1103).

1.3.3 9-羟基-6-氧-4-甲基菲啶(1)的合成

将化合物 5 (25.3 mg, 0.1 mmol) 溶于 CH_2Cl_2 中, 反应液冷却至 $-78\text{ }^\circ\text{C}$ 后滴加 BBr_3 (100 μL , 0.2 mmol), 反应液搅拌 4 h 后加入饱和碳酸氢钠溶液 (10 mL) 稀释, 接着以乙酸乙酯 (2 mL \times 15 mL) 萃取, 有机相浓缩后以硅胶柱层析纯化, 得到化合物 1 (19 mg, 收率 75%), 浅黄色固体, m. p. $201\text{ }^\circ\text{C}$. $^1\text{H NMR}$ (MeOD, 600 MHz): δ 8.23 (d, $J = 8.9\text{ Hz}$, 1H), 8.10 (d, $J = 7.8\text{ Hz}$, 1H), 7.72 (d, $J = 2.7\text{ Hz}$, 1H), 7.33 (m, 1H), 7.31 (dd, $J = 8.9, 2.7\text{ Hz}$, 1H), 7.27–7.23 (m, 1H), 3.78 (s, 3H), 2.65 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (MeOD, 150 MHz): δ 165.7 (C), 158.9 (C), 138.9 (C), 133.7 (CH), 127.9 (C), 127.7 (C), 127.4 (C), 125.3 (CH), 124.5 (CH), 123.2 (CH), 123.0 (C), 121.5 (CH), 112.8 (CH), 39.0 (CH₃), 23.6 (CH₃), HRESIMS (m/z): 240.1017 $[\text{M} + \text{H}]^+$ ($\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{NO}_2$ 240.1019).

2 结果与分析

2.1 反应步骤

本合成路线以 2-溴-5-甲氧基苯甲酸 2 为原料, 利用氯化亚砷进行氯代反应得到 2-溴-5-甲氧基苯酰氯后直接在甲胺水溶液中胺解得到 2-溴-5-甲氧基-N-甲基苯甲酰胺(3), 化合物 3 及邻碘甲苯 4 在醋酸钯催化下以三-(2-咪喃基)-膦(TFP)为配体进行烷基-烷基,N-芳基双偶联一步反应得到化合物 4-甲基-6-氧-9-甲氧基菲啉(5), 接着在路易斯酸(BBr_3)作用下脱去甲氧基得目标化合物: 9-羟基-6-氧-4-甲基菲啉(1), 3步总收率为 54%。化合物结构

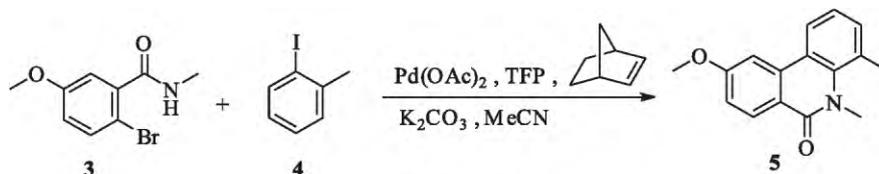


图2 偶联反应

在此基础上, 对 TFP 作为偶联反应配体, 其配比对偶联反应产物 5 收率的影响做出总结, 如图 3 所示。通过对 TFP 不同的配比, 可以看出其对于该反应最终产物的收率影响显著, 因反应其他原料的配比、溶剂和温度等固定, 所以影响其反应产物收率的唯一因素在于 TFP 的投料摩尔分数。在摩尔分数为 4% 和 8% 时, 收率较低且反应并没有进行完全(原料剩余); 在 10% 时, 反应完全, 收率 80% 为最高; 而为 12% 和 15% 时, 损失较多, 收率不理想。通过以上实验数据表明, 当 TFP 摩尔分数为 10% 时, 收率 80% 为最高, 此收率较为理想, 是此步偶联反应的最优反应条件。

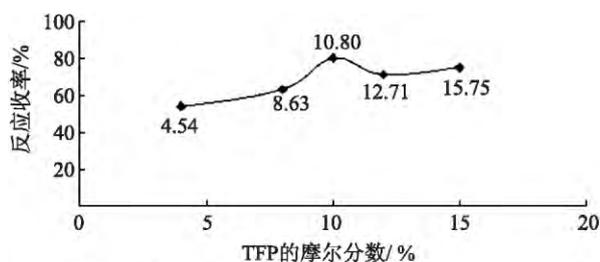


图3 TFP 的摩尔分数对偶联反应产物收率的影响

3 结语

以 2-溴-5-甲氧基苯甲酸为原料, 经酰胺化、偶联反应、以及脱甲基后得到目标化合物 9-羟

基-6-氧-4-甲基菲啉。

2.2 偶联反应条件优化

钯催化芳基-芳基,N-芳基一步偶联为该合成方法关键步骤。而三-(2-咪喃基)-膦(TFP)与 2-溴-5-甲氧基-N-甲基苯甲酰胺(3)的投料对比对最终反应产物的收率影响较大, 因此对该步偶联反应的投料配比的反应产物收率进行对比研究, 以达到优化反应条件以及提高反应产物收率的目的。Ra F 等^[13]报道, 此步偶联反应是在钯催化循环的条件下进行的, 反应原料 3、4 和降冰片烯(norbornene)的投料摩尔比为 $n(3):n(4):n(\text{norbornene})=1:1:1.1$, $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ 为 5 mol% 当量, 是目标产物收率最高投料配比, 如图 2 所示。

基-6-氧-4-甲基菲啉。采用质谱(ESI-MS)、核磁共振氢谱($^1\text{H NMR}$)及碳谱($^{13}\text{C NMR}$)等多种手段表征了合成产物的化学结构。对该合成路线的重要步骤——偶联反应的反应条件进行了优化, 总结出当 TFP 摩尔分数为 10% 时, 为最优反应条件, 提高了偶联反应产物的收率。

通过 3 步反应成功全合成出重要的菲啉类中间体 9-羟基-6-氧-4-甲基菲啉。该路线反应条件温和, 步骤较少, 原料较廉价易得, 收率较为理想, 重复性好。对该化合物的全合成使得所有菲啉类衍生物的全合成成为可能, 通过进一步的改进后可以实现此化合物的大量制备。并对其进一步的进行结构修饰、构效关系研究以及抗 HCV 活性测定, 以期发现新型抗 HCV 菲啉类衍生物。为该类药物更深层次的生物学研究提供了稳定的化合物来源。

参考文献:

- [1] HOUGHTON M, ABRIGNANI S. Prospects for a vaccine against the hepatitis C virus [J]. *Nature*, 2005, 436(7053): 961-966.
- [2] HUANG Z, MURRAY M G, SECRETIST J A. Recent development of therapeutics for chronic HCV infection [J]. *Antiviral Research*, 2006, 71(2): 351-362.
- [3] GORDON C P, KELLER P A. Control of hepatitis C: a medicinal chemistry perspective [J]. *Journal of Medicinal*

- Chemistry, 2005, 48(1): 1–20.
- [4] LI H, YOO J C, HONG J H. 2'-spirocyclopropyl-carbo-cyclic nucleoside as a novel scaffold for potent anti-HCV Agents [J]. Bulletin of the Korean Chemical Society, 2011, 32(4): 1146–1152.
- [5] CHEN D Z, JIANG J D, ZHANG K Q, et al. Evaluation of anti-HCV activity and SAR study of (+)-lycoricine through targeting of host heat-stress cognate 70 (Hsc70) [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2013, 23(9): 2679–2682.
- [6] CHEN D Z, CAI J Y, YIN J, et al. Lycorine-derived phenanthridine downregulators of host Hsc70 as potential hepatitis C virus inhibitors [J]. Future Medicinal Chemistry, 2015, 7(5): 561–570.
- [7] CHEN D Z, CAI J Y, CHENG J J, et al. Design, Synthesis and Structure-Activity Relationship Optimization of Lycorine Derivatives for HCV Inhibition [J]. Scientific Reports, 2015, 5: 14972.
- [8] GHOSAL S, SINGH S K, BATTACHARYA S K. Mangic-rocin, an adaptogenic xanthone-carotenoid glycosidic conjugate from saffron [J]. Journal of Chemical Research. Synopses, 1989 (3): 70–71.
- [9] JITSUNO M, YOKOSUKA A, HASHIMOTO K, et al. Chemical constituents of Lycoris albiflora and their cytotoxic activities [J]. Natural Product Communications, 2011, 6(2): 187–192.
- [10] PIOZZI F, MARINO M L, FUGANTI C, et al. Occurrence of non-basic metabolites in Amaryllidaceae [J]. Phytochemistry, 1969, 8(9): 1745–1748.
- [11] VALERIOTE F, CORBETT T, EDELSTEIN M, et al. New in vitro screening model for the discovery of antileukemic anticancer agents [J]. Cancer Investigation, 1996, 14(2): 124–141.
- [12] GABRIELSEN B, MONATH T P, HUGGINS J W, et al. Antiviral (RNA) activity of selected Amaryllidaceae isoquinoline constituents and synthesis of related substances [J]. Journal of Natural Products, 1992, 55(11): 1569–1581.
- [13] FERRACCIOLI R, CARENZI D, ROMBOLÁ O, et al. Synthesis of 6-phenanthridinones and their heterocyclic analogues through Palladium-catalyzed sequential Aryl-aryl and N-Aryl coupling [J]. Organic Letters, 2004, 6(25): 4759–4762.

Total synthesis of 9-hydroxy-6-oxo-4-methylphenanthridine for a HCV-inhibiting intermediate

YANG Bi-juan^{1,2}, LIU Guang-jing³, GUO Jiong-jing^{2,4}, JING Chen-xu²,
CHEN Duo-zhi², HAO Xiao-jiang²

(1. School of Chemical Science and Engineering, Yunnan University, Kunming 650091, China;

2. College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 3. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China;

4. School of Traditional Chinese Medicine, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

Abstract: The previous studies reveal that galanthidine has obvious anti-HCV activities. The phenanthridine compounds as the derivative of galanthidine have good anti-HCV activities and low toxicity, which deserves further studies. This research focuses on a three-step synthesis of 9-hydroxy-6-oxo-4-methylphenanthridine, as the key intermediate of a series of potent HCV inhibitors. This synthesis features a consecutive aryl-aryl and N-aryl coupling, leading to 9-methyl-6-oxo-4-methylphenanthridine, whose structure is determined by the spectroscopic analysis and X-ray crystallography, in a one-pot aryl-aryl and N-aryl coupling sequence with the presence of palladium catalyst and the usage of TFP (Tri(2-furyl) phosphine) as the ligand. For higher yields, the conditions of the key reaction are studied and optimized with an overall yield of 54%.

Key words: total synthesis; 9-hydroxy-6-oxo-4-methylphenanthridine; palladium-catalyzed one-pot aryl-aryl; N-aryl coupling

(责任编辑 王煜丹)