

DABO 类非核苷类逆转录酶抑制剂分子设计及合成^{*}

张虽栓, 辛一四, 何严萍, 李 聪, 何 崑

(云南大学 化学科学与工程学院 教育部自然资源药物化学重点实验室, 云南 昆明 650091)

摘要: 基于非核苷类逆转录酶抑制剂 DABO 类似物的构效关系, 设计了 4 个新的 DABO 类化合物, 并采用微波催化的方法进行了合成, 最后通过 $^1\text{H NMR}$, $^{13}\text{C NMR}$ 及 IR 对目标分子进行了结构表征。

关键词: 非核苷类逆转录酶抑制剂; DABO 类似物; 微波催化合成

中图分类号: R 978.7 文献标识码: A 文章编号: 0258-7971(2008)05-0514-05

HIV 逆转录酶(reverse transcriptase, RT) 因其在催化 HIV 病毒 RNA 向 DNA 转化中的关键作用, 一直是抗艾滋病药物设计的重要靶点^[1], 目前, 已有 10 个 HIV-1 RT 抑制剂用于临床^[2]. HIV-1 RT 抑制剂从化学结构及其与酶的相互作用机制可分为核苷类逆转录酶抑制剂(NRTs) 和非核苷类逆转录酶抑制剂(NNRTs) 2 类^[3]. 近年来, NNRTIs 由于较 NRTIs 高效低毒的优势及其在临床联合用药以延缓耐药性方面取得的进展而倍受关注^[4].

二氢烷氧苄基嘧啶二酮(DABO)^[5] (1) 属 NNRTIs, 该类化合物的作用机理是通过与 RT 催化部位相距约 1 nm 的“结合口袋”内表面的一些氨基酸残基的相互作用来改变 RT 催化中心的构象, 从而使 RT 酶丧失催化病毒 RNA 向 DNA 转化的功能. 该类化合物因其高效低毒、合成便利等特点, 自 1992 年 Articoi 小组发现以来就成为寻找抗 HIV 药物的一个重要系列^[6]. 经多年研究现已经得到了一系列高选择性的衍生物, 如 MC-1047(2)^[7] 已进入临床试验中. 当今, 对 DABO 类似物结构的进一步修饰仍是科研工作者寻找高效、低毒特别是抗耐药性的抗 HIV 药物的重要方向.

1 分子设计

DABO 的构效关系研究表明: DABO 类似物的

C-2 侧链对化合物的抗 HIV 活性起至关重要作用^[8], C-2 取代基的长度和空间体积的微小改变往往导致其抗 HIV 活性显著变化^[9], 甚至有明显抑制野生型基因突变的作用^[10]. 其 C-5 位取代基的体积对活性影响也较明显, 当 C-5 位取代基为乙基、异丙基时对活性较为有利^[11]. 6-位芳香环对抗 HIV 活性也十分重要, 它通过与周围疏水性氨基酸残基间 $\pi-\pi$ 堆积和疏水作用而与 RT 紧密结合^[12], 将其改为链状取代基将导致抗 HIV 活性完全丧失^[13].

基于以上构效关系分析, 结合我们前期研究结果, 本研究在保留 6-位的芳香体系和 5-位活性较好的乙基、异丙基的同时, 在 2-位引进环己甲基设计了化合物 3a~3d. 一方面, 环己基保持了合适的分子体积, 可与结合位点氨基酸残基间进行更有利的空间作用^[14]; 另一方面, 环己基甲基具有较好分子柔性, 可以通过构象异构适应与 RT 变异部位的结合^[15], 增强与酶的亲合力, 以期改进药物分子的抗耐药性.

2 仪器及材料

熔点用北京泰克仪器有限公司 XT4A 型号熔点测定仪测定, 温度未校正. IR 谱使用 Thermo Nicolet Avatar 360 型红外光谱仪, KBr 压片法. $^1\text{HNMR}$ 和 $^{13}\text{CNMR}$ 是 Bruker DPX 500 MHz

* 收稿日期: 2007-12-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30560179)

作者简介: 张虽栓(1970-), 男, 河南人, 硕士生, 主要从事抗 HIV 药物设计、合成的研究.

通讯作者: 何严萍(1972-), 女, 云南人, 博士, 副教授, 主要从事抗病毒药物分子设计、合成及构效关系研究.

型核磁共振仪测定, CDCl_3 溶剂, TMS 为内标(s 为单峰, d 为双峰, t 为 3 重峰, q 为 4 重峰, m 为多重峰). MS 用 Agilent LC/Msd TOF 质谱仪测定. 微

波反应器用 Harer, MO-2270M2 型微波炉改装. 试剂均为市售 C. P. 或 A. R. 试剂.

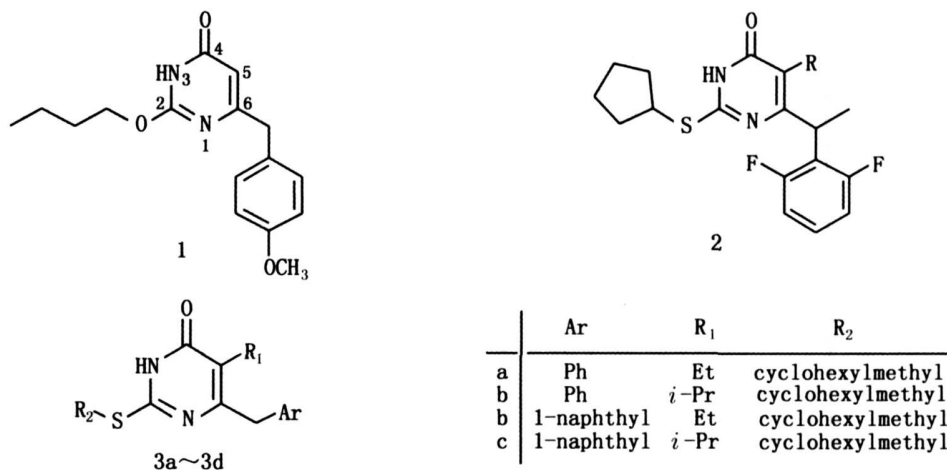


图 1 DABOs 类化合物的结构

Fig. 1 The structure of DABOs

3 目标分子合成

本文目标化合物的合成对经典 Perdeson 路线^[16]进行改进, 以苯/萘乙腈(4/5)为原料与 α -溴代烷基酸乙酯(6)经过类似 Reformarsky 缩合反应, 制备芳基乙酰乙酸乙酯(7)(简称 β -酮酯), 然后与硫脲在醇钠催化下缩合关环制得关键中间体 5-烷基-6-苯(萘)甲基硫脲嘧啶(8), 最后利用微波辐射催化^[17]下的 S-烷基化反应引入 C_2 -位侧链制备目标分子^[18](3)(图 2).

3.1 2-烷基-3-氧-4-苯(萘)丁酸乙酯(7a~7d)的合成^[19] 将锌粉依次用 3 mol/L HCl、蒸馏水、无水乙醇、无水乙醚洗涤后真空干燥可得活化锌粉. 将活化锌粉(45 g, 0.68 mol)于氮气保护下悬浮于回流的 THF(400 mL)中, 向其中加入几滴 6 以引发反应. 大约 60 min 出现绿色后, 一次性分别加入 4 或 5 (0.14 mol), 然后慢慢滴加 6(0.36 mol)约 1 h, 然后将混合物继续回流 20 min. 冷却后用 THF 和 50% K_2CO_3 溶液猝灭反应, 同时将混合物剧烈搅拌. 反应物静置后分为 2 层, 分离有机层, 用 THF(3 \times 100 mL)萃取残余物. 合并有机层用 10% HCl (150 mL)在室温下水解处理 45 min. 将混合物减压旋转蒸发浓缩, 冷却后加入 CH_2Cl_2 (250 mL)

稀释, 用饱和 NaHCO_3 (3 \times 100 mL)溶液洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥, 减压浓缩得粗产物. 该产品可不经纯化直接用于下一步合成.

3.2 5-烷基-6-苯(萘)甲基-2-硫脲嘧啶(3a~3d)的合成^[20] 于 100 mL 圆底烧瓶中加入 50 mL 绝对乙醇, 0.6 g (26.2 mmol) 金属钠, 制成醇钠溶液. 加入硫脲(1.39 g, 18.2 mmol)和(7a~7d) (13.1 mmol), 回流搅拌 5 h 时, TLC 跟踪原料点消失后冷却, 减压蒸出乙醇, 用 20 mL 水溶解剩余物, 并用 2 mol/L HCl 酸化至 pH = 4, 过滤出沉淀物, 乙醚洗涤, 真空干燥, 用适当溶剂重结晶得化合物 8a~8d^[9].

3.3 目标化合物(3a~3d)的微波合成^[21] 于 25 mL 圆底烧瓶中加入 5-烷基-6-苯(萘)甲基-2-硫脲嘧啶(8a~8d) (3 mmol)、 K_2CO_3 (3.3 mmol) 和 8 mL 无水 DMF, 室温下搅拌 30 min 后, 加入环己基甲基溴(3.3 mmol), 将微波炉火力调节至中低档, 并将反应瓶置于微波炉内装有 400 mL 热水(水温 80 $^\circ\text{C}$)的烧杯中, 反应 10 min 后将反应液倒入 30 mL 冷水中, 用乙酸乙酯(3 \times 25 mL)萃取, 饱和食盐水洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥过夜, 蒸干得油状或固体粗品, 经柱层析(EtOAc/ PE / CH_2Cl_2)纯化得 3a~3d 白色粉末, 用适当溶剂重结晶可得无色晶体.

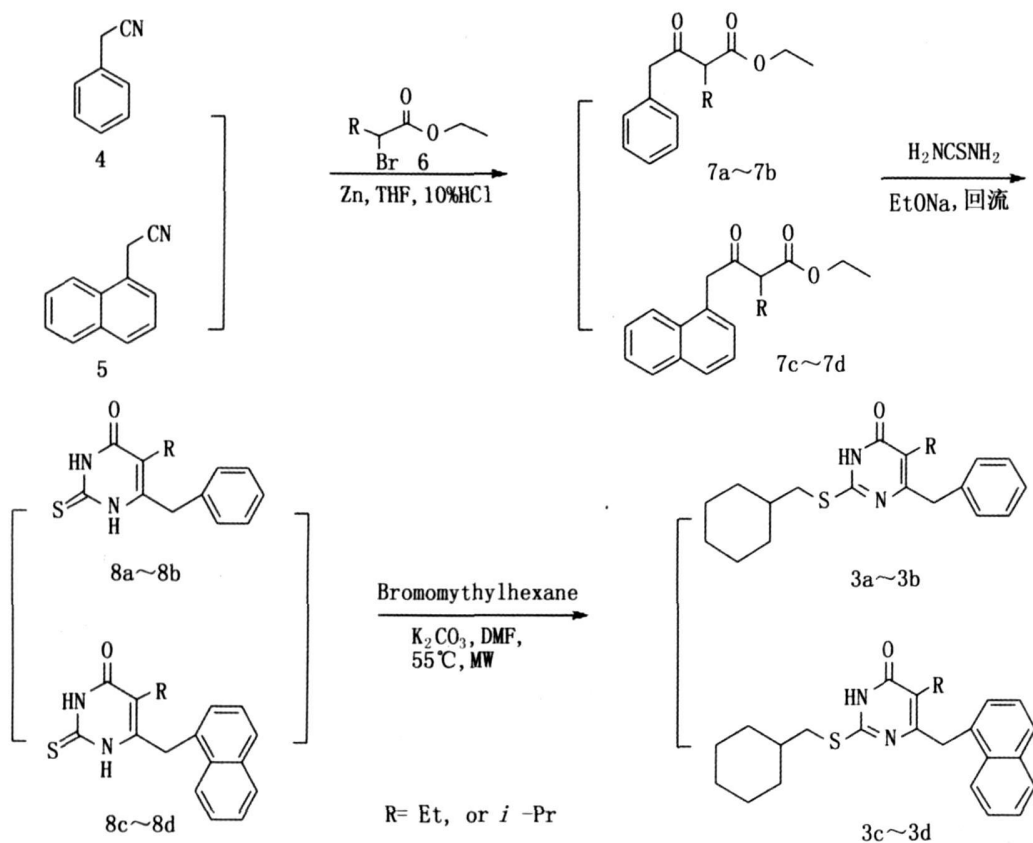


图 2 目标化合物 3a~ 3d 的合成

Fig. 2 Synthesis of compounds 3a~ 3d

3.4 目标化合物结构分析

3.4.1 5-乙基-6-苯甲基-2-(环己基甲基硫基)-3H-嘧啶-4-酮(3a) 乙酸乙酯重结晶得无色颗粒状晶体, 熔点 130 ~ 131 °C; 产率 68%. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 0.86 ~ 0.88 (m, 2H, cyclohexyl), 1.08 ~ 1.09 (t, 3H, CH_3), 1.11 ~ 1.14 (m, 1H, cyclohexyl), 1.46 ~ 1.68 (m, 6H, cyclohexyl), 1.68 ~ 1.76 (m, 6H, cyclohexyl), 2.57 ~ 2.62 (q, 2H, CH_2), 2.88 ~ 3.06 (d, 2H, S- CH_2), 3.88 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 7.18 ~ 7.29 (m, 5H, Ar-H), 11.2 (s, brs, 1H, NH); $^{13}\text{C NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 13.34 (1 CH_3), 18.39 (CH_2), 26.09 (2 CH_2 , cyclohexyl), 26.3 (1 CH_2 , cyclohexyl), 26.49 (2 CH_2 , cyclohexyl), 37.22 (CH, cyclohexyl), 37.98 ($\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 42.23 (S- CH_2), 122.19 (C-5), 126.4 ~ 134.2 (6C, C_6H_5), 156.27 (C-6), 162.77 (C-2), 164.95 (C-4); FT-IR (KBr, cm^{-1}): 3425, 2924, 1679.

3.4.2 5-异丙基-6-苯甲基-2-(环己基甲基硫基)-3H-嘧啶-4-酮(3b) 乙醇重结晶得无色颗粒状晶体, 熔点 130 ~ 131 °C; 产率 72%. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 0.87 ~ 0.92 (m, 2H, cyclohexyl), 1.09 ~ 1.17 (m, 3H, cyclohexyl), 1.28 ~ 1.302 (d, 6H, 2 CH_3), 1.48 (m, 1H, cyclohexyl), 1.60 ~ 1.69 (m, 5H, cyclohexyl), 2.98 (d, 2H, S- CH_2), 3.09 ~ 3.13 (m, 1H CH_3CHCH_3), 3.92 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 7.18 ~ 7.28 (m, 5H, Ar-H), 11.6 (s, brs, 1H, NH); $^{13}\text{C NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 19.98 (2 CH_3), 24.2 ($\text{CH}_3-\text{CHCH}_3$), 26.09 (2 CH_2 , cyclohexyl), 26.3 (1 CH_2 , cyclohexyl), 33.37 (2 CH_2 , cyclohexyl), 34.37 (CH, cyclohexyl), 38.03 ($\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 42.23 (S- CH_2), 125.04 (C-5), 126.4 ~ 134.2 (6C, C_6H_5), 156.00 (C-6), 162.22 (C-2), 163.88 (C-4); FT-IR (KBr, cm^{-1}): 3425, 2953, 1642.

3.4.3 5-乙基-6-(1-萘甲基)-2-(环己基

甲基硫基)-3H-嘧啶-4-酮(3c) 乙醇重结晶得无色颗粒状晶体, 熔点 184~185 °C; 产率 63%; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 0.56~0.59 (m, 2H, cyclohexyl), 0.99 (s, 4H, cyclohexyl), 1.13~1.14 (t, 3H, CH₃), 1.16 (m, 1H, cyclohexyl), 1.53~1.54 (m, 3H, cyclohexyl), 1.66 (m, 1H, cyclohexyl), 2.64~2.67 (q, 2H, CH₂), 2.68 (d, 2H, S-CH₂), 4.35 (s, 2H, CH₂naphthyl), 7.24~8.02 (m, 7H, naphthyl), 11.8 (s, brs, 1H, NH); ¹³C NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 13.34 (1CH₃), 18.39 (CH₂), 26.09 (2CH₂, cyclohexyl), 26.3 (1CH₂, cyclohexyl), 26.49 (2CH₂, cyclohexyl), 37.22 (CH, cyclohexyl), 37.98 (CH₂-Ph), 42.23 (S-CH₂), 122.19 (C-5), 126.4~134.2 (10C, naphthyl), 156.27 (C-6), 162.77 (C-2), 164.95 (C-4); FT-IR (KBr, cm⁻¹): 3425, 2924, 1679.

3.4.4 5-异丙基-6-(1-萘甲基)-2-(环己基甲基硫基)-3H-嘧啶-4-酮(3d) 乙酸乙酯重结晶得颗粒状晶体, 熔点 206~208 °C; 产率 69%; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 0.62~0.64 (m, 2H, cyclohexyl), 0.93~1.02 (m, 3H, cyclohexyl), 1.00~1.27 (m, 2H, cyclohexyl), 1.34~1.35 (d, 6H, 2CH₃), 1.48~1.50 (m, 3H, cyclohexyl), 1.50~1.63 (m, 1H, cyclohexyl), 2.67~2.70 (d, 2H, S-CH₂), 3.10~3.15 (m, 1H, CH₃CHCH₃), 4.38 (s, 2H, CH₂naphthyl), 7.19~8.04 (m, 7H, naphthyl), 12.17 (s, brs, 1H, NH); ¹³C NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 19.98 (2CH₃), 24.2 (CH₃CHCH₃), 26.09 (2CH₂, cyclohexyl), 26.3 (CH₂, cyclohexyl), 33.37 (2CH₂, cyclohexyl), 34.37 (CH, cyclohexyl), 38.03 (CH₂naphthyl), 42.23 (S-CH₂), 125.04 (C-5), 126.4~134.2 (10C, naphthyl), 156.00 (C-6), 162.22 (C-2), 163.88 (C-4); FT-IR (KBr, cm⁻¹): 3425, 2953, 1642.

4 结果与讨论

S-DABO 类化合物构效关系研究表明, 嘧啶环上 C-2 侧链对化合物的活性起着至关重要的作用, 是该类化合物结构修饰的重要位点. 目前, 关于嘧啶环的构建方法已较成熟, 但对 C-2 位侧链的引入这一关键反应的方法却不理想. 通常的方法

是在碱性条件下, 将硫脲嘧啶转化为 2-巯基嘧啶的钾盐或钠盐, 然后与卤化物反应引入 C-2 侧链. 该方法室温下反应时间较长(约 24 h), 且产率较低, 升高反应温度则选择性较差, 同时伴随 N-1 和 N-3 取代物的生成. 本研究采用微波催化的方法对 C-2 位硫烷基化反应进行了研究, 确定了实验的最佳条件, 以快速、简便的方法实现了目标分子的合成, 同时使反应的选择性和收率大大提高, 为今后 C-2 位的结构改造提供了行之有效方法.

化合物抗 HIV 活性正在测试之中.

参考文献:

- [1] 张铭龙, 马灵台, 张礼和. 1-[(羟乙氧基)甲基]-6-(苯硫基)胸腺嘧啶类似物的合成及构效关系研究进展[J]. 中国药物化学杂志, 1999, 9(1): 64-66.
- [2] 张颖, 杜威宏. 非核苷类 HIV 逆转录酶抑制剂研究进展[J]. 抗感染药学, 2006, 3(1): 9-13.
- [3] 吴问根, 王尔华. HIV 逆转录酶抑制剂的研究进展[J]. 药学进展, 1996, 20(1): 11-15.
- [4] WANG D P, RIZZO R C, JUIAN T R. Antiviral drug design: computational analysis of the effects of the L101I mutation for HIV-RT on the binding of NNRTIs[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2001, 11: 2799-2802.
- [5] ARTICO, M. Non-nucleoside anti-HIV-1 reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs): A chemical survey from lead compounds to selected drugs for clinical trials[J]. Farmaco, 1996, 51: 305-331.
- [6] TUCKER T J, LUMMA W C. Development of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors[J]. Methods Enzymol, 1996, 275: 440-472.
- [7] MAI A, ARTICO M, SBARDELLA G. 5-Alkyl-2-alkylthio-6-(2,6-dihaloophenylmethyl)-3,4-dihydropyrimidin-4(3H)-ones, Novel potent and Selective Dihydro-alkoxy-benzyl-oxopyrimidine Derivatives[J]. J Med Chem, 1999, 42: 619-627.
- [8] 罗一凡, 陈剑经, 许旋, 等. HEPT 类似物的电子结构与抗 HIV 活性关系研究[J]. 计算机与应用化学, 2004, 21: 665-668.
- [9] RAO Z K, LONG J, LI C, et al. Synthesis and Anti-HIV-1 Activity of Novel S-DABO Derivatives as NNRTIs[J]. Monatsh für Chemie, 2007, in press.
- [10] Muganini C, Manetti F. Synthesis and biological investigation of S-aryl-S-DABO derivatives as HIV-1 inhibitors[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2006, 16: 3541-3544.
- [11] Janus s Larsen. Synthesis and Anti-HIV Activity of

- HEPT and S- DABO analogues with 5- Benzyl and 5- Phenyl Substituents[J]. *Heterocyclic Chem*, 2001, 38: 679-683.
- [12] RAGNO R, MAI A. Computer- Aided Design, Synthesis, and Anti- HIV- 1 Activity in Vitro of 2- Alkylamino- 6- [1- (2, 6- difluorophenyl) alkyl- 3, 4- dihydro- 5- alkylpyrimidin- 4(3H)- ones as Novel Potent Non- Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors, Also Active Against the Y181C Variant[J]. *J Med Chem*, 2004, 47: 928-934.
- [13] COSTI R. Structure- activity relationship studies on potential non- nucleoside DABO- like inhibitors of HIV- 1 reverse transcriptase[J]. *Antiviral Chemistry Chemotherapy*, 2000, 11: 117-133.
- [14] 许旋, 罗一帆, 赵军. TIBO 类衍生物抗 HIV- 1 活性与电子结构关系的研究[J]. *计算机与应用化学*, 2002, 19(4): 405-408.
- [15] HOPKINS A L, REN J S, TANAKA H. Design of MKC- 442 (Emivirine) Analogues with Improved Activity Against Drug- Resistant HIV Mutants[J]. *J Med Chem*, 1999, 42: 4500-4505.
- [16] HE Y P, CHEN F E, YU X J. Nonnucleoside HIV- 1 reverse transcriptase inhibitors; part 3. Synthesis and antiviral activity of 5- alkyl- 2- [(aryl and alkoxy) carbonylmethyl] thio]- 6- (1- naphthylmethyl) pyrimidin- 4(3H)- ones[J]. *Bioorganic Chemistry*, 2004, 32(6): 536-548.
- [17] MANETTI F. Parallel Solution- Phase and Microwave- Assisted Synthesis of New S- DABO Derivatives Endowed with Subnanomolar Anti- HIV- 1 Activity[J]. *J Med Chem*, 2005, 48: 8 000-8 008.
- [18] HOPKINS A L, RAN J, ESNOUL R M. Complexes of HIV- 1 reverse transcriptase inhibitors of the HEPT series reveal conformational changes relevant to the design of potent non- nucleoside inhibitors[J]. *J Med Chem*, 1996, 39: 1589-1600.
- [19] BLATTER H M, LUKASZEWSKI H, DE STEVENS G. A new general synthesis of aromatic nitriles from aldehydes[J]. *J Am Chem Soc*, 1961, 83: 2203.
- [20] HE Y P, CHEN F E, SUN G F, et al. 5- Alkyl- 2- [(aryl and alkoxy) carbonylmethyl] thio]- 6- (1- naphthylmethyl) pyrimidin- 4(3H)- ones as a unique HIV reverse transcriptase inhibitors of S- DABO series[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2004, 14: 3173-3176.
- [21] MAI A, ARTICO M, RAGNO R. 5- Alkyl- 2- alkylamino- 6- (2, 6- difluorophenyl) alkyl)- 3, 4- dihydropyrimidin- 4(3H)- ones, a new series of potent, broad- spectrum non- nucleoside reverse transcriptase inhibitors belonging to the DABO family[J]. *Bioorganic Medicinal Chemistry*, 2005, 13: 2065-2077.

Molecule design and synthesis of novel DABO derivatives as NNRTIs

ZHANG Su-shuan, XING Qi-si, HE Yan-ping, Li Cong, HE Mei

(Key Laboratory of Medicinal Chemistry for Natural Resources, Ministry of Education, School of Chemical Science and Technology, Yunnan University, Kunming 650091, China)

Abstract Based on the structure and activity relationship (SAR) of dihydroalkoxybenzoxypyrimidines (DABOs) as non- nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs), four novel DABO derivatives were designed and synthesized by microwave irradiation. The structure of the products were further confirmed by ^1H NMR, ^{13}C NMR and IR.

Key words: NNRTIs; DABO derivatives; microwave mediated synthesis