β_2 -AR 激动剂 BI-167107 的合成

王江波^a Seungkirl Ahn^b Alem W. Kahsai^b 刘 蓉^c 任 杰^a
 胡 昆^a 孙小强^{*,c} 陈 新^{*,a}

(^a 常州大学制药与生命科学学院 常州 213164)

(^b Department of Medicine, Duke University Medical Center, Durham, NC 27710, USA)

(^c 常州大学石油化工学院 常州 213164)

摘要 BI-167107 是一种新的长效 β_2 肾上腺素受体(β_2 -AR)激动剂, 在鉴定 G 蛋白偶联受体(GPCR)/配体络合物的结构方面具有重要应用. 以 2-硝基间苯二酚为原料, 经过七步反应, 合成了目标化合物, 其结构经 ¹H NMR, ¹³C NMR 和 MS 确证. 此合成路线的优点是避免了使用有毒试剂, 可以便捷地用于制备大量的 BI-167107 及结构相近的苯并噁嗪类化合物.

关键词 BI-167107; β_2 肾上腺素受体; 激动剂; GPCR; 苯并噁嗪; 合成

Synthesis of β_2 -AR Agonist BI-167107

Wang, Jiangbo^a Ahn, Seungkirl^b Kahsai, Alem W.^b Liu, Rong^c Ren, Jie^a
 Hu, Kun^a Sun, Xiaoqiang^{*,c} Chen, Xin^{*,a}

(^a School of Pharmaceutical and Life Science, Changzhou University, Changzhou 213164)

(^b Department of Medicine, Duke University Medical Center, Durham, NC 27710, USA)

(^c School of Petrochemical Engineering, Changzhou University, Changzhou 213164)

Abstract BI-167107 is a new long-acting β_2 -adrenergic receptor (β_2 -AR) agonist, and has important application in determining the critical structures of receptor/ligand proteins complex of G-protein-coupled receptor (GPCR). By employing 2-nitroresorcinol as starting material, a practical synthetic route for BI-167107 has been developed, involving 7-step reactions. The structure of the target molecule has been confirmed by ¹H NMR, ¹³C NMR and MS techniques. The advantages of the synthetic route include avoiding use of toxic reagents and being suitable for scale up preparation of BI-167107 and other benzoxazine derivatives.

Keywords BI-167107; β_2 -adrenergic receptors; agonists; GPCR; benzoxazine; synthesis

G 蛋白偶联受体(G protein-coupled receptor, GPCR)是一大类膜蛋白受体的统称^[1]. 这类受体的共同点是其结构中都有 7 个跨膜 α 螺旋, 且其肽链的 C 端和连接第 5 和第 6 个跨膜螺旋的胞内环上都有 G 蛋白的结合位点. GPCR 参与了很多细胞信号转导过程, 结合细胞周围环境中的化学物质并激活细胞内的一系列信号通路, 最终引起细胞状态的变化^[2,3]. 通过调节有关 GPCR 介导的信号传导可以治疗抑郁症、精神分裂症、失眠高血压、虚弱、焦躁、紧张、肾功能衰竭、心脑血管疾病和炎症等病症^[4]. 实际上, 目前世界药物市场上大约 40% 的药

物都是以 GPCR 作为靶点^[5,6]. 这些药物是作为 GPCR 的激活剂(agonist)或拮抗剂(antagonist)^[7]. β_2 肾上腺素能受体(β_2 -AR)是一类由肾上腺素激活的 GPCR, 在调节心脑血管和肺部功能方面具有重要作用, 也是结构和功能被最广泛研究的膜蛋白之一^[8]. β_2 -AR 激动剂和拮抗剂是重要的 GPCR 类药物. 其中, β_2 -AR 激动剂由于具有引起支气管扩张的作用, 故用于治疗哮喘和慢性阻塞性肺疾病(COPD)^[9]. BI-167107 是德国 Boehringer Ingelheim 公司开发出来的长效 β_2 受体激动剂(long-acting β_2 agonists, LABA)^[10], 其结构中含有苯并噁嗪酮母环和侧链胺基

* E-mail: xinchen@cczu.edu.cn; xqsun@jpu.edu.cn

Received November 18, 2012; revised December 6, 2012; published online December 20, 2012.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 21272029, 81272982).

国家自然科学基金(Nos. 21272029, 81272982)资助项目.

(Scheme 3).

2011 年, 美国斯坦福大学 Kobilka 教授领导的研究小组^[1]利用 BI-167107 同 β_2 -AR 的特异性亲合作用, 在国际上首次得到了活化状态下 β_2 -AR/G 蛋白的络合物 (即 GPCR 的受体/配体络合物) 的高清晰度晶体结构. 这一突破性研究成果为未来开发高效而专一的 β_2 -AR 类新药物提供了直接的结构生物学基础, 这也是 Kobilka 教授获得 2012 年诺贝尔化学奖的重要原因之一. 最近, 本课题组与美国杜克大学医学中心 Lefkowitz 教授的实验室合作, 研究另一种重要 GPCR 蛋白 β -arrestin 的结构与功能, 因而需要克级数量的 BI-167107. 出于商业利益考量, Boehringer Ingelheim 公司没有公开发表 BI-167107 的具体合成方法. 因此, 我们针对 BI-167107 的结构特点, 开发出了一条实用的合成路线.

1 结果与讨论

我们的初步研究结果表明, 尽管 BI-167107 结构中含有一个手性碳原子, 但在与 β -arrestin 蛋白的亲合作用中, BI-167107 的消旋化物与单一对映体并没有表现出明显的差异. 因此, 本文合成的目标化合物是消旋化 BI-167107. 我们以 2-硝基间苯二酚(**1**)为起始原料, 在硝基苯中进行 Fridel-Crafts 酰基化反应, 得到了 2,4-二羟基-3-硝基苯乙酮(**2**), 接着, 在叔丁基醇锂作用下与苄溴反应^[12], 生成了 2-羟基-3-硝基-4-苄氧基苯乙酮(**3**), 产率为 53%. **3** 经过锌粉还原, 将硝基还原成氨基, 得到了 2-羟基-3-氨基-4-苄氧基苯乙酮(**4**), 产率为 82%. 然后, 所得到的羟基苯胺 **4** 同氯代乙酰氯发生环化反应, 生成了 5-苄氧基-8-乙酰基-2*H*-苯并[1,4]噁嗪-3(4*H*)酮

(5), 产率为 94% (Scheme 1).

我们最初的合成计划是将 **5** 进行氯化, 转变成 α -氯代酮 **6**, 后者被 NaBH_4 还原成氯代醇 **7**; 在 **7** 环化成为关键的环氧化物 **8** 后, 再同 2-甲基-1-(邻甲苯基)丙基-2-胺 (**9**, Scheme 2) 反应, 即可得到 BI-167107 的前体化合物 **15** (Scheme 3). 我们的想法是, 这条路线既可以合成消旋化目标化合物, 也可以得到 (*R*)-和 (*S*)-构型的最终产物, 因为 α -氯代酮 **6** 可以在 CBS 还原条件^[13]下被还原成 (*R*)-和 (*S*)-氯代醇, 进而生成相应手性构型的环氧化物. 遗憾的是, 在 NaOH 和 EtOH /水体系^[14]中, 氯代醇 **7** 无法环化成为环氧化物 **8**. 我们尝试了不同的碱和不同溶剂, 均未能得到 **8**, 只得放弃了该条路线.

胺**9**是通过三步反应得到的(Scheme 2): 2-甲基苯甲醛(**11**)与碘化异丙基三苯基磷鎓盐进行 Wittig 反应^[15], 所生成的 1-甲基-2-(2-甲基-1-丙烯基)苯(**12**)在硫酸作用下同乙腈发生 Ritter 反应^[16], 得到 *N*-[2-甲基-1-(邻甲基丙基)-2-基]乙酰胺(**13**); 接着, 在 KOH 存在下, 并在乙二醇中高温回流^[17], **13** 水解生成胺**9**。顺便提一下, 我们也尝试了 α -氯代酮**6**与胺**9**的取代反应, 但未能得到 α -氨基酮**10** (Scheme 1)。

我们将注意力转到苯并噁嗪乙酮 **5** 的缩醛化物上。Bouyssou 等^[18]用 SeO_2 将 4-苄氧基-8-乙酰基-2*H*-苯并[1,4]噁嗪-3(4*H*)酮氧化为相应的缩醛后, 在乙醇中回流得到半缩醛, 然后, 与脂肪胺进行缩合反应, 得到相应的 α -氨基酮。BI 公司的 Hoenke 等^[19]于 2009 年报道了缩醛 **14** 同胺 **9** 的缩合反应, 但没有说明 **14** 的具体合成方法; 而后者恰恰是合成目标化合物的关键中间体。我们尝试用 SeO_2 氧化 **5**, 但产率明显偏低。考虑到 SeO_2 的毒

Scheme 1

Scheme 2

性, 我们试验了其它的氧化剂, 结果发现, 以 DMSO 作溶剂, 酮 5 在 48% 氢溴酸水溶液^[20]作用下可以顺利转化为缩醛 14. 其可能的反应机理是: 氢溴酸与 DMSO 作用, 生成溴, 二甲硫醚和水; 溴将 5 进行溴化, 产生 α -溴代酮 A, 进而水解, 得到 α -羟基酮 B; 接着, B 被进一步溴化为 α -溴代- α -羟基酮 C, 再水解即得到缩醛 14 (Scheme 4). 不太稳定的 14 无需纯化, 直接同胺 9 进行缩合反应, 所生成的烯胺再被硼氢化锂还原, 得到羟基胺 15. 从 5 到 15 三步反应的总产率是 57% (Scheme 3). 最后, 15 经过催化氢化脱苄基, 以 97% 的产率生成 BI-167107. 最终产物的结构经过 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 以及质谱确证, HPLC 检测纯度在 98% 左右. 使用同样的合成方法, 我们合成了一系列新的苯并噁嗪衍生物, 它们的具体合成方法和生测结果将另文发表.

Scheme 3

2 结论

我们研究了关键中间体 5-苄氧基-8-乙酰基-2H-苯并[1,4]噁嗪-3(4H)-酮(5)的有关反应, 开发了一条实用

Scheme 4

的合成路线, 避免了使用有毒试剂, 可以方便地用于制备较大量的 β_2 -AR 激动剂 BI-167107. 另外, 此方法也适用于合成其它的苯并噁嗪衍生物.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

实验中用到的主要仪器有: DHG-9240A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司); RE-522A 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂); AL204 型分析天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司); ZF-I 型三用紫外分析仪(上海顾林电光仪器厂); 安捷伦 1260 型 HPLC; 安捷伦 7820A 型 GC; 岛津 2020 型 LC-MS; Bruker AVANCE 300/400 MHz 核磁共振仪(TMS 为内标).

实验所用化学试剂和生产厂家包括: 2-硝基间苯二酚(98%, 安耐吉), 醋酸酐(AR, 阿拉丁), 无水氯化铝(AR, 阿拉丁), 硝基苯(AR, 阿拉丁), 溴苄(99%, 阿拉丁), 叔丁基醇锂(97%, Sigma-Aldrich), 锌粉(AR, 江苏永丰化学试剂厂), 乙酸(AR, 阿拉丁), 氯乙酰氯(98%, 阿拉丁), 碳酸铯(99%, Sigma-Aldrich), 48% 氢溴酸水溶液(安耐吉), 二甲基亚砷(AR, 上海晶纯试剂有限公司), 硼氢化锂(95%, 阿拉丁), 10% Pd/C (AR, 上海晶纯试剂有限公司), 2-甲基苯甲醛(99%, 阿拉丁); 碘化异丙基三苯基磷鎓(98%, 安耐吉), 正丁基锂(2.5 M 正己烷溶液; 萨恩化学技术(上海)有限公司), 乙腈(AR, 上海凌峰化学试剂有限公司), 乙二醇(AR, 江苏强盛化工有限公司); 其余所用溶剂(石油醚, 二氯甲烷, 乙酸乙酯)均为分析纯.

3.2 实验方法

3.2.1 2,4-二羟基-3-硝基苯乙酮(2)的合成

氮气保护下, 在 250 mL 三口烧瓶中分别加入硝基苯(135 mL)和 AlCl_3 (1.91 g, 14.32 mmol), 搅拌 10 min,

再慢慢向混合溶液中分批加入 2-硝基间苯二酚(10.00 g, 64.50 mmol), 再向溶液中滴加 Ac_2O (6.40 mL), 于 100 °C 下反应 5 h. 停止加热后, 冷却到室温, 将反应液倒入冰冷的 2 mol/L HCl (120 mL) 中淬灭反应. 混合液用乙醚萃取(200 mL $\times$ 2), 合并有机相. 将有机相用 2 mol/L NaOH 萃取(150 mL $\times$ 2), 合并水相. 合并得到的水相用乙醚洗涤(50 mL $\times$ 4)后, 再用 2 mol/L HCl 调节到 pH=1. 将生成的沉淀抽滤, 水洗, 于空气中干燥, 得到暗黄色固体. 粗产物经柱层析纯化[洗脱剂: $V(\text{二氯甲烷}):V(\text{石油醚})=3:1$], 得到亮黄色固体 **2** (8.64 g), 产率 68%. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 14.85 (s, 1H), 11.35 (s, 1H), 7.90 (d, $J=9.09$ Hz, 1H), 6.63 (d, $J=9.09$ Hz, 1H), 2.62 (s, 3H).

3.2.2 2-羟基-3-硝基-4-苄氧基苯乙酮(**3**)的合成

在 250 mL 三口烧瓶中, 将 **2** (8.64 g, 64.5 mmol) 溶于 DMF (85 mL) 中, 在氮气保护下加入 $\text{LiOBu-}t$ (3.51 g), 室温下搅拌 10 min. 加入苄溴(5.21 mL), 室温下搅拌 20 h 后, 将反应液倒入冰水(50 mL)中淬灭反应. 加入 1 mol/L NaOH (43 mL), 用乙醚洗涤(200 mL $\times$ 2). 冰水浴条件下, 用 2 mol/L HCl (173 mL) 酸化至 pH=1, 有沉淀生成. 抽滤, 水洗, 于空气中干燥, 得到黄色固体. 粗产物经柱层析纯化[洗脱剂: $V(\text{二氯甲烷}):V(\text{石油醚})=5:1$], 得到淡黄色固体 **3** (6.72 g), 产率 53%. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 13.07 (s, 1H), 7.76 (d, $J=9.06$ Hz, 2H), 7.41~7.31 (m, 5H), 6.58 (d, $J=9.06$ Hz, 1H), 5.25 (s, 2H), 2.58 (s, 3H).

3.2.3 2-羟基-3-氨基-4-苄氧基苯乙酮(**4**)的合成

在 250 mL 三口烧瓶中, 将 **3** (6.72 g, 23.4 mmol) 溶于 AcOH (68 mL) 中, 慢慢分批加入 Zn 粉(6.72 g), 室温下搅拌 2 h. 抽滤, 将滤液倒入冰水(680 mL)中, 生成沉淀, 抽滤, 于空气中干燥, 得到黄色固体. 粗产物经柱层析纯化[洗脱剂: $V(\text{二氯甲烷}):V(\text{石油醚})=1:1$], 得到黄色固体 **4** (4.9 g), 收率 82%. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 12.49 (s, 1H), 7.45~7.34 (m, 5H), 7.16 (d, $J=8.91$ Hz, 1H), 6.50 (d, $J=8.94$ Hz, 1H), 5.17 (s, 2H), 2.55 (s, 3H).

3.2.4 5-苄氧基-8-乙酰基-2H-苯并[1,4]噁嗪-3(4H)-酮(**5**)的合成

在 100 mL 三口烧瓶中, 分别加入 **4** (4.9 g, 19.0 mmol), NaHCO_3 (3.54 g) 和 DMF (30 mL). 搅拌溶解后, 向混合液中滴加氯乙酰氯(1.70 mL), 室温搅拌 2 h 后, 加入 Cs_2CO_3 (7.45 g), 加热到 100 °C, 反应 5 h. 冷却到室温, 将反应液倒入水(470 mL)中淬灭反应. 用乙酸乙酯萃取(190 mL $\times$ 2)后, 分别用水(280 mL $\times$ 2)和饱和食盐水(150 $\times$ 2 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压蒸

馏得黄色固体. 粗产物经柱层析纯化[洗脱剂: $V(\text{二氯甲烷}):V(\text{石油醚})=3:1$], 得到浅黄色固体 **5** (5.30 g), 产率 94%. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.98 (s, 1H), 7.55 (d, $J=8.88$ Hz, 1H), 7.42~7.37 (m, 5H), 6.71 (d, $J=8.91$ Hz, 1H), 5.15 (s, 2H), 4.68 (s, 2H), 2.59 (s, 3H).

3.2.5 5-苄氧基-8-(2-氯乙酰基)-2H-苯并[1,4]噁嗪-3(4H)-酮(**6**)的合成

在 250 mL 三口烧瓶中, 依次加入二氯甲烷 (100 mL), AcOH (32 mL), H_2O (5 mL), 和 **5** (5.30 g, 17.8 mmol), 室温搅拌溶解, 然后, 向混合液中加入苄基三甲基二氯碘酸铵(13.66 g, 39.2 mmol), 加热到 100 °C, 反应 20 h. 冷却到室温. 在 500 mL 三口烧瓶中, 将反应液倒入 5.5% NaHSO_3 溶液(102 mL)中, 室温搅拌 30 min. 加入乙醚(190 mL), 有沉淀生成, 抽滤, 依次用适量水和乙醚洗涤, 于空气中干燥, 得到棕色固体. 粗产物经柱层析纯化[洗脱剂: $V(\text{二氯甲烷}):V(\text{石油醚})=2:1$], 得到淡黄色固体 **6** (4.68 g), 产率 79%. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.85 (s, 1H), 7.65 (d, $J=7.65$ Hz, 1H), 7.43~7.38 (m, 5H), 6.77 (d, $J=8.00$ Hz, 1H), 5.17 (s, 2H), 4.74 (s, 2H), 4.69 (s, 2H).

3.2.6 5-苄氧基-8-[(2-氯-1-羟基)乙基]-2H-苯并[b]-[1,4]噁嗪-3(4H)-酮(**7**)的合成

在 25 mL 三口烧瓶中, 将 **6** (150 mg, 0.45 mmol) 溶于 MeOH (5 mL) 中. 冰浴条件下, 向混合液中加入硼氢化钠(26 mg, 0.68 mmol), 0 °C 条件下反应 2 h. 将反应液小心倒入水(2.0 mL)中淬灭反应, 减压蒸馏除去 MeOH , 用乙酸乙酯萃取(10 mL $\times$ 2), 萃取液分别用水(2 $\times$ 5 mL)和饱和食盐水(5 mL $\times$ 2)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压蒸馏得白色固体. 粗产物经柱层析纯化[洗脱剂: $V(\text{二氯甲烷}):V(\text{石油醚})=3:1$], 得到白色固体 **7** (140 mg), 产率 93%. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.82 (s, 1H), 7.41~7.37 (m, 5H), 7.10 (d, $J=8.64$ Hz, 1H), 6.68 (d, $J=8.67$ Hz, 1H), 5.08~5.12 (m, 1H), 5.09 (s, 2H), 4.64 (d, $J=15.3$ Hz, 1H), 4.59 (d, $J=15.3$ Hz, 1H), 3.79 (dd, $J=3.5, 11.0$ Hz, 1H), 3.61 (dd, $J=2.7, 11.0$ Hz, 1H), 2.72 (d, $J=4.50$ Hz, 1H).

3.2.7 2-甲基-1-(邻甲苯基)丙基-2-胺(**9**)的合成

在 250 mL 三口烧瓶中, 加入碘化异丙基三苯基磷鎓(20 g, 46.3 mmol)和无水四氢呋喃(20 mL). 冷却至 0 °C, 向反应液中加入正丁基锂(2.5 mol/L 己烷溶液; 20 mL, 50 mmol), 搅拌半小时后, 加入 2-甲基苯甲醛(5.56 g, 46.3 mmol)与四氢呋喃(50 mL)的混合液, 室温反应 20 h. 将反应液小心倒入冰水(130 mL)中淬灭反应, 用乙酸乙酯萃取(50 mL $\times$ 3), 用水(30 mL $\times$ 2)和饱和食盐水(30 mL $\times$ 2)分别洗涤, 用无水硫酸镁干燥, 过滤, 减

压蒸馏,粗产物经柱层析纯化(洗脱剂:石油醚),得到透明液体 **12** (4.04 g),产率 60%。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 7.18~7.10 (m, J =3.78 Hz, 4H), 6.23 (s, 1H), 2.25 (s, 3H), 1.92 (s, 3H), 1.72 (s, 3H)。

将 **12** (4.04 g, 27.6 mmol)溶于乙腈(9.5 mL)中,在冰水浴条件下,分批加入浓硫酸(5.60 mL),室温反应 17 h。将反应液倒入冰水(180 mL)中淬灭反应,用 10 mol/L NaOH 溶液调节溶液 pH=7,用乙酸乙酯萃取(40 mL $\times$ 3),用水(30 mL $\times$ 2)和饱和食盐水(30 mL $\times$ 2)分别洗涤,无水硫酸镁干燥,过滤,减压蒸馏,柱层析纯化[洗脱剂: V (二氯甲烷): V (石油醚)=3:1],得到淡黄色固体 **13** (1.70 g),产率 30%。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 7.15~7.09 (m, 4H), 5.21 (s, 1H), 3.09 (s, 2H), 2.34 (s, 3H), 1.93 (s, 3H), 1.33 (s, 6H)。

在 50 mL 三口烧瓶中,加入 **13** (1.70 g, 8.28 mmol),乙二醇(20 mL)和 KOH (3.00 g, 53.6 mmol),于 200 °C 下反应 24 h。冷却至室温,将反应液倒入饱和食盐水(50 mL)中,用乙酸乙酯萃取(30 mL $\times$ 3),用水(20 mL $\times$ 2)和饱和食盐水(20 mL $\times$ 2)分别洗涤,无水硫酸镁干燥,过滤,减压蒸馏,粗产物经柱层析纯化[洗脱剂: V (二氯甲烷): V (甲醇)=60:1],得到黄色液体 **9** (1.25 g),产率 93%。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 7.18~7.11 (m, 4H), 2.72 (s, 2H), 2.36 (s, 3H), 1.14 (s, 6H); ESI-MS: m/z 164 [M+H]⁺。

3.2.8 5-苄氧基-8-(2,2-二羟基乙酰基)-2H-苯并[b][1,4]噁嗪-3(4H)-酮(**14**)的合成

在 50 mL 单口烧瓶中,加入 **5** (1.08 g, 3.6 mmol),DMSO (10 mL)和 48% HBr (1.5 mL),加热至 55 °C,反应 20 h。冷却至室温,将反应液倒入冰水(50 mL)中淬灭反应,用乙酸乙酯(60 mL $\times$ 3)萃取,合并萃取液用水(50 mL $\times$ 2)和饱和食盐水(50 mL $\times$ 2)分别洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,减压蒸馏,得到黄色固体 **14**,未经纯化,直接投入下一步反应。

3.2.9 5-苄氧基-8-(1-羟基-2-((2-甲基-1-(邻甲苯基)丙-2-基)氨基)乙基)-2H-苯并[b][1,4]噁嗪-3(4H)-酮(**15**)的合成

在 50 mL 三口烧瓶中,将上步得到的 **14**溶于四氢呋喃(22 mL)中,加入 **7** (0.63 g, 3.87 mmol),室温下反应 14 h。将反应混合物冷却至 0 °C 后,加入 LiBH₄ (0.23 g, 10.6 mmol),并在 0 °C 下反应 3 h。将反应液小心倒入冰水(55 mL)中淬灭反应,用二氯甲烷(100 mL $\times$ 3)萃取,合并萃取液用水(50 mL $\times$ 2)和饱和食盐水(50 mL $\times$ 2)分别洗涤,无水硫酸钠干燥。粗产物经过柱层析纯化[洗脱剂: V (二氯甲烷): V (甲醇)=50:1; V (二氯甲烷): V (甲醇)=20:1],得到黄色固体 **15** (0.95 g),产率 57%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.73 (s, 1H), 7.42~7.37 (m, 5H), 7.20~7.16 (m, 5H), 6.64 (d, J =8.00 Hz, 1H), 5.52 (d, J =12.00 Hz, 1H), 5.07 (s, 2H), 4.57 (d, J =16.00 Hz, 1H), 4.34 (d, J =16.00 Hz, 1H), 3.35 (d, J =12.00 Hz, 1H), 3.19~3.24 (m, 1H), 3.02 (t, J =12.00 Hz, 1H), 2.37 (s, 3H), 1.38 (s, 6H); ESI-MS: m/z 461 [M+H]⁺。

3.2.10 5-羟基-8-(1-羟基-2-((2-甲基-1-(邻甲苯基)丙-2-基)氨基)乙基)-2H-苯并[b][1,4]噁嗪-3(4H)-酮(BI-167107)的合成

在 50 mL 单口烧瓶中,将 **15** (0.95 g, 2.06 mmol)溶解于 MeOH (20 mL)中,加入 10% Pd/C (200 mg),在常温常压下催化氢化 4 h。用硅藻土滤除催化剂后,粗产物经柱层析纯化[洗脱剂: V (二氯甲烷): V (甲醇)=30:1],得到淡黄色固体 BI-167107 (0.74 g),产率 97%。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 9.92 (s, 1H), 7.15~7.06 (m, 4H), 6.90 (d, J =8.64 Hz, 1H), 6.52 (d, J =8.43 Hz, 1H), 4.85 (d, J =5.58 Hz, 1H), 4.48 (d, J =1.83 Hz, 2H), 2.72 (d, J =1.83 Hz, 1H), 2.63 (t, J =9.00 Hz, 1H), 2.29 (s, 3H), 1.86 (s, 2H), 1.00 (s, 6H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 164.43, 144.23, 141.20, 136.87, 136.42, 131.29, 130.20, 126.08, 125.19, 122.03, 115.15, 108.99, 66.94, 65.82, 55.12, 48.36, 41.77, 25.81, 25.50, 20.19; ESI-MS: m/z : 371 [M+H]⁺。

致谢 我们衷心感谢 2012 年诺贝尔化学奖获得者、美国杜克大学医学中心 Robert J. Lefkowitz 教授对本课题的慷慨支持和鼓励。

References

- [1] Lu, S.-Y.; Jiang, Y.-J.; Yu, Q.-S.; Zou, J.-W. *Acta Chim. Sinica* **2009**, 67, 1553 (in Chinese). (陆绍永, 蒋勇军, 俞庆森, 邹建卫, 化学学报, **2009**, 67, 1553.)
- [2] Pierce, K. L.; Premont, R. T.; Lefkowitz, R. J. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2002**, 3, 639.
- [3] Fredriksson, R.; Schioth, H. B. *Mol. Pharm.* **2005**, 67, 1414.
- [4] Hong, M.-H.; Chi, Z.-Q.; Liu, J.-G. *Chin. Pharm. Bull.* **2005**, 21, 1030 (in Chinese). (洪民华, 池志强, 刘景根, 中国药理学通报, **2005**, 21, 1030.)
- [5] Filmore, D. *Modern Drug Discovery* **2004**, 24.
- [6] Overington, J. P.; Al-Lazikani, B.; Hopkins, A. L. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2006**, 5, 993.
- [7] Yin, Y.-B.; Luo, J.-C.; Jiang, Y. *Chin. Sci. Bull.* **2003**, 48, 307 (in Chinese). (尹燕斌, 罗静初, 姜颖, 科学通报, **2003**, 48, 307.)
- [8] Lefkowitz, R. J. *Nat. Cell Biol.* **2000**, 2, E133.
- [9] Sears, M. R.; Lotvall, J. *Respir. Med.* **2005**, 99, 152.
- [10] Tautermann, C. S.; Pautsch, A. *Med. Chem. Lett.* **2011**, 2, 414.
- [11] Rasmussen, S. G.; DeVree, B. T.; Zou, Y.; Kruse, A. C.; Chung, K. Y.; Kobilka, T. S.; Thian, F. S.; Chae, P. S.; Pardon, E.; Calinski, D.; Mathiesen, J. M.; Shah, S. T.; Lyons, J. A.; Caffrey, M.; Gellman, S. H.; Steyaert, J.; Skiniotis, G.; Weis, W. I.; Sunahara, R. K.;

- Kobilka, B. K. *Nature* **2011**, 477, 549.
- [12] Alcaraz, L.; Kindon, N.; Sutton, J. M. *WO 2008/149110*, **2008** [*Chem. Abstr.* **2008**, 150, 34973].
- [13] Corey, E. J.; Bakshi, R. K.; Shibata, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 109, 5551.
- [14] Mangas-Sanchez, J.; Busto, E.; Gotor-Fernandez, V.; Malpartida, F.; Gotor, V. *J. Org. Chem.* **2011**, 76, 2115.
- [15] Goldfuss, B.; Denisenko, D.; Kulhanek, J. *Chem. Eur. J.* **2004**, 10, 4252.
- [16] Ritter, J. J.; Minieri, P. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1948**, 70, 4045.
- [17] Florvall, L.; Fagervall, I.; Ask, A.-L.; Ross, S. B. *J. Med. Chem.* **1986**, 29, 2250.
- [18] Bouyssou, T.; Hoenke, C.; Rudolf, K.; Lustenberger, P.; Pestel, S.; Sieger, P.; Lotz, R.; Heine, C.; Büttner, F. H.; Schnapp, A.; Konetzki, I. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, 20, 1410.
- [19] Hoenke, C.; Bouyssou, T.; Tautermann, C. S.; Rudolf, K.; Schnapp, A.; Konetzki, I. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19, 6640.
- [20] Floyd, M. B.; Du, M. T.; Fabio, P. F.; Jacob, L. A.; Johnson, B. D. *J. Org. Chem.* **1985**, 50, 5022.

(Lu, Y.)