

· 研究简报 ·

LGK974 的合成工艺研究

骆荣双^{1a,1b}, 黄朋越^{1c}, 刘春江^{1a,1b}, 赵庆平^{1a,1b}, 周志旭^{1a,1b}, 黄筑艳^{1a,1b*}

(1. 贵州大学 a. 药学院; b. 贵州省合成药物工程实验室; c. 化学与化工学院, 贵州 贵阳 550025)

摘要: LGK974 是一种高度特异性和有效的 Porcupine 抑制剂。设计了一条新的合成路线, 以 2-氨基-5-溴吡啶、2-氯-3-甲基吡啶、2-氨基吡嗪和 2-甲基-6-氯吡啶为起始原料, 采用汇聚法, 经取代、Suzuki、酰胺化等 10 步反应合成了 LGK974, 总收率 11.5%, 其结构经 ¹H NMR、¹³C NMR 和 MS(ESI-TOF) 确证。

关键词: LGK974; Porcupine 抑制剂; 合成; 工艺优化; Suzuki 反应; 酰胺化

中图分类号: O626. 3; R914. 5

文献标志码: A

DOI: 10.15952/j.cnki.cjsc.1005-1511.19407

Study on the Synthesis Process of LGK974

LUO Rong-shuang^{1a,1b}, HUANG Peng-yue^{1c}, LIU Chun-jiang^{1a,1b},
ZHAO Qing-ping^{1a,1b}, ZHOU Zhi-xu^{1a,1b}, HUANG Zhu-yan^{1a,1b*}

(a. School of Pharmaceutical Sciences; b. Guizhou Engineering Laboratory for Synthetic Drugs;
c. School of Chemistry and Chemical Engineering, 1. Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: LGK974 is a highly specific and effective Porcupine inhibitor. In this work, a new synthetic route was designed, using 2-amino-5-bromopyridine, 2-chloro-3-methylpyridine, 2-aminopyrazine and 2-methyl-6-chloropyridine as materials by means of substitution, Suzuki reaction, amidation and so on. The structure was confirmed by ¹H NMR, ¹³C NMR and MS(ESI-TOF). The total yield was 11.5%. Compared with the reported route, the method has the advantages of simple operation, low cost, safety and environmental protection.

Keywords: LGK974; Porcupine inhibitor; synthesis; process improvement; Suzuki reaction; amidation

Wnt 信号在细胞增殖、分化和胚胎形态变化过程中起着主导作用, 阻断 Wnt 信号传导是抗癌疗法中极具吸引力的方案之一^[1-2]。LGK974 是一种小分子 Porcupine 蛋白抑制剂, 通过抑制 Porcupine 的活性控制 Wnt 蛋白的转运, 阻断 Wnt 信号通路, 可达到抗癌效果^[3-6]。

文献合成 LGK974 的方法为^[7-8]: 以 2-氯-3-甲基-5-溴吡啶、2-叔丁氧基-2-羰基乙基锌氯、2-甲

基-4-(三丁基锡)吡啶、2-氨基-5-吡啶硼酸酯、2-碘吡嗪为原料, 经 5 步反应合成目标化合物, 总收率 14.6%。该合成路线的缺点较多, 如使用的原料 2-碘吡嗪、2-氨基-5-吡啶硼酸酯价格昂贵; 中间产物 6-氯-5-甲基-3-吡啶乙酸叔丁酯需使用硅胶柱层析纯化; 有机锡试剂具有较强的神经毒性, 难以去除, 对药效产生不良影响。

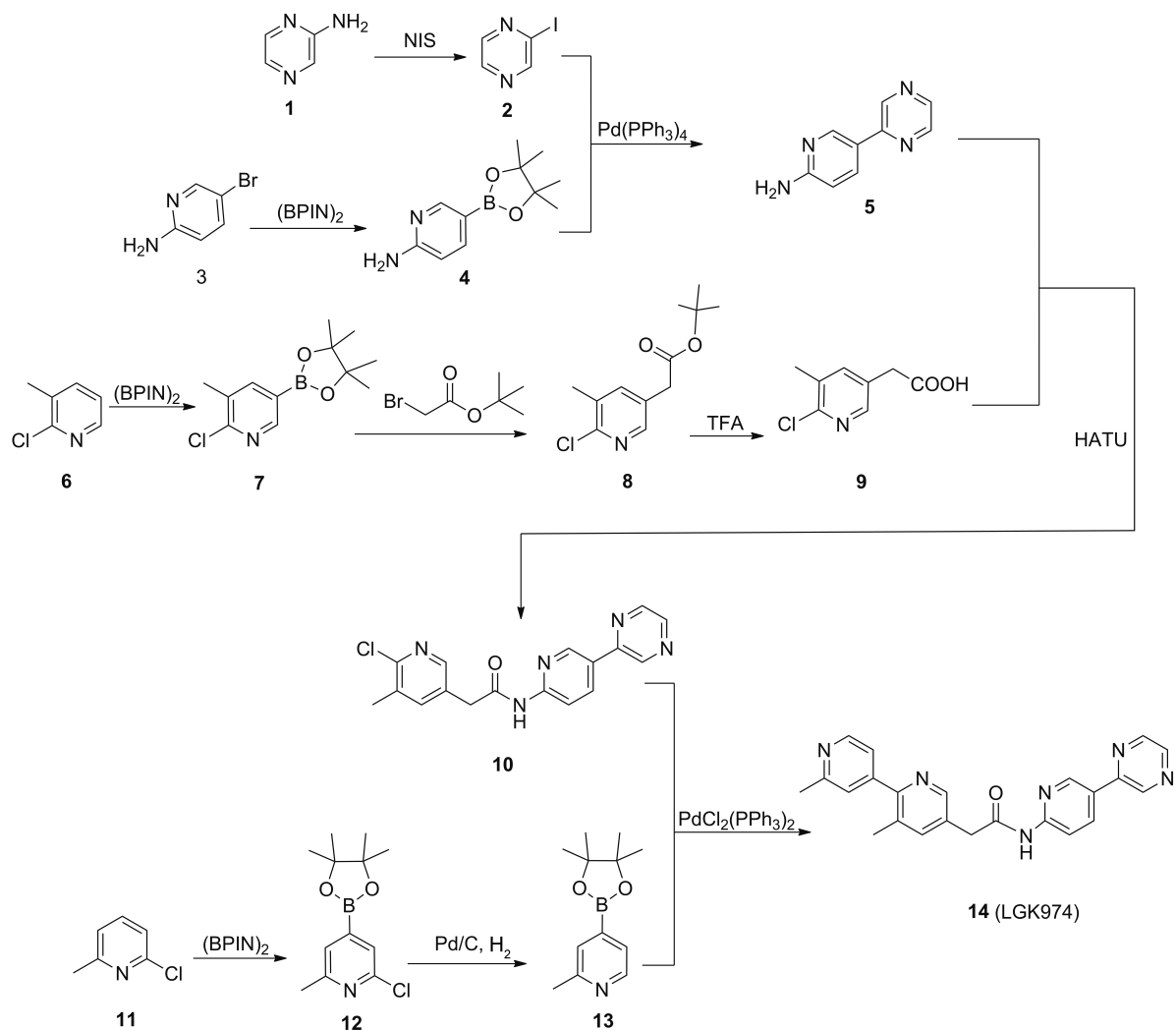
为了优化 LGK974 的合成路线, 本文以 2-氨

收稿日期: 2019-12-02; 修订日期: 2020-04-13

基金项目: 贵州省科技计划项目(黔科合 LH 字[2016]7442 号, 黔科合平台人才[2018]5781 号)

第一作者简介: 骆荣双(1996-), 女, 布依族, 贵州都匀人, 硕士, 主要从事药物合成研究。E-mail: 1649853320@qq.com

通信联系人: 黄筑艳, 副教授, 研究生导师, E-mail: tthzy@126.com



Scheme 1

基-5-溴吡啶、2-氯-3-甲基吡啶、2-氨基吡嗪、2-甲基-6-氯吡啶为起始原料,经取代、Suzuki、酰胺化等10步反应合成了LGK974 (Scheme 1),总收率11.5%,其结构经 ^1H NMR、 ^{13}C NMR和MS(ESI-TOF)确证。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

T-4型熔点仪;ZF-7型三用紫外分析仪;Bruker Advance DMX 400 MHz型核磁共振仪(TMS为内标);Agilent 1100 LC/MS型质谱仪。

所用试剂均为化学纯或分析纯。

1.2 合成

(1) 2-碘吡嗪(2)的合成

在1000 mL单口烧瓶中加入2-氨基吡嗪(1) 100.2 g (1051.4 mmol)和*N,N*-二甲基甲酰胺400

mL,于0℃缓慢加入亚硝酸钠109.3 g (1577.1 mmol)和*N*-碘代丁二酰亚胺(NIS) 355.1 g (1577.1 mmol),升温至室温,搅拌下反应4 h。缓慢倒入适量冰水中,用乙酸乙酯(3×200 mL)萃取,合并有机相,依次用饱和硫代硫酸钠溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,浓缩得黄色油状液体2 191.1 g,收率88.1%; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 8.40 (dd, $J = 1.8$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 8.52 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 8.64 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H)。

(2) 2-氨基-5-吡啶硼酸酯(4)的合成

在500 mL三口瓶中加入2-氨基-5-溴吡啶(3) 54.5 g (314.5 mmol)、联硼酸频哪醇酯(BPIN)₂ 79.0 g (330.0 mmol)、醋酸钾92.5 g (943.5 mmol), [1,1'-双(二苯基膦)二茂铁]二氯化钯11.5 g (15.8 mmol)和1,4-二氧六环300 mL,氮气保护下,升温至100℃,搅拌下反应8 h。

抽滤,滤饼用甲醇洗涤,合并滤液和洗液,旋蒸除溶,残余物用甲醇浸泡后抽滤,滤液加入活性碳,搅拌 5 h,抽滤,滤液蒸除溶剂后经正己烷打浆得白色固体 **4** 64.2 g,收率 92.6%, m. p. 98.3 ~ 101.6 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.35 (s, 12H), 4.47 (s, 2H), 6.43 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.77 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 8.44 (s, 1H)。

(3) 5-(2-吡嗪基)-2-吡啶胺(**5**)的合成

在 500 mL 三口瓶中加入 2-碘吡嗪 50.0 g (242.5 mmol)、2-氨基-5-吡啶硼酸酯 25.6 g (291.5 mmol)、碳酸钾 100.0 g (727.5 mmol)、四(三苯基膦)钯 $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$ 8.0 g (7.3 mmol) 和混合溶剂 $[V(1,4\text{-二氧六环})/V(\text{水}) = 10/1]$ 300 mL,氮气保护下,升温至 80 °C,搅拌下反应 8 h。减压浓缩,残余物加入丙酮 50 mL,抽滤,滤液浓缩,粗品加入乙酸乙酯 100 mL,抽滤得黄白色固体 **5** 32.7 g,收率 78.3%, m. p. 125.2 ~ 127.6 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 9.12 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 8.72 (m, 1H), 8.59 (m, 1H), 8.45 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 8.11 (dd, J = 8.8 Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.54 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.44 (s, 2H)。

(4) 6-氯-5-甲基-3-吡啶乙酸(**9**)的合成

在 500 mL 三口瓶中加入 2-氯-3-甲基吡啶 (**6**) 60.1 g (469.8 mmol)、联硼酸频哪醇酯 110.1 g (469.8 mmol)、甲氧基(环辛二烯)合铱二聚体 0.3 g (0.5 mmol)、4,4'-二叔丁基-2,2'-二吡啶 0.6 g (2.3 mmol) 和正己烷 300 mL,氮气保护下,升温至 60 °C,搅拌下反应 3 h。减压浓缩,残余物加入适量水中,抽滤,滤饼加入 50 mL 正己烷,搅拌 0.5 h 得黄白色固体 **7** 117.0 g,收率 98.3%, m. p. 102.6 ~ 105.8 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 8.56 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.92 (m, 1H), 2.39 (s, 3H), 1.28 (s, 12H)。

在 500 mL 三口瓶中加入 2-氯-3-甲基-4-吡啶硼酸酯 60.7 g (470.4 mmol)、磷酸钾 150.6 g (710.1 mmol)、三(邻甲苯基)膦 6.3 g (23.7 mmol)、溴乙酸叔丁酯 64.1 g (284.1 mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯 6.6 g (7.1 mmol) 和混合溶剂 $[V(\text{四氢呋喃})/V(\text{水}) = 10/1]$ 300 mL,氮气保护,搅拌下反应 12 h。过滤,滤饼用少量四氢呋喃洗涤,合并滤液和洗液,减压浓缩,残余物用混合溶剂 $[V(\text{正己烷})/V(\text{乙酸乙酯}) = 10/1]$ 浸泡,抽滤,滤液减压浓缩,残余物加入二氯甲烷 100 mL

和三氟乙酸 135.2 g (1183.5 mmol),反应 2 h。加入冰水,用二氯甲烷 (3 $\times$ 200 mL) 萃取,合并有机相,依次用饱和碳酸氢钠溶液 200 mL 洗涤,无水硫酸镁干燥,浓缩得黄色固体 **9** 20.1 g,收率 45.2%, m. p. 120.4 ~ 123.1 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 8.19 (m, 1H), 7.56 (m, 1H), 3.65 (s, 2H), 2.40 (s, 3H)。

(5) 6-氯-5-甲基-*N*-[5-(2-吡嗪基)-2-吡啶基]-3-吡啶乙酰胺(**10**)的合成

在 500 mL 三口瓶中加入 5-(2-吡嗪基)-2-吡啶胺 29.8 g (174.0 mmol)、6-氯-5-甲基-3-吡啶乙酸 32.4 g (174.0 mmol)、2-(7-偶氮苯并三氮唑)-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸酯 (HATU) 66.2 g (174.0 mmol)、三乙胺 19.2 g (191.4 mmol) 和 *N,N*-二甲基甲酰胺 200 mL,搅拌下反应 10 h。抽滤,滤液倒入适量水中,用乙酸乙酯 (3 $\times$ 100 mL) 萃取,合并有机相,依次用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,减压浓缩,残余物加入乙醚 50 mL,抽滤得白色固体 **10** 44.4 g,收率 75.5%, m. p. 223.2 ~ 226.5 °C; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz) δ : 10.39 (s 1H), 9.31 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 9.11 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 8.72 (m, 1H), 8.65 (m, 1H), 8.52 (dd, J = 8.6 Hz, 2.4 Hz, 1H), 8.20 (m, 2H), 7.73 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 3.91 (s, 2H), 2.34 (s, 3H)。

(6) 2-甲基-4-吡啶硼酸酯(**13**)的合成

在 500 mL 三口瓶中加入 2-甲基-6-氯吡啶 (**11**) 60.0 g (470.4 mmol)、联硼酸频哪醇酯 110.1 g (156.8 mmol)、甲氧基(环辛二烯)合铱二聚体 0.3 g (0.5 mmol)、4,4'-二叔丁基-2,2'-二吡啶 0.6 g (2.3 mmol) 和正己烷 300 mL,氮气保护下,升温至 60 °C,搅拌下反应 2.5 h。减压浓缩,残余物倒入适量水中,抽滤,滤饼用少量水洗涤,过滤,滤饼加入正己烷 50 mL,抽滤得白色固体 **12** 107.4 g,收率 90.0%, m. p. 105.2 ~ 107.8 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 8.56 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.92 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 1.34 (s, 12H)。

在 500 mL 三口瓶中加入 2-甲基-6-氯-吡啶硼酸酯 29.7 g (118.4 mmol)、甲酸铵 15.1 g (236.6 mmol)、钯炭 3.0 g (w_t = 5%) 和甲苯 200 mL,氮气保护,搅拌下反应 6 h。过滤,滤液减压浓缩,残余物加入丙酮 100 mL,搅拌 0.5 h;抽滤得白色固体

13 21.8 g, 收率 84.9%, m. p. 59.6 ~ 62.5 °C; ¹H NMR(CDCl₃, 400 MHz) δ: 8.51 (dd, *J* = 4.8 Hz, 1.0 Hz, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.42 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 2.55 (s, 3H), 1.34 (s, 12H)。

(7) LGK974(**14**)的合成

在 500 mL 三口瓶中加入 6-氯-5-甲基-*N*-[5-(2-吡嗪基)-2-吡啶基]-3-吡啶乙酰胺 29.4 g (88.2 mmol)、磷酸钾 56.4 g (264.6 mmol)、2-甲基-4-吡啶硼酸酯 22.8 g (105.6 mmol)、双(三苯基膦)二氯化钯 [PdCl₂(PPh₃)₂] 1.8 g (14.2 mmol) 和混合溶剂 [V(1,4-二氧六环)/V(水)/V(乙醇) = 20/1/0.5] 300 mL, 氮气保护, 搅拌下回流反应 12 h。过滤, 滤饼用少量甲醇洗涤, 合并滤液和洗液, 减压浓缩, 残余物加入少量水, 抽滤, 滤饼加入乙醚 50 mL, 搅拌 1 h; 抽滤得黄白色固体 **14** 24.1 g, 收率 70.3%, m. p. 263.8 ~ 266.9 °C; ¹H NMR(DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ: 11.08 (s 1H), 9.30 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 9.11 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 8.63 (m, 1H), 8.59 (m, 1H), 8.47 (dd, *J* = 8.6 Hz, 2.4 Hz, 1H), 8.13 (m, 3H), 7.89 (m, 1H), 7.77 (m, 1H), 7.70 (m, 1H), 3.83 (s, 2H), 2.34 (s, 3H), 2.32 (s, 3H); ¹³C NMR(DMSO, 100 MHz) δ: 168.2, 159.2, 156.8, 156.6, 150.7, 148.4, 148.34, 147.1, 144.3, 143.1, 142.2, 141.4, 133.6, 132.3, 131.3, 130.8, 130.6, 122.1, 119.7, 112.7, 41.8, 23.8, 18.6; HR-MS(ESI-TOF) *m/z*: Calcd for C₂₃H₂₀N₆O { [M + H]⁺ } 397.1771, found 397.1774。

2 结果与讨论

2.1 化合物 **10** 的合成^[9-10]

考察了不同酰胺化方法对反应的影响, 结果见表 1。由表 1 可知, 选择 HATU/TEA 体系时, 收率最高为 75%。

表 1 酰胺化方法对化合物 10 收率的影响			
Table 1 Effect of amidation methods on the yield of 10			
酰胺化体系	DCC/4-DMAP	HATU/TEA	EDC/HOBt
收率/%	50	75	18.6

2.2 化合物 **13** 的合成

合成化合物 **13** 时, 以 2-甲基-6-氯吡啶为起始原料, 通过催化剂甲氧基(环辛二烯)合铱二聚

体催化在吡啶环的 4-位成功引入硼酸酯, 在氢气、碱以及催化剂同时存在的条件下进行还原反应得到化合物 **13**。对催化剂用量和碱对 **13** 收率的影响进行了优化。

(1) 催化剂用量

文献^[11]方法表明, 反应时需加入催化剂进行催化还原, 催化剂用量对反应有较大的影响。对催化剂用量进行优化后发现, 钯碳(*wt* = 5%) 催化剂与原料质量比为 0.15/1 时, 收率最高为 89.1%。

(2) 碱

文献^[11]方法使用的碱包括碳酸氢钠、叔丁醇钾、碳酸钾、甲酸铵。在实验过程中发现, 没有碱参与反应时, 反应不能成功引发; 随着碱性的增强, 收率降低。采用甲酸铵为碱, 收率最高为 86.4% (表 2)。

表 2 碱对化合物 13 收率的影响					
Table 2 Effect of alkali on the yield of 13					
碱	-	碳酸氢钠	碳酸钠	叔丁醇钾	甲酸铵
收率/%	0	76.4	58.3	23.5	86.4

2.3 化合物 **14** 的合成

Suzuki 偶联反应为构筑芳香环间 C—C 键的有效方法^[12-15]。采用 Suzuki 偶联反应合成了化合物 **14**, 并研究了碱对收率的影响, 结果见表 3。由表 3 可知, 以磷酸钾为碱时, 收率最高为 67.9%。

表 3 碱对化合物 14 收率的影响			
Table 3 Effect of bases on the yield of 14			
碱	碳酸铯	磷酸钾	叔丁醇钾
收率/%	35.2	67.9	18.8

3 结论

以 2-氨基-5-溴吡啶和 2-氨基吡嗪、2-甲基-6-氯吡啶等为起始原料, 采用汇聚式合成法, 经取代、Suzuki、酰胺化等 10 步反应合成了 Porcupine 抑制剂 LGK974, 总收率 11.5%。该路线具有成本低、安全环保、副产物少及后处理简单等优点。

参考文献

[1] LIU J, PAN S, HSIEH M H, *et al.* Targeting wnt-

- driven cancer through the inhibition of porcupine by LGK974[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013, **110**(50):20224 – 20229.
- [2] JANG J, JUNG Y, KIM Y, *et al.* LPS-induced inflammatory response is suppressed by wnt inhibitors, dickkopf-1 and LGK974[J]. *Scientific Reports*, 2017, **7**:41612.
- [3] TIAN D, SHI Y, CHEN D X, *et al.* The wnt inhibitor LGK-974 enhances radiosensitivity of HepG2 cells by modulating Nrf2 signaling[J]. *International Journal of Oncology*, 2017, **51**(2):545 – 554.
- [4] 田丹, 王彦, 王芹, 等. LGK-974 对人肝癌细胞系 HepG2 的辐射增敏作用[J]. *辐射研究与辐射工艺学报*, 2016, **34**(6):60203 – 60203.
(TIAN D, WANG Y, WANG Q, *et al.* Radiosensitization of LGK-974 on human hepatocellular carcinoma cell line HepG2 [J]. *Journal of Radiation Research and Radiation Processing*, 2016, **34**(6):60203 – 60203.)
- [5] 董燕. 以 Wnt 信号通路 Porcupine 蛋白为靶点的小分子抑制剂的设计、合成及活性研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2016.
(DONG Y. Design, synthesis and activity of small molecule inhibitors targeting Wnt signaling pathway porcupine protein [D]. Suzhou: Suzhou University, 2016.)
- [6] 李克煌. 4-氨基嘧啶类化合物作为 WNT 信号通路 Porcupine 蛋白抑制剂的设计、合成及活性研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2016.
(LI K H. Design, synthesis and activity of 4-aminopyrimidines as porcupine protein inhibitors of WNT signaling pathway [D]. Suzhou: Suzhou University, 2016.)
- [7] CHENG D, LIU J, HAN D, *et al.* Discovery of pyridinyl acetamide derivatives as potent, selective, and orally bioavailable porcupine inhibitors[J]. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 2016, **7**(7):676 – 680.
- [8] CHENG D, ZHANG G, HAN D, *et al.* Preparation of *N*-(hetero)aryl, 2-(hetero)aryl-substituted acetamides for use as wnt signaling modulators; US 2010101849 [P]. 2010.
- [9] 朱飞, 李鑫, 陈宇航, 等. 2-[5-(3-羟基苯甲酰氨基)-1,3,4-噻二唑]基乙酸乙酯的合成[J]. *合成化学*, 2017, **25**(8):695 – 697.
(ZHU F, LI X, CHEN Y H, *et al.* Synthesis of 2-[5-(3-hydroxybenzoylamino)-1,3,4-thiadiazole] ethyl acetate[J]. *Chinese Journal of Synthetic Chemistry*, 2017, **25**(8):695 – 697.)
- [10] 陈美玲, 于世钧, 张树彪, 等. 甘氨酸二肽合成中缩合剂的选择[J]. *化学世界*, 2013, **54**(9):538 – 541.
(CHEN M L, YU S J, ZHANG S B, *et al.* Selection of condensing agent in glycine dipeptide synthesis [J]. *Chemical world*, 2013, **54**(9):538 – 541.)
- [11] DUNSFORD J J, CAVELL K J. Pd-pepsi-type expanded ring *N*-heterocyclic carbene complexes: Synthesis, characterization, and catalytic activity in Suzuki – Miyaura cross coupling [J]. *Organometallics*, 2014, **33**(11):2902 – 2905.
- [12] 李瑞, 白雪峰. Suzuki 偶联反应中钯配合物催化剂的研究进展[J]. *化学与黏合*, 2011, **33**(04):55 – 59.
(LI R, BAI X F. Research progress of palladium complex catalysts in Suzuki coupling reaction [J]. *Chemistry and Adhesion*, 2011, **33**(04):55 – 59.)
- [13] 王继彪. Suzuki 偶联反应设计含氮杂环配体及吡啶类配合物的合成、结构与功能研究[D]. 大连: 辽宁师范大学, 2015.
(WANG J C. Suzuki coupling reaction design for synthesis, structure and function of nitrogen-containing heterocyclic ligands and pyrazole complexes [D]. Dalian: Liaoning Normal University, 2015.)
- [14] 胡玲君, 聂晶晶. 应用于 Suzuki 偶联反应的金属催化剂研究进展[J]. *浙江大学学报(理学版)*, 2018, **45**(04):436 – 449.
(HU L J, NIE J J. Research progress of metal catalysts used in Suzuki coupling reactions[J]. *Journal of Zhejiang University (Science Edition)*, 2018, **45**(04):436 – 449.)
- [15] 张阳阳, 巨少英, 左川, 等. 1,2-二(二苯基膦)乙烷氯化钯(II)的合成及催化活性[J]. *合成化学*, 2018, **26**(10):738 – 743.
(ZHANG Y Y, JU S Y, ZUO C, *et al.* Synthesis and catalytic activity of 1,2-bis(diphenylphosphine) ethane palladium(II) chloride [J]. *Chinese Journal of Synthetic Chemistry*, 2018, **26**(10):738 – 743.)