

医药与日化原料

## 吲哚席夫碱类衍生物的合成及其抗 HIV-1 活性

唐文强<sup>1,2</sup>, 高艳蓉<sup>1</sup>, 仝红娟<sup>1,2</sup>, 朱周静<sup>1,2</sup>, 刘斌<sup>1,2</sup>, 张怡<sup>3</sup>

(1. 陕西国际商贸学院 医药学院, 陕西 咸阳 712046; 2. 咸阳市分子影像与药物合成重点实验室, 陕西 咸阳 712046; 3. 西安万隆制药股份有限公司, 陕西 西安 710119)

**摘要:** 为了寻找高效、低毒的人类免疫缺陷病毒-1 型 (HIV-1) 抑制剂, 以 3-吲哚甲醛衍生物为原料, 在碱催化下与芳香胺发生缩合反应合成了 34 个吲哚席夫碱类化合物。采用 FTIR、<sup>1</sup>HNMR、<sup>13</sup>CNMR 和 HRMS 对其结构进行了表征, 通过噻唑蓝 (MTT) 法测试了目标化合物在 MT-4 细胞内的抗 HIV-1 病毒株的活性。初步的生物活性测试结果表明, 这些吲哚席夫碱类化合物对 HIV-1 有良好的抑制活性。其中, 1-(5-溴-1*H*-吲哚-3-基)-*N*-(2-甲氧基苯基)甲亚胺 [ **31**, 半最大效应浓度 (EC<sub>50</sub>) = 0.06 μmol/L ] 展现出了最强的抗 HIV-1 III B 活性, 与阳性药物地拉韦啉 (DLV, EC<sub>50</sub> = 0.057 μmol/L) 相当; 同时, 化合物 **31** (EC<sub>50</sub> < 0.09 μmol/L) 还对病毒株 Clade A (92UG029)、Clade B (92US657)、Clade C (93IN101) 和 Clade E (93TH051) 也表现出了抑制活性。化合物 **31** 具有低的毒性, 其选择指数 (SI) 高于 2500.0, 明显高于 DLV (SI = 1209.3) 和依法韦仑 (EFV, SI = 321.0), 可作为先导化合物进行深入研究。

**关键词:** 吲哚; 席夫碱衍生物; HIV-1 抑制剂; 芳香胺; 合成; 医药原料

**中图分类号:** TQ460.1    **文献标识码:** A    **文章编号:** 1003-5214 (2022) 05-0942-09

## Synthesis and anti-HIV-1 activities of indole Schiff base derivatives

TANG Wenqiang<sup>1,2</sup>, GAO Yanrong<sup>1</sup>, TONG Hongjuan<sup>1,2</sup>, ZHU Zhoujing<sup>1,2</sup>, LIU Bin<sup>1,2</sup>, ZHANG Yi<sup>3</sup>

(1. School of Pharmacy, Shaanxi Institute of International Trade & Commerce, Xianyang 712046, Shaanxi, China; 2. Xianyang Key Laboratory of Molecular Imaging and Drug Synthesis, Xianyang 712046, Shaanxi, China; 3. Xi'an Wanlong Pharmaceutical Co., Ltd., Xi'an 710119, Shaanxi, China)

**Abstract:** To discover highly effective, low-toxicity inhibitors of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1), thirty-four indole Schiff base derivatives were synthesized by condensation between 3-indole-formaldehyde derivatives with aromatic amines under the catalysis of base. The structures of targeted compounds were characterized by FTIR, <sup>1</sup>HNMR, <sup>13</sup>CNMR and HRMS. The anti-HIV-1 activity of the target compounds in MT-4 cells was evaluated by thiazolyl blue (MTT) assay. The preliminary biological test results showed that these synthesized indole Schiff base derivatives had good inhibitory effect on HIV-1 growth. Especially, 1-(5-bromo-1*H*-indol-3-yl)-*N*-(2-methoxyphenyl)methanimine [**31**, concentration for 50% of maximal effect (EC<sub>50</sub>) = 0.06 μmol/L] exhibited the strongest anti-HIV-1 III B activity, which was equipotent to reference drug delavirdine (DLV, EC<sub>50</sub> = 0.057 μmol/L). Moreover, compound **31** (EC<sub>50</sub> < 0.09 μmol/L) also showed inhibitory activities against Clade A (92UG029), Clade B (92US657), Clade C (93IN101) and Clade E (93TH051). Furthermore, the toxicity of compound **31** was low, and the selectivity index (SI) was higher 2500.0, which was significantly higher than those of DLV (SI = 1209.3) and efavirenz (EFV, SI = 321.0), so compound **31** could be used as lead compound for further research.

**Key words:** indole; Schiff base derivatives; HIV-1 inhibitors; aromatic amines; synthesis; drug materials

收稿日期: 2021-11-08; 定用日期: 2021-12-27; DOI: 10.13550/j.jxhg.20211133

基金项目: 陕西省自然科学基金基础研究计划项目 (2021JQ-883, 2021JM-540); 陕西省中药绿色制造技术协同创新中心重点培育项目 (2019XT-1-02, 2019XT-1-05); 陕西高校青年科技创新团队 (陕教[2019]90 号); 咸阳市分子影像与药物合成重点实验室资助项目 (2021QXNL-PT-0008)

作者简介: 唐文强 (1988—), 男, 博士, 副教授, E-mail: twqxcq@163.com。

艾滋病 (AIDS) 的全称是获得性免疫缺陷综合征, 是由人类免疫缺陷病毒 (HIV) 感染人类免疫系统细胞导致人体的免疫功能缺陷, 继而引发一系列其他感染和肿瘤等, 已成为严重危害人类生命健康的重大传染性疾病之一<sup>[1-3]</sup>。HIV 属于逆转录病毒家族, 主要包括 HIV-1 和 HIV-2 两种亚型, 由于 HIV-2 型的传染性和致病性都远不如 HIV-1 型, 所以 HIV-1 病毒成为人们研究的重点<sup>[4-6]</sup>。目前, 临床上用于治疗艾滋病的药物, 如地拉韦啉 (Delavirdine, DLV)、依法韦仑 (Efavirenz, EFV) 等<sup>[7-9]</sup>, 能够控制病人体内的艾滋病病毒, 使病人的免疫系统有机会修复并恢复功能, 从而延长病人的生命、提高生活质量。但长期服药导致 HIV-1 在复制过程中容易发生一些结构和功能的改变产生耐药性, 使药物不再起抑制作用而使病情恶化。此外, 目前用于治疗的药物存在细胞毒性较高的缺点, 这也是目前艾滋病尚不能完全被治愈的重要原因之一。因此, 开发出高效、低毒、结构多样的抗 HIV-1 药物已成为当前国内外药物研发的热点之一。

吡啶作为一个重要的药效团, 广泛存在于多种活性物质中, 如天然产物以及重要的药物合成中间体等。近年来, 基于吡啶骨架的 HIV-1 逆转录酶抑制剂的报道也越来越多, 其中部分化合物展现出了优秀的抗 HIV-1 活性且低毒<sup>[10-12]</sup>。与吡啶一样, 席夫碱也是一类重要的有机化合物, 具有广泛的生物活性, 在抗 HIV-1<sup>[13]</sup>、抑菌<sup>[14]</sup>、抗肿瘤<sup>[15]</sup>、抗炎<sup>[16]</sup>等多方面具有良好的生物活性, 现已被广泛应用于医药、农药等领域。由于席夫碱结构独特且活性优良, 常将其作为药效团引入到其他活性骨架中来增加药理活性。例如: 陈善龙等<sup>[17]</sup>将席夫碱引入到组蛋白去乙酰化酶抑制剂 (HDACi) 中, 增强了 HDACi 的酶抑制活性和抗肿瘤活性; HU 等<sup>[18]</sup>将席夫碱引入咪唑环中增加了其抗菌活性。

基于上述吡啶和席夫碱具有的良好药理活性且低毒的优点, 本文拟利用活性亚结构拼接原理将吡啶和席夫碱进行偶联, 设计合成吡啶席夫碱类衍生物。通过这种活性成分有效叠加的策略, 以望得到抗 HIV-1 活性良好、具有双活性单元的吡啶席夫碱类化合物。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

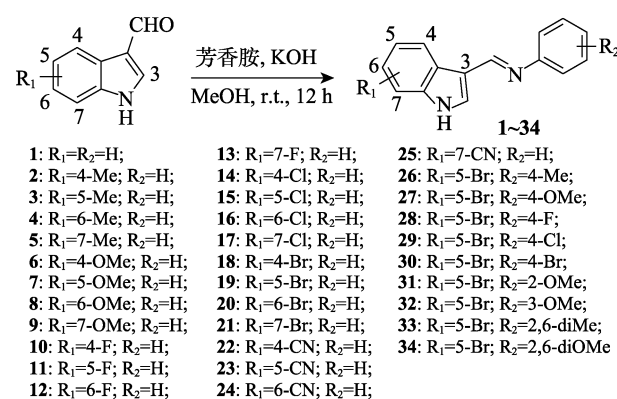
吡啶甲醛、芳香胺、芳香醛, 分析纯, 北京伊诺凯科技有限公司; 其余试剂, 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; GF254 硅胶薄层板、200~300 目柱层析硅胶, 青岛海洋化工有限公司; 无水甲醇 (MeOH) 是由 1 L 甲醇在 5 g 镁屑和 0.5 g 碘中回

流 3 h 后重蒸制得; 水为蒸馏水; DMEM 培养基、胎牛血, 美国 HyClone 公司; HIV-1 病毒, 第四军医大学; MT-4 细胞, 上海钰博生物科技有限公司, 本实验室冻存使用。

Bruker AM-400 MHz 型核磁共振波谱仪, 德国 Bruker 公司; Agilent 6120 型液质联用仪、Agilent 1260 液相色谱仪, 美国 Agilent 公司; CKX31 型倒置显微镜, 美国奥林巴斯公司; 超净工作台, 北京半导体器件一厂; BB16/BB5060 型 CO<sub>2</sub> 培养箱, 上海力创科学仪器有限公司; ELx800 通用酶标仪, 美国 BioTek 公司。

### 1.2 吡啶席夫碱类化合物 (1~34) 的合成

目标吡啶席夫碱类化合物的合成路线如下所示。



以化合物 1-(1*H*-吡啶-3-基)-*N*-苯基甲亚胺 (1) 的合成为例。

氩气保护下, 将 0.741 g (5.10 mmol) 3-吡啶甲醛和 0.475 g (5.10 mmol) 苯胺溶于 20 mL 无水甲醇中, 加入 1.431 g (25.5 mmol) KOH, 在室温下继续反应 12 h 后, 将析出的沉淀过滤, 用少量无水乙醇洗涤沉淀 2 次, 得到固体粗产品, 再经无水乙醇重结晶得 1-(1*H*-吡啶-3-基)-*N*-苯基甲亚胺, 经真空 50 °C 干燥 12 h, 得白色固体化合物 1, 收率 78.1%; 熔点: 155~157 °C。产物纯度采用 HPLC 峰面积归一化法测定: 色谱柱 Agilent ZORBAX-SB-C<sub>18</sub> 柱 (4.6 mm×250 mm×5.0 μm); 梯度条件 (0 min, 流动相为体积分数为 10% 乙腈水溶液; 20 min, 流动相为体积分数为 30% 乙腈水溶液; 30 min, 流动相为体积分数为 60% 乙腈水溶液); 检测波长 260 nm; 流速 1 mL/min; 柱温 30 °C; 进样量 10 μL。其 HPLC 纯度 > 95%。IR (ν/cm<sup>-1</sup>): 3211 (N—H), 1677 (C=N), 1537 (C=C); <sup>1</sup>HNMR (400 MHz, 丙酮-*d*<sub>6</sub>), δ: 11.80 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 7.50 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.43 (t, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.41~7.35 (m, 3H), 7.31~7.28 (m, 1H), 7.23 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.09 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.99 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H); <sup>13</sup>CNMR (100 MHz, 丙酮-*d*<sub>6</sub>), δ: 155.7, 143.2, 137.2, 131.5, 130.2, 128.4, 126.4, 127.1, 121.7, 121.3, 119.4, 111.4, 109.4; HRMS (ESI),

$m/Z$ :  $[C_{15}H_{12}N_2+H]^+$  理论值 221.2830, 实测值 221.2831。

其余产物的制备方法同上, 只需改变加入的取代吲哚甲醛和相应的芳香胺。

1-(4-甲基-1*H*-吲哚-3-基)-*N*-苯基甲亚胺 (2):

白色固体, 收率 84.2%; 熔点: 172~174 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/cm^{-1}$ ): 3247 (N—H), 1681 (C=N), 1535 (C=C);  $^1H$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.68 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 7.53 (t,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.48 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.41 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 7.39~7.35 (m, 1H), 7.32 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.23 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 6.92 (t,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 2.39 (s, 3H);  $^{13}C$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 156.3, 144.1, 136.8, 132.7, 131.4, 130.4, 128.1, 127.5, 124.6, 123.4, 120.5, 111.8, 109.3, 20.8; HRMS (ESI),  $m/Z$ :  $[C_{16}H_{14}N_2+H]^+$  理论值 235.3100, 实测值 235.3102。

1-(5-甲基-1*H*-吲哚-3-基)-*N*-苯基甲亚胺 (3):

白色固体, 收率 89.5%; 熔点: 161~164 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/cm^{-1}$ ): 3226 (N—H), 1678 (C=N), 1535 (C=C);  $^1H$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.58 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 7.55 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.69 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.51 (t,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 7.49~7.42 (m, 3H), 7.32 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 6.99~6.96 (m, 1H), 2.37 (s, 3H);  $^{13}C$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 155.1, 143.9, 136.1, 132.1, 130.8, 129.2, 128.3, 127.1, 126.1, 125.5, 124.3, 112.2, 109.2, 21.7; HRMS (ESI),  $m/Z$ :  $[C_{16}H_{14}N_2+H]^+$  理论值 235.3100, 实测值 235.3101。

1-(6-甲基-1*H*-吲哚-3-基)-*N*-苯基甲亚胺 (4):

白色固体, 收率 81.3%; 熔点: 177~179 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/cm^{-1}$ ): 3221 (N—H), 1675 (C=N), 1536 (C=C);  $^1H$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.66 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 7.69 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.59 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.51 (t,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 7.49~7.42 (m, 3H), 7.35 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.12 (s, 1H), 2.35 (s, 3H);  $^{13}C$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 156.4, 144.2, 135.7, 132.2, 130.4, 128.1, 129.7, 127.5, 126.1, 124.5, 123.2, 118.6, 110.4, 21.3; HRMS (ESI),  $m/Z$ :  $[C_{16}H_{14}N_2+H]^+$  理论值 235.3100, 实测值 235.3103。

1-(7-甲基-1*H*-吲哚-3-基)-*N*-苯基甲亚胺 (5):

白色固体, 收率 90.7%; 熔点: 168~171 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/cm^{-1}$ ): 3225 (N—H), 1678 (C=N), 1539 (C=C);  $^1H$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.56 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 7.64 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.55 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.44 (t,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.37 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.35~7.31 (m, 1H), 7.07 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 6.92 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 2.32 (s, 3H);  $^{13}C$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 155.2, 143.7, 136.4, 133.4, 130.7, 128.4, 128.1, 126.6, 125.3, 121.7, 120.8, 119.3, 110.2, 16.9; HRMS (ESI),  $m/Z$ :  $[C_{16}H_{14}N_2+H]^+$  理论值 235.3100, 实测值 235.3104。

1-(4-甲氧基-1*H*-吲哚-3-基)-*N*-苯基甲亚胺 (6):

白色固体, 收率 76.8%; 熔点: 166~169 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/cm^{-1}$ ): 3224 (N—H), 1672 (C=N), 1535 (C=C);  $^1H$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.26 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 7.53 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 7.50 (t,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.46 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.36 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.34~7.30 (m, 1H), 7.29 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 6.83 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 3.81 (s, 3H);  $^{13}C$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 157.2, 153.4, 145.3, 135.4, 131.5, 130.8, 129.3, 128.2, 126.3, 122.6, 112.4, 108.2, 103.5, 55.4; HRMS (ESI),  $m/Z$ :  $[C_{16}H_{14}N_2O+H]^+$  理论值 251.3090, 实测值 251.3089。

1-(5-甲氧基-1*H*-吲哚-3-基)-*N*-苯基甲亚胺 (7):

白色固体, 收率 85.5%; 熔点: 175~177 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/cm^{-1}$ ): 3231 (N—H), 1679 (C=N), 1537 (C=C);  $^1H$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.27 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 7.57 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.52 (s, 1H), 7.47 (t,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.44 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 7.34 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.32~7.29 (m, 1H), 6.81 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 3.87 (s, 3H);  $^{13}C$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 158.6, 154.4, 145.8, 135.8, 131.1, 130.4, 129.2, 127.7, 127.4, 118.6, 113.2, 112.1, 106.7, 55.8; HRMS (ESI),  $m/Z$ :  $[C_{16}H_{14}N_2O+H]^+$  理论值 251.3090, 实测值 251.3088。

1-(6-甲氧基-1*H*-吲哚-3-基)-*N*-苯基甲亚胺 (8):

白色固体, 收率 72.3%; 熔点: 178~180 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/cm^{-1}$ ): 3236 (N—H), 1672 (C=N), 1533 (C=C);  $^1H$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.34 (s, 1H), 8.88 (s, 1H), 7.56 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.51 (s, 1H), 7.45 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.43 (t,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 7.41~7.33 (m, 3H), 6.99 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 3.87 (s, 3H);  $^{13}C$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 157.9, 156.2, 146.1, 135.6, 130.7, 130.5, 129.4, 128.1, 123.4, 120.4, 112.8, 109.5, 101.4, 55.2; HRMS (ESI),  $m/Z$ :  $[C_{16}H_{14}N_2O+H]^+$  理论值 251.3090, 实测值 251.3091。

1-(7-甲氧基-1*H*-吲哚-3-基)-*N*-苯基甲亚胺 (9):

白色固体, 收率 84.7%; 熔点: 172~174 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/cm^{-1}$ ): 3241 (N—H), 1675 (C=N), 1539 (C=C);  $^1H$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.41 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 7.67 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.50 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 7.44 (t,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 7.41 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.39~7.35 (m, 1H), 7.12 (t,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 6.85 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 3.85 (s, 3H);  $^{13}C$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 158.2, 147.8, 146.3, 132.3, 130.2, 129.4, 128.8, 127.9, 126.8, 121.5, 113.9, 111.9, 104.7, 55.7; HRMS (ESI),  $m/Z$ :  $[C_{16}H_{14}N_2O+H]^+$  理论值 251.3090, 实测值 251.3092。

1-(4-氟-1*H*-吲哚-3-基)-*N*-苯基甲亚胺 (10):

浅黄色固体, 收率 73.6%; 熔点: 160~162 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/cm^{-1}$ ): 3237 (N—H), 1672 (C=N), 1533 (C=C);  $^1H$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.44 (s, 1H), 8.92 (s, 1H), 7.56 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.52 (t,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.43 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 7.40 (d,  $J =$

8.0 Hz, 1H), 7.39~7.35 (m, 1H), 7.32 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 6.87 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 160.4, 157.0 (d,  $^1J_{\text{C-F}} = 248.8$  Hz), 145.3, 138.1 (d,  $^3J_{\text{C-F}} = 10.7$  Hz), 131.1, 130.2, 128.6, 124.4, 123.4 (d,  $^3J_{\text{C-F}} = 7.9$  Hz), 117.4 (d,  $^2J_{\text{C-F}} = 18$  Hz), 116.4 (d,  $^2J_{\text{C-F}} = 27.0$  Hz), 107.9, 105.8 (d,  $^3J_{\text{C-F}} = 9.9$  Hz); HRMS (ESI),  $m/z$ :  $[\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{FN}_2+\text{H}]^+$ 理论值 239.2734, 实测值 239.2736。

1-(5-氟-1*H*-吡啶-3-基)-*N*-苯基甲亚胺 (**11**): 浅黄色固体, 收率 78.2%; 熔点: 154~157 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3233 (N—H), 1679 (C=N), 1538 (C=C);  $^1\text{H}$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.51 (s, 1H), 8.93 (s, 1H), 7.59 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.50 (t,  $J = 2.8$  Hz, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.38~7.35 (m, 3H), 7.32 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 6.84 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 160.1, 158.1 (d,  $^1J_{\text{C-F}} = 235.3$  Hz), 145.2, 132.8, 131.2, 130.7, 127.9, 124.7, 119.8 (d,  $^2J_{\text{C-F}} = 18.0$  Hz), 112.3 (d,  $^2J_{\text{C-F}} = 27.2$  Hz), 111.9 (d,  $^3J_{\text{C-F}} = 10.1$  Hz), 108.3, 106.5; HRMS (ESI),  $m/z$ :  $[\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{FN}_2+\text{H}]^+$ 理论值 239.2734, 实测值 239.2737。

1-(6-氟-1*H*-吡啶-3-基)-*N*-苯基甲亚胺 (**12**): 浅黄色固体, 收率 80.7%; 熔点: 166~168 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3231 (N—H), 1672 (C=N), 1532 (C=C);  $^1\text{H}$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.54 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 7.69 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.58 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.55 (t,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 7.48~7.35 (m, 3H), 7.31 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.08 (s, 1H);  $^{13}\text{C}$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 160.1, 159.4 (d,  $^1J_{\text{C-F}} = 237.4$  Hz), 145.2, 137.4 (d,  $^3J_{\text{C-F}} = 10.1$  Hz), 131.6, 130.9, 129.7, 125.1, 123.1, 122.5, 109.8, 109.2 (d,  $^2J_{\text{C-F}} = 24.2$  Hz), 98.3 (d,  $^2J_{\text{C-F}} = 25.4$  Hz); HRMS (ESI),  $m/z$ :  $[\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{FN}_2+\text{H}]^+$ 理论值 239.2734, 实测值 239.2732。

1-(7-氟-1*H*-吡啶-3-基)-*N*-苯基甲亚胺 (**13**): 浅黄色固体, 收率 73.3%; 熔点: 173~176 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3237 (N—H), 1676 (C=N), 1537 (C=C);  $^1\text{H}$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.51 (s, 1H), 8.93 (s, 1H), 7.64 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.58 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.53 (t,  $J = 2.8$  Hz, 1H), 7.51~7.41 (m, 3H), 7.33 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.21 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 160.3, 149.2 (d,  $^1J_{\text{C-F}} = 242.9$  Hz), 145.5, 132.8 (d,  $^2J_{\text{C-F}} = 15.5$  Hz), 131.4, 130.2, 128.8, 125.9, 125.2, 122.6 (d,  $^3J_{\text{C-F}} = 13.2$  Hz), 116.1, 108.7 (d,  $^2J_{\text{C-F}} = 15.7$  Hz), 103.7; HRMS (ESI),  $m/z$ :  $[\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{FN}_2+\text{H}]^+$ 理论值 239.2734, 实测值 239.2733。

1-(4-氯-1*H*-吡啶-3-基)-*N*-苯基甲亚胺 (**14**): 浅黄色固体, 收率 78.4%; 熔点: 192~195 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3244 (N—H), 1678 (C=N), 1536 (C=C);  $^1\text{H}$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.61

(s, 1H), 8.89 (s, 1H), 7.60 (t,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 7.56 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.47 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.39~7.35 (m, 1H), 7.29 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.18 (t,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.05 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 157.8, 143.5, 136.5, 130.3, 129.5, 128.3, 128.1, 125.3, 124.8, 122.9, 120.4, 109.6, 108.4; HRMS (ESI),  $m/z$ :  $[\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{ClN}_2+\text{H}]^+$ 理论值 255.7250, 实测值 255.7248。

1-(5-氯-1*H*-吡啶-3-基)-*N*-苯基甲亚胺 (**15**): 浅黄色固体, 收率 81.6%; 熔点: 188~190 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3236 (N—H), 1672 (C=N), 1539 (C=C);  $^1\text{H}$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.63 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 7.58 (t,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.52 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 7.45 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.40~7.37 (m, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.18 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 6.92 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 157.2, 143.5, 134.7, 130.5, 129.6, 128.2, 126.1, 125.8, 125.6, 124.3, 120.9, 112.4, 109.8; HRMS (ESI),  $m/z$ :  $[\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{ClN}_2+\text{H}]^+$ 理论值 255.7250, 实测值 255.7247。

1-(6-氯-1*H*-吡啶-3-基)-*N*-苯基甲亚胺 (**16**): 浅黄色固体, 收率 83.1%; 熔点: 197~199 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3234 (N—H), 1675 (C=N), 1537 (C=C);  $^1\text{H}$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.59 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 7.66 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.59 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.56 (t,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.51~7.42 (m, 3H), 7.39 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.28 (s, 1H);  $^{13}\text{C}$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 157.2, 143.3, 136.7, 130.6, 129.5, 128.4, 127.5, 125.3, 124.5, 123.1, 121.4, 114.8, 108.2; HRMS (ESI),  $m/z$ :  $[\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{ClN}_2+\text{H}]^+$ 理论值 255.7250, 实测值 255.7252。

1-(7-氯-1*H*-吡啶-3-基)-*N*-苯基甲亚胺 (**17**): 浅黄色固体, 收率 80.9%; 熔点: 184~187 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3237 (N—H), 1672 (C=N), 1534 (C=C);  $^1\text{H}$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.58 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 7.62 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.59 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.53 (t,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.46 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.39~7.35 (m, 1H), 7.31 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.29 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 157.6, 143.2, 136.4, 130.3, 129.7, 128.8, 127.5, 126.2, 121.7, 121.3, 120.4, 118.5, 109.6; HRMS (ESI),  $m/z$ :  $[\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{ClN}_2+\text{H}]^+$ 理论值 255.7250, 实测值 255.7253。

1-(4-溴-1*H*-吡啶-3-基)-*N*-苯基甲亚胺 (**18**): 浅黄色固体, 收率 75.4%; 熔点: 204~206 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3239 (N—H), 1678 (C=N), 1532 (C=C);  $^1\text{H}$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.52 (s, 1H), 8.94 (s, 1H), 7.86 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.57 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 7.49 (t,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.45 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.37 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.37~7.32 (m, 1H), 7.11 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 160.1, 144.2, 136.5, 130.8, 130.1, 127.8,

127.6, 126.5, 123.2, 122.4, 112.5, 110.3, 105.6; HRMS (ESI),  $m/Z$ :  $[C_{15}H_{11}BrN_2+H]^+$ 理论值 300.1790, 实测值 300.1791。

1-(5-溴-1*H*-吡啶-3-基)-*N*-苯基甲亚胺 (**19**): 浅黄色固体, 收率 76.9%; 熔点: 199~201 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/cm^{-1}$ ): 3236 (N—H), 1674 (C=N), 1538 (C=C);  $^1H$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.54 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.54 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.45 (t,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 7.41 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.37 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.35~7.31 (m, 1H), 7.08 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H);  $^{13}C$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 159.2, 143.5, 134.9, 130.7, 130.5, 128.4, 127.6, 127.4, 124.1, 123.5, 114.5, 112.7, 105.6; HRMS (ESI),  $m/Z$ :  $[C_{15}H_{11}BrN_2+H]^+$ 理论值 300.1790, 实测值 300.1793。

1-(6-溴-1*H*-吡啶-3-基)-*N*-苯基甲亚胺 (**20**): 浅黄色固体, 收率 74.6%; 熔点: 207~209 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/cm^{-1}$ ): 3238 (N—H), 1678 (C=N), 1535 (C=C);  $^1H$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.55 (s, 1H), 8.94 (s, 1H), 7.72 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.56 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.48~7.40 (m, 4H), 7.38 (s, 1H), 7.31 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H);  $^{13}C$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 159.6, 143.8, 137.5, 130.5, 130.2, 127.7, 126.7, 125.1, 123.8, 123.4, 116.2, 114.2, 105.7; HRMS (ESI),  $m/Z$ :  $[C_{15}H_{11}BrN_2+H]^+$ 理论值 300.1790, 实测值 300.1792。

1-(7-溴-1*H*-吡啶-3-基)-*N*-苯基甲亚胺 (**21**): 浅黄色固体, 收率 82.1%; 熔点: 211~214 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/cm^{-1}$ ): 3232 (N—H), 1674 (C=N), 1537 (C=C);  $^1H$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.58 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 7.62 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.59 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.49 (t,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.45 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.39~7.35 (m, 1H), 7.31 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.29 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H);  $^{13}C$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 158.3, 144.1, 135.3, 130.7, 130.1, 128.6, 128.3, 127.5, 127.2, 122.4, 121.8, 109.6, 105.3; HRMS (ESI),  $m/Z$ :  $[C_{15}H_{11}BrN_2+H]^+$ 理论值 300.1790, 实测值 300.1788。

1-(4-氰基-1*H*-吡啶-3-基)-*N*-苯基甲亚胺 (**22**): 白色固体, 收率 71.8%; 熔点: 216~218 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/cm^{-1}$ ): 3232 (N—H), 2228 (—CN), 1677 (C=N), 1539 (C=C);  $^1H$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.33 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.14 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.68 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.62 (t,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 7.57 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.49 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 7.46 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.39~7.35 (m, 1H);  $^{13}C$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 160.1, 144.3, 138.2, 130.8, 130.4, 127.7, 127.5, 124.1, 123.8, 121.4, 119.6, 108.3, 103.4, 101.7; HRMS (ESI),  $m/Z$ :  $[C_{16}H_{11}N_3+H]^+$ 理论值 246.2930, 实测值 246.2933。

1-(5-氰基-1*H*-吡啶-3-基)-*N*-苯基甲亚胺 (**23**): 白色固体, 收率 76.4%; 熔点: 221~224 °C; HPLC

纯度 > 95%。IR ( $\nu/cm^{-1}$ ): 3239 (N—H), 2226 (—CN), 1678 (C=N), 1535 (C=C);  $^1H$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.37 (s, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 7.69 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.62 (t,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 7.57 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.52~7.41 (m, 3H), 7.39~7.35 (m, 1H);  $^{13}C$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 159.2, 143.2, 138.7, 130.9, 130.7, 127.8, 127.5, 125.4, 124.1, 123.5, 112.6, 109.7, 100.6, 103.4; HRMS (ESI),  $m/Z$ :  $[C_{16}H_{11}N_3+H]^+$ 理论值 246.2930, 实测值 246.2931。

1-(6-氰基-1*H*-吡啶-3-基)-*N*-苯基甲亚胺 (**24**): 白色固体, 收率 75.8%; 熔点: 218~220 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/cm^{-1}$ ): 3237 (N—H), 2224 (—CN), 1671 (C=N), 1536 (C=C);  $^1H$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.32 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.74 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.68 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.64 (t,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.54 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.52~7.41 (m, 3H);  $^{13}C$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 159.5, 143.1, 137.2, 130.7, 130.5, 127.6, 126.4, 125.8, 124.3, 119.5, 111.5, 110.4, 107.4, 102.3; HRMS (ESI),  $m/Z$ :  $[C_{16}H_{11}N_3+H]^+$ 理论值 246.2930, 实测值 246.2934。

1-(7-氰基-1*H*-吡啶-3-基)-*N*-苯基甲亚胺 (**25**): 白色固体, 收率 81.2%; 熔点: 214~216 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/cm^{-1}$ ): 3232 (N—H), 2228 (—CN), 1675 (C=N), 1534 (C=C);  $^1H$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.35 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 8.06 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 7.67 (t,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 7.62 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.54 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.47 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.39~7.36 (m, 2H);  $^{13}C$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 159.5, 143.5, 138.9, 130.5, 130.2, 128.1, 127.5, 126.6, 126.1, 124.2, 123.6, 109.6, 108.4, 93.9; HRMS (ESI),  $m/Z$ :  $[C_{16}H_{11}N_3+H]^+$ 理论值 246.2930, 实测值 246.2932。

1-(5-溴-1*H*-吡啶-3-基)-*N*-(4-甲基苯基)甲亚胺 (**26**): 浅黄色固体, 收率 80.7%; 熔点: 199~202 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/cm^{-1}$ ): 3242 (N—H), 1678 (C=N), 1537 (C=C);  $^1H$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.62 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.54 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.51 (t,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.36 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.14 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 6.94 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 2.31 (s, 3H);  $^{13}C$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 158.9, 143.2, 137.3, 136.8, 130.4, 129.2, 125.3, 124.1, 123.8, 121.4, 116.7, 114.5, 106.2, 21.3; HRMS (ESI),  $m/Z$ :  $[C_{16}H_{13}BrN_2+H]^+$ 理论值 314.2060, 实测值 314.2057。

1-(5-溴-1*H*-吡啶-3-基)-*N*-(4-甲氧基苯基)甲亚胺 (**27**): 浅黄色固体, 收率 84.3%; 熔点: 191~193 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/cm^{-1}$ ): 3241 (N—H), 1679 (C=N), 1536 (C=C);  $^1H$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.64 (s, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.04 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.94 (s, 1H), 7.56 (t,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 7.39 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.17 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 6.85

(d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 3.87 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 159.4, 158.1, 141.1, 136.7, 130.7, 125.5, 124.3, 124.0, 121.3, 117.5, 115.4, 113.9, 106.4, 55.3; HRMS (ESI),  $m/z$ :  $[\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{BrN}_2\text{O}+\text{H}]^+$ 理论值 330.2050, 实测值 330.2052。

1-(5-溴-1*H*-吡啶-3-基)-*N*-(4-氟苯基)甲亚胺 (**28**): 浅黄色固体, 收率 82.9%; 熔点: 196~199 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3244 (N—H), 1672 (C=N), 1532 (C=C);  $^1\text{H}$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.42 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.68 (d,  $J = 2.4$  Hz, 2H), 7.55 (t,  $J = 2.8$  Hz, 1H), 7.43 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 7.28 (t,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.21 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 163.0 (d,  $^1J_{\text{C-F}} = 247.5$  Hz), 161.4, 146.2, 136.5, 130.2, 126.1, 124.1, 123.8, 123.3 (d,  $^3J_{\text{C-F}} = 8.5$  Hz), 115.6 (d,  $^2J_{\text{C-F}} = 23.2$  Hz), 116.9, 115.2, 107.4; HRMS (ESI),  $m/z$ :  $[\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{BrFN}_2+\text{H}]^+$ 理论值 318.1694, 实测值 318.1697。

1-(5-溴-1*H*-吡啶-3-基)-*N*-(4-氯苯基)甲亚胺 (**29**): 浅黄色固体, 收率 79.4%; 熔点: 221~224 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3239 (N—H), 1678 (C=N), 1538 (C=C);  $^1\text{H}$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.39 (s, 1H), 8.92 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.71 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.53 (t,  $J = 2.8$  Hz, 1H), 7.48 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.39 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 7.36~7.32 (m, 1H), 7.07 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 160.8, 145.4, 136.4, 135.2, 130.6, 129.2, 125.8, 124.6, 124.3, 123.1, 117.4, 115.9, 107.1; HRMS (ESI),  $m/z$ :  $[\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{BrClN}_2+\text{H}]^+$ 理论值 334.6210, 实测值 334.6214。

1-(5-溴-1*H*-吡啶-3-基)-*N*-(4-溴苯基)甲亚胺 (**30**): 浅黄色固体, 收率 85.2%; 熔点: 215~218 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3237 (N—H), 1672 (C=N), 1534 (C=C);  $^1\text{H}$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.42 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.57 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.51 (t,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 7.47 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.42 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.25 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 160.3, 145.1, 136.2, 132.4, 130.8, 125.1, 124.2, 123.8, 122.3, 121.9, 116.8, 114.7, 106.8; HRMS (ESI),  $m/z$ :  $[\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{Br}_2\text{N}_2+\text{H}]^+$ 理论值 379.0750, 实测值 379.0752。

1-(5-溴-1*H*-吡啶-3-基)-*N*-(2-甲氧基苯基)甲亚胺 (**31**): 浅黄色固体, 收率 71.7%; 熔点: 210~212 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3236 (N—H), 1672 (C=N), 1539 (C=C);  $^1\text{H}$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.16 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.53 (t,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 7.49 (t,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.41 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.31 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 7.29~7.26 (m, 1H), 7.06 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 6.94 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 3.87 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 157.2, 156.5, 139.1, 136.1, 130.5, 127.1, 125.7, 124.3, 123.6, 121.2, 120.4, 119.3, 117.2, 114.8, 106.8,

56.4; HRMS (ESI),  $m/z$ :  $[\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{BrN}_2\text{O}+\text{H}]^+$ 理论值 330.2050, 实测值 330.2051。

1-(5-溴-1*H*-吡啶-3-基)-*N*-(3-甲氧基苯基)甲亚胺 (**32**): 浅黄色固体, 收率 76.9%; 熔点: 204~207 °C; HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3231 (N—H), 1675 (C=N), 1536 (C=C);  $^1\text{H}$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.54 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.55 (t,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.47 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.42 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.29 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.19 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 7.11 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 6.85 (s, 1H);  $^{13}\text{C}$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 161.2, 159.9, 149.8, 136.4, 132.3, 130.3, 125.5, 124.6, 123.4, 118.9, 115.6, 114.5, 108.8, 107.9, 106.4, 55.8; HRMS (ESI),  $m/z$ :  $[\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{BrN}_2\text{O}+\text{H}]^+$ 理论值 330.2050, 实测值 330.2052。

1-(5-溴-1*H*-吡啶-3-基)-*N*-(2,6-二甲苯基)甲亚胺 (**33**): 浅黄色固体, 收率 78.9%; 熔点: 216~219 °C。HPLC 纯度 > 95%。IR ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3237 (N—H), 1672 (C=N), 1538 (C=C);  $^1\text{H}$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.54 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.47 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 7.43 (t,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 7.37 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.21 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 6.95 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 2.32 (s, 6H);  $^{13}\text{C}$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 157.8, 149.2, 136.7, 130.5, 130.2, 128.1, 127.4, 125.3, 124.2, 123.7, 116.7, 114.4, 106.5, 20.1; HRMS (ESI),  $m/z$ :  $[\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{BrN}_2+\text{H}]^+$ 理论值 328.2330, 实测值 328.2334。

1-(5-溴-1*H*-吡啶-3-基)-*N*-(2,6-二甲氧基苯基)甲亚胺 (**34**): 浅黄色固体, 收率 75.3%; 熔点: 211~213 °C; 纯度 > 95%。IR ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3238 (N—H), 1677 (C=N), 1535 (C=C);  $^1\text{H}$ NMR (400 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 11.54 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.41 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.47 (t,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.39 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.23 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 6.92 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 3.86 (s, 6H);  $^{13}\text{C}$ NMR (100 MHz, 丙酮- $d_6$ ),  $\delta$ : 155.6, 152.1, 136.5, 130.6, 129.3, 128.6, 124.8, 123.9, 123.6, 116.5, 115.2, 109.4, 106.7, 55.7; HRMS (ESI),  $m/z$ :  $[\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{BrN}_2\text{O}_2+\text{H}]^+$ 理论值 360.2310, 实测值 360.2314。

### 1.3 体外抗 HIV-1 细胞活性测试

#### 1.3.1 实验原理

MT-4 细胞在感染 HIV-1 后会发病死亡, 而加入 HIV-1 抑制剂则可存活<sup>[19]</sup>。因此, 采用 HIV-1/MT-4 细胞系统来评价吡啶席夫碱类化合物的 HIV-1 抑制活性。当被 HIV-1 感染的 MT-4 细胞中加入待测化合物, 经过孵育后向细胞中加入噻唑蓝 (MTT) 溶液, 再用二甲亚砜 (DMSO) 将甲瓚结晶溶解后用通用酶标仪在 540 nm 波长处测定孔板中每孔 MT-4 细胞的吸光度 ( $A$ )。根据式 (1) 计算细胞抑制率:

$$I/\% = \frac{A_a - A_c}{A_b - A_c} \times 100 \quad (1)$$

式中： $I$ 为抑制率，%； $A_a$ 为加 MT-4 细胞与吡啶席夫碱类化合物后的吸光度； $A_c$ 为对照组（指的是不加药物，但加入 HIV-1 感染细胞，其他的溶液培养基、MTT 溶液、DMSO）吸光度； $A_b$ 为空白组（指的是不加药物但加入未被 HIV-1 感染的 MT-4 细胞，其他的溶液培养基、MTT 溶液、DMSO）吸光度。

同时，根据式（2）计算测试化合物对未感染病毒 MT-4 的细胞病变率  $P$ ：

$$P/\% = \frac{A_d - A_s}{A_e - A_s} \times 100 \quad (2)$$

式中： $P$ 为病变率，%； $A_d$ 为 MT-4 细胞与吡啶席夫碱类化合物后的吸光度； $A_s$ 为空白组（指的是不加药物及 MT-4 细胞，但加入其他的溶液培养基、MTT 溶液、DMSO）吸光度； $A_e$ 为对照组（指的是不加药物，但加入 MT-4 细胞，其他的溶液培养基、MTT 溶液、DMSO）吸光度。

最后根据不同药物浓度下的细胞抑制率  $I$  和细胞病变率  $P$ ，采用非线性回归模型绘制 S 型剂量效应曲线，用 OriginPro 软件计算出  $EC_{50}$ （半最大效应浓度，指能引起 50%最大效应的浓度）和  $CC_{50}$ （使 50%未感染细胞发生细胞病变的药物浓度）；两者的比值为选择指数（ $SI = CC_{50}/EC_{50}$ ），表明化合物效果的安全范围。

### 1.3.2 实验方法

取 50  $\mu$ L 含有  $1 \times 10^4$  个 MT-4 细胞悬液铺至 96 孔细胞培养板中，加入 20  $\mu$ L 感染 HIV-1 III B 的

MT-4 细胞悬液，加入 100  $\mu$ L 含有测试药物的培养液药物在 37  $^{\circ}$ C、体积分数为 5%的  $CO_2$  培养箱中孵育 5 d 后，每孔加入 30  $\mu$ L 质量浓度 5 g/L MTT 磷酸缓冲溶液（pH 7.4），置于 37  $^{\circ}$ C、体积分数为 5%的  $CO_2$  培养箱中继续孵育 4 h，然后每孔加入 100  $\mu$ L DMSO 溶解。使用通用酶标仪在 540 nm 波长处测定每孔的吸光度，计算被测药物在不同浓度下的细胞抑制率<sup>[20-21]</sup>，计算出  $EC_{50}$ ；同时，采用正常的 MT-4 细胞作为测试细胞株，测试出化合物对应的  $CC_{50}$ 。

## 2 结果与讨论

吡啶类席夫碱化合物 **1~34** 对 HIV-1 抑制活性评价见表 1。由表 1 可见，本研究所合成的 34 个目标化合物对 HIV-1 有良好的抑制活性，其  $EC_{50}$  均  $< 10.26 \mu\text{mol/L}$ 。通过构效关系研究发现，吡啶骨架上取代基类型、取代基的位置（ $R_1$ ）以及席夫碱单元苯环上的取代基（ $R_2$ ）对活性均有影响。例如：无取代的吡啶席夫碱 **1**（ $R_1 = H$ ）的  $EC_{50} = 7.95 \mu\text{mol/L}$ ，但给电子基（Me）及（OMe）的引入使化合物 **2~5** 及化合物 **6~8** 活性降低，其中，只有 OMe 在吡啶环 C7 位的化合物 **9** 抑制 HIV-1 稍微强于化合物 **1**；卤素（F、Cl、Br）的取代使化合物 **10~13**、**14~17**、**18~21** 的抑制活性增加，尤其是 Br 取代活性较化合物 **1** 提高了 1.8~16.7 倍，其中化合物 **19** 和 **21** 抑制 HIV-1 的  $EC_{50}$  达到了 0.45 和 0.97  $\mu\text{mol/L}$ ；当化合物 **1** 用吸电子基氰基取代后，化合物 **22~25** 也能够提高活性，但总的来说仍然是 Br 取代的化合物的抑制活性更强。

表 1 吡啶类席夫碱化合物的 HIV-1 抑制活性评价  
Table 1 Evaluation of anti-HIV-1 activities of indole Schiff base compounds

化合物	$EC_{50}/(\mu\text{mol/L})$	$CC_{50}/(\mu\text{mol/L})$	SI	化合物	$EC_{50}/(\mu\text{mol/L})$	$CC_{50}/(\mu\text{mol/L})$	SI
<b>1</b>	7.95	145.67	18.3	<b>19</b>	0.45	130.64	290.3
<b>2</b>	8.66	135.86	15.7	<b>20</b>	1.91	127.88	67.0
<b>3</b>	9.32	129.44	13.9	<b>21</b>	0.97	128.93	132.9
<b>4</b>	8.18	> 150.00	> 18.3	<b>22</b>	1.78	63.52	35.7
<b>5</b>	10.26	129.65	12.6	<b>23</b>	0.83	49.43	59.6
<b>6</b>	9.27	145.28	15.7	<b>24</b>	1.34	72.48	54.1
<b>7</b>	8.43	133.42	15.8	<b>25</b>	2.27	68.86	30.3
<b>8</b>	8.08	> 150.00	> 18.5	<b>26</b>	1.37	129.65	94.6
<b>9</b>	7.76	> 150.00	> 19.3	<b>27</b>	0.14	145.28	1037.7
<b>10</b>	1.54	> 150.00	> 97.4	<b>28</b>	1.46	131.49	90.1
<b>11</b>	1.87	95.78	51.2	<b>29</b>	1.52	111.77	73.5
<b>12</b>	1.23	134.62	109.4	<b>30</b>	0.19	> 150.00	> 789.4
<b>13</b>	3.49	> 150.00	> 42.9	<b>31</b>	0.06	> 150.00	> 2500.0
<b>14</b>	4.64	144.37	31.1	<b>32</b>	0.24	140.68	586.2
<b>15</b>	5.32	138.92	26.1	<b>33</b>	4.89	> 150.00	> 30.6
<b>16</b>	4.15	130.58	31.5	<b>34</b>	3.67	116.54	31.7
<b>17</b>	6.78	138.74	20.5	<b>DLV</b>	0.06	72.56	1209.3
<b>18</b>	2.83	> 150.00	> 53.0	<b>EFV</b>	0.02	6.42	321.0

此外, 通过对比卤素和氰基在吡啶环上的位置发现, 这些取代基在吡啶的 C5 位活性要强于其他位取代。例如: C5 位溴取代的化合物 **19**, 其  $EC_{50}$  为  $0.45 \mu\text{mol/L}$ , 而将溴原子转移到 C4 位, 化合物 **18**, 其  $EC_{50} = 2.83 \mu\text{mol/L}$ 、C6 位 (化合物 **20** 的  $EC_{50} = 1.91 \mu\text{mol/L}$ ) 或 C7 位 (化合物 **21** 的  $EC_{50} = 0.97 \mu\text{mol/L}$ ) 后均显著地减弱了抑制 HIV-1 活性。这些结果说明, 在吡啶环 C5 位 Br 原子是一个药效团, 能够提高对 HIV-1 的抑制活性。随后, 以化合物 **19** 为先导化合物对席夫碱单元的苯环取代进行研究。将化合物 **19** 的席夫碱单元用甲基 (Me, 化合物 **26**) 取代后并没有增加活性, 而用甲氧基 (OMe, 化合物 **27**) 取代后抑制 HIV-1 活性提高了 3 倍, 其  $EC_{50} = 0.14 \mu\text{mol/L}$ ; 进一步将化合物 **27** 的甲氧基用卤素取代 (F: 化合物 **28**; Cl: 化合物 **29**; Br: 化合物 **30**) 却并没有明显地提高活性; 然而, 将化合物 **27** 的甲氧基由 C4 位转移到 C2 位 (化合物 **31**) 抑制 HIV-1 活性提高了 2 倍, 其抑制 HIV-1 的活性与阳性药物 DLV ( $EC_{50} = 0.057 \mu\text{mol/L}$ ) 相当, 同时该化合物具有低的毒性, 其选择指数 (SI) 高于 2500.0, 明显地高于 DLV (SI = 1272.9) 和 EFV ( $EC_{50} = 0.02 \mu\text{mol/L}$ , SI = 321.0)。而继续将甲氧基转移到 C3 位 (化合物 **32**) 却没有增加抑制活性; 接着用空间位阻较大的 2,6-二甲基 (化合物 **33**) 或 2,6-二甲氧基 (化合物 **34**) 取代同样没有增加活性。这些结果说明, 席夫碱单元 C2 位甲氧基取代是增加活性的重要因素。

为了研究这类化合物是否也能够抑制 T 淋巴细胞中不同 HIV-1 不同分支的其他病毒株, 选择对 HIV-1 III B 作用较强的化合物 **27**、**30**、**31** 来进行抗病毒广谱性研究, 结果见表 2。

表 2 吡啶席夫碱类化合物对不同 HIV-1 病毒株的抑制活性评价

Table 2 Evaluation of antiviral activity of indole Schiff bases on different HIV-1 virus strains

化合物	$EC_{50}/(\mu\text{mol/L})$			
	Clade A (92UG029)	Clade B (92US657)	Clade C (92IN101)	Clade E (93TH051)
<b>27</b>	0.13	0.32	0.26	0.54
<b>30</b>	0.47	0.61	0.42	0.22
<b>31</b>	0.04	0.09	0.08	0.03

由表 2 可见, 化合物 **27**、**30**、**31** 对病毒株 Clade A (92UG029)、Clade B (92US657)、Clade C (92IN101) 和 Clade E (93TH051) 也表现出了一定的抑制活性。这些数据表明, 这类吡啶席夫碱类衍生物可能是一类广谱抗 HIV-1 抑制剂。

### 3 结论

本文根据药物拼接原理, 将吡啶和席夫碱两个活性亚单元进行拼接得到了 34 个吡啶类席夫碱衍生物。利用 FTIR、 $^1\text{H}$ NMR、 $^{13}\text{C}$ NMR 和 HRMS 对其结构进行了确证。初步的抗 HIV-1 活性测试表明, 这些吡啶类席夫碱衍生物对 HIV-1 展现出了良好的抑制活性。通过构效分析表明, 吡啶骨架上取代基类型、取代基的位置 ( $R_1$ ) 以及席夫碱单元苯环上的取代基 ( $R_2$ ) 对活性均有明显的影响, 其中吡啶骨架上以 C5 位为 Br 原子取代, 席夫碱单元为甲氧基取代活性较佳。特别是化合物 **31** ( $EC_{50} = 0.06 \mu\text{mol/L}$ ) 抑制 HIV-1 的活性与阳性药物地拉韦啉 ( $EC_{50} = 0.06 \mu\text{mol/L}$ ) 相当, 但其 SI 却明显地高于地拉韦啉和依法韦仑。结果表明, 将药效团吡啶和席夫碱进行拼接能够构筑出 HIV-1 抑制活性良好的衍生物, 这为今后开发高效、低毒的抗 HIV-1 类药物提供了一定的参考意义。

### 参考文献:

- [1] NIZAR M A, MAHMOUD M Y, FAWZI M A. Harnessing antibody-dependent cellular cytotoxicity to control HIV-1 infection[J]. *ACS Infectious Diseases*, 2019, 5(2): 158-176.
- [2] MARIA E C, KAREN A K, STEFAN G S. Avoiding drug resistance in HIV reverse transcriptase[J]. *Chemical Reviews*, 2021, 121(6): 3271-3296.
- [3] ANNE-MARIE W T, RAGHUVAR D, FRANCES P, *et al.* Evaluation of EED inhibitors as a class of PRC2-targeted small molecules for HIV latency reversal[J]. *ACS Infectious Diseases*, 2020, 6(7): 1719-1733.
- [4] ALICIA R R, IRA B D, UMESH H, *et al.* Second generation inhibitors of HIV-1 maturation[J]. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 2019, 10(3): 287-294.
- [5] ARUN K G, ALESSANDRO G, JAKKA R, *et al.* Design, synthesis, and X ray studies of potent HIV-1 protease inhibitors with P2-carboxamide functionalities[J]. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 2020, 11(10): 1965-1972.
- [6] TIAGO N F, MARCO M D, FRANCOISE I, *et al.* Enfuvirtide-protoporphyrin IX dual-loaded liposomes: *In vitro* evidence of synergy against HIV-1 entry into cells[J]. *ACS Infectious Diseases*, 2020, 6(2): 224-236.
- [7] SHILPA R, ASWATHY N, CHRISTIAN G G, *et al.* Altered gut microbiome under antiretroviral therapy: Impact of efavirenz and zidovudine[J]. *ACS Infectious Diseases*, 2021, 7(5): 1104-1115.
- [8] VIGNESHWARAN N, MURUGESAN V, VICTOR G K, *et al.* The journey of HIV-1 non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) from lab to clinic[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2019, 62(10): 4851-4883.
- [9] CHENG L, WANG Y, LI X Y, *et al.* Meta-analysis of the associations of CYP2B6-516G>T polymorphisms with efavirenz-induced central nervous system side effects and virological outcome in HIV-infected adults[J]. *The Pharmacogenomics Journal*, 2020, 20(2): 246-259.
- [10] OLAIA M M, BELEN M G, SOFIA P S, *et al.* Double arylation of the indole side chain of tri- and tetrapodal tryptophan derivatives renders highly potent HIV-1 and EV-A71 entry inhibitors[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2021, 64(14): 10027-10046.
- [11] CYRIL D, FRANCOIS R A, AGNES A, *et al.* Discovery of the aryl-phospho-indole IDX899, a highly potent anti-HIV non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2016, 59(5): 1891-1898.