

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2019.08.011

# 新型杂环膦酸酯衍生物的合成与生物活性<sup>①</sup>

胡仕琴, 樊玲玲, 刘静姿, 何彬,  
沈祥春, 廖尚高, 李勇军

贵州医科大学药学院/贵州省药物制剂重点实验室/  
民族药与中药开发应用教育部工程研究中心, 贵阳 550004

**摘要:** 为了获得广谱、高效的活性先导物,我们在前期研究工作的基础上,结合药物设计原理,采用简便方法合成了一系列新型杂环膦酸酯衍生物,其结构经 IR, (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>31</sup>P, <sup>19</sup>F)NMR 和 HRMS(ESI)等确证与表征. 生物活性测试结果表明,部分化合物具有抗大肠杆菌、铜绿假单胞杆菌及金黄色葡萄球菌等活性,尤其是化合物 A<sub>4</sub>, A<sub>8</sub>, A<sub>22</sub>, A<sub>24</sub>, A<sub>27</sub> 和 A<sub>28</sub> 抗菌活性好,与对照药剂氨苄西林(Ampicillin)的 MIC 接近或相当. 同时,发现部分化合物具有抑制肿瘤细胞增殖的作用,其中化合物 A<sub>24</sub> 和 A<sub>28</sub> 分别对人结肠癌细胞 HT29 和人肺癌细胞 A549 的 IC<sub>50</sub> 为 18.0±0.7 μmol/L 和 17.1±1.3 μmol/L,接近对照药 SAHA(IC<sub>50</sub> 分别为 14.3±1.1 μmol/L 和 12.5±1.8 μmol/L). 在此基础上研究其构效关系,对进一步结构改造与优化具有十分重要的意义.

**关键词:** 杂环; 膦酸酯; 合成; 抗菌活性; 抗癌活性

**中图分类号:** O626      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1673-9868(2019)08-0064-10

杂环化合物因其具有种类繁多、结构多样和生物活性广泛等特点,不仅普遍存在于天然药物分子中,同时在人工合成化学药物中也被广泛应用<sup>[1-2]</sup>. 据统计,目前临床使用的 90% 以上的药物为杂环化合物,因此,从大量的杂环化合物中寻找具有高疗效、低毒性、容易获得的候选物仍然是当前新药研发的热点之一<sup>[3-4]</sup>. 另一方面,含磷化合物广泛的生物活性及多变的结构类型一直受到人们的关注,许多天然产物药物分子以及合成药物都含有磷原子. 近年来本课题组先后设计合成一系列含膦酸酯、膦酰基、硫脲膦酸酯类化合物,发现不同系列化合物表现出抗病毒<sup>[5-8]</sup>、抗肿瘤<sup>[9-12]</sup>、杀菌<sup>[13-14]</sup>等生物活性. 其中 α-氨基膦酸酯,作为天然氨基酸的含磷类似物,已成为有机磷化学发展的重要组成部分,在药物合成中扮演着重要的角色,是一些药物合成的关键中间体. 人们通过对其合成方法<sup>[15-17]</sup>与生物活性<sup>[18-21]</sup>的研究,发现其对肾素合成酶、HIV 酶、FPT 酶、EPSP 合成酶及高血压蛋白原酶等具有抑制作用<sup>[15,17-18]</sup>,从而表现出多种重要的生理活性,广泛应用于医药和农药领域. 由此,为了拓宽化合物生物活性并寻找到高活性先导物,基于前期的研究工作<sup>[7-13]</sup>,我们将不同杂环引入氨基膦酸酯中,并优化反应条件,合成了一系列新型杂环膦酸酯衍生物 28 个,其结构均经 IR, (<sup>2</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>31</sup>P, <sup>19</sup>F)NMR 和 HRMS(ESI)等确证与表征,合成路线见图 1. 生物活性测试结果表明,部分化合物具有抗大肠杆菌、绿脓杆菌或金黄色葡萄球菌等活性;同时,发现化合

① 收稿日期: 2019-04-10

基金项目: 国家自然科学基金项目(81160385); 贵州省科技厅项目(黔科合 SY 字[2012]3103); 贵州省教育厅项目(黔省专合字[2012]89 号); 贵阳医学院基金项目(YJ 2014-17).

作者简介: 胡仕琴(1991-),女,硕士研究生,主要从事药物合成的研究.

通信作者: 刘静姿,博士,教授.

物  $A_{16}$ ,  $A_{24}$ ,  $A_{28}$  对肿瘤细胞的抑制活性较好, 与对照药剂辛二酰苯胺异羟肟酸(SAHA)接近. 在此基础上研究其构效关系, 对进一步结构改造与优化具有十分重要的意义.

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

B11-1 型磁力搅拌器, 上海司乐仪器有限公司; N-110 型旋转蒸发仪, 上海爱朗仪器有限公司; X-4 型显微熔点测定仪, 上海易测仪器设备有限公司; Shimadzu IR Prestige-21 型傅立叶红外光谱测定, 日本岛津公司(KBr 压片法); JEOLCX400 型 400 MHz 核磁共振仪, 日本电子株式会社(TMS 为内标,  $CDCl_3$  或  $DMSO-d_6$  为溶剂); UPLC-QTOF Xevo G2-XS 电喷雾四级杆串联飞行时间质谱仪, 美国沃特世公司. 所用试剂均为市售 AR 或 CP 级, 使用前经常规方法处理.

### 1.2 化合物的合成

#### 1.2.1 中间体 4 的合成

参考文献[6-7, 22]方法合成中间体 4, 其理化数据与文献报道相符, 合成路线见图 1.

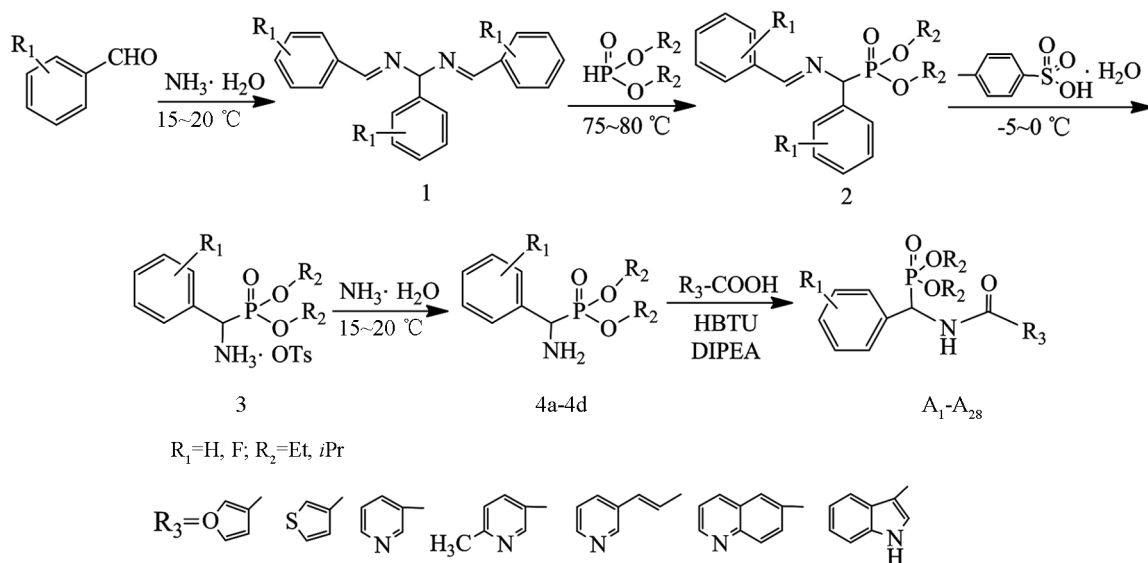


图 1 目标化合物  $A_1 - A_{28}$  的合成

#### 1.2.2 目标物 A 的合成

在 50 mL 三口瓶中加入 0.5 mmol 杂环甲酸化合物(固体), 用 5 mL 无水干燥 THF 溶解后加 O-苯并三氮唑-四甲基脒六氟磷酸酯(HBTU 0.5 mmol, 1eq), 混合均匀后再加催化剂 N-N-二异丙基乙胺(DIPEA 1 mmol, 2eq)及中间体 4(0.5 mmol). 在油浴加热保持微沸腾( $66\text{ }^\circ\text{C}$ 左右)中回流并搅拌反应, 底物由浑浊变为澄清, 以 TLC 跟踪反应 5~6 h 后停止反应. 粗产物经薄层色谱( $CH_2Cl_2/C_2H_5OH/NH_3 \cdot H_2O$  为 10/1/0.1)分离纯化得到目标产物  $A_1 - A_{28}$ , 合成路线见图 1, 结构通式见图 2, 取代基、产率与熔点结果见表 1.

#### 1.2.3 部分目标化合物 A 的核磁、高分辨质谱数据

O, O'-二异丙基- $\alpha$ -(4-氟苯基)- $\alpha$ -(3-咪唑甲酰胺基)甲膦酸酯( $A_1$ ):  $^2\text{H}$  NMR(400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 8.01(s, 1H, NH), 7.57~7.35(m, 4H, ArH), 6.98(t,  $J=8.2\text{ Hz}$ , 2H, ArH), 6.73(s, 1H, ArH), 5.61(dd,  $J=21.9, 9.4\text{ Hz}$ , 1H, NCH-P), 4.72~4.46(m, 2H, 2CH), 1.31(d,  $J=6.1\text{ Hz}$ , 3H,  $CH_3$ ), 1.27~1.22(m, 6H, 2 $CH_3$ ), 0.92(d,  $J=6.1\text{ Hz}$ , 3H,  $CH_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR(101 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 162.1,

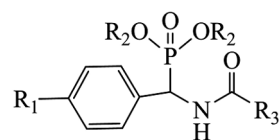


图 2 目标化合物结构通式

145.4, 143.7, 131.6, 130.4, 130.3, 130.3, 122.0, 115.6, 115.4, 108.7, 72.6, 72.5, 49.2, 24.3, 24.2, 23.9, 23.2;  $^{19}\text{F}$  NMR (376 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : -113.9 mg/kg;  $^{31}\text{P}$  NMR (162 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 20.3 mg/kg; HRMS(ESD)  $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{FNO}_5\text{P}[\text{M}+\text{H}]^+$  理论值: 384.137 9, 实际值: 384.137 6.

表 1 目标化合物的取代基及相关物理数据

化合物	取 代 基			性状	产率/ %	熔点/ °C
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>			
A <sub>1</sub>	H	Et	3-呋喃基	浅黄色固体	82	145~150
A <sub>2</sub>	H	<i>i</i> Pr	3-呋喃基	浅黄色固体	82	137~138
A <sub>3</sub>	F	Et	3-呋喃基	浅黄色固体	72	183~185
A <sub>4</sub>	F	<i>i</i> Pr	3-呋喃基	浅黄色固体	74	135~136
A <sub>5</sub>	H	Et	3-噻吩基	白色固体	85	110~112
A <sub>6</sub>	H	<i>i</i> Pr	3-噻吩基	白色固体	83	137~138
A <sub>7</sub>	F	Et	3-噻吩基	白色固体	80	101~102
A <sub>8</sub>	F	<i>i</i> Pr	3-噻吩基	白色固体	77	126~127
A <sub>9</sub>	H	Et	3-吡啶基	白色固体	87	204~205
A <sub>10</sub>	H	<i>i</i> Pr	3-吡啶基	浅黄色固体	84	119~120
A <sub>11</sub>	F	Et	3-吡啶基	浅黄色固体	80	113~114
A <sub>12</sub>	F	<i>i</i> Pr	3-吡啶基	浅黄色固体	83	135~136
A <sub>13</sub>	H	Et	6'-甲基-3-吡啶基	白色固体	88	148~149
A <sub>14</sub>	H	<i>i</i> Pr	6'-甲基-3-吡啶基	白色固体	81	170~171
A <sub>15</sub>	F	Et	6'-甲基-3-吡啶基	浅黄色固体	71	124~125
A <sub>16</sub>	F	<i>i</i> Pr	6'-甲基-3-吡啶基	浅黄色固体	78	143~144
A <sub>17</sub>	H	Et	E-3-吡啶丙烯基	浅黄色固体	93	129~130
A <sub>18</sub>	H	<i>i</i> Pr	E-3-吡啶丙烯基	白色固体	95	177~178
A <sub>19</sub>	F	Et	E-3-吡啶丙烯基	白色固体	86	144~145
A <sub>20</sub>	F	<i>i</i> Pr	E-3-吡啶丙烯基	浅黄色固体	83	127~129
A <sub>21</sub>	H	Et	6-喹啉基	白色固体	86	138~139
A <sub>22</sub>	H	<i>i</i> Pr	6-喹啉基	白色固体	89	187~188
A <sub>23</sub>	F	Et	6-喹啉基	浅黄色固体	80	162~163
A <sub>24</sub>	F	<i>i</i> Pr	6-喹啉基	浅黄色固体	72	143~144
A <sub>25</sub>	H	Et	(1H)-3-吡啶基	白色固体	79	203~204
A <sub>26</sub>	H	<i>i</i> Pr	(1H)-3-吡啶基	浅黄色固体	81	219~220
A <sub>27</sub>	F	Et	(1H)-3-吡啶基	白色固体	76	195~197
A <sub>28</sub>	F	<i>i</i> Pr	(1H)-3-吡啶基	白色固体	73	212~213

O, O'-二异丙基- $\alpha$ -(4-氟苯基)- $\alpha$ -(6-甲基-3-吡啶甲酰胺基)甲膦酸酯(A<sub>16</sub>):  $^2\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.94(s, 1H, ArH), 8.33~8.18(m, 1H, ArH), 7.99(dd, J=8.1, 1.5Hz, 1H, NH), 7.66~7.44(m, 2H, ArH), 7.10(d, J=8.0Hz, 1H, ArH), 6.95(t, J=8.1Hz, 2H, ArH), 5.64(dd, J=21.8, 9.2Hz, 1H, NCH-P), 4.76~4.38(m, 2H, 2CH), 2.53(d, J=1.2Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.27(dd, J=6.1, 1.3Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.24~0.86(m, 9H, 3CH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C}$  NM (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 165.6, 161.9, 148.3, 135.7, 131.4, 130.5, 130.4, 130.3, 126.9, 122.8, 115.6, 115.4, 72.6, 72.6, 49.7, 24.6, 24.3.  $^{19}\text{F}$  NMR (376 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : -113.8 mg/kg;  $^{31}\text{P}$  NMR (162 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 19.9 mg/kg; HRMS(ESI)  $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{FN}_2\text{O}_4\text{P}[\text{M}+\text{H}]^+$  理论值: 409.168 9, 实际值: 409.169 2.

O, O'-二异丙基- $\alpha$ -苯基- $\alpha$ -(6-喹啉甲酰胺基)甲膦酸酯(A<sub>22</sub>): <sup>2</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ : 8.96 (dd, J=4.2, 1.7Hz, 1H, ArH), 8.34(d, J=1.6Hz, 1H, ArH), 8.19~8.15(m, 1H ArH), 8.13~8.10(m, 2H ArH, NH), 7.87(dd, J=9.1, 4.5Hz, 1H, ArH), 7.62~7.57(m, 2H, ArH), 7.44(dd, J=8.3, 4.2Hz, 1H, ArH), 7.36~7.27(m, 3H, ArH), 5.77~5.67(m, 1H, NCH-P), 4.782~4.34 (m, 2H, 2CH), 1.31(d, J=6.2Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.25(d, J=6.2Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.19(d, J=6.2Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 0.83(d, J=6.2Hz, 3H, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR(101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ : 166.4, 152.1, 149.4, 137.3, 135.6, 132.0, 129.9, 128.7, 128.7, 128.7, 128.6, 128.3, 128.3, 128.1, 127.7, 127.6, 122.0, 72.7, 50.7, 24.3; <sup>31</sup>P NMR(162 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ : 20.4 mg/kg; HRMS(ESI) C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>P[M+H]<sup>+</sup>理论值: 427.177 8, 实际值: 427.178 7.

O, O'-二异丙基- $\alpha$ -(4-氟苯基)- $\alpha$ -(6-喹啉甲酰胺基)甲膦酸酯(A<sub>24</sub>): <sup>2</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ : 8.97~8.93(m, 1H, ArH), 8.34(s, 1H, ArH), 8.12(m, 4H, ArH, NH), 7.63~7.43(m, 3H, ArH), 7.00(dd, J=12.1, 4.8Hz, 2H, ArH), 5.77~5.66(m, 1H, NCH-P), 4.76~4.37(m, 2H, 2CH), 1.28 (dd, J=6.2, 1.6Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.21(m, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 0.88(dd, J=6.2, 1.3Hz, 3H, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ : 166.6, 152.1, 149.3, 137.3, 131.9, 131.6, 131.5, 130.5, 130.4, 129.8, 128.3, 127.6, 122.0, 115.7, 115.5, 72.7, 72.6, 49.9, 24.3; <sup>19</sup>F NMR(376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ : -113.6 mg/kg; <sup>31</sup>P NMR(162 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ : 20.0 mg/kg; HRMS(ESI) C<sub>23</sub>H<sub>26</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>P[M+H]<sup>+</sup>理论值: 445.169 8, 实际值: 445.169 2.

O, O'-二乙基- $\alpha$ -(4-氟苯基)- $\alpha$ -(3-吡啶甲酰胺基)甲膦酸酯(A<sub>27</sub>): <sup>2</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ : 9.60(s, 1H, ArH), 8.04(d, J=7.4Hz, 1H, NH), 7.78(s, 1H, ArH), 7.50(d, J=6.7Hz, 2H, ArH), 7.34 (d, J=7.6Hz, 1H, ArH), 7.28~7.09(m, 3H, ArH), 7.00(t, J=8.0Hz, 2H, ArH), 5.77(dd, J=21.2, 9.0Hz, 1H, NCH-P), 4.20~3.75(m, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 1.28~1.13 (m, 6H, 2CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR(101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ : 164.8, 161.3, 136.5, 131.4, 130.0, 129.8, 128.9, 124.9, 123.1, 122.0, 115.9, 115.6, 112.3, 111.0, 63.8, 48.6, 16.5, 16.3; <sup>19</sup>F NMR(376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ : -113.7 mg/kg; <sup>31</sup>P NMR(162 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ : 23.0 mg/kg; HRMS(ESI) C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>P[M+H]<sup>+</sup>理论值: 405.137 5, 实际值: 405.137 9.

O, O'-二异丙基- $\alpha$ -(4-氟苯基)- $\alpha$ -(3-吡啶甲酰胺基)甲膦酸酯(A<sub>28</sub>): <sup>2</sup>H NMR(400 MHz, DMSO) $\delta$ : 9.56(s, 1H, ArH), 8.03(d, J=7.0Hz, 1H, NH), 7.76(s, 1H, ArH), 7.50(d, J=6.8Hz, 2H, ArH), 7.37(d, J=7.5Hz, 1H, ArH), 7.30~7.17(m, 3H, ArH), 7.00(t, J=7.9Hz, 3H, ArH), 5.67(dd, J=21.3, 8.5Hz, 1H, NCH-P), 4.73~4.51(m, 2H, 2CH), 1.38~0.91(m, 12H, 4CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR(101 MHz, DMSO) $\delta$ : 163.2, 161.3, 136.5, 132.0, 130.1, 128.6, 124.8, 123.1, 120.0, 115.7, 112.1, 111.6, 72.6, 72.2, 49.3, 24.3, 23.9, 23.3; <sup>19</sup>F NMR(376 MHz, DMSO) $\delta$ : -114.1 mg/kg; <sup>31</sup>P NMR(162 MHz, DMSO) $\delta$ : 20.9 mg/kg; HRMS(ESI) C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>P[M+H]<sup>+</sup>理论值: 433.169 1, 实际值: 433.169 2.

## 2 生物活性测试

### 2.1 细菌活性测试

#### 2.1.1 实验材料

供试菌及来源: 普通标准菌株大肠杆菌 *E. coli* (ATCC25922), 铜绿假单胞杆菌 *P. aeruginosa* (ATCC9027), 金黄色葡萄球菌 *S. aureus* (ATCC6538) 来源于广东省微生物保藏中心; 多重耐药性细菌: N-*E. coli*-耐药性大肠杆菌(20151027074), N-*P. aeruginosa*-耐药性铜绿假单胞杆菌(20151025026), MR-

SA-耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(20151027077), 均于贵州医科大学附属医院临床分离。

培养基: 肉汤 MH(B). 对照药: 氨苄西林(Ampicillin).

### 2.1.2 实验操作

MIC 测定, 细菌培养基的制备: MH(B)营养肉汤分装后于 121 °C 高压蒸汽灭菌锅中灭菌 20min. 实验菌液的制备: 以比浊管调整菌液浓度为  $1 \times 10^6$  CFU/mL. 微量稀释法: 参照 NCCLS 标准采用微量稀释法进行. 生物安全柜使用前紫外灭菌 30min. 在 96 孔板第 1 行中用移液枪加入 20  $\mu$ L 药液与 180  $\mu$ L 培养基 MH(B)并混匀, 2~6 行每孔加入 100  $\mu$ L, 从第 1 行中吸取 100  $\mu$ L 加入第 2 行并混匀, 以此类推, 加到第 6 行, 最后吸取 100  $\mu$ L 打到废液中, 得到 2, 4, 8, 16, 32, 64 倍稀释的药物. 第 7 行每孔加入氨苄西林 10  $\mu$ L + 90  $\mu$ L 培养基作为阳性对照, 第 8 行直接加入菌液作为阴性对照, 同时设立药物稀释浓度梯度和培养基作为空白对照. 加入菌液 100  $\mu$ L, 37 °C 培养 24 h 后取出观察. 将 96 孔板放在黑色背衬下观察, 孔底呈圆点样的混浊沉淀为细菌生长, 孔内液体不显混浊疑似细菌生长被抑制, 每个化合物及阳性对照重复 3 次. 实验操作见参考文献[23].

## 2.2 抗癌活性测试

### 2.2.1 实验材料

细胞及来源: 人肺癌细胞 A549 由贵州医科大学药学院本课题组前期保存; 人结肠癌细胞 HT29 购于国家实验细胞资源共享服务平台; 人肾小管正常细胞 HK2 购于上海复祥生物科技有限公司.

培养基: RPMI-1640 培养基(10%胎牛血清), DMEM/F12 培养基(10%血清).

对照药: 辛二酰苯胺异羟肟酸(SAHA).

### 2.2.2 实验操作

按参考文献[24]采用 MTS 比色法对目标化合物  $A_1 - A_8$  进行体外抗肿瘤活性测试. 贴壁细胞用 0.25%胰蛋白酶消化传代. 将处于对数生长期的细胞制成单细胞悬液, 调整细胞数为  $5 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$  个/mL 加于 96 孔培养板中, 每孔 100  $\mu$ L, 6 个复孔, 周围用 PBS 填充提供水分, 于 37 °C, 5%  $CO_2$  培养箱中培养. 12~24 h 后, 待细胞贴壁后, 吸走旧的培养基, 将待测化合物用 DMSO 溶解成所需的浓度, 以培养基(10%胎牛血清)稀释成 50  $\mu$ mol/L, 25  $\mu$ mol/L, 12.5  $\mu$ mol/L, 6.25  $\mu$ mol/L, 3.13  $\mu$ mol/L, 1.56  $\mu$ mol/L 的终浓度加入到相应的孔板中, 每孔 100  $\mu$ L, 并设置阳性对照与空白对照组(未经化合物处理的培养基). 置于 37 °C, 5%  $CO_2$  培养箱中培养 48 h 后, 每孔加入 5  $\mu$ L MTS, 继续于培养箱中培养 3 h 后, 将 96 孔板于酶标仪(波长为 490nm)中测试吸光度值(OD), 计算细胞抑制率及半抑制浓度  $IC_{50}$ , 实验重复 3 次. 细胞抑制率计算公式如下:

$$\text{抑制率} = \frac{\text{空白组} - \text{加药组}}{\text{空白组}} \times 100\%$$

空白组: 即未经化合物或阳性对照药处理; 加药组: 经化合物或阳性对照药处理.

## 3 结果与讨论

### 3.1 合成条件优化

结合前期工作<sup>[7, 9]</sup>及按照文献[9]方法, 我们采用 HBTU 缩合剂, DIPEA 为相转移催化剂,  $CH_2Cl_2$  为反应溶剂, 在室温下搅拌反应 24 h, 产物  $A_1$  收率仅为 28.5%. 可能是杂环羧酸酰化活性低、中间体 4 亲核力弱及空间位阻大等原因, 加之反应时间长, 副产物多, 后处理及分离纯化十分困难. 为了缩短反应时间, 提高产物收率, 我们以合成  $A_1$  为例, 考察不同催化剂及其用量, 反应溶剂、温度、时间等参数对产物收率的影响, 优化其合成条件. 各反应参数对  $A_1$  收率的影响如下:

#### 3.1.1 催化剂及其用量对 $A_1$ 收率的影响

在原料比为 1 : 1(mmol), 设置反应温度 50 °C, 反应时间为 2 h, 采用催化剂  $(C_4H_9)_4NBr$ , 溶剂 5mL

CH<sub>3</sub>CN, 分别在催化剂与中间体 4a(mmol)用量比为 0.5 : 1, 1.0 : 1, 2.0 : 1, 2.5 : 1 的条件下制备目标产物 A<sub>1</sub>. 发现用量比为 2.0 : 1 和 2.5 : 1 时 A<sub>1</sub> 收率相对较高. 为了提高产物收率, 我们进一步考察了不同催化剂 DIPEA, DCC, DMAP 对 A<sub>1</sub> 收率的影响, 实验结果见表 2.

表 2 不同催化剂及其物质的量对产物 A<sub>1</sub> 收率的影响

编号	催化剂与中间体 4a 用量比/mmole	催 化 剂			
		(C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ) <sub>4</sub> NBr	DIPEA	DCC	DMAP
1	0.5 : 1	—	—	—	—
2	1.0 : 1	—	—	—	—
3	1.5 : 1	—	—	—	—
4	2.0 : 1	34.6	40.3	—	33.2
5	2.5 : 1	37.1	41.2	36.9	—

注“—”表示产物点增加不明显, 未分离.

结果表明, DIPEA 的催化效果最好, 当用量比增至 2.5 : 1 时, 产物收率增大的幅度极小, 而 DIPEA 浪费较大, 且过多 DIPEA 存在反应体系中不利于目标物的分离纯化, 因此选择用量比为 2.0 : 1.

### 3.1.2 溶剂、反应温度及反应时间对 A<sub>1</sub> 收率的影响

在室温下, 以催化剂 DIPEA 与中间体 4a 用量比为 2 : 1, 原料比为 1 : 1(mmol)的条件下, 分别溶于二氯甲烷(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)、四氢呋喃(THF)、乙腈(CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>)、丙酮(CH<sub>3</sub>CN)、甲苯(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>)溶剂中搅拌反应体系 2 h, TLC 跟踪反应几乎无产物点. 再分别保持各反应体系微沸腾回流并搅拌反应体系 2 h 制备目标产物, 经分离纯化处理后, 发现以 THF 为反应溶剂 A<sub>1</sub> 收率相对较高(50.8%). 由此, 我们进一步考察反应时间对 A<sub>1</sub> 收率的影响, 实验结果见表 3.

表 3 不同溶剂、反应温度及反应时间对产物 A<sub>1</sub> 收率的影响

编号	温度/℃	时间/h	溶 剂					
			CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> COCH <sub>3</sub>	THF	THF*	CH <sub>3</sub> CN	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>3</sub>
1	15~20 ℃	2	—	—	—	—	—	—
2	保持微沸腾	2	43.2	35.4	50.8	—	47.5	39.1
3	保持微沸腾	3	—	—	—	—	—	—
4	保持微沸腾	4	—	—	67.4	—	—	—
5	保持微沸腾	5	70.5	62.9	79.7	82.3	67.2	51.0
6	保持微沸腾	6	73.3	—	80.4	81.3	—	—
7	保持微沸腾	7	74.6	—	75.1	—	—	—

注: 溶剂沸点: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(39.8 ℃), CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>(56 ℃), THF(66 ℃), CH<sub>3</sub>CN(81 ℃), C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>(110 ℃); THF\* 为干燥处理.

从表 3 中看出: 在 THF(66 ℃)反应溶剂中, 反应时间由 2 h 至 7 h, A<sub>1</sub> 收率从 50.8% 增加到 80.4%, 同时结合 TLC 显示, 反应时间在 6 h 时副产物明显增加, 不利于后处理纯化; 延长反应至 7 h 产率反而降低, 因此, 确定 5 h 为最佳反应时间. 同时, 我们还重点考察对比 5 h 反应时间内不同溶剂回流状态及干燥 THF 溶液中 A<sub>1</sub> 收率对比; 以及 5~7 h 内 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 与 THF 溶剂中 A<sub>1</sub> 收率对比. 实验结果表明: 用干燥处理的 THF 为反应溶剂, 保持反应体系微沸腾(66 ℃)回流搅拌 5 h 获得 A<sub>1</sub> 收率为 82.3%.


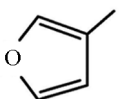
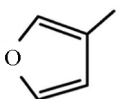
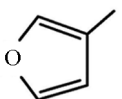
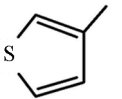
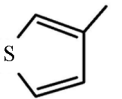
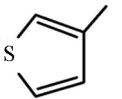
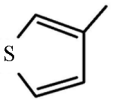
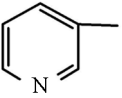
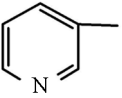
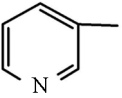
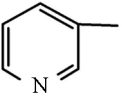
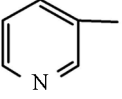
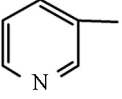
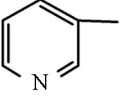
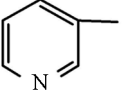
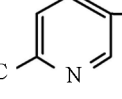
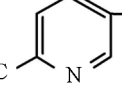
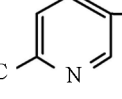
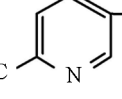
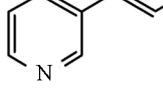
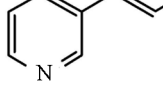
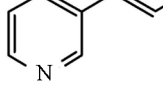
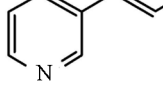
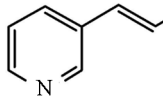
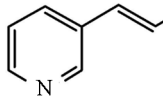
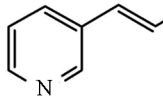
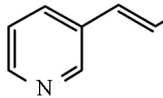
## 3.2 活性测试结果与讨论

### 3.2.1 抗菌活性

以氨苄西林(Ampicillin)为阳性对照药, 采用二倍稀释法对大肠杆菌(*E. coli*)、铜绿假单胞杆菌(*P. aeruginosa*)、金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)及多重耐药菌: 耐药大肠埃希菌(N-*E. coli*)、耐药性铜绿假单胞杆菌(N-*P. aeruginosa*)、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)进行最低抑菌浓度 MIC 测试, 实验结果见表 4.

表 4 目标物对不同细菌的最低抑菌浓度 MIC 值

/(mg · mL<sup>-1</sup>)

化合物	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	MIC/(mg · mL <sup>-1</sup> )					
				<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>N-E. coli</i>	<i>N-P. aeruginosa</i>	MRSA
A <sub>1</sub>	H	Et		16	8	16	>16	>16	>16
A <sub>2</sub>	H	<i>i</i> Pr		4	8	4	16	>16	>16
A <sub>3</sub>	F	Et		8	8	16	16	>16	>16
A <sub>4</sub>	F	<i>i</i> Pr		1	2	4	16	16	8
A <sub>5</sub>	H	Et		16	16	16	>16	>16	>16
A <sub>6</sub>	H	<i>i</i> Pr		16	16	16	>16	>16	>16
A <sub>7</sub>	F	Et		16	8	16	>16	16	>16
A <sub>8</sub>	F	<i>i</i> Pr		1	4	4	8	8	16
A <sub>9</sub>	H	Et		16	16	8	>16	>16	>16
A <sub>10</sub>	H	<i>i</i> Pr		16	16	16	>16	>16	>16
A <sub>11</sub>	F	Et		16	16	16	>16	>16	>16
A <sub>12</sub>	F	<i>i</i> Pr		16	8	8	>16	16	16
A <sub>13</sub>	H	Et		16	16	16	>16	>16	>16
A <sub>14</sub>	H	<i>i</i> Pr		16	16	16	>16	>16	>16
A <sub>15</sub>	F	Et		16	16	16	>16	>16	>16
A <sub>16</sub>	F	<i>i</i> Pr		16	16	16	>16	>16	>16
A <sub>17</sub>	H	Et		>16	16	16	>16	>16	>16
A <sub>18</sub>	H	<i>i</i> Pr		>16	16	16	>16	>16	>16
A <sub>19</sub>	F	Et		>16	16	8	>16	>16	16
A <sub>20</sub>	F	<i>i</i> Pr		16	16	16	>16	>16	16
A <sub>21</sub>	H	Et		16	8	4	>16	16	16
A <sub>22</sub>	H	<i>i</i> Pr		2	1	8	16	>16	16
A <sub>23</sub>	F	Et		8	16	16	16	16	>16
A <sub>24</sub>	F	<i>i</i> Pr		1	8	16	4	8	16
A <sub>25</sub>	H	Et		8	4	16	16	16	16
A <sub>26</sub>	H	<i>i</i> Pr		4	16	8	16	8	8
A <sub>27</sub>	F	Et		2	1	1	8	8	4
A <sub>28</sub>	F	<i>i</i> Pr		0.25	0.5	4	8	4	8
氨苄西林				0.1	0.05	0.1	2	1	2

注: 细菌溶液浓度为  $1 \times 10^6$  CFU/mL, 化合物质量浓度为 160 mg/mL.

由表 4 可知, 部分化合物具有较好的抗菌活性, 尤其对大肠杆菌 (*E. coli*) 及铜绿假单胞杆菌 (*P. aeruginosa*) 的抑制活性较明显, 其中化合物 A<sub>4</sub>, A<sub>8</sub>, A<sub>22</sub>, A<sub>24</sub>, A<sub>27</sub>, A<sub>28</sub> 对 *E. coli* 的 MIC 分别为 1, 1, 2, 1, 2, 0.25 mg/mL, 与对照药氨苄西林 (MIC = 0.1 mg/mL) 接近或相当; A<sub>4</sub>, A<sub>22</sub>, A<sub>27</sub>, A<sub>28</sub> 对 *P. aeruginosa* 的 MIC 分别为 2, 1, 1, 0.5 mg/mL, 接近对照药的 MIC. 相比之下, 大部分化合物对金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*) 和耐药菌不敏感, 但化合物 A<sub>27</sub> 对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA) 抑制效果较好, 其 MIC 为 4 mg/mL, 与对照药氨苄西林 (MIC 为 2 mg/mL) 相当, 其次是化合物 A<sub>28</sub> 对耐药性大肠杆菌 (*N-E. coli*)、耐药性铜绿假单胞杆菌 (*N-P. aeruginosa*) 的 MIC 分别为 8 mg/mL, 4 mg/mL (阳性对照药分别为 2, 1 mg/mL).

### 3.2.2 抗癌活性

以 SAHA 为阳性对照药, 采用 MTS 比色法对人肺癌细胞 (A549), 人结肠癌细胞 (HT29) 以及人肾小管正常细胞 (HK2) 进行体外抗癌活性测试, 以化合物及阳性对照药 (SAHA) 浓度均为 50 μmol/L 进行初筛, 实验结果见表 5.

表 5 目标化合物对肿瘤细胞抑制活性

化合物	抑制率/%			化合物	抑制率/%		
	A549	HT29	HK2		A549	HT29	HK2
A <sub>1</sub>	20.2±2.3	13.0±3.0	11.3±1.2	A <sub>15</sub>	16.5±0.7	31.5±11.3	14.3±2.4
A <sub>2</sub>	16.4±4.2	15.1±1.5	16.5±0.8	A <sub>16</sub>	24.4±6.8	73.9±1.4	11.6±0.6
A <sub>3</sub>	19.9±7.3	10.4±3.4	17.1±3.9	A <sub>17</sub>	7.4±2.7	31.6±6.2	12.6±3.0
A <sub>4</sub>	19.2±5.5	11.8±2.7	12.8±1.0	A <sub>18</sub>	8.7±1.2	36.9±5.8	14.7±1.5
A <sub>5</sub>	15.7±5.2	25.4±2.0	15.5±3.6	A <sub>19</sub>	11.1±1.6	39.5±4.3	18.3±9.4
A <sub>6</sub>	19.2±3.3	22.4±3.7	17.4±8.4	A <sub>20</sub>	10.8±0.2	41.3±3.7	17.6±7.7
A <sub>7</sub>	25.9±2.1	28.3±3.1	19.5±7.4	A <sub>21</sub>	31.0±11.9	31.2±2.6	19.7±8.6
A <sub>8</sub>	26.5±3.2	20.7±2.2	10.8±9.7	A <sub>22</sub>	35.2±7.6	37.5±4.0	28.5±3.1
A <sub>9</sub>	10.0±1.4	23.1±1.8	11.1±2.6	A <sub>23</sub>	36.0±13.2	40.8±5.1	25.5±6.3
A <sub>10</sub>	13.7±2.5	26.5±0.7	16.4±3.7	A <sub>24</sub>	43.6±8.2	78.1±2.3	17.2±0.9
A <sub>11</sub>	16.5±2.2	33.7±3.1	15.9±3.0	A <sub>25</sub>	33.9±6.4	32.3±9.1	18.4±3.2
A <sub>12</sub>	17.9±2.4	46.7±11.2	17.8±3.2	A <sub>26</sub>	32.7±9.3	41.1±8.6	14.2±4.1
A <sub>13</sub>	22.3±5.9	38.7±8.3	18.5±2.8	A <sub>27</sub>	45.3±4.1	43.8±2.3	13.6±1.5
A <sub>14</sub>	25.7±2.1	43.6±10.6	18.8±8.1	A <sub>28</sub>	76.9±3.2	69.6±0.2	16.4±6.8
SAHA	81.6±11.7	82.8±7.3	78.2±13.6				

注: 采用 MTS 比色法试验; A549 为人肺癌细胞; HT29 为人结肠癌细胞; HK20 为人肾小管正常细胞; SAHA 为阳性对照药。

由表 5 可知, 部分化合物具有由中等至好的抗癌活性, 其中化合物 A<sub>16</sub> (R<sub>1</sub> = -F, R<sub>2</sub> = -iPr, R<sub>3</sub> = 6-甲-3-吡啶) 抗肿瘤 HT29 的抑制率为 73.9%; 化合物 A<sub>28</sub> (R<sub>1</sub> = -F, R<sub>2</sub> = -iPr, R<sub>3</sub> = (1H)-3-吡啶) 抗肿瘤 A549, HT29 的抑制率分别为 76.9% 和 69.6%, 与对照药 SAHA (抑制率 81.6%, 82.8%) 接近; 尤其是 A<sub>24</sub> (R<sub>1</sub> = -F, R<sub>2</sub> = -iPr, R<sub>3</sub> = 6-喹啉) 抗 HT29 活性明显, 抑制率为 78.1%, 与对照药抑制率接近。而化合物对人肾小管正常细胞 (HK2) 的抑制率为 11.1%~28.5%。而对照药 SAHA 作用于 HK2 时存活率仅为 22.8%, 相比较之下, 对照药 SAHA 对正常细胞 (HK2) 的损伤程度更大。整体来看, 大多数化合物的抗肿瘤活性较差, 但少数化合物对特定的肿瘤细胞显示不错的活性。

我们进一步测试了化合物 A<sub>16</sub>, A<sub>24</sub> 和 A<sub>28</sub> 的 IC<sub>50</sub> 值, 结果见表 6。实验结果表明, 化合物 A<sub>28</sub> 对 A549 的抑制活性较好, 其 IC<sub>50</sub> 值为 17.1 μmol/L (对照药 IC<sub>50</sub> 为 12.5 μmol/L); 化合物 A<sub>24</sub> 对 HT29 的 IC<sub>50</sub> 为 18.0 μmol/L, 与对照药 IC<sub>50</sub> 为 14.1 μmol/L 接近。化合物 A<sub>24</sub>, A<sub>28</sub> 对 HK2 IC<sub>50</sub> 值均超过 120 μmol/L (对照药 IC<sub>50</sub> 为 33.7 μmol/L), 说明化合物对癌细胞有较好的抑制活性, 并对人肾小管正常细胞的毒性较小。

表 6 化合物 A<sub>16</sub>, A<sub>24</sub> 和 A<sub>28</sub> 抗 A549, HT29, HK2 细胞 IC<sub>50</sub>

化合物	IC <sub>50</sub> / (μmol · L <sup>-1</sup> )		
	A549	HT29	HK2
A <sub>16</sub>	—	36.2±1.2	130.9±0.7
A <sub>24</sub>	—	18.0±0.7	124.7±1.3
A <sub>28</sub>	17.1±1.3	34.6±0.9	126.8±2.4
SAHA	12.5±1.8	14.3±1.1	33.7±1.2

注: IC<sub>50</sub> 值表示 50% 细胞存活浓度。

### 3.2.3 结构与活性关系 (SAR)

从化合物结构与活性数据关系 (SAR) 分析来看 (图 3), 当取代基 R<sub>1</sub> = F, R<sub>2</sub> = Et 或 iPr, R<sub>3</sub> 为吡



喃、噻吩、喹啉或吡啶杂环时, 大部分化合物抑制 *E. coli* 和 *P. aeruginosa* 的活性较明显. 此外, 当  $R_1$ ,  $R_2$  不变,  $R_3$  为喹啉或吡啶杂环时, 部分化合物对肿瘤细胞 A549 和 HT29 的抑制活性较好. 因此, 对该类化合物进一步的结构改造与优化, 为获得新型杂环磷酸酯抗菌、抗癌化合物单体, 具有重要的理论和实验意义.

## 4 结 论

通过反应条件优化合成了一系列新型杂环磷酸酯衍生物  $A_1 - A_{28}$ , 并测试了目标物生物活性. 实验结果表明, 部分化合物具有较好的抗菌、抗癌活性, 如化合物  $A_4, A_{22}, A_{27}, A_{28}$  抗 *E. coli* 和 *P. aeruginosa* 抑制率与对照药氨苄西林 ( $MIC = 0.1 \text{ mg/mL}$ ) 接近或相当, 尤其是化合物  $A_{27}$  抗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA) 抑制效果明显. 同时, 化合物  $A_{24}$  和  $A_{28}$  抗肿瘤活性也明显,  $A_{24}$  对 HT29 的  $IC_{50}$  与对照药接近,  $A_{28}$  对 A549 的  $IC_{50}$  与对照药相当. 值得注意的是, 所有化合物对人肾小管正常细胞 (HK2) 的存活率超过 70%, 相比对正常细胞 (HK2) 的毒性弱于对照药 SAHA, 具有进一步的研究意义.

## 参考文献:

- [1] DANDIA A, PAREWA V, SHARMA A. An Approach towards Green Switch through Nanocatalysis for the Synthesis of Biodynamic Heterocycles [M] // Green Chemistry: Synthesis of Bioactive Heterocycles. New Delhi: Springer India, 2014: 129-161.
- [2] COSIMO D A. Privileged Heterocyclic Scaffolds in Chemical Biology and Drug Discovery: Synthesis and Bioactivity [J]. Chemistry of Heterocyclic Compounds, 2017, 53(3): 239.
- [3] KONG L B, YAN S J, LIN J. Heterocyclic Ketene Aminals Leading Molecules to Construct Molecular Diversity Fused Heterocyclic Compounds [J]. Progress in Chemistr, 2018, 30(5): 639-657.
- [4] 陈永飞. 具有生物活性杂环化合物的设计、合成及其研究 [D]. 兰州: 兰州大学, 2010.
- [5] 王 伟, 张国平, 宋宝安, 等. *O, O'*-二烷基- $\alpha$ -(取代苯并噻唑-2-基)氨基-(取代苯基甲基)磷酸酯的合成与抗烟草花叶病毒活性 [J]. 有机化学, 2007, 27(2): 279-284.
- [6] CHEN M H, CHEN Z, SONG B A, et al. Synthesis and Antiviral Activities of Chiral Thiourea Derivatives Containing an  $\alpha$ -Aminophosphonate Moiety [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(4): 1383-1388.
- [7] LIU J Z, SONG B A, BHADURY P S, et al. Synthesis and Bioactivities of  $\alpha$ -Aminophosphonate Derivatives Containing Benzothiazole and Thiourea Moieties [J]. Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements, 2012, 187(1): 61-70.
- [8] 刘静姿, 胡俊锋, 史大斌, 等. 手性磷酸酯硫脲的抗 TMV 活性及作用机制研究 [J]. 西南师范大学学报 (自然科学版), 2015, 40(1): 39-44.
- [9] LIU J Z, SONG B A, FAN H T, et al. Synthesis and in Vitro Study of Pseudo-Peptide Thioureas Containing  $\alpha$ -Aminophosphonate Moiety as Potential Antitumor Agents [J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2010, 45(11): 5108-5112.
- [10] 杨家强, 谷 晴, 束 波, 等. *O, O'*-二烷基- $\alpha$ -苯基- $\alpha$ -(取代苯甲酰氧基)-甲基磷酸酯的合成与抗肿瘤活性 [J]. 有机化学, 2013, 33(5): 1113-1118.
- [11] LIU J Z, LIAO P, HU J F, et al. Synthesis and Antitumor Activities of Chiral Dipeptide Thioureas Containing an  $\alpha$ -Aminophosphonate Moiety [J]. Molecules, 2017, 22(2): 238.
- [12] LIAO P, HU S Q, ZHANG H, et al. Study on Anti-Proliferative Activity in Cancer Cells and Preliminary Structure-Activity Relationship of Pseudo-Peptide Chiral Thioureas [J]. Bulletin of the Korean Chemical Society, 2018, 39(3): 300-304.
- [13] 廖 鹏. 寡肽手性硫脲化合物的合成及生物活性研究 [D]. 贵阳: 贵州医科大学, 2018.

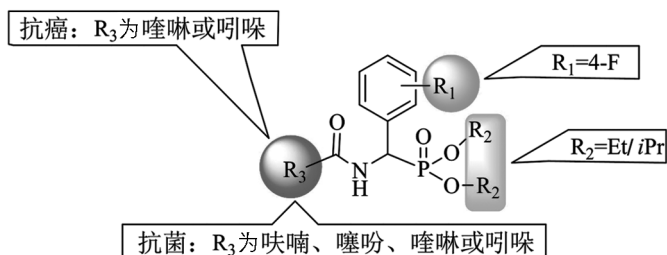


图 3 化合物结构与活性关系(SAR)

- [14] 杨家强, 胡月维, 谷 晴, 等. 新型喹啉酮类磷酸酯衍生物的合成与抗菌活性 [J]. 有机化学, 2014, 34(4): 829-834.
- [15] TAKAHASHI H, YOSHIOKA M, IMAI N, et al. Simple and Improved Preparation of  $\alpha$ -Aminophosphonic Acid Derivatives, Key Building Blocks of Phosphonopeptides [J]. Synthesis, 1994, 1994(8): 763-764.
- [16] 宋宝安, 蒋木庚.  $\alpha$ -氨基磷酸及其酯的合成及生物活性的研究进展 [J]. 有机化学, 2004, 24(8): 843-856.
- [17] ALI SHAFAKAT ALI N, ZAKIR S, PATEL M, et al. Synthesis of New  $\alpha$  Aminophosphonate System Bearing Indazole Moiety and Their Biological Activity [J]. ChemInform, 2012, 43(35): 39-43.
- [18] DENG S L, BAGLIN I, NOUR M, et al. Synthesis of Ursolic Phosphonate Derivatives as Potential Anti-HIV Agents [J]. Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements, 2007, 182(5): 951-967.
- [19] ZHANG G P, HAO G F, PAN J K, et al. Asymmetric Synthesis and Bioselective Activities of  $\alpha$ -Aminophosphonates Based on the Dufulin Motif [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(21): 4207-4213.
- [20] HELLAL A, CHAFAA S, CHAFAI N, et al. Synthesis, Antibacterial Screening and DFT Studies of Series of  $\alpha$ -Aminophosphonates Derivatives from Aminophenols [J]. Journal of Molecular Structure, 2017, 1134: 217-225.
- [21] AWAD M K, ABDEL-AAL M F, ATLAM F M, et al. Synthesis of New  $\alpha$ -Aminophosphonates Containing 3-Amino-4 (3H) Quinazolinone Moiety as Anticancer and Antimicrobial Agents; DFT, NBO, and Vibrational Studies [J]. Current Organic Synthesis, 2018, 15(2): 286-296.
- [22] KABOUDIN B, MORADI K. A Simple and Convenient Procedure for the Synthesis of 1-Aminophosphonates from Aromatic Aldehydes [J]. Tetrahedron Letters, 2005, 46(17): 2989-2991.
- [23] 崔玉莹, 王宪贝, 李玉坤, 等. 金银花、连翘水煎液对金黄色葡萄球菌的抑制作用研究 [J]. 光明中医, 2017, 32(18): 2637-2638.
- [24] 尤 玲. 基于 M2 型丙酮酸酶(PKM2)为靶点的灯盏乙素抗肿瘤机制研究 [D]. 贵阳: 贵州医科大学, 2017.

## Synthesis and Bioactivity of Novel Phosphate Derivatives Containing Heterocyclic Moieties

HU Shi-qin, FAN Ling-ling, LIU Jing-zi, HE Bin,  
SHEN Xiang-chun, LIAO Shang-gao, LI Yong-jun

School of Pharmacy, Guizhou Medical University/Provincial Key Laboratory of Pharmaceutics/Engineering Research Center for the Development and Application of Ethnic, Guizhou Medicine and TCM, Ministry of Education, Guiyang 550004, China

**Abstract:** In order to obtain broad-spectrum and highly effective bioactivity lead compounds, a series of novel phosphonate derivatives containing heterocyclic moieties were synthesized with a simple method based on our preliminary research and combined with the drug design principle. Their structures were confirmed and characterized by IR, ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$  and  $^{19}\text{F}$ ) NMR and HRMS (ESI). A test of their bioactivity showed that some compounds had antibacterial activity against *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* and MRSA (Methicillin-resistant *S. aureus*) in some degree. Compounds A<sub>4</sub>, A<sub>8</sub>, A<sub>22</sub>, A<sub>24</sub>, A<sub>27</sub> and A<sub>28</sub> had a good antibacterial activity close or equal to that of the control agent Ampicillin. At the same time, it was found that compounds A<sub>24</sub> and A<sub>28</sub> had antitumor activity against tumor cell HT29 and human lung cancer cell A549, their  $IC_{50}$  being  $18.0 \pm 0.7 \mu\text{mol/L}$  and  $17.1 \pm 1.3 \mu\text{mol/L}$ , respectively, which was close to that of the control drug SAHA, whose  $IC_{50}$  was  $14.3 \pm 1.1 \mu\text{mol/L}$  and  $12.5 \pm 1.8 \mu\text{mol/L}$ , respectively. Further SAR (structure-activity relationship) studies based on our present results will be of significance for the structural modification and optimization of these compounds.

**Key words:** heterocyclic; phosphonate; synthesis; antibacterial activity; antitumor activity

