新型嘧啶并喹啉衍生物的合成及体外抑菌活性评价

陈玉^a 柏舜^a 艾勇^b 范华^b 杨光忠^{*,b}^(a) 中南民族大学化学与材料科学学院 武汉 430074)^(b) 中南民族大学药学院 武汉 430074)

摘要 采用简便有效的方法合成了一系列新型的嘧啶并[5,4-*c*]喹啉-4(3*H*)-酮衍生物, 通过 IR, ¹H NMR, HRMS 对所合成的化合物进行了结构表征, 并用微稀释液体培养法对革兰氏阳性菌(枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌)、革兰氏阴性菌(大肠杆菌)以及真菌(白色念珠球菌)进行了体外抑菌活性评价。抑菌活性的筛选结果表明: 所测化合物均表现一定的抗菌和抗真菌活性。

关键词 嘧啶并喹啉衍生物; 抑菌评价; 氮杂 Wittig 反应

Synthesis and Antimicrobial Evaluation of Novel Pyrimidoquinolines

Chen, Yu^a Bai, Shun^a Ai, Yong^b Fan, Hua^b Yang, Guangzhong^{*,b}^(a) College of Chemistry and Materials Science, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074)^(b) College of Pharmacy, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074)

Abstract A facile and efficient approach was adopted for the synthesis of a series of novel pyrimido[5,4-*c*]quinolin-4(3*H*)-one derivatives. All the synthesized compounds were characterized using spectroscopic data (IR, ¹H NMR, and mass spectrometry) and evaluated for their *in vitro* antimicrobial activities against Gram-positive bacteria (*Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*), Gram-negative bacteria (*Escherichia coli*) as well as fungi (*Candida albicans*) by broth microdilution method. The antimicrobial screening revealed that the tested compounds showed slightly to moderate antibacterial and antifungal activities.

Keywords pyrimidoquinoline derivative; antimicrobial evaluation; azo-Wittig reaction

杂环化合物广泛分布于自然界, 其数量几乎占已知有机化合物的三分之一, 许多重要的天然药物、合成药物和高效低毒的农药等都含有杂环化合物的结构, 因此, 杂环化合物在新医药、新农药和新材料等领域有广泛的应用前景, 合成具有结构多样性的杂环一直是有机合成化学研究的热点领域^[1]。嘧啶并喹啉类化合物以其显著和广泛的生物活性成为当今药物化学家研究的热点之一, 它具有抗微生物、抗真菌、抗癌、抗病毒、镇痛和抗炎等多种药理活性^[2]。现已合成的嘧啶并喹啉类化合物主要有三种稠合方式: 嘧啶并[4,5-*b*]喹啉类、嘧啶并[4,5-*c*]喹啉类、嘧啶并[5,4-*c*]喹啉类(Scheme 1)。嘧啶并[4,5-*b*]喹啉类由于同天然的黄素的结构类似, 引起药物化学家广泛兴趣, 合成了大量黄素的类似物嘧啶并[4,5-*b*]喹啉类衍生物^[3], 发现了若干具有抗肿瘤活性的

化合物, 并具有选择性的蛋白激酶的抑制活性, 化合物 5-deazaflavin 和 2-deoxy-2-phenyl-5-deazaflavins 为其代表性的化合物(Scheme 1)^[4]。而对于另外两种[4,5-*c*]和

Scheme 1

* E-mail: yanggz888@126.com

Received October 13, 2012; revised December 16, 2012; published online January 4, 2013.

Project supported by the National Key Technology R&D Program in the 12th Five Year Plan of China (No. 2012BAI27B06).

国家科技支撑计划(No. 2012BAI27B06)资助项目。

[5,4-*c*]的嘧啶并喹啉类衍生物研究较少,也有文献报道这两类衍生物具有细胞毒^[5,6]和抗氧化的活性^[7]。

膦亚胺叶立德的氮杂 Wittig 反应已广泛地应用于氮杂环的合成,已成为一种合成新型氮杂环及具有生理活性的天然杂环化合物的新方法^[8],为了进一步研究嘧啶并喹啉衍生物的生物活性,本文利用氮杂 Wittig 反应,合成了一系列新型的嘧啶并[5,4-*c*]喹啉衍生物,并对其体外抑菌活性进行了初步筛选。合成路线见 Scheme 2。

Scheme 2

1 结果与讨论

1.1 合成方法

根据文献[9]报道的方法,我们以 2-氨基苯腈(1)为原料,以无水四氯化锡为催化剂,用无水甲苯作溶剂,与乙酰乙酸甲酯缩合,可得到 2-甲基-4-氨基喹啉甲酸甲酯(2a):淡黄色粉末,产率 36.1%, m.p. 159~160 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ: 2.82 (s, 3H, CH₃), 3.96 (s, 3H, CH₃), 7.06 (brs, 2H, NH₂), 7.43 (t, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H), 7.68 (t, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H), 7.78 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H), 7.89 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H), 由于产率太低,从而影响其他中间体和目标化合物的合成。合成路线见 Eq. 1。

经过反复的合成探索,我们最终选用与乙酰乙酸甲酯性质类似的乙酰乙酸乙酯来合成 2-甲基-4-氨基喹啉甲酸乙酯 2,并且延长了反应时间以及改变了分离提纯方法,最终得到淡黄色的中间体 2-甲基-4-氨基喹啉甲

酸乙酯 2,产率达到了 68%。利用氮杂 Wittig 反应使膦亚胺中间体 3 与对氯苯基异氰酸酯(对氟苯基异氰酸酯或苯基异氰酸酯)反应,得到碳二亚胺 4。以无水乙腈作溶剂,在催化量碳酸钾的存在下,将碳二亚胺 4 与相应的酚顺利关环得到目标化合物 5a~5m。经反应温度及时间的探索,反应温度控制在 75 °C,反应时间控制在 4~6 h 为佳。通过对目标化合物反应最终产率的比较,结果显示:两个苯环上取代基的大小和电负性对关环的影响并不明显。

1.2 结构表征

所合成的嘧啶并[5,4-*c*]喹啉-4(3*H*)-酮衍生物 5a~5m 都经 IR, ¹H NMR, EI MS, HREIMS 分析确证。在红外光谱中,4 位羰基由于共轭效应的影响,在 1695 cm⁻¹ 附近出现强的伸缩振动吸收峰;在所有化合物的核磁共振氢谱中,与吡啶环相连的甲基由于吡啶环的吸电子作用而使其化学位移移向低场,其 δ 值在 2.99~3.17 之间,所有芳香质子的信号出现在 δ 7.30~8.20;在质谱中所有化合物都有一定强度的分子离子峰,主要的碎片离子峰与预期的目标产物的结构一致,部分化合物由于卤素的存在,出现了同位素峰。

1.3 生物活性

本文采用微稀释液体培养法对化合物 5a~5m 进行了体外抑菌活性筛选^[10]。目标化合物对照药品的体外抑菌活性筛选数据见表 1。筛选结果表明:所有目标化合物对枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和白色念珠球菌均具有一定程度的抑制作用。在所测试的化合物中,化合物 5b 对两种革兰氏阳性菌枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌显示出最强的抑制活性,其 MIC(最小抑制浓度)值达到 15.625 μg/mL。化合物 5h 和 5k 对革兰氏阴性菌大肠杆菌显示出最强的抑制活性,化合物 5b 和 5k 对白色念珠球菌显示出最强抑制活性。化合物 5b 和 5h 表现出广谱抑菌作用,可作为先导化合物进行结构修饰,以期获得较理想的具有抗菌活性的化合物。

2 结论

本文利用氮杂 Wittig 反应合成了一系列新型的嘧啶并[5,4-*c*]喹啉-4(3*H*)-酮衍生物,并对所合成的化合物进行了结构表征以及体外抑菌活性评价。研究成果有利于探索新的具有应用价值的新型化学抗菌化合物,为设计新的抗菌药物提供科学依据。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

红外光谱用 NE×US 470 型傅里叶红外光谱仪测定

表 1 化合物 5a~5m 和对照药品的体外抑菌活性数据[最小抑菌浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)]^aTable 1 In vitro antimicrobial activities [MIC/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)] of compounds 5a~5m and the standard drugs

Compd.	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Canibia albican</i>
5a	62.5	62.5	62.5	31.25
5b	15.625	15.625	31.25	15.625
5c	31.25	62.5	62.5	31.25
5d	>62.5	>62.5	>62.5	>62.5
5e	>62.5	>62.5	>62.5	>62.5
5f	62.5	62.5	62.5	>62.5
5g	>62.5	>62.5	>62.5	>62.5
5h	31.25	31.25	15.625	>62.5
5i	>62.5	>62.5	>62.5	>62.5
5j	>62.5	>62.5	>62.5	62.5
5k	>62.5	15.625	15.625	15.625
5l	>62.5	62.5	62.5	31.25
5m	>62.5	62.5	62.5	62.5
Kanamycin sulfate	1.953	1.953	3.906	NT
Tetracycline hydrochloride	32.5	0.977	1.953	NT
Nystatin	NT	NT	NT	1.953

^a NT: Not tested.

(KBr 压片); ¹H NMR 用 Varian XL-400 (300 或 600) 型核磁共振光谱仪(以 TMS 为内标, CDCl₃ 或 Acetone-*d*₆ 为溶剂); 质谱用 Finnigan TRACE 型质谱仪; 熔点用 X-5 显微熔点测定仪(控温型)测定(温度未经校正); 柱层析硅胶[100~200 目, 200~300 目(青岛海洋化工厂)].

乙腈、二氯甲烷和三乙胺使用前重新蒸馏并用 4 Å 分子筛处理, 甲苯用金属钠干燥, 甲醇、乙醇、石油醚、丙酮、乙酸乙酯、异氰酸苯酯、氟代异氰酸苯酯和氯代异氰酸苯酯为分析纯, 三苯基膦、六氯乙烷、各种酚等为化学纯.

硫酸卡那霉素、盐酸四环素(Amresco 分装); 制霉菌素(Duchefa 分装); M-H 液体培养基、沙氏液体培养基(杭州微生物试剂厂); 琼脂粉(武汉及时雨公司), 96 孔培养板(上海圣纳堡生物公司).

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、白色念珠菌(*Candida albicans*)由中国典型培养物保藏中心提供.

3.2 实验方法

3.2.1 中间体 2-甲基-4-氨基喹啉甲酸乙酯(2)的合成

2-氨基苯腈(1) (2.36 g, 20 mmol), 乙酰乙酸乙酯(2.6 ml, 20 mmol)和 SnCl₄ (3.7 ml, 32 mmol)加入到装有 50 mL 无水甲苯的 100 mL 三颈烧瓶中, 用 Ar 作为保护气, 室温下搅拌 0.5 h 后再加热回流 6 h (130 °C), 冷却后, 将溶液倒入饱和碳酸钠水溶液(150 mL, pH 10)中剧烈搅拌, 混合液体用乙酸乙酯(150 mL)分 3 次萃取, 合并有

机层, 用无水 Na₂SO₄ 干燥过夜, 抽滤后的溶液在减压下浓缩, 得到黄色粗产物. 粗产物经过硅胶柱层析[V(石油醚): V(丙酮)=7:3]分离, 得化合物 2. 淡黄色固体, 产率 68%. m.p. 157~159 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 1.44 (t, *J*=6.4 Hz, 3H, CH₃), 2.83 (s, 3H, CH₃), 4.45 (q, *J*=6.4 Hz, 2H, CH₂), 7.09 (brs, 2H, NH₂), 7.39 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, Ar-H), 7.66 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, Ar-H), 7.76 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H), 7.78 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H).

3.2.2 中间体膦亚胺 3 的合成

在装有 2-甲基-4-氨基喹啉甲酸乙酯(2) (1.15 g, 5 mmol)的 100 mL 三口烧瓶中, 依次加入 60 mL 无水 CH₂Cl₂ 和 Ph₃P (2.62 g, 10 mmol), 再缓慢加入 C₂Cl₆ (2.37 g, 10 mmol), 在匀速搅拌下缓慢滴加 5.0 mL 无水 Et₃N, 室温下搅拌 24 h, 浓缩后的油状物粗产物经过硅胶柱层析[V(石油醚): V(丙酮)=8:2]分离得到膦亚胺 3, 产率 70%, m.p. 217~218.8 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ : 1.09 (t, *J*=7.2 Hz, 3H, CH₃), 2.56 (s, 3H, CH₃), 3.91 (q, *J*=7.2 Hz, 2H, CH₂), 6.97~7.80 (m, 19H, Ar-H).

3.2.3 中间体膦碳二亚胺 4 的合成

在 0 °C 及 Ar 保护下, 将对氟苯基异氰酸酯(0.27 g, 2 mmol)[或者对氯苯基异氰酸酯(0.30 g, 2 mmol)或者苯基异氰酸酯(0.24 g, 2 mmol)]滴加到膦亚胺 3 (1.1 g, 2 mmol)的二氯甲烷溶液(20 mL)中, 在室温下搅拌 24 h, 减压脱去大部分溶剂, 加入乙醚/石油醚(*V*:*V*=1:2, 30 mL)洗涤除去三苯基氧磷, 过滤, 滤液在减压下脱去溶剂得碳二亚胺 4, 无需纯化可直接用于下一步反应.

3.2.4 目标化合物 2-芳氧基-3-芳基-5-甲基嘧啶并[5,4-*c*]喹啉-4(3*H*)-酮(**5**)的合成

将所得碳二亚胺 **4** (2 mmol) 溶于 15 mL 重新蒸馏过的无水乙腈中, 滴加相应的取代酚, 并加入催化量的无水碳酸钾(0.024 g, 0.2 mmol), 混合后在 75 °C 下搅拌反应 4~6 h, 过滤, 所得滤液脱去溶剂, 残余固体用硅胶柱层析[*V*(石油醚): *V*(丙酮)=7:3]分离, 得目标产物 2-芳氧基-3-芳基-5-甲基嘧啶并[5,4-*c*]喹啉-4(3*H*)-酮 **5a~5m**.

化合物 **5a~5m** 的物理性质和收率见表 2.

2-(2-氯苯氧基)-3-(4-氯苯基)-5-甲基嘧啶并[5,4-*c*]喹啉-4(3*H*)-酮(**5a**): ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 3.13 (s, 3H, CH₃), 7.33~7.62 (m, 9H, Ar-H), 7.79 (t, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H), 8.00 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H), 8.14 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H); IR (KBr) ν : 1699 (C=O) cm⁻¹; EI MS *m/z*: 451 ([*M*+4]⁺, 6), 449 ([*M*+2]⁺, 30), 447 (*M*⁺, 45), 416 (10), 414 (38), 412 (100), 320 (39), 296 (13), 294 (38), 259 (24), 211 (7), 155 (50), 128 (15), 75 (3). HREIMS calcd for C₂₄H₁₅Cl₂O₂N₃ 447.0542, found 447.0542.

2-(3-甲基-4-氯苯氧基)-3-(4-氯苯基)-5-甲基嘧啶并[5,4-*c*]喹啉-4(3*H*)-酮(**5b**): ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 2.44 (s, 3H, CH₃), 3.15 (s, 3H, CH₃), 7.08~7.11 (m, 2H, Ar-H), 7.38 (d, *J*=8.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.45 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H), 7.54 (t, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H), 7.59 (d, *J*=8.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.84 (t, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H), 8.08 (brs, 1H, Ar-H), 8.29 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H); IR (KBr) ν : 1695 (C=O) cm⁻¹; EI MS *m/z*: 463 ([*M*+2]⁺, 24), 461 (*M*⁺, 36), 320 (34), 310 (34), 308 (100), 273 (51), 262 (27), 211 (8), 155 (65), 128 (19), 127 (21), 57 (21). HREIMS calcd for C₂₅H₁₇Cl₂O₂N₃ 461.0702, found 461.0703.

2-(4-甲基苯氧基)-3-(4-氯苯基)-5-甲基嘧啶并[5,4-*c*]喹啉-4(3*H*)-酮(**5c**): ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 2.45 (s, 3H, CH₃), 3.16 (s, 3H, CH₃), 7.12 (d, *J*=8.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.28 (d, *J*=8.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.39 (d, *J*=8.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.52 (t, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H), 7.59 (d, *J*=8.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.83 (t, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H), 8.12 (brs, 1H, Ar-H), 8.30 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H); IR (KBr) ν : 1699.6 (C=O) cm⁻¹; EI MS *m/z*: ([*M*+2]⁺, 13), 427 (*M*⁺, 35), 320 (23), 274 (100), 211 (10), 155 (43), 57 (9). HREIMS calcd for C₂₅H₁₈ClO₂N₃, 427.1098, found 471.1099.

2-(4-氟苯氧基)-3-(4-氯苯基)-5-甲基嘧啶并[5,4-*c*]喹啉-4(3*H*)-酮(**5d**): ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 3.12 (s, 3H, CH₃), 7.16~7.28 (m, 4H, Ar-H), 7.39 (d, *J*=8.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.50 (t, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H), 7.59 (d, *J*=8.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.81 (t, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H), 8.01 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H), 8.25 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H); IR (KBr) ν : 3068.8 (Ar), 2924.1 (C—H), 1696.9 (C=O), 1611.0, 1565.1, 1494.7, 1366.0, 1329.5 (C—N), 1189.7, 1090.0, 1042.0, 1013.3, 841.3, 811.5 cm⁻¹; EI MS *m/z*: ([*M*+2]⁺, 15), 431 (*M*⁺, 38), 320 (29), 278 (100), 211 (6), 155 (45). HREIMS calcd for C₂₄H₁₅FCIO₂N₃ 431.0835, found 431.0835.

2-(4-三氟甲基苯氧基)-3-(4-氯苯基)-5-甲基嘧啶并[5,4-*c*]喹啉-4(3*H*)-酮(**5e**): ¹H NMR (Acetone-*d*₆, 400 MHz) δ : 3.01 (s, 3H, CH₃), 7.52 (t, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H), 7.67~7.97 (m, 10H, Ar-H), 8.24 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H); IR (KBr) ν : 1690 (C=O) cm⁻¹; EI MS *m/z*: 481 ([*M*]⁺, 66), 328 (100), 320 (52), 155 (50), 128 (12). HREIMS calcd for C₂₅H₁₅ClF₃N₃O₂ 481.0801, found 481.0800.

表 2 化合物 **5a~5m** 的理化性质和收率

Table 2 Physical properties and yields of compounds **5a~5m**

Compd.	R ¹	R ²	Color	m.p./°C	Yield/%
5a	Cl	2-Chlorophenoxy	White solid	201.5~202.9	35
5b	Cl	4-Chloro-3-methylphenoxy	White solid	226.5~227.8	34
5c	Cl	<i>p</i> -Tolyloxy	White solid	297.0~299.4	34
5d	Cl	4-Fluorophenoxy	White solid	207.5~210.0	32
5e	Cl	4-Trifluoromethylphenoxy	White powder	216.8~218.6	34
5f	F	Phenoxy	White powder	208.6~211.0	32
5g	F	2,5-Dimethylphenoxy	Pale yellow powder	173.3~175.2	35
5h	F	2,4-Dichlorophenoxy	White solid	238.9~241.0	33
5i	F	Naphthalen-1-yloxy	Pale yellow crystal	230.8~232.1	32
5j	F	4-Trifluoromethylphenoxy	White powder	263.4~264.7	31
5k	H	Phenoxy	White powder	255.4~256.8	29
5l	H	<i>p</i> -Tolyloxy	White powder	259.8~261.7	31
5m	H	4-Fluorophenoxy	White powder	245.3~247.0	31

2-苯氧基-3-(4-氟苯基)-5-甲基嘧啶并[5,4-*c*]喹啉-4(3*H*)-酮(**5f**): ^1H NMR (Acetone- d_6 , 400 MHz) δ : 3.01 (s, 3H, CH₃), 7.09~7.19 (m, 1H, Ar-H), 7.33~7.35 (m, 1H, Ar-H), 7.48~7.56 (m, 4H, Ar-H), 7.83~7.85 (m, 4H, Ar-H), 7.96 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, Ar-H), 8.24 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Ar-H); IR (KBr) ν : 1689 (C=O) cm^{-1} ; EI MS m/z : 398 ($[\text{M}+1]^+$, 13), 397 ($[\text{M}]^+$, 53), 339 (4), 337 (9), 304 (32), 278 (48), 277 (100), 260 (88), 201 (13), 199 (18), 184 (18), 155 (40), 127 (18), 77 (13). HREIMS calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{FN}_3\text{O}_2$ 397.1234, found 397.1235.

2-(2,5-二甲基苯氧基)-3-(4-氟苯基)-5-甲基嘧啶并[5,4-*c*]喹啉-4(3*H*)-酮(**5g**): ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 2.14 (s, 3H, CH₃), 2.40 (s, 3H, CH₃), 3.14 (s, 3H, CH₃), 7.03 (s, 1H, Ar-H), 7.09 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 7.21 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 7.28~7.33 (m, 2H, Ar-H), 7.43~7.49 (m, 3H, Ar-H), 7.80 (t, $J=8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 8.03 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 8.25 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Ar-H); IR (KBr) ν : 1691 (C=O) cm^{-1} ; EI MS m/z : 426 ($[\text{M}+1]^+$, 28), 425 ($[\text{M}]^+$, 100), 408 (14), 304 (21), 289 (14), 288 (69), 211 (12), 155 (35), 128 (10), 77 (4). HREIMS calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{FN}_3\text{O}_2$ 425.1539, found 425.1539.

2-(2,4-二氯苯氧基)-3-(4-氟苯基)-5-甲基嘧啶并[5,4-*c*]喹啉-4(3*H*)-酮(**5h**): ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 3.14 (s, 3H, CH₃), 7.28~7.35 (m, 3H, Ar-H), 7.41 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 7.47~7.57 (m, 4H, Ar-H), 7.82 (t, $J=8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 8.04 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 8.19 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Ar-H); IR (KBr) ν : 1704 (C=O) cm^{-1} ; EI MS m/z : 467 ($[\text{M}+2]^+$, 25), 465 ($[\text{M}]^+$, 38), 432 (35), 430 (100), 330 (37), 328 (60), 304 (54), 293 (29), 211 (13), 155 (73), 128 (23). HREIMS calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{14}\text{FCl}_2\text{N}_3\text{O}_2$ 465.0455, found 465.0456.

2-(1-萘氧基)-3-(4-氟苯基)-5-甲基嘧啶并[5,4-*c*]喹啉-4(3*H*)-酮(**5i**): ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 3.16 (s, 3H, CH₃), 7.36~7.40 (m, 3H, Ar-H), 7.51~7.62 (m, 6H, Ar-H), 7.69 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 7.76 (t, $J=8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 7.90 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 7.97 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 8.04~8.06 (m, 2H, Ar-H); IR (KBr) ν : 1698 (C=O) cm^{-1} ; EI MS m/z : 448 ($[\text{M}+1]^+$, 9), 447 ($[\text{M}]^+$, 32), 311 (20), 310 (100), 304 (14), 211 (13), 155 (13), 144 (12), 128 (16), 155 (13), 57 (13). HREIMS calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{O}_2$ 447.1388, found 447.1389.

2-(4-三氟甲基苯氧基)-3-(4-氟苯基)-5-甲基嘧啶并[5,4-*c*]喹啉-4(3*H*)-酮(**5j**): ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 3.14 (s, 3H, CH₃), 7.28~7.34 (m, 3H, Ar-H), 7.40~7.46 (m, 3H, Ar-H), 7.53 (t, $J=8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 7.73~7.86

(m, 3H, Ar-H), 8.07 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 8.27 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Ar-H); IR (KBr) ν : 1690 (C=O) cm^{-1} ; EI MS m/z : 466 ($[\text{M}+1]^+$, 20), 465 ($[\text{M}]^+$, 81), 335 (27), 329 (18), 328 (100), 305 (13), 304 (69), 211 (4), 155 (56), 128 (15). HREIMS calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{15}\text{F}_4\text{N}_3\text{O}_2$ 465.1104, found 465.1104.

2-苯氧基-3-苯基-5-甲基嘧啶并[5,4-*c*]喹啉-4(3*H*)-酮(**5k**): ^1H NMR (Acetone- d_6 , 600 MHz) δ : 3.00 (s, 3H, CH₃), 7.36~7.92 (m, 12H, Ar-H), 7.93 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, Ar-H), 8.22 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H); IR (KBr) ν : 1689 (C=O) cm^{-1} ; EI MS m/z : 380 ($[\text{M}+1]^+$, 15), 379 (M^+ , 54), 286 (29), 260 (100), 155 (37), 128 (10), 77 (8). HREIMS calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2$ 379.1314, found 379.1313.

2-(4-甲基苯氧基)-3-苯基-5-甲基嘧啶并[5,4-*c*]喹啉-4(3*H*)-酮(**5l**): ^1H NMR (Acetone- d_6 , 300 MHz) δ : 2.26 (s, 3H, CH₃), 2.86 (s, 3H, CH₃), 7.09~7.81 (m, 12H, Ar-H), 8.12 (d, $J=8.1$ Hz, 1H, Ar-H); IR (KBr) ν : 1690 (C=O) cm^{-1} ; EI MS m/z : 394 ($[\text{M}+1]^+$, 10), 393 (M^+ , 36), 286 (20), 275 (17), 274 (100), 155 (30), 128 (8). HREIMS calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2$ 393.1474, found 393.1474.

2-(4-氟苯氧基)-3-苯基-5-甲基嘧啶并[5,4-*c*]喹啉-4(3*H*)-酮(**5m**): ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ : 3.09 (s, 3H, CH₃), 7.11~7.60 (m, 10H, Ar-H), 7.76 (td, $J=8.4$, 1.2 Hz, 1H, Ar-H), 7.78 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 8.22 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H); IR (KBr) ν : 1697 (C=O) cm^{-1} ; EI MS m/z : 398 ($[\text{M}+1]^+$, 12), 397 (M^+ , 49), 286 (31), 279 (19), 278 (100), 155 (37), 128 (10). HREIMS calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{FN}_3\text{O}_2$ 397.1230, found 397.1230.

3.3 抗微生物活性的测定

抗微生物的活性^[10]是通过测定化合物的最小抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)来进行的. 所有的化合物都溶解在二甲基亚砜中, 然后用无菌水连续三次稀释. 样品(200 μL)加到 96 孔板的第一列中, 其余的 11 列加上 100 μL 的 M-H 液体培养基(真菌用沙氏液体培养基). 连续的稀释后加入 100 μL 的微生物悬浮液(10^5 CFU/mL), 从而各样品的浓度范围在 62.5 到 0.03 $\mu\text{g/mL}$. 接种完的 96 孔板在 37 $^\circ\text{C}$ 恒温培养箱中培养 18 h. 通过观察最低抑菌浓度确定 MIC 值. 所有的化合物重复三次实验. 硫酸卡那霉素、盐酸四环素和制霉菌素作为对照品.

References

- [1] Ding, M.-W. *Sci. China, Ser B: Chem.* **2010**, *40*, 869 (in Chinese). (丁明武, 中国科学: 化学, **2010**, *40*, 869.)
- [2] El-Gazzar, A. B. A.; Hafez, H. N.; Nawwar, G. A. M. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 1427.

- [3] Shrestha, A. R.; Ali, H. I.; Ashida, N.; Nagamatsu, T. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 9161.
- [4] Ali, H. I.; Tomita, K.; Akaho, E.; Kambara, H.; Miura, S.; Hayakawa, H.; Ashida, N.; Kawashima, Y.; Yamagishi, T.; Ikeya, H.; Yoneda, F.; Nagamatsu, T. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 242.
- [5] Metwally, K.; Aly, O.; Aly, E.; Banerjee, A.; Racindra, R.; Bane, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 2434.
- [6] Metwally, K.; Pratsinis, H.; Kletsas, D. *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, *42*, 344.
- [7] Ismaili, L.; Nadaradjane, A.; Nicod, L.; Guyon, C.; Xicluna, A.; Robert, J. F.; Refouvelet, B. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 1270.
- [8] Ding, M-W.; Liu, Z-J. *Chin. J. Org. Chem.* **2001**, *21*, 1 (in Chinese).
(丁明武, 刘钊杰, 有机化学, **2001**, *21*, 1.)
- [9] Veronese, A. C.; Callegari, R.; Morelli, C. F. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 12277.
- [10] Zgoda, J. R.; Porter, J. R. *Pharm. Biol.* **2001**, *39*, 211.

(Cheng, F.)