O,O'-二烷基- α -苯基- α -(取代苯甲酰氧基)-甲基膦酸酯的合成与抗肿瘤活性

杨家强^{*,a} 谷 晴^a 束 波^b 宋宝安^c 刘静姿^a

(^a 遵义医学院药学院 遵义 563003)

(^b 遵义医学院生物化学与分子生物学教研室 遵义 563003)

(^c 贵州大学精细化工研究中心 贵阳 550025)

摘要 为了寻找新型抗肿瘤先导物, 采用缩合剂 *N,N'*-二环己基碳二亚胺(DCC)合成酯的方法, 以 *O,O'*-二烷基-1-羟基-(取代苯基)甲基膦酸酯、取代苯甲酸为原料合成 16 个目标物, 其中 12 个化合物未见报道. 经 IR, ¹H NMR, ¹³C NMR 及元素分析对所合成的化合物进行了结构确认和表征. 并首次研究了该系列化合物的抗肿瘤活性. 结果表明: 目标物具有一定的抑制肿瘤细胞增殖作用, 其中 **2i**, **2k**, **2m** 对 SGC-7901 的 IC₅₀ 值分别为 18.8, 18.5, 24.5 μ mol/L, 对 A-549 的 IC₅₀ 值分别为 24.1, 29.0, 20.7 μ mol/L, 显示出潜在的抗肿瘤活性, 值得进一步研究. 在此基础上, 初步研究其构效关系.

关键词 α -羟基膦酸酯; 合成; 酯化; 抗肿瘤

Synthesis and Antitumor Activity of O,O'-Dialkyl- α -phenyl- α -(substituted benzoylanoxy)-methylphosphonate

Yang, Jiaqiang^{*,a} Gu, Qing^a Shu, Bo^b Song, Baoan^c Liu, Jingzi^a

(^a School of Pharmacy, Zunyi Medical College, Zunyi 563003)

(^b Department of Biochemistry and Molecular Biology, Zunyi Medical College, Zunyi 563003)

(^c Center for Research and Development of Fine Chemicals, Guizhou University, Guiyang 550025)

Abstract In search of more effective anticancer agents, the title compounds were prepared via the esterification reaction of α -hydroxyphosphonate and substituted benzoic acid with *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) as condensing agent. Twelve of them were reported for the first time. Their structures were clearly established by elemental analysis, IR, ¹H NMR and ¹³C NMR spectra. The antitumor activities of target compounds were tested for the first time. The result indicated that they exhibited certain antitumor activities, and compounds **2i**, **2k**, **2m** showed more potent activities against SGC-7901 with IC₅₀ values of 18.8, 18.5 and 24.5 μ mol/L, against A-549 with IC₅₀ values of 24.1, 29.0 and 20.7 μ mol/L. Meanwhile, preliminary structure-activity relationships of the title compounds were studied.

Keywords α -hydroxyphosphonate; synthesis; esterification; antitumor activity

含磷化合物一直是有机化学研究的热点之一, 其广泛的生物活性及多变的结构类型受到人们的关注. 许多合成药物以及从天然产物中提取到的药物都含有磷原子, 其中膦酸酯类化合物应用极为广泛, 尤为引人注目^[1-3].

本课题组近年来先后设计合成一系列含磷酸酯、膦酰基、氨基膦酸酯类化合物, 发现不同系列化合物表现

出抗病毒^[4,5]、杀菌^[6]、抗肿瘤^[7-9]等生物活性. α -羟基膦酸及其酯作为 α -羟基酸的含磷类似物, 已经成为有机磷化学近年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. 人们对其合成方法^[10-13]与生物活性^[14-19]进行了研究, 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^[20,21], 从而表现出多种重要的生

* E-mail: yjqcn@126.com

Received November 20, 2012; revised December 20, 2012; published online January 7, 2013.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81160385) and the Science and Technology Department of Guizhou Province (No. LKZ[2010]47).

国家自然科学基金(No. 81160385)和贵州省科技厅基金(No. 黔科合 J 字 LKZ[2010]47)资助项目.

理活性, 广泛应用于医药和农药领域. 受此启发, 为了寻找有研究价值的抗肿瘤活性分子, 我们在前期对含磷化合物的研究基础上, 根据活性亚结构拼接原理, 将取代苯甲酰基引入到 α -羟基磷酸酯结构, 设计合成了 16 个 O,O' -二烷基- α -苯基- α -(取代苯甲酰氧基)-甲基磷酸酯衍生物, 其中 12 个化合物未见报道. 通过 IR、核磁及元素分析对其结构进行了表征, 并首次对该类化合物的抗肿瘤活性进行了初步研究. 合成路线见 Scheme 1.

Scheme 1

1 结果与讨论

1.1 合成方法

通过文献[11]查阅, 此类酯类化合物的合成, 往往采用酰氯合成法, 但制备酰氯时需要羧酸与氯化试剂反应, 同时产物中有氯化氢等有害气体生成. 因此, 从简便、环保的角度出发, 我们选择了在 DCC 缩合剂作用下让 O,O' -二烷基-1-羟基-(取代苯基)甲基磷酸酯与取代苯甲酸一步反应合成目标物. 以化合物 **2a** 的合成为例, 首先我们试验不使用缩合剂, 直接让对硝基苯甲酸与 α -羟基苯基磷酸二乙酯脱水进行酯化, 发现反应时间长且产率及低. 因此, 为了加速反应的发生, 我们选择了合成酯最常用的缩合剂 DCC, 按照第 3.2 节方法试验, 得产物, 且有较高产率. 同时我们也考察了不同溶剂对反应的影响. 分别选择氯仿、二氯甲烷、四氢呋喃、环己烷、甲苯 5 种溶剂进行试验, 结果如表 1. 从表 1 可以看出以中等极性二氯甲烷为溶剂, 反应产率最高, 达到 68.5%, 而选择其它极性较大或较小的溶剂, 都不及二氯甲烷为溶剂的产率高, 尤其在极性较小的溶剂环己烷中, 产率仅 12.3%.

2.1 谱图解析

在 IR 谱中, 化合物在 $1640\sim 1670\text{ cm}^{-1}$ 之间, 有较强的 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动吸收; 在 $1450\sim 1610\text{ cm}^{-1}$ 之间, 有中等强度的苯环 $\text{C}=\text{C}$ 骨架振动吸收峰; 在 $1220\sim 1300$

表 1 不同溶剂对目标产物 **2a** 产率的影响Table 1 The influence of different solvent on the yield of title compound **2a**

溶剂	氯仿	四氢呋喃	环己烷	二氯甲烷	甲苯
产率/%	58.6	45.2	12.3	68.5	49.2

cm^{-1} 之间, 有较强的 $\text{P}=\text{O}$ 伸缩振动吸收峰; 在 $990\sim 1100\text{ cm}^{-1}$ 之间有较强的 $\text{P}-\text{O}-\text{C}$ 伸缩振动吸收峰.

在 $^1\text{H NMR}$ 谱中, 苯环上的氢在 $\delta 7.00\sim 8.30$ 之间, 符合一般取代苯的质子吸收规律; 与磷原子相连的 CH 上的 H 由于受到磷原子的偶合影响, 裂分为两个等高的双峰, 化学位移在 $\delta 6.10\sim 6.50$ 之间.

2.3 抗肿瘤活性

从表 2 可以看出目标化合物对所测试的肿瘤细胞表现出一定的增殖抑制活性, 伴随着取代基的不同化合物表现出不同的抑制活性. 其中化合物 **2b**, **2d**, **2g**, **2i**, **2k**, **2l**, **2m** 对人肺癌细胞(A-549)的增殖抑制活性较强, 尤其是化合物 **2g** ($\text{R}=\text{C}_2\text{H}_5$, $\text{R}^1=4\text{-F}$, $\text{R}^2=4\text{-CH}_3$), **2m** [$\text{R}=\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $\text{R}^1=4\text{-F}$, $\text{R}^2=4\text{-NO}_2$]对 A-549 的抑制活性最强, IC_{50} 分别为 19.8 , $20.7\text{ }\mu\text{mol/L}$; 有 4 个化合物对人胃癌细胞(SGC-7901)的增殖抑制活性较强, 分别为化合物 **2i**, **2k**, **2m**, **2o**, 而 **2i** [$\text{R}=\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $\text{R}^1=\text{H}$, $\text{R}^2=4\text{-NO}_2$], **2k** [$\text{R}=\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $\text{R}^1=\text{H}$, $\text{R}^2=4\text{-CH}_3$]对 SGC-7901 的抑制活性最好, IC_{50} 分别为 18.8 , $18.5\text{ }\mu\text{mol/L}$; 化合物 **2f** ($\text{R}=\text{C}_2\text{H}_5$, $\text{R}^1=4\text{-F}$, $\text{R}^2=\text{H}$), **2g** ($\text{R}=\text{C}_2\text{H}_5$, $\text{R}^1=4\text{-F}$, $\text{R}^2=4\text{-CH}_3$)对人白血病细胞(K-562)有较好的抑制作用.

表 2 显示, 对 SGC-7901 抑制活性较强的 4 个化合物 $\text{R}=\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, 同时 R^2 为 4-CH_3 或 4-NO_2 , 而 R^1 无明显规律; 对 K-562 有较好抑制活性的 2 个化合物 $\text{R}=\text{C}_2\text{H}_5$, R^1 为 4-F ; 对 A-549 增殖抑制活性较强的 7 个化合物中有 6 个化合物 R^1 为 H, R^2 为 4 位取代物, 且 R^2 大多为 4-CH_3 或 4-NO_2 , 而 R 无明显规律; 化合物 **2i**, **2k**, **2m** 对 A-549 和 SGC-7901 两种肿瘤细胞都有较好的抑制作用, R 为 $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, R^2 为 4-CH_3 或 4-NO_2 . 这些分析初步表明 R^2 为 4-CH_3 或 4-NO_2 时, 此类化合物大多对所测试的肿瘤细胞有较好的抑制作用; $\text{R}=\text{C}_2\text{H}_5$ 对 K-562 抑制活性较好, 对 SGC-7901 抑制作用较强的化合物 R 大多为 $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$; R^1 为 4-F 的化合物大多对 K-562 表现出较好抑制活性, 而对 A-549 活性较好的化合物中, R^2 多为 H.

从表 2 的数据, 我们看到目标物对肿瘤细胞的增殖抑制活性较临床一线抗肿瘤药物顺铂有一定差距, 但是此类化合物表现出来的潜在抗肿瘤活性值得期待, 有关该类化合物的抗肿瘤机理有待进一步研究.

表2 目标化合物对 A-549, SGC-7901, K-562 的 IC₅₀ 值
Table 2 IC₅₀ values of target compounds for A-549, SGC-7901 and K-562

Compd.	R	R ¹	R ²	IC ₅₀ /(μmol·L ⁻¹)		
				A-549	SGC-7901	K-562
2a	C ₂ H ₅	H	4-NO ₂	34.8	56.1	43.2
2b	C ₂ H ₅	H	H	27.3	33.6	53.2
2c	C ₂ H ₅	H	4-CH ₃	72.4	32.5	33.8
2d	C ₂ H ₅	H	4-F	22.8	37.3	68.5
2e	C ₂ H ₅	4-F	4-NO ₂	43.2	44.7	37.9
2f	C ₂ H ₅	4-F	H	45.1	33.2	25.9
2g	C ₂ H ₅	4-F	4-CH ₃	19.8	37.6	28.3
2h	C ₂ H ₅	4-F	4-F	134.5	98.2	55.3
2i	CH(CH ₃) ₂	H	4-NO ₂	24.1	18.8	43.2
2j	CH(CH ₃) ₂	H	H	156.2	78.5	44.7
2k	CH(CH ₃) ₂	H	4-CH ₃	29.0	18.5	56.3
2l	CH(CH ₃) ₂	H	4-F	29.5	32.4	115.8
2m	CH(CH ₃) ₂	4-F	4-NO ₂	20.7	24.5	43.6
2n	CH(CH ₃) ₂	4-F	H	43.2	61.5	52.1
2o	CH(CH ₃) ₂	4-F	4-CH ₃	53.9	28.6	73.6
2p	CH(CH ₃) ₂	4-F	4-F	38.3	45.1	82.8
Cisplatin				8.6	7.1	17.5

2 结论

通过缩合剂 DCC 合成酯的方法, 设计合成了一系列 *O,O'*-二烷基- α -苯基- α -(取代苯甲酰氧基)-甲基膦酸酯衍生物, 对目标化合物的抗肿瘤活性研究表明: 此类化合物有抑制所测肿瘤细胞增殖活性的作用, 尤其是化合物 **2i**, **2k**, **2m** 有较好的抑制活性, 具有潜在的研究价值. 进一步结构优化及构效关系深入研究正在进行.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

X-4 型数显熔点测定仪; Varian 红外光谱仪, KBr 压片; Bruker 400 MHz 核磁共振仪(溶剂 CDCl₃, 内标 TMS); 德国 Elementar Vavio-III 型元素分析仪; ELX800 通用酶标仪.

二烷基氧膦酸酯按照文献[22]合成, 中间体 **1** 的合成参见文献[23], 二氯甲烷在 P₂O₅ 中回流干燥处理, *N,N'*-二环己基碳二亚胺(DCC)购于阿拉丁试剂公司, 其余试剂与溶剂均为化学纯或分析纯, 用前不需要进一步处理.

3.2 实验方法

将取代苯甲酸(10 mmol)与中间体 **1**(10 mmol)置于 50 mL 三口反应瓶中, 加入 20 mL 无水二氯甲烷溶解, 在冰-盐浴 0 °C 下, 缓慢滴加 *N,N'*-二环己基碳二亚胺(DCC) (9 mmol DCC 溶于 10 mL 无水 CH₂Cl₂), 1 h 滴加完毕, 室温下搅拌反应, TLC 跟踪反应过程, 15~20 h 后反应结束. 旋转蒸发仪上减压浓缩溶剂, 常压柱层析

[*V*(石油醚): *V*(乙酸乙酯)=1:1], 即得产物.

O,O'-二乙基- α -苯基- α -(4-硝基苯甲酰氧基)-甲基膦酸酯(**2a**): 浅黄色粘稠液体, 产率 68.1%. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.22~8.03 (m, 4H, ArH), 7.52~7.25 (m, 5H, ArH), 6.30 (d, *J*=13.2 Hz, 1H, CH), 4.06~3.87 (m, 4H, 2OCH₂), 1.20~1.08 (m, 6H, 2CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 163.2, 150.8, 134.7, 133.5, 131.0, 129.9, 129.1, 128.7, 128.6, 128.5, 127.9, 127.8, 123.7, 70.8, 67.4, 16.4, 16.3; IR (KBr) ν : 2995.4, 1649.1, 1566.2, 1514.1, 1246.0, 1031.9 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₈H₂₀NO₇P: C 54.97, H 5.13; found C 54.91, H 5.23.

O,O'-二乙基- α -苯基- α -苯甲酰氧基-甲基膦酸酯(**2b**): 无色粘稠液体, 产率 65.3%. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.07~8.02 (m, 2H, ArH), 7.54~7.21 (m, 8H, ArH), 6.34 (d, *J*=13.3 Hz, 1H, CH), 4.11~3.87 (m, 4H, 2OCH₂), 1.17~1.02 (m, 6H, 2CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 164.9, 133.5, 129.9, 129.3, 128.8, 128.7, 128.5, 128.4, 127.9, 127.8, 70.8, 68.1, 16.4, 16.3; IR (KBr) ν : 2987.7, 1651.0, 1554.6, 1516.0, 1244.0, 1026.1 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₈H₂₁O₅P: C 62.07, H 6.08; found C 61.98, H 6.15.

O,O'-二乙基- α -苯基- α -(4-甲基苯甲酰氧基)-甲基膦酸酯(**2c**): 无色粘稠液体, 产率 59.4%. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.03~7.98 (m, 2H, ArH), 7.59~7.56 (m, 2H, ArH), 7.39~7.24 (m, 5H, ArH), 6.38 (d, *J*=13.4 Hz, 1H, CH), 4.14~3.97 (m, 4H, 2OCH₂), 2.40 (s, 3H, CH₃Ar), 1.26~1.17 (m, 6H, 2CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 165.0, 144.4, 133.6, 130.0, 129.3, 128.8, 128.7, 128.6, 128.5, 128.4, 127.9, 127.8, 126.6, 70.8, 67.3, 16.4, 16.3; IR (KBr) ν : 2985.8, 1653.0, 1566.2, 1435.0, 1246.0, 1024.2 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₉H₂₃O₅P: C 62.98, H 6.40; found C 62.80, H 6.30.

O,O'-二乙基- α -苯基- α -(4-氟苯甲酰氧基)-甲基膦酸酯(**2d**): 无色粘稠液体, 产率 62.7%. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.86~7.82 (m, 2H, ArH), 7.39~7.35 (m, 2H, ArH), 7.28~7.20 (m, 5H, ArH), 6.36 (d, *J*=13.3 Hz, 1H, CH), 4.11~4.03 (m, 4H, 2OCH₂), 1.27~1.16 (m, 6H, 2CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 164.1, 140.0, 133.5, 133.3, 131.3, 129.9, 128.9, 128.8, 128.7, 128.6, 127.9, 127.8, 127.7, 71.0, 67.3, 16.4, 16.3; IR (KBr) ν : 2989.6, 1664.5, 1556.5, 1506.4, 1236.3, 1024.2 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₈H₂₀FO₅P: C 59.02, H 5.50; found C 59.21, H 5.37.

O,O'-二乙基- α -(4-氟苯基)- α -(4-硝基苯甲酰氧基)-甲基膦酸酯(**2e**): 浅黄色粘稠液体, 产率 66.3%. ¹H

NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.05~8.08 (m, 4H, ArH), 7.25~7.23 (m, 2H, ArH), 7.08 (d, $J=8.3$ Hz, 2H, ArH), 6.24 (d, $J=13.4$ Hz, 1H, CH), 4.09~3.91 (m, 4H, 2OCH_2), 1.21~1.08 (m, 6H, 2CH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 163.1, 150.8, 135.0, 134.4, 131.5, 131.4, 131.2, 131.0, 129.3, 129.2, 128.9, 128.8, 123.7, 71.0, 67.5, 16.4, 16.3; IR (KBr) ν : 2997.3, 1668.4, 1556.5, 1506.4, 1236.3, 1018.4 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{FNO}_7\text{P}$: C 52.56, H 4.66; found C 52.62, H 4.69.

O,O'-二乙基- α -(4-氟苯基)- α -苯甲酰氧基-甲基膦酸酯(**2f**): 无色粘稠液体, 产率 61.5%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.04~8.01 (m, 2H, ArH), 7.36~7.26 (m, 5H, ArH), 7.18~7.13 (m, 2H, ArH), 6.25 (d, $J=13.5$ Hz, 1H, CH), 4.05~3.94 (m, 4H, 2OCH_2), 1.17~1.10 (m, 6H, 2CH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 164.9, 134.7, 134.6, 133.6, 132.2, 131.2, 129.9, 129.3, 129.1, 129.0, 128.9, 128.7, 128.6, 70.2, 67.5, 16.4, 16.3; IR (KBr) ν : 2986.8, 1654.9, 1566.2, 1454.3, 1240.2, 1029.9 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{FO}_5\text{P}$: C 59.02, H 5.50; found C 59.14, H 5.53.

O,O'-二乙基- α -(4-氟苯基)- α -(4-甲基苯甲酰氧基)-甲基膦酸酯(**2g**): 无色粘稠液体, 产率 62.1%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.94 (d, $J=7.8$ Hz, 2H, ArH), 7.39~7.22 (m, 2H, ArH), 7.15~7.04 (m, 4H, ArH), 6.24 (d, $J=13.6$ Hz, 1H, CH), 4.09~3.87 (m, 4H, 2OCH_2), 2.30 (s, 3H, CH_3Ar), 1.18~1.10 (m, 6H, 2CH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 164.8, 144.5, 134.6, 134.5, 132.3, 132.2, 131.3, 129.9, 129.3, 129.1, 128.9, 128.7, 126.3, 70.0, 67.5, 16.4, 16.3; IR (KBr) ν : 2987.8, 1668.4, 1554.6, 1456.2, 1317.3, 1240.2, 1026.1 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{FO}_5\text{P}$: C 60.18, H 5.67; found C 60.00, H 5.83.

O,O'-二乙基- α -(4-氟苯基)- α -(4-氟苯甲酰氧基)-甲基膦酸酯(**2h**): 无色粘稠液体, 产率 62.6%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.66 (d, $J=8.5$ Hz, 2H, ArH), 7.20 (d, 2H, $J=8.5$ Hz, ArH), 7.13~7.05 (m, 4H, ArH), 6.13 (d, $J=13.5$ Hz, 1H, CH), 4.01~3.82 (m, 4H, 2OCH_2), 1.09~1.02 (m, 6H, 2CH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 164.0, 140.1, 134.8, 134.7, 131.9, 131.8, 131.2, 130.8, 129.3, 129.2, 128.9, 128.8, 127.5, 70.3, 67.5, 16.4, 16.3; IR (KBr) ν : 2987.8, 1660.7, 1558.4, 1506.4, 1230.5, 1029.9 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{F}_2\text{O}_5\text{P}$: C 56.25, H 4.98; found C 56.21, H 5.08.

O,O'-二异丙基- α -苯基- α -(4-硝基苯甲酰氧基)-甲基膦酸酯(**2i**): 浅黄色粘稠液体, 产率 68.3%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.25~8.19 (m, 4H, ArH), 7.39~7.15 (m,

5H, ArH), 6.25 (d, $J=13.0$ Hz, 1H, CH), 4.07~3.87 (m, 2H, 2OCH), 1.22~1.08 (m, 12H, 4CH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 163.3, 150.7, 139.1, 134.8, 131.0, 129.9, 129.8, 129.3, 129.3, 129.1, 128.0, 127.8, 123.7, 71.7, 67.4, 24.3, 24.0, 23.5, 23.2; IR (KBr) ν : 2985.4, 1672.2, 1556.5, 1454.3, 1317.3, 1236.3, 1016.4 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{NO}_7\text{P}$: C 57.01, H 5.74; found C 57.12, H 5.68.

O,O'-二异丙基- α -苯基- α -苯甲酰氧基-甲基膦酸酯(**2j**): 无色粘稠液体, 产率 60.7%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.59~7.26 (m, 10H, ArH), 6.37 (d, $J=13.3$ Hz, 1H, CH), 4.14~3.96 (m, 2H, 2OCH), 1.25~1.10 (m, 12H, 4CH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 163.8, 134.7, 133.5, 133.2, 131.1, 129.9, 128.9, 128.8, 128.7, 128.5, 128.0, 127.9, 127.8, 71.0, 67.4, 24.5, 24.3, 23.7, 23.1; IR (KBr) ν : 2984.1, 1664.5, 1566.2, 1454.3, 1319.1, 1238.3, 1016.4 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{O}_5\text{P}$: C 63.82, H 6.69; found C 63.75, H 6.53.

O,O'-二异丙基- α -苯基- α -(4-甲基苯甲酰氧基)-甲基膦酸酯(**2k**): 无色粘稠液体, 产率 65.4%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.04~7.33 (m, 9H, ArH), 6.25 (d, $J=12.8$ Hz, 1H, CH), 4.30~4.07 (m, 2H, 2OCH), 2.39 (s, 3H, CH_3Ar), 1.36~1.23 (m, 12H, 4CH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 165.1, 144.4, 136.1, 130.2, 130.4, 130.0, 129.6, 129.2, 128.4, 126.0, 68.1, 67.3, 24.0, 23.5, 22.4, 21.7; IR (KBr) ν : 2983.8, 1664.5, 1556.5, 1463.9, 1238.3, 1016.4 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{O}_5\text{P}$: C 64.61, H 6.97; found C 64.65, H 6.94.

O,O'-二异丙基- α -苯基- α -(4-氟苯甲酰氧基)-甲基膦酸酯(**2l**): 无色粘稠液体, 产率 62.5%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.96~7.57 (m, 4H, ArH), 7.46~7.24 (m, 5H, ArH), 6.36 (d, $J=13.2$ Hz, 1H, CH), 4.12~3.98 (m, 2H, 2OCH), 1.29~1.13 (m, 12H, 4CH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 164.8, 124.2, 133.5, 131.9, 131.3, 129.9, 128.8, 128.5, 128.1, 128.0, 127.9, 127.8, 126.7, 70.8, 67.4, 24.9, 24.3, 23.8, 23.3; IR (KBr) ν : 2978.8, 1656.3, 1556.5, 1456.2, 1256.4, 1046.5 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{FO}_5\text{P}$: C 60.91, H 6.13; found C 60.99, H 6.03.

O,O'-二异丙基- α -(4-氟苯基)- α -(4-硝基苯甲酰氧基)-甲基膦酸酯(**2m**): 浅黄色粘稠液体, 产率 67.6%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.15~8.08 (m, 4H, ArH), 7.31~7.18 (m, 4H, ArH), 6.24 (d, $J=13.4$ Hz, 1H, CH), 4.06~3.81 (m, 2H, 2OCH), 1.20~1.06 (m, 12H, 4CH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 163.3, 151.8, 135.0, 134.0, 131.6, 131.4, 131.2, 131.0, 129.3, 129.2, 128.9, 128.3, 123.7, 71.0, 67.5, 24.9, 24.5, 23.7, 23.2; IR (KBr) ν :

2967.3, 1656.3, 1556.5, 1492.9, 1234.5, 1000.0 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{FNO}_7\text{P}$: C 54.67, H 5.28; found C 54.66, H 5.13.

O,O'-二异丙基- α -(4-氟苯基)- α -苯甲酰氧基-甲基磷酸酯(**2n**): 无色粘稠液体, 产率 62.0%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.04~8.01 (m, 2H, ArH), 7.42~7.13 (m, 7H, ArH), 6.24 (d, $J=13.5$ Hz, 1H, CH), 4.05~3.84 (m, 2H, 2OCH), 1.17~1.10 (m, 12H, 4CH₃); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 164.9, 134.7, 134.6, 133.6, 132.2, 131.2, 129.9, 129.3, 129.1, 129.0, 128.9, 128.7, 128.6, 70.2, 67.5, 24.8, 24.2, 23.6, 23.2; IR (KBr) ν : 2973.2, 1646.9, 1612.4, 1568.1, 1242.6, 1004.4 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{FO}_5\text{P}$: C 60.91, H 6.13; found C 60.80, H 6.32.

O,O'-二异丙基- α -(4-氟苯基)- α -(4-甲基苯甲酰氧基)-甲基磷酸酯(**2o**): 无色粘稠液体, 产率 64.2%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.94~7.90 (m, 2H, ArH), 7.49~7.10 (m, 6H, ArH), 6.24 (d, $J=13.6$ Hz, 1H, CH), 4.09~3.78 (m, 2H, 2OCH), 2.30 (s, 3H, CH₃Ar), 1.18~1.11 (m, 12H, 4CH₃); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 164.8, 144.5, 134.6, 134.5, 132.3, 132.2, 131.3, 129.9, 129.3, 129.1, 128.9, 128.7, 126.3, 70.0, 67.4, 23.4, 23.0, 22.1, 21.6; IR (KBr) ν : 2975.0, 1663.3, 1566.2, 1456.1, 1246.8, 1009.2 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{FO}_5\text{P}$: C 61.76, H 6.42; found C 61.81, H 6.40.

O,O'-二异丙基- α -(4-氟苯基)- α -(4-氟苯甲酰氧基)-甲基磷酸酯(**2p**): 无色粘稠液体, 产率 65.9%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.88~7.83 (m, 2H, ArH), 7.48~7.26 (m, 6H, ArH), 6.31 (d, $J=13.3$ Hz, 1H, CH), 4.10~3.93 (m, 2H, 2OCH), 1.24~1.14 (m, 12H, 4CH₃); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 163.6, 134.8, 134.7, 134.1, 133.3, 131.8, 131.3, 129.4, 129.3, 129.2, 129.0, 128.7, 126.7, 70.4, 67.4, 24.3, 24.1, 23.7, 23.4; IR (KBr) ν : 2980.3, 1655.6, 1556.5, 1490.9, 1456.2, 1257.1, 1049.4 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{F}_2\text{O}_5\text{P}$: C 58.25, H 5.62; found C 58.20, H 5.57.

3.3 化合物的抗肿瘤活性测试

采用MTT法对合成的目标物**2a**~**2p**分别进行体外抗肿瘤细胞A-549(人肺癌细胞)、SGC-7901(人胃癌细胞)及K-562(白血病细胞)初步活性筛选。取肿瘤细胞株, 用RPMI-1640培养液于 CO_2 孵箱中 37°C , 5% CO_2 饱和湿度下培养, 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 5×10^4 个/mL加于96孔培养板中, 每孔100 μL , 次日, 加入含有不同浓度化合物, 每药设4~5个剂量组, 每组至少设3个平行孔, 并设空白组与对照组(以顺铂为阳

性对照)。于饱和湿度, 5% CO_2 , 37°C 条件下培养48 h, 每孔加入5 mg/mL MTT溶液10 μL , 继续培养4 h后, 弃去上清液, 每孔加入DMSO 100 μL 解形成的蓝紫色结晶, 轻度振荡后, 用酶标仪。于检测波长570 nm测吸光度(OD)值, 以浓度为横轴, 细胞存活率为纵轴绘制曲线, 用两点法(Reed and Muench法)计算 IC_{50} 值, 结果见表2。

References

- [1] Hudson, H. R.; Yusuf, R. O.; Matthews, R. W. *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.* **2008**, 83, 1527.
- [2] Chen, R.-Y.; Liu, L.-Z. *Research of the Organophosphorus Chemistry*, Higher Education Press, Beijing, **2001**, p. 1 (in Chinese). (陈茹玉, 刘纶祖, 有机磷化学研究, 高等教育出版社, 北京, **2001**, p. 1.)
- [3] Delombaert, S.; Erion, M. D.; Tan, J.; Blanchard, L.; Elchehabi, L.; Ghai, R. D.; Sakane, Y.; Berry, C.; Trapani, A. J. *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 498.
- [4] Wang, W.; Zhang, G.-P.; Song, B.-A.; Wang, H.; Jin, L.-H.; Hu, D.-Y.; Yang, S. *Chin. J. Org. Chem.* **2007**, 26, 279 (in Chinese). (王伟, 张国平, 宋宝安, 汪华, 金林红, 胡德禹, 杨松, 有机化学, **2007**, 26, 279.)
- [5] Yang, J.-Q.; Song, B.-A.; Bhadury, P. S.; Chen, Z.; Yang, S.; Cai, X.-J.; Hu, D.-Y.; Xue, W. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, 58, 2730.
- [6] Yang, S.; Gao, X.-W.; Diao, C.-L.; Song, B.-A.; Jin, L.-H.; Xu, G.-F.; Zhang, G.-P.; Wang, W.; Hu, D.-Y.; Xue, W.; Zhou, X.; Lu, P. *Chin. J. Chem.* **2006**, 24, 1581.
- [7] Song, B.-A.; Hong, Y.-P.; Jin, L.-H.; Yang, S.; Zou, Z.-H.; Hu, D.-Y.; He, W.; Liu, G.; Zhang, G.-P.; Li, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2005**, 25, 1001 (in Chinese). (宋宝安, 洪艳平, 金林红, 杨松, 邹志辉, 胡德禹, 何伟, 刘刚, 张国平, 李黔柱, 有机化学, **2005**, 25, 1001.)
- [8] Liu, J.-Z.; Song, B.-A.; Fan, H.-T.; Bhadury, P.-S.; Wan, W.-T.; Yang, S.; Xu, W.-M.; Wu, J.; Jin, L.-H.; Xue, W.; Hu, D.-Y.; Zeng, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, 45, 5108.
- [9] Jin, L.-H.; Song, B.-A.; Zhang, G.-P.; Xu, R.-Q.; Zhang, S.-M.; Gao, X.-W.; Hu, D.-Y.; Yang, S. *Bioorg Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 1537.
- [10] Skropeta, D.; Schmidt, R.; Chiral, R. *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, 14, 265.
- [11] Fang, H.; Wang, D.-D.; Chen, W.-Z.; Zhao, Y.-F.; Fang, M.-J. *Chin. J. Org. Chem.* **2010**, 30, 1377 (in Chinese). (方华, 王东冬, 陈伟珠, 赵玉芬, 方美娟, 有机化学, **2010**, 30, 1377.)
- [12] Zhou, X.-H.; Xu, Q.; Liang, J.; Fu, Z.-H.; Yin, D.-L. *Chin. J. Org. Chem.* **2012**, 32, 393 (in Chinese). (周晓红, 徐琼, 梁静, 伏再辉, 尹笃林, 有机化学, **2012**, 32, 393.)
- [13] Agawane, S. M.; Nagarkar, J. M. *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52, 3499.
- [14] Chou, J.-K.; Liu, G.-S.; Li, J.-P.; Zhao, Y.-L.; Li, H.-J.; Zhang, G.-S. *Chin. J. Org. Chem.* **2011**, 31, 63 (in Chinese). (仇记宽, 刘国生, 李建平, 赵玉灵, 李会娟, 张贵生, 有机化学, **2011**, 31, 63.)
- [15] Chen, X.-B.; Shi, D.-Q.; Zhu, X.-F. *Chin. J. Chem.* **2007**, 25, 1854.
- [16] Psurski, M.; Oleksyszyn, J.; Blaewska, K.; Gajda, A.; Gajda, T.; Wietrzyk, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, 21, 4572.
- [17] Liang, Y.; He, H.-W.; He, H.-F.; Yang, Z.-W. *Chin. J. Org. Chem.* **2012**, 32, 1513 (in Chinese). (梁英, 贺红武, 何海峰, 杨自文, 有机化学, **2012**, 32, 1513.)

- [18] Chen, X.-B.; Shi, D.-Q. *Phosphorous, Sulfur Silicon Relat. Elem.* **2008**, *183*, 1134.
- [19] Pei, Q.; Jin, C.-X.; Niu, M.-L.; Cheng, Z.-H. *Chin. J. Org. Chem.* **2009**, *29*, 252 (in Chinese).
(裴强, 金春雪, 牛满丽, 程志红, 有机化学, **2009**, *29*, 252.)
- [20] Sikorshi, J. A.; Miller, M. J.; Walker, M. C. *Phosphorous, Sulfur Silicon Relat. Elem.* **1993**, *76*, 115.
- [21] Pompliano, D. L.; Rands, E.; Gibbs, J. B. *Biochemistry* **1992**, *31*, 3800.
- [22] McCommbit, H.; Sauaders, B. C. *J. Chem. Soc.* **1945**, *67*, 380.
- [23] Bouillet, F. T.; Foucaud, A. *Synthesis* **1982**, 165.

(Qin, X.)

更正

2013 年第 33 卷第 3 期

新型脱氢枞胺衍生物的合成及其抗自由基活性

陆 洲 刘超祥 余 星 林中祥*

(南京林业大学化学工程学院 南京 210037)

第 563 页 Scheme 1 中, 化合物 5 和 6 的结构式更正为: