超声辐射下 O,O' -二烷基- α -取代苯基- α -苯磺酰氧基甲基膦酸酯的合成与生物活性

杨家强^{*a} 谷 晴^a 胡月维^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 结合药物设计原理, 对前期研究的活性结构类型进行优化. 在超声辐射下, 以 α -羟基膦酸酯、苯磺酰氯为原料设计合成系列新型 O,O' -二烷基- α -取代苯基- α -苯磺酰氧基甲基膦酸酯衍生物, 考察不同溶剂、反应温度、反应时间、反应功率对产率的影响, 得到最佳反应条件. 该方法简便可行、时间较短、产率较高. 目标物结构经 ^1H NMR, IR, MS 及元素分析确认, 并研究了质谱裂解规律. 初步生物活性测试表明: 部分目标物对肿瘤细胞 A-549 有较好的抑制作用.

关键词 α -羟基膦酸酯; 磺酸酯; 超声合成; 抗肿瘤活性

Synthesis of O,O' -Dialkyl- α -phenyl- α -phenylsulfonyloxy-methylphosphonate under Ultrasound and Their Antitumor Activity

Yang, Jiaqiang^{*a} Gu, Qing^a Hu, Yuewei^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 A series of O,O' -dialkyl- α -phenyl- α -phenylsulfonyloxy-methylphosphonates were synthesized from α -hydroxyphosphonate and benzene sulfonyl chloride under ultrasound. Effects of different solvents, reaction time, reaction temperature and ultrasound power on the yield were investigated. The optimum reaction conditions were obtained. The method has some distinct advantages such as convenient, short reaction time and high yields. Their structures were clearly established by ^1H NMR, IR, MS and elemental analysis, and the fragmentation pathways of them were studied. Preliminary results in bioactivity tests indicated that some title compounds exhibited better activity against A-549.

Keywords α -hydroxyphosphonate; sulfonate; ultrasonic synthesis; antitumor activity

近年来有机磷化合物的研究异常活跃, 其中磷酸或磷酸酯衍生物的合成与应用均取得了一定成果^[1], 而有关这些结构类型在抗肿瘤方面的研究受到了人们的重点关注. 如早期的抗癌药物环磷酰胺^[2]、目前临床上使用的双磷酸盐抗肿瘤药物^[3,4]等, 人们对有机磷抗癌药物的探索始终没有停止过. 前期我们报道了部分含磷酸酯或膦酸酯类衍生物呈现抗肿瘤活性^[5-8], 其中膦酸酯类化合物 A 表现出潜在的抗肿瘤活性, 但并没有达到我们

的期望值. 为此, 为了发现更具研究价值的抗肿瘤活性结构, 我们对前面的工作进行了延续.

磺酸酯类化合物包括磺酸酯和亚硫酸酯两大类, 该类化合物在医药领域表现出诸多生物活性. 如降血脂^[9]、抗病毒^[10]、抗炎^[11]、抗肿瘤^[12,13]等. 近些年, 磺酸酯类衍生物在抗肿瘤方面的研究也备受人们的重视, 一些磺酸酯类化合物作为 17 α -羟化酶、17,20-裂解酶^[14,15]、微管蛋白抑制剂^[16], 能抑制或杀死多种癌细胞.

* E-mail: yjqcn@126.com

Received May 15, 2013; revised June 14, 2013; published online July 3, 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.

如 2007 葛兰素史克公司研发的新型小分子靶向双重酪氨酸激酶抑制剂拉帕替尼二甲苯磺酸酯^[17]. 在这些报道中, 磺酸酯往往是抗肿瘤的药效团. 受到这些报道的鼓舞, 我们以前期研究为基础, 采用生物电子等排原理与活性结构拼合原理, 将前期研究的 A 类化合物结构中的羧酸酯键用磺酸酯键替换, 设计合成一系列新型磷酸酯衍生物 B 供抗肿瘤活性研究. 为了提高产率, 缩短反应时间, 我们研究了超声辐射催化该亲核取代反应制备目标物, 并考察不同反应条件对产率的影响. 设计思路见 Eq. 1, 合成路线见 Scheme 1.

1 结果与讨论

1.1 合成方法

1.1.1 反应溶剂对目标物产率的影响

以目标物 **3a** 的合成例, 我们考察了不同溶剂对其产率的影响, 在 50 mL 三颈瓶中加入 5 mmol 中间体 **1** 和 15 mL 溶剂, 0 °C 下滴加 6 mmol 中间体 **2**, 30 min 加毕, 再加入三乙胺 3 mL, 室温条件下反应, TLC 跟踪, 30 h 反应完毕. 反应液过滤, 溶剂洗涤滤饼, 滤液用水(5 mL×4)洗涤, 浓缩有机层, 得浅黄色液体. 常压柱层析 [*V*(乙酸乙酯): *V*(石油醚)=3:1], 得产物. 不同溶剂对目标物产率的影响见表 1.

通过表 1 可以看出, 在 5 种反应溶剂中, 以极性最小的甲苯作溶剂, 产率最好, 达 22.9%. 这一实验结果

表 1 不同溶剂对目标产物 **3a** 产率的影响

Table 1 The influence of different solvent on the yield of title compound **3a**

溶剂	氯仿	THF	DMSO	二氯甲烷	甲苯
产率/%	5.8	12.7	10.2	7.6	22.9

可以从溶剂性质及反应机理得到解释, 分析这几种溶剂, 除甲苯外, 其余 4 种溶剂(氯仿, THF, DMSO, 二氯甲烷)为非质子极性溶剂, 呈现出接受质子的能力; 同时在该亲核取代反应中, 中间体 **2** 离去氯离子的能力越容易, 反应越易发生, 而接受质子的溶剂会导致中间体 **2** 离去氯离子的能力减弱. 综上所述, 上述 4 种非质子极性溶剂反应时产率较低. 该反应虽然以甲苯为溶剂, 有较好的产率, 但仍然较低, 且该反应时间较长. 考虑到超声辐射可以催化诸多有机反应, 具有提高产率、缩短反应时间等优点, 在药物合成中应用较广泛^[18,19]. 因此, 为了提高该反应的产率, 缩短反应时间, 我们尝试在超声辐射下催化该亲核取代反应, 并考察了不同超声条件对目标物产率的影响.

1.1.2 超声功率对目标物产率的影响

以无水甲苯为溶剂, 控制超声反应温度 25 °C、时间 60 min, 在可控的超声辐射功率下, 试验了不同功率(40, 60, 80, 100 W)对目标物 **3a** 的产率影响, 见表 2.

表 2 超声辐射功率对目标产物 **3a** 产率的影响

Table 2 Yield of title compound **3a** effected by ultrasound power

功率/W	40	60	80	100
产率/%	20.1	45.7	60.5	66.2

由表 2 可知, 当功率由 40 W 增至 100 W, 目标物产率由 20.1% 提高到 66.2%. 由此可见超声辐射功率大小决定了产率的高低, 超声波为反应提供了动力与能量, 该能量对反应共价键的断裂起到一定辅助作用; 而功率越大, 超声波能提供的局部搅拌作用更高效, 分子间相互碰撞作用愈强烈, 更有利于反应的发生, 因此产率也越高. 同时从数据中我们也观察到, 随着超声功率的增大, 产率提高的趋势在减小, 功率由 40 W 改变至 60 W, 产率提高了 25.6%, 而随后功率逐渐升高 20 W, 产率分别提高 14.8%, 5.7%, 因此我们确定 100 W 为最佳反应功率.

1.1.3 反应时间对目标物产率的影响

控制超声反应功率 100 W、温度 25 °C, 考察不同反应时间对 **3a** 产率的影响. 见表 3.

从表 3 可看出, 在 30~150 min 内, 产率随反应时间延长而逐渐增加. 反应时间从 30 min 到 60 min, 产率明显增加, 提高了 37.6%; 反应时间从 60 min 增至 90 min, 产率提高了 1.8%, 增加的并不太多; 而反应时间从 90

表 3 反应时间对目标产物 **3a** 产率的影响Table 3 Yield of title compound **3a** effected by reaction time

反应时间/min	30	60	90	120	150
产率/%	28.6	66.2	68.0	69.1	69.6

min 延长至 150 min 时, 反应时间增加了 60 min, 但产率提高幅度较小, 仅 1.6%。综合考虑, 我们选择 90 min 为最佳反应时间。

1.1.4 反应温度对目标物产率的影响

固定超声反应功率 100 W、时间 90 min, 考察不同反应温度对目标物 **3a** 产率的影响。见表 4。

表 4 反应温度对目标产物 **3a** 产率的影响Table 4 Yield of title compound **3a** effected by reaction temperature

反应温度/℃	5	15	25	30	35
产率/%	4.7	30.2	68.0	60.8	45.5

从表 4 可以看出, 随着反应温度从 5 °C 升高到 15, 25 °C, 目标物产率由 4.7% 分别增加至 30.2%、68.0%, 分别提高了 25.5%、63.3%; 当温度从 25 到 35 °C, 产率降低到 60.8%, 降低了 7.2%, 而反应温度为 35 °C 时, 产率降至 45.5%。该结果也可以从有机化学反应的热力学和动力学特征进行解释: 反应温度越高, 反应通常向正反应方向进行的程度越大, 当温度升到一定程度, 则更有利于副反应的发生, 使得主产物的收率降低。因此, 我们确定 25 °C 为最佳反应温度。

1.2 谱图解析

IR 数据可以看出, 目标物中苯环的 C=C 伸缩振动位于 1450~1610 cm^{-1} 附近; 在 1250~1270 cm^{-1} 之间有较强的 P=O 伸缩振动吸收; S=O 伸缩振动吸收出现在 1180~1200 cm^{-1} 之间; 在 990~1050 cm^{-1} 之间有较强的 P—O—C 吸收峰; 同时芳基、烃基的 C—H 伸缩振动吸收峰都很明显。

在 ^1H NMR 数据中, 目标物各类氢的化学位移都较特征。苯环上的氢化学位移值在 δ 7.00~8.20 之间; 亚甲基上的氢被邻近的 P 裂分呈双峰, 化学位移值在 δ 5.60~6.20 之间; 磷酸基上的 2 个相同烷氧基呈磁不等价现象, 可能是该系列化合物结构中有两个苯环, 空间位阻比较大, 使得两个烷氧基中一个处于苯环上方(去屏蔽区), 另一个远离苯环, 所处的化学环境不同。

在 MS 数据中, 目标物的裂解具有特征性, 如 S—O, C—O 及 C—P 等键断裂, 同时呈现出较规律的碎片峰, 以化合物 **3a** 为例, 对其碎片峰可能的断裂方式进行解释, 见图 1。

1.3 抗肿瘤活性

由表 5 数据可知, 部分目标物对所测试肿瘤细胞

图 1 化合物 **3a** 质谱的主要裂解途径Figure 1 The fragmentation pathway of compound **3a**

有一定的增殖抑制活性。尤以化合物 **3b**, **3d**, **3f**, **3h** 对人肺癌细胞(A-549)的增殖抑制活性最好, IC_{50} 分别为 20.2, 18.8, 18.1, 20.3 $\mu\text{mol/L}$; 目标物对人胃癌细胞(SGC-7901)的增殖抑制活性一般, 其中活性最好的三个目标物 **3b**, **3f**, **3l** 的 IC_{50} 分别为 27.1, 25.6, 28.6 $\mu\text{mol/L}$ 。我们也可以看出, 对 A-549 抑制活性较好的几个化合物 R^1 多为 4-F 或 2- OCH_3 , 同时 R 为 $n\text{-C}_4\text{H}_9$ 时, 目标物对 A-549 的抑制活性较差; 取代基的不同对 SGC-7901 的增殖抑制作用没有明显规律。

为了比较该类目标物与前期 A 类化合物的抗肿瘤活性, 我们选择 A 类化合物中活性最优的 A-i [O,O'-二异丙基- α -苯基- α -(4-硝基苯甲酰氧基)-甲基磷酸酯] 为对照, 通过表 5 数据可以看出部分目标物对 A-549 的增殖抑制活性较化合物 A-i 略好; 而 A-i 对 SGC-7901 的抑制作用优于该类目标物。实验结果说明磷酸酯官能团在该结构类型中对 A-549 的抑制作用较 A 类化合物的羧酸酯官能团有一定优势; 对于 SGC-7901 的抑制活性而言, A 类化合物中羧酸酯官能团呈现出潜在的优势。这些数据也为今后的研究提供了依据和参考。

2 结论

在超声辐射下, 设计合成了一系列 O,O'-二烷基- α -取代苯基- α -苯磺酰氧基甲基磷酸酯衍生物, 优选出最佳合成条件: 以甲苯为溶剂, 超声辐射功率 100 W、反应温度 25 °C、时间 90 min。该合成方法具有反应时间较短、产率较高等优点。生物活性测试结果显示, 部分目标物对肿瘤细胞 A-549 有较好的抑制作用, 进一步的结构优化及深入研究正在继续。

表5 目标化合物对 A-549, SGC-7901 的 IC₅₀ 值(μmol/L)
Table 5 IC₅₀ (μmol/L) values of target compounds for A-549 and SGC-7901

Compd.	R	R ¹	R ²	IC ₅₀	
				A-549	SGC-7901
3a	C ₂ H ₅	H	H	152.3	72.6
3b	C ₂ H ₅	4-F	H	20.2	27.1
3c	C ₂ H ₅	2-F	H	65.5	41.7
3d	C ₂ H ₅	2-OCH ₃	H	18.8	39.2
3e	<i>i</i> -C ₃ H ₇	H	H	121.5	46.3
3f	<i>i</i> -C ₃ H ₇	4-F	H	18.1	25.6
3g	<i>i</i> -C ₃ H ₇	2-F	H	74.4	34.8
3h	<i>i</i> -C ₃ H ₇	2-OCH ₃	H	20.3	30.2
3i	<i>n</i> -C ₄ H ₉	H	H	79.5	139.1
3j	<i>n</i> -C ₄ H ₉	4-F	H	29.3	36.5
3k	<i>n</i> -C ₄ H ₉	2-F	H	102.6	112.9
3l	<i>n</i> -C ₄ H ₉	2-OCH ₃	H	28.8	28.6
A-i				26.5	21.6

^a 对两组实验数据进行假设检验, 与空白对照组相比, 有显著性差异($P < 0.05$).

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

昆山 KQ-500DE 型数控超声清洗器; 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(溶剂为 DMSO-*d*₆); Agilent 质谱仪; 德国 Elementar Vavio-III 型元素分析仪; ELX800 通用酶标仪.

亚磷酸酯为自制, 反应溶剂用前需经无水干燥处理, 其余试剂与溶剂均为分析纯, 用前不需要进一步处理.

3.2 实验方法

中间体 **1** 的合成参见文献[20], 中间体 **2** 的合成参考文献[21]. 将 5 mmol 中间体 **1** 与 15 mL 无水甲苯加入 50 mL 三颈瓶中, 冰盐浴 0 °C 下, 滴加 6 mmol 中间体 **2**, 30 min 内加毕, 再加入 3 mL 三乙胺, 然后转入超声清洗器中, 在温度 25 °C、功率 100 W 条件下反应 90 min. 完毕, 过滤, 溶剂洗涤滤饼, 滤液用水(5 mL×4)洗涤, 浓缩有机层, 得浅黄色液体. 常压柱层析[*V*(乙酸乙酯): *V*(石油醚)=3:1], 得产物.

O,O'-二乙基- α -苯基- α -苯磺酰氧基甲基磷酸酯(**3a**): 淡黄色黏稠液, 产率 68.0%. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1.03~1.15 (m, 3H, CH₃), 1.22~1.36 (m, 3H, CH₃), 3.75~3.92 (m, 2H, OCH₂), 4.02~4.14 (m, 2H, OCH₂), 5.63 (d, $J=14.8$ Hz, 1H, PCH), 7.13~7.28 (m, 5H, Ar-H), 7.75~8.01 (m, 5H, Ar-H); MS m/z : 385 [M+H]⁺, 247, 243, 227, 157, 141, 137, 109, 77; IR (KBr) ν : 3081, 2958, 2852, 1601, 1469, 1267, 1194, 1031 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₇H₂₁O₆PS: C 53.12, H 5.51, O 24.97;

found C 53.31, H 5.18, O 24.91.

O,O'-二乙基- α -(4-氟苯基)- α -苯磺酰氧基甲基磷酸酯(**3b**): 淡黄色黏稠液, 产率 69.6%. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1.14~1.19 (m, 3H, CH₃), 1.28~1.36 (m, 3H, CH₃), 3.88~4.16 (m, 2H, OCH₂), 4.22~4.36 (m, 2H, OCH₂), 5.67 (d, $J=15.2$ Hz, 1H, PCH), 7.06~7.23 (m, 4H, Ar-H), 7.96~8.02 (m, 5H, Ar-H); MS m/z : 403 [M+H]⁺, 265, 261, 245, 157, 141, 137, 109, 77; IR (KBr) ν : 3084, 2983, 2885, 1606, 1481, 1265, 1191, 1026 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₇H₂₀FO₆PS: C 50.74, H 5.01, O 23.86; found C 50.66, H 5.34, O 23.80.

O,O'-二乙基- α -(2-氟苯基)- α -苯磺酰氧基甲基磷酸酯(**3c**): 淡黄色黏稠液, 产率 65.2%. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1.08~1.20 (m, 3H, CH₃), 1.25~1.39 (m, 3H, CH₃), 3.77~4.15 (m, 2H, OCH₂), 4.28~4.46 (m, 2H, OCH₂), 5.98 (d, $J=14.8$ Hz, 1H, PCH), 7.08~7.52 (m, 4H, Ar-H), 7.84~7.96 (m, 5H, Ar-H); MS m/z : 403 [M+H]⁺, 265, 261, 245, 157, 141, 137, 109, 77; IR (KBr) ν : 3088, 2982, 2891, 1608, 1478, 1261, 1194, 997 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₇H₂₀FO₆PS: C 50.74, H 5.01, O 23.86; found C 50.89, H 5.22, O 23.73.

O,O'-二乙基- α -(2-甲氧基苯基)- α -苯磺酰氧基甲基磷酸酯(**3d**): 淡黄色黏稠液, 产率 52.1%. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1.13~1.25 (m, 3H, CH₃), 1.32~1.39 (m, 3H, CH₃), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 3.87~4.02 (m, 2H, OCH₂), 4.12~4.29 (m, 2H, OCH₂), 6.16 (d, $J=15.4$ Hz, 1H, PCH), 7.05~7.45 (m, 4H, Ar-H), 8.02~8.15 (m, 5H, Ar-H); MS m/z : 415 [M+H]⁺, 277, 273, 257, 157, 141, 137, 109, 77; IR (KBr) ν : 3078, 2985, 2913, 1608, 1477, 1263, 1193, 1025 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₈H₂₃O₇PS: C 52.17, H 5.59, O 27.03; found C 52.35, H 5.51, O 27.25.

O,O'-二异丙基- α -苯基- α -苯磺酰氧基甲基磷酸酯(**3e**): 白色固体, 产率 67.3%. m.p. 70~72 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 0.97~1.26 (m, 6H, 2CH₃), 1.33~1.38 (m, 6H, 2CH₃), 4.51~4.77 (m, 2H, 2OCH), 5.67 (d, $J=15.6$ Hz, 1H, PCH), 7.10~7.32 (m, 5H, Ar-H), 7.94~8.12 (m, 5H, Ar-H); MS m/z : 413 [M+H]⁺, 271, 255, 247, 165, 157, 141, 123, 77; IR (KBr) ν : 3077, 2992, 2889, 1606, 1472, 1263, 1192, 1020 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₉H₂₅O₆PS: C 55.33, H 6.11, O 23.28; found C 55.38, H 6.50, O 23.27.

O,O'-二异丙基- α -(4-氟苯基)- α -苯磺酰氧基甲基磷酸酯(**3f**): 白色固体, 产率 69.2%. m.p. 71~73 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1.00~1.06 (m, 6H, 2CH₃), 1.25~1.30 (m, 6H, 2CH₃), 4.59~4.81 (m, 2H, 2OCH),

5.76 (d, $J=15.8$ Hz, 1H, PCH), 7.20~7.28 (m, 4H, Ar-H), 7.99~8.14 (m, 5H, Ar-H), MS m/z : 431 $[M+H]^+$, 289, 273, 265, 165, 157, 141, 123, 77; IR (KBr) ν : 3073, 2980, 2915, 1606, 1474, 1265, 1197, 1010 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{FO}_6\text{PS}$: C 53.02, H 5.62, O 22.30; found C 53.37, H 5.60, O 22.44.

O,O'-二异丙基- α -(2-氟苯基)- α -苯磺酰氧基甲基膦酸酯(**3g**): 淡黄色黏稠液, 产率 66.5%. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.02~1.24 (m, 6H, 2CH_3), 1.31~1.34 (m, 6H, 2CH_3), 4.52~4.73 (m, 2H, 2OCH), 5.78 (d, $J=16.4$ Hz, 1H, PCH), 7.18~7.36 (m, 4H, Ar-H), 8.01~8.08 (m, 5H, Ar-H); MS m/z : 431 $[M+H]^+$, 289, 273, 265, 165, 157, 141, 123, 77; IR (KBr) ν : 3099, 2983, 2919, 1606, 1488, 1259, 1194, 1021 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{FO}_6\text{PS}$: C 53.02, H 5.62, O 22.30; found C 53.28, H 5.63, O 22.38.

O,O'-二异丙基- α -(2-甲氧基苯基)- α -苯磺酰氧基甲基膦酸酯(**3h**): 淡黄色黏稠液, 产率 54.1%. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.11~1.26 (m, 6H, 2CH_3); 1.32~1.44 (m, 6H, 2CH_3); 3.76 (s, 3H, OCH_3), 4.61~4.72 (m, 2H, 2OCH), 5.83 (d, $J=15.9$ Hz, 1H, PCH), 7.02~7.45 (m, 4H, Ar-H), 7.88~7.96 (m, 5H, Ar-H); MS m/z : 443 $[M+H]^+$, 301, 285, 277, 165, 157, 141, 123, 77; IR (KBr) ν : 3095, 2987, 2927, 1606, 1468, 1263, 1189, 1031 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{O}_7\text{PS}$: C 54.29, H, 6.15, O 25.31; found C 54.33, H 6.60, O 25.39.

O,O'-二正丁基- α -苯基- α -苯磺酰氧基甲基膦酸酯(**3i**): 淡黄色黏稠液, 产率 67.6%. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 0.98~1.02 (m, 3H, CH_3), 1.08~1.13 (m, 3H, CH_3), 1.39~1.46 (m, 4H, 2CH_2), 1.73~1.77 (m, 4H, 2CH_2), 4.02~4.13 (m, 2H, OCH_2), 4.25~4.47 (m, 2H, OCH_2), 5.85 (d, $J=15.0$ Hz, 1H, PCH), 7.10~7.31 (m, 5H, Ar-H), 7.89~8.12 (m, 5H, Ar-H); MS m/z : 441 $[M+H]^+$, 299, 283, 247, 193, 157, 141, 137, 77; IR (KBr) ν : 3089, 2985, 2889, 1610, 1456, 1266, 1193, 1021 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{O}_6\text{PS}$: C 57.26, H 6.64, O 21.79; found C 57.37, H 6.55, O 21.82.

O,O'-二正丁基- α -(4-氟苯基)- α -苯磺酰氧基甲基膦酸酯(**3j**): 淡黄色黏稠液, 产率 68.1%. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 0.95~1.00 (m, 3H, CH_3), 1.11~1.26 (m, 3H, CH_3), 1.38~1.47 (m, 4H, 2CH_2), 1.65~1.77 (m, 4H, 2CH_2), 3.85~4.16 (m, 2H, OCH_2), 4.23~4.44 (m, 2H, OCH_2), 5.90 (d, $J=15.2$ Hz, 1H, PCH), 7.15~7.29 (m, 4H, Ar-H), 8.01~8.08 (m, 5H, Ar-H); MS m/z : 459 $[M+H]^+$, 317, 301, 265, 193, 157, 141, 137, 77; IR (KBr) ν :

3102, 2987, 2920, 1608, 1487, 1257, 1195, 1022 cm^{-1} . Anal. calcd For $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{FO}_6\text{PS}$: C 55.01, H 6.16, O 20.94; found C 55.34, H 6.27, O 21.07.

O,O'-二正丁基- α -(2-氟苯基)- α -苯磺酰氧基甲基膦酸酯(**3k**): 淡黄色黏稠液, 产率 65.2%. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.00~1.08 (m, 3H, CH_3), 1.15~1.27 (m, 3H, CH_3), 1.42~1.44 (m, 4H, 2CH_2), 1.69~1.76 (m, 4H, 2CH_2), 3.88~4.10 (m, 2H, OCH_2), 4.20~4.47 (m, 2H, OCH_2), 6.02 (d, $J=14.8$ Hz, 1H, PCH), 7.23~7.59 (m, 4H, Ar-H), 7.95~8.20 (m, 5H, Ar-H); MS m/z : 459 $[M+H]^+$, 317, 301, 265, 193, 157, 141, 137, 77; IR (KBr) ν : 3105, 2991, 2934, 1606, 1487, 1265, 1193, 1017 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{FO}_6\text{PS}$: C 55.01, H 6.16, O 20.94; found C 55.25, H 6.23, O 20.79.

O,O'-二正丁基- α -(2-甲氧基苯基)- α -苯磺酰氧基甲基膦酸酯(**3l**): 淡黄色黏稠液, 产率 57.4%. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 0.94~1.00 (m, 3H, CH_3), 1.12~1.24 (m, 3H, CH_3), 1.41~1.44 (m, 4H, 2CH_2), 1.69~1.76 (m, 4H, 2CH_2), 3.67 (s, 3H, OCH_3), 3.91~4.05 (m, 2H, OCH_2), 4.12~4.35 (m, 2H, OCH_2), 6.03 (d, $J=15.4$ Hz, 1H, PCH), 7.21~7.55 (m, 4H, Ar-H), 7.92~8.12 (m, 5H, Ar-H); MS m/z : 471 $[M+H]^+$, 329, 313, 277, 193, 157, 141, 137, 77; IR (KBr) ν : 3092, 2988, 2907, 1604, 1481, 1266, 1188, 1006 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{O}_7\text{PS}$: C 56.16, H 6.64, O 23.80; found C 56.27, H 6.75, O 23.46.

3.3 化合物的抗肿瘤活性测试

采用 MTT 法对合成的目标物 **3a**~**3l** 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)[购于上海佳和生物公司]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, 接种到 96 孔板中, 每孔接种细胞数约为 2×10^3 个, 最右侧一列为空白对照组, 不接种细胞. 接种完毕后, 将 96 孔板置于 37°C , 5% CO_2 的饱和湿度培养箱中培养. 待细胞贴壁后, 吸除孔内旧的培养液, 然后加入含有药液的完全培养基(200 μL /孔), 阴性和空白对照组加不含药液的完全培养基(200 μL /孔), 阳性对照组加入含有阳性药液的完全培养基, 每组设 6 个平行. 置培养箱中培养 72 h, 吸除旧液, 每孔加入 100 μL 新配制的 MTT (0.5 mg/mL), 放入培养箱中作用 4 h 后, 每孔再加 100 μL 10% 的 SDS. 再放入培养箱作用 12 h 后取出, 室温放置 30 min, 震荡 30 s, 在 595 nm 波长下用酶标仪测定的 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 5.

References

- [1] (a) Huo, H.-W. *World Pestic.* **1999**, 21, 21(in Chinese).
(贺红武, 世界农药, **1999**, 21, 21.)
(b) Chen, R.-Y.; Liu, L.-Z. *Research of the Organophosphorus Chemistry*, Higher Education Press, Beijing, **2001**, p. 49 (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. 49.)
(c) Hudson, H. R.; Yusuf, R. O.; Matthews, R. W. *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.* **2008**, 83, 1527.
(d) 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.
(e) Zhao, Y.-F.; Yan, X.-M.; Yang, C.-Y.; Han, S.-F.; Liu, Y. *J. Xiamen Univ. (Nat. Sci.)* **2011**, 50, 319 (in Chinese).
(赵玉芬, 颜晓梅, 杨朝勇, 韩守法, 刘艳, 厦门大学学报(自然科学版), **2011**, 50, 319.)
- [2] Friedman, S. K. *Semin. Oncol.* **1978**, 34, 193.
- [3] Cheng, Y.-Y.; Huang, L.; Lee, K. M.; Xu, J.-K.; Zheng, M.-H.; Kumta, S. M. *Calcif. Tissue Int.* **2004**, 75, 71.
- [4] Baulch-Brown, C.; Molloy, T. J.; Yeh, S. L.; Ma, D.; Spencer, A. *Leuk Res.* **2007**, 31, 341.
- [5] 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.)
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] Yang, J.-Q.; Gu, Q.; Shu, B.; Song, B.-A.; Liu, J.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2013**, 33, 1113 (in Chinese).
(杨家强, 谷晴, 束波, 宋宝安, 刘静姿, 有机化学, **2013**, 33, 1113.)
- [9] Khalaf, R. A.; Sheikha, G. A. *MedChemRes* **2011**, 11, 1.
- [10] Yan, L.; Müller, C. E. *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 1031.
- [11] Straukas, J.; Dirvianskyte, N.; Astrauskas, V.; Butkus, E. *Farmacolo* **2002**, 57, 803.
- [12] Elder, D. P.; Snodin, D. J. *J. Pharm. Pharmacol.* **2009**, 61, 269.
- [13] Hillisch, A.; Peters, O.; Gege, C.; Regenhart, W.; Kosemund, D.; Siemeister, G.; Unger, E.; Bothe, U. *CN 1751059*, **2004** [*Chem. Abstr.* **2004**, 141, 243723].
- [14] Ahmed, S.; Shahid, I.; Dhanani, S.; Owen, C. P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19, 4698.
- [15] Owen, C. P.; Shahid, I.; Lee, W. Y.; Ahmed, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, 20, 5345.
- [16] Los, M.; Burek, C. J.; Strohm, C.; Benedyk, K.; Hug, H.; Mackiewicz, A. *Drug Discovery Today* **2003**, 8, 67.
- [17] Higa, G.-M.; Abraham, J. *Expert Rev. Anticancer Ther.* **2007**, 7, 1183.
- [18] Zhang, S.-M.; Li, H.; Zheng, X.-C.; Li, B.-Q.; Wu, S.-H.; Huang, W.-P.; Liu, Z.-G.; Feng, Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2002**, 22, 603 (in Chinese).
(张守民, 李鸿, 郑修成, 李保庆, 吴世华, 黄唯平, 刘助国, 冯云, 有机化学, **2002**, 22, 603.)
- [19] Li, Y.-J.; Sun, Y.-Z.; Jin, K.; Xu, Y.-T.; Sun, S.-Q. *Chin. J. Org. Chem.* **2008**, 28, 1074 (in Chinese).
(李英俊, 孙亚珍, 靳焜, 许永廷, 孙淑琴, 有机化学, **2008**, 28, 1074.)
- [20] McCommbit, H.; Sauaders, B. C. *J. Chem. Soc.* **1945**, 67, 380.
- [21] Chen, Z.-X.; Jiang, L.-F.; Ding, T.-F.; Xu, Y.; Sun, L.; Yu, X.-Y. *Chin. J. Chem. Eng.* **2004**, 18(2), 254 (in Chinese).
(陈钟秀, 蒋林峰, 丁同富, 徐芸, 孙镭, 俞兴源, 高校化学工程学报, **2004**, 18(2), 254.)

(Zhao, X.)