二芳基苯并 1,3-噻嗪烷-4-酮衍生物的微波促进合成及其 HIV 逆转录酶抑制活性

冯俊娜^{a,b} 李晓慧^c 邵洁^a 朱墨^a
李妍^a 陈华^{*,a} 李小六^{*,a}^(a) 河北大学化学与环境科学学院 河北省化学生物学重点实验室 保定 071002)^(b) 中国地质大学长城学院 地球科学与资源系 保定 071000)^(c) 河北农业大学理学院 保定 071001)

摘要 以嘧啶胺、芳醛和硫代水杨酸为原料, 利用三组分一锅法, 微波辐射 10 min, 合成了系列含新型二芳基苯并噻嗪烷-4-酮衍生物, 反应具有时间短、操作简便等优点. 目标化合物结构通过 IR、NMR、MS 及元素分析等确定. 2-(2,6-二氯苯基)-3-(4,6-二甲基嘧啶-2-基)-2H-1,3-苯并噻嗪烷-4-酮(**10c**)表现出良好的 HIV-RT 抑制活性, IC₅₀ 值为 8.38 μmol·L⁻¹, 其余化合物则具有中等的酶抑制活性.

关键词 苯并噻嗪烷-4-酮; HIV 逆转录酶抑制活性; 微波辐射

Microwave Assisted Synthesis and Anti-HIV-RT Activity of Diaryl Benzo[1,3]thiazin-4-ones

Feng, Junna^{a,b} Li, Xiaohui^c Shao, Jie^a Zhu, Mo^a
Li, Yan^a Chen, Hua^{*,a} Li, Xiaoliu^{*,a}^(a) Key Laboratory of Chemical Biology of Hebei Province, College of Chemistry and Environmental Science, Hebei University, Baoding 071002)^(b) Department of the Earth Sciences and Resources, China University of Geosciences Great Wall College, Baoding 071000)^(c) College of Sciences, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001)

Abstract A series of novel diaryl benzothiazin-4-ones were designed and synthesized by the three-component one-pot cyclocondensation of pyrimidinamine, aromatic aldehyde and thiosalicylic acid under microwave irradiation for 10 min. The reaction has the advantages such as short reaction time and simple operation. The structures of the newly synthesized compounds were confirmed by IR, NMR, MS spectra and elemental analysis. The compound 2-(2,6-dichlorophenyl)-3-(4,6-dimethylpyrimidin-2-yl)-2H-benzo[e][1,3]thiazin-4(3H)-one (**10c**) could effectively inhibit HIV-RT activity with the IC₅₀ value of 8.38 μmol·L⁻¹, the others showed middle RT inhibitory activity.

Keywords benzothiazin-4-one; anti-HIV-RT activity; microwave irradiation

艾滋病即获得性免疫缺陷综合征(AIDS), 是由人类免疫缺陷病毒(HIV)感染所致, 现已成为人类极具毁灭性的疾病之一. 目前, 阻断病毒在宿主细胞内的逆转录过程是临床治疗艾滋病的首选方案. 针对该过程, 以

HIV 逆转录酶(RT)为靶点, 开发高效低毒的酶抑制剂类抗 HIV 病毒药物成为研究热点之一^[1]. 非核苷类逆转录酶抑制剂(NNRTIs)^[2], 因其可以有效结合在距逆转录酶活性中心 10 Å 的变构结合位点(allosteric binding site)^[3],

* E-mail: lixl@hbu.cn; hua-todd@163.com

Received December 30, 2014; revised February 3, 2015; published online February 5, 2015.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21372060), the Medicinal Joint Funds of the Natural Science Foundation of Hebei and Shijiazhuang Pharmaceutical Group (No. B2012201113), the Natural Science Foundations of Education Department of Hebei (No. Y2011119), and the Foundations of Baoding City Science and Technology Bureau (No. 14ZF095).

国家自然科学基金(No. 21372060)、河北省自然科学基金石药集团医药联合基金(No. B2012201113)、河北省教育厅自然科学基金(No. Y2011119)、保定市科技局(No. 14ZF095)资助项目.

进而抑制酶活而备受关注. 由于 RT 上的这个口袋状结合位点灵活易变的特点, 导致了 NNRTI 类药物的结构多样性, 也为发现新型抗 HIV 药效团提供了机会^[4].

噻唑烷-4-酮是一类含 N 和 S 杂原子的五环内酰胺药效团^[5], 其中, 2,3-(二芳基)-1,3-噻唑烷-4-酮作为非核苷类转录酶抑制剂(**1~4**, 图 1), 具有良好的抗 HIV 活性和选择性^[6,7]. 构效关系表明, N-3 位噻唑基的引入并增强分子的疏水性将有利于提高化合物的抗病毒活性^[8,9]. 苯并噻唑烷-4-酮是一类广谱的药效基团^[10], 其衍生物多具有消炎^[11]、抗菌^[12]、抗结核^[13,14]、抗惊厥^[15]、抗帕金森病^[16]等活性, 但其抗 HIV 病毒活性却鲜有报道. 考虑到分子中含 N、S 的噻唑烷-4-酮(六环内酰胺药效团)部分, 结构与噻唑烷-4-酮类似, 且其相应的二芳基衍生物亦具有较好的抗病毒活性(**5**, 图 1)^[17]; 而且苯环的存在会提高分子的疏水性, 因此, 我们设计合成了系列新的二芳基苯并 1,3-噻唑烷-4-酮衍生物 **10a~10e** 和 **11a~11e** (Eq. 1), 并探讨了部分化合物的 HIV 逆转录酶抑制活性.

图 1 具有良好抗 HIV 病毒活性的二芳基噻唑(噻)烷-4-酮(**1~5**)

Figure 1 Diaryl substituted thiazolidin-4-ones and thiazinan-4-one (**1~5**) with excellent anti HIV activity

Reagents and conditions: (1) **6** (1.2 equiv.), **7** or **8** (0.5 mmol), dry toluene, M.W., 120 °C, 5 min; (2) **9** (2.0 equiv.), DMAP (0.2 equiv.), DCC (2.0 equiv.), dry toluene, M.W., 120 °C, 5 min

1 结果与讨论

1.1 二芳基苯并噻唑烷-4-酮衍生物的合成

鉴于二芳基噻唑烷-4-酮化合物上 N-3 位的噻唑基对化合物的抗 HIV 活性有利, 以及微波促进反应具有时间短、收率高的优点^[18], 参考噻唑烷-4-酮化合物的合成文献报道^[19~21], 我们分别以芳醛 **6a~6e**、噻唑胺 **7** 或 **8** 和硫代水杨酸 **9** 为起始原料, 在缩合剂 *N,N'*-二环己基碳二亚胺(DCC)和催化剂 4-二甲氨基吡啶(DMAP)的作用下, 微波辐射 120 °C 反应 10 min 得到了二芳基苯并噻唑烷-4-酮衍生物 **10** 和 **11**. 由于反应过程中硫代水杨酸会直接与芳醛加成缩合生成内酯, 从而消耗芳醛, 因此我们对三种原料的投料比进行了探讨, 并确定芳醛: 噻唑胺: 硫代水杨酸的物质的量比为 1.2:1.0:2.0. 同时, 该反应分步进行, 即首先将醛和胺混合, 微波封管反应 5 min, 以使亚胺形成充分, 而后不经分离产物, 加入硫代水杨酸及 DCC 和 DMAP, 并补加无水甲苯, 继续微波封管反应 5 min. 当以 2,6-二卤苯甲醛为原料时, 反应产率较低(20.3%~31.2%), 这可能与 2,6 位的卤原子在中间体亚胺的两侧, 均可阻碍巯基的进攻有关. 所有目标化合物 **10** 和 **11** 通过 ¹H NMR、¹³C NMR、IR、MS 和元素分析确定结构.

1.2 化合物 HIV-RT 抑制活性评价

化合物 **10a**、**10b**、**10c**、**10e**、**11a**、**11b** 和 **11c** 通过 HIV-RT 试剂盒(HIV-RT kit)^[22]评价了其酶抑制活性, 化合物 **4b** 为阳性对照, 结果见表 1. 活性测试表明化合物 **10c** 的抑制活性最好, IC₅₀ 值为 8.38 μmol·L⁻¹, 其余化合物均显示出中等的 HIV-RT 抑制活性. 所测化合物的活性均低于阳性对照 **4b**, 提示以苯并噻唑烷-4-酮基为药效基团, 相对于噻唑烷-4-酮基, 可能不利于二芳基化合物的 HIV 逆转录酶抑制活性. 构效关系分析(SAR)表明, 当苯并噻唑烷-4-酮环上 N-3 位为噻唑基时, 其 C-2 位 2,6-二氯苯基的引入(**10c** 和 **11c**)导致酶抑制活性显著提高, 表明 C-2 位 2,6-二卤芳基较其它芳基(如苯基、呋

表 1 化合物 **10a**、**10b**、**10c**、**10e**、**11a**、**11b** 和 **11c** 的 HIV-RT 抑制活性

Table 1 HIV-RT kit assay for compounds **10a**, **10b**, **10c**, **10e**, **11a**, **11b**, and **11c**

化合物	IC ₅₀ /(μmol·L ⁻¹)
10a	42.75 ± 2.74
10b	56.25 ± 2.68
10c	8.38 ± 0.97
10e	34.29 ± 1.49
11a	40.14 ± 1.27
11b	44.12 ± 1.06
11c	24.73 ± 2.05
4b	0.98 ± 0.07

喃基等)更有利于化合物的抗 HIV 活性. 以上构效关系分析将有助于指导苯并噻嗪烷-4-酮类抗 HIV 化合物的进一步结构修饰.

2 结论

微波辐射下, 以噻啉胺、芳醛和硫代水杨酸为原料, 三组分一锅法合成了系列含新型二芳基苯并噻嗪烷-4-酮衍生物, 反应具有时间短、操作简便等优点. 化合物 **10c** 表现出良好的 HIV-RT 抑制活性, IC_{50} 值为 $8.38 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

微波合成仪为美国 CEM 公司生产的 Discover S-class; 核磁共振谱用 BRUKER AC-P600 (600 MHz)型核磁共振仪测定, TMS 为内标; 质谱(ESI)用 Agilent G6300 离子阱液相质谱联用仪测定; 红外谱图由美国 Varian 公司生产的 Varian-640 型红外仪测定; 元素分析用 HERAEUS (CHNO, rapid)型元素分析仪; 熔点由 SGW X-4 显微熔点仪(温度计未校正)测定; 光密度用 BioRad 3550 型酶标仪测定; 柱层析硅胶(200~300 目)及薄层层析硅胶(TLC, GF254)由青岛海洋化工厂生产. 本工作所用其他试剂均为分析纯, 无水试剂均按照常规方法处理, 水为二次蒸馏水.

3.2 实验方法

3.2.1 苯并噻嗪烷-4-酮衍生物的合成通法

将芳香醛 **6** (0.6 mmol)和噻啉胺 **7** 或 **8** (0.5 mmol)加入到 10 mL 微波反应管中, 加 1 mL 无水甲苯搅拌溶解, 120 °C微波辐射反应 5 min. 于此体系中再加入硫代水杨酸 **9** (1.0 mmol)、206 mg (2.0 equiv.) N,N' -二环己基碳二亚胺(DCC)和 12 mg (0.2 equiv.) 4-二甲氨基吡啶(DMAP), 补加 1 mL 无水甲苯, 继续 120 °C微波辐射 5 min. 反应结束后, 冷却至室温, 抽滤除去 N,N' -二环己基脲(DCU), 并往滤液中加入 20 mL CH_2Cl_2 . 依次用饱和碳酸氢钠、水和饱和食盐水洗, 有机相用无水硫酸镁干燥. 抽滤, 减压除去溶剂, 残留物以硅胶柱[V(石油醚): V(乙酸乙酯)=2:1~1:1]分离得到目标化合物 **10** 或 **11**.

2-苯基-3-(4,6-二甲基噻啉-2-基)-2H-1,3-苯并噻嗪烷-4-酮(**10a**): 白色固体, 产率 61.8%. m.p. 159.8~161.2 °C; ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 8.14 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 7.49 (d, $J=7.8$ Hz, 2H, Ar-H), 7.07~7.23 (m, 6H, Ar-H), 6.93 (s, 1H, CH), 6.74 (s, 1H, CH), 2.36 (s, 6H, CH_3); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 168.2, 163.8, 159.7, 139.0, 134.9, 132.6, 131.2, 129.3, 128.1, 127.8,

127.5, 127.2, 125.9, 117.0, 62.2, 24.0; IR (KBr) ν : 1677 ($\text{C}=\text{O}$) cm^{-1} ; MS (ESI) m/z : 371.0 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$). Anal. calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{OS}$: C 69.14, H 4.93, N 12.09; found C 69.30, H 5.07, N 11.98.

2-(2-氯苯基)-3-(4,6-二甲基噻啉-2-基)-2H-1,3-苯并噻嗪烷-4-酮(**10b**): 白色固体, 产率 70.2%. m.p. 195.0~196.3 °C; ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 8.37 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 7.41 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 7.10~7.35 (m, 5H, Ar-H), 7.08 (s, 1H, CH), 7.04 (t, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 6.81 (s, 1H, CH), 2.41 (s, 6H, CH_3); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 168.3, 164.1, 159.7, 136.8, 133.8, 132.8, 131.7, 130.9, 130.0, 129.1, 128.8, 127.6, 127.3, 126.5, 126.1, 117.5, 59.2, 23.9; IR (KBr) ν : 1670 ($\text{C}=\text{O}$) cm^{-1} ; MS(ESI) m/z : 405.4 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$). Anal. calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{OS}$: C 62.90, H 4.22, N 11.00; found C 62.94, H 4.31, N 11.08.

2-(2,6-二氯苯基)-3-(4,6-二甲基噻啉-2-基)-2H-1,3-苯并噻嗪烷-4-酮(**10c**): 白色固体, 产率 20.1%. m.p. 183.5~184.9 °C; ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 8.29 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 7.61 (s, 1H, CH), 7.42 (t, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 7.25~7.29 (m, 2H, Ar-H), 7.18 (d, $J=7.8$ Hz, 2H, Ar-H), 7.05 (t, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 6.72 (s, 1H, CH), 2.32 (s, 6H, CH_3); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 167.5, 164.8, 158.5, 136.5, 135.9, 132.6, 131.7, 131.6, 129.7, 129.2, 127.9, 126.5, 125.9, 117.6, 60.5, 23.5; IR (KBr) ν : 1664 ($\text{C}=\text{O}$) cm^{-1} ; MS (ESI) m/z : 439.2 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$). Anal. calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{OS}$: C 57.70, H 3.63, N 10.09; found C 57.59, H 3.71, N 10.16.

2-(2-氯-6-氟苯基)-3-(4,6-二甲基噻啉-2-基)-2H-1,3-苯并噻嗪烷-4-酮(**10d**): 白色固体, 产率 30.5%. m.p. 237.0~238.0 °C; ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 8.34 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 7.16~7.38 (m, 4H, Ar-H), 7.15 (s, 1H, CH), 7.10~7.13 (m, 1H, Ar-H), 6.82 (t, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 6.79 (s, 1H, CH), 2.38 (s, 6H, CH_3); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 168.1, 164.0, 162.0, 159.7, 134.3, 133.8, 132.3, 131.0, 129.5, 129.0, 126.9, 126.1, 125.7, 125.2, 117.4, 115.6, 58.0, 23.8; IR (KBr) ν : 1677 ($\text{C}=\text{O}$) cm^{-1} ; MS (ESI) m/z : 423.4 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$). Anal. calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{ClFN}_3\text{OS}$: C 60.07, H 3.78, N 10.51; found C 60.12, H 3.86, N 10.54.

2-(呋喃-2-基)-3-(4,6-二甲基噻啉-2-基)-2H-1,3-苯并噻嗪烷-4-酮(**10e**): 黄色固体, 产率 60.5%. m.p. 168.5~170.5 °C; ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 8.29 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 7.35 (t, $J=7.2$ Hz, 1H, Ar-H), 7.26 (s, 1H, Furan-H), 7.21~7.23 (m, 2H, Ar-H), 7.05 (s, 1H, CH),

6.83 (s, 1H, CH), 6.28 (d, $J=3.0$ Hz, 1H, Furan-H), 6.16 (s, 1H, Furan-H), 2.45 (s, 6H, CH₃); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 168.2, 163.1, 159.1, 150.7, 142.4, 134.4, 132.7, 131.2, 128.9, 127.5, 126.0, 117.0, 110.5, 109.7, 56.5, 24.0; IR (KBr) ν : 1681 (C=O) cm⁻¹; MS (ESI) m/z : 360.7 ([M+Na]⁺). Anal. calcd for C₁₈H₁₅N₃O₂S: C 64.08, H 4.48, N 12.45; found C 64.02, H 4.52, N 12.56.

2-苯基-3-(4,5,6-三甲基嘧啶-2-基)-2H-1,3-苯并噻嗪烷-4-酮(**11a**): 白色固体, 产率 76.3%. m.p. 173.0~174.5 °C; ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 8.21 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 7.57 (d, $J=7.8$ Hz, 2H, Ar-H), 7.15~7.30 (m, 6H, Ar-H), 6.90 (s, 1H, CH), 2.44 (s, 6H, CH₃), 2.19 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 166.0, 163.8, 156.9, 139.1, 134.8, 132.5, 131.1, 129.4, 128.0, 127.8, 127.5, 127.3, 125.9, 124.1, 62.4, 22.5, 13.7; IR (KBr) ν : 1673 (C=O) cm⁻¹; MS (ESI) m/z : 385.4 ([M+Na]⁺). Anal. calcd for C₂₁H₁₉N₃O₂S: C 69.78, H 5.30, N 11.63; found C 69.73, H 5.45, N 11.56.

2-(2-氯苯基)-3-(4,5,6-三甲基嘧啶-2-基)-2H-1,3-苯并噻嗪烷-4-酮(**11b**): 白色固体, 产率 74.2%. m.p. 197.6~199.2 °C; ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 8.35 (dd, $J=7.8, 1.2$ Hz, 1H, Ar-H), 7.43 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 7.32~7.35 (m, 2H, Ar-H), 7.25~7.27 (m, 1H, Ar-H), 7.12~7.15 (m, 2H, Ar-H), 7.05 (t, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 6.99 (s, 1H, CH), 2.42 (s, 6H, CH₃), 2.17 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 166.1, 164.1, 156.8, 136.9, 133.8, 132.7, 131.7, 130.8, 129.9, 129.0, 128.9, 127.6, 127.5, 126.5, 126.1, 124.7, 59.3, 22.5, 13.7; IR (KBr) ν : 1670 (C=O) cm⁻¹; MS (ESI) m/z : 418.9 ([M+Na]⁺). Anal. calcd for C₂₁H₁₈ClN₃O₂S: C 63.71, H 4.58, N 10.61; found C 63.59, H 4.67, N 10.49.

2-(2,6-二氯苯基)-3-(4,5,6-三甲基嘧啶-2-基)-2H-1,3-苯并噻嗪烷-4-酮(**11c**): 白色固体, 产率 20.3%. m.p. 218.0~220.0 °C; ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 8.28 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 7.60 (s, 1H, CH), 7.40 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 7.24~7.27 (m, 2H, Ar-H), 7.18 (d, $J=7.8$ Hz, 2H, Ar-H), 7.05 (t, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 2.32 (s, 6H, CH₃), 2.09 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 165.3, 165.0, 155.6, 136.6, 135.9, 132.5, 131.8, 131.6, 129.7, 129.3, 129.2, 128.0, 126.4, 125.8, 124.7, 60.4, 22.0, 13.7; IR (KBr) ν : 1670 (C=O) cm⁻¹; MS (ESI) m/z : 453.0 ([M+Na]⁺). Anal. calcd for C₂₁H₁₇Cl₂N₃O₂S: C 58.61, H 3.98, N 9.76; found C 58.63, H 4.01, N 9.82.

2-(2-氯-6-氟苯基)-3-(4,5,6-三甲基嘧啶-2-基)-2H-1,3-苯并噻嗪烷-4-酮(**11d**): 白色固体, 产率 31.2%. m.p.

204.3~206.2 °C; ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 8.32 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 7.35~7.38 (m, 1H, Ar-H), 7.28 (d, $J=7.2$ Hz, 1H, Ar-H), 7.11~7.20 (m, 3H, Ar-H), 7.11 (s, 1H, CH), 6.82 (t, $J=9.6$ Hz, 1H, Ar-H), 2.37 (s, 6H, CH₃), 2.14 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 165.8, 164.0, 162.1, 156.8, 134.4, 133.8, 132.2, 131.0, 129.4, 129.1, 126.9, 126.1, 125.7, 125.3, 124.6, 115.6, 58.0, 22.3, 13.7; IR (KBr) ν : 1679 (C=O) cm⁻¹; MS (ESI) m/z : 436.9 ([M+Na]⁺). Anal. calcd for C₂₁H₁₇ClFN₃O₂S: C 60.94, H 4.14, N 10.15; found C 65.04, H 4.20, N 10.18.

2-(呋喃-2-基)-3-(4,5,6-三甲基嘧啶-2-基)-2H-1,3-苯并噻嗪烷-4-酮(**11e**): 黄色固体, 产率 77.8%. m.p. 212.0~214.0 °C; ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 8.21 (dd, $J=8.4, 1.8$ Hz, 1H, Ar-H), 7.27~7.30 (m, 1H, Furan-H), 7.15~7.20 (m, 3H, Ar-H), 6.88 (s, 1H, CH), 6.23 (d, $J=3.0$ Hz, 1H, Furan-H), 6.10 (q, $J=1.8$ Hz, 1H, Furan-H), 2.40 (s, 6H, CH₃), 2.14 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 166.0, 163.0, 156.4, 150.9, 142.3, 134.3, 132.5, 131.1, 129.1, 127.5, 126.0, 124.1, 110.5, 109.7, 56.7, 22.6, 13.7; IR (KBr) ν : 1668 (C=O) cm⁻¹; MS (ESI) m/z : 374.8 ([M+Na]⁺). Anal. calcd for C₁₉H₁₇N₃O₂S: C 64.94, H 4.88, N 11.96; found C 64.85, H 4.97, N 11.99.

3.2.2 HIV-RT 抑制活性测试

抗 HIV-RT 活性测试使用的是从罗氏公司购买的逆转录酶试剂盒, 操作遵循试剂盒上的实验说明. 简单的实验操作过程如下: 将装有 2'-脱氧-核苷酸-5'-三磷酸盐(dNTPs)、用缓冲溶液配制的逆转录酶和抑制剂的实验组和没有加抑制剂的阳性对照组的多孔 37 °C 恒温 1 h 后, 将反应液转移到涂有链霉菌类抗生物素蛋白的微孔板(MTP)上, 具有活性的逆转录酶与链霉菌类抗生物素蛋白结合, 生物素标记的 dNTPs 被吸附到多孔板上, 用洗液洗去未被吸附的 dNTPs, 向 MTP 中加入抗地高辛-氧化酶(DIG-POD), 吸附到微孔板上的被 DIG 标记的 dNTPs 与抗-DIG-POD 抗体结合. 洗去未结合的抗-DIG-POD, 在 MTP 中加入过氧化底物(ABST), 经过氧化酶的催化得到颜色不同的反应液, 通过酶标仪在 OD_{405 nm} 下测定样品的吸光率, 所得吸光强度与逆转录酶活性成正比. 样品逆转录酶抑制活性计算公式如下:

$$\text{抑制活性}/\% = [1 - (\text{样品组 OD}_{405 \text{ nm}} / \text{空白组 OD}_{405 \text{ nm}})] \times 100\%$$

References and note

- [1] Mehellou, Y.; De Clercq, E. *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 521.
- [2] Reynold, C.; de Koning, C. B.; Pelly, S. C.; van Otterlo, W. A. L.; Bode, M. L. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, 41, 4657.

- [3] Zhan, P.; Chen, X. W.; Li, D. Y.; Fang, Z. J.; De Clercq, E.; Liu, X. Y. *Med. Res. Rev.* **2013**, *33*(suppl. 1), E1.
- [4] Prajapati, D. G.; Ramajayam, R.; Yadav, M. R.; Giridhar, R. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 5744.
- [5] Verma, A.; Saraf, S. K. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 897.
- [6] Tian, Y.; Zhan, P.; Rai, D.; Zhang, J. Y.; De Clercq, E.; Liu, X. Y. *Curr. Med. Chem.* **2012**, *19*, 2026.
- [7] Chen, H.; Bai, J.; Jiao, L. L.; Guo, Z. H.; Yin, Q. M.; Li, X. L. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 3980.
- [8] Ravichandran, V.; Prashantha Kumar, B. R.; Sankar, S.; Agrawal, R. K. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 1180.
- [9] Murugesan, V.; Prabhakar, Y. S.; Katti, S. B. *J. Mol. Graphics Modell.* **2009**, *27*, 735.
- [10] Johannes, K.; Martens, J. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 242.
- [11] Zarghi, A.; Zebardast, T.; Daraie, B.; Hedayati, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 5369.
- [12] Geng, J. H.; Li, Y. X.; Zhang, W. J.; Su, X.; Guo, C. *J. Shenyang Pharm. Univ.* **2012**, *29*, 834 (in Chinese).
(耿红健, 高宁, 李裕鑫, 张卫军, 苏昕, 郭春, 沈阳药科大学学报, **2012**, *29*, 834.)
- [13] Tiwari, R.; Moraski, G. C.; Krchňák, V.; Miller, P. A.; Colon-Martinez, M.; Herrero, E.; Oliver, A. G.; Miller, M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 3539.
- [14] Makarov, V.; Manina, G.; Mikusova, K.; Möllmann, U.; Ryabova, O.; Saint-Joanis, B.; Dhar, N.; Pasca, M. R.; Buroni, S.; Lucarelli, A. P.; Milano, A.; De Rossi, E.; Belanova, M.; Bobovska, A.; Dianiskova, P.; Kordulakova, J.; Sala, C.; Fullam, E.; Schneider, P.; McKinney, J. D.; Brodin, P.; Christophe, T.; Waddell, S.; Butcher, P.; Albrethsen, J.; Rosenkrands, I.; Brosch, R.; Nandi, V.; Bharath, S.; Gaonkar, S.; Shandil, R. K.; Balasubramanian, V.; Balganes, T.; Tyagi, S.; Grosset, J.; Riccardi, G.; Cole, S. T. *Science* **2009**, *324*, 801.
- [15] Cao, X.; Wang, S. B.; Deng, X. Q.; Liu, D. C.; Quan, Z. S. *Med. Chem. Res.* **2014**, *23*, 1829.
- [16] Stössel, A.; Schlenk, M.; Hinz, S.; Küppers, P.; Heer, J.; Gütschow, M.; Müller, C. E. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 4580.
- [17] Rawal, R. K.; Solomon, V. R.; Prabhakar, Y. S.; Katti, S. B.; De Clercq, E. *Comb. Chem. High Throughput Screening* **2005**, *8*, 439.
- [18] Zhu, Y. J.; Chen, F. *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 6462.
- [19] Chen, H.; Bai, J.; Zhao, L.; Yuan, X. G.; Li, X. L.; Cao, K. Q. *Chin. J. Org. Chem.* **2008**, *28*, 1092 (in Chinese).
(陈华, 白洁, 赵莲, 苑香果, 李小六, 曹克强, 有机化学, **2008**, *28*, 1092.)
- [20] Zhou, Z. Z.; Huang, W.; Ji, F. Q.; Ding, M. W.; Yang, G. F. *Heteroat. Chem.* **2007**, *18*, 381.
- [21] Chen, H.; Huang, C. J.; Zhu, M.; Li, X. L. *Chin. J. Org. Chem.* **2014**, *34*, 756 (in Chinese).
(陈华, 黄长军, 朱墨, 李小六, 有机化学, **2014**, *34*, 756.)
- [22] Reverse Transcriptase Assay, Colorimetric kit, Roche Diagnostics GmbH, Roche Applide Science, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim, Germany.

(Cheng, F.)