

新型喹啉酮类磷酸酯衍生物的合成与抗菌活性

杨家强^{*,a} 胡月维^a 谷 晴^a 李明刚^a 李明强^b 宋宝安^c^(a) 遵义医学院药学院 遵义 563003^(b) 遵义医学院微生物与免疫学实验室 遵义 563003^(c) 贵州大学精细化工研究中心 贵阳 550025

摘要 根据活性结构拼合原理, 设计合成了一系列新型喹啉酮类磷酸酯衍生物, 其结构经 IR, ¹H NMR, MS 及元素分析确认. 采用两倍稀释法测试目标化合物对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、耐甲氧西林金葡菌、耐喹诺酮金葡菌的抑制活性, 结果表明: 部分目标化合物对耐药菌的抑制作用略优于对照药诺氟沙星, 尤以化合物 **IIIk** 最好, 对 MRSA15[#], QRSA7[#] 的最小抑菌浓度(MIC)值分别为 6.2, 3.1 mg/mL.

关键词 喹啉酮; α -氨基磷酸酯; 酰胺; 合成; 抗菌活性

Synthesis and Antibacterial Activities of Novel Phosphonate Derivatives Containing Quinolinone Moiety

Yang, Jiaqiang^{*,a} Hu, Yuewei^a Gu, Qing^a Li, Minggang^aLi, Mingqiang^b Song, Baoan^c^(a) School of Pharmacy, Zunyi Medical College, Zunyi 563003^(b) Laboratory of Microbiology and Immunology, Zunyi Medical College, Zunyi 563003^(c) Center for Research and Development of Fine Chemicals, Guizhou University, Guiyang 550025

Abstract According to substructure link principle, a series of novel phosphonate derivatives bearing quinolinone moiety were designed and synthesized. The structures of the products were confirmed by IR, ¹H NMR and MS data. The antibacterial activities of the products against *S. aureus*, *E. coli*, drug-resistant *S. aureus* were evaluated by the agar dilution method. The results demonstrated that some compound exhibited superior activities against drug-resistant *S. aureus* compared with norfloxacin. Especially, compound **IIIk** showed more potent activities against MRSA15[#] with minimum inhibitory concentration (MIC) values of 6.2 mg/mL, and against QRSA7[#] with MIC values of 3.1 mg/mL.

Keywords quinolinone; α -aminophosphonate; amide; synthesis; antibacterial activity

自 1962 年萘啶酸面市, 喹诺酮类药物经历了 50 多年的发展, 一直是抗感染类药物研究的热点领域之一^[1,2], 且不断涌现出新的品种. 然而, 随着该类药物的广泛应用, 尤其是滥用, 使其耐药性迅速增加, 如: 耐药性金葡菌的增加, 现已成为抗感染治疗领域的棘手问题之一^[3,4]; 而在近年新上市的喹诺酮类抗菌剂大多对耐药菌不敏感, 如: 吉米沙星对临床上常见的耐药性金葡菌活性不强^[5]. 因此, 临床上迫切需要更多安全、广谱、高效、对耐药菌有良好治疗效果的抗菌药物.

目前有关喹诺酮类化合物的结构改造主要在母核

喹啉酮环 1, 7, 8 位, 而对 3 位羧基的改造较少^[6~8]. β -内酰胺类抗生素结构改造的成功经验说明, 把游离羧基改变为酰胺或酯基, 可以提高药物的脂溶性, 容易通过脂质膜, 从而提高人体对药物的吸收度^[9], 并增加其抗菌谱^[10], 而且还可以扩大抗耐药菌谱^[11]. α -氨基磷酸酯衍生物是天然氨基酸的类似物, 是一类极具研究和开发潜力的有机磷化合物, 具有抗菌、杀菌、抗病毒、抗肿瘤等多种活性, 以氨基磷酸酯功能团与各类药效团或药物分子相结合, 可获得具有特殊方向性和目标性的药物分子^[12~14]. 近年来有报道表明部分氨基磷酸酯衍生物有

* E-mail: yjqcn@126.com

Received November 15, 2013; revised December 11, 2013; published online December 23, 2013.

Project supported by the Technology Department of Guizhou Province (No. LKZ[2010]47).

贵州省科技厅基金(No. 黔科合 J 字 LKZ[2010]47)资助项目.

着优秀的抗菌活性,尤其是对耐药性细菌有较好的抑制作用^[15~17].因此,我们利用药物设计中的活性基团拼合原理,对喹诺酮类抗菌药物母核喹啉酮环 3 位羧基进行改造,通过酰胺键连接药效团氨基磷酸酯.设计合成一系列未见报道的新型喹啉酮类磷酸酯衍生物供抗菌活性测试,见 Scheme 1. 以期获得新的具有某些特点的抗耐药菌先导物.

1 结果与讨论

1.1 合成方法

制备目标物时:考虑到该反应中间体 β -酮酸 II 是一个弱的酰化剂,反应活性不强;中间体 α -氨基磷酸酯 I 亲核性不强、反应位阻较大等特点.因此试验采用催化合成法制备酰胺类目标物,通过加入缩合剂 N,N' -二乙基碳二亚胺(DCC)或催化剂 4-二甲氨基吡啶 (DMAP) 提高反应活性,并优化反应条件.

1.1.1 催化剂对反应产率的影响

以化合物 IIIa 的合成为例,参照第 3.2.3 节操作,以二氯甲烷为溶剂,分别选择 DCC, DMAP, DCC/DMAP 催化, 0~5 °C 条件下反应 9 h, 结果见表 1.

表 1 催化剂对目标物 IIIa 产率的影响

Table 1 Yield of title compound IIIa effected by reaction catalyst

催化剂	DCC	DMAP	DCC/DMAP
产率/%	7.5	5.2	10.0

通过表 1 可以看出: 3 种体系的催化剂都可以不同程度的催化该反应, 其中单独采用 DCC, DMAP 催化,

产率分别为 7.5%, 5.2%, 而采用 DCC/DMAP 催化, 反应产率最好, 达到 10.0%. 从数据可见 DCC/DMAP 联合应用于该反应, 有协同催化效应. 该反应类似 Steglich 酯化^[18], 根据 Steglich 酯化与本实验反应特点, 可知本实验合成目标物的反应机理与 Steglich 酯化机理可能相似. 且该反应机制也可较好的解释实验结果: 从活化酸的角度看, 以 DCC/DMAP 为催化剂最容易形成反应活性强的中间体, 以 DCC 为催化剂形成的酰基异脲活性中间体较前者形成的中间体反应活性低, 而以 DMAP 为催化剂虽然也形成反应活性强的中间体, 但是由于该羧酸是弱酰化剂, DMAP 与该羧酸形成活性中间体较难发生, 因此反应产率也最低.

1.1.2 溶剂对反应产率的影响

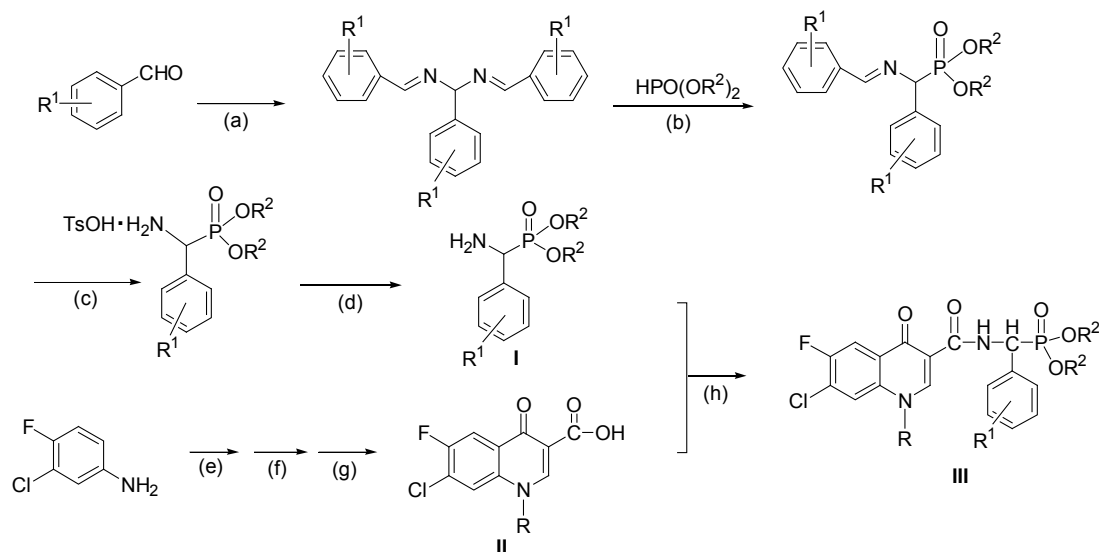
通常有机溶剂类型对亲核取代反应活性有一定影响, 因此, 在第 1.1.1 节基础上, 考察 4 种不同溶剂对该反应产率的影响, 见表 2.

表 2 溶剂对目标物 IIIa 产率的影响

Table 2 Yield of title compound IIIa effected by reaction solvent

溶剂	产率/%
DMF	14.3
CH ₂ Cl ₂	10.0
CHCl ₃	15.6
DMSO	12.1

从表 2 可以看出: 以氯仿为溶剂, 产率最高, 达到 15.6%, 而以二氯甲烷为溶剂, 产率为 10.0%. 分析这 4 种溶剂的极性, 发现选择中等极性的氯仿, 有较高的产



Reagent and conditions: (a) NH₃, reflux, 5 h; (b) 70~75 °C, 12~15 h; (c) *p*-toluenesulfonic acid, 0 °C, 4 h; (d) NH₃, r.t., 2 h; (e) EMME, 120~130 °C, 3 h; (f) RBr, K₂CO₃, DMF; (g) NaOH; (h) DCC/DMAP, CHCl₃, 10~15 °C, 15 h

Scheme 1

率, 而极性太大、太小, 产率都相对较低, 因此, 选择氯仿为该反应的最佳溶剂。

1.1.3 温度对反应产率的影响

为了进一步优化反应条件, 根据第 1.1.1 节、第 1.1.2 节结果, 选择 5 个温度范围进行试验, 考察温度对反应的影响, 见表 3。

表 3 温度对目标物 **IIIa** 产率的影响

Table 3 Yield of title compound **IIIa** effected by reaction temperature

反应温度/℃	产率/%
-5~0	3.8
0~5	9.6
5~10	15.6
10~15	18.2
室温(20℃左右)	17.4

由表 3 中可知, 在不同的温度范围反应, 目标物的收率呈现差异。在 -5~0℃ 下反应, 产率仅为 3.8%; 控制反应温度在 0~5℃, 产率达 9.6%; 在 5~10℃ 产率升高至 15.6%, 当反应温度在 10~15℃ 时, 产率达最高 18.2%。但是反应温度进一步升高, 产率有所降低, 在室温(20℃左右)反应时, 产率为 17.4%。以上实验数据表明, 温度对该可逆反应的产率有较明显影响。该试验结果解释如下: 一般化学反应都属于放热反应, 在低温反应速率很小, 随温度升高指数上升, 而当反应温度升高到一定程度, 放热反应温度升高, 平衡常数降低, 反应达到平衡时反应物的转化率降低, 因此在到达一定反应温度, 反应进行程度很小, 产率降低。

1.1.4 时间对反应产率的影响

在前面实验优化的基础上, 考察了反应时间长短对产率的影响, 见表 4。据表可知, 从 6~15 h, 随着反应时间的增长, 产率有不同程度的升高, 反应 15 h, 产率达最高 20.7%, 为最佳反应时间, 其中从 6~9 h, 产率增加了 9.2%, 反应时间从 12~15 h, 产率升高了 2.5%; 当反应时间为 18 h 时, 产率较 15 h 降低了 1.3%, 同时 TLC 跟踪显示, 副产物生成有增多, 进一步证实产率降低的原因。

表 4 时间对目标物 **IIIa** 产率的影响

Table 4 Yield of title compound **IIIa** effected by reaction time

反应时间/h	6	9	12	15	18
产率/%	6.2	15.4	18.2	20.7	19.4

1.2 抗菌活性

从表 5 可以看出, 部分目标化合物对标准菌有一定的抗菌活性, 如化合物 **IIIb**, **IIIc**, **IIIg**, **IIIi** 对 *S. aureus* 有抑制作用, 化合物 **IIIe**, **IIIh**, **IIIk** 对 *E. coli* 有抑制作用, 但均远远低于对照药诺氟沙星; 而部分目标化合物

对耐药菌有较好的抑制作用, 如化合物 **IIIId**, **IIIk** 对两种耐药菌 MRSA15[#]与 QRSA7[#]均有较好的抑制作用, 略优于对照药诺氟沙星。结果表明该类化合物有潜在的抗耐药菌作用。

2 结论

一系列新型取代喹啉酮类磷酸酯化合物被设计合成, 得最佳反应条件: 以 DCC/DMAP 为催化剂, CHCl₃ 为溶剂, 10~15℃ 反应 15 h, 有较好产率。抗菌活性测试表明部分目标物对耐药菌的抑制作用略优于对照药诺氟沙星, 有待进一步研究。

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; Agilent 质谱仪; 德国 Elementar Vavio-III 型元素分析仪。

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, 用前不需进一步处理。

3.2 实验方法

3.2.1 中间体 *O,O'*-二烷基-1-氨基-取代苯基甲基膦酸酯(**I**)的制备

参照文献[19]合成方法, 将 30 mmol 取代苯甲醛、30 mL 氨水加入到 50 mL 三颈瓶中, 回流 4~6 h, 过滤, 干燥, 得白色固体; 随后, 在 150 mL 三颈瓶中, 将 12 mmol 亚磷酸二烷基酯加入该白色固体中, 控制温度在 70~75℃ 下反应 12~15 h, 薄层色谱跟踪; 然后, 冰盐浴, 控制反应温度在 0℃ 左右, 缓慢滴入 12 mmol 对甲苯磺酸(50 mL 四氢呋喃溶解)至反应体系, 室温反应约 4 h, 过滤, 得白色粘稠物; 之后, 将白色粘稠物加入到 60 mL 稀氨水中, 室温反应 2 h, 固体溶解; 最后, 先用乙醚(30 mL×3)萃取, 再用乙酸乙酯(40 mL×4)萃取, 浓缩乙酸乙酯溶液, 得无色液体, 即中间体 **I**。

3.2.2 中间体 1-取代-7-氯-6-氟-1,4-二氢-4-氧喹啉-3-羧酸(**II**)的制备

参照文献[20]所述的类似方法合成, 在装有搅拌器、回流冷凝器、温度计的 50 mL 三颈瓶中按 1:1 比例投入 4-氟-3-氯-苯胺与乙氧基亚甲基丙二酸二乙酯(EMME), 搅拌并迅速加热至 120℃, 维持温度 120~130℃ 反应, 薄层色谱跟踪, 约 2.5 h, 反应结束, 冷却, 过滤, 石油醚重结晶, 干燥, 得白色固体; 将白色固体、无水碳酸钾溶于 DMF 中, 缓慢滴加溴代烷(约 1 h), 于 100~110℃ 反应 4 h, 再将反应液倒入 10 倍量水中, 过滤, 干燥, 得固体; 最后, 将该固体于 NaOH 碱溶液水

表5 目标物对不同细菌的 MIC 值($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)^aTable 5 MIC ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) values of different target compounds

Compd.	R	R ¹	R ²	MIC/($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)			
				<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	MRSA15 [#]	QRSA7 [#]
IIIa	乙基	氢	乙基	>50	>50	6.2	25
IIIb	乙基	2-氟	乙基	25	>50	>50	>50
IIIc	乙基	4-氟	乙基	>50	>50	>50	>50
IIId	乙基	氢	异丙基	6.2	>50	3.1	25
IIIe	乙基	2-氟	异丙基	>50	12.5	>50	12.5
IIIf	乙基	4-氟	异丙基	>50	>50	>50	>50
IIIg	环丙基	氢	乙基	12.5	>50	25	>50
IIIh	环丙基	2-氟	乙基	>50	>50	12.5	>50
IIIi	环丙基	4-氟	乙基	6.2	25	>50	6.2
IIIj	环丙基	氢	异丙基	>50	>50	>50	>50
IIIk	环丙基	2-氟	异丙基	>50	25	6.2	3.1
IIIl	环丙基	4-氟	异丙基	>50	>50	>50	>50
Norfloxacin				0.2	0.4	6.2	>50

^a 结果保留一位小数, 菌液浓度为 1×10^6 CFU/mL, 药液浓度为 100 mg/mL.

解, 调节 pH 值约 6, 过滤, DMF 重结晶, 得中间体 II.

3.2.3 目标物 *O,O'*-二烷基- α -苯基- α -(1-取代-6-氟-1,4-二氢-4-氧代-7-氯-3-喹啉甲酰氨基)-甲基磷酸酯(III)的制备

称取 5 mmol 中间体 II 于 50 mL 三口瓶中, 加入 20 mL 无水氯仿溶解, 在冰盐浴 0 °C 下缓慢滴加 5 mmol DCC (10 mL 无水氯仿溶解, 大约 2 h 滴完), 然后再加入 5 mmol 中间体 I 和 5 mmol DMAP, 10~15 °C 反应 15 h, 反应结束, 浓缩溶剂, 得初产品, 常压柱层析 [*V*(乙酸乙酯): *V*(石油醚)=2:1] 分离纯化, 得目标物 III.

O,O'-二乙基- α -苯基- α -(1-乙基-6-氟-1,4-二氢-4-氧代-7-氯-3-喹啉甲酰氨基)-甲基磷酸酯(IIIa): 白色固体, 产率 20.7%. m.p. 122~124 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.10 (t, *J*=7.2 Hz, 3H, CH₃), 1.42 (t, *J*=6.8 Hz, 6H, 2CH₃), 3.87~4.06 (m, 4H, 2OCH₂), 4.44 (q, *J*=7.1 Hz, 2H, NCH₂), 6.34 (dd, *J*_{H-H}=7.4 Hz, *J*_{P-H}=19.6 Hz, 1H, CH), 6.89~7.42 (m, 5H, Ph-H), 7.55 (d, *J*=5.5 Hz, 1H, 8-H), 8.07 (d, *J*=9.2 Hz, 1H, 5-H), 8.57 (s, 1H, 2-H), 8.93 (d, *J*=8.6 Hz, 1H, NH); IR (KBr) ν : 3414, 2981, 2895, 1745, 1616, 1469, 1400, 1331, 1255, 1106, 995 cm⁻¹; FAB-MS *m/z*: 495 (*M*⁺+1). Anal. calcd for C₂₃H₂₅ClFN₂O₅P: C 55.82, H 5.09, N 5.66; found C 55.66, H 5.34, N 5.89.

O,O'-二乙基- α -(2-氟苯基)- α -(1-乙基-6-氟-1,4-二氢-4-氧代-7-氯-3-喹啉甲酰氨基)-甲基磷酸酯(IIIb): 淡黄色固体, 产率 23.3%. m.p. 85~88 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.09 (t, *J*=7.1 Hz, 3H, CH₃), 1.40 (t, *J*=7.7 Hz, 6H, 2CH₃), 3.88~4.12 (m, 4H, 2OCH₂), 4.34 (q, *J*=7.1 Hz, 2H, NCH₂), 6.56 (dd, *J*_{H-H}=7.6 Hz, *J*_{P-H}=20.2 Hz, 1H, CH), 7.03~7.44 (m, 4H, Ph-H), 7.62 (d, *J*=6.2

Hz, 1H, 8-H), 8.05 (d, *J*=9.5 Hz, 1H, 5-H), 8.61 (s, 1H, 2-H), 8.79 (d, *J*=7.5 Hz, 1H, NH); IR (KBr) ν : 3225, 2988, 2910, 1744, 1614, 1568, 1469, 1400, 1341, 1255, 1206, 1154, 1043, 961 cm⁻¹; FAB-MS *m/z*: 513 (*M*⁺+1). Anal. calcd for C₂₃H₂₄ClF₂N₂O₅P: C 53.86, H 4.72, N 5.46; found C 53.71, H 4.74, N 5.70.

O,O'-二乙基- α -(4-氟苯基)- α -(1-乙基-6-氟-1,4-二氢-4-氧代-7-氯-3-喹啉甲酰氨基)-甲基磷酸酯(IIIc): 淡黄色固体, 产率 24.4%. m.p. 142~144 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.09 (t, *J*=7.2 Hz, 3H, CH₃), 1.47 (t, *J*=7.2 Hz, 6H, 2CH₃), 3.85~4.20 (m, 4H, 2OCH₂), 4.32 (q, *J*=7.2 Hz, 2H, NCH₂), 6.49 (dd, *J*_{H-H}=7.8 Hz, *J*_{P-H}=20.2 Hz, 1H, CH), 7.01~7.46 (m, 4H, Ph-H), 7.55 (d, *J*=5.6 Hz, 1H, 8-H), 8.08 (d, *J*=9.5 Hz, 1H, 5-H), 8.58 (s, 1H, 2-H), 8.72 (d, *J*=7.7 Hz, 1H, NH); IR (KBr) ν : 3259, 2984, 1742, 1615, 1567, 1469, 1396, 1327, 1252, 1164, 1099, 966 cm⁻¹; FAB-MS *m/z*: 513 (*M*⁺+1). Anal. calcd for C₂₃H₂₄ClF₂N₂O₅P: C 53.86, H 4.72, N 5.46; found C 53.75, H 4.84, N 5.49.

O,O'-二异丙基- α -苯基- α -(1-乙基-6-氟-1,4-二氢-4-氧代-7-氯-3-喹啉甲酰氨基)-甲基磷酸酯(IIId): 白色固体, 产率 25.2%. m.p. 88~90 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.07~1.53 (m, 15H, 5CH₃), 4.01~4.16 (m, 2H, 2OCH), 4.26 (q, *J*=7.1 Hz, 2H, NCH₂), 6.52 (dd, *J*_{H-H}=8.5 Hz, *J*_{P-H}=19.8 Hz, 1H, CH), 6.95~7.40 (m, 5H, Ph-H), 7.53 (d, *J*=5.7 Hz, 1H, 8-H), 8.06 (d, *J*=9.5 Hz, 1H, 5-H), 8.52 (d, *J*=8.1 Hz, 1H, NH), 8.60 (s, 1H, 2-H); IR (KBr) ν : 3414, 2983, 1744, 1616, 1569, 1400, 1334, 1258, 1173, 1099, 942 cm⁻¹; FAB-MS *m/z*: 523 (*M*⁺+1). Anal. calcd for C₂₅H₂₉ClFN₂O₅P: C 57.42, H 5.59, N 5.36;

found C 57.48, H 5.34, N 5.36.

O,O'-二异丙基- α -(2-氟苯基)- α -(1-乙基-6-氟-1,4-二氢-4-氧代-7-氯-3-喹啉甲酰氨基)-甲基膦酸酯(IIIe): 白色固体, 产率 27.1%. m.p. 94~97 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.02 (t, $J=7.4$ Hz, 3H, CH_3), 1.26 (d, $J=5.8$ Hz, 12H, 4 CH_3), 3.85~4.11 (m, 2H, 2OCH), 4.30 (q, $J=7.1$ Hz, 2H, NCH₂), 6.49 (dd, $J_{\text{H-H}}=8.8$ Hz, $J_{\text{P-H}}=20.9$ Hz, 1H, CH), 6.97~7.43 (m, 4H, Ph-H), 7.58 (d, $J=6.2$ Hz, 1H, 8-H), 7.98 (d, $J=9.8$ Hz, 1H, 5-H), 8.55 (s, 1H, 2-H), 9.14 (d, $J=8.8$ Hz, 1H, NH); IR (KBr) ν : 3267, 2978, 2936, 1740, 1613, 1568, 1471, 1330, 1252, 1153, 993 cm^{-1} ; FAB-MS m/z : 541 (M^++1). Anal. calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{ClF}_2\text{N}_2\text{O}_5\text{P}$: C 55.51, H 5.22, N 5.18; found C 55.62, H 5.51, N 5.02.

O,O'-二异丙基- α -(4-氟苯基)- α -(1-乙基-6-氟-1,4-二氢-4-氧代-7-氯-3-喹啉甲酰氨基)-甲基膦酸酯(III f): 白色固体, 产率 30.3%. m.p. 98~100 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.08 (t, $J=7.4$ Hz, 3H, CH_3), 1.26 (d, $J=6.2$ Hz, 12H, 4 CH_3), 3.81~4.22 (m, 2H, 2OCH), 4.24 (q, $J=7.9$ Hz, 2H, NCH₂), 6.61 (dd, $J_{\text{H-H}}=8.8$ Hz, $J_{\text{P-H}}=20.9$ Hz, 1H, CH), 6.88~7.51 (m, 4H, Ph-H), 7.55 (d, $J=5.2$ Hz, 1H, 8-H), 8.08 (d, $J=9.8$ Hz, 1H, 5-H), 8.60 (s, 1H, 2-H), 8.68 (d, $J=9.0$ Hz, 1H, NH); IR (KBr) ν : 3414, 2930, 2852, 1686, 1639, 1569, 1401, 1328, 1226, 1100, 944 cm^{-1} ; FAB-MS m/z : 541 (M^++1). Anal. calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{ClF}_2\text{N}_2\text{O}_5\text{P}$: C 55.51, H 5.22, N 5.18; found C 55.52, H 5.41, N 5.36.

O,O'-二乙基- α -苯基- α -(1-环丙基-6-氟-1,4-二氢-4-氧代-7-氯-3-喹啉甲酰氨基)-甲基膦酸酯(III g): 淡黄色固体, 产率 24.7%. m.p. 135~138 °C; ^1H NMR (CDCl_3) δ : 1.09~1.45 (m, 10H, 2 CH_2 , 2 CH_3), 3.48 (s, 1H, NCH), 3.68~4.17 (m, 4H, OCH₂), 6.22 (dd, $J_{\text{H-H}}=7.6$ Hz, $J_{\text{P-H}}=19.6$ Hz, CH), 1H, 7.26~7.47 (m, 7H, Ar-H), 8.06~8.29 (m, 1H, NCH), 8.95 (d, $J=8.2$ Hz, 1H, NH); IR (KBr) ν_{max} : 3300, 2933, 2855, 1686, 1631, 1548, 1402, 1328, 1226, 1100, 944 cm^{-1} ; FAB-MS m/z : 507 (M^++1). Anal. calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{ClF}_2\text{N}_2\text{O}_5\text{P}$: C 56.87, H 4.97, N 5.53; found C 57.06, H 5.04, N 5.63.

O,O'-二乙基- α -(2-氟苯基)- α -(1-环丙基-6-氟-1,4-二氢-4-氧代-7-氯-3-喹啉甲酰氨基)-甲基膦酸酯(III h): 淡黄色固体, 产率 17.5%. m.p. 112~114 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.98~1.43 (m, 10H, 2 CH_2 , 2 CH_3), 3.52 (s, 1H, NCH), 3.88~4.01 (m, 4H, 2OCH₂), 6.61 (dd, $J_{\text{H-H}}=7.6$ Hz, $J_{\text{P-H}}=19.6$ Hz, 1H, CH), 7.09~7.40 (m, 4H, Ph-H), 7.66 (d, $J=5.5$ Hz, 1H, 8-H), 8.09 (d, $J=9.3$ Hz,

1H, 5-H), 8.59 (s, 1H, 2-H), 8.47 (d, $J=9.3$ Hz, 1H, NH); IR (KBr) ν : 3261, 2934, 2911, 1744, 1613, 1469, 1386, 1331, 1253, 1184, 992 cm^{-1} ; FAB-MS m/z : 525 (M^++1). Anal. calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{ClF}_2\text{N}_2\text{O}_5\text{P}$: C 54.92, H 4.61, N 5.34; found C 54.81, H 4.54, N 5.62.

O,O'-二乙基- α -(4-氟苯基)- α -(1-环丙基-6-氟-1,4-二氢-4-氧代-7-氯-3-喹啉甲酰氨基)-甲基膦酸酯(III i): 淡黄色固体, 产率 29.0%. m.p. 126~128 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.03~1.43 (m, 10H, 2 CH_2 , 3 CH_3), 3.53 (s, 1H, NCH), 3.81~3.98 (m, 4H, 2OCH₂), 6.54 (dd, $J_{\text{H-H}}=7.7$ Hz, $J_{\text{P-H}}=19.9$ Hz, 1H, CH), 6.84~7.51 (m, 4H, Ph-H), 7.55 (d, $J=6.1$ Hz, 1H, 8-H), 7.90 (d, $J=9.1$ Hz, 1H, 5-H), 8.41 (s, 1H, 2-H), 8.66 (d, $J=7.0$ Hz, 1H, NH); IR (KBr) ν : 3302, 2931, 2852, 1738, 1686, 1639, 1569, 1467, 1328, 1284, 1226, 1100, 1006 cm^{-1} ; FAB-MS m/z : 525 (M^++1). Anal. calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{ClF}_2\text{N}_2\text{O}_5\text{P}$: C 54.92, H 4.61, N 5.34; found C 55.33, H 4.37, N 5.12.

O,O'-二异丙基- α -苯基- α -(1-环丙基-6-氟-1,4-二氢-4-氧代-7-氯-3-喹啉甲酰氨基)-甲基膦酸酯(III j): 淡黄色固体, 产率 28.4%. m.p. 101~103 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.01~1.38 (m, 4H, 2 CH_2), 1.48 (d, $J=5.7$ Hz, 12H, 4 CH_3), 3.52 (s, 1H, NCH), 3.98~4.23 (m, 2H, 2OCH), 5.85 (dd, $J_{\text{H-H}}=7.5$ Hz, $J_{\text{P-H}}=20.8$ Hz, 1H, CH), 7.12~7.39 (m, 5H, Ph-H), 7.55 (d, $J=5.8$ Hz, 1H, 8-H), 8.08 (d, $J=9.2$ Hz, 1H, 5-H), 8.51 (s, 1H, 2-H), 8.85 (d, $J=8.9$ Hz, 1H, NH); IR (KBr) ν : 3250, 2983, 2932, 1744, 1624, 1570, 1335, 1260, 1152, 1053, 943 cm^{-1} ; FAB-MS m/z : 535 (M^++1). Anal. calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{29}\text{ClF}_2\text{N}_2\text{O}_5\text{P}$: C 58.38, H 5.46, N 5.24; found C 58.60, H 5.31, N 5.29.

O,O'-二异丙基- α -(2-氟苯基)- α -(1-环丙基-6-氟-1,4-二氢-4-氧代-7-氯-3-喹啉甲酰氨基)-甲基膦酸酯(III k): 淡黄色固体, 产率 36.6%. m.p. 110~112 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.02~1.42 (m, 4H, 2 CH_2), 1.48 (d, $J=5.8$ Hz, 12H, 4 CH_3), 3.53 (s, 1H, NCH), 3.95~4.31 (m, 2H, 2OCH), 6.27 (dd, $J_{\text{H-H}}=7.6$ Hz, $J_{\text{P-H}}=20.3$ Hz, 1H, CH), 6.98~7.42 (m, 4H, Ph-H), 7.54 (d, $J=5.8$ Hz, 1H, 8-H), 8.10 (d, $J=8.7$ Hz, 1H, 5-H), 8.50 (s, 1H, 2-H), 8.73 (d, $J=6.9$ Hz, 1H, NH); IR (KBr) ν : 3169, 2984, 2932, 1704, 1615, 1568, 1468, 1325, 1252, 1164, 1099 cm^{-1} ; FAB-MS m/z : 553 (M^++1). Anal. calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{ClF}_2\text{N}_2\text{O}_5\text{P}$: C 56.48, H 5.10, N 5.07; found C 56.50, H 5.14, N 5.42.

O,O'-二异丙基- α -(4-氟苯基)- α -(1-环丙基-6-氟-1,4-二氢-4-氧代-7-氯-3-喹啉甲酰氨基)-甲基膦酸酯(III l):

白色固体, 产率 24.4%. m.p. 125~127 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.97~1.40 (m, 4H, 2CH_2), 1.47 (d, $J=5.8$ Hz, 12H, 4CH_3), 3.54 (s, 1H, NCH), 3.97~4.47 (m, 2H, 2OCH), 6.88 (dd, $J_{\text{H-H}}=7.6$ Hz, $J_{\text{P-H}}=20.3$ Hz, 1H, CH), 7.10~7.42 (m, 4H, Ph-H), 7.49 (d, $J=5.8$ Hz, 1H, 8-H), 8.06 (d, $J=9.4$ Hz, 1H, 5-H), 8.49 (s, 1H, 2-H), 8.98 (d, $J=9.7$ Hz, 1H, NH); IR (KBr) ν : 3301, 2929, 2853, 1741, 1639, 1606, 1571, 1467, 1226, 1100, 1031, 995 cm^{-1} ; FAB-MS m/z : 553 ($\text{M}^+ + 1$). Anal. calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{ClF}_2\text{N}_2\text{O}_5\text{P}$: C 56.48, H 5.10, N 5.07; found C 56.46, H 5.08, N 5.18.

3.3 化合物的抗菌活性测试

标准菌株: 金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)、大肠埃希菌(*E. coli*)购自中国药品生物制品检定所; 耐药菌株: 耐甲氧西林金葡菌(MRSA 15[#])、耐喹诺酮金葡菌(QRSA 7[#]), 由遵义医学院附属医院检验科分离提供. 以诺氟沙星(norfloxacin)为对照药物, 采用微量稀释法测定目标化合物的最小抑菌浓度(MIC), 具体测试方法参照文献[21]. 测试结果见表 5.

References

- [1] Vahaboglu, H.; Budak, F.; Kasap, M.; Gacar, G.; Torol, S.; Karadenizli, A.; Kolayli, F.; Eroglu, C. *J. Antimicrob. Chemother.* **2006**, 58(3), 537.
- [2] Chai, Y.; Wan, Z.-L.; Wang, B.; Guo, H.-Y.; Liu, M.-L. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, 44(10), 4063.
- [3] Liu, M.-L.; Guo, H.-Y. *World Notes Antibiot.* **2006**, 27, 69 (in Chinese). (刘明亮, 郭慧元, 国外医药(抗生素分册), **2006**, 27, 69.)
- [4] Naveed, R.; Hussain, I.; Tawab, A.; Tariq, M.; Rahman, M.; Hameed, S.; Mahmood, M. S.; Siddique, A. B.; Iqbal, M. *BMC Complementary Altern. Med.* **2013**, 13(1), 265.
- [5] Calva-Mercado, J. J.; Castillo, G.; López-Vidal, Y. *Gac. Med. Mex.* **2005**, 141(4), 253.
- [6] Liu, M.-L.; Guo, H.-Y. *Chin. J. Antibiot.* **2009**, 34, 51 (in Chinese). (刘明亮, 郭慧元, 中国抗生素杂志, **2009**, 34, 51.)
- [7] Sun, X.-Y.; Wu, R.; Wen, X.; Guo, L.; Zhou, C.-P.; Li, J.; Quan, Z.-S.; Bao, J. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, 60, 451.
- [8] Yu, Z.-Y.; Shi, G.-Y.; Sun, Q.; Jin, H.; Teng, Y.; Tao, K.; Zhou, G.-P.; Liu, W.; Wen, F.; Hou, T.-P. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, 44(11), 4726.
- [9] Guo, H.-Y.; Tang, Y.; Li, Z.-Y. *Acta Pharm. Sinica* **1987**, 22(5), 373 (in Chinese). (郭慧元, 汤云, 李卓荣, 药学学报, **1987**, 22(5), 373.)
- [10] Heinisch, L.; Wittmann, S.; Stoiber, T.; Berg, A.; Ankel-Fuchs, D.; Möllmann, U. *J. Med. Chem.* **2002**, 45(14), 3032.
- [11] Nakamura, T.; Takahashi, H. *Jpn. J. Antibiot.* **2004**, 57(6), 465.
- [12] 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.)
- [13] Song, B.-A.; Wu, Y.-L.; He, X.-Q.; Hu, D.-Y.; Liu, G.; Yang, S.; Jin, L.-H.; Jiang, M.-G. *Chin. J. Org. Chem.* **2003**, 23, 933 (in Chinese). (宋宝安, 吴扬兰, 何湘琼, 胡德禹, 刘刚, 杨松, 金林红, 蒋木庚, 有机化学, **2003**, 23, 933.)
- [14] Orsini, F.; Sello, G.; Sisti, M. *Curr. Med. Chem.* **2010**, 17(3), 264.
- [15] Dake, S. A.; Raut, D. S.; Kharat, K. R.; Mhaske, R. S.; Deshmukh, S. U.; Pawar, R. P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, 21(8), 2527.
- [16] Ewa, B.; Maciej, W.; Marcin, S.; Grzegorz, D.; Michał, Z.; Jan, P.; Józef, O. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, 22(17), 5574.
- [17] Rasheed, S.; Venkataramana, K.; Chandrasekhar, K.; Fareeda, G.; Raju, C. N. *Arch. Pharm.* **2012**, 345(4), 294.
- [18] Neises, B.; Steglich, W. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1978**, 17, 522.
- [19] Kaboudin, B.; Moradi K. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46(17), 2989.
- [20] Wang, E.-H.; Peng, S.-X. *J. China Pharm. Univ.* **1991**, 22(3), 26 (in Chinese). (王尔华, 彭司勋, 中国药科大学学报, **1991**, 22(3), 26.)
- [21] Shen, G.-X. *Microbiology and Immunology*, People's Medical Publishing House, Beijing, **2007**, p. 327 (in Chinese). (沈关心, 微生物学与免疫学, 人民卫生出版社, 北京, **2007**, p. 327.)

(Qin, X.)