

## 水杨酰氧基膦酸酯衍生物的微波辅助合成及抗肿瘤活性研究

杨家强<sup>\*a</sup> 马俊<sup>a</sup> 车万莉<sup>a</sup> 李明刚<sup>a</sup> 黎刚<sup>a</sup> 宋宝安<sup>b</sup><sup>a</sup> 遵义医学院药学院 遵义 563003<sup>b</sup> 贵州大学精细化工研究中心 贵阳 550025

**摘要** 微波辅助下, 采用水杨酸与  $\alpha$ -羟基膦酸酯在 DCC/DMAP 催化下酯化, 合成了 12 个结构新颖的水杨酰氧基膦酸酯衍生物, 其结构经 IR,  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR 及元素分析确认. 优化得最适微波合成条件: 以 15 mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  为溶剂, 辐射功率 800 W, 室温反应 3.5 h, 有最好产率, 该方法具有反应时间较短、产率较高等优点. 四甲基偶氮唑蓝(MTT)法测试了目标化合物的抗肿瘤活性, 结果表明: 目标化合物对所测试的四种肿瘤细胞均有增殖抑制作用. 其中化合物 **2f** 对 HEP-2 的抑制活性 [ $\text{IC}_{50}=(13.9\pm 0.6)\ \mu\text{mol/L}$ ]略低于对照药 [ $\text{IC}_{50}=(9.3\pm 1.1)\ \mu\text{mol/L}$ ], 化合物 **2k** 对 EC-109 的抑制活性 [ $\text{IC}_{50}=(8.5\pm 0.9)\ \mu\text{mol/L}$ ]接近对照药 [ $\text{IC}_{50}=(5.9\pm 1.0)\ \mu\text{mol/L}$ ].

**关键词** 水杨酸;  $\alpha$ -羟基膦酸酯; 微波辐射; 合成; 抗肿瘤活性

## Microwave-Assisted Synthesis and Antitumor Activity of Salicyl Acyloxy Phosphonate Derivatives

Yang, Jiaqiang<sup>\*a</sup> Ma, Jun<sup>a</sup> Che, Wanli<sup>a</sup> Li, Minggang<sup>a</sup> Li, Gang<sup>a</sup> Song, Baoan<sup>b</sup><sup>a</sup> School of Pharmacy, Zunyi Medical College, Zunyi 563003<sup>b</sup> Center for Research and Development of Fine Chemicals, Guizhou University, Guiyang 550025

**Abstract** Twelve new salicyl acyloxy phosphonate derivatives were synthesized via microwave-assisted reactions of salicylic acid with  $\alpha$ -hydroxyphosphonate in DCC/DMAP. The structures of the products were confirmed by elemental analysis, IR,  $^1\text{H}$  NMR and  $^{13}\text{C}$  NMR data. The suitable synthetic conditions were as follows: in 15 mL of  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  with power 800 W at room temperature for 3.5 h. The cytotoxic activities of all compounds on A-549, SGC-7901, HEP-2 and EC-109 *in vitro* were evaluated by using a 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) method, and some of them showed good antitumor activity. Among the active compounds, respectively, compound **2f** had better inhibition effect on HEP-2 cells growth [ $\text{IC}_{50}=(13.9\pm 0.6)\ \mu\text{mol/L}$ ], the  $\text{IC}_{50}$  values of compound **2k** was  $(8.5\pm 0.9)\ \mu\text{mol/L}$  against EC-109 cells, similar to *cisplatin* [ $\text{IC}_{50}=(5.9\pm 1.0)\ \mu\text{mol/L}$ ].

**Keywords** salicylic acid;  $\alpha$ -hydroxyphosphonate; microwave irradiation; synthesis; antitumor activity

水杨酸作为重要有机原料中间体, 广泛用于医药、农药及食品添加剂的研究. 含水杨酸片段的化合物往往具有抑菌<sup>[1]</sup>、抗炎<sup>[2]</sup>、抗肿瘤<sup>[3]</sup>等多种生物活性. 近些年来, 该类衍生物在抗癌方面的研究逐渐增多, 如: 2011 年, Yamaguchi 等<sup>[4]</sup>研究发现通过水杨酸衍生物制备的前体药物 **a** 作为细胞凋亡诱导剂对肿瘤细胞有抑制作用, 尤其是对恶性黑色素瘤细胞效果显著; 2013 年, 王杰等<sup>[5]</sup>报道了水杨酰芳胺类化合物 **b** 对四种癌细胞 A-549, MCF-7, SGC-7901, Bel-7402 有不同程度的抑制

活性; 2007 年, Gasco 等<sup>[6]</sup>报道 **c** 类衍生物对结肠癌、膀胱癌及前列腺癌有很好的治疗效果; Zhu 等<sup>[7]</sup>2010 年研究发现 **d** 系列衍生物可选择性作用于 VEGFR-2 亚型, 活性最好的化合物  $\text{IC}_{50}$  到达 3.8 nmol/L; 2009 年, Pickens 小组<sup>[8]</sup>发现天然活性物 **e** 中的水杨酸部分是该类物质抗癌的重要片段; 2011 年, Djurendić 等<sup>[9]</sup>实验发现具有 **f** 结构特征的部分化合物在纳摩尔浓度下抑制 MDA-MB-231 肿瘤细胞的生长, 同时对 MCF-7 和 K-562 也有很高的细胞毒性. 这一系列文献报道表明水杨酸片

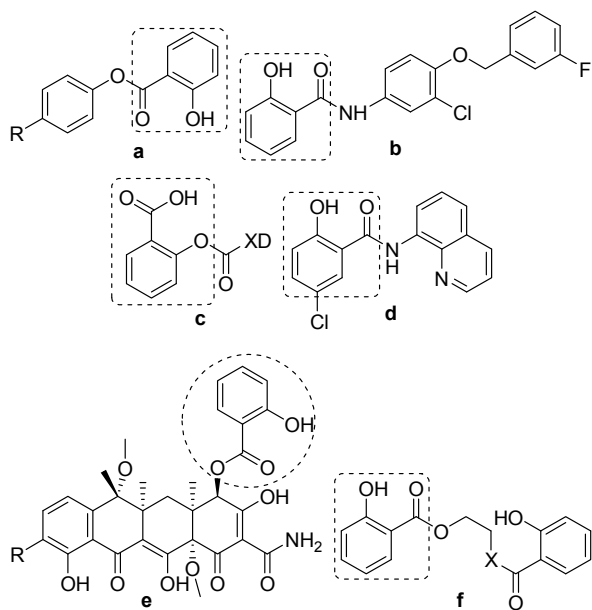
\* E-mail: yjqcn@126.com

Received June 18, 2014; revised July 17, 2014; published online August 11, 2014.

Project supported by the Technology Department of Guizhou Province (No. G[2014]7013), the Education Department of Guizhou Province (No. QJHRCTDZ-2012-03).

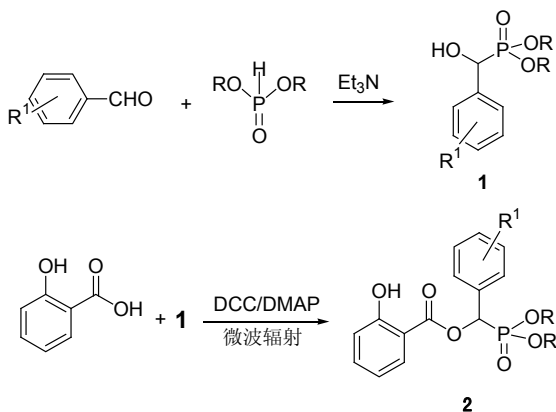
贵州省科技厅基金(No. 黔科合外 G 字[2014]7013)、贵州省教育厅(No. 黔科合人才团队字[2012]03 号)资助项目.

段在抗肿瘤药物设计与应用中发挥着重要作用.



磷酸酯衍生物作为磷化学重要组成部分之一,一直是药物设计与合成研究的热点.近年来,相继有研究报道:含磷酸酯片段的衍生物呈现出较好的抑制肿瘤细胞增殖作用<sup>[10-12]</sup>,引起了我们对该类化合物的注意与研究兴趣.因此,课题组前期分别设计合成了几类不同的磷酸酯衍生物进行抗肿瘤活性筛选,结果表明部分已研究化合物有潜在抗肿瘤活性<sup>[13-15]</sup>.这些重要研究结果进一步证实磷酸酯衍生物在抗肿瘤方面的应用前景.

基于上述理论与文献依据,为了进一步延续和深入课题组前期研究工作,根据基于片段的药物发现(FBDD)方法,将抗肿瘤药效片段水杨酸与磷酸酯活性片段结合.设计一系列结构新颖的水杨酰氧基磷酸酯衍生物,采用微波辐射辅助合成目标化合物,探索最适合合成条件;并评价目标物对肿瘤细胞 A-549, SGC-7901, HEP-2 和 EC-109 的增殖抑制活性.合成路线见 Scheme 1.



Scheme 1

## 1 结果与讨论

### 1.1 目标化合物的合成

目标化合物的制备为酯化反应,中间体  $\alpha$ -羟基磷酸酯是一种弱的亲核试剂,且空间位阻较大;另一反应物水杨酸易形成分子内氢键,酰化能力较弱,使得该反应的发生比较困难.因此,为了使该酯化反应能顺利进行,我们以目标化合物 **2a** 的制备为例,分别试验加入四种体系的催化剂(DCC, DMAP, DCC/DMAP, EDI)催化该反应.结果表明不同体系的催化剂均能提高反应活性,以 DCC/DMAP 为催化剂效果最好,室温反应 20 h,产率达 24.5%,但是该反应所需时间较长、产率并不高.

自 1986 年, Giguere 研究小组报道微波在化学合成的应用以来,微波辅助合成可加速反应并提高产率的研究不断增加,在有机、药物合成领域的应用范围越来越广<sup>[16,17]</sup>.因此,为了提高该酯化反应的产率,缩短反应时间,我们尝试在微波辐射下催化该反应,并优化反应条件.

以目标化合物 **2a** 的合成例,考察了微波辐射时间、辐射功率、溶剂用量对产品收率的影响,实验结果见表 1.

表 1 影响化合物 **2a** 产率的因素

Table 1 The effects of some factors on the yields of compound **2a**

| Entry           | Time/h | Power/W | Solvent/mL | Yield/% |
|-----------------|--------|---------|------------|---------|
| 1               | 0.5    | 300     | 5          | 19.6    |
| 2               | 1.0    | 300     | 5          | 25.1    |
| 3               | 1.5    | 300     | 5          | 30.0    |
| 4               | 2.0    | 300     | 5          | 34.7    |
| 5               | 2.5    | 300     | 5          | 36.6    |
| 6               | 3.0    | 300     | 5          | 37.9    |
| 7               | 3.5    | 300     | 5          | 38.3    |
| 8               | 3.5    | 400     | 5          | 44.7    |
| 9               | 3.5    | 500     | 5          | 49.0    |
| 10              | 3.5    | 600     | 5          | 54.5    |
| 11              | 3.5    | 700     | 5          | 58.9    |
| 12              | 3.5    | 800     | 5          | 60.1    |
| 13              | 3.5    | 900     | 5          | 59.2    |
| 14              | 3.5    | 800     | 10         | 64.2    |
| 15              | 3.5    | 800     | 15         | 69.5    |
| 16              | 3.5    | 800     | 20         | 68.8    |
| 17              | 3.5    | 800     | 25         | 58.4    |
| 18              | 20     | 0       | 20         | 24.5    |
| 19 <sup>a</sup> | 3.5    | 800     | 15         | 0       |

<sup>a</sup>无催化剂 DCC/DMAP 参与的微波辅助合成反应.

由表 1 可知, 当室温条件、微波功率与反应溶剂量固定时, 反应时间从 0.5 到 3.5 h 时, 目标物 **2a** 的产率不断提高, 从 19.6% 增加到 38.3%, 增加的幅度渐缓 (Entries 1~7). 当室温条件、反应时间与溶剂量固定时, 目标化合物 **2a** 的产率先随微波辐射功率增加而增大 (Entries 7~12), 当功率从 300 W 增大到 800 W, 产率增加了 21.8%; 但当反应功率到达 900 W 时, **2a** 的产率较 800 W 降低了 0.9% (Entries 12, 13), 因此, 在该条件下, 反应功率为 800 W 时的产率最好. 在可逆反应中, 反应物的浓度往往对反应的发生有较大影响, 所以考察了溶剂的用量 (Entries 14~17) 对目标物 **2a** 产率的影响. 结果表明, 当溶剂量为 15 mL 时, 产率达到最高, 溶剂较多或较少, 产率都有所降低, 这可能是太高浓度或太低浓度都会降低反应物分子之间的有效碰撞.

从表 1 数据也可看出, 与其它条件相比较, 微波辐射功率对产物收率的影响最为显著, 可能是反应功率在一定范围的增大, 能有效地提高反应物分子的碰撞与接触, 进而加速了反应的发生. 同时, 也考察了室温下无微波辐射对该反应的影响 (Entry 18), 另外, 也进行了无催化剂 DCC/DMAP 参与下的微波辅助合成试验 (Entry 19), 从反应结果可知, 微波辐射对该酯化反应的发生有一定促进作用.

## 1.2 抗肿瘤活性

表 2 显示, 该类目标物对肿瘤细胞 A-549, SGC-7901, HEp-2, EC-109 有不同程度的增殖抑制作用, 其中一些化合物 (**2b**, **2g**, **2f**, **2k**) 对所测试肿瘤细胞呈现较好活性. 从表 2 也可看出, 该系列目标物大多对肿瘤细胞 HEp-2 和 EC-109 的增殖抑制活性较肿瘤细胞 A-549 和 SGC-7901 略优; 该类化合物对这四种肿瘤细胞的抑制

活性均低于对照药顺铂, 其中目标物 **2f** 对 HEp-2 的活性 [ $IC_{50} = (13.9 \pm 0.6) \mu\text{mol/L}$ ] 接近对照药的活性 [ $IC_{50} = (9.3 \pm 1.1) \mu\text{mol/L}$ ], 目标物 **2k** 对 EC-109 的增殖抑制作用 [ $IC_{50} = (8.5 \pm 0.9) \mu\text{mol/L}$ ] 与对照药的活性 [ $IC_{50} = (5.9 \pm 1.0) \mu\text{mol/L}$ ] 相当. 同时, 对目标物的结构与活性数据分析发现:  $R^1 = \text{OCH}_3$  的化合物对所测试肿瘤细胞的增殖抑制活性较弱, 大多  $R = \text{C}_2\text{H}_5$  的化合物对肿瘤细胞 A-549 的活性较优, 而大多含氟目标物表现出更优的抗肿瘤活性, 说明氟原子的引入对抗肿瘤活性有利.

## 2 结论

采用微波辐射辅助合成, 以水杨酸与中间体  $\alpha$ -羟基膦酸酯为原料, 合成了 12 个新目标化合物. 研究了反应时间、辐射功率、溶剂用量对目标物产率的影响, 得到最适合成条件. 与传统方法相比, 该方法具有反应时间较短、产率较高等优点. 目标化合物的抗肿瘤活性筛选表明: 该类化合物呈现潜在的抗肿瘤活性, 值得进一步结构优化与深入研究.

## 3 实验部分

### 3.1 仪器与试剂

X-4 型数显熔点测定仪; 北京祥鹄微波合成仪; Varian 红外光谱仪, KBr 压片; JEOL-ECX500 MHz 核磁共振仪 (溶剂  $\text{CDCl}_3$ , 内标 TMS); 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.

表 2 目标化合物对不同肿瘤细胞的  $IC_{50}$  值 ( $\mu\text{mol/L}$ )  
Table 2  $IC_{50}$  ( $\mu\text{mol/L}$ ) values of target compounds for different tumor cells

| Compound  | R                        | $R^1$             | $IC_{50} / (\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$ |                 |                |                |
|-----------|--------------------------|-------------------|-------------------------------------------------|-----------------|----------------|----------------|
|           |                          |                   | A-549                                           | SGC-7901        | HEp-2          | EC-109         |
| <b>2a</b> | $\text{C}_2\text{H}_5$   | H                 | $34.6 \pm 0.9$                                  | $40.2 \pm 1.2$  | $18.1 \pm 0.9$ | $17.6 \pm 2.0$ |
| <b>2b</b> | $\text{C}_2\text{H}_5$   | 4-F               | $14.2 \pm 1.1$                                  | $25.0 \pm 0.8$  | $15.9 \pm 1.3$ | $16.3 \pm 2.2$ |
| <b>2c</b> | $\text{C}_2\text{H}_5$   | 2-F               | $21.1 \pm 1.1$                                  | $29.5 \pm 0.9$  | $77.2 \pm 0.8$ | $56.8 \pm 1.7$ |
| <b>2d</b> | $\text{C}_2\text{H}_5$   | 4- $\text{OCH}_3$ | $37.7 \pm 1.4$                                  | $35.2 \pm 1.8$  | $45.5 \pm 1.4$ | $78.7 \pm 0.7$ |
| <b>2e</b> | $i\text{-C}_3\text{H}_7$ | H                 | $55.7 \pm 1.6$                                  | $33.9 \pm 1.8$  | $22.7 \pm 1.4$ | $27.4 \pm 0.9$ |
| <b>2f</b> | $i\text{-C}_3\text{H}_7$ | 4-F               | $23.3 \pm 2.3$                                  | $30.7 \pm 1.7$  | $13.9 \pm 0.6$ | $18.2 \pm 0.9$ |
| <b>2g</b> | $i\text{-C}_3\text{H}_7$ | 2-F               | $16.7 \pm 1.4$                                  | $14.0 \pm 1.4$  | $37.1 \pm 0.8$ | $28.3 \pm 0.6$ |
| <b>2h</b> | $i\text{-C}_3\text{H}_7$ | 4- $\text{OCH}_3$ | $102.0 \pm 1.6$                                 | $126.4 \pm 1.8$ | $28.8 \pm 0.5$ | $23.5 \pm 0.6$ |
| <b>2i</b> | $n\text{-C}_4\text{H}_9$ | H                 | $38.3 \pm 0.5$                                  | $34.6 \pm 0.8$  | $18.2 \pm 0.6$ | $33.7 \pm 0.7$ |
| <b>2j</b> | $n\text{-C}_4\text{H}_9$ | 4-F               | $27.6 \pm 2.4$                                  | $33.0 \pm 2.3$  | $27.8 \pm 0.9$ | $31.4 \pm 0.9$ |
| <b>2k</b> | $n\text{-C}_4\text{H}_9$ | 2-F               | $26.3 \pm 0.4$                                  | $20.3 \pm 0.5$  | $20.6 \pm 0.7$ | $8.5 \pm 0.9$  |
| <b>2l</b> | $n\text{-C}_4\text{H}_9$ | 4- $\text{OCH}_3$ | $35.6 \pm 1.3$                                  | $19.6 \pm 0.8$  | $33.9 \pm 0.9$ | $52.5 \pm 0.7$ |
| Cisplatin |                          |                   | $6.2 \pm 0.4$                                   | $6.8 \pm 0.7$   | $9.3 \pm 1.1$  | $5.9 \pm 1.0$  |

## 3.2 实验方法

### 3.2.1 中间体 1 的合成

中间体 1 参见文献[18]合成。

### 3.2.2 目标物 2 的合成

分别将 15 mmol 中间体 1, 15.2 mmol 水杨酸和 10 mL 无水二氯甲烷加入 50 mL 三颈瓶中, 冰盐浴 0 °C 下, 取 5 mL 无水二氯甲烷溶解 15 mmol DCC 和 10 mmol DMAP, 将该混合溶液缓慢滴加至上述三颈瓶中, 然后转移至微波合成仪中, 控制微波功率 800 W、室温反应 3.5 h。反应完毕, 有大量白色固体产生, 抽滤, 用乙酸乙酯洗涤滤饼, 滤液再用乙酸乙酯(5 mL×4)洗涤, 合并洗液, 减压浓缩, 得粗产品。常压柱层析[*V*(乙酸乙酯): *V*(石油醚)=3:2], 得目标物 2。

*O,O'*-二乙基- $\alpha$ -苯基- $\alpha$ -(2-羟基苯甲酰氧基)-甲基膦酸酯(**2a**): 白色晶体, 产率 69.5%。m.p. 60~63 °C; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 10.39 (s, 1H, OH), 8.07~6.97 (m, 9H, ArH), 6.35 (dd, *J*=8.5, 17.5 Hz, 1H, PCH), 4.15~3.98 (m, 4H, 2OCH<sub>2</sub>), 1.28~1.20 (m, 6H, 2CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 168.7, 161.8, 136.4, 130.2, 129.7, 129.6, 124.9, 119.6, 117.8, 114.4, 112.0, 71.6, 63.6, 63.5, 16.6, 16.4; IR (KBr)  $\nu$ : 3447, 3123, 2989, 2937, 1751, 1606, 1510, 1375, 1225, 1105, 997 cm<sup>-1</sup>. Anal. calcd for C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>O<sub>6</sub>P: C 59.34, H 5.81; found C 59.66, H 5.44.

*O,O'*-二乙基- $\alpha$ -(对氟苯基)- $\alpha$ -(2-羟基苯甲酰氧基)-甲基膦酸酯(**2b**): 白色晶体, 产率 65.4%。m.p. 59~61 °C; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 10.35 (s, 1H, OH), 8.04~6.95 (m, 8H, ArH), 6.32 (dd, *J*=8.0, 17.5 Hz, 1H, PCH), 4.13~4.09 (m, 4H, 2OCH<sub>2</sub>), 1.27~1.22 (m, 6H, 2CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 168.5, 168.4, 161.9, 136.5, 136.3, 130.1, 129.9, 119.6, 117.8, 115.8, 115.7, 63.8, 63.6, 63.5, 16.5, 16.4; IR (KBr)  $\nu$ : 3224, 2985, 2934, 1737, 1684, 1641, 1511, 1484, 1396, 1249, 1157, 1024, 973 cm<sup>-1</sup>. Anal. calcd for C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>FO<sub>6</sub>P: C 56.55, H 5.27; found C 56.51, H 5.38.

*O,O'*-二乙基- $\alpha$ -(邻氟苯基)- $\alpha$ -(2-羟基苯甲酰氧基)-甲基膦酸酯(**2c**): 白色晶体, 产率 62.7%。m.p. 63~65 °C; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 10.34 (s, 1H, OH), 8.04~6.94 (m, 8H, ArH), 6.67 (dd, *J*=8.5, 18.0 Hz, 1H, PCH), 4.22~4.19 (m, 4H, 2OCH<sub>2</sub>), 1.34~1.10 (m, 6H, 2CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 168.4, 168.3, 161.8, 136.5, 130.1, 129.5, 124.6, 119.6, 117.8, 115.7, 115.5, 111.7, 63.8, 63.7, 63.6, 16.6, 16.5; IR (KBr)  $\nu$ : 3148, 2984, 1695, 1615, 1586, 1493, 1348, 1306, 1250, 1212, 1156, 1080, 1002 cm<sup>-1</sup>. Anal. calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>F-O<sub>6</sub>P: C 56.55, H 5.27; found C 56.42, H 5.19.

*O,O'*-二乙基- $\alpha$ -(对甲氧基苯基)- $\alpha$ -(2-羟基苯甲酰氧基)-甲基膦酸酯(**2d**): 白色晶体, 产率 71.6%。m.p. 61~63 °C; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 10.42 (s, 1H, OH), 8.04~6.91 (m, 8H, ArH), 6.29 (dd, *J*=8.5, 17.5 Hz, 1H, PCH), 4.11~4.07 (m, 4H, 2OCH<sub>2</sub>), 3.79 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 1.67~1.42 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>), 1.30~1.27 (m, 6H, 2CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 168.6, 161.8, 160.2, 136.3, 130.1, 129.7, 129.6, 124.9, 119.5, 117.7, 114.1, 111.9, 71.5, 63.6, 63.5, 55.3, 16.6, 16.4; IR (KBr)  $\nu$ : 3210, 2984, 2934, 2839, 1682, 1613, 1584, 1514, 1484, 1397, 1314, 1303, 1249, 1157, 1084, 1026, 973 cm<sup>-1</sup>. Anal. calcd For C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>O<sub>7</sub>P: C 57.87, H 5.88; found C 58.05, H 5.81.

*O,O'*-二异丙基- $\alpha$ -苯基- $\alpha$ -(2-羟基苯甲酰氧基)-甲基膦酸酯(**2e**): 白色晶体, 产率 24.5%。m.p. 63 °C; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 10.42 (s, 1H, OH), 8.06~6.96 (m, 9H, ArH), 6.28 (dd, *J*=9.0, 18.0 Hz, 1H, PCH), 4.70~4.61 (m, 2H, 2OCH), 1.31~1.09 (m, 12H, 4CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 169.1, 161.8, 136.3, 130.1, 128.9, 128.5, 128.2, 128.1, 119.5, 117.7, 112.0, 73.2, 72.4, 72.3, 70.8, 24.3, 24.0, 23.8, 23.6; IR (KBr)  $\nu$ : 3142, 2980, 2932, 1686, 1612, 1481, 1348, 1261, 1221, 1102, 987 cm<sup>-1</sup>. Anal. calcd for C<sub>20</sub>H<sub>25</sub>O<sub>6</sub>P: C 61.22, H 6.42; found C 60.78, H 6.34.

*O,O'*-二异丙基- $\alpha$ -(对氟苯基)- $\alpha$ -(2-羟基苯甲酰氧基)-甲基膦酸酯(**2f**): 白色晶体, 产率 68.8%。m.p. 58~61 °C; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 10.46 (s, 1H, OH), 8.11~7.02 (m, 8H, ArH), 6.32 (dd, *J*=9.0, 17.5 Hz, 1H, PCH), 4.80~4.70 (m, 2H, 2OCH), 1.39~1.17 (m, 12H, 4CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 169.2, 162.5, 137.1, 130.8, 130.7, 120.2, 118.4, 116.3, 116.2, 73.1, 72.6, 72.5, 24.9, 24.7, 24.5, 24.3; IR (KBr)  $\nu$ : 3307, 3126, 2981, 2929, 1682, 1610, 1576, 1510, 1339, 1346, 1261, 1221, 1130, 1021, 984 cm<sup>-1</sup>. Anal. calcd for C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>FO<sub>6</sub>P: C 58.54, H 5.89; found C 58.69, H 5.76.

*O,O'*-二异丙基- $\alpha$ -(邻氟苯基)- $\alpha$ -(2-羟基苯甲酰氧基)-甲基膦酸酯(**2g**): 白色晶体, 产率 61.5%。m.p. 59~62 °C; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 10.36 (s, 1H, OH), 8.05~6.94 (m, 8H, ArH), 6.60 (dd, *J*=7.5, 17.0 Hz, 1H, PCH), 4.81~4.63 (m, 2H, 2OCH), 1.34~1.30 (m, 12H, 4CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 168.5, 168.4, 161.8, 136.4, 130.1, 129.6, 124.5, 119.5, 117.8, 115.5, 115.4, 111.8, 72.6, 72.5, 63.7, 24.2, 24.1, 23.8, 23.5; IR (KBr)  $\nu$ : 3340, 3133, 2979, 2951, 1700, 1611, 1575, 1492, 1390, 1344, 1262, 1126, 1103, 1018, 987 cm<sup>-1</sup>. Anal. calcd for C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>FO<sub>6</sub>P: C 58.54, H 5.89; found C 58.15, H 5.81.



*O,O'*-二异丙基- $\alpha$ -(对甲氧基苯基)- $\alpha$ -(2-羟基苯甲酰氧基)-甲基膦酸酯(**2h**): 白色晶体, 产率 60.9%. m.p. 58~64 °C;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 10.44 (s, 1H, OH), 8.06~7.43 (m, 8H, ArH), 6.33 (dd,  $J=8.5, 17.0$  Hz, 1H, PCH), 4.39~4.37 (m, 2H, 2OCH), 4.02 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 1.40~1.25 (m, 12H, 4CH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 170.1, 166.7, 132.9, 130.5, 129.6, 128.4, 119.7, 117.6, 111.5, 73.1, 61.0, 60.4, 24.4, 24.3, 23.7, 23.6; IR (KBr)  $\nu$ : 3293, 3131, 2979, 1689, 1612, 1575, 1482, 1400, 1348, 1261, 1130, 1017, 991  $\text{cm}^{-1}$ . Anal. calcd for  $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{O}_7\text{P}$ : C 59.71, H 6.44; found C 59.70, H 6.45.

*O,O'*-二丁基- $\alpha$ -苯基- $\alpha$ -(2-羟基苯甲酰氧基)-甲基膦酸酯(**2i**): 无色油状液体, 产率 68.7%.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 10.40 (s, 1H, OH), 8.06~6.94 (m, 8H, ArH), 6.36 (dd,  $J=7.5, 17.5$  Hz, 1H, PCH), 4.06~4.03 (m, 4H, 2OCH<sub>2</sub>), 1.67~1.42 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>), 1.30~1.27 (m, 6H, 2CH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 168.5, 161.8, 136.4, 130.1, 128.7, 127.9, 127.8, 119.5, 117.7, 111.8, 67.3, 67.2, 67.1, 32.5, 32.4, 18.6, 18.5, 13.6, 13.5; IR (KBr)  $\nu$ : 3167, 2961, 2874, 1682, 1614, 1400, 1249, 1210, 1157, 1062, 1026  $\text{cm}^{-1}$ . Anal. calcd for  $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{O}_6\text{P}$ : C 62.85, H 6.95; found C 63.02, H 7.12.

*O,O'*-二丁基- $\alpha$ -(对氟苯基)- $\alpha$ -(2-羟基苯甲酰氧基)-甲基膦酸酯(**2j**): 无色油状液体, 产率 61.4%.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 10.36 (s, 1H, OH), 8.04~6.94 (m, 8H, ArH), 6.33 (dd,  $J=8.0, 17.0$  Hz, 1H, PCH), 4.07~4.03 (m, 4H, 2OCH<sub>2</sub>), 1.69~1.45 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>), 1.32~1.28 (m, 6H, 2CH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 168.3, 161.8, 136.5, 130.8, 130.1, 129.5, 124.6, 119.5, 117.8, 115.5, 111.7, 67.4, 67.3, 67.2, 32.6, 32.5, 18.6, 18.5, 13.6, 13.5; IR (KBr)  $\nu$ : 3230, 2963, 2875, 1740, 1685, 1615, 1491, 1458, 1399, 1304, 1249, 1157, 1062, 1031  $\text{cm}^{-1}$ . Anal. calcd for  $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{FO}_6\text{P}$ : C 60.27, H 6.44; found C 60.15, H 6.30.

*O,O'*-二丁基- $\alpha$ -(邻氟苯基)- $\alpha$ -(2-羟基苯甲酰氧基)-甲基膦酸酯(**2k**): 无色油状液体, 产率 60.5%.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 10.34 (s, 1H, OH), 8.04~6.93 (m, 8H, ArH), 6.69 (dd,  $J=8.0, 17.0$  Hz, 1H, PCH), 4.13~4.03 (m, 4H, 2OCH<sub>2</sub>), 1.68~1.44 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>), 1.34~1.30 (m, 6H, 2CH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 168.5, 162.1, 161.8, 136.5, 130.1, 129.9, 119.5, 117.8, 115.8, 115.6, 70.8, 67.4, 67.3, 32.6, 32.5, 18.6, 18.5, 13.6, 13.5; IR (KBr)  $\nu$ : 3231, 2962, 2935, 2875, 1740, 1685, 1615, 1491, 1399, 1343, 1157, 1133, 1031  $\text{cm}^{-1}$ . Anal. calcd for  $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{FO}_6\text{P}$ : C 60.27, H 6.44; found C 60.11, H 6.58.

*O,O'*-二丁基- $\alpha$ -(对甲氧基苯基)- $\alpha$ -(2-羟基苯甲酰氧基)-甲基膦酸酯(**2l**): 无色油状液体, 产率 68.3%.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 10.42 (s, 1H, OH), 8.02~6.89 (m, 8H, ArH), 6.32 (dd,  $J=8.0, 17.5$  Hz, 1H, PCH), 4.05~4.03 (m, 4H, 2OCH<sub>2</sub>), 3.82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 1.68~1.42 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>), 1.28~1.25 (m, 6H, 2CH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 168.6, 161.8, 136.3, 130.2, 129.7, 129.6, 124.9, 119.5, 117.7, 114.1, 111.9, 67.2, 67.1, 55.3, 32.6, 32.5, 18.7, 18.6, 13.6, 13.5; IR (KBr)  $\nu$ : 3463, 3232, 2961, 1682, 1614, 1514, 1400, 1249, 1157, 1063, 1031  $\text{cm}^{-1}$ . Anal. calcd for  $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{O}_7\text{P}$ : C 61.33, H 6.94; found C 61.32, H 7.22.

### 3.3 目标物的生物活性测试

采用 MTT 法<sup>[19]</sup>, 以顺铂为对照, 测定目标化合物对肿瘤细胞 A-549, SGC-7901, HEP-2 和 EC-109 的增殖抑制作用, 两点法(Reed and Muench 法)计算其 IC<sub>50</sub> 值, 结果见表 2.

## References

- [1] Ivan, R. G.; Felismino, E. T.; Sang, H. L. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 1.
- [2] Jiang, S.; Ding, N.; Zhang, W.; Zhang, Y.-C.; Geng, M.-Y.; Li, Y.-X. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2010**, *343*, 215.
- [3] Kong, H.; Kim, H.; Do, H.; Lee, Y.; Hong, S.; Yoon, J. H.; Kim, Y. M. *Biopharm. Drug Dispos.* **2011**, *32*, 343.
- [4] Yamaguchi, T.; Matsumura, Y.; Ishii, T.; Tokuoka, Y.; Kurita, K. *Drug Dev. Res.* **2011**, *72*, 289.
- [5] Wang, J.; Wu, H.; Li, J.-M.; Xu, Q.-L.; He, G.-W.; Zhong, G.-C.; Zhang, Y.-C. *Chin. J. Org. Chem.*, **2013**, *33*, 1026 (in Chinese). (王杰, 郭皓, 李家明, 许勤龙, 何广卫, 钟国琛, 张艳春, 有机化学, **2013**, *33*, 1026.)
- [6] Gasco, A.; Fruttero, R.; Lazzarato, L.; Donnola, M. *WO 2007060112*, **2007** [*Chem. Abstr.* **2007**, *147*, 30821].
- [7] Yang, Y.; Shi, L.; Zhou, Y.; Li, H.-Q.; Zhu, Z.-W.; Zhu, H.-L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 6653.
- [8] Pickens, L. B.; Kim, W.; Wang, P.; Zhou, H.; Watanabe, K.; Gomi, S.; Tang, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 17677.
- [9] Djurendić, E.; Vujašković, S. D.; Sakač, M.; Ajduković, J.; Gaković, A.; Kojić, V.; Gaši, K. P. *ARKIVOC* **2011**, *2*, 83.
- [10] Byun, H. S.; Bittman, R.; Samadder, P.; Arthur, G. *Chem. Med. Chem.* **2010**, *5*, 10453.
- [11] Hostetler, K. Y.; Beadle, J. R.; Kini, G. D. *WO 2001039724*, **2001** [*Chem. Abstr.* **2001**, *135*, 14356].
- [12] Ning, L.-H.; Wang, W.; Liang, Y.-J.; Peng, H.; Fu, L.-W.; He, H.-W. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *48*, 379.
- [13] 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.)
- [14] Yang, J.-Q.; Gu, Q.; Hu, Y.-W.; Shu, B.; Song, B.-A.; Liu, J.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2013**, *33*, 2226 (in Chinese). (杨家强, 谷晴, 胡月维, 束波, 宋宝安, 刘静姿, 有机化学, **2013**, *33*, 2226.)
- [15] Yang, J.-Q.; Che, W.-L.; Ma, J.; Li, M.-G. *Fine Chem.* **2014**, *31*,

- 463 (in Chinese).  
(杨家强, 车万莉, 马俊, 李明刚, 精细化工, **2014**, 31, 463.)
- [16] Wang, J.; Jiang, F. C. *Chin. J. Org. Chem.* **2002**, 22, 212 (in Chinese).  
(王静, 姜凤超, 有机化学, **2002**, 22, 212.)
- [17] Kappe, C. O.; Stadler, A.; Dallinger, D. *Microwaves in Organic and Medicinal Chemistry*, 2th ed., Wiley-VCH Verlag & Co. KGaA, Weinheim, **2012**, p. 9.
- [18] McCommbit, H.; Sauaders, B. C. *J. Chem. Soc.* **1945**, 67, 380.
- [19] Mosmann, T. *J. Immunol. Methods* **1983**, 65, 55.

(Lu, Y.)