

含磷酸酯肽的蛇床子素衍生物的合成与抗菌活性

杨家强* 周绪容 陈阳密 余慧娴

(遵义医科大学药学院 基础药理教育部重点实验室 贵州遵义 563000)

摘要 在前期研究基础上,对具有潜在抗菌活性的蛇床子素衍生物进行结构优化,设计合成了 21 个含磷酸酯肽的新型衍生物.活性测试结果表明,(*E*)-(2-(4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基丁-2-烯酰胺基)乙酰氨基)(3,4,5-三甲氧基苯基)甲基磷酸二乙酯(**5f**)对金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)、大肠杆菌(*E. coli*)、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)和耐氟喹诺酮大肠杆菌(FREC)的最小抑菌浓度(MIC)分别为 0.25、1.00、1.00 和 2.00 $\mu\text{g/mL}$, (*E*)-(2-(4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基丁-2-烯酰胺基)乙酰氨基)(4-甲基噻唑-2-基)甲基磷酸二乙酯(**5u**)对 *S. aureus*、*E. coli*、MRSA 和 FREC 的 MIC 分别为 0.25、2.00、1.00 和 2.00 $\mu\text{g/mL}$,其抗菌活性优于对照药苯唑西林和诺氟沙星,可作为抗菌候选化合物进行深入研究.磷酸酯肽的结合能提高其抗革兰氏阳性菌(*S. aureus* 和 MRSA)活性,并对革兰氏阴性菌(*E. coli* 和 FREC)有效.

关键词 蛇床子素衍生物;结构优化;磷酸酯肽;合成;抗菌活性

Synthesis and Antibacterial Activities of Osthole Derivatives Containing Phosphonateptide Fragment

Yang, Jiaqiang* Zhou, Xurong Chen, Yangmi She, Huixian

(Key Laboratory of Basic Pharmacology of Ministry of Education, School of Pharmacy, Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou 563000)

Abstract Based on previous research, the structures of osthole derivatives with potential antibacterial activities were optimized. Twenty-one novel derivatives containing phosphonateptide were designed and synthesized. The antibacterial activities against *S. aureus*, *E. coli*, methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) and fluoroquinolone-resistant *E. coli* (FREC) were evaluated. The results showed that the minimum inhibitory concentrations (MICs) of diethyl (*E*)-((2-(4-(7-methoxy-2-oxo-2*H*-chromen-8-yl)-2-methylbut-2-enamido)acetamido)(3,4,5-trimethoxy phenyl)methyl)phosphonate (**5f**) were 0.25, 1.00, 1.00, 2.00 $\mu\text{g/mL}$ respectively, and the MICs of diethyl (*E*)-((2-(4-(7-methoxy-2-oxo-2*H*-chromen-8-yl)-2-methylbut-2-enamido)acetamido)-(4-methylthiazol-2-yl)methyl)phosphonate (**5u**) were 0.25, 2.00, 1.00, 2.00 $\mu\text{g/mL}$, respectively. Its antibacterial activities were superior to the control drugs of oxacillin and norfloxacin, which will be further developed as novel candidates for antibacterial drugs. The binding with phosphonateptide can enhance their anti-*S. aureus* and anti-MRSA activities, and keep significant anti-*E. coli* and anti-FREC activities.

Keywords osthole derivatives; structural optimization; phosphonateptide; synthesis; antibacterial activity

香豆素作为重要的天然有机物,广泛存在于自然界,该类化合物具有抗凝血、抗炎、抗菌、抗氧化和抗肿瘤等多种生物活性^[1-4],在心血管、皮肤和感染疾病等临床治疗中发挥重要作用,如抗血栓药物华法林(warfarin)、治疗银屑病药物三甲沙林(trioxsalen)、脱氧核糖核酸(DNA)螺旋酶抑制剂新生霉素(novobiocin)和 JAK2 信号通路激活剂香豆霉素(coumermycin)等.

现代药理研究表明,源于植物蛇床子提取分离得到的香豆素类化合物蛇床子素(osthole)具有潜在抗菌活性^[5-6].前期,本课题组^[7]对其 7 号位进行结构改造和优化,发现部分衍生物具有较显著的抗菌活性.为了系统研究其它位置结构改造对活性的影响,我们对 8 号位侧链进行了结构修饰^[8],发现化合物 **A**(图 1)抗金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)活性明显优于蛇床子素,抗耐甲氧西林

* Corresponding author. E-mail: yjqcn@126.com

Received August 19, 2024; revised October 21, 2024; published online October 29, 2024.

Project supported by the Guizhou Provincial Science and Technology Plan (No. Qiankehe Foundation ZK[2024]265) and the National College Students' Innovation and Entrepreneurship Training Program (No. 202310661006).

贵州省科技计划(No. 黔科合基础-ZK[2024]一般 265)和国家级大学生创新创业训练计划(No. 202310661006)资助项目.

金黄色葡萄球菌(MRSA)活性优于对照药,有必要进行进一步结构优化以改善其抗菌活性。

磷是生命活动最重要的元素之一,参与分子识别、能量储存和信号传导等多种生物功能^[9-11],含磷化合物在多种疾病的治疗上都有应用,现有的 30 多种含磷药物大多以磷(膦)酸(酯)的形式对已有化合物进行改造和修饰得到,旨在提高其选择性、生物利用度及靶标结合力等^[12-13]。尤其是在抗菌药物的设计与改造中应用广泛,如早期的克林霉素磷酸酯(clindamycin phosphate),第五代头孢菌素头孢洛林酯(ceftaroline fosamil)。2023 年, Yang 等^[14]设计合成的香豆素类膦酸酯在体内外都有很好的抗 MRSA 活性,有成为抗菌候选化合物的前景;2024 年, Coco 等^[15]在前期发现的烷基乙酰膦酸酯对 *E. coli* 的 1-脱氧-D-木酮糖 5-磷酸酯(DXP)合成酶有选择性抑制作用基础上,进一步设计的含二苄基甘氨酸膦酸酯衍生物与酶结合力增强,是一类新型高效 DXP 合成酶抑制剂。

抗菌肽(AMPs)作为一种天然免疫分子,具有抗菌谱广、对耐药菌有效等优点,在感染性疾病治疗方面呈

现极大潜力^[16-18],但其具有成本高、稳定性差和易被蛋白酶降解等缺陷,限制了临床应用^[19]。保留其药效片段的短肽则具有活性强、抗菌谱广和稳定等优点,受到研究者的青睐^[20-21]。2018 年, Rončević 等^[22]设计合成的小分子 AMPs 对 *S. aureus*、*E. coli* 和肺炎克雷伯菌(*K. pneumoniae*)等有较好的抑菌和杀菌作用,尤其是含甘氨酸残基化合物对耐药性革兰氏阳性菌效果明显;2023 年, Lombrea 等^[23]将活性片段甘氨酸引入到梓木酸中,设计合成的短肽衍生物对 *S. aureus*、酿脓链球菌(*S. pyogenes*)和白色念珠菌(*C. albicans*)等活性显著;同年,余长俊^[24]保留抗菌短肽活性结构,引入膦酸酯基团,在维持原有抗革兰氏阳性菌活性的同时,能明显提升抗革兰氏阴性菌和真菌活性。

在前期研究基础上,运用活性基团组合原理,将两种抗菌活性结构氨基膦酸酯和甘氨酸以膦酸酯肽的形式引入到蛇床子素 8 号位侧链(图 1),进一步探索该位置的结构改造与优化对其抗菌活性的影响。目标化合物的合成路线如 Scheme 1 所示。

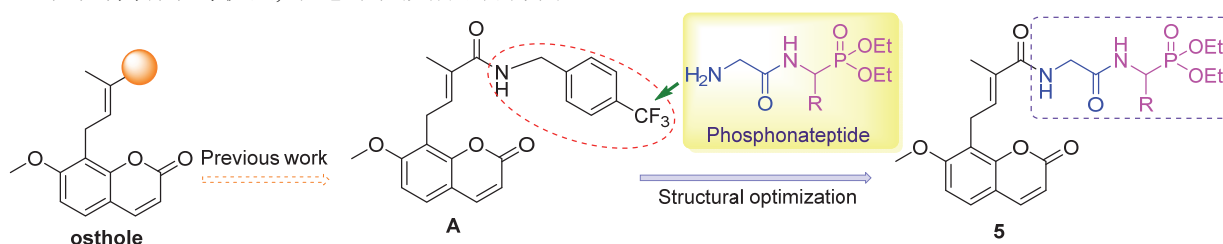
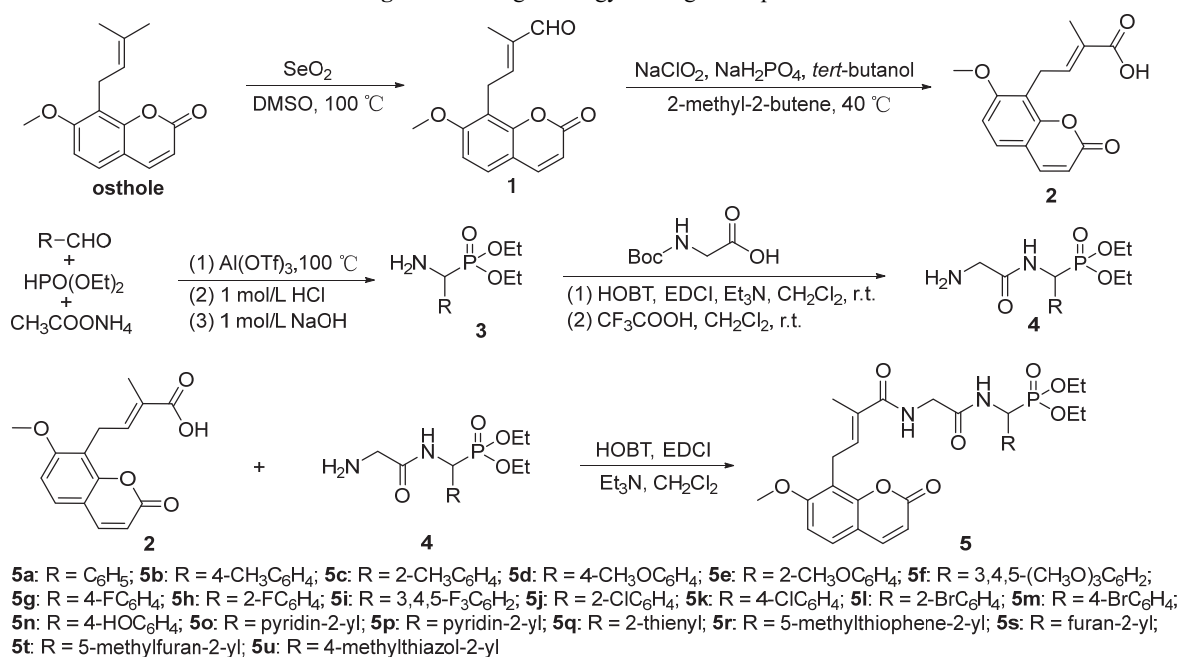


图 1 目标化合物的设计思路
Figure 1 Design strategy for target compounds



图式 1 目标化合物的合成路线
Scheme 1 Synthetic routes of target compounds

1 结果与讨论

1.1 化合物的合成

蛇床子素被 SeO_2 氧化为中间体 **1**, 再经 $\text{NaClO}_2/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 进一步选择性氧化为中间体 **2**; 在合成中间体 **3** 时, 在 $100\text{ }^\circ\text{C}$ 下无溶剂反应 $30\sim 40\text{ min}$, 有较好收率. 缩合剂种类、反应温度和时间等对目标物 **5** 的合成有较大影响, 以 **5a** 为例, 在 1-羟基苯并三唑(HOBT)、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDCI)和三乙胺作用下室温反应 6 h, 收率能达到 90%.

1.2 化合物的结构表征

以目标物 **5a** 为例, 在 $^1\text{H NMR}$ 中, $\delta\ 8.82$ 处宽峰为酰胺 H 的信号峰, $\delta\ 7.58$ 处二重峰为香豆素环 4 号位 H 的信号峰, $\delta\ 7.45\sim 7.40$ 和 $7.32\sim 7.20$ 处多重峰为苯环 H 的信号峰, $\delta\ 6.78$ 处二重峰为酰胺 H 的信号峰, $\delta\ 6.32$ 处三重峰为异戊烯基双键 H 的信号峰, $\delta\ 6.18$ 处二重峰为香豆素环 3 号位 H 的信号峰, $\delta\ 6.32$ 处三重峰为异戊烯基双键 H 的信号峰, $\delta\ 6.18$ 处二重峰为香豆素环 3 号位 H 的信号峰, $\delta\ 5.49$ 处 dd 双峰为 PCH 的信号峰, $\delta\ 4.15\sim 3.60$ 处多重峰为结构中 $=\text{CH}_2$ 、 NCH_2 、 OCH_2 和 OCH_3 的信号峰, $\delta\ 2.03$ 处单峰为异戊烯基甲基 H 的信号峰, 膦酸酯结构中 2 个甲基 H 分别以三重峰位于 $\delta\ 1.26$ 和 1.06 处. 在 $^{13}\text{C NMR}$ 中 $\delta\ 169.33$ 和 168.95 为 2 个酰胺的碳信号峰, $\delta\ 161.04$ 为酯的碳信号峰, 芳香环和双键碳信号峰在 $\delta\ 160.25\sim 107.25$ 之间, $\delta\ 63.83$ 和 63.24 为 2 个 OCH_2 的碳信号峰, $\delta\ 56.04$ 为 OCH_3 的碳信号峰, $\delta\ 51.04$ 为 CH 的碳信号峰, 其余 CH_2 和 CH_3 的信号峰在 $\delta\ 43.00\sim 12.79$ 之间. 同时, 以化合物 **5c** 为代表的单晶在混合溶剂($V_{\text{乙酸乙酯}}:V_{\text{二氯甲烷}}:V_{\text{石油醚}}=3:1:2$)中获得, **5c** 为三斜晶体. 晶胞参数为: $a=1.20659(3)\text{ nm}$, $b=1.21588(3)\text{ nm}$, $c=1.38196(4)\text{ nm}$, $\alpha=72.763(2)^\circ$, $\beta=66.091(3)^\circ$, $\gamma=88.591(2)^\circ$, $V=1.75959(9)\text{ nm}^3$, $Z=2$, $F(000)=604.0$, $T=149.99(10)\text{ K}$, $\mu=1.056\text{ mm}^{-1}$, $D_c=1.077\text{ g/cm}^3$. 化合物 **5c** 的晶体结构见图 2, 其数据 (CCDC: 2361451) 可以通过剑桥晶体数据库访问获得.

1.3 化合物的抗菌活性

由表 1 可以看出, 部分目标物对 *S. aureus*、MRSA、*E. coli* 和耐氟喹诺酮大肠杆菌(FREC)呈现较好的抗菌活性. 对于 *S. aureus*, 化合物 **5d**、**5f**、**5n**、**5q**、**5r**、**5t** 和 **5u** 的最小抑菌浓度(MIC)值分别为 16.00 、 0.25 、 0.50 、 16.00 、 2.00 、 16.00 和 $0.25\text{ }\mu\text{g/mL}$, **5f** 和 **5u** 的抗菌活性优于对照药苯唑西林和诺氟沙星, **5n** 与两种对照药相当; 大多目标物对 MRSA 的抑制作用优于对照药, 尤其是 **5f**、**5n**、**5r** 和 **5u** 最为突出, MIC 值分别为 1 、 2 、 4 和 $1\text{ }\mu\text{g/mL}$; 对于 *E. coli*, **5f** 的活性最好, MIC 值为 1

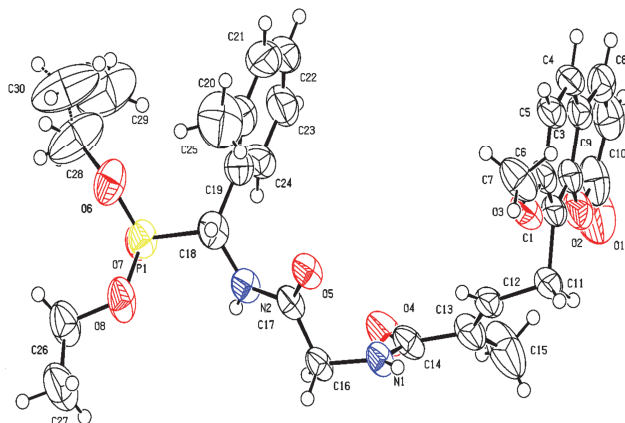


图 2 目标化合物 **5c** 的晶体结构
Figure 2 Crystal structure of compound **5c**

表 1 目标化合物 **5a**~**5u** 的抗菌活性
Table 1 Antibacterial activities of target compounds **5a**~**5u**

Compd.	MIC/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$			
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	MRSA	FREC
5a	128	128	128	>128
5b	64	128	128	>128
5c	128	>128	128	>128
5d	16	32	32	32
5e	64	64	64	128
5f	0.25	1	1	2
5g	>128	>128	>128	>128
5h	>128	>128	>128	>128
5i	64	128	64	128
5j	>128	>128	>128	>128
5k	>128	>128	>128	>128
5l	>128	>128	>128	>128
5m	128	>128	>128	>128
5n	0.5	2	2	2
5o	>128	>128	>128	>128
5p	>128	>128	>128	>128
5q	16	16	16	64
5r	2	4	4	8
5s	32	64	32	64
5t	16	128	32	128
5u	0.25	2	1	2
Oxacillin	0.5	16	256	64
Norfloxacin	1	4	128	>128

$\mu\text{g/mL}$, **5n** 和 **5u** 的 MIC 值均为 $2\text{ }\mu\text{g/mL}$, 均优于对照药, **5q** 和 **5r** 的 MIC 值为 $4\text{ }\mu\text{g/mL}$, 与对照药相当; 同时, 大多化合物对 FREC 有显著活性, 其中 **5f**、**5n**、**5r** 和 **5u** 的 MIC 值分别为 2 、 2 、 8 和 $2\text{ }\mu\text{g/mL}$, 优于苯唑西林数倍. 综合看来, **5f** 和 **5u** 对所测细菌的抑制活性最好.

构效关系研究表明: (1)取代基 R 为苯环时: 大多对位取代较邻位取代有更好的抗菌活性, 如 **5d** (4-OCH_3) 优于 **5e** (2-OCH_3), **5b** (4-CH_3) 的抗 *S. aureus*、MRSA 和 *E. coli* 活性优于 **5c** (2-CH_3); 3,4,5-多取代较单取代有利

用提高活性, 如 **5i** (3,4,5-triF) 的抗菌活性较 **5g** (4-F) 和 **5h** (2-F) 更优, **5f** (3,4,5-triOCH₃) 远优于 **5d** (4-OCH₃) 和 **5e** (2-OCH₃), 可能与靶标的空间结构有关; 对位含氧取代基有更显著活性, 如 **5d** (4-OCH₃)、**5f** [3,4,5-(OCH₃)₃] 和 **5n** (4-OH) 均有较好的抗菌作用, 可能与靶标结合位点形成氢键, 增强其亲和力有关。(2) 取代基 R 为芳杂环时: 六元杂环的抗菌活性远弱于五元杂环, 如 **5o** (2-吡啶) 和 **5p** (3-吡啶) 几乎无活性; 五元芳杂环大多有取代基的活性更显著, 如 **5r** (5-CH₃) 优于 **5q** (5-H), **5t** (5-CH₃) 的抗 *S. aureus* 活性优于 **5s** (5-H); 大多含 S 原子的五元芳杂环有更显著活性, 如 **5q** (噻吩-2-), **5r** (5-甲基噻吩-2-) 和 **5u** (4-甲基噻吩-2-)。

2 结论

通过对前期得到的具有一定抗菌活性的蛇床子素衍生物进行结构优化, 设计合成的部分目标化合物对所测细菌表现出较好抗菌活性, 磷酸酯肽与蛇床子素的组合能提高其抗 *S. aureus* 和 MRSA 活性, 并对 *E. coli* 和 FREC 有显著效果。尤其以化合物 **5f** 和 **5u** 的活性最为显著, 抗 *S. aureus*、*E. coli*、MRSA 和 FREC 活性均优于对照药, 可作为抗菌候选化合物进行深入研究。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

X-4B 显微熔点仪检测熔点; Agilent-400 核磁共振仪测试核磁共振谱; Vario EL III 元素分析仪测定元素分析。所有试剂均为分析纯。

3.2 实验方法

3.2.1 化合物 **1** 和 **2** 的合成

在 100 mL 反应瓶中加入 9 mmol (0.99 g) SeO₂、50 mL 二甲基亚砜和 3 mmol (0.73 g) 蛇床子素, 于 100 °C 反应 15 min。反应完毕, 过滤除去不溶物, 乙酸乙酯萃取, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥。浓缩有机相得到粗品, 硅胶柱层析分离纯化得到白色固体蛇床子素醛 (**1**)。接着, 将 1 mmol (0.26 g) 中间体 **1**、20 mL 叔丁醇和 10 mL 2-甲基-2-丁烯加入至反应瓶中, 于 40 °C 搅拌反应 7 h, 再将 9 mmol (0.81 g) 亚氯酸钠和 7 mmol (1.089 g) 磷酸二氢钠的水溶液 25 mL 滴加至反应体系中, 薄层色谱跟踪反应。反应完毕后除去溶剂, 用蒸馏水洗涤, 干燥后得白色固体蛇床子素酸 (**2**)。

3.2.2 化合物 **3** 和 **4** 的合成

以 **3a** 为例, 在 50 mL 反应瓶中依次加入 10 mmol (1.06 g) 苯甲醛、12 mmol (0.93 g) 乙酸铵和 12 mmol (1.66 g) 亚磷酸二乙酯, 室温下搅拌反应 10 min, 再加入 0.5

mmol (0.24 g) 三氟甲磺酸铝, 升温至 100 °C 反应。薄层色谱跟踪反应, 反应完毕后加入 5 mL 蒸馏水, 用 1 mol/L 盐酸调节 pH 至 1, 用环己烷 (20 mL×3) 和乙酸乙酯 (20 mL×3) 依次萃取水层, 1 mol/L 氢氧化钠调节 pH 至 8, 再用乙酸乙酯 (10 mL×5) 萃取。合并萃取液, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 除去溶剂得到无色液体氨基磷酸酯 **3a**, 收率 68%。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.31~7.34 (m, 2H), 7.16~7.27 (m, 3H), 4.16 (d, *J*=17.2 Hz, 1H), 3.68~4.11 (m, 4H), 1.81 (s, 2H), 1.12 (t, *J*=7.8 Hz, 3H), 1.02 (t, *J*=7.8 Hz, 3H)。

以 **4a** 为例, 在 50 mL 反应瓶中依次加入 0.7 mmol (0.13 g) Boc-甘氨酸、1.2 mmol (0.16 g) 1-羟基苯并三唑 (HOBT)、4 mL 二氯甲烷、1.2 mmol (0.23 g) 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (EDCI) 和 1.8 mmol (0.18 g) 三乙胺, 室温反应 15 min, 再加入 0.5 mmol (0.12 g) **3a**, 薄层色谱跟踪反应。8 h 反应完毕, 浓缩除去溶剂, 蒸馏水洗涤, 乙酸乙酯萃取, 合并有机层, 再依次用饱和食盐水 and 蒸馏水洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 除去溶剂得白色固体。用 3 mL 二氯甲烷溶解该固体, 然后加入反应瓶中, 再加入 7.5 mmol (0.86 g) 三氟乙酸, 室温反应, 薄层色谱跟踪。3 h 反应完毕后浓缩溶剂, 加入适量饱和碳酸氢钠溶液, 析出固体, 过滤, 洗涤, 干燥, 直接用于下一步反应。通过硅胶柱层析对其分离纯化, 得到白色固体磷酸酯甘氨酸肽 **4a**, 收率 75%。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.55 (d, *J*=11.8 Hz, 1H), 7.41~7.43 (m, 2H), 7.24~7.31 (m, 3H), 6.68 (br, 2H), 5.45 (dd, *J*=20.8, 9.6 Hz, 1H), 4.03~4.09 (m, 2H), 3.85~3.92 (m, 2H), 3.61 (d, *J*=7.6 Hz, 2H), 1.24 (t, *J*=8.2 Hz, 3H), 1.04 (t, *J*=8.2 Hz, 3H)。

3.2.3 目标化合物 **5** 的合成

以 **5a** 为例, 在 50 mL 反应瓶中依次加入 0.3 mmol (0.09 g) 中间体 **4a**、0.7 mmol (0.1 g) HOBT、4 mL 二氯甲烷、1.1 mmol (0.18 g) 三乙胺和 0.7 mmol (0.14 g) EDCI, 室温反应 15 min, 再加入 0.36 mmol (0.1 g) 中间体 **2**, 薄层色谱跟踪。6 h 反应完毕后浓缩溶剂, 蒸馏水洗涤, 乙酸乙酯萃取, 合并有机层, 饱和食盐水 and 蒸馏水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 除去溶剂, 用乙酸乙酯重结晶得到白色固体目标化合物 **5a**。目标化合物 **5b**~**5u** 由类似方法制得。

(*E*)-(2-(4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基丁-2-烯酰胺基)乙酰氨基)(苯基)甲基磷酸二乙酯 (**5a**): 白色固体, 产率 90%。m.p. 147~148 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.82 (br, 1H), 7.58 (d, *J*=9.5 Hz, 1H), 7.45~7.40 (m, 2H), 7.32~7.20 (m, 4H), 6.78 (d, *J*=8.7 Hz, 1H), 6.68 (t, *J*=4.8 Hz, 1H), 6.32 (t, *J*=7.5 Hz, 1H),

6.18 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 5.49 (dd, $J=21.2$, 9.6 Hz, 1H), 4.15~4.04 (m, 2H), 4.00 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 3.94~3.86 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.75~3.65 (m, 1H), 3.61 (d, $J=4.2$ Hz, 2H), 2.03 (s, 3H), 1.26 (t, $J=7.1$ Hz, 3H), 1.06 (t, $J=7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ : 169.33, 168.95, 161.04, 160.25, 152.81, 143.76, 136.27, 134.79, 133.08, 130.98, 128.50, 128.09, 126.98, 120.38, 115.08, 112.93, 107.25, 63.83, 63.24, 56.04, 51.04, 43.00, 22.05, 16.44, 16.12, 12.79. Anal. calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_8\text{P}$: C 60.43, H 5.98, N 5.03; found C 60.55, H 6.15, N 5.00.

(*E*)-(2-(4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基丁-2-烯酰胺基)乙酰氨基)(4-甲基苯基)甲基膦酸二乙酯 (**5b**): 白色固体, 产率 93%. m.p. 170~171 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.56 (br, 1H), 7.59 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 7.30 (dd, $J=8.4$, 2.8 Hz, 3H), 7.07 (d, $J=7.8$ Hz, 2H), 6.80 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 6.68 (t, $J=4.8$ Hz, 1H), 6.34 (t, $J=7.4$ Hz, 1H), 6.20 (d, $J=9.4$ Hz, 1H), 5.44 (dd, $J=21.0$, 9.5 Hz, 1H), 4.12~4.04 (m, 2H), 3.98 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 3.93~3.88 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.73~3.66 (m, 1H), 3.63 (d, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 1.27 (t, $J=7.1$ Hz, 3H), 1.08 (t, $J=7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ : 169.40, 168.90, 161.06, 160.23, 152.83, 143.74, 136.28, 133.13, 131.68, 130.99, 129.23, 128.02, 126.97, 120.47, 115.12, 112.91, 107.26, 63.75, 63.18, 56.05, 50.79, 43.09, 22.07, 21.12, 16.43, 16.21, 12.79. Anal. calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_8\text{P}$: C 61.03, H 6.18, N 4.90; found C 61.05, H 6.27, N 4.80.

(*E*)-(2-(4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基丁-2-烯酰胺基)乙酰氨基)(2-甲基苯基)甲基膦酸二乙酯 (**5c**): 白色固体, 产率 92%. m.p. 135~136 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.65 (dd, $J=9.5$, 4.2 Hz, 1H), 7.60 (d, $J=9.4$ Hz, 1H), 7.56~7.50 (m, 1H), 7.30 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 7.12 (d, $J=6.1$ Hz, 3H), 6.80 (d, $J=8.7$ Hz, 1H), 6.60 (t, $J=4.8$ Hz, 1H), 6.33 (t, $J=7.4$ Hz, 1H), 6.21 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 5.74 (dd, $J=21.3$, 9.3 Hz, 1H), 4.15~4.09 (m, 2H), 4.00 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 3.90~3.84 (m, 4H), 3.63 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 3.61~3.57 (m, 1H), 2.45 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 1.31 (t, $J=7.1$ Hz, 3H), 1.00 (t, $J=7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ : 169.35, 168.83, 161.06, 160.23, 152.85, 143.72, 136.54, 133.60, 133.08, 131.00, 130.42, 128.08, 127.76, 126.95, 126.20, 115.15, 113.00, 107.25, 63.90, 63.10, 56.05, 47.10, 42.98, 22.06, 19.67, 16.40, 16.08, 12.80. Anal. calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_8\text{P}$: C 61.03, H 6.18, N 4.90; found C 61.01, H 6.28, N 4.79.

(*E*)-(2-(4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基

丁-2-烯酰胺基)乙酰氨基)(4-甲氧基苯基)甲基膦酸二乙酯 (**5d**): 白色固体, 产率 89%. m.p. 146~147 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.70 (br, 1H), 7.58 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 7.35 (dd, $J=8.8$, 2.1 Hz, 2H), 7.28 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 6.78 (dd, $J=8.7$, 2.1 Hz, 3H), 6.64 (t, $J=4.7$ Hz, 1H), 6.32 (t, $J=6.7$ Hz, 1H), 6.18 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 5.43 (dd, $J=20.8$, 9.5 Hz, 1H), 4.13~4.04 (m, 2H), 3.97 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 3.93~3.89 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.71~3.67 (m, 1H), 3.63 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 2.04 (s, 3H), 1.26 (t, $J=7.1$ Hz, 3H), 1.08 (t, $J=7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ : 169.26, 168.82, 160.99, 160.22, 159.33, 152.82, 143.71, 136.28, 133.02, 131.00, 129.38, 126.96, 126.84, 126.80, 120.46, 115.11, 113.88, 112.90, 107.23, 63.76, 63.14, 56.04, 55.20, 50.35, 42.99, 22.05, 16.45, 16.25, 12.79. Anal. calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_8\text{P}$: C 59.38, H 6.01, N 4.78; found C 59.33, H 6.07, N 4.80.

(*E*)-(2-(4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基丁-2-烯酰胺基)乙酰氨基)(2-甲氧基苯基)甲基膦酸二乙酯 (**5e**): 白色固体, 产率 88%. m.p. 172~173 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.06 (br, 1H), 7.61 (dd, $J=9.5$, 3.1 Hz, 1H), 7.39 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 7.22 (d, $J=6.0$ Hz, 1H), 6.91~6.73 (m, 4H), 6.59 (t, $J=4.9$ Hz, 1H), 6.35 (t, $J=7.4$ Hz, 1H), 6.22 (dd, $J=9.4$, 4.6 Hz, 1H), 5.96 (dd, $J=21.1$, 9.6 Hz, 1H), 4.15~4.05 (m, 2H), 4.01 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 3.95~3.92 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.71~3.68 (m, 1H), 3.65 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 2.06 (s, 3H), 1.28 (t, $J=7.1$ Hz, 3H), 1.04 (t, $J=7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ : 169.31, 168.43, 161.02, 160.24, 156.93, 152.85, 143.70, 136.27, 130.98, 129.41, 127.35, 126.96, 123.07, 120.77, 120.53, 115.14, 110.95, 107.24, 63.39, 62.97, 56.06, 55.76, 46.19, 43.18, 22.08, 16.43, 16.14, 12.82. Anal. calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_9\text{P}$: C 59.38, H 6.01, N 4.78; found C 59.50, H 6.22, N 4.75.

(*E*)-(2-(4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基丁-2-烯酰胺基)乙酰氨基)(3,4,5-三甲氧基苯基)甲基膦酸二乙酯 (**5f**): 白色固体, 产率 89%. m.p. 150~151 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.27 (br, 1H), 7.59 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 6.92~6.70 (m, 3H), 6.68~6.62 (m, 2H), 6.36 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 6.19 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 5.40 (dd, $J=21.0$, 9.7 Hz, 1H), 4.13~3.92 (m, 4H), 3.91~3.88 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.80~3.78 (m, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.64 (d, $J=7.8$ Hz, 2H), 2.26 (s, 3H), 1.24 (t, $J=7.1$ Hz, 3H), 1.11 (t, $J=7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ : 169.54,

168.99, 161.03, 160.19, 153.15, 152.82, 143.77, 137.62, 136.18, 133.44, 130.82, 130.22, 127.03, 120.53, 114.98, 112.96, 107.28, 105.11, 63.56, 63.28, 60.75, 55.97, 51.01, 49.46, 43.38, 22.09, 16.38, 16.20, 12.76. Anal. calcd for $C_{31}H_{39}N_2O_{11}P$: C 57.58, H 6.08, N 4.33; found C 57.66, H 6.31, N 4.34.

(*E*)-(2-(4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基丁-2-烯酰胺基)乙酰氨基)(4-氟苯基)甲基膦酸二乙酯 (**5g**): 白色固体, 产率 88%. m.p. 169~170 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.42 (br, 1H), 7.61 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 7.44~7.35 (m, 2H), 7.32 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 6.95 (t, $J=8.6$ Hz, 2H), 6.81 (d, $J=8.7$ Hz, 1H), 6.68 (t, $J=5.0$ Hz, 1H), 6.37 (t, $J=4.3$ Hz, 1H), 6.21 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 5.44 (dd, $J=21.1$, 9.4 Hz, 1H), 4.11~4.03 (m, 2H), 4.00 (d, $J=4.6$ Hz, 2H), 3.96~3.91 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.82~3.74 (m, 1H), 3.65 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 2.06 (s, 3H), 1.26 (t, $J=7.0$ Hz, 3H), 1.10 (t, $J=7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ : 169.47, 169.02, 168.93, 161.00, 160.21, 152.86, 143.71, 133.27, 130.92, 130.76, 129.87, 129.79, 126.99, 115.54, 115.33, 115.08, 113.01, 112.92, 107.25, 63.66, 63.27, 56.05, 50.30, 43.14, 22.08, 16.42, 16.17, 12.80. Anal. calcd for $C_{28}H_{32}FN_2O_8P$: C 58.53, H 5.62, N 4.87; found C 58.53, H 5.68, N 4.82.

(*E*)-(2-(4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基丁-2-烯酰胺基)乙酰氨基)(2-氟苯基)甲基膦酸二乙酯 (**5h**): 白色固体, 产率 87%. m.p. 167~169 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.67 (br, 1H), 7.55 (dd, $J=25.0$, 8.5 Hz, 2H), 7.29 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 7.22 (t, $J=6.7$ Hz, 1H), 7.03 (dt, $J=17.9$, 8.2 Hz, 2H), 6.79 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 6.65 (t, $J=4.8$ Hz, 1H), 6.32 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 6.19 (d, $J=9.4$ Hz, 1H), 5.87 (dd, $J=21.3$, 9.5 Hz, 1H), 4.16~4.10 (m, 2H), 3.99 (d, $J=4.4$ Hz, 2H), 3.95~3.89 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.81~3.75 (m, 1H), 3.64 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 2.04 (s, 3H), 1.29 (t, $J=7.1$ Hz, 3H), 1.07 (t, $J=7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ : 169.36, 169.00, 161.03, 160.22, 158.87, 152.82, 143.74, 133.12, 130.97, 129.49, 126.98, 124.30, 122.57, 115.56, 115.08, 112.95, 107.25, 63.80, 63.40, 56.04, 44.28, 42.70, 22.05, 16.40, 16.11, 12.78. Anal. calcd for $C_{28}H_{32}FN_2O_8P$: C 58.53, H 5.62, N 4.87; found C 58.45, H 5.66, N 4.80.

(*E*)-(2-(4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基丁-2-烯酰胺基)乙酰氨基)(3,4,5-三氟苯基)甲基膦酸二乙酯 (**5i**): 白色固体, 产率 85%. m.p. 142~143 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.60 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 7.35~7.28 (m, 1H), 7.08 (t, $J=7.3$ Hz, 2H), 6.81 (d, $J=$

8.6 Hz, 1H), 6.22~6.17 (m, 1H), 5.98 (dd, $J=21.2$, 9.3 Hz, 1H), 4.25~3.98 (m, 6H), 3.89 (s, 3H), 3.69~3.65 (m, 2H), 2.07 (s, 3H), 1.27 (t, $J=7.1$ Hz, 3H), 1.23 (t, $J=7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ : 169.47, 168.76, 168.67, 161.02, 160.23, 152.86, 143.76, 136.43, 133.75, 130.69, 127.05, 114.92, 112.94, 112.92, 112.16, 112.00, 107.30, 70.62, 63.90, 63.70, 56.08, 41.48, 22.14, 16.36, 16.27, 12.75. Anal. calcd for $C_{28}H_{30}F_3N_2O_8P$: C 55.08, H 4.95, N 4.58; found C 54.94, H 5.03, N 4.58.

(*E*)-(2-(4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基丁-2-烯酰胺基)乙酰氨基)(2-氯苯基)甲基膦酸二乙酯 (**5j**): 白色固体, 产率 81%. m.p. 172~173 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.85 (br, 1H), 7.64~7.61 (m, 2H), 7.37~7.27 (m, 2H), 7.22~7.16 (m, 2H), 6.79 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 6.62 (t, $J=4.6$ Hz, 1H), 6.31 (t, $J=6.7$ Hz, 1H), 6.20 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 6.10 (dd, $J=21.4$, 9.3 Hz, 1H), 4.23~4.14 (m, 2H), 4.01 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 3.94~3.90 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.74~3.67 (m, 1H), 3.64 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.04 (s, 3H), 1.32 (t, $J=7.1$ Hz, 3H), 1.05 (t, $J=7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ : 169.28, 168.96, 161.05, 160.21, 152.83, 143.74, 136.18, 133.88, 133.30, 133.06, 130.98, 129.57, 126.97, 120.56, 115.09, 112.91, 107.24, 63.98, 63.50, 56.04, 47.42, 42.90, 22.05, 16.11, 16.05, 12.79. Anal. calcd for $C_{28}H_{32}ClN_2O_8P$: C 56.90, H 5.46, N 4.73; found C 56.88, H 5.60, N 4.63.

(*E*)-(2-(4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基丁-2-烯酰胺基)乙酰氨基)(4-氯苯基)甲基膦酸二乙酯 (**5k**): 白色固体, 产率 85%. m.p. 154~155 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.62 (br, 1H), 7.60 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 7.39~7.27 (m, 3H), 7.22 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 6.84~6.77 (m, 1H), 6.71~6.63 (m, 1H), 6.35 (t, $J=6.8$ Hz, 1H), 6.20 (dd, $J=9.5$, 2.0 Hz, 1H), 5.44 (dd, $J=21.4$, 9.4 Hz, 1H), 4.16~4.05 (m, 2H), 4.02 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 3.96~3.91 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.81~3.77 (m, 1H), 3.65 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 2.05 (s, 3H), 1.26 (t, $J=7.0$ Hz, 3H), 1.12 (t, $J=7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ : 169.49, 169.02, 161.02, 160.21, 152.84, 143.74, 136.22, 133.48, 133.33, 130.89, 129.43, 129.37, 128.65, 127.01, 115.06, 112.99, 112.91, 107.27, 63.68, 63.45, 56.06, 50.42, 48.88, 43.18, 22.09, 16.36, 16.24, 12.80. Anal. calcd for $C_{28}H_{32}ClN_2O_8P$: C 56.90, H 5.46, N 4.73; found C 57.07, H 5.66, N 4.61.

(*E*)-(2-(4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基丁-2-烯酰胺基)乙酰氨基)(2-溴苯基)甲基膦酸二乙酯 (**5l**): 白色固体, 产率 83%. m.p. 140~141 °C; 1H NMR

(400 MHz, CDCl_3) δ : 8.72 (br, 1H), 7.67~7.50 (m, 3H, NH), 7.30 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 7.23 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.12 (t, $J=7.7$ Hz, 1H), 6.80 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 6.62 (t, $J=4.6$ Hz, 1H), 6.32 (t, $J=7.4$ Hz, 1H), 6.20 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 6.09 (dd, $J=21.3, 9.2$ Hz, 1H), 4.22~4.15 (m, 2H), 4.01 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 3.95~3.89 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.73~3.66 (m, 1H), 3.64 (d, $J=8.0$ Hz, 2H), 2.04 (s, 3H), 1.33 (t, $J=7.0$ Hz, 3H), 1.06 (t, $J=7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ : 169.30, 168.96, 161.03, 160.22, 152.85, 143.72, 136.21, 135.10, 133.03, 131.03, 129.62, 127.66, 127.36, 126.97, 124.44, 115.12, 112.93, 107.26, 64.09, 63.53, 56.05, 50.17, 42.92, 22.05, 16.44, 16.12, 12.80. Anal. calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{BrN}_2\text{O}_8\text{P}$: C 52.92, H 5.07, N 4.40; found C 52.91, H 5.27, N 4.35.

(*E*)-(2-(4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基丁-2-烯酰胺基)乙酰氨基)(4-溴苯基)甲基膦酸二乙酯 (**5m**): 白色固体, 产率 84%. m.p. 143~144 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.59 (br, 2H), 7.59 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 7.41~7.34 (m, 2H), 7.33~7.25 (m, 3H), 6.82~6.77 (m, 1H), 6.66 (t, $J=4.7$ Hz, 1H), 6.34 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 6.19 (d, $J=9.4$ Hz, 1H), 5.43 (dd, $J=21.5, 9.4$ Hz, 1H), 4.08~4.03 (m, 2H), 3.99 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 3.96~3.91 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.83~3.74 (m, 1H), 3.64 (d, $J=4.4$ Hz, 2H), 2.05 (s, 3H), 1.25 (t, $J=6.2$ Hz, 3H), 1.12 (t, $J=6.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ : 169.46, 169.12, 160.99, 160.25, 152.84, 143.73, 136.23, 134.03, 133.30, 131.60, 130.89, 129.75, 127.42, 127.01, 122.18, 120.54, 115.05, 112.92, 107.27, 63.69, 63.47, 56.06, 50.48, 43.14, 22.09, 16.42, 16.25, 12.80. Anal. calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{BrN}_2\text{O}_8\text{P}$: C 52.92, H 5.07, N 4.40; found C 53.10, H 5.23, N 4.33.

(*E*)-(2-(4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基丁-2-烯酰胺基)乙酰氨基)(4-羟基苯基)甲基膦酸二乙酯 (**5n**): 白色固体, 产率 85%. m.p. 198~199 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.42 (br, 1H), 7.59 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 7.45~7.23 (m, 2H), 7.15~7.12 (m, 1H), 7.00~6.74 (m, 3H), 6.58 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 6.36 (t, $J=7.4$ Hz, 1H), 6.19 (d, $J=9.4$ Hz, 1H), 5.41 (dd, $J=20.5, 9.5$ Hz, 1H), 4.12~4.06 (m, 2H), 4.00 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 3.96~3.91 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.77~3.71 (m, 1H), 3.64 (d, $J=8.0$ Hz, 2H), 2.03 (s, 3H), 1.24 (d, $J=6.9$ Hz, 3H), 1.08 (t, $J=7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ : 169.14, 168.94, 160.63, 160.22, 157.32, 156.73, 152.73, 145.14, 132.25, 131.05, 129.83, 128.15, 126.07, 115.35, 114.62, 113.13, 112.81, 108.48, 62.95, 62.74, 56.80, 48.37, 42.47,

22.11, 16.71, 16.45, 13.13. Anal. calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_9\text{P}$: C 58.43, H 5.79, N 4.86; found C 59.00, H 5.89, N 4.81.

(*E*)-(2-(4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基丁-2-烯酰胺基)乙酰氨基)(吡啶-2-基)甲基膦酸二乙酯 (**5o**): 白色固体, 产率 71%. m.p. 118~119 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.54 (d, $J=3.8$ Hz, 1H), 7.73~7.63 (m, 1H), 7.64~7.56 (m, 1H), 7.46 (d, $J=7.7$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 7.26~7.17 (m, 1H), 6.80 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 6.37~6.34 (m, 2H), 6.24~6.21 (m, 2H), 4.30~4.19 (m, 2H, CH_2), 4.16~3.98 (m, 4H), 3.87 (s, 3H), 3.65 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.06 (s, 3H), 1.27~1.19 (m, 6H); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ : 169.36, 168.92, 161.01, 160.22, 153.05, 152.84, 149.28, 143.74, 136.88, 133.54, 130.81, 127.02, 123.47, 122.40, 114.99, 112.99, 107.27, 73.40, 63.72, 62.07, 56.08, 41.56, 22.11, 16.40, 16.25, 12.77. Anal. calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_8\text{P}$: C 58.16, H 5.78, N 7.53; found C 58.15, H 5.77, N 7.37.

(*E*)-(2-(4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基丁-2-烯酰胺基)乙酰氨基)(吡啶-3-基)甲基膦酸二乙酯 (**5p**): 白色固体, 产率 74%. m.p. 136~137 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.65 (s, 1H), 8.59~8.53 (m, 1H), 7.86~7.78 (m, 1H), 7.65~7.58 (m, 1H), 7.36~7.28 (m, 2H), 6.88~6.78 (m, 1H), 6.70~6.59 (m, 1H), 6.40 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 6.29~6.18 (m, 2H), 6.14 (dd, $J=13.8, 4.6$ Hz, 1H), 4.29~4.15 (m, 2H), 4.11~4.01 (m, 4H), 3.93~3.90 (m, 3H), 3.69 (d, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.08 (s, 3H), 1.27 (t, $J=7.1$ Hz, 3H), 1.21 (t, $J=7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ : 169.40, 161.05, 160.73, 152.88, 150.15, 149.07, 143.31, 136.37, 135.45, 133.70, 130.74, 129.16, 127.60, 127.04, 123.46, 120.99, 114.97, 113.05, 107.48, 70.10, 63.62, 56.10, 45.73, 41.49, 22.15, 16.99, 16.29, 12.81. Anal. calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_8\text{P}$: C 58.16, H 5.78, N 7.53; found C 58.03, H 5.94, N 7.45.

(*E*)-(2-(4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基丁-2-烯酰胺基)乙酰氨基)(噻吩-2-基)甲基膦酸二乙酯 (**5q**): 白色固体, 产率 78%. m.p. 179~180 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.26 (br, 1H), 7.61 (dd, $J=9.5, 4.1$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 7.22~7.14 (m, 1H), 6.95~6.71 (m, 3H), 6.66~6.52 (m, 1H), 6.35 (t, $J=8.6$ Hz, 1H), 6.22 (dd, $J=9.5, 5.3$ Hz, 1H), 5.75 (dd, $J=21.0, 9.5$ Hz, 1H), 4.15~4.01 (m, 5H), 3.93~3.91 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.67 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 2.07 (s, 3H), 1.26 (t, $J=7.0$ Hz, 3H), 1.16 (t, $J=7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ : 169.47, 168.83, 161.02, 160.25, 152.87, 143.71, 136.82, 133.23, 131.00, 126.98, 125.68, 120.64, 115.15,

113.04, 107.26, 63.92, 63.08, 56.07, 46.48, 43.13, 22.10, 16.25, 16.20, 12.83. Anal. calcd for $C_{26}H_{31}N_2O_8PS$: C 55.51, H 5.55, N 4.97; found C 55.44, H 5.62, N 4.87.

(*E*)-(2-(4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基丁-2-烯酰胺基)乙酰氨基)(5-甲基噻吩-2-基)甲基膦酸二乙酯(**5r**): 白色固体, 产率 80%. m.p. 146~147 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.89 (br, 1H), 7.62 (dd, $J=9.5, 4.8$ Hz, 1H), 7.32 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 6.95~6.74 (m, 3H), 6.62~6.55 (m, 1H), 6.37 (t, $J=7.6$ Hz, 1H), 6.24 (dd, $J=9.5, 5.7$ Hz, 1H), 5.64 (dd, $J=20.9, 9.5$ Hz, 1H), 4.13~4.04 (m, 5H), 3.95~3.93 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.68 (d, $J=7.8$ Hz, 2H), 2.40 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 1.26 (t, $J=7.2$ Hz, 3H), 1.18 (t, $J=7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ : 169.51, 161.07, 160.24, 152.87, 143.94, 143.73, 136.26, 133.99, 133.28, 130.98, 127.12, 126.98, 125.08, 120.68, 115.13, 113.04, 107.27, 63.63, 63.37, 56.08, 46.59, 43.18, 22.10, 16.28, 16.11, 15.26, 12.83. Anal. calcd for $C_{27}H_{33}N_2O_8PS$: C 56.24, H 5.77, N 4.86; found C 56.20, H 5.83, N 4.86.

(*E*)-(2-(4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基丁-2-烯酰胺基)乙酰氨基)(呋喃-2-基)甲基膦酸二乙酯(**5s**): 白色固体, 产率 76%. m.p. 144~145 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.07 (br, 1H), 7.60 (dd, $J=9.5, 3.5$ Hz, 1H), 7.34~7.28 (m, 2H), 6.90~6.62 (m, 3H), 6.42~6.32 (m, 2H), 6.28 (t, $J=7.5, 1H$), 6.21 (dd, $J=9.5, 4.5$ Hz, 1H), 5.63 (dd, $J=21.2, 9.5$ Hz, 1H), 4.15~4.00 (m, 5H), 3.93~3.91 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.66 (d, $J=7.4$ Hz, 2H), 2.06 (s, 3H), 1.24 (t, $J=7.1$ Hz, 3H), 1.17 (t, $J=7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ : 169.44, 168.81, 161.02, 160.23, 152.84, 152.37, 147.71, 143.73, 142.68, 136.28, 133.23, 130.97, 127.38, 126.98, 120.55, 115.10, 112.92, 110.71, 109.04, 107.55, 107.26, 63.52, 56.05, 46.10, 43.55, 22.09, 16.40, 16.26, 12.80. Anal. calcd for $C_{26}H_{31}N_2O_9P$: C 57.14, H 5.68, N 5.12; found C 57.14, H 5.89, N 5.05.

(*E*)-(2-(4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基丁-2-烯酰胺基)乙酰氨基)(5-甲基呋喃-2-基)甲基膦酸二乙酯(**5t**): 白色固体, 产率 80%. m.p. 136~137 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.04 (br, 1H), 7.60 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 6.80 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 6.69~6.59 (m, 1H), 6.34 (t, $J=6.7$ Hz, 1H), 6.25 (t, $J=3.0$ Hz, 1H), 6.24~6.17 (m, 1H), 5.85 (d, $J=3.1$ Hz, 1H), 5.56 (dd, $J=21.1, 9.5$ Hz, 1H), 4.11~4.01 (m, 5H), 3.94~3.91 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.66 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 3.65 (d, $J=7.4$ Hz, 2H), 2.18 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 1.25 (t,

$J=7.0$ Hz, 3H), 1.17 (t, $J=7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ : 169.34, 168.64, 161.01, 160.24, 152.84, 152.44, 145.71, 143.72, 136.26, 133.15, 131.00, 126.98, 115.11, 112.92, 109.95, 107.25, 106.67, 63.64, 63.29, 56.07, 45.18, 43.03, 22.08, 16.40, 16.26, 13.48, 12.81. Anal. calcd for $C_{27}H_{33}N_2O_9P$: C 57.86, H 5.93, N 4.99; found C 58.03, H 6.00, N 4.76.

(*E*)-(2-(4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基丁-2-烯酰胺基)乙酰氨基)(4-甲基噻唑-2-基)甲基膦酸二乙酯(**5u**): 白色固体, 产率 80%. m.p. 165~167 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.70 (br, 1H), 7.60 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J=8.7$ Hz, 1H), 6.88~6.58 (m, 2H), 6.45~6.36 (m, 2H), 6.31 (t, $J=5.4$ Hz, 1H), 6.20 (dd, $J=21.0, 9.4$ Hz, 1H), 4.20~4.05 (m, 5H), 3.99~3.97 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.66 (d, $J=4.2$ Hz, 2H), 2.49 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 1.29 (t, $J=7.0$ Hz, 3H), 1.20 (t, $J=7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ : 169.36, 168.75, 161.00, 160.22, 153.50, 152.85, 143.74, 136.36, 133.64, 130.72, 127.03, 123.20, 120.88, 114.96, 112.92, 107.27, 65.68, 63.83, 56.09, 45.73, 41.39, 22.12, 16.33, 16.17, 15.51, 12.77. Anal. calcd for $C_{26}H_{32}N_3O_8PS$: C 54.41, H 5.58, N 7.27; found C 54.02, H 5.58, N 7.06.

3.2.2 抗菌活性测试

标准菌株(*S. aureus*、*E. coli*), 耐药菌株(MRSA、FREC, 由遵义医科大学附属医院分离提供). 以苯唑西林(Oxacillin)和诺氟沙星(Norfloracin)为对照药, 采用两倍稀释法测定目标物的 MIC, 测试方法参照文献[25]. 测试结果见表 1.

辅助材料(Supporting Information) 目标化合物 **5a**~**5u** 的 1H NMR 和 ^{13}C NMR 图谱. 这些材料可以免费从本刊网站 (<http://sioc-journal.cn/>) 上下载.

References

- [1] Peng, X. M.; Damu, G. L. V.; Zhou, H. C. *Curr. Pharm. Design* **2013**, *19*, 3884.
- [2] Khursheed, A.; Jain, V. *Nat. Prod. J.* **2021**, *11*, 648.
- [3] Xia, D. G.; Liu, H.; Cheng, X.; Maraswami, M.; Chen, Y. T.; Lv, X. H. *Curr. Top. Med. Chem.* **2022**, *22*, 269.
- [4] Yi, J. L.; Shi, K. Q.; Wu, B. L.; Li, W. S.; Chen, G. Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2023**, *43*, 295 (in Chinese). (易继凌, 施康琦, 吴冰林, 黎婉珊, 陈光英, 有机化学, **2023**, *43*, 295.)
- [5] Figueroa, M.; Rivero-Cruz, I.; Rivero-Cruz, B.; Bye, R.; Navarrete, A.; Mata, R. *J. Ethnopharmacol.* **2007**, *113*, 125.
- [6] Rosselli, S.; Maggio, A.; Bellone, G.; Formisano, C.; Basile, A.; Cicala, C.; Alfieri, A.; Mascolo, N.; Bruno, M. *Planta Med.* **2007**, *73*, 116.
- [7] (a) Yang, J. Q.; Wu, X. J.; Lu, Z. C.; Chen, Y. M.; She, H. X.; Liu, H. J. *Chin. J. Org. Chem.* **2024**, *44*, 3541 (in Chinese). (杨家强, 吴学蛟, 卢子聪, 陈阳密, 余慧娴, 刘海军, 有机化学,

- 2024, 44, 3541.)
(b) Yang, J. Q.; Wu, X. J.; Lu, Z. C.; Chen, Y. M.; She, H. X.; Liu, O. L. *Chem. J. Chin. Univ.* **2024**, 45, 20240124 (in Chinese).
(杨家强, 吴学蛟, 卢子聪, 陈阳密, 余慧娴, 刘讴灵, 高等学校化学学报, **2024**, 45, 20240124.)
- [8] Zhou, X. R.; Yang, H.; Zheng, J.; Wu, X. J.; Yang, J. Q. *Fine Chem.* **2021**, 38, 790 (in Chinese).
(周绪容, 杨红, 郑洁, 吴学蛟, 杨家强, 精细化工, **2021**, 38, 790.)
- [9] Huang, M. G.; Ruan, X. H.; Zhang, J. P.; Li, Q.; Wang, Y. H.; Chen, L. J.; Zhang, C.; Li, P.; Xue, W. *Chin. J. Org. Chem.* **2017**, 37, 2145 (in Chinese).
(黄民国, 阮祥辉, 张菊平, 李琴, 王一会, 陈丽娟, 张橙, 李普, 薛伟, 有机化学, **2017**, 37, 2145.)
- [10] Wang, J.; Ansari, M. F.; Lin, J. M.; Zhou, C. H. *Chin. J. Chem.* **2021**, 39, 2251.
- [11] Liang, C. Q.; Li, Y. M. *Chin. J. Chem. Ed.* **2019**, 40, 1 (in Chinese).
(梁楚翹, 李艳梅, 化学教育, **2019**, 40, 1.)
- [12] Rodriguez, J. B.; Gallo-Rodriguez, C. *ChemMedChem* **2019**, 14, 190.
- [13] Yu, H. X.; Yang, H.; Shi, E. X.; Tang, W. J. *Med. Drug Discovery* **2020**, 8, 100063.
- [14] Yang, X. C.; Zeng, C. M.; Avula, S. R.; Peng, X. M.; Geng, R. X.; Zhou, C. H. *Eur. J. Med. Chem.* **2023**, 245, 114891.
- [15] Coco, L. B.; Toci, E. M.; Chen, P. Y. T.; Drennan, C. L.; Freil-Meyers, C. L. *ACS Infect. Dis.* **2024**, 10, 1312.
- [16] Li, W.; Separovic, F.; O'Brien-Simpson, N. M.; Wade, J. D. *Chem. Soc. Rev.* **2021**, 50, 4932.
- [17] Gan, B. H.; Gaynord, J.; Rowe, S. M.; Deingruber, D.; Spring, D. R. *Chem. Soc. Rev.* **2021**, 50, 7820.
- [18] Silva, A. R. P.; Guimarães, M. S.; Rabelo, J.; Belén, L. H.; Perecin, C. J.; Farias, J. G.; Santos, J. H. P. M.; Rangel-Yagui, C. O. *J. Mater. Chem. B* **2022**, 10, 3587.
- [19] (a) Chang, J. P.; Zhao, J. R.; Chen S. J.; Meng, K.; Shi, W. N.; Li, R. F. *Chem. J. Chin. Univ.* **2019**, 40, 705 (in Chinese).
(常俊朋, 赵佳瑞, 陈思佳, 孟凯, 石微妮, 李瑞芳, 高等学校化学学报, **2019**, 40, 705.)
(b) Haoyang, W. W.; Zhang, M.; Hou, J. L. *Chin. J. Chem.* **2019**, 37, 25.
- [20] Svendsen, J. S. M.; Grant, T. M.; Rennison, D.; Brimble, M. A.; Svenson, J. *Acc. Chem. Res.* **2019**, 52, 749.
- [21] Zhong, C.; Zhang, F. Y.; Zhu, N. Y.; Zhu, Y. W.; Yao, J.; Gou, S. H.; Xie, J. Q.; Ni, J. M. *Eur. J. Med. Chem.* **2021**, 212, 113138.
- [22] Rončević, T.; Vukičević, D.; Ilić, N.; Krce, L.; Gajski, G.; Tonkić, M.; Goić-Barišić, I.; Zoranić, L.; Sonavane, Y.; Benincasa, M.; Juretić, D.; Maravić, A.; Tossi, A. *J. Med. Chem.* **2018**, 61, 2924.
- [23] Lombrea, A.; Semenescu, A. D.; Magyari-Pavel, I. Z.; Turks, M.; Luginina, J.; Peipinš, U.; Muntean, D.; Dehelean, C. A.; Dinu, S.; Danciu, C. *Plants* **2023**, 12, 1253.
- [24] Yu, C. J. *Ph.D. Dissertation*, Lanzhou University, Lanzhou, **2023** (in Chinese).
(余长俊, 博士论文, 兰州大学, 兰州, **2023**.)
- [25] Shen, G. X. *Microbiology and Immunology*, People's Medical Publishing House, Beijing, **2007**, p. 326 (in Chinese).
(沈关心, 微生物与免疫学, 人民卫生出版社, 北京, **2007**, p. 326.)

(Lu, Y.)