

培氟沙星 C-3 甲叉基绕丹宁衍生物的合成及其抗肿瘤活性

张会丽¹, 卢光莉^{2*}, 黄文龙³, 胡国强^{1**}¹郑州工业应用技术学院药学院, 郑州 451150; ²河南大学商学院, 开封 475001;³中国药科大学新药研究中心, 南京 210009)

摘要 为进一步寻找抗肿瘤氟喹诺酮分子的构建策略, 用 α, β -不饱和酮为抗菌氟喹诺酮 C-3 羧基的生物电子排体、绕丹宁环为其耦合功能修饰基进而构建了氟喹诺酮 C-3 甲叉基绕丹宁类 1-乙基-6-氟-7-(4-甲基哌嗪-1-基)-3-[3-取代-2-硫代噻唑烷-4-酮-5-叉甲基]-喹啉-4(1*H*)-酮(**6a~6l**) 目标化合物, 其结构经元素分析和光谱数据确证。初步的体外抗细胞增殖活性筛选结果表明, 12 个新目标化合物对 A549、Hep-3B、HL60 3 种肿瘤细胞的活性显著高于母体培氟沙星(**1**), 尤其卤代苯基绕丹宁化合物的活性强于其他取代基, 对人非小细胞肺癌细胞 A549 的活性与对照阿霉素相当, 且对正常细胞 Vero 表现出较低细胞毒作用, 显示出较好的选择性。为此, 甲叉基绕丹宁替代 C-3 羧基的衍生物有利于提高氟喹诺酮的抗肿瘤活性。

关键词 培氟沙星; 氟喹诺酮-3-甲叉基; 绕丹宁; 不饱和酮; 生物电子等排体; 抗肿瘤活性

中图分类号 R914; R965 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2019)06-0672-06

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20190606

引用本文 张会丽, 卢光莉, 黄文龙, 等. 培氟沙星 C-3 甲叉基绕丹宁衍生物的合成及其抗肿瘤活性[J]. 中国药科大学学报, 2019, 50(6): 672–677.

Cite this article as: ZHANG Huili, LU Guangli, HUANG Wenlong, *et al.* Synthesis and antitumor activity of pefloxacin C-3 methylene rhodanine derivatives[J]. *J China Pharm Univ*, 2019, 50(6): 672–677.

Synthesis and antitumor activity of pefloxacin C-3 methylene rhodanine derivatives

ZHANG Huili¹, LU Guangli^{2*}, HUANG Wenlong³, HU Guoqiang^{1**}¹School of Pharmacy, Zhengzhou University of Industrial Technology, Zhengzhou 451150; ²School of Business, Henan University, Kaifeng 475001; ³Center of Drug Discovery, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract To further explore an efficient strategy for the construction of antitumor fluoroquinolone molecules from antibacterial fluoroquinolone drugs, twelve new title compounds, 1-ethyl-6-fluoro-7-(4-methyl-piperazin-1-yl)-3-(3-substituted-rhodanin-5-ylidene) methyl-quinolon-4(1*H*)-ones (**6a~6l**), was designed and synthesized with α, β -unsaturated ketone scaffold and a rhodanine ring as an isostere and fused modified group, respectively, from pefloxacin (**1**), and their structures were characterized by elemental analysis and spectral data. The *in vitro* anti-cell proliferative activity of the title compounds against the tested A549, Hep-3B and HL60 cancer cells exhibited more significant potency than parent **1**. In particular, halogenated phenyl title compounds (**6d, 6e, 6f**) displayed a comparable activity to comparison doxorubicin against A549 cells and low cytotoxicity against normal Vero cells. Thus, a methylene rhodanine scaffold as a bioisostere of the C-3 carboxylic acid group have shown to be beneficial to improving the antitumor activity.

Key words pefloxacin; fluoroquinolone-3-carbaldehyde; rhodanine; unsaturated ketone; bioisostere; antitumor activity

收稿日期 2019-04-16 **通信作者** * Tel: 0371-23881825 E-mail: kfwangli0915@126.com

** Tel: 0371-23880680 E-mail: hgqxq@sina.com.cn

基金项目 国家自然科学基金资助项目 (No. 20872028, No. 21072045); 河南省科技发展计划资助项目 (No. 162102310392); 河南省教育厅科学技术研究重点资助项目 (No. 15A350004) 和郑州工业应用技术学院自然科学研究资助项目 (No. 2018YB022)

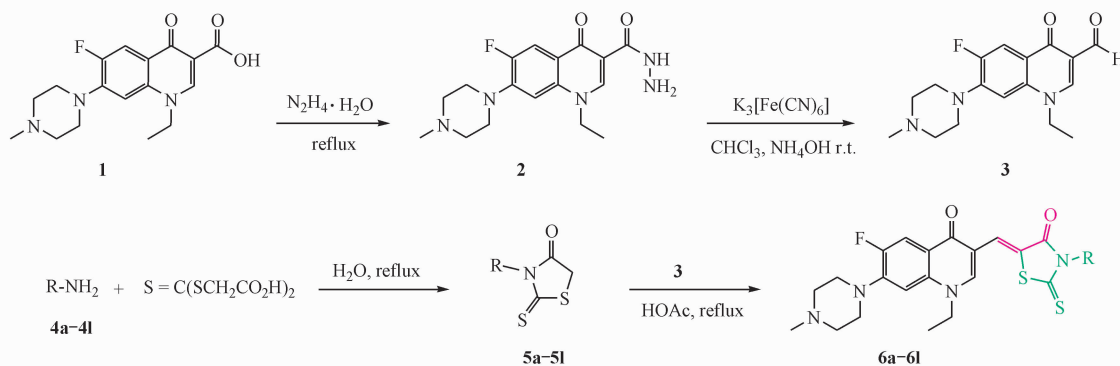
This study was supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 20872028, No. 21072045), the Science and Technology Research Project of Henan Province(No. 162102310392), the Key Science and Technology Research Project of the education Department of Henan Province(No. 15A350004) and the Natural Science Research Project of Zhengzhou University of Industrial Technology(No. 2018YB022)

氟喹诺酮药物通过抑制细菌 DNA 回旋酶 (DNA gyrase) 和 IV 类拓扑异构酶 (DNA Topoisomerase IV, Topo IV) 而发挥抗菌活性,其中, DNA 拓扑异构酶也是广泛存在于真核细胞核中的基本酶,二者具有同源和功能相似性,对 DNA 的转录、复制以及基因表达过程中的 DNA 拓扑结构的改变起着重要的作用^[1]。同时, DNA 拓扑异构酶在肿瘤组织中高度表达与肿瘤的发生、发展密切相关,抑制拓扑异构酶的活性就能阻止肿瘤细胞的快速增殖^[2]。因此,基于机制的理性药物设计策略,通过氟喹诺酮结构修饰可将其抗菌活性转化为抗肿瘤活性,进而促进抗肿瘤氟喹诺酮先导物的发现^[3]。与此同时,氟喹诺酮的构效关系表明,喹啉-4-酮-3-羧酸这一基团为其抗菌活性药效骨架,而 C-3 羧基用唑稠杂环^[4]或酰胺基^[5]等生物等排体替代,并引入具有广泛药理活性的 α, β -不饱和酮^[6]片段作为其功能修饰基可显著提高抗肿瘤活性,提示 C-3 羧基并非是抗肿瘤活性所必需的药效团,喹啉-4-酮骨架可能是需保留的抗肿瘤药效骨架,而 α, β -不饱和酮作为 C-3 等排体的功能修饰

基在抗肿瘤活性中所发挥的重要作用值得进一步探究。为此,选择 α, β -不饱和酮药效团作为 C-3 羧基的等排体而非修饰基、用含理化性质各异的 N、O、S 供电子原子的噻唑酮绕丹宁^[7]为其稠合修饰基进而构建 α, β -不饱和噻唑酮骨架,并与喹啉-4-酮骨架相拼合,设计合成了氟喹诺酮-3-甲叉基绕丹宁类目标化合物(6a~6l),并通过体外抗细胞增殖活性筛选结果评价 α, β -不饱和酮作为 C-3 羧基的生物电子等排体、绕丹宁为其稠合修饰基的可行性,为抗肿瘤氟喹诺酮分子的构建提供新途径。

1 合成路线

目标化合物(6a~6l)的合成见路线 1。培氟沙星(1)与水合肼发生肼解反应得到培氟沙星酰肼(2)、在稀氨水介质中用铁氰化钾氧化脱肼基反应得到培氟沙星-3-甲醛(3)。另外,胺类化合物(4a~4l)与双(羧甲基)三硫代碳酸酯发生缩合反应生成 N-取代绕丹宁(5a~5l),再与氟喹诺酮-3-甲醛(3)进行 Claisen-Schmidt 缩合反应形成氟喹诺酮-3-甲叉基噻唑酮目标化合物(6a~6l)。



Scheme 1 Synthetic route of the title compounds 6a~6l

R: C₆H₅ (a); 4-CH₃-C₆H₄ (b); 4-CH₃O-C₆H₄ (c); 4-F-C₆H₄ (d); 4-Cl-C₆H₄ (e); 4-Br-C₆H₄ (f); 3-F₃C-C₆H₄ (g); H (h); amino (i); c-Pr (j); HO₂CCH₂ (k); benzyl (l)

2 实验部分

2.1 材料

WK-1B 数字熔点仪(上海申光仪器有限公司); AM-400 型核磁共振仪(德国 Bruker 公司);

Esquire LC 型质谱仪(德国 Bruker 公司); PE2400-II 元素分析仪(美国 PE 公司)。培氟沙星酰肼 2^[8]和绕丹宁类 5^[9]分别按文献的方法制备,其他试剂均为市售分析纯。实验用肿瘤细胞株购于中科院上海细胞生物研究所;非洲绿猴肾细胞 Vero

购买于上海通派生物科技有限公司。

2.2 化学合成

1-乙基-6-氟-7-(4-甲基哌嗪-1-基)-3-喹啉-4-(1H)-酮-3-甲醛(**3**)的合成

铁氰化钾 48.0 g (146.0 mmol) 溶于蒸馏水 150 mL 中, 加入浓氨水 40 mL 和氯仿 250 mL, 常温搅拌下慢慢加入化合物 **2** (15 g, 43.0 mmol) 约 1 h。常温搅拌反应至原料消失 (TLC), 抽滤。分出有机相, 用水洗涤 3 次, 无水 Na_2SO_4 干燥。过滤, 常压回收氯仿, 残余物用无水乙醇-乙酸乙酯 (1:1) 混合溶剂 100 mL 溶解, 加入适量活性炭回流脱色 0.5 h。过滤, 静置 2 d, 析出淡黄色结晶 **3**, 收率 41.6%, mp: 235 ~ 237 °C (229 ~ 233 °C^[10]); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 - d_6) δ : 10.84 (1H, s, 3-CHO), 8.82 (1H, s, 2-H), 7.84 (1H, d, J = 13.0 Hz, 5-H), 7.36 (1H, d, J = 8.0 Hz, 8-H), 4.46 (2H, q, J = 8.0 Hz, CH_2), 3.46 ~ 3.28 (4H, m, piperazine-H), 2.48 ~ 2.66 (4H, m, piperazine-H), 2.38 (3H, s, N- CH_3), 1.47 (3H, t, J = 8.0 Hz, CH_3); MS m/z : 318 [M + H]⁺。

1-乙基-6-氟-7-(4-甲基哌嗪-1-基)-3-(3-取代-绕丹宁-5-叉甲基)-喹啉-4-(1H)-酮(**6a** ~ **6l**)合成通法

氟喹诺酮-3-甲醛 (**3**, 1.0 g, 3.2 mmol) 与新熔融的无水乙酸钠 (0.52 g, 6.4 mmol) 和绕丹宁 **5a** ~ **5l** (3.2 mmol) 依次加入到冰醋酸 (15 mL) 中, 混合反应物油浴磁力搅拌回流反应 6 h。减压蒸除溶剂, 残余物加去离子水 50 mL 溶解, 用适量活性炭脱色。滤液用浓氨水调 pH 8.0, 二氯甲烷提取 (30 mL \times 3), 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥。粗品用无水乙醇-DMF 重结晶, 得金黄色粉末目标物 **6a** ~ **6l**。

1-乙基-6-氟-7-(4-甲基哌嗪-1-基)-3-(3-苯基-绕丹宁-5-叉甲基)-喹啉-4-(1H)-酮 (**6a**) 收率 64.4%, mp: 255 ~ 257 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 - d_3) δ : 7.85 (1H, d, J = 13.0 Hz, 5-H), 7.75 (1H, s, 2-H), 7.51 ~ 7.26 (6H, m, Ph-H and 3- $\text{CH}=\text{CH}_2$), 6.66 (1H, d, J = 8.0 Hz, 8-H), 4.20 (2H, q, J = 8.0 Hz, CH_2), 3.27 (4H, br, piperazine-H), 2.65 (4H, br, piperazine-H), 2.40 (3H, s, N- CH_3), 1.58 (3H, t, J = 8.0 Hz, CH_3); MS m/z : 509 [M + H]⁺; Anal. Calcd. for $\text{C}_{26}\text{H}_{25}\text{FN}_4\text{O}_2\text{S}_2$: C 61.40%; H 4.95%; N 11.01%; Found: C 61.63%; H 4.76%; N 11.24%。

1-乙基-6-氟-7-(4-甲基哌嗪-1-基)-3-[3-(4-甲基苯基)-绕丹宁-5-叉甲基]-喹啉-4-(1H)-酮 (**6b**)

收率 57.0%, mp: 254 ~ 256 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 - d_3) δ : 8.68 (1H, s, 2-H), 7.82 (1H, d, J = 13.0 Hz, 5-H), 7.54 (1H, s, 3- $\text{CH}=\text{CH}_2$), 7.34 ~ 7.05 (5H, m, Ph-H and 8-H), 4.40 (2H, q, J = 8.0 Hz, CH_2), 3.28 (4H, br, piperazine-H), 2.50 (4H, m, piperazine-H), 2.38 (3H, s, N- CH_3), 2.25 (3H, s, Ph- CH_3), 1.42 (3H, t, J = 8.0 Hz, CH_3); MS m/z : 523 [M + H]⁺; Anal. Calcd. for $\text{C}_{27}\text{H}_{27}\text{FN}_4\text{O}_2\text{S}_2$: C 62.05%; H 5.21%; N 10.72%; Found: C 62.31%; H 5.38%; N 10.95%。

1-乙基-6-氟-7-(4-甲基哌嗪-1-基)-3-[3-(4-甲氧基苯基)-绕丹宁-5-叉甲基]-喹啉-4-(1H)-酮 (**6c**) 收率 53.0%, mp > 260 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 - d_3) δ : 7.98 ~ 7.77 (2H, m, 2-H and 5-H), 7.54 (1H, s, 3- $\text{CH}=\text{CH}_2$), 7.27 ~ 6.70 (5H, m, Ph-H and 8-H), 4.22 (2H, q, J = 8.0 Hz, CH_2), 3.85 (3H, s, OCH₃), 3.30 (4H, m, piperazine-H), 2.67 (4H, m, piperazine-H), 2.41 (3H, s, N- CH_3), 1.59 (3H, t, J = 8.0 Hz, CH_3); MS m/z : 539 [M + H]⁺; Anal. Calcd. for $\text{C}_{27}\text{H}_{27}\text{FN}_4\text{O}_3\text{S}_2$: C 60.20%; H 5.05%; N 10.40%; Found: C 60.44%; H 5.18%; N 10.67%。

1-乙基-6-氟-7-(4-甲基哌嗪-1-基)-3-[3-(4-氟苯基)-绕丹宁-5-叉甲基]-喹啉-4-(1H)-酮 (**6d**) 收率 51.0%, mp > 260 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 - d_3) δ : 8.70 (1H, s, 2-H), 7.81 (1H, d, J = 13.0 Hz, 5-H), 7.53 (1H, s, 3- $\text{CH}=\text{CH}_2$), 7.43 ~ 7.05 (5H, m, Ph-H and 8-H), 4.40 (2H, q, J = 8.0 Hz, CH_2), 3.27 (4H, br, piperazine-H), 2.51 (4H, m, piperazine-H), 2.26 (3H, s, N- CH_3), 1.42 (3H, t, J = 8.0 Hz, CH_3); MS m/z : 527 [M + H]⁺; Anal. Calcd. for $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{F}_2\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2$: C 59.30%; H 4.59%; N 10.64%; Found: C 59.55%; H 4.38%; N 10.85%。

1-乙基-6-氟-7-(4-甲基哌嗪-1-基)-3-[3-(4-氯苯基)-绕丹宁-5-叉甲基]-喹啉-4-(1H)-酮 (**6e**) 收率 54.0%, mp > 260 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 - d_3) δ : 7.94 ~ 7.72 (2H, m, 2-H and 5-H), 7.46 (1H, s, 3- $\text{CH}=\text{CH}_2$), 7.43 ~ 6.65 (5H, m, Ph-H and 8-H), 4.17 (2H, q, J = 8.0 Hz, CH_2), 3.27 (4H, br, piperazine-H), 2.67 (4H, m, piperazine-H), 2.39 (3H, s, N-

CH₃), 1.52 (3H, t, $J = 8.0$ Hz, CH₃); MS m/z : 543 [M + H]⁺ (³⁵Cl); Anal. Calcd. for C₂₆H₂₄ClFN₄O₂S₂: C 57.50%; H 4.45; N 10.32; Found: C 57.73%; H 4.32; N 10.57。

1-乙基-6-氟-7-(4-甲基哌嗪-1-基)-3-[3-(4-溴苯基)-绕丹宁-5-叉甲基]-喹啉-4-(1H)-酮 (**6f**) 收率 48.0%, mp > 260 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₃) δ : 8.75 (1H, s, 2-H), 7.80 (1H, d, $J = 13.0$ Hz, 5-H), 7.75 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, Ph-H), 7.56 (1H, s, 3-CH=), 7.37 ~ 7.17 (3H, m, Ph-H and 8-H), 4.44 (2H, q, $J = 8.0$ Hz, CH₂), 3.84 ~ 3.52 (4H, m, piperazine-H), 3.52 ~ 3.32 (4H, m, piperazine-H), 2.36 (3H, s, N-CH₃), 1.43 (3H, t, $J = 8.0$ Hz, CH₃); MS m/z : 587 and 589 [M + H]⁺ (⁷⁹Br and ⁸¹Br); Anal. Calcd. for C₂₆H₂₄BrFN₄O₂S₂: C 53.15%; H 4.12; N 9.54; Found: C 53.36%; H 3.90; N 9.76。

1-乙基-6-氟-7-(4-甲基哌嗪-1-基)-3-[3-(3-三氟甲基苯基)-绕丹宁-5-叉甲基]-喹啉-4-(1H)-酮 (**6g**) 收率 42.0%, mp: 252 ~ 254 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₃) δ : 8.71 (1H, s, 2-H), 7.90 ~ 7.74 (5H, m, Ph-H and 5-H), 7.55 (1H, s, 3-CH=), 7.07 (1H, br, 8-H), 4.39 (2H, br, CH₂), 3.34 ~ 3.29 (4H, m, piperazine-H), 2.62 ~ 2.53 (4H, m, piperazine-H), 2.29 (3H, s, N-CH₃), 1.42 (3H, t, $J = 8.0$ Hz, CH₃); MS m/z : 577 [M + H]⁺; Anal. Calcd. for C₂₇H₂₄F₄N₄O₂S₂: C 56.24%; H 4.20; N 9.72; Found: C 56.47%; H 4.38; N 9.95。

1-乙基-6-氟-7-(4-甲基哌嗪-1-基)-3-(绕丹宁-5-叉甲基)-喹啉-4-(1H)-酮 (**6h**) 收率 42.0%, mp > 260 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.63 (1H, s, 2-H), 7.85 (1H, d, $J = 13.0$ Hz, 5-H), 7.40 (1H, s, 3-CH=), 7.16 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, 8-H), 4.40 (2H, br, CH₂), 3.34 (4H, br, piperazine-H), 2.53 (4H, br, piperazine-H), 2.35 (3H, s, N-CH₃), 1.41 (3H, t, $J = 8.0$ Hz, CH₃); MS m/z : 433 [M + H]⁺; Anal. Calcd. for C₂₀H₂₁FN₄O₂S₂: C 55.54%; H 4.89; N 12.95; Found: C 55.76%; H 4.76; N 13.16。

1-乙基-6-氟-7-(4-甲基哌嗪-1-基)-3-(3-氨基-绕丹宁-5-叉甲基)-喹啉-4-(1H)-酮 (**6i**) 收率 54.0%, mp: 244 ~ 246 °C; ¹H NMR (400 MHz,

DMSO-*d*₆) δ : 8.68 (1H, s, 2-H), 7.80 (1H, d, $J = 13.0$ Hz, 5-H), 7.57 (1H, s, 3-CH=), 7.05 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, 8-H), 5.92 (2H, s, NH₂), 4.38 (2H, q, $J = 8.0$ Hz, CH₂), 3.27 (4H, br, piperazine-H), 2.51 (4H, br, piperazine-H), 2.25 (3H, s, N-CH₃), 1.42 (3H, t, $J = 8.0$ Hz, CH₃); MS m/z : 448 [M + H]⁺; Anal. Calcd. for C₂₀H₂₂FN₅O₂S₂: C 53.67%; H 4.95; N 15.65; Found: C 53.9276%; H 4.77; N 15.87。

1-乙基-6-氟-7-(4-甲基哌嗪-1-基)-3-(3-环丙基-绕丹宁-5-叉甲基)-喹啉-4-(1H)-酮 (**6j**) 收率 46.0%, mp: 252 ~ 254 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₃) δ : 8.70 (1H, s, 2-H), 7.95 (1H, d, $J = 13.0$ Hz, 5-H), 7.46 (1H, s, 3-CH=), 6.95 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, 8-H), 4.22 (2H, q, $J = 8.0$ Hz, CH₂), 3.29 (4H, m, piperazine-H), 2.88 (1H, m, c-Pr-H), 2.66 (4H, br, piperazine-H), 2.40 (3H, s, N-CH₃), 1.57 (3H, t, $J = 8.0$ Hz, CH₃), 1.17 ~ 1.06 (4H, m, c-Pr-H); MS m/z : 473 [M + H]⁺; Anal. Calcd. for C₂₃H₂₅FN₄O₂S₂: C 58.45%; H 5.33; N 11.85; Found: C 58.67; H 5.14; N 12.06。

1-乙基-6-氟-7-(4-甲基哌嗪-1-基)-3-(3-羧甲基-绕丹宁-5-叉甲基)-喹啉-4-(1H)-酮 (**6k**) 收率 46.0%, mp > 260 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.66 (1H, s, 2-H), 7.81 (1H, d, $J = 13.0$ Hz, 5-H), 7.52 (1H, s, 3-CH=), 7.05 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, 8-H), 4.66 (2H, s, CH₂), 4.38 (2H, q, $J = 8.0$ Hz, CH₂), 3.30 (4H, m, piperazine-H), 2.66 (4H, br, piperazine-H), 2.36 (3H, s, N-CH₃), 1.42 (3H, t, $J = 8.0$ Hz, CH₃); MS m/z : 491 [M + H]⁺; Anal. Calcd. for C₂₂H₂₃FN₄O₂S₂: C 53.86%; H 4.73; N 11.42; Found: C 54.08; H 4.56; N 11.65。

1-乙基-6-氟-7-(4-甲基哌嗪-1-基)-3-(3-苄基-绕丹宁-5-叉甲基)-喹啉-4-(1H)-酮 (**6l**) 收率 52.0%, mp: 225 ~ 227 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₃) δ : 7.90 (1H, d, $J = 13.0$ Hz, 5-H), 7.61 (1H, s, 2-H), 7.43 (1H, s, 3-CH=), 7.38 ~ 6.64 (6H, m, Ph-H and 8-H), 5.23 (2H, s, CH₂), 4.12 (2H, q, $J = 8.0$ Hz, CH₂), 3.26 (4H, br, piperazine-H), 2.72 (4H, br, piperazine-H), 2.37 (3H, s, N-CH₃), 1.48 (3H, t, $J = 8.0$ Hz, CH₃); MS m/z : 523 [M + H]⁺; Anal. Calcd. for C₂₇H₂₇FN₄O₂S₂: C 62.05%; H 5.21; N 10.72; Found: C 62.31; H

5.03; N 10.96。

2.3 体外抗细胞增殖活性

对合成的 12 个目标化合物 **6a**~**6l**、对照蒽醌类抗肿瘤药阿霉素(DOX)及母体培氟沙星(**1**)用 DMSO 配成 1.0×10^{-2} mol/L 浓度的储备液,用 RPMI 1640 培养液稀释至所需浓度(0.1、1.0、5.0、10.0、50.0 nmol/L)即为供试液。取对数生长期的非小细胞肺癌细胞(A549)、人肝癌细胞(Hep-3B)、人白血病细胞(HL60)和非洲绿猴肾细胞细胞(Vero)株,分别以每孔 6 000 个细胞接种于 96 孔板,培养隔夜后,分别加入上述供试液。继续培

养 48 h 后弃去培养基。每孔加入 1 g/L MTT 溶液 100 μ L,继续培养 4 h 后弃上清液。每孔加入二甲亚砜 150 μ L,轻轻振荡 30 min,用酶标仪在 570 nm 波长处测其吸收度。计算各组对实验细胞的抑制率:抑制率(%) = (1 - 实验组吸收度/对照组吸收度) \times 100。然后以各药物浓度的负对数值对各浓度下的抑制率作线性回归,得浓度-效应方程,以此计算出各供试化合物对实验细胞的半数抑制浓度(IC₅₀)。所有实验在相同条件下重复进行 3 次,结果见表 1。

Table 1 Anti-proliferative activity of the title compounds **6a**~**6l** against the tested cells

Compd.	Ar	IC ₅₀ /(μ mol/L)			
		A549	Hep-3B	HL60	Vero
6a	C ₆ H ₅	10.6 \pm 1.2	25.7 \pm 1.8	28.6 \pm 2.0	57.6 \pm 2.4
6b	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	17.6 \pm 1.5	27.6 \pm 1.4	30.6 \pm 2.3	63.2 \pm 1.8
6c	4-CH ₃ O-C ₆ H ₄	18.3 \pm 1.4	32.6 \pm 2.3	35.0 \pm 2.7	61.5 \pm 2.4
6d	4-F-C ₆ H ₄	4.7 \pm 0.5	8.6 \pm 1.0	7.8 \pm 1.0	53.6 \pm 2.8
6e	4-Cl-C ₆ H ₄	2.6 \pm 0.4	4.2 \pm 0.5	10.4 \pm 0.7	47.6 \pm 2.5
6f	4-Br-C ₆ H ₄	6.7 \pm 0.7	11.6 \pm 1.2	13.5 \pm 1.2	53.0 \pm 2.5
6g	3-CF ₃ -C ₆ H ₄	8.2 \pm 0.5	16.8 \pm 1.6	18.4 \pm 1.6	50.8 \pm 3.7
6h	H	20.5 \pm 1.6	26.8 \pm 1.8	23.8 \pm 1.5	60.5 \pm 3.0
6i	NH ₂	12.6 \pm 0.7	11.6 \pm 0.6	16.8 \pm 1.4	52.8 \pm 2.6
6j	c-Pr	16.7 \pm 1.5	32.5 \pm 2.4	21.7 \pm 1.5	57.8 \pm 2.4
6k	HO ₂ CCH ₂	25.8 \pm 2.1	35.8 \pm 3.0	38.6 \pm 2.5	67.8 \pm 4.2
6l	benzyl	22.5 \pm 1.6	31.7 \pm 2.6	35.4 \pm 3.0	64.7 \pm 3.2
Doxorubicin		2.5 \pm 0.6	2.7 \pm 0.5	4.2 \pm 0.5	3.8 \pm 0.6
Pefloxacin		>100	>100	>100	67.2 \pm 3.6

3 结果与讨论

由培氟沙星(**1**)制备化合物 **3** 的文献方法^[10]是化合物 **1** 经硼氢化钠还原并脱羧得到 2,3-二氢喹诺酮,再与甲酸乙酯缩合得到喹诺酮-3-甲醇,然后用活性二氧化锰氧化得到相应的醛 **3**。该方法中与甲酸乙酯缩合反应步骤需要绝对无水操作,经多次尝试制备喹诺酮-3-甲醇未能成功。同时,试图通过酰肼 **2** 与磺酰氯的磺酰化产物 C-3 酰基磺酰肼通过 McFadyen-Stevens 反应^[11]到醛 **3**。但该方法需要在高温 160 $^{\circ}$ C 下在较短的时间(<5 min)内完成,操作难度较大。最后,借鉴甲氧苄啶合成中间体三甲氧基苯甲醛的合成方法^[12],用酰肼 **2** 在稀氨水-氯仿介质中用铁氰化钾氧化脱肼基的方法可得到相应的喹诺酮-3-甲醛(**3**)。该方法虽收率中等(约为 40%),但可在室温水相中进行,条件

温和方便,可规模化制备,不失为喹诺酮羧酸转为喹诺酮醛的简便方法。绕丹宁衍生物 **5a**~**5l** 可由相应的胺类 **4a**~**4l** 与双(羧甲基)三硫代碳酸酯在水中缩环合而得^[9]。为此,制备得到的喹诺酮-3-甲醛(**3**)与绕丹宁衍生物 **5a**~**5l** 发生 Claisen-Schmidt 缩合反应到目标化合物 **6a**~**6l**。

体外抗细胞增殖活性结果表明,12 个目标化合物对 3 种试验肿瘤细胞株的 IC₅₀ 均低于 40.0 μ mol/L,显著强于母体培氟沙星(100 μ mol/L)的活性。同时,构效关系表明,绕丹宁环 3-位含有卤代苯基化合物(**6d**、**6e**、**6f**)的抗肿瘤活性强于其他取代基,尤其对 A549 细胞株的 IC₅₀ 均在微摩尔浓度,与对照抗肿瘤药阿霉素相当。更有意义的是,12 个目标化合物对正常非洲绿猴肾细胞株 Vero 的 IC₅₀ 显著高于对照阿霉素,显示出一定的选择性和较低的细胞毒作用,具有成药性研究的价值。

4 结 论

氟喹诺酮羧酸可通过其酰肼的铁氰化钾氧化反应方便制备相应的氟喹诺酮醛,然后与绕丹宁衍生物发生 Claisen-Schmidt 缩合反应构建氟喹诺酮-3-甲叉基绕丹宁类目标化合物。体外抗细胞增殖活性实验表明,所合成的 12 个目标化合物的抗肿瘤活性显著强于母体培氟沙星,部分化合物的活性与对照阿霉素相当,且对正常细胞显示出较低的细胞毒作用,体现出一定的选择性。为此,由绕丹宁环稠合修饰的 α,β -不饱和酮作为 C-3 羧基的等排体有利于提高氟喹诺酮的抗肿瘤活性。

参 考 文 献

- [1] Fief CA, Hoang KG, Phipps SD, *et al.* Examining the impact of antimicrobial fluoroquinolones on human DNA topoisomerase II α and II β [J]. *ACS Omega*, 2019, **4**(2):4049–4055.
- [2] Hu W, Huang XS, Wu JF, *et al.* Discovery of novel topoisomerase II inhibitors by medicinal chemistry approaches [J]. *J Med Chem*, 2018, **61**(20):8947–8980.
- [3] Bisacchi GS, Hale MR. A “double-edged” scaffold: antitumor power within the antibacterial quinolone [J]. *Curr Med Chem*, 2016, **23**(6):520–577.
- [4] Jiang YL, Li K, Huang WL, *et al.* Synthesis and antitumor activity of 3-(benzylidene thiazolotriazolone) fluoroquinolones [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2018, **49**(6):671–675.
- [5] Yang T, Wang XM, Wang R, *et al.* Synthesis and antitumor activity of pefloxacin C-3 (rhodanine unsaturated ketone) amide derivatives [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2017, **48**(5):543–547.
- [6] Jackson PA, Widen JC, Harki DA, *et al.* Covalent modifiers: a chemical perspective on the reactivity of α,β -unsaturated carbonyls with thiols via hetero-Michael addition reactions [J]. *J Med Chem*, 2017, **60**(3):839–885.
- [7] Xiang Y, Chen C, Wang WM, *et al.* Rhodanine as a potent scaffold for the development of broad-spectrum metallo- β -lactamase inhibitors [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2018, **9**(4):359–364.
- [8] Xie YS, Gao LZ, Yan Q, *et al.* Synthesis and antitumor activity of fluoroquinolone C-3 isosteres (VIII): s-triazole sulfide-one thiosemicarbazone derivatives from pefloxacin [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2015, **46**(4):416–420.
- [9] Brown FC, Bradsher CK, Bond SM, *et al.* Rhodanine derivatives [J]. *J Am Chem Soc*, 1951, **73**(5):2357–2359.
- [10] Kondo H, Sakamoto F, Kawakami K, *et al.* Studies on prodrugs. 7. Synthesis and antimicrobial activity of 3-formylquinolone derivatives [J]. *J Med Chem*, 1988, **31**(1):221–225.
- [11] McFadyen JS, Stevens TS. A new method for the conversion of acids into aldehydes [J]. *J Chem Soc*, 1936, **58**:584–587.
- [12] Chen LH, Xie L, Xie JX. Total synthesis of an analog of schizandrin [J]. *Acta Pharm Sin* (药理学学报), 1991, **26**(1):20–24.

· 本 刊 讯 ·

《中国药科大学学报》获得 OSID 开放科学计划资助

2019 年 7 月 23 日,国家新闻出版署出版融合发展(武汉)重点实验室公示了促进学术交流、推动科研诚信的 OSID(Open Science Identity)开放科学标识计划的 A 类项目资助名单,《中国药科大学学报》获得资助。

OSID 开放科学计划,是面向学术期刊的公益计划,以二维码为入口,提供丰富的线上扩展功能。此项计划能帮助作者提升论文影响力,拓展学术人脉与资源。OSID 码包含以下内容:

①作者介绍论文的语音,内容包括研究方向、研究目的、研究意义,还可以介绍自己在研究前的准备工作、研究过程中的趣事等,从而展现更多的研究细节;

②论文附加说明,可上传论文的相关图片和视频,使纸刊无法呈现的动态试验过程、模拟计算结果等,得到更直观的展示;

③作者与读者在线交流问答,建立起论文的学术交流圈。

《中国药科大学学报》加入 OSID 计划后,每篇论文将拥有专属的 OSID 码,一方面能给读者带来全新的阅读和讨论体验,另一方面能使作者更严肃负责地对待所著论文,促进优秀论文更好地传播,具有双向的促进作用。

(本刊编辑部)