

## 新型大黄酸酯衍生物的合成与生物活性研究

杨家强, 赵仕新, 安家丽, 邓玲, 雷廷燕(遵义医科大学药学院, 贵州 遵义 563003)

**摘要:**目的 为了寻找抗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)候选化合物,采用基于片段的药物发现(FBDD)方法,设计合成新型大黄酸酯衍生物,评价其生物活性。**方法** 以大黄酸与 $\alpha$ -羟基膦酸酯中间体为原料,通过EDCI/HOBT和[Bmim]BF<sub>4</sub>体系协同催化,合成目标化合物;采用两倍稀释法对目标物进行体外抗MRSA活性筛选。**结果** 合成了10个结构新颖的大黄酸酯衍生物,经IR、NMR和MS确认结构;活性测试结果表明,该类化合物对所测MRSA有不同程度的抑制活性,其中化合物II-3对所测MRSA的MIC和MBC值分别为128和512  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,优于天然产物大黄酸的抗MRSA活性,略优于对照药苯唑西林的抗MRSA活性;活性最突出的是化合物II-10,对MRSA的MIC和MBC值分别为32、64  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,抗MRSA活性明显优于大黄酸和对照药苯唑西林。**结论** 该类大黄酸衍生物对MRSA的抑制活性显著,值得进一步深入研究。

**关键词:** 大黄酸; 膦酸酯; 合成; 抗菌活性

doi:10.11669/cpj.2019.15.004 中图分类号:R914 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2019)15-1216-05

### Synthesis and Bioactivity of Novel Ester Derivatives of Rhein

YANG Jia-qiang, ZHAO Shi-xin, AN Jia-li, DENG Ling, LEI Ting-yan(School of Pharmacy, Zunyi Medical University, Zunyi 563003, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To design and synthesize a series of novel ester derivatives of rhein were designed and synthesized, and evaluate their anti-MRSA activity. **METHODS** The title compounds were synthesized with rhein and  $\alpha$ -hydroxyphosphonate as starting materials, EDCI/HOBT and [Bmim]BF<sub>4</sub> as catalyst system. And the anti-MRSA activities of the products were evaluated by the agar dilution method. **RESULTS** Ten title compounds were synthesized, and their structures were clearly established by IR, NMR and MS. The results showed that the derivatives have different anti-MRSA activity. Especially, showed potent activity against MRSA with the minimum inhibitory concentration(MIC) and minimum bactericidal concentration(MBC) values of compound II-3 was 128, 512  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  respectively, superior to rhein and oxacillin. And the MIC and MBC of compound II-10 to MRSA was 32, 64  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , its anti-MRSA activity was obviously better than that of rhein and oxacillin. **CONCLUSION** The ester derivatives of rhein are significant resistant to MRSA, which is worth for further study.

**KEY WORDS:** rhein; phosphonate; synthesis; antibacterial activity

抗生素的发现给感染性疾病的治疗带来了前所未有的福音。然而,现今随着抗生素在临床的过度使用甚至滥用,其耐药菌也日益增加。其中,耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)作为临床常见的耐药菌,具有高致病率、高死亡率、治疗棘手等特点<sup>[1-2]</sup>。万古霉素类药物是临床治疗MRSA感染的最后一道防线,然而,随着耐万古霉素金黄色葡萄球菌的检出,今后,MRSA可能面临无药可以治疗的地步<sup>[3]</sup>。因此,寻找新的抗MRSA药物意义重大。

天然产物由于结构类型与生物活性的多样性,

近年来,从天然产物中发现具有临床应用前景的抗MRSA候选化合物已成为研究的热点<sup>[4-5]</sup>。源于中药大黄提取分离的大黄酸,具有抗肿瘤<sup>[6]</sup>、抗炎<sup>[7]</sup>、抗糖尿病肾病<sup>[8]</sup>、降脂<sup>[9]</sup>等多种药理活性。近年来,大黄酸及其衍生物在抗菌方面的应用也引起了人们的研究兴趣,尤其在抗MRSA方面呈现较好应用前景<sup>[10-12]</sup>。

但是,大黄酸具有蒽醌类三环芳香结构,它的溶解性并不是特别的理想,不溶于水、乙醇及大多数有机溶剂,体内生物利用度较低,这极大限制了大黄酸

**基金项目:**贵州省科技厅国际合作项目资助(黔科合外G字[2014]7013);贵州省中医药管理局中医药、民族医药科学技术研究项目资助(QZYY[2018]085);遵义市汇川区科技局资助项目(E-123)

**作者简介:**杨家强,男,硕士,教授 研究方向:新药物设计与合成 Tel:(0851)28609461 E-mail:yjqcn@126.com

在临床方面的应用<sup>[13]</sup>。因此,对大黄酸进行结构改造,改善其理化性质,并进一步研究其生物活性,十分有必要。

有机磷化合物由于多变的结构类型及良好的生物学特性,一直是人们关注的热点,近年,有关含磷有机物在抗耐药菌中的报道较多<sup>[14-17]</sup>。前期课题组先后设计合成了不同系列的有机磷化合物进行抗菌活性研究,结果发现,磷酸酯官能团的引入,能改善化合物的抗菌活性,尤其是对所测耐药菌的抗菌活性显著<sup>[18-19]</sup>。

基于已有文献依据和实验研究,本项目拟在前期研究工作基础上,采用基于片段的药物发现(FB-DD)方法,将大黄酸与磷酸酯组合,设计合成系列新型大黄酸酯类衍生物,研究其抗MRSA活性,期望获得有研究价值的活性化合物。

## 1 仪器与试剂

恒温加热磁力搅拌器(德国IKA公司)、旋转蒸发仪(日本东京理化公司)、X-4数字显示显微熔点测定仪(上海精密仪器仪表有限公司)、ZF-2型三用紫外仪(上海市安亭电子仪器厂)、Varian FT红外光谱仪(美国瓦里安技术公司)、Varian 400核磁共振仪(美国瓦里安技术公司)、HP 1100 LC/MSD质谱仪(美国安捷伦公司)。

实验所用主要药品:大黄酸、苯甲醛、2-氟苯甲醛、4-氟苯甲醛、2-呋喃甲醛、2-吡啶甲醛、亚磷酸二乙酯、亚磷酸二异丙酯购于百灵威化学试剂公司,其余试剂均为分析纯。

## 2 合成实验

### 2.1 中间体 I 的合成

参照文献[20]的类似方法制备中间体 I。见图1。

### 2.2 目标物 II 的合成

将 2.0 mmol 大黄酸、2.2 mmol 中间体 I 及

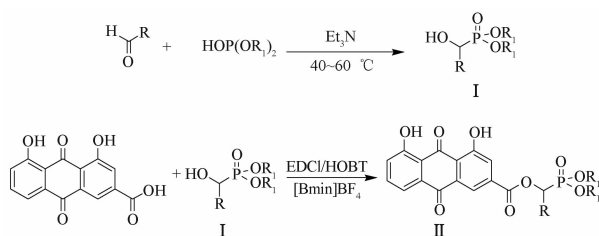


图1 目标产物合成路线

Fig. 1 Synthetic route of target product

1.0 mmol [Bmim]BF<sub>4</sub>离子液体加入 50 mL 的三颈瓶中,再加入 20 mL 无水二氯甲烷于反应瓶中,然后于 0~5 °C 下加入 2.0 mmol EDCI 和 1.0 mmol HOBT 至三颈瓶中,自然升温至室温条件下反应,TLC 跟踪反应,反应完毕后,过滤,减压浓缩,得到粗品,用硅胶柱色谱分离纯化,最后得到目标产物。收率在 78%~85% 之间。见图 1。

**II-1:** α-大黄酰氧基-苯甲基磷酸二乙酯。黄色固体,收率 84.3%, mp 212~214 °C。IR (max/cm<sup>-1</sup> KBr): 3 428, 2 981, 2 933, 1 734, 1 633, 1 511, 1 452, 1 377, 1 263, 1 207, 1 095, 1 001。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 12.07 (s, 1H, OH), 11.98 (s, 1H, OH), 7.84~7.90 (m, 2H, ArH), 7.71~7.73 (s, 1H, ArH), 7.24~7.39 (m, 7H, ArH), 6.59 (dd, 1H, J = 8.6, 20.2 Hz, PCH), 3.97~4.03 (m, 4H, 2OCH<sub>2</sub>), 1.04~1.15 (m, 6H, 2CH<sub>3</sub>)。 <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 16.5, 16.6, 62.4, 62.5, 73.5, 117.2, 118.6, 118.8, 121.4, 123.3, 124.1, 128.3, 133.5, 134.6, 137.4, 162.7, 167.4, 182.2, 182.9。ESI-MS (m/z): 511.0 [M + H]<sup>+</sup>。

**II-2:** α-大黄酰氧基-(2-氟苯甲基)磷酸二乙酯。黄色固体,收率 79.6%, mp 220~222 °C。IR (max/cm<sup>-1</sup> KBr): 3 446, 2 975, 2 927, 1 733, 1 624, 1 479, 1 453, 1 375, 1 256, 1 201, 1 092, 997。 <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 12.08 (s, 1H, OH), 11.98 (s, 1H, OH), 7.84~7.90 (m, 2H, ArH), 7.69~7.73 (s, 1H, ArH), 7.24~7.40 (m, 6H, ArH), 6.58 (dd, 1H, J = 9.0, 21.0 Hz, PCH), 3.93~4.02 (m, 4H, 2OCH<sub>2</sub>), 1.03~1.15 (m, 6H, 2CH<sub>3</sub>)。 <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 16.4, 16.5, 62.3, 62.4, 73.2, 115.6, 119.0, 119.1, 122.6, 123.3, 124.7, 129.8, 133.6, 134.7, 137.5, 159.0, 162.2, 167.3, 182.0, 183.1。ESI-MS (m/z): 529.0 [M + H]<sup>+</sup>。

**II-3:** α-大黄酰氧基-(4-氟苯甲基)磷酸二乙酯。黄色固体,收率 78.9%, mp 198~200 °C。IR (max/cm<sup>-1</sup> KBr): 3 436, 2 983, 2 935, 1 736, 1 631, 1 569, 1 452, 1 377, 1 264, 1 235, 1 196, 1 151, 1 090, 997。 <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 12.08 (s, 1H, OH), 11.98 (s, 1H, OH), 7.84~7.90 (m, 2H, ArH), 7.69~7.73 (m, 1H, ArH), 7.21~7.39 (m, 6H, ArH), 6.58 (dd, 1H, J = 7.6, 19.8 Hz, PCH), 3.99~4.02 (m, 4H, 2OCH<sub>2</sub>), 1.03~1.17 (m, 6H, 2CH<sub>3</sub>)。 <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 16.4, 16.5, 62.2, 62.4, 73.3, 115.7, 115.8, 119.2, 119.3, 122.7,

123.1, 123.2, 128.4, 128.5, 133.7, 135.9, 161.4, 162.0, 167.8, 182.2, 182.6。ESI-MS ( $m/z$ ): 529.0  $[M+H]^+$ 。

**II-4:**  $\alpha$ -大黄酰氧基-(2-呋喃基)磷酸二乙酯。黄色固体, 收率 82.6%, mp 205 ~ 207  $^{\circ}\text{C}$ 。IR (max/ $\text{cm}^{-1}$  KBr): 3 420, 2 982, 2 936, 1 735, 1 630, 1 561, 1 455, 1 371, 1 296, 1 261, 1 202, 1 091, 1 004。 $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 11.99 (s, 1H, OH), 11.94 (s, 1H, OH), 7.91 ~ 8.12 (m, 2H, ArH), 6.29 ~ 7.39 (m, 6H, ArH), 6.22 (dd, 1H,  $J = 9.2$ , 20.8 Hz, PCH), 3.76 ~ 4.19 (m, 4H, 2OCH<sub>2</sub>), 1.17 ~ 1.32 (m, 6H, 2CH<sub>3</sub>)。 $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 16.2, 16.4, 62.5, 62.7, 74.0, 109.5, 110.7, 118.5, 120.3, 122.6, 124.4, 124.6, 126.9, 133.4, 133.8, 137.0, 137.6, 143.5, 155.0, 162.4, 162.7, 166.6, 182.0, 182.8。ESI-MS ( $m/z$ ): 501.0  $[M+H]^+$ 。

**II-5:**  $\alpha$ -大黄酰氧基-(2-吡啶基)磷酸二乙酯。黄色固体, 收率 81.9%, mp 233 ~ 235  $^{\circ}\text{C}$ 。IR (max/ $\text{cm}^{-1}$  KBr): 3 432, 2 976, 2 922, 1 738, 1 625, 1 481, 1 450, 1 372, 1 250, 1 206, 1 090, 999。 $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 12.00 (s, 1H, OH), 11.95 (s, 1H, OH), 8.69 ~ 7.13 (m, 9H, ArH), 6.31 (dd, 1H,  $J = 9.4$ , 20.6 Hz, PCH), 3.72 ~ 4.26 (m, 4H, 2OCH<sub>2</sub>), 1.07 ~ 1.30 (m, 6H, 2CH<sub>3</sub>)。 $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 16.5, 16.6, 62.6, 62.8, 73.0, 120.1, 120.3, 121.6, 122.7, 124.3, 126.5, 133.8, 134.7, 135.0, 135.3, 136.9, 147.5, 158.8, 162.5, 162.7, 167.0, 182.3, 183.1。ESI-MS ( $m/z$ ): 512.0  $[M+H]^+$ 。

**II-6:**  $\alpha$ -大黄酰氧基-苯甲基磷酸二异丙酯。黄色固体, 收率 80.5%, mp 230 ~ 232  $^{\circ}\text{C}$ 。IR (max/ $\text{cm}^{-1}$  KBr): 3 459, 2 984, 2 926, 1 738, 1 673, 1 630, 1 484, 1 450, 1 376, 1 261, 1 217, 1 193, 1 092, 1 012。 $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 12.09 (s, 1H, OH), 11.95 (s, 1H, OH), 7.93 ~ 8.01 (m, 2H, ArH), 7.80 ~ 7.86 (m, 1H, ArH), 7.25 ~ 7.46 (m, 7H, ArH), 6.32 (dd, 1H,  $J = 10.0$ , 22.0 Hz, PCH), 3.43 ~ 3.47 (m, 2H, 2OCH), 1.10 ~ 1.18 (m, 12H, 4CH<sub>3</sub>)。 $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 24.3, 24.4, 71.2, 71.3, 73.6, 118.2, 118.3, 122.1, 122.2, 123.6, 124.0, 128.5, 128.6, 133.5, 133.6, 136.7, 161.3, 166.7, 182.1, 182.8。ESI-MS ( $m/z$ ): 539.0  $[M+H]^+$ 。

**II-7:**  $\alpha$ -大黄酰氧基-(2-氟苯甲基)磷酸二异丙酯。黄色固体, 产率 85.0%, mp 252 ~ 254  $^{\circ}\text{C}$ 。IR (max/ $\text{cm}^{-1}$  KBr): 3 263, 2 984, 2 931, 1 734, 1 633, 1 571, 1 452, 1 379, 1 266, 1 226, 1 106, 1 020。 $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 12.07 (s, 1H, OH), 11.98 (s, 1H, OH), 7.69 ~ 7.89 (m, 3H, ArH), 7.24 ~ 7.39 (m, 6H, ArH), 6.61 (dd, 1H,  $J = 8.0$ , 21.6 Hz, PCH), 3.55 ~ 3.57 (m, 2H, 2OCH), 1.03 ~ 1.14 (m, 12H, 4CH<sub>3</sub>)。 $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 24.4, 24.5, 71.3, 71.4, 73.5, 116.1, 119.3, 119.4, 124.5, 122.6, 126.1, 128.2, 128.3, 130.2, 133.5, 136.6, 159.5, 161.7, 166.6, 182.0, 182.5。ESI-MS ( $m/z$ ): 557.0  $[M+H]^+$ 。

**II-8:**  $\alpha$ -大黄酰氧基-(4-氟苯甲基)磷酸二异丙酯。黄色固体, 产率 78.6%, mp 228 ~ 231  $^{\circ}\text{C}$ 。IR (max/ $\text{cm}^{-1}$  KBr): 3 318, 2 930, 2 851, 1 727, 1 650, 1 628, 1 538, 1 450, 1 383, 1 269, 1 204, 1 158, 1 079, 1 024。 $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 12.01 (s, 1H, OH), 11.95 (s, 1H, OH), 8.04 ~ 8.12 (m, 1H, ArH), 7.69 ~ 7.95 (m, 4H, ArH), 7.24 ~ 7.33 (m, 4H, ArH), 6.34 (dd, 1H,  $J = 9.8$ , 21.2 Hz, PCH), 3.43 ~ 3.48 (m, 2H, 2OCH), 1.05 ~ 1.15 (m, 12H, 4CH<sub>3</sub>)。 $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 24.2, 24.4, 71.4, 71.5, 73.0, 115.6, 115.7, 199.3, 122.4, 122.5, 126.1, 128.8, 128.9, 132.3, 136.2, 136.3, 161.6, 166.0, 182.3, 183.2。ESI-MS ( $m/z$ ): 557.0  $[M+H]^+$ 。

**II-9:**  $\alpha$ -大黄酰氧基-(2-呋喃基)磷酸二异丙酯。黄色固体, 收率 83.5%, mp 236 ~ 238  $^{\circ}\text{C}$ 。IR (max/ $\text{cm}^{-1}$  KBr): 3 322, 2 936, 2 862, 1 730, 1 671, 1 624, 1 481, 1 456, 1 371, 1 259, 1 203, 1 194, 1 089, 1 008。 $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 12.03 (s, 1H, OH), 11.96 (s, 1H, OH), 7.92 ~ 8.21 (m, 2H, ArH), 6.36 ~ 7.25 (m, 6H, ArH), 6.30 (dd, 1H,  $J = 9.6$ , 22.4 Hz, PCH), 4.60 ~ 4.81 (m, 2H, 2OCH), 1.25 ~ 1.38 (m, 12H, 4CH<sub>3</sub>)。 $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 23.7, 23.8, 24.1, 24.2, 72.3, 72.4, 73.6, 109.2, 110.5, 118.5, 119.6, 122.0, 122.3, 126.9, 133.4, 133.8, 136.7, 137.0, 143.9, 154.8, 162.2, 162.8, 167.0, 182.4, 183.0。ESI-MS ( $m/z$ ): 529.0  $[M+H]^+$ 。

**II-10:**  $\alpha$ -大黄酰氧基-(2-吡啶基)磷酸二异丙酯。黄色固体, 产率 82.9%, mp 248 ~ 250  $^{\circ}\text{C}$ 。IR (max/ $\text{cm}^{-1}$  KBr): 3 320, 2 962, 2 925, 1 735, 1 630,

1 568, 1 457, 1 382, 1 260, 1 223, 1 108, 1 011。<sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 11.99(s, 1H, OH), 11.93(s, 1H, OH), 8.66 ~ 7.05(m, 9H, ArH), 6.35(dd, 1H, *J* = 9.2, 21.2 Hz, PCH), 4.70 ~ 4.80(m, 2H, 2OCH), 1.17 ~ 1.39(m, 12H, 4CH<sub>3</sub>)。 <sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 23.6, 23.8, 24.1, 24.4, 72.6, 72.8, 73.5, 119.8, 120.2, 122.0, 122.6, 124.5, 126.6, 133.7, 134.2, 135.5, 135.8, 137.1, 147.1, 158.0, 162.8, 162.9, 166.6, 181.9, 182.5。ESI-MS(*m/z*): 540.0[M + H]<sup>+</sup>。

### 2.3 抗菌活性筛选实验

耐药菌株:耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA),由遵义医学院附属医院分离提供。以苯唑西林(oxacillin)和万古霉素(vancomycin)为对照药物,采用两倍稀释法测定目标物的MIC和MBC,测试方法参照文献[21]。于超净化工作台上,取无菌96孔板,设置阴性对照与阳性对照,从第2列开始,到96孔板后续相对应列,依此倍比稀释法加入药液与耐药菌液,混匀。于恒温箱中37℃培养24h,观察结果,凡外观清晰者均为无菌生长,以无细菌生长的最低药物浓度为该药物的最低抑菌浓度(MIC)。再把上述每排MIC前的各孔用接种环移种于普通琼脂平板作为次生代谢培养,经37℃培养24h,观察结果,以使99.9%微生物致死的药物最低浓度为最低杀菌浓度(MBC)。

## 3 结果与讨论

### 3.1 目标物的合成

以目标物II-1的合成为例,考察不同催化反应条件对收率的影响,试验不同的反应条件制备目标物II-1。第1种方法:取2.0 mmol 大黄酸、2.2 mmol α-羟基磷酸二乙酯加入50 mL的三颈瓶中,再加入20 mL 无水二氯甲烷于反应瓶中,然后于0~5℃下加入2.0 mmol EDCI与1.0 mmol HOBT至三颈瓶中,自然升温到室温条件下反应,TLC跟踪反应;第2种方法:取2.0 mmol 大黄酸、2.2 mmol α-羟基磷酸二乙酯和1.0 mmol 催化介质([Bmim]BF<sub>4</sub>离子液体或[Pmim][HSO<sub>4</sub>]离子液体)加入50 mL的三颈瓶中,再加入20 mL 无水二氯甲烷于反应瓶中,室温条件下反应,TLC跟踪反应;第3种方法:取2.0 mmol 大黄酸、2.2 mmol α-羟基磷酸二乙酯和1.0 mmol 催化介质([Bmim]BF<sub>4</sub>离子液体或[Pmim][HSO<sub>4</sub>]离子液体)加入50 mL的三颈瓶中,再加入20 mL 无水二氯甲烷于反应瓶中,然后于

0~5℃下加入2.0 mmol EDCI与1.0 mmol HOBT至三颈瓶中,自然升温到室温条件下反应,TLC跟踪反应。采用不同的实验方法反应完毕后,按“2.2”所述的步骤进行纯化。以EDCI/HOBT、[Bmim]BF<sub>4</sub>、[Pmim][HSO<sub>4</sub>]、EDCI/HOBT[Bmim]BF<sub>4</sub>、EDCI/HOBT[Pmim][HSO<sub>4</sub>]分别为催化剂,产率分别为31.5%、15.7%、14.0%、83.2%和74.6%。催化缩合剂EDCI/HOBT、酸性离子液体[Bmim]BF<sub>4</sub>和酸性离子液体[Pmim][HSO<sub>4</sub>]都能不同程度的促进该反应的发生,其中以EDCI/HOBT催化的收率最高,到达31.5%,符合该催化体系催化合成酯反应的特点。采用EDCI/HOBT/[Bmim]BF<sub>4</sub>和EDCI/HOBT/[Pmim][HSO<sub>4</sub>]联合催化体系,反应收率有大幅提高,其中以离子液体[Bmim]BF<sub>4</sub>联合体系催化效果最好,收率达83.2%。上述实验结果表明,传统催化体系EDCI/HOBT和酸性离子液体组合,对该反应有协同促进作用,其协同催化机制有待进一步研究证实。

### 3.2 波谱数据

在红外(IR)光谱数据中:3 260~3 460 cm<sup>-1</sup>之间,有强的酚羟基伸缩振动吸收,为一宽峰;1 725~1 740 cm<sup>-1</sup>之间为C=O伸缩振动,有较强吸收;1 386~1 675 cm<sup>-1</sup>之间为苯环C=C骨架振动吸收峰;1 200~1 265 cm<sup>-1</sup>之间有较强的吸收峰,为P=O伸缩振动;P-O-C伸缩振动在995~1 100 cm<sup>-1</sup>之间有较强的吸收峰。

在核磁<sup>1</sup>H-NMR波谱数据中:2个酚羟基的化学位移值在11.90~12.10之间,为2个单峰;芳香环上氢的化学位移值主要集中在7.00~8.70之间,为多重峰,但是芳香环呋喃结构中3、4号位氢的化学位移例外,主要在6.20~6.40之间,为多重峰,符合芳香环上氢的质子吸收规律;与磷原子直接相连的碳原子上的氢,化学位移值在6.20~6.60之间,受耦合的影响,裂分为2个等高双峰。

### 3.3 抗菌活性

该类化合物所测试的MRSA有不同程度的抑制活性,具有潜在的抗MRSA活性,尤以化合物II-3、II-10的活性最佳,其中化合物II-3对所测MRSA的MIC和MBC值分别为128和512 μg·mL<sup>-1</sup>,优于天然产物大黄酸的抗MRSA活性,略优于对照药苯唑西林的抗MRSA活性;化合物II-10对MRSA的MIC和MBC值分别为32和64 μg·mL<sup>-1</sup>,抗MRSA活性明显优于修饰前的大黄酸和对照药苯唑西林。虽然该类化合物的抗MRSA活性低于对照

药万古霉素,但是从表 1 中可以看出,对大黄酸结构改造后,大多数化合物对所测试 MRSA 的活性较大,大黄酸有较大改善,也表明磷酸酯片段的引入,对抗 MRSA 活性有促进作用。该类化合物的抗 MRSA 活性值得深入研究,以获取抗 MRSA 候选化合物。见表 1。

## 4 结 论

一系列新型大黄酸酯衍生物在 EDCl/HOBT 和 [Bmim]<sup>+</sup>BF<sub>4</sub><sup>-</sup> 催化体系下被制备。体外抗 MRSA 活性筛选结果表明,该类衍生物有不同程度的抗 MRSA 活性,其中部分化合物呈现较好的活性,有关该类化合物的结构优化及抗菌机制值得进一步研究。该研究为天然产物大黄酸的结构改造和开发提供了新思路,为新型抗耐药菌药物的研究提供了实验数据和理论依据。

**表 1** 目标化合物对 MRSA 的 MIC ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 与 MBC ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )

**Tab. 1** MIC ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) and MBC ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) values of different target compounds

Compound	R	R <sub>1</sub>	MIC	MBC
II-1	Phenyl	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	1 024	>1 024
II-2	2-Fluorophenyl	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	256	1 024
II-3	4-Fluorophenyl	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	128	512
II-4	2-Furan	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	512	>1 024
II-5	2-Pyridyl	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	256	1 024
II-6	Phenyl	CH <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	>1 024	>1 024
II-7	2-Fluorophenyl	CH <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	512	>1 024
II-8	4-Fluorophenyl	CH <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	256	1 024
II-9	2-Furanyl	CH <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	>1 024	>1 024
II-10	2-Pyridyl	CH <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	32	64
Rhein			512	1 024
Oxacillin			256	512
Vancomycin			2	4

## REFERENCES

[1] LIU C, BAYER A, COSGROVE S E, *et al.* Clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children[J]. *Clin Infect Dis*, 2011, 52(3):282-292.

[2] LEIBLER J H, LEON C, CARDOSO L J P, *et al.* Prevalence and risk factors for MRSA nasal colonization among persons experiencing homelessness in Boston, MA [J]. *J Med Microbiol*, 2017, 66(8):1183-1188.

[3] ZHANG H L, HUANG Z G, QIU Y, *et al.* Optimizing vancomycin regimen in children with MRSA infections based on PK/PD model and monte carlosimulation[J]. *Chin Pharm J* (中国药杂志), 2017, 52(3):217-220.

[4] KALI A. Antibiotics and bioactive natural products in treatment of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: a brief review[J]. *Pharmacogn Rev*, 2015, 9(17):29-34.

[5] SONG H, QIN Y. Advances in the study of anti-MRSA natural products[J]. *Acta Pharm Sin* (药理学报), 2016, 51(5):698-709.

[6] BLACHER E, BEN B B, LEVY A, *et al.* Inhibition of glioma progression by a newly discovered CD38 inhibitor [J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(6):1422-1433.

[7] HU F, XING F L, ZHU G, *et al.* Rhein antagonizes P2X7 receptor in rat peritoneal macrophages [J]. *Sci Rep*, 2015, 5:14012-14015.

[8] CHEN W D, CHANG B C, ZHANG Y, *et al.* Rhein promotes the expression of SIRT1 in kidney tissues of type 2 diabetic rat [J]. *Chin J Cell Mol Imm* (细胞与分子免疫学杂志), 2015, 31(5):615-619.

[9] YANG Y Q, YANG G S. Effect of rhein on proliferation and differentiation of rat preadipocytes [J]. *Chin Pharm J* (中国药杂志), 2007, 42(15):1148-1151.

[10] JOUNG D K. Synergistic effect of rhein in combination with ampicillin or oxacillin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *Exp Ther Med*, 2012, 3(4):608-612.

[11] AZELMAT J, LARENTE J F, GRENIER D. The anthraquinone rhein exhibits synergistic antibacterial activity in association with metronidazole or natural compounds and attenuates virulence gene expression in *Porphyromonas gingivalis* [J]. *Arch Oral Biol*, 2015, 60(2):342-346.

[12] LIU M S, LV P, LIAO R Q, *et al.* Synthesis, characterization and biological activity of rhein-cyclodextrin conjugate [J]. *J Mol Struct*, 2017, 1128:239-244.

[13] CHEN Q H, PI R B, CHEN J K. Advance of the synthesis and pharmacology of rhein and its derivatives [J]. *J Pharm Res* (药理学研究), 2016, 35(3):161-167.

[14] THOMAS G L, SPANDL R J, GLANSDORP F G, *et al.* Anti-MRSA agent discovery using diversity-oriented synthesis [J]. *Angew Chem Int Ed*, 2008, 47(15):2808-2812.

[15] PHILLIPS A M F, BARROS M T, PACHECO M, *et al.* Synthesis and biological evaluation of  $\alpha$ -hydroxyalkylphosphonates as new antimicrobial agents [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, 24(1):49-53.

[16] ABDELGAWAD A, ATEF E, KARZOUN B. Preparation and characterization of bone-targeted vancomycin-loaded liposomes for osteomyelitis treatment; US Patent Application 14/815,360 [P]. 2016-2-4.

[17] SUBEDI Y P, ALFINDEE M N, SHRESTHA J P, *et al.* Synthesis and biological activity investigation of azole and quinone hybridized phosphonates [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2018, 28(18):3034-3037.

[18] YANG J Q, HU Y W, GU Q, *et al.* Synthesis and antibacterial activities of novel phosphonate derivatives containing quinolinone moiety [J]. *Chin J Org Chem* (有机化学), 2014, 34(4):829-834.

[19] YANG J Q, CHEW L, WANG W, *et al.* Synthesis and antibacterial activity of novel 7-phosphoryl quinolone derivatives [J]. *Chin Pharm J* (中国药杂志), 2019, 54(2):86-90.

[20] TEXIER-BOULLET F, FOUCAUD A. Synthesis of 1-hydroxyalkylphosphonic esters on alumina [J]. *Synth*, 1982, 1982(11):916-916.

[21] SHEN G X. *Microbiology and Immunology* (微生物和免疫学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2007:326-328.

(收稿日期:2018-09-02)