

2-芳基取代苯并硫代吡喃酮类化合物的设计、合成及其抗结核活性研究

唐霞霞¹, 李文艺¹, 李鹏¹, 王彬², 陆宇², 黄海洪^{1*}, 李刚^{1*}

(1. 中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 中国医学科学院抗耐药结核创新药物研究重点实验室, 活性物质发现与适药化研究北京市重点实验室, 北京 100050; 2. 北京市结核病胸部肿瘤研究所, 耐药结核病研究北京市重点实验室, 北京 101149)

摘要: 本研究基于前期获得的具有显著抗结核活性的苯并硫代吡喃酮骨架, 设计合成了一系列2位芳基取代的苯并硫代吡喃酮类化合物, 并对其进行了抗结核活性及初步成药性评价。结果表明, 大多数化合物对结核分枝杆菌 H₃₇Rv 具有良好的抑制活性, 其中化合物 **8g**、**8h**、**8q** 和 **9f** 的抗结核活性较强 (MIC = 0.2~0.4 μg·mL⁻¹)。另外, 活性化合物无明显细胞毒性和心脏毒性风险, 化合物 **8h** 和 **8q** 具有良好的肝微粒体代谢稳定性, 对肝药酶 CYP 3A4/5 和 CYP 2C9 无明显抑制作用, 适用于结核病治疗的联合用药方案。

关键词: 2-芳基取代苯并硫代吡喃酮; 设计合成; 抗结核活性; 初步成药性评价

中图分类号: R914 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2024)04-0987-10

Design, synthesis and antituberculosis activity of 2-aryl substituted benzothiopyranone compounds

TANG Xia-xia¹, LI Wen-yi¹, LI Peng¹, WANG Bin², LU Yu², HUANG Hai-hong^{1*}, LI Gang^{1*}

(1. Chinese Academy of Medical Sciences Key Laboratory of Anti-DR TB Innovative Drug Research, Beijing Key Laboratory of Active Substance Discovery and Druggability Evaluation, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China; 2. Beijing Key Laboratory of Drug Resistance Tuberculosis Research, Beijing Tuberculosis and Thoracic Tumor Research Institute, Beijing 101149, China)

Abstract: A novel series of 2-aryl substituted benzothiopyranone compounds was designed and synthesized based on our previously obtained benzothiopyranone scaffold with significant antituberculosis activity. All target compounds were evaluated for their antimycobacterial activity and preliminary druggability was subsequently investigated for some selected compounds with good activity. The results indicated that most compounds showed good activity against *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv. Among them, compounds **8g**, **8h**, **8q** and **9f** showed potent activity with MIC ranged from 0.2 to 0.4 μg·mL⁻¹. Furthermore, some active compounds exhibited low cytotoxicity and cardiotoxicity risk. It is worth noting that compounds **8h** and **8q** with good liver microsome stability and low inhibition of CYPs 3A4/5 and 2C9 were suitable for combination drug regimen to treat tuberculosis.

Key words: 2-aryl substituted benzothiopyranone; design and synthesis; antituberculosis activity; preliminary druggability evaluation

收稿日期: 2023-12-12; 修回日期: 2024-01-04.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82373711); 中国医学科学院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助 (2018PT35026).

*通讯作者 Tel / Fax: 86-10-63165244, E-mail: joyce@imm.ac.cn;

Tel / Fax: 86-10-63165254, E-mail: ligang@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2023-1380

结核病是由结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*, *M. tuberculosis*) 引起的一种危害人类健康和导致人类死亡的重大传染性疾病。世界卫生组织 (WHO) 全球结核病报告显示, 2022 年全球新发结核病患者约 1 060 万, 因结核病死亡的人数约 130 万人, 新冠疫情扭转了结核病死亡人数下降的趋势^[1]。中国是全球结核病高负担和耐多药结核病严重流行的国家之一, 结核病发病数排世界第三位。多药联用是治疗结核病的主要手段, 异烟肼、吡嗪酰胺、乙胺丁醇和利福平相继出现, 使得治疗敏感结核病疗程缩短到 6 个月。然而, 多药耐药结核病 (multidrug-resistant tuberculosis, MDR-TB) 和利福平耐药结核病 (rifampicin-resistant tuberculosis, RR-TB) 等耐药问题日渐严峻。据估计, 新发结核病患者中有 3.3% 为 MDR/RR-TB 患者, 2020 年 MDR/RR-TB 患者治愈率仅为 63%^[1], 临床亟需具有新型骨架和新颖作用机制的抗结核药物以治疗与控制耐药结核病^[2]。

全球抗耐药结核药物研发进展缓慢, 自 1960s 利福平上市以来, 至今仅有 3 个新药用于耐药结核的治疗, 即美国强生公司的贝达喹啉 (bedaquiline)、日本大冢制药公司的德拉马尼 (delamanid) 以及全球结核病药物研发联盟与比尔盖茨基金共同开发的普瑞马尼 (pretomanid)^[3]。其中贝达喹啉作为结核分枝杆菌 ATP 合成酶抑制剂与多种抗结核药物联用都显示出良好的协同杀菌作用, 德拉马尼主要通过抑制分枝杆菌细胞壁的合成发挥作用, 对多种临床分离耐药菌株均有效, 普瑞马尼可以与贝达喹啉和利奈唑胺联用, 治疗特定高度耐药肺结核患者, 但贝达喹啉和德拉马尼均有可能引起心脏 QT 间期延长等不良反应^[4]。目前, 中国还没有自主研发的抗耐药结核新药上市。

具有结核分枝杆菌抑制活性的天然产物结构类型多样, 包括有萜类、生物碱和黄酮等多类化合物, 对研发

抗结核新药具有重要意义^[5]。黄酮类化合物在自然界中广泛存在, 其抗菌、抗病毒、抗炎、抗肿瘤、抗氧化、抗过敏、抗血栓形成和保护肝脏等多种生物活性已被广泛研究^[6-12]。Koysomboon 等^[13]对 *Derris indica* 的根和茎进行提取分离, 得到了 4 种新的黄酮类化合物, 其中化合物 **1** 对结核分枝杆菌 H₃₇Ra 具有良好的抑制作用 (MIC = 12.5 μg·mL⁻¹); Gu 等^[14]从 *Valeriana laxiflora* 中提取得到两种黄酮类化合物 **2** 和 **3**, 均具有一定的体外抗结核作用。此外, 发现多种黄酮类化合物呈现出较强的抗结核活性, 如化合物 **4** 和 **5**, 相比天然产物中提取分离的化合物, 抗结核活性进一步提高 (图 1)^[15]。

结核分枝杆菌细胞壁外膜的阿拉伯半乳糖层及阿拉伯甘露聚糖层的主要组成部分是一种以癸异戊烯磷酸基 β-D-阿拉伯呋喃糖 (DPA) 为重要前体的阿拉伯糖, 研究表明, DPA 主要是在癸异戊烯磷酸基 β-D-核糖-2'-差向异构酶 (DprE1) 参与下差向异构化得到, 抑制 DprE1 的活性可阻碍细胞壁的合成最终达到杀灭结核分枝杆菌的目的^[16]。本课题组前期针对结核分枝杆菌细胞壁合成的关键酶 DprE1 开展了系统的新药发现工作, 运用骨架跃迁的药物分子设计策略, 获得了一类具有显著抗结核活性的苯并硫代吡喃酮类化合物^[17]。目前含有苯并硫代吡喃酮母核的化合物在抗结核领域的研究相对较少, 因此, 将苯并硫代吡喃酮作为优势骨架, 结合黄酮类天然产物及其衍生物的结构特征, 开展更为深入的构效关系研究, 有望获得结构新颖的具有抗结核活性的类天然产物。

本研究基于前期获得的苯并硫代吡喃酮优势骨架, 结合黄酮类化合物具有抗肿瘤、抗菌等多样性生物活性, 在 2 位引入结构多样的苯基和杂芳基, 构建了结构新颖的 2-芳基取代苯并硫代吡喃酮类化合物, 相比苯并吡喃酮母核, 硫原子比氧原子电负性更小, 亲脂性

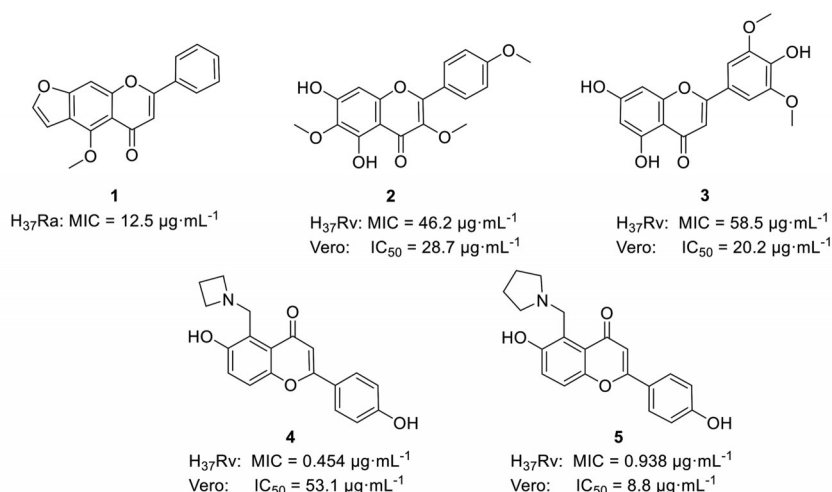


Figure 1 Representative structures and antituberculosis activity of flavone compounds

更强,有利于通过结核分枝杆菌多层次的细胞壁,进而发挥杀菌作用(图2)。结构多样的芳基取代基的引入有利于调节目标化合物的活性和成药性。经过体外抗结核活性和初步成药性评价,发现硫代黄酮类化合物**8h**和**8q**对结核分枝杆菌具有较强的抑制作用,无明显细胞毒性和心脏毒性风险,肝微粒体代谢稳定性良好,对肝药酶主要亚型无明显抑制作用,可作为抗结核先导化合物开展进一步的结构优化工作。

结果与讨论

1 目标化合物的合成

目标化合物**8a~8x**和**9a~9g**采取合成路线1中所示的合成方法获得。中间体**6**参照课题组前期文献^[17]报道的合成方法,即以2-氯-5-三氟甲基苯甲酸为起始原料,经硝化、取代、水解脱羧、合环等多步反应合成乙硫醚中间体**6**,然后通过氧化反应得到关键亚砷中间体**7**,最后与不同类型的芳基硼酸或硼酸酯,通过Suzuki偶联反应^[18]得到目标化合物**8a~8x**和**9a~9g**。

2 活性评价

2.1 体外抗结核活性和细胞毒性考察 本实验所有目标化合物均采用Microplate Alamar Blue Assay (MABA)法测定体外抗结核活性,采用MTT法考察化合物对Vero细胞的毒性。选取异烟肼(isoniazid, INH)为阳性对照,对所合成的目标化合物**8a~8x**和**9a~9g**进行了结核分枝杆菌标准菌株H₃₇Rv的抑制作用研究,选取抑菌作用强的化合物进行了Vero细胞毒性评价。

结果显示,13个目标化合物呈现出明显的体外抗结核活性(MIC < 5 μg·mL⁻¹),4个化合物具有较强的抗结核作用(MIC < 0.5 μg·mL⁻¹)和较低的细胞毒性(IC₅₀ > 64 μg·mL⁻¹),相关活性结果见表1和2。

如表1所示,将苯基引入苯并硫代吡喃酮2位,得到硫代黄酮类化合物**8a**,无抗结核活性,在苯环R₂取代基中引入甲基后,化合物**8b**具有明显的抗结核活性(MIC = 1.7 μg·mL⁻¹)。当R₂改为体积更大的乙基时,活性丧失(**8c**),将乙基调整到苯环R₃取代基中,化合物**8d**显示出明显的抗结核活性(MIC = 1.1 μg·mL⁻¹)。在此基础上,进一步合成了不同体积大小的脂肪取代基化合物**8e~8k**。当R₂为H时,R₃分别为丙基(**8e**)、异丙基(**8f**)和异丁基(**8i**)取代的化合物能够保持活性,丁基(**8g**, MIC = 0.3 μg·mL⁻¹)和仲丁基(**8h**, MIC = 0.4 μg·mL⁻¹)取代的化合物能够显著提高活性,并且无明显细胞毒性(IC₅₀ > 64 μg·mL⁻¹)。当R₃为体积更大的叔丁基(**8j**)和环己基(**8k**)时,活性丧失。为了提高活性和改善硫代黄酮类化合物的成药性^[19,20],通过在苯环R₂和R₃取代基中引入卤原子,进而设计合成了卤素取代的化合物**8l~8r**。大部分卤代化合物具有明显的抗结核活性,其中化合物**8q**(MIC = 0.2 μg·mL⁻¹)和**8r**(MIC = 0.5 μg·mL⁻¹)的活性显著提高,且无明显细胞毒性(IC₅₀ > 64 μg·mL⁻¹)。进一步考察了取代基的电性对活性的影响,研究发现苯环上带有强给电子基取代的化合物**8s**(R₃为羟基)和**8t**(R₃为甲氧基),或带有强吸电子基取代的化合物**8u**(R₃为三

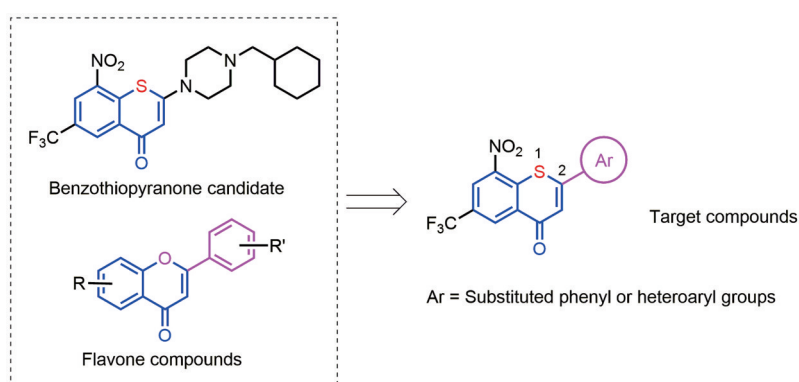
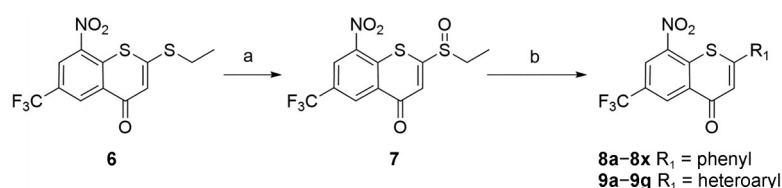


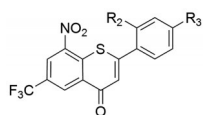
Figure 2 Design strategy of 2-aryl substituted benzothiopyranone compounds



Scheme 1 Synthetic route to 2-aryl substituted benzothiopyranone compounds. Reagents and conditions: a. H₂O₂, AcOH, 60 °C, 12 h; b. ArB(OH)₂/ArBPIn, XPhos, Pd(OAc)₂, Zn(OTf)₂, DMF, 80 °C, 6 h; **9b** was synthesized from **9a** in 30% sodium methylate solution

氟甲基)无活性 ($MIC \geq 32 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 而带有体积较大的乙酰基取代的化合物 **8v** 具有较强的活性 ($MIC = 0.9 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)。最后通过引入体积较大的极性基团, 考察氮杂环的引入对活性的影响, 发现哌啶甲基取代的化合物 **8w** ($MIC = 0.5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 具有良好的抗结核活性。

Table 1 The biological activities of target compounds (**8a–8x**) against *M. tuberculosis* H₃₇Rv and Vero cell lines *in vitro*. MIC: Minimum inhibitory concentration; INH: Isoniazid; IC₅₀: Half maximal inhibitory concentration; -: Not determined

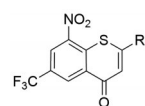


Compd.	R ₂	R ₃	H ₃₇ Rv MIC/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	Vero IC ₅₀ / $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
8a	-H	-H	>32	-
8b	-CH ₃	-H	1.7	-
8c	-CH ₂ CH ₃	-H	>32	-
8d	-H	-CH ₂ CH ₃	1.1	-
8e	-H		2.0	-
8f	-H		4.0	-
8g	-H		0.3	>64
8h	-H		0.4	>64
8i	-H		1.0	-
8j	-H		>32	-
8k	-H		>32	-
8l	-H	-F	31.7	-
8m	-H	-Cl	14.2	-
8n	-H	-Br	6.8	-
8o	-CH ₃	-F	1.9	-
8p	-F	-F	>32	-
8q	-Cl	-Cl	0.2	>64
8r	-Cl	-F	0.5	>64
8s	-H	-OH	>32	-
8t	-H	-OCH ₃	>32	-
8u	-H	-CF ₃	32.0	-
8v	-H		0.9	>64
8w	-H		0.5	-
8x	-H		3.9	-
INH	-	-	0.07	-

为进一步发现结构更加新颖、具有抗结核活性和成药性的苯并硫代吡喃酮类化合物, 在母核 2 位引入了不同类型的杂芳基, 设计合成了目标化合物 **9a~9g** (表 2)。结果显示, 含五元杂芳基的化合物 **9a~9c** 具有中等到良好的抗结核活性, 其中带有大体积取代吡咯环的化合物 **9a** 具有最优的活性 ($MIC = 0.2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)

和较低的细胞毒性 ($IC_{50} > 64 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)。六元杂芳基取代的化合物 **9d** 和 **9e** 均呈现良好的抗结核作用, 但同时显示出一定的细胞毒性。带有体积更大的喹啉基团化合物 **9f** ($MIC = 0.2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 的抗结核活性优于含有体积稍小的吡啶基团化合物 **9g** ($MIC = 7.7 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 且无细胞毒性作用, 值得开展初步成药性评价。

Table 2 The biological activities of target compounds (**9a–9g**) against *M. tuberculosis* H₃₇Rv and Vero cell lines *in vitro*. MIC: Minimum inhibitory concentration; INH: Isoniazid; IC₅₀: Half maximal inhibitory concentration; -: Not determined



Compd.	R ₁	H ₃₇ Rv MIC/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	Vero IC ₅₀ / $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
9a		0.2	>64
9b		32.0	-
9c		1.0	>64
9d		0.9	42.8
9e		0.5	39.3
9f		0.2	>64
9g		7.7	-
INH	-	0.07	-

2.2 初步成药性评价 选取具有较强抗结核活性和较低细胞毒性的化合物 **8g**、**8h**、**8q** 和 **9f** 进行了肝微粒体代谢稳定性、hERG K⁺通道抑制活性以及肝药酶 CYPs 3A4/5 和 2C9 抑制作用评价, 初步考察了优选化合物的成药性 (表 3)。结果显示, 苯并硫代吡喃酮的苯环上含有仲丁基取代的化合物 **8h** 和二氯取代的化合物 **8q** 在小鼠和人源肝微粒体中均呈现出良好的稳定性, 优于正丁基取代化合物 **8g** 和苯并硫代吡喃酮的 2 位为喹啉基的化合物 **9f**, 其中化合物 **8h** 在小鼠肝微粒体中最稳定 ($t_{1/2} > 93.2 \text{ min}$), 而化合物 **8q** 在人源肝微粒体中最稳定 ($t_{1/2} = 53.5 \text{ min}$)。以上化合物均未发现明显的 hERG K⁺通道抑制作用 ($IC_{50} > 10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 预示所合成化合物的潜在心脏毒性风险较低。选择代谢稳定性更优的 **8h** 和 **8q** 开展对主要肝药酶的抑制作用评价, 结果显示这两个化合物对 CYPs 3A4/5 和 2C9 均无明显抑制作用 ($IC_{50} > 50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 提示所合成化合物发生药物-药物相互作用的风险较低, 适用于结核

Table 3 Liver microsome stability, CYP and hERG K⁺ channel inhibition of selected compounds. $t_{1/2}$: Half-life; % remaining: Substrate concentrations were determined in incubations after 30 min and normalized to concentrations at time zero; -: Not determined

No.	Mouse		Human		CYP inhibition IC ₅₀ /μmol·L ⁻¹		hERG K ⁺ IC ₅₀ /μmol·L ⁻¹
	$t_{1/2}$ /min	% remaining	$t_{1/2}$ /min	% remaining	3A4/5	2C9	
8g	7.2	5.6	33.6	53.8	-	-	-
8h	>93.2	80.1	40.6	59.9	>50	>50	>10
8q	29.5	49.4	53.5	67.8	>50	>50	>10
9f	<4.5	0.1	14.2	23.1	-	-	>10

病的联合用药治疗。

小结

综上所述, 本文基于前期发现的具有抗结核活性的苯并硫代吡喃酮优势骨架, 结合黄酮类化合物具有抗肿瘤、抗菌等多样性生物活性, 设计合成了一系列结构新颖的2-芳基取代的苯并硫代吡喃酮类化合物31个, 考察了目标化合物的体外抗结核活性和初步成药性, 探索了构效关系规律。研究发现大部分化合物呈现一定的抑制结核分枝杆菌作用, 其中硫代黄酮类化合物**8h**和**8q**相比文献中报道的黄酮类化合物抗结核活性增强, 细胞毒性减弱, 无潜在心脏毒性风险, 具有良好的成药性, 值得开展进一步研究。以上结果为硫代黄酮类化合物在抗结核药物研发领域的应用奠定了基础。

实验部分

熔点仪用日本 Yanaco M.P-J3 型熔点测定仪, 温度未校正。液质联用仪为 Agilent 1100 series LC/MSD trap mass spectrometer (ESI-MS)。核磁共振仪为 BRUKER-400 或 600 型核磁共振仪。快速制备液相色谱仪为 Biotage isolera one 型制备色谱仪, 使用预装硅胶柱 (12 g, 40~60 μm, 60 Å) 购自北京橙达仪器有限公司。硅胶板 (HSGF₂₅₄ 型) 购自烟台化学工业研究所。紫外分析仪 (ZF-5 型) 254 nm 显色。所有溶剂均为市售化学纯或分析纯, 无特殊说明, 一般不经纯化处理直接使用。

1 化学部分

1.1 中间体的合成 中间体**6**的合成 参考本课题组前期的相关文献^[7]合成, 得到黄色固体, mp: 88~90 °C, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.12 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.84 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 6.98 (s, 1H), 3.21 (q, $J = 7.6$ Hz, 2H), 1.47 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H)。

中间体**7**的合成 将中间体**6** (503 mg, 1.5 mmol) 溶于 1.5 mL 乙酸中, 加入 1 mol·L⁻¹ 的双氧水/乙酸溶液 (1.8 mL, 1.8 mmol), 在 60 °C 下反应 12 h, TLC 检测 (乙酸乙酯:石油醚 = 1:4) 原料基本反应完全。加入 50 mL

蒸馏水后用二氯甲烷 (25 mL×2) 萃取, 合并有机相, 水洗两次后, 依次用饱和硫代硫酸钠溶液, 饱和碳酸氢钠水溶液及饱和氯化钠水溶液洗涤一次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 硅胶柱色谱分离 (乙酸乙酯:石油醚 = 20:80), 得到黄色固体 490 mg, 收率: 50%。mp: 133~135 °C, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.18 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.94 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.46 (s, 1H), 3.32~3.22 (m, 1H), 3.11~3.01 (m, 1H), 1.39 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H)。

1.2 目标化合物 8a~8x 的合成 目标化合物**8a**的合成 将中间体**7** (200 mg, 0.57 mmol) 溶于 5 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 依次加入苯硼酸 (139 mg, 1.14 mmol)、Pd(OAc)₂ (14 mg, 0.057 mmol)、XPhos (28 mg, 0.057 mmol) 和 Zn(OTf)₂ (44 mg, 0.114 mmol), 氩气保护下, 在 80 °C 加热条件下反应 6 h。TLC 检测 (乙酸乙酯:石油醚 = 1:4) 大部分原料反应完全后, 将反应液倾倒入 25 mL 蒸馏水中, 乙酸乙酯 (15 mL×2) 萃取, 合并有机相, 饱和氯化钠溶液洗涤两次, 水洗两次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 硅胶柱色谱分离 (二氯甲烷:石油醚 = 50:50) 得到黄色固体 120 mg, 产率 60%。mp: 194~195 °C, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.02 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.97 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.89~7.85 (m, 2H), 7.69~7.64 (m, 2H), 7.64~7.60 (m, 1H), 7.43 (s, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 177.5, 153.7, 145.4, 137.5, 135.2, 133.1, 131.8, 130.7 ($J_{F,C} = 3$ Hz), 129.7, 127.6 ($J_{F,C} = 29$ Hz), 127.2, 126.5 ($J_{F,C} = 3$ Hz), 122.7, 122.7 ($J_{F,C} = 226$ Hz)。HR-MS-ESI: m/z C₁₆H₉O₃NF₃S [M+H]⁺ 计算值 352.024 97, 测量值 352.024 87。

目标化合物**8b**的合成 以 2-甲基苯硼酸为原料, 按照化合物**8a**的合成方法得黄色固体, 产率 15%。mp: 145~147 °C, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.98 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.97 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.47~7.33 (m, 4H), 7.07 (s, 1H), 2.32 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 178.1, 156.0, 144.9, 138.8, 136.0, 135.1, 134.2, 132.6 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 131.3, 130.7, 129.6 ($J_{F,C} = 35$ Hz), 129.2, 126.5, 126.3 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 126.1, 122.6 ($J_{F,C} = 271$ Hz), 20.0。HR-MS-ESI: m/z C₁₇H₁₁O₃NF₃S [M+H]⁺ 计算值 366.040 63, 测量值 366.040 83。

目标化合物 **8c** 的合成 以 2-乙基苯硼酸为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 30%。mp: 162~163 °C, $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 9.24 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.91 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.51~7.45 (m, 1H), 7.41~7.39 (m, 1H), 7.33 (brs, 1H), 7.32 (brs, 1H), 7.03 (s, 1H), 2.72 (q, $J = 7.6$ Hz, 2H), 1.23 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 178.0, 156.1, 144.8, 142.2, 138.8, 134.6, 134.2, 132.6 ($J_{\text{F,C}} = 4$ Hz), 130.9, 129.6, 129.6 ($J_{\text{F,C}} = 35$ Hz), 129.4, 126.4, 126.3 ($J_{\text{F,C}} = 4$ Hz), 126.1, 122.6 ($J_{\text{F,C}} = 272$ Hz), 26.2, 16.0。HR-MS-ESI: m/z $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{O}_3\text{NF}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 380.056 28, 测量值 380.056 03。

目标化合物 **8d** 的合成 以 4-乙基苯硼酸为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 11%。mp: 155~156 °C, $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 9.21 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.89 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.70~7.63 (m, 2H), 7.42~7.36 (m, 2H), 7.28 (s, 1H), 2.75 (q, $J = 7.6$ Hz, 2H), 1.30 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 178.3, 155.3, 148.9, 145.1, 138.3, 134.2, 133.2, 132.5 ($J_{\text{F,C}} = 4$ Hz), 129.5 ($J_{\text{F,C}} = 36$ Hz), 129.3, 127.4, 126.3 ($J_{\text{F,C}} = 4$ Hz), 122.7, 122.6 ($J_{\text{F,C}} = 271$ Hz), 28.9, 15.4。HR-MS-ESI: m/z $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{O}_3\text{NF}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 380.056 28, 测量值 380.056 03。

目标化合物 **8e** 的合成 以 4-丙基苯硼酸为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 54%。mp: 147~148 °C, $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 9.20 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.89 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.68~7.63 (m, 2H), 7.39~7.34 (m, 2H), 7.28 (s, 1H), 2.72~2.65 (m, 2H), 1.75~1.66 (m, 2H), 0.98 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 178.3, 155.3, 147.4, 145.1, 138.3, 134.2, 133.2, 132.5 ($J_{\text{F,C}} = 4$ Hz), 129.8, 129.5 ($J_{\text{F,C}} = 35$ Hz), 127.3, 126.3 ($J_{\text{F,C}} = 4$ Hz), 122.7, 122.6 ($J_{\text{F,C}} = 271$ Hz), 38.0, 24.4, 13.9。HR-MS-ESI: m/z $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{O}_3\text{NF}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 394.071 93, 测量值 394.071 63。

目标化合物 **8f** 的合成 以 4-异丙基苯硼酸为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 60%。mp: 159~160 °C, $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 9.21 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 7.68 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.42 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.28 (s, 1H), 3.04~2.99 (m, 1H), 1.31 (d, $J = 6.8$ Hz, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 178.3, 155.3, 153.4, 145.1, 138.3, 134.2, 133.3, 132.4 ($J_{\text{F,C}} = 4$ Hz), 129.5 ($J_{\text{F,C}} = 35$ Hz), 127.9, 127.4, 126.2 ($J_{\text{F,C}} = 4$ Hz), 122.7, 122.6 ($J_{\text{F,C}} = 271$ Hz), 34.3, 23.9。HR-MS-ESI: m/z $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{O}_3\text{NF}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 394.071 93, 测量值

394.071 75。

目标化合物 **8g** 的合成 以 4-正丁基苯硼酸为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 34%。mp: 143~144 °C, $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 9.19 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.87 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.64 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.35 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.27 (s, 1H), 2.73~2.66 (m, 2H), 1.68~1.60 (m, 2H), 1.43~1.34 (m, 2H), 0.94 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 178.4, 155.3, 147.6, 145.1, 138.3, 134.2, 133.1, 132.5 ($J_{\text{F,C}} = 4$ Hz), 129.8, 129.5 ($J_{\text{F,C}} = 35$ Hz), 127.3, 126.3 ($J_{\text{F,C}} = 4$ Hz), 122.7, 122.6 ($J_{\text{F,C}} = 271$ Hz), 35.7, 33.5, 22.5, 14.1。HR-MS-ESI: m/z $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{O}_3\text{NF}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 408.087 58, 测量值 408.086 58。

目标化合物 **8h** 的合成 以 4-(1-甲基丙基)苯硼酸为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 17%。mp: 128~129 °C, $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.01 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.97 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.83~7.79 (m, 2H), 7.49~7.44 (m, 2H), 7.43 (s, 1H), 2.72 (q, $J = 6.8$ Hz, 1H), 1.65~1.68 (m, 2H), 1.24 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 0.80 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 177.6, 153.8, 151.6, 145.4, 137.6, 133.2, 132.8, 130.7 ($J_{\text{F,C}} = 4$ Hz), 128.3, 127.6 ($J_{\text{F,C}} = 34$ Hz), 127.2, 126.5 ($J_{\text{F,C}} = 4$ Hz), 122.6 ($J_{\text{F,C}} = 271$ Hz), 122.1, 40.8, 30.3, 21.5, 12.1。HR-MS-ESI: m/z $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{O}_3\text{NF}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 408.087 58, 测量值 408.087 62。

目标化合物 **8i** 的合成 以 4-异丁基苯硼酸为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 73%。mp: 160~161 °C, $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.01 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.97 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.80 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.42 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.43 (s, 1H), 2.56 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.96 ~ 1.86 (m, 1H), 0.90 (d, $J = 6.8$ Hz, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 178.3, 155.3, 146.4, 145.1, 138.3, 134.2, 133.2, 132.5 ($J_{\text{F,C}} = 34$ Hz), 130.5, 129.5 ($J_{\text{F,C}} = 35$ Hz), 127.2, 126.3 ($J_{\text{F,C}} = 4$ Hz), 122.7, 122.6 ($J_{\text{F,C}} = 271$ Hz), 45.3, 30.3, 22.5。HR-MS-ESI: m/z $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{O}_3\text{NF}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 408.087 58, 测量值 408.089 36。

目标化合物 **8j** 的合成 以 4-叔丁基苯硼酸为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 45%。mp: 172~173 °C, $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 9.21 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.89 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.69 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.58 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.29 (s, 1H), 1.38 (s, 9H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 177.5, 154.8, 153.6, 145.4, 137.5, 133.1, 132.4, 130.6 ($J_{\text{F,C}} = 4$ Hz), 127.5 ($J_{\text{F,C}} = 34$ Hz), 127.0, 126.5, 126.5 ($J_{\text{F,C}} = 4$ Hz),

122.7 ($J_{F,C} = 271$ Hz), 122.1, 34.8, 30.8。HR-MS-ESI: m/z $C_{20}H_{17}O_3NF_3S$ $[M+H]^+$ 计算值 408.087 58, 测量值 408.088 56。

目标化合物 **8k** 的合成 以 4-环己基苯硼酸为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 18%。mp: 200~201 °C, 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.20 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.88 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.72~7.63 (m, 2H), 7.43~7.36 (m, 2H), 7.27 (s, 1H), 2.67~2.54 (m, 1H), 1.98~1.83 (m, 4H), 1.52~1.39 (m, 4H), 1.36~1.20 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 178.3, 155.3, 152.6, 145.1, 138.3, 134.2, 133.2, 132.4 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 129.5 ($J_{F,C} = 35$ Hz), 128.2, 127.3, 126.2 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 122.7, 122.7 ($J_{F,C} = 271$ Hz), 44.6, 34.3, 26.8, 26.1。HR-MS-ESI: m/z $C_{22}H_{19}O_3NF_3S$ $[M+H]^+$ 计算值 434.103 23, 测量值 434.102 75。

目标化合物 **8l** 的合成 以 4-氟苯硼酸为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 27%。mp: 192~193 °C, 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 9.02 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.97 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.95 (brs, 2H), 7.47 (brs, 2H), 7.44 (s, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 178.2, 165.0 ($J_{F,C} = 252$ Hz), 154.0, 145.1, 137.9, 134.1, 132.5 ($J_{F,C} = 3$ Hz), 132.0 ($J_{F,C} = 3$ Hz), 129.6 ($J_{F,C} = 9$ Hz), 129.7 ($J_{F,C} = 35$ Hz), 126.4 ($J_{F,C} = 3$ Hz), 123.3, 122.6 ($J_{F,C} = 271$ Hz), 117.0 ($J_{F,C} = 22$ Hz)。HR-MS-ESI: m/z $C_{16}H_8O_3NF_4S$ $[M+H]^+$ 计算值 370.015 55, 测量值 370.017 09。

目标化合物 **8m** 的合成 以 4-氯苯硼酸为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 46%。mp: 187~188 °C, 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 9.02 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.96 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.92~7.87 (m, 2H), 7.71~7.65 (m, 2H), 7.45 (s, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 178.2, 153.8, 145.1, 138.3, 137.9, 134.2, 134.1, 132.5 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 130.0, 129.8 ($J_{F,C} = 35$ Hz), 128.7, 126.4 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 123.5, 122.6 ($J_{F,C} = 271$ Hz)。HR-MS-ESI: m/z $C_{16}H_8O_3NClF_3S$ $[M+H]^+$ 计算值 385.986 00, 测量值 385.984 59。

目标化合物 **8n** 的合成 以 4-溴苯硼酸为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 21%。mp: 169~171 °C, 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 8.98 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.93 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.82~7.80 (m, 4H), 7.43 (s, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, $DMSO-d_6$) δ 177.5, 152.3, 145.3, 137.2, 134.3, 133.0, 132.6, 130.7 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 129.2, 127.7 ($J_{F,C} = 35$ Hz), 126.6 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 125.5, 122.9, 122.6 ($J_{F,C} = 271$ Hz)。HR-MS-ESI: m/z $C_{16}H_8O_3NBrF_3S$ $[M+H]^+$ 计算值 429.935 49, 测

量值 429.936 77。

目标化合物 **8o** 的合成 以 4-氟-2-甲基苯硼酸为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 65%。mp: 141~143 °C, 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 8.98 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.96 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.49~7.45 (m, 1H), 7.30~7.27 (m, 1H), 7.22~7.17 (m, 1H), 7.08 (s, 1H), 2.33 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 178.0, 163.9 ($J_{F,C} = 250$ Hz), 155.0, 144.9, 139.0 ($J_{F,C} = 9$ Hz), 138.7, 134.2, 132.7 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 131.2 ($J_{F,C} = 9$ Hz), 131.2 ($J_{F,C} = 3$ Hz), 129.7 ($J_{F,C} = 35$ Hz), 126.5, 126.4 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 122.6 ($J_{F,C} = 271$ Hz), 118.2 ($J_{F,C} = 22$ Hz), 113.8 ($J_{F,C} = 22$ Hz), 20.2。HR-MS-ESI: m/z $C_{17}H_{10}O_3NF_4S$ $[M+H]^+$ 计算值 384.031 20, 测量值 384.030 21。

目标化合物 **8p** 的合成 以 2,4-二氟苯硼酸为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 43%。mp: 186~187 °C, 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.22 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.91 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.63~7.58 (m, 1H), 7.22 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 7.12~7.01 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 178.0, 164.8 ($J_{F,C} = 254$ Hz, $J_{F,C} = 12$ Hz), 160.0 ($J_{F,C} = 255$ Hz, $J_{F,C} = 12$ Hz), 148.4 ($J_{F,C} = 2$ Hz), 144.9, 138.2, 134.0, 132.7 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 131.5 ($J_{F,C} = 10$ Hz, $J_{F,C} = 3$ Hz), 129.8 ($J_{F,C} = 35$ Hz), 126.9 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 126.5 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 122.5 ($J_{F,C} = 272$ Hz), 120.0 ($J_{F,C} = 13$ Hz, $J_{F,C} = 4$ Hz), 112.8 ($J_{F,C} = 22$ Hz, $J_{F,C} = 4$ Hz), 105.7 ($J_{F,C} = 25$ Hz)。HR-MS-ESI: m/z $C_{16}H_7O_3NF_5S$ $[M+H]^+$ 计算值 388.006 13, 测量值 388.007 66。

目标化合物 **8q** 的合成 以 2,4-二氯苯硼酸为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 24%。mp: 132~133 °C, 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 9.04 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 9.00 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.93 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.70 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.67 (dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz, 1H), 7.23 (s, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 177.9, 151.8, 144.9, 138.4, 137.7, 134.1, 133.8, 132.7 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 132.7, 131.6, 130.8, 129.8 ($J_{F,C} = 36$ Hz), 128.0, 127.3, 126.5 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 122.6 ($J_{F,C} = 271$ Hz)。HR-MS-ESI: m/z $C_{16}H_7O_3NCl_2F_3S$ $[M+H]^+$ 计算值 419.947 03, 测量值 419.947 69。

目标化合物 **8r** 的合成 以 2-氯-4-氟苯硼酸为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 42%。mp: 172~174 °C, 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 9.04 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 9.01 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.79~7.73 (m, 2H), 7.48 (td, $J = 8.4, 2.4$ Hz, 1H), 7.23 (s, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 178.3, 164.1 ($J_{F,C} =$

254 Hz), 152.3, 145.2, 138.9, 134.6 ($J_{F,C} = 11$ Hz), 134.5, 133.1 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 132.6 ($J_{F,C} = 9$ Hz), 130.8 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 130.2 ($J_{F,C} = 35$ Hz), 127.9, 126.8 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 122.9 ($J_{F,C} = 272$ Hz), 118.8 ($J_{F,C} = 25$ Hz), 115.5 ($J_{F,C} = 22$ Hz)。HR-MS-ESI: m/z $C_{16}H_7O_3NCIF_4S$ $[M+H]^+$ 计算值 403.976 58, 测量值 403.978 30。

目标化合物 **8s** 的合成 以 4-羟基苯硼酸为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 19%。mp: 254~255 °C, 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10.34 (s, 1H), 8.93 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.90 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.71 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.28 (s, 1H), 6.93 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 177.3, 161.1, 153.6, 145.3, 137.4, 133.1, 130.5 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 128.9, 127.4 ($J_{F,C} = 34$ Hz), 126.3 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 125.5, 122.7 ($J_{F,C} = 271$ Hz), 120.3, 116.5。HR-MS-ESI: m/z $C_{16}H_9O_4NF_3S$ $[M+H]^+$ 计算值 368.019 89, 测量值 368.018 52。

目标化合物 **8t** 的合成 以 4-甲氧基苯硼酸为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 41%。mp: 183~184 °C, 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.00 (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 7.78 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.43 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.41 (s, 1H), 2.41 (s, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ 177.5, 153.6, 145.4, 142.1, 137.5, 133.1, 132.3, 130.6 ($J_{F,C} = 3$ Hz), 130.3, 127.5 ($J_{F,C} = 29$ Hz), 127.0, 126.5 ($J_{F,C} = 3$ Hz), 122.7 ($J_{F,C} = 226$ Hz), 122.0, 20.9。HR-MS-ESI: m/z $C_{17}H_{11}O_4NF_3S$ $[M+H]^+$ 计算值 382.035 54, 测量值 382.037 20。

目标化合物 **8u** 的合成 以 4-三氟甲基苯硼酸为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 30%。mp: 175~176 °C, 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.22 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.93 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.87~7.82 (m, 4H), 7.30 (s, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 178.1, 153.5, 145.1, 139.2, 137.8, 134.1, 133.6 ($J_{F,C} = 33$ Hz), 132.6 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 130.0 ($J_{F,C} = 35$ Hz), 128.0, 126.7 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 126.6 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 124.4, 123.6 ($J_{F,C} = 271$ Hz), 122.5 ($J_{F,C} = 271$ Hz)。HR-MS-ESI: m/z $C_{17}H_8O_3NF_6S$ $[M+H]^+$ 计算值 420.012 36, 测量值 420.014 13。

目标化合物 **8v** 的合成 以 4-乙酰基苯硼酸为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 50%。mp: 158~160 °C, 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 9.03 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.15 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 8.02 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.52 (s, 1H), 2.66 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 197.7, 197.0, 178.1, 153.8, 144.4, 139.8, 136.7, 134.1, 132.5 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 129.8 ($J_{F,C} =$

35 Hz), 129.1, 127.5, 126.5 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 124.1, 122.5 ($J_{F,C} = 272$ Hz), 26.8。HR-MS-ESI: m/z $C_{18}H_{11}O_4NF_3S$ $[M+H]^+$ 计算值 394.035 54, 测量值 394.036 01。

目标化合物 **8w** 的合成 以 4-(哌啶甲基)苯硼酸频哪醇酯为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 61%。mp: 201~202 °C, 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.11 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.88 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.47~7.45 (m, 2H), 7.11 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.32 (s, 1H), 3.53 (brs, 2H), 2.42 (brs, 4H), 1.56 (brs, 4H), 1.47 (brs, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 179.3, 172.3, 151.7, 144.7, 135.9, 135.4, 133.9, 132.5 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 131.5, 129.5 ($J_{F,C} = 35$ Hz), 126.4 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 122.6 ($J_{F,C} = 271$ Hz), 120.8, 107.3, 62.8, 54.5, 25.8, 24.2。HR-MS-ESI: m/z $C_{22}H_{20}O_3N_2F_3S$ $[M+H]^+$ 计算值 449.114 12, 测量值 449.114 87。

目标化合物 **8x** 的合成 以 4-(4-甲基-1-哌啶甲基)苯硼酸频哪醇酯为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 11%。mp: 149~150 °C, 1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 9.09 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.99 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.80 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.60 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.28 (s, 1H), 3.73 (s, 2H), 3.18 (brs, 4H), 2.79 (brs, 4H), 2.76 (s, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 179.8, 156.6, 146.8, 139.3, 136.4, 135.0, 132.4 ($J_{F,C} = 3$ Hz), 131.4, 130.2 ($J_{F,C} = 29$ Hz), 128.5, 127.4 ($J_{F,C} = 3$ Hz), 124.2 ($J_{F,C} = 225$ Hz), 123.7, 122.1, 62.2, 55.1, 51.5, 44.0。HR-MS-ESI: m/z $C_{22}H_{21}O_3N_2F_3S$ $[M+H]^+$ 计算值 464.125 02, 测量值 464.125 73。

1.3 目标化合物 9a~9g 的合成 目标化合物 **9a** 的合成 以 1-Boc-吡咯-2-硼酸为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 5%。mp: 110~111 °C。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.19 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.89 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.48 (dd, $J = 3.2, 1.6$ Hz, 1H), 7.05 (s, 1H), 6.63 (dd, $J = 3.2, 1.6$ Hz, 1H), 6.33 (t, $J = 3.2$ Hz, 1H), 1.50 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 178.1, 148.1, 147.9, 144.7, 138.7, 134.2, 132.6 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 129.3 ($J_{F,C} = 35$ Hz), 127.6, 126.3, 126.3 ($J_{F,C} = 4$ Hz), 125.8, 122.6 ($J_{F,C} = 271$ Hz), 119.4, 111.7, 85.8, 27.9。HR-MS-ESI: m/z $C_{19}H_{16}O_5N_2F_3S$ $[M+H]^+$ 计算值 441.072 65, 测量值 441.072 97。

目标化合物 **9b** 的合成 将化合物 **9a** (40 mg, 0.091 mmol) 溶于 1 mL 四氢呋喃溶液, 加入 30% 甲醇钠的甲醇溶液 (17 μ L, 0.091 mmol), 在室温下反应 0.5 h, TLC 监测 (二氯甲烷: 甲醇 = 20:1) 底物反应完全后, 将反应液的溶剂蒸干, 加入 10 mL 蒸馏水后用二氯甲烷萃取 (5 mL \times 3), 合并有机相, 饱和氯化钠溶液

洗涤两次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩后用正己烷搅洗, 过滤干燥得到黄色固体 22 mg, 产率 72%。mp: > 210 °C, $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 12.22 (brs, 1H), 8.89 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.25~7.24 (m, 1H), 7.00 (dd, $J = 3.6, 1.2$ Hz, 1H), 6.32 (dd, $J = 3.6, 2.4$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 176.7, 145.1, 144.6, 137.2, 133.4, 130.0 ($J_{\text{F,C}} = 3$ Hz), 129.6, 127.0 ($J_{\text{F,C}} = 29$ Hz), 126.3, 126.1 ($J_{\text{F,C}} = 3$ Hz), 122.7 ($J_{\text{F,C}} = 226$ Hz), 114.4, 113.1, 111.5。HR-MS-ESI: m/z $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{O}_3\text{N}_2\text{F}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 341.020 22, 测量值 341.020 11。

目标化合物 **9c** 的合成 以呋喃-2-硼酸为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 23%。mp: 186~187 °C。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8.95 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 8.10 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.59 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 7.44 (s, 1H), 6.81 (dd, $J = 3.6, 2.0$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 177.8, 148.2, 146.6, 145.0, 142.4, 137.1, 134.3, 123.3 ($J_{\text{F,C}} = 4$ Hz), 129.5 ($J_{\text{F,C}} = 35$ Hz), 126.4 ($J_{\text{F,C}} = 4$ Hz), 122.6 ($J_{\text{F,C}} = 271$ Hz), 118.3, 113.7, 113.3。HR-MS-ESI: m/z $\text{C}_{14}\text{H}_7\text{O}_4\text{NF}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 342.004 24, 测量值 342.004 18。

目标化合物 **9d** 的合成 以 2-氯吡啶-3-硼酸为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 21%。mp: 140~141 °C, $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 9.23 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.94 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.60 (dd, $J = 4.8, 2.0$ Hz, 1H), 7.83 (dd, $J = 7.6, 2.0$ Hz, 1H), 7.45 (dd, $J = 7.6, 4.8$ Hz, 1H), 7.13 (s, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 177.7, 151.7, 150.9, 149.4, 144.8, 139.4, 138.2, 134.0, 132.7 ($J_{\text{F,C}} = 3$ Hz), 131.0, 129.9 ($J_{\text{F,C}} = 29$ Hz), 127.4, 126.6 ($J_{\text{F,C}} = 3$ Hz), 122.8, 122.5 ($J_{\text{F,C}} = 226$ Hz); HR-MS-ESI: m/z $\text{C}_{15}\text{H}_7\text{O}_3\text{N}_2\text{ClF}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 386.981 25, 测量值 386.980 93。

目标化合物 **9e** 的合成 以 5-噻啶硼酸为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 22%。mp: 170~171 °C, $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 9.38 (s, 1H), 9.24 (s, 2H), 9.01 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.96 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.59 (s, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 177.6, 160.9, 155.1, 148.4, 145.0, 137.2, 133.9, 132.7 ($J_{\text{F,C}} = 4$ Hz), 130.4 ($J_{\text{F,C}} = 36$ Hz), 130.3, 126.8 ($J_{\text{F,C}} = 4$ Hz), 125.0, 122.4 ($J_{\text{F,C}} = 272$ Hz)。HR-MS-ESI: m/z $\text{C}_{14}\text{H}_7\text{O}_3\text{N}_3\text{F}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 354.015 47, 测量值 354.015 17。

目标化合物 **9f** 的合成 以喹啉-3-硼酸为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 40%。mp: 265~267 °C, $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 9.27

(brs, 1H), 9.00 (brs, 1H), 8.96 (s, 1H), 8.93 (s, 1H), 8.20 (brs, 1H), 8.08 (brs, 1H), 7.88 (brs, 1H), 7.72 (brs, 1H), 7.67 (s, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 178.0, 151.9, 149.2, 147.5, 145.1, 137.8, 135.6, 134.1, 132.7 ($J_{\text{F,C}} = 4$ Hz), 132.1, 130.0 ($J_{\text{F,C}} = 35$ Hz), 129.7, 128.9, 128.8, 128.5, 127.2, 126.6 ($J_{\text{F,C}} = 4$ Hz), 124.3, 122.5 ($J_{\text{F,C}} = 272$ Hz)。HR-MS-ESI: m/z $\text{C}_{19}\text{H}_{10}\text{O}_3\text{N}_2\text{F}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 403.035 87, 测量值 403.037 72。

目标化合物 **9g** 的合成 以 9-氮杂吡啶-5-硼酸频哪醇酯为原料, 按照化合物 **8a** 的合成方法得黄色固体, 产率 11%。mp: > 210 °C, $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 9.21 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.94 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.78 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 8.51 (s, 1H), 8.25 (brs, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.37~7.35 (m, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 177.8, 155.4, 151.4, 150.1, 144.9, 137.2, 133.9, 132.6 ($J_{\text{F,C}} = 4$ Hz), 130.1 ($J_{\text{F,C}} = 35$ Hz), 129.6, 126.7 ($J_{\text{F,C}} = 4$ Hz), 124.7, 122.3 ($J_{\text{F,C}} = 271$ Hz), 115.9, 112.4。HR-MS-ESI: m/z $\text{C}_{16}\text{H}_8\text{O}_3\text{N}_4\text{F}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 393.026 37, 测量值 393.028 32。

2 抗结核活性评价^[21]

菌株为结核分枝杆菌标准株 H_37Rv (ATCC 27294), 以异烟肼为阳性对照药, 合成的目标化合物在 0.031~32 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度范围内设置 11 个倍比稀释的浓度测试梯度。取用培养至对数生长期的结核分枝杆菌 H_37Rv 离心、洗涤重新悬浮于磷酸缓冲液中, 过滤后储存于 -80 °C。取 96 孔无菌微孔板, 于各孔中加入 100 μL 菌液后再加入 100 μL 药液, 并每板上设两个仅加入菌液的空白生长对照孔。37 °C 恒温孵育 7 天, 每孔加入预混显色液, 37 °C 孵育 16~24 h 观察颜色变化, 并应用酶标仪测定 530 及 590 nm 荧光值, 计算 MIC_{90} 。

3 初步成药性评价

3.1 Vero 细胞毒性测定实验 制备好的 Vero 细胞悬液以每孔 50 μL 接种于 96 孔板中, 受试化合物最高受试浓度为 64 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 用培养基在 96 孔板上按 1:3 进行系列稀释, 目标化合物设 6 个浓度, 每个浓度设 6 个平行孔, 每孔 50 μL , 同时设置不含药的细胞对照孔及培养基空白对照孔; 37 °C、5% CO_2 培养箱中培养 24 h, 每孔加入 MTT 10 μL , 继续培养 4 h, 弃去培养基, 每孔加入 100 μL DMSO, 甲臜颗粒完全溶解后, 570 nm 波长测定其光密度值 (OD_{570}), 计算 IC_{50} 值。

3.2 肝微粒体代谢稳定性测定实验 将实验化合物 (1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 加入小鼠或人肝微粒体 (1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) 中, 37 °C 下预孵育 5 min, 然后加入 60 μL NADPH 溶液 (1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 启动反应, 在 37 °C 下继续孵育 30 min, 在 0 和 30 min 分别取出 30 μL 的反应混合物加入 300 μL

含有内标的乙腈淬灭溶液终止所有反应。再通过 LC-MS/MS 进行分析, 测定反应液中各化合物与内标的峰面积比, 计算 $t_{1/2}$ 和剩余率。

3.3 肝药酶 CYPs 抑制作用测定实验 待测化合物 ($0.05\sim 50\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和阳性对照用人肝微粒体 ($0.1\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) 和 CYPs 酶 (3A4/5 和 2C9) 的底物混合工作溶液, 在 $37\ ^\circ\text{C}$ 预孵育 5 min, 然后加入 NADPH ($1\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 孵育 10 min 后, 立刻加入含有内标的控制液终止反应, 样品涡旋离心后, 用 LC-MS/MS 检测 CYPs 酶相应的底物产物与内标峰面积比, 根据结果计算 IC_{50} 。

3.4 hERG K^+ 通道抑制作用测定实验 稳定表达 hERG 钾离子通道的 HEK293 细胞株被用于检测受试化合物对离子通道的抑制效应。待测化合物浓度为 $0.3\sim 30\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 细胞按照 1×10^5 的密度培养在 $25\ \text{cm}^2$ 培养皿中, 加入 $1\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 强力霉素诱导 48 h, 然后将细胞进行消化, 接种在玻片上以备后续的手动膜片钳的实验。测试尾电流的峰值为 hERG 电流的大小, 拟含量效曲线并计算 IC_{50} 值。

作者贡献: 唐霞霞和李文艺完成化合物的合成以及数据整理; 李鹏负责学术指导以及数据校对; 王彬和陆宇完成体外抑菌活性评价以及数据分析; 黄海洪和李刚负责课题规划、实验设计并撰写审核论文。

利益冲突: 无利益冲突。

References

- [1] World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2023 [R]. Geneva: WHO, 2023.
- [2] Tiberi S, Buchanan R, Caminero JA, et al. The challenge of the new tuberculosis drugs [J]. Presse Med, 2017, 46: e41-e51.
- [3] Fernandes GFS, Thompson AM, Castagnolo D, et al. Tuberculosis drug discovery: challenges and new horizons [J]. J Med Chem, 2022, 65: 7489-7531.
- [4] Sun YX, Shu W, Liu YH. Effect of bedaquiline and delamanid on QT interval of electrocardiogram in the treatment for multi-drug-resistant tuberculosis [J]. Chin J Tuberc Respir Dis (中华结核和呼吸杂志), 2023, 46: 290-294.
- [5] Wang RF, An TT, Jiang CH, et al. Advances in research on anti-tuberculosis natural small molecules [J]. Chin J New Drugs (中国新药杂志), 2020, 29: 2331-2340.
- [6] Favela-Hernández JM, García A, Garza-González E, et al. Antibacterial and antimycobacterial lignans and flavonoids from *Larrea tridentata* [J]. Phytother Res, 2012, 26: 1957-1960.
- [7] Zhu H, Zhang Y, Ye G, et al. *In vivo* and *in vitro* antiviral activities of calycosin-7-*O*- β -*D*-glucopyranoside against coxsackie virus B3 [J]. Biol Pharm Bull, 2009, 32: 68-73.
- [8] Siah M, Farzaei MH, Ashrafi-Kooshk MR, et al. Inhibition of guinea pig aldehyde oxidase activity by different flavonoid compounds: an *in vitro* study [J]. Bioorg Chem, 2016, 64: 74-84.
- [9] Zakaryan H, Arabyan E, Oo A, et al. Flavonoids: promising natural compounds against viral infections [J]. Arch Virol, 2017, 162: 2539-2551.
- [10] Abotaleb M, Samuel SM, Varghese E, et al. Flavonoids in cancer and apoptosis [J]. Cancers, 2019, 11: 28.
- [11] Xie Y, Yang W, Tang F, et al. Antibacterial activities of flavonoids: structure-activity relationship and mechanism [J]. Curr Med Chem, 2015, 22: 132-149.
- [12] Ahmad A, Kaleem M, Ahmed Z, et al. Therapeutic potential of flavonoids and their mechanism of action against microbial and viral infections—a review [J]. Food Res Int, 2015, 77: 221-235.
- [13] Koysomboon S, van Altena I, Kato S, et al. Antimycobacterial flavonoids from *Derris indica* [J]. Phytochemistry, 2006, 67: 1034-1040.
- [14] Gu JQ, Wang Y, Franzblau SG, et al. Antitubercular constituents of *Valeriana laxiflora* [J]. Planta Med, 2004, 70: 509-514.
- [15] Zhao W, Wang B, Liu Y, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of novel 4*H*-chromen-4-one derivatives as antituberculosis agents against multidrug-resistant tuberculosis [J]. Eur J Med Chem, 2020, 189: 112075.
- [16] Mikusová K, Huang H, Yagi T, et al. Decaprenylphosphoryl arabinofuranose, the donor of the *D*-arabinofuranosyl residues of mycobacterial arabinan, is formed *via* a two-step epimerization of decaprenylphosphoryl ribose [J]. J Bacteriol, 2005, 187: 8020-8025.
- [17] Li P, Wang B, Zhang X, et al. Identification of novel benzothio-pyranone compounds against *Mycobacterium tuberculosis* through scaffold morphing from benzothiazinones [J]. Eur J Med Chem, 2018, 160: 157-170.
- [18] Li P, Li S, Li G, et al. Synthesis of 2-aryl-4*H*-thiochromen-4-one derivatives *via* a cross-coupling reaction [J]. ACS Omega, 2021, 6: 14655-14663.
- [19] Chen H, Liu CD, Wang JH. Research progress on modification and effects of halogen on nucleic acid drugs [J]. Chin J Appl Chem (应用化学), 2018, 35: 491-499.
- [20] Sun H, Keefer CE, Scott DO. Systematic and pairwise analysis of the effects of aromatic halogenation and trifluoromethyl substitution on human liver microsomal clearance [J]. Drug Metab Lett, 2011, 5: 232-242.
- [21] Lu Y, Zheng M, Wang B, et al. Clofazimine analogs with efficacy against experimental tuberculosis and reduced potential for accumulation [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55: 5185-5193.