苯并呋喃酮类化合物的设计、合成及抗结核分枝杆菌聚酮合成酶13活性研究

徐秀丽[1#], 王 潇[2#], 刘天俊[2], 赵红义[1], 刘忆霜[2*], 张东峰[1,3*]

(1. 中国医学科学院 北京协和医学院, 药物研究所, 北京 100050; 2. 中国医学科学院 北京协和医学院, 医药生物技术研究所, 北京 100050; 3. 中国医学科学院 北京协和医学院, 药物研究所, 呼吸和共病全国重点实验室, 北京 100050)

摘要: 结核分枝杆菌聚酮合成酶13 (polyketide synthase 13, Pks13) 负责催化合成分枝菌酸的前体, 是一个极具潜力的开发新型抗结核药物的靶标。本研究基于前期虚筛筛选发现的苗头化合物**6**, 采用基于结构的药物分子设计策略, 设计合成了一系列苯并呋喃酮类化合物, 其中化合物**7k**和**7o**对Pks13的抑制活性较好, IC_{50}分别为1.01和0.64 μmol·L^{-1}。本研究为新型Pks13抑制剂的研究奠定了基础。

关键词: 结核分枝杆菌; 聚酮合成酶13; 分枝菌酸; 苯并呋喃酮类化合物

中图分类号: R914 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2026)06-2204-08

Design, synthesis and evaluation of benzofuran-3(2*H*)-ones as novel Pks13 inhibitors

XU Xiu-li[1#], WANG Xiao[2#], LIU Tian-jun[2], ZHAO Hong-yi[1], LIU Yi-shuang[2*], ZHANG Dong-feng[1,3*]

(*1. Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China; 2. Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China; 3. State Key Laboratory of Respiratory Health and Multimorbidity, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China*)

Abstract: Mycobacterial polyketide synthase 13 (Pks13) is responsible for catalyzing the synthesis of the precursor of mycolic acids and represents a promising target for the development of novel antituberculosis drugs. Based on the hit compound **6** previously identified through virtual screening, a series of benzofuran-3(2*H*)-one derivatives were designed and synthesized using a structure-based drug design strategy. Among them, compounds **7k** and **7o** exhibited potent inhibitory activities against Pks13, with IC_{50} values of 1.01 and 0.64 μmol·L^{-1}, respectively. This study lays a foundation for the investigation of novel Pks13 inhibitors.

Key words: *Mycobacterium tuberculosis*; polyketide synthase 13; mycolic acid; benzofuran-3(2*H*)-one

结核病是由结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) 引起的传染性疾病, 世界卫生组织2025年全球结核病报告显示[1], 2024年全球结核病发病患者数达1 070万人, 死亡人数123万。耐药结核病 (drug-resistant TB, DR-TB) 的防控形势尤为严峻, 2024年全球耐多药/利福平耐药结核病 (MDR/RR-TB) 患者约39万人, 我国MDR/RR-TB患者占全球总数的7.1%, 位列全球第四。面对全球范围内沉重的结核病及耐药结核病负担, 研发具有新靶点和新机制的抗结核药物显得尤为重要。

分枝菌酸是结核分枝杆菌细胞壁的重要组成成

收稿日期: 2026-03-02; 修回日期: 2026-03-23.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82574258); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目 (2021-I2M-1-030); 北京市自然科学基金资助项目 (L252193).

#共同第一作者.

*通讯作者 E-mail: liuys@imb.pumc.edu.cn; zdf@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2026-0217

分, 参与了结核分枝杆菌细胞壁的构成, 帮助其抵御宿主免疫系统的攻击和药物的渗透[2]。因此, 靶向分枝菌酸的生物合成途径一直是抗结核药物研发的重要方向。聚酮合成酶13 (polyketide synthase 13, Pks13) 是分枝菌酸合成途径中重要的功能蛋白, 负责催化合成分枝菌酸的前体[3,4], 通过抑制Pks13可以有效阻断分枝菌酸生物合成, 破坏结核分枝杆菌细胞壁的完整性, 达到杀菌的效果。因此, Pks13是一个极具潜力的开发新型抗结核药物的作用靶标[5]。目前已报道了多种结构类型的Pks13抑制剂 (图1), 苯并呋喃类化合物TAM16是最早报道的Pks13抑制剂[6,7], 具有良好的Pks13抑制活性, 但该类化合物对hERG离子通道具有较强的抑制作用。基于苯并呋喃结构研发的香豆雌酚类 (**1**)[8-10]和黄酮类 (**2**)[11,12]也具有较好的抗结核活性。此外, 噁二唑类 (**3**)[13]、三氮唑类 (**4**)[14]和*N*-芳基吲哚类 (**5**)[15,16]等新结构类型的Pks13抑制剂也展现出较好的活性。但大部分Pks13抑制剂存在心脏毒性和代谢稳定性等问题, 限制了这些化合物的进一步研究[17]。

作者前期研究中采用虚拟筛选策略获得了具有苯并呋喃酮结构骨架的化合物**6**, 具有一定的Pks13抑制活性 (40 μmol·L^{-1}浓度下, 对Pks13的抑制率为33%)。本文基于化合物**6**, 采用基于结构的药物设计策略, 设计合成了化合物**7a**～**7o** (图2), 并初步研究了该类化合物对Pks13的抑制活性。

结果与讨论

1 化合物合成

化合物的合成如合成路线1所示, 以化合物**8**为起始原料, 经溴代后得化合物**9**, 随后在氟化钾的作用下合环得到化合物**10**。化合物**10**与取代的苯甲醛在KOH作用下缩合得到化合物**11a**～**11d**。最后, 中间体**11a**～**11d**与不同的脂肪胺在37%甲醛水溶液和乙醇溶剂中回流, 发生曼尼希反应得到目标化合物**7a**～**7o**。

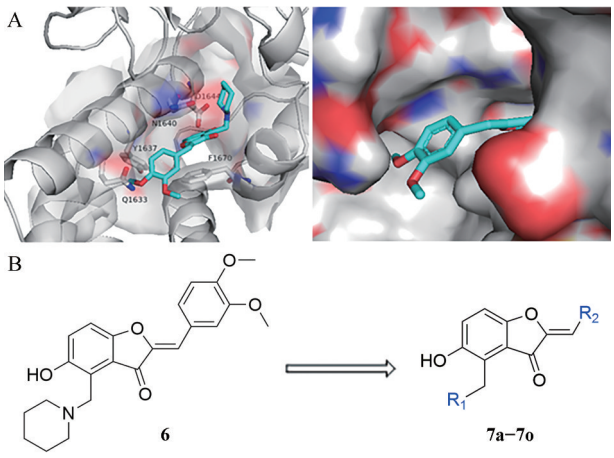


Figure 2 Molecular design. A: Docking mode of compound **6** with Pks13-TE (PDB code: 5V3Y); B: Molecular design of novel benzofuran-3(2*H*)-ones based on compound **6**

2 Pks13抑制活性评价

化合物对结核分枝杆菌Pks13的抑制作用结果如表1所示, 当保持R_2为3,4-二甲氧基苯基时, R_1体积的大小对活性无明显影响 (**7a**～**7c**)。当R_2为2-甲氧基苯基时, 化合物**7d**具有弱的Pks13抑制活性, **7e**～**7c**的抑制作用基本丧失。R_2为3-甲氧基苯基或4-甲氧基苯基时, R_1为4-氟哌啶基时, 化合物**7k**和**7o**展现出较强的抑制作用, IC_{50}分别为1.01和0.64 μmol·L^{-1}, 活性较先导化合物明显提高。

3 讨论

分子对接显示化合物**6**可以进入Pks13-TE结构域的结合口袋中 (图2), 中间的母核苯并呋喃酮与Phe1670的芳香环近似平行; 氮杂环部分倾向于里面的疏水口袋, 但该口袋还具有较大的空间, 值得进一步探索; 靠近外部的苯环处于溶剂暴露区, 两个甲氧基取代可能不是发挥活性的必需基团, 可对该部分进行研究, 减少

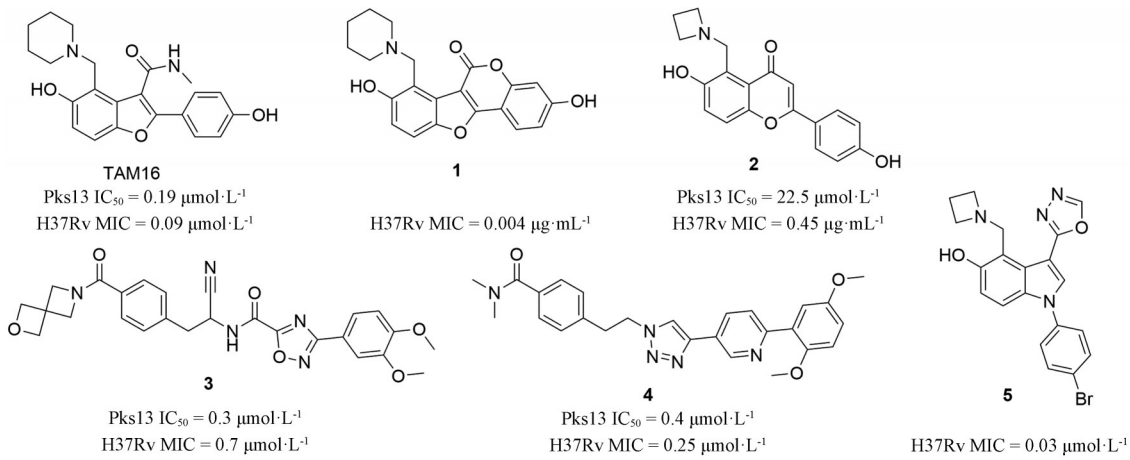
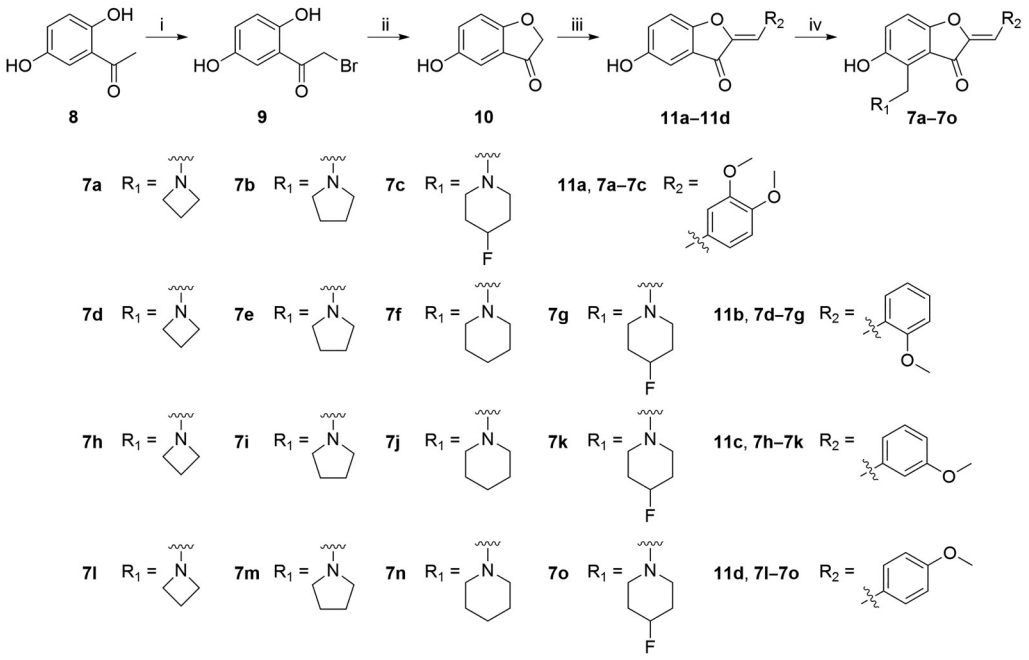


Figure 1 Representative polyketide synthase 13 (Pks13) inhibitors



Scheme 1 Synthesis of compounds **7a**−**7o**. Reagents and conditions: (i) $CuBr_2$, EtOAc, 65 ℃, 6 h; (ii) KF, acetone, rt, 3 h; (iii) Substituted benzaldehyde, KOH (aq 50%), methanol, rt, 4 h; (iv) Aliphatic amine, 37% HCHO aq, EtOH, reflux, 10 h

甲氧基数量及改变甲氧基在苯环上的位置以探究活性的变化。从结果上可知, R_2基团上二个甲氧基取代确实不是发挥活性的必需基团, 去掉一个后活性可以保持, 同时, 当甲氧基处在苯环邻位时, 此时无论R_1基团的体积大小, 化合物**7e**～**7g**基本丧失对Pks13的抑制作用。进一步研究发现, 当R_2为3-甲氧基苯基和4-甲氧基苯基时, R_1是体积较小的四元环或五元环时, 化合物(**7h**、**7i**、**7l**和**7m**)活性较弱, 而当R_1是体积较大的六元环时, 化合物(**7j**和**7n**)基本丧失活性。当R_1中带有吸电性的氟取代时, 化合物(**7k**和**7o**)具有最强的Pks13抑制活性。综上结果说明R_2中的甲氧基在间位或对位时对活性影响不大, 而R_1基团是影响活性的关键因素。

将化合物**7k**和**7o**与Pks13-TE进行分子对接(图3), 结果显示两个化合物均可作用于Pks13-TE的活性口袋中, 苯并呋喃酮结构母核与甲氧基苯环部分可以与Phe1670形成π-π相互作用, 羟基可以与Asp1644形成关键的氢键作用, 4-氟哌啶基团中的N原子可与Tyr1674形成π-离子相互作用。而化合物**7o**中苯并呋喃酮上的羰基还可以与Asn1640形成氢键作用, 这些相互作用是化合物发挥抑制活性的关键。

实验部分

1 主要仪器与试剂

核磁共振氢谱和碳谱采用Quantum-1 400或500核磁共振仪测定, 内标为TMS。质谱采用Agilent 1100 series LC/MSD trap mass spectrometer及Micromass AutoSpec Ultima-TOF测定。柱色谱分离采用硅胶(200～300目), 薄层色谱采用硅胶GF 254。实验所用试剂均为化学纯或分析纯。

2 化合物合成

2.1 2-溴-2-5-二羟基苯乙酮(9) 取200 mL单口瓶, 加入$CuBr_2$ (5.87 g, 26.29 mmol)和50 mL乙酸乙酯, 65 ℃加热回流。温度稳定后, 迅速加入起始原料2,5-二羟基苯乙酮(2 g, 13.15 mmol)和30 mL二氯甲烷,

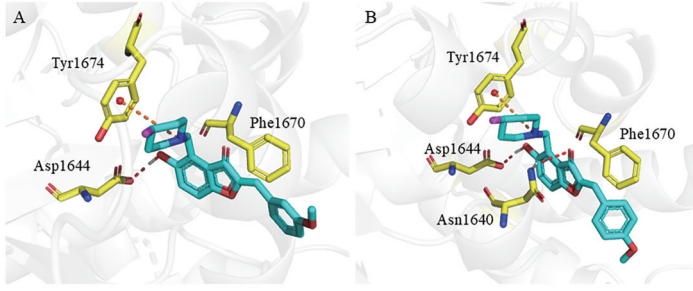
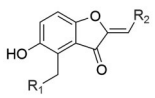


Figure 3 Docking mode of compounds **7k** (A) and **7o** (B) with Pks13-TE (PDB code: 5V3Y)

Table 1 Inhibitory activity of compounds **7a**–**7o** against Pks13. [a]Pks13 inhibition% at 40 μmol·L^{-1}; [b]no activity



Compd.	R_1	R_2	Pks13 IC_{50}/μmol·L^{-1}
6			33[a]
7a			43.75
7b			43.56
7c			40.04
7d			28[a]
7e			NA[b]
7f			NA[b]
7g			NA[b]
7h			71.06
7i			87.53
7j			NA[b]
7k			1.01
7l			72.21
7m			79.12
7n			NA[b]
7o			0.64
2			25.68

反应6 h。TLC监测原料消失后, 趁热碘硅藻土过滤, 滤液以水萃取, 再以乙酸乙酯萃取水相3次, 合并的有机层以饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得粗品3.08 g, 无需纯化投下一步。

2.2 5-羟基苯并呋喃-3-酮 (10) 将中间体**9**粗品 (3.08 g) 以50 mL丙酮溶解, 加入无水KF (1.69 g, 29.15 mmol), 溶液由浅黄色转为红黑色。室温反应3 h后TLC监测原料消失, 停止反应。加入饱和食盐水, 乙酸乙酯萃取水相3次, 合并的有机层用无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 经硅胶柱层析纯化 (石油醚/乙酸乙酯 = 20%) 得黄色固体1.08 g, 两步收率51.1%。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ_H: 9.56 (s, 1H), 7.19～7.11 (m, 2H), 6.86 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 4.74 (s, 2H)。

2.3 (*Z*)-2-(3,4-二甲氧基亚苄基)-5-羟基苯并呋喃-3(2*H*)-酮 (11a) 取50 mL单口瓶, 加入中间体**10** (452 mg, 2.83 mmol)、3,4-二甲氧基苯甲醛 (517 mg, 3.11 mmol)、1 mol·L^{-1} KOH aq (5.6 mL, 5.6 mmol) 和28 mL水。室温反应4 h后, 经TLC监测反应完全。以2 mol·L^{-1} HCl溶液调pH, 乙酸乙酯萃取水相, 合并的有机层以饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤。滤液浓缩后, 经硅胶柱纯化 (石油醚/乙酸乙酯 = 50%) 得中间体**11a**, 黄色固体564 mg, 收率66.8%。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ_H: 9.76 (s, 1H), 7.61 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 7.40 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.22～7.19 (m, 1H), 7.11 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.02 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 6.88 (s, 1H), 3.84 (s, 6H); HR-MS (ESI): m/z $[M+H]^+$ Calcd. for $C_{17}H_{15}O_5$ 299.091 4, found 299.091 6。

2.4 (*Z*)-5-羟基-2-(2-甲氧基亚苄基)苯并呋喃-3(2*H*)-酮 (11b) 取50 mL单口瓶, 加入中间体**10** (300 mg, 2.00 mmol)、2-甲氧基苯甲醛 (299 mg, 2.20 mmol)、1 mol·L^{-1} KOH aq (4 mL, 4 mmol) 和30 mL水。采用与中间体**11a**相似的制备方法, 得中间体**11b**, 黄色固体, 313 mg, 收率58.4%。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ_H: 9.80 (s, 1H), 8.19 (dd, J = 7.8, 1.8 Hz, 1H), 7.48～7.44 (m, 1H), 7.40 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.22 (dd, J = 8.8, 2.8 Hz, 1H), 7.15～7.09 (m, 3H), 7.03 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 3.91 (s, 3H); HR-MS (ESI): m/z $[M+H]^+$ Calcd. for $C_{16}H_{13}O_4$ 269.080 8, found 269.080 7。

2.5 (*Z*)-5-羟基-2-(3-甲氧基亚苄基)苯并呋喃-3(2*H*)-酮 (11c) 取50 mL单口瓶, 加入中间体**10** (548 mg, 3.65 mmol)、3-甲氧基苯甲醛 (489 μL, 4.00 mmol)、1 mol·L^{-1} KOH aq (7.3 mL, 7.3 mmol) 和55 mL水。采用与中间体**11a**相似的制备方法, 得中间体**11c**, 黄色固体, 507 mg, 收率51.8%。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ_H: 9.81 (s, 1H), 7.60～7.57 (m, 2H), 7.45～7.41 (m, 2H), 7.23 (dd, J = 8.8, 2.8 Hz, 1H), 7.06～7.03 (m, 2H), 6.87 (s, 1H), 3.82 (s, 3H); HR-MS (ESI): m/z $[M+H]^+$ Calcd. for $C_{16}H_{13}O_4$ 269.080 8, found 269.080 6。

2.6 (*Z*)-5-羟基-2-(4-甲氧基亚苄基)苯并呋喃-3(2*H*)-酮 (11d) 取50 mL单口瓶, 加入中间体**10** (300 mg, 2.00 mmol)、4-甲氧基苯甲醛 (267 μL, 2.20 mmol)、

1 mol·L^{-1} KOH aq (4 mL, 4 mmol) 和 30 mL 水。采用与中间体 **11a** 相似的制备方法, 得中间体 **11d**, 黄色固体, 247 mg, 收率 46.1%。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ_H: 9.77 (s, 1H), 7.96 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.39 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.21 (dd, J = 8.8, 2.8 Hz, 1H), 7.09～7.07 (m, 2H), 7.02 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 6.88 (s, 1H), 3.84 (s, 3H); HR-MS (ESI): m/z [M+H]$^+$ Calcd. for $C_{16}H_{13}O_4$ 269.080 8, found 269.081 6。

2.7 (*Z*)-4-(氮杂环丁烷-1-基甲基)-2-(3,4-二甲氧基亚苄基)-5-羟基苯并呋喃-3(2*H*)-酮 (7a) 取 25 mL 单口瓶, 加入中间体 **11a** (100 mg, 0.335 mmol)、37% 甲醛水溶液 (14 μL, 0.50 mmol)、氮杂环丁烷 (34 μL, 0.50 mmol) 和乙醇 (5 mL), 80 ℃加热回流反应 10 h。TLC 监测反应不继续进行, 停止反应, 浓缩反应液, 经硅胶柱层析纯化 (二氯甲烷/甲醇 = 3%) 得 40 mg 黄色固体, 收率 32.5%。mp 156～158 ℃; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ_H: 7.51～7.47 (m, 2H), 7.12～7.07 (m, 2H), 6.94 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.76 (s, 1H), 4.40 (s, 2H), 3.97 (s, 3H), 3.94 (s, 3H), 3.47 (s, 4H), 2.20 (s, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ_C: 185.52, 159.83, 154.59, 150.71, 149.06, 146.77, 125.81, 125.53, 125.36, 119.18, 113.69, 112.87, 112.14, 111.20, 55.97, 55.93, 55.25, 54.93, 17.27; HR-MS (ESI): m/z [M+H]$^+$ Calcd. for $C_{21}H_{22}NO_5$ 368.149 2, found 368.148 8。

2.8 (*Z*)-2-(3,4-二甲氧基亚苄基)-5-羟基-4-(吡咯烷-1-基甲基)苯并呋喃-3(2*H*)-酮 (7b) 以中间体 **11a** (100 mg, 0.335 mmol)、37% 甲醛水溶液 (14 μL, 0.50 mmol) 和吡咯烷 (42 μL, 0.50 mmol) 为原料。采用与 **7a** 相似的合成方法, 得 48 mg 黄色固体, 收率 37.5%。mp 153～155 ℃; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ_H: 7.60 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.31 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.13～7.09 (m, 2H), 6.81 (s, 1H), 4.34 (s, 2H), 3.84 (s, 6H) 2.67～2.63 (m, 4H), 1.80～1.77 (m, 4H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ_C: 184.20, 158.80, 154.10, 150.62, 148.77, 145.99, 125.41, 124.78, 124.59, 120.42, 118.59, 114.33, 112.31, 112.14, 111.98, 55.62, 55.54, 53.17, 50.91, 23.24; HR-MS (ESI): m/z [M+H]$^+$ Calcd. for $C_{22}H_{25}NO_5$ 382.164 9, found 382.164 5。

2.9 (*Z*)-2-(3,4-二甲氧基亚苄基)-4-((4-氟哌啶-1-基)甲基)-5-羟基苯并呋喃-3(2*H*)-酮 (7c) 以中间体 **11a** (50 mg, 0.168 mmol)、37% 甲醛水溶液 (7 μL, 0.25 mmol) 和 4-氟哌啶 (21 μL, 0.20 mmol) 为原料。采用与 **7a** 相似的合成方法, 得 55 mg 黄色固体, 收率 71.4%。mp 176～178 ℃; ^{1}H NMR (400 MHz, pyridine-d_5) δ_H: 8.61 (s, 1H), 7.74～7.71 (m, 2H), 7.37～7.30 (m, 2H), 7.15 (s, 1H), 7.06～7.01 (m, 1H), 4.71～4.57 (m, 1H), 4.46 (s, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 2.80～2.69 (m, 2H), 2.49 (s, 2H), 1.87～1.77 (m, 4H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ_C: 184.19, 163.45, 158.99, 153.79, 150.63, 148.77, 145.97, 125.43, 124.77, 124.69, 119.83, 119.13, 114.31, 112.38, 112.27, 111.97, 87.61 (d, J = 168.8 Hz), 55.61, 55.53, 52.94, 48.73, 30.85 (d, J = 19.3 Hz); HR-MS (ESI): m/z [M+H]$^+$ Calcd. for $C_{23}H_{25}FNO_5$ 414.171 1, found 414.176 9。

2.10 (*Z*)-4-(氮杂环丁烷-1-基甲基)-5-羟基-2-(2-甲氧基亚苄基)苯并呋喃-3(2*H*)-酮 (7d) 以中间体 **11b** (100 mg, 0.373 mmol)、37% 甲醛水溶液 (16 μL, 0.56 mmol) 和氮杂环丁烷 (38 μL, 0.56 mmol) 为原料。采用与 **7a** 相似的合成方法, 得 11 mg 黄色固体, 收率 8.7%。mp 168～170 ℃; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H: 8.27 (dd, J = 7.8, 1.8 Hz, 1H), 7.38～7.34 (m, 2H), 7.10 (s, 2H), 7.06 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 6.93 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.40 (s, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.47 (s, 4H), 2.21 (s, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ_C: 185.90, 160.12, 158.86, 154.69, 147.88, 132.08, 131.36, 125.41, 121.69, 120.98, 119.46, 119.26, 112.25, 110.84, 106.55, 55.75, 55.57, 55.08, 17.43; HR-MS (ESI): m/z [M+H]$^+$ Calcd. for $C_{20}H_{20}NO_4$ 338.138 7, found 338.139 5。

2.11 (*Z*)-5-羟基-2-(2-甲氧基亚苄基)-4-(吡咯烷-1-基甲基)苯并呋喃-3(2*H*)-酮 (7e) 以中间体 **11b** (100 mg, 0.373 mmol)、37% 甲醛水溶液 (16 μL, 0.56 mmol) 和吡咯烷 (46 μL, 0.56 mmol) 为原料。采用与 **7a** 相似的合成方法, 得 48 mg 黄色固体, 收率 36.6%。mp 180～182 ℃; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H: 8.28 (dd, J = 7.8, 1.8 Hz, 1H), 7.38～7.35 (m, 2H), 7.11 (s, 2H), 7.06 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 6.94～6.92 (m, 1H), 4.47 (s, 2H), 3.91 (s, 3H), 2.80 (s, 4H), 1.92～1.90 (m, 4H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ_C: 185.58, 159.74, 158.52, 154.53, 147.57, 131.75, 131.01, 124.89, 121.38, 120.65, 120.28, 118.69, 111.75, 110.51, 106.18, 55.42, 53.47, 52.12, 23.54; HR-MS (ESI): m/z [M+H]$^+$ Calcd. for $C_{21}H_{22}NO_4$ 352.154 3, found 352.155 3。

2.12 (*Z*)-5-羟基-2-(2-甲氧基亚苄基)-4-(哌啶-1-基甲基)苯并呋喃-3(2*H*)-酮 (7f) 以中间体 **11b** (100 mg, 0.373 mmol)、37% 甲醛水溶液 (16 μL, 0.56 mmol) 和哌啶 (55 μL, 0.56 mmol) 为原料。采用与 **7a** 相似的合成方法, 得 38 mg 黄色固体, 收率 27.9%。mp 196～198 ℃; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H: 8.27 (dd, J = 7.8, 1.8 Hz, 1H), 7.36 (s, 2H), 7.10～7.04 (m, 3H), 6.92 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 4.30 (s, 2H), 3.90 (s, 3H), 2.84 (s, 4H), 1.68 (s, 4H),

1.25 (s, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ_C: 186.23, 160.44, 159.17, 155.23, 148.21, 132.39, 131.65, 125.51, 122.03, 121.29, 120.22, 119.79, 112.34, 111.15, 106.79, 56.12, 56.07, 54.48, 26.24, 24.20; HR-MS (ESI): *m*/*z* $[M+H]^+$ Calcd. for $C_{22}H_{24}NO_4$ 366.170 0, found 366.171 0。

2.13 (*Z*)-4-((4-氟哌啶-1-基)甲基)-5-羟基-2-(2-甲氧基亚苄基)苯并呋喃-3(2*H*)-酮 (7g) 以中间体**11b** (100 mg, 0.373 mmol)、37% 甲醛水溶液 (16 μL, 0.56 mmol) 和4-氟哌啶 (48 μL, 0.45 mmol) 为原料。采用**7a**相似的合成方法, 得54 mg黄色固体, 收率37.8%。mp 205～207 ℃; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ_H: 8.29～8.26 (m, 1H), 7.38～7.34 (m, 2H), 7.26 (s, 1H), 7.10～7.04 (m, 2H), 6.92 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 4.84～4.71 (m, 1H), 4.35 (s, 2H), 3.90 (s, 3H), 2.80～2.66 (m, 4H), 1.99～1.94 (m, 4H); ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO-d_6) δ_C: 184.48, 159.25, 158.26, 153.86, 147.00, 131.87, 131.09, 124.97, 120.95, 120.28, 120.03, 119.00, 112.38, 111.58, 104.84, 87.56 (d, *J* = 168.9 Hz), 55.88, 52.81, 48.75 (d, *J* = 6.6 Hz), 30.78 (d, *J* = 19.4 Hz); HR-MS (ESI): *m*/*z* $[M+H]^+$ Calcd. for $C_{22}H_{23}FNO_4$ 384.160 6, found 384.162 3。

2.14 (*Z*)-4-(氮杂环丁烷-1-基甲基)-5-羟基-2-(3-甲氧基亚苄基)苯并呋喃-3(2*H*)-酮 (7h) 以中间体**11c** (100 mg, 0.373 mmol)、37% 甲醛水溶液 (16 μL, 0.56 mmol) 和氮杂环丁烷 (38 μL, 0.56 mmol) 为原料。采用与**7a**相似的合成方法, 得26 mg黄色固体, 收率20.7%。mp 134～136 ℃; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H: 7.48～7.47 (m, 2H), 7.36 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.12～7.08 (m, 2H), 6.97～6.94 (m, 1H), 6.76 (s, 1H), 4.39 (s, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.46 (s, 4H), 2.20 (s, 2H); ^{13}C NMR (125MHz, $CDCl_3$) δ_C: 185.88, 160.19, 159.77, 154.74, 147.80, 133.75, 129.80, 125.66, 124.20, 119.36, 118.90, 116.36, 115.58, 112.23, 112.16, 55.388, 55.34, 54.98, 17.29; HR-MS (ESI): *m*/*z* $[M+H]^+$ Calcd. for $C_{20}H_{20}NO_4$ 338.138 7, found 338.139 4。

2.15 (*Z*)-5-羟基-2-(3-甲氧基亚苄基)-4-(吡咯烷-1-基甲基)苯并呋喃-3(2*H*)-酮 (7i) 以中间体**11c** (60 mg, 0.224 mmol)、37% 甲醛水溶液 (10 μL, 0.34 mmol) 和吡咯烷 (28 μL, 0.34 mmol) 为原料。采用**7a**相似的合成方法, 得30 mg黄色固体, 收率38.1%。mp 146～148 ℃; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ_H: 8.27 (dd, *J* = 7.8, 1.8 Hz, 1H), 7.38～7.34 (m, 2H), 7.09 (s, 2H), 7.06～7.04 (m, 1H), 6.92 (dd, *J* = 8.4, 0.8 Hz, 1H), 4.46 (s, 2H), 3.90 (s, 3H), 2.76 (s, 4H), 1.91～1.88 (m, 4H); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ_C: 185.89, 160.10, 159.77, 154.92, 147.83, 133.78, 129.79, 125.35, 124.19, 120.55, 118.64, 116.34, 115.56, 112.07, 111.99, 55.35, 53.70, 52.39, 23.75; HR-MS (ESI): *m*/*z* $[M+H]^+$ Calcd. for $C_{21}H_{22}NO_4$ 352.154 3, found 352.154 1。

2.16 (*Z*)-5-羟基-2-(3-甲氧基亚苄基)-4-(哌啶-1-基甲基)苯并呋喃-3(2*H*)-酮 (7j) 以中间体**11c** (100 mg, 0.373 mmol)、37% 甲醛水溶液 (16 μL, 0.56 mmol) 和哌啶 (55 μL, 0.56 mmol) 为原料。采用与**7a**相似的合成方法, 得66 mg黄色固体, 收率48.1%。mp 162～164 ℃; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H: 7.48～7.47 (m, 2H), 7.36 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.10 (s, 2H), 6.96～6.94 (m, 1H), 6.75 (s, 1H), 4.29 (s, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.16～2.37 (m, 2H), 1.69 (s, 6H), 1.25 (s, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ_C: 186.28, 160.84, 160.22, 155.24, 148.20, 134.12, 130.27, 124.68, 119.71, 116.84, 116.10, 112.98, 112.86, 55.80, 54.35, 30.16, 25.86, 23.96; HR-MS (ESI): *m*/*z* $[M+H]^+$ Calcd. for $C_{22}H_{24}NO_4$ 366.170 0, found 366.172 0。

2.17 (*Z*)-4-((4-氟哌啶-1-基)甲基)-5-羟基-2-(3-甲氧基亚苄基)苯并呋喃-3(2*H*)-酮 (7k) 以中间体**11c** (100 mg, 0.373 mmol)、37% 甲醛水溶液 (16 μL, 0.56 mmol) 和4-氟哌啶 (48 μL, 0.45 mmol) 为原料。采用与**7a**相似的合成方法, 得41 mg黄色固体, 收率28.7%。mp 171～173 ℃; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ_H: 7.47 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 7.36 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.10 (s, 2H), 6.95 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.75 (s, 1H), 4.83～4.71 (m, 1H), 4.33 (s, 2H), 3.88 (s, 3H), 2.79～2.66 (m, 4H), 1.99～1.85 (m, 4H); ^{13}C NMR (175 MHz, DMSO-d_6) δ_C: 184.62, 159.46, 159.36, 153.93, 147.14, 133.31, 130.06, 125.08, 123.66, 120.26, 118.85, 116.49, 115.64, 112.30, 111.38, 87.65 (d, *J* = 167.7 Hz), 55.20, 52.97, 48.76, 30.89 (d, *J* = 19.3); HR-MS (ESI): *m*/*z* $[M+H]^+$ Calcd. for $C_{22}H_{23}FNO_4$ 384.160 6, found 384.159 2。

2.18 (*Z*)-4-(氮杂环丁烷-1-基甲基)-5-羟基-2-(4-甲氧基亚苄基)苯并呋喃-3(2*H*)-酮 (7l) 以中间体**11d** (100 mg, 0.373 mmol)、37% 甲醛水溶液 (16 μL, 0.56 mmol) 和氮杂环丁烷 (38 μL, 0.56 mmol) 为原料。采用与**7a**相似的合成方法, 得18 mg黄色固体, 收率14.3%。mp 159～161 ℃; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H: 7.88 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.14～7.10 (m, 2H), 6.98 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 6.79 (s, 1H), 4.43 (s, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.52 (s, 4H), 2.23 (s, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ_C: 185.76, 161.03, 160.01, 154.69, 146.85, 133.41, 125.43, 125.36, 119.39, 119.32, 114.59, 112.70, 112.20, 55.60, 55.52, 55.09, 17.43; HR-MS (ESI): *m*/*z* $[M+H]^+$ Calcd. for $C_{20}H_{20}NO_4$ 338.138 7, found 338.139 6。

2.19 (*Z*)-5-羟基-2-(4-甲氧基亚苄基)-4-(吡咯烷-1-基甲基)苯并呋喃-3(2*H*)-酮 (7m) 以中间体 **11d** (100 mg, 0.373 mmol)、37%甲醛水溶液 (16 μL, 0.56 mmol) 和吡咯烷 (46 μL, 0.56 mmol) 为原料。采用与 **7a** 相似的合成方法, 得41 mg黄色固体, 收率31.3%。mp 182～184 ℃; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H: 7.88 (dd, J = 9.0, 3.0 Hz, 2H), 7.10 (s, 2H), 6.99～6.97 (m, 2H), 6.77 (s, 1H), 4.46 (s, 2H), 3.87 (s, 3H), 2.76 (s, 4H), 1.89 (s, 4H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ_C: 185.35, 161.29, 160.66, 153.81, 146.46, 133.59, 128.49, 124.92, 119.64, 117.90, 114.59, 114.21, 114.02, 55.44, 53.33, 49.11, 23.36; HR-MS (ESI): m/z $[M+H]^+$ Calcd. for $C_{21}H_{22}NO_4$ 352.154 3, found 352.154 6。

2.20 (*Z*)-5-羟基-2-(4-甲氧基亚苄基)-4-(哌啶-1-基甲基)苯并呋喃-3(2*H*)-酮 (7n) 以中间体 **11d** (84 mg, 0.313 mmol)、37%甲醛水溶液 (13 μL, 0.47 mmol) 和哌啶 (46 μL, 0.47 mmol) 为原料。采用与 **7a** 相似的合成方法, 得50 mg黄色固体, 收率43.7%。mp 176～178 ℃; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H: 7.87 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.09 (s, 2H), 7.98 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 6.77 (s, 1H), 4.30 (s, 2H), 3.87 (s, 3H), 2.64 (s, 4H), 1.68 (s, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ_C: 185.76, 161.02, 160.05, 154.87, 146.85, 133.40, 125.44, 125.27, 119.74, 119.54, 114.58, 112.67, 112.05, 55.71, 55.52, 54.15, 25.87, 23.85; HR-MS (ESI): m/z $[M+H]^+$ Calcd. for $C_{22}H_{24}NO_4$ 366.170 0, found 366.171 8。

2.21 (*Z*)-4-((4-氟哌啶-1-基)甲基)-5-羟基-2-(4-甲氧基亚苄基)苯并呋喃-3(2*H*)-酮 (7o) 以中间体 **11d** (100 mg, 0.373 mmol)、37%甲醛水溶液 (16 μL, 0.56 mmol) 和4-氟哌啶 (48 μL, 0.45 mmol) 为原料。采用与 **7a** 相似的合成方法, 得15 mg黄色固体, 收率10.5%。mp 214～216 ℃; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ_H: 7.87 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.13～7.08 (m, 2H), 6.98 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.78 (s, 1H), 4.84～4.72 (m, 1H), 4.35 (s, 2H), 3.87 (s, 3H), 2.82～2.68 (m, 4H), 2.00～1.95 (m, 4H); ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO-d_6) δ_C: 184.27, 160.71, 159.04, 153.78, 145.92, 133.23, 124.74, 124.63, 120.07, 119.15, 114.70, 112.16, 111.94, 87.68 (d, J = 139.6 Hz), 55.40, 52.91, 48.75 (d, J = 5.5 Hz), 30.90 (d, J = 16.0 Hz); HR-MS (ESI): m/z $[M+H]^+$ Calcd. for $C_{22}H_{23}FNO_4$ 384.160 6, found 384.159 3。

3 Pks13抑制活性实验

测试体系中含有0.64 μmol·L^{-1} Pks13-TE蛋白, 0.1 mol·L^{-1} Tris-HCl (pH 7.0), 不同浓度的化合物或DMSO, 总体积为50 μL。再加入50 μL终浓度为30 μmol·L^{-1}的4-MUH底物启动反应。同时设置未添加Pks13-TE蛋白的孔为阳性对照, 含等含量DMSO的孔为阴性对照。体系反应20 min后, 在激发光355 nm、发射光460 nm条件下检测其荧光值, 通过公式计算化合物各浓度下的抑制率:

$$抑制率(\%) = (F_{阴性对照组} - F_{实验组})/(F_{阴性对照组} - F_{阳性对照组}) \times 100\%$$

利用Prism软件, 以化合物浓度的对数为横坐标、抑制率为纵坐标, 拟合分析得到各化合物的IC_{50}。

作者贡献: 徐秀丽完成化学合成工作; 王潇、刘天俊完成生物活性测试工作; 赵红义指导化学合成工作; 张东峰、刘忆霜负责实验设计及文章撰写。

利益冲突: 本文所有作者声明不存在利益冲突关系。

References

[1] World Health Organization. Global Tuberculousis Report [R]. Geneva: WHO, 2025.

[2] Marrakchi H, Laneelle MA, Daffe M. Mycolic acids: Structures, biosynthesis, and beyond [J]. Chem Biol, 2014, 21: 67-85.

[3] Thanna S, Knudson SE, Grzegorzewicz A, et al. Synthesis and evaluation of new 2-aminothiophenes against *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Org Biomol Chem, 2016, 14: 6119-6133.

[4] Gavalda S, Bardou F, Laval FO, et al. The polyketide synthase Pks13 catalyzes a novel mechanism of lipid transfer in mycobacteria [J]. Chem Biol, 2014, 21: 1660-1669.

[5] Portevin D, De Sousa-D'Auria C, Houssin C, et al. A polyketide synthase catalyzes the last condensation step of mycolic acid biosynthesis in mycobacteria and related organisms [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101: 314-319.

[6] Ioerger TR, O'Malley T, Liao RL, et al. Identification of new drug targets and resistance mechanisms in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. PLoS One, 2013, 8: e75245.

[7] Aggarwal A, Parai MK, Shetty N, et al. Development of a novel lead that targets *M. tuberculosis* polyketide synthase 13 [J]. Cell, 2017, 170: 249-259.

[8] Zhang W, Lun S, Wang SH, et al. Identification of novel coumestan derivatives as polyketide synthase 13 inhibitors against *Mycobacterium tuberculosis* [J]. J Med Chem, 2018, 61: 791-803.

[9] Zhang W, Lun S, Liu LL, et al. Identification of novel coumestan derivatives as polyketide synthase 13 inhibitors against *Mycobacterium tuberculosis*. Part II [J]. J Med Chem, 2019, 62: 3575-3589.

[10] Zhang W, Lun S, Wang SS, et al. Structure-based optimization of coumestan derivatives as polyketide synthase 13-thioesterase (Pks13-TE) inhibitors with improved hERG profiles for *Mycobacterium tuberculosis* treatment [J]. J Med Chem, 2022, 65: 13240-13252.

[11] Zhao WT, Wang B, Liu YK, 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.

[12] Wang X, Zhao WT, Wang B, et al. Identification of inhibitors targeting polyketide synthase 13 of *Mycobacterium tuberculosis* as antituberculosis drug leads [J]. Bioorg Chem, 2021, 114: 105110.

[13] Green SR, Wilson C, Eadsforth TC, et al. Identification and optimization of novel inhibitors of the polyketide synthase 13 thioesterase domain with antitubercular activity [J]. J Med Chem, 2023, 66: 15380-15408.

[14] Krieger IV, Yalamanchili S, Dickson P, et al. Inhibitors of the thioesterase activity of *Mycobacterium tuberculosis* Pks13 discovered using DNA-encoded chemical library screening [J]. ACS Infect Dis, 2024, 10: 1561-1575.

[15] Cai YP, Zhang W, Lun SC, et al. Design, synthesis and biological evaluation of *N*-phenylindole derivatives as Pks13 inhibitors against *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Molecules, 2022, 27: 2844.

[16] Zhang X, Lun S, Li YX, et al. Structure-based development of *N*-arylindole derivatives as Pks13 inhibitors against *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Eur J Med Chem, 2025, 283: 117148.

[17] Ding W, Zhao WT, Zhang DF. Research advances in *M. Tuberculosis* polyketide synthase 13 inhibitors [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2020, 55: 1768-1773.