



新型四氢吡啶并[4,3-*d*]嘧啶衍生物的合成及抗弓形虫活性

梁 天¹, 崔思娇², 隋丽丽¹, 孙驰宇¹, 张大军¹

(1. 沈阳医学院药学院 沈阳 110034; 2. 沈阳市食品药品检验所 沈阳 110124)

摘要 为开发高效、高选择性抗弓形虫药物, 依据药物拼合原理, 设计合成了20个新的四氢吡啶并[4,3-*d*]嘧啶衍生物. 以1-苄基-3-乙氧羰基-4-哌啶酮盐酸盐为起始物, 通过7步反应得到了目标化合物7a~7t, 其化学结构均经过核磁共振波谱(¹H NMR, ¹³C NMR)、质谱(MS)以及元素分析联合确证. 采用噻唑蓝(MTT)法考察了其体外抗弓形虫活性, 并筛选出活性最理想的化合物; 定量考察其对弓形虫二氢叶酸还原酶(*Tg*DHFR)的抑制活性. 研究表明, 10个化合物的体外抗弓形虫活性优于阳性对照药乙胺嘧啶及磺胺嘧啶. 化合物7p的体外抗弓形虫活性最理想, 针对*Tg*DHFR的半数抑制浓度(IC₅₀)仅为15 nmol/L, 而针对人源二氢叶酸还原酶(*h*DHFR)的IC₅₀值为1460 nmol/L, 表现出很高的选择性. 分子对接实验结果显示, 化合物7p可通过5个氢键与*Tg*DHFR强力结合, 可对其进行深入研究以开发抗弓形虫的新药.

关键词 弓形虫; 二氢叶酸还原酶; 四氢吡啶并[4,3-*d*]嘧啶

中图分类号 O621.3; R914.5

文献标志码 A

doi: 10.7503/cjcu20230098

Synthesis and Anti-*Toxoplasma* Activity of Novel Tetrahydropyrido[4,3-*d*]pyrimidine Derivatives

LUAN Tian¹, CUI Sijiao², SUI Lili¹, SUN Chiyu^{1*}, ZHANG Dajun^{1*}

(1. Department of Pharmacy, Shenyang Medical College, Shenyang 110034, China;

2. Shenyang Food and Drug Inspection Institute, Shenyang 110124, China)

Abstract To develop highly effective and highly selective anti-*Toxoplasma* drugs, twenty novel tetrahydropyridines [4,3-*d*] pyrimidine derivatives were designed and synthesized *via* the principle of pharmacochemical molecular combination. Ethyl 1-benzyl-4-oxo-3-piperidinecarboxylate hydrochloride as starting material, the target compounds 7a—7t were obtained by seven step reaction. All target compounds were characterized *via* nuclear magnetic resonance spectroscopy (¹H NMR, ¹³C NMR), mass spectrometry and elemental analysis. Methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) method was used to investigate the anti-*Toxoplasma* activity *in vitro*, and the compound with the best activity was selected to further quantify the inhibitory activity against *Toxoplasma* dihydrofolate reductase (*Tg*DHFR). The results showed that ten compounds had higher anti-*Toxoplasma* activity compared with the positive control drugs pyrimethamine and sulfadiazine. Compound 7p exhibited the most potent anti-*Toxoplasma* activity and commendable selectivity between *Tg*DHFR and human dihydrofolate reductase (*h*DHFR) with half maximal inhibitory concentration (IC₅₀)

收稿日期: 2023-03-09. 网络首发日期: 2023-05-12.

联系人简介: 张大军, 男, 博士, 副教授, 主要从事药物化学方面的研究. E-mail: zhangdajun2008@126.com

孙驰宇, 男, 博士, 副教授, 主要从事药物化学方面的研究. E-mail: scy_dream@126.com

基金项目: 辽宁省教育厅面上项目(批准号: LJKMZ20221801)、辽宁省科学技术计划项目(批准号: 2020-MS-313)和沈阳医学院博士科研启动基金(批准号: 20205041)资助.

Supported by the Scientific Research Project of the Department of Education of Liaoning Province, China(No. LJKMZ20221801), the Natural Science Foundation of Liaoning Province, China(No. 2020-MS-313), the Doctoral Research Foundation of Shenyang Medical College, China (No.20205041).



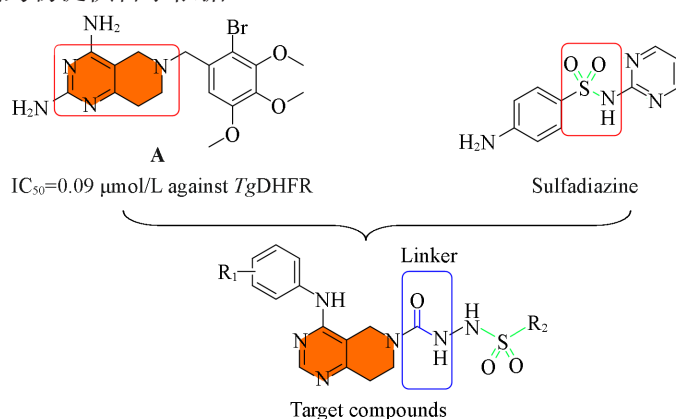
value of 15 nmol/L against *Tg*DHFR and 1460 nmol/L against *h*DHFR. Molecular docking experiments showed that compound **7p** could be strongly bound to *Tg*DHFR through five hydrogen bonds, which could be deeply studied to develop new anti-*Toxoplasma* drugs.

Keywords *Toxoplasma*; Dihydrofolate reductase; Tetrahydropyrido[4,3-*d*]pyrimidine

弓形虫(*Toxoplasma*)病是一种人畜共患传染性疾病,由弓形虫感染引起的先天性弓形虫病对孕妇的危害尤为严重,可导致其流产、死胎及胎儿思维障碍等异常,免疫受损的病人感染弓形虫后甚至会发生死亡^[1].然而,由于弓形虫生命周期复杂性、发病机制多样性以及生物学特性差异性,目前尚无针对弓形虫的预防性与特异性药物,临床中正在使用的药物往往不能将其彻底治愈,且副作用较大^[2,3].因此,迫切需要开发出抗弓形虫的新药.

新药研发的关键即为药物靶标的确定.然而,在先导化合物的发现过程中,多数化合物即使具有较理想的生物活性,也由于缺乏明确的靶标,使得其难以走向后续临床试验而最终无法面向市场.为寻找具有明确作用靶标的药物骨架,通过结构优化得到具有明确靶点的抗弓形虫化合物,无疑为开发高效低毒的抗弓形虫药物提供了理想的方案^[4,5].其中,弓形虫二氢叶酸还原酶(*Tg*DHFR)是开发抗弓形虫药物的一个理想靶标.*Tg*DHFR抑制剂可干扰弓形虫的叶酸合成通路进而影响其生长繁殖,目前已有多项研究表明,*Tg*DHFR抑制剂可显著抑制弓形虫的增殖^[6-8].

在众多已报道的小分子 *Tg*DHFR 抑制剂中,四氢吡啶并[4,3-*d*]嘧啶类化合物具有理想的目标活性.由 Scheme 1 可见,化合物 **A** 针对 *Tg*DHFR 的半数抑制浓度(IC_{50})仅为 0.09 $\mu\text{mol/L}$,而对哺乳动物(小鼠)肝细胞内二氢叶酸还原酶的抑制活性较低,仅为 0.35 $\mu\text{mol/L}$,表现出一定选择性^[9].同时,磺胺嘧啶作为临床中使用的抗弓形虫药物,具有较强的体内外抗弓形虫作用^[10-12].此外,含有酰胺片段的化合物具有理想的体外抗弓形虫活性^[13-15].基于上述研究,本文选择四氢吡啶并[4,3-*d*]嘧啶作为目标化合物母核,依据药物拼合原理,以酰胺基团作为连接子(Linker),在母核 N_6 位引入不同取代磺胺片段;同时,为增加分子结构多样性,在 C_4 位引入不同取代苯胺片段,设计合成了 20 个新化合物,在细胞水平上考察了其体外抗弓形虫活性.人源二氢叶酸还原酶(*h*DHFR)与 *Tg*DHFR 之间的同源性经 NCBI 数据库进行比对为 34.08%,具有一定的结构相似性,很多化合物在抑制 *Tg*DHFR 的同时亦可抑制 *h*DHFR^[16].因此,以细胞筛选所获高活性分子进行 *Tg*DHFR 及 *h*DHFR 的抑制活性测试,计算目标化合物针对二者的选择性,并通过分子对接技术阐述化合物的作用方式,以期获得更多新型 *Tg*DHFR 抑制剂,为开发抗弓形虫药物提供科学依据.



Scheme 1 Structural design of target compounds

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

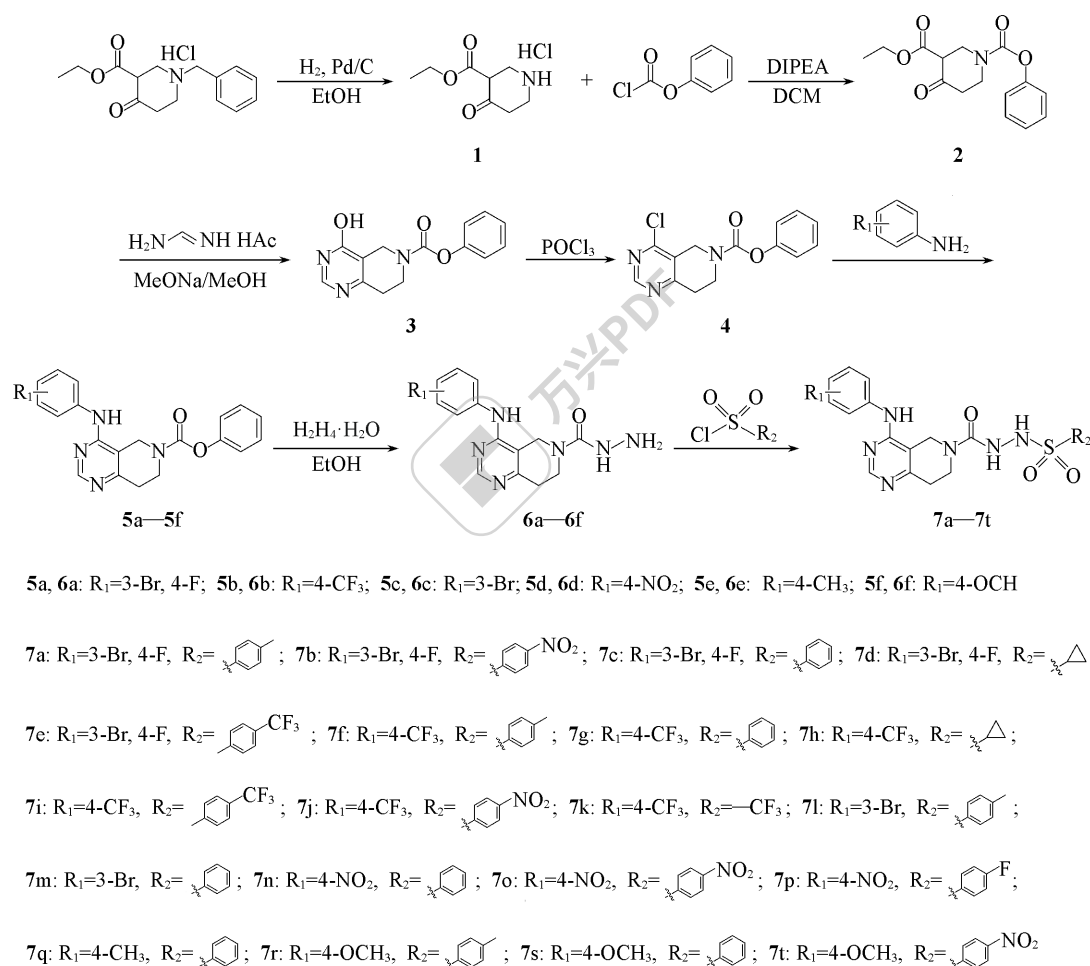
1-苄基-3-乙氧羰基-4-哌啶酮盐酸盐、醋酸甲脒、甲醇钠、钨碳、氯甲酸苯酯、三氯氧磷、水合肼以及不同取代的苯胺和苯磺酰氯(分析纯),磺胺嘧啶和乙胺嘧啶(纯度均为98%),上海阿拉丁生化科技

股份有限公司; 乙醇、*N',N*-二异丙基乙胺、二氯甲烷、甲醇、盐酸、氯化钠、无水硫酸钠、氢氧化钠、甲苯、乙腈和氯化铵, 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 噻唑蓝(MTT)、胎牛血清(FBS)、细胞培养基(DMEM)、二甲基亚砜(DMSO)、*h*DHFR、 β -巯基乙醇、氯化钾、磷酸缓冲盐、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH, 纯度97%)、二氢叶酸(纯度 $\geq 90\%$)、心肌黄酶和刃天青(纯度80%), 美国 Merck 公司。

SGW X-4B 型显微熔点仪, 上海仪电物理光学仪器有限公司; BSA124S 型电子天平, 德国 Sartorius 公司; DF-II 型集热式磁力加热搅拌器, 常州荣华仪器制造有限公司; RE-52 型旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; WFH-203B 型三用紫外分析仪, 上海精科实业有限公司; SHZ-D 型循环水式真空泵, 巩义广华仪器有限责任公司; 1100 型液质联用质谱仪(LC-MS), 美国 Agilent 公司; ARX-600 核磁共振波谱仪(NMR), 德国 Bruker 公司; Vario EL 元素分析仪, 德国 Elementar 公司; ELx800 酶标仪, 美国 BioTex 公司。

1.2 目标化合物的合成

目标化合物的合成路线与化学结构见 Scheme 2, 参考文献[17, 18]方法合成中间体 1~4。



Scheme 2 Synthetic route of the target compounds

1.2.1 中间体 1 的制备 室温下, 将 20.0 g (0.077 mol) 1-苄基-3-乙氧羰基-4-哌啶酮盐酸盐溶于 200 mL 95% (体积分数) 乙醇中, 磁力搅拌下加入 8.0 g (质量分数 10%) Pd/C, 氢气置换, 升温至 40 °C 反应 7 h。反应完毕, 待体系冷却, 垫硅藻土抽滤, 减压蒸馏除去溶剂, 干燥后得到中间体 1 浅红色固体 13.9 g, 收率为 99.4%, 熔点(m. p.) 167.5~168.6 °C, 与文献[19]值相同。

1.2.2 中间体 2 的制备 在冰浴条件下, 将 13.9 g (0.067 mol) 中间体 1 和 21.6 g (0.168 mol) *N',N*-二异丙基乙胺溶于 150 mL 二氯甲烷中, 再缓慢滴加 12.4 g (0.080 mol) 氯甲酸苯酯, 滴加完毕于室温反应 1 h。反应完毕, 将反应液倒入水中, 静置分层, 有机层依次用稀盐酸(15 mL $\times$ 3)和饱和氯化钠溶液



(15 mL×3)洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤, 减压蒸馏除去溶剂, 干燥后得到中间体 **2** 白色固体 19.5 g.

1.2.3 中间体 **3** 的制备 室温下, 将 19.5 g (0.067 mol) 中间体 **2**、8.1 g (0.080 mol) 醋酸甲脒和 14.3 g (0.268 mol) 甲醇钠溶于 200 mL 无水甲醇中, 于 70 °C 反应 6 h. 反应完毕, 减压蒸馏除去溶剂, 加入适量水, 用 NaOH 水溶液调节 pH 至约 12, 用 5 mL 甲苯萃取有机杂质, 剩余水层用浓盐酸调节 pH=4, 析出白色固体, 抽滤, 干燥后得到中间体 **3** 白色固体 10.9 g.

1.2.4 中间体 **4** 的制备 室温下, 将 3.0 g (0.011 mol) 中间体 **3** 加入到 5.0 mL 三氯氧磷中, 升温溶解, 于 100 °C 反应 10 min. 反应完毕, 将反应液冷却至室温, 缓慢倒入冰水中, 用二氯甲烷萃取 (20 mL×3), 合并有机层, 用无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤, 减压蒸馏除去溶剂, 得到中间体 **4** 棕红色油状产物 3.1 g.

1.2.5 中间体 **5a~5f** 的制备 室温下, 将 1.0 g (0.346 mmol) 中间体 **4** 溶于 10 mL 乙腈中, 加入 0.346 mmol 含有不同取代基苯胺和 0.04 g (0.017 mmol) 氯化铵, 升温至 85 °C 反应 3 h, 反应过程中析出黄色固体. 反应完毕, 冷却, 抽滤, 干燥后得到中间体 **5a~5f** 黄色粉末.

1.2.6 中间体 **6a~6f** 的制备 室温下, 将 2.58 mmol 中间体 **5a~5f** 溶于 10 mL 无水乙醇中, 滴加 10 mL 的水合肼 (质量分数 80%), 于 80 °C 反应 2 h, 反应过程有白色固体析出. 反应完毕, 冷却, 抽滤, 干燥后得到中间体 **6a~6f** 白色固体.

1.2.7 目标化合物 **7a~7t** 的制备 室温下, 将 0.3 mmol 中间体 **6a~6f** 加入 10 mL 二氯甲烷中, 再加入 6 mmol 不同取代磺酰氯, 加装干燥管, 室温下反应 3 h. 反应过程中反应液首先变为透明, 之后有固体析出. 反应完毕, 冷却, 抽滤; 滤饼用乙腈溶解, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后直接注入制备型高效液相色谱仪, 以 C18 色谱柱为固定相, 流动相为乙腈-水, 检测波长为 254 nm, 以 50%~70% (体积分数) 的乙腈水溶液进行梯度洗脱, 时间 30 min; 最终得白色或淡黄色固体化合物 **7a~7t**.

1.3 体外抗弓形虫实验

取对数期生长期的 HeLa 细胞, 以每孔 3×10^3 cell 接种于 96 孔板内, 并置于 37 °C 的 5% (体积分数) CO_2 培养箱中培养 24 h, 以获得单细胞层. 移除旧的培养液, 将弓形虫虫体混悬在含 2% (体积分数) FBS 的 DMEM 培养液中, 加入弓形虫速殖子 (RH 株, HeLa 细胞数: 弓形虫速殖子数=1:5), 继续于培养箱内培养 24 h 后, 移除旧的培养液. 随后, 加入含梯度浓度 (1, 10, 50, 100, 200, 500 和 1000 $\mu\text{mol/L}$) 受试药物的 2% FBS-DMEM 培养液, 以磺胺嘧啶和乙胺嘧啶为阳性对照, 每个浓度设 3 个平行孔, 另设空白组, 反应 24 h 后除去上清液, 避光操作, 各孔加入含 MTT 的细胞培养液, 于 37 °C 温育 4 h. 除去培养液, 各孔加入 DMSO, 置于摇床上低速振荡 10 min, 用 492 nm 的酶标仪测定各孔的吸光度值. 平行进行 3 次实验并做数据分析.

在相同实验条件下同时进行受试药物针对 HeLa 细胞的抗增殖实验, 区别仅在于获得单层细胞后未进行弓形虫的侵染, 其它操作同上, 测定各孔的吸光度值, 并计算各组细胞毒性的半数细胞毒性浓度 (CC_{50}) 值以及抗弓形虫活性半抑制浓度 (IC_{50}) 值, 进而求得药物的选择性指数 (SI).

1.4 酶抑制活性测试实验

通过质粒扩增提取纯化获得 $T_g\text{DHFR-TS}$, 经商业渠道购买获得 $h\text{DHFR}$. 将待测化合物配制成 8 个不同浓度的 DMSO 溶液 (1, 10, 50, 100, 200, 500, 1000 和 5000 nmol/L), 随后加入到含有 1 $\mu\text{g/mL}$ 纯化后的 $T_g\text{DHFR-TS}$ 或 $h\text{DHFR}$ 溶液中, 使之悬浮于装有缓冲液 (11.2 g 氯化钾、0.98 g β -巯基乙醇溶于 40.0 mmol/L pH=7.4 磷酸盐缓冲液) 的 96 孔板中, 在 25 °C 下孵育 15 min 后, 以上述缓冲溶液为溶剂, 依次加入最终浓度为 1.6 $\mu\text{mol/L}$ 的 NADPH 和 10 $\mu\text{mol/L}$ 的二氢叶酸. 然后, 于 25 °C 再孵育 1 h 后, 依次加入最终浓度为 10 U/mL 的心肌黄酶和 5 $\mu\text{mol/L}$ 刃天青. 于 25 °C 孵育 10 min 后进行荧光测定, 根据原始荧光数据通过非线性回归计算 IC_{50} 值. 平行进行 3 次实验并做数据分析.

1.5 分子对接实验

通过 Chem 3D 20.0 软件构建配体结构, 随后代入 Molegro Virtual Docker 软件对化合物与 $T_g\text{DHFR-TS}$ 蛋白 (PDB 编号: 6N1S) 进行分子对接. 受体蛋白对接位点的坐标为 (X: 17.68, Y: 68.86, Z: -54.76), 半径 1.5 nm, 选择配体-受体结合能最高的对接结果作为参考, 并使用 Discovery Studio 2020

软件处理对接结果.

2 结果与讨论

2.1 目标化合物的合成与表征

以1-苄基-3-乙氧羰基-4-哌啶酮盐酸盐为起始原料,在Pd/C催化下发生氢化反应,脱去苄基生成中间体1.以DIEPA作为缚酸剂,中间体1与氯甲酸苯酯在0℃到室温条件下反应生成中间体2.中间体2与醋酸甲脒在碱性甲醇溶液中环合生成中间体3,再以三氯氧磷为氯化试剂发生亲核取代反应生成中间体4.随后,中间体4与6种不同取代的苯胺通过亲核取代反应生成中间体5a~5f,接下来在水合肼的乙醇溶液中回流生成中间体6a~6f.最后,以二氯甲烷作溶剂,中间体6a~6f与不同取代的磺酰氯反应生成终产物7a~7t.所有终产物均经过高压制备液相色谱进行分离纯化.

表1列出了中间体及目标化合物的理化数据、质谱及元素分析数据;表2列出了目标化合物的核磁共振波谱数据.

Table 1 Melting point, yield, mass spectra and elemental analysis data of compounds

Compd.	m. p./℃	Yield(%)	MS(ESI), <i>m/z</i>	Formula	Found(calcd.), %		
					C	H	N
2	144.7—146.6	99.9	[M+H] ⁺ 292.10	C ₁₅ H ₁₇ NO ₅	61.85(61.77)	5.88(5.86)	4.81(4.85)
3	250.1—251.2	59.7	[M-H] ⁻ 270.60	C ₁₄ H ₁₃ N ₃ O ₃	61.99(61.96)	4.83(4.82)	15.49(15.56)
4	Oiliness	96.9	[M+H] ⁺ 290.40	C ₁₄ H ₁₂ ClN ₃ O ₂	58.04(57.99)	4.18(4.20)	14.50(14.46)
5a	210.4—212.2	75.1	[M-H] ⁻ 441.63	C ₂₀ H ₁₆ BrFN ₄ O ₂	54.19(54.26)	3.64(3.60)	12.64(12.55)
5b	239.8—240.9	75.4	[M+H] ⁺ 415.25	C ₂₁ H ₁₇ F ₃ N ₄ O ₂	60.87(60.66)	4.14(4.12)	13.52(13.58)
5c	222.4—224.3	79.6	[M+H] ⁺ 425.16	C ₂₀ H ₁₇ BrN ₄ O ₂	56.48(56.40)	4.03(4.04)	13.17(13.22)
5d	256.6—257.1	83.2	[M-H] ⁻ 390.37	C ₂₀ H ₁₇ N ₅ O ₄	61.38(61.40)	4.38(4.36)	17.89(17.96)
5e	250.1—252.0	85.6	[M+H] ⁺ 361.30	C ₂₁ H ₂₀ N ₄ O ₂	69.98(70.01)	5.59(5.62)	15.55(15.50)
5f	251.2—252.3	82.3	[M+H] ⁺ 377.10	C ₂₁ H ₂₀ N ₄ O ₃	67.01(67.07)	5.36(5.35)	14.88(14.92)
6a	243.2—244.7	82.0	[M-H] ⁻ 379.40	C ₁₄ H ₁₄ BrFN ₆ O	44.11(44.10)	3.70(3.66)	22.05(22.12)
6b	248.6—249.9	75.5	[M+H] ⁺ 353.10	C ₁₅ H ₁₅ F ₃ N ₆ O	51.14(51.17)	4.29(4.27)	23.85(23.88)
6c	253.7—255.0	77.9	[M+H] ⁺ 363.39	C ₁₄ H ₁₅ BrN ₆ O	46.30(46.39)	4.16(4.14)	23.14(23.17)
6d	267.9—269.0	80.1	[M-H] ⁻ 328.58	C ₁₄ H ₁₅ N ₇ O ₃	51.06(51.11)	4.59(4.60)	29.77(29.81)
6e	256.4—256.8	84.7	[M+H] ⁺ 299.18	C ₁₅ H ₁₈ N ₆ O	60.39(60.41)	6.08(6.07)	28.17(28.18)
6f	259.9—260.8	83.1	[M+H] ⁺ 315.25	C ₁₅ H ₁₈ N ₆ O ₂	57.31(57.26)	5.77(5.80)	26.74(26.75)
7a	146.3—147.2	75.9	[M+H] ⁺ 535.77	C ₂₁ H ₂₀ BrFN ₆ O ₃ S	47.07(47.11)	3.78(3.77)	15.69(15.70)
7b	222.1—223.0	68.4	[M+Na] ⁺ 589.09	C ₂₀ H ₁₇ BrFN ₇ O ₃ S	42.42(42.41)	3.01(3.03)	17.38(17.31)
7c	186.5—186.9	57.1	[M+H] ⁺ 521.49	C ₂₀ H ₁₈ BrFN ₆ O ₃ S	46.05(46.07)	3.46(3.48)	16.10(16.12)
7d	171.2—173.0	66.4	[M+Na] ⁺ 507.75	C ₁₇ H ₁₈ BrFN ₆ O ₃ S	42.05(42.07)	3.72(3.74)	17.36(17.32)
7e	126.3—126.9	68.1	[M-H] ⁻ 587.68	C ₂₁ H ₁₇ BrF ₄ N ₆ O ₃ S	42.75(42.80)	2.95(2.91)	14.26(14.26)
7f	157.4—158.0	75.5	[M-H] ⁻ 505.74	C ₂₂ H ₂₁ F ₃ N ₆ O ₃ S	52.25(52.17)	4.19(4.18)	16.46(16.59)
7g	194.1—194.5	68.4	[M-H] ⁻ 491.56	C ₂₁ H ₁₉ F ₃ N ₆ O ₃ S	51.27(51.22)	3.88(3.89)	17.10(17.07)
7h	163.0—163.3	51.9	[M-H] ⁻ 455.58	C ₁₈ H ₁₉ F ₃ N ₆ O ₃ S	47.27(47.37)	4.22(4.20)	18.40(18.41)
7i	140.9—141.6	58.4	[M-H] ⁻ 559.71	C ₂₂ H ₁₈ F ₆ N ₆ O ₃ S	47.17(47.15)	3.22(3.24)	14.87(14.99)
7j	255.2—256.0	58.4	[M-H] ⁻ 536.73	C ₂₁ H ₁₈ F ₃ N ₇ O ₃ S	47.00(46.93)	3.36(3.38)	18.36(18.24)
7k	171.2—173.0	59.5	[M+Na] ⁺ 453.90	C ₁₆ H ₁₇ F ₃ N ₆ O ₃ S	44.56(44.65)	3.97(3.98)	19.60(19.53)
7l	223.4—223.8	65.5	[M+Na] ⁺ 539.03	C ₂₁ H ₂₁ BrN ₆ O ₃ S	48.68(48.75)	4.12(4.09)	16.20(16.24)
7m	234.5—234.9	58.4	[M+Na] ⁺ 525.01	C ₂₀ H ₁₉ BrN ₆ O ₃ S	47.69(47.72)	3.81(3.80)	16.70(16.70)
7n	240.5—240.9	62.1	[M+Na] ⁺ 492.06	C ₂₀ H ₁₉ N ₇ O ₃ S	51.18(51.17)	4.10(4.08)	20.87(20.88)
7o	220.4—222.3	58.3	[M+H] ⁺ 515.15	C ₂₀ H ₁₈ N ₈ O ₇ S	46.68(46.69)	3.56(3.53)	21.86(21.78)
7p	189.8—190.3	52.7	[M+H] ⁺ 488.00	C ₂₀ H ₁₈ FN ₇ O ₅ S	49.24(49.28)	3.71(3.72)	20.10(20.11)
7q	250.3—250.7	63.3	[M+H] ⁺ 439.15	C ₂₁ H ₂₂ N ₆ O ₃ S	57.55(57.52)	5.05(5.06)	19.18(19.17)
7r	218.4—219.2	73.3	[M+H] ⁺ 469.26	C ₂₂ H ₂₄ N ₆ O ₄ S	56.45(56.40)	5.15(5.16)	17.96(17.94)
7s	253.0—253.7	63.5	[M+H] ⁺ 455.20	C ₂₁ H ₂₂ N ₆ O ₄ S	55.50(55.50)	4.89(4.88)	18.50(18.49)
7t	233.4—234.2	61.9	[M+H] ⁺ 500.15	C ₂₁ H ₂₁ N ₇ O ₆ S	50.39(50.50)	4.27(4.24)	19.69(19.63)



Table 2 NMR data of target compounds

Compd.	^1H NMR, δ (DMSO- d_6 , 600 MHz)	^{13}C NMR, δ (DMSO- d_6 , 150 MHz)
7a	9.15(d, $J=2.1$ Hz, 1H), 9.12—9.01(m, 1H), 8.57(s, 1H), 8.44(s, 1H), 8.05(dd, $J=6.4$, 2.7 Hz, 1H), 7.70(ddd, $J=9.1$, 4.4, 2.7 Hz, 1H), 7.64(d, $J=8.0$ Hz, 2H), 7.34(t, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.22(d, $J=7.9$ Hz, 2H), 4.28(s, 2H), 3.56(t, $J=5.8$ Hz, 2H), 2.65(t, $J=5.9$ Hz, 2H), 2.30(s, 3H)	160.95, 156.79, 156.54, 155.39, 154.47($J_{\text{C-F}}=239.0$ Hz), 143.37, 137.45, 136.05, 129.42(2C), 128.22(2C), 126.28, 123.08($J_{\text{C-F}}=9.0$ Hz), 116.60($J_{\text{C-F}}=23.0$ Hz), 111.93, 107.49($J_{\text{C-F}}=22.0$ Hz), 41.26, 41.06, 31.08, 21.40
7b	10.20(s, 1H), 9.93(d, $J=1.7$ Hz, 1H), 9.43—9.32(m, 1H), 8.81(s, 1H), 8.40—8.31(m, 2H), 8.24—8.13(m, 1H), 7.93(dd, $J=6.3$, 2.6 Hz, 1H), 7.87—7.74(m, 1H), 7.60(ddd, $J=9.0$, 4.5, 2.6 Hz, 1H), 7.45(t, $J=8.7$ Hz, 1H), 4.36(s, 2H), 3.62(t, $J=5.8$ Hz, 2H), 2.86(t, $J=6.0$ Hz, 2H)	158.46, 156.59, 153.55($J_{\text{C-F}}=248.0$ Hz), 150.75, 150.20, 145.35, 129.83(2C), 129.38, 127.39, 126.05($J_{\text{C-F}}=7.0$ Hz), 124.45(2C), 123.82, 117.12($J_{\text{C-F}}=23.0$ Hz), 112.61, 108.00($J_{\text{C-F}}=22.0$ Hz), 40.92, 40.83, 27.10
7c	9.29(d, $J=1.7$ Hz, 1H), 9.12—9.06(m, 1H), 8.58(s, 1H), 8.44(s, 1H), 8.05(dd, $J=6.4$, 2.6 Hz, 1H), 7.78(d, $J=7.3$ Hz, 2H), 7.70(ddd, $J=9.0$, 4.3, 2.7 Hz, 1H), 7.58(t, $J=7.4$ Hz, 1H), 7.47(t, $J=7.7$ Hz, 2H), 7.34(t, $J=8.8$ Hz, 1H), 4.29(s, 2H), 3.56(t, $J=5.7$ Hz, 2H), 2.67(t, $J=5.4$ Hz, 2H)	160.94, 156.80, 156.62, 155.42, 154.70($J_{\text{C-F}}=242.0$ Hz), 139.21, 137.49, 133.18, 129.05(2C), 128.13(2C), 126.40, 123.23($J_{\text{C-F}}=9.0$ Hz), 116.75, 116.52($J_{\text{C-F}}=22.0$ Hz), 111.89, 41.26, 40.98, 31.26
7d	9.08(s, 1H), 8.93(s, 1H), 8.66(s, 1H), 8.45(s, 1H), 8.09(dd, $J=6.4$, 2.6 Hz, 1H), 7.73(ddd, $J=8.9$, 4.3, 2.7 Hz, 1H), 7.35(t, $J=8.8$ Hz, 1H), 4.50(s, 2H), 3.70(t, $J=5.8$ Hz, 2H), 2.75(t, $J=5.8$ Hz, 2H), 0.93—0.87(m, 4H)	160.99, 157.47, 156.67, 156.40($J_{\text{C-F}}=240.0$), 155.49, 137.51, 130.03($J_{\text{C-F}}=9.2$ Hz), 126.35, 123.16, 116.66($J_{\text{C-F}}=24.0$ Hz), 111.96, 41.38, 40.97, 31.41, 29.32, 5.42(2C)
7e	9.62(s, 1H), 9.22(s, 1H), 8.60(s, 1H), 8.44(s, 1H), 8.05(dd, $J=6.4$, 2.6 Hz, 1H), 7.98(d, $J=8.2$ Hz, 2H), 7.83(d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.69(ddd, $J=8.9$, 4.3, 2.7 Hz, 1H), 7.34(t, $J=8.8$ Hz, 1H), 4.29(s, 2H), 3.58(t, $J=5.7$ Hz, 2H), 2.68(t, $J=5.4$ Hz, 2H)	160.89, 156.73, 156.61, 155.45, 153.90($J_{\text{C-F}}=246.0$ Hz), 143.40, 137.49, 132.50($J_{\text{C-F}}=32.5$ Hz), 129.12(2C), 126.37(2C), 126.20, 125.90($J_{\text{C-F}}=267.9$ Hz), 123.13, 116.65($J_{\text{C-F}}=33.0$ Hz), 111.91, 107.48($J_{\text{C-F}}=33.0$ Hz), 41.33, 41.08, 31.16
7f	9.16(s, 1H), 9.09(s, 1H), 8.77(s, 1H), 8.50(s, 1H), 7.93(d, $J=8.6$ Hz, 2H), 7.66(dd, $J=17.0$, 8.5 Hz, 4H), 7.22(d, $J=8.1$ Hz, 2H), 4.34(s, 2H), 3.57(t, $J=5.7$ Hz, 2H), 2.67(t, $J=5.4$ Hz, 2H), 2.30(s, 3H)	161.52, 156.84, 156.55, 155.39, 143.87, 143.42, 136.10, 129.45(2C), 128.26(2C), 126.10($J_{\text{C-F}}=3.8$ Hz), 126.00, 125.10($J_{\text{C-F}}=31.3$ Hz), 123.61($J_{\text{C-F}}=267.0$ Hz), 121.50(2C), 112.70, 41.42, 41.06, 31.16, 21.44
7g	9.31(d, $J=2.1$ Hz, 1H), 9.11(d, $J=2.3$ Hz, 1H), 8.84(s, 1H), 8.50(s, 1H), 7.92(d, $J=8.4$ Hz, 3H), 7.78(d, $J=7.2$ Hz, 2H), 7.68(d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.57(d, $J=7.4$ Hz, 1H), 7.47(s, 1H), 4.35(s, 2H), 3.58(t, $J=5.9$ Hz, 2H), 2.69(t, $J=5.8$ Hz, 2H)	161.08, 156.79, 156.65, 155.18, 143.73, 139.20, 133.18, 129.96, 129.05(2C), 128.13(2C), 127.85($J_{\text{C-F}}=264.0$ Hz), 126.00, 122.17, 121.70(2C), 112.65, 41.34, 41.02, 31.10
7h	9.09(s, 1H), 8.93(s, 1H), 8.84(s, 1H), 8.50(s, 1H), 7.96(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.68(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 4.56(s, 2H), 3.72(t, $J=5.8$ Hz, 2H), 2.78(t, $J=5.8$ Hz, 2H), 0.90(s, 4H)	161.50, 157.48, 156.63, 155.45, 143.88, 127.00(2C), 126.05, 126.01($J_{\text{C-F}}=262.0$ Hz), 121.53(2C), 112.68, 41.47, 40.96, 31.47, 29.34, 5.43(2C)
7i	9.24(s, 1H), 8.85(s, 1H), 8.49(s, 1H), 8.07(s, 1H), 7.96(dd, $J=14.0$, 8.3 Hz, 4H), 7.83(d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.67(d, $J=8.6$ Hz, 2H), 4.38(s, 2H), 3.58(t, $J=5.8$ Hz, 2H), 2.70(t, $J=5.6$ Hz, 2H)	156.75, 155.44, 150.82, 150.34, 147.15, 143.94, 136.81, 134.06($J_{\text{C-F}}=268.0$ Hz), 129.14(2C), 126.22, 126.02($J_{\text{C-F}}=3.0$ Hz, 2C), 122.72($J_{\text{C-F}}=30.0$ Hz), 121.78($J_{\text{C-F}}=268.0$ Hz), 121.47(3C), 112.65, 41.58, 41.01, 29.52
7j	10.32(s, 1H), 9.94(s, 1H), 9.41(s, 1H), 8.84(s, 1H), 8.36(d, $J=8.9$ Hz, 2H), 8.08(d, $J=8.9$ Hz, 2H), 7.85(d, $J=8.7$ Hz, 2H), 7.79(d, $J=8.8$ Hz, 2H), 4.45(s, 2H), 3.64(t, $J=5.5$ Hz, 2H), 2.91(t, $J=5.1$ Hz, 2H)	158.41, 156.61, 153.11, 150.78, 150.19, 145.39, 141.41, 129.82(2C), 126.26($J_{\text{C-F}}=3.0$ Hz, 2C), 125.85($J_{\text{C-F}}=30.0$ Hz), 123.33($J_{\text{C-F}}=268.0$ Hz), 124.59(2C), 124.45(2C), 113.13, 41.13, 40.77, 27.31
7k	9.15(s, 1H), 8.98(s, 1H), 8.84(s, 1H), 8.50(s, 1H), 7.97(d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.68(d, $J=8.7$ Hz, 2H), 4.57(s, 2H), 3.72(t, $J=5.7$ Hz, 2H), 2.93(s, 3H), 2.77(t, $J=5.7$ Hz, 2H)	161.44, 157.27, 156.62, 155.45, 143.89, 130.11, 126.04, 126.01($J_{\text{C-F}}=264.0$ Hz), 125.09, 121.52(2C), 112.50, 41.42, 40.79, 31.52, 29.48
7l	9.87(s, 1H), 9.26(s, 1H), 9.18(s, 1H), 8.77(s, 1H), 7.87(s, 1H), 7.67(d, $J=8.0$ Hz, 2H), 7.62(d, $J=7.9$ Hz, 1H), 7.40(dt, $J=15.8$, 7.7 Hz, 2H), 7.28(d, $J=7.8$ Hz, 2H), 4.36(s, 2H), 3.60(s, 2H), 2.80(s, 2H), 2.33(s, 3H)	158.12, 156.78, 151.47, 143.47, 139.53, 136.24, 131.01, 129.52(2C), 128.50, 128.27(2C), 126.58, 125.94, 123.03, 121.57, 112.81, 41.08, 40.53, 27.57, 21.48

Continued

Compd.	¹ H NMR, δ (DMSO-d ₆ , 600 MHz)	¹³ C NMR, δ (DMSO-d ₆ , 150 MHz)
7m	10.09(s, 1H), 9.39(s, 1H), 9.23(s, 1H), 8.80(s, 1H), 7.89—7.77(m, 3H), 7.61(t, <i>J</i> =8.8 Hz, 2H), 7.51(t, <i>J</i> =7.6 Hz, 2H), 7.44(d, <i>J</i> =8.1 Hz, 1H), 7.39(t, <i>J</i> =8.0 Hz, 1H), 4.38(s, 2H), 3.61(t, <i>J</i> =5.5 Hz, 2H), 2.84(t, <i>J</i> =4.9 Hz, 2H)	158.37, 156.75, 152.75, 150.75, 139.29, 133.22, 131.02, 129.12 (2C), 128.79, 128.70, 128.15 (2C), 126.94, 123.39, 121.56, 112.84, 41.07, 40.22, 27.13
7n	10.34(s, 1H), 9.39(s, 1H), 9.26(s, 1H), 8.87(s, 1H), 8.30(d, <i>J</i> =9.2 Hz, 2H), 7.97(d, <i>J</i> =9.2 Hz, 2H), 7.81(d, <i>J</i> =7.3 Hz, 2H), 7.60(t, <i>J</i> =7.4 Hz, 1H), 7.51(t, <i>J</i> =7.6 Hz, 2H), 4.47(s, 2H), 3.62(t, <i>J</i> =5.4 Hz, 2H), 2.88(s, 2H)	158.14, 156.75, 153.80, 151.01, 144.32, 144.06, 139.29, 133.22, 129.11 (2C), 128.15 (2C), 124.81 (3C), 123.75 (2C), 113.93, 41.27, 40.88, 27.55
7o	9.97(s, 1H), 9.92(d, <i>J</i> =1.6 Hz, 1H), 9.32(s, 1H), 8.84(s, 1H), 8.29(d, <i>J</i> =9.1 Hz, 2H), 8.19(d, <i>J</i> =8.5 Hz, 2H), 7.91(d, <i>J</i> =9.1 Hz, 2H), 7.83(d, <i>J</i> =8.6 Hz, 2H), 4.39(s, 2H), 3.62(t, <i>J</i> =5.8 Hz, 2H), 2.83(t, <i>J</i> =5.8 Hz, 2H)	157.80, 156.53, 154.77, 150.17, 147.69, 145.28, 129.77, 127.36 (2C), 124.87 (2C), 124.39 (2C), 123.77 (2C), 123.37, 113.69, 40.95, 40.52, 39.57
7p	9.39(s, 1H), 9.18(d, <i>J</i> =12.8 Hz, 2H), 8.58(s, 1H), 8.22(d, <i>J</i> =9.1 Hz, 3H), 8.02(d, <i>J</i> =9.2 Hz, 2H), 7.83(dd, <i>J</i> =8.5, 5.3 Hz, 2H), 7.30(t, <i>J</i> =8.7 Hz, 2H), 4.41(s, 2H), 3.59(t, <i>J</i> =5.6 Hz, 2H), 2.72(t, <i>J</i> =5.3 Hz, 2H)	161.98(<i>J</i> _{C-F} =208.4 Hz), 156.72, 156.23, 155.28, 146.85, 141.83, 135.51, 131.22(<i>J</i> _{C-F} =9.0 Hz), 126.00(<i>J</i> _{C-F} =9.0 Hz), 124.97 (2C), 120.88, 120.65 (2C), 116.23(<i>J</i> _{C-F} =22.5 Hz), 113.51, 113.49(<i>J</i> _{C-F} =22.5 Hz), 45.92, 41.45, 31.24
7q	9.97(s, 1H), 9.39(s, 1H), 9.20(s, 1H), 8.70(s, 1H), 7.80(d, <i>J</i> =7.3 Hz, 2H), 7.60(t, <i>J</i> =6.9 Hz, 1H), 7.51(t, <i>J</i> =7.7 Hz, 2H), 7.40(d, <i>J</i> =8.1 Hz, 2H), 7.23(d, <i>J</i> =8.0 Hz, 2H), 4.34(s, 2H), 3.60(s, 3H), 2.79(s, 2H), 2.32(s, 3H)	162.76, 158.43, 156.75, 150.60, 139.24, 135.77, 134.79, 133.23, 129.57 (2C), 129.11 (2C), 128.16 (2C), 124.79 (2C), 112.20, 40.98, 36.25, 31.24, 26.29
7r	10.08(s, 1H), 9.27(d, <i>J</i> =2.1 Hz, 1H), 9.20(d, <i>J</i> =2.2 Hz, 1H), 8.72(s, 1H), 7.68(d, <i>J</i> =8.0 Hz, 2H), 7.42(d, <i>J</i> =8.8 Hz, 2H), 7.29(d, <i>J</i> =8.0 Hz, 2H), 6.99(d, <i>J</i> =8.9 Hz, 2H), 4.34(s, 2H), 3.78(s, 3H), 3.60(t, <i>J</i> =5.8 Hz, 2H), 2.80(t, <i>J</i> =5.8 Hz, 2H), 2.34(s, 3H)	158.49, 157.86, 156.81, 150.88, 150.20, 143.49, 136.23, 129.92, 129.52 (2C), 128.29 (2C), 126.48 (2C), 114.35 (2C), 112.11, 55.80, 41.03, 40.53, 26.45, 21.48
7s	10.09(s, 1H), 9.39(d, <i>J</i> =2.0 Hz, 1H), 9.23(d, <i>J</i> =2.1 Hz, 1H), 8.70(s, 1H), 7.84—7.78(m, 2H), 7.60(t, <i>J</i> =7.4 Hz, 1H), 7.51(t, <i>J</i> =7.7 Hz, 2H), 7.42(d, <i>J</i> =8.8 Hz, 2H), 6.99(d, <i>J</i> =8.8 Hz, 2H), 4.34(s, 2H), 3.78(s, 3H), 3.60(t, <i>J</i> =5.8 Hz, 2H), 2.81(t, <i>J</i> =5.8 Hz, 2H)	158.49, 157.86, 156.77, 150.16, 139.24, 133.22, 129.91, 129.11 (2C), 128.16 (2C), 126.50 (2C), 114.34 (3C), 112.06, 55.80, 41.01, 40.53, 26.52
7t	9.95(d, <i>J</i> =18.8 Hz, 2H), 9.38(s, 1H), 8.68(s, 1H), 8.35(d, <i>J</i> =8.7 Hz, 2H), 8.07(d, <i>J</i> =8.7 Hz, 2H), 7.41(d, <i>J</i> =8.8 Hz, 2H), 6.98(d, <i>J</i> =8.9 Hz, 2H), 4.34(s, 2H), 3.77(s, 3H), 3.62(t, <i>J</i> =5.4 Hz, 2H), 2.83(s, 2H)	158.37, 157.75, 156.60, 150.48, 150.14, 145.34, 130.03, 129.79 (2C), 126.35 (2C), 124.39 (2C), 114.30 (3C), 111.89, 55.79, 40.99, 40.52, 26.88

2.2 目标化合物的体外抗弓形虫活性及构效关系

用CC₅₀值衡量目标化合物对宿主HeLa细胞的增殖抑制能力,用IC₅₀值衡量目标化合物抑制弓形虫在宿主细胞中的增殖能力. SI=CC₅₀/IC₅₀可以直观评价化合物的体外抗弓形虫作用的大小,其数值越大越理想. 目标化合物的体外抗弓形虫活性测试结果如表3所示. 共11个化合物表现出比阳性对照药乙胺嘧啶更强的体外抗弓形虫作用,其中,有10个化合物的抗弓形虫活性同时优于阳性对照药磺胺嘧啶. 特别是化合物7p,在所有化合物中活性最强,其SI值为2.40,分别是磺胺嘧啶及乙胺嘧啶的2.8与2.7倍. 初步的构效关系研究显示,在磺胺基上连接脂肪烃对目标活性不利,同时,在磺胺基上连接苯环时,苯环上无取代基时活性降低. 此外,对于C₄位苯环上取代基的种类增强活性的顺序为4-NO₂>3-Br,4-F>4-CF₃>3-Br>4-OCH₃>4-CH₃,由此可见,在C₄位苯环的对位上引入吸电子基对活性有利.

2.3 化合物7p对TgDHFR及hDHFR的抑制活性

弓形虫作为一类原生动物,其DHFR需要与胸苷酸合成酶(TS)表达为双功能酶(DHFR-TS)来发挥生物学功能,而其它动物及人类则不需要^[6]. 基于化合物7p具有最为突出的抗弓形虫活性,因此选择

Table 3 *In vitro* anti-Toxoplasma activity of compounds

Compd.	CC ₅₀ in HeLa cells/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	IC ₅₀ in <i>T. gondii</i> /($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	SI	Compd.	CC ₅₀ in HeLa cells/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	IC ₅₀ in <i>T. gondii</i> /($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	SI
7a	197.6±2.0	152.1±1.2	1.30	7l	429.6±1.5	387.0±4.1	1.11
7b	132.8±1.8	96.9±0.8	1.37	7m	174.6±3.0	335.9±1.8	0.52
7c	110.5±0.5	157.9±1.5	0.70	7n	361.7±4.1	441.1±6.7	0.82
7d	165.2±1.6	122.4±0.4	1.35	7o	162.8±1.2	92.2±1.1	1.77
7e	>1000	>1000	—	7p	186.5±1.4	77.6±0.5	2.40
7f	247.2±1.9	204.3±2.2	1.21	7q	190.5±1.5	389.0±3.1	0.49
7g	335.4±5.5	609.8±3.5	0.55	7r	434.6±3.7	452.7±5.0	0.96
7h	>1000	>1000	—	7s	275.2±3.7	550.6±5.7	0.50
7i	250.4±3.2	210.4±2.6	1.19	7t	440.1±2.4	402.6±2.3	1.09
7j	200.2±2.2	156.6±1.5	1.28	Sulfadiazine	466.2±2.8	549.0±3.5	0.85
7k	907.1±5.5	>1000	—	Pyrimethamine	749.0±1.7	832.2±2.1	0.90

其来考察目标化合物针对 *Tg*DHFR-TS 及 *h*DHFR 的抑制活性与选择性. 选择已上市的 *Tg*DHFR 抑制剂乙胺嘧啶作为阳性对照药, 实验结果如表 4 所示, 化合物 7p 针对 *Tg*DHFR-TS 的 IC₅₀ 值仅为 15 nmol/L, 抑制力为乙胺嘧啶的 24 倍. 同时, 化合物 7p 针对 *Tg*DHFR 及 *h*DHFR 的选择性指数也很理想, 高达 97.3, 约为乙胺嘧啶的 14 倍. 上述实验结果表明, 化合物 7p 发挥抗弓形虫活性的作用靶标为 *Tg*DHFR-TS, 并且在 *Tg*DHFR 与 *h*DHFR 之间具有很高的选择性.

Table 4 *Tg*DHFR and *h*DHFR inhibitory activity of compound 7p and Pyrimethamine

Compd.	<i>Tg</i> DHFR IC ₅₀ /(nmol·L ⁻¹)	<i>h</i> DHFR IC ₅₀ /(nmol·L ⁻¹)	SI*
7p	15±1.6	1460±35	97.3
Pyrimethamine	360±9.1	2510±57	6.97

* SI = *h*DHFR IC₅₀/*Tg*DHFR IC₅₀.

2.4 化合物 7p 的分子对接分析

为阐述化合物 7p 与 *Tg*DHFR 的具体作用方式, 将其与 *Tg*DHFR-TS 进行分子对接试验. 从二维图(图 1)可以看出, 化合物 7p 与 *Tg*DHFR-TS 蛋白可形成 5 个至关重要的氢键. 通过三维图(图 2)发现, 化合物 7p 的母核部分的 C₄ 位仲胺上的氢与受体蛋白亚基 A 链上第 356 位的苏氨酸残基的羰基氧原子形成 1 个氢键, 同时, C₄ 位与仲胺相连苯环, 其对位硝基氧原子可作为氢键受体与蛋白 A 链上第 355 位的半胱氨酸残基的巯基氢原子形成 1 个氢键. 此外, C₆ 位苯磺酰胺片段上磺酰胺基氧原子以及仲胺上氢原子可分别作为氢键受体及供体, 分别与 *Tg*DHFR-TS 蛋白 A 链第 312 位精氨酸上胍基氢、第 329 位天冬氨酸上羰基氧原子形成 2 个氢键. 同时, 苯环对位氟原子可作为氢键受体与 337 位天冬酰胺氨基氢原子形成氢键. 在此基础上, C₄ 位与 C₆ 位苯环亦可通过多种分子间作用力巩固配体-受体相互作用, 在一定程度上表明这些片段在发挥目标活性上的结构重要性.

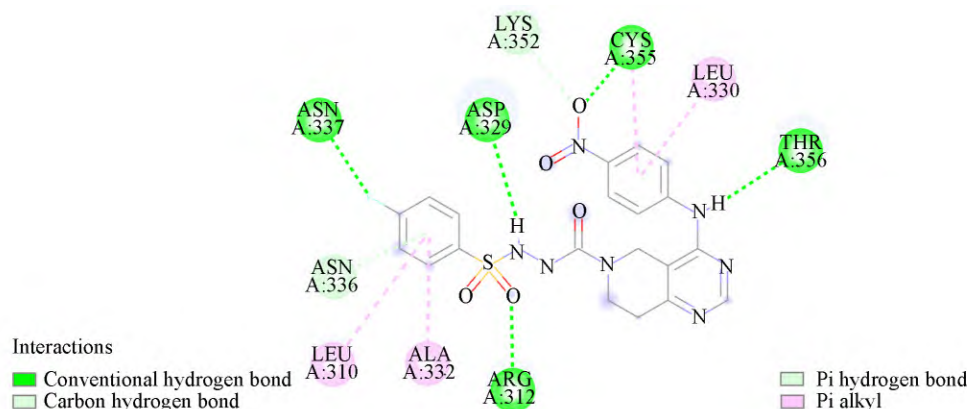


Fig. 1 2D computer modelling of compound 7p binding to *Tg*DHFR

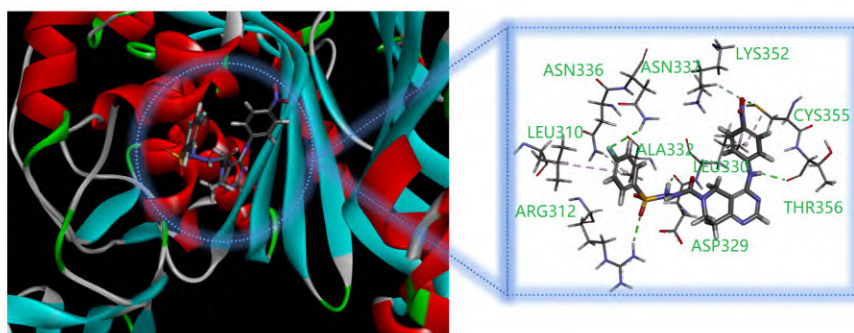


Fig. 2 3D computer modelling of compound 7p binding to TgDHFR

3 结 论

设计合成了20个新型四氢吡啶并[4,3-*d*]嘧啶衍生物并考察了其抗弓形虫活性。体外抗弓形虫活性测试结果显示,10个化合物的选择性优于阳性对照药磺胺嘧啶及乙胺嘧啶。化合物7p活性最优,其抗弓形虫作用靶标为TgDHFR,并且在TgDHFR与hDHFR之间具有很高的选择性,优于乙胺嘧啶。分子对接实验结果表明,化合物7p可通过5个氢键分别与TgDHFR-TS蛋白的Arg312, Asp329, Asn337, Cys355和Thr356残基强力结合来发挥抗弓形虫作用。

参 考 文 献

- [1] Dasa T. T., Geta T. G., Yalew A. Z., Abebe R. M., Kele H. U., *PLoS One*, **2021**, 16(7), e0254209
- [2] Zhang H. B., Shen Q. K., Wang H., Jin C., Jin C. M., Quan Z. S., *Eur. J. Med. Chem.*, **2018**, 158, 414—427
- [3] Daher D., Shaghilil A., Sobh E., Hamie M., Hassan M. E., Moumneh M. B., Itani S., El Hajj R., Tawk L., El Sabban M., El Hajj H., *Pathogens*, **2021**, 10(11), 1351
- [4] Deng H., Huang X., Jin C., Jin C. M., Quan Z. S., *Bioorg. Chem.*, **2020**, 94, 103467
- [5] Zhang R. H., Jin R., Deng H., Shen Q. K., Quan Z. S., Jin C. M., *Korean J. Parasitol.*, **2021**, 59(3), 297—301
- [6] Vanichtanankul J., Yoomuang A., Taweetchai S., Saeyang T., Pengon J., Yuvaniyama J., Tarnchompoo B., Yuthavong Y., Kamchongwongpaisan S., *ACS Chem. Biol.*, **2022**, 17(7), 1691—1702
- [7] Hoppera A. T., Brockmana A., Wiseb A., Gouldb J., Barksc J., Radkec J. B., Sibleyc L. D., Zoud Y., Thomas S., *J. Med. Chem.*, **2019**, 62(3), 1562—1576
- [8] Huang D. B., *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, **2021**, 99(4), 115296
- [9] Rosowsky A., Mota C. E., Queener S. F., *J. Heterocyclic Chem.*, **1995**, 32(1), 335—340
- [10] Martins-Duarte E. S., Portes J. A., de Silva R. B., Pires H. S., Garden S. J., de Souza W., *Bioorg. Med. Chem.*, **2021**, 50, 116467
- [11] Węglińska L., Bekier A., Trotsko N., Kaproń B., Plech T., Dzitko K., Paneth A., *J. Enzym Inhib. Med. Ch.*, **2022**, 37(1), 2621—2634
- [12] Reiter-Owona I., Hlobil H., Enders M., Klarmann-Schulz U., Gruetzmacher B., Rilling V., Hoerauf A., Garweg J. G., *Eur. J. Med. Res.*, **2020**, 25(1), 59
- [13] Hencken C. P., Brando L. J., Bordón C., Stohler R., Mott B. T., Yolken R., Posner G. H., Woodard L. E., *J. Med. Chem.*, **2010**, 53(9), 3594—3601
- [14] Tipparaju S. K., Muench S. P., Mui E. J., Ruzheinikov S. N., Lu J. Z., Hutson S. L., Kirisits M. J., Prigge S. T., Roberts C. W., Henriquez F. L., Kozikowski A. P., Rice D. W., McLeod R. L., *J. Med. Chem.*, **2010**, 53(17), 6287—6300
- [15] Silveira G. R., Campelo K. A., Lima G. R. S., Carvalho L. P., Samarão S. S., Vieira-da-Motta O., Mathias L., Matos C. R. R., Vieira I. J. C., Melo E. J. T., Maria E. J., *Molecules*, **2018**, 23(4), 774
- [16] Bag S., Tawari N. R., Queener S. F., Degani M. S., *J. Enzym Inhib. Med. Ch.*, **2010**, 25(3), 331—339
- [17] Jiang N., Zhou Y. H., Zhu M. L., Zhang J. L., Cao M., Lei H. R., Guo M., Gong P., Su G. Y., Zhai X., *Eur. J. Med. Chem.*, **2020**, 187, 111904
- [18] Jing T. F., Miao X. Q., Jiang F., Guo M., Xing L. Y., Zhang J. L., Zuo D. Y., Lei H. R., Zhai X., *Bioorg. Med. Chem.*, **2018**, 26(8), 1784—1796
- [19] Ngo A. N., Kassimi K. E., Amara Z., Drège E., Joseph D., *Tetrahedron Lett.*, **2012**, 53(26), 3296—3300

(Ed.: L, H, W, K)