

含有四氮唑砒基的辛弗林磺酰胺衍生物的合成及其抗菌活性研究

李文粒¹, 范莉^{1*}, 刘寒驰¹, 彭诗琦², 李鑫², 郑怡¹,
吴景灏¹, 李芬芬¹, 杨大成^{1*}

(1. 西南大学化学化工学院, 重庆市高校应用化学重点实验室, 重庆 400715; 2. 重庆市第八中学校, 重庆 400030)

摘要: 辛弗林是存在于枳实中的天然小分子生物碱, 具有多种生物活性, 但其衍生物研究较少。基于多靶点药物设计策略, 采用分子拼接法, 对辛弗林酚羟基和仲胺基进行结构修饰, 设计并合成了5个中间体和15个目标分子, 所得化合物测试了抗人致病菌和抗真菌活性, 发现2个中间体 **IM4** 和 **IM5** 抗大肠杆菌活性和阳性对照8种氟喹诺酮药物相当; **TM1n** 对耐药热带假丝酵母菌和耐药白色念珠菌抑制活性强于氟康唑, **TM1d** 和 **TM1f** 对白色念珠菌 ATCC90023、**TM1o** 及 **TM1f** 对耐药白色念珠菌以及 **TM1f** 对近平滑念珠菌 ATCC2019 的抑制活性均和氟康唑相当, 都具有深入研究的潜力。本研究首次发现了对人致病真菌具有高抑制活性的辛弗林衍生物, 为辛弗林的进一步研究提供了新的思路。

关键词: 辛弗林; 1-甲基-5-巯基-1*H*-四氮唑; 砒; 磺酰胺; 抗人致病菌活性; 抗真菌活性

中图分类号: R914 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2022)05-1429-11

Synthesis and antibacterial activity of synephrine sulfonamide derivatives containing tetrazole and sulfonyl groups

LI Wen-li¹, FAN Li^{1*}, LIU Han-chi¹, PENG Shi-qi², LI Xin², ZHENG Yi¹, WU Jing-hao¹,
LI Fen-fen¹, YANG Da-cheng^{1*}

(1. Key Laboratory of Applied Chemistry of Chongqing Municipality, School of Chemistry and Chemical Engineering, Southwest University, Chongqing 400715, China; 2. Chongqing No.8 Secondary School, Chongqing 400030, China)

Abstract: Synephrine is a natural small-molecule alkaloid found in *Aurantii fructus immaturus* with versatile biological activities, but its derivatives have been rarely studied so far. Based on the multi-target drug design strategy, the phenolic hydroxyl and secondary amino group of synephrine were modified structurally by the molecular splicing method in this study and thus five intermediates and fifteen target molecules were designed and synthesized. These compounds were evaluated with certain human pathogenic bacteria and fungi, and found that the inhibitory activities of **IM4** and **IM5** against *E. coli* are comparable to those of eight fluoroquinolones; **TM1n** showed stronger inhibitory activity against drug-resistant *C. trobicans* and drug-resistant *C. albicans* than the positive control drug fluconazole. **TM1d** and **TM1f** against *C. albicans* ATCC90023, **TM1o** and **TM1f** against drug-resistant *C. albicans*, and **TM1f** against *C. parapsilosis* ATCC22019 are all comparable to fluconazole, all of which have the potential for in-depth research. In this study, synephrine derivatives with strong inhibitory activities against human pathogenic fungi were discovered for the first time, which provided a new idea for the further study of synephrine.

收稿日期: 2022-01-14; 修回日期: 2022-03-02.

基金项目: 重庆市技术创新与应用发展专项面上项目 (cstc2019jsex-msxmX0123); 重庆市雏鹰计划研究项目 (CY210234); 重庆市大学生创新创业训练计划项目 (S202010635028).

*通讯作者 Tel: 13640566978, E-mail: hxydc@swu.edu.cn;

Tel: 13594205818, E-mail: hxfanl@swu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2022-0059

Key words: synephrine; 1-methyl-5-mercapto-1*H*-tetrazole; sulfone; sulfonamide; activity against human pathogenic bacteria; activity against human pathogenic fungal

细菌产生耐药性是其正常的进化过程。但由于抗菌药物在人类和动物中的交叉使用和/或滥用,加快了细菌耐药的进程。世卫组织全球抗菌素耐药性和使用监测系统 (GLASS) 报告证实,2020年全球抗菌素耐药性正在上升,特别是在低收入和中等收入国家,死亡率和发病率都在增加^[1]。多重耐药性病原真菌的出现并在全球范围内传播,严重威胁着人类健康^[2]。2012年以来,真菌对人类生命健康的影响呈螺旋式上升,真菌疾病的全球死亡率已超过疟疾和乳腺癌,与结核病和艾滋病的死亡率相当^[3]。因此,开发新型抗菌药物以解决耐药性问题迫在眉睫。

辛弗林是一种天然小分子生物碱,存在于柑橘的果皮和果肉中,是中药枳实的主要成分之一;辛弗林具有血管收缩^[4]、减肥^[5]、延缓细胞衰老^[6]、抗哮喘^[7]、抗抑郁^[8]、防脱发^[9]、抗炎^[10]、治疗胃病^[11]、抗菌^[12]等生物活性,目前已收载于北欧三国药典和德国药典,在欧美国家用于医药、食品饮料等行业,应用最广的是作为减肥保健品及饮品。虽然如此,由于辛弗林结构与肾上腺素和麻黄碱相似,其用药安全性曾遭受质疑。大约30项研究表明,在正常剂量下辛弗林不会对心血管产生不良影响,也没有兴奋剂的作用,证明了辛弗林的安全性^[13],从而刺激了人们对辛弗林及其衍生物的研究热情。然而国内外对辛弗林的衍生物研究很少,报道的都是具有抗肿瘤^[14,15]或减肥^[16]活性的羟基衍生物,仲胺衍生物鲜少报道。

唑类化合物具有广泛生物活性,不少唑类化合物是一线抗真菌药物。四氮唑衍生物可用于农药、医药、感光材料等物质的合成,例如picarbutrazox^[17]、四唑吡啶酯^[18]是已经上市的杀真菌药物。1-甲基-5-巯基-1*H*-四氮唑 (5-MMT) 是头孢孟多、头孢甲肟盐酸盐、头孢美唑、头孢替坦等抗菌药物的结构片段,不仅能提高头孢菌

素抗菌活性并且扩大了抗菌谱^[19]。一些研究表明,5-MMT作为重要药效片段,可以提高分子抗菌活性^[20,21]。磺胺药物(如磺胺嘧啶 sulfadiazine)^[22]是较早出现并使用至今的抗菌药物;含磺酰胺基的药物也很多,诸如格列美脲 (glimepiride, 降糖)、呋塞米 (furosemide, 利尿)、西地那非 (sildenafil, 解决勃起功能障碍)^[23-25]。本实验室发现,某些含磺酰胺基的化合物具有抗结核 (H37Rv)、降血脂 (PCSK9) 及抗肿瘤 (IDO1、EZH2、Set8、hNNT等) 等活性^[26-28]。

多靶点药物设计策略,是复杂疾病尤其是多靶点疾病新药开发的新思路。药效团连接法,可将多种作用靶点的药物引入单一分子之中,是多靶点药物设计的思路之一^[29]。辛弗林分子不仅可作为多靶点药物之一,而且可作为母核结构提供1个或多个连接位点;在辛弗林母核的羟基和胺基上引入药效团5-MMT及磺酰基,有可能获得显示多靶点活性的抗真菌和/或抗菌的先导分子。本研究设计了图1所示的分子模式A;考虑到分子的稳定性和生物活性,将分子模式A的硫醚键氧化为砷基,可得到分子模式B;为使设计分子的相对分子质量尽可能低且具有多靶点性以及体内代谢具有一定的稳定性,选取柔性的烷基链作为连接链,进而确定了目标分子的结构模式TM1 (图1)。

通过合成路线设计及反应条件探索,经多步反应合成了20个尚未报道的新分子;抗人致病菌和抗真菌活性测试,发现了高活性分子。本研究为辛弗林衍生物的后续研究奠定了基础。

结果与讨论

1 化学实验

从辛弗林合成目标分子,有4条较为可行的合成路线,如图2所示。

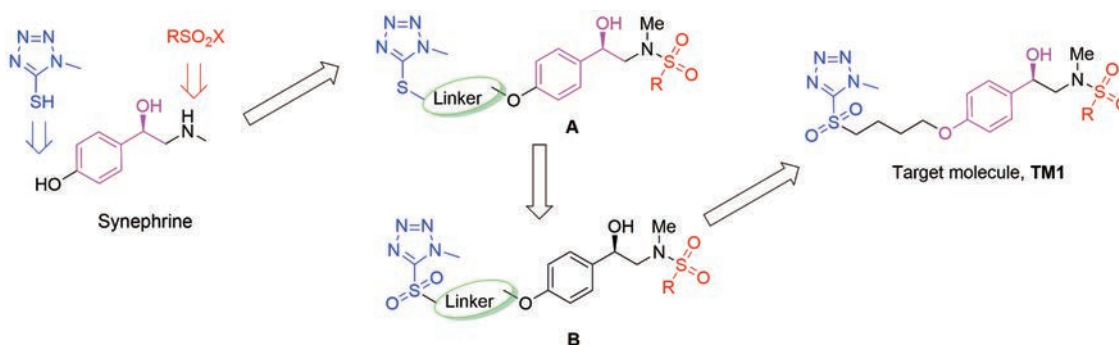


Figure 1 Design of synephrine derivatives TM1

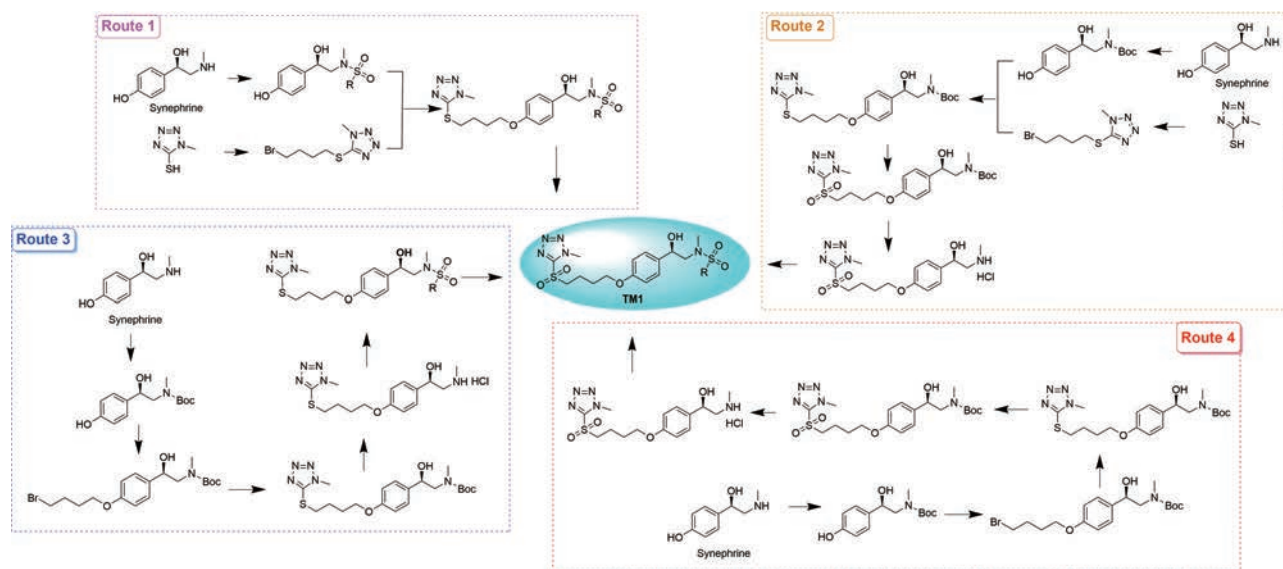
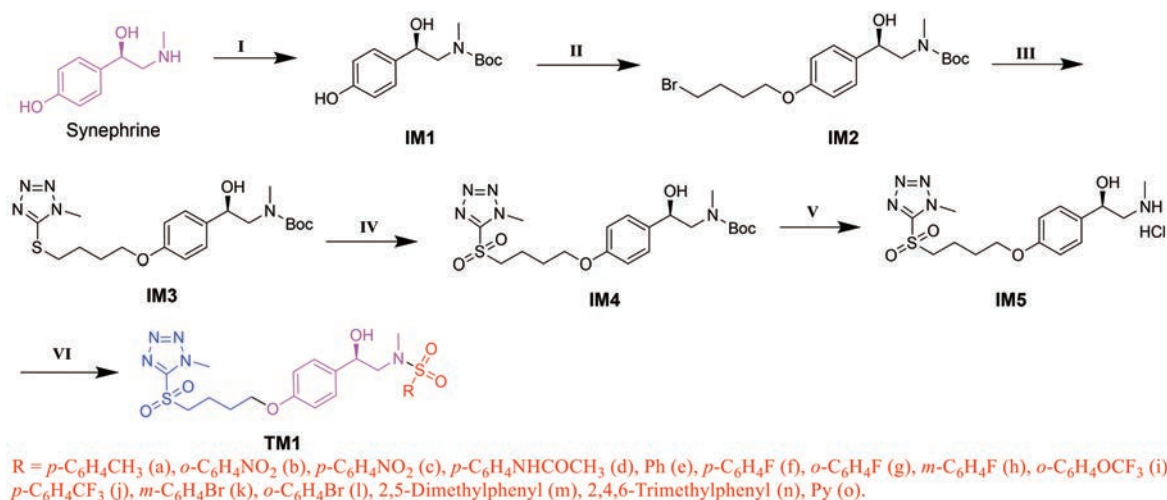


Figure 2 Synthetic routes of target molecule TM1

合成路线 1 最短, 但是辛弗林与 RSO_2Cl 反应时反应位点控制存在一定难度; 二溴代烷与唑反应时位阻小, 但很难控制只生成单取代物; 合成实验个数多 ($1+3X$, X 为磺酰基个数)。合成路线 2 也存在唑与二溴代烷反应时控制生成单取代物的难题, 同时多了辛弗林仲胺的 Boc 保护与脱保护步骤, 但采用先氧化后脱保护策略, 增加了共同中间体, 进而减少了实验个数 ($5+X$)。合成路线 3 和 4 都是线性的逐步合成路线, 合成路线 3 先脱 Boc 再引入磺酰基最后氧化, 合成实验个数 $4+2X$; 合成路线 4 是先氧化再脱 Boc 最后引入磺酰基, 合成实验个数 $5+X$ 。从实验的简洁性看, 合成路线 2 和 4 有更多的共同中间体, 节约总合成时间, 缺点是能得到的化合物数量少。作为一种尝试, 本研究选择合成路线

4 作为目标分子的合成路线 (图 3)。

1.1 中间体 IM1~IM5 的合成 辛弗林的氨基保护方法很多, 本研究选用 $\text{Boc}_2\text{O}/\text{EtOH}$ 法^[30], 反应速度快、选择性好、**IM1** 收率极高 ($>99\%$), 且后处理简便。中间体 **IM2** 的合成, 关键是二溴代烷不要产生双取代产物且不残留二溴丁烷; 在 K_2CO_3 为碱、DMF 为溶剂、 $45\text{ }^\circ\text{C}$ 反应的优化反应条件下合成^[31], 得到的是油状产物, 尝试加入石油醚、快速搅拌, 能够析出白色固体, 将其柱色谱分离后可以得到彻底除掉 1,4-二溴丁烷的纯净 **IM2**。本来预计 **IM3** 的合成不会很简单, 但采用高纯度 **IM2** 在优化条件下合成, 加水即可除掉杂质, 95% 以上收率得到高纯度 **IM3**。中间体 **IM4** 合成是最关键的一步, 作者进行了广泛的条件探索, 在间氯过氧苯甲



Reagents and conditions: (I) Boc_2O , EtOH, r.t., 1 h; (II) 1,4-Dibromobutane, K_2CO_3 , DMF, $45\text{ }^\circ\text{C}$, 4 h; (III) 5-Mercapto-1-methyltetrazole, K_2CO_3 , DMF, $45\text{ }^\circ\text{C}$, 5 h; (IV) mCPBA, DCM, $30\text{ }^\circ\text{C}$, 4 h; (V) HCl-EA, ice bath, 4.5 h; (VI) RSO_2Cl , K_2CO_3 , DMF, ice bath

Figure 3 Synthesis of target molecule TM1

酸 (mCPBA) 2.5 当量、二氯甲烷 (DCM) 作溶剂、反应温度为 30 °C 的优化条件下, 反应 4 h 左右可以完成, 以中等收率实现了关键中间体 **IM4** 的合成。**IM4** 脱 Boc 制备中间体 **IM5**, 虽然成熟方法很多, 但只有采用 HCl-EA 脱 Boc, 才能得到固体产品, 收率 90% 左右。

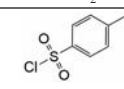
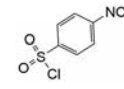
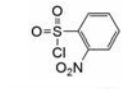
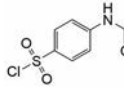
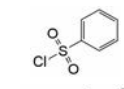
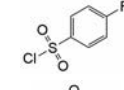
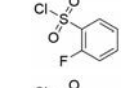
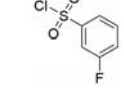
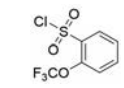
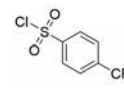
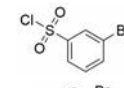
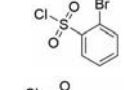
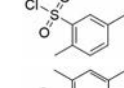
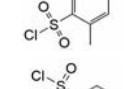
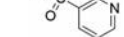
1.2 目标分子 TM1a~TM1o 的合成 虽然仲胺与磺酰氯反应形成磺酰胺的过程比较常见, 但为了实现 **IM5** 分子中醇羟基和仲胺的选择性反应, 作者以 TsCl 为模型, 对 TsCl 和 K_2CO_3 的用量、反应温度、溶剂进行了探索, 发现辛弗林仲胺磺酰化的最好条件为: K_2CO_3 为碱, DMF 为溶剂, 温度 0~5 °C, 投料摩尔比为 **IM5**-

TsCl- K_2CO_3 = 1:1.2:2。按此最优条件合成目标分子 **TM1a~TM1o**, 结果如表 1 所示。该反应收率中等 (41%~67%), 收率与磺酰氯苯环取代基之间存在一定的规律, 一般是对位者 > 间位者 > 邻位者。

2 生物活性评价

2.1 抗人致病菌活性 细菌感染所引发的疾病, 影响着人类健康。抗菌药物的开发挽救了无数生命。以克林沙星 (CLX)、诺氟沙星 (NOR)、环丙沙星 (CIP)、沙拉沙星 (SAR)、恩诺沙星 (ENO)、巴洛沙星 (BAL)、洛美沙星 (LOM)、加替沙星 (GAT) 为阳性对照, 选取 3 株 G^- 菌株、4 株 G^+ 菌株, 用于测试中间体及 **TM1a~**

Table 1 Synthetic results of **TM1a~TM1o**

Compd.	IM5 /mmol/g	RSO_2Cl /mmol/g	K_2CO_3 /mmol/g	DMF/mL	Temp./°C	Time/h	Weight/g	Yield/%
TM1a	1/0.409	 1.2/0.249	2/0.029	1.5	0-5	2	0.278	53.0
TM1b	1/0.410	 1.2/0.276	2/0.028	1.5	0-5	2	0.321	58.1
TM1c	1/0.412	 1.2/0.258	2/0.027	1.5	0-5	2	0.229	41.3
TM1d	1/0.408	 1.2/0.280	0.2/0.030	1.5	0-5	2	0.297	52.4
TM1e	1/0.408	 1.2/0.212	2/0.027	1.5	0-5	2	0.342	67.2
TM1f	1/0.409	 1.2/0.233	2/0.028	1.5	0-5	2	0.323	61.2
TM1g	1/0.411	 1.2/0.235	2/0.027	1.5	0-5	2	0.263	49.8
TM1h	1/0.408	 1.2/0.235	2/0.029	1.5	0-5	3	0.271	51.5
TM1i	1/0.412	 1.2/0.314	2/0.030	1.5	0-5	3	0.319	53.9
TM1j	1/0.408	 1.2/0.299	2/0.027	1.5	0-5	3	0.380	65.8
TM1k	1/0.409	 1.2/0.310	2/0.030	1.5	0-5	2.5	0.299	58.8
TM1l	1/0.410	 1.2/0.308	2/0.028	1.5	0-5	3	0.295	50.2
TM1m	1/0.412	 1.2/0.249	2/0.030	1.5	0-5	3	0.356	66.3
TM1n	1/0.409	 1.2/0.263	2/0.027	1.5	0-5	2.5	0.304	55.2
TM1o	1/0.408	 1.2/0.215	2/0.030	1.5	0-5	3	0.260	50.9

TM1o的抑菌能力, 相关结果见表2。

总体来说, 该系列分子对于G⁺菌的抑制活性强于G⁺菌。对于沙门氏菌, 目标分子TM1o和2个中间体IM1和IM2的MIC值为128 μg·mL⁻¹, 强于母核辛弗林(MIC > 256 μg·mL⁻¹)。对于鲍曼不动杆菌, 这15个磺酰化目标分子TM1的MIC值(0.216~0.251 μmol·mL⁻¹)小于上市药物NOR、ENO、LOM和GAT(0.341~0.401 μmol·mL⁻¹), 表明其活性强于这些上市药物。对于大肠杆菌, 中间体IM5的MIC值为4 μg·mL⁻¹, IM3和IM4的MIC值(2 μg·mL⁻¹)与8种阳性对照药物的MIC值相等, 远强于母核辛弗林(256 μg·mL⁻¹), 说明在辛弗林酚羟基进行衍生可以得到抗大肠杆菌活性提高的分子。

对于大肠杆菌而言, MIC值N-磺酰基衍生物(多数TM1) > N-Ac衍生物(LP TM3-12) > N-Boc衍生物(IM4), 表明NMe连接磺酰基并未提高抗大肠杆菌活性, 但连接脂肪酰基值得后续关注; 将IM3氧化成砷

得到IM4, 虽然二者的MIC值相同, 但IM4相对分子质量更大, 说明活性IM4 > IM3, 亦即硫醚键变成砷基具有提高辛弗林衍生物抗菌活性的趋势。

2.2 抗真菌活性 真菌感染包括常见的浅表或黏膜感染和严重的全身侵袭性真菌感染(invasive fungal infection, IFI), 威胁着全世界数百万人生命。IFIs主要由念珠菌、烟曲霉(*A. fumigatus*)和新生隐球菌(*C. neoformans*)等机会性真菌病原体引起^[31]。白色念珠菌(*C. albicans*)、热带假丝酵母菌(*C. tropicalis*)、近平滑念珠菌(*C. parapsilosis*)属于念珠菌属。本文选取了5种人致病真菌用于测试TM1a~TM1o的抑菌能力, 相关结果见表3。

对于耐药热带假丝酵母菌, 绝大部分TM1的MIC值小于母核辛弗林, IM4和IM5的MIC值分别为0.136和0.158 μmol·mL⁻¹, 亦即活性IM4 > IM5, 表明引入酰胺基能提高母核生物活性; 此外, TM1n MIC值为0.063 μmol·mL⁻¹, 活性大于中间体IM4、IM5和阳性

Table 2 Inhibitory activity of the synthesized molecules against human pathogenic bacteria. CLX: Clinafloxacin; NOR: Norfloxacin; CIP: Ciprofloxacin; SAR: Sarafloxacin; ENO: Enrofloxacin; BAL: Balofloxacin; LOM: Lomefloxacin; GAT: Gatifloxacin

Compd.	Inhibitory activity (MIC, μg·mL ⁻¹ /μmol·mL ⁻¹)						
	<i>E. coli</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>M. luteus</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>S. aureus</i>	
						ATCC25129	ATCC14125
TM1a	256	128/0.244	256	>256	>256	>256	>256
TM1b	256	128/0.231	256	>256	>256	>256	>256
TM1c	256	128/0.231	256	>256	>256	>256	>256
TM1d	256	128/0.226	256	>256	>256	>256	>256
TM1e	256	128/0.251	256	>256	>256	>256	>256
TM1f	256	128/0.243	>256	>256	>256	>256	>256
TM1g	256	128/0.243	>256	256	>256	>256	256
TM1h	128	128/0.243	>256	>256	128	>256	256
TM1i	256	128/0.216	>256	256	>256	>256	256
TM1j	256	128/0.222	>256	256	>256	>256	256
TM1k	256	128/0.217	>256	256	256	>256	256
TM1l	256	128/0.217	>256	256	256	>256	256
TM1m	256	128/0.238	>256	256	256	>256	256
TM1n	256	128/0.232	>256	>256	256	>256	256
TM1o	128	128/0.251	>256	>256	128	>256	256
Synephrine	>256	>256/1.53	>256	>256	>256	>256	>256
LPTM3-12	128	128/0.337	>256	>256	128	>256	256
LPTM3-12a	128	128/0.311	>256	>256	128	>256	256
IM1	128	128/0.479	>256	>256	128	>256	256
IM2	128	128/0.318	>256	256	256	>256	256
IM3	2	128/0.292	>256	256	256	>256	256
IM4	2	128/0.272	>256	256	256	>256	256
IM5	4	128/0.315	256	256	256	>256	256
Blank control	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256
CLX	2	16/0.043 7	2	2	2	>256	4
NOR	2	128/0.401	2	16	2	2	4
CIP	2	32/0.096 6	>256	2	2	2	4
SAR	2	64/0.166	2	16	2	2	4
ENO	2	128/0.400	2	32	2	2	4
BAL	2	64/0.164	2	2	2	2	4
LOM	2	128/0.364	2	16	2	2	4
GAT	2	128/0.341	2	2	2	2	2

Table 3 Inhibitory activity of the synthesized molecules against fungi

Compd.	Inhibitory activity (MIC, $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}/\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$)				
	<i>C. tropicalis</i>	<i>A. fumigatus</i>	<i>C. parapsilosis</i> 22019	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i> 90023
TM1a	256	256	8/0.015	>256	>256
TM1b	>256	256	>256/>0.462	>256	256
TM1c	256	256	8/0.014	>256	256
TM1d	256	256	32/0.056	16/0.028	4/0.007
TM1e	>256	>256	32/0.063	32/0.063	>256
TM1f	256	>256	4/0.008	8/0.014	4/0.008
TM1g	128	256	64/0.121	256	64
TM1h	256	256	128/0.243	>256	32
TM1i	128	256	64/0.108	>256	256
TM1j	256	>256	8/0.014	32/0.056	16/0.028
TM1k	256	>256	64/0.109	64	>256
TM1l	256	>256	64/0.109	32/0.054	8/0.013
TM1m	256	>256	128/0.238	32/0.059	>256
TM1n	32/0.063	256	128/0.232	4/0.007	256
TM1o	128	256	256/0.501	8/0.014	128
LPTM3-12	128	256	16/0.042	16/0.042	64/0.168
Synephrine	>256	256	256/1.53	256	>256
IM1	256	256	128/0.479	256	256
IM2	>256	256	128/0.318	>256	>256
IM3	>256	256	64/0.146	128	256/0.584
IM4	64/0.136	256	64/0.136	32/0.068	128/0.272
IM5	64/0.158	256	256/0.631	128	64/0.158
Fluconazole	32/0.104	128	2/0.007	4/0.013	2/0.007
Blank control	>256	>256	256	>256	>256

对照药物氟康唑 ($\text{MIC} = 0.104 \mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$), 说明辛弗林仲胺基引入磺酰基有可能增强其对耐药热带假丝酵母菌的抑制作用。

对于近平滑念珠菌 ATCC22019, **TM1** 和中间体的 MIC 值 ($0.631\sim 0.008 \mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$) 小于辛弗林 ($1.531 \mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$), 显示其活性都强于辛弗林。**IM3** 和 **IM4** 的 MIC 值分别为 0.146 和 $0.136 \mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$, 说明砜型分子的活性强于硫醚型分子, 这是对目标分子设计的肯定。15 个目标分子中有 10 个的 MIC 值 $< 0.136 \mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$, 强于 **IM3**, 表明多数磺酰化产物的活性强于 Boc 保护产物的活性。**TM1a/1c/1f/1j** 这 4 个分子的 MIC 值低于 $0.015 \mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$, 活性是 LP TM3-12 的 3 倍; **TM1f** 活性最好 ($\text{MIC} = 0.008 \mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$), 和阳性对照药物氟康唑 ($\text{MIC} = 0.007 \mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$) 相当。分析构效关系发现, 磺酰胺环上取代基与活性之间存在如下关系: 吸电子者 $>$ 供电子者, 且供电子越多, 抑菌活性越低; 同一个取代基, 对位者 \geq 邻位者 \geq 间位者。

对于耐药白色念珠菌, 9 个目标分子、含唑中间体 **IM3**~**IM5** 的 MIC 值都小于辛弗林, 说明对辛弗林的胺基、羟基衍生都可以得到高活性分子; **TM1f** 和 **TM1o** 与氟康唑的 MIC 值 ($0.014 \mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$) 相等, **TM1n** 的 MIC 值 ($0.007 \mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$) 是氟康唑的 1/2, 进一步说明分子结构影响其生物活性, 对辛弗林的合理修饰有可能发现高活性抗真菌分子。

对于白色念珠菌 ATCC90023, 8 个目标分子的 MIC 值小于辛弗林, 即活性强于母核。中间体活性 **IM5** $<$ **IM4** $<$ **IM3** (MIC 分别为 0.158 、 0.272 和 $0.584 \mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$), 说明硫醚键氧化成砜且脱掉 Boc 基能够增强抑制白色念珠菌的能力。**TM1d** 和 **TM1f** 活性和氟康唑相当 (MIC 分别为 0.007 、 0.008 和 $0.007 \mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$), 具有进一步研究的潜力。

3 结论

本研究设计了辛弗林酚羟基和甲胺基的含唑和磺酰基衍生物 **TM1**, 通过 6 步反应合成得到了预计的目标分子; ^1H NMR、 ^{13}C NMR 和 HR-MS 确证了目标分子的结构。虽然目标分子对测试的 G^+ 和 G^- 菌抑制活性不强, 但中间体 **IM4** 和 **IM5** 对大肠杆菌的抑制活性与 8 种氟喹诺酮药物相当。抗真菌活性测试发现, **TM1f** 对近平滑念珠菌 ATCC22019、耐药白色念珠菌和白色念珠菌 ATCC90023 抑制活性和氟康唑相当, **TM1n** 对热带假丝酵母菌和耐药白色念珠菌抑制活性都强于氟康唑, 从而发现了较母核活性更好、对人致病真菌具有高抑制活性的未见报道的新分子, 为辛弗林衍生物研究提供了新的思路。

实验部分

核磁共振仪 (Bruker 公司, ADVANCE IIITM 600 MHz, TMS 为内标); 高分辨质谱仪 (QTOF-MS, Bruker Impact II, Germany); 自动旋光仪 (WZZ-2S, 上海精密科学仪

器有限公司); 熔点测定仪 (X-6, 北京福凯仪器有限公司)。

辛弗林 (绵阳迪澳药业有限公司); 1,4-二溴丁烷、 Boc_2O (AR)、1-甲基-5-巯基-1*H*-四氮唑 (AR)、间氯过氧苯甲酸 (AR) (上海达瑞精细化工有限公司); 碳酸钾 (重庆市钛新化工有限公司, AR, 使用前用研钵研细、烘箱干燥), 其余试剂均为市售化学纯或分析纯产品, 反应溶剂经过干燥处理, 其余未经纯化直接使用。

1 化合物的合成

1.1 中间体 IM1 合成 向 100 mL 圆底烧瓶中依次加入原料辛弗林 (8.451 g, 50 mmol)、EtOH (10 mL), 室温 (20 °C) 快速搅拌, 5 min 后, 缓慢滴加 Boc_2O (12.803 g, 55 mmol)。滴毕, 继续室温快速搅拌, TLC 监测反应进程。反应结束后, 旋除 EtOH, 加入适量石油醚 (PE), 超声至有白色固体析出。再加入适量 PE, 搅拌 0.5 h, 抽滤, 干燥, 称重, 得白色固体 IM1 (纯品), 收率 99.2%~99.6%, mp 88.5~90.1 °C。

1.2 中间体 IM2 合成 向 100 mL 圆底烧瓶中依次加入原料 IM1、DMF、研细的 K_2CO_3 粉末, 45 °C 油浴搅拌。0.5 h 后, 滴加 1,4-二溴丁烷, 45 °C 油浴快速搅拌, TLC (DCM-MeOH = 10:1) 监测反应进程。反应停止后, 室温搅拌, 加入饱和 Na_2CO_3 溶液和 DCM, 搅拌 0.5 h, 分液, 收集有机相, 饱和 NaCl 溶液 (10 mL×3) 洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥, 旋除溶剂, 得到淡黄色液体。加入适量 PE, 快速搅拌至有白色固体析出, 抽滤, 收集白色固体, PE 洗涤固体至无 1,4-二溴丁烷气味, 干燥, 称重, 得粗品。柱色谱分离 PE-EA = 10:1~5:1 (v/v), 得白色固体 IM2, 干燥, 称重。收率 66.5%~69.9%, mp 92.8~94.2 °C。

1.3 中间体 IM3 合成 100 mL 圆底烧瓶中加入 1-甲基-5-巯基-1*H*-四氮唑 (5-MMT)、DMF, 溶解后加入无水 K_2CO_3 , 45 °C 水浴快速搅拌 0.5 h, 加入 IM2, TLC (PE-EA = 5:1, DCM-MeOH = 10:1) 监测反应进程。反应结束后, 冷却至室温, 加入 10 mL 冰冷饱和 Na_2CO_3 , 搅拌 10 min, 加入 20 mL DCM, 搅拌 10 min, 分液, 收集 DCM 相, 饱和 NaCl 溶液 (10 mL×3) 洗涤, 收集有机相, 无水 Na_2SO_4 干燥, 旋除 (42.2 °C) 溶剂, 得到白色固体, TLC 验纯, 干燥, 称重。收率 95.7%~96.9%, mp 95.5~96.9 °C。

1.4 中间体 IM4 合成 于 100 mL 圆底烧瓶依次加入 IM3、DCM, 搅拌数分钟后一次性加入 mCPBA (含量 75%), TLC (PE-EA = 5:1, PE-EA = 1:1) 监测至反应结束, 加入 0.5 当量 Na_2SO_3 粉末和饱和 Na_2CO_3 溶液, 调节 pH = 9, 搅拌 10 min, 加入 DCM, 搅拌 0.5 h, 分液, 收集有机相, 无水 Na_2SO_4 干燥, 旋除溶剂, 得到红棕色黏

稠液体, 柱色谱分离 PE-EA = 10:1~8:1 (v/v), 得白色固体, TLC 验纯, 称重。收率 61.3%~62.9%, mp 110.2~112.1 °C。

1.5 中间体 IM5 合成 于 50 mL 圆底烧瓶中依次加入 IM4, 滴加 HCl-EA, 室温快速搅拌, TLC 监测反应。反应结束后, 旋除 (45 °C) 溶剂, 加入适量 EA 搅拌数分钟, 再次旋除溶剂, 再加入适量 PE 搅拌数分钟, 旋除溶剂, 干燥, 称重。收率 89.6%~90.4%, mp 133.7~135.1 °C。

1.6 TM1a~TM1o 合成 于 100 mL 圆底烧瓶中加入 IM5 (1 mmol), DMF 溶解后, 加入 K_2CO_3 , 冰水浴 (0~5 °C) 中快速搅拌 30 min, 再加入磺酰氯, TLC 监测反应。反应结束, 加入 H_2O 和 DCM 各 10 mL, 搅拌 10 min, 分液漏斗中分液, 收集 DCM 相, 饱和 NaCl 溶液洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥, 柱色谱分离 PE-EA = 8:1~1:3 (v/v), 得到 TM1, 干燥, 称重。

TM1 系列化合物的表征数据如下:

TM1a: 白色固体, mp 110.0~111.1 °C, $[\alpha]_D^{21} = +39.7$ (c 2, DMSO)。 ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 7.60 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.40 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.22 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.87 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 5.44 (d, $J = 4.2$ Hz, 1H), 4.69~4.62 (m, 1H), 4.30 (s, 3H), 3.98 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.90~3.84 (m, 2H), 3.03 (dd, $J = 13.5$, 7.9 Hz, 1H), 2.97 (dd, $J = 13.4$, 4.9 Hz, 1H), 2.66 (s, 3H), 2.38 (s, 3H), 1.94~1.88 (m, 2H), 1.84 (dd, $J = 13.1$, 6.1 Hz, 2H); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 158.21, 153.17, 143.61, 135.66, 134.88, 130.27, 127.78, 127.54, 114.56, 71.48, 67.04, 57.69, 55.42, 36.95, 36.62, 27.42, 21.42, 19.06。HR-MS: $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}_2$ $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ m/z 计算值 541.189 8, 测量值 541.188 9; $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z 计算值 546.145 1, 测量值 546.144 2。

TM1b: 黄色固体, mp 118.9~119.8 °C, $[\alpha]_D^{21} = +28.9$ (c 2, DMSO)。 ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 7.97 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.86 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.81 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.25 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.88 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 5.51 (s, 1H), 4.70 (t, $J = 16.7$ Hz, 1H), 4.31 (s, 3H), 4.00 (dt, $J = 18.8$, 5.9 Hz, 2H), 3.94~3.83 (m, 2H), 3.27 (dd, $J = 15.0$, 4.2 Hz, 2H), 2.88 (s, 3H), 1.95~1.88 (m, 2H), 1.88~1.81 (m, 2H); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 158.28, 153.18, 148.30, 135.42, 134.76, 132.81, 131.32, 130.25, 127.73, 124.65, 114.61, 71.56, 67.05, 57.55, 55.43, 36.96, 36.49, 27.42, 19.06。HR-MS: $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{O}_8\text{S}_2$ $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ m/z 计算值 572.159 2, 测量值 572.158 0; $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z 计算值 577.114 6, 测量值 577.113 4。

TM1c: 黄色固体, mp 117.1~118.2 °C, $[\alpha]_D^{21} = +33.6$

(*c* 2, DMSO)。 ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 8.38 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 8.00 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.23 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.87 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 5.49 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H), 4.79~4.61 (m, 1H), 4.30 (s, 3H) 3.97 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.91~3.83 (m, 2H), 3.17 (dd, $J = 13.6$, 8.2 Hz, 1H), 3.10 (dd, $J = 13.7$, 4.5 Hz, 1H), 2.78 (s, 3H), 1.94~1.87 (m, 2H), 1.85 (dd, $J = 12.9$, 6.1 Hz, 1H); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 158.23, 153.09, 150.15, 143.64, 135.16, 128.96, 127.83, 124.99, 114.58, 71.10, 67.35, 67.07, 57.71, 57.33, 56.91, 36.87, 36.32, 27.30, 19.02。HR-MS: $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{O}_8\text{S}_2$ $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ m/z 计算值 572.159 2, 测量值 572.158 2; $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z 计算值 577.114 6, 测量值 577.113 5。

TM1d: 白色固体, mp 107.2~108.9 °C, $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = +66.7$ (*c* 2, DMSO)。 ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 10.34 (s, 1H), 7.77 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.66 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.23 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.88 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 5.44 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H), 4.69~4.63 (m, 1H), 4.30 (s, 3H), 3.98 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.92~3.83 (m, 2H), 3.03 (dd, $J = 13.5$, 7.9 Hz, 1H), 2.97 (dd, $J = 13.5$, 4.8 Hz, 1H), 2.66 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 1.9~1.87 (m, 2H), 1.87~1.81 (m, 2H); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 170.31, 158.15, 153.01, 143.27, 135.25, 132.08, 131.67, 128.64, 127.87, 119.50, 114.55, 71.26, 67.03, 57.36, 57.04, 55.41, 36.83, 36.47, 27.23, 24.32, 19.04, 19.00。HR-MS: $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{N}_6\text{O}_7\text{S}_2$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z 计算值 589.151 0, 测量值 589.149 5。

TM1e: 黄色油状液体, $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = +40.7$ (*c* 2, DMSO)。 ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 7.73 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 7.68 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.61 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.23 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.88 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 5.46 (s, 1H), 4.68 (s, 1H), 4.30 (s, 3H), 4.01~3.95 (m, 1H), 3.92~3.84 (m, 1H), 3.07 (dd, $J = 13.4$, 8.0 Hz, 1H), 3.00 (dd, $J = 13.5$, 4.7 Hz, 1H), 2.69 (s, 3H), 1.90 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 1.85 (d, $J = 6.5$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 158.23, 153.18, 137.86, 135.65, 133.25, 129.82, 127.78, 127.48, 114.57, 71.50, 67.05, 57.68, 55.43, 36.95, 36.62, 27.43, 19.12, 19.07。HR-MS: $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}_2$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z 计算值 532.129 5, 测量值 532.129 2。

TM1f: 黄色油状液体, $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = +38.3$ (*c* 2, DMSO)。 ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 7.81 (dd, $J = 8.6$, 5.2 Hz, 2H), 7.43 (t, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.23 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.88 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 5.47 (s, 1H), 4.67 (s, 1H), 4.30 (s, 3H), 3.98 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.90~3.85 (m,

2H), 3.08 (dd, $J = 13.5$, 8.0 Hz, 1H), 3.01 (dd, $J = 13.6$, 4.7 Hz, 1H), 2.70 (s, 3H), 1.95~1.89 (m, 2H), 1.88~1.80 (m, 1H); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 164.00, 158.24, 153.17, 135.59, 131.78, 130.58, 130.52, 127.78, 117.02, 116.87, 114.57, 71.37, 67.04, 57.61, 55.42, 36.96, 36.52, 27.42, 19.06。HR-MS: $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{FN}_5\text{O}_6\text{S}_2$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z 计算值 550.120 1, 测量值 550.119 6。

TM1g: 黄色油状液体, $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = +20.2$ (*c* 2, DMSO)。 ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 7.78 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H), 7.72 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 7.48~7.42 (m, 1H), 7.39 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.22 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 6.87 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 5.49 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H), 4.72~4.61 (m, 1H), 4.30 (s, 3H), 3.97 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H), 3.92~3.81 (m, 2H), 3.20 (dd, $J = 13.8$, 8.1 Hz, 1H), 3.15 (dd, $J = 13.9$, 4.8 Hz, 1H), 2.78 (s, 3H), 1.94~1.87 (m, 2H), 1.8~1.79 (m, 2H); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 169.48, 158.21, 153.18, 143.58, 135.71, 131.97, 131.33, 129.12, 128.70, 127.79, 119.20, 114.56, 71.48, 67.04, 57.69, 55.43, 36.95, 36.62, 27.42, 19.06。HR-MS: $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{FN}_5\text{O}_6\text{S}_2$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z 计算值 550.120 1, 测量值 550.119 5。

TM1h: 黄色油状液体, $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = +14.3$ (*c* 2, DMSO)。 ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ 7.66 (dd, $J = 14.4$, 7.5 Hz, 1H), 7.59 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.54 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H), 7.24 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.88 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 5.46 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 4.71~4.64 (m, 1H), 4.30 (s, 3H), 3.98 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.91~3.82 (m, 2H), 3.13 (dd, $J = 13.6$, 8.0 Hz, 1H), 3.06 (dd, $J = 13.6$, 4.8 Hz, 1H), 2.73 (s, 3H), 1.91 (dt, $J = 14.5$, 5.8 Hz, 2H), 1.85 (dd, $J = 13.0$, 6.0 Hz, 2H); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 163.15, 161.50, 158.23, 153.15, 140.05, 135.51, 135.14, 132.20, 132.15, 131.73, 127.81, 123.78, 121.69, 120.34, 114.54, 114.44, 71.34, 67.01, 57.53, 55.39, 36.96, 36.52, 27.41, 19.06。HR-MS: $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{FN}_5\text{O}_6\text{S}_2$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z 计算值 550.120 1, 测量值 550.120 0。

TM1i: 白色固体, mp 122.5~123.9 °C, $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = +42.5$ (*c* 2, DMSO)。 ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 7.94 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.79 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.57 (dd, $J = 14.6$, 7.5 Hz, 2H), 7.22 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 6.88 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 5.51 (d, $J = 4.2$ Hz, 1H), 4.69 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 4.32 (s, 3H), 3.99 (dd, $J = 16.0$, 10.1 Hz, 2H), 3.93~3.83 (m, 2H), 3.24 (t, $J = 10.6$ Hz, 2H), 2.82 (s, 3H), 1.98~1.89 (m, 2H), 1.89~1.80 (m, 2H); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 158.23, 153.19, 145.42, 135.55, 135.46, 131.61, 131.51, 128.02, 127.64, 121.54, 121.26, 121.15, 119.44, 114.58, 71.73, 67.04,

57.48, 55.44, 36.94, 36.32, 27.43, 19.07。HR-MS: $C_{22}H_{26}F_3N_5O_7S_2 [M+Na]^+$ m/z 计算值 616.111 8, 测量值 616.111 2。

TM1j: 白色固体, mp 115.4~116.2 °C, $[\alpha]_D^{21} = +29.7$ (c 2, DMSO)。 1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 8.07 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 8.02 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.32~7.29 (m, 2H), 6.87 (t, $J = 9.9$ Hz, 2H), 5.92 (d, $J = 14.4$ Hz, 1H), 4.30 (s, 3H), 4.23 (t, $J = 6.5$ Hz, 1H), 3.98 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H), 3.92~3.84 (m, 2H), 3.13 (dd, $J = 39.7$, 16.2 Hz, 2H), 3.00 (s, 3H), 1.93~1.87 (m, 2H), 1.87~1.80 (m, 2H); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 167.42, 157.90, 141.00, 132.20, 131.97, 129.13, 128.38, 127.28, 125.63, 115.23, 113.06, 67.10, 65.49, 55.41, 36.95, 33.02, 30.48, 27.39, 19.04。HR-MS: $C_{22}H_{26}F_3N_5O_6S_2 [M+Na]^+$ m/z 计算值 600.116 9, 测量值 600.116 1。

TM1k: 白色固体, mp 136.4~137.8 °C, $[\alpha]_D^{21} = +38.0$ (c 2, DMSO)。 1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 8.01 (s, 1 H), 7.93 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 7.59 (dd, $J = 10.4$, 5.4 Hz, 1H), 7.31 (d, $J = 6.4$ Hz, 2H), 6.86 (d, $J = 6.4$ Hz, 2H), 5.90 (d, $J = 14.4$ Hz, 1H), 4.31 (s, 1H), 4.30 (s, 3H), 3.98 (s, 2H), 3.88 (s, 4H), 2.99 (s, 3H), 1.88 (d, $J = 21.2$ Hz, 2H), 1.82 (dd, $J = 24.5$, 4.8 Hz, 2H); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 158.23, 153.19, 138.93, 136.20, 135.65, 134.46, 131.58, 128.63, 127.69, 119.77, 114.61, 72.00, 67.06, 57.97, 55.44, 55.34, 36.95, 36.52, 27.43, 19.11, 19.07。HR-MS: $C_{21}H_{26}BrN_5O_6S_2 [M+Na]^+$ m/z 计算值 610.040 0, 测量值 610.039 1。

TM1l: 白色固体, mp 136.0~137.1 °C, $[\alpha]_D^{21} = +49.3$ (c 2, DMSO)。 1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 7.97~7.92 (m, 1H), 7.85 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.57 (dd, $J = 13.3$, 5.9 Hz, 1H), 7.54 (dd, $J = 10.7$, 4.4 Hz, 1H), 7.22 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 6.87 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 5.51 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H), 4.74~4.65 (m, 1H), 4.31 (s, 3H), 3.98 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H), 3.91~3.83 (m, 2H), 3.34~3.29 (m, 2H), 2.84 (s, 3H), 1.94~1.87 (m, 2H), 1.87~1.80 (m, 2H); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 158.23, 153.19, 138.93, 136.20, 134.46, 131.58, 129.12, 128.63, 127.69, 119.77, 114.61, 72.00, 67.06, 57.97, 55.44, 55.34, 36.95, 36.52, 27.43, 19.07。HR-MS: $C_{21}H_{26}BrN_5O_6S_2 [M+Na]^+$ m/z 计算值 610.040 0, 测量值 610.039 0。

TM1m: 白色固体, mp 115.4~116.2 °C, $[\alpha]_D^{21} = +61.4$ (c 2, DMSO)。 1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 7.56 (s, 1H), 7.34 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.28 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.19 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.87 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H),

5.48 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H), 4.70~4.61 (m, 1H), 4.31 (s, 3H), 3.98 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H), 3.92~3.84 (m, 2H), 3.28~3.17 (m, 2H), 2.78 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 2.34 (s, 3H), 1.96~1.88 (m, 2H), 1.88~1.81 (m, 2H); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 158.22, 153.19, 137.46, 136.23, 135.71, 134.32, 133.64, 133.20, 129.36, 127.66, 114.59, 71.80, 67.06, 57.14, 55.44, 36.95, 36.02, 27.43, 20.82, 19.97, 19.07。HR-MS: $C_{23}H_{31}N_5O_6S_2 [M+Na]^+$ m/z 计算值 560.160 8, 测量值 560.160 2。

TM1n: 黄色油状液体, $[\alpha]_D^{21} = +55.1$ (c 2, DMSO)。 1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 7.08 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.99 (d, $J = 17.6$ Hz, 2H), 6.80 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 5.94 (s, 1H), 5.39 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H), 4.58 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H), 4.30 (s, 3H), 4.22 (t, $J = 6.5$ Hz, 1H), 3.97 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.91~3.84 (m, 2H), 3.15 (dd, $J = 13.9$, 7.4 Hz, 1H), 3.11 (dd, $J = 14.0$, 5.4 Hz, 1H), 2.70 (s, 3H), 2.43 (s, 6H), 2.27 (s, 3H), 1.94~1.87 (m, 2H), 1.87~1.80 (m, 2H); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 158.19, 153.16, 142.61, 139.95, 136.32, 135.78, 132.19, 127.52, 114.51, 79.64, 71.33, 67.03, 55.41, 36.96, 34.67, 27.42, 22.74, 20.88, 19.08。HR-MS: $C_{24}H_{33}N_5O_6S_2 [M+Na]^+$ m/z 计算值 574.176 4, 测量值 574.175 8。

TM1o: 黄色油状液体, $[\alpha]_D^{21} = +51.2$ (c 2, DMSO)。 1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 8.92 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.85 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 8.16 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.64 (dd, $J = 7.7$, 5.0 Hz, 1H), 7.25 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.88 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 5.49 (d, $J = 4.2$ Hz, 1H), 4.76~4.61 (m, 1H), 4.31 (s, 3H), 3.99 (t, $J = 5.8$ Hz, 2H), 3.92~3.82 (m, 2H), 3.18 (dd, $J = 13.6$, 8.2 Hz, 1H), 3.10 (dd, $J = 13.6$, 4.4 Hz, 1H), 2.76 (d, $J = 16.6$ Hz, 3H), 1.96~1.88 (m, 2H), 1.88~1.81 (m, 2H); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 158.26, 153.72, 153.19, 147.79, 135.54, 135.47, 134.77, 127.79, 124.84, 114.59, 71.24, 67.06, 57.46, 55.44, 55.34, 36.95, 36.33, 27.43, 19.07。HR-MS: $C_{20}H_{26}N_6O_6S_2 [M+H]^+$ m/z 计算值 511.142 8, 测量值 511.142 2; $[M+Na]^+$ m/z 计算值 533.124 7, 测量值 533.124 0。

2 化合物的生物活性测试

2.1 抗人致病菌活性 按照美国国家临床实验室标准化委员会 (NCCLS) 推荐的微量稀释法, 采用本实验室常用的测试方法^[32-34], 测定了目标分子对金葡菌 ATCC25129 及 ATCC14125、藤黄微球菌、大肠杆菌 ATCC25922、鲍曼不动杆菌 ATCC19606、沙门氏菌 ATCC13076、铜绿假单胞菌 ATCC27853 的 MIC, 测试结果见表 2。

2.2 抗真菌活性 采用NCCLS推荐的微量肉汤稀释法,参照本实验室常用的测试方法^[32-34],测定了中间体及目标分子 **TM1a~TM1o** 抑制人致病真菌的MIC值,测试结果见表3。

致谢: 西南大学药学院中医药学院徐兴然副教授在人致病菌、化学化工学院周成合教授在真菌活性测试中提供的大力帮助,绵阳迪澳药业有限公司赠送辛弗林样品,本学院老师在核磁共振和高分辨质谱测试中提供的支持。

作者贡献: 李文粒负责大多数化合物的合成与部分生物活性测试,论文的撰写、修改和校对;范莉负责对外联系及文本修改、校对;刘寒驰、彭诗琦、李鑫、郑怡、吴景灏负责部分分子合成;李芬芬参与抗真菌活性测试;杨大成负责课题规划,指导实验的设计、化合物的合成,文本的修改、校对。

利益冲突: 无利益冲突。

References

- [1] World Health Organization. 2020 antibacterial agents in clinical and preclinical development: an overview and analysis [R]. Geneva: WHO, 2021.
- [2] Perlin DS, Rautemaa-Richardson R, Alastruey-Izquierdo A. The global problem of antifungal resistance: prevalence, mechanisms, and management [J]. *Lancet Infect Dis*, 2017, 17: e383-e392.
- [3] Brown GD, Denning DW, Gow N, et al. Hidden killers: human fungal infections [J]. *Sci Transl Med*, 2012, 4: 165rv13.
- [4] Wang TS, Pan Y, Ma QS. Effects of loganin and synephrine on severe hemorrhagic shock model in rabbits [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med (南京中医药大学学报)*, 1999, 6: 345-346.
- [5] Haaz S, Fontaine KR, Cutter G. *Citrus aurantium* and synephrine alkaloids in the treatment of overweight and obesity: an update [J]. *Obes Rev*, 2010, 7: 79-88.
- [6] Feng FC, Wang ZC, Li RF, et al. *Citrus alkaline* extracts prevent fibroblast senescence to ameliorate pulmonary fibrosis via activation of COX-2 [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 112: 108669.
- [7] Fu MQ, Zou B, An KJ, et al. Anti-asthmatic activity of alkaloid compounds from *Pericarpium Citri Reticulatae* (*Citrus reticulata* 'Chachi') [J]. *Food Funct*, 2019, 10: 903-911.
- [8] Kim KW, Kim HD, Jung JS, et al. Characterization of antidepressant-like effects of *p*-synephrine stereoisomers [J]. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2001, 364: 21-26.
- [9] McCoy J, Goren OA. Synephrine compositions: US, 10758465 [P]. 2020-09-01.
- [10] Ko HC, Wang YH, Liou KT. Anti-inflammatory effects and mechanisms of the ethanol extract of *evodia rutaecarpa* and its bioactive components on neutrophils and microglial cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2007, 555: 211-217.
- [11] Fang YS, Shan DM, Liu JW, et al. Effect of constituents from *Fructus Aurantii Immaturus* and *Radix Paeoniae Alba* on gastrointestinal movement [J]. *Planta Med*, 2009, 75: 24-31.
- [12] Özçelik B, Kartal M, Orhan I. Cytotoxicity, antiviral and antimicrobial activities of alkaloids, flavonoids, and phenolic acids [J]. *Pharm Biol*, 2011, 49: 396-402.
- [13] Stoh SJ. Safety, efficacy, and mechanistic studies regarding *Citrus aurantium* (bitter orange) extract and *p*-synephrine [J]. *Phytother Res*, 2017, 31: 1463-1474.
- [14] Vanden BW, De BK, Van CS. Synephrine derivatives useful as anti-inflammatory agents: US, 8039501 [P]. 2011-10-18.
- [15] Peng YH. A kind of preparation method of transdermally absorbable synephrine derivative: CN, ZL10077518.0 [P]. 2013-02-06.
- [16] De BK, Gerlo S, Haegeman G. Synephrine derivatives for the treatment of cancer: US, 1198308 [P]. 2008-01-23.
- [17] Ye X. Novel fungicide picarbutrazox [J]. *World Pestic (世界农药)*, 2018, 40: 63-64.
- [18] Luan BH, Jang FX, Wang YZ, et al. Evaluation of field control effect of new fungicide tetrazopyrazine on cucumber downy mildew [J]. *Agrochemicals (农药)*, 2020, 59: 372-374.
- [19] You QD. *Medicinal Chemistry (药物化学)* [M]. 7th Ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2011: 403.
- [20] Shan LX. Synthesis and Antibacterial Activity of Alkyl Side Chain Acyl Lactone Derivatives Containing Aryl Tetrazolium (含芳基四氮唑烷基侧链酰内酯衍生物的合成与抗菌活性研究) [D]. Guangzhou: Jinan University, 2013.
- [21] Huang M. Study on Nitrogen-containing Derivatives of Gatifloxacin (加替沙星含氮衍生物的研究) [D]. Chongqing: Southwest University, 2017.
- [22] Yang QL, Xu LF, Gui QJ, et al. Study on the *in vitro* anti-toxoplasma effects of erythromycin, azithromycin, sulfadiazine and allicin [J]. *Med Sci J Cent South China (中南医学科学杂志)*, 2007, 26: 27-30.
- [23] Yen FS, Hsu CC, Su YC, et al. Impacts of early insulin treatment vs glimepiride in diabetic patients with background metformin therapy: a nationwide retrospective cohort study [J]. *Medicine*, 2021, 100: e25085.
- [24] Bayer SS, Uprimny C, Kroiss AS, et al. Comparison of early imaging and imaging 60 min post-injection after forced diuresis with furosemide in the assessment of local recurrence in prostate cancer patients with biochemical recurrence referred for 68Ga-PSMA-11 PET/CT [J]. *Diagnostics*, 2021, 11: 1191-1191.
- [25] Zhang YY, Zhou W, Wu X, et al. Cavernous artery intima-media thickness predicts the response to sildenafil in erectile dysfunction patients as a morphological parameter [J]. *Andrologia*, 2021, 53: e14149.
- [26] Yang DC, Zhang SH, Fan L, et al. Thioether, sulfoxide and sulfone derivatives of dihydroartemisinin and their applications: CN, 110642869A [P]. 2020-01-03.
- [27] Yang Y, Yan JF, Fan L, et al. Synthesis of novel phenylacetic acid derivatives containing benzene-sulfonamide structural unit

- and their PPAR agonistic activity [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 2012, 47: 1630-1639.
- [28] Yang DC, Yan JF, Xu J, et al. Synthesis and antidiabetic activity of 4-(1-aryl-3-oxo-5-phenyl-pentan -amino) benzenesulfonamide [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 2010, 45: 66-71.
- [29] Proschak E, Stark H, Merk D. Polypharmacology by design: a medicinal chemist's perspective on multitargeting compounds [J]. *J Med Chem*, 2018, 62: 420-444.
- [30] Vilaivan T. A rate enhancement of *tert*-butoxycarbonylation of aromatic amines with Boc₂O in alcoholic solvents [J]. *Tetrahedron Lett*, 2006, 47: 6739-6742.
- [31] Luo P. Design, Synthesis and Biological Activity of Novel Compounds with Synephrine as Nucleus (以辛弗林为母核的多把点新型化合物设计、合成及生物活性研究) [D]. Chongqing: Southwest University, 2020.
- [32] Fan L, Yang DC, Pan JF, et al. *p*-Aminosalicylic acid dihydroartemisinin derivatives and preparation method and application thereof: CN, 2020110275326 [P]. 2020-09-25.
- [33] Yang DC, Li WL, Luo P, et al. Synephrine fluoroquinolone derivatives and preparation method and application thereof: CN, 2020110275504 [P]. 2020-09-25.
- [34] Yang DC, Luo P, Li WL, et al. Synephrinazole derivatives and preparation method and application thereof: CN, 2020110275650 [P]. 2020-09-25.