

## 以对氨基水杨酸为母核的三分子缀合物的合成及其生物活性研究

任艳会<sup>1</sup>, 范莉<sup>1</sup>, 许峻旗<sup>2</sup>, 谢建平<sup>2\*</sup>, 代乐平<sup>1</sup>, 毛丹<sup>1</sup>, 杨茜<sup>1</sup>, 杨大成<sup>1\*</sup>

(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. 西南大学生命科学学院, 重庆 400715)

**摘要:** 基于多靶点药物设计思想, 以对氨基水杨酸 (PAS) 为母核, 选用不同的连接子将 PAS、异烟酸和氟喹诺酮三种结构单元缀合, 设计了未见文献报道的目标分子 **TM1** 和 **TM2**; 经多步反应合成了 16 个目标分子, 测试了目标分子抗结核及抗人致病菌的活性。测试结果表明, **TM2a** 抗结核活性强于所测试的氟喹诺酮, **TM1a** 与阳性对照药物氟喹诺酮中活性最强的克林沙星相当; **TM1a** 对所测试菌株都显示最强抑制活性, **TM1b** 与 **TM2a** 对多数菌株显示很强抑制活性, **TM1h/2h** 对部分菌株具有强抑制活性; **TM1a/1h** 对金葡菌 ATCC14125 的抑制活性远强于所测试的氟喹诺酮, 值得进一步研究。溶血性实验结果表明, 高活性分子 **TM1a** 和 **TM2a** 分别在 8 及 32  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  浓度下表现出相对安全性。本研究首次合成了 PAS 为母核的三分子药效团拼接的新型分子, 部分分子具有非常强的抑菌活性, 为抗菌药物的研发提供了新的思路。

**关键词:** 对氨基水杨酸; 异烟酸; 氟喹诺酮; 抗结核活性; 抗人致病菌活性

中图分类号: R914 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2022)07-2126-13

## Synthesis and biological activities of three-molecule conjugates with *para*-aminosalicylic acid as parent nucleus

REN Yan-hui<sup>1</sup>, FAN Li<sup>1</sup>, XU Jun-qi<sup>2</sup>, XIE Jian-ping<sup>2\*</sup>, DAI Le-ping<sup>1</sup>, MAO Dan<sup>1</sup>,  
YANG Xi<sup>1</sup>, YANG Da-cheng<sup>1\*</sup>

(1. Key Laboratory of Applied Chemistry of Chongqing Municipality, School of Chemistry and Chemical Engineering, Southwest University, Chongqing 400715, China; 2. College of Life Science, Southwest University, Chongqing 400715, China)

**Abstract:** Based on the idea of multi-target drug design, taking *p*-aminosalicylic acid (PAS) as the parent nucleus, the unreported target molecules **TM1** and **TM2** were designed with PAS, isonicotinic acid and fluoroquinolone as three structural units conjugated by different linkers. Sixteen target molecules were synthesized by multi-step reaction, and their activities against *Mycobacterium tuberculosis* and human pathogenic bacteria were evaluated. The results showed that the anti-tuberculosis activity of **TM2a** was stronger than those of the assayed fluoroquinolones, while **TM1a** was comparable to that of clinafloxacin, the most active compound of the positive control fluoroquinolones; **TM1a** showed the strongest inhibitory activity to all almost tested strains, **TM1b** and **TM2a** showed very strong inhibitory activity to most strains, and **TM1h/2h** had strong inhibitory activity to some strains; The inhibitory activities of **TM1a/1h** on *Staphylococcus aureus* ATCC14125 are much stronger than those of fluoroquinolones, which eminently deserves further study. The hemolysis test results showed that the highly active molecules **TM1a** and **TM2a** exhibited relative safety below the concentrations of 8 and 32  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , respectively. In this study, a new hybrid molecule of three molecular pharmacophores with PAS as the parent nucleus was synthesized for the first time, and some of which have highly strong antibacterial activity, which provides a new

收稿日期: 2022-01-24; 修回日期: 2022-02-11.

基金项目: 重庆市技术创新与应用发展专项面上项目 (cstc2019jcsx-msxmX0123); 重庆市大学生创新创业训练计划项目 (S202110635052).

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

Tel: 13594392126, E-mail: georgex@swu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2022-0101

idea for the research and development of antibiotics.

**Key words:** *p*-aminosalicylic acid; isonicotinic acid; fluoroquinolone; activity against *Mycobacterium tuberculosis*; activity against human pathogenic bacteria

结核病 (tuberculosis, TB) 是由结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*, MTB) 引起的慢性致死性传染性疾病。在冠状病毒 (COVID-19) 大流行之前, 结核病是单一传染病的主要死亡原因, 排名高于艾滋病。全世界约 1/4 的人口感染了 MTB<sup>[1]</sup>, 且约 90% TB 患者是成年人, 男性病例多于女性。TB 依然是全球的公共健康问题。

世界卫生组织 (WHO) 根据抗结核药物作用效果及不良反应的大小将其分为一线和二线抗结核治疗药物。一线抗结核药物链霉素 (streptomycin, SM, 1944 年)<sup>[2]</sup>、异烟肼 (isoniazid, INH, H, 1952 年)<sup>[3]</sup>、吡嗪酰胺 (pyrazinamide, PZA, Z, 1954 年)<sup>[4]</sup>、利福平 (rifampicin, RIF, R, 1965 年) 和乙胺丁醇 (ethambutol, EMB, E, 1968 年)<sup>[5]</sup> 疗效显著、不良反应较少、能够同时杀灭快速增殖期和慢速繁殖期的结核杆菌, 是 TB 治疗的首选品种; 二线抗结核药物种类较多, 氟喹诺酮类 (FQs)、大环内酯类、吩噻嗪类、氨基糖苷类、噁唑烷酮类、环丝氨酸、对氨基水杨酸 (*p*-aminosalicylic acid, PAS) 是其代表, 但其不良反应更多、疗效相对较差。由于 TB 的特殊性, 敏感 TB 的治疗总是采用多药同时服用的联合治疗方案, 大约 85% 的 TB 患者采用包含利福平的 2HRZE+4HR 6 月治疗方案, 一般能够治疗成功<sup>[6,7]</sup>。虽然敏感 TB 的治疗取得了巨大成就, 但耐药结核病 (drug-resistant tuberculosis, DR-TB), 包括耐药多药结核病和广泛耐药结核病, 在世界范围内依然是最严峻的挑战<sup>[8,9]</sup>。多药耐药且耐药率高为复治肺结核患者主要特征, 即使采取 WHO 推荐的多种药物联合治疗方式, 还是存在治疗周期长、产生耐药性等临床问题, 原因之一是患者依从性差。将两种或多种抗结核分子偶联为单一分子, 既可能具有同样疗效并且可减少服药种类和/或数量, 是很有价值的药物研究课题。

PAS 是继 SM 之后研发成功的第二款抗结核药物。1950 年英国医学研究委员会 (British Medical Research Council) 使用 SM 和 PAS 联合治疗 TB, 发现其疗效比单一药物更好, 同时还可以减缓其他药物耐药的发生<sup>[10,11]</sup>。前人在对 PAS 改构中发现, PAS 的 3 个官能团都可修饰, 在这些位置合理衍生都可获得高活性分子<sup>[12-14]</sup>。本研究以 PAS 为原料, 对 PAS 羧基、羟基、氨基 3 个官能团进行修饰。这种策略的优势之一, 在于 PAS 既可视作联结分子 (Linker)、又可作为一种

抗结核药物, 由此设计的分子, 既将 3 种药物片段缀合在同一分子 (3-in-1), 又可将目标分子的相对分子质量降低, 在降低合成难度的优势下还可能提高整个分子的成药性。

INH 自 1952 年用于 TB 治疗以来, 至今仍然是 TB 治疗最有效的药物之一。INH 是一种前药, 通过被动运输进入 MTB 内部, 由 MTB 的过氧化氢酶-过氧化物酶 (KatG) 激活<sup>[15,16]</sup>, 形成异烟酰基自由基, 随后与 NAD<sup>+</sup> 结合, 形成 IN-NAD 加合物, 进而抑制烯酰-酰基载体蛋白还原酶 (InhA), 干涉分枝菌酸的合成, 从而破坏细菌细胞壁<sup>[17,18]</sup>。根据其作用机制, 异烟酰肼的结构片段可以为异烟酰胺或异烟酸酯。

抗菌药物 FQs 治疗 TB 的临床试验始于 1985 年。研究结果表明, FQs 药物对敏感 TB 和 DR-TB 都有很好的治疗效果<sup>[19]</sup>, 与其他抗结核药物联用的疗效比其单用更为显著<sup>[20,21]</sup>。FQs 药物靶向 DNA 解旋酶, 抑制 MTB 复制周期, 导致细胞死亡<sup>[22]</sup>。FQs 骨架是成药性最高的结构之一。分析上市药物和文献中的活性分子发现, 保留 FQs 基本骨架、改变 C-7 杂环或对其修饰最多且也最成功<sup>[23,24]</sup>, 结合本实验室长期研究经验<sup>[25]</sup>, 本研究选择克林沙星 (CLX)、诺氟沙星 (NOR)、环丙沙星 (CIP)、沙拉沙星 (SAR)、依诺沙星 (ENX)、巴洛沙星 (BAL)、洛美沙星 (LOM)、加替沙星 (GAT) 8 个 FQs 药物进行修饰。

基于 PAS 的前期研究结果<sup>[26,27]</sup>, 在 PAS 的氨基和羟基上连接修饰基团, 最有可能获得高活性分子。因此, 可以将 PAS 衍生为对应羧酸酯, 留下氨基和羟基与异烟酸 (INA) 和 FQs 连接, 设计 3-in-1 目标分子。作为一种尝试, 选择羟基连接 FQs、氨基连接 INA, 由此设计了目标分子模式 (图 1)。为了实现上述目标, 需要合适的 Linker。Linker 的选择是药效团拼接法的重要内容。Linker 必须拥有将两个或多个片段连接的功能, 同时满足相对分子质量尽可能小、分子刚柔性适度、代谢片段无毒等要求。Linker1 是连接 INA 的羧基和 PAS 的氨基, Linker2 是连接 PAS 的羟基和 FQs 的胺基, 基于分子无毒、结构简单、可连接羟基和胺基等设想, 选定卤代酰氯作为 Linker1 和 Linker2 的试剂, 据此进一步设计了图 1 所示的目标分子模式。

基于相对分子质量尽可能小的要求, 本研究进一步设计了 Linker 分别为乙酰基、丙酰基的目标分子

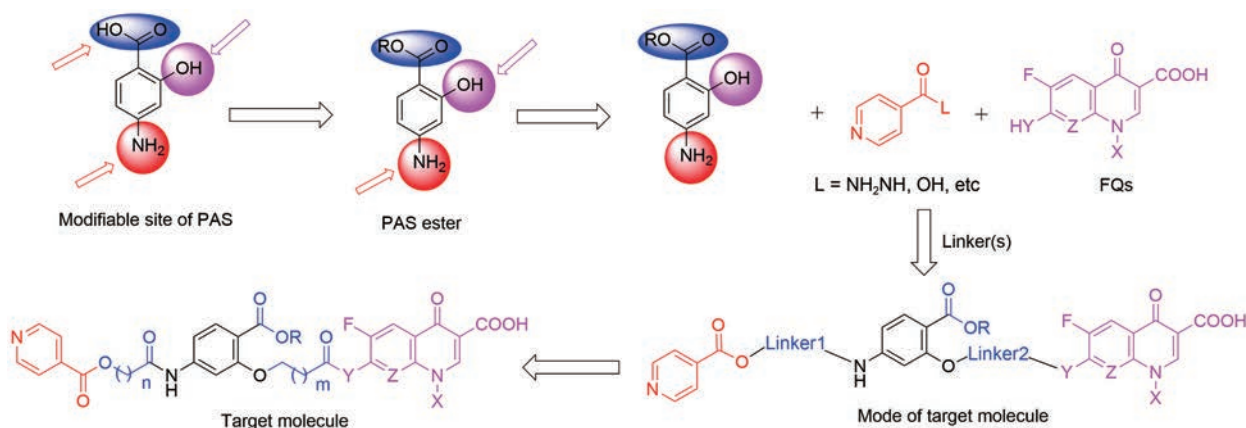


Figure 1 Design of target molecules. PAS: *p*-Aminosalicylic acid; FQs: Fluoroquinolones

TM1/TM2 (图2, 简称为 TM1/2); 通过条件探索, 成功合成了 16 个目标分子; 通过耻垢分枝杆菌及人致病菌活性测试, 发现了高活性分子。

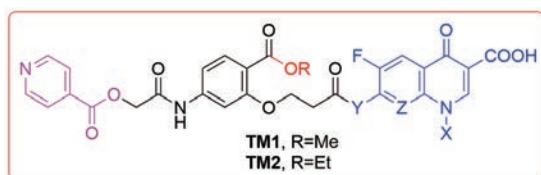
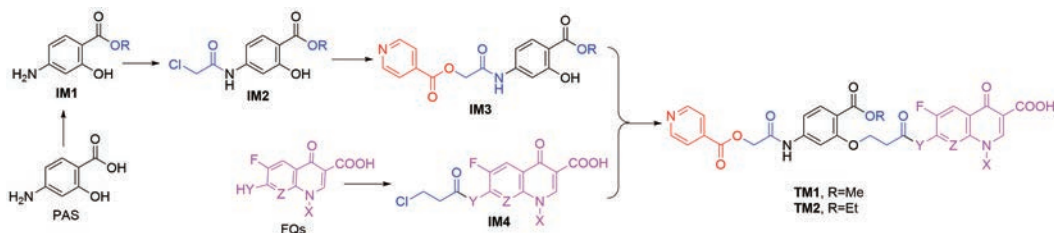


Figure 2 General structure of target molecule

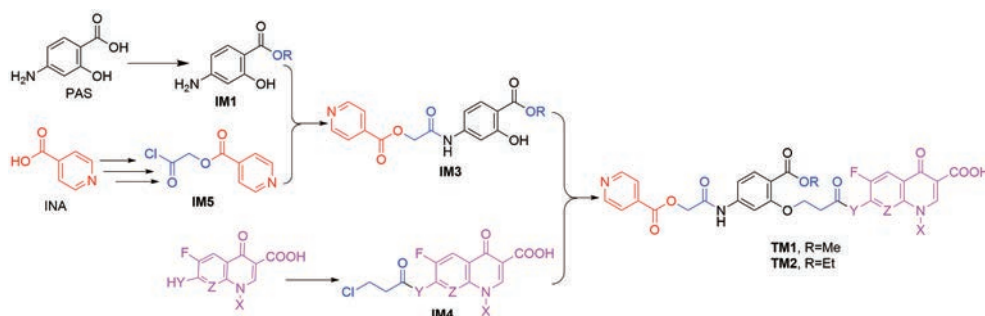
## 结果与讨论

### 1 化学实验

目标化合物 TM1/2 由 INA、PAS 和 FQs 3 种结构片段和 2 个 Linker 构成, 其合成路线很多, 本研究设计了如下 4 条合成路线 (合成路线 1~4)。



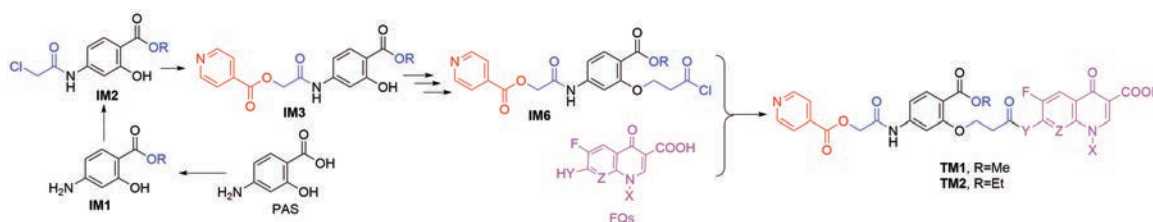
Scheme 1 Synthetic route 1 of TM1/2



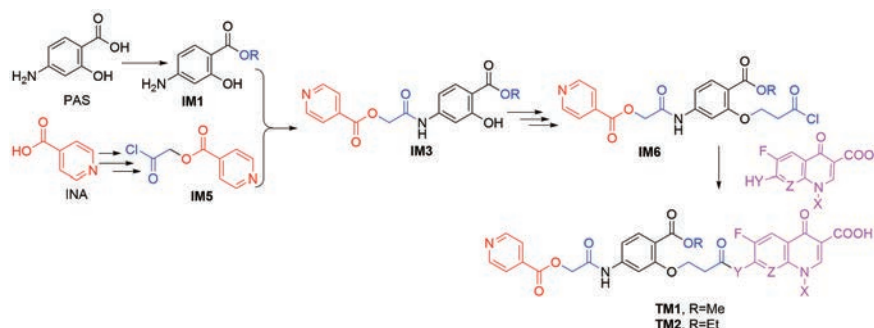
Scheme 2 Synthetic route 2 of TM1/2. INA: Isonicotinic acid

路线 1 是先将 PAS 的羧基酯化的中间体 IM1 与 Linker1 通过酰胺键连接得到中间体 IM2, IM2 再与 INA 通过酯基连接得到共同中间体 IM3, 预计 IM1 和 IM2 合成容易、IM3 合成相对较难。FQs 与 Linker2 反应, 既可引入 Linker 又可大大增加沙星的溶解性, 因此设计了中间体 IM4; 此步为 3-氯丙酰氯与脂肪胺基反应, 预计收率高。随后两片段连接, 得到目标分子 TM1/2, 此路线预计能够成功。

路线 2 和路线 1 的差别, 在于中间体 IM3 是通过两个片段 IM1 和 IM5 连接, 看起来似乎更好, 但 INA 生成 IM5, 其原料应该是卤代乙酸酯, 所得产物是有两个酯键的中间体, 要将乙酸酯水解而异烟酸酯不水解, 这是有难度的; 随后, 水解产物转化为酰氯 IM5, 再与 IM2 偶联为 IM3, 不仅路线长而且得到需要的 IM5 有难度。因此, 路线 2 不可取。



Scheme 3 Synthetic route 3 of TM1/2



Scheme 4 Synthetic route 4 of TM1/2

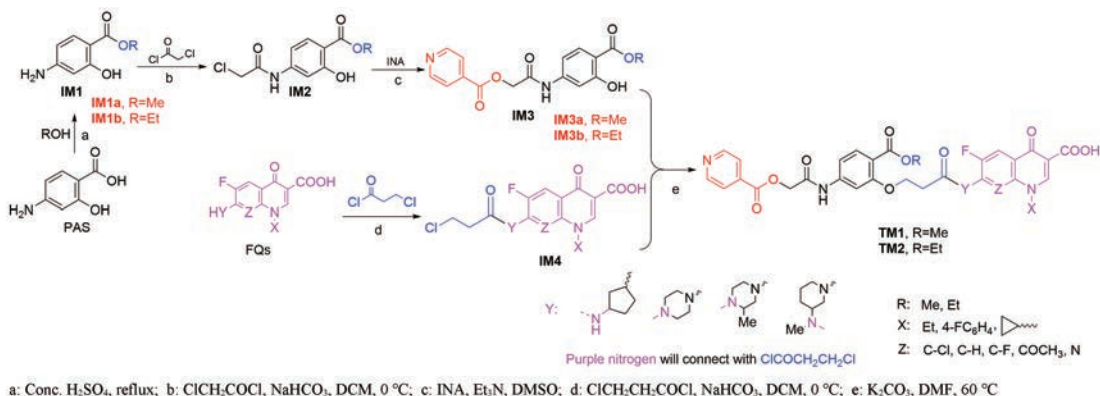
路线3是一条采用逐步合成法合成目标分子的典型路线,且有共同中间体**IM6**;只要**IM6**和FQs连接顺利,就是一条好的合成路线。不幸的是,FQs溶解性差,预计和**IM6**反应时间长、杂点多、收率低;其次,**IM6**的合成预计有难度,因为**IM3**要得到**IM6**,通常需要采用卤代丙酸酯与**IM3**反应,然后进行丙酸酯的酸碱催化水解(其羧酸酯为甲酯或乙酯)或TFA型试剂脱保护(其羧酸酯为叔丁酯或芳甲基酯),对于有3个酯基的分子要实现1个酯基的选择性脱保护,预计有难度,更何况随后还要进行酯基的活化,才能与溶解性差的FQs连接。

路线4采用路线2的方法合成**IM3**,采用路线3的方法合成**IM6**;正如前述,**IM3**和**IM6**合成都有难度,路线4可以认为不可行。

综上所述,路线1是**TM1/2**合成的最佳路线,据此给出了合成路线5所示的反应路线。

**1.1 中间体IM1~IM4的合成** PAS分别与MeOH和EtOH反应合成**IM1a**及**IM1b**,实验过二氯亚砷、浓硫酸、对甲苯磺酸,发现浓硫酸催化最佳,放大实验的收率超过70%;**IM1**与氯乙酰氯合成**IM2**,虽然涉及反应选择性,但参照本实验室方法<sup>[28]</sup>,在优化的条件下收率超过98%。**IM3**的合成是酸INA和氯代烃的酯化反应,未见文献报道,用Et<sub>3</sub>N作碱、DMSO为溶剂、温度控制在60℃时反应最好,收率超过70%。**IM4**的合成和**IM2**的合成类似,参照**IM2**的合成方法可顺利合成**IM4**,收率高(85.6%~92.7%),收率的差别在于黄色油状粗产物纯化的难易。

**1.2 目标分子TM1/2的合成** **IM3**与**IM4**反应生成**TM1/2**为典型的酚羟基的烷基化反应。酚羟基烷基化的方法很多,文献报道有碳酸钾为碱、DMF为溶剂的室温反应法<sup>[29]</sup>;碳酸钾作碱、丁酮作溶剂、室温反应的碘化钾催化法<sup>[30]</sup>;碳酸钾作碱、丙酮作溶剂、碘化钾催



Scheme 5 Synthetic routes of TM1/2

化的回流反应法<sup>[31]</sup>; 氢氧化钾为碱、甲醇为溶剂的回流反应法<sup>[32]</sup>。首先选择 CH<sub>3</sub>CN、DMF、*N*-甲基吡咯烷酮 (NMP)、DMSO 为溶剂, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 为碱进行反应条件探究。表 1 显示, 溶剂为 DMF、NMP 可反应完全, 但有杂点生成; DMF 为溶剂, 碱为 Et<sub>3</sub>N、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 或 DMAP 时, **IM3** 与 **IM4** 不反应; 选择溶剂为 DMF、碱为 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 探索温度的影响, 发现温度升高到 80 °C 或 100 °C 时, 反应能够完全但杂点明显增多, 但若降温至 60 °C, 反应

能够完全、杂点明显较少但反应时间更长。优化条件下加入催化量 NaI (Entry10), TLC 显示反应没有明显改变。



























基于 DMF 为溶剂、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 为碱、温度 60 °C、**IM3**:**IM4**:K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 投料比在 1:1.2:1.5 的优化条件, 实现了目标分子 **TM1/2** 的合成, 结果见表 2。

**TM1/2** 收率在 33.3%~70.1%, 与反应完成程度、杂质的多少及纯化难易直接相关; 甲酯的收率高于乙

**Table 1** Conditional optimization of synthesis **TM1/2**. Note: Entry10 added catalytic amount NaI

Entry	IM3a g/mmol	IM4a g/mmol	Base	Base g/mmol	Solvent	Temp./°C	Time/h	TLC result
1	0.166/0.5	0.284/0.6	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0.138/1	CH <sub>3</sub> CN	60	12	Incomplete reaction
2	0.166/0.5	0.283/0.6	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0.139/1	DMF	60	12	Complete reaction, new impurities
3	0.167/0.5	0.284/0.6	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0.138/1	NMP	60	12	Same as Entry2
4	0.168/0.5	0.282/0.6	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0.138/1	DMSO	60	12	Same as Entry1
5	0.165/0.5	0.283/0.6	Et <sub>3</sub> N	0.101/1	DMF	60	12.5	Incomplete reaction
6	0.166/0.5	0.283/0.6	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0.106/1	DMF	60	12.5	Same as Entry1
7	0.165/0.5	0.283/0.6	DMAP	0.122/1	DMF	60	12.5	Same as Entry1
8	0.167/0.5	0.283/0.6	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0.138/1	DMF	80	2	Complete reaction, two new impurities
9	0.166/0.5	0.285/0.6	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0.139/1	DMF	100	2	Same as Entry8
10	0.166/0.5	0.284/0.6	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0.137/1	DMF	60	16	Same as Entry2

**Table 2** Synthetic results of **TM1/2**

Compd.	Y	Z	X	<b>IM3</b> g/mmol	<b>IM4</b> g/mmol	Time/h	Weight/g	Yield/%
<b>TM1a</b>		C-Cl		<b>IM3a</b> 0.331/1	<b>IM4a</b> 0.549/1.2	7.5	0.354	47.2
<b>TM1b</b>		C-H	Et	<b>IM3a</b> 0.332/1	<b>IM4b</b> 0.492/1.2	8	0.234	33.3
<b>TM1c</b>		C-H		<b>IM3a</b> 0.330/1	<b>IM4c</b> 0.529/1.2	12	0.308	43.1
<b>TM1d</b>		C-H		<b>IM3a</b> 0.332/1	<b>IM4d</b> 0.587/1.2	11	0.603	67.2
<b>TM1e</b>		N	Et	<b>IM3a</b> 0.331/1	<b>IM4e</b> 0.497/1.2	10.5	0.383	54.4
<b>TM1f</b>		C-OCH <sub>3</sub>		<b>IM3a</b> 0.333/1	<b>IM4f</b> 0.569/1.2	11	0.461	59.6
<b>TM1g</b>		C-F	Et	<b>IM3a</b> 0.332/1	<b>IM4g</b> 0.528/1.2	10	0.364	49.5
<b>TM1h</b>		C-OCH <sub>3</sub>		<b>IM3a</b> 0.331/1	<b>IM4h</b> 0.562/1.2	10.5	0.532	70.1
<b>TM2a</b>		C-Cl		<b>IM3b</b> 0.344/1	<b>IM4a</b> 0.548/1.2	10	0.316	41.4
<b>TM2b</b>		C-H	Et	<b>IM3b</b> 0.345/1	<b>IM4b</b> 0.494/1.2	11.5	0.261	34.2
<b>TM2c</b>		C-H		<b>IM3b</b> 0.343/1	<b>IM4c</b> 0.531/1.2	12	0.428	58.7
<b>TM2d</b>		C-H		<b>IM3b</b> 0.346/1	<b>IM4d</b> 0.589/1.2	12	0.248	31.7
<b>TM2e</b>		N	Et	<b>IM3b</b> 0.344/1	<b>IM4e</b> 0.496/1.2	12.5	0.322	44.8
<b>TM2f</b>		C-OCH <sub>3</sub>		<b>IM3b</b> 0.347/1	<b>IM4f</b> 0.572/1.2	11	0.396	50.3
<b>TM2g</b>		C-F	Et	<b>IM3b</b> 0.345/1	<b>IM4g</b> 0.527/1.2	11	0.323	43.1
<b>TM2h</b>		C-OCH <sub>3</sub>		<b>IM3b</b> 0.344/1	<b>IM4h</b> 0.566/1.2	11	0.482	62.4

酯,可能是前者对邻位羟基的空间位阻相对较小之故。

## 2 生物活性评价

**2.1 抗耻垢分枝杆菌活性** 本研究的主要目标是发现抗结核活性强的 3-in-1 目标分子。采用已有的测试方法<sup>[33,34]</sup>,测试目标分子 **TM1/2** 对耻垢分枝杆菌 (*Mycobacterium smegmatis*, MS) 的抑制活性,结果见表 3。

**Table 3** Inhibitory activity of **TM1/2** against *Mycobacterium smegmatis* (MIC value,  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  and  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). \*The values of tPSA, LogP, and CLogP are calculated by ChemDraw soft. CLX: Clinafloxacin; NOR: Norfloxacin; CIP: Ciprofloxacin; SAR: Sarafloxacin; ENX: Enoxacin; BAL: Balofloxacin; LOM: Lomefloxacin; GAT: Gatifloxacin

Compd.	MIC		tPSA*	LogP*	CLogP*
	$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$			
CLX	0.39	0.001 1	86.87	1.45	-0.42
NOR	1.95	0.006 1	72.88	1.37	-0.78
CIP	7.81	0.024	72.88	1.32	-0.73
SAR	1.95	0.005 1	72.88	2.6	0.009 5
ENX	1.95	0.006 1	85.24	1.46	-1.60
BAL	0.48	0.001 2	82.11	1.74	-0.36
LOM	0.97	0.002 8	72.88	1.84	-0.11
GAT	0.78	0.002 1	82.11	1.51	-0.27
<b>TM1a</b>	0.97	0.001 3	193.24	1.97	3.48
<b>TM1b</b>	>100	>0.14	184.45	1.6	3.10
<b>TM1c</b>	15.62	0.022	184.45	1.56	3.15
<b>TM1d</b>	>100	>0.13	184.45	2.84	3.89
<b>TM1e</b>	31.25	0.044	196.81	1.7	2.28
<b>TM1f</b>	3.91	0.005 1	193.68	1.97	3.77
<b>TM1g</b>	31.25	0.043	184.45	2.08	3.76
<b>TM1h</b>	3.91	0.005 2	193.68	1.75	3.61
<b>TM2a</b>	0.48	0.000 63	193.24	2.31	4.01
<b>TM2b</b>	3.06	0.004 3	184.45	1.94	3.63
<b>TM2c</b>	3.91	0.005 4	184.45	1.9	3.68
<b>TM2d</b>	>100	>0.13	184.45	3.18	4.41
<b>TM2e</b>	>100	>0.14	196.81	2.04	2.81
<b>TM2f</b>	>100	>0.13	193.68	2.31	4.30
<b>TM2g</b>	>100	>0.13	184.45	2.42	4.29
<b>TM2h</b>	3.91	0.005 1	193.68	2.09	4.14

表 3 数据显示,对测试的野生型 MS, 8 种 FQs 药物的 MIC 为 0.001 1~0.024  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 16 个 **TM1/2** 中有 7 个分子的 MIC  $\leq$  0.005 4  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 显示很强的抑菌活性。目标化合物 **TM1f/TM1h/TM2h** (MIC  $\approx$  0.005 1  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; 后续括号内数据均为 MIC 值) 和阳性对照药物 NOR、SAR、ENX 的 MIC (0.005 1~0.006 1  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 相当; **TM2b** 的抑制活性 (0.004 3  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 是 CIP (0.024  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 的 5.6 倍; **TM1a** (0.001 3  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 的抑制活性与超强沙星 CLX (0.001 1  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 相当, 是 SAR (0.005 1  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 的 4 倍, 是 CIP (0.023 6  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 的 18 倍; **TM2a** (0.000 63  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 显示了最强活性, 是 CLX 的 1.7 倍, 是 NOR、SAR、ENX 的 8.1~9.7 倍, 是 CIP 的 37 倍。结果表明, PAS、INA 与 FQs 杂合, 可以得到对 MS 具有高抑制活性的化合物, 验证了设计思想。

构效关系分析发现, PAS 和 INA 连接 CLX 的衍生物 (**TM1a/2a**), 其抗结核活性超越所有 FQs, 显示最强的抗 MS 活性; 乙酯化衍生物 **TM2** (0.000 63~0.14  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 的抑制活性强于甲酯化衍生物 **TM1** (0.001 3~0.14  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ); 总体而言, X 为环丙基的沙星活性较好。从物理参数 tPSA、LogP、CLogP 来看, 活性好的化合物, 其 tPSA 大多数在 193 左右、LogP 在 1.9~2.31、CLogP 在 3.48~4.14, 提示化合物的抗结核活性可能和物理参数有关。

**2.2 抗人致病菌活性** 许多细菌性感染疾病很难治疗, 往往需要几轮抗生素治疗才能清除相同的细菌感染。此外, 长期服用抗生素, 细菌可能产生耐药性, 进而导致长期的反复的感染, 甚至致使治疗失败<sup>[35]</sup>。目前治疗细菌感染主要采用化学药物治疗法。

为了考察目标分子的抗菌谱, 进一步测试了 **TM1/2** 对大肠杆菌 (*Escherichia coli* ATCC25922)、沙门氏菌 (*Salmonella enteritidis* ATCC13076)、鲍曼不动杆菌 (*Acinetobacter baumannii* ATCC19606)、铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853)、藤黄微球菌 (*Micrococcus luteus*)、金葡菌 (*Staphylococcus aureus* ATCC25129, ATCC14125) 的抑制活性, 相关结果见表 4。

表 4 实验结果表明, 目标化合物 **TM1/2** 的活性总体强于母核 PAS 和中间体 **IM3a/3b**; PAS 甲酯的抑制活性大于 PAS 乙酯。

对大肠杆菌, **TM1/2** 抑制活性整体弱于 FQs 但强于 PAS; 11 个 **TM1/2** 的 MIC 为 8~64  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 其中 3 个化合物的 MIC 值为 16  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , **TM1a** 甚至低至 8  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; 总体抑制活性 **TM1** > **TM2**。

对沙门氏菌, 总体抑制活性 **TM1** > **TM2**; 6 个 **TM1/2** 的 MIC 值  $\leq$  32  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 强于阳性对照药物 NOR (64  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 和 PAS; 尤其是 **TM1a/1b**, 其 MIC 值分别为 0.002 67 及 0.002 84  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 强于所测试的 FQs (0.005 14~0.200  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ )。

对鲍曼不动杆菌, 8 个阳性药物 FQs, 5 个的 MIC 值为 256  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、2 个为 128  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; 16 个 **TM1/2**, 13 个的 MIC 值为 256  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、3 个为 128  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。总体而言, FQs 和 **TM1/2** 的抑制活性都很差。

对铜绿假单胞菌, FQs 的 MIC 值为 0.005 2~0.100  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; 所有 **TM1/2** 的抑制活性都强于 NOR (0.100  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ); **TM1c/2c/2h** 的 MIC 值为 8  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 强于 BAL; **TM1h/2a** 的 MIC 值低至 4  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 抑制活性相当于或强于所测试 FQs; **TM1a/1b** 的 MIC 值低至 2  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 抑制活性强于所测试 FQs。

对藤黄微球菌, 8 个阳性药物 FQs 的抑制活性差别很大, MIC 值为 0.001 09~0.802  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; **TM1/2** 的

**Table 4** Inhibitory activity of **TM1/2** against human pathogenic bacteria (MIC value,  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , or  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}/\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ )

Compd.	<i>E. coli</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>M. luteus</i>	<i>S. aureus</i>	
	ATCC25922	ATCC13076	ATCC19606	ATCC27853		ATCC25129	ATCC14125
CLX	0.2	2/0.005 5	16	2/0.005 5	0.4/0.001 09	0.2	4/0.011 0
NOR	0.8	64/0.200	256	32/0.100	256/0.802	32/0.100	4/0.012 5
CIP	0.2	8/0.024 1	256	2/0.006 04	16/0.048 3	3.2	4/0.012 0
SAR	0.2	2/0.005 2	128	2/0.005 2	8/0.020 8	0.1	4/0.010 4
ENX	0.2	16/0.049 9	256	4/0.012 5	64/0.200 0	1.6	4/0.012 5
BAL	0.2	2/0.005 14	256	8/0.020 5	0.8/0.002 05	0.2	4/0.010 3
LOM	0.2	8/0.022 8	256	2/0.005 70	16/0.045 5	0.8	4/0.011 4
GAT	2	2/0.005 36	128	2/0.005 36	2/0.005 36	2/0.005 36	2/0.005 36
<b>TM1a</b>	8	2/0.002 67	128	2/0.002 67	2/0.002 67	2/0.002 67	0.125/0.000 167
<b>TM1b</b>	32	2/0.002 84	256	2/0.002 84	16	32	2/0.002 84
<b>TM1c</b>	16	128	256	8	16	16	4
<b>TM1d</b>	64	128	256	16	32	32	8
<b>TM1e</b>	64	128	256	16	32	32	32
<b>TM1f</b>	64	128	256	16	16	16	2/0.002 58
<b>TM1g</b>	256	128	256	32	64/0.087 0	64	32
<b>TM1h</b>	32	16	256	4	4	4	0.25/0.000 329
<b>TM2a</b>	32	8	128	4	2/0.002 62	4	2/0.002 62
<b>TM2b</b>	64	256	128	16	32	16	16
<b>TM2c</b>	16	256	256	16	32	32	32
<b>TM2d</b>	128	32	256	8	16	4	8
<b>TM2e</b>	128	128	256	16	32	32	16
<b>TM2f</b>	128	128	256	16	16	16	4
<b>TM2g</b>	128	128	256	16	32	16	16
<b>TM2h</b>	32	32	256	8	16	2/0.002 58	2/0.002 58
<b>IM3a</b>	256	>256	256	256	256	256	128
<b>IM3b</b>	256	>256	256	256	16	>256	>256
Blank Control	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256
PAS	256	>256	128	>256	256	256	>256

MIC 值为 0.002 62~0.087 0  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 抑制活性差别相对较小; 带有 CLX 结构单元的 **TM1a/2a**, MIC 值分别达到了 0.002 67 和 0.002 62  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 抑制活性是 NOR (0.802  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 的 300 倍、是 GAT (0.005 36  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 的 2 倍。

对金葡菌 ATCC25129, 目标分子整体活性弱于 FQs; 所有 **TM1/2** 的 MIC 值为 2~64  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 其中有 12 个 **TM1/2** 的 MIC 值  $\leq$  16  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。值得注意的是, **TM1a/2h** 的 MIC 值低至 0.002 67 及 0.002 58  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 抑制活性是 NOR (0.100  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 的 38 倍、是 GAT (0.005 36  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 的 2 倍。对金葡菌 ATCC14125, 8 个 FQs 的 MIC 值为 2~4  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 而 **TM1/2** 的 MIC 值为 0.125~32  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; 整体活性 **TM1** > **TM2**。有 6 个 **TM1/2** 的 MIC 值在 0.000 167~0.002 84  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 强于所有 FQs; 特别地, **TM1a** 和 **TM1h** 的 MIC 值分别低至 0.000 167 和 0.000 329  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 远远强于所有的阳性对照药物 FQs (0.005 36~0.012 5  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), 值得后续深入研究。

**2.3 溶血性测试** 溶血是指红细胞 (RBC) 破裂溶解现象, 很多理化因素都可以引起溶血, 如低渗溶液、机械性强力振荡、突然低温冷冻 (-20  $^{\circ}\text{C}$ ~25  $^{\circ}\text{C}$ ) 或突然化冻、过酸或过碱, 以及酒精、乙醚、胆碱盐, 缺氧等<sup>[36]</sup>。

为了考察活性好的目标化合物 **TM1a/2a** 的安全性, 用健康人的新鲜血液分离的人红细胞离心测定化合物的溶血活性, 阴性对照样品采用生理盐水, 阳性对照选用 0.1% Triton X-100 生理盐水, 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 4 h, 并对不同浓度下的 **TM1a/2a** 进行评估, 结果见图 3。

图 3 表明, **TM1a/2a** 的溶血率随着化合物浓度的升高而升高。在 1~64  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  测试浓度下, **TM1a** 和 **TM2a** 的溶血率分别在 1.32%~14.40% 及 0.001 5%~8.20%。**TM1a/2a** 的测试浓度分别为 8 及 32  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  时, 其溶血率 (hemolysis) 分别为 3.73% 和 3.19%, 均低于 5%。按照国际标准, **TM1a/2a** 在对应浓度下具有相对安全性。在相同浓度下, **TM2a** 的溶血率低于 **TM1a**, 亦即 PAS 乙酯衍生物的溶血率低于 PAS 甲酯衍生物, 这可能与 PAS 羧基酯化的烷基链越长其脂溶性越大有关。

### 3 小结

采用片段拼接原理, 本研究将 PAS、INA 与 FQs 通过 Linker 拼接成单一分子, 设计并合成了 16 个新分子, 收率 31.7%~70.1%。抗耻垢分枝杆菌活性显示, **TM1a** 和 **TM2a** 的 MIC 值分别低至 0.001 3 及 0.000 63  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 相当或强于所测试的 FQs; 对沙门氏菌和铜绿假单胞菌, **TM1a/1b** 的活性强于所测试的 FQs; 对于金葡菌 ATCC14125, **TM1a/1h** 的 MIC 值分别低至 0.000 167 和

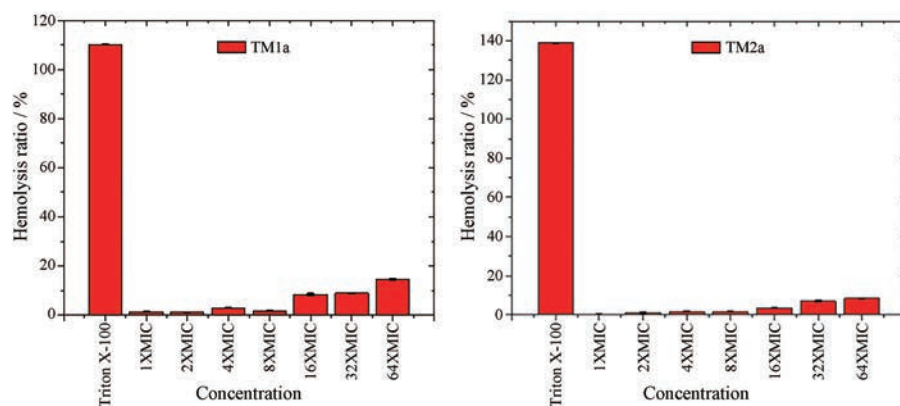


Figure 3 Hemolysis ratio of TM1a/2a

0.000 329  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 远强于所测试的 FQs。高活性分子 **TM1a/2a** 的溶血性实验结果表明, **TM1a/2a** 分别在 8 和 32  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  浓度以下时具有相对安全性。本研究发现了三分子药效团拼接的高活性分子, 可为抗菌药物的研发提供新的研究思路。

## 实验部分

核磁共振仪 (Bruker, ADVANCE III<sup>TM</sup> 600 MHz, TMS 为内标); 高分辨质谱仪 (QTOF-MS, Bruker Impact II, Germany); 熔点测定仪 (X-6, 北京福凯仪器有限公司)。

PAS (上海泰坦有限公司, 98%); INA、浓硫酸、甲醇、乙醇、碳酸氢钠、碳酸钾 (重庆川东化工有限公司); GAT、CLX、CIP、BAL、SAR、ENX (郑州克尔泰生化科技有限公司, > 95%); NOR、LOM (上海达瑞精细化工有限公司, AR); 氯乙酰氯、3-氯丙酰氯 (重庆钛新化工有限公司); 其余试剂均为市售化学纯或分析纯产品, 未经纯化直接使用。

### 1 目标化合物的合成

**1.1 IM1a/IM1b 合成的操作示例** 于 100 mL 圆底烧瓶中加入 PAS 1.53 g (10 mmol)、甲醇/乙醇 10 mL, 室温搅拌, 恒压滴液漏斗缓慢滴加浓硫酸 1.06 mL (20 mmol), 滴毕, 油浴回流反应, TLC 监测直至反应结束。冰浴冷却, 饱和碳酸钠溶液调节 pH = 8~9, 析出大量固体, 抽滤, 饱和 NaCl 溶液洗涤, 干燥, 得灰白色固体中间体 **IM1a/IM1b**, 收率分别为 74.1%、82.5%, mp 分别为 100.3~104.0  $^{\circ}\text{C}$ 、113.2~113.9  $^{\circ}\text{C}$ 。

**1.2 IM2a/IM2b 合成的操作示例** 于 100 mL 反应瓶中加入 **IM1a/IM1b** (10 mmol)、二氯甲烷 (DCM) 10 mL, 室温搅拌, 固体溶解后, 加入  $\text{NaHCO}_3$  (30 mmol, 2.522 g), 冰浴冷却, 滴加氯乙酰氯 (12 mmol, 1 mL)。滴毕, 继续冰浴搅拌反应, TLC 监测直至反应结束。旋除 DCM, 加水 20 mL, 抽滤, 滤饼用饱和 NaCl 溶液 (15 mL $\times$ 3)、

水 (15 mL $\times$ 3) 洗涤, 真空干燥, 得白色固体中间体 **IM2a**、**IM2b**, 收率分别为 99.3%、98.8%, mp 分别为 180.7~181.5  $^{\circ}\text{C}$ 、189.9~190.7  $^{\circ}\text{C}$ 。

**1.3 IM3a/IM3b 合成的操作示例** 于 100 mL 反应瓶中加入 **IM2a/IM2b** (5 mmol)、5 mL DMSO, 室温搅拌, 快速溶解, 加入  $\text{Et}_3\text{N}$  (7.5 mmol), 继续搅拌 0.5 h 后加入 INA (7.5 mmol, 0.931 g), 60  $^{\circ}\text{C}$  油浴搅拌反应, TLC 监测直至反应结束。加水, 析出固体, 抽滤, 滤饼用饱和 NaCl 溶液 (15 mL $\times$ 3)、水 (5 mL $\times$ 3) 洗涤, 真空干燥, 得粗品。柱色谱 (PE:EA = 5:1~1:1, v/v) 得中间体 **IM3a/IM3b**, 收率分别为 72.7%、85.2%, mp 分别为 207.3~208.0  $^{\circ}\text{C}$ 、186.5~187.3  $^{\circ}\text{C}$ 。

**1.4 IM4a~IM4h 合成的操作示例** 于 100 mL 圆底烧瓶中加入沙星 (10 mmol)、DCM 20 mL, 搅拌均匀后加入碾细的  $\text{NaHCO}_3$  (40 mmol), 室温搅拌均匀。移至 0  $^{\circ}\text{C}$  冰盐浴, 滴加 3-氯丙酰氯 (25 mmol) 的 DCM (2.5 mL) 溶液。滴加完毕, 继续冰浴搅拌反应, TLC 监测反应完全后, 加入饱和 NaCl 溶液 20 mL, 2 mol $\cdot\text{L}^{-1}$  HCl 调节 pH = 2~3, 静置分层, 分液, 有机相用冰冷饱和 NaCl 溶液洗涤至水相无荧光点, 收集有机相, 干燥, 旋除溶剂, 得固体粗品。加入 EA 15 mL 搅拌 30 min, 加入 PE 40 mL 进行分散, 静置, 抽滤, TLC 监测固体, 如发现存在杂点, 重复多次进行分散, 真空干燥, 称重。当原料是巴洛沙星和加替沙星时, 得油状粗品, 加 DCM 20 mL 重结晶, 析出黄色固体, 抽滤, 得纯品, 收率在 85.6%~92.7%。

**1.5 TM1/2 合成的操作示例** 于 100 mL 反应瓶中加入 **IM3a/IM3b** (1 mmol)、DMF 2 mL, 室温搅拌得淡黄色清亮溶液, 加入  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (1.5 mmol, 0.207 g), 搅拌 0.5 h 后加 **IM4a~IM4h** (1.2 mmol)、NaI (0.01 mmol), 继续搅拌 0.5 h 后, 转入 60  $^{\circ}\text{C}$  油浴搅拌反应, TLC 监测直至反应结束。加入冰冷的饱和 NaCl 溶液, 2 mol $\cdot\text{L}^{-1}$  HCl 溶液调节 pH = 3~4, 析出固体, 冷藏。抽滤, 滤饼

用饱和NaCl溶液(10 mL×1)、冰水(15 mL×2)洗涤,滤饼真空干燥得粗品。柱色谱(DCM:CH<sub>3</sub>OH = 150:1~20:1, v/v),部分化合物还经薄层色谱(DCM:CH<sub>3</sub>OH = 50:1, v/v),得目标化合物**TM1/2**。

**TM1/2**系列化合物的表征数据如下:

**TM1a:** 白色固体, mp: 228.3~229.2 °C。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 14.51 (s, 1H), 10.61 (s, 1H), 10.55 (s, 1H), 8.88~8.81 (m, 2H), 7.94 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H), 7.91 (d, *J* = 5.6 Hz, 2H), 7.75 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.35 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H), 7.09 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 5.73 (dd, *J* = 10.5, 1.8 Hz, 2H), 5.01 (s, 2H), 4.41 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 4.02 (dt, *J* = 20.6, 10.4 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.35 (s, 4H), 2.08 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 1.20 (dd, *J* = 13.1, 6.9 Hz, 3H), 1.01 (s, 2H); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 176.59, 172.45, 169.15, 166.09, 165.56, 165.14, 164.89, 161.81, 156.91, 155.24, 153.12, 151.28, 145.14, 143.85, 143.76, 138.31, 136.80, 128.60, 127.98, 123.13, 120.30, 110.98, 108.41, 108.17, 106.85, 64.14, 61.59, 60.21, 55.27, 46.40, 41.99, 30.47, 21.44, 19.10, 14.45, 11.29。HR-MS [M+H]<sup>+</sup> *m/z* C<sub>36</sub>H<sub>33</sub>ClFN<sub>5</sub>O<sub>10</sub> 计算值 750.197 3, 测量值 750.197 2。

**TM1b:** 白色固体, mp: 216.2~217.0 °C。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 11.13 (s, 1H, H), 10.64 (s, 1H), 10.57 (s, 1H), 9.97 (s, 1H), 8.86 (d, *J* = 3.8 Hz, 2H), 7.92 (d, *J* = 4.2 Hz, 2H), 7.76 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.72 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.11 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 5.68 (s, 2H), 5.00 (d, *J* = 28.9 Hz, 2H), 4.23 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 4.03 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.37 (s, 9H), 1.65 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 176.58, 172.15, 169.39, 166.06, 165.50, 165.08, 163.69, 161.63, 153.15, 148.88, 146.24, 145.44, 145.16, 143.86, 143.04, 138.33, 131.34, 128.66, 127.93, 120.32, 111.12, 111.02, 108.38, 108.19, 106.89, 64.21, 62.49, 52.67, 51.10, 46.38, 42.00, 35.77, 30.49, 19.11, 11.31。HR-MS [M+Na]<sup>+</sup> *m/z* C<sub>35</sub>H<sub>34</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>10</sub> 计算值 726.218 2, 测量值 726.216 4。

**TM1c:** 白色固体, mp: 234.2~235.1 °C。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 15.19 (s, 1H, H-23), 10.62 (s, 3H, H-5), 10.57 (s, 2H, H-19), 8.85 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H, H-9 and H-10), 8.66 (s, 1H), 7.91 (d, *J* = 5.4 Hz, 2H), 7.75 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.57 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.09 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 5.01 (s, 2H), 4.23 (s, 4H), 3.87 (s, 3H), 3.81 (t, *J* = 16.1 Hz, 2H), 3.42 (s, 4H), 3.36 (s, 3H), 1.33 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H), 1.21 (d, *J* = 30.7 Hz, 2H), 0.88~0.79 (m, 1H); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)

δ 176.57, 172.14, 169.14, 168.53, 166.04, 165.49, 165.08, 163.68, 161.81, 155.24, 153.13, 148.87, 146.24, 145.44, 145.16, 143.03, 138.31, 131.24, 130.94, 128.64, 127.93, 110.98, 108.38, 108.18, 106.85, 65.47, 64.19, 62.48, 61.57, 61.52, 55.32, 41.99, 35.77, 30.49, 14.46, 11.31。HR-MS [M+H]<sup>+</sup> *m/z* C<sub>36</sub>H<sub>34</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>10</sub> 计算值 716.236 2, 测量值 716.235 9; [M+Na]<sup>+</sup> *m/z* 计算值 738.218 2, 测量值 738.217 9。

**TM1d:** 白色固体, mp: 207.3~208.0 °C。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 15.11 (s, 1H), 10.63 (s, 1H), 10.57 (s, 1H), 8.85 (d, *J* = 5.3 Hz, 2H), 8.64 (s, 1H), 7.99 (d, *J* = 13.0 Hz, 2H), 7.91 (d, *J* = 5.4 Hz, 2H), 7.83~7.70 (m, 2H), 7.53 (t, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.09 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 5.74 (s, 2H), 5.01 (s, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.74~3.54 (m, 2H), 3.41 (d, *J* = 24.9 Hz, 8H); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 176.61, 172.49, 169.15, 166.11, 165.60, 165.16, 164.90, 161.79, 156.90, 155.23, 153.13, 151.27, 145.13, 143.85, 143.76, 138.31, 136.80, 131.92, 131.27, 129.09, 128.95, 128.57, 128.04, 123.51, 123.14, 120.29, 111.11, 110.98, 108.42, 108.14, 106.85, 64.13, 61.60, 55.26, 41.99, 30.46, 21.44, 19.09, 14.45。HR-MS [M+H]<sup>+</sup> *m/z* C<sub>39</sub>H<sub>33</sub>F<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O<sub>10</sub> 计算值 770.226 8, 测量值: 770.226 9。

**TM1e:** 白色固体, mp: 213.6~214.5 °C。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 15.30 (s, 1H), 10.62 (s, 1H), 10.57 (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 8.85 (d, *J* = 4.4 Hz, 2H), 8.07 (d, *J* = 13.3 Hz, 1H), 7.91 (d, *J* = 4.4 Hz, 2H), 7.74 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.35 (s, 1H), 5.01 (s, 2H), 4.56~4.42 (m, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.77 (d, *J* = 35.3 Hz, 3H), 3.43 (s, 10H), 1.40 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 176.60, 172.16, 169.14, 166.06, 165.54, 165.10, 163.69, 161.80, 155.24, 153.15, 148.88, 146.24, 145.44, 145.15, 143.01, 131.26, 129.10, 128.62, 127.98, 111.26, 110.99, 108.40, 108.17, 106.86, 65.48, 64.19, 62.46, 61.58, 42.00, 35.76, 30.47, 19.10, 14.46, 11.30。HR-MS [M+H]<sup>+</sup> *m/z* C<sub>34</sub>H<sub>33</sub>FN<sub>6</sub>O<sub>10</sub> 计算值 705.231 4, 测量值 705.231 5。

**TM1f:** 黄色固体, mp: 297.9~298.8 °C。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 14.94 (s, 1H), 10.62 (s, 1H), 8.86 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 8.69 (s, 2H), 7.91 (d, *J* = 4.5 Hz, 2H), 7.74 (d, *J* = 11.9 Hz, 4H), 4.56 (s, 2H), 4.17 (s, 3H), 4.03 (dd, *J* = 14.3, 7.2 Hz, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.79 (s, 4H), 3.14 (dd, *J* = 28.2, 10.4 Hz, 3H), 3.00 (s, 3H), 2.92 (d, *J* = 14.52 Hz, 2H), 2.82 (m, 2H), 1.90 (Hz, 2H), 1.22~1.14 (m, 2H); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 176.74,

169.71, 169.39, 166.05, 162.76, 161.63, 155.35, 151.32, 150.76, 146.43, 145.17, 139.74, 139.66, 136.81, 134.49, 131.35, 131.04, 129.69, 127.62, 123.12, 121.41, 121.35, 111.00, 107.03, 106.86, 64.16, 63.23, 63.19, 60.20, 52.67, 51.00, 41.28, 36.61, 30.45, 27.29, 25.79, 14.53, 9.49, 9.27。HR-MS  $[M+Na]^+$   $m/z$   $C_{39}H_{40}FN_5O_{11}$  计算值 796.260 1, 测量值 796.260 8。

**TM1g:** 淡黄色固体, mp: 209.5~210.3 °C。 $^1H$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  15.08 (s, 1H), 10.61 (s, 1H), 9.95 (s, 1H), 8.93 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 8.64 (s, 1H), 7.72 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 7.87 (d,  $J = 8.7$ , 2H), 7.79 (s, 1H), 7.53 (dd,  $J = 8.6, 1.7$  Hz, 1H), 5.72 (d,  $J = 10.7$  Hz, 2H), 4.59 (d,  $J = 3.2$  Hz, 8H), 3.87 (s, 3H), 3.51 (d,  $J = 9.7$  Hz, 2H), 3.36 (d,  $J = 9.6$  Hz, 3H), 1.45 (t,  $J = 6.7$  Hz, 6H);  $^{13}C$  NMR (150 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  176.61, 172.18, 169.39, 166.08, 165.56, 163.69, 161.62, 153.16, 148.88, 146.24, 145.44, 145.14, 143.01, 138.33, 131.36, 128.62, 128.00, 111.29, 111.12, 111.03, 110.97, 108.40, 108.16, 106.99, 106.90, 65.49, 64.20, 62.45, 52.68, 42.00, 41.05, 35.75, 30.47, 19.10, 13.95, 11.30。HR-MS  $[M+H]^+$   $m/z$   $C_{36}H_{35}F_2N_5O_{10}$  计算值 736.242 5, 测量值 736.243 7。

**TM1h:** 黄色固体, mp: 225.6~226.3 °C。 $^1H$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  14.93 (s, 1H), 10.63 (s, 1H), 10.57 (s, 1H), 8.85 (d,  $J = 4.3$  Hz, 2H), 8.72 (s, 1H), 7.91 (d,  $J = 4.3$  Hz, 2H), 7.76 (d,  $J = 6.2$  Hz, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.09 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 5.73 (d,  $J = 13.6$  Hz, 4H), 5.01 (s, 2H), 4.21 (dd,  $J = 24.5, 17.9$  Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.72 (s, 2H), 3.46 (s, 4H), 3.36 (s, 3H), 3.20 (d,  $J = 17.6$  Hz, 1H), 1.28 (d,  $J = 45.5$  Hz, 3H), 1.13 (s, 1H), 1.03 (s, 1H), 0.95~0.89 (m, 1H), 0.87~0.80 (m, 1H);  $^{13}C$  NMR (150 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  176.74, 169.42, 166.09, 166.07, 161.64, 156.83, 155.17, 151.28, 150.95, 148.86, 146.23, 145.42, 145.15, 140.01, 139.94, 136.79, 134.56, 131.33, 127.88, 123.12, 111.03, 108.37, 107.18, 107.14, 106.90, 65.48, 64.18, 64.14, 64.07, 62.44, 55.27, 52.66, 50.95, 41.08, 30.47, 19.10, 13.93, 9.45。HR-MS  $[M+Na]^+$   $m/z$   $C_{38}H_{38}FN_5O_{11}$  计算值 782.244 4, 测量值 782.242 7。

**TM2a:** 黄色固体, mp: 236.3~237.1 °C。 $^1H$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  14.48 (s, 1H), 10.69 (s, 1H), 10.54 (s, 1H), 8.84 (d,  $J = 3.1$  Hz, 2H), 8.82 (s, 1H), 7.90 (d,  $J = 2.5$  Hz, 2H), 7.73 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 7.33 (s, 1H), 7.08 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 5.01 (s, 2H), 4.34 (q,  $J = 6.9$  Hz, 2H), 3.74 (s, 2H), 3.42 (s, 8H), 3.32 (s, 3H), 1.32 (t,  $J = 6.9$  Hz, 3H), 1.20 (d,  $J = 5.7$  Hz, 2H), 1.00 (s, 1H), 0.87 (dd,  $J = 44.5, 6.3$  Hz, 1H);  $^{13}C$  NMR (150 MHz, DMSO-

$d_6$ )  $\delta$  176.59, 169.15, 166.08, 165.54, 164.89, 161.81, 156.91, 155.25, 153.11, 151.28, 145.14, 143.85, 143.76, 138.31, 136.80, 131.25, 128.61, 127.96, 123.12, 120.31, 111.11, 110.98, 108.41, 108.18, 106.86, 65.48, 64.14, 61.58, 55.27, 51.63, 51.08, 46.36, 41.98, 31.38, 30.47, 14.45, 11.29。HR-MS  $[M+Na]^+$   $m/z$   $C_{37}H_{35}ClFN_5O_{10}$  计算值 786.194 9, 测量值 786.193 6。

**TM2b:** 黄色固体, mp: 201.6~201.3 °C。 $^1H$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  15.25 (s, 1H), 10.70 (s, 1H), 10.56 (s, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.86 (d,  $J = 5.3$  Hz, 2H), 7.91 (d,  $J = 5.7$  Hz, 2H), 7.76 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.19 (d,  $J = 6.2$  Hz, 1H), 7.09 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 5.02 (s, 2H), 4.59 (dd,  $J = 13.7, 6.7$  Hz, 1H), 4.34 (q,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 3.89~3.64 (m, 4H), 3.35 (s, 8H), 2.92 (dd,  $J = 14.6, 8.2$  Hz, 1H), 1.42 (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H), 1.33 (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H);  $^{13}C$  NMR (150 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  176.74, 169.39, 166.07, 164.88, 162.78, 161.62, 156.98, 155.33, 151.31, 150.76, 146.41, 145.45, 145.17, 139.75, 139.67, 136.80, 134.48, 131.35, 131.04, 123.13, 121.38, 121.32, 111.00, 108.36, 107.01, 64.15, 63.22, 52.68, 51.00, 41.28, 36.59, 36.24, 31.24, 30.45, 25.78, 14.52。HR-MS  $[M+Na]^+$   $m/z$   $C_{36}H_{36}FN_5O_{10}$  计算值 740.233 8, 测量值 740.233 1。

**TM2c:** 白色固体, mp: 235.8~236.6 °C。 $^1H$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  15.18 (s, 1H), 10.70 (s, 1H), 10.56 (s, 1H), 8.86 (d,  $J = 4.4$  Hz, 2H), 8.66 (s, 1H), 7.91 (d,  $J = 5.4$  Hz, 2H), 7.75 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 7.57 (d,  $J = 7.1$  Hz, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.09 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 5.01 (s, 2H), 4.34 (q,  $J = 6.9$  Hz, 2H), 3.80 (d,  $J = 20.1$  Hz, 4H), 3.37 (s, 13H), 1.33 (t,  $J = 6.9$  Hz, 3H);  $^{13}C$  NMR (150 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  176.74, 169.42, 166.11, 166.07, 164.89, 163.68, 161.63, 155.16, 151.27, 150.94, 148.86, 146.23, 145.42, 145.13, 142.99, 140.01, 136.79, 134.55, 131.33, 127.92, 123.13, 111.02, 108.36, 107.16, 106.98, 106.89, 65.48, 64.17, 64.13, 64.07, 62.43, 55.27, 52.67, 41.09, 30.46, 19.09, 13.93, 9.44。HR-MS,  $[M+Na]^+$   $m/z$   $C_{37}H_{36}FN_5O_{10}$  计算值 752.233 8, 测量值 752.233 3。

**TM2d:** 黄色固体, mp: 212.1~213.0 °C。 $^1H$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  15.09 (s, 1H), 10.68 (s, 1H), 9.95 (s, 1H), 8.65 (s, 1H), 8.01 (d,  $J = 13.0$  Hz, 2H), 7.79 (t,  $J = 6.0$  Hz, 2H), 7.54 (t,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.15 (s, 1H), 6.80 (dd,  $J = 16.6, 10.5$  Hz, 4H), 6.41 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 5.69 (d,  $J = 10.8$  Hz, 1H), 4.34 (dd,  $J = 13.7, 6.7$  Hz, 2H), 4.02 (t,  $J = 6.3$  Hz, 2H), 3.78 (t,  $J = 6.3$  Hz, 2H), 3.65 (m, 8H), 1.33 (t,  $J = 6.9$  Hz, 3H);  $^{13}C$  NMR (150 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  176.75, 172.19, 169.78, 169.26, 169.14,

166.18, 166.12, 164.90, 161.78, 151.28, 150.75, 146.38, 145.38, 145.13, 139.74, 137.66, 136.80, 134.98, 134.46, 131.29, 130.99, 128.50, 123.14, 121.36, 121.30, 111.27, 110.99, 108.43, 108.10, 106.99, 106.85, 64.13, 63.21, 63.17, 61.61, 41.26, 36.57, 30.44, 25.75, 14.45。HR-MS  $[M+H]^+$   $m/z$   $C_{40}H_{35}F_2N_5O_{10}$  计算值 784.242 5, 测量值 784.241 9。

**TM2e:** 白色固体, mp: 215.7~216.5 °C。 $^1H$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  15.28 (s, 1H), 10.70 (s, 1H), 10.55 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.86 (d,  $J = 3.6$  Hz, 2H), 8.08 (d,  $J = 13.3$  Hz, 1H), 7.91 (d,  $J = 3.5$  Hz, 2H), 7.75 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 7.35 (s, 1H), 5.01 (s, 2H), 4.50 (d,  $J = 6.6$  Hz, 2H), 4.34 (q,  $J = 6.9$  Hz, 2H), 4.23 (t,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 4.02 (t,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 3.96~3.63 (m, 8H), 1.40 (t,  $J = 6.6$  Hz, 3H), 1.33 (t,  $J = 6.8$  Hz, 3H);  $^{13}C$  NMR (150 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  176.73, 169.16, 166.12, 166.06, 164.88, 163.67, 161.80, 151.22, 150.89, 148.85, 146.22, 145.41, 145.11, 142.97, 140.00, 139.92, 134.52, 131.22, 127.93, 123.14, 110.98, 108.37, 107.13, 106.85, 65.48, 64.87, 62.40, 61.60, 61.54, 55.24, 41.08, 30.45, 19.08, 14.42, 9.43。HR-MS  $[M+Na]^+$   $m/z$   $C_{35}H_{35}FN_6O_{10}$  计算值 741.229 1, 测量值 741.229 7。

**TM2f:** 黄色固体, mp: 208.0~208.8 °C。 $^1H$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  14.95 (s, 1H), 10.70 (s, 1H), 10.56 (s, 1H), 8.86 (d,  $J = 4.7$  Hz, 2H), 8.70 (s, 1H), 7.91 (d,  $J = 4.6$  Hz, 2H), 7.76 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.09 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 5.01 (s, 2H), 4.34 (dd,  $J = 14.1$ , 7.0 Hz, 2H), 4.17 (t,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 4.02 (s, 3H), 3.79 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3H), 3.39 (s, 3H), 3.26 (s, 2H), 3.20~3.06 (m, 1H), 3.04~2.69 (m, 2H), 2.16 (dd,  $J = 29.1$ , 8.7 Hz, 1H), 1.78~1.91 (m, 3H), 1.33 (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H), 1.26~0.94 (m, 4H);  $^{13}C$  NMR (150 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  176.79, 172.17, 169.13, 166.11, 164.89, 162.65, 161.80, 151.33, 150.80, 146.40, 145.17, 139.75, 136.81, 134.50, 131.31, 130.99, 128.52, 123.13, 121.43, 111.28, 110.99, 108.44, 107.88, 107.05, 106.86, 64.16, 63.23, 63.19, 62.47, 61.58, 51.00, 50.01, 43.18, 41.28, 34.44, 30.45, 30.30, 25.78, 14.48, 9.26。HR-MS  $[M+H]^+$   $m/z$   $C_{40}H_{42}FN_5O_{11}$  计算值 788.293 8, 测量值 788.295 3。

**TM2g:** 白色固体, mp: 223.9~224.8 °C。 $^1H$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  14.88 (s, 1H), 10.71 (s, 1H), 10.57 (s, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.85 (d,  $J = 4.6$  Hz, 2H), 7.91 (d,  $J = 4.6$  Hz, 2H), 7.87 (d,  $J = 11.6$  Hz, 1H), 7.75 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 7.34 (s, 1H), 5.74 (t,  $J = 18.2$  Hz, 7H), 5.01 (s, 2H, H-7), 4.58 (s, 2H), 4.34 (q,  $J = 13.9$ , 6.9 Hz,

2H), 4.02 (t,  $J = 6.9$  Hz, 4H), 1.45 (t,  $J = 6.6$  Hz, 3H), 1.33 (t,  $J = 7.0$  Hz, 6H);  $^{13}C$  NMR (150 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  176.74, 172.20, 169.42, 166.12, 166.08, 164.89, 163.68, 161.63, 155.14, 151.28, 150.95, 148.88, 146.23, 145.43, 145.13, 142.97, 139.94, 136.77, 134.55, 131.34, 123.13, 111.00, 108.34, 107.13, 106.86, 65.49, 64.17, 64.08, 62.42, 55.28, 52.68, 51.00, 41.09, 30.46, 19.10, 13.94, 9.44。HR-MS  $[M+H]^+$   $m/z$   $C_{37}H_{37}F_2N_5O_{10}$  计算值 750.258 1, 测量值 750.257 8。

**TM2h:** 黄色固体, mp: 233.2~234.0 °C。 $^1H$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  14.92 (s, 1H), 10.71 (s, 1H), 10.57 (s, 1H), 8.85 (d,  $J = 5.6$  Hz, 2H), 8.71 (s, 1H), 7.91 (d,  $J = 5.6$  Hz, 2H), 7.75 (d,  $J = 9.1$  Hz, 2H), 7.35 (s, 1H), 5.74 (s, 4H), 5.01 (s, 2H), 4.34 (dd,  $J = 14.1$ , 7.0 Hz, 2H), 4.16 (s, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.35 (d,  $J = 12.1$  Hz, 7H), 1.33 (t,  $J = 7.1$  Hz, 6H), 1.08 (m, 4H);  $^{13}C$  NMR (150 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  176.72, 172.15, 169.16, 166.08, 166.05, 163.67, 161.82, 156.82, 151.26, 150.91, 148.85, 146.23, 145.42, 145.14, 143.00, 140.00, 139.92, 134.53, 131.23, 127.87, 123.12, 111.24, 110.98, 108.37, 106.85, 65.47, 64.17, 64.05, 62.44, 61.58, 61.53, 55.26, 50.97, 41.08, 30.47, 19.09, 14.43, 13.92, 9.44。HR-MS  $[M+H]^+$   $m/z$   $C_{39}H_{40}FN_5O_{11}$  计算值 774.278 1, 测量值 774.278 0。

## 2 化合物的生物活性测试

**2.1 抗耻垢分枝杆菌活性** 采用本实验室常用的测试方法<sup>[33,34]</sup>, 测定了目标分子 **TM1/2** 抗耻垢分枝杆菌的活性, 相关结果见表 3。

**2.2 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<sup>[33,34]</sup>, 测定大肠杆菌 ATCC25922、沙门氏菌 ATCC13076、鲍曼不动杆菌 ATCC19606、铜绿假单胞菌 ATCC27853、藤黄微球菌、金黄色葡萄球菌 ATCC25129/ATCC14125 的 MIC, 相关结果见表 4。

**2.3 溶血性测试** 用健康人的新鲜血液分离的人红细胞离心测定化合物的溶血活性。新鲜血液来自西南大学医院, 西南大学化学化工学院批准。用生理盐水 (0.9% NaCl) 洗涤 3 次, 最终得到 2% 的红细胞悬液 (红细胞 200  $\mu$ L, 生理盐水 10 mL), 将红细胞悬液加入 96 孔板 (每孔 100  $\mu$ L), 将待测化合物加入 96 孔板第一孔中, 进行连续二倍稀释。阴性对照样品采用生理盐水, 阳性对照选用 0.1% Triton X-100 的生理盐水, 37 °C 孵育 4 h, 离心, 提取上清液, 测试吸光度 ( $A_{540}$ ), 利用式 1 计算溶血率。其中  $A$  为被测试样品在 540 nm 处的吸光度值,  $A_0$  为阴性对照样品的吸光度值,  $A_{total}$  为阳性对照样品的吸光度值。

$$\text{Hemolysis} = \frac{A - A_0}{A_{\text{total}} - A_0} \quad (1)$$

**致谢:** 感谢西南大学药学院中医药学院徐兴然副教授对抗菌活性测试的帮助和本学院老师在核磁共振、质谱测试中提供的支持。

**作者贡献:** 任艳会负责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; 范莉负责部分分子的合成及文本修改; 代乐平、毛丹负责部分分子的合成; 许峻旗负责抗结核活性测试; 谢建平为抗结核活性测试责任人; 杨茜负责溶血性测试; 杨大成负责课题规划且为论文责任负责人。

**利益冲突:** 无利益冲突。

## References

- [1] World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2021 [R/OL]. Geneva: WHO, 2021. <https://www.who.int/publications/digital/global-tuberculosis-report-2021>.
- [2] Schatz A, Waksman SA. Effect of streptomycin and other antibiotic substances upon *Mycobacterium tuberculosis* and related organisms [J]. *Exp Biol Med*, 1944, 57: 244-248.
- [3] Tebrock HE, Fisher MM, Mamlok ER. The new drug: isoniazid [J]. *Am J Nurs*, 1952, 52: 1342-1344.
- [4] Malone L, Schurr A, Lind HH, et al. The effect of pyrazinamide (aldinamide) on experimental tuberculosis in mice [J]. *Am Rev Tuberc*, 1952, 65: 511-518.
- [5] Laboratories L. Ethambutol hydrochloride (myambutol tablets) [J]. *Med Lett Drugs Ther*, 1968, 9: 41-42.
- [6] Rahman MU, Arfan M, Shah Z, et al. Nonlinear fractional mathematical model of tuberculosis (TB) disease with incomplete treatment under Atangana-Baleanu derivative [J]. *Alex Eng J*, 2021, 60: 2845-2856.
- [7] Siswantining T, Susilowati MHD, Purwandani N, et al. Geoinformatics of tuberculosis (TB) disease in Jakarta city Indonesia [J]. *Int J Geomate*, 2020, 19: 35-42.
- [8] Pym AS, Diacon AH, Tang SJ, et al. Bedaquiline in the treatment of multidrug- and extensively drug-resistant tuberculosis [J]. *Eur Respir J*, 2016, 47: 564.
- [9] Juan P, Anandi M. Drug resistance mechanisms in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Antibiotics*, 2014, 3: 317-340.
- [10] Medical Research Council. Treatment of pulmonary tuberculosis with streptomycin and *para*-aminosalicylic acid: a medical research council investigation [J]. *Br Med J*, 1950, 2: 1073-1085.
- [11] Medical Research Council. Various combinations of isoniazid with streptomycin or with PAS in the treatment of pulmonary tuberculosis [J]. *Br Med J*, 1955, 1: 435-445.
- [12] Jensen KA, Rosdahl KG, Ingvorsen H. Tuberculostatic derivatives of *p*-aminobenzoic acid; esters and amides of 4-aminosalicylic acid [J]. *Acta Chem Scand*, 1948, 2: 220-224.
- [13] Doub L, Schaefer JJ, Bambas LL, et al. Some derivatives of 4-amino-2-hydroxybenzoic acid (*p*-aminosalicylic acid) [J]. *J Am Chem Soc*, 1951, 73: 903-906.
- [14] Patole J, Shingnapurkar D, Padhye S, et al. Schiff base conjugates of *p*-aminosalicylic acid as antimycobacterial agents [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2006, 16: 1514-1517.
- [15] Sajal KH, Fatiha E. *In silico* identification of novel chemical compounds with antituberculosis activity for the inhibition of InhA and EthR proteins from *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *J Clin Tuberc Other Mycobact Dis*, 2021, 24: 100246.
- [16] Pflégr V, Horváth L, Stolaříková J, et al. Design and synthesis of 2-(2-isonicotinoylhydrazineylidene) propanamides as InhA inhibitors with high antitubercular activity [J]. *Eur J Med Chem*, 2021, 223: 113668.
- [17] Ionut D, Oana MD, Sangram K, et al. New isoniazid derivatives with improved pharmacotoxicological profile: obtaining, characterization and biological evaluation [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2019, 137: 104974.
- [18] Srivastava G, Tripathi S, Kumar A. Molecular investigation of active binding site of isoniazid (INH) and insight into resistance mechanism of S315T-MtKatG in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Tuberculosis*, 2017, 105: 18-27.
- [19] Lee HW, Lee JK, Kim E, et al. The effectiveness and safety of fluoroquinolone-containing regimen as a first-line treatment for drug-sensitive pulmonary tuberculosis: a systematic review and meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2016, 11: e0159827.
- [20] Verma RK, Agrawal AK, Singh AK, et al. New fluoroquinolones active against fluoroquinolones-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains [J]. *Tuberculosis*, 2013, 93: 405-411.
- [21] World Health Organization. Treatment of Tuberculosis: Guidelines [M]. Geneva: World Health Organization, 2010.
- [22] Sharma A, Rosa MD, Singla N, et al. Tuberculosis: an overview of the immunogenic response, disease progression, and medicinal chemistry efforts in the last decade toward the development of potential drugs for extensively drug-resistant tuberculosis strains [J]. *J Med Chem*, 2021, 64: 4359-4395.
- [23] Qu LB, Tian MC, Cheng SX, et al. Synthesis and *in vitro* antibacterial activity of 7-(4-acylamino-thioformyl-1-piperazinyl) quinolones [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2003, 38: 264-267.
- [24] Gao LZ, Li T, Xie YS, et al. Design and synthesis of [1,2,4]triazino-[3,4-h][1,8]naphthalidine-8-keto-7-carboxylic acid derivatives and their antibacterial and anti-cell proliferation activities [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2015, 50: 332-336.
- [25] Pan JF, Sun XL, Fan L, et al. Study on the hybrid molecules of dihydroartemisinin and fluoroquinolones linked by *L*-homoserine derivative [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2020, 52: 2157-2169.
- [26] Kakemi K, Sezaki H, Kitazawa S, et al. Studies on the pharmaceutical potentiation of drugs. III. Antagonistic effects of PABA on antitubercular activities of PAS derivatives [J]. *Chem Pharm Bull*, 1967, 15: 925-931.
- [27] Imramovsk A, Polanc S, Kocovar M, et al. A new modification

- of antitubercular active molecules [J]. *Bioorg Med Chem*, 2007, 15: 2551-2559.
- [28] Yang DC, Ren YH, Fan L, et al. Fluoroquinolone derivatives of *p*-aminosalicylic acid and intermediates, preparation methods and applications thereof: CN, 2020110256397 [P]. 2020-09-25.
- [29] Zhou H, Li X, Li Y, et al. Synthesis and bioevaluation of 1-phenylimidazole-4-carboxylic acid derivatives as novel xanthine oxidoreductase inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2020, 186: 111883.
- [30] Huang L, Shi A, He F, et al. Synthesis, biological evaluation, and molecular modeling of berberine derivatives as potent acetylcholinesterase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem*, 2010, 18: 1244-1251.
- [31] Markus F, David RL, Aleksandra Z, et al. Histamine H<sub>3</sub> receptor antagonists with peptidomimetic (keto) piperazine structures to inhibit A $\beta$  oligomerisation [J]. *Bioorg Med Chem*, 2021, 50: 116462.
- [32] Sharma VS, Patel SB, Sharma AS, et al. Calamitic-rod-shaped mesogens based on chalcone esters comprising varying alkoxy and lauryl ester chains: synthesis, mesomorphism and computational study [J]. *Mol Cryst Liq Cryst*, 2017, 556: 32-47.
- [33] Yang DC, Pan JF, Fan L, et al. Fluoroquinolone derivatives of *p*-aminosalicylic acid and intermediates, preparation methods and applications thereof: CN, 2020110256626 [P]. 2020-09-25.
- [34] Pan JF. Design, Synthesis and Bioactivity of *p*-Amino Salicylic Acid Derivatives (对氨基水杨酸衍生物的设计、合成及其生物活性研究) [D]. Chongqing: Southwest University, 2020.
- [35] Bridget G, Grzegorz G, Michaux C, et al. Bacterial persisters and infection: past, present, and progressing [J]. *Annu Rev Microbiol*, 2019, 73: 359-385.
- [36] Lubka R, Pablo B, France P. The role of complement in post-transfusion hemolysis and hyper hemolysis reaction [J]. *Transfus Med Rev*, 2019, 33: 225-230.