

含 L-苯丙氨酸结构的蛇床子素衍生物的合成与抗菌活性

周绪容^{1,2}, 陈阳密¹, 余慧娴¹, 杨家强^{1*} (1. 遵义医科大学药学院, 贵州 遵义 563000; 2. 黔西南州中医院, 贵州 兴义 562400)

摘要:目的 对前期抗菌活性化合物进行结构改造与优化。方法 首先,以蛇床子素为原料,分别经 SeO₂ 和 NaClO₂/NaH₂PO₄ 氧化,合成中间体 **2**;接着,Boc-L-苯丙氨酸和胺通过缩合、脱保护,制得中间体 **3**;然后,中间体 **2** 与中间体 **3** 再缩合制得目标物;最后,采用两倍稀释法对目标物进行体外抗菌活性测试。结果 合成了 22 个目标化合物,经核磁共振波谱法(NMR)和元素分析确认结构;该类化合物对所测试细菌有较好抑制作用,化合物 **4o** 和 **4q** 的抗大肠杆菌(*E. coli*)、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)和耐氟喹诺酮大肠杆菌(FREC)活性最为显著,前者的最小抑菌浓度(MIC)分别为 2、16 和 4 μg·mL⁻¹,后者的 MIC 分别为 4、16 和 8 μg·mL⁻¹,优于阳性对照药苯唑西林(16、256 和 64 μg·mL⁻¹)。结论 部分目标物对革兰阳性菌和阴性菌有较显著抑制作用,L-苯丙氨酸的引入,有助于提升抗革兰阴性菌活性。

关键词:蛇床子素衍生物;L-苯丙氨酸;结构优化;合成;抗菌活性

doi:10.11669/cpj.2025.04.003 中图分类号:R914 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2025)04-0326-08

Synthesis and Antibacterial Activities of Osthole Derivatives Containing L-Phenylalanine

ZHOU Xurong^{1,2}, CHEN Yangmi¹, SHE Huixian¹, YANG Jiaqiang^{1*} (1. School of Pharmacy, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China; 2. Qianxinan Autonomous Prefecture Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xingyi 562400, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To modify and optimize the structure of osthole derivatives with better antibacterial activities. **METHODS** First, intermediate **2** was synthesized by oxidation of SeO₂ and NaClO₂/NaH₂PO₄ using osthole extract as raw material. Next, intermediate **3** was synthesized through condensation reaction of Boc-L-phenylalanine and amines, followed by deprotection reaction. Then, the target compounds were prepared by recondensing intermediate **2** and **3**. Finally, the antibacterial activities of the products were tested by the agar dilution method. **RESULTS** Twenty-two osthole derivatives were synthesized, and their structures were confirmed by NMR and elemental analysis. The results showed that these compounds had better inhibitory effects on the tested bacteria. The activities of compounds **4o** and **4q** against *E. coli*, MRSA and FREC were the most significant, the MIC of **4o** was 2, 16, and 4 μg·mL⁻¹ respectively, and the MIC of **4q** was 4, 16, and 8 μg·mL⁻¹ respectively, which were superior to that of the control drug oxacillin. **CONCLUSION** Some derivatives have significant inhibitory effects on both gram-positive and negative bacteria. The introduction of L-phenylalanine into the structure of osthole can enhance its anti-gram-negative bacteria activities.

KEY WORDS: osthole derivative; L-phenylalanine; structural optimization; synthesis; antibacterial activity

由于抗生素的不当使用和滥用,如今已经产生了多种耐药性细菌及“超级细菌”,对多种抗生素产生不同程度的耐药,一旦发生医源性传播则极难控制^[1-2]。因此,除了合理利用抗生素外,开发新的抗菌药物也是迫在眉睫。前期,课题组以天然产物蛇床子素为原料,对其 8 位进行结构改造,合成了一系列蛇床子素酯类^[3]和磺酸酯类^[4]衍生物进行抗菌活性研究,结果发现,其中的化合物 A 对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)和耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *S. aureus*, MRSA)的最小抑菌浓度(minimal inhibit concentration, MIC)均

为 16 μg·mL⁻¹,明显优于蛇床子素的活性,具有进一步优化的前景。

L-苯丙氨酸是植物组织中肉桂酸生物合成的重要化学物质^[5],作为必需氨基酸在人生命活动中发挥重要生理作用^[6],如含 L-苯丙氨酸的短杆菌肽可用于浅表部位的革兰阳性菌和阴性菌感染疾病治疗,无毒性,几乎不产生耐药性^[7];天然抗菌肽 Temporin L 及其衍生物对革兰阳性菌、阴性菌和内毒素具有良好活性^[8]。由于苯丙氨酸具有很好的生物相容性、安全性及靶标结合力^[9],在抗菌药物设计与结构优化中也应用广泛^[10-11],Su 等^[12]运用活性

基金项目:贵州省科技计划项目资助(科合基础-ZK[2024]一般 265);国家级大学生创新创业训练计划项目资助(202310661006)

作者简介:周绪容,女,硕士研究生 研究方向:药学与抗感染研究 * **通讯作者:**杨家强,男,硕士,教授 研究方向:新药物设计与合成
Tel: (0851) 28642339

结构组合原理,将赖氨酸和苯丙氨酸缩合形成的衍生物对 *S. aureus* 的 MIC 值可达 $2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; Rakesh 等^[13] 合成了系列新型含苯丙氨酸片段的喹啉酮席夫碱衍生物,抗 *S. aureus* 和大肠杆菌 (*E. coli*) 活性优于对照药链霉素; Devi 等^[14] 将苯丙氨酸骨架引入到磺胺结构中,设计合成的衍生物抗菌活性优于对照药链霉素; Peng 等^[15] 将 L-苯丙氨酸插入到抗菌肽 Protonectin 结构中,能显著提高其抗菌活性;本课题组^[16] 运用分子杂交策略设计合成的含 L-苯丙氨酸结构的异噁唑酰胺衍生物抗 MRSA 活性优于对照药苯唑西林。

基于此,在前期研究基础上,综合运用生物电子等排与骨架跃迁原理,用稳定的酰胺键替换酯键,

L-苯丙氨酸替换结构中的肉桂酸,设计合成系列含 L-苯丙氨酸结构的新型蛇床子素酰胺衍生物进行抗菌活性研究(图 1~2)。

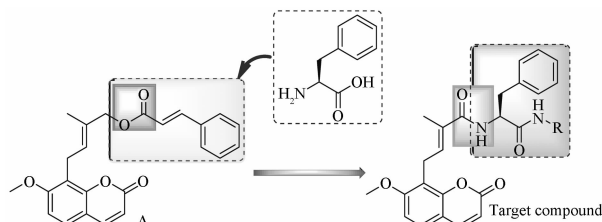
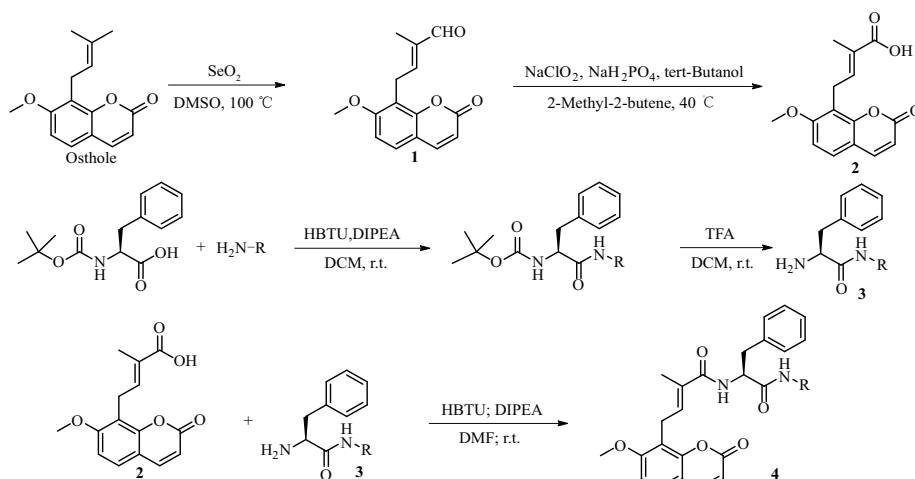


图 1 目标化合物含 L-苯丙氨酸结构的新型蛇床子素酰胺衍生物的设计思路

Fig. 1 Design idea for target compounds osthole derivatives containing L-phenylalanine



DMSO - 二甲基亚砜; HBTU - O-苯并三氮唑-四甲基脒六氟磷酸盐; DIPEA - *N,N*-二异丙基乙胺; DCM - 二氯甲烷; TFA - 三氟乙酸; DMF - *N,N*-二甲基甲酰胺。

4a: R = Ph, 4b: R = 2-CH₃Ph, 4c: R = 3-CH₃Ph, 4d: R = 4-CH₃Ph, 4e: R = 4-OCH₃Ph, 4f: R = 2,4-diOCH₃Ph, 4g: R = 2-FPh, 4h: R = 4-FPh, 4i: R = 2-ClPh, 4j: R = 3-ClPh, 4k: R = 4-ClPh, 4l: R = 2-BrPh, 4m: R = 3-BrPh, 4n: R = 4-BrPh, 4o: R = 3-NO₂Ph, 4p: R = 4-NO₂Ph, 4q: R = 3-CF₃Ph, 4r: R = PhCH₂, 4s: R = 2-FPhCH₂, 4t: R = 4-FPhCH₂, 4u: R = 2,4-diFPhCH₂, 4v: R = thiazolyl methyl; DMSO - dimethyl sulfoxide; HBTU - O-benzotriazole - tetramethyl - uronium - hexafluorophosphate; DIPEA - *N,N*-diisopropylethylamine; DCM - dichloromethane; TFA - trifluoroacetic acid; DMF - *N,N*-dimethylformamide。

图 2 目标化合物含 L-苯丙氨酸结构的新型蛇床子素酰胺衍生物的合成路线

Fig. 2 Synthetic routes of target compounds osthole derivatives containing L-phenylalanine

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

X-4 数字显示显微熔点测定仪(上海精密仪器仪表有限公司)、ZF-2 型三用紫外仪(上海市安亭电子仪器厂)、Varian 核磁共振仪(美国瓦里安技术公司)、Vario EL III 元素分析仪(德国 Elementar 公司)、Autopol 旋光仪(美国鲁道夫公司)。

蛇床子素(纯度:98%)、亚氯酸钠(纯度:80%)、二氧化硒(分析纯)、磷酸二氢钠(分析纯)、Boc-L-苯丙氨酸(纯度:99%)、苯并三唑-1-四甲基六氟磷酸酯(HBTU,纯度:98%)、*N,N*-二异丙基乙胺(DIPEA,纯度:99.5%)(北京百灵威科技有限公

司);其他试剂均为分析纯。

1.2 合成

1.2.1 中间体 1 和 2 的合成 按文献[17]的方法制备得到。

1.2.2 中间体 3 的合成 取 50 mL 反应瓶,加入 1.2 mmol (0.32 g) Boc-L-苯丙氨酸、2.5 mmol (0.95 g) HBTU 和 3.0 mL *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF),待溶解完全,分别加入 3.5 mmol (0.45 g) DIPEA 和 1.0 mmol 胺,室温下搅拌反应,薄层色谱跟踪,1 h 完毕。加入适量水,析出白色固体,减压抽滤,用水洗涤滤饼,干燥,将固体加入反应瓶中,再加入 15.0 mmol (1.71 g) 三氟乙酸,室温反应,薄层

色谱跟踪,3 h 完毕。浓缩溶剂,加入饱和碳酸氢钠溶液,析出固体,减压抽滤,水洗滤饼,干燥,即中间体 **3**。

1.2.3 目标化合物 4 的合成 取 50 mL 反应瓶,分别加入 0.25 mmol (0.07 g) 中间体 **2**、0.625 mmol (0.24 g) HBTU 和 2.5 mL DMF,待溶解完全后,再加入 0.875 mmol (0.12 g) DIPEA 和 0.3 mmol 中间体 **3**,室温反应,薄层色谱跟踪,1 h 完毕。加入适量水,析出白色固体,减压抽滤,用薄层色谱硅胶板分离纯化,得到目标产物 **4**。

(*S,E*)-4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基-*N*-[1-氧代-3-苯基-1-(苯氨基)丙-2-基]丁-2-烯酰胺 (**4a**): 白色固体,产率 66%, m. p. 148 ~ 149 °C。 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -26.78$ ($\rho = 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, CHCl_3)。¹H-NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.19 (s, 1H), 7.66 (d, $J = 9.5 \text{ Hz}$, 1H), 7.42 ~ 7.34 (m, 3H), 7.26 ~ 7.18 (m, 6H), 7.11 ~ 7.05 (m, 1H), 6.86 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1H), 6.45 (d, $J = 7.4 \text{ Hz}$, 1H), 6.35 (t, $J = 7.4 \text{ Hz}$, 1H), 6.28 (d, $J = 9.4 \text{ Hz}$, 1H), 4.82 (q, $J = 7.3 \text{ Hz}$, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.69 (d, $J = 7.4 \text{ Hz}$, 2H), 3.23 ~ 3.14 (m, 2H), 2.06 (d, $J = 1.4 \text{ Hz}$, 3H)。¹³C-NMR (101 MHz, CDCl_3) δ : 169.6, 169.3, 161.0, 160.2, 152.8, 143.7, 137.5, 136.5, 134.2, 130.6, 129.3, 128.7, 128.6, 127.0, 126.9, 124.2, 120.0, 114.9, 113.0, 112.9, 107.3, 56.0, 55.4, 38.0, 22.1, 12.8。元素分析值 $\text{C}_{30}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5$: C 72.56, H 5.68, N 5.64; 实验值 C 72.42, H 5.85, N 5.39。

(*S,E*)-4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基-*N*-[1-氧代-3-苯基-1-(2-甲基苯氨基)丙-2-基]丁-2-烯酰胺 (**4b**): 白色固体,产率 68%, m. p. 168 ~ 169 °C。 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -25.65$ ($\rho = 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, CHCl_3)。¹H-NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.93 (s, 1H), 7.76 (d, $J = 8.0 \text{ Hz}$, 1H), 7.64 (d, $J = 9.4 \text{ Hz}$, 1H), 7.35 (d, $J = 8.5 \text{ Hz}$, 1H), 7.26 ~ 7.06 (m, 7H), 7.01 (t, $J = 7.4 \text{ Hz}$, 1H), 6.84 (d, $J = 8.5 \text{ Hz}$, 1H), 6.46 (s, 1H), 6.30 (t, $J = 7.5 \text{ Hz}$, 1H), 6.25 (d, $J = 9.4 \text{ Hz}$, 1H), 4.84 (d, $J = 7.7 \text{ Hz}$, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.66 (d, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 2H), 3.19 (d, $J = 6.5 \text{ Hz}$, 2H), 2.01 (d, $J = 14.7 \text{ Hz}$, 6H)。¹³C-NMR (101 MHz, CDCl_3) δ : 169.7, 169.3, 161.0, 160.2, 152.8, 143.7, 136.6, 135.3, 134.1, 130.7, 130.3, 129.3, 128.7, 127.0, 126.4, 125.0, 122.5, 114.9, 113.0, 112.9, 107.3, 56.1, 55.4, 37.5, 22.1, 17.5, 12.8。元素分析值 $\text{C}_{31}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_5$: C 72.92, H 5.92, N 5.48; 实验值 C 72.80, H 6.12, N 5.42。

(*S,E*)-4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基-*N*-[1-氧代-3-苯基-1-(3-甲基苯氨基)丙-2-基]丁-2-烯酰胺 (**4c**): 白色固体,产率 68%, m. p. 86 ~ 87 °C。 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -22.98$ ($\rho = 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, CHCl_3)。¹H-NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.56 (s, 1H), 7.62 (d, $J = 9.4 \text{ Hz}$, 1H), 7.33 (d, $J = 8.5 \text{ Hz}$, 1H), 7.24 ~ 7.12 (m, 7H), 7.08 (t, $J = 7.7 \text{ Hz}$, 1H), 6.83 ~ 6.73 (m, 2H), 6.58 (d, $J = 7.4 \text{ Hz}$, 1H), 6.33 (t, $J = 7.5 \text{ Hz}$, 1H), 6.24 (d, $J = 9.4 \text{ Hz}$, 1H), 4.89 (q, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.65 (d, $J = 7.3 \text{ Hz}$, 2H), 3.16 (d, $J = 6.8 \text{ Hz}$, 2H), 2.24 (s, 3H), 2.03 (s, 3H)。¹³C-NMR (101 MHz, CDCl_3) δ : 169.6, 169.3, 161.0, 160.2, 152.8, 143.7, 138.6, 137.4, 136.5, 134.0, 130.8, 129.3, 128.6, 128.5, 127.0, 126.9, 125.0, 120.7, 117.1, 114.9, 113.0, 112.9, 107.3, 56.0, 55.4, 38.1, 22.1, 21.3, 12.8。元素分析值 $\text{C}_{31}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_5$: C 72.92, H 5.92, N 5.48; 实验值 C 72.84, H 6.11, N 5.27。

(*S,E*)-4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基-*N*-[1-氧代-3-苯基-1-(4-甲基苯氨基)丙-2-基]丁-2-烯酰胺 (**4d**): 白色固体,产率 69%, m. p. 172 ~ 173 °C。 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -9.59$ ($\rho = 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, CHCl_3)。¹H-NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.33 (s, 1H), 7.63 (d, $J = 9.4 \text{ Hz}$, 1H), 7.34 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1H), 7.21 ~ 7.13 (m, 6H), 7.01 ~ 6.96 (m, 2H), 6.83 (d, $J = 8.7 \text{ Hz}$, 1H), 6.53 (s, 1H), 6.33 (t, $J = 7.5 \text{ Hz}$, 1H), 6.25 (d, $J = 9.4 \text{ Hz}$, 1H), 4.85 (d, $J = 7.6 \text{ Hz}$, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.66 (d, $J = 7.3 \text{ Hz}$, 2H), 3.16 (d, $J = 6.0 \text{ Hz}$, 2H), 2.26 (s, 3H), 2.03 (s, 3H)。¹³C-NMR (101 MHz, CDCl_3) δ : 169.5, 169.1, 161.0, 160.2, 152.8, 143.7, 136.6, 134.8, 134.0, 133.8, 130.7, 129.3, 129.2, 128.6, 127.0, 126.9, 120.1, 114.9, 113.0, 112.9, 107.3, 56.0, 55.3, 38.2, 22.1, 20.8, 12.8。元素分析值 $\text{C}_{31}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_5$: C 72.92, H 5.92, N 5.48; 实验值 C 72.91, H 5.99, N 5.36。

(*S,E*)-4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基-*N*-[1-氧代-3-苯基-1-(4-甲氧基苯氨基)丙-2-基]丁-2-烯酰胺 (**4e**): 白色固体,产率 65%, m. p. 210 ~ 211 °C。 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -13.47$ ($\rho = 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, CHCl_3)。¹H-NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.96 (s, 1H), 8.00 (d, $J = 9.5 \text{ Hz}$), 7.61 (d, $J = 8.7 \text{ Hz}$, 1H), 7.47 (d, $J = 9.0 \text{ Hz}$, 2H), 7.31 ~ 7.08 (m, 6H), 6.86 (d, $J = 9.1 \text{ Hz}$, 2H), 6.31 (d, $J = 9.5 \text{ Hz}$, 1H), 6.20 ~ 6.11 (m, 1H), 4.58 (t, $J = 8.4 \text{ Hz}$, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.70 (s, 3H), 3.60 ~ 3.47 (m, 2H), 3.05 ~ 2.91 (m, 2H), 1.91 (s, 3H)。¹³C-NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 170.4, 169.0, 160.6, 160.2,

155.6, 152.7, 145.1, 138.6, 132.4, 132.3, 131.6, 129.6, 128.4, 128.1, 126.6, 121.2, 114.6, 114.2, 113.1, 112.8, 108.4, 56.8, 55.8, 55.5, 37.6, 22.1, 13.2。元素分析值 $C_{31}H_{30}N_2O_6$: C 70.70, H 5.74, N 5.31; 实验值 C 70.66, H 5.85, N 5.30。

(*S,E*)-4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基-*N*-[1-氧代-3-苯基-1-(2,4-二甲氧基苯氨基)丙-2-基]丁-2-烯酰胺(**4f**): 白色固体, 产率 65%, m. p. 149 ~ 150 °C。 $[\alpha]_D^{25} = -21.51$ ($\rho = 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, CHCl_3)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.09 (d, $J = 8.8 \text{ Hz}$, 1H), 7.77 (d, $J = 4.4 \text{ Hz}$, 1H), 7.62 (d, $J = 9.5 \text{ Hz}$, 1H), 7.33 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1H), 7.26 ~ 7.14 (m, 5H), 6.83 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1H), 6.51 (d, $J = 6.1 \text{ Hz}$, 1H), 6.43 ~ 6.35 (m, 2H), 6.32 (t, $J = 4.3 \text{ Hz}$, 1H), 6.24 (d, $J = 9.4 \text{ Hz}$, 1H), 4.79 (t, $J = 8.5 \text{ Hz}$, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.66 ~ 3.63 (m, 5H), 3.21 ~ 3.07 (m, 2H), 2.06 (s, 3H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ : 169.1, 168.5, 161.0, 160.2, 156.6, 152.8, 149.4, 143.7, 136.6, 133.4, 131.0, 129.3, 128.6, 127.0, 126.8, 120.6, 120.4, 115.0, 113.0, 112.9, 107.2, 103.5, 98.4, 56.0, 55.5, 55.4, 38.5, 22.1, 12.8。元素分析值 $C_{32}H_{32}N_2O_7$: C 69.05, H 5.80, N 5.03; 实验值 C 68.98, H 5.93, N 5.00。

(*S,E*)-4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基-*N*-[1-氧代-3-苯基-1-(2-氟苯氨基)丙-2-基]丁-2-烯酰胺(**4g**): 白色固体, 产率 66%, m. p. 157 ~ 158 °C。 $[\alpha]_D^{25} = -22.88$ ($\rho = 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, CHCl_3)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.36 (s, 1H), 8.16 ~ 8.07 (m, 1H), 7.62 (d, $J = 9.5 \text{ Hz}$, 1H), 7.33 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1H), 7.25 ~ 6.95 (m, 9H), 6.82 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1H), 6.47 (d, $J = 7.5 \text{ Hz}$, 1H), 6.32 (t, $J = 7.7 \text{ Hz}$, 1H), 6.23 (d, $J = 9.4 \text{ Hz}$, 1H), 4.87 (q, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.65 (d, $J = 7.4 \text{ Hz}$, 2H), 3.18 (d, $J = 7.1 \text{ Hz}$, 2H), 2.02 (s, 3H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ : 169.7, 169.6, 169.5, 161.0, 160.2, 153.9, 152.8, 151.4, 143.8, 136.4, 134.0, 130.7, 129.2, 128.6, 127.0, 124.7, 124.6, 124.3, 124.2, 122.1, 115.0, 114.9, 114.8, 113.0, 112.9, 107.3, 56.0, 55.3, 37.6, 22.1, 12.7。元素分析值 $C_{30}H_{27}FN_2O_5$: C 70.03, H 5.29, N 5.44; 实验值 C 70.30, H 5.33, N 5.37。

(*S,E*)-4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基-*N*-[1-氧代-3-苯基-1-(4-氟苯氨基)丙-2-基]丁-2-烯酰胺(**4h**): 白色固体, 产率 66%, m. p. 120 ~ 121 °C。 $[\alpha]_D^{25} = -14.66$ ($\rho = 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, CHCl_3)。 $^1\text{H-NMR}$

(400 MHz, CDCl_3) δ : 8.95 (s, 1H), 7.63 (d, $J = 9.5 \text{ Hz}$, 1H), 7.41 ~ 7.07 (m, 8H), 6.87 ~ 6.76 (m, 3H), 6.61 (d, $J = 7.7 \text{ Hz}$, 1H), 6.32 (t, $J = 7.8 \text{ Hz}$, 1H), 6.24 (d, $J = 9.4 \text{ Hz}$, 1H), 4.93 (q, $J = 7.3 \text{ Hz}$, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.64 (d, $J = 7.5 \text{ Hz}$, 2H), 3.20 ~ 3.08 (m, 2H), 2.02 (s, 3H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ : 169.5, 169.4, 161.0, 160.3, 160.2, 157.9, 152.8, 143.7, 136.4, 134.3, 133.6, 133.6, 130.6, 129.3, 128.5, 127.1, 126.9, 121.7, 121.6, 115.3, 115.1, 114.8, 113.0, 112.9, 107.3, 56.0, 55.3, 38.3, 22.1, 12.7。元素分析值 $C_{30}H_{27}FN_2O_5$: C 70.03, H 5.29, N 5.44; 实验值 C 70.00, H 5.50, N 5.36。

(*S,E*)-4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基-*N*-[1-氧代-3-苯基-1-(2-氯苯氨基)丙-2-基]丁-2-烯酰胺(**4i**): 白色固体, 产率 62%, m. p. 152 ~ 154 °C。 $[\alpha]_D^{25} = -12.12$ ($\rho = 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, CHCl_3)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.32 ~ 8.22 (m, 2H, NH), 7.63 (d, $J = 9.4 \text{ Hz}$, 1H), 7.34 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1H), 7.27 (dd, $J = 7.9, 1.4 \text{ Hz}$, 1H), 7.25 ~ 7.17 (m, 5H), 7.03 ~ 6.96 (m, 1H), 6.83 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1H), 6.38 (t, $J = 7.6 \text{ Hz}$, 1H), 6.35 ~ 6.29 (m, 1H), 6.24 (d, $J = 9.4 \text{ Hz}$, 1H), 4.87 (q, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.66 (d, $J = 7.4 \text{ Hz}$, 2H), 3.20 (d, $J = 7.0 \text{ Hz}$, 2H), 2.04 (s, 3H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ : 169.5, 169.3, 161.0, 160.2, 152.8, 143.7, 136.3, 134.1, 134.0, 130.7, 129.2, 129.0, 128.8, 127.4, 127.1, 127.0, 124.8, 123.2, 121.6, 114.9, 113.0, 112.9, 107.2, 56.1, 55.4, 37.5, 22.1, 12.8。元素分析值 $C_{30}H_{27}ClN_2O_5$: C 67.86, H 5.13, N 5.27; 实验值 C 67.88, H 5.35, N 5.22。

(*S,E*)-4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基-*N*-[1-氧代-3-苯基-1-(3-氯苯氨基)丙-2-基]丁-2-烯酰胺(**4j**): 白色固体, 产率 63%, m. p. 162 ~ 163 °C。 $[\alpha]_D^{25} = -22.52$ ($\rho = 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, CHCl_3)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 9.15 (s, 1H), 7.62 (d, $J = 9.5 \text{ Hz}$, 1H), 7.54 (d, $J = 2.0 \text{ Hz}$, 1H), 7.33 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1H), 7.22 ~ 7.01 (m, 7H), 7.00 ~ 6.93 (m, 1H), 6.81 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1H), 6.65 (d, $J = 7.5 \text{ Hz}$, 1H), 6.35 (t, $J = 7.5 \text{ Hz}$, 1H), 6.24 (d, $J = 9.4 \text{ Hz}$, 1H), 4.93 (q, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.64 (d, $J = 7.4 \text{ Hz}$, 2H), 3.22 ~ 3.06 (m, 2H), 2.02 (s, 3H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ : 169.8, 169.7, 161.1, 160.2, 152.8, 143.8, 138.9, 136.3, 134.3, 134.2, 130.6, 129.6, 129.3, 128.5, 127.1, 126.9, 124.0, 119.9, 117.9, 114.8, 113.0, 112.9, 107.3, 56.0, 55.4, 38.1, 22.2,

12. 8。元素分析值 $C_{30}H_{27}ClN_2O_5$: C 67. 86, H 5. 13, N 5. 27; 实验值 C 67. 75, H 5. 26, N 5. 19。

(*S,E*)-4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基-*N*-[1-氧代-3-苯基-1-(4-氯苯氨基)丙-2-基]丁-2-烯酰胺(**4k**): 白色固体, 产率 64%, m. p. 171 ~ 172 °C。 $[\alpha]_D^{25} = -27.22$ ($\rho = 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, CHCl_3)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 9.08 (s, 1H), 7.63 (d, $J = 9.5 \text{ Hz}$, 1H), 7.35 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1H), 7.31 ~ 7.09 (m, 7H), 7.07 ~ 7.00 (m, 2H), 6.82 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1H), 6.59 (d, $J = 7.7 \text{ Hz}$, 1H), 6.34 (t, $J = 7.7 \text{ Hz}$, 1H), 6.23 (d, $J = 9.4 \text{ Hz}$, 1H), 4.95 (q, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.64 (d, $J = 7.5 \text{ Hz}$, 2H), 3.22 ~ 3.05 (m, 2H), 2.02 (d, $J = 1.5 \text{ Hz}$, 3H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ : 169.5, 160.9, 160.2, 152.8, 143.7, 136.3, 134.5, 130.4, 129.3, 128.9, 128.6, 128.5, 127.1, 126.9, 121.1, 114.8, 113.0, 112.9, 107.3, 56.0, 55.4, 38.2, 22.1, 12.7。元素分析值 $C_{30}H_{27}ClN_2O_5$: C 67.86, H 5.13, N 5.27; 实验值 C 67.80, H 5.19, N 5.29。

(*S,E*)-4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基-*N*-[1-氧代-3-苯基-1-(2-溴苯氨基)丙-2-基]丁-2-烯酰胺(**4l**): 白色固体, 产率 64%, m. p. 144 ~ 145 °C。 $[\alpha]_D^{25} = -9.73$ ($\rho = 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, CHCl_3)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.29 ~ 8.18 (m, 2H), 7.63 (d, $J = 9.5 \text{ Hz}$, 1H), 7.44 (dd, $J = 8.1, 1.5 \text{ Hz}$, 1H), 7.34 (d, $J = 8.5 \text{ Hz}$, 1H), 7.30 ~ 7.14 (m, 6H), 6.93 ~ 6.87 (m, 1H), 6.83 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1H), 6.41 ~ 6.28 (m, 2H), 6.24 (d, $J = 9.5 \text{ Hz}$, 1H), 4.87 (q, $J = 7.1 \text{ Hz}$, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.66 (d, $J = 7.5 \text{ Hz}$, 2H), 3.20 (d, $J = 6.9 \text{ Hz}$, 2H), 2.04 (d, $J = 1.5 \text{ Hz}$, 3H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ : 169.5, 169.3, 161.0, 160.2, 152.8, 143.7, 136.2, 135.2, 134.0, 132.2, 130.7, 129.2, 128.8, 128.1, 127.1, 127.0, 125.4, 121.9, 114.9, 113.7, 113.0, 112.9, 107.3, 56.1, 55.3, 37.5, 22.1, 12.8。元素分析值 $C_{30}H_{27}BrN_2O_5$: C 62.61, H 4.73, N 4.86; 实验值 C 62.55, H 4.90, N 4.77。

(*S,E*)-4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基-*N*-[1-氧代-3-苯基-1-(3-溴苯氨基)丙-2-基]丁-2-烯酰胺(**4m**): 白色固体, 产率 67%, m. p. 96 ~ 97 °C。 $[\alpha]_D^{25} = -20.06$ ($\rho = 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, CHCl_3)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 9.10 (s, 1H, NH), 7.67 (s, 1H), 7.62 (d, $J = 9.4 \text{ Hz}$, 1H), 7.33 (d, $J = 8.5 \text{ Hz}$, 1H), 7.24 ~ 7.07 (m, 7H), 6.99 (t, $J = 8.0 \text{ Hz}$, 1H), 6.81 (d, $J = 8.5 \text{ Hz}$, 1H), 6.61 (d, $J = 7.5 \text{ Hz}$, 1H), 6.33 (t, $J = 7.4 \text{ Hz}$, 1H), 6.24 (d,

$J = 9.3 \text{ Hz}$, 1H), 4.92 (q, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.64 (d, $J = 7.4 \text{ Hz}$, 2H), 3.21 ~ 3.06 (m, 2H), 2.02 (s, 3H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ : 169.8, 169.6, 161.0, 160.2, 152.8, 143.7, 139.0, 136.3, 134.3, 130.6, 129.9, 129.3, 128.5, 127.1, 126.9, 122.7, 122.3, 118.3, 114.8, 113.0, 112.9, 107.3, 56.0, 55.4, 38.0, 22.2, 12.8。元素分析值 $C_{30}H_{27}BrN_2O_5$: C 62.61, H 4.73, N 4.86; 实验值 C 62.52, H 4.87, N 4.75。

(*S,E*)-4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基-*N*-[1-氧代-3-苯基-1-(4-溴苯氨基)丙-2-基]丁-2-烯酰胺(**4n**): 白色固体, 产率 69%, m. p. 191 ~ 192 °C。 $[\alpha]_D^{25} = -20.04$ ($\rho = 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, CHCl_3)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 9.20 (s, 1H), 7.63 (d, $J = 9.5 \text{ Hz}$, 1H), 7.35 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1H), 7.25 ~ 7.11 (m, 8H), 6.82 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1H), 6.65 (d, $J = 7.8 \text{ Hz}$, 1H), 6.34 (t, $J = 7.5 \text{ Hz}$, 1H), 6.24 (d, $J = 9.5 \text{ Hz}$, 1H), 4.97 (d, $J = 7.3 \text{ Hz}$, 1H), 3.84 (d, $J = 1.6 \text{ Hz}$, 3H), 3.64 (d, $J = 7.4 \text{ Hz}$, 2H), 3.22 ~ 3.05 (m, 2H), 2.03 (s, 3H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ : 169.6, 169.5, 161.0, 160.1, 152.8, 143.7, 136.8, 136.3, 134.6, 131.5, 130.4, 129.3, 128.5, 127.1, 126.9, 121.4, 116.6, 114.7, 113.0, 112.9, 107.3, 56.1, 55.4, 38.2, 22.2, 12.8。元素分析值 $C_{30}H_{27}BrN_2O_5$: C 62.61, H 4.73, N 4.86; 实验值 C 62.50, H 4.71, N 4.68。

(*S,E*)-4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基-*N*-[1-氧代-3-苯基-1-(3-硝基苯氨基)丙-2-基]丁-2-烯酰胺(**4o**): 白色固体, 产率 63%, m. p. 157 ~ 158 °C。 $[\alpha]_D^{25} = -38.64$ ($\rho = 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, CHCl_3)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 9.43 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 7.83 (d, $J = 8.3 \text{ Hz}$, 1H), 7.64 ~ 7.49 (m, 2H), 7.33 ~ 7.28 (m, 2H), 7.17 ~ 7.05 (m, 5H), 6.82 (d, $J = 8.7 \text{ Hz}$, 1H), 6.57 (d, $J = 7.6 \text{ Hz}$, 1H), 6.36 (t, $J = 7.6 \text{ Hz}$, 1H), 6.25 (d, $J = 9.4 \text{ Hz}$, 1H), 4.93 (q, $J = 7.3 \text{ Hz}$, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.66 (dd, $J = 7.5, 3.8 \text{ Hz}$, 2H), 3.24 ~ 3.08 (m, 2H), 2.04 (s, 3H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ : 170.0, 169.9, 161.0, 160.1, 152.8, 148.2, 143.7, 138.8, 136.1, 134.8, 130.4, 129.3, 129.2, 128.6, 127.1, 127.0, 125.4, 118.5, 114.7, 114.5, 113.0, 112.9, 107.3, 56.1, 55.5, 37.7, 22.2, 14.1, 12.7。元素分析值 $C_{30}H_{27}N_3O_7$: C 66.58, H 5.03, N 7.76; 实验值 C 66.61, H 5.20, N 7.58。

(*S,E*)-4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基-*N*-[1-氧代-3-苯基-1-(4-硝基苯氨基)丙-2-基]丁-

2-烯酰胺 (*E*)-4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-苯并吡喃-8)-2-甲基-*N*-[1-[(4-硝基苯基)氨基]-1-氧代-3-苯基丙烷-2-基]2-丁烯酰胺(**4p**):白色固体,产率64%, m. p. 161 ~ 162 °C。 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -24.65$ ($\rho = 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, CHCl_3)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 9.94 (s, 1H), 7.86 (d, $J = 9.2 \text{ Hz}$, 2H), 7.63 (d, $J = 9.5 \text{ Hz}$, 1H), 7.51 ~ 7.44 (m, 2H), 7.36 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1H), 7.19 ~ 7.07 (m, 5H), 6.83 (d, $J = 8.7 \text{ Hz}$, 1H), 6.72 (d, $J = 7.9 \text{ Hz}$, 1H), 6.39 (t, $J = 6.7 \text{ Hz}$, 1H), 6.22 (d, $J = 9.5 \text{ Hz}$, 1H), 5.06 (q, $J = 7.3 \text{ Hz}$, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.65 (d, $J = 7.3 \text{ Hz}$, 2H), 3.25 ~ 3.02 (m, 2H), 2.07 (s, 3H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ : 170.3, 169.6, 161.0, 160.1, 152.8, 143.8, 143.0, 135.9, 135.3, 135.2, 130.0, 129.2, 128.5, 127.3, 127.0, 124.5, 119.1, 114.5, 113.0, 112.9, 107.3, 56.1, 55.5, 38.3, 31.5, 22.6, 22.2, 14.1, 12.8。元素分析值 $\text{C}_{30}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_7$: C 66.58, H 5.03, N 7.76; 实验值 C 66.55, H 5.13, N 7.72。

(*S, E*)-4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基-*N*-[1-氧代-3-苯基-1-(3-三氟甲基苯氨基)丙-2-基]丁-2-烯酰胺(**4q**):白色固体,产率59%, m. p. 98 ~ 100 °C。 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -20.66$ ($\rho = 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, CHCl_3)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 9.36 (s, 1H), 7.74 (d, $J = 2.2 \text{ Hz}$, 1H), 7.62 (d, $J = 9.5 \text{ Hz}$, 1H), 7.49 ~ 7.41 (m, 1H), 7.33 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1H), 7.26 ~ 7.06 (m, 7H), 6.82 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1H), 6.66 (d, $J = 7.7 \text{ Hz}$, 1H), 6.34 (t, $J = 8.2 \text{ Hz}$, 1H), 6.24 (d, $J = 9.5 \text{ Hz}$, 1H), 4.96 (q, $J = 7.3 \text{ Hz}$, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.65 (d, $J = 7.5 \text{ Hz}$, 2H), 3.21 ~ 3.07 (m, 2H), 2.02 (s, 3H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ : 169.9, 161.1, 160.2, 152.8, 143.8, 138.2, 136.2, 134.4, 131.0, 130.7, 130.6, 129.2, 129.1, 128.5, 127.1, 127.0, 125.1, 122.8, 122.4, 120.5, 116.6, 114.7, 113.0, 112.9, 107.3, 56.0, 55.5, 38.1, 22.1, 12.7。元素分析值 $\text{C}_{31}\text{H}_{27}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_5$: C 65.95, H 4.82, N 4.96; 实验值 C 65.96, H 4.89, N 4.77。

(*S, E*)-4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基-*N*-[1-氧代-3-苯基-1-(苄基氨基)丙-2-基]丁-2-烯酰胺(**4r**):白色固体,产率65%, m. p. 172 ~ 173 °C。 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -19.59$ ($\rho = 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, CHCl_3)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.63 (d, $J = 9.5 \text{ Hz}$, 1H), 7.34 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1H), 7.25 ~ 7.12 (m, 7H), 7.03 ~ 6.96 (m, 2H), 6.84 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1H), 6.31

(t, $J = 7.4 \text{ Hz}$, 1H), 6.25 (d, $J = 9.4 \text{ Hz}$, 1H), 5.92 (s, 1H), 4.56 (q, $J = 7.9 \text{ Hz}$, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.66 (d, $J = 7.4 \text{ Hz}$, 2H), 3.47 ~ 3.27 (m, 2H), 3.11 ~ 2.96 (m, 2H), 2.72 ~ 2.51 (m, 2H), 2.01 (s, 3H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ : 170.7, 169.0, 161.0, 160.2, 152.8, 143.7, 138.5, 136.7, 133.6, 130.7, 129.3, 128.6, 128.5, 127.0, 126.9, 126.4, 115.0, 113.0, 112.9, 107.2, 56.1, 54.8, 40.5, 38.3, 35.4, 22.1, 12.7。元素分析值 $\text{C}_{31}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_5$: C 72.92, H 5.92, N 5.48; 实验值 C 73.01, H 6.02, N 5.35。

(*S, E*)-4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基-*N*-[1-氧代-3-苯基-1-(2-氟苄基氨基)丙-2-基]丁-2-烯酰胺(**4s**):白色固体,产率68%, m. p. 123 ~ 124 °C。 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -13.57$ ($\rho = 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, CHCl_3)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.63 (d, $J = 9.5 \text{ Hz}$, 1H), 7.34 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1H), 7.23 ~ 7.10 (m, 4H), 7.02 ~ 6.79 (m, 4H), 6.60 (s, 1H), 6.41 (d, $J = 7.7 \text{ Hz}$, 1H), 6.34 ~ 6.16 (m, 2H), 4.70 (q, $J = 7.9 \text{ Hz}$, 1H), 4.35 ~ 4.12 (m, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.64 (d, $J = 7.4 \text{ Hz}$, 2H), 3.16 ~ 2.94 (m, 2H), 1.99 (s, 3H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ : 170.8, 169.2, 163.1, 160.9, 160.7, 160.2, 152.8, 143.7, 136.5, 133.7, 133.5, 130.8, 129.3, 129.2, 129.1, 128.5, 127.0, 126.8, 115.3, 115.1, 114.9, 113.0, 112.9, 107.2, 56.0, 54.7, 42.5, 38.2, 22.1, 12.7。元素分析值 $\text{C}_{31}\text{H}_{29}\text{FN}_2\text{O}_5$: C 70.44, H 5.53, N 5.30; 实验值 C 70.18, H 5.64, N 5.30。

(*S, E*)-4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基-*N*-[1-氧代-3-苯基-1-(4-氟苄基氨基)丙-2-基]丁-2-烯酰胺(**4t**):白色固体,产率69%, m. p. 120 ~ 121 °C。 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -15.76$ ($\rho = 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, CHCl_3)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.62 (d, $J = 9.5 \text{ Hz}$, 1H), 7.34 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1H), 7.21 ~ 7.09 (m, 5H), 6.97 (dd, $J = 8.5$, 5.5 Hz, 2H), 6.89 ~ 6.78 (m, 3H), 6.46 (s, 1H), 6.26 ~ 6.14 (m, 2H), 4.73 (q, $J = 7.3 \text{ Hz}$, 1H), 4.33 ~ 4.11 (m, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.64 (d, $J = 7.4 \text{ Hz}$, 2H), 3.13 ~ 3.00 (m, 2H), 1.98 (s, 3H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ : 170.9, 169.2, 163.1, 161.0, 160.7, 160.2, 152.8, 143.7, 136.5, 133.8, 133.5, 130.8, 129.3, 129.2, 129.1, 128.5, 127.0, 126.8, 115.3, 115.1, 114.9, 113.0, 112.9, 107.3, 56.1, 54.7, 42.5, 38.3, 22.1, 12.7。元素分析值 $\text{C}_{31}\text{H}_{29}\text{FN}_2\text{O}_5$: C 70.44, H 5.53, N 5.30; 实验值 C 70.41, H 5.53, N 5.24。

(*S, E*)-4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲

基-*N*-[1-氧代-3-苯基-1-(2,4-二氟苄基氨基)丙-2-基]丁-2-烯酰胺(**4u**):白色固体,产率 65%, m. p. 144 ~ 145 °C。 $[\alpha]_D^{25} = -20.12$ ($\rho = 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, CHCl_3)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.63 (d, $J = 9.4 \text{ Hz}$, 1H), 7.34 (d, $J = 8.4 \text{ Hz}$, 1H), 7.21 ~ 6.96 (m, 7H), 6.84 (d, $J = 8.5 \text{ Hz}$, 1H), 6.70 (t, $J = 8.8 \text{ Hz}$, 2H), 6.54 (s, 1H), 6.42 (d, $J = 7.5 \text{ Hz}$, 1H), 6.31 ~ 6.22 (m, 2H), 4.68 (q, $J = 7.4 \text{ Hz}$, 1H), 4.35 ~ 4.20 (m, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.65 (d, $J = 7.3 \text{ Hz}$, 2H), 3.11 ~ 2.99 (m, 2H), 2.01 (s, 3H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ : 171.0, 169.2, 161.0, 160.2, 152.8, 143.7, 136.4, 133.8, 130.7, 129.2, 128.5, 127.0, 126.8, 120.8, 114.9, 113.0, 112.9, 111.2, 111.0, 107.2, 103.9, 103.6, 103.4, 56.1, 54.6, 38.2, 36.6, 22.1, 12.7。元素分析值 $\text{C}_{31}\text{H}_{28}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_5$: C 68.12, H 5.16, N 5.12; 实验值 C 68.00, H 5.29, N 5.08。

(*S,E*)-4-(7-甲氧基-2-氧代-2*H*-色烯-8-基)-2-甲基-*N*-{1-氧代-3-苯基-1-[(噻吩-2-基甲基)氨基]丙-2-基}丁-2-烯酰胺(**4v**):白色固体,产率 68%, m. p. 214 ~ 215 °C。 $[\alpha]_D^{25} = -27.78$ ($\rho = 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, CHCl_3)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.63 (d, $J = 9.4 \text{ Hz}$, 1H), 7.34 (d, $J = 8.5 \text{ Hz}$, 1H), 7.20 ~ 7.10 (m, 6H), 6.88 ~ 6.82 (m, 2H), 6.78 (d, $J = 3.4 \text{ Hz}$, 1H), 6.65 (s, 1H), 6.42 (d, $J = 7.4 \text{ Hz}$, 1H), 6.26 ~ 6.16 (m, 2H), 4.67 (q, $J = 7.0 \text{ Hz}$, 1H), 4.54 ~ 4.36 (m, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.64 (d, $J = 7.3 \text{ Hz}$, 2H), 3.14 ~ 3.00 (m, 2H), 1.99 (s, 3H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ : 170.6, 169.2, 161.0, 160.2, 152.8, 143.7, 140.3, 136.5, 133.6, 130.9, 129.3, 128.5, 127.0, 126.8, 126.7, 125.9, 125.0, 115.0, 113.0, 112.9, 107.2, 56.1, 54.5, 38.2, 22.1, 12.7。元素分析值 $\text{C}_{29}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$: C 67.42, H 5.36, N 5.42; 实验值 C 67.22, H 5.49, N 5.25。

1.3 抗菌活性筛选实验

标准菌株: *S. aureus*、*E. coli* 源于北京北纳创联生物技术研究院; 耐药菌株: MRSA 和耐氟喹诺酮大肠杆菌 (FREC), 由遵义医科大学附属医院分离提供。以苯唑西林 (oxacillin) 为对照药, 采用两倍稀释法测定目标物的 MIC, 测试方法参照文献[18]。

2 结果与讨论

2.1 合成

以 **4a** 的合成作为例, 按“1.2.3”项下的方法, 对目标物的合成条件进行筛选和优化。

由表 1 可以看出投料比、反应温度和时间均对收率产生不同程度影响。其中, 不同投料比对目标物收率有明显影响, $n_{\text{中间体2}}: n_{\text{中间体3}}$ 由 1:1 增加到 1:1.2, 收率明显提高, 由 38% 提升到 66%; 但当投料比继续增加时, 收率改变不明显。当反应温度从 0 °C 升到 20 °C 时, 收率最高可达 66%, 但温度进一步升高, 收率降低, 当温度为 40 °C, 收率仅 40%, 薄层色谱跟踪显示, 在 0 ~ 10 °C 反应不完全, 而温度过高则有更多副产物生成。另外, 反应 1 h 收率最高, 时间太短反应不完全, 时间太长又会有更多副反应发生。

表 1 目标物含 L-苯丙氨酸结构的新型蛇床子素酰胺衍生物的合成条件筛选

Tab. 1 Screening of reaction conditions for target compounds

Entry	Feed ratio/ $n_{\text{intermediate 2}}: n_{\text{intermediate 3}}$	$T/^\circ\text{C}$	t/h	Yield/%
1	1:1	0	1	38
2	1.2:1	0	1	51
3	1.4:1	0	1	51
4	1.6:1	0	1	50
5	1.2:1	10	1	60
6	1.2:1	20	1	66
7	1.2:1	30	1	62
8	1.2:1	40	1	40
9	1.2:1	20	0.5	55
10	1.2:1	20	1.5	58

2.2 抗菌活性

由表 2 可知, 目标物对所测细菌均有不同的抑制作用, 部分化合物表现出较优秀的抗菌活性。其中化合物 **4g**、**4h**、**4k**、**4o** 和 **4q** 对 *S. aureus* 有较好的活性, MIC 值分别为 32、32、32、8 和 16 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 化合物 **4h**、**4k**、**4o** 和 **4q** 对 *E. coli* 的 MIC 值分别为 8、32、2 和 4 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, **4o** 和 **4q** 的活性优于对照药苯唑西林; 化合物 **4k**、**4o** 和 **4q** 对 MRSA 的 MIC 值分别为 32、16 和 16 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 远优于对照药; 化合物 **4h**、**4k**、**4o** 和 **4q** 对 FREC 的 MIC 值分别为 8、32、4 和 8 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 也远优于对照药。

构效关系分析: ①取代基 R 连接苯环时, 环上连接给电子基, 无抗菌活性, 连接吸电子基, 抗菌活性明显, 吸电子效应越强, 抗菌活性越显著; ②取代基 R 为芳香苄基或取代芳香苄基, 抗菌活性较弱; ③与前期活性化合物 A 比较, 抗 *S. aureus* 和 MRSA 活性提升不明显, 但具有显著的抗 *E. coli* 和 FREC 活性, 且扩大了抗菌谱。

3 结论

通过对活性化合物 A 结构优化, 设计合成的

表2 目标化合物对 *S. aureus*、*E. coli*、MRSA 和 FREC 的最小抑菌浓度 (MIC)

Tab.2 MIC values of different target compounds against *S. aureus*, *E. coli*, MRSA and FREC

Compound	R	MIC / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$			
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	MRSA	FREC
4a	Ph	128	128	>128	>128
4b	2-CH ₃ Ph	>128	>128	>128	>128
4c	3-CH ₃ Ph	>128	>128	>128	>128
4d	4-CH ₃ Ph	>128	>128	>128	>128
4e	4-OCH ₃ Ph	>128	>128	>128	>128
4f	2,4-diOCH ₃ Ph	>128	>128	>128	>128
4g	2-FPh	32	64	64	64
4h	4-FPh	32	8	64	8
4i	2-ClPh	128	128	128	128
4j	3-ClPh	>128	>128	>128	>128
4k	4-ClPh	32	32	32	32
4l	2-BrPh	128	128	>128	128
4m	3-BrPh	>128	>128	>128	>128
4n	4-BrPh	128	128	128	128
4o	3-NO ₂ Ph	8	2	16	4
4p	4-NO ₂ Ph	64	32	64	64
4q	3-CF ₃ Ph	16	4	16	8
4r	PhCH ₂	>128	>128	>128	>128
4s	2-FPhCH ₂	>128	>128	>128	>128
4t	4-FPhCH ₂	128	128	128	128
4u	2,4-diFPhCH ₂	>128	128	>128	>128
4v	Thiazolyl methyl	>128	>128	>128	>128
Oxacillin		0.5	16	256	64

含 L-苯丙氨酸结构的蛇床子素衍生物有较好的抗革兰阳性菌和阴性菌活性,尤其是化合物 **4o** 和 **4q** 对 MRSA、*E. coli* 和 FREC 的活性优于对照药,L-苯丙氨酸的引入能显著提升抗革兰阴性菌活性。

REFERENCES

[1] FU H Y, CAO L, GAN L, *et al.* Application progress of bacteriophage in the treatment of multidrug-resistant bacterial pneumonia [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2024, 59(6): 549-554.
 [2] MARTINEZ-MEDINA M. Special issue; pathogenic *Escherichia coli*: infections and therapies [J]. *Antibiotics-Basel*, 2021, 10(2): 112.

[3] YANG J Q, WU X J, ZHOU X R, *et al.* Synthesis and antibacterial activities of osthole ester derivatives[J]. *Chin J Appl Chem* (应用化学), 2021, 38(8): 917-922.
 [4] YANG J Q, ZHENG J, AN J L, *et al.* Synthesis and antibacterial activities of novel osthole sulfonate derivatives [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2022, 57(2): 102-108.
 [5] TZIN V, GALILI G. New insights into the shikimate and aromatic amino acids biosynthesis pathways in plants [J]. *Mol Plant*, 2010, 3(6): 956-972.
 [6] ZHANG S N, FITZPATRICK P F. Identification of the allosteric site for phenylalanine in rat phenylalanine hydroxylase [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(14): 7418-7425.
 [7] ANDERSEN O S. Gramicidin channels [J]. *Annu Rev Physiol*, 1984, 46(1): 531-548.
 [8] MANGONI M L, CAROTENUTO A, AURIEMMA L. Structure-activity relationship, conformational and biological studies of temporin L analogues [J]. *J Med Chem*, 2011, 54(5): 1298-1307.
 [9] RUSSELL P, VERONICA V. Phenylalanine increases membrane permeability [J]. *J Am Chem Soc*, 2017, 139(41): 14388-14391.
 [10] NOWAK M G, SKWARECKI A S, MILEWSKA M J. Amino acid based antimicrobial agents-synthesis and properties [J]. *Chem Med Chem*, 2021, 16(23): 3513-3544.
 [11] SINGH H, GAHANE A, SINGH V, *et al.* Antibiofilm activity of Fmoc-phenylalanine against Gram-positive and Gram-negative bacterial biofilms [J]. *J Antibiot*, 2021, 74(6): 407-416.
 [12] SU X K, ZHOU X Y, TAN Z Z, *et al.* Highly efficient antibacterial diblock copolypeptides based on lysine and phenylalanine [J]. *Biopolymers*, 2017, 107(11): e23041.
 [13] RAKESH K P, KUMARA H K, ULLAS B J, *et al.* Amino acids conjugated quinazolinone-Schiff's bases as potential antimicrobial agents; synthesis, SAR and molecular docking studies [J]. *Bioorg Chem*, 2019, 90: 103093.
 [14] DEVI K, AWASTHI P. Sulfonamide phenylalanine series of analogues as an antibacterial, antifungal, anticancer agents along with p53 tumor suppressor-DNA complex inhibitor-part1 [J]. *J Biomol Struct Dyn*, 2020, 38(14): 4081-4097.
 [15] PENG J X, QIU S, JIA F J, *et al.* The introduction of L-phenylalanine into antimicrobial peptide protonectin enhances the selective antibacterial activity of its derivative phe-Prt against Gram-positive bacteria [J]. *Amino Acids*, 2021, 53: 23-32.
 [16] KONG J, LI L L, LU Z C, *et al.* Synthesis and antibacterial activities of isoxazolamide derivatives containing phenylalanine moiety [J]. *Chem Res Appl* (化学研究与应用), 2023, 35(7): 1680-1685.
 [17] ZHOU X R, YANG H, ZHENG J, *et al.* Synthesis and antibacterial activities of osthole amide derivatives [J]. *Fine Chem* (精细化工), 2021, 38(4): 790-794.
 [18] SHEN G X. *Microbiology and Immunology* (微生物与免疫学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2007: 326-328.

(收稿日期:2024-07-15)