

含氨基酸结构的磺酰胺衍生物合成与生物活性

董向涛, 杨昊楠, 卢子聪, 杨家强*

(遵义医科大学 药学院, 贵州 遵义 563000)

摘要: 采用分子杂交策略设计合成了 15 个氨基酸结构的磺酰胺衍生物, 对其进行了抗菌活性评价。首先, 苯磺酰氯与氨基酸反应制得了苯磺酰氨基酸 (中间体 I); 然后, 以芳香醛、亚磷酸酯、乙酸铵和三氟甲磺酸铝为原料, 一锅法制得了 α -氨基膦酸酯 (中间体 II); 最后, 中间体 I 与 II 缩合制得目标物。经 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 和 MS 确认结构。结果表明, 该类化合物对大肠杆菌 (*E. coli*) 和耐氟喹诺酮大肠杆菌 (FREC) 活性最为显著。其中, 化合物 III b [{(2-氟苯基)[2-(苯基磺酰氨基)苯丙酰氨基]甲基}膦酸二乙酯]、III c [{(4-氟苯基)[2-(苯基磺酰氨基)苯丙酰氨基]甲基}膦酸二乙酯]、III h [{(2-氟苯基)[2-(苯基磺酰氨基)异戊酰氨基]甲基}膦酸二乙酯] 和 III m [{(苯基)[2-(苯基磺酰氨基)乙酰氨基]甲基}膦酸二乙酯] 对 *E. coli* 的最小抑菌质量浓度 (MIC) 均为 16 $\mu\text{g/L}$, 化合物 III n [{(2-氟苯基)[2-(苯基磺酰氨基)乙酰氨基]甲基}膦酸二乙酯] 对 *E. coli* 的 MIC 为 8 $\mu\text{g/L}$, 抗菌活性不低於对照药苯唑西林; 化合物 III b、III h、III m 和 III n 对 FREC 的 MIC 分别为 32、32、32 和 16 $\mu\text{g/L}$, 优于对照药苯唑西林和诺氟沙星。

关键词: 磺酰胺; 氨基酸; 膦酸酯; 合成; 抗菌活性; 医药原料

中图分类号: R914.5; TQ463+.42 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214 (2023) 11-2516-06

Synthesis and biological activities of sulfonamide derivatives containing amino acid moiety

DONG Xiangtao, YANG Haonan, LU Zicong, YANG Jiaqiang*

(School of Pharmacy, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou, China)

Abstract: Fifteen sulfonamide derivatives containing amino acid moiety were designed and synthesized by molecular hybridization strategy, and evaluated for their antibacterial activity. Specifically, benzenesulfonyl amino acids (intermediate I) was firstly prepared from reaction of benzenesulfonyl chloride and amino acids. α -Aminophosphonates (intermediate II) were then synthesized from one pot reaction of aromatic aldehyde, phosphite, ammonium acetate and aluminum trifluoromethanesulfonate. Finally, the target products were obtained by condensation reaction of intermediate I and II. The structures of the target products obtained were confirmed by ^1H NMR, ^{13}C NMR and MS. The results showed that these compounds exhibited the most significant activities against *Escherichia coli* (*E. coli*) and fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* (FREC). Among them, the MIC of III b (diethyl{(2-fluorophenyl) [2-(phenylsulfonylamino)phenylpropanylamino] methyl}phosphonate), III c (diethyl{(4-fluorophenyl)[2-(phenylsulfonylamino)phenylpropanylamino]methyl}phosphonate), III h (diethyl{(2-fluorophenyl)[2-(phenylsulfonylamino)isovalerylaminomethyl]phosphonate) and III m (diethyl{(phenyl)[2-(phenylsulfonyl amino)acetamido]methyl}phosphonate) displayed a MIC to *E. coli* of 16 $\mu\text{g/L}$, while III n (diethyl{(2-fluorophenyl)[2-(phenylsulfonylamino)acetamido]methyl}phosphonate) showed a MIC against *E. coli* of 8 $\mu\text{g/L}$, which were no less effective when compared with control drug Oxacillin. The MIC of III b, III h, III m and III n against FREC were 32, 32, 32 and 16 $\mu\text{g/L}$, respectively, which were superior to those of control drugs Oxacillin and Norfloxacin.

Key words: sulfonamides; amino acids; phosphonates; synthesis; antibacterial activities; drug materials

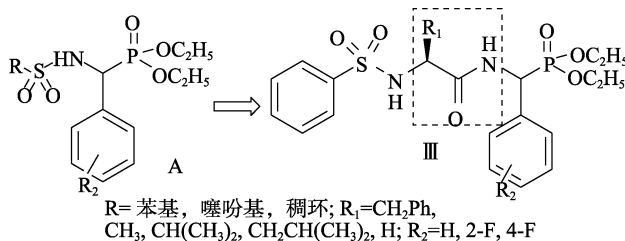
收稿日期: 2023-01-17; 定用日期: 2023-03-14; DOI: 10.13550/j.jxhg.20230033

基金项目: 贵州省卫生健康委科学技术基金项目 (gzwkj2021-444)

作者简介: 董向涛 (1999—), 男, 硕士生。联系人: 杨家强 (1979—), 男, 教授, E-mail: yjqcn@126.com。

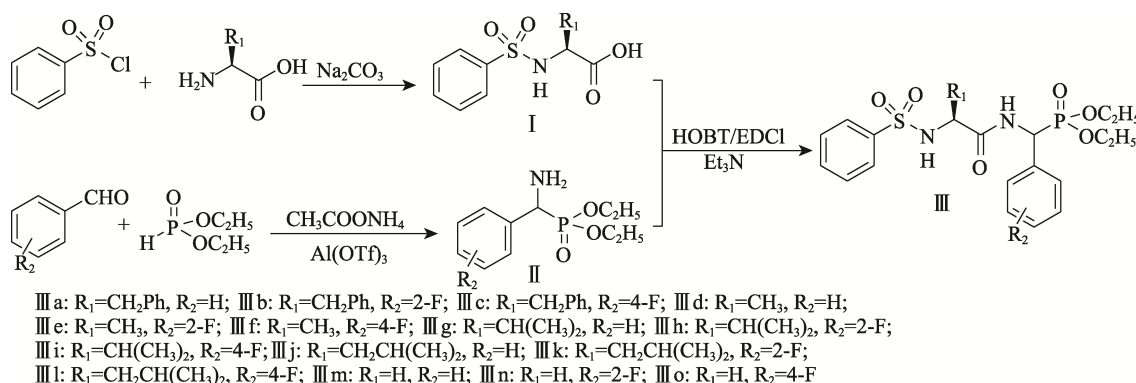
自 20 世纪 30 年代发现第一种磺胺类抗菌药物百浪多息 (Prontosil) 后, 开启了磺胺的医学新时代^[1]。不同结构的磺胺类化合物表现出多种生物活性, 如抗高血压^[2]、抗菌^[3]、抗真菌^[4]、抗炎^[5]、抗肿瘤^[6]和碳酸酐酶抑制剂^[7]等。其中, 磺胺在抗菌方面的应用尤为多见, 如磺胺噻唑、磺胺甲噁唑和柳氮磺吡啶具有抗菌谱广、疗效好、价廉等优点, 广泛用于临床。

随着抗菌药物在临床上的大量使用, 其耐药性是人类面临的重要威胁, 因此, 需要新的抗菌药效团和 (或) 抗菌剂来克服这一难题^[8-9]。分子杂交作为一种经典的药物设计策略, 旨在通过结合两种或两种以上药效结构来创建与靶标有更好作用的新杂交分子^[10]。本课题组前期基于该策略, 设计了不同系列的含氨基磷酸酯结构的磺酰胺衍生物 (通式 A, 结构如下所示), 结果发现, 不同系列的磺酰胺和氨基磷酸酯基团组合的新杂交化合物均具有潜在的抗菌活性, 且对耐药菌有抑制作用^[11-13]。



氨基酸及小分子肽衍生物作为抗菌肽模拟物, 生物兼容性好, 易渗透到组织, 具有靶向性, 对宿主有选择性好、安全性高等特点^[14-16], 不同类型的氨基酸衍生物具有显著的抗菌活性和广谱抗菌性能, 不易诱导产生耐药性, 在抗菌药物设计与结构改造中应用广泛。

基于此, 为了获取活性更优的抗菌化合物, 本



1.2.1.1 中间体 I 的制备

在 50 mL 反应瓶中, 加入含 5 mmol 氨基酸的碳酸钠溶液 (0.848 g 碳酸钠溶于 10 mL 水), 再加入 4 mmol (0.51 mL) 苯磺酰氯, 升温至 75 °C, 搅拌反应 0.5 h, TLC 监测反应 [V(乙酸乙酯): V(石油醚) = 10:1], 完毕, 用浓盐酸 (质量分数为 37%)

课题组在通式 A 基础上, 通过分子杂交策略, 进一步在结构中引入氨基酸片段, 设计合成了 15 个新型衍生物 III, 并对其进行抗菌活性研究。期望 3 种药效片段组合成的小分子类肽衍生物 III 能产生更好的抗菌活性或抗耐药菌活性, 获取有研究前景的先导或候选化合物。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

苯磺酰氯、甘氨酸、L-丙氨酸、L-亮氨酸、L-缬氨酸、L-苯丙氨酸、亚磷酸二乙酯、苯甲醛、邻氟苯甲醛、对氟苯甲醛、三氟甲磺酸铝 [Al(OTf)₃]、乙酸铵、N,N'-二环己基碳酰亚胺 (DCC)、N-羟基丁二酰亚胺 (NHS)、1-羟基苯并三唑 (HOBT)、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (EDCI), 化学纯, 百灵威化学试剂公司。石油醚 (馏程 60~90 °C)、4-二甲氨基吡啶 (DMAP) 等其他试剂均为分析纯, 成都金山化学试剂公司。标准菌株: 金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*)、大肠杆菌 (*E. coli*) 购于青岛海博生物技术有限公司; 耐药菌株: 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (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。

X-4 型数显熔点测定仪, 上海精密仪器仪表有限公司; Varian 400 MHz 核磁共振波谱仪, 美国 Varian 技术公司; Agilent 6460 液质联用仪, 美国 Agilent 技术公司。

1.2 方法

1.2.1 目标化合物的合成

目标化合物的合成路线如下所示:

调节 pH 至 1, 室温放置, 结晶, 过滤, 蒸馏水洗涤, 红外灯下干燥 30 min, 得到白色固体, 即中间体 I。

1.2.1.2 中间体 II 的制备

称取 20 mmol (2.5405 g) 亚磷酸二乙酯、25 mmol 芳香醛和 20 mmol (1.5401 g) 乙酸铵于 50 mL 反应瓶中, 室温反应 10 min, 再加入 0.1 mmol

(0.0472 g)三氟甲磺酸铝, 100 °C 搅拌反应 20 min, TLC 跟踪 [$V(\text{乙酸乙酯}) : V(\text{石油醚}) = 3 : 1$], 反应完毕, 加入 5 mL 去离子水, 用 1 mol/L 的稀盐酸调节 pH 至 3~4, 分别用 10 mL 环己烷萃取 6 次, 取下层液, 再分别用 5 mL 乙酸乙酯萃取 6 次, 下层液用 1 mol/L NaOH 溶液调节 pH 至 7~8, 再分别用 10 mL 乙酸乙酯萃取 5 次, 合并有机相, 并旋蒸浓缩, 得中间体 II。

1.2.1.3 目标化合物 III 的制备

依次取 0.5 mmol 中间体 I a ($R_1 = \text{CH}_2\text{Ph}$)、1 mmol (0.1351 g) HOBT 和 15 mL CH_2Cl_2 于 50 mL 反应瓶中, 0 °C 下加入 1.5 mmol (0.2 mL) Et_3N 和 1 mmol (0.1917 g) EDCI, 搅拌反应, 并缓慢加入 0.75 mmol 中间体 II a ($R_2 = \text{H}$), 继续反应, TLC 监测 [$V(\text{乙酸乙酯}) : V(\text{石油醚}) = 1 : 1$], 反应完毕, 旋蒸浓缩, 经硅胶柱层析分离纯化 [$V(\text{乙酸乙酯}) : V(\text{石油醚}) = 1 : 3$], 旋蒸浓缩, 得化合物 III a。化合物 III b~III o 按照上述方法合成得到。

{(苯基) [2-(苯基磺酰氨基)苯丙酰氨基]甲基}磷酸二乙酯(III a): 白色固体, 收率 66%, m.p. 178~180 °C。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.20 (b, 1H, NH), 7.49~7.54 (m, 2H, ArH), 7.28~7.39 (m, 5H, ArH), 7.21~7.24 (m, 1H, ArH), 7.02~7.15 (m, 5H, ArH), 6.77~6.89 (m, 2H, ArH), 6.40 (s, 1H, NH), 5.33~5.54 (m, 1H, PCH), 4.04~4.19 (m, 3H, $\text{CH} + \text{OCH}_2$), 3.85~3.93 (m, 1H, OCH_2), 3.60~3.71 (m, 1H, OCH_2), 2.74~3.01 (m, 2H, CH_2), 1.31 (t, 3H, $J = 15.6$ Hz, CH_3), 1.04 (t, 3H, $J = 16.0$ Hz, CH_3); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3), δ : 170.4, 152.2, 134.5, 134.2, 132.3, 130.0, 129.7, 129.5, 129.3, 129.1, 128.6, 128.3, 127.6, 127.4, 126.8, 126.7, 64.0, 63.3, 57.3, 50.8, 39.3, 16.5, 16.1; ESI-MS, m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 理论值 531.2, 实测值 531.2。

{(2-氟苯基) [2-(苯基磺酰氨基)苯丙酰氨基]甲基}磷酸二乙酯(III b): 白色固体, 收率 64%, m.p. 196~198 °C。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.19 (b, 1H, NH), 7.46~7.56 (m, 2H, ArH), 7.24~7.32 (m, 2H, ArH), 7.03~7.16 (m, 7H, ArH), 6.77~6.89 (m, 2H, ArH), 6.41 (s, 1H, NH), 5.68~5.85 (m, 1H, PCH), 4.07~4.19 (m, 3H, $\text{CH} + \text{OCH}_2$), 3.92~3.99 (m, 1H, OCH_2), 3.72~3.82 (m, 1H, OCH_2), 2.74~3.00 (m, 2H, CH_2), 1.33 (t, 3H, $J = 16.0$ Hz, CH_3), 1.07 (t, 3H, $J = 16.0$ Hz, CH_3); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3), δ : 170.3, 161.4, 139.7, 139.3, 135.7, 135.4, 132.1, 130.0, 129.8, 129.5, 129.0, 128.6, 128.3, 126.9, 126.6, 124.5, 122.1, 121.8, 115.4, 64.1, 63.7, 57.3, 42.3, 39.1, 16.4, 16.0; ESI-MS, m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 理论值 549.2, 实测值 549.3。

{(4-氟苯基) [2-(苯基磺酰氨基)苯丙酰氨基]甲基}磷酸二乙酯(III c): 白色固体, 收率 67%, m.p. 160~162 °C。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.31 (b, 1H, NH), 7.47~7.53 (m, 2H, ArH), 7.25~7.40 (m, 2H, ArH), 6.95~7.18 (m, 7H, ArH), 6.77~6.90 (m, 2H, ArH), 6.38 (s, 1H, NH), 5.32~5.54 (m, 1H, PCH), 4.06~4.23 (m, 3H,

$\text{CH} + \text{OCH}_2$), 3.89~3.96 (m, 1H, OCH_2), 3.67~3.75 (m, 1H, OCH_2), 2.69~3.00 (m, 2H, CH_2), 1.31 (t, 3H, $J = 15.2$ Hz, CH_3), 1.07 (t, 3H, $J = 16.0$ Hz, CH_3); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3), δ : 171.5, 163.6, 161.2, 139.7, 139.4, 135.4, 135.2, 130.5, 130.1, 130.0, 129.4, 129.0, 128.7, 128.4, 127.0, 126.9, 126.7, 115.7, 115.4, 64.0, 63.6, 57.4, 50.2, 39.1, 16.4, 16.1; ESI-MS, m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 理论值 549.2, 实测值 549.1。

{(苯基) [2-(苯基磺酰氨基)丙酰氨基]甲基}磷酸二乙酯(III d): 白色固体, 收率 55%, m.p. 189~190 °C。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.37 (b, 1H, NH), 7.57~7.60 (m, 2H, ArH), 7.20~7.24 (m, 5H, ArH), 6.93~7.09 (m, 3H, ArH), 5.81~5.84 (d, 1H, NH), 5.26~5.42 (m, 1H, PCH), 3.99~4.08 (m, 3H, $\text{COCH} + \text{OCH}_2$), 3.85~3.94 (m, 1H, OCH_2), 3.61~3.70 (m, 1H, OCH_2), 1.29 (t, 3H, $J = 12.4$ Hz, CH_3), 1.20 (t, 3H, $J = 12.0$ Hz, CH_3), 1.02~1.05 (m, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3), δ : 171.6, 159.3, 140.1, 139.7, 134.2, 132.2, 128.6, 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 126.6, 64.9, 63.3, 53.2, 50.2, 20.2, 16.5, 16.1; ESI-MS, m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 理论值 455.1, 实测值 455.2。

{(2-氟苯基) [2-(苯基磺酰氨基)丙酰氨基]甲基}磷酸二乙酯(III e): 白色固体, 收率 42%, m.p. 191~193 °C。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.25 (b, 1H, NH), 7.60~7.65 (m, 2H, ArH), 7.45~7.51 (m, 1H, ArH), 7.26~7.35 (m, 1H, ArH), 6.98~7.16 (m, 5H, ArH), 6.86 (s, 1H, NH), 5.64~5.80 (m, 1H, PCH), 3.99~4.15 (m, 3H, $\text{COCH} + \text{OCH}_2$), 3.89~3.97 (m, 1H, OCH_2), 3.72~3.81 (m, 1H, OCH_2), 1.30 (t, 3H, $J = 15.2$ Hz, CH_3), 1.22 (t, 3H, $J = 12.4$ Hz, CH_3), 1.03~1.07 (m, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3), δ : 171.4, 158.8, 140.1, 139.5, 129.9, 129.6, 128.5, 126.7, 126.6, 124.3, 121.9, 121.8, 115.3, 63.8, 63.6, 53.1, 52.0, 20.0, 16.3, 16.0; ESI-MS, m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 理论值 473.1, 实测值 473.1。

{(4-氟苯基) [2-(苯基磺酰氨基)丙酰氨基]甲基}磷酸二乙酯(III f): 白色固体, 收率 53%, m.p. 178~179 °C。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.13 (b, 1H, NH), 7.52~7.57 (m, 2H, ArH), 7.30~7.40 (m, 1H, ArH), 7.18~7.22 (m, 1H, ArH), 6.96~7.16 (m, 5H, ArH), 6.07 (s, 1H, NH), 5.30~5.43 (m, 1H, PCH), 4.05~4.14 (m, 3H, $\text{COCH} + \text{OCH}_2$), 3.89~3.93 (m, 1H, OCH_2), 3.69~3.79 (m, 1H, OCH_2), 1.29 (t, 3H, $J = 12.8$ Hz, CH_3), 1.19 (t, 3H, $J = 15.2$ Hz, CH_3), 1.08~1.11 (m, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3), δ : 171.6, 161.2, 140.2, 132.3, 130.2, 130.1, 129.9, 128.7, 128.6, 126.7, 115.6, 115.3, 63.8, 63.6, 53.1, 52.0, 20.0, 16.3, 16.0; ESI-MS, m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 理论值 473.1, 实测值 473.3。

{(苯基) [2-(苯基磺酰氨基)异戊酰氨基]甲基}磷酸二乙酯(III g): 白色固体, 收率 51%, m.p. 166~167 °C。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.28 (b, 1H, NH), 7.55~7.59 (m, 2H, ArH), 7.22~7.27 (m, 5H, ArH), 6.95~7.08 (m, 3H, ArH), 5.80~5.83 (s, 1H, NH), 5.25~5.41 (m, 1H, PCH), 3.98~4.06 (m, 3H, $\text{COCH} + \text{OCH}_2$), 3.88~3.95 (m, 1H, OCH_2), 3.63~3.71 (m, 1H, OCH_2), 2.16~2.21 (m, 1H, CCHC), 1.30 (t, 3H, $J = 12.4$ Hz, CH_3), 1.05 (t, 3H,

$J=12.4$ Hz, CH_3), 1.01 (d, 6H, $J=7.6$ Hz, 2CH_3); $^{13}\text{CNMR}$ (100 MHz, CDCl_3), δ : 171.5, 159.1, 140.1, 139.6, 134.2, 132.2, 128.6, 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 126.6, 63.9, 63.3, 53.2, 50.2, 30.7, 18.3, 18.1, 16.4, 16.1; ESI-MS, m/Z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ 理论值 483.2, 实测值 483.3。

{(2-氟苯基) [2-(苯基磺酰氨基)异戊酰氨基]甲基}磷酸二乙酯 (IIIh): 白色固体, 收率 61%, m.p. 182~184 °C。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.21 (b, 1H, NH), 7.61~7.67 (m, 2H, ArH), 7.45~7.52 (m, 1H, ArH), 7.25~7.30 (m, 1H, ArH), 6.95~7.11 (m, 5H, ArH), 6.82 (s, 1H, NH), 5.69~5.78 (m, 1H, PCH), 3.97~4.14 (m, 3H, COCH+OCH₂), 3.91~3.98 (m, 1H, OCH₂), 3.71~3.79 (m, 1H, OCH₂), 2.10~2.17 (m, 1H, CCHC), 1.32 (t, 3H, $J=12.0$ Hz, CH_3), 1.03 (t, 3H, $J=12.0$ Hz, CH_3), 0.98 (d, 6H, $J=7.2$ Hz, 2CH_3); $^{13}\text{CNMR}$ (100 MHz, CDCl_3), δ : 171.4, 158.8, 140.1, 139.4, 129.8, 129.6, 128.4, 126.7, 126.6, 124.3, 121.9, 121.7, 115.3, 63.7, 63.6, 53.1, 51.9, 30.6, 18.4, 18.1, 16.2, 15.9; ESI-MS, m/Z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ 理论值 501.2, 实测值 501.2。

{(4-氟苯基) [2-(苯基磺酰氨基)异戊酰氨基]甲基}磷酸二乙酯 (IIIi): 白色固体, 收率 78%, m.p. 190~191 °C。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.12 (b, 1H, NH), 7.51~7.58 (m, 2H, ArH), 7.35~7.44 (m, 1H, ArH), 7.15~7.21 (m, 1H, ArH), 6.94~7.15 (m, 5H, ArH), 6.08 (s, 1H, NH), 5.32~5.44 (m, 1H, PCH), 4.06~4.17 (m, 3H, COCH+OCH₂), 3.89~3.92 (m, 1H, OCH₂), 3.71~3.78 (m, 1H, OCH₂), 2.11~2.16 (m, 1H, CCHC), 1.29 (t, 3H, $J=11.6$ Hz, CH_3), 1.08 (t, 3H, $J=11.6$ Hz, CH_3), 1.05 (d, 6H, $J=7.6$ Hz, 2CH_3); $^{13}\text{CNMR}$ (100 MHz, CDCl_3), δ : 171.6, 161.2, 140.2, 132.3, 130.2, 130.1, 130.0, 129.8, 128.7, 128.6, 126.6, 115.5, 115.3, 63.7, 63.5, 53.3, 51.9, 30.7, 18.3, 18.1, 16.3, 16.0; ESI-MS, m/Z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ 理论值 501.2, 实测值 501.1。

{(苯基) [2-(苯基磺酰氨基)异己酰氨基]甲基}磷酸二乙酯 (IIIj): 白色固体, 收率 72%, m.p. 177~178 °C。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.26 (d, 1H, $J=8.8$ Hz, NH), 7.52~7.59 (m, 2H, ArH), 7.27~7.33 (m, 5H, ArH), 6.89~7.09 (m, 3H, ArH), 5.53 (s, 1H, NH), 5.24~5.41 (m, 1H, PCH), 4.11~4.19 (m, 2H, OCH₂), 3.90~3.99 (m, 2H, COCH+OCH₂), 3.61~3.82 (m, 1H, OCH₂), 1.23~1.47 (m, 5H, CH_2+CH_3), 1.03~1.10 (m, 3H, CH_3), 0.78~0.88 (m, 3H, CH_3) 0.54~0.77 (m, 3H, CH_3); $^{13}\text{CNMR}$ (101 MHz, CDCl_3), δ : 171.6, 158.7, 139.9, 139.5, 134.1, 132.0, 128.7, 128.5, 128.4, 128.2, 128.1, 126.6, 126.5, 63.6, 63.3, 55.0, 50.3, 24.0, 23.0, 20.6, 16.4, 15.9; ESI-MS, m/Z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ 理论值 497.2, 实测值 497.3。

{(2-氟苯基) [2-(苯基磺酰氨基)异己酰氨基]甲基}磷酸二乙酯 (IIIk): 白色固体, 收率 69%, m.p. 170~172 °C。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.14 (d, 1H, $J=10.0$ Hz, NH), 7.45~7.55 (m, 3H, ArH), 7.33 (m, 1H, ArH), 7.01~7.09 (m, 3H, ArH), 6.95~6.99 (m, 3H, ArH), 5.63~5.80 (m, 1H, PCH), 5.51 (s, 1H, NH), 4.13~4.21 (m, 2H, OCH₂), 3.75~4.04 (m, 3H, COCH+OCH₂), 1.31~1.47 (m, 5H, CH_2+CH_3), 1.05~1.11 (m, 3H, CH_3), 0.78~0.81 (m, 3H, CH_3) 0.57~0.65 (m, 3H, CH_3); $^{13}\text{CNMR}$ (101

MHz, CDCl_3), δ : 171.4, 158.8, 141.3, 139.9, 139.4, 131.9, 129.9, 128.4, 126.8, 124.4, 121.8, 115.5, 115.3, 63.9, 63.6, 55.0, 50.3, 24.0, 23.0, 20.7, 16.3, 15.9; ESI-MS, m/Z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ 理论值 515.2, 实测值 515.2。

{(4-氟苯基) [2-(苯基磺酰氨基)异己酰氨基]甲基}磷酸二乙酯 (IIIl): 白色固体, 收率 73%, m.p. 178~179 °C。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.22 (d, 1H, $J=10.0$ Hz, NH), 7.54~7.62 (m, 2H, ArH), 7.30~7.31 (m, 2H, ArH), 7.10~7.14 (m, 3H, ArH), 6.92~7.03 (m, 3H, ArH), 5.79 (s, 1H, NH), 5.26~5.43 (m, 1H, PCH), 4.07~4.17 (m, 2H, OCH₂), 3.90~4.04 (m, 2H, COCH+OCH₂), 3.68~3.88 (m, 1H, OCH₂), 1.25~1.45 (m, 5H, CH_2+CH_3), 1.06~1.13 (m, 3H, CH_3), 0.77~0.79 (m, 3H, CH_3) 0.54~0.67 (m, 3H, CH_3); $^{13}\text{CNMR}$ (101 MHz, CDCl_3), δ : 171.7, 161.2, 140.1, 139.7, 132.2, 132.1, 130.3, 130.1, 128.5, 126.7, 126.4, 115.5, 115.3, 64.1, 63.5, 55.0, 49.5, 23.0, 22.8, 20.8, 16.4, 16.0; ESI-MS, m/Z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ 理论值 515.2, 实测值 515.1。

{(苯基) [2-(苯基磺酰氨基)乙酰氨基]甲基}磷酸二乙酯 (IIIm): 白色固体, 收率 60%, m.p. 172~174 °C。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.63 (d, 1H, $J=12.0$ Hz, NH), 7.47~7.52 (m, 2H, ArH), 7.22~7.32 (m, 5H, ArH), 7.01~7.19 (m, 3H, ArH), 6.27 (s, 1H, NH), 5.34~5.54 (m, 1H, PCH), 4.11~4.24 (m, 2H, OCH₂), 3.87~3.92 (m, 1H, OCH₂), 3.61~3.73 (m, 3H, $\text{NCH}_2+\text{OCH}_2$), 1.33 (t, 3H, $J=16.0$ Hz, CH_3), 1.04 (m, 3H, $J=16.0$ Hz, CH_3); $^{13}\text{CNMR}$ (101 MHz, CDCl_3), δ : 167.6, 157.7, 139.2, 132.5, 128.9, 128.6, 128.5, 128.3, 128.2, 128.1, 126.9, 125.5, 94.0, 63.5, 49.2, 45.3, 16.4, 16.1; ESI-MS, m/Z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ 理论值 441.1, 实测值 441.0。

{(2-氟苯基) [2-(苯基磺酰氨基)乙酰氨基]甲基}磷酸二乙酯 (III n): 白色固体, 收率 76%, m.p. 159~160 °C。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.61 (d, 1H, $J=8.4$ Hz, NH), 7.69~7.71 (d, 2H, ArH), 7.47~7.50 (m, 1H, ArH), 7.36~7.39 (m, 1H, ArH), 7.25~7.29 (m, 3H, ArH), 7.02~7.08 (m, 2H, ArH), 6.24~6.27 (s, 1H, NH), 5.76~5.84 (m, 1H, PCH), 4.08~4.19 (m, 2H, OCH₂), 3.87~3.96 (m, 1H, OCH₂), 3.71~3.79 (m, 1H, OCH₂), 3.67~3.68 (t, 2H, $\text{NCH}_2+\text{OCH}_2$), 1.28 (t, 3H, $J=12.4$ Hz, CH_3), 1.04 (t, 3H, $J=13.2$ Hz, CH_3); $^{13}\text{CNMR}$ (101 MHz, CDCl_3), δ : 167.7, 158.8, 139.8, 132.6, 130.1, 130.0, 129.5, 128.9, 126.9, 124.4, 122.0, 121.9, 115.4, 64.0, 63.8, 45.3, 42.3, 16.3, 16.0; ESI-MS, m/Z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ 理论值 459.1, 实测值 459.1。

{(4-氟苯基) [2-(苯基磺酰氨基)乙酰氨基]甲基}磷酸二乙酯 (III o): 白色固体, 收率 65%, m.p. 153~155 °C。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.62 (d, 1H, NH), 7.70~7.72 (d, 2H, ArH), 7.28~7.44 (m, 5H, ArH), 6.95~6.99 (m, 2H, ArH), 6.23 (s, 1H, NH), 5.38~5.46 (m, 1H, PCH), 4.05~4.15 (m, 2H, OCH₂), 3.85~3.93 (m, 1H, OCH₂), 3.62~3.75 (m, 3H, $\text{NCH}_2+\text{OCH}_2$), 1.26 (t, 3H, $J=12.8$ Hz, CH_3), 1.06 (t, 3H, $J=15.2$ Hz, CH_3); $^{13}\text{CNMR}$ (101 MHz, CDCl_3), δ : 167.7, 163.6, 141.0, 139.2, 132.6, 130.3, 130.2, 130.0, 129.9, 128.9, 126.9, 115.6, 115.4, 63.9, 63.7, 48.4, 45.3, 16.4, 16.1; ESI-MS, m/Z : $[\text{M}+\text{H}]^+$

理论值 459.1, 实测值 459.2。

1.2.2 抗菌活性测试

参照文献[17], 以苯唑西林和诺氟沙星为对照药, 采用倍比稀释法, 于超净化工作台上, 取无菌 96 孔板, 设置阴性对照 (左 1 列) 与阳性对照 (右 1 列), 从第 2 列到第 11 列, 依此倍比稀释法加入药液与菌液, 混匀。于恒温箱中 37 °C 培养 24 h, 观察结果, 凡外观清晰者均为无菌生长, 以无细菌生长的药物浓度为最低抑菌浓度 (MIC)。

2 结果与讨论

2.1 合成条件优化

以 III a 的合成例, 考察不同缩合剂种类对反应的影响, 按照 1.2.1.3 节的方法, 控制反应温度为 5 °C, 结果见表 1。由表 1 可知, DCC/DMAP 为缩合剂时, III a 收率为 33 %, 当缩合剂为 EDCI/HOBT 体系时, III a 收率最高, 达到 60%。

表 1 缩合剂种类对 III a 收率的影响

Table 1 Effect of condensation agent kinds on yield of III a

缩合剂	DCC/DMAP	DCC/NHS	EDCI/HOBT
III a 收率/%	33	51	60

在 EDCI/HOBT 体系下, 进一步考察了反应温度对 III a 收率的影响, 结果见表 2。由表 2 可知, 反应温度在 -10 °C 时, 无 III a 生成; 反应温度由 -5 °C 升高到 0 °C 时, III a 收率由 29% 提高至 66%; 而在反应温度为 5 °C 时, III a 收率有所下降, 为 60%; 反应温度为 10 °C 时, III a 收率仅为 47 %。表明反应温度对该缩合反应有较大影响, 温度太低或太高都不利于反应的发生。因此, 反应温度控制在 0 °C。

表 2 反应温度对 III a 收率的影响

Table 2 Effect of reaction temperature on yield of III a

III a 收率/%	温度/°C				
	-10	-5	0	5	10
III a 收率/%	0	29	66	60	47

2.2 抗菌活性

表 3 为目标化合物的 MIC。由表 3 可知, 目标物对 *S. aureus*、*E. coli*、MRSA 和 FREC 有不同程度的抑制活性。其中, 化合物 III b、III c、III h、III i、III n 和 III o 对 *S. aureus* 有较好的抑制作用, MIC 分别为 32、64、64、64、32 和 64 μg/mL; 化合物 III a、III b、III c、III h、III i、III m、III n 和 III o 对 *E. coli* 的抗菌活性较好, MIC 分别为 64、16、16、16、64、16、8 和 32 μg/mL。同时, 从表 3 中还可看出, 目标化合

物抗 MRSA 活性较弱, 仅化合物 III b、III n 和 III o 对 MRSA 有一定的抑制作用; 但该类衍生物对 FREC 的活性较显著, 化合物 III b、III c、III h、III m、III n 和 III o 对 FREC 的 MIC 分别为 32、64、32、32、16 和 64 μg/mL。该类衍生物对革兰氏阴性菌 (*E. coli* 和 FREC) 的活性显著, 化合物 III b、III c、III h 和 III m 对 *E. coli* 的活性与对照药苯唑西林一致, 化合物 III n 的抗 *E. coli* 活性优于苯唑西林, 接近对照药诺氟沙星; 化合物 III c 和 III o 对 FREC 的活性与苯唑西林一致, 化合物 III b、III h、III m 和 III n 对 FREC 的活性优于苯唑西林, 且远远优于诺氟沙星 (氟喹诺酮药物)。另外, 该类化合物对革兰氏阳性菌 (金葡菌和耐甲氧西林金葡菌) 的活性不够显著, 仅化合物 III b、III n 和 III o 的抗 MRSA 活性与对照药相当或较优。综上, 化合物 III b 和 III n 的抗菌活性最为显著, 前者对 *S. aureus*、*E. coli*、MRSA 和 FREC 的 MIC 值分别为 32、16、256 和 32 μg/mL, 后者对 *S. aureus*、*E. coli*、MRSA 和 FREC 的 MIC 值分别为 32、8、128 和 16 μg/mL。

表 3 目标化合物的 MIC

Table 3 MIC of target compounds

化合物	R ₁	R ₂	MIC/(μg/mL)			
			<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	MRSA	FREC
III a	CH ₂ Ph	H	128	64	1028	128
III b	CH ₂ Ph	2-F	32	16	256	32
III c	CH ₂ Ph	4-F	64	16	1024	64
III d	CH ₃	H	>1024	>1024	>1024	>1024
III e	CH ₃	2-F	512	1024	>1024	>1024
III f	CH ₃	4-F	1024	1024	>1024	>1024
III g	CH(CH ₃) ₂	H	512	128	1028	128
III h	CH(CH ₃) ₂	2-F	64	16	512	32
III i	CH(CH ₃) ₂	4-F	64	64	>1024	256
III j	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	H	>1024	1024	>1024	>1024
III k	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	2-F	1024	512	>1024	512
III l	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	4-F	512	1024	>1024	1024
III m	H	H	128	16	512	32
III n	H	2-F	32	8	128	16
III o	H	4-F	64	32	256	64
苯唑西林			0.5	16	256	64
诺氟沙星			1	4	128	>1024

由表 3 进一步分析该类衍生物的构效关系, 得出如下结论: (1) 含苯丙氨酸、缬氨酸和甘氨酸的衍生物抗菌活性更好, 含丙氨酸和亮氨酸的目标物抗菌活性不显著, 表明不同氨基酸结构和抗菌活性强弱有直接关系, 有可能与靶标的结合有关。(2) 大多氟取代的目标化合物的抗菌活性更优, 如 MIC:

III b、III c < III a, 对所测细菌的抑制作用: III k、III l ≥ III j。(3) 大多邻氟取代的目标物抗菌活性更显著, 如抗菌活性: III n > III o, III b ≥ III c, III h ≥ III i, 有可能是邻位的空间效应所致。(4) 大多抗菌活性化合物对所测耐药菌有较显著的抑制作用, 不产生耐药性。(5) 部分化合物的抗 *E. coli* 和 FREC 活性优于前期设计合成的不含氨基酸结构的衍生物^[11-13], 如化合物 III b、III c、III i、III m 和 III n, 表明功能氨基酸的引入对提高目标物的抗菌活性有重要影响, 具体原因有待进一步研究。

3 结论

依据分子杂交策略设计合成的含氨基酸结构的磺酰胺衍生物有较好的抗菌活性, 对 *E. coli* 和 FREC 的抑制作用最为显著, 尤其是化合物 III b、III c、III m 和 III n 对两者的抗菌活性不低于对照药苯唑西林。同时, 含不同氨基酸结构的目标物对抗菌活性有明显影响, 后续有必要拓展氨基酸的种类进行研究。另外, 氨基磷酸酯结构中苯环取代基的不同也影响该类衍生物的活性, 也值得后续进一步深入研究。

参考文献:

- [1] GADAD A K, MAHAJANSHETTI C S, NIMBALKAR S, *et al.* Synthesis and antibacterial activity of some 5-guanylhydrazone/thiocyanato-6-arylimidazo[2,1-*b*]-1,3,4-thiadiazole-2-sulfonamide derivatives[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2000, 35: 853-857.
- [2] AJEET A, MISHRA A K, KUMAR A. Recent advances in development of sulfonamide derivatives and their pharmacological effects-A review[J]. *Journal of Pharmacological Sciences*, 2015, 3(1): 18-24.
- [3] KANDA Y, KAWANISHI Y, ODA K, *et al.* Synthesis and structure-activity relationships of potent and orally active sulfonamide ETB selective antagonists[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2001, 9(4): 897-907.
- [4] WAN Y C, FANG G Q, CHEN H J, *et al.* Sulfonamide derivatives as potential anticancer agents and their SARs elucidation[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2021, 226: 113837.
- [5] ABDEL-AZIZ A M, ANGELI A, EL-AZAB A S, *et al.* Synthesis and anti-inflammatory activity of sulfonamides and carboxylates incorporating trimellitimidates: Dual cyclooxygenase/ carbonic anhydrase inhibitory actions[J]. *Bioorganic Chemistry*, 2019, 84: 260-268.
- [6] LU Y J (卢言菊), ZHAO Z D (赵振东), CHEN Y X (陈玉湘), *et al.* Synthesis and antitumor activity of isopimaric heterocyclic sulfonamides derivatives [J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2021, 38(3): 578-584.
- [7] BONARDI A, NOCENTINI A, BUA S, *et al.* Sulfonamide inhibitors of human carbonic anhydrases designed through a three-tails approach: Improving ligand/isoform matching and selectivity of action[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2020, 63: 7422-7444.
- [8] KONAKLIEVA M I. Addressing antimicrobial resistance through new medicinal and synthetic chemistry strategies[J]. *Slas Discovery*, 2019, 24(4): 419-439.
- [9] JACKSON N, CZAPLEWSKI L, PIDDOCK L J V. Discovery and development of new antibacterial drugs: Learning from experience[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2018, 73(6): 1452-1459.
- [10] BERUBE G. An overview of molecular hybrids in drug discovery[J]. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 2016, 11(3): 281-305.
- [11] YANG J Q (杨家强), DENG L (邓玲), AN J L (安家丽), *et al.* Synthesis and antibacterial activity of sulfanilamide derivatives containing phosphonate moiety[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2019, 36(9): 1869-1873.
- [12] YANG J Q (杨家强), LEI Y Y (雷延燕), YANG H (杨红), *et al.* Synthesis and bioactivity of novel phosphonate derivatives containing thiophene and sulfonamide group[J]. *Chinese Pharmaceutical Journal (中国药学杂志)*, 2019, 54(24): 2055-2059.
- [13] YANG J Q (杨家强), WANG Y (王越), ZHOU X R (周绪容), *et al.* Synthesis and antibacterial activities of novel sulfonamide derivatives containing a fused-ring[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica (药学报)*, 2021, 56(3): 835-840.
- [14] JIN X P (金学平), TANG Q M (唐启明), YU L (余磊), *et al.* Amino acid derivatives-A kind of antibacterial agent with high safety[J]. *Chemistry & Bioengineering (化学与生物工程)*, 2019, 36(11): 8-11.
- [15] LI T (李涛), NIU Y H (牛有红), YE X S (叶新山), *et al.* Recent advances on non-peptide or small molecule mimics of antimicrobial peptides[J]. *Chinese Journal of Medicinal Chemistry (中国药物化学杂志)*, 2020, 30(3): 160-176.
- [16] TAN P, FU H Y, MA X. Design, optimization, and nanotechnology of antimicrobial peptides: From exploration to applications[J]. *Nano Today*, 2021, 39: 101229.
- [17] SHEN G X (沈关心). *Microbiology and Immunology*[M]. Beijing: People's Medical Publishing House (人民卫生出版社), 2007: 326-328.
- [18] SARANGI D, SAMANTARAY A C, SAHU R, *et al.* Interactions of cetyltrimethyl ammonium bromide with 1,3-dioxolane in water: A study of viscosity and volumetric properties[J]. *Asian Journal of Chemistry*, 2020, 32(1): 53-58.
- [19] WANG H J (王环江), YANG Q L (杨启亮), ZHANG Y C (张雨晨), *et al.* Synthesis and evaluation of *in-situ* grafted carbon black nanoparticle as demulsifier for treating crude oil-in-water emulsions [J]. *Materials Reports (材料导报)*, 2023, 37(4): 241-246.
- [20] TATIANA I, SPIRIDONOVA, SERGEI I, *et al.* Investigation of the size distribution for diffusion-controlled drug release from drug delivery systems of various geometries[J]. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2019, 108(8): 2690-2697.

(上接第 2515 页)

- [15] ZHU Q, ZHANG B, WANG Y, *et al.* Self-assembled micelles prepared from poly(D,L-lactide-co-glycolide)-poly(ethylene glycol) block copolymers for sustained release of valsartan[J]. *Polymers for Advanced Technologies*, 2021, 32(3): 1262-1271.
- [16] PAN G Y (潘光耀), NI C H (倪才华). Preparation of polycaprolactone-polyethylene glycol amphiphilic copolymer nanomicelles by degradation[J]. *Applied Chemical Industry (应用化工)*, 2021, 41(6): 1041-1043.
- [17] TENG S (滕双), WANG Y P (王艳萍), HAO H (郝红). Preparation and performance study of polylactic acid-polyethylene glycol block copolymer micelles[J]. *Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities (高校化学工程学报)*, 2016, 30(4): 971-977.