含哌嗪片段的噻吩查尔酮衍生物的合成及其抗菌活性

黎勇坤[†] 唐燕玲[†] 李敏欣 杨小碧 高 慧 毛泽伟*

(云南中医药大学中药学院 昆明 650500)

摘要 查尔酮是一类具有多种生物活性的 1,3-二苯基丙烯酮化合物。以 4-氟苯乙酮和 2-噻吩甲醛为原料出发,经取代、Aldol 反应和衍生化,合成得到 16 个未见文献报道的含哌嗪片段的噻吩查尔酮衍生物。以氧氟沙星、左氧氟沙星、莫西沙星作阳性对照,采用 K-B 纸片扩散法测试了目标化合物对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* Rosenbach)、大肠埃希菌(*Escherichia coli*)和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)的抑菌活性。结果表明, (E)-1-[4-(4-肉桂酸甲酯甲基哌嗪基)苯基]-3-(噻吩-2-基)丙-2-烯酮(**4b**)和 (E)-1-[4-[4-(2-氧亚基苯乙基)哌嗪基]苯基]-3-(噻吩-2-基)丙-2-烯酮(**4e**)对枯草芽孢杆菌高度敏感,且最低抑菌浓度为 4.0 $\mu\text{g/mL}$ 。

关键词 噻吩; 查尔酮; 抗菌活性; 最低抑菌浓度

Synthesis and Antibacterial Activity of Thienyl Chalcone Derivatives Bearing Piperazine Moiety

Li, Yongkun[†] Tang, Yanling[†] Li, Minxin Yang, Xiaobi Gao, Hui Mao, Zewei*

(College of Pharmaceutical Science, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500)

Abstract Chalcone derivatives are a kind of 1,3-diphenylacrylketone compounds with a broad range of biological activities. A series of new thienyl chalcone derivatives bearing piperazine moiety have been designed and prepared based on the principle of bioisosteres and molecular hybridization. Their antibacterial activities against *Staphylococcus aureus* Rosenbach, *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* were evaluated. The results showed that thienyl chalcone derivatives exhibited good selective inhibitory activities against the three tested strains, respectively. Especially, (E)-1-[4-(4-methylcinnamatemethylpiperazinyl)phenyl]-3-(thien-2-yl)propyl-2-ketene (**4b**) and (E)-1-[4-[4-(2-oxophenethyl)piperazinyl]phenyl]-3-(thien-2-yl)propyl-2-ketene (**4e**) were found to be very sensitive to *Bacillus subtilis*, and the minimum inhibitory concentration (MIC) is 4.0 $\mu\text{g/mL}$ against *Bacillus subtilis*.

Keywords thiophene; chalcone; antibacterial activity; MIC

在人类发现利用抗菌药物以前,感染性疾病严重威胁着人类的生命健康,如手术感染、伤寒、痢疾和结核病等。自青霉素被发现和利用以来,以青霉素为代表的抗菌药为人类健康立下了巨大的贡献。目前临床常用抗菌药包括 β -内酰胺类、大环内酯类、喹诺酮类、糖肽类等。随着抗生素在临床上的广泛使用,滥用现象和耐药性问题日益突出,从而导致抗生素的疗效下降,甚至出现了“超级细菌”^[1]。目前,世界卫生组织已将细菌耐药性作为 21 世纪最大的公共卫生安全问题之一。因此,迫切需要开发针对耐药菌株以及具有全新抗菌作用的新

型抗菌药物^[2]。

查尔酮衍生物广泛存在于甘草、明日叶、虎杖、红花等多种药用植物中^[3~5]。查尔酮含有独特的 α,β -不饱和酮结构,可与多种受体结合,表现出广泛的生物活性,如抗肿瘤、抗炎、抗菌、抗氧化和抗病毒等^[6~8]。迄今已有多种查尔酮类化合物作为候选药物用于临床研究,如利胆药甲氧查尔酮^[9]和抗溃疡病药索法酮^[10],治疗静脉舒张的橙皮苷甲基查尔酮和橙皮苷三甲基查尔酮(图 1)^[11]。基于查尔酮类化合物独特的分子结构及其高效、低毒的药理特性,使其在药物研发方面具有广阔的应用

* Corresponding author. E-mail: maozw@ynutcm.edu.cn

Received June 13, 2019; revised August 16, 2019; published online September 13, 2019.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81560620) and the Yunnan Provincial Science and Technology Department-Applied Basic Research Joint Special Funds of Yunnan University of Chinese Medicine (No. 2017FF117(-023)).

国家自然科学基金(No. 81560620)和云南省科技厅-云南中医药大学应用基础研究联合专项(No. 2017FF117(-023))资助项目。

[†] 共同第一作者(These authors contributed equally to this work).

前景^[12,13].

图1 查尔酮类候选药物
Figure 1 Candidate drugs of chalcones

杂环化合物是许多活性天然产物的基本结构单元, 如维生素B类都有含氮的芳杂环, 维生素P含有吡喃环, 罂粟碱和黄连素都含有异喹啉环等. 查尔酮分子结构中含有A、B两个苯环, 根据生物电子等排法的药物设计原理, 将芳杂环替换苯环后可能得到具有更优生理活性的化合物. 郑昌吉等^[14]设计合成了一系列噻吩、呋喃和喹啉查尔酮衍生物, 药理实验发现该类化合物对变异链球菌具有较好的抑菌活性(Scheme 1, A). 张恩等^[15]对含阳离子的噻吩、呋喃和吡啶查尔酮类衍生物进行了构效关系研究, 发现此类化合物对金黄色葡萄球菌、肠球菌、大肠埃希菌、肠沙门氏菌和耐甲氧西林金黄色葡萄球菌均表现出很好的抗菌活性(Scheme 1, B).

图式1 噻吩查尔酮衍生物的设计策略
Scheme 1 Synthetic strategy of thienyl chalcone derivatives

N-芳基哌嗪片段因其良好的生物活性和毒性低等特点, 常作为活性单元用于药物分子设计. 临床上很多药物含有该片段, 最具代表性的是喹诺酮类抗菌药, 如环丙沙星(C)和氧氟沙星(D) (Scheme 1). 在前期研究中, 我们对含N-芳基哌嗪取代的类天然产物进行了构效关系研究. 结果发现, 在苯并呋喃、查尔酮和二苯乙烯等类天然产物分子中引入N-芳基哌嗪后, 其生物活性均有明显提高^[16~19]. 此外, 对哌嗪取代的呋喃查尔酮衍生物进行了研究, 发现该类化合物具有很好的细胞毒活性和抗炎活性^[20,21]. 基于此, 我们采用生物电子等排体和活性亚结构拼合原理, 将哌嗪单元引入到噻吩查尔酮分子中, 以期得到表现出更优生物活性的先导化合物.

本研究以哌嗪和4-氟苯乙酮为原料, 经取代反应得到4-哌嗪苯乙酮(1)后, 再与2-噻吩甲醛经羟醛缩合反应生成关键中间体哌嗪取代噻吩查尔酮(2), 最后对NH进行衍生化, 合成得到了16个未见文献报道的衍生物3~5 (Scheme 2, 表1), 其结构经¹H NMR、¹³C NMR和HRMS表征. 以氧氟沙星、左氧氟沙星、莫西沙星为阳性对照, 采用K-B纸片扩散法测试了衍生物对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* Rosenbach)、大肠埃希菌(*Escherichia coli*)和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)的抑菌活性, 为该类化合物构效关系研究提供了依据.

图式2 噻吩查尔酮衍生物的合成
Scheme 2 Synthesis of thienyl chalcone derivatives

1 结果与讨论

1.1 目标化合物的合成

目标化合物3~5的合成路线如Scheme 2所示. 最

表 1 目标化合物的结构
Table 1 Structures of title compounds

Compd.	R	Yield/%
3a	CH ₃	89
3b	ClCH ₂	77
3c	ClCH ₂ CH ₂	82
3d	CH ₂ =CH	74
3e	CH ₂ =C(CH ₃)	83
4a		86
4b		78
4c		80
4d		82
4e		70
4f		75
5a		83
5b		79
5c		71
5d		82
5e		72

初我们参考前期研究^[22]对中间体 **2** 进行合成, 发现收率较低. 随后调整了合成思路, 哌嗪和 4-氟苯乙酰经取代反应生成 4-哌嗪苯乙酰(**1**), 再与 2-噻吩甲醛经羟醛缩合生成哌嗪取代噻吩查尔酮(**2**), 最后对 NH 进行衍生化. 所有反应条件均很温和, 且反应收率理想.

1.2 抗菌活性

以氧氟沙星、左氧氟沙星、莫西沙星为阳性对照药, 采用 K-B 纸片扩散法测试了新合成化合物的抑菌圈^[19], 定性评价化合物的抑菌活性. 供试菌株为金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus* Rosenbach)、大肠埃希菌 (*Escherichia coli*) 和枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*). 测试结果见表 2.

除阳性对照药物以外, 目标化合物的 100 倍稀释及 1000 倍稀释后的抑菌圈均小于 7 mm. 按照药理学试验方法, 表 2 试验结果显示, 2.5 mg/mL 的 **3a**、**4f**、**5e** 均同时对金黄色葡萄球菌及枯草芽孢杆菌中度敏感, 有较强的抑菌活性; **4a**、**4f**、**5a**、**5b** 和 **5d** 均同时对枯草芽孢杆菌及大肠埃希菌中度敏感, 抑菌活性较强; **3b**、**3d** 仅对枯草芽孢杆菌中度敏感, 抑菌活性较强; **4b** 及 **4e** 均对枯草芽孢杆菌高度敏感, 抑菌活性很强; **4e** 具备广谱抗菌活性, 不但对枯草芽孢杆菌抑制能力很强, 同时对金黄色葡萄球菌及大肠埃希菌均有较强的抑菌活性. 整体来看, 本系列化合物对枯草芽孢杆菌均有较好的抑菌活性, 这可能与母体结构有关.

随后, 测试了抑菌活性较好的 11 个化合物的最低抑菌浓度(MIC)^[23], 结果见表 3. 试验结果表明, 化合物 **3a**、**3b**、**3d**、**4a**、**4b**、**4e**、**4f**、**5a**、**5b**、**5d** 和 **5e** 11 个化合物对枯草芽孢杆菌的抑菌能力很强, 其中 **4b** 和 **4e** 的最低抑菌浓度仅为 4.0 μg/mL, 显示出很强的抑菌活性. 化合物 **3a**、**4e**、**5e** 对金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度均为 64 μg/mL, **4f** 对金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度为 32 μg/mL, 显示出较强的抑菌能力; 化合物 **4e**、**5a** 和 **5d** 对大肠埃希菌的最低抑菌浓度分别为 32、32、16 μg/mL, 抑菌能力也较强.

2 结论

本文采用生物电子等排体和活性亚结构单元拼接原理, 设计合成了 16 个未见文献报道的新型哌嗪取代噻吩查尔酮衍生物 **3~5**, 并对其结构进行了表征. 采用 K-B 纸片扩散法测试了目标化合物的抗菌活性和最低抑菌浓度. 结果显示, 该类化合物具有较好的抑菌活性, 且化合物 **4b** 和 **4e** 对枯草芽孢杆菌最低抑菌浓度为 4.0 μg/mL.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

Bruker AM 400 核磁共振波谱仪, TMS 为内标; AutoSpec Premier P776 型双聚焦三扇型磁质谱仪; YXQ-LS-50S II 型立式压力灭菌器; CHA-S 型气浴恒温振荡器; MGC-250 型光照培养箱. 所有试剂和溶剂均为市售分析纯, 乙腈和二氯甲烷使用前经干燥处理.

3.2 化合物合成

3.2.1 4-哌嗪基苯乙酰(**1**)的合成

取 4-氟苯乙酰(2.76 g, 20 mmol)和无水哌嗪(3.44 g, 40 mmol)放于 100 mL 圆底烧瓶中, 加入 60 mL 干燥乙腈溶解, 再加入无水碳酸钾(5.52 g, 40 mmol), 并在油浴

表 2 在不同浓度下化合物的抑菌圈直径(mm)

Table 2 Inhibition zone diameters (mm) of compounds with different concentrations

化合物	金黄色葡萄球菌		枯草芽孢杆菌		大肠埃希菌	
	2.5 mg/mL	0.25 mg/mL	2.5 mg/mL	0.25 mg/mL	2.5 mg/mL	0.25 mg/mL
2	9.6	6.7	8.9	7.1	8.4	6.7
3a	12.6	7.5	13.8	7.9	8.1	—
3b	8.2	—	13.4	8.1	9.7	7.2
3c	—	—	8.5	6.6	9.2	7.1
3d	—	—	11.9	7.6	8.6	6.8
3e	—	—	9.8	7.0	8.1	—
4a	8.0	6.6	13.1	8.2	10.4	8.2
4b	9.4	7.1	18.4	9.3	9.9	8.7
4c	7.6	—	9.6	7.0	10.1	7.2
4d	—	—	9.7	7.5	8.4	6.8
4e	11.9	7.9	19.0	9.4	11.3	7.6
4f	13.7	8.2	14.1	7.7	10.4	7.8
5a	9.5	6.9	12.8	7.0	11.8	7.1
5b	8.6	—	11.5	7.9	10.6	7.6
5c	9.7	6.9	9.0	7.4	10.7	7.5
5d	9.6	7.0	12.6	7.7	13.1	8.3
5e	12.9	7.2	12.8	8.1	9.7	7.0
Ofloxacin	35.1	24.9	45.3	31.2	42.6	30.2
Levofloxacin	38.2	26.4	47.8	34.5	46.8	32.7
Moxifloxacin	39.7	29.5	44.6	32.9	44.1	31.8

注: “—”号表示无抑菌圈。

表 3 部分化合物的 MIC 值($\mu\text{g/mL}$)^aTable 3 MIC of some compounds ($\mu\text{g/mL}$)

化合物	金黄色葡萄球菌	枯草芽孢杆菌	大肠埃希菌
3a	64	16	—
3b	—	16	—
3d	—	32	—
4a	—	16	—
4b	—	4.0	—
4e	64	4.0	32
4f	32	16	—
5a	—	32	32
5b	—	32	—
5e	64	32	—
5d	—	32	16
Ofloxacin	0.50	0.25	0.063
Levofloxacin	0.25	0.13	0.031
Moxifloxacin	0.063	0.25	0.031

^a “—”表示此次试验未发现最低抑菌浓度。

上加热回流 12 h. 薄层色谱(TLC)检测反应完成后, 将反应物倒入 200 mL 冰水中搅拌 10 min, 有大量固体析出. 抽滤, 固体用水洗涤(50 mL $\times$ 3), 真空干燥得到淡黄色固体. 粗产物不需纯化直接进行下一步反应.

3.2.2 (*E*)-1-(4-哌嗪基苯基)-3-(噻吩-2-基)丙-2-烯酮(2)的合成

称取上述制备的化合物 1 (2.04 g, 10 mmol)和 2-噻吩甲醛(1.12 g, 10 mmol)放于 100 mL 圆底烧瓶中, 再加入 30 mL 甲醇溶解, 在冰水浴下分批加入 3 g 氢氧化钾固体. 继续反应 5 h, 并自然升至室温. TLC 检测反应完

成后, 加入 60 mL 冷水, 并用二氯甲烷(DCM)萃取(20 mL $\times$ 3). 有机相用无水硫酸镁干燥后过滤, 真空浓缩. 残余物经 50%乙醇水溶液重结晶得到黄色固体. 无需进一步纯化, 直接进行下一步反应.

3.2.3 目标产物 3~5 的合成

称取 90 mg (0.3 mmol)化合物 2 放于 25 mL 圆底烧瓶中, 依次加入 10 mL 无水 DCM, 138 mg (1 mmol) K_2CO_3 和 0.5 mmol 卤代物, 于室温下反应 3~12 h. TLC 检测反应完成后, 加 10 mL 5% NaOH 水溶液搅拌 30 min. DCM 萃取(10 mL $\times$ 3), 有机相经无水硫酸钠干燥后真空浓缩, 残余物经柱层析(以 2% $\text{CH}_3\text{OH}/\text{DCM}$ 为洗脱剂)分离得到目标化合物.

(*E*)-1-[4-(4-乙酰基哌嗪基)苯基]-3-(噻吩-2-基)丙-2-烯酮(3a): ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.98 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 7.92 (d, $J=15.3$ Hz, 1H), 7.38 (d, $J=5.2$ Hz, 1H), 7.35 (d, $J=15.2$ Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.05~7.07 (dd, $J=3.6, 3.7$ Hz, 1H), 6.90 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 3.78 (t, $J=5.0$ Hz, 2H), 3.64 (t, $J=4.8$ Hz, 2H), 3.40 (t, $J=5.4$ Hz, 2H), 3.36 (t, $J=5.4$ Hz, 2H), 2.13 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 187.54, 169.19, 153.69, 140.81, 135.94, 131.56, 130.66, 128.96, 128.35, 128.31, 120.84, 113.98, 47.56, 47.34, 45.81, 41.00, 21.38; HRMS-ESI calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ 340.1245, found 340.1240.

(*E*)-1-[4-(4-氯乙酰基哌嗪基)苯基]-3-(噻吩-2-基)丙-2-烯酮(3b): ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.97(d, $J=9.0$

Hz, 2H), 7.91 (d, $J=15.3$ Hz, 1H), 7.38 (d, $J=5.1$ Hz, 1H), 7.34 (d, $J=15.2$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J=3.5$ Hz, 1H), 7.06 (dd, $J=3.7, 3.6$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 4.10 (s, 2H), 3.76 (s, 2H), 3.67 (s, 2H), 3.42 (s, 2H), 3.36 (s, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 187.50, 165.29, 153.52, 140.72, 135.97, 131.60, 130.61, 129.10, 128.36, 120.74, 114.11, 47.56, 47.14, 45.72, 41.75, 40.83; HRMS-ESI calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_2\text{SCl}$ 374.0856, found 374.0851.

(*E*)-1-[4-(4-氯丙酰基哌嗪基)苯基]-3-(噻吩-2-基)丙-2-烯酮(**3c**): ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.96 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.91 (d, $J=15.2$ Hz, 1H), 7.37 (d, $J=5.0$ Hz, 1H), 7.33 (d, $J=15.0$ Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.05 (dd, $J=3.8, 3.6$ Hz, 1H), 6.88 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 3.85 (t, $J=7.0$ Hz, 2H), 3.77 (t, $J=4.7$ Hz, 2H), 3.62 (t, $J=4.7$ Hz, 2H), 3.33~3.39 (m, 4H), 2.84 (t, $J=6.8$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 187.43, 168.33, 153.53, 140.71, 135.89, 131.55, 130.59, 128.92, 128.33, 120.74, 113.93, 47.42, 47.23, 44.95, 41.19, 39.89, 36.00; HRMS-ESI calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_2\text{SCl}$ 388.1012, found 388.1008.

(*E*)-1-[4-(4-丙烯酰基哌嗪基)苯基]-3-(噻吩-2-基)丙-2-烯酮(**3d**): ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.96 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 7.90 (d, $J=15.3$ Hz, 1H), 7.29~7.37 (m, 3H), 7.03~7.06 (m, 1H), 6.87 (d, $J=7.3$ Hz, 2H), 6.53~6.60 (m, 1H), 6.29~6.34 (m, 1H), 5.73 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 3.81 (s, 2H), 3.70 (s, 2H), 3.38 (t, $J=3.8$ Hz, 4H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 187.47, 165.53, 153.57, 140.72, 135.88, 131.52, 130.61, 128.83, 128.71, 128.52, 128.31, 128.30, 127.15, 120.75, 113.86, 47.48, 47.18, 45.22, 45.00, 41.45; HRMS-ESI calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ 352.1245, found 352.1238.

(*E*)-1-[4-(4-异丁烯酰基哌嗪基)苯基]-3-(噻吩-2-基)丙-2-烯酮(**3e**): ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.96 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.91 (d, $J=15.3$ Hz, 1H), 7.37 (d, $J=5.1$ Hz, 1H), 7.37 (d, $J=15.3$ Hz, 1H), 7.05 (dd, $J=3.7, 3.7$ Hz, 1H), 6.90 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 5.23 (s, 1H), 5.06 (s, 1H), 3.72 (s, 4H), 3.34 (s, 4H), 1.96 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 187.48, 171.29, 153.73, 140.73, 140.07, 135.90, 131.52, 130.59, 129.01, 128.32, 128.29, 120.76, 116.07, 114.13, 47.71, 20.51; HRMS-ESI calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ 366.1402, found 366.1401.

(*E*)-1-[4-[4-(2-乙氧基-2-氧亚基乙基)哌嗪基]苯基]-3-(噻吩-2-基)丙-2-烯酮(**4a**): ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.98 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 7.92 (d, $J=15.3$ Hz, 1H), 7.31~7.38 (m, 3H), 7.07 (dd, $J=3.6, 3.7$ Hz, 1H),

6.91 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 4.23 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 3.44 (t, $J=5.0$ Hz, 4H), 3.27 (s, 2H), 2.75 (t, $J=5.1$ Hz, 4H), 1.30 (t, $J=7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 187.58, 170.18, 154.14, 140.98, 135.74, 131.43, 130.69, 128.42, 128.33, 128.17, 121.06, 113.75, 60.87, 59.44, 52.69, 47.35, 14.37; HRMS-ESI calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ 384.1508, found 384.1502.

(*E*)-1-[4-(4-肉桂酸甲酯甲基哌嗪基)苯基]-3-(噻吩-2-基)丙-2-烯酮(**4b**): ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.97 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 7.92 (d, $J=15.3$ Hz, 1H), 7.71 (d, $J=16.0$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 7.30~7.38 (m, 5H), 7.06 (dd, $J=3.7, 3.6$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 6.45 (d, $J=16.0$ Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.56 (s, 2H), 3.38 (t, $J=5.0$ Hz, 4H), 3.59 (t, $J=5.0$ Hz, 4H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 187.43, 167.51, 154.18, 144.62, 140.92, 140.62, 135.62, 133.53, 131.36, 130.63, 129.62, 128.30, 128.18, 128.12, 121.00, 117.64, 113.58, 62.63, 52.81, 51.75, 47.38; HRMS-ESI calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_3\text{SNa}$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$ 495.1718, found 495.1713.

(*E*)-1-[4-[4-(4-三氟甲基苄基)哌嗪基]苯基]-3-(噻吩-2-基)丙-2-烯酮(**4c**): ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.98 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 7.94 (d, $J=15.3$ Hz, 1H), 7.61 (d, $J=8.1$ Hz, 2H), 7.49 (d, $J=8.0$ Hz, 2H), 7.32~7.38 (m, 3H), 7.07 (dd, $J=3.6, 3.6$ Hz, 1H), 6.91 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 3.61 (s, 2H), 3.40 (t, $J=5.0$ Hz, 4H), 2.61 (t, $J=5.1$ Hz, 4H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 187.53, 124.21, 142.31, 140.97, 135.72, 131.44, 130.68, 129.31, 128.35, 128.17, 125.42, 125.38, 125.35, 121.04, 113.67, 62.47, 52.87, 47.45; HRMS-ESI calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{F}_3\text{N}_2\text{OS}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 457.1561, found 457.1560.

(*E*)-1-[4-[4-(4-氰基苄基)哌嗪基]苯基]-3-(噻吩-2-基)丙-2-烯酮(**4d**): ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.97 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 7.92 (d, $J=15.3$ Hz, 1H), 7.62 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.48 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.31~7.37 (m, 3H), 7.06 (dd, $J=3.6, 3.6$ Hz, 1H), 6.90 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 3.59 (s, 2H), 3.38 (t, $J=5.0$ Hz, 4H), 2.59 (t, $J=5.0$ Hz, 4H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 187.43, 154.09, 143.88, 140.87, 135.68, 132.26, 131.43, 130.62, 129.55, 128.32, 128.18, 120.92, 113.63, 62.38, 52.83, 47.37; HRMS-ESI calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{OSNa}$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$ 436.1460, found 436.1454.

(*E*)-1-[4-[4-(2-氧亚基苯乙基)哌嗪基]苯基]-3-(噻吩-2-基)丙-2-烯酮(**4e**): ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.02 (d, $J=7.1$ Hz, 2H), 7.99 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 7.93 (d, $J=15.2$ Hz, 1H), 7.58 (d, $J=7.4$ Hz, 1H), 7.49 (d, $J=15.2$

Hz, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.32~7.38 (m, 3H), 7.07 (dd, $J=3.6, 3.6$ Hz, 1H), 6.93 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 3.89 (s, 2H), 3.47 (t, $J=5.0$ Hz, 4H), 2.77 (t, $J=5.1$ Hz, 4H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 196.20, 187.58, 154.17, 140.98, 135.74, 133.54, 131.43, 130.70, 128.76, 128.41, 128.34, 128.25, 128.17, 121.07, 113.73, 64.37, 53.23, 47.37; HRMS-ESI calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2\text{SNa}$ ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$ 439.1456, found 439.1459.

(*E*)-1-[4-[4-(4'-氟-2-氧亚基苯乙基)哌嗪基]苯基]-3-(噻吩-2-基)丙-2-烯酮(**4f**): ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.05~8.12 (m, 2H), 7.96~8.01 (m, 2H), 7.93 (d, $J=15.2$ Hz, 1H), 7.32~7.40 (m, 3H), 7.07~7.19 (m, 3H), 6.93 (dd, $J=9.0, 8.9$ Hz, 2H), 3.87 (s, 1H), 3.84 (s, 1H), 3.46 (s, 4H), 2.77 (s, 4H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 194.76, 187.55, 167.27, 164.73, 154.11, 140.94, 135.76, 132.46, 131.43, 131.09, 131.00, 130.67, 128.46, 128.33, 128.19, 121.03, 115.95, 115.74, 113.74, 114.50, 53.17, 47.36; HRMS-ESI calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{FN}_2\text{O}_2\text{S}$ ($\text{M} + \text{H}$) $^+$ 435.1543, found 435.1538.

(*E*)-1-[4-[4-(4-甲基苯磺酰基)哌嗪基]苯基]-3-(噻吩-2-基)丙-2-烯酮(**5a**): ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.87 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 7.85 (d, $J=15.3$ Hz, 1H), 7.60 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 7.22~7.31 (m, 5H), 7.00 (dd, $J=3.6, 3.7$ Hz, 1H), 6.79 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 3.38 (t, $J=4.9$ Hz, 4H), 3.09 (t, $J=5.2$ Hz, 4H), 2.35 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 187.63, 153.47, 144.17, 140.83, 136.10, 132.50, 131.63, 130.65, 129.95, 129.33, 128.39, 128.37, 127.98, 120.83, 114.40, 47.39, 45.81, 21.65; HRMS-ESI calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}_2\text{Na}$ ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$ 475.1126, found 475.1122.

(*E*)-1-[4-[4-(4-氟苯磺酰基)哌嗪基]苯基]-3-(噻吩-2-基)丙-2-烯酮(**5b**): ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.94 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.91 (d, $J=15.4$ Hz, 1H), 7.81 (d, $J=5.1$ Hz, 1H), 7.78 (d, $J=5.0$ Hz, 1H), 7.39 (d, $J=5.0$ Hz, 1H), 7.33 (s, 1H), 7.31 (d, $J=13.2$ Hz, 1H), 7.24 (t, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.07 (dd, $J=3.9, 3.9$ Hz, 1H), 6.86 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 3.44 (t, $J=4.8$ Hz, 4H), 3.17 (t, $J=5.2$ Hz, 4H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 187.50, 166.72, 164.17, 153.35, 140.71, 136.03, 131.61, 130.60, 130.51, 129.35, 128.36, 120.72, 116.69, 116.47, 114.43, 47.31, 45.71; HRMS-ESI calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{FN}_2\text{O}_3\text{S}_2\text{Na}$ ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$ 479.0875, found 479.0873.

(*E*)-1-[4-[4-(4-溴苯磺酰基)哌嗪基]苯基]-3-(噻吩-2-基)丙-2-烯酮(**5c**): ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.88 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 7.85 (d, $J=15.3$ Hz, 1H), 7.63 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.58 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.32 (d, $J=5.1$ Hz,

1H), 7.26 (s, 1H), 7.25 (d, $J=15.2$ Hz, 1H), 7.00 (dd, $J=3.6, 3.6$ Hz, 1H), 6.79 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 3.38 (t, $J=4.8$ Hz, 4), 3.10 (t, $J=5.0$ Hz, 4H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 187.62, 153.38, 140.79, 136.16, 132.67, 131.71, 130.65, 129.50, 129.37, 128.41, 120.76, 114.64, 47.43, 45.76; HRMS-ESI calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{BrN}_2\text{O}_3\text{S}_2\text{Na}$ ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$ 539.0075, found 539.0080.

(*E*)-1-[4-[4-(4-三氟甲氧基苯磺酰基)哌嗪基]苯基]-3-(噻吩-2-基)丙-2-烯酮(**5d**): ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.95 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 7.92 (d, $J=15.3$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.38 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 7.33 (d, $J=15.2$ Hz, 1H), 7.07 (dd, $J=3.6, 3.7$ Hz, 1H), 6.87 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 3.45 (t, $J=4.9$ Hz, 4H), 3.18 (t, $J=5.1$ Hz, 4H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 187.51, 153.36, 152.56, 140.71, 136.06, 134.01, 131.64, 130.58, 130.00, 129.44, 128.38, 121.08, 120.71, 114.49, 47.36, 45.73; HRMS-ESI calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2\text{Na}$ ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$ 545.0793, found 545.0787.

(*E*)-1-[4-[4-(4-三氟甲基苯磺酰基)哌嗪基]苯基]-3-(噻吩-2-基)丙-2-烯酮(**5e**): ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.88 (d, $J=9.0$ Hz, 4H), 7.85 (d, $J=15.4$ Hz, 1H), 7.76 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.32 (d, $J=5.1$ Hz, 1H), 7.30 (s, 2H), 7.25 (d, $J=15.3$ Hz, 1H), 7.00 (dd, $J=3.6, 3.6$ Hz, 1H), 6.80 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 3.39 (t, $J=4.8$ Hz, 4H), 3.15 (t, $J=5.2$ Hz, 4H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 187.65, 153.37, 140.78, 136.21, 131.72, 130.65, 129.65, 128.42, 128.40, 126.54, 126.51, 120.76, 114.62, 47.52, 45.78; HRMS-ESI calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_3\text{S}_2\text{Na}$ ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$ 529.0843, found 529.0841.

3.3 抗菌活性测试

供试菌经接种活化, 制得菌悬液. 按美国临床实验室标准化协会(CLSI) M02-A12规定的试验方法, 用K-B纸片扩散法测试样品的抑菌圈, 并按 CLSI M07-A10规定, 用琼脂稀释法测试最低抑菌浓度, 并按 CLSI M100-S28规定进行质量监控.

3.3.1 菌种活化及菌悬液的制备

按照 CLSI 实验方法, 配制 Mueller-Hinton (MH) 琼脂培养基, 高压蒸汽灭菌后, 倒入灭菌后的 9 cm 平板. 用划线法在其上接种供试菌, 放入电热恒温培养箱中, 在 35 °C 下倒置培养 20 h. 用接种环挑取数个平板上形态相同的菌落, 接种至已灭菌的 M-H 肉汤中, 于恒温摇床中 35 °C 下培养 8 h. 稀释菌悬液至 0.5 麦氏浊度备用.

3.3.2 抑菌圈测试

配制 2.5 mg/mL 样品溶液, 对倍稀释法制备稀释 10 倍、100 倍、1000 倍的样品溶液, 将灭过菌的专用药敏

纸片(直径 6.35 mm, 吸水量 20 μL)分别放入不同浓度的样品溶液中浸泡 2 h. 按 CLSI M02-12 规定方法, 将菌悬液均匀涂布于 9 cm 固体培养基平板上, 用无菌镊子粘贴含药纸片. 在 35 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养 18 h, 然后采用游标卡尺十字交叉法测量抑菌圈直径, 同时以氧氟沙星、左氧氟沙星、莫西沙星浸泡纸片作阳性对照, 以生理盐水浸泡纸片作空白对照. 试验平行测定 3 次, 取 3 次试验的平均值.

采用金黄色葡萄球菌 ATCC25923、大肠埃希菌 ATCC25922 对抑菌圈试验结果进行质控监测.

3.3.3 最低抑菌浓度的测试

将样品溶液依次 2 倍稀释, 配制稀释 2 倍、4 倍、8 倍等共 10 个梯度浓度的样品溶液. 按 CLSI M07-A10 规定操作方法, 将已稀释的化合物溶液按 1:9 与 48 $^{\circ}\text{C}$ 水浴平衡融化的 MH 琼脂(高压蒸汽灭菌)均匀混合, 倒板冷却后, 将 0.5 麦氏浊度菌悬液稀释 10 倍, 以多头接种器(分配量为 2 μL)吸取稀释后的菌悬液, 接种于琼脂表面, 35 $^{\circ}\text{C}$ 下倒置培养 20 h. 将平板置于暗色无反光表面判断试验终点, 记录菌株刚好不能生长对应的样品溶液浓度, 即为最低抑菌浓度(MIC). 试验平行测定 3 次, 取 3 次试验的平均值.

采用金黄色葡萄球菌 ATCC29213, 大肠埃希菌 ATCC25922 对 MIC 试验结果进行质控监测.

辅助材料(Supporting Information) 所有合成化合物的 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 及 HRMS 谱图. 这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载.

References

- [1] Davies, J.; Davies, D. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2010**, *74*, 417.
- [2] Gao, F.; Wang, T. F.; Xiao, J. Q.; Huang, G. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *173*, 274.
- [3] Aoki, N.; Muko, M.; Ohta, E.; Ohta, S. *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 1308.
- [4] Zhang, G. P. *Ph.D. Dissertation*, Guizhou University, Guiyang, **2017** (in Chinese).
(张国平, 博士论文, 贵州大学, 贵阳, **2017**.)
- [5] Li, Z. C.; Wang, L. P.; Zhong, J. Y.; Guo, P. Z. *Food Nutr. China* **2016**, *22*, 68 (in Chinese).
- [6] Sheng, Q. W.; Zhao, W. Q.; Zeng, M.; Xie, Z. P.; Xia, Y. P.; Cui, D. M. *Chin. J. Org. Chem.* **2019**, *39*, 703 (in Chinese).
(盛琦威, 赵婉秋, 曾明, 谢中袍, 夏雅平, 崔冬梅, 有机化学, **2019**, *39*, 703.)
- [7] Yan, Y. K.; Xu, Q.; Gao, Y.; Liu, H.; Tang, X. R. *Chin. J. Org. Chem.* **2018**, *38*, 1763 (in Chinese).
(严映坤, 徐侨, 高扬, 刘辉, 唐孝荣, 有机化学, **2018**, *38*, 1763.)
- [8] Fu, Y.; Sheng, L.; Gao, L. X.; Li, J.; Sun, L. P. *Chin. J. Org. Chem.* **2019**, *39*, 1029 (in Chinese).
(付洋, 盛丽, 高立信, 李佳, 孙良鹏, 有机化学, **2019**, *39*, 1029.)
- [9] Dong, L. P. *M.S. Thesis*, Hunan University, Changsha, **2016** (in Chinese).
(董林沛, 硕士论文, 湖南大学, 长沙, **2016**.)
- [10] Tanaka, T.; Nakamura, S.; Onda, K.; Tazaki, T.; Hirano, T. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2009**, *381*, 566.
- [11] Martinez, R. M.; Pinho-Ribeiro, F. A.; Steffen, V. S.; Caviglione, C. V.; Vignoli, J. A.; Baracat, M. M.; Georgetti, S. R.; Verri Jr, W. A.; Casagrande, R. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **2015**, *148*, 145.
- [12] Abou-Zied, H. A.; Youssif, B.; Mohamed, M.; Hayallah, A. M.; Abdel-Aziz, M. *Bioorg. Chem.* **2019**, *89*, 102997.
- [13] Xu, F. J.; Li, W. L.; Shuai, W.; Yang, L. M.; Bi, Y.; Ma, C.; Yao, H. Q.; Xu, S. T.; Zhu, Z. Y.; Xu, J. Y. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *173*, 1.
- [14] Zheng, C. J.; Jiang, S. M.; Chen, Z. H.; Ye, B. J.; Piao, H. R. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2011**, *344*, 689.
- [15] Chu, W. C.; Bai, P. Y.; Yang, Z. Q.; Cui, D. Y.; Hua, Y. G.; Yang, Y.; Yang, Q. Q.; Zhang, E.; Qin, S. S. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *143*, 905.
- [16] Ma, Y. L.; Zheng, X.; Zhu, P.; Liu, B.; Gao, H.; Mao, Z. W.; Zhang, L. J.; Wan, C. P. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2019**, *19*, 424.
- [17] Mao, Z. W.; Zheng, X.; Qi, Y.; Zhang, M. D.; Huang, Y.; Wan, C. P.; Rao, G. X. *RSC Adv.* **2016**, *6*, 7723.
- [18] Gao, H.; Zhang, X.; Pua, X. J.; Zheng, X.; Liu, B.; Rao, G. X.; Wan, C. P.; Mao, Z. W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2019**, *29*, 806.
- [19] Gao, H.; Zheng, X.; Zhu, P.; Wang, S.; Wan, C. P.; Rao, G. X.; Mao, Z. W. *Chin. J. Org. Chem.* **2018**, *38*, 684 (in Chinese).
- [20] Gao, H.; Zheng, X.; Wang, S.; Yang, L. L.; Mao, Z. W. *Chemistry* **2017**, *80*, 976 (in Chinese).
(高慧, 郑喜, 王斯, 杨林丽, 毛泽伟, 化学通报, **2017**, *80*, 976.)
- [21] Gao, H.; Wan, C. P.; Zhu, J. H.; Xia, Y. J.; Zhang, Y. J.; Mao, Z. W. *Chemistry* **2018**, *81*, 77 (in Chinese).
(高慧, 万春平, 朱加洪, 夏应娇, 张艳娇, 毛泽伟, 化学通报, **2018**, *81*, 77.)
- [22] Cen, K.; Qiu, C. N.; Xu, L. H.; Bao, W. W.; Chen, Q.; Wu, S. H. *Chin. J. Microecol.* **2019**, *31*, 466 (in Chinese).
(岑珂, 袁春宁, 徐丽慧, 鲍薇薇, 陈琼, 吴盛海, 中国微生物学杂志, **2019**, *31*, 466.)
- [23] Zhu, Q. Y.; Zhou, R. F.; Zhang, Q.; Qian, D. L.; Li, K. C.; Jiang, M. H. *Chin. J. Antibiot.* **2018**, *43*, 910 (in Chinese).
(朱钱迎, 周瑞芳, 张青, 钱定良, 李克诚, 江明华, 中国抗生素杂志, **2018**, *43*, 910.)

(Li, L.; Fan, Y.)