

吗啉磺酰胺化合物的设计、合成及其抑制大豆萌芽活性的研究

黄志友^a 杨平^a 何波^{*,b} 欧文霞^a 袁思雨^a^(a) 邵阳学院农林生态学院 湖南邵阳 422000^(b) 南京农业大学植物保护学院 农作物生物灾害综合治理教育部重点实验室 南京 210095

摘要 为了发现新型脱落酸功能类似物,采用活性亚结构拼接原理设计了含吗啉磺酰胺片段的目标分子.以吗啉-4-磺酰胺和氟代硝基苯为起始原料,经芳基亲核取代反应合成了14个目标化合物,该合成方法操作简单,底物适用范围广.种子萌芽实验结果表明,浓度为50 $\mu\text{mol/L}$ 时 **4a**~**4d**、**4k**、**4m**、**4n** 等7个化合物处理后完全抑制萌芽,25 $\mu\text{mol/L}$ 时 **4a**~**4d**、**4k**、**4m**、**4n** 等7个化合物处理后抑制率仍高于95%.进一步降低至15 $\mu\text{mol/L}$ 时,发现 **4m**、**4n** 的抑制活性高于 ABA 和先导化合物 **PM4**.分子对接结果表明,引入吗啉促使小分子中磺酰基(SO_2)与 Ser98 形成氢键,提高了结合受体的能力,所以 **4m** 和 **4n** 的打分函数高于 ABA 和 **PM4**,活性也更高.该结果有利于发现新型脱落酸功能类似物.

关键词 脱落酸功能类似物;吗啉磺酰胺化合物;抑制萌芽;芳基亲核取代反应

Design and Synthesis of Morpholine Sulfonamide Compound and Its Inhibition on Soybean Seed Germination

Huang, Zhiyou^a Yang, Ping^a He, Bo^{*,b} Ou, Wenxia^a Yuan, Siyu^a^(a) College of Agriculture Forestry Ecology, Shaoyang University, Shaoyang 422000^(b) Key Laboratory of Integrated Management of Crop Disease and Pests, Ministry of Education, College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095

Abstract In order to obtain novel abscisic acid analogues, morpholine-sulfonamide compound was designed under the principle of active substructure combination. 14 target compounds were obtained through aromatic nucleophilic substitution ($\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$) when fluoride nitrobenzene and morpholine-4-sulfonamide were used as starting materials. The approach represents simple operation and broad substrate scope. Additionally, the soybean seed germination was inhibited overwhelmingly when treated with compounds **4a**~**4d**, **4k**, **4m** and **4n** at 50 $\mu\text{mol/L}$. Furthermore, the inhibition activity of compounds **4a**~**4d**, **4k**, **4m** and **4n** was higher than 95% at 25 $\mu\text{mol/L}$. Finally, the activity of **4m** and **4n** was much higher than that of ABA and lead compound (**PM4**) at 15 $\mu\text{mol/L}$. Moreover, the molecular docking study revealed that **4m** and **4n** could bind abscisic acid receptor strongly than ABA and **PM4**. These results are benefit to discovering novel ABA analogues.

Keywords ABA functional analogue; morpholine sulfonamide; inhibition germination; aromatic nucleophilic substitution

脱落酸(图 1, ABA)在增强植物逆境耐受性方面发挥着至关重要的作用^[1-3],但是 ABA 对光不稳定、代谢易失活、合成难度大^[4-7].2009 年期刊 *Science* 上两篇研究论文证实了 ABA 受体^[8-10],随后也报道了 Pyrabactin 可特异性结合脱落酸受体发挥抑制种子萌发的活性^[11].因此基于受体发现新型脱落酸类似物成为了研究热点与难点.

2016 年段留生等以 Pyrabactin 为先导合成了一系列含氨基酸片段的化合物,部分抑制活性较优^[12].2019 年,

覃兆海等运用类同合成原理得到四氢萘酮磺酰胺类化合物,其中 5 个化合物在浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$ 时对莴苣和拟兰芥种子发芽的抑制率分别高于 40%、50%^[13].值得一提的是,前期我们基于 Pyrabactin 与脱落酸受体相互作用设计、合成了一系列联苯(磺)酰胺^[14-15]和硝基苯磺酰胺化合物(PMs),其中 PMs 分子中硝基苯胺片段能与受体形成多个氢键,结合受体能力强并能提高拟南芥抗逆性^[16-18].此外,吗啉环为脂肪杂环,分子柔性大,能促进小分子与受体相互作用,因此是一种重要的药效片

* Corresponding author. E-mail: 1046081380@qq.com

Received July 15, 2023; revised August 19, 2023; published online September 28, 2023.

Project supported by the Natural Science Foundation of Hunan Province Youth Project (No. 2021JJ40515) and the Scientific Research Fund of Hunan Provincial Education Department (No. 21B0677).

湖南省自然科学基金青年(No. 2021JJ40515)和湖南省教育厅优秀青年(No. 21B0677)资助项目.

段, 广泛存在于活性分子中(如抗疟疾、抗癌、抑菌、抗肿瘤, 已上市的杀菌剂氟吗啉等)^[19-24]. 综上, 为了获得结构新颖的、活性优良的脱落酸类似物, 本文保留硝基苯胺片段, 将吗啉片段替换苯环得到新型的吗啉磺酰胺化合物(**4**, 图 1), 并且以吗啉-4-磺酰胺(**5**)和氟代硝基苯(**6**)为原料, 经芳基亲核取代反应制备该化合物. 所得化合物均经过高分辨质谱、核磁共振氢谱和碳谱的确证, 研究发现 **4m**、**4n** 的抑制活性高于先导化合物, 并且引入吗啉促使小分子中磺酰基(SO₂)与 Ser98 形成氢键, 提高了结合受体的能力. 该结果有利于发现高活性的新型脱落酸功能类似物.

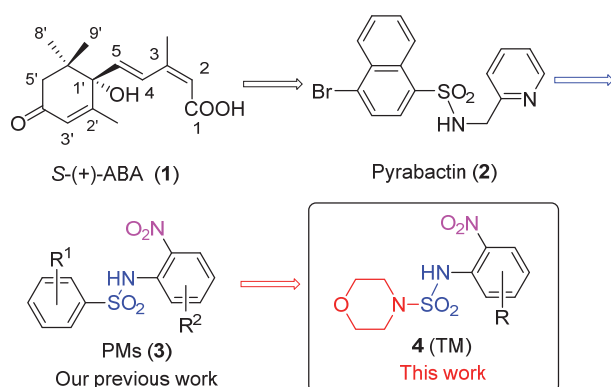


图 1 吗啉磺酰胺类化合物的设计策略
Figure 1 Design strategy for morpholine sulfonamide

1 结果与讨论

1.1 优化反应条件

文献调研发现合成方法主要有: (1)将苯并呋咱(A)开环并氯化得中间体 B, 再胺化得到目标化合物 **4a**, 但是氯化时会产生大量 HCl 气体, 需分离纯化中间体且耗

时长(图 2, 方法一)^[25]; (2) Pd(dba)₃ 与相应配体共同作用, 80 °C 反应 18 h 得化合物 **4a**, 该反应收率较低(42%), 需使用金属催化剂, 耗时较长(图 2, 方法二)^[26]. 因此, 我们设计了新合成策略(图 2, 方法三). 以吗啉-4-磺酰胺(**5**)和邻氟硝基苯(**6a**)为原料, 在缚酸剂作用下经芳基亲核取代反应, 成功地获得化合物 **4a**(表 1, Entry 1). 在此基础上延长反应时间有利于提高反应收率, 并且反应 12 和 14 h 后收率都达到 40% (Entries 3, 4). 为了进一步提高反应收率, 将反应温度由 80 °C 提高到 100 °C (Entries 3, 5~7), 收率先增加后降低, 其中 90 °C 反应 12 h 收率最高为 53% (Entry 6). 紧接着, 分别增加反应物 **5** (Entry 8) 或 **6a** (Entry 9) 的用量到 1.1 equiv., 发现收率并没有提高. 随后将缚酸剂替换为 Na₂CO₃、K₂CO₃ 和 Cs₂CO₃, 发现反应效果均不如 K₃PO₄ (Entries 6, 10~12). 最后, 考察了溶剂效应, 发现 *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)要优于 *N,N*-二甲基乙酰胺(DMAC)、1,4-二氧六环和乙腈(Entries 6, 13~15).

1.2 目标化合物 4 的合成

研究发现 1.0 equiv. 吗啉-4-磺酰胺(**5**)、1.0 equiv. 邻氟硝基苯(**6a**)、1.3 equiv. K₃PO₄ 在 DMF 溶剂中 90 °C 下反应 12 h 最优(表 1, Entry 6), 在此基础上进行底物拓展(表 2). 首先将 **6b**~**6h** 与 **5** 进行反应, 发现 4-位取代无论是甲基(**4b**)还是氰基(**4f**)、三氟甲基(**4g**)、硝基(**4h**)均能顺利获得相应目标化合物, 并且卤素取代也能顺利得到化合物 **4c**~**4e**, 收率高于 49%. 然后, 研究了取代基位置的影响, 将 **6i**~**6m** 与 **5** 进行反应也可以顺利合成 5-Cl (**4i**, 45%)、5-Br (**4j**, 48%) 和 5-CN (**4k**, 49%) 以及 6-NO₂ (**4l**, 46%) 和 6-F (**4m**, 43%). 最后, 可以 47% 的收率合成多取代的 **4n**.

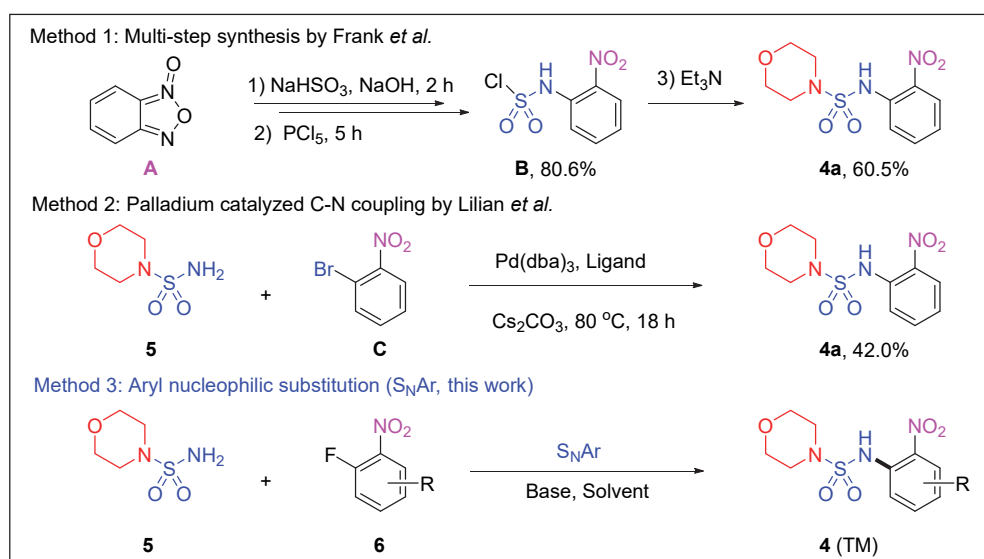
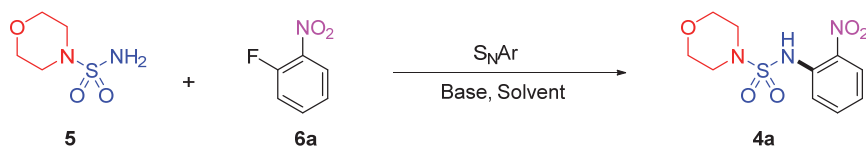


图 2 吗啉磺酰胺类化合物 **4** 的合成
Figure 2 Approach to morpholine sulfonamide compound **4**

表 1 优化芳基亲核取代反应^a

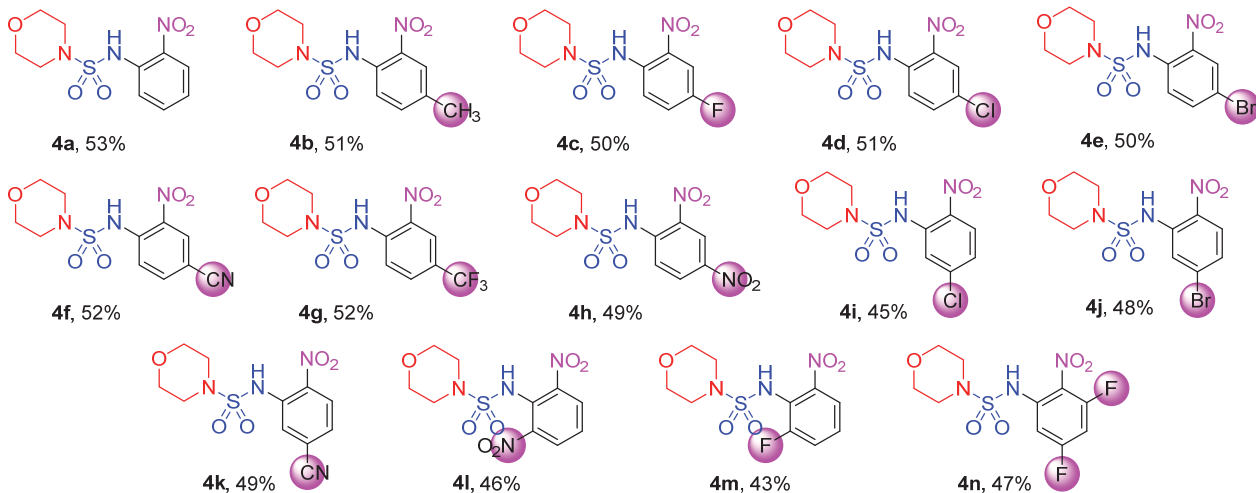
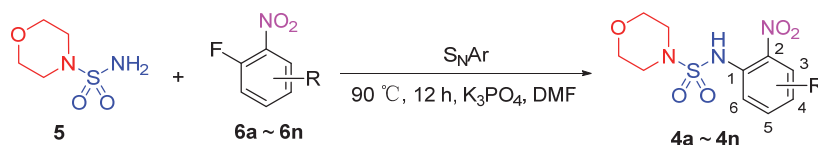
Table 1 Optimum of aromatic nucleophilic substitution



Entry	$T/^\circ\text{C}$	$n(5) : n(6a)$	t/h	Base	Solvent	Yield/%
1	80	1 : 1	4	K_3PO_4	DMF	18
2	80	1 : 1	8	K_3PO_4	DMF	33
3	80	1 : 1	12	K_3PO_4	DMF	40
4	80	1 : 1	14	K_3PO_4	DMF	40
5	85	1 : 1	12	K_3PO_4	DMF	47
6	90	1 : 1	12	K_3PO_4	DMF	53
7	100	1 : 1	12	K_3PO_4	DMF	50
8	90	1.1 : 1	12	K_3PO_4	DMF	53
9	90	1 : 1.1	12	K_3PO_4	DMF	53
10	90	1 : 1	12	Na_2CO_3	DMF	45
11	90	1 : 1	12	K_2CO_3	DMF	50
12	90	1 : 1	12	Cs_2CO_3	DMF	50
13	90	1 : 1	12	K_3PO_4	DMAc	51
14	90	1 : 1	12	K_3PO_4	1,4-Dioxane	48
15	90	1 : 1	12	K_3PO_4	CH_3CN	43

^a Reactions conditions: 5 1.0 mmol, base 1.3 mmol, solvent 10.0 mL.表 2 芳基亲核反应合成吗啉磺酰胺类化合物 4^a

Table 2 Aromatic nucleophilic substitution to morpholine sulfonamide 4

^a Reactions conditions: 5 1.0 mmol, 6 1.0 mmol, K_3PO_4 1.3 mmol, DMF 10.0 mL.

1.3 种子萌芽抑制实验及分子对接

研究了化合物 4a~4n 对大豆种子发芽的抑制活性, 统计第 2 天的结果(表 3)。结果表明, 50 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下, 4a~4h、4k、4m、4n 等 11 个化合物的萌芽抑制率高于 80%, 其中 4a~4d、4k、4m、4n 等 7 个化合物处理后

完全抑制萌芽。降低浓度至 25 $\mu\text{mol/L}$ 测试发现, 4a~4d、4k、4m、4n 等 7 个化合物处理后抑制率仍高于 95%。最后, 将该 7 个化合物的处理浓度降低至 15 $\mu\text{mol/L}$, 结果表明, 4a~4d 的抑制活性与 ABA 相近, 尤其是 4m、4n 的抑制活性高于 ABA 和先导化合物。综上, 可以发

现 4-位取代活性时甲基(**4b**)最高, 随后依次是 **4a** (H), **4c** (F), **4d** (Cl), **4g** (CF₃), **4f** (CN), **4e** (Br), **4h** (NO₂); 5-位取代活性 **4k** (CN) 高于 **4i** (Cl) 和 **4j** (Br); 6-位取代时, **4m** (F) 的抑制活性高于 **4l** (NO₂); 最后发现 **4n** (4,6-F₂) 的抑制活性仅次于 **4m**.

紧接着, 选取了 **4c**、**4f**、**4m**、**4n** 进行对接(图 3)^[26-27]. 分析发现小分子 ABA(图 3E)能与残基 Lys65 和 Glu100 形成氢键(红色虚线), 且 **4c**(图 3A)与 **PM4**(图 3F)的作用

模式与 ABA 相似, 因此活性相近. 而 **4f**(图 3D)则只能与残基 Lys65 形成氢键, 所以活性较低. 重要的是, **4m**(图 3C)、**4n**(图 3D)分子中硝基(NO₂)可与 Lys65、Glu100 以及分子中结晶水形成多个氢键, 且分子中磺酰基(SO₂)可与 Ser98 形成氢键. 而且, **4m** 和 **4n** 的打分函数 Total_Score(表 4)分别为 7.24 和 6.70, 高于 ABA (6.05)和 **PM4** (5.46), 所以 **4m** 和 **4n** 结合脱落酸受体能力更强, 抑制活性更高.

表 3 吗啉磺酰胺化合物 **4a**~**4n** 抑制大豆种子发芽活性
Table 3 Effects of morpholine sulfonamides **4a**~**4n** on soybean seed germination

Compd.	50 $\mu\text{mol/L}$		25 $\mu\text{mol/L}$		15 $\mu\text{mol/L}$	
	发芽率/%	抑制率/%	发芽率/%	抑制率/%	发芽率/%	抑制率/%
4a	0.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	1.1 $\pm$ 1.9	98.8 $\pm$ 2.1	63.3 $\pm$ 3.3	32.1 $\pm$ 3.6
4b	0.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	61.1 $\pm$ 1.9	34.5 $\pm$ 2.1
4c	0.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	1.1 $\pm$ 1.9	98.8 $\pm$ 2.1	65.6 $\pm$ 1.9	29.8 $\pm$ 2.1
4d	0.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	67.8 $\pm$ 5.1	27.4 $\pm$ 5.5
4e	14.4 $\pm$ 1.9	84.5 $\pm$ 2.1	28.9 $\pm$ 5.1	69.0 $\pm$ 5.5	—	—
4f	15.6 $\pm$ 1.9	83.3 $\pm$ 2.1	23.3 $\pm$ 3.3	75.0 $\pm$ 3.6	—	—
4g	4.4 $\pm$ 1.9	95.2 $\pm$ 2.1	5.6 $\pm$ 1.9	94.0 $\pm$ 2.1	—	—
4h	17.8 $\pm$ 1.9	81.0 $\pm$ 2.1	36.7 $\pm$ 3.3	60.7 $\pm$ 3.6	—	—
4i	18.9 $\pm$ 1.9	79.8 $\pm$ 2.1	44.4 $\pm$ 3.8	52.4 $\pm$ 4.1	—	—
4j	22.2 $\pm$ 1.9	76.2 $\pm$ 2.1	45.6 $\pm$ 1.9	51.2 $\pm$ 2.1	—	—
4k	0.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	4.4 $\pm$ 1.9	95.2 $\pm$ 2.1	71.1 $\pm$ 1.9	23.8 $\pm$ 2.1
4l	24.4 $\pm$ 1.9	73.8 $\pm$ 2.1	35.6 $\pm$ 3.8	61.9 $\pm$ 4.1	—	—
4m	0.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	55.6 $\pm$ 5.1	40.5 $\pm$ 5.5
4n	0.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	57.8 $\pm$ 3.8	38.1 $\pm$ 4.1
PM4	0.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	11.1 $\pm$ 1.9	88.1 $\pm$ 2.1	67.8 $\pm$ 1.9	27.4 $\pm$ 2.1
ABA	2.2 $\pm$ 1.9	97.6 $\pm$ 2.1	12.2 $\pm$ 1.9	86.9 $\pm$ 2.1	65.6 $\pm$ 5.1	29.8 $\pm$ 5.5

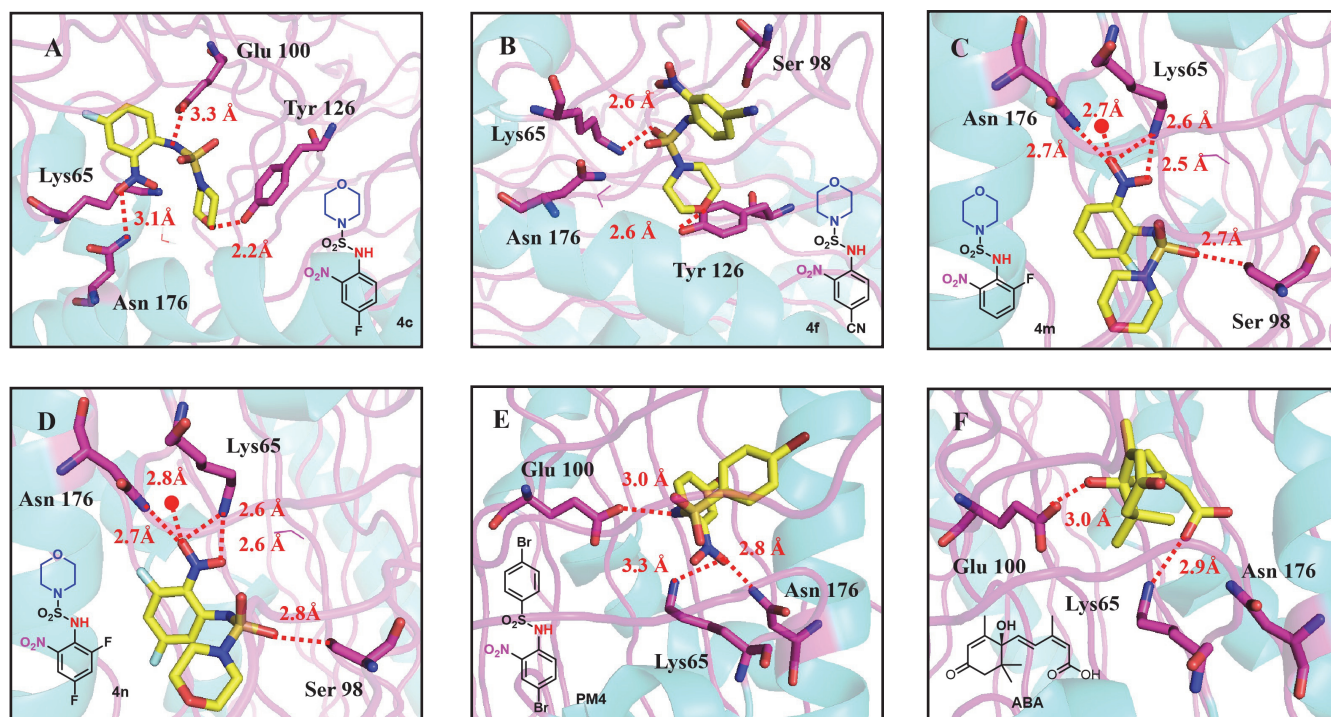


图 3 **4c** (A), **4f** (B), **4m** (C), **4n** (D), **PM4** (E) 和 **ABA** (F) 的对接结果
Figure 3 Computational modeling of **4c** (A), **4f** (B), **4m** (C), **4n** (D), **PM4** (E) and **ABA** (F) (PDB: 3NEG)

表 4 对接打分函数
Table 4 Scoring functions

Compd.	Total_score	G_score	D_score	PMF_score	Chem_score
4c	5.51	-166.74	-102.12	-59.40	-23.90
4f	5.11	-171.83	-96.88	-54.43	-20.53
4m	7.24	-199.43	-107.20	~64.71	-24.81
4n	6.70	-186.64	-116.82	~65.42	-22.05
PM4	5.46	-186.69	-110.42	-45.26	-26.53
ABA	6.05	-184.31	-102.74	-48.52	-22.00

2 结论

采用活性亚结构拼接原理设计了含吗啉磺酰胺片段的新型脱落酸功能类似物。以吗啉-4-磺酰胺和氟代硝基苯为起始原料,经芳基亲核取代反应合成了 14 个目标化合物。该合成方法操作简单,底物适用范围广,所得化合物均经高分辨质谱与核磁共振氢谱和碳谱的确证。种子萌发实验结果表明,化合物 **4m**、**4n** 的抑制活性高于先导化合物 **PM4**。进一步研究结果表明,吗啉的引入促使分子中磺酰基(SO₂)与 Ser98 形成氢键,进一步提高了结合受体的能力,所以 **4m** 和 **4n** 的打分函数高于 **PM4**,活性也更高。该结果有利于发现新型高活性的脱落酸功能类似物。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

大豆种子,硅胶板(薄层色谱),300-400 目的硅胶(柱层析),美国 Varian 的 Mercury-Plus 500MHz 测定 ¹H NMR (DMSO-*d*₆或 CDCl₃, TMS 内标),HRMS (Agilent 6224);熔点仪为 SGW X-4(未校正)。

所用试剂与溶剂为分析纯,其中 DMF、1,4-二氧六环、DMAc 等含水量均低于 50 mg/kg(超干溶剂)。

3.2 实验方法

3.2.1 目标化合物 4 的合成

室温下将 1.0 mmol 吗啉-4-磺酰胺(**5**), 1.0 mmol 氟代硝基苯(**6**), 1.3 mmol K₃PO₄和 10 mL DMF 混合于梨形反应瓶,90 °C反应 12 h,薄层色谱监测,反应完后冷却至室温,酸化后再用乙酸乙酯萃取(15 mL×3),无水硫酸钠干燥合并后的有机相,柱层析后减压脱除溶剂得浅黄色固体化合物 **4**。

N-(2-硝基苯基)吗啉-4-磺酰胺(**4a**): 浅黄色固体,收率 53%。m.p. 98~99 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 9.94 (br, 1H), 7.99 (dd, *J*=8.0, 1.5 Hz, 1H), 7.73 (ddd, *J*=8.5, 7.5, 1.5 Hz, 1H), 7.66 (dd, *J*=8.5, 1.5 Hz, 1H), 7.49~7.34 (m, 1H), 3.62~3.55 (m, 2H), 3.18~3.09 (m, 2H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 142.0,

134.4, 131.5, 125.5, 125.4, 125.0, 65.4, 45.9; HRMS (ESI) calcd for C₁₀H₁₄N₃O₅S [M+H]⁺ 288.0654, found 288.0662。

N-(2-硝基-4-甲基苯基)吗啉-4-磺酰胺(**4b**): 浅黄色固体,收率 51%。m.p. 110~111 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 9.60 (br, 1H), 8.04 (dd, *J*=2.0, 1.0 Hz, 1H), 7.74 (d, *J*=8.5 Hz, 1H), 7.45 (dd, *J*=8.5, 2.0 Hz, 1H), 3.71~3.64 (m, 2H), 3.28~3.22 (m, 2H), 2.40 (s); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 136.9, 136.1, 133.7, 132.1, 126.0, 120.4, 66.0, 46.3, 20.4; HRMS (ESI) calcd for C₁₁H₁₆N₃O₅S [M+H]⁺ 302.0811, found 302.0816。

N-(2-硝基-4-氟苯基)吗啉-4-磺酰胺(**4c**): 浅黄色固体,收率 50%。m.p. 118~119 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 9.95 (br, 1H), 7.95 (dd, *J*=8.5, 3.0 Hz, 1H), 7.65 (tdd, *J*=9.0, 8.5, 4.0 Hz, 2H), 3.64~3.54 (m, 2H), 3.14~3.06 (m, 2H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 137.69, 134.81, 132.32, 132.29, 125.20, 124.92, 124.12, 124.09, 123.72, 121.55, 120.11, 65.89, 46.38; HRMS (ESI) calcd for C₁₀H₁₃FN₃O₅S [M+H]⁺ 306.0560, found 306.0564。

N-(2-硝基-4-氯苯基)吗啉-4-磺酰胺(**4d**): 浅黄色固体,收率 51%。m.p. 122~123 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.06 (br, 1H), 8.10 (d, *J*=2.5 Hz, 1H), 7.80 (dd, *J*=9.0, 2.5 Hz, 1H), 7.67 (d, *J*=9.0 Hz, 1H), 3.61~3.57 (m, 2H), 3.16~3.10 (m, 2H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 142.6, 134.1, 130.3, 129.1, 126.7, 125.1, 65.4, 45.9; HRMS (ESI) calcd for C₁₀H₁₃ClN₃O₅S [M+H]⁺ 322.0264, found 322.0267。

N-(2-硝基-4-溴苯基)吗啉-4-磺酰胺(**4e**): 浅黄色固体,收率 50%。m.p. 124~125 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 9.87 (br, 1H), 8.22 (d, *J*=9.0 Hz, 1H), 7.82 (d, *J*=2.0 Hz, 1H), 7.16 (dd, *J*=9.0, 2.0 Hz, 1H), 3.79~3.64 (m, 2H), 3.37~3.21 (m, 2H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 138.8, 136.2, 133.8, 128.7, 121.5, 115.2, 65.9, 46.3; HRMS (ESI) calcd for C₁₀H₁₃BrN₃O₅S [M+H]⁺ 365.9759, found 365.9765。

N-(2-硝基-4-氰基苯基)吗啉-4-磺酰胺(**4f**): 浅黄色

固体, 收率 52%. m.p. 114~115 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 10.07 (br, 1H), 8.62~8.57 (m), 7.95 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 7.89~7.84 (m), 3.76~3.74 (m, 2H), 3.35~3.33 (m, 2H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 138.5, 138.2, 134.7, 130.9, 120.1, 116.3, 106.3, 65.8, 46.3; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 356.0528, found 356.0533.

N-(2-硝基-4-三氟甲基苯基)吗啉-4-磺酰胺(**4g**): 浅黄色固体, 收率 52%. m.p. 113~114 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 10.18 (br, 1H), 9.18 (d, $J=2.5$ Hz, 1H), 8.59~8.35 (m), 7.99 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 3.84~3.66 (m, 2H), 3.47~3.21 (m, 2H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 141.43, 140.21, 139.90, 139.89, 139.87, 134.20, 134.18, 134.15, 130.12, 130.05, 129.59, 123.48, 122.74, 122.69, 119.97, 119.63, 65.84, 46.41; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 313.0607, found 313.0612.

N-(2,4-二硝基苯基)吗啉-4-磺酰胺(**4h**): 黄色固体, 收率 49%. m.p. 165~166 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 10.00 (br, 1H), 8.55 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 7.97 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 7.87 (dd, $J=9.0, 2.0$ Hz, 1H), 3.80~3.66 (m, 2H), 3.41~3.25 (m, 2H); ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 142.0, 134.4, 131.5, 125.5, 125.4, 125.0, 65.4, 45.9; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{NaO}_7\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 355.0324, found 355.0329.

N-(2-硝基-5-氯苯基)吗啉-4-磺酰胺(**4i**): 浅黄色固体, 收率 45%. m.p. 119~120 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 9.84 (br, 1H), 8.12 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 7.99 (d, $J=2.0$ Hz, 1H), 7.32 (dd, $J=9.0, 2.0$ Hz, 1H), 3.79~3.64 (m, 2H), 3.37~3.21 (m, 2H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 135.65, 131.38, 127.48, 126.21, 122.62, 122.60, 65.95, 46.33; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{ClN}_3\text{O}_5\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 322.0264, found 322.0271.

N-(2-硝基-5-溴苯基)吗啉-4-磺酰胺(**4j**): 浅黄色固体, 收率 48%. m.p. 121~122 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 9.87 (br, 1H), 8.22 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 7.82 (d, $J=2.0$ Hz, 1H), 7.16 (dd, $J=9.0, 2.0$ Hz, 1H), 3.79~3.64 (m, 2H), 3.37~3.21 (m, 2H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 142.7, 135.8, 134.0, 127.6, 123.2, 119.5, 65.9, 46.3; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{BrN}_3\text{O}_5\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 365.9759, found 365.9762.

N-(2-硝基-5-氰基苯基)吗啉-4-磺酰胺(**4k**): 浅黄色固体, 收率 49%. m.p. 118~119 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 9.76 (br, 1H), 8.36 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 8.13 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 7.45 (dd, $J=8.5, 1.5$ Hz, 1H), 3.86~3.65 (m, 2H), 3.39~3.22 (m, 2H); ^{13}C NMR (125 MHz,

CDCl_3) δ : 135.4, 127.3, 125.5, 123.7, 119.4, 116.3, 99.9, 65.9, 46.4; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 313.0607, found 313.0612.

N-(2,6-二硝基苯基)吗啉-4-磺酰胺(**4l**): 黄色固体, 收率 46%. m.p. 152~153 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.31 (br, 1H), 8.25 (d, $J=8.0$ Hz, 2H), 7.59 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 3.77~3.71 (m, 2H), 3.25~3.20 (m, 2H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 148.9, 129.3, 129.2, 123.5, 65.4, 45.7; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{NaO}_7\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 355.0324, found 355.0331.

N-(2-氟-6-硝基苯基)吗啉-4-磺酰胺(**4m**): 浅黄色固体, 收率 43%. m.p. 146~147 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.92 (dt, $J=8.5, 1.5$ Hz, 1H), 7.88 (br, 1H), 7.48 (ddd, $J=9.5, 8.5, 1.5$ Hz, 1H), 7.38 (td, $J=8.5, 5.0$ Hz, 1H), 3.78~3.73 (m, 2H), 3.35~3.30 (m, 2H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 158.52, 156.50, 127.07, 127.00, 122.40, 122.22, 121.79, 121.66, 121.14, 121.11, 66.11, 46.32; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{FN}_3\text{O}_5\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 306.0560, found 306.0568.

N-(2-硝基-3,5-二氟苯基)吗啉-4-磺酰胺(**4n**): 浅黄色固体, 收率 47%. m.p. 129~130 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.84 (br, 1H), 7.35 (ddd, $J=10.5, 2.5, 2.0$ Hz, 1H), 6.77 (ddd, $J=10.5, 8.0, 2.5$ Hz, 1H), 3.77~3.69 (m, 2H), 3.32~3.25 (m, 2H); ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 165.70, 165.59, 163.65, 163.53, 158.78, 158.66, 156.66, 156.54, 136.34, 136.22, 103.33, 103.30, 103.10, 103.07, 100.91, 100.72, 100.70, 100.50, 65.86, 46.35; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 324.0466, found 324.0472.

3.2.2 种子发芽活性实验

选取颗粒饱满性状一致的大豆种子, 0.1%高锰酸钾溶液消毒 10 min, 洗净备用. 将种子放入含有吸水纸的培养盒, 按照实验设计分别加入相应试剂(空白组加去离子水, 实验组加一定浓度化合物溶液), 后置于光照培养箱(26 °C, 14 h/光照 100%. 10 h/黑暗), 每天同一时间记录种子发芽数.

发芽率(%)=(第 2 天发芽数/供试总数)×100%

抑制率(%)=(1-实验组发芽率/对照组发芽率)×100%

3.2.3 分子对接实验

打开链接 <http://www.rcsb.org>, 点击查找 3NEG 并找到 PDB ID 为 <https://doi.org/10.2210/pdb3NEG/pdb>, 点击 Download Files, 下载 PDB Format 数据. 再打开 Sybyl-X 2.0 导入上述数据, 并以 Pyrabactin 为原型分子定义活性腔, 加氢等保存备用. 随后进行化合物的能量优化: 梯度 0.01 ($\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{\AA}^{-1}$), 最大迭代次数 10000 次; 其

余默认。最后, 打开 Surflex-Dock 模块, 分别导入处理后的 PDB 和化合物, 运行后保存结果^[10-11]。

辅助材料(Supporting Information) 化合物 4 的核磁谱图。这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)下载。

References

- [1] Li, Z. X.; Takahashi, Y.; Scavo, A.; Brandt, B.; Nguyen, D.; Rieu, P.; Schroeder, J. I. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2018**, *115*, 4522.
- [2] Jurkiewicz, P.; Batoko, H. *Plant Sci.* **2018**, *267*, 48.
- [3] Park, S. Y.; Peterson, F. C.; Mosquna, A.; Yao, J.; Volkman, B. F.; Cutler, S. R. *Nature* **2015**, *520*, 545.
- [4] Hampson, C. R.; Reaney, M. J. T.; Abrams, G. D.; Abrams, S. R.; Gusta, L. V. *Phytochemistry* **1992**, *31*, 2645.
- [5] Verslues, P. E.; Zhu, J. New developments in abscisic acid perception and metabolism. *Curr. Opin. Plant Biol.* **2007**, *10*, 447.
- [6] Han, X. Q.; Xiao, Y. M.; Lu, H. Z.; Qian, Z. H. *Chin. Bull. Botany* **2013**, *48*, 329 (in Chinese).
(韩小强, 肖玉梅, 路慧哲, 覃兆海, 植物学报, **2013**, *48*, 329.)
- [7] Han, X. Q.; Wan, C.; Yang, D. Y.; Du, S. J.; Yuan, X. Y.; Xiao, Y. M.; Qin, Z. H. *Chin. J. Org. Chem.* **2014**, *34*, 1692 (in Chinese).
(韩小强, 万川, 杨冬燕, 杜士杰, 袁小勇, 肖玉梅, 覃兆海, 有机化学, **2014**, *34*, 1692.)
- [8] Ma, Y.; Szostkiewicz, I.; Korte, A.; Moes, D.; Yang, Y.; Christmann, A.; Grill, E. *Science* **2009**, *324*, 1064.
- [9] Park, S.; Fung, P.; Nishimura, N.; Jensen, D. R.; Fujii, H.; Zhao, Y.; Lumba, S.; Santiago, J.; Rodrigues, A.; Chow, T. F. *Science* **2009**, *324*, 1068.
- [10] Cao, M.; Liu, X.; Zhang, Y.; Xue, X.; Zhou, X. E.; Melcher, K.; Gao, P.; Wang, F.; Zeng, L.; Zhao, Y. *Cell Res.* **2013**, *23*, 1043.
- [11] Okamoto, M.; Peterson, F. C.; Defries, A.; Park, S.; Endo, A.; Nambara, E.; Volkman, B. F.; Cutler, S. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2013**, *110*, 12132.
- [12] Duan, L. S.; Yu, C. X.; Liu, S. J.; Hu, T. L.; Zhou, Y. Y.; Li, Z. H. *WO 2018086507*, **2018**.
- [13] Che, C. L.; Hu, Y. M.; Ding, S. S.; Xiao, Y. M.; Li, J. Q.; Qin, Z. H. *Chin. J. Org. Chem.* **2019**, *39*, 419 (in Chinese).
(车传亮, 胡益敏, 丁珊珊, 肖玉梅, 李佳奇, 覃兆海, 有机化学, **2019**, *39*, 419.)
- [14] Huang, Z. Y.; Yang, J. F.; Song, K.; Chen, Q.; Zhou, S. L.; Hao, G. F.; Yang, G. F. *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 9647.
- [15] Huang, Z. Y.; Yang, J. F.; Chen, Q.; Cao, R. J.; Huang, W.; Hao, G. F.; Yang, G. F. *RSC Adv.* **2015**, *5*, 75182.
- [16] Yang, G. F.; Huang, Z. Y.; Hao, G. F. *CN 107382842*, **2017**.
- [17] Huang, Z. Y.; Li, Z. Z.; He, B.; Li, W. S.; Yang, P.; Chen, L. J. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1667 (in Chinese).
(黄志友, 李哲陟, 何波, 李文胜, 杨平, 陈立军, 有机化学, **2022**, *42*, 1667.)
- [18] Huang, Z. Y.; Liu, M.; Mao, Y. J.; Chen, Y. D.; Wang, Y. P.; Liu, C. *Tetrahedron Lett.* **2019**, *60*, 626.
- [19] Wu, Y. J.; Guernon, J.; McClure, A.; Venables, B.; Rajamani, R.; Robbins, K. J.; Knox, R. J.; Matchett, M.; Pieschl, R. L.; Herrington, J.; Bristow, L. J.; Meanwell, N. A.; Olson, R.; Thompson, L. A.; Dzierba, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, *28*, 958.
- [20] Gomha, S. M.; Muhammad, Z. A.; Abdel-aziz, H. M.; El-Arab, E. *Croat. Chem. Acta.* **2018**, *91*, 43.
- [21] Huang, K.; Jiang, L. L.; Liang, R. H.; Li, H. T.; Ruan, X. X.; Shan, C. L.; Ye, D. Y.; Zhou, L. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *168*, 45.
- [22] Patharia, M. A.; Raut, S. V.; Dhotre, B. K.; Pathan, M. A. *Polycyclic Aromat. Compd.* **2022**, *42*, 2323.
- [23] Wu, H. F.; Lu, X. F.; Xu, J. B.; Zhang, X. M.; Li, Z. N.; Yang, X. L.; Ling, Y. *Molecules* **2022**, *27*, 8700.
- [24] More, N. A.; Jadhao, N. L.; Meshram, R. J.; Tambe, P.; Salve, R. A.; Sabane, J. K.; Sawant, S. N.; Gajbhiye, V.; Gajbhiye, J. M. *J. Mol. Struct.* **2022**, *1253*.
- [25] Paetzold, F.; Niclas, H.; Foerster, H. *Z. Chem.* **1989**, *29*, 203.
- [26] Alcaraz, L.; Bennion, C.; Morris, J.; Meghani, P.; Thom, S. M. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2705.

(Li, L.)