

哌嗪香豆素衍生物的合成及抗菌活性研究

李红侠,孔德卉,朱强强,王胜男,汪振鹏

(宿州学院生物与食品工程学院,安徽 宿州 234000)

摘要:以1-(2-氟苯基)哌嗪、1-(4-氟苯基)哌嗪分别与溴乙酸反应,所得产物再与4-羟基香豆素反应,合成哌嗪香豆素衍生物A和B,并研究其抗菌活性。A和B通过对倍稀释法测定其对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌和铜绿假单胞菌的最小抑菌浓度。结果表明:A和B对所测试的4种菌株均有较好的抑菌作用,其中B的抑菌效果优于A,且对枯草芽孢杆菌的抑菌效果最好,最小抑菌质量浓度为0.337 $\mu\text{g}/\text{mL}$,优于阳性对照氯霉素。

关键词:哌嗪香豆素衍生物;合成;抗菌活性

中图分类号:R914.5:O621.3 **文献标志码:**A **文章编号:**1673-1891(2019)03-0008-04

Study on Syntheses and Antibacterial Activities of Fluorine Piperazine Coumarin Derivatives

LI Hongxia, KONG Dehui, ZHU Qiangqiang, WANG Shengnan, WANG Zhenpeng

(School of Life and Food Engineering, Suzhou University, Suzhou, Anhui 234000, China)

Abstract: 1-(2-fluorophenyl) piperazine and 1-(4-fluorophenyl) piperazine were used to interact with bromoacetic acid respectively to form derivatives which were again used to interact with 4-hydroxycoumarin to synthesize piperazine coumarin derivatives A and B, whose antibacterial activities were then studied. The minimum bacteriostatic concentrations of A and B against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* were determined through double dilution method. The results showed that both A and B had good bacteriostatic effects on the four bacterial strains tested, among which B was superior to A and produced the best bacteriostasis effect on *Bacillus subtilis*, and its minimum bacteriostatic concentration was 0.337 $\mu\text{g}/\text{mL}$, which was better than that of the positive control chloramphenicol.

Keywords: fluorine piperazine coumarin derivatives; synthesis; antibacterial activity

哌嗪(Piperazine)是药物合成中重要的环胺化合物之一,属于六元杂环化合物^[1],也是药物化学中常常使用的一类易与蛋白形成多个氢键或离子键、能有效调节药物的酸碱平衡常数和脂水分配系数的含氮杂环的碱性化合物。当药物分子中引入哌嗪杂环,则该药物分子的药代动力学性质有所增强,从而使其表现出更强的生物活性^[2]。近年来,哌嗪及其衍生物在医药领域应用广泛^[3],如抗菌药物依诺沙星^[4]、抗真菌药物伊曲康唑等药物的主要原料都是哌嗪衍生物。由此可见,哌嗪在药物的合成中是重要的中间体,哌嗪的单取代结构在提高药物活性中起到非常重要的作用^[5],也可以说在某种程度上它是一种增效基团,并且有研究表明哌嗪类药物大多具备毒性低、副反应小并且起效快等特点,

因而常常被应用于许多药物的设计和开发中。自然界中存在的大量香豆素类次生代谢产物具有重要的药理和农用活性,如抗HIV、抗癌、抗血管硬化^[6-7]、抗菌、抗氧化等。鉴于香豆素衍生物在各种领域的广泛应用,因此对于天然香豆素类化合物的化学全合成以及衍生物修饰合成的研究,一直是一个活跃的研究方向,如Shefeng Wang等^[8]研究了人工合成的香豆素化合物对革兰阳性及革兰阴性细菌的活性。

本文通过1-(2-氟苯基)哌嗪和1-(4-氟苯基)哌嗪分别与溴乙酸反应,所得产物再与4-羟基香豆素反应,最后获得目标产物,并对目标化合物进行结构表征,通过对倍稀释法对其抑菌活性进行了测定,在解决细菌、真菌耐药性药物研究及新型香豆

素衍生物的开发中提供借鉴。

1 材料、试剂与方法

1.1 试验材料

菌株:金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*),枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*),大肠杆菌(*Escherichia coli*),铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*),均由宿州学院生物实验室保存。

1.2 试验仪器、药品和试剂

主要仪器设备:R-1001LN旋转蒸发仪(郑州长城科工贸有限公司);ZF7c三用紫外分析仪(上海青浦沪西仪器厂);XT4型熔点仪(未校正)(北京泰克仪器有限公司);DPX400型核磁共振谱仪(TMS为内标,Bruker公司生产);AVATAR370红外线光谱仪(日本日立公司)。

主要药品和试剂:1-(2-氟苯基)哌嗪、1-(4-氟苯基)哌嗪、溴乙酸,均为AR,纯度98%,购于北京百灵威科技有限公司;4-羟基香豆素(AR,纯度98%,萨恩化学技术(上海)有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 以含氟哌嗪为骨架香豆素衍生物的合成

分别取1 mmol的1-(2-氟苯基)哌嗪和1 mmol溴乙酸置于50 mL烧瓶中,以二氯甲烷为溶剂、EDC·HCl和HOBT(1-羟基苯并三唑)为催化剂,在45 °C下反应10 h。所得物质萃取后,以DMF(N,N-二甲基甲酰胺)为溶剂、KCO₃为催化剂,再与4-羟基香豆素反应,TLC跟踪反应。反应结束后,反应液水洗3次,所得物质再用无水乙醇重结晶,得到预期的目标化合物A,即4-(2-(4-(2-氟苯基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙氧基)-2H-吡喃-2-酮(结构式见图1);以同样的方法(除了原料1-(2-氟苯基)哌嗪换成1-(4-氟苯基)哌嗪外),制取1-(4-氟苯基)哌嗪的目标化合物B,即4-(2-(4-(4-氟苯基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙氧基)-2H-吡喃-2-酮,结构式见图2。

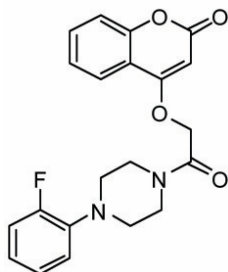


图1 目标化合物A的结构式

1.3.2 抗菌活性研究

将保存在4 °C冰箱的菌种(金黄色葡萄球菌、枯

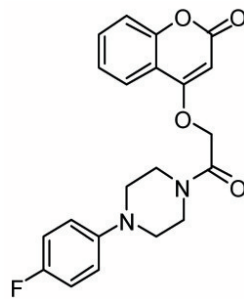


图2 目标化合物B的结构式

草芽孢杆菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌)分别接种到装有MH培养基的小锥形瓶中,置于摇床6 h(44转,37 °C),进行第1次活化,将第1次活化的菌液用移液枪吸取2 mL以同样的方法再进行第2次活化,活化后的菌液用于铺板。取灭菌后TTC(氯化唑)溶液与MH培养基混合配制成混合培养基,药物A、B的母液均用混合培养基对倍稀释到80、40、20、10、5、2.5、1.25、0.675、0.337 μg/mL,分别取100 μL加入2个无菌的96孔培养板中(每个板的四周36个孔分别加100 μL的PBS(磷酸缓冲溶液)),每个药物浓度做3次重复,用氯霉素稀释相同倍数的浓度作阳性对照。将对数期的细菌用培养基稀释到OD₆₀₀为0.1~0.2,依次在96孔培养板中加入100 μL菌悬液。加好置于37 °C培养箱中继续培养24 h,记录其浓度(菌液不再生长的浓度),即为最小抑菌浓度。

2 结果与分析

2.1 目标化合物A和B的结构表征

目标化合物A,即4-(2-(4-(2-氟苯基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙氧基)-2H-吡喃-2-酮(C₂₁H₁₉FN₂O₄):白色固体,产率71.7%,熔点为172~174 °C,¹H NMR(DMSO-d₆, 400 MHz) δ: 8.26(s, 1H, OH), 8.17(d, J=8.5 Hz, 2H, ArH), 7.94-7.86(m, 3H, ArH), 7.84(s, 1H, ArH), 7.72(d, J=2.2 Hz, 1H, ArH), 7.62(d, J=4.0 Hz, 1H, ArH), 5.54(s, 2H, CH₂)。IR(KBr): 493,725, 747,933,1060,1165,1348,1407,1557,1602,1650,1729, 3069,3394。

目标化合物B,即4-(2-(4-(4-氟苯基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙氧基)-2H-吡喃-2-酮(C₂₁H₁₉FN₂O₄):白色固体,产率75.5%,熔点为194~196 °C,¹H NMR(DMSO-d₆, 400 MHz) δ: 7.79(s, 1H, OH), 7.70(d, J=6.8 Hz, 2H, ArH), 7.68-7.39(m, 3H, ArH), 7.37(s, 1H, ArH), 7.12(d, J=2.2 Hz, 1H, ArH), 7.07(d, J=4.0 Hz, 1H, ArH), 5.07(s, 2H, CH₂), 2.04-2.03(m, 2H, CH₂CH₂)。IR(KBr): 400, 538, 713, 725, 933, 1083,

1165, 1244, 1359, 1419, 1568, 1602, 1639, 1740, 3094, 3405。

目标化合物A和B的¹H-NMR谱图分别见图3和4。

2.2 目标化合物A和B的抗菌活性

A和B的最小抑菌质量浓度见表1。由表1可知,目标化合物A对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌和铜绿假单胞菌的最小抑菌质量浓度

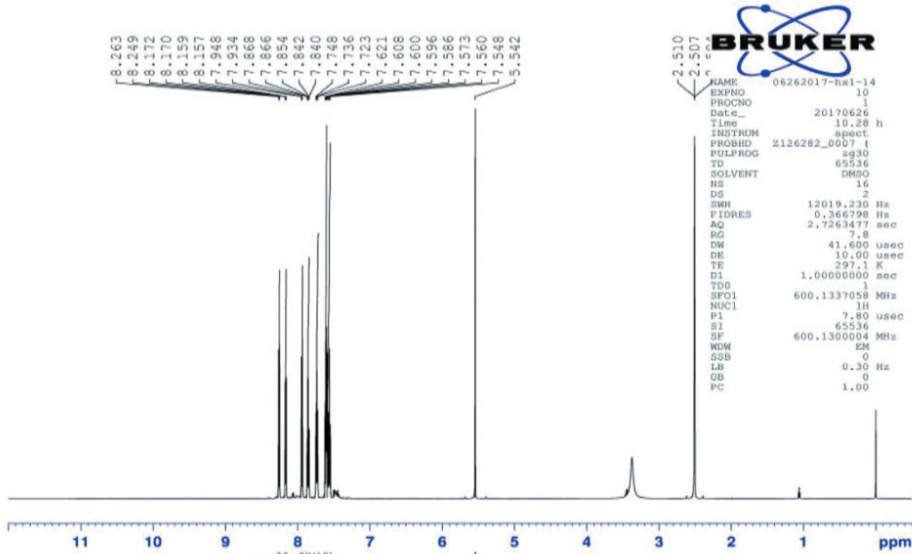


图3 目标化合物A的¹H-NMR谱图

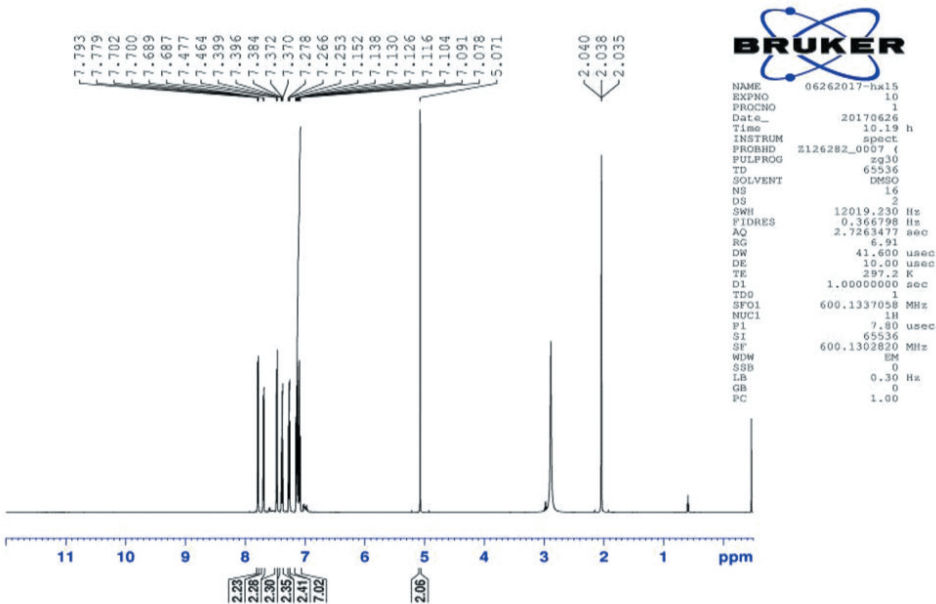


图4 目标化合物B的¹H-NMR谱图

表1 目标化合物A和B的最小抑菌质量浓度

化合物	受试菌类			
	金黄色葡萄球菌	枯草芽孢杆菌	大肠杆菌	铜绿假单胞菌
目标化合物A	5±0.06	2.5±0.07	2.5±0.05	0.675±0.07
目标化合物B	1.25±0.06	0.337±0.05	0.675±0.05	0.675±0.07
氯霉素	5±0.05	2.5±0.08	1.25±0.06	1.25±0.09

注:3次平行试验,试验结果取平均值±标准差。

分别为5、2.5、2.5、0.675 $\mu\text{g/mL}$,可得出其对铜绿假单胞菌的抑菌效果最好,对金黄色葡萄球菌的抑菌效果最差;目标化合物A的抑菌效果与氯霉素相比较,对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌效果相当,对铜绿假单胞菌的效果优于氯霉素。目标化合物B对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌和铜绿假单胞菌的最小抑菌浓度分别为1.25、0.337、0.675和0.675 $\mu\text{g/mL}$,其对枯草芽孢杆菌的抑菌效果最好;目标化合物B的抑菌效果与氯霉素相比较,优于氯霉素。

3 结论

一直以来,抗菌药物的滥用等一系列问题导致耐药菌、条件致病菌以及真菌感染成为突出的问题。新型抗菌药物的研究与开发是应对感染趋势变化的主要研究方向。国内外的众多研究者都致力于这方面的研究,研究者们通过对现有的抗菌药物的结构进行改造和修饰或者对全新结构抗菌药物的研

发,从而达到在一定程度上解决细菌、真菌的耐药性问题。通过对香豆素衍生物的结构进行修饰改造,合成新型结构的香豆素衍生物,一直是科研工作者们研究的一大热点^[9]。研究表明,香豆素衍生物具有很好的抗菌作用,并且哌嗪基团又是一种增效基团^[10],因此该合成药物的抗菌活性有待于进一步探索。从合成的2个目标化合物、氯霉素对不同菌种的最小抑菌浓度可看出:目标化合物B的拟菌效果优于目标化合物A,优于氯霉素。目标化合物A对铜绿假单胞菌的抑菌效果比氯霉素好些,对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌的效果与氯霉素相当。目标化合物B对供试菌种枯草芽孢杆菌抑菌效果最佳,最小抑菌质量浓度为0.337 $\mu\text{g/mL}$,金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和铜绿假单胞菌效果优于氯霉素。本试验结果为以后获得抗菌作用较好的香豆素衍生物和其他抗菌药物提供一些借鉴依据,在解决细菌、真菌耐药性问题以及对香豆素衍生物结构进行修饰方面具有一定的参考意义。

参考文献:

- [1] 高俊文,张勇.哌嗪及其衍生物的合成[J].精细与专用化学品,2001,9(11):13-15.
- [2] 甘淋玲,卢一卉,周合成.哌嗪化合物作为酶抑制剂的研究进展[J].中国生化药物杂志,2009,30(2):127-131.
- [3] ZHAO C H, ZHANG C L, SHI J J. Design, synthesis, and biofunctional evaluation of novel pentacyclic triterpenes bearing O-[4-(1-piperazinyl)-4-oxo-butyl] moiety as antiproliferative agents[J].Bioorg Med Chem Lett,2015,25(20):4500-4504.
- [4] 李彩云,隆雪明,扶亚祥.盐酸沙拉沙星在锦鲤体内的药物动力学研究[J].水产科学,2008,27(6):297-301.
- [5] 田甜,孙竞阳,刘新宇.哌嗪单氨基酸及双氨基酸缀合物的合成、表征及抑菌活性研究[J].大连大学学报,2016,37(6):49-53.
- [6] 吴献礼,孔令义,闵知大.白花前胡丙素的结构修饰研究[J].药学报,2002,37(7):527-534.
- [7] 吴欣,饶曼人.前胡丙素对离体豚鼠心房及人体心肌顺应性的影响[J].中国药理学报,1990,11(3):235-238.
- [8] WANG S F, YIN Y, QIAO F, et al. Synthesis, molecular docking and biological evaluation of metronidazole derivatives containing piperazine skeleton as potential antibacterial agents[J].Bioorganic & Medicinal Chemistry,2014,22(8):2409-2415.
- [9] CHAUDHARY P, KUMAR R, VERMA A K, et al. Synthesis and antimicrobial activity of N-alkyl and N-aryl piperazine derivatives[J].Bioorganic & Medicinal Chemistry,2006,14(6):1819-1826.
- [10] MEENA P, NEMAYSH V, KHATRI M, et al. Synthesis, biological evaluation and molecular docking study of novel piperidine and piperazine derivatives as multi-targeted agents to treat Alzheimer's disease[J].Bioorganic & Medicinal Chemistry,2015, 23(5):1135-1148.