

· 论著 ·

8-羟基喹啉衍生物作为潜在的艰难梭菌抗生素的设计、合成和活性评价

叶腾飞, 程 涛, 宋 平, 计伟莉, 卞晓岚 (上海交通大学医学院附属瑞金医院卢湾分院药剂科, 上海 200020)

[摘要] **目的** 艰难梭菌感染(CDI)目前治疗措施主要包括抗生素疗法、粪菌移植疗法等,其治疗后存在较高的复发率,需寻求一种更有效的替代疗法。**方法** 本研究基于有前景的 8-羟基喹啉骨架,设计、合成了一系列 8-羟基喹啉衍生物。**结果** 针对艰难梭菌的活性测试表明,多数分子对艰难梭菌具有良好的抑菌作用,其中化合物 **6f** 显示出较强的杀伤艰难梭菌活性。**结论** 本研究发现了新型具有抗艰难梭菌的 8-羟基喹啉衍生物,可作为良好的先导化合物进一步研发。

[关键词] 艰难梭菌; 抗感染; 8-羟基喹啉衍生物; 构效关系

[文章编号] 2097-2024(2023)12-0737-04 **[DOI]** 10.12206/j.issn.2097-2024.202303021

Design, synthesis and biological evaluation of 8-hydroxyquinoline derivatives as potential clostridium difficile antibiotics

YE Tengfei, CHENG Tao, SONG Ping, JI Weili, BIAN Xiaolan (Department of Pharmacy, Luwan Branch of Ruijin Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200020, China)

[Abstract] **Objective** To find a more effective alternative therapy for antibiotic therapy and fecal microbiota transplantation in current primary treatment of clostridioides difficile infection (CDI) because of the high recurrence rate. **Methods** A series of 8-hydroxyquinoline derivatives were designed and synthesized based on 8-hydroxyquinoline scaffold. **Results** The activity test against *C. difficile* showed that most of the molecules exhibited good antibacterial activity against *C. difficile*, and compound **6f** showed attractive anti-*C. difficile* activity. **Conclusion** A new type of 8-hydroxyquinoline derivatives with anti-clostridium difficile was found, which could be used as good lead compounds for further development.

[Key words] clostridium difficile; anti-infection; 8-hydroxyquinoline derivatives; structure-activity relationship

艰难梭菌的感染率近年来有所提高^[1],其孢子很难根除,并且很容易通过医护人员传播,是医院、养老院和一些健康护理机构出现腹泻感染的原因之一^[2]。目前针对艰难梭菌的可用治疗方法都有一些缺点,例如成本过高、耐药性的发展和选择性等问题。虽然轻度至中度的艰难梭菌病例目前可以通过可用的治疗方法进行控制,但对严重的病例可能需要使用单一常规药物或联合疗法进行长期抑制治疗,如果不成功,则要采用非常规和(或)侵入性的手段,如粪便移植和结肠切除术^[3]。因此,临床上对药物研发需求越来越大,寻求一种更有效的替代疗法迫在眉睫^[1]。

含有喹啉的杂芳族化合物具有多种生物和药理活性,例如,抗疟疾^[4]、抗结核病^[5]、抗炎^[6]、抗癌^[7]、抗高血压^[8]以及抗菌^[9-11]。Musiol 等^[12]曾报道 8-羟基喹啉衍生物的抗真菌活性。此外,8-羟基喹啉

衍生物显示出对神经退行性疾病如阿尔茨海默病良好活性^[13]。最近,研究发现 8-羟基喹啉衍生物具有抗金黄色葡萄球菌的潜在作用^[14]。我们的小组最近通过药物数据库筛选发现,溴氧喹啉(5,7-二溴喹啉-8-酚)对艰难梭菌具有强效抗菌活性。基于此有前景的化合物,我们进行了一系列 8-羟基喹啉类似物的设计、合成和抗艰难梭菌活性研究。

1 目标化合物的设计

早期研究发现,黄酮化合物 **A**(图 1)具有良好的抗菌活性,对金黄色葡萄球菌的最小抑菌浓度(MIC)为 3.13 μg/ml^[15],而从 8-羟基喹啉与化合物 **A** 的叠合图(图 1)可见,8-羟基喹啉骨架具有与黄酮类化合物相似的药效基团。为了探索取代基的功能并研究详细的 SAR,我们设计并合成了一系列在 8-羟基喹啉 5、6 和 7 位具有芳香取代基的化合物。

2 材料和方法

2.1 试剂和仪器

化学原料均为市售分析纯;Bruker AM-400

[作者简介] 叶腾飞,硕士,主管药师,研究方向:药物化学、临床药学,Email: yetengfei_1987@163.com

[通信作者] 卞晓岚,硕士,主任药师,研究方向:医院药学,Email: bianxiaolan@medmail.com.cn

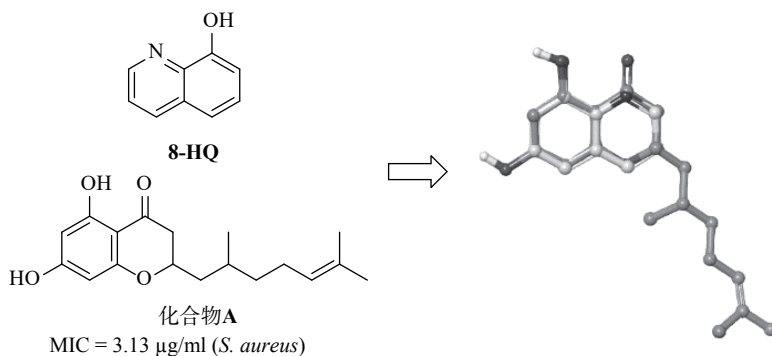


图1 8-羟基喹啉和化合物A的叠合图

(400 MHz) 核磁共振仪, TMS 作为内标, 化学位移与偶合常数分别用 ppm 和 Hz 表示; Agilent 6538 UHD Accurate-Mass Q-TOF LC/MS 高分辨质谱 (HRMS) 仪。

2.2 6-位取代目标化合物的合成

4-溴-2-甲氧基苯胺通过 Skraup 合成^[16], 在 H_2SO_4 、3-硝基苯磺酸钠和甘油中回流, 得到中间体 **1** (见图 2)。随后, 甲基保护基被脱除, 再在

DIPEA 存在下用 MOMCl 保护, 得到化合物 **2**。此外, 化合物 **1** 还经 Suzuki 反应与芳基硼酸偶联反应得到中间体 **3a-j**。化合物 **2** 与苯乙烯偶联, 得到化合物 **4a**, 然后使用 1 mol/L 的盐酸脱保护, 得到化合物 **5a**。其中, 化合物 **3a-g** 和 **3i-j** 使用 HBr (48%) 在回流下脱保护, 以较高的收率得到化合物 **6a-g** 和 **6i-j**, 化合物 **3h** 用 BBr_3 处理得到化合物 **6h**。

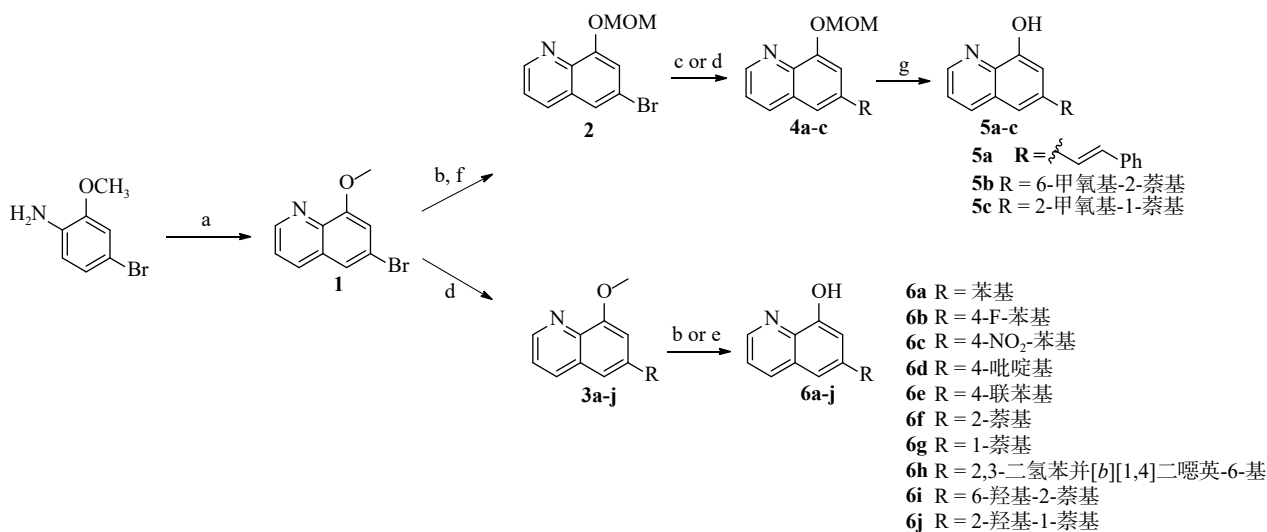


图2 化合物1~6的合成

注: a. H_2SO_4 , H_2O , 3-硝基苯磺酸钠, 甘油, 加热回流, 6 h; b. HBr, 回流, 8 h; c. 苯乙烯, $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$, 碳酸钾, 二氧六环, 100 °C, 过夜; d. 取代的芳基硼酸, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, 碳酸钾, 水, 二氧六环, 95 °C, 2 h; e. 三溴化硼, 二氯甲烷, 0 °C 到室温, 过夜; f. MOMCl, DIPEA, 二氯甲烷, 室温, 过夜; g. 盐酸水溶液, THF, *i*-PrOH, 室温过夜

为了进一步研究 8-羟基喹啉衍生物的构效关系, 我们还设计并合成了一系列 6 位杂环取代的化合物, 如图 3 所示。首先, 中间体 **1** 或相应的硼酸与市售芳基硼酸或卤代物通过 Suzuki 反应偶联得到 **7a-i**, 然后在氢溴酸 (48%) 中回流脱甲基以高收率得到化合物 **8a-i**。

2.3 5-位和 7-位取代目标化合物的合成

为了研究 5 和 7 位的构效关系, 我们还设计合成了一系列在 5 和 7 位具有不同取代基的化

物。如图 4 所示, 市售的 7-溴-8-羟基喹啉 (**9**) 经 MOM 和甲基保护, 分别得到中间体 **10a** 和 **10b**。随后, 这些中间体与苯乙烯和苯硼酸偶联, 分别得到中间体 **11a** 和 **11b**。最后, 化合物 **17a** 和 **17b** 分别经 1 mol/L 盐酸水溶液和氢溴酸水溶液 (48%) 脱保护, 得到所需的 8-羟基喹啉类似物 **18a** 和 **18b**。此外, 5 位取代化合物的合成如图 5 所示。首先, 将市售的 8-羟基喹啉在碳酸钾存在下与碘甲烷反应, 随后在甲醇中与溴素在室温下反应得到中间

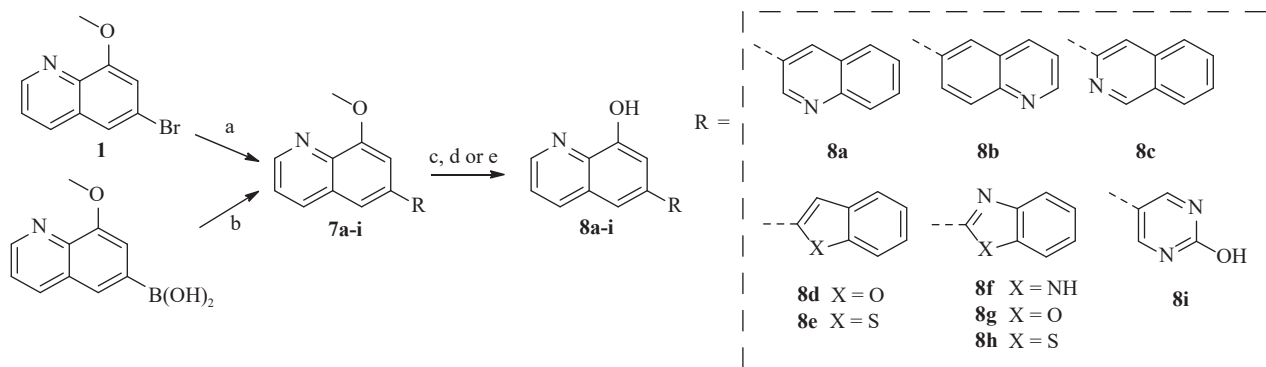


图 3 化合物 8 的合成

注: a. 取代的芳基硼酸, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, 碳酸钾, 水, 二氧六环, 100°C , 过夜; b. 芳基溴代物, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, 碳酸钾, 水, 二氧六环, 100°C , 过夜; c. 氢溴酸, 回流, 过夜; d. 三溴化硼, 二氯甲烷, 0°C 到室温, 过夜; e. 盐酸水溶液, 四氢呋喃, 室温, 过夜

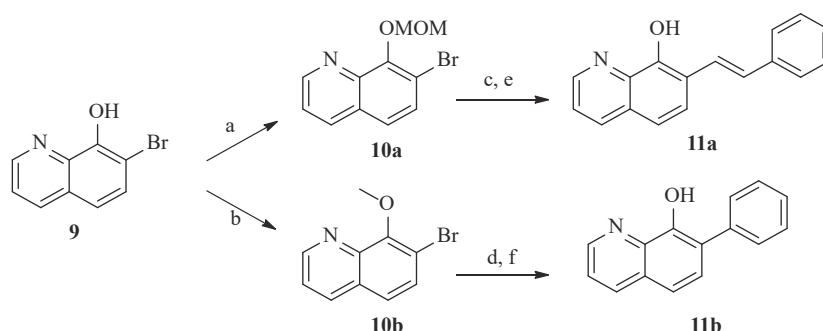


图 4 化合物 11 的合成

注: a. MOMCl, DIPEA, 二氯甲烷, 0°C 室温搅拌过夜; b. 碘甲烷, 碳酸钾, 0°C 室温搅拌, 2 h; c. 苯乙烯, $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$, 碳酸钠, DMF, 100°C , 过夜; d. 苯硼酸, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, 碳酸钾, 水, 二氧六环, 95°C , 过夜; e. 盐酸水溶液, 四氢呋喃, 室温搅拌过夜; f. 氢溴酸, 回流, 8 h

体 12^[17]。随后, 化合物 12 按照与前述相同的方法合成 13。

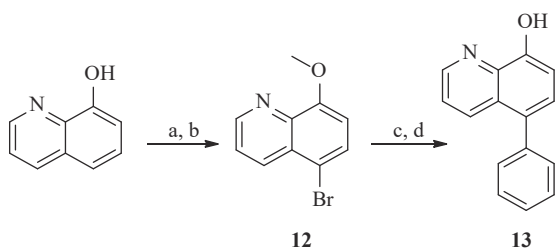


图 5 化合物 13 的合成

注: a. 碘甲烷, 碳酸钾, 0°C 至室温, 4 h; b. 溴素, 甲醇, 室温搅拌 6 h; c. 氢溴酸, 回流, 10 h; d. 苯硼酸, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, 碳酸钾, 水, 二氧六环, 95°C , 过夜

3 结果

3.1 8-羟基喹啉衍生物的抗艰难梭菌活性评价

所有目标化合物及部分中间体均针对两种菌株 BAA1875 和 R20291 的艰难梭菌进行了活性测试。基于生物活性(见表 1), SAR 总结如下: ①8 位的游离羟基对艰难梭菌的抑制活性起着非常重要的作用, 其甲基化会大幅降低活性(化合物 1 和 3c 分别对 BAA-1875 为大于 $256\ \mu\text{g}/\text{ml}$)。②6 位的取代对于活性很重要, 体积大的基团(例如萘基)

对活性有利(萘基 6f > 苯基 6a)。此外, 对于 6 位萘取代的化合物, 2-萘基优于 1-萘基(6f vs 6h), 且带有 OH 或 OCH_3 取代基的萘环也会降低活性(5b-c, 6i-j)。③对于 6 位杂环取代的类似物, 引入杂原子后会导致活性整体下降, 且六六并环(8a-c)的活性显著好于五六并环(8d-h)。④对于 7 位的替换, 大基团对活性不利。溴原子是最佳取代, 随着取代基大小的增加, 活性略有下降(9>11b>11a)。⑤5 位苯环取代依旧可以保持活性(13)。

3.2 部分 8-羟基喹啉衍生物的 MIC 和 MBC 测试结果

进一步测试了部分 8-羟基喹啉衍生物针对艰难梭菌 R20291 的最小杀菌浓度(MBC)(表 2), 所测试化合物的最小杀菌浓度(MBC)和 MIC 相当, 表明这些化合物能够有效地杀死艰难梭菌, 具有更强的抑菌作用。在这些化合物中, 化合物 6f 表现出良好的活性, 这使其成为可进一步开发的良好先导化合物。

4 讨论

基于重要的抗艰难梭菌骨架 8-羟基喹啉, 我们设计并合成了一系列 8-羟基喹啉衍生物, 所有目标化合物均经过了核磁和质谱确证结构, 纯度均高

表 1 针对两种菌株 BAA1875 和 R20291 的抗艰难梭菌活性 (MIC, $\mu\text{g/ml}$)

化合物	BAA 1875 ^a	R20291 ^a	化合物	BAA 1875 ^a	R20291 ^a
1	>256	>256	8a	4	2
3c	>256	>256	8b	8	8
5a	4	2	8c	8	4
5b	32	32	8d	>256	>256
5c	8	8	8e	>256	>256
6a	1	4	8f	32	32
6b	1	4	8g	64	32
6c	>256	>256	8h	64	16
6d	>256	>256	8i	32	32
6e	8	8	9	0.5	0.25
6f	0.5	0.25	11a	4	4
6g	2	2	11b	2	1
6h	8	4	13	0.5	0.25
6i	16	8	万古霉素	0.25	0.125
6j	16	16			

注: a. 化合物起始浓度 256 $\mu\text{g/ml}$

表 2 部分 8-羟基喹啉衍生物的 MIC 和 MBC 测试结果 ($\mu\text{g/ml}$)

化合物	R20291	
	MIC	MBC
5a	3.2	3.2
6e	6.4	6.4
6f	0.1	0.2
6h	3.2	3.2
9	0.1	0.2
11a	3.2	3.2
13	0.4	0.4

于 95%。针对艰难梭菌菌株 BAA1875 和 R20291 的抑菌试验显示, 多个化合物具有强效的抑菌作用, 且 MIC 与 MBC 非常接近, 表明这些化合物还具有强效的杀菌作用。这使它们成为可进一步开发的良好先导化合物, 后续的结构优化工作尚在进行之中。

【参考文献】

[1] TAGLIALEGNA A. Helping *C. difficile* to thrive[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2023, 21(2): 65.
[2] CHEN J, LI Y, WANG S, et al. Targeting *Clostridioides difficile*: new uses for old drugs[J]. *Drug Discov Today*, 2022, 27(7): 1862-1873.

[3] LIM S C, KNIGHT D R, RILEY T V. *Clostridium difficile* and one health[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2020, 26(7): 857-863.
[4] LILIENKAMPF A, MAO J, WAN B, et al. Structure-activity relationships for a series of quinoline-based compounds active against replicating and nonreplicating *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *J Med Chem*, 2009, 52(7): 2109-2118.
[5] SILVA J, BATTS D H, FEKETY R, et al. Treatment of *Clostridium difficile* colitis and diarrhea with vancomycin[J]. *Am J Med*, 1981, 71(5): 815-822.
[6] NASVELD P, KITCHENER S. Treatment of acute vivax malaria with tafenoquine[J]. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 2005, 99(1): 2-5.
[7] LEATHAM P A, BIRD H A, WRIGHT V, et al. A double blind study of antrafenine, naproxen and placebo in osteoarthritis[J]. *Eur J Rheumatol Inflamm*, 1983, 6(2): 209-211.
[8] LAM K H, GAMBARI R, YUEN M C W, et al. The preparation of 2, 6-disubstituted pyridinyl phosphine oxides as novel anti-cancer agents[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19(8): 2266-2269.
[9] MAHAMOUD A, CHEVALIER J, DAVIN-REGLI A, et al. Quinoline derivatives as promising inhibitors of antibiotic efflux pump in multidrug resistant *Enterobacter aerogenes* isolates[J]. *Curr Drug Targets*, 2006, 7(7): 843-847.
[10] MUSIOL R, TABAK D, NIEDEBALA H, et al. Investigating biological activity spectrum for novel quinoline analogues 2: Hydroxyquinolinecarboxamides with photosynthesis-inhibiting activity[J]. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16(8): 4490-4499.
[11] PALIT P, PAIRA P, HAZRA A, et al. Phase transfer catalyzed synthesis of bis-quinolines: Antileishmanial activity in experimental visceral leishmaniasis and *in vitro* antibacterial evaluation[J]. *Eur J Med Chem*, 2009, 44(2): 845-853.
[12] MUSIOL R, JAMPILEK J, KRALOVA K, et al. Investigating biological activity spectrum for novel quinoline analogues[J]. *Bioorg Med Chem*, 2007, 15(3): 1280-1288.
[13] BARNHAM K J, GAUTIER E C, KOK G B, et al. 8-hydroxy quinoline derivatives. WO2004007461 A1[P]. 2004.
[14] LAM K H, GAMBARI R, LEE K K H, et al. Preparation of 8-hydroxyquinoline derivatives as potential antibiotics against *Staphylococcus aureus*[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, 24(1): 367-370.
[15] FENG L, MADDOX M M, ALAM M Z, et al. Synthesis, structure-activity relationship studies, and antibacterial evaluation of 4-chromanones and chalcones, as well as olympicin A and derivatives[J]. *J Med Chem*, 2014, 57(20): 8398-8420.
[16] ZHANG L, MEGGERS E. An extremely stable and orthogonal DNA base pair with a simplified three-carbon backbone[J]. *J Am Chem Soc*, 2005, 127(1): 74-75.
[17] KOHO K T. Preparation of carbostyryl derivatives as phosphodiesterase (PDE) inhibitors for treatment of heart failure, hypertension, Crohn's disease, etc. JP2009040711[P]. 2009.

【收稿日期】 2023-03-10 【修回日期】 2023-10-03
【本文编辑】 李春德