萘酰亚胺三唑新骨架结构化合物的合成及其抗烟曲霉菌作用

张鹏丽, 吕敬松, ANSARI Mohammad Fawad, BATTINI Narsaiah, 蔡桂鑫*, 周成合*

西南大学化学化工学院, 发光分析与分子传感教育部重点实验室, 重庆 400715

*通讯作者, E-mail: zhouch@swu.edu.cn; gxcai@swu.edu.cn

收稿日期: 2021-01-12; 接受日期: 2021-04-02; 网络版发表日期: 2021-06-24

国家自然科学基金(编号: 21971212)、重庆市科技局博士后科学基金(编号: cstc2019jcyj-bshX0124)、中国博士后科学基金(编号: 2019M653821XB)和重庆市博士后研究项目(编号: XmT2018082)资助

摘要 本文从萘二酸酐出发设计开发了一类结构独特的萘酰亚胺三唑新抗真菌分子. 目标化合物结构经波谱证实. 抗真菌活性研究表明该系列萘酰亚胺三唑化合物对烟曲霉菌的抑制活性远优于氟康唑, 尤其是强活性化合物**5j**具有快速的抗真菌能力, 且对正常细胞的毒性较低和无明显耐药性. 进一步的研究表明, **5j**不仅可以通过嵌入DNA形成生物超分子络合物的方式来阻碍微生物DNA的复制, 也能够损伤烟曲霉菌细胞膜和诱导活性氧的生成而影响菌株的存活. 此外, 其还可以通过四个氢键与烟曲霉菌中甾醇14- α 去甲基酶(CYP51B)结合形成生物超分子而影响其酶的功能从而达到抗真菌目的. 以上结果显示该类化合物具备多靶向抗真菌潜力. 该系列化合物的药物化学生物学研究揭示出此类萘酰亚胺三唑新骨架结构分子可望作为专门抗烟曲霉菌的特效药而被深入开发.

关键词 萘酰亚胺, 三唑, 超分子作用, 耐药性, DNA

1 引言

真菌感染长期给人类健康带来巨大威胁^[1]. 流行病学调查显示, 全球侵袭性真菌感染的发病率和死亡率正逐年增长^[2]. 其中, 由白色念珠菌、新型隐球菌和烟曲霉菌等致病菌引发的深部真菌感染(如肺部感染), 爆发性强和传播力广^[3]. 与抗细菌药相比, 目前临床可用抗真菌药物相对短缺以及现有药物副作用强、易产生耐药性等多种短板, 使得当前的临床用药需求无法得到及时满足^[4]. 因此, 开发全新结构、新的作用机

制、高效、低毒和低耐药的新型抗真菌治疗药物是当今世界面临的紧迫任务.

萘酰亚胺因其大的刚性骨架使得它易于与DNA、拓扑异构酶等生物分子通过非共价键相结合发生超分子作用, 进而展现出潜在的生物医药应用价值^[5]. 研究证明, 萘酰亚胺衍生物可以通过嵌入微生物DNA来阻断DNA的复制和转录过程, 从而表现出对众多的病原体优异的抑制活性^[6]. 萘酰亚胺的N位和4-位进行取代对分子整体的超分子相互作用具有显著的影响, 同时也可借此来调节其药物化学生物学性质^[7]. 此

引用格式: Zhang PL, Lv JS, Ansari MF, Battini N, Cai GX, Zhou CH. Synthesis of naphthalimide triazoles with a novel structural framework and their anti-*Aspergillus fumigatus* effects. *Sci Sin Chim*, 2021, 51: 1094–1103, doi: 10.1360/SSC-2021-0003

外, 萘酰亚胺可以诱导活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生和积累, 从而引起细胞内部氧化还原状态的失衡^[8]. 这是因为高浓度的ROS能够导致细胞体内关键生物分子的氧化损伤, 最终致使菌体的细胞功能障碍, 因此调节ROS的产生和积累被认为是一种潜在的应对感染性疾病的有效治疗策略^[9].

三唑是一类广泛备受器重的五元芳香氮杂环, 其特殊的结构易于与菌体内生物靶点的生物分子如酶等通过氢键等多种非共价作用力发生超分子作用, 产生生物效应^[10], 因而三唑环作为一个有益的抗真菌结构片段, 被广泛用于抗真菌药物设计中, 并在众多临床药物的设计研发中得到成功使用, 如氟康唑、伊曲康唑和伏立康唑等均含有三唑结构^[11].

基于此, 利用三唑和萘酰亚胺骨架的结构特点及其在药物化学生物学中的优势, 本工作将三唑片段引入至萘酰亚胺骨架的N位, 用不同的基团取代萘酰亚胺4-位上的溴原子设计开发得到一类独特结构的萘酰亚胺三唑新结构分子(图1), 期望发现抗真菌活性高、毒性低和低耐药的具有临床候选潜力的新分子. 因此该工作在萘酰亚胺三唑骨架结构上引入了一系列能调控生物超分子作用的脂环胺, 并进一步在其结构上引入能调节理化性质的各种取代基, 以考察其影响. 测试所合成的系列萘酰亚胺三唑目标化合物的抗真菌活性, 研究其强活性化合物的快速抗真菌能力、毒性、

耐药性等成药性, 进一步进行其药物化学生物学性质评估以探究其可能的抗真菌作用机制, 包括研究强活性化合物对细胞膜的通透性而影响其损伤细胞膜的能力、探究其与DNA的超分子相互作用而评价其阻碍复制的能力、评估其产生ROS的能力进而影响微生物存活情况、衡量其与生物靶标酶CYP51B的超分子结合作用而评价其影响其酶的功能发挥的能力. 该系列探索有利于评价该类分子的应用价值与潜力, 同时也对该类抗真菌化合物的深入设计研发具有指导意义.

2 实验

2.1 试剂与仪器

所有原料和试剂均为商业采购, 使用前未进一步纯化. 化合物的熔点由X-6熔点仪(北京福凯仪器有限公司, 中国)测定, 核磁共振谱由Bruker AVANCE III 600 MHz仪(德国)测试, 高分辨质谱由FTICR质谱仪(德国)测定, 紫外-可见吸收光谱由TU-2450紫外可见光谱仪(北京普析仪器有限公司, 中国)测定, 荧光光谱由F-2700荧光光谱仪(日本)测定.

2.2 化合物2的合成

将4-溴-1,8-萘二甲酸酐(2.00 g, 7.22 mmol)和4-氨基-1,2,4-三唑(728 mg, 8.66 mmol)加入到50 mL圆底烧

图1 萘酰亚胺三唑新骨架结构抗真菌分子的设计思想(网络版彩图)

Figure 1 Design idea of naphthalimide triazoles as a novel structural framework of antifungal molecules (color online).

瓶中, 以乙酸锌(1.32 g, 7.22 mmol)为催化剂, 以乙醇(30 mL)为溶剂, 回流反应8 h. 薄层色谱跟踪(展开剂: 乙酸乙酯/石油醚=1:1)至反应结束, 冷却至室温, 去除溶剂得白色固体中间体**2** (2.14 g, 6.25 mmol), 产率: 86.5%, 熔点: 189.5~190.1℃. ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$ (二甲亚砜- d_6)) δ 8.89 (bs, 3H, naphthalimide-2-*H*, triazole-3,5-*H* (naphthalimide=萘酰亚胺; triazole=三唑)) (naphthalimide=萘酰亚胺; triazole=), 8.53 (d, $J=3.1$ Hz, 1H, naphthalimide-4-*H*), 8.32 (d, $J=4.4$ Hz, 1H, naphthalimide-6-*H*), 7.70 (d, $J=8.2$ Hz, 1H, naphthalimide-3-*H*), 6.97 (bs, 1H, naphthalimide-5-*H*) ppm.

2.3 化合物**3a~3c**和**4**的合成

将中间体**2** (200 mg, 0.58 mmol)和乙二醇单甲醚(10 mL)放入50 mL圆底烧瓶中, 再分别与五元杂环四氢吡咯、六元杂环哌啶、吗啉及双氮杂环哌嗪在120℃下反应3 h. 薄层色谱跟踪(展开剂: 乙酸乙酯/石油醚=2:1), 反应结束后, 冷却至室温, 去除溶剂后粗品经柱层析分离纯化(展开剂: 乙酸乙酯/石油醚=1~5:1, *V/V*).

2.4 化合物**5a~5n**和**6a~6f**的合成

将化合物**4** (200 mg, 0.57 mmol)加入到50 mL圆底烧瓶中, 以碳酸钾(79 mg, 0.57 mmol)为碱, 以乙腈(10 mL)为溶剂, 分别与烷基卤化物和苄基卤化物回流反应10 h. 薄层色谱跟踪(展开剂: 二氯甲烷/石油醚=2:1), 反应结束后, 冷却至室温, 去除溶剂后粗品经柱层析分离纯化(展开剂: 石油醚/二氯甲烷=1:1~10, *V/V*).

2.5 抗微生物活性评估

合成的萘酰亚胺三唑类化合物抗真菌能力的采用临床和实验室标准协会(CLSI)推荐的两倍连续稀释技术测定其最小抑制浓度值(MIC, $\mu\text{mol/mL}$) (实验步骤见网络版补充材料).

2.6 细胞毒性测定

活性分子**5j**的毒性评估是采用标准噻唑蓝比色法(MTT法), 测定萘酰亚胺三唑**5j**对LO2细胞的细胞毒性(实验步骤见网络版补充材料).

2.7 耐药性测定

活性分子**5j**引发耐药性的情况的评估方法是将烟

曲霉菌菌株暴露于萘酰亚胺三唑**5j**的亚抑制浓度下进行持续传代, 用**5j**对菌株的每次传代进行MIC测定^[12] (实验步骤见网络版补充材料).

2.8 ROS含量测定

活性分子**5j**产生ROS的含量用2',7'-二氯荧光黄双乙酸盐(2',7'-dichlorofluorescent yellow diacetate, DCFH-DA)测定^[13] (实验步骤见网络版补充材料).

2.9 膜损伤测定

活性分子**5j**对膜损伤能力评估是用碘化丙啶(PI)荧光染料来测定膜损伤程度^[14] (实验步骤见网络版补充材料).

2.10 分子对接实验

酶的结构在PDB数据库下载, 化合物的结构在ChemDraw 14.0软件绘制; 使用Sybyl-X 2.0软件对酶和小分子的结构进行优化, 进一步执行分子对接计算; 使用Pymol 4.5.0软件对计算结果进行优化.

3 结果与讨论

3.1 萘酰亚胺三唑衍生物的合成

各类萘酰亚胺三唑**2**、**3a~3c**、**4**、**5a~5n**和**6a~6f**的合成路线如图2所示, 市售4-溴-1,8-萘二甲酸酐与4-氨基-1,2,4-三唑在乙酸锌和乙醇中进行酰胺化反应得到重要萘酰亚胺三唑中间体**2**, 产率为86.5%. 中间体**2**分别与各类脂环胺包括五元杂环类四氢吡咯、六元杂环哌啶、吗啉及双氮杂环哌嗪在乙二醇甲醚中反应得到相应取代产物**3a~3c**和**4**. 萘酰亚胺三唑哌嗪衍生物**4**进一步分别与卤代烷烃和卤苄反应得到目标活性分子**5a~5n**和**6a~6f**. 所有新化合物的结构均被波谱证实. 在相关的氢谱解析中发现, 位于三唑环上的两个氢原子分别在 $\text{DMSO}-d_6$ 和 CDCl_3 两种氘代试剂中呈现出不同的化学位移值. 例如, 化合物**5a** (氘代试剂: $\text{DMSO}-d_6$)中三唑环上的两个氢原子出峰位置在8.80 ppm, 化合物**6f** (氘代试剂: CDCl_3)中三唑环上的两个氢原子出峰位置在8.30 ppm. 此外, 烯丙基哌嗪取代的衍生物**5i**的精准结构也得到了单晶证实(图3). 其中哌嗪环采用椅式构象, 这或许是椅式构象更为稳定的缘故.

图 2 萘酰亚胺三唑的合成路线(网络版彩图)

Figure 2 Synthetic route of naphthalimide triazoles (color online).

图 3 萘酰亚胺三唑5i的单晶结构(网络版彩图)

Figure 3 Crystal structure of naphthalimide triazole 5i (color online).

3.2 抗真菌活性评估

对所制备的化合物2、3a~3c、4、5a~5n和6a~6f进行体外抗真菌活性评估,用临床三唑类抗真菌药物氟康唑作为阳性对照。结果(表1)表明,三唑修饰的萘酰亚胺中间体2对烟曲霉菌具有优异的抑制活性,因而对其进行进一步结构修饰以获得更高活性的分子。

对于五元杂环类四氢吡咯、六元杂环哌啶、吗啉及双氮杂环哌嗪修饰的产物3a~3c和4,虽然对烟曲霉菌的活性不增反减,但对于其他一些真菌的抑制效果得到改善,如四氢吡咯修饰的分子3a和哌嗪修饰的化合物4对热带假丝酵母菌和近平滑念珠菌22019的抑制活性优于中间体2。因此,对哌嗪取代的衍生物4进一步修饰。活性数据表明,哌嗪被进一步修饰得到的化合物

5a~5n和6a~6f与化合物3a~3c和4相比,对某些测试真菌的抑制活性有明显改善。例如,癸基修饰的萘酰亚胺哌嗪衍生物5d和烯丙基衍生物5i对所测真菌菌株的抑制活性均优于3a~3c和4。其中,适当碳链的长度对不同的真菌呈现出不同的抑制效果。如短烷基链乙基取代的哌嗪化合物5a和正己基衍生物5b对白色念珠菌的抑制活性优于长烷基链衍生物5c~5h。十二烷基衍生物5e和十四烷基取代的化合物5f对烟曲霉菌的抑制活性约是氟康唑的13.5倍,优于其他烷基链修饰的衍生物,而烷基链过长对抗烟曲霉菌的活性是不利的。此外,卤代苄基取代的产物6a~6f中,2,4-二氯苄基取代的衍生物6f对所测试除近平滑假丝酵母菌22019以外真菌的抑制活性均优于对位或间位氯代苄基衍生物6d和6e。同样地,2,4-二氟苄基取代的产物6c对所测试真菌的抑制活性均优于对位或间位氟代苄基衍生物6a和6b。其次,2,4-二氯苄基取代的衍生物6f对白色念珠菌、白色念珠菌90023和烟曲霉菌的抑制活性优于2,4-二氟苄基取代的衍生物6c。值得关注的是,绝大多数化合物对烟曲霉菌都表现出优于氟康唑的抑制活性,尤其是炔丙基修饰的衍生物5j对烟曲霉菌的抑制活性远优于氟康唑,所以5j可作为抗烟曲霉菌的特效药而被深入研究。

表 1 目标化合物的体外抗真菌活性($\mu\text{mol/mL}$)

Table 1 *In vitro* antifungal activities ($\mu\text{mol/mL}$) for target compounds

化合物	白色念珠菌	白色念珠菌90023	烟曲霉菌	热带假丝酵母菌	近平滑念珠菌22019
2	0.187	0.187	0.047	0.374	0.374
3a	0.361	0.361	0.721	0.361	0.180
3b	0.694	0.173	0.347	0.694	0.347
3c	0.183	0.092	0.183	0.367	0.734
4	0.368	0.368	0.368	0.184	0.184
5a	0.085	0.011	0.043	0.170	0.340
5b	0.074	0.074	0.296	0.148	0.148
5c	0.139	0.278	0.017	0.278	0.556
5d	0.131	0.066	0.066	0.131	0.131
5e	0.124	0.124	0.031	0.124	0.124
5f	0.118	0.059	0.030	0.235	0.059
5g	0.224	0.028	0.112	0.112	0.056
5h	0.213	0.213	0.213	0.213	0.213
5i	0.165	0.082	0.165	0.165	0.082
5j	0.083	0.083	0.002	0.083	0.166
5k	0.326	0.326	0.326	0.163	0.163
5l	0.041	0.165	0.165	0.331	0.331
5m	0.305	0.305	0.305	0.305	0.305
5n	0.590	0.147	0.295	0.295	0.074
6a	0.281	0.281	0.281	0.281	0.281
6b	0.281	0.281	0.281	0.281	0.281
6c	0.270	0.270	0.270	0.135	0.270
6d	0.271	0.068	0.068	0.271	0.271
6e	0.271	0.542	0.136	0.271	0.271
6f	0.126	0.063	0.004	0.253	0.506
氟康唑	0.013	0.003	0.418	0.013	0.013

3.3 细胞毒性测定

化合物的毒性是活性化合物成药性的一个重要考虑, 因此采用MTT法进一步测定了萘酰亚胺三唑5j对人正常肝细胞LO2细胞的损伤作用. 结果表明, 即使化合物5j在100 μM 的高浓度下, LO2细胞的存活率都高于80%, 并且其半抑制浓度 IC_{50} 值为 $234.5 \pm 13.4 \mu\text{M}$, 这表明高活性化合物5j在发挥优异的抗烟曲霉菌效果时对正常细胞的毒性较低(图4), 这为5j的进一步开发提供了有效支持.

3.4 耐药性研究

活性分子耐药性的诱发情况是衡量该类分子药用

潜力的重要指标. 为了考察该活性分子5j是否产生耐药性, 本文用氟康唑作为阳性对照, 研究了烟曲霉菌对萘酰亚胺三唑5j的耐药性情况(图5). 实验结果表明在16代以内, 化合物5j对烟曲霉菌的活性几乎保持不变, 而氟康唑对烟曲霉菌的活性在第6代之后急剧增加. 耐药性研究证明烟曲霉菌对化合物5j未诱发展快速的耐药性.

3.5 抗真菌动力学研究

为了考察活性分子5j的抗真菌能力, 本文进一步测定了萘酰亚胺三唑5j、氟康唑和控制组的抗真菌动力学曲线. 图6显示, 萘酰亚胺三唑5j在约2 h内能使菌落数量减少2.5~3个logCFU值, 说明强活性化合物5j具

图 4 LO2细胞在萘酰亚胺三唑5j处理后的生长情况
Figure 4 Cell viability of LO2 cell treated by naphthalimide triazole 5j .

图 5 萘酰亚胺三唑5j对烟曲霉菌的耐药性发展(网络版彩图)
Figure 5 Resistance development of naphthalimide triazole 5j against *Aspergillus fumigatus* (*A. fumigatus*) (color online).

图 6 萘酰亚胺三唑 $5j$ 和氟康唑($4\times\text{MIC}$)对烟曲霉菌的时间致死曲线(网络版彩图)

Figure 6 Time-kill curves of naphthalimide triazole $5j$ and fluconazole ($4\times\text{MIC}$) against *A. fumigatus* (color online).

有快速抗真菌的能力, 这为 $5j$ 作为抗烟曲霉菌特效药提供了进一步的支持。

3.6 萘酰亚胺三唑 $5j$ 与DNA超分子作用

靶向DNA的小分子药物的发现, 为合理设计和构建高效的抗菌药物提供了依据^[15]。研究表明, 萘酰亚胺和三唑环能够通过其大环共轭骨架和多氮杂环结构与DNA通过非共价键结合。因此, 本文以小牛胸腺DNA为研究对象, 研究DNA与活性化合物萘酰亚胺三唑 $5j$ 的超分子相互作用。

如图7所示, 随着化合物 $5j$ 浓度的增加, DNA在260 nm处的最大吸收峰出现有规律的增加, 这说明 $5j$ 可以与DNA相互作用形成超分子络合物从而阻碍DNA的功能。为了进一步探索化合物 $5j$ 与DNA的作用模式, 采用吖啶橙(AO)阳离子染料作为探针^[16], 研究化合物 $5j$ 对AO-DNA复合物的光谱影响。图8显示出, 随着化合物 $5j$ 浓度的增加, 在537 nm处荧光强度明显降低, 说明分子 $5j$ 可以通过嵌入DNA来影响AO与DNA的结合。

3.7 萘酰亚胺三唑 $5j$ 对细胞膜损伤的研究

细胞膜具有重要的生命功能, 使各种生化反应有序进行。细胞膜一旦受到损伤, 会干扰细胞的膜电位, 破坏膜上电化学平衡, 损害细胞的正常生理功能, 进一步影响细胞的存活^[17]。

本文进而利用PI染料(不通过活细胞膜, 但可以通过损伤细胞膜释放红色荧光)评价了萘酰亚胺三唑 $5j$

图 7 萘酰亚胺三唑 $5j$ 与DNA作用图谱, $c(\text{DNA})=5.0\times 10^{-5}\text{ M}$, $c(\text{化合物}5j)=0\sim 0.7\times 10^{-5}\text{ M}$ (网络版彩图)

Figure 7 Interaction spectra of DNA with naphthalimide triazole $5j$, $c(\text{DNA})=5.0\times 10^{-5}\text{ M}$, and $c(\text{compound } 5j)=0\sim 0.7\times 10^{-5}\text{ M}$ (color online).

图 8 萘酰亚胺三唑 $5j$ 与AO-DNA作用图谱, $c(\text{DNA})=5.0\times 10^{-5}\text{ M}$, $c(\text{AO})=2\times 10^{-5}\text{ M}$, $c(\text{化合物}5j)=0\sim 1.0\times 10^{-5}\text{ M}$ (网络版彩图)

Figure 8 Interaction spectra of AO-DNA with naphthalimide triazole $5j$, $c(\text{DNA})=5.0\times 10^{-5}\text{ M}$, $c(\text{AO})=2\times 10^{-5}\text{ M}$, and $c(\text{compound } 5j)=0\sim 1.0\times 10^{-5}\text{ M}$ (color online).

对烟曲霉菌膜通透性的影响^[18]。如图9所示, 617 nm处的荧光强度随着化合物 $5j$ 浓度的增加而增加, 这证实化合物 $5j$ 可以损坏烟曲霉菌的细胞膜而影响烟曲霉菌的存活。

3.8 萘酰亚胺三唑 $5j$ 介导的烟曲霉菌体内氧化损伤水平的评估

ROS是一类不稳定的离子, 包括超氧阴离子、自由基等, 参与细胞的生长发育、分化和凋亡等多种生命过程^[19]。烟曲霉菌内ROS水平能够反映菌内氧化还

图9 萘酰亚胺三唑**5j**对烟曲霉菌的细胞膜损伤研究($\lambda_{\text{ex}}=535\text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}=617\text{ nm}$) (网络版彩图)

Figure 9 Membrane damage of *A. fumigatus* toward naphthalimide triazole **5j** ($\lambda_{\text{ex}}=535\text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}=617\text{ nm}$) (color online).

图10 萘酰亚胺三唑**5j**处理的烟曲霉菌细胞内ROS的产生($\lambda_{\text{ex}}=504\text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}=529\text{ nm}$) (网络版彩图)

Figure 10 Intracellular ROS production in *A. fumigatus* treated by naphthalimide triazole **5j** ($\lambda_{\text{ex}}=504\text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}=529\text{ nm}$) (color online).

原状态和氧化损伤程度^[20]。本文使用DCFH-DA染料测定烟曲霉菌在不同浓度**5j**处理后的ROS水平。如图10所示,随着化合物**5j**浓度的增加,绿色荧光强度逐渐增强,这是由于DCFH-DA本身无荧光,而在ROS存在下可以氧化形成绿色荧光物质二氯荧光素(DCF)^[21]。这进一步说明化合物**5j**不仅可以嵌入DNA形成超分子络合物、造成细胞膜损伤,而且能够诱导ROS的产生和积累而发挥抗菌作用。

3.9 萘酰亚胺三唑**5j**与甾醇14- α 去甲基酶的超分子作用

活性分子与酶的超分子结合,能有效干扰酶的功能实施。甾醇14- α 去甲基酶(CYP51B, PDB:4UYM)是烟曲霉菌中主要的靶标蛋白,因CYP51B中只含有一个真菌特异性结合域,所以以CYP51B为靶标而研发的抗菌剂具有特异性识别作用^[22]。本文探讨了萘酰亚胺三唑特效抗烟曲霉菌分子**5j**与CYP51B的结合作用。图11表明,萘酰亚胺羰基中的氧原子可以与相邻HIS-461残基端位羧基中的氢原子形成氢键,距离为3.5 Å。三唑片段中1位和2位氮原子可以分别与ARG-378残基端位胍基中的氢原子形成氢键,距离分别为2.0和2.2 Å。此外,哌嗪环中被炔丙基取代的氮原子与残基SER-311端位羟基中的氢原子也存在氢键作用,距离为2.6 Å。尤其是三唑环的4-位氮原子可以与血红素辅基上的铁离子发生配位结合作用,可能是其发挥抑制活性的关键因素。所有的非共价相互作用形成的生物

图11 萘酰亚胺三唑**5j**与CYP51B酶的超分子作用(网络版彩图)

Figure 11 Supramolecular interaction of naphthalimide triazole **5j** with CYP51B (color online).

超分子带来的可能结果是,影响CYP51B活性中心与周围氧原子结合,抑制蛋白内甲基羟化反应,从而导致烟曲霉菌中甾醇生物合成过程受阻^[23]。此外,甾醇是细胞膜的重要组成部分,它的缺失影响细胞膜功能的发挥,这从另一方面验证了细胞膜的受损。

3.10 萘酰亚胺三唑结构与其药物化学生物学行为的关系

萘酰亚胺三唑结构作为抗烟曲霉菌特效药具体表现为: (1) 萘酰亚胺三唑新骨架结构化合物普遍都对烟曲霉菌具有优异的抑制活性, 尤其是炔丙基取代的萘酰亚胺哌嗪衍生物**5j**效果更佳; (2) 萘酰亚胺三唑新骨架结构三唑中的两个氮原子、萘酰亚胺羰基中的氧原子和哌嗪环中被炔丙基取代的氮原子通过氢键作用与烟曲霉菌CYP51B的相应氨基酸残基形成超分子, 是发挥生物活性的重要结构基团; (3) 萘酰亚胺4-位上引入脂环胺和哌嗪环的进一步修饰有助于调节药物化学生物学行为并改善生物活性(图12).

4 结论

本文以萘二酞酐为原料开发了一类特效抗烟曲霉菌的萘酰亚胺三唑新结构分子, 尤其是炔丙基哌嗪衍生物**5j**不仅具有快速抗真菌能力、对正常细胞毒性低和无耐药性, 还可通过嵌入DNA形成超分子络合物而阻碍DNA的正常功能, 且可与CYP51B酶形成生物超分子而阻碍细胞膜上甾醇的正常合成, 从而影响细胞

补充材料

本文的补充材料见网络版<http://chemcn.scichina.com>. 补充材料为作者提供的原始数据, 作者对其学术质量和内容负责.

参考文献

- 1 Perfect JR. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16: 603–616
- 2 Hadrich I, Ayadi A. *J de Mycologie Médicale*, 2018, 28: 574–584
- 3 (a) Latgé JP, Chamilos G. *Clin Microbiol Rev*, 2020, 33: 140–214; (b) Gao WW, Rasheed S, Tangadanchu VKR, Sun Y, Peng XM, Cheng Y, Zhang FX, Lin JM, Zhou CH. *Sci China Chem*, 2017, 60: 769–785; (c) Zhang L, Peng XM, Damu GLV, Geng RX, Zhou CH. *Med Res Rev*, 2014, 34: 340–437
- 4 (a) Chang YL, Yu SJ, Heitman J, Wellington M, Chen YL. *Virulence*, 2017, 8: 222–236; (b) Li ZZ, Maddili SK, Tangadanchu VKR, Bheemanaboina RRY, Lin JM, Yang RG, Cai GX, Zhou CH. *Sci Sin Chim*, 2019, 49: 230–255 (in Chinese) [李珍珍, Maddili SK, Tangadanchu VKR, Bheemanaboina RRY, 林健梅, 杨仁国, 蔡桂鑫, 周成合. 中国科学: 化学, 2019, 49: 230–255]; (c) He SC, Ponmani J, Avula SR, Wang XL, Zhang HZ, Zhou CH. *Sci Sin Chim*, 2016, 46: 823–847 (in Chinese) [何世超, Ponmani J, Avula SR, 王宪龙, 张慧珍, 周成合. 中国科学: 化学, 2016, 46: 823–847]
- 5 (a) Chen Z, Han L, Xu M, Xu Y, Qian X. *Curr Med Chem*, 2013, 20: 1694–1714; (b) Gong HH, Addla D, Lv JS, Zhou CH. *Curr Top Med Chem*, 2016, 16: 3303–3364; (c) Zhang YY, Zhou CH. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21: 4349–4352; (d) Kang J, Gopala L, Reddy Tangadanchu VK, Gao WW, Zhou CH. *Future Med Chem*, 2018, 10: 711–724
- 6 (a) Wang Q, Li G, Liu Z, Tan X, Ding Z, Ma J, Li L, Li D, Han J, Wang B. *Eur J Inorg Chem*, 2018, 2018(40): 4442–4451; (b) Damu GLV, Wang QP, Zhang HZ, Zhang YY, Lv JS, Zhou CH. *Sci China Chem*, 2013, 56: 952–969; (c) Chen YY, Gopala L, Bheemanaboina RRY, Liu HB, Cheng

图 12 萘酰亚胺三唑类衍生物的构效关系总结(网络版彩图)

Figure 12 Summary of structure-activity relationships for naphthalimide triazole derivatives (color online).

膜发挥正常功能达到损伤细胞膜的作用. 化合物**5j**也能诱导ROS产生和积累导致细胞体内氧化还原状态失衡和关键生物分子受到氧化损伤, 最终致使细胞死亡. 这些研究揭示出此类萘酰亚胺三唑新骨架结构分子具有多靶向协同抗真菌作用, 可望作为专门抗烟曲霉菌的特效药进行深入研究.

- Y, Geng RX, Zhou CH. *ACS Med Chem Lett*, 2017, 8: 1331–1335
- 7 (a) Wang Q, Tan X, Liu Z, Li G, Zhang R, Wei J, Wang S, Li D, Wang B, Han J. *Eur J Pharm Sci*, 2018, 124: 127–136; (b) Kang J, Tangadanchu VKR, Gopala L, Gao WW, Cheng Y, Liu HB, Geng RX, Li S, Zhou CH. *Chin Chem Lett*, 2017, 28: 1369–1374
- 8 Luo X, Yang Y, Qian X. *Chin Chem Lett*, 2020, 31: 2877–2883
- 9 (a) Wang J, Ansari MF, Lin JM, Zhou CH. *Chin J Chem*, 2021, 39: 2251–2263; (b) Xie YP, Ansari MF, Zhang SL, Zhou CH. *Pestic Biochem Phys*, 2021, 175: 104849; (c) Zhou Y, Sun H, Wang F, Ren J, Qu X. *Chem Commun*, 2017, 53: 10588–10591; (d) Moloney JN, Cotter TG. *Seminars Cell Dev Biol*, 2018, 80: 50–64
- 10 (a) Colley T, Sehra G, Daly L, Kimura G, Nakaoki T, Nishimoto Y, Kizawa Y, Strong P, Rapeport G, Ito K. *Sci Rep*, 2019, 9: 9482–9492; (b) Zhang Y, Tangadanchu VKR, Bheemanaboina RRY, Cheng Y, Zhou CH. *Eur J Med Chem*, 2018, 155: 579–589
- 11 (a) Zhang S, Xu Z, Gao C, Ren QC, Chang L, Lv ZS, Feng LS. *Eur J Med Chem*, 2017, 138: 501–513; (b) Zhang Y, Tangadanchu VKR, Cheng Y, Yang RG, Lin JM, Zhou CH. *ACS Med Chem Lett*, 2018, 9: 244–249; (c) Zhang HZ, He SC, Peng YJ, Zhang HJ, Gopala L, Tangadanchu VKR, Gan LL, Zhou CH. *Eur J Med Chem*, 2017, 136: 165–183; (d) Luo YL, Baathulaa K, Kannekanti VK, Zhou CH, Cai GX. *Sci China Chem*, 2015, 58: 483–494
- 12 (a) Wu S, Wang Y, Liu N, Dong G, Sheng C. *J Med Chem*, 2017, 60: 2193–2211; (b) Zhang HZ, Gan LL, Wang H, Zhou CH. *Mini-Rev Med Chem*, 2017, 17: 122–166; (c) Hu YY, Wang J, Li TJ, Yadav Bheemanaboina RR, Ansari MF, Cheng Y, Zhou CH. *Future Med Chem*, 2020, 12: 1709–1727; (d) Chen JP, Battini N, Ansari MF, Zhou CH. *Eur J Med Chem*, 2021, 217: 113340
- 13 Subedi YP, Roberts P, Grille M, Takemoto JY, Chang CWT. *ACS Infect Dis*, 2019, 5: 473–483
- 14 (a) Stiefel P, Schmidt-Emrich S, Maniura-Weber K, Ren Q. *BMC Microbiol*, 2015, 15: 36–44; (b) Li ZZ, Tangadanchu VKR, Battini N, Bheemanaboina RRY, Zang ZL, Zhang SL, Zhou CH. *Eur J Med Chem*, 2019, 179: 723–735; (c) Wang LL, Battini N, Bheemanaboina RRY, Zhang SL, Zhou CH. *Eur J Med Chem*, 2019, 167: 105–123
- 15 (a) Safenkova IV, Ivanov AV, Slutskaya ES, Samokhvalov AV, Zherdev AV, Dzantiev BB. *Anal Chim Acta*, 2020, 1102: 109–118; (b) Zhou CH, Cui SF, Lv JS, Damu GLV, Wang Y. *Sci Sin Chim*, 2012, 42: 1105–1131; (c) Zhang GB, Maddili SK, Tangadanchu VKR, Gopala L, Gao WW, Cai GX, Zhou CH. *Sci China Chem*, 2018, 61: 557–568; (d) Cao Q, Wang H, Tangadanchu VKR, Gopala L, Cai G, Zhou C. *Sci Sin Chim*, 2017, 47: 844–858 [曹泉诚, 王辉, Tangadanchu VKR, Gopala L, 蔡桂鑫, 周成合. 中国科学: 化学, 2017, 47: 844–858]
- 16 (a) Chatterjee S, Kumar GS. *J Photochem Photobiol B Biol*, 2016, 159: 169–178; (b) Sun H, Ansari MF, Battini N, Bheemanaboina RRY, Zhou CH. *Org Chem Front*, 2019, 6: 319–334; (c) Zhang HZ, Lin JM, Rasheed S, Zhou CH. *Sci China Chem*, 2014, 57: 807–822; (d) Wang J, Battini N, Ansari MF, Zhou C. *Chin J Chem*, 2021, 39: 1093–1103
- 17 (a) Groves JT. *Dev Cell*, 2019, 48: 15–16; (b) Wang J, Ansari MF, Zhou CH. *J Med Chem*, 2021, doi: 10.1021/acs.jmedchem.1c00334; (c) Wang LL, Battini N, Bheemanaboina RRY, Ansari MF, Chen JP, Xie YP, Cai GX, Zhang SL, Zhou CH. *Eur J Med Chem*, 2019, 179: 166–181; (d) Peng XM, Kumar KV, Damu GLV, Zhou CH. *Sci China Chem*, 2016, 59: 878–894
- 18 (a) Liu B, Liu X, Zhang JR, Liu G. *ACS Infect Dis*, 2017, 3: 438–453; (b) Cui SF, Addla D, Zhou CH. *J Med Chem*, 2016, 59: 4488–4510; (c) Hu CF, Zhang PL, Sui YF, Lv JS, Ansari MF, Battini N, Li S, Zhou CH, Geng RX. *Bioorg Chem*, 2020, 94: 103434; (d) Hu YY, Yadav Bheemanaboina RR, Battini N, Zhou CH. *Mol Pharmaceutics*, 2019, 16: 1036–1052
- 19 (a) West AP, Brodsky IE, Rahner C, Woo DK, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Walsh MC, Choi Y, Shadel GS, Ghosh S. *Nature*, 2011, 472: 476–480; (b) Mittler R. *Trends Plant Sci*, 2017, 22: 11–19; (c) Sui YF, Ansari MF, Fang B, Zhang SL, Zhou CH. *Eur J Med Chem*, 2021, 221: 113557
- 20 Moloney JN, Cotter TG. *Semin Cell Dev Biol*, 2018, 80: 50–64
- 21 Tauffenberger A, Fiumelli H, Almustafa S, Magistretti PJ. *Cell Death Dis*, 2019, 10: 653–668
- 22 Lucio J, Gonzalez-Jimenez I, Rivero-Menendez O, Alastruey-Izquierdo A, Pelaez T, Alcazar-Fuoli L, Mellado E. *Genes*, 2020, 11: 1217–1234
- 23 McAllister TE, England KS, Hopkinson RJ, Brennan PE, Kawamura A, Schofield CJ. *J Med Chem*, 2016, 59: 1308–1329

Synthesis of naphthalimide triazoles with a novel structural framework and their anti-*Aspergillus fumigatus* effects

Peng-Li Zhang, Jing-Song Lv, Mohammad Fawad Ansari, Narsaiah Battini, Gui-Xin Cai^{*},
Cheng-He Zhou^{*}

Key Laboratory of Luminescence Analysis and Molecular Sensing (Southwest University), Ministry of Education, School of Chemistry and Chemical Engineering, Southwest University, Chongqing 400715, China

^{*}Corresponding authors (email: zhouch@swu.edu.cn; gxcai@swu.edu.cn)

Abstract: This work designed and exploited a series of unique naphthalimide triazoles as antifungal molecules starting from naphthalic anhydride. The structures of the target compounds were confirmed by spectra. The antifungal activities showed that these naphthalimide triazoles against *A. fumigatus* exhibited superior bioactivities to fluconazole, especially the highly active compound **5j** showed low toxicity to normal cells, no obvious drug resistance and rapid fungicidal potentiality. Further studies revealed that **5j** could not only block the replication of microbial DNA by embedding in DNA to form supramolecular complexes, but also damage the cell membrane and induce ROS generation to affect the survival of fungi. Moreover, **5j** could form a biosupramolecule with sterol 14- α demethylase (CYP51B) of *A. fumigatus* by four hydrogen bonds, and thus affect enzyme function to achieve anti-*A. fumigatus* purpose. These results revealed that these compounds exhibited multifarious antifungal effect. Therefore, this work implied that naphthalimide triazoles with this novel structural framework could be the potential anti-*A. fumigatus* drugs.

Keywords: naphthalimide, triazole, supramolecular interaction, drug resistance, DNA

doi: [10.1360/SSC-2021-0003](https://doi.org/10.1360/SSC-2021-0003)