

## 磺酰肼的高效快速合成及其抗菌性能初探 ——推荐一个医学本科院校化学创新实验

唐敬杰<sup>2</sup>, 谢露影<sup>2</sup>, 刘嘉昱<sup>3</sup>, 石尚玉<sup>2</sup>, 孙欣雨<sup>2</sup>, 林家阳<sup>2</sup>, 杨琦堃<sup>2</sup>, 于传昂<sup>2</sup>,  
王泽诚<sup>2</sup>, 王盈盈<sup>1,\*</sup>, 解增洋<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> 济宁医学院, 基础医学院新型抗肿瘤药物分子设计与合成实验室, 山东 济宁 272067

<sup>2</sup> 济宁医学院, 临床医学院, 山东 济宁 272067

<sup>3</sup> 济宁医学院, 第二临床医学院, 山东 济宁 272067

**摘要:** 在有机化学实验教学过程中, 实验内容通常是完成某一化合物的合成或提取, 缺少对目标化合物的结构鉴定和性质检验。为了提高有机化学实验教学质量, 培养学生的科研素养和创新能力。以商业易得的醛、酮和对甲苯磺酰肼为反应原料, 于室温无溶剂条件下, 利用研磨方法在1 min内高效快速合成磺酰肼, 并对产物进行结构表征和性质研究。产物应用于抗菌实验研究时, 化合物**3i**和**3h**对大肠杆菌有最好的抑制效果。实验涉及合成、TLC检测和柱色谱层析等操作, 可以锻炼学生在有机化合物合成、纯化及结构鉴定等方面的操作技能。要求学生独立查阅文献, 熟练掌握Origin、ChemDraw和MestRec等软件的使用, 可以提升学生分析问题并解决问题的能力。改进的实验以提高学生综合素质为宗旨, 适用于有机化学基础实验教学。

**关键词:** 无溶剂条件; 磺酰肼; 研磨方式; 抗菌性能

**中图分类号:** G64; O6

## Efficient Rapid Synthesis and Antibacterial Activities of Tosylhydrazones: A Recommended Innovative Chemistry Experiment for Undergraduate Medical University

Jingjie Tang<sup>2</sup>, Luying Xie<sup>2</sup>, Jiayu Liu<sup>3</sup>, Shangyu Shi<sup>2</sup>, Xinyu Sun<sup>2</sup>, Jiayang Lin<sup>2</sup>, Qikun Yang<sup>2</sup>,  
Chuan'ang Yu<sup>2</sup>, Zecheng Wang<sup>2</sup>, Yingying Wang<sup>1,\*</sup>, Zengyang Xie<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of New Antitumor Drug Molecular Design & Synthesis, College of Basic Medicine, Jining Medical University, Jining 272067, Shandong Province, China.

<sup>2</sup> Clinical Medicine College, Jining Medical University, Jining 272067, Shandong Province, China.

<sup>3</sup> The Second Clinical Medicine College, Jining Medical University, Jining 272067, Shandong Province, China.

**Abstract:** In the teaching process of the organic chemistry experiment, the content typically involves the synthesis or extraction of a certain compound, often lacking in structural identification and property testing of the target compound. To improve the quality of organic chemistry experimental teaching, and cultivate students' scientific research literacy and innovation ability, commercially available aldehydes, ketones and *p*-toluenesulfonyl hydrazide are used as reactants. *N*-tosylhydrazone derivatives were effectively synthesized within 1 min under solvent-free conditions by using a grinding method at room temperature, and the structure and properties of the products were also

收稿: 2023-09-25; 录用: 2023-11-03; 网络发表: 2023-11-14

通讯作者, Emails: wangyyjnm@126.com (王盈盈); xiezy@mail.jnmc.edu.cn (解增洋)

基金资助: 教育系统省政府公派出国留学项目(鲁教外函(2019)27号-22); 山东省大学生创新创业训练计划项目(s202210443004); 济宁医学院大学生创新创业训练计划项目(cx2022050z, cx2022030z); 山东省本科高校教学改革研究项目(M2023005)

studied. Compounds **3i** and **3h** have the best inhibitory effect against *Escherichia coli* during antibacterial experimental research. The experiment, encompassing synthesis, TLC detection, and column chromatography operations, serves to hone students' operational skills in organic compound synthesis, purification, and structural identification. Students are required to consult literature independently and proficiently utilize software tools like Origin, ChemDraw and MestRec, which fosters their ability to analyze and resolve problems. This improved experimental framework, aimed at elevating students' comprehensive qualities, is well-suited for the foundational organic chemistry experimental teaching.

**Key Words:** Solvent-free conditions; Tosylhydrazones; Grinding method; Antibacterial properties

根据《普通高等学校本科专业类教学质量国家标准》中的要求，在校医学类专业学生应掌握化学基础知识、基本理论和基本技能，具有较强研发和设计能力，能够在医学、化学及相关学科领域从事研究和开发。以上相关技能和能力的获得都与在校阶段的实验能力的培养息息相关，而实验教学是学生学习理论知识与应用实践之间的桥梁<sup>[1]</sup>，也是锻炼学生动手能力和训练创新思维的重要途径<sup>[2]</sup>。现阶段学校有机化学实验一般通过经典有机反应培养学生基本的有机合成能力，学时相对较短，各个实验内容相对独立，实验之间缺乏联系，知识不系统<sup>[3]</sup>。随着科技的发展，学科交叉不断深入，需要设计多学科融合的创新实验来培养学生的全面科研素质。

含有活性基团(—NH—N=CH—)的胂类化合物大多具有较强的生物活性，被广泛应用于医药抗细菌、抗真菌、消炎镇痛等领域，有广谱性、低毒性和高效性等优点<sup>[4-6]</sup>。磺酰胂作为一类高活性但目前报道不多的胂类化合物，能够提供较强的配位能力，推测可以和微生物细胞内的靶标活性位点紧密结合，发挥较强的抑菌活性，因此具有广阔的开发前景<sup>[7]</sup>。

例如，据报道<sup>[8]</sup>图1中磺酰胂化合物I对金黄色葡萄球菌表现出较强的抑菌活性，而其双分子镍的配合物II则有很好的抗大肠杆菌活性。

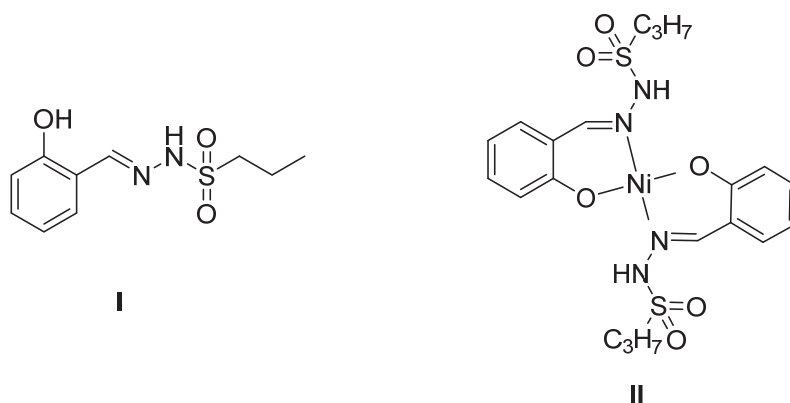


图1 具有抗菌活性的磺酰胂

磺酰胂的传统合成方法是磺酰肼与醛(酮)的反应。然而，这些方法仍然存在一些局限性，比如，需要大量的有机溶剂、较高的反应温度、较长的反应时间等。近年来，绿色和可持续的反应体系由于具有环境友好和高原子利用率等优点引起了广大科技工作者的兴趣<sup>[9]</sup>。在这些方法中，选择性高、操作简单、易于纯化的无溶剂反应更具有吸引力。此外，利用研磨技术进行的机械化学合成被认为是一种用途广泛的化学合成方法，在各种无溶剂反应中起着重要作用<sup>[10]</sup>。

本实验对传统经典反应的方法进行优化改革，利用无溶剂研磨方法实现了醛、酮和对甲苯磺酰肼的快速反应，于室温下在短时间内高效快速合成以对甲苯磺酰肼与不同取代的醛或酮为原料的不同磺酰胂，产物的结构经过红外、质谱和核磁表征。为了有效适应当前科技的发展要求，在此基础

上, 与微生物学科进行融合并设计了磺酰脲的抗大肠杆菌实验(图2)。整个实验涉及薄层层析、柱层析、反应后处理、双层琼脂扩散法抑菌活性实验等基本操作。

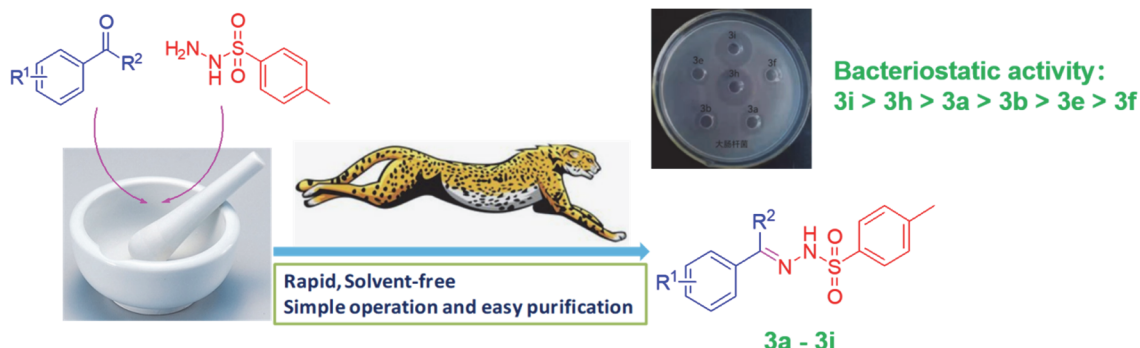


图2 无溶剂研磨合成磺酰脲及其杀菌活性

## 1 实验目的

- (1) 了解磺酰脲的无溶剂研磨合成的原理和方法;
- (2) 熟练掌握薄层色谱(TLC)法监控反应进程并对产物进行柱层析纯化;
- (3) 熟悉并熟练掌握旋转蒸发仪、红外光谱仪、核磁共振仪等仪器的基本操作, 学会谱图分析和数据处理;
- (4) 掌握双层琼脂扩散法实验的原理、操作及结果判定方法。

## 2 实验原理

磺酰脲的合成反应虽然已被广泛的研究, 但大多用的是传统方法, 即把磺酰脲和羰基化合物溶于乙醇等有机溶剂, 在少量冰HAc或H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>等酸催化下, 回流一定时间, 生成磺酰脲。在有机溶液进行的反应, 反应物混合均匀, 其能量交换稳定, 但有机溶剂一般易挥发、有毒、污染环境, 给生态环境带来了沉重的负担, 不符合“绿色化学”的要求。

研磨法, 也叫机械化学法, 主要是指通过摩擦、挤压等手段, 对固体、液体等凝聚态物质施加机械能, 局部表面的温度可以超过1000 K, 并持续10<sup>-4</sup>-10<sup>-3</sup> s, 诱导其结构、物理化学性质发生改变, 并诱发化学反应<sup>[1]</sup>。

本实验以几种醛酮与对甲苯磺酰脲为原料, 通过无溶剂研磨方法合成了九种磺酰脲, 合成路线如图3。

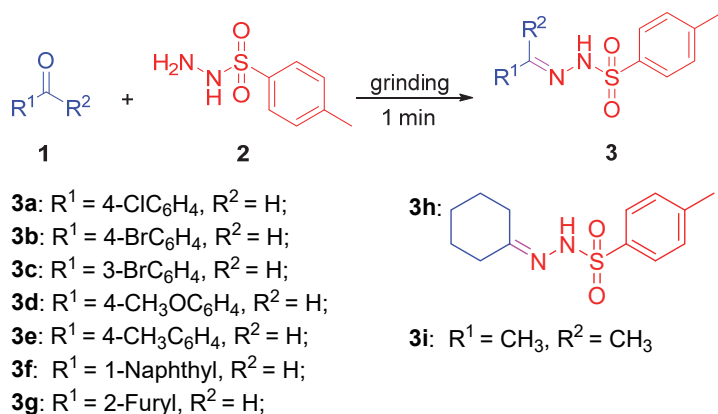


图3 本实验的合成路线

基于磺酰脲类化合物可以与微生物细胞内的靶标活性位点进行配位,发挥较强的抑菌活性<sup>[12,13]</sup>。在得到九种磺酰脲的基础上,本实验对其抗大肠杆菌活性进行初步研究。

### 3 实验内容

#### 3.1 仪器与试剂

仪器:旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器, R-1001 VN),电子分析天平(上海天平仪器, FA 2104),真空干燥箱(山东省龙口市先科仪器, DZF-6020),手动按压式移液枪(北京海谊科技, 20–200  $\mu\text{L}$ ),数显电热培养箱(上海博迅实业, HPX-9082 MBE),牛津杯(青岛海博生物, 8 mm),立式压力蒸汽灭菌器(上海申安医疗器械, LEAD-Tech),循环水式多用真空泵(郑州长城科工, SHB-III),数字熔点仪(上海晶科物理光学仪器有限公司, WRS-1A),手提式紫外分析仪(上海嘉鹏科技, ZF-5),磁力搅拌器(上海司乐仪器, 85-1),红外光谱仪(日本岛津仪器, IRAffinity-1S),ESI-MS电喷雾质谱仪(德国 Finnigan Mat, TSQ 7000),核磁共振波谱仪(德国布鲁克, 400 MHz),生化超净工作台(苏州净化设备, VS-1300 U),铁架台、玻璃棒、漏斗、磁子、100 mL圆底烧瓶、250 mL量筒、1 mL注射器、薄层层析板、层析柱。

试剂或材料:对甲苯磺酰脲(上海阿拉丁生化科技, >98.0%),对氯苯甲醛(上海阿拉丁生化科技, 98%),对溴苯甲醛(上海阿拉丁生化科技, 99%),3-溴苯甲醛(上海阿拉丁生化科技, 97%),茴香醛(上海阿拉丁生化科技,  $\geq 99\%$ ),对甲基苯甲醛(上海阿拉丁生化科技, 97%),1-萘甲醛(上海阿拉丁生化科技, 97%),糠醛(上海阿拉丁生化科技, 99%),环己酮(上海阿拉丁生化科技,  $\geq 99.5\%$ ),丙酮(国药集团化学试剂,  $\geq 99.5\%$ ),石油醚(上海泰坦科技股份有限公司, 60–90  $^{\circ}\text{C}$ ),乙酸乙酯(国药集团化学试剂,  $\geq 99.5\%$ ),柱层析硅胶(青岛海洋化工厂, 200–300目),乙醇(国药集团化学试剂,  $\geq 95\%$ ),大肠杆菌(保存于本校生物化学实验室),营养琼脂(广州市鸿洲实验器材, 250 g)。

#### 3.2 实验步骤

##### 3.2.1 磺酰脲的合成

1) 以化合物**3a**的合成为例。

准确称取对氯苯甲醛(1.5 mmol, 213 mg)、对甲苯磺酰脲(1.5 mmol, 279 mg)放置于研钵中,小心研磨约1 min至反应混合物结块。

2) 反应进程监测。

取反应混合物少许,用乙醇溶解后用于TLC监测反应进展。用石油醚和乙酸乙酯( $V_1:V_2=3:1$ )作为展开剂。展开后在254 nm的紫外灯下观察原料消耗情况,产物形成情况。

3) 产物分离。

向烧杯里加入硅胶(200–300目),加入石油醚(60–90  $^{\circ}\text{C}$ )搅拌均匀并浸泡5 min。将少量用石油醚倒入层析柱中,然后再加入浸泡好的硅胶并将其压实。将研钵中反应混合物用少许无水乙醇溶解后湿法上样,配置流动相石油醚和乙酸乙酯( $V_1:V_2=1:1$ ),对产物快速柱层析纯化,减压蒸除溶剂得到白色固体**3a**。

化合物**3b–3i**的合成方法同上。将合成的九个化合物进行红外、质谱和核磁表征,确认产物结构。

##### 3.2.2 磺酰脲的抗菌活性

本实验采用双层琼脂扩散法对磺酰脲进行抗大肠杆菌活性的测定,以青霉素钾与庆大霉素作为阳性对照。将所用菌群活化后并调整菌体浓度为 $1 \times 10^6 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。于无菌平皿中倒入10 mL的1.5%的素琼脂,待其凝固后用无菌镊子取灭菌的牛津杯(直径8 mm)6个,按一定次序整齐排列于平皿中。取50  $\mu\text{L}$ 活化好的菌群悬液加入到15 mL冷却至50  $^{\circ}\text{C}$ 左右的半固体牛肉膏蛋白胨培养基中,迅速混匀,将混合均匀的培养基倾倒在底层素琼脂上,待其充分冷却凝固后,以无菌镊子取出牛津杯,即形成若干孔洞。配制无菌化合物磺酰脲溶液( $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ),按照顺时针方向依次在牛津杯中加入120  $\mu\text{L}$ 抑菌液,以双抗作阳性对照。超净工作台上放置2 h后,置37  $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱培养,观察是否出现抑菌圈,出现抑菌圈的用游标卡尺测量抑菌圈直径。

## 4 结果与讨论

### 4.1 反应条件的优化

在最初的研究中, 选择4-氯苯甲醛(**1a**)和对甲苯磺酰肼(**2a**)作为反应底物来探索反应的最优条件。如表1所示, 在室温下, 7种不同的溶剂被考察, 其中使用乙腈作为溶剂产物的收率最高(表1, entry 3)。接下来, 以乙腈作为溶剂, 又考察了温度对反应的影响, 当反应物在乙腈中回流反应30 min, 收率没有明显的提高(表1, entry 8)。受到无溶剂反应最新进展的启发, 我们将上述反应物置于研钵中, 采用研磨的方式研究反应。有趣的是, 该反应在1 min内便可反应完全, 以高收率得到目标化合物(表1, entry 9)。然而, 延长研磨时间, 不会进一步地增加产物收率(表1, entries 10、11)。通过以上实验的比较, 最终确立了合成磺酰肼的最优条件。

表1 磺酰肼反应条件的优化<sup>a</sup>

Entry	溶剂	反应方式(温度)	时间	产率(%) <sup>b</sup>
1	乙醇	常规搅拌(室温)	1.5 h	85
2	乙酸乙酯	常规搅拌(室温)	1.5 h	82
3	乙腈	常规搅拌(室温)	1.5 h	87
4	四氢呋喃	常规搅拌(室温)	1.5 h	72
5	甲苯	常规搅拌(室温)	1.5 h	77
6	氯仿	常规搅拌(室温)	1.5 h	81
7	<i>N,N</i> -二甲基甲酰胺	常规搅拌(室温)	1.5 h	68
8	乙腈	常规搅拌(90 °C)	30 min	88
9	— <sup>c</sup>	研磨(室温)	1 min	93
10	— <sup>c</sup>	研磨(室温)	6 min	93
11	— <sup>c</sup>	研磨(室温)	10 min	93

<sup>a</sup>反应条件: **1a** (1.5 mmol)和**2a** (1.5 mmol)于3 mL溶剂中; <sup>b</sup>分离产率; <sup>c</sup>无溶剂条件

### 4.2 化合物**3a**合成的薄层色谱分析和纯化后产品性状

如图4所示, 在标准反应条件下, 原料几乎反应完全, 在紫外灯下未见明显副产物。计算得对甲苯磺酰肼比移值( $R_f$ ) = 0.1, 化合物**3a**  $R_f$  = 0.27, 对氯苯甲醛  $R_f$  = 0.77。

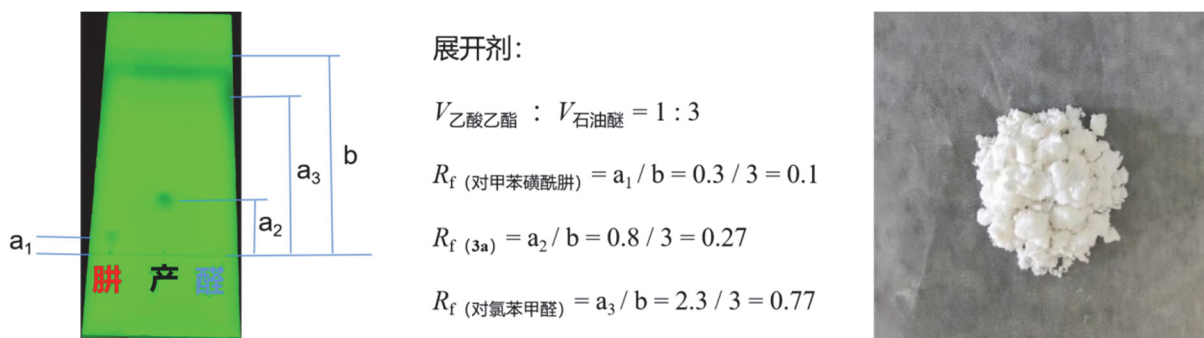


图4 TLC结果分析(左)和纯化后产品性状(右)

### 4.3 反应底物的拓展

依据最优反应条件，本实验对不同反应底物进行拓展，结果见图5。富电子和缺电子的芳醛都能和对甲苯磺酰肼很好地反应生成相应的腙。该体系对空间位阻影响不敏感，1-萘甲醛作为底物也能以高收率得到目标产物(图5, **3f**)。值得注意的是，该方法还适用于杂芳醛的反应，得到相应具有满意收率的产物(图5, **3g**)。另外，脂肪酮如环己酮和丙酮在该条件下也可发生反应，以高收率得到酮腙(**3h**, **3i**)。

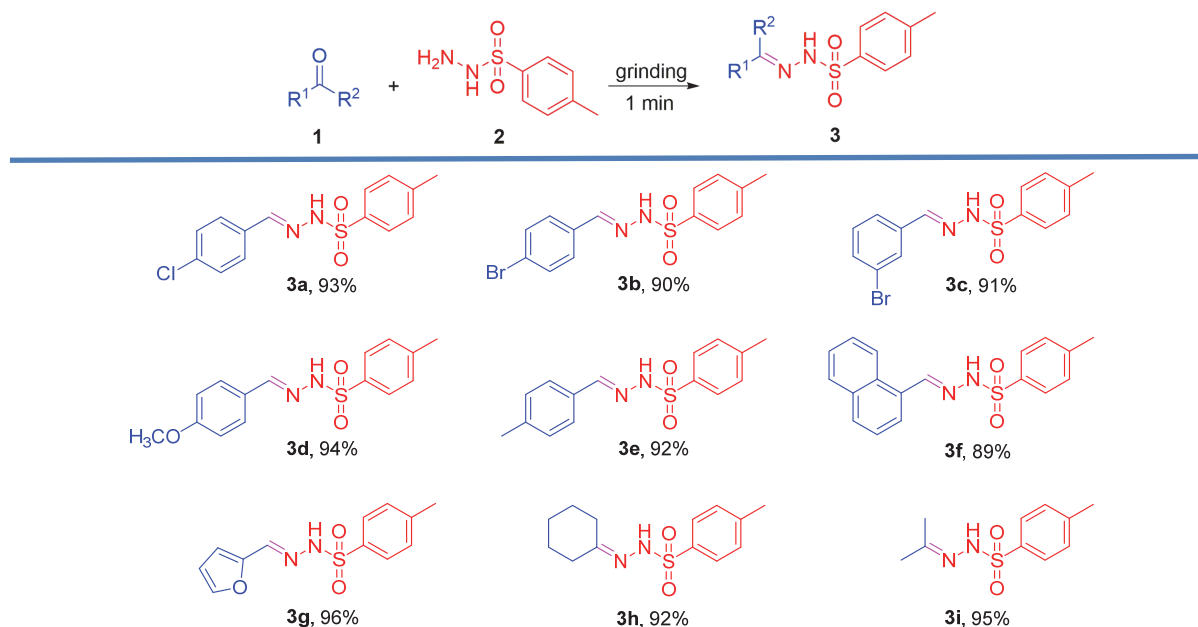


图5 反应底物的拓展

### 4.4 化合物的结构表征

对所合成化合物分别进行红外(IR)、核磁共振谱(NMR)和电喷雾质谱(ESI-MS)表征，以确定其具体结构。以化合物**3a**为例，在其IR图上可以找到特征的N-H、C=N的伸缩振动吸收峰分别在3182.55和1595.13  $\text{cm}^{-1}$  (图6)。

在ESI-MS图谱中可以发现该分子和质子结合的分子离子峰为309.17 (图7)。

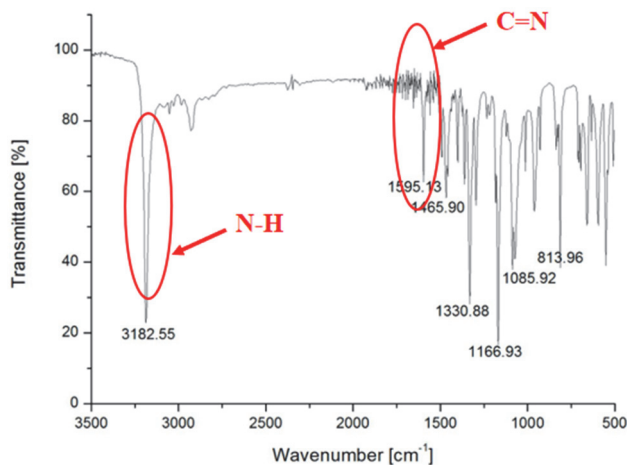


图6 化合物**3a**的红外光谱图

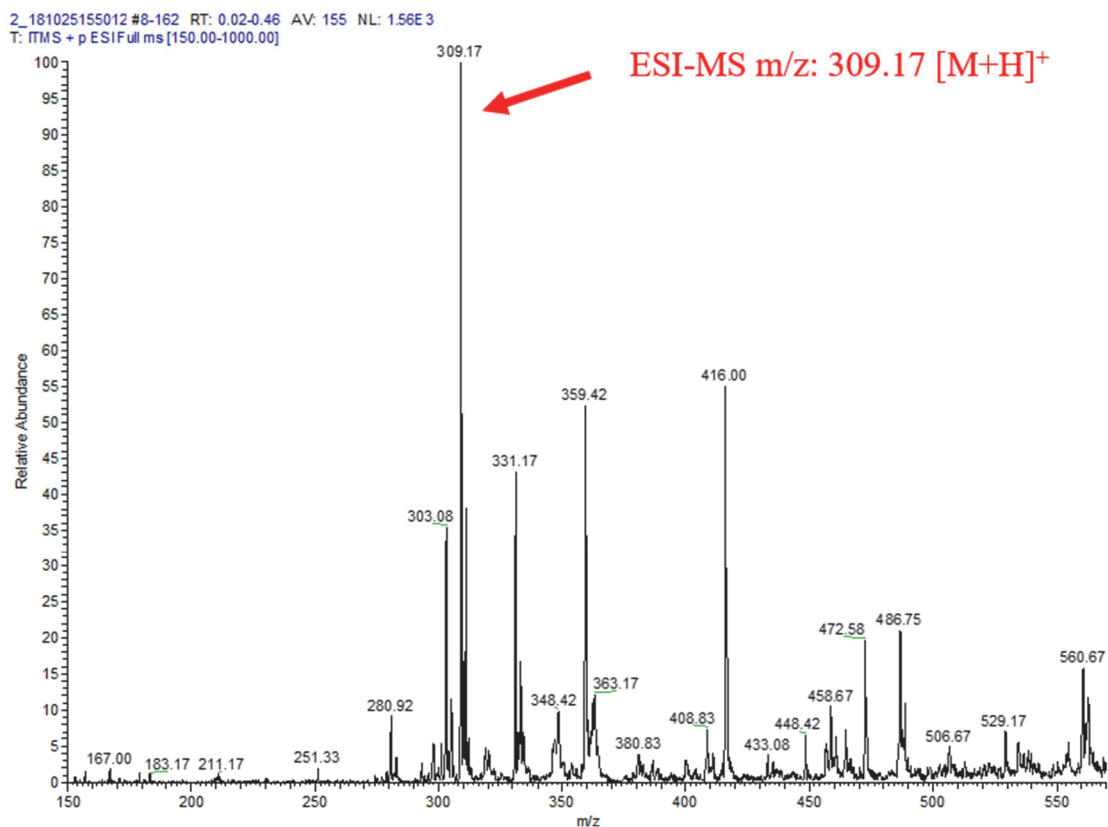


图7 化合物3a的ESI-MS图谱

从化合物3a的<sup>1</sup>H NMR图上可以看到，特征的PhCH=N和SO<sub>2</sub>NH中质子分别以单峰出现在化学位移7.91和11.50 (图8)。

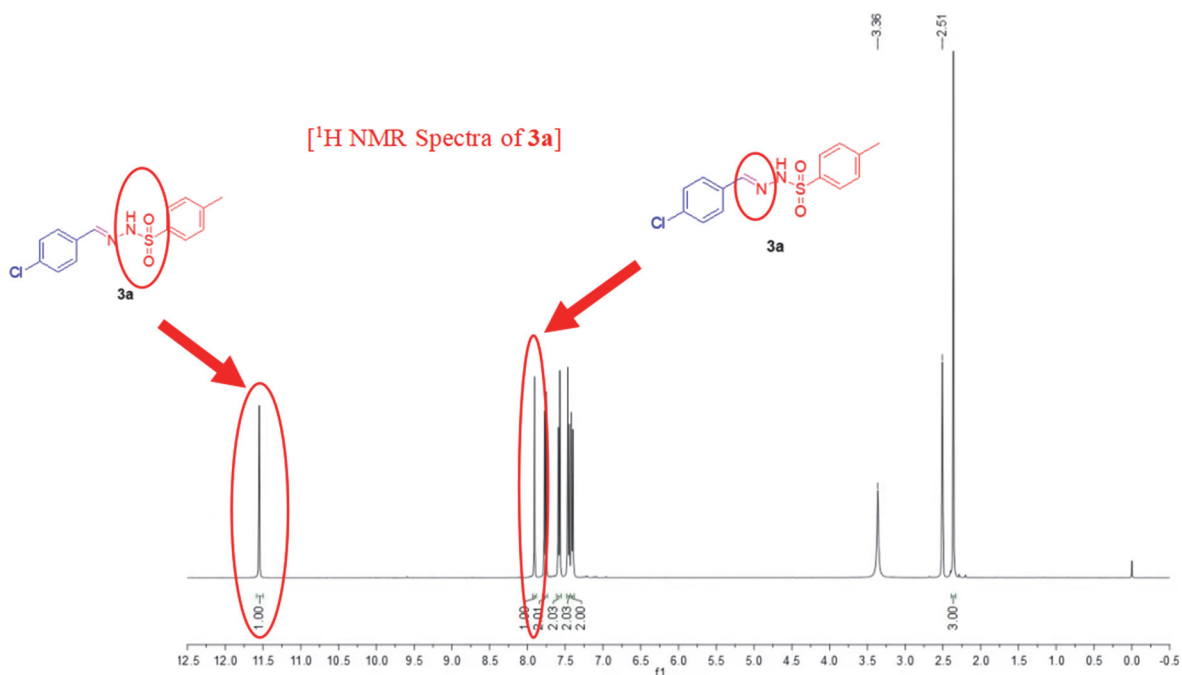


图8 化合物3a的氢谱图

碳谱中的每个峰也都与分子结构中的碳一一对应(图9)。

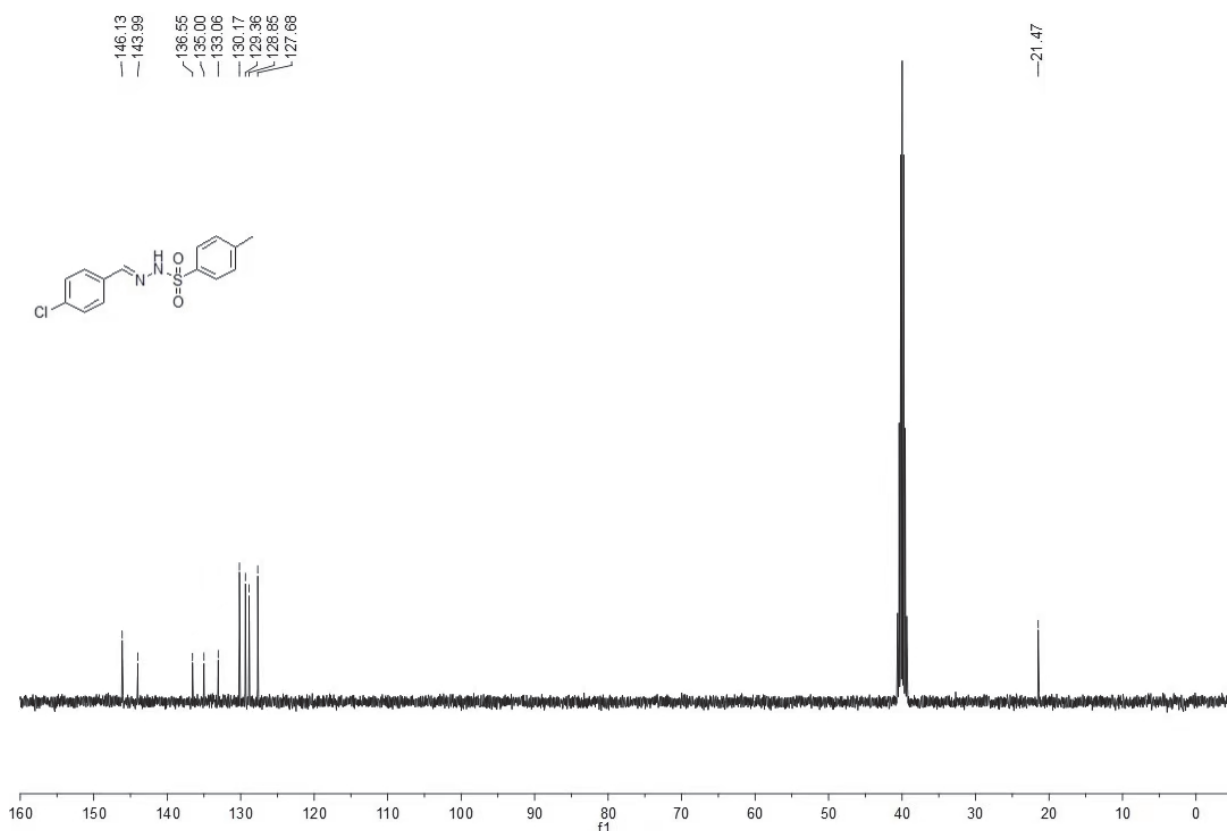


图9 化合物3a的碳谱图

1) 化合物3a的结构表征:

*N*-(4-chlorobenzylidene)-4-methylbenzenesulfonylhydrazide。Yield: 431 mg (93%); mp 154.7–155.8 °C (EA/PE); IR (KBr)  $\nu$  814, 1086, 1167, 1331, 1466, 1595, 3183  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  2.36 (s, 3H), 7.41 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 7.46 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 7.58 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.76 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.91 (s, 1H), 11.50 (s, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  21.5, 127.7, 128.9, 130.2, 133.1, 135.0, 136.6, 143.9, 146.1; ESI-MS  $m/z$ : 309.17  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

2) 化合物3b的结构表征:

*N*-(4-bromobenzylidene)-4-methylbenzenesulfonylhydrazide。Yield: 477 mg (90%); mp 174.5–176.3 °C (EA/PE); IR (KBr)  $\nu$  812, 1069, 1169, 1331, 1470, 1593, 3184  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  2.38 (s, 3H), 7.41 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.51 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.60 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.76 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.89 (s, 1H), 11.57 (s, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  21.5, 123.8, 127.7, 129.1, 130.2, 132.3, 133.4, 136.6, 143.9, 146.2; ESI-MS  $m/z$ : 353.17  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

3) 化合物3c的结构表征:

*N*-(3-bromobenzylidene)-4-methylbenzenesulfonylhydrazide。Yield: 482 mg (91%); mp 116.0–117.5 °C (EA/PE); IR (KBr)  $\nu$  949, 1057, 1167, 1329, 1362, 1518, 1597, 3142  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  2.33 (s, 3H), 7.33 (t,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 7.39 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.55 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 7.72 (s, 1H), 7.78 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.90 (s, 1H), 11.67 (s, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  21.5, 122.6, 126.1, 127.7, 129.5, 130.2, 131.4, 133.0, 136.6, 144.0, 145.7; ESI-MS  $m/z$ : 353.08  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

4) 化合物**3d**的结构表征:

*N*-(4-methoxybenzylidene)-4-methylbenzenesulfonohydrazide。Yield: 429 mg (94%); mp 111.1–112.4 °C (EA/PE); IR (KBr)  $\nu$  949, 1036, 1165, 1423, 1520, 1609, 3225  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  2.35 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 6.94 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 7.38 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.51 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 7.79 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.89 (s, 1H), 11.28 (s, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  21.4, 55.7, 114.7, 126.8, 127.7, 128.8, 130.1, 136.7, 143.8, 147.5, 161.2; ESI-MS  $m/z$ : 305.17  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

5) 化合物**3e**的结构表征:

*N*-(4-methylbenzylidene)-4-methylbenzenesulfonohydrazide。Yield: 397 mg (92%); mp 146.4–147.5 °C (EA/PE); IR (KBr)  $\nu$  937, 1047, 1165, 1362, 1433, 1595, 3215  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  2.30 (s, 3H), 2.35 (s, 3H), 7.20 (d,  $J = 7.9$  Hz, 2H), 7.40 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.44 (d,  $J = 7.9$  Hz, 2H), 7.76 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.87 (s, 1H), 11.35 (s, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  21.4, 21.5, 127.2, 127.7, 129.8, 130.1, 131.4, 136.6, 140.4, 143.9, 147.6; ESI-MS  $m/z$ : 289.17  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

6) 化合物**3f**的结构表征:

4-methyl-*N'*-(naphthalen-1-ylmethylene)benzenesulfonohydrazide。Yield: 433 mg (89%); mp 181.5–182.3 °C (EA/PE); IR (KBr)  $\nu$  941, 063, 1171, 1321, 1508, 1597, 3150  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  2.34 (s, 3H), 7.43 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.51–7.63 (m, 3H), 7.72 (d,  $J = 7.1$  Hz, 1H), 7.85 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.97 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 8.51 (s, 1H), 8.58 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 11.57 (s, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  21.5, 124.7, 125.9, 126.8, 127.8, 127.9, 128.6, 129.2, 129.4, 130.2, 131.1, 133.9, 136.6, 144.0, 147.8; ESI-MS  $m/z$ : 325.17  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

7) 化合物**3g**的结构表征:

*N*-(furan-2-ylmethylene)-4-methylbenzenesulfonohydrazide。Yield: 380 mg (96%); mp 198.1–199.7 °C (EA/PE); IR (KBr)  $\nu$  914, 1049, 1161, 1346, 1487, 1595, 3196  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  2.35 (s, 3H), 6.57–6.54 (m, 1H), 6.80 (d,  $J = 3.4$  Hz, 1H), 7.40 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.72–7.77 (m, 3H), 7.79 (s, 1H), 11.45 (s, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  21.5, 112.5, 114.4, 127.6, 130.2, 136.6, 137.4, 143.9, 145.5, 149.0; ESI-MS  $m/z$ : 265.17  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

8) 化合物**3h**的结构表征:

*N*-cyclohexylidene-4-methylbenzenesulfonohydrazide。Yield: 367 mg (92%); mp 155.4–156.5 °C (EA/PE); IR (KBr)  $\nu$  943, 1037, 1162, 1333, 1404, 1591, 2935, 3255  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  1.51 (s, 6H), 2.07 (s, 2H), 2.25 (s, 2H), 2.37 (s, 3H), 7.38 (d,  $J = 6.5$  Hz, 2H), 7.72 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 10.10 (s, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  21.5, 25.3, 25.9, 27.2, 27.8, 35.1, 127.9, 129.8, 136.9, 143.4, 162.6; ESI-MS  $m/z$ : 267.17  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

9) 化合物**3i**的结构表征:

4-methyl-*N*-(propan-2-ylidene)benzenesulfonohydrazide。Yield: 322 mg (95%); mp 137.5–138.8 °C (EA/PE); IR (KBr)  $\nu$  927, 1091, 1162, 1333, 1388, 1599, 3224  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  1.79 (s, 6H), 2.38 (s, 3H), 7.39 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.74 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 9.99 (s, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  18.1, 21.5, 25.3, 127.9, 129.8, 136.9, 143.5, 157.2; ESI-MS  $m/z$ : 227.17  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

**4.5 磺酰脲的抗菌测试**

所有合成样品在  $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  供试浓度下对大肠杆菌的抑制活性进行测定。抑菌结果显示, 六种磺酰脲在实验浓度范围内表现出明显抑菌作用, 剩余三种化合物抑菌作用不明显。通过抑菌圈直径大小的比较可以看出, 六种有明显抑菌作用的磺酰脲中, 化合物**3i**和化合物**3h**的抑菌效果最好, 抑菌圈直径分别为: 18 mm和17 mm (图10)。



图10 六种磺酰脲的抑菌圈

基于所合成的化合物对大肠杆菌的抑制活性初筛结果，对其进行构效关系分析可以得到以下结论：酮脲的抑菌效果要好于醛脲的，且分子中CN双键的C原子上连接相对较弱的给电子基的化合物(3i)具有最好的抑菌活性。在4个具有抑菌性质的醛脲分子中可以看出，电子云密度相对更低的分子具有更好的抑菌活性(3a > 3b > 3e > 3f)。在今后的实验探索中，我们将继续用这种合成方法制备更多种类的磺酰脲并从中筛选出性能更优越的药物分子，把一套成熟的制备、性质实验应用于化学教学中。

## 5 本实验的创新性/特点/特色声明

- 1) 方法独特：用无溶剂研磨方法代替有机溶剂参与的均相搅拌。
- 2) 学科交融：改革经典反应合成有机药物进行生物物种性质探索。
- 3) 全能全智：本实验的丰富内容有助于全面技能学生的培养。

## 6 教学实施建议

本实验是一个综合性的实验，需要学生有一定的有机化学基础知识。本校医学生的有机化学课程安排在第一学年的第二学期，所以这个实验安排在第二学期的中后段比较合适。整个实验过程教师作为主导，提前安排教学任务及准备实验试剂材料，引导学生完成整个实验。学生作为主体，自主参与其中，实验前可与教师针对预习情况讨论答疑。

基础医学院实验楼有四个较大化学实验室，每个实验室学生分为6组(每组4-5人)，可保证约100个学生在同一时间段进行实验。磺酰脲合成部分约4学时，化合物结构表征约2学时，抑菌实验操作约2学时。实验结束后，每组学生根据本组实验结果，讨论分析实验过程中出现的实验现象，详细地撰写实验报告。

为学生安全地进行实验操作，在使用有机溶剂与细菌时，确保学生在实验室戴护目镜、手套、口罩等防护措施，并且做好应急预案。

为切实保护生态环境，实验过程中使用的溶剂等要按实验室废物处理。接触过细菌的器材灭菌后按照医疗垃圾处理，多次使用的器械要严格灭菌。

## 7 结语

传统有机化学制备实验教学中，强调实验的合成而忽略了分析表征部分及后续的性质应用。本实验对经典反应的方法进行改进，利用无溶剂研磨方法代替有机溶剂参与的均相搅拌反应，在产品纯化过程中，采用快速柱层析来代替重结晶。所有的这些改进措施显著缩短了化合物制备的反应时间，还在一定程度上提高了收率。在化合物结构表征和抗菌性能测试阶段，不仅使学生加深了对大

型仪器的基本构造、使用注意事项及谱图处理分析的了解,而且也为他们将来从事科学研究打下了一定的基础。该新创实验内容丰富,其中产物的结构确证部分(包括薄层色谱、红外光谱、核磁共振谱和ESI-MS的测试与解析)可根据具体的实验教学条件和实验学时情况进行合理调整。除去抑菌实验需在恒温箱培养的时间,完成本实验的其他内容大概在8小时以内,非常适合用于有机化学基础实验教学。

#### 参 考 文 献

- [1] 杨志龙. 化学教育(中英文), **2018**, *39* (6), 27.
- [2] 张永红, 卢宽, 刘晨江. 化学教育(中英文), **2017**, *38* (22), 46.
- [3] 冯磊, 谢永生. 山东师范大学学报: 自然科学版, **2010**, No. z2, 105.
- [4] Masunari, A.; Tavares, L. C. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 4229.
- [5] Melnyk, P.; Leroux, V.; Sergheraert, C.; Grellier, P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 31.
- [6] Silva, A. G.; Zapata-Suto, G.; Kummerle, A. E.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J.; Sudo, R. T. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 3431.
- [7] Butler, A.; Carrano, C. J. *Coord. Chem. Rev.* **1991**, *109*, 61.
- [8] 高志男. 含杂环的取代苯磺酰胺类化合物的合成及其抗菌活性初步研究[博士学位论文]. 西安: 西北农林科技大学, 2015.
- [9] Yang, Y.; Tang, L.; Zhang, S.; Guo, X. F.; Zha, Z. G.; Wang, Z. Y. *Green Chem.* **2014**, *16*, 4106.
- [10] Dhinakaran, I.; Vediappen, P.; Bhuvanesh, N. *ACS Comb. Sci.* **2016**, *18*, 236.
- [11] Stolle, A.; Szuppa, T.; Leonhardt, S. E. S.; Ondruschka, B. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 2317.
- [12] 宋斌, 郑长征, 张铭凯, 徐守卫. 应用化学, **2014**, *31* (7), 7938.
- [13] 胡国强, 张忠泉, 王新, 张智强, 张天栋, 谢松强, 黄文龙. 中国药学杂志, **2010**, *45* (11), 867.