

· 论著 ·

含硫的三唑类化合物的合成及抗真菌活性研究

张治强¹, 付奔¹, 王保刚¹, 张超², 廖万清², 潘炜华², 郭忠武¹ (1. 第二军医大学药学院有机化学教研室, 上海 200433; 2. 第二军医大学附属长征医院皮肤科, 上海 200003)

[摘要] 目的 设计合成含有二硫代甲酸酯侧链的新型三氮唑类化合物, 并研究其体外抗真菌活性。方法 通过与二硫化碳的加成及取代反应合成了9个新型三氮唑类化合物, 其结构通过¹H NMR和MS确证, 并选择8种真菌为实验菌株, 对其体外抗真菌活性进行测试。结果 所有化合物对实验菌株均有一定的抗菌活性, 尤其对白色念珠菌活性较好, 化合物6d对白假丝酵母菌的MIC₈₀值<0.125 μg/ml, 是伊曲康唑的64倍。结论 引入丙基、硫元素和取代苄基侧链对目标化合物的抗真菌活性影响较大; 二硫代甲酸酯结构的引入有利于提高三唑类化合物的体外抗真菌活性。

[关键词] 三唑; 合成; 抗真菌活性

[中图分类号] R978.5

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2016)04-0334-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.04.013

Synthesis and antifungal activities of novel triazole derivatives containing sulfur atoms

ZHANG Zhiqiang¹, FU Ben¹, WANG Baogang¹, ZHANG Chao², LIAO Wanqing², PAN Weihua², GUO Zhongwu¹ (1. Department of Organic Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Department of Dermatology, Changzheng Hospital Affiliated to Second Military Medical University, Shanghai 200003, China)

[Abstract] **Objective** To design and synthesis novel triazole antifungal derivatives with dithiocarbamates side chain and study the antifungal activities. **Methods** Nine title compounds were synthesized and characterized by ¹H NMR, MS spectra. The *in vitro* antifungal activities of all the compounds were evaluated against eight human pathogenic fungi. **Results** The title compounds exhibited strong antifungal activities. Some compounds showed excellent activities against *Candida albicans* with the MIC₈₀ values less than 0.125 g/ml, 6d was 64 times higher than that of Itraconazole. **Conclusion** The introduction of the propyl, sulphur and benzyl moiety to the side chain could affect the antifungal activities.

[Key words] triazole; synthesis; antifungal activities

真菌感染是一种常见病、多发病, 近年来, 由于广谱抗生素的滥用、免疫抑制剂在临床上的大量使用、器官移植和创伤性诊疗措施的广泛开展, 深部真菌感染的发病率和致死率呈显著上升趋势, 深部真菌感染已经成为癌症和免疫缺陷性疾病患者的主要死亡原因之一^[1,2]。另外, 随着抗真菌药物使用率的持续增长, 由烟曲霉菌和毛霉菌引发的真菌感染发生率也不断上升^[3]。无论是针对住院患者还是门诊患者, 三氮唑类药物一直是应用最为广泛的抗真菌药物^[4,5]。这是由于三氮唑类药物不仅具有较好

的安全性和有效性, 还具有良好的口服生物利用度。三氮唑类抗真菌药物的代表药物有氟康唑、酮康唑、伏立康唑和伊曲康唑等, 其中氟康唑作为临床一线抗真菌药物, 体内抗真菌活性好、毒性低, 对局部和深部真菌感染有很好的治疗效果。但是, 随着临床上广泛大量的使用, 氟康唑的耐药性问题也日益突出。此外, 其他抗真菌药物如酮康唑和伊曲康唑等存在毒性较大的缺点, 因此, 设计合成高效、低毒、高选择性的新型三氮唑类化合物成为抗真菌药物研究的热点。

本课题根据三氮唑类药物的作用机制和构效关系, 以氟康唑为先导化合物, 在目标化合物的设计上保留了氟康唑的基本药效基团间二氟苯基、三唑环和叔醇结构^[6,7], 通过丙胺与二硫化碳反应生成硫基硫代甲酰胺, 再与中间体4开环反应, 在侧链引入正丙基胺基和含有不同取代苄基硫代甲酸酯结构, 以期找到活性更好的抗真菌化合物。

[基金项目] 国家自然科学基金 (20972188), 上海科委重点攻关课题 (09dZ1976700, 10dZ2220100)

[作者简介] 张治强, 硕士研究生, 主管药师。研究方向: 抗真菌药物研究。E-mail: zzqysa@163.com

[通讯作者] 郭忠武, 博士, 博士生导师。研究方向: 药物化学合成。Tel: (021)81871228-15; E-mail: wuqysmmu@hotmail.com

1 仪器与试剂

核磁共振谱:Broker Spectrospin AC-P 300 型核磁共振仪(Broker 公司),以 CDCl_3 为溶剂,TMS 为内标;紫外分析仪:三用紫外分析仪 SHB-III A(上海豫康科教仪器设备公司);LC-MS: Agilent 1100 系列液相质谱联用仪(Agilent 公司)。旋转蒸发器:Heodolph LABOROTA 4000(Heodolph 公司),循环水式真空泵:多用真空泵 ZF78(上海豫康科教仪器设备公司),薄层色谱硅胶板和柱层析硅胶(烟台江友公司);所有试剂均为市售分析纯或化学纯。

2 合成实验

2.1 2-氯-2',4'-二氟苯乙酮(2)的制备 无水三氧化铝 200 g (1.494 mol) 和间二氟苯 150 g (1.30 mol)置于1 000 ml三颈瓶中,室温下搅拌,缓慢滴加氯乙酰氯 150 g (1.30 mol),滴加完毕后继续于室温下搅拌 30 min,缓慢升温至45 °C,在此温度下继续搅拌 4.5 h,将反应液倒入冰水中,析出固体,过滤;滤液用二氯甲烷 800 ml 分 2 次提取,合并二氯甲烷提取液,水洗至中性,用无水硫酸钠干燥,过滤,回收溶剂后得固体,合并 2 次所得固体,用乙醇重结晶,得化合物(2)215 g,收率 88%^[8]。

2.2 2-(1*H*-1,2,4-三唑-1-基)-2',4'-二氟苯乙酮

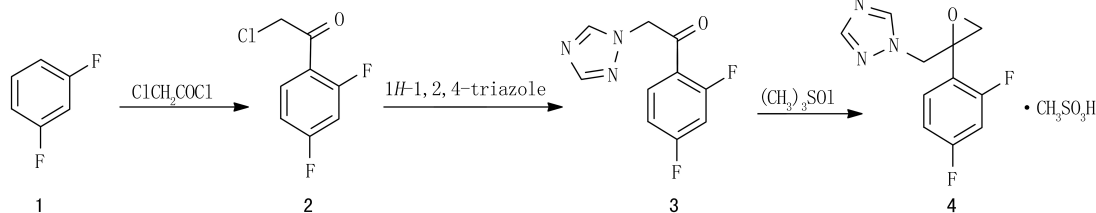


图1 关键中间体4的合成路线

2.4 1-(1*H*-1,2,4-三唑-1-基)-2-(2,4-二氟苯基)-3-(*N*-丙基)胺基-2-醇(5)的制备 将化合物(4)10 g (30.02 mmol),正丙胺 3.55 g (60.04 mmol),三乙胺 10 ml 溶于 200 ml 乙醇中,加热回流 6~8 h,反应完毕后蒸除溶剂,用 100 ml 乙酸乙酯萃取,(100 ml×2)水洗,无水硫酸钠干燥,过滤,蒸除乙酸乙酯,柱层析纯化得油状化合物(5)5.10 g,收率 57%。合成路线见图 2。

2.5 1-(1*H*-1,2,4-三唑-1-基)-2-(2,4-二氟苯基)-3-[*N*-丙基-胺基(2-氟苄基二硫代甲酯基)]-2-醇(6b)的制备 将 2-氟苄基 151.26 mg (0.8 mmol)与二硫化碳 60.91 mg (0.8 mmol)置于 20 ml 茄型瓶

(3)的制备 将三氮唑 54 g (0.4 mol)、苄基三乙基氯化铵(TEBA) 0.8 g、无水碳酸钾 82 g(0.3 mol)加入 400ml CH_2Cl_2 中,得悬浮液;将化合物(2)76 g (0.4 mol)溶于 60 ml CH_2Cl_2 中,于冰浴条件下将其滴入上述 400 ml 悬浮液中,约 2 h 滴完,滴毕后在 0~5 °C 反应 5 h,再于常温反应 24 h。过滤,滤饼用 CH_2Cl_2 洗数次,收集滤液,滤液用水洗 3 次,每次 200 ml,用无水 Na_2SO_4 干燥,蒸去 CH_2Cl_2 。将残留物溶于 200 ml 无水乙酸乙酯中,搅拌下滴加浓硝酸,至黄色固体不再析出为止;过滤,滤饼用少量乙酸乙酯洗数次,干燥,将其溶于 200 ml 水,用 30% 的 NaOH 溶液(W/W)调 pH 值为 9,析出固体,过滤,干燥得粗品,用正己烷-乙酸乙酯(V/V,1:1)重结晶,得化合物(3)76 g,收率 86%^[9]。

2.3 1-[2-(2,4-二氟苯基)-2,3-环氧丙基]-1*H*-1,2,4-三唑甲磺酸盐(4)的制备 将化合物(3)58 g (0.23 mol),三甲基氧硫化碘 50 g (0.23 mol),三甲基十六烷基溴化铵 3.2 g,置于 1 000 ml 三颈瓶中,加入甲苯 400 ml 和 20% 氢氧化钠溶液 450 ml,60 °C 加热 3 h,反应结束后,分离出甲苯层,水层再用甲苯萃取(200 ml×2),合并甲苯层,水洗至中性,回收绝大部分甲苯后,残留液加 240 ml 乙酸乙酯稀释,0 °C 下滴加溶有甲磺酸(16 g)的乙酸乙酯(5 ml)溶液,析出淡黄色固体,过滤,用乙醇重结晶,得化合物(4)44 g,产率 58%^[9]。合成路线见图 1。

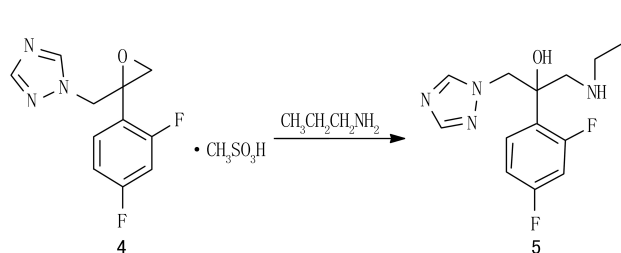


图2 关键中间体5的合成路线

中,冰浴搅拌 10 min,然后加入化合物(5) 118.40 mg (0.4 mmol),搅拌,恢复至室温后继续反应,9 h 后结束反应,柱层析纯化得化合物(6b)

89 mg, 收率 55%。合成路线见图 3。所有 9 个目标化合物 6a~6i 均参照此法制备。

合成的 9 个目标化合物波谱数据见表 1。

3 药理实验

体外抗菌实验的 8 种实验真菌菌株均由第二军医大学附属长征医院真菌室提供, 所有目标化合物对 8 种人体致病菌 (*C. alb.* Y0109, *C. alb.* SC5314, *C. par.*, *C. neo.*, *C. gla.*, *A. fum.*, *T. rub.*, *M. gyp.*) 的体外抗菌活性测试结果如表 2 所示。阳性对照药为伊曲康唑 (ICZ)、特比萘芬 (TBF)、酮康唑 (KCZ)、伏立康唑 (VCZ)、两性霉素 B (AMB)

和氟康唑 (FCZ)。参照美国国家临床实验室标准委员会 (NCCLS) 提出的标准化抗真菌敏感性实验方法, 对化合物体外抗菌活性进行测试^[10]。

4 结果与讨论

本实验以间二氟苯为原料, 参照设计路线, 共合成 9 个未见文献报道的三氮唑类具有体外抗真菌活性的目标化合物。所有化合物结构均经 ¹H NMR 和 MS 确证。

在反应过程中, 我们采取“一锅法”引入二硫代胺基甲酸酯结构。该方法在无催化剂、无溶剂、室温条件下, 短时间反应即可高效地引入含有不同取代

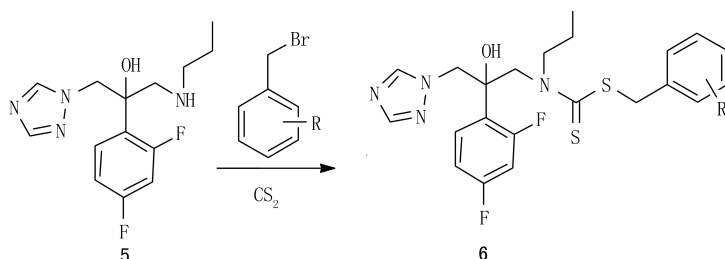


图 3 目标化合物 6b 的合成路线

表 1 目标化合物 6a~6i 的结构及波谱数据

化合物	取代基	产率 (%)	MS (M+H) ⁺	¹ H NMR (300 MHz, CDCl ₃)
6a	H	50	463.44	δ 0.83-0.88 (t, 3H), 1.64-1.74 (m, 2H), 3.39-3.49 (m, 1H), 3.72-3.82 (m, 1H), 3.87 (d, J=14.4 Hz, 1H), 4.51 (s, 2H), 4.59 (d, J=14.1 Hz, 1H), 5.05 (d, J=14.1 Hz, 1H), 5.32 (d, J=14.1 Hz, 1H), 6.79-7.62 (m, 8H), 7.81 (m, 1H), 8.06 (m, 1H);
6b	2-F	55	481.55	δ 0.83-0.88 (t, 3H), 1.64-1.74 (m, 2H), 3.37-3.52 (m, 1H), 3.71-3.80 (m, 1H), 3.88 (d, J=14.4 Hz, 1H), 4.56 (s, 2H), 4.59 (d, J=14.4 Hz, 1H), 5.06 (d, J=14.1 Hz, 1H), 5.32 (d, J=14.1 Hz, 1H), 6.80-7.61 (m, 7H), 7.83 (m, 1H), 8.11 (m, 1H);
6c	3-F	44	481.41	δ 0.85-0.90 (t, 3H), 1.62-1.75 (m, 2H), 3.43-3.54 (m, 1H), 3.74-3.82 (m, 1H), 3.87 (d, J=14.4 Hz, 1H), 4.51 (s, 2H), 4.58 (d, J=14.7 Hz, 1H), 5.07 (d, J=13.8 Hz, 1H), 5.33 (d, J=14.4 Hz, 1H), 6.79-7.61 (m, 7H), 7.83 (m, 1H), 8.08 (m, 1H);
6d	4-F	48	481.48	δ 0.84-0.89 (t, 3H), 1.61-1.74 (m, 2H), 3.40-3.52 (m, 1H), 3.72-3.82 (m, 1H), 3.87 (d, J=14.1 Hz, 1H), 4.48 (s, 2H), 4.59 (d, J=14.1 Hz, 1H), 5.06 (d, J=14.1 Hz, 1H), 5.32 (d, J=14.4 Hz, 1H), 6.79-7.61 (m, 7H), 7.83 (m, 1H), 8.11 (m, 1H);
6e	2-Cl	51	497.41	δ 0.84-0.88 (t, 3H), 1.65-1.74 (m, 2H), 3.41-3.52 (m, 1H), 3.74-3.81 (m, 1H), 3.87 (d, J=14.4 Hz, 1H), 4.59 (d, J=14.4 Hz, 1H), 4.67 (s, 2H), 5.07 (d, J=14.1 Hz, 1H), 5.33 (d, J=14.4 Hz, 1H), 6.80-7.61 (m, 7H), 7.82 (m, 1H), 8.07 (m, 1H);
6f	3-Cl	44	497.37	δ 0.85-0.90 (t, 3H), 1.70-1.77 (m, 2H), 3.43-4.56 (m, 1H), 3.74-3.82 (m, 1H), 3.86 (d, J=14.1 Hz, 1H), 4.49 (s, 2H), 4.58 (d, J=14.1 Hz, 1H), 5.07 (d, J=14.4 Hz, 1H), 5.33 (d, J=14.4 Hz, 1H), 6.79-7.61 (m, 7H), 7.82 (s, 1H), 8.06 (s, 1H);
6g	4-Cl	48	497.24	δ 0.84-0.89 (t, 3H), 1.61-1.74 (m, 2H), 3.41-3.52 (m, 1H), 3.73-3.78 (m, 1H), 3.86 (d, J=14.4 Hz, 1H), 4.48 (s, 2H), 4.58 (d, J=14.4 Hz, 1H), 5.06 (d, J=14.4 Hz, 1H), 5.32 (d, J=14.1 Hz, 1H), 6.79-7.60 (m, 7H), 7.83 (m, 1H), 8.08 (m, 1H);
6h	2-Br	53	541.22	δ 0.84-0.89 (t, 3H), 1.62-1.74 (m, 2H), 3.41-3.52 (m, 1H), 3.74-3.81 (m, 1H), 3.88 (d, J=14.1 Hz, 1H), 4.59 (d, J=14.4 Hz, 1H), 4.66 (s, 2H), 5.06 (d, J=14.1 Hz, 1H), 5.32 (d, J=14.4 Hz, 1H), 6.80-7.60 (m, 7H), 7.82 (m, 1H), 8.09 (m, 1H);
6i	3-Br	43	541.25	δ 0.85-0.90 (t, 3H), 1.62-1.75 (m, 2H), 3.44-3.54 (m, 1H), 3.74-3.82 (m, 1H), 3.86 (d, J=14.1 Hz, 1H), 4.49 (s, 2H), 4.57 (d, J=14.1 Hz, 1H), 5.07 (d, J=14.1 Hz, 1H), 5.33 (d, J=13.8 Hz, 1H), 6.78-7.61 (m, 7H), 7.82 (m, 1H), 8.07 (m, 1H);

表2 目标化合物6a~6i及阳性对照药的体外抗真菌活性(MIC₈₀, μg/ml)

化合物	<i>C. alb.</i> Y0109	<i>C. alb.</i> SC5314	<i>C. par.</i>	<i>C. neo.</i>	<i>C. gla.</i>	<i>A. fum.</i>	<i>T. rub.</i>	<i>M. gyp.</i>
6a	<0.125	0.125	1	0.125	0.125	>64	4	>64
6b	0.125	0.125	1	0.5	0.125	>64	4	64
6c	<0.125	0.125	1	0.25	0.125	>64	4	>64
6d	<0.125	<0.125	0.5	<0.125	0.125	>64	4	64
6e	0.25	0.5	4	0.25	0.25	>64	8	>64
6f	0.25	0.125	2	0.5	0.25	>64	4	>64
6g	0.125	0.125	1	0.5	0.25	>64	2	>64
6h	1	0.5	2	0.5	0.5	>64	4	>64
6i	0.125	0.5	1	1	0.5	>64	4	>64
ICZ	8	4	8	4	8	8	2	2
TBF	64	32	1	1	4	0.5	0.125	0.062 5
KCZ	0.25	0.25	0.5	0.125	0.5	8	1	1
VCZ	0.031 25	0.062 5	0.031 25	0.015 6	0.031 25	0.25	0.031 25	0.125
AMB	2	1	2	1	2	2	1	0.125
FCZ	0.5	0.5	1	1	1	>64	8	8

注: *C. alb.* 白假丝酵母菌; *C. par.* 近平滑假丝酵母菌; *C. neo.* 新生隐球菌; *C. gla.* 光滑假丝酵母菌; *A. fum.* 烟曲霉菌; *T. rub.* 红色毛癣菌; *M. gyp.* 石膏状小孢子菌

基的二硫代胺基甲酸酯结构化合物。操作简便,产率较高,为我们合成多样化的目标化合物、更好地研究构效关系提供了便利。

从化合物的体外抗菌活性数据可以看出,大部分化合物均有较强的抗真菌活性,部分目标化合物对 *C. alb.* (Y0109、SC5314) 的体外抗菌活性是 FCZ 的 4 倍以上,是 ICZ 的 64 倍以上,是 TBF 的 512 倍以上;部分目标化合物对 *C. neo.* 和 *C. gla.* 的体外抗菌活性也好于 FCZ、AMB 和 ICZ 等;部分目标化合物对 *C. par.* 的体外抗菌活性与 TBF、FCZ 相当。分析目标化合物的结构和体外抗菌活性数据,侧链中正丙基、二硫代甲酯基和不同取代苄基的引入可能对抗菌活性产生影响,表明空间立体化学结构和侧链长度可通过与靶酶的结合来影响抗菌活性强度。

【参考文献】

[1] Edmond MB, Wallance SE, McClish DK, et al. Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a three-year analysis[J]. Clin Infect Dis, 1999, 29 (2): 234.
[2] Li L, Ding H, Wang B, et al. Synthesis and evaluation of novel azoles as potent antifungal agents [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2014, 24 (1): 192-194.
[3] Marr KA, Carter RA, Crippa F, et al. Epidemiology and outcome of mould infections in hematopoietic stemcell trans-

plant recipients[J]. Clin Infect Dis, 2002, 7: 909-917.

[4] Ramirez E, Garcia-Rodriguez J, Borobia AM, et al. Use of antifungal agents in pediatric and adult high-risk areas [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2012, 3: 337-347.
[5] Desai VC, Cavanaugh TM, Kelton CM, et al. Trends in the utilization of, spending on, and prices for outpatient antifungal agents in US Medicaid programs: 1991-2009 [J]. Clin Ther, 2012, 10: 2118-2131.
[6] Jiang Z, Wang Y, Wang W, et al. Discovery of highly potent triazole antifungal derivatives by heterocycle-benzene bioisosteric replacement [J]. Eur J Med Chem, 2013, 64: 16-22.
[7] Wang S, Jin G, Wang W, et al. Synthesis and structure-activity relationships of new triazole derivatives containing N-substituted phenoxypropylamino side chains [J]. Eur J Med Chem, 2012, 53(4): 292-299.
[8] Richardson K. Antifungal 1,3-bis-triazolyl-2-propanol derivative: 4404216 [P]. USA, 1983-09-13.
[9] Zou Y, Yu S, Li R, et al. Synthesis, antifungal activities and molecular docking studies of novel 2-(2,4-difluorophenyl)-2-hydroxy-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl) propyl dithiocarbamates [J]. Eur J Med Chem, 2014, 74: 366-374.
[10] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts approved standard [S]. Document M27-A2, Wayne, PA, 2002.

[收稿日期] 2016-01-07 [修回日期] 2016-03-17

[本文编辑] 顾文华