

1-(1*H*-1, 2, 4-三唑-1-基)-2-(2, 4-二氟苯基)-3-[*N*-异丙基-*N*-(4-取代苄基)]-2-丙醇的合成及抗真菌活性

闫永正, 柴晓云, 邹燕, 俞世冲, 吴秋业(第二军医大学药学院有机化学教研室, 上海 200433)

[摘要] 目的 研究具有异丙基结构的氮唑类化合物的抗真菌活性。方法 引入 4 位羧酸酯取代的苄基侧链结构, 合成一系列目标化合物, 所有化合物结构均经 MS、¹H-NMR 等谱确证; 选择 8 种真菌为实验菌株, 测定其体外抗真菌活性。结果 合成了 14 个未见文献报道的目标化合物; 所有化合物对所选真菌均表现出了一定的抑菌活性, 其中化合物(1)和(2)对除薰烟曲霉菌外的 7 种菌都表现出了较好的抑菌活性。结论 4 位羧酸酯取代的苄基侧链结构的引入对目标化合物的抗菌活性有一定的影响, 侧链越短, 抑菌活性越好。

[关键词] 氮唑类; 化学合成; 抗真菌活性

[中图分类号] R914 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2011)05-0358-04

Synthesis and antifungal activity of 1-(1*H*-1, 2, 4-triazole-1-yl)-2-(2, 4-difluorophenyl)-3-(*N*-cyclopropyl-*N*-benzyl-amino)-2-propanols

YAN Yong-zheng, CHAI Xiao-yun, ZOU Yan, YU Shi-chong, WU Qiu-ye(Department of Organic Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To study the antifungal activity of triazole alcohols which introduce isopropyl as side chain. **Methods** By introduction of 4-carboxylic ester substituted benzyl group as side chain, a series of title compounds were synthesized. All of them were confirmed by MS, ¹H-NMR, *et al.* The antifungal activities were also evaluated against eight tested pathogenic fungi. **Results** Fourteen title compounds were synthesized. All title compounds exhibited activity against tested fungi to some extent. Compounds (1) and (2) exhibited stronger antifungal activities against eight fungi except *Aspergillus fumigatus* than the control drug of itraconazole. **Conclusions** The introduction of 4-carboxylic ester substituted benzyl group as side chain was beneficial to improve their antifungal activity. The shorter in the side chain, the better of the antifungal activity.

[Key words] azoles; chemical synthesis; antifungal activity

近年来由于临床上广谱抗生素、化疗药物、免疫抑制剂的大量使用, 以及艾滋病的流行, 深部真菌感染率急剧上升^[1,2]。三唑类药物是近年来临床应用最为广泛的一类新型抗真菌药物, 代表药物氟康唑是治疗局部和深部真菌感染的一线药物。但由于氮唑类抗真菌药物在各类患者中长期大量地使用, 使真菌的耐药性问题变得日益突出, 临床上迫切需要广谱、高效、低毒、选择性好的新型抗真菌药物。

为进一步探索三唑类抗真菌化合物的构效关系, 本文根据氮唑类化合物的抗真菌作用机制及前

期构效关系研究结果^[3,4], 以氟康唑为先导化合物, 并保留基本药效团三唑环、叔醇羟基和 2, 4-二氟苯基结构。引入异丙基, 其有利的空间构型能增强药物与靶酶活性位点 Tyr 118、Met 306、Leu 376 和 Ala 114 等残基的疏水相互作用, 提高抗真菌活性。前期研究中^[3,4], 发现苄基侧链有利于提高抗真菌活性, 因此设想通过引入 4 位羧酸酯取代的苄基侧链结构, 改变苄基侧链的长度改变目标化合物的理化性质, 考察目标化合物的抗真菌活性。笔者设计合成了 14 个未见文献报道的 1-(1*H*-1, 2, 4-三唑-1-基)-(2, 4-二氟苯基)-3-取代-2-丙醇类化合物, 目标化合物的合成路线如图 1。

1 仪器和试剂

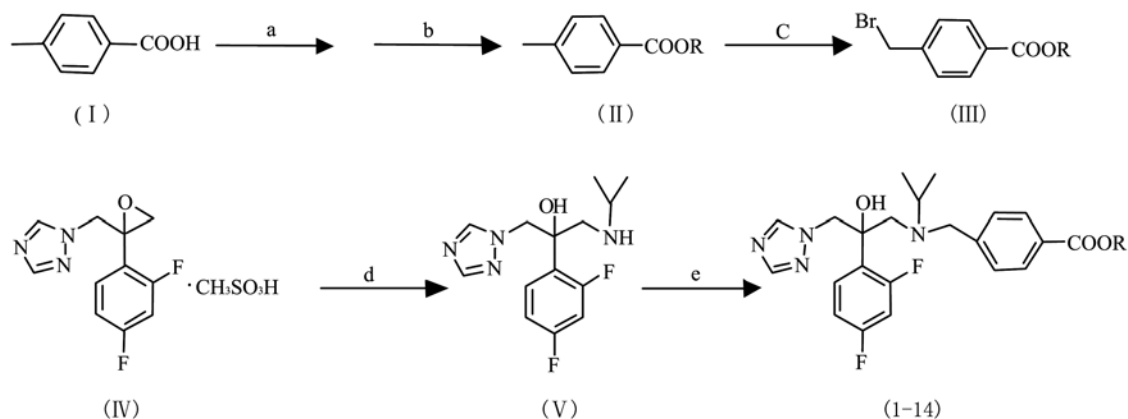
熔点用 Yamato model MP-21 熔点测定仪(温度未经校正)测定; 质谱用安捷伦 1100 型质谱仪测定; 核磁共振氢谱 Varian Inova-400 型核磁共振仪

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(20972188), 上海市科委中药现代化基金专项(094Z1976700), 上海市重点学科资助项目(B906)。

[作者简介] 闫永正(1983-), 男, 硕士研究生. E-mail: yyz19830714@163.com.

[通讯作者] 吴秋业. Tel: (021) 81871225, E-mail: wuqy6439@sohu.com.

(CDCl₃ 为溶剂, TMS 为内标) 测定。所用试剂均为 市售分析纯。



R = 1. -CH₃; 2. -CH₂CH₃; 3. -(CH₂)₂CH₃; 4. -CH(CH₃)₂; 5. -(CH₂)₃CH₃; 6. -CH₂CH(CH₃)₂; 7. -CH₂(CH₂)₃CH₃; 8. -C₆H₅; 9. 4-ClC₆H₄; 10. 2-(COOCH₃)C₆H₄; 11. 4-(COOCH₃)C₆H₄; 12. 4-NO₂C₆H₄; 13. 3-NO₂C₆H₄; 14. 2-NO₂C₆H₄

图1 目标化合物的合成路线

反应条件:(a) SOCl₂, reflux, 4 h; (b) ROH, CH₂Cl₂, 0°C; (c) NBS, CCl₄, hν, 6 h; (d) CH₃CH₂OH, Et₃N, 环丙胺; (e) 中间体Ⅲ, CH₃CN, K₂CO₃。

2 方法和结果

2.1 对溴甲基苯甲酸甲酯Ⅲ的制备 取甲基苯甲酸甲酯 5.0 g, 加入四氯化碳 30 ml, 搅拌加热回流, 光照, 加入少量过氧化苯甲酰, 然后分批加入 N-溴代琥珀酰亚胺 6.3 g, 回流 4 h, 冷却, 过滤, 蒸干, 得淡黄色针状晶体 7.0 g, mp 61~62 °C (文献^[5]: 58~59 °C)。其它 Ⅲ 类化合物同法合成。

2.2 1-[-(2, 4-二氟苯基)-2, 3-环氧丙基]-1H-1, 2, 4-三唑甲磺酸盐Ⅳ的合成 参照文献^[6]方法合成, 收率 57.3%, mp 131~133 °C (文献^[6]: 128~129 °C)。

2.3 1-(1H-1, 2, 4-三唑-1-基)-2-(2, 4-二氟苯基)-3-(N-异丙基)-2-醇Ⅴ的合成 1-[-(2, 4-二氟苯基)-2, 3-环氧丙基]-1H-1, 2, 4-三唑甲磺

酸盐Ⅳ 21.0 g, 环丙胺 10 ml, 三乙胺 20 ml, 在乙醇 300 ml 中搅拌加热回流 8 h, 反应完蒸除溶剂, 用乙酸乙酯 200 ml 萃取, 水 100 ml × 2 洗, 无水硫酸钠干燥, 蒸除乙酸乙酯, 得到油状产物 14.1 g, 收率 80.8%。

2.4 目标化合物 1-14 的合成 取化合物Ⅴ 0.3 g (1.0 mmol) 溶于乙腈 30 ml 中, 加入对溴甲基苯甲酸甲酯 1.0 mmol 以及碳酸钾 1.0 g, 于室温搅拌反应 24 h。反应结束后, 过滤, 浓缩滤液, 用乙酸乙酯提取 (60 ml × 3)。合并提取液, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 柱色谱分离 (展开剂为氯仿-甲醇, 体积比 80:1, 得目标化合物 1)。其它目标化合物均按此法合成, 其结构、产率、熔点、MS 和 ¹H NMR 数据见表 1。

表1 化合物的收率、熔点、质谱及核磁数据

compd	yield (%)	mp/°C	MS(M+1) ⁺	¹ H NMR, δ(CDCl ₃)
V	93.0	oil	348.05	8.04 (1H, s, triazole-H), 7.71 (1H, s, triazole-H), 6.95-7.32 (3H, m, Ar-H), 4.28-4.60 (2H, d, J=14.2 Hz, triazole-CH ₂ -), 2.77-3.12 (2H, d, J=13.2 Hz, CCH ₂ N), 2.65 (1H, m, NCH), 0.80-0.93 (6H, d, J=6.6 Hz, 2 × CH ₃)
1	82.6	95.2~96.6	445.18	8.07 (1H, s, triazole-H), 7.90-7.92 (2H, m, Ar-H), 7.77 (1H, s, triazole-H), 6.72-7.49 (5H, m, Ar-H), 4.36-4.51 (2H, d, J=14.4 Hz, triazole-CH ₂ -), 3.90 (3H, s, OCH ₃), 3.32-3.49 (2H, d, J=14.0 Hz, Ar-CH ₂ -), 2.84-3.09 (2H, d, J=13.2 Hz, CCH ₂ N), 2.62 (1H, m, NCH), 0.83-0.90 (6H, d, J=6.8 Hz, 2 × CH ₃)
2	85.4	122.9~124.3	459.19	8.07 (1H, s, triazole-H), 7.90-7.92 (2H, m, Ar-H), 7.76 (1H, s, triazole-H), 6.69-7.53 (5H, m, Ar-H), 4.39-4.51 (2H, d, J=14.8 Hz, triazole-CH ₂ -), 4.33-4.37 (2H, m, OCH ₂), 3.31-3.48 (2H, d, J=14.0 Hz, Ar-CH ₂ -), 2.84-3.08 (2H, d, J=13.2 Hz, CCH ₂ N), 2.60-2.63 (1H, m, NCH), 1.36-1.40 (3H, t, CH ₂ CH ₃), 0.82-0.89 (6H, d, J=6.8 Hz, 2 × CH ₃)

compd	yield (%)	mp/°C	MS(M + 1) ⁺	¹ H NMR, δ(CDCl ₃)
3	78.3	128.7 ~ 130.3	473.20	8.08 (1H, s, triazole-H), 7.92-7.94 (2H, m, Ar-H), 7.77 (1H, s, triazole-H), 6.70-7.54 (5H, m, Ar-H), 5.34 (1H, s, OH), 4.38-4.52 (2H, d, J = 14.8 Hz, triazole-CH ₂ -), 4.26-4.29 (2H, t, OCH ₂), 3.32-3.50 (2H, d, J = 14.0 Hz, Ar-CH ₂ -), 2.85-3.09 (2H, d, J = 13.2 Hz, CCH ₂ N), 2.61-2.65 (1H, m, NCH), 1.76-1.82 (2H, m, OCH ₂ CH ₂ [*]), 1.01-1.05 (3H, t, CH ₂ CH ₃ [*]), 0.83-0.90 (6H, d, J = 6.8 Hz, 2 × CH ₃)
4	70.8	92.8 ~ 94.5	473.46	8.09 (1H, s, triazole-H), 7.90-7.92 (2H, m, Ar-H), 7.77 (1H, s, triazole-H), 6.71-7.51 (5H, m, Ar-H), 5.22-5.25 (1H, m, OCH), 4.38-4.52 (2H, d, J = 14.8 Hz, triazole-CH ₂ -), 3.30-3.49 (2H, d, J = 14.0 Hz, Ar-CH ₂ -), 2.85-3.08 (2H, d, J = 13.2 Hz, CCH ₂ N), 2.62 (1H, m, NCH), 1.35-1.37 (6H, m, OCH(CH ₃ [*]) ₂), 0.82-0.90 (6H, d, J = 6.8 Hz, 2 × CH ₃)
5	72.8	127.2 ~ 128.7	487.21	8.08 (1H, s, triazole-H), 7.91-7.93 (2H, m, Ar-H), 7.77 (1H, s, triazole-H), 6.70-7.54 (5H, m, Ar-H), 5.33 (1H, s, OH), 4.38-4.52 (2H, d, J = 14.8 Hz, triazole-CH ₂ -), 4.30-4.33 (2H, t, OCH ₂), 3.31-3.49 (2H, d, J = 14.0 Hz, Ar-CH ₂ -), 2.85-3.08 (2H, d, J = 13.2 Hz, CCH ₂ N), 2.61-2.64 (1H, m, NCH), 1.73-1.78 (2H, m, OCH ₂ CH ₂ [*]), 1.45-1.53 (2H, m, CH ₂ CH ₂ [*] CH ₃), 0.96-1.00 (3H, t, CH ₂ CH ₃ [*]), 0.83-0.90 (6H, d, J = 6.6 Hz, 2 × CH ₃)
6	70.5	124.2~126.7	487.37	8.08 (1H, s, triazole-H), 7.92-7.94 (2H, m, Ar-H), 7.77 (1H, s, triazole-H), 6.72-7.52 (5H, m, Ar-H), 5.34 (1H, s, OH), 4.38-4.52 (2H, d, J = 14.8 Hz, triazole-CH ₂ -), 4.09-4.11 (2H, d, OCH ₂), 3.31-3.49 (2H, d, J = 14.0 Hz, Ar-CH ₂ -), 2.85-3.08 (2H, d, J = 13.2 Hz, CCH ₂ N), 2.61-2.65 (1H, m, NCH), 2.06-2.09 (1H, m, CH ₂ CH [*]), 1.01-1.03 (6H, d, J = 6.4 Hz, CH ₂ CH(CH ₃ [*]) ₂), 0.83-0.90 (6H, d, J = 6.8 Hz, 2 × CH ₃)
7	71.9	96.8 ~ 98.9	501.26	8.08 (1H, s, triazole-H), 7.91-7.93 (2H, m, Ar-H), 7.77 (1H, s, triazole-H), 6.70-7.54 (5H, m, Ar-H), 5.35 (1H, s, OH), 4.38-4.52 (2H, d, J = 14.8 Hz, triazole-CH ₂ -), 4.29-4.32 (2H, t, OCH ₂), 3.31-3.50 (2H, d, J = 14.0 Hz, Ar-CH ₂ -), 2.85-3.09 (2H, d, J = 13.2 Hz, CCH ₂ N), 2.62-2.65 (1H, m, NCH), 1.73-1.80 (2H, m, OCH ₂ CH ₂ [*]), 1.37-1.45 (4H, m, CH ₂ (CH ₂ [*]) ₂ CH ₃), 0.83-0.95 (9H, m, 3 × CH ₃)
8	80.2	121.1 ~ 122.6	507.15	8.07-8.09 (3H, m, triazole-H, Ar-H), 7.79 (1H, s, triazole-H), 6.72-7.56 (10H, m, Ar-H), 5.32 (1H, s, OH), 4.40-4.55 (2H, d, J = 14.4 Hz, triazole-CH ₂), 3.36-3.55 (2H, d, J = 14.4 Hz, Ar-CH ₂ -), 2.87-3.11 (2H, d, J = 14.0 Hz, CCH ₂ N-), 2.64-2.67 (1H, m, NCH), 0.86-0.92 (6H, d, J = 6.8 Hz, 2 × CH ₃)
9	78.9	132.5 ~ 134.1	541.08	8.05-8.08 (3H, m, triazole-H, Ar-H), 7.78 (1H, s, triazole-H), 6.73-7.54 (9H, m, Ar-H), 5.29 (1H, s, OH), 4.39-4.55 (2H, d, J = 14.0 Hz, triazole-CH ₂), 3.37-3.55 (2H, d, J = 14.0 Hz, Ar-CH ₂ -), 2.87-3.12 (2H, d, J = 14.0 Hz, CCH ₂ N-), 2.64 (1H, m, NCH), 0.87-0.93 (6H, d, J = 6.4 Hz, 2 × CH ₃)
10	74.8	oil	565.34	8.05-8.12 (3H, m, triazole-H, Ar-H), 7.79 (1H, s, triazole-H), 6.73-7.62 (9H, m, Ar-H), 5.35 (1H, s, OH), 4.40-4.55 (2H, d, J = 14.4 Hz, triazole-CH ₂), 3.75 (3H, s, OCH ₃), 3.36-3.55 (2H, d, J = 14.4 Hz, Ar-CH ₂ -), 2.88-3.11 (2H, d, J = 14.0 Hz, CCH ₂ N-), 2.69 (1H, m, NCH), 0.86-0.93 (6H, d, J = 6.8 Hz, 2 × CH ₃)
11	76.2	oil	593.18	8.07-8.13 (4H, m, triazole-H, Ar-H), 7.79 (1H, s, triazole-H), 6.73-7.56 (8H, m, Ar-H), 4.39-4.55 (2H, d, J = 14.0 Hz, triazole-CH ₂), 4.28-4.31 (2H, t, OCH ₂), 3.37-3.55 (2H, d, J = 14.0 Hz, Ar-CH ₂ -), 2.87-3.12 (2H, d, J = 14.0 Hz, CCH ₂ N-), 2.63-2.66 (1H, m, NCH), 1.78-1.83 (2H, m, OCH ₂ CH ₂ [*]), 1.02-1.06 (3H, t, J = 8.0 Hz, CH ₂ CH ₃ [*]), 0.86-0.95 (6H, d, J = 6.8 Hz, 2 × CH ₃)
12	81.9	153.7 ~ 155.5	552.47	8.06-8.33 (5H, m, triazole-H, Ar-H), 7.79 (1H, s, triazole-H), 6.73-7.56 (7H, m, Ar-H), 5.24 (1H, s, OH), 4.39-4.56 (2H, d, J = 14.0 Hz, triazole-CH ₂), 3.40-3.56 (2H, d, J = 14.4 Hz, Ar-CH ₂ -), 2.87-3.12 (2H, d, J = 14.0 Hz, CCH ₂ N-), 2.62-2.65 (1H, m, NCH), 0.78-0.91 (6H, d, J = 6.8 Hz, 2 × CH ₃)
13	75.8	98.5 ~ 100.2	552.19	8.07-8.17 (3H, m, triazole-H, Ar-H), 7.79 (1H, s, triazole-H), 6.75-7.63 (9H, m, Ar-H), 5.28 (1H, s, OH), 4.39-4.56 (2H, d, J = 14.4 Hz, triazole-CH ₂), 3.40-3.57 (2H, d, J = 14.4 Hz, Ar-CH ₂ -), 2.87-3.13 (2H, d, J = 14.0 Hz, CCH ₂ N-), 2.64 (1H, m, NCH), 0.84-0.93 (6H, d, J = 6.8 Hz, 2 × CH ₃)
14	69.7	86.3 ~ 87.6	552.23	8.12-8.14 (3H, m, triazole-H, Ar-H), 7.79 (1H, s, triazole-H), 6.74-7.72 (9H, m, Ar-H), 5.31 (1H, s, OH), 4.40-4.56 (2H, d, J = 14.4 Hz, triazole-CH ₂), 3.37-3.56 (2H, d, J = 14.4 Hz, Ar-CH ₂ -), 2.88-3.11 (2H, d, J = 14.0 Hz, CCH ₂ N-), 2.65-2.68 (1H, m, NCH), 0.84-0.93 (6H, d, J = 6.8 Hz, 2 × CH ₃)

3 抗真菌活性试验

体外抑菌实验 8 种实验真菌菌株:白色念珠菌 (*Candida albicans*, *C. alb*) ATCC76615、近平滑念珠菌 (*Candida parapsilosis*, *C. par*)、热带念珠菌 (*Candi-*

da tropicalis, *C. tro*)、新生隐球菌 (*Cryptococcus neoformans*, *C. neo*) ATCC32609;红色毛癣菌 (*Trichophyton rubrum*, *T. rub*)、石膏样小孢子菌 (*Microsporum gypseum*, *M. gyp*);紧密着色真菌 (*Fonsecaea compacta*, *F. com*);薰烟曲霉菌 (*Aspergillus fumigatus*, *A.*

fum)。对照药物:氟康唑(fluconazole, FCZ)、伊曲康唑(itraconazole, ICZ)、特比萘酚(terbinafine, TRB)和两性霉素 B(amphotericin B, AMB)。

采用美国 NCCLS 推荐的标准化抗真菌敏感性实验方法^[7]测试其体外抗真菌活性,以目标化合物抑制所选真菌 80% 生长率的浓度作为判断

终点(MIC₈₀)。当药物的 MIC₈₀ 值超过测定浓度范围时,按以下方法进行统计:MIC₈₀ 值高于最高浓度 64 μg/ml 时,计为“>64 μg/ml”;MIC₈₀ 值为最低浓度或在最低浓度以下时,不作区别,均计为“≤0.000 24 μg/ml”。体外抑菌活性测试数据见表 2。

表 2 目标化合物的体外抗真菌活性[MIC₈₀ (μg/ml)]

compd	<i>C. alb</i>	<i>M. gyp</i>	<i>C. neo</i>	<i>F. com</i>	<i>C. tro</i>	<i>C. par</i>	<i>T. rub</i>	<i>A. fum</i>
1	0.062 5	0.062 5	0.003 9	0.25	0.062 5	0.25	1	>64
2	0.25	0.062 5	0.25	1	0.062 5	1	0.25	>64
3	0.25	1	1	1	0.25	1	1	>64
4	1	0.25	1	1	0.25	1	16	>64
5	1	0.25	4	4	4	4	64	>64
6	0.25	1	1	4	4	0.25	4	>64
7	1	1	1	4	4	4	16	>64
8	1	1	1	4	4	4	16	>64
9	1	1	1	16	1	4	16	>64
10	1	1	1	16	1	4	4	>64
11	1	1	0.25	4	4	1	16	>64
12	4	4	16	>64	16	16	16	>64
13	1	4	16	16	4	>64	>64	>64
14	0.25	1	4	16	4	4	16	>64
FCZ	0.25	1	1	1	16	1	4	>64
ICZ	0.062 5	0.062 5	0.25	0.25	0.5	0.125	0.125	>64
TRB	1	4	0.25	0.25	16	0.25	0.062 5	>64
AMB	0.25	8	2	2	8	2	2	64

4 讨论

活性测试结果表明,本课题所设计合成的 14 个目标化合物对所选真菌均表现出了一定的抑菌活性,其中化合物(1)和(2)对除薰烟曲霉菌外的 7 种菌都表现出了较好的抑菌活性,明显优于对照药氟康唑、两性霉素 B,与伊曲康唑、特比萘酚相当,有进一步研究开发的价值。分析目标化合物的结构与抑菌活性结果,可以初步得到以下构效关系:4 位羧酸酯取代的苄基侧链结构的引入对目标化合物的抗菌活性有一定的影响,酯侧链越短,抑菌活性越好,且 4 位为苯环取代的酯侧链结构的引入并没有较好的抑菌作用,表明抑菌活性与空间立体化学有关,羧酸酯侧链越长,影响了与靶酶之间的结合,从而影响了抑菌活性。由于化合物数量有限,该类化合物抗真菌活性与侧链取代基之间的构效关系还有待进一步研究。

【参考文献】

[1] Edmond MB, Wallace 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] Nuccil M, Marr KA. Emerging fungal diseases[J]. Clin Infect Dis, 2005, 41: 521.

[3] Zhao QJ, Song Y, Hu HG, et al. Design, synthesis and antifungal activity of novel triazole derivatives[J]. Chin Chem Lett, 2007, 18: 670.

[4] Zhao QJ, Hu HG, Li YW, et al. Design, Synthesis, and antifungal activities of novel 1H-triazole derivatives based on the structure of the active site of fungal lanosterol 14a-demethylase (CYP51)[J]. Chem Biol, 2007, 4: 1472.

[5] 吴秋业,杨济秋. 4-[2-(1H-咪唑基)-1-(4-取代苯基)乙氧基]甲基]苯甲酸类化合物的合成及其抑制血小板聚集的作用[J]. 药学报, 1991, 26(10): 741.

[6] 孙青冀,刘超美,赵红兵,等. 1-(1H-1, 2, 4-三唑-1-基)-2-(2, 4-二氟苯基)-3-含硫侧链-2-丙醇类化合物的合成及抗真菌活性[J]. 第二军医大学学报, 2001, 22(9): 871.

[7] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts, approved standard. Document M27-A2[S]. PA: Wayne: 2002.

[收稿日期]2010-12-28

[修回日期]2011-05-30