

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.01380

1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-(2,4-二氟苯基)-3-(N-环丙基-N-取代氨基)-2-丙醇的合成及其抗真菌活性

路小娟¹, 赵庆杰¹, 叶光明², 邹燕¹, 胡宏岗¹, 徐建明¹, 吴秋业^{1*}

1. 第二军医大学药学院有机化学教研室, 上海 200433

2. 解放军第101医院药剂科, 无锡 214044

[摘要] **目的:** 研究具有环丙基结构的三唑醇类化合物的抗真菌活性。 **方法:** 设计合成了10个三唑醇类新化合物, 其结构通过¹H NMR、MS和元素分析验证, 选择8种真菌为实验菌株, 进行体外抑菌活性测试。 **结果:** 目标化合物对8种真菌特别是深部真菌均有一定的抑制活性, 部分化合物对白念珠菌的MIC₈₀值<0.125 μg/ml, 是氟康唑活性的4倍以上。 **结论:** 引入环丙基和烷基侧链的目标化合物都具有抗真菌活性, 随着烷基侧链增长, 目标化合物的活性降低。

[关键词] 合成; 三唑醇类; 环丙基; 抗真菌药

[中图分类号] R 978.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2008)11-1380-04

Synthesis of 1-(1H-1,2,4-triazole-1-yl)-2-(2,4-difluoro-phenyl)-3-(N-cyclopropyl-N-substituted amino)-2-propanols and its antifungal activity

LU Xiao-juan¹, ZHAO Qing-jie¹, YE Guang-ming², ZOU Yan¹, HU Hong-gang¹, XU Jian-ming¹, WU Qiu-ye^{1*}

1. Department of Organic Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

2. Department of Pharmacy, No. 101 Hospital of PLA, Wuxi 214044

[ABSTRACT] **Objective:** To study the antifungal activity of triazole alcohols by introduction of cyclopropyl as side chain. **Methods:** Ten title compounds were synthesized and characterized by ¹H NMR, MS spectra and element analysis. The MICs of the compounds were determined by *in vitro* test in 8 fungus strains. **Results:** The title compounds exhibited potent antifungal activities against 8 strains, especially for the deep infection ones. Some compounds had MIC₈₀ values less than 0.125 μg · ml⁻¹ against *Candida albicans*, showing an activity 4 time higher than that of fluconazole. **Conclusion:** The title compounds with cyclopropyl and alky substituents have antifungal activities, and the antifungal activity decreases as the alkyl side chains getting longer.

[KEY WORDS] synthesis; triazole; cyclopropyl; antifungal agents

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(11):1380-1383]

近年来,深部真菌感染率及病死率迅速上升。由白念珠菌引起的血液真菌感染的病死率达40%,而由曲霉菌引起的深部真菌感染的病死率超过50%^[1]。深部真菌感染已成为癌症及免疫缺陷性疾病患者死亡的主要原因之一^[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,其代表药物氟康唑已成为治疗局部和深部真菌感染的一线药物。氟康唑耐药性问题日益严重影响了其临床应用,临床上迫切需要广谱、高效、低毒的新型深部

抗真菌药物。

本研究根据氮唑类药物的作用机制和构效关系^[3-4],以氟康唑为先导化合物,保留了三唑醇类化合物的基本药效基团二氟苯基、三唑环和叔醇结构,在侧链中引进了环丙基,其有利的空间构型能增强药物与靶酶活性位点 Val509、Ala117、Leu376 和 Ile379 等残基的疏水相互作用,提高抗真菌活性。同时在侧链引进烷基,设想通过改变烷基侧链的长度从而改善目标化合物的理化性质,考察其抗真菌

[收稿日期] 2008-06-11 **[接受日期]** 2008-07-21

[基金项目] 国家自然科学基金(20772153),第二军医大学青年启动基金。Supported by National Natural Science Foundation of China (20772153) and Youth Initiation Program of Second Military Medical University.

[作者简介] 路小娟,助理实验师。E-mail: xjlu@hotmail.com

* 通讯作者(Corresponding author). Tel:021-25070381, E-mail: wuqysmmu@sohu.com

活性。本研究共设计合成了 10 个未见文献报道的化合物, 目标化合物的合成路线见图 1。

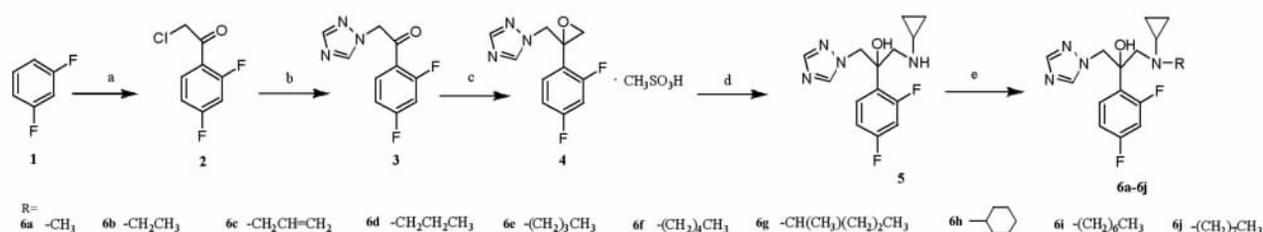


图 1 目标化合物的合成路线

Fig 1 Synthetic route of title compounds

a: ClCH_2COCl , AlCl_3 ; b: Toluene, K_2CO_3 ; c: Toluene, centylmethylammonium bromide, TEBA; d: $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, Et_3N , cyclopropylamine; e: $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, RX ($\text{X}=\text{Br}$), Et_3N

1 材料和试剂

合成所用试剂均为上海化学试剂公司化学纯或分析纯试剂。柱层析用硅胶为青岛海洋化工有限公司生产。YRT-3 熔点仪 (温度未经校正); MOD-1106 型元素分析仪; Vector 22 型红外光谱仪, KBr 压片法测定; Varian INOVA-400 型核磁共振仪, CDCl_3 为溶剂, TMS 为内标。

2 方法和结果

2.1 2-氯-2',4'-二氟苯乙酮(2)的制备 间二氟苯 (114 g, 1.0 mol) 与三氯化铝 (146.7 g, 1.1 mol) 在室温下混合, 滴加氯乙酰氯 (113 g, 1.0 mol), 反应 3 h, 倒入冰水 (800 ml) 中, 析出固体, 过滤, 用二氯甲烷 (150 ml \times 3) 提取, 无水硫酸钠干燥, 蒸干, 合并固体, 以环己烷重结晶, 得化合物 2 (150.0 g, 78.7%), m. p. 46~48°C (文献^[5]值 46.5°C)。

2.2 2',4'-二氟-2-(1H-1,2,4-三唑-1-基)苯乙酮(3)的制备 1H-1,2,4-三唑 27.6 g (0.40 mol), 碱适量放入 500 ml 三颈烧瓶中, 加入甲苯 160 ml, 在强力搅拌下滴加 2-氯-2',4'-二氟苯乙酮 38.1 g (0.40 mol) 溶于甲苯 50 ml 制成的溶液, 加完后, 搅拌回流 4 h, 然后冷却至室温, 向反应混合物中加入水 180 ml, 分液, 水层用甲苯再提取 1 次, 合并甲苯液, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 回收甲苯, 残留物用乙酸乙酯、环己烷重结晶, 得淡棕色固体 18.6 g, 收率 41.7%, m. p. 105~106°C (文献^[5]值 103~105°C)。

2.3 1-[2-(2,4-二氟苯基)-2,3-环氧丙基]-1H-1,2,4-三唑甲磺酸盐(4)的制备 取 2',4'-二氟-2-(1H-1,2,4-三唑-1-基)苯乙酮 5.2 g (0.023 3 mol)、三甲基氧硫磺 5.1 g (0.023 2 mol) 和相转移催化剂 0.21 g, 放入 150 ml 三颈瓶中, 加入甲苯 37 ml 和碱

适量, 置 60°C 水浴中加热搅拌 3 h, 分离甲苯层, 水层用甲苯提取, 合并甲苯液, 水洗至中性, 回收绝大部分甲苯后向残留液中加入甲烷磺酸 2.2 g 与 20 ml 乙酸乙酯配成的溶液, 振摇均匀, 冷却充分, 吸滤, 固体用乙酸乙酯洗涤, 干燥后无水乙醇重结晶, 得白色固体 4.07 g, 收率 52.66%, m. p. 130~132°C (文献^[5]值 128~129°C, 收率 21.94%)。

2.4 1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-(2,4-二氟苯基)-3-(N-环丙基氨基)-2-醇(5)制备 1-[2-(2,4-二氟苯基)-2,3-环氧丙基]-1H-1,2,4-三唑甲磺酸盐 21 g, 与环丙胺 10 ml、三乙胺 20 ml, 在 300 ml 乙醇中加热回流 6~8 h, 反应完毕后蒸除溶剂, 用 200 ml 乙酸乙酯提取, 100 ml \times 2 水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 蒸除乙酸乙酯, 得油状 1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-(2,4-二氟苯基)-3-(N-环丙基氨基)-2-醇 13.6 g, 收率 78%。

2.5 1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-(2,4-二氟苯基)-3-(N-环丙基-N-甲基氨基)-2-醇(6a)的制备 100 ml 的茄形瓶中加入 1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-(2,4-二氟苯基)-3-(N-环丙基)-2-醇 0.8 g (0.002 7 mol), 无水乙醇 40 ml, 三乙胺 0.5 ml, 碘甲烷 0.5 ml (0.005 mol), 油浴加热回流 8 h, 然后蒸干溶剂, 乙酸乙酯 20 ml \times 3 提取, 分出乙酸乙酯层, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 蒸干乙酸乙酯, 粗品柱层析 (展开剂氯仿), 最后得油状 1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-(2,4-二氟苯基)-3-(N-环丙基-N-甲基氨基)-2-醇 576 mg, 收率 62.4%。6b~6j 均按照上述方法合成, 各化合物的相关数据见表 1。

2.6 抗真菌活性实验 本研究选用 ATCC 标准株由第二军医大学长征医院菌种保存中心馈赠, 临床株由第二军医大学长海医院真菌室提供, 分别采自长海医院不同科室临床样本, 并经形态学和生化学

鉴定。8种实验真菌株分别为4种深部真菌:白色念珠菌(*Candida albicans*) ATCC76615,新生隐球菌(*Cryptococcus neoformans*) ATCC32609,热带念珠菌(*Candida tropicalis*),近平滑念珠菌(*Candida parapsilosis*);2种浅表真菌:红色毛癣菌(*Trichophyton rubrum*),羊毛状小孢子菌(*Microsporum canis*);1种皮下真菌:紧密着色真菌(*Fonsecaea compacta*)及熏烟曲霉菌(*Aspergillus fumigatus*)。

对照品氟康唑(*fluconazole*)、伊曲康唑(*itraconazole*)和特比萘芬(*terbinafine*)为第二军医大药学院有机化学教研室合成,纯度99.5%。采用美国国家临床实验室标准委员会(NCCLS)推荐的标准化抗真菌敏感性实验方法^[6]测试体外抗真菌活性,以目标化合物抑制所选真菌80%生长的浓度(MIC₈₀)作为判断终点。结果见表2。

表1 目标化合物6b~6j的收率、相对分子质量和核磁数据

Tab 1 Yield, MS and ¹HNMR data of title compounds

Compd	Yield(%)	M _r	¹ HNMR(CDCl ₃)
6a	62.4	309.14	0.30-0.32(m,4H,cyclnpropane),1.91(m,1H,cyclnpropane),2.03-2.05(s,3H,N-CH ₃),3.55-3.7(m,2H,3-H),4.44(s,2H,1-H),4.53(s,2H,1-H),6.75-7.60(m,3H,Ar-H),7.77(s,1H, triazole,3-H).8.15(s,1H, triazole,5-H)
6b	62.4	322.18	0.04-0.34(m,4H,cyclopropane),0.85-1.58(m,3H,N-CH ₂ CH ₃),1.95(m,1H,cyclopropane);2.32-2.34(m,2H,N-CH ₂)3.55-3.7(m,2H,3-H);4.53(s,2H,1-H);6.77-6.89(m,2H,Ar-H,5-H,6-H);7.60-7.67(m,1H,Ar-H,3-H);7.73(s,1H, triazole,3-H);8.07(s,1H, triazole,5-H)
6c	72	334.18	0.08-0.32(m,4H,cyclnpropane),1.96-2.01(m,1H,cyclnpropane);2.7-2.8(m,1H,1-thylene);2.8(m,d,2H,3-H);2.9-3.04(m,1H,1-thylene).2.8(m,d,2H,3-H);4.49-4.5(d,2H,J=14.7 Hz,1-H);4.7-4.9(d,2H,-thylene)5.63-5.7(m,1H,-thylene);6.75-6.89(m,2H,Ar-H,5-H,6-H);7.60-7.67(m,1H,Ar-H,3-H);7.70(s,1H, triazole,3-H);8.07(s,1H, triazole,5-H)
6d	71.2	336.18	0.06-0.34(m,4H,cyclopropane),0.85-1.58(m,5H,N-CH ₂ CH ₂ CH ₃);1.95(m,1H,cyclopropane);2.32-2.34(m,2H,N-CH ₂)3.55-3.71(m,2H,3-H);4.53(s,2H,1-H);6.77-6.89(m,2H,Ar-H,5-H,6-H);7.60-7.67(m,1H,Ar-H,3-H);7.73(s,1H, triazole,3-H);8.07(s,1H, triazole,5-H)
6e	74.1	350.20	0.03-0.34(m,4H,cyclopropane);0.75-1.58(m,7H,N-CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃)2.00(m,1H,cyclopropane);2.24-2.32(m,2H,N-CH ₂);3.55-3.7(m,2H,3-H);4.52(s,2H,1-H);6.77-6.89(m,2H,Ar-H,5-H,6-H);7.60-7.67(m,2H,Ar-H,3-H);7.73(s,1H, triazole,3-H);8.06(s,1H, triazole,5-H)
6f	69.2	364.22	0.05-0.34(m,4H,cyclopropane);0.70-1.58(m,10H,N-CH ₂ (CH ₂) ₃ CH ₃)1.96(d,1H,cyclopropane);2.23-2.4(m,2H,N-CH ₂);3.55-3.7(m,2H,3-H);4.53(s,2H,1-H);6.77-6.89(m,2H,Ar-H,5-H,6-H);7.60-7.67(m,2H,Ar-H,3-H);7.70(s,1H, triazole,3-H);8.09(s,1H, triazole,5-H)
6g	64.2	364.22	0.03-0.33(m,4H,cyclopropane);0.77-1.58(m,11H,N-CH(CH ₃)(CH ₂) ₂ CH ₃);1.97(d,1H,cyclopropane);2.23-2.4(m,2H,N-CH ₂);3.55-3.7(m,2H,3-H);4.53(s,2H,1-H);6.77-6.89(m,2H,Ar-H,5-H,6-H);7.60-7.67(m,H,Ar-H,3-H);7.73(s,1H, triazole,3-H);8.06(s,1H, triazole,5-H)
6h	67.5	376.21	0.03-0.33(m,4H,cyclopropane);0.81-1.58(m,10H,cyclohexyl-H)1.96(d,1H,cyclopropane);2.12-2.14(m,1H,cyclohexyl-H)3.55-3.7(m,2H,3-H);4.53(s,2H,1-H);6.77-6.89(m,2H,Ar-H,5-H,6-H);7.62-7.67(m,2H,Ar-H,3-H);7.70(s,1H, triazole,3-H);8.07(s,1H, triazole,5-H)
6i	68.4	392.24	0.04-0.33(m,4H,cyclopropane);0.71-1.56(m,13H,heptyl-H)1.95(d,1H,cyclopropane);2.12-2.14(m,1H,heptyl-H)3.55-3.7(m,2H,3-H);4.53(s,2H,1-H);6.75-6.87(m,2H,Ar-H,5-H,6-H);7.60-7.67(m,2H,Ar-H,3-H);7.70(s,1H, triazole,3-H);8.10(s,1H, triazole,5-H)
6j	72.1	406.28	0.30-0.32(m,4H,cyclopropane);0.74-1.54(m,15H,octyl-H)1.91(d,1H,cyclopropane);2.12-2.14(m,1H,octyl-H);2.81-2.85(d,1H,J=13.5 Hz,N-CH ₂ -Ph);3.55-3.7(m,2H,3-H)4.42-4.46(d,1H,J=14.7 Hz,1-H);4.53-4.58(d,1H,J=14.7,1-H);6.75-6.89(m,2H,Ar-CH ₂ -N,5-H,6-H);7.24-7.33(m,4H,Ar-H);7.59-7.67(m,2H,Ar-CH ₂ -N,3-H);7.73(s,1H, triazole,3-H);8.24(s,1H, triazole,5-H)

C, H, N analyses were ±0.3% of calculated values

表 2 目标化合物的体外抗真菌活性

Tab 2 *In vitro* antifungal activity (MIC₈₀) of title compounds

Compd	MIC ₈₀							
	Ca	Cp	Cn	Ct	Tr	Af	Mo	Fc
6a	<0.125	<0.125	<0.125	<0.125	<0.125	1	<0.125	0.25
6b	<0.125	<0.125	0.5	<0.125	<0.125	1	<0.125	0.5
6c	<0.125	<0.125	<0.125	<0.125	<0.125	0.5	<0.125	<0.125
6d	<0.125	<0.125	0.5	<0.125	<0.125	1	<0.125	0.5
6e	<0.125	<0.125	<0.125	0.25	0.25	4	2	2
6f	<0.125	1	1	<0.125	0.25	0.5	2	8
6g	<0.125	1	1	<0.125	0.25	0.5	2	8
6h	<0.125	1	1	<0.125	0.25	0.5	2	8
6i	2	16	>16	8	4	4	8	16
6j	0.25	8	16	4	2	4	>64	4
Fluconazole	0.5	32	2	32	8	>64	32	2
Itraconazole	<0.125	<0.125	<0.125	0.5	<0.125	2	<0.125	<0.125
Terbinafine	2	8	<0.125	2	<0.125	<0.125	<0.125	<0.125

Ca: *Candida albicans*; Cp: *Candida parapsilosis*; Cn: *Cryptococcus neoformans*; Ct: *Candida tropicalis*; Tr: *Trichophyton rubrum*; Af: *Aspergillus fumigatus*; Mo: *Microsporum canis*; Fc: *Fonsecaea compacta*

3 讨论

活性测试结果表明,本课题设计合成的 10 个目标化合物对所选真菌都有较强的抑制活性,所有化合物均有较强的体外抑菌活性,特别是对深部真菌活性较好,部分目标化合物对白色念珠菌的 MIC₈₀ 值均 <0.125 μg/ml,是氟康唑活性的 4 倍以上,是特比萘芬的 32 倍以上,与伊曲康唑相当。在所合成的化合物中,6c 不但对深部真菌活性较好,基本与伊曲康唑活性相当,而且对浅表真菌活性基本与特比萘酚相当,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:侧链中含有环丙基和烷基的目标化合物都具有较强的抗真菌活性,随着烷基侧链的增长,目标化合物的抗真菌活性有一定程度的降低,由于化合物数量有限,更深入的构效关系探讨有待于进一步的研究。

[参考文献]

[1] Balkis M M, Leidich S D, Mukherjee P K, Ghannoum M A. Mechanisms of fungal resistance[J]. *Drugs*, 2002, 62: 1025-

1040.

- [2] Boschman C R, Bodnar U R, Tornatore M A, Obias A A, Noskin G A, Englund E, et al. Thirteen-year evolution of azole resistance in yeast isolates and prevalence of resistant strains carried by cancer patient at a large medical center[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1998, 42: 734-738.
- [3] Zhao Q J, Hu H G, Li Y W, Song Y, Cai L Z, Wu Q Y, et al. Design, synthesis, and antifungal activities of novel 1H-triazole derivatives based on the structure of the active site of lanosterol 14 α -demethylase (CYP51)[J]. *Chem Biodivers*, 2007, 4: 1472-1479.
- [4] Zhao Q J, Song Y, Hu H G, Yu S C, Wu Q Y. Design, synthesis and antifungal activities of novel triazole derivatives[J]. *Chin Chem Lett*, 2007, 18: 670-672.
- [5] 赵庆杰, 宋 琰, 胡宏岗, 孙青葵, 张 俊, 吴秋业. 1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-(2,4-二氟苯基)-3-取代-2-丙醇类化合物的合成及其抗真菌活性[J]. *中国药物化学杂志*, 2006, 16: 150-153.
- [6] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. Approved standard. Document M27-A2. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA, 2002.

[本文编辑] 尹 茶