

3-三氟甲基-4-氨基-5-巯基-1,2,4-三唑衍生物的合成及其抗真菌活性研究

俞世冲^a, 曹永兵^b, 孙青葵^{a*}, 徐建明^a, 吴秋业^a, 张大志^a, 赵庆杰^a, 胡宏岗^a, 姜远英^b (第二军医大学药学院, a. 有机化学教研室; b. 药理教研室, 上海 200433)

摘要:目的 合成 3-三氟甲基-4-氨基-5-巯基-1,2,4-三唑衍生物并对其进行抗真菌活性研究。方法 以 3-三氟甲基-4-氨基-5-巯基-1,2,4-三唑 (I) 为起始原料, 与卤苄在无水乙醇中回流制得中间体 3-三氟甲基-4-氨基-5-(取代)苄硫基-1,2,4-三唑 (II), II 与 2,4-二氯苯甲醛反应得目标物 3-三氟甲基-5-(取代)苄硫基-1,2,4-三唑希夫碱 Schiff s (III)。对中间体 I、II 和目标物 III 进行了体外抑菌活性测试。结果 合成了 9 个新的目标物 III, 用 ¹H-NMR 和元素分析确定了中间体 II 和目标物 III 的结构。初步体外抑菌实验表明: 3-三氟甲基-4-氨基-5-巯基-1,2,4-三唑衍生物对常见深部致病真菌有一定的体外抑制活性, 但均弱于对照品氟康唑、特比萘芬和伊曲康唑。结论 合成的目标物 III 衍生物对常见深部致病真菌有一定的活性, 对浅部真菌的活性有待进一步研究。

关键词: 3-三氟甲基-4-氨基-5-巯基-1,2,4-三唑衍生物; 合成; 抗真菌活性

中图分类号: TQ460.6 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2007)02-0122-04

Synthesis and antifungal activity of 3-trifluoromethyl-4-amino-5-mercapto-1,2,4-triazole derivatives

YU Shi-chong^a, CAO Yong-bing^b, SUN Qing-yan^{a*}, WU Qiu-ye^a, ZHANG Da-zhi^a, ZHAO Qing-jie^a, HU Hong-gang^a, JIANG Yuan-ying^b (a. Department of Organic Chemistry; b. Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE Synthesis 3-trifluoromethyl-4-amino-5-mercapto-1,2,4-triazole derivatives and put up the study of antifungal activity. **METHODS** The target compounds III were synthesized by the condensation between 2,4-dichlorobenzaldehyde and the intermediates (II) 3-trifluoromethyl-4-amino-5-benzylsulfide-1,2,4-triazole which were produced from a reaction of the starting material 3-trifluoromethyl-4-amino-5-mercapto-1,2,4-triazole and benzyl halide in an alcoholic medium. **RESULTS** Synthesis 9 new target compounds III, all intermediates II and target compounds III were confirmed by ¹HNMR and elemental analysis. Results of preliminary biological tests showed 3-trifluoromethyl-4-amino-5-mercapto-1,2,4-triazole derivatives exhibited activity against deep fungal to some extent, but the antifungal activities were obvious lower than fluconazole, terbinafine and Itraconazole. **CONCLUSION** Synthesis of target compounds III derivatives exhibited activity against deep fungal to some extent, but their activities against superficial fungal should do further study.

KEY WORDS: 3-trifluoromethyl-4-amino-5-mercapto-1,2,4-triazole derivatives; synthesis; antifungal activity

真菌感染分为浅部真菌感染和深部真菌感染, 浅部真菌感染如灰指甲、皮肤瘙痒等严重影响人的生活质量, 而临床深部真菌感染近年来已成为癌症及免疫缺陷性疾病患者死亡的主要原因之一^[1]。已应用于临床的氮唑类抗真菌药物, 如咪唑类的酮康唑, 三唑类的氟康唑、伊曲康唑等存在如不良反应大、抗菌谱窄等不足, 而耐药菌株的增加及药物间的相互作用更使真菌感染的治疗变得更加复杂。因此, 临床上迫切需要高效、低毒、选择性高的新型抗真菌感染药物。1,2,4-三唑类杂环衍生物具有抗炎、镇静、抗焦虑、抗微生物^[2]、抗真菌^[3]等多种生物活性, 一直是杂环化学研究的活

跃领域。其中 3-取代-4-氨基-5-巯基-1,2,4-三唑是合成 1,2,4-三唑类杂环衍生物的常用原料, 该结构中存在氨基和巯基两个相邻的亲核作用部位, 可以转化为多种新的杂环结构, 特别是氨基与芳香醛缩合形成的三唑希夫碱具有很好的配位能力^[4], 且有报道^[5-6]希夫碱类化合物多具有一定的抗真菌活性。我们借鉴硫康唑、咪康唑等抗真菌药物结构中的药效基团, 在 4-氨基-5-巯基-1,2,4-三唑母体结构的 3 位引入三氟甲基, 5 位巯基转化为 (取代) 苄硫基, 4 位氨基与芳香醛 2,4-二氯苯甲醛缩合形成具有很好配位能力的三唑希夫碱, 期望通过含氟基团的引入、5 位 (取代) 苄硫基苯环上取代基

作者简介: 俞世冲 (1979 -), 男, 在读硕士生, 助教。E-mail: yuscc@hotmail.com

* 通讯作者: E-mail: sqy2000@sohu.com

的变化和具有配位能力希夫碱的形成寻找到具有良好抗真菌活性的新型化合物。

1 材料和方法

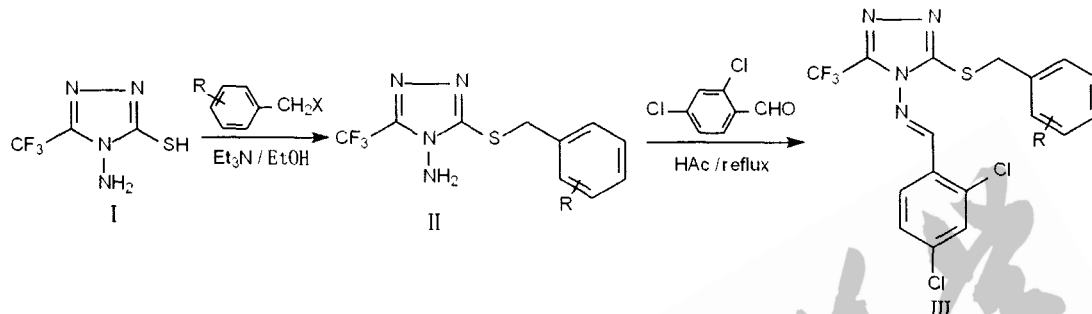
1.1 仪器和材料

Yamato model MP-21 型熔点测定仪 (温度计未经校正); MOD-1106 型元素分析仪; Hitachi 270-50 型红外光谱仪, KBr 压片法测定; Bruker Spectrospin AC-P300 型磁共振仪, 以 CDCl_3 为溶剂, TMS 为内标。所有试剂均购自上海化学试剂

公司, 分析纯。

1.2 目标物的合成

以 3-三氟甲基-4-氨基-5-巯基-1,2,4-三唑 (I) 为起始原料, 在无水乙醇中以三乙胺作为反应中的缚酸剂, I 与卤苄回流反应制得中间体 3-三氟甲基-4-氨基-5-(取代)苄硫基-1,2,4-三唑 (II), 然后中间体 II 与 2,4-二氯苯甲醛在醋酸回流下缩合, 即得相应的目标物三唑希夫碱 (III)。目标物合成路线见图 1。



目标化合物的合成路线

Fig 1 The synthetic route of target compounds

1.2.1 3-三氟甲基-4-氨基-5-巯基-1,2,4-三唑 (I) 合成 参照文献 [7] 方法合成, 收率 70.58%, mp 136 ~ 137℃, 文献 mp 136 ~ 138℃。

1.2.2 3-三氟甲基-4-氨基-5-(取代)苄硫基-1,2,4-三唑 (II) 的合成通法 50 mL 三颈瓶中加入 1.84 g (0.01 mol) 3-三氟甲基-4-氨基-5-巯基-1,2,4-三唑, 10 mL 无水乙醇和 3 mL 新蒸的三乙胺, 加热至回流, 搅拌下滴加 0.015 mol 卤苄的无水乙醇溶液 20 mL, 继续回流反应至 TLC 显示反应完全。减压蒸除溶剂, 用 100 mL 乙酸乙酯分 3 次萃取, 合并有机相, 水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 无水乙醇重结晶得中间体 II。

中间体 II₁ ~ II₁₀ 均参照此法合成。

1.2.3 3-三氟甲基-4-氨基-5-(4-氯苄硫基)-1,2,4-三唑 (II₅) 的合成 50 mL 三颈瓶中加入 1.84 g (0.01 mol) 3-三氟甲基-4-氨基-5-巯基-1,2,4-三唑, 10 mL 无水乙醇和 3 mL 新蒸的三乙胺, 加热至回流, 搅拌下滴加 2.4 g (0.015 mol) 对氯苄的无水乙醇溶液 20 mL, 约 30 min 滴加完毕, 继续回流反应至 TLC 显示反应完全, 约需 6 h。减压蒸除溶剂, 用 100 mL 乙酸乙酯分 3 次萃取, 合并有机相, 水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 无水乙醇重结晶得中间体 II₅, 白色针晶 2.7 g, 收率 87.7%, mp 138 ~ 139℃。

1.2.4 3-三氟甲基-4-(2,4-二氯苯亚胺基)-5-(取代)苄硫基-1,2,4-三唑 (III) 的合成通法 50 mL 茄形瓶中加入 0.002 mol 中间体 II, 350 mg (0.002 mol) 2,4-二氯苯甲醛和 6 mL 冰醋酸, 加热回流反应, TLC 监测, 反应至完全, 减压蒸除溶剂, 残留物用无水乙醇重结晶, 得目标物 III。

目标物 III₁ ~ III₁₀ 均参照此法合成。

1.2.5 3-三氟甲基-4-(2,4-二氯苯亚胺基)-5-(4-溴苄硫基)-1,2,4-三唑 (III₇) 的合成 50 mL 茄形瓶中加入 706

mg (0.002 mol) 中间体 II₇, 350 mg (0.002 mol) 2,4-二氯苯甲醛和 6 mL 冰醋酸, 加热回流, TLC 监测, 至反应完全, 减压蒸除溶剂, 残留物用无水乙醇重结晶得 0.37 g 目标物 III₇, mp 180 ~ 182℃, 收率 58.8%。

1.3 药理实验

选用 7 种菌株, 其中 6 种深部真菌: 白色念珠菌 (*Candida albicans*, Ca.) SC5314, 白色念珠菌 (*Candida albicans*, Ca.) Y0109, 克柔念珠菌 (*Candida knusei*, Ck.) 00279, 近平滑念珠菌 (*Candida parapsilosis*, Cp.) 0308772, 光滑念珠菌 (*Candida glabrata*, Cg.) 0405099, 新生隐球菌 (*Cryptococcus neoformans*, Cn.) 0201309; 以及熏烟曲霉菌 (*Aspergillus fumigatus*, Af.) 0407159。实验方法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^[8]测试其体外抗真菌活性, 以目标物抑制所选真菌 80% 生长的浓度作为判断终点 (MIC₈₀)。对照品氟康唑 (fluconazole) 为本教研室合成, 特比萘芬 (terbinafine) 和伊曲康唑 (itraconazole) 由本院真菌室提供。

2 结果与讨论

2.1 中间体 (II) 和目标物 (III) 的结构、产率、熔点以及 ¹H-NMR 数据见表 1, 所有化合物的体外抑菌活性测试结果见表 2。结果表明, 目标物对所选深部真菌和曲霉菌都有一定的抑制活性, 但其活性均比对照品氟康唑、特比萘芬和伊曲康唑的弱, 该类化合物对浅表真菌的活性有待进一步研究。

2.2 关于中间体 II 的合成

起始原料 3-三氟甲基-4-氨基-5-巯基-1,2,4-三唑分子结构中有巯基、氨基 2 种官能团, 在不同的条件下, 5 位巯基会互变异构为硫酮结构, 这样该分子结构会产生 3 个亲核作用部位见图 2, 因此控制合适的反应条件才能保证目标物中硫醚结构的生成。结合文献资料 and 我们的实验探索, 本实验如

果选用丙酮作溶剂,以碳酸钾作缚酸剂,则最终得到的产物为 1 位和 4 位氨基烷基化的产物,5 位保持硫酮的形式;如果选用无水乙醇作溶剂,三乙胺作缚酸剂,则可以得到 5 位巯基烷基化的产物。因此,按照设计思想,本实验中 5 位硫醇的醚化选择用无水乙醇作溶剂,在三乙胺存在下用起始原料 3-三氟甲基-4-氨基-5-巯基-1,2,4-三唑与卤代苄基发生反应,结果得到了我们所设想的目标物。

表 1 目标物的物理数据

Tab 1 The structure, yield and physical data of the target compounds

Compd	R	Yield/%	mp/℃	¹ H-NMR(CDCl ₃) δ
II ₁	-	51.1	140~142	4.36 (s, 2H, CH ₂); 4.38 (s, 2H, NH ₂); 7.25~7.31 (m, 5H, Ph);
II ₂	<i>o</i> -F	95.9	144~146	4.47 (s, 2H, CH ₂); 4.54 (s, 2H, NH ₂); 7.04~7.37 (m, 4H, Ph);
II ₃	<i>p</i> -F	75.3	128~130	4.41 (s, 2H, CH ₂); 4.59 (s, 2H, NH ₂); 6.96~7.33 (m, 4H, Ph);
II ₄	<i>o</i> -Cl	68.2	150~152	4.54 (s, 2H, CH ₂); 4.54 (s, 2H, NH ₂); 7.15~7.40 (m, 4H, Ph);
II ₅	<i>p</i> -Cl	87.7	138~139	4.40 (s, 2H, CH ₂); 4.62 (s, 2H, NH ₂); 7.25~7.30 (m, 4H, Ph);
II ₆	<i>m</i> ,4-Cl	76.8	164~166	4.54 (s, 2H, CH ₂); 6.28 (s, 2H, NH ₂); 7.38~7.41 (dd, 1H, Ph); 7.58, 7.60 (d, 1H, Ph); 7.631, 7.636 (d, 1H, Ph);
II ₇	<i>p</i> -Br	37	134~136	4.39 (s, 2H, CH ₂); 4.62 (s, 2H, NH ₂); 7.22~7.44 (m, 4H, Ph);
II ₈	<i>o</i> -CH ₃	72.9	148~150	2.40 (s, 3H, CH ₃); 4.39 (s, 2H, CH ₂); 4.31 (s, 2H, NH ₂); 7.08~7.25 (m, 4H, Ph);
II ₉	<i>p</i> -tBu	81.8	70~72	1.29 (s, 9H, tBu); 4.27 (s, 2H, CH ₂); 4.31 (s, 2H, NH ₂); 7.13, 7.15 (d, 2H, Ph); 7.31, 7.32 (d, 2H, Ph);
II ₁₀	<i>p</i> -NO ₂	62.7	84~85	4.55 (s, 2H, CH ₂); 4.72 (s, 2H, NH ₂); 7.59, 7.61 (d, 2H, Ph); 8.13, 8.15 (d, 2H, Ph);
III ₁	-	34.8	130~132	4.58 (s, 2H, CH ₂); 7.27~7.38 (m, 5H, Ph); 8.02, 8.05 (d, 1H, 2,4-ClPh); 7.50, 7.51 (d, 1H, 2,4-ClPh); 7.38, 7.39 (dd, 1H, 2,4-ClPh); 8.96 (s, 1H, CH=N);
III ₂	<i>o</i> -F	66.8	105~107	4.47 (s, 2H, CH ₂); 7.23~7.45 (m, 4H, 2-FPh); 8.02, 8.04 (d, 1H, 2,4-ClPh); 7.50, 7.51 (d, 1H, 2,4-ClPh); 7.38, 7.39 (dd, 1H, 2,4-ClPh); 8.97 (s, 1H, CH=N);
III ₃	<i>p</i> -F	71.3	144~146	4.55 (s, 2H, CH ₂); 6.95~7.37 (m, 4H, 4-FPh); 8.03, 8.05 (d, 1H, 2,4-ClPh); 7.510, 7.515 (d, 1H, 2,4-ClPh); 7.35, 7.39 (dd, 1H, 2,4-ClPh); 8.96 (s, 1H, CH=N);
III ₄	<i>o</i> -Cl	64.5	124~125	4.65 (s, 2H, CH ₂); 7.32~7.40 (m, 4H, 2-ClPh); 8.00, 8.02 (d, 1H, 2,4-ClPh); 7.50, 7.51 (d, 1H, 2,4-ClPh); 7.46, 7.48 (dd, 1H, 2,4-ClPh); 8.97 (s, 1H, CH=N);
III ₅	<i>p</i> -Cl	43.1	165~167	4.54 (s, 2H, CH ₂); 7.25, 7.27 (d, 2H, 4-ClPh); 7.31, 7.33 (d, 2H, 4-ClPh); 8.03, 8.05 (d, 1H, 2,4-ClPh); 7.51, 7.52 (d, 1H, 2,4-ClPh); 7.401, 7.405 (dd, 1H, 2,4-ClPh); 8.96 (s, 1H, CH=N);
III ₆	<i>m</i> ,4-Cl	75	155~157	4.62 (s, 2H, CH ₂); 7.51, 7.52 (d, 1H, 2,4-ClPhCH ₂ -); 7.37, 7.38 (d, 1H, 2,4-ClPhCH ₂ -); 7.15~7.18 (dd, 1H, 2,4-ClPhCH ₂ -); 8.01, 8.03 (d, 1H, 2,4-ClPh); 7.46, 7.48 (d, 1H, 2,4-ClPh); 7.37~7.40 (dd, 1H, 2,4-ClPh); 8.97 (s, 1H, CH=N);
III ₇	<i>p</i> -Br	58.8	180~182	4.52 (s, 2H, CH ₂); 7.24~7.42 (m, 4H, 4-BrPh); 8.02, 8.04 (d, 1H, 2,4-ClPh); 7.51 (s, 1H, 2,4-ClPh); 7.37 (s, 1H, 2,4-ClPh); 8.95 (s, 1H, CH=N);
III ₈	<i>o</i> -CH ₃	56.2	98~101	2.38 (s, 3H, CH ₃); 4.59 (s, 2H, CH ₂); 7.09~7.27 (m, 4H, 2-CH ₃ Ph); 8.01, 8.03 (d, 1H, 2,4-ClPh); 7.500, 7.504 (d, 1H, 2,4-ClPh); 7.36~7.39 (dd, 1H, 2,4-ClPh); 8.95 (s, 1H, CH=N);
III ₉	<i>p</i> -tBu	97.5	128~130	1.29 (s, 9H, tBu); 4.55 (s, 2H, CH ₂); 7.25~7.39 (m, 4H, 4-tBuPh); 8.02, 8.04 (d, 1H, 2,4-ClPh); 7.50, 7.51 (d, 1H, 2,4-ClPh); 7.38, 7.39 (dd, 1H, 2,4-ClPh); 8.99 (s, 1H, CH=N);
III ₁₀	<i>p</i> -NO ₂	58.8	186~187	4.65 (s, 2H, CH ₂); 8.14, 8.17 (d, 2H, 4-NO ₂ Ph); 7.60, 7.62 (d, 2H, 4-NO ₂ Ph); 8.04, 8.06 (d, 1H, 2,4-ClPh); 7.52, 7.53 (d, 1H, 2,4-ClPh); 7.38~7.41 (dd, 1H, 2,4-ClPh); 8.96 (s, 1H, CH=N);

Note: Elemental analyses for C, H, N of all compounds are within 0.3% of calculated values

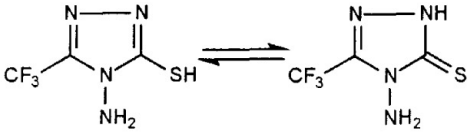


图 2 3-三氟甲基-4-氨基-5-巯基-1,2,4-三唑的 5-硫醇/5-硫酮形式

Fig 2 5-thiol/thione forms of 4-amino-5-mercapto-3-trifluoromethyl-1,2,4-triazole

表 2 目标物的体外抗真菌活性

Tab 2 The antifungal activity (MIC₈₀) of the title compounds in vitro /(mg/L)

Comp.d.	Ca. SC531 4	Ca. Y01 09	Ck. 00279	Cp. 0308772	Af. 04071 59	Cg. 0405099	Cn. 0201 309
I	>64	-	>64	>64	>64	>64	-
II ₁	>64	-	>64	>64	>64	>64	-
II ₂	>64	-	>64	>64	>64	>64	-
II ₃	>64	-	>64	>64	>64	>64	-
II ₄	>64	-	>64	>64	>64	>64	-
II ₅	>64	-	>64	>64	>64	>64	-
II ₅	>64	-	>64	>64	>64	>64	-
II ₆	64	-	>64	>64	>64	>64	-
II ₇	>64	-	>64	>64	>64	>64	-
II ₈	>64	-	>64	>64	>64	>64	-
II ₉	>64	-	>64	>64	>64	>64	-
II ₁₀	>64	-	>64	>64	>64	>64	-
III ₁	>64	>64	>64	>64	-	>64	>64
III ₂	>64	>64	>64	>64	-	>64	>64
III ₃	>64	>64	>64	32	-	>64	>64
III ₄	>64	>64	>64	>64	-	>64	>64
III ₅	>64	>64	>64	>64	-	>64	>64
III ₆	>64	>64	>64	>64	-	>64	>64
III ₇	>64	>64	>64	>64	-	>64	>64
III ₈	>64	>64	>64	>64	-	>64	>64
III ₉	>64	>64	>64	>64	-	>64	>64
III ₁₀	>64	>64	>64	>64	-	>64	>64
fluconazole	0. 5	1	64	4	>64	8	32
terbinafine	8	16	4	<0. 125	0. 5	0. 5	4
itraconazole	<0. 125	0. 125	2	0. 25	1	1	4

参考文献

[1] MITCHELL T G, PERFECT J R. Cryptococcosis in the era of AIDS-100 years after the discovery of Cryptococcus neofomans [J]. Clin Microbiol Rev,1995, 8(4): 515-548.

[2] HOLLA B S, KALLURAYA B, SRIDHAR K R, *et al.* Synthesis, structural characterization, crystallographic analysis and antibacterial properties of some nitrofuryl triazolo[3, 4-b]-1, 3, 4-thiadiazines[J]. Eur J Med Chem,1994, 29, 301-308.

[3] DEMIRAYAK S, BENKLI K, GUVEN K. Synthesis and antimicrobial activities of some 3-arylamino-5-[2-(substituted 1-imidazolyl) ethyl]-1, 2, 4-triazole derivatives[J]. Eur J Med Chem, 2000, 35, 1037-1040.

[4] LIU F M, WANG B L, LU W J. Synthesis of trifluoromethyl-substituted 1, 2, 4-triazole mannich bases [J]. Chin J Org Chem(有机化学), 2000, 20(5): 738-742.

[5] PREDEEP M, GUPTA P N, SHAKYA S K. Synthesis of some Schiff bases of 3-amino-2-methylquiazolin-4(3H)-ones and their antimicrobial activities[J]. J Indian Chem Soc, 1991, 68: 618-619.

[6] SHISHIR K S, PATHAK R B, BAHTEL S C. Synthesis of Schiff base, 2, 5-disubstituted-1, 3, 4-oxadiazoles and 2, 3-disubstituted-4-thiazolidinones as antifungal agents[J]. J Indian Chem Soc, 1991, 68: 113-114.

[7] ZHANG Z Y, LI M, ZHAO L. Synthesis and crystal structure of 3(1-naphthylmethylene)-8-hexyl-5-triazolo[3, 4-b]-1, 3, 4-thiadiazole [J]. Chem J Chin Univ(高等学校化学学报), 1993, 14(7): 947-952.

[8] WANG W L, WANG R L, LIS M, *et al.* Fluconazole's MIC to microzyme were determined by scheme of NCCLS [J]. Chin J Dermatol(中华皮肤科杂志), 1996, 29(5): 374-376.

收稿日期: 2006-08-09