

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.00198

· 研究快报 ·

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

赵庆杰¹, 胡宏岗¹, 叶光明², 俞世冲¹, 邹燕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9个三唑醇类新化合物, 所有目标化合物结构都通过¹HNMR、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比较强的抑制活性, 所有目标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, 与伊曲康唑活性相当。**结论:** 1-(1H-1,2,4-triazole-1-yl)-2-(2,4-difluoro-phenyl)-3-[N-cyclopropyl-N-(3,4-dichlorobenzyl)amino]-propanol(化合物6f)的活性比较好, 有进一步研究开发的价值。

[关键词] 药物化学; 三唑类; 环丙基; 体外抗真菌活性**[中图分类号]** R 978.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2009)02-0198-04

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

ZHAO Qing-jie¹, HU Hong-gang¹, YE Guang-ming², YU Shi-chong¹, ZOU Yan¹, 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:** Nine title compounds were synthesized and characterized by ¹HNMR, MS spectra and element analysis. Eight fungi were used for *in vitro* anti-fungal test. **Results:** All of the title compounds showed antifungal activities of different extents, especially to the deep infection ones, and they had a MIC value < 0.125 μg/ml against *Candida albicans*, showing an anti-fungal activity 4 times higher than that of fluconazole and similar to that of totraconazole. **Conclusion:** 1-(1H-1,2,4-triazole-1-yl)-2-(2,4-difluoro-phenyl)-3-[N-cyclopropyl-N-(3,4-dichlorobenzyl) amino]-2-propanols(6f) has a better activity ratio and is worth further studying.

[KEY WORDS] medicinal chemistry; triazoles; cyclopropyl; antifungal activity *in vitro*

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(2): 198-201]

近年来,深部真菌感染率急剧上升,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。但氟康唑的耐药性问题影响了其临床应用,临床上迫切需

要广谱、高效、低毒的新型深部抗真菌药物。

为进一步探索氮唑类化合物抗真菌作用的构效关系,寻找高效低毒的抗真菌药物,我们根据文献^[3-4]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,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。环丙基是抗菌药物的常见基团,其有利的空间位阻能增强药物与靶酶活性位点 Val509、Ala117、Leu376 和 Ile379 等

[收稿日期] 2008-09-02 **[接受日期]** 2008-09-27**[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]** 赵庆杰, 博士生, 讲师. E-mail: qjzhao_325@126.com

* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 021-81870381, E-mail: wuqysmmu@sohu.com

残基的疏水相互作用,提高抗真菌活性。同时我们在侧链引入苄基,通过改变苄基上的取代基来考察目标产物抗真菌活性变化。本文共设计合成了 9 个

未见文献报道的化合物,并对所合成的化合物进行了体外抗真菌活性实验。目标化合物的合成路线见图 1。

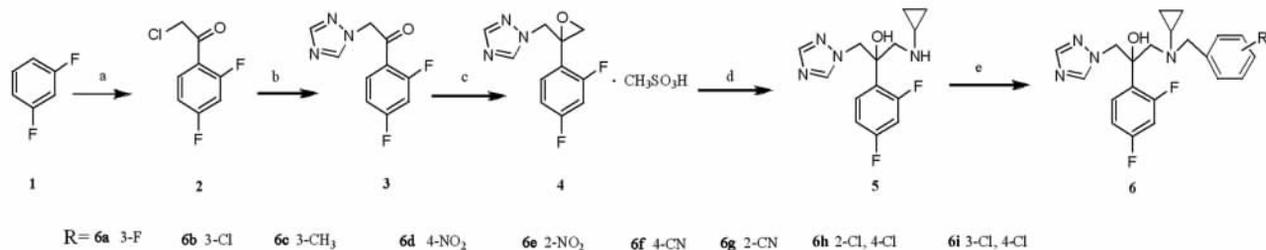


图 1 目标化合物的合成路线

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: CH_3CN , Et_3N

1 材料

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 2(150.0 g, 78.7%), m. p. 46~48 $^\circ\text{C}$ (文献^[5] m. p. 46.5 $^\circ\text{C}$)

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 $^\circ\text{C}$ (文献^[5] m. p. 103~105 $^\circ\text{C}$)。

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(0.0233 mol)、

三甲基氧硫碘 5.1 g(0.0232 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 $^\circ\text{C}$ 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 $^\circ\text{C}$ (文献^[5] m. p. 128~129 $^\circ\text{C}$, 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-(3-氟苄基)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-环丙基氨基)-2-醇 0.8 g(0.0027 mol),无水乙醇 40 ml,三乙胺 0.5 ml,间氟溴苄 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-(3-氟苄基)氨基]-2-醇 616 mg,收率 74.1%。化合物 6b~6i 均按照上述方法合成,化合物的参数见表 1。

2.6 抗真菌活性实验 本研究选用 2 种 ATCC 标

准株和6种临床株,ATCC标准株由长征医院菌种保存中心赠送,临床株由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*);及薰烟曲霉菌(*Aspergillus fumigatus*)。对照品氟康唑(fluconazole)、伊曲康唑(itraconazole)和特比萘芬(terbinafine)为第二军医大学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]测试其体外抗真菌活性,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。体外抑菌活性测试结果见表2。

表1 目标化合物的收率、熔点、质谱和核磁数据

Tab 1 Yield, melting point, Mr, ¹HNMR data of title compounds

Compd	Yield/%	m. p. t/°C	Mr	¹ HNMR(CDCl ₃)
6a	74.1	70-72	403.17	0.14-0.34(m,4H,cyclopropane);1.95(d,1H,cyclopropane);3.20(m,1H,N-CH ₂ -Ph);3.4(m,2H,N-CH ₂ -Ph);3.5-3.7(m,2H,3-H);4.53(s,2H,1-H);6.77-6.89(m,2H,Ar-CH ₂ -N,5-H,6-H);7.24-7.33(m,4H,Ar-H);7.60-7.67(m,2H,Ar-CH ₂ -N,3-H);7.70(s,1H,1H,1H,3-H);8.10(s,1H,1H,5-H)
6b	69.2	76-78	419.14	0.15-0.34(m,4H,cyclopropane);1.96(d,1H,cyclopropane);3.23(m,1H,N-CH ₂ -Ph);3.4(m,1H,N-CH ₂ -Ph);3.55-3.7(m,2H,3-H);4.50-4.56(s,2H,1-H);6.77-6.89(m,2H,Ar-CH ₂ -N,5-H,6-H);7.24-7.33(d,4H,Ar-H);7.60-7.67(m,2H,Ar-CH ₂ -N,3-H);7.70(s,1H,1H,3-H);8.09(s,1H,1H,5-H)
6c	68.4	63-67	399.19	0.13-0.35(m,4H,cyclopropane);1.93(d,1H,cyclopropane).2.90(m,1H,N-CH ₂ -Ph);3.4(m,1H,N-CH ₂ -Ph);3.55-3.7(m,2H,3-H);4.42-4.46(d,1H,J=14.7 Hz,1-H);4.41-4.58(d,1H,J=14.7 Hz,1-H);6.78-6.91(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);7.78(s,1H,1H,3-H);8.10(s,1H,1H,5-H)
6d	64.2	72-74	430.16	0.14-0.35(m,4H,cyclopropane);1.93(d,1H,cyclopropane);2.91-3.4(m,2H,N-CH ₂ -Ph);3.55-3.7(m,2H,3-H);4.42-4.46(d,1H,J=14.7 Hz,1-H);4.41-4.58(d,1H,J=14.7 Hz,1-H);6.78-6.91(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);7.78(s,1H,1H,3-H);8.09(s,1H,1H,5-H)
6e	66.2	73-74	430.16	0.14-0.34(m,4H,cyclopropane);1.93(d,1H,cyclopropane);2.91-3.4(m,2H,N-CH ₂ -Ph);3.55-3.7(m,2H,3-H);4.42-4.46(d,1H,J=14.7 Hz,1-H);4.41-4.58(d,1H,J=14.7 Hz,1-H);6.78-6.91(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);7.78(s,1H,1H,3-H);8.09(s,1H,1H,5-H)
6f	69.5	74-76	410.17	0.14-0.36(m,4H,cyclopropane);1.91(d,1H,cyclopropane);2.91-3.4(m,2H,N-CH ₂ -Ph);3.55-3.7(m,2H,3-H);4.42-4.46(d,1H,J=14.7 Hz,1-H);4.41-4.58(d,1H,J=14.7 Hz,1-H);6.78-6.91(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);7.78(s,1H,1H,3-H);8.09(s,1H,1H,5-H)
6g	70	74-76	410.17	0.14-0.35(m,4H,cyclopropane);1.91(d,1H,cyclopropane);2.91-3.4(m,2H,N-CH ₂ -Ph);3.55-3.7(m,2H,3-H);4.42-4.46(d,1H,J=14.7 Hz,1-H);4.41-4.58(d,1H,J=14.7 Hz,1-H);6.78-6.91(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);7.78(s,1H,1H,3-H);8.09(s,1H,1H,5-H)
6h	76.8	91-92	453.10	0.14-0.35(m,4H,cyclopropane);1.91(d,1H,cyclopropane);2.91-3.4(m,2H,N-CH ₂ -Ph);3.55-3.7(m,2H,3-H);4.42-4.46(d,1H,J=14.7 Hz,1-H);4.41-4.58(d,1H,J=14.7 Hz,1-H);6.78-6.91(m,2H,Ar-CH ₂ -N,5-H,6-H);7.24-7.67(m,4H,Ar-H);7.78(s,1H,1H,3-H);8.09(s,1H,1H,5-H)
6i	71.2	86-88	453.10	0.15-35(m,4H,cyclopropane);1.91(d,1H,cyclopropane);2.91-3.4(m,2H,N-CH ₂ -Ph);3.55-3.7(m,2H,3-H);4.42-4.46(d,1H,J=14.7 Hz,1-H);4.41-4.58(d,1H,J=14.7 Hz,1-H);6.78-6.91(m,2H,Ar-CH ₂ -N,5-H,6-H);7.24-7.67(m,4H,Ar-H);7.78(s,1H,1H,3-H);8.09(s,1H,1H,5-H)

表2 目标化合物的体外抗真菌活性
Tab 2 Anti-fungal activity (MIC₈₀) of title compounds *in vitro*

Compd	MIC ₈₀							
	Ca	Cp	Cn	Ct	Tr	Af	Mo	Fc
6a	<0.125	<0.125	<0.125	<0.125	<0.125	4	4	2
6b	<0.125	<0.125	<0.125	<0.125	<0.125	4	2	0.25
6c	<0.125	<0.125	<0.125	<0.125	<0.125	4	2	0.5
6d	<0.125	<0.125	<0.125	<0.125	<0.125	0.25	2	≤0.125
6e	<0.125	0.5	2	<0.125	0.5	2	2	<0.125
6f	<0.125	<0.125	<0.125	<0.125	<0.125	2	<0.125	<0.125
6g	<0.125	<0.125	<0.125	<0.125	<0.125	4	3	<0.125
6h	<0.125	0.5	2	<0.125	0.25	8	0.5	4
6i	<0.125	<0.125	<0.125	<0.125	<0.125	4	4	2
FILU	0.5	32	2	32	8	>64	32	2
ITR	<0.125	<0.125	<0.125	0.5	<0.125	2	<0.125	<0.125
TRB	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*; FILU: Fluconazole; ITR: Itraconazole; TRB: Terbinafine

3 讨论

测试结果表明,本课题设计合成的9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念珠菌的MIC₈₀值<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,与伊曲康唑相当或更优。在所合成的化合物中,6f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。当取代苯基为多取代的时候,化合物活性有一定程度的降低。当苯基的对位有强的吸电子基团存在时(6d, 6f),目标化合物的活性有一定程度的提高。由于化合物的数量有限,此类化合物的构效关系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 K, 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. Synthesis, and antifungal activities of novel triazole derivatives based on the structure of lanosterol 14 α -demethylase (CYP51) of fungi [J]. *Chem Biodivers*, 2007, 4: 1472-1479.
- [4] Zhao Q J, Song Y, Hu H G, Sun Q Y, 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