

· 短篇论著 ·

1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-(2,4-二氟苯基)-3-芳氧基-2-丙醇的合成及抗真菌活性

Synthesis and antifungal activity of 1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)-2-(2,4-difluorophenyl)-3-aryloxy-2-propanols

祝绍隆¹, 刘平¹, 姜远英², 张大志^{1*}

(1. 第二军医大学药学院有机化学教研室, 上海 200433; 2. 第二军医大学药学院药理学教研室, 上海 200433)

[摘要] 目的: 寻找高效抗真菌化合物, 探讨三唑醇类化合物的构效关系。方法: 根据三氮唑类抗真菌药物的构效关系和作用机制, 设计合成了 14 个 1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-(2,4-二氟苯基)-3-芳氧基-2-丙醇类化合物, 用微量液基稀释法测定化合物对白念珠菌、新生隐球菌、近平滑念珠菌、热带念珠菌、红色毛癣菌、羊毛状小孢子菌、熏烟曲霉菌和紧密着色真菌 8 种临床常见致病真菌的体外抑菌活性(MIC₈₀)。结果: 以氧原子替代侧链中的硫原子后, 侧链中含有邻位取代苯基的化合物的总体抗真菌活性不高, 而侧链含有间位或对位苯基的化合物表现了很好的体外抗真菌活性。结论: 间位或对位取代苯基的引入有利于此类化合物的抗真菌活性。

[关键词] 三氮唑; 抗真菌药; 合成

[中图分类号] R 978.5

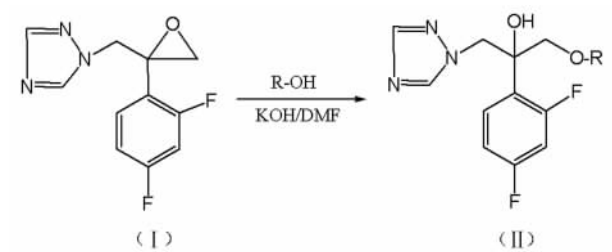
[文献标识码] B

[文章编号] 0258-879X(2007)07-0729-04

氟康唑 (fluconazole) 和伊曲康唑 (itraconazole) 具有高效、广谱、低毒等特点, 被广泛用于多种深部及浅部真菌感染的治疗和预防。但是氮唑类药物存在局限性, 如氟康唑对曲霉属效果差, 伊曲康唑不易透过血脑屏障, 不良反应发生率高^[1-2], 而且随着氮唑类药物的广泛应用, 临床的真菌菌株中已经出现耐药现象, 甚至出现交叉耐药现象^[3]。临床上迫切需要高效、低毒、抗菌谱广、选择性好的新型抗真菌药物, 因此, 氮唑类化合物的结构改造成为抗真菌药物的研究重点。

根据氮唑类化合物的抗真菌作用机制及对氮唑类化合物构效关系的研究结果^[4-10], 我们在先前的研究^[11-12]中设计合成了系列化合物, 保留了三氮唑环、叔醇和二氟苯基活性结构基础, 研究工作主要集中于侧链部分的结构改变。研究表明, 侧链与母体结构通过硫原子连接所合成的化合物具有一定的抗真菌活性。本研究将先前合成的化合物中侧链的硫原子置换为氧原子, 考察此类化合物的抗真菌活性。以 1-(2-(2,4-二氟苯基)-2,3-环氧丙基)-1H-1,2,4-三唑甲磺酸盐 (I) 为原料, 在碱性条件下与各种取代酚发生开环反应, 形成 14 个 1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-(2,4-二氟苯基)-3-取代-2-丙醇类化合物 (II)。目标化合物都经¹H NMR 鉴定, 部分经 IR、MS 鉴定并确定了结构, 并考察了目标化合物对 8 种临床常见致病真菌的体外抑菌活性。

合成路线如下:



1 方法和结果

1.1 实验仪器 ZDM-1 型电热熔点测定仪, MD-1106 型元素分析仪, Bruker Spectrospin AC-P300 型核磁共振仪, Bruker VECTORY 22 型红外光谱仪。隔水式电热恒温培养箱 (上海跃进医疗器械厂), THZ-82A 台式恒温振荡器 (上海跃进医疗器械厂), Multiskan MK3 酶标分析仪 (Labsystems Dragon)。

1.2 1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-(2,4-二氟苯基)-3-取代-2-丙醇 (II a~II n) 的合成 先按照先前的方法^[11-12]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 (I)。将氢氧化钾 2.1 g (0.03 mol)、取代酚 (0.01 mol), 在搅拌下溶于乙醇 50 ml, 一次加入 (I) 3.33 g (0.01 mol), 加热回流 8 h, 回收乙醇, 向反应物中加水 150 ml, 乙酸乙酯 150 ml 提取, 无水硫酸钠干燥, 回收溶剂, 用乙酸乙酯/石油醚重结晶, 得目标化合物 (II a~II n)。14 个目标化合物均为首次报道, 见表 1。

1.3 体外抑菌活性 (MIC₈₀) 测定 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: 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 parapsilo-*

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划 (973 计划) (2005CB523105), 国家自然科学基金 (30672626)。Supported by National Program on Key Basic Research Projects (973 Program) (2005CB523105) and National Natural Science Foundation of China (30672626)。

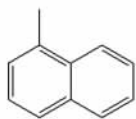
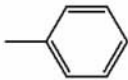
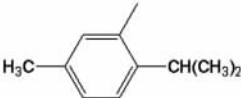
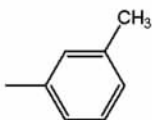
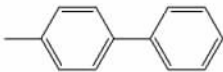
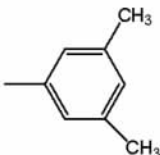
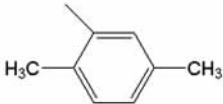
[作者简介] 祝绍隆, 硕士。E-Mail: zhushaolong2002@163.com

* Corresponding author. E-mail: zdzhang@smmu.edu.cn

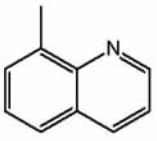
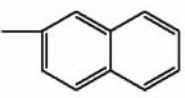
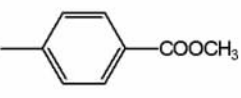
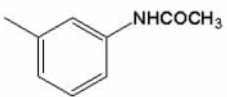
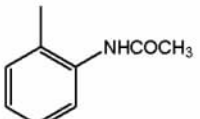
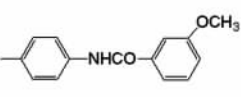
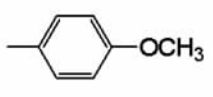
sis)、红色毛癣菌(*Trichophyton rubrum*)、羊毛状小孢子菌(*Microsporum canis*)、紧密着色真菌(*Fonsecaea compacta*)、

薰烟曲霉菌(*Aspergillus fumigatus*)。

表 1 目标化合物的取代基、熔点、产率及物理性质

编号	R	熔点 (t/°C)	收率 (%)	物理性质
II a		133-134	34.7	¹ H-NMR(CDCl ₃): δ 8.40 (1H, s, triazole C ₅ -H), 7.81 (1H, s, triazole C ₃ -H), 7.98~6.91 (10H, m, Ar-H), 6.47 (1H, s, -OH), 4.89 (1H, d, J=14.3 Hz, -C ₂ -Ha), 4.79 (1H, d, J=14.3 Hz, -C ₂ -Hb), 4.48 (1H, d, J=10.6 Hz, C ₁ -Hb), 4.35 (1H, d, J=10.6 Hz, C ₁ -Ha); MS: m/z 381.1 (M ⁺)
II b		110-111	57.8	¹ H-NMR(CDCl ₃): δ 8.35(1H,s, triazole C ₅ -H), 7.78 (1H, s, triazole C ₃ -H), 7.54~6.87 (8H, m, Ar-H), 6.34(1H, s, -OH), 4.75(1H, d, J=14.3 Hz, -C ₂ -Ha), 4.68 (1H, d, J=14.3 Hz, -C ₂ -Hb), 4.30 (1H, d, J=9.9 Hz, C ₁ -Hb), 4.18 (1H, d, J=9.9 Hz, C ₁ -Ha); IR(KBr,cm ⁻¹): 3 150, 1 497~1 419, 1 137, 876~753
II c		140-141	56.3	¹ H-NMR(CDCl ₃): δ 8.35 (1H, s, triazole C ₅ -H), 7.82 (1H, s, triazole C ₃ -H), 7.60~6.66 (6H, m, Ar-H), 6.26(1H, s, -OH), 4.71(2H, s, -CH ₂ -), 4.30(1H, d, J=9.8 Hz, C ₁ -Hb), 4.09(1H, d, J=9.8 Hz, C ₁ -Ha); 2.93(1H, m, -CH-), 2.22(3H, s, -CH ₃), 0.96(3H, d, -CH ₃), 0.93(3H, d, -CH ₃); IR(KBr,cm ⁻¹): 3 141, 1 616~1457, 1 169~1 130, 896~820
II d		122-124	42.6	¹ H-NMR(CDCl ₃): δ 8.34(1H, s, triazole C ₅ -H), 7.77 (1H, s, triazole C ₃ -H), 7.53~6.66 (7H, m, Ar-H), 6.31(1H, s, -OH), 4.73 (1H, d, J=14.3 Hz, -C ₂ -Ha), 4.67 (1H, d, J=14.3 Hz, -C ₂ -Hb), 4.27 (1H, d, J=9.9 Hz, C ₁ -Hb), 4.15(1H, d, J=9.9 Hz, C ₁ -Ha); 2.24(3H, s, -CH ₃); IR(KBr, cm ⁻¹): 3 135, 1 609~1 489, 1 209~1 137, 882~772
II e		152-154	32.8	¹ H-NMR(CDCl ₃): δ 8.37 (1H, s, triazole C ₅ -H), 7.80(1H, s, triazole C ₃ -H), 7.60~6.97 (12H, m, Ar-H), 6.39(1H, s, -OH), 4.76(1H, d, J=14.3 Hz, -C ₂ -Ha), 4.70(1H, d, J=14.3 Hz, -C ₂ -Hb), 4.36(1H, d, J=10.0 Hz, C ₁ -Hb), 4.24(1H, d, J=10.0 Hz, C ₁ -Ha); IR(KBr,cm ⁻¹): 3 133, 1 613~1 486, 1 176, 900~764
II f		143-145	45.7	¹ H-NMR(CDCl ₃): δ 8.34(1H, s, triazole C ₅ -H), 7.77(1H, s, triazole C ₃ -H), 7.53~6.50 (6H, m, Ar-H), 6.30 (1H, s, -OH), 4.72(1H, d, J=14.2 Hz, -C ₂ -Ha), 4.67(1H, d, J=14.2 Hz, -C ₂ -Hb), 4.30(1H, d, J=9.9 Hz, C ₁ -Hb), 4.13(1H, d, J=9.9 Hz, C ₁ -Ha), 2.19(6H,s,-CH ₃); IR(KBr,cm ⁻¹): 3 124, 1 513~1 417, 1 210~1 137, 873~827
II g		130-131	39.8	¹ H-NMR(CDCl ₃): δ 8.35(1H, s, triazole C ₅ -H), 7.80(1H, s, triazole C ₃ -H), 7.59~6.45(6H, m, Ar-H), 6.28(1H, s, -OH), 4.78(1H, d, J=7.3 Hz, -C ₂ -Ha), 4.73(1H, d, J=7.3 Hz, -C ₂ -Hb), 4.25(1H, d, J=10.2 Hz, C ₁ -Hb), 4.13(1H, d, J=10.2 Hz, C ₁ -Ha); 2.22(3H, s, -CH ₃), 1.90(3H, s, -CH ₃); IR(KBr,cm ⁻¹): 3 145, 1 617~1 498, 1 157, 900~812

(续表)

编号	R	熔点 ($t/^{\circ}\text{C}$)	收率 (%)	物理性质
II h		53-54	40.0	$^1\text{HNMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 8.40(1H, s, triazole $\text{C}_5\text{-H}$), 7.74(1H, s, triazole $\text{C}_3\text{-H}$), 8.87~7.00 (9H, m, Ar-H), 7.14(1H, s, -OH), 4.89(1H, d, $J=14.3$ Hz, $\text{-C}_2\text{-Ha}$), 4.78(1H, d, $J=14.3$ Hz, $\text{-C}_2\text{-Hb}$), 4.52(1H, d, $J=9.9$ Hz, $\text{C}_1\text{-Hb}$), 4.46(1H, d, $J=9.9$ Hz, $\text{C}_1\text{-Ha}$); IR(KBr, cm^{-1}): 3 133, 1 618~1473, 1 206~1 137, 1 112, 851~788
II i		125-127	52.3	$^1\text{HNMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 8.36(1H, s, triazole $\text{C}_5\text{-H}$), 7.78(1H, s, triazole $\text{C}_3\text{-H}$), 7.82~7.00 (10H, m, Ar-H), 6.41(1H, s, -OH), 4.76(1H, d, $J=5.5$ Hz, $\text{-C}_2\text{-Ha}$), 4.72(1H, d, $J=5.5$ Hz, $\text{-C}_2\text{-Hb}$), 4.42(1H, d, $J=10.6$ Hz, $\text{C}_1\text{-Hb}$), 4.33(1H, d, $J=10.6$ Hz, $\text{C}_1\text{-Ha}$); IR(KBr, cm^{-1}): 3 202, 1 567~1 460, 1 216~1 125, 910~808
II j		98-100	23.6	$^1\text{HNMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 8.30(1H, s, triazole $\text{C}_5\text{-H}$), 7.73(1H, s, triazole $\text{C}_3\text{-H}$), 7.97~6.95(7H, m, Ar-H), 5.71(1H, s, -OH), 4.90 (2H, s, $\text{-CH}_2\text{-}$), 4.54~4.42 (2H, m, $\text{-CH}_2\text{-}$); 3.83(3H, s, -CH_3); IR(KBr, cm^{-1}): 3 123, 1 715, 1 606~1 435, 1 171, 848~771
II k		161-163	37.1	$^1\text{HNMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 9.91(1H, s, -CO NH-), 8.35 (1H, s, triazole $\text{C}_5\text{-H}$), 7.79 (1H, s, triazole $\text{C}_3\text{-H}$), 7.52~6.54 (7H, m, Ar-H), 6.37(1H, s, -OH), 4.74(1H, d, $J=14.4$ Hz, $\text{-C}_2\text{-Ha}$), 4.67(1H, d, $J=14.4$ Hz, $\text{-C}_2\text{-Hb}$), 4.26(1H, d, $J=9.9$ Hz, $\text{C}_1\text{-Hb}$), 4.15(1H, d, $J=9.9$ Hz, $\text{C}_1\text{-Ha}$); 2.01(3H, s, -CH_3); IR(KBr, cm^{-1}): 3 278, 1 660, 1 598~1 449, 1 205~1 121, 873~820
II l		149-150	26.7	$^1\text{HNMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 9.80(1H, s, -CONH-), 8.33 (1H, s, triazole $\text{C}_5\text{-H}$), 7.80 (1H, s, triazole $\text{C}_3\text{-H}$), 7.54~6.87 (7H, m, Ar-H), 6.49(1H, s, -OH), 4.74(1H, d, $J=14.4$ Hz, $\text{-C}_2\text{-Ha}$), 4.67(1H, d, $J=14.4$ Hz, $\text{-C}_2\text{-Hb}$), 4.36(1H, d, $J=9.9$ Hz, $\text{C}_1\text{-Hb}$), 4.19(1H, d, $J=9.9$ Hz, $\text{C}_1\text{-Ha}$); 2.00(3H, s, -CH_3); MS: m/z 388.1 (M^+)
II m		149-151	43.6	$^1\text{HNMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 9.80(1H, s, -CONH-), 8.33(1H, s, triazole $\text{C}_5\text{-H}$), 7.80(1H, s, triazole $\text{C}_3\text{-H}$), 7.54~6.87 (7H, m, Ar-H), 6.49 (1H, s, -OH), 4.74(1H, d, $J=14.4$ Hz, $\text{-C}_2\text{-Ha}$), 4.67(1H, d, $J=14.4$ Hz, $\text{-C}_2\text{-Hb}$), 4.36 (1H, d, $J=9.9$ Hz, $\text{C}_1\text{-Hb}$), 4.19(1H, d, $J=9.9$ Hz, $\text{C}_1\text{-Ha}$), 2.00(3H, s, -CH_3)
II n		145-146	68.4	$^1\text{HNMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 8.35(1H, s, triazole $\text{C}_5\text{-H}$), 7.78 (1H, s, triazole $\text{C}_3\text{-H}$), 7.51~6.84 (7H, m, Ar-H), 6.32 (1H, s, -OH), 4.70 (1H, d, $J=14.3$ Hz, $\text{-C}_2\text{-Ha}$), 4.69(1H, d, $J=14.3$ Hz, $\text{-C}_2\text{-Hb}$), 4.25(1H, d, $J=9.9$ Hz, $\text{C}_1\text{-Hb}$), 4.12(1H, d, $J=9.9$ Hz, $\text{C}_1\text{-Ha}$), 3.68(3H, s, -CH_3); IR(KBr, cm^{-1}): 3 272, 1 642, 1 600~1 507, 1 237~1 139, 847~800

所有化合物 C、H、N 元素分析结果误差均在 0.5% 以内

受试药物分别用 DMSO 配成 6.4 g/L 溶液, -20°C 保存, 实验前将药液取出置 35°C 温箱融化备用。8 株菌菌液内药物浓度由 2~11 孔依次 10 级倍稀释, 同时设计空白对照和阳性对照(1 孔和 12 孔)。将菌液与药物的混合液用排枪

打匀, 于 35°C 恒温培养, 留待酶标分析仪检测。念珠菌、新生隐球菌及丝状菌分别于 24 h、72 h 和 1 周后, 用酶标分析仪于 630 nm 测定各孔 D 值, 计算 MIC_{80} 。结果见表 2。

表2 目标化合物的体外抑菌活性(MIC₈₀)

(ρ_B/mg · L⁻¹)

Compd	Ca	Cp	Cn	Ct	Tr	Af	Mo	Fc
II a	≤0.125	≤0.125	1	≤0.125	8	>64	>64	0.5
II b	0.25	0.25	2	0.25	8	64	>64	1
II c	≤0.125	8	>64	32	32	>64	>64	32
II d	≤0.125	0.25	1	0.25	4	64	>64	1
II e	≤0.125	≤0.125	16	≤0.125	≤0.125	2	>64	0.25
II f	≤0.125	2	16	1	8	>64	>64	8
II g	≤0.125	1	16	2	8	>64	>64	4
II h	≤0.125	4	32	4	8	>64	>64	4
II i	≤0.125	≤0.125	8	0.25	2	32	>64	1
II j	≤0.125	0.5	16	0.5	8	32	>64	0.5
II k	1	8	>64	8	>64	>64	>64	>64
II l	8	>64	>64	>64	8	>64	>64	>64
II m	≤0.125	≤0.125	64	≤0.125	32	>64	>64	8
II n	≤0.125	0.25	0.5	0.25	4	64	64	1
FCZ	≤0.125	≤0.125	≤0.125	≤0.125	0.5	16	8	≤0.125
KCZ	≤0.125	1	≤0.125	0.25	≤0.125	16	4	2

Ca: 白念珠菌; Cp: 近平滑念珠菌; Cn: 新生隐球菌; Ct: 热带念珠菌; Tr: 红色毛癣菌; Af: 薰烟曲霉菌; Mo: 羊毛状小孢子菌; Fc: 紧密着色真菌; FCZ: 氟康唑; KCZ: 酮康唑

2 讨论

本研究结果表明由氧原子连接药效基团与侧链的三唑醇类化合物的抗真菌活性,总体明显高于由硫原子连接药效基团和侧链的化合物。

目标化合物可以分为两大类型,一类是化合物 II c、II g、II h、II l,其侧链中与氧相连的苯环上氧的邻位均有取代基;另一类化合物中,氧的间位和对位有取代基。苯环上的取代基对药效基团的空间分布影响较大,邻位的较大基团会严重影响三唑环、二氟苯基和叔醇羟基等药效基团的空间分布,使化合物与靶酶的结合力下降,导致活性丧失。化合物 II c、II g、II h、II l 的抗菌谱和抗菌活性总体低于同类的其他化合物,可能是侧链中含有邻位取代苯环不利于活性的提高。

(志谢:核磁共振谱由本院分析测试中心杨根金老师测定,实验用真菌菌株由长海医院、长征医院提供,在此一并表示感谢。)

[参考文献]

[1] 田伟,王红,刘维达.新唑类抗真菌药物研究进展[J].国际皮肤性病杂志,2006,32:72-74.
 [2] 刘正印,王爱霞.抗真菌药物的研究进展[J].中国抗生素杂志,2006,31:69-71.
 [3] Borst A,Raimer M T,Warnock D W,et al. Rapid acquisition of stable azole resistance by *Candida glabrata* isolates obtained before the clinical introduction of fluconazole[J]. Antimicrob Agents Chem,2005,49:783-787.
 [4] 叶光明,孙青葵,姜云云,等. 1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-(2,4-二氟苯基)-3-[(4-取代)-哌嗪-1-基]-2-丙醇的合成及其抗真菌活性[J]. 第二军医大学学报,2005,26:1161-1164.

[5] 周国川,徐鸣夏,吕丁,等. 2-(2,4-二氟苯基)-1-(4-烷基哌嗪-1-基)-3-(1,2,4-三唑-1-基)-2-丙醇类化合物的合成及抗真菌活性[J]. 化学研究与应用,2003,15:521-523.
 [6] 盛春泉,朱杰,张万年,等. N-[2-(2,4-二氟苯基)-2-羟基-3-(1H-1,2,4-三唑-1-基)丙基]-N'-(4-取代苯基)-3-(2H,4H)-1,2,4-三唑酮的合成和抗真菌活性[J]. 中国药学杂志,2006,41:469-471.
 [7] Banfi E,Scialino G,Zampieri D,et al. Antifungal and antimycobacterial activity of new imidazole and triazole derivatives. A combined experimental and computational approach[J]. J Antimicrob Chem,2006,58:76-84.
 [8] Warn P A,Sharp A,Denning D W. *In vitro* activity of a new triazole BAL4815, the active component of BAL8557 (the water-soluble prodrug), against *Aspergillus spp* [J]. J Antimicrob Chem,2006,57:135-138.
 [9] Piérard-Franchimont C,Ausma J,Wouters L,et al. Activity of the triazole antifungal R126638 as assessed by corneofungimetry[J]. Skin Pharmacol Physiol,2006,19:50-56.
 [10] Klopman G,Ptchelintsev D. Antifungal triazole alcohol: a comparative analysis of structure-activity, structure-teratogenicity and structure-therapeutic index relationship using the multiple computer automated structure evaluation (multi-CASE) methodology[J]. J Comput Aided Mol Design,1993,7: 349-362.
 [11] 张大志,周廷森,吴义杰,等. 1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-(2,4-二氟苯基)-3-取代-2-丙醇类化合物的合成及抗真菌活性研究[J]. 药学学报,1997,32:943-949.
 [12] 张大志,张万年,刘超美,等. 1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-(2,4-二氟苯基)-3-取代-2-丙醇的合成及抗真菌活性研究(II)[J]. 中国药物化学杂志,2001,11:193-197.

[收稿日期] 2007-03-19 [修回日期] 2007-05-16
 [本文编辑] 尹茶