

· 论著 ·

新型三唑二氧戊环类化合物的合成、晶体结构及抗真菌活性

任晓慧^{1,2}, 陈新¹, 刘嘉², 郑灿辉², 任雪琴¹, 吴兵¹, 王如锋¹, 周有骏² (1. 武汉工业学院生物与制药工程学院, 湖北 武汉 430023; 2. 第二军医大学药学院, 上海 200433)

[摘要] 目的 合成(E)-1-[4-(2,4-二氟苯基)-2-[2-(4-氟苯基)-乙烯基]-[1,3]二氧戊环-4-甲基]-1H-[1,2,4]三氮唑化合物的几何异构体,测定其晶体结构,并考察其体外抗真菌活性。方法 以间二氟苯为起始原料,经Friedel-Crafts反应、与三氮唑缩合、环氧化,得到中间体1-[2-(2,4-二氟苯基)-2,3-环氧丙基]-1H-[1,2,4]-三唑甲磺酸盐,将环氧化物甲磺酸盐水解,然后与对氟肉桂醛缩合脱水制得目标化合物6Ka和6Kb,经¹H NMR、MS和X-射线单晶衍射测定结构,并测试其体外抗真菌活性。结果 6Ka属单斜晶系,空间群P2(1)/c,为顺式构型。6Kb属单斜晶系,空间群P2(1)/n,为反式构型。目标化合物对5种致病真菌在体外均有很强的抑菌活性。化合物6Kb的抑菌活性优于化合物6Ka。结论 该类型反式构型化合物的体外抗真菌活性优于其顺式构型。

[关键词] 1,3-二氧戊环类化合物; 合成; 晶体结构; 抗真菌活性

[中图分类号] R914 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2012)05-0344-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2012.05.007

Synthesis, crystal structures and antifungal activity of novel triazole compounds containing 1,3-dioxolane

REN Xiao-hui^{1,2}, CHEN Xin¹, LIU Jia², ZHENG Can-hui², REN Xue-qin¹, WU Bing¹, WANG Ru-feng¹, ZHOU You-jun² (1. School of Biology and Pharmaceutical Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China; 2. Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To synthesize the geometric isomer of (E)-1-(4-(2,4-difluorophenyl)-2-(4-fluorostyryl)-1,3-dioxolan-4-yl)methyl)-1H-[1,2,4]-triazole, determine their structures by XRD and evaluate their antifungal activities *in vitro*. **Methods** The target compounds were prepared from 1H-[1,2,4]-triazole and 2-chloro-2-(4-fluoroacetophenone), the key oxirane intermediate was obtained by Corey-Chaykovsky epoxidation. The key oxirane intermediate was hydrolyzed in the presence of 9% sulphuric acid, then the product was reacted with 4-Fluorocinnamaldehyde by condensation reaction to afford 6Ka and 6Kb. Their structures were characterized by ¹H NMR, MS and XRD. **Results** Compound 6Ka belonged to monoclinic crystal system, space group P2(1)/c and had a cis configuration. While Compound 6Kb belonged to monoclinic crystal system, space group P2(1)/n and had a trans configuration. Both compounds which showed strong antifungal activities *in vitro* against five fungus. The antifungal activities of compound 6Kb was better than that of 6Ka. **Conclusion** The trans configuration of this kind had a predominant *in vitro* antifungal activities than the corresponding cis configuration.

[Key words] 1,3-dioxolane; synthesis; crystal structure; antifungal activity

近年来,深部真菌感染日趋严重,其发病率和死亡率呈上升趋势,严重威胁人类的健康和生命。氮唑类化合物是目前临床上应用最广泛的抗真菌药物^[1],如氟康唑、伊曲康唑等为临床治疗真菌感染的首选药。然而现有氮唑类抗真菌药物存在严重的耐药性和肝肾毒性等^[2]问题,使该类药物的临床治

疗受到限制。因此,临床上迫切需要开发低毒、高效、广谱的抗深部真菌感染药物。

氮唑类抗真菌药物按结构主要分为三唑醇类和三唑二氧戊环类。本文根据氮唑类药物的构效关系^[3,4],设计合成了一类新型的三唑二氧戊环类化合物:2-取代苯乙烯基-4-(2,4-二氟苯基)-4-(1H-[1,2,4]-三唑-1-基)甲基-1,3-二氧戊环类化合物的几何异构体6Ka和6Kb。经¹H NMR、MS确证结构,采用X-射线单晶衍射确证其立体构型。并考察不同的立体异构体6Ka和6Kb对5种常见致病菌的体外抗真菌活性。化合物6Ka和6Kb的合

[基金项目] 国家自然科学基金项目(20972187),国家863项目(2008AA02Z302)。

[作者简介] 任晓慧(1985-)女,硕士研究生。

[通讯作者] 周有骏。Tel: (021) 81871231, E-mail: zhouyoujun2006@yahoo.com.cn.

成路线如下:

以间二氟苯为起始原料,经 Friedel-Crafts 反应、与三氮唑缩合、环氧化,得到中间体 1-[2-(2,4-二氟苯基)-2,3-环氧丙基]-1H-1,2,4-三唑甲磺酸盐,将

环氧化物甲磺酸盐酸性水解得到 2-(2,4-二氟苯基)-3-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-1,2-丙二醇,然后与反式对氟肉桂醛缩合脱水得到化合物 6Ka 和 6Kb,见图 1。

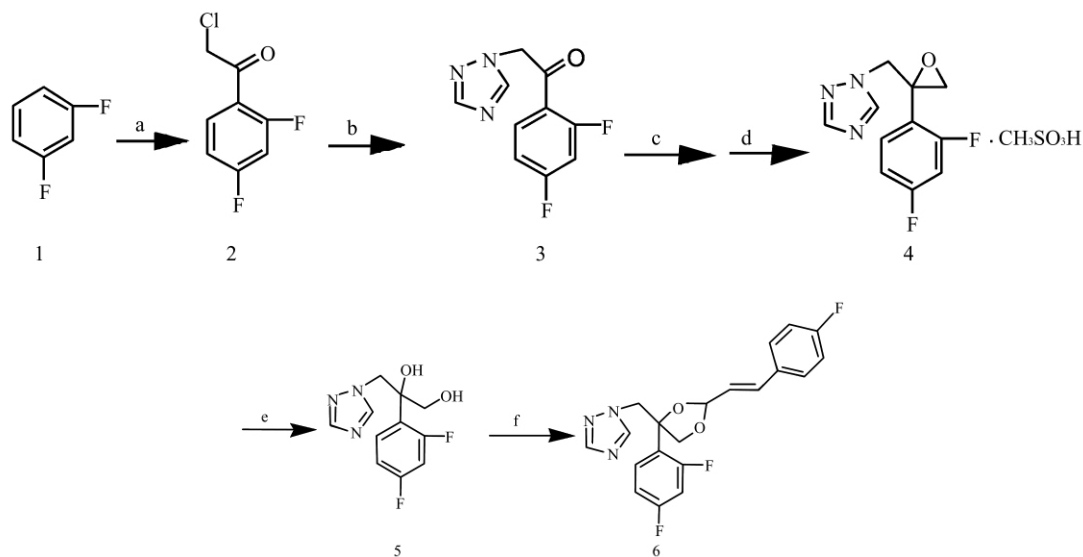


图 1 目标化合物的合成路线

反应条件: (a) ClCH_2COCl , AlCl_3 , $50\text{ }^\circ\text{C}$, 5 h; (b) $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$, NaHCO_3 , 1H-1,2,4-triazole, reflux, 5 h; (c) $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$, $(\text{CH}_3)_3\text{SOI}$, NaOH , $\text{phenylmethylammonium bromide}$, $60\text{ }^\circ\text{C}$, 3 h; (d) $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$, $0\text{ }^\circ\text{C}$, 1 h; (e) H_2O , H_2SO_4 , $50\text{ }^\circ\text{C}$, 7 h; (f) $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$, (E)-3-(4-fluorophenyl) acrylaldehyde, reflux, 24 h.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂 Bruker APEX-II CCD 型 X-射线单晶衍射仪;核磁共振氢谱用 Bruker AC-300P 型仪器测定, TMS 为内标, CDCl_3 为溶剂;质谱以 Hewlett-Packard 5988 型质谱仪测定, EI 源, 70 eV 直接进样;熔点用 RK-Z 型熔点仪测定, 温度未校正。所用试剂皆为分析纯。

1.2 合成部分

1.2.1 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)的合成 按参考文献^[5]制备, 收率 49.7%, mp $131\sim 132\text{ }^\circ\text{C}$ 。

1.2.2 2-(2,4-二氟苯基)-3-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-1,2-丙二醇(5)的合成 按参考文献^[6]制备, 收率 87%, mp $128\sim 129\text{ }^\circ\text{C}$ 。

1.2.3 (E)-2-(4-氟苯乙烯基)-4-(2,4-二氟苯基)-4-(1H-1,2,4-三唑-1-基)甲基-1,3-二氧戊环(6Ka 和 6Kb)的合成 取 1.53 g (6.0 mmol) 化合物 5 加入 3 ml 无水 DMF 溶解, 加入 6.0 mmol 对氟肉桂醛、少量对甲苯磺酸一水合物和 100 ml 经分子筛干燥过的甲苯, $135\text{ }^\circ\text{C}$ 加热回流搅拌 24 h 并不断除去反应中产生的水, 反应完蒸除溶剂, 残留物加入 150 ml

乙酸乙酯, 分别用 50 ml 水、50 ml 饱和食盐水洗 3 次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩, 残留物用柱层析分离, 以乙酸乙酯-石油醚为洗脱剂, 先洗脱下来的为 6Ka, 后洗脱下来的为 6Kb。6Ka 和 6Kb 用正己烷和乙酸乙酯结晶, 得到晶体 6Ka 和 6Kb。6Ka 为白色固体, 收率 36.2%~54.3%, 6Kb 为淡黄色固体, 收率 15.5%~29.3%。6Ka 和 6Kb 的熔点、MS 和 ^1H NMR 数据见表 1。

2 6Ka 和 6Kb 晶体结构测定与结果

将 6Ka (0.25 mm × 0.20 mm × 0.12 mm) 或 6Kb (0.12 mm × 0.08 mm × 0.04 mm) 单晶置于衍射仪上, 采用石墨单色化的 $\text{CuK}\alpha$ 射线 ($\lambda = 1.54178\text{ \AA}$) 以 φ - ω 扫描方式在 296(2) K 收集衍射数据。其中 6Ka 在 $4.20^\circ \leq \theta \leq 64.98^\circ$ ($h: -9\sim 9$; $k: -9\sim 11$; $l: -24\sim 24$) 收集 9 914 个强反射数据, 其中独立衍射点 3 001 个 [$R_{\text{int}} = 0.0601$]; 6Kb 在 $3.90^\circ \leq \theta \leq 59.99^\circ$ ($h: -15\sim 15$; $k: -8\sim 8$; $l: -20\sim 20$) 收集 6 626 个强反射数据, 其中独立衍射点 2 451 个 [$R_{\text{int}} = 0.3595$]。强度数据进行了经验吸收校正和 LP 校正。6Ka 和 6Kb 的晶体结构解析采用直接法, 结构解析和计算使用 SHELXS-97 和 SHELXL-97 程序

完成,氢原子坐标经差值 Fourier 合成得到,非氢原子坐标由直接法得到。氢原子采用各向同性热参数

修正,其它原子采用各向异性热参数修正。晶体结构用全矩阵最小二乘法修正。

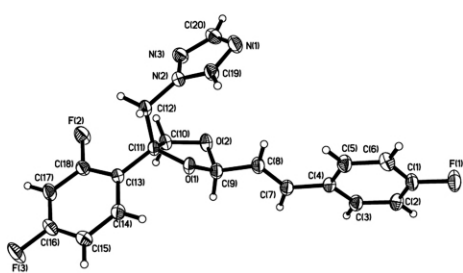
表 1 6Ka 和 6Kb 的熔点、质谱及核磁数据

Compd	R	Conf	mp/°C	MS(M + 1) ⁺	¹ H NMR δ(CDCl ₃)
6Ka	4-F	cis	154 ~ 155	388. 80	8. 143 (s , 1H , triazole-H) , 7. 872 (s , 1H , triazole-H) , 7. 533 ~ 6. 860 (m , 7H , Ar-H) , 6. 779 ~ 6. 726 (d , 1H , J = 15. 9 Hz , Ar-CH [*] = CH-) , 5. 995 ~ 5. 920 (dd , 1H , J = 15. 9 , 6. 6 Hz , Ar-CH = CH [*] -) , 5. 398 ~ 5. 376 (d , 1H , J = 6. 6 Hz , O-CH-) , 4. 773 ~ 4. 731 (dd , 1H , J = 9. 3 , 3. 0 Hz , O-CH ₂ -) , 4. 632 ~ 4. 584 (d , 1H , J = 14. 4 Hz , triazole-CH ₂ -) , 4. 489 ~ 4. 441 (d , 1H , J = 14. 4 Hz , triazole-CH ₂ -) , 4. 015 ~ 3. 979 (d , 1H , J = 9. 3 , 3. 0 Hz , O-CH ₂ -) .
6Kb	4-F	trans	118 ~ 119	388. 59	8. 121 (s , 1H , triazole-H) , 7. 871 (s , 1H , triazole-H) , 7. 541 ~ 7. 839 (m , 7H , Ar-H) , 6. 740 ~ 6. 687 (d , 1H , J = 15. 9 Hz , Ar-CH [*] = CH-) , 6. 045 ~ 5. 970 (dd , 1H , J = 15. 9 , 6. 3 Hz , Ar-CH = CH [*] -) , 5. 459 ~ 5. 438 (d , 1H , J = 6. 3 Hz , O-CH-) , 4. 723 ~ 4. 675 (d , 1H , J = 14. 4 Hz , triazole-CH ₂ -) , 4. 555 ~ 4. 507 (d , 1H , J = 14. 4 Hz , triazole-CH ₂ -) , 4. 394 ~ 4. 358 (dd , 1H , J = 6. 3 , 1. 0 Hz , O-CH ₂ -) , 4. 325 ~ 4. 289 (dd , 1H , J = 6. 3 , 1. 0 Hz , O-CH ₂ -) .

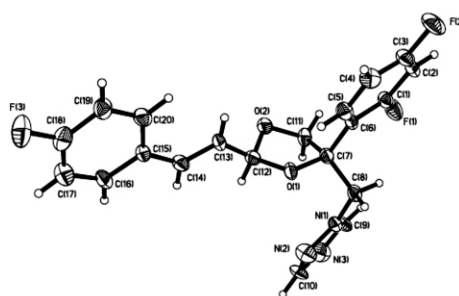
分子结构解析表明,6Ka 的组成为 C₂₀H₁₆F₃N₃O₂, 分子量为 387. 36, 属单斜晶系, P2(1)/c 空间群, 晶体参数 a = 8. 360 4(3) Å, b = 10. 162 4(3) Å, c = 21. 080 1(6) Å, α = 90°, β = 91. 495(2)°, γ = 90°, V = 1 790. 39(10) Å³, Z = 4, D_c = 1. 437 g/cm³, μ = 0. 990 mm⁻¹, F(000) = 800, 最终偏离因子 R = 0. 052 1, wR = 0. 155 2。6Kb 的组成为 C₂₀H₁₆F₃N₃O₂, 分子量为 387. 36, 属单斜晶系, P2(1)/n 空间群, 晶体参数 a = 13. 383(5) Å, b = 7. 448(3) Å, c = 18. 559(8) Å, α =

90°, β = 95. 393(19)°, γ = 90°, V = 1 841. 8(13) Å³, Z = 4, D_c = 1. 397 g/cm³, μ = 0. 962 mm⁻¹, F(000) = 800, 最终偏离因子 R = 0. 123 8, wR = 0. 341 5。根据^[7~9]三氮唑环与 4-氟苯乙烯基在 1,3-二氧戊环同侧的为顺式构型, 在异侧的为反式构型, 我们得出 6Ka 为顺式-2R,4R 和顺式-2S,4S 的外消旋体, 而 6Kb 为反式-2S,4R 和反式-2R,4S 的外消旋体。

6Ka 和 6Kb 的分子结构见图 2, 主要晶体学数据列于表 2。



6Ka 的分子结构图



6Kb 的分子结构图

图 2 6Ka 和 6Kb 的分子结构图

表 2 6Ka 和 6Kb 的部分晶体学参数

参数	6Ka	6Kb	参数	6Ka	6Kb
分子式	C ₂₀ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₂	C ₂₀ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₂	c(Å)	21. 080 1(6)	18. 559(8)
分子量	387. 36	387. 36	α(°)	90	90
颜色	白色	淡黄色	β(°)	91. 495(2)	95. 393(19)
温度(K)	296(2)	296(2)	γ(°)	90	90
衍射源/ 波长(CuKα) (Å)	1. 541 78	1. 541 78	Z	4	4
晶系	单斜晶	单斜晶	F(000)	800	800
空间群	P2(1)	P2(1)	F ²	1. 074	1. 078
晶体粒度/ mm	0. 25 × 0. 20 × 0. 12	0. 12 × 0. 08 × 0. 04	R1 / wR2	0. 052 1 / 0. 155 2	0. 123 8 / 0. 341 5
a(Å)	8. 360 4(3)	13. 383(5)	R1 / wR2(all data)	0. 056 1 / 0. 161 4	0. 164 5 / 0. 384 8
b(Å)	10. 162 4(3)	7. 448(3)			

3 抗真菌活性实验

3.1 对照药物与受试菌株 对照药物: 氟康唑 (FCZ, 辉瑞制药有限公司)、伊曲康唑 (ICZ, Sigma 公司)、两性霉素 B (AMB)。

受试菌株: 白假丝酵母菌 (*Candida albicans*, C. alb)、热带假丝酵母菌 (*Candida tropicalis*, C. tro)、近平滑假丝酵母菌 (*Candida parapsilosis*, C. par)、新生隐球菌 (*Cryptococcus neoformans*, C. neo) 均由第二军医大学药学院新药研究中心真菌菌种库提供。

3.2 6Ka 和 6Kb 的体外抗真菌活性测试 采用美国临床实验室标准化协会^[10,11]文件所推荐的微量液基稀释法检测待筛选化合物的体外抗真菌活性, 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 (MIC_{80})。当药物 MIC_{80} 值超过测定浓度范围时, 按以下方法进行统计: MIC_{80} 值高于最高浓度 64 $\mu\text{g/ml}$ 时计为“64 $\mu\text{g/ml}$ ”; MIC_{80} 值为最低浓度或以下时, 不作区别均计为“ $\leq 0.00024 \mu\text{g/ml}$ ”结果见表 3。

体外抗真菌活性表明, 化合物 6Kb 对 5 种致病菌的活性均高于化合物 6Ka。6Ka 和 6Kb 对白假丝酵母菌 Y0109 和 SC5314 及热带假丝酵母菌的抑制作用均高于对照药伊曲康唑、两性霉素 B 和氟康唑。其中 6Kb 对白假丝酵母菌 Y0109 和 SC5314 及热带假丝酵母菌的活性是伊曲康唑的 16 倍。6Kb 对近平滑假丝酵母菌的活性高于对照药或与对照药相当。6Ka 和 6Kb 对新生隐球菌的活性高于氟康唑和两性霉素 B。

表 3 6Ka 和 6Kb 的体外抗真菌活性 (MIC_{80} $\mu\text{g/ml}$)

化合物/药物	R	Conf.	C. alb Y0109	C. alb SC5314	C. tro	C. par	C. neo
6Ka	4-F	cis	0.25	0.5	0.5	8	4
6Kb	4-F	trans	≤ 0.125	≤ 0.125	0.125	0.5	4
ICZ	-	-	2	2	2	2	1
AMB	-	-	1	4	2	0.5	4
FCZ	-	-	0.5	1	0.5	1	8

4 结论

合成了 (E) 1-[4-(2,4-二氟苯基)-2-[2-(4-氟苯基)-乙烯基]-[1,3]二氧戊环-4-甲基]-1H-[1,2,4]三氮唑化合物的几何异构体 6Ka 和 6Kb, 测定其晶体结构, 并考察了其体外抗真菌活性。结果表明 6Ka 和 6Kb 对于 5 种测试真菌均具有很强的抑菌活性, 且该类化合物的反式构型的抗真菌活性优于其顺式构型。研究结果为深入开展该类抗真菌化合物的设计研究打下坚实的基础。

【参考文献】

- [1] Koltin Y, Hitchcock CA. The search for new triazole antifungal agents [J]. *Curr Opin Chem Biol*, 1997, 1(2): 176.
- [2] 陈平. 抗真菌药物的不良反应 [J]. *医师进修杂志*, 2005, 28(11): 12.
- [3] Plempel M. Experience, recognitions and questions in azole anti-mycotics [J]. *Jpn Med Mycol*, 1982, 23(1): 17.
- [4] Wilkinson CF, Krystyna H. Structure-activity relationships in the effects of 1-alkylimidazoles on microsomal oxidation in vitro and in vivo [J]. *Biochem Pharmacol*, 1974, 23(17): 2377.
- [5] Chai XY, Zhang J, Yu SC *et al.* Design, synthesis and biological evaluation of novel 1-(1H-1,2,4-triazole-1-yl)-2-(2,4-difluorophenyl)-3-substituted benzylamin-2-propanols [J]. *Bioorg Med Chem Lett* 2009, 19(6): 1811.
- [6] 吴义杰, 周旭, 张大志, 等. 三唑类化合物的合成及其抗真菌活性 II [J]. *中国药物化学杂志*, 1998, 8(4): 235.
- [7] Shi W, Nacev BA, Bhat S *et al.* Impact of Absolute Stereochemistry on the Antiangiogenic and Antifungal Activities of Itraconazole [J]. *ACS Med Chem Lett* 2010, 1: 155.
- [8] Saksena AK, Cooper AB, Guzik H *et al.* 2,4,4-tetra substituted-1,3-dioxolane compounds [P]. US, WO 88/05048, 1988-07-14.
- [9] Camps P, Farrés X, García Ma L *et al.* Stereoselective syntheses of (+)- and (-)-terconazole [J]. *Tetrahedron: Asymmetry*, 1995, 6(9): 2365.
- [10] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast, Approved standard. Document M27-A3 [S]. PA: Wayne: 2009.
- [11] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast, Approved Standard. Document M38-A2 [S]. PA: Wayne: 2008.

[收稿日期] 2012-02-20
[修回日期] 2012-03-21