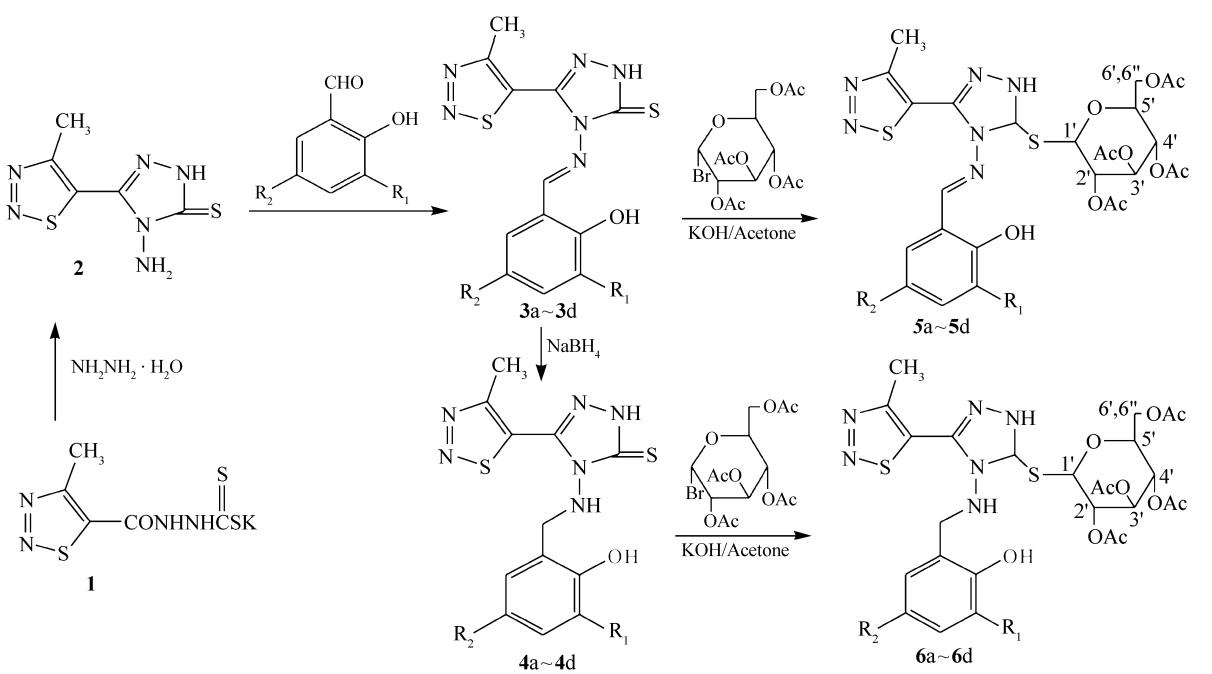
新型 1,2,4-三唑糖苷衍生物的合成及体外抗菌活性测试

张彤彤[a]　卢俊瑞[a*]　冯钟念[a]　刘金彪[a]　穆江蓓[a]
侯珏卓[b]　鲍秀荣[a]　辛春伟[a]　王美君[a]
([a]天津理工大学化学化工学院　天津 300384;[b]天津药物研究院药业有限责任公司　天津 300193)

摘　要　以取代 1,2,3-噻二唑为原料,合成了一系列未见文献报道的含有 1,2,3-噻二唑、1,2,4-三唑的双杂环类硫苷化合物(**6**a ~ **6**d)。目标化合物的结构经过^{1}H NMR、^{13}C NMR 和 IR 等技术手段表征确认,重点对比了含西弗碱化合物 **5** 与还原后化合物 **6** 的抗菌活性变化。体外抑菌测试结果显示,所有化合物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌均表现出较好的抑制活性,含有西弗碱化合物 **5** 的抗菌活性普遍优于还原后化合物 **6**,其中化合物 **5**d 表现出很强的抗菌活性,其最小抑菌浓度优于市售抗菌药氟康唑;所有目标化合物对白色念珠菌的最小抑菌浓度均小于或等于 32 mg/L。

关键词　噻二唑,三唑,糖苷,合成,抗菌活性
中图分类号:O626.2　　文献标识码:A　　文章编号:1000-0518(2014)09-1050-08
DOI:10.3724/SP.J.1095.2014.30583

三唑类化合物是具有良好生物活性的杂环类化合物,具有低毒性[1]、抗真菌、抗病毒、抗肿瘤[2-3]和抗惊厥[4]等生物活性。随着细菌耐药性的增强,利用三唑类化合物的结构改造和修饰创制抗菌新药成为研究热点。糖苷可用作生物抑制剂、诱导剂,也可用于与碳水化合物的加工酶以及蛋白结合形成配体以增加药物的靶向性[5-6]。1972 年,Witkowski 等[7]合成了病毒唑(1-β-*D*-呋喃 基-1*H*-1,2,4,-三氮唑-3-羧),对病毒具有广谱活性和抗癌活性[8-10]。自从病毒唑的生物活性被确认以来,包含 1,2,4-三唑的 N 苷[11]、C 苷[12]被大量研究,但包含 1,2,4-三唑的 S 苷[13]的报道却较为少见。



a.R_1=H, R_2=H; b.R_1=H, R_2=Br; c.R_1=H, R_2=Cl; d.R_1=Br, R_2=Br

Scheme 1　Synthesis of compounds **5**a ~ **5**d and **6**a ~ **6**d

2013-11-20 收稿,2013-02-24 修回,2014-03-20 接受
国家自然科学基金资助项目(21176194,20976135)
通讯联系人:卢俊瑞,教授; Tel/Fax:022-60216638; E-mail:767516617@qq.com; 研究方向:新型精细化学品合成

本文设计合成了一系列未见文献报道的含有 1,2,3-噻二唑、1,2,4-三唑的双杂环类化合物的硫苷,经^{1}H NMR、^{13}C NMR 和 IR 对其结构进行了表征,并研究了上述化合物对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌与白色念珠菌的体外抗菌活性。其合成路线见 Scheme 1。

1　实验部分

1.1　仪器和试剂

Avatar 370 型红外光谱仪(美国 Nicolet 公司),Avance 400 型核磁共振仪(德国 Bruker 公司),DMSO-d_6为溶剂,TMS 为内标;RY-1 型熔点测定仪,温度计未校准;LRH-250A 型生化培养箱(广东省医疗器械厂)。化合物 **3**a ~ **3**d 按文献[14]方法制备,2,3,4,6-*O*-四乙酰基-*β*-*D*-溴代葡萄糖按文献[15]方法制备,所用试剂均为市售分析纯。

1.2　实验方法

1.2.1　4-*N*-(邻羟苄基)氨基-5-(4-甲基-1,2,3-噻二唑)-1,2,4-三唑-3-硫酮(**4**a ~ **4**d)的合成　将 1 mmol化合物 **3** 和 20 mL 乙醇加入到 50 mL 三口瓶中,室温下搅拌溶解至浅黄色浑浊液,将 1.2 mmol $NaBH_4$加入到上述溶液中,继续搅拌至溶液澄清,TLC 跟踪反应,展开剂为乙酸乙酯/石油醚(体积比 1:2),待原料点消失,停止反应。蒸去溶剂,水洗固体,乙醇重结晶得白色粉末 **4**a ~ **4**d。

化合物 **4**a:收率 95%,mp 270 ~ 272 ℃;^{1}H NMR(DMSO-d_6,400 MHz),δ:14.43(s,1H,NH),9.63(s,1H,OH),7.08(t,1H,$J_1 = J_2 = 4.0$ Hz,NH),6.98(t,1H,$J_1 = J_2 = 8.0$ Hz,Ar—H),6.94(d,1H,J = 8.0 Hz,Ar—H),6.67(d,1H,J = 8.0 Hz,Ar—H),6.62(t,1H,$J_1 = J_2 = 7.2$ Hz,Ar—H),4.36 ~ 4.35(d,2H,J = 3.6 Hz,CH_2),2.81(s,3H,CH_3)。

化合物 **4**b:收率 96%,mp 276 ~ 278 ℃;^{1}H NMR(DMSO-d_6,400 MHz),δ:14.26(s,1H,NH),9.73(s,1H,OH),7.10(d,1H,J = 2.0 Hz,NH),7.07 ~ 7.04(dd,1H,J_1 = 8.4 Hz,J_2 = 2.4 Hz,Ar—H),6.94 ~ 6.93(d,1H,J = 4.0 Hz,Ar—H),6.59(d,1H,J = 8.0 Hz,Ar—H),4.30(s,2H,CH_2),2.81(s,3H,CH_3)。

化合物 **4**c:收率 96%,mp 280 ~ 282 ℃;^{1}H NMR(DMSO-d_6,400 MHz),δ:14.46(s,1H,NH),9.98(s,1H,OH),7.20(t,1H,$J_1 = J_2 = 4.0$ Hz,NH),7.05 ~ 7.02(dd,1H,J_1 = 8.4 Hz,J_2 = 2.4 Hz,Ar—H),7.00 ~ 6.99(d,1H,J = 4.0 Hz,Ar—H),6.70(d,1H,J = 8.6 Hz,Ar—H),4.34 ~ 4.33(d,2H,J = 4.0 Hz,CH_2),2.80(s,3H,CH_3)。

化合物 **4**d:收率 94%,mp 283 ~ 285 ℃;^{1}H NMR(DMSO-d_6,400 MHz),δ:14.46(s,1H,NH),9.64(s,1H,OH),7.57 ~ 7.56(d,1H,J = 4.0 Hz,NH),7.27 ~ 7.24(t,1H,$J_1 = J_2 = 4.0$ Hz,Ar—H),7.16(d,1H,J = 2.4 Hz,Ar—H),4.44(s,2H,CH_2),2.821(s,3H,CH_3)。

1.2.2　3-S-(2′,3′,4′,6′-*O*-四乙酰基-*β*-*D*-吡喃葡萄糖硫基)-4-*N*-(邻羟苄基)亚胺基-5-(4-甲基-1,2,3-噻二唑)-1,2,4-三唑(**5**a)的合成　参照文献[14]方法,将0.6 mol/L KOH 溶液 2 mL 和 10 mL 丙酮置于 50 mL 三口瓶中,室温下充分搅拌,向此溶液中加入 1 mmol 的化合物 **3**,溶解澄清后加入 2,3,4,6-*O*-四乙酰基-*α*-*D*-溴代葡萄糖 0.49 g(1.2 mmol),室温搅拌 16 h,TLC 检测反应[石油醚/乙酸乙酯(体积比 3:2)]至原料消失。反应液中加入 30 mL 蒸馏水搅拌数分钟,用 30 mL 二氯甲烷萃取 2 次,合并有机层液体并用无水 $MgSO_4$干燥,抽滤,浓缩得粗产物经硅胶柱层析,洗脱剂为石油醚/乙酸乙酯(体积比 3:2),分离纯化得到化合物 **5**a ~ **5**d。

3-*S*-(2′,3′,4′,6′-*O*-四乙酰基-*β*-*D*-吡喃葡萄糖硫基)-4-*N*-(邻羟苄基)亚胺基-5-(4-甲基-1,2,3-噻二唑)-1,2,4-三唑(**5**a):淡黄色粉末状固体,收率 50%,mp 168 ~ 170 ℃;^{1}H NMR(DMSO-d_6,400 MHz),δ:9.85(s,1H,OH),8.88(s,1H,N═CH),7.64 ~ 7.06(m,1H,Ar—H),7.48(d,1H,J = 7.6 Hz,Ar—H),7.17(d,1H,J = 8.4 Hz,Ar—H),7.11(t,1H,$J_1 = J_2 = 7.6$ Hz,Ar—H),5.40(d,1H,$J_{H1'\text{-}H2'}$ = 10.0 Hz,H1′),5.29(t,1H,$J_{H2'\text{-}H1'}$ = 9.6 Hz,$J_{H2'\text{-}H3'}$ = 9.2 Hz,H2′),5.18(t,1H,$J_{H3'\text{-}H4'}$ = 10.0 Hz,$J_{H3'\text{-}H2'}$ = 9.6 Hz,H3′),5.11(t,1H,$J_{H4'\text{-}H3''}$ = 10.0 Hz,$J_{H4'\text{-}H5'}$ = 9.6 Hz,H4′),4.27(dd,$J_{H6'\text{-}H6'}$ = 12.4 Hz,$J_{H6'\text{-}H5'}$ = 4.8 Hz,H6′),4.07,(dd,$J_{H6'\text{-}H6''}$ = 12.4 Hz,$J_{H6'\text{-}H5'}$ = 2.0 Hz,H6′),3.76(ddd,1H,$J_{H\text{-}5'\text{-}H\text{-}4'}$ = 9.4 Hz,$J_{H\text{-}5'\text{-}H\text{-}6''}$ =

4.8 Hz, $J_{H\text{-}5'\text{-}H\text{-}6'}$ = 2.0 Hz, H-5′), 3.20(s, 3H, CH_3), 2.11 ~ 1.95(4s, 12H, $4CH_3CO$); ^{13}C NMR(DMSO-d_6, 100 MHz), δ: 172.4, 170.3, 169.9, 169.5, 169.3, 160.3, 160.0, 146.2, 143.9, 136.8, 133.8, 132.1, 120.7, 118.2, 115.6, 85.4, 73.0, 70.0, 67.6, 61.4, 59.3, 20.7, 20.7, 20.6, 20.5, 15.1; IR(KBr), σ/cm^{-1}: 3448, 2026, 1635, 1558, 1507, 1456, 1418, 698。

3-*S*-(2′,3′,4′,6′-*O*-四乙酰基-*β*-*D*-吡喃葡萄糖硫基)-4-*N*-(5-溴邻羟苯基)亚胺基-5-(4-甲基-1,2,3-噻二唑)-1,2,4-三唑(**5**b):淡黄色粉末状固体,收率 45%, mp 170 ~ 172 ℃; ^{1}H NMR(DMSO-d_6, 400 MHz), δ: 9.86(s, 1H, OH), 8.86(s, 1H, N═CH), 7.70(dd, 1H, J_1 = 8.8 Hz, J_2 = 2.4 Hz, Ar—H), 7.61(d, 1H, J = 2.4 Hz, Ar—H), 7.09(d, 1H, J = 8.8 Hz, Ar—H), 5.38(d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 10.0 Hz, H1′), 5.30(t, 1H, $J_{H2'\text{-}H1'} = J_{H2'\text{-}H3'}$ = 9.2 Hz, H2′), 5.20(t, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'} = J_{H3'\text{-}H4'}$ = 9.6 Hz, H3′), 5.11(t, 1H, $J_{H4'\text{-}H5''}$ = 10.0 Hz, $J_{H4'\text{-}H3'}$ = 9.6 Hz, H4′), 4.25(dd, 1H, $J_{H6''\text{-}H5'}$ = 4.8 Hz, $J_{H6''\text{-}H6'}$ = 12.8 Hz, H6″), 4.10(dd, 1H, $J_{H6'\text{-}H5'}$ = 1.6 Hz, $J_{H6''\text{-}H6'}$ = 12.8 Hz, H6′), 3.74(ddd, 1H, $J_{H\text{-}5'\text{-}H\text{-}6'}$ = 1.6 Hz, $J_{H\text{-}5'\text{-}H\text{-}6''}$ = 4.8 Hz, $J_{H\text{-}5'\text{-}H\text{-}4'}$ = 10.0 Hz, H5′), 3.21(s, 3H, CH_3), 2.14 ~ 1.97(4s, 12H, CH_3CO); ^{13}C NMR(DMSO-d_6, 100 MHz), δ: 170.4, 170.0, 169.8, 169.6, 169.4, 160.1, 159.0, 146.4, 143.5, 139.0, 134.6, 132.0, 119.9, 117.5, 112.4, 85.5, 73.4, 70.0, 67.6, 61.4, 58.4, 20.6, 20.6, 20.5, 20.5, 15.1; IR(KBr), σ/cm^{-1}: 3455, 2026, 1637, 1426, 1403, 1387, 1074, 688。

3-*S*-(2′,3′,4′,6′-*O*-四乙酰基-*β*-*D*-吡喃葡萄糖硫基)-4-*N*-(5-氯邻羟苯基)亚胺基-5-(4-甲基-1,2,3-噻二唑)-1,2,4-三唑(**5**c):淡黄色粉末状固体,收率 44%, mp 188 ~ 190 ℃; ^{1}H NMR(DMSO-d_6, 400 MHz), δ: 9.84(s, 1H, OH), 8.90(s, 1H, N═CH), 7.55(dd, 1H, J_1 = 8.8 Hz, J_2 = 2.4 Hz, Ar—H), 7.50(d, 1H, J = 2.4 Hz, Ar—H), 7.13(d, 1H, J = 8.8 Hz, Ar—H), 5.37(d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 10.0 Hz, H1′), 5.29(t, 1H, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 9.6 Hz, $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 9.2 Hz, H2′), 5.19(t, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'} = J_{H3'\text{-}H4'}$ = 9.6 Hz, H3′), 5.11(t, 1H, $J_{H4'\text{-}H5'}$ = 10Hz, $J_{H4'\text{-}H3'}$ = 9.6 Hz, H4′), 4.26(dd, 1H, $J_{H6''\text{-}H5'}$ = 4.4Hz, $J_{H6''\text{-}H6'}$ = 8.4 Hz, H6″), 4.11(d, 1H, $J_{H6'\text{-}H6''}$ = 12.4 Hz, H6′), 3.75(dd, 1H, $J_{H5'\text{-}H4'}$ = 10.0 Hz, $J_{H5'\text{-}H6''}$ = 4.4 Hz, H5′), 3.22(s, 3H, CH_3), 2.13 ~ 1.96(4s, 12H, CH_3CO); ^{13}C NMR(DMSO-d_6, 100 MHz), δ: 171.0, 170.3, 169.9, 169.5, 169.3, 160.1, 158.7, 146.3, 143.7, 136.4, 132.3, 131.9, 125.6, 119.8, 116.5, 85.7, 73.4, 70.0, 67.5, 61.3, 20.7, 20.7, 20.6, 20.5, 15.1; IR(KBr), σ/cm^{-1}: 3448, 2026, 1637, 1560, 1508, 1388, 1080, 667。

3-*S*-(2′,3′,4′,6′-*O*-四乙酰基-*β*-*D*-吡喃葡萄糖硫基)-4-*N*-(3,5-二溴邻羟苯基)亚胺基-5-(4-甲基-1,2,3-噻二唑)-1,2,4-三唑(**5**d):淡黄色粉末状固体,收率 40%, mp 176 ~ 178 ℃; ^{1}H NMR(DMSO-d_6, 400 MHz), δ: 9.68(s, 1H, OH), 8.90(s, 1H, N═CH), 7.66(s, 1H, Ar—H), 7.06(d, 1H, J = 8.8 Hz, Ar—H), 5.38(d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 10.0 Hz, H1′), 5.29(t, 1H, $J_{H2'\text{-}H1'} = J_{H2'\text{-}H3'}$ = 9.2 Hz, H2′), 5.19(t, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'} = J_{H3'\text{-}H4'}$ = 9.6 Hz, H3′), 5.11(t, 1H, $J_{H4'\text{-}H3'} = J_{H4'\text{-}H5'}$ = 9.6 Hz, H4′), 4.25(dd, 1H, $J_{H6''\text{-}H5'}$ = 4.8 Hz, $J_{H6''\text{-}H6'}$ = 12.8 Hz, H6″), 4.08(d, 1H, $J_{H6'\text{-}H6''}$ = 12.4 Hz, H6′), 3.79(ddd, 1H, $J_{H5'\text{-}H4'}$ = 9.6 Hz, $J_{H5'\text{-}H6''}$ = 4.8 Hz, $J_{H5'\text{-}H6'}$ = 3.6 Hz, H5′), 3.20(s, 3H, CH_3), 2.13 ~ 1.96(4s, 12H, CH_3CO); ^{13}C NMR(DMSO-d_6, 100 MHz), δ: 172.2, 170.2, 169.9, 169.4, 168.6, 160.8, 160.4, 146.0, 143.6, 136.4, 132.3, 131.9, 125.6, 119.8, 116.5, 85.7, 73.4, 70.0, 67.5, 61.3, 20.7, 20.7, 20.6 20.5, 15.1; IR(KBr), σ/cm^{-1}: 3466, 2026, 1636, 1456, 1372, 1036, 692。

1.2.3 3-*S*-(2′,3′,4′,6′-*O*-四乙酰基-*β*-*D*-吡喃葡萄糖硫基)-4-*N*-(邻羟苄基)氨基-5-(4-甲基-1,2,3-噻二唑)-1,2,4-三唑(**6**a)的合成 参照上述方法合成化合物 **6**a ~ **6**d。

3-*S*-(2′,3′,4′,6′-*O*-四乙酰基-*β*-*D*-吡喃葡萄糖硫基)-4-*N*-(邻羟苄基)氨基-5-(4-甲基-1,2,3-噻二唑)-1,2,4-三唑(**6**a):白色粉末状固体,收率 74%, mp 185 ~ 187 ℃; ^{1}H NMR(DMSO-d_6, 400 MHz), δ: 9.97(s, 1H, OH), 7.20(t, 1H, $J_1 = J_2$ = 4.8 Hz, NH), 7.18(dd, 1H, J_1 = 8.0 Hz, J_2 = 1.6 Hz, Ar—H), 7.07(dd, 1H, J = 7.2 Hz, J_2 = 1.6 Hz, Ar—H), 6.84(s, 1H, Ar—H), 6.82(s, 1H, Ar—H), 5.53(d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 10 Hz, H1′), 5.38(t, 1H, $J_{H2'\text{-}H1'} = J_{H2'\text{-}H3'}$ = 9.6 Hz, H2′), 5.08(t, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'} = J_{H3'\text{-}H4'}$ = 9.6 Hz, H3′), 5.00(t, 1H, $J_{H4'\text{-}H6''} = J_{H4'\text{-}H3'}$ = 9.6 Hz, H4′), 4.20 ~ 4.15(m, 2H, H-6″, H-6′), 4.08(d, 2H, J = 9.6 Hz, CH_2), 3.98(dd, 1H, $J_{H\text{-}5'\text{-}H\text{-}4'}$ = 12.8 Hz, $J_{H\text{-}5'\text{-}H\text{-}6''}$ = 4.8 Hz, H-5′), 2.95(s, 3H, CH_3), 2.08 ~ 1.82(4s, 12H,

CH_3CO);^{13}C NMR (DMSO-d_6, 100 MHz), δ: 170.2, 169.9, 169.6, 169.5, 158.8, 155.9, 149.9, 148.0, 133.8, 132.5, 132.3, 124.4, 117.5, 109.9, 83.8, 75.3, 73.3, 70.4, 67.9, 62.1, 49.3, 20.8, 20.8, 20.7, 20.6, 15.0; IR (KBr), σ/cm^{-1}: 3416, 2026, 1637, 1618, 1560, 1508, 1437, 1050, 620。

3-*S*-(2′,3′,4′,6′-*O*-四乙酰基-*β*-*D*-吡喃葡萄糖硫基)-4-*N*-(5-溴邻羟苯基)氨基-5-(4-甲基-1,2,3-噻二唑)-1,2,4-三唑(**6**b):白色粉末状固体,收率 76%,mp 206 ~ 208 ℃;^{1}H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz), δ: 9.97 (s, 1H, OH), 7.20 (t, 1H, $J_1 = J_2 = 4.8$ Hz, NH), 7.08 (dd, 1H, $J_1 = 8.8$ Hz, $J_2 = 2.4$ Hz, Ar—H), 7.01 (d, 1H, $J = 2.8$ Hz, Ar—H), 6.69 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz, Ar—H), 5.53 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'} = 10.0$ Hz, H1′), 5.38 (t, 1H, $J_{H2'\text{-}H1'} = J_{H2'\text{-}H3'} = 9.6$ Hz, H2′), 5.08 (t, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'} = J_{H3'\text{-}H4'} = 9.6$ Hz, H3′), 5.00 (t, 1H, $J_{H4'\text{-}H6''} = J_{H4'\text{-}H3'} = 9.6$ Hz, H4′), 4.20 ~ 4.15 (m, 2H, H-6″, H-6′), 4.08 (d, 2H, $J = 9.6$ Hz, CH_2), 3.98 (dd, 1H, $J_{H\text{-}5'\text{-}H\text{-}4'} = 12.8$ Hz, $J_{H\text{-}5'\text{-}H\text{-}6''} = 4.8$ Hz, H-5′), 2.95 (s, 3H, CH_3), 2.08 ~ 1.82 (4s, 12H, CH_3CO); ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 100 MHz), δ: 170.2, 170.0, 169.667, 169.5, 158.8, 155.9, 149.9, 148.0, 133.8, 132.5, 132.3, 124.4, 117.5, 110.0, 83.8, 75.2, 73.3, 70.4, 68.0, 62.1, 49.3, 20.8, 20.8, 20.7, 20.6, 15.0; IR (KBr), σ/cm^{-1}: 3415, 2026, 1638, 1618, 1560, 1458, 1438, 1119, 617。

3-*S*-(2′,3′,4′,6′-*O*-四乙酰基-*β*-*D*-吡喃葡萄糖硫基)-4-*N*-(5-氯邻羟苯基)氨基-5-(4-甲基-1,2,3-噻二唑)-1,2,4-三唑(**6**c):白色粉末状固体,收率 70%,mp 202 ~ 204 ℃;^{1}H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz), δ: 9.97 (s, 1H, OH), 7.20 (t, 1H, $J_1 = J_2 = 4.8$ Hz, NH), 7.08 (dd, 1H, $J_1 = 8.8$ Hz, $J_2 = 2.4$ Hz, Ar—H), 7.01 (d, 1H, $J = 2.8$ Hz, Ar—H), 6.69 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz, Ar—H), 5.53 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'} = 10.0$ Hz, H1′), 5.38 (t, 1H, $J_{H2'\text{-}H1'} = J_{H2'\text{-}H3'} = 9.6$ Hz, H2′), 5.08 (t, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'} = J_{H3'\text{-}H4'} = 9.6$ Hz, H3′), 5.00 (t, 1H, $J_{H4'\text{-}H6''} = J_{H4'\text{-}H3'} = 9.6$ Hz, H4′), 4.20 ~ 4.15 (m, 2H, H-6″, H-6′), 4.08 (d, 2H, $J = 9.6$ Hz, CH_2), 3.98 (dd, 1H, $J_{H\text{-}5'\text{-}H\text{-}4'} = 12.8$ Hz, $J_{H\text{-}5'\text{-}H\text{-}6''} = 4.8$ Hz, H-5′), 2.95 (s, 3H, CH_3), 2.08 ~ 1.82 (4s, 12H, CH_3CO); ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 100 MHz), δ: 170.2, 170.0, 169.7, 169.5, 158.8, 155.4, 149.9, 148.1, 132.5, 130.9, 129.4, 123.8, 122.4, 116.9, 83.8, 75.2, 73.3, 70.4, 68.0, 62.1, 49.4, 20.9, 20.8, 20.7, 20.6, 15.0; IR (KBr), σ/cm^{-1}: 3415, 2026, 1638, 1619, 1560, 1508, 1437, 1067, 620。

3-*S*-(2′,3′,4′,6′-*O*-四乙酰基-*β*-*D*-吡喃葡萄糖硫基)-4-*N*-(3,5-二溴邻羟苯基)氨基-5-(4-甲基-1,2,3-噻二唑)-1,2,4-三唑(**6**d):白色粉末状固体,收率 64%,mp 212 ~ 214 ℃;^{1}H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz), δ: 9.97 (s, 1H, OH), 7.20 (t, 1H, $J_1 = J_2 = 4.8$ Hz, NH), 7.08 (dd, 1H, $J_1 = 8.8$ Hz, $J_2 = 2.4$ Hz, Ar—H), 7.01 (d, 1H, $J = 2.8$ Hz, Ar—H), 5.53 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'} = 10.0$ Hz, H1′), 5.38 (t, 1H, $J_{H2'\text{-}H1'} = J_{H2'\text{-}H3'} = 9.6$ Hz, H2′), 5.08 (t, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'} = J_{H3'\text{-}H4'} = 9.6$ Hz, H3′), 5.00 (t, 1H, $J_{H4'\text{-}H6''} = J_{H4'\text{-}H3'} = 9.6$ Hz, H4′), 4.20 ~ 4.15 (m, 2H, H-6″, H-6′), 4.08 (d, 2H, $J = 9.6$ Hz, CH_2), 3.98 (dd, 1H, $J_{H\text{-}5'\text{-}H\text{-}4'} = 12.8$ Hz, $J_{H\text{-}5'\text{-}H\text{-}6''} = 4.8$ Hz, H-5′), 2.95 (s, 3H, CH_3), 2.08 ~ 1.82 (4s, 12H, CH_3CO); ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 100 MHz), δ: 170.2, 170.0, 169.7, 169.5, 158.8, 155.9, 149.9, 148.0, 133.8, 132.5, 132.3, 124.4, 117.5, 110.0, 83.8, 75.2, 73.3, 70.4, 68.0, 62.1, 49.3, 20.8, 20.8, 20.7, 20.6, 15.0; IR (KBr), σ/cm^{-1}: 3416, 2026, 1638, 1618, 1560, 1468, 1448, 1166, 615。

1.3　目标化合物生物活性测试

参照美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)最小抑菌浓度(MIC)的测定方法,以氟康唑和三氯生为参照药物,对所有目标化合物进行了体外抑菌活性测试,受试菌株分别为大肠杆菌(*Escheri-chia coli*)(8099)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)(ATCC 6538)和白色念珠菌(*Monilia albican*)(ATCC 10231),由天津医科大学微生物实验室提供。测试步骤如下:

1)抗菌药物贮存液制备:配制 10 mL 浓度为 256 mg/L 的抗菌药物贮存液,用分析天平精确称取药物粉剂 3.4 mg。根据公式(3.4 mg × 750 mg/g)/256 mg/L = 10.0 mL 可计算出所需稀释剂 10 mL。然后将 3.4 mg 药物粉剂溶解于 10.0 mL 稀释剂(2 mL DMF 和 8 mL 蒸馏水)中。配制好的抗菌药物贮存液应贮存于 0 ℃以下环境中备用。

2)培养基:配制好相应的培养基(培养细菌用营养肉汤培养基,培养真菌用沙氏葡萄糖液体培养基),灭菌备用。

3)稀释抗菌药物的制备:取无菌试管(13 × 100 mm)8 支,排成一排,除第 1 管外,其余每管加入 1.0 mL培养基,在第 1 管加入抗菌药物原液 2 mL,使用电磁振荡器混合均匀,然后吸取 1 mL 至第 2 管,同样混匀后再从第 2 管中吸取 1 mL 至第 3 管,依此类推,连续倍比稀释至第 7 管,并从第 7 管中吸取 1 mL弃去,第 8 管为不含药物的空白对照。第 1 管至第 6 管药物浓度分别为 256、128、64、32、16、8 和 4 mg/L。

4)接种物制备:将用直接菌悬液法制备的浓度相当于0.5 麦氏比浊标准的菌悬液,经液体培养基按 1∶1000 体积比稀释后(约含 $1 \sim 2 \times 10^8$ CFU/mL),向每管加 1 mL,密封后置 37 ℃恒温培养箱中,细菌培养 16 ~ 20 h,真菌培养 72 h 判断结果。此时,第 1 管至第 7 管药物浓度分别为 128、64、32、16、8、4 和 2 mg/L。

5)结果判断与解释:待细菌培养 16 ~ 20 h,真菌培养 72 h 后,检查结果并记录数据。读取菌株的 MIC 前,必须检查生长对照管的菌株是否情况良好,并保证测试菌株没有被污染。然后肉眼观察,药物最低浓度管无菌株生长者,即为测试菌株的最小抑菌浓度(MIC)。

2 结果与讨论

2.1 目标化合物的合成分析

研究表明,多种因素对糖苷化反应存在影响。溶剂及催化剂种类对糖苷化反应的影响较大。实验结果显示,以四丁基溴化铵为相转移催化剂,NaOH/CH_2Cl_2体系中,反应副产物较多,且乳化现象严重,导致产物分离困难,收率较低;以三乙胺(Et_3N)为催化剂,DMF 体系中,因 Et_3N 的碱性相对较弱,夺电子能力较差,不利于反应进行,使得产物收率偏低;而以强碱(KOH)作为催化剂,丙酮为溶剂时可较高选择性的发生在—SH 上,原因是强碱有利于中间体由硫酮式转变为硫醇式,硫负离子的形成增强了其亲核性,在该反应条件下,糖苷化副产物较少,立体选择性以及产率都大大提高。水及乙醇为溶剂时,产率极低,由于水和乙醇为质子型溶剂,使得碳正离子的亲核活性大大降低。而丙酮为偶极溶剂,可有力促进亲核取代反应的进行,因此在 KOH/丙酮体系中,产率最高。

温度对糖苷化反应有重要影响,提高反应温度有利于加快反应的进行,但温度超过 40 ℃,2,3,4,6-*O*-四乙酰基-*α*-*D*-溴代吡喃葡萄糖水解明显加快、产品产率降低,较佳的反应温度为 30 ~ 40 ℃。碱的用量也是影响反应的重要因素,随着氢氧化钾用量的增加,反应收率呈现出先增加后降低的趋势,用量过大会使 2,3,4,6-*O*-四乙酰基-*β*-*D*-溴代吡喃葡萄糖发生部分水解、产品总产率降低,较佳的氢氧化钾和化合物 **3** 的物质的量比为 1.2∶1。此外,邻羟苯基苯环上卤素取代位置及取代数量对反应速率影响不大。

2.2 中间体及目标化合物谱图分析

IR 图谱中(图 1 为化合物 **6**a 图谱,其它略),目标化合物 **5**a ~ **5**d 和 **6**a ~ **6**d 分别在 3450 和 3400 cm^{-1}处出现了较强的 OH 吸收峰;1,2,3-噻二唑的 N═N 吸收峰出现在 2026 cm^{-1};在 1600 cm^{-1}、1500 ~ 1400 cm^{-1}左右出现了 C═N 及 C═C 吸收峰;在 1640 cm^{-1}附近出现了较强的多羰基吸收峰;在 1300 ~ 1400 cm^{-1}及 1400 ~ 1500 cm^{-1}处有 2 个宽而强的糖双环肩峰,说明了糖基的存在。在 620 cm^{-1}左右出现 C—S 的伸缩振动峰,说明产物均为 *S*-糖苷。

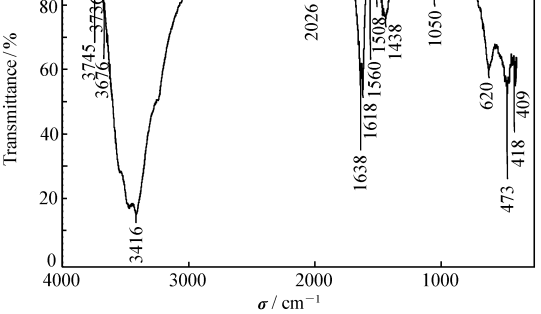


图 1 化合物 **6**a 的红外谱图(KBr)

Fig. 1 IR spectrum(KBr) of compound **6**a

^{1}H NMR 图谱中(图 2 和图 3 分别为化合物 **5**a 和化合物 **6**a 图谱,其它略),化合物 **5**a ~ **5**d 和 **6**a ~ **6**d 在 δ 2.00 附近处出现糖环乙酰基中氢的吸收峰,在 δ 4.00 ~ 5.50 出现的多重峰,为糖环上氢的特征共振峰。目标化合物的 C_1—H 为双重峰,其偶合常数在 9.2 ~ 9.6 Hz,印证了文献[16]关于此类化合物

以 β-差向异构体(α-异构体的 $J_{1\text{-}2}$ = 2.5 ~ 3.5 Hz)形式存在。化合物 **5**a ~ **5**d 和 **5**a ~ **5**d 的亚胺结构 CH═N 质子单峰化学位移向低场移动,出现在 δ 10.61 ~ 10.67 和 8.86 ~ 8.90 之间,主要是由于 N 原子与苯环上 OH 中的氢原子形成氢键,以及苯环上的卤原子吸电子诱导效应使氢核外层电子云密度降低,及 C═N 双键与苯环形成共轭体系。而化合物 **6**a ~ **6**d、**4**a ~ **4**d 在该范围内质子吸收峰消失,在 δ 4.30 和 4.08 出现 CH_2 的信号峰,同时在 δ 7.20 左右出现 NH 的吸收峰,说明席弗碱的亚胺结构被还原为饱和键,导致其向高场移动。

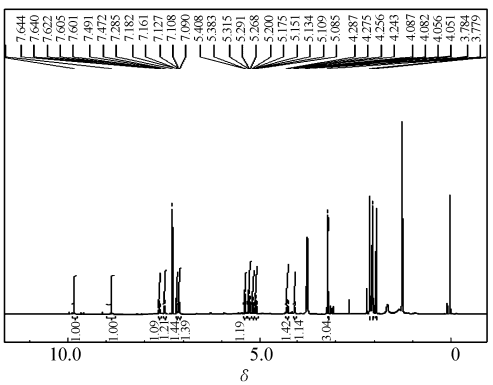


图 2　化合物 **5**a 的氢谱图(DMSO-d_6)

Fig. 2　^{1}H NMR spectrum of compound **5**a(DMSO-d_6)

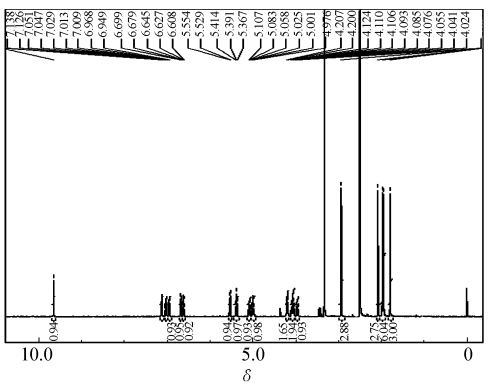


图 3　化合物 **6**a 的氢谱图(DMSO-d_6)

Fig. 3　^{1}H NMR spectrum of compound **6**a(DMSO-d_6)

在 ^{13}C NMR 中,1,2,3-噻二唑 5 位上的甲基碳出现在 δ 15.0 左右;而全乙酰化葡萄糖上乙酰基保护基中的的甲基峰在 δ 20.0 左右的 4 个单峰,C═O 峰为 δ 170.0 左右的 4 个单峰;与氨基相连的亚甲基(—NH—CH_2—)中的碳出现在 δ 50.0 左右的较高场,此处是与化合物 **5**a ~ **5**d 的重要区别;糖环上的碳峰出现在 δ 60.0 ~ 90.0,其余较低场的峰为苯环以及三唑环上的碳吸收峰。

2.3　目标化合物的 MIC

测定结果见表 1。

表 1　目标化合物的最小抑菌浓度(MIC)数据

Table 1　The minimum inhibitory concentration(MIC) of target compounds

Comp.	*E. c.* (G^-)/(mg·L^{-1})	*M. a.*/(mg·L^{-1})	*S. a.* (G^+)/(mg·L^{-1})
5a	64	32	16
5b	32	16	8
5c	32	16	8
5d	16	8	4
6a	64	32	32
6b	32	32	32
6c	32	32	32
6d	32	16	16
Triclosan *	2	32	4
Fluconazole *	128	2	16

* as the comparison compounds.

体外抑菌活性测试结果表明,目标化合物对大肠杆菌的抑制活性均优于氟康唑(MIC = 128 mg/L);所有化合物对白色念珠菌的最小抑菌浓度菌小于或等于三氯生(MIC = 32 mg/L),表现出较好的抗真菌活性;化合物 **5**a ~ **5**d 和 **6**d 对金黄葡萄球菌的最小抑菌浓度小于或等于氟康唑的抑菌浓度(MIC = 16 mg/L)。

仔细分析目标化合物的结构与抗菌活性,可以得到如下构效关系:1)苯环上引入卤原子可以增加化合物的抑菌活性;2)邻对位共同引入吸电子基团比对位单独引入吸电子基团的抗菌活性明显增强,分析原因是卤原子上的孤对电子能参与共轭,有利于电子云分布离域化,使化合物与靶标亲和性增强,从而抑菌活性增强;3)化合物 **5**a ~ **5**d 为西弗碱结构,对 3 种菌的最小抑菌浓度小于或等于化合物 **6**a ~

6d 最小抑菌浓度,说明席夫碱结构对抗菌活性起着重要作用;4)糖基的引入增强了化合物的抑菌活性,可能是乙酰化糖基的引入增加了化合物的亲脂性,有利于体内吸收,提高生物利用度,从而达到强化抑菌活性的目的。

3 结 论

以化合物 **3** 和糖苷为原料,经过一系列条件优化,得到了一条反应条件温和、后处理简单、产物收率较高的合成路线,得到 8 种三唑衍生物,并经 IR、^{1}HNMR 和^{13}CNMR 进行结构表征。目标化合物的合成中,反应温度和催化剂的种类以及用量对该亲核取代反应的影响较大。实验结果显示,在 Acetone/KOH 体系中,控制氢氧化钾与全乙酰化溴代葡萄糖等摩尔量,与化合物 **3** 的物质的量比为 1.1∶1 ~ 1.2∶1,反应温度为 30 ~ 40 ℃时收率最高。

测试了目标化合物对 *E. c.* 、*M. a.* 和 *S. a.* 的抗菌活性,结果表明,二卤代产物的抑菌活性强于相应的一卤代及无取代产物,席弗碱结构抗菌活性强于其还原产物抗菌活性。同时,乙酰化糖基的引入增强了化合物的脂溶性,提高了化合物的生物利用度,从而达到增强化合物抑菌活性的目的。

参 考 文 献

[1] Pauw D E. New Antifungal Agents and Preparations[J]. *Int J Antimicrob Agents*,2000,**16**:147-150.

[2] Brueggemeir R W,Hackett J C,Diaz-cruz E S. Aro-matase Inhibitors in the Treatment of Breast Cancer[J]. *Endocrine Rev*,2005,**26**(3):331-345.

[3] Cuzick J. Anastrozole[J]. *Drugs Today*,2005,**41**(4):227-239.

[4] Simon P A,William M B. Treatment of Epilesy:Existing Therapies and Future Developments[J]. *Frontiers Biosci*,2000,**5**:124-152.

[5] GAO Y L,ZHAO G L,LIU W,*et al*. Thiadiazole-based Thioglycosides as Sodium-glucose Co-transporter 2(SGLT2) Inhibitors[J]. *Chinese J Chem*,2010,**28**(4):605-612.

[6] Vladimir L,Jan E D,Jiri S,*et al*. Production and Simple Purification of a Protein Encoded by Part of the Gag Gene of HIV-1 in the Escherichia coli HB101F + Expression System Inducible by Lactose and Isopropyl-*β*-*D*-thiogalactopyranoside[J]. *J Chromatogr B*,1994,**656**(1):127-133.

[7] Witkowski J T,Robins R K,Sidwell R W,*et al*. Design, Synthesis, and Broad Spectrum Antiviral Activity of 1-*β*-*D*-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide and Related Nucleosides[J]. *J Med Chem*,1972,**15**(11):1150-1154.

[8] Smith R A,Kirkpatrick W A Ribavirin. A Broad Spectrum Antiviral Agent[M]. New York,NY,USA:AP,1980.

[9] Smith R A,Knight V,EDS. Clinical Applications of Ribavirin[M]. New York,NY,USA:AP,1984.

[10] Kini G D,Robins R K,Avery T L. Synthesis and Antitumor Activity of Ribavirin Imidates. A New Facile Synthesis of Ribavirin Amidine(1-Beta-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamidine hydrochloride)[J]. *J Med Chem*,1989,**32**(7):1447-1449.

[11] Kuryanov V O,Tokarev M K,Chupakhina T A,*et al*. The Synthesis of *N*-Acetylglucosamine Heteroaromatic *N*-*β*-Glycosides under Phase Transfer Conditions[J]. *Bioorganicheskaya Khimiya*,2011,**37**(5):672-678.

[12] Hassan N A. Syntheses of Acyclic C-glycosidic Derivatives of 1,2,4-Triazoles by Cycloadditions of 1-Aza-2-azoniaallene Salts to D-glucononitrile-2,3,4,5,6-pentaacetate[J]. *J Heterocycl Chem*,2007,**44**(4):933-936.

[13] El-Sayed W A,R E Abdel Megeid,Abbas H S. Synthesis and Antimicrobial Activity of New 1-[(Tetrazol-5-yl)methyl] Indole Derivatives, Their 1,2,4-Triazole Thioglycosides and Acyclic Analogs[J]. *Arch Pharm Res*,2011,**34**:1085-1096.

[14] FENG Zhongnian,LU Junrui,XIN Chunwei,*et al*. Synthesis and Study on Antibacterial Activities of Novel *S*/(*N*)-*β*-*D*-Glucosides of 4-*N*-(substituted-2-hydroxyphenyl)-imino-5-(4-methyl-1,2,3-thiadiazol-5-yl-2*H*-1,2,4-triazole-3-thiones[J]. *Chem J Chinese Univ*,2013,**34**(5):1143-1150(in Chinese).
冯钟念,卢俊瑞,辛春伟,等. 新型 *S*(*N*)-*β*-*D*-葡萄糖苷-4-*N*-(取代邻羟苯基)亚胺基-5-(4-甲基-1,2,3-噻二唑)-1,2,4-三唑的合成及生物活性[J]. 高等学校化学学报,2013,**34**(5):1143-1150.

[15] LI Yuwen,LI Yingxia,ZHANG Wei,*et al*. A Convenient One-Pot Preparation of Acetylated Glycopyranosyl Bromides[J]. *Chinese J Org Chem*,2004,**24**(4):438-439(in Chinese).
李玉文,李英霞,张伟,等. 一锅法制备全乙酰吡喃溴代糖[J]. 有机化学,2004,**24**(4):438-439.

[16] Maillard P, Guerquin-Kern J L, Huel C, *et al*. Glycoconjugated Porphyrins: Synthesis of Sterically Constrained Polyglycosylated Compoundsderived from Tetraphenylporphyrins[J]. *J Org Chem*,1993,**58**:2774-2780.

Synthesis and Antimicrobial Activities of Novel 1,2,4-Triazole Glucoside Derivatives

ZHANG Tongtong[a], LU Junrui[a*], FENG Zhongnian[a], LIU Jinbiao[a],
MU Jiangbei[a], HOU Juezhuo[b], BAO Xiurong[a], XIN Chunwei[a], WANG Meijun[a]
([a]*School of Chemistry and Chemical Engineering, Tianjin University of Technology, Tianjin* 300384, *China*;
[b]*TIPR Pharmaceutical Responsible Co. Ltd.*, *Tianjin* 300193, *China*)

Abstract A series of novel *S*-*β*-*D*-acetylglucosides of double heterocyclic 1,2,3-thiadiazole and 1,2,4-triazole compounds(**6**a ~ **6**d) was synthesized from substituted 1,2,3-thiadiazoles. The structures of target compounds were confirmed by ^{1}H NMR, ^{13}C NMR and IR spectroscopy. The antimicrobial activities of *S*-glucoside Schiff base and its corresponding reduced structure were compared emphatically. The data of *in vitro* antimicrobial activities show that most of the tested compounds display good antimicrobial activities against *Staphylococcus aureus*(*S. a.*)(ATCC 6538), *Escherichia coli*(*E. c.*)(ATCC 8099) as well as *Monilia albican* (*M. a.*)(ATCC 10231). The antimicrobial activities of *S*-glucoside Schiff base are better than that of the corresponding reduced structures. Especially, compound **5**d shows stronger antibacterial activities than others, and the minimum value of MIC to **5**d is better than that of fluconazole. The minimum values of MIC to all target compounds against *S. a.* are less than or equal to 32 mg/L.

Keywords thiadiazole, triazole, synthesis, glucoside, antibacterial activity

Reveived 2013-11-20; Revised 2013-02-24; Accepted 2014-03-20

Supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 21176194, No. 20976135)

Corresponding author:LU Junrui, professor; Tel/Fax:022-60216638; E-mail:767516617@qq.com; Research interests:synthesis of new fine chemicals