3-(*N*-取代苯基-2-乙酰胺基)硫基-4-*N*-取代邻羟苯基亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑类化合物的合成及生物活性研究穆曼曼^a 卢博为^b 卢俊瑞^{*,a} 辛春伟^a戢丹^a 李建发^a 鲍秀荣^a^(a) 天津理工大学化学化工学院 天津 300384^(b) 南开大学化学学院 天津 300071

摘要 以对称二氨基硫脲为原料, 与冰醋酸反应生成 5-甲基-4-氨基-1,2,4-三唑-3-硫酮(**1**); 在弱酸性条件下, **1** 与取代水杨醛反应生成席夫碱中间体 5-甲基-4-(*N*-取代邻羟苯基)亚胺基-1,2,4-三唑-3-硫酮(**2a~2c**); 最后在碱性条件下分别与 *N*-取代苯基-2-氯乙酰胺发生烷基化反应生成 15 种未见报道的目标化合物 3-(*N*-取代苯基-2-乙酰胺基)硫基-4-(*N*-取代邻羟苯基)亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**3a~3o**), 其结构经 IR, ¹H NMR, ¹³C NMR 确证. 初步生物测试表明, 质量分数为 0.01% 时, **3a~3o** 对白色念珠菌的抑菌率均达 90% 以上, 具有很强的抑菌活性; 对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌的抑菌率达 80% 以上, 具有较强的抑菌活性.

关键词 5-甲基-4-(*N*-取代邻羟苯基)亚胺基-1,2,4-三唑-3-硫酮; 3-取代硫基-4-(*N*-取代邻羟苯基)亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑; 合成; 抑菌活性

Synthesis and Biological Activities of 3-(*N*-Substituted-phenyl-2-acetamido)-sulfur-4-(*N*-substituted-2-hydroxyphenyl)imino-5-methyl-1,2,4-triazolesMu, Manman^a Lu, Bowei^b Lu, Junrui^{*,a} Xin, Chunwei^aJi, Dan^a Li, Jianfa^a Bao, Xiurong^a^(a) School of Chemistry and Chemical Engineering, Tianjin University of Technology, Tianjin 300384^(b) College of Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071

Abstract Firstly, 5-methyl-4-amino-1,2,4-triazole (**1**) was obtained by a cyclization reaction of glacial acetic acid with thio-carbohydrazide. In weak acidic conditions, the Schiff base 5-methyl-4-(*N*-substituted-2-hydroxyphenyl)imino-1,2,4-triazole-3-thione (**2a~2c**) was obtained by the reaction of compound **1** with substituted salicylaldehyde. Finally, the title compounds 3-(*N*-substitutedphenyl-2-acetamido)sulfur-4-(*N*-substituted-2-hydroxyphenyl)imino-5-methyl-1,2,4-triazoles (**3a~3o**) which have never been reported were synthesized by nucleophilic substitution reaction of compound **2** with *N*-substituted phenyl-2-acetamide under alkaline conditions. The structures of all compounds have been confirmed by IR, ¹H NMR and ¹³C NMR spectra. The results of preliminary bioassay showed that, at the mass concentration of 0.01%, compounds **3a~3o** have more than 90% inhibitory rate against *Monilia albican*, which displayed excellent bacterial activities. Meanwhile, the title compounds also have more than 80% inhibitory ratio against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

Keywords 5-methyl-4-(*N*-substituted-2-hydroxyphenyl)imino-1,2,4-triazole-3-thione; 3-substituted sulfur-4-(*N*-substituted-2-hydroxyphenyl)imino-5-methyl-1,2,4-triazole; synthesis; antibacterial activity

1,2,4-三唑类化合物具有良好的生物活性和药理活性, 广泛适用于抗菌^[1,2]、抗癌^[3]、抗病毒^[4]、抗消炎^[5]、

* E-mail: lujunrui@tjut.edu.cn

Received October 11, 2011; revised December 26, 2011; published online February 6, 2012.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 21176194, 20976135) and the University Technology Development Foundation of Tianjin City (No. 2006ZD33).

国家自然科学基金(Nos. 21176194, 20976135)和天津市高校科技发展基金(No. 2006ZD33)资助项目.

抗惊厥^[6]等药物和除草、杀菌、杀虫等农药^[7~9]领域. 研究发现, 三唑类化合物能够选择性地与羊毛甾醇 C-14 α -脱甲基化酶(CYP51)结合, 从而抑制麦角甾醇的生物合成, 显示出优异的抗真菌活性^[10~12]. 近年来, 有关三唑类化合物的生物活性研究更为活跃, Plech 等^[13]合成了含有吡咯基团的 1,2,4-三唑化合物, 并证实了该类化合物对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均具有良好的抗菌活性; Xu 等^[14]基于羊毛甾醇 14 α -去甲基化酶(CYP51)的生物特性, 合成了含有哌嗪侧链的 1,2,4-三唑类化合物, 并证实其对白色念珠菌的抑制效果优于氟康唑.

席夫碱类化合物因其分子中含有亚胺结构, 因其杂化轨道的 N 原子具有孤对电子, 具有良好的配位能力, 常常表现出良好的生物活性, 如抗癌^[15,16]、抗菌^[17]、抗病毒^[18]等活性.

近年来, 本课题组利用“邻羟苯基”对 FabI, InhA 基因等病原体靶标的良好亲合性, 以及“三唑环”对细菌、真菌、HIV-RT 等靶标较强的亲合性和特异性, 设计合成了一批具有良好生物活性的邻羟苯基三唑类化合物^[19], 并证实了卤素取代能有效提高目标化合物的抗菌活性. 为了进一步探讨邻羟苯基修饰三唑类化合物的合成技术, 深入研究其生物活性及构效关系规律, 本研究依据生物叠加原理, 将“邻羟苯基”、“三唑环”、“CH=N”链段进行合理组装, 设计合成了一系列 3-取代硫基-4-*N*-取代邻羟苯基亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑类化合物, 利用 ¹H NMR, ¹³C NMR 和 IR 对其结构进行表征, 并研究上述化合物对金黄色葡萄球菌(革兰氏阳性菌)、大肠杆菌(革兰氏阴性菌)与白色念珠菌(真菌)的抗菌活性. 其合成路线见 Scheme 1.

R = H; R¹ = H (**3a**), Cl (**3b**), Br (**3c**), CH₃ (**3d**), NO₂ (**3e**)

R = Cl; R¹ = H (**3f**), Cl (**3g**), Br (**3h**), CH₃ (**3i**), NO₂ (**3j**)

R = Br; R¹ = H (**3k**), Cl (**3l**), Br (**3m**), CH₃ (**3n**), NO₂ (**3o**)

Scheme 1

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

美国尼高力仪器公司的 Avatar370 型红外光谱仪 (KBr 压片); 德国 Bruker 公司的 AM400 型核磁共振仪 (TMS 为内标, DMSO-*d*₆ 为溶剂); 天津市分析仪器厂的 RY-1 型熔点测定仪 (温度计未校准); 广东省医疗器械厂的 LRH-250A 型生化培养箱.

5-溴水杨醛、对称二氨基硫脲、*N*-取代苯基-2-氯乙酰胺按文献^[20~22]制备; 大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌等菌株由天津医科大学微生物实验室提供; 其它试剂均为国产市售 AR 或 CP 级.

1.2 中间体 2a~2c 的制备

1.2.1 5-甲基-4-氨基-1,2,4-三唑-3-硫酮(**1**)的合成

50 mL 三口烧瓶中, 加入 3.18 g (0.03 mol) 对称二氨基硫脲和 10 mL 冰乙酸, 升温至回流, TLC 跟踪反应 (展开剂: *V*(乙酸乙酯): *V*(石油醚)=1:1), 原料点基本消失后停止反应. 冷至室温, 抽滤水洗得粗品, 乙醇重结晶, 得白色片状晶体 2.43 g, 产率 76.4%, m.p. 199~201 °C (文献值^[23]: 205~206 °C).

1.2.2 5-甲基-4-*N*-邻羟苯基亚胺基-1,2,4-三唑-3-硫酮(**2a**)的合成

50 mL 三口烧瓶中, 加入 0.60 mL (0.005 mol) 水杨醛和 10 mL 乙醇, 充分搅拌后加入 0.65 g (0.005 mol) **1**, 加热至回流, 用 3 mol/L 盐酸溶液调反应液 pH 值在 5~6 左右. TLC 跟踪反应 [展开剂: *V*(乙酸乙酯): *V*(石油醚)=1:2], 原料点消失时停止反应. 冷却, 静置, 抽滤得粗品, 乙醇重结晶, 得浅黄色晶体 0.87 g, 产率 80%. m.p. 209~211 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 13.71 (s, 1H, NH), 10.44 (s, 1H, OH), 10.14 (s, 1H, N=CH), 7.89 (dd, *J*=8.0, 1.2 Hz, 1H, Ar-H), 7.45 (td, *J*=7.6, 1.2 Hz, 1H, Ar-H), 6.99 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H), 6.95 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, Ar-H), 2.35 (s, 3H, CH₃).

1.2.3 5-甲基-4-*N*-(5-氯邻羟苯基)亚胺基-1,2,4-三唑-3-硫酮(**2b**)的合成

50 mL 三口烧瓶中, 加入 0.79 g (0.0055 mol) 5-氯水杨醛和 10 mL 乙醇, 室温下充分搅拌至溶解后加入 0.65 g (0.005 mol) **1**, 加热至回流, 用 3 mol/L HCl 溶液调反应液 pH 值在 5~6 左右. TLC 跟踪反应 [展开剂: *V*(乙酸乙酯): *V*(石油醚)=1:2], 原料点消失时停止反应. 冷却, 静置, 抽滤得粗品, 乙醇重结晶, 得黄色针状固体 2.03 g, 产率 75.5%. m.p. 237~239 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 13.72 (s, 1H, NH), 10.74 (s, 1H, OH), 10.31 (s, 1H, N=CH), 7.86 (d, *J*=2.8 Hz, 1H, Ar-H), 7.45 (dd, *J*=8.8, 2.8 Hz, 1H, Ar-H), 7.03 (d, *J*=

8.8 Hz, 1H, Ar-H), 2.37 (s, 3H, CH₃).

1.2.4 5-甲基-4-*N*-(5-溴邻羟苯基)亚胺基-1,2,4-三唑-3-硫酮(**2c**)的合成

50 mL 三口烧瓶中, 加入 1.11 g (0.0055 mol) 5-溴水杨醛和 10 mL 乙醇, 室温下充分搅拌后加入 0.65 g (0.005 mol) 5-甲基-4-氨基-1,2,4-三唑-3-硫酮, 升温至回流, 用 3 mol/L HCl 溶液调反应液 pH 在 5~6 左右. TLC 跟踪反应[展开剂: *V*(乙酸乙酯): *V*(石油醚)=1:2], 原料点消失时停止反应. 冷却, 抽滤得粗品, 乙醇重结晶, 得浅黄色晶体 2.27 g, 产率 72.3%. m.p. 220~222 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 13.72 (s, 1H, NH), 10.76 (s, 1H, OH), 10.29 (s, 1H, N=CH), 7.99 (d, *J*=2.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.58 (dd, *J*=8.8, 2.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.97 (d, *J*=8.8 Hz, 1H, Ar-H), 2.37 (s, 3H, CH₃).

1.3 目标化合物 **3a**~**3o** 的合成

1.3.1 3-取代硫基-4-*N*-邻羟苯基亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**3a**~**3e**)的合成

在 100 mL 三口瓶中加入 0.17 g (0.003 mol) 氢氧化钾和 20 mL 乙醇, 溶解后加入 0.70 g (0.003 mol) 中间体 **2a**, 继续搅拌至溶解, 加入 0.56 g (0.0033 mol) *N*-苯基-2-氯乙酰胺, 缓慢升温至回流, TLC 跟踪[展开剂: *V*(乙酸乙酯): *V*(石油醚)=1:3], 原料点消失后停止反应. 静置, 冷却, 抽滤得到白色固体, 用乙醇/乙酸乙酯重结晶, 得到白色粉末 **3a**. 参照上述方法制得目标化合物 **3b**~**3e**.

3-(*N*-苯基-2-乙酰胺基)硫基-4-*N*-邻羟苯基亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**3a**): 白色粉末, 产率 70.6%. m.p. 213~216 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 10.64 (s, 1H, OH), 10.38 (s, 1H, NH), 9.01 (s, 1H, N=CH), 7.86 (dd, *J*=8, 1.6 Hz, 1H, Ar-H), 7.54 (d, *J*=8 Hz, 2H, Ar-H), 7.44 (td, *J*=7.6, 1.6 Hz, 1H, Ar-H), 7.29 (t, *J*=7.6 Hz, Ar-H), 7.04 (t, *J*=8.0 Hz, 2H, Ar-H), 6.94 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, Ar-H), 4.15 (s, 2H, SCH₂), 2.42 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 166, 161.8, 159.1, 149.9, 146, 139.3, 135.1, 129.2, 128.1, 123.9, 120.1, 119.6, 118.4, 117.3, 37.5, 11.4; IR (KBr) ν : 3428, 3240, 3125, 2973, 2883, 2930, 2850, 1648, 1599, 1560, 1497, 748 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₈H₁₆N₅O₂S: C 59.00, H 4.40, N 19.11; found C 58.92, H 4.37, N 19.19.

3-(*N*-对氯苯基-2-乙酰胺基)硫基-4-*N*-邻羟苯基亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**3b**): 白色粉末, 产率 74.7%. m.p. 220~222 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 10.62 (s, 1H, OH), 10.54 (s, 1H, NH), 9.00 (s, 1H, N=CH), 7.87 (dd, *J*=8.0, 1.2 Hz, 1H, Ar-H), 7.61 (d, *J*=8.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.48 (td, *J*=7.6, 1.6 Hz, 1H, Ar-H), 7.37

(t, *J*=8.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.05 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H), 6.97 (t, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H), 4.14 (s, 2H, SCH₂), 2.42 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 166.2, 161.8, 159.1, 149.9, 146, 138.3, 135.1, 129.1, 128.1, 128, 121.1, 120.1, 118.4, 117.3, 37.5, 11.4; IR (KBr) ν : 3421, 3257, 3114, 3022, 2875, 2927, 2832, 1648, 1594, 1551, 1492, 758 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₈H₁₅N₅O₂SCl: C 53.93, H 3.77, N 17.47; found C 53.88, H 3.81, N 17.58.

3-(*N*-对溴苯基-2-乙酰胺基)硫基-4-*N*-邻羟苯基亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**3c**): 白色粉末, 产率 68.3%. m.p. 188~191 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 10.56 (s, 1H, OH), 10.47 (s, 1H, NH), 9.00 (s, 1H, N=CH), 7.85 (dd, *J*=8.0, 1.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.52 (d, *J*=9.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.50 (d, *J*=10.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.44 (td, *J*=7.6, 1.2 Hz, 1H, Ar-H), 7.00 (d, *J*=7.6 Hz, 1H, Ar-H), 6.94 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, Ar-H), 4.13 (s, 2H, SCH₂), 2.42 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 166.2, 161.7, 159, 149.9, 146, 136.8, 135.1, 132.1, 128.1, 121.5, 120.1, 118.4, 117.2, 37.5, 11.4; IR (KBr) ν : 3436, 3249, 3103, 3024, 2872, 2926, 2825, 1647, 1606, 1545, 1489, 750 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₈H₁₅N₅O₂SBr: C 48.65, H 3.44, N 15.77; found C 48.70, H 3.49, N 15.61.

3-(*N*-对甲苯基-2-乙酰胺基)硫基-4-*N*-邻羟苯基亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**3d**): 白色粉末, 产率 75.2%. m.p. 197~200 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 10.55 (s, 1H, OH), 10.23 (s, 1H, NH), 9.00 (s, 1H, N=CH), 7.86 (dd, *J*=7.6, 1.2 Hz, 1H, Ar-H), 7.49 (td, *J*=7.6, 1.2 Hz, 1H, Ar-H), 7.43 (d, *J*=8.4 Hz, 2H, Ar-H), 7.12 (d, *J*=8.4 Hz, 2H, Ar-H), 7.02 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H), 6.98 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, Ar-H), 4.13 (s, 2H, SCH₂), 2.42 (s, 3H, CH₃), 2.25 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 165.7, 161.8, 159, 149.9, 146, 136.8, 135.1, 132.9, 129.6, 128.2, 120.2, 119.6, 118.4, 117.2, 37.5, 11.4; IR (KBr) ν : 3432, 3222, 3125, 3033, 2875, 2926, 2850, 1645, 1604, 1552, 1498, 761 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₉H₁₈N₅O₂S: C 59.98, H 4.77, N 18.41; found C 59.92, H 4.88, N 18.40.

3-(*N*-对硝基苯基-2-乙酰胺基)硫基-4-*N*-邻羟苯基亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**3e**): 白色粉末, 产率 78.1%. m.p. 213~214 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 10.94 (s, 1H, OH), 10.56 (s, 1H, NH), 9.00 (s, 1H, N=CH), 8.20 (d, *J*=9.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.86 (dd, *J*=7.6, 1.2 Hz, 1H, Ar-H), 7.81 (d, *J*=9.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.47 (td, *J*=7.6, 1.2 Hz, 1H, Ar-H), 7.01 (d, *J*=8.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.96~6.93 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, Ar-H), 4.19 (s, 2H, SCH₂),

2.42 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 167.2, 161.8, 159, 149.9, 145.9, 145.4, 142.8, 135.1, 128.1, 125.5, 120.1, 119.3, 118.4, 117.2, 37.5, 11.4; IR (KBr) ν : 3448, 3262, 3081, 2968, 2928, 2850, 1647, 1617, 1545, 1510, 765 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₈H₁₆N₆O₄S: C 52.42, H 3.91, N 20.38; found C 52.26, H 3.88, N 20.51.

1.3.2 3-取代硫基-4-*N*-(5-氯邻羟苯基)亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**3f**~**3j**)的合成

100 mL 三口瓶中加入 0.17 g (0.003 mol) 氢氧化钾和 20 mL 乙醇, 溶解后加入 0.80 g (0.003 mol) 中间体 **2b**, 继续搅拌至完全溶解, 加入 0.56 g (0.0033 mol) *N*-苯基-2-氯乙酰胺, 升温至回流反应, TLC 跟踪[展开剂: *V*(乙酸乙酯): *V*(石油醚)=1:3], 原料点消失后停止反应. 静置, 冷却, 抽滤得白色固体, 用乙醇/乙酸乙酯重结晶, 得到白色粉末 **3f**. 参照上述方法制得目标化合物 **3g**~**3j**.

3-(*N*-苯基-2-乙酰胺基)硫基-4-*N*-(5-氯邻羟苯基)亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**3f**): 白色粉末, 产率 68.3%. m.p. 222~225 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 10.91 (s, 1H, OH), 10.32 (s, 1H, NH), 8.97 (s, 1H, N=CH), 7.83 (d, *J*=2.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.56 (d, *J*=8.8 Hz, 2H, Ar-H), 7.51 (dd, *J*=8.8, 2.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.32 (t, *J*=8.8 Hz, 2H, Ar-H), 7.08 (d, *J*=8.8 Hz, 1H, Ar-H), 4.11 (s, 2H, CH₂), 2.44 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 166, 159.4, 150, 146.1, 139.2, 134.4, 129.2, 126.6, 123.9, 120.1, 119.6, 119.2, 37.6, 11.5; IR (KBr) ν : 3448, 3276, 3070, 2935, 2846, 2930, 2713, 1648, 1601, 1545, 1468, 752 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₈H₁₅N₅O₂SCl: C 53.93, H 3.77, N 17.47; found C 53.77, H 3.72, N 17.59.

3-(*N*-对氯苯基-2-乙酰胺基)硫基-4-*N*-(5-氯邻羟苯基)亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**3g**): 白色粉末, 产率 72.3%. m.p. 236~238 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 10.86 (s, 1H, OH), 10.43 (s, 1H, NH), 8.96 (s, 1H, N=CH), 7.81 (d, *J*=2.8 Hz, 1H, Ar-H), 7.58 (d, *J*=8.8 Hz, 2H, Ar-H), 7.50 (dd, *J*=8.8, 2.8 Hz, 1H, Ar-H), 7.37 (d, *J*=8.8 Hz, 2H, Ar-H), 7.04 (d, *J*=8.8 Hz, 1H, Ar-H), 4.11 (s, 2H, CH₂), 2.43 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 166.2, 159.5, 157.8, 150, 146, 138.2, 134.4, 129.1, 126.6, 123.9, 121.1, 120, 119.2, 37.6, 11.5; IR (KBr) ν : 3457, 3290, 3122, 2929, 2850, 2811, 1648, 1618, 1540, 1491, 815 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₈H₁₄N₅O₂SCl₂: C 49.77, H 3.25, N 16.13; found C 49.52, H 3.21, N 16.38.

3-(*N*-对溴苯基-2-乙酰胺基)硫基-4-*N*-(5-氯邻羟苯基)亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**3h**): 米白色粉末, 产率 65.5%. m.p. 235~237 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400

MHz) δ : 10.96 (s, 1H, OH), 10.50 (s, 1H, NH), 8.97 (s, 1H, N=CH), 7.81 (d, *J*=2.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.54 (d, *J*=8.8 Hz, 2H, Ar-H), 7.52 (t, *J*=8.8 Hz, 3H, Ar-H), 7.08 (d, *J*=8.8 Hz, 1H, Ar-H), 4.11 (s, 2H, CH₂), 2.44 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 166.2, 159.3, 157.9, 150.1, 146, 138.2, 134.4, 132, 126.5, 123.8, 121.5, 120, 119.2, 115.5, 37.6, 11.5; IR (KBr) ν : 3447, 3236, 3113, 3040, 2847, 2930, 2712, 1650, 1616, 1533, 1489, 821 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₈H₁₄N₅O₂SClBr: C 45.19, H 2.95, N 14.65; found C 45.34, H 2.94, N 14.55.

3-(*N*-对甲基苯基-2-乙酰胺基)硫基-4-*N*-(5-氯邻羟苯基)亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**3i**): 白色粉末, 产率 57.0%. m.p. 230~232 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 10.86 (s, 1H, OH), 10.21 (s, 1H, NH), 8.96 (s, 1H, N=CH), 7.83 (d, *J*=2.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.50 (d, *J*=8.8 Hz, 2H, Ar-H), 7.44 (d, *J*=8 Hz, 2H, Ar-H), 7.11 (d, *J*=8 Hz, 2H, Ar-H), 7.04 (d, *J*=8 Hz, 1H, Ar-H), 4.11 (s, 2H, CH₂), 2.44 (s, 3H, CH₃), 2.25 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 165.7, 159.3, 157.8, 150.1, 146.1, 136.7, 134.4, 132.9, 129.6, 126.6, 123.9, 120, 119.6, 119.2, 37.6, 11.5; IR (KBr) ν : 3442, 3291, 3128, 3068, 2919, 3029, 2709, 1664, 1618, 1545, 1472, 815 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₉H₁₇N₅O₂SCl: C 55.06, H 4.14, N 16.91; found C 55.16, H 4.17, N 16.78.

3-(*N*-对硝基苯基-2-乙酰胺基)硫基-4-*N*-(5-氯邻羟苯基)亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**3j**): 米白色粉末, 产率 89.6%. m.p. 237~238 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 10.90 (s, 1H, OH), 10.86 (s, 1H, NH), 8.96 (s, 1H, N=CH), 8.22 (d, *J*=8.8 Hz, 1H, Ar-H), 7.79 (d, *J*=8.8 Hz, 3H, Ar-H), 7.48 (dd, *J*=8.8, 2.8 Hz, 1H, Ar-H), 7.02 (d, *J*=8.8 Hz, 1H, Ar-H), 4.14 (s, 2H, CH₂), 2.43 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 167.2, 159.4, 157.8, 150.2, 145.8, 145.3, 142.8, 134.4, 126.5, 125.5, 123.8, 120, 119.3, 119.1, 37.8, 11.5; IR (KBr) ν : 3446, 3254, 3151, 3071, 2935, 2978, 2853, 1685, 1616, 1541, 1507, 851 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₉H₁₇N₅O₂SCl: C 55.06, H 4.14, N 16.91; found C 55.16, H 4.17, N 16.78.

1.3.3 3-取代硫基-4-*N*-(5-溴邻羟苯基)亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**3k**~**3o**)的合成

100 mL 三口瓶中, 加入 0.17 g (0.003 mol) 氢氧化钾和 20 mL 乙醇, 溶解后加入 0.94 g (0.003 mol) 中间体 **2c**, 继续搅拌至完全溶解, 加入 0.56 g (0.0033 mol) *N*-苯基-2-氯乙酰胺, 升温至回流反应, TLC 跟踪[展开剂: *V*(乙酸乙酯): *V*(石油醚)=1:3]至原料点消失, 停止反应. 静置, 冷却, 抽滤得到白色固体, 用乙醇/乙酸乙酯重结

晶, 得到白色粉末 **3k**. 参照上述方法制得目标化合物 **3l~3o**.

3-(*N*-苯基-2-乙酰胺基)硫基-4-*N*-(5-溴邻羟苯基)亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**3k**): 白色粉末, 产率 71.2%. m.p. 229~230 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 10.89 (s, 1H, OH), 10.30 (s, 1H, NH), 8.96 (s, 1H, CH=N), 7.96 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, Ar-H), 7.62 (dd, $J=8.8$, 2.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.56 (d, $J=8$ Hz, 2H, Ar-H), 7.33 (t, $J=8$ Hz, 2H, Ar-H), 7.08 (t, $J=8$ Hz, 1H, Ar-H), 6.99 (d, $J=8$ Hz, 1H, Ar-H), 4.14 (s, 2H, CH₂), 2.44 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 165.9, 164.6, 159.3, 158.2, 150.1, 139.2, 137.2, 136.7, 129.6, 129.2, 124, 120.6, 119.6, 111.3, 37.6, 11.5; IR (KBr) ν : 3447, 3272, 3135, 3065, 2984, 3065, 2914, 1648, 1602, 1544, 1447, 752 cm^{-1} . Anal. calcd for C₁₈H₁₅N₅O₂SBr: C 48.65, H 3.44, N 15.77; found C 48.52, H 3.42, N 15.92.

3-(*N*-对氯苯基-2-乙酰胺基)硫基-4-*N*-(5-溴邻羟苯基)亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**3l**): 白色粉末, 产率 78.3%. m.p. 245~247 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 10.89 (s, 1H, OH), 10.43 (s, 1H, NH), 8.95 (s, 1H, CH=N), 7.94 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, Ar-H), 7.61 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, Ar-H), 7.58 (d, $J=8$ Hz, 2H, Ar-H), 7.37 (d, $J=8.8$ Hz, 2H, Ar-H), 6.99 (d, $J=8.8$ Hz, 1H, Ar-H), 4.11 (s, 2H, CH₂), 2.44 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 166.2, 159.4, 158.2, 150.1, 146, 138.2, 127.2, 129.6, 129.1, 127.5, 121.1, 120.6, 119.6, 111.3, 37.6, 11.5; IR (KBr) ν : 3448, 3258, 3120, 3052, 2931, 2978, 2891, 1647, 1616, 1534, 1491, 815 cm^{-1} . Anal. calcd for C₁₈H₁₄N₅O₂SClBr: C 45.19, H 2.95, N 14.65; found C 44.98, H 2.97, N 14.72.

3-(*N*-对溴苯基-2-乙酰胺基)硫基-4-*N*-(5-溴邻羟苯基)亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**3m**): 白色粉末, 产率 69.2%. m.p. 242~243 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 10.90 (s, 1H, OH), 10.44 (s, 1H, NH), 8.95 (s, 1H, CH=N), 7.94 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, Ar-H), 7.61 (dd, $J=8.8$, 2.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.54 (t, $J=8.8$ Hz, 2H, Ar-H), 7.51 (t, $J=8.8$ Hz, 2H, Ar-H), 6.99 (d, $J=8.8$ Hz, 1H, Ar-H), 4.11 (s, 2H, CH₂), 2.43 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 166.2, 159.2, 158.2, 150.1, 146, 138.6, 137.2, 132.1, 129.6, 121.5, 120.6, 119.6, 111.3, 37.6, 11.5; IR (KBr) ν : 3447, 3286, 3116, 3066, 2920, 2978, 2895, 1661, 1617, 1535, 1489, 815 cm^{-1} . Anal. calcd for C₁₈H₁₄N₅O₂SBr₂: C 41.39, H 2.70, N 13.41; found C 41.46, H 2.68, N 13.49.

3-(*N*-对甲基苯基-2-乙酰胺基)硫基-4-*N*-(5-溴邻羟

苯基)亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**3n**): 白色粉末, 产率 71.7%. m.p. 241~243 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 10.90 (s, 1H, OH), 10.20 (s, 1H, NH), 8.95 (s, 1H, CH=N), 7.95 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, Ar-H), 7.62 (dd, $J=8.8$, 2.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.43 (t, $J=8.8$ Hz, 2H, Ar-H), 7.11 (d, $J=8.8$ Hz, 2H, Ar-H), 6.99 (d, $J=8.8$ Hz, 1H, Ar-H), 4.11 (s, 2H, CH₂), 2.43 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 165.7, 159.2, 158.1, 150.1, 146.2, 137.2, 136.7, 132.9, 129.6, 120.6, 119.6, 111.3, 37.6, 11.5; IR (KBr) ν : 3452, 3270, 3125, 3066, 2919, 3023, 2850, 1662, 1617, 1544, 1472, 815 cm^{-1} . Anal. calcd for C₁₉H₁₇N₅O₂S: C 49.78, H 3.74, N 15.29; found C 49.68, H 3.70, N 15.45.

3-(*N*-对硝基苯基-2-乙酰胺基)硫基-4-*N*-(5-溴邻羟苯基)亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**3o**): 白色粉末, 产率 68.2%. m.p. 245~247 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 10.90 (s, 1H, OH), 10.87 (s, 1H, NH), 8.95 (s, 1H, CH=N), 8.22 (d, $J=8.8$ Hz, 2H, Ar-H), 7.90 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, Ar-H), 7.79 (d, $J=8.8$ Hz, 2H, Ar-H), 7.59 (dd, $J=8.8$, 2.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.97 (d, $J=8.8$ Hz, 1H, Ar-H), 4.14 (s, 2H, CH₂), 2.43 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 167.2, 159.4, 158.2, 150.2, 145.8, 142.8, 137.2, 129.5, 125.5, 120.6, 119.5, 119.3, 111.3, 37.8, 11.5; IR (KBr) ν : 3447, 3256, 3154, 3080, 2978, 3074, 2934, 1685, 1615, 1541, 1506, 851 cm^{-1} . Anal. calcd for C₁₈H₁₅N₆O₄SBr: C 44.08, H 3.09, N 17.15; found C 43.20, H 3.16, N 17.25.

2 结果与讨论

2.1 关键中间体的合成

在合成中间体 **1** 时, 乙酸既是溶剂, 又是反应物; 在弱酸性条件下硫脲酰胺亲核性强于质子化的一级氨, 所以硫脲酰胺首先和醋酸反应得到稳定的酰胺中间体 **A**. 然后, 由于分子内五元环反应存在熵优势, 并且在酸性回流条件下, 伯氨进攻羰基上的碳后脱水得到目标产物, 推测其关环机理如 Scheme 2 所示.

Scheme 2

中间体 **2** 的合成是生成席夫碱的缩合反应, 经历加成-消除两步历程. 此类反应的合成大多以乙醇、DMF 作溶剂, 酸作催化剂. 由于 DMF 为溶剂的后处理困难, 所以选用乙醇作为溶剂, 3 mol/L HCl 溶液作为催化剂. 反应需在弱酸性条件下进行, pH 值大小对该反应影响较大, pH 值接近中性会导致反应时间过长, 且进行不彻底; pH 过低会导致氨基与酸成盐不利于反应进行, 为此 pH 值控制在 5~6 较佳.

2.2 目标化合物的合成

中间体 **2a**, **2b**, **2c** 分别与 *N*-取代苯基-2-氯乙酰胺发生亲核取代反应, 为使反应顺利进行, 首先将中间体与氢氧化钾作用, 使其硫酮结构转变成亲核性强的硫醇负离子, 再与 *N*-取代苯基-2-氯乙酰胺反应得到目标产物. 中间体、氢氧化钾与 *N*-取代苯基-2-氯乙酰胺的物质的量比控制在 1:1:1.1 时, 得到产品的收率较高. 苯乙酰胺苯环上对位取代基团的电子效应对反应速率影响较大, 取代基拉电子效应越强, 亲核取代反应越易发生, 反应时间越短, 产品产率较高. 邻羟苯基苯环上卤素取代对反应速率影响不大.

2.3 中间体及目标化合物的波谱分析

IR 中, 目标化合物 **3a~3o** 在 3440 cm^{-1} 左右出现较强的 O—H 吸收峰, 3100 cm^{-1} 左右出现 CH=N 吸收峰, 3250 cm^{-1} 左右出现较强的 N—H 吸收峰, 1650 cm^{-1} 左右出现 C=O 的伸缩振动吸收峰. 苯环上对位取代基对羰基的吸收峰有一定影响, 拉电子基团使得苯环电子云密度降低, 其红外吸收移向高波数段. 中间体 **2a**, **2b**, **2c** 在 1350 cm^{-1} 附近出现的 C=S 的强伸缩吸收峰消失, 而在 800 cm^{-1} 附近出现了 C—S 的吸收峰, 证实了亲核取代反应完全; 同时, 在 $1550, 1500\text{ cm}^{-1}$ 附近出现苯环上的特征吸收峰.

中间体 **2a~2c** 存在烯醇式与硫酮式的互变异构体. ^1H NMR 图发现, **2a~2c** 在 $\delta 13\sim 14$ 左右出现 NH 质子峰, 证实其纯品主要以硫酮式结构存在. 中间体中的亚胺结构(CH=N)的氢质子峰出现在 $\delta 10$ 左右, 其大小顺序为 **2b**>**2c**>**2a**, 因受到邻羟苯基上 5 位取代基(如 Cl, Br)的诱导效应和共轭效应共同影响而移向低场; 而目标化合物中该质子峰出现在 $\delta 9.00$ 左右的较高场, 这可能是由于硫醚化合物比硫醇化合物的空间位阻更大所致. NH 质子峰出现在 $\delta 10\sim 11$ 附近的低场, 证明存在氢键作用; 同时, 苯乙酰胺苯环上对位取代基对该质子峰化学位移的影响较大, 随取代基变化该质子峰的大小顺序为 $\text{NO}_2>\text{Br}>\text{Cl}>\text{H}>\text{CH}_3$. CH_2 的质子峰因苯环和羰基的共同作用, 而移向较低场($\delta 4.11\sim 4.19$). CH_3 基团受到三唑环的超共轭效应的影响, 出现在 $\delta 2.44$ 左右.

2.4 化合物的生物活性研究

为了考察邻羟苯基三唑环、亚胺结构和不同取代基团对化合物生物活性的影响, 将目标化合物配制成浓度为 10^{-4} g/mL 溶液, 采用溶液梯度稀释法定量测定其对大肠杆菌 (*Escherichia coli*), 金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 和白色念珠菌 (*Monilia albican*) 等的抑菌效果, 具体方法按照 GB15979-2002《一次性使用卫生标准》中溶出性抑菌产品抑菌性能试验方法进行, 以氟康唑作为对照药物. 测定结果见表 1.

表 1 化合物 **3a~3o** 的抑菌活性数据(抑制率/%)

Compd.	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Monilia albican</i>
3a	90.2	81.2	97.2
3b	97.5	95.5	100
3c	95.1	92.3	96.6
3d	90.0	70.6	100
3e	90.0	100	90.2
2a	88.2	80.2	96.3
3f	86.2	82.9	100
3g	95.7	100	99.1
3h	91.1	96.6	100
3i	82.7	98.2	99.3
3j	88.6	100	99.7
3k	97.2	83.2	98.8
3l	100	97.3	100
3m	99.1	99.1	96.2
3n	92.8	99.3	95.5
3o	96.4	93.1	96.9
Fluconazole	80.1	95.5	99.2

测试结果表明, 中间体 **2a** 和目标化合物 **3a~3o** 对三种菌株均具有较强的抑菌活性, 其中 **3a~3o** 对白色念珠菌的抑菌率达 90% 以上, 具有很强的抑菌效果; 对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌的抑菌率达 80%, 具有较强的抑菌效果(除 **3d** 以外). 其中化合物 **3e**, **3g**, **3j** 对大肠杆菌, **3d**, **3h**, **3l** 对白色念珠菌的抑菌率高达 100%, 分别是抗革兰氏阴性菌和抗真菌极好的化合物. 在此浓度(10^{-4} g/mL)下, 目标化合物 **3a~3o** 对金黄色葡萄球菌的抑菌效果明显优于现售药物氟康唑. 本研究是在比现售药物氯霉素的最小抑菌浓度($>5.12\times 10^{-4}\text{ g/mL}$)^[24]更低的浓度(10^{-4} g/mL)下进行, 证实了目标化合物对金黄色葡萄球菌仍有很强的抑菌活性, 所以目标化合物 **3a~3o** 对金黄色葡萄球菌的抑菌活性优于氯霉素. 目标化合物的邻羟苯基苯环上的取代基对生物活性也有一定的影响, 其中 **3f~3j**, **3k~3o** 的抑菌率普遍高于 **3a~3e**, 证实该苯环上含 Cl, Br 等卤素基团的化合物抑菌效果更优. 苯乙酰胺苯环上对位取代基为甲基时, 对白色念珠菌的抑菌效果较好; 取代基为硝基时, 对大肠杆菌的抑菌效果

更好,证实了 CH_3 , NO_2 基团的引入对上述菌株的抑菌效果有一定促进作用. 目标化合物 **3a~3e** 的抑菌效果明显高于中间体 **2a**, 说明了硫醚类化合物的抑菌活性优于硫酮类化合物.

References

- [1] Mathew, V.; Keshavayyab, J.; Vaidya, V. P. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 1048.
- [2] Prasad, D. J.; Ashok, M.; Karegoudar, P.; Poojary, B.; Holla, B. S.; Kumari, N. S. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 551.
- [3] Li, X.; Lin, Y.; Yuan, Y.; Liu, K.; Qian, X. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 2299.
- [4] Grandi, M. D.; Olson, M.; Prashad, A. S.; Bebernitz, G.; Luckay, A.; Mullen, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 398.
- [5] Abdel-Megeed, A. M.; Abdel-Rahman, H. M.; Alkaramany, G. S.; El-Gendy, M. A. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 117.
- [6] Shalini, M.; Yogeewari, P.; Sriram, D. *Biochem. Pharmacol.* **2009**, *63*, 187.
- [7] Li, G.-H.; Yang, H. *Chin. J. Org. Chem.* **2008**, *28*, 1918 (in Chinese).
(李国华, 杨红, 有机化学, **2008**, *28*, 1918.)
- [8] Long, D.-Q.; Li, D.-J.; Tang, C.-Q. *Chem. Reag.* **2009**, *31*, 495 (in Chinese).
(龙德清, 李德江, 唐传球, 化学试剂, **2009**, *31*, 495.)
- [9] Hu, A.-X.; Tan, Z.; Chen, P.; Ye, J. *Chin. J. Org. Chem.* **2010**, *30*, 923 (in Chinese).
(胡艾希, 覃智, 陈平, 叶姣, 有机化学, **2010**, *30*, 923.)
- [10] Sheng, C.; Zhang, W.; Ji, H.; Zhang, M. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 2512.
- [11] Xiao, L.; Madison, V.; Chau, A. S. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, *48*, 568.
- [12] Chen, S. H.; Sheng, C. Q.; Xu, X. H. *Biol. Pharm. Bull.* **2007**, *30*, 1246.
- [13] Plech, T.; Wujec, M.; Siwek, A.; Kosikowska, U.; Malm, A. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 241.
- [14] Xu, J.; Cao, Y.; Zhang, J.; Yu, S.; Zou, Y.; Chai, X.; Wu, Q.; Zhang, D. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 3142.
- [15] Yang, R.-S.; Hu, G.-Q.; Xie, S.-Q.; Huang, W.-L. *Chin. J. Appl. Chem.* **2008**, *25*, 783 (in Chinese).
(杨锐生, 胡国强, 谢松强, 黄文龙, 应用化学, **2008**, *25*, 783.)
- [16] Wang, H.; Zheng, W.-H.; Xie, F.-N.; Song, H.-C. *Chin. J. Org. Chem.* **2011**, *31*, 708 (in Chinese).
(王辉, 郑伟华, 谢凤妮, 宋化灿, 有机化学, **2011**, *31*, 708.)
- [17] Karthikeyan, M. S.; Prasad, D. J.; Poojary, B. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 7482.
- [18] Liliana, M.; Finkielstein, E. F.; Castro, L. E.; Fabian, L. E.; Moltrasio, G. Y. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 1767.
- [19] Zhu, S.-S.; Lu, J.-R.; Xin, C.-W.; Lu, B. W.; Bao, X. R.; Zou, M.; Liu, Q. *Chem. J. Chin. Univ.* **2010**, *31*, 2228 (in Chinese).
(朱姗姗, 卢俊瑞, 辛春伟, 卢博为, 鲍秀荣, 邹敏, 刘倩, 高等学校化学学报, **2010**, *31*, 2228.)
- [20] Liang, F.-Z. *Chin. J. Appl. Chem.* **2003**, *20*, 693 (in Chinese).
(梁芳珍, 应用化学, **2003**, *20*, 693.)
- [21] Burns, G. R. *Inorg. Chem.* **1968**, *7*, 277.
- [22] Zhao, H. -R.; Zhu, T. -T. *J. Zhejiang Univ. (Sci. Ed.)* **2010**, *37*, 442 (in Chinese).
(赵华绒, 朱婷婷, 浙江大学学报(理学版), **2010**, *37*, 442.)
- [23] Sun, X. -H.; Tao, Y.; Liu, Y.-F. *Acta Chim. Sinica* **2008**, *66*, 234 (in Chinese).
(孙晓红, 陶燕, 刘源发, 化学学报, **2008**, *66*, 234.)
- [24] Yuan, Y. *M.S. Thesis*, Chongqing Medical University, Chongqing, **2008** (in Chinese).
(袁勇, 硕士论文, 重庆医科大学, 重庆, **2008**.)

(Cheng, F.)