新型 5-甲基-1,2,4-三唑-3-硫酮类化合物的合成及抗菌活性研究

戢 丹 卢俊瑞* 辛春伟 彭春勇 穆江蓓 李建发

(天津理工大学化学化工学院 天津 300384)

摘要 利用生物活性叠加原理,以 4-氨基-5-甲基-1,2,4-三唑-3-硫酮为原料,设计合成了 15 个未见报道的化合物 2-*N*-2',3',4',6'-四-*O*-乙酰基- β -*D*-吡喃葡萄糖基-4-*N*-取代苯基亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(2a~2e), 4-*N*-取代苯基氨基-5-甲基-1,2,4-三唑(3a~3e)和 2-*N*-2',3',4',6'-四-*O*-乙酰基- β -*D*-吡喃葡萄糖基-4-*N*-取代苯基氨基-5-甲基-1,2,4-三唑(4a~4e)。其结构经 IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR 和元素分析确认。生物活性测试表明,所有化合物均表现出一定的抑菌活性,尤其是化合物 4b 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的最小抑菌浓度为 8 $\mu\text{g/mL}$,明显优于市售抗菌药物氟康唑,表现出较强的抗细菌活性;同时,与三氯生相比,所有化合物对白色念珠菌的最小抑菌浓度(MIC)均小于或等于 32 $\mu\text{g/mL}$,亦表现出较好的抗真菌活性。

关键词 2',3',4',6'-四-*O*-乙酰基- α -*D*-吡喃葡萄糖; 1,2,4-三唑; 合成; 表征; 抗菌活性

Synthesis and Biological Activities of Novel 5-Methyl-1,2,4-triazoles-3-thione

Ji, Dan Lu, Junrui* Xin, Chunwei Peng, Chunyong Mu, Jiangbei Li, Jianfa

(a School of Chemistry and Chemical Engineering, Tianjin University of Technology, Tianjin 300384)

Abstract In this paper, 15 new compounds of 2-*N*-2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- β -*D*-glucopyranosyl-4-(*N*-substituted-phenyl)-imino-5-methyl-1,2,4-triazoles (2a ~ 2e), 4-(*N*-substituted-phenyl)imino-5-methyl-1,2,4-triazole-3-thiones (3a ~ 3e) and 2-*N*-2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- β -*D*-glucopyranosyl-4-(*N*-substituted-phenyl)imino-5-methyl-1,2,4-triazoles (4a ~ 4e) were rationally designed and synthesized according to the principle of superposition of bioactive substructures by the combination of 1,2,4-triazole, Schiff base and glucosides. Firstly, the Schiff base 4-arylideneamino-1,2,4-triazole-3-thiones (1a ~ 1e) has been obtained by the reaction of 4-amino-1,2,4-triazole-3-thiones with substituted salicylaldehyde in weak acidic conditions. Then the target compounds 2a ~ 2e were prepared from 4-arylideneamino-1,2,4-triazole-3-thiones with 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -*D*-glucopyranosyl bromide in the presence of potassium hydroxide. The structures of target compounds have been characterized by ^1H NMR, ^{13}C NMR, IR and elemental analysis. The results of preliminary bioassay showed that most of the tested compounds displayed variable inhibitory activity. Especially, compounds 4b exhibited much higher activities against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* than commercial fungicide fluconazole with minimum inhibitory concentration (MIC) values of 16 $\mu\text{g/mL}$. All of the compounds showed excellent activity against fungal strains with MIC values of 16 $\mu\text{g/mL}$, which were more effective against *Monilia albican* than the reference drug triclosan.

Keywords 2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- α -*D*-glucopyranosyl; 1,2,4-triazole; synthesis; antibacterial activity

1,2,4-三唑是含三个氮原子的五元芳香杂环化合物,具有 6 π 电子共轭体系,显示较强配位和形成氢键的能力,可与生物体内的酶和受体等形成氢键,与金属离子配位以及发生疏水作用、 π - π 堆积、静电作用等^[1]。这种独特结构性质使三唑类化合物表现出广谱的生物活性和药理活性,从而广泛适用于抗菌^[2,3]、抗癌^[4]、抗病

毒^[5]、抗消炎^[6]、抗惊厥^[7]等医药领域。其中以氟康唑和伊曲康唑为代表的三唑类抗真菌药物是目前临床上治疗深部真菌感染应用最广泛的药物,其主要通过抑制真菌麦角甾醇生物合成途径中 24-亚甲基双氢羊毛甾醇的 14 α -去甲基化反应从而起到抑制真菌生长的作用。鉴于三唑类化合物在临床应用中表现出的优越性,已成为合

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

Received November 26, 2012; revised December 22, 2012; published online January 7, 2013.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 21176194, 20976135), and the Key Project of Tianjin Municipal Science and Technology Commission (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。

成抗真菌药物研究中的热点^[8,9].

糖能以各种形式参与生命过程, 具有信息传递、能量转移及物质输送的功能^[10]. 糖不仅以多糖或寡糖的游离形式直接参与生命过程, 而更主要的是以糖缀合物的形式(即糖链与其它生物分子相联所形成的化合物)参与许多重要的生命活动^[11]. 随着分子生物学和细胞生物学的深入发展, 糖的其它生物功能也逐渐被人们所揭示, 作为信息分子它在体内许多识别过程中起着重要作用, 如细菌和病毒感染生物体、信号传导等^[12,13].

同时, 3-取代-4-氨基-5-巯基-1,2,4-三唑是合成1,2,4-三唑类杂环衍生物的常用原料, 该结构中存在氨基和巯基两个相邻的亲核作用部位, 可以转化为多种新的杂环结构, 特别是氨基与芳香醛缩合形成的三唑席夫碱具有很好的配位能力, 且席夫碱类化合物多具有一定的抗真菌活性^[14]. 鉴于不同活性的基团在同一分子中聚集能明显改善化合物的生物活性这一特性, 为了进一步寻找新的具有更高生物活性的三唑衍生物, 更好地研究此类化合物的构效关系. 本文在保留三唑抗菌化合物基本药效团三唑环和席夫碱的基础上, 通过 *N*-烷基化反应在母体结构上以氮苷的形式引入糖基, 合成了系列2-(*N*-β-*D*-2',3',4',6'-四-*O*-乙酰基-吡喃葡萄糖基)-4-取代芳亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑类化合物 **2a~2e**、2-(*N*-β-*D*-2',3',4',6'-四-*O*-乙酰基-吡喃葡萄糖基)-4-取代苄基胺基-5-甲基-1,2,4-三唑类化合物 **4a~4e** 以及未糖苷化的4-*N*-取代苄基氨基-5-甲基-1,2,4-三唑类化合物 **3a~3e**. 利用 ¹H NMR, ¹³C NMR, IR 和元素分析对其结构进行了表征, 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)的体外抗菌活性. 其合成路线见 Scheme 1.

1 结果与讨论

1.1 反应条件的选择

目前糖苷化反应大多采用 Koenigs-Knorr 法、银盐

法、引入离去基团法、相转移催化法等^[16]. 本实验尝试了不同的反应体系, 以实现并提高糖苷的转化. 实验结果显示, 以四丁基溴化铵为相转移催化剂, 在 CH₂Cl₂/NaOH 体系中反应, 副产物较多, 乳化现象严重, 导致产品分离困难, 收率较低; 在以三乙胺为催化剂, DMF 为溶剂的体系中反应, 由于三乙胺的碱性相对无机碱偏弱, 夺质子能力较差, 不利于亲核反应的进行, 同时, 由于 DMF 的沸点较高, 后处理较困难, 从而导致产品收率偏低; 而在以 KOH 为催化剂, 丙酮为溶剂的体系中反应, 强碱更有利于三唑氮负离子的形成, 从而大大加速了亲核反应的进行, 在该反应条件下, 糖苷化反应副产物减少, 立体选择性和产率都大大提高.

1.2 目标化合物的反应机理

目标化合物 **2a~2e** 和 **4a~4e** 的合成过程均采用 KOH 为催化剂; 首先在强碱性条件下, 三唑 2 位上的氮形成氮负离子, 从背面进攻糖环的 C(1)—Br 键, C(1)发生 Walden 反转, 从而立体选择性的生成 β-型糖酯, 故此推测该反应为 S_N2 取代反应机理, 如 Eq. 1 所示.

1.3 糖基取代的1,2,4-三唑-3-硫酮席夫碱的合成

糖苷化反应中, 1,2,4-三唑 2 位上的 NH 和苯环上的 OH 都有可能被取代, 但经过实验的不断尝试发现, 只有 NH 发生了糖基化反应, 生成氮苷; 而苯环上的 OH 并没有被取代.

Scheme 1

分析化合物 **2a**~**2c** 和 **4a**~**4c** 的氢谱数据发现, 在 δ 13.8~14.3 左右出现的 NH 吸收峰消失; 而 δ 10.25~10.39 左右依然保留了 OH 的吸收峰, 进一步说明糖苷化反应只在三唑 2 位的 NH 发生了取代, 证实在强碱条件下, 三唑环 2 位上氮负离子的亲核性要大于芳环上氧负离子的亲核性。

1.4 目标化合物的波谱分析

IR 红外图谱中, 目标化合物 **2a**~**2e** 和 **4a**~**4e** 在 3450 cm^{-1} 处出现较强的峰为 OH 吸收峰, CH_3 吸收峰出现在 2938 cm^{-1} 左右, 而苯环的骨架振动吸收峰出现在 1630 cm^{-1} 左右. 1236 cm^{-1} 附近出现的中强吸收峰为 $\text{C}=\text{S}$ 的吸收峰, 说明化合物是以硫酮的形式存在. 在 1740 cm^{-1} 附近出现了较强的多羰基吸收峰; 在 $1000\sim 1100$ 及 $1200\sim 1300\text{ cm}^{-1}$ 处有两个宽而强的糖环双肩峰, 说明了糖基的存在。

^1H NMR 中, 化合物 **2a**~**2e** 和 **4a**~**4e** 在 δ 2.00 附近出现糖环乙酰基中氢的吸收峰, 在 δ 4.00~6.26 出现的多重峰, 是糖环上氢的共振峰. 在 δ 6.2~6.6 出现了双峰, 其偶合常数在 $9.2\sim 9.6\text{ Hz}$ 之间, 是糖的端基质子峰, 这证实了 *N*- β -D-糖苷的形成, 这与相关文献报道^[17] 的结论一致. 同时, 化合物 **2a**~**2e** 的亚胺结构 $\text{CH}=\text{N}$ 质子单峰出现在 δ 10.22~10.99 之间, 主要是因为受到苯环上取代基(如 OH, Cl, Br)的诱导效应和共轭效应的影响而移向了低场; 化合物 **3a**~**3e** 在该范围的质子吸收峰消失, 在 δ 4.22~4.35 之间出现了 CH_2 的信号峰, 说明席夫碱的亚胺结构被还原为饱和键; 而 CH_3 的质子峰因受到三唑环的超共轭效应的影响, 出现 δ 2.47; 化合物 **3a**~**3e** 三唑上的 NH 质子吸收峰出现在 δ 13.72 左右, 进一步证明该类化合物是以硫酮的形式存在。

1.5 化合物的生物活性研究

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(*Escherichia coli*, E.c.) (8099)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, S.a.) (ATCC 6538) 和白色念珠菌(*Monilia albican*, M.a.) (ATCC 10231), 测定结果见表 1。

体外抑菌活性测试结果表明, 目标化合物对三种菌株都有一定的抑制活性. 其中化合物 **2a** (MIC=64 $\mu\text{g/mL}$), **2b** (MIC=32 $\mu\text{g/mL}$), **2c** (MIC=64 $\mu\text{g/mL}$), **2e** (MIC=64 $\mu\text{g/mL}$), **3b** (MIC=32 $\mu\text{g/mL}$), **4a** (MIC=16 $\mu\text{g/mL}$), **4b** (MIC=8 $\mu\text{g/mL}$), **4c** (MIC=64 $\mu\text{g/mL}$) 对大肠杆菌的抑制活性均优于氟康唑(MIC=128 $\mu\text{g/mL}$); 所有化合物对白色念珠菌的最小抑菌浓度均小于或等于

表 1 化合物 **2a**~**2e**, **3a**~**3e** 和 **4a**~**4e** 的体外最小抑菌浓度 ($\mu\text{g/mL}$)

Table 1 *In vitro* antimicrobial activities for some synthetic compounds expressed as MIC ($\mu\text{g/mL}$)

Compd.	Gram-negative bacteria	Gram-positive bacteria	Fungus
	E.c	S.a	M.a
2a	64	64	32
2b	32	32	16
2c	64	32	16
2d	128	128	32
2e	64	64	32
3a	128	64	16
3b	32	32	32
3c	128	16	32
3d	128	16	32
3e	128	64	16
4a	16	64	16
4b	8	8	4
4c	64	32	16
4d	128	64	32
4e	128	64	32
Fluconazole	128	16	2
Triclosan	2	4	32

参比药物三氯生(MIC=32 $\mu\text{g/mL}$), 表现出较好的抗真菌活性; 与所测试的其它化合物相比, 化合物 **4d** 对三种菌的最小抑菌浓度均为最小, 表现出很强的广谱抗菌活性。

仔细分析目标化合物的结构和抑菌活性, 可初步得到如下构效关系: (1) 苯环上引入卤原子增强了化合物的抑菌活性; (2) 不同卤原子对抑菌活性的影响不同, 苯环的 5 位引入 Br 原子(化合物 **2b**, **3b**, **4b**)要比引入 Cl 原子(化合物 **2c**, **3c**, **4c**)的抑菌活性更高; (3) 与化合物 **4d**, **4e** 相比, 苯环 2 位 OH 基的引入(**4a**, **4b**, **4c**)明显增强了对三种菌的抑制活性, 推测可能是 OH 与测试菌株靶标的氨基酸残基以氢键的方式结合, 增强了化合物与靶标分子的亲合性, 从而提高其抑菌活性; (4) 与化合物 **3b** 相比, 糖基的引入(**4b**)增强了化合物的抑菌活性, 可能是乙酰化糖基的引入增强了化合物的亲脂性, 有利于药物分子在体内的吸收, 提高了其生物利用度, 从而达到增强化合物抑菌活性的目的。

2 实验部分

2.1 仪器和试剂

熔点使用天津市分析仪器厂的 RY-1 型熔点测定仪测定(温度计未校准); 红外光谱用 Nicolet 300 DTGS 型傅立叶红外光谱仪测定(KBr 压片); 核磁共振谱用德国 Bruker BioSpin 公司 AVANCEIII 400M 核磁共振仪测定, $\text{DMSO}-d_6$ 和 CDCl_3 为溶剂, TMS 为内标; 元素分析

用美国 PE 公司 PE-2400 元素分析仪测定; 广东省医疗器械厂的 LRH-250A 型生化培养箱。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。所有试剂均为国产市售分析纯, 未经进一步纯化。中间体 4-*N*-取代苯基亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑-3-硫酮(**1a**~**1e**)参考文献[15]的方法进行合成。

2.2 实验部分

2.2.1 目标化合物 **2** 的合成

于 50 mL 三口瓶中, 分别加入 0.12 g (2.0 mmol) KOH, 2 mL 蒸馏水, 10 mL 丙酮溶液, 2.0 mmol 化合物 **1**, 搅拌 30 min, 然后加入 2',3',4',6'-四-*O*-乙酰基- α -*D*-溴代葡萄糖(0.98 g, 2.4 mmol)的丙酮溶液(10 mL), 于室温下搅拌反应 16 h [TLC 检测, 展开剂: *V*(乙酸乙酯): *V*(石油醚)=3:2], 减压旋蒸除掉溶剂, 溶于 20 mL 二氯甲烷中, 水洗(20 mL $\times$ 3), 分出有机相, 水相用二氯甲烷萃取 2 次, 合并有机相。有机相经无水硫酸镁干燥, 浓缩后经硅胶柱层析分离提纯。参照上述方法制得目标化合物 **2b**~**2e**。

2-*N*-(β -*D*-2',3',4',6'-四-*O*-乙酰基- β -*D*-吡喃葡萄糖基)-4-*N*-邻羟基苯基亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**2a**): 浅黄色固体, 产率 63%。m.p. 139~141 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 10.25 (s, 1H, OH), 10.22 (s, 1H, N=CH), 7.47~7.51 (m, 1H, Ar-H), 7.43 (dd, $J=7.6, 1.6$ Hz, 1H, Ar-H), 7.05 (dd, $J=17.2, 8.4$ Hz, 2H, Ar-H), 6.22 (d, $J=9.6$ Hz, 1H, Gly-H₁), 5.76 (t, $J=9.6$ Hz, 1H, Gly-H₂), 5.43 (t, $J=9.6$ Hz, 1H, Gly-H₃), 5.26 (t, $J=10.0$ Hz, 1H, Gly-H₄), 4.32 (dd, $J=12.4, 4.8$ Hz, 1H, Gly-H_{6'}), 4.18 (dd, $J=12.8, 2.0$ Hz, 1H, Gly-H_{6''}), 4.00 (ddd, $J=10.0, 4.8, 2.0$ Hz, 1H, Gly-H₅), 2.47 (s, 3H, CH₃), 2.11 (s, 3H, CH₃CO), 2.08 (s, 3H, CH₃CO), 2.05 (s, 3H, CH₃CO), 1.97 (s, 3H, CH₃CO); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 170.5, 170.2, 169.5, 169.0, 166.1, 157.2, 148.8, 133.4, 133.2, 131.9, 126.0, 125.7, 123.5, 82.2, 78.3, 74.6, 73.6, 69.2, 68.8, 61.7, 20.8, 20.7, 20.6, 11.3; IR (KBr) ν : 3450, 2938, 1748, 1654, 1637, 1232, 1026, 923, 881, 756 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$: C 51.06, H 5.00, N 9.92; found C 51.13, H 4.98, N 9.83.

2-*N*-(β -*D*-2',3',4',6'-四-*O*-乙酰基- β -*D*-吡喃葡萄糖基)-4-*N*-(2-羟基-5-溴-苯基)亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**2b**): 浅黄色固体, 产率 56%。m.p. 224~226 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 10.39 (s, 1H, OH), 10.21 (s, 1H, N=CH), 7.55 (dd, $J=7.2, 2.4$ Hz, 1H, Ar-H), 6.97 (d, $J=9.6$ Hz, 1H, Ar-H), 6.21 (d, $J=9.2$ Hz, 1H, Gly-H₁), 5.75 (t, $J=9.2$ Hz, 1H, Gly-H₂), 5.43 (t, $J=9.2$ Hz, 1H, Gly-H₃), 5.26 (t, $J=10.0$ Hz, 1H, Gly-H₄), 4.32 (dd, $J=$

12.4, 4.8 Hz, 1H, Gly-H_{6'}), 4.18 (dd, $J=12.8, 2.4$ Hz, 1H, Gly-H_{6''}), 4.00 (ddd, $J=10.0, 4.8, 2.0$ Hz, 1H, Gly-H₅), 2.47 (s, 3H, CH₃), 2.11 (s, 3H, CH₃CO), 2.08 (s, 3H, CH₃CO), 2.05 (s, 3H, CH₃CO), 1.97 (s, 3H, CH₃CO); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 170.6, 170.5, 168.4, 168.8, 163.2, 159.5, 149.8, 134.0, 133.8, 132.1, 129.4, 126.7, 124.3, 81.2, 78.1, 73.6, 72.5, 69.2, 67.8, 61.7, 20.8, 20.7, 20.6, 11.3; IR (KBr) ν : 3433, 2940, 1758, 1646, 1637, 1229, 1026, 918, 723, 680, 672 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{SBr}$: C 44.8, H 4.23, N 8.71; found C 43.2, H 4.28, N 8.66.

2-*N*-(β -*D*-2',3',4',6'-四-*O*-乙酰基- β -*D*-吡喃葡萄糖基)-4-*N*-(2-羟基-5-氯-苯基)亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**2c**): 白色固体, 产率 57%。m.p. 200~202 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 10.39 (s, 1H, OH), 10.20 (s, 1H, N=CH), 7.41~7.45 (m, 2H, Ar-H), 7.02 (d, $J=9.6$ Hz, 1H, Ar-H), 6.21 (d, $J=9.2$ Hz, 1H, Gly-H₁), 5.75 (t, $J=9.2$ Hz, 1H, Gly-H₂), 5.44 (t, $J=9.2$ Hz, 1H, Gly-H₃), 5.28 (t, $J=10.0$ Hz, 1H, Gly-H₄), 4.32 (dd, $J=12.4, 4.8$ Hz, 1H, Gly-H_{6'}), 4.19 (dd, $J=12.8, 2.4$ Hz, 1H, Gly-H_{6''}), 4.00 (ddd, $J=10.0, 4.8, 2.0$ Hz, 1H, Gly-H₅), 2.48 (s, 3H, CH₃), 2.11 (s, 3H, CH₃CO), 2.09 (s, 3H, CH₃CO), 2.06 (s, 3H, CH₃CO), 1.97 (s, 3H, CH₃CO); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 170.8, 170.2, 169.4, 168.9, 165.6, 164.5, 157.2, 146.7, 135.2, 132.2, 126.0, 118.1, 117.6, 82.4, 77.3, 74.9, 73.6, 68.7, 67.1, 61.7, 20.8, 20.7, 20.6, 11.3; IR (KBr) ν : 3442, 1759, 1654, 1637, 1229, 1040, 920, 811, 668 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{SCl}$: C 48.12, H 4.54, N 8.71; found C 48.25, H 4.48, N 8.66.

2-*N*-(β -*D*-2',3',4',6'-四-*O*-乙酰基- β -*D*-吡喃葡萄糖基)-4-*N*-(2-溴-苯基)亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**2d**): 浅黄色固体, 产率 61%。m.p. 168~170 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 10.99 (s, 1H, N=CH), 8.14 (dd, $J=7.6, 2.4$ Hz, 1H, Ar-H), 7.69 (dd, $J=7.6, 1.2$ Hz, 1H, Ar-H), 7.37~7.45 (m, 2H, Ar-H), 6.26 (d, $J=9.2$ Hz, 1H, Gly-H₁), 5.77 (t, $J=9.2$ Hz, 1H, Gly-H₂), 5.45 (t, $J=9.2$ Hz, 1H, Gly-H₃), 5.27 (t, $J=10.0$ Hz, 1H, Gly-H₄), 4.33 (dd, $J=12.4, 4.8$ Hz, 1H, Gly-H_{6'}), 4.18 (dd, $J=12.4, 2.0$ Hz, 1H, Gly-H_{6''}), 4.01 (ddd, $J=10.0, 4.8, 2.0$ Hz, 1H, H₅), 2.49 (s, 3H, CH₃), 2.11 (s, 3H, CH₃CO), 2.08 (s, 3H, CH₃CO), 2.05 (s, 3H, CH₃CO), 1.97 (s, 3H, CH₃CO); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 170.7, 170.2, 169.4, 169.0, 164.1, 159.5, 149.2, 133.6, 133.4, 132.1, 128.0, 127.7, 126.5, 81.4, 77.2, 74.6, 73.7, 69.2, 67.8, 61.7, 20.8, 20.7, 20.6, 11.3; IR (KBr) ν : 2945, 1751, 1654, 1637, 1229,

1214, 1036, 924, 756, 669 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{O}_9\text{SCl}$: C 45.94, H 4.34, N 8.93; found C 45.81, H 4.38, N 8.99.

2-*N*-(β -D-2',3',4',6'-四-*O*-乙酰基- β -D-吡喃葡萄糖基)-4-*N*-(2-氯-苯基)亚胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(2e): 白色固体, 产率 62%. m.p. 160~162 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 10.39 (s, 1H, N=CH), 8.11~8.16 (m, J =7.42 Hz, 3H, Ar-H), 7.02 (d, J =9.6 Hz, 1H, Ar-H), 6.21 (d, J =9.2 Hz, 1H, Gly-H₁), 5.75 (t, J =9.2 Hz, 1H, Gly-H₂), 5.44 (t, J =9.2 Hz, 1H, Gly-H₃), 5.27 (t, J =10.0 Hz, 1H, Gly-H₄), 4.32 (dd, J =12.8, 5.2 Hz, 1H, Gly-H₆), 4.18 (dd, J =12.4, 2.0 Hz, 1H, Gly-H_{6'}), 4.01 (ddd, J =10.0, 4.8, 2.0 Hz, 1H, Gly-H₅), 2.48 (s, 3H, CH₃), 2.11 (s, 3H, CH₃CO), 2.09 (s, 3H, CH₃CO), 2.06 (s, 3H, CH₃CO), 1.97 (s, 3H, OCH₃); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 170.6, 170.2, 169.4, 168.9, 164.3, 164.0, 158.3, 147.7, 134.4, 132.2, 125.0, 119.1, 117.0, 81.7, 77.2, 74.6, 73.6, 69.2, 67.7, 61.7, 20.8, 20.7, 20.6, 11.3; IR (KBr) ν : 2947, 1759, 1647, 1624, 1236, 1214, 1035, 920, 753, 718 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{SCl}$: C 49.44, H 4.67, N 9.61; found C 49.53, H 4.58, N 9.70.

2.2.2 目标化合物 3 的合成

100 mL 三口瓶中, 加入 0.01 mol 化合物 1 和 30 mL 无水乙醇, 室温下搅拌, 溶液呈浅黄色浑浊, 再加入 0.012 mol 硼氢化钠, 继续搅拌反应, 反应液慢慢变成无色透明[TLC 跟踪, 展开剂为 $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{石油醚})=1:2$], 待原料斑点消失, 停止反应, 用 3 mol/L 的 HCl 溶液调 pH 至中性, 未反应完的硼氢化钠以固体形式析出, 抽滤, 将滤液减压旋蒸除去溶剂, 得白色粉末状固体.

4-*N*-邻羟苯基胺基-5-甲基-1,2,4-三唑-3-硫酮(3a): 白色固体, 产率 93%. m.p. 165~166 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz) δ : 13.46 (s, 1H, NH), 9.58 (s, 1H, OH), 7.09~7.13 (m, 1H, Ar-H), 7.00 (dd, J =7.2, 1.2 Hz, 1H, Ar-H), 6.84 (d, J =8.0 Hz, 1H, Ar-H), 6.71 (t, J =7.6 Hz, 1H, Ar-H), 4.19 (s, 2H, CH₂), 1.84 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 165.9, 156.6, 146.5, 135.6, 128.5, 127.3, 120.6, 119.7, 49.8, 10.4; IR (KBr) ν : 3447, 3224, 2998, 1654, 1638, 1230, 752, 693, 669 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{OS}$: C 50.83, H 5.12, N 2.71; found C 50.68, H 5.16, N 2.68.

4-*N*-(2-羟基-5-溴-苯基)胺基-5-甲基-1,2,4-三唑-3-硫酮(3b): 白色固体, 产率 95%. m.p. 194~195 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz) δ : 13.45 (s, 1H, NH), 7.23~7.28 (m, 2H, Ar-H), 6.84 (dd, J =8.4, 2.4 Hz, 1H, Ar-H),

4.18 (d, J =4.8 Hz, 2H, CH₂), 1.95 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 164.8, 156.4, 149.8, 133.6, 130.5, 128.4, 119.6, 112.7, 47.1, 10.2; IR (KBr) ν : 3548, 3407, 3086, 1717, 1637, 1231, 876, 815, 768 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{N}_4\text{OSBr}$: C 38.11, H 3.52, N 17.78; found C 38.02, H 3.63, N 17.76.

4-*N*-(2-羟基-5-氯-苯基)胺基-5-甲基-1,2,4-三唑-3-硫酮(3c): 白色固体, 产率 93%. m.p. 177~178 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz) δ : 13.47 (s, 1H, NH), 9.90 (s, 1H, OH), 7.11~7.17 (m, 1H, Ar-H), 6.83 (d, J =8.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.84 (d, J =8.0 Hz, 1H, Ar-H), 6.71 (t, J =7.6 Hz, 1H, Ar-H), 4.19 (s, 2H, CH₂), 1.94 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 164.8, 156.4, 147.6, 134.2, 129.7, 128.6, 118.4, 113.2, 46.9, 10.2; IR (KBr) ν : 3551, 3063, 1718, 1637, 1230, 877, 818, 770 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{N}_4\text{OSCl}$: C 44.36, H 4.10, N 20.69; found C 44.41, H 4.20, N 20.58.

4-*N*-(2-溴-苯基)胺基-5-甲基-1,2,4-三唑-3-硫酮(3d): 白色固体, 产率 94%. m.p. 172~174 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz) δ : 13.43 (s, 1H, NH), 7.63 (d, J =7.6 Hz, 1H, Ar-H), 7.37 (dd, J =13.6, 7.2 Hz, 1H, Ar-H), 7.31~7.25 (m, 2H, Ar-H), 4.38 (d, J =4.4 Hz, 2H, CH₂), 1.79 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 165.8, 156.6, 150.2, 131.6, 129.5, 123.2, 119.2, 115.7, 48.0, 10.2; IR (KBr) ν : 3448, 3221, 1647, 1637, 768, 668 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{N}_4\text{OSBr}$: C 40.14, H 3.71, N 18.73; found C 40.06, H 3.62, N 18.81.

4-*N*-(2-溴-苯基)胺基-5-甲基-1,2,4-三唑-3-硫酮(3e): 白色固体, 产率 95%. m.p. 188~190 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz) δ : 13.41 (s, 1H, NH), 7.46 (d, J =7.6 Hz, 1H, Ar-H), 7.36 (dd, J =6.4, 3.2 Hz, 1H, Ar-H), 7.31 (t, J =3.6 Hz, 2H, Ar-H), 4.33 (d, J =4.4 Hz, 2H, CH₂), 1.80 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 166.2, 156.6, 144.5, 133.1, 127.6, 127.4, 119.6, 118.7, 47.8, 10.6; IR (KBr) ν : 3404, 3019, 1698, 1637, 1238, 886, 761, 749 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{N}_4\text{OSCl}$: C 47.15, H 4.35, N 21.99; found C 47.21, H 4.28, N 21.85.

2.2.3 目标化合物 4 的合成

于 50 mL 三口瓶中, 加入 0.12 g (2.0 mmol) KOH, 2 mL 蒸馏水, 10 mL 丙酮溶液, 2.0 mmol 化合物 1, 搅拌 30 min, 然后加入 2',3',4',6'-四-*O*-乙酰基- α -D-溴代葡萄糖(0.98 g, 2.4 mmol)的丙酮溶液(10 mL), 于室温下搅拌反应 16 h [TLC 检测, 展开剂: $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{石油醚})=3:2$], 减压旋蒸除掉溶剂, 溶于 20 mL 二氯甲烷中, 水洗(20 mL $\times$ 3), 分出有机相, 水相用二氯甲烷萃

取 2 次, 合并有机相。有机相经无水硫酸镁干燥后, 减压旋干得粗品, 硅胶柱层析分离得目标化合物 **4**。

2-*N*-(β -D-2',3',4',6'-四-O-乙酰基- β -D-吡喃葡萄糖基)-4-*N*-邻羟苯基胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**4a**): 白色固体, 产率 58%。m.p. 179~181 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 10.28 (s, 1H, OH), 7.25 (dd, $J=18$, 9.6 Hz, 1H, Ar-H), 7.17 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, Ar-H), 6.85~6.93 (m, 2H, Ar-H), 6.10 (d, $J=9.2$ Hz, 1H, Gly-H₁), 5.67 (t, $J=9.2$ Hz, 1H, Gly-H₂), 5.42 (t, $J=9.2$ Hz, 1H, Gly-H₃), 5.22~5.27 (m, 1H, Gly-H₄), 5.06 (dd, $J=18.4$, 9.2 Hz, 1H, Gly-H_{6'}), 4.28 (s, 2H, CH₂), 4.0 (dd, $J=9.6$, 4.8 Hz, 1H, Gly-H₆), 3.67~3.79 (m, 1H, Gly-H₅), 2.11 (s, 3H, CH₃), 2.09 (s, 3H, CH₃CO), 2.08 (s, 3H, CH₃CO), 2.04 (s, 3H, CH₃CO), 1.95 (s, 3H, CH₃CO); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 170.6, 170.1, 169.4, 168.8, 168.4, 153.4, 136.1, 134.1, 132.0, 128.8, 128.6, 127.0, 83.1, 76.4, 74.2, 73.0, 69.1, 67.8, 61.0, 52.0, 21.0, 20.7, 20.6, 10.2; IR (KBr) ν : 3358, 2780, 1758, 1727, 1637, 1244, 1217, 1039, 920, 811, 668 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$: C 50.88, H 5.34, N 9.89; found C 50.75, H 5.26, N 9.79.

2-*N*-(β -D-2',3',4',6'-四-O-乙酰基- β -D-吡喃葡萄糖基)-4-*N*-(2-羟基-5-溴-苯基)胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**4b**): 黄色固体, 产率 54%。m.p. 216~218 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 10.31 (s, 1H, OH), 7.25 (dd, $J=18$, 9.6 Hz, 1H, Ar-H), 7.17 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, Ar-H), 6.85~6.93 (m, 2H, Ar-H), 6.10 (d, $J=9.2$ Hz, 1H, Gly-H₁), 5.67 (t, $J=9.2$ Hz, 1H, Gly-H₂), 5.42 (t, $J=9.2$ Hz, 1H, Gly-H₃), 5.21~5.26 (m, 1H, Gly-H₄), 5.06 (dd, $J=18.4$, 9.2 Hz, 1H, Gly-H_{6'}), 4.28 (s, 2H, CH₂), 4.0 (dd, $J=9.6$, 4.8 Hz, 1H, Gly-H₆), 3.67~3.79 (m, 1H, Gly-H₅), 2.11 (s, 3H, CH₃), 2.09 (s, 3H, CH₃CO), 2.08 (s, 3H, CH₃CO), 2.04 (s, 3H, CH₃CO), 1.95 (s, 3H, CH₃CO); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 170.6, 170.1, 169.4, 168.8, 168.4, 157.9, 137.2, 132.1, 132.0, 128.4, 126.0, 120.6, 82.4, 77.1, 74.6, 73.2, 69.5, 67.8, 61.0, 52.3, 21.0, 20.7, 20.6, 10.4; IR (KBr) ν : 3358, 2780, 1758, 1727, 1637, 1244, 1217, 1039, 920, 811, 668 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{SBr}$: C 44.66, H 4.53, N 8.68; found C 44.52, H 4.58, N 8.49.

2-*N*-(β -D-2',3',4',6'-四-O-乙酰基- β -D-吡喃葡萄糖基)-4-*N*-(2-羟基-5-氯-苯基)胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**4c**): 白色固体, 产率 53%。m.p. 220~222 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 10.36 (s, 1H, OH), 7.27 (t, $J=6.4$ Hz, 1H, Ar-H), 7.19 (dd, $J=10.8$, 2.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.83 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, Ar-H), 6.08 (d, $J=9.2$ Hz, 1H, Gly-H₁), 5.64 (t, $J=9.2$ Hz, 1H, Gly-H₂), 5.55 (t, $J=4.4$ Hz, 1H,

Gly-H₃), 5.42 (dd, $J=20$, 10.4 Hz, 1H, Gly-H₄), 4.90 (dd, $J=10$, 3.6 Hz, 1H, Gly-H_{6'}), 4.43 (dd, $J=12$, 6.8 Hz, 1H, Gly-H₆), 4.25 (d, $J=3.2$ Hz, 2H, CH₂), 3.98 (t, $J=6.8$ Hz, 1H, Gly-H₅), 2.11 (s, 3H, CH₃), 2.09 (s, 3H, CH₃CO), 2.04 (s, 3H, CH₃CO), 2.02 (s, 3H, CH₃CO), 1.93 (s, 3H, CH₃CO); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 170.5, 170.3, 169.4, 168.8, 168.4, 158.8, 135.2, 133.7, 132.3, 131.0, 128.1, 124.9, 82.4, 77.1, 74.6, 73.6, 69.3, 67.8, 61.5, 51.3, 21.0, 20.7, 20.6, 10.3; IR (KBr) ν : 3567, 3050, 2782, 1718, 1638, 1231, 1037, 876, 818, 770 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_9\text{SCl}$: C 47.96, H 4.86, N 9.32; found C 47.88, H 4.82, N 9.38.

2-*N*-(β -D-2',3',4',6'-四-O-乙酰基- β -D-吡喃葡萄糖基)-4-*N*-(2-溴-苯基)胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**4d**): 黄色粘稠, 产率 50%。 ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 7.58 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, Ar-H), 7.28~7.31 (m, 2H, Ar-H), 7.19 (t, $J=7.2$ Hz, 1H, Ar-H), 6.09 (d, $J=9.6$ Hz, 1H, Gly-H₁), 5.64 (t, $J=9.2$ Hz, 1H, Gly-H₂), 5.53 (dd, $J=9.6$, 3.6 Hz, 1H, Gly-H₃), 5.40 (t, $J=9.6$ Hz, 1H, Gly-H₄), 4.88 (t, $J=9.6$ Hz, 1H, Gly-H_{6'}), 4.38 (t, $J=7.6$, 2.4 Hz, 1H, Gly-H₆), 4.22~4.31 (m, 2H, CH₂), 3.96~4.00 (m, 1H, Gly-H₅), 2.07 (s, 3H, CH₃), 2.02 (s, 3H, CH₃CO), 2.01 (s, 3H, CH₃CO), 1.98 (s, 3H, CH₃CO), 1.93 (s, 3H, CH₃CO); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 170.6, 170.1, 169.4, 168.8, 168.4, 147.7, 134.1, 132.2, 132.0, 129.8, 129.0, 127.2, 82.6, 77.1, 74.6, 73.2, 69.5, 67.8, 61.0, 53.1, 21.0, 20.7, 20.6, 10.4; IR (KBr) ν : 3009, 2780, 1716, 1619, 1238, 1162, 1052, 920, 811, 668 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_9\text{SBr}$: C 45.79, H 4.64, N 8.90; found C 45.66, H 4.58, N 8.92.

2-*N*-(β -D-2',3',4',6'-四-O-乙酰基- β -D-吡喃葡萄糖基)-4-*N*-(2-氯-苯基)胺基-5-甲基-1,2,4-三唑(**4e**): 浅黄色固体, 产率 52%。m.p. 175~176 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 7.42 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, Ar-H), 7.32 (dd, $J=8.0$, 6.4 Hz, 2H, Ar-H), 7.26 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, Ar-H), 6.11 (d, $J=5.2$ Hz, 1H, Gly-H₁), 5.67 (t, $J=9.2$ Hz, 1H, Gly-H₂), 5.42 (t, $J=9.6$ Hz, 1H, Gly-H₃), 5.25 (t, $J=10.0$ Hz, 1H, Gly-H₄), 4.45 (d, $J=1.2$ Hz, 1H, Gly-H_{6'}), 4.30~4.37 (m, 2H, CH₂), 4.13~4.19 (m, 1H, Gly-H₆), 3.97~4.02 (ddd, $J=10.0$, 4.8, 2.0 Hz, 1H, Gly-H₅), 2.10 (s, 3H, CH₃), 2.07 (s, 3H, CH₃CO), 2.04 (s, 3H, CH₃CO), 2.01 (s, 3H, CH₃CO), 1.97 (s, 3H, CH₃CO); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 170.6, 170.1, 169.4, 168.8, 168.4, 149.8, 135.2, 133.2, 132.0, 130.0, 129.9, 127.2, 82.4, 77.2, 74.6, 73.5, 69.3, 67.8, 61.7, 51.3, 21.0, 20.7, 20.6, 10.1; IR (KBr) ν :

3002, 2782, 1760, 1727, 1636, 1238, 1036, 920, 874, 773, 668 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_9\text{SCl}$: C 49.27, H 5.00, N 9.58; found C 49.43, H 4.88, N 5.06.

References

- [1] Zhang, Y. Y.; Zhou, C. H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, 21(14), 4349.
- [2] Turan-Zitouni, G.; Kaplancıklı, Z. A.; Yıldız, M. T.; Chevallet, P.; Kaya, D. *Eur. J. Med. Chem.* **2005**, 40, 607.
- [3] Sumangala, V.; Poojary, B.; Chidananda, N.; Arulmoli, T.; Shenoy, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, 54, 59.
- [4] Mavrova, A. T.; Wesselinova, D.; Tsenov, Y. A.; Denkova, P. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, 44, 63.
- [5] Abdel-Wahab, B. F.; Abdel-Latif, E.; Mohamed, H. A.; Awad, G. E. A. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, 52, 263.
- [6] Almasirad, S. A.; Tabatabai, M.; Faizi, A.; Kebriaeezadeh, N.; Mehrabi, A.; Dalvandi, A. S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 6057.
- [7] Amir, M.; Shikha, K. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, 39, 535.
- [8] Aoyama, Y.; Yoshida, Y.; Sato, R. *J. Biol. Chem.* **1984**, 259, 1661.
- [9] Aoyama, Y.; Yoshida, Y. *Biochem. Pharmacol.* **1987**, 36, 229.
- [10] Varki A. *Glycobiology* **1993**, 3(2), 97.
- [11] Pellissier, H. *Tetrahedron* **2005**, 61, 2947.
- [12] Wang, X. M.; Zhu, T.; Zheng, L. Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2006**, 26, 660 (in Chinese).
(王小明, 朱涛, 郑良玉, 有机化学, **2006**, 26, 600.)
- [13] Hu, X.; Yu, S. Y.; Cao, S. W.; Ruan, Z. *Chem. Res. Appl.* **2007**, 19, 465.
- [14] Yu, S. C.; Cao, Y. B.; Wu, Y. Q. *Chem. J. Chin. Univ.* **2005**, 27(9), 522; 547 (in Chinese).
(俞世冲, 曹永兵, 吴秋业, 化学试剂, **2005**, 27(9), 522; 547.)
- [15] Mu, M. M.; Lu, B. W.; Lu, J. R.; Xin, C. W.; Ji, D. *Chin. J. Org. Chem.* **2012**, 32, 1101 (in Chinese).
(穆曼曼, 卢博为, 卢俊瑞, 辛春伟, 戢丹, 有机化学, **2012**, 32, 1101.)
- [16] Toshima, K.; Tatsuta, K. *Chem. Rev.* **1993**, 93(4), 1503.
- [17] Khalil, N. S. A. M. *Carbohydr. Res.* **2006**, 341, 2187.

(Li, L.; Lu, Z.)