4-甲基-3-乙酰基-2-杂环-2*H*,3*H*-苯并[*f*]-1,5-硫氮杂草衍生物的合成、抑菌活性及副反应的研究武云云^a 田克情^c 杨 田^a 杜星琼^b 张 萍^{*,a}^(a) 河北师范大学化学与材料科学学院 石家庄 050024)^(b) 河北师范大学生命科学学院 石家庄 050024)^(c) 河北化工医药职业技术学院化学与环境工程系 石家庄 050026)

摘要 以含不同取代基的杂环醛和乙酰丙酮为原料,经三步反应合成了一系列新型的 4-甲基-3-乙酰基-2-杂环-2*H*,3*H*-苯并[*f*]-1,5-硫氮杂草衍生物 **3a**~**3l**,产物的结构经 ¹H NMR, IR, MS 和元素分析确证,且通过 ¹H NMR 测试,发现目标化合物存在着烯胺型和亚胺型结构的互变.测定了目标化合物的抑菌活性,抑菌结果为杂草类化合物的结构与抑菌的关系提供了启示.同时,确定了目标化合物 **3h** 发生分解反应时主要副产物的结构,提出了其可能的生成机理.

关键词 1,5-苯并硫氮杂草;杂环;副反应;抑菌活性

Synthesis Antimicrobial Activities and Side Reactions of 4-Methyl-3-acetyl-2-heterocyclic-2*H*,3*H*-benzo[*f*]-1,5-thiazepinesWu, Yunyun^a Tian, Keqing^c Yang, Tian^a Du, Xingqiong^b Zhang, Ping^{*,a}^(a) College of Chemistry, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050024)^(b) College of Life Science, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050024)^(c) Environment and Chemical Engineering, Hebei Chemical and Pharmaceutical College, Shijiazhuang 050026)

Abstract Starting from substituted heterocyclic aldehyde and acetylacetone, a series of new 4-methyl-3-acetyl-2-heterocyclic-2*H*,3*H*-benzo[*f*]-1,5-thiazepines **3a**~**3l** were synthesized through 3-step reactions. The structures of the new products were confirmed by ¹H NMR, IR, MS and elemental analysis, and the imine-enamine tautomerism of the target compounds was investigated by means of ¹H NMR spectroscopy. Their antifungal activities were evaluated, and the results provides the inspiration for structure-activity relationship of the benzothiazepines. Meanwhile, the structure of the main by-products of **3h** was identified, and the possible mechanism of the by-products was proposed.

Keywords 1,5-benzothiazepine; heterocyclic; side reaction; antifungal activity

苯并杂草类化合物具有广泛的生物活性,其中许多化合物已经作为优良的药物应用于临床,例如 1,5-苯并硫氮杂草酮类化合物—盐酸地尔硫草、1,4-苯并二氮杂草类化合物—利眠宁和安定是治疗心绞痛、高血压和镇静、催眠、抗焦虑的有效药物^[1].苯并杂草一直是新药设计与研发中备受关注的优势结构.1,5-苯并硫氮杂草是苯并杂草类化合物的一个重要分支,具有多种潜在的生理和药理活性^[2],在医药领域有着广泛的用途.如扩

张血管^[3]、抑制心率失常作用^[4,5]、抗癌作用^[6,7]、诱导肿瘤细胞死亡、镇静和抗惊厥作用^[8]等.其中抑菌和抗病毒活性也是此类化合物极具发展潜力的特性之一,围绕这一特性,人们设计合成了多种具有 1,5-苯并硫氮杂草母核的各类衍生物,并进行活性筛选.如 Grandolini 等^[9]合成了在 2,3 位并合吡啶环的一系列 1,5-苯并硫氮杂草,发现其中某些化合物对格兰氏阳性菌有较好的抑制效果;Johnson^[10]和 Roberto^[11]等发现 1,5-苯并硫氮杂

* E-mail: zhangping@sina.com

Received December 23, 2012; revised February 8, 2013; published online March 14, 2013.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 20972040).

国家自然科学基金(No. 20972040)资助项目.

草嘧啶衍生物、吡咯衍生物有特殊的抗 HIV-1 的活性。

本实验小组一直以来从事 1,5-苯并硫氮杂草衍生物的合成和抑菌活性研究,曾合成出的在杂草七元杂环的 2 位和 3 位上有不同碳链长度的酯基^[12~15]、酰胺基^[16]和酰基^[17,18]取代的 1,5-苯并硫氮杂草类化合物,通过体外抑菌测试发现,对真菌中的白色念珠菌和新生隐球菌具有较好的抑制作用,其中个别化合物的抑菌活性超过了临床药物氟康唑^[19]。噻吩、呋喃等杂环类化合物也具有较好的生物活性,有些已经作为抗菌药物^[20]、头孢菌素药物^[21]应用于临床。根据药物拼合原理,将分别具有活性的先导化合物的药效团结合起来,期望可以达到两者的联合效应,或者取长补短。在这种原理的指导下,曾有研究报道将吡啶^[22]、三唑^[23]等杂环基团引入到了 1,5-苯并硫氮杂草中,但均未进行抑菌活性研究。鉴于此,本文将呋喃、噻吩等活性基团引入到 1,5-苯并硫氮杂草分子中,以期实现二者活性的叠加。

试验中偶然发现,延长反应时间会使目标化合物 **3h** 发生分解,通过 ¹H NMR, ¹³C NMR, MS 确定了分解产物的结构,提出了分解反应的可能历程。目标化合物

的合成路线如 Scheme 1。

1 结果与讨论

1.1 目标化合物 3a~3l 的合成

本实验以查尔酮 **1a~1g** 和 2-氨基苯硫酚(或 4-氯-2-氨基苯硫酚)为原料,经过迈克加成和分子内环合合成目标化合物 **3a~3l**。实验中发现含噻吩环的查尔酮 **1a~1e** 与 2-氨基苯硫酚(或 4-氯-2-氨基苯硫酚)反应比较容易,在醋酸催化下,室温反应 4~6 h 即可,而含呋喃环的查尔酮 **1f~1g** 发生的反应不仅所需时间要长一些,反应的情况也较为复杂:含呋喃环的查尔酮 **1f** 和 **1g** 与 2-氨基苯硫酚能顺利反应,得到相应的目标产物 **3f** 和 **3g**,而 **1f** 和 **1g** 与 4-氯-2-氨基苯硫酚反应试图得到相应的目标产物经过多次试验却未能实现。

1.2 目标化合物的波谱特征及亚胺和烯胺结构的互变

目标化合物 **3a~3l** 的红外光谱在 3315~3348 cm⁻¹ 是 N—H 的伸缩振动吸收峰,在 1638~1647 cm⁻¹ 是羰基 C=O 的伸缩振动吸收峰。目标化合物存在着烯胺型

Scheme 1

3a~**3l**和亚胺型**4a**~**4l**两种异构体的互变平衡, 很难分离出单一异构体, 亚胺型和烯胺型互变的情况在核磁谱图中(氘代氯仿作溶剂)能清晰的看到, 以化合物**3a**为例, 见 Eq. 1.

3a的部分核磁谱图如图1所示. 图1(a)中的4个单峰分别为**3a**和**4a**中的甲基氢; 图1(b)中的两个单峰为**3a**中N—H和S—CH氢, 双重峰为**4a**中CHCH的互相耦合的两个氢, 通过积分比例可确定**3a**和**4a**的比例为3:1. 其它的目标化合物也存在着类似的互变, 只是烯胺和亚胺互变异构体的比例随着目标化合物的2位取代基的不同而有所变化. 当核磁采用DMSO-*d*₆做溶剂时发现目标化合物也存在着烯胺和亚胺的互变, 但亚胺的相对比例很小, 图谱显示的主要是烯胺型杂草的存在.

目标化合物的MS(ESI)均显示各个产物的[M]⁺或

[M+1]⁺峰.

1.3 副产物结构的确定及副反应的研究

在合成化合物**3h**时发现, 按照第3.2.3节的反应条件反应3 h即可得目标产物, 但若将该反应继续加热回流, TLC监控反应过程, 发现目标产物**3h**浓度变浅, 并生成新化合物**2**, 随着反应时间的增加又生成另一个新化合物**1**, 17 h后**3h**消失, 停止反应, 经柱层析分离得到新化合物**1**和**2**, 通过¹H NMR, ¹³C NMR和MS确定了**1**和**2**的结构如下:

2-(2-噻吩基)-5-氯苯并噻唑(**1**): ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 8.00 (d, *J*=1.9 Hz, 1H), 7.75 (d, *J*=8.5 Hz, 1H), 7.53 (d, *J*=3.5 Hz, 1H), 7.33 (dd, *J*=2, 8.5 Hz, 1H), 6.83 (dd, *J*=1.5, 2.7 Hz, 1H); ¹³C NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 163.42, 154.42, 145.60, 134.25, 132.65, 132.40, 129.52, 126.67, 125.41, 122.49, 122.04; MS (EI, 70 eV) *m/z* (%): 252.5 ([M+H]⁺, 100.0).

图1 化合物**3a**在CDCl₃中的部分¹H NMR谱图

Figure 1 ¹H NMR spectra of **3a** in CDCl₃

2-甲基-5-氯苯并噻唑(2): ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.94 (d, $J=2.0$ Hz, 1H), 7.73 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 7.33 (dd, $J=2, 8.5$ Hz, 1H), 2.84 (s, 3H); ^{13}C NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 168.96, 154.24, 133.90, 131.96, 125.19, 122.30, 122.07, 20.23; MS (EI, 70 eV) m/z (%): 184.5 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100.0).

1和2的可能形成机理分别如 Scheme 2 和 Scheme 3 所示.

按照 Scheme 2 和 Scheme 3 的反应机理, 生成 1 和 2 的同时, 还会生成乙酰丙酮和 4-(2-噻吩基)-3-丁烯-2-酮, 为了进一步验证反应机理, 做了如下的实验:

采用气相色谱法检验了乙酰丙酮的存在, 在相同的色谱条件下将乙酰丙酮标样和反应液分别进样, 发现反应液和乙酰丙酮标样均在保留时间 2.290 min 出现色谱峰, 这说明反应液中含有乙酰丙酮.

按照文献方法制备了 4-(2-噻吩基)-3-丁烯-2-酮标准品^[24], 其核磁数据如下: ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.64 (d, $J=16$ Hz, 1H), 7.41 (d, $J=5.0$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J=3.5$ Hz, 1H), 6.97 (dd, $J=5.0, 3.5$ Hz, 1H), 6.53 (d, $J=16$ Hz, 1H), 2.34 (s, 3H). TLC 点板对照反应液, 在反应液中有该化合物生成.

TLC 监控反应发现含噻吩环的目标化合物在加热条件下都会发生同样的分解, 含呋喃环的目标化合物则没有发现分解现象.

1.4 目标化合物的抑菌活性

目标化合物的抑菌测试结果显示, 当样品浓度为 200 $\mu\text{g}/\text{片}$ 时, 只有化合物 3f 对白色念珠菌(8.0 mm)、标准新生隐球菌(7.0 mm)和临床新生隐球菌(7.0 mm)有弱的抑制作用, 其它化合物对真菌类和细菌类均无抑制作用.

将杂环引入到 1,5-苯并硫氮杂草七元环中, 并没有得到所期望的活性叠加. 原因可能是抑菌活性的测定所采用的溶剂是 DMSO, 而目标产物在 DMSO 中主要是以烯胺型结构存在, 而本实验室前期所测定的有抑菌活性的均是亚胺型结构, 由此可推断出, 1,5-苯并硫氮杂草七元环中的 $\text{C}=\text{N}$ 亚胺双键可能是其药效团.

2 结论

本文从杂环醛和乙酰丙酮出发, 合成了一系列新型的含呋喃、噻吩杂环的 1,5-苯并硫氮杂草衍生物, 在合成目标产物时发现延长反应时间, 会使目标产物分解, 通过确定 4 种分解产物的结构确定了分解反应可能的历程. ^1H NMR 测试研究发现目标产物在氘代氯仿中存在着烯胺型和亚胺型结构的互变, 而在 DMSO 中却主要以烯胺型结构存在, 当采用 DMSO 作为抑菌活性测试的溶剂时, 发现目标化合物的抑菌活性较弱, 结合前期研究工作, 推断亚胺双键可能是 1,5-苯并硫氮杂草衍生物的药效团.

Scheme 2

Scheme 3

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

熔点用 T-4 显微熔点测定仪, 温度计未校正; 红外光谱用 FTIR-8900 型红外光谱仪测定, KBr 压片法; ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据由 BRUKERAC-P 500 型核磁共振仪测定, 氘代氯仿为溶剂, TMS 为内标; 质谱用美国 PMG 型质谱仪测定; 元素分析用 Vario EL III 元素分析仪测定。

所用试剂均为分析纯, 使用前均干燥精制; **1a~1g** 参照文献[12]方法合成。

3.2 实验方法

3.2.2 化合物 **3a~3g** 的合成通法

1a~1g 和 2-氨基苯硫酚反应没有得到 **2a~2g**, 而是直接得到了目标产物 **3a~3g**。

在 50 mL 的单口瓶中分别加入 **1a~1g** 3 mmol, 无水甲醇 20 mL, 2-氨基苯硫酚 3 mmol, 冰醋酸 0.1 mL, 室温搅拌 4.5 h 后浓缩, 冷冻, 析出固体, 粗品用甲醇重结晶, 得到化合物 **3a~3g**。

4-甲基-3-乙酰基-2-(2-噻吩基)-2H,3H-苯并[*f*]-1,5-硫氮杂草(**3a**): 产率 31%. m.p. 126~128 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.10~6.51 (m, 7H, ArH), 6.30 (s, 1H, NH), 5.86 (s, 1H, S-CH), 2.55 (s, 3H, COCH_3), 2.28 (s, 3H, $\text{C}=\text{CCH}_3$); IR (KBr) ν : 3339, 1639 cm^{-1} ; MS (EI, 70 eV) m/z (%): 301.9 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100.0). Anal. calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{NOS}_2$: C 63.79, H 4.98, N 4.65; found C 63.92, H 4.84, N 4.50.

4-甲基-3-乙酰基-2-(3-噻吩基)-2H,3H-苯并[*f*]-1,5-硫氮杂草(**3b**): 产率 32%. m.p. 114~116 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.07~6.56 (m, 7H, ArH), 6.21 (s, 1H, N), 5.65 (s, 1H, S-CH), 2.55 (s, 3H, COCH_3), 2.25 (s, 3H, $\text{C}=\text{CCH}_3$); IR (KBr) ν : 3339, 1638 cm^{-1} ; MS (EI, 70 eV) m/z (%): 301.9 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100). Anal. calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{NOS}_2$: C 63.79, H 4.98, N 4.65; found C 63.70, H 4.85, N 4.45.

4-甲基-3-乙酰基-2-(3-甲基-2-噻吩基)-2H,3H-苯并[*f*]-1,5-硫氮杂草(**3c**): 产率 27%. m.p. 135~137 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.13~6.65 (m, 6H, ArH), 6.42 (s, 1H, NH), 5.71 (s, 1H, S-CH), 2.54 (s, 3H, COCH_3), 2.31 (s, 3H, R- CH_3), 2.27 (s, 3H, $\text{C}=\text{CCH}_3$); IR (KBr) ν : 3339, 1647 cm^{-1} ; MS (EI, 70 eV) m/z (%): 315.9 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100). Anal. calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{ONS}_2$: C 64.76, H 5.40, N 4.44; found C 64.83, H 5.27, N 4.31.

4-甲基-3-乙酰基-2-(4-溴-2-噻吩基)-2H,3H-苯并[*f*]-1,5-硫氮杂草(**3d**): 产率 26%. m.p. 110~112 °C; ^1H

NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.25~6.28 (m, 6H, ArH), 6.27 (s, 1H, NH), 5.81 (s, 1H, S-CH), 2.54 (s, 3H, COCH_3), 2.29 (s, 3H, $\text{C}=\text{CCH}_3$); IR (KBr) ν : 3335, 1639 cm^{-1} ; MS (EI, 70 eV) m/z (%): 380.9 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100). Anal. calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{ONS}_2\text{Br}$: C 50.53, H 3.68, N 3.68; found C 50.39, H 3.81, N 3.61.

4-甲基-3-乙酰基-2-(5-甲基-2-噻吩基)-2H,3H-苯并[*f*]-1,5-硫氮杂草(**3e**): 产率 26%. m.p. 133~135 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.12~6.21 (m, 6H, ArH), 6.20 (s, 1H, NH), 5.75 (s, 1H, S-CH), 2.53 (s, 3H, COCH_3), 2.27 (s, 3H, R- CH_3), 2.24 (s, 3H, $\text{C}=\text{CCH}_3$); IR (KBr) ν : 3337, 1638 cm^{-1} ; MS (EI, 70 eV) m/z (%): 315.9 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100). Anal. calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{ONS}_2$: C 64.76, H 5.40, N 4.44; found C 64.88, H 5.30, N 4.27.

4-甲基-3-乙酰基-2-(2-呋喃基)-2H,3H-苯并[*f*]-1,5-硫氮杂草(**3f**): 产率 25%. m.p. 101~103 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.14~5.69 (m, 7H, ArH), 6.19 (s, 1H, NH), 5.65 (s, 1H, S-CH), 2.54 (s, 3H, COCH_3), 2.26 (s, 3H, $\text{C}=\text{CCH}_3$); IR (KBr) ν : 3315, 1643 cm^{-1} ; MS (EI, 70 eV) m/z (%): 285.9 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100). Anal. calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{O}_2\text{NS}$: C 67.37, H 5.26, N 4.91; found C 67.18, H 5.40, N 4.84.

4-甲基-3-乙酰基-2-(5-甲基-2-呋喃基)-2H,3H-苯并[*f*]-1,5-硫氮杂草(**3g**): 产率 29%. m.p. 124~128 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.12~5.49 (m, 6H, ArH), 6.29 (s, 1H, NH), 5.59 (s, 1H, S-CH), 2.52 (s, 3H, COCH_3), 2.27 (s, 3H, R- CH_3), 2.26 (s, 3H, $\text{C}=\text{CCH}_3$); IR (KBr) ν : 3315, 1647 cm^{-1} ; MS (EI, 70 eV) m/z (%): 299.9 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100). Anal. calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{O}_2\text{NS}$: C 68.23, H 5.69, N 4.68; found C 67.12, H 5.73, N 4.52.

3.2.3 化合物 **3h~3l** 的合成通法

1a~1e 和 4-氯-2-氨基苯硫酚反应首先得到了 **2h~2l**, **2h~2l** 发生分子内环合生成目标产物 **3h~3l**。

在 50 mL 的单口瓶中, 分别加入 **1a~1e** 3 mmol, 无水甲醇 10 mL, 4-氯-2-氨基苯硫酚 3 mmol, 室温下搅拌 1 min, 出现沉淀, 过滤, 固体用甲醇洗涤, 得到化合物 **2h~2l**。

3-乙酰基-4-(2-噻吩基)-4-(2-氨基-4-氯-苯硫基)-2-丁酮(**2h**): 产率 79%. m.p. 100~102 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.40~6.47 (m, 6H, ArH), 5.61 (s, 2H, NH_2), 4.90 (d, $J=12.0$ Hz, 1H, CH), 4.76 (d, $J=12.0$ Hz, 1H, CH), 2.30 (s, 3H, CH_3), 2.03 (s, 3H, CH_3).

3-乙酰基-4-(3-噻吩基)-4-(2-氨基-4-氯-苯硫基)-2-丁酮(**2i**): 产率 77%. m.p. 110~112 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.41~6.42 (m, 6H, ArH), 5.63 (s, 2H,

NH₂), 4.93 (d, $J=11.6$ Hz, 1H, CH), 4.78 (d, $J=11.6$ Hz, 1H, CH), 2.34 (s, 3H, CH₃), 2.01 (s, 3H, CH₃).

3-乙酰基-4-(3-甲基-2-噻吩基)-4-(2-氨基-4-氯-苯硫基)-2-丁酮(**2j**): 产率 70%. m.p. 98~100 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 6.91~6.48 (m, 5H, ArH), 5.63 (s, 2H, NH₂), 4.82 (d, $J=11.4$ Hz, 1H, CH), 4.70 (d, $J=11.4$ Hz, 1H, CH), 2.37 (s, 3H, CH₃), 2.39 (s, 3H, CH₃), 2.05 (s, 3H, R-CH₃).

3-乙酰基-4-(4-溴-2-噻吩基)-4-(2-氨基-4-氯-苯硫基)-2-丁酮(**2k**): 产率 83%. m.p. 124~126 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.49~6.42 (m, 5H, ArH), 5.57 (s, 2H, NH₂), 4.87 (d, $J=11.6$ Hz, 1H, CH), 4.63 (d, $J=11.6$ Hz, 1H, CH), 2.37 (s, 3H, CH₃), 2.09 (s, 3H, CH₃).

3-乙酰基-4-(5-甲基-2-噻吩基)-4-(2-氨基-4-氯-苯硫基)-2-丁酮(**2l**): 产率 89%. m.p. 89~91 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 6.85~6.39 (m, 5H, ArH), 5.59 (s, 2H, NH₂), 4.78 (d, $J=11.5$ Hz, 1H, CH), 4.65 (d, $J=11.5$ Hz, 1H, CH), 2.34 (s, 3H, CH₃), 2.32 (s, 3H, CH₃), 2.03 (s, 3H, R-CH₃).

在 50 mL 的单口瓶中分别加入上述 **2h**~**2l** 2 mmol, 无水甲醇 20 mL, 冰醋酸 0.1 mL, 回流反应 5h 后浓缩, 冷冻, 析出固体, 粗品用甲醇重结晶, 得到化合物 **3h**~**3l**.

7-氯-4-甲基-3-乙酰基-2-(2-噻吩基)-2H,3H-苯并[*f*]-1,5-硫氮杂草(**3h**): 产率 30%. m.p. 127~128 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.18~6.77 (m, 6H, ArH) 6.16 (s, 1H, NH) 5.82 (s, 1H, S-CH) 2.51 (s, 3H, COCH₃), 2.28 (s, 3H, C=CCH₃); IR (KBr) ν : 3344, 1650 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₆H₁₄ONS₂Cl: C 57.23, H 4.17, N 4.17; found C 57.40, H 4.28, N 4.10.

7-氯-4-甲基-3-乙酰基-2-(3-噻吩基)-2H,3H-苯并[*f*]-1,5-硫氮杂草(**3i**): 产率 32%. m.p. 132~134 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.08~6.59 (m, 6H, ArH), 6.15 (s, 1H, NH), 5.61 (s, 1H, S-CH), 2.51 (s, 3H, COCH₃), 2.25 (s, 3H, C=CCH₃); IR (KBr) ν : 3325, 164 cm⁻¹. Anal. calcd. for C₁₆H₁₄ONS₂Cl: C 57.23, H 4.17, N 4.17; found C 57.36, H 4.04, N 4.10.

7-氯-4-甲基-3-乙酰基-2-(3-甲基-2-噻吩基)-2H,3H-苯并[*f*]-1,5-硫氮杂草(**3j**): 产率 29%. m.p. 121~123 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.10~6.51 (m, 7H, ArH), 6.30 (s, 1H, NH), 5.86 (s, 1H, S-CH), 2.55 (s, 3H, COCH₃), 2.28 (s, 3H, C=CCH₃); IR (KBr) ν : 3342, 1641 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₇H₁₆ONS₂Cl: C 58.37, H 4.58, N 4.01; found C 58.48, H 4.51, N 4.16.

7-氯-4-甲基-3-乙酰基-2-(4-溴-2-噻吩基)-2H,3H-苯

并[*f*]-1,5-硫氮杂草(**3k**): 产率 35%. m.p. 141~143 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.05~6.48 (m, 5H, ArH), 6.20 (s, 1H, NH), 5.78 (s, 1H, S-CH), 2.51 (s, 3H, COCH₃), 2.29 (s, 3H, C=CCH₃); IR (KBr) ν : 3348, 1647 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₆H₁₃ONS₂ClBr: C 46.32, H 3.14, N 3.38; found C 46.42, H 3.01, N 3.30.

7-氯-4-甲基-3-乙酰基-2-(5-甲基-2-噻吩基)-2H,3H-苯并[*f*]-1,5-硫氮杂草(**3l**): 产率 27%. m.p. 135~137 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.45~6.72 (m, 5H, ArH), 6.12 (s, 1H, NH), 5.72 (s, 1H, S-CH), 2.50 (s, 3H, COCH₃), 2.32 (s, 3H, R-CH₃), 2.20 (s, 3H, C=CCH₃); IR (KBr) ν : 3337, 1636 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₇H₁₆ONS₂Cl: C 58.37, H 4.58, N 4.01; found C 58.45, H 4.51, N 4.16.

3.3 体外抗菌活性

本实验采用酵母滤纸法对目标化合物 **3a**~**3l** 进行抑菌活性的测定, 以氟康唑为对照物, 以抑菌圈直径 (单位: mm) 的大小来表示物质的抑菌活性的大小. 分别对真菌类中的白色念珠菌、新生隐球菌 (标准株和临床株), 细菌类中的大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌进行测定.

将化合物 **3a**~**3l** 用 DMSO 配制成不同的浓度系列, 用微量进样器加到经过无菌处理的滤纸片上, 使每片 (10 μ L) 含药量分别为: 200, 100, 50, 25, 12.5 μ g, 置于室温使 DMSO 挥发后备用. 将对照药物氟康唑用生理盐水配制成不同的浓度系列, 用微量进样器加到经过无菌处理的滤纸片上, 使每片含药量分别为: 10, 5, 2.5, 1.5, 0.250, 0.125, 0.0625 μ g.

将对数生长期的菌种用 M-H 液体培养基稀释成 10⁶ 个/mL CFU, 均取 0.2 mL 加到 M-H 琼脂平板上, 用 L 棒使之分布均匀, 然后将含药滤纸片贴于培养基上, 于孵化箱内 37 °C 培养 24 h, 观察并记录结果. 实验重复两次, 抑菌结果取其平均值.

References

- [1] Fabrizio, M.; Fabio, D.; Aldo, F.; Merlo, G. *J. Comb. Chem.* **2001**, 3, 224.
- [2] Prakash, O.; Kumar, A.; Sadana, A.; Prakash, R.; Singh, S. P.; Claramunt, R. M.; Sanz, D.; Alkorta, I.; Elguero, J. *Tetrahedron* **2005**, 61, 6642.
- [3] Nagao, T.; Sato, M.; Iwasawa, Y.; Takada, T.; Ishida, R. *Jpn. J. Pharmacol.* **1972**, 22, 467.
- [4] Nagao, T.; Sato, M.; Nakajima, H.; Kiyomoto, A. *Chem. Pharm. Bull.* **1973**, 21, 92.
- [5] Yamada, K.; Shimamura, T.; Nakajima, H. *Jpn. J. Pharmacol.* **1973**, 23, 321.
- [6] Bariwal, J. B.; Upadhyay, K. D.; Manvar, A. T.; Trivedi, J. C.; Singh, J. S.; Jain, K. S.; Shah, A. K. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, 43, 2279.
- [7] Grandolini, G.; Perioli, L.; Ambrogi, V. *Eur. J. Med. Chem.* **1999**,

- 34, 701.
- [8] Bajaj, K.; Archana, Kumar, A. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, 39, 369.
- [9] Ambrogi, V.; Furlani, A.; Grandolini, G.; Papaioannou, A.; Perioli, L.; Scarcia, V.; Tuttobello, L. *Eur. J. Med. Chem.* **1993**, 28, 659.
- [10] Maruenda, H.; Johnson, F. *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 2145.
- [11] Roberto, S.; Roberta, C. *Farmaco* **2005**, 60, 385.
- [12] Zhang, P.; Wang, L.-Z.; Wu, H.-S.; Lan, J.-M.; Li, Y.; Wang, Y.-X. *Chin. Chem. Lett.* **2009**, 20, 660 (in Chinese).
(张萍, 王兰芝, 吴惠妹, 蓝佳明, 李媛, 王永祥, 中国化学快报, **2009**, 20, 660.)
- [13] Li, W.-H.; Lan, J.-M.; Li, C.; Cao, Y.-T.; Wang, H.-B.; Wang, L.-Z.; Zhang, P.; Wang, Y.-X.; Li, Y. *Acta Chim. Sinica* **2009**, 67, 2732 (in Chinese).
(李文红, 兰佳明, 李成, 曹云涛, 王海波, 王兰芝, 张萍, 王永祥, 李媛, 化学学报, **2009**, 67, 2732.)
- [14] Zhang, P.; Xuan, Y.; Liu, W.; Li, Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2011**, 31, 1240 (in Chinese).
(张萍, 宣烨, 刘薇, 李媛, 有机化学, **2011**, 31, 1240.)
- [15] Zhang, P.; Huang, J. H.; Wang, L.-Z.; Liu, W.; Li, Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2010**, 30, 1939 (in Chinese).
(张萍, 黄金华, 王兰芝, 刘薇, 李媛, 有机化学, **2010**, 30, 1939.)
- [16] Li, W.-H.; Zhang, L. F.; Liu, W.; Du, X. Q.; Li, Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2011**, 31, 1252 (in Chinese).
(李文红, 张玲芬, 刘薇, 杜星琼, 李媛, 有机化学, **2011**, 31, 1252.)
- [17] Wang, L.-Z.; Zhang, P.; Zhang, X.-M.; Zhang, Y.-H.; Wang, Y.-X.; Li, Y. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, 44, 2815.
- [18] Qiu, S. L.; Wang, L.-Z.; Li, W.-H.; Li, Y. *Acta Chim. Sinica* **2011**, 69, 1217 (in Chinese).
(邱召来, 王兰芝, 李文红, 李媛, 化学学报, **2011**, 69, 1217.)
- [19] Hooton, T. M. *Infect. Dis. Clin. North. Am.* **2003**, 17, 303.
- [20] Gallo-Martínez, L.; Campín-Falcó, P.; Sevilano-Cabeza, A. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2002**, 29, 405.
- [21] Liu, M.; Zhang, W.-J.; Gao, N. *Chem. Reag.* **2009**, 31, 795 (in Chinese).
(刘敏, 章文军, 高宁, 化学试剂, **2009**, 31, 795.)
- [22] Xing, Y.; Xie, Z.-F.; Liu, F.-M. *Chem. J. Chin. Univ.* **2008**, 29, 533 (in Chinese).
(邢焯, 解正峰, 刘方明, 高等学校化学学报, **2008**, 29, 533.)
- [23] Yang, D. B.; Liu, F. M.; Shen, S. W.; Chen, S. Q. *Chin. J. Org. Chem.* **2010**, 30, 244 (in Chinese).
(杨德保, 刘方明, 沈松伟, 陈盛钦, 有机化学, **2010**, 30, 244.)
- [24] Nishiyama, Y.; Makino, Y.; Hamanaka, S.; Ogawa, A.; Sonoda, N. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1989**, 62, 1683.

(Li, L.; Lu, Z.)