吡啶-4-甲酰胺噁二唑化合物的合成及性质研究

郑娟^a 陈雨^b 吴孔丽^a 冉春玲^a 徐琰^{*,a} 宋毛平^a^(a) 郑州大学化学与分子工程学院 郑州 450001)^(b) 郑州大学基础医学院 郑州 450001)

摘要 以 4-吡啶甲酸、芳香醛为原料, 经缩合、氧化成环和酰化等反应, 合成了 4 个未见文献报道的吡啶甲酰胺噁二唑类化合物, 通过红外、核磁共振和元素分析对化合物的结构进行了表征. 研究了这 4 个化合物的荧光性质和生物活性; 荧光测试结果表明 Cu^{2+} 可以使此系列化合物的荧光猝灭, Zn^{2+} 可以增强此系列化合物 2-(吡啶-4-甲酰胺基)-5-对甲氧基苯基-1,3,4-噁二唑(**2b**)的荧光; 生物活性测试结果表明这 4 个化合物对所测的 5 种病原菌都具有较好的杀菌活性, 其中 2-(吡啶-4-甲酰胺基)-5-对甲氧基苯基-1,3,4-噁二唑(**2d**)对小麦赤霉病菌的抑制活性可达到 100%.

关键词 1,3,4-噁二唑; 荧光性质; 生物活性

Synthesis and Properties of Pyridine-4-carboxamide-1,3,4-oxadiazoles

Zheng, Juan^a Chen, Yu^b Wu, Kongli^a Ran, Chunling^a Xu, Yan^{*,a} Song, Maoping^a^(a) College of Chemistry and Molecular Engineering, Zhengzhou 450001)^(b) College of Basic Medicine, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001)

Abstract Four new 2,5-disubstituted 1,3,4-oxadiazole derivative *N*-(5-aromatic-1,3,4-oxadiazol-2-yl)picolinamides **2a**~**2d** were obtained by condensation, oxidization and acylation reactions, with isonicotinic acid and single substituted aromatic aldehydes as raw materials. These compounds were characterized by IR, ¹H NMR and elemental analysis. Fluorescence test results indicated that Cu^{2+} could make this series compounds fluorescence quenching, and Zn^{2+} could only enhance the fluorescence intensity of *N*-[5-(4-methoxyphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl]isonicotinamide (**2b**). Furthermore, those compounds all showed good fungicidal activity against the tested bacteria, and among them, *N*-(5-*p*-tolyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)isonicotinamide (**2d**) against *Gibberella zeae* was reached 100%.

Keywords 1,3,4-oxadiazole; fluorescence; biological activity

1,3,4-噁二唑化合物是一类重要的杂环化合物, 在生物医药, 农学等方面的有广泛的应用, 如抗菌、抗炎、抗有丝分裂、抗心律失常、杀虫活性等^[1-5]. 在诸多 1,3,4-噁二唑化合物中 2,5-取代的衍生物引起了科学家们相当大的兴趣, 表现在无机电致发光设备(EL)中的发光发射器^[6], 有机发光二极管(OLEDs)^[7]和电子传输, 空穴阻挡材料(ETHB), 和较高的光致发光量子产率(PLQY)^[8]. 如果在分子中同时引入两个或多个杂环活性中心, 能改善化合物的生物活性, 从而得到活性更好、应用价值更高的化合物^[9], 而杂环之间通过供电子元素(O, S)相连,

可以增强受体与配体之间的亲和力, 进一步提高生物活性^[10]. 吡啶基是一种缺电子基, 由这类基团得到的衍生物可以增强电子亲和性, 提高无机电致发光的性能^[11]. 本文以盐酸氨基脒和芳香醛为原料, 通过缩合, 液溴氧化关环制得了 2-氨基-5-芳基-1,3,4-噁二唑中间产物, 然后与 4-吡啶甲酰氯反应, 合成了 4 个新的 2,5-取代的 1,3,4-噁二唑衍生物, 并对这些化合物的结构进行了表征, 同时研究了它们的荧光性质和生物活性. 其合成路线如 Scheme 1.

* E-mail: xuyan@zzu.edu.cn

Received January 16, 2013; revised March 7, 2013; published online March 15, 2013.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21171149).

国家自然科学基金(No. 21171149)资助项目.

1 结果与讨论

1.1 荧光性质及离子响应

在室温下, 将化合物 **2a~2d** 以乙腈为溶剂配制成浓度为 1×10^{-5} mol/L 的溶液. 选择激发波长为 236 nm 进行发射波谱的扫描, 实验所得谱图如图 1 所示.

图 1 化合物 **2a~2d** 的荧光光谱图

Figure 1 The fluorescence spectra of compounds **2a~2d**

分子荧光是物质内部的电子跃迁产生的, 通过测定物质的荧光光谱, 可进一步了解物质内部的结构信息. 从图 1 看出, **2a~2d** 发射峰峰形差别不大, 这是因为化合物的结构很相似, 化合物 **2a~2d** 内部存在共轭 π 键, π - π^* 电子跃迁较强^[12], 因此荧光容易发生. 在激发波长为 236 nm 时, **2a~2d** 的最大发射波长相差不大, 也说明了对此类化合物而言, 取代基的类型和位置对最大发射峰波长没有太大的影响. 此外, **2c** 的荧光发射强度明显比其它化合物强很多, 可以推断苯环上取代基的位置会对此系列化合物的发射强度有所影响. 所以改变取代基的种类和位置, 可以影响化合物的荧光发射强度.

将金属离子 Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} 和 Ag^+ 配制成浓度为 1×10^{-5} mol/L 的标准溶液, 按体积比 1:1 加入相同浓度的化合物 **2a~2d** 中, 在和上述实验条件相同的情况下, 测定它们对化合物的荧光光谱是否有影响. 经过多次实验发现, 加入 Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} 和 Ag^+ 离子之后化合

物的荧光光谱几乎没有发生变化, 而加入 Cu^{2+} 之后化合物 **2a~2d** 的荧光就变得非常微弱, 几乎消失了, 而加入 Zn^{2+} 后化合物 **2a**, **2c** 和 **2d** 的荧光光谱没有变化, 而化合物 **2b** 的荧光强度明显增强很多, 如图 2 所示. 说明 Cu^{2+} 可以使此系列的化合物的荧光猝灭, 有望在传感器上得到应用^[13], 相反 Zn^{2+} 离子可以增强此系列化合物 **2b** 的荧光, 说明 **2b** 与 Zn^{2+} 发生了络合, 可用于离子的检测.

图 2 Zn^{2+} , Cu^{2+} 对 **2b** 荧光强度的影响图

Figure 2 The influence of fluorescence intensity to **2b**

1.2 生物活性测试

我们用离体活性测试法^[14]在 50 $\mu\text{g/mL}$ 溶度下对新化合物 **2a~2d** 进行了杀菌活性测试, 病原菌分别为小麦赤霉病菌 (*Gibberella zeae*)、黄瓜灰霉病菌 (*Botrytis cinereapers*)、黄瓜枯萎病菌 (*Fusarium oxysporium*)、苹果轮纹病菌 (*Dochiorella gregaria*) 和水稻纹枯病菌 (*Rhizoctonia solani*) 5 种病菌.

表 1 化合物 **2a~2d** 的杀菌活性

Table 1 The sterilization activity of compounds **2a~2d**

化合物	抑制率/%				
	小麦赤霉病菌	黄瓜灰霉病菌	黄瓜枯萎病菌	苹果轮纹病菌	水稻纹枯病菌
2a	96.3	80.6	80.0	58.6	37.0
2b	55.6	86.1	33.3	34.5	30.9
2c	71.5	94.2	60.4	43.2	55.4
2d	100.0	69.4	86.7	58.6	30.9

从表 1 中数据可以看出, 该系列化合物 **2a~2d** 对 5 种病原菌均表现出了不同程度的抑菌活性. 其中, **2d** 对小麦赤霉病菌的抑制率表现可以达到 100%. 由表 1 中测试结果可以看出抑菌活性与化合物的结构有很大的联系. 比较 **2b** 和 **2c**, 苯环上的取代基处于对位时的抑菌活性远低于取代基处于邻位时的抑菌活性, 这可能是苯环上取代基的空间构型与位阻对化合物的杀菌活性也有一定的影响.

2 结论

本文设计合成了 4 个新的 2,5-取代的 1,3,4-噁二唑

酰胺类化合物,研究了它们的荧光和生物活性. 化合物 **2c** 的荧光很强,有望在发光材料等领域得到应用. 化合物 **2b** 对 Zn^{2+} 有感应,可以用于 Zn^{2+} 的识别. 而 Cu^{2+} 也可以使此系列化合物的荧光发生猝灭,这一性质有望在传感器上有应用价值. 此系列化合物的杀菌活性也都比较好,并且取代基的种类对化合物的杀菌活性会有一定的影响,有些甚至达到 100%,有望开发为杀菌剂.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

北京 XT-5 精密显微熔点测定仪;美国 Nicolet 470-FTIR 红外光谱仪. HITACHI F-4500 型荧光光谱仪器;英国 Waters Micromass Q-ToF MicroTM 高分辨质谱仪;Bruker Dpx 400MHz 核磁共振仪;Flash EA 1112 型元素分析仪. 所用试剂均为市售化学纯或分析纯,使用前经过干燥处理.

3.2 实验方法

3.2.1 中间体的合成

中间体 2-氨基-5-芳基-1,3,4-噁二唑(**1**)按照文献[15]方法制备.

3.2.2 目标化合物的合成

以 2-(吡啶-4-甲酰胺基)-5-苯基-1,3,4-噁二唑(**2a**)的合成例,取 4-吡啶甲酸(0.49 g, 4 mmol),加入 5 mL 干燥的二氯亚砷,搅拌均匀后加入 2 滴 DMF 作催化剂,70 °C 下回流 4 h,反应结束后旋蒸掉多余的二氯亚砷,得白色固体 4-吡啶甲酰氯盐酸盐;接着加入无水三氯甲烷 10 mL 和 3.9 mmol 中间体 **1**,冰浴下,向反应体系中慢慢滴加 15 mL 三氯甲烷和 2.2 mL 的三乙胺的混合液,加入 3 滴吡啶作催化剂,撤去冰浴室温下反应, TLC 跟踪监测反应. 反应结束后有大量固体生成,直接过滤所得固体,用大量蒸馏水洗,真空干燥所得固体. 用柱层析对最后得到的粗产物进行纯化[展开剂: $V(\text{甲醇}):V(\text{氯仿})=1:5$]分离得 0.81 g 黄色固体,产率 76%. m.p. 149~152 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ : 12.56 (s, 1H, NH), 8.84 (d, $J=15.0$ Hz, 2H, HPy), 7.98 (d, $J=7.5$ Hz, 2H, ArH), 7.94 (d, $J=15$ Hz, 2H, HPy), 7.63~7.64 (m, 3H, ArH); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 150.95 (C=O), 132.37, 129.95, 126.57, 123.64, 122.39 (Ar); IR (KBr) ν : 3132 (N—H), 3060 (C_6H_5), 1713 (C=O), 1638 ($\text{C}_5\text{H}_4\text{N}$) cm^{-1} ; MS (ESI) m/z : 266.0804 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 289.0694 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. Anal. calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$: C 63.85, N 21.93, H 3.07; found C 63.15, N 21.04, H 3.79.

同样的方法制得 2-(吡啶-4-甲酰胺基)-5-对甲氧基苯基-1,3,4-噁二唑(**2b**):柱层析[展开剂: $V(\text{甲醇}):V(\text{氯仿})=1:4$]分离得白色固体,产率 89%. m.p. 165~169

°C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ : 11.13 (s, 1H, NH), 8.82 (d, $J=15.0$ Hz, 2H, HPy), 7.88 (d, $J=14.9$ Hz, 2H, HPy), 7.81 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, ArH), 7.13 (d, $J=7.9$ Hz, 2H, ArH), 3.85 (s, 3H, OCH_3); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 150.90 (C=O), 137.91, 127.22, 122.03, 118.59, 114.13 (Ar) 55.85 (OCH_3); IR (KBr) ν : 3437 (N—H), 3130 (C_6H_5), 1725 (C=O), 1653 ($\text{C}_5\text{H}_4\text{N}$) cm^{-1} ; MS (ESI) m/z : 319.0808 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. Anal. calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{N}_4\text{O}_2\text{Cl}$: C 60.23, N 18.57, H 3.95; found C 60.81, N 18.91, H 4.08.

2-(吡啶-4-甲酰胺基)-5-邻甲氧基苯基-1,3,4-噁二唑(**2c**):柱层析[展开剂: $V(\text{甲醇}):V(\text{氯仿})=1:5$]分离得乳白色固体,产率 63%. m.p. 171~174 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ : 9.10 (s, 1H, NH), 8.80 (d, $J=15.2$ Hz, 2H, HPy), 7.79 (d, $J=15.1$ Hz, 2H, HPy), 7.45~7.67 (m, 4H, ArH), 3.52 (s, 3H, OCH_3); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 151.10 (C=O), 138.51, 127.24, 123.22, 117.39, 115.13 (Ar) 55.83 (OCH_3); IR (KBr) ν : 3406 (N—H), 3152 (C_6H_5), 1707 (C=O), 1602 ($\text{C}_5\text{H}_4\text{N}$) cm^{-1} ; MS (ESI) m/z : 297.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 319.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 375.0, 377.0 $[\text{M}+\text{Br}]^+$. Anal. calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_3$: C 60.52, N 19.03, H 4.64; found C 60.81, N 18.91, H 4.08.

2-(吡啶-4-甲酰胺基)-5-对甲基苯基-1,3,4-噁二唑(**2d**):柱层析[展开剂: $V(\text{甲醇}):V(\text{氯仿})=1:5$]分离得乳白色固体,产率 67%. m.p. 173~174 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.88 (d, $J=15.1$ Hz, 2H, HPy), 8.12 (d, $J=15.0$ Hz, 2H, HPy), 7.98 (d, $J=7.5$ Hz, 2H, ArH), 7.38 (d, $J=7.4$ Hz, 2H, ArH), 2.49 (s, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 150.99 (C=O), 130.51, 126.55, 122.36 (Ar) 21.60 (CH_3); IR (KBr) ν : 3431 (N—H), 3159 (C_6H_5), 1717 (C=O), 1536 ($\text{C}_5\text{H}_4\text{N}$) cm^{-1} ; MS (ESI) m/z : 281.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 303.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. Anal. calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_2$: C 64.06, N 19.37, H, 4.83; found C 64.28, N 19.99, H 4.32.

3.3 生物活性测试方法

3.3.1 制备培养基

将 200 g 马铃薯去皮,并切成小块,加入蒸馏水,将其煮烂,用细纱布把滤渣过滤掉,取滤液加入 19 g 葡萄糖,16~20 g 琼脂,加热溶解,再加入蒸馏水配成 1000 mL 溶液.

3.3.2 灭菌

将上述配好的培养基转入刻度试管中,然后用湿热法,在 130 °C 时加热 30~35 min 灭菌.

3.3.3 配置

50 $\mu\text{g/mL}$ 的试样:取待测试样 3~5 mg,用适量

DMF 溶解, 加入 1~2 滴乳化剂, 然后加蒸馏水, 配制成 500 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液. 取此溶液 1.5 mL 在 46 $^{\circ}\text{C}$ 时加入上述已配好的 13.5 mL 培养基, 并趁热混合均匀. 最后倒入培养皿中, 即配成浓度为 50 $\mu\text{g/mL}$ 的试样, 静置冷却.

3.3.4 点菌

用直径为 5 mm 的打孔器将空白对照菌种琼脂片取入培养皿中, 菌丝面朝下, 确保每个培养皿中接种 3~4 种菌, 完毕后立即盖好培养皿上盖.

空白对照试验: 用上述相同的实验方法, 不加入待测试样, 每一种菌做一个空白对照实验.

病原菌的培养: 取上述点菌后的培养皿置于恒温培养箱中, 在 25 $^{\circ}\text{C}$ 下培养 48~72 h.

计算抑菌率: 测量菌斑直径, 与空白对照相比, 求抑制率. 并做一重复试验.

3.3.5 抑菌率计算方法

抑菌率 = (对照组平均菌落直径 - 处理组平均菌落直径) / 对照组平均菌落直径 $\times 100\%$

References

- [1] Marina, I.; Salomao, D. J.; Alex, A. D. O.; Fanny, P. B.; Ieda, Y. S.; Kerly, F. M. P.; Leoberto, C. T. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 6292.
- [2] Jayashankar, B.; Lokanath Rai, K. M.; Baskaran, N.; Sathish, H. S. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 3898.
- [3] Chen, H. S.; Li, Z. M.; Han, Y. F. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 5312.
- [4] (a) Holla, B. S.; Gonsalves, R.; Shenoy, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, *35*, 267.
(b) Brown, P.; Best, D. J.; Broom, N. J. P.; Cassels, R.; O'Hanlon, P. J.; Mitchell, T. J.; Osborne, N. F.; Wilson, J. M. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 2563.
- (c) Palaska, E.; Sahin, G.; Kelicen, P.; Durlu, N. T.; Altintok, G. *Farmaco* **2002**, *57*, 101.
- (d) Lokanatha Rai, K. M.; Linganna, N. *Farmaco* **2000**, *55*, 389.
- (e) Adelstein, G. W. *J. Med. Chem.* **1973**, *16*, 309.
- (f) Zheng, X.; Li, Z.; Wang, Y.; Chen, W.; Huang, Q.; Liu, C.; Song, G. *J. Fluorine Chem.* **2003**, *123*, 163.
- [5] Ramya, V. S.; Kallappa, M. H.; Rangappa, S. K.; Mallinath, H. H. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 1753.
- [6] Pan, J. F.; Zhu, W. H.; Lia, S. F.; Zeng, W. J.; Cao, Y.; Tian, H. *Polymer* **2005**, *46*, 7658.
- [7] Tao, Y. T.; Wang, Q.; Shang, Y.; Yang, C. L.; Ao, L.; Qin, J. G.; Ma, D. G.; Shuai, Z. *G. Chem. Commun.* **2009**, *3*, 77.
- [8] Brown, A. R.; Bradley, D. D. C.; Burroughs, J. H.; Friend, R. H. Greenham, N. C.; Burn, P. L.; Kraft, A. *Appl. Phys. Lett.* **1992**, *61*, 2793.
- [9] Wang, H.-W.; Zhu, W. J.; Yu, Z. R.; Li, J.; Dong, B. D.; Liao, X. C. *Chin. J. Org. Chem.* **2012**, *32*, 1888 (in Chinese).
(王海卫, 朱文娟, 于知冉, 李静, 董保东, 廖新成, 有机化学, **2012**, *32*, 1888.)
- [10] Wu, X.-L.; Zhu, C. F.; Lv, Z. D.; Wei, C. S.; Liao, X. C. *Chin. J. Org. Chem.* **2011**, *31*, 824 (in Chinese).
(武现丽, 朱春风, 吕志丹, 魏成事, 廖新成, 有机化学, **2011**, *31*, 824.)
- [11] Hwang, M. Y.; Hua, M. Y.; Chen, S. A. *Polymer* **1999**, *40*, 3233.
- [12] Lv, H. S.; Zhao, B. X.; Li, J. K.; Xia, Y.; Lian, S.; Liu, W. Y.; Gong, Z. L. *Dyes Pigm.* **2010**, *86*, 25.
- [13] Fisher, A. L.; Linton, K. E.; Kamtekar, K. T.; Pearson, C.; Bryce, M. R.; Petty, M. C. *Chem. Mater.* **2011**, *23*, 1640.
- [14] (a) Barry, A. L. In *The Antimicrobial Susceptibility Test: Principle and Practices*, Eds.: Lea, I.; Febiger, H. C., CBS Publishers and Distributors, Philadelphia, PA, USA, **1976**, p. 180.
(b) Barry, A. L. *Biol. Abstr.* **1976**, *64*, 25183.
- [15] Zhang, F. L.; Hou, Y. H.; Du, C. X.; Wu, Y. J. *Dalton Trans.* **2009**, 7359.

(Qin, X.)