新型 *S*- β -D-葡萄糖苷-1,2,4-三唑的合成及其抗菌活性研究

张瑞波 卢俊瑞* 辛春伟 刘金彪 穆江蓓

杨旭云 王宏韞 王美君 张 贺

(天津理工大学化学化工学院 天津 300384)

摘要 在氢氧化钾溶液中, 取代苯甲酰肼 **2** 与 CS₂ 生成钾盐 **3**, 然后 **3** 在水合肼作用下经过环化, 得到 3-巯基-4-氨基-5-取代芳基-1,2,4-三唑(**4**), 在氢氧化钾的丙酮溶液中, 与溴代乙酰化 α -D-吡喃型葡萄糖反应合成了 9 个 3-*S*-2',3',4',6'-四-*O*-乙酰基- β -D-吡喃葡萄糖基-4-氨基-5-取代苯基-1,2,4-三唑(**5a~5i**). 其结构经 ¹H NMR, ¹³C NMR, IR 和 HRMS 确认. 对目标化合物进行生物活性测试表明, 对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和白色念珠菌均显示了较好的抑菌活性, 其中化合物 **5g** 对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和白色念珠菌的最小抑菌浓度分别为 8, 16, 64, 2 μ g/mL, 效果接近或优于对照药物(三氯生、氟康唑)的抑菌效能, 表现出较强的抑菌活性. 利用 Autodock Vina 程序研究了目标化合物(**5a~5i**)与大肠杆菌 FabI 受体蛋白分子的相互作用和结合自由能变化规律.

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

Synthesis and Antibacterial Activities of Novel *S*- β -D-Glucosides of 1,2,4-TriazoleZhang, Ruibo Lu, Junrui* Xin, Chunwei Liu, Jinbiao Mu, Jiangbei
Yang, Xuyun Wang, Hongyun Wang, Meijun Zhang, He

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

Abstract A series potassiums **3** were prepared by substituted benzoyl hydrazide **2** and CS₂ in potassium hydroxide. These compounds **3** were converted to 4-amino-5-substituted phenyl-3-ylsulfanyl-4*H*-1,2,4-triazols (**4**) by cyclization in hydrazine hydrate. Nine novel *S*- β -D-glucosides (**5a~5i**) were synthesized by glycosylation of **4** and bromo-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranoside in the presence of potassium hydroxide with acetone as solvent. The structures of all target compounds were confirmed by ¹H NMR, ¹³C NMR, IR and HRMS spectrum. The results of preliminary bioassay show that most of the tested compounds displayed variable inhibitory activity against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *Monilia albican*. Especially, compound **5g** has strong antibacterial activity with minimum inhibitory concentration values of 8, 16, 64, 2 μ g/mL against four tested strains respectively which are similar to or higher than those of the controlled drug fluconazole or triclosan. The interaction and binding free energy of the target compounds **5a~5i** with FabI were studied by Autodock Vina.

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

杂环化合物具有广泛而良好的生物活性, 一直是药物化学研究的重点^[1]. 1,2,4-三唑衍生物作为杂环化合物的一类重要物质, 在诸多领域显示出优异的生物活性, 如抗菌^[2,3,4,5]、抗癌^[6,7,8]、抗病毒^[9]、抗消炎^[10]、抗惊厥^[11]等. 1,2,4-三唑衍生物对 HIV-RT、羊毛甾醇 14 α -去甲基化酶等病原体的靶标具有较强的亲和性和特异

性^[12], 卤代邻羟基二苯醚是靶点烯脂酰——ACP 还原酶(FabI)的指向性的酶抑制剂^[13], 据此, 本课题组设计合成了一批具有良好生物活性的邻羟基苯基三唑类化合物^[14], 证实了卤素取代能有效提高目标化合物的抗菌活性, 进一步表明“三唑环”在构建新型抗菌化合物分子中的核心作用, 证实了邻羟基苯基-1,2,4-三唑类化合物

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

Received October 15, 2014; revised November 19, 2014; published online December 9, 2014

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 21176194, 21476174).

国家自然科学基金(Nos. 21176194, 21476174)资助项目.

对白色念珠菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌具有很好的抑菌效果^[15]。但研究也发现,上述化合物的溶解性质和药物转运扩散性能有待改善。

糖类化合物是构成生命过程的主要物质之一,是维持生命活动所需能量的主要来源。糖类化合物在生命过程中起着信息传递、能量转移及物质输送的功能^[16],同时,作为体内的信息分子,糖苷类化合物在许多生物识别过程中起着重要作用,如细菌和病毒感染生物体、细胞粘附、信号传导以及分子之间的其它相互作用^[17]。近年的研究表明,糖基修饰的药物往往显示出良好的抗菌生物活性,糖基修饰已成为药物分子设计的重要手段^[1]。

为了克服 1,2,4-三唑类化合物在溶解性等方面存在的问题,创制更加优异的抗菌化合物。本文将三唑与糖基合理拼接,设计合成了一系列 *S*- β -D-葡萄糖苷-1,2,4-三唑类化合物,所得化合物结构均经 ¹H NMR, ¹³C NMR, IR, HRMS 等表征确认,其合成路线如 Scheme 1 所示。测试了目标化合物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和白色念珠菌的抗菌活性。同时通过分子对接方法,利用本组已经建立的靶标模型^[18],分析了目标化合物与大肠杆菌 FabI(烯酰-ACP 还原酶)的结合自由能变化规律,从分子与靶标相互作用层面揭示了化合物抗菌活性与结构之间可能存在的关系。

R¹=2-HOC₆H₄ (a), 4-HOC₆H₄ (b), C₆H₅ (c), 4-CH₃C₆H₄ (d), 4-ClC₆H₄ (e), 2-ClC₆H₄ (f), 4-BrC₆H₄ (g), 4-NH₂C₆H₄ (h), 3-CH₃C₆H₄ (i)

图式 1 目标化合物 5a~5i 的合成

Scheme 1 Synthesis of the target compounds 5a~5i

1 结果与讨论

1.1 糖基取代 1,2,4-三唑硫苷的合成反应

3-巯基-4-氨基-5-取代芳基-1,2,4-三唑(4)分子中同时含有巯基、氨基等活性亲核基团,这些基团均可能发生亲核取代反应。为了保证其与溴代乙酰化 α -D-吡喃型葡萄糖的亲核反应主要在 3 位巯基上进行,采用将 4 溶解

在 KOH 的丙酮溶液中,首先在强碱条件下将巯基转变为硫负离子,增强其亲核活性和反应选择性,使硫负离子优先进攻葡萄糖端基碳, C—Br 键断开, S—C 键形成,确保氨基不发生亲核反应,从而形成单一的硫糖苷。

糖苷中端基碳上溴原子的构象为直立键,由于空间效应,硫负离子从背面去进攻端基碳,端基碳构型发生 Walden 反转,故推测该反应按照 S_N2 历程进行,其反应机理如 Eq. 1。

为此,选择了极性溶剂丙酮作为反应介质促进亲核反应。实验表明,用丙酮作溶剂、在 KOH 环境下进行上述反应,能够得到单一的 Walden 反转产物,硫糖苷产品的收率普遍较高(均达 60%以上)。实验结果也证实了反应是按照 S_N2 历程进行的推测。此外,¹H NMR 谱图中,糖端基质子在 δ 5.3~5.6 出现了双峰,其偶合常数在 10.0~10.4 Hz 之间,证实 *S*- β -D-糖苷已经形成。

1.2 目标化合物的波谱分析

IR 谱图中,目标化合物 5a~5i 在 3440 cm⁻¹ 处都有较强的氨基吸收峰,在 1610~1640 cm⁻¹ 出现 1,2,4-三唑环上的 C=N 伸缩振动吸收峰,在 1750 cm⁻¹ 左右出现较强的羰基峰,说明了糖基的存在。在 1040 cm⁻¹ 出现 C—S 伸缩振动吸收峰,说明为硫糖苷而非氮糖苷。

1,2,4-三唑 5 位苯环上的取代基对 1,2,4-三唑环上的 C=N 伸缩振动吸收峰具有敏感性影响。苯环上没有取代基(5c)时, C=N 吸收峰出现在 1630 cm⁻¹ 波段;取代基为氯(5e 和 5f)和溴(5g)等吸电基时,因其吸电子诱导效应(—I),使 C=N 吸收峰发生微弱蓝移,出现在 1635 cm⁻¹ 的较高波段;取代基为氨基(5h)等较强的供电基时,因其给电子诱导效应(+I),使 C=N 吸收峰发生较大红移,出现在 1612 cm⁻¹ 的较低波段;取代基为甲基(5d)时,因其给电子诱导效应(+I)和超共轭效应(+C)的存在,使 C=N 吸收峰发生微弱红移,出现在 1624 cm⁻¹ 的较低波段。

¹H NMR 谱图中,化学位移在 δ 5.6~6.1 左右出现氨基质子峰,巯基质子峰消失,说明生成的化合物为硫糖苷而非氮糖苷。 δ 4.0~5.5 出现了多重峰,为糖环上氢的共振峰,其中在 δ 5.3~5.6 出现了双峰,其偶合常数在 10.0~10.4 Hz 之间,为糖的端基质子峰,证实了 *S*- β -D-糖苷的形成,这与相关文献报道^[2]的结论一致。另外,在 δ 2.00 附近出现糖环乙酰基中氢的吸收峰。

1,2,4-三唑 5 位苯环上的取代基对糖端基质子峰具

有敏感性影响. 苯环上没有取代基(**5c**)时, 端基质子峰出现在 δ 5.58; 取代基为羟基(**5a** 和 **5b**)和氨基(**5h**)时, 因给电子共轭效应(+C)增强, 端基质子的化学位移移向高场, 分别出现在 δ 5.56, 5.52 和 5.44. 取代基为甲基(**5d**)时, 因其给电子诱导效应(+I)和超共轭效应(+C)的共存, 端基质子的化学位移明显移向高场, 出现在 δ 5.36. 取代基为氯(**5f**)时, 因其吸电子效应(-I), 端基质子的化学位移移向低场, 出现在 δ 5.59.

IR, ^1H NMR 中的这些差异, 对研究化合物的结构与性质、结构与抗菌活性的关系和规律具有重要意义.

1.3 化合物的生物活性分析

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)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*, B.s.) (ATCC 6051)和白色念珠菌(*Monilia albican*, M.a.) (ATCC 10231), 测定结果见表 1.

表 1 化合物 **5a**~**5i** 的体外抑菌活性最小抑菌浓度($\mu\text{g/mL}$)
Table 1 *In vitro* antimicrobial activities for target compounds **5a**~**5i** expressed as MIC ($\mu\text{g/mL}$)

Compound	Gram-negative bacteria	Gram-positive bacteria		Fungus
	E.c	S.a	B.s	M.a
5a	128	64	128	8
5b	64	64	128	2
5c	128	64	64	16
5d	128	64	128	2
5e	64	32	128	32
5f	256	64	128	2
5g	8	16	64	2
5h	128	64	128	32
5i	128	64	128	2
Fluconazole	128	16	128	2
Triclosan	2	4	4	32

测试结果表明, 目标化合物对四种菌株都有一定的抑制活性. 其中化合物 **5b** (MIC=64 $\mu\text{g/mL}$), **5e** (MIC=64 $\mu\text{g/mL}$), **5g** (MIC=8 $\mu\text{g/mL}$) 对大肠杆菌的抑制活性优于氟康唑 (MIC=128 $\mu\text{g/mL}$); 所有化合物对白色念珠菌的抑制活性均优于参比药物三氯生 (MIC=32 $\mu\text{g/mL}$), 表现出优异的抗真菌活性; 目标化合物中 **5g** 表现出较强的广谱抗菌活性.

构效关系分析表明: (1) 苯环上引入卤原子能够增强目标化合物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌的抑菌活性; (2) 苯环上同一位置引入不同卤原子对目标化合物的抑菌活性有不同影响, 苯环 4 位引入溴原子的

化合物(**5g**)对四种菌的抑菌活性均优于 4 位引入氯原子的化合物(**5e**); (3) **5b** 和 **5e** 相比, 苯环 4 位羟基取代明显增强了目标化合物对真菌的抑制活性, 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相结合, 增强了化合物与靶标分子的亲合性, 从而提高其抑菌活性.

1.4 化合物结合自由能分析

分析对照药物三氯生和晶体中三氯生 redock 叠合图, 如图 1A 所示, 其 RMSD 值为 1.204 Å (小于 2 Å), 说明本方法用于化合物与大肠杆菌 FabI 对接方法可行^[19,20].

表 2 化合物与 FabI 的结合自由能
Table 2 The binding free energy of the compounds with FabI

Compd.	Vina/(kcal $\cdot\text{mol}^{-1}$)	Compd.	Vina/(kcal $\cdot\text{mol}^{-1}$)
5a	-8.30	5f	-7.30
5b	-8.10	5g	-8.40
5c	-8.10	5h	-8.00
5d	-8.30	5i	-7.30
5e	-8.30	Triclosan	-8.74

比较化合物与大肠杆菌 FabI 的对接结果, 如表 2 所示, 所有化合物的结合自由能数值都高于三氯生, 可见目标化合物对 FabI 受体的亲和力均低于三氯生, 这与大肠杆菌的活性测试结果均低于三氯生相一致. 在这些化合物中, 化合物 **5g** 的自由能数值最低, 对 FabI 受体的亲和力最高, 而化合物 **5f** 的自由能数值最高, 对 FabI 受体的亲和力最低, 这同时与抗大肠杆菌的活性测试结果中化合物 **5g** 效果最好而化合物 **5f** 效果最差相一致.

进一步比较化合物 **5g**, **5f** 以及三氯生和 FabI 的作用模式. 如图 1B 所示: 化合物 **5g** 位于活性位点中心, 可以与残基 Gly93, Ala95, Gly97, Leu100, Tyr146, Tyr156, Pro191, Ala196, Ala197, Ile200, Phe203 等形成关键疏水作用. 如图 1C 所示: 三唑环上的氮原子可以与 NAD^+ 上核糖环的 2'-羟基形成关键的氢键作用, 化合物 **5g** 的苯环与晶体复合物中三氯生的邻羟苯基几乎完全叠加. 晶体复合物中三氯生的邻羟苯基与辅酶 NAD^+ 的烟酰胺环形成了 π - π 堆积作用^[18], 因此我们可以推测化合物 **5g** 也可以与 NAD^+ 形成 π - π 堆积作用. 这些作用可以使化合物牢牢的结合在 FabI 的活性口袋中. 如图 1D 所示: 化合物 **5f** 虽然与 FabI 95 位的丙氨酸形成氢键, 但其未能与关键残基辅酶 NAD^+ 形成氢键, 因此在活性口袋中的稳定性较差, 进而影响抗菌活性.

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

美国尼高力仪器公司的 Avatar370 型红外光谱仪

图1 对照药物三氯生(黄色)和晶体中三氯生(蓝色)redock 叠合图(A)、化合物 **5g** 对接构象和 FabI 的结合模式图(B)、化合物 **5g** 对接构象和 FabI 结合的三维空间模式图(C)和化合物 **5f** 对接构象和 FabI 结合的三维空间模式图(D)

Figure 1 The redock composite map of control drug triclosan (yellow) and crystal triclosan (blue) (A), the binding modes of docking pose of compound **5g** with FabI (B), the combining three-dimensional space binding modes of docking pose of compound **5g** with FabI (C), and the combining three-dimensional space binding modes of docking pose of compound **5f** with FabI (D)

(KBr 压片); 德国 Bruker 公司的 AM400 型核磁共振仪 (TMS 为内标, DMSO- d_6 和 $CDCl_3$ 为溶剂); Waters Micromass 公司 Xevo G2 Q-ToF 高分辨质谱仪, 北京福凯仪器有限公司 X-4 精密显微熔点测定仪(温度计未校准); 广东省医疗器械厂的 LRH-250A 型生化培养箱; 上海亚荣生化仪器厂 RE-52AA 型旋转蒸发器。大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、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。取代苯甲酰肼和钾盐参考文献[15]的方法进行合成, 全乙酰化溴代葡萄糖参考文献[21]的方法合成。

2.2 实验方法

2.2.1 3-巯基-4-氨基-5-取代芳基-1,2,4-三唑(4)的合成

将 0.01 mol 化合物 **3a** 溶于 10 mL 80% 的水合肼中, 加热至回流, TLC 跟踪反应, 展开剂为 $V_{\text{乙酸乙酯}}:V_{\text{石油醚}}=1:2$, 反应结束后, 冷却至室温, 倾倒入 100 mL 的冰水中, 用 3 mol/L 盐酸调 pH 为至 5~6, 析出白色固体, 抽滤水洗, 乙醇/水重结晶, 得灰色针状晶体 **4a**, 产率 85.0%, m.p. 202.5~204.4 °C。参照上述方法制得目标化

合物 **4b~4i**。

3-巯基-4-氨基-5-(4-羟基-苯基)-1,2,4-三唑(**4b**): 白色针状结晶, 产率 81.7%, m.p. 279.1~280.3 °C (>250 °C^[22])。

3-巯基-4-氨基-5-苯基-1,2,4-三唑(**4c**): 白色针状结晶, 产率 88.0%, m.p. 201.3~202.8 °C (204~205 °C^[23])。

3-巯基-4-氨基-5-(4-甲基-苯基)-1,2,4-三唑(**4d**): 白色针状结晶, 产率 89.1%, m.p. 204.1~205.2 °C (213 °C^[24])。

3-巯基-4-氨基-5-(4-氯-苯基)-1,2,4-三唑(**4e**): 黄色粉末固体, 产率 76.7%, m.p. 190.3~191.5 °C (211~213 °C^[25])。

3-巯基-4-氨基-5-(2-氯-苯基)-1,2,4-三唑(**4f**): 白色针状结晶, 产率 80.2%, m.p. 158.6~160.2 °C (152 °C^[26])。

3-巯基-4-氨基-5-(4-溴-苯基)-1,2,4-三唑(**4g**): 白色粉末固体, 产率 73.8%, m.p. 165.7~166.9 °C (194 °C^[27])。

3-巯基-4-氨基-5-(4-氨基-苯基)-1,2,4-三唑(**4h**): 白色针状结晶, 产率 76.8%, m.p. 219.4~221.2 °C (211.9 °C^[28])。

3-巯基-4-氨基-5-(3-甲基-苯基)-1,2,4-三唑(**4i**): 白色针状结晶, 产率 79.4%, m.p. 160.7~162.4 °C (162 °C^[29])。

2.2.2 3-*S*-2',3',4',6'-四-*O*-乙酰基- β -D-吡喃葡萄糖基-4-氨基-5-取代苯基-1,2,4-三唑(5)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 **4a**, 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, 展开剂为 $V_{\text{乙酸乙酯}}:V_{\text{石油醚}}=1:1$, 减压旋蒸除掉溶剂, 溶于 20 mL 二氯甲烷中, 水洗(20 mL $\times$ 2), 水相用二氯甲烷萃取 2 次, 然后合并有机相。有机相经无水硫酸镁干燥后过滤, 减压旋干除去溶剂得粗品, 硅胶柱层析分离得目标化合物 **5a**。参照上述方法制得目标化合物 **5b~5i**。

3-*S*-2',3',4',6'-四-*O*-乙酰基- β -D-吡喃葡萄糖基-4-氨基-5-邻羟苯基-1,2,4-三唑(**5a**): 白色固体, 产率 67.3%. m.p. 76.2~77.8 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 10.55 (s, 1H, OH), 7.41 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.36 (t, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 6.98~6.91 (m, 2H, ArH), 5.56 (d, $J=10.0$ Hz, 1H, H-1'), 5.41 (t, $J_{\text{H-3'-H-4'}}=9.6$ Hz, 1H, H-1'), 5.05 (t, $J_{\text{H-2'-H-1'}}=9.6$ Hz, 1H, H-2'), 4.95 (t, $J_{\text{H-4'-H-5'}}=9.6$ Hz, 1H, H-4'), 4.16 (dd, $J=5.2, 12.0$ Hz, 1H, H-6'), 4.11 (dd, $J=5.2, 12.0$ Hz, 1H, H-6"), 4.06~3.96 (m, 1H, H-5'), 2.02, 1.99, 1.97, 1.95 (4s, 12H, CH_3CO); ^{13}C NMR (CDCl $_3$, 400 MHz) δ : 170.59, 169.92, 169.56, 169.27,

157.53, 153.74, 133.21, 132.26, 127.03, 119.87, 119.00, 117.97, 85.83, 82.92, 73.26, 69.93, 67.79, 61.55, 20.68, 20.62, 20.53, 20.26; IR (KBr) ν : 3449, 3225, 2961, 1754, 1624, 1586, 1484, 1373, 1227, 1039, 758 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 539.1459 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 539.1448, found 539.1459.

3-*S*-2',3',4',6'-四-*O*-乙酰基- β -*D*-吡喃葡萄糖基-4-氨基-5-(4-羟基-苯基)-1,2,4-三唑(**5b**): 白色固体, 产率 68.7%. m.p. 178.3~179.4 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 9.93 (s, 1H, OH), 7.89 (d, $J=8.8$ Hz, 2H, ArH), 6.88 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, ArH), 6.00 (s, 2H, NH_2), 5.52 (d, $J_{\text{H-1'-H-2'}}=10.0$ Hz, 1H, H-1'), 5.38 (t, $J_{\text{H-3'-H-4'}}=9.6$ Hz, 1H, H-3'), 5.02 (t, $J_{\text{H-2'-H-1'}}=9.4$ Hz, 1H, H-2'), 4.97 (t, $J_{\text{H-4'-H-5'}}=9.6$ Hz, 1H, H-4'), 4.12 (dd, $J=5.2, 12.0$ Hz, 1H, H-6'), 4.07 (dd, $J=5.2, 12.0$ Hz, 1H, H-6''), 4.03~3.99 (m, 1H, H-5'), 2.08, 1.99, 1.96, 1.89 (4s, 12H, CH_3CO); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 170.43, 169.96, 169.72, 169.61, 159.44, 154.87, 148.38, 130.00, 117.96, 115.69, 83.13, 75.14, 73.30, 70.38, 68.22, 62.23, 20.88, 20.82, 20.78, 20.73; IR (KBr) ν : 3442, 3230, 1751, 1614, 1467, 1401, 1223, 1045, 848 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 539.1461 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 539.1448, found 539.1461.

3-*S*-2',3',4',6'-四-*O*-乙酰基- β -*D*-吡喃葡萄糖基-4-氨基-5-苯基-1,2,4-三唑(**5c**): 黄色固体, 产率 65.5%. m.p. 79.5~80.3 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 8.04 (dd, $J=1.6, 8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.75~7.73 (m, 1H, ArH), 7.53~7.51 (m, 3H, ArH), 6.10 (s, 2H, NH_2), 5.58 (d, $J=10.4$ Hz, 1H, H-1'), 5.40 (t, $J_{\text{H-3'-H-4'}}=9.6$ Hz, 1H, H-3'), 5.04 (t, $J_{\text{H-2'-H-1'}}=9.4$ Hz, 1H, H-2'), 4.95 (t, $J_{\text{H-4'-H-5'}}=9.6$ Hz, 1H, H-4'), 4.14 (dd, $J=5.2, 12.0$ Hz, 1H, H-6'), 4.0 (dd, $J=5.2, 12.0$ Hz, 1H, H-6''), 4.04~3.96 (m, 1H, H-5'), 2.07, 1.99, 1.96, 1.89 (4s, 12H, CH_3CO); ^{13}C NMR (CODCl₃, 400 MHz) δ : 174.54, 169.94, 169.66, 169.41, 155.05, 151.00, 128.85, 128.64, 128.55, 128.49, 128.16, 127.31, 85.99, 76.34, 73.26, 69.97, 67.91, 61.75, 20.67, 20.55, 20.51, 20.37; IR (KBr) ν : 3424, 2958, 1753, 1630, 1549, 1468, 1372, 1226, 1040, 913, 773, 696 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 523.1498 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{O}_9\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 523.1499, found 523.1498.

3-*S*-2',3',4',6'-四-*O*-乙酰基- β -*D*-吡喃葡萄糖基-4-氨基-5-(4-甲基-苯基)-1,2,4-三唑(**5d**): 白色固体, 产率 64.0%. m.p. 84.3~85.7 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 7.87 (d, $J=7.6$ Hz, 2H, ArH), 7.36 (d, $J=6.0$ Hz, 1H, ArH), 7.30 (d, $J=4.8$ Hz, 1H, ArH), 5.36 (d, $J=10.0$

Hz, 1H, H-1'), 5.22 (t, $J_{\text{H-3'-H-4'}}=8.0$ Hz, 1H, H-3'), 4.92 (t, $J_{\text{H-2'-H-1'}}=9.4$ Hz, 1H, H-2'), 4.97 (t, $J_{\text{H-4'-H-5'}}=9.6$ Hz, 1H, H-4'), 4.14 (d, $J=11.6$ Hz, 1H, H-6'), 4.11 (d, $J=11.6$ Hz, 1H, H-6''), 4.04~3.99 (m, 1H, H-5'), 2.37 (s, 3H, CH_3), 2.02, 1.99, 1.96, 1.94 (4s, 12H, CH_3CO); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 170.46, 170.17, 169.87, 169.65, 130.04, 126.45, 89.46, 82.94, 75.19, 73.43, 71.29, 70.49, 69.85, 68.99, 68.42, 66.76, 62.61, 62.24, 21.44, 21.00, 20.93, 20.83, 20.75; IR (KBr) ν : 3449, 2963, 1751, 1624, 1502, 1435, 1378, 1226, 1041, 824 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 537.1672 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_9\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 537.1655, found 537.1672.

3-*S*-2',3',4',6'-四-*O*-乙酰基- β -*D*-吡喃葡萄糖基-4-氨基-5-(4-氯-苯基)-1,2,4-三唑(**5e**): 黄色固体, 产率 63.9%. m.p. 78.2~79.6 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 7.78 (d, $J=8.8$ Hz, 2H, ArH), 7.60 (d, $J=8.8$ Hz, 2H, ArH), 6.10 (s, 2H, NH_2), 5.55 (dd, $J_{\text{H-1'-H-2'}}=10.4$ Hz, 1H, H-1'), 5.40 (t, $J_{\text{H-3'-H-4'}}=9.6$ Hz, 1H, H-3'), 5.06 (t, $J_{\text{H-2'-H-1'}}=9.6$ Hz, 1H, H-2'), 4.96 (t, $J_{\text{H-4'-H-5'}}=9.2$ Hz, 1H, H-4'), 4.14 (dd, $J=5.2, 11.6$ Hz, 1H, H-6'), 4.10 (dd, $J=4.4, 10.4$ Hz, 1H, H-6''), 4.03~3.97 (m, 1H, H-5'), 2.03, 1.99, 1.96, 1.95 (4s, 12H, CH_3CO); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 170.34, 169.94, 169.71, 169.52, 149.69, 135.31, 130.061, 129.62, 129.09, 83.19, 75.21, 73.32, 70.47, 68.18, 62.12, 20.86, 20.79, 20.70, 20.50; IR (KBr) ν : 3445, 1753, 1632, 1460, 1430, 1375, 1225, 1042, 836 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 557.1119 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{ClN}_4\text{O}_9\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 557.1109, found 557.1119.

3-*S*-2',3',4',6'-四-*O*-乙酰基- β -*D*-吡喃葡萄糖基-4-氨基-5-(2-氯-苯基)-1,2,4-三唑(**5f**): 黄色固体, 产率 63.20%. m.p. 66.6~67.9 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 7.64 (dd, $J=2.8, 5.2$ Hz, 1H, ArH), 7.60~7.56 (m, 1H, ArH), 7.50~7.49 (m, 2H, ArH), 5.59 (d, $J=10.4$ Hz, 1H, H-1'), 5.43 (t, $J_{\text{H-3'-H-4'}}=9.4$ Hz, 1H, H-3'), 5.06 (t, $J_{\text{H-2'-H-1'}}=9.6$ Hz, 1H, H-2'), 4.96 (t, $J_{\text{H-4'-H-5'}}=9.6$ Hz, 1H, H-4'), 4.15 (dd, $J=5.2, 12.0$ Hz, 1H, H-6'), 4.11 (dd, $J=5.2, 12.0$ Hz, 1H, H-6''), 4.04~3.96 (m, 1H, H-5'), 2.10, 2.03, 1.99, 1.98 (4s, 12H, CH_3CO); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 170.41, 169.95, 169.72, 169.58, 149.21, 133.66, 132.82, 132.45, 130.26, 127.72, 126.45, 83.07, 75.24, 73.32, 70.49, 68.22, 62.17, 20.90, 20.86, 20.79, 20.71; IR (KBr) ν : 3446, 2961, 1752, 1635, 1441, 1376, 1226, 1046, 767 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 557.1107 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{ClN}_4\text{O}_9\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 557.1109, found 557.1107.

3-*S*-2',3',4',6'-四-*O*-乙酰基- β -*D*-吡喃葡萄糖基-4-氨基-5-(4-溴-苯基)-1,2,4-三唑(**5g**): 黄色固体, 产率 65.6%. m.p. 152.7~153.8 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 8.03 (d, $J=8.8$ Hz, 2H, ArH), 7.76 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, ArH), 6.10 (s, 2H, NH₂), 5.57 (d, $J=10.0$ Hz, 1H, H-1'), 5.39 (t, $J_{\text{H-3'-H-4'}}=9.6$ Hz, 1H, H-3'), 5.05 (t, $J_{\text{H-2'-H-1'}}=9.6$ Hz, 1H, H-2'), 4.98 (t, $J_{\text{H-4'-H-5'}}=9.2$ Hz, 1H, H-4'), 4.13 (dd, $J=5.2, 11.6$ Hz, 1H, H-6'), 4.08 (dd, $J=5.2, 12.0$ Hz, 1H, H-6''), 4.03~4.00 (m, 1H, H-5'), 2.06, 1.99, 1.96, 1.90 (4s, 12H, CH₃CO); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 170.41, 169.96, 169.72, 169.62, 153.92, 149.62, 132.04, 130.23, 126.45, 123.99, 82.93, 75.19, 73.31, 70.37, 68.19, 62.19, 20.88, 20.82, 20.81, 20.74; IR (KBr) ν : 3450, 1751, 1635, 1454, 1382, 1226, 1094, 828 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 601.0608 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS calcd for C₂₂H₂₆BrN₄O₉S $[\text{M}+\text{H}]^+$ 601.0604, found 601.0608.

3-*S*-2',3',4',6'-四-*O*-乙酰基- β -*D*-吡喃葡萄糖基-4-氨基-5-(4-氨基-苯基)-1,2,4-三唑(**5h**): 黄色固体, 产率 65.2%. m.p. 122.4~123.8 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 7.39 (d, $J=8.8$ Hz, 2H, ArH), 6.61 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, ArH), 5.63 (s, 2H, NH₂), 5.44 (d, $J=10.0$ Hz, 1H, H-1'), 5.39 (t, $J_{\text{H-3'-H-4'}}=9.6$ Hz, 1H, H-3'), 5.01 (t, $J_{\text{H-2'-H-1'}}=9.6$ Hz, 1H, H-2'), 4.93 (t, $J_{\text{H-4'-H-5'}}=8.8$ Hz, 1H, H-4'), 4.15 (dd, $J=5.2, 11.6$ Hz, 1H, H-6'), 4.11 (dd, $J=5.2, 12.0$ Hz, 1H, H-6''), 3.97~3.94 (m, 1H, H-5'), 2.03, 1.99, 1.96, 1.94 (4s, 12H, CH₃CO); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 170.37, 169.94, 169.72, 169.52, 151.49, 150.78, 129.46, 128.45, 114.15, 113.70, 83.58, 75.14, 73.33, 70.65, 68.18, 62.14, 20.88, 20.79, 20.71, 20.39; IR (KBr) ν : 3380, 3231, 2959, 1758, 1612, 1471, 1373, 1228, 1040, 838 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 538.1601 $[\text{M}+\text{H}]^+$, HRMS calcd for C₂₂H₂₈N₅O₉S $[\text{M}+\text{H}]^+$ 538.1608, found 538.1601.

3-*S*-2',3',4',6'-四-*O*-乙酰基- β -*D*-吡喃葡萄糖基-4-氨基-5-(3-甲基-苯基)-1,2,4-三唑(**5i**): 黄色固体, 产率 67.3%. m.p. 173.9~174.5 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 7.86 (s, 1H, ArH), 7.84 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.42 (t, $J=7.6, 7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.34 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 6.07 (s, 2H, NH₂), 5.57 (d, $J=10.4$ Hz, 1H, H-1'), 5.40 (t, $J_{\text{H-3'-H-4'}}=9.6$ Hz, 1H, H-3'), 5.04 (t, $J_{\text{H-2'-H-1'}}=9.4$ Hz, 1H, H-2'), 4.98 (t, $J_{\text{H-4'-H-5'}}=9.6$ Hz, 1H, H-4'), 4.07~4.15 (m, 2H, H-6', H-6''), 4.02 (d, $J=10.4$ Hz, 1H, H-5'), 2.39 (s, 3H, CH₃), 2.07, 1.99, 1.96, 1.90 (4s, 12H, CH₃CO); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 170.43, 169.98, 169.73, 169.63, 149.16, 138.16, 130.95, 128.84,

128.83, 127.16, 125.57, 82.99, 75.19, 73.33, 70.39, 68.22, 62.21, 21.46, 20.86, 20.80, 20.76, 20.71; IR (KBr) ν : 3448, 2958, 1746, 1637, 1437, 1376, 1241, 1098, 1060, 795 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 537.1641 $[\text{M}+\text{H}]^+$, HRMS calcd for C₂₃H₂₉N₄O₉S $[\text{M}+\text{H}]^+$ 537.1655, found 537.1641.

2.2.3 分子对接

利用本组建立的 FabI 靶标模型, Autodock Vina 程序研究上述化合物与靶标对接情况. 其中对接所用的酶为大肠杆菌烯脂酰-ACP 还原酶 FabI, 来自 Protein Data Bank 数据库获取代号为 1C14 的 FabI-NAD⁺-TCL 三元复合物结构, 删除 B 链蛋白以及其中的水分子和三氯生分子的结构信息, 将 FabI-NAD⁺二元复合物结构作为受体模型. 目标化合物由 Chem3D 构建转化为 3D 结构, 并在 MMFF94 力场下进行结构优化, 保存为 mol2 格式, 再用 Raccoon 处理, 保存为 pdbqt 格式用于分子对接.

在 Autodock Vina 程序对接的过程中, 以晶体结构三氯生分子醚氧原子坐标作为格点中心: X-center: 25, Y-center: 3.510, Z-center: 136.478, 格点区域大小参数为: X-size: 25, Y-size: 25, Z-size: 25. 搜索中的 exhaustiveness 设置为 8, 其他参数采用默认值.

辅助材料(Supporting Information) 所合成的目标化合物的红外、核磁共振氢谱、核磁共振碳谱及高分辨质谱图. 这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载.

References

- [1] Yang, B. *Ph.D. Dissertation*, Ocean University of China, Qingdao, **2005** (in Chinese). (杨波, 博士论文, 中国海洋大学, 青岛, **2005**.)
- [2] El Ashry, E. S. H.; El Tamany, E. S. H.; El Fattah, M. E. D. A.; Boraie, A. T. A.; Abd El-Nabi, H. M. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *66*, 106.
- [3] Sumangala, V.; Poojary, B.; Chidananda, N.; Arulmoli, T. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *54*, 59.
- [4] Prasad, D. J.; Ashok, M.; Karegoudar, P.; Poojary, B.; Holla, B. S.; Kumari, N. S. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 551.
- [5] Turan-Zitouni, G.; Kaplancikli, Z. A.; Yildiz, M. T.; Chevallet, P.; Kaya, D. *Eur. J. Med. Chem.* **2005**, *40*, 607.
- [6] Shavarama, H. B.; Narayana, P. K.; Sooryanarayana, R. B.; Shivananda, M. K. *Eur. J. Med. Chem.* **2002**, *37*, 511.
- [7] Mavrova, A. T.; Wesselinova, D.; Tsenov, Y. A.; Denkova, P. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 63.
- [8] Feng, C. T.; Wang, L. D. *Med. Chem. Res.* **2012**, *21*, 315.
- [9] Bakr, F.; Wahab, A.; Abdel-Latif, E.; Mohameda, H. A. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *52*, 263.
- [10] Almasirad, S. A.; Tabatabai, M.; Faizi, A.; Kebriaeezadeh, N.; Mehrabi, A.; Dalvandi, A. S. *Bioorg Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 6057.
- [11] Amir, M.; Shikha, K. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, *39*, 535.

- [12] 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.)
- [13] Levy, C. W.; Roujeinikova, A.; Sedelnikova, S.; Baker, P. J.; Stuitje, A. R.; Slabas, A. R.; Rice, D. W.; Rafferty, J. B. *Nature* **1999**, *398*(6726), 383.
- [14] 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.)
- [15] Ji, D.; Lu, J. R.; Lu, B. W.; Xin, C. W.; Peng, C. Y.; Bao, X. R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 1997.
- [16] Varki, A. *Glycobiology* **1993**, *3*, 97.
- [17] Ji, D.; Lu, J. R.; Xin, C. W.; Peng, C. Y.; Mu, J. B. *Chin. J. Org. Chem.* **2013**, *33*, 1062 (in Chinese).
(戢丹, 卢俊瑞, 辛春伟, 彭春勇, 穆江蓓, 有机化学, **2013**, *33*, 1062.)
- [18] Ai, Y. X.; Lu, J. R.; Xin, C. W.; Mu, J. B.; Yang, X. Y.; Zhang, H. *Acta Phys.-Chim. Sin.* **2014**, *30*, 559 (in Chinese).
(艾义新, 卢俊瑞, 辛春伟, 穆江蓓, 杨旭云, 张贺, 物理化学学报, **2014**, *30*, 559.)
- [19] Andresas, K. *Molecular Modeling of Proteins*, Totowa, NJ, **2008**, p. 371.
- [20] Ai, Y. X. *M.S. Thesis*, Tianjin University of Technology, Tianjin, **2014** (in Chinese).
(艾义新, 硕士论文, 天津理工大学, 天津, **2014**.)
- [21] Mark, J. B.; Claire, A. T.; Joanne, E. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 2430.
- [22] Arul, K.; Anto, A. *Int. J. Clin. Pharm-net.* **2014**, *6*, 213.
- [23] Wang, X.Y.; Wang, H.; Chen, P. Y.; Pang, Y. P.; Zhao, Z. L.; Wu, Z.C. *J. Chem.* **2014**.
- [24] Li, W. H. *CN 102329273*, **2012** [*Chem. Abstr.* **2012**, *156*, 230657].
- [25] Dilipkumar, P.; Vipul, S.; Pandey, D. D.; Maurya, R. K. *Int. J. Clin. Pharm-net.* **2014**, *6*, 213.
- [26] Lakshman, A. B.; Gupta, R. L. *Asian J. Chem.* **2009**, *21*, 86.
- [27] An, Y.; Zhang, T.; Jiang, H.; Zhang, L.; Han, J.; Yao, M. X. *Chin. J. Org. Chem.* **2012**, *32*, 1308 (in Chinese).
(安悦, 张婷, 姜华, 张琳, 韩杰, 姚明星, 有机化学, **2012**, *32*, 1308.)
- [28] Lakshman, A. B.; Gupta, R. L. *Asian J. Chem.* **2009**, *21*, 86.
- [29] Wang, X. Q.; Zhao, Z. G.; Li, W. J.; Liu, X. L.; Han, T. *Chin. J. Org. Chem.* **2010**, *30*, 764 (in Chinese).
(王晓庆, 赵志刚, 李伟杰, 刘兴利, 韩涛, 有机化学, **2010**, *30*, 764.)

(Lu, Y.)