杂环酮腙与类似物的合成及其对结核杆菌的抑制活性

李忠洲^a 赵升^a 李新军^a 王翠翠^a
姚璐璐^a 金瑞良^b 邹新琢^{*,a}(^a 华东师范大学化学系 上海 200241)(^b 同济大学附属上海肺科医院上海市结核病(肺)重点实验室 上海 200433)

摘要 22个新的杂环酮腙及其类似物被合成, 其对结核分枝杆菌菌株 H37Rv 的抑菌活性被测定. 这些化合物都显示出抑菌活性. 其中, 化合物(1*E*,4*E*)-1,5-二(5'-溴-2'-噻吩基)-1,4-戊二烯-3-酮-(1',4',5',6'-四氢嘧啶基)腙(**1d**)的 MIC₉₀ 为 2 μg/mL, 显示出最高的抑菌活性; 同时该化合物对单耐异烟肼菌株 242、耐多药菌株 2312 和广泛耐药菌株 1220 的 MIC₉₀ 值分别为 0.25, 1.0 和 0.5 μg/mL, 也表现出很好的抑菌作用.

关键词 杂环酮腙; 合成; 结核分枝杆菌; 抑菌活性

Synthesis and Anti-mycobacterial Activities of Heterocyclic Hydrazones and Their Bioisosteric Compounds

Li, Zhongzhou^a Zhao, Sheng^a Li, Xinjun^a Wang, Cuicui^a
Yao, Lulu^a Jin, Ruiliang^b Zou, Xinzhuo^{*,a}(^a Department of Chemistry, East China Normal University, Shanghai 200241)(^b Shanghai Key Laboratory of Tuberculosis, Shanghai Pulmonary Hospital, Tongji University, Shanghai 200433)

Abstract A total of 22 new heterocyclic hydrazones and their bioisosteric compounds were synthesized and evaluated for their activity against *Mycobacterium tuberculosis*, strain H37Rv. All newly synthesized compounds showed inhibitory activities. Among these compounds, (1*E*,4*E*)-1,5-bis(5-bromo-2-thiophenyl)-1,4-pentadiene-3-one-(1,4,5,6-tetrahydro-2-pyrimidinyl)-hydrazone (**1d**) showed the most effective anti-tubercular activity with MIC₉₀ value of 2 μg/mL, and exhibited an excellent inhibitory activity against isoniazid-resistant strain 242, multidrug-resistant strain 2312, and extensively drug-resistant strain 1220 with MIC₉₀ values of 0.25, 1.0 and 0.5 μg/mL, respectively.

Keywords heterocyclic hydrazone analogs; synthesis; *Mycobacterium tuberculosis*; anti-mycobacterial activity

肺结核(TB)是由结核分枝杆菌(MTB)引起的一种传染病, 被称为传染病中的头号杀手, 曾给人类带来了巨大的灾难. 利福平、异烟肼、乙胺丁醇等特效药物的成功开发及其有效的组合疗法^[1,2], 使该病得到有效控制. 近年来, 由于这些药物的长期的使用, 产生了单耐、耐多药和死亡率极高的广泛耐药菌^[3~6]; 此外, 艾滋病感染并发症的传播^[7~9]等因素, 使防治的难度增大. 2012年, 全球有将近 860 万人受到感染, 约 130 万人死于此病^[10~13]. 此外, 现有的结核病治疗方法疗程长, 至少需要 6 个月以上, 易引起眼、肝炎等产生药物不良反应^[1,14,15]. 结核病防治形势严峻性近年来受到关注, 抗结核病新药的研发速度明显加快, 已有多种候选药物

进入临床开发阶段^[16~19]. 但不断研究开发具有新的作用机制、药效好且对耐多药菌和广泛耐药菌株也同样有效、安全、低成本的新药物仍是目前的重要目标^[20,21]. 腙类化合物由于具有抗菌、抗 HIV、抗病毒以及抗肿瘤等多种广泛生理活性, 近年来其研究受到重视^[22]; 一些腙类化合物还具有杀虫活性^[23]. 赵升等为了寻找有灭杀白蚁活性的化合物, 合成了一些取代芳基烯酮腙类化合物^[24]; 而异烟腙是一个早期治疗肺结核的药物^[25]. 因为二者化学结构较为相似, 我们推测杂环酮腙类化合物也可能对结核菌也具有抑菌活性, 于是设计和合成了一些相关的杂环酮腙及其类似化合物(图 1), 并测定了这些化合物对结核分枝杆菌菌株 H37Rv (ATCC

* E-mail: xzzou@chem.ecnu.edu.cn

Received December 4, 2014; revised January 21, 2015; published online February 2, 2015.

27294)的抑菌活性(表 1).

图 1 异烟肼和合成化合物的化学结构式

Figure 1 Chemical structures of isoniazone and synthesized compounds

1 结果与讨论

首先, 我们设计了一些由芳香杂环、氢化嘧啶和氢化咪唑等脂环类杂环构成的酮肼化合物 **1a~1p**(图 1 和表 1). 为了比较, 也合成了一个含苯环的酮肼化合物 **1i**. 这些化合物的合成路线如 Scheme 1 所示. 结构对称的酮肼 **1a~1i** 分别以相应的杂环芳香醛 **4** 和丙酮在 10% 氢氧化钠溶液作用下, 以良好的收率得到结构对称的不饱和烯酮 **5**. 然而, 含吡啶环的不饱和烯酮 **5** 未能用该方法获得. 这是因氢氧化钠碱性较强, 导致吡啶甲醛发生了歧化反应. 参照 Merz 等^[26]的方法, 选择以碱性比较弱的三乙胺为催化剂, 吡啶甲醛和丙酮二羧酸反应, 可以中等收率得到了此烯酮. 杂环芳香醛 **4** 和杂环芳香基甲酮 MeCOY 在氢氧化钠作用下, 以良好的收率地得到结构不对称的烯酮 **5**. 进一步, 不饱和烯酮 **5** 和相应的溴化氢肼盐($\text{NH}_2\text{NH}\cdot\text{Z}\cdot\text{HBr}$) 在少量的氢溴酸催化下回流反应, 用饱和 Na_2CO_3 溶液中和后可以良好的收率得到酮肼化合物 **1a~1p**. 实验中使用的溴化氢肼盐($\text{NH}_2\text{NH}\cdot\text{Z}\cdot\text{HBr}$)按文献^[27~34]方法制备得到.

实验发现一些结构对称的酮肼化合物如 **1g** 在二甲亚砜(DMSO)中溶解度较小. 为此, 试探性地设计和合成了一些具有类似杂环结构的羟胺类化合物 **2a~2e** 以及酮肼化合物 **1** 的电子等排体化合物 **3a~3b**, 希望能改善这些化合物的溶解性并考察它们的生物活性. 不饱和烯酮 **5** 在二氯甲烷中和冰盐浴的条件下, 用 $(\text{CH}_3)_2\text{S}/(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4/t\text{-BuOK}$ 处理得到了环氧化合物 **6**^[35]. 这些在邻位具有双键结构的环氧化合物 **6** 在纯化过程中易发生重排反应^[36], 因此未经纯化就直接与相应的胺类化合物作用合成得到目标化合物 **2a~2e**. 化合物 **3** 由相应的羟胺类化合物用 HCl 脱水得到. 所有目标化合物的结构由 NMR 等得到表征.

目标化合物对结核分枝杆菌菌株 H37Rv 的抑菌活性按文献报道的方法进行了测定^[37]. 其体外抑菌活性

Reagents and conditions: (a) acetone or MeCOY , ethanol, 10% NaOH , $-5\sim 0\text{ }^\circ\text{C}$ and then to r.t., 6 h; (b) $\text{NH}_2\text{NH}\cdot\text{Z}\cdot\text{HBr}$, ethanol, concentrated HBr , saturated Na_2CO_3 and reflux; (c) $(\text{CH}_3)_2\text{S}/(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4/t\text{-BuOK}$, CH_2Cl_2 , ice-salt bath; (d) amine (1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-amine, pyrimidin-2-amine, pyrazin-2-amine or 1*H*-1,2,4-triazole), NaOH , DMF, $50\text{ }^\circ\text{C}$; (e) concentrated HCl (l) or HCl (g), THF, r.t.

图式 1 化合物 **1a~1p** 的合成路线

Scheme 1 Synthetic route of compounds **1a~1p**

的测定结果汇总在表 1 中. 含噻吩环的化合物 **1b** 表现出较好的抑菌活性, 其 MIC_{90} 为 $8\text{ }\mu\text{g/mL}$. 当噻吩环被呋喃环(**1a**)、吡啶环(**1h**)、苯环(**1i**)取代, 其抑菌活性都有下降, MIC_{90} 分别为 32、16 和 $32\text{ }\mu\text{g/mL}$. 由于化合物 **1h** 在 DMSO 中的溶解度较小, 因此它的 MIC_{90} 值未能准确测定. 比较含有 2-噻吩环的化合物 **1b**、**1c** 和 **1d**, 可知甲基的存在导致化合物 **1c** 的抑菌活性下降(MIC_{90} 为 $32\text{ }\mu\text{g/mL}$); 而溴的引进使化合物 **1d** 的抑菌活性提高(MIC_{90} 为 $2\text{ }\mu\text{g/mL}$). 比较含有 2-噻吩环结构的化合物 **1d**、**1e** 和 **1f**, 发现它们的抑菌活性相差不大, MIC_{90} 分别为 2、4 和 $8\text{ }\mu\text{g/mL}$, 都表现出较好的抑菌活性, 说明 Z 部分环的大小和取代基的存在与否对化合物的抑菌活性影响不大. Z 为 1,4,5,6-四氢-2-嘧啶基时(**1d**), 显示出最高的抑菌活性(MIC_{90} 为 $2\text{ }\mu\text{g/mL}$). 具有不对称取代基的化合物 **1j~1p** 在 DMSO 中有很好的溶解性, 对结核分枝杆菌表现出中等的抑菌活性(MIC_{90} 为 $4\sim 32\text{ }\mu\text{g/mL}$). 其中化合物 **1o** 显示出最高的抑制活性(MIC_{90} 为 $4\text{ }\mu\text{g/mL}$). 更换 1,4,5,6-四氢-2-嘧啶基为 1,4,5-三氢-2-咪唑基(**1n**)或 1,4,5,6-四氢-5,5-二甲基-2-嘧啶基(**1p**)都会导致其抑菌活性略有下降(MIC_{90} 为 $8\text{ }\mu\text{g/mL}$). 化合物 **1j~1m** 的抑菌活性比相对应的化合物 **1n~1p** 略为低些.

羟胺类化合物 **2a~2e** 也同样显示出中等的抑菌活性, MIC_{90} 值为 $8\sim 16\text{ }\mu\text{g/mL}$, 它们在 DMSO 中也有很好的溶解性. 当 Z 为芳香杂环时的化合物 **2b~2d** 的抑菌活性比 Z 为脂杂环时的化合物 **2a** 低. 化合物 **2b** 中的一

表 1 杂环酮腙及其类似物对结核分枝杆菌菌株 H37Rv 的抑菌活性

Table 1 Anti-mycobacterial activities of heterocyclic hydrazones and their bioisosteric compounds against MTB (strain H37Rv)

<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> $\text{X}-\text{CH}=\text{N}-\text{NH}-\text{Z}$ 1a ~ 1p </div> <div style="text-align: center;"> $\text{X}-\text{CH}=\text{C}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{Z}$ 2a ~ 2e </div> <div style="text-align: center;"> $\text{X}-\text{CH}=\text{C}(\text{Z})-\text{CH}_2-\text{Z}$ 3a ~ 3b </div> </div>				
Compd.	X	Y	Z	MIC ₉₀ ^a /(μg·mL ⁻¹)
1a				32
1b				8
1c				32
1d				2
1e				4
1f				8
1g				> 128
1h				16
1i				32
1j				16
1k				16
1m				32
1n				8
1o				4
1p				8
2a				8
2b				16

续表

Compd.	X	Y	Z	MIC ₉₀ ^a /(μg·mL ⁻¹)
2c				16
2d				16
2e				8
3a				32
3b				8
SM ^b				0.5~1
INH ^c				<0.0625
RFP ^d				<0.0625
EMB ^e				0.5~1

^a MIC₉₀: 90% minimal inhibitory concentration. ^b SM: streptomycin. ^c INH: isoniazid. ^d RFP: rifampicin. ^e EMB: ethambutol.

个 4-氯苯基被 2-溴噻吩基代替时(2e), 其抑制活性有所提高. 同样, 化合物 3b 的活性也高于化合物 3a.

在所有测试的化合物中, 化合物 1d 对 MTB 显示出最高的抑菌活性(MIC₉₀ 为 2 μg/mL). 因此, 该化合物被进一步测试了对结核分枝杆菌的耐药菌株体外活性. 结果表明, 化合物 1d 对单耐异烟肼菌株 242 (WHO 质控菌株)的 MIC₉₀ 为 0.25 μg/mL; 耐多药菌株 2312(上海市肺科医院临床分离菌株)的 MIC₉₀ 为 1 μg/mL; 广泛耐药菌株 1220(上海市肺科医院临床分离菌株)的 MIC₉₀ 为 0.5 μg/mL. 即该化合物对以上耐药结核菌也同样表现出很好的抑菌活性, 其作用机制目前尚不清楚.

2 结论

22 个结构新颖的杂环酮腈及其类似物被设计和合成, 它们对结核分枝杆菌菌株都显示出抑菌活性. 其中化合物 1d 显示出最高的抑菌活性, 和临床药物乙胺丁醇的活性大致相当. 令人感兴趣的是, 它对各种耐药菌也表现出很好的抑菌作用. 该化合物结构简单, 易合成, 值得进一步研究.

3 实验部分

NMR 由 varian INOVA-500 型核磁共振仪测定, 内标为 TMS; IR 由 NICOLET, FT-IR 红外仪测定; 元素分析由 MOD.1106 分析仪测定; 质谱由 Agilent

HP6890-5973N 质谱仪测定; 熔点由 Yanano MP 500 熔点仪测定(未校正). 试剂为市售品, 按常规方法进行纯化处理.

3.1 化合物的合成

2.1.1 中间体(1E,4E)-1,5-二取代-戊二烯-3-酮(5a~5e)的制备

5 mL 10% NaOH 和 10 mL 乙醇的溶液, 冰盐浴冷却至 -5~0 °C. 滴加由醛 4 (5 mmol)、丙酮(2.5 mmol) 和 8 mL 乙醇组成的溶液. 继续反应 6 h 至原料消失, 过滤, 收集固体, 用水洗至中性, 粗产物经重结晶纯化.

(1E,4E)-1,5-二(2'-呋喃基)-1,4-戊二烯-3-酮(5a): 收率 96%, 黄色晶体. m.p. 49~51 °C(文献值^[33] 50~53 °C); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 6.48~6.49 (m, 2H, FuH), 6.67 (d, *J*=3.4 Hz, 2H, FuH), 6.91 (d, *J*=15.6 Hz, 2H, CH=CH), 7.47 (d, *J*=15.6 Hz, 2H, CH=CH), 7.49 (s, 2H, FuH).

(1E,4E)-1,5-二(2'-噻吩基)-1,4-戊二烯-3-酮(5b): 收率 92%, 黄色晶体. m.p. 115~117 °C(文献值^[33] 115~117.5 °C); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 6.82 (d, *J*=15.6 Hz, 2H, CH=CH), 7.08 (dd, *J*=3.7, 5.0 Hz, 2H, ThH), 7.34 (d, *J*=3.5 Hz, 2H, ThH), 7.42 (d, *J*=5.1 Hz, 2H, ThH), 7.85 (d, *J*=15.6 Hz, 2H, CH=CH).

(1E,4E)-1,5-二(5'-甲基-2'-噻吩基)-1,4-戊二烯-3-酮(5c)^[38]: 收率 100%, 胶状物. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃)

δ : 2.52 (s, 6H, CH₃), 6.67 (d, J =15.6 Hz, 2H, CH=CH), 6.74 (d, J =2.8 Hz, 2H, ThH), 7.13 (d, J =3.2 Hz, 2H, ThH), 7.75 (d, J =15.6 Hz, 2H, CH=CH).

(1*E*,4*E*)-1,5-二(5'-溴-2'-噻吩基)-1,4-戊二烯-3-酮(**5d**)^[38]: 收率 82%, 黄色晶体. m.p. 129~130 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 6.67 (d, J =15.0 Hz, 2H, CH=CH), 7.04 (d, J =4.0 Hz, 2H, ThH), 7.08 (d, J =4.0 Hz, 2H, ThH), 7.70 (d, J =15.0 Hz, 2H, CH=CH).

(1*E*,4*E*)-1,5-二(4'-氯苯基)-1,4-戊二烯-3-酮(**5g**): 收率 71%, 黄色晶体. m.p. 193~194 °C(文献值^[34] 192~194 °C); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.03 (d, J =16.0 Hz, 2H, CH=CH), 7.39 (d, J =8.4 Hz, 4H, ArH), 7.55 (d, J =8.4 Hz, 4H, ArH), 7.81 (d, J =16.0 Hz, 2H, CH=CH).

3.1.2 中间体(1*E*,4*E*)-1,5-二(2'-吡啶基)-1,4-戊二烯-3-酮(**5e**)的制备

(1*E*,4*E*)-1,5-二(2'-吡啶基)-1,4-戊二烯-3-酮(**5e**)的制备按文献[26, 39]方法进行. 收率 84%, 黄色晶体. m.p. 148~150 °C(文献值 145~146 °C); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.16 (d, J =16.0 Hz, 2H, CH=CH), 7.41 (d, J =6.0 Hz, 4H, PyH), 7.63 (d, J =16.0 Hz, 2H, CH=CH), 8.67 (d, J =6.0 Hz, 4H, PyH).

3.1.3 中间体(1*E*,4*E*)-1,5-二(2'-氯-5-吡啶基)-1,4-戊二烯-3-酮(**5f**)的制备

(1*E*,4*E*)-1,5-二(2'-氯-5-吡啶基)-1,4-戊二烯-3-酮(**5f**)的制备按文献[26, 39]方法进行: 收率 69%, 灰色晶体. m.p. >200 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.10 (d, J =16.0 Hz, 2H, CH=CH), 7.41 (d, J =8.3 Hz, 2H, PyH), 7.71 (d, J =16.0 Hz, 2H, CH=CH), 7.89 (d, J =8.4 Hz, 2H, PyH), 8.61 (s, 2H, PyH).

3.1.4 中间体 1,3-二取代丙烯酮(**5h**~**5k**)的制备

15 mL 10% NaOH 和 8 mL 乙醇的溶液, 冰盐浴冷却至-5~0 °C. 滴加由醛 **4** (6 mmol), 酮 MeCOY (6 mmol)和 20 mL 乙醇组成的溶液. 继续反应 6 h 至原料消失, 过滤, 收集固体, 用水洗至中性, 粗产物经重结晶纯化.

E-1-(5'-溴-2'-噻吩基)-3-(2'-氯-5'-吡啶基)丙烯酮(**5h**): 收率 65%, 黄色晶体. m.p. 188~189 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.21 (d, J =4.1 Hz, 1H, ThH), 7.38 (d, J =15.6 Hz, 1H, CH=CH), 7.44 (d, J =8.3 Hz, 1H, PyH), 7.64 (d, J =4.1 Hz, 1H, ThH), 7.80 (d, J =15.6 Hz, 1H, CH=CH), 7.93 (dd, J =2.5, 8.5 Hz, 1H, PyH), 8.65 (d, J =2.2 Hz, 1H, PyH); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 122.86, 124.68, 131.39, 131.54, 131.89, 132.28, 137.06, 138.07, 139.21, 148.84, 149.85, 179.99. Anal. calcd for C₁₂H₇NOCIBrS: C 43.84, H 2.51, N 4.27; found C 43.93,

H 2.48, N 4.21.

E-1,3-二(5'-溴-2'-噻吩基)丙烯酮(**5i**): 收率 85%, 黄色晶体. m.p. 144~146 °C(文献值^[40] 144 °C); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 6.98 (d, J =15.2 Hz, 1H, CH=CH), 7.06 (d, J =3.8 Hz, 1H, ThH), 7.10 (d, J =3.8 Hz, 1H, ThH), 7.14 (d, J =4.0 Hz, 1H, ThH), 7.54 (d, J =4.0 Hz, 1H, ThH), 7.81 (d, J =15.2 Hz, 1H, CH=CH).

E-1,3-二(4'-氯苯基)丙烯酮(**5j**): 收率 88%, 黄色晶体. m.p. 161~162 °C(文献值^[41] 156~157 °C); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.40 (d, J =8.5 Hz, 2H, ArH), 7.46 (d, J =15.2 Hz, 1H, CH=CH), 7.48 (d, J =8.4 Hz, 2H, ArH), 7.58 (d, J =8.5 Hz, 2H, ArH), 7.76 (d, J =15.2 Hz, 1H, CH=CH), 7.96 (d, J =8.5 Hz, 2H, ArH).

E-1-(4'-氯苯基)-3-(5'-溴-2'-噻吩基)丙烯酮(**5k**): 收率 86%, 黄色晶体. m.p. 133~134 °C(文献值^[42] 125~126 °C); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.06 (d, J =3.8 Hz, 1H, ThH), 7.11 (d, J =3.8 Hz, 1H, ThH), 7.17 (d, J =15.3 Hz, 1H, CH=CH), 7.47 (d, J =8.5 Hz, 2H, ArH), 7.82 (d, J =15.3 Hz, 1H, CH=CH), 7.93 (d, J =8.5 Hz, 2H, ArH).

3.1.5 (1*E*,4*E*)-1,5-二取代-戊二烯-3-酮脒(**1a**~**1p**)的制备

在含有酮 **5** (5 mmol)和 2-取代脒的溴化氢(5 mmol)的 30 mL 乙醇溶液中, 滴加 3 滴浓氢溴酸, 加热至回流, 反应 3 h 后冷却至室温, 缓慢滴加饱和 Na₂CO₃ 溶液 10 mL, 室温搅拌过夜, 加入 10 mL 二氯甲烷, 分出有机相, 水相用 10 mL 二氯甲烷萃取, 合并有机相, 干燥, 旋去溶剂, 得到固体, 粗产物经重结晶纯化.

(1*E*,4*E*)-1,5-二(2'-呋喃基)-1,4-戊二烯-3-酮-(1',4',5',6'-四氢嘧啶基)脒(**1a**): 收率 90%, 橙色晶体. m.p. 140~141 °C (from isopropanol); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 1.96 (s, 2H, CH₂), 3.36 (s, 2H, NCH₂), 3.40 (s, 2H, NCH₂), 5.20 (br s, 1H, NH), 6.31 (d, J =3.5 Hz, 1H, FuH), 6.39 (br s, 3H, FuH), 6.53 (s, 1H, NH), 6.88~6.96 (m, 3H, CH=CH), 7.38 (s, 1H, FuH), 7.40 (s, 1H, FuH), 7.47 (d, J =16.5 Hz, 1H, CH=CH); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 21.91, 38.99, 39.11, 108.20, 109.45, 111.65, 111.74, 117.17, 118.73, 120.56, 125.37, 141.89, 142.50, 146.20, 153.65, 153.92, 157.23; IR (KBr) $\nu_{\max}$: 2883, 2172, 1655, 1627, 1400, 1375, 1110, 1076, 1018, 966, 926, 744 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₇H₁₈N₄O₂: C 65.80, H 5.81, N 4.52; found C 65.91, H 5.79, N 4.58.

(1*E*,4*E*)-1,5-二(2'-噻吩基)-1,4-戊二烯-3-酮-(1',4',5',6'-四氢嘧啶基)脒(**1b**): 收率 91%, 黄色晶体. m.p. 188~189 °C (from methanol); ¹H NMR (500 MHz,

CDCl_3) δ : 1.99 (t, $J=6.0$ Hz, 2H, CH_2), 3.39~3.42 (m, 4H, NCH_2), 6.52 (s, 1H, NH), 6.84 (d, $J=16.0$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.99 (s, 2H, ThH), 7.02 (s, 1H, ThH), 7.10 (s, 1H, ThH), 7.17 (d, $J=4.5$ Hz, 1H, ThH), 7.20~7.23 (m, 3H, ThH, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.39 (d, $J=16.0$ Hz, 2H, $\text{CH}=\text{CH}$); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 21.89, 39.01, 39.06, 120.09, 122.79, 124.03, 125.12, 125.82, 126.13, 126.71, 126.91, 127.59, 127.60, 143.38, 143.57, 146.43, 157.14; IR (KBr) ν_{max} : 3120, 2169, 1658, 1633, 1400, 1381, 1320, 1267, 1116, 1073, 1003, 938, 698 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{S}_2$: C 59.65, H 5.26, N 16.37; found C 59.75, H 5.16, N 16.37.

(1*E*,4*E*)-1,5-二(5'-甲基-2'-噻吩基)-1,4-戊二烯-3-酮-(1',4',5',6'-四氢嘧啶基)脒(**1c**): 收率 78%, 黄色晶体. m.p. 205~207 $^{\circ}\text{C}$ (from chloroform); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 1.93~1.97 (m, 2H, CH_2), 2.47 (s, 6H, 2 CH_3), 3.35 (t, $J=5.2$ Hz, 2H, NCH_2), 3.39 (d, $J=3.2$ Hz, 2H, NCH_2), 5.30 (s, 1H, NH), 6.49 (s, 1H, NH), 6.62 (s, 2H, ThH), 6.71 (d, $J=15.9$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.80 (d, $J=3.2$ Hz, 1H, ThH), 6.86 (d, $J=3.2$ Hz, 1H, ThH), 7.13 (d, $J=15.9$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.14 (d, $J=16.5$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.28 (d, $J=16.0$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}$); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 15.69, 15.76, 21.99, 39.00, 39.10, 118.94, 123.24, 125.60, 125.77, 125.83, 126.12, 126.51, 127.05, 138.90, 140.10, 141.34, 141.56, 146.87, 156.99; IR (KBr) ν_{max} : 3381, 3120, 2849, 2163, 1624, 1609, 1536, 1436, 1403, 1387, 1313, 1295, 1120, 1070, 1009, 963, 910, 796 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{S}_2$: C 61.62, H 5.95, N 15.14; found C 61.72, H 6.01, N 15.24.

(1*E*,4*E*)-1,5-二(5'-溴-2'-噻吩基)-1,4-戊二烯-3-酮-(1',4',5',6'-四氢嘧啶基)脒(**1d**): 收率 80%, 黄色晶体. m.p. 205~206 $^{\circ}\text{C}$ (from methanol); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 1.99 (t, $J=5.5$ Hz, 2H, CH_2), 3.42 (t, $J=6.5$ Hz, 4H, NCH_2), 5.09 (br s, 1H, NH), 6.50 (s, 1H, NH), 6.70 (d, $J=15.9$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.75 (d, $J=3.7$ Hz, 1H, ThH), 6.81 (d, $J=3.7$ Hz, 1H, ThH), 6.92~6.94 (m, 2H, ThH), 7.06 (d, $J=15.8$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.11 (d, $J=16.5$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.28 (d, $J=17.4$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}$); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 21.90, 39.08, 110.70, 111.97, 120.07, 121.99, 125.45, 125.98, 126.96, 127.10, 130.50, 130.52, 144.97, 145.14, 145.66, 157.18; IR (KBr) ν_{max} : 2956, 2166, 1624, 1415, 1375, 1312, 1252, 1116, 1076, 1003, 970, 914, 787 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{Br}_2\text{S}_2$: C 41.71, H 4.19, N 10.89; found C 41.82, H 4.22, N 10.95.

(1*E*,4*E*)-1,5-二(5'-溴-2'-噻吩基)-1,4-戊二烯-3-酮-

(1',4',5'-三氢-2'-咪唑基)脒(**1e**): 收率 83%, 橙色晶体. m.p. 154~155 $^{\circ}\text{C}$ (from methanol); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 3.61 (s, 2H, NCH_2), 3.62 (s, 2H, NCH_2), 5.74 (s, br, 1H, NH), 6.69 (d, $J=16.0$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.78 (d, $J=3.5$ Hz, 1H, ThH), 6.87 (d, $J=3.5$ Hz, 1H, ThH), 6.94 (t, $J=3.5$ Hz, 2H, ThH), 7.04 (d, $J=16.5$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.12 (d, $J=16.5$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.28 (d, $J=17.0$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}$); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 42.47, 42.66, 111.31, 112.53, 120.24, 123.68, 126.06, 126.09, 126.63, 127.43, 130.58, 130.63, 144.48, 144.71, 149.19, 165.04; IR (KBr) ν_{max} : 2923, 1618, 1508, 1481, 1422, 1382, 1282, 1053, 963, 787 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{Br}_2\text{S}_2$: C 40.20, H 3.93, N 12.01; found C 40.15, H 3.90, N 11.95.

(1*E*,4*E*)-1,5-二(5'-溴-2'-噻吩基)-1,4-戊二烯-3-酮-(1',4',5',6'-四氢-5',5'-二甲基-2'-嘧啶基)脒(**1f**): 收率 77%, 褐色晶体. m.p. 106~108 $^{\circ}\text{C}$ (from methanol); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 1.11 (s, 6H, 2 CH_3), 3.06 (s, 2H, NCH_2), 3.08 (s, 2H, NCH_2), 6.52 (s, 1H, NH), 6.70 (d, $J=16.0$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.75 (d, $J=2.1$ Hz, 1H, ThH), 6.82 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, ThH), 6.93 (t, $J=2.4$ Hz, 2H, ThH), 7.04 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.10 (d, $J=17.0$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.28 (d, $J=19.0$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}$); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 24.43, 28.68, 50.80, 110.79, 112.06, 119.97, 122.24, 125.70, 126.06, 127.05, 130.51, 144.91, 145.08, 145.85, 156.20; IR (KBr) ν_{max} : 2950, 2920, 1594, 1418, 1392, 1365, 1286, 1262, 1096, 1053, 963, 791 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{Br}_2\text{S}_2$: C 43.82, H 4.41, N 9.46; found C 43.79, H 4.40, N 9.49.

(1*E*,4*E*)-1,5-二(2'-吡啶基)-1,4-戊二烯-3-酮-(1',4',5',6'-四氢嘧啶基)脒(**1g**): 收率 72%, 土黄色晶体. m.p. 252~253 $^{\circ}\text{C}$ (from methanol); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 2.01 (t, $J=6.0$ Hz, 2H, CH_2), 3.41 (s, 2H, NCH_2), 3.44 (s, 2H, NCH_2), 5.45 (br s, 1H, NH), 6.60 (s, 1H, NH), 6.97 (d, $J=16.0$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.02 (d, $J=17.0$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.23 (d, $J=16.0$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.33 (d, $J=6.0$ Hz, 2H, PyH), 7.40 (d, $J=6.0$ Hz, 2H, PyH), 7.81 (d, $J=17.0$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}$), 8.55~8.58 (m, 4H, PyH); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 18.12, 42.51, 42.65, 120.94, 121.28, 124.51, 128.70, 130.75, 131.17, 144.53, 144.63, 149.67, 150.20, 165.11; IR (KBr) ν_{max} : 3226, 2359, 1582, 1419, 1366, 1260, 1230, 1117, 1097, 994, 964, 921, 808 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_6$: C 67.32, H 6.12, N 24.70; found C 67.40, H 6.06, N 24.75.

(1*E*,4*E*)-1,5-二(2'-氯-5'-吡啶基)-1,4-戊二烯-3-酮-(1',4',5',6'-四氢嘧啶基)脞(**1h**): 收率 80%, 黄色晶体. m.p. 240~242 °C (from methanol); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 1.99~2.02 (m, 2H, CH₂), 3.41 (s, 2H, NCH₂), 3.44 (s, 2H, NCH₂), 5.60 (s, 1H, NH), 6.7 (s, 1H, NH), 6.98~7.08 (m, 3H, CH=CH), 7.29~7.31 (m, 2H, PyH), 7.66 (d, *J*=16.8 Hz, 1H, CH=CH), 7.76~7.79 (m, 1H, PyH), 7.88~7.90 (m, 1H, PyH), 8.44~8.46 (m, 2H, PyH); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 21.89, 39.22, 122.87, 124.18, 124.20, 124.29, 127.65, 129.55, 132.32, 132.45, 135.19, 135.60, 145.77, 148.15, 148.60, 149.63, 150.26, 157.38; IR (KBr) $\nu_{\max}$: 3387, 3042, 2964, 1609, 1506, 1461, 1371, 1198, 911, 824, 719 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₉H₁₈Cl₂N₆: C 56.87, H 4.52, N 20.94; found C 56.99, H 4.53, N 21.01.

(1*E*,4*E*)-1,5-二(4'-氯苯基)-1,4-戊二烯-3-酮-(1',4',5',6'-四氢嘧啶基)脞(**1i**): 收率 89%, 黄色晶体. m.p. 198~200 °C (from ethanol); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 1.84~1.88 (m, 2H, CH₂), 3.26 (s, 2H, NCH₂), 3.35 (s, 2H, NCH₂), 6.04 (s, 1H, NH), 6.56 (s, 1H, NH), 7.00~7.07 (m, 3H, HC=CH), 7.26~7.30 (m, 4H, ArH), 7.41 (d, *J*=8.5 Hz, 2H, ArH), 7.46 (d, *J*=8.5 Hz, 2H, ArH), 7.64 (d, *J*=16.8 Hz, 1H, HC=CH); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 21.89, 39.03, 121.30, 127.66, 128.12, 128.57, 128.78, 131.59, 132.86, 133.47, 136.12, 136.33, 147.04, 157.23; IR (KBr) $\nu_{\max}$: 3394, 3171, 2972, 1641, 1592, 1541, 1492, 1373, 1120, 965, 818, 696 cm⁻¹. Anal. calcd for C₂₁H₂₀Cl₂N₄: C 63.17, H 5.01, N 14.03; found C 63.43, H 5.02, N 14.10.

E-1-(5'-溴-2'-噻吩基)-3-(2'-氯-5'-吡啶基)丙烯酮-(1',4',5'-三氢-2-咪唑基)脞(**1j**): 收率 70%, 橙色晶体. m.p. 198~199 °C (from ethanol); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 3.43 (t, *J*=5.6 Hz, 4H, NCH₂), 5.10 (s, 1H, NH), 6.55 (s, 1H, NH), 7.02 (d, *J*=4.4 Hz, 1H, ThH), 7.15 (d, *J*=16.0 Hz, 1H, CH=CH), 7.20 (d, *J*=4.4 Hz, 1H, ThH), 7.21 (d, *J*=16.0 Hz, 1H, CH=CH), 7.28 (d, *J*=8.4 Hz, 1H, PyH), 7.78 (dd, *J*=2.4, 8.4 Hz, 1H, PyH), 8.43 (d, *J*=2.4 Hz, 1H, PyH); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 39.23, 117.21, 124.17, 124.78, 125.44, 127.48, 128.06, 132.34, 135.30, 136.08, 140.47, 148.32, 149.72, 156.89; IR (KBr) $\nu_{\max}$: 3396, 2957, 2862, 1596, 1571, 1460, 1378, 1264, 1128, 964, 768 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₅H₁₃BrClN₅S: C 43.86, H 3.19, N 17.05; found C 43.99, H 3.20, N 16.99.

E-1-(5'-溴-2'-噻吩基)-3-(2'-氯-5'-吡啶基)丙烯酮-

(1',4',5',6'-四氢嘧啶基)脞(**1k**): 收率 75%, 黄色晶体. m.p. 205~206 °C (from methanol); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 2.02~2.07 (m, 2H, CH₂), 3.46 (t, *J*=5.2 Hz, 4H, NCH₂), 5.02 (s, 1H, NH), 6.52 (s, 1H, NH), 7.02 (d, *J*=4.2 Hz, 1H, ThH), 7.15 (d, *J*=16.0 Hz, 1H, CH=CH), 7.20 (d, *J*=3.9 Hz, 1H, ThH), 7.22 (d, *J*=15.7 Hz, 1H, CH=CH), 7.29 (d, *J*=8.3 Hz, 1H, PyH), 7.78 (dd, *J*=2.3, 8.3 Hz, 1H, PyH), 8.45 (d, *J*=2.2 Hz, 1H, PyH); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 21.90, 39.22, 117.24, 124.18, 124.81, 125.46, 127.47, 128.08, 132.34, 135.29, 136.08, 140.53, 148.32, 149.74, 156.89; IR (KBr) $\nu_{\max}$: 3396, 2957, 2862, 1597, 1572, 1460, 1308, 1264, 1128, 964, 768 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₆H₁₅BrClN₅S: C 45.24, H 3.56, N 16.49; found C 45.19, H 3.55, N 16.41.

E-1-(5'-溴-2'-噻吩基)-3-(2'-氯-5'-吡啶基)丙烯酮-(1',4',5',6'-四氢-5',5'-二甲基-2'-嘧啶基)脞(**1m**): 收率 80%, 橘黄色晶体. m.p. 189~191 °C (from methanol); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 1.12 (s, 6H, CH₃), 3.10 (s, 4H, NCH₂), 5.07 (s, 1H, NH), 6.55 (s, 1H, NH), 7.03 (d, *J*=4.2 Hz, 1H, ThH), 7.16 (d, *J*=16.0 Hz, 1H, CH=CH), 7.20 (d, *J*=4.2 Hz, 1H, ThH), 7.22 (d, *J*=16.0 Hz, 1H, CH=CH), 7.29 (d, *J*=8.4 Hz, 1H, PyH), 7.79 (dd, *J*=2.5, 8.4 Hz, 1H, PyH), 8.44 (d, *J*=2.5 Hz, 1H, PyH); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 24.48, 28.83, 50.87, 50.93, 117.23, 124.18, 124.82, 125.47, 127.46, 128.15, 132.36, 135.28, 136.06, 140.46, 148.33, 149.74, 156.13; IR (KBr) $\nu_{\max}$: 3396, 2957, 2862, 1571, 1460, 1307, 1265, 1128, 1021, 964, 768 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₈H₁₉BrClN₅S: C 47.75, H 4.23, N 15.47; found C 47.72, H 4.21, N 15.52.

E-1,3-二(5'-溴-2'-噻吩基)丙烯酮-(1',4',5',6'-四氢嘧啶基)脞(**1n**): 收率 90%, 淡黄色晶体. m.p. 158~160 °C (from ethanol); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 3.60~3.67 (m, 4H, NCH₂), 4.70 (s, 1H, NH), 5.83 (s, 1H, NH), 6.78 (d, *J*=3.8 Hz, 1H, ThH), 6.88 (d, *J*=15.6 Hz, 1H, CH=CH), 6.94 (d, *J*=3.8 Hz, 1H, ThH), 7.02 (d, *J*=4.2 Hz, 1H, ThH), 7.18 (d, *J*=4.2 Hz, 1H, ThH), 7.25 (d, *J*=15.6 Hz, 1H, CH=CH); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 42.51, 42.69, 111.51, 118.16, 124.23, 124.92, 126.72, 126.94, 127.62, 130.57, 135.78, 144.37, 164.03; IR (KBr) $\nu_{\max}$: 3270, 2968, 1657, 1642, 1612, 1576, 1490, 1421, 1053, 963, 806 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₄H₁₂Br₂N₄S₂: C 36.54, H 2.61, N 12.18; found C 36.46, H 2.62, N 12.17.

E-1,3-二(5'-溴-2'-噻吩基)丙烯酮-(1',4',5',6'-四氢嘧啶基)脞(**1o**): 收率 68%, 黄色晶体. m.p. 179~181 °C (from ethanol); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 1.99~2.03

(m, 2H, CH₂), 3.42 (s, 4H, NCH₂), 5.03 (s, 1H, NH), 6.53 (s, 1H, NH), 6.78 (d, $J=5.0$ Hz, 1H, ThH), 6.91 (d, $J=15.7$ Hz, 1H, CH=CH), 6.93 (d, $J=3.8$ Hz, 1H, ThH), 7.02 (d, $J=3.8$ Hz, 1H, ThH), 7.18 (d, $J=4.1$ Hz, 1H, ThH), 7.24 (d, $J=15.6$ Hz, 1H, CH=CH); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 21.96, 39.10, 39.28, 110.95, 117.15, 122.66, 125.28, 125.56, 126.37, 127.46, 130.51, 136.09, 140.72, 144.78, 156.68; IR (KBr) $\nu_{\max}$: 3431, 3373, 2865, 1591, 1564, 1376, 1317, 1261, 1116, 960, 793 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₅H₁₄Br₂N₄S₂: C 37.99, H 2.98, N 11.81; found C 38.07, H 2.97, N 11.70.

E-1,3-二(5'-溴-2'-噻吩基)丙烯酮-(1',4',5',6'-四氢-5',5'-二甲基-2'-嘧啶基)脞(**1p**): 收率 59%, 黄色晶体. m.p. 188~190 °C (from ethanol); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 1.10 (s, 6H, CH₃), 3.06 (s, 2H, NCH₂), 3.07 (s, 2H, NCH₂), 5.06 (s, 1H, NH), 6.54 (s, 1H, NH), 6.77 (d, $J=4.0$ Hz, 1H, ThH), 6.91 (d, $J=15.0$ Hz, 1H, CH=CH), 6.93 (d, $J=4.0$ Hz, 1H, ThH), 7.01 (d, $J=4.0$ Hz, 1H, ThH), 7.18 (d, $J=4.0$ Hz, 1H, ThH), 7.24 (d, $J=15.0$ Hz, 1H, CH=CH); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 24.48, 28.83, 50.87, 50.93, 110.92, 117.10, 122.67, 125.34, 125.57, 126.35, 127.46, 130.52, 136.08, 140.59, 144.81, 155.92; IR (KBr) $\nu_{\max}$: 3431, 3373, 2963, 1591, 1564, 1377, 1317, 1117, 1016, 960, 793 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₇H₁₈Br₂N₄S₂: C 40.64, H 3.62, N 11.16; found C 40.67, H 3.67, N 11.10.

3.1.6 中间体环氧化合物 **6** 的制备

在 20 mL 丙酮中加入硫酸二甲酯(8.6 mmol)和二甲硫醚(8.6 mmol), 室温搅拌 5 h 后, 蒸除溶剂得白色固体. 将此白色固体溶于 60 mL 二氯甲烷后加叔丁醇钾(10.8 mmol), 室温搅拌 5 min 后, 加入酮 **5** (7.2 mmol), 在室温下反应 3 h. 加入 50 mL 水, 分出有机层, 并用水洗 3 次(20 mL×3)后, 用无水碳酸钾干燥, 蒸除溶剂后得淡黄色稠状液体, 粗产率约 99%^[35]. 未经分离, 直接用于下步反应.

3.1.7 化合物 **2a~2e** 的制备

50 mL 的 *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)中加入在 3.1.6 节中制备的环氧化合物 **6** (7.2 mmol)、胺(8.6 mmol)和氢氧化钠(8.6 mmol), 50 °C 反应 3 h. 减压蒸除 DMF 后加入 50 mL 的乙醚搅拌至溶, 并用饱和食盐水洗(30 mL×3), 有机层经干燥后蒸除乙醚. 用 *V*(二氯甲烷): *V*(甲醇)=80:1 的洗脱剂柱色谱纯化.

E-2,4-二(4'-氯苯基)-1-2'-(1',4',5',6'-四氢嘧啶基)氨基丁烯-2-醇(**2a**): 收率 68%, 白色晶体. m.p. 190~191 °C (from ethanol); ¹H NMR [500 MHz, (CD₃)₂SO] δ :

1.65 (t, $J=5.2$ Hz, 2H, CH₂), 3.05 (d, $J=5.2$ Hz, 2H, NCH₂), 3.08~3.10 (m, 1H, NCH₂), 3.23~3.26 (m, 1H, NCH₂), 3.63 [d, $^2J=15.1$ Hz, 1H, C(OH)CH], 3.71 [d, $^2J=15.1$ Hz, 1H, C(OH)CH], 6.71 (d, $J=15.9$ Hz, 1H, CH=CH), 6.87 (d, $J=15.9$ Hz, 1H, CH=CH), 7.39 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, ArH), 7.44 (d, $J=8.6$ Hz, 2H, ArH), 7.49 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, ArH), 7.67 (d, $J=8.6$ Hz, 2H, ArH), 8.41 (s, 1H, NH); ¹³C NMR [125 MHz, (CD₃)₂SO] δ : 20.27, 37.57, 47.98, 59.61, 77.05, 127.52, 127.82, 128.07, 128.52, 131.81, 131.93, 133.72, 135.41, 142.76, 155.20, 167.27; IR (KBr) $\nu_{\max}$: 3153, 1658, 1642, 1620, 1612, 1491, 1402, 1092, 1003, 810, 623 cm⁻¹. HRMS (ESI) calcd for C₂₀H₂₂Cl₂N₃O [M+H]⁺: 390.1134, found 390.1158.

E-2,4-二(4'-氯苯基)-1-(2'-嘧啶氨基)丁烯-2-醇(**2b**): 收率 83%, 白色晶体. m.p. 151~152 °C (from ethanol); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 3.86 (dd, $J=6.3, 14.6$ Hz, 1H, NCH), 3.95 (dd, $J=6.9, 14.6$ Hz, 1H, NCH), 5.44 (s, br, 1H, NH), 5.86 (s, 1H, OH), 6.50 (d, $J=15.8$ Hz, 1H, CH=CH), 6.62 (d, $J=4.9$ Hz, 1H, PyH), 6.76 (d, $J=15.8$ Hz, 1H, CH=CH), 7.26 (d, $J=8.7$ Hz, 2H, ArH), 7.30 (d, $J=8.7$ Hz, 2H, ArH), 7.34 (d, $J=8.6$ Hz, 2H, ArH), 7.50 (d, $J=8.6$ Hz, 2H, ArH), 8.28 (d, $J=4.9$ Hz, 2H, PyH); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 52.71, 77.98, 111.43, 127.17, 127.80, 128.47, 128.66, 128.71, 132.96, 133.27, 133.63, 135.14, 142.87, 157.95, 162.80; IR (KBr) $\nu_{\max}$: 3343, 1641, 1604, 1547, 1492, 1402, 1336, 1092, 800, 740 cm⁻¹. Anal. calcd for C₂₀H₁₇Cl₂N₃O: C 62.19, H 4.44, N 10.88; found C 62.07, H 4.42, N 10.72.

E-2,4-二(4'-氯苯基)-1-(1',4'-二氮杂苯-2'-氨基)丁烯-2-醇(**2c**): 收率 81%, 白色晶体. m.p. 156~157 °C (from ethanol). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 3.78 (dd, $J=6.0$ Hz, 14.3 Hz, 1H, NCH), 3.88 (dd, $J=6.1, 14.3$ Hz, 1H, NCH), 5.10 (t, $J=5.9$ Hz, 1H, NH), 5.66 (s, 1H, OH), 6.45 (d, $J=15.8$ Hz, 1H, CH=CH), 6.71 (d, $J=15.8$ Hz, 1H, CH=CH), 7.22 (d, $J=9.3$ Hz, 2H, ArH), 7.25 (d, $J=9.3$ Hz, 2H, ArH), 7.30 (d, $J=8.6$ Hz, 2H, ArH), 7.46 (d, $J=8.6$ Hz, 2H, ArH), 7.77 (d, $J=2.8$ Hz, 1H, PyH), 7.80 (d, $J=2.8$ Hz, 1H, PyH), 7.90 (s, 1H, PyH); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 52.64, 77.69, 127.18, 127.84, 128.59, 128.76, 128.92, 133.16, 133.42, 133.47, 133.87, 134.98, 140.53, 142.68, 154.57; IR (KBr) $\nu_{\max}$: 3366, 1659, 1594, 1402, 1093, 1003, 807, 624 cm⁻¹. Anal. calcd for C₂₀H₁₇Cl₂N₃O: C 62.19, H 4.44, N 10.88; found C 62.10, H 4.40, N 10.87.

(1*E*,4*E*)-1,5-二(4'-氯苯基)-3-(2'-嘧啶氨基甲基)-1,4-

丁二烯-3-醇(**2d**): 收率 45%, 白色晶体. m.p. 118~120 °C (from ethanol); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 3.71 (d, $J=6.3$ Hz, 2H, NCH), 5.41 (br s, 1H, OH), 5.66 (t, $J=6.1$ Hz, 1H, NH), 6.31 (d, $J=15.8$ Hz, 2H, CH=CH), 6.59 (t, $J=4.8$ Hz, 1H, PyH), 6.76 (d, $J=15.8$ Hz, 2H, CH=CH), 7.26 (d, $J=8.4$ Hz, 4H, ArH), 7.29 (d, $J=8.4$ Hz, 4H, ArH), 8.26 (d, $J=4.8$ Hz, 2H, PyH); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 51.59, 77.14, 111.37, 127.81, 128.63, 128.71, 132.49, 133.24, 135.22, 158.02, 162.90; IR (KBr) ν_{max} : 3351, 2890, 1615, 1570, 1501, 1455, 1379, 972, 821 cm^{-1} ; MS (EI) m/z : 412 [M+H].

E-2-(4'-氯苯基)-4-(5'-溴-2'-噻吩基)-1-(2'-嘧啶氨基)丁烯-2-醇(**2e**): 收率 78%, 白色晶体. m.p. 106~107 °C (from ethanol); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 3.76 (dd, $J=6.0, 14.5$ Hz, 1H, NCH), 3.87 (dd, $J=6.5, 14.5$ Hz, 1H, NCH), 5.61 (t, $J=6.0$ Hz, 1H, NH), 6.01 (s, 1H, OH), 6.25 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, CH=CH), 6.59 (d, $J=5.0$ Hz, 1H, PyH), 6.65 (d, $J=5.4$ Hz, 1H, ThH), 6.79 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, CH=CH), 6.87 (d, $J=5.4$ Hz, 1H, ThH), 7.32 (d, $J=8.5$ Hz, 2H, ArH), 7.45 (d, $J=8.5$ Hz, 2H, ArH), 8.24 (d, $J=5.0$ Hz, 2H, PyH); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 52.75, 77.88, 111.11, 111.44, 122.92, 126.35, 127.13, 128.20, 128.48, 129.01, 130.24, 132.99, 133.03, 142.68, 143.47, 157.94, 162.77; IR (KBr) ν_{max} : 3428, 1641, 1589, 1459, 1401, 1151, 1094, 618, 491 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{BrClN}_3\text{O}$: C 49.50, H 3.46, N 9.62; found C 49.41, H 3.47, N 9.4.

3.1.8 *3E*-1-(1',2',4'-三唑基)-2,4-二(4'-氯苯基)-1,3-丁二烯(**3a**)的制备

用酮 **5j** (7.2 mmol)按第 3.1.6 节所述方法制备得到的环氧化物未经分离纯化, 立即溶解于 50 mL 的 DMF 中, 再加入 1,2,4-三唑(8.6 mmol)和氢氧化钠(8.6 mmol), 50 °C 搅拌反应 3 h. 减压除去 DMF 后, 加入 50 mL 乙醚, 搅拌溶解, 并用饱和食盐水洗 3 次, 每次 30 mL, 有机层干燥后, 蒸除乙醚得一无色稠状物. 加入 10 mL THF 溶解后, 加入 1 mL 浓盐酸, 室温搅拌反应至白色固体析出, 将其过滤, 乙醇重结晶得白色晶体 **3a**. 收率 55%, m.p. 143~144 °C; ^1H NMR (500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 6.48 (d, $J=16.0$ Hz, 1H, CH=CH), 7.31 (s, 1H, =CHN), 7.45 (d, $J=8.5$ Hz, 2H, ArH), 7.51 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, ArH), 7.53 (d, $J=8.5$ Hz, 2H, ArH), 7.58 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, ArH), 8.21 (d, $J=16.0$ Hz, 1H, CH=CH), 8.37 (s, 1H, TrH), 8.94 (s, 1H, TrH); ^{13}C NMR [125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$] δ : 122.02, 125.40, 128.40, 128.66, 128.84, 130.24, 131.26, 132.72, 133.02, 133.24, 135.51, 136.59,

146.47, 152.56; IR (KBr) ν_{max} : 3140, 1641, 1631, 1492, 1402, 1272, 1092, 781, 622 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{N}_3$: C 63.17, H 3.83, N 12.28; found C 63.22, H 3.83, N 12.25.

3.1.9 *3E*-1-(1',2',4'-三唑基)-2-(4'-氯苯基)-4-(5'-溴-2'-噻吩基)-1,3-丁二烯(**3b**)的制备

用酮 **5k** (7.2 mmol)按第 3.1.6 节所述方法制备得到的环氧化物未经分离纯化, 立即溶解于 50 mL 的 DMF 中, 再加入 1,2,4-三唑 (8.6 mmol)和氢氧化钠(8.6 mmol), 50 °C 搅拌反应 3 h. 减压除去 DMF 后, 加入 50 mL 乙醚, 搅拌溶解, 并用饱和食盐水洗 3 次, 每次 30 mL, 有机层干燥后, 蒸除乙醚得一无色稠状物. 加入 10 mL THF 溶解后, 然后缓慢通入 HCl 气体, 室温反应, 反应大量放热, 析出白色固体, 将其过滤, 用乙醇重结晶得白色晶体 **3b**, 收率 50%. m.p. 146~147 °C; ^1H NMR [500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$] δ : 6.50 (d, $J=16.0$ Hz, 1H, CH=CH), 6.97 (d, $J=3.8$ Hz, 1H, ThH), 7.14 (d, $J=3.8$ Hz, 1H, ThH), 7.21 (s, 1H, =CHN), 7.44 (d, $J=8.5$ Hz, 2H, ArH), 7.53 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, ArH), 7.96 (d, $J=16.0$ Hz, 1H, CH=CH), 8.12 (s, 1H, TrH), 8.30 (s, 1H, TrH); ^{13}C NMR [125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$] δ : 111.62, 121.63, 124.67, 126.94, 128.67, 129.01, 131.26, 131.53, 133.01, 136.26, 143.85, 146.48, 152.59; IR (KBr) ν_{max} : 3118, 1628, 1602, 1502, 1486, 1403, 1274, 1137, 1087, 673, 491 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{BrClN}_3\text{S}$: C 48.94, H 2.82, N 10.70; found C 49.06, H 2.84, N 10.75.

3.2 抑菌活性测定

3.2.1 材料

菌株: 结核分枝杆菌异烟肼单耐菌株 242, 为 WHO 质控菌株, 耐多药结核分枝杆菌 2312 和广泛耐药株 1220, 来自上海市肺科医院临床分离培养. 液体培养基: Middlebrook 7H9 培养基干粉和营养添加剂(OADC)均购自美国 BD 公司.

3.2.2 实验方法

受试菌株的制备^[37]: 将受试菌株转入液体培养基, 于 37 °C 培养 2 周, 吸取培养菌液少许, 置于 4 mL 液体培养基中, 加入直径 2~3 mm 无菌玻璃珠 10~20 粒, 振荡 20~30 s, 静止沉淀 10~20 min, 吸取菌悬液上清, 用液体培养基调整比浊至 1 个麦氏单位, 相当于 1 mg/mL 备用.

受试化合物的准备: 测试化合物用适量 DMSO 溶解, 0.22 μm 滤器过滤, 再以液体培养基稀释至所需实验浓度. 受试药物均设置 12 个终浓度: 0.0625、0.125、0.25、0.5、1、2、4、8、16、32、64 和 128 $\mu\text{g/mL}$.

操作步骤: 检测时, 各取上述化合物溶液 100 μL ,

加到 96 孔微孔板中, 再加入 10~3 mg/mL 浓度的菌液 100 μ L, 使化合物浓度达到设置的终浓度. 同一化合物稀释度设三组平行对照. 另设溶剂梯度对照组, 不加化合物对照组和不加化合物 10%接菌量对照组. 37 $^{\circ}$ C 培养. 观察各化合物对结核分枝杆菌的最低抑菌浓度 (MIC₉₀). 实验结果如表 1 所示.

辅助材料(Supporting Information) 目标化合物原始谱图. 这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载.

References

- [1] Boogaard, J.; Kibiki, G. S.; Kisanga, E. R.; Boeree, M. J.; Aarnoutse, R. E. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2009**, *53*, 849.
- [2] Palmer, B. D.; Thomposon, A. M.; Sutherland, H. S.; Blaser, A.; Kmentova, I.; Franzblau, S. G.; Wan, B. J.; Wang, Y. H.; Ma, Z. K.; Denny, W. A. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 282.
- [3] Sethi, A.; Yadav, S.; Sharma, R. K. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* **2010**, *6*, 117.
- [4] Zhang, J.; Angala, S. K.; Pramanik, P. K.; Li, K.; Crick, D. C.; Liav, A.; Jozwiak, A.; Swiezewska, E.; Jackson, M.; Chatterjee, D. *ACS Chem. Biol.* **2011**, *6*, 819.
- [5] Liu, Y. X.; Xiao, C. L.; Wang, Y. X.; Li, Y. H.; Yang, Y. H.; Li, Y. B.; Bi, C. W.; Gao, L. M.; Jiang, J. D.; Song, D. Q. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *52*, 151.
- [6] Oliveira, K. N.; Chiaradia, L. D.; Martins, P. G.; Mascarello, A.; Cordeiro, M. N.; Guido, R. V.; Andricopula, A. D.; Yunes, R. A.; Nunes, R. J.; Vernal, J.; Terenzi, H. *Med. Chem. Commun.* **2011**, *2*, 500.
- [7] Srivastav, M. K.; Shantakumar, S. M. *Chem. Sci. Trans.* **2013**, *2*, 1056.
- [8] Torres, E.; Moreno, E.; Ancizu, S.; Barea, C.; Galiano, S.; Aldana, I.; Monge, A.; Perez-Silanes, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 3699.
- [9] Sasaki, H.; Haraguchi, Y.; Itotani, M.; Kuroda, H.; Hashizume, H.; Tomishige, T.; Kawasaki, M.; Masumoto, M.; Komatsu, M.; Tsubouchi, H. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 7854.
- [10] WHO Global Tuberculosis Report 2012. Available at: http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/.
- [11] Servusova, B.; Vobickova, J.; Paterova, P.; Kubicek, V.; Kunes, J.; Dolezal, M.; Zitko, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 3589.
- [12] Ahsan, M. J.; Samy, J. G.; Khalilullah, H.; Bakht, M. A.; Hassan, M. Z. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 5694.
- [13] Manvar, A.; Bavishi, A.; Radadiya, A.; Patel, J.; Vora, V.; Dodia, N.; Rawal, K.; Shah, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 4728.
- [14] Simone, P. M.; Starke, J. R.; Vernon, A. A. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2003**, *167*, 62.
- [15] Saquib, M.; Gupta, M. K.; Sagar, R.; Prabhakar, Y. S.; Shaw, A. K.; Kumar, R.; Maulik, P. R.; Gaikwad, A. N.; Sinha, S.; Srivastava, A. K.; Chaturvedi, V.; Srivastava, R.; Srivastava, B. S. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 2942.
- [16] Huang, X.; Huang, H.; Li, H.; Sun, X.; Huang, H.; Lu, Y.; Long, Y.; She, Z. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 721.
- [17] Koul, A.; Vranckx, L.; Dendouga, N.; Balmans, W.; Wyngaert, I.; Vergauwen, K.; Gohlmann, H.; Willebrords, R.; Poncelet, A.; Guillemont, J.; Bald, D.; Andries, K. *J. Biol. Chem.* **2008**, *283*, 25273.
- [18] Dixit, P. P.; Patial, V. J.; Nait, P. S.; Jain, S.; Sinha, N.; Arora, S. K. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 423.
- [19] Pieter, C.; Davie, C.; Blaise, M. M.; Jan, J.; Birgit, M.; Vanessa, M.; Luc, V.; Kris, H.; Norbert, D. K. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *67*, 98.
- [20] Hwang, J.; Oh, T.; Kaneko, T.; Upton, A.; Franzblau, S.; Ma, Z.; Cho, S.; Kim, P. *J. Nat. Prod.* **2013**, *76*, 354.
- [21] Ma, Z.; Lienhardt, C.; McIlleron, H.; Nunn, A. J.; Wang, X. *Lancet* **2010**, *275*, 2100.
- [22] Chen, S.-J.; Cui, J.-G.; Li, Y.; Fan, L.-H. *Chin. J. Org. Chem.* **2011**, *31*, 187 (in Chinese).
(陈思静, 崔建国, 李莹, 范良华, 有机化学, **2011**, *31*, 187.)
- [23] Bo, Z.-S.; Wang, D.-X. *The Research Development of New Heterocyclic Pesticides and Synthetic Method*, Chemical Industry Press, Beijing, **2004**, pp. 179~184 (in Chinese).
(柏再苏, 王大翔, 新杂环农药的研究发展及合成方法, 化学工业出版社, 北京, **2004**, pp. 179~184.)
- [24] Zhao, S. M. S. Thesis, East China Normal University, Shanghai, **2008** (in Chinese).
(赵升, 硕士论文, 华东师范大学, 上海, **2008**.)
- [25] Zhang W.-S.; Li, A.-L. *Medicinal Chemistry*, Higher Education Press, Beijing, **1999**, pp. 555~556 (in Chinese).
(仇文升, 李安良, 药物化学, 高等教育出版社, 北京, **1999**, pp. 555~556.)
- [26] Merz, K. W.; Rauchle, K. *Arch. Pharm.* **1960**, *16*, 968.
- [27] Okamoto, O.; Kobayashi, K.; Kawamoto, H.; Ito, S.; Satoh, A.; Kato, T.; Yamamoto, I.; Mizutani, S.; Hashimoto, M.; Shimizu, A.; Sakoh, H.; Nagatomi, Y.; Iwasawa, Y.; Takahashi, H.; Ishii, Y.; Ozaki, S.; Ohta, H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 3278.
- [28] Baer, J. E.; Lockwood, R. G. *J. Org. Chem.* **1954**, *76*, 1162.
- [29] Boyd, R. N.; Meadow, M. *Anal. Chem.* **1960**, *32*, 551.
- [30] Luzzio, F. A. *Synth. Commun.* **1984**, *14*, 209.
- [31] Finnegan, W. G.; Henry, R. A.; Lieber, E. *J. Org. Chem.* **1953**, *75*, 779.
- [32] Herbst, R. M.; Roberts, C. W.; Harvill, E. J. *J. Org. Chem.* **1951**, *16*, 139.
- [33] Rule, N. G.; Detty, M. R.; Kaeding, J. E.; Sinicropi, J. A. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 1665.
- [34] Wei, X. C.; Du, Z. Y.; Zheng, X.; Cui, X. X.; Conney, A. H.; Zhang, K. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *53*, 235.
- [35] Corey, E. J.; Chaykovsky, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 1353.
- [36] Zakharychev, V. V.; Kuzenkov, A. V. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2007**, *43*, 989.
- [37] Wallace, R. J. Jr.; Nash, D. R.; Steele, L. C.; Steingrube, V. J. *Clin. Microbiol.* **1986**, *24*, 976.
- [38] Liang, G.; Zhou, H.; Wang, Y.; Gurley, E. C.; Feng, B.; Chen, L.; Xiao, J.; Yang, S.; Li, X. *J. Cell. Mol. Med.* **2009**, *13*, 3370.
- [39] Weber, W. M.; Hunsaker, L. A.; Abcouwer, S. F.; Deck, L. M.; Vanderjagt, L. D. L. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 3811.
- [40] Sato, T.; Ino, H.; Fujitsuka, M.; Tanaka, K. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 6039.
- [41] Hazarkhani, H. Kumar, P.; Kondiram, K. S.; Shafi, G.; Ikhlas, M. S. *G. Synthetic Communications* **2010**, *40*, 2887.
- [42] Musumarra, G.; Ballistreri, F. P. *Org. Magn. Res.* **1980**, *14*, 384.

(Qin, X.)