新型蒎烷基噻唑衍生物的合成及其生物活性研究

孙楠^a 王欣^b 丁志彬^a 张齐^a
徐徐^{a,c,d} 徐海军^{a,c} 王石发^{*,a,c,d}

(^a 南京林业大学化学工程学院 南京 210037)

(^b 南京农业大学植物保护学院 南京 210095)

(^c 江苏省生物质绿色燃料与化学品重点实验室 南京 210037)

(^d 广西林产化学与工程重点实验室 南宁 530008)

摘要 以 β -蒎烯的衍生物诺蒎酮为原料,合成了系列新型蒎烷基噻唑衍生物,并对其生物活性进行了研究。 β -蒎烯经高锰酸钾氧化所得到的诺蒎酮与氨基硫脲进行缩合反应,得到诺蒎酮缩氨基硫脲;诺蒎酮缩氨基硫脲再与 α -卤代酮进行环化,得到新型蒎烷基噻唑衍生物 $2a\sim 2l$ 。采用FTIR, 1H NMR, ^{13}C NMR和HRMS对化合物 $2a\sim 2l$ 的结构进行了表征。探讨了化合物 $2a\sim 2l$ 的抑菌活性、对人脐静脉内皮细胞(HUVECs)的抗炎活性以及对紫薇蚜虫的杀虫活性。结果表明,化合物 $2b$ 具有很好的抗菌活性,对细菌和真菌的抑制效果分别与阿米卡星和酮康唑的效果相当;化合物 $2a$ 则具有显著的抗炎活性,化合物 $2e$ 、 $2h$ 、 $2i$ 和 $2k$ 对紫薇蚜虫具有一定的杀虫活性。

关键词 诺蒎酮;蒎烷基噻唑衍生物;抑菌活性;抗炎活性;杀虫活性

Synthesis and Biological Activity of Novel Pinanyl Thiazole Derivatives

Sun, Nan^a Wang, Xing^b Ding, Zhibing^a Zhang, Qi^a Xu, Xu^{a,c,d}
Xu, Haijun^{a,c} Wang, Shifa^{*,a,c,d}

(^a College of Chemical Engineering, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037)

(^b College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

(^c Jiangsu Key Laboratory of Biomass-based Green Fuels and Chemicals, Nanjing 210037)

(^d Guangxi Key Laboratory of Chemistry and Engineering of Forest Products, Nanning 530008)

Abstract Novel pinanyl thiazole derivatives were synthesized from nopinone which was a derivative from β -pinene by condensation and cyclization, and their bioactivities were also examined in this paper. Nopinone obtained from oxidation of β -pinene was condensed with thiosemicarbazide into nopinone thiosemicarbazone, and thiazole derivatives $2a\sim 2l$ were prepared via cyclization of nopinone thiosemicarbazone with α -haloketones. The structures of compounds $2a\sim 2l$ were characterized with 1H NMR, ^{13}C NMR, IR and HRMS, and the antibacterial activity, anti-inflammatory activity on human umbilical vein endothelial cells (HUVECs), and insecticidal activity on crape myrtle aphids of compounds $2a\sim 2l$ were also examined. Test results showed that compound $2b$ was a more potent bactericide and fungicide than others because of its good activities against bacteria and fungi, compound $2a$ had strong anti-inflammatory activity towards HUVECs and had the similar effect to that of aspirin, and compounds $2e$, $2h$, $2i$ and $2k$ had a certain insecticidal activities against crape myrtle aphids.

Keywords nopinone; pinanyl thiazole derivatives; bacteriostatic activity; anti-inflammatory activity; insecticidal activity

* E-mail: wsfyq@njfu.com.cn

Received April 20, 2016; revised May 16, 2016; published online June 8, 2016.

Project supported by the Natural Science Foundation of the Jiangsu Higher Education Institutions (No. 14KJ220001), the National Natural Science Foundation of China (No. 31470529), and the Open Funding of Guangxi Key Laboratory of Chemistry and Engineering of Forest Products (No. JSBEM2014010).

江苏省高校自然科学研究(No. 14KJ220001)、国家自然科学基金(No. 31470529)和广西林产化学与工程重点实验室开放基金(No. JSBEM2014010)资助项目。

噻唑是一类典型的杂环有机化合物. 噻唑环广泛存在于生物活性化合物中, 包括天然产物和合成药物^[1]. 噻唑及其衍生物具有广泛的应用功能^[2], 是一类具有广谱生物活性的杂环化合物, 如抗菌^[3]、抗病毒^[4,5]、抗寄生虫^[6,7]、抗肿瘤^[8]、治疗过敏^[9]、降压^[10]、抗炎^[11]等. 目前在化学、药学、生物学和材料科学等诸多领域已获得广泛应用, 对噻唑衍生物的研究开发已成为当今医药、农药研究的热点之一. 在医药领域, 噻唑类化合物显示出巨大的开发和应用价值, 如雷夫康(抗真菌剂)^[12]、硝唑尼特(寄生虫祛除剂)^[13]、美洛昔康(抗炎剂)^[14]等药物已实现工业化生产. 在农药领域, 噻唑类化合物以其低毒的杀虫效果、高效的植物生长调节作用^[15,16]得到广泛应用^[17~19], 如噻虫嗪^[20]作为杀虫剂、氟噻乙草酯^[21,22]作为除草剂取得了较好的使用率. β -蒎烯是松节油的主要成分之一, 目前主要用于合成香料方面, 而将噻唑环引入蒎烯类化合物中的文献报道较少, 同时 β -蒎烯本身具有抑制真菌作用^[23], 并且对许多害虫均有较强的杀灭作用, 是常用的粮食除虫剂^[24]. 因此, 本文利用 β -蒎烯的衍生物诺蒎酮为原料, 合成了 12 个新型蒎基噻唑衍生物, 部分化合物具有较好的抗炎活性和杀虫剂活性. 目标化合物的合成路线见 Scheme 1.

2a, Ar=3,4-Cl₂C₆H₃; **2b**, Ar=4-NO₂C₆H₄; **2c**, Ar=4-ClC₆H₄; **2d**, Ar=Ph; **2e**, Ar=4-CH₃OC₆H₄; **2f**, Ar=2-Naphthyl; **2g**, Ar=4-CH₃C₆H₄; **2h**, Ar=3-NO₂C₆H₄; **2i**, Ar=Biphenyl; **2j**, Ar=4-NCC₆H₄; **2k**, Ar=4-HOC₆H₄; **2l**, Ar=4-FC₆H₄

图式1 噻唑衍生物的合成路线

Scheme 1 Synthesis of thiazole derivatives

1 结果与讨论

1.1 中间产物 1 的合成

诺蒎酮与氨基硫脲反应是典型的 Schiff base 反应, 用乙酸作催化剂, LC-MS 跟踪检测. 由于缩氨基硫脲空间位阻大, 反应不能转换完全, 且氨基硫脲常温下容易析出, 导致反应时间长(48 h), 得率低(40%). 反应结束后, 混合物中仍然存在氨基硫脲, 利用其不溶于二氯甲烷的特点, 过滤除去不溶物氨基硫脲, 再旋蒸除去二氯甲烷溶剂后, 最后柱层析得到诺蒎酮缩氨基硫脲.

1.2 目标产物 2a~2l 的结构表征

目标产物 **2a~2l** 在 2866~2927 cm⁻¹ 之间是甲基及亚甲基的 C—H 伸缩振动吸收峰; 1630 和 1599 cm⁻¹ 附近出现蒎烷基上的 C=N 双键和噻唑环上 C=N 双键的强伸缩振动吸收峰; 1421~1490 cm⁻¹ 附近出现苯环和噻唑环上的 C—H 的面内伸缩振动. 其中目标产物 **2b** 在 1517 和 1348 cm⁻¹ 区域分别出现硝基的反对称伸缩振动吸收峰和对称伸缩振动吸收峰; 目标产物 **2j** 在 2225 cm⁻¹ 附近是氰基的伸缩振动吸收峰. 在 ¹H NMR 中, 饱和碳上的质子化学位移位于 δ 0.80~2.75 范围内; 噻唑环中碳原子上氢的化学位移出现在 δ 6.69~7.01 之间, 并且是单峰; 苯环上氢因受不同取代基电子效应的影响, 化学位移在 δ 6.82~7.95 范围内; 氮原子上的氢由于受 C=N 双键和噻唑环的去屏蔽效应, 化学位移向低场移动, 以宽峰形式出现在 δ 8.5 附近. 在 ¹³C NMR 中, 饱和碳的化学位移均在高场区, 出现在 δ 18.26~58.20 之间; 苯环和噻唑环上不饱和碳的化学位移在 δ 101.13~171.70 范围内, 在 HRMS 谱图中, 目标产物的 HRMS [M+H]⁺ 实测值和理论计算值是一致的, 误差均在 5 内, 进一步证实了目标化合物的结构.

1.3 抑菌活性测试

采用二倍稀释法测定了目标化合物对 3 种真菌: 热带假丝酵母(*G. tropicalis*)、黑曲霉(*A. niger*)、白色念珠菌(*C. albicans*)和对 3 种细菌: 大肠杆菌(*E. coli*)、枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)、金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)的抑菌活性, 结果如表 1 所示.

由表 1 可知, 对 3 种真菌的抑制活性中, 目标化合物 **2a**, **2b**, **2i** 活性很好, 对热带假丝酵母菌(*G. tropicalis*)的最低抑制浓度均为 3.9 μ g/mL, 与酮康唑的效果很接近, 其中化合物 **2b** 的效果最好, 对 3 种真菌的最低抑制浓度均为 3.9 μ g/mL. 在对 3 种细菌的抑制活性中, 目标化合物 **2b** 和 **2i** 活性最好, 对大肠杆菌(*E. coli*)的最低抑制浓度均为 3.9 μ g/mL, 对枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)和金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)最低抑制浓度均为 7.8 μ g/mL. 构效关系表明, 当目标化合物中苯环对位上引入吸电子基硝基时, 对真菌和细菌的抑制活性都是有利的. 另外目标化合物中苯环上不含取代基时, 对细菌和真菌的抑制活性都是最低, 尤其对金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)最低抑制浓度大于 100 μ g/mL. 表 1 数据可以看出, 目标化合物对真菌和细菌均有不同程度的抑菌活性, 并且对真菌的抑制效果要优于对细菌的抑制效果.

1.4 抗炎活性测试

本节实验部分采用 MTT 法, 检测细胞存活率. 研究了 12 个目标化合物对人脐静脉内皮细胞(HUVECs)

表 1 目标化合物的 MIC 值($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
Table 1 MIC ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) of the target compounds

Compd.	Ar	Fungi			Bacteria		
		热带假丝酵母菌	黑曲霉	白色念珠菌	大肠杆菌	枯草芽孢杆菌	金黄色葡萄球菌
2a	3,4-Cl ₂ C ₆ H ₃	3.9	15.6	3.9	62.5	62.5	31.2
2b	4-NO ₂ C ₆ H ₄	3.9	3.9	3.9	3.9	7.8	7.8
2c	4-ClC ₆ H ₄	15.6	31.2	7.8	62.5	7.8	15.6
2d	Ph	31.2	62.5	62.5	31.2	31.2	>100
2e	4-CH ₃ OC ₆ H ₄	15.6	7.8	31.2	31.2	15.6	7.8
2f	2-Naphthyl	15.6	31.2	31.2	15.6	31.2	7.8
2g	4-CH ₃ C ₆ H ₄	7.8	31.2	62.5	>100	15.6	3.9
2h	3-NO ₂ C ₆ H ₄	7.8	7.8	31.2	7.8	15.6	15.6
2i	Biphenyl	3.9	15.6	15.6	3.9	7.8	7.8
2j	4-NCC ₆ H ₄	15.6	31.2	62.5	7.8	7.8	31.2
2k	4-HOC ₆ H ₄	3.9	15.6	31.2	15.6	31.2	15.6
2l	4-FC ₆ H ₄	62.5	7.8	62.5	15.6	15.6	15.6
PC ^a		3.9	1.9	0.98	1.95	1.95	3.9

^a 阳性对照(positive control): 细菌为阿米卡星, 真菌为酮康唑。

的抗炎活性, 结果如表 2 所示. 用以下方程式计算药物对 HUVECs 的抑制率, 并按中效议程计算 IC₅₀.

表 2 化合物对 HUVECs 的抗炎活性
Table 2 Anti-inflammatory activity of compounds on HUVECs

Compd.	IC ₅₀ + SD ^a /($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)
2a	3.96 ± 0.04
2b	>100
2c	19.87 ± 0.05
2d	>100
2e	>100
2f	>100
2g	>100
2h	>100
2i	>100
2j	>100
2k	>100
2l	>100
阿司匹林(Aspirin)	2.52 ± 0.02

^a SD: Standard deviation.

以药品浓度为横坐标, 抑制率为纵坐标作图, 得到 50% 抑制率时候的加药浓度, 即 IC₅₀.

$$\text{抑制率(\%)} = \frac{(\text{对照组平均 OD}_{490} \text{ 值} - \text{给药组平均 OD}_{490} \text{ 值})}{\text{对照组平均 OD}_{490} \text{ 值}} \times 100\%$$

由表 2 的活性评价结果显示, 目标化合物 2a, 2c, 即苯环上取代基为 Cl 时, 对 HUVECs 的炎症表现出较强的抑制作用. 当苯环上 3,4-二位被 Cl 取代时(2a)时, 对 HUVECs 的抑制浓度为 3.96 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 当苯环上 4-位被 Cl 取代(2c)时, 对 HUVECs 的抑制浓度为 19.87 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 3,4-二位被 Cl 取代的化合物比 4-位被 Cl 取代的化合物炎症抑制活性要高 5 倍. 其余化合物 IC₅₀ 值 >100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 对 HUVECs 无抗炎活性. 初步分析, 当苯环上

Cl 取代基时, 对 HUVECs 的炎症抑制作用比较好.

1.5 杀虫剂活性

采用喷雾法, 测定供试杀虫剂对紫薇蚜虫的毒力效果. 对筛选出来的 4 个噻唑化合物, 处理蚜虫 24 h, 分别测定对紫薇蚜虫的杀虫活性. 采用概率单位回归法计算 LC₅₀, 结果如表 3 所示.

表 3 化合物对紫薇蚜虫的室内毒力
Table 3 Toxicity of compounds on tinocallis kahawaluokalani

Compd.	毒力回归方程	LC ₅₀ (95%置信限) ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
2e	$Y=2.9740+1.4371X$	25.6911 (16.0771~35.2236)
2h	$Y=2.9647+1.1607X$	56.6914 (26.6436~106.9089)
2i	$Y=2.7635+1.3312X$	47.8661 (30.7408~85.2203)
2k	$Y=1.4767+2.0691X$	50.4487 (38.3877~66.5948)
噻虫嗪	$Y=4.5452+1.8343X$	1.7698 (1.3412~2.3363)

由表 3 可知, 该类化合物对紫薇蚜虫有一定的杀虫效果. 供试浓度不同, 杀虫活性程度也不一样, 总体呈现浓度效应, 杀虫能力随浓度的增大而增大. 目标化合物 2e, 即苯环上取代基为供电子基团甲氧基时, 处理紫薇蚜虫 24 h 后, 半数蚜虫死亡时的给药浓度为 25.69 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; 目标化合物 2h, 2i, 2k, 即苯环上取代基为 3-硝基、联苯、羟基时, 处理紫薇蚜虫 24 h 后, 杀虫活性中等, 半数致死浓度在 47.86~56.69 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. 本文合成的 12 个新型蒽烷基噻唑衍生物中, 目标化合物中苯环上取代基为甲氧基、硝基、羟基或联苯时表现出中等到强的杀虫效果.

2 结论

以 β -蒽烯的衍生物诺蒽酮为原料, 缩氨基硫脲为中间件, 经过氧化、缩合、环化合成了 12 个新型蒽烷基噻

唑衍生物。采用 IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR 和 HRMS 对化合物的结构进行表征。生物活性测试结果表明, 噻唑类化合物对不同菌种具有广谱抑菌活性, 是极具潜力的抗真菌、抗菌化合物; 化合物 **2a**、**2c** 对 HUVECs 有抗炎活性, 化合物 **2e**、**2h**、**2k** 和 **2i** 对紫薇蚜虫有杀虫剂活性。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

Nicolet 380 IR 红外光谱仪(KBr 压片或涂膜法); 德国 Bruker AV 300 MHz 核磁共振仪(TMS 为内标, CDCl_3 为溶剂); 美国 Agilent 6310Trap 型液相质谱联用仪; 美国 Agilent 7890A/5975 气相质谱联用仪; 北京泰克 X-6 显微熔点测定仪(温度计未经校正); 德国 Bruker 高分辨质谱仪。β-蒎烯购自江西省吉水县宏达天然香料有限公司; 其余试剂均为分析纯或化学纯。

3.2 实验方法

3.2.1 原料诺蒎酮的合成方法

在 100 mL 三口烧瓶中依次加入 β-蒎烯 13.6 g (100 mmol)、2 mol/L 硫酸 8 mL、丙酮溶剂 50 mL。在冰浴条件下(0~5 °C)分批加入 47.3 g (0.3 mol)充分碾细的高锰酸钾, 加完后室温条件下反应 6 h, GC-MS 监测显示反应完成。反应结束后, 用布氏漏斗抽滤, 丙酮洗涤固体残渣 3 次。用旋转浓缩仪回收丙酮。剩余物中加入 50 mL 正己烷, 用饱和食盐水洗至中性。经无水硫酸钠干燥, 过滤。常压下蒸去正己烷, 再减压蒸馏, 收集 120~135 °C 馏分。得到无色油状液体^[25], 纯度 92%。

3.2.2 中间体缩氨基硫脲(**1**)的合成方法

在 50 mL 三口烧瓶中加入 1.38 g (10 mmol)诺蒎酮和 0.91 g (10 mmol)氨基硫脲, 溶于 20 mL 无水乙醇, 电磁搅拌下加入催化剂冰乙酸 1 mL, 回流反应 48 h。用二氯甲烷溶解, 过滤除去未反应完的氨基硫脲。再用饱和食盐水洗涤至中性, 无水 Na_2SO_4 干燥、过滤。旋蒸除去溶剂得到淡黄色粘稠浓缩液, 柱层析得到缩氨基硫脲。

3.2.3 目标产物 **2a**~**2l** 的合成方法

在 50 mL 三口烧瓶中加入 0.21 g (1 mmol)化合物 **1**、1 mmol α-溴代芳基苯乙酮、0.08 g (1 mmol)无水乙酸钠。常温下反应 2 h, 反应结束后, 用砂芯漏斗抽滤, 乙醇洗涤固体。得到的噻唑固体以溴化盐的形式存在, 再用二氯甲烷溶解固体, 饱和碳酸氢钠溶液洗去溴化氢, 氯化钠水溶液洗至中性。旋蒸除去二氯甲烷, 甲醇重结晶, 得到产物 **2a**~**2l**。

2-[2-(6,6-二甲基双环[3,1,1]庚-2-亚基)胍基]-4-(3,4-二氯苯基)噻唑(**2a**): 白色粉末, 得率 67.5%, 纯度

99.45%。m.p. 101~103 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.809 (s, 3H), 1.335 (s, 3H), 2.021 (t, $J=4.5$ Hz, 2H), 2.049~2.125 (m, 1H), 2.413 (q, $J=11.7$ Hz, 2H), 2.458~2.553 (m, 2H), 2.727 (t, $J=5.4$ Hz, 1H), 6.849 (s, 1H), 7.426 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.593 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.885 (s, 1H), 8.433 (s, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 21.28, 22.10, 22.19, 22.27, 25.45, 27.20, 40.08, 40.69, 50.91, 99.55, 124.53, 125.40, 131.10, 140.59, 169.43, 169.83; IR (KBr) ν : 2947, 2869, 1159, 1460, 1426 cm^{-1} ; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 380.0749, found 380.0752。

2-[2-(6,6-二甲基双环[3,1,1]庚-2-亚基)胍基]-4-(4-硝基苯基)噻唑(**2b**): 黄色粉末, 得率 72.6%, 纯度 99.11%。m.p. 98~100 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.843 (s, 3H), 1.344 (s, 3H), 2.083 (t, $J=4.2$ Hz, 2H), 2.149~2.165 (m, 1H), 2.466 (q, $J=8.1$ Hz, 2H), 2.509~2.585 (m, 2H), 2.757 (t, $J=6.6$ Hz, 1H), 7.013 (s, 1H), 7.538 (d, $J=5.4$ Hz, 1H), 7.565 (d, $J=6.9$ Hz, 2H), 8.114 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 8.150 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 8.660 (s, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 18.26, 22.04, 22.11, 22.18, 25.41, 27.10, 40.02, 40.72, 50.93, 58.20, 103.79, 120.56, 124.44, 129.00, 131.11, 137.94, 148.66, 169.52, 170.93; IR (KBr) ν : 2947, 2859, 1558, 1517, 1418, 1348 ($-\text{NO}_2$) cm^{-1} ; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 357.1379, found 357.1382。

2-[2-(6,6-二甲基双环[3,1,1]庚-2-亚基)胍基]-4-(4-氯苯基)噻唑(**2c**): 白色粉末, 得率 68.9%, 纯度 97.85%。m.p. 174~176 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.801 (s, 3H), 1.314 (s, 3H), 2.026 (t, $J=5.1$ Hz, 2H), 2.375~2.400 (m, 1H), 2.414 (q, $J=3.0$ Hz, 2H), 2.491~2.545 (m, 2H), 2.726 (t, $J=5.4$ Hz, 1H), 6.757 (s, 1H), 7.059 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.714 (d, $J=3$ Hz, 2H), 8.474 (s, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 22.09, 22.21, 25.45, 27.18, 40.07, 40.73, 50.93, 101.15, 125.74, 126.78, 129.76, 136.38, 139.13, 169.35, 169.89; IR (KBr) ν : 2925, 2859, 1559, 1490, 1407 cm^{-1} ; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{ClN}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 346.1139, found 346.1143。

2-[2-(6,6-二甲基双环[3,1,1]庚-2-亚基)胍基]-4-苯基噻唑(**2d**): 白色粉末, 得率 80.2%, 纯度 98.02%。m.p. 103~105 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.803 (s, 3H), 1.313 (s, 3H), 2.023 (t, $J=3.6$ Hz, 2H), 2.394~2.425 (m, 1H), 2.456 (q, $J=8.1$ Hz, 2H), 2.507~2.560 (m, 2H), 2.728 (t, $J=5.4$ Hz, 1H), 6.824 (s, 1H), 7.281 (s, 1H), 7.377 (d, $J=4.2$ Hz, 2H), 7.769 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 8.447 (s, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 22.11, 22.21, 25.28,

25.46, 27.20, 40.09, 40.71, 50.93, 100.47, 125.51, 127.28, 129.49, 130.26, 140.33, 169.37, 169.64; IR (KBr) ν : 2927, 2866, 1695, 1559, 1421 cm^{-1} ; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{S} [\text{M}+\text{H}]^+$ 312.1528, found 312.1532.

2-[2-(6,6-二甲基双环[3,1,1]庚-2-亚基)胍基]-4-(4-甲氧基苯)噻唑(**2e**): 白色粉末, 得率 68.9%, 纯度 98.04%. m.p. 100~102 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.805 (s, 3H), 1.312 (s, 3H), 2.005 (t, $J=4.8$ Hz, 2H), 2.111~2.382 (m, 1H), 2.406 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.509~2.542 (m, 2H), 2.728 (t, $J=5.4$ Hz, 1H), 3.832 (s, 3H), 6.696 (s, 1H), 6.898 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.698 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 8.394 (s, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 22.11, 22.20, 22.22, 25.46, 27.21, 40.10, 40.70, 50.92, 55.37, 98.33, 114.87, 119.93, 127.05, 140.15, 161.05, 169.23, 169.36; IR (KBr) ν : 3443, 2929, 1604, 1561, 1509 cm^{-1} ; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{OS} [\text{M}+\text{H}]^+$ 342.1634, found 342.1635.

2-[2-(6,6-二甲基双环[3,1,1]庚基-2-亚基)胍基]-4-(α -萘基)噻唑(**2f**): 白色晶体, 得率 74.3%, 纯度 98.90%. m.p. 123~124 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.786 (s, 3H), 1.273 (s, 3H), 1.978 (t, $J=4.8$ Hz, 2H), 2.093~2.420 (m, 1H), 2.439 (q, $J=5.1$ Hz, 2H), 2.481~2.498 (m, 2H), 2.716 (t, $J=5.4$ Hz, 1H), 6.968 (s, 1H), 7.456 (d, $J=3.9$ Hz, 2H), 7.814 (d, $J=4.5$ Hz, 2H), 7.847 (d, $J=3$ Hz, 2H), 8.297 (s, 1H), 8.651 (s, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 22.13, 22.24, 22.27, 25.46, 27.21, 40.08, 50.93, 100.56, 122.12, 124.36, 125.47, 127.17, 127.56, 127.62, 128.92, 129.45, 133.04, 133.69, 140.49, 169.37, 169.71; IR (KBr) ν : 3058, 2969, 2872, 1559, 1427 cm^{-1} ; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{S} [\text{M}+\text{H}]^+$ 362.1685, found 362.1690.

2-[2-(6,6-二甲基双环[3,1,1]庚-2-亚基)胍基]-4-(4-甲氧基苯)噻唑(**2g**): 白色粉末, 得率 82.1%, 纯度 98.84%. m.p. 109~111 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.798 (s, 3H), 1.311 (s, 3H), 1.976 (t, $J=4.5$ Hz, 2H), 2.019~2.106 (m, 1H), 2.403 (s, 3H), 2.447 (q, $J=7.5$ Hz, 2H), 2.504~2.522 (m, 2H), 2.725 (t, $J=5.7$ Hz, 1H), 6.770 (s, 1H), 7.169 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 7.656 (d, $J=5.1$ Hz, 2H), 8.515 (s, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 22.08, 22.19, 22.22, 25.44, 27.16, 40.03, 40.73, 50.92, 101.75, 102.08, 124.67, 127.10, 127.30, 131.64, 133.92, 134.66, 138.06, 169.37, 170.24; IR (KBr) ν : 2922, 2869, 1560, 1490, 1426 cm^{-1} ; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{S} [\text{M}+\text{H}]^+$ 326.1685, found 326.1689.

2-[2-(6,6-二甲基双环[3,1,1]庚-2-亚基)胍基]-4-(3-硝基苯基)噻唑(**2h**): 黄色粉末, 得率 78.9%, 纯度 97.03%. m.p. 101~103 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 1.353

(s, 3H), 1.638 (s, 3H), 2.030 (t, $J=4.2$ Hz, 2H), 2.132~2.140 (m, 1H), 2.442 (q, $J=6.0$ Hz, 2H), 2.470~2.586 (m, 2H), 2.738 (t, $J=5.7$ Hz, 1H), 7.063 (s, 1H), 7.950 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 8.225 (s, 1H), 8.254 (m, 1H), 8.339 (s, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 21.74, 22.06, 22.17, 22.22, 24.90, 27.13, 40.01, 40.76, 50.93, 104.19, 104.49, 124.81, 126.41, 132.77, 138.04, 148.37, 169.47, 170.65; IR (KBr) ν : 3337, 3109, 2926, 1598, 1561, 1405, 1342 cm^{-1} ; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_2\text{S} [\text{M}+\text{H}]^+$ 357.1379, found 357.1384.

2-[2-(6,6-二甲基双环[3,1,1]庚-2-亚基)胍基]-4-(4-联苯基)噻唑(**2i**): 白色粉末, 得率 70.3%, 纯度 99.21%. m.p. 118~120 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.814 (s, 3H), 1.319 (s, 3H), 2.010 (t, $J=5.1$ Hz, 2H), 2.027~2.117 (m, 1H), 2.431 (q, $J=5.1$ Hz, 2H), 2.495~2.548 (m, 2H), 2.740 (t, $J=5.7$ Hz, 1H), 6.880 (s, 1H), 7.343~7.367 (m, 1H), 7.445 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 7.639 (d, $J=5.2$ Hz, 4H), 7.876 (d, $J=5.6$ Hz, 2H), 8.511 (s, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 22.11, 22.22, 22.26, 25.46, 27.20, 40.07, 40.72, 50.92, 100.13, 125.93, 126.96, 127.98, 128.07, 128.91, 139.56, 140.14, 143.05, 169.33, 169.71; IR (KBr) ν : 2920, 2866, 1561, 1476, 1428 cm^{-1} ; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{S} [\text{M}+\text{H}]^+$ 388.1842, found 388.1843.

2-[2-(6,6-二甲基双环[3,1,1]庚-2-亚基)胍基]-4-(4-氰基苯基)噻唑(**2j**): 白色粉末, 得率 77.11%, 纯度 93.31%. m.p. 105~107 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.814 (s, 3H), 1.322 (s, 3H), 2.016 (t, $J=3.3$ Hz, 2H), 2.060~2.140 (m, 1H), 2.455 (q, $J=5.6$ Hz, 2H), 2.483~2.560 (m, 2H), 2.730 (t, $J=5.4$ Hz, 1H), 6.979 (s, 1H), 7.662 (d, $J=5.4$ Hz, 2H), 7.893 (d, $J=5.6$ Hz, 2H), 8.682 (s, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 22.06, 22.18, 22.23, 25.43, 27.14, 40.01, 40.75, 50.92, 103.73, 113.80, 117.71, 126.06, 131.11, 133.26, 138.41, 169.43, 170.55; IR (KBr) ν : 2926, 2866, 2225 (CN), 1605, 1559, 1402 cm^{-1} ; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{OS} [\text{M}+\text{H}]^+$ 337.1481, found 337.1486.

2-[2-(6,6-二甲基双环[3,1,1]庚-2-亚基)胍基]-4-(4-羟基苯基)噻唑(**2k**): 白色粉末, 得率 67.8%, 纯度 91.45%. m.p. 176~178 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.802 (s, 3H), 1.261 (s, 3H), 2.006 (t, $J=3.3$ Hz, 2H), 2.017~2.110 (m, 1H), 2.340 (q, $J=5.1$ Hz, 2H), 2.505~2.539 (m, 2H), 2.721 (t, $J=5.4$ Hz, 1H), 6.667 (s, 1H), 6.823 (d, $J=5.4$ Hz, 2H), 7.630 (d, $J=5.6$ Hz, 2H), 8.537 (s, 1H), 9.672 (s, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 22.42, 22.69, 24.90, 25.21, 27.23, 27.44, 40.05, 40.77, 50.90, 105.11, 116.64,

128.92, 125.63, 136.21, 138.42, 169.32, 171.77; IR (KBr) ν : 3324, 2914, 1610, 1557, 1398 cm^{-1} ; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 328.1478, found 328.1481.

2-[2-(6,6-二甲基双环[3,1,1]庚-2-亚基)胍基]-4-(4-氟苯基)噻唑(**2I**): 白色粉末, 得率 78.5%, 纯度 96.94%. m.p. 104~106 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.802 (s, 3H), 1.314 (s, 3H), 2.016 (t, $J=4.2$ Hz, 2H), 2.114~2.379 (m, 1H), 2.431 (q, $J=5.4$ Hz, 2H), 2.511~2.545 (m, 2H), 2.727 (t, $J=4.8$ Hz, 1H), 6.755 (s, 1H), 7.059 (d, $J=5.8$ Hz, 2H), 7.753 (d, $J=5.7$ Hz, 2H), 8.468 (s, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 20.60, 22.22, 22.29, 22.33, 26.78, 27.55, 40.37, 40.70, 51.03, 102.05, 115.63, 127.81, 133.44, 133.51, 166.04, 170.38, 182.56; IR (KBr) ν : 2946, 2923, 1558, 1476, 1420 cm^{-1} ; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{FN}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 330.1437, found 330.1445.

3.2.4 抑菌活性测定

在 96 孔分析板上, 首先将第 2 孔到第 12 孔加入 75 μL 无菌水, 再将目标产物 **2a**~**2I**、阳性对照品阿米卡星、酮康唑分别用 DMSO 配成 500 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液 150 μL 加入到第 1 孔, 将目标化合物和阳性对照品分别在 96 孔分析板上进行二倍稀释, 从第 1 孔到第 12 孔配成一系列的浓度梯度(500~0.245 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 每孔含 75 μL 溶液, 以纯的 DMSO 作为参照, 再向每个孔中加入 75 μL 预先配好的菌悬液, 充分混匀. 最后将 96 孔分析板置于 30 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中, 细菌培养 24 h, 真菌培养 48 h 后观察, 以不产生混浊的最低浓度的孔对应的浓度作为该样品对该测试菌的最低抑菌浓度. 每个样品对每种测试菌重复三次, 结果取平均值.

3.2.4 抗炎活性测定

首先用 0.25%胰蛋白酶消化 HUVECs, 加入有 10% 小牛血清的 DMEM 培养基. 用滴管吹打成单细胞悬液, 把细胞接种于 96 孔培养板中, 接种密度为 5×10^4 个/mL, 每孔体积为 200 μL ; 然后将板转移至细胞孵育箱内进行培养过夜, 第 2 日更换成新的培养基. 细胞板中加入终浓度为 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 LPS 孵育 24 h 造成炎症损伤模型. 然后 96 孔无菌细胞培养板分成 6 组, 设正常组、模型组、阳性药 aspirin (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 待测化合物低浓度组(1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、中浓度组(10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)和高浓度组(100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 每组 8 孔. 造模前, 阳性药 aspirin 和待测化合物预孵 HUVECs 24 h, 正常组和模型组加入等体积的 PBS. 造模后, 吸去 96 孔板内培养基, 加入不含血清的培养基 180 μL 后, 每孔再加入 MTT 溶液(5 mg/mL) 20 μL , 37 $^{\circ}\text{C}$ 摇床上温孵 4 h, 然后吸去含 MTT 的培养基, 每孔加入 DMSO 液 200 μL , 孵育 10 min, 每孔取 150 μL 移至 96 孔板中, 酶标仪 490 nm 检测各孔的 OD

值, 以 OD 值反映细胞的存活情况. 细胞存活率 (%) = 各孔 OD₄₉₀ 值/正常组 OD₄₉₀ 值均数 $\times 100\%$.

3.2.5 杀虫活性测定

以 0.1% Triton X-100 水溶液为对照, 试验时母液用 0.1% Triton X-100 水溶液稀释成所需要的系列浓度梯度. 喷雾采用 Potter 喷雾塔, 将未接触过药剂的紫薇叶片放置在喷雾塔中, 并用相应浓度进行喷雾, 然后将叶片上即刻接入无翅成蚜和个体较大的无翅若蚜, 每处理 15 头蚜虫, 重复 3 次. 等叶片晾干后放入直径 5 cm 培养皿中并拧紧盖口, 置于温度为(25 $\pm$ 1) $^{\circ}\text{C}$, 光周期为 16 : 8 h (L : D) 的培养箱内. 2 h 后检查死亡率. 检查时用毛笔轻轻拨动虫体, 不能动即视为死亡.

辅助材料(Supporting Information) 化合物的红外谱图、核磁共振氢谱和碳谱图、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] Wu, X. J.; Fassie, M. *Mutat. Res.* **2005**, 589, 81.
- [2] Cui, J. G.; Zhao, D. D. *Chin. J. Org. Chem.* **2016**, 36, 630 (in Chinese). (崔建国, 赵丹丹, 有机化学, **2016**, 36, 630.)
- [3] Sriram, D.; Yogeewari, P.; Dhakla, P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 1881.
- [4] Pirrung, M.; Pansare, S.; Sarma, K. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, 48, 3045.
- [5] Brousse, B.; Garca, C.; Moglioni, A. *Antiviral. Chem. Chemother.* **2003**, 14(2), 99.
- [6] Fuji, N.; Mallari, J. P.; Hansell, E. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, 15, 121.
- [7] Saleem, K.; Khan, S. A. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, 43, 2020.
- [8] Hutchinson, S. A.; Jennings, B. R.; Vishnuvajjala, A. D. *Med. Chem.* **2002**, 45, 744.
- [9] Hargrave, K. D.; Hess, F. K.; Oliver, J. T. *J. Med. Chem.* **1983**, 26, 1158.
- [10] Patt, W. C.; Hamilton, H. W.; Taylor, M. D. *Med. Chem.* **1992**, 35, 2562.
- [11] Sharma, R. N.; Xavier, F. P.; Vasu, K. K.; Chaturvedi, S. C.; Pancholi, S. S. *J. Med. Chem.* **2009**, 24, 890.
- [12] Pasqualotto, A. C.; Thiele, K. O.; Goldani, L. Z. *Exp. Opin. Invest. Drugs* **2010**, 11, 165.
- [13] Fox, L. M.; Saravolatz, L. D. *Infect. Dis.* **2005**, 40, 1173.
- [14] Ahad, A.; Raish, M. *Int. J. Biol. Macromol.* **2014**, 67, 99.
- [15] Foruimadi, A.; Soltani, F.; Moshafi, M. H. *Farmaco* **2003**, 58(10), 1023.
- [16] Chandrakantha, B.; Shetty, P.; Nambiyar, V.; Isloor, N. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, 45, 1206.
- [17] Kundu, N.; Nandi, B. *J. Org. Chem.* **2001**, 66(13), 4365.
- [18] Thmos, L.; Gupta, A.; Gupta, V. *J. Fluorine Chem.* **2003**, 22, 207.
- [19] Sawada, Y.; Yanai, T. *Pest Manage. Sci.* **2003**, 59(1), 25.
- [20] Nauen, R. U.; Ebbinghaus-Kintscher, U.; Salgado, V. L.; Kausmann, M. *Pestic. Biochem. Physiol.* **2003**, 76, 55.
- [21] Xiao, L. X.; Shi, D. Q. *Chin. J. Org. Chem.* **2010**, 30, 85 (in Chinese). (肖琳霞, 石德清, 有机化学, **2010**, 30, 85.)

- [22] Yan, M.; Shi, D. Q. *Chin. J. Org. Chem.* **2008**, 28, 736 (in Chinese).
(严曼, 石德清, 有机化学, **2008**, 28, 736.)
- [23] Habar, G.; Lepape, A.; Descilsse, C. *EP 714786*, **1996** [*Chem. Abstr.* **1996**, 125, 117645].
- [24] Samarasekera, R.; Weerasinghe, I. S.; Hemalal, K. D. P. *Pest Man-
age. Sci.* **2008**, 64, 290.
- [25] Liu, B.; Wang, S. F. *J. Nanjing Forestry Univ.* **2010**, 34(2), 89 (in Chinese).
(刘兵, 王石发, 南京林业大学学报, **2010**, 34(2), 89.)

(Li, L.; Fan, Y.)