

7-苯基-6*H*,7*H*-1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]-硫色烯并[4,3-*d*]嘧啶类化合物的合成及抗真菌活性研究董金娇^a 朱昕悦^a 冯思冉^a 张超超^a
刘振明^b 乔晓强^{*,a,c} 宋亚丽^{*,a}^(a) 河北大学药学院 河北省药物质量分析控制重点实验室 河北保定 071000)^(b) 北京大学天然药物及仿生药物国家重点实验室 北京 100191)^(c) 河北大学药物化学与分子诊断教育部重点实验室 河北保定 071000)

摘要 利用生物电子等排原理和生物活性基团拼接原理,设计合成了16个7-苯基-6*H*,7*H*-1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]-硫色烯并[4,3-*d*]嘧啶类化合物。目标化合物均经核磁共振氢谱(¹H NMR)、核磁共振碳谱(¹³C NMR)和高分辨质谱仪(HRMS)进行了结构确证。体外抗真菌活性结果表明,对于动物病原菌,化合物对总状毛霉、絮状表皮癣菌、红色毛癣菌和须癣毛癣菌等浅部真菌均有较好的抑制活性,其中化合物**5d**对红色毛癣菌的最小抑菌浓度为4 μg·mL⁻¹,而对新生隐球菌、白念球菌、烟曲霉等深部真菌的抑制活性较差;化合物对5种植物病原菌均有一定程度的抑制作用,化合物**5i**对花生冠腐病菌和马铃薯晚疫病病菌的抑菌活性最好,最小抑菌浓度为8 μg·mL⁻¹。

关键词 1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]-硫色烯并[4,3-*d*]嘧啶; 平板法; 抗真菌活性

Synthesis and Antifungal Activity of 7-Phenyl-6*H*,7*H*-1,3,4-thiadiazolo[3,2-*a*]-thiochromeno[4,3-*d*]pyrimidine CompoundsDong, Jinjiao^a Zhu, Xinyue^a Feng, Siran^a Zhang, Chaochao^a
Liu, Zhenming^b Qiao, Xiaoqiang^{*,a,c} Song, Yali^{*,a}^(a) Key Laboratory of Pharmaceutical Quality Control of Hebei Province, College of Pharmaceutical Sciences, Hebei University, Baoding, Hebei 071000)^(b) State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, Peking University, Beijing 100191)^(c) Key Laboratory of Medicinal Chemistry and Molecular Diagnosis of Ministry of Education, Hebei University, Baoding, Hebei 071000)

Abstract According to the principle of active substructure splicing and bioisosterism, sixteen 7-phenyl-6*H*,7*H*-1,3,4-thiadiazolo[3,2-*a*]-thiochromeno[4,3-*d*]pyrimidine compounds containing a fused-ring were designed and synthesized. The target compounds were confirmed by ¹H NMR, ¹³C NMR and HRMS. The preliminary antifungal activity assay showed that these compounds exhibited a good antifungal activity *in vitro* on superficial fungi, such as *Mucor racemosus*, *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton mentagrophytes*, compound **5d** was found to be very sensitive (minimum inhibitory concentration (MIC): 4 μg·mL⁻¹) to *Trichophyton rubrum*. While on invasive fungi, such as *Cryptococcus neoformans*, *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*, they exhibited lower activity than that of superficial fungi. They exhibited significant inhibition activity against five plant pathogens. MIC value of compound **5i** against *Aspergillus niger* and *Phytophthora infestans* was 8 μg·mL⁻¹.

Keywords 1,3,4-thiadiazolo[3,2-*a*]-thiochromeno[4,3-*d*]pyrimidine; plate method; antifungal activities

* Corresponding authors. E-mail: yalisong@hbu.edu.cn; xiaoqiao@hbu.edu.cn

Received January 31, 2021; revised February 20, 2021; published online March 4, 2021.

Project supported by the Natural Science Foundation of Hebei Province (No. B2018201269), the Science and Technology Project of Hebei Education Department (No. ZD2019060), the Young Talent of Hebei Province, the Natural Science Interdisciplinary Research Program of Hebei University (No. DXK201912) and the Post-Graduate Innovation Fund Project of Hebei University (No. hbu2020ss054).

河北省自然科学基金(No. B2018201269)、河北省高等学校科学技术研究(No. ZD2019060)、河北省青年拔尖人才、河北大学自然科学多学科交叉研究计划(No. DXK201912)、河北大学研究生创新(No. hbu2020ss054)资助项目。

硫色烯, 又称为苯并噻喃, 是一种含硫杂环化合物, 是一个具有多种生物活性的分子骨架, 如抗真菌活性、抗肿瘤活性和蛋白酶抑制活性等^[1-5]. 为提高其药理活性, Suresh 等^[6]通过[Bmim]HSO₄ 离子液体介导合成了噻唑并[3,2-*a*]硫色烯并[4,3-*d*]嘧啶类化合物, 药理实验发现化合物 **A**(图 1)对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和黄色微球菌具有良好的抗菌活性. 该课题组^[7]使用一锅法设计合成的硫色烯并[4,3-*d*]嘧啶类化合物 **B**(图 1)也表现出良好的抗菌活性. 杨涛等^[8]利用生物活性叠加原理在硫色满酮的 3,4-位引入吡唑和噻唑等杂环结构, 设计合成了一类硫色烯并[4,3-*c*]吡唑类化合物 **C**(图 1), 这些化合物均进行了抗真菌活性实验, 都表现出一定的抗真菌活性, 有些化合物的抗真菌活性甚至优于阳性对照药. 刘晓明等^[9]合成了含噻唑的硫色烯衍生物 **D**(图 1), 生物活性测试结果表明该类化合物均有抗真菌活性. Wang 课题组^[10]设计合成了一系列具有含氮侧链的4-氯-2*H*-硫色烯衍生物 **E**(图 1), 初步抗真菌试验结果表明, 大多数目标化合物对白念珠菌、新生隐球菌、热带念珠菌具有良好的抑制活性.

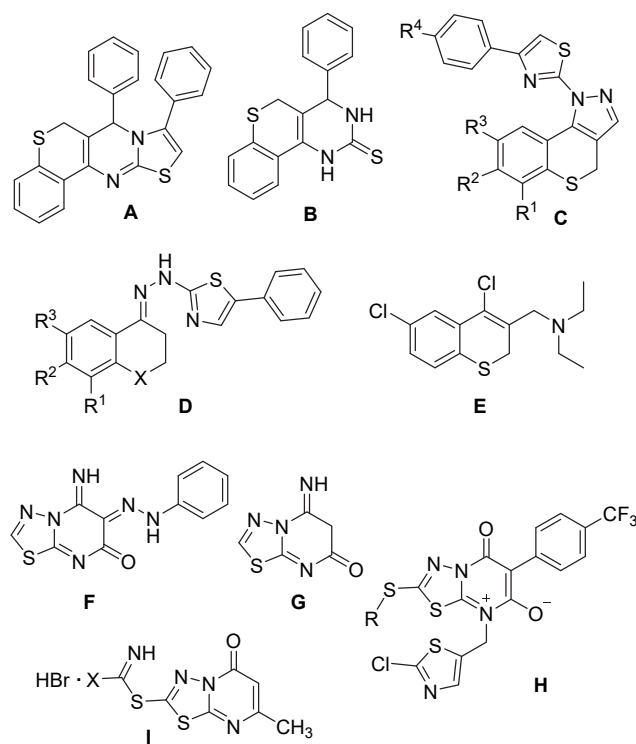


图 1 化合物 A~I 的结构
Figure 1 Structures of compounds A~I

1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]嘧啶结构是嘌呤类生物碱的类似物, 具有广泛的生物活性, 如抗癌、抗菌、抗肿瘤、抗真菌等^[11-13]. 杨娜等^[14]设计合成了 5 种新的嘌呤类生物碱类似物化合物 5-亚氨基-7-氧代-6-芳基偶氮-1,3,4-

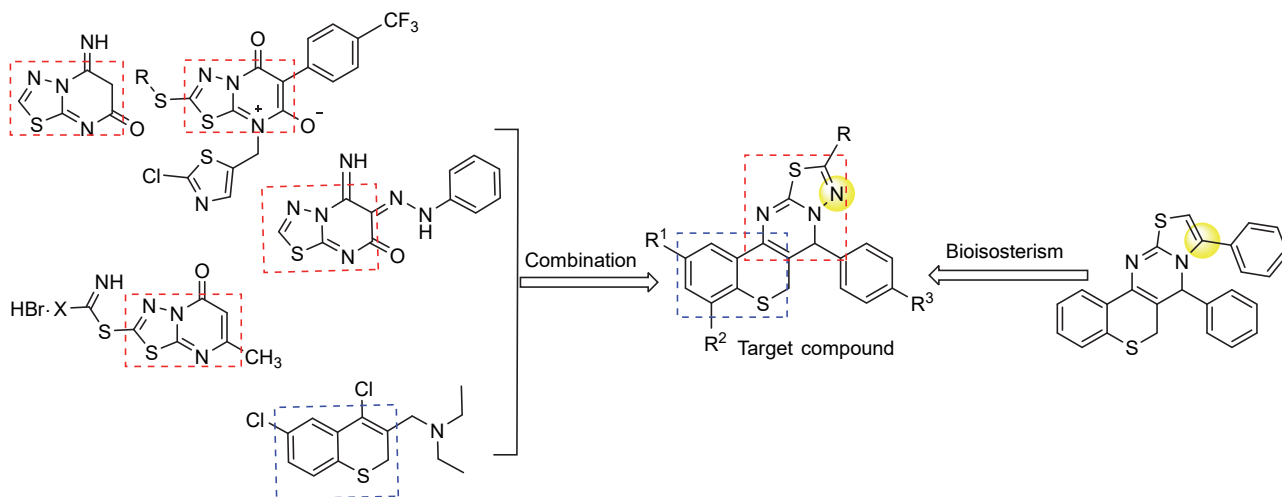
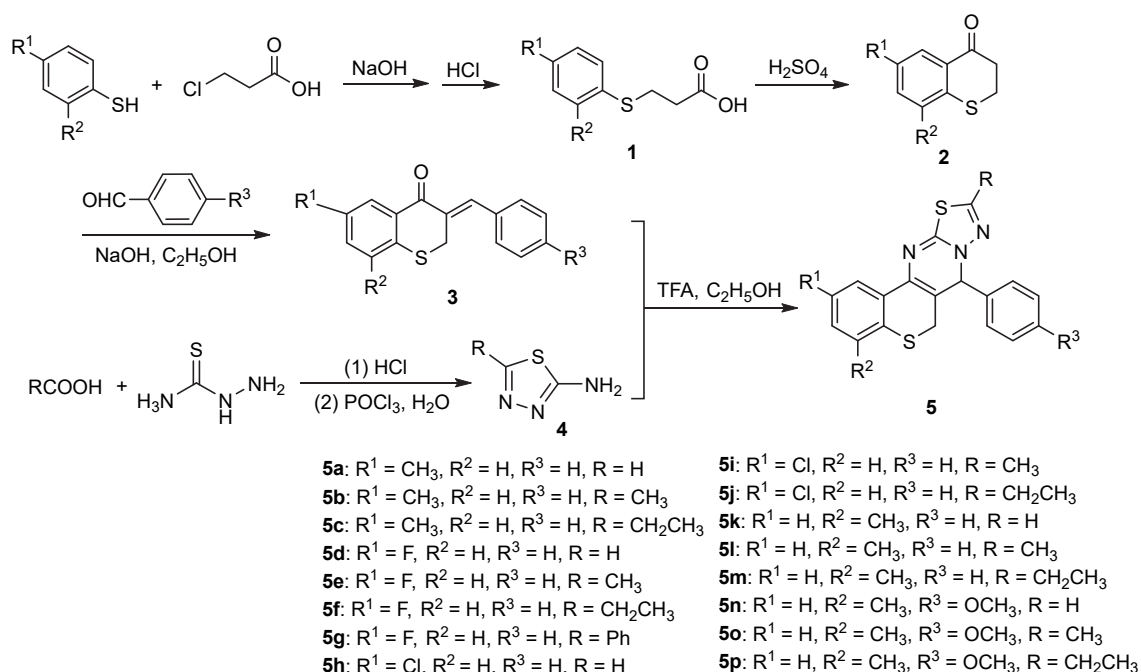
噻二唑并[3,2-*a*]嘧啶衍生物 **F**(图 1)和 5-亚氨基-7-氧代-1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]嘧啶衍生物 **G**(图 1), 并研究其抗癌活性, 测定了其细胞分裂周期磷酸酯酶 CDC25B 的抑制率. 何文静等^[15]设计并合成了一系列结构新颖的 1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]嘧啶酮类离子衍生物 **H**(图 1), 并评价它们的杀虫及抑菌活性. Kukaniev 等^[16]用溴代 1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]嘧啶-7-酮和不同的硫代酰胺为原料, 获得了具有抗菌和杀菌活性的 2 硫代酰胺类 1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]嘧啶-7-酮化合物 **I**(图 1). 目前设计合成不同基团修饰的 1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]嘧啶衍生物, 进而筛选具有高效生物活性的化合物, 是广大科研人员研究热点之一.

嘧啶环与不同杂环的融合, 可提高杂环骨架的生物活性^[17-19], 因此根据生物电子等排原理和生物活性基团拼接原理^[20], 将 1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]嘧啶环并到硫色烯 7, 8 位碳上, 构建 7-苯基-6*H*,7*H*-1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]硫色烯并[4,3-*d*]嘧啶母环, 设计合成了 16 个目标化合物(图 2), 利用不同杂环的耦合, 增强与靶点的结合力, 改善抗菌谱或提高抗真菌活性, 以期能得到生物活性更优的化合物. 目标化合物均通过核磁共振氢谱(¹H NMR)、核磁共振碳谱(¹³C NMR)和高分辨质谱仪(HRMS)进行结构确证. 采用琼脂二倍浓度稀释法(平板法)测试了 7 种动物病原真菌和 5 种植物病原真菌的抑制作用. 结果表明, 大部分化合物对浅部真菌和植物病原菌具有较好的抑制活性.

1 结果与讨论

1.1 化合物的合成

目标化合物 **5a**~**5p** 的合成如 Scheme 1 所示, 中间体 **1**~**4** 的合成采用文献报道的方法进行^[21-25]. 以取代苯硫酚为起始原料, 首先与 β-氯丙酸反应, 环化生成取代硫色满酮 **2**^[21], 然后 **2** 与取代的苯甲醛先利用 Knoevenagel 反应得到 3-次苄基硫色满酮衍生物^[22], 氨基硫脲在浓盐酸或三氯氧磷的作用下与不同的羧酸环合生成 2-氨基-1,3,4-噻二唑环衍生物^[23], 中间体 **3** 与 **4** 反应得到目标产物 7-苯基-6*H*,7*H*-1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]硫色烯并[4,3-*d*]嘧啶化合物 **5**. 在中间体 **3** 与 **4** 反应合成 **5a**~**5p** 的过程中, 以 **5a** 为研究对象, 乙醇为溶剂的条件下考察不同催化剂对 **5a** 产率的影响. 结果表明, 无催化剂时, 即使反应时间超过 48 h 亦无产物生成, 在以醋酸或者盐酸为催化剂时, 产率可达到 51%, 将催化剂换成对甲苯磺酸时, 产率无明显提高, 当催化剂为三氟乙酸时, 产率最高, 为 75%, 因此在目标化合物的合成过程中均采用三氟乙酸作催化剂.

图2 7-苯基-6*H*,7*H*-1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]-硫色烯并[4,3-*d*]嘧啶化合物设计Figure 2 Design of 7-phenyl-6*H*,7*H*-1,3,4-thiadiazolo[3,2-*a*]-thiochromeno[4,3-*d*]pyrimidine compounds

图式1 目标化合物的合成

Scheme 1 Synthetic route of target compounds

1.2 化合物的波谱解析

目标化合物均经核磁共振氢谱、碳谱、高分辨质谱表征确认。以化合物 **5o** 为例进行波谱分析: ^1H NMR 谱图显示 6 位碳上两个氢的化学位移值分别为 3.14 (d, $J=15.1$ Hz, 1H) 和 3.06 (d, $J=15.1$ Hz, 1H), 二者同碳偶合; 7 位碳上氢的化学位移值为 5.90 (s, 1H), 与 7 位碳相连苯环上氢化学位移值分别为 7.83, 7.41, 7.12, 6.98, 6.89, 苯环上甲氧基氢的化学位移值为 3.80 (s, 3H), 硫色烯苯环上甲基氢的化学位移值为 2.35 (s, 3H), 与噻二唑环相连的甲基氢的化学位移值为 2.32 (s, 3H)。 ^{13}C NMR 谱显

示共有 19 个碳的信号峰, 其中 129.5, 114.3 为 C-7 位苯环上两组对称的四个碳的化学位移值。苯环上甲基碳的化学位移值为 17.1, 甲氧基碳的化学位移值为 55.4, 噻二唑环上甲基碳的化学位移值为 21.3, C-6 位亚甲基碳的化学位移值为 27.5, C-7 位碳的化学位移值为 65.0, 噻二唑环上两个碳的化学位移值为 160.9 和 151.8, 嘧啶环剩余两个碳的化学位移值为 106.8 和 132.8, 化学位移值 160.2, 148.6, 136.9, 135.6, 132.7, 129.0, 127.0, 126.4 均为苯环上碳的信号。HRMS 谱图显示 HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{OS}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 394.1064, found 394.1062, 可以确定为化合物 **5o** 的分子离子峰。

1.3 体外抗真菌活性

动物病原真菌以氟康唑(Fluconazole, FCZ)和两性霉素 B (Amphotericin B, AmB)为阳性对照药物, 植物病原真菌以两性霉素 B (Amphotericin B, AmB)和多菌灵 (Carbendazim, Car)为阳性对照药物. 采用琼脂二倍浓度稀释法(平板法)对所合成的 16 个目标化合物进行了抗真菌活性测试^[24], 分别测定了 7 种动物病原真菌[新生隐球菌(*Cryptococcus neoformans*, *C. n.*)、白念珠菌(*Canidia albicans*, *C. a.*)、烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*, *A. f.*)、总状毛霉(*Mucor racemosus*, *M. r.*)、絮状表皮癣菌(*Epidermophyton floccosum*, *E. f.*)、红色毛癣菌(*Trichophyton rubrum*, *T. r.*)和须癣毛癣菌(*Trichophyton mentagrophytes*, *T. m.*)]和 5 种植物病原真菌[辣椒炭疽病菌(*Colletotrichum gloeosporioides*, *C. g.*)、苹果纹枯病菌(*Rhizoctonia solani* Kühn, *R. s. k.*)、花生冠腐病菌(*Aspergillus niger* van tiegh, *A. t.*)、马铃薯晚疫病病菌(*Phytophthora infestans*, *P. i.*)和油菜菌核病菌(*Sclerotinia sclerotiorum*, *S. s.*)]的抗菌活性. 测试结果如表 1 和表 2 所示.

由表 1 可知, 对于动物病原真菌, 所有目标化合物对 *C. a.* 均无抑制活性; 化合物 **5d** 和 **5e** 对 *C. n.* 有较弱抑菌活性; 化合物 **5b**、**5d**、**5g**、**5i**、**5j**、**5k**、**5l** 对 *A. f.* 抑菌活性均优于阳性对照氟康唑; 化合物 **5c**、**5f**、**5i**、**5n**、**5o** 对 *E. f.* 具有与对照药氟康唑相当的抑菌活性, 其它化合物对 *E. f.* 表现出较弱的抑菌活性; 所有化合物对 *M. r.* 有较好的抑菌活性, 其中化合物 **5d** 和 **5e** 对 *M. r.* 的最低抑菌浓度为 $8 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. 分别比较 **5a**~**5c**, **5d**~**5g**, **5h**~

5j, **5k**~**5m** 和 **5n**~**5p** 的结构与活性关系, 可以发现当噻二唑环上 $R=H$ 时对 *M. r.* 的活性最好, 且 R 为烷烃时, 碳原子数越多对 *M. r.* 的活性越差. 比较 **5a**~**5c** ($R^1=CH_3$), **5d**~**5g** ($R^1=F$), **5h**~**5j** ($R^1=Cl$) 的抑菌活性可以发现, R^1 为氟原子时对 *M. r.* 的活性最优. 比较 **5a**~**5c** ($R^1=CH_3$, $R^2=H$) 和 **5k**~**5m** ($R^1=H$, $R^2=CH_3$) 可以知道, 化合物 R^1 有甲基取代时对 *M. r.* 活性好于 R^2 为甲基取代的化合物. 比较 **5k**~**5m** ($R^3=H$) 和 **5n**~**5p** ($R^3=OCH_3$) 的最低抑菌浓度可知, R^3 有无甲氧基取代对目标化合物的抗菌活性无影响. $R=H$ 时对 *A. f.* 的抑菌活性较好, R^3 为甲氧基时对 *A. f.* 的抑菌活性较差.

因 16 个化合物对深部真菌 *C. n.*、*C. a.* 均只有较弱的抑制活性, 对 *A. f.* 有抑制活性, 而对浅表真菌 *M. r.* 和 *E. f.* 表现出一定的抗菌活性, 故以 *T. r.* 和 *T. m.* 这两个浅表真菌做进一步的抗浅表真菌感染能力的考察. 结果如表 1 所示. 16 个化合物对 *T. r.* 均有抑制作用, 其中化合物 **5b**、**5c**、**5e**、**5k** 的抑制活性与氟康唑相当, 化合物 **5d** 对 *T. r.* 的抑制活性优于氟康唑, 为 $4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

由表 2 可知, 对于植物病原真菌, 化合物对 *A. t.*、*P. i.*、*S. s.* 的抗菌活性要优于 *C. g.*、*R. s. k.*. 对于 *A. t.*, 均表现出较好的抑菌活性, 其中化合物 **5a**、**5c**、**5f**、**5i**、**5l**、**5m**、**5o**、**5p** 的抗菌活性均优于阳性对照多菌灵, 其中化合物 **5f**、**5i**、**5l** 的最小抑菌浓度达到了 $8 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. 化合物对 *P. i.* 表现出中等的抑制活性. 化合物对 *S. s.* 表现出良好的抑制活性, 其中化合物 **5a**、**5c**、**5g**、**5j** 对它的最小抑菌活性为 $8 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

表 1 化合物 **5a**~**5p** 对动物病原真菌的抑菌活性
Table 1 Animal pathogenic fungi activity of compounds **5a** to **5p**

Compd.	Minimum inhibitory concentration (MIC)/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)						
	<i>C. a.</i>	<i>C. n.</i>	<i>A. f.</i>	<i>E. f.</i>	<i>M. r.</i>	<i>T. r.</i>	<i>T. m.</i>
FCZ	32-64	8-16	64	32	>128	8	64
AmB	<2	<2	<2	4	<2	<2	<2
5a	>128	>128	64	64	16	128	128
5b	>128	>128	16	128	16	8	8
5c	>128	128	>128	32	32	8	16
5d	>128	32	16	128	8	4	32
5e	>128	64	128	64	8	8	8
5f	>128	>128	64	32	16	16	32
5g	>128	>128	32	64	32	8	16
5h	>128	>128	128	64	16	64	16
5i	>128	128	32	32	32	16	64
5j	>128	>128	32	>128	16	64	64
5k	>128	>128	16	64	32	8	8
5l	>128	128	32	>128	64	32	64
5m	>128	128	64	128	32	32	8
5n	>128	>128	128	32	32	32	8
5o	>128	>128	128	32	32	16	32
5p	>128	128	>128	>128	32	16	8

表 2 化合物 5a~5p 对植物病原真菌的抑菌活性
Table 2 Plant pathogenic fungi activity of compounds 5a to 5p

Compd.	Minimum inhibitory concentration (MIC)/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)				
	<i>C. g</i>	<i>R. s. k</i>	<i>A. t</i>	<i>P. i</i>	<i>S. s</i>
Car	128	64	64	16	32
AmB	8	>128	>128	>128	128
5a	128	64	16	64	8
5b	64	32	64	16	128
5c	32	>128	16	32	8
5d	32	64	64	16	16
5e	128	>128	128	64	16
5f	32	>128	8	64	128
5g	16	64	16	128	8
5h	32	>128	64	128	>128
5i	16	>128	8	64	>128
5j	>128	128	16	32	8
5k	>128	128	16	16	16
5l	64	>128	8	8	32
5m	64	32	16	32	128
5n	128	128	64	>128	64
5o	128	64	16	>128	32
5p	>128	64	32	128	16

1.4 分子对接研究

为了研究羊毛甾醇 14 α -去甲基化酶(CYP51)是否为目标化合物潜在的靶标酶,对化合物 5d 的理论结合模式进行计算机模拟.对接结果显示,化合物 5d 能完全进入 CYP51 活性口袋中.图 3 是化合物 5d 和氟康唑与 CYP51 活性位点进行对接得到的相互作用模式图.5d 位于由氨基酸残基 Her375、Ile373、Phe504、Leu503、Tyr122、Phe130、Ala307、Ser311 形成的疏水腔袋中,形成强烈的疏水相互作用.5d 的硫色烯上的苯环可与氨基酸残基 His374 形成 π - π 相互作用,同时,该结构还与氨基酸残基 Phe504 形成 π - π 相互作用.噻啉环能与氨基酸残基 Tyr122 形成 π - π 相互作用.同时,分子对接研究也表明化合物与 CYP51 之间还存在范德华力等相互作用力.活性数据和对接结果表明,目标化合物的抗真菌作

用可能与抑制 CYP51 有关.

2 结论

设计合成 16 个 7-苯基-6H,7H-1,3,4-噻二唑并[3,2-a]-硫色烯并[4,3-d]嘧啶类化合物.并通过核磁共振氢谱、碳谱、高分辨质谱对其结构进行表征.采用琼脂二倍浓度稀释法(平板法)对所合成的 16 个目标化合物进行了抗真菌活性测试.抗真菌活性结果表明,对于动物病原真菌,化合物对总状毛霉、絮状表皮癣菌、红色毛癣菌和须癣毛癣菌等浅部真菌均有较好的抑制活性,其中化合物 5d 对红色毛癣菌的抑菌活性优于阳性对照氟康唑,最小抑菌浓度为 $4\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,而对新生隐球菌、白念球菌、烟曲霉等深部真菌的抑制活性较差;化合物对于 5 种植物病原真菌均有良好的抗菌活性,其中化合物

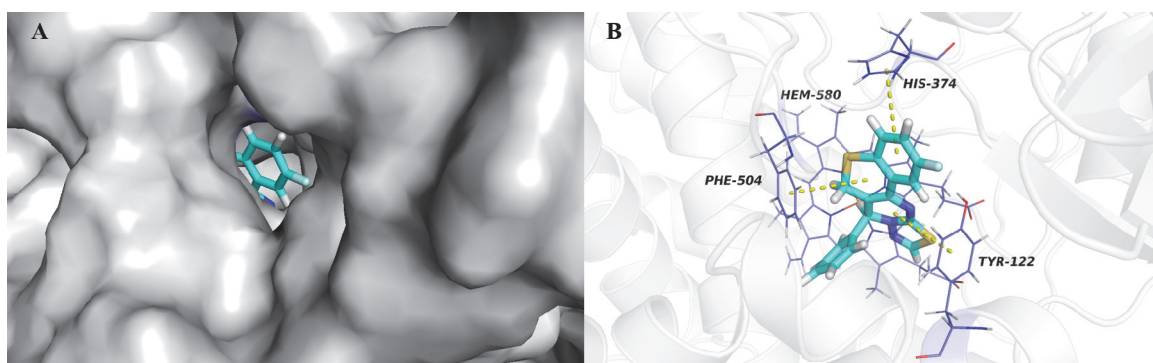


图 3 化合物 5d 与 CYP51 的相互作用图

Figure 3 Binding mode of 5d in the active site of CYP51
(A) The surface views of 5d with CYP51; (B) the docking of 5d with CYP51

51 对花生冠腐病菌和马铃薯晚疫病菌的最小抑菌浓度为 $8 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

SGW X-4 显微熔点仪(上海精密仪器科技有限公司, 未校正); Bruker AVIII-600 MHz 核磁共振波谱仪(Bruker); Q EXACTIVE 高分辨质谱分析仪(Thermo Fisher Scientific); LDZX-30KBS 立式压力蒸汽灭菌器(上海申安医疗器械厂); W-CJ-ZDF 型超净台(上海贺德实验设备厂); 其它试剂和溶剂未经特别说明均为国产或进口分析纯与生物级, 无水试剂均按常规方法处理.

3.2 实验方法

3.2.1 化合物 2 的合成

取 0.1 mol 取代苯硫酚和 0.12 mol β -氯丙酸置于 500 mL 圆底烧瓶中, 加入 300 mL 含 0.24 mol NaOH 的水溶液, 充分搅拌均匀, 100°C 反应. 薄层色谱(TLC)跟踪检测反应. 待反应完全后, 反应体系冷至室温, 用稀盐酸调节 pH 值到 1, 析出大量白色沉淀, 抽滤, 大量水洗涤滤饼, 用乙醇/水重结晶, 得到产物 1. 按 1 g 化合物 1 比 4 mL 浓硫酸的比例将化合物 1 溶于浓硫酸中, 室温放置 12 h, 冰解, 析出大量浅黄色固体, 抽滤, 水洗至中性. 用 50% 乙醇重结晶, 得到中间体 2, 收率为 80%~85%. 化合物的表征数据与文献[21]一致.

3.2.2 化合物 3 的合成

取 0.12 mol NaOH 溶于 50 mL 水中, 然后加入 0.1 mol 化合物 2 和无水乙醇 30 mL, 在室温下搅拌滴加 0.1 mol 取代苯甲醛, 0.5 h 内滴毕, 室温下继续搅拌 3 h, 抽滤, 滤饼水洗, 粗品用 95% 乙醇重结晶, 得黄色片状晶体, 收率为 80% 左右. 化合物的表征数据与文献[22]一致.

3.2.3 化合物 4 的合成

当 R 为甲基、乙基等脂肪族取代基时: 取 0.11 mol 氨基硫脲, 0.11 mol 有机酸和 30 mL 浓盐酸加入到 50 mL 圆底烧瓶中, 搅拌回流 3 h, 冷却至室温, 用 NaOH 调节 pH 值到 8, 冷却析出大量白色沉淀, 抽滤, 水洗得到化合物 4, 收率 75%~80%. 化合物的表征数据与文献[23]一致.

当 R 为苯基时: 将 0.011 mol 氨基硫脲和 0.01 mol 苯甲酸先加入到 100 mL 圆底烧瓶中, 然后在搅拌条件下加入 12 mL 三氯氧磷, 在 80°C 回流反应 2 h, 冷却至室温, 在冰水浴下, 缓缓滴加 15 mL 水, 0.5 h 滴加完. 然后再在 110°C 回流反应 5 h. 冷却至室温, 倒入 80 mL 冰水中, 搅拌出现沉淀. 在冰水浴下用 NaOH 调节 pH

值到 8, 抽滤, 水洗, 干燥, 得粗品. 用 *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)和 H_2O ($V:V=1:2$) 混合溶液重结晶得到化合物 4, 收率为 75%~80%. 化合物的表征数据与文献[25]一致.

3.2.4 化合物 5 的合成

取 10 mmol 化合物 3, 10 mmol 化合物 4, 10 mL 无水乙醇和 1 mL 三氟乙酸置于 50 mL 圆底烧瓶中, 加热回流 12~16 h, TLC 监测反应, 反应结束后冷却至室温, 调 pH 至中性, 反应液用 200 目硅胶色谱(V (乙酸乙酯): V (石油醚)=1:3)纯化, 即得到目标产物 5, 产率 70%~85%.

目标化合物的结构经 ^1H NMR、 ^{13}C NMR、HRMS 表征确认, 有关数据如下所示.

2-甲基-7-苯基-6*H*,7*H*-1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]-噻色烯并[4,3-*d*]嘧啶(5a): 黄色固体, m.p. $192.3\sim 195.5^\circ\text{C}$; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.85 (s, 1H, CH=N), 7.81 (s, 1H, Ar-H), 7.48 (d, $J=6.6$ Hz, 2H, Ar-H), 7.39 (t, $J=6.6$ Hz, 2H, Ar-H), 7.36 (d, $J=6.4$ Hz, 1H, Ar-H), 7.13 (d, $J=7.2$ Hz, 1H, Ar-H), 6.99 (d, $J=7.2$ Hz, 1H, Ar-H), 6.06 (s, 1H, CH-N), 3.15 (d, 15.4 Hz, 1H, S-CH₂), 3.08 (d, 15.0 Hz, 1H, S-CH₂), 2.36 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ : 159.1, 154.0, 136.1, 129.6, 129.3, 129.2, 129.0, 128.2, 128.0, 127.6, 127.0, 126.5, 123.2, 106.5, 65.9, 27.3, 21.3. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{S}_2$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺ 350.0780, found 350.0774.

2,10-二甲基-7-苯基-6*H*,7*H*-1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]-噻色烯并[4,3-*d*]嘧啶(5b): 黄色固体, m.p. $73.1\sim 74.1^\circ\text{C}$; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.84 (s, 1H, Ar-H), 7.47 (d, $J=7.2$ Hz, 2H, Ar-H), 7.38 (t, $J=7.2$ Hz, 2H, Ar-H), 7.34 (dd, $J=8.4, 6.0$ Hz, 1H, Ar-H), 7.12 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 6.97 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 5.95 (s, 1H, CH-N), 3.14 (d, $J=15.1$ Hz, 1H, S-CH₂), 3.06 (d, $J=15.1$ Hz, 1H, S-CH₂), 2.35 (s, 3H, CH₃), 2.32 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ : 160.9, 148.5, 140.3, 136.8, 135.5, 132.6, 129.0, 128.9, 128.8, 128.0, 126.8, 126.3, 106.5, 65.5, 53.4, 27.3, 21.2, 16.9. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{S}_2$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺ 364.0934, found 364.0937.

2-甲基-10-乙基-7-苯基-6*H*,7*H*-1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]-噻色烯并[4,3-*d*]嘧啶(5c): 黄色固体, m.p. $147.9\sim 149.5^\circ\text{C}$; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.84 (s, 1H, Ar-H), 7.47 (d, $J=7.2$ Hz, 2H, Ar-H), 7.39~7.32 (m, 3H, Ar-H), 7.12 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 6.97 (d, $J=7.7$ Hz, 1H, Ar-H), 5.95 (s, 1H, CH-N), 3.15 (d, $J=15.1$ Hz, 1H, S-CH₂), 3.06 (d, $J=15.1$ Hz, 1H, S-CH₂), 2.69~2.60 (m, 2H, CH₂CH₃), 2.35 (s, 3H, CH₃), 1.21 (t, $J=7.6$ Hz, 3H,

CH₃); ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ: 160.8, 154.8, 140.3, 136.9, 135.6, 132.7, 129.5, 129.0, 128.9, 128.9, 128.2, 126.9, 126.4, 106.6, 65.5, 27.4, 24.8, 21.3, 12.7. HRMS (ESI) calcd for C₂₁H₂₀N₃S₂ [M+H]⁺ 378.1093, found 378.1082.

7-苯基-2-氟-6*H*,7*H*-1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]-噻色烯并[4,3-*d*]嘧啶(**5d**): 黄色固体, m.p. 177.5~178.5 °C; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 7.83 (s, 1H, CH=N), 7.77 (dd, *J*=10.4, 2.7 Hz, 1H, Ar-H), 7.49~7.47 (m, 2H, Ar-H), 7.42~7.35 (m, 7.0 Hz, 3H, Ar-H), 7.18 (dd, *J*=8.5, 5.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.88 (td, *J*=8.3, 2.9 Hz, 1H, Ar-H), 6.06 (s, 1H, CH-N), 3.20 (d, *J*=15.3 Hz, 1H, S-CH₂), 3.09 (d, *J*=15.2 Hz, 1H, S-CH₂); ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ: 161.5 (d, ¹*J*_{C-F}=243.1 Hz), 159.2, 139.8, 137.6, 129.5, 129.2, 129.2, 129.1, 128.2, 128.1 (d, ³*J*_{C-F}=7.6 Hz), 127.2 (d, ⁴*J*_{C-F}=3.0 Hz), 115.3 (d, ²*J*_{C-F}=22.6 Hz), 113.2 (d, ²*J*_{C-F}=24.2 Hz), 107.3, 65.8, 27.3. HRMS (ESI) calcd for C₁₈H₁₃FN₃S₂ [M+H]⁺ 354.0534, found 354.0523.

10-甲基-7-苯基-2-氟-6*H*,7*H*-1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]-噻色烯并[4,3-*d*]嘧啶(**5e**): 黄色固体, m.p. 86.5~87.0 °C; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 7.76 (dd, *J*=10.4, 2.8 Hz, 1H, Ar-H), 7.49~7.45 (m, 2H, Ar-H), 7.41~7.34 (m, 3H, Ar-H), 7.16 (dd, *J*=8.5, 5.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.87 (td, *J*=8.2, 2.9 Hz, 1H, Ar-H), 5.95 (s, 1H, CH-N), 3.18 (d, *J*=15.2 Hz, 1H, S-CH₂), 3.06 (d, *J*=15.2 Hz, 1H, S-CH₂), 2.33 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ: 161.5 (d, ¹*J*_{C-F}=244.6 Hz), 161.1, 136.9, 133.6, 129.7, 129.6, 129.4, 129.2, 128.7, 128.2, 127.2 (d, ³*J*_{C-F}=1.5 Hz), 121.0, 113.2 (d, ²*J*_{C-F}=24.6 Hz), 107.5, 65.6, 27.3, 17.0. HRMS (ESI) calcd for C₁₉H₁₅FN₃S₂ [M+H]⁺ 368.0683, found 368.0681.

10-乙基-7-苯基-2-氟-6*H*,7*H*-1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]-噻色烯并[4,3-*d*]嘧啶(**5f**): 黄色固体, m.p. 151.0~152.7 °C; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 7.76 (dd, *J*=10.4, 2.8 Hz, 1H, Ar-H), 7.46 (d, *J*=7.6 Hz, 2H, Ar-H), 7.38 (t, *J*=7.4 Hz, 2H, Ar-H), 7.36~7.33 (m, 1H, Ar-H), 7.16 (dd, *J*=8.4, 5.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.87 (td, *J*=8.2, 2.8 Hz, 1H, Ar-H), 5.95 (s, 1H, CH-N), 3.19 (d, *J*=15.2 Hz, 1H, S-CH₂), 3.06 (d, *J*=15.2 Hz, 1H, S-CH₂), 2.70~2.60 (m, 2H, CH₂CH₃), 1.21 (t, *J*=7.6 Hz, 3H, CH₃); ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ: 161.5 (d, ¹*J*_{C-F}=243.1 Hz), 160.9, 155.0, 140.1, 129.2, 129.2, 129.1, 129.0, 128.1, 128.0 (d, ³*J*_{C-F}=7.5 Hz), 127.2 (d, ⁴*J*_{C-F}=3.0 Hz), 115.1 (d, ²*J*_{C-F}=22.6 Hz), 113.1 (d, ²*J*_{C-F}=24.2 Hz), 107.3, 65.4,

27.3, 24.8, 12.7. HRMS (ESI) calcd for C₂₀H₁₇FN₃S₂ [M+H]⁺ 382.0842, found 382.0833.

7,10-二苯基-2-氟-6*H*,7*H*-1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]-噻色烯并[4,3-*d*]嘧啶(**5g**): 黄色固体, m.p. 111.2~112.9 °C; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 7.80 (dd, *J*=10.4, 2.8 Hz, 1H, Ar-H), 7.62~7.58 (m, 2H, Ar-H), 7.53 (d, *J*=7.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.44~7.37 (m, 5H, Ar-H), 7.35 (dd, *J*=10.4, 4.2 Hz, 1H, Ar-H), 7.18 (dd, *J*=8.5, 5.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.89 (td, *J*=8.2, 2.8 Hz, 1H, Ar-H), 6.07 (s, 1H, CH-N), 3.24 (d, *J*=15.2 Hz, 1H, S-CH₂), 3.11 (d, *J*=15.2 Hz, 1H, S-CH₂); ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ: 161.4 (d, ¹*J*_{C-F}=243.1 Hz), 160.1, 150.6, 139.8, 130.9, 130.1, 129.7, 129.1, 128.9 (d, ³*J*_{C-F}=4.5 Hz), 128.4, 128.1, 127.9 (d, ³*J*_{C-F}=7.5 Hz), 127.1 (d, ⁴*J*_{C-F}=3.0 Hz), 126.3, 115.1 (d, ²*J*_{C-F}=22.6 Hz), 113.0 (d, ²*J*_{C-F}=25.7 Hz), 107.4, 65.6, 53.4, 27.3. HRMS (ESI) calcd for C₂₄H₁₇FN₃S₂ [M+H]⁺ 430.0842, found 430.0833.

7-苯基-2-氯-6*H*,7*H*-1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]-噻色烯并[4,3-*d*]嘧啶(**5h**): 黄色固体, m.p. 111.7~112.5 °C; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 8.03 (d, *J*=1.9 Hz, 1H, Ar-H), 7.83 (s, 1H, CH=N), 7.49~7.45 (m, 2H, Ar-H), 7.41~7.35 (m, 3H, Ar-H), 7.16~7.12 (m, 2H, Ar-H), 6.05 (s, 1H, CH-N), 3.21 (d, *J*=15.2 Hz, 1H, S-CH₂), 3.09 (d, *J*=15.2 Hz, 1H, S-CH₂); ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ: 159.3, 139.8, 137.7, 134.3, 131.8, 130.9, 129.5, 129.3, 129.2, 128.2, 128.0, 126.1, 107.0, 100.1, 65.8, 27.2. HRMS (ESI) calcd for C₁₈H₁₃ClN₃S₂ [M+H]⁺ 370.0231, found 370.0230.

10-甲基-7-苯基-2-氯-6*H*,7*H*-1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]-噻色烯并[4,3-*d*]嘧啶(**5i**): 黄色固体, m.p. 191.3~195.5 °C; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 8.03 (s, 1H, Ar-H), 7.46 (d, *J*=7.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.41~7.35 (m, 3H, Ar-H), 7.35~7.31 (m, 1H, Ar-H), 7.16~7.10 (m, 1H, Ar-H), 5.94 (s, 1H, CH-N), 3.19 (d, *J*=15.2 Hz, 1H, S-CH₂), 3.06 (d, *J*=15.2 Hz, 1H, S-CH₂), 2.34 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ: 157.1, 153.8, 144.6, 137.2, 133.1, 133.1, 133.0, 131.8, 129.24, 128.6, 108.7, 99.5, 83.2, 60.4, 29.1, 27.3, 17.9. HRMS (ESI) C₁₉H₁₅ClN₃S₂ [M+H]⁺ 384.0387, found 384.0385.

10-乙基-7-苯基-2-氯-6*H*,7*H*-1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]-噻色烯并[4,3-*d*]嘧啶(**5j**): 黄色固体, m.p. 144.5~147.6 °C; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 8.02 (d, *J*=2.1 Hz, 1H, Ar-H), 7.46 (d, *J*=7.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.41~7.32 (m, 3H, Ar-H), 7.13 (d, *J*=8.2 Hz, 1H, Ar-H), 7.11 (dd, *J*=8.2, 2.1 Hz, 1H, Ar-H), 5.94 (s, 1H, CH-N), 3.20 (d,

$J=15.2$ Hz, 1H, S-CH₂), 3.06 (d, $J=15.2$ Hz, 1H, S-CH₂), 2.71~2.59 (m, 2H, CH₂CH₃), 1.21 (t, $J=7.6$ Hz, 3H, CH₃); ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ : 160.9, 155.1, 140.1, 136.3, 134.5, 131.7, 130.8, 129.2, 129.0, 128.1, 128.0, 127.9, 126.0, 107.0, 65.5, 27.2, 24.8, 12.7. HRMS (ESI) calcd for C₂₀H₁₇ClN₃S₂ [M + H]⁺ 398.0547, found 398.0534.

4-甲基-7-苯基-6*H*,7*H*-1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]-硫色烯并[4,3-*d*]嘧啶(**5k**): 黄色固体, m.p. 167.4~171.1 °C; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7.87 (s, 1H, CH=N), 7.48 (dd, $J=7.9$, 1.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.41~7.35 (m, 4H, Ar-H), 7.14 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 7.00 (d, $J=7.1$ Hz, 1H, Ar-H), 6.08 (s, 1H, CH-N), 3.16 (d, $J=15.2$ Hz, 1H, S-CH₂), 3.08 (d, $J=15.2$ Hz, 1H, S-CH₂), 2.36 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ : 159.1, 135.8, 133.3, 130.6, 129.5, 129.4, 129.2, 129.2, 129.0, 129.0, 128.2, 127.1, 126.5, 106.6, 65.9, 53.6, 21.3. HRMS (ESI) calcd for C₁₉H₁₆N₃S₂ [M + H]⁺ 350.0780, found 350.0767.

4,10-二甲基-7-苯基-6*H*,7*H*-1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]-硫色烯并[4,3-*d*]嘧啶(**5l**): 黄色固体, m.p. 165.9~167.4 °C; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7.84 (s, 1H, Ar-H), 7.46 (d, $J=7.0$ Hz, 2H, Ar-H), 7.39~7.33 (m, 3H, Ar-H), 7.12 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 6.97 (d, $J=7.1$ Hz, 1H, Ar-H), 5.95 (s, 1H, CH-N), 3.13 (d, $J=15.2$ Hz, 1H, S-CH₂), 3.06 (d, $J=15.2$ Hz, 1H, S-CH₂), 2.35 (s, 3H, CH₃), 2.32 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ : 160.9, 135.5, 134.2, 130.6, 129.5, 129.0, 128.9, 128.8, 128.7, 128.0, 127.8, 126.8, 126.3, 106.6, 65.5, 27.3, 21.2, 16.9. HRMS (ESI) calcd for C₂₀H₁₈N₃S₂ [M + H]⁺ 364.0937, found 364.0927.

4-甲基-10-乙基-7-苯基-6*H*,7*H*-1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]-硫色烯并[4,3-*d*]嘧啶(**5m**): 黄色固体, m.p. 158.7~161.9 °C; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7.84 (d, $J=1.1$ Hz, Ar-H), 7.48~7.45 (m, 2H, Ar-H), 7.39~7.32 (m, 3H, Ar-H), 7.12 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 6.98 (dd, $J=7.8$, 1.4 Hz, 1H, Ar-H), 5.95 (s, 1H, CH-N), 3.15 (d, $J=15.1$ Hz, 1H, S-CH₂), 3.06 (d, $J=15.1$ Hz, 1H, S-CH₂), 2.69~2.60 (m, 2H, CH₂CH₃), 2.35 (s, 3H, CH₃), 1.21 (t, $J=7.6$ Hz, 3H, CH₃); ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ : 160.8, 154.8, 140.3, 137.0, 135.6, 132.8, 129.0, 129.0, 129.0, 128.9, 128.2, 126.9, 126.4, 106.6, 65.5, 27.5, 24.9, 21.3, 12.7. HRMS (ESI) calcd for C₂₁H₂₀N₃S₂ [M + H]⁺ 378.1093, found 378.1082.

4-甲基-7-(4-甲氧基苯基)-6*H*,7*H*-1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]-硫色烯并[4,3-*d*]嘧啶(**5n**): 黄色固体, m.p.

133.0~133.5 °C; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7.85 (s, 1H, CH=N), 7.81 (s, 1H, Ar-H), 7.41 (d, $J=8.6$ Hz, 2H, Ar-H), 7.14 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 6.99 (d, $J=7.7$ Hz, 1H, Ar-H), 6.90 (d, $J=8.6$ Hz, 2H, Ar-H), 6.02 (s, 1H, CH-N), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 3.16 (d, $J=15.1$ Hz, 1H, S-CH₂), 3.08 (d, $J=15.1$ Hz, 1H, S-CH₂), 2.36 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ : 160.4, 158.9, 135.7, 132.3, 129.6, 129.3, 129.1, 129.0, 127.0, 126.5, 114.6, 114.4, 106.7, 65.2, 55.4, 53.6, 27.4, 21.3. HRMS (ESI) calcd for C₂₀H₁₈N₃OS₂ [M + H]⁺ 380.0907, found 380.0906.

4,10-二甲基-7-(4-甲氧基苯基)-6*H*,7*H*-1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]-硫色烯并[4,3-*d*]嘧啶(**5o**): 黄色固体, m.p. 187.6~191.0 °C; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7.83 (s, 1H, Ar-H), 7.41 (t, $J=12.1$ Hz, 2H, Ar-H), 7.12 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 6.98 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 6.89 (d, $J=8.6$ Hz, 2H, Ar-H), 5.90 (s, 1H, CH-N), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 3.14 (d, $J=15.1$ Hz, 1H, S-CH₂), 3.06 (d, $J=15.1$ Hz, 1H, S-CH₂), 2.35 (s, 3H, CH₃), 2.32 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ : 160.9, 160.2, 151.8, 148.6, 136.9, 135.6, 132.8, 132.7, 129.5, 129.0, 127.0, 126.4, 114.3, 106.8, 65.0, 55.4, 27.5, 21.3, 17.1. HRMS (ESI) calcd for C₂₁H₂₀N₃OS₂ [M + H]⁺ 394.1042, found 394.1032.

4-甲基-10-乙基-7-(4-甲氧基苯基)-6*H*,7*H*-1,3,4-噻二唑并[3,2-*a*]-硫色烯并[4,3-*d*]嘧啶(**5p**): 黄色固体, m.p. 139.7~141.5 °C; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7.84 (s, 1H, Ar-H), 7.40 (d, $J=8.6$ Hz, 2H, Ar-H), 7.12 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 6.97 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, Ar-H), 6.88 (d, $J=8.6$ Hz, 2H, Ar-H), 5.91 (s, 1H, CH-N), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 3.16 (d, $J=15.1$ Hz, 1H, S-CH₂), 3.06 (d, $J=15.1$ Hz, 1H, S-CH₂), 2.73~2.55 (m, 2H, CH₂CH₃), 2.35 (s, 3H, CH₃), 1.21 (t, $J=7.6$ Hz, 3H, CH₃); ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ : 160.6, 160.2, 154.7, 136.9, 135.6, 132.9, 132.6, 129.5, 128.9, 128.9, 126.9, 126.4, 114.2, 106.7, 64.9, 55.4, 27.5, 24.9, 21.3, 12.7. HRMS (ESI) calcd for C₂₂H₂₂N₃OS₂ [M + H]⁺ 408.1199, found 408.1187.

3.3 抗真菌活性测试

本实验采用琼脂二倍浓度稀释法(平板法)对所合成的 16 个目标化合物(**5a**~**5p**)进行了抗真菌活性的初步测试. 先将目标化合物以适量二甲基亚砷溶解后, 再用无菌蒸馏水稀释, 加入到经过灭菌的 1%的葡萄糖蛋白胨琼脂培养基中, 样品浓度分别为 128、64、32、16、8、4、2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. 然后接种供试菌(每种菌同时作一空白对照), 置恒温培养箱中培养 2~7 d. 动物病原菌以氟康

唑、两性霉素 B 为阳性对照, 植物病原菌以两性霉素 B 和多菌灵为阳性对照, 以无菌生长的最低浓度为最小抑菌浓度(MIC). 实验结果以空白对照的生长情况为参考.

3.3 分子对接

分子对接研究采用 Maestro 10.2 软件的 Glide 模块, 14 α -去甲基化酶(Sterol 14 α -demethylase, CYP51)数据来自蛋白数据库(Protein Data Bank, ID: 4UYM). 首先使用 LigPrep 准备配体, 其次, 用 Protein Preparation Wizard 完成蛋白准备, 以原始配体所在位置设置格点, 然后用 Ligand Docking 进行对接, 所有保留参数设为默认值. 选取打分值最高的构象用 PyMol 软件(<http://www.pymol.org/>)进行结果分析.

辅助材料(Supporting Information) 化合物 5a~5p 的高分辨质谱、核磁共振氢谱和碳谱. 这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载.

References

- [1] Guo, D.; Liu, Y.; Li, T.; Wang, N.; Zhai, X.; Hu, C.; Gong, P. *Sci. China Chem.* **2012**, *55*, 347.
- [2] Marini, A. M.; Maresca, A.; Aggarwal, M.; Orlandini, E.; Nencetti, S.; Da Settimo, F.; Salerno, S.; Simorini, F.; La Motta, C.; Taliani, S.; Nuti, E.; Scozzafava, A.; McKenna, R.; Rossello, A.; Supuran, C. T. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 9619.
- [3] Song, J.; Jones, L. M.; Chavarria, G. E.; Charlton-Sevcik, A. K.; Jantz, A.; Johansen, A.; Bayeh, L.; Soeung, V.; Snyder, L. K.; Lade, S. D., Jr.; Chaplin, D. J.; Trawick, M. L.; Pinney, K. G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 2801.
- [4] Wei, P.; Liu, J. J.; Ma, J. J.; Yang, G. L. *Mod. Appl. Sci.* **2010**, *4*, 136.
- [5] Liu, Y.; Luo, W.; Sun, L.; Guo, G. *Drug Discoveries Ther.* **2008**, *2*, 216.
- [6] Suresh, L.; Sagar Vijay Kumar, P.; Poornachandra, Y.; Ganesh Kumar, C.; Babu, N. J.; Chandramouli, G. V. P. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, *24*, 3808.
- [7] Suresh, L.; Sagar Vijay Kumar, P.; Poornachandra, Y.; Ganesh Kumar, C.; Chandramouli, G. V. *Bioorg. Chem.* **2016**, *68*, 159.
- [8] Song, Y.-L.; Yang, T.; Dong, Y.-F.; Wu, F.; Yang, G.-L. *Chem. Lett.* **2014**, *43*, 134.
- [9] Song, Y.-L.; Liu, X.-M.; Yang, N.; Yang, G.-L. *Asian J. Chem.* **2013**, *25*, 1849.
- [10] Wang, D.-J.; Hou, Z.; Xu, H.; An, R.; Su, X.; Guo, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, *28*, 3574.
- [11] Ahmad, S.; Abbas, R.; Soheila, N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 5553.
- [12] Azab, M. E.; Abdel-Wahab, S. S.; Mahmoud, N. F.; Elsayed, G. A. *J. Heterocycl. Chem.* **2018**, *55*, 2349.
- [13] Dake, S. A.; Tekale, S. U.; Sarda, S. R.; Jadhav, W. N.; Bhusare, S. R.; Pawar, R. P. *ARKIVOC* **2008**, *17*, 241.
- [14] Yang, N.; Hao, L.; Lu, Y. *Chem. Reagents* **2012**, *34*, 1139 (in Chinese). (杨娜, 郝琳, 蒋洪, 鲁源, 化学试剂, **2012**, *34*, 1139.)
- [15] He, W.-J.; Liu, D.-R.; Gan, X.-H.; Zhang, J.; Liu, Z.-J.; Yi, C.-F.; Song, B.-A. *Chin. J. Org. Chem.* **2019**, *39*, 2287 (in Chinese). (何文静, 刘登日, 甘秀海, 张建, 刘峥军, 易崇粉, 宋宝安, 有机化学, **2019**, *39*, 2287.)
- [16] Kukaniev, M. A.; Salimov, T. M.; Murvatulloeva, M. S.; Imatshoev, I. K. *Pharm. Chem. J.* **2006**, *40*, 421.
- [17] Maddila, S.; Gorle, S.; Seshadri, N.; Lavanya, P.; Jonnalagadda, S. B. *Arabian J. Chem.* **2016**, *9*, 681.
- [18] Wang, S.; Yuan, X.-H.; Wang, S.-Q.; Zhao, W.; Chen, X.-B.; Yu, B. *Eur. J. Med. Chem.* **2021**.
- [19] Zarenezhad, E.; Farjam, M.; Iraj, A. *J. Mol. Struct.* **2021**, *1230*, 129833.
- [20] Han, X.-Y.; Li, S.-B.; Liang, G.-C.; Song, Y.-L. *Acta Pharm. Sin.* **2017**, *52*, 113 (in Chinese). (韩晓燕, 李生彬, 梁国超, 宋亚丽, 药学学报, **2017**, *52*, 113.)
- [21] Liang, G.-C.; Zhou, G.; Zhong, Y.-F.; Han, X.-Y.; Song, Y.-L. *Chin. J. Synth. Chem.* **2015**, *23*, 1100 (in Chinese). (梁国超, 周冠, 钟一凡, 韩晓燕, 宋亚丽, 合成化学, **2015**, *23*, 1100.)
- [22] Qi, P.; Jin, Y.-H.; Gou, C.; Fang, L. *Chin. J. New Drugs* **2004**, *13*, 141 (in Chinese). (齐平, 靳颖华, 郭春, 方林, 中国新药杂志, **2004**, *13*, 141.)
- [23] Le, C.-G.; Ding, J.-H.; Yang, S.-J. *Chem. World* **2002**, *43*, 366 (in Chinese). (乐长高, 丁健桦, 杨思金, 化学世界, **2002**, *43*, 366.)
- [24] Sun, X.-Y.; Feng, J.-J.; Li, S.-B.; Feng, S.-R.; Liu, Z.-M.; Song, Y.-L. *Chin. J. Org. Chem.* **2019**, *39*, 1037 (in Chinese). (孙晓阳, 冯佳佳, 李生彬, 冯思冉, 刘振明, 宋亚丽, 有机化学, **2019**, *39*, 1037.)
- [25] Xiao, L.-W.; Li, H.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2006**, *26*, 979 (in Chinese). (肖立伟, 李慧章, 有机化学, **2006**, *26*, 979.)

(Lu, Y.)