

文章编号: 1000-5862(2012)03-0297-04

双-三唑并[3,4-*b*]-[1,3,4]噻二唑类化合物的 合成及抗癌活性研究

李永双, 李德江*

(三峡大学化学与生命科学学院, 湖北 宜昌 443002)

摘要: 间苯二甲酸酯化、腈解、成盐、环化成双-(4-氨基-5-巯基-1,2,4-三唑-3-基)苯(1),再与芳香酸(2a~2m)在相转移催化剂四丁基碘化铵和POCl₃作用下,高产率地制得13种1,3-双[(6-芳基)-1,2,4-三唑并[3,4-*b*]-[1,3,4]噻二唑-3-基]苯类衍生物(3a~3m),并利用IR、¹H NMR、MS和元素分析对目标化合物的结构进行了表征. 用MTT方法评价了它们在体外对HepG-2、A549-1和231-2癌细胞株的体外生长抑制活性. 结果表明: 所合成的13个新化合物(3a~3m)均具有潜在的体外抑制癌细胞生长活性,其中3d、3h与3i对HepG2和231-2的体外抑制活性最强.

关键词: 双-1,2,4-三唑并[3,4-*b*]-[1,3,4]噻二唑; 合成; 抗癌活性

中图分类号: O 626.24

文献标志码: A

0 引言

文献[1-2]报道: 双-1,2,4-三唑并[3,4-*b*]-[1,3,4]噻二唑类化合物比单-1,2,4-三唑并[3,4-*b*]-[1,3,4]噻二唑类化合物具有更强的抗菌活性和抗癌活性,本课题组用单-3-芳基-4-氨基-5-巯基-1,2,4-三唑与脂肪族、芳香族二元羧酸反应合成了一系列的双[3-芳基-1,2,4-三唑并[3,4-*b*]-[1,3,4]噻二唑-6-基]脂肪族和双[3-芳基-1,2,4-三唑并[3,4-*b*]-[1,3,4]噻二唑-6-基]芳香族化合物,并使用杯盘培养法测定了该类化合物在100 mg/L时对金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)、大肠杆菌(*E. coli*)和枯草杆菌(*B. subtilis*)的抗菌活性,初步测试结果表明,所合成的大部分化合物对以上3种细菌均有一定程度的抑制活性^[3-5]. 基于以上研究,为进一步拓展研究

范围和研制出抗菌活性更高、谱更广、低毒的化合物,依据生物活性叠加原理,本文将双-(4-氨基-5-巯基-1,2,4-三唑-3-基)苯与芳香族单羧酸进行合理组装和修饰,合成了13种1,3-双[(6-芳基)-1,2,4-三唑并[3,4-*b*]-[1,3,4]噻二唑-3-基]苯类衍生物,并用MTT方法评价了它们在体外对HepG-2、A549-1和231-2癌细胞株的体外生长抑制活性,合成路线见图1.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

熔点用北京泰克有限公司生产的X-4型熔点仪测定,温度计未经校正;红外光谱用Nicolet Nexus 470红外光谱仪测定;¹H NMR用Varian Mercury 400型400 MHz核磁共振仪测定,TMS作内标;MS使用

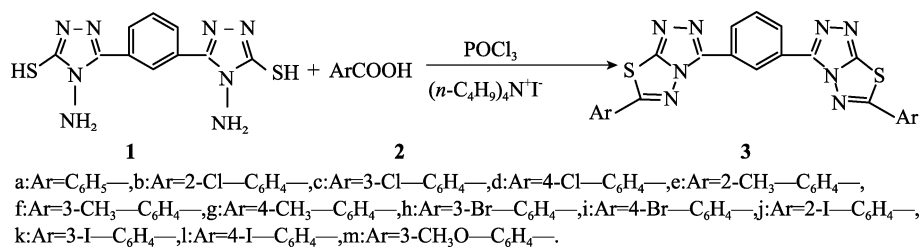


图1 合成路线图

收稿日期: 2012-03-01

基金项目: 国家自然科学基金(31100080), 湖北省自然科学基金(2011CDB186)和湖北省高校产学研合作(C2010027)资助项目.

作者简介: 李德江(1964-), 男, 湖北郧县人, 教授, 主要从事精细化工和有机合成研究.

Finnigan Trace 质谱仪测定; 元素分析用 Vario EL III 元素分析仪测定.

间苯二甲酸酯化、腈解、成盐、环化成双-(4-氨基-5-巯基-1,2,4-三唑-3-基)苯(**1**)参照文献[6-7]合成. 所用试剂为国产(或进口)化学纯或分析纯.

1.2 1,3-双[(6-芳基)-1,2,4-三唑并[3,4-*b*]-[1,3,4]噻二唑-3-基]苯衍生物的合成通法^[8-9]

将 2.0 mmol 的双-(4-氨基-5-巯基-1,2,4-三唑-3-基)苯(**1**)、2.2 mmol 的芳香羧酸(**2a~2m**)、0.5 mmol 的四丁基碘化铵、8 mL 三氯氧磷的混合反应物, 在 55~60 °C 搅拌 3 h, 然后慢慢升温回流 8~15 h, 减压蒸出过量的三氯氧磷, 倒入冰水中, 剧烈搅拌直到油状物完全固化, 用质量分数为 10% 的 NaOH 溶液调节 pH 值至 10, 抽滤, 依次用水、乙醇洗涤, 干燥后, 用 DMF-C₂H₅OH 重结晶, 得纯品(**3a~3m**).

1,3-双[(6-苯基)-1,2,4-三唑[3,4-*b*]-[1,3,4]噻二唑-3-基]苯(**3a**): 浅黄色粉末; 产率 80%; ¹H NMR (CF₃COOD, 400 MHz), δ : 8.69~8.51 (m, 5H, Ar—H), 8.31~8.25 (m, 4H, Ar—H), 7.72~7.61 (m, 5H, Ar—H); IR (KBr), ν/cm^{-1} : 1 621, 1 253, 700; MS, m/z : 478 (M⁺, 15%), 303 (7%), 146 (80%), 128 (100%). 元素分析, C₂₄H₁₄N₈S₂, 计算值/%: C, 60.24; H, 2.95; N, 23.42. 实验值/%: C, 60.17; H, 2.84; N, 23.59.

1,3-双[(6-邻氯苯基)-1,2,4-三唑[3,4-*b*]-[1,3,4]噻二唑-3-基]苯(**3b**): 浅黄色粉末; 产率 76%; ¹H NMR (CF₃COOD, 400 MHz), δ : 8.57~8.48 (m, 4H, Ar—H), 8.38~8.29 (m, 3H, Ar—H), 8.22~8.15 (m, 2H, Ar—H), 7.86~7.58 (m, 3H, Ar—H); IR (KBr), ν/cm^{-1} : 1 631, 1 247, 695; MS, m/z : 548 (M⁺+2, 51%), 546 (M⁺, 100%), 357 (25%), 146 (51%). 元素分析, C₂₄H₁₂N₈S₂Cl₂, 计算值/%: C, 52.66; H, 2.21; N, 20.47. 实验值/%: C, 52.76; H, 2.11; N, 20.53.

1,3-双[(6-间氯苯基)-1,2,4-三唑[3,4-*b*]-[1,3,4]噻二唑-3-基]苯(**3c**): 浅黄色粉末; 产率 81%; ¹H NMR (CF₃COOD, 400 MHz), δ : 8.70~8.61 (m, 3H, Ar—H), 8.35~8.26 (m, 2H, Ar—H), 8.20~8.13 (m, 4H, Ar—H), 7.75~7.51 (m, 3H, Ar—H); IR (KBr), ν/cm^{-1} : 1 626, 1 237, 700; MS, m/z : 548 (M⁺+2, 45%), 546 (M⁺, 80%), 356 (9%), 357 (21%), 146 (100%). 元素分析, C₂₄H₁₂N₈S₂Cl₂, 计算值/%: C, 52.66; H, 2.21; N, 20.47. 实验值: C, 52.49; H, 2.32; N, 20.63.

1,3-双[(6-对氯苯基)-1,2,4-三唑[3,4-*b*]-[1,3,4]噻二唑-3-基]苯(**3d**): 浅黄色粉末; 产率 72%; ¹H NMR (CF₃COOD, 400 MHz), δ : 8.74~8.59 (m, 7H, Ar—H), 8.14~7.76 (m, 5H, Ar—H); IR (KBr), ν/cm^{-1} : 1 627,

1 248, 706; MS, m/z : 548 (M⁺, 71%), 546 (M⁺, 100%), 357 (14%), 146 (38%). 元素分析, C₂₄H₁₂N₈S₂Cl₂, 计算值/%: C, 52.66; H, 2.21; N, 20.47. 实验值/%: C, 52.74; H, 2.31; N, 20.51.

1,3-双[(6-邻甲基苯基)-1,2,4-三唑[3,4-*b*]-[1,3,4]噻二唑-3-基]苯(**3e**): 浅黄色粉末; 产率 70%; ¹H NMR (CF₃COOD, 400 MHz), δ : 8.52~8.39 (m, 3H, Ar—H), 8.33~8.26 (m, 2H, Ar—H), 8.17~8.08 (m, 4H, Ar—H), 7.52~7.48 (m, 3H, Ar—H), 2.55 (s, 6H, 2CH₃); IR (KBr), ν/cm^{-1} : 1 627, 1 249, 697; MS, m/z : 506 (M⁺, 91%), 335 (7%), 317 (23%), 117 (100%). 元素分析, C₂₆H₁₈N₈S₂, 计算值/%: C, 61.64; H, 3.58; N, 22.12. 实验值/%: C, 61.71; H, 3.62; N, 22.23.

1,3-双[(6-间甲基苯基)-1,2,4-三唑[3,4-*b*]-[1,3,4]噻二唑-3-基]苯(**3f**): 浅黄色粉末; 产率 68%; ¹H NMR (CF₃COOD, 400 MHz), δ : 8.44~8.29 (m, 5H, Ar—H), 8.27~8.13 (m, 4H, Ar—H), 7.52~7.39 (m, 3H, Ar—H), 2.57 (s, 6H, 2CH₃); IR (KBr), ν/cm^{-1} : 1 626, 1 239, 702; MS, m/z : 506 (M⁺, 100%), 335 (10%), 317 (39%), 145 (60%), 117 (45%). 元素分析, C₂₆H₁₈N₈S₂, 计算值/%: C, 61.64; H, 3.58; N, 22.12. 实验值/%: C, 61.54; H, 3.51; N, 22.26.

1,3-双[(6-对甲基苯基)-1,2,4-三唑[3,4-*b*]-[1,3,4]噻二唑-3-基]苯(**3g**): 浅黄色粉末; 产率 70%; ¹H NMR (CF₃COOD, 400 MHz), δ : 8.62~8.56 (m, 3H, Ar—H), 8.32~8.21 (m, 4H, Ar—H), 8.09~7.86 (m, 5H, Ar—H), 2.57 (s, 6H, 2CH₃); IR (KBr), ν/cm^{-1} : 1 625, 1 237, 701; MS, m/z : 506 (M⁺, 100%), 335 (9%), 317 (20%), 146 (31%), 116 (87%). 元素分析, C₂₆H₁₈N₈S₂, 计算值/%: C, 61.64; H, 3.58; N, 22.12. 实验值/%: C, 61.56; H, 3.66; N, 22.09.

1,3-双[(6-间溴苯基)-1,2,4-三唑[3,4-*b*]-[1,3,4]噻二唑-3-基]苯(**3h**): 浅黄色粉末; 产率 76%; ¹H NMR (Pyridine-*d*₅, 400 MHz), δ : 8.48~8.41 (m, 3H, Ar—H), 8.36~8.30 (m, 3H, Ar—H), 8.13~8.06 (m, 2H, Ar—H), 7.49~7.43 (m, 4H, Ar—H); IR (KBr), ν/cm^{-1} : 1 624, 1 255, 701; MS, m/z : 636 (M⁺, 40%), 555 (10%), 381 (32%), 146 (100%). 元素分析, C₂₄H₁₂N₈S₂Br₂, 计算值/%: C, 45.31; H, 1.90; N, 17.61. 实验值/%: C, 45.43; H, 2.13; N, 17.52.

1,3-双[(6-对溴苯基)-1,2,4-三唑[3,4-*b*]-[1,3,4]噻二唑-3-基]苯(**3i**): 浅黄色粉末; 产率 80%; ¹H NMR (Pyridine-*d*₅, 400 MHz), δ : 8.52~8.47 (m, 4H, Ar—H), 8.35~8.29 (m, 3H, Ar—H), 8.12~8.06 (m, 2H, Ar—H), 7.56~7.47 (m, 3H, Ar—H); IR (KBr), ν/cm^{-1} : 1 627, 1 251, 700; MS, m/z : 636 (M⁺, 68%), 555 (12%), 381 (33%), 145 (100%). 元素分析, C₂₄H₁₂N₈S₂Br₂, 计算

值/%: C, 45.31; H, 1.90; N, 17.61. 实验值/%: C, 45.39; H, 1.82; N, 17.50.

1,3-双[(6-邻碘苯基)-1,2,4-三唑[3,4-*b*]-[1,3,4]噻二唑-3-基]苯(**3j**): 黄色粉末; 产率 66%; ^1H NMR (CF_3COOD , 400 MHz), δ : 8.81~8.69 (m, 4H, Ar—H), 8.47~8.39 (m, 2H, Ar—H), 8.21~8.06 (m, 3H, Ar—H), 7.46~7.40 (m, 3H, Ar—H); IR (KBr), ν/cm^{-1} : 1 623, 1 251, 702; MS, m/z : 730 (M^+ , 41%), 447 (20), 429 (53%), 276 (100%), 229 (26%), 146 (33%), 101 (71%). Elemental Anal. Calcd./% for $\text{C}_{24}\text{H}_{12}\text{N}_8\text{S}_2\text{I}_2$: C, 39.47; H, 1.66; N, 15.34. Found/%: C, 39.56; H, 1.60; N, 15.41.

1,3-双[(6-间碘苯基)-1,2,4-三唑[3,4-*b*]-[1,3,4]噻二唑-3-基]苯(**3k**): 浅黄色粉末; 产率 64%; ^1H NMR (CF_3COOD , 400 MHz), δ : 8.74~8.70 (m, 3H, Ar—H), 8.46~8.35 (m, 4H, Ar—H), 8.11~8.03 (m, 3H, Ar—H), 7.32~7.29 (m, 2H, Ar—H); IR (KBr), ν/cm^{-1} : 1 629, 1 244, 702; MS, m/z : 730 (M^+ , 39%), 447 (15), 429 (51%), 276 (100%), 229 (41%). 元素分析, $\text{C}_{24}\text{H}_{12}\text{N}_8\text{S}_2\text{I}_2$, 计算值/%: C, 39.47; H, 1.66; N, 15.34. 实验值/%: C, 39.39; H, 1.53; N, 15.40.

1,3-双[(6-对碘苯基)-1,2,4-三唑[3,4-*b*]-[1,3,4]噻二唑-3-基]苯(**3l**): 黄色粉末; 产率 78%; ^1H NMR (CF_3COOD , 400 MHz), δ : 8.38~8.31 (m, 4H, Ar—H), 8.13~7.93 (m, 8H, Ar—H); IR (KBr), ν/cm^{-1} : 1 627, 1 243, 702; MS, m/z : 730 (M^+ , 81%), 447 (25%), 429 (70%), 145 (100%), 101 (52%). 元素分析, $\text{C}_{24}\text{H}_{12}\text{N}_8\text{S}_2\text{I}_2$, 计算值/%: C, 39.47; H, 1.66; N, 15.34. 实验值/%: C, 39.38; H, 1.53; N, 15.39.

1,3-双[(6-对甲基苯基)-1,2,4-三唑[3,4-*b*]-[1,3,4]噻二唑-3-基]苯(**3m**): 黄色粉末; 产率 80%; ^1H NMR (CF_3COOD , 400 MHz), δ : 8.51~8.47 (m, 4H, Ar—H), 8.33~8.22 (m, 3H, Ar—H), 8.16~8.07 (m, 5H, Ar—H), 3.87 (s, 6H, 2OCH_3); IR (KBr), ν/cm^{-1} : 1 626, 1 239, 700; MS, m/z : 538 (M^+ , 92%), 333 (28%), 146 (37%), 145 (43%), 132 (100%). 元素分析, $\text{C}_{26}\text{H}_{18}\text{N}_8\text{O}_2\text{S}_2$, 计算值/%: C, 57.98; H, 3.37; N, 20.80. 实验值/%: C, 57.86; H, 3.30; N, 20.89.

2 结果与讨论

2.1 1,3-双[(6-芳基)-1,2,4-三唑并[3,4-*b*]-[1,3,4]噻二唑-3-基]苯衍生物的波谱特征

在化合物 **3a~3h** 的 IR 谱中, C=N 伸缩振动吸收出现在 $1\ 620\sim 1\ 635\ \text{cm}^{-1}$ 范围内, $1\ 235\sim 1\ 260\ \text{cm}^{-1}$ 附近的吸收峰为 N—N=C 吸收峰, C—S—C 吸收峰出现在 $690\sim 710\ \text{cm}^{-1}$ 附近; 在化合物 **3a~3h** 的 ^1H NMR 谱中, $\delta 7.3\sim 8.7$ 的多重峰为芳环上质子的吸收

峰. 对化合物 **3a~3h** 的质谱研究发现, 它们均有很强的分子离子峰, 分子离子峰与结构分子相吻合.

2.2 1,3-双[(6-芳基)-1,2,4-三唑并[3,4-*b*]-[1,3,4]噻二唑-3-基]苯类衍生物的抗癌活性

以合成的 13 个新化合物作为供试样品, 丝裂霉素 ($20\ \mu\text{g}/\text{mL}$) 作为阳性对照组. 用 DMSO 配成 $1.0\times 10^{-2}\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度的储备液, 用 RPMI-1640 (Roswell Park Memorial Institute) 稀释到所需浓度. 取对数生长期的肝癌细胞 (*HepG-2*) 以每孔 6 000 个细胞接种于 96 孔板, 培养隔夜后, 加入不同浓度的上述化合物. 48 h 后弃去培养基, 每孔加入 $5\ \text{g}/\text{L}$ 的 MTT 溶液 $20\ \mu\text{L}$, 继续培养 4 h 后弃去上层清液, 每孔加入 $150\ \mu\text{L}$ DMSO, 轻轻振荡 30 min, 用酶标仪在 492 nm 波长处测其吸光度值; 取对数生长期的肺癌细胞 (*A549-I*) 和乳腺癌细胞 (*231-2*) 以每孔 6 000 个细胞接种于 96 孔板, 培养隔夜后, 加入不同浓度的上述化合物. 48 h 后弃去培养基, 每孔加入 $5\ \text{g}/\text{L}$ 的 MTT 溶液 $20\ \mu\text{L}$, 继续培养 4 h 后弃去上层清液, 每孔加入 $150\ \mu\text{L}$ DMSO, 轻轻振荡 30 min, 用酶标仪在 492 nm 波长处测其吸光度值. 按公式计算各组对癌细胞的抑制率: 细胞抑制率 = $(1 - \text{实验组吸光度值} / \text{对照组吸光度值}) \times 100\%$. 然后以各药物浓度对数值对各浓度下的抑制率作线性回归, 从所得剂量-效应方程计算出各供试化合物对实验癌细胞的半数抑制浓度 (IC_{50}), 结果见表 1.

表 1 化合物 **3a~3h** 的抗癌活性

化合物	$IC_{50}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$		
	<i>HepG-2</i>	<i>A549-I</i>	<i>231-2</i>
3a	40.2	45.7	41.6
3b	36.7	41.3	28.7
3c	32.8	40.5	30.2
3d	28.1	37.5	24.9
3e	37.3	43.8	44.5
3f	40.1	45.6	46.7
3g	41.6	43.7	41.5
3h	27.5	38.2	26.7
3i	28.1	37.3	28.9
3j	38.5	40.9	40.2
3k	43.3	49.3	47.2
3l	43.3	50.1	48.9
3m	41.2	52.1	47.6

3 参考文献

- [1] Holla B S, Gonsalves R, Shenoy S. Studies on some *N*-bridged heterocycles derived from bis-[4-amino-5-mercapto-1,2,4-triazol-3-yl]alkenes [J]. *Il Farmaco*, 1998, 53: 574-578.

- [2] Holla B S, Poojary K N, Rao B S, et al. New bis-amino-mercaptotriazoles and bis-triazolothiadiazoles as possible anti-cancer agents [J]. J Med Chem, 2002, 37: 511-517.
- [3] Li Dejiang, Fu Heqing. The synthesis and antibacterial activities of 2, 5-bis[(3-aryl)-1, 2, 4-triazolo[3, 4-*b*]-[1, 3, 4]thiadiazole-6-yl]thiophenes [J]. Phosphorus, Sulfur and Silicon, 2008, 183(9): 22229-22236.
- [4] Li Dejiang, Fu Heqing. Synthesis and antibacterial activities of 1, 7-bis[(3-aryl)-1, 2, 4-triazolo[3, 4-*b*]-[1, 3, 4]thiadiazole-6-yl]heptanes [J]. Heterocyclic Communications, 2007, 13(6): 407-412.
- [5] Li Dejiang, Fu Heqing. Synthesis and antibacterial activities of 1, 5-bis[(3-aryl)-1, 2, 4-triazolo[3, 4-*b*]-[1, 3, 4]thiadiazole-6-yl]pentanes [J]. Heterocyclic Communications, 2007(6): 347-352.
- [6] Li Dejiang, Bi Xiucheng, FU He-qing. Synthesis and fungicidal activities of the synthesis and antibacterial activities of 1, 4-bis[(3-aryl)-1, 2, 4-triazolo[3, 4-*b*]-[1, 3, 4]thiadiazole-6-yl]butanes [J]. Phosphorus, Sulfur and Silicon, 2007, 182(6): 1307-1314.
- [7] Hu Langxi, Li Dejiang. Synthesis and antibacterial activities of bis[(3-benzyloxyphenyl)-1, 2, 4-triazolo[3, 4-*b*]-[1, 3, 4]thiadiazole derivatives [J]. Heterocyclic Communications, 2010, 16(3): 73-77.
- [8] 王兴国, 张争光, 李德江. 2, 5-双-1, 2, 4-三唑并[3, 4-*b*]-[1,3,4]噻二唑噻吩类衍生物的合成及抗菌活性 [J]. 江西师范大学学报: 自然科学版, 2010, 34(6): 560-563.
- [9] 丁浩宇, 李德江, 代中旭. 1, 4-双[(6-芳基)-1, 2, 4-三唑并[3, 4-*b*]-[1, 3, 4]噻二唑-3-基]苯类衍生物的合成及抗癌活性研究 [J]. 江西师范大学学报: 自然科学版, 2011, 35(5): 526-528.

The Synthesis and Anticancer Activities for Bis-Triazolo [3,4-*b*]-[1,3,4]Thiadiazole Derivatives

LI Yong-shuang, LI De-jiang *

(College of Chemistry and Life Science, China Three Gorges University, Yichang Hubei 443002, China)

Abstract: The *m*-phthaloylhydrazide was prepared by hydrazinolysis of the dimethyl terephthalate. The reaction of terephthaloyl with CS₂/KOH in absolute ethanol gave potassium terephthaloyldithiocarbazate and then the reaction of potassium terephthaloyldithiocarbazate with hydrazine hydrate afforded 3-benzyloxyphenyl-4-amino-5-mercapto-1,2,4-triazole(**1**). 1,4-Bis[(6-aryl)-1,2,4-triazolo[3,4-*b*]-[1,3,4]thiadiazole-3-yl]benzene derivatives **3a~3m** were accomplished with good yields by condensing bis-(4-amino-5-mercapto-1,2,4-triazol-3-yl) benzene (**1**) with dicarboxylic (**2a~2m**) acids in the presence of POCl₃ and tetrabutylammonium iodide as catalyst. The structures of **3a~3m** were confirmed by elementary analyses, IR, ¹H NMR, and MS spectra, and their *in vitro* anticancer activity against the three cancer celllines of HepG-2, A549-1 and 231-2 was evaluated. Compounds **3d**, **3h** and **3i** are highly active against HepG2 and 231-2.

Key words: bis(4-amino-5-mercapto-1,2,4-triazol-3-yl)benzene; synthesis; anticancer activity

(责任编辑: 刘显亮)