

· 药物化学 ·

4-[1-烷基-5-氧代-1H-1, 2, 4-三唑-4(5H)-基]-苯甲酸的合成

陈海,姚建忠,盛春泉,缪震元,张万年(第二军医大学药学院,上海 200433)

[摘要] 目的 制备用于全合成卡泊芬净类环六脂肽抗真菌剂的关键脂肪酸侧链4-[1-烷基-5-氧代-1H-1, 2, 4-三唑-4(5H)-基]-苯甲酸(5)。方法 以对氨基苯甲酸(1)为起始原料,经氨基苯氧羰酰化、肼解、甲脒环合及N-烃化4步反应制备目标化合物。结果 以42.9%~46.2%的总收率成功合成了目标化合物5a~5n,其结构经电喷雾质谱(ESI-MS)和氢谱(¹H-NMR)确证;所有目标化合物均为首次报道。结论 该合成路线具有操作简便及收率高等优点,适合工业化生产。

[关键词] 4-[1-烷基-5-氧代-1H-1, 2, 4-三唑-4(5H)-基]-苯甲酸;合成;环六脂肽;卡泊芬净;抗真菌

[中图分类号] R914.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2013)06-0442-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2013.06.012

Synthesis of 4-[1-alkyl-5-oxo-1H-1, 2, 4-triazol-4(5H)-yl] benzoic acids

CHEN Hai, YAO Jian-zhong, SHENG Chun-quan, MIAO Zhen-yuan, ZHANG Wan-nian (School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To prepare 4-[1-alkyl-5-oxo-1H-1, 2, 4-triazol-4(5H)-yl] benzoic acids (5), which was the key fatty acid chain pharmaceutical intermediates for the total synthesis of novel caspofungin-like cyclohexa lipopeptide antifungal agents. **Methods** Starting from 4-aminobenzoic acid (1), the target compounds 5a~5n were prepared via amino phenoxy-carbonyl acylation, hydrazinolysis, formamidine cyclization, and the N-alkylation reaction, respectively. **Results** Target compounds 5a~5n had been successfully synthesized with the overall yield ranged from 42.9% to 46.2%. Their structures were confirmed by ESI-MS and ¹H-NMR spectra. All target compounds were reported for the first time. **Conclusion** The process developed had several advantages such as convenient workup and high yield, which was suitable to industrial production.

[Key words] 4-[1-alkyl-5-oxo-1H-1, 2, 4-triazol-4(5H)-yl] benzoic acid; synthesis; cyclohexalipopeptide; caspofungin; anti-fungal

棘白菌素(echinocandin)是一类天然环六肽脂肪酸衍生物,也是已知的真菌细胞壁β-1,3-葡聚糖合成酶抑制剂,对念珠菌和曲霉菌及耐唑类药物真菌具有很强的抗菌活性^[1]。由于哺乳类动物没有细胞壁,也不存在β-1,3-葡聚糖合成酶,因此,它们在作用机制上对人不存在毒性,已成为抗真菌新药研究领域的前沿热点之一^[2]。为了克服天然棘白菌素衍生物存在的抗菌谱窄、水溶性差以及溶血毒性等缺点,科研人员对其进行了大量半合成研究,并相继产生了卡泊芬净(caspofungin)、米卡芬净(micafungin)^[3]和阿尼芬净(anidulafungin)3个新药^[4]。

鉴于对天然棘白菌素类化合物半合成研究的局限性,为了进一步探讨该类化合物的构效关系并寻找广谱、高效、低毒抗深部真菌新药,笔者开展了新

型卡泊芬净类环六肽脂肪酸衍生物的全合成研究(图1)。

其中,三唑酮芳羧酸侧链是全合成该类环六肽目标化合物的关键中间体。笔者参照文献^[4]方法,以对氨基苯甲酸(1)为起始原料,首先与氯甲酸苯酯反应制得4-苯氧羰酰氨基苯甲酸(2);然后,化合物2在乙二醇二甲醚中与水合肼反应得到N-氨基-N'-(4-羧基苯基)脒(3);接着,化合物3与醋酸甲脒在含有醋酸的DMF中环合得到4-[5-氧代-1H-1, 2, 4-三唑-4(5H)-基]-苯甲酸(4);最后,化合物4与2.2倍摩尔量的溴代烷烃在5倍摩尔量的NaOH存在下于乙醇中回流制得三唑酮芳羧酸目标化合物4-[1-烷基-5-氧代-1H-1, 2, 4-三唑-4(5H)-基]-苯甲酸5a~5n,所有14个化合物均为新化合物。该合成路线的总收率达42.9%~46.2%,合成路线如图2所示。

[基金项目] 国家自然科学基金(30772674,30930107)。

[作者简介] 陈海(1987-),男,硕士研究生。E-mail: chhchenhai@126.com。

[通讯作者] 张万年。E-mail: zhangwnk@hotmail.com。

1 仪器与试剂

核磁氢谱(¹H-NMR)用 Bruker DMX-600 型核

磁共振仪测定, TMS 为内标; 电喷雾质谱 (ESI-MS) 用 Micromass Qtof-Micro LC/MS/MS 质谱仪测定; 熔点用 XT4A 显微熔点仪测定, 温度未校正; TLC 分析所用硅胶板为 GF254 (中国青岛海洋化学); 实验用

试剂和溶剂均为市售化学纯商品。商品化溶剂皆为市售分析纯或化学纯。所有目标产物 5a ~ 5n 纯度均经 TLC 分析检测为单点 (展开剂为二氯甲烷: 甲醇 = 10 : 1; $R_f = 0.45 \sim 0.55$)。

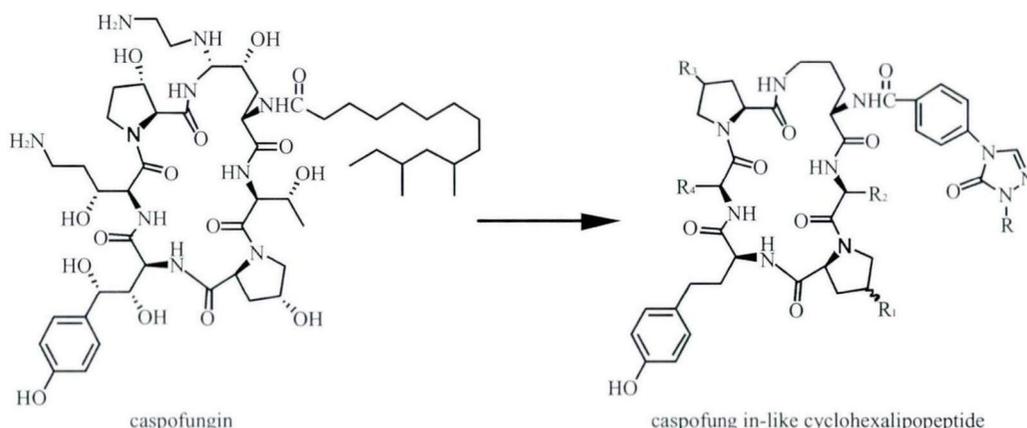


图 1 新型卡泊芬净类环六脂肽抗真菌剂的设计合成

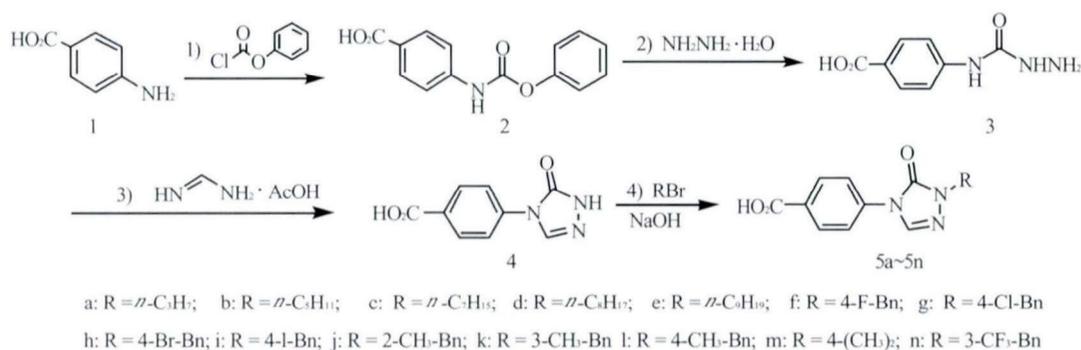


图 2 4-[1-烷基-5-氧代-1H-1,2,4-三唑-4(5H)-基]-苯甲酸的合成

2 实验方法

2.1 4-苯氧羰酰氨基苯甲酸(2)的合成 取对氨基苯甲酸(1)2.75 g(0.02 mol)溶于乙酸乙酯 50 ml, 加入吡啶 1.9 g(0.024 mol), 然后于冰水浴下滴加氯甲酸苯酯 3.76 g(0.024 mol), 滴毕, 反应 2.5 h。反应完毕, 于反应液中加入乙酸乙酯和 0.5 mol/L HCl 各 50 ml, 分取有机层, 水洗涤 2 次, 无水 Na₂SO₄ 干燥, 硅胶 H 柱色谱分离得白色固体 4-苯氧羰酰氨基苯甲酸(2)4.65 g, 收率 90.1%。mp: 252 ~ 253 °C。MS (ESI-) m/z : 256. 22 (M-H⁺, 100%)。¹H-NMR (DMSO-d₆, 600 MHz, ppm) δ: 12. 90 (s, 1H), 10. 81 (s, 1H), 8. 10 (d, $J = 8. 7$ Hz, 2H), 7. 81 (d, $J = 8. 7$ Hz, 2H), 7. 64 (t, $J = 7. 5$ Hz, 2H), 7. 50 ~ 7. 43 (m, 3H)。

2.2 N-氨基-N'-(4-羧基苯基)脲(3)的合成 取 4-苯氧羰酰氨基苯甲酸(2)3.12 g(0.012 mol)溶于乙二醇二甲醚 80 ml, 加 85% 水合肼 1.5 ml, 于 50 °C 下搅拌反应 24 h。反应完毕, 减压回收溶剂, 加水 80 ml, 用 1 mol/L HCl 调节 pH 值至 5 左右, 静置, 过滤, 水洗, 干燥, 得淡黄色固体 N-氨基-N'-(4-羧基苯基)脲(3)2.0 g, 收率 84.5%。mp: 292 ~ 294 °C。MS (ESI-) m/z : 389. 48 (2M -H⁺, 100%)。¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz, ppm) δ: 8. 97 (s, 1H), 7. 80 (d, $J = 8. 7$ Hz, 2H), 7. 63 (d, $J = 8. 7$ Hz, 2H), 7. 62 (s, 1H)。

2.3 4-[5-氧代-1H-1,2,4-三唑-4(5H)-基]-苯甲酸(4)的合成 将 N-氨基-N'-(4-羧基苯基)脲(3)3.0 g(0.015 mol)与醋酸甲脒 7.5 g(0.068 mol)溶于 DMF 50 ml, 搅拌反应 30 min 后再加 4.5 ml 醋

酸,升温至 70 °C 继续反应 10 h,停止反应,冷却至室温,加水 400 ml,用 1 mol/L HCl 调节 pH 值至 5~6,过滤,水洗,干燥得白色固体 4-[5-氧代-1H-1,2,4-三唑-4(5H)-基]-苯甲酸(4) 2.1 g,收率 66.6%。mp>300 °C。MS(ESI⁻) *m/z*: 204.75 (M-H⁺, 100%)。¹H-NMR(DMSO-d₆, 600 MHz, ppm) δ: 13.09(s, 1H), 12.10(s, 1H), 8.52(s, 1H), 8.05(d, *J*=8.5 Hz, 2H), 7.90(d, *J*=8.5 Hz, 2H)。

2.4 4-[1-烷基-5-氧代-1H-1,2,4-三唑-4(5H)-基]-苯甲酸(5)的合成 取 4-[5-氧代-1H-1,2,4-三唑-4(5H)-基]-苯甲酸(4) 1.13 g(0.005 5 mol)和氢氧化钠 1.1 g(0.0275 mol),加入 90% 乙醇 30 ml,于 80 °C 下回流反应 30 min 后再加入 1-溴丙烷 1.50 g(0.012 2 mol),继续回流反应 12 h。反应完毕,减压回收乙醇,加适量水溶解,然后用 1 mol/L HCl 调节 pH 值至 5~6,过滤,依次用乙醇和水洗涤至中性,干燥,得白色固体 4-[1-正丙基-5-氧代-1H-1,2,4-三唑-4(5H)-基]-苯甲酸(5a) 1.24 g,收率 91.1%。mp: 228~230 °C。MS(ESI⁺) *m/z*: 248.36 (M + H⁺, 100%)。¹H-NMR(DMSO-d₆, 600 MHz, ppm) δ: 8.58(s, 1H), 8.04(d, *J*=8.4 Hz, 2H), 7.87(d, *J*=8.4 Hz, 2H), 3.72(t, *J*=7.2 Hz, 2H), 1.60~1.52(m, 2H), 0.85(t, *J*=7.26 Hz, 3H)。

取化合物(4) 0.4 g(1.95 mmol)与 2.2 倍摩尔量的 1-溴戊烷按化合物 5a 相同合成方法制得白色固体 4-[1-正戊基-5-氧代-1H-1,2,4-三唑-4(5H)-基]-苯甲酸(5b) 0.47 g,收率为 87.6%。mp: 231~233 °C。MS(ESI⁻) *m/z*: 320.62 (M + HCO₂⁻, 100%)。¹H-NMR(DMSO-d₆, 600 MHz, ppm) δ: 13.11(s, 1H), 8.59(s, 1H), 8.04(d, *J*=8.4 Hz, 2H), 7.88(d, *J*=8.4 Hz, 2H), 3.72(t, *J*=7.2 Hz, 2H), 1.69~1.65(m, 2H), 1.32~1.24(m, 4H), 0.85(t, *J*=7.26 Hz, 3H)。

取化合物(4) 0.4 g(1.95 mmol)与 2.2 倍摩尔量的 1-溴庚烷按化合物 5a 相同合成方法制得白色固体 4-[1-正庚基-5-氧代-1H-1,2,4-三唑-4(5H)-基]-苯甲酸(5c) 0.51 g,收率为 86.3%。mp 223~225 °C。MS(ESI⁻) *m/z*: 348.33 (M + HCO₂⁻, 100%)。¹H-NMR(DMSO-d₆, 600 MHz, ppm) δ: 8.58(s, 1H), 8.04(d, *J*=8.4 Hz, 2H), 7.87(d, *J*=8.4 Hz, 2H), 3.72(t, *J*=7.2 Hz, 2H), 1.69~1.65(m, 2H), 1.32~1.24(m, 8H), 0.85(t, *J*=7.26 Hz, 3H)。

取化合物(4) 0.4 g(1.95 mmol)与 2.2 倍摩尔量的 1-溴辛烷按化合物 5a 相同合成方法制得白色

固体 4-[1-正辛基-5-氧代-1H-1,2,4-三唑-4(5H)-基]-苯甲酸(5d) 0.53 g,收率为 85.7%。mp: 222~224 °C。MS(ESI⁻) *m/z*: 362.55 (M + HCO₂⁻, 100%)。¹H-NMR(DMSO-d₆, 600 MHz, ppm) δ: 8.57(s, 1H), 8.04(d, *J*=8.4 Hz, 2H), 7.85(d, *J*=8.4 Hz, 2H), 3.72(t, *J*=7.2 Hz, 2H), 1.68~1.65(m, 2H), 1.27~1.22(m, 10H), 0.83(t, *J*=7.26 Hz, 3H)。

取化合物(4) 0.9 g(4.39 mmol)与 2.2 倍摩尔量的 1-溴壬烷按化合物 5a 相同合成方法制得白色固体-[1-正壬基-5-氧代-1H-1,2,4-三唑-4(5H)-基]-苯甲酸(5e) 1.23 g,收率为 84.6%。mp: 216~218 °C。MS(ESI⁻) *m/z*: 376.08 (M + HCO₂⁻, 100%)。¹H-NMR(DMSO-d₆, 600 MHz, ppm) δ: 8.58(s, 1H), 8.04(d, *J*=8.4 Hz, 2H), 7.87(d, *J*=8.4 Hz, 2H), 3.72(t, *J*=7.2 Hz, 2H), 1.68~1.65(m, 2H), 1.28~1.20(m, 12H), 0.83(t, *J*=7.26 Hz, 3H)。

取化合物(4) 0.3 g(1.46 mmol)与 2.2 倍摩尔量的对氟苄基按化合物 5a 相同合成方法制得白色固体 4-[1-对氟苄基-5-氧代-1H-1,2,4-三唑-4(5H)-基]-苯甲酸(5f) 0.40 g,收率为 87.3%。mp: 272~274 °C。MS(ESI⁻) *m/z*: 358.42 (M + HCO₂⁻, 100%)。¹H-NMR(DMSO-d₆, 600 MHz, ppm) δ: 8.60(s, 1H), 8.04(d, *J*=8.7 Hz, 2H), 7.86(d, *J*=8.7 Hz, 2H), 7.38~7.35(m, 2H), 7.20~7.16(m, 2H), 4.95(s, 2H)。

取化合物(4) 0.3 g(1.46 mmol)与 2.2 倍摩尔量的对氯苄基按化合物 5a 相同合成方法制得白色固体 4-[1-对氯苄基-5-氧代-1H-1,2,4-三唑-4(5H)-基]-苯甲酸(5g) 0.41 g,收率为 85.0%。mp: 257~259 °C。MS(ESI⁻) *m/z*: 656.46 (2M-H⁺, 100%)。¹H-NMR(DMSO-d₆, 600 MHz, ppm) δ: 8.60(s, 1H), 8.05(d, *J*=8.6 Hz, 2H), 7.84(d, *J*=8.6 Hz, 2H), 7.43(d, *J*=8.5 Hz, 2H), 7.35(d, *J*=8.5 Hz, 2H), 4.98(s, 2H)。

取化合物(4) 0.3 g(1.46 mmol)与 2.2 倍摩尔量的对溴苄基按化合物 5a 相同合成方法制得淡黄色固体 4-[1-对溴苄基-5-氧代-1H-1,2,4-三唑-4(5H)-基]-苯甲酸(5h) 0.48 g,收率为 87.7%。mp>300 °C。MS(ESI⁺) *m/z*: 374.74 (M + H⁺, 100%)。¹H-NMR(DMSO-d₆, 600 MHz, ppm) δ: 8.61(s, 1H), 8.03(d, *J*=8.7 Hz, 2H), 7.85(d, *J*=8.7 Hz, 2H), 7.55(d, *J*=8.4 Hz, 2H), 7.27(d, *J*=8.4 Hz, 2H), 4.95(s, 2H)。

取化合物(4) 0.2 g(0.98 mmol)与 2.2 倍摩

尔量的对碘溴苄按化合物 5a 相同合成方法制得淡红色固体 4-[1-对碘苄基-5-氧代-1H-1, 2, 4-三唑-4(5H)-基]-苯甲酸(5i) 0.35 g, 收率为 85.2%。mp: 262 ~ 264 °C。MS(ESI⁻) *m/z*: 466.50 (M + HCO₂⁻, 100%)。¹H-NMR(DMSO-d₆, 600 MHz, ppm) δ: 13.09(s, 1H), 8.62(s, 1H), 8.05(d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.89(d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.71(d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.12(d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 4.93(s, 2H)。

取化合物(4) 0.5 g(2.44 mmol)与 2.2 倍摩尔量的邻甲基溴苄按化合物 5a 相同合成方法制得白色固体 4-[1-邻甲基苄基-5-氧代-1H-1, 2, 4-三唑-4(5H)-基]-苯甲酸(5j) 0.64 g, 收率为 84.9%。mp > 300 °C。MS(ESI⁻) *m/z*: 308.74 (M-H⁺, 100%)。¹H-NMR(DMSO-d₆, 600 MHz, ppm) δ: 8.59(s, 1H), 8.03(d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.83(d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.21 ~ 7.12(m, 4H), 4.95(s, 2H), 2.34(s, 3H)。

取化合物(4) 0.3 g(1.46 mmol)与 2.2 倍摩尔量的间甲基溴苄按化合物 5a 相同合成方法制得白色固体 4-[1-间甲基苄基-5-氧代-1H-1, 2, 4-三唑-4(5H)-基]-苯甲酸(5k) 0.39 g, 收率为 86.2%。mp: 241 ~ 242 °C。MS(ESI⁻) *m/z*: 308.71 (M-H⁺, 100%)。¹H-NMR(DMSO-d₆, 600 MHz, ppm) δ: 8.61(s, 1H), 8.06(d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.90(d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.25(m, 1H), 7.14(s, 1H), 7.11(m, 2H), 4.93(s, 2H), 2.30(s, 3H)。

取化合物(4) 0.3 g(1.46 mmol)与 2.2 倍摩尔量的对甲基溴苄按化合物 5a 相同合成方法制得白色固体 4-[1-对甲基苄基-5-氧代-1H-1, 2, 4-三唑-4(5H)-基]-苯甲酸(5l) 0.40 g, 收率为 88.5%。mp > 300 °C。MS(ESI⁻) *m/z*: 308.74 (M-H⁺, 100%)。¹H-NMR(DMSO-d₆, 600 MHz, ppm) δ: 8.56(s, 1H), 8.02(d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.81(d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.20(d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.15(d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 4.90(s, 2H), 2.27(s, 3H)。

取化合物(4) 0.61 g(2.98 mmol)与 2.2 倍摩尔量的对异丙基溴苄按化合物 5a 相同合成方法制得白色固体 4-[1-对异丙基苄基-5-氧代-1H-1, 2, 4-三唑-4(5H)-基]-苯甲酸(5m) 0.87 g, 收率为 86.8%。mp > 300 °C。MS(ESI⁻) *m/z*: 336.70 (M-H⁺, 100%)。¹H-NMR(DMSO-d₆, 600 MHz, ppm) δ: 8.55(s, 1H), 8.00(d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.75(d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.22(s, 4H), 4.90(s, 2H), 2.85(m,

1H), 1.16(d, *J* = 6.9 Hz, 6H)。

取化合物(4) 0.2 g(0.98 mmol)与 2.2 倍摩尔量的间三氟甲基溴苄按化合物 5a 相同合成方法制得白色固体 4-[1-间三氟甲基苄基-5-氧代-1H-1, 2, 4-三唑-4(5H)-基]-苯甲酸(5n) 0.30 g, 收率为 84.7%。mp: 217 ~ 219 °C。MS(ESI⁻) *m/z*: 362.78 (M-H⁺, 100%)。¹H-NMR(DMSO-d₆, 600 MHz, ppm) δ: 8.65(s, 1H), 8.06(d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.90(d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.72(s, 1H), 7.69(m, 1H), 7.11(m, 2H), 5.10(s, 2H)。

3 结果与讨论

笔者以对氨基苯甲酸为原料,首次合成了 14 个三唑酮芳羧酸侧链 4-[1-烷基-5-氧代-1H-1, 2, 4-三唑-4(5H)-基]-苯甲酸目标化合物 5a ~ 5n, 从而为下一步新型卡波芬净类环六脂肽抗真菌剂的全合成打下坚实的基础。该合成路线所需原料和试剂均廉价易得,且操作简便,总收率达 42.9% ~ 46.2%, 适合工业化生产。所合成目标化合物均为新化合物。

N-氨基-N'-(4-羧基苄基)脲(3)和醋酸甲脒在酸性条件下缩合生成三唑酮骨架化合物 4-[5-氧代-1H-1, 2, 4-三唑-4(5H)-基]-苯甲酸(4)是合成三唑酮芳羧酸侧链的关键。对于产物 4 的纯化,鉴于参考文献^[4]方法是先减压回收反应溶剂 DMF 和少量醋酸,再倾入冰水中沉淀,再用乙酸乙酯-正己烷进行重结晶,过程比较繁琐。因此,作者改进为直接加入反应溶剂 DMF 的 8 倍量水稀释,再用稀酸调节 pH 5 ~ 6 至沉淀、过滤、水洗而一步得到了 TLC 检测为单点的高纯度产物 4,减去了重结晶步骤,使其更适合工业化生产。

【参考文献】

- [1] Georgopapakou NH. Update on antifungals targeted to the cell wall focus on beta-1, 3-glucan synthase inhibitors[J]. *Expert Opin Invest Drugs*, 2001, 10(2): 269.
- [2] Petrikos G, Skiada A. Recent advances in antifungal chemotherapy[J]. *Intl J Antimicrob Agents*, 2007, 30: 108.
- [3] Kathiravan MK, Salake AB, Chothe AS, et al. The biology and chemistry of antifungal agents: a review[J]. *Bioorg Med Chem*, 2012, 20: 5678.
- [4] Sheng CQ, Che XY, Wang WY, et al. Design and synthesis of novel triazole antifungal derivatives by structure-based bioisosterism[J]. *Eur J Med Chem*, 2011, 46: 5276.

[收稿日期] 2013-01-25

[修回日期] 2013-04-08