

水杨酸衍生物的合成及生物活性测定

齐兵,冯磊,陈达,吴引超,巨修练*

(湖北省新型反应器与绿色化学工艺重点实验室;武汉工程大学化工与制药学院,湖北 武汉 430074)

摘要:以水杨酸为起始原料,设计及合成了6个水杨酸衍生物,6个目标化合物结构由 ^1H NMR、MS和熔点确证.采用平皿生长速率法测定6个化合物对草坪褐斑病菌和对水稻纹枯病菌的抑制效果,所有化合物均表现出一定的抑菌活性.

关键词:水杨酸;合成;草坪褐斑病菌;水稻纹枯病菌;抑制活性

中图分类号:O621.3;S435.111.2

文献标识码:A

doi:10.3969/j.issn.1674-2869.2010.01.016

0 引言

水杨酸是植物体中一种重要的内源信号分子,其能够激活一系列抗逆性防卫反应,并且在植物体内普遍存在,具有一些重要的生理作用.例如:促进植物开花、提高植物抗性、减少植物水分散失、抑制乙烯合成等.

水杨酸也是重要的精细有机合成中间体,广泛应用于医药、合成香料、植物保护等领域.最早的水杨酸用于合成医药阿司匹林(ASA),后来用于合成香料冬青油.在水杨酸分子中引入酰胺基^[1-4]之后,由于酰胺化反应是在分子中引入酰胺基的反应过程,可用于许多具有重要药用价值的肽类激素、神经肽、毒素等的碳端酰胺化修饰,既保持了有机高分子的特性,又具有酰胺基的特性,所以对酰胺化材料的设计、合成、结构和性能研究成为近年来十分活跃的领域,而且它跨越了有机化学特别是高分子化学、生物学、材料学、医药学等学科领域,所以该类水杨酸衍生物具有广泛的生物活性,尤其在农药领域已经成为一个新的研究热点,比如上世纪70年代后用于合成农药水胺硫磷、甲基异柳磷等杀虫剂品种,并用于合成染料等^[5].

因此,水杨酸衍生物的研究具有重要的学术价值和药学意义.为寻找新型的农药先导化合物,以新方法合成了6个已见文献的水杨酸衍生物,并且6个化合物都引入了具有广泛生物活性的酰胺基.文献[6-7]中的方法均是先将水杨酸(邻羟基苯甲酸)酰化成邻羟基苯甲酰氯,然后再与芳胺缩合得到目标化合物,单步产率都在80%以上,总产

率为50%左右.而本研究则是以DMAP(4-N,N-二甲基吡啶)和EDCI(1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺)为催化剂,直接将水杨酸与芳胺缩合得到目标化合物.

文中所有目标化合物结构均由熔点、 ^1H NMR、MS表征确证.大量国内外文献^[8-11]报道了这6个水杨酸衍生物抗菌方面的活性,如对type I MetAP, Type III Secretion in *Yersinia* 病菌等都有非常高的活性.然而却没有文献报道这6个化合物对草坪褐斑病菌^[12]和水稻纹枯病菌^[13]的抑菌效果.本实验采用平皿生长速率法测定了6个化合物对草坪褐斑病菌和水稻纹枯病菌的抑制效果,所有化合物均表现出一定的抑菌活性.

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

RY-1型熔点仪;BRUKER Avance400核磁共振仪;LGQ AB Thermo Finigan质谱仪.

实验中所用试剂均为分析纯或化学纯,柱层析硅胶为孔径为4 nm,青岛海洋化工;阿司匹林参照文献[14]方法制备;6个含氨基的芳环和杂环原料由实验室购买;草坪褐斑病菌和水稻纹枯病菌由武汉工程大学化工与制药学院韩新才教授提供.

1.2 目标化合物的合成

1.2.1 目标化合物2a,2b,2c的合成 以水杨酸为起始原料,经过乙酰化得到阿司匹林(ASA),再与芳胺缩合反应,得到化合物2a,2b,2c.合成路线如图1所示.

收稿日期:2009-07-02

作者简介:齐兵(1983-),男,湖北襄樊人,硕士研究生,研究方向:药物合成.

指导老师:巨修练,男,教授,博士,研究方向:计算机药物辅助设计、新农药研发、生物活性测试.*通讯联系人.

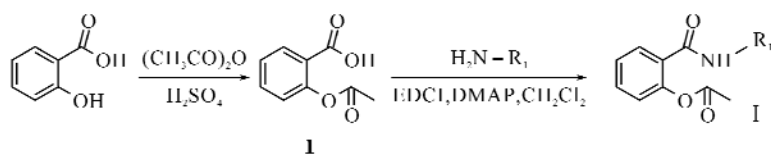





图 1 化合物 2a-2c 的合成路线

Fig. 1 The synthetic scheme of compounds 2a-2c

注: R_1 为 , ,  时, 化合物 I 分别为 2a, 2b, 2c.

ASA 的合成: 在 250 mL 的锥形瓶中, 加入水杨酸 2.0 g, 醋酐 5.0 mL; 然后用滴管加入 5 滴浓硫酸, 缓缓地旋摇锥形瓶, 使水杨酸溶解. 将锥形瓶放在水浴上慢慢加热至 85~90 °C, 维持温度 10 min. 然后将锥形瓶从热源上取下, 使其慢慢冷却至室温. 在冷却过程中, 阿司匹林渐渐从溶液中析出. 在冷到室温, 结晶形成后, 加入水 50 mL; 并将该溶液放入冰浴中冷却. 待充分冷却后, 大量固体析出, 抽滤得到固体, 冰水洗涤, 并尽量压紧抽干, 得到阿司匹林粗品. 空气中风干, 称重, 粗产物约 1.8 g. 将阿司匹林粗品放在 150 mL 烧杯中, 加入饱和的碳酸氢钠水溶液 25 mL. 搅拌到没有二氧化碳放出为止(无气泡放出, 嘶嘶声停止). 有不溶的固体存在, 真空抽滤, 除去不溶物并用少量水(5~10 mL)洗涤. 另取 150 mL 烧杯一只, 放入浓盐酸 4~5 mL 和水 10 mL, 将得到的滤液慢慢地分多次倒入烧杯中, 边倒边搅拌. 阿司匹林从溶液中析出. 将烧杯放入冰浴中冷却, 抽滤固体. 并用冷水洗涤, 抽紧压干固体, 转入表面皿上, 干燥约 1.5 g. 收率为 58%, mp: 133~135 °C.

搅拌下, 依次加入二氯甲烷 20 mL, 阿司匹林 0.9 g(0.5 mol), 苯胺 0.47 g(0.5 mol) 和 DMAP 0.73 g(0.5 mol), 室温反应 30 min 后, 加入 1.15 g(0.5 mol) EDCI, TLC 追踪反应, 反应完毕后, 趁热过滤, 滤液减压至干, 残余物加入 50 mL 氯仿溶解, 15 mL×2 水洗涤氯仿层, 氯仿层用无水硫酸钠干燥, 抽滤之后蒸除溶剂, 柱层析纯化得到 0.55 g 白色固体, 产率为 43%. 即得目标化合物 2a. 同方法可得目标化合物 2b 和 2c.

2-(苯氨基甲酰基)乙酸苯酯(2a): 白色固体 0.55 g, 产率: 43%, mp: 138~139 °C, $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 2.46 (s, 3H, CH_3), 7.1~7.3 (m, 5H, ArH), 7.6 (m, 3H, ArH), 8.1 (d, 1H, ArH), 7.9 (s, 1H, NH); MS (ESI): 256 ($M+1$).

2-(噻唑-2-氨基甲酰基)乙酸苯酯(2b): 白色固体 0.61 g, 产率: 46%, mp: 140~142 °C, $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 2.46 (s, 3H,

CH_3), 6.52 (d, 1H, ArH), 6.93 (d, 1H, ArH), 7.14 (d, 2H, ArH), 7.42 (d, 2H, ArH), 7.88 (s, 1H, NH); MS (ESI): 263 ($M+1$).

2-(4-甲基噻唑-2-氨基甲酰基)乙酸苯酯(2c): 浅黄色固体 0.48 g, 产率: 35%, mp: 153~155 °C, $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 1.7 (s, 3H, CH_3), 2.45 (s, 3H, CH_3), 6.7 (s, 1H, ArH), 7.18 (d, 2H, ArH), 7.44 (d, 2H, ArH), 7.82 (s, 1H, NH); MS (ESI): 277 ($M+1$).

1.2.2 目标化合物 3a, 3b, 3c 的合成 以水杨酸为起始原料, 与芳胺缩合反应, 得到化合物 3a, 3b, 3c. 合成路线如图 2 所示.

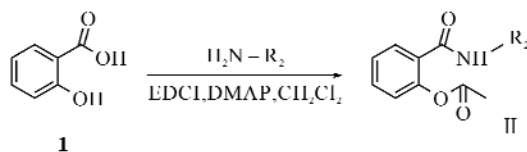





图 2 化合物 3a-3c 的合成路线

Fig. 2 The synthetic scheme of compounds 3a-3c

注: R_2 为 , ,  时, 化合物 II 分别为 3a, 3b, 3c.

物 II 分别为 3a, 3b, 3c.

搅拌下, 依次加入二氯甲烷 20 mL, 水杨酸 0.69 g(0.5 mol), 邻氯苯胺 0.64 g(0.5 mol) 和 DMAP 0.73 g(0.5 mol), 室温反应 30 min 后, 加入 1.15 g(0.5 mol) EDCI, TLC 追踪反应, 反应完毕后, 趁热过滤, 滤液减压至干, 残余物加入 50 mL 氯仿溶解, 15 mL×2 水洗涤氯仿层, 氯仿层用无水硫酸钠干燥, 抽滤之后蒸除溶剂, 柱层析纯化得到 0.47 g 白色固体, 产率为 38%. 即得目标化合物 3a. 同方法可得目标化合物 3b 和 3c.

N-(2-氯苯基)-2-羟基苯甲酰胺(3a): 白色固体 0.47 g, 产率: 38%, mp: 166~168 °C, $^1\text{H NMR}$ (DMSO , 400 MHz) δ : 6.9~7.1 (m, 2H, ArH), 7.16 (m, 1H, ArH), 7.4~7.55 (m, 3H, ArH), 8.1 (m, 1H, ArH), 8.4 (m, 1H, ArH), 10.9 (s, 1H, OH), 11.9 (s, 1H,

NH); MS (ESI): 246 (M-1).

N-(3-氯苯基)-2-羟基苯甲酰胺(3b): 白色固体 0.49 g, 产率: 40%, mp: 172~173 °C, ^1H NMR (DMSO, 400 MHz) δ : 6.9~7.0 (m, 2H, ArH), 7.2 (m, 1H, ArH), 7.37~7.6 (m, 2H, ArH), 7.7 (m, 1H, ArH), 7.9 (m, 2H, ArH), 8.4 (m, 1H, ArH), 10.47 (s, 1H, OH), 11.54 (s, 1H, NH); MS (ESI): 246 (M-1).

N-(4-氯苯基)-2-羟基苯甲酰胺(3c): 白色固体 0.53 g, 产率: 43%, mp: 170~171 °C, ^1H NMR (DMSO, 400 MHz) δ : 6.9~7.0 (m, 2H, ArH), 7.37~7.5 (m, 3H, ArH), 7.8 (m, 2H, ArH), 7.95 (m, 1H, ArH), 10.45 (s, 1H, OH), 11.63 (s, 1H, NH); MS (ESI): 246 (M-1).

1.3 抑菌活性研究

采用平皿生长速率法测定6个化合物对草坪褐斑病菌和对水稻纹枯病菌病的抑制效果。

1.3.1 样品配制 将6个待测化合物分别用DMSO配制成浓度为10 000 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液, 各10 mL。

1.3.2 测定方法 在无菌操作台上用移液枪吸取1 mL配制好的(以DMSO为对照)加到直径为7.5 cm的培养皿中, 然后用无菌玻璃注射器注入9 mL融化后约60 °C的PDA培养基, 使药液与培养基在培养皿中混匀, 室温冷却, 再在培养皿内的培养基正中间位置接种5 mm的草坪褐斑病菌块(水稻纹枯病菌同法), 每个处理3个重复。接种后

的培养皿倒放在28 °C培养箱中培养30~40 h, 待对照接近长满培养皿, 用尺测量菌落直径, 每个培养皿重复十字交叉测量3次, 取其平均值, 最后计算药剂的菌丝抑菌率。

$$\text{菌丝抑菌率}(\%) = \frac{\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}}{\text{对照菌落直径}} \times 100\%$$

2 结果与讨论

2.1 合成

在目标化合物的合成中, 文献中的方法均是先将水杨酸(邻羟基苯甲酸)酰化成邻羟基苯甲酰氯, 然后再与芳胺缩合得到目标化合物, 单步产率都在80%以上, 总产率为50%左右。该方法操作复杂(尤其后处理的减压蒸馏), 反应条件要求较高, 中间体酰氯难以保存、难以提纯, 且对人的身体和自然环境都有很大危害。而本实验则是以DMAP和EDCI为催化剂, 直接将水杨酸与芳胺缩合得到目标化合物, 省去制备酰氯这一步。此法不仅能缩短反应步骤, 简化操作过程, 节省许多试剂和原料, 而且反应条件温和, 后处理简单, 对人的身体和自然环境都比较友好, 并与文献方法得到的总产率50%几乎一致。

2.2 抑菌活性

对6个目标化合物进行抑制草坪褐斑病菌和水稻纹枯病菌的活性测试。结果如表1所示。

表1 目标化合物对草坪褐斑病菌和对水稻纹枯病菌的抑菌率

Table 1 Inhibition Ratio of 6 compounds to *Rhizoctonia solani* AG-1-IB and *Rice sheath blight*

对草坪褐斑病菌									对水稻纹枯病菌								
D/cm			D ₀ /cm			R/%			D/cm			D ₀ /cm			R/%		
一	二	三	一	二	三	一	二	三	一	二	三	一	二	三	一	二	三
CK	5.4	5.25	5.6	5.85	5.45	5.7	5.54		CK	5.4	5.25	5.6	5.85	5.45	5.7	5.54	
2a	4.25	4.3	4.75	5.35	5.2	5.05	4.82	13.08	2a	4.55	4.85	5	4.7	5.25	4.85	4.87	12.18
2b	4.8	4.5	5.35	5.5	5.65	5.1	5.15	7.07	2b	4.25	4.35	4.65	4.85	5.25	5.3	4.78	13.83
2c	4.85	4.9	5.3	5.15	5.2	4.9	5.05	8.87	2c	4.8	5.1	5	5.1	4.9	4.75	4.94	10.83
3a	3.95	4.1	4.35	4.2	4	4.15	4.13	25.56	3a	3.4	3.55	3.35	3.4	3.45	3.55	3.2	42.26
3b	3.9	4.02	4.5	4.65	4.5	4.2	4.29	22.51	3b	3.7	3.2	4.1	3.9	3.4	3.5	3.63	34.44
3c	4.1	4.2	4.2	4.35	4.6	4.8	4.38	21.05	3c	3.75	3.7	3.65	3.8	3.85	4.05	3.8	31.43

注: 其中CK为DMSO对两种病菌的抑制效果, 即标样, D为菌落直径, D₀为菌落直径的平均值, R为抑菌率。

初步测试结果表明: 6个目标化合物对两种病菌都有一定的抑制效果。10 000 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度下化合物3a, 3b, 3c对草坪褐斑病菌具有较高的抑制活性, 分别达到25.56%, 22.51%, 21.05%, 约为2a, 2b, 2c的2~3倍。而化合物3a, 3b, 3c在10 000 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度下对水稻纹枯病菌也具有较高的抑制活性, 分别达到44.26%, 34.44%, 31.43%, 与2a, 2b, 2c的抑制活性相比约为3~

4倍。因此, 从结构-活性的关系判断: 水杨酸的衍生物要比乙酰水杨酸的衍生物抑菌活性高, 含氯芳环的衍生物要比含杂环的衍生物抑菌活性高。而所有目标化合物对水稻纹枯病菌的抑菌活性相对草坪褐斑病菌的略高。

3 结 语

以水杨酸为起始原料, 以新方法合成了6个

已见文献的水杨酸衍生物,6 个目标化合物都引入了具有广泛生物活性的酰胺基.与文献中的合成方法相比,此法不仅缩短了反应步骤,简化了操作过程,节省了许多试剂和原料,而且反应条件温和,后处理简单,并对人的身体和自然环境都比较友好.目标化合物均由熔点确证, ^1H NMR、MS 表征.并对其进行抑制草坪褐斑病菌和水稻纹枯病菌的活性测试,其中目标化合物 3a,3b,3c 对两种病菌都表现出了较好的抑制效果,其机理有待于进一步研究.

参考文献:

- [1] 杨冰. 几种水杨酸衍生物的合成及应用[J]. 化工之友, 2007, 15: 48-49.
- [2] Ianas A, Bajador E, Serrano P, et al. Nitrovasodilators, low dose aspirin, other non steroidal antiinflammatory drugs, and the risk of upper gastrointestinal bleeding[J]. N Engl J Med, 2000, 343(12): 834-839.
- [3] 孙易, 季晖, 张奕华, 等. 一氧化氮供体偶联的阿司匹林衍生物 H6 抗血栓作用及其机制研究[J]. 中国药理学通报, 2006, 22(7): 840-844.
- [4] 牟筱铃, 张子学. 水杨酸浸种对棉花幼苗抗旱性的影响[J]. 种子, 2008, 27(11): 50-56.
- [5] 孟繁浩, 王立升, 贾伟儒. 非甾体抗炎药二氟尼柳的合成[J]. 精细化工, 2002, 19(5): 252-253.
- [6] Shueb H A. Synthesis and molluscicidal activity of some anilides[J]. Egyptian Journal of Chemistry, 1979, 22(3): 245-54.
- [7] Waissner K, Illaduvkova J, Kuncs J, et al. Synthesis and antimycobacterial activity of salicylanilides substituted in position 5[J]. Chemical Papers, 2001, 55(2): 121-129.
- [8] Waissner K, Drazkova K, Cizmarik J, et al. Antimycobacterial Activity of Basic Ethyl Esters of Alkoxy Substituted Phenylcarbamic Acids[J]. Folia Microbial, 2003, 48(1): 45-50.
- [9] Markus K, Dahlgren, Anna M, et al. Design, Synthesis and Multivariate Quantitative Structure-Activity Relationship of Salicylanilides Potent Inhibitors of Type III Secretion in Yersinia[J]. J Med Chem, 2007, 50: 6177-6188.
- [10] Kang D H, Joo T Y, Lee E H, et al. A mild and efficient reaction for conversion of carboxylic acids into acid bromides with ethyl tribromoacetate/triphenylphosphine under acid-free conditions[J]. Tetrahedron Letters, 2006, 47: 5693-5696.
- [11] Luo Qun Li, Li Jing Ya, Liu Zhi Ying, et al. Inhibitors of type I MetAPs containing pyridine-2-carboxylic acid thiazol-2-ylamide. Part 1: SAR studies on the determination of the key scaffold[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2005, 15: 635-638.
- [12] 晁龙军, 单学敏, 车少臣, 等. 草坪褐斑病原菌鉴定、流行规律及其综合控制技术的研究[J]. 中国草地, 2000, 4: 43-48.
- [13] 韩新才, 石章鹏, 陶维红, 等. 氯胺磷对水稻纹枯病菌的室内生物活性测定结果[J]. 湖北植保, 2007(4): 37-39.
- [14] 魏红, 关秋业. 化学实验[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 518-520.

Synthesis and biological activity of salicylic acid derivatives

QI Bing, FENG Lei, CHEN Da, WU Yin-chao, JU Xiu-lian

(Hubei Key Laboratory of Novel Chemical Reactor and Green Chemical Technology,
School of Chemical Engineering and Pharmacy, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430074, China)

Abstract: Six Salicylic acid derivatives were designed and prepared using Salicylic acid as the starting material. All compounds were characterized by MS, ^1H NMR and melting point. Their inhibiting activity against *Rhizoctonia solani* AG-1-IB fusion group and Rice sheath blight were investigated by method of colony diameter and the results show that all compounds display a content of inhibitory activity.

Key words: salicylic acid; synthesis; *rhizoctonia solani* AG-1-IB fusion group; rice sheath blight; inhibitory activity

本文编辑:张 瑞