

新化合物 1, 4-二氧喹喔啉-3-甲醛缩氨基硫脲-2-甲酸乙酯的合成及抑菌活性

孔新刚¹, 郭明², 毛胜凤², 李华¹, 俞飞²

(1. 新疆农业大学 动物科学学院, 新疆 乌鲁木齐 830052; 2. 浙江林学院 理学院, 浙江 临安 311300)

摘要: 以 1, 4-二氧喹喔啉-3-甲基-2-甲酸乙酯和氨基硫脲为原料, 经氧化缩合反应, 合成了化合物 1, 4-二氧喹喔啉-3-甲醛缩氨基硫脲-2-甲酸乙酯。通过元素分析、质谱分析、红外光谱、¹H NMR 对其结构进行了表征, 并采用滤纸片法研究化合物对 9 种指示菌的抑菌效果。结果表明, 该化合物对细菌具有较强抑菌活性, 对真菌无抑菌活性。图 4 参 11

关键词: 1, 4-二氧喹喔啉; 有机合成; 结构表征; 抑菌活性

中图分类号: Q599; S763.1 文献标志码: A 文章编号: 1000-5692(2008)06-0685-04

Study on the bacteriostasis of 2-ethylformate-3-formaldehyde thiosemicarbazone-quinoxaline-1, 4-dioxide

KONG Xin-gang¹, GUO Ming², MAO Sheng-feng², LI Hua¹, YU Fei²

(1. College of Animal Science, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, Xinjiang, China;

2. School of Sciences, Zhejiang Forestry College, Lin'an 311300, Zhejiang, China)

Abstract: A new 2-ethylformate-3-formaldehyde thiosemicarbazone-quinoxaline-1, 4-dioxide was synthesized by oxidizing and condensation reaction. The structure of product was characterized by elemental analyses, MS, IR and ¹H NMR. And the antibacterial activity of the product against 9 indicative microorganisms was studied by disk diffusion method. The result showed that the compound had strong inhibitory activity against bacteria, but no inhibitory activity against fungi was observed. [Ch, 4 fig. 11 ref.]

Key words: quinoxaline-1, 4-dioxide; organic synthesis; characterization; antibacterial activity

1, 4-二氧喹喔啉衍生物是一类重要的苯并吡嗪类杂环化合物, 它们的主要特点是毒副作用小, 且具有多种生物活性^[1-5], 已在许多领域中广泛研究报道^[6]。近年来, 人们主要集中在 1, 4-二氧喹喔啉 2 号位的甲酸和甲醛衍生物的合成与生物活性的研究。而 1, 4-二氧喹喔啉-2-甲酸乙酯的 3 号位衍生物的报道很少。缩氨基硫脲也是一类具有抗结核菌^[7]、抗病毒^[8]和抗肿瘤^[9]等生物活性的化合物, 若将此类具有生物活性基团引入 1, 4-二氧喹喔啉-2-甲酸乙酯的 3 号位, 期望能得到具有更优抗菌生物活性的化合物。该文以 1, 4-二氧喹喔啉-3-甲基-2-甲酸乙酯为原料合成了未见报道的 1, 4-二氧喹喔啉-3-甲醛缩氨基硫脲-2-甲酸乙酯, 并对其抑菌活性进行了研究, 得到了有意义的结果。

1 研究方法

1.1 试剂与仪器

试剂: 1, 4-二氧喹喔啉-3-甲基-2-甲酸乙酯(按照文献^[10]方法制备, 经液相色谱检测, 纯度为 97%),

收稿日期: 2007-12-10; 修回日期: 2008-03-05

基金项目: 浙江省科学技术重点计划项目(2006C22075); 浙江省林业厅资助项目(05B04)

作者简介: 孔新刚, 硕士研究生, 从事化学生物学研究。E-mail: yezhu_1983@163.com。通信作者: 郭明, 教授, 博士, 从事化学生物学研究。E-mail: guoming@zjfc.edu.cn

乙醇体积分数为 95%，二氧化硒、二甲基亚砷、氨基硫脲、硫酸和硫酸氢钠等均为分析纯试剂。

仪器：Bruker ARX-500 型 NMR 谱仪，VarioEL III 型元素分析仪，MS Saturn 2000 型质谱仪，FTS 3000 型红外光谱仪，MF2 型全自动菌落-显微多功能一体机，生化培养箱，高压蒸汽灭菌锅，超净工作台，电动搅拌器，恒温油浴锅，X4 数字显微熔点仪。

1.2 2-乙氧羰基-3-甲酰基-1, 4-二氧喹啉缩氨基硫脲的合成

准确称取 2.48 g(10 mmol)1, 4-二氧喹啉-3-甲基-2-甲酸乙酯和 1.11 g(10 mmol)二氧化硒放入 100 mL 三口瓶中，加入 25 mL 二甲基亚砷，在氮气保护下于 95 °C 油浴搅拌反应 7 h 后，通入二氧化硫(SO₂)气体 5 min，冷却过滤回收固体硒，活性炭(新活化的)脱色^[6]，得到红褐色溶液，将它们滴加到 20 mL 溶有 10 mmol 氨基硫脲的乙醇溶液中，室温搅拌 20 min，产生橙色沉淀，过滤后固体用二甲基亚砷重结晶，乙醇洗涤，得橙红色晶体，40 °C 真空干燥，产率 73%，熔点 242 ~ 244 °C。

1.3 产品结构表征

将上述合成晶体产物用红外光谱及核磁共振氢谱进行结构表征，红外光谱采用溴化钾压片法，核磁共振氢谱采用氘代二甲基亚砷作溶剂，三甲基硅为内标。

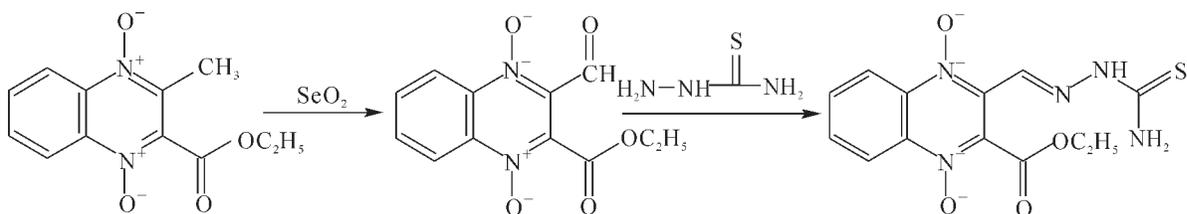
1.4 抑菌活性测试

将化合物 1, 4-二氧喹啉-3-甲酰缩氨基硫脲-2-甲酸乙酯用体积分数为 80% 的二甲基亚砷水溶液配制成 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 g·L⁻¹ 的溶液，以体积分数为 80% 二甲基亚砷水溶液为对照，采用操作简便、试验周期短的滤纸片法^[11]，分别研究不同质量浓度的溶液对大肠杆菌 *Escherichia coli*，枯草杆菌 *Bacillus subtilis*，金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*，巨大芽孢杆菌 *Bacillus megaterium*，八叠球菌 *Sporosarcina urea*，苏云金杆菌 *Bacillus thuringiensis* 和青霉 *Penicillium citrinum*，根霉 *Rhizopus stolonifer*，黑曲霉 *Aspergillus niger* 的生长抑制作用。圆滤纸片的直径为 6 mm，细菌在 31 °C 培养 24 h，真菌在 25 °C 培养 48 h，之后用 MF2 型全自动菌落-显微多功能一体机测量其抑菌圈直径。

2 结果与讨论

2.1 反应方程式及元素分析、质谱分析

反应方程如下：



目标产物元素分析(括号内为理论计算值)：碳 46.79%(46.61%)，氢 3.88%(3.90%)，氧 19.01%(19.07%)，氮 20.88%(20.87%)，硫 9.42%(9.55%)；质谱分析(MS)：最大质荷比 $m/z = 336$ ，基峰 $m/z = 261$ 。确定该化合物分子量为 335.62，分子式为 C₁₃H₁₃O₄N₅S。

2.2 红外光谱

1, 4-二氧喹啉-3-甲酰缩氨基硫脲-2-甲酸乙酯的红外光谱见图 1。由图 1 可见，3 442 cm⁻¹ 和 3 232 cm⁻¹ 强峰是 NH₂ 的对称伸缩振动和反对称伸缩振动吸收谱带，1 751 cm⁻¹ 强峰是 C=O 的伸缩振动吸收谱带，1 637 cm⁻¹ 弱峰是 C=N 伸缩振动吸收谱带，1 332 cm⁻¹ 强峰是 N—O 伸缩振动吸收谱带。其中，1 332 cm⁻¹ 的强吸收峰是取代 1, 4-二氧喹啉的特征吸收峰^[10]，由红外光谱分析(IR)可以初步确定目标产物的结构。

2.3 核磁表征

1, 4-二氧喹啉-3-甲酰缩氨基硫脲-2-甲酸乙酯的核磁氢谱图见图 2。如图 2 所示， $\delta 1.293 \times 10^{-6}$ 的三重峰是甲基氢的化学位移； $\delta 2.491 \times 10^{-6}$ 的多重峰是氘代二甲基亚砷中残留质子的化学位移；

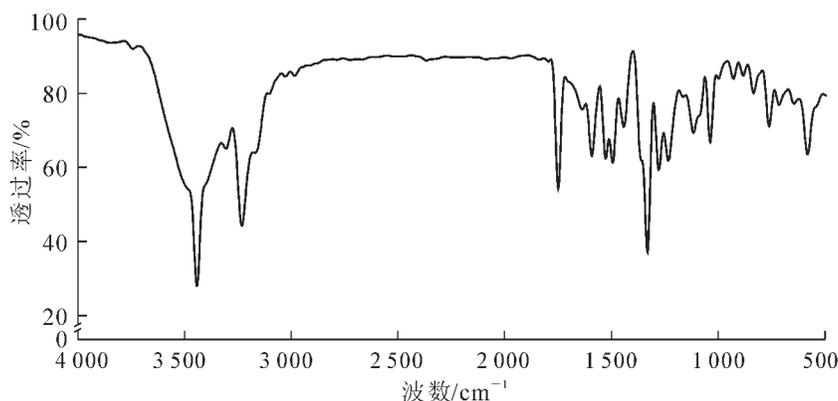


图 1 1，4-二氧喹喔啉-3-甲醛缩氨基硫脲-2-甲酸乙酯的红外光谱图

Figure 1 Infrared (IR) spectrum of 2-ethylformate-3-formaldehyde thiosemicarbazone-quinoxaline-1, 4-dioxide

83.346×10^{-6} 的单峰是残留水中质子的化学位移； $\delta 4.384 \times 10^{-6}$ 的四重峰是亚甲基氢的化学位移；由于伯氨基上的 2 个氢所处化学环境不同，所以 $\delta 6.747 \times 10^{-6}$ 和 $\delta 8.893 \times 10^{-6}$ 处的 2 个单峰是分别是伯氨基上 2 个氢的化学位移； $\delta 7.961 \times 10^{-6} \sim 8.440 \times 10^{-6}$ 等 2 组多重峰是苯环上氢的化学位移； $\delta 8.556 \times 10^{-6}$ 的单峰是苯位氢的化学位移； $\delta 12.331 \times 10^{-6}$ 的单峰是仲氨基上氢的化学位移。由核磁共振谱分析 ($^1\text{H NMR}$) 可以进一步确证合成得到的 1，4-二氧喹喔啉-3-甲醛缩氨基硫脲-2-甲酸乙酯的结构。

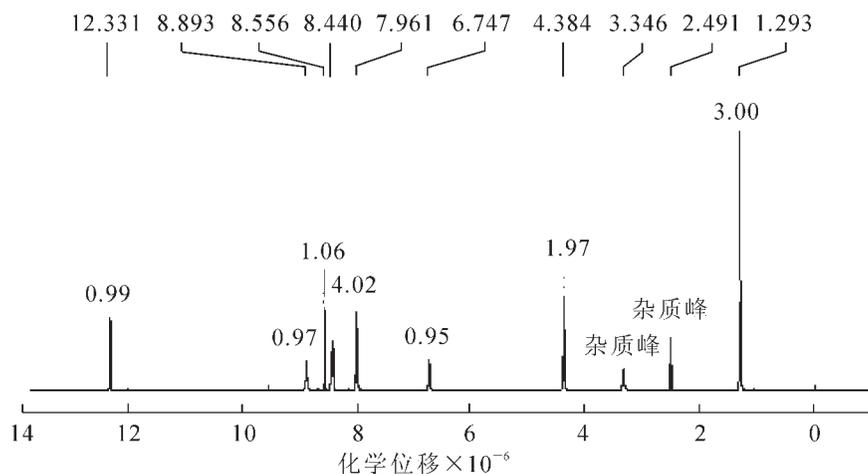


图 2 1，4-二氧喹喔啉-3-甲醛缩氨基硫脲 2-甲酸乙酯的 $^1\text{H NMR}$ 谱图

Figure 2 $^1\text{H NMR}$ spectrum of 2-ethylformate-3-formaldehyde thiosemicarbazone-quinoxaline-1, 4-dioxide

2.4 抑菌活性

采用滤纸片法测定抑菌活性时，是根据培养皿中滤纸片周围抑菌圈大小确定目标化合物的抑菌能力大小，抑菌圈直径越大表明抑菌活性越强。抑菌结果见图 3，化合物对 6 种供试细菌均有明显抑菌活性，而对青霉、根霉、黑曲霉 3 种真菌没有抑菌作用。当质量浓度在 $1.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时，对大肠杆菌 (图 4A)、枯草杆菌、金黄色葡萄球菌、八叠球菌和巨大芽孢杆菌 (图 4B)、苏云金杆菌的抑菌圈直径分别为 18.76, 13.56, 15.38, 16.21, 16.79, 14.84 mm，表现出较强的抑制活性；相对质量浓度为 0.4

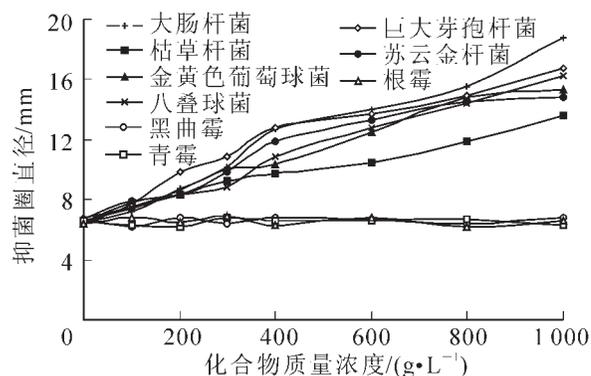


图 3 不同质量浓度化合物对 9 种受试菌的抑制作用

Figure 3 Bacteriostasis of compounds at different concentrations to nine tested bacterium

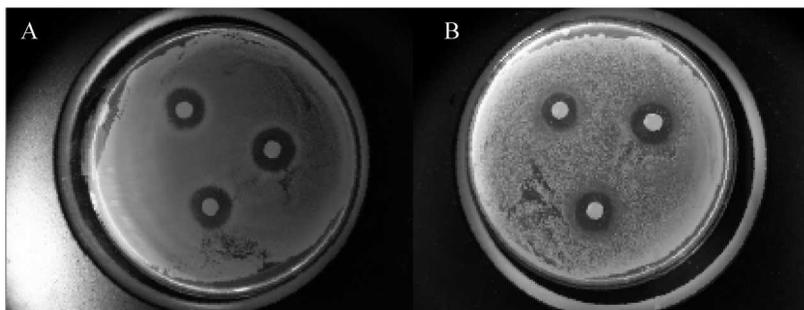


图4 化合物对大肠杆菌(A)和巨大芽孢杆菌(B)的抑菌照片(化合物质量浓度为 $1.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)

Figure 4 Photo of bacteriostasis against *Escherichia coil*(A) and *Bacillus megaterium*(B) in the concentration of $1.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$

$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 化合物对巨大芽孢杆菌、大肠杆菌和苏云金杆菌有较强的抑菌活性; 在质量浓度为 $0.2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 化合物对巨大芽孢杆菌有较好的抑菌效果, 对其他5种细菌抑制活性相对较弱。

3 结论

以1, 4-二氧喹啉-3-甲基-2-甲酸乙酯为原料, 经氧化后与氨基硫脲缩合得到目标产物, 通过元素分析和MS确定了其分子式和分子量; 通过 $^1\text{H NMR}$ 和IR对其分子结构表征, 证实了新合成的产物并对该新化合物的 $^1\text{H NMR}$, IR谱图中各峰进行了归属, 证明了此合成路线能够成功合成1, 4-二氧喹啉-3-甲醛缩氨基硫脲-2-甲酸乙酯。

同时采用滤纸片法研究了目标化合物的抑菌活性。实验结果表明, 在供试菌种中, 化合物对细菌有比较明显的抑制作用, 而对真菌无抑制作用。化合物在质量浓度为 $1.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 对大肠杆菌抑菌圈直径为 18.76 mm , 表现出强烈的抑菌作用; 在质量浓度为 $0.2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 对巨大芽孢杆菌抑菌圈直径为 9.87 mm , 仍有较好的抑菌效果。实验所得结果可为该类化合物进一步研究提供一定的参考。

参考文献:

- [1] CARTA A, PAGLIETTI G, RAHBAR NIKOOKAR M E, *et al.* Novel substituted quinoxaline 1, 4-dioxides with in vitro antimycobacterial and anticandida activity[J]. *Eur J Med Chem*, 2002, **37**: 355 - 366.
- [2] GANLEY B, CHOWDHURY G, BHANSALI J, *et al.* Redox-activated, hypoxia-selective DNA cleavage by quinoxaline 1, 4-di-N-oxide[J]. *Bioorg Med Chem*, 2001, **9**: 2 395 - 2 401.
- [3] 孙小平, 李五岭, 仇文升, 等. 喹啉双氮氧化物衍生物QN-2013的乏氧细胞毒性和放射增敏作用[J]. 北京大学学报: 医学版, 2001, **33** (2): 140 - 143.
- [4] BROZ J, TEJNORA J, SEVCIK B, *et al.* Comparison of cyadox and carbadox efficiency in piglet rearing[J]. *Biol Chem Zivocisne Vyroby Vet*, 1980, **16**: 409 - 414.
- [5] HANS K H, 董炳生. 饲料添加剂作用及在欧洲的发展[J]. 国外畜牧科技, 1992, **19** (2): 27 - 29.
- [6] 马敬中, 胡超男, 占升卫, 等. 1, 4-二氧喹啉甲醛双脲的合成及除草活性研究[J]. 现代化工, 2005, **25** (6): 34 - 38.
- [7] DRAIN D J, GOODACRE C L, SEYMOUR D E. P-aminosalicylic acid (): studies on in vitro tuberculostatic behavior of p-aminosalicylic acid and related compounds[J]. *Pharm Pharmacol*, 1949, **1**: 784 - 787.
- [8] JONES D H, SLACK R, SQUIRES S. Antiviral chemotherapy () the activity of pyridine and quinoline derivatives against nerovaccina in mice [J]. *Med Chem*, 1965, **8** (5): 676 - 680.
- [9] WILSON H R, REVANKAR G R, TOLMAN R L. In vivo activity of certain thiosemicarbazones against *Trypanosoma cruzi* [J]. *Med Chem*, 1974, **17** (7): 760 - 761.
- [10] 叶孟兆, 谢荣春, 徐伟亮. 2-乙酸基-3-甲基喹啉-1, 4-二氧化物的合成[J]. 浙江农业大学学报, 1994, **20** (4): 427 - 430.
- [11] 李春美, 邓明, 谢笔钧. 柚皮提取物对金黄色葡萄球菌抑制作用的初步研究[J]. 食品工业科技, 2004 (5): 64 - 66.