

s-三唑 [3, 4-b] -1, 3, 4-噻二嗪衍生物抑菌活性研究*

张琪¹ 王勤^{1**} 韩寅¹ 何永刚² 惠新平²(兰州大学生命科学学院 兰州 730000)¹ (兰州大学应用有机国家重点实验室 兰州 730000)²

摘要: 为了探讨新合成的 s-三唑 [3, 4-b] -1, 3, 4-噻二嗪衍生物的抗菌活性, 对 10 种 s-三唑 [3, 4-b] -1, 3, 4-噻二嗪衍生物进行了抑菌实验测定, 对其中 4 种进行了 MIC、生长曲线测定及构效关系的探讨。结果表明, 该系列 s-三唑 [3, 4-b] -1, 3, 4-噻二嗪衍生物对受试菌株均有一定的抑制作用, 其中 TSQ5、TSQ6、ISO2 和 ISO3 作用较为明显, 通过构效关系探讨证实氯取代基起了重要作用。

关键词: s-三唑 [3, 4-b] -1, 3, 4-噻二嗪, 抑菌活性, 构效关系

中图分类号: R915 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2003) 05-0061-04

STUDY ON ANTIBACTERIA ACTIVITY OF S-THIAZOLO- [3, 4-b] -1, 3, 4-THIADIAZINE DERIVATIVES AND STRUCTURE ACTIVITY RELATIONSHIPS*

ZHANG Qi¹ WANG Qin^{1**} HAN Yin HE Yong-Gang¹ HUI Xin-Ping²(School of Life Sciences¹, State Key Laboratory of Applied Organic Chemistry², Lanzhou University, Lanzhou 730000)

Abstract: Ten derivatives of thiadiazine that had not been found in literature were designed and synthesized. To study their antibacteria activity, we tested their activity against three bacteria in dosage-dependent and time-dependent manner. TSQ5, TSQ6, ISO2 and ISO3 showed significant activity, and structure activity relationships showed that chlorine substituent was very important for their antibacteria activity.

Key words: s-thiazolo- [3, 4-b] -1, 3, 4-thiadiazine, Antibacterial, Structure-activity relationships

随着广谱抗菌素的广泛应用, 耐药菌株不断出现, 给细菌感染疾病的治疗带来了困难, 因此, 需要开发具有抗菌活性的新化合物, 这些化合物不但能有效治疗感染, 与其它抗菌素协同作用, 而且它们的耐药性和不良反应小。为了寻找新型具有高效抗菌活性的药物, 我们筛选了 10 种 s-三唑 [3, 4-b] -1, 3, 4-噻二嗪类化合物, 研究了它们的抑菌活性、时效关系和量效关系, 旨在为药物有效结构设计提供实验依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 待测化合物: 新合成的 10 种 s-三唑 [3, 4-b] -1, 3, 4-噻二嗪衍生物经元素分析、IR、¹HNMR 和 MS 进行了确证^[1,2], 化合物结构见表 1。

1.1.2 受试菌株: 大肠杆菌 (*E. coli*)、枯草杆菌 (*B. subtilis*)、金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*)。均由甘肃省药检所提供。

1.2 方 法

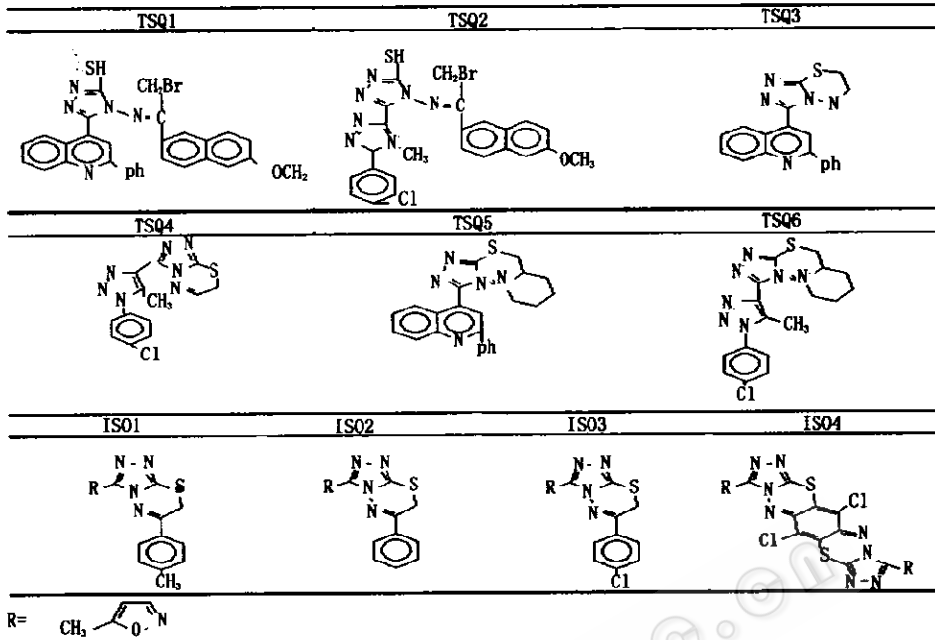
1.2.1 抑菌活性的测定: 采用平板抑菌实验法测定衍生物的抑菌活性^[3,4], 将菌体稀释

* 甘肃省科技攻关项目 (No. GS022-A43-136)

** 联系人 Tel: 0931-8760179, E-mail: wangqin329@yahoo.com.cn

收稿日期: 2002-10-14, 修回日期: 2003-03-17

表1 10种s-三唑 [3, 4-b]-1, 3, 4-噻二噻衍生物结构



到一定浓度，均匀涂布于无菌的琼脂平板上，将牛津小杯置于其上，药物浓度 100 μ g/mL，37 $^{\circ}$ C 孵育 24h，测定 10 种衍生物对大肠杆菌、枯草杆菌、金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径，并以氯霉素作阳性对照，结果见表 2。

1.2.2 最低抑菌浓度 (MIC) 测定：采用试管二倍稀释法，取试验菌接种于肉汤培养基内，37 $^{\circ}$ C 孵育 6h。然后取 13mm \times 100mm 试管，每管加无菌肉汤 0.5mL，药物初始浓度 100 μ g/mL，依次二倍稀释，37 $^{\circ}$ C 孵育 24h，测定 4 种衍生物对 3 种实验菌株的 MIC。

1.2.3 对生长曲线影响的测定：24h 内测定 4 种衍生物对 3 种实验菌株的影响。取 5 组 13mm \times 100mm 无菌试管，每支加 1.8mL 肉汤培养基，第 1 组作为正常对照，第 2 组加 ISO2，第 3 组加 ISO3，第 4 组加 TSQ5，第 5 组加 TSQ6，37 $^{\circ}$ C 温箱孵育。然后隔时取样，于 540nm 测定 OD 值^[5]。

表2 10种s-三唑 [3, 4-b]-1, 3, 4-噻二噻衍生物的抗菌活性*

Compd.	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>
TSQ1	+++	+	+
TSQ2	+++	++	-
TSQ3	++	+	+
TSQ4	++	++	+
TSQ5	+++	++	+
TSQ6	+++	++	+
ISO1	+	++	++
ISO2	++	+++	+
ISO3	++	++	+
ISO4	++	+	+
DMSO	-	-	-
Chloramycetin	+++	+++	+++

* 抗菌活性的抑菌圈直径表示：< 10.00mm (-)，10.00-12.99mm (+)，13.00-15.99mm (++)，> 16.00mm (+++)，牛津小杯直径为 8.00mm

1.2.4 数据处理

采用 Microsoft excel 处理。

2 结果与分析

2.1 受试化合物的结构

见表 1。

2.2 抑菌活性测定

受试菌对新合成的 10 种噻二噻化合物的敏感程度不同，*E. coli* 和 *B. subtilis* 对新合成的化合物普遍敏感，而化合物对 *S. aureus* 的抑菌活性相对较弱，TSQ 系列中 TSQ5 与 TSQ6 作用最明显，ISO 系列中 ISO2 和 ISO3 效果最好，因此在以后的实验中我

们选择这4种化合物进行了MIC和生长曲线的测定,见表2。

2.3 4种噻二嗪衍生物对3种细菌的MIC

结果显示,TSQ6与TSQ5相比,对*E. coli*、*B. subtilis*具有更小的MIC,其对*E. coli*、*B. subtilis*的MIC值都达到12 $\mu\text{g/mL}$,而ISO3对*E. coli*、*B. subtilis*的MIC也比ISO2小,可达到25 $\mu\text{g/mL}$ 。见表3。

表3 4种噻二嗪衍生物对3种细菌的MIC

Compd	初始剂量 ($\mu\text{g/mL}$)	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>
TSQ5	100	50	50	50
TSQ6	100	12	12	50
ISO2	100	50	50	6.25
ISO3	100	25	25	25

2.4 4种噻二嗪衍生物对3种细菌生长曲线的影响

4种化合物对*B. subtilis*有抑制作用,但对其生长周期无明显影响,ISO3与TSQ5均使*E. coli*对数生长期缩短,ISO2、ISO3、TSQ5对*S. aureus*有抑制作用,使其生长周期缩短,而TSQ6对*S. aureus*生长周期无明显改变。见图1~3。

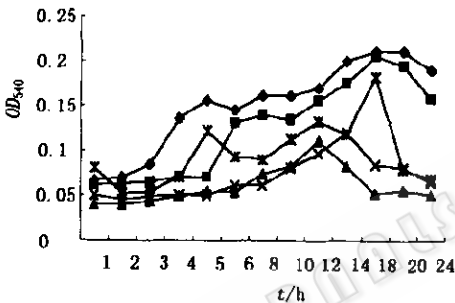


图1 4种噻二嗪化合物作用于*E. coli*的生长曲线

◆ E对照, ■ ISO4,
▲ ISO7, × TSQ5, ※ TSQ6

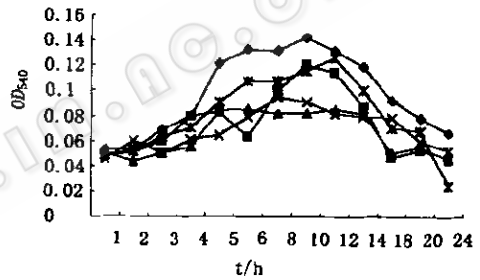


图2 4种噻二嗪化合物作用于*B. subtilis*的生长曲线

◆ E对照, ■ ISO4,
▲ ISO7, × TSQ5, ※ TSQ6

3 讨论

由上可见,对数期细菌对所选的有效化合物较为敏感,该系列化合物对大肠杆菌、枯草杆菌及金葡萄球菌的细菌复制分裂有抑制作用,我们从中筛选了作用明显的4种化合物TSQ5、TSQ6、ISO2、ISO3,对它们进行了最小抑菌浓度和对生长曲线影响的测定,由MIC知化合物TSQ5、TSQ6的活性较强,而ISO2、ISO3则较弱,提示TSQ类化合物有较强的抑菌活力,而且其活性随它们的结构不同而有所不同。这可能与TSQ类的取代基有关,有氯取代基的化合物作用明显,说明吸电子基团起着很大作

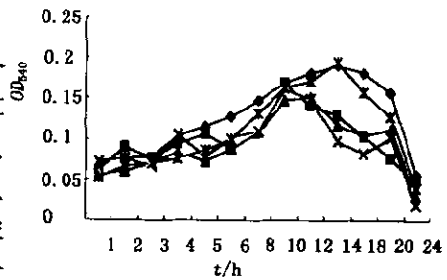


图3 4种噻二嗪化合物作用于*S. aureus*的生长曲线

◆ E对照, ■ ISO4,
▲ ISO7, × TSQ5, ※ TSQ6

用。与 TSQ5、TSQ6 相比同样有氯取代基的 TSQ2 及 TSQ4, 作用较弱的原因可能在于, 三唑嘧二噁环上缺少闭合六元环侧链取代基也有影响, 基团空间位阻等综合效应; 而 ISQ3 与 ISQ2 相比仅差苯环上一个氯基而 MIC 值相差很多, 可见富电子区造成的细胞膜破裂可能是抑菌的机理所在。同时已有研究表明: 三唑基团能与细胞色素 P-450 结合, 从而阻断依赖于细胞色素 P-450 氧化酶催化的羊毛甾醇 C_{14} - α -脱甲基化反应, 阻断麦角甾醇的生物合成, 羊毛甾醇的蓄集使真菌生长繁殖必需的麦角甾醇缺乏, 抑制了真菌的生长^[6-8]。而细菌的膜中缺少甾类物质, 所以三唑基团并不起作用^[9]。而富电子区造成细胞膜破裂使得细菌不能正常生长, 这可能与化合物的取代基团有关。是否是由于其它基团吸电子效应使得噻二噁基团正电性增加而发挥主要的抑菌效应有待深入研究。

参 考 文 献

- [1] Sung K, Lee A R. J Heterocyclic Chem, 1992, 29: 1101.
- [2] Mohan J, Kataria S. Indian J Heterocyclic Chem, 1995, 5: 143.
- [3] 汪 谦主编. 现代医学实验方法. 北京: 人民卫生出版社, 1997. 129~131.
- [4] 钱存柔, 董碧虹编. 微生物基础知识与实验指导(第一版). 北京: 科学出版社, 1979. 144~194.
- [5] 徐叔云, 卞如濂, 陈 修主编. 药理学实验方法(第二版). 北京: 人民卫生出版社, 1994. 1340~1350.
- [6] 朱全红, 方 林, 张国梁. 中国药物化学杂志, 2000, 10(1): 1~4.
- [7] 吴义杰, 杨济秋, 周廷森, 等. 中国药物化学杂志, 1999, 9(3): 176~180.
- [8] 赵临襄, 官 平, 姚庆祥. 中国药物化学杂志, 1999, 9(1): 1~9.
- [9] 田中信男. 《抗菌素的作用机制》翻译组译. 抗菌素的作用机制—抗菌和抗癌作用的分子生物学(第一版). 北京: 科学出版社, 1977. 189~191.