查尔酮及其螺杂环衍生物的合成、晶体结构、抗氧化活性研究

吴建章^{a,b} 李物兰^c 陈玲姿^b 楚生辉^b 赵承光^a
卫涛^b 杨树林^{*,a} 李校堃^{a,b}

(^a 南京理工大学生物工程研究所 南京 210094)

(^b 温州医学院药学院 温州 325035)

(^c 温州医学院信息与工程学院 温州 325035)

摘要 为了合成新结构类型查尔酮衍生物,发现具有抗氧化活性的查尔酮类化合物,设计合成了查尔酮 **A** 和螺杂环 **B** 两种类型,共 21 个查尔酮类似物,结构经 ESI-MS, ESI-HRMS 和 ¹H NMR 确认.培养出螺杂环 **B1** 的单晶,通过 X 衍射确证了其单斜晶系.其中螺杂环 **B** 为新结构类型化合物,通过 1,3-偶极环加成反应,用不需加催化剂的“一锅煮”方法合成,该反应具有很好的立体选择性和区域选择性、且环境友好.用 DPPH 法测试了所有化合物的抗氧化活性,筛选出了多个对 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基具有良好清除率的化合物,a 环 3,4-OH 取代的两类化合物都具有良好的抗氧化活性,苯环邻位二羟基取代的查尔酮类化合物可能具有很好的抗氧化活性.

关键词 查尔酮;螺杂环;合成;DPPH;抗氧化活性;晶体结构

Synthesis, Crystal Structure, Antioxidant Activity of Chalcones and Its Spiro-heterocyclic Analogues

Wu, Jianzhang^{a,b} Li, Wulan^c Chen, Lingzi^b Chu, Shenghui^b Zhao, Chenguang^a
Wei, Tao^b Yang, Shulin^{*,a} Li, Xiaokun^{a,b}

(^a Institute of Biotechnology, Nanjing University of Science and Technology, Nanjing 210094)

(^b School of Pharmacy, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035)

(^c College of Information Science and Computer Engineering, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035)

Abstract To synthesize new structure type chalcone analogues, and obtain chalcone analogues with good antioxidant activity. Two types of chalcone analogs, chalcones **A** and spiro-heterocyclic **B** were designed and synthesized, and the structures of 21 compounds were characterized by ¹H NMR, ESI-MS and ESI-HRMS. Single-crystal of spiro-heterocyclic **B** was cultured, and its single-crystal structure was determined by X-ray diffraction study. The crystal structure of **B1** was monoclinic system, space group *C2/c*, with cell dimensions of *a*=21.350(3) Å, *b*=8.6256(10) Å, *c*=26.161(3) Å. Spiro-heterocyclic **B** is the new structure type, and obtained by one-pot synthesis which is 1,3-dipolar cycloaddition reaction and no catalyst. The synthesis of spiro-heterocyclic **B** is not only high regioselectivity and stereoselectivity, but also environmentally friendly. The antioxidant activities *in vitro* were evaluated by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) assay. Many compounds, which can have strong activity of scavenging DPPH free radicals, were screened. In the 2 types of chalcones analogs, the compounds with 3,4-(OH)₂ in “a” ring have excellent antioxidant activities. The chalcone analogs with *o*-dihydroxy in benzene ring maybe have good antioxidant activities.

Keywords chalcones; spiro-heterocyclic; synthesis; DPPH; antioxidant activities; crystal structure

黄酮类化合物广泛存在于水果蔬菜和各种天然药物中,具有较好的抗氧化、抗肿瘤、抗炎、抗血管增生、

抗菌和抗疟疾等生物活性^[1~3].查尔酮类化合物属于黄酮类化合物,近年来发现合成的查尔酮类化合物也具有

* E-mail: wjzwmc@126.com, wujianzhang6@163.com

Received April 1, 2012; revised June 18, 2012; published online July 2, 2012.

Project supported by the Technology Foundation for Medical Science of Zhejiang Province (No. 2012KYA129), the Project of Wenzhou Sci & Tech Bureau (No. 20090101), and the Technology Foundation for Chinese Medicine of Zhejiang Province (No. 2012ZB102).

浙江省医药卫生科技计划(No. 2012KYA129)、温州市科技局(No. Y20090101)、浙江省中医药科技计划 B 类(No. 2012ZB102)资助项目.

很好的生物学活性, 且该类化合物的毒性非常低, 因此吸引了越来越多科学家的目光^[4-6]. 到目前为止, 仅有较少的文献报道了天然查尔酮的抗氧化活性, 而对合成的查尔酮类化合物的抗氧化活性研究报道极少^[1,7-9]. 为了发掘抗氧化活性好的查尔酮类似物, 本文合成了经典查尔酮(查尔酮 **A**)和螺杂环类查尔酮(螺杂环 **B**)两种类型的查尔酮类似物, 其中螺杂环 **B** 为新结构类型, 通过单晶 X 衍射表征了螺杂环 **B** 的结构(Scheme 1). 采用 1,1-二苯基-2-三硝基苯基(DPPH)法测试了化合物的体外抗氧化活性, 发现了多个抗氧化活性较好的化合物.

1 结果与讨论

1.1 合成

查尔酮 **A** 类化合物的合成成为常见的羟醛缩合反应, 根据原料分子苯环上是否有羟基选择用碱性或酸性条件进行合成, 都可以得到较高产率的产物. 但原料一般都反应不完全, 所以沉淀析出的产物都需要柱层析或者重结晶进行纯化. 螺杂环 **B** 为尚未有文献报道的新结构类型的查尔酮类似物, 我们参考相应的螺杂环类单羰基姜黄素类似物“一锅煮”的合成方法^[10], 把三种反应物直接混合, 不加催化剂直接加热回流, 一般 5 h 左右即可完成反应, 合成螺杂环 **B** 符合绿色合成化学的宗旨.

1.2 B1 的晶体结构

图 1 是化合物 **B1** (CCDC 号为 829400) 的分子晶体结构图和晶胞堆积图. 晶体的分子式是 $C_{27}H_{28}N_2O_7$, 分子量 492.51, 属于单斜晶系, 空间群为 $C2/c$, 晶胞参数 $a=21.350(3)$ Å, $b=8.6256(10)$ Å, $c=26.161(3)$ Å. 查尔酮 **A** 类化合物骨架为经典查尔酮分子骨架, 整个分子是

高度共轭的结构, 因此分子中两个苯环(“a”和“b”环)一般是近乎平面的结构. 查尔酮 **A** 类化合物反应形成螺杂环 **B** 后, 共轭链在与偶极子反应的两个碳原子处中断, 整个分子的由近乎平面结构变成了螺杂环立体结构. **B1** 中来源于 **A1** 的两个苯环(“a”和“b”环)接近垂直, 其二面角为 80.07° , “a”环与吡咯酮环平面二面角为 48.38° , “b”环与吡咯酮环平面二面角为 34.95° . “a”和“b”环连接碳上存在 2 个手性碳, 绝对构型分别为 *2R* 和 *3S*. “a”和“b”环之间连接羰基与吡咯酮羰基是反式关系.

1.3 螺杂环类查尔酮的反应机制及立体化学

Kumar 等^[10,21]进行过类似的姜黄素螺杂环化合物的合成研究, 该类反应为 1,3-偶极环加成反应. 本文的螺杂环 **B** 的合成也为此类反应. 反应的机制可能为, 肌氨酸与靛红亲核加成, 脱去二氧化碳, 生成以 N 原子为中心的 1,3-偶极子(图 2). 由本文合成的螺杂环 **B** 的结构和晶体结构可知, 1,3-偶极子与查尔酮 **A** 加成时具有很好的区域选择性和立体选择性: 偶极子 1'和 3'碳原子分别加成到查尔酮 3 和 2 碳原子上, 未见偶极子 1'和 3'碳原子分别加成到查尔酮 2 和 3 碳原子上的产物, 即表现出区域选择性; 偶极子经历过渡态“a”, 得到螺杂环 **B** 产物, 未见由过渡态“b”所得的产物, 即表现出极好的立体选择性.

1.4 抗氧化活性

查尔酮衍生物的对 DPPH 自由基的清除率结果见图 3, 多个化合物都表现出了较好的活性. 化合物浓度为 20 mg/L 时, 有 9 个化合物对 DPPH 自由基的清除率达

Compd.	R ¹	R ²	Compd.	R ¹	R ²
A1	3,4-(OH) ₂	2',4'-(OCH ₃) ₂	A12	3,4-(OCH ₃) ₂	3'-OH
A2	3,4-(OH) ₂	2'-Cl	A13	4-OCH ₃	4'-OH
A3	3,4-(OH) ₂	2',4',6'-(OCH ₃) ₃	A14	3,4,5-(OCH ₃) ₃	4'-OH
A4	3,4-(OH) ₂	3',4'-(OCH ₃) ₂	A15	4-OH	4'-OH
A5	3,4-(OH) ₂	4'-OCH ₃	A16	4-OH	2',4'-(OCH ₃) ₂
A6	3,4-(OH) ₂	4'-OCH ₂ CH ₃	A17	3-OH	3'-OH
A7	3,4-(OCH ₃) ₂	2'-Cl	B1	3,4-(OH) ₂	2',4'-(OCH ₃) ₂
A8	3,4-(OCH ₃) ₂	2',4',6'-(OCH ₃) ₃	B2	3,4-(OH) ₂	2'-Cl
A9	3,4-(OCH ₃) ₂	3',4'-(OCH ₃) ₂	B3	3,4-(OCH ₃) ₂	2'-Cl
A10	3,4-(OCH ₃) ₂	4'-OCH ₃	B4	3,4-(OH) ₂	4'-OCH ₂ CH ₃

Scheme 1

图1 化合物 B1 的晶体结构和晶胞堆积图

Figure 1 Crystal structure and packing diagram of the unit cell of B1
Dotted lines indicate the hydrogen bonds

图2 合成螺杂环查尔酮的立体化学和可能的反应机制

Figure 2 Stereochemistry and possible reaction mechanism of synthesizing spiro-heterocyclic chalcones analogs

图3 化合物对 DPPH 自由基的清除效果

Figure 3 Scavenging activity of compounds on DPPH free radical

到 80%以上, 其活性接近阳性对照槲皮素(Quercetin)和维生素 C (Vc)。

构效关系分析显示, a 环上 3 和 4 位同时为羟基的化合物(A1~A6, B1, B2, B4), 都具有很好的抑制 DPPH 的

活性, 在 20 mg/L 时对 DPPH 的抑制率均达 80%以上; 苯环无羟基取代的化合物(A7~A9, A11, B3)活性都很差; 苯环单羟基取代化合物, 如果羟基邻位无甲氧基时(A12~A17)活性也很差; 而羟基邻位有甲氧基的单羟

基取代化合物(A11), 具有较好的活性, 在 20 mg/L 时对 DPPH 的抑制率达 65%.

对 DPPH 的抑制活性, 主要与化合物的酚羟基脱氢的难易有关. 3,4-OH 活性较好的原因可能为, 两个羟基处于邻位时, 一个羟基的氢原子与另一个羟基的氧原子容易形成分子内氢键; 分子内氢键的形成使其去氢后的自由基更加稳定, 表明该类型衍生物更容易发生抽氢反应从而发挥较为理想的抗氧化活性. 而邻位有甲氧基的单羟基取代化合物 A10, 其 4-OH 也会与 3-OCH₃ 形成分子内氢键, 同理导致化合物具有较好的抗氧化活性. 邻位无甲氧基的单羟基取代化合物的羟基不能形成分子内氢键, 所以其活性与无羟基化合物类似.

2 结论

设计合成出新型的螺杂环类查尔酮衍生物, 该类化合物的合成具有一步合成、绿色环保、高度的立体和区域选择性等优点, 为查尔酮类似物的结构研究提供了新的实验和理论依据.

发现了多个对 DPPH 具有良好抑制活性的查尔酮类似物; 3,4-OH 为邻位羟基取代, 推测其它相邻二羟基取代查尔酮类似物由于分子内氢键的形成, 都会具有良好的清除 DPPH 的活性; 为新型查尔酮类抗氧化剂的研究提供了实验参考.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

Fisher-Johns 型显微熔点仪, Bruker AVANCE III 600 MHz 超导核磁共振仪, Bruker Esquire 3000 质谱仪, Bruker micrOTOF-Q II 质谱仪, Bruker SMARTAPEX II-CCDX-射线单晶衍射仪, Anthos Zenyth200rt 酶标仪. DPPH, 槲皮素(BR)与抗坏血酸(AR)购于国药集团化学试剂有限公司, 其它所用试剂均为分析纯. 薄层和柱层析用硅胶均为青岛海洋化工厂产品.

3.2 查尔酮类似物的设计与合成

设计了经典查尔酮(查尔酮 A)和螺杂环类查尔酮(螺杂环 B)两种结构类型共 22 个化合物. 化合物苯环上的酚羟基一般与其抗氧化活性具有相关性, 因此所设计化合物大部分含有酚羟基. 查尔酮 A 类化合物的合成为简单的羟醛缩合反应, 螺杂环 B 的合成为 1,3-偶极环加成反应.

3.2.1 查尔酮 A 的合成

将 1 mmol 取代苯甲醛溶解在 10 mL 左右无水乙醇中, 再加入等物质的量的取代苯乙酮. 如果取代苯甲醛或取代苯乙酮的取代基无羟基, 滴加 5 滴左右的 40%

NaOH 作为催化剂, 反应温度控制在 4 °C 左右; 取代基如果有羟基, 通入 HCl 气体作为催化剂, 常温下如不反应, 将逐步升高温度, 直至反应. 用 TLC 监测反应的进行, 反应完后, 反应液中加入 1~3 倍于反应液体积的水, 4 °C 静置 0.5~10 h 左右后有沉淀析出, 过滤, 用 5%~10% 的乙醇水溶液洗涤沉淀, 真空干燥后, 用硅胶柱层析纯化(洗脱溶剂为石油醚: 乙酸乙酯或者氯仿: 甲醇的混合溶剂)得到各种查尔酮 A 类化合物.

(E)-3-(3,4-二羟基苯基)-1-(2,4-二甲氧基苯基)丙-2-烯-1-酮(A1): 黄绿色粉末, 产率 81.55%. m.p. 151.7~155.3 °C (Lit.^[11] 160~161 °C); ¹H NMR (CD₃COCD₃) δ: 7.659 (d, *J*=8.4 Hz, 1H, H-6'), 7.500 (d, *J*=15.6 Hz, 1H, H-β), 7.399 (d, *J*=15.6 Hz, 1H, H-α), 7.221 (d, *J*=2.4 Hz, 1H, H-2), 7.059 (dd, *J*=1.8, 8.4 Hz, 1H, H-6), 6.878 (d, *J*=7.8 Hz, 1H, H-5), 6.673 (d, *J*=2.4 Hz, 1H, H-3'), 6.632 (dd, *J*=2.4, 8.4 Hz, 1H, H-5'), 3.956 (s, 3H, OCH₃-2'), 3.894 (s, 3H, OCH₃-4'); ESI-MS *m/z*: 301.1 (M+H)⁺.

(E)-1-(2-氯苯基)-3-(3,4-二羟基苯基)丙-2-烯-1-酮(A2): 棕黄色粉末, 产率 81.61%. m.p. 144.3~145.7 °C (Lit.^[11] 174~178 °C); ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ: 8.319 (brs, 2H, OH-3, OH-4), 7.500~7.538 (m, 3H, H-3', H-4', H-6'), 7.451~7.486 (m, 1H, H-5'), 7.315 (d, *J*=16.2 Hz, 1H, H-β), 7.226 (d, *J*=2.4 Hz, 1H, H-2), 7.090 (d, *J*=1.8 Hz, 8.4 Hz, 1H, H-6), 6.955 (d, *J*=16.2 Hz, 1H, H-α), 6.988 (d, *J*=8.4 Hz, 1H, H-5); ESI-MS *m/z*: 275.2 [M+H]⁺.

(E)-3-(3,4-二羟基苯基)-1-(2,4,6-三甲氧基苯基)丙-2-烯-1-酮(A3): 黄绿色稠状物, 产率 78.6%. ¹H NMR (CDCl₃) δ: 7.231 (d, *J*=15.6 Hz, 1H, H-β), 7.039 (d, *J*=1.8 Hz, 1H, H-2), 6.910 (dd, *J*=1.8, 8.4 Hz, 1H, H-6), 6.816 (d, *J*=8.4 Hz, 1H, H-5), 6.760 (d, *J*=15.6 Hz, 1H, H-α), 6.187 (s, 2H, H-3', H-5'), 3.757 (s, 6H, OCH₃-2', OCH₃-6'), 3.681 (s, 3H, OCH₃-4'); ESI-MS *m/z*: 331.4 [M+H]⁺; HRMS calcd for C₁₈H₁₈O₆ [M+H]⁺ 331.1103, found 331.1158.

(E)-3-(3,4-二羟基苯基)-1-(3,4-二甲氧基苯基)丙-2-烯-1-酮(A4): 黄色粉末, 产率 58.5%. m.p. 88.3~93.7 °C (Lit.^[11] 132~137 °C); ¹H NMR (CD₃COCD₃) δ: 7.838 (dd, *J*=1.8, 8.4 Hz, 1H, H-6'), 7.670 (d, *J*=15.6 Hz, 1H, H-β), 7.663 (d, *J*=1.8 Hz, 1H, H-2'), 7.629 (d, *J*=15.6 Hz, 1H, H-α), 7.317 (d, *J*=1.8 Hz, 1H, H-2), 7.170 (dd, *J*=1.8, 8.4 Hz, 1H, H-6), 7.089 (d, *J*=8.4 Hz, 1H, H-5'), 7.901 (d, *J*=8.4 Hz, 1H, H-5), 3.892 (s, 6H, OCH₃-3', OCH₃-4'); ESI-MS *m/z*: 301.2 [M+H]⁺.

(E)-3-(3,4-二羟基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)丙-2-烯-1-酮(A5): 红棕色粉末, 产率 45.5%. m.p. 170.4~172.9 °C

(Lit.^[12] 172~178 °C).

(*E*)-3-(3,4-二甲氧基苯基)-1-(4-乙氧基苯基)丙-2-烯-1-酮(**A6**): 黄色粉末, 产率 66.51%. m.p. 168.7~170.3 °C (Lit.^[11] 172~178 °C).

(*E*)-1-(2-氯苯基)-3-(3,4-二甲氧基苯基)丙-2-烯-1-酮(**A7**): 淡黄色粉末, 产率 92.38%. m.p. 93.2~96.0 °C; ¹H NMR (CDCl₃) δ: 7.452~7.468 (m, 2H, H-3', H-6'), 7.416 (dt, *J*=1.8 Hz, 7.8 Hz, 1H, H-4'), 7.382 (d, *J*=16.2 Hz, 1H, H-β), 7.364 (dt, *J*=1.2, 7.8 Hz, 1H, H-5'), 7.142 (dd, *J*=1.8, 8.4 Hz, 1H, H-6), 7.088 (d, *J*=2.4 Hz, 1H, H-2), 6.991 (d, *J*=16.2 Hz, 1H, H-α), 6.878 (d, *J*=8.4 Hz, 1H, H-5), 3.951 (s, 6H, OCH₃-3, OCH₃-4); ESI-MS *m/z*: 303.3 [M+H]⁺; HRMS calcd for C₁₇H₁₅ClO₃ [M+H]⁺ 303.0710, found 303.0782.

(*E*)-3-(3,4-二甲氧基苯基)-1-(2,4,6-三甲氧基苯基)丙-2-烯-1-酮(**A8**): 黄色粉末, 产率 62.73%. m.p. 104~106 °C; ¹H NMR (CDCl₃) δ: 7.282 (d, *J*=16.2 Hz, 1H, H-β), 7.088 (d, *J*=8.4 Hz, 1H, H-6), 7.065 (s, 1H, H-2), 6.849 (d, *J*=8.4 Hz, 1H, H-5), 6.843 (d, *J*=15.6 Hz, 1H, H-α), 6.169 (s, 2H, H-3', H-5'), 3.902 (s, 6H, OCH₃-2', OCH₃-6'), 3.863 (s, 3H, OCH₃-3), 3.771 (s, 6H, OCH₃-4', OCH₃-4); ESI-MS *m/z*: 358.9 [M+H]⁺; HRMS calcd for C₂₀H₂₂O₆ [M+H]⁺ 359.1416, found 359.1489.

(*E*)-1,3-二(3,4-二甲氧基苯基)丙-2-烯-1-酮(**A9**): 淡黄色粉末, 产率 57.52%. m.p. 105.5~107.2 °C (Lit.^[13] 102~104 °C).

(*E*)-3-(3,4-二甲氧基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)丙-2-烯-1-酮(**A10**): 黄色粉末, 产率 18.27%. m.p. 77.0~84.3 °C (Lit.^[14] 90~92 °C); ¹H NMR (CDCl₃) δ: 8.040 (d, *J*=8.4 Hz, 2H, H-2', H-6'), 7.758 (d, *J*=15.6 Hz, 1H, H-β), 7.407 (d, *J*=15.6 Hz, 1H, H-α), 7.235 (dd, *J*=1.8, 8.4 Hz, 1H, H-6), 7.229 (d, *J*=1.2 Hz, 1H, H-2), 6.988 (d, *J*=9.0 Hz, 2H, H-3', H-5'), 6.917 (d, *J*=8.4 Hz, 1H, H-5), 3.958 (s, 3H, OCH₃-3), 3.953 (s, 3H, OCH₃-4), 3.894 (s, 3H, OCH₃-4'); ESI-MS *m/z*: 299.2 (M+1)⁺.

(*E*)-3-(4-羟基-3-甲氧基苯基)-1-(2,4-二甲氧基苯基)丙-2-烯-1-酮(**A11**): 黄色粉末, 产率 28.47%. 137.1~139.3 (Lit.^[15] 92~94 °C); ¹H NMR (CDCl₃) δ: 7.713 (d, *J*=8.4 Hz, 1H, H-6'), 7.591 (d, *J*=15.6 Hz, 1H, H-β), 7.328 (d, *J*=15.6 Hz, 1H, H-α), 7.160 (dd, *J*=1.8, 8.4 Hz, 1H, H-6), 7.077 (d, *J*=1.8 Hz, H-2), 6.922 (d, *J*=8.4 Hz, 1H, H-5), 6.560 (dd, *J*=1.8, 8.4 Hz, 1H, H-5'), 6.500 (d, *J*=2.4 Hz, 1H, H-3'), 3.930 (s, 3H, OCH₃-2'), 3.891 (s, 3H, OCH₃-3), 3.856 (s, 3H, OCH₃-4'); ESI-MS *m/z*: 315.2 [M+H]⁺.

(*E*)-3-(3,4-二甲氧基苯基)-1-(3-羟基苯基)丙-2-烯-1-酮(**A12**): 黄色粉末, 产率 17.2%. m.p. 73.0~74.8 °C (Lit.^[16] 115~116 °C); ¹H NMR (CDCl₃) δ: 7.776 (d, *J*=15.6 Hz, 1H, H-β), 7.609 (d, *J*=1.8 Hz, 1H, H-2'), 7.570 (d, *J*=7.8 Hz, 1H, H-6'), 7.377 (t, *J*=7.8 Hz, 1H, H-5'), 7.369 (d, *J*=15.6 Hz, 1H, H-α), 7.229 (dd, *J*=1.8, 8.4 Hz, 1H, H-6), 7.151 (d, *J*=1.8 Hz, 1H, H-2), 7.110 (dd, *J*=2.4, 8.4 Hz, 1H, H-4'), 6.894 (d, *J*=8.4 Hz, 1H, H-5), 3.946 (s, 3H, OCH₃-3), 3.932 (s, 3H, OCH₃-4); ESI-MS *m/z*: 285.1 [M+H]⁺.

(*E*)-1-(4-羟基苯基)-3-(4-甲氧基苯基)丙-2-烯-1-酮(**A13**): 淡黄色粉末, 产率 93.64%. m.p. 188.5~190.2 °C (Lit.^[17] 180~182 °C).

(*E*)-1-(4-羟基苯基)-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙-2-烯-1-酮(**A14**): 黄色粉末, 产率 23.31%. m.p. 230.2~235.8 (Lit.^[18] 236~238 °C).

(*E*)-1,3-二(4-羟基苯基)丙-2-烯-1-酮(**A15**): 黄色粉末, 产率 65.82%. m.p. 200.4~202.2 °C (Lit.^[19] 196~198 °C).

(*E*)-3-(4-羟基苯基)-1-(2,4-二甲氧基苯基)丙-2-烯-1-酮(**A16**): 黄色粉末, 产率 88.64%. m.p. 128.2~130.9 °C (Lit.^[6] 92~94 °C); ¹H NMR (CDCl₃) δ: 7.735 (d, *J*=9.0 Hz, 1H, H-6'), 7.635 (d, *J*=15.6 Hz, 1H, H-β), 7.489 (d, *J*=8.4 Hz, 2H, H-2, H-6), 7.373 (d, *J*=16.2 Hz, 1H, H-α), 6.861 (d, *J*=8.4 Hz, 2H, H-5, H-3), 6.560 (dd, *J*=2.4, 8.4 Hz, 1H, H-5'), 6.498 (d, *J*=1.8 Hz, 1H, H-3'); ESI-MS *m/z*: 284.9 [M+H]⁺.

(*E*)-1,3-二(3-羟基苯基)丙-2-烯-1-酮(**A17**): 黄色粉末, 产率 13.7%. m.p. 191~193 °C (Lit.^[20] 155~156 °C); ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ: 9.775 (s, 1H, OH-3'), 9.640 (s, 1H, OH-3), 7.712 (d, *J*=15.6 Hz, 1H, H-β), 7.590 (d, *J*=16.2 Hz, 1H, H-α), 7.420 (s, 1H, H-2'), 7.351 (t, *J*=8.4 Hz, 1H, H-5'), 7.292 (d, *J*=7.2 Hz, 1H, H-6), 7.236 (t, *J*=7.2 Hz, 1H, H-5), 7.184 (s, 1H, H-2), 7.040 (d, *J*=7.2 Hz, 1H, H-4), 7.040 (d, *J*=7.2 Hz, 1H, H-4); ESI-MS *m/z*: 240.9 [M+H]⁺.

3.2.2 螺杂环 **B** 的合成

反应采用一锅煮的方法: 在甲醇中加入等物质量的 **A** 类化合物、靛红和肌氨酸, 加热回流 4~8 h. 用 TLC 监测反应的进行, 反应完后, 反应液中加入 1 倍左右于反应液体积的水, 析出沉淀, 真空干燥. **B1** 用丙酮: 水 (*V*: *V*=2: 1) 溶液重结晶纯化. 用硅胶柱层析纯化 **B2**、**B3** 和 **B4**, 洗脱溶剂均为石油醚: 乙酸乙酯(体积比约 1: 1 左右).

4'-(3,4-二羟基苯基)-3'-[(2,4-二甲氧基苯基)碳酰

基]-1'-甲基-螺[2,3"]茚啉-吡咯烷(**B1**): 淡黄色粉末, 产率 30.63%. m.p. 137~140.5 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 7.558 (d, $J=9.0$ Hz, 1H, Ar-H $^{2''}$), 7.147 (dd, $J=2.4$, 9.0 Hz, 1H, Ar-H $^{5''}$), 6.965~7.069 (m, 2H, Ar-H $^{3''}$, Ar-H $^{4''}$), 6.848 (d, $J=9.0$ Hz, 1H, Ar-H 6), 6.661 (d, $J=1.8$ Hz, 1H, Ar-H 2), 6.612 (dd, $J=1.8$, 8.4 Hz, 1H, Ar-H 6), 6.592 (s, 1H, Ar-H 5), 6.581 (d, $J=1.8$ Hz, 1H, Ar-H 3), 6.558 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H 5), 4.479 (d, $J=9.6$ Hz, 1H, 3-CH), 4.096~4.141 (m, 1H, 4-CH), 3.685 (s, 3H, 2'-OCH $_3$), 3.618 (s, 3H, 4'-OCH $_3$), 3.140~3.166 (m, 1H, 5-CH $_2$), 1.966 (s, 3H, NCH $_3$). HRMS calcd for C $_{27}$ H $_{26}$ N $_2$ O $_6$ [M+H] $^+$ 475.1791, found 475.1865.

4'-(3,4-二羟基苯基)-3'-[(2-氯苯基)碳酰基]-1'-甲基-螺[2,3"]茚啉-吡咯烷(**B2**): 棕黄色粉末, 产率 60.16%. m.p. 188.4~189.55 °C; ^1H NMR (CDCl $_3$) δ : 9.321 (s, 1H, N-H), 7.275 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H 6), 7.184~7.224 (m, 4H, Ar-H 3 , Ar-H 4 , Ar-H 5 , Ar-H $^{2''}$), 7.017~7.050 (m, 4H, Ar-H 2 , Ar-H $^{3''}$, Ar-H $^{4''}$, Ar-H $^{5''}$), 6.832 (d, $J=7.2$ Hz, 1H, Ar-H 6), 6.766 (d, $J=7.2$ Hz, 1H, Ar-H 5), 4.633 (t, $J=9.0$ Hz, 1H, 3-CH), 4.214 (q, $J=9.0$ Hz, 16.8 Hz, 1H, 4-CH), 3.434 (t, $J=9.0$ Hz, 1H, 5-CH $_2$), 3.337~3.373 (m, 1H, 5-CH $_2$), 3.485~3.501 (m, 1H, 5-CH $_2$), 2.062 (s, 3H, 1-N-CH $_3$). HRMS calcd for C $_{25}$ H $_{21}$ ClN $_2$ O $_4$ [M+H] $^+$ 449.1190, found 449.1252.

4'-(3,4-二甲氧基苯基)-3'-[(2-氯苯基)碳酰基]-1'-甲基-螺[2,3"]茚啉-吡咯烷(**B3**): 淡黄色粉末, 产率 38.07%. m.p. 123.5~128.9 °C; ^1H NMR (CDCl $_3$) δ : 7.460 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H 6), 7.351~7.394 (m, 3H, Ar-H 3 , Ar-H 4 , Ar-H $^{2''}$), 7.088~7.187 (m, 5H, Ar-H 2 , Ar-H 5 , Ar-H $^{3''}$, Ar-H $^{4''}$, Ar-H $^{5''}$), 6.877 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H 6), 6.830 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H 5), 4.676 (t, $J=9.0$ Hz, 1H, 3-CH), 4.405~4.431 (m, 1H, 4-CH), 3.917 (s, 6H, Ar-3-OCH $_3$, Ar-4-OCH $_3$), 3.716~3.735 (m, 1H, 5-CH $_2$), 3.485~3.501 (m, 1H, 5-CH $_2$), 2.175 (s, 3H, 1-N-CH $_3$); ESI-MS m/z 477.0 [M+H] $^+$; HRMS calcd for C $_{27}$ H $_{25}$ ClN $_2$ O $_4$ [M+H] $^+$ 477.1503, found 477.1590.

4'-(3,4-二羟基苯基)-3'-[(4-乙氧基苯基)碳酰基]-1'-甲基-螺[2,3"]茚啉-吡咯烷(**B4**): 黄色粉末, 产率 25.3%. m.p. 112.1~115.3 °C; ^1H NMR (CDCl $_3$) δ : 7.334 (d, $J=9.0$ Hz, 2H, Ar-H $^{2''}$, Ar-H 6), 7.203 (d, $J=1.8$ Hz, 1H, Ar-H 2), 7.156 (d, $J=7.2$ Hz, 1H, Ar-H $^{5''}$), 6.995~7.018 (m, 1H, Ar-H $^{3''}$), 6.910~6.935 (m, 1H, Ar-H $^{4''}$), 6.889 (dd, $J=1.8$, 8.4 Hz, 1H, Ar-H 6), 6.799 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, Ar-H $^{2''}$), 6.519 (d, $J=7.2$ Hz, 1H, Ar-H 5), 6.483 (d, $J=9.0$ Hz, 2H, Ar-H 3 , Ar-H 5), 4.424~4.476 (m, 2H,

5-CH $_2$), 3.875 (q, $J=7.2$ Hz, 2H, 4'-OCH $_2$), 3.572 (t, $J=9.0$ Hz, 1H, 3-CH), 3.404~3.431 (m, 1H, 4-CH), 2.106 (s, 3H, N-CH $_3$), 1.312 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, 4'-OCH $_2$ CH $_3$); ESI-MS m/z : 458.9; HRMS calcd for C $_{27}$ H $_{26}$ N $_2$ O $_5$ [M+H] $^+$ 459.1842, found 459.1937.

3.3 晶体培养与单晶衍射

取少量 **B1** 用丙酮:水($V:V=2:1$)的混合溶液溶解, 置于 4 °C 环境下溶剂缓慢挥发, 6 d 之后得到黄色柱状晶体. 将 **B1** 的晶体在 293 K 下用 Bruker SMAR-TAPEXII-CCD X 射线单晶衍射仪进行结构测定. 采用 Mo K α 射线($\lambda=0.71073$ Å), 石墨晶体单色器, 在 293 K 下, 以 $\rho-\omega$ 扫描方式在 $2.3^\circ<\theta<28.1^\circ$ 收集衍射数据 (SMART 程序).

3.4 体外抗氧化活性: 对 DPPH 的抑制率

用无水乙醇溶解 DPPH, 配置母液 (7.5×10^4 $\mu\text{mol/L}$), 0~4 °C 下避光保存. 使用前用无水乙醇稀释到 150 $\mu\text{mol/L}$. 用 DMSO 溶解化合物, 其初始浓度 1.0×10^4 mg/L, 0~4 °C 下避光保存. 使用前用无水乙醇稀释到 20 mg/L. 在 96 孔板中加入 120 μL DPPH 溶液和 80 μL 化合物溶液, 使总体积为 200 μL , 混匀, 于室温(25 °C)下放置 30 min, 记为溶液 i; 在 96 孔板中加入 80 μL 化合物溶液和 120 μL 无水乙醇, 使总体积为 200 μL , 混匀, 于室温(25 °C)下放置 30 min, 记为溶液 j; 在 96 孔板中加入 120 μL DPPH 溶液和 80 μL 无水乙醇, 使总体积为 200 μL , 混匀, 于室温(25 °C)下放置 30 min, 记为溶液 c; 在酶标仪上 517 nm 测定其吸光度分别为 A_i , A_j , A_c . 根据公式: 抑制率 (%) = $[1 - (A_i - A_j) / A_c] \times 100\%$, 计算待测液对 DPPH 的抑制率. 测试时以槲皮素和维生素 C (Vc) 做对照. 每个化合物每次测定 3 个复孔, 测定 3 次重复实验.

References

- [1] Cioffi, G.; Morales Escobar, L.; Braca, A.; De Tommasi, N. *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 1061.
- [2] Wu, J. Z.; Li, J. L.; Cai, Y. P.; Pan, Y.; Ye, F. Q.; Zhang, Y. L.; Zhao, Y. J.; Yang, S. L.; Li, X. K.; Liang, G. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*: 8110.
- [3] Martens, S.; Mithofer, A. *Phytochemistry* **2005**, *66*, 2399.
- [4] Chen, Z. H.; Zheng, C. J.; Sun, L. P.; Piao, H. R. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 5739.
- [5] Dominguez, J. N.; Leon, C.; Rodrigues, J.; Gamboa de Dominguez, N.; Gut, J.; Rosenthal, P. J. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 3654.
- [6] Guantai, E. M.; Neokazi, K.; Egan, T. J.; Gut, J.; Rosenthal, P. J.; Bhampidipati, R.; Kopinathan, A.; Smith, P. J.; Chibale, K. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 3637.
- [7] Ghosh, A.; Mandal, S.; Banerji, A.; Kar, M.; Banerji, J. *Nat. Prod. Commun.* **2009**, *4*, 209.
- [8] Kozłowski, D.; Trouillas, P.; Calliste, C.; Marsal, P.; Lazzaroni, R.; Duroux, J. L. *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 1138.

- [9] Padhye, S.; Ahmad, A.; Oswal, N.; Sarkar, F. H. *J. Hematol. Oncol.* **2009**, *2*, 38.
- [10] Kumar, R. R.; Perumal, S.; Senthilkumar, P.; Yogeeswari, P.; Sriram, D. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 5731.
- [11] Sogawa, S.; Nihro, Y.; Ueda, H.; Izumi, A.; Miki, T.; Matsumoto, H.; Satoh, T. *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 3904.
- [12] Iwata, S.; Nishino, T.; Nagata, N.; Satomi, Y.; Nishino, H.; Shibata, S. *Biol. Pharm. Bull.* **1995**, *18*, 1710.
- [13] Lopez, S. N.; Castelli, M. V.; Zacchino, S. A.; Dominguez, J. N.; Lobo, G.; Charris-Charris, J.; Cortes, J. C.; Ribas, J. C.; Devia, C.; Rodriguez, A. M.; Enriz, R. D. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 1999.
- [14] Bag, S.; Ramar, S.; Degani, M. S. *Med. Chem. Res.* **2009**, *18*, 309.
- [15] Guantai, E. M.; Ncokazi, K.; Egan, T. J.; Gut, J.; Rosenthal, P. J.; Bhampidipati, R.; Kopinathan, A.; Smith, P. J.; Chibale, K. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 3637.
- [16] Hsieh, H. K.; Lee, T. H.; Wang, J. P.; Wang, J. J.; Lin, C. N. *Pharm. Res.* **1998**, *15*, 39.
- [17] Gul, H. I.; Yerdelen, K. O.; Das, U.; Gul, M.; Pandit, B.; Li, P. K.; Dimmock, J. R. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **2008**, *56*, 1675.
- [18] Acharya, B. N.; Saraswat, D.; Tiwari, M.; Shrivastava, A. K.; Ghorpade, R.; Bapna, S.; Kaushik, M. P. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 430.
- [19] Zhang, X. W.; Zhao, D. H.; Quan, Y. C.; Sun, L. P.; Yin, X. M.; Guan, L. P. *Med. Chem. Res.* **2010**, *19*, 403.
- [20] Viqar, U. A.; Mohammad, G. S.; Mushtaq, N.; Mohammad, F. V. *J. Nat. Prod.* **1992**, *55*, 956.
- [21] Kumar, R. R.; Perumal, S.; Senthilkumar, P.; Yogeeswari, P.; Sriram, D. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 2962.

(Li, L.; Lu, Z.)