四种天然双异戊烯基黄酮的合成及其抑菌活性研究

杨金会* 谢一民 冯尚彪 左武标 陈兵兵
马晓琴 冯 尧

(宁夏大学天然气转化国家重点实验室培育基地 银川 750021)

摘要 Abyssinone-V, 4'-hydroxy-6,3',5'-triprenylisoflavonone, abyssinone-VI 和 abyssinone-IV 都是从刺桐中分离出来的天然双异戊烯基黄酮。利用简单、温和的方法首次完成了这 4 个天然产物的全合成。初步活性测试表明, 4 个化合物都具有一定的抑菌活性, 其中, abyssinone-IV 和 abyssinone-V 对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌都有良好的抑菌效果。所有新化合物的结构都经过 HRMS, ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 确认。

关键词 异戊烯基黄酮; (±)-abyssinone-VI; (±)-abyssinone-IV; (±)-abyssinone-V; 4'-hydroxy-6,3',5'-triprenylisoflavonone; 全合成; 抑菌活性

Total Synthesis and Antibacterial Activities of Four Natural Dual Prenylated Flavonoids

Yang, Jinhui* Xie, Yimin Feng, Shangbiao Zuo, Wubiao Chen, Bingbing
Ma, Xiaoqin Feng, Yao

(State Key Laboratory Cultivation Base of Natural Gas Conversion, Ningxia University, Yinchuan 750021)

Abstract Abyssinone-V, 4'-hydroxy-6,3',5'-triprenylisoflavonone, abyssinone-VI and abyssinone-IV were all isolated from the genus *Erythrina*. This study completed the first total synthesis of four natural prenylated flavanoids by using simple and facile approaches. The result of their *in vitro* antibacterial tests indicated that all of them displayed moderate bacteriostatic activities. The compounds abyssinone-IV and abyssinone-V showed remarkable antibacterial activities. The structures of all new compounds have been confirmed by HRMS, ^1H NMR and ^{13}C NMR spectra.

Keywords prenylated flavanoid; (±)-abyssinone-VI; (±)-abyssinone-IV; (±)-abyssinone-V; 4'-hydroxy-6,3',5'-triprenylisoflavonone; total synthesis; antibacterial activity

天然黄酮化合物广泛存在于植物界, 数量众多, 结构复杂, 并且具有许多重要的生理和药理活性, 如抗菌^[1]、抗诱变^[2]、抗真菌^[3]、抗肿瘤活性^[4~6]等作用。化合物 1~4(图 1)是从刺桐(*Erythrina*)类植物中分离出来的^[7~10]。刺桐家族广泛分布在热带、亚热带地区, 我国的华南及四川地区也有广泛栽培。刺桐类植物中富含黄酮类化合物, 本身也曾是一种民间药用植物。但是, 从自然界中分离出来的黄酮远远满足不了人们的需要, 因此, 人工合成就显得尤为重要。我们研究小组^[11~14]一直开展黄酮化合物的研究, 已完成了一些天然异戊烯基取代的黄酮化合物的合成。在此基础上, 我们课题组完成

了这 4 个天然产物的合成, 并初步测试了目标化合物的抑菌活性。合成路线见 Scheme 1。

1 结果与讨论

1.1 合成

天然异戊烯基黄酮化合物 1~4 的合成路线如 Scheme 1 所示。关键中间体化合物 6 的合成按照我们^[11]已报道方法, 化合物 6 在无水 K_2CO_3 , 丙酮的条件下用 MOMCl ($\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{Cl}$)保护羟基, 以 90%的产率得到化合物 7。2,4,6-三羟基苯乙酮(8)和 2,4-二羟基苯乙酮(13)

* E-mail: yang_jh@nxu.edu.cn

Received May 27, 2013; revised June 13, 2013; published online June 25, 2013.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21162021) and the Program for New Century Excellent Talents in University (No. NCET-09-0860).

国家自然科学基金(No.21162021)、教育部“新世纪优秀人才支持计划”(No. NCET-09-0860)资助项目。

图1 化合物1~4的结构

Figure 1 The structures of compounds 1~4

经选择性羟基保护, 分别以 87% 的收率得到缩合前体 **9**, 以 90% 的收率得到缩合前体 **14**. 2,4,6-三羟基苯乙酮(**8**)的四氢呋喃溶液在无水 K_2CO_3 存在下和异戊烯基溴作用, 以 34.9% 的产率得到单 C-异戊烯基化产物 **10**^[14]. 化合物 **10** 经选择性羟基保护以 89% 的收率得到缩合前体 **11**. 这样, 我们完成了 4 个缩合前体的合成.

化合物 **7** 和化合物 **9**, **11**, **14** 在 KOH, $H_2O-EtOH$ ($V:V=2:3$) 的作用下缩合, 分别得到查尔酮 **15** (78%), **16** (76%) 以及 **19** (75%). 查尔酮 **15** 在乙醇中, 在 NaOAc 作用下的条件下, 以 50% 的收率关环得到化合物 **17**, 黄烷酮 **17** 随后在甲醇(MeOH)中, 在盐酸作用下, 脱去 MOM 保护基得到目标化合物(±)-**1**.

查尔酮 **16** 先脱去保护基, 再环化, 得到目标化合物(±)-**2**. 查尔酮 **19** 直接脱去保护基, 得到目标化合物(±)-**3**, 再环化, 可以得到目标化合物(±)-**4**. 目标化合物(±)-**4** 也可以先由查尔酮 **19** 先环化, 再脱去保护基得到. 合成的目标产物 **1~4** 波谱数据与文献一致^[7~10].

1.2 抑菌活性

采用微量肉汤稀释法对化合物 **1~4** 进行了革兰氏阴性细菌模式菌(大肠杆菌)和革兰氏阳性细菌模式菌(金黄色葡萄球菌)的抑菌活性测试, 结果如表 1 所示. 通过药物的不同浓度梯度(128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0 $\mu g/mL$)对化合物的抑菌效果进行检测. 我们发现, 大肠杆菌和金黄色葡萄球菌在所设定的不同浓度的 2 号和 3 号化合物与在空白溶剂中生长状况相差不大. 而化合物 **1** 和 **4** 却表现出很好的抑菌活性. 其中, 化合物 **4** 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌率达到 70% 时的最低浓度

分别为 32 和 16 $\mu g/mL$. 而化合物 **1** 则对金黄色葡萄球菌表现出很好的抑制活性, 抑制率达 83% 时的最低浓度为 8 $\mu g/mL$. 但在此浓度下它对大肠杆菌的抑制不明显. 提示该化合物可能以干扰细菌细胞壁中肽聚糖合成而达到抑菌效果的, 其具体药理作用有待进一步研究.

表1 化合物1~4的抑菌活性(抑制率/%)^a

Table 1 Antibacterial activities (inhibition rate/%) of compounds 1~4

Compd.	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
1	83	80
2	—	—
3	—	—
4	70	70

^a 抑菌率(%) = (阳性对照 OD 值 - 试验 OD 值) / (阳性对照 OD 值 - 阴性对照 OD 值) × 100.

2 结论

本文以对羟基苯甲醛、2,4-二羟基苯乙酮、2,4,6-三羟基苯乙酮为原料, 经过碳代异戊烯基化、羟基保护、羟醛缩合、环合和脱去保护基团等几步合成了 abyssinone-V, 4'-hydroxy-6,3',5'-triprenylisoflavonone, abyssinone-VI 和 abyssinone-IV 4 个天然黄酮化合物 **1~4**. 采用微量肉汤稀释法对化合物 **1~4** 进行了革兰氏阴性细菌模式菌(大肠杆菌)和革兰氏阳性细菌模式菌(金黄色葡萄球菌)的抑菌活性测试. 初步研究表明, 化合物 **1~4** 对革兰氏阴性细菌模式菌(大肠杆菌)和对革兰氏阳性细菌模式菌(金黄色葡萄球菌)具有良好的抑制活性. 其中, 化合物 **2** 和 **3** 抑菌效果明显, 最低抑制浓度 8 $\mu g/mL$, 有一定的药理应用前景.

Reagents and conditions: (a) isoprenyl bromide, KOH, H₂O; (b) anhydrous K₂CO₃, acetone, MOMCl, reflux; (c) KOH-H₂O-EtOH, N₂; (d) EtOH, NaOAc, reflux; (e) MeOH, HCl, reflux

Scheme 1

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

NMR 用 Bruker AM-400 MHz 型核磁共振仪测定 (CDCl₃ 作溶剂, TMS 为内标); HRMS 用 Q-TOF 质谱仪型号 Bruker maXis UHR-TOF; 昆山市超声仪器有限公司 KQ-250DB 型数控超声波清洗器; 200~300 目及 GF₂₅₄ 硅胶(青岛海洋化工厂生产); 试剂均为分析纯。

3.2 实验方法

4-羟基-3,5-二异戊烯基苯甲醛(6)的合成参照文献[11], 2,4,6-三异戊基-3-异戊烯基苯乙酮(10)的合成参照文献[14], 2-羟基-3-异戊烯基-4,6-二(甲氧甲氧基)苯乙酮(11)的合成参照文献[14]。

3.2.1 4-甲氧甲氧基-3,5-二异戊烯基苯甲醛(7)的合成

将化合物 6 (258.0 mg, 1.0 mmol)溶于 10 mL 干燥丙

酮中, 搅拌下加入无水碳酸钾(304.0 mg, 2.2 mmol), 加热回流 10 min 后, 缓慢滴加 MOMCl (176.0 mg, 2.2 mmol), 继续搅拌 30 min 后, 减压蒸除溶剂, 剩余物加水溶解, 乙酸乙酯萃取(20 mL×3), 合并有机层并依次用水洗, 饱和食盐水洗, 无水硫酸镁干燥, 过滤除去干燥剂, 减压蒸除溶剂, 用 $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{石油醚})=1:10$ 为洗脱剂, 硅胶柱层析得无色油状物 **7** (273.9 mg, 0.9 mmol), 产率 90%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 9.89 (s, 1H, CHO), 7.56 (s, 2H, H-2 and H-6), 5.27~5.31 (m, 2H, H-2' and H-2''), 5.01 (s, 2H, OCH_2O) 3.61 (s, 3H, OCH_3), 3.43 (d, $J=7.2$ Hz, 4H, H-1' and H-1''), 1.76 (s, 12H, H-4', H-4'', H-5' and H-5'');

3.2.2 2-羟基-4, 6-二(甲氧甲氧基)苯乙酮(**9**)的合成

将 2,4,6-三羟基苯乙酮(336.0 mg, 2.0 mmol)溶于 20 mL 干燥的丙酮中, 剧烈搅拌下加入无水碳酸钾(1.4 g, 10.1 mmol), 加热回流 10 min 后, 缓慢滴加氯甲基甲基醚(640.0 mg, 8.0 mmol), 继续搅拌回流 2 h, 冷却至室温, 减压蒸去溶剂, 残余物直接用 $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{石油醚})=1:10$ 为洗脱剂, 硅胶柱层析得淡黄色油状物 **9** (460.8 mg, 1.8 mmol), 产率 87%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 13.71 (s, 1H, OH), 6.23 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, ArH), 6.21 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, ArH), 5.23 (s, 2H, OCH_2O), 5.14 (s, 2H, OCH_2O), 3.49 (s, 3H, OCH_3), 3.44 (s, 3H, OCH_3), 2.63 (s, 3H, COCH_3); HREIMS calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_6$ 256.0947, found 256.0948

3.2.3 2-羟基-4-甲氧甲氧基苯乙酮(**14**)的合成

将 2,4-二羟基苯乙酮(308.0 mg, 2.0 mmol)溶于 20 mL 干燥的丙酮中, 剧烈搅拌下加入无水碳酸钾(690.0 mg, 5.0 mmol), 加热回流 10 min 后, 缓慢滴加氯甲基甲基醚(320.0 mg, 4.0 mmol), 继续搅拌回流 2 h, 冷却至室温, 减压蒸去溶剂, 残余物直接用 $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{石油醚})=1:10$ 为洗脱剂, 硅胶柱层析得淡黄色油状物 **14** (273.0 mg, 1.4 mmol), 产率 90%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 12.59 (s, 1H, OH), 7.63 (d, $J=9.2$ Hz, 1H, ArH), 6.57 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, ArH), 6.53 (dd, $J=8.8, 2.4$ Hz, 1H, ArH), 5.19 (s, 2H, OCH_2O), 3.46 (s, 3H, OCH_3), 2.55 (s, 3H, COCH_3); HREIMS calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_4$ 196.0736, found 196.0739

3.2.7 2-羟基-4,6,4'-三(甲氧甲氧基)-3',5'-二异戊烯基查尔酮(**15**)的合成

将化合物 **9** (307.2 mg, 1.2 mmol)和化合物 **7** (302.0 mg, 1.0 mmol)溶解到 2 mL 乙醇中, 冷却至 0 °C, 缓慢滴加 KOH (2.8 g, 50.0 mmol)的醇-水溶液 7.5 mL ($V:V=3:2$), 氮气保护下 0 °C 反应 1 h 后, 自然恢复室温继续反应 24 h, 将反应物倒入冰水中, 用 3 mol/L 的盐酸调

节 $\text{pH}<2$, 用 15 mL 乙酸乙酯萃取三次, 合并有机相并依次水洗, 饱和食盐水洗, 无水硫酸镁干燥, 过滤除去干燥剂, 减压蒸除溶剂, 剩余物用 $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{石油醚})=1:6$ 为洗脱剂, 硅胶柱层析得黄色固体 **15** (486.0 mg, 0.9 mmol), 产率 78%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 13.92 (s, 1H, OH), 7.84 (d, $J=15.6$ Hz, 1H, H-6'), 7.75 (d, $J=15.6$ Hz, 1H, H- β), 7.44 (d, $J=15.6$ Hz, 1H, H- α), 7.29 (s, 2H, H-2 and 6), 6.31 (d, $J=2.0$ Hz, 1H, H-3'), 6.25 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, H-5'), 5.32~5.29 (m, 2H, H-2' and H-2''), 5.29 (s, 2H, OCH_2O), 5.18 (s, 2H, OCH_2O) 4.99 (s, 2H, OCH_2O), 3.62 (s, 3H, OCH_3), 3.53 (s, 3H, OCH_3), 3.47 (s, 3H, OCH_3), 3.41 (d, $J=7.2$ Hz, 4H, H-1' and H-1''); 1.79 (s, 12H, H-4'', H-4''', H-5'' and H-5'''); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 192.7, 167.2, 163.2, 159.7, 155.9, 142.7, 135.3, 133.1, 131.4, 127.8, 126.1, 122.2, 107.3, 99.8, 97.3, 94.8, 94.5, 93.9, 93.8, 57.4, 56.6, 56.3, 32.9, 28.5, 25.7, 17.8; HREIMS calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{40}\text{O}_8$ 541.27959, found 541.27972

3.2.5 5,7,4'-三(甲氧甲氧基)-3',5'-二异戊烯基黄烷酮(**17**)的合成

将化合物 **15** (216.0 mg, 0.4 mmol)溶解到 7 mL 无水乙醇中, 加入一滴水和无水醋酸钠(656.0 mg, 8.0 mmol), 加热回流 24 h 后, 冷却至室温, 加入少量水, 用 20 mL 乙酸乙酯萃取 3 次, 合并有机层并依次用水洗, 饱和食盐水洗, 无水硫酸镁干燥, 过滤除去干燥剂, 减压蒸除溶剂, 剩余物用 $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{石油醚})=1:10$ 为洗脱剂, 硅胶柱层析得淡黄色液体 **17** (124.0 mg, 0.2 mmol), 产率 50%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 7.12 (s, 2H, H-2' and 6'), 6.42 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, ArH), 6.39 (d, $J=2.0$ Hz, 1H, ArH), 5.32~5.29 (m, 2H, H-2'' and 2'''), 5.25 (s, 2H, OCH_2O), 5.14 (s, 2H, OCH_2O), 4.95 (s, 2H, OCH_2O), 3.60 (s, 3H, OCH_3), 3.52 (s, 3H, OCH_3), 3.46 (s, 3H, OCH_3), 3.41 (d, $J=7.2$ Hz, 4H, H-1'' and H-1'''), 3.05 (dd, $J=13.6, 16.8$ Hz, 1H, H-3ax), 2.81 (dd, $J=2.8, 16.4$ Hz, 1H, H-3eq), 1.74 (s, 6H, H-4'' and H-5''), 1.71 (s, 6H, H-4''' and H-5'''); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 189.3, 164.5, 163.0, 159.3, 154.0, 135.2, 134.3, 132.8, 125.5, 122.4, 107.1, 99.7, 97.8, 97.2, 94.8, 93.9, 57.3, 56.4, 56.3, 45.5, 28.7, 25.6, 17.8; HREIMS calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{40}\text{O}_8$ 541.27959, found 541.27972.

3.2.9 (±)-Abyssinone-V (**1**)的合成

将化合物 **17** (61.2 mg, 0.15 mmol)溶解到 2 mL 甲醇中, 搅拌下加入 3 mol/L 盐酸 1 mL, 加热回流 30 min, 向溶液中加入 1 mL 水, 用 20 mL 乙酸乙酯萃取 3 次, 合并有机层并依次水洗, 饱和食盐水洗, 无水硫酸镁干燥,

过滤除去干燥剂, 减压蒸除溶剂, 剩余物用 $V(\text{乙酸乙酯}) : V(\text{石油醚}) = 1 : 10$ 为洗脱剂, 硅胶柱层析得黄色粘稠液体 **1** (40.0 mg, 0.1 mmol) 产率 83%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 12.07 (s, 1H, OH), 7.05 (s, 2H, H-2' and H-6'), 5.99 (d, $J=2.0$ Hz, 1H, ArH), 5.98 (d, $J=2.0$ Hz, 1H, ArH), 5.33 (dd, $J=2.8, 13.2$ Hz, 1H, H-2), 5.27~5.30 (m, 2H, H-2" and H-2'''), 3.37 (d, $J=7.2$ Hz, 4H, H-1" and H-1'''), 3.12 (dd, $J=13.2, 17.2$ Hz, 1H, H-3ax), 2.77 (dd, $J=2.8, 17.2$ Hz, 1H, H-3eq), 1.77 (s, 12H, H-4" and H-4''', H-5" and H-5'''); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 196.5, 164.8, 164.2, 163.3, 134.8, 129.5, 127.5, 126.0, 121.4, 103.0, 96.5, 95.5, 43.0, 29.6, 25.8, 17.8; HREIMS calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{O}_5$ 409.20095, found 409.20154

3.2.10 2-羟基-4,6,4'-三(甲氧甲氧基)-5,3',5'-三异戊烯基查尔酮(**16**)的合成

将化合物 **11** (296.7 mg, 0.91 mmol) 和化合物 **7** (274.8 mg, 0.91 mmol) 溶解到 2 mL 乙醇中, 冷却至 0 °C, 缓慢滴加 KOH (2.54 g, 50 mmol) 的醇-水溶液 6.7 mL ($V : V = 3 : 2$), 氮气保护下 0 °C 反应 1 h 后, 自然恢复室温继续反应 24 h, 将反应物倒入冰水中, 用 3 mol/L 的盐酸调节 pH < 2, 用乙酸乙酯 (25 mL $\times$ 3) 萃取, 合并有机相并依次水洗, 饱和食盐水洗, 无水硫酸镁干燥, 过滤除去干燥剂, 减压蒸除溶剂, 剩余物用 $V(\text{乙酸乙酯}) : V(\text{石油醚}) = 1 : 6$ 为洗脱剂, 硅胶柱层析得黄色液体 **16** (439.6 mg, 0.7 mmol), 产率 76%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 1.69 (s, 3H, CH_3), 1.73 (s, 6H, CH_3), 1.77 (s, 6H, CH_3), 1.79 (s, 3H, CH_3), 3.39 (d, $J=7.2$ Hz, 2H, H-1'''), 3.46 (d, $J=7.6$ Hz, 4H, H-1' and H-1''), 3.50 (s, 3H, OCH_3), 3.52 (s, 3H, OCH_3), 3.62 (s, 3H, OCH_3), 4.99 (s, 2H, OCH_2), 5.20 (m, 1H, H-2'), 5.28 (s, 2H, OCH_2), 5.30 (s, 2H, OCH_2), 5.32 (s, m, 2H, H-2''' and H-2''), 6.41 (s, 1H, H-6 or H-8), 7.28 (s, 2H, H-2 and H-6), 7.74 (d, $J=15.6$ Hz, 1H, H- α), 7.82 (d, $J=16.0$ Hz, 1H, H- β), 13.85 (s, 1H, OH); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 17.7, 17.8, 21.6, 25.7, 28.6, 56.2, 56.6, 57.5, 92.0, 93.8, 95.1, 99.8, 107.6, 111.8, 122.2, 122.4, 123.5, 126.5, 129.2, 131.4, 133.2, 135.3, 142.3, 155.8, 158.0, 160.5, 163.6, 193.2. HREIMS calcd for $\text{C}_{36}\text{H}_{49}\text{O}_8$ 609.3451, found 609.3427

3.2.11 2,4,6,4'-四(羟基)-5,3',5'-三异戊烯基查尔酮(**18**)的合成

将化合物 **16** (150.7 mg, 0.24 mmol) 溶解到 2 mL 甲醇中, 搅拌下加入 3 mol/L 盐酸 1 mL, 加热回流 10 min, 向溶液中加入 1 mL 水, 用 20 mL 乙酸乙酯萃取 3 次, 合并有机层并依次水洗, 饱和食盐水洗, 无水硫酸镁干燥, 过滤除去干燥剂, 减压蒸除溶剂, 剩余物用 $V(\text{乙酸乙酯}) : V(\text{石油醚}) = 1 : 10$ 为洗脱剂, 硅胶柱层析得黄色固体 **18** (124.0 mg, 0.25 mmol), 产率 80%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 1.77 (s, 6H, CH_3 -4'''), 1.82 (s, 12H, CH_3 -4''), 3.35 (d, $J=7.2$ Hz, 2H, H-1'''), 3.39 (d, $J=6.8$ Hz, 4H, H-1" and H-1'), 5.28 (t, 1H, H-2'''), 5.32 (m, 3H, H-2', H-2''), 5.73 (s, 1H, H-8), 7.28 (s, 2H, H-2 and H-6), 7.77 (d, $J=15.6$ Hz, 1H, H- α), 7.81 (d, $J=15.6$ Hz, 1H, H- β); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 18.1, 21.7, 25.9, 29.6, 95.7, 105.6, 105.8, 121.5, 124.1, 127.6, 128.8, 135.1, 136.3, 144.1, 155.3, 161.0, 162.5, 192.9. HREIMS calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{O}_5$ 475.2484, found 475.2475.

酯): $V(\text{石油醚}) = 1 : 10$ 为洗脱剂, 硅胶柱层析得黄色固体 **18** (124.0 mg, 0.25 mmol), 产率 80%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 1.77 (s, 6H, CH_3 -4'''), 1.82 (s, 12H, CH_3 -4''), 3.35 (d, $J=7.2$ Hz, 2H, H-1'''), 3.39 (d, $J=6.8$ Hz, 4H, H-1" and H-1'), 5.28 (t, 1H, H-2'''), 5.32 (m, 3H, H-2', H-2''), 5.73 (s, 1H, H-8), 7.28 (s, 2H, H-2 and H-6), 7.77 (d, $J=15.6$ Hz, 1H, H- α), 7.81 (d, $J=15.6$ Hz, 1H, H- β); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 18.1, 21.7, 25.9, 29.6, 95.7, 105.6, 105.8, 121.5, 124.1, 127.6, 128.8, 135.1, 136.3, 144.1, 155.3, 161.0, 162.5, 192.9. HREIMS calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{O}_5$ 475.2484, found 475.2475.

3.2.12 5,7,4'-三(羟基)-6,3',5'-三异戊烯基黄烷酮(**2**)的合成

将化合物 **18** (99.2 mg, 0.2 mmol) 溶解到 7 mL 无水乙醇中, 加入一滴水和无水醋酸钠 (164.0 mg, 2.0 mmol), 加热回流 24 h 后, 冷却至室温, 加入少量水, 用 20 mL 乙酸乙酯萃取 3 次, 合并有机层并依次用水洗, 饱和食盐水洗, 无水硫酸镁干燥, 过滤除去干燥剂, 减压蒸除溶剂, 剩余物用 $V(\text{乙酸乙酯}) : V(\text{石油醚}) = 1 : 10$ 为洗脱剂, 硅胶柱层析得淡黄色粘稠液体 **2** (78.9 mg, 0.16 mmol), 产率 60%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 1.74 (s, 6H, CH_3 -4'''), 1.80 (s, 12H, CH_3 -4''), 2.80 (dd, $J=14.5, 2.5$ Hz, 1H, H-3), 3.06 (dd, $J=14.5, 2.5$ Hz, 1H, H-3), 3.30 (d, $J=6$ Hz, 2H, H-1'''), 3.38 (d, $J=6.5$ Hz, 4H, H-1" and H-1'), 5.20 (t, $J=6.5$ Hz, 1H, H-2'''), 5.32 (m, 3H, H-2', H-2''), 5.50 (s, 1H, OH-4), 6.02 (s, 1H, H-8), 6.05 (br s, 1H, OH-7), 7.05 (s, 2H, H-2' and H-6'), 12.02 (s, 1H, OH-5); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 17.9, 21.8, 25.8, 29.7, 43.2, 79.1, 96.7, 103.2, 106.0, 121.5, 125.7, 127.4, 130.2, 134.8, 135.0, 153.1, 159.9, 162.3, 163.6, 196.4. HREIMS calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{O}_5$ 475.2484, found 475.2481.

3.2.13 2-羟基-4,4'-二(甲氧甲氧基)-3',5'-二异戊烯基查尔酮(**19**)的合成

将化合物 **7** (362.4 mg, 1.2 mmol) 和化合物 **14** (195.0 mg, 1.0 mmol) 溶解到 2 mL 乙醇中, 冷却至 0 °C, 缓慢滴加 KOH (2.8 g, 50.0 mmol) 的醇-水溶液 6.7 mL ($V : V = 3 : 2$), 氮气保护下 0 °C 反应 1 h 后, 自然恢复室温继续反应 24 h, 将反应物倒入冰水中, 用 3 mol/L 的盐酸调节 pH < 2, 用 15 mL 乙酸乙酯萃取 3 次, 合并有机相并依次水洗, 饱和食盐水洗, 无水硫酸镁干燥, 过滤除去干燥剂, 减压蒸除溶剂, 剩余物用 $V(\text{乙酸乙酯}) : V(\text{石油醚}) = 1 : 8$ 为洗脱剂, 硅胶柱层析得黄色液体 **19** (351.0 mg, 0.7 mmol), 产率 75%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 13.35 (s, 1H, OH), 7.85 (d, $J=8.8$ Hz, 1H, H-6'), 7.83 (d, $J=15.6$ Hz, 1H, H- β), 7.46 (d, $J=15.6$ Hz, 1H,

H- α), 7.32 (s, 2H, H-2 and H-6), 6.64 (d, $J=2.8$ Hz, 1H, H-3'), 6.61 (dd, $J=8.8, 2.4$ Hz, 1H, H-5'), 5.32~5.28 (m, 2H, H-2' and H-2''), 5.28 (s, 2H, OCH₂O), 4.99 (s, 2H, OCH₂O), 3.62 (s, 3H, OCH₃), 3.49 (s, 3H, OCH₃), 3.40 (d, $J=6.8$ Hz, 4H, H-1'' and H-1'''), 1.78 (s, 6H, H-4'' and H-5''), 1.74 (s, 6H, H-4''' and H-5'''); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ : 192.1, 166.1, 163.4, 156.3, 144.7, 135.6, 133.3, 131.2, 130.8, 128.2, 122.2, 119.0, 114.9, 108.0, 103.9, 99.8, 93.9, 60.3, 57.5, 56.3, 28.7, 25.7, 17.9; HREIMS calcd for C₂₉H₃₆O₆ 481.25846, found 481.25870.

3.2.14 (±)-Abyssinone-VI (3)的合成

将化合物 19 (99.4 mg, 0.2 mmol)溶解到 2 mL 甲醇中, 搅拌下加入 3 mol/L 盐酸 1 mL, 加热回流 10 min, 向溶液中加入 1 mL 水, 用 20 mL 乙酸乙酯萃取 3 次, 合并有机层并依次水洗, 饱和食盐水洗, 无水硫酸镁干燥, 过滤除去干燥剂, 减压蒸除溶剂, 剩余物用 $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{石油醚})=1:10$ 为洗脱剂, 硅胶柱层析得黄色液体 3 (66.4 mg, 0.2 mmol), 产率 78%. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 13.59 (s, 1H, OH), 7.85 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, H-6'), 7.79 (d, $J=15.2$ Hz, 1H, H- β), 7.43 (d, $J=15.2$ Hz, 1H, H- α), 7.29 (s, 2H, H-2 and H-6), 6.46 (dd, $J=2.4, 11.2$ Hz, 1H, H-5'), 6.43 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, H-3'), 5.28~5.32 (m, 2H, H-2'' and H-2'''), 3.39 (d, $J=6.8$ Hz, 4H, H-1'' and H-1'''), 1.82 (s, 12H, H-4'', H-4''', H-5'' and H-5'''); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ : 192.0, 166.2, 162.6, 155.6, 145.3, 135.2, 131.9, 128.8, 127.7, 126.9, 121.3, 117.4, 107.6, 103.6, 29.6, 27.0, 25.8, 17.9; HREIMS calcd for C₂₅H₂₈O₅ 393.20604, found 393.20660.

3.2.15 (±)-Abyssinone-IV (4)的合成

将化合物 3 (55.6 mg, 0.1 mmol)溶解到 7 mL 无水乙醇中, 加入一滴水和无水醋酸钠(82.0 mg, 1.0 mmol), 加热回流 24 h 后, 冷却至室温, 加入少量水, 用 20 mL 乙酸乙酯萃取 3 次, 合并有机层并依次用水洗, 饱和食盐水洗, 无水硫酸镁干燥, 过滤除去干燥剂, 减压蒸除溶剂, 剩余物用 $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{石油醚})=1:10$ 为洗脱剂, 硅胶柱层析得淡黄色粘稠液体 4 (48.9 mg, 0.1 mmol), 产率 68%. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 12.69 (s, 1H, OH), 7.86 (d, $J=8.8$ Hz, 1H, H-5), 7.07 (s, 2H, H-2' and H-6'), 6.55 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, ArH), 6.53 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, ArH), 5.35 (dd, $J=2.8, 13.6$ Hz, 1H, H-2), 5.32~5.29 (m, 2H, H-2'' and H-2'''), 3.37 (d, $J=7.2$ Hz, 4H, H-1'' and H-1'''), 3.12 (dd, $J=13.6, 16.4$ Hz, 1H, H-3ax), 2.79 (dd, $J=2.8, 16.4$ Hz, 1H, H-3eq), 1.81 (s, 12H, H-4'', H-4''', H-5'' and H-5'''); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ : 191.8, 165.0, 163.8, 163.0, 153.3, 134.8, 133.3,

130.0, 129.3, 127.5, 126.1, 121.5, 115.9, 114.8, 112.5, 110.5, 103.4, 80.0, 44.0, 29.7, 26.2, 25.8, 17.8; HREIMS calcd for C₂₅H₂₈O₄ 393.20604, found 393.20639.

3.3 抑菌活性测定

3.3.1 实验材料

抗菌药物贮存液制备: 抗菌药物贮存液浓度 1280 $\mu\text{g/mL}$.

LB 液体培养基: 胰化蛋白胨 10 g, 酵母提取物 5 g, NaCl 10 g, 水溶解后, 用 5 mol/L 的 NaOH 调 pH 至 7.5, 加蒸馏水定容到 1 L, 在 103 kPa (1.05 kg/cm²) 高压灭菌 20 min.

测试菌种: 大肠杆菌标准株(抗生素测定用); 金黄色葡萄球菌标准株(抗生素测定用).

3.3.2 实验方法

MIC 板制备: 无菌操作, 将倍比稀释后不同浓度的抗菌药物溶液分别加到灭菌的 100 孔细菌生长曲线测定板中, 第 1 至第 9 孔加药液, 每孔 10 μL , 第 10 孔加药品溶剂作为生长对照, 冰冻干燥后密封, -20 $^{\circ}\text{C}$ 以下保存备用. 每样设定 2 个平行样; 采取氨苄青霉素作为阳性对照;

接种物制备: 大肠杆菌及金黄色葡萄球菌均取单菌落接种于 20 mL LB 培养基中, 培养 18~24 h, 调制成 0.5 麦氏比浊标准的菌悬液.

结果判断: 以在小孔内完全抑制细菌生长的最低药物浓度为 MIC. 当阳性对照孔(即不含抗生素)内细菌明显生长试验才有意义.

References

- [1] Rahman, M. M.; Gray, A. I.; Khondkar, P.; Sarker, S. D. *Pharm. Biol.* **2008**, *46*, 356.
- [2] Nakahara, K.; Roy, M. K.; Ono, H.; Maeda, I.; Ohnishi-Kameyama, M.; Yoshida, M.; Trakoontivakorn, G. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 6456.
- [3] Sohn, H. Y.; Son, K. H.; Kwon, C. S.; Kwon, G. S.; Kang, S. S. *Phytomedicine* **2004**, *11*, 666.
- [4] Hirpara, K. V.; Aggarwal, A. J.; Mukherjee, N.; Joshi, Burman, A. *C. Curr. Med. Chem.* **2009**, *9*, 138.
- [5] Yoon, H.; Kim, T. W.; Shin, S. Y.; Park, M. J.; Yong, Y.; Kim, D. W.; Islam, T.; Lee, Y. H.; Jung, K. Y.; Lim, Y. *Biol. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 232.
- [6] Cao, W. G.; Liu, Z. Q.; Shao, Y.; Tao, Y. Z. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.* **2003**, *23*, 2241 (in Chinese). (曹伟国, 刘志勤, 邵云, 陶燕铎, 黄酮类化合物药理作用的研究进展, **2003**, *23*, 2241.)
- [7] Moriyasu, M.; Ichimaru, M.; Nishiyama, Y.; Kato, A.; Mathenge, S. G.; Juma, F. D.; Nganga, J. N. *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 185.
- [8] Yenesew, A.; Midiwo, J. O.; Miessner, M.; Heydenreich, M.; Peter, M. G. *Phytochemistry* **1998**, *48*, 1439.
- [9] Na, M.; Jang, J.; Njamen, D.; Tanyi Mbafor, J.; Tanee Fomum, Z.; Kim, B. Y.; Oh, W. K.; Ahn, J. S. *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 1572.
- [10] Promsattha, R.; Tempesta, M. S.; Fomum, Z. T.; Mbafor, J. T. *J.*

- Nat. Prod.* **1988**, *51*, 611.
- [11] Zuo, W. B.; Yang, J. H.; Li, H. J.; Guo, D. D.; Luo, J. S.; Huang, W. Q. *Chin. J. Org. Chem.* **2012**, *32*, 2276 (in Chinese).
(左武标, 杨金会, 李红俊, 郭冬冬, 落俊山, 黄文倩, 有机化学, **2012**, *32*, 2276.)
- [12] Yang, J. H.; Li, H. J.; Zhang, Y. H.; Jiang, S. Z.; Li, Y. F.; Xue, P.; Ma, Y. L.; Liu, W. Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2011**, *31*, 1230 (in Chinese).
(杨金会, 李红俊, 张玉恒, 江世智, 李云峰, 薛屏, 马玉龙, 刘万毅, 有机化学, **2011**, *31*, 1230.)
- [13] Yang, J. H.; Luo, J. S.; Guo, D. D.; Huang, W. Q. *Chin. J. Org. Chem.* **2012**, *32*, 1749 (in Chinese).
(杨金会, 落俊山, 郭冬冬, 黄文倩, 有机化学, **2012**, *32*, 1749.)
- [14] Zhang, Y. H.; Yang, J. H.; Li, H. J.; Jiang, S. Z.; Li, Y. F.; Liu, W. Y. *Chin. J. Chem.* **2011**, *29*, 521.

(Li, L.; Lu, Z.)