新型 2,5-二取代-1,3,4-噻二唑衍生物的合成与生物活性

李英俊^{*,a} 于洋^a 靳焜^b 高立信^c
罗潼川^a 盛丽^c 邵昕^a 李佳^{*,c}

(^a 辽宁师范大学化学化工学院 大连 116029)

(^b 大连理工大学精细化工国家重点实验室 大连 116012)

(^c 中国科学院上海药物研究所国家新药筛选中心 药物研究国家重点实验室 上海 201203)

摘要 将自行合成的重要中间体 2-氨基-5-取代-1,3,4-噻二唑(2)和 2-氯硒基苯甲酰氯(6)反应, 合成出了 16 个新颖的含苯并异噻唑酮结构的 2,5-二取代-1,3,4-噻二唑衍生物 7a~7p, 利用 IR, ¹H NMR 和元素分析对目标产物进行了结构表征。评价了目标化合物的生物活性。实验结果表明, 部分化合物具有抑制细胞分裂周期 25 B 磷酸酯酶(Cdc25B)的活性(IC₅₀=1.67~6.66 μmol·L⁻¹)。所有化合物对蛋白酪氨酸磷酸酯酶 1B (PTP1B)均有抑制活性(IC₅₀=0.73~4.50 μmol·L⁻¹), 并且部分化合物的抑制活性高于阳性对照药物齐墩果酸(IC₅₀=1.90 μmol·L⁻¹)。化合物 7k 对人结肠癌(HCT-8)细胞具有体外抗肿瘤活性(IC₅₀=12.54 μmol·L⁻¹)。部分化合物对羟自由基(HO·)和超氧阴离子(O₂⁻)具有中等的清除能力, 但对 DPPH·均无清除能力。

关键词 2,5-二取代-1,3,4-噻二唑; 苯并异噻唑酮; 合成; 生物活性

Synthesis and Biological Activities of Novel 2,5-Disubstituted-1,3,4-thiadiazole Derivatives

Li, Yingjun^{*,a} Yu, Yang^a Jin, Kun^b Gao, Lixin^c
Luo, Tongchuan^a Sheng, Li^c Shao, Xin^a Li, Jia^{*,c}

(^a College of Chemistry and Chemical Engineering, Liaoning Normal University, Dalian 116029)

(^b State Key Laboratory of Fine Chemicals, Dalian University of Technology, Dalian 116012)

(^c National Center for Drug Screening, State Key Laboratory of Drug Research, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203)

Abstract Sixteen novel 2,5-disubstituted-1,3,4-thiadiazole derivatives containing benzoselenazolone moiety 7a~7p were synthesized by the reaction of 2-amino-5-substituted-1,3,4-thiadiazoles (2) with *ortho*-(chloroseleno)benzoyl chloride (6). The structures were characterized by IR, ¹H NMR spectra and elemental analysis. Their biological activities were evaluated. The experimental results indicate that some compounds exhibit inhibitory activity against cell division cycle 25B phosphatase (Cdc25B) (IC₅₀=1.67~6.66 μmol·L⁻¹). All the target compounds showed good inhibitory activity against protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) (IC₅₀=0.73~4.50 μmol·L⁻¹), and some compounds exhibited higher inhibitory activity than positive control oleanolic acid (IC₅₀=1.90 μmol·L⁻¹). Compound 7k displayed antitumor activity *in vitro* for human colon cancer (HCT-8) cell (IC₅₀=12.54 μmol·L⁻¹). Some compounds showed the medium scavenging ability for hydroxyl radical (HO·) and superoxide anion (O₂⁻), but no scavenging ability for DPPH·.

Keywords 2,5-disubstituted-1,3,4-thiadiazole; benzoselenazolone; synthesis; bioactivity

1,3,4-噻二唑是一类重要杂环化合物, 具有多种生物活性, 例如抗病毒、抗细菌、抗真菌、抗炎、抗高血压、抗结核、抗利什曼虫、抗抑郁和抗癌活性^[1]。大量

的研究表明, 2,5-二取代-1,3,4-噻二唑类化合物具有抗癌^[2]、抗糖尿病^[3]、抗炎^[4,5]、抑制阿尔茨海默疾病^[6]等活性。1,3,4-噻二唑衍生物的“N—C—S”结构能作为活

* E-mail: chemlab.lnnu@163.com

Received May 12, 2014; revised August 1, 2014; published online September 25, 2014.

Project supported by the Natural Science Foundation of Liaoning Province (No. 20102126).

辽宁省自然科学基金(No. 20102126)资助项目。

性中心螯合生物体内的某些金属离子,具有良好的组织细胞通透性。此外,对于噻二唑核,引进不同的杂环骨架会影响其生物活性,并可明显增加其药性,这已引起了人们广泛的关注^[7]。

硒是维持人体正常生理功能所必需的一种微量元素。苯并异噻唑酮(BISA)能够模拟谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px),其衍生物依布硒[2-苯基-1,2-苯并异噻唑-3-(2*H*)-酮](图1)是众所周知的谷胱甘肽过氧化物酶模拟物,它具有抗肿瘤、抗氧化^[8]、抗病毒^[9]、抗炎^[10]等多种生物活性,其毒性较低^[10],是一个非常重要的化合物。依布硒的生物活性和低毒性与其环状硒酰胺结构有关,硒是生物活性的中心元素^[7]。这一结论对于通过结构变化寻找更好性能的硒类化合物的药物具有重要的指导意义。由于依布硒的溶解性较差^[11],细胞内的吸收较低^[12],所以为了提高其溶解度和活性、细胞内的吸收和疗效,近年来许多苯并异噻唑酮衍生物被相继合成出来,并且研究表明,它们具有抗癌^[7]、抗氧化^[13]、抗菌、抗病毒^[9,14]、抑制阿尔茨海默氏病^[15,16]等活性。

图1 依布硒的结构

Figure 1 Structure of ebselen

改进溶解性的常规方法是引入额外的杂原子,或增加旋转键的数目^[17]。基于上述事实,并为了继续我们的研究工作^[18,19],即合成并筛选出较强生物活性的小分子杂环化合物,本课题组根据生物等排原理,设计以依布硒作为先导化合物,将苯并异噻唑酮和芳氧甲基/二芳基醚结构导入到1,3,4-噻二唑核上,在分子中增加活性基团、杂原子和旋转键的数目,期待目标化合物具有良好的溶解性和生物活性。利用2-氯硒基苯甲酰氯与2-氨基-5-取代-1,3,4-噻二唑缩合,合成出了一系列新颖的含苯并异噻唑酮结构的2,5-二取代-1,3,4-噻二唑衍生物,并对目标化合物进行了生物活性研究。目标化合物的合成路线见Scheme 1。

1 结果与讨论

1.1 目标化合物7的合成

用三乙胺作缚酸剂, EtOAc 为溶剂, 中间体2-氨基-5-取代-1,3,4-噻二唑(2)与2-氯硒基苯甲酰氯(6)在室温下反应8 h, 经水、乙酸乙酯淋洗, 无需重结晶即得到纯的、较高产率的目标产物7a~7n (43.8%~76.2%)。因中间体2o和2p共轭体系较大, 并且苯环上含有强吸电子基团NO₂, 所以与2-氯硒基苯甲酰氯(6)进行亲核反应时速率较慢, 从而导致目标化合物7o和7p的产率较低(27.7%~34.9%)。

图式1 目标化合物7的合成

Scheme 1 Synthetic route of the target compounds 7

1.2 目标化合物 7 的结构确定

由 IR 谱中在 $3252\sim 3339\text{ cm}^{-1}$ 之间 $\nu_{\text{N-H}}$ 峰的消失以及 $1615\sim 1684\text{ cm}^{-1}$ 之间 $\nu_{\text{C=O}}$ 峰的出现, 初步可确定目标化合物 7 的结构。

在目标化合物 7 的 ^1H NMR 谱中, 在 $\delta\ 8.11\sim 8.29$ 处出现一个双峰, 偶合常数 $J=7.6\sim 8.4\text{ Hz}$, 说明有一个邻位芳氢与之偶合, 根据化学位移数据, 可归属为羰基邻位的芳氢(BISA- H_4)吸收峰; 同样, 在 $\delta\ 7.98\sim 8.02$ 处出现一个双峰, 偶合常数 $J=6.8\sim 8.0\text{ Hz}$, 归属为与噻相邻的芳氢(BISA- H_7)吸收峰; 在 $\delta\ 7.74\sim 7.79$ 处出现一个三重峰, 偶合常数 $J=7.0\sim 8.0\text{ Hz}$, 说明邻位有两个芳氢与之偶合, 归属为与噻处于间位的芳氢(BISA- H_6)吸收峰; 同样, 在 $\delta\ 7.51\sim 7.54$ 处出现一个三重峰, 偶合常数 $J=7.0\sim 7.8\text{ Hz}$, 说明邻位有两个芳氢与之偶合, 归属为羰基间位的芳氢(BISA- H_5)吸收峰; 在 $\delta\ 6.82\sim 7.64$ 处出现的峰为芳环上的质子吸收峰; 在 $\delta\ 5.49\sim 5.68$ 处出现的单峰为与噻二唑环相连的 CH_2 质子吸收峰; 在 $\delta\ 3.70\sim 3.80$ 处出现的单峰为 OCH_3 质子吸收峰; 在 $\delta\ 2.18\sim 2.34$ 处出现的单峰为与芳环相连的 CH_3 质子吸收峰。

由于 IR 中未观察到氨基特征吸收峰, 说明中间体 2 中的氨基已与中间体 6 反应形成了环内酰胺结构, 实现了 1,3,4-噻二唑结构与苯并异噻唑酮结构的有效拼接。 ^1H NMR 谱数据中体现了与 1,3,4-噻二唑环相连的苯并异噻唑酮以及芳环质子吸收峰的特征。由 IR 和 ^1H NMR 谱数据可知, 目标化合物的结构参数与其化学结构一致。

1.3 目标化合物 7 的生物活性研究

根据文献报道可知, 2,5-二取代-1,3,4-噻二唑类化合物和苯并异噻唑酮类化合物具有抗癌、抗糖尿病、抗氧化、抗菌、抗病毒、抗炎等活性。我们对所合成的目标产物 7a~7p 进行了细胞分裂周期 25 B (Cdc25B)磷酸酯酶和蛋白酪氨酸磷酸酶 1B (PTP1B)抑制活性(此部分工作由上海国家新药筛选中心协助完成)、体外抗肿瘤活性以及抗氧化活性[清除羟自由基($\text{HO}\cdot$)、超氧阴离子($\text{O}_2^{\cdot-}$)、二苯代苦味肼基自由基($\text{DPPH}\cdot$)]的筛选实验(此部分工作由北京国家药物筛选中心协助完成)。

1.3.1 Cdc25B 和 PTP1B 抑制活性筛选实验

PTP1B 是 2 型糖尿病治疗的有效靶点^[18,20]。在 PTPs 的家族中, Cdc25s 是细胞分裂周期的关键调节剂^[19]。在哺乳类动物, 已经确定有三个 Cdc25 亚型, 分别为 Cdc25A, Cdc25B 和 Cdc25C^[21]。Cdc25A 和 Cdc25B 在许多人类癌症(如乳腺癌、结肠癌、子宫颈癌、肺癌等)中都是过度表达的, 因此, Cdc25A/Cdc25B 已成为治疗癌症的重要药物靶标^[19,22]。所以, 寻找具有较高活性的

Cdc25B 和 PTP1B 抑制剂是十分有意义的。我们对所合成的目标产物 7a~7p 进行了药代动力学参数——脂水分配系数($\log P$)和水溶性的计算, 以及 Cdc25B/PTP1B 抑制活性的筛选, $\log P$ 和水溶性的计算结果以及对 Cdc25B/PTP1B 抑制活性的实验结果见表 1。

由于生物膜的脂质性质, 要求药物分子要有一定的亲脂性, 以保障穿越细胞膜; 但又应具有足够的亲水性, 以确保药物分子在水相中的分配。所以, 理想的药物应有亲水性和亲脂性的良好匹配^[23]。药物的油水分配系数($\log P$)是预测细胞吸收药物分子能力的重要参数, 药物在体内的溶解、吸收、分布、转运等均与油水分配系数有关。我们利用 Molinspiration Property Calculator (MIPC)程序软件计算出了目标化合物的 $\log P$ 值, 利用 EPI Suite 软件计算出了目标化合物在 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 时水中溶解性。由表 1 可知, 除了化合物 7o 和 7p 外, 目标化合物 7a~7n 的 $\log P<5$ (在 $3.052\sim 4.723$ 之间)大于依布硒 $\log P$ (2.916), 说明目标化合物有良好的亲脂性。尽管目标化合物的杂原子数目以及可旋转键数目多于依布硒, 但其水溶性 $[(0.06\sim 37.72)\text{ mg/L}]$ 却低于依布硒(429.4 mg/L)。如果所计算的水溶性 $<0.0001\text{ mg/L}$, 则药物的吸收就会较低^[24]。因此, 尽管目标化合物的水溶性不及依布硒, 但仍有可能具有生物活性。

由表 1 可知, 部分化合物对 Cdc25B 有抑制活性。其中化合物 7n 的抑制活性最高($\text{IC}_{50}=1.67\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 与阳性对照物 Na_3VO_4 ($\text{IC}_{50}=1.49\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的活性基本相当。因此, 这些活性的目标化合物是潜在的 Cdc25B 抑制剂, 在癌症治疗中具有潜在的应用价值。所有目标化合物 7 对 PTP1B 均具有较强抑制活性($\text{IC}_{50}=0.73\sim 4.50\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 化合物 7d, 7i~7o 的抑制活性($\text{IC}_{50}=0.73\sim 1.75\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)均高于对照药物齐墩果酸($\text{IC}_{50}=1.90\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。其中化合物 7k 的抑制活性最高($\text{IC}_{50}=0.73\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。此外, 化合物 7c 的抑制活性与齐墩果酸相当。这说明苯并异噻唑酮结构与 1,3,4-噻二唑结构有效的拼接后, 形成的苯并异噻唑酮——1,3,4-噻二唑骨架是有效的药效团, 目标化合物 7 是潜在的 PTP1B 抑制剂, 在糖尿病和肥胖治疗中具有潜在的应用价值。

通过构效分析可知, 当噻二唑环的 5-位引入稠芳环时(7n), 对 Cdc25B 的抑制活性最高, 而其它取代基对 Cdc25B 抑制活性的影响, 没有表现出明显的规律性。然而, 取代基对 PTP1B 的抑制活性有明显影响。在噻二唑环 5-位苯环的对位引入供电子或吸电子基团时(7d, 7g 和 7j), 与 7a 相比较, 活性有所增强, 并且 7d 和 7j 活性高于对照药物。在噻二唑环 5-位苯环上引入 Cl 原子时(7h~7l)活性均高于 7a, 其中 7i~7l 活性高于对照

表 1 目标化合物 7 对 Cdc25B 和 PTP1B 抑制活性

Table 1 Inhibitory activity of target compounds 7 against Cdc25B and PTP1B

Compd.	Ar/Ar'	Log <i>P</i>	Water solubility/(mg·L ⁻¹)	Cdc25B		PTP1B	
				Inhibition/%	IC ₅₀ /(μmol·L ⁻¹)	Inhibition/%	IC ₅₀ /(μmol·L ⁻¹)
7a	C ₆ H ₅	3.439	24.58	36.52	— ^a	92.17	2.70
7b	2-CH ₃ C ₆ H ₄	3.839	6.86	24.30	—	92.78	4.50
7c	3-CH ₃ C ₆ H ₄	3.863	6.86	41.75	—	93.68	1.94
7d	4-CH ₃ C ₆ H ₄	3.887	6.86	73.15	5.97	93.99	1.27
7e	2,4-(CH ₃) ₂ C ₆ H ₃	4.264	1.91	91.89	5.31	93.79	2.11
7f	2-CH ₃ OC ₆ H ₄	3.052	37.72	17.49	—	93.25	2.77
7g	4-CH ₃ OC ₆ H ₄	3.495	13.65	13.87	—	94.78	2.34
7h	2-ClC ₆ H ₄	4.069	4.23	47.70	—	93.30	2.51
7i	3-ClC ₆ H ₄	4.093	4.23	44.95	—	93.58	1.35
7j	4-ClC ₆ H ₄	4.117	4.23	28.37	—	93.14	1.49
7k	4-Cl-3-CH ₃ C ₆ H ₃	4.493	1.18	83.43	6.66	91.90	0.73
7l	2,4-Cl ₂ C ₆ H ₃	4.723	0.72	98.36	2.36	93.20	1.75
7m	2-O ₂ NC ₆ H ₄	3.349	7.52	3.13	—	94.22	1.71
7n	2-C ₁₀ H ₇	4.622	1.19	99.91	1.67	93.89	0.91
7o	4-O ₂ NC ₆ H ₄	5.687	0.06	14.62	—	93.38	1.03
7p	2,4-(O ₂ N) ₂ C ₆ H ₃	5.574	0.21	74.95	2.59	94.17	3.79
Ref.					1.49 ^b		1.90 ^c

^a “—” : Not calculated because the inhibition is lower than 50%. ^b Positive control: sodium orthovanadate (Na₃VO₄). ^c Positive control: oleanolic acid.

药物。在噻二唑环 5-位苯环的邻位引入供电子基时(7b 和 7f)活性低于 7a 和对照药。但在邻位引入吸电子基团时(7h 和 7m), 活性较 7a 增强, 且随着吸电子能力的增强活性大幅度提高(7m)。多取代基的引入使活性增强(7e, 7k 和 7l), 均高于 7a, 其中含有 Cl 原子的 7k 和 7l 活性高于对照药物。在噻二唑环 5-位引入稠芳环时(7n), 活性高于对照药物。在噻二唑环 5-位苯环的对位引入芳氧基团时(7o 和 7p), 随着 NO₂ 数目的增加, 活性降低。

1.3.2 体外抗肿瘤活性筛选实验

目标化合物 7a~7p 的体外抗肿瘤活性实验结果见表 2。由测试结果可以看出, 目标化合物 7k 对 HCT-8 细胞(人结肠癌细胞)具有最高的抑制活性, IC₅₀ = 12.54 μmol·L⁻¹, 但活性低于抗肿瘤对照药物 5-氟尿嘧啶(5-Fluorouracil, 简称为 5-FU)。目标化合物 7i 对 A-549 细胞(人肺腺癌细胞)则有中等的抑制活性, 抑制率为 41.37%。目标化合物 7f 和 7k 对 Bel-7402 细胞(人肝癌细胞)有弱的抑制活性, 抑制率分别为 19.90% 和 14.40%。

1.3.3 抗氧化活性筛选实验

自由基和活性氧物种(如氧分子)表现为双刃剑。在信号传导中它们是重要的介质, 并且在生物活性以及必要化合物的产生中发挥着重要作用。然而, 在各种疾病中也起致病作用, 如癌症和衰老。它们攻击脂质、蛋白质和 DNA, 并诱导 DNA 过氧化、畸变和链断裂^[25]。活性氧物种(ROS), 例如羟自由基(HO•)、超氧阴离子(O₂⁻)和过氧自由基(ROO•), 在由自由基调节的与氧化应激有关的损伤中是关键的中间体。越来越多的证据表明, 许多疾病的发病机制, 包括癌症和心血管疾病,

表 2 目标化合物 7 对 A-549、Bel-7402 和 HCT-8 的体外抗肿瘤活性

Table 2 Antitumor activity *in vitro* of target compounds 7 against A-549, Bel-7402 and HCT-8

Compd.	Ar/Ar'	Inhibition/% at 5 μg·mL ⁻¹		
		A-549	Bel-7402	HCT-8
7a	C ₆ H ₅	4.72	11.22	12.52
7b	2-CH ₃ C ₆ H ₄	19.18	4.47	14.84
7c	3-CH ₃ C ₆ H ₄	12.15	1.30	16.58
7d	4-CH ₃ C ₆ H ₄	5.74	0.15	—2.34
7e	2,4-(CH ₃) ₂ C ₆ H ₃	12.04	2.99	15.24
7f	2-CH ₃ OC ₆ H ₄	36.11	19.90	5.74
7g	4-CH ₃ OC ₆ H ₄	—3.00	7.32	4.98
7h	2-ClC ₆ H ₄	8.06	3.44	30.74
7i	3-ClC ₆ H ₄	41.37	9.32	30.31
7j	4-ClC ₆ H ₄	34.27	5.33	13.65
7k	4-Cl-3-CH ₃ C ₆ H ₃	24.04	14.40	59.72 (12.54) ^a
7l	2,4-Cl ₂ C ₆ H ₃	23.24	3.34	11.41
7m	2-O ₂ NC ₆ H ₄	9.36	8.96	11.58
7n	2-C ₁₀ H ₇	6.19	1.04	2.06
7o	4-O ₂ NC ₆ H ₄	12.40	2.28	0.59
7p	2,4-(O ₂ N) ₂ C ₆ H ₃	24.82	1.53	6.15
5-FU ^b		56.51 (14.15)	75.08 (10.07)	78.56 (6.30)

^a The value in brackets is the IC₅₀ value. ^b Positive control is 5-fluorouracil.

至少部分归因于氧化应激^[26]。二苯代苦味肟基自由基(DPPH•)实验常用于抗氧化分子清除自由基潜力的评估, 用于纯化合物的抗氧化性能的评价^[27]。我们评价了所合成的目标化合物 7a~7p 对羟自由基(HO•)和超氧阴离子(O₂⁻)的抑制活性以及对 DPPH• 的清除活性, 以便

评价它们的抗氧化能力. 结果见表 3 和表 4.

表 3 目标化合物 **7** 对羟自由基和超氧阴离子的抑制活性
Table 3 Inhibitory activity of target compounds **7** for hydroxyl radical and superoxide anion radical

Compd.	Ar/Ar'	Inhibition ^a /%	
		HO• ^b	O ₂ • ^{-c}
7a	C ₆ H ₅	38.82	21.51
7b	2-CH ₃ C ₆ H ₄	42.75	26.50
7c	3-CH ₃ C ₆ H ₄	45.88	22.87
7d	4-CH ₃ C ₆ H ₄	47.45	29.45
7e	2,4-(CH ₃) ₂ C ₆ H ₃	37.25	39.09
7f	2-CH ₃ OC ₆ H ₄	46.67	35.72
7g	4-CH ₃ OC ₆ H ₄	45.88	35.47
7h	2-ClC ₆ H ₄	38.04	42.51
7i	3-ClC ₆ H ₄	36.47	26.83
7j	4-ClC ₆ H ₄	43.53	29.50
7k	4-Cl-3-CH ₃ C ₆ H ₃	25.49	27.43
7l	2,4-Cl ₂ C ₆ H ₃	43.53	18.62
7m	2-O ₂ NC ₆ H ₄	34.12	18.80
7n	2-C ₁₀ H ₇	41.96	20.65
7o	4-O ₂ NC ₆ H ₄	48.24	20.92
7p	2,4-(O ₂ N) ₂ C ₆ H ₃	41.18	28.80

^a Tested concentration is 5 μg•mL⁻¹. ^b Positive control is salvanolic acid A, and its inhibition for hydroxyl radicals is 77.00% (EC₅₀=6.82 mg•mL⁻¹). ^c Positive control is vitamin C, and its inhibition for superoxide anion is 87.69% (EC₅₀=2.68 mg•mL⁻¹).

表 4 目标化合物 **7** 对 DPPH• 的清除活性
Table 4 Scavenging activity of target compounds **7** for DPPH• radical

Compd.	Ar/Ar'	Scavenging ^a /%
7a	C ₆ H ₅	-4.74
7b	2-CH ₃ C ₆ H ₄	-5.03
7c	3-CH ₃ C ₆ H ₄	-6.14
7d	4-CH ₃ C ₆ H ₄	-3.45
7e	2,4-(CH ₃) ₂ C ₆ H ₃	-6.40
7f	2-CH ₃ OC ₆ H ₄	-5.00
7g	4-CH ₃ OC ₆ H ₄	-5.48
7h	2-ClC ₆ H ₄	-5.18
7i	3-ClC ₆ H ₄	-2.57
7j	4-ClC ₆ H ₄	-5.33
7k	4-Cl-3-CH ₃ C ₆ H ₃	-4.19
7l	2,4-Cl ₂ C ₆ H ₃	-4.37
7m	2-O ₂ NC ₆ H ₄	-5.37
7n	2-C ₁₀ H ₇	-6.51
7o	4-O ₂ NC ₆ H ₄	-6.03
7p	2,4-(O ₂ N) ₂ C ₆ H ₃	-10.09

^a Tested concentration is 5 μg•mL⁻¹.

由表 3 实验结果可知, 目标化合物 **7a**~**7p** 对羟自由基具有中等活性的抑制活性, 其中化合物 **7o** 的抑制活性最高, 抑制率为 48.24%. 目标化合物 **7h** 对超氧阴离子有中等的抑制活性, 抑制率为 42.51%.

由表 4 对 DPPH• 的清除能力实验结果可知, 目标化合物 **7** 均无清除 DPPH• 的活性.

2 结论

合成出了 16 个新颖的含苯并噻唑酮结构的 2,5-二取代-1,3,4-噻二唑衍生物 **7a**~**7p**, 并对其结构进行了表征. 评价了目标化合物的生物活性. 实验结果表明, 部分化合物具有抑制 Cdc25B 的活性(IC₅₀=1.67~6.66 μmol•L⁻¹), 其中 **7n** 的抑制活性最高(IC₅₀=1.67 μmol•L⁻¹). 所有化合物对 PTP1B 均有抑制活性(IC₅₀=0.73~4.50 μmol•L⁻¹), 并且部分化合物的抑制活性高于阳性对照药物齐墩果酸(IC₅₀=1.90 μmol•L⁻¹), 其中 **7k** 的抑制活性最高(IC₅₀=0.73 μmol•L⁻¹). 化合物 **7k** 对 HCT-8 细胞(人结肠癌细胞)具有体外抗肿瘤活性(IC₅₀=12.54 μmol•L⁻¹). 部分化合物对羟自由基(HO•)和超氧阴离子(O₂•⁻)具有中等的清除能力, 但对 DPPH• 均无清除能力.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

仪器: X-5 显微熔点测定仪(温度计未经校正); 德国 TENSOR 27 型 FT-IR 红外光谱仪, KBr 压片; 美国 Varian INOVA 400 MHz 核磁共振仪, 德国 BRUKER 500 MHz 核磁共振仪, DMSO-*d*₆ 为溶剂, TMS 为内标; 德国 Elementar 公司 Vario EL 型元素分析仪.

药品: 所用试剂均为市售的分析纯药品.

3.2 化合物的合成

3.2.1 中间体化合物的合成

中间体化合物 **2**^[28]和 **6**^[7]参考文献合成.

3.2.2 目标化合物 **7** 的合成通法

向 100 mL 干燥的圆底烧瓶中加入 1 mmol 2-氯噻唑基苯甲酰氯(**6**)、1 mmol 2-氨基-5-取代-1,3,4-噻二唑(**2**)、30 mL 乙酸乙酯及 0.3 mL 三乙胺, 室温下搅拌反应 8 h. 抽滤, 分别用水和乙酸乙酯冲洗滤饼, 即得到纯品化合物 **7a**~**7p**.

2-[5-(苯氧基甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基]苯并[d][1,2]噻唑-3(2*H*)-酮(**7a**): 得 0.240 g, 白色粉末, 产率 61.9%. m.p. 237.4~238.3 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8.24 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, BISA-H₄), 7.99 (d, *J*=7.2 Hz, 1H, BISA-H₇), 7.75 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, BISA-H₆), 7.51 (t, *J*=7.0 Hz, 1H, BISA-H₅), 7.34 (t, *J*=8.0 Hz, 2H, ArH), 7.10 (d, *J*=8.0 Hz, 2H, ArH), 7.01 (t, *J*=7.4 Hz, 1H, ArH), 5.55 (s, 2H, CH₂); IR (KBr) ν: 3065, 2917, 2872, 1667, 1598, 1588, 1487, 1463, 1335, 1249 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₆H₁₁N₃O₂SSe: C 49.49, H 2.86, N 10.82; found C 49.34, H 2.99, N 11.02.

2-[5-(2-甲氧基)甲基-1,3,4-噻二唑-2-基]苯并[d][1,2]噻唑-3(2*H*)-酮(**7b**): 得 0.240 g, 白色粉末, 产率

59.7%. m.p. 229.7~230.8 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.14 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, BISA- H_4), 8.01 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, BISA- H_7), 7.78 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, BISA- H_6), 7.54 (t, $J=7.4$ Hz, 1H, BISA- H_5), 7.15~7.24 (m, 2H, ArH), 7.13 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 6.91 (t, $J=7.2$ Hz, 1H, ArH), 5.56 (s, 2H, CH_2), 2.22 (s, 3H, CH_3); IR (KBr) ν : 3061, 2920, 2872, 1671, 1591, 1494, 1460, 1317, 1252 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2\text{SSe}$: C 50.75, H 3.26, N 10.44; found C 50.93, H 3.09, N 10.21.

2-[5-(3-甲氧基)甲基-1,3,4-噻二唑-2-基]苯并[d][1,2]硒唑-3(2H)-酮(**7c**): 得 0.251 g, 白色粉末, 产率 62.5%. m.p. 239.6~240.3 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.11 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, BISA- H_4), 8.01 (d, $J=6.8$ Hz, 1H, BISA- H_7), 7.79 (t, $J=7.4$ Hz, 1H, BISA- H_6), 7.54 (t, $J=7.8$ Hz, 1H, BISA- H_5), 7.21 (t, $J=7.8$ Hz, 1H, ArH), 6.93 (s, 1H, ArH), 6.89 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, ArH), 6.82 (d, $J=7.2$ Hz, 1H, ArH), 5.54 (s, 2H, CH_2), 2.29 (s, 3H, CH_3); IR (KBr) ν : 3089, 2920, 2868, 1615, 1595, 1483, 1463, 1335, 1262 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2\text{SSe}$: C 50.75, H 3.26, N 10.44; found C 50.51, H 3.11, N 10.33.

2-[5-(4-甲氧基)甲基-1,3,4-噻二唑-2-基]苯并[d][1,2]硒唑-3(2H)-酮(**7d**): 得 0.280 g, 白色粉末, 产率 69.7%. m.p. 241.5~242.3 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.11 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, BISA- H_4), 8.01 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, BISA- H_7), 7.78 (t, $J=7.8$ Hz, 1H, BISA- H_6), 7.53 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, BISA- H_5), 7.13 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, ArH), 6.98 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, ArH), 5.52 (s, 2H, CH_2), 2.24 (s, 3H, CH_3); IR (KBr) ν : 3088, 2920, 2861, 1615, 1591, 1483, 1463, 1336, 1239 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2\text{SSe}$: 50.75, H 3.26, N 10.44; found C 50.95, H 3.51, N 10.61.

2-[5-(2,4-二甲氧基)甲基-1,3,4-噻二唑-2-基]苯并[d][1,2]硒唑-3(2H)-酮(**7e**): 得 0.307 g, 白色粉末, 产率 73.8%. m.p. 236.3~236.8 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.12 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, BISA- H_4), 8.00 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, BISA- H_7), 7.78 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, BISA- H_6), 7.54 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, BISA- H_5), 6.91~7.05 (m, 3H, ArH), 5.52 (s, 2H, CH_2), 2.21 (s, 3H, CH_3), 2.18 (s, 3H, CH_3); IR (KBr) ν : 3065, 2920, 2864, 1671, 1591, 1501, 1466, 1325, 1259 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2\text{SSe}$: C 51.92, H 3.63, N 10.09; found C 52.05, H 3.49, N 10.30.

2-[5-(2-甲氧基)甲基-1,3,4-噻二唑-2-基]苯并[d][1,2]硒唑-3(2H)-酮(**7f**): 得 0.319 g, 白色粉末, 产率 76.2%. m.p. 223.1~224.7 °C; ^1H NMR (400 MHz,

DMSO- d_6) δ : 8.14 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, BISA- H_4), 8.01 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, BISA- H_7), 7.78 (t, $J=7.8$ Hz, 1H, BISA- H_6), 7.54 (t, $J=7.4$ Hz, 1H, BISA- H_5), 7.13 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.03 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 6.99 (t, $J=7.2$ Hz, 1H, ArH), 6.89 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 5.51 (s, 2H, CH_2), 3.80 (s, 3H, CH_3O); IR (KBr) ν : 3100, 2929, 2837, 1639, 1595, 1508, 1452, 1328, 1255 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_3\text{SSe}$: C 48.81, H 3.13, N 10.04; found C 48.56, H 3.24, N 10.13.

2-[5-(4-甲氧基)甲基-1,3,4-噻二唑-2-基]苯并[d][1,2]硒唑-3(2H)-酮(**7g**): 得 0.310 g, 白色粉末, 产率 74.0%. m.p. 231.1~232.3 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.11 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, BISA- H_4), 8.01 (d, $J=7.2$ Hz, 1H, BISA- H_7), 7.78 (t, $J=7.8$ Hz, 1H, BISA- H_6), 7.54 (t, $J=7.4$ Hz, 1H, BISA- H_5), 7.03 (d, $J=9.2$ Hz, 2H, ArH), 6.89 (d, $J=9.2$ Hz, 2H, ArH), 5.49 (s, 2H, CH_2), 3.70 (s, 3H, CH_3O); IR (KBr) ν : 3065, 2927, 2837, 1663, 1591, 1508, 1466, 1325, 1228 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_3\text{SSe}$: C 48.81, H 3.13, N 10.04; found C 48.65, H 3.31, N 9.78.

2-[5-(2-氯基)甲基-1,3,4-噻二唑-2-基]苯并[d][1,2]硒唑-3(2H)-酮(**7h**): 得 0.270 g, 白色粉末, 产率 63.8%. m.p. 222.7~223.4 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.15 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, BISA- H_4), 8.01 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, BISA- H_7), 7.78 (t, $J=8.0$ Hz, 1H, BISA- H_6), 7.54 (t, $J=7.4$ Hz, 1H, BISA- H_5), 7.49 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.30~7.40 (m, 2H, ArH), 7.04 (td, $J=7.0$, 2.6 Hz, 1H, ArH), 5.67 (s, 2H, CH_2); IR (KBr) ν : 3065, 2937, 2882, 1667, 1587, 1480, 1463, 1325, 1249 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{SSe}$: C 45.46, H 2.38, N 9.94; found C 45.67, H 2.53, N 10.07.

2-[5-(3-氯基)甲基-1,3,4-噻二唑-2-基]苯并[d][1,2]硒唑-3(2H)-酮(**7i**): 得 0.259 g, 白色粉末, 产率 61.2%. m.p. 213.5~214.0 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.18 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, BISA- H_4), 8.01 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, BISA- H_7), 7.77 (t, $J=7.4$ Hz, 1H, BISA- H_6), 7.53 (t, $J=7.4$ Hz, 1H, BISA- H_5), 7.36 (t, $J=8.2$ Hz, 1H, ArH), 7.23 (s, 1H, ArH), 7.04~7.12 (m, 2H, ArH), 5.60 (s, 2H, CH_2); IR (KBr) ν : 3100, 2940, 2878, 1657, 1598, 1473, 1460, 1328, 1241 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{SSe}$: C 45.46, H 2.38, N 9.94; found C 45.18, H 2.19, N 10.19.

2-[5-(4-氯基)甲基-1,3,4-噻二唑-2-基]苯并[d][1,2]硒唑-3(2H)-酮(**7j**): 得 0.230 g, 白色粉末, 产率 54.4%. m.p. 262.0~263.0 °C; ^1H NMR (400 MHz,

DMSO- d_6) δ : 8.13 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, BISA-H₄), 8.01 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, BISA-H₇), 7.79 (t, $J=7.2$ Hz, 1H, BISA-H₆), 7.54 (t, $J=7.4$ Hz, 1H, BISA-H₅), 7.39 (d, $J=8.8$ Hz, 2H, ArH), 7.13 (d, $J=9.2$ Hz, 2H, ArH), 5.58 (s, 2H, CH₂); IR (KBr) ν : 3065, 2983, 2868, 1667, 1591, 1488, 1466, 1320, 1238 cm^{-1} . Anal. calcd for C₁₆H₁₀ClN₃O₂SSe: C 45.46, H 2.38, N 9.94; found C 45.57, H 2.22, N 9.72.

2-[5-(4-氯-3-甲氧基)甲基-1,3,4-噻二唑-2-基]苯并[d][1,2]硒唑-3(2H)-酮(**7k**): 得 0.260 g, 白色粉末, 产率 54.5%. m.p. 199.9~200.8 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.11 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, BISA-H₄), 8.02 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, BISA-H₇), 7.79 (t, $J=7.8$ Hz, 1H, BISA-H₆), 7.65 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, ArH), 7.54 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, BISA-H₅), 7.44 (dd, $J=8.6, 2.2$ Hz, 1H, ArH), 7.40 (d, $J=8.8$ Hz, 1H, ArH), 5.68 (s, 2H, CH₂), 2.34 (s, 3H, CH₃); IR (KBr) ν : 3069, 2927, 2868, 1657, 1591, 1480, 1463, 1325, 1245 cm^{-1} . Anal. calcd for C₁₇H₁₂ClN₃O₂SSe: C 46.75, H 2.77, N 9.62; found C 46.92, H 3.04, N 9.77.

2-[5-(2,4-二氯苯氧基)甲基-1,3,4-噻二唑-2-基]苯并[d][1,2]硒唑-3(2H)-酮(**7l**): 得 0.200 g, 白色粉末, 产率 43.8%. m.p. 255.7~257.0 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.12 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, BISA-H₄), 8.02 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, BISA-H₇), 7.78 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, BISA-H₆), 7.64 (s, 1H, ArH), 7.54 (t, $J=7.4$ Hz, 1H, BISA-H₅), 7.44 (d, $J=8.8$ Hz, 1H, ArH), 7.40 (d, $J=9.2$ Hz, 1H, ArH), 5.68 (s, 2H, CH₂); IR (KBr) ν : 3072, 2934, 2854, 1684, 1591, 1480, 1463, 1321, 1249 cm^{-1} . Anal. calcd for C₁₆H₉Cl₂N₃O₂SSe: C 42.03, H 1.98, N 9.19; found C 41.80, H 2.12, N 8.99.

2-[5-(2-硝基苯氧基)甲基-1,3,4-噻二唑-2-基]苯并[d][1,2]硒唑-3(2H)-酮(**7m**): 得 0.227 g, 白色粉末, 产率 52.3%. m.p. 234.9~236.2 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.12 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, BISA-H₄), 8.02 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, BISA-H₇), 7.94 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.79 (t, $J=7.8$ Hz, 1H, BISA-H₆), 7.72 (t, $J=7.2$ Hz, 1H, ArH), 7.50~7.62 (m, 2H, BISA-H₅, ArH), 7.21 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 5.77 (s, 2H, CH₂); IR (KBr) ν : 3083, 2927, 2854, 1681, 1591, 1525, 1487, 1463, 1346, 1335, 1255 cm^{-1} . Anal. calcd. for C₁₆H₁₀N₄O₄SSe: C 44.35, H 2.33, N 12.93; found C 44.17, H 2.54, N 12.74.

2-[5-(2-萘氧基)甲基-1,3,4-噻二唑-2-基]苯并[b]硒吩-3(2H)-酮(**7n**): 得 0.229 g, 白色粉末, 产率 52.3%. m.p. 263.0~264.7 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.29 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, BISA-H₄), 7.98 (d, $J=8.0$ Hz, 1H,

BISA-H₇), 7.77~7.94 (m, 3H, naphthyl-H), 7.74 (t, $J=7.0$ Hz, 1H, BISA-H₆), 7.55 (s, 1H, naphthyl-H), 7.42~7.54 (m, 2H, BISA-H₅, naphthyl-H), 7.39 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, naphthyl-H), 7.30 (d, $J=6.8$ Hz, 1H, naphthyl-H), 5.68 (s, 2H, CH₂); IR (KBr) ν : 3058, 2937, 2872, 1653, 1601, 1466, 1331, 1259 cm^{-1} . Anal. calcd. for C₂₀H₁₃N₃O₂SSe: C 54.80, H 2.99, N 9.59; found C 55.04, H 2.74, N 9.43.

2-[5-(4-(4-硝基苯氧基)苯基-1,3,4-噻二唑-2-基)苯并[b]硒吩-3(2H)-酮(**7o**): 得 0.173 g, 淡黄色粉末, 产率 34.9%. m.p. >285 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.30 (d, $J=9.2$ Hz, 2H, ArH), 8.06~8.20 (m, 3H, BISA-H₄, ArH $\times 2$), 8.05 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, BISA-H₇), 7.78 (t, $J=7.2$ Hz, 1H, BISA-H₆), 7.55 (t, $J=7.4$ Hz, 1H, BISA-H₅), 7.35 (d, $J=8.8$ Hz, 2H, ArH), 7.27 (d, $J=9.2$ Hz, 2H, ArH); IR (KBr) ν : 3065, 1667, 1587, 1511, 1487, 1460, 1339, 1325, 1249 cm^{-1} . Anal. calcd for C₂₁H₁₂N₄O₄SSe: C 50.92, H 2.44, N 11.31; found C 50.77, H 2.67, N 11.49.

2-[5-(4-(2,4-二硝基苯氧基)苯基-1,3,4-噻二唑-2-基)苯并[b]硒吩-3(2H)-酮(**7p**): 得 0.150 g, 棕黄色晶体, 产率 27.7%. m.p. >285 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.94 (d, $J=2.8$ Hz, 1H, ArH), 8.49 (dd, $J=9.2, 2.4$ Hz, 1H, ArH), 8.14 (d, $J=8.8$ Hz, 2H, ArH), 8.13 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, BISA-H₄), 8.04 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, BISA-H₇), 7.80 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, BISA-H₆), 7.56 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, BISA-H₅), 7.45 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, ArH), 7.38 (d, $J=9.6$ Hz, 1H, ArH); IR (KBr) ν : 3065, 1646, 1595, 1539, 1470, 1349, 1325, 1280 cm^{-1} . Anal. calcd for C₂₁H₁₁N₅O₆SSe: C 46.68, H 2.05, N 12.96; found C 46.46, H 1.92, N 13.10.

3.2.3 目标化合物 7 的生物活性测试

3.2.3.1 Cdc25B 和 PTP1B 抑制活性筛选实验

目标化合物对 Cdc25B 和 PTP1B 抑制活性筛选实验按照参考文献[19, 29]的方法进行。

3.2.3.2 体外抗肿瘤活性筛选实验

目标化合物的体外抗肿瘤活性筛选实验按照参考文献[29]的方法进行。

3.2.3.3 羟自由基清除剂筛选实验

根据 Fenton 反应原理, 在金属离子的催化下, H₂O₂ 发生歧化反应, 产生羟自由基。

在碱性介质中, 生成的羟自由基与邻菲罗林作用可以产生化学发光, 其最大发射在 445~450 nm 处。因此, 检测加入样品后化学发光强度(CPS)的改变, 可间接反映出样品对羟自由基的清除能力。

$$\text{样品对羟自由基清除率} = \frac{[(\text{CPS}_{\text{对照}} - \text{CPS}_{\text{样品}}) / (\text{CPS}_{\text{对照}} - \text{CPS}_{\text{本底}})] \times 100\%}{}$$

CPS_{对照}: 对照组化学发光强度值(Cu^{2+} -phen + Vc + buffer + H_2O_2 + solvent), CPS_{样品}: 加样品组化学发光强度值(Cu^{2+} -phen + Vc + buffer + H_2O_2 + sample).

3.2.3.4 超氧阴离子清除剂筛选实验

采用目前测定超氧阴离子方法中最先进的 WST-1 [2-(4-碘苯基)-3-(4-硝基苯基)-5-(2,4-二磺苯基)-2H-四唑单钠盐]法。WST-1 可以和黄嘌呤氧化酶催化产生的超氧化物阴离子反应产生水溶性的甲臞染料(formazan dye), 该反应可以被SOD所抑制或被其他阴离子清除剂清除。通过对 WST-1 产物的比色分析即可计算 SOD 活力或样品对超氧阴离子的清除率。

$$\text{样品对超氧阴离子清除率} = \frac{[(A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) - A_{\text{样品测定}}] / (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}})}{\times 100\%}$$

3.2.3.5 DPPH•抗氧化筛选实验

DPPH•是一种比较稳定的脂性自由基, 其N上有一个游离电子, 其乙醇溶液呈紫色, 在515 nm处有最大的吸收峰。加入抗氧化剂以后, DPPH•捕捉一个电子与游离电子配对, 紫色褪去, 变为无色物质, 在515 nm处的吸收消失, 其褪色程度与其接受的电子数成定量关系。依此原理用分光光度计检测 DPPH•自由基与试样液反应后吸光值的变化, 可检定试样提供氢原子、清除自由基抗氧化的能力。

$$\text{样品对自由基 DPPH}\cdot\text{清除率} = \frac{(\text{空白 OD} - \text{样品 OD}) / \text{空白 OD}}{\times 100\%}$$

辅助材料(Supporting Information) 所有目标化合物的 IR 和 ^1H NMR 图谱。这些材料可以免费从本刊网站 (<http://sioc-journal.cn/>)上下载。

References

- [1] Kumar, D.; Kumar, N. M.; Noel, B.; Kavita, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 432.
- [2] Yang, X.-H.; Xiang, L.; Li, X.; Zhao, T.-T.; Zhang, H.; Zhou, W.-P.; Wang, X.-M.; Gong, H.-B.; Zhu, H.-L. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 2789.
- [3] Mougenot, P.; Namane, C.; Fett, E.; Camy, F.; Dadjji-Faïhun, R.; Langot, G.; Monseu, C.; Onofri, B.; Pacquet, F.; Pascal, C.; Crespin, O.; Ben-Hassine, M.; Ragot, J.-L.; Van-Pham, T.; Philippo, C.; Chatelsin-Egger, F.; Péron, P.; Bail, J. C. L.; Guillot, E.; Chsmiot-Clerc, P.; Chabanaud, M. A.; Pruniaux, M. P.; Schmidt, F.; Venier, O.; Nicolaï, E.; Viviani, F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 2497.
- [4] Sheppeck II, J. E.; Gilmore, J. L.; Xiao, H. Y.; Dhar, T. G. M.; Nirsch, D.; Doweyko, A. M.; Sack, J. S.; Corbett, M. J.; Malley, M. F.; Gougoutas, J. Z.; McKay, L.; Cunningham, M. D.; Habte, S. F.; Dodd, J. H.; Nadler, S. G.; Somerville, J. E.; Barrish, J. C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 5442.
- [5] Rebolledo, C. L.; Sotelo-Hitschfeld, P.; Brauchi, S.; Olavarria, M. Z. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *66*, 193.
- [6] Suzuki, K.; Hamada, Y.; Nguyen, J. T.; Kiso, Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 6665.
- [7] Luo, Z.-H.; Chen, B.-Q.; He, S.-Y.; Shi, Y.-P.; Liu, Y.-M.; Li, C.-W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 3191.
- [8] Chen, B.-Q.; Shi, Y.-P.; Li, C.-W.; Liu, Y.-M. *Chemistry* **2011**, *74*, 709 (in Chinese).
(陈宝泉, 史艳萍, 李彩文, 刘玉刚, 化学通报, **2011**, *21*, 709.)
- [9] Pietka-Ottlik, M.; Potaczek, P.; Piasecki, E.; Mlochowski, J. *Molecules* **2010**, *15*, 8214.
- [10] Xiao, Y.-X.; Liu, X.-F.; Xu, H.-S. *Chin. J. Pharm.* **1997**, *28*, 535 (in Chinese).
(肖颖歆, 刘秀芳, 徐汉生, 中国医药工业杂志, **1997**, *28*, 535.)
- [11] Messali, M.; Christiaens, L. E.; Alshahateet, S. F.; Kooli F. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 7448.
- [12] Bijian, K.; Zhang, Z. W.; Xu, B.; Jie, S.; Chen, B.; Wan, S. B.; Wu, J. H.; Jiang, T.; Alaoui-Jamali, M. A. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *48*, 143.
- [13] Matsushita, T.; Fukuda, K.; Yamamoto, H.; Yamazaki, K.; Tomiyama, T.; Oh, M.; Hamanishi, C. *Mod. Rheumatol.* **2004**, *14*, 25.
- [14] Wójtowicz, H.; Kloc, K.; Maliszewska, I.; Mlochowski, J.; Piętko, M.; Piasecki, E. *Farmaco* **2004**, *59*, 863.
- [15] Mao, F.; Chen, J.-W.; Zhou, Q.; Luo, Z.-H.; Huang, L.; Li, X.-S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 6737.
- [16] Luo, Z.-H.; Liang, L.; Sheng, J.-F.; Pang, Y.-Q.; Li, J.-H.; Huang, L.; Li, X.-S. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 1355.
- [17] Gijssen, H. J. M.; De Cleyn, M. A. J.; Surkyn, M.; Van Lommen, G. R. E.; Verbist, B. M. P.; Nijssen, M. J. M. A.; Meert, T.; Wauwe, J. V.; Aerssens, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 547.
- [18] Li, Y.-J.; Shao, X.; Gao, L.-X.; Jin, K.; Sheng, L.; Luo, T.-C.; Yu, Y.; Li, J. *Chin. J. Org. Chem.* **2013**, *33*, 2178 (in Chinese).
(李英俊, 邵昕, 高立信, 靳焜, 盛丽, 罗潼川, 于洋, 李佳, 有机化学, **2013**, *33*, 2178.)
- [19] Li, Y.-J.; Luo, T.-C.; Jin, K.; Gao, L.-X.; Shao, X.; Sheng, L.; Yu, Y.; Li, J. *Chin. J. Org. Chem.* **2014**, *34*, 325 (in Chinese).
(李英俊, 罗潼川, 靳焜, 高立信, 邵昕, 盛丽, 于洋, 李佳, 有机化学, **2014**, *34*, 325.)
- [20] Li, J.; Guo, S.-J.; Su, H.; Han, L.-J.; Shi, D.-Y. *Chin. Chem. Lett.* **2008**, *19*, 1290.
- [21] Sibille, E.; Bana, E.; Chaouni, W.; Diederich, M.; Bagrel, D.; Chaimbault, P. *Anal. Biochem.* **2012**, *430*, 83.
- [22] Huang, W.-G.; Li, J.-Y.; Luo, Y.; Li, J.; Lu, W. *Chin. Chem. Lett.* **2009**, *20*, 1461.
- [23] Guo, Z.-R. *Acta Pharmacol. Sin.* **2008**, *43*, 227 (in Chinese).
(郭宗儒, 药学报, **2008**, *43*, 227.)
- [24] Ahsan, M. J.; Samy, J. G.; Khalilullah, H.; Nomani, M. S.; Saraswat, P.; Gaur, R.; Singh, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 7216.
- [25] Suetsuna, K.; Ukeda, H.; Ochi, H. *J. Nutr. Biochem.* **2000**, *11*, 128.
- [26] Jackson, H. L.; Cardounel, A. J.; Zweier, J. L.; Lockwood, S. F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 3985.
- [27] Mishra, K.; Ojha, H.; Chaudhury, N. K. *Food Chem.* **2012**, *130*, 1036.
- [28] Lamani, R. S.; Shetty, N. S.; Kamble, R. R.; Khazi, I. A. M. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 2828.
- [29] An, J. *M.S. Thesis*, Liaoning Normal University, Dalian, **2012** (in Chinese).
(安静, 硕士论文, 辽宁师范大学, 大连, **2012**.)

(Zhao, C.)