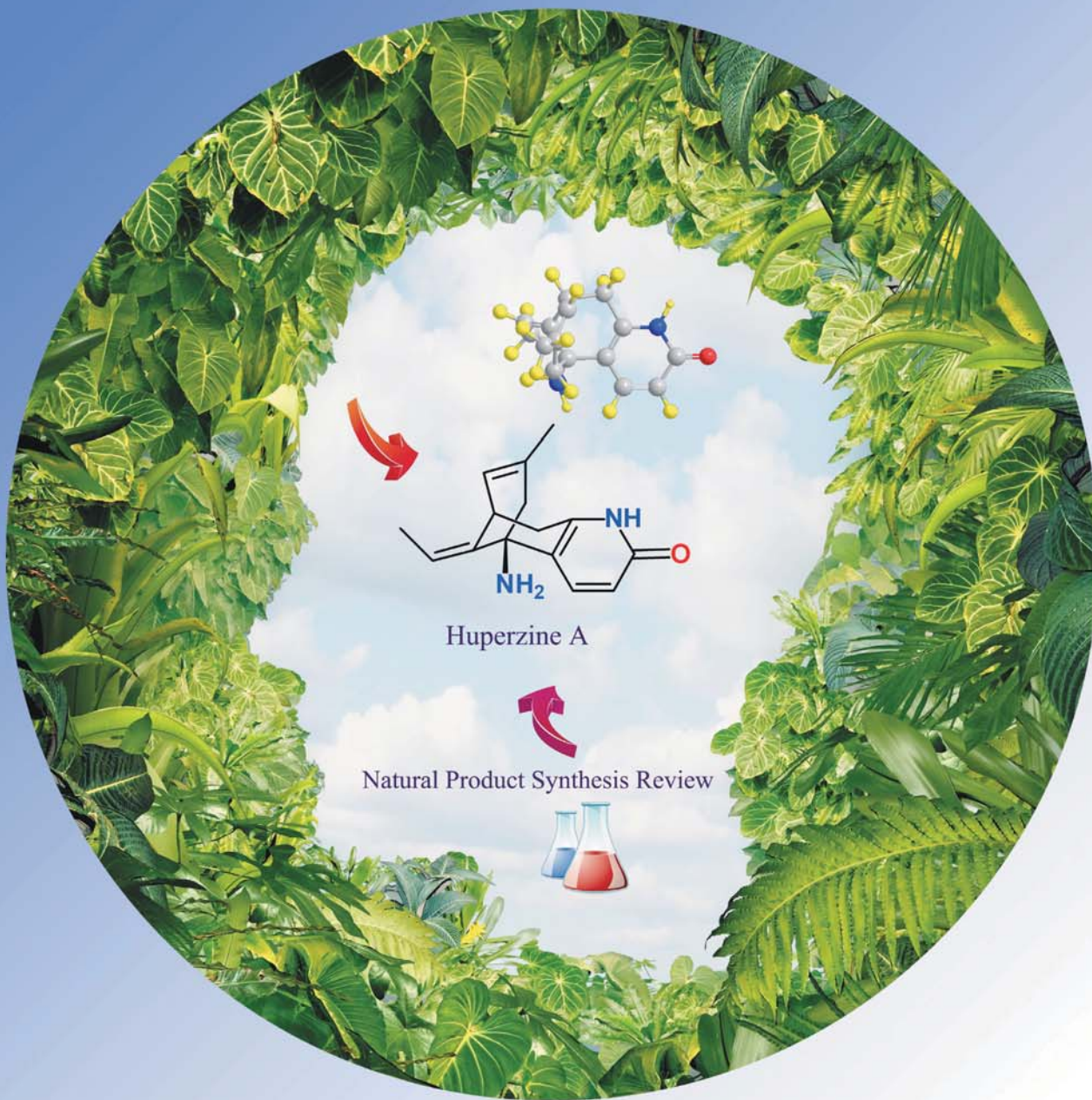


有机化学

Youji Huaxue

Chinese Journal of Organic Chemistry

第33卷 第11期 Vol. 33 No. 11 2013



ISSN 0253-2786



11>

9 770253 278136



中国化学会主办
中国科学院上海有机化学研究所

Born to find out



Anton Paar

安东帕(中国)有限公司

电话: 021-6485 5000

传真: 021-6485 5668

Email: Info.cn@anton-paar.com

www.anton-paar.com.cn

安东帕创新分析测试解决方案

创新赢得喝彩

分析成就未来



单模微波反应器
Monowave 300+ MAS 24

- 最高微波反应条件: 300°C@30bar
- 特殊的碳化硅反应管可用于微波机理研究
- 实际反应温度和红外温度可同时监控
- 叠加式自动进样 - 节省实验室空间

新药研发、金属催化、固相合成及纳米材料合成等合成反应的方法开发 (mg to g)



高性能多模微波反应系统
Multiwave PRO

- 可靠的温度和压力传感器 - 最佳反应控制
- 最高微波反应条件 (300°C和 80bar) - 拓展了微波合成的应用范围
- 专业的充气装置 - 轻松实现惰性气体保护
- 模块化扩展功能 - 同一主机适用所有类型转子

新药研发、生物医学科学、纳米材料研究、法医鉴定学等合成的放大反应 (g to ≤ 100g)



公斤级微波反应器
Masterwave BTR

- 最高微波反应条件: 250°C@30bar
- 无可比拟的生产力: 公斤级产量
- 磁力驱动桨式搅拌装置可自动调整搅拌速度
- 独特冷却安全系统保证公斤级反应安全

新药研发、有机杂环合成、金属催化、固相合成及纳米材料合成等合成反应的公斤级放大 (50-300 g)

作为全球高品质测量和分析仪器的领导厂商, 安东帕公司的微波消解与合成设备、旋光仪、折光仪、密度计、粘度测量仪、流变仪、固体表面 Zeta 电位分析仪、SAXSess 小角 X 光散射仪、闪点测量仪等产品已广泛应用于制药、药检、石油、化工、商检、质检、啤酒饮料等诸多领域和研究机构, 并且已作为许多国家行业标准及计量校正仪器。

2-乙氧羰基(羧基)-4-取代苯基-2,3-二氢-1*H*-苯并[*b*][1,4]二氮杂草的合成及抑菌活性测定

王兰芝* 花中霞 王莎莎

(河北师范大学化学与材料科学学院 石家庄 050024)

摘要 以取代苯和顺丁烯二酸酐为起始原料, 通过 Friedel-Crafts 酰基化反应、酯化、aza-Michael 加成、环合、脱水等过程, 合成了 11 种未见文献报道的 2-乙氧羰基(羧基)-4-取代苯基-2,3-二氢-1*H*-苯并[*b*][1,4]二氮杂草(4a~4g 和 6a~6d)化合物. 通过 ^1H NMR, IR, MS 和元素分析确定了目标产物的结构, 对合成目标化合物的反应条件、选择性进行了较详细的研究, 提出了可能的反应机理. 对新合成的目标化合物进行了体外抑菌活性测试, 结果表明, 部分化合物显示了一定的抑菌活性, 并表现出对不同菌株的抑菌活性具有一定的选择性和特异性. 采用密度泛函理论方法在 B3LYP/6-31G 水平上对所合成的 11 种目标化合物进行了几何全优化和计算, 研究其微观结构和抑菌活性之间的关系, 结果表明, N(11)和 C=N 可能分别是所合成的该类化合物与细菌(枯草杆菌)和真菌(白色念珠菌和新型隐球菌)发生作用的主要活性部位.

关键词 2-乙氧羰基(羧基)-4-取代苯基-2,3-二氢-1*H*-苯并[*b*][1,4]二氮杂草; 催化合成; 抑菌活性; 密度泛函

An Efficient Catalytic Synthesis and Antimicrobial Activities of Derivatives of 2-Ethoxycarbonyl(carboxyl)-4-substituted phenyl-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*b*][1,4]diazepine

Wang, Lanzhi* Hua, Zhongxia Wang, Shasha

(College of Chemistry & Material Science, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050024)

Abstract Seven novel ethoxycarbonyl-containing 2-ethoxycarbonyl-4-substituted phenyl-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*b*][1,4]diazepines 4a~4g and four novel carboxyl-containing 2-carboxyl-4-substituted phenyl-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*b*][1,4]diazepines 6a~6d were efficiently synthesized by the Friedel-Crafts acylation reaction, aza-Michael addition reaction, esterification, dehydration cyclization reaction, where different substituted benzene and maleic anhydride were used for the raw materials. The structures of these new compounds were determined by ^1H NMR, IR, FAB mass spectral analysis and elemental analysis. The exhaustive researches on the synthetic reaction of the class of compounds were carried out and the reaction mechanism has been unequivocally established in this paper. Furthermore, newly synthesized compounds were evaluated for their antimicrobial activity. The result showed that most of the title compounds are biologically active and have obvious specificity and selective antibacterial activities to different classificatory bacterium. Density functional theory (DFT) B3LYP with 6-31G basis set has been used to investigate target compounds. Inferred N(11) and the group of C=N were active sites of inhibition bacterial (*B. subtilis*) and fungal (*C. albicans* and *C. neoformans*) respectively.

Keywords 2-ethoxycarbonyl(carboxyl)-4-substituted phenyl-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*b*][1,4]diazepine; catalytic synthesis; antimicrobial activity; density functional theory (DFT)

苯并二氮杂草是一类具有重要的药理活性和生理活性的含氮杂环化合物, 是最先被确定为特权结构并在新药研发中具有应用前景的一类有价值的活性化合

物^[1~3]. 人们在对苯并杂草化合物的研究中发现, 抑菌活性也是此类化合物的一个共同的特征, 部分苯并二氮杂草化合物虽然还未作为抑菌药物实际应用, 但已经被

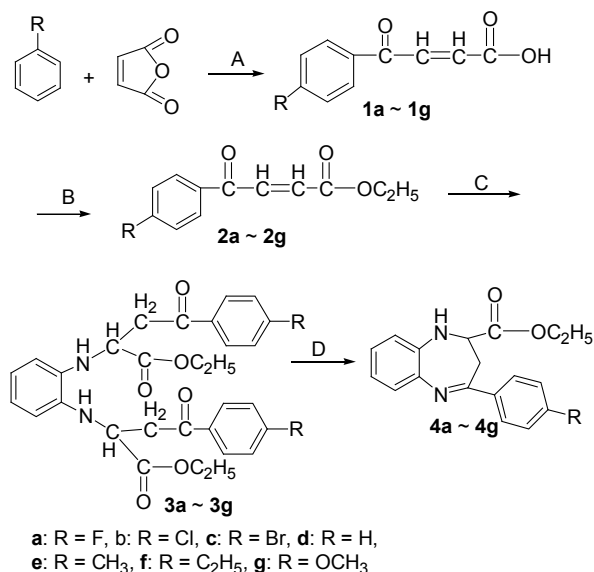
* E-mail: wanglanzhi@126.com

Received May 14, 2013; revised June 7, 2013; published online July 11, 2013.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21276064), the Natural Science Foundation of Hebei Education Department (No. 2008320), and the Science Foundation of Hebei Normal University (No. 2011Y04).

国家自然科学基金(No. 21276064)、河北省教育厅自然科学基金(No. 2008320)和河北师大校内基金(No. 2011Y04)资助项目.

合成出来并经证明具有极好的抑菌作用. 2008 年宋化灿课题组^[4]报道了 2,4 位芳基取代的苯并二氮杂革化合物对幽门螺旋杆菌部分菌株的抑菌活性与甲硝唑相当, 而对金葡萄球菌、大肠杆菌、绿脓杆菌也有一定的抑制作用. 2011 年印度化学家 Dawane 等^[5]也报道了 2 位唑环取代的苯并二氮杂革类化合物具有很好的抑菌作用, 其抑菌活性与成药制霉菌素和盘尼西林的效果相当. 研究发现, 羧基(COOH)和酯基(COOR)也是抗菌药物中的活性基团, 药物分子中引入羧基和酯基, 可一定程度增加药物在体内的水溶性和脂溶性^[6]; 芳环上取代基的电性改变会影响化合物的生物活性, 因此芳环上取代基的种类对抑菌活性有较大影响, 鉴于此, 本文设计合成了 11 种未见文献报道的新化合物 2-乙氧羰基(羧基)-4-取代苯基-2,3-二氢-1*H*-苯并[b][1,4]二氮杂革(Schemes 1 和 2 所示), 对反应条件和目标产物选择性进行了详尽的研究, 提出了可能的反应机理, 对目标化合物进行了体外抑菌活性测试, 得出了其抑菌作用规律. 采用 Gaussian03 程序包中的密度泛函理论(DFT)^[7]方法研究化合物的微观结构及其抑菌活性之间的关系表明, N(11)和 C=N 可能分别是所合成的化合物与细菌(枯草杆菌)和真菌(白色念珠菌和新型隐球菌)发生作用的主要活性部位.



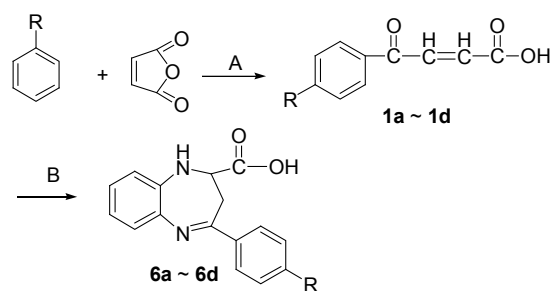
Reagents and conditions: (A) anhydrous aluminum chloride (AlCl₃); (B) ethanol, H⁺, reflux; (C) *o*-phenylenediamine, *p*-TsOH or Lewis acid, ethanol, 15~25 °C; (D) *p*-TsOH or Lewis acid, 15~25 °C.

Scheme 1

1 结果与讨论

1.1 目标化合物 4 的合成

以取代苯和顺丁烯二酸酐为起始原料, 通过 Friedel-Crafts 酰基化反应、酯化、aza-Michael 加成、环



a: R = F, b: R = Cl, c: R = Br, d: R = H

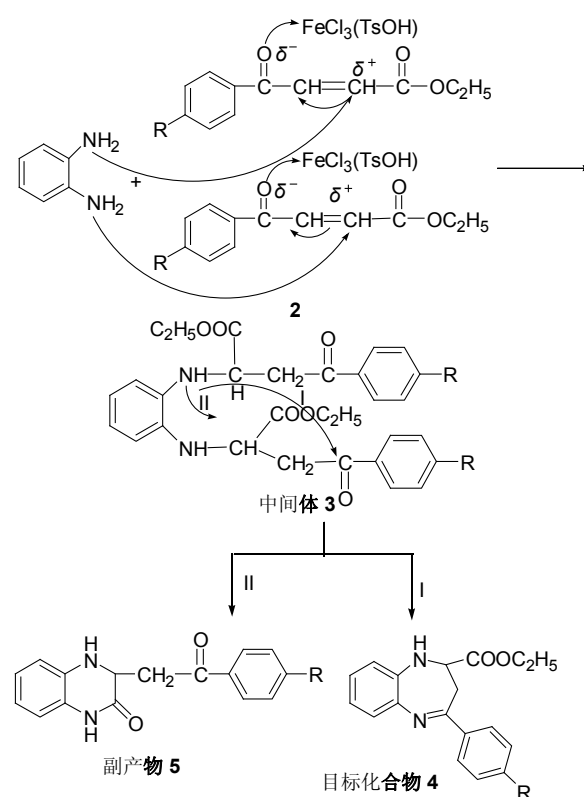
Reagents and conditions: (A) anhydrous aluminum chloride (AlCl₃); (B) *o*-phenylenediamine, *p*-TsOH or Lewis acid, ethanol, <-10 °C

Scheme 2

合、脱水等过程, 合成了 7 种未见文献报道的化合物 4a~4g, 并通过 ¹H NMR, IR, MS, 元素分析等确定了结构, 其合成路线如 Scheme 1 所示.

1.1.1 目标化合物 4 可能的合成反应机理

在合成目标化合物 4 的反应过程中还得到了中间体 3 和副产物 5 (Scheme 3), 中间体 3 和副产物 5 的结构已通过 ¹H NMR, IR, MS, 元素分析进行了确认, 鉴于此, 本文提出了由邻苯二胺和 γ -芳基- α,β -不饱和丁烯酮酯 2a~2g 合成目标化合物 4a~4g 可能的合成反应机理, 如 Scheme 3 所示.



Scheme 3

在酸性条件下, 邻苯二胺与化合物 2 发生 1,4-Mi-

chael 加成反应(共轭加成反应)生成中间体 **3**, 中间体 **3** 如果按 I 路线, 氨基进攻酮羰基得到了苯并七元环的目标化合物 **4**; 如果按 II 路线, 氨基进攻酯羰基得到苯并六元环副产物 **5**, 因此能抑制副产物 **5** 同时促进目标产物 **4** 生成的反应条件才是最优反应条件, 下面就反应条件及产物的选择性进行了研究.

1.1.2 反应条件及产物的选择性

本文研究了溶剂、反应温度、催化剂等因素对该反应的影响, 结果发现: 无催化剂条件下, 所选用的溶剂(乙醇、水、二氯甲烷、氯仿、乙腈、苯和甲苯)中, 只

有乙腈和乙醇作溶剂时, 目标化合物 **4** 的产率较高, 但是由于乙腈有一定的化学毒性, 而乙醇作溶剂无毒易操作, 后处理简单, 因此选用乙醇作溶剂. 由于副产物 **5**(苯并六元环)比目标产物 **4**(苯并七元环化合物)稳定性高, 是平衡产物, 反应温度越高就越有利于副产物 **5** 的生成, 而反应温度过低($<0\text{ }^{\circ}\text{C}$) 时, 反应速率降低, 因此选择在室温($15\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$)进行该反应. 另外, 由于合成目标化合物 **4** 是一个酸催化的 Michael 加成反应, 因此本文在上述优化的反应条件下重点考察了不同酸性催化剂对产物的影响, 其结果见表 1.

表 1 不同酸性催化剂对反应产物的影响

Table 1 The effect of different acid catalysts on synthetic reaction

Entry	Compd.	R	Catalyst	Yield/% of 3	Yield ^a /% of 4	Yield/% of 5
1	4a	F	Catalyst-free	15.2	35.6	49.2
2	4a	F	HOAc	5.3	34.2	56.2
3	4a	F	TsOH	0	62.2	37.8
4	4a	F	AlCl ₃	6.2	71.3	22.6
5	4a	F	FeCl ₃	0	42.5	57.5
6	4a	F	ZnCl ₂	0	81.3	19.7
7	4b	Cl	Catalyst-free	16.2	28.9	54.9
8	4b	Cl	HOAc	32.2	61.2	6.6
9	4b	Cl	TsOH	7.3	83.1	9.6
10	4b	Cl	AlCl ₃	0	85.5	10.5
11	4b	Cl	FeCl ₃	0	89.5	10.5
12	4b	Cl	ZnCl ₂	16.4	40.4	43.2
13	4c	Br	Catalyst-free	19.2	28.2	52.6
14	4c	Br	HOAc	18.1	34.6	47.3
15	4c	Br	TsOH	1.8	85.8	12.4
16	4c	Br	AlCl ₃	0	88.3	11.7
17	4c	Br	FeCl ₃	0	89.2	10.8
18	4c	Br	ZnCl ₂	12.7	48.6	38.7
19	4d	H	Catalyst-free	26.5	68.8	4.7
20	4d	H	HOAc	31.7	54.5	13.8
21	4d	H	TsOH	44.3	46.2	9.5
22	4d	H	AlCl ₃	9.8	81.7	8.5
23	4d	H	FeCl ₃	27.0	58.1	14.9
24	4d	H	ZnCl ₂	0	80.7	19.3
26	4e	CH ₃	Catalyst-free	24.7	18.7	56.6
27	4e	CH ₃	HOAc	2.5	75.4	22.1
28	4e	CH ₃	TsOH	0	61.8	38.2
29	4e	CH ₃	AlCl ₃	4.5	76.9	18.6
30	4e	CH ₃	FeCl ₃	0	89.4	10.6
31	4e	CH ₃	ZnCl ₂	0	78.0	22.0
32	4f	C ₂ H ₅	Catalyst-free	56.0	28.4	15.6
33	4f	C ₂ H ₅	HOAc	49.8	28.2	22.1
34	4f	C ₂ H ₅	TsOH	5.6	72.6	21.9
35	4f	C ₂ H ₅	AlCl ₃	23.4	56.3	20.1
36	4f	C ₂ H ₅	FeCl ₃	17.8	62.6	19.6
37	4f	C ₂ H ₅	ZnCl ₂	34.0	47.5	18.6
38	4g	OCH ₃	Catalyst-free	25.4	58.2	16.3
39	4g	OCH ₃	HOAc	29.5	46.2	24.3
40	4g	OCH ₃	TsOH	25.1	53.8	21.1
41	4g	OCH ₃	AlCl ₃	12.1	65.5	22.5
42	4g	OCH ₃	FeCl ₃	16.9	56.7	26.4
43	4g	OCH ₃	ZnCl ₂	31.3	45.3	23.4

^a Chromatographic yield.

由表 1 可知, 该反应的选择性规律如下: (1)路易斯酸和对甲苯磺酸都是合成化合物 **4a**~**4g** 较好的催化剂, 能有效促进中间体 **3** 发生环合反应以及抑制副产物 **5** 的生成, 增加目标产物 **4** 的产率(最高可达 89%)。对于目标化合物 **4a** 来说, 较适宜的催化剂是 ZnCl_2 , **4b**, **4c**, **4e** 较适宜的催化剂是 FeCl_3 , **4d**, **4g** 较适宜的催化剂是 AlCl_3 , 而 **4f** 较适宜的催化剂是对甲苯磺酸。由表 1 可知, 不同的路易斯酸作催化剂对目标产物 **4** 的产率影响较大, 根据路易斯酸碱理论, AlCl_3 和 FeCl_3 由于正电荷高、半径小而表现出较高的得电子能力, 都是较强的路易斯酸^[8,9], 对于大部分目标化合物 **4b**~**4g** 的合成反应, 表现出了较高催化能力, 能有效的提高中间体 **3b**~**3g** 酮羰基的活性, 促进亲核加成反应, 提高目标化合物 **4b**~**4g** 的产率; 而 ZnCl_2 相对于 AlCl_3 和 FeCl_3 来说, 酸性较温和, 对于在某些情况下 AlCl_3 和 FeCl_3 提高酮羰基活性的同时也会提高酯羰基的活性, 导致副产物 **5** 的产率增加(例如 **4a**), 这时我们需要降低催化剂的酸性, 所以酸性适中的 ZnCl_2 是合成 **4a** 的最佳催化剂。(2)当 R 为吸电子基(F, Cl, Br)时目标产物 **4** 的选择性高于给电子基(CH_3 , CH_2CH_3 , OCH_3)的化合物, 这是由于 R 为吸电子基(F, Cl, Br)时, 反应原料 **2** (γ -芳基- α,β -不饱和丁烯酮酯)的酮羰基活性增加, 目标产物的收率增加; 当 R 为给电子基(CH_3 , CH_2CH_3 , OCH_3)时, 酮羰基的活性减弱, 导致 **3** 中氨基进攻酯羰基的机会增加, 进而使得副产物 **5** 的选择性提高, 目标产物 **4** 的选择性降低。

1.2 目标化合物 6 的合成

本文对目标化合物 **6** (2-羧基-4-取代苯基-2,3-二氢-1*H*-苯并[*b*][1,4]二氮杂萘)的合成反应进行了研究, 得到了目标化合物 **6a**~**6d**, 其合成路线如 Scheme 2 所示, 对于 R 为给电子基的化合物 **6** 始终没有得到, 这可

能也是由于 R 的给电子作用, 酮羰基的羰基碳的正电性减弱, 使得邻苯二胺进攻酮羰基的 Michael 加成反应以及 **3** 中氨基进攻酯羰基发生环合反应生成目标产物不容易进行的缘故。

1.3 化合物的抑菌活性

采用滤纸片法, 测试了目标化合物 **4a**~**4g** 和 **6a**~**6d** 以及对白色念珠球菌, 标准新生隐球菌, 枯草杆菌的抑菌活性, 分别选取氟康唑作为真菌(白色念珠球菌, 标准新生隐球菌)的对照药物, 头孢羟氨苄作为细菌(枯草杆菌)的对照药物, 其结果见表 2。

由表 2 抑菌结果显示: 所合成的 11 种目标化合物中有 9 种在上述测试浓度下对真菌白色念珠菌和新型隐球菌或细菌枯草杆菌有一定的抑菌活性, 但抑菌活性均小于标准药物, 其中以 **6b** 对真菌(白色念珠菌)抑制活性最高, 以 **4f** 对细菌枯草杆菌的抑制活性最高; 该系列化合物显示出对不同菌株的抑菌活性具有一定的选择性和特异性, 即对真菌(白色念珠菌和新型隐球菌)有抑制活性的化合物对细菌(枯草杆菌)没有活性, 对细菌(枯草杆菌)有抑制活性的化合物对真菌(白色念珠菌和新型隐球菌)没有活性, 其原因可能是白色念珠菌和标准新型隐球菌是真核微生物, 而枯草杆菌是原核微生物, 两种微生物细胞壁的成分结构不同, 核糖体的结构也不同, 所合成的化合物对两种微生物的作用位点及作用机制不同。

1.4 目标化合物的前线轨道与抑菌活性关系分析

采用量子化学方法, 在 DFT-B3LYP/ 6-31G^[10-12] 水平上对所合成的 11 种目标化合物进行了理论计算优化后的分子构型图(**4a**, **6a**)如图 1 所示, 表 3 列出了计算后所得的前线分子轨道贡献。根据分子轨道理论, 最高

表 2 化合物 **4a**~**4g** 和 **6a**~**6d** 的抑菌活性[剂量/(\$\mu\text{g}\cdot\text{disc}^{-1}\$)]^a

Table 2 Antimicrobial activity of compounds **4a**~**4g** and **6a**~**6d** [Dose/(\$\mu\text{g}\cdot\text{disc}^{-1}\$)]

Compd.	<i>C. albicans</i>			<i>C. neoformans</i>			<i>B. subtilis</i>		
	200	100	50	200	100	50	200	100	50
4a	—	—	—	9.4	7.0	—	—	—	—
4b	—	—	—	—	—	—	9.0	7.0	—
4c	—	—	—	—	—	—	8.2	—	—
4d	12.1	10.2	7.0	11.1	—	—	—	—	—
4e	—	—	—	—	—	—	7.8	7.0	—
4f	—	—	—	—	—	—	10.0	8.5	—
4g	7.0	—	—	7.0	—	—	—	—	—
6a	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6b	13.2	9.3	7.0	—	—	—	—	—	—
6c	11.3	8.9	—	—	—	—	—	—	—
6d	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Fluconazole	32	30	25	35	34	33	NT	NT	NT
Cedroxil	NT	NT	NT	NT	NT	NT	25	22	20

^a The values indicate the average diameters in mm (of three trials) for the zone of growth inhibition observed. Error values are within ± 0.5 mm. NT: not tested.

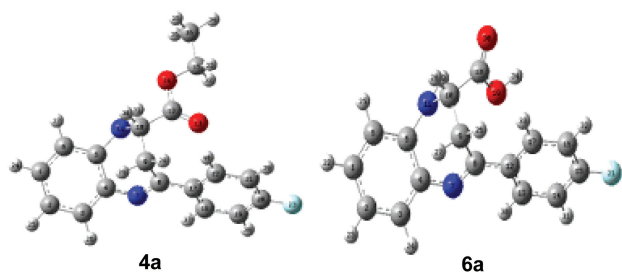


图1 化合物 4a 和 6a 的优化构型

Figure 1 The optimized molecular conformer of compounds 4a and 6a

表3 HOMO 与 LUMO 轨道主要成分分布(%)

Table 3 The HOMO and LUMO orbital compositions (%)

Compd.	HOMO				LUMO		
	C(4)	C(5)	N(7)	N(11)	C(5)	N(7)	C(8)
4a	9.50	7.50	14.20	14.70	5.80	16.00	14.80
4b	10.20	7.10	9.30	29.80	6.10	15.90	14.50
4c	10.50	6.60	11.80	16.20	6.10	15.50	16.40
4d	10.30	7.50	10.00	29.10	6.40	16.00	15.55
4e	8.90	7.50	15.50	11.10	5.80	15.40	16.60
4f	10.18	7.26	10.29	29.82	6.16	15.53	15.79
4g	9.79	7.37	11.58	22.82	6.04	14.99	15.00
6a	10.42	7.68	11.14	25.20	6.30	16.40	16.20
6b	10.40	7.50	10.50	25.60	6.20	16.40	15.30
6c	10.30	7.50	10.40	26.40	6.20	16.40	15.00
6d	10.50	7.80	11.30	26.00	6.50	16.60	16.40

占有轨道(HOMO) 和最低占有轨道(LUMO) 及其附近的分子轨道对生物活性影响最大, HOMO 具有优先提供电子的重要作用, LUMO 具有接受电子的重要作用^[13-15], 生物活性作用多发生在前线轨道(LUMO 和 HOMO)上^[16]. 因此研究前沿轨道的性质可以为确定活性部位以及探讨作用机制等提供重要依据^[17].

杂草类分子的七元环是药物活性区^[18], 表3中列出了七元环上轨道贡献大于5%的主要原子. 从表3中可以看出, 对HOMO贡献大的是N(11), 对LUMO贡献大的是N(7), C(8), 在药理学中, 当药物分子与受体相互作用时, 必须通过两者之间电子的相互作用来进行^[19], 由此可推断目标化合物分子中N(11)可能是作为电子供体与受体菌作用, N(7), C(8)作为电子接受体与受体菌作用. 综合分析表2和表3, 发现对枯草杆菌具有抑制活性的化合物是4f, 4b, 4c, 4e, 随着抑制活性的降低(4f>4b>4c>4e), 4种化合物中N(11)对HOMO的轨道贡献(29.82%, 29.80%, 16.20%, 11.10%)也随之降低; 同时发现对白色念珠菌和新型隐球菌具有抑制活性的是6b, 4d, 6c, 4a, 4g, 这些化合物的活性与分子中C=N基团对LUMO的轨道贡献有关系, 随着活性的降低C=N基团对LUMO的轨道贡献(31.70%, 31.55%, 31.40%, 30.80%, 29.99%)随之降低. 由此可推断, N(11)可能是与

枯草杆菌受体发生作用的主要活性部位, 可以作为电子给予区域与枯草杆菌受体结合; C=N基团是与白色念珠菌和新型隐球菌受体发生反应的主要活性部位, 可以作为电子接受区域与白色念珠菌和新型隐球菌受体结合^[20], 同时进一步说明所合成的化合物对细菌(枯草杆菌)和真菌(白色念珠菌和新型隐球菌)的抑菌作用机制不同, 并且对不同菌株的抑菌活性具有一定的选择性和特异性.

2 结论

采用药物设计方法设计合成了11种未见文献报道的新化合物2-乙氧羰基(羧基)-4-取代苯基-2,3-二氢-1H-苯并[b][1,4]二氮杂草(4a~4g和6a~6d), 并对其进行了抑菌活性测试, 采用密度泛函方法在B3LYP/6-31G水平研究了其化合物的微观结构和抑菌活性关系, 得出结论如下:

所合成的目标化合物4a~4g和6a~6d通过¹H NMR, IR, MS, 元素分析确定了结构. 得出了选择合成目标化合物的优化反应条件, 提出了可能的反应机理.

9种目标化合物具有一定抑菌活性, 并表现出对本文所研究的细菌(枯草杆菌)和真菌(白色念珠菌和新型隐球菌)有一定的选择性和特异性, 即对真菌有抑制活性的化合物对细菌没有活性, 对细菌有抑制活性的化合物对真菌没有活性.

通过微观结构和抑菌活性关系研究结果表明, 目标化合物七元环上的N(11)和C=N分别是抑制细菌(枯草杆菌)和真菌(白色念珠菌和新型隐球菌)的活性部位.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

邻苯二胺、顺丁烯二酸酐、取代苯、无水乙醇、碳酸钠、乙醚、石油醚、乙酸乙酯等均为分析纯试剂, 液体试剂均经过干燥处理后使用; TLC选用青岛海洋化工厂GF25硅胶, 于紫外灯下观察显色.

美国BIO-RAD PE-M-1730型红外光谱仪; 德国Bruker AVANCE500MHZ型核磁共振仪(TMS为内标); 美国PMG型质谱仪; RE-52AA型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂); RY-1型熔点测定仪(天津市仪器分析厂); 恒温磁力加热搅拌器(河南予华仪器有限公司); 磁力搅拌器(河南予华仪器有限公司)

3.2 实验方法

3.2.1 2-乙氧羰基-4-取代苯基-2,3-二氢-1H-苯并[b][1,4]二氮杂草(4a~4g)的合成

化合物 γ -芳基- α,β -不饱和丁烯酮酸(1a~1g)参照文献方法^[21]合成, 产物为浅黄色固体粉末, 产率分别为:

85.5%, 87.0%, 75.6%, 90.4%, 87.2%, 81.6%, 84.6%.

化合物 γ -芳基- α,β -不饱和丁烯酮酯乙酯(**2a~2g**)的合成: 称取 γ -芳基- α,β -不饱和丁烯酮酯 **1a~1g** (10 mmol)置于 100 mL 圆底烧瓶中, 加入无水乙醇(50 mL), 苯(10 mL), 浓硫酸(5 mmol), 加热回流并分水, TLC 监测反应进程, 反应约 8 h, 反应完毕, 冷却至室温, 加入饱和碳酸氢钠溶液至 pH=7~8, 分液, 水层用无水乙醚萃取, 合并有机层, 加无水硫酸钠干燥, 抽滤浓缩, 用硅胶柱层析分离得目标产物. 产物 **2d~2f** 为无色油状液体, **2a~2c** 及 **2g** 均为浅黄色固体. 产率分别为: 88.5%, 91.0%, 85.6%, 85.4%, 83.2%, 85.6%, 84.5%.

化合物 **4a~4g** 的合成: 在 100 mL 圆底烧瓶中加入邻苯二胺(2 mmol), **2a~2d** (2 mmol)或 **2e~2g** (4 mmol), 无水乙醇(30 mL), 催化剂(5 mmol%), 室温磁力搅拌, TLC 检测反应终点, 反应约 7 h, 将混合液冷冻, 析出黄色固体, 用无水乙醇重结晶可得到目标化合物 **4a~4g**.

2-乙氧羰基-4-(4-氟苯基)-2,3-二氢-1*H*-苯并[b][1,4]二氮杂草(**4a**): 浅黄色固体 0.50 g, 产率 81.3%. m.p. 82~84 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 1.30 (t, $J=7.00$ Hz, 3H), 2.85 (dd, $J_{\text{BA}}=13.50$ Hz, $J_{\text{XA}}=4.00$ Hz, 1H), 3.44 (dd, $J_{\text{AB}}=13.50$ Hz, $J_{\text{XB}}=11.00$ Hz, 1H), 4.53 (dd, $J_{\text{AX}}=4.00$ Hz, $J_{\text{BX}}=11.00$ Hz, 1H), 4.24 (q, $J=7.00$ Hz, 2H), 4.28 (s, 1H), 6.96~8.06 (m, 8H); IR (KBr) ν : 3356 (N—H), 1734 (C=O), 1605 (C=N) cm^{-1} ; MS (ESI^+) m/z (%): 313 ($[\text{M}^++1]$, 100). Anal. calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{FN}_2\text{O}_2$: C 69.22, H 5.49, N 8.97; found C 69.02, H 5.48, N 8.96.

2-乙氧羰基-4-(4-氯苯基)-2,3-二氢-1*H*-苯并[b][1,4]二氮杂草(**4b**): 浅黄色固体 0.59 g, 产率 89.5%. m.p. 88~90 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 1.31 (t, $J=7.20$ Hz, 3H), 2.86 (dd, $J_{\text{BA}}=13.50$ Hz, $J_{\text{XA}}=4.00$ Hz, 1H), 3.45 (dd, $J_{\text{AB}}=13.50$ Hz, $J_{\text{XB}}=11.00$ Hz, 1H), 4.52 (dd, $J_{\text{AX}}=4.00$ Hz, $J_{\text{BX}}=11.00$ Hz, 1H), 4.24 (q, $J=7.20$ Hz, 2H), 4.34 (s, 1H), 6.96~7.94 (m, 8H); IR (KBr) ν : 3363 (N—H), 1731 (C=O), 1609 (C=N) cm^{-1} ; MS (ESI^+) m/z (%): 329 ($[\text{M}^++1]$, 100). Anal. calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{ClN}_2\text{O}_2$: C 65.75, H 5.21, N 8.52; found C 63.74, H 5.20, N 8.51.

2-乙氧羰基-4-(4-溴苯基)-2,3-二氢-1*H*-苯并[b][1,4]二氮杂草(**4c**): 浅黄色固体 0.67 g, 产率 89.2%. m.p. 99~100 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 1.30 (t, $J=7.20$ Hz, 3H), 2.85 (dd, $J_{\text{BA}}=13.75$ Hz, $J_{\text{XA}}=4.00$ Hz, 1H), 3.44 (dd, $J_{\text{AB}}=13.75$ Hz, $J_{\text{XB}}=11.00$ Hz, 1H), 4.52 (dd, $J_{\text{AX}}=4.00$ Hz, $J_{\text{BX}}=11.00$ Hz, 1H), 4.24 (q, $J=7.20$ Hz, 2H), 4.34 (s, 1H), 6.95~7.99 (m, 8H); IR (KBr) ν : 3362 (N—H), 1730 (C=O), 1609 (C=N) cm^{-1} ; MS

(ESI^+) m/z (%): 373 ($[\text{M}^++1]$, 100). Anal. calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{BrN}_2\text{O}_2$: C 57.92, H 4.59, N 7.51; found C 57.81, H 4.60, N 7.52.

2-乙氧羰基-4-苯基-2,3-二氢-1*H*-苯并[b][1,4]二氮杂草(**4d**): 白色固体 0.48 g, 产率 81.7%. m.p. 84~86 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 1.29 (t, $J=7.00$ Hz, 3H), 2.84 (dd, $J_{\text{BA}}=12.87$ Hz, $J_{\text{XA}}=4.00$ Hz, 1H), 3.94 (dd, $J_{\text{AB}}=12.87$ Hz, $J_{\text{XB}}=11.00$ Hz, 1H), 4.54 (dd, $J_{\text{AX}}=4.00$ Hz, $J_{\text{BX}}=11.00$ Hz, 1H), 4.23 (q, $J=7.00$ Hz, 2H), 4.29 (s, 1H), 6.95~8.03 (m, 9H); IR (KBr) ν : 3345 (N—H), 1734 (C=O), 1611 (C=N) cm^{-1} ; MS (ESI^+) m/z (%): 395 ($[\text{M}^++1]$, 100). Anal. calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$: C 73.45, H 6.16, N 9.52; found C 73.44, H 6.18, N 9.53.

2-乙氧羰基-4-(4-甲基苯基)-2,3-二氢-1*H*-苯并[b][1,4]二氮杂草(**4e**): 黄色固体 0.55 g, 产率 89.4%. m.p. 80~82 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 1.31 (t, $J=7.20$ Hz, 3H), 2.42 (s, 3H), 2.81 (dd, $J_{\text{BA}}=13.25$ Hz, $J_{\text{XA}}=3.75$ Hz, 1H), 3.47 (dd, $J_{\text{AB}}=13.25$ Hz, $J_{\text{XB}}=11.50$ Hz, 1H), 4.53 (dd, $J_{\text{AX}}=3.75$ Hz, $J_{\text{BX}}=11.50$ Hz, 1H), 4.25 (q, $J=7.20$ Hz, 2H), 4.26 (s, 1H), 6.95~7.94 (m, 8H); IR (KBr) ν : 3367 (N—H), 1731 (C=O), 1605 (C=N) cm^{-1} ; MS (ESI^+) m/z (%): 309 ($[\text{M}^++1]$, 100). Anal. calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$: C 74.00, H 6.54, N 9.08; found C 74.01, H 6.55, N 9.07.

2-乙氧羰基-4-(4-乙基苯基)-2,3-二氢-1*H*-苯并[b][1,4]二氮杂草(**4f**): 黄色固体 0.47 g, 产率 72.6%. m.p. 92~94 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 1.27 (t, $J=7.50$ Hz, 3H), 1.30 (t, $J=7.20$ Hz, 3H), 2.74 (q, $J=7.50$ Hz, 2H), 2.61 (dd, $J_{\text{BA}}=13.00$ Hz, $J_{\text{XA}}=11.50$ Hz, 1H), 3.48 (dd, $J_{\text{AB}}=13.00$ Hz, $J_{\text{XB}}=4.00$ Hz, 1H), 4.53 (dd, $J_{\text{AX}}=11.50$ Hz, $J_{\text{BX}}=4.00$ Hz, 1H), 4.24 (q, $J=7.20$ Hz, 2H), 4.26 (s, 1H), 6.95~7.96 (m, 8H); IR (KBr) ν : 3368 (N—H), 1731 (C=O), 1605 (C=N) cm^{-1} ; MS (ESI^+) m/z (%): 395 ($[\text{M}^++1]$, 100). Anal. calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$: C 74.51, H 6.88, N 8.69; found C 74.54, H 6.89, N 8.69.

2-乙氧羰基-4-(4-甲氧基苯基)-2,3-二氢-1*H*-苯并[b][1,4]二氮杂草(**4g**): 黄色固体 0.42 g, 产率 65.5%. m.p. 96~98 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 1.31 (t, $J=6.80$ Hz, 3H), 2.81 (dd, $J_{\text{BA}}=12.50$ Hz, $J_{\text{XA}}=10.50$ Hz, 1H), 3.46 (dd, $J_{\text{AB}}=12.50$ Hz, $J_{\text{XB}}=4.00$ Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 4.53 (dd, $J_{\text{AX}}=10.50$ Hz, $J_{\text{BX}}=4.00$ Hz, 1H), 4.25 (s, 1H), 4.23 (q, $J=6.8$ Hz, 2H), 6.97~8.02 (m, 8H); IR (KBr) ν : 3360 (N—H), 1732 (C=O), 1604 (C=N) cm^{-1} ; MS (ESI^+) m/z (%): 325 ($[\text{M}^++1]$, 100). Anal. calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$: C 70.35, H 6.21, N 8.64; found C 70.24, H

6.22, N 8.64.

3.2.2 2-羧基-4-取代苯基-2,3-二氢-1*H*-苯并[*b*][1,4]二氮杂草(6a~6d)的合成

在 100 mL 的圆底烧瓶中, 加入邻苯二胺(4 mmol)与 γ -芳基- α,β -不饱和丁烯酮酸(2a~2d) (4 mmol), 加入无水乙醇(15 mL), 在冰盐浴的条件下($-10\text{ }^{\circ}\text{C}$), 磁力搅拌, TLC 检测反应终点, 约 3~5 h 析出白色固体粉末, 固体用氯仿洗涤或用正己烷重结晶得固体粉末即为目标化合物 6a~6d.

2-羧基-4-(4-氟苯基)-2,3-二氢-1*H*-苯并[*b*][1,4]二氮杂草(6a): 浅黄色粉末 0.64 g, 产率 56.6%. m.p. $130\sim 132\text{ }^{\circ}\text{C}$; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 3.08 (dd, $J_{\text{BA}}=18.13\text{ Hz}$, $J_{\text{XA}}=4.75\text{ Hz}$, 1H), 3.14 (dd, $J_{\text{AB}}=18.13\text{ Hz}$, $J_{\text{XB}}=7.75\text{ Hz}$, 1H), 4.51 (dd, $J_{\text{AX}}=4.75\text{ Hz}$, $J_{\text{BX}}=7.75\text{ Hz}$, 1H), 5.77 (s, 1H), 6.61~8.09 (m, 8H), 12.74 (s, 1H); IR (KBr) ν : 3293 (N—H), 1706 (C=O), 1602 (C=N) cm^{-1} ; MS (ESI^+) m/z (%): 285 ($[\text{M}^++1]$, 100). Anal. calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{FN}_2\text{O}_2$: C 67.70, H 4.61, N 9.85; found C 67.65, H 4.60, N 9.84.

2-羧基-4-(4-氯苯基)-2,3-二氢-1*H*-苯并[*b*][1,4]二氮杂草(6b): 浅黄色粉末 0.81 g, 产率 67.8%. m.p. $138\sim 139\text{ }^{\circ}\text{C}$; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 3.07 (dd, $J_{\text{BA}}=12.63\text{ Hz}$, $J_{\text{XA}}=4.50\text{ Hz}$, 1H), 3.13 (dd, $J_{\text{AB}}=12.63\text{ Hz}$, $J_{\text{XB}}=7.00\text{ Hz}$, 1H), 4.52 (dd, $J_{\text{AX}}=4.50\text{ Hz}$, $J_{\text{BX}}=7.00\text{ Hz}$, 1H), 5.84 (s, 1H), 6.81~8.00 (m, 8H), 12.69 (s, 1H); IR (KBr) ν : 3294 (N—H), 1707 (C=O), 1601 (C=N) cm^{-1} ; MS (ESI^+) m/z (%): 299 ($[\text{M}^+-1]$, 100). Anal. calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{O}_2$: C 63.90, H 4.36, N 9.31; found C 63.91, H 4.38, N 9.31.

2-羧基-4-(4-溴苯基)-2,3-二氢-1*H*-苯并[*b*][1,4]二氮杂草(6c): 黄色粉末 0.87 g, 产率 63.5%. m.p. $140\sim 142\text{ }^{\circ}\text{C}$; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 3.07 (dd, $J_{\text{BA}}=13.50\text{ Hz}$, $J_{\text{XA}}=5.50\text{ Hz}$, 1H), 3.13 (dd, $J_{\text{AB}}=13.50\text{ Hz}$, $J_{\text{XB}}=8.50\text{ Hz}$, 1H), 4.52 (dd, $J_{\text{AX}}=5.50\text{ Hz}$, $J_{\text{BX}}=8.50\text{ Hz}$, 1H), 5.87 (s, 1H), 6.81~7.99 (m, 8H), 12.74 (s, 1H); IR (KBr) ν : 3295 (N—H), 1707 (C=O), 1586 (C=N) cm^{-1} ; MS (ESI^+) m/z (%): 345 ($[\text{M}^+]$, 100). Anal. calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{BrN}_2\text{O}_2$: C 55.67, H 3.80, N 8.12; found C 55.68, H 3.80, N 8.11.

2-羧基-4-苯基-2,3-二氢-1*H*-苯并[*b*][1,4]二氮杂草(6d): 浅黄色粉末 0.75 g, 产率 70.6%. m.p. $135\sim 136\text{ }^{\circ}\text{C}$; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 3.06 (dd, $J_{\text{BA}}=14.00\text{ Hz}$, $J_{\text{XA}}=6.00\text{ Hz}$, 1H), 3.15 (dd, $J_{\text{AB}}=14.00\text{ Hz}$, $J_{\text{XB}}=9.00\text{ Hz}$, 1H), 4.52 (dd, $J_{\text{AX}}=6.00\text{ Hz}$, $J_{\text{BX}}=9.00\text{ Hz}$, 1H), 5.74 (s, 1H), 6.84~7.99 (m, 8H), 12.75 (s, 1H); IR (KBr)

ν : 3294 (N—H), 1707 (C=O), 1605 (C=N) cm^{-1} ; MS (ESI^+) m/z (%): 267 ($[\text{M}^++\text{H}]$, 60). Anal. calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$: C 72.16, H 5.30, N 10.52; found C 72.14, H 5.30, N 10.52.

3.3 目标化合物的生物活性测试

采用滤纸片法对所合成的 11 种目标化合物进行抑菌活性测试, 将样品溶解和梯度稀释, 使滤纸片上的药物含量分别为 200, 100, 50 μg . 用 YPD 培养基活化白色念珠球菌, 标准新生隐球菌, 枯草杆菌, 使其处于对数生长期, 再将其涂布于 MHA 培养基平板上, 待干后, 分别贴上上述处理好的滤纸片, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温倒置培养 24 h, 观察结果, 游标卡尺测量抑菌圈的大小.

References

- [1] Mario, D. B.; Giancarlo, G.; Giorgio, R.; Laura, V.; Massimo, M.; Maria, E. M. *Eur. J. Med. Chem.* **2001**, *36*, 935.
- [2] Paolo, F.; Marcello, S.; Mario, D. B.; Luisa, D.; Nicola, P.; Alfredo, C.; Giancarlo, G.; Marla, R.; Tiziana, M.; Giorgio, R. *Pharmacol. Res.* **2001**, *43*, 5.
- [3] Sang, K. H.; Donthabhaktuni, S.; Eunjung, M.; Murugulla, A. C.; Kagga, M.; Sung-Hoon, K.; Kwang-Hyun, A.; Sun, Y. K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 3969.
- [4] Liu, J. B.; Lin, C. L.; Wan, Y. Q.; Song, H. C. *Chin. J. Org. Chem.* **2008**, *28*, 317 (in Chinese). (刘进兵, 林崇懒, 万一千, 宋化灿, 有机化学, **2008**, *28*, 317.)
- [5] Konda, S. G.; Shaikh, B. M.; Chavan, S. A.; Dawane, B. S. *Chin. Chem. Lett.* **2011**, *22*, 65.
- [6] Kapil, A.; Anshu, D. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *18*, 114.
- [7] Sofie, V. D.; Patrick, B. *J. Mol. Struct.* **2010**, *943*, 83.
- [8] Zhao, W. B.; Peng, W. C.; Zhao, N.; Xiao, F. K.; Wei, W.; Sun, Y. H. *Petrochem. Technol.* **2009**, *38*, 267 (in Chinese). (赵文波, 彭伟才, 赵宁, 肖福魁, 魏伟, 孙予罕, 石油化工, **2009**, *38*, 267.)
- [9] Shu, K.; Tsuyoshi, B.; Satoshi, N. *Chem. Eur. J.* **2006**, *6*, 3491.
- [10] Mehmet, S. K.; Çiğdem, Y.; Mehmet, Y.; Nurcan, K.; Zharmukhamedov, S. K.; Shitov, A.; Los, D. A.; Klimov, V. V.; Allakhverdiev, S. I. *Biochim. Biophys. Acta* **2012**, *8*, 5.
- [11] Zhu, M. J.; Ge, F.; Zhu, R. L.; Wang, X. Y.; Zheng, X. Y. *Chemosphere* **2010**, *80*, 46.
- [12] Becke, A. D. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 5648.
- [13] Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G. *Phys. Rev. B* **1988**, *37*, 785.
- [14] Feng, C. J. *Acta Chim. Sinica* **2012**, *70*, 512 (in Chinese). (冯长君, 化学学报, **2012**, *70*, 512.)
- [15] Yue, K. F.; Zhuo, F.; Hou, L.; Jiang, Y. M.; Zhai, G. H.; Yin, B.; Wang, R. Y.; Wen, Z. Y. *Acta Chim. Sinica* **2011**, *69*, 596 (in Chinese). (岳可芬, 卓飞, 侯磊, 姜严梅, 翟高红, 尹兵, 王尧宇, 文振翼, 化学学报, **2011**, *69*, 596.)
- [16] Long, J. Y.; Yi, H. B.; Liu, X. K.; Wang, Y. F. *Acta Chim. Sinica* **2012**, *70*, 949 (in Chinese). (龙杰义, 易海波, 刘星楷, 汪易非, 化学学报, **2012**, *70*, 949.)
- [17] Song, X. M.; Chen, F. S.; Wang, S. L.; Liu, F. S.; Wu, H.; Xu, H. W. *Acta Chim. Sinica* **2011**, *69*, 2796 (in Chinese). (宋晓明, 陈夫山, 王松林, 刘福胜, 吴海, 徐环斐, 化学学报, **2011**, *69*, 2796.)
- [18] Hu, L. J. *M.S. Thesis*, Hebei Normal University, Shijiazhuang, **2012**

- (in Chinese).
(胡丽娟, 硕士论文, 河北师范大学, 石家庄, **2012**.)
- [19] Liang, R. L.; Yuan, J. W.; Qu, L. B. *Chin. J. Chin. Med.* **2011**, 26, 262 (in Chinese).
(梁瑞玲, 袁金伟, 屈凌波, 中医学报, **2011**, 26, 262.)
- [20] Xia, S. W.; Sun, W.; Yu, L. M.; Hua, Z. *Acta Chim. Sinica* **2007**, 65, 2707 (in Chinese).
(夏树伟, 孙玮, 于良民, 华哲, 化学学报, **2007**, 65, 2707.)
- [21] Huo, N. *Organic Synthesis*, Science Press, Beijing, **1981**, pp. 67~69 (in Chinese).
(E.C 霍宁, 有机合成, 科学出版社, 北京, **1981**, pp. 67~69.)

(Zhao, X.)