

新型含硫羰基结构的 Aspernigerin 衍生物的合成及抑菌活性研究

张晓鸣 雷 鹏 李欣潞 杨新玲 张学博
孙腾达 凌 云*

(中国农业大学理学院 应用化学系 北京 100193)

摘要 基于天然产物 Aspernigerin 的结构特征, 设计合成了一系列含有硫羰基结构的新型四氢喹啉类化合物. 化合物结构均经过 ^1H NMR, ^{13}C NMR, HRMS 确证, 用 X 射线单晶衍射测定了 (*E*)-3-(4-氟苯基)-1-[4-(1,2,3,4-四氢喹啉-1-羰基)哌嗪-1-基]丙-2-烯-1-酮(**5j**)的晶体结构. 并对目标化合物的抑菌活性进行了研究. 离体真菌抑制活性结果表明, 部分目标化合物显示出较好的生物活性, 其中 (*E*)-1-[4-(1,2,3,4-四氢喹啉-1-羰基)哌嗪-1-基]-3-(邻甲苯基)丙-2-烯-1-酮(**5b**)对苹果腐烂病菌的抑制活性($\text{EC}_{50}=3.04\ \mu\text{g/mL}$)优于对照药剂氟酰胺($\text{EC}_{50}=9.16\ \mu\text{g/mL}$), 可作为二级先导进行进一步的优化研究.

关键词 天然产物; Aspernigerin; 四氢喹啉; 合成; 抗真菌活性

Synthesis and Anti-fungal Activity of Novel Aspernigerin Derivatives Containing Thiocarbonyl Moiety

Zhang, Xiaoming Lei, Peng Li, Xinlu Yang, Xinling Zhang, Xuebo
Sun, Tengda Ling, Yun*

(Department of Applied Chemistry, College of Science, China Agricultural University, Beijing 100193)

Abstract Based on the structure of natural product aspernigerin, a series of novel tetrahydroquinoline compounds containing thiocarbonyl moiety were designed and synthesized. The structures of the title compounds were confirmed by ^1H NMR, ^{13}C NMR and HRMS, and the crystal structure of (*E*)-3-(4-fluorophenyl)-1-(4-(1,2,3,4-tetrahydroquinoline-1-carbonothioyl)piperazin-1-yl)prop-2-en-1-one (**5j**) was determined by X-ray single crystal diffraction. The bioassay results indicated that (*E*)-1-(4-(1,2,3,4-tetrahydroquinoline-1-carbonothioyl)piperazin-1-yl)-3-(*o*-tolyl)prop-2-en-1-one (**5b**) exhibited good anti-fungal activity against *Valsa mali* ($\text{EC}_{50}=3.04\ \mu\text{g/mL}$), which was better than the commercial fungicide fluoramide ($\text{EC}_{50}=9.16\ \mu\text{g/mL}$).

Keywords natural product; aspernigerin; tetrahydroquinoline; synthesis; anti-fungal activity

天然产物在农药领域扮演着重要的角色, 但鉴于一些天然产物含量低、稳定性差、活性有限等问题, 限制了其在农业上的广泛应用. 以天然产物为先导进行结构修饰与改造是创制新农药的重要途径之一^[1], 如氨基甲酸酯类、拟除虫菊酯类、新烟碱类、沙蚕毒素类杀虫剂^[2,3]以及甲氧基丙烯酸类杀菌剂^[4,5]等均由天然产物出发, 经修饰改造而最终成为农药. 以天然产物为模型进行新农药创制, 具有目标性强、高效、低毒等优点^[6].

据报道, 天然产物 Aspernigerin 对人的口腔表皮癌细胞 KB、宫颈癌细胞 Hela、结肠癌细胞 SW1116 表

现出较强的生物活性^[7], 本课题组前期开展了 Aspernigerin 在农业领域的应用研究, 经过对其进行农用生物活性测试, 发现其具有一定的杀菌、杀虫和除草活性^[8], 可以作为先导化合物进行优化研究. 对 Aspernigerin 的结构分析发现, 其主要结构单元有 1,2,3,4-四氢喹啉和哌嗪环, 且可能是起生物活性作用的主要片段. 根据文献调研, 1,2,3,4-四氢喹啉的确存在于许多天然产物结构中, 并表现出良好的抗癌^[9]、抗艾滋^[10]、抗炎^[11]、抗疟疾^[12]、杀虫^[13]、抗真菌^[14,15]、抗细菌^[16]等生物活性, 但其活性研究多集中在医药领域, 农用领

* Corresponding author. E-mail: lyun@cau.edu.cn

Received July 2, 2018; revised July 24, 2018; published online September 5, 2018.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21472236).

国家自然科学基金(No. 21472236)资助项目.

域的研究较少. 哌嗪是 Aspernigerin 的另一结构单元, 由于哌嗪环具有更好的氮平衡对称结构, 引入哌嗪环作为药物的增效基团, 可以提高药物的生物活性^[17]. 哌嗪类化合物由此显示出了广泛的生物活性, 如抗病毒^[18]、抗菌^[19]、抗肿瘤^[20]、抗疟疾^[21]、抗艾滋^[22]等. 近年来, 有关哌嗪类化合物的报道逐渐增多, 并以较快的速度递增, 特别是与此有关的氮杂环药物在农药和医药上的应用. 一些代表性的含喹啉或哌嗪结构的药物见图 1.

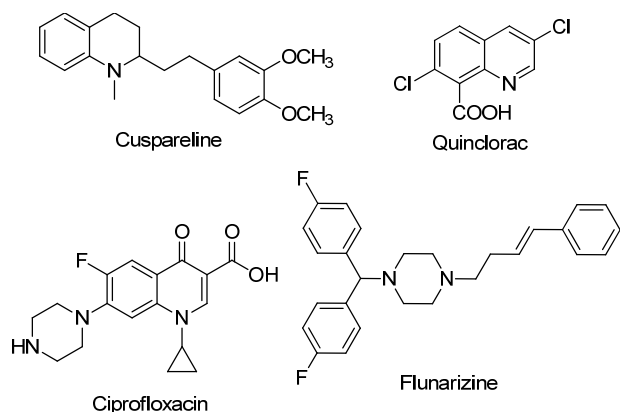
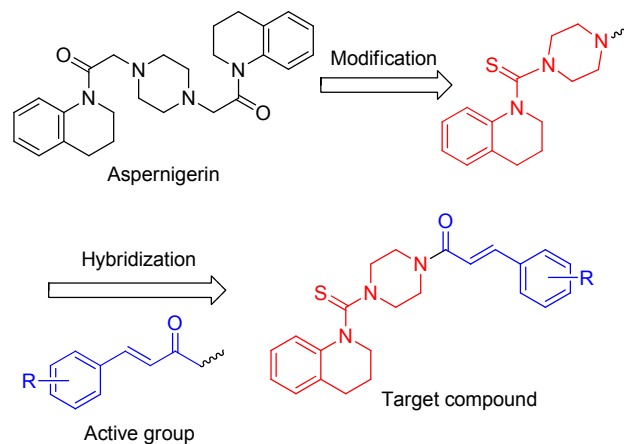


图 1 一些代表性的含喹啉或哌嗪结构的药物

Figure 1 Some drugs molecules containing quinoline or piperazine

为了开发具有更好杀菌活性的化合物, 我们保留了 Aspernigerin 的四氢喹啉和哌嗪活性结构片段, 根据生物电子等排原理, 用硫羰基替换羰基, 并与天然产物肉桂酸进行活性亚结构拼接, 设计合成了一系列含有硫羰基结构的 Aspernigerin 衍生物(Scheme 1). 并选取油菜菌核(*Sclerotinia sclerotiorum*)、黄瓜灰霉(*Botrytis cinerea*)、苹果腐烂(*Valsa mali*)、小麦赤霉(*Fusarium graminearum*)、稻瘟(*Magnaporthe grisea*)、小麦全蚀(*Gaeumam-*

omyces graminis var. tritici)、水稻纹枯(*Rhizoctonia solani*)和瓜果腐霉(*Pythium aphanidermatum*) 8 种病原真菌为测试对象, 对目标化合物进行了离体抑菌活性测定, 结果表明目标化合物均具有一定的抑菌活性.



图式 1 目标化合物的设计思路

Scheme 1 Design strategy of the target compounds

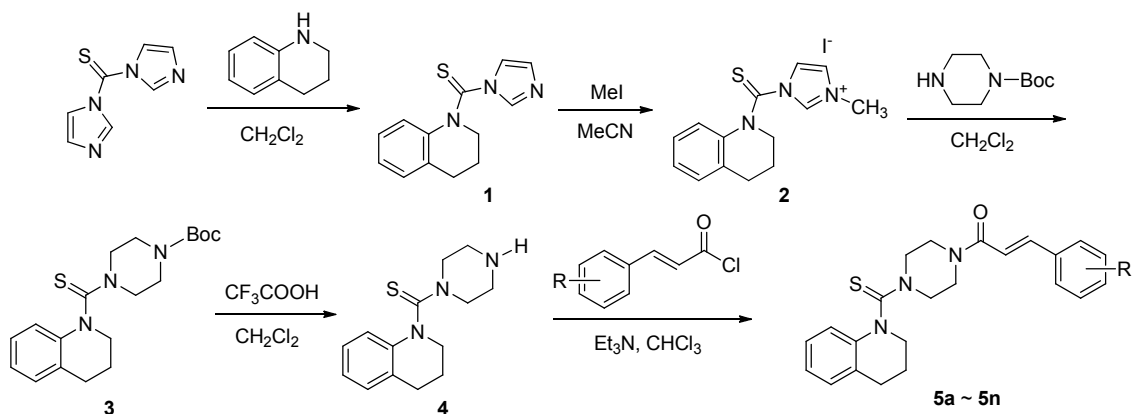
1 结果与讨论

1.1 目标化合物的合成

目标化合物的合成路线如 Scheme 2 所示. 以 *N,N*-硫羰基咪唑和 1,2,3,4-四氢喹啉为起始原料, 经胺化、碘甲烷活化、再次胺化制得关键中间体(3,4-二氢喹啉-1-(2*H*-基)(哌嗪-1-基)甲硫酮(4), 之后与取代肉桂酰氯反应得到目标化合物 5a~5n.

1.2 谱图解析

所合成的目标化合物均通过 ¹H NMR、¹³C NMR 和 HRMS 确定结构. 以化合物 5c 为例进行解析. 从 5c 的



5a: R = H; 5b: R = 2-Me; 5c: R = 2-Cl; 5d: R = 3-CF₃; 5e: R = 3-OMe; 5f: R = 3-Cl; 5g: R = 4-Me; 5h: R = 4-CF₃; 5i: R = 4-NO₂; 5j: R = 4-F; 5k: R = 4-Cl; 5l: R = 4-Br; 5m: R = 4-OMe; 5n: R = 2,6-Cl₂

图式 2 目标化合物的合成路线

Scheme 2 Synthetic route of the target compounds

核磁共振氢谱可以看出, 四氢喹啉环上 3-位的 2 个质子由于受到 2-位和 4-位质子的影响, 裂分为多重峰, 化学位移在 δ 1.88~2.00 处; 化学位移在 δ 2.75 处的信号峰是四氢喹啉环 4-位质子的信号, 因受 3-位质子的影响裂分为三重峰, 偶合常数为 6.7 Hz; 四氢喹啉环 2-位的 2 个质子, 受邻位 N 原子的影响, 化学位移向低场移动, 并与哌嗪环上的 8 个质子信号峰重叠, 在化学位移 δ 3.54~4.04 出现信号; δ 7.80 和 7.26 的两个信号为 C=C 双键的信号峰, 受邻位 C 原子影响, 分裂为双峰, 偶合常数 15.4 Hz; 其余分别为苯环上氢的质子信号峰. 在核磁共振碳谱中, 目标物羰基的 C 原子位移值为 δ 164.25; 硫羰基的 C 原子, 由于受 N 原子的影响, 化学位移为 188.72, 向低场移动; δ 119.2~141.67 为苯环和 C=C 双键上 C 原子的信号峰; 四氢喹啉环上 2-位的 C, 由于相邻 N 原子的诱导作用向低场移动, 位移值为 δ 50.47; 四氢喹啉环上 4-位的 C 与苯环相连, 移向低场, 位移值为 26.38; 四氢喹啉环上 3-位的 C 位移值为 δ 23.10; 哌嗪环上 4 个 C 的位移值分别为 δ 50.18, 49.52, 44.13 和 41.22.

1.3 目标化合物 5j 的晶体结构

为进一步确证目标化合物的晶体结构, 对目标化合物 5j 进行了 X 射线单晶衍射分析 (CCDC 号为 1847462), 化合物 5j 的晶体结构见图 2, 将化合物 5j 溶于乙酸乙酯中, 配制成适当浓度的溶液, 避光, 室温静置挥发溶剂, 数日后形成无色透明晶体. 挑选尺寸适中的晶体, 用于 X 射线衍射分析.

X 射线单晶衍射分析结果表明, 化合物 5j 分子式为 $C_{23}H_{24}FN_3OS$, 分子量 $M_r=409.51$, 晶型: 单斜晶系, 空

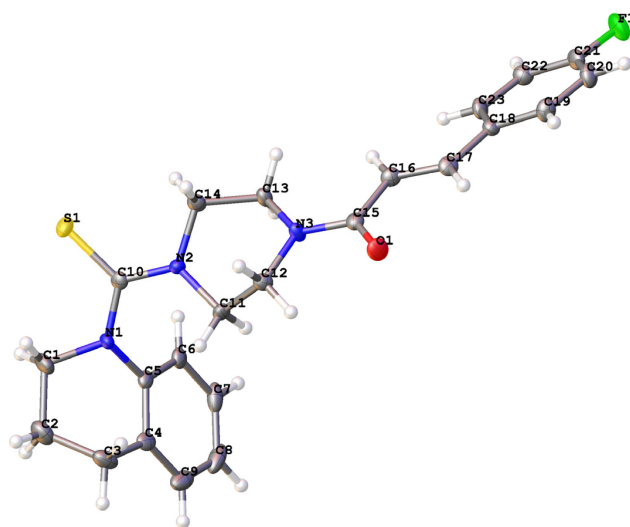


图 2 化合物 5j 的晶体结构图

Figure 2 Crystal structure of compound 5j

间群: $P2_1/c$, 晶胞参数: $a=19.8075(18)$ Å, $b=5.9150(4)$ Å, $c=17.460(2)$ Å, $\alpha=90.00^\circ$, $\beta=102.567(12)^\circ$, $\gamma=90.00^\circ$, $V=1996.6(3)$ Å³; $D_c=1.362$ g/cm³; $Z=4$; $F(000)=864$; $\mu=0.191$ mm⁻¹, 晶体结构修正后的一致性因子: $R_1=0.0385$ [$I>2\sigma(I)$], $wR_2=0.0765$, $R_1=0.0542$, $wR_2=0.0799$ (所有数据).

1.4 生物活性

表 1 中实验数据表明, 在 50 µg/mL 浓度下, 目标化合物 5a~5n 对 8 种病原真菌均表现出不同程度的抑制活性, 尤其是化合物 5b 对苹果腐烂病菌的抑制活性 (84.02%) 与对照药剂氟酰胺 (81.47%) 相当. 此外, 化合物 5a 和 5m 也同样对苹果腐烂病表现出了较好的抑制

表 1 目标化合物 5a~5n 的离体抑菌活性(抑制率/%)^a
Table 1 *In vitro* antifungal activity of target compounds 5a~5n (inhibitory rate/%)

Compd.	R	油菜菌核	黄瓜灰霉	苹果腐烂	小麦赤霉	稻瘟	小麦全蚀	水稻纹枯	瓜果腐霉
5a	H	73.73	32.63	72.93	37.05	16.06	36.35	48.77	27.33
5b	2-Me	75.72	27.54	84.02	22.77	33.94	24.17	27.27	18.98
5c	2-Cl	35.51	17.37	60.06	19.64	37.61	19.74	42.94	16.45
5d	3-CF ₃	40.38	17.37	35.21	17.41	10.55	14.76	24.85	18.39
5e	3-OMe	28.74	15.87	66.17	26.93	16.06	28.73	0.72	15.84
5f	3-Cl	69.75	17.80	22.78	21.43	34.40	19.19	37.73	15.67
5g	4-Me	30.33	33.05	57.84	39.73	15.14	26.94	56.75	24.61
5h	4-CF ₃	34.62	42.37	16.57	45.98	42.66	26.38	36.20	21.89
5i	4-NO ₂	31.93	24.58	39.64	28.57	29.82	13.10	38.34	18.39
5j	4-F	50.66	26.27	54.73	35.71	15.60	34.13	42.64	24.61
5k	4-Cl	42.85	25.42	25.00	20.98	17.43	18.08	33.44	22.28
5l	4-Br	49.84	15.68	11.24	17.86	11.93	23.62	44.79	25.00
5m	4-OMe	38.73	31.35	75.74	32.09	9.00	38.51	26.81	20.20
5n	2,6-Cl ₂	62.18	11.44	24.11	15.18	14.68	38.01	32.21	15.28
氟酰胺		95.03	79.79	81.47	35.52	45.62	98.31	98.44	17.18

^a 浓度为 50 µg/mL.

活性(抑制率分别为 72.93%和 75.74%), 化合物 **5c**、**5e**、**5g** 和 **5j** 的抑制活性呈中等水平(54.73%~66.17%)。部分化合物对油菜菌核病菌表现出 >50% 的抑制活性, 如化合物 **5a** (73.73%)、**5b** (75.72%)、**5f** (69.75%) 和 **5n** (62.18%), 但低于对照药剂氟酰胺。化合物对于所测试的其它病原真菌则无明显的抑制活性。进一步分析构效关系发现: 取代基的种类和位置对其抑菌活性有一定的影响。如对于苹果腐烂病菌, 给电子取代基优于吸电子取代基, 取代基位置对活性也有一定影响, 2-位 > 4-位 > 3-位。

化合物 **5b** 对苹果腐烂病菌的抑制中浓度值(EC_{50} = 3.04 $\mu\text{g/mL}$) 低于对照药剂氟酰胺(EC_{50} = 9.16 $\mu\text{g/mL}$) (表 2), 表明化合物 **5b** 对苹果腐烂病菌的活性优于对照药剂氟酰胺, 值得进一步研究。

表 2 化合物 **5b** 对苹果腐烂病菌的 EC_{50} 值
Table 2 EC_{50} of compound **5b** against *Valsa mali*

Compd.	$y=ax+b$	$EC_{50}/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	r
5b	$1.0699x-0.5173$	3.04	0.9779
氟酰胺	$0.8550x-0.8225$	9.16	0.9589

2 结论

利用活性亚结构拼接原理, 设计并合成了 14 个未见文献报道的新型含有硫羰基结构的 Aspernigerin 衍生物。目标化合物结构均经过 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 和 HRMS 确证。对 8 种病原真菌离体活性测试结果显示, 所有化合物均表现出一定的抑制活性, 尤其是化合物 **5b** 对苹果腐烂病菌的活性(EC_{50} = 3.04 $\mu\text{g/mL}$) 优于对照药剂氟酰胺(EC_{50} = 9.16 $\mu\text{g/mL}$), 可以作为二级先导进行进一步的优化。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

Bruker DPX 300 MHz 核磁共振仪(以 TMS 为内标, DMSO 为溶剂); Bruker APEX IV 傅立叶变换高分辨质谱; Gemini E 单晶衍射仪。本实验所用柱层析硅胶(200~300 目)和薄层板均为青岛海洋化工有限公司生产, 取代肉桂酸均购自北京偶合科技有限公司或希恩斯科技有限公司。所用试剂均为市售分析纯或化学纯试剂, 除特别注明外, 所用溶剂未经无水处理。

3.2 实验方法

中间体 **1** 和 **2** 参考文献[23]方法合成。

3.2.1 中间体 **3** 的合成

参考文献[23]的方法, 向 250 mL 圆底烧瓶中, 加入 14.9 g (0.08 mol) 1-叔丁氧羰基哌嗪, 8.10 g (0.08 mol) 三乙胺和 30 mL 二氯甲烷, 搅拌溶解, 将中间体 **2** 溶于 100

mL 二氯甲烷中, 加入反应体系, 40 $^{\circ}\text{C}$ 回流反应 24 h, 薄层色谱(TLC)监测反应终点。待反应完全后, 过滤, 100 mL 水洗三次, 合并有机相, 减压蒸出溶剂, 经柱层析分离纯化, [V (石油醚): V (乙酸乙酯) = 8:1], 得淡黄色固体 11.57 g (收率 80%), 即为中间体 **3**。m.p. 142~143 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.18~7.07 (m, 2H), 7.01~6.93 (m, 1H), 6.81 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 3.96 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.60 (s, 4H), 3.45~3.38 (m, 4H), 2.78 (t, J = 6.7 Hz, 2H), 2.08~1.97 (m, 2H), 1.44 (s, 9H)。

3.2.2 中间体 **4** 的合成

50 mL 圆底烧瓶中加入 1.5 mL 三氟乙酸, 3 mL 二氯甲烷, 搅拌混匀, 加入 1.08 g (3 mmol) 中间体 **3**, 室温下反应 1.5 h, 减压蒸出溶剂, 适量二氯甲烷溶解后, 用碳酸氢钠调至碱性, 即得中间体 **4**。不用经过进一步的纯化, 直接投入下一步反应。

3.2.3 目标化合物 **5a**~**5n** 的合成

向 50 mL 圆底烧瓶中, 加入 3.3 mmol 取代肉桂酸和 10 mL 氯仿, 搅拌溶解, 缓慢滴加 1.18 g 氯化亚砷, 并滴入 1~2 滴 N,N -二甲基甲酰胺(DMF), 滴毕加热回流 2 h, 减压蒸出氯仿和多余的氯化亚砷制得取代肉桂酰氯, 溶于 2 mL 无水二氯甲烷备用。

向 50 mL 圆底烧瓶中, 加入 0.78 g (3 mmol) 中间体 **4**、3 mL 二氯甲烷和 0.91 g (9 mmol) 三乙胺, 冰浴下缓慢滴加上述取代肉桂酰氯的二氯甲烷溶液, 滴毕, 撤去冰浴, 常温下反应 2 h。过滤、水洗、干燥, 乙酸乙酯和石油醚重结晶, 得到目标化合物 **5a**~**5n**。

(*E*)-3-苯基-1-(4-(1,2,3,4-四氢喹啉-1-羰基)哌嗪-1-基)丙-2-烯-1-酮(**5a**): 白色固体, 收率 72%。m.p. 136~138 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 7.70 (dd, J = 7.4, 1.9 Hz, 2H, ArH), 7.51 (d, J = 15.4 Hz, 1H, CH=CH), 7.46~7.31 (m, 3H, ArH), 7.23 (d, J = 15.4 Hz, 1H, CH=CH), 7.19~7.06 (m, 2H, ArH), 6.94 (t, J = 7.0 Hz, 1H, ArH), 6.79 (d, J = 8.0 Hz, 1H, ArH), 4.07~3.43 (m, 10H, ArNCH₂), 2.77 (t, J = 6.7 Hz, 2H, ArCH₂), 2.06~1.81 (m, 2H, ArCH₂CH₂); ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 188.70, 164.71, 141.89, 141.68, 135.19, 129.72, 129.38, 128.86, 128.16, 126.68, 122.49, 119.24, 118.14, 50.46, 50.22, 49.60, 44.12, 41.15, 26.39, 23.10; HRMS calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_2$ [$M+H$]⁺ 392.1791, found 392.1788。

(*E*)-1-(4-(1,2,3,4-四氢喹啉-1-羰基)哌嗪-1-基)-3-(邻甲苯基)丙-2-烯-1-酮(**5b**): 白色固体, 收率 59%。m.p. 73~75 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 7.80~7.66 (m, 2H, ArH), 7.28~7.18 (m, 3H, ArH, CH=CH), 7.15~7.03 (m, 3H, ArH, CH=CH), 6.91 (t, J = 7.0 Hz, 1H, ArH), 6.76 (d, J = 8.0 Hz, 1H, ArH), 3.97~3.44 (m, 10H,

ArNCH₂), 2.74 (t, $J=6.7$ Hz, 2H, ArCH₂), 2.35 (s, 3H, CH₃), 1.99~1.87 (m, 2H, ArCH₂CH₂); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 188.72, 164.74, 141.68, 139.13, 136.90, 133.92, 130.67, 129.47, 129.38, 128.16, 126.67, 126.60, 126.31, 122.47, 119.21, 119.16, 50.46, 50.19, 49.58, 44.11, 41.13, 26.39, 23.11, 19.44; HRMS calcd for C₂₄H₂₈N₃OS [M+H]⁺ 406.1948, found 406.1944

(*E*)-3-(2-氯苯基)-1-(4-(1,2,3,4-四氢喹啉-1-羰基)哌嗪-1-基)丙-2-烯-1-酮(**5c**): 白色固体, 收率 68%. m.p. 86~88 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.95 (dt, $J=6.2, 2.8$ Hz, 1H, ArH), 7.80 (d, $J=15.4$ Hz, 1H, CH=CH), 7.52~7.46 (m, 1H, ArH), 7.41~7.33 (m, 2H, ArH), 7.26 (d, $J=15.4$ Hz, 1H, CH=CH), 7.16~7.04 (m, 2H, ArH), 6.91 (td, $J=7.4, 1.0$ Hz, 1H, ArH), 6.76 (d, $J=7.5$ Hz, 1H, ArH), 4.04~3.54 (m, 10H, ArNCH₂), 2.75 (t, $J=6.7$ Hz, 2H, ArCH₂), 2.00~1.88 (m, 2H, ArCH₂CH₂); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 188.72, 164.25, 141.67, 136.81, 133.54, 132.88, 131.18, 129.95, 129.37, 128.32, 128.20, 127.63, 126.68, 122.51, 121.24, 119.25, 50.47, 50.18, 49.52, 44.13, 41.22, 26.38, 23.10; HRMS calcd for C₂₃H₂₅ClN₃OS [M+H]⁺ 426.1401, found 426.1393.

(*E*)-1-(4-(1,2,3,4-四氢喹啉-1-羰基)哌嗪-1-基)-3-(3-(三氟甲基)苯基)丙-2-烯-1-酮(**5d**): 淡黄色固体, 收率 77%. m.p. 167~169 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.13 (s, 1H, ArH), 7.96 (d, $J=7.7$ Hz, 1H, ArH), 7.71~7.60 (m, 2H, ArH), 7.56 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, CH=CH), 7.38 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, CH=CH), 7.17~7.04 (m, 2H, ArH), 6.92 (td, $J=7.4, 1.0$ Hz, 1H, ArH), 6.77 (d, $J=7.5$ Hz, 1H, ArH), 3.86 (ddd, $J=37.1, 22.8, 16.1$ Hz, 10H, ArNCH₂), 2.75 (t, $J=6.7$ Hz, 2H, ArCH₂), 1.98~1.88 (m, 2H, ArCH₂CH₂); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 188.71, 164.38, 141.69, 140.15, 136.36, 132.35, 130.04, 129.89, 129.62, 129.38, 128.24, 126.68, 125.86, 124.25, 122.53, 120.35, 119.24, 50.46, 50.29, 49.56, 44.12, 41.21, 26.37, 23.12; HRMS calcd for C₂₄H₂₅F₃N₃OS [M+H]⁺ 460.1665, found 460.1660.

(*E*)-3-(3-甲氧基苯基)-1-(4-(1,2,3,4-四氢喹啉-1-羰基)哌嗪-1-基)丙-2-烯-1-酮(**5e**): 淡黄色固体, 收率 70%. m.p. 60~62 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.51 (d, $J=15.3$ Hz, 1H, CH=CH), 7.31~7.17 (m, 4H, ArH, CH=CH), 7.10 (dd, $J=15.8, 7.6$ Hz, 2H, ArH), 6.91 (t, $J=7.4$ Hz, 2H, ArH), 6.77 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 4.05~3.58 (m, 13H, ArNCH₂, OCH₃), 2.74 (t, $J=6.7$ Hz, 2H, ArCH₂), 1.98~1.88 (m, 2H, ArCH₂CH₂); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 188.72, 164.71, 159.72, 141.92,

141.69, 136.60, 129.85, 129.38, 128.19, 126.67, 122.49, 120.91, 119.21, 118.35, 115.64, 112.93, 55.34, 50.48, 50.26, 49.62, 44.13, 41.16, 26.41, 23.15; HRMS calcd for C₂₄H₂₈N₃O₂S [M+H]⁺ 422.1897, found 422.1890.

(*E*)-3-(3-氯苯基)-1-(4-(1,2,3,4-四氢喹啉-1-羰基)哌嗪-1-基)丙-2-烯-1-酮(**5f**): 白色固体, 收率 76%. m.p. 72~74 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.00~7.92 (m, 1H, ArH), 7.80 (d, $J=15.4$ Hz, 1H, CH=CH), 7.53~7.46 (m, 1H, ArH), 7.42~7.34 (m, 2H, ArH), 7.26 (d, $J=15.4$ Hz, 1H, CH=CH), 7.17~7.03 (m, 2H, ArH), 6.95~6.88 (m, 1H, ArH), 6.76 (d, $J=8.1$ Hz, 1H, ArH), 3.96~3.49 (m, 10H, ArNCH₂), 2.75 (t, $J=6.7$ Hz, 2H, ArCH₂), 1.98~1.90 (m, 2H, ArCH₂CH₂); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 188.72, 164.25, 141.67, 136.81, 133.53, 132.88, 131.18, 129.95, 129.38, 128.32, 128.20, 127.63, 126.68, 122.51, 121.25, 119.25, 50.47, 50.18, 49.52, 44.14, 41.21, 26.38, 23.10; HRMS calcd for C₂₃H₂₅ClN₃OS [M+H]⁺ 426.1401, found 426.1400.

(*E*)-1-(4-(1,2,3,4-四氢喹啉-1-羰基)哌嗪-1-基)-3-(对甲苯基)丙-2-烯-1-酮(**5g**): 白色固体, 收率 69%. m.p. 122~124 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.59 (d, $J=8.1$ Hz, 2H, ArH), 7.48 (d, $J=15.3$ Hz, 1H, CH=CH), 7.24~7.17 (m, 3H, ArH), 7.16~7.07 (m, 2H, ArH, CH=CH), 6.97~6.90 (m, 1H, ArH), 6.78 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 3.87~3.51 (m, 10H, ArNCH₂), 2.77 (t, $J=6.7$ Hz, 2H, ArCH₂), 2.32 (s, 3H, CH₃), 2.01~1.91 (m, 2H, ArCH₂CH₂); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 188.72, 164.84, 141.92, 141.69, 139.52, 132.45, 129.47, 129.38, 128.15, 126.67, 122.48, 119.23, 116.97, 50.46, 50.23, 49.63, 44.13, 41.12, 26.38, 23.10, 21.08; HRMS calcd for C₂₄H₂₈N₃OS [M+H]⁺ 406.1948, found 406.1947.

(*E*)-1-(4-(1,2,3,4-四氢喹啉-1-羰基)哌嗪-1-基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙-2-烯-1-酮(**5h**): 淡黄色固体, 收率 85%. m.p. 178~180 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.93 (d, $J=8.2$ Hz, 2H, ArH), 7.75 (d, $J=8.3$ Hz, 2H, ArH), 7.57 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, CH=CH), 7.39 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, CH=CH), 7.22~7.05 (m, 2H, ArH), 6.94 (t, $J=7.4$ Hz, 1H, ArH), 6.80 (d, $J=8.1$ Hz, 1H, ArH), 4.22~3.56 (m, 10H, ArNCH₂), 2.78 (t, $J=6.7$ Hz, 2H, ArCH₂), 2.04~1.87 (m, 2H, ArCH₂CH₂); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 188.75, 164.31, 141.69, 140.01, 139.25, 129.65, 129.37, 129.23, 128.91, 128.74, 128.23, 126.67, 126.03, 125.69, 122.52, 121.18, 119.26, 50.46, 50.22, 49.53, 44.16, 41.20, 26.37, 23.11; HRMS calcd for C₂₄H₂₅F₃N₃OS [M+H]⁺ 460.1665, found 460.1664.

(*E*)-3-(4-硝基苯基)-1-(4-(1,2,3,4-四氢喹啉-1-羰基)哌嗪-1-基)丙-2-烯-1-酮(**5i**): 淡黄色固体, 收率 67%. m.p. 212~214 °C; ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.23 (d, $J=8.8$ Hz, 2H, ArH), 7.98 (d, $J=8.9$ Hz, 2H, ArH), 7.59 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, CH=CH), 7.45 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, CH=CH), 7.19~7.07 (m, 2H, ArH), 6.99~6.90 (m, 1H, ArH), 6.80 (d, $J=7.5$ Hz, 1H, ArH), 4.07~3.50 (m, 10H, ArNCH₂), 2.78 (t, $J=6.7$ Hz, 2H, ArCH₂), 2.01~1.91 (m, 2H, ArCH₂CH₂); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 188.73, 164.09, 147.68, 141.78, 141.67, 139.27, 129.37, 129.18, 128.25, 126.68, 123.96, 122.74, 122.54, 119.28, 50.47, 50.22, 49.51, 44.18, 41.25, 26.37, 23.12; HRMS calcd for C₂₃H₂₅N₄O₃S [M+H]⁺ 437.1642, found 437.1640.

(*E*)-3-(4-氟苯基)-1-(4-(1,2,3,4-四氢喹啉-1-羰基)哌嗪-1-基)丙-2-烯-1-酮(**5j**): 淡黄色固体, 收率 83%. m.p. 149~150 °C; ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.86~7.73 (m, 2H, ArH), 7.52 (d, $J=15.4$ Hz, 1H, CH=CH), 7.29~7.07 (m, 5H, ArH, CH=CH), 6.99~6.91 (m, 1H, ArH), 6.80 (d, $J=8.1$ Hz, 1H, ArH), 4.17~3.47 (m, 10H, ArNCH₂), 2.78 (t, $J=6.7$ Hz, 2H, ArCH₂), 2.04~.89 (m, 2H, ArCH₂CH₂); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 188.72, 164.64, 161.29, 141.68, 140.66, 131.83, 130.42, 130.31, 129.38, 128.19, 126.67, 122.50, 119.25, 118.04, 115.95, 115.66, 50.46, 50.24, 49.61, 44.11, 41.16, 26.38, 23.11; HRMS calcd for C₂₃H₂₅FN₃OS [M+H]⁺ 410.1697, found 410.1694.

(*E*)-3-(4-氯苯基)-1-(4-(1,2,3,4-四氢喹啉-1-羰基)哌嗪-1-基)丙-2-烯-1-酮(**5k**): 白色固体, 收率 84%. m.p. 182~184 °C; ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.74 (d, $J=8.5$ Hz, 2H, ArH), 7.53~7.35 (m, 3H, ArH, CH=CH), 7.24 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, CH=CH), 7.18~7.05 (m, 1H, ArH), 6.93 (t, $J=7.0$ Hz, 1H, ArH), 6.78 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 4.08~3.45 (m, 10H, ArNCH₂), 2.77 (t, $J=6.7$ Hz, 2H, ArCH₂), 2.00~1.92 (m, 2H, ArCH₂CH₂); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 188.73, 164.09, 147.68, 141.78, 141.67, 139.27, 129.37, 129.18, 128.25, 126.68, 123.96, 122.74, 122.54, 119.28, 50.47, 50.22, 49.51, 44.18, 41.25, 26.37, 23.12; HRMS calcd for C₂₃H₂₅ClN₃OS [M+H]⁺ 426.1401, found 426.1402.

(*E*)-3-(4-溴苯基)-1-(4-(1,2,3,4-四氢喹啉-1-羰基)哌嗪-1-基)丙-2-烯-1-酮(**5l**): 淡黄色固体, 收率 81%. m.p. 208~210 °C; ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.65 (d, $J=8.6$ Hz, 1H, ArH), 7.57 (d, $J=8.6$ Hz, 1H, ArH), 7.45 (d, $J=15.4$ Hz, 1H, CH=CH), 7.24 (d, $J=15.4$ Hz, 1H),

7.17~7.04 (m, 2H, ArH), 6.96~6.88 (m, 1H, ArH), 6.76 (d, $J=8.1$ Hz, 1H, ArH), 3.94~3.45 (m, 10H, ArNCH₂), 2.74 (t, $J=6.7$ Hz, 2H, ArCH₂), 2.02~1.86 (m, 2H, ArCH₂CH₂); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 188.73, 164.53, 141.68, 140.54, 134.50, 131.80, 130.12, 129.37, 128.21, 126.67, 122.95, 122.51, 119.25, 119.09, 50.46, 50.23, 49.59, 44.15, 41.19, 26.38, 23.11; HRMS calcd for C₂₃H₂₅BrN₃OS [M+H]⁺ 470.0896, found 470.0891.

(*E*)-3-(4-甲氧基苯基)-1-(4-(1,2,3,4-四氢喹啉-1-羰基)哌嗪-1-基)丙-2-烯-1-酮(**5m**): 淡黄色固体, 收率 71%. m.p. 59~61 °C; ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.61 (t, $J=7.2$ Hz, 2H, ArH), 7.46 (d, $J=15.3$ Hz, 1H, CH=CH), 7.16~7.01 (m, 3H, ArH, CH=CH), 6.98~6.88 (m, 3H, ArH), 6.76 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 4.05~3.59 (m, 13H, ArNCH₂, OCH₃), 2.74 (t, $J=6.7$ Hz, 2H, ArCH₂), 1.97~1.87 (m, 2H, ArCH₂CH₂); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 188.72, 164.99, 160.62, 141.77, 141.69, 130.02, 129.81, 129.38, 128.16, 127.82, 126.66, 122.47, 119.21, 115.40, 114.47, 114.31, 55.39, 50.46, 50.17, 49.57, 44.06, 41.08, 26.40, 23.11; HRMS calcd for C₂₄H₂₈N₃O₂S [M+H]⁺ 422.1897, found 422.1888.

(*E*)-3-(2,6-二氯苯基)-1-(4-(1,2,3,4-四氢喹啉-1-羰基)哌嗪-1-基)丙-2-烯-1-酮(**5n**): 淡黄色固体, 收率 63%. m.p. 71~73 °C; ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.50~7.40 (m, 3H, ArH), 7.36~7.26 (m, 1H, ArH), 7.15~6.98 (m, 3H, ArH), 6.93~6.82 (m, 1H, ArH), 6.74 (d, $J=7.7$ Hz, 1H, ArH), 4.33~3.59 (m, 10H, ArNCH₂), 2.72 (t, $J=6.7$ Hz, 2H, ArCH₂), 2.01~1.79 (m, 2H, ArCH₂CH₂); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 188.73, 163.90, 141.61, 134.86, 133.90, 132.59, 130.60, 129.39, 129.07, 128.08, 127.00, 126.65, 122.43, 119.16, 50.48, 49.95, 49.38, 44.17, 41.13, 26.38, 23.04; HRMS calcd for C₂₃H₂₄Cl₂N₃OS [M+H]⁺ 460.1012, found 460.1010.

3.3 生物活性测定

3.3.1 目标化合物离体杀菌活性测定

采用菌丝生长速率法, 测定目标化合物对 8 种植物病原真菌的抑制活性。

试验菌种: 油菜菌核(*Sclerotinia sclerotiorum*)、黄瓜灰霉(*Botrytis cinerea*)、苹果腐烂(*Valsa mali*)、小麦赤霉(*Fusarium graminearum*)、稻瘟(*Magnaporthe grisea*)、小麦全蚀(*Gaeumammomyces graminis* var. *tritici*)、水稻纹枯(*Rhizoctonia solani*)和瓜果腐霉(*Pythium aphanidermatum*)。

试验药剂: 化合物 **5a**~**5n** 及杀菌剂氟酰胺原药。

试验方法: 采用菌丝生长速率法, 在无菌条件下,

用移液枪分别吸取上述制备好的 10000 $\mu\text{g/mL}$ 的药液, 加入到准备好的已灭菌、冷却至 50 $^{\circ}\text{C}$ 的马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基中, 充分混匀后, 制备成 50 $\mu\text{g/mL}$ 带药培养基。然后将其倒入直径为 9 cm 的培养皿中, 每个药剂 3 次重复。待皿中带药培养基冷却固化后, 制备成带药 PDA 平板。以二甲基亚砜为溶剂对照, 同时以无菌水为空白对照。将准备好的病原菌平板, 沿菌落边缘制备直径 5 mm 的菌饼, 分别接种于带药和对照 PDA 平板中间。然后置于 25 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中黑暗培养。

结果调查: 待对照 PDA 平板中的菌落充分生长后, 以十字交叉法测量各 PDA 平板的菌落直径, 取其平均值。用校正后的空白对照与处理的菌落平均直径计算菌丝生长抑制率, 公式如下:

$$\text{抑制率}(\%) = \frac{\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}}{\text{对照菌落直径} - \text{菌饼直径}} \times 100\%$$

抑制中浓度(EC_{50})的测定: 选取抑制率大于 80% 的化合物测定其抑制中浓度值。根据上述方法, 采用等倍稀释, 分别测试浓度为 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 与 1.5625 $\mu\text{g/mL}$ 时的抑制率, 然后用软件 SPSS 计算抑制中浓度 EC_{50} 。

辅助材料(Supporting Information) 化合物 **5j** 的晶体数据、中间体 **3** 的 ^1H NMR, **5a~5n** 的 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR。这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载。

References

- [1] Crouse, D. *CHEMTECH* **1998**, 28, 36.
- [2] Liu, C.-L.; Zhong, B.; Li, Z.-M. *Pesticides* **2003**, 42, 1 (in Chinese). (刘长令, 钟滨, 李正名, 农药, **2003**, 42, 1.)
- [3] Maienfisch, P.; Huerlimann, H.; Rindlisbacher, A. *Pest Manage. Sci.* **2001**, 57, 165.
- [4] Newman, D. J.; Cragg, G. M. *Nat. Prod. Rep.* **2007**, 70, 461.
- [5] Sauter, H.; Steglich, Anke, T. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**, 39, 1328.
- [6] Liu, C.-L.; Chai, B.-S. *Pesticides* **2013**, 42, 13 (in Chinese). (刘长令, 柴宝山, 农药, **2013**, 42, 13.)
- [7] Shen, L.; Ye, Y.-H.; Wang, X.-T.; Tan, R.-X. *Chem.-Eur. J.* **2006**, 12, 4393.
- [8] Wu, Q.-L.; Li, Y.-Q.; Yang, X.-L. *Chin. J. Org. Chem.* **2012**, 32, 1498 (in Chinese). (吴清来, 李永强, 杨新玲, 有机化学, **2012**, 32, 1498.)
- [9] Jo, H.; Choi, M.; Kumar, A. S. *ACS Med. Chem. Lett.* **2016**, 7, 385.
- [10] Chander, S.; Ashok, P.; Zheng Y. *Bioorg. Chem.* **2016**, 64, 66.
- [11] Spadoni, G.; Bedini, A.; Lucarini, S. J. *Med. Chem.* **2015**, 58, 7512.
- [12] Muñoz, G. D.; Dudley, G. B. *Org. Prep. Proced. Int.* **2015**, 47, 179.
- [13] Kitamura, S.; Harada, T.; Hiramatsu, H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, 24, 1715.
- [14] Sugiyama, R.; Nishimura, S.; Ozaki, T. *Org. Lett.* **2015**, 17, 1918.
- [15] Chander, S.; Wang, P.; Ashok, P. *Bioorg. Chem.* **2016**, 67, 75.
- [16] Duarte, Y.; Duenas, F.; Gutierrez, M. J. *Chem. Pharm. Res.* **2015**, 7, 294.
- [17] Si, W.; Zhang, T.; Zhang, L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, 26, 2380.
- [18] Dou, D.; He, G.; Mandadapu, S. R.; Aravapalli, S.; Kim, Y.; Chang, K.-O.; Groutas, W. C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, 22, 377.
- [19] Gao, H.; Zheng, X.; Zhu, P. *Chin. J. Org. Chem.* **2018**, 38, 684 (in Chinese). (高慧, 郑喜, 朱萍, 有机化学, **2018**, 38, 684.)
- [20] Lee, Y. B.; Gong, Y. D.; Yoon, H.; Ahn, C. H.; Jeon, M. K.; Kong, J. Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 18, 7966.
- [21] Khan, T.; Ahmad, R.; Azad, I. *Comput. Biol. Chem.* **2018**, 75, 178.
- [22] Karacan, M. S.; Rodionova, M. V.; Tunç, T. *Photosynth. Res.* **2016**, 130, 1.
- [23] Grzyb, J. A. *Tetrahedron* **2005**, 61, 7153.

(Cheng, F.)