新型 Pyrabactin 类似物的设计、合成及种子萌发抑制活性

车传亮 胡益敏 丁珊珊 肖玉梅 李佳奇 覃兆海*

(中国农业大学理学院 北京 100193)

摘要 为了开发结构更为稳定的脱落酸(ABA)类似物,以 Pyrabactin 和 2',3'-benzo-iso-ABA (*iso*-PhABA)为先导,利用类同合成的策略设计了一类新型的磺酰胺类化合物。以 1-四氢萘酮为原料,经过羰基 α 位的甲基化、苄位氧化、羰基肼化和磺酰胺化四步,合成了 13 个结构新颖的磺酰胺类化合物,并对磺酰胺化的反应条件进行了探索优化。抑制种子萌发的生测结果表明,在浓度为 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,目标化合物具有不同程度的抑制活性,其中有 5 个化合物对拟南芥和莴苣种子萌发的抑制率分别大于 50% 和 40%。该结果对于新型脱落酸类合成植物激素的创制具有一定的借鉴意义。

关键词 Pyrabactin 类似物; 磺酰胺类; 脱落酸类似物; 抑制种子萌发; 类同合成

Design, Synthesis and Inhibition Activity of Seed Germination of Novel Pyrabactin Analogs

Che, Chuanliang Hu, Yimin Ding, Shanshan Xiao, Yumei Li, Jiqia Qin, Zhaohai*

(College of Science, China Agricultural University, Beijing 100193)

Abstract In order to develop more stable abscisic acid (ABA) analogs, a novel type of sulfonamide compounds was designed based on the similar synthesis strategy using pyrabactin and 2',3'-benzo-iso-ABA (*iso*-PhABA) as precursors. Using 1-tetralone as raw material, 13 novel sulfonamides were synthesized by methylation, benzylic oxidation, hydrazone formation and sulfonamidation, and the reaction conditions of sulfonamidation were explored and optimized. The results of seed germination experiments showed that the target compounds exhibited different inhibition activities at a concentration of $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, and the inhibition rates of five compounds on *Arabidopsis* and *lettuce* seeds germination were greater than 50% and 40%, respectively. These results have important reference significance for the creation of new abscisic acid synthetic phytohormones.

Keywords pyrabactin analogs; sulfonamide; abscisic acid analogs; inhibition of seed germination; similar synthesis

脱落酸(Absciscic Acid, S-ABA, **1**)是广泛存在于植物体内的倍半萜类内源性植物激素^[1]。随着研究的不断深入,发现 ABA 不仅对植物生长发育的诸多生理过程起着重要作用^[2~6],包括种子的休眠与萌发、根的生长、花芽的形成、气孔的关闭、果实的成熟等。同时,ABA 在植物抵抗干旱、高盐、低温等逆境胁迫的生理过程中也扮演着至关重要的角色^[7~11],享有“植物抗逆因子”的美誉,在农业生产上有着广阔的应用前景。但是,在植物体内的快速代谢失活和体外的光异构化失活是制约 ABA 全面应用的重要因素^[12~14],因此,在 ABA 的植物生理活性被逐步阐明后,新型 ABA 类植物生长调节剂的研发受到越来越多的关注,已经成为一项亟待解决

的重要研究课题^[15~23]。

2009 年, Park 等^[24]在 Science 上报导了化合物 Pyrabactin (**2**), Pyrabactin 可以特异性地与拟南芥中的 ABA 受体 START 蛋白中的 PYR/PYL/RCAR 家族蛋白结合,然后抑制 2C 型磷酸蛋白酶(PP2Cs)来抑制种子萌发^[25]。虽然该化合物与 ABA 在结构上有较大差别,但却与 ABA 有着相同的受体,说明其是 ABA 的功能类似物。在受体口袋中, Pyrabactin 与 ABA 有着相似的结合作用模式: Pyrabactin 的萘环与 ABA 的环己烯酮环重叠,在与受体氨基酸残基的相互作用中, Pyrabactin 的磺酰胺基团和吡啶环上的 N 原子充当了 ABA 上羧酸基团的角色, Pyrabactin 萘环上 Br 原子与 ABA 环己烯酮上的

* Corresponding author. E-mail: qinzhaozhao@263.net

Received July 31, 2018; revised August 25, 2018; published online October 12, 2018.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21572265).

国家自然科学基金(No. 21572265)资助项目。

羰基 O 原子的作用相似, 有利于受体蛋白与下游 PP2Cs 的相互结合^[26]. 这些相似的作用方式, 使得 Pyrabactin 可以与 ABA 受体相互结合, 激活 ABA 信号转导途径, 从而抑制种子萌发. Pyrabactin 的发现证明了可以利用新的骨架结构来设计新型的 ABA 类似物. 2016 年, 段留生等^[27]以 Pyrabactin 为先导, 引入不同的氨基酸取代其结构中的 2-氨基吡啶, 设计合成了一系列苯磺酰胺类 ABA 类似物 **3**, 生物活性测定结果表明, 部分化合物具有较好的抑制种子萌发活性.

在前期工作中, 本课题组设计合成了苯并异脱落酸 (*iso*-PhABA, **4**)^[28]. 该化合物具有合成相对简便、结构更稳定、生物活性优异的特点. 将苯环结构引入到 ABA 的骨架中取代 2',3'位置的双键, 苯环的引入可以避免 8'-甲基羟基化后迈克尔加成反应的发生, 从而有效地延缓了 ABA 类似物在植物体内的代谢失活. 在拟南芥和莴苣种子萌发实验中, *iso*-PhABA 的抑制活性要略好于 ABA. 在抑制拟南芥幼苗根生长和提高植物抗旱性的生物活性测定中, *iso*-PhABA 也具有与 ABA 相当甚至更好的生物活性.

类同合成原理是设计和创新药物的重要思想, 目前已有许多成功的范例. 为了探索开发具有抑制种子萌发活性和结构更稳定的新型 ABA 类似物, 我们将 *iso*-PhABA 的四氢萘酮部分与 Pyrabactin 的磺酰胺部分进行拼接, 设计合成了 13 个未见文献报道的结构新颖的磺酰胺类化合物, 结构均经 ¹H NMR, ¹³C NMR, HRMS 确证, 设计思路见图 1. 采用抑制种子萌发法, 以拟南芥和莴苣种子为实验对象, 对目标化合物的生物活性进行了初步评价.

1 结果与讨论

1.1 目标化合物的合成

以 1-四氢萘酮为起始原料经四步反应获得目标化合物, 合成路线如 Scheme 1 所示. 首先, 以 1-四氢萘酮(**7**)为起始原料, 经过羰基 α 位的甲基化反应得到 2,2-二甲基-3,4-二氢萘-1(2*H*)-酮(**8**), 然后中间体 **8** 在以乙酰丙酮钴为催化剂, 过氧叔丁醇为氧化剂的条件下被氧化为 2,2-二甲基-2,3-二氢萘-1,4-二酮(**9**). 接下来, 中间体 **9** 与对甲苯磺酰肼在以甲醇为溶剂的条件下加热反应得到 2,2-二甲基-2,3-二氢萘-1,4-二酮-4-对甲苯磺酰肼(**10**). 中间体 **10** 和 2.0 equiv. 相应的胺在 DABSO (1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane bis(sulfur dioxide))的作用下密闭加热反应得到目标化合物^[29].

DABSO 是一种商业化的 SO₂ 固态源, 通过加热, 可以使其释放出 SO₂ 气体来参与化学反应. 本文以目标化合物 **5a** 的合成为例, 探讨了不同反应条件(催化剂、

图 1 目标化合物的设计思路(相同的色块表示在与受体结合时具有相同的结合位点和功能)

Figure 1 Design strategy of the target compounds(The atoms labeled by the same color circle have the same binding sites and functions in the receptor binding pocket)

溶剂、温度)对 **5a** 收率的影响(表 1). 首先, 我们对反应的催化剂进行了筛选, 当底物 2-氨基吡啶本身作为碱催化剂时收率最高. 有趣的是, 当这个反应添加碳酸铯, 碳酸钾, 叔丁醇锂这一类可以将对甲苯磺酰肼分解为重氮化合物的无机碱时, 反应收率反而会降低. 接下来, 对反应溶剂进行了筛选, 在几种常见的溶剂中, 当 DMSO 作溶剂时, **5a** 的收率最高. 当反应温度为室温时, 未能得到目标产物. DABCO 是在反应过程中 DABSO 中的 SO₂ 被消耗后生成的副产物, 因此我们也研究了 DABCO 对反应的影响, 结果表明 DABCO 对反应的收率几乎没有影响. 当将密闭反应条件换成敞口反应条件时, 目标产物的收率大大降低. 通过上面的探索我们得到了 **5a** 的最佳合成条件: 反应温度为 100 °C, 反应溶剂为 DMSO, 2-氨基吡啶本身作为碱, 密闭条件下反应. 我们利用上面筛选的最优反应条件, 合成了 13 个结构新颖的磺酰胺类化合物, 其中 **6c**, **6e** 由 **6b**, **6d** 在氢氧化锂做碱的条件下水解得到(Eq. 1). 另外, 我们还尝试了以焦亚硫酸钾替代 DABSO 作为 SO₂ 的来源, 也以 81% 的收率得到目标化合物 **5a** (Eq. 2).

1.2 目标化合物图谱分析

以目标化合物 **5a** 的 ¹H NMR, ¹³C NMR 和 HRMS 数据为例进行说明. 氢谱中化学位移在 δ 1.04, 1.27 处的两个单峰为 11, 12 位两个甲基上氢的信号峰, δ 2.29~2.49 处的峰为 2 位亚甲基上氢的信号峰, δ 4.10~4.37 处的峰为 7'位亚甲基上氢的信号峰, δ 4.64~4.69 处的峰为 1 位碳上氢的信号峰, δ 4.64~4.69 处的峰为氮原子上氢

图式 1 目标化合物 5 和 6 的合成路线

Scheme 1 Synthetic route of the target compounds 5, 6

表 1 反应条件对化合物 5a 收率的影响

Table 1 Effect of reaction conditions on the yield of compound 5a

Solvent	Base	T/°C	Yield/%
DMSO	K ₂ CO ₃	100	48
DMSO	Cs ₂ CO ₃	100	57
DMSO	LiO ^t Bu	100	45
DMSO	2-Picolylamine ^a	100	37
DMSO	2-Picolylamine	100	89
DMF	2-Picolylamine	100	75
Toluene	2-Picolylamine	100	41
MeCN	2-Picolylamine	80	34
DCE	2-Picolylamine	100	0
Dioxane	2-Picolylamine	100	79
DMSO	2-Picolylamine	25	0
DMSO	2-Picolylamine	80	65
DMSO	2-Picolylamine	120	81
DMSO	DABCO	100	85
DMSO	2-Picolylamine ^b	100	18

^a 1.2 equiv. 2-picolylamine.; ^b open to atmosphere.

的信号峰, δ 8.18~8.20, 7.16~7.20, 7.05~7.08 处的峰分别为苯环上 6, 7, 9 位碳上氢的信号峰, δ 7.94~7.97, 7.40~7.45, 8.42~8.44 处的峰分别为吡啶环上 3', 5', 6' 位碳上氢的信号峰, δ 7.53~7.63 处的峰为苯环上 8 位和吡啶环上 4' 位碳上氢的信号峰. 碳谱中化学位移在 δ 24.08, 24.57 处的峰为 11, 12 位两个甲基碳的信号峰, δ 36.41, 40.97, 47.78, 59.46 处的峰分别为 2, 3, 7', 1 位碳的信号峰, δ 128.13, 128.61, 128.55, 131.81, 132.92, 133.38 分别为苯环上碳的信号峰, δ 121.36, 122.46, 136.68, 148.71, 155.09 分别为吡啶环上碳的信号峰, δ 200.43 为羰基碳的信号峰. 另外, 高分辨质谱的实测数据 (345.1261) 与理论计算值 (345.1267) 是一致的, 进一步证实了目标化合物的结构.

1.3 目标化合物 5a 的形成机理

我们对磺酰胺化反应进行的可能机理推测如下: 在碱的作用下, 中间体 10 脱掉对甲基苯磺酰基部分得到重氮中间体 12, 然后中间体 12 与 DABSO 加热产生的 SO₂ 发生亲核反应得到中间体 13, 中间体 13 脱掉一分子 N₂ 得到关键中间体 14, 最后底物胺 11 与中间体 14 反应得到目标化合物 5a (Scheme 2).

图式 2 目标化合物 5a 的合成机理推测

Scheme 2 Probable mechanism of synthesizing compound 5a

1.4 种子萌发抑制活性

我们测试了目标化合物 5a~5h, 6a~6e 在 50 和 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下对拟南芥(*Arabidopsis*)和莴苣(*Lettuce*)2 种种子萌发的抑制活性, 结果见表 2。

表 2 化合物 5a~5h 和 6a~6e 对种子萌发的抑制活性(抑制率/%)

Table 2 Inhibitory activities of seed germination of compounds 5a~5h and 6a~6e (inhibitory rate/%)

Compd.	Arabidopsis		Lettuce	
	50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
5a	58.27	19.67	44.33	8.30
5b	37.20	8.67	23.80	0.30
5c	40.13	10.83	26.73	0.53
5d	44.60	12.33	32.13	5.10
5e	61.13	22.63	48.97	9.33
5f	59.63	27.53	47.30	6.67
5g	45.63	17.30	33.40	4.33
5h	34.60	4.97	28.67	0.97
6a	36.57	8.33	27.37	0.43
6b	29.30	2.67	18.57	0
6c	56.63	14.97	43.90	9.07
6d	36.60	7.20	27.50	0.47
6e	52.63	10.90	40.90	4.55
Pyrabactin	97.48	73.65	90.06	67.48
ABA	100	100	100	96.36
iso-PhABA	100	100	100	96.62

以上生测结果表明, 大多数目标化合物对拟南芥和莴苣种子的萌发表现出一定的抑制活性。在测试浓度为 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 个别目标化合物对拟南芥和莴苣种子有较强的抑制活性, 如 5a, 5e, 5f, 6c 和 6e 对拟南芥和莴苣种子萌发的抑制率均在 50% 和 40% 以上, 但与对照药

剂相比还有差距。当测试浓度为 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 目标化合物对拟南芥和莴苣种子萌发的抑制率大大降低。可以得出: (1) 对于 5a~5h 系列化合物而言, 当化合物的芳杂环上只有一个杂原子, 且杂原子的 α 位通过亚甲基连接磺酰胺基团时, 其抑制种子萌发的活性要略好于含有其它芳杂环和苯环的化合物的活性。(2) 对于 6a~6e 系列化合物而言, 在抑制种子萌发实验中, 氨基酸类化合物的活性要略好于相应的氨基酸酯类化合物的活性。

关于目标化合物的其它生理活性, 比如促进气孔关闭、提高植物抗旱性等等正在进一步的研究之中。

2 结论

以 1-四氢萘酮作为起始原料, 经过羰基 α 位的甲基化、苄位氧化、羰基肼化和磺酰胺化四步合成了一系列新颖的磺酰胺类 Pyrabactin 类似物, 其中含有氨基酸甲酯结构的类似物可以进一步水解得到含有氨基酸结构的 Pyrabactin 类似物。通过 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 和 HRMS 等分析方法完成了对 13 个目标化合物的结构表征, 并测试了化合物对种子萌发的抑制活性。结果表明, 个别化合物在 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时表现出较好的抑制活性。本研究为脱落酸类合成植物激素的研究提供了一定的参考, 课题组将在本研究的基础上进行进一步结构优化研究。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

Bruker Avance DPX300 超导核磁共振仪, 以四甲基硅烷(TMS)为内标; 安捷伦 ESI-Q-TOF 型高分辨质谱仪; Yanagimoto MFG Co. 熔点测定仪, 温度计未经校正; 宁波江南仪器厂 RXZ 智能型光照培养箱。所有试剂为国产市售分析纯, 无水溶剂按标准方法处理。

3.2 实验方法

3.2.1 2,2-二甲基-3,4-二氢萘-1(2H)-酮(8)的合成

在 500 mL 的圆底烧瓶中, 分别加入 250 mL 四氢呋喃和 20 g 1-四氢萘酮(20 g, 0.137 mol), 冰浴降温至 0 $^{\circ}\text{C}$, 加入 60% NaH (13.72 g, 0.343 mol), 在冰浴下搅拌 0.5 h, 然后缓慢滴加碘甲烷。滴加完, 撤掉冰浴, 室温下继续搅拌反应, 薄层色谱(TLC)检测反应进程, 反应完毕, 用碎冰猝灭反应, 乙酸乙酯(100 mL $\times$ 3)萃取, 合并有机相, 饱和食盐水(100 mL $\times$ 2)洗涤, 无水硫酸钠干燥。旋转蒸发溶剂, 得到黄色油状粗产物, 用 V (石油醚): V (乙酸乙酯)=10:1 作为洗脱液对粗产物进行硅胶柱层析分离得到亮黄色油状产物 8^[28] (23.6 g, 收率 99%)。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.06 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.47 (td, $J=7.5, 1.3$ Hz, 1H), 7.30 (dd, $J=12.2, 4.5$ Hz, 1H), 7.23 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 3.00 (t, $J=6.3$ Hz, 2H),

2.00 (t, $J=6.3$ Hz, 2H), 1.23 (s, 6H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 202.54, 143.03, 132.62, 131.11, 128.30, 127.63, 126.23, 41.24, 36.27, 25.35, 24.00.

3.2.2 2,2-二甲基-2,3-二氢萘-1,4-二酮(9)的合成

向 500 mL 圆底烧瓶中, 依次加入 150 mL 丙酮、中间体 **8** (20 g, 0.115 mol)、过氧化叔丁醇(*t*-BuOOH, 64.4 g, 0.5 mol, 70%水溶液)和 $\text{Co}(\text{acac})_2$ (3.08 g, 0.012 mol), 在室温下搅拌反应 24 h, 然后将反应液用乙酸乙酯(100 mL $\times$ 3)萃取, 合并有机相, 饱和食盐水(100 mL $\times$ 2)洗涤, 无水硫酸钠干燥. 旋转蒸发溶剂得到棕色油状物. 用 *V*(石油醚): *V*(乙酸乙酯)=5:1 作为洗脱液对粗产物进行硅胶柱层析分离得到白色固体 **9**^[28] (20.98 g, 收率 97%). m.p. 61~62 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.07~7.88 (m, 2H), 7.74~7.61 (m, 2H), 2.89 (s, 2H), 1.26 (s, 6H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 200.78, 195.73, 134.53, 133.98, 133.50, 133.29, 127.12, 125.68, 51.56, 45.11, 25.34.

3.2.3 2,2-二甲基-2,3-二氢萘-1,4-二酮-4-对甲苯磺酰肼(10)的合成

向 250 mL 圆底烧瓶中, 依次加入 150 mL 甲醇, 中间体 **9** (10 g, 0.053 mol), 对甲苯磺酰肼(9.9 g, 0.053 mol), 加热回流反应, 薄层色谱(TLC)检测反应进程, 反应完毕, 冷却至室温, 产物析出, 抽滤得到白色固体产物 **10** (18.14 g, 收率 96%). m.p. 203~204 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.59 (s, 1H), 8.03~7.98 (m, 1H), 7.99~7.91 (m, 3H), 7.56 (td, $J=7.6, 1.5$ Hz, 1H), 7.52~7.42 (m, 1H), 7.35 (d, $J=8.0$ Hz, 2H), 2.74 (s, 2H), 2.42 (s, 3H), 1.18 (s, 6H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 200.85, 148.77, 144.16, 135.58, 134.86, 133.23, 130.42, 130.15, 129.42, 127.72, 127.02, 124.15, 42.54, 37.70, 25.07, 21.27.

3.2.4 目标化合物的合成

向 25 mL 的厚壁耐压瓶中依次加入中间体 **10** (0.5 g, 1.4 mmol), DABSO (0.19 g, 0.77 mmol), 10 mL DMSO 和相应的胺(2.8 mmol), 立即封口, 放入 100 °C 的油浴中加热, 搅拌反应 12 h, 然后将反应液冷却至室温, 小心打开旋塞, 加入饱和食盐水淬灭反应, 用乙酸乙酯(10 mL $\times$ 3)萃取, 合并有机相, 饱和食盐水(10 mL $\times$ 2)洗涤, 无水硫酸钠干燥. 旋转蒸发溶剂, 得到粗产物, 用 *V*(石油醚): *V*(乙酸乙酯)=3:1 作为洗脱液对粗产物进行硅胶柱层析分离得到目标化合物.

N-(吡啶-2-基甲基)-3,3-二甲基-4-氧亚基-1,2,3,4-四氢萘-1-磺酰胺(**5a**): 白色固体, 收率 89%. m.p. 122~123 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.51~8.33 (m, 1H), 8.19 (d, $J=7.9$ Hz, 1H), 7.96 (dd, $J=7.8, 1.4$ Hz,

1H), 7.68~7.50 (m, 2H), 7.42 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.23~7.13 (m, 1H), 7.06 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 6.20 (t, $J=5.2$ Hz, 1H), 4.66 (dd, $J=10.8, 5.9$ Hz, 1H), 4.23 (td, $J=57.4, 15.7, 5.2$ Hz, 2H), 2.40 (td, $J=24.7, 13.9, 8.4$ Hz, 2H), 1.27 (s, 3H), 1.04 (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 200.43, 155.09, 148.71, 136.68, 133.38, 132.92, 131.81, 128.61, 128.55, 128.13, 122.46, 121.36, 59.46, 47.78, 40.97, 36.41, 24.57, 24.08. HRMS calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 345.1267, found 345.1261.

N-(吡啶-3-基甲基)-3,3-二甲基-4-氧亚基-1,2,3,4-四氢萘-1-磺酰胺(**5b**): 白色固体, 收率 90%. m.p. 127~128 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.31 (d, $J=4.2$ Hz, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.12 (d, $J=7.9$ Hz, 1H), 8.06~7.93 (m, 1H), 7.59~7.49 (m, 2H), 7.45 (t, $J=7.4$ Hz, 1H), 7.18 (dd, $J=7.7, 4.9$ Hz, 1H), 6.77 (t, $J=5.6$ Hz, 1H), 4.63 (dd, $J=10.4, 6.0$ Hz, 1H), 4.06 (td, $J=48.9, 15.0, 5.7$ Hz, 2H), 2.34 (td, $J=24.6, 14.0, 8.3$ Hz, 2H), 1.23 (s, 3H), 1.06 (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 200.84, 148.27, 148.20, 135.64, 133.32, 133.15, 133.03, 131.89, 128.76, 128.72, 128.10, 123.42, 59.59, 44.81, 41.02, 36.30, 24.52, 24.36. HRMS calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 345.1267, found 345.1262.

N-苄基-3,3-二甲基-4-氧亚基-1,2,3,4-四氢萘-1-磺酰胺(**5c**): 白色固体, 收率 91%. m.p. 126~127 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.14 (d, $J=7.9$ Hz, 1H), 8.02 (d, $J=7.7$ Hz, 1H), 7.56 (dd, $J=10.9, 4.3$ Hz, 1H), 7.46 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.27 (dd, $J=5.0, 1.5$ Hz, 3H), 7.21~7.10 (m, 2H), 4.98 (t, $J=5.8$ Hz, 1H), 4.52 (dd, $J=10.7, 5.9$ Hz, 1H), 4.11 (td, $J=51.2, 14.5, 5.9$ Hz, 2H), 2.26 (td, $J=24.7, 13.9, 8.5$ Hz, 2H), 1.24 (s, 3H), 0.99 (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 200.61, 136.69, 133.44, 133.10, 131.78, 128.70, 128.52, 128.49, 128.26, 127.72, 127.56, 59.66, 47.56, 40.97, 36.45, 24.57, 24.05. HRMS calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}_3\text{S}$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 342.1169, found 342.1172.

N-(吡啶-4-基甲基)-3,3-二甲基-4-氧亚基-1,2,3,4-四氢萘-1-磺酰胺(**5d**): 白色固体, 收率 89%. m.p. 197~198 °C; ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.50 (dd, $J=4.4, 1.6$ Hz, 2H), 8.12 (t, $J=6.2$ Hz, 1H), 8.05 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.88 (dd, $J=7.8, 1.4$ Hz, 1H), 7.67 (td, $J=7.7, 1.6$ Hz, 1H), 7.51 (t, $J=7.3$ Hz, 1H), 7.27 (dd, $J=4.4, 1.6$ Hz, 2H), 4.94 (dd, $J=10.1, 6.0$ Hz, 1H), 4.19 (d, $J=6.2$ Hz, 2H), 2.29 (td, $J=24.1, 14.0, 8.1$ Hz, 2H), 1.22 (s, 3H), 1.01 (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 200.83, 149.67, 147.74, 134.90, 133.39, 131.84, 129.19, 128.77, 127.65, 122.35, 58.05, 45.24, 41.00, 36.17, 25.01, 24.74.

HRMS calcd for $C_{18}H_{20}N_2O_3S$ $[M+H]^+$ 345.1267, found 345.1265.

N-(噻吩-2-基甲基)-3,3-二甲基-4-氧亚基-1,2,3,4-四氢萘-1-磺酰胺(**5e**): 白色固体, 收率 93%. m.p. 140~141 °C; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.16 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 8.06 (dd, $J=7.8$, 1.4 Hz, 1H), 7.60 (td, $J=7.6$, 1.5 Hz, 1H), 7.48 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.23 (dd, $J=4.9$, 1.2 Hz, 1H), 7.02~6.76 (m, 2H), 4.64 (d, $J=5.2$ Hz, 1H), 4.57 (dd, $J=10.9$, 5.9 Hz, 1H), 4.35 (td, $J=64.0$, 15.1, 5.8 Hz, 2H), 2.32 (td, $J=24.7$, 13.8, 8.3 Hz, 2H), 1.29 (s, 3H), 1.05 (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 200.38, 139.22, 133.20, 133.08, 131.86, 128.78, 128.42, 128.38, 126.75, 126.51, 125.76, 60.00, 42.28, 40.99, 36.55, 24.60, 24.08. HRMS calcd for $C_{17}H_{19}NO_3S_2$ $[M-H]^-$ 348.0734, found 348.0735.

N-(呋喃-2-基甲基)-3,3-二甲基-4-氧亚基-1,2,3,4-四氢萘-1-磺酰胺(**5f**): 白色固体, 收率 92%. m.p. 91~92 °C; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.07 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.97 (dd, $J=7.8$, 1.4 Hz, 1H), 7.52 (td, $J=7.7$, 1.5 Hz, 1H), 7.40 (t, $J=7.4$ Hz, 1H), 7.34~7.26 (m, 1H), 6.26 (dd, $J=3.2$, 1.9 Hz, 1H), 6.17 (d, $J=3.0$ Hz, 1H), 5.53 (t, $J=6.0$ Hz, 1H), 4.49 (dd, $J=9.6$, 6.9 Hz, 1H), 4.19 (td, $J=21.0$, 15.8, 5.9 Hz, 2H), 2.32~2.12 (m, 2H), 1.21 (s, 3H), 0.98 (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 200.78, 150.17, 142.30, 133.54, 133.11, 131.69, 128.56, 128.45, 128.15, 110.33, 108.21, 59.54, 40.89, 39.84, 36.29, 24.62, 24.17. HRMS calcd for $C_{17}H_{19}NO_4S$ $[M-H]^-$ 332.0962, found 332.0964.

N-(嘧啶-2-基甲基)-3,3-二甲基-4-氧亚基-1,2,3,4-四氢萘-1-磺酰胺(**5g**): 白色固体, 收率 90%. m.p. 118~119 °C; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.54 (d, $J=4.9$ Hz, 2H), 8.15 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.82 (dd, $J=7.8$, 1.4 Hz, 1H), 7.50 (td, $J=7.9$, 1.5 Hz, 1H), 7.33 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.14 (t, $J=4.9$ Hz, 1H), 6.01 (t, $J=5.4$ Hz, 1H), 4.72 (dd, $J=10.7$, 6.1 Hz, 1H), 4.30 (td, $J=67.7$, 17.5, 5.4 Hz, 2H), 2.43 (td, $J=24.7$, 13.9, 8.5 Hz, 2H), 1.24 (s, 3H), 1.02 (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 200.53, 164.85, 156.84, 133.14, 132.96, 131.78, 128.67, 128.50, 127.82, 119.44, 59.51, 48.43, 41.01, 36.28, 24.52, 24.04. HRMS calcd for $C_{17}H_{19}N_3O_3S$ $[M+H]^+$ 346.1220, found 346.1217.

N-(吡嗪-2-基甲基)-3,3-二甲基-4-氧亚基-1,2,3,4-四氢萘-1-磺酰胺(**5h**): 白色固体, 收率 91%. m.p. 134~135 °C; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.39 (d, $J=2.6$ Hz, 1H), 8.35 (dd, $J=2.5$, 1.5 Hz, 1H), 8.30 (d, $J=1.4$ Hz,

1H), 8.09 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.84 (dd, $J=7.8$, 1.5 Hz, 1H), 7.49 (td, $J=7.7$, 1.6 Hz, 1H), 7.36 (t, $J=7.4$ Hz, 1H), 6.15 (t, $J=5.8$ Hz, 1H), 4.68 (dd, $J=10.6$, 6.0 Hz, 1H), 4.23 (td, $J=46.2$, 16.3, 5.8 Hz, 2H), 2.47~2.26 (m, 2H), 1.22 (s, 3H), 1.02 (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 200.54, 151.43, 143.44, 143.40, 142.97, 133.02, 132.91, 131.85, 128.74, 128.62, 127.98, 59.60, 45.84, 41.00, 36.22, 24.52, 24.23. HRMS calcd for $C_{17}H_{19}N_3O_3S$ $[M+H]^+$ 346.1220, found 346.1218.

N-(3,3-二甲基-4-氧亚基-1,2,3,4-四氢萘-1-基)磺酰基甘氨酸乙酯(**6a**): 白色固体, 收率 93%. m.p. 123~124 °C; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.17 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 8.06 (dd, $J=7.7$, 1.1 Hz, 1H), 7.61 (td, $J=7.8$, 1.5 Hz, 1H), 7.49 (t, $J=7.4$ Hz, 1H), 4.81 (t, $J=5.3$ Hz, 1H), 4.73 (dd, $J=10.6$, 5.9 Hz, 1H), 4.13 (qd, $J=7.2$, 0.7 Hz, 2H), 3.69 (td, $J=66.4$, 18.1, 5.5 Hz, 2H), 2.47 (td, $J=24.6$, 13.9, 8.3 Hz, 2H), 1.35 (s, 3H), 1.23 (t, $J=7.1$ Hz, 3H), 1.13 (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 200.47, 168.97, 133.00, 131.98, 128.78, 128.56, 128.28, 61.63, 59.95, 44.63, 41.06, 36.35, 24.61, 24.28, 13.69. HRMS calcd for $C_{16}H_{21}NO_5S$ $[M+NH_4]^+$ 357.1479, found 357.1477.

N-(3,3-二甲基-4-氧亚基-1,2,3,4-四氢萘-1-基)磺酰基甘氨酸甲酯(**6b**): 白色固体, 收率 91%. m.p. 130~131 °C; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.16 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 8.06 (dd, $J=7.8$, 1.3 Hz, 1H), 7.61 (td, $J=7.7$, 1.5 Hz, 1H), 7.50 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 4.85 (t, $J=5.6$ Hz, 1H), 4.74 (dd, $J=10.6$, 5.8 Hz, 1H), 3.81 (dd, $J=18.2$, 5.4 Hz, 1H), 3.68 (s, 3H), 3.60 (dd, $J=18.2$, 5.9 Hz, 1H), 2.57 (dd, $J=13.9$, 5.9 Hz, 1H), 2.37 (dd, $J=13.8$, 10.7 Hz, 1H), 1.35 (s, 3H), 1.13 (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 200.64, 169.65, 133.07, 133.01, 131.97, 128.74, 128.58, 128.19, 77.16, 76.74, 76.32, 59.93, 52.23, 44.43, 41.04, 36.24, 24.60, 24.33. HRMS calcd for $C_{15}H_{19}NO_5S$ $[M-H]^-$ 324.0911, found 324.0915.

3-[(3,3-二甲基-4-氧亚基-1,2,3,4-四氢萘)-1-磺酰氨基]丙酸甲酯(**6d**): 白色固体, 收率 92%. m.p. 97~98 °C; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.14 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 8.07 (dd, $J=7.8$, 1.4 Hz, 1H), 7.62 (td, $J=7.8$, 1.6 Hz, 1H), 7.50 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 5.02 (t, $J=6.4$ Hz, 1H), 4.68 (dd, $J=10.7$, 5.9 Hz, 1H), 3.67 (s, 3H), 3.29~3.08 (m, 2H), 2.53~2.40 (m, 2H), 2.38~2.26 (m, 2H), 1.35 (s, 3H), 1.14 (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 200.48, 172.11, 133.28, 133.04, 131.92, 128.78, 128.53, 128.31, 59.48, 51.62, 41.06, 39.35, 36.54, 34.36, 24.62, 24.29.

HRMS calcd for $C_{16}H_{21}NO_5S$ $[M + NH_4]^+$ 357.1479, found 357.1481.

3.2.5 氨基酸类目标化合物的合成

将化合物 **6b** (0.5g, 1.54 mmol) 加入到 50 mL 的圆底烧瓶中, 加入 10 mL THF 溶解 **6b**, 再加入 10 mL 的 H_2O 和 LiOH (0.074g, 3.08 mmol), 室温下搅拌反应, 薄层色谱(TLC)检测反应进程, 反应完毕, 用乙酸乙酯(10 mL $\times$ 3)萃取, 合并有机相, 饱和食盐水(10 mL $\times$ 2)洗涤, 无水硫酸钠干燥. 旋转蒸发溶剂, 得到粗产物, 用 V (二氯甲烷): V (甲醇)=5:1 作为洗脱液对粗产物进行硅胶柱层析分离得到 **6c**. 也用同样的方法得到 **6e**.

N -((3,3-二甲基-4-氧亚基-1,2,3,4-四氢萘-1-基)磺酰基)甘氨酸(**6c**): 白色固体, 收率 97%. m.p. 122~123 $^{\circ}C$; 1H NMR (300 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 8.10 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.88 (t, $J=9.9$ Hz, 2H), 7.66 (t, $J=7.3$ Hz, 1H), 7.51 (t, $J=7.4$ Hz, 1H), 4.93 (dd, $J=9.9, 5.5$ Hz, 1H), 3.71 (q, $J=18.1$ Hz, 2H), 2.56 (dd, $J=13.9, 5.5$ Hz, 1H), 2.25 (dd, $J=13.7, 10.3$ Hz, 1H), 1.24 (s, 3H), 1.05 (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 201.00, 171.50, 135.23, 133.29, 131.82, 129.19, 128.63, 127.63, 58.51, 44.50, 40.99, 36.11, 25.11, 24.74. HRMS calcd for $C_{14}H_{17}NO_5S$ $[M-H]^-$ 310.0755, found 310.0757.

3-((3,3-二甲基-4-氧亚基-1,2,3,4-四氢萘)-1-磺酰胺基)丙酸(**6e**): 白色固体, 收率 98%. m.p. 164~165 $^{\circ}C$; 1H NMR (300 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 12.33 (s, 1H), 8.04 (d, $J=7.9$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.67 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.51 (t, $J=7.3$ Hz, 2H), 4.94 (dd, $J=9.9, 5.9$ Hz, 1H), 3.25~3.05 (m, 2H), 2.44~2.16 (m, 4H), 1.24 (s, 3H), 1.05 (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 201.01, 172.53, 135.17, 133.28, 131.92, 129.31, 128.65, 127.58, 57.41, 41.02, 39.00, 36.14, 34.91, 25.07, 24.94. HRMS calcd for $C_{15}H_{19}NO_5S$ $[M-H]^-$ 324.0911, found 324.0914.

3.2.6 抑制种子萌发活性测定

实验材料: 拟南芥种子 (*Arabidopsis thaliana*, Columbia, WT), 莴苣种子 (*Lettuce*, *Lactuca sativa* L.cv.), 目标化合物 **5a~5h** 和 **6a~6e**, 选择 ABA, iso-PhABA 和 Pyrabactin 作为对照药剂

拟南芥种子萌发实验: 将拟南芥种子用 70% 乙醇灭菌 10 min, 无菌水漂洗, 再将消毒吹干后的拟南芥种子分装至装有 400 μL 的待试药液的 1.5 mL 离心管中, 置于 4 $^{\circ}C$ 冰箱中春化 3 d. 将春化好的拟南芥种子用牙签小心点播 50 粒种子于垫有双层滤纸并加 2 mL 清水的培养皿中, 封口膜密封, 放入设置为 22 $^{\circ}C$ 、16 h 光照和 8 h 黑暗的智能光照培养箱中萌发. 蒸馏水浸泡春化为空

白对照. 24 h 后统计萌发率.

莴苣种子萌发实验: 将大小均一且饱满的莴苣种子用 70% 乙醇灭菌 10 min, 无菌水漂洗. 消毒吹干后的莴苣种子分装浸泡于 1 mL 待试药液中 24 h. 将浸种完成后莴苣种子用蒸馏水冲洗, 滤纸吸干种子表面残余水分后, 用牙签将 50 粒莴苣种子点播于垫有双层滤纸并加 2 mL 清水的培养皿中, 封口膜密封, 放入设置为 25 $^{\circ}C$ 、24 h 光照和 0 h 黑暗的智能光照培养箱中萌发. 蒸馏水浸泡为空白对照. 24 h 后统计萌发率.

辅助材料(Supporting Information) 化合物 **5a~5h**, **6a~6e** 的 1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱图. 这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载.

References

- [1] Ohkuma, K.; Lyon, J. L.; Addicott, F. T.; Smith, O. E. *Science* **1963**, *142*, 1592.
- [2] Horton, R. F. *Can. J. Bot.* **1971**, *49*, 583.
- [3] Hocking, T. J.; Clapham, J.; Cattell, K. J. *Planta* **1978**, *138*, 303.
- [4] Zhang, J.; Davies, W. J. *J. Exp. Bot.* **1987**, *38*, 649.
- [5] Hornberg, C.; Weiler, E. W. *Nature* **1984**, *310*, 321.
- [6] Hagenbeek, D.; Quatrano, R. S.; Rock, C. D. *Plant Physiol.* **2000**, *123*, 1553.
- [7] Chen, H. H.; Li, P. H.; Brenner, M. L. *Plant Physiol.* **1983**, *71*, 362.
- [8] Treutter, D. *Environ. Chem. Lett.* **2006**, *4*, 147-157.
- [9] Tanino, K. K.; Chen, T. H. H.; Fuchigami, L. H.; Weiser, C. J. *J. Plant Physiol.* **1991**, *137*, 619.
- [10] Teng, K.; Li, J.; Liu, L.; Han, Y.; Du, Y.; Zhang, J.; Sun, H.; Zhao, Q. *Acta Physiol. Plant.* **2014**, *36*, 2219.
- [11] Lu, S.; Su, W.; Li, H.; Guo, Z. *Plant Physiol. Biochem.* **2009**, *47*, 132.
- [12] Zeevaert, J. A. D.; Creelman, R. A. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **1988**, *39*, 439.
- [13] Zaharia, L. I.; Walker-Simmon, M. K.; Rodríguez, C. N.; Abrams, S. R. *J. Plant Growth Regul.* **2005**, *24*, 274.
- [14] Oritani, T.; Kiyota, H. *Nat. Prod. Rep.* **2003**, *20*, 414.
- [15] Todoroki, Y.; Hirai, N.; Koshimizu, K. *Biosci., Biotechnol., Biochem.* **1994**, *58*, 707.
- [16] Todoroki, Y.; Nakano, S.; Arai, S.; Hirai, N.; Ohigashi, H. *Biosci., Biotechnol., Biochem.* **1997**, *61*, 2043.
- [17] Takeuchi, J.; Okamoto, M.; Akiyama, T.; Muto, T.; Yajima, S.; Sue, M.; Seo, M.; Kanno, Y.; Kamo, T.; Endo, A.; Nambara, E.; Hirai, N.; Ohnishi, T.; Cutler, S. R.; Todoroki, Y. *Nat. Chem. Biol.* **2014**, *10*, 477.
- [18] Nyangulu, J. M.; Nelson, K. M.; Rose, P. A.; Gai, Y.; Loewen, M.; Lougheed, B.; Quail, J. W.; Cutler, A. J.; Abrams, S. R. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 1400.
- [19] Han, X.; Wan, C.; Li, X.; Li, H.; Yang, D.; Du, S.; Xiao, Y.; Qin, Z. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 2438.
- [20] Takeuchi, J.; Ohnishi, T.; Okamoto, M.; Todoroki, Y. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 4278.
- [21] Rajagopalan, N.; Nelson, K. M.; Douglas, A. F.; Jheengut, V.; Alarcon, I. Q.; McKenna, S. A.; Surpin, M.; Loewen, M. C.; Abrams, S. R. *Biochemistry* **2016**, *55*, 5155.
- [22] Han, X. Q.; Wan, C.; Yang, D. Y.; Du, S. J.; Yuan, X. Y.; Xiao, Y. M.; Qin, Z. H. *Chin. J. Org. Chem.* **2014**, *34*, 1692 (in Chinese). (韩小强, 万川, 杨冬燕, 杜士杰, 袁小勇, 肖玉梅, 覃兆海, 有机化学, **2014**, *34*, 1692.)
- [23] Todoroki, Y.; Narita, K.; Muramatsu, T.; Shimomura, H.; Ohnishi, T.; Mizutani, M.; Ueno, K.; Hirai, N. *Bioorgan. Med. Chem.* **2011**, *19*, 1743.

- [24] Park, S. Y.; Fung, P.; Nishimura, N.; Jensen, D. R.; Fujii, H.; Zhao, Y.; Lumba, S.; Santiago, J.; Rodrigues, A.; Chow, T. F.; Alfred, S. E.; Bonetta, D.; Finkelstein, R.; Provart, N. J.; Desveaux, D.; Rodriguez, P. L.; McCourt, P.; Zhu, J. K.; Schroeder, J. I.; Volkman, B. F.; Cutler, S. R. *Science* **2009**, 324, 1068.
- [25] Puli, M. R.; Raghavendra, A. S. *J. Exp. Bot.* **2012**, 63, 1349.
- [26] Hao, Q.; Yin, P.; Yan, C.; Yuan, X.; Li, W.; Zhang, Z.; Liu, L.; Wang, J.; Yan, N. *J. Biol. Chem.* **2010**, 285, 28946.
- [27] Duan, L. S.; Yu, C. X.; Liu, S. J.; Hu, T. L.; Zhou, Y. Y.; Li, Z. H. *WO 2018086507*, **2018**.
- [28] Han, X.; Jiang, L.; Che, C.; Wan, C.; Lu, H.; Xiao, Y.; Xu, Y.; Chen, Z.; Qin, Z. *Sci. Rep.* **2017**, 7, 43863.
- [29] Tsai, A. S.; Curto, J. M.; Rocke, B. N.; Dechert-Schmitt, A. M.; Ingle, G. K.; Mascitti, V. *Org. Lett.* **2016**, 18, 508.

(Li, L.; Fan, Y.)