

含水杨醛席夫碱结构的黄酮衍生物的固相合成与抗氧化及抗菌活性

段志芳^{a,b*} 邵玲^a(肇庆学院^a生命科学学院;^b生物医药工程中心 广东 肇庆 526061)

摘 要 7-溴乙氧基黄酮与水杨醛固相反应得到7-邻甲醛基苯氧乙氧基黄酮,该化合物分别与 N^4 -取代苯氨基脲类、 N^4 -取代氨基硫脲类及取代苯亚氨基乙酰肼类化合物固相研磨反应得到3种类型共14个含水杨醛席夫碱结构的黄酮衍生物。用红外(IR)、核磁共振氢谱(^1H NMR)、质谱(ESI-MS)及元素分析(EA)或高分辨质谱(HR-MS)等技术手段对化合物的结构进行了确证。比较测定了这些新化合物清除超氧自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)、羟自由基($\cdot\text{OH}$)和2,2-二苯基-1-苦味酰基自由基(DPPH $\cdot$)的活性及总还原能力,并对化合物进行了抗菌活性测定,结果表明,在0.5 g/L浓度时,多数化合物具有抗氧化活性,表现出较好的抑菌活性,其中尤以化合物3b表现出与氯霉素相当的抗菌活性。

关键词 水杨醛席夫碱;黄酮;固相合成;抗氧化;抗菌

中图分类号:O629; Q946

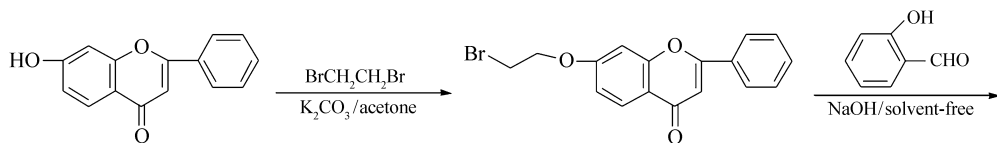
文献标识码:A

文章编号:1000-0518(2015)09-1005-09

DOI:10.11944/j.issn.1000-0518.2015.09.150032

黄酮化合物广泛存在于多种植物中,是一类倍受人们关注的天然活性物质,具有抗氧化、抗肿瘤、抗病毒等多种药理作用,对人类肿瘤、衰老、心血管疾病的防治具有重要意义^[1]。由化学合成和半合成所得到的黄酮衍生物亦具有广泛的生物活性,如抗癌、抗菌、抗病毒、抗心血管疾病、抗骨质疏松、抗氧化等活性^[2]。水杨醛在染料、农药、医药、螯合剂等精细化工领域中有广泛应用,用于制造香豆素和紫罗兰酮等香料、制备抗菌药和抗咳嗽药等,水杨醛席夫碱类衍生物由于其独特的抗菌、抗肿瘤等生物活性也引起了合成化学家的关注^[3],李建平等^[4]合成了水杨醛氨基酸席夫碱类 α -氨基膦酸酯,初步生物活性测试显示其具有良好的杀菌活性;赵文岩等^[5]合成了卤(硝)代水杨醛-芳胺席夫碱类化合物,发现该类化合物有望成为新型的抗肝片吸虫病药物;樊素芳等^[6]用清除DPPH自由基法、超氧阴离子自由基法和还原能力的测定来探讨壳寡糖水杨醛系列席夫碱的抗氧化活性,发现此类水杨醛席夫碱化合物比壳寡糖的抗氧化活性强。

本论文为了实现黄酮结构和水杨醛席夫碱结构生物活性叠加,将7-溴乙氧基黄酮与水杨醛固相反应得到7-水杨醛乙氧基黄酮,然后通过固相缩合反应将3种不同类型的生物活性小分子 N^4 -取代苯氨基脲、 N^4 -取代苯基氨基硫脲和取代苯亚氨基乙酰肼通过席夫碱形式引入到黄酮结构中,设计合成了14个新型的含水杨醛席夫碱结构单元的黄酮类化合物,用红外(IR)、核磁共振氢谱(^1H NMR)、质谱(ESI-MS)及元素分析(EA)或高分辨质谱(HR-MS)等技术手段对这些化合物的结构进行了确证。初步测定了这些新化合物清除超氧自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)、羟自由基($\cdot\text{OH}$)和2,2-二苯基-1-苦味酰基自由基(DPPH $\cdot$)的活性及总还原能力,并对这些化合物进行了抗菌活性测定。以期研发具有更强药理作用的黄酮类新的先导化合物,为黄酮的广泛开发和应用提供实验数据。目标化合物合成路线见 Scheme 1。



合物(N^4 -取代苯基氨基脲类、 N^4 -取代苯基氨基硫脲类或取代苯亚氨基乙酰脒类化合物)置于玻璃研钵中研磨均匀,转移至50 mL圆底烧瓶中,80℃下反应,TLC跟踪(展开剂为 V (乙酸乙酯): V (石油醚)=1:1),待原料点7-水杨醛乙氧基黄酮消失后停止反应。用乙醇或乙醇/ N,N -二甲基甲酰胺(体积比为3:1)重结晶,得到目标化合物。

7-(2-对氯苯亚氨酰脲基)-苯氧乙氧基黄酮(**1a**):白色固体,产率92.0%,mp 216~218℃; ^1H NMR(DMSO- d_6 ,400 MHz), δ :10.78(s,1H,NH),8.96(s,1H,NH),8.36(s,1H,CH=N),8.20(dd, J =1.52,6.24 Hz,1H,ArH),8.19~8.21(m,2H,ArH),7.98(d, J =8.84 Hz,1H,5-H),7.68~7.71(m,2H,ArH),7.51~7.61(m,3H,ArH,8-H),7.38~7.42(m,2H,ArH),7.30~7.34(m,2H,ArH),7.15~7.19(m,2H,ArH,6-H),7.05(t, J =7.52 Hz,1H,ArH),6.97(s,1H,3-H),4.49~4.54(m,4H,CH₂CH₂);IR(KBr), σ/cm^{-1} :3350、3192(NH),3073、3061(ArH),2936、2859(CH₂),1691、1645(C=O),1626、1607,1588,1530,1492,1444,1356,1277,1251,1181,1107,1091,1070,1027,969,905,833,772,689,504;ESI-MS m/z :554.3([M+H]⁺,100);C₃₁H₂₄ClN₃O₅实测值(计算值)/%:C 66.86(67.21),H 4.54(4.34),N 7.31(7.59)。

7-(2-对甲苯亚氨酰脲基)-苯氧乙氧基黄酮(**1b**):白色固体,产率87.3%,mp 211~213℃; ^1H NMR(DMSO- d_6 ,400 MHz), δ :10.66(s,1H,NH),8.72(s,1H,NH),8.35(s,1H,CH=N),8.18(dd, J =1.36,6.40 Hz,1H,ArH),8.08~8.11(m,2H,ArH),7.98(d, J =8.80 Hz,1H,5-H),7.56~7.60(m,3H,ArH,8-H),7.41(d, J =2.16 Hz,2H,ArH),7.37~7.39(m,2H,ArH),7.15~7.19(m,2H,ArH,6-H),7.03~7.09(m,3H,ArH),6.97(s,1H,3-H),4.49~4.54(m,4H,CH₂CH₂),2.25(s,3H,CH₃);IR(KBr), σ/cm^{-1} :3352、3191(NH),3072、3059(ArH),2951、2924、2860(CH₂),1690、1645(C=O),1626、1607,1590,1532,1443,1355,1250,1236,1179,1108,834;ESI-MS m/z :534.2([M+H]⁺,100),556.2([M+Na]⁺,68),820.1(55),1089.5(31);C₃₂H₂₇N₃O₅实测值(计算值)/%:C 72.41(72.05),H 5.04(5.07),N 7.59(7.88)。

7-(2-对硝基苯亚氨酰脲基)-苯氧乙氧基黄酮(**1c**):白色固体,产率80.4%,mp 234~236℃; ^1H NMR(DMSO- d_6 ,400 MHz), δ :11.02(s,1H,NH),9.45(s,1H,NH),8.40(s,1H,CH=N),8.17~8.23(m,3H,ArH),8.08~8.10(m,2H,ArH,5-H),7.97(t, J =8.76 Hz,3H,ArH),7.56~7.60(m,3H,ArH,8-H),7.41~7.44(m,2H,ArH),7.15~7.21(m,2H,ArH,6-H),7.07(t, J =7.48 Hz,1H,ArH),6.97(s,1H,3-H),4.50~4.55(m,4H,CH₂CH₂);IR(KBr), σ/cm^{-1} :3349、3199(NH),3105(ArH),2958、2868(CH₂),1708、1642(C=O),1604,1546,1511,1450,1379,1331,1252,1236,1160,1107,851,750;ESI-MS m/z :282.3(63),387.1(100),409.1(53),437.2(35),565.2([M+H]⁺,19),587.2(26);C₃₁H₂₄N₄O₇实测值(计算值)/%:C 66.04(65.96),H 4.42(4.26),N 10.07(9.93)。

7-(2-对甲氧苯亚氨酰脲基)-苯氧乙氧基黄酮(**1d**):白色固体,产率88.3%,mp 203~205℃; ^1H NMR(400 MHz,DMSO- d_6), δ :10.62(s,1H,NH),8.69(s,1H,NH),8.34(s,1H,CH=N),8.19(dd, J =1.24,6.48 Hz,1H,ArH),8.09~8.11(m,2H,ArH),7.98(d, J =8.84 Hz,1H,5-H),7.59~7.60(m,3H,ArH,8-H),7.49~7.52(m,2H,ArH),7.37~7.41(m,2H,ArH),7.15~7.19(m,2H,ArH,6-H),7.04(t, J =7.52 Hz,1H,ArH),6.97(s,1H,3-H),6.86(d, J =9.00 Hz,2H,ArH),4.49~4.54(m,4H,CH₂CH₂),3.72(s,3H,OCH₃);IR(KBr), σ/cm^{-1} :3378、3191(NH),3086(ArH),2995、2947(CH₂),1684、1653(C=O),1629,1543,1512,1446,1373,1298,1279,1249,1149,1166,1103,1033,851,834,772,749,690,609,534;ESI-MS m/z :550.2([M+H]⁺,100),572.2(40),844.2(53),1121.4(46);C₃₂H₂₇N₃O₆实测值(计算值)/%:C 69.72(69.95),H 4.99(4.92),N 7.61(7.65)。

7-(2-苯亚氨硫酰脲基)-苯氧乙氧基黄酮(**2a**):白色固体,产率86.3%,mp 201~203℃; ^1H NMR(DMSO- d_6 ,400 MHz), δ :11.69(s,1H,NH),9.34(s,1H,NH),8.47(s,1H,CH=N),7.64(s,1H,ArH),7.27(d, J =8.92 Hz,1H,5-H),7.20~7.23(m,3H,ArH),6.74~6.97(m,5H,ArH,3-H),6.60~6.64(m,1H,ArH),6.50(t, J =7.88 Hz,2H,ArH),6.31~6.44(m,4H,ArH,6-H),6.25(t, J =7.82 Hz,1H,

ArH), 4.42 ~ 4.49 (m, 4H, CH₂CH₂); IR (KBr), σ/cm^{-1} : 3283、3152 (NH), 3056 (ArH), 2986、2951、2923、2871 (CH₂), 1649 (C=O), 1627, 1597, 1555, 1493, 1443, 1357, 1252, 1184, 1080, 835, 753, 689; ESI-MS m/z : 536.2 ([M + H]⁺, 100), 558.1 (50); C₃₁H₂₅N₃O₄S 实测值(计算值)/%: C 69.42 (69.53), H 4.64 (4.67), N 7.81 (7.85)。

7-(2-对甲苯亚氨硫酰脲基)-苯氧乙氧基黄酮(2b): 淡黄色固体, 产率 80.4%, mp 252 ~ 254 °C; ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz), δ : 11.71 (s, 1H, NH), 9.76 (s, 1H, NH), 8.53 (s, 1H, CH=N), 8.02 ~ 8.07 (m, 2H, ArH), 7.94 ~ 8.00 (m, 3H, ArH, 8-H), 7.37 ~ 7.59 (m, 7H, ArH), 7.13 ~ 7.22 (m, 3H, ArH, 6-H), 7.03 ~ 7.04 (m, 1H, ArH), 6.91 (s, 1H, 3-H), 4.49 ~ 4.59 (m, 4H, CH₂CH₂), 3.20 (s, 3H, CH₃); IR (KBr), σ/cm^{-1} : 3259、3168 (NH), 3065 (ArH), 2946、2877 (CH₂), 1641 (C=O), 1602, 1481, 1446, 1373, 1357, 1285, 1245, 1175, 1089, 968, 768; ESI-MS m/z : 550.2 ([M + H]⁺, 100), 572.2 ([M + Na]⁺, 57); C₃₂H₂₇N₃O₄S 实测值(计算值)/%: C 69.46 (69.95), H 4.84 (4.92), N 7.71 (7.65)。

7-(2-对氯苯亚氨硫酰脲基)-苯氧乙氧基黄酮(2c): 白色固体, 产率 87.3%, mp 211 ~ 213 °C; ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz), δ : 11.82 (s, 1H, NH), 10.00 (s, 1H, NH), 8.60 (s, 1H, CH=N), 8.23 (dd, J = 1.56, 6.20 Hz, 1H, ArH), 8.07 ~ 8.10 (m, 2H, ArH), 7.99 (d, J = 8.84 Hz, 1H, 5-H), 7.56 ~ 7.64 (m, 5H, ArH, 8-H), 7.37 ~ 7.45 (m, 4H, ArH), 7.14 ~ 7.20 (m, 2H, ArH, 6-H), 7.04 (t, J = 7.52 Hz, 1H, ArH), 6.93 (s, 1H, 3-H), 4.54 (t, J = 3.48 Hz, 2H, CH₂), 4.50 (t, J = 3.36 Hz, 2H, CH₂); IR (KBr), σ/cm^{-1} : 3268、3170 (NH), 3061、3025 (ArH), 2977、2945、2877 (CH₂), 1632 (C=O), 1592, 1575, 1491, 1448, 1375, 1348, 1244, 1188, 1167, 1079, 1041, 833, 751, 676, 505; ESI-MS m/z : 274.2 (100), 304.3 (56), 570.2 ([M + H]⁺, 32), 592.1 (42); C₃₁H₂₄ClN₃O₄S 实测值(计算值)/%: C 66.29 (65.32), H 4.41 (4.21), N 7.03 (7.38)。

7-(2-胍基硫酰脲基)-苯氧乙氧基黄酮(2d): 淡黄色固体, 产率 85.0%, mp 174 ~ 176 °C; ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz), δ : 11.71 (s, 1H, NH), 9.76 (s, 1H, NH), 8.45 (s, 1H, CH=N), 8.15 (dd, J = 1.40, 6.36 Hz, 1H, ArH), 8.06 ~ 8.09 (m, 2H, ArH), 7.99 (d, J = 8.80 Hz, 1H, 5-H), 7.56 ~ 7.61 (m, 3H, ArH, 8-H), 7.36 ~ 7.40 (m, 2H, ArH), 7.13 ~ 7.16 (m, 2H, ArH, 6-H), 7.00 (t, J = 7.50 Hz, 1H, ArH), 6.91 (s, 1H, 3-H), 4.46 ~ 4.55 (m, 4H, CH₂CH₂), 3.25 (s, 2H, NH₂); IR (KBr), σ/cm^{-1} : 3390 (NH₂), 3168 (NH), 3064 (ArH), 2949、2883 (CH₂), 1632 (C=O), 1601, 1506, 1447, 1377, 1360, 1288, 1246, 1176, 1091, 1045, 772, 754, 687; ESI-MS m/z : 475.2 ([M + H]⁺, 100), 497.1 ([M + Na]⁺, 79); C₂₅H₂₂N₄O₄S 实测值(计算值)/%: C 63.40 (63.29), H 4.80 (4.64), N 11.22 (11.81)。

7-(2-对氯苯次甲胍基硫酰脲基)-苯氧乙氧基黄酮(2e): 黄色固体, 产率 82.2%, mp 231 ~ 233 °C; ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz), δ : 11.83 (s, 1H, NH), 10.28 (s, 1H, NH), 8.53 (s, 1H, CH=N), 7.80 ~ 8.14 (m, 6H, ArH, 5-H), 7.55 ~ 7.60 (m, 4H, ArH, 8-H), 7.38 ~ 7.48 (m, 3H, ArH), 6.99 ~ 7.20 (m, 4H, ArH, 6-H), 6.92 (s, 1H, 3-H), 4.50 ~ 4.60 (m, 4H, CH₂CH₂); IR (KBr), σ/cm^{-1} : 3259、3182 (NH), 3058、3039 (ArH), 2956、2879 (CH₂), 1640 (C=O), 1603, 1574, 1521, 1483, 1447, 1376, 1358, 1287, 1245, 1171, 1089, 830, 771, 748; ESI-MS m/z : 274.3 (100), 318.3 (40), 437.2 (35), 659.4 ([M + Na + K]⁺, 4); C₃₂H₂₅ClN₄O₄S 实测值(计算值)/%: C 63.80 (64.37), H 4.08 (4.19), N 9.52 (9.39)。

7-(2-苯乙酮缩胍基硫酰脲基)-苯氧乙氧基黄酮(2f): 黄色固体, 产率 85.4%, mp 236 ~ 238 °C; ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz), δ : 11.92 (s, 1H, NH), 10.25 (s, 1H, NH), 8.53 (s, 1H, CH=N), 8.05 ~ 8.09 (m, 4H, ArH), 7.92 ~ 7.99 (m, 2H, ArH, 5-H), 7.55 ~ 7.59 (m, 4H, ArH, 8-H), 7.39 ~ 7.43 (m, 3H, ArH), 7.14 ~ 7.19 (m, 3H, ArH, 6-H), 7.03 (t, J = 7.36 Hz, 1H, ArH), 6.90 (s, 1H, 3-H), 4.49 ~ 4.56 (m, 4H, CH₂CH₂), 2.35 (s, 3H, CH₃); IR (KBr), σ/cm^{-1} : 3258、3185 (NH), 3056、3041 (ArH), 2998、2878 (CH₂), 1632 (C=O), 1602, 1520, 1469, 1446, 1377, 1357, 1284, 1242, 1170, 1076, 967, 907, 844, 770, 747, 686; ESI-MS m/z : 274.2 (100), 437.2 (31), 577.2 ([M + H]⁺, 8), 599.1 (9); C₃₃H₂₈N₄O₄S 实测值(计算值)/%: C 68.43 (68.75), H 4.55 (4.86), N 10.01 (9.72)。

7-(2-对甲苯亚氨基乙酰脲基)-苯氧乙氧基黄酮(**3a**):淡黄色固体,产率81.1%,mp 207~209℃;¹H NMR(DMSO-*d*₆,400 MHz), δ :11.46(*cis*),11.45(*trans*)(s,1H,NH),8.57(*cis*),8.39(*trans*)(s,1H,CH=N),8.10(*cis*),8.08(*trans*)(s,2H,Ar—H),7.99(*cis*),7.98(*trans*)(d,*J*=8.8 Hz,1H,Ar—H),7.90(*cis*),7.83(*trans*)(d,*J*=6.84 Hz,1H,Ar—H),7.57~7.63(m,3H,Ar—H),7.40~7.45(m,2H,Ar—H),7.13~7.24(m,2H,Ar—H),7.02~7.09(m,1H,Ar—H),6.98(*cis*),6.96(*trans*)(s,1H,3-H),6.88(d,*J*=8.20 Hz,2H,Ar—H),6.52(*cis*),6.49(*trans*)(d,*J*=8.24 Hz,2H,Ar—H),5.66(*cis*),5.40(*trans*)(s,1H,NH),4.53(*cis*),4.50(*trans*)(s,4H,CH₂CH₂),4.16(*cis*),3.71(*trans*)(s,1H,CH₂),2.50(s,3H,CH₃);IR(KBr), σ/cm^{-1} :3390,3198(N—H),3100,3068(Ar—H),2946,2856(CH₂),1685,1631(C=O),1601,1522,1448(Ar),1380,1277,1246,1171,1141,1100,968,865,802,770,748,684;ESI-MS *m/z*:548.3([M+H]⁺,100);HRMS 计算值C₃₃H₂₉N₃O₅[M+H]⁺548.2180,实测值548.2188。

7-(2-对甲氧苯亚氨基乙酰脲基)-苯氧乙氧基黄酮(**3b**):白色固体,产率88.9%,mp 217~219℃;¹H NMR(DMSO-*d*₆,400 MHz), δ :11.45(*cis*),11.44(*trans*)(s,1H,NH),8.57(*cis*),8.39(*trans*)(s,1H,CH=N),8.10(*cis*),8.09(*trans*)(s,2H,Ar—H),7.98(*cis*),7.97(*trans*)(d,*J*=8.84 Hz,1H,Ar—H),7.90(*cis*),7.83(*trans*)(d,*J*=7.76 Hz,1H,Ar—H),7.57~7.60(m,3H,Ar—H),7.40~7.45(m,2H,Ar—H),7.14~7.22(m,2H,Ar—H),7.02~7.09(m,1H,Ar—H),6.98(*cis*),6.97(*trans*)(s,1H,3-H),6.69~6.72(m,2H,Ar—H),6.58(*cis*),6.53(*trans*)(d,*J*=8.84 Hz,2H,Ar—H),5.45(s,1H,NH),4.53(*cis*),4.51(*trans*)(s,4H,CH₂CH₂),4.14(*cis*),3.78(*trans*)(s,2H,CH₂),3.63(*cis*),3.62(*trans*)(s,3H,CH₃);IR(KBr), σ/cm^{-1} :3379,3187(N—H),3090(Ar—H),2956(CH₂),1679,1630(C=O),1605,1545,1449(Ar),1382,1281,1169,689;HRMS 计算值C₃₃H₂₉N₃O₆[M+H]⁺564.2129,实测值564.2155。

7-(2-对氯苯亚氨基乙酰脲基)-苯氧乙氧基黄酮(**3c**):白色固体,产率89.9%,mp 237~239℃;¹H NMR(DMSO-*d*₆,400 MHz), δ :11.51(*cis*),11.47(*trans*)(s,1H,NH),8.56(*cis*),8.39(*trans*)(s,1H,CH=N),8.10(*cis*),8.09(*trans*)(s,2H,Ar—H),7.99(*cis*),7.97(*trans*)(d,*J*=8.80 Hz,1H,Ar—H),7.90(*cis*),7.83(*trans*)(d,*J*=7.64 Hz,1H,Ar—H),7.60(*cis*),7.59(*trans*)(s,3H,Ar—H),7.40~7.45(m,2H,Ar—H),7.18~7.22(m,1H,Ar—H),7.16(*cis*),7.14(*trans*)(d,*J*=2.20 Hz,1H,Ar—H),7.02~7.10(m,3H,Ar—H),6.98(*cis*),6.96(*trans*)(s,1H,3-H),6.11(*cis*),5.89(*trans*)(t,*J*=5.68 Hz,1H,N—H),4.53(*cis*),4.51(*trans*)(s,4H,CH₂CH₂),4.18(d,*J*=5.72 Hz,1H),3.75(d,*J*=6.00 Hz,1H,CH₂);IR(KBr), σ/cm^{-1} :3369,3190(NH),3078,3056(ArH),2939,2863(CH₂),1695,1639(C=O),1624,1601,1589,1536,1490,1448,1366,1279,836,779,689;HRMS 计算值C₃₂H₂₆ClN₃O₅[M+H]⁺568.1634,实测值568.1650。

7-(2-苯亚氨基乙酰脲基)-苯氧乙氧基黄酮(**3d**):白色固体,产率87.5%,mp 186~188℃;¹H NMR(DMSO-*d*₆,400 MHz), δ :11.49(*cis*),11.46(*trans*)(s,1H,NH),8.57(*cis*),8.40(*trans*)(s,1H,CH=N),8.10(*cis*),8.09(*trans*)(s,2H,Ar—H),7.98(*cis*),7.97(*trans*)(d,*J*=8.84 Hz,1H,Ar—H),7.91(*cis*),7.83(*trans*)(d,*J*=6.88 Hz,1H,Ar—H),7.57~7.63(m,3H,Ar—H),7.40~7.45(m,2H,Ar—H),7.14~7.22(m,2H,Ar—H),7.02~7.09(m,3H,Ar—H),6.98(*cis*),6.96(*trans*)(s,1H,3-H),6.53~6.62(m,3H,Ar—H),5.87(*cis*),5.62(*trans*)(t,*J*=5.72 Hz,1H,N—H),4.53(*cis*),4.51(*trans*)(s,4H,CH₂CH₂),4.19(d,*J*=5.76 Hz,1H),3.75(d,*J*=6.08 Hz,1H,CH₂);IR(KBr), σ/cm^{-1} :3383,3143(NH),3058(ArH),2985,2877(CH₂),1688,1645(C=O),1621,1599,1550,1491,1438,1354,1250,689;HRMS 计算值C₃₂H₂₇N₃O₅[M+H]⁺534.2023,实测值534.2033。

1.3 生物活性

1.3.1 抗氧化活性实验 目标化合物抗氧化活性试验参考文献[14]方法进行,对照选用维生素C,结果改为用相对清除率表示:羟自由基由Fe²⁺-H₂O₂-亚甲蓝体系产生,清除率=[(A₀-A_样)/A₀] $\times$ 100%,相对清除率=样品的清除率/Vc的清除率 $\times$ 100%;超氧自由基采用碱性条件下邻苯三酚的自氧化产

生,清除率 = $[(A_0 - A_{\text{样}})/A_0] \times 100\%$, 相对清除率 = 样品的清除率/ V_c 的清除率 $\times 100\%$; DPPH· 自由基直接用无水乙醇配制使用,清除率 = $[1 - (A_1 - A_2)/A_0] \times 100\%$, 相对清除率 = 样品的清除率/ V_c 的清除率 $\times 100\%$; 还原能力测定采用铁氰化钾还原法,还原能力 $\Delta A = A_{\text{样}} - A_0$, 相对还原能力 = 样品的还原能力/ V_c 的还原能力 $\times 100\%$ 。试样浓度配制为 0.5 g/L 的二甲基亚砷溶液。

1.3.2 体外抗菌活性测试 采用打孔测试培养法^[15],对照选用氯霉素;用灭过菌的打孔器在涂布菌液的平皿上十字对称打 4 个孔,用无菌微量注射器分别加入 100 μL 质量浓度为 500 mg/L 的样品二甲基亚砷溶液,并以 0.85% 的无菌生理盐水作对照,每种菌做 3 个皿。将培养皿置于恒温培养箱中培养,其中细菌平板倒置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养 24 h,霉菌倒置于 28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养 48 h,取出观察有无抑菌作用。抑制率% = $[(\text{对照药菌落直径} - \text{处理药菌落直径})/(\text{对照药菌落直径})] \times 100$,其中抑制率 < 30% 用“+”表示,30% < 抑制率 < 60% 用“++”,抑制率 > 60% 用“+++”表示。试样浓度配制为 0.5 g/L 的二甲基亚砷溶液。

2 结果与讨论

2.1 目标化合物的合成

本文利用活性基团拼接原理,在无溶剂、固体氢氧化钠催化条件下,由 7-羟基黄酮制备得到 7-邻苯甲醛基氧乙氧基黄酮,该化合物与 N^4 -取代苯基氨基脲类、 N^4 -取代苯基氨基硫脲类及取代苯亚氨基乙酰肼类化合物固相缩合得到相应的席夫碱类化合物,此类固相无溶剂合成方法简单、后处理容易,产率较高,为绿色合成方法。

2.2 目标化合物谱图分析

通过对所合成化合物的 IR、 ^1H NMR、ESI-MS 及 EA 或 HR-MS 图谱数据进行分析,可以确定是目标化合物。

7-[2-取代(硫)酰肼基]-苯氧乙氧基黄酮衍生物的 IR 中,化合物显示出特有的亚氨基、 $\text{C}=\text{O}(\text{S})$ 等特征频率, $\text{N}-\text{H}$ 的伸缩振动峰在 3143 ~ 3392 cm^{-1} 左右, $\text{C}=\text{N}$ 的伸缩振动峰在 1600 ~ 1629 cm^{-1} 左右; ^1H NMR 谱在 δ 10.62 ~ 11.92 化学位移为 $\text{C}=\text{NNH}$ 的质子, δ 8.34 ~ 8.60 为 $\text{CH}=\text{N}$ 的质子化学位移, δ 6.25 ~ 8.23 之间出现的信号为芳环上的质子化学位移, δ 6.91 ~ 6.97 为黄酮结构上 3 位质子吸收峰, δ 4.42 ~ 4.66 为 OCH_2CH_2 的质子化学位移。在化合物 3a ~ 3d 的 ^1H NMR 谱中 $\text{CH}=\text{N}$ 、 NNH 、 COCH_2 、 CH_2NH 等氢均出现了较明显的裂分现象,这主要是因为酰肼类化合物分子中的 $-\text{CONHN}=\text{C}-$ 结构单元同时存在 E/Z 几何异构体和 *cis-trans* 构象异构体,在 DMSO- d_6 作溶剂的条件下 E 式异构体稳定,谱图中成对的峰是由于 E 式异构体中 *cis/trans* 互变造成的^[16]。而化合物 1a ~ 1d 和 2a ~ 2f 则无此现象。在所合成化合物的 ESI-MS 中,有较明显的 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 峰出现。

2.3 目标化合物生物活性

2.3.1 抗氧化活性 黄酮类化合物通常具有较好的抗氧化活性,因此本文测定了新化合物清除超氧自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)、羟自由基($\cdot\text{OH}$)和 2,2-二苯基-1-苦味酰基自由基(DPPH·)的活性及总还原能力,以评估这些新化合物的抗氧化活性。实验过程中为了便于比较,选用了浓度为 0.5 g/L 时的实验结果(3 次测定平均值)。

表 1 目标化合物浓度为 0.5 g/L 抗氧化活性
Table 1 Antioxidative activity of title compounds at concentration of 0.5 g/L

Compd.	The relative inhibition rate on free radicals/%			Therelative reducibility/%
	DPPH·	·OH	$\text{O}_2^{\cdot-}$	
1a	34.05	1.58	56.88	5.15
1b	1.57	3.68	21.56	1.98
1c	16.11	2.64	20.78	14.12
1d	14.33	4.75	38.20	2.64
2a	56.52	39.13	45.97	29.38

continued from previous page

Compd.	The relative inhibition rate on free radicals/%			Therelative reducibility/%
	DPPH·	·OH	O ₂ ^{·-}	
2b	20.00	15.90	34.17	39.17
2c	35.43	40.41	17.19	31.68
2d	40.65	39.13	22.18	71.77
2e	22.61	21.50	71.14	45.16
2f	45.22	34.83	74.55	49.88
3a	48.05	46.21	53.64	29.16
3b	77.67	60.12	10.45	87.60
3c	3.47	-0.53	49.50	7.12
3d	3.00	13.19	66.43	16.09
A	-7.64	34.19	17.74	0.92
B	1.69	48.48	83.94	0.53
C	1.09	56.13	90.68	2.90
Vc	100	100	100	100

A:7-hydroxy flavone; B:7-bromoethoxy flavone; C:7-*o*-benzenmethyloxy ethoxy flavone.

从表 1 可以看出,在 0.5 g/L 浓度时,多数目标化合物具有清除自由基活性,其中化合物 7-(2-对甲氧苯亚氨基乙酰脲基)-苯氧乙氧基黄酮(**3b**)对 DPPH· 自由基、羟自由基(·OH)的清除作用及其总还原能力均较强,但低于对照药物维生素 C 的作用;而 7-(2-苯乙酰脲基缩脲基硫酰脲基)-苯氧乙氧基黄酮(**2f**)对超氧自由基(O₂^{·-})的清除作用较强,但低于中间体 7-溴乙氧基黄酮、7-水杨醛乙氧基黄酮和对照药物维生素 C 的作用。

2.3.2 抗菌活性筛选 采用扩散法(打孔法)研究了目标化合物在浓度为 500 mg/L 时对大肠杆菌(*E. coli*,*Ec*)、金黄色葡萄球菌(*S. aureus*,*Sa*)、枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*,*Bs*)和黑曲霉(*A. niger*,*An*)的体外抑菌作用,结果见表 2(4 次测定平均值)。

表 2 目标化合物浓度为 0.5 g/L 体外抗菌活性

Table 2 *In vitro* antimicrobial activity of the title compounds at concentration of 0.5 g/L

Compd.	<i>Ec</i>	<i>Sa</i>	<i>Bs</i>	<i>An</i>
1a	++	+	++	++
1b	+	+	+	++
1c	+	-	++	+
1d	+	+	++	+
2a	+	-	++	+
2b	++	+	++	+
2c	++	+	++	+
2d	++	-	++	++
2e	+	+	++	+
2f	++	-	+	++
3a	++	+	++	+
3b	+++	+++	+++	++
3c	++	-	++	+
3d	+	-	+	++
A	+	+	+	+
B	+	+	+	+
C	++	++	++	++
chloramphenicol	+++	+++	+++	+++
Blank	-	-	-	-

A:7-hydroxy flavone; B:7-bromoethoxy flavone; C:7-*o*-benzenmethyloxy ethoxy flavone.

初步抗菌结果显示,目标化合物对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和黑曲霉均表现出一定程度的抑制作用,部分化合物(**1c**、**2a**、**2d**、**2f**、**3c** 和 **3d**)对金黄色葡萄球菌没有抑制作用;化合物 **3b** 对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌均具有较强抑制作用,与对照药物氯霉素相近。

3 结 论

本文将3种类型含氨基化合物: N^4 -取代苯基氨基脲类、 N^4 -取代苯基氨基硫脲类和取代苯亚氨基乙酰肼类化合物,分别与7-邻苯甲醛基氧乙氧基黄酮通过固相缩合反应共得到14个含水杨醛席夫碱黄酮衍生物。比较测定了这些新化合物清除超氧自由基($O_2^{\cdot-}$)、羟自由基($\cdot OH$)和2,2-二苯基-1-苦味酰基自由基(DPPH $\cdot$)的活性及总还原能力,并初步测定了它们对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和黑曲霉的抑制作用。生物活性测试结果表明,在浓度为0.5 g/L时,多数化合物具有抗氧化活性,其中化合物7-(2-对甲氧苯亚氨基乙酰肼基)-苯氧乙氧基黄酮(**3b**)对DPPH $\cdot$ 自由基、羟自由基($\cdot OH$)的清除作用及其总还原能力均较强;多数化合物有抑菌活性,其中化合物**3b**对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌均具有较强抑制作用。该结果为进一步研究含水杨醛席夫碱结构黄酮类化合物的药理活性提供了基础数据。

参 考 文 献

- [1] Tsuji P A, Stephenson K K, Wade K L, *et al.* Structure-activity Analysis of Flavonoids: Direct and Indirect Antioxidant, and Anti-inflammatory Potencies and Toxicities[J]. *Nutr Cancer*, 2013, **65**(6): 1-12.
- [2] YAN Xi, LIU Huiqing, ZOU Yongqing, *et al.* Physiological Activities and Research Advance in Synthesis of Flavonoids[J]. *Chinese J Org Chem*, 2008, **28**(9): 1534-1544 (in Chinese).
延玺, 刘会青, 邹永青, 等. 黄酮类化合物生理活性及合成研究进展[J]. 有机化学, 2008, **28**(9): 1534-1544.
- [3] Tarafder M T H, Ali M A, Wee D J, *et al.* Complexes of a Tridentate ONS Schiff Base. Synthesis and Biological Properties [J]. *Trans Met Chem*, 2000, **25**(4): 456-460.
- [4] LI Jianping, LIU Ruijie, HOU Ying, *et al.* Synthesis and Biological Activity of α -Amino Phosphonate Ester from Salicylaldehyde Amino Acid and Dialkylphosphonate[J]. *Chinese J Appl Chem*, 2008, **25**(10): 1243-1245 (in Chinese).
李建平, 刘锐杰, 侯瑛, 等. 水杨醛氨基酸席夫碱类 α -氨基膦酸酯的合成及生物活性[J]. 应用化学, 2008, **25**(10): 1243-1245.
- [5] ZHAO Wenyan, NIU Xueping, ZHANG Rui. Synthesis and Biological Activity of the Novel Salicylaldehyde-phenylamine Schiff Base Compounds[J]. *Chinese Pharm J*, 2005, **40**(1): 63-66 (in Chinese).
赵文岩, 牛雪平, 张蕊. 新型水杨醛-芳胺席夫碱化合物的合成及生物活性[J]. 中国药理学杂志, 2005, **40**(1): 63-66.
- [6] FAN Sufang, YANG Guoyu, XU Cuilian, *et al.* Antioxidant Function of Chitooligosaccharides Salicylaldehyde Schiff Base Series[J]. *J Henan Agric Univ*, 2012, **46**(6): 687-690 (in Chinese).
樊素芳, 杨国玉, 徐翠莲, 等. 壳寡糖水杨醛系列希夫碱的抗氧化作用[J]. 河南农业大学学报, 2012, **46**(6): 687-690.
- [7] SHENG Chunquan, ZHU Jie, ZHANG Wannian, *et al.* Synthesis and Antifungal Activity of N -[2-(2,4-Difluorophenyl)-2-Hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-Triazol-1-yl) Propyl]- N' -(4-Substituted Phenyl)-3-(2*H*,4*H*)-1,2,4-Triazolones [J]. *Chinese Pharm J*, 2006, **41**(6): 469-471 (in Chinese).
盛春泉, 朱杰, 张万年, 等. N -[2-(2,4-二氟苯基)-2-羟基-3-(1*H*-1,2,4-三唑-1-基)丙基]- N' -(4-取代苯基)-3-(2*H*,4*H*)-1,2,4-三唑酮的合成和抗真菌活性[J]. 中国药理学杂志, 2006, **41**(6): 469-471.
- [8] ZHONG Meng, XU Lijun, LIU Zhaopeng. IV. Synthesis of the Derivatives of 6-Amino-9-(N^4 -Aromatic Substituted Acetaldehyde Thiosemicarbazone) Purine[J]. *Acta Acad Med Shandong*, 1995, **33**(3): 254-256 (in Chinese).
钟蒙, 徐丽君, 刘兆鹏. 抗病毒剂研究—IV. 6-氨基-9-(N^4 -芳香基取代乙醛缩氨基硫脲)嘌呤衍生物的合成[J]. 山东医科大学学报, 1995, **33**(3): 254-256.
- [9] SUN Xiaohong, TAO Yan, LIU Yuanfa, *et al.* Synthesis and Biological Activities of 4,5-Dihydro-3-methyl-4-amino-1,2,4-triazole-5-thione Schiff Bases[J]. *Acta Chim Sin*, 2008, **66**(2): 234-238 (in Chinese).
孙晓红, 陶燕, 刘源发, 等. 3-甲基-4-氨基-1,2,4-三唑-5-硫酮席夫碱的合成及生物活性研究[J]. 化学学报, 2008, **66**(2): 234-238.
- [10] YANG Xuejun, SHI Zhichuan, ZHAO Zhigang. Synthesis and Inhibitory Activities of Thiosemicarbazones under Microwave Irradiation[J]. *Chinese J Synth Chem*, 2011, **19**(3): 352-355 (in Chinese).
杨学军, 石治川, 赵志刚. 单缩二氨基硫脲的微波合成及其抗菌活性[J]. 合成化学, 2011, **19**(3): 352-355.
- [11] LI Qinghan, ZHAO Zhigang. Synthesis and Characterization of Asymmetric Bis(thiosemicarbazone) [J]. *J Southwest Univ Nation* (Nat Sci Ed), 2008, **34**(5): 982-984 (in Chinese).
李清寒, 赵志刚. 不对称双缩二氨基硫脲类化合物的合成及表征[J]. 西南民族大学学报, 2008, **34**(5): 982-984.
- [12] CHEN Limin, ZHANG Ziyi, ZHANG Xian, *et al.* Syntheses of 1-Benzothiazolylthioacetyl-4-Aroylthiosemicarbazide

Compounds[J]. *Chem J Chinese Univ*,1988,**9**(3):283-286(in Chinese).

陈立民,张自义,张贤,等. 1-苯并噻唑硫乙酰基-4-芳酰氨基硫脲类化合物的合成[J]. 高等学校化学学报,1988,**9**(3):283-286.

- [13] DUAN Zhifang, FU Li, LI Chongbi. Syntheses and Biological Activities of 7-(Substituted Triazolo Thioethoxy) Flavone Derivatives[J]. *Chem J Chinese Univ*,2015,**36**(1):102-109(in Chinese).

段志芳,付莉,李充璧. 7-取代三唑硫乙氧基黄酮衍生物的合成及生物活性[J]. 高等学校化学学报,2015,**36**(1):102-109.

- [14] ZHAO Fang, LIANG Hui, CHENG Hui, *et al.* Synthesis, Characterization and Antioxidative Activity of Metal Complexes with Rhein[J]. *Acta Chim Sin*,2011,**69**(8):925-930(in Chinese).

赵芳,梁慧,程惠,等. 大黄酸金属配合物的合成、表征及抗氧化活性研究[J]. 化学学报,2011,**69**(8):925-930.

- [15] QU Lingbo, TIAN Mengchao, CHENG Senxiang, *et al.* Synthesis and Antibacterial Activity of 7-(4-Acylamino-thiocarbamoyl-1-piperazinyl) fluoroquinolone Analogues *in vitro*[J]. *Acta Pharm Sin*,2003,**38**(4):264-267(in Chinese).

屈凌波,田孟超,程森祥,等. 7-(4-酰氨基硫代甲酰基-1-哌嗪基)喹诺酮类化合物的合成及其体外抗菌活性[J]. 药学报,2003,**38**(4):264-267.

- [16] HAN Jie, ZHOU Xiaoxia, CHEN Sibao, *et al.* Synthesis and Biological Activities of Novel Acylhydrazone Containing 1,2,4-Triazole Structure[J]. *Chinese J Org Chem*,2014,**34**(4):741-748(in Chinese).

韩杰,周晓霞,陈思宝,等. 含1,2,4-三唑酰肼类化合物的合成、结构表征及生物活性[J]. 有机化学,2014,**34**(4):741-748.

Solid Phase Synthesis and Biological Activity of Flavone Derivatives Containing Salicylidene Schiff Bases

DUAN Zhifang^{a,b,*}, SHAO Ling^a

(^aCollege of Life Science; ^bBiopharmaceutical Research and Development Center, Zhaoqing University, Zhaoqing, Guangdong 526061, China)

Abstract The 7-*o*-formylphenoxy ethoxy flavone was obtained from salicylaldehyde and 7-bromoethoxy flavones by solid phase synthetic method. Then fourteen flavone derivatives containing salicylidene Schiff bases were synthesized by the solid phase condensation reaction of 7-salicylidene ethoxy flavone with substituted *N*⁴-substituted semicarbazides, *N*⁴-substituted thiosemicarbazides and *N*-phenylglycine hydrazides. These new compounds were characterized by IR, ¹H NMR, ESI-MS and EA or HR-MS. Their scavenging effects on the superoxide radical(O₂^{-·}), hydroxyl radical(·OH) and DPPH· radical and their total reduction activities as well as the antimicrobial activities *in vitro* were evaluated. At 0.5 g/L concentration, most of the title compounds exhibit antioxidation effects and relatively antibacterial activity. Among them, the antibacterial activity of compound **3b** is comparable to that of the control drug chloramphenicol.

Keywords salicylidene schiff bases; flavone; solid phase synthesis; antioxidation; antibacterial