

• 研究论文 •

新型查尔酮类化合物的合成及其生物活性研究

廖头根^a 汪秋安^{*,a} 方伟琴^a 朱华结^b

(^a 湖南大学化学化工学院 长沙 410082)

(^b 中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室 昆明 650204)

摘要 以 3,5-二羟基苯甲酸为原料, 分别经酯化、甲氧甲基保护或甲基化、酰肼化、氧化、醛酮缩合、脱保护基、*O*-法呢基化或 *O*-异戊烯基化等步骤, 以 5.6%~46% 的总收率合成了 8 个未见文献报道的查尔酮类化合物 **1a**~**1h**, 产物通过 ¹H NMR, ¹³C NMR, IR, MS 进行了结构确证. 对所合成的目标化合物在 3 个标准活性筛选模型中进行了生物活性试验, 结果表明化合物 **1b** 在组织蛋白酶 B (CAT-B)模型、化合物 **1e** 在细胞分离周期基因 25 表达的蛋白磷酸酶(CDC25)模型中表现出良好的活性.

关键词 羟基查尔酮; 法呢氧基查尔酮; 异戊烯氧基查尔酮; 合成; 生物活性

Studies on the Synthesis of Novel Chalcone and Biological Activity

LIAO, Tou-Gen^a WANG, Qiu-An^{*,a} FANG, Wei-Qin^a ZHU, Hua-Jie^b

(^a College of Chemical and Chemistry Engineering, Hunan University, Changsha 410082)

(^b State Key Laboratory of Photochemistry and Plant Resource in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204)

Abstract Eight novel chalcone compounds **1a**~**1h** were synthesized by esterification, methoxymethyl protection or methylation, hydrazidation, oxidation, aldol condensation, deprotection, *O*-farnesylation or *O*-prenylation respectively using 3,5-dihydroxybenzoic acid as starting material in overall yields of 5.6%~46%. Their structures were confirmed by ¹H NMR, ¹³C NMR, IR and MS spectra. Target compounds were screened with three international standard models for biological activity. Results showed that **1b** against model CAT-B and **1e** against model CDC25 possessed the good inhibition activity.

Keywords hydroxylated chalcone; farnesyloxy chalcone; prenyloxy chalcone; synthesis; biological activity

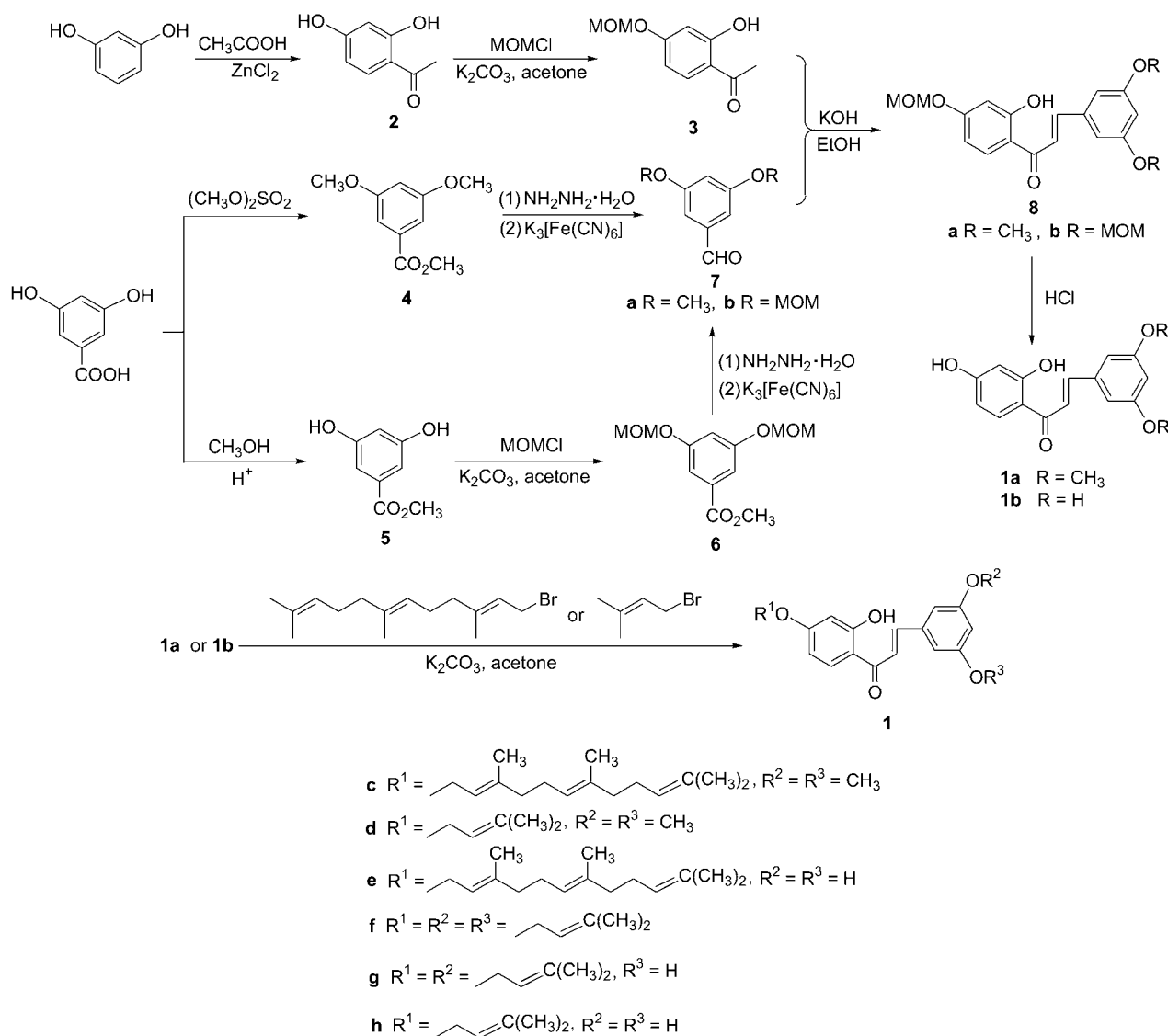
查尔酮类化合物是一类存在于甘草、红花等药用植物中的天然有机化合物, 由于其分子结构具有较大的柔性, 能与不同的受体结合, 因此具有广泛的生物活性, 如: 抗肿瘤、抑制和清除氧自由基、抗菌、抗病毒、抗溃疡和解痉等生物活性^[1~6]. 日本已经用于临床的抗胃溃疡的新药 Sofalcone, 其结构就是异戊烯基醚修饰的查尔酮类化合物, 它具有很强的抗幽门螺杆菌(*H. pylori*)活性, 能有效的调节胃酸分泌, 其作用机理部分地归于对 H⁺/K⁺-ATP 酶的调节作用. 为了寻找可能更具

活性的类似物, 探讨其结构与生物活性的关系, 我们以 3,5-二羟基苯甲酸和间苯二酚为原料, 通过设计简洁的合成路线, 分别经酯化、甲氧甲基保护或甲基化、酰肼化、氧化、醛酮缩合、脱保护基、*O*-法呢基化或 *O*-异戊烯基化等步骤, 合成得到 8 个新型的查尔酮类化合物, 并将其分别作用于 CDC25, PAI-1 和 CAT-B 等生物受体, 以期发现新的生物活性的查尔酮化合物. 合成路线见 Scheme 1.

* E-mail: wangqian@yahoo.com

Received July 21, 2005; revised September 23, 2005; accepted November 2, 2005.

中科院昆明植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室开放基金(2004 年)资助项目.



Scheme 1

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

NMR 谱用 Bruker-DRX500; Bruker-AV400, (CDCl_3 , $\text{Acetone-}d_6$, $\text{DMSO-}d_6$ 为溶剂, TMS 为内标)测定. MS 谱 (EI, FAB, ESI)用 VG Autospec-3000, SHIMADZ qp-500 测定; IR 谱用 Bruker Tensor-27 (KBr 压片法)测定; 熔点用 XRC-1 型显微熔点仪测定(温度未校正). 合成反应所用试剂均为化学纯或分析纯试剂, 薄层和柱层析用硅胶均为青岛海洋化工厂产品.

1.2 2,4-二羟基苯乙酮(2)的合成

取 14.0 g (100 mmol)无水 ZnCl_2 , 30 mL 冰醋酸, 密封搅拌加热使无水 ZnCl_2 完全溶解. 快速分批加入 11.00 g (100 mmol) 1,3-二羟基苯酚, 回流反应 1 h. 将反应物倾入 100 mL 冰水中, 调节 pH 值至 2, 析出大量红棕色

针状晶体, 滤出晶体, 水洗, 干燥后得红棕色针状晶体 **2** 11.5 g, 收率为 76%. m.p. 143~144 (文献值^[7]: 142~144); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 2.55 (s, 3H, CH_3), 5.82 (s, 1H, ArH), 6.35 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, ArH), 6.39 (s, 1H, ArOH), 7.63 (d, $J=8.6$ Hz, 1H, ArH), 12.6 (s, 1H, ArOH).

1.3 2-羟基-4-甲氧甲氧基苯乙酮(3)的合成

取 3.07 g (20.2 mmol) **2**, 14.4 g (104 mmol)无水 K_2CO_3 和 50 mL 无水丙酮, 加热搅拌使物料混合均匀, 回流后缓慢滴加由 8.0 mL (104 mmol)氯甲基甲基醚和 10 mL 无水丙酮组成的混合液, 回流 3.5 h, TLC 跟踪反应至原料点消失, 滤除固体杂质, 用少量丙酮洗涤固体, 合并, 减压蒸除溶剂, 以 $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{石油醚})=1:7$ 为洗脱剂. 硅胶柱层析得油状液体 **3** 3.01 g, 收率 76.2%. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 2.54 (s, 3H,

COCH₃), 3.45 (s, 3H, OCH₃), 5.18 (s, 2H, OCH₂O), 6.52 (dd, $J=8.5, 2.4$ Hz, 1H, ArH), 6.57 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, ArH), 7.63 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, ArH), 12.6 (s, 1H, ArOH).

1.4 3,5-二甲氧基苯甲酸甲酯(4)的合成

取 4.00 g (25.9 mmol) 3,5-二羟基苯甲酸, 12 mL 水和 2 mL 30% NaOH 溶液, 同时缓慢滴加 25 mL (263 mmol) 硫酸二甲酯溶液和 30% NaOH 溶液, 控制 pH 值在 9~10, 温度 95 °C, 剧烈搅拌 2.5 h. 使体系降温至 40 °C 并搅拌 1 h. 静置过夜, 析出大量固体. 水洗该固体, 干燥, 得 **4** 4.51 g, 收率 86.2%. m.p. 38~41 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 3.80 (s, 6H, ArOCH₃), 3.87 (s, 3H, CO₂CH₃), 6.62 (t, $J=2.4$ Hz, 1H, ArH), 7.12 (d, $J=2.4$ Hz, 2H, ArH); IR (KBr) ν : 2959, 1717, 1598, 1457, 1300, 1158, 887 cm⁻¹; MS (EI) m/z (%): 196 (M⁺, 100), 165 (90), 138 (48), 122 (45).

1.5 3,5-二羟基苯甲酸甲酯(5)的合成

在装有回流分水装置装置的三颈瓶中加入 10.0 g (65 mmol) 3,5-二羟基苯甲酸, 300 mL 甲醇, 120 mL 环己烷, 5.23 g 对甲基苯磺酸, 回流分出反应产生的水, 4 h 停止反应, 低压旋除体系中的甲醇和环己烷, 加入 10 mL 饱和 NaHCO₃ 溶液, 用 50 mL 乙酸乙酯萃取 3 次, 合并, 再用 10 mL 水洗涤乙酸乙酯相, 用无水硫酸镁干燥, 旋除溶剂后得白色固体 **5** 10.2 g, 收率 93.5%. m.p. 163~164 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 3.88 (s, 3H, CO₂CH₃), 6.42 (t, $J=2.4$ Hz, 1H, ArH), 7.02 (d, $J=2.4$ Hz, 2H, ArH).

1.6 3,5-二甲氧甲氧基苯甲酸甲酯(6)的合成

取 8.70 g (51.7 mmol) **5**, 28.8 g (208 mmol) 无水 K₂CO₃, 250 mL 无水丙酮, 回流剧烈搅拌下慢慢滴入 16 mL (208 mmol) 氯甲基甲基醚, 继续搅拌反应 3 h, 滤除固体物质, 用 50 mL 丙酮洗涤该固体残渣两次, 合并洗涤液, 蒸除大量的丙酮后, 剩余液体用填有少量硅胶的布氏漏斗滤除其中的无机盐. 用 100 mL 乙酸乙酯洗涤该硅胶. 低压蒸除溶剂后得无色油状物质 **6** 11.8 g, 收率 89%. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 3.46 (s, 6H, OCH₃), 3.87 (s, 3H, CO₂CH₃), 5.20 (s, 4H, OCH₂O), 6.88 (t, $J=2.4$ Hz, 1H, ArH), 7.16 (d, $J=2.4$ Hz, 2H, ArH).

1.7 3,5-二甲氧基苯甲醛(7a)的合成

取 5.00 g (25.5 mmol) **4**, 25 mL 50% 水合肼, 升温 85 °C 反应 2 h. 冷却析出大量白色固体, 抽滤, 干燥得固体 4.5 g, m.p. 170~171 °C. 将上步反应得到的 4.5 g 固体溶于 33 mL 甲苯, 加入 25 mL 25% 氨水和 10 mg 相转移催化剂四丁基溴化铵(TBBA), 搅拌, 滴加 53 g 27% 的 K₃[Fe(CN)₆] 水溶液, 控制溶液温度 11~15 °C, 反应 5 h,

滤除反应的固体杂质后, 分出甲苯层, 并用 30 mL 甲苯洗涤水相 3 次, 合并, 用 20 mL 水洗涤, 低压旋除甲苯后, 以 $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{石油醚})=1:2$ 为洗脱剂, 硅胶柱层析得白色晶体 **7a** 3.00 g, 收率 71%. m.p. 46~48 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 3.86 (s, 6H, ArOCH₃), 6.71 (t, $J=2.4$ Hz, 1H, ArH), 7.02 (d, $J=2.4$ Hz, 2H, ArH), 9.92 (s, 1H, CHO); IR (KBr) ν : 2943, 2842, 1699, 1600, 1470, 823 cm⁻¹; MS (EI) m/z (%): 166 (M⁺, 100), 135 (26).

1.8 3,5-二甲氧甲氧基苯甲醛(7b)的合成

与 **7a** 的合成方法同. 得油状液体 **7b**, 收率 68%. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 3.49 (s, 6H, OCH₃), 5.22 (s, 4H, OCH₂O), 6.98 (t, $J=2.4$ Hz, 1H, ArH), 7.22 (d, $J=2.4$ Hz, 2H, ArH), 9.91 (s, 1H, CHO).

1.9 2'-羟基-4'-甲氧甲氧基-3,5-二甲氧基查尔酮(8a)的合成

在 N₂ 流保护的圆底烧瓶中加入 2.52 g (12.9 mmol) **3** 和 2.20 g (12.9 mmol) **7a**, 在搅拌下滴加 83 mL 14.2% KOH 乙醇溶液, 室温搅拌 22 h, 析出大量黄色固体物质. 滤出该黄色固体, 10 mL 水洗涤, 干燥后乙醇重结晶得黄色针状晶体 **8a** 3.10 g, 收率 70%. m.p. 100~102 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 3.49 (s, 3H, OCH₃), 3.85 (s, 6H, ArOCH₃), 5.23 (s, 2H, OCH₂O), 6.54 (t, $J=2.4$ Hz, 1H, ArH), 6.60 (dd, $J=8.8, 2.4$ Hz, 1H, ArH), 6.65 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, ArH), 6.79 (d, $J=2.4$ Hz, 2H, ArH), 7.53 (d, $J=15.2$ Hz, 1H, ArCOCH=), 7.81 (d, $J=15.2$ Hz, 1H, =CHAr), 7.85 (d, $J=8.8$ Hz, 1H, ArH); IR (KBr) ν : 3436, 2839, 2368, 1642, 1579, 1208, 845 cm⁻¹; MS (EI) m/z (%): 344 (M⁺, 100), 299 (30), 207 (43).

1.10 2'-羟基-3,5,4'-三甲氧甲氧基查尔酮(8b)的合成

与 **8a** 的合成方法同. 得黄色晶体 **8b**, 收率 77%. m.p. 96~97 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 3.49, 3.51 (each s, 3H, 6H, OCH₃), 5.21, 5.23 (each s, 4H, 2H, OCH₂O), 6.59 (dd, $J=8.8, 2.4$ Hz, 1H, ArH), 6.64 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, ArH), 6.82 (t, $J=2.0$ Hz, 1H, ArH), 6.99 (d, $J=2.0$ Hz, 2H, ArH), 7.20 (d, $J=15.6$ Hz, 1H, ArCOCH=), 7.79 (d, $J=15.6$ Hz, 1H, =CHAr), 7.84 (d, $J=8.8$ Hz, 1H, ArH), 13.2 (s, 1H, ArOH); IR (KBr) ν : 3436, 2954, 1647, 1571, 1252, 1041, 851 cm⁻¹; MS (EI) m/z (%): 344 (M⁺, 96), 359 (100), 207 (78), 181 (85), 167 (70), 137 (50).

1.11 2',4'-二羟基-3,5-二甲氧基查尔酮(1a)的合成

取 369 mg (1.1 mmol) **8a**, 加入 35 mL 甲醇, 加热回流后滴加 15 mL 3 mol·L⁻¹ 的盐酸溶液. 20 min 后停止反

应。冷却析出大量黄色针状晶体。10 mL 水洗，干燥后甲醇重结晶得 **1a** 297 mg, 收率 92.2%。m.p. 96~97 ; ¹H NMR (500 MHz, Acetone-*d*₆) δ: 3.83 (s, 6H, OCH₃), 6.37 (d, *J*=2.3 Hz, 1H, ArH), 6.46 (dd, *J*=8.8, 2.3 Hz, 1H, ArH), 6.57 (s, 1H, ArH), 7.01 (s, 2H, ArH), 7.78 (d, *J*=15.4 Hz, 1H, ArCOCH=), 7.92 (d, *J*=15.4 Hz, 1H, =CHAr), 8.12 (d, *J*=8.8 Hz, 1H, ArH), 9.50 (s, 1H, ArOH), 13.2 (s, 1H, ArOH); IR (KBr) ν: 3235, 2967, 1629, 1281, 1059, 969 cm⁻¹; MS (FAB⁺) *m/z*: 301 (M⁺+1).

1.12 3,5,2',4'-四羟基查尔酮(1b)的合成

与 **1a** 的合成方法同。低压旋除大量的甲醇后，调节 pH 值至 5，用 30 mL 乙酸乙酯萃取 3 次，合并，用 15 mL 水洗，无水硫酸镁干燥，低压旋除溶剂后得白色晶体 **1b** 195 mg, 收率 90%。m.p. 136~138 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 6.28~6.41 (m, 3H, ArOH), 6.68 (s, 2H, ArOH), 7.57 (d, *J*=15.4 Hz, 1H, ArCOCH=), 7.92 (d, *J*=15.4 Hz, 1H, =CHAr), 8.12 (d, *J*=8.9 Hz, 1H, ArH), 9.49 (s, 2H, ArOH), 10.8 (s, 1H, ArOH), 13.4 (s, 1H, ArOH); IR (KBr) ν: 3420, 2853, 1635, 1599, 1151, 843 cm⁻¹; MS (FAB⁻) *m/z*: 543 (2M⁺-1).

1.13 2'-羟基-3,5-二甲氧基-4'-法呢氧基查尔酮(1c)的合成

取 97 mg (0.32 mmol) **1a** 溶于 5 mL 无水丙酮，加入 0.2 g (1.8 mmol) 无水 Na₂CO₃，加热回流，滴加由反-反-法呢基溴(*trans, trans*-Farnesyl bromide) 0.09 mL (1.8 mmol) 和 1 mL 无水丙酮组成的混合液。2 h 后停止反应，滤除 Na₂CO₃ 固体残渣，丙酮洗涤该固体，低压蒸除丙酮后，用 *V*(乙酸乙酯):*V*(石油醚)=1:3 为洗脱剂，硅胶柱层析得黄色固体 **1c** 95 mg, 收率 59%。m.p. 129~131 ; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 1.59, 1.67, 1.74 (each s, 6H, 3H, 3H, CH₃), 1.97~2.14 (m, 8H, CH₂), 3.83 (s, 6H, OCH₃), 4.57 (s, 2H, CH₂), 5.09, 5.47 (each s, 2H, 1H, CH=), 6.41~6.49 (m, 3H, ArH), 6.76 (s, 2H, ArH), 7.52 (d, *J*=15.4 Hz, 1H, ArCOCH=), 7.78~7.82 (m, 2H, =CHAr, ArH); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 15.9, 16.6, 17.6, 25.6, 26.1, 26.6, 39.4, 39.6, 55.4, 65.2, 101.7, 102.7, 106.3, 108.2, 113.9, 118.4, 120.8, 123.4, 124.2, 131.1, 131.2, 135.4, 136.6, 142.1, 144.2, 161.0, 165.6, 166.6, 191.6.

1.14 2'-羟基-3,5-二甲氧基-4'-异戊烯氧基查尔酮(1d)的合成

取 300 mg (1.0 mmol) **1a** 溶于 10 mL 无水丙酮，加入 0.3 g (5.4 mmol) 无水 Na₂CO₃，加热回流，滴加由异戊烯基溴(*prenyl bromide*) 0.11 mL (1 mmol) 和无水丙酮 5

mL 组成的混合液。3 h 后停止反应。后处理与 **1c** 同，用 *V*(乙酸乙酯):*V*(石油醚)=1:4 为洗脱剂，硅胶柱层析得黄色针状晶体 **1d** 248 mg, 收率 67.9%。m.p. 171~174 ; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 1.75, 1.80 (each s, 3H, 3H, 6H, CH₃), 3.83 (s, 6H, OCH₃), 4.56 (d, *J*=6.7 Hz, 2H, CH₂), 5.48 (t, *J*=1.1 Hz, 1H, CH=), 6.47~6.48 (m, 2H, ArH), 6.52 (t, *J*=2.3 Hz, 1H, ArH), 6.77 (d, *J*=2.2 Hz, 2H, ArH), 7.52 (d, *J*=15.5 Hz, 1H, ArCOCH=), 7.78 (d, *J*=15.0 Hz, 1H, =CHAr), 7.81 (d, *J*=8.2 Hz, 1H, ArH); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 18.2, 25.7, 55.4, 65.1, 101.6, 102.7, 106.4, 108.2, 113.9, 118.6, 120.8, 131.1, 136.6, 139.1, 144.2, 161.0, 165.6, 166.6, 191.6; MS (FAB⁺) *m/z*: 369 (M⁺+1).

1.15 3,5,2'-三羟基-4'法尼氧基查尔酮(1e)的合成

与 **1c** 的合成方法相同。得黄色粉末 **1e**, 收率 64%。m.p. 165~167 ; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.60~2.07 (m, 20H, CH₃, CH₂), 4.63 (s, 2H, CH₂), 5.05, 5.40 (each s, 2H, 1H, CH=), 6.27~6.68 (m, 3H, ArH), 6.69 (s, 2H, ArH), 7.60 (d, *J*=15 Hz, 1H, ArCOCH=), 7.80 (d, *J*=15 Hz, 1H, =CHAr), 8.21 (d, *J*=8.9 Hz, 1H, ArH), 9.46 (s, 2H, ArOH), 13.38 (s, 1H, ArOH).

1.16 2'-羟基-3,5,4'-三异戊烯氧基查尔酮 1f 和 3,2'-二羟基-5,4'-二异戊烯氧基查尔酮(1g)和 3,5,2'-三羟基-4'-异戊烯氧基查尔酮(1h)的合成

取 400 mg (1.47 mmol) **1b** 溶于 13 mL 无水丙酮，加入 2.03 g (19 mmol) 无水 Na₂CO₃，加热回流，滴加由异戊烯基溴(*prenyl bromide*) 0.3 mL (3.1 mmol) 和无水丙酮 5 mL 组成的混合液。20 h 后 TLC 跟踪反应至原料点消失且生成了新的三个点，停止反应。后处理与 **1d** 相同。硅胶柱层析，用 *V*(乙酸乙酯):*V*(石油醚)=1:20~1:2 为洗脱剂进行梯度洗脱的化合物 **1f**~**1h**。

1f 为黄色粉末，70 mg, 收率 10%。m.p. 124~126 ; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 1.77, 1.81 (each s, 9H, 9H, CH₃), 4.53 (d, *J*=6.7 Hz, 4H, CH₂), 4.57 (d, *J*=6.7 Hz, 2H, CH₂), 5.47~5.51 (m, 3H, CH=), 6.47~6.57 (m, 3H, ArH), 6.79 (d, *J*=1.5 Hz, 2H, ArH), 7.52 (d, *J*=15.4 Hz, 1H, ArCOCH=), 7.78 (d, *J*=15.3 Hz, 1H, =CHAr), 7.80 (d, *J*=8.7 Hz, 1H, ArH); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 18.2, 25.8, 25.9, 64.9, 65.1, 101.6, 103.9, 107.1, 108.1, 108.3, 113.9, 118.5, 119.2, 120.6, 131.1, 136.5, 138.7, 139.2, 144.4, 160.2, 165.6, 166.6, 191.7.

1g 为褐色固体，80 mg, 收率 13.3%。m.p. 139~142 ; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.71, 1.74 (each s, 6H, 6H, CH₃), 4.48 (d, *J*=6.3 Hz, 2H, CH₂), 4.52 (d, *J*=6.5 Hz, 2H, CH₂), 5.42~5.43 (m, 2H, CH=), 6.42~6.98

(m, 5H, ArH), 7.66 (d, $J=15.4$ Hz, 1H, ArCOCH=), 7.89 (d, $J=15.3$ Hz, 1H, =CHAr), 8.25 (d, $J=8.9$ Hz, 1H, ArH), 9.64 (s, 1H, ArOH), 13.41 (s, 1H, ArOH); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 18.2, 25.8, 65.0, 65.2, 101.8, 104.5, 107.6, 108.3, 114.0, 118.7, 119.2, 121.0, 123.1, 131.2, 136.9, 144.0, 157.0, 160.5, 165.7, 166.6, 191.7; MS (FAB⁺) m/z : 409 ($\text{M}^+ + 1$).

1h 为黄色晶体, 56 mg, 收率 11.1%. m.p. 155~156 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.70, 1.73 (each s, 3H, 3H, CH_3), 4.60 (d, $J=6.6$ Hz, 2H, CH_2), 5.40 (t, $J=6.0$ Hz, 1H, CH=), 6.36~6.53 (m, 3H, ArH), 6.71 (d, $J=1.6$ Hz, 2H, ArH), 7.60 (d, $J=15.4$ Hz, 1H, ArCOCH=), 7.81 (d, $J=15.4$ Hz, 1H, =CHAr), 8.22 (d, $J=9.0$ Hz, 1H, ArH), 9.50 (s, 2H, ArOH), 13.42 (s, 1H, ArOH); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 18.1, 25.5, 65.0, 101.6, 105.3, 107.2, 107.9, 113.8, 119.1, 120.8, 132.7, 136.2, 138.1, 158.7, 165.2, 165.5, 191.8; MS (FAB⁺) m/z : 341 ($\text{M} + 1$).

1.17 生物活性测试方法

分别进行了3个国际标准模型筛选, 均采用ELISA方法, 受试样品分别直接作用于靶标蛋白酶不同时间, 观察其对该酶的抑制效果. PAI-1体外模型(溶血栓的模型), 目的是为了寻找I型纤溶酶原激活抑制因子(PAI-1)的抑制剂. 分子作用靶点是I型纤溶酶原激活抑制因子(PAI-1), 在化合物起始浓度 $30 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 下, 受试样品作用于靶标蛋白 105 min. CDC25体外模型(抗肿瘤的模型), 目的是为了寻找细胞分裂周期基因25表达的蛋白磷酸酶(CDC25)的抑制剂. 分子作用靶点是细胞分裂周期基因25表达的蛋白磷酸酶(CDC25). 在化合物浓度 $25 \mu\text{g}/\text{mL}$ 下样品作用于靶标蛋白 120 min. CAT-B体外模型(抗骨质疏松的模型), 目的是为了寻找组织蛋白酶B(CAT-B)的抑制剂. 分子作用靶点是组织蛋白酶B(CAT-B), 在化合物浓度 $2.5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 下, 受试样品作用于靶标蛋白 45 min.

2 结果与讨论

化合物**4**的合成中, 调节适当的pH值, 可以在一步反应中实现甲酯化和甲醚化, 研究了不同pH值与反应产物收率的关系, 结果表明, 反应体系pH值为9时, 收

率最理想. **7a**和**7b**的合成步骤中, 相转移催化剂TBBA的加入, 有效地减少了 $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 的用量, 增加了反应收率. 在醛酮缩合成查尔酮的步骤, 尝试改用低浓度的碱反应, 研究了不同浓度的碱对反应产物收率的影响, 结果表明, 碱的浓度对产物收率影响不明显, 但低浓度的碱也可以较好的收率得到产物.

生物活性测试经过上述3个体外模型的筛选, 表明化合物**1e**对CDC25体外模型表现出较好的活性($\text{IC}_{50}=24.83 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). 化合物**1b**对CAT-B体外模型表现出良好的活性($\text{IC}_{50}=2.03 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). 抑制率靶标酶结果见表1和表2.

表1 化合物**1e**对CDC25的抑制率

Table 1 Inhibition rate of compound **1e** to CDC25

$c_{1e}/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	25	12.5	6.25	3.125
I/%	50.38	22.89	10.07	5.24

表2 化合物**1b**对CAT-B的抑制率

Table 2 Inhibition rate of compound **1b** to CAT-B

$c_{1b}/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	2.5	1.25	0.625	0.3125
I/%	54.7	42.17	25.60	14.98

References

- Shibata, S. *Stem Cells* **1994**, *12*, 44.
- Chen, J.-W.; Hu, T.-X.; Zhu, D.-Y. *Chin. Pharm. J.* **2002**, *37*, 57 (in Chinese). (陈季武, 胡天喜, 朱大元, *中国药学杂志*, **2002**, *37*, 57.)
- Lopez, A.; Ming, D. S.; Towers, G. H. N. *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 62.
- Salem, M. M.; Werbovetz, K. A. *J. Nat. Prod.* **2005**, *68*, 108.
- Marakami, S.; Muramatsu, M.; Aihara, H. *Biochem. Pharmacol.* **1991**, *42*, 1447.
- Guan, L. P.; Yin, X. M.; Quan, H. M.; Quan, Z. S. *Chin. J. Org. Chem.* **2004**, *24*, 1247 (in Chinese). (关丽萍, 尹秀梅, 金红梅, 金哲山, *有机化学*, **2004**, *24*, 1247.)
- Fan, N. T. *The Dictionary of Organic Synthesis*, Beijing University of Engineering Press, Beijing, **1992**, p. 519 (in Chinese). (樊能廷, *有机合成事典*, 北京理工大学出版社, 北京, **1992**, p. 519.)

(Y0507213 QIN, X. Q.; DONG, H. Z.)