

实验研究

槟榔生物碱衍生物的设计合成与体外抗菌活性研究

谢欣¹ 李想¹ 黄维¹ 韩波^{1,2} 彭成^{1,2}

(1. 成都中医药大学, 四川 成都 611137, 2. 中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室, 四川 成都 610075)

摘要: 目的: 合成新型槟榔生物碱衍生物, 并研究体外抗菌活性。方法: 以 β -酮酰胺和一系列 α , β -不饱和醛为原料, 基于LUMO活化模式, 经过仲胺催化的Michael加成/环化和三甲基硅烷化反应, 合成一系列结构新颖的槟榔生物碱衍生物—哌啶环戊烷螺环化合物; 用琼脂平皿二倍稀释法测定新型哌啶螺环化合物的体外抗菌活性。结果: 目标化合物结构经HRMS, ¹H-NMR和¹³C-NMR确证, 立体选择性经HPLC和X-ray确证。体外抗菌活性研究表明, 目标化合物均有一定的抑菌作用, 其抑菌活性好于哌啶类抗菌天然产物槟榔碱; 化合物9b对金黄色葡萄球菌具有最佳抑菌效果, 其MIC值达到33.4 μ g/mL。结论: 该新型哌啶环戊烷螺环化合物具有良好的体外抗菌活性, 可作为新的抗菌药物先导化合物进行进一步的研究与开发。

关键词: 槟榔生物碱哌啶; 结构改造; 哌啶螺环化合物; 体外抗菌活性

中图分类号: R282.72; R284.3 文献标识码: A 文章编号: 1004-0668 (2018) 01-0009-07

DOI编码: 10.13593/j.cnki.51-4501/r.2018.01.009

引文格式: 谢欣, 李想, 黄维, 等. 槟榔生物碱衍生物的设计合成与体外抗菌活性研究 [J]. 成都中医药大学学报, 2018, 41 (1): 9-15.

由于抗生素滥用和细菌变异, 世界正加速进入“后抗生素时代”, 对新型抗生素的研发已迫在眉睫^[1]。天然抗菌化合物广泛存在于动植物中, 大量上市药物研究都是以分离得到的活性成分作为先导化合物进行药物研究和开发。中药是中华民族的瑰宝, 以中药小分子作为先导化合物进行结构修饰寻找创新药物, 不仅在研究开发具有抗菌、杀菌活性成分的活性成分具有较强的优势, 对实现中药现代化也具有重要意义^[2-3]。

中药槟榔为我国四大南药之一, 是我国传统中药。生物碱是槟榔的主要活性成分, 以槟榔碱和槟榔次碱含量为最多^[4-6], 具有抗菌、驱虫等药理活性^[7-8], 同时也具有毒性, 限制了临床应用。槟榔生物碱具有哌啶环结构, 在其结构3位上连接有取代基团(如酯基或羧酸基), 同时在3, 4位存在一个不饱和双键, 可采用相应的化学手段对其结构进行修饰。哌啶作为一个活性分子存在于人体当中, 而哌啶结构又广泛存在于抗菌天然化合物中, 如: 生物碱 Arenoclerins A、B, Haliclony E^[9],

Kinganone等^[10], 是一类重要的具有潜在生物活性的结构单元。

近年来对抗菌天然化合物和中药成分的研究发现, 具有环戊烷结构的生物碱 Mirbin B^[11], Concavine^[12]和环烯醚萜类化合物 Iridoids I, Iridoids II^[13]具有较强的抗菌活性; 而具有螺环结构的倍半萜化合物 Halenin A^[14], 蜂斗菜内酯 Bakkenolide^[15-16]和甾体生物碱 Jervine^[17]等也具有可观的抗菌活性。

基于以上研究基础, 结合槟榔生物碱(核心骨架为哌啶结构)具有一定的抗菌活性及毒性作用, 及哌啶、环戊烷以及螺环等结构具有潜在的抗菌功能, 而国内对于研究改造槟榔生物碱结构以提升其抗菌活性的研究甚少, 我们推测同时具有哌啶、环戊烷以及螺环结构的化合物骨架可以更好地发挥抗菌作用。因此本课题组结合前期的中药成分结构修饰研究基础, 以槟榔生物碱中的哌啶结构作为核心骨架, 在其3位上同时引入环戊烷和螺环结构, 设计、合成了14个结构新颖、立体选择性可

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81573589); 四川省苗子工程资助项目(2017049); 成都中医药大学青年教师创新基金(ZRQN1781)

第一作者: 谢欣, 女, 1990年生; 医学博士, 实验师; E-mail: 182437621@qq.com。通信作者: 彭成, 男, 1964年生; 医学博士, 研究员; E-mail: pengchengchengdu@outlook.com。韩波, 男, 1981年生; 医学博士, 研究员; E-mail: hanboczy@outlook.com。

观的槟榔生物碱衍生物，并初步筛选了其体外抗菌活性，合成路线及目标化合物结构（见图1）。

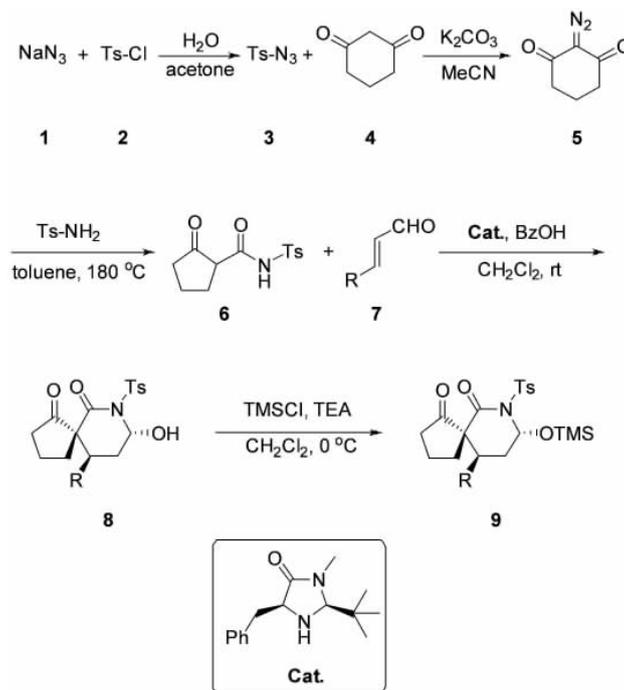


图1 槟榔生物碱衍生物的合成路线

1 仪器与试剂

BMM-202 显微熔点仪（上海比目仪器有限公司）；BSB124S 电子天平（Satorious 公司）；1260 Infinity II 高效液相仪（美国安捷伦科技有限公司）；AD/OD/IC 手性色谱柱（赛璐药物手性技术有限公司）；NanoBay 400 MHz 核磁共振仪（Bruker 公司，TMS 为内标，CDCl₃ 为溶剂）；SYNAP-G2 (UCB-285) 质谱仪（美国 Waters 公司）；SHB-III-021 紫外暗箱式分析仪（郑州长城科工贸易公司）；所用试剂均为市售分析纯或化学纯。

2 试验方法

以 (5*R*, 8*R*, 10*S*) -10-苯基-7-甲苯磺酰基-8-三甲硅氧基-7-氮杂螺 [4.5] 癸-1, 6-二酮 (9a) 的合成例。

2.1 对甲苯磺酰叠氮 (3)

在圆底烧瓶中加入 NaN₃ (1 g, 15.4 mmol), 50 mL 水和 10 mL 丙酮, 适当振摇至固体完全溶解并置于搅拌器上固定。取另一圆底烧瓶加入 Ts-Cl (2.93 g, 15.4 mmol), 40 mL 丙酮, 固体完全溶解后通过恒压滴液漏斗向 NaN₃ 溶液中以 2 滴/秒速度滴加, 1 小时后反应结束。

采用旋转蒸发器将反应液真空浓缩并将其转移至分液漏斗中, 加入 50 mL 水以及 100 mL 乙酸乙酯, 振摇均匀, 收集有机层。另加入 50 mL 乙酸乙酯 (25 mL/次) 反萃取水层, 合并所有有机层。有机层使用无水 Na₂SO₄ 干燥、过滤, 真空浓缩得无色油状物, 产物称重得 3.0 g, 收率 98%。

2.2 2-重氮环己烷-1, 3-二酮 (5)

在圆底烧瓶中加入化合物 3 (3.0 g, 15.2 mmol) 和乙腈 50 mL, 再依次缓慢加入 1, 3-环己二酮 (1.7 g, 15.2 mmol) 和 K₂CO₃ (2.3 g, 16.7 mmol)。TLC 监测至反应完毕, 使用硅藻土过滤得滤液, 真空浓缩滤液得到粗品。将粗品溶解于 CH₂Cl₂ 中并依次通过 Al₂O₃、硅胶色谱层析柱分离纯化, 真空浓缩得无色油状产物, 产物称重得 1.72 g, 收率 85%。

2.3 2-羰基-*N*-甲苯磺酰基-1-环戊甲酰胺 (6)

在圆底烧瓶中加入化合物 5 (1.5 g, 10.9 mmol), 4-甲苯磺酰胺 (1.9 g, 10.9 mmol), 甲苯 50 mL, 置于 180 °C 油浴中回流 4 h。反应完毕后冷却至室温, 通过硅胶色谱层析柱分离纯化得无色油状物 2.7 g, 收率 88%。

2.4 (5*R*, 8*R*, 10*S*) -8-羟基-10-苯基-7-甲苯磺酰基-7-氮杂螺 [4.5] 癸-1, 6-二酮 (8a)

在反应试管中加入肉桂醛 7a (15.9 mg, 0.12 mmol), 化合物 6 (28.1 mg, 0.1 mmol), 仲胺催化剂 Cat. (4.63 mg, 0.02 mmol), 苯甲酸 (2.44 mg, 0.02 mmol), 二氯甲烷 2.0 mL。于室温下反应, 由 TLC 薄层板监测至反应完毕。将反应液浓缩, 得到粗品。粗品经由硅胶色层析柱分离纯化 [*v* (石油醚) : *v* (乙酸乙酯) = 4:1] 得油状产物, 直接用于下步反应。

2.5 (5*R*, 8*R*, 10*S*) -10-苯基-7-甲苯磺酰基-8-三甲硅氧基-7-氮杂螺 [4.5] 癸-1, 6-二酮 (9a)

在反应试管中加入步骤“2.4”所得油状产物化合物 8a (36.8 mg, 0.9 mmol), 三乙胺 (30.4 mg, 0.3 mmol), 二氯甲烷 0.5 mL, 置于冰浴搅拌 5 分钟。随后滴加三甲基氯硅烷 (21.8 mg, 0.2 mmol, 溶于 0.5 mL 二氯甲烷), 整个反应由 TLC 薄层板监测。反应结束后于反应液中依次加入饱和碳酸氢钠溶液和二氯甲烷萃取, 所得有机层经由无水 Na_2SO_4 干燥, 真空浓缩得粗品。该粗品再经硅胶色谱层析柱分离纯化得到白色固体 35.0 mg, 收率 72%; dr 75: 25; ee 90%; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -13.6$ (CH_2Cl_2 , $c = 1.06$); m. p. 193-194 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.93 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.31-7.28 (m, 5H), 7.11 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 6.18 (br s, 1H), 4.19 (d, $J = 13.6$ Hz, 1H), 2.50 (t, $J = 13.6$ Hz, 1H), 2.43 (s, 3H), 2.34-2.56 (m, 1H), 2.17-2.08 (m, 3H), 1.85-1.64 (m, 2H), 1.05-0.95 (m, 1H), 0.22 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 216.1, 172.5, 144.5, 137.9, 136.2, 129.2, 128.6, 128.6, 128.5, 127.6, 77.9, 77.3, 77.2, 77.0, 76.7, 63.0, 39.9, 36.5, 34.3, 30.8, 21.6, 19.2, 0.2; HRMS (ESI) - Mass for $\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{NO}_5\text{SSi}$: m/z ($\text{M}^+ - \text{Na}$) 508.1588。

参照化合物 9a 合成方法得到目标化合物 9b - 9n。

2.6 (5*R*, 8*R*, 10*S*) -10-(2-氟苯基)-7-甲苯磺酰基-8-三甲硅氧基-7-氮杂螺 [4.5] 癸-1, 6-二酮 (9b)

白色固体, 收率 69%; dr 70: 30; ee 94%; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -14.4$ (CH_2Cl_2 , $c = 1.01$); m. p. 151-152 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.92 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.30 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.26-7.23 (m, 1H), 7.15-7.05 (m, 3H), 6.27 (t, $J = 2.8$ Hz, 1H), 4.17 (dd, $J = 13.6$, 2.4 Hz, 1H), 3.31 (td, $J = 14.0$, 1.2 Hz, 1H), 2.74-2.66 (m, 1H), 2.43 (s, 3H), 2.14-1.98 (m, 2H), 1.85-1.75 (m, 2H), 1.68-1.62 (m, 1H), 1.14-1.03 (m, 1H), 0.24 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 215.8, 170.2, 160.8 (d, $J_{\text{CF}} = 244.0$ Hz), 144.5, 136.5, 129.4 (d, $J_{\text{CF}} = 9.2$ Hz), 129.3 (d, $J_{\text{CF}} = 3.4$ Hz), 129.3, 128.7, 126.2 (d, $J_{\text{CF}} = 13.7$ Hz), 124.9 (d, $J_{\text{CF}} = 3.6$ Hz), 115.9 (d, $J_{\text{CF}} = 23.3$ Hz), 78.4, 62.1, 39.9, 34.1, 32.9, 32.6, 21.8, 20.0, 0.3; HRMS (ESI) - Mass for $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{FNO}_5\text{SSi}$: m/z ($\text{M}^+ - \text{Na}$) 526.1493。

2.7 (5*R*, 8*R*, 10*S*) -10-(3-氟苯基)-7-甲苯磺酰基-8-三甲硅氧基-7-氮杂螺 [4.5] 癸-1, 6-二酮 (9c)

白色固体, 收率 72%; dr 72: 28; ee 93%; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -19.5$ (CH_2Cl_2 , $c = 1.05$); m. p. 190-192 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.92 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.31-7.21 (m, 3H), 6.96 (td, $J = 8.4$, 2.4 Hz, 1H), 6.90-6.82 (m, 2H), 6.17 (t, $J = 2.8$ Hz, 1H), 4.20 (dd, $J = 13.2$, 1.6 Hz, 1H), 2.47 (dd, $J = 13.6$, 2.4 Hz, 1H), 2.43 (s, 3H), 2.38-2.20 (m, 1H), 2.19-2.04 (m, 3H), 1.90-1.68 (m, 2H), 1.14-1.04 (m, 1H), 0.22 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 215.7, 172.2, 162.9 (d, $J_{\text{CF}} = 245.6$ Hz), 144.6, 140.7 (d, $J_{\text{CF}} = 6.8$ Hz), 136.3, 130.3 (d, $J_{\text{CF}} = 8.1$ Hz), 129.3, 128.6, 124.5 (d, $J_{\text{CF}} = 2.9$ Hz), 115.7 (d, $J_{\text{CF}} = 21.5$ Hz), 114.7 (d, $J_{\text{CF}} = 20.8$ Hz), 77.8, 62.9, 39.9, 36.4, 34.4, 30.9, 21.7, 19.3, 0.3; HRMS (ESI) - Mass for $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{FNO}_5\text{SSi}$: m/z ($\text{M}^+ - \text{Na}$) 526.1496。

2.8 (5*R*, 8*R*, 10*S*) -10-(4-氟苯基)-7-甲苯磺酰基-8-三甲硅氧基-7-氮杂螺 [4.5] 癸-1, 6-二酮 (9d)

白色固体, 收率 74%; dr 75: 25; ee 94%; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -9.9$ (CH_2Cl_2 , $c = 1.00$); m. p. 174-175 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.92 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.29 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.10-7.06 (m, 2H), 6.99 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 6.17 (t, $J = 2.8$ Hz, 1H), 4.18 (dd, $J = 13.6$, 2.0 Hz, 1H), 2.47 (dd, $J = 13.6$, 2.8 Hz, 1H), 2.43 (s, 3H), 2.37-2.28 (m, 1H), 2.19-2.03 (m, 3H), 1.90-1.78 (m, 1H), 1.73-1.65 (m, 1H), 1.13-1.03 (m, 1H), 0.22 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 215.9, 172.6, 162.2 (d, $J_{\text{CF}} = 245.5$ Hz), 144.6, 136.3, 133.8 (d, $J_{\text{CF}} = 3.3$ Hz), 130.3 (d, $J_{\text{CF}} = 7.8$ Hz), 129.3, 128.6, 115.7 (d, $J_{\text{CF}} = 21.1$ Hz), 77.9, 63.0, 39.9, 35.9, 34.6, 30.7, 21.7, 19.3, 0.3; HRMS (ESI) - Mass for $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{FNO}_5\text{SSi}$: m/z ($\text{M}^+ - \text{Na}$) 526.1498。

2.9 (5*R*, 8*R*, 10*S*) -10-(2-氯苯基)-7-甲苯磺酰基-8-三甲硅氧基-7-氮杂螺 [4.5] 癸-1, 6-二酮 (9e)

白色固体, 收率 69%; dr 70: 30; ee 94%; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -14.4$ (CH_2Cl_2 , $c = 1.01$); m. p. 151-

152 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.92 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.42-7.40 (m, 1H), 7.31 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.22-7.14 (m, 3H), 6.25 (br s, 1H), 4.49 (d, $J = 12.8$ Hz, 1H), 3.26 (t, $J = 13.2$ Hz, 1H), 2.70-2.63 (m, 1H), 2.43 (s, 3H), 2.15-2.07 (m, 2H), 1.85-1.64 (m, 3H), 1.10-1.00 (m, 1H), 0.25 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 216.1, 170.0, 144.3, 136.9, 136.4, 134.8, 130.2, 129.1, 129.1, 128.9, 128.6, 127.5, 78.3, 62.5, 39.9, 36.2, 34.7, 32.3, 21.7, 19.9, 0.2; HRMS (ESI) $-\text{Mass}$ for $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{ClNO}_5\text{SSi}$: m/z ($\text{M}^+ - \text{Na}$) 542.1199.

2.10 (5*R*, 8*R*, 10*S*) -10-(4-氯苯基)-7-甲苯磺酰基-8-三甲硅氧基-7-氮杂螺 [4.5] 癸-1, 6-二酮 (9f)

白色固体, 收率 74%; dr 73: 27; ee 95%; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -11.2$ (CH_2Cl_2 , $c = 1.07$); m. p. 189-190 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.89 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H), 7.27-7.24 (m, 4H), 7.02 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H), 6.14 (br s, 1H), 4.14 (d, $J = 13.6$ Hz, 1H), 2.46-2.43 (m, 1H), 2.39 (s, 3H), 2.32-2.24 (m, 1H), 2.11-2.04 (m, 3H), 1.87-1.76 (m, 1H), 1.71-1.63 (m, 1H), 1.10-1.08 (m, 1H), 0.18 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 215.8, 172.2, 144.7, 136.6, 136.3, 133.7, 130.1, 129.3, 129.0, 128.6, 77.9, 63.0, 39.9, 36.1, 34.5, 30.7, 21.8, 19.3, 0.3; HRMS (ESI) $-\text{Mass}$ for $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{ClNO}_5\text{SSi}$: m/z ($\text{M}^+ - \text{Na}$) 542.1202.

2.11 (5*R*, 8*R*, 10*S*) -10-(4-溴苯基)-7-甲苯磺酰基-8-三甲硅氧基-7-氮杂螺 [4.5] 癸-1, 6-二酮 (9g)

白色固体, 收率 73%; dr 75: 25; ee 96%; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -9.2$ (CH_2Cl_2 , $c = 1.09$); m. p. 182-183 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.92 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.43 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.29 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 6.98 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 6.17 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H), 4.16 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 2.47 (dd, $J = 13.6, 2.4$ Hz, 1H), 2.42 (s, 3H), 2.37-2.29 (m, 1H), 2.17-2.00 (m, 3H), 1.91-1.79 (m, 1H), 1.70 (dt, $J = 18.0, 8.0$ Hz, 1H), 1.18-1.08 (m, 1H), 0.21 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 215.8, 172.2, 144.7,

137.1, 136.3, 131.9, 130.5, 129.3, 128.6, 121.8, 77.8, 62.9, 39.9, 36.1, 34.4, 30.7, 21.8, 19.3, 0.3; HRMS (ESI) $-\text{Mass}$ for $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{BrNO}_5\text{SSi}$: m/z ($\text{M}^+ - \text{Na}$) 586.0692.

2.12 (5*R*, 8*R*, 10*S*) -10-(2-硝基苯基)-7-甲苯磺酰基-8-三甲硅氧基-7-氮杂螺 [4.5] 癸-1, 6-二酮 (9h)

白色固体, 收率 70%; dr 72: 28; ee 93%; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +8.2$ (CH_2Cl_2 , $c = 0.95$); m. p. 196-197 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.90 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.68 (dd, $J = 8.0, 1.2$ Hz, 1H), 7.51 (dt, $J = 7.6, 1.2$ Hz, 1H), 7.43 (dt, $J = 7.6, 1.2$ Hz, 1H), 7.35 (dd, $J = 7.6, 0.8$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 6.26 (t, $J = 2.8$ Hz, 1H), 4.35 (dd, $J = 13.2, 2.4$ Hz, 1H), 3.34 (td, $J = 13.2, 2.4$ Hz, 1H), 2.69-2.62 (m, 1H), 2.43 (s, 3H), 2.15 (dt, $J = 18.4, 7.6$ Hz, 1H), 1.91 (dt, $J = 13.6, 2.8$ Hz, 1H), 1.87-1.65 (m, 3H), 1.06-0.97 (m, 1H), 0.27 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 215.9, 169.4, 151.6, 144.5, 136.3, 132.4, 132.4, 129.4, 129.2, 128.7, 128.6, 124.2, 78.0, 62.0, 39.9, 34.7, 34.6, 33.1, 21.7, 19.8, 1.0, 0.2; HRMS (ESI) $-\text{Mass}$ for $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{BrNO}_5\text{SSi}$: m/z ($\text{M}^+ - \text{Na}$) 586.0692.

2.13 (5*R*, 8*R*, 10*S*) -10-(4-硝基苯基)-7-甲苯磺酰基-8-三甲硅氧基-7-氮杂螺 [4.5] 癸-1, 6-二酮 (9i)

白色固体, 收率 76%; dr 78: 24; ee 97%; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +9.4$ (CH_2Cl_2 , $c = 1.00$); m. p. 199-200 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.17 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.92 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.30 (d, $J = 8.4$ Hz, 4H), 6.20 (t, $J = 2.8$ Hz, 1H), 4.34-4.30 (m, 1H), 2.53 (td, $J = 13.6, 2.8$ Hz, 1H), 2.43 (s, 3H), 2.40-2.34 (m, 1H), 2.24-2.18 (m, 1H), 2.13 (dt, $J = 13.6, 2.8$ Hz, 1H), 2.01-1.85 (m, 2H), 1.70 (dt, $J = 18.4, 8.0$ Hz, 1H), 1.19-1.09 (m, 1H), 0.22 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 215.1, 171.5, 147.4, 145.6, 144.7, 136.0, 129.8, 129.3, 128.6, 123.8, 77.6, 62.7, 39.6, 36.5, 34.3, 30.5, 21.7, 19.2, 0.2; HRMS (ESI) $-\text{Mass}$ for $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_7\text{SSi}$: m/z ($\text{M}^+ - \text{Na}$) 553.1444.

2.14 (5*R*, 8*R*, 10*S*) -10-(2-甲氧基苯基)-7-

甲苯磺酰基-8-三甲硅氧基-7-氮杂螺 [4.5] 癸-1, 6-二酮 (9j)

白色固体, 收率 64%; *dr* 70: 30; *ee* 91%; $[\alpha]_D^{20} = +11.9$ (CH_2Cl_2 , $c = 0.97$); *m. p.* 191–192 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.93 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.30 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.23 (td, $J = 8.0, 1.6$ Hz, 1H), 7.05 (dd, $J = 8.0, 1.2$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.24 (t, $J = 2.8$ Hz, 1H), 4.38 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.26 (td, $J = 13.6, 2.4$ Hz, 1H), 2.66–2.59 (m, 1H), 2.42 (s, 3H), 2.10–2.01 (m, 2H), 1.75–1.61 (m, 3H), 1.06–0.96 (m, 1H), 0.22 (s, 9H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 216.4, 170.7, 157.4, 144.3, 136.7, 129.2, 128.7, 128.7, 127.8, 121.1, 111.6, 78.8, 62.6, 55.6, 39.9, 34.4, 32.5, 21.8, 19.9, 0.3; HRMS (ESI) $-Mass$ for $\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{NO}_6\text{SSi}$: m/z ($\text{M}^+ - \text{Na}$) 538.1694.

2.15 (5R, 8R, 10S) -10-(4-甲基苯基)-7-甲苯磺酰基-8-三甲硅氧基-7-氮杂螺 [4.5] 癸-1, 6-二酮 (9k)

白色固体, 收率 66%; *dr* 72: 28; *ee* 91%; $[\alpha]_D^{20} = -22.9$ (CH_2Cl_2 , $c = 0.91$); *m. p.* 150–151 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.93 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.29 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.09 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.98 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.17 (t, $J = 2.8$ Hz, 1H), 4.15 (dd, $J = 13.6, 2.0$ Hz, 1H), 2.48 (dd, $J = 13.6, 2.8$ Hz, 1H), 2.42 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.30–2.25 (m, 1H), 2.14–2.08 (m, 3H), 1.85–1.64 (m, 2H), 1.09–0.99 (m, 1H), 0.21 (s, 9H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 216.1, 172.6, 144.4, 137.3, 136.4, 134.9, 129.3, 129.2, 128.5, 77.9, 63.1, 39.9, 36.2, 34.4, 30.9, 29.7, 21.7, 21.0, 19.3, 1.0, 0.2; HRMS (ESI) $-Mass$ for $\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{NO}_5\text{SSi}$: m/z ($\text{M}^+ - \text{Na}$) 522.1744.

2.16 (5R, 8R, 10S) -10-(2-二甲氨基苯基)-7-甲苯磺酰基-8-三甲硅氧基-7-氮杂螺 [4.5] 癸-1, 6-二酮 (9l)

白色固体, 收率 62%; *dr* 68: 32; *ee* 90%; $[\alpha]_D^{20} = -63.5$ (CH_2Cl_2 , $c = 1.02$); *m. p.* 186–187 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.93 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.28 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 6.96 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.63 (d, $J =$

8.8 Hz, 2H), 6.15 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H), 4.09 (dd, $J = 13.6, 2.0$ Hz, 1H), 2.92 (s, 6H), 2.45 (dd, $J = 13.8, 2.4$ Hz, 1H), 2.41 (s, 3H), 2.32–2.24 (m, 1H), 2.16–2.06 (m, 3H), 1.83–1.66 (m, 2H), 1.12–1.06 (m, 1H), 0.20 (s, 9H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 216.5, 172.9, 149.7, 144.3, 136.5, 129.3, 129.2, 128.5, 125.3, 112.3, 78.1, 63.3, 40.4, 39.9, 35.8, 34.6, 30.9, 21.6, 19.7, 0.3; HRMS (ESI) $-Mass$ for $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_5\text{SSi}$: m/z ($\text{M}^+ - \text{Na}$) 551.2011.

2.17 (5R, 8R, 10S) -10-咪喃-7-甲苯磺酰基-8-三甲硅氧基-7-氮杂螺 [4.5] 癸-1, 6-二酮 (9m)

白色固体, 收率 75%; *dr* 80: 20; *ee* 96%; $[\alpha]_D^{20} = -62.3$ (CH_2Cl_2 , $c = 1.09$); *m. p.* 140–141 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.90 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.29 (m, 3H), 6.29 (dd, $J = 3.2, 1.6$ Hz, 1H), 6.15 (t, $J = 2.8$ Hz, 1H), 6.04 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H), 4.20 (dd, $J = 13.2, 2.0$ Hz, 1H), 2.42 (s, 3H), 2.34 (dd, $J = 13.6, 2.4$ Hz, 1H), 2.23–1.85 (m, 6H), 1.30–1.20 (m, 1H), 0.24 (s, 9H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 215.1, 171.8, 152.6, 144.5, 142.1, 136.3, 129.2, 128.5, 110.4, 107.5, 77.8, 61.7, 39.3, 32.7, 32.2, 31.8, 21.6, 19.0, 0.2; HRMS (ESI) $-Mass$ for $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{NO}_6\text{SSi}$: m/z ($\text{M}^+ - \text{Na}$) 498.1381. (槟榔生物碱衍生物 9m 的 X-ray 单晶构型图见 127 页彩图)。

2.18 (5R, 8R, 10S) -10-甲基-7-甲苯磺酰基-8-三甲硅氧基-7-氮杂螺 [4.5] 癸-1, 6-二酮 (9n)

白色固体, 收率 53%; *dr* 64: 36; *ee* 50%; $[\alpha]_D^{20} = -16.9$ (CH_2Cl_2 , $c = 1.10$); *m. p.* 146–147 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.89 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.26 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 6.00 (t, $J = 2.8$ Hz, 1H), 2.98–2.90 (m, 1H), 2.56–2.47 (m, 1H), 2.40 (s, 3H), 2.18–2.04 (m, 4H), 1.89–1.80 (m, 3H), 0.82 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 0.23 (s, 9H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 215.8, 172.6, 144.4, 136.5, 129.1, 128.6, 78.5, 62.1, 39.8, 37.1, 29.4, 26.2, 21.6, 19.3, 15.7, 0.2; HRMS (ESI) $-Mass$ for $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{NO}_5\text{SSi}$: m/z ($\text{M}^+ - \text{Na}$) 446.1430.

3 体外抗菌活性测定

采用耐甲氧西林金色葡萄球菌 ATCC43300、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 ATCC33591、耐甲氧

西林金黄色葡萄球菌 01 ~ 04、金黄色葡萄球菌 ATCC 25923、金黄色葡萄球菌 01 ~ 04、乙型副伤寒菌和沙门菌分别转接到相对应的固体斜面培养基上，然后进行菌种斜面活化后取少量已经活化的待测细菌，置于装有 10 mL 生理盐水的试管中，充分混合，制成供试菌悬液；再用无菌吸管准确吸取 1.0 mL 上述菌悬液，置于另外 1 支装有 9.0 mL 生理盐水的无菌试管中，进行稀释；细菌采用麦氏比浊法进行计数，调节其浓度至含菌数为 $10^7 \sim 10^8$ 个/mL 的菌悬液，备用。采用琼脂平皿二倍稀释法稀释目标化合物，细菌多点接种仪种菌法，对目标化合物进行最低浓度抑菌浓度 MIC 的测定。将实验

菌株稀接种在含有不同浓度的供试品的培养基的平皿中，置摄氏 37°C 的培养箱中孵育 18 ~ 24 h，以最小抑制细菌生长的药物浓度值判为 MIC 值，若含提取物的培养基肉眼不易辨明菌体的生长，则可从各皿中取一环转接于平板上，在 37°C 下培养 24 h 后观察是否有菌落，最后统计其目标化合物的 MIC 值。同时，在实验中设置阳性对照组、培养基空白组以及细菌空白组。

对本文所制备的槟榔生物碱衍生物 9a ~ 9n 体外最低抑菌浓度 (MIC) 进行了测试，结果 (见表 1)。

表 1 目标化合物对不同菌种的体外最小抑菌浓度 (MIC)¹⁾

化合物	耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 ATCC43300	耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 ATCC33591	耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 01 ~ 04	金黄色葡萄球菌 ATCC 25923	金黄色葡萄球菌 01 ~ 04	乙型副伤寒菌	沙门菌
9a	128.6	128.6	128.6	64.3	64.3	>514.4	>514.4
9b	100.2	100.2	100.2	33.4	33.4	267.2	267.2
9c	80.6	80.6	80.6	40.3	40.3	322.4	322.4
9d	84.4	84.4	84.4	42.2	42.2	337.6	337.6
9e	91.4	91.4	91.4	45.7	45.7	365.6	365.6
9f	109.1	109.1	109.1	54.5	54.5	436.4	436.4
9g	116.4	116.4	116.4	58.2	58.2	>465.6	>465.6
9h	107.3	107.3	107.3	53.6	53.6	429.2	429.2
9i	110.8	110.8	110.8	55.4	55.4	443.2	443.2
9j	130.4	130.4	130.4	65.2	65.2	>521.6	>521.6
9k	160.6	160.6	160.6	80.3	80.3	>642.4	>642.4
9l	132.5	132.5	132.5	66.3	66.3	>530.1	>530.1
9m	85.4	85.4	85.4	42.7	42.7	341.6	341.6
9n	473.2	473.2	473.2	236.6	236.6	>473.2	>473.2
槟榔碱	>514.3	>514.3	>514.3	257.2	257.2	>514.3	>514.3
阿莫西林 ²⁾	42.4	42.4	42.4	2.7	2.7	5.3	5.3

注: 1) 采用琼脂二倍法稀释测定; 2) 阳性对照药

4 讨论

本实验设计并合成了 14 个未见文献报道的槟榔生物碱衍生物，化合物结构经 ¹H-NMR、¹³C-NMR 和 MS 确认，化合物立体选择性经 HPLC 确认，绝对构型经 X-ray 确认。经 Michael 加成反应成环的步骤中最佳条件是以二氯甲烷作为溶剂，(2S, 5S) -5-苯基-2-叔丁基-3-甲基咪唑啉-4-酮作为手性仲胺催化剂，苯甲酸作为添加剂，在室温下进行反应。体外抗菌实验结果表明，新型槟榔生物碱衍生物的抗菌活性均好于槟榔碱。R 取代基团为芳基或者咪唑环取代基时，产物的活性好于 R 为烷基取代的产物，说明芳香基团或咪唑基团是化合物发挥抗菌功效的重要结构，其原因推测为空间体积较大的取代基团使得该化合物与受体结合更加紧密，作用强度更大。此外，大基团取代增加了该化合物的电子密度和亲脂性，使得目标化合物更易进入细菌体内，发挥抗菌作用。R 取代基团含有 -F, -Cl 芳

基和咪唑环的化合物的抑菌活性较好与其他取代基团的化合物，这表明卤素取代和杂环取代基团具有增加该化合物抗菌功效的作用。卤素以及咪唑环是一类重要的元素和结构，其广泛存在于各类药物以及活性产物结构中，其可以改变化合物的物理常数以及部分化学性质，使得化合物与受体作用更加亲和。因此，我们推断 R 的改变对该类化合物对抗菌作用有一定的影响，为后续研究提供参考。此外，我们推测手性中心调控对化合物的活性也有影响，为后续研究提供方向。

参考文献

- [1] 谭君, 孙利华. 我国抗菌药物研发存在的问题及对策 [J]. 中国新药杂志, 2015, 24 (2): 130-133, 124.
- [2] 张芳芳, 张军东, 曹永兵, 等. 天然产物中抗真菌成分研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2003, 18 (5): 189-191.

- [3] 杨澍, 高杉. 天然产物抗菌作用的研究进展 [J]. 天津中医药, 2016, (2): 125-128.
- [4] 申秀丽, 段亮亮. 槟榔的化学成分及药理研究进展 [J]. 宜春学院学报, 2009, 31 (2): 95-97.
- [5] 张橡楠. 槟榔化学成分和药理作用研究进展 [J]. 生物技术世界, 2012, (7): 9-10.
- [6] 张春江, 吕飞杰, 陶海腾. 槟榔活性成分及其功能作用的研究进展 [J]. 中国食物与营养, 2008, (6): 50-53.
- [7] 罗士数, 张海德, 刘小玲, 等. 槟榔中槟榔碱体外抑菌活性的研究 [J]. 农产品加工: 创新版, 2010, (9): 47-50.
- [8] 宋晓平, 于三科, 张为民, 等. 杀螨植物药及其有效部位的离体筛选试验 [J]. 西北农林科技大学学报自然科学版, 2002, 30 (6): 69-72.
- [9] SUBRAMANIAM G, ANG KKH, NG S, et al. A benzopyrroloisoquinoline alkaloid from *Ficus fistulosa* [J]. *Phytochem Lett*, 2009, 2 (2): 88-90.
- [10] WANG YF, LU CH, LAI GF, et al. A new indolizine from *Polygonum tum kingianum* [J]. *Planta Med*, 2003, 69 (11): 1066-1068.
- [11] HUA H, PENG J, FRONCZEK FR, et al. Crystallographic and NMR studies of anti-infective tricyclic guanidine alkaloids from the sponge *Monanchora ungui fera* [J]. *Bioorg Med Chem*, 2004, 12 (24): 6461-6464.
- [12] ARNONE A, BAVA A, FRONZA G, et al. Convavine and unusual di-terpenic alkaloid produced by the fungus *Clitocybe concava* [J]. *Tetrahedron Lett*, 2005, 46 (46): 8037-8039.
- [13] YANG XP, YUAN CS, JIA ZJ. Two new antibacteriallyridoids from *Patrinia rupestris* [J]. *Chin Chem Lett*, 2006, 17 (3): 337-340.
- [14] DAI JQ, SHI YP, ZHAO CY, et al. Two new sesquiterpenes from the Chinese herb *Halenia elliptica* and their antibacterial and antitumor activity [J]. *J Chem Res Synopses*, 2002, (8): 368-369.
- [15] WANG WS, GAO K, JIA ZJ. Newsesquiterpenes from *Ligulariopsis shichuana* [J]. *J Chin Chem Soc*, 2004, 451 (2): 471-422.
- [16] WANG WS, GAO K, JIA ZJ. Neweremophilenoides from *Ligulariopsis shichuana* [J]. *J Nat Prod*, 2002, 65 (5): 714-717.
- [17] ZHOU CX, LIU JY, YE WC, et al. Neoverataline A and B, two antifungal alkaloids with a novel carbon skeleton from *Veratrum taliense* [J]. *Tetrahedron*, 2003, 59 (30): 5743-5747.

(收稿日期: 2017-10-19 编辑: 杨露)

Design, Synthesis and in vitro Anti-Bacterial Activity of Areca Alkaloids Derivatives

XIE Xin¹, LI Xiang¹, HUANG Wei¹, HAN Bo^{1,2}, PENG Cheng^{1,2}

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu, 611137, China; 2. Department of Natural Medicines, School of Pharmaceutical Sciences, Peking University State Key Laboratory of Systematic Research and Exploration of Traditional Chinese Medicine, Chengdu, 610075, China)

[Abstract] Objective: To synthesize a series of new areca alkaloids derivatives and evaluate their anti-bacterial activity. **Methods:** Fourteen novel areca alkaloids derivatives with cyclopentane and spiro-piperidine units were synthesized by utilizing β -ketoamide and α, β -unsaturated aldehydes as starting materials, subsequently undergoing secondary-amine catalyzed Michael addition based on LUMO catalytic activation mode and trimethylsilane (TMS) reaction. *In vitro* anti-bacterial activities were assessed with agar double dilution method. **Results:** The structures of target compounds were characterized by HRMS, ¹H-NMR and ¹³C-NMR, stereoselectivities were characterized by HPLC and X-ray. The results of *in vitro* anti-bacterial activities showed that all target products have certain anti-bacterial activities which are better than arecoline. Compound 9b exhibited excellent inhibition on staphylococcus aureus with MIC 33.4 μ g/mL. **Conclusion:** The novel areca alkaloids derivatives with cyclopentane and spiro-piperidine units provided a possibility for further research as lead compounds of new antibacterial agents.

[Keywords] Areca alkaloids; Structural modification; Spiro-piperidine compounds; Anti-bacterial activity *in vitro*

槟榔生物碱衍生物的设计合成与体外抗菌活性研究

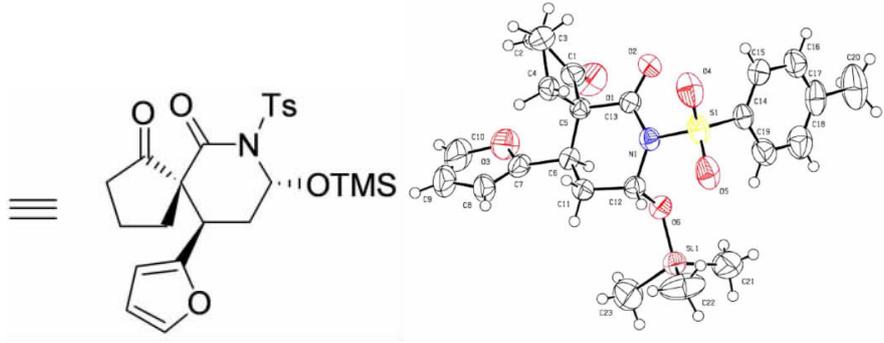


图 2 槟榔生物碱衍生物 9m 的 X-ray 单晶构型图

大花龙胆治疗急性咽炎的有效部位研究

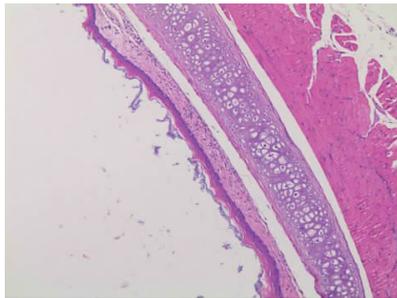


图 1 正常对照组 (HE × 100)

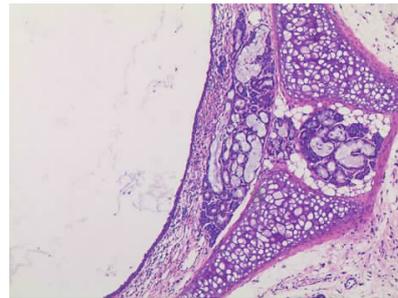


图 2 模型对照组 (HE × 100)

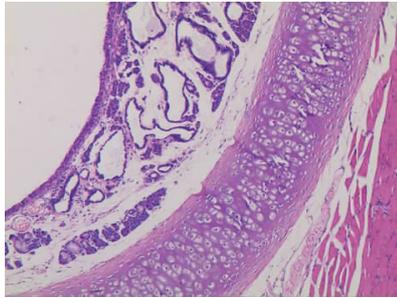


图 3 阳性对照组 (HE × 100)

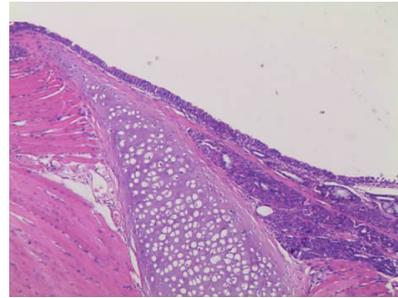


图 4 总浸膏组 (HE × 100)

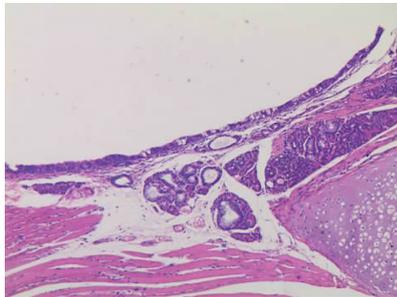


图 5 石油醚组 (HE × 100)

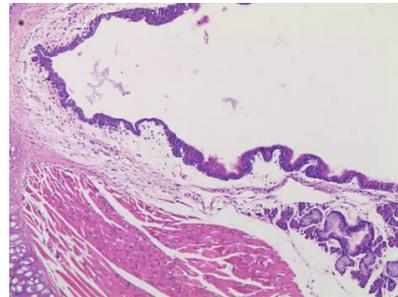


图 6 乙酸乙酯组 (HE × 100)

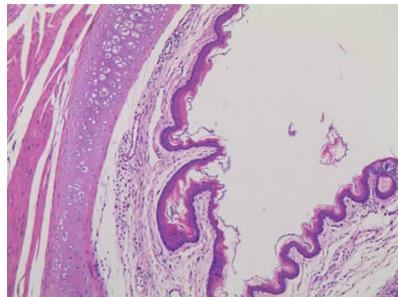


图 7 正丁醇组 (HE × 100)