

植物外源抗氧化剂硫脲基肉桂酰基硫脲衍生物的合成

段志芳, 邵玲, 李新昌 (肇庆学院生命科学学院, 广东肇庆 526061)

摘要 [目的]合成植物外源抗氧化剂取代硫脲基肉桂酰基硫脲衍生物。[方法]以肉桂酸为原料,通过酰氯化、置换和加成反应,得到5个相应的取代硫脲基肉桂酰基硫脲衍生物,经红外(IR)、质谱(MS)、核磁共振氢谱($^1\text{H NMR}$)和元素分析(EA)确认了新化合物的结构。以维生素C(V_c)为对照,测定了这些新化合物体外清除超氧自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)、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。[结果]在测定浓度下,这些化合物均具有抗氧化活性,其中N-对氯苯硫脲基-N'-肉桂酰基硫脲(1c)对DPPH \cdot 的清除活性强于 V_c 。[结论]N-对氯苯硫脲基-N'-肉桂酰基硫脲(1c)具有较强的抗氧化性,作为外源抗氧化剂有望应用于植物氧化胁迫的保护中。

关键词 肉桂酰基硫脲;合成;抗氧化作用

中图分类号 S482;O621 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)09-0023-03

Synthesis of Thioureido Cinnamic Acyl Thiourea Derivatives as Plant Exogenous Antioxidants

DUAN Zhi-fang, SHAO Ling, LI Xin-chang (College of Life Science, Zhaoqing University, Zhaoqing, Guangdong 526061)

Abstract [Objective] To synthesize substituted thioureido cinnamic acyl thiourea derivatives as plant exogenous antioxidants. [Method] Five cinnamic acyl thiourea derivatives had been gotten after the acylchlorination of cinnamic acid, thioureation with ammonium thiocyanate and then the reaction with arylthiosemicarbazide or thiosemicarbazones under solvent-free condition. Their structures were characterized by IR, $^1\text{H-NMR}$, MS and EA. The scavenging effects of these compounds on the superoxide radical($\text{O}_2^{\cdot-}$), hydroxyl radical($\cdot\text{OH}$) and DPPH \cdot and their total reduction capacity were also compared with ascorbic acid(V_c) as the reference material. [Result] They all had scavenging effects on these radicals, in which N-p-chlorophenylthioureido -N'-cinnamic acyl thiourea(1c) had stronger effect on DPPH \cdot than the others and V_c . [Conclusion] As exogenous antioxidant N-p-chlorophenylthioureido -N'-cinnamic acyl thiourea(1c) could be used in the protection of plant oxidative stress.

Key words Cinnamic acyl thiourea; Synthesis; Antioxidant activity

植物在生长过程中会不可避免地遭受逆境胁迫,如病原菌侵染、极端温度、干旱洪涝、金属离子、化学药剂等,胁迫发生时,细胞内会产生大量的活性氧,活性氧若未及时清除,会在一定条件下转变成自由基,导致膜脂过氧化,膜透性丧失,引起一系列生理生化变化、代谢紊乱,致使植物遭受伤害^[1-3]。研究表明某些外源物质能明显增加植物的抗逆性,对植物的抗逆作用可能是由于其具有清除含氧自由基的作用或诱导细胞内抗氧化机制^[4-5]。天然产物是农药先导化合物的重要来源,在植物中广泛存在的肉桂酸类化合物及其衍生物对一些由自由基导致的病变和损伤具有良好的预防和保护作用,对植物的生长表现出较好的调节作用^[6]。李倩^[7]发现外源肉桂酸预处理可以提高黄瓜叶片抗氧化酶的活性,减少活性氧含量,进而减轻低温胁迫对叶片膜系统的伤害;陈蔚燕等^[8]发现肉桂酸酯类化合物对花生、生姜和玉米等农作物具有较高的生物活性和增产性能。

硫脲类和酰基硫脲类化合物在农药化学方面具有广泛的潜在应用,如除草、调节植物生长等。肖彩琴等^[9]研究了含酰基硫脲查尔酮衍生物的合成及其植物生长调节活性,发现对双子叶油菜籽的生长具有调节作用;林桂油等^[10]合成了樟脑基苯基硫脲化合物,对苹果轮纹病菌、番茄早疫病菌等植物病原菌显示不同程度的抑菌活性。目前关于该类衍生物的抗氧化研究鲜见报道。鉴于不同活性的基因聚集于同一分子中能明显改善化合物的生物活性,笔者采用亚结构连接法,以肉桂酸为起始原料,通过酰氯化,无溶剂条件下与

硫氰酸铵反应得到相应的中间体肉桂酰基异硫氰酸酯,不经分离分别与芳氨基硫脲或单缩二氨基硫脲发生加成,设计合成了5个新型的含有硫脲基的肉桂酰基硫脲化合物,采用红外、质谱、核磁共振氢谱和元素分析对其进行了结构鉴定,并通过测定清除超氧自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)、羟自由基($\cdot\text{OH}$)和2,2-二苯基-1-苦味酰基自由基(DPPH \cdot)及总还原能力,初步研究了其体外抗氧化活性,以期找到效果较好的化合物作为外源物质能进一步应用于植物抗逆研究。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 X-4 显微熔点测定仪(温度计未校正);日本岛津 UV-2550 型紫外可见分光光度计;德国 Bruker AVANCE AV 400 超导脉冲傅里叶变换核磁共振谱仪;德国 Elementar varioEL cube 型元素分析仪;美国 Nicolet FT-IR 6700 型红外光谱仪(KBr 压片);美国 Thermo 公司 DSC 质谱仪(EI);其他试剂均为国产分析纯试剂,二氯亚砷重蒸后使用。

1.2 方法

1.2.1 目标化合物的合成。芳氨基硫脲类化合物参照文献^[11]制备,单缩二氨基硫脲类化合物参照文献^[12]制备,肉桂酰氯参照文献^[13]制备,所得化合物理化性质与文献相符。将 5.0 mmol 肉桂酰氯、7.5 mmol 的硫氰酸铵和 1 滴 PEG400 置于玻璃研钵中,混合均匀,室温研磨 5 min,加入 4.5 mmol 芳氨基硫脲或单缩二氨基硫脲,继续研磨 10 min,固体用蒸馏水洗涤多次,再用无水乙醇洗涤,晾干后用 DMF/EtOH 重结晶,得到化合物 1~3。合成路线见图 1。

1.2.2 抗氧化活性试验。新化合物抗氧化活性试验参考文献^[14]方法进行,试样浓度配制为 1.0 mg/mL 二甲亚砷溶液,其中还原能力测定采用铁氰化钾还原法,DPPH 自由基用无

基金项目 广东省科学技术厅基金项目(2014A030304070)。

作者简介 段志芳(1973—),女,河南安阳人,副教授,博士,从事药用植物资源开发与利用研究。

收稿日期 2017-01-13

水乙醇配制直接使用,羟自由基由 $\text{Fe}^{2+} - \text{H}_2\text{O}_2 - \text{水杨酸}$ 体系产生,超氧自由基采用碱性条件下邻苯三酚的自氧化

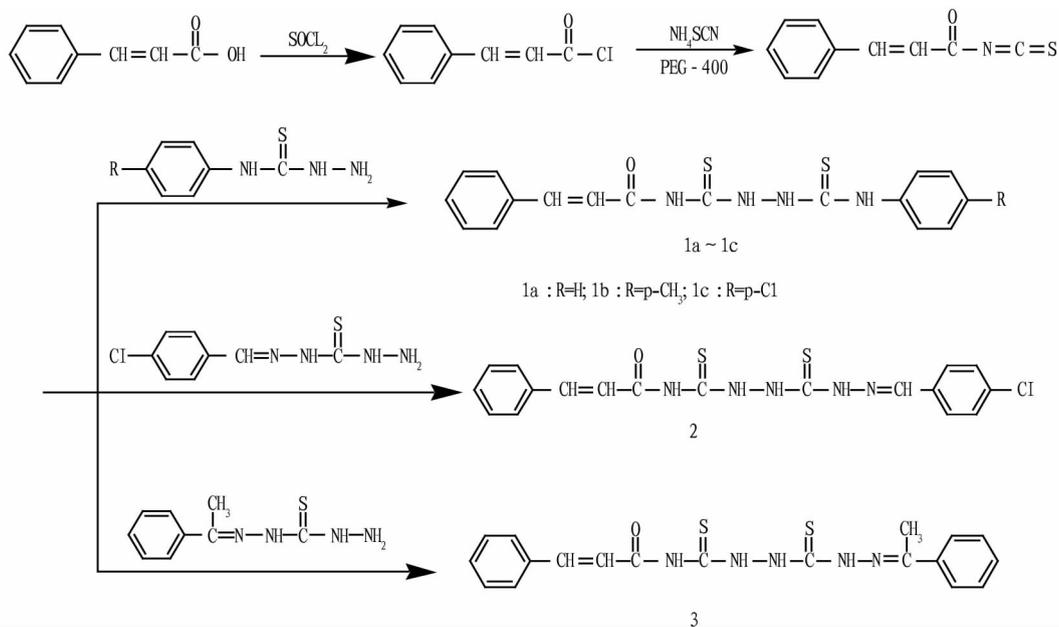


图1 化合物的合成路线

Fig.1 Synthesis route of the target compounds

2 结果与分析

2.1 目标化合物的合成 将肉桂酰氯和硫氰酸铵在催化剂 PEG-400 存在下室温固相研磨,然后加入芳氨基硫脲或单缩二氨基硫脲反应得到相应产物,反应过程中不使用有机溶剂,具有操作简单、反应条件温和和环境友好等特点,为肉桂酰基硫脲类化合物的合成提供了一条绿色途径。

目标化合物的红外谱图在 $3\ 338 \sim 3\ 054\ \text{cm}^{-1}$ 处出现的中等强度的吸收峰或强的宽峰,为 N—H 伸缩振动特征吸收峰。在 $1\ 687 \sim 1\ 661\ \text{cm}^{-1}$ 处出现的强吸收峰为 C=O 的伸缩振动特征吸收峰。在 $3\ 007\ \text{cm}^{-1}$ 左右出现的吸收峰为苯环的 C—H 伸缩振动吸收峰, $1\ 603$ 、 $1\ 489$ 、 $1\ 450\ \text{cm}^{-1}$ 左右出现的峰为苯环骨架振动吸收峰。在 $1\ 210$ 、 $1\ 161\ \text{cm}^{-1}$ 处出现的中等强度吸收峰为 C=S 的伸缩振动吸收峰, $1\ 265\ \text{cm}^{-1}$ 处出现的强吸收峰为 C—N—C 反对称伸缩振动吸收峰。

目标化合物的核磁氢谱中有 4 个 N—H 的共振吸收峰(单峰),与其化学环境相符合。O=C—NH—C=S 中 N—H 中的氢原子处在—C=S—的正屏蔽区,化学位移比 NHC=S 位于高场。

目标化合物的质谱图中分子离子峰很弱,其他离子峰可以得到较好的解释。

N-苯硫脲基-N'-肉桂酰基硫脲(1a):浅黄色粉末,产率 4.77%, m. p. $228 \sim 229\ ^\circ\text{C}$; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 13.65 (s, 1H, PhNH), 11.68 (s, 1H, CONHCS), 10.73 (s, 1H, CSNH), 10.37 (s, 1H, NHCS), 7.79 (d, $J = 15.8\ \text{Hz}$, 1H, PhCH=C), 7.14 ~ 7.72 (m, 10H, Ar—H), 7.02 (d, $J = 15.8\ \text{Hz}$, 1H, C=CHCO); IR (KBr) ν : 3 194 (NH), 3 028, 1 679 (C=O), 1 626 (C=C), 1 597, 1 519, 1 451, 1 220, 1 152 (C=S), 975, 764, 697; Anal. calcd. for $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{OS}_2$: C 57.30, H

4.49, N 15.73; found C 57.21, H 4.39, N 15.55。

N-对甲苯硫脲基-N'-肉桂酰基硫脲(1b):浅黄色粉末,产率 29.46%, m. p. $281 \sim 282\ ^\circ\text{C}$; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 13.60 (s, 1H, PhNH), 11.67 (s, 1H, CONHCS), 10.61 (s, 1H, CSNH), 10.27 (s, 1H, NHCS), 7.79 (d, $J = 15.8\ \text{Hz}$, 1H, PhCH=C), 7.12 ~ 7.64 (m, 9H, Ar—H), 7.01 (d, $J = 15.8\ \text{Hz}$, 1H, C=CHCO), 2.29 (s, 3H, —CH₃); IR (KBr) ν : 3 335, 3 229, 3 196 (NH), 3 054, 3 027, 3 003, 1 685 (C=O), 1 629 (C=C), 1 510, 1 448, 1 345, 1 196, 1 154 (C=S), 977, 819, 762, 705; Anal. calcd. for $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{OS}_2$: C 58.38, H 4.87, N 15.14; found C 58.31, H 4.79, N 15.25。

N-对氯苯硫脲基-N'-肉桂酰基硫脲(1c):浅黄色粉末,产率 9.28%, m. p. $> 290\ ^\circ\text{C}$; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.44 (s, 1H, PhNH), 10.18 (s, 1H, CONHCS), 9.96 (s, 1H, CSNH), 9.75 (s, 1H, NHCS), 7.75 (d, $J = 15.8\ \text{Hz}$, 1H, PhCH=C), 7.45 ~ 7.68 (m, 9H, Ar—H), 6.91 (d, $J = 15.8\ \text{Hz}$, 1H, C=CHCO); IR (KBr) ν : 3 338, 3 195, 3 108 (NH), 3 003, 1 661 (C=O), 1 620 (C=C), 1 573, 1 543, 1 493, 1 346, 1 193, 1 162 (C=S), 1 089, 777, 539; EI-MS m/z (%): 356 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{S}$, 4.54), 279 (3.38), 243 (5.17), 226 (4.39), 203 (5.48), 184 (9.48), 169 (24.43), 131 (100), 127 (32.45), 111 (28.39), 103 (25.17), 75 (12.49), 65 (6.32); Anal. calcd. for $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{ClN}_4\text{OS}_2$: C 52.24, H 3.84, N 14.34; found C 52.31, H 3.79, N 14.25。

N-对氯苯甲醛缩氨基硫脲基-N'-肉桂酰基硫脲(2):淡黄色固体粉末,产率 68.44%, m. p. $232 \sim 234\ ^\circ\text{C}$; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 13.35 (s, 1H, NHC=S), 12.32 (s, 1H, C=SNHC=O), 11.84 (s, 1H, =NNH), 10.99

(s, 1H, C = SNH), 8.15 (s, 1H, CH = N), 7.80 (d, $J = 15.8$ Hz, 1H, PhCH =), 7.47 ~ 7.83 (m, 9H, Ar-H), 7.02 (d, $J = 15.8$ Hz, 1H, =CHCO); IR (KBr) ν : 3 323, 3 159 (NH), 3 055, 1 687 (C = O), 1 633 (C = C), 1 520, 1 484, 1 449 (Ar), 1 226, 1 193, 1 151 (C = S), 1 086, 978, 763, 681; Anal. calcd. for $C_{18}H_{16}ClN_5OS_2$: C 51.72, H 3.83, N 16.76; found C 51.66, H 3.74, N 16.83。

N-苯乙酮缩氨基硫脲基-N'-肉桂酰基硫脲(3): 淡黄色固体, 产率 60.25%, m. p. 214 ~ 216 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ : 13.76 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, NHC = S), 11.86 (s, 1H, C = SNHC = O), 11.37 (s, 1H, =NNH), 11.17 (d, $J = 6.4$ Hz, 1H, C = SNH), 7.90 ~ 7.93 (m, 2H, Ar-H), 7.81 (d, $J = 15.8$ Hz, 1H, PhCH =), 7.44 ~ 7.66 (m, 8H, Ar-H), 7.01 (d, $J = 15.8$ Hz, 1H, =CHCO), 2.40 (s, 3H, CH₃); IR (KBr) ν : 3 326, 3 204 (NH), 3 055, 3 024, 1 687 (C = O), 1 632 (C = C), 1 538, 1 509, 1 488 (Ar), 1 446, 1 224, 1 198, 1 153 (C = S), 978, 764, 686; EI-MS (%): 397 (M^+ , 0.5), 363 (5.25), 348 (12.26), 221 (27.49), 202 (8.49), 176 (25.56), 148 (6.86), 131 (100), 118 (17.55), 103 (28.26), 77 (25.34), 51 (4.79); Anal. calcd. for $C_{19}H_{19}N_5OS_2$: C 56.78, H 4.78, N 17.58; found C 57.43, H 4.79, N 17.63。

2.2 化合物的抗氧化活性 试验测定了硫脲基肉桂酰基硫脲新化合物清除 $O_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot OH$ 和 DPPH \cdot 的活性及总还原能力, 并同维生素 C (V_c) 抗氧化活性进行了比较。试验过程中选用多个浓度, 结果发现低浓度时, 清除自由基效果较弱, 而高浓度时化合物在测定体系中的溶解度小, 清除自由基效果也较弱, 为了便于比较, 选用浓度为 1.0 mg/mL 时的试验结果 (取 3 次测定平均值)。

由图 2~5 可知, 在 1.0 mg/mL 时, 这些化合物均具有清除自由基活性, 其中 N-对氯苯硫脲基-N'-肉桂酰基硫脲(1c) 对 DPPH \cdot 的清除活性较强, 抑制率为 95.29%, 作用强于 V_c ; 其他化合物抗氧化活性均弱于 V_c , 这可能是由于该类化合物在测定体系中的溶解度比 V_c 小所致。

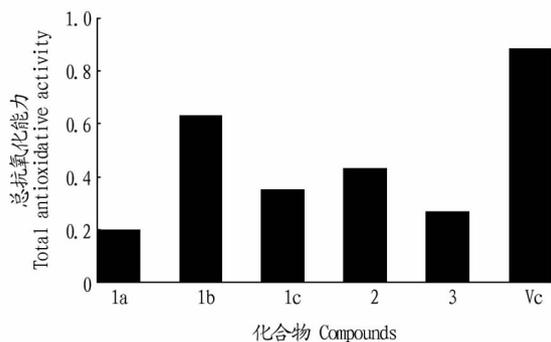


图 2 化合物的总抗氧化能力

Fig. 2 The total antioxidative activity of the target compounds

3 结论

无溶剂条件下肉桂酰基异硫氰酸酯与芳氨基硫脲或单缩二氨基硫脲发生加成反应得到 5 个相应的硫脲基肉桂酰基硫脲衍生物, 经红外、质谱、核磁共振氢谱和元素分析确认

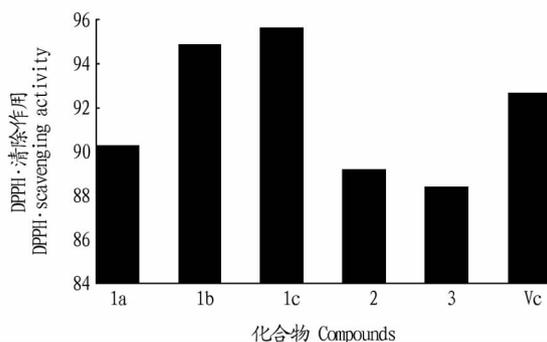


图 3 化合物的清除 DPPH \cdot 作用

Fig. 3 DPPH \cdot scavenging activity of the target compounds

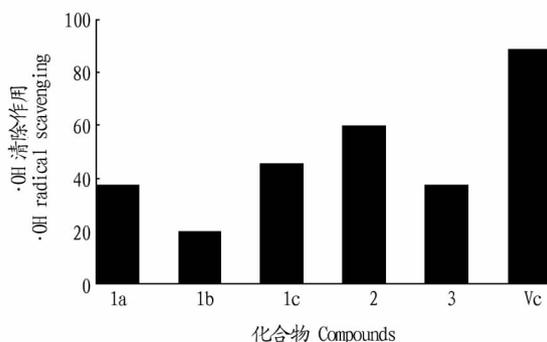


图 4 化合物的清除 $\cdot OH$ 作用

Fig. 4 $\cdot OH$ radical scavenging activity of the target compounds

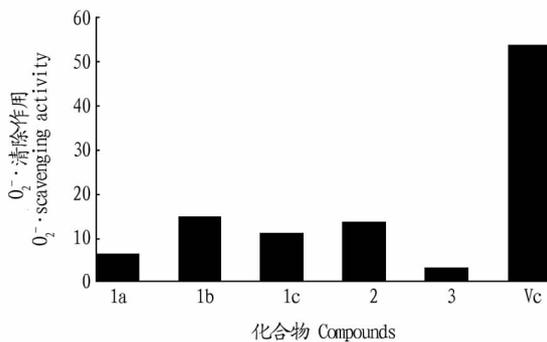


图 5 化合物的清除 $O_2^{\cdot-}$ 作用

Fig. 5 $O_2^{\cdot-}$ scavenging activity of the target compounds

了新化合物的结构。测定了这些新化合物清除超 $O_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot OH$ 和 DPPH \cdot 的活性及还原能力。结果表明, 这些化合物均具有抗氧化活性, 其中 N-对氯苯硫脲基-N'-肉桂酰基硫脲(1c) 对 DPPH \cdot 的清除活性较强, 作用强于 V_c , 有望进一步进行植物氧化胁迫的保护作用研究。该结果提供了一种绿色合成方法, 为设计与合成活性更高的酰基硫脲化合物分子提供了理论依据。

参考文献

- [1] HUSSEIN Y, AMIN G, GAHIN H. Antioxidant activities during drought stress resistance of sesame (*Sesamum indicum* L.) plant by salicylic acid and kinetin[J]. Research journal of botany, 2016, 11(1): 1-8.
- [2] QUINN L D, STRAKER K C, GUO J, et al. Stress-tolerant feedstocks for sustainable bioenergy production on marginal land[J]. BioEnergy research, 2015, 8(3): 1081-1100.

泥石流沟道的威胁人口、资产、耕地等项目进行调查,结果见表3。由表3可知,12条泥石流的发生都造成了巨大损

失,直接对人民生命财产、交通设施、农田水利造成严重威胁。

表3 12条泥石流沟道危害特性
Table 3 Hazard characteristics of 12 debris flow gully

序号 No.	沟道名称 Name of debris flow gully	乡镇 Township	人口 Population//人	威胁对象 Threat object			险情等级 Danger grade
				资产 Assets//万元	耕地面积 Cultivated area hm ²	其他 Others	
1	黄水箐沟	汤丹镇	40	800	5	工矿企业	中型
2	大水沟	因民镇	350	400	20	公路、学校	中型
3	因民沟	因民镇	6 700	38 000		工矿企业	特大型
4	落雪沟	因民镇	422	30 000		工矿企业	特大型
5	奚家坪沟	拖布卡镇	92	392	5	公路	小型
6	祝国寺沟	铜都街道	2 150	5 000	20	东川城区	特大型
7	阿旺小河	阿旺镇	5 000	15 000		交通、房屋	特大型
8	田坝干沟	铜都街道	150	17 000	2 900	基础设施	特大型
9	野鸭塘沟	乌龙镇	450	5 500	2 500	交通、房屋	大型
10	腊利河	铜都街道	300	7 000	900	交通设施	大型
11	大桥河	铜都街道	870	12 000	3 600	房屋、水利设施	特大型
12	洪砂沟	铜都街道	667	3 800	1 700	农田水利	大型

4 结语

东川区泥石流灾害具有数量多、分布广、密度大、发育健全、破坏力大、暴发频率高、类型齐全、防治难度大及受季节性分布明显等特征,泥石流一旦暴发将对城镇、人口、交通、水利设施、农田、工矿企业造成巨大损失。泥石流已经成为东川区经济、社会和生态环境可持续发展的罪魁祸首。东川区泥石流的危害从点到线,从线到面,涉及各个方面,影响到交通、水利、农业、学校、医院等部门,加强对泥石流灾害的预防和治理意义重大。

参考文献

- [1] 刘光旭,吴文祥,张绪教.昆明市东川区泥石流风险性评价研究[J].中国地质灾害与防治学报,2008,19(3):29-33.
- [2] 杜榕桓,康志成,陈循谦,等.云南小江泥石流综合考察与防治规划研究[M].重庆:科学技术文献出版社重庆分社,1987:1-40.
- [3] 杜榕桓,康志成,吴积善.东川泥石流形成发展、运动规律与综合治理示范研究[J].地质灾害与防治,1990,1(3):71-77.
- [4] 莫美仙,张世涛,李杏茹.昆明东川城区后山泥石流特征及成因分析[J].中国地质灾害与防治学报,2006,17(4):85-90.
- [5] 崔鹏,何易平,陈杰.泥石流输沙及其对山区河道的影响[J].山地学报,2006,24(5):539-549.
- [6] 丁明涛,韦方强.云南蒋家沟泥石流成因及其防治措施探析[J].水土保持研究,2008,15(1):20-21.
- [7] 张业成,郑学信.云南省东川市泥石流灾害灾情评估[J].中国地质灾害与防治学报,1995,6(2):67-76.

(上接第25页)

- [3] 夏民旋,王维,袁瑞,等.超氧化物歧化酶与植物抗逆性[J].分子植物育种,2015,13(11):2633-2646.
- [4] 孙立荣,崔香环,廖立冰,等.外源水杨酸对Cu²⁺胁迫下小麦幼苗中活性氧和抗氧化酶的影响[J].河南大学学报(自然科学版),2008,38(2):176-180.
- [5] 张春平,何平,韦品祥,等.外源5-氨基乙酰丙酸对盐胁迫下紫苏种子萌发及幼苗抗氧化酶活性的影响[J].中草药,2011,42(6):1194-1200.
- [6] 吴争荣.肉桂酸类衍生物的合成及其生物活性研究[D].兰州:兰州大学,2013.
- [7] 李倩.外源肉桂酸对低温胁迫下两个黄瓜品种叶片DNA甲基化的影响[D].泰安:山东农业大学,2012.
- [8] 陈蔚燕,关立婷,许良忠.肉桂酯类化合物的合成及在农作物上的应

- 用研究[J].农学学报,2013,3(10):34-37.
- [9] 肖彩琴,傅颖.新型含酰基硫脲查尔酮衍生物的合成及其植物生长调节活性[J].合成化学,2015,23(9):785-790.
- [10] 林桂汕,黄翊,段文贵,等.樟脑基苯基硫脲类化合物的合成及生物活性研究[J].化学通报,2015,78(8):722-727.
- [11] 钟蒙,刘兆鹏,徐丽君,等.腺嘌呤衍生物的合成及体外抗疱疹病毒活性[J].药学报,1996,31(11):837-843.
- [12] 周琳,王麟生,王海霞,等.单缩和双缩二氨基硫脲类化合物的合成与表征[J].化学通报,2006(5):355-358.
- [13] 左明明,周健民,胡国辉,等.肉桂酰胺类化合物的合成及其体外抗肿瘤活性[J].化学世界,2012(4):239-242.
- [14] 王蓓蓓,牛付阁,段玉峰.高良姜与大高良姜总黄酮抗氧化活性比较研究[J].食品科学,2011,32(7):117-120.

科技论文写作规范——讨论

着重于研究中新的发现和重要方面,以及从中得出的结论。不必重复在结果中已评述过的资料,也不要模棱两可的语言,或随意扩大范围,讨论与文中无多大关联的内容。