

二茂铁基吡喃酮并喹啉化合物的高效合成及其抗氧化性能

张晓平¹, 金桂勇¹, 马胜涛², 王二彬², 赵学斌²,
陈芝飞², 李 倬², 楚文娟², 赵 旭², 席高磊²

(1. 河南农业大学烟草学院河南省香精香料与调香工程技术研究中心, 郑州 450002;

2. 河南中烟工业有限责任公司技术中心, 郑州 450016)

摘 要: 本文采用 $\text{Ce}(\text{OTf})_3$ 和 $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ 复合催化 4-甲基-7-氨基苯并吡喃酮、芳香醛和二茂铁基乙炔发生 Povarov 三组分反应(Povarov-3CR), 高效合成了 15 种已知二茂铁基吡喃酮并喹啉化合物, 产率为 40.0%~66.8%; 采用 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 和 HR-MS(ESI)表征产物分子结构, 通过抑制 $\text{HO}\cdot$ 和还原型谷胱甘肽自由基($\text{GS}\cdot$)引发 DNA 氧化反应测试比较化合物抗氧化活性, 探究取代基种类、位置和数目对二茂铁基吡喃酮并喹啉抗氧化性能的影响. 结果表明: 抑制 $\text{HO}\cdot$ 引发 DNA 氧化反应测试显示, 15 个目标化合物相对空白硫代巴比妥酸活性物质吸光度百分数(TBARS 百分数)为 36.6%~83.3%; 抑制 $\text{GS}\cdot$ 引发 DNA 氧化反应体系测试显示, 15 个目标化合物 TBARS 百分数达 22.9%~67.2%; 在分子中引入推电子基团($-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{OCH}_3$ 和 $-\text{OH}$)均能提升目标化合物的抗氧化能力, 而吸电子基团($-\text{Cl}$)有降低抗氧化能力作用; 二茂铁基吡喃酮并喹啉化合物的抗氧化性能优于二茂铁基喹啉化合物, 是一类潜在的强抗氧化剂.

关键词: 复合催化; Povarov 三组分反应; 二茂铁; 吡喃酮并喹啉; 抗氧化剂; 自由基

中图分类号: O625 **文献标识码:** A **DOI:** 10.19907/j.0490-6756.2022.035001

Efficient synthesis and antioxidation activities of ferrocenylpyrano-fused quinolines

ZHANG Xiao-Ping¹, JIN Gui-Yong¹, MA Sheng-Tao², WANG Er-Bin², ZHAO Xue-Bin²,
CHEN Zhi-Fei², LI Zhuo², CHU Wen-Juan², ZHAO Xu², XI Gao-Lei²

(1. Flavors and Fragrance Engineering & Technology Research Center of Henan Province,
College of Tobacco Science, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

2. Technology Center, China Tobacco Henan Industrial Co., Ltd., Zhengzhou 450016, China)

Abstract: Fifteen known ferrocenylpyrano-fused quinolines were synthesized efficiently via three-component Povarov reaction(Povarov-3CR) of 4-methyl-7-aminobenzopyranone, aromatic aldehydes, and ferrocenyl acetylene in the presence of cerium trifluoromethylsulfonate ($\text{Ce}(\text{OTf})_3$) and scandium trifluoromethylsulfonate ($\text{Sc}(\text{OTf})_3$), with yields ranging from 40.0% to 66.8%. The structures of the compounds were characterized by ^1H NMR, ^{13}C NMR, and HR-MS (ESI). The antioxidant activities of the

收稿日期: 2021-10-13

基金项目: 国家自然科学基金(21801064)

作者简介: 张晓平(1988-), 女, 河南郑州人, 博士, 副教授, 主要研究香料香精合成及应用. E-mail: xiaoping078@163.com

通讯作者: 赵旭. E-mail: zhaoxuzzu@163.com; 席高磊. E-mail: xigaoleijida@126.com

compounds were evaluated by inhibiting oxidation reaction of DNA induced by hydroxyl radical ($\text{HO}\cdot$) and reductive glutathione radical ($\text{GS}\cdot$), and the effects of the type, position and number of substituents on the antioxidant abilities of ferrocenylpyrano-fused quinolines were investigated. The results showed that the fifteen target compounds exhibited strong radical scavenging activities to protect DNA against oxidation induced by $\text{HO}\cdot$ and $\text{GS}\cdot$. The absorbance percentages of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) of the fifteen target compounds were 36.6%~83.3% in inhibiting $\text{HO}\cdot$ induced oxidation of DNA, and 22.9%~67.2% in inhibiting $\text{GS}\cdot$ induced oxidation of DNA, respectively. The antioxidant activity could be further enhanced by introduction of electron-donating groups (such as $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{OCH}_3$, and $-\text{OH}$) in ferrocenylpyrano-fused quinolines structures, while antioxidant activity was reduced when electron-withdrawing group ($-\text{Cl}$) was introduced. The ferrocenylpyrano-fused quinolines exhibited better antioxidant performance than ferrocenyl quinolines and are potential powerful antioxidants.

Keywords: Complex catalysis; Povarov three-component reaction; Ferrocene; Pyrano-fused quinoline; Antioxidant; Free radical

1 引言

当前,对天然产物提取或天然骨架结构进行修饰尤其是将多种抗氧化天然骨架结构或官能团集成,已成为当今国际抗氧化技术研究领域的热点^[1, 2]. 吡喃酮和喹啉类化合物是两类存在于天然产物中的杂环类化合物,其天然骨架分别包含氧杂环和氮杂环,两者具有广泛的生理或药理作用,如:抗菌^[3, 4]、抗氧化^[5, 6]和抗肿瘤^[7, 8]等. 二茂铁基由于存在富电子体系,常被作为抗氧化官能团,其衍生物拥有较强的抗氧化能力^[9, 10]. 然而,国内外关于将二茂铁基团、吡喃酮和喹啉合成为单个化合物以及对其抗氧化性能的研究少有报道. 近年来,本课题组^[11]在 Povarov 三组分反应做了大量研究,以 $\text{Ce}(\text{OTf})_3$ 为单一催化剂,催化 4-甲基-7-氨基苯并吡喃酮、芳香醛和二茂铁基乙炔合成了二茂铁基吡喃酮并喹啉化合物,产率为 24%~62%,发现其具有一定的捕获自由基性能. 此外,文献^[12-14]报道采用复合催化剂能够有效提高有机反应的效率和目标化合物的合成产率. 鉴于此,本文开展了二茂铁基吡喃酮并喹啉化合物化合物高效合成及抗氧化活性的研究.

文献^[15]报道在催化成环反应过程中, $\text{Ce}(\text{OTf})_3$ 和 $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ 作为催化剂复合后具有协同作用,这种独特的相互作用能够增强彼此的催化作用. 因此,本文以 4-甲基-7-氨基苯并吡喃酮、芳香醛和二茂铁基乙炔为原料,以 $\text{Ce}(\text{OTf})_3$ 和 $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ 为复合催化剂,在加热回流条件下实现了 Povarov 三组分反应,高效合成了 15 种二茂铁基

吡喃酮并喹啉化合物(1a~1o),产率为 40.0%~66.8%,明显高于文献^[11]报道的产率. 其中, 1a~1o 均为文献^[11]报道的化合物,其分子结构采用¹H NMR、¹³C NMR 和 HR-MS(ESI)进行表征. 经抑制自由基引发 DNA 氧化反应对其抗氧化性能进行测试,以探究多结构骨架化合物抗氧化的构效关系. 测试结果表明 15 种化合物具有较好的抗氧化活性,这为新型抗氧化剂的开发应用提供了理论支持.

2 实验部分

2.1 主要仪器与试剂

Agilent 1200/6220 超高效液相色谱-电喷雾离子源-质谱联用仪,美国 Agilent 科技有限公司产;Avance AMX-400 核磁共振谱仪,美国 Bruker 公司产;UV1101 紫外-可见分光光度计,上海菁华科学仪器有限公司产;JH40 全自动熔点仪,上海佳航仪器仪表有限公司产;XS-225A 标准电子天平(感量 0.1 mg),德国 Sartorius 公司产;RV10 数显型旋转蒸发仪,德国 IKA 集团产.

分析纯药品:4-甲基-7-氨基苯并吡喃酮、三氟甲磺酸铈、三氟甲磺酸钪,上海阿拉丁生化科技股份有限公司产;三氯乙酸(TCA),上海达瑞精细化学品有限公司产;还原型谷胱甘肽(GSH)、四氯氢醌(TCHQ),上海源叶生物科技有限公司产;2-硫代巴比妥酸(TBA)国药集团化学试剂有限公司产. 标准品药品:脱氧核糖核酸钠盐(DNA),比利时 Acros Organics 公司产;其他使用试剂均为分析纯.

2.2 化合物 1a~1o 的合成方法

将二茂铁乙炔 0.42 g (2.0 mmol)、芳香醛 (2.4 mmol)、4-甲基-7-氨基苯并吡喃酮 0.42 g (2.4 mmol)、 $\text{Ce}(\text{OTf})_3$ 0.06 g (0.1 mmol)、 $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ 0.05 g (0.1 mmol) 和甲苯 10 mL 一起加入 25 mL 圆底烧瓶, 搅拌后于 110 °C 回流反应

2 h (TLC 检测). 冷至室温, 溶剂浓缩, 残留物经硅胶柱层析[洗脱剂: $V(\text{二氯甲烷})/V(\text{乙酸乙酯})=20/1$]纯化后得到化合物 1a~1o(图 1). 按此方法合成参比化合物 4-甲基-6,8-二苯基吡喃酮并喹啉 (1p), 为二茂铁基团对吡喃酮并喹啉类抗氧化能力的影响进行深层次研究.

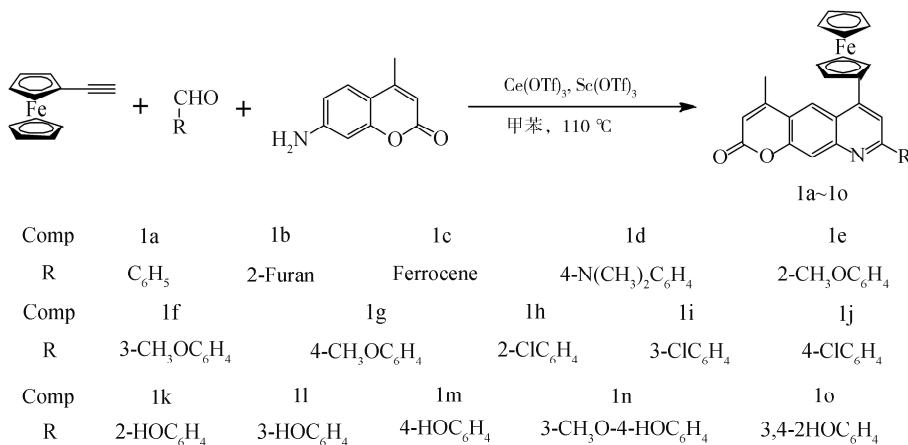


图 1 目标化合物合成路线 1a~1o

Fig. 1 Synthetic route of target compounds 1a~1o

2.3 抗氧化性能测试

2.3.1 抑制 $\text{HO}\cdot$ 引发的 DNA 氧化反应检测体系 按照文献[16]方法对产物抑制 $\text{HO}\cdot$ 引发的 DNA 氧化反应进行检测. 移取 13.4 mL 2.24 g/L DNA 溶液, 加入 1 mL 30 mmol/L 的 H_2O_2 溶液、0.5 mL 120 mmol/L TCHQ 溶液和 0.1 mL 7.5 mmol/L 待测化合物储备液, 充分混合后于 37 °C 水浴 30 min. 从中移取 2 mL, 再加入 1 mL 1% TBA 溶液和 1 mL 3.0% TCA 溶液, 于 100 °C 水浴加热 30 min, 冷却至室温, 加入 1.5 mL 正丁醇充分振荡萃取 TBARS. 在 535 nm 下测定正丁醇的吸光度 $A_{\text{化合物}}$, 以蒸馏水代替化合物储备液测其吸光度 $A_{\text{空白}}$.

2.3.2 抑制 $\text{GS}\cdot$ 引发的 DNA 氧化反应检测体系 按照文献[17]方法对产物抑制 $\text{GS}\cdot$ 引发的 DNA 氧化反应进行检测. 移取 13.4 mL 2.24 g/L DNA 溶液, 加入 1 mL 75 mmol/L 的 CuSO_4 溶液、0.5 mL 90 mmol/L GSH 溶液和 0.1 mL 7.5 mmol/L 待测化合物储备液, 充分混合后于 37 °C 水浴 90 min. 从中移取 2 mL, 再加入 1 mL 30 mmol/L EDTA 溶液、1.0 mL 1.0% TBA 溶液和 1 mL 3% TCA 溶液, 于 100 °C 水浴加热 30 min, 冷却至室温, 加入 1.5 mL 正丁醇充分振荡萃取

TBARS, 在 535 nm 下测定正丁醇的吸光度 $A_{\text{化合物}}$, 以蒸馏水代替化合物储备液测吸光度 $A_{\text{空白}}$.

3 结果与讨论

3.1 合成

3.1.1 催化剂筛选 以化合物 1a 的合成例, 探讨反应条件对化合物 1a 产率的影响, 结果见表 1. 由表 1 可以看出, 以 $\text{Ce}(\text{OTf})_3$ 和 $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ 为复合催化剂, 110 °C 加热反应 2 h, 是合成目标化合物的较佳方法, 化合物 1a 的产率为 64.8%, 高于文献[11]方法产率. 原因是 Povarov 反应分为两步: 首先芳香胺和醛形成 Schiff 碱, 之后 Schiff 碱与炔发生 Diels-Alder 反应形成喹啉分子中的吡啶环. 而 $\text{Ce}(\text{OTf})_3$ 和 $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ 不仅可以催化芳香胺和醛形成 Schiff 碱, 也能够活化炔上的 $\text{C}\equiv\text{C}$, 促使 Schiff 碱与炔发生 Diels-Alder 反应生成喹啉. 两者复合后存在协同作用, 这种独特的相互作用能够增强彼此的催化作用^[15], 进一步提高 Povarov 反应中醛胺缩合反应和 Diels-Alder 反应的效率, 从而产生高于 $\text{Ce}(\text{OTf})_3$ 和 $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ 单独使用时的催化效能, 使反应向正方向进行, 减少副产物生成, 大大提高 Povarov-3CR 的反应效率.

表 1 反应条件对 1a 产率的影响
Tab. 1 The influences of reaction conditions on yields of 1a

No.	催化剂 /(10 mol%)	产率/%			No.	催化剂 /(10 mol%)	产率/%		
		25 ℃	60 ℃	110 ℃			25 ℃	60 ℃	110 ℃
1	catalyst-free	trace	trace	trace	9	BiCl ₃	trace	8.9	23.9
2	HCl	trace	trace	trace	10	AgOTf	trace	15.6	36.8
3	HClO ₄	trace	trace	trace	11	Yb(OTf) ₃	trace	21.8	44.6
4	CH ₃ COOH	trace	trace	9.7	12	Ce(OTf) ₃	trace	23.5	53.0
5	NH ₄ Cl	trace	trace	6.7	13	Sc(OTf) ₃	trace	25.9	56.6
6	TMSCl	trace	trace	10.8	14	AgOTf/Yb(OTf) ₃	trace	25.1	50.3
7	LaCl ₃	trace	7.5	17.9	15	Yb(OTf) ₃ /Ce(OTf) ₃	trace	26.7	57.6
8	InCl ₃	trace	7.2	15.5	16	Ce(OTf) ₃ /Sc(OTf) ₃	trace	27.7	64.8

3.1.2 化合物结构表征 分别采用 JH40 全自动熔点仪、核磁共振谱仪(NMR)和超高效液相色谱-电喷雾离子源质谱联用仪(UHPLC-ESI-MS)对化合物 1a~1p 进行结构表征。

4-甲基-6-二茂铁基-8-苯基吡喃酮并喹啉(1a):黄色固体;产率 64.8%; m. p. 218~220 ℃; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.68 (s, 1H), 8.27 (s, 2H), 8.10 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.60 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 7.54 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 6.27 (s, 1H), 4.71 (s, 2H), 4.53 (s, 2H), 4.22 (s, 5H), 2.51 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): 159.2, 157.3, 152.6, 150.9, 130.1, 129.1, 127.5, 126.3, 124.8, 124.1, 117.1, 115.8, 114.4, 88.4, 72.3, 69.9, 68.5, 19.5; HR-MS(ESI) *m/z*: Calcd for C₂₉H₂₁FeNO₂ {[M+H]⁺} 472.1000, found 472.1008.

4-甲基-6-二茂铁基-8-呋喃基吡喃酮并喹啉(1b):黄色固体;产率 59.7%; m. p. 253~255 ℃; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.63 (s, 1H), 7.99 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.79 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.34 (s, 1H), 6.66~6.67 (m, 1H), 6.25 (s, 1H), 4.69 (s, 2H), 4.51 (s, 2H), 4.23 (s, 5H), 2.49 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): 159.2, 153.2, 152.5, 150.9, 149.1, 147.5, 144.7, 126.1, 124.1, 123.3, 117.0, 115.6, 114.3, 112.5, 111.1, 88.4, 72.2, 69.9, 68.3, 19.5; HR-MS(ESI) *m/z*: Calcd for C₂₇H₁₉FeNO₃ {[M+H]⁺} 462.0793, found 462.0790.

4-甲基-6,8-二二茂铁基吡喃酮并喹啉(1c):红色固体;产率 62.2%; m. p. 242~244 ℃; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.30 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 6.24 (s, 1H), 5.17 (s, 2H), 4.70 (s, 2H), 4.58 (s, 2H), 4.53 (s, 2H), 4.29 (s, 5H), 4.15 (s, 5H), 2.49 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): 160.5, 159.5, 152.7, 151.1, 145.5, 145.4, 125.9, 125.1, 123.7, 116.4, 115.2, 113.8, 88.8, 72.3, 71.0, 69.9, 69.8, 68.2, 68.1, 19.5; HR-MS(ESI) *m/z*: Calcd for C₃₃H₂₅Fe₂NO₂ {[M+H]⁺} 580.0662, found 580.0660.

4-甲基-6-二茂铁基-8-(4-二甲氨基苯基)吡喃酮并喹啉(1d):黄色固体;产率 47.7%; m. p. 285~287 ℃; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.53 (s, 1H), 8.27 (s, 3H), 7.81 (s, 1H), 6.91 (s, 2H), 6.27 (s, 1H), 4.79 (s, 2H), 4.58 (s, 2H), 4.30 (s, 5H), 3.12 (s, 6H), 2.51 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): 159.5, 152.6, 151.8, 151.0, 128.6, 127.7, 125.9, 124.0, 123.8, 120.9, 116.4, 115.2, 113.8, 112.3, 89.0, 72.2, 69.8, 68.2, 40.3, 19.5; HR-MS(ESI) *m/z*: Calcd for C₃₁H₂₆FeN₂O₂ {[M+H]⁺} 515.1422, found 515.1425.

4-甲基-6-二茂铁基-8-(2-甲氧基苯基)吡喃酮并喹啉(1e):黄色固体;产率 66.8%; m. p. 214~216 ℃; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.69 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.91 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.81 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.49 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.18 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.12

(d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.28 (s, 1H), 4.67 (s, 2H), 4.50 (s, 2H), 4.24 (s, 5H), 3.97 (s, 3H), 2.51 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): 159.4, 157.4, 157.3, 152.6, 151.0, 150.6, 145.9, 131.9, 130.9, 128.9, 128.7, 126.5, 123.5, 121.4, 117.0, 115.7, 114.3, 111.5, 88.1, 72.3, 69.8, 68.3, 55.5, 19.5; HR-MS(ESI) m/z : Calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{23}\text{FeNO}_3$ $\{[\text{M}+\text{H}]^+\}$ 502.1106, found 502.1103.

4-甲基-6-二茂铁基-8-(3-甲氧基苯基)吡喃酮并喹啉(1f):红色固体;产率 64.9%; m. p. 259~261 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.68 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.82 (d, $J=7.6$ Hz, 2H), 7.51 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.09 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.28 (s, 1H), 4.71 (s, 2H), 4.53 (s, 2H), 4.22 (s, 5H), 3.97 (s, 3H), 2.51 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): 160.3, 159.3, 157.1, 152.6, 150.9, 140.2, 140.1, 130.1, 126.5, 124.9, 123.9, 119.8, 117.2, 116.1, 115.7, 114.4, 112.6, 88.5, 72.3, 69.9, 68.4, 55.5, 19.5; HR-MS (ESI) m/z : Calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{23}\text{FeNO}_3$ $\{[\text{M}+\text{H}]^+\}$ 502.1106, found 502.1110.

4-甲基-6-二茂铁基-8-(4-甲氧基苯基)吡喃酮并喹啉(1g):黄色固体;产率 61.9%; m. p. 241~243 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.64 (s, 1H), 8.25 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 8.03 (d, $J = 6.4$ Hz, 1H), 7.79 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.11 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.25 (s, 1H), 4.69 (s, 2H), 4.51 (s, 2H), 4.22 (s, 5H), 3.92 (s, 3H), 2.49 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): 161.3, 159.3, 157.0, 152.6, 151.0, 150.7, 147.1, 131.2, 129.5, 128.8, 126.3, 124.3, 123.8, 116.8, 115.5, 114.5, 114.1, 88.8, 72.3, 69.8, 68.3, 55.5, 19.5; HR-MS (ESI) m/z : Calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{23}\text{FeNO}_3$ $\{[\text{M}+\text{H}]^+\}$ 502.1106, found 502.1109.

4-甲基-6-二茂铁基-8-(2-氯苯基)吡喃酮并喹啉(1h):黄色固体;产率 66.3%; m. p. 243~245 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.54 (s, 1H), 8.05 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.79 (dd, $J = 2.4$ Hz, $J = 6.8$ Hz, 1H), 7.58 (dd, $J = 2.0$ Hz, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.42~7.49 (m, 2H), 6.29 (s, 1H), 4.69

(s, 2H), 4.51 (s, 2H), 4.19 (s, 5H), 2.52 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): 159.2, 157.8, 152.6, 151.1, 150.4, 146.9, 138.9, 132.3, 131.8, 130.5, 130.4, 128.3, 127.4, 126.6, 124.0, 117.3, 116.1, 114.7, 87.9, 72.4, 69.9, 68.6, 19.6; HR-MS(ESI) m/z : Calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{20}\text{ClFeNO}_2$ $\{[\text{M}+\text{H}]^+\}$ 506.0610, found 506.0609.

4-甲基-6-二茂铁基-8-(3-氯苯基)吡喃酮并喹啉(1i):红色固体;产率 62.4%; m. p. 225~227 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.65 (s, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.11 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 8.05 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.82 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.49~7.54 (m, 2H), 6.28 (s, 1H), 4.70 (s, 2H), 4.53 (s, 2H), 4.21 (s, 5H), 2.51 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): 159.1, 155.8, 152.5, 150.9, 150.5, 148.0, 140.5, 135.3, 130.3, 129.9, 127.7, 126.5, 125.3, 124.5, 124.1, 117.3, 115.9, 114.6, 88.3, 72.3, 69.9, 68.5, 19.5; HR-MS (ESI) m/z : Calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{20}\text{ClFeNO}_2$ $\{[\text{M}+\text{H}]^+\}$ 506.0610, found 506.0603.

4-甲基-6-二茂铁基-8-(4-氯苯基)吡喃酮并喹啉(1j):黄色固体;产率 64.4%; m. p. 286~288 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.63 (s, 1H), 8.23 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 8.09 (s, 1H), 7.83 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.57 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 6.28 (s, 1H), 4.71 (s, 2H), 4.54 (s, 2H), 4.20 (s, 5H), 2.50 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): 159.1, 157.5, 157.5, 156.0, 152.5, 150.9, 136.4, 129.3, 128.8, 126.4, 126.3, 126.3, 124.4, 124.3, 117.2, 115.9, 114.6, 72.3, 69.9, 68.6, 19.5; HR-MS (ESI) m/z : Calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{20}\text{ClFeNO}_2$ $\{[\text{M}+\text{H}]^+\}$ 506.0610, found 506.0608.

4-甲基-6-二茂铁基-8-(2-羟基苯基)吡喃酮并喹啉(1k):黄色固体;产率 48.3%; m. p. 248~250 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.81 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.96 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.37 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.05 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H), 6.29 (s, 1H), 4.74 (s, 2H), 4.57 (s, 2H), 4.12 (s, 5H), 2.49 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): 158.9, 152.4, 150.8,

148.8, 148.8, 147.4, 125.1, 123.9, 123.8, 123.8, 123.8, 116.2, 114.8, 88.4, 72.6, 70.1, 68.8, 19.7; HR-MS(ESI) m/z : Calcd for $C_{29}H_{21}FeNO_3\{[M+H]^+\}$ 488.0949, found 488.0943.

4-甲基-6-二茂铁基-8-(3-羟基苯基)吡喃酮并喹啉(1l): 红色固体; 产率 44.1%; m. p. 267~269 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.77 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 7.98 (dd, $J = 8.8$ Hz, $J = 16.0$ Hz, 2H), 7.77~7.80 (m, 2H), 7.43 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.97 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.38 (s, 1H), 4.86 (s, 2H), 4.46 (s, 2H), 4.17 (s, 5H), 3.34 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): 158.3, 158.0, 155.8, 153.3, 150.3, 149.9, 147.0, 139.1, 130.1, 125.7, 125.0, 123.9, 117.9, 117.3, 116.0, 115.5, 113.8, 113.7, 87.2, 72.0, 69.8, 68.0, 20.7; HR-MS(ESI) m/z : Calcd for $C_{29}H_{21}FeNO_3\{[M+H]^+\}$ 488.0949, found 488.0946.

4-甲基-6-二茂铁基-8-(4-羟基苯基)吡喃酮并喹啉(1m): 红色固体; 产率 40.0%; m. p. 275~277 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.02 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.24 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.93 (dd, $J = 8.4$ Hz, $J = 20.0$ Hz, 2H), 7.00 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.36 (s, 1H), 4.85 (s, 2H), 4.45 (s, 2H), 4.16 (s, 5H), 3.34 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): 160.1, 158.9, 156.3, 153.9, 150.9, 150.6, 147.2, 129.2, 129.0, 126.0, 125.4, 123.7, 116.4, 115.9, 115.7, 114.0, 87.7, 72.5, 70.4, 68.4, 19.3; HR-MS(ESI) m/z : Calcd for $C_{29}H_{21}FeNO_3\{[M+H]^+\}$ 488.0949, found 488.0944.

4-甲基-6-二茂铁基-8-(3-甲氧基-4-羟基苯基)吡喃酮并喹啉(1n): 黄色固体; 产率 47.4%; m. p. 281~283 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.63 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 7.97 (dd, $J = 8.8$ Hz, $J = 16.8$ Hz, 2H), 7.93 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.86 (dd, $J = 2.0$ Hz, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.02 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.38 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 4.87 (s, 2H), 4.46 (s, 2H), 4.19 (s, 5H), 3.97 (s, 3H), 3.32 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): 158.9, 156.3,

153.9, 150.9, 150.5, 149.6, 148.5, 147.0, 129.4, 126.1, 125.3, 124.1, 121.0, 116.4, 116.0, 115.7, 114.0, 111.2, 88.1, 72.5, 70.3, 68.4, 56.1, 19.3; HR-MS(ESI) m/z : Calcd for $C_{30}H_{23}FeNO_4\{[M+H]^+\}$ 518.1055, found 518.1052.

4-甲基-6-二茂铁基-8-(3,4-二羟基苯基)吡喃酮并喹啉(1o): 红色固体; 产率 50.7%; m. p. 178~180 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.48 (s, 1H), 9.37 (s, 1H), 8.61 (s, 1H), 7.92 (dd, $J = 8.8$ Hz, $J = 24.0$ Hz, 2H), 7.86 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.70 (dd, $J = 2.0$ Hz, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.97 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.35 (s, 1H), 4.82 (s, 2H), 4.44 (s, 2H), 4.18 (s, 5H), 3.34 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): 158.9, 156.4, 153.9, 150.9, 150.6, 148.5, 146.8, 146.2, 129.4, 126.0, 125.3, 123.8, 119.4, 116.5, 115.9, 115.6, 114.7, 113.9, 88.0, 72.4, 70.3, 68.4, 19.3; HR-MS(ESI) m/z : Calcd for $C_{29}H_{21}FeNO_3\{[M+H]^+\}$ 504.0898, found 504.0893.

4-甲基-6,8-二苯基吡喃酮并喹啉(1p): 白色固体; 产率 71.6%; m. p. 279~281 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.24 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H), 7.91 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.51~7.56 (m, 6H), 7.43~7.45 (m, 2H), 6.24 (s, 1H), 2.51 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): 159.0, 157.9, 152.3, 150.8, 150.4, 149.4, 141.0, 138.2, 130.2, 129.0, 128.1, 128.0, 128.0, 127.7, 126.3, 126.2, 124.4, 122.4, 116.2, 115.9, 114.6, 19.4; HR-MS(ESI) m/z : Calcd for $C_{25}H_{17}NO_2\{[M+H]^+\}$ 364.1338, found 364.1336.

3.2 抑制自由基引发的 DNA 氧化反应性能

3.2.1 抑制 $HO\cdot$ 引发的 DNA 氧化反应检测分析 空白实验和加入目标化合物后测得的吸光度值分别记为 $A_{\text{空白}}$ 和 $A_{\text{化合物}}$, 化合物抗氧化能力可以通过相对于空白 TBARS 吸光度的百分数 (TBARS 百分数) 进行衡量, 即 $(A_{\text{化合物}}/A_{\text{空白}}) \times 100\%$ ^[18]. 为了更直观地表达化合物抗氧化构效关系, 参照文献[19]方法制得化合物 TBARS 百分数与结构之间的梯形图(图 2).

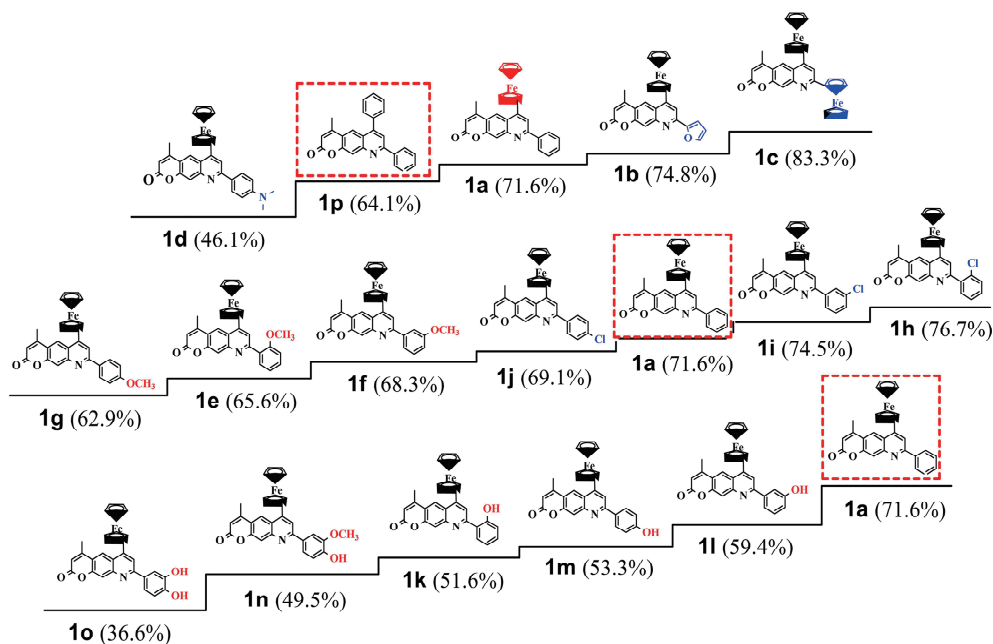


图 2 1a~1p 抑制 $\text{HO}\cdot$ 引发的 DNA 氧化反应性能梯形图
Fig. 2 The activities ladder diagram of 1a~1p in inhibiting $\text{HO}\cdot$ induced oxidation of DNA

由图 2 可知,化合物 1a~1p 的 TBARS 百分数在 36.6%~83.3% 之间,均远低于空白的 100%,表明 16 个化合物均能够抑制 $\text{HO}\cdot$ 氧化 DNA. 化合物 1a、1c 和 1p 的 TBARS 百分数分别为 71.6%、83.3% 和 64.1%. 随着分子中苯环被二茂铁基取代,化合物的 TBARS 百分数逐渐增大,说明二茂铁基团不利于提高吡喃酮并喹啉化合物抑制 $\text{HO}\cdot$ 引发 DNA 氧化反应的能力,且随着二茂铁基团数量的增加,抗氧化性能不断降低. 这是因为二茂铁中 Fe^{2+} 能够与 H_2O_2 发生 Fenton 反应生成 Fe^{3+} 、 $\text{HO}\cdot$ 和 OH^- ,增加了反应体系中 $\text{HO}\cdot$ 的量,起到促氧化作用^[20]. 与化合物 1a 相比,化合物 1b 的 TBARS 百分数相比增加 3.2%,说明呋喃环对二茂铁基吡喃酮并喹啉抑制 $\text{HO}\cdot$ 引发的 DNA 氧化反应能力的贡献低于苯环. 化合物 1d 的 TBARS 百分数远小于化合物 1a,表明 $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 起到了提高抗氧化能力的作用,即 $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 是较为有用的抗氧化官能团^[21]. 化合物 1e~1g 的 TBARS 百分数在 62.9%~68.3% 之间,低于化合物 1a,说明 $-\text{OCH}_3$ 也能提高化合物的抗氧化性能,三者 TBARS 百分数符合“间位>邻位>对位”规律($-\text{OCH}_3$ 位置),即 $-\text{OCH}_3$ 处于对位时,化合物具有更强的抑制 $\text{HO}\cdot$ 引发 DNA 氧化反应性能^[11]. 化合物 1h~1j 的 TBARS 百分数介于 69.1%~76.7%,仅化合物 1j 的 TBARS 百分数低于化合物 1a,说明苯环对位的 $-\text{Cl}$ 起到

了抗氧化作用,而邻位和间位的 $-\text{Cl}$ 则发挥了促氧化作用. 含有酚羟基化合物 1k~1o 的 TBARS 百分数在 36.6%~59.4% 之间,远低于化合物 1a,说明酚羟基是化合物抑制 $\text{HO}\cdot$ 引发 DNA 氧化反应的主要官能团. 其中,单羟基化合物中,化合物 1k 的 TBARS 百分数最小,说明羟基处于邻位时最有利于提高化合物抑制 $\text{HO}\cdot$ 引发的 DNA 氧化反应性能. 在化合物 1m 分子中羟基邻位增加一个 $-\text{OCH}_3$ 得到化合物 1n,其 TBARS 百分数继续下降,说明经典的抗氧化结构片段(3-甲氧基-4-羟基苯基结构)^[15] 发挥了很好的抗氧化作用. 双羟基化合物 1o 的 TBARS 百分数明显低于单羟基化合物 1k~1m,说明随羟基数目增加,化合物抑制 $\text{HO}\cdot$ 引发 DNA 氧化反应的性能不断提高.

3.2.2 抑制 $\text{GS}\cdot$ 引发的 DNA 氧化反应检测分析

参考 3.2.1 节方法对化合物 1a~1p 进行抑制 $\text{GS}\cdot$ 引发 DNA 氧化反应检测,得出 TBARS 百分数,并做梯形图(图 3).

由图 3 可知,化合物 1a~1p 的 TBARS 百分数在 22.9%~67.2% 之间,远低于空白的 100%,说明 16 种化合物均可抑制 $\text{GS}\cdot$ 引发 DNA 氧化,与 3.2.1 节抑制 $\text{HO}\cdot$ 引发 DNA 氧化结果相同. 其中,化合物 1p 的 TBARS 百分数是 62.7%,引入单个二茂铁基和两个二茂铁基所生成的化合物 1a 和 1c,其 TBARS 百分数分别是 57.7% 和 43.3%,三者 TBARS 百分数顺序为化合

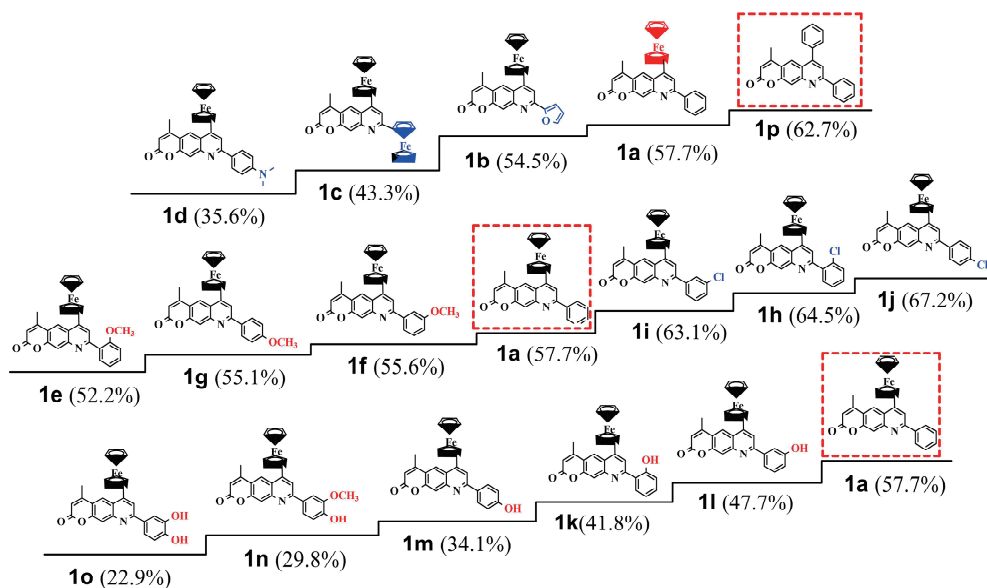


图 3 1a~1p 抑制 GS· 引发的 DNA 氧化反应性能梯形图

Fig. 3 The activities ladder diagram of 1a~1p in inhibiting GS· induced oxidation of DNA

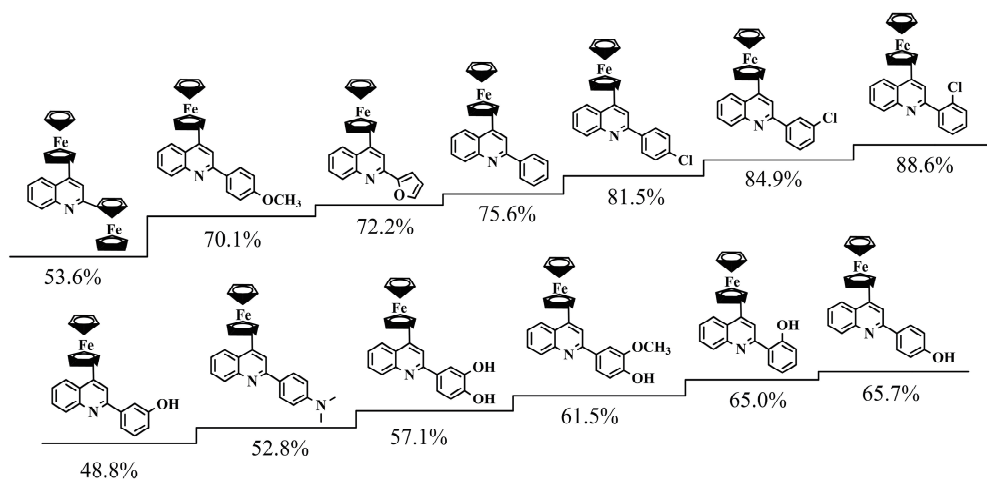


图 4 二茂铁基喹啉抑制 GS· 引发的 DNA 氧化反应性能梯形图

Fig. 4 The activities ladder diagram of ferrocenyl quinolines in inhibiting GS· induced oxidation of DNA

物 1c < 化合物 1a < 化合物 1p, 表明二茂铁基团能够提高化合物抑制 GS· 引发 DNA 氧化反应的能力, 而且随二茂铁基团数量增加, 抗氧化性能迅速提高. 这与抑制 HO· 引发 DNA 氧化反应所得结论相反, 原因在于引入二茂铁基团增大了化合物的共轭体系, 增加了与 GS· 发生自由基加成的位点, 提高了抑制 GS· 引发 DNA 氧化反应的性能, 同时二茂铁基中 Fe^{2+} 也起到了一定的抗氧化作用^[22]. 化合物 1b 的 TBARS 百分数低于化合物 1a, 表明 2'-呋喃基比苯基有利于抑制 GS· 引发的 DNA 氧化反应, 这与抑制 HO· 引发的 DNA 氧化反应体系的结果相反. 化合物 1d 的 TBARS 百分数远小于化合物 1a, 说明 4'-($N(CH_3)_2$) 有助于化合物抑制 GS· 引发的 DNA 氧化反应, 与抑制

HO· 引发的 DNA 氧化反应一致. 在化合物 1a 的 8-位苯环不同位置引入 $-OCH_3$ 或 $-Cl$ 后, 所得化合物 1e~1g 的 TBARS 百分数在 52.2%~55.6% 之间, 均低于化合物 1a, 而化合物 1h~1j 的 TBARS 百分数介于 63.1%~67.2%, 均高于化合物 1a, 说明给电子基团 $-OCH_3$ 有抗氧化作用, 而吸电子基团 $-Cl$ 则有促氧化作用. 其中, 化合物 1e, 1f 和 1g 的 TBARS 百分数符合 ($-OCH_3$ 位置) “间位 > 对位 > 邻位” 的规律, 说明 $-OCH_3$ 处于邻位更有利于化合物抑制 GS· 引发 DNA 氧化反应. 含羟基化合物 1k~1o 的 TBARS 百分数均小于 48%, 表明酚羟基作为传统抗氧化基团, 能够有效提高化合物抑制 GS· 引发的 DNA 氧化反应能力. 其中, 化合物 1m 的 TBARS 百分数小于化合

物 1k 和 1l, 表明羟基处于对位最有利于提高化合物抑制 GS· 引发的 DNA 氧化反应性能. 化合物 1n 的 TBARS 百分数小于化合物 1m, 表明 $-\text{OCH}_3$ 和 $-\text{OH}$ 存在协同作用, 可进一步提高单羟基化合物的抗氧化作用. 16 种化合物中, 双羟基化合物 1o 的 TBARS 百分数最低, 说明随羟基数目增加, 化合物抑制 GS· 引发 DNA 氧化反应的性能不断提高. 此外, 将文献[23]报道的 13 种二茂铁基喹啉化合物抑制 GS· 引发 DNA 氧化反应结果作图(图 4), 对比发现, 其 TBARS 百分数明显高于结构对应的二茂铁基吡喃酮并喹啉化合物, 表明后者的抗氧化性能明显优于前者, 即增大共轭体系能够提高化合物抑制 GS· 引发 DNA 氧化反应的性能. 原因是随化合物的空间位阻增大, 分子更容易识别 DNA, 并嵌入 DNA 凹槽与其结合, 起到抗氧化的作用^[11, 24].

4 结 论

本文采用 $\text{Ce}(\text{OTf})_3$ 和 $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ 复合催化 Povarov 三组分反应高效制备了 15 种二茂铁基吡喃酮并喹啉化合物(1a~1o), 通过检测化合物抑制自由基($\text{HO}\cdot$ 和 $\text{GS}\cdot$)引起的 DNA 氧化反应探究其抗氧化性能. 结果表明: 15 个二茂铁基吡喃酮并喹啉化合物均可有效抑制自由基($\text{HO}\cdot$ 和 $\text{GS}\cdot$)引发 DNA 氧化, 其抗氧化能力优于对应的二茂铁基喹啉化合物, 是一类性能优良的抗氧化剂. 二茂铁基吡喃酮并喹啉分子中引入推电子基团($-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{OCH}_3$ 和 $-\text{OH}$)能够提高其抗氧化活性, 推电子基团还有一定的协同抗氧化作用, 而且随推电子基团数目增加, 抗氧化能力随之提升; 分子结构引入吸电子基团($-\text{Cl}$)则抗氧化能力有所降低. 分子结构引入二茂铁基团和呋喃基团降低了化合物抑制 $\text{HO}\cdot$ 引发 DNA 氧化能力, 但提高了抑制 $\text{GS}\cdot$ 引发 DNA 氧化能力. 化合物 1o 抑制 $\text{HO}\cdot$ 和 $\text{GS}\cdot$ 引发 DNA 氧化反应 TBARS 百分数分别是 36.6% 和 22.9%, 与其他化合物相比最优, 是优异的抗氧化剂.

参考文献:

[1] 骆娟, 侯静, 杨舒婷, 等. 日本落叶松凋落针叶总黄酮的提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2021, 58: 036004.

[2] 杨力, 闫孟利, 刘科. 蝉花提取物促进酿酒酵母寿命延长的机制研究[J]. 四川大学学报: 自然科学

版, 2020, 57: 169.

[3] Jardosh H H, Patel M P. Microwave-assisted CAN-catalyzed solvent-free synthesis of *N*-allyl quinolone-based pyrano[4,3-*b*]chromene and benzo-pyrano[3,2-*c*]chromene derivatives and their antimicrobial activity [J]. Med Chem Res, 2013, 22: 905.

[4] Peng L P, Nagarajan S, Syed R, *et al.* Synthesis and biological evaluation of a new class of quinazolinone azoles as potential antimicrobial agents and their interactions with calf thymus DNA and human serum albumin [J]. Med Chem Comm, 2015, 6: 222.

[5] Sun S, Ma K, Tao Q, *et al.* Diketopiperazines and 2H-pyran-2-ones with antioxidant activity from the rice fermented with *Aspergillus luchuensis* [J]. Fitoterapia, 2018, 125: 266.

[6] Soleimani-Amiri S, Hossaini Z, Arabkhazaeli M, *et al.* Green synthesis of pyrimido-isoquinolines and pyrimidoquinoline using ZnO nanorods as an efficient catalyst: Study of antioxidant activity [J]. J Chin Chem Soc, 2019, 66: 438.

[7] 何展荣, 陈自然. *N,N'*-1,3-苯基二-(7-二乙氨基-3-甲酰胺)香豆素的结构、光谱及热力学性质理论研究[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2013, 50, 103.

[8] Su T, Zhu J C, Sun R Q, *et al.* Design, synthesis and biological evaluation of new quinoline derivatives as potential antitumor agents [J]. Eur J Med Chem, 2019, 178: 154.

[9] 席高磊, 王正伟, 马飞, 等. 二茂铁基咪唑并[1,2-*a*]吡啶化合物的合成及其抗氧化性能[J]. 精细化工, 2020, 37: 332.

[10] 席高磊, 赵志伟, 王鹏飞, 等. 二茂铁基咪唑并[1,2-*a*]喹啉化合物的合成及抗氧化性能研究[J]. 化学试剂, 2020, 42: 341.

[11] Xi G L, Liu Z Q. Coumarin sharing the benzene ring with quinoline for quenching radicals and inhibiting DNA oxidation [J]. Eur J Med Chem, 2015, 95: 416.

[12] 朱学文, 张应军, 王军. 复合固体超强酸 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}/\text{Fe}_2\text{O}_3\text{CoO}$ 催化合成乙酸正丁酯[J]. 郑州轻工业学院学报, 2004, 19: 16.

[13] 姜佳林, 姜磊, 侯召民, 等. $\text{Pd}@\text{sPs-NMe}_2/\text{AC}$ 纳米催化剂制备及在偶联反应中的应用[J]. 分子催化, 2020, 34: 72.

[14] Li D Y, Chen H J, Liu P N. Tunable cascade reactions of alkynols with alkynes under combined Sc

- (OTf)₃ and rhodium catalysis [J]. *Angew Chem Int Ed*, 2016, 55: 373.
- [15] Xi G L, Liu Z Q. Coumarin-fused coumarin: antioxidant story from *N,N*-dimethylamino and hydroxyl groups [J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63: 3516.
- [16] 赵旭, 席高磊, 陈芝飞, 等. 5 种多孔菌发酵胞外多糖抗氧化性能研究[J]. *信阳师范学院学报: 自然科学版*, 2021, 34: 457.
- [17] 张晓平, 金桂勇, 陈芝飞, 等. 吡嗪-噻唑联芳类化合物的合成及抗氧化性能研究[J]. *有机化学*, 2021, 41: 2445.
- [18] 张晓平, 陈芝飞, 韩路, 等. 吡嗪-噻唑联芳化合物的合成及其抗氧化性能[J]. *精细化工*, 2020, 37: 1461.
- [19] 席高磊, 陈芝飞, 杨金初, 等. 咪唑并[1,2-*a*]吡啶化合物的无溶剂合成及其抗氧化性能[J]. *合成化学*, 2020, 28: 194.
- [20] Top S, Vessi res A, Cabestaing C, *et al.* Studies on organometallic selective estrogen receptor modulators (SERMs) dual activity in the hydroxy-ferrocifen series [J]. *J Organomet Chem*, 2001, 637: 500.
- [21] Xi G L, Liu Z Q. Coumarin moiety can enhance abilities of chalcones to inhibit DNA oxidation and to scavenge radicals [J]. *Tetrahedron*, 2014, 70: 8397.
- [22] Wang R, Liu Z Q. Solvent-free and catalyst-free Biginelli reaction to synthesize ferrocenoyl dihydropyrimidine and kinetic method to express radical-scavenging ability [J]. *Eur J Med Chem*, 2012, 77: 3952.
- [23] Xi G L, Liu Z Q. Solvent-free Povarov reaction for synthesizing ferrocenyl quinolines; antioxidant abilities deriving from ferrocene moiety [J]. *Eur J Med Chem*, 2014, 86: 759.
- [24] Zhou R, Liu Z Q. Tetramer as efficient structural mode for organizing antioxidative carboxylic acids: The case in inhibiting DNA oxidation [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2017, 631: 1.

引用本文格式:

中 文: 张晓平, 金桂勇, 马胜涛, 等. 二茂铁基吡喃酮并喹啉化合物的高效合成及其抗氧化性能[J]. *四川大学学报: 自然科学版*, 2022, 59: 035001.

英 文: Zhang X P, Jin G Y, Ma S T, *et al.* Efficient synthesis and antioxidation activities of ferrocenylpyrano-fused quinolines [J]. *J Sichuan Univ: Nat Sci Ed*, 2022, 59: 035001.