

一些吡啶二酮类衍生物的合成及 对AHAS的抑制活性

谭海忠, 李慧东, 王建国, 李文明, 李永红, 李正名
(南开大学元素有机化学研究所, 元素有机化学国家重点实验室, 天津 300071)

摘要 基于一些新结构特征的 AHAS 抑制剂, 设计并合成了一系列吡啶二酮类化合物. 初步的生物活性测试结果表明, 所合成的化合物在体内和体外均具有一定的生物活性, 其中, 化合物 **13** 在 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度下对 AHAS 的抑制达到 85%, 化合物 **7** (平皿法) 在 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度条件下对油菜胚根生长抑制率可达 84.7%, 是一类未见文献报道的结构新型的 AHAS 抑制剂, 有望为进一步设计合成更高活性的化合物提供参考.

关键词 新型 AHAS 抑制剂; 吡啶二酮类化合物; 生物活性

中图分类号 O626

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2009)03-0510-03

乙酰羟酸合成酶(Acetoxyacid synthase, AHAS, EC 2. 2. 1. 6)是支链氨基酸生物合成过程中的第一个关键酶, 通过抑制 AHAS 酶可以达到抑制杂草生长^[1]. 人畜等温血动物自身不能合成支链氨基酸, 因此靶向 AHAS 的除草剂具有对人畜无毒及对环境友好的特征. 但原有的 AHAS 抑制剂若长时间使用易出现抗性^[2]. 因此, 基于 AHAS 靶酶结构设计新的抑制剂具有一定的理论和现实意义.

本课题组曾基于 AHAS 的晶体结构, 通过虚拟筛选发现了一些新结构特征的 AHAS 抑制剂^[3,4]. 本文在此基础上设计合成出了一系列吡啶二酮类化合物, 并进行了抑制 AHAS 的生物活性研究. 结果表明, 吡啶二酮类化合物对于 AHAS 在体外和体内都表现出一定的抑制活性, 为进一步研究发现结构新颖的 AHAS 抑制剂先导结构提供了信息.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

X-4 数字显示显微熔点测定仪(北京泰克仪器有限公司); Bruker AV-300 MHz 和 Varian 400 MHz 核磁共振仪(DMSO- d_6 为溶剂, TMS 为内标); Yanaco CHN CORDER MT-3 型元素分析仪; Thermo Finnigan LCQ Advantage 液-质联用仪.

吡啶二酮购自 Alfa Aesar 公司, 其余试剂均为市售分析纯或化学纯试剂, 并均经过常规方法处理.

1.2 目标化合物的合成及其离体和活体除草活性的测定

按照文献[5~10]的方法设计合成一系列目标化合物.

用油菜平皿法和稗草小杯法^[11]先测定所设计化合物的除草活性, 然后按照 Singh 等^[12]提出的方法测定化合物抑制拟南芥 AHAS 酶的离体抑制活性.

2 结果与讨论

2.1 目标化合物的表征

所合成的目标化合物的结构见图 1, 物化性质见表 1.

收稿日期: 2008-06-05.

基金项目: 国家自然科学基金重点基金(批准号: 20432010)和国家自然科学基金青年基金(批准号: 20602021)资助.

联系人简介: 李正名, 男, 教授, 博士生导师, 中国工程院院士, 主要从事有机化学和农药化学领域的研究.

E-mail: nkzml@vip.163.com

王建国, 男, 博士, 副研究员, 主要从事有机化学和农药化学领域的研究. E-mail: nkjwg@nankai.edu.cn

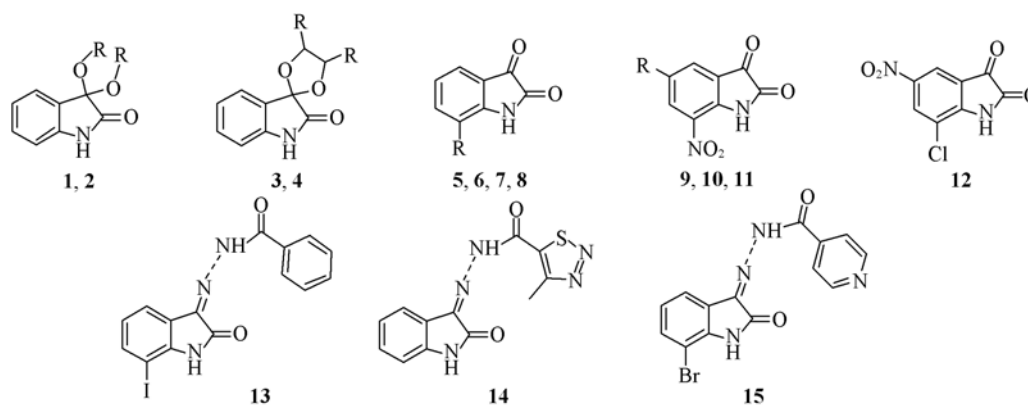


Fig. 1 Structures of designed and synthesized compounds

1: R = CH₃; 2: R = C₂H₅; 3: R = H; 4: R = CH₃; 5: R = F; 6: R = CF₃; 7: R = Br;
8: R = COOH; 9: R = CH₃; 10: R = F; 11: R = Cl.

Table 1 Physical data of compounds synthesized

Compd.	m. p./°C	Yield(%)	Appearance	Compd.	m. p./°C	Yield(%)	Appearance
1	90—91 (94 ^[13])	37	White crystal	9	215—216 (214—215 ^[17])	90	Yellow crystal
2	92—93	56	Light-yellow crystal	10	173—175	85	Bright-yellow crystal
3	128—129 (134 ^[13])	70	White crystal	11	228—229	56	Yellow crystal
4	124—125 (123—124 ^[14])	88	Light-grey crystal	12	217—218	87	Brown-yellow crystal
5	191—192 (194 ^[15])	56	Orange crystal	13	289—291	58	Yellow crystal
6	191—193 (192 ^[15])	47	Brown-yellow crystal	14	295—297	75	Orange crystal
7	195—196 (195 ^[15])	53	Red-orange crystal	15	282—283	77	Brown-yellow crystal
8	277—279 (275—277 ^[16])	68	Red-brown crystal				

化合物 13: ¹H NMR(DMSO-d₆, 400 MHz), δ: 13.8 (s, 1H, NNH), 11.38 (s, 1H, NH), 7.91 (d, 2H, J = 7.6 Hz, Ar₂—H₂, Ar₂—H₆), 7.76 (d, 1H, J = 7.6 Hz, Ar₁—H₆), 7.72—7.60 (m, 4H, Ar₂—H₃, Ar₂—H₄, Ar₂—H₅, Ar₁—H₄), 6.93 (t, 1H, J = 7.6 Hz, Ar₁—H₅); ESI-MS, m/z: 390 ([M - H]⁻); 元素分析实测值(% , C₁₅H₁₀IN₃O₂ 计算值): C 45.68(46.06), H 2.47(2.58), N 10.50(10.74).

化合物 14: ¹H NMR(DMSO-d₆, 300 MHz), δ: 12.86 (s, 1H, NNH), 11.38 (s, 1H, NH), 7.83 (d, 1H, J = 7.5 Hz, Ar—H₇), 7.44 (t, 1H, J = 7.8 Hz, Ar—H₆), 7.17 (t, 1H, J = 7.8 Hz, Ar—H₅), 6.98 (d, 1H, J = 7.8 Hz, Ar—H₄), 2.99 (s, 3H, Het—CH₃); ESI-MS, m/z: 286 ([M - H]⁻); 元素分析实测值(% , C₁₂H₉N₃O₂S 计算值): C 49.90(50.17), H 3.38(3.16), N 24.04(24.38).

化合物 15: ¹H NMR(DMSO-d₆, 400 MHz), δ: 13.85 (s, 1H, NNH), 11.70 (s, 1H, NH), 8.88 (d, 2H, J = 5.7 Hz, Py—H₂ and Py—H₆), 8.82 (d, 1H, J = 6.0 Hz, Ar—H₆), 7.81 (d, 2H, J = 4.5 Hz, Py—H₃, Py—H₅), 7.62 (d, 1H, J = 8.1 Hz, Ar—H₄), 7.08 (t, 1H, J = 7.5 Hz, Ar—H₅); ESI-MS, m/z: 343 ([M - H]⁻); 元素分析实测值(% , C₁₄H₉BrN₄O₂ 计算值): C 48.72(48.72), H 2.75(2.63), N 16.09(16.23).

2.2 生物活性

生物活性测定结果(表 2)表明, 大部分吡啶二酮化合物在离体条件下都对 AHAS 表现出抑制性, 部分化合物在体内也表现出一定的除草活性. 有些化合物的体内外活性具有一致性, 例如化合物 7 在 100 和 10 μg/mL 浓度下对油菜胚根生长抑制率分为 84.7% 和 38.8%; 在 100 μg/mL 浓度下对稗草地上部分有一定抑制, 同时在 100 μg/mL 浓度下, 化合物 7 离体对 AHAS 酶抑制率为 60%; 有些化合物在体外有较好活性, 但在体内则差些. 如化合物 13 在 100 μg/mL 浓度下对 AHAS 抑制率为 85%, 但是体外活性一般. 说明有些化合物可能在植物体内的传导、吸收等阶段受到影响, 在进一步的分子设计中, 需要全面考虑疏水性等因素. 在此基础上, 将研究该类分子与 AHAS 的结合模式, 从而设计合成结合能更高的化合物.

Table 2 Bioactivities of the compounds *in vivo* and *in vitro*

Compd.	AHAS		Brassica		Echinochloa		Compd.	AHAS		Brassica		Echinochloa	
	100 $\mu\text{g/mL}$	100 $\mu\text{g/mL}$	10 $\mu\text{g/mL}$	100 $\mu\text{g/mL}$	10 $\mu\text{g/mL}$	100 $\mu\text{g/mL}$		100 $\mu\text{g/mL}$	100 $\mu\text{g/mL}$	10 $\mu\text{g/mL}$	100 $\mu\text{g/mL}$	10 $\mu\text{g/mL}$	100 $\mu\text{g/mL}$
1	24	0	0	26.5	0		9	40	12.3	0	16.4	0	
2	20	0	0	28.8	0		10	39	72.9	0	7.2	0	
3	15	0	0	4.7	0		11	49	52.8	0	49.2	12.0	
4	21	0	0	34.4	0		12	48	0	0	38.0	33.6	
5	30	67.6	0	0	0		13	85	31.4	0	7.0	0	
6	50	62.5	0	32.4	14.1		14	34	46.5	1.9	6.5	0	
7	60	84.7	38.8	4.7	0		15	67	17.1	0	4.8	0	
8	62	0	0	37.7	4.6		C*	75	77.4	65.2	—	—	

* C: Control herbicide, commercial sulfonylurea herbicide monosulfuron. Because it is not sensitive to *E. crusgalli*, the control test had not been done.

参 考 文 献

- [1] Duggleby R. G., Pang S. S. . J. Biochem. Molec. Biol. [J], 2000, **33**: 1—36
- [2] CUI Hai-Lan(崔海兰), TAO Ling-Mei(陶岭梅), LIU Xue(刘学), *et al.*. Pesticide Science and Administration(农药科学与管理) [J], 2007, **28**(10): 47—52
- [3] XIAO Yong-Jun(肖勇军), WANG Jian-Guo(王建国), LI Zheng-Ming(李正名), *et al.*. Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报) [J], 2007, **28**(7): 1280—1282
- [4] WANG Jian-Guo(王建国), XIAO Yong-Jun(肖勇军), LI Zheng-Ming(李正名), *et al.*. Bioorg. Med. Chem. [J], 2007, **15**: 374—380
- [5] Milind R., Frank D. P. . J. Med. Chem. [J], 1988, **31**: 1001—1005
- [6] Vincent L., Max R., Sylvain R. . J. Org. Chem. [J], 2000, **65**: 4193—4194
- [7] LI Wen(李雯), YOU Qi-Dong(尤启冬). Journal of Zhengzhou University(郑州大学学报) [J], 2004, **25**(3): 29—32
- [8] Kara L. V., Julie M. L., Marie R., *et al.*. Bioorg. Med. Chem. [J], 2007, **15**: 931—938
- [9] LI Zai-Guo(李在国), WANG Qing-Min(汪清民), HUANG Jun-Min(黄君珉). Organic Intermediate Preparation, 2nd Edition(有机中间体制备) [M], Beijing: Chemical Industry Press, 2001: 99, 105
- [10] Michael C. P., Sunil V. P., Koushik D. S., *et al.*. J. Med. Chem. [J], 2005, **48**: 3045—3050
- [11] Wang B. L., Duggleby R. G., Li Z. M., *et al.*. Pest. Manag. Sci. [J], 2005, **61**: 407—412
- [12] Singh B. K., Stidham M. A., Shaner D. L. . Anal. Biochem. [J], 1988, **171**: 173—179
- [13] Wenkert E., Hudlicky T. . Synth. Commun. [J], 1977, **7**: 541—547
- [14] Zhungietu G. I. . Chem. Heterocycl. Compd. (Engl. Transl.) [J], 1977, **13**: 518—521
- [15] Holt S. . Proc. R. Soc. London B. [J], 1958, **148**: 481—488
- [16] Cragoe E. J., Charles M. R., Mark D. B. . J. Org. Chem. [J], 1953, **18**: 552—553
- [17] Cassebaum H. . J. Prakt. Chem. [J], 1964, **23**: 301—308

Synthesis of Isatin Derivatives and Their Inhibition Against AHAS

TAN Hai-Zhong, LI Hui-Dong, WANG Jian-Guo*, LI Wen-Ming, LI Yong-Hong, LI Zheng-Ming*

(State Key Laboratory of Elemento-Organic Chemistry, Elemento-Organic Chemistry Institute, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract Based on the crystal structure of AHAS enzyme, bio-rational drug design was used to discover some novel AHAS inhibitors *via* computational virtual screening. Some isatin derivatives as AHAS inhibitors were designed, synthesized and evaluated. The preliminary results show that the isatin compounds exhibit considerable inhibition both *in vivo* and *in vitro* against AHAS. Compound **13** show an inhibition of 85% at 100 $\mu\text{g/mL}$ concentration *in vitro* and compound **7** show an inhibition of 84.7% of rape root length at 100 $\mu\text{g/mL}$ concentration. This discovery provides meaningful information for further design and synthesis of novel compounds with enhanced activity.

Keywords Novel AHAS inhibitor; Isatin derivatives; Biological activity

(Ed.: H, J, Z)