

中乌头碱衍生物的合成及其杀虫活性测定

许源, 侯大斌*, 杨海君, 袁小红, 王惠, 赵祥升 (1. 西南科技大学生命科学与工程学院, 四川绵阳621010; 2. 西南科技大学生物药物研究所, 四川绵阳621010; 3. 西南科技大学材料科学与工程学院, 四川绵阳621010)

摘要 [目的] 为了探讨中乌头碱(Mesacortine)结构与杀虫活性间的关系。[方法] 以中乌头碱为原料合成了7种衍生物, 并经质谱与核磁共振结合鉴定了其结构; 以稻飞虱(*Nlparvata legen*)、粘虫(*Mthina separate*)、红蜘蛛(*Tetranychus cinnabarnus*)、蚜虫(*Aphis medicagini*)为试虫, 测定了衍生物的杀虫活性。[结果] 化合物A、B、C、F、G具有一定杀虫活性, 其中化合物F和G对稻飞虱活性显著, 死亡率分别达到70%和85%。[结论] 中乌头碱分子中, 保留3-OH、13-OH、15-OH有利于保持化合物的杀虫活性, 中乌头碱的无机酸盐对稻飞虱有较高杀虫活性。

关键词 二萜生物碱; 结构修饰; 生物活性; 中乌头碱

中图分类号 O629; Q949.9 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)09-03890-03

Synthesis and Bioactivity of Derivatives from Mesacortine

XU Yuan et al (College of Life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621010)

Abstract [Objective] The research aimed to study the relationship between structure and insecticidal activity of mesacortine. [Method] Seven derivatives were synthesized from mesacortine, their structure were characterized by EI-MS and NMR; The insecticidal activity of mesacortine and its seven derivatives were tested against *Nlparvata legen*, *Mthina separate*, *Tetranychus cinnabarnus* and *Aphis medicagini*. [Result] The results indicated that compound A, B, C, F, G exhibited insecticidal activity, of which F and G were significant to *Nlparvata legen*. [Conclusion] The structure-insecticidal activity relationship studies mentioned above showed that 3-OH, 13-OH and 15-OH of mesacortine were beneficial to the insecticidal activity. The inorganic salts of mesacortine were exhibited high insecticidal activity against *Nlparvata legen*.

Key words Diterpenoid alkaloids; Derivatives; Insecticidal activity; Mesacortine

植物源农药因具有高效、易降解、无污染、无毒副作用且有害生物对其不易产生抗药性等优点, 越来越受到人们的重视。毛茛科(Ranunculaceae)乌头属(*Aconitum*)植物乌头(*Aconitum carmichaeli* Debx.)作为一种杀虫植物用于防治农业病虫害鼠害自古就有记载, 近年来也有不少关于这方面的科学研究。研究发现, 川产乌头的提取物对花卉银纹夜蛾(*Husia agnate* Standinger)^[1]、柑橘红蜘蛛(*Paronychus citri* McGregor)^[2]、冬青卫矛尺蠖(*Calospilos suspecta* Warren)^[3]、蜀柏毒蛾(*Parocleria orieta* Chao)^[4]等都表现出较好的杀虫活性。其他地区的同属植物也有一定的杀虫活性^[5-7]。同时乌头作为一种药用植物, 栽培广泛、资源丰富, 对它的利用不存在破坏资源问题, 与水土保持、生态环境保护并不矛盾, 这符合开发植物源农药的宗旨。可见, 毛茛科植物乌头是一类很有前景的杀虫植物^[8]。

中乌头碱(Mesacortine)即新乌头碱, 为乌头中提取分离得到的一种剧毒C19型二萜生物碱^[9], 经活性初筛证实其具有一定杀虫效果。研究发现, 中乌头碱可以通过抑制乙酰胆碱酯酶(AchE)的活性, 干扰和最终阻断突触传导而发挥其对昆虫的毒性^[10]。相对于其他二萜生物碱(单酯型和醇胺型), 中乌头碱因其为双酯型生物碱而表现出对人和畜有更大的毒性^[11]。因此, 笔者研究增加中乌头碱酯基团对杀虫活性的影响, 旨在探讨其结构与杀虫活性间的关系。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂 Varian 1200 LC/MS 液相色谱-质谱联用仪; XRC-1 型显微熔点仪(温度计未校正); Bruker AV-600 核磁共振仪(TMS为内标, CDCl₃为溶剂); 薄层色谱(GF254)和

柱色谱硅胶(青岛海洋化工厂)。中乌头碱为从绵阳产生附片中提取分离得到的纯度为96%以上的中乌头碱, 由西南科技大学生命科学与工程学院提供; 所用试剂和溶剂均为分析纯, 市售。

1.2 衍生物的合成 参考文献[12-13]所述方法设计合成路线见图1。

1.2.1 衍生物A、B、C的制备。 室温下将原料(中乌头碱)溶于干燥吡啶中, 冰浴条件下缓慢滴加原料摩尔量3倍的重蒸酯化试剂(丙酸酐、正己酰氯、对氯苯甲酰氯), 快速搅拌反应20 min后, 转为室温反应。薄层层析跟踪监测反应, 待中乌头碱反应完全后, 终止反应。将反应液转入冰水中, 缓慢滴加饱和Na₂CO₃水溶液并充分振荡, 直至反应液被碱化到pH值为9~10。等体积氯仿萃取3次, 合并氯仿层, 饱和NaCl溶液洗涤, 无水Na₂SO₄干燥, 脱溶得粗产品。甲醇:氯仿(5:1)重结晶得到A; 柱层析(硅胶200~300目, 即粒度48~74 μm)石油醚:乙酸乙酯(95:5)得到B, 氯仿:甲醇(20:1)(加1%三乙胺)得到C。

1.2.2 衍生物D、E的制备。 室温下, 将原料(中乌头碱、衍生物A)加入到1 ml 酸酐中(丙酸酐、乙酸酐), 并按原料摩尔量的3倍添加催化剂对甲苯磺酸。其余操作同“1.2.1”。柱层析氯仿:甲醇(300:1)得到D; 重结晶(氯仿:甲醇约3:1)得到针晶状E。

1.2.3 衍生物F、G的制备。 室温下, 将中乌头碱溶于氯仿中, 并分别向溶液中通入气体HI(由浓硫酸滴入NaI制得)、HBr(由浓磷酸滴入到NaBr制得)。薄层层析跟踪检测, 待原料反应完全后, 终止反应。旋转蒸干氯仿后用甲醇溶解, 无水Na₂SO₄干燥。脱溶, 分别得到F、G。

1.3 杀虫活性的测定 杀虫活性测试委托浙江省化工研究院暨国家南方农药创制中心浙江基地按照创制农药生物活性评价SOP(杀虫剂卷)试验方法对水稻褐飞虱(*Nlparvata legen*)、粘虫(*Mthina separate*)、红蜘蛛(*Tetranychus cinnabar-*

基金项目 国家“十一五”科技支撑重大专项课题(2006BAE01A01-12)。作者简介 许源(1983-), 女, 四川广元人, 硕士研究生, 研究方向: 天然药物化学及生物活性。* 通讯作者, E-mail: dbhou@126.com。

收稿日期 2009-01-09

nus)、苜蓿蚜(*Aphis medicagini*) 进行室内杀虫活性测定,按Abbott's

公式计算死亡率。

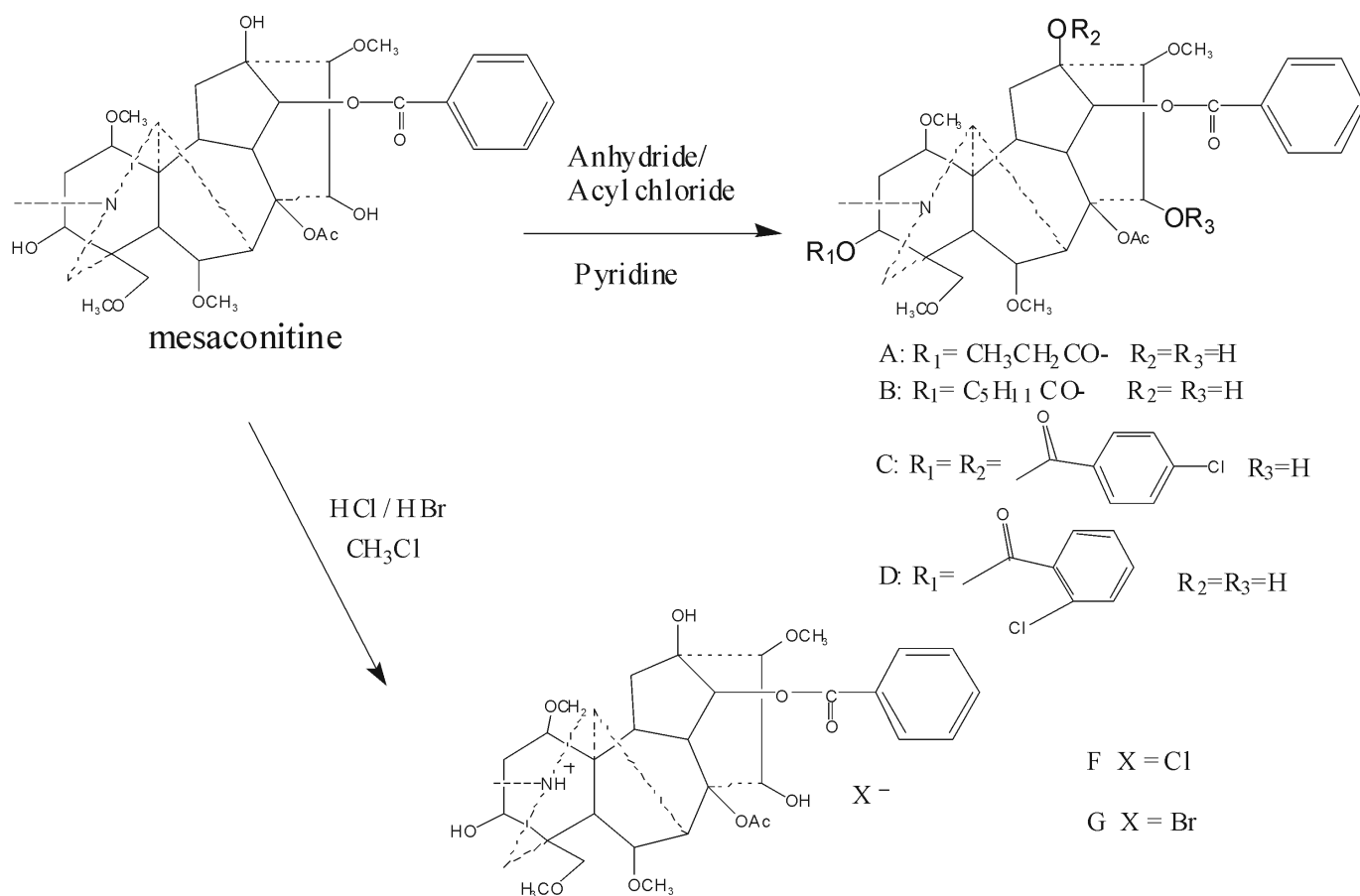


图1 合成路线

Fig.1 The synthesis route

2 结果与分析

2.1 化合物A-E 的结构解析 将A-G 的¹H NMR 和¹³C NMR 与文献报道的中乌头碱对比^[14-16] 修饰后结构特点见表1。

表1 原料及衍生物的结构特点

Table 1 The structural characteristics of materials and their derivatives

化合物 Compounds	结构特点 Structural characteristics
中乌头碱 Mesaconitine	3,13,15- 三羟基
化合物 A Compound A	3- 丙酰基;13,15- 二羟基
化合物 B Compound B	3- 正己酰基;13,15- 二羟基
化合物 C Compound C	3,13- 二对氯苯甲酰基;15- 羟基
化合物 D Compound D	3,13,15- 三丙酰基
化合物 E Compound E	3- 丙酰基;13,15- 二乙酰基
化合物 F Compound F	HCl 盐
化合物 G Compound G	HBr 盐

2.1.1 A. 白色无定形粉末,熔点118~120,收率98.7%,
H-MS m/z :688 (M^+);化合物的氢谱显示其13-OH 与15-OH 信号仍然存在(3.88,4.34),但增加了一个丙酰基的甲基信号(1.16),质谱显示化合物分子量比中乌头碱(631)多了一个丙酰基的分子量(57),因此可以推断该化合物为3-丙酰基衍生物。

¹H-NMR(CDCl₃,600 MHz) (ppm): 1.16(3H,t, J = 7.50 Hz, O = C-CH₂-CH₃), 1.40(3H,s, OAc), 2.36(3H,s, N-CH₃), 3.09(1H,s, H17), 3.13(1H,dd, J₁ = 6.90 Hz, J₂ = 10.80 Hz, H1), 3.19, 3.20, 3.27(each 3H,s, 3 × OMe), 3.79(1H,d, J = 8.88 Hz, H3), 3.88(1H,s, OH-13), 4.08(1H,d, J = 7.14 Hz, H6), 4.34(1H,d, J = 2.88 Hz, OH15), 4.47(2H,dd, J₁ = 2.88 Hz, J₂ = 5.22 Hz, 15-H), 4.90(2H,ddd, J₁ = 5.40 Hz, J₂ = 13.14 Hz, J₃ = 26.82 Hz, H14), 7.45(2H,dd, J₁ = 7.92 Hz, J₂ = 15.6 Hz, Ar-H), 7.57(1H,dd, J₁ = 7.14 Hz, J₂ = 14.64 Hz, Ar-H), 8.03(2H,d, J = 5.76 Hz, Ar-H).

2.1.2 B. 白色无定形粉末,熔点76~78,收率59.2%,

H-MS m/z 730 (M^+);化合物的氢谱显示其13-OH 与15-OH 信号仍然存在(3.88,4.35),但增加了一个己酰基的甲基信号(0.90)以及己酰基次甲基的信号(1.66~1.26)。质谱显示化合物分子量比中乌头碱多了一个己酰基的分子量(99),因此可以推断该化合物为3-正己酰基衍生物。

¹H NMR(CDCl₃,600 MHz) (ppm): 0.90(3H,dd, J₁ = 7.02 Hz, J₂ = 13.80 Hz, O = C(CH₂)₄-CH₃), 1.66-1.26(8H,m, O = C(CH₂)₄-CH₂), 1.40(3H,s, O = C-CH₃), 2.36(3H,s, N-CH₃), 3.20(6H,d, J = 4.80 Hz, 2 × OCH₃), 3.27, 3.73(each 3H,s, 2 × OCH₃), 3.88(1H,s, OH13), 4.35(1H,d, J = 2.82 Hz, OH15), 4.47(1H,dd, J₁ = 2.82 Hz, J₂ = 4.98 Hz, H15), 4.90(2H,ddd, J₁ = 4.98 Hz, J₂ = 12.18 Hz, J₃ = 23.22 Hz, 14-H), 7.45(2H,t, J = 7.80 Hz, Ar-H), 7.57(1H,dd, J₁ = 7.29 Hz, J₂ = 14.58 Hz, Ar-H), 8.03(2H,d, J = 7.20 Hz, Ar-H)

2.1.3 C. 白色无定形粉末,熔点93~96,收率46.5%,
H-MS m/z 908.0 (M^+);化合物的氢谱显示其15-OH 信号仍然存在(4.34),但增加了8个对氯苯甲酰基的芳基氢信号(7.34,7.43,7.93,7.98)。质谱显示化合物分子量比中乌头碱多了2个对氯苯甲酰基的分子量(279),因此可以推断该化合物为3,13-二对氯苯甲酰基衍生物。

¹H NMR(CDCl₃,600 MHz) (ppm): 1.45(3H,s, O = C-CH₃), 2.43(3H,s, N-CH₃), 3.12, 3.23, 3.28, 3.52(each 3H,s, 4 × OCH₃), 4.34(1H,d, J = 2.82 Hz, OH15), 4.58(1H,dd, J₁ = 2.76 Hz, J₂ = 5.16 Hz, H15), 7.34(4H,m, Ar-H), 7.43(2H,d, J = 8.64 Hz, Ar-H), 7.47(2H,dd, J₁ = 7.80 Hz, J₂ = 15.42 Hz, Ar-H), 7.59(1H,dd, J₁ = 7.80 Hz, J₂ = 14.82 Hz, Ar-H), 7.93(2H,d, J = 8.64 Hz, Ar-H), 7.98(2H,d, J = 8.64 Hz, Ar-H), 8.09(2H,d, J = 7.38 Hz, Ar-H)

2.1.4 D. 白色无定形粉末,熔点:220~222,收率46.3%;
H-MS m/z 745.0 (M^+);化合物的氢谱显示其13-OH,15-OH 信

号都已消失,同时增加了3个丙酰基的甲基氢谱信号(1.12、1.16、1.20);质谱中显示正离子分子量比原化合物多了3个丙酰基的分子量(57×3),据此可以推断该化合物为三羟基全丙酰化衍生物。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) (ppm): 1.12(3H, dd, $J_1 = 7.68$, $J_2 = 13.98$, $\text{O} = \text{CCH}_2\text{CH}_3$), 1.16(3H, dd, $J_1 = 7.62$ Hz, $J_2 = 15.00$ Hz, $\text{O} = \text{CCH}_2\text{CH}_3$), 1.20(3H, dd, $J_1 = 7.62$ Hz, $J_2 = 15.24$ Hz, $\text{O} = \text{CCH}_2\text{CH}_3$), 1.27(3H, s, OAc), 2.39(3H, s, NCH₃), 3.19, 3.24, 3.39, 3.35(each 3H, s, $4 \times \text{OCH}_3$), 7.50(2H, m, Ar-H), 7.60(1H, m, Ar-H), 8.17(2H, d, $J = 7.20$ Hz, Ar-H);

2.1.5 E. 无色针状结晶,熔点216~218,收率84.4%, $\text{H-MS } m/z$ 773.0(M^+);该化合物为在衍生物A基础上继续乙酰化得到的产物。通过A与E的质谱对比发现,E多了2个乙酰基分子量(43×2);且氢谱中也有相应的体现,即多了2个乙酰基的甲基质子峰(1.26、2.04)。因此推断该化合物为3-丙酰基13,15-二乙酰基中乌头碱。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) (ppm): 1.16(3H, dd, $J_1 = 7.62$ Hz, $J_2 = 15.18$ Hz, $\text{O} = \text{CCH}_2\text{CH}_3$), 1.26(3H, s, OAc), 1.37(3H, s, OAc), 2.04(3H, s, OAc), 2.38(3H, s, NCH₃), 3.20(6H, d, $J = 4.74$ Hz, $2 \times \text{OCH}_3$), 3.25, 3.60(each 3H, s, $2 \times \text{OCH}_3$), 7.47(1H, m, Ar-H), 7.58(2H, m, Ar-H), 8.07(2H, m, Ar-H)

2.2 化合物F、G的结构鉴定 F、G均为白色无定形粉末, $\text{MS-} m/z$ 分别为632.3(M^+)、632.5(M^+),与中乌头碱一样。熔点分别为176~178、172~175,与文献报道一致^[17];2个化合物 $^1\text{H NMR}$ 数据与中乌头碱相比变化不大,IR谱也没有明显特征吸收峰,这与文献所述一致。将其用乙酸乙酯溶解,滴加饱和 Na_2CO_3 使溶液呈碱性后,中乌头碱又重新游离出来。综合分析可以推断化合物为中乌头碱的盐。

2.3 中乌头碱及其衍生物的杀虫活性 由表2可以看出,化合物A、B、D、E对稻飞虱的杀虫活性较修饰前有所降低,化合物C仍能保持对稻飞虱的毒力,化合物F和G对稻飞虱的毒力较修饰前大大增加;化合物A、B、C基本能保持其未修饰时对蚜虫的毒性,但化合物D、E、F、G对蚜虫的毒力都不及中乌头碱;这7个衍生物对粘虫和红蜘蛛的毒力都基本没有变化。

表2 原料及衍生物的杀虫活性

Table 2 The insecticidal activity of materials and their derivatives

化合物 Compounds	浓度 ng/L Concentration	死亡率 Mortality rate %			
		稻飞虱 Nilaparvata lutea	粘虫 Mythimna separata	红蜘蛛 Tetranychus cinnabarnus	蚜虫 Aphis nedcagni
中乌头碱 Msacortine	500	60	0	0	40
A	500	0	0	0	30
B	500	0	0	0	40
C	500	60	0	0	40
D	500	0	0	0	0
E	500	0	0	0	0
F	500	70	0	0	0
G	500	85	0	0	20
CK		0	0	0	0

3 结论与讨论

(1) 据文献检索,该研究所合成的7个化合物均为首次用于杀虫活性研究,其中A、B、C、D、E为未见报道的新化合物,中乌头碱及其衍生物对同翅目的水稻褐飞虱及苜蓿蚜表现出不同程度的杀虫活性,这表明该系列化合物对同翅目的昆虫有一定的毒杀作用,但对朱砂叶螨和粘虫的活性微弱,可见该系列化合物对真螨目以及鳞翅目的害虫基本无毒杀作用。

(2) 中乌头碱C₃位引入烷基类酯基团后,对稻飞虱的毒力有所减弱,如化合物A、B;C₃、C₁₃、C₁₅位同时引入烷酰基基团后,对稻飞虱活性降低,如化合物D、E;但在3、13位羟基同时引入被卤族元素取代的芳基酯类情况下有例外,如化合物C,依然能保持原化合物的生物活性并略有提高。将中乌头碱做成无机酸盐后的化合物对稻飞虱的毒力比中乌头碱提高了30~40个百分点,如化合物F和G;但其对蚜虫的活性却降低。中乌头碱3位或3、13位同时引入酯键后的衍生物,依然能保持酯化之前天然化合物对蚜虫原有的毒力,如化合物A、B、C;但在3、13、15位同时引入酯键后,对蚜虫的毒力大大减弱,如化合物D和E。

(3) 试验结果表明,在中乌头碱分子中保留3-OH、13-OH、15-OH有利于保持化合物的杀虫活性,中乌头碱的无机酸盐对稻飞虱有较高杀虫活性。在研究开发具有高杀虫活性的二萜生物碱先导化合物时,应保留其3-OH、13-OH和15-OH3个羟基;化合物的无机酸盐能提高其对稻飞虱毒力。

参考文献

- [1] 白海燕,马建列,陈毅仁. 附子浸渍液对银纹夜蛾杀虫活性的初步研究[J]. 西南科技大学学报,2006,21(1):123-126.
- [2] 白海燕,马建列. 附子浸渍液防治柑桔红蜘蛛药效实验[J]. 河南农业科学,2006(5):76-77.
- [3] 马建列,白海燕. 附子浸渍液杀虫活性测定及防治卫矛尺蠖药效试验[J]. 河南农业科学,2007(8):57-60.
- [4] 陈小平,李斌,陈小波,等. 乌头提取物对蜀柏毒蛾生物活性研究[J]. 中国森林病虫,2007,26(6):31-32.
- [5] 刘海峰,全炳武. 几种长白山有毒植物提取的生物碱杀虫活性[J]. 农药,2007,46(1):55-57.
- [6] 孟昭祥,翁之望. 二萜生物碱杀虫药剂的初步研究[J]. 新疆师范大学学报:自然科学版,1998,17(2):35-37.
- [7] 蒋宏华,王小平,张德咏. 两种新型杀虫剂对菜青虫的防治效果[J]. 湖南农业科学,2001(2):37-39.
- [8] 陈小平,崔永三,赵博光. 毛茛科杀虫植物——乌头[J]. 中国森林病虫,2006,25(6):26-28.
- [9] 王朝虹,何毅,张继宗,等. 乌头中剧毒生物碱的提取分离[J]. 刑事技术,2002(3):16-17.
- [10] 杨小生,万里翔,贺新生,等. 中乌碱对乙酰胆碱酯酶活力的抑制作用[J]. 环境与健康杂志,2008,25(7):641.
- [11] 张卫冬,韩公羽,梁华清,等. 国内外对中药附子成分与活性的研究[J]. 药学实践杂志,1996,14(2):91-95.
- [12] 常贵桃,刘玉卿,孙晓军. 3-乙酰乌头碱的半合成及镇痛作用[J]. 兰州医学院学报,1984(6):29-32.
- [13] 朱开礼. 黄花乌头活性化学成分的研究及部分二萜生物碱的结构改造[D]. 兰州:西北师范大学,2007:42-55.
- [14] 徐墩海,赵洪峰,徐雅娟,等. 四川江油生附子强心成分研究[J]. 中草药,2004,35(9):964-966.
- [15] 王洁之,韩公羽. 四川江油附子脂溶性生物碱的研究[J]. 药学学报,1985,20(1):71-73.
- [16] 陈泗英,刘玉青,王济承. 云南栽培川乌的生物碱成分[J]. 云南植物研究,1982,4(1):73-75.
- [17] 陈蕊燕,朱元龙,朱任宏. 中国乌头的研究. 川乌附子中的生物碱[J]. 药学学报,1965,12(7):435-439.