

·研究简报·

鬼臼毒素 4 含硫衍生物的 合成及其拒食活性

陈利标¹, 闫海燕¹, 冯俊涛^{1,2}, 李广泽^{1*}, 田 璇³, 张 兴^{1,2}

(1. 西北农林科技大学 无公害农药研究服务中心, 陕西 杨凌 712100; 2 陕西省生物农药工程技术研究中心, 陕西 杨凌 712100; 3. 兰州大学 功能有机分子化学国家重点实验室, 甘肃 兰州 730000)

摘 要:为研究鬼臼毒素类化合物结构与杀虫活性的关系,在前期研究基础上设计合成了 3 个 4-硫酯-4-脱氧鬼臼毒素、2 个 4-硫醚-4-脱氧鬼臼毒素及 4-巯基-4-脱氧鬼臼毒素共 6 个未见文献报道的化合物。其结构经 IR、MS、¹H NMR 和元素分析确证。采用小叶碟添加法测试了化合物对 3 龄粘虫 *Mythimna separate* 幼虫的拒食活性,结果表明:4-巯基-4-脱氧鬼臼毒素的活性最高,24 和 48 h 的 A_{FC}₅₀ (拒食中浓度)分别为 164.6 和 248.1 mg/L,分别是母体化合物鬼臼毒素活性的 5.8 和 3.0 倍。引入硫醚及硫酯后活性均降低。

关键词:鬼臼毒素衍生物; 4-巯基-4-脱氧鬼臼毒素; 合成; 粘虫; 拒食活性

中图分类号: R284.2; S482.38

文献标识码: A

文章编号: 1008-7303(2006)04-0359-04

Synthesis and Antifeedant Activity of Podophyllotoxin Analogues with 4 Sulfur Substituted Groups

CHEN Li-biao¹, YAN Hai-yan¹, FENG Jun-tao^{1,2}, LI Guang-ze^{1*},
TIAN Xuan³, ZHANG Xing^{1,2}

(1. Biorational Pesticide R&D Center of Northwest Sci-tech University of Agriculture and Forestry,
2. Shaanxi Research Center of Biopesticide Technology and Engineering, Yangling 712100, China;
3. Key State laboratory of Applied Organic Chemistry, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

Abstract: Three 4-thioester-4-deoxypodophyllotoxins, two 4-thioether-4-deoxypodophyllotoxins and one 4-thiol-4-deoxypodophyllotoxin were synthesized, and their structures were confirmed by IR, MS, ¹H NMR and elemental analysis. The 24 h and 48 h antifeedant activities against the 3rd larvae of *Mythimna separate* were assayed with leaf-disk method. The bioassay results showed that 4-thiol-4-deoxypodophyllotoxin had the highest activity among synthesized compounds. Its 24 h and 48 h A_{FC}₅₀ (concentration for 50% antifeedant activity) were 164.6 and 248.1 mg/L, 5.8 and 3.0 times of that of podophyllotoxin, respectively. 4-thioester and 4-thioether derivatives had relative lower activities than the others.

Key words: podophyllotoxin analogues; 4-thiol-4-deoxypodophyllotoxin; synthesis; *Mythimna separate*; antifeedant activity

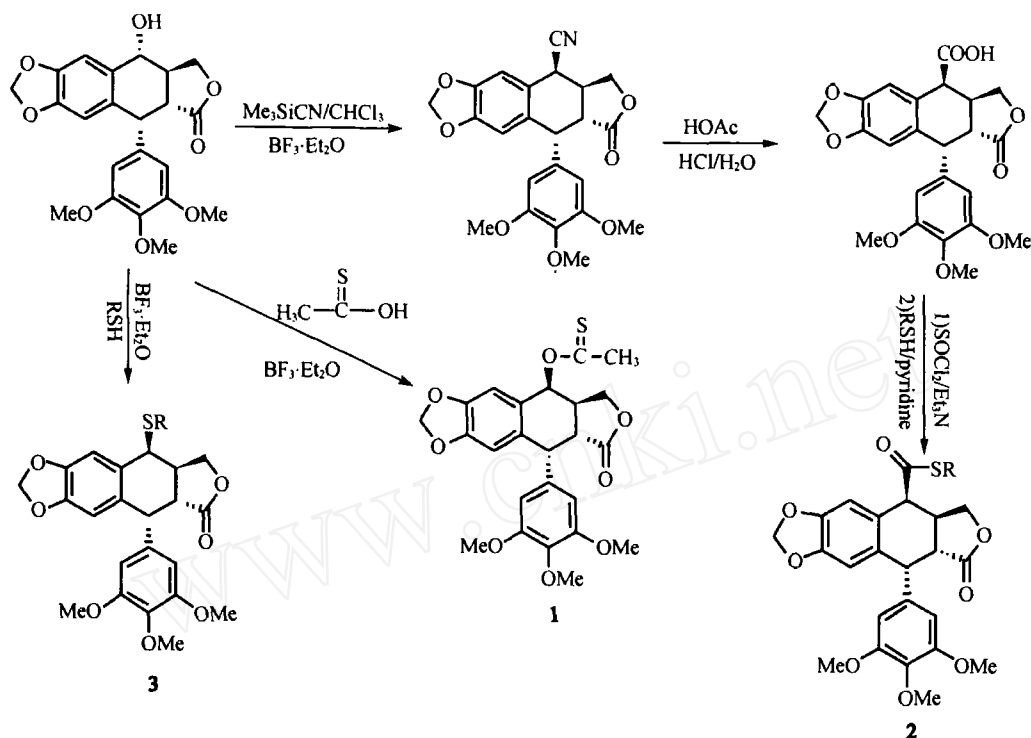
收稿日期: 2006-07-18; 修回日期: 2006-10-05.

作者简介: 陈利标 (1981-), 男, 硕士研究生; *通讯作者: 李广泽 (1977-), 男, 博士, 讲师, 主要从事天然产物农药与化学生态领域的研究和教学工作. 联系电话: 029-87091884; E-mail: liguangze@126.com

基金项目: 国家西部开发重大项目 (2004BA901A14); 西北农林科技大学科研专项.

为探讨鬼臼毒素类化合物结构与杀虫活性的关系,在前文^[1,2]基础上,以鬼臼毒素为原料,合成

了一系列 4 位硫酯和硫醚取代产物,并测试了其 对粘虫幼虫的拒食活性。合成路线如下:



1 合成实验

1.1 仪器与试剂

X-4型熔点仪(温度计未校正); HP 5988型四极杆质谱仪; Esquire 3000plus型 ESI/MS; Nicolet AVATAR 360 FT-IR型红外光谱仪; Elementar Analysensysteme GmbH VarioEL元素分析仪; Perkin Elmer Model 341 Polarimeter型旋光仪; Varian Mercury 300 BB型核磁共振仪。所用试剂均为市售 AR级或 CP级。鬼臼毒素和脱氧鬼臼毒素是从砂地柏中提纯得到,其物理数据及鉴定见文献^[3,4]。

1.2 4-硫代乙酰基-4-脱氧鬼臼酯(1)的合成^[5]

将等摩尔的鬼臼毒素和硫代乙酸悬浮于二氯甲烷中(鬼臼毒素 1 g 约用 30 mL),在冰盐浴(-15)下冷却,滴加 $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ 溶液(鬼臼毒素 1 g 约用 500 μL),反应 1 h 后加入与 $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ 等摩尔的吡啶,继续搅拌 10 min。水洗,有机层经无水硫酸钠干燥后蒸除溶剂,所得固体用丙酮-甲醇(1:3,体积比)重结晶,得白色固体物。

1.3 4-硫醚-4-脱氧鬼臼毒素(2a, 2b)的合成^[6]

将 1.0 g 鬼臼毒素溶解在 100 mL 干燥氯仿中,加入 0.2 mL 三甲基氰硅烷冰盐浴冷却至 -15 以下,缓慢滴加 0.45 mL $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (约 1 h 滴完),保温反应 2 h。滴加 0.45 mL 吡啶继续搅拌 5 min。依次用碳酸氢钠水溶液、水、盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,硅胶柱层析分离得氰基表鬼臼毒素。按照 1 g 氰基表鬼臼加 60 mL 乙酸、10 mL 盐酸和 10 mL 水的比例在 75 下回流 3 h 得表鬼臼酸。取其 500 mg 溶于 25 mL 二氯甲烷中,加入 1~1.5 mL 三乙胺,室温下慢慢滴加 1~1.5 mL 二氯亚砷,搅拌反应 30 min 后,在低于 30 下旋转蒸发脱去溶剂,加入 5 mL 二氯甲烷和 1~1.5 mL 吡啶,搅拌,加入 30~35 mmol 硫醇,继续反应 4~10 h。产物经 250 mL 二氯甲烷稀释后,依次用冷饱和碳酸氢钠溶液、水、饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,柱色谱[以 200~300 目硅胶为填料,二氯甲烷-丙酮=20:1, (体积比)为洗脱剂]分离得目标物。

1.4 4-硫醚-4-脱氧鬼臼毒素(3a~3c)的合成通法^[7]

等摩尔的鬼臼毒素和硫醇悬浮于二氯甲烷中

(鬼臼毒素 1 g 约用 30 mL 二氯甲烷), 在冰盐浴下冷却至 -15°C 以下, 滴加 $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (鬼臼毒素 1 g 约用 500 μL) 溶液。反应 1 h 后加入与 $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ 等摩尔的吡啶, 继续搅拌 10 min。水洗, 无水硫酸钠干燥, 脱溶, 氯仿-甲醇 (1:3, 体积比) 重结

晶, 得白色固体物。

1.5 化合物的结构鉴定

目标化合物的物理常数和波谱数据见表 1 至表 3。参照文献 [9] 构型确定方法, 因目标化合物的 $J_{3,4}$ 均在 3~6 Hz 之间, 故确定为 4 构型。

Table 1 Physical and MS data of compounds

Compd	R	Yield (%)	Mp/	$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$, CHCl_3 / (°)	MS (EI and ESI), m/z (int%)
1	-	45	188~190	-139 (c=0.51)	472 (M^+ , 66), 429 (72), 397 (65)
2a	$n\text{-C}_3\text{H}_7$	35	193~195	-58 (c=0.53)	500 (M^+ , 3), 396 (2), 229 (6), 195 (14), 149 (16), 43 (100)
2b[*]	$4\text{-CH}_3\text{-C}_6\text{H}_4$	39	216~218	-97 (c=0.49)	570.9 [$\text{M} + \text{Na}]^+$, 565.9 [$\text{M} + \text{NH}_4$] ⁺ , 548.8 [$\text{M} + 1$] ⁺ , 393.0, 331.0, 273.9, 224.8, 101.8
3a	H	75	98~100	-138 (c=0.63)	430 (M^+ , 100), 397 (64)
3b	CH_3	64	220~222	-68 (c=0.57)	444 (M^+ , 100), 397 (100)
3c	C_2H_5	59	138~140	-143 (c=0.62)	458 (M^+ , 100), 397 (100)

2b^{*} MS was analyzed with ESI/MS.

Table 2 IR and elemental analytical data of compounds

Compd	IR (KB r), $/\text{cm}^{-1}$	Elemental analysis (Calcd, %)		
		C	H	S
1	1777, 1690, 1588, 1506, 1482, 1456, 1235, 1129, 934, 628	61.33 (61.01)	5.05 (5.12)	6.99 (6.79)
2a	1776, 1675, 1588, 1506, 1485, 1466, 1330, 1238, 1211, 1124, 1038, 935, 849, 784, 702, 604	62.41 (62.39)	5.74 (5.64)	6.33 (6.41)
2b	1776, 1694, 1588, 1503, 1484, 1458, 1419, 1330, 1236, 1215, 1125, 1036, 984, 850, 810,	65.71 (65.68)	5.32 (5.14)	5.52 (5.84)
3a	2580, 1776, 1583, 1506, 1480, 1236, 1126, 668	61.43 (61.38)	5.22 (5.16)	7.31 (7.45)
3b	1771, 1589, 1506, 1482, 1328, 1234, 1124, 934	62.44 (62.15)	5.21 (5.44)	7.10 (7.21)
3c	1776, 1587, 1506, 1481, 1457, 1419, 1328, 1236, 1126, 936	62.59 (62.87)	5.70 (5.72)	6.78 (6.99)

2 对粘虫幼虫的拒食活性测定

采用小叶碟添加法^[8]测试了供试化合物对粘虫幼虫 24 和 48 h 的拒食活性 (见表 4)。试虫由西北农林科技大学无公害农药研究服务中心养虫室 ($T = (25 \pm 2)^{\circ}\text{C}$; R.H. = 65%~80%; L/D = 12h/12h) 提供, 试验时挑取生长发育状态一致、健康的 3 龄初期幼虫供试。

从表 4 可以看出, 4-巯基-4-脱氧鬼臼毒素 (**3a**) 的活性最高, 24 和 48 h 的 AFC_{50} (拒食中浓度) 分别为 164.6 和 248.1 mg/L , 分别是母体化合物鬼臼毒素活性的 5.8 和 3.0 倍, 是对照脱氧鬼臼毒素活性的 4.2 和 2.5 倍。**3a** 是目前所合成的鬼臼毒素衍生物中活性最好的化合物^[1,2], 值得进

一步研究。

4 位分别被硫醚化和醚化后, 其拒食活性存在明显差异。硫醚化产物对粘虫的拒食活性降低; 而醚化后活性提高, 但醚化产物随侧链烷基长度增加而活性降低^[1]。本研究表明: 4-甲巯基-4-脱氧鬼臼毒素 (**3b**) 和 4-乙巯基-4-脱氧鬼臼毒素 (**3c**) 对粘虫 24 h 和 48 h 的拒食活性均低于鬼臼毒素和脱氧鬼臼毒素。

4 位硫酯化和酯化产物的活性均低于母体化合物鬼臼毒素, 且硫酯化产物的活性低于酯化产物^[1]。推测可能是由于 4 酯化产物水溶性降低和位阻增大所致。

Table 3 ^1H NMR data of compounds

Compd	^1H NMR (CDCl ₃),
1	2.43 (3H, s, SCOCH ₃), 2.95 (1H, dd, J = 11.2, 3.4 Hz, 2-H), 3.03 ~ 3.41 (1H, m, 3-H), 3.77 (6H, s, 3, 5-OCH ₃), 3.83 (3H, s, 4-OCH ₃), 4.36 ~ 4.39 (2H, m, 11-H), 4.56 (1H, d, J = 5.6 Hz, 1-H), 5.03 (1H, d, J = 4.8 Hz, 4-H), 5.96 (2H, d, J = 4.8 Hz, O-CH ₂ -O), 6.29 (2H, s, 2, 6-H), 6.45 (1H, s, 8-H), 6.78 (1H, s, 5-H)
2a	0.97 ~ 1.06 (3H, m, CH ₂ CH ₂ CH ₃), 1.58 ~ 1.84 (2H, m, CH ₂ CH ₂ CH ₃), 2.83 ~ 2.91 (1H, m, CH ₂ CH ₂ CH ₃), 3.30 ~ 3.31 (2H, m, 2, 3-H), 3.73 (6H, s, 3, 5-OCH ₃), 3.76 (3H, s, 4-OCH ₃), 3.88 (1H, d, J = 4.4 Hz, 11-H), 4.08 (1H, d, J = 4.4 Hz, 11-H), 4.28 ~ 4.47 (2H, m, 1, 4-H), 6.02 (2H, d, J = 4.5 Hz, O-CH ₂ -O), 6.12 (2H, s, 2, 6-H), 6.51 (1H, s, 8-H), 7.13 (1H, s, 5-H)
2b	2.17 (3H, s, CH ₃ C ₆ H ₆), 3.31 ~ 3.44 (2H, m, 2, 3-H), 3.68 (6H, s, 3, 5-OCH ₃), 3.83 (3H, s, 4-OCH ₃), 3.89 (1H, d, J = 6.3 Hz, 11-H), 4.15 (1H, d, J = 6.3 Hz, 11-H), 4.42 (1H, d, J = 5.2 Hz, 4-H), 4.58 (1H, d, J = 4.6 Hz, 1-H), 5.96 (2H, d, J = 4.3 Hz, O-CH ₂ -O), 6.18 (2H, s, 2, 6-H), 6.53 (1H, s, 8-H), 7.16 (1H, s, 8-H), 7.08 ~ 7.40 (4H, m, C ₆ H ₆)
3a	2.32 ~ 2.67 (1H, m, 3-H), 2.86 (1H, dd, J = 10.8, 4.6 Hz, 2-H), 3.73 (6H, s, 3, 5-OCH ₃), 3.78 (3H, s, 4-OCH ₃), 4.21 (1H, d, J = 3.8 Hz, 11-H), 4.40 (1H, d, J = 4.8 Hz, 1-H), 4.38 ~ 4.43 (1H, m, 11-H), 4.59 (1H, d, J = 5.6 Hz, 4-H), 5.98 (2H, d, J = 4.2 Hz, O-CH ₂ -O), 6.27 (2H, s, 2, 6-H), 6.46 (1H, s, 8-H), 6.93 (1H, s, 5-H)
3b	2.16 (3H, s, S-CH ₃), 3.00 ~ 3.29 (1H, m, 3-H), 3.26 ~ 3.29 (1H, m, 2-H), 3.74 (6H, s, 3, 5-OCH ₃), 3.79 (3H, s, 4-OCH ₃), 4.15 (1H, d, J = 4.5 Hz, 11-H), 4.39 (1H, s, 1-H), 4.41 (1H, d, J = 4.5 Hz, 11-H), 4.54 (1H, d, J = 4.8 Hz, 4-H), 5.94 (2H, d, J = 4.9 Hz, O-CH ₂ -O), 6.28 (2H, s, 2, 6-H), 6.43 (1H, s, 8-H), 6.94 (1H, s, 5-H)
3c	1.25 (3H, t, J = 5.5 Hz, SCH ₂ CH ₃), 2.53 (2H, q, SCH ₂ CH ₃), 2.70 ~ 2.98 (1H, m, 3-H), 3.23 ~ 3.26 (1H, m, 2-H), 3.74 (6H, s, 3, 5-OCH ₃), 3.80 (3H, s, 4-OCH ₃), 4.00 ~ 4.03 (1H, m, 11-H), 4.38 (1H, d, J = 4.8 Hz, 1-H), 4.21 ~ 4.61 (1H, m, 11-H), 4.54 (1H, d, J = 5.1 Hz, 4-H), 5.99 (2H, d, J = 4.6 Hz, O-CH ₂ -O), 6.37 (2H, s, 2, 6-H), 6.42 (1H, s, 8-H), 6.92 (1H, s, 5-H)

Table 4 Antifeedant activity of compounds against the 3rd-instar *Mythimna separata*

Compd	24 h			48 h		
	AFC-P (y =)	AFC ₅₀ / (mg/L) (95% CL)	Correlation coefficient	AFC-P (y =)	AFC ₅₀ / (mg/L) (95% CL)	Correlation coefficient
1	4.684 3 + 0.563 5x	3.634 (937.5 ~ 14091)	0.976 6	4.831 2 + 0.689 3x	1758 (763.2 ~ 4048)	0.986 3
2a	2.647 8 + 0.675 2x	3.045 (1.338 ~ 6.929)	0.990 1	3.374 1 + 0.481 6x	2378 (774.4 ~ 7299)	0.994 6
2b	4.772 2 + 0.392 8x	3.801 (1.206 ~ 16.063)	0.957 5	4.517 7 + 0.856 4x	3657 (920.0 ~ 8324)	0.971 7
3a	5.796 9 + 1.016 9x	164.6 (89.0 ~ 302.6)	0.972 5	5.722 5 + 1.193 5x	248.1 (161.0 ~ 380.7)	0.997 8
3b	3.802 4 + 0.626 0x	81.842 (4476 ~ 149.647)	0.950 5	4.373 1 + 0.468 1x	21.846 (1.758 ~ 271.531)	0.911 9
3c	4.591 9 + 1.681 2x	1.749 (1.305 ~ 2.343)	0.965 5	4.816 4 + 1.716 7x	1279 (916.0 ~ 1.787)	0.987 3
Podophyllotoxin	-0.618 8 + 1.883 5x	962.1 (711.8 ~ 1.300.4)	0.973 7	5.151 0 + 1.192 6x	747.1 (484.9 ~ 1.150)	0.996 8
Deoxy podophyllotoxin	5.224 4 + 1.401 6x	691.6 (463.6 ~ 1.031.6)	0.991 5	5.317 5 + 1.506 5x	615.5 (416.0 ~ 910.2)	0.970 1

参考文献:

- [1] LI Guang-ze (李广泽), TIAN Xuan (田璇), FENG Jun-tao (冯俊涛), et al 4-酯代-4-脱氧鬼臼毒素和 4-醚代-4-脱氧鬼臼毒素的合成及对粘虫幼虫的拒食活性 [J]. Chin J Pestic Sci (农药学报), 2005, 7(4): 364-367.
- [2] LI Guang-ze (李广泽), FENG Rui-hong (冯瑞红), CHEN Li-biao (陈利标), et al 4-卤代-4-脱氧鬼臼毒素和 4-氨基-4-脱氧鬼臼毒素的合成及其拒食活性 [J]. Chin J Pestic Sci (农药学报), 2006, 8(1): 87-90.
- [3] WANG Ji-dong (王继栋), TIAN Xuan (田璇), ZHANG Xing (张兴). 砂地柏中鬼臼毒素的分离与鉴定 [J]. Acta Univ Agric Boreali-occidentalis (西北农业大学学报), 2000, 28(6): 25-29.
- [4] Gao Rong, Gao C F, Tian X, et al Insecticidal activity of deoxy podophyllotoxin, isolated from *Juniperus sabinia* L, and related lignans against larvae of *Pieris rapae* L [J]. Pest Manag Sci, 2004, 60: 1131-1136.
- [5] YN Shu-fan (尹述凡), WANG Zhi-guang (王志光), MA Weiyong (马维勇), et al 4-O-卤代酰基-4-去甲基表鬼臼毒素类似物的合成与抗肿瘤活性 [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 1993, 28(10): 758-761.
- [6] CHEN Zai-xin (陈再新), MA Weiyong (马维勇), CHEN Xiu-hua (陈秀华), et al 4-硫酯-4-脱氧-4-去甲基表鬼臼毒素衍生物的合成及其抗肿瘤活性 [J]. Chinese J Medic Chem, 2000, 36(2): 84-87.
- [7] WANG Zhi-guang (王志光), MA Weiyong (马维勇), ZHANG Chun-nian (张椿年). 4-硫基-4-脱氧-4-去甲基表鬼臼毒素的立体控制合成 [J]. Acta Chimica Sinica, 1992, 50: 698-701.
- [8] ZHANG Xing (张兴), CHIU Shin-foon (赵善欢). 楝科植物对几种害虫的拒食和忌避作用 [J]. J South China Agric Univ (华南农学院学报), 1983, 4(3): 1-7.
- [9] Kuhn M, Keller J C, von Warburg A. Partial syntheses von 4-demethylepipodophyllotoxin [J]. Helv Chim Acta, 1969, 52(4): 944-947.

(Ed. JIN S H)