

· 研究论文 ·

苦皮藤素类似物的合成与结构鉴定

张继文^{1,2}, 吴文君^{1*}, 田 暄³

(1. 西北农林科技大学 农药研究所; 2 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100)

(3 兰州大学 功能有机分子国家重点实验室, 甘肃 兰州 730000)

摘 要: 以苦皮藤 *Celastrus angulatus* Max. 提取物水解产物中的多羟基 β -二氢沉香呋喃为原料, 合成了对粘虫 *Mythimna separata* 具有毒杀活性的苦皮藤素(Celangulin)类似物, 并在活性追踪的指导下分离得到了两个具有杀虫活性的苦皮藤素类似物 A 和 B, 其结构经核磁共振谱、快原子轰击质谱、高分辨质谱等波谱学方法鉴定为 $2\beta, 6\alpha, 8\beta, 13$ -四异丁酰氧基- $1\beta, 4\alpha, 9\alpha$ -三羟基- β -二氢沉香呋喃及 $1\beta, 2\beta, 6\alpha, 8\beta, 13$ -五异丁酰氧基- $4\alpha, 9\alpha$ -二羟基- β -二氢沉香呋喃, 化合物 A 和 B 均为新化合物, 在 20 mg/mL 的浓度下对三龄粘虫 *Mythimna separata* 的胃毒活性(死亡率)分别为 89.5% 和 93.2%。

关键词: β -二氢沉香呋喃; 结构修饰; 杀虫活性

中图分类号: O 657. 61

文献标识码: A

文章编号: 1008-7303(2004)03-0021-05

Synthesis and Structure Elucidation of the Celangulin Analogues

ZHANG Jiwen^{1,2}, WU Wenjun^{1*}, TIAN Xuan³

(1. Institute of Pesticide Science, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forest, Yangling 712100, China;

2. College of Life Science, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forest, Yangling 712100, China;

3. National Laboratory of Applied Organic Chemistry, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

Abstract: In order to look for new active compounds, celangulin analogues were synthesized based on the basic hydrolysis of the extract of the root bark of *Celastrus angulatus* Max. and isolated by bioassay-guided fractionation. Two new active compounds were synthesized and isolated. Their structures were confirmed as $2\beta, 6\alpha, 8\beta, 13$ -tetraisobutanoyloxy- $1\beta, 4\alpha, 9\alpha$ -trihydroxy- β -dihydroagarofuran (A), $1\beta, 2\beta, 6\alpha, 8\beta, 13$ -pentaisobutanoyloxy- $4\alpha, 9\alpha$ -dihydroxy- β -dihydroagarofuran (B) based mainly on NMR and MS spectral data. A and B are new compounds with insecticidal activity against *Mythimna separata*.

Key words: dihydroagarofuran; structure modification; insecticidal activity

苦皮藤素(Celangulin)是从卫矛科南蛇藤属植物苦皮藤 *Celastrus angulatus* Max. 中分离得到的一大类具有 β -二氢沉香呋喃倍半萜核心骨架的多元醇酯, 具有抗肿瘤、抗爱滋病、杀虫、杀菌等生物活性, 其中以杀虫活性的研究最为广泛和深入^[1-5]。为了进一步研究该类化合物的构效关系, 并期望开发

出新型环境友好农药, 作者以苦皮藤提取物水解产物中的多羟基 β -二氢沉香呋喃为主要原料设计合成了天然产物苦皮藤素的类似物^[6], 并发现两个对粘虫具有胃毒活性的新化合物 A 和 B。

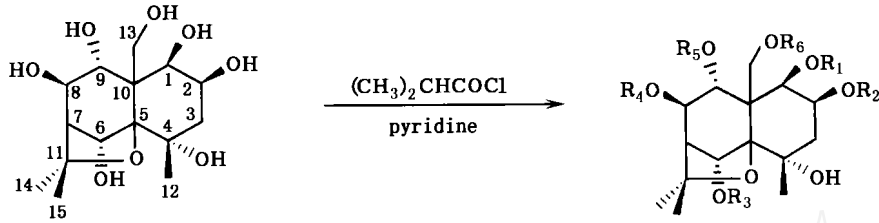
化合物的合成路线如下:

* 收稿日期: 2004-03-05; 修回日期: 2004-06-03

作者简介: 吴文君(1945-), 男, 四川洪雅人, 教授, 主要从事农药化学和农药毒理学研究

联系电话: 029-87092191; E-mail: nwzjw@163.com

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(30130130)。



A: $R_1, R_5 = H; R_2, R_3, R_4, R_6 = (CH_3)_2CHCO$

B: $R_5 = H; R_1, R_2, R_3, R_4, R_6 = (CH_3)_2CHCO$

1 合成实验

1.1 仪器及试剂

Brucker Daltonics APEX II 49e (ESD) 高分辨质谱仪; V GZAB-HS (FAB) 质谱仪; Bruker AM-400 核磁共振仪 (TMS 为内标, $CDCl_3$ 为溶剂); Perkin-Elmer 241MC 型自动旋光仪。苦皮藤提取物水解产物 (多羟基二氢沉香呋喃) 及异丁酰氯均由西北农林科技大学农药研究所提供, 纯度 98%; 所用溶剂均为市售分析纯; 硅胶为青岛海洋化工厂产品。

1.2 化合物的合成

称取苦皮藤提取物水解产物中的多羟基二氢沉香呋喃 335 mg (约 1 mmol), 放入 25 mL 烘烤过的梨形瓶中, 氩气保护, 电磁搅拌下用 5 mL 无水吡啶溶解, 25 °C 下用注射器缓缓加入新制备的异丁酰氯 1.8 mL (约 12 mmol), 生成大量白色沉淀。因反应放出热量, 需控制酰氯的滴加速度, 维持体系温度无大的波动。保持 25 °C 搅拌过夜, 硅胶薄层层析检查至原料点基本消失, 展开剂分别为 $V_{\text{乙酸乙酯}}:V_{\text{甲醇}} = 9:1$ 和 $V_{\text{石油醚}}:V_{\text{乙酸乙酯}} = 1:1$, 显色剂为质量分数为 10% 的浓硫酸乙醇溶液, 得到几个 R_f 值较原料大得多的产物点。加入 2 mL 无水甲醇淬灭反应, 产物用质量分数为 0.3% 的稀盐酸和乙酸乙酯分配, 有机相分别用饱和 $NaHCO_3$ 和饱和 $NaCl$ 洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥, 旋干溶剂后得苦皮藤素异丁酸酯类衍生物 490 mg。

1.3 化合物的分离

将 490 mg 异丁酸酯类衍生物溶于少许丙酮后用 0.5 g 100~200 目的硅胶吸附, 在通风橱中抽干溶剂, 干法上样进行快速柱层析分离, 层析柱规格为 1.5 cm × 30 cm, 装入 300~400 目的硅胶 30 g, 分别以 $V_{\text{石油醚}}:V_{\text{乙酸乙酯}} = 10:1, 8:2, 6:4, 5:5$ 进行

梯度洗脱, 每个馏分收集 20 mL, 共收集 30 个馏分, TLC 检查后合并相同的馏分, 展开剂为 $V_{\text{石油醚}}:V_{\text{乙酸乙酯}} = 1:1$ 。14、15、16、17 馏分合并, 经进一步柱层析, 得纯品 A 110 mg; 4、5、6、7 馏分合并后, 经进一步柱层析得纯品 B 18 mg。

1.4 化合物的结构鉴定

化合物 A 为白色无定形粉末, $[\alpha]_D^{20} = -7.3^\circ$ ($c 0.12, CHCl_3$), 在 ESI-HRMS 谱中显示 $m/z 615.3372 [M + H]^+$, 可以确定其分子式为 $C_{31}H_{50}O_{12}$ 。 ^{13}C NMR ($CDCl_3, 100 MHz$) 谱显示具有典型的二氢沉香呋喃类化合物的特点, C-5、C-11 为两个连氧季碳 ($\delta 90.98, 83.16$), 4 个羰基碳 ($\delta 176.84, 175.38, 175.92, 176.06$), 7 个与酯基或羟基相连的碳 ($\delta 70.32, 72.71, 69.76, 75.25, 76.68, 73.62, 67.73$); DEPT 显示有两个亚甲基 ($\delta 42.68, 67.73$)。 1H NMR 谱中可以明显地看到有异丁酰基中的异丙基存在, 次甲基 ($\delta 2.59 m, 2.69 m$), 甲基 ($\delta 1.12 m, 1.16 m$)。结合 NMR 谱的综合分析和苦皮藤素类化合物的结构特点, 可初步判断 A 为含有 4 个异丁酰氧基和 3 个羟基的 1, 2, 4, 6, 8, 9, 13-七取代 β -二氢沉香呋喃^[7-9]。酯基和羟基的取代位置差别由 HMBC 谱可以确定, 取代基的立体化学则由 H-HCOSY 谱确定。HMBC 谱显示酯羰基的碳 $\delta 176.84, 175.38, 175.92, 176.06$ 分别和 H-2、H-6、H-8、H-13 ($\delta 5.27, 5.92, 5.40, 4.68$) 相关, 说明 A 为 2, 6, 8, 13-四异丁酰氧基-1, 4, 9-三羟基- β -二氢沉香呋喃。由 H-HCOSY 谱中所显示出的 H-8、H-7 相关, H-8、H-9 不相关, H-7、H-6 相关, H-1、H-2 相关, 可以判定 1Ha, 2He, 6Ha, 7He, 8He, 9He^[8,9], 从而确定 A 为 $2\beta, 6\alpha, 8\beta, 13$ -四异丁酰氧基- $1\beta, 4\alpha, 9\alpha$ -三羟基- β -二氢沉香呋喃。化合物 A 的详细波谱数据见表 1、表 2 和表 5。

化合物 **B** 为白色无定形粉末, $[\alpha]_D^{20} = -34.6^\circ$ (c 0.8, CHCl_3), 在 ESI-HRMS 谱中显示 m/z 702.4049 $[\text{M} + \text{NH}_4]^+$, 可以确定其分子式为 $\text{C}_{35}\text{H}_{56}\text{O}_{13}$. ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) 显示具有典型的二氢沉香呋喃类化合物的特点, C-5, C-11 为两个连氧季碳 (δ 91.91, 83.32), 5 个羰基碳 (δ 175.42, 175.23, 175.72, 176.80, 176.99), 7 个与酯基或羟基相连的碳 (δ 70.19, 68.35, 69.92, 75.66, 78.97, 73.23, 66.48)。DEPT 显示有两个亚甲基 (δ 42.19, 66.48)。 ^1H NMR 谱可以明显地看到有异丁酰氧基中的异丙基存在, 次甲基 (δ 2.42 m, 2.60 m), 甲基 (δ 1.11 m, 1.18 m), 结合 NMR 谱的综合分析和苦皮藤素类的结构特点, 可初步判断

B 为含有 5 个异丁酰氧基和 2 个羟基的 1, 2, 4, 6, 8, 9, 13-七取代 β -二氢沉香呋喃^[7-9]。酯基和羟基的取代位置差别由 HMBC 谱确定, 取代基的立体化学则由 H-HCOSY 谱确定。HMBC 谱显示酯羰基的碳 (δ 175.42, 175.23, 175.72, 176.80, 176.99) 分别和 H-1, H-2, H-6, H-8, H-13 (δ 5.60, 5.51, 6.27, 5.31, 4.69, 4.86) 相关, 说明 **B** 为 1, 2, 6, 8, 13-五异丁酰氧基-4, 9-二羟基- β -二氢沉香呋喃。由 H-HCOSY 谱中所显示出的 H-8, H-7 相关, H-8, H-9 不相关, H-7, H-6 相关, H-1, H-2 相关, 可以判定 1Ha, 2He, 6Ha, 7He, 8He, 9He^[8,9], **B** 为 1 β , 2 β , 6 α , 8 β , 13-五异丁酰氧基-4 α , 9 α -二羟基- β -二氢沉香呋喃。化合物 **B** 的详细波谱数据见表 3、表 4 和表 5。

Table 1 NMR data of compound A

No.	δC	δH	HMBC	H-HCOSY
1	70.32	3.48(1H, d, $J = 8.4$ Hz, OH), 4.56(1H, m)	C-10, C-13	3.48, 5.27
2*	72.71	5.27(1H, dd, $J = 6.8$ Hz, 3.2 Hz)	C-1, C-10	2.01, 4.56
3	42.68	2.01(2H, d, $J = 3.6$ Hz)	C-1, C-2, C-4, C-5, C-12	5.27
4	69.76	2.80(1H, s, OH)	C-4, C-12	
5	90.98			
6*	75.25	5.92(1H, s)	C-5, C-7, C-8, C-11	2.29
7	53.08	2.29(1H, d, $J = 2.8$ Hz)	C-5, C-6, C-8, C-9	3.95, 5.40, 5.92
8*	76.68	5.40(1H, d, $J = 2.8$ Hz)	C-6, C-7, C-9, C-10	2.29
9	73.62	3.69(1H, d, $J = 2.8$ Hz, OH), 3.95(1H, d, $J = 2.8$ Hz)	C-5, C-7, C-8, C-13	2.29, 3.69
10	53.93			
11	83.16			
12	25.05	1.35(3H, s)	C-3, C-4, C-5	
13*	67.73	4.68(2H, ABq, $J = 12.0$ Hz)	C-1, C-5, C-9, C-10	
14	25.58	1.66(3H, s)	C-7, C-11, C-15	1.48
15	29.70	1.48(3H, s)	C-7, C-11, C-14	1.66

* Signals of H-2, H-6, H-8, H-13 were also correlated with carbonyl carbon signals at δ 176.84, 175.38, 175.92, 176.06

Table 2 NMR data of $(\text{CH}_3)_2\text{CHCO}$ in compound A

Radical	H	C
CH_3	1.09~1.18(24H, m)	18.67, 18.67, 18.72, 18.81, 18.86, 19.08, 18.56, 18.63
CH	2.47~2.60(4H, m)	34.36, 34.28, 33.97, 33.97
CO		176.84, 175.39, 175.92, 176.06

Table 3 NMR data of compound B

No.	δC	δH	HMBC	H-HCO SY
1*	70.19	5.60 (1H, d, $J = 3.0$ Hz)	C-2, C-9, C-10, C-13	5.51
2*	68.35	5.51 (1H, dd, $J = 6.8$ Hz, $J = 4.4$ Hz)		1.92, 2.14, 5.60
3	42.19	1.92, 2.14 (2H, dd, $J = 15.2$ Hz, 2.8 Hz, 3.6 Hz)	C-2, C-4, C-5, C-12	5.51
4	69.92	2.69 (1H, s, OH)	C-4, C-12	
5	91.91			
6*	75.66	6.27 (1H, s)	C-5, C-11, C-8, C-7, C-10	2.30
7	53.12	2.30 (1H, m)	C-5, C-8, C-6, C-9, C-10	3.97, 5.31, 6.27
8*	78.97	5.31 (1H, d, $J = 2.1$ Hz)	C-6, C-9, C-10, C-7	2.30
9	73.23	3.47 (1H, s, OH), 3.97 (1H, d, $J = 6.8$ Hz)	C-5, C-7, C-8, C-10, C-13,	2.30, 3.47
10	54.35			
11	83.32			
12	24.30	1.41 (3H, s)		
13*	66.48	4.69~4.86 (2H, ABq, $J = 12.8$ Hz)	C-1, C-5, C-9, C-10	
14	26.03	1.65 (3H, s)	C-7, C-11, C-15	1.50
15	29.65	1.50 (3H, s)	C-7, C-11, C-14	1.65

* Signals of H-1, H-2, H-6, H-8, H-13 were also correlated with carbonyl carbon signals at δ 175.42, 175.23, 175.72, 176.80, 176.99

Table 4 NMR data of $(CH_3)_2CHCO$ in compound B

Radical	δH	δC
CH ₃	1.08~1.22 (30H, m)	18.69, 18.69, 18.69, 18.69, 18.74, 18.79, 18.89, 18.96, 19.03, 19.24
CH	2.41~2.59 (5H, m)	33.96, 33.99, 34.07, 34.28, 34.46
CO		175.23, 175.42, 175.72, 176.80, 176.99

Table 5 MS data of compound A, B

m/z	Compound A	Compound B
685		$[M + H]^+$
667		$[M - OH]^+$
649		$[M - OH - H_2O]^+$
615	$[M + H]^+$	
637	$[M + Na]^+$	
597	$[M - OH]^+$	$[M - OCOCH(CH_3)_2]^+$
579	$[M - OH - H_2O]^+$	$[M - OCOCH(CH_3)_2 - H_2O]^+$
527	$[M - OCOCH(CH_3)_2]^+$	
439	$[M - OCOCH(CH_3)_2 - COCH(CH_3)_2 - OH]^+$	$[M - OCOCH(CH_3)_2 - OCOCH(CH_3)_2 - COCH(CH_3)_2]^+$
421	$[M - OCOCH(CH_3)_2 - COCH(CH_3)_2 - OH - H_2O]^+$	$[M - OCOCH(CH_3)_2 - OCOCH(CH_3)_2 - COCH(CH_3)_2 - H_2O]^+$
403	$[M - OCOCH(CH_3)_2 - COCH(CH_3)_2 - OH - H_2O - H_2O]$	$[M - OCOCH(CH_3)_2 - OCOCH(CH_3)_2 - COCH(CH_3)_2 - H_2O - H_2O]^+$
350	$[M - OCOCH(CH_3)_2 - COCH(CH_3)_2 - COCH(CH_3)_2 - OH - H_2O]^+$	
333	$[M - OCOCH(CH_3)_2 - COCH(CH_3)_2 - COCH(CH_3)_2 - OH - H_2O - OH]^+$	$[M - OCOCH(CH_3)_2 - OCOCH(CH_3)_2 - COCH(CH_3)_2 - COCH(CH_3)_2 - OH - H_2O]^+$

2 杀虫活性测定

以室内人工累代饲养的粘虫 *Mythimna separata* 3 龄幼虫(平均体重 13.8 mg) 为试虫。

触杀活性测定采用毛细管定量点滴法, 每头试虫前胸背板点滴 1 μL 20 mg/mL 丙酮溶液, 对照则点滴 1 μL 丙酮, 24 h 后检查死亡率。

胃毒活性测定采用叶片载毒饲虫法^[10]。将供试样品用丙酮配成 20 mg/mL 的溶液, 在 0.5 cm \times 0.5 cm 的小麦苗叶片上, 用玻璃毛细管均匀点滴 1 μL 药液, 挥去丙酮即成载毒叶片。以点滴 1 μL 丙酮的叶片为对照。将饥饿 8 h 的试虫逐头分放在直径 5 cm 的培养皿内, 同时放一张载毒叶片, 每样品处理 20 头试虫, 重复 3 次。24 h 后检查死亡率。

结果表明, 异丁酸酯类苦皮藤素类似物 **A** 和 **B** 对粘虫没有触杀活性, 但有明显的胃毒活性, 在上述实验浓度下, **A** 和 **B** 对 3 龄粘虫的胃毒活性(死亡率)分别为 89.5% 和 93.2%。

3 讨论

3.1 化合物的合成

起始原料多羟基二氢沉香味喃结构中的多个羟基, 除一个不反应的叔羟基和一个最容易反应的伯羟基外, 其他几个仲羟基在室温下与酰氯的反应活性差异不大, 造成反应的选择性很差, 反应后在薄板上监测有多个产物点生成。低温下反应, 或用反应活性较低的异丁酸酐代替酰氯, 也许能增强反应的选择性。

3.2 杀虫活性

迄今笔者已从杀虫植物苦皮藤中分离出苦皮藤素 **V** 等 23 个二氢沉香味喃多元醇酯类化合物, 无一例外地都没有触杀活性, 只有胃毒活性^[11]。新合成的化合物 **A**、**B** 两个苦皮藤素类似物同样没有触杀活性而只有胃毒活性, 而且胃毒活性的作用症状也和苦皮藤素 **V** 相似: 取食载毒叶片约 2 h 后, 试虫被击倒, 不能正常爬行, 继而虫体扭曲, 痉挛, 最后试虫上吐下泻, 因大量丧失体液而死亡。二氢沉香味喃多元醇酯类化合物的作用方式及相应症状是否只与其骨架结构有关, 而和取代基的种类、数量、位置无关, 由于只合成了两个类似物, 尚不能作出结论, 有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] Spivery A C, Weston M, Woodhead S. Celastraceae sesquiterpenoids: biological activity and synthesis [J]. *Chem Soc Rev*, 2002, 31(1): 43-59.
- [2] WU Wen-jun (吴文君), WANG Ming-an (王明安), ZHU Jing-bo (朱靖博), et al. 杀虫植物苦皮藤毒杀成分的研究 [J]. *Chin J Org Chem* (有机化学), 2002, 22(9): 631-637.
- [3] Wu W J, Wang M A, Zhou W M, et al. Insecticidal sesquiterpene polyol esters from *Celastrus angulatus* [J]. *Phytochemistry*, 2001, 58(8): 1183-1187.
- [4] Wu W J, Wang M A, Zhu J B, et al. Five new insecticidal sesquiterpenoids from *Celastrus angulatus* [J]. *J Nat Prod*, 2001, 64(3): 364-367.
- [5] Wu W J, Tu Y Q, Liu H X, et al. Celangulin II, III and IV: new insecticidal sesquiterpenoids from *Celastrus angulatus* [J]. *J Nat Prod*, 1992, 55(9): 1294-1298.
- [6] ZHANG Cheng (张城), LI Wei-zhang (李伟章), YUN Liu-hong (恽榴红). 用组合化学建立天然产物类似物库 [J]. *Progress In Chemistry* (化学进展), 2003, 15(3): 194-203.
- [7] SHANG Yu-jun (尚玉俊), ZHAO Tian-zeng (赵天增), LIU Hong-min (刘宏民), et al. 苦皮藤水解产物中的 β -二氢沉香味喃倍半萜多醇的 NMR 研究 [J]. *Chinese Journal of Magnetic Resonance* (波谱学杂志), 2002, 19(2): 125-132.
- [8] TU Yong-qiang (涂永强), WANG Yan-hong (王艳红). β -二氢沉香味喃倍半萜的 ^1H 和 ^{13}C 化学位移全指定及 ^{13}C 化学位移与立体化学之间的关系 [J]. *Chinese Journal of Magnetic Resonance* (波谱学杂志), 1992, 9(4): 329-335.
- [9] TU Yong-qiang (涂永强), LI Zi-zhong (李子忠), WU Da-gang (吴大刚). 二氢沉香味喃倍半萜的 2D-NMR 研究 [J]. *Chinese Journal of Magnetic Resonance* (波谱学杂志), 1992, 9(1): 45-50.
- [10] WU Wen-jun (吴文君). *Zhiwu Huaxue Baohu Shiyan Jishu Daolun* (植物化学保护实验技术导论) [M]. Xi'an (西安): Shaanxi Sci Tech Press (陕西科技出版社), 1987. 85-87.
- [11] JI Zhi-qin (姬志勤), HU Zhao-nong (胡兆农), et al. 卫矛科植物苦皮藤杀虫成分化学研究新进展 [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin* (西北植物学报) 2004, 24(4): 748-753.

(责任编辑: 金淑惠)