

• 研究简报 •

鬼臼毒素 4 β 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^{*}, 田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 β -硫醚-4-脱氧鬼臼毒素、2 个 4 β -硫醚-4-脱氧鬼臼毒素及 4 β -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 R、M S、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 β -巯基-4-脱氧鬼臼毒素的活性最高, 24 和 48 h 的 AFC₅₀ (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 β -巯基-4-脱氧鬼臼毒素; 合成; 粘虫; 拒食活性

中图分类号: R 284.2; S 482.38

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 β Sulfur Substituted Groups

CHEN Libiao¹, YAN Haiyan¹, FENG Juntao^{1,2}, LIGuangze^{*},
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 β -thioester-4-deoxypodophyllotoxins, two 4 β -thioether-4-deoxypodophyllotoxins and one 4 β -thio-4-deoxypodophyllotoxin were synthesized and their structures were confirmed by R, M S, 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 β -thio-4-deoxypodophyllotoxin had the highest activity among synthesized compounds. Its 24 h and 48 h AFC₅₀ (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 β -thioester and 4 β -thioether derivatives had relative lower activities than the others.

Key words podophyllotoxin analogues; 4 β -thio-4-deoxypodophyllotoxin; synthesis; *Mythimna separate*; antifeedant activity

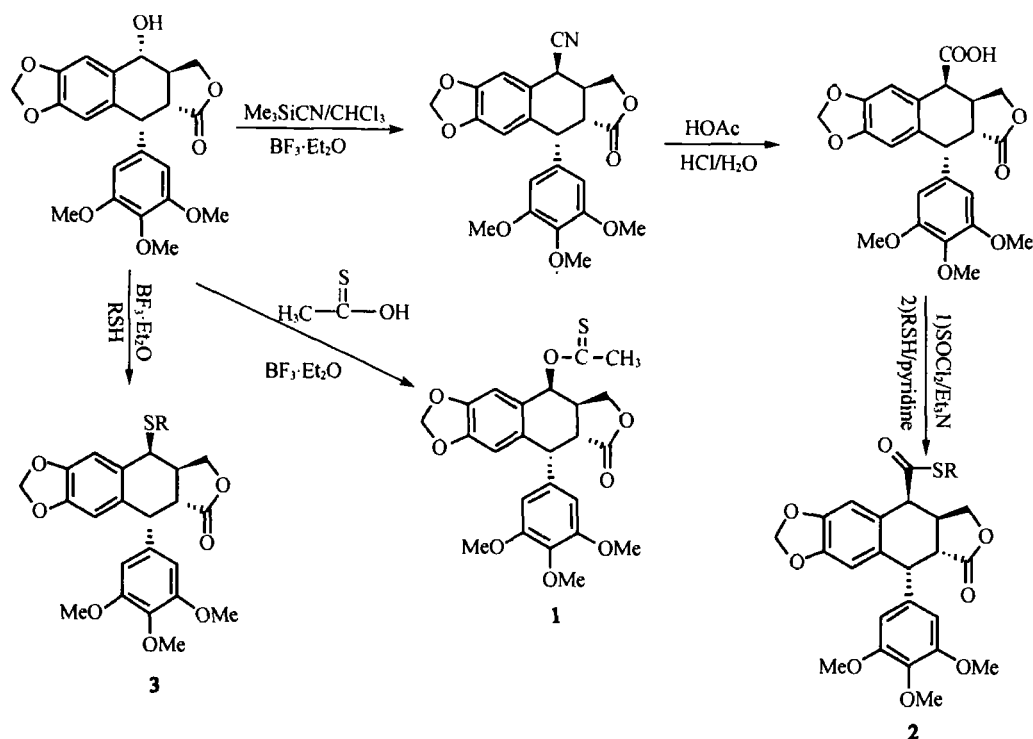
收稿日期: 2006-07-18 修回日期: 2006-10-05

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 4β 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 ESHM S Nicolet AVATAR 360 FT-IR 型红外光谱仪; Elementar Analysensysteme GmbH VarioEL 元素分析仪; Beckin Elnmer 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 4β-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°C)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 4β-硫酯-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°C 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°C 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°C 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 4β-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℃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 4β构型。

Table 1 Physical and MS data of compounds

Compd	R	Yield (%)	Mp/℃	$[\alpha]_D^{25}, \text{CHCl}_3 / (^\circ)$	MS (EI and ESI), m/z (intensity)
1	—	45	188~ 190	- 139 (c = 0.51)	472 (M^+ , 66), 429 (72), 397 (65)
2a	n-C ₃ H ₇	35	193~ 195	- 58 (c = 0.53)	500 (M^+ , 3), 396 (2), 229 (6), 195 (14), 149 (16), 43 (100)
2b *	4-CH ₃ -C ₆ 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 ₂ H 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 (KBr), V/cm^{-1}	Elemental analysis (Calcd, %)		
		C	H	S
1	1 777, 1 690, 1 588, 1 506, 1 482, 1 456, 1 235, 1 129, 934, 628	61.33 (61.01)	5.05 (5.12)	6.99 (6.79)
2a	1 776, 1 675, 1 588, 1 506, 1 485, 1 466, 1 330, 1 238, 1 211, 1 124, 1 038, 935, 849, 784, 702, 604	62.41 (62.39)	5.74 (5.64)	6.33 (6.41)
2b	1 776, 1 694, 1 588, 1 503, 1 484, 1 458, 1 419, 1 330, 1 236, 1 215, 1 125, 1 036, 984, 850, 810	65.71 (65.68)	5.32 (5.14)	5.52 (5.84)
3a	2 580, 1 776, 1 583, 1 506, 1 480, 1 236, 1 126, 668	61.43 (61.38)	5.22 (5.16)	7.31 (7.45)
3b	1 771, 1 589, 1 506, 1 482, 1 328, 1 234, 1 124, 934	62.44 (62.15)	5.21 (5.44)	7.10 (7.21)
3c	1 776, 1 587, 1 506, 1 481, 1 457, 1 419, 1 328, 1 236, 1 126, 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, 4β-巯基-4-脱氧鬼臼毒素 (**3a**) 的活性最高, 24 和 48 h 的 AF_{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。
4β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: 4β-甲巯基-4-脱氧鬼臼毒素 (**3b**) 和 4β-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。
4β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 4β酯化产物水溶性降低和位阻增大所致。

Table 3 ¹H NMR data of compounds

Compd	¹ H NMR (CDCl ₃), δ
1	2.43(3H, s, SC(O)CH 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, 11α-H), 4.08(1H, d, J=4.4 Hz, 11β-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, 11α-H), 4.15(1H, d, J=6.3 Hz, 11β-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, 11α-H), 4.40(1H, d, J=4.8 Hz, 1-H), 4.38~4.43(1H, m, 11β-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, 11α-H), 4.39(1H, s, 1-H), 4.41(1H, d, J=4.5 Hz, 11β-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, 11α-H), 4.38(1H, d, J=4.8 Hz, 1-H), 4.21~4.61(1H, m, 11β-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*

Compound	24 h			48 h		
	AFG-P (y=)	AFG ₅₀ /(mg/L) (95% CL)	Correlation coefficient	AFG-P (y=)	AFG ₅₀ /(mg/L) (95% CL)	Correlation coefficient
1	4.6843+0.5635x	3.634(937.5~14091)	0.9766	4.8312+0.6893x	1758(763.2~4048)	0.9863
2a	2.6478+0.6752x	3.045(1338~6929)	0.9901	3.3741+0.4816x	2378(774.4~7299)	0.9946
2b	4.7722+0.3928x	3.801(1206~16063)	0.9575	4.5177+0.8564x	3657(920.0~8324)	0.9717
3a	5.7969+1.0169x	164.6(89.0~302.6)	0.9725	5.7225+1.1935x	248.1(161.0~380.7)	0.9978
3b	3.8024+0.6260x	81.842(4476~149.647)	0.9505	4.3731+0.4681x	21.846(1.758~271.531)	0.9119
3c	4.5919+1.6812x	1.749(1305~2.343)	0.9655	4.8164+1.7167x	1279(916.0~1.787)	0.9873
Podophyllotoxin	-0.6188+1.8835x	962.1(711.8~1300.4)	0.9737	5.1510+1.1926x	747.1(484.9~1150)	0.9968
Deoxypodophyllotoxin	5.2244+1.4016x	691.6(463.6~1031.6)	0.9915	5.3175+1.5065x	615.5(416.0~910.2)	0.9701

参考文献:

[1] LI Guang-ze(李广泽), TIAN Xuan(田), FENG Jun-tao(冯俊涛), et al. 4β-酯代-4-脱氧-鬼臼毒素和 4β-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. 4β-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), 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 deoxypodophyllotoxin isolated from *Juniperus sabina* L. and related lignans against larvae of *Pieris rapae* L [J]. Pest Manag Sci, 2004, 60: 1131-1136

[5] YIN Shu-fan(尹述凡), WANG Zhi-guang(王志光), MA Wei-yong(马维勇), et al. 4O-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 Wei-yong(马维勇), CHEN Xiu-hua(陈秀华), et al. 4β-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 Wei-yong(马维勇), ZHANG Chun-nian(张椿年). 4-巯基-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), CHU 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 JC, von Warburg A. Partial synthesis von 4'-demethylepodophyllotoxin [J]. Helv Chim Acta, 1969, 52(4): 944-947

(Ed. JIN SH)