

• 研究简报 •

新烟碱类簇合物的合成及其生物活性

杨国权, 赵前飞, 袁会珠, 梅向东*, 宁君*

(中国农业科学院 植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193)

摘要: 为寻找高活性的新烟碱类杀虫剂, 根据簇合效应原理, 以吡虫啉为母体, 合成了几类酰基连接的吡虫啉二效价簇合物。其化学结构经¹H NMR和元素分析确证。初步的生物活性测试结果表明, 化合物 **4a** **4c** 在 100 mg/L 时对麦长管蚜 *Macrosiphum avenae* 的平均致死率分别达 78.4% 和 77.3%, 但活性均低于对照药剂吡虫啉。

关键词: 新烟碱类杀虫剂; 簇合效应; 合成

中图分类号: S482.3.0626

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2008)02-0367-04

Synthesis and Bioactivity of Bivalent Neonicotinoids

YANG Guo-quan ZHAO Qian-fei YUAN Hui-zhu MEI Xiang-dong*, NING Jun*

(State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract In search for neonicotinoid insecticides with high activity, seven novel bivalent compounds were prepared from imidacloprid as precursor compound. Their structures were confirmed by ¹H NMR and elemental analysis. The preliminary bioassay indicated that these compounds showed insecticidal activity. The average mortality of **4a** and **4c** to *Macrosiphum avenae* at the concentration of 100 mg/L reached 78.4% and 77.3%, respectively. But the activity of these compounds was not as good as imidacloprid, the control pesticide.

Key words neonicotinoid insecticides; cluster effect; synthesis

将具有生理活性的化合物制备成簇合物, 利用簇合效应 (cluster effect) 来提高母体化合物的生理活性在药物的研究中已经表现出很大的潜力^[1]。近年来有较多关于药物通过多效价效应或簇合效应显著提高化合物生物活性的报道^[2~4]。1996年, Pang等设计了一系列不同链长的二效价9-氨基-1, 2, 3, 4-四氢吡啶 (THA) 的类似物, 通过化学合成得到了既能与AChE高亲和性的催化位点结合又能与低亲和性的外周位点结合的系列双四氢氨基吡啶 (bis-THA) (图1), 当链长为7个亚

甲基时, bis-THA 的活性 (IC_{50} : 0.4 nmol/L) 是其母体 THA (IC_{50} : 590 nmol/L) 的 1.475倍^[5]。

Kagabu等报道以不同链长的亚甲基、烯基、炔基等为连接体合成的吡虫啉二簇分子及其他新烟碱类的二效价簇合物, 表现出较好的生物活性^[6~8]。

新烟碱类和烟碱类杀虫剂都是作为激动剂作用于昆虫神经后突触烟碱乙酰胆碱受体 (nicotinic acetylcholine receptors, nAChRs)^[9]。吡虫啉是一种高效的新烟碱类杀虫剂, 它可以阻断昆

收稿日期: 2008-02-28 修回日期: 2008-04-15

作者简介: 杨国权 (1979-), 男, 硕士研究生; * 通讯作者 (Author for correspondence): 梅向东 (1978-), 男, 博士, 主要从事新农药创制及植物保护新技术研究; 宁君 (1966-), 男, 博士, 研究员, 博士生导师, 主要从事新农药创制及植物保护新技术研究。联系电话: 010-62899142 E-mail: xdm@ippcaas.cn jing502@yahoo.com.cn

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (“973”计划) (2003CB114400, 2006CB101907); 国家高技术研究发展计划 (“863”计划) (2006AA10A203) 项目资助

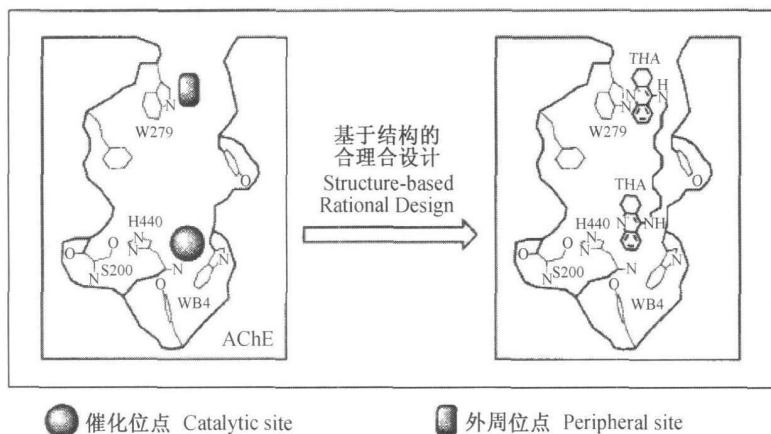


图 1 基于乙酰胆碱酯酶的催化位点与外周位点设计的四氢氨基吡啶类似物^[5]

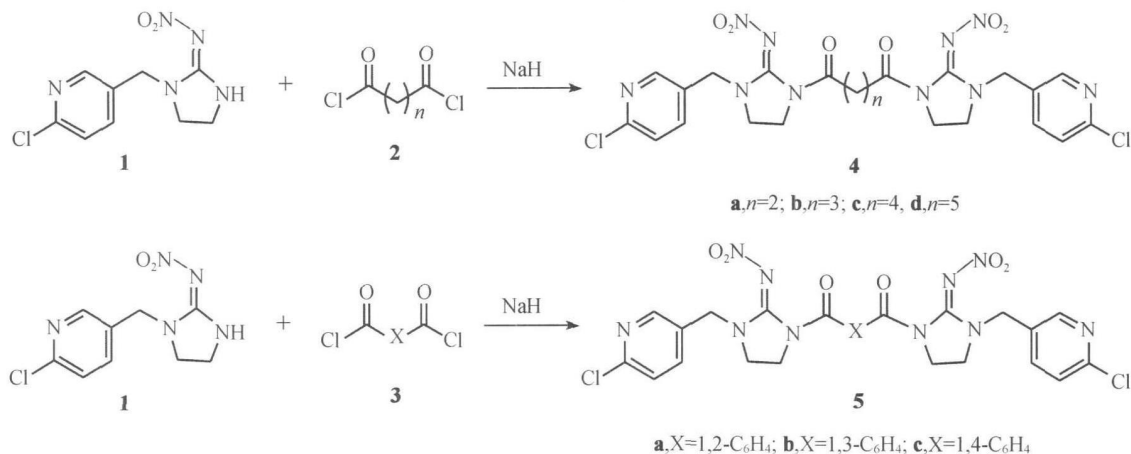
Fig 1 The analogues of THA designed based on the catalytic and peripheral sites in AChE^[5]

虫中枢神经系统的正常传导而导致害虫死亡。一些文献报道了吡虫啉与扁豆蚜 *Aphis craccivora*、桃蚜、蝗虫等烟碱样乙酰胆碱受体 (nAChR) 的饱和和结合试验, 推测其存在两个结合位点^[10~12]。

为了设计一些簇合物使其可以同时与作用靶标的双位点或多靶点结合, 笔者根据簇合效应原

理, 以新烟碱类杀虫剂的代表物——吡虫啉为母体, 选择不同长度的含羰基的连接体, 合成了系列二簇化合物, 并进行了杀虫活性测定, 期望从中找到活性优良的化合物。

目标化合物的合成路线如下:



1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Bruker DPX 300 MHz 核磁共振仪 (以 TMS 为内标, d⁶-DM SO 为溶剂), WRS-2A 微机熔点仪 (上海精密科学仪器有限公司, 熔点未经校正); 柱层析 (200~300 目硅胶, 青岛海洋化工厂); 95% 吡虫啉 (imidaclopril)、99% 邻苯二甲酰氯、99% 间苯二甲酰氯、99% 对苯二甲酰氯, 购自北京偶合科技有限公司; 96% 丁二酰氯, 购自 Alfa Aesar 公司; 97% 戊二酰氯、98% 己二酰氯、98% 庚二酰氯, 购自 Sigma 公司。其他试剂均为分析纯, 用时按常规方法处理。

1.2 目标化合物的合成

1.2.1 化合物 4 的合成 参考文献 [13] 的方法。在 100 mL 三口瓶中加入 2.96 g 0.011 mol 吡虫啉原药 (1) 和 20 mL 干燥的 N,N-二甲基甲酰胺 (DMF), 待药剂溶解后, 搅拌下缓慢加入 0.377 g 氢氧化钠粉末, 室温下反应约 0.5 h 至无气体生成。将反应体系于冰浴下用恒压漏斗滴入 0.816 g (0.005 mol) 溶于少量 DMF 中的 1,4-丁二酰氯 (2a), 搅拌 1 h 后再于室温下继续反应 3 h。减压蒸出部分 DMF 后迅速倒入冰水中, 析出沉淀。加入 60 mL 二氯甲烷溶解, 再用少许蒸馏水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 减压浓缩, 经柱层析 (乙酸乙酯-甲醇 = 6:1 体积比) 纯化得到灰白色固体 (4a)

2.14 g 收率 72%。

同法得到目标化合物 **4b~4d**

1.2.2 化合物 **5** 的合成 采用与 1.2.1 节类似的方法,以邻苯二甲酰氯代替烷基二酰氯反应,得到灰白色固体 **5a**。由于间苯二甲酰氯 (**3b**)和对苯二甲酰氯 (**3c**)常温下是固体,故反应时采取分批加入的方法,类似地得到目标化合物 **5b**和 **5c**

2 结果与讨论

2.1 合成方法

二效价吡虫啉簇合分子的制备是由 2 倍摩尔

比的吡虫啉与脂肪族二酰氯或苯(邻、间、对)二酰氯反应来实现的。在目标化合物的合成过程中,选择合适的碱及反应介质是关键。作者曾尝试使用氨基钠,但未得到目标化合物,而以氢化钠(可稍过量)作碱,反应明显加快。此外,溶剂的极性对反应也有影响,选用四氢呋喃作溶剂,效果差,而用 DMF 则收率较高。

化合物 **4 5** 的理化常数、元素分析和 ¹H NMR 数据见表 1 和表 2。

表 1 化合物的理化性质及元素分析

Table 1 Physical properties and elemental analysis of compounds

化合物 Compound	熔点 m. p. / ^o C	收率 Yield (%)	元素分析 Elemental analysis(Calcd, %)		
			C	H	N
4a	178.5~181.7	72	44.26(44.53)	3.86(3.74)	23.79(23.60)
4b	162.3~163.5	74	45.33(45.48)	4.12(3.98)	23.17(23.06)
4c	191.6~192.3	66	46.28(46.39)	4.31(4.22)	22.56(22.54)
4d	132.2~134.2	86	47.08(47.25)	4.56(4.44)	22.18(22.04)
5a	164.5~166.3	83	48.61(48.69)	3.55(3.46)	21.86(21.84)
5b	204.7~205.1	69	48.59(48.69)	3.58(3.46)	21.85(21.84)
5c	209.5~210.5	76	48.63(48.69)	3.54(3.46)	21.87(21.84)

表 2 化合物的 ¹H NMR 数据

Table 2 ¹H NMR data of compounds

化合物 Compound	¹ H NMR(d ⁶ -DM SO /TMS), δ
4a	2.74(t 4H, 2CH ₂), 3.70(q 4H, 2CH ₂), 4.19(q 4H, 2CH ₂), 4.63(s 4H, 2CH ₂), 7.56(dd, 2H, 2Py-H), 7.82(dd, 2H, 2Py-H), 8.40(d, 2H, 2Py-H)
4b	1.76(t 2H, CH ₂), 2.50~2.56(m, 4H, 2CH ₂), 3.68(t 4H, 2CH ₂), 4.12(t 4H, 2CH ₂), 4.62(s 4H, 2CH ₂), 7.57(dd, 2H, 2Py-H), 7.82(dd, 2H, 2Py-H), 8.40(d, 2H, 2Py-H)
4c	1.53(s 4H, 2CH ₂), 2.49~2.51(m, 4H, 2CH ₂), 3.67(q 4H, 2CH ₂), 4.15(q 4H, 2CH ₂), 4.62(s 4H, 2CH ₂), 7.55(dd, 2H, 2Py-H), 7.81(dd, 2H, 2Py-H), 8.37(d, 2H, 2Py-H)
4d	1.28-1.31(m, 2H, CH ₂), 1.49~1.54(m, 4H, 2CH ₂), 2.46~2.52(m, 4H, 2CH ₂), 3.66(q 4H, 2CH ₂), 4.14(q 4H, 2CH ₂), 4.51(s 4H, 2CH ₂), 7.57(dd, 2H, 2Py-H), 7.81(dd, 2H, 2Py-H), 8.40(d, 2H, 2Py-H)
5a	3.68(t 4H, 2CH ₂), 4.07(t 4H, 2CH ₂), 4.64(s 4H, 2CH ₂), 7.58(dd, 2H, 2Py-H), 7.72(q 4H, C ₆ H ₄), 7.84(dd, 2H, 2Py-H), 8.42(d, 2H, 2Py-H)
5b	3.72(t 4H, 2CH ₂), 4.14(t 4H, 2CH ₂), 4.69(s 4H, 2CH ₂), 7.62(dd, 2H, 2Py-H), 7.67(t 1H, Ar-H), 7.86~7.95(m, 5H, 2Py-H, C ₆ H ₃), 8.45(d, 2H, 2Py-H)
5c	3.70(t 4H, 2CH ₂), 4.10(t 4H, 2CH ₂), 4.69(s 4H, 2CH ₂), 7.60(d, 2H, 2Py-H), 7.79(d 4H, C ₆ H ₄), 7.87(dd, 2H, 2Py-H), 8.45(d, 2H, 2Py-H)

2.2 目标化合物的生物活性

以在约 22℃下饲养繁殖一定数量的麦长管蚜 *Macrosiphum avenae* 为试虫,以同一型号的塑料管(长 16 cm,直径 2.5 cm,底部打孔以便吸水)培养小麦苗,待麦苗长到约 11~12 cm 时进行实验。将目

标化合物用二甲基亚砜(DMSO)配制成 10 g/L 的母液,再用含质量分数为 0.25% 的曲拉通水溶液稀释 100 倍,使最终待测化合物浓度为 100 mg/L。用移液枪取各待测液 6 mL 于试管内,用微型负压喷雾器对小麦进行喷雾,每个处理重复 3 次,设空

白对照。待药液稍干后接种麦蚜, 4 h后调查蚜虫基数(平均每管麦苗蚜虫约 30头)。24 h后调查结果, 计算死亡率。

初步结果表明, 所合成的簇合物不同程度地表现出一定的杀虫活性(见表 3)。化合物 **4a** **4c**

在 100 mg/L 下对麦长管蚜的平均致死率分别达到 78.4% 和 77.3%。从整个结果来看, 化合物的活性与链长似乎并未呈现相关的规律性, 但当连接体中含 4 个和 6 个亚甲基时, 簇合物的活性相对较高, 但仍低于吡虫啉的活性。

表 3 化合物的杀虫活性及 LSD 法多重比较

Table 3 Insecticidal activity of compounds and analytical method of LSD multiple comparison								
化合物 Compd	死亡率 Mortality (%)			均值 Average value	标准差 Standard deviation	P < 0.05	P < 0.01	
	I	II	III					
4a	75.0	81.3	79.0	78.4	3.2	b	B	
4b	44.0	46.2	39.1	43.1	3.6	de	D	
4c	77.8	80.5	73.5	77.3	3.5	b	B	
4d	46.4	52.0	42.9	47.1	4.6	d	D	
5a	54.2	61.8	57.1	57.7	3.8	c	C	
5b	42.9	46.4	44.4	44.6	1.8	de	D	
5c	41.2	42.0	44.4	42.5	1.7	e	D	
吡虫啉 imidacloprid	98.0	100.0	100.0	99.3	1.2	a	A	

连接体含苯环的簇合物 **5**与不含苯环的 **4**相比其活性降低, 这可能与连接体的柔韧度有关, 苯环不如烷烃链那样可以自由旋转。但由邻苯二甲酰氯连接所得到的簇合物 **5a**的活性比由间、对苯二甲酰氯连接所得到的簇合物 **5b** **5c**的活性高, 并存在显著性差异。化合物 **4b** **4d** **5b**三者之间差异不显著。

总体看来, 化合物合成为簇合物后其活性并未丧失, 有的还表现出较好的活性(化合物 **4a**和 **4c**), 但均不及吡虫啉。这可能是因为二效价吡虫啉簇合分子存在较大的空间位阻, 致使目标分子到达生物靶标有一定的困难; 也可能是因为单体分子化合物簇合成二效价分子后, 整体性质发生了改变, 簇合物与单体表现出不同的作用机理。最近有报道称, 与传统的新烟碱类杀虫剂不同的是, 由不同链长的亚甲基等连接体合成的二效价新烟碱类簇合物只表现很弱的激动作用, 或者有可能纯粹只起阻断作用^[14]。本文中以酰基连接的簇合物是否也属于阻断剂, 还有待于进一步探讨。

参考文献:

[1] WANG JQ, CHEN X, ZHANG W, et al. Enhanced Inhibition of Human Anti-gal antibody Antibody Binding to Mammalian Cells by Synthetic R-Gal Epitope Polymers [J]. J Am Chem Soc, 1999, 121(36): 8174-8181

[2] KIESLING L L, GESTWICK I J E, STRONG L E. Synthetic Multivalent Ligands in the Exploration of Cell-surface Interactions [J]. Curr Opin Chem Biol, 2000, 4(6): 696-703

[3] GOLDSTEIN B, WOFSEY C. Theory of Equilibrium Binding of a Bivalent Ligand to Cell Surface Antibody: The Effect of Antibody Heterogeneity on Cross-linking [J]. J Math Biol, 1980, 10(4): 347-366

[4] MEIXIANG-DONG(梅向东), YANG GUO-QUAN(杨国权), NING JUN(宁君). 利用簇合效应发现和创制高效农药的设想 [J].

Chin J Pestic Sci(农药学报), 2006, 8(3): 203-208.

[5] PANG Y P, QU RAM P, JELACIC T, et al. Highly Potent Selective and Low Cost B is-tetrahydroam inarine Inhibitors of A cetylcholinesterase: Steps toward Novel Drugs for Treating Alzheimer's Disease [J]. J Biol Chem, 1996, 271(39): 23646-23649

[6] KAGABU S, WAYA K, KONISHI H, et al. Synthesis of A lkylene-tethered B is-imidacloprid Derivatives as Highly Insecticidal and Nerve-exciting Agents with Potent Affinity to [3H] Imidacloprid-binding Sites on Nicotinic A cetylcholine Receptor [J]. J Pest Sci, 2002, 27(3): 249-256

[7] KAGABU S, ITAZU Y, NISHIMURA K. 1, 6-Bis[1-(2-chloro-5-thiazolylmethyl)-2-nitro-4-imidazolidin-3-yl]hexane and 1, 3, 5-Tri[1-(6-chloronitro-2-nitro-4-imidazolidin-3-ylmethyl)]benzene-Synthesis and Insecticidal and Neuroblocking Activities in American Cockroaches Periplaneta Americana [J]. J Pest Sci, 2006, 31(2): 146-149

[8] MATSUDA K, SHIMOMURA M, HARADA M, et al. Neonicotinoids Show Selective and Diverse Actions on their Nicotinic Receptor Targets: Electrophysiology, Molecular Biology, and Receptor Modeling Studies [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2005, 69(8): 1442-1452

[9] TANG Zhen-hua(唐振华), TAO Li-ming(陶黎明), LIZHONG (李忠). 新烟碱类杀虫剂选择作用的分子机理 [J]. Chin J Pestic Sci(农药学报), 2006, 8(4): 291-298

[10] MEYER M D, DECKER M W, RUETER L E, et al. The Identification of Novel Structural Compound Classes Exhibiting High Affinity for Neuronal Nicotinic A cetylcholine Receptors and Analgesic Efficacy in Preclinical Models of Pain [J]. Eur J Pharmacol, 2000, 393: 171-177

[11] WESNER P, KAYSER H. Characterization of Nicotinic A cetylcholine Receptors from the Insect Aphis craccivora, Myzus persicae and Locusta migratoria by Radioligand Binding Assays: Relation to Thiomethoxan Action [J]. J Biochem Mol Toxicol, 2000, 14: 221-230

[12] LIND R J, CLOUGH M S, REYNOLDS S E, et al. [3H] Imidacloprid Labels High- and Low-affinity Nicotinic A cetylcholine Receptor-like Binding Sites in the Aphid Myzus persicae (Homoptera: Aphididae) [J]. Pestic Biochem Physiol, 1998, 62: 3-14

[13] KOZO S, SHINCHI T, KOICHI M, et al. Nitro- or Cyano-derivatives of 2-In-3-imidazoles and 2-In-4-tetrahydropyrimidines. US 4880933[P]. 1989-11-14

[14] HARADA M, HARATA K, SHIDARA C, et al. Blocking Actions of A lkylene-tethered B is-neonicotinoids on Nicotinic A cetylcholine Receptors Expressed by Terminal Abdominal Ganglion Neurons of Periplaneta americana [J]. Neurosci Lett, 2007, 425(3): 137-140

(Ed JIN SH)