

· 研究简报 ·

天名精内酯酮衍生物合成及其抑菌活性

冯俊涛^a, 张亚梅^b, 王俊儒^{* a b}, 张兴^a

(西北农林科技大学 ^a 无公害农药研究服务中心 陕西省生物农药
工程技术研究中心, ^b 理学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要: 根据天名精内酯酮的分子结构特点, 用 $\text{NaBH}_4/\text{MeOH}$ 选择性还原羰基得到天名精内酯醇和 13-甲氧基天名精内酯醇, 以 MeOH/Mg 还原双键得化合物 11, 13-双氢天名精内酯酮, 以 NaBH_4/Et 还原羰基得到卡拉布烷-3(4)-烯-12, 8 β -内酯, 所有还原产物的结构经 MS、¹H NMR 确认。采用悬滴法测定了合成衍生物对黄瓜炭疽病菌孢子萌发的抑制作用, 结果表明: 天名精内酯酮及其衍生物天名精内酯醇、13-甲氧基天名精内酯醇、11, 13-双氢天名精内酯酮、卡拉布烷-3(4)-烯-12, 8 β -内酯的 EC_{50} 值依次为 7.18、21.67、26.47、40.32 和 42.67 mg/L。结果初步表明 11, 13 双键和 4 位羰基均为天名精内酯酮的主要抑菌活性基团, 且前者对抑菌活性的影响更明显。

关键词: 天名精内酯酮; 结构修饰; 抑菌活性

中图分类号: S481.9/0625.59

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2007)02-0185-04

Synthesis and Antifungal Activities of Carabrone Derivatives

FENG Jun-tao^a, ZHANG Ya-mei^b, WANG Jun-ru^{* a b}, ZHANG Xing^a

(a. Research and Development Center of Bio-rational Pesticide / Shaanxi Province Technology and Engineering Center of Biopesticide, b. The College of Science, Northwest A & F University, Yangling 712100 Shaanxi Province, China)

Abstract Based on the characteristic of carabrone molecule structure, carabrol and 13-methoxycarabrol were obtained by the selective reduction of the saturated carbonyl group with $\text{NaBH}_4/\text{MeOH}$. 11, 13-D hydrocarabrone was synthesized by the selective reduction with MeOH/Mg and carabran-3(4)-en-12, 8 β -olide was obtained with NaBH_4/Et . The chemical structures of four derivatives were confirmed by ¹H NMR and MS. Their biological activities were assayed with the hanging drop method. The tested compounds showed inhibition effects against the spores germination of *Colletotrichum lagenarium*. The EC_{50} values of carabrone and the four derivatives were 7.18, 21.67, 26.47, 40.32 and 42.67 mg/L, respectively. It is proposed that both 11, 13-double bond of carabrone and the 4-saturated carbonyl group are the active sites and the former group had a stronger inhibition effect.

Key words carabrone; structure modification; antifungal activity

寻找高效、低毒、低残留的生物源农药是目前国内外农药学领域研究的热点之一。西北农林科技大学无公害农药研究服务中心在对西北地区的

植物进行抑菌活性筛选中, 发现大花金挖耳 *Carpesium macrocephalum* Franch et Sav. 具有极强的抑菌活性^[1], 并从其花蕾中分离得到大量的倍

收稿日期: 2006-12-21; 修回日期: 2007-04-28

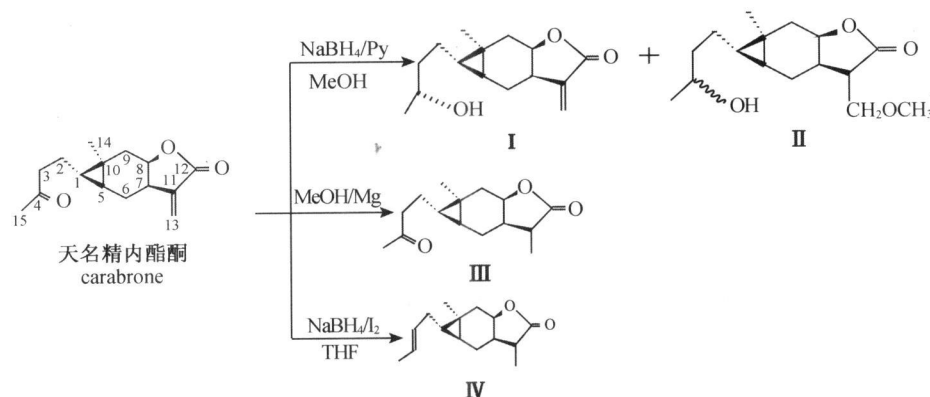
作者简介: 冯俊涛 (1967-), 男, 河南登封人, 博士, 副教授, 主要从事农药学与植物保护学方面的教学与研究工作。E-mail: jfeng@126.com.

* 通讯作者 (Author for correspondence): 王俊儒 (1966-), 男, 陕西杨凌人, 博士, 教授, 主要从事植物资源化学和环境生物学研究。E-mail: wangjr07@163.com.

基金项目: 国家“十五”科技攻关项目 (2002BA516A04); 西北农林科技大学 2006 年度校专项基金 (06ZR019); 校青年学术骨干计划资助。

半萜内酯类化合物^[2],其中含量最为丰富的是卡拉布烷型倍半萜类化合物天名精内酯酮。研究表明,其对中枢神经系统有较显著的作用^[3,4],但有关其农用抑菌活性及其构效关系的研究尚未见报

道。笔者以天名精内酯酮为原料,对其4位羰基、11(13)位的双键进行了选择性还原,并对相应产物的抑菌活性进行了测定。还原反应如下:



1 仪器与材料

1.1 仪器与试剂

Kofler微量熔点仪(温度计未校正); Nicolet 170SX FT-IR 红外光谱仪(KBr压片、涂片); HP 5988A GC-MS 质谱仪; Bruker AM-400型超导核磁共振波谱仪(以 $CDCl_3$ 为溶剂, TMS为内标); 柱层析硅胶(100~200, 200~300目)及薄层层析硅胶GF₂₅₄(10~40 μ m)(青岛海洋化工厂产品); 试剂均为分析纯, 石油醚(60~90 $^{\circ}$ C); 薄层层析(TLC)检测用254 nm紫外灯, 辅以5%硫酸乙醇溶液加热显色, 展开剂比例均以体积比表示。

1.2 实验材料

天名精内酯酮从大花金挖耳, *C. macrocephalum* 中分离得到, 为无色棱状结晶, 经HPLC-MS检测, 纯度为96%; 供试病原菌为黄瓜炭疽病菌 *Colletotrichum lagenarium* (Pass) Ell et Halst 由西北农林科技大学无公害农药研究服务中心提供。

2 合成实验

2.1 $NaBH_4$ /MeOH 体系的选择性还原^[5]

称取992 mg(4 mmol)天名精内酯酮于100 mL圆底烧瓶中, 加入15 mL甲醇, 室温搅拌至溶解, 冰浴下滴加160 mg(4 mmol)硼氢化钠溶于甲醇(30 mL)和吡啶(10 mL)配成的溶液, 滴毕, 0 $^{\circ}$ C下搅拌3 h, 硅胶TLC检测至原料点基本消失(展开剂石油醚-乙酸乙酯=3:1), 得到 R_f 值较原料小的两个斑点。加入60 mL(0.09 mol/L)冷盐酸溶液以

分解未反应的硼氢化钠, 用乙酸乙酯萃取(40 mL \times 3), 水洗至无吡啶。无水硫酸钠干燥, 常温减压脱溶, 得无色油状液体。将反应物溶于少许丙酮后湿法装柱进行快速柱层析分离。依次以石油醚-丙酮=4:1, 2:1进行梯度洗脱, 最后用甲醇冲柱。TLC检测后合并相同组分(展开剂石油醚-丙酮=4:1)。经进一步柱层析(洗脱剂石油醚-丙酮=6:1)得化合物 I 530.7 mg 产率为53.5%; 化合物 II 103.2 mg 产率为10.4%。

2.2 MeOH/Mg 体系的选择性还原^[6]

将248 mg(1 mmol)天名精内酯酮溶解于20 mL甲醇中, 加入50 mg(2.083 mmol)镁粉, 10 $^{\circ}$ C下搅拌反应2 h后经硅胶TLC检测至原料斑点基本消失(展开剂石油醚-丙酮=4:1), 得到 R_f 值较原料大的一个点。减压脱去甲醇, 用氯化铵溶液淬灭未反应的镁。混合物用氯仿(20 mL \times 3)萃取, 有机相经水洗(50 mL \times 3)后减压脱溶, 得乳白色油状液体。将产物溶于少许丙酮后湿法装柱, 依次用石油醚-丙酮=6:1, 4:1进行梯度洗脱。TLC检测后合并相同组分(展开剂石油醚-丙酮=4:1), 用石油醚-丙酮=6:1重结晶得化合物 III 175.8 mg 产率为70.9%。

2.3 $NaBH_4/I_2$ 体系的选择性还原^[5]

称取40 mg(1 mmol)硼氢化钠和248 mg(1 mmol)天名精内酯酮加入到50 mL的圆底烧瓶中, 用10 mL THF溶液溶解。氮气保护, 冰浴搅拌下滴加250 mg(0.984 mmol) I_2 溶解于10 mL THF配成的溶液, 10 min内滴完, 继续反应30 min, TLC检测至原料点基本消失(展开剂为石

油醚-丙酮 = 4:1), 得到较原料 R_f 值大的一个点。用甲醇淬灭至无气泡产生, 减压脱溶, 得橙红色油状液体。经柱层析及重结晶得化合物 IV

104.9 mg 产率为 42.3%。

2.4 天名精内酯酮还原产物的结构鉴定

化合物 II~IV 的 $^1\text{H NMR}$ 和 MS 数据见表 1。

表 1 衍生物的质谱和 $^1\text{H NMR}$ 数据

Table 1 MS and $^1\text{H NMR}$ data of the derivatives

化合物 Compound	MS (EI), m/z (intensity, %)	$^1\text{H NMR}$ (CDCl ₃), δ
13-甲氧基天名精内酯醇 ()	282(M ⁺), 267(M-15),	3.36 (s 3H, H-13), 3.71 (d 1H, H-11), 3.60~3.81 (m, 1H, H-4)
13-Methoxycarabrol ()	19(M-58), 205, 85 (基峰 Base peak)	2.57~2.62 (m, 1H, H-7), 4.80~4.75 (m, 1H, H-8), 1.27 (d 3H, H-15), 1.06 (s 3H, H-14), 0.45 (m, 1H, H-5), 0.32~0.36 (m, 1H, H-1)
11,13-双氢天名精内酯酮 ()	250(M ⁺), 235(M-15),	1.30 (d 3H, H-13), 1.54~1.57 (m, 1H, H-7), 2.73~2.90 (m, 1H, H-11),
11,13-Dihydrocarabrone ()	192(M-58), 177(M-58-15), 43(基峰 Base peak)	4.59~4.76 (m, 1H, H-8), 3.68~2.57 (m, 2H, H-3), 2.19 (s 3H, H-15), 1.03 (s 3H, H-14), 0.43~0.51 (m, 1H, H-5)
卡拉布烷-3(4)-烯-12,8 β -内酯 (IV)	234(M ⁺), 219(M-15),	1.04 (d 3H, H-13), 1.54 (m, 1H, H-7), 4.92 (m, 1H, H-2),
Carabran-3(4)-en-12,8 β -olide (IV)	206(M-15-13), 179(M-55), 85(基峰 Base peak)	4.75 (m, 1H, H-8), 1.20 (s 3H, H-14), 1.34 (s 3H, H-15), 0.46 (m, 1H, H-5), 0.33 (m, 1H, H-1)

化合物 I 为无色油状液体, $[\alpha]_D^{18} + 74.9^\circ$ (CHCl₃, c 0.41)。EIMS 给出的分子离子峰 $[M]^+$ 为 250, 有失水峰 $m/z = 232 [M-H_2O]^+$, 不饱和度为 5; IR、 $^1\text{H NMR}$ 和 $^{13}\text{C NMR}$ (DEPT) 数据与文献值一致^[4], 推断化合物 I 为 4-hydroxycarabran-11(13)-en-12,8 β -olide, 即天名精内酯醇 carabrol。

化合物 II 为无色油状液体, $[\alpha]_D^{18} + 64.9^\circ$ (CHCl₃, c 0.43)。EIMS 给出的分子离子峰 $[M]^+$ 为 282, 有失甲氧基峰 $m/z = 250 [M-CH_3OH]^+$, 结合 $^{13}\text{C NMR}$ 和 DEPT 谱确定其分子式为 C₁₆H₂₆O₄, 不饱和度为 5; IR 谱显示有 γ -内酯 (1740 cm⁻¹)、羟基 (3560 cm⁻¹), 与化合物 I 比较双键信号消失; $^1\text{H NMR}$ 谱和 $^{13}\text{C NMR}$ (DEPT) 谱中 $\delta_{\text{H}} 3.79$ (m)、 $\delta_{\text{C}} 60.3$ 显示有仲醇结构; 与化合物 I 比较, 13 位环外亚甲基信号 $\delta_{\text{H}} 6.13$ (d) 和 $\delta_{\text{C}} 5.58$ (d) 消失, 而出现了甲氧基峰 $\delta_{\text{H}} 3.42$ (s 3H, 13-OCH₃)。综上所述, 推断化合物 II 为 13-甲氧基天名精内酯醇。

化合物 III 无色针状晶体, mp 82~84°C。EIMS 给出的分子离子峰 $[M]^+$ 为 250, 结合 $^{13}\text{C NMR}$ 和 DEPT 谱确定其分子式为 C₁₅H₂₂O₃, 不饱和度为 5; IR 谱显示有 γ -内酯 (1741 cm⁻¹)、开链酮羰基 (1695 cm⁻¹); $^1\text{H NMR}$ 谱中 $\delta_{\text{H}} 2.16$ (s 3H) 是 15-C 上氢的信号峰; 与 I 比较, 化合物 III 没有 $\delta_{\text{H}} 6.13$ (d) 和 $\delta_{\text{C}} 5.58$ (d) 两组环外亚甲基信号峰, 取而代之的是 $\delta_{\text{H}} 1.31$ (d 3H, J = 7 Hz), 此信号为 13-CH₃ 甲基信号峰。由此推断化合物 III 为 11,13-双氢天名精内酯酮。

化合物 IV, 无色油状液体, $[\alpha]_D^{18} + 38.7^\circ$ (CHCl₃, c 1.02)。EIMS 给出的分子离子峰 $[M]^+$ 为 234, 结合 $^{13}\text{C NMR}$ 和 DEPT 谱确定其分子式为 C₁₅H₂₄O₂, 不饱和度为 5。IR 谱显示有 γ -内酯 (1737 cm⁻¹)。与化合物 III 比较, 开链酮羰基信号消失, 出现丙烯基吸收峰 (1594 cm⁻¹)。在 $^1\text{H NMR}$ 谱中, $\delta_{\text{H}} 1.31$ (d 3H, J = 7 Hz) 是 13-CH₃ 甲基峰, $\delta_{\text{H}} 4.51$ (m, 1H)、 $\delta_{\text{H}} 4.17$ (m, 1H) 是 3 位丙烯基吸收峰, $^1\text{H NMR}$ 谱高场区的两组次甲基信号 $\delta_{\text{H}} 0.45$ (m, H-5)、 $\delta_{\text{H}} 0.37$ (m, H-1) 和 $^{13}\text{C NMR}$ (DEPT) 谱中 10 位季碳信号 $\delta_{\text{C}} 17.2$ 证实了三元环结构的存在。由此推断化合物 IV 为卡拉布烷-3(4)-烯-12,8 β -内酯。

3 抑菌活性测定

以黄瓜炭疽病菌为供试病原菌, 采用悬滴法^[7]测试所合成化合物对其孢子萌发的抑制作用。当对照萌发率大于 80% 后, 检查所有处理的萌发率。

从表 2 可以看出, 天名精内酯酮对黄瓜炭疽病菌孢子萌发的抑制毒力最强, EC₅₀ 值为 7.18 mg/L。各还原衍生物的 EC₅₀ 值均高于天名精内酯酮。

上述结果表明, 4 位羰基和 11,13 位双键的还原对化合物的杀菌活性均有较大影响, 其中 11,13 双键的改变对杀菌活性的影响尤其显著。天名精内酯酮、天名精内酯醇 () 对黄瓜炭疽病菌孢子萌发的抑制毒力显著高于其余 3 个化合物, 可见 α -亚甲基- γ -内酯 (C₁₁, C₁₃ 双键) 的存在可能会提

表 2 天名精内酯酮及其衍生物对黄瓜炭疽病菌孢子萌发的抑制毒力

Table 2 Inhibition rates of carabrone and its derivaties against spore bourgeon of Colletotrichum lagenarium

化合物 Compd	回归方程 Regression equation	剂量数 No.	卡方值 χ^2	有效中浓度 EC ₅₀ /(mg/L)	EC ₅₀ 95% 置信限 95% CL/(mg/L)
天名精内酯酮 Carabrone	$Y = 2.7698 + 2.045x$	4	3.21	7.18	6.10~7.85
I	$Y = 1.6193 + 2.5307x$	5	5.02	21.67	20.30~23.05
II	$Y = 2.2052 + 1.9643x$	5	5.24	26.47	24.26~28.88
III	$Y = 2.3119 + 1.6742x$	5	7.07	40.32	36.08~45.07
IV	$Y = 3.1959 + 1.1067x$	5	4.44	42.67	35.71~50.99

注(No te): $\chi^2_{0.05,3} = 4.99$, $\chi^2_{0.05,4} = 7.82$.

高该类化合物的杀菌活性。该结果与倍半萜类化合物结构与抗癌活性及杀虫活性关系的研究结果类似^[8,9]。因此,在进一步研究该类化合物结构与杀菌活性关系时,需尽量保持分子中 α -亚甲基- γ -内酯(C₁₁, C₁₃)不变。另外,从测试结果还可看到,4位基团的改变对化合物杀菌活性亦有较明显的影响,如 C₄ 位引入羰基可提高杀菌活性,而引入羟基或还原为碳碳双键则会降低化合物的活性,对此还有待于进一步深入探讨。

致谢:在实验过程中,兰州大学功能有机分子化学国家重点实验室田喧教授提供了帮助,同时部分工作得到了陕西省中药材指纹图谱与天然产物库研究中心的支持,谨致谢意!

参考文献:

- [1] LI Y u-ping(李玉平), MU X iao-q ian(慕小倩), FENG J un-tao(冯俊涛), et al 几种菊科植物杀菌活性的初步研究 [J]. J Northw est Sci-Tech Univ Agric Fores Nat Sci Ed (西北农林科技大学学报:自然科学版), 2002, 30(1): 68-72.
- [2] FENG J un-tao(冯俊涛). Studies on the Fungicidal Activities of *Carpesium macrocephalum* Franch et Sav (大花金挖耳杀菌作用研究) [D]. Yangling(杨凌): Northwest A & F University (西北农林科技大学), 2006.
- [3] YANG Chao(杨超), WANG X ing(王兴), SHI Y an-ping(师彦平), et al 烟管头草地上部分化学成分的研究 [J]. J Lanzhou Univ: Nat Sci Ed (兰州大学学报:自然科学版), 2002, 38(4): 61-67.
- [4] K M A M, OMURA A S. Carpesiolin from *Carpesium abrotanoides* [J]. Phytochemistry, 1977, 16(4): 7822-783.
- [5] DAS B, VENKATIAH B, KASHINATHAM A. Chemical and Biochemical Modification of Panthenin [J]. Tetrahedron, 1999, 55: 6585-6594.
- [6] CUI Jian-guo(崔建国), CENG Long-mei(曾陇梅), SU Jing-yu(苏镜娱). 多羰基甾酮的选择性还原反应研究 [J]. Chem J Chin Univ (高等学校化学学报), 2003 (4): 639-642.
- [7] MU L i-y i(慕立义), WU W en-jun(吴文君), WANG Kai-yuan(王开远). Methods of Phytochemical Protection (植物化学保护研究方法) [M]. Beijing(北京): China Agric Press(中国农业出版社), 1994: 71-78.
- [8] ZHAO A i-hua(赵爱华), W EI Jun-x ian(魏均娴). 倍半萜类化合物生理活性研究进展 [J]. Natural Product Research and Development (天然产物研究与开发), 1995 7(4): 65-70.
- [9] YUE Ha-i-yang(乐海洋). 菊科杀虫植物的化学及毒理学 [J]. World Pesticides(世界农药), 1997, 19(3): 32-38.

(Ed JIN SH)