

鬼臼毒素类似物结构与杀虫
活性关系初探TQ453.3
TQ450.11

I. 几种衍生物的合成及杀虫活性测试

高蓉¹, 田暄², 张兴¹

(1 西北农林科技大学 无公害农药研究服务中心, 陕西 杨陵 712100;

2 兰州大学 应用有机化学国家重点实验室, 甘肃 兰州 730000)

[摘 要] 以鬼臼毒素为原料合成了几种衍生物, 用质谱和核磁共振鉴定了其结构。以5龄菜青虫(*Pieris rapae*)、3龄小菜蛾(*Plutella xylostella*)和3龄粘虫(*Mythimna separata* Walker)为试虫, 测定了其生物活性。结果表明, 鬼臼毒素类似物对菜青虫表现出明显的结构与活性规律。母体的几种异构体中, 鬼臼毒素的活性最强; 4'位为甲氧基的衍生物较4'位为羟基的活性要高; 内酯环打开的衍生物活性降低。

[关键词] 鬼臼毒素类似物; 构效关系; 植物性杀虫剂; 结构; 杀虫活性; 砂地柏; 筛选
[中图分类号] S482.39 [文献标识码] A

在西北杀虫植物筛选研究中, 发现了一种新的杀虫植物砂地柏(*Sabina vulgaris* Ant.)^[1]。在对其杀虫活性物质研究中分离得到了一种对菜青虫有拒食毒杀活性的物质, 经鉴定为脱氧鬼臼毒素^[2], 属于鬼臼毒素类似物。有关其杀虫活性的研究已有报道^[3], 对家蚕的作用机理也有研究^[4]。鬼臼毒素广泛分布于自然界, 具抗肿瘤活性, 但毒副作用较高, 其类似物作为抗肿瘤药物的研究已经取得了长足进展, 以其为母体开发出了多种抗肿瘤药物^[5]。但很少有人对鬼臼毒素类似物的杀虫活性进行较深入的研究, 特别是关于该类物质的结构与杀虫活性关系的研究甚少。本研究以该类化合物中易得的鬼臼毒素为原料, 设计合成了一系列衍生物, 并对其进行了较系统的生物活性测定, 以期探索鬼臼毒素类似物结构与杀虫活性之间的相关性。

1 鬼臼毒素类似物的结构鉴定

所用仪器为X_i型显微熔点测定仪; VGZAB质谱仪; J-20C型自动记录旋光光谱仪, 可以看出各化合物的质谱数据值与计算值相等; AM-400核磁共振仪。测定结果见表1和表2。由表1的合成鬼臼毒素衍生物的质谱数据和表2中各种衍生物的¹HNMR值及其归属, 确定出各化合物的结构。

[收稿日期] 1999-11-17

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(39970506)

[作者简介] 高蓉(1974—), 女, 博士。

表1 鬼臼毒素衍生物的物理性质及质谱数据

化合物	熔点/℃	比旋光度/ 度	质 谱	
			分子离子峰(离子源)	主 要 峰
鬼臼毒素	114	-133	414(FAB)	415($M^+ + 1$), 396($M^+ - 18(H_2O)$), 398($M^+ - 31(OCH_3)$)
苦鬼臼	218-220	+9	414(FAB)	397($M^+ - H_2O + 1, A + 1$)
表鬼臼	157-158	-74	414(FAB)	397($M^+ - H_2O + 1, A + 1$)
氯代表鬼臼	190-191	-27	432(FAB)	434(同位素峰), 397($M^+ - 35(Cl)$)
乙酰鬼臼酯	210-211	-143	456(FAB)	397($M^+ - 59(CH_3CO_2)$) 351[397-46(OCH_2O)]
丁酰鬼臼酯	57-71	-20	484(FAB)	441($M^+ - 42(C_3H_5)$), 396($M^+ - 88(C_3H_7COOH)$)
脱氧鬼臼	166-168	-116	398(FAB)	367($M^+ - 31(OCH_3)$)
鬼臼脱脒	196-198	-206	446(FAB)	414($M^+ - 32(N_2H_4)$)
苦鬼臼脱脒	165-169	-106	446(FAB)	447($M^+ + 1$), 429($M^+ - (H_2O) + 1$)
4'-去甲表鬼臼	233-244	-69	400(FD)	382($M^+ - 18(H_2O)$)
4'-去甲鬼臼	250-252	-130	400(FAB)	382($M^+ - 18(H_2O)$)
4 β -NH ₂ 去甲表鬼臼	211-214	-51	399(EI)	382($M^+ - 17(NH_3)$)
VP-16	259-260	-110	588(EI)	399($M^+ - 189(Glu)$)
GP-I	146	-161	598(FAB)	—
VPFE	198-200	0	759(FAB)	—

表2 鬼臼衍生物¹HNMR 的数据

化合物	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-8
鬼臼毒素	—	2.82,dd $J_{2,3}=14.2\text{ Hz}$	2.75,m	4.77,t	7.12,s	6.51,s
苦鬼臼毒素	4.1,d	3.24,dd $J_{2,3}=4.6\text{ Hz}$	2.47,dd		7.05,s	6.38,s
表鬼臼	4.62,d	3.27,d $J_{2,3}=9.6\text{ Hz}$	2.84,d	4.87,s	6.68,s	6.55,s
乙酰化鬼臼	4.62,d	2.92,d $J_{2,3}=13.6\text{ Hz}$	2.63,m	—	6.75,s	6.54,s
4 β -NH ₂ -4'	4.55,d	3.28,dd	2.85,m	4.20	6.81,s	6.49,s
去甲表鬼臼	$J_{2,3}=5.2\text{ Hz}$			$J_{2,3}=4.0\text{ Hz}$		
鬼臼脱脒	4.80,d	3.25,dd	2.78~2.87,m	4.87,s	6.68,s	6.55,s

化合物	H-11'	H-11''	H-2', H-6'	OCH ₂ O	4'-OMe	3',5'OMe	其他
鬼臼毒素	4.60,s	4.08 m	6.37,d	5.97,d	3.61,s	3.75,s	—
苦鬼臼毒素	4.52,m		6.45,d	5.94,d	3.65,s	3.62,s	—
表鬼臼	4.34—4.39,m		6.27,s	4.36,m	3.79,s	3.74,s	—
乙酰化鬼臼	4.38,m	4.20,m	6.38,s	5.98,d	3.82,s	3.76,s	2.16,s
4 β -NH ₂ -4'	4.28,d	—	—	5.96,t	—	3.77 s	—
去甲表鬼臼	$J_{2,3}=9.51\text{ Hz}$						
鬼臼脱脒	4.40~4.43,m		6.29,s	5.95,d	3.77	1.59NH	1.79OH 5.42 NH

2 试验方法

2.1 鬼臼毒素衍生物的合成

苦鬼臼、表鬼臼、鬼臼酯、脱氧鬼臼毒素的制备参见文献[6~9]。GP-1、GP-7、二氯乙酰化 VP-16、VPFE、鬼臼酰胺、4'-去甲表鬼臼等由兰州大学化学系有机分析组提供。

2.2 鬼臼毒素类似物的生物活性测定

菜青虫、小菜蛾的生物测定分别采用文献[10]和[11]的方法进行。粘虫的生物测定方法为:在直径 9 cm 的养虫盒底部铺 1 层滤纸,加水保湿,每盒中放入 5 头饥饿 12 h 的 3 龄粘虫。用丙酮将样品稀释成一定浓度的溶液,将新鲜小麦叶剪成 1 cm×2 cm 的叶片,于药液内浸 1~2 s,晾干后放入盒内。每样品设 6 个重复(即用试虫 30 头),记录 48 h 试虫的取食情况,按下列公式计算 48 h 拒食率。

$$\text{拒食率} = \frac{\text{对照平均取食量} - \text{处理平均取食量}}{\text{对照平均取食量}}$$

3 结果与讨论

鬼臼毒素及其类似物的结构和结构通式见图 1,表 3 和表 4。

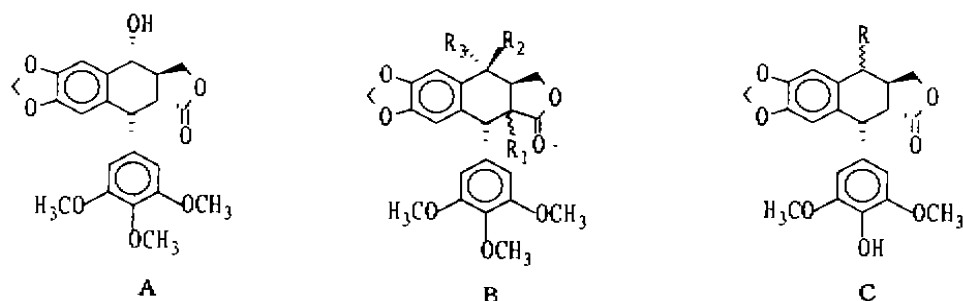


图 1 鬼臼毒素及其类似物化学结构及通式

A. 鬼臼毒素; B. 4'-甲氧基的鬼臼毒素类似物; C. 4'-羟基的鬼臼毒素类似物

表 3 4'-甲氧基鬼臼类似物的结构(与图 1-B 对应)

化合物	鬼臼毒素	表鬼臼	苦鬼臼	氯代表鬼臼	乙酰化鬼臼	丁酰化鬼臼	脱氧鬼臼
R ₁	βH	βH	αH	βH	βH	βH	βH
R ₂	H	OH	H	Cl	H	H	H
R ₃	OH	H	OH	H	OOCCH ₃	OOCCH ₂ H ₇	H

注:β和α分别表示立体构型为β型和α型,下表同。

表 4 4'-去甲氧鬼臼类似物的结构(与图 1-C 对应)

化合物	4'-去甲鬼臼	4'-去甲表鬼臼	4β-氨基-4'-去甲表鬼臼	二氯乙酰化 VP-16	GP-7	VP-16
R	αOH	βOH	βNH ₂	β	β	β

3.1 鬼臼毒素异构体的生物活性

鬼臼毒素异构体的杀虫活性的测定结果(表5)表明,具反式内酯环的鬼臼毒素和表鬼臼在4 g/L的质量浓度下对5龄菜表虫拒食率均大于95%而基本无差异,而与具顺式内酯环的苦鬼臼的拒食率相比却差异显著,初步说明鬼臼毒素类似物的反式内酯环对于拒食活性贡献较大。同时,鬼臼毒素对5龄菜青虫的生长发育抑制活性较2位和4位分别异构的苦鬼臼、表鬼臼高,表鬼臼的活性略高于苦鬼臼,进一步说明反式内酯环对提高活性的作用。鬼臼毒素和表鬼臼对菜青虫生长发育抑制作用的不同初步表明,在保证反式内酯环的情况下,4位异构对活性也有影响。通过3种异构体的校正死亡率和MID值的比较可以看出,鬼臼毒素的药效高,作用速度快,其他2种异构体的活性均不如鬼臼毒素。对小菜蛾和粘虫的活性测试结果也说明了这一点。

表5 鬼臼毒素异构体的杀虫活性

化合物	菜青虫					小菜蛾		粘虫 48 h 拒食率/%
	48 h 拒食率/%	发育指数/%	发育抑制率/%	校正死亡率/%	MID 值	48 h 拒食率/%	最终死亡率/%	
鬼臼毒素	96.0 a	20.0	77.8	100.0	0.44	56.3	73.3	56.0
表鬼臼	99.7 a	77.5	13.9	37.5	2.52	24.9	0	42.8
苦鬼臼	69.7 b	77.5	13.9	25.0	1.84	49.0	40.0	37.7

注:①测定时, $t=(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$, R. H. = 65%~80%。②每处理用试虫菜青虫10头,小菜蛾3个重复,每重复10头,粘虫6个重复,每重复5头。③各样品质量浓度均为4 g/L。④拒食率后的相同字母表示方差分析(DMRT)在5%水平上无显著差异,下表同。

3.2 4'-去甲及4'-甲氧基鬼臼类似物的杀虫活性

4'-去甲及4'-甲氧基鬼臼类似物的杀虫活性的测定结果(表6)表明,4'-去甲鬼臼类衍生物对菜青虫的拒食率较低,与4'-甲氧基鬼臼类衍生物的拒食率有明显差异,对菜青虫和小菜蛾的最终死亡率也降低,说明4'-甲氧基对于杀虫活性贡献较大。

表6 4'-去甲及4'-甲氧基鬼臼类似物的杀虫活性

化合物	菜青虫					小菜蛾		粘虫 48 h 拒食率/%
	48 h 拒食率/%	发育指数/%	发育抑制率/%	校正死亡率/%	MID 值	48 h 拒食率/%	最终死亡率/%	
鬼臼毒素	96.0a	20.0	77.8	100.0	0.44	56.3	73.3	56.0
表鬼臼	99.7a	77.5	13.9	37.5	2.52	24.9	0	42.8
氯代表鬼臼	96.1a	60.0	33.3	50.0	1.34	25.4	20.0	40.5
乙酰化鬼臼	96.8a	0	100.0	100.0	0	42.3	26.7	74.8
丁酰化鬼臼	98.2a	42.5	52.8	75.0	1.20	47.6	47.7	69.3
脱氧鬼臼	97.9a	0	100.0	100.0	0	76.3	4.9	76.3
4'-去甲鬼臼	83.5b	77.5	13.9	25.0	1.84	21.5	20.0	40.2
4'-去甲表鬼臼	58.1d	77.5	13.9	25.0	1.84	37.7	27.8	40.2
4β-氨基-4'-去甲表鬼臼	52.6d	80.0	19.4	37.5	1.93	16.6	35.8	25.5
二氯乙酰化 VP-16	48.2d	55.0	33.9	37.5	0.50	50.0	26.8	32.2
GP-7	85.2b	77.5	13.9	25.0	1.84	32.5	24.4	28.2
VP-16	70.0c	55.5	38.3	44.5	0.56	41.6	42.5	30.5

3.3 内酯环打开的鬼臼类似物及其他类型的化合物构效关系

各化合物的结构式见图 2, 杀虫活性见表 7。

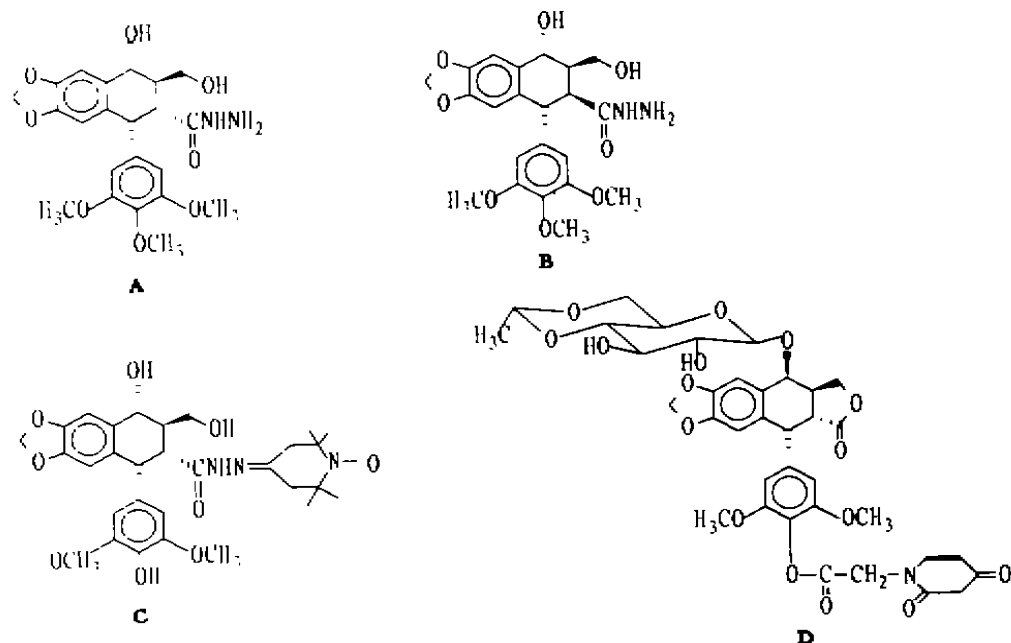


图 2 内酯环打开的鬼臼类化合物化学结构

A. 鬼臼酞肼; B. 苦鬼臼酞肼; C. GP-1; D. VPFE

表 7 内酯环打开的鬼臼类似物的生物活性

化合物	菜青虫					小菜蛾		粘虫 48 h 拒食率/%
	48 h 拒食率/%	发育指数/%	发育抑制率/%	校正死亡率/%	MID 值	48 h 拒食率/%	最终死亡率/%	
鬼臼酞肼	95.4	32.5	63.9	87.5	1.08	39.6	36.7	30.5
苦鬼臼酞肼	70.2	87.5	2.8	12.3	3.10	37.5	45.7	20.3
GP-1	79.2	50.0	44.4	50.0	0.45	45.2	35.5	38.2
VPFE	57.3	90.0	0	0	4.0	18.6	26.3	10.0

表 7 结果表明, 开环化合物中仅鬼臼酞肼的拒食率较高, 而 GP-1 的 MID 值最小, 表明速效性较好。但这些开环化合物的其他活性指标都不高, 说明内酯环对于生物活性的重要性。

4 结 论

从本项研究结果可以看出, 鬼臼毒素类似物的结构与活性具有一定的规律性: 4' 位甲氧基衍生物活性高于 4' 位羟基的衍生物; 内酯环打开的化合物生物活性较低。

[参考文献]

- [1] 张 兴,付昌斌,高聪芬,等.新杀虫植物砂地柏研究进展[J].西北农业大学学报,1994,23(4):53—57.
- [2] 张 兴,高 蓉,田 晔,等.砂地柏果实中杀虫活性成分的结构鉴定[J].西北农业大学学报,1999,27(4):16—18.
- [3] Russell G B,Prutam S. Fenemore insect control chemicals from plants[J]. Aust J Biol Sci,1976,29:99—103.
- [4] Inamori Y, Kubo M, Tsujibo H. Mechanisms of insecticidal action of deoxypodophyllotoxin[J]. Chem Pharm Bull,1986,34(5):2247—2250.
- [5] Stalielin H, Von W. Podophyllotoxin glucoside to etoposide[J]. Progress in Drug Research, 1989,33:196—266.
- [6] Gensler W J, Gatsonis C D. The podophyllotoxin-picropodophyllin equilibrium[J]. Org Chem,1966,31(10):3224—3227.
- [7] Jonathan L H, Anthony W S. Components of podophyllin V. The constitution of podophyllotoxin[J]. Amer Chem Soc,1951,13(3):2909—2916.
- [8] Ron K L, Iris H H, Kuo-Hsiung L. Antitumor agents [XII. Synthesis and biological evaluation of podophyllotoxin esters and related derivatives[J]. Pharm Sci,1983,72(10):1158—1161.
- [9] Anthony W S, Mary M T, Jonathan L H. Components of podophyllin XIX. isomorphism in the podophyllotoxin series[J]. Org Chem,1956,21(3):292—294.
- [10] 张 兴.缓效型杀虫剂室内生物测定的药效计算和评价[J].北京农业科学,1989,(3):6—10.
- [11] 余向阳,张 兴.砂地柏果实提取物的杀虫活性初探[J].西北农业大学学报,1999,27(2):96—99.

A study on the relationship between structure and insecticidal activity of podophyllotoxin analogues

I. The synthesis of podophyllotoxin analogues and their insecticidal activities

GAO Rong¹, TIAN Xuan², ZHANG Xing¹

(1 Research and Development Center of Biorational Pesticide, Northwest science and technology University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi, 712100, China;

2 National Laboratory of Applied Organic Chemistry, Lanzhou University, Lanzhou, Gansu, 730000, China)

Abstract: Some derivatives of podophyllotoxin were synthesized and characterized. Their bioactivity against *Pieris rapae*, *Plutella xylostella* and *Mythimna separata* were detected. The result showed that the relationship between structure of podophyllotoxin analogues and their insecticidal activity was very obvious. Podophyllotoxin was more potent than picropodophyllotoxin and epipodophyllotoxin. The insecticidal activity of 4'-hydroxyl series was lower than that of 4'-oxymethyl series. The open derivative's lactone ring could low its insecticidal activity.

Key words: podophyllotoxin analogues; structure-activity relationship; botanical insecticide