

孔 学,陈贯虹,王加宁,等. 6-甲基-2-吡喃酮衍生物的合成与生物活性[J]. 江苏农业科学,2013,41(8):146-148.

6-甲基-2-吡喃酮衍生物的合成与生物活性

孔 学¹,陈贯虹¹,王加宁¹,黄玉杰¹,郑立稳¹,王建武²

(1. 山东省应用微生物重点实验室/山东省科学院生物研究所,山东济南 250014; 2. 山东大学化学与化工学院,山东济南 250061)

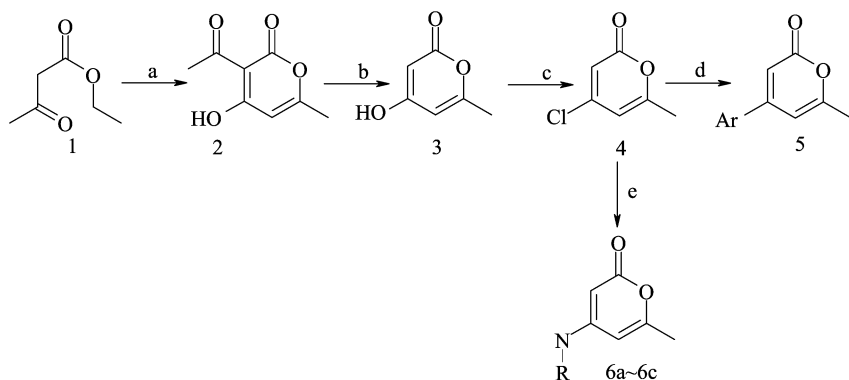
摘要:以乙酰乙酸乙酯为原料,通过合环、脱乙酰化、氯取代、芳环取代、N-取代反应,先后得到 6-甲基-4-羟基-2-吡喃酮、6-甲基-4-氯-2-吡喃酮及其 6-甲基-4-烷基-2-吡喃酮衍生物,并进行了抑菌生物活性测试。产物的结构经过 ¹H NMR 和 MS 进行表征。结果表明,部分化合物对立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)与串珠镰刀菌(*Fusarium moniliforme*)具有一定的抑制活性。

关键词:吡喃酮;合成;抑菌活性

中图分类号: TQ460.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)08-0146-02

6-戊基-2H-吡喃-2-酮(6PP)是木霉菌(*Trichoderma* spp.)产生的一种吡喃酮类抗生素,它具有广谱性,良好的适应性及多机制性等特点,是一个潜在的高效先导化合物。近年来国内外众多文献报道了以吡喃酮为骨架的 6-戊基-2H-吡喃-2-酮能显著抑制诸如白绢病菌(*Sclerotium rolfsii*)、甘薯丝核菌(*Rhizoctonia bataticola*)、菜豆壳孢菌(*Macrophomina phaseolina*)、灰霉菌(*Botrytis cinerea*)等多种植物病原真菌的生长^[1-5]。目前 6PP 主要是通过木霉菌在土壤中实现其生物合成,化学合成 6PP 原料价格昂贵,产率较低。张弛等以糠醛为原料,经 5 步反应合成了 6PP,收率为 29.4%^[6]。陈凯等采用菌丝速率法测定了 20 μg/mL 5, 6-

二氢-6-戊基-吡喃-2-酮对 11 种植物病原真菌的抑制作用,防治效果均较好^[5]。Chattapadhyay 等合成了一系列 4-甲基-6-烷基-α-吡喃酮衍生物,发现 4-甲基-2-丁基-2-吡喃酮、4-甲基-6-戊基-2-吡喃酮、4-甲基-6-己基-2-吡喃酮对瓜果腐霉菌、立枯丝核菌、德巴利腐霉等病原真菌均具有良好的抑制作用^[7]。本研究设计合成了 6 个 6PP 衍生物 6-甲基-2-吡喃酮类化合物,并进行结构表征,合成路线见图 1。部分该系列化合物对立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)与串珠镰刀菌(*Fusarium moniliforme*)具有较好的抑制活性,其中化合物 4 当浓度为 100 μg/mL 时,对立枯丝核菌的抑菌率达 100%。



6a: R=CH₃(CH₂)₂; 6b: R=CH₃(CH₂)₃; 6c: NR=1-甲基环己胺; a. NaHCO₃ 200~210℃; b. H₂SO₄(90%) 130℃ 15 min; c. POCl₃ R.T.; d. phenylboronic acid, potassium carbonate, palladium, methanol, R. T. 24 h; e. ethanol reflux

图1 目标化合物的合成路线

1 试验部分

1.1 仪器和试剂

X-4 数字显示显微熔点测定仪(北京泰克仪器有限公司),温度计未经校正;AV DPX300 核磁共振仪(德国布鲁克公司),TMS 为内标;Q-TOF6510 质谱仪(美国安捷伦公司),试剂均为市售分析纯。

1.2 化合物的合成

1.2.1 3-乙酰基-4-羟基-6-甲基-2-吡喃酮(2)的合成 将 100 g(0.78 mol)新蒸乙酰乙酸乙酯和 0.5 g 碳酸氢

收稿日期:2013-03-12

基金项目:国家科技支撑计划(编号:2011BAE06B04-11);山东省科技发展计划(编号:2011GNC11101);山东省优秀中青年科学家科研奖励基金(编号:BS2001NY015)。

作者简介:孔 学(1980—)女,山东邹平人,硕士,副研究员,从事生物农药研究。Tel:(0531)82605925;E-mail:swhg@sdas.org。

通信作者:王加宁,博士,研究员,主要从事生物农药创制与环境生态修复研究。Tel:(0531)81957820;E-mail:wangjn@sdas.org。

钠加热至 200 ~ 210 ℃,加热 7 h,过程中有 72 ℃ 蒸馏物蒸出,约 27 g(多为乙醇),反应物变为深棕色,减压蒸馏,收集 140 ℃ - 12 mm 馏分,得到产物 2, 34 g (53%), mp. 104 ~ 110 ℃,乙醇重结晶,得 27 g, mp. 107 ~ 108 ℃。

¹H - NMR (300 MHz, CDCl₃) : 2. 271 (d, 3H, CH₃), 2. 666 (s, 3H, CH₃), 5. 935 (s, 1H, Ar - CH)。

1. 2. 2 6 - 甲基 - 4 - 羟基 - 2 - 吡喃酮(3)的合成 将 50 g (290 mmol)化合物 2 溶于 150 g 90% H₂SO₄ 中,将混合物加热至 130 ℃ 并保持 15 min,反应瓶快速冷却,将反应物倒入 200 mL 冰冷水中,沉淀物抽滤,用 2 × 15 mL 冷水洗涤,彻底干燥,得化合物 3,白色固体, 36 g (90%), mp. 188 ~ 189 ℃; ¹H - NMR (300 MHz, CDCl₃) 化学位移: 2. 245 (s, 3H, CH₃), 5. 484 (d, 1H, CH), 5. 885 (s, 1H, CH), 1. 557 (s, 1H, H₂O, 加重水消失); HR - MS (ESI) *m/z* 127. 039 8 (M + H⁺, 100%)。

1. 2. 3 4 - 氯 - 6 - 甲基 - 2 - 吡喃酮(4)的合成 将 4 - 羟基 - 6 - 甲基 - 2 - 吡喃酮(2. 5 g, 0. 02 mol)加入 50 mL 圆底烧瓶中,继续加入三氯氧磷 15 mL,室温搅拌反应 24 h,用 20% HCl 缓缓淬灭,然后用 100 mL 乙酸乙酯萃取 3 次,合并有机相,用无水硫酸钠干燥,抽滤,旋转蒸发浓缩,最后柱色谱分离得到产品。流动相 E : P = 1 : 8,产品的荧光点荧光较弱,产率 80%, mp. 85 ~ 86 ℃。

¹H - NMR (300 MHz, CDCl₃) 化学位移: 2. 267 (s, 3H, CH₃), 6. 068 (d, 1H, CH), 6. 240 (d, 1H, CH); HR - MS (ESI) *m/z* 145. 0045 (M + H⁺, 100%)。

1. 2. 4 4 - 苯基 - 6 - 甲基 - 2 - 吡喃酮(5)的合成 将上一步得到的产品 4 - 氯 - 6 - 甲基 - 2 - 吡喃酮(0. 35 g, 0. 002 4 mol)加入 50 mL 圆底烧瓶中,再加入苯代硼酸(0. 3 g, 0. 002 4 mol),碳酸钾(0. 5 g, 0. 003 6 mol)、钯碳(0. 45 g, 0. 000 24 mol)至 30 mL 甲醇中,室温搅拌反应 24 h,抽滤除去固体,用乙酸乙酯萃取,浓缩,柱色谱分离得到产品,反应的荧光点较多。收率 45%, mp. 92 ~ 94 ℃。

¹H - NMR (300 MHz, CDCl₃) : 2. 232 8 (s, 3H, CH₃), 6. 309 (s, 1H, CH), 6. 359 (s, 1H, CH), 7. 499 (m, 5H, Ar - CH)。

1. 2. 5 4 - 丙胺基 - 6 - 甲基 - 2 - 吡喃酮(6a)的合成 将 4 - 氯 - 6 - 甲基 - 2 - 吡喃酮(10 mmol)和正丙胺(20 mmol)加入 50 mL 圆底烧瓶中,继续加入 30 mL 无水乙醇,加热回流 3 h,冷却到室温,加入 15 mL 水,用 100 mL 二氯甲烷萃取 3 次,合并有机相,用无水硫酸钠干燥,过滤,旋转蒸发浓缩,最后柱色谱分离得到产品,收率 65%。

¹H - NMR (300 MHz, CDCl₃) : 0. 978 (t, 3H, CH₃), 1. 628 (m, 2H, CH₂), 2. 144 (s, 3H, CH₃), 3. 079 (t, 2H, CH₂), 4. 781 (s, 1H, CH), 4. 969 (d, 1H, CH), 5. 545 (s, 1H, NH)。

1. 2. 6 4 - 丁胺基 - 6 - 甲基 - 2 - 吡喃酮(6b)的合成 将 4 - 氯 - 6 - 甲基 - 2 - 吡喃酮(10 mmol),正丁胺(20 mmol)加入 50 mL 圆底烧瓶中,继续加入 30 mL 无水乙醇,加热回流 3 h,冷却至室温,加入 15 mL 水,用 100 mL 二氯甲烷萃取 3 次,合并有机相,用无水硫酸钠干燥,过滤,旋转蒸发浓缩,最后柱色谱分离得到产品。

¹H - NMR (300 MHz, CDCl₃) : 0. 951 (t, 3H, CH₃), 1. 380 (m, 2H, CH₂), 2. 92 (s, 3H, CH₃), 3. 119 (m, 2H, CH₂), 4. 495 (s, 1H, CH), 4. 970 (d, 1H, CH), 5. 592 (s, 1H, NH)。

1. 2. 7 4 - (2 - 甲基)哌啶基 - 6 - 甲基 - 2 - 吡喃酮(6c)的合成 将 4 - 氯 - 6 - 甲基 - 2 - 吡喃酮(10 mmol)和 2 - 甲基哌啶(20 mmol)加入 50 mL 圆底烧瓶中,继续加入 30 mL 无水乙醇,加热回流 3 h。冷却至室温,加入 15 mL 水,用 100 mL 二氯甲烷萃取 3 次,合并有机相,用无水硫酸钠干燥,过滤,旋转蒸发浓缩,最后柱色谱分离得到产品。

¹H - NMR (300 MHz, CDCl₃) : 1. 200 (d, 3H, CH₃), 1. 534 (m, 1H), 1. 702 (m, 5H), 2. 204 (s, 3H, CH₃), 2. 467 (s, 1H), 3. 029 (t, 1H), 3. 600 (d, 1H), 4. 131 (t, 1H), 5. 299 (s, 1H), 5. 891 (s, 1H)。

2 生物活性测定

供试病原菌:立枯丝核菌与串珠镰刀菌。采用生长速率法,将待测药剂与冷却后的 PDA 培养基混合均匀倾倒入平板,待测药剂浓度分别为:50、100 μg/mL,接种供试病原菌,28 ℃ 培养 3 ~ 5 d,记录病原菌生长情况,以多菌灵为对照。

抑制率 = $\frac{(\text{对照直径} - \text{接种时直径})^2 - (\text{处理菌直径} - \text{接种时直径})^2}{(\text{对照直径} - \text{接种时直径})^2} \times 100\%$

3 结果

由表 1 和表 2 可以看出,当化合物 4 浓度为 50 μg/mL 时,对立枯丝核菌和串珠镰刀菌的抑菌率分别为 73. 87% 和 83. 33%,当化合物 4 浓度为 100 μg/mL 时,对上述 2 种病原真菌的抑菌率分别为 100% 和 97. 92%。

表 1 50 μg/mL 吡喃酮衍生物对病原真菌的抑菌效果

化合物	立枯丝核菌		串珠镰刀菌	
	病原真菌菌落半径 (cm)	抑菌率 (%)	病原真菌菌落半径 (cm)	抑菌率 (%)
2	1. 87	49. 55	1. 03	35. 42
3	3. 30	10. 81	1. 40	12. 5
4	0. 97	73. 87	0. 27	83. 33
5	1. 67	52. 38	0. 83	44. 44
6a	3. 23	12. 61	1. 23	22. 92
6b	3. 10	16. 21	1. 53	4. 17
6c	3. 10	16. 21	1. 53	4. 17
多菌灵	0	100	0	100
PDA (乙醇)	2. 37	36. 03	1. 60	—
PDA	3. 67		1. 57	

表 2 100 μg/mL 吡喃酮衍生物对病原真菌的抑菌效果

化合物	立枯丝核菌		串珠镰刀菌	
	病原真菌菌落半径 (cm)	抑菌率 (%)	病原真菌菌落半径 (cm)	抑菌率 (%)
2	1. 03	72. 08	0. 90	43. 75
3	3. 47	6. 31	1. 57	2. 08
4	0	100	0. 03	97. 92
5	0. 5	85. 71	0. 4	73. 33
6a	2. 6	29. 73	1. 23	22. 92
6b	3. 13	15. 32	1. 40	12. 50
6c	2. 67	27. 93	1. 33	16. 67
多菌灵	0	100	0	100
PDA (乙醇)	2. 37	36. 03	1. 60	—
PDA	3. 67		1. 57	

尤 江,郭宏霞,张玉粉,等. 野生与人工种植伏毛铁棒锤对枸杞蚜虫的杀虫活性比较[J]. 江苏农业科学,2013,41(8):148-149.

野生与人工种植伏毛铁棒锤对枸杞蚜虫的杀虫活性比较

尤 江¹, 郭宏霞¹, 张玉粉¹, 郝凤霞¹, 杨敏丽²

(1. 宁夏大学能源化工重点实验室, 宁夏银川 750021; 2. 上海师范大学生命与环境科学学院; 上海 200234)

摘要:采用点滴法测定了野生与人工种植伏毛铁棒锤的乙醇提取物及生物碱对枸杞蚜虫的杀虫活性。结果表明:野生与人工种植的伏毛铁棒锤乙醇提取物对枸杞蚜虫的杀虫活性 72 h 校正死亡率分别 91.11%、93.33%, LC_{50} 值分别为 9.923、9.738 g/L;野生与人工种植的伏毛铁棒锤生物碱对枸杞蚜虫的触杀活性 72 h 校正死亡率分别为 96.67%、97.78%, LC_{50} 值分别为:2.204、2.220 g/L,野生与人工种植伏毛铁棒锤对枸杞蚜虫的杀虫活性相近。

关键词:野生;人工种植;伏毛铁棒锤;枸杞蚜虫;杀虫活性

中图分类号: S435.671 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)08-0148-02

枸杞为茄科多年生落叶灌木,是一种名贵的中药材,宁夏是枸杞原产地,生产的枸杞品质远远胜过其他地区生产的枸杞。枸杞因茎叶繁茂、果汁甘甜、营养丰富,易遭受多种病虫害的危害,造成枸杞减产甚至绝收。枸杞蚜虫是枸杞的重要害虫之一,繁殖能力强,危害时间长,对农药的抗性产生快,因此,采用化学农药防治枸杞蚜虫的困难越来越大^[1],而植物源农药因其来源于自然界,在环境中易降解,残留低,具有良好环境相容性而引起人们的重视^[2],新型植物源农药的开发利用前景十分广阔。

伏毛铁棒锤是中国传统民族药材之一,主要用于风湿性关节炎、筋断骨折、跌打瘀痛等疾病的治疗^[3],其主要活性成分乌头碱、3-乙酰乌头碱、去氧乌头碱等生物碱类^[4]是一类重要的植物源杀虫剂,且具有很好的防治效果^[5]。长期以来,伏毛铁棒锤一直以野生品入药,但随着采挖量的日益增加,野生资源日趋枯竭,生态环境受到极大破坏。为深入了解野生与人工种植伏毛铁棒锤的性质,旨在保护野生资源和生态环境,我们比较研究了野生与人工种植的伏毛铁棒锤乙醇提取物及生物碱对枸杞蚜虫的杀虫活性,分析比较两者之间

的差异性,为开展人工规范化种植和合理开发利用伏毛铁棒锤这一植物源农药资源提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

枸杞蚜虫:采自宁夏银川市郊枸杞园未喷施农药的活体枸杞树,实验时挑取生长发育状态一致的无翅健康蚜虫。

野生伏毛铁棒锤采自甘肃。人工种植伏毛铁棒锤采自宁夏固原市隆德县境内。伏毛铁棒锤阴干,粉碎,过 40 目筛,粉末装入塑料薄膜袋中密封并置于阴暗处保存。

1.2 方法

1.2.1 伏毛铁棒锤乙醇提取物的制备 采用乙醇浸渍超声法:分别称取 100 g 野生与人工种植伏毛铁棒锤的粉碎物,加 10 倍量 95% 的乙醇,室温浸泡 24 h 后超声提取 30 min,过滤,滤渣再加溶剂浸提,重复提取 3 次,合并 3 次滤液。滤液用旋转蒸发仪减压浓缩,蒸干溶剂,得乙醇提取物。各称取野生与人工种植伏毛铁棒锤乙醇提取物浸膏,用 50% 丙酮为溶剂,分别配制成质量浓度为 25.00、20.00、15.00、10.00、5.00 g/L 的供试药液,置于 4 ℃ 冰箱备用。

1.2.2 伏毛铁棒锤生物碱的制备 伏毛铁棒锤乙醇提取物用 2% 盐酸调至弱酸性,用乙酸乙酯萃取掉脂溶性杂质,酸水层加浓氨水调节 pH 值为 9~10,再用氯仿进行萃取直至用碘化铋钾检验无生物碱为止,合并萃取液,减压浓缩得生物总碱。各称取野生与人工种植伏毛铁棒锤生物碱浸膏,用 50%

收稿日期:2012-01-28

基金项目:宁夏自然科学基金(编号:NZ1135)。

作者简介:尤 江(1987—),女,宁夏中宁人,硕士研究生,主要研究方向为植物源农药的研究与开发。Tel:(0951)2062322;E-mail:youjiang_hi@163.com。

通信作者:郝凤霞。E-mail:hao_fx@nxu.edu.cn。

参考文献:

- [1] Reino J, L., Guerrero R F, Hernández - Galán R, et al. Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma* [J]. *Phytochemistry Reviews*, 2008, 7: 89 - 123.
- [2] Evidente A, Cabras A, Maddau L, et al. Viridenepoxydiol, a new pentasubstituted oxiranyldiene produced by *Trichoderma viride* [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(18): 6588 - 6592.
- [3] Stephen R P, Horace G C. Biological activity of 6 - pentyl - 2H - pyrane - 2 - one and its analogs [J]. *Food Chemistry*, 1997, 45: 2774 - 2776.

- [4] Hasan A E, Walker F, Schone J, et al. Antagonistic effect of 6 - pentyl - alpha - pyrone produced by *Trichoderma harzianum* toward *Fusarium moniliforme* [J]. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 2007, 114(2): 62 - 68.
- [5] 陈 凯, 李纪顺, 杨合同, 等. 0.2% α - 吡喃酮 WP 对植物病原真菌的防治效果 [J]. *农药*, 2006, 45(9): 632 - 633.
- [6] 张 弛, 张芳宁, 王学超, 等. 天然物 6 - 正戊基吡喃 - 2 - 酮 (6PP) 的全合成 [J]. *高等学校化学学报*, 1997, 18(8): 1335 - 1336.
- [7] Chattapadhyay T K, Dureja P. Antifungal activity of 4 - methyl - 6 - alkyl - 2H - pyran - 2 - ones [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(6): 2129 - 2133.