

文章编号: 1673-9868(2008)08-0052-05

姜黄素双胍酯衍生物的 合成与生物活性研究

罗金香, 丁伟, 张永强, 吴静,
周刚, 王岚, 张珊

西南大学植物保护学院, 重庆 400715

摘要: 采用生物活性因子拼接的方法将活性基团胍酯引入植物源活性化合物姜黄素中对其结构进行修饰, 通过胍化、酰化、最后酯化合成目标化合物姜黄素二苯甲胍酯和姜黄素二对氯苯甲胍酯, 其结构经 IR 和 ^1H NMR 确证。初步生物活性测试结果表明: 姜黄素和目标化合物在浓度为 500 mg/L 条件下对 6 种植物病原菌的抑菌活性都较小, 分别在 1.6%~11.1% 和 -0.5%~15.2% 之间; 在浓度为 1 250 mg/L 时, 目标化合物对朱砂叶螨的触杀效果较姜黄素显著提高。药剂处理后 48 h 时, 姜黄素对朱砂叶螨的校正死亡率为 12.5%, 目标化合物的校正死亡率在 48.5%~82.6% 之间; 72 h 时, 姜黄素对朱砂叶螨的校正死亡率上升为 19.3%, 而目标化合物的校正死亡率则高达 92.4%~97.0%。

关键词: 姜黄素; 胍酯; 合成; 生物活性

中图分类号: O621.3

文献标识码: A

姜黄素是从中药植物姜黄(*Curcuma longa* L.) 中提取得到的一种新型天然活性化合物^[1], 在医药上具有多种药理作用, 如降血脂、抗动脉粥样硬化、消炎、杀菌和抗癌等^[2, 3]。此外, 姜黄素在食品中可防止亚油酸自动氧化, 并有防癌、抗癌的作用, 因此其作为天然优质的食品色素已被广泛应用^[4]。近年的研究发现, 姜黄提取物对多种害虫和病菌具有明显的驱避、拒食、熏蒸、生长抑制和杀菌等生物活性, 主要的活性物质是姜黄素类化合物^[5, 6]。

胍酯类化合物是一类重要的活性化合物, 多具有杀虫活性, 也具有抑菌、杀病毒及除草活性, 大多数有高效、低毒、低残留等优点。胍酯类化合物中最引人注目的是氨基甲酸酯类杀虫剂, 如涕灭威(aldicarb)、灭多威(methomyl)和硫双灭多威(thiodicarb)等品种, 胍磷酸酯类杀虫剂如辛硫磷(phoxim)、甲基辛硫磷(phoximethyl)等品种, 有的年产规模达 10^7 kg 以上, 至今仍在国内外大量使用。具有抑菌及除草活性的胍酯类化合物, 如韩国 LG 公司开发的除草剂 pyribenzoxim 具有胍酯结构, Yamada 等^[7]发现三氯丙烯酸酮胍酯及醛胍酯类化合物具有抑菌活性。

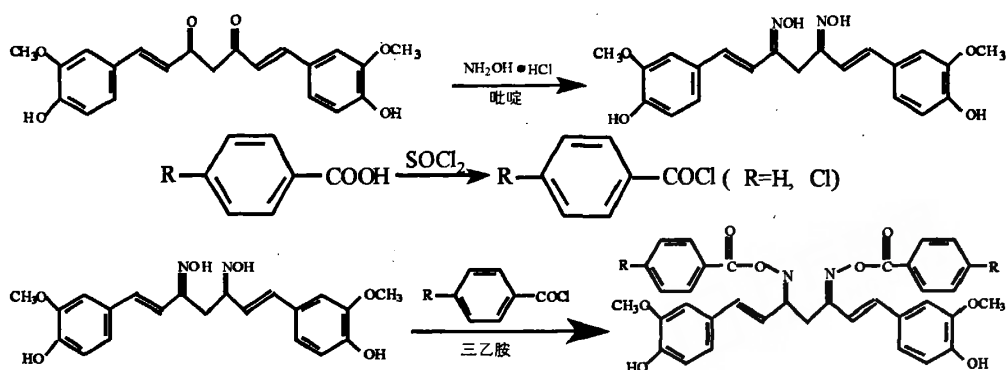
采用生物活性因子拼接的方法将胍酯活性基团引入植物源活性化合物姜黄素中对其进行结构修饰, 以期提高其生物活性, 开发高效、环境和谐的新农药品种。现将研究报告如下:

收稿日期: 2007-11-13

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30671392)。

作者简介: 罗金香(1978-), 女, 宁夏固原人, 博士研究生, 主要从事农药化学研究。

通讯作者: 丁伟, 教授, 博士生导师。



1 实验部分

1.1 合成实验

1.1.1 仪器与试剂

PE-GX型红外光谱仪(KBr压片); BRUKER AVANCE-300型核磁共振仪(300 MHz, CDCl_3 为溶剂, TMS为内标); JB-3恒温磁力搅拌器; RE-85Z旋转蒸发器; ZF-1型三用紫外分析仪; LDZX-30KA型立式电热压力蒸汽灭菌器; SW-CJ-IB标准型净化工作台; DHP-9162型电热恒温培养箱。

姜黄素、盐酸羟胺、吡啶、苯甲酸、4-氯苯甲酸、氯化亚砷、三乙胺等所用试剂均为市售分析纯。

1.1.2 中间体姜黄素双胍的合成

称取 2.789 g (40.125 mmol) 盐酸羟胺加入到 100 mL 三口瓶中, 加 3 mL 水搅拌溶解, 缓慢滴加吡啶 3.184 g (40.25 mmol), 滴加完毕, 室温搅拌反应 10 min 后加入姜黄素 7.360 g (20 mmol) 及适量无水乙醇, 升温至回流温度, 继续搅拌反应 10 h, TLC(乙酸乙酯: 石油醚=2:3, V/V) 监测反应进程。反应完毕, 按无水乙醇量的三分之一加入水(V/V), 静置过夜, 析出浅黄色固体, 用 1:3(V/V) 的水和无水乙醇重结晶, 得浅黄色固体 6.216 g, 收率 78.1%。

1.1.3 中间体苯甲酰氯的合成

依据参考文献^[8]并有所改进, 在 100 mL 圆底烧瓶中加入苯甲酸 0.73 g (6 mmol), 氯化亚砷 6.426 g (54 mmol), 回流反应 5 h, 停止反应, 减压旋转蒸出过量的氯化亚砷, 得浅黄色油状液体 0.780 g, 收率 92.8%。

1.1.4 中间体对氯苯甲酰氯的合成

依据参考文献^[8]并有所改进, 在 100 mL 圆底烧瓶中加入对氯苯甲酸 0.940 g (6 mmol), 氯化亚砷 6.426 g (54 mmol), 苯 8 mL, 回流反应 6 h, 停止反应, 减压旋转蒸出苯及过量的氯化亚砷, 得到浅黄色油状透明液体 0.988 g, 收率 94.6%。

1.1.5 目标化合物姜黄素二苯甲胍酯的合成

在 100 mL 三口瓶中加入姜黄素双胍 0.398 g (1 mmol), 加入二氯甲烷 40 mL 加热至溶解, 冷却, 加入三乙胺 0.202 g (2 mmol), 再在冰水浴(0~5℃)下缓慢滴加苯甲酰氯 0.280 g (2 mmol), 冰水浴中反应 2 h, 再在 25℃下反应 12 h, TLC(乙酸乙酯: 石油醚=2:3, V/V) 监测反应进程。反应完毕, 减压旋转蒸出溶剂, 得浅黄色固体, 用乙酸乙酯和二氯甲烷重结晶, 得到白色固体 0.401 g, 收率 66.2%。

1.1.6 目标化合物姜黄素二对氯苯甲胍酯的合成

在 250 mL 三口瓶中加入 1.264 g 姜黄素双胍(3.176 mmol), 72 mL 二氯甲烷, 加热搅拌溶解后, 冷却, 加入 0.481 g 三乙胺(4.772 mmol), 控制温度 5℃以下, 缓慢滴加 1.181 g (6.75 mmol) 对氯苯甲酰氯, 继续反应 2 h 后, 升温至 25℃搅拌反应 12 h, TLC(乙酸乙酯: 石油醚=2:3, V/V) 监测反应进程。反应完毕, 减压旋转蒸出溶剂, 得到乳白色固体物质。用二氯甲烷与无水乙醇的混合溶液进行重结晶, 得白色结晶粉末 1.415 g, 收率 69.9%。

1.2 生物活性测定

1.2.1 杀菌活性测定

采用抑制菌丝生长速率法,将目标化合物溶于少量有机溶剂二氯甲烷,加入少量乳化剂吐温-20,并用蒸馏水定容制备成高浓度母液,并将母液加入(40~50)℃ PDA 培养基中,制备成质量浓度为 500 mg/L 的含药培养基. 24 h 后分别接种玉米小斑病菌(*Helmintho sporium*)、棉花枯萎病菌(*Fusarium oxysporium*)、小麦纹枯病菌(*Rhizotonia cerealis*)、烟草赤星病菌(*Alternaria alternata*)、辣椒疫病菌(*Phytophthora capsici*)、小麦根腐病菌(*Bipolaris sorokinianum*)的新鲜菌丝块,每种药剂重复 3 次,26℃培养72 h,测量菌落生长直径,计算菌丝生长抑制率. 对照药剂为姜黄素.

1.2.2 杀螨活性测定

采用联合国粮农组织(FAO)推荐的玻片浸渍标准方法,测定所合成目标化合物对朱砂叶螨(*Tetranychus cinnabrinus*)的致死率,挑取玻片双面胶上供试螨在温度(26±1)℃,RH 60%~80%条件下放置 4 h,用双目解剖镜检查,剔除死亡和不活泼的个体,记录活螨数. 将带螨的一端浸入浓度为 1 250 mg/L 的目标化合物和姜黄素溶液中,5 s 后取出,迅速用吸水纸吸干螨体及其周围多余的药液. 同样饲养条件下培养 3 d,每 24 h 检查一次结果. 用毛笔轻触其身体,以螨不动者为死亡. 以清水作对照,试验重复 3 次,计算死亡率.

2 结果与讨论

2.1 化合物的结构表征

2.1.1 红外光谱

测定了中间体姜黄素双脒,目标化合物姜黄素二苯甲脒酯和姜黄素二对氯苯甲脒酯的红外光谱. 表 1,2 分别给出了中间体和目标化合物的红外特征吸收.

表 1 姜黄素双脒的红外光谱数据

/cm⁻¹

化合物	νOH	$\nu\text{C}_6\text{H}_5$	$\nu\text{C}=\text{N}$
姜黄素双脒	3 400	1 603	
		1 512	1 640
		1 431	

由表 1 数据可见,在 1 640 cm⁻¹ 处的吸收峰为 N=C 伸缩振动的吸收;在 3 400 cm⁻¹ 处出现的吸收峰归属为—OH 伸缩振动的吸收;1 431 cm⁻¹、1 512 cm⁻¹、1 603 cm⁻¹ 的三个峰为苯环骨架振动的吸收. 由此可初步确定姜黄素双脒的结构.

表 2 目标化合物的红外光谱数据

/cm⁻¹

化合物	νOH	$\nu\text{C}=\text{O}$	$\nu\text{C}_6\text{H}_5$	$\nu\text{C}=\text{N}$	$\nu\text{C}-\text{O}-\text{N}$
姜黄素二苯甲脒酯	3 426	1 731	1 600		
			1 510	1 690	1 267
			1 451		
姜黄素二对氯苯甲脒酯	3 466	1 740	1 595		
			1 506	1 640	1 263
			1 460		

由表 2 数据可见,姜黄素二苯甲脒酯在 1 690 cm⁻¹ 附近的吸收峰为 N=C 伸缩振动的吸收;在 1 731 cm⁻¹ 处出现的吸收峰为脒酯的 C=O 伸缩振动的吸收,为次强峰,可与其他羰基化合物相区别;由于 C—O—N 比 C—O—C 极性增大,吸收增强,C—O—N 非对称伸缩振动的吸收出现在了 1 267 cm⁻¹,且为第一吸收,这几个特征吸收足以证明姜黄素二苯甲脒酯中脒酯结构的存在,1 451 cm⁻¹、1 510 cm⁻¹、1 600 cm⁻¹ 的三个峰为苯环骨架振动的吸收.

姜黄素二对氯苯甲脒酯在 1 640 cm⁻¹ 处出现吸收为 N=C 双键的特征吸收峰,波数 1 740 cm⁻¹ 为化合物中酯键 C=O 双键的吸收峰,3 466 cm⁻¹ 为酚羟基的特征吸收,1 263 cm⁻¹ 为 C—O—N 的吸收峰. 苯

环的骨架振动吸收峰在 $1\,595\text{ cm}^{-1}$ 、 $1\,506\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,460\text{ cm}^{-1}$ 。由此可推测该化合物为含有胍酯结构的目标化合物。

2.1.2 核磁共振 ^1H 谱

测定了姜黄素二苯甲胍酯和姜黄素二对氯苯甲胍酯的核磁共振 ^1H 谱, 结果见表 3, 结合红外光谱可确证合成的两个新化合物即为目标化合物。

表 3 目标化合物的 ^1H NMR 数据

目标化合物	^1H NMR(CDCl_3 , TMS) δ
姜黄素二苯甲胍酯	1.54(m, 2H, CH_2), 3.90(s, 6H, OCH_3), 6.52(m, 2H, Ar—OH), 6.92~7.40(m, 4H, $\text{HC}=\text{CH}$), 7.25(m, 6H, Ar—H), 7.54~8.23(m, 10H, Ar—H)
姜黄素二对氯苯甲胍酯	1.54(m, 2H, CH_2), 3.87~3.88(s, 6H, OCH_3), 6.51(m, 2H, Ar—OH), 6.92~6.97(m, 4H, $\text{HC}=\text{CH}$), 7.08~7.25(m, 6H, Ar—H), 7.48~8.17(m, 8H, Cl—ArH)

2.2 生物活性

2.2.1 杀菌活性

为了考察目标化合物的抑菌活性, 测定了对玉米小斑病菌、棉花枯萎病菌、小麦纹枯病菌、烟草赤星病菌、辣椒疫病菌、小麦根腐病菌的抑菌作用, 结果见表 4。由表中数据可见, 姜黄素对这 6 种病原菌的抑制率在 1.6%~11.1%之间, 修饰后的目标化合物的抑制率在-0.5%~15.2%之间, 供试化合物的抑菌活性都较小。其中姜黄素二对氯苯甲胍酯对棉花枯萎病菌的抑制率为 15.2%, 高于姜黄素的抑制率 10.4%; 姜黄素二苯甲胍酯对小麦根腐病菌的抑制率为 14.6%, 高于姜黄素的抑制率 2.9%; 两目标化合物对烟草赤星病菌的抑制率分别为 5.7%和 3.0%, 高于姜黄素的抑制率 1.6%; 目标化合物对其他供试病原菌的抑制率均低于姜黄素的抑制率且在 10%以下。这一测定结果显示, 针对姜黄素中 $\text{C}=\text{O}$ 这一结构的改造对大多数病原菌没有提高活性效果。在以后的研究中, 应从姜黄素的其他活性部位考虑, 或尝试引入其他活性基团。

表 4 目标化合物对病原菌的抑制率 %

化合物	玉米小斑病菌	棉花枯萎病菌	小麦纹枯病菌	烟草赤星病菌	辣椒疫病菌	小麦根腐病菌
姜黄素	11.0	10.4	11.1	1.6	10.6	2.9
姜黄素二苯甲胍酯	4.7	-0.5	8.6	5.7	4.0	14.6
姜黄素二对氯苯甲胍酯	6.2	15.2	6.5	3.0	1.1	1.8

注: 表中“-”表示该处理对此菌生长有促进作用。

2.2.2 杀螨活性

为了考察目标化合物的杀螨活性, 测定了对朱砂叶螨的触杀作用, 结果见表 5。

表 5 目标化合物的杀螨活性

化合物	校正死亡率/%		
	24 h	48 h	72 h
姜黄素	4.2	12.5	19.3
姜黄素二苯甲胍酯	7.7	82.6	92.4
姜黄素二对氯苯甲胍酯	4.3	48.5	97.0

由表中数据可见, 相同条件下供试目标化合物杀螨活性均高于姜黄素, 其中 48 h 目标化合物对朱砂叶螨的校正死亡率在 48.5%~82.6%之间, 高于姜黄素的 12.5%, 72 h 目标化合物的致死率在 92.4%~97.0%之间, 高于姜黄素的 19.3%。这一测定结果显示, 对姜黄素 $\text{C}=\text{O}$ 这一结构的修饰是可行的。进一步寻找高活性杀螨剂及杀螨机理的研究正在进行中。

3 结 论

本工作在植物源姜黄素化合物具有杀菌、杀螨活性报道的基础上, 针对其结构中具有对称的双羰基特点, 引入胍酯活性基团进行结构修饰改造, 通过合成中间体姜黄素双胍, 然后和酰氯进行反应, 成功合成

了两个目标化合物姜黄素二苯甲脒酯和姜黄素二对氯苯甲脒酯。采用抑制菌丝生长速率法,处理浓度为 500 mg/L 的条件下,无论是姜黄素还是两个目标化合物对供试的 6 种植物病原菌的抑制率都较小,其中姜黄素的抑制率在 1.6%~11.1%之间,修饰后的两个目标化合物的抑制率在-0.5%~15.2%之间。采用玻片浸渍法,处理浓度为 1 250 mg/L 的条件下,考察了姜黄素和目标化合物对朱砂叶螨的触杀效果,药剂处理后 48 h,姜黄素对朱砂叶螨的校正死亡率为 12.5%,目标化合物的校正死亡率在 48.5%~82.6%之间,72 h 时,姜黄素对朱砂叶螨的校正死亡率上升为 19.3%,而目标化合物则高达 92.4%~97.0%。对于姜黄素的这一结构修饰显著提高了其杀螨活性,为进一步开发高效、环境和谐的杀螨剂奠定了基础。

参考文献:

- [1] 李文杰,李国清,林丽英.姜黄素的提取、分离与测定[J].海峡药学,2007,19(4):31-33.
- [2] 王玉玲,吴振,张喜轩.姜黄素类化合物的抗肿瘤活性[J].中国医科大学学报,2006,35(4):380-381.
- [3] 许东晖,王胜,金晶,等.姜黄素的药理作用研究进展[J].中草药,2005,36(11):1737-1740.
- [4] Zsila F, Bikadi Z, Simonyi M. Molecular Basis of the Cotton Effects Induced by the Binding of Curcumin to Human Serum Albumin[J]. Tetrahedron: Asymmetry, 2003, 14: 2433-2444.
- [5] 冯小桂,丁伟,张永强.姜黄素苯脒衍生物的合成及杀螨活性评价[J].西南师范大学学报(自然科学版),2007,32(3):56-59.
- [6] 邹怀波,丁伟,周刚.姜黄素二硝基苯脒衍生物的合成及活性评价[J].西南农业大学学报(自然科学版),2006,28(1):58-60.
- [7] Yamada Y, Saito J, Gotoh T, et al. Trichloroacryloyl Oxime Fungicides; US, 4581365 [P]. 1986-04-08.
- [8] 俞传明,王亚频,陈德刚,等.对氯苯甲酰氯的合成研究[J].浙江化工,1999,30(2):25-26.

Study of the Synthesis and the Biological Activity of Curcumin Dioxime Ester Derivatives

LUO Jin-xiang, DING Wei, ZHANG Yong-qiang,
WU Jing, ZHOU Gang, WANG Lan, ZHANG Shan

School of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: Curcumin was modified by active functional group oxime ester with biologically active factor splicing. Two novel compounds were synthesized through oximic reaction, esterify reaction and acyclic reaction. Their structures were confirmed by IR and ^1H NMR. The results of preliminary bioassay indicated that curcumin and the target compounds exhibited low antifungal activities to six plant pathogens at the concentration of 500 mg/L, their antifungal rate being 1.6%~11.1% and -0.5%~15.2%, respectively. At higher concentration (1 250 mg/L), their antifungal increased significantly. The target compounds exhibited significantly higher contact activities than curcumin to *Tetranychus cinnabrinus*. The corrected mortality after 48 h was 12.5% in the curcumin treatment and 48.5%~82.6% in target compound treatment, and rose to 19.3% and 92.4%~97.0%, respectively, after 72 h.

Key words: curcumin; oxime ester; synthesis; biological activity

责任编辑 夏娟