

学校代码: 10384  
学 号: 9825016

分类号 \_\_\_\_\_ 密级 \_\_\_\_\_  
UDC \_\_\_\_\_

## 学 位 论 文

# 4''-阿（依）维菌素 B<sub>1a</sub> 磺酸酯的合成和生物活性

方红云

指导老师 廖联安 副教授  
厦门大学化学系

申请学位类别	硕士	专业名称	有机化学
论文提交日期	2001.6	论文答辩日期	2001.7
学位授予单位	厦门大学	学位授予日期	2001.7

答辩委员会主席	郭奇珍 教授
	厦门大学化学系
论文评阅人	郭奇珍 教授
	范志金 副教授

二 零 零 一 年 六 月

# 目 录

摘要	.....I
ABSTRACT	.....II
第一章	前言 .....1
第一节	阿维菌素 B <sub>1</sub> 的结构改造 .....3
第二节	阿维菌素的作用机制 .....9
第三节	论文的设计思想、目的和意义 .....10
第二章	结果与讨论 .....12
第一节	4"-阿维菌素 B <sub>1a</sub> 磺酸酯的合成 .....12
第二节	4"-依维菌素 B <sub>1a</sub> 磺酸酯的合成 .....16
第三节	阿(依)维菌素 B <sub>1a</sub> 膦酸酯的合成 .....20
第四节	阿(依)维菌素 B <sub>1a</sub> 氨基甲酸酯的合成 .....23
第三章	阿(依)维菌素 B <sub>1a</sub> 衍生物的生物活性 .....26
第一节	对棉蚜杀虫活性的初筛实验 .....26
第二节	对红蜘蛛杀螨活性的初筛实验 .....29
第四章	实验部分 .....31
第一节	阿维菌素 B <sub>1a</sub> 衍生物的合成 .....31
第二节	依维菌素 B <sub>1a</sub> 衍生物的合成 .....40
参考文献	.....49
化合物一览表	.....51

致谢

# 摘 要

阿(依)维菌素是一组具有杀虫和杀螨活性的大环内酯衍生物。它具有作用机制独特、有效剂量低、广谱、安全性高等优点。为了进一步提高它们的生物活性和稳定性并扩展杀虫谱,进行基于大分子的有机合成反应研究,我们设计合成了28个新的阿(依)维菌素4"-位或5-位酯衍生物。这些化合物的化学结构得到IR、<sup>1</sup>HNMR、<sup>13</sup>CNMR、MS等波谱的确证。

首先,从阿维菌素原药出发,经真空液相柱层析分离得到AVB<sub>1a</sub>,分离收率达到90%,并且层析柱可以重复使用。同样的,从依维菌素原药出发,分离得到IVB<sub>1a</sub>,分离收率达到92%。

阿维菌素B<sub>1a</sub>与氨基甲酰氯反应,合成了2个5-AVB<sub>1a</sub>氨基甲酸酯衍生物;阿维菌素B<sub>1a</sub>与磷酰氯反应,合成了2个5-AVB<sub>1a</sub>磷酸酯衍生物;并改进了阿维菌素与酰氯的反应条件,缩短了反应时间,提高了产率和反应的选择性。

阿维菌素B<sub>1a</sub>与三苯基氯硅烷反应,得到5-TPS-AVB<sub>1a</sub>;通过反应条件的改善,缩短了反应时间,提高了反应选择性(粗产物中单/双保护基的比例由文献报道的3/1提高到5/1)。从5-TPS-AVB<sub>1a</sub>出发,与磺酰氯在咪唑和DMAP的存在下反应,得到7个对应的5-TPS-4"-AVB<sub>1a</sub>磺酸酯衍生物,产率36-80%。5-TPS-AVB<sub>1a</sub>与氨基甲酰氯和磷酰氯反应,得到3个对应的5-TPS-4"-氨基甲酸酯或磷酸酯AVB<sub>1a</sub>衍生物,产率良好。

同样的,依维菌素B<sub>1a</sub>与氨基甲酰氯反应,合成了2个5-IVB<sub>1a</sub>氨基甲酸酯衍生物;依维菌素B<sub>1a</sub>与磷酰氯反应,合成了2个5-IVB<sub>1a</sub>磷酸酯衍生物;并改进了依维菌素与酰氯的反应条件,缩短了反应时间,提高了产率和反应的选择性。

依维菌素B<sub>1a</sub>与三苯基氯硅烷反应,得到5-TPS-IVB<sub>1a</sub>;通过反应条件的改善,缩短了反应时间,提高了反应选择性(粗产物中单/双保护基的比例由文献报道的3/1提高到5.4/1)。从5-TPS-IVB<sub>1a</sub>出发,与磺酰氯在咪唑和DMAP的存在下反应,得到7个对应的5-TPS-4"-IVB<sub>1a</sub>磺酸酯衍生物,产率43-83%。5-TPS-IVB<sub>1a</sub>与氨基甲酰氯和磷酰氯反应,得到3个对应的5-TPS-4"-IVB<sub>1a</sub>氨基甲酸酯衍生物或磷酸酯衍生物,产率良好。

对合成的所有化合物进行了杀蚜虫和红蜘蛛的生物活性测定试验。结果表明,其中一些化合物的活性已经超过母体。

关键词:阿维菌素B<sub>1a</sub>,依维菌素B<sub>1a</sub>,酯化,生物活性,合成,光谱,DMAP.

# ABSTRACT

The avermectins are a family of naturally occurring macrocyclic lactones with important anthelmintic and pesticidal activity. These natural products are pesticidal possessing novel mode of action, low efficient application dosage, broad spectrum and low toxicity. The main component is AVB<sub>1a</sub>; which is among the most potent anthelmintic, insecticidal and acaricidal compounds known. In order to improve its insecticidal activity and stability and reduce toxicity, we have synthesized twenty-eight novel AVB<sub>1a</sub> & IVB<sub>1a</sub> 4"-or 5-Esters derivatives. Their chemical structures were established by IR, <sup>1</sup>HNMR, <sup>13</sup>CNMR and MS .

First, AVB<sub>1a</sub> was separated from avermectins commercial technical by vacuum liquid chromatography in 90% yield; Similarly, IVB<sub>1a</sub> was separated from ivermectin commercial technical by vacuum liquid chromatography in 92% yield.

AVB<sub>1a</sub> or IVB<sub>1a</sub> reacted with carbamino chloride or phosphoryl chloride in IM/DMAP system to produce eight corresponding carbamates or phosphorylates in good yields.

We modified the synthesis condition of 5-TPS-AVB<sub>1a</sub> and 5-TPS-IVB<sub>1a</sub>. The Chemoselectivity (the ratio of 5-TPS-AVB<sub>1a</sub> and 5,4"-Di-TPS-AVB<sub>1a</sub> in the crude products increased from 3/1 of documentation to 5/1, the ratio of 5-TPS-IVB<sub>1a</sub> and 5,4"-Di-TPS-IVB<sub>1a</sub> in the crude products increased from 3/1 of documentation to 5.4/1) and yields were improved, and reaction time was reduced. 5-TPS-AVB<sub>1a</sub> or 5-TPS-IVB<sub>1a</sub> reacted with carbamino chloride or phosphoryl chloride in IM/DMAP system to produce six new 4"-carbamates or 4"-phosphorylates in good yields. 5-TPS-AVB<sub>1a</sub> or 5-TPS-IVB<sub>1a</sub> reacted with sulfonyl chloride in IM/DMAP system to produce fourteen new 4"-sulfonate with yields from 40-83%.

Preliminary insecticidal and acaricidal activities of the mentioned compounds were detected by bioassay. The results showed that most compounds revealed good pesticidal activity. Some of them possessed higher bioactivities than the parent compounds.

**KEYWORDS:** AvermectinB<sub>1a</sub>, IvermectinB<sub>1a</sub>, Esterification, Bioactivity Synthesis, Spectrum, DMAP

# 第一章 前 言

阿维菌素 (Avermectins)<sup>1-3</sup> 是一组由链霉菌 *Streptomyces avermitilis* 产生的十六员环内酯衍生物。从化学结构上看,阿维菌素 (1) 是由十六员环内酯与一个二糖 (齐墩果糖) 所生成的苷 (图 1.1), 在十六员环内酯周围还有一个含两个六员环的螺缩酮系和六氢苯并咪喃环系, 根据 C<sub>5</sub> 和 C<sub>25</sub> 上取代基的不同及 C<sub>22</sub>-C<sub>23</sub> 结构上的差别, 有八个异构体, 分别为: A<sub>1a</sub>、A<sub>1b</sub>、A<sub>2a</sub>、A<sub>2b</sub>、B<sub>1a</sub>、B<sub>1b</sub>、B<sub>2a</sub> 和 B<sub>2b</sub>。根据测试, 只有 B<sub>1a</sub> (图 1.2) 杀虫活性最高; 其他异构体则杀虫活性较低且毒性高; 因此, 阿维菌素系列产品的有效成分均按 Avermectin B<sub>1a</sub> 的含量计算。阿维菌素的原料商品 (abamectin) 标准为: B<sub>1a</sub> ≥ 80%, B<sub>1b</sub> ≤ 20%。阿维菌素对家畜的肠内寄生虫具有极其有效的驱虫活性, 并具有作用机制独特、有效剂量低、安全性高等特点; 在农业上阿维菌素是高效的杀虫、杀螨剂; 在医药上阿维菌素及其衍生物用于治疗人类由于螨虫或线虫引起的疾病, 极为有效。

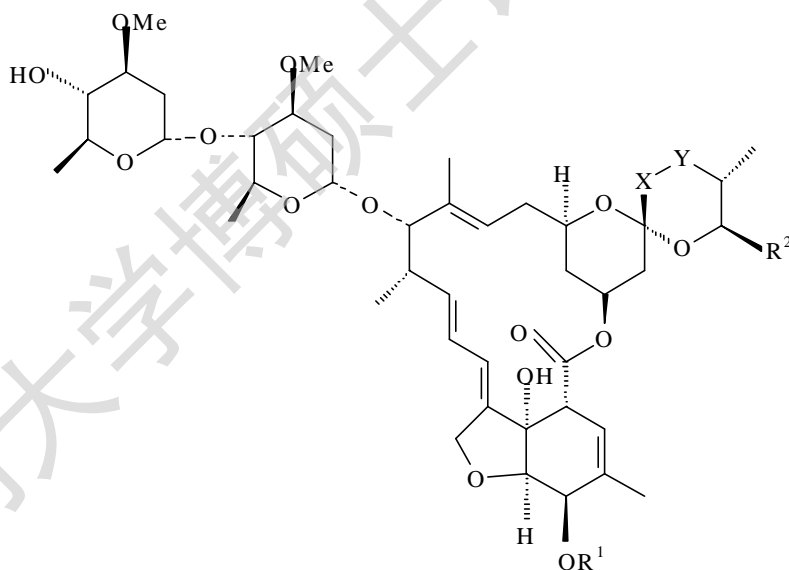


图 1.1、Avermectins (1) 的化学结构

Fig. 1.1 The Chemical Structures of Avermectins (1)

	R <sup>1</sup>	X-Y	R <sup>2</sup>
Avermectin A <sub>1a</sub>	Me	CH=CH	s-Bu
Avermectin A <sub>1b</sub>	Me	CH=CH	i-Pr
Avermectin A <sub>2a</sub>	Me	CH <sub>2</sub> CH(OH)	s-Bu

Avermectin A <sub>2b</sub>	Me	CH <sub>2</sub> CH(OH)	i-Pr
Avermectin B <sub>1a</sub>	H	CH=CH	s-Bu
Avermectin B <sub>1b</sub>	H	CH=CH	i-Pr
Avermectin B <sub>2a</sub>	H	CH <sub>2</sub> CH(OH)	s-Bu
Avermectin B <sub>2b</sub>	H	CH <sub>2</sub> CH(OH)	i-Pr

由于阿维菌素 B<sub>1a</sub> 及其衍生物显示出高效、广谱的活性；许多化学家为进一步提高其活性和稳定性、扩展（改变）其活性谱、降低毒性，对它的结构进行了各种改造，合成了许多衍生物，并从中推出了几个比母体化合物活性更好的化合物进行商品化；如 C<sub>22</sub>=C<sub>23</sub> 双键改造的产物依维菌素（Ivermectin）<sup>4</sup> 已在世界范围广泛用于畜牧业和宠物保健上；4''-位羟基的改造产物 Emamectin<sup>5</sup> 和 Eprinomectin<sup>6</sup>，其活性比母体化合物提高了 1-2 个数量级，正在商品化进程中；侧链的改造产物 Doramectin<sup>7</sup> 和 Moxidectin<sup>8</sup> 也在商品化进程中。

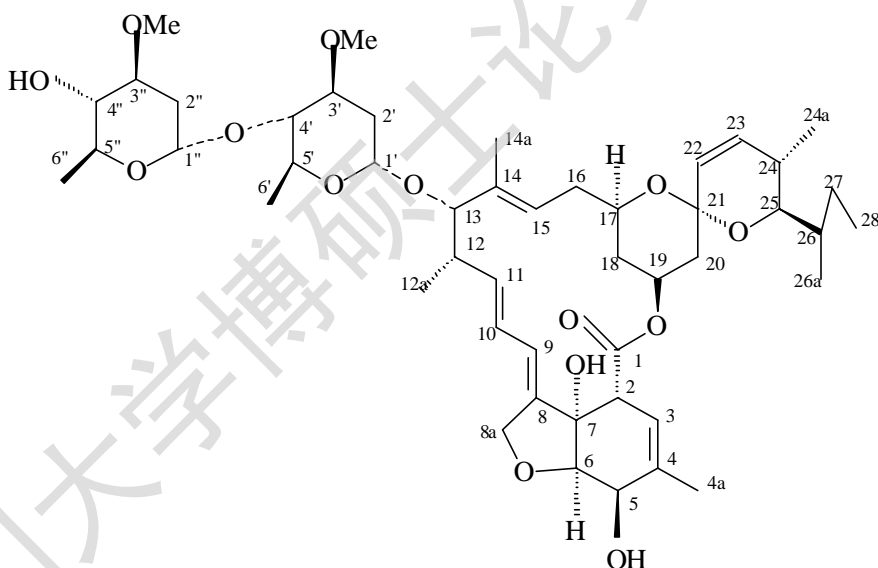


图 1.2、阿维菌素 B<sub>1a</sub> 的化学结构

Fig. 1.2 The Chemical Structure of Avermectin B<sub>1a</sub>

由此可见，在当前新农药开发的难度越来越大，开发的成功率越来越低（小于 1/80000）的时候；通过对天然产物或微生物发酵产物（作为先导化合物）进行化学结构改造和生物活性筛选，以“改造”法开发新农药，其成功率要高得多。这也是当前新农药创制的有效途径之一。

## 第一节 阿维菌素 B<sub>1</sub> 的结构改造

有关阿维菌素的化学和结构改造已有专著<sup>9</sup>和多篇综述<sup>2-3,10-12</sup>;全合成工作也已完成<sup>13</sup>。阿维菌素 B<sub>1</sub> 分子中有 5 个碳-碳双键、3 个羟基、2 个糖基和十多个手性碳。化学结构改造工作主要从这些官能团反应性出发,制备大量的衍生物进行生物活性研究,目的是进一步提高活性和稳定性,扩展其活性谱和降低毒性,并已取得良好的结果和很高的成功率。

### 1. 羟基的改造

阿维菌素 B<sub>1</sub> 分子中有 5-、7-、4"-位三个羟基,主要通过对其进行烷基化、酯化、磷酸化和氧化等反应,进行结构改造。

Fisher 等人<sup>14</sup>研究了阿维菌素分子中羟基的烷基化反应,发现 5-位羟基位阻最小,易于进行烷基化反应,产率中等;若只要 4"-位羟基烷基化,则需对 5-位羟基进行保护,而 7-位羟基不影响反应;7-位羟基是叔羟基,空间位阻很大,一般的烷基化试剂对它不起作用,但使用重氮甲烷的醚溶液处理,可专一地使 7-位羟基烷基化,生成 7-O-Me-AV,而无须保护其他羟基;但是,这些烷基化产物的生物活性没有超过阿维菌素母体。

Mrozik 等人<sup>15-16</sup>用大过量的酰氯或酸酐与阿维菌素在吡啶等有机碱的存在下反应,可得到 5-酰化产物或 4",5-位双酰化产物,产率 30-50%;控制反应物配比和反应条件可生成单一的 5-位酰化产物。若须选择性的进行 4"-位酰化,则需对 5-位羟基进行保护;可以用硅保护基如叔丁基二甲基氯硅烷或三苯基氯硅烷保护 5-位羟基(产率 70%左右<sup>17</sup>),待 4"-位酰化后,再脱去硅保护基;或者用二氧化锰将 5-位羟基氧化为羰基,待 4"-位酰化后再将羰基还原为羟基;7-位羟基空间位阻很大,不用保护,也难以在 7-位羟基上进行酰化反应。他们合成了一系列 5-O-酰化产物和 4"-O-酰化产物,但是这些化合物的生物活性均不比阿维菌素母体高。

Mrozik 等人<sup>18</sup>还研究了阿维菌素羟基的磷酸化反应。用二(三氯乙基)磷酸酐与适当保护的阿维菌素反应可得中等产率的 5-位或 4"-位三磷酸酯;用锌粉可除去三氯乙基得到磷酸单酯。而磷酸单酯可与重氮甲烷反应生成混合磷酸酯,与碱金属氢氧化物或氨(胺)反应生成单酯磷酸盐。这些化合物水溶性比母体好,但生物活性与母体相当。

对阿维菌素 5-位羟基保护后,三氟甲磺酸酐与它反应可生成 83%的 4"-三氟甲磺酸酯<sup>19</sup>,进一步与硫醇反应可得到 4"-硫醚衍生物,4"-硫醚衍生物可进一步氧化成亚砷或砷。这些化合物有一定的杀虫、杀螨活性。

阿维菌素 B<sub>1</sub> 用二氧化锰可将 5-位羟基氧化为羰基<sup>20</sup>,产率 40-55%;将 5-位羟基保护后,用草酰氯/DMSO 低温氧化,可得到高产率的 4"-羰基衍生物<sup>21</sup>。

5-羰基阿维菌素衍生物与盐酸羟胺反应得到脎<sup>22</sup>，由脎出发可制备一系列脎醚和脎酯衍生物。同样，4"-羰基阿维菌素衍生物亦可进行类似的反应<sup>22</sup>；还可以进行 Reformatskii 反应<sup>23</sup>。但这些衍生物的生物活性均不比阿维菌素母体高。

Linn 和 Mrozik 在对 4"-羰基阿维菌素进行还原胺化研究时取得了重大突破<sup>24-26</sup>。他们从阿维菌素 B<sub>1</sub> 出发，合成了一系列 4"-epi-氨基阿维菌素衍生物，这些化合物具有很好的杀虫、杀螨活性(图 1.3)。尤其是 4"-epi-甲氨基阿维菌素 B<sub>1</sub> (2, MK-243, 通用名称为 Emamectin)，其生物活性比阿维菌素母体高 1500 倍，并且扩大了杀虫谱(对鳞翅目害虫)，大大地降低了阿维菌素对人畜的急性口服毒性；已作为高效杀虫、杀螨剂商品化。另一个化合物，4"-epi-乙酰氨基阿维菌素 B<sub>1</sub> (3, 通用名称为 Eprinomectin)，具有广谱高效的杀寄生虫活性，正被选用来作为新的畜用杀寄生虫商品化进程中。

Meinke 等人<sup>28,29</sup>将保护的 5-羰基或 4"-羰基阿维菌素直接与四氟化硫等氟化剂反应，然后脱去保护剂，得到相应的二氟衍生物；这些化合物有一定的杀寄生虫活性。

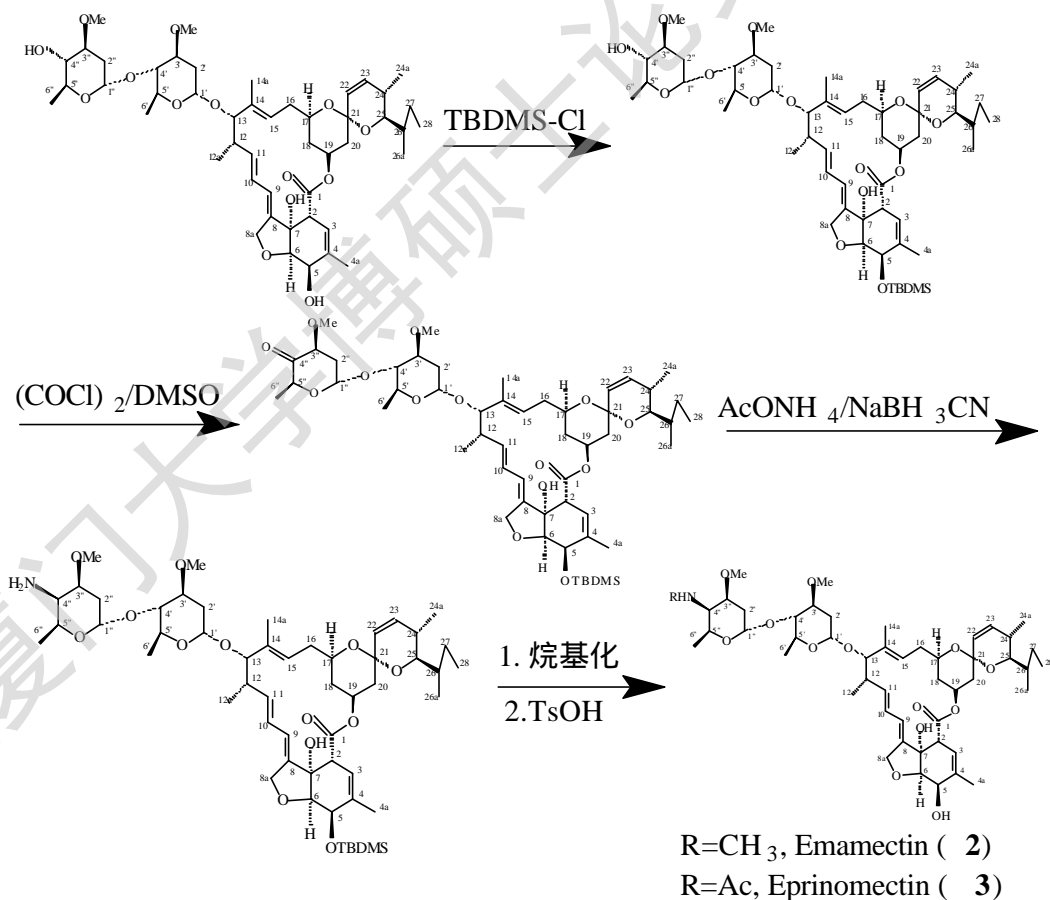


图 1.3 4"-氨基阿维菌素 B<sub>1a</sub> 衍生物的合成路线

Fig. 1.3 The Synthesis of 4"-epi-Amino-Avermectin<sub>B<sub>1a</sub></sub> Derivatives



## 2. 碳-碳双键的改造

阿维菌素 B<sub>1</sub> 分子中有 5 个碳-碳双键, 即 C<sub>3</sub>=C<sub>4</sub>、C<sub>8</sub>=C<sub>9</sub>、C<sub>10</sub>=C<sub>11</sub>、C<sub>14</sub>=C<sub>15</sub> 和 C<sub>22</sub>=C<sub>23</sub>。改造的途径主要通过对碳-碳双键的选择性还原、环氧化、加成反应以及进一步生化来实现。

阿维菌素 B<sub>1</sub> 分子中的 5 个碳-碳双键对分子的构象影响很大, 双键的变化将引起分子构象变化, 进而引起生物活性的变化。因此, 人们对阿维菌素 B<sub>1</sub> 进行了选择性还原研究<sup>30-33</sup>; 由于 C<sub>22</sub>=C<sub>23</sub> 双键为顺式结构且位阻最小, 用均相加氢催化剂-三(三苯基膦)氯化铑可选择性还原 C<sub>22</sub>=C<sub>23</sub> 双键, 产率 85% (含 3% 的 3, 4, 22, 23-四氢阿维菌素 B<sub>1</sub>) (图 1.4)<sup>30</sup>; 经过进一步改进, 可将产率提高到 89.9%, 3, 4, 22, 23-四氢阿维菌素 B<sub>1</sub> 小于 0.1%<sup>31</sup>。22, 23-二氢阿维菌素 B<sub>1</sub> 定名为 Ivermectin (依维菌素, 4), 它的生物活性与阿维菌素 B<sub>1</sub> 相当, 但毒性明显下降, 杀虫谱扩大, 已经商品化作为家畜杀寄生虫剂; 同时, 依维菌素(4)用于治疗人类的盘尾丝虫病和疥疮有很好的疗效, 也已商品化<sup>33</sup>。

依维菌素的开发成功后, Mrozik 等人<sup>30,34</sup> 系统地研究了阿维菌素 B<sub>1</sub> 分子中五个碳-碳双键在钯碳催化剂存在下的选择性还原; 他们发现, 五个碳-碳双键被氢化的顺序如下: C<sub>10</sub>=C<sub>11</sub> ≈ C<sub>22</sub>=C<sub>23</sub> > C<sub>3</sub>=C<sub>4</sub> > C<sub>8</sub>=C<sub>9</sub> >> C<sub>14</sub>=C<sub>15</sub>; 因此合成了一系列四氢、六氢、八氢阿维菌素 B<sub>1</sub> 衍生物。遗憾的是, 虽然依维菌素基本保持了阿维菌素 B<sub>1</sub> 的杀虫、杀螨活性; 但进一步氢化的产物, 其生物活性急剧下降。

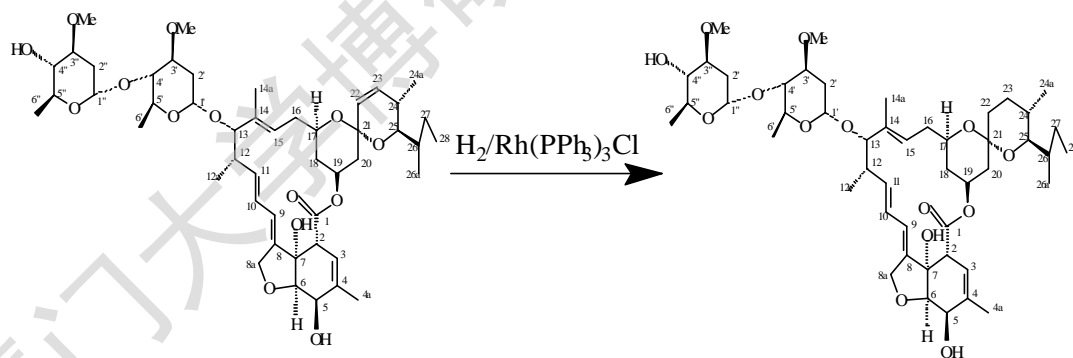
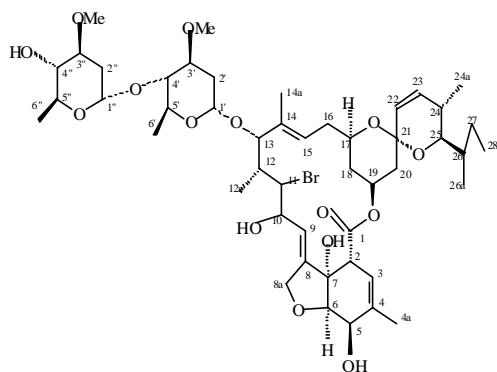


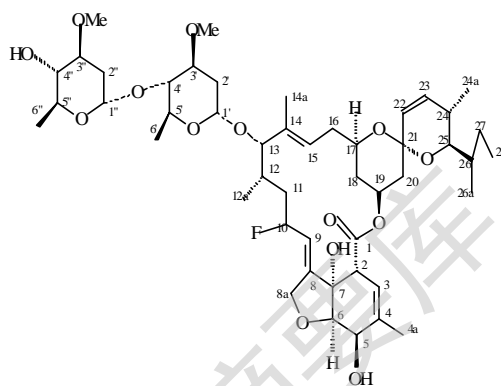
图 1.4. 依维菌素(4)的合成路线

Fig.1.4 The Synthesis of Ivermectin (4)

Shih 等人<sup>35</sup> 发现在丙酮水溶液中, N-溴代乙酰胺与阿维菌素 B<sub>1</sub> 反应可以选择性地得到 11-溴-10-羟基-10, 11-二氢阿维菌素 B<sub>1</sub>(5); 后者与三丁基氢化锡反应得到 10-羟基-10, 11-二氢阿维菌素 B<sub>1</sub>, 进一步可转化为 10-氟, 10-氯等一系列衍生物; 这一系列化合物具有很高的杀虫、杀螨活性, 尤其是 10-氟-10, 11-二氢阿维菌素 B<sub>1</sub>(6), 活性明显高于母体阿维菌素 B<sub>1</sub>。

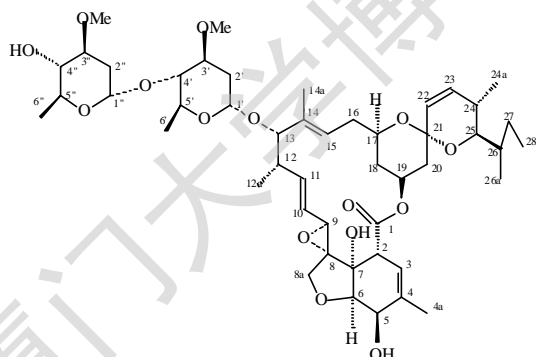


5

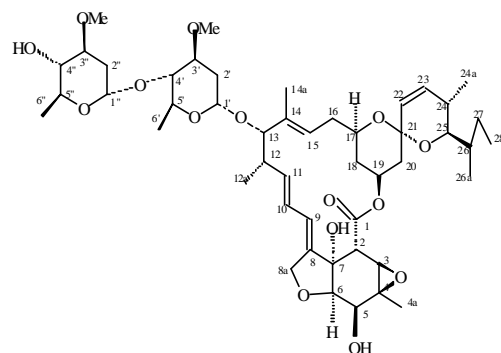


6

Mrozik 等人<sup>36-38</sup>对阿维菌素 B<sub>1</sub> 和依维菌素碳-碳双键的环氧化进行了系统地研究。他们用间-氯过氧化苯甲酸作为环氧化试剂, 通过控制氧化剂用量和反应条件, 可以选择性地得到 8, 9-环氧化物(7)、14, 15-环氧化物和 8, 9, 14, 15-双环氧化物。若将阿维菌素 B<sub>1</sub> 的 7-位羟基保护, 在乙酰丙酮钒的催化下, 过氧化叔丁醇可选择性在 3, 4-位进行环氧化; 脱保护基后, 得到 3, 4-环氧化物(8)。生物活性测定表明, 8, 9-环氧化物(7)和 3, 4-环氧化物(8)的活性与母体相当而且光稳定性得到提高; 对环氧化物进行开环反应, 无论是环氧环打开的产物或者是内酯环开环的产物, 生物活性都很低。



7



8

### 3. 糖基的水解

阿维菌素 B<sub>1</sub> 分子的结构是含有两个 L-齐墩果糖的苷。用 1% 硫酸异丙醇溶液与阿维菌素 B<sub>1</sub> 反应可得到阿维菌素 B<sub>1</sub> 的单糖苷, 而用 1% 硫酸甲醇溶液则可以将两个糖基同时除去<sup>39</sup>; 但是, 生物活性测定结果表明, 阿维菌素 B<sub>1</sub> 的单糖苷活性只有母体的四分之一, 而将两个糖基都脱去的产物活性只有母体的 5%。可见, 两个糖基对阿维菌素 B<sub>1</sub> 分子的生物活性起着重要作用。

#### 4. 侧链的改造

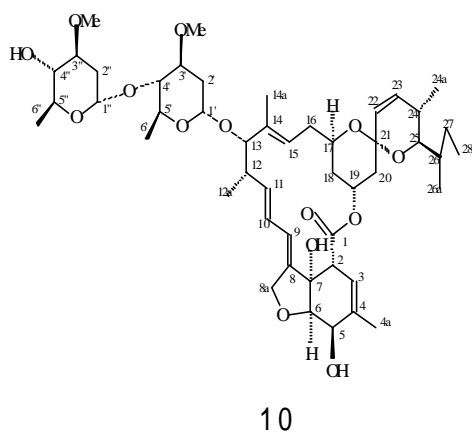
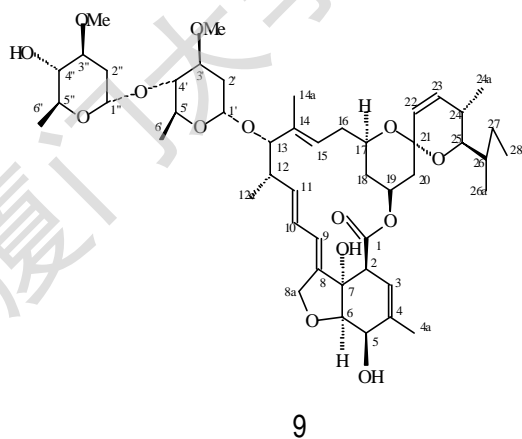
阿维菌素 B<sub>1</sub> 分子在 4-位、12-位、14-位、24-位和 25-位上有侧链。除去 25-位外，均为甲基。侧链的改造主要在 4-和 25-位上进行；25-位的改造主要通过发酵条件的改变和半合成来进行，因为母体分子中 25-位为饱和烷基，反应性极差。例如，用环己烷羧酸喂养 *Streptomyces avermitilis* 菌种<sup>40</sup>，可以得到 25-位为环己基的阿维菌素类似物 Doramectin<sup>41</sup>；它具有比阿维菌素更广谱的杀寄生虫活性，已被注册作为家畜杀寄生虫剂；商品名为 Dectomax。

Shih 等人<sup>42</sup>用半合成的方法制备了 25-位取代基为 4-甲基-2-戊烯基的阿维菌素 B<sub>1</sub> 衍生物；生物活性测定结果显示，其活性比母体稍差；表明在 25-位侧链引入不饱和键或延长碳链，对母体的活性并没有有利的影响。

Mrozik 等人<sup>43,44</sup>发现用二氧化硒可选择性地将阿维菌素 B<sub>1</sub> 的 4a-甲基氧化为羟甲基，产率 65%。然后由 4a-羟基出发，合成了一系列酯和醚衍生物；但是这些化合物的生物活性都不比母体高。

#### 5. 手性碳构型的变化

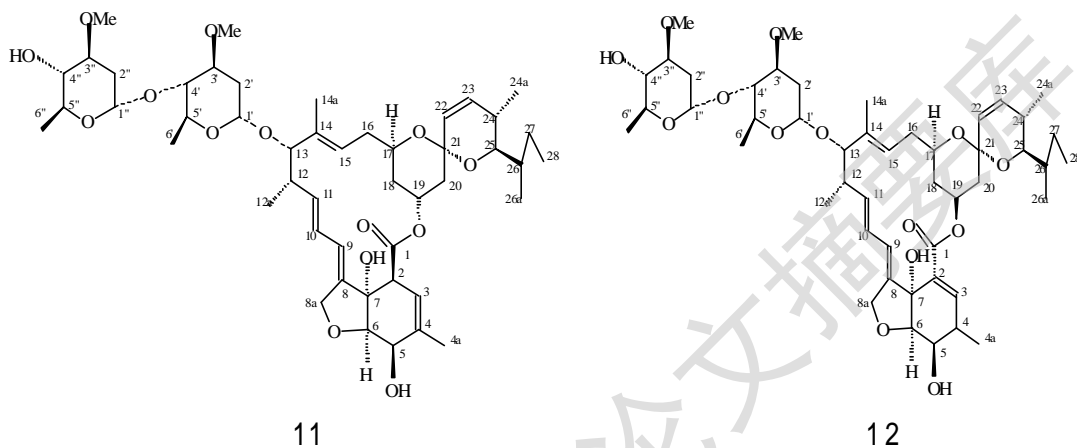
阿维菌素 B<sub>1</sub> 分子中，除糖基部分以外，大环内酯部分共有 11 个手性碳原子。其中对大环的构型起重要作用的有 C<sub>2</sub>、C<sub>7</sub>、C<sub>17</sub> 和 C<sub>19</sub>。易于发生构型转化的是 C<sub>2</sub> 和 C<sub>19</sub>，因此结构的改造主要在这两个手性碳原子上。Fraser-Reid 等人<sup>45</sup>报道，阿维菌素 B<sub>1a</sub> 在 0.1M 氢氧化钠甲醇水溶液中室温搅拌 3 小时，得到 90% 的 C<sub>2</sub> 差向异构体(9)；但是，这个化合物的生物活性极低。Blizzard 等人从阿维菌素 B<sub>1a</sub> 出发，经过保护，打开内酯环，重新关环，去保护等多步反应，得到 C<sub>19</sub> 差向异构体(10)和 C<sub>2</sub>、C<sub>19</sub> 构型同时翻转的阿维菌素 B<sub>1a</sub>(11)；但是，这两个化合物的生物活性极低。这说明 C<sub>2</sub> 和 C<sub>19</sub> 原有构型对母体活性的显示是必要的。



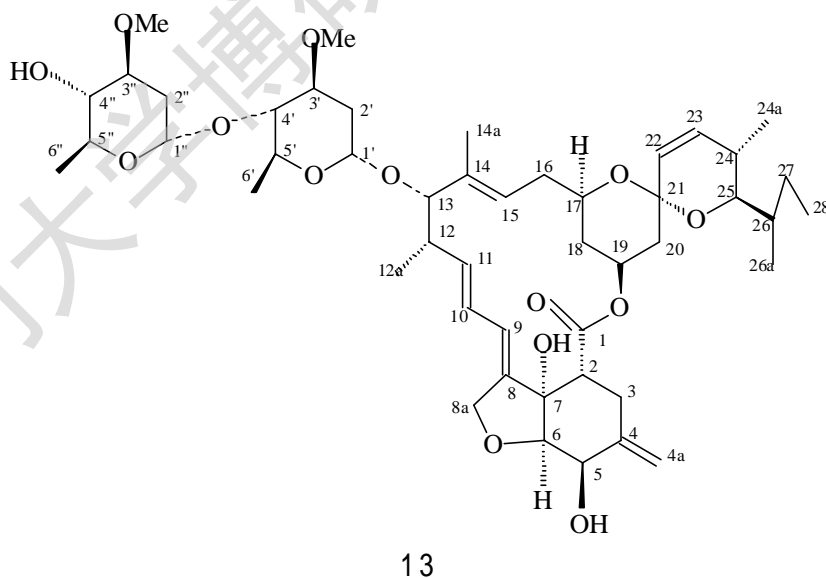
#### 6. 六氢苯并呋喃环的改造

Fraser-Reid 等人<sup>45-47</sup>报道，在碱性条件下，阿维菌素 B<sub>1</sub> 容易发生 C<sub>3</sub>=C<sub>4</sub>

双键迁移生成  $C_2=C_3$  双键产物(12)，此产物的生物活性极低；说明存在与酯基共轭的双键对母体的活性不利。他们还发现，在 LDA 存在下，容易发生 5-位和 7-位羟基脱水反应使六氢咪喃环芳构化；而且该产物的生物活性也极低。



Fraser-Reid 等人<sup>44</sup>通过四步反应，将阿维菌素  $B_{1a}$  的  $C_3=C_4$  双键转化得到  $C_4=C_{4a}$  双键产物(13)，该化合物降低了双键迁移与酯基共轭和  $C_2$  差向异构化的可能性；生物活性测定结果表明，该化合物的活性与母体相当。



13

## 第二节 阿维菌素的作用机制

阿维菌素的作用方式以胃毒作用为主，兼有触杀作用，无杀卵活性；但经过阿维菌素处理的卵孵化后不久幼虫即会死去。药剂进入害虫体内，中毒昆虫表现为运动失调和麻痹，并停止进食；由于不能引起昆虫迅速脱水，所以致死作用比较缓慢，48-72 小时才能达到死亡高峰。该药无内吸性，但能有效地渗入植物的薄壁组织，从而使需要保护的农作物具有较长的残效期。

有关阿维菌素的作用方式已有很多的研究报道<sup>1-3, 9-12</sup>；但因选用试虫，模式体系及测定浓度的不同，结果也是多种多样<sup>47</sup>，主要结果如下：

1. 能够导致线虫快速麻痹，但无极度痉挛或延缓性麻痹。
2. 在毫摩尔浓度下，对甲壳纲神经制备液的抑制性突出后膜电位能够快速而不可逆地抑制，使兴奋性电位振幅缓慢降低。
3. 使氯离子的渗透性增加。
4. GABA 的拮抗剂荷包牡丹碱和苦毒宁对阿维菌素引起的增加膜传导力的抑制作用。
5. 阻碍中间神经元向兴奋性神经元的信号传递。
6. 在纳摩尔浓度下，能使 GABA 敏感的蝗虫肌纤维的氯离子渗透性可逆性地增加。
7. 在毫摩尔浓度下，对 GABA 敏感和不敏感的蝗虫肌纤维不可逆的抑制。
8. 使 GABA 和苯二氮杂卓对小鼠脑膜受体的亲合力增加。

现在已明确地知道，阿维菌素主要作用于  $\gamma$ -氨基丁酸 (GABA) 门控的氯离子通道<sup>48</sup>。GABA 是脊椎动物和无脊椎动物 (如昆虫) 的一种主要的抑制性神经递质，可以激活昆虫神经系统中的氯离子通道，使膜电位迅速超级化。阿维菌素作为 GABA 的激动剂作用于 GABA 受体时，能够刺激突触前膜大量释放 GABA，促使 GABA 门控的氯离子通道开放，大量的氯离子涌入膜内，造成神经膜电位超级化，形成抑制性突触后电位，导致虫体对兴奋性或抑制性的信号传递反应麻痹而死亡。昆虫的 GABA 受体与脊椎动物体内 GABA 受体类似，两者的区别在于昆虫的 GABA 受体在中枢神经系统 (CNS) 和外周的神经-肌肉连接处均起重要作用，而脊椎动物的 GABA 受体主要分布于中枢神经系统 (CNS)；昆虫受的 GABA 操纵的氯离子通道孔径大于脊椎动物 GABA 受体<sup>49</sup>。GABA 受体在脊椎动物和昆虫体内的分布和类型的不同，以及对不同配体和药剂药理性质上的差异，形成了阿维菌素在脊椎动物和昆虫间的选择毒力。放射性配基结合分析表明，<sup>3</sup>H-abamectin 与家蝇头部神经膜的亲和力  $K_d$  为 1.9nmol/L，最大结合量  $B_{max}$  为 9.5pmol/mg，<sup>3</sup>H-依维菌素对 *Caenorhabditis elegans* 的膜受体表现出更高的亲和力 ( $K_d=0.26$ nmol/L,  $B_{max}=3.5$ pmol/mg)，但与小鼠脑神经膜的

结合情况为  $K_d=22\text{nmol/L}$ ,  $B_{\max}=0.34\text{pmol/mg}$ ; 两者的  $K_d$  值相差近 100 倍,  $B_{\max}$  相差 10 倍; 所以阿维菌素系列可以用来治疗哺乳动物的寄生虫病<sup>50,52</sup>。

除了 GABA 受体外, 阿维菌素同样能够影响其他配基门控的氯离子通道。1985 年 Duce 等<sup>51</sup> 首先报道了对于缺乏 GABA 激性的蝗虫肌纤维, 依维菌素能诱导不可逆的电位增加, 这一点已被大量实验所证实。用 GABA 不敏感的蝗虫肌纤维研究显示, 依维菌素能够增加肌纤维膜电位, 并阻断对鹅膏蕈胺酸 (鹅膏蕈胺酸是昆虫体内谷氨酸门控的氯离子通道的特异性激活剂) 的反应。将从线虫 *C.elegans* 组织分离的 mRNA 注入瓜蟾卵母细胞中, 对其表达的离子通道研究发现, 依维菌素能够诱导内向氯离子流, 同时对苦毒宁敏感的氯离子流可以被鹅膏蕈胺酸盐激活, 但不受 GABA 和甘氨酸的影响, 阿维菌素激活的最大电流能降低对甘氨酸盐和鹅膏蕈胺酸盐的反应。以上的结果表明, 阿维菌素和谷氨酸盐作用于相同的通道, 即谷氨酸盐门控的氯离子通道也可能是阿维菌素的靶标位点。此外, 对氯离子流的分析表明<sup>53</sup>, 阿维菌素还能够活化电压依赖的氯离子通道, 导致从脑囊泡中释放预先标记的  $^{36}\text{Cl}^-$ 。

综上所述, 阿维菌素主要作用于氯离子通道 (配基或电压门控), 对氯离子通道具有活化作用, 造成氯离子通道延长开放, 产生持久的超级化膜电位, 结果使神经膜处于抑制状态, 对传递信号不敏感, 从而影响正常的神经活动。

### 第三节 论文的设计思想、目的和意义

阿维菌素是目前杀虫杀螨活性最高的品种之一; 它具有广谱、高效、安全的特点, 一次用药可杀灭多种害虫。已在世界范围内广泛的推广应用, 并受到高度的重视。阿维菌素及其衍生物能够在环境中迅速光解, 在水中的溶解度极低, 与土壤颗粒结合力强, 不会移动, 无生物富集, 无残留毒性, 因此对环境及非靶标生物的安全系数高, 是环保型的农药品种。

阿维菌素分子结构的复杂性使其对酸、碱介质和光、氧不稳定; 同时还存在着对人畜急性口服毒性高和对鳞翅目害虫药效低的缺陷。因此, 自阿维菌素问世以来, 许多化学工作者致力于它的分子结构改造, 以期进一步提高其活性和稳定性, 并扩展其杀虫谱; 迄今已取得很大的成绩。例如, 依维菌素和 Emamectin 的成功开发, 前者对人畜急性口服毒性明显得到改善, 后者则扩大了杀虫谱并使杀虫活性提高了 1-2 个数量级。这种通过生物和化学结合开发新农药的方法, 大大地提高了新农药的开发成功率, 也成为当今创制新农药的有效途径之一。

国内自 80 年代末引进阿维菌素生产菌种 (*Streptomyces avermitilis*), 北京农

业大学、上海农药研究所等单位进行了诱变育种、发酵工艺、提取精制等方面的研究；目前国内已有 10 多个单位生产阿维菌素和依维菌素，甲氨基阿维菌素（Emamectin）也在申报中。国内生产的阿维菌素和依维菌素，阿维菌素 B<sub>1</sub> 的含量已在 95% 以上，而 B<sub>1b</sub> 的含量仅为 3-5%。这说明我国的化学工作者也在阿维菌素系列生产和开发上做了很多工作。

综合前人的研究成果，可以看到，对阿维菌素的结构改造不能破坏内酯环的构型，否则将导致生物活性的急剧下降。因此，我们从阿（依）维菌素 B<sub>1</sub> 出发，引入生物活性片段，对 4"-位和 5-位羟基进行衍生化；合成了 28 个阿（依）维菌素 B<sub>1a</sub> 的衍生物并进行生物活性测定研究，以期能够提高阿（依）维菌素 B<sub>1</sub> 母体的活性和稳定性，并扩展其杀虫谱。

我们合成了 14 个 4"-阿（依）维菌素 B<sub>1a</sub> 磺酸酯，6 个 4"-和 5-阿（依）维菌素 B<sub>1a</sub> 氨基甲酸酯，8 个 4"-和 5-阿（依）维菌素 B<sub>1a</sub> 膦酸酯。

初步的生物活性测定表明，其中一些化合物的活性已超过母体，并且化合物对光的稳定性也得到提高。

## 第二章 结果与讨论

### 第一节 4"-阿维菌素 B<sub>1a</sub> 磺酸酯的合成

#### 一. 原料的制备

##### 1. 阿维菌素 B<sub>1a</sub> 的分离和纯化

从阿维菌素商品分离出各个组份，通常是采用制备性液相色谱进行分离<sup>9,54</sup>；但只能够得到很少量的样品，远远不能够满足合成上的需要。我们经过实验摸索，发现采用真空液相柱层析<sup>59</sup>方法可以简便，大量地分离阿维菌素商品中的 B<sub>1a</sub> 和 B<sub>1b</sub> 组份，回收率达到 90%，操作极为简便，并且层析柱可以重复使用。

##### 2. 5-三苯硅基-阿维菌素 (5-TPS-AVB<sub>1a</sub>) 的合成

参照文献<sup>25,26</sup>制备叔丁基二甲硅基-阿维菌素 B<sub>1a</sub> 的方法，我们进行了实验改进。将缚酸剂 TEA 或吡啶改为弱碱性的咪唑，加入了催化剂 DMAP，并调整了反应物的摩尔比，这样可以得到比较好的反应选择性和产率 (图 2.1)。

液相色谱分析表明，产物中 5-TPS-AVB<sub>1a</sub> 与 4",5-Di-TPS-AVB<sub>1a</sub> 的质量比为 5/1，高于文献<sup>25,26</sup> 的 3/1。

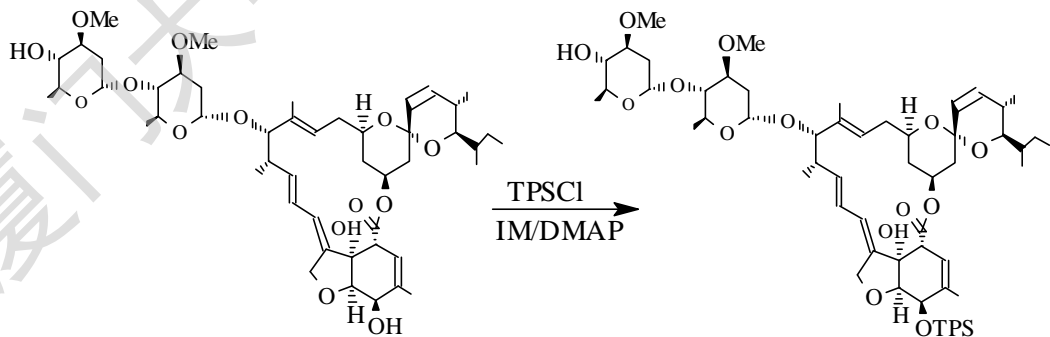


图 2.1 5--三苯硅基-阿维菌素 B<sub>1a</sub> 的合成

Fig. 2.1 The Synthesis of 5-TPS-Avermectin B<sub>1a</sub>

#### 二. 5-三苯硅基-4"-阿维菌素 B<sub>1a</sub> 磺酸酯的合成



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士学位论文摘要库