

水杨酸类糖酯化化合物的合成 及其生物活性

臧洪俊¹, 李正名², 倪长春³, 沈 宙³, 范志金², 刘秀峰²

(1. 天津工业大学材料科学与化学工程学院, 改性与功能纤维天津市重点实验室, 天津 300160;

2. 南开大学元素有机化学研究所, 元素有机化学国家重点实验室, 天津 300071;

3. 国家南方农药创制中心上海基地, 上海 200032)

摘要 将水杨酸及乙酰水杨酸分别与溴代糖作用, 合成了 10 个水杨酸类糖酯化合物. 所有化合物经元素分析和¹H NMR 确认了其结构, 并证明产物为β-构型, 反应具有立体专一性. 生物活性初步测定结果表明, 该类化合物具有一定的诱导活性, 且一些化合物的诱导活性好于水杨酸.

关键词 水杨酸; 乙酰水杨酸; 糖酯; 植物诱导抗性; 生物活性

中图分类号 O625

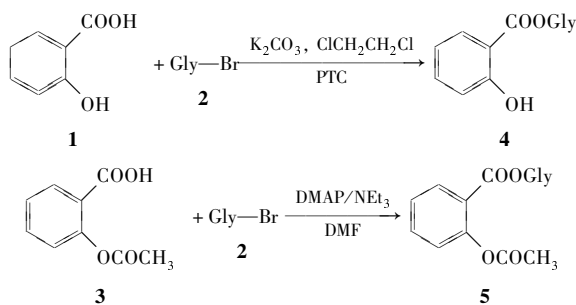
文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2006)10-1877-04

水杨酸(Salicylic acid, SA)经外源处理可诱导烟草、马铃薯、黄瓜、菜豆等重要农作物产生对由真菌、细菌、病毒等引起的病害的局部和系统性抗性^[1], 因而备受人们关注. 水杨酸在医药上早已广泛应用, 尤其是乙酰水杨酸, 又称为阿司匹林(aspirin, ASP), 在血液中受一种非专一性的芳香基脂酶催化, 水解后转变成水杨酸, 在植物体中亦有类似于水杨酸的作用. 阿司匹林或水杨酸可以提高烟草对烟草花叶病毒感染的抗性, 并诱导某些病理相关蛋白的基因表达^[2]. 由于糖酯化合物具有广泛的生理活性, 因此糖酯类化合物作为前体药物具有较好的药效.

为了提高水杨酸的诱导活性, 把糖分子和乙酰水杨酸及水杨酸结合在一个分子中, 立体选择性地合成了 10 个水杨酸类糖酯化合物. 生物活性测试结果表明, 某些化合物具有较高的诱导活性.

合成路线如下:



2a—2e Gly: a. tetra-*O*-acetyl- α -*D*-glucosyl; b. tetra-*O*-acetyl- α -*D*-galactosyl; c. hepta-*O*-acetyl- α -*D*-maltosyl; d. hepta-*O*-acetyl- α -*D*-lactosyl; e. tri-*O*-acetyl- α -*D*-xylosyl.

1 结果与讨论

1.1 目标化合物 4 的反应条件优化

根据文献[3, 4]报道, 在相转移催化合成糖酯中, 一般都用强碱性介质, 如氢氧化钠溶液, 因为强碱有利于增强其亲核性. 但实验发现, 四乙酰溴代糖在反应过程中会逐渐水解, 反应产率极低. 本

收稿日期: 2005-09-28.

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(批准号: 20432010)和国家自然科学基金(批准号: 30270883)资助.

联系人简介: 李正名(1931年出生), 男, 教授, 博士生导师, 中国工程院院士, 从事农药及有机化学方面的研究.

E-mail: nkzml@nk.sina.net

文采用碱性较弱的碳酸钾溶液,使糖苷化反应副产物减少,立体选择性和产率都大大提高。

1.2 目标化合物 5 的合成

采用相转移催化反应,用十六烷基三甲基溴化铵作相转移催化剂,用质量分数 5% 的 NaOH 溶液调节 pH 值,用三氯甲烷作溶剂,在此条件下,乙酰水杨酸发生水解,乙酰基被脱掉,且乳化现象严重,不易分离;二甲氨基吡啶(DMAP)作为一种高效的酰化剂,能高效地催化酯化反应,高产率地得到产物,是一种良好的酯化反应催化剂^[5]。本文采用 DMAP 作催化剂,只需将原料一次性投入即可,实验操作简便,且避免了乙酰水杨酸的水解,成功地得到目标化合物。

化合物 4 和 5 的物化性质及元素分析结果列于表 1。

Table 1 Physical data and elemental analysis of compounds 4 and 5

Compd.	Apparance	m. p. /°C	Yield (%)	Elemental analysis(%, calcd.)	
				C	H
4a	White needle	183—184	70.9	53.87(53.85)	5.23(5.13)
4b	White needle	174—176	49.1	53.87(53.95)	5.33(5.13)
4c	White needle	185—186	56.4	52.47(52.38)	5.33(5.29)
4d	White needle	188—189	62.2	52.37(52.38)	5.30(5.29)
4e	White needle	178—180	33.9	54.57(54.55)	5.18(5.05)
5a	White half solid		33.6	54.23(54.10)	5.28(5.10)
5b	White half solid		32.5	54.13(54.10)	5.21(5.10)
5c	White half solid		36.3	52.67(52.63)	5.39(5.26)
5d	White half solid		31.2	52.69(52.63)	5.27(5.26)
5e	White half solid		34.5	54.69(54.79)	5.02(5.02)

1.3 ¹H NMR 的图谱解析

化合物的¹H NMR 谱的数据见表 2。¹H NMR 中各组峰都对应糖酯结构中的各个氢,由于糖酯化化合物的糖环 C1 位质子 H1 受酯基的强负电性吸引,其化学位移均出现在较低场(δ 5.89 ~ 6.95),未被糖环上其它质子的化学位移掩蔽,易于辨认。糖环 C1—H 由于受到糖环 C2—H 的影响而裂分为二重峰,在糖环 C1—H 裂分所成的二重峰之间,还能观察到 1 ~ 2 个小峰,这是由于糖环 C1—H 受糖环 C3—H, C4—H 偶合所致。从¹H NMR 数据中可以发现,糖环 C1—H 与 C2—H 的偶合常数在 6.78 ~ 8.40 Hz 之间。根据文献[6]报道, β 构型的糖酯 C1—H 与 C2—H 的偶合常数在 7 ~ 10 Hz 之间,所合成糖酯的偶合常数在此范围内,因此说明是 β 构型。

Table 2 ¹H NMR data of compounds 4 and 5

Compd.	¹ H NMR(CDCl ₃), δ
4a	2.03—2.10(m, 12H, 4CH ₃), 3.95—5.79(m, 6H, glycosyl ringH), 6.95(m, 1H, J = 8.3 Hz, 1-H), 6.89—7.85(m, 4H, Ph—H), 10.29(s, 1H, OH)
4b	2.03, 2.05, 2.08, 2.22(4s, 12H, 4CH ₃), 4.12—4.21(m, 3H, 5,6, 6'-H), 5.16—5.59(m, 3H, 2,3,4-H), 5.89(d, 1H, J = 8.1 Hz, 1-H), 6.94—7.89(m, 4H, Ph—H)
4c	1.99—2.18(m, 21H, 7CH ₃), 3.91—5.38(m, 13H, glycosyl ringH), 5.89(d, 1H, J = 8.4 Hz, 1-H), 6.89—7.81(m, 4H, Ph—H)
4d	2.02—2.12(m, 21H, 7CH ₃), 3.99—5.39(m, 13H, glycosyl ringH), 5.97(d, 1H, J = 8.7 Hz, 1-H), 6.76—7.80(m, 4H, Ph—H), 10.29(s, 1H, OH)
4e	2.08—2.13(m, 9H, 3CH ₃), 3.66—5.02(m, 5H, 2, 3, 4, 5, 5'-H), 6.02(d, 1H, J = 7.1 Hz, 1-H), 6.93—7.86(m, 4H, Ph—H), 10.32(s, 1H, OH)
5a	1.93, 1.97, 1.98, 2.01(4s, 12H, 4CH ₃), 2.29(s, 3H, CH ₃ CO), 3.83—4.29(m, 3H, 5,6, 6'-H), 5.09—5.23(m, 3H, 2,3,4-H), 5.82(d, 1H, J = 6.78 Hz, 1-H), 7.04—7.97(m, 4H, Ph—H)
5b	1.94, 1.97, 2.09, 2.11(4s, 12H, 4CH ₃), 2.29(s, 3H, CH ₃ CO), 4.02—4.09(m, 3H, 5,6, 6'-H), 5.06—5.43(m, 3H, 2,3,4-H), 5.82(d, 1H, J = 8.4 Hz, 1-H), 7.04—7.99(m, 4H, Ph—H)
5c	1.90—2.10(m, 21H, 7CH ₃), 2.28(s, 3H, CH ₃ CO), 3.81—5.30(m, 13H, glycosyl ringH), 5.78(d, 1H, J = 7.54 Hz, 1-H), 7.04—7.93(m, 4H, Ph—H)
5d	1.92—2.06(m, 21H, 7CH ₃), 2.29(s, 3H, CH ₃ COOPh), 3.86—5.37(m, 13H, glycosyl ringH), 5.86(d, 1H, J = 8.23 Hz, 1-H), 7.04—7.93(m, 4H, Ph—H)
5e	2.08—2.13(m, 9H, 3CH ₃), 2.29(s, 3H, CH ₃ COOPh), 3.66—5.02(m, 5H, 2, 3, 4, 5, 5'-H), 6.02(d, 1H, J = 7.1 Hz, 1-H), 6.93—7.86(m, 4H, Ph—H)

1.4 平皿法测离体活性

在化合物质量分数为 0.05% 的条件下, 采用平皿法对化合物 **4a**~**4e**, **5a**, **5c** 的杀菌活性进行测试(与 BABA 作对照), 结果表明, 该类化合物对多种致病菌没有抑制作用, 只对苹果轮纹病菌、黄瓜灰霉病菌、苹果腐烂病菌等显示较弱的抑制作用. BABA 对所提供的所有病原菌都没有抑制作用.

1.5 盆栽法测活体活性

在化合物质量分数为 0.05% 的条件下, 采用叶面喷雾方法对部分化合物的抑菌活性进行实验(表 3), 在接种前 7 d, 5 d, 3 d, 1 d 分别对叶面进行定量喷雾处理, 用水杨酸(SA)作对照测试. 结果表明, 化合物 **4a**~**4d** 对细菌白叶枯病的防治效果最好, 接种 7 d 后诱导效果达到 60.2%~69.5%, 防治效果高于水杨酸. 化合物 **4a**~**4e** 对瓜类白粉病和瓜类炭疽病也表现出较好的防治效果; 化合物 **4d** 对水稻稻瘟病的防治效果也高于水杨酸. 说明叶面喷雾后, 药物激活了抗病系统, 植株体内产生了诱导抗性. 化合物 **5a**, **5c** 对这几种病原菌的诱导抗性效果不明显.

Table 3 Inhibition ratio of compounds **4** and **5** towards fungi *in vivo* at a mass fraction of 0.05%

Compd.	<i>Xanthomonas oryzae</i>				<i>Pyricularia oryzae</i>				<i>Helminthosporium maydis</i>			
	1d	3d	5d	7d	1d	3d	5d	7d	1d	3d	5d	7d
4a	16.4	0.0	64.3	60.2	42.0	58.9	40.0	72.8	41.5	0.0	0.0	0.0
4b	44.3	0.0	36.8	67.7	31.6	58.9	53.4	36.5	27.3	13.6	3.5	24.5
4c	48.0	4.6	74.6	69.5	42.0	58.9	66.7	18.3	45.9	4.9	19.0	31.5
4d	51.3	0.0	74.6	65.7	31.6	58.9	40.0	72.8	26.1	30.6	0.0	31.9
4e	39.8	0.0	60.6	0.0	63.2	47.1	53.4	18.3	45.0	11.9	21.5	0.0
5a	33.2	0.0	32.5	12.3	31.6	47.1	23.6	19.6	25.6	0.0	28.6	31.6
5c	15.6	0.0	40.6	20.5	25.6	52.6	15.9	18.6	26.9	13.5	22.5	15.9
SA	48.4	0.0	51.5	32.3	42.0	0.0	13.4	0.0	50.1	0.0	68.1	47.7

Compd.	<i>Sphaerotheca fuliginea</i>				<i>Cucurbitis anthracnose</i>			
	1d	3d	5d	7d	1d	3d	5d	7d
4a	54.5	71.0	46.8	49.3	59.6	73.2	46.8	38.7
4b	62.7	70.2	37.9	38.6	71.6	71.8	40.7	33.0
4c	40.3	71.7	60.0	66.3	59.6	77.0	68.8	58.9
4d	27.9	56.7	59.3	55.8	0.0	68.1	74.9	52.6
4e	41.3	68.5	41.9	46.5	66.7	59.2	76.4	57.4
5a	48.7	55.3	40.2	26.3	58.6	65.4	40.7	33.6
5c	42.6	54.6	36.5	45.2	59.8	68.1	45.2	41.2
SA	29.6	50.8	39.1	37.7	56.1	77.0	68.1	47.7

2 实验部分

2.1 仪器及药品

Yanaco CHN CORDER MT-3 型自动分析仪; Bruker AC-P300 型¹H NMR 仪, TMS 为内标; Yanaco MP-500 熔点仪.

柱层析硅胶为硅胶 H(青岛海洋化工厂), 其它试剂均为分析纯.

2.2 目标化合物 **4** 的合成

在 100 mL 圆底烧瓶中, 加入水杨酸(4 mmol, 0.56 g)、K₂CO₃(8 mmol, 1.12 g)和水 10 mL, 搅拌下, 加入 0.2 g 十六烷基三甲基溴化铵的 10 mL 1,2-二氯乙烷溶液, 于室温反应 0.5 h. 滴加 3.4 mmol 溴代乙酰糖的 15 mL 1,2-二氯乙烷溶液, 在油浴温度 50~60 °C 下, 搅拌反应 4 h. 用 TLC 跟踪反应, 反应完毕后, 分出有机层, 水相用 1,2-二氯乙烷萃取 2 次, 合并有机相, 依次用水、饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥. 过滤, 脱去溶剂, 粗品用甲醇重结晶或经减压柱层析, 得到目标化合物.

2.3 目标化合物 **5** 的合成

在 100 mL 圆底烧瓶中加入乙酰水杨酸(1.25 mmol)、溴代乙酰糖(1.25 mmol)、DMAP(0.03 g)和 DMF(40 mL), 冷却至 0 °C, 缓慢滴加 NEt₃(0.25 mL), 用 TLC 跟踪反应, 于室温搅拌 3.5 h. 反应完毕, 用冰水洗涤 2 次(30 mL × 2), 分出有机相, 水相用乙酸乙酯萃取 3 次. 合并有机相, 用水及饱和

NaCl 洗涤, 无水硫酸镁干燥, 过滤, 蒸除溶剂, 得到粗品. 将粗品通过薄层制备板纯化, 展开剂为 V(乙酸乙酯): V(石油醚) = 1:1.5, 得到目标化合物.

参 考 文 献

- [1] Malamy J., Klessig D. F. . *Plant J.* [J], 1992, **2**: 643—654
- [2] ZHOU Xin(周欣), CHEN Shan-Na(陈善娜). *Journal of Yunnan University, Nature Science Edition*(云南大学学报, 自然科学版) [J], 2001, **23**: 106—108
- [3] Li R. T., Zhu Q. . *Synthetic Communications*[J], 1997, **27**: 13—16
- [4] ZHAO Sheng-Min(赵生敏), PAN Xin-Fu(潘鑫复), ZHANG Gong-Cheng(张攻成) *et al.* . *Chinese Journal of Organic Chemistry*(有机化学)[J], 1998, **18**: 324—327
- [5] Steglich W., Hofle G. . *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* [J], 1969, **8**(12): 981—985
- [6] YU Cheng-Fang(余诚方), CAI Meng-Shen(蔡孟深), HUANG Li-RU(黄丽茹) *et al.* . *Chemistry*(化学通报)[J], 1991, (3): 35—39

Synthesis and Bioactivity of Salicylic Acid Saccharide Carboxylate

ZANG Hong-Jun¹, LI Zheng-Ming^{2*}, NI Chang-Chun³, SHEN Zhou³, FAN Zhi-Jin², LIU Xiu-Feng²

(1. *Tianjin Municipal Key Laboratory of Fiber Modification & Functional Fiber, School of Material Science and Chemistry Engineering, Tianjin Polytechnic University, Tianjin 300160, China;*

2. *State Key Laboratory of Elemento-organic Chemistry, Institute of Elemento-organic Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071, China;*

3. *Shanghai Branch of National Pesticide R & D South Center, Shanghai 200032, China)*

Abstract The plant activators such as salicylic acid and acetosalicylic acid act as a regular molecule in plants which can stimulate the biosynthesis of phytoalexin to inhibit the growth of microbial pathogens. In order to investigate the synergic effect of the glucose and salicylic acid, ten new glycosyl esters of salicylic acid were synthesized by the reaction of salicylic acid and acetosalicylic acid with acetylated glycosyl bromide. The structures were confirmed by elemental analysis and ¹H NMR. The ¹H NMR spectra showed that they were β-isomer. Bioassay results indicate that several compounds show a better induced activity against pathogen infection than salicylic acid.

Keywords Salicylic acid; Acetosalicylic acid; Acetyl glycosyl esters; Induced resistance; Bioactivity
(Ed.: H, J, Z)

《中国药学大辞典》(2007年)征订启事

《中国药学大辞典》是我国第一部收录词量最大的药学辞典, 收集词汇近 30000 条, 涉及药用动物植物矿物、中药和方剂、药用化学物质、化学药物、药剂学、药理学、药物化学、中药学和生药学、微生物药学、生物药学、药物分析、药理学和毒理学、医院药学、临床药学、药学史、药事管理、信息科学、药学相关学科和专业、技术和设备、教育学名词等方面内容。堪称我国药学学科的百科全书。该书是中西医药科研、临床、教学、制药、药剂、药政管理等人员必备的工具书和参考书。该书零售价 352 元。

单位: 国家食品药品监督管理局信息中心

地址: 北京市西城区北礼士路甲 38 号(邮编: 100810)

户名: 国家食品药品监督管理局信息中心

银行: 建设银行北京展览路支行

账号: 6510003042610002517

电话: 010-62214715, 62214665 传真: 010-62214866