农药学学报 2021, 23(3): 421-437
Chinese Journal of Pesticide Science http://www.nyxxb.cn

·专论与综述·

doi: 10.16801/j.issn.1008-7303.2021.0049

几丁质酶抑制剂及噻唑烷酮类化合物合成与农用活性研究进展

张婧瑜, 韩 清, 蒋志洋, 李慧琳, 邓鸣飞,
朱 凯, 李明君, 段红霞*

(中国农业大学 理学院 应用化学系 农药创新中心，北京 100193)

摘 要：几丁质酶 (EC 3.2.1.14) 可催化几丁质降解生成几丁寡糖，在几丁质代谢通路中发挥着重要作用，在昆虫、真菌和线虫等有害生物的生长发育过程中不可或缺。以几丁质酶为潜在靶标，有望开发出具有全新作用机制的新型农药品种。近年来，由于噻唑烷酮类化合物被报道具有包括几丁质酶抑制活性的多种农用生物活性，其合成方法受到广泛关注。本文以亚洲玉米螟几丁质酶 (*Of*Cht) 为代表，对几丁质酶结构特点，典型糖类、肽类、虚拟筛选和天然产物源酶抑制剂，以及几丁质酶与抑制剂的结合方式进行了概要性综述，着重针对噻唑烷-4-酮、2-硫代噻唑烷-4-酮和噻唑-2,4-二酮 3 种噻唑烷酮类化合物的合成方法和农用生物活性研究进行了归纳总结，进而对噻唑烷酮类化合物在几丁质酶抑制活性方面的应用进行展望，以期为基于昆虫几丁质酶独特结构特点进行合理设计和发现新型噻唑烷酮类几丁质酶抑制剂用于未来农业害虫防治提供参考。

关键词: 几丁质酶；酶抑制剂；噻唑烷酮类化合物；化学合成；农用生物活性

中图分类号：S481; TQ450.1; O626.25 **文献标志码：**A **文章编号：**1008-7303(2021)03-0421-17

Chitinase inhibitors and synthesis and agricultural bioactivity of thiazolidinones: a review

ZHANG Jingyu, HAN Qing, JIANG Zhiyang, LI Huilin, DENG Mingfei,
ZHU Kai, LI Mingjun, DUAN Hongxia*

(*Innovation Center of Pesticide Research*, *Department of Applied Chemistry*, *College of Science*, *China Agricultural University*, *Beijing* 100193, *China*)

Abstract: Chitinase (EC 3.2.1.14) plays an important role in the chitin metabolism process by degrading chitin into chitooligosaccharides. Chitinase is indispensable for the growth and morphogenesis of agricultural pest and disease host such as insect, fungi, nematode, etc. Therefore, Chitinase is one of the most promising target for developing new pesticide with novel molecular mechanism. In recent years, thiazolidinones were reported to possess a variety of agricultural biological activities including chitinase inhibition, so the synthetic methods of thiazolidinones have attracted

收稿日期：2020-10-07；**录用日期：**2020-12-04.
基金项目：国家重点研发计划项目 (2017YFD0200504)；中国农业大学 URP 项目 (urp20201101058).
作者简介：张婧瑜，女，本科生，**E-mail：**2018310060312@cau.edu.cn；*段红霞，通信作者 (Author for correspondence)，女，博士，副教授，研究方向为靶标导向新农药分子设计与创制，**E-mail：**hxduan@cau.edu.cn

widely attention. In this review, the chitinases structure represented by those from *Ostrinia furnacalis* were summarized, as well as the structures of the inhibitors of carbohydrate, peptide, virtual screening, natural-source ones, and their binding mode. The synthetic method and agricultural biological activity of three classes of thiazolidinones were reviewed, including thiazolidin-4-ones, 2-thioxothiazolidin-4-ones, and thiazolidin-2,4-diones. Meanwhile, the application of thiazolidinones is also prospected as chitinase inhibitors. It will provide a guidance for rational design and discovery of novel thiazolidinones as chitinase inhibitors based on insect chitinase structure for agricultural pest control.

Keywords: chitinase; enzyme inhibitor; thiazolidinones; synthesis; agricultural biological activity

0 引言

几丁质酶广泛存在于昆虫、真菌和线虫等多种有害生物体内，具有重要的生理功能和独特的结构特征。通常，几丁质酶的异常会引起昆虫生长发育受阻、化蛹困难以致死亡，或使病菌生长受阻、致病能力下降，或引起线虫卵无法孵化、导致胚胎死亡。因此，近年来几丁质酶已经成为重要农药靶标之一。

一直以来，几丁质酶及其抑制剂研究受到人们的广泛关注。随着几丁质酶及其抑制剂研究工作的不断涌现，研究人员分别针对几丁质、几丁质酶和几丁质酶抑制剂进行了不同层次的综述。其中，Moussian 系统阐述了几丁质结构、化学性质及其在不同生物体内的生物学意义[1]。Zhu 等对昆虫体内的几丁质代谢过程进行了详细说明，并对涉及几丁质代谢的关键酶进行了简要介绍[2]。Adrangi 等侧重对不同生物几丁质酶结构和功能特征，以及不同生物几丁质酶之间的区别和联系进行了归纳总结[3]。Saguez 等概述了几丁质酶分类、在不同生物中功能、几丁质酶活性的正或负调节机制，并列举了糖类和肽类几丁质酶抑制剂的生物活性及作用机制[4]。Chen 等针对多种几丁质酶所属的糖苷水解酶 18 家族(GH18)，阐述了 GH18 酶分类、功能、结构、催化机制以及传统糖类、肽类抑制剂和近年来发现的新型抑制剂作用机制[5]。同时 Chen 等进一步聚焦昆虫几丁质酶，对已报道的亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis*和果蝇 *Drosophila melanogaster* 几丁质酶晶体结构进行分析和比较，并从底物类似物、天然产物和虚拟筛选角度对该酶抑制剂的结构和作用机制进行了总结[6]。

本文主要以亚洲玉米螟几丁质酶结构为代表，在简单讨论几丁质酶抑制剂结构、活性和结合方式后，重点对表现出几丁质酶抑制活性的噻唑烷酮类化合物的合成方法及其农用生物活性进行了综述，以期为进一步开发新型噻唑烷酮类几丁质酶抑制剂提供参考。

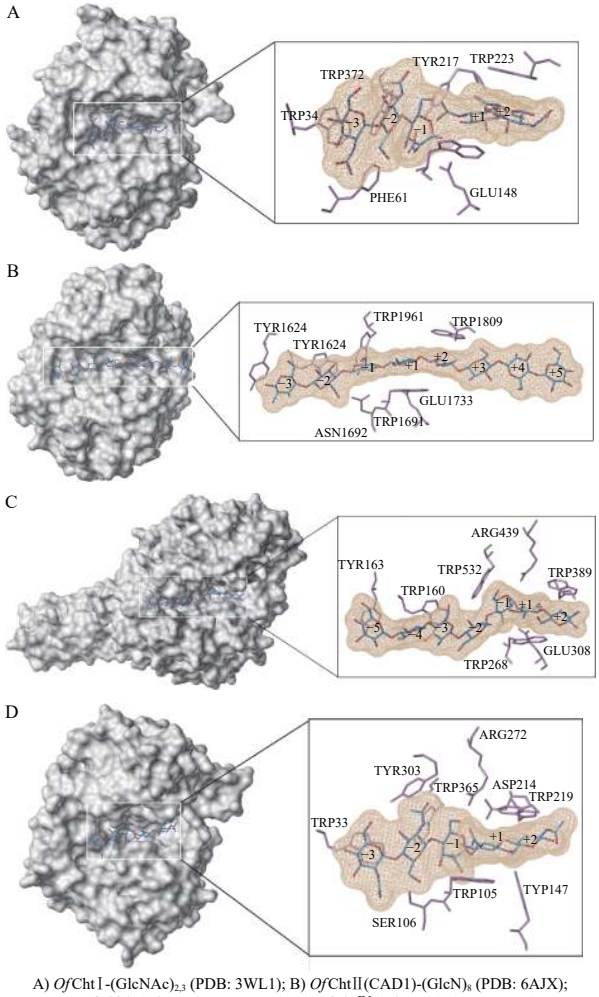
1 几丁质酶功能和结构特点

几丁质是一种不存在于植物及高等动物体内，仅存在于昆虫、真菌和线虫中的胞外功能性多糖，其化学本质为乙酰葡糖胺线性多聚体，是由 β-(1,4) 糖苷键连接的多个 *N*-乙酰葡糖胺 (GlcNAc) 构成的[1-2]。几丁质是昆虫外骨骼及围食膜、真菌细胞壁和线虫卵的重要组分，对多种生物起到保护和支撑作用。几丁质酶是一类糖苷水解酶 (glycosyl hydrolases，GH)，广泛存在于昆虫、细菌、真菌、线虫以及高等动植物体内，参与其生长发育及免疫等多种生理活动。在不同生物体内，几丁质酶发挥着不同的生理功能，如昆虫几丁质酶是昆虫蜕皮和外表皮重塑过程中的关键酶，真菌几丁质酶与其细胞壁的形成、菌丝的生长有着密切联系，线虫几丁质酶是线虫卵孵化过程中的关键酶，植物和人类几丁质酶则参与植物防御或人体免疫机制[3]。

最近，Chen 等对亚洲玉米螟的多种几丁质酶结构和功能进行了分析和比较，指出绝大多数昆虫几丁质酶都属于 GH18 家族，其催化结构域为 $(\alpha/\beta)_8$TIM 桶结构，该结构由 8 个 β 折叠和 8 个 α 螺旋共同组成，其催化三联体 DXDXE 位于桶壁，其侧链则指向桶结构内部；同时，他们对不同类几丁质酶各自独有的结构特征进行了详细阐述[6]。基于此，本文以亚洲玉米螟几丁质酶 (*Of*Cht) 为代表，重点对 *Of*Cht 共有结构特征和配体结合腔特点进行总结，以期为新型酶抑制剂的发现提供理论指导。目前，晶体结构已经得到解析的亚洲玉米螟几丁质酶包括 *Of*ChtⅠ、*Of*ChtⅡ、*Of*ChtⅢ、*Of*ChtⅣ和 *Of*Chi-h[7]。亚洲玉米螟不同

几丁质酶表现出不同的生理功能，其中 *Of*ChtⅠ、*Of*ChtⅡ和 *Of*Chi-h 存在于亚洲玉米螟的蜕皮液中，主要与昆虫蜕皮过程有关；而 *Of*ChtⅢ与几丁质合成相关；*Of*ChtⅣ则存在于昆虫消化道内，具有防御中肠内真菌感染的作用[6]。

如图 1 所示，在不同 *Of*Cht 与寡糖形成的复合物晶体结构中，其槽状几丁质结合腔是 *Of*Cht 的共同特征，该结合槽被划分为多个糖基结合位点，以 −*n*~+*n* 进行位点位置编号，−*n* 代表非还原端，+*n* 代表还原端，几丁质糖苷键的断裂就发生在 −1 和 +1 位点之间，即催化三联体 DXDXE 位于 −1 与 +1 位点之间[3, 8]。在底物结合槽内部有多个芳香性残基，以 *Of*ChtⅠ为例 (图 1A)，其底物结合腔中包含有 Trp34、Phe61、Trp107、Trp223、Trp217 和 Trp372 等芳香性残基，这些残基可以与底物形成多重 π-π 堆积作用，对几丁质酶与底物的结合具有重要意义。同时，不同 *Of*Cht 为适应其不同的功能特点，其几丁质结合槽在深度、宽度、位点数量、内部芳香性残基数目以及分布上又表现出不同的特点。例如：*Of*ChtⅠ底物结合腔中共有 10 个芳香性残基，其对称地分布于底物催化位点的两侧[9]；而 *Of*Chi-h 底物结合腔中共有 15 个芳香性残基，其分布表现出高度不对称性，且与 *Of*ChtⅠ相比，*Of*Chi-h 结合腔更深、更窄[7]。从位点数量上来看，*Of*ChtⅠ结合腔包含有 −3~+2 共 5 个糖基结合位点，而 *Of*Chi-h 结合腔和 *Of*ChtⅡ结合腔则各有 −5~+2 和 −4~+3 的 7 个糖基结合位点[6]。如图 1 所示，嵌入结合槽中寡糖的糖链走势和糖环取向可以直观地反映 *Of*Cht 底物结合槽特点。在多数 *Of*Cht-寡糖复合体中，其结合槽 −*n* 位点空间较大，而 +*n* 位点则更为狭窄；且底物结合槽中 −*n* 位点和 +*n* 位点的芳香性残基侧链具有明显取向差异，这使得结合于 +*n* 位点的糖环和结合于 −*n* 位点的糖环之间也存在着明显取向差异，如结合于 +1、+2 等 +*n* 位点的糖环是“嵌入”结合槽中，而结合于 −1、−2 等 −*n* 位点的糖环则“平铺”在结合槽内。这一取向上的差异将会导致 −1 糖环和 +1 糖环之间糖苷键 (即催化断裂位点) 的扭转。



A) *Of*ChtⅠ-(GlcNAc)$_{2,3}$ (PDB: 3WL1); B) *Of*ChtⅡ(CAD1)-(GlcN)$_6$ (PDB: 6AJX); C) *Of*Chi-h-(GlcN)$_7$ (PDB: 5GQB); D) *Of*ChtⅣ-(GlcNAc)$_5$ (PDB: 6JM8).

几丁质酶表面 (白色)、配体 (蓝色)、与配体产生结合作用的关键氨基酸残基 (粉色)[7, 10-12]。

Molecular surfaces of chitinase are shown in white. Ligands are shown in blue stick mode, and the key amino acid residues involved in the molecular interaction of different ligand are shown in pink stick mode[7, 10-12].

图 1　不同亚洲玉米螟的几丁质酶-配体复合物晶体结构

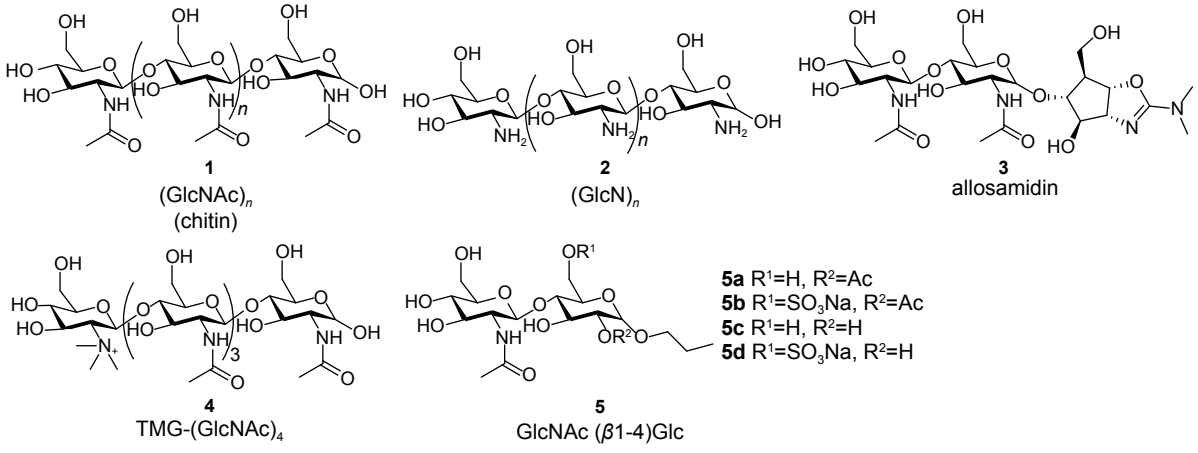
Fig. 1　Crystal structures of different *O. furnacalis* chitinases in complex with different ligand

2　几丁质酶抑制剂

2.1　糖类几丁质酶抑制剂

糖类几丁质酶抑制剂作为底物类似物是发展较早的几丁质酶抑制剂之一。Saguez 等和 Chen 等分别对糖类酶抑制剂的生物活性及其与酶结合方式进行了综述[4-5]。本文主要概述该类抑制剂的几丁质酶抑制活性及其与酶结合模式，并对最近报道的糖类几丁质酶抑制剂杀虫活性及酶抑制活性等进行介绍。如图式 1 所示，糖类几丁质酶抑制剂主要包括脱乙酰壳多糖 (GlcN)$_n$ (**2**)、阿洛氨菌素 (**3**)、TMG-(GlcNAc)$_4$ (**4**) 和 GlcNAc (β1-4) Glc (**5**)，这 4 类抑制剂均与几丁质底物——几丁质 (**1**，图式 1) 相似，具有多糖环的结构。

2.1.1　脱乙酰壳多糖　如图式 1 所示，脱乙酰壳多糖 (GlcN)$_n$ (**2**) 是 β-1,4 糖苷键连接的葡萄糖胺多



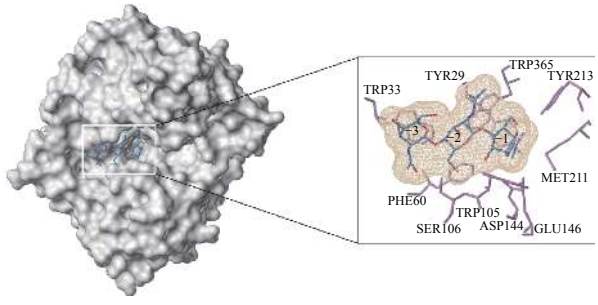
图式 1　几丁质和糖类几丁质酶抑制剂

Scheme 1　Chitin and carbohydrate chitinase inhibitors

聚体，可看作是几丁质的脱乙酰产物，在结构和来源上均与几丁质具有共通性。构成 $(GlcN)_n$ 的 GlcN 可以与几丁质酶底物结合槽中每个糖基结合位点一一结合，且与几丁寡糖中 GlcNAc 结合方式相似，因此，$(GlcN)_n$ 是几丁质酶的竞争性抑制剂。研究表明，$(GlcN)_n$ 对多种植物病菌和鳞翅目昆虫均有防效[4]。目前，几丁质酶与不同 $(GlcN)_n$ 复合物晶体结构已被陆续报道，包括 *Of*ChtⅠ-$(GlcN)_5$(PDB: 3WQV)、*Of*ChtⅠ-$(GlcN)_6$(PDB: 3WQW)[9]; *Of*ChtⅡ (CAD1)-$(GlcN)_8$ (PDB: 6JAX)[11]; *Of*ChtⅡ (CAD1)-$(GlcN)_7$ (PDB: 5Y2B)、*Of*ChtⅡ (CAD2-E2180L)-$(GlcN)_5$ (PDB: 5Y2C)[13] ; *Of*Chi-h-$(GlcN)_7$(PDB: 5GQB)[7] 等。不同 $(GlcN)_n$ 对 *Of*Cht 抑制常数 (K_i) 或半抑制浓度 (IC_{50}) 普遍在 10~50 μmol/L 之间[9, 11, 13]，向亚洲玉米螟 5 龄幼虫中注射脱乙酰壳多糖 $(GlcN)_{2\text{-}7}$ 混合物，可造成其发育受阻并导致死亡[9]。

2.1.2　阿洛氨菌素　阿洛氨菌素 (allosamidin，**3**) 是最早发现的几丁质酶抑制剂，具有广谱和高效的几丁质酶抑制活性，对鳞翅目幼虫具有较高致死作用，并有较弱的杀蚜活性[4, 14]。如图式 1 所示，阿洛氨菌素具有与几丁质水解催化反应中间体相似的噁唑啉结构。在 *Of*ChtⅣ与阿洛氨菌素复合物晶体中 (PDB: 6JMB)，阿洛氨菌素主要结合于亚洲玉米螟几丁质酶底物结合槽的 −3~−1 位点，其噁唑啉结构可与相应的 −1 位点残基形成多种相互作用[12] (图 2)，这与阿洛氨菌素和烟曲霉几丁质酶 B1 (*Af*ChiB1)[15]、人类几丁质酶 (*Hs*Cht1)[16] 结合方式相似。

2.1.3　TMG-$(GlcNAc)_4$　如图式 1 所示，TMG-$(GlcNAc)_4$ (**4**) 具有与几丁寡糖类似的多糖环结构，但其末端糖环 C2 位连接的是三甲基氨基而非乙酰氨基。当向亚洲玉米螟的 5 龄幼虫中注射 0.2 μg TMG-$(GlcNAc)_4$ 时，会使得多数幼虫化蛹异常。当 TMG-$(GlcNAc)_4$ 的浓度为 10 μmol/L 时，对亚洲玉米螟几丁质酶 h(*Of*Chi-h) 的抑制率可达 95%。该研究还指出 TMG-$(GlcNAc)_4$ 可被 *Of*Chi-h 降解生成 TMG-$(GlcNAc)_{1\text{–}2}$，由于该降解产物具有与几丁寡糖相似的化学结构，推测其可能是真正发挥亚洲玉米螟生长抑制作用的关键化合物[7]。本文作者推测，TMG-$(GlcNAc)_4$ 可能同时结合在 *Of*Chi-h 中几丁质结合腔的 −1 与 +1 位点进而产生抑制作用。



*Of*ChtⅣ表面 (白色)、allosamidin (蓝色)、与 allosamidin 产生结合作用的关键残基 (粉色)[12]。

Molecular surfaces of *Of*ChtⅣ are shown in white. Small molecules are shown in blue stick mode, and the key amino acid residues involved in the molecular interaction are shown in pink stick mode[12].

图 2　*Of*ChtⅣ-阿洛氨菌素复合体 (PDB 6JMB) 结构

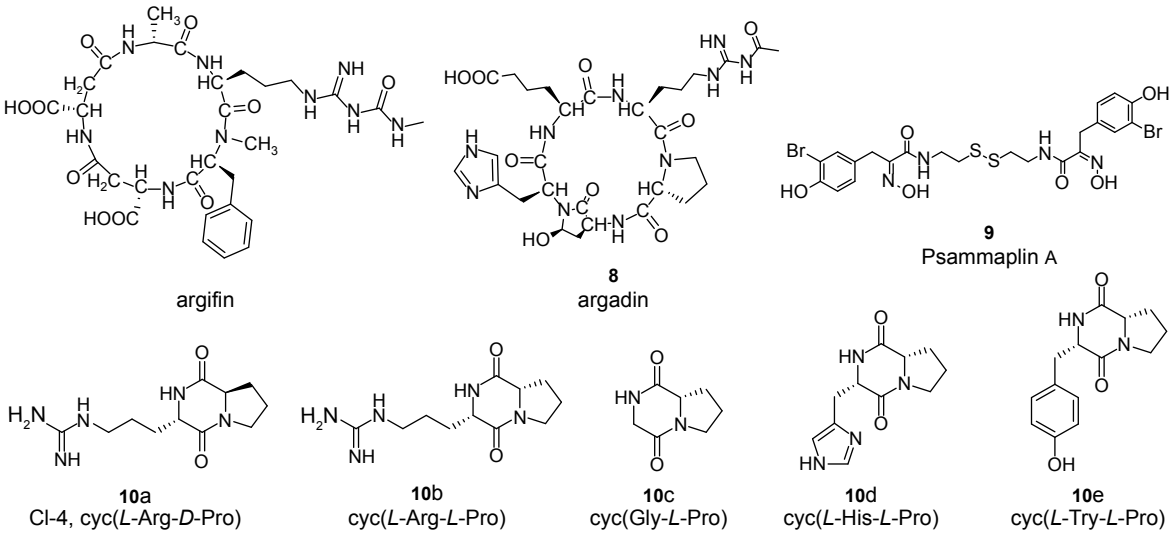
Fig. 2　Crystal structure of *Of*ChtⅣ in complex with allosamidin (PDB 6JMB).

2.1.4　GlcNAc(β1-4)Glc　如图式 1 所示，GlcNAc (β1-4)Glc (**5**) 是几丁质二糖的类似物，其保留了几丁质的 β-1,4 糖苷键结构。当用质量浓度为 100 μg/mL 和 10 μg/mL 的化合物 **5b**、**5c**、**5d** 饲喂桃蚜 *Myzus*

persicae 时，可导致其若虫成活率明显下降。研究指出，化合物 **5c** 是桃蚜外切几丁质酶和绿色木霉 *Trychoderma viride* 外切几丁质酶的竞争性抑制剂，其酶抑制常数 (K_i) 分别为 82 和 115 μmol/L。同时，化合物 **5a**和 **5c** 还被报道是灰色链霉菌 *Streptomyces griseus*内切几丁质酶的非竞争性抑制剂，其 K_i 分别为68 和 100 μmol/L。研究表明，GlcNAc (β1-4)Glc 分子中的丙基结构与几丁质酶的作用方式可能与阿洛氨菌素的非糖基部分与酶的作用方式具有一定相似性，而化合物 **5b** 和 **5d** 与酶的结合受到了磺酸基团阻碍，从而导致其几丁质酶抑制活性下降[17]。

2.2　肽类几丁质酶抑制剂

肽类抑制剂是另一类发展较早的几丁质酶抑制剂，分为环五肽和环二肽两类。Saguez 等[4] 和 Chen 等[5] 分别对肽类抑制剂的活性、与酶结合方式及构效关系进行了综述，本文在此基础上，对肽类抑制剂的生物活性作简要介绍 (图式 2)。



图式 2　肽类几丁质酶抑制剂

Scheme 2　Peptide chitinase inhibitors

肽类几丁质酶抑制剂中，环五肽类化合物 (argifin **7** 和 argadin **8**) 可结合在烟曲霉几丁质酶 B1(*Af*ChiB1) 几丁质结合腔内，并与其中的芳香性残基及催化三联体形成相互作用[18]；环二肽类化合物 (**10a~10e**) 对粘质沙雷氏菌几丁质酶 B (*Sm*ChiB) 具有较弱的抑制活性，且对酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 细胞分裂和白色念珠菌 *Candida Albicans*进入寄主具有抑制效果[19]。但是，肽类化合物对昆虫几丁质酶抑制活性和杀虫活性仍鲜有报道。有报道指出昆虫几丁质酶底物结合槽与细菌、真菌几丁质酶底物结合腔具有类似的结构特点[3]，如 *Sm*ChiA与 *Of*Chi-h 之间序列相似度高达 73%[7]，本文作者推测对真菌、细菌几丁质酶具有抑制活性的肽类化合物可能也具有昆虫几丁质酶抑制活性，值得关注。

Psammaplin A (**9**) 是由二硫键连接的两个溴代色氨酸构成的二肽类化合物，是芽孢杆菌 *Bacillus* sp.、链霉菌 *Streptomyces* sp.、放线菌 *Actinomyces* sp.、粘质沙雷氏菌 *Serratia marcescens* 等细菌几丁质酶的弱非竞争性抑制剂。Psammaplin A 可与 *Sm*ChiB 活性中心结合。同时，它也是葡萄灰霉病菌 *Botrytis cinerea* 的生长抑制剂，且杀虫活性具有一定选择性，其对绿棉铃虫 *Heliothis virescens* 无杀虫活性，而对同为鳞翅目害虫的小菜蛾 *Plutella xylostella* 却具有中等致死活性，对桃蚜和大戟长管蚜 *Macrosiphum euphorbiae* 的致死活性较高 (浓度为 50 μg/mL 时，其致死率为 100%)，中毒的大戟长管蚜表现出发育异常、蜕皮不完全等症状，这可能与其几丁质酶异常相关[4, 20]。

2.3　新型几丁质酶抑制剂

近年来，越来越多的几丁质酶晶体结构得到解析，这使得开发具有新型骨架的几丁质酶抑制剂成为可能。这些抑制剂的发现或基于高通量虚拟筛选，或以天然产物为导向。基于上述总结的 *Of*Cht 底物结合槽共同特点，如图 3 所示，本文作者推测新型 *Of*Cht 抑制剂的分子结构通用模型可能是由具有氢键特征的柔性桥链连接两侧刚性平面结构组成的，其中两侧平面结构可与酶结合槽

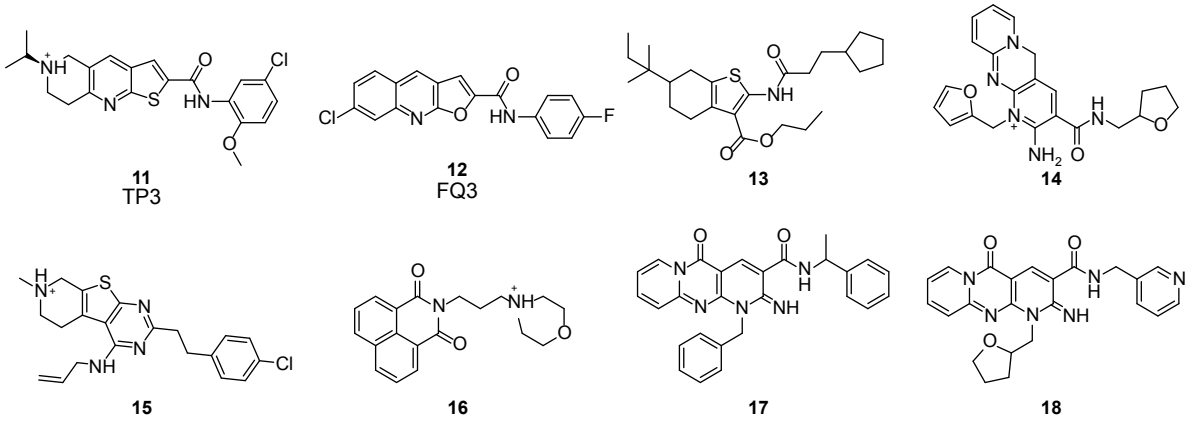
内的芳香性氨基酸残基侧链形成 π–π 堆积或疏水作用。Chen 等[6] 对几丁质酶抑制剂的虚拟筛选过程及结果进行了概述，并对 Phlegmacin B_1 和小檗碱两类天然几丁质酶抑制剂的活性和作用方式进行了总结。本文在此基础上，对虚拟筛选得到的几丁质酶抑制剂化学结构进行聚类分析，简要介绍其生物活性及其与几丁质酶结合方式，并对小檗碱、Phlegmacin B_1 以及香豆素类化合物 3 类几丁质酶抑制剂进行综述。

2.3.1 由虚拟筛选发现的几丁质酶抑制剂 在图式 3 所示的由虚拟筛选发现的几丁质酶抑制剂中，TP3(**11**)、FQ3(**12**)、化合物 **17**、**18** 均含有由柔

图 3 亚洲玉米螟几丁质酶 (*Of*Cht) 抑制剂的分子模型

Fig. 3 Molecular model of inhibitor of *O. furnacalis* chitinase (*Of*Cht)

性酰胺键连接一大一小两个芳香性的结构特征，化合物 **13**、**14** 共同特点是由酰胺键连接刚性平面结构和非平面结构，化合物 **15**、**16** 结构特点同为柔性烷烃链连接刚性平面结构和环结构。可见，这些新型几丁质酶抑制剂结构总体特征与本文作者所提出的 *Of*Cht 酶抑制剂模型完全或部分相符。



图式 3 由虚拟筛选发现的几丁质酶抑制剂

Scheme 3 Chitinase inhibitors by virtual screening strategy

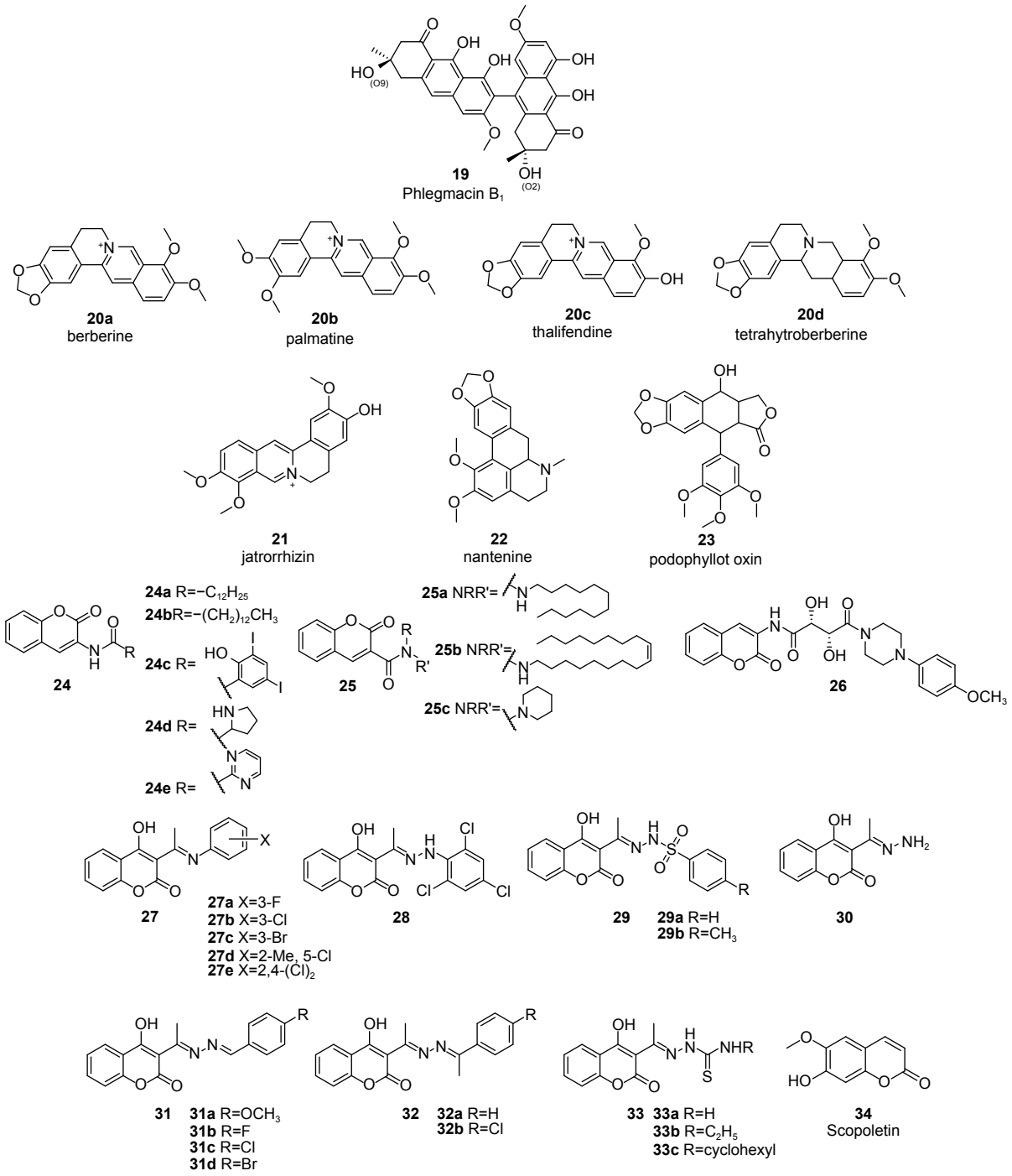
TP3(**11**)、FQ3(**12**) 以及化合物 **13** 均是 *Of*ChtⅠ抑制剂。TP 类化合物对 GH18 家族酶具有广谱抑制活性，且对 *Sm*ChiB 抑制活性最为突出，而对 *Of*ChtⅠ抑制活性较弱，其中 TP3 可结合于 *Of*ChtⅠ的 −3~ −1 位点，其异丙基的结构可与位于 −1 位点的催化残基 Glu148 形成相互作用。而 FQ 类化合物可特异性地抑制 *Of*ChtⅠ，其中 FQ3 活性最优，其半抑制浓度 (IC_{50}) 为 6.4 μmol/L，它可同时占据 *Of*ChtⅠ的 −*n* 和 +*n* 位点，并与 Glu148 形成氢键[21]。化合物 **13** 具有良好的 *Of*ChtⅠ抑制活性，其 K_i 为 0.71 μmol/L，可结合于 *Of*ChtⅠ的 −3~ −1 位点，与结合腔中多个芳香性残基形成疏水或堆积作用[22]。

联吡啶-苯并嘧啶酮类 (**14**)、哌啶-噻吩吡啶类化合物 (**15**)、萘二甲酰亚胺类化合物 (**16**) 是 *Of*ChtⅡ抑制剂。这 3 类化合物与 *Of*ChtⅡ结合方式非常相似：即分子中的疏水结构夹在酶 +1 或 +2 位点的两个色氨酸之间，同时另一片段结合在 −1 位点处[6]。可见，化合物 **14**、**15**、**16** 与 *Of*ChtⅡ的结合可充分占据 *Of*ChtⅡ催化位点。

化合物 **14** 的衍生物 **17**、**18** 对 *Of*Chi-h 具有良好抑制活性，其 K_i 值分别为 0.39 和 9 nmol/L。在 *Of*Chi-h 与化合物 **18** 复合物晶体结构 (PDB：6JMN) 中，该类化合物的并环结构可与几丁质结合腔中 +1、+2 位点的保守色氨酸形成 π–π 堆积作用，其桥链上的酰胺结构则可与酶催化残基 Glu308 形成氢键，这对该类化合物发挥酶抑制活性具有重要作用[23]。

2.3.2 以天然产物为导向的几丁质酶抑制剂

2.3.2.1 Phlegmacin B_1 Phlegmacin B_1(图式 4，**19**) 是篮状菌属真菌的次生代谢产物，是 *Of*Chi-h 和 *Of*ChtⅠ的竞争性抑制剂。Phlegmacin B_1 可结合于 *Of*Chi-h 的 −3~+1 位点，其两个蒽醌片段与几丁质结合腔中的 Trp160、Trp268、Trp532 形成 π–π 作用，其 O2 和 O9 可分别与催化残基 Trp160、Glu308 形成氢键。向亚洲玉米螟注射或喂食



图式 4　以天然产物为导向的几丁质酶抑制剂

Scheme 4　Chitinase inhibitors derived from natural products

Phlegmacin B_1 均可导致其蜕皮障碍[24]。

2.3.2.2　小檗碱及其类似物　小檗碱 (**20a**) 存在于黄连属植物中，是重要的几丁质酶竞争性抑制剂。如图式 4 所示，小檗碱结构中带正电荷的异喹啉片段是其发挥几丁质酶抑制活性的重要功能片段。几丁质结合腔中保守色氨酸残基可与小檗碱的异喹啉结构形成 π−π 堆积作用，其带负电的酸性氨基酸残基可与小檗碱形成静电相互作用。小檗碱对 *Of*ChtⅠ 的 K_i 为 19 μmol/L，其保留了带正电共轭结构的类似物 palmatine(**20b**)、thalifendine(**20c**)，对 *Of*ChtⅠ 的 K_i 均为 15 μmol/L；另一类似物四氢化小檗碱 (tetrahytroberberine，**20d**) 由于不具有平面大共轭结构和表面正电荷，对 *Of*ChtⅠ 不表现抑制活性[25]，这进一步证实了分子中刚性平面结构对于几丁质酶抑制活性具有重要贡献。

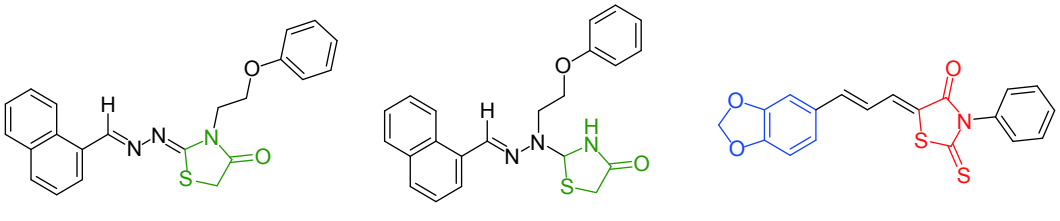
黄连属是小檗科中一属，小檗科植物所含有

的药根碱 (**21**, jatrorrhizin)、*O*-甲基南天竹碱 (**22**, nantenine)、鬼臼毒素 (**23**, podophyllotoxin) 等化合物均具有与小檗碱相似的结构片段，其中鬼臼毒素类化合物被报道具有中等杀虫活性，可使中毒的黏虫 *Mythimna separata* 表现出生长发育异常等症状，这可能与几丁质酶活性异常相关[26]。可见，来自于小檗科植物的天然产物可能是昆虫几丁质酶抑制剂的重要先导化合物之一。

2.3.2.3 香豆素类化合物 香豆素 (2*H*-1-苯并吡喃-2-酮) 广泛存在于多种植物、真菌和细菌中。3-酰胺香豆素类化合物 **24** 和 **25** (图式 4) 可结合于烟曲霉几丁质酶 B1(*Af*ChiB1) 活性中心，其共轭结构可与残基形成 π−π 堆积和疏水作用，经测试该类化合物不仅具有较高的几丁质酶抑制活性 (IC_{50} = 4.68~11.7 μmol/L)，而且对白色念珠菌和烟曲霉均具有良好抑制效果 (minimum inhibitory concentration（MIC) = 6.25~25 μg/mL)[27]。由于白色念珠菌几丁质合成酶与其几丁质酶都具有浅而长的底物结合槽，推测对几丁质合成酶具有抑制活性的分子可能也具有几丁质酶抑制活性。因此 Batran 等以几丁质合成酶抑制剂 **26** 为先导，引入亚胺结构，设计合成了化合物 **27~33**，发现化合物 **27~33** 可结合于白色念珠菌几丁质酶、黑曲霉几丁质酶和尖刀镰孢菌几丁质酶的几丁质结合槽，与周围残基形成氢键等相互作用，且具有较弱几丁质酶抑制活性 (IC_{50} = 1.00~15.95 mmol/L)[28]。这一研究结果证明，几丁质合成酶抑制剂也有望成为几丁质酶抑制剂的候选分子。

综上所述，香豆素类化合物可与真菌几丁质酶的几丁质结合槽产生良好结合作用，且该类化合物具有真菌几丁质酶抑制活性。鉴于真菌几丁质酶和昆虫几丁质酶在底物结合槽的结构和催化功能上均具有很高相似性，因此，香豆素类化合物也具有开发成为以昆虫几丁质酶为靶标的新型杀虫剂的潜力。香豆素类化合物具有广泛的杀虫和杀螨活性[29]。有研究指出，香豆素类化合物——东莨菪内酯 (**34**, scopoletin) (如图式 4) 可致使朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus* 表皮皱缩，且其几丁质酶很可能是东莨菪内酯的作用靶标[30]。这一研究也进一步表明香豆素类化合物有望成为昆虫几丁质酶抑制剂的候选先导之一。

2.3.3 噻唑烷酮类几丁质酶抑制剂 2-亚胺-噻唑烷-4-酮类化合物 (图式 5) 对亚洲玉米螟 *N*-乙酰己糖胺酶 (*Of*Hex)[31-32] 和 *Of*Chi-h[32] 均具有良好的抑制活性。其中，化合物 **35**、**36** 酶抑制活性最佳，在 10 μmol/L 时对 *Of*Hex 抑制率分别为 65.8% 和 81.3%，对 *Of*Chi-h 抑制率分别为 79.6% 和 59.2%，但未见相关杀虫活性报道。根据分子对接结果，发现化合物 **35**、**36** 与 *Of*Chi-h 结合方式具有较大差异，化合物 **35** 萘基占据在结合腔中 +1、+2 位点，处于 Trp268 和 Trp389 之间，其苯氧乙基则占据由 Phe184、Thr269 和 Leu270 组成的疏水腔，其环外 N 原子与催化残基 Glu308 间可形成氢键作用。而化合物 **36** 与 *Of*Chi-h 分子对接结果中，上述疏水腔则主要由该分子中萘基结构占据。可见，尽管化合物 **35** 和 **36** 结构具有高度相似性，但它们在 *Of*Chi-h 结合腔中却存在着显著差异，这暗示了结构相似的化合物在几丁质酶结合腔中可能存在着多种不同结合构象。最近本文作者实验室设计合成的含胡椒碱骨架硫代噻唑烷酮类化合物 **37** (图式 5)，对 *Of*ChtI 也表现出较高抑制活性，当浓度为 2 μmol/L 时，其抑制率达到 68.5%，且在 200 μg/mL 下，化合物 **37** 对亚洲玉米螟致死率达到 40%；此外，该化合物对小菜蛾、棉铃虫 *Helicoverpa armigera*、黏虫致死率均超过 50%，其对豆蚜 *Aphis craccivora*、朱砂叶螨 *T. cinnabarinus*



噻唑烷-4-酮：绿色；2-硫代噻唑烷-4-酮：红色；胡椒基：蓝色。

Thiazolidine-4-one (green); 2-thiothiazolidine-4-one (red); piperonyl (blue).

图式 5 噻唑烷酮类新型几丁质酶抑制剂

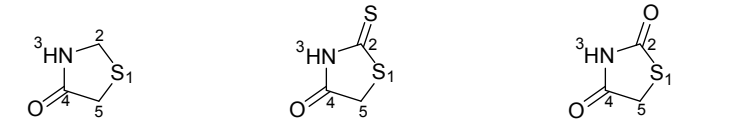
Scheme 5 Thiazolidinone derivatives as novel chitinase inhibitors

和尖音库蚊 *Culex pipiens* 幼虫也具有致死活性[33]。

3　噻唑烷酮类化合物合成及其农用生物活性

噻唑烷酮类化合物具有杀鳞翅目害虫[34-36]、杀蚊[36]、杀蝇[36]、杀蚜[34, 37-38]、杀线虫[38]和抗真菌[39]等农用活性，杀虫剂靶标酶中的几丁质酶[31-32]、酪氨酸酶[40-42]以及杀菌剂靶标酶中琥珀酸脱氢酶[43]均有被报道可作为噻唑烷酮类化合物靶标。同时，噻唑烷酮结构包含多个反应中心，这有利于对其进行多方面结构改造。因此，噻唑烷酮类化合物受到研究人员广泛关注。

噻唑烷酮类化合物根据结构可进一步分为噻唑烷-4-酮类、噻唑烷-2,4-二酮类和 2-硫代噻唑烷-4-酮类 3 类 (图式 6)，不同噻唑烷酮类化合物在合成方法上具有一定共通性。在噻唑烷酮 2、3、5 号位连接不同取代基，可极大影响化合物生物活性[44]。本文对噻唑烷酮类化合物的合成方法及其农用生物活性进行了较为全面的总结和展望。

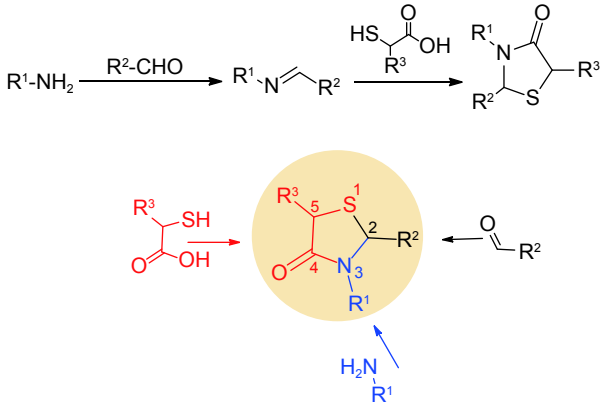


图式 6　不同噻唑烷酮类化合物的化学结构式

Scheme 6　Structural formula of different thiazolidinone compounds

3.1　噻唑烷-4-酮类化合物合成及农用生物活性

3.1.1　噻唑烷-4-酮类化合物合成方法 1　以胺、醛和 α-巯基乙酸为原料，经席夫碱中间体缩合生成噻唑烷酮类化合物，是合成噻唑烷-4-酮类化合物的常用方法之一 (图式 7)[34-35, 37, 45]。在该合成方法中，通常使 α-巯基乙酸过量，反应完成后可通过水洗除去多余 α-巯基乙酸。如图式 7 所示，对噻唑烷-4-酮类化合物合成方法进行分析归纳，发现产物噻唑烷酮中 3 号位 N 源于原料胺，因此，选用不同取代胺作为原料，可实现产物 3 号位不同取代。同理，2 号位 C 源于原料醛，选用不同取代醛作为原料可实现产物 2 号位不同取代；5 号位 C 源于 α-巯基乙酸，选用合适的 *α*-巯基乙酸为原料可实现产物 5 号位不同取代。



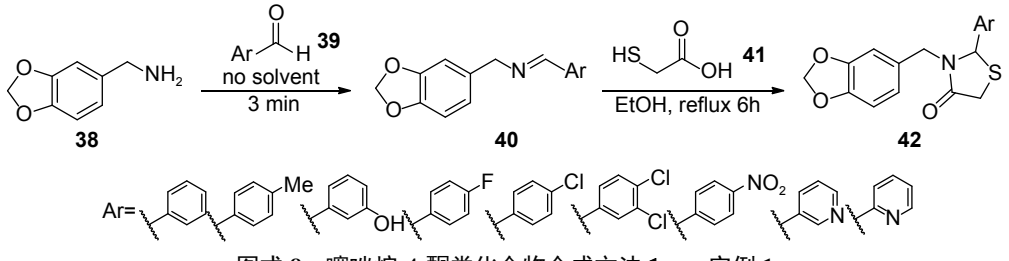
图式 7　噻唑烷-4-酮类化合物合成方法 1

Scheme 7　Synthetic method 1 of thiazolidine-4-ones

实例 1：如图式 8 所示。胡椒胺 **38** 与芳香醛 **39** 在无溶剂条件下反应生成中间体席夫碱 **40**，再加入 α-巯基乙酸 **41** 和溶剂乙醇，回流 6 h，生成 2,3-二取代的噻唑烷酮类化合物 **42**，产率为 74%~98%。该类硫代噻唑烷酮类化合物对人类糖苷水解酶——*α*-葡萄糖苷酶抑制常数 (K_i) 为 8.9~66.5 nmol/L[45]，但尚未见几丁质酶抑制活性或农用活性报道。

此外，上述合成方法 **1** 也可通过微波促成。与传统加热相比，微波辐射条件可使反应速率明显加快，且产率得到提升[39]。

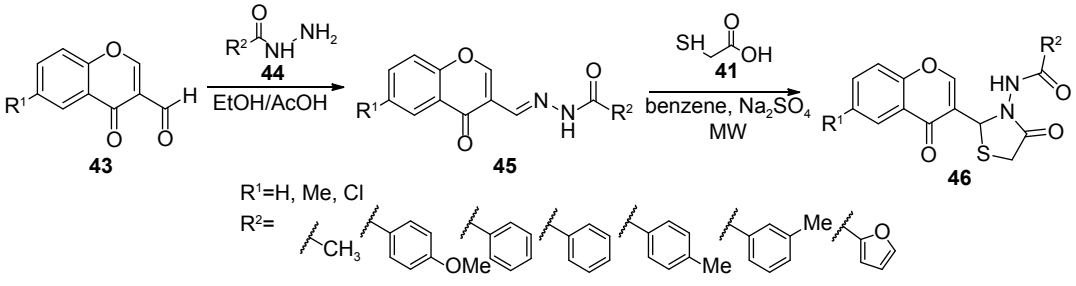
实例 2：如图式 9 所示。3-取代色酮 **43** 与等



图式 8　噻唑烷-4-酮类化合物合成方法 1——实例 1

Scheme 8　Synthetic method 1 of thiazolidine-4-ones: example 1

量酰肼 **44** 在酸性条件下反应生成中间体酰腙 **45**，然后 **45** 与 5 倍当量的α-巯基乙酸 **41** 在微波辐射条件下加热至 140℃，反应 9 min，目标化合物 **46** 可从反应液中析出，过滤并重结晶即可得到目标物纯品。化合物 **46** 对苜蓿蚜 *Aphis craccivora* Koch. 表现出较弱生长抑制活性[37]。



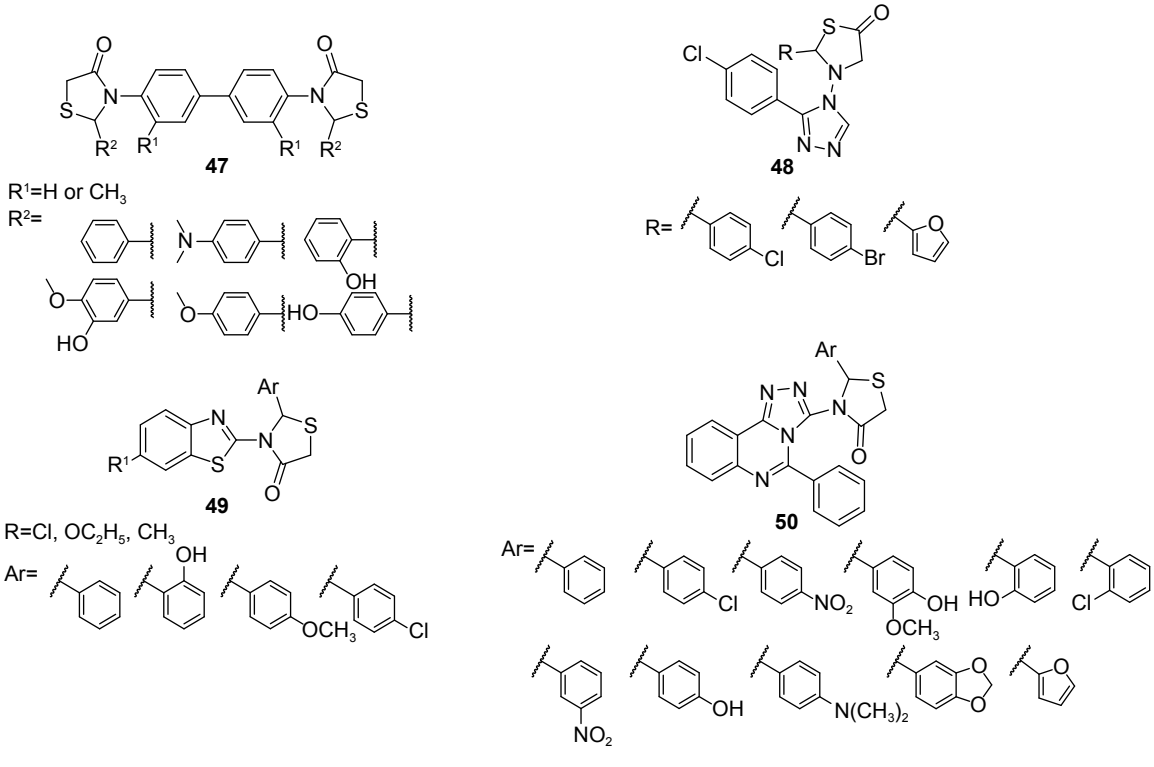
图式 9 噻唑烷-4-酮类化合物的合成方法 1——实例 2

Scheme 9 Synthetic method 1 of thiazolidine-4-ones: example 2

实例 3：如图式 10 所示。化合物 **47~50** 也可用上述合成方法 **1** 获得。化合物 **47** 对双孢蘑菇 *Agaricus bisporus* 酪氨酸酶具有抑制活性，当 R^1 为 H 且 R^2 为 2-酚羟基苯基时，其酶活性最优，IC_{50} 为 0.61 μmol/L[42]。化合物 **48** 对棉铃虫幼虫具有弱触杀和胃毒活性[35]。化合物 **49** 对二斑叶螨 *Tetranychus urticae*具有中等杀虫活性，其对斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 幼虫也表现中等至优的胃毒和触杀活性[34]。化合物 **50** 对秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans*和食菌茎线虫 *Ditylenchus myceliophagus* 具有较弱毒杀作用[46]。

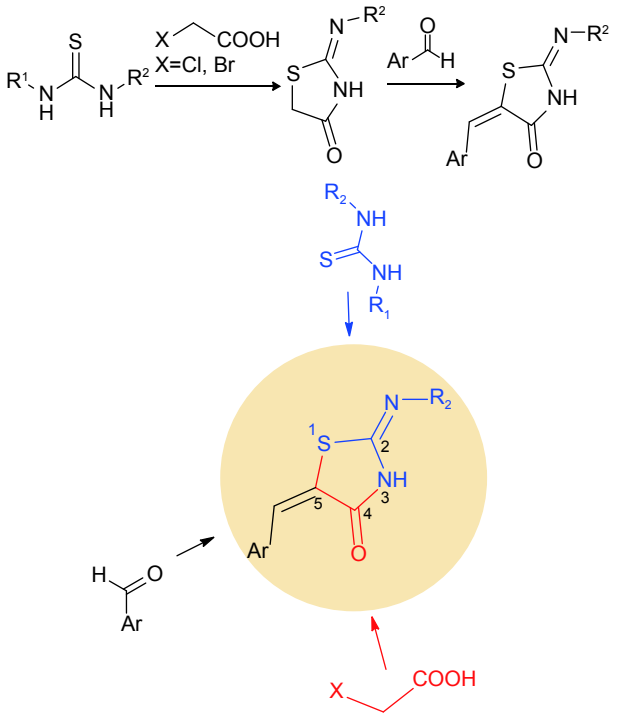
3.1.2 噻唑烷-4-酮类化合物合成方法 2 取代硫脲与 *α*-卤代酸在碱催化下发生环化反应生成噻唑烷-4-酮，是合成 2-亚胺噻唑烷-4-酮类化合物的常用方法 (图式 11)[31-32, 43]。产物 2-亚胺噻唑烷-4-酮可进一步与芳香醛反应，实现 5 号位芳烯基取代。

实例 1：如图式 12 所示。以二氯甲烷为溶剂，在室温条件下，2-胺基-6-甲基吡啶 **51** 与异硫氰酸类化合物 **52** 反应，生成不对称取代的硫脲 **53**。在醋酸钠催化下，取代硫脲 **53** 与氯代乙酸 **54** 发生环化反应生成 2-亚胺噻唑烷-4-酮类化合物 **55**。化合物 **55** 进一步与芳香醛 **39** 发生缩合，生



图式 10 噻唑烷-4-酮类化合物合成方法 1——实例 3

Scheme 10 Synthetic method 1 of thiazolidine-4-ones: example 3



图式 11　噻唑烷-4-酮类化合物合成方法 2

Scheme 11　Synthetic method 2 of thiazolidine-4-ones

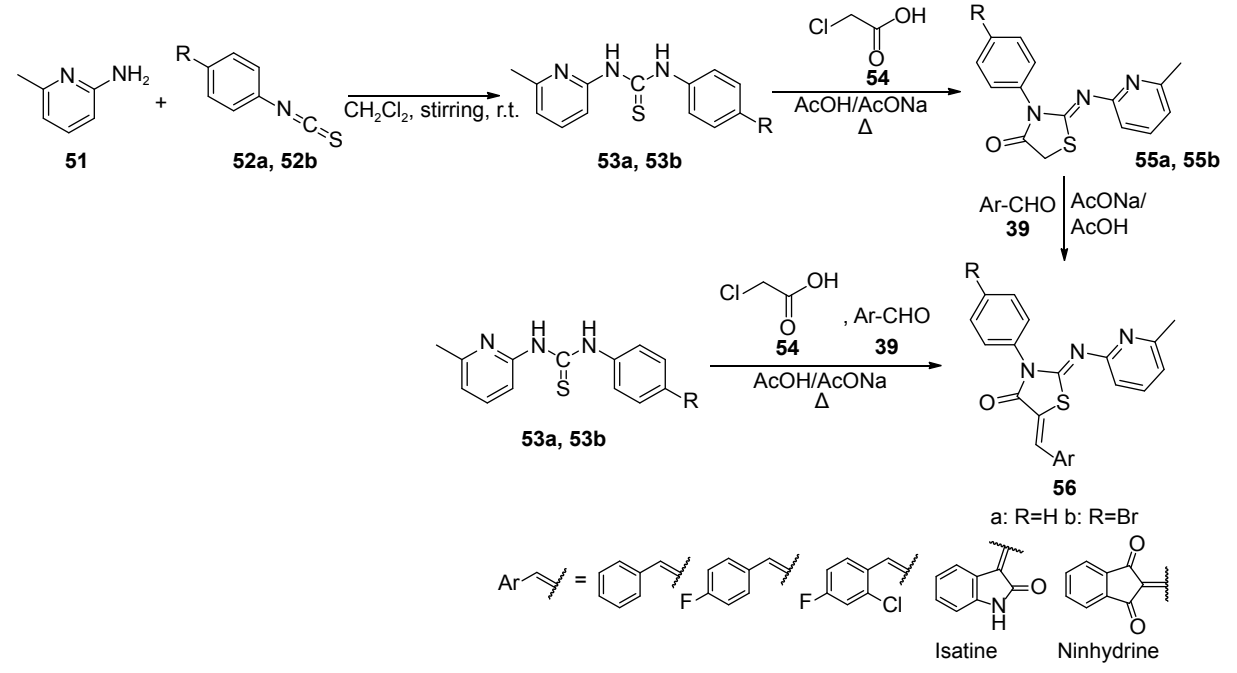
成目标产物 **56**。另外，取代硫脲 **53**、芳香醛 **39** 和氯代乙酸 **54** 在醋酸钠催化下发生三组分缩合也可生成目标产物 **56**。该类化合物对黄曲霉 *Aspergillus flavus*、黑曲霉 *Aspergillus niger*、赭曲霉 *Aspergillus ochraceus*、茄链格孢 *Alternaria solani*、马铃薯叶枯病菌 *Macrophomina phaseoli* 均具有较高抑制活性，当 R 为 Br、Ar 为靛红 (isatine) 或茚三酮 (ninhydrine) 基团时，其半抑制浓度 (IC_{50}) 均小于 10 μg/mL。同时，分子对接研究证明，该类化合物可与琥珀酸脱氢酶 (PDB：1ZOY) 活性中心较好地结合，具有抑制琥珀酸脱氢酶潜力，但尚未见其相关酶抑制活性报道[43]。

该合成方法中 α-卤代酸可替换为 α-卤代酸酯。**实例 2** 如图式 13 所示。氨基硫脲 **57** 与芳香醛 **39** 反应生成化合物 **58**。化合物 **58** 与 α-溴代乙酸乙酯 **59** 在碱催化下反应生成 2-亚胺肼噻唑烷-4-酮类化合物 **60**。化合物 **60** 可进一步与氯代物在碱性条件下反应，生成化合物 **61**。该类化合物对亚洲玉米螟 *N*-乙酰己糖胺酶 (*Of*Hex) 和几丁质酶 h(*Of*Chi-h) 均具有抑制活性[31-32]。

将上述合成噻唑烷-4-酮类化合物的两种方法进行分析和比较，发现与方法 **1** 相比，方法 **2** 最大优点为可直接得到 2 号位为亚胺取代的噻唑烷-4-酮类化合物。因此，在合成 2-亚胺噻唑烷-4-酮类化合物时，方法 **2** 为优选方法；而若要得到 3 号位取代 (N 上取代) 噻唑烷酮类化合物时，则选择方法 **1** 更为直接。

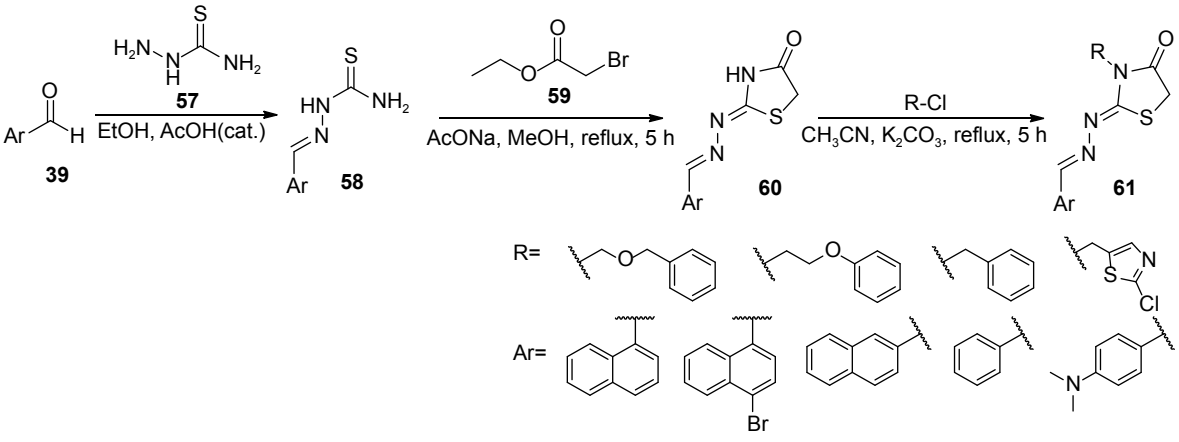
3.2　2-硫代噻唑烷-4-酮类化合物合成及农用生物活性

3.2.1　2-硫代噻唑烷-4-酮类化合物合成方法 1　如图式 14 所示。胺与二硫化碳在碱性条件下反应生



图式 12　噻唑烷-4-酮类化合物合成方法 2——实例 1

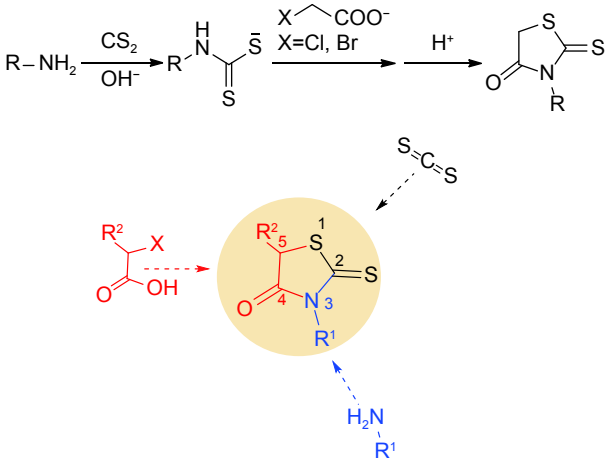
Scheme 12　Synthetic method 2 of thiazolidine-4-ones: example 1



图式 13 噻唑烷-4-酮类化合物合成方法 **2**——实例 2

Scheme 13 Synthetic method 2 of thiazolidine-4-ones: example 2

成二硫代氨基甲酸类化合物，二硫代氨基甲酸类化合物与 *α*-卤代酸依次在碱性和酸性条件下发生连续两步反应，生成 2-硫代噻唑烷-4-酮 (绕丹宁，rhodanine) 类化合物。对 2-硫代噻唑烷-4-酮类化合物合成方法进行分析和总结 (图式 14)，发现产物硫代噻唑烷酮类化合物 3 号位取代基来自于原料胺，因此，要获得 3 号位连有特定取代基产物，则应选用特定取代胺作为原料。同理，产物 5 号位的碳原子源自原料卤代酸 *α*-C，选用相应取代 *α*-卤代酸可实现产物噻唑烷酮 5 号位取代。



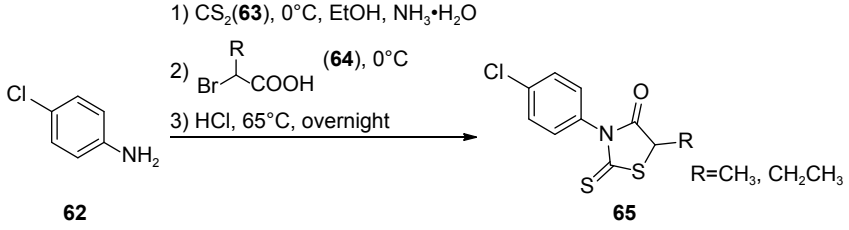
图式 14 2-硫代噻唑烷-4-酮类化合物合成方法 **1**

Scheme 14 Synthetic method 1 of 2-thiothiazolidine-4-ones

实例 1：如图式 15 所示。4-氯苯胺 **62** 依次与二硫化碳 **63**、*α*-溴代酸 (钠盐形式) **64** 在 0 ℃ 下反应，经酸化后生成绕丹宁类化合物 **65**。产物以沉淀形式出现，室温下过滤所得滤渣，并在冰醋酸中重结晶即可得到目标物 **65**，产率约为 70%。化合物 **63** 对家蝇 *Musca domestica*、甘蓝蚜 *Brevicoryne brassicae* 和二斑叶螨 *T. urticae* 具有杀虫活性，且对根结线虫具有明显防效[38]。

该合成方法是 3 号位取代的绕丹宁类化合物的经典合成方法，反应可在水溶液中进行，且后处理简单。化合物 **66** (图式 16) 也可用类似方法合成，其对埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 幼虫具有较高致死活性[47]。

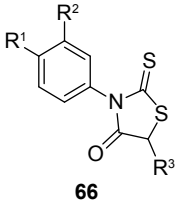
2-硫代噻唑烷-4-酮具有典型的氢键受体结构特征，且其环状结构以接近平面状态存在，这种独特的结构特征很可能是 2-硫代噻唑烷-4-酮类化合物具有多重生物活性的原因。本文作者前期研究发现，2-硫代噻唑烷-4-酮类化合物具有优异的 *Of*ChtⅠ 抑制活性[33]，推测可能是由于几丁质酶催



图式 15 2-硫代噻唑烷-4-酮类化合物合成方法 **1**——实例 1

Scheme 15 Synthetic method 1 of 2-thiothiazolidine-4-ones: example 1

化位点周围存在多个氢键特征残基，且底物结合槽中有多个芳香性残基，使得含有氢键受体和近平面结构特征的 2-硫代噻唑烷-4-酮类化合物可以通过与几丁质酶催化中心结合，抑制其发挥催化活性。同时，绕丹宁类化合物含有碳硫双键结构，可以与人类碳酸酐酶Ⅰ(hCAⅠ) 中金属离子配位[48]。有研究报道指出，绕丹宁类化合物对含铜离子酶——双孢蘑菇 *A. bisporus* 酪氨酸酶具有抑制活性[49]，其原因可能也是绕丹宁类化合物中的碳硫双键结构与酪氨酸酶活性中心铜离子配位结合，进而发挥其酪氨酸酶抑制活性。



66

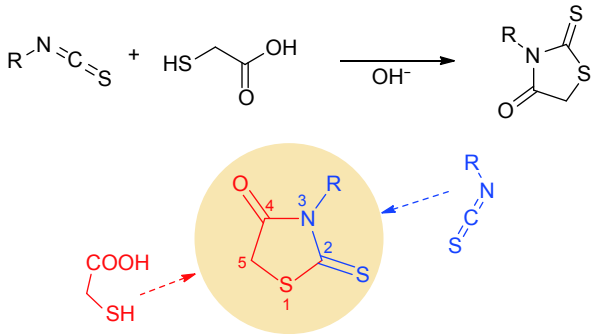
R^1=OCH_2CH_3, $OCH_2CH_2CH_3$
R^2=H or Cl
R^3=CH_3, CH_2CH_3

图式 16　具有杀虫活性的 2-硫代噻唑烷-4-酮类化合物

Scheme 16　2-Thiothiazolidine-4-ones with the insecticidal activity

3.2.2　2-硫代噻唑烷-4-酮类化合物合成方法 2　如图式 17 所示，*N*-取代异硫氰酸类化合物与巯基乙酸发生环化反应，可生成相应的 3-取代-2-硫代噻唑烷-4-酮类化合物，这是另一种 2-硫代噻唑烷-4-酮类化合物的常用合成方法。用该方法合成绕丹宁类化合物，在合适条件下可避免副反应发生。

实例 1：如图式 18 所示。4-胺基苯磺酰胺 **67** 与二氯硫化碳 **68** 在酸催化下反应生成异硫氰酸类化合物 **69**，化合物 **69** 与巯基乙酸 **41** 在碱催化下反应生成 2-硫代噻唑烷-4-酮类化合物 **70**。产物



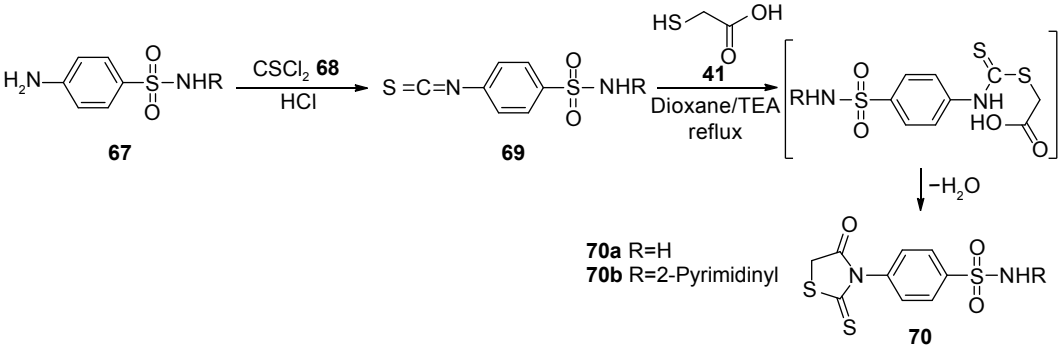
图式 17　2-硫代噻唑烷-4-酮类化合物的合成方法 2

Scheme 17　Synthetic method 2 of 2-thiothiazolidine-4-ones

以沉淀形式出现，反应液冷却后抽滤并对滤渣进行重结晶即可得到产物纯品[48-50]。

Knoevenagel 缩合反应是实现 2-硫代噻唑烷-4-酮 5 号位修饰的常用方法之一。如图式 19 所示，2-硫代噻唑烷-4-酮类化合物 **70** 的 5 号位可通过不同缩合反应进行多种修饰。化合物 **70a** 与四氰基乙烯 **71** 反应，生成 5-二氰基甲烯基硫代噻唑烷酮类化合物 **72**；与 *N*,*N*-二甲基甲酰胺二甲缩醛 (DMF-DMA) 反应生成 5-*N*,*N*-二甲基氨基乙烯基硫代噻唑烷酮类化合物 **73**；与原甲酸三乙酯 **74** 缩合生成 5-氧乙烯基硫代噻唑烷酮类化合物 **75**；与芳香醛缩合生成 5-取代苯甲烯基硫代噻唑烷酮类化合物 **76**、**77**。研究指出，化合物 **72**~**77** 对赭曲霉 *A. ochraceus*、产黄青霉 *Penicillium chrysogenum* 具有较弱生长抑制活性[50]。

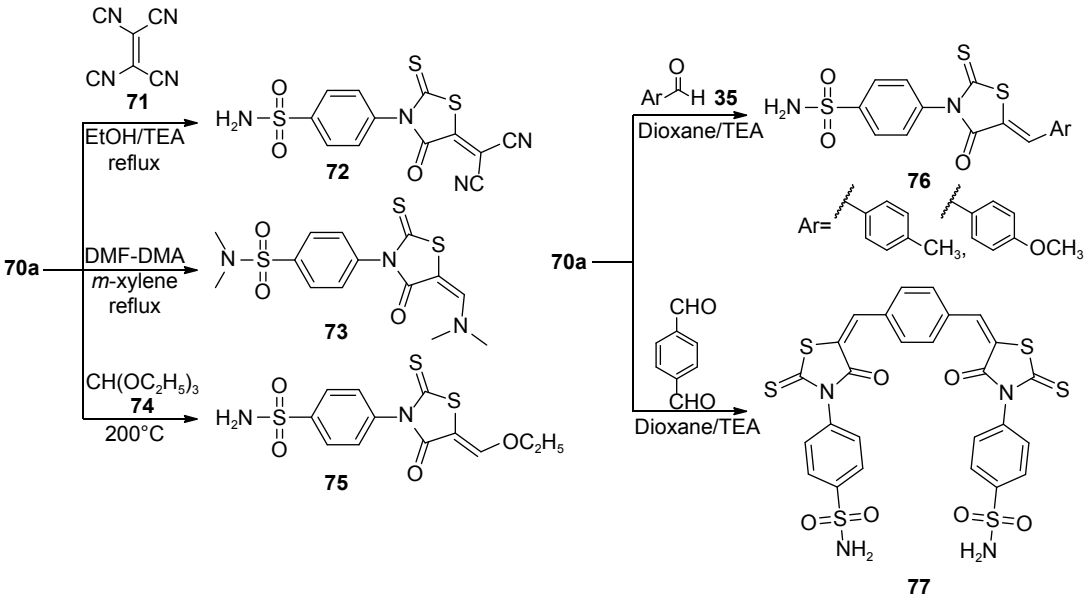
对比上述两种 2-硫代噻唑烷-4-酮类化合物合成方法，发现实际上二者具有共通性。两种方法均以含氨基化合物为初始原料，氨基 N 为硫代噻唑烷酮环上 N 原子来源，最终得到相应的 3-取代硫代噻唑烷酮类化合物。所以，从实现 3 号位取代来考虑，选择上述两种方法中任一种均可，在



70a R=H
70b R=2-Pyrimidinyl

图式 18　2-硫代噻唑烷-4-酮类化合物合成方法 2——实例 1

Scheme 18　Synthetic method 2 of 2-thiothiazolidine-4-ones: example 1



图式 19　不同 2-硫代噻唑烷-4-酮类化合物 C-5 位修饰

Scheme 19　Modification of C-5 of different 2-thiothiazolidine-4-ones

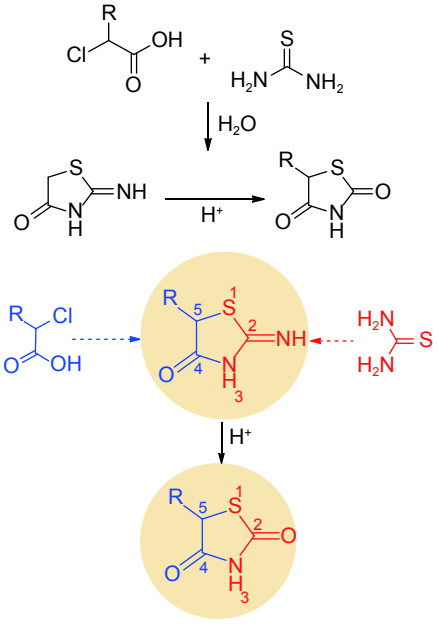
后续研究中可以依据原料性质差异进行合理选择。

3.3　噻唑烷-2,4-二酮合成及农用生物活性展望

硫脲与 *α*-氯代乙酸在水中反应可生成 2-亚胺噻唑烷-4-酮，随后 2-亚胺噻唑烷-4-酮在酸性条件下发生水解，生成噻唑烷-2,4-酮类化合物。该方法常用于噻唑烷-2,4-二酮类化合物合成[51-52]。目标化合物噻唑烷-2,4-二酮 5 号位的碳原子源于氯代乙酸 *α*-C，因而以不同 *α*-氯代酸为原料即可得到相应的 5-取代噻唑烷-2,4-二酮类化合物。如图式 20 所示。

该方法应用实例如图式 21 所示，*α*-氯代乙酸 **54** 与硫脲 **78** 反应，在较低温度下得到 2-亚胺噻唑烷-4-酮中间体，该步反应耗时较短；然后酸化反应液，使中间体在水溶液回流温度下发生水解，生成目标物噻唑烷-2,4-二酮 **79**。噻唑烷-2,4-二酮类化合物 **79** 可与 3,4,5-三甲氧基苯甲醛 **80** 在酸碱共同催化下发生 Knoevenagel 缩合反应，生成 5-取代苯甲烯基噻唑烷-2,4-二酮类化合物 **81**，若将噻唑烷-2,4-二酮转化为双酰胺盐类物质 **82**，再进一步与 *α*-卤代酰基化合物 **83** 或氯代乙腈 **84** 反应，则可生成相应的 3-取代噻唑烷-2,4-二酮类化合物 **85**(图式 21)。研究指出，化合物 **85**、**86** 可抑制人类乳腺癌细胞增长[51]，但尚未见其相关农用活性报道。

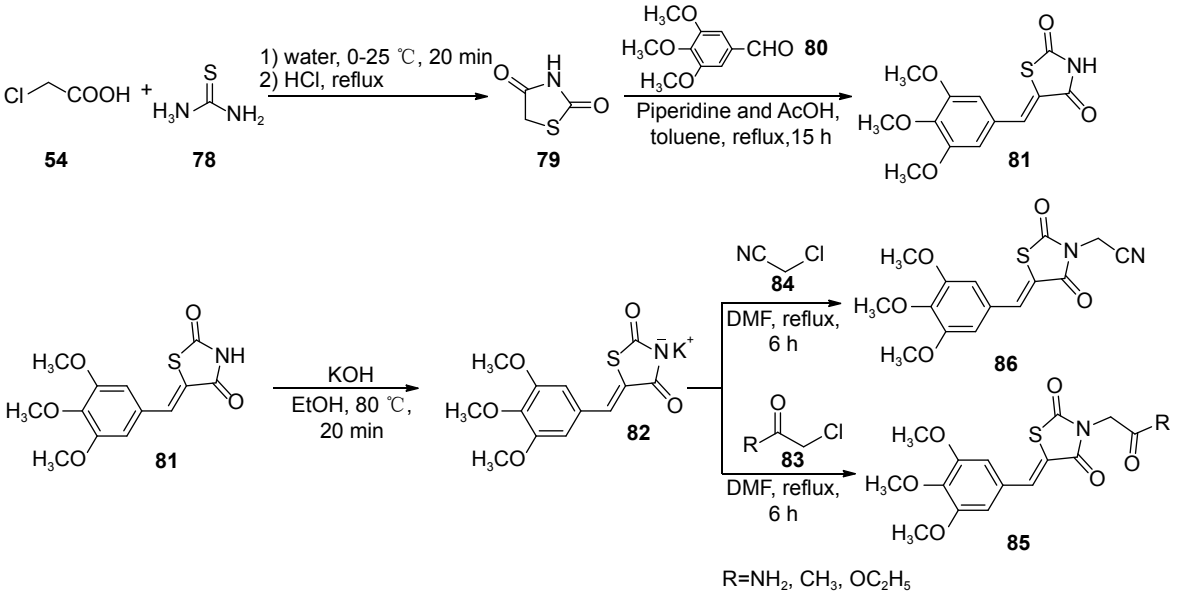
该方法以水为溶剂，反应液冷却后即可析出产物，经过滤、重结晶即可得到噻唑烷二酮类化



图式 20　噻唑烷-2,4-二酮类化合物合成方法

Scheme 20　Synthetic method of thiazolidine-2,4-diones

合物。该方法原料易得，且反应可得到无取代噻唑烷-2,4-二酮骨架结构，便于进一步进行结构修饰。目前尚未见有关噻唑烷-2,4-二酮类化合物农用杀虫或杀菌活性的报道，但该类化合物与绕丹宁类化合物是生物电子等排体，具有极为相似的结构特征，因此，本文作者推测噻唑烷-2,4-二酮类化合物也可能具有绕丹宁类化合物的生物活性，如表现出一定的几丁质酶或酪氨酸酶等抑制活性，有待进一步研究确证。



图式 21　噻唑烷-2,4-二酮类化合物合成方法应用实例

Scheme 21　Synthetic method example of thiazolidine-2,4-diones

4　小结与展望

几丁质酶广泛存在于昆虫、真菌和线虫等多种有害生物体内，具有重要生理功能和独特结构特征，是重要农药作用靶标之一。糖类和肽类化合物是较早研究发现的几丁质酶抑制剂，但目前这两类几丁质酶抑制剂数量仍然较少，且结构较为单一。近年来，有关几丁质酶结构生物学研究取得巨大进展，尤其是亚洲玉米螟的多个几丁质酶晶体结构陆续被报道，这为基于害虫几丁质酶结构筛选和发现结构多样的几丁质酶新型抑制剂奠定了生物学基础。近年来被报道的几丁质酶抑制剂大多是通过虚拟筛选或以天然产物为先导发现的，其中部分化合物具有优异几丁质酶抑制活性，但其杀虫活性尚有待探究和提高。噻唑烷酮类化合物因其具有多种药用活性而受到广泛关注，但目前报道该类化合物大多涉及其医用活性，有关农用活性报道相对较少。最近本课题组研究发现，硫代噻唑烷酮类化合物不但具有优异几丁质酶抑制活性，还对多种农业害虫表现出优良杀虫活性。因此，本文针对噻唑烷-4-酮、2-硫代噻唑烷-4-酮和噻唑烷-2,4-二酮 3 类化合物结构进行剖析，并对现有常用合成方法进行总结，期望为新型噻唑烷酮类几丁质酶抑制剂研究和开发奠定基础。

槽状几丁质结合腔和结合腔中分布有多个芳香性氨基酸侧链是几丁质酶共同特征，底物与几丁质酶可形成多重 π-π 堆积作用。基于已筛选获得的酶抑制剂及其与几丁质酶结合模式，本文作者提出：几丁质酶新型抑制剂结构特点可能具有由柔性片段连接两个刚性平面结构特征，其中，刚性平面结构可与芳香性氨基酸侧链形成 π−π 或疏水相互作用。此外，不同物种几丁质酶几丁质结合腔在其深度、宽度、位点数量、内部芳香性残基数目及分布上表现出不同特点，这为基于非靶标生物几丁质酶和有害生物几丁质酶结构差异，设计和开发出具有优良选择性的几丁质酶抑制剂提供了参考。

参考文献 (References):

[1] MOUSSIAN B. Chitin: Structure, chemistry and biology[J]. Adv Exp Med Biol, 2019, 1142: 5-18.

[2] ZHU K Y, MERZENDORFER H, ZHANG W, et al. Biosynthesis, turnover, and functions of chitin in insects[J]. Annu Rev Entomol, 2016, 61: 177-196.

[3] ADRANGI S, FARAMARZI M A. From bacteria to human: a journey into the world of chitinases[J]. Biotechnol Adv, 2013, 31(8): 1786-1795.

[4] SAGUEZ J, VINCENT C, GIORDANENGO P. Chitinase inhibitors and chitin mimetics for crop protection[J]. Pest Technol, 2008, 2(2): 81-86.

[5] CHEN W, JIANG X, YANG Q. Glycoside hydrolase family 18 chitinases: the known and the unknown[J]. Biotechnol Adv, 2020: 107553.

[6] CHEN W, YANG Q. Development of novel pesticides targeting insect chitinases: a minireview and perspective[J]. J Agric Food

Chem, 2020, 68(16): 4559-4565.

[7] LIU T, CHEN L, ZHOU Y, et al. Structure, catalysis, and inhibition of *Of*Chi-h, the *Lepidoptera*-exclusive insect chitinase[J]. J Bio Chem, 2017, 292(6): 2080-2088.

[8] DAVIES G J, WILSON K S, HENRISSAT B. Nomenclature for sugar-binding subsites in glycosyl hydrolases[J]. Biochem J, 1997, 321: 557-559.

[9] CHEN L, ZHOU Y, QU M B, et al. Fully deacetylated chitooligosaccharides act as efficient glycoside hydrolase family 18 chitinase inhibitors[J]. J Bio Chem, 2014, 289(25): 17932-17940.

[10] CHEN L, LIU T, ZHOU Y, et al. Structural characteristics of an insect group I chitinase, an enzyme indispensable to moulting[J]. Acta Crystallographica, 2014, 70: 932-942.

[11] CHEN W, ZHOU Y, YANG Q. Structural dissection reveals a general mechanistic principle for group Ⅱ chitinase (ChtⅡ) inhibition[J]. J Biol Chem, 2019, 294(24): 9358-9364.

[12] LIU T, GUO X G, BU Y F, et al. Structural and biochemical insights into an insect gut-specific chitinase with antifungal activity[J]. Insect Biochem Mol Biol, 2020, 119: 103326.

[13] CHEN W, QU M B, ZHOU Y, et al. Structural analysis of group II chitinase (ChtII) catalysis completes the puzzle of chitin hydrolysis in insects[J]. J Bio Chem, 2018, 293(8): 2652-2660.

[14] SAGUEZ J, DUBIOS F, VINCENT C, et al. Differential aphicidal effects of chitinase inhibitors on the polyphagous homopteran *Myzus persicae* (Sulzer)[J]. Pest Manag Sci, 2006, 62: 1150–1154.

[15] RAO F V, ANDERSEN O A, VORA K A, et al. Methylxanthine drugs are chitinase inhibitors: investigation of inhibition and binding modes[J]. Chem Biol, 2005, 12(9): 973-980.

[16] RAO F V, HOUSTON D R, BOOT R G, et al. Crystal structures of allosamidin derivatives in complex with human macrophage chitinase[J]. J Biol Chem, 2003, 278(22): 20110-20116.

[17] DUSSOUY C, BULTEL L, SAGUEZ J, et al. Strong aphicidal activity of GlcNAc(*β*1-4)Glc disaccharides: synthesis, physiological effects, and chitinase inhibition[J]. Chem Eur J, 2012, 18(32): 10021-10028.

[18] RAO F V, HOUSTON D R, BOOT R G, et al. Specificity and affinity of natural product cyclopentapeptide inhibitors against A. fumigatus, human, and bacterial chitinases[J]. Chem Bio, 2005, 12(1): 65-76.

[19] HOUSTON D R, SYNSTAD B, EIJSINK V G H, et al. Structure-based exploration of cyclic dipeptide chitinase inhibitors[J]. J Med Chem, 2004, 47: 5713-5720.

[20] TABUDRAVU J N, EIJSINK V G H, GOODAY G W, et al. Psammaplin A, a chitinase inhibitor isolated from the Fijian Marine Sponge *Aplysinella rhax*[J]. Bioorg Med Chem, 2002, 10: 1123-1128.

[21] JIANG X, KUMAR A, LIU T, et al. A novel scaffold for developing specific or broad-spectrum chitinase inhibitors[J]. J Chem Inf Model, 2016, 56(12): 2413-2420.

[22] DONG Y W, HU S, JIANG X, et al. Pocket-based lead optimization strategy for the design and synthesis of chitinase inhibitors[J]. J Agric Food Chem, 2019, 67(13): 3575-3582.

[23] JIANG X, KUMAR A, MOTOMURA Y, et al. A series of compounds bearing a dipyrido-pyrimidine scaffold acting as novel human and insect pest chitinase inhibitors[J]. J Med Chem, 2020, 63: 987-1001.

[24] CHEN L, LIU T, DUAN Y W, et al. Microbial secondary metabolite, Phlegmacin B1, as a novel inhibitor of insect chitinolytic enzymes[J]. J Agric Food Chem, 2017, 65(19): 3851-3857.

[25] DUAN Y W, LIU T, ZHOU Y, et al. Glycoside hydrolase family 18 and 20 enzymes are novel targets of the traditional medicine berberine[J]. J Biol Chem, 2018, 293(40): 15429-15438.

[26] HUANG J, XU M, LI S, et al. Synthesis of some ester derivatives of 4′-demethoxyepipodophyllotoxin/2′-chloro-4′-demethoxyepipodophyllotoxin as insecticidal agents against oriental armyworm, *Mythimna separata* Walker[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2017, 27(3): 511-517.

[27] SHARMA R K, SINGH V, TIWARI N, et al. Synthesis, antimicrobial and chitinase inhibitory activities of 3-amidocoumarins[J]. Bioorg Chem, 2020, 98: 103700.

[28] BATRAN R Z, KHEDR M A, ABDEL LATIF N A, et al. Synthesis, homology modeling, molecular docking, dynamics, and antifungal screening of new 4-hydroxycoumarin derivatives as potential chitinase inhibitors[J]. J Mol Struct, 2019, 1180: 260-271.

[29] 刘瑾林, 周红, 郭富友, 等. 香豆素类化合物的农药活性及东莨菪内酯杀螨作用机理研究进展[J]. 农药学学报, 2019, 21(5-6): 692-708.
LIU J L, ZHOU H, GUO F, et al. Research advances in pesticidal activities of coumarin derivatives and acaricidal mechanism of scopoletin[J]. Chin J Pestic Sci, 2019, 21(5-6): 692-708.

[30] ZHOU H, ZHANG Y Q, LAI T, et al. Silencing chitinase genes increases susceptibility of *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) to scopoletin[J/OL]. Biomed Res Int, 2017, 201: 1-13. http://doi.org/10.1155/2017/9579736.

[31] YANG H B, LIU T, QI H T, et al. Design and synthesis of thiazolylhydrazone derivatives as inhibitors of chitinolytic *N*-acetyl-*β*-d-hexosaminidase[J]. Bioorg Med Chem, 2018, 26(20): 5420-5426.

[32] YANG H B, QI H T, HAO Z S, et al. Thiazolylhydrazone dervatives as inhibitors for insect *N*-acetyl-*β*-d-hexosaminidase and chitinase[J]. Chin Chem Lett, 2020, 31(5): 1271-1275.

[33] 段红霞, 韩清, 杨青, 等. 具有胡椒碱骨架结构化合物、制备及其应用 [P]. 中国专利: 202010099606.0, 2020-06-12.
DUAN H X, HAN Q, YANG Q, et al. Compounds with piperine skeleton structure, and their preparation and application [P]. China Patent: 202010099606.0, 2020-06-12.

[34] PAREEK D, CHAUDHARY M, PAREEK P K, et al. Synthesis of some bioactive 4-thiazolidinone derivatives incorporating benzothiazole moiety[J]. Der Chemica Sinica, 2010, 1(3): 22-35.

[35] TIRLAPUR V K, TADMALLE T. Synthesis and insecticidal activity of 1,2,4-triazolo-thiazolidin-4-one derivatives[J]. Der Pharmacia Sinica, 2011, 2(1): 135-141.

[36] INAMORI Y, OKAMOTO Y, TAKEGAWA Y, et al. Insecticidal and antifungal activities of aminorhodanine derivatives[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1998, 62(5): 1025-1027.

[37] 周中振, 陈琼籼, 杨光富. 微波辅助下-酰胺基-2-(4-氧代-4*H*-色烯-3-基) 噻唑-4-酮类衍生物的平行合成及其杀虫活性[J]. 有机化学, 2008, 28(8): 1385-1392.
ZHOU Z Z, CHEN Q X, YANG G F. Synthesis and insecticidal activities of carbonylamido-2-(4-oxo-4*H*-1-benzopyran-3-yl)-4-thiazolidinones derivatives by microwave-assisted parallel syntheses[J]. Chin J Org Chem, 2008, 28(8): 1385-1392.

[38] BASHOUR J T. Rhodanines and their use as pesticides, US2743211 [P]. 1956.

[39] 陈 华, 白 洁, 赵 莲, 等. 2-(2,6-二氯苯基)-1,3-噻唑烷-4-酮衍生物的

微波促进合成及抗真菌、抗肿瘤活性研究[J]. 有机化学, 2009, 29(1): 94-99.
CHEN H, BAI J, ZHAO L, et al. Microwave assisted synthesis and antifungal, anti-tumor study of 2-(2,6-dichlorophenyl)-1,3-thiazolidin-4-ones[J]. Chin J Org Chem, 2009, 29(1): 94-99.

[40] CHANNAR P A, SAEED A, LARIK F A, et al. Synthesis, computational studies and enzyme inhibitory kinetics of substituted methyl[2-(4-dimethylamino-benzylidene)-hydrazono)-4-oxo-thiazolidin-5-ylidene]ace tates as mushroom tyrosinase inhibitors[J]. Bioorg Med Chem, 2017, 25(21): 5929-5938.

[41] LIU J B, WU F Y, CHEN L J, et al. Evaluation of dihydropyrimidin-(2*H*)-one analogues and rhodanine derivatives as tyrosinase inhibitors[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2011, 21: 2376-2379.

[42] MUTAHIR S, KHAN M A, KHAN I U, et al. Organocatalyzed and mechanochemical solvent-free synthesis of novel and functionalized *bis*-biphenyl substituted thiazolidinones as potent tyrosinase inhibitors: SAR and molecular modeling studies[J]. Eur J Med Chem, 2017, 134: 406-14.

[43] METWALLY N H, RADWAN I T, EL-SERWY W S, et al. Design, synthesis, DNA assessment and molecular docking study of novel 2-(pyridin-2-ylimino)thiazolidin-4-one derivatives as potent antifungal agents[J]. Bioorg Chem, 2019, 84: 456-467.

[44] MANJAL S K, KAUR R, BHATIA R, et al. Synthetic and medicinal perspective of thiazolidinones: a review[J]. Bioorg Chem, 2017, 75: 406-423.

[45] BILGICLI H G, TASLIMI P, AKYUZ B, et al. Synthesis, characterization, biological evaluation, and molecular docking studies of some piperonyl-based 4-thiazolidinone derivatives[J]. Arch Pharm Chem Life Sci, 2019: e1900304.

[46] SANJEEVA REDDY C, RAJESH KUMAR G, SUNITHA B. Synthesis, antimicrobial and nematicidal evaluation of a new class of triazolo[4,3-*c*]quinazolinylthiazolidinones[J]. Med Chem Res, 2016, 25(5): 923-931.

[47] BROWN J P. Insecticidal rhodanine derivatives, GB1099798 [P]. 1968.

[48] BAYINDIR S, CAGLAYAN C, KARAMAN M, et al. The green synthesis and molecular docking of novel *N*-substituted rhodanines as effective inhibitors for carbonic anhydrase and acetylcholinesterase enzymes[J]. Bioorganic Chemistry, 2019, 90: 103096.

[49] LIU J, WU F, CHEN L, et al. Evaluation of dihydropyrimidin-(2*H*)-one analogues and rhodanine derivatives as tyrosinase inhibitors[J]. Bioorg Med Chem Let, 2011, 21: 2376-2379.

[50] EL-GABY M S A, EL-HAG ALI G A M, EL-MAGHRABY A A, et al. Synthesis, characterization and *in vitro* antimicrobial activity of novel 2-thioxo-4-thiazolidinones and 4,4′-bis(2-thioxo-4-thiazolidinone-3-yl)diphenylsulfones[J]. Eur J Med Chem, 2009, 44(10): 4148-4152.

[51] EL-KASHEF H, BADR G, EL-MAALI N A, et al. Synthesis of a novel series of (*Z*)-3,5-disubstituted thiazolidine-2,4-diones as promising anti-breast cancer agents[J]. Bioorg Chem, 2020, 96: 103569.

[52] SHARMA P, REDDY T S, KUMAR N P, et al. Conventional and microwave-assisted synthesis of new 1*H*-benzimidazole-thiazolidine-dione derivatives: A potential anticancer scaffold[J]. Eur J Med Chem, 2017, 138: 234-45.

(责任编辑: 金淑惠)