

· 研究论文 ·

doi: 10.16801/j.issn.1008-7303.2022.0102

四氢异喹啉酮-4-羧酸类化合物的合成及抑菌活性

李 敏, 员春霞, 房雅丽, 张治家, 王德龙*

(山西农业大学 植物保护学院, 山西 太谷 030801)

摘 要: 具有异喹啉-1(2*H*)-酮骨架的天然产物分布广泛且有丰富多样的生物活性, 为进一步明确该类化合物的农用抑菌活性, 本文利用 Castagnoli-Cushman 反应及酯化反应合成了 22 个具有该骨架的四氢异喹啉酮-4-羧酸(酯)类化合物。离体抑菌活性测定结果表明, 在 100 $\mu\text{g/mL}$ 下, **5a~5k** 和 **6a~6f** 对油菜菌核病菌菌丝生长抑制率高于 80%, 其中 **5k** 活性最高, EC_{50} 值为 5.8 $\mu\text{g/mL}$, 但低于对照药剂啮酰菌胺 ($\text{EC}_{50} = 0.094 \mu\text{g/mL}$)。初步构效关系分析表明, 在 N 上引入苯基要优于烷基, 苯基上引入不同取代基后抑菌活性均有所提高且表现出位置和数目的选择性; C3 位苯基和 C4 位羧基引入取代基对活性不利。室内离体叶片法结果表明, 在 500 $\mu\text{g/mL}$ 下, **5k** 的保护作用防治效果为 94.6%, 与啮酰菌胺在 10 $\mu\text{g/mL}$ 下的防治效果 (95.8%) 相当。本研究可为该类化合物的进一步结构优化提供借鉴。

关键词: 异喹啉-1(2*H*)-酮骨架; Castagnoli-Cushman 反应; 抑菌活性; 油菜菌核病菌

中图分类号: TQ 450.11 文献标志码: A

Synthesis and antifungal activity of tetrahydroisoquinolone-4-carboxylic acid derivatives

LI Min, YUN Chunxia, FANG Yali, ZHANG Zhijia, WANG Delong*

(College of Plant Protection, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, Shanxi Province, China)

Abstract: Compounds bearing structurally unique isoquinolin-1(2*H*)-one scaffold were found to be widely distributed in various organisms and they exhibited a broad spectrum of biological activities. In the present study, 22 derivatives of the isoquinolin-1(2*H*)-one scaffold were synthesized by Castagnoli-Cushman reaction and esterification reaction and their antifungal activity was evaluated against 7 phytopathogens. The *in vitro* bioassay results indicated that the mycelial growth inhibition rates of compounds **5a~5k** and **6a~6f** were higher than 80% against *Sclerotinia sclerotiorum* at the concentration of 100 $\mu\text{g/mL}$. Compound **5k** was the most potent activity with the EC_{50} value of 5.8 $\mu\text{g/mL}$, which was lower than the commercial boscalid ($\text{EC}_{50} = 0.094 \mu\text{g/mL}$). The structure-activity relationship analysis revealed that the phenyl on N atom site is superior to the alkyl, and the introduction of different substituents to the phenyl group could improve the antifungal activity, which was subject to the

收稿日期: 2022-05-31; 录用日期: 2022-08-10; 网络首发日期: 2022-09-13.

Received: May 31, 2022; Accepted: August 10, 2022; Published online: September 13, 2022.

URL: <https://doi.org/10.16801/j.issn.1008-7303.2022.0102>

<http://www.nyxxb.cn/cn/article/doi/10.16801/j.issn.1008-7303.2022.0102>

基金项目: 国家自然科学基金青年基金 (31901909); 山西省现代农业产业技术体系建设专项资金 (2022-05).

Funding: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31901909); the earmarked fund for Modern Agro-industry Technology Research System (2022-05).

第一作者 (First author): 李敏, 1296232489@qq.com. *通信作者 (Corresponding author): 王德龙, rizhaoalong@163.com.

The authors declare that they have no competing interests.

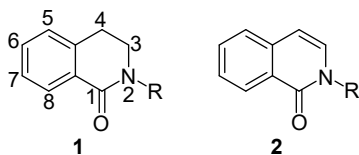


positional selectivity and the number of substituents on the phenyl group. However, introducing different substituents at C3 phenyl and C4 carboxyl group were unfavorable for the activity. The preventive control efficacy of **5k** was 94.6% at 500 $\mu\text{g/mL}$, which was comparable to that of boscalid at 10 $\mu\text{g/mL}$ (95.8%). Taken together, these results could provide some important cues for further optimization of tetrahydroisoquinolone-4-carboxylic acid derivatives.

Keywords: isoquinolin-1(2*H*)-one scaffold; Castagnoli-Cushman reaction; antifungal activity; *Sclerotinia sclerotiorum*

天然产物因其结构的多样性和新颖性表现出丰富多样的生物活性, 其中一些不仅可以直接作为农药使用, 而且为许多商品化农药提供了重要的结构上的借鉴^[1-2]。人们常以具有农用活性的天然产物或其活性结构片段为先导物, 通过进一步结构改造优化, 得到具有商品化潜力的农药分子。例如, 近些年来登记的新烟碱类杀虫剂氟吡呋喃酮就是以百部叶碱中的丁烯酸内酯结构片段为先导经结构优化而来^[3]; 而杀虫剂 afidopyropen 则是在原有天然产物结构上经过衍生修饰而来的^[4-5]; 对天然产物 UK-2A 进行衍生修饰得到吡啶酰胺类杀菌剂 fenpicoxamid, 进一步提取其活性结构片段进行类似物合成得到杀菌剂 florylpicoxamid^[6-7]。

具有异喹啉-1(2*H*)-酮骨架的天然生物碱在自然界中分布广泛。Cava 早在 1966 年就从莲叶桐 *Hernandia ovigera* L. 中分离出有此骨架结构的生物碱 *N*-methylecorydaldine^[8]。后来, 人们又相继从其他植物、动物和微生物中分离得到了该类化合物^[9-14], 其主要以 3,4 位饱和的 (1) 或者以其不饱和的 (2) 形式存在^[9](图式 1)。异喹啉-1(2*H*)-酮类生物碱及其衍生物具有广泛的生物活性。在医药方面, 该类化合物表现出抗肿瘤^[15-19]、抗病毒^[20]、抗菌消炎^[21-22]、抗胃溃疡^[10]、保肝^[11]、治疗中枢神经系统疾病^[23] 和心血管疾病^[24] 等生物活性; 在农业方面, 异喹啉-1(2*H*)-酮类化合物不仅可以防治植物病害^[25], 还能增强植物对非生物胁迫的抗逆能力^[26], 同时具有出一定的除草活性^[27]。



图式 1 3,4 位饱和 (1) 和不饱和 (2) 的天然异喹啉-1(2*H*)-酮骨架

Scheme 1 The skeleton of saturated (1) and unsaturated (2) natural isoquinoline-1(2*H*)-one at C3 and C4 positions

目前国内外对异喹啉-1(2*H*)-酮类化合物的农用活性研究报道较少, 有文献报道具该骨架的 N 和 C3 位取代的四氢异喹啉酮类化合物对小麦白粉病、小麦叶锈病、番茄灰霉病和葡萄霜霉病有一定的室内防效^[25]。由于 Castagnoli-Cushman 反应具有操作简单、反应条件温和与后处理较简便等优点, 在基于多样性导向合成构建化合物库中有重要的应用^[28-29], 因此本研究通过该反应合成了一系列具有异喹啉-1(2*H*)-酮骨架的衍生物——四氢异喹啉酮-4-羧酸类化合物(合成路线见图式 2), 并测定其抑菌活性, 以期能发现有较高活性的化合物, 同时对所合成化合物进行构效关系分析, 旨在为进一步结构优化提供参考。

1 实验部分

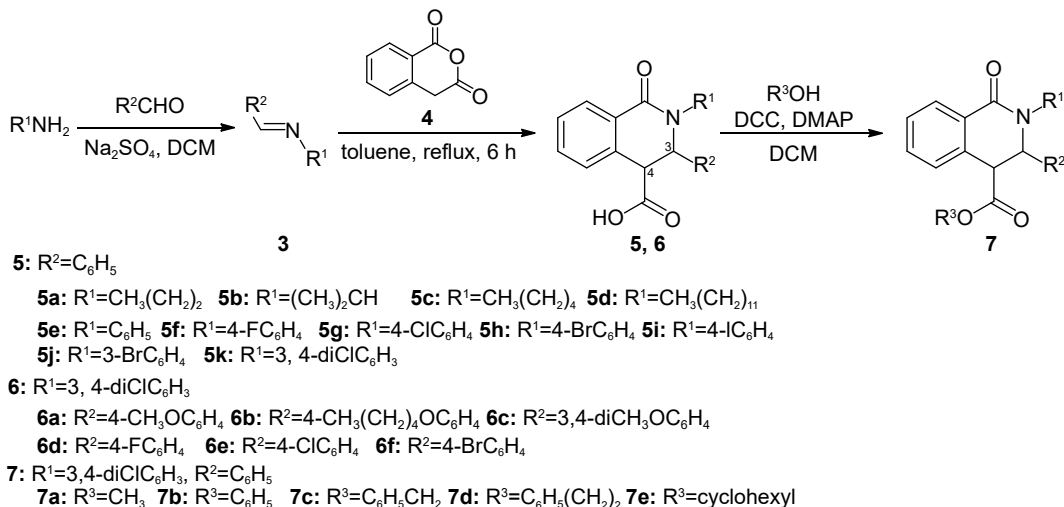
1.1 仪器、试剂与药剂

Bruker Avance III 400 MHz 核磁共振仪, 以 DMSO-*d*₆ 和 CDCl₃ 为溶剂; 用 Waters Xevo G2-XS QToF 高分辨质谱仪 (ESI 离子源)。SZCL-3B 数显智能控温磁力搅拌器 (巩义市英峪博研仪器设备有限公司); DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器 (巩义市予华仪器有限责任公司); RE-52AA 旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); ZF-6 型三用紫外线分析仪 (上海嘉鹏科技有限公司); 北京恒奥德 X-5 数字显微熔点仪。

试剂均为分析纯 (AR), 均购于麦克林试剂网 (上海麦克林生化科技有限公司)。二氯甲烷 (DCM) 和甲苯 (toluene) 在氮气保护下分别经氢化钙和钠丝干燥后蒸馏除水使用, 其他试剂除特别说明外, 均未经进一步处理。对照药剂为 98% 啉酰菌胺 (boscalid) 原药, 购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

1.2 供试菌株及材料

供试菌株: 油菜菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum*、番茄灰霉病菌 *Botrytis cinerea*、西瓜枯萎病



图式 2 目标化合物的合成路线

Scheme 2 Synthetic route of target compounds

菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*、胶孢炭疽菌 *Colletotrichum gloeosporioides*、粉红聚端孢菌 *Trichothecium roseum*、苹果斑点落叶病菌 *Alternaria mali* 和立枯丝核菌 *Rhizoctonia solani*, 均由山西农业大学植物保护学院植物病害研究室粮食作物病害课题组提供并保存。

供试材料: 将品氏基质 (PINDSTRUP) 和蛭石按照体积比 8 : 2 的比例混合作为培养基质, 在 64 cm² 盆中种植油菜种子 (品种为早熟 938, 每盆留苗 3~5 棵), 并在温室中 (25 °C、12 h/12 h 的光周期) 培养。取 6~8 叶期的离体叶片为供试材料。

1.3 目标化合物的合成

1.3.1 中间体亚胺 3 的合成 参考文献方法^[30]制备。将无水硫酸钠 (15 mmol) 加入到 25 mL 圆底烧瓶中, 再依次加入醛 (5.5 mmol)、胺 (5 mmol) 和无水二氯甲烷 (10 mL), 室温下搅拌 24 h, 用薄层层析 (TLC, 展开剂为 *V*(石油醚) : *V*(乙酸乙酯) = 9 : 1) 监测至反应完成。过滤得滤液, 减压蒸出溶剂, 加少量乙醇, 充分溶解后减压除去溶剂, 得中间体亚胺 3, 无需纯化, 直接用于下一步反应。

1.3.2 四氢异喹啉酮-4-羧酸类化合物 (5a~6f) 的合成 参考文献方法^[31]制备。向 25 mL 的圆底烧瓶中依次加入相应的亚胺 3 (3 mmol)、高酞酸酐 (3 mmol) 和无水甲苯 (20 mL), 升温至 120 °C 回流搅拌 6 h。待反应完成后, 若生成固体, 则抽滤并用 5 mL 乙腈洗涤后得固体粉末; 若未生成固体, 则减压除去溶剂, 将析出的固体用 10 mL 乙腈搅拌悬浮, 抽滤并用 5 mL 乙腈洗涤, 得固体粉末。上述固体粉末在乙腈中重结晶得目标化合物

5a~6f.

1-氧代-2-丙基-3-苯基-1,2,3,4-四氢异喹啉-4-羧酸 (5a): 白色粉末, 产率 86%; 熔点 171~175 °C。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 13.10 (s, 1H), 8.00~7.98 (m, 1H), 7.38~7.37 (m, 2H), 7.24~7.17 (m, 4H), 7.11~7.09 (m, 2H), 5.36 (s, 1H), 4.10 (s, 1H), 3.99~3.93 (m, 1H), 2.83~2.78 (m, 1H), 1.67~1.53 (m, 2H), 0.86 (t, $J = 5.6$ Hz, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 172.2, 163.3, 139.6, 133.6, 131.9, 129.7, 129.3, 128.7, 128.0, 127.6, 126.9, 126.1, 60.9, 50.8, 47.8, 20.8, 11.4. ESI-HRMS: m/z [$M + H$]⁺ C₁₉H₂₀NO₃ 计算值: 310.1443; 测量值: 310.1440.

1-氧代-2-异丙基-3-苯基-1,2,3,4-四氢异喹啉-4-羧酸 (5b): 白色粉末, 产率 81%; 熔点 179~181 °C。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 13.10 (s, 1H), 7.96~7.94 (m, 1H), 7.38~7.36 (m, 2H), 7.20~7.08 (m, 6H), 5.38 (s, 1H), 4.86~4.80 (m, 1H), 4.04 (s, 1H), 1.20 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 0.85 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 172.1, 162.6, 141.3, 133.1, 131.5, 130.3, 129.3, 128.3, 127.8, 127.2, 126.9, 126.1, 56.3, 51.6, 45.3, 20.2, 19.6. ESI-HRMS: m/z [$M + H$]⁺ C₁₉H₂₀NO₃ 计算值: 310.1443; 测量值: 310.1440.

1-氧代-2-戊基-3-苯基-1,2,3,4-四氢异喹啉-4-羧酸 (5c): 白色粉末, 产率 83%; 熔点 157~160 °C。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 13.00 (s, 1H), 8.04~8.02 (m, 1H), 7.55~7.50 (m, 2H), 7.45~7.19 (m, 4H), 7.02~7.00 (m, 2H), 5.11 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 4.73 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 3.85~3.79 (m, 1H), 2.88~2.82 (m, 1H), 1.58~1.52 (m, 1H), 1.47~1.43 (m, 1H), 1.23~1.22 (m, 4H), 0.82 (t, $J = 5.2$ Hz, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 170.4, 162.6, 137.4, 133.5, 131.7, 129.1, 128.1, 128.1, 127.9, 127.7, 127.3, 127.2, 61.2, 48.2, 45.6, 28.5, 27.0, 21.8, 13.8. ESI-HRMS: m/z [$M + H$]⁺ C₂₁H₂₄NO₃ 计算值: 338.1756; 测量值: 338.1752.

1-氧代-2-正十二烷基-3-苯基-1,2,3,4-四氢异喹啉-4-羧

酸 (**5d**): 白色粉末, 产率 75%; 熔点 166~168 °C。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 13.01 (s, 1H), 8.03~8.02 (m, 1H), 7.55~7.48 (m, 2H), 7.44~7.00 (m, 6H), 5.10 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 4.71 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 3.84~3.78 (m, 1H), 2.87~2.82 (m, 1H), 1.54~1.43 (m, 2H), 1.27~1.19 (m, 18H), 0.86 (t, J = 4.4 Hz, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 170.4, 162.6, 137.4, 133.5, 131.7, 129.1, 128.5, 128.1, 127.9, 127.7, 127.3, 126.0, 61.2, 48.2, 45.7, 31.3, 29.0, 29.0, 28.9, 28.7, 27.3, 26.3, 22.1, 13.9. ESI-HRMS: m/z [M + H]⁺ C₂₈H₃₈NO₃ 计算值: 436.2852; 测量值: 436.2841.

1-氧代-2,3-二苯基-1,2,3,4-四氢异喹啉-4-羧酸 (**5e**): 白色粉末, 产率 89%; 熔点 203~205 °C。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 13.03 (s, 1H), 8.09~8.07 (m, 1H), 7.62~7.57 (m, 2H), 7.52~7.48 (m, 1H), 7.33~7.29 (m, 2H), 7.20~7.16 (m, 6H), 7.05~7.03 (m, 2H), 5.50 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.96 (d, J = 5.6 Hz, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 170.5, 162.9, 141.7, 137.3, 134.3, 132.3, 129.2, 128.6, 128.2, 128.0, 127.9, 127.8, 127.6, 127.4, 126.6, 64.4, 49.0. ESI-HRMS: m/z [M + H]⁺ C₂₂H₁₈NO₃ 计算值: 344.1287; 测量值: 344.1277.

1-氧代-2-(4-氟苯基)-3-苯基-1,2,3,4-四氢异喹啉-4-羧酸 (**5f**): 白色粉末, 产率 88%; 熔点 191~193 °C。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 12.97 (s, 1H), 8.10~8.09 (m, 1H), 7.62~7.57 (m, 2H), 7.52~7.49 (m, 1H), 7.24~7.21 (m, 2H), 7.19~7.18 (m, 3H), 7.15~7.11 (m, 2H), 7.07~7.05 (m, 2H), 5.51 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 4.93 (d, J = 4.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 170.4, 163.0, 160.2 (d, ¹*J*_{C-F} = 244.9 Hz), 137.8 (d, ⁴*J*_{C-F} = 2.9 Hz), 137.1, 134.4, 132.3, 129.5 (d, ³*J*_{C-F} = 8.6 Hz), 129.0, 128.1, 128.0, 128.0, 127.8, 127.7, 127.6, 115.3 (d, ²*J*_{C-F} = 22.7 Hz), 64.4, 49.0. ESI-HRMS: m/z [M + H]⁺ C₂₂H₁₇FNO₃ 计算值: 362.1192; 测量值: 362.1189.

1-氧代-2-(4-氯苯基)-3-苯基-1,2,3,4-四氢异喹啉-4-羧酸 (**5g**): 白色粉末, 产率 79%; 熔点 201~203 °C。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 13.03 (s, 1H), 8.08~8.06 (m, 1H), 7.60~7.59 (m, 2H), 7.52~7.48 (m, 2H), 7.38~7.35 (m, 2H), 7.23~7.17 (m, 4H), 7.06~7.04 (m, 2H), 5.54 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.88 (d, J = 5.6 Hz, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 170.5, 163.1, 140.4, 137.1, 134.5, 132.5, 130.8, 129.3, 128.9, 128.6, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.8, 127.7, 64.1, 49.1. ESI-HRMS: m/z [M + H]⁺ C₂₂H₁₇ClNO₃ 计算值: 378.0897; 测量值: 378.0888.

1-氧代-2-(4-溴苯基)-3-苯基-1,2,3,4-四氢异喹啉-4-羧酸 (**5h**): 白色粉末, 产率 82%; 熔点 223~225 °C。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 12.99 (s, 1H), 8.09~8.08 (m, 1H), 7.60~7.49 (m, 4H), 7.19~7.15 (m, 6H), 7.07~7.05 (m, 2H), 5.55 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 4.89 (d, J = 4.4 Hz, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 170.4, 163.0, 140.8, 137.0, 134.5, 132.5, 131.5, 129.6, 128.9, 128.2, 128.0, 127.9, 127.9,

127.7, 127.7, 119.2, 64.0, 49.1. ESI-HRMS: m/z [M + H]⁺ C₂₂H₁₇BrNO₃ 计算值: 422.0392; 测量值: 422.0387.

1-氧代-2-(4-碘苯基)-3-苯基-1,2,3,4-四氢异喹啉-4-羧酸 (**5i**): 白色粉末, 产率 80%; 熔点 231~234 °C。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 12.99 (s, 1H), 8.08~8.07 (m, 1H), 7.66~7.59 (m, 4H), 7.51~7.48 (m, 1H), 7.18~7.17 (m, 3H), 7.05~7.01 (m, 4H), 5.53 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 4.89 (d, J = 4.4 Hz, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 170.9, 163.4, 141.8, 137.9, 137.5, 134.9, 133.0, 130.3, 129.4, 128.7, 128.6, 128.4, 128.3, 128.2, 125.8, 92.6, 64.5, 49.6. ESI-HRMS: m/z [M + H]⁺ C₂₂H₁₇INO₃ 计算值: 470.0253; 测量值: 470.0246.

1-氧代-2-(3-溴苯基)-3-苯基-1,2,3,4-四氢异喹啉-4-羧酸 (**5j**): 白色粉末, 产率 78%; 熔点 217~219 °C。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 13.04 (s, 1H), 8.11~8.10 (m, 1H), 7.62~7.58 (m, 2H), 7.52~7.49 (m, 2H), 7.40~7.17 (m, 6H), 7.10~7.08 (m, 2H), 5.58 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 4.93 (d, J = 4.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 170.5, 163.1, 143.0, 137.0, 134.5, 132.6, 130.5, 130.4, 129.5, 128.9, 128.2, 128.1, 128.0, 127.8, 127.7, 126.5, 120.9, 64.1, 49.1. ESI-HRMS: m/z [M + H]⁺ C₂₂H₁₇BrNO₃ 计算值: 422.0392; 测量值: 422.0387.

1-氧代-2-(3,4-二氯苯基)-3-苯基-1,2,3,4-四氢异喹啉-4-羧酸 (**5k**): 白色粉末, 产率 91%; 熔点 230~232 °C。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 13.01 (s, 1H), 8.09~8.08 (m, 1H), 7.61~7.58 (m, 2H), 7.57~7.54 (m, 2H), 7.52~7.49 (m, 1H), 7.20~7.10 (m, 6H), 5.62 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 4.86 (d, J = 4.4 Hz, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 170.5, 163.2, 141.3, 136.8, 134.6, 132.7, 130.7, 130.3, 129.6, 129.0, 128.7, 128.3, 128.2, 128.0, 127.9, 127.8, 127.8, 63.8, 49.2. ESI-HRMS: m/z [M + H]⁺ C₂₂H₁₆Cl₂NO₃ 计算值: 412.0507; 测量值: 412.0500.

1-氧代-2-(3,4-二氯苯基)-3-(4-甲氧基苯基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-4-羧酸 (**6a**): 白色粉末, 产率 76%; 熔点 221~224 °C。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 12.97 (s, 1H), 8.07~8.06 (m, 1H), 7.61~7.49 (m, 5H), 7.16~7.14 (m, 1H), 6.99~6.74 (m, 4H), 5.54 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 4.81 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 3.66 (s, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 170.5, 163.1, 158.9, 141.4, 134.7, 132.6, 130.7, 130.3, 129.6, 129.2, 128.9, 128.6, 127.9, 127.9, 127.8, 127.7, 113.6, 63.3, 54.9, 49.2. ESI-HRMS: m/z [M + H]⁺ C₂₃H₁₈Cl₂NO₄ 计算值: 442.0613; 测量值: 442.0618.

1-氧代-2-(3,4-二氯苯基)-3-(4-(戊氧基)苯基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-4-羧酸 (**6b**): 白色粉末, 产率 80%; 熔点 208~210 °C。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 12.96 (s, 1H), 8.07~8.06 (m, 1H), 7.61~7.55 (m, 4H), 7.51~7.14 (m, 2H), 6.97~6.72 (m, 4H), 5.53 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 4.80 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 3.84 (t, J = 4.8 Hz, 2H), 1.65~1.61 (m, 2H),

1.34~1.28 (m, 4H), 0.86 (t, $J = 5.6$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ : 170.5, 163.1, 158.3, 141.4, 134.7, 132.6, 130.7, 130.3, 129.6, 129.2, 128.9, 128.7, 128.5, 128.0, 127.9, 127.8, 127.8, 114.1, 67.3, 63.4, 49.3, 28.3, 27.7, 21.9, 13.9. ESI-HRMS: m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ $\text{C}_{27}\text{H}_{26}\text{Cl}_2\text{NO}_4$ 计算值: 498.1239; 测量值: 498.1243.

1-氧代-2-(3,4-二氯苯基)-3-(3,4-二甲氧基苯基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-4-羧酸 (**6c**): 白色粉末, 产率 85%; 熔点 233~235 $^{\circ}\text{C}$. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ : 13.02 (s, 1H), 8.09~8.07 (m, 1H), 7.61~7.49 (m, 4H), 7.21~7.14 (m, 2H), 6.77~6.65 (m, 3H), 5.56 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 4.75 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.53 (s, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ : 170.7, 163.3, 148.5, 148.0, 141.4, 134.9, 132.6, 130.6, 130.2, 129.8, 128.9, 128.8, 128.2, 128.0, 127.8, 127.7, 125.3, 120.6, 111.7, 111.2, 63.5, 55.3, 55.1, 49.6. ESI-HRMS: m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{NO}_5$ 计算值: 472.0719; 测量值: 472.0732.

1-氧代-2-(3,4-二氯苯基)-3-(4-氟苯基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-4-羧酸 (**6d**): 白色粉末, 产率 77%; 熔点 233~235 $^{\circ}\text{C}$. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ : 13.04 (s, 1H), 8.08~8.07 (m, 1H), 7.63~7.51 (m, 5H), 7.17~7.02 (m, 5H), 5.65 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 4.83 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ : 170.5, 163.1, 161.7 (d, $^1J_{\text{C-F}} = 245.4$ Hz), 141.1, 134.6, 133.1 (d, $^4J_{\text{C-F}} = 2.7$ Hz), 132.7, 130.8, 130.3, 130.1 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 8.2$ Hz), 129.8, 129.1, 128.5, 127.9, 127.8, 115.1 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 21.5$ Hz), 63.0, 49.2. ESI-HRMS: m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ $\text{C}_{22}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{FNO}_3$ 计算值: 430.0413; 测量值: 430.0416.

1-氧代-2-(3,4-二氯苯基)-3-(4-氯苯基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-4-羧酸 (**6e**): 白色粉末, 产率 82%; 熔点 235~237 $^{\circ}\text{C}$. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ : 13.09 (s, 1H), 8.11~8.10 (m, 1H), 7.66~7.53 (m, 5H), 7.32~7.30 (m, 2H), 7.20~7.18 (m, 1H), 7.14~7.12 (m, 2H), 5.68 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 4.89 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ : 170.4, 163.1, 141.1, 135.9, 134.4, 132.8, 132.8, 130.8, 130.4, 129.9, 129.7, 128.5, 128.3, 128.0, 128.0, 127.9, 127.7, 63.0, 49.1. ESI-HRMS: m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ $\text{C}_{22}\text{H}_{15}\text{Cl}_3\text{NO}_3$ 计算值: 446.0118; 测量值: 446.0123.

1-氧代-2-(3,4-二氯苯基)-3-(4-溴苯基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-4-羧酸 (**6f**): 白色粉末, 产率 79%; 熔点 245~247 $^{\circ}\text{C}$. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ : 13.09 (s, 1H), 8.11~8.09 (m, 1H), 7.71~7.61 (m, 5H), 7.58~7.53 (m, 2H), 7.23~7.18 (m, 1H), 7.07~7.05 (m, 2H), 5.66 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 4.89 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ : 170.4, 163.0, 141.1, 136.3, 134.4, 132.7, 131.6, 130.8, 130.3, 130.2, 129.7, 129.1, 128.5, 128.0, 127.9, 127.7, 126.5, 121.4, 63.1, 49.0. ESI-HRMS: m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ $\text{C}_{22}\text{H}_{15}\text{BrCl}_2\text{NO}_3$ 计算值: 489.9612; 测量值: 489.9607.

1.3.3 四氢异喹啉酮-4-羧酸酯类衍生物 (**7a~7e**) 的合成 参考文献方法^[32]制备。化合物 **5k** (1 mmol) 加入到 25 mL 的圆底烧瓶中, 再依次加入无水二氯甲烷 (5 mL)、二环己基碳二亚胺 (DCC) (1.1 mmol)、4-二甲氨基吡啶 (DMAP) (0.1 mmol) 和羟基化合物 (1.1 mmol), 室温下搅拌 8 h, TLC 监测 (展开剂: $V(\text{石油醚}) : V(\text{乙酸乙酯}) = 8 : 2$) 至反应完成。产物经 1% 碳酸氢钠溶液洗涤, 合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 减压除去溶剂, 经硅胶柱层析分离 (洗脱剂: $V(\text{石油醚}) : V(\text{乙酸乙酯}) = 15 : 1$) 得到粗品, 用 $V(\text{石油醚}) : V(\text{乙酸乙酯}) = 1 : 1$ 的混合溶剂重结晶, 得化合物 **7a~7e**。

1-氧代-2-(3,4-二氯苯基)-3-苯基-1,2,3,4-四氢异喹啉-4-羧酸甲酯 (**7a**): 无色透明油状物, 产率 83%。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.23~8.22 (m, 1H), 7.52~7.51 (m, 1H), 7.49~7.47 (m, 2H), 7.41~7.21 (m, 6H), 7.13~7.12 (m, 2H), 5.60 (s, 1H), 4.03 (d, $J = 0.8$ Hz, 1H), 3.76 (s, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3), δ : 171.3, 163.6, 142.0, 138.8, 133.2, 133.1, 132.5, 131.3, 130.9, 130.0, 129.4, 129.2, 129.2, 129.1, 128.9, 128.6, 126.6, 126.5, 65.0, 53.4, 51.8. ESI-HRMS: m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ $\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{Cl}_2\text{NO}_3$ 计算值: 426.0664; 测量值: 426.0656.

1-氧代-2-(3,4-二氯苯基)-3-苯基-1,2,3,4-四氢异喹啉-4-羧酸苄酯 (**7b**): 白色固体, 产率 81%; 熔点 131~134 $^{\circ}\text{C}$. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.30~8.28 (m, 1H), 7.54~7.52 (m, 3H), 7.40~7.39 (m, 4H), 7.30~7.28 (m, 3H), 7.26~7.23 (m, 2H), 7.20~7.18 (m, 2H), 7.00~6.98 (m, 2H), 5.67 (s, 1H), 4.30 (d, $J = 0.8$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3), δ : 169.6, 163.5, 150.7, 141.9, 138.6, 133.4, 133.1, 132.0, 131.5, 131.0, 130.0, 130.0, 129.4, 129.4, 129.3, 129.3, 129.1, 128.8, 126.8, 126.7, 126.7, 121.5, 64.9, 51.9. ESI-HRMS: m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ $\text{C}_{28}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{NO}_3$ 计算值: 488.0820; 测量值: 488.0825.

1-氧代-2-(3,4-二氯苯基)-3-苯基-1,2,3,4-四氢异喹啉-4-羧酸苄酯 (**7c**): 白色固体, 产率 84%; 熔点 161~163 $^{\circ}\text{C}$. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.25~8.23 (m, 1H), 7.49~7.47 (m, 2H), 7.41~7.40 (m, 1H), 7.34~7.32 (m, 4H), 7.25~7.20 (m, 6H), 7.13~7.12 (m, 2H), 7.06~7.05 (m, 1H), 5.57 (s, 1H), 5.24~5.12 (m, 2H), 4.07 (d, $J = 0.8$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3), δ : 170.6, 163.6, 141.9, 138.8, 135.4, 133.2, 132.9, 132.5, 131.2, 130.9, 129.9, 129.3, 129.3, 129.1, 129.0, 129.0, 128.9, 128.6, 128.4, 126.6, 126.3, 68.0, 65.0, 52.1. ESI-HRMS: m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ $\text{C}_{29}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{NO}_3$ 计算值: 502.0977; 测量值: 502.0981.

1-氧代-2-(3,4-二氯苯基)-3-苯基-1,2,3,4-四氢异喹啉-4-羧酸苯乙酯 (**7d**): 白色固体, 产率 87%; 熔点 161~164 $^{\circ}\text{C}$. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.23~8.22 (m, 1H), 7.48~7.45

(m, 3H), 7.38~7.37 (m, 1H), 7.25~7.23 (m, 6H), 7.16~7.14 (m, 2H), 7.11~7.10 (m, 2H), 7.03~7.02 (m, 2H), 5.53 (s, 1H), 4.42~4.33 (m, 2H), 3.97 (d, $J = 0.4$ Hz, 1H), 2.86 (t, $J = 4.4$ Hz, 2H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3), δ : 170.7, 163.5, 141.9, 138.8, 137.6, 133.1, 133.0, 132.5, 131.2, 130.9, 130.1, 129.3, 129.2, 129.1, 129.1, 129.0, 128.9, 128.8, 128.6, 127.0, 126.6, 126.4, 66.7, 64.9, 51.9, 35.2. ESI-HRMS: m/z [$\text{M} + \text{H}$] $^+$ $\text{C}_{30}\text{H}_{24}\text{Cl}_2\text{NO}_3$ 计算值: 516.1133; 测量值: 516.1137.

1-氧代-2-(3,4-二氯苯基)-3-苯基-1,2,3,4-四氢异喹啉-4-羧酸环己酯 (**7e**): 白色固体, 产率 92%; 熔点 137~139 $^{\circ}\text{C}$. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.23~8.22 (m, 1H), 7.53~7.46 (m, 3H), 7.40~7.39 (m, 1H), 7.26~7.21 (m, 5H), 7.15~7.14 (m, 2H), 5.59 (s, 1H), 4.87~4.84 (m, 1H), 4.01 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 1.79~1.24 (m, 10H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3), δ : 170.2, 163.7, 142.0, 139.0, 133.0, 133.0, 131.2, 130.9, 129.8, 129.3, 129.2, 129.1, 128.9, 128.8, 128.5, 126.6, 126.4, 74.6, 65.1, 52.3, 31.6, 31.4, 25.5, 23.5, 23.4. ESI-HRMS: m/z [$\text{M} + \text{H}$] $^+$ $\text{C}_{28}\text{H}_{26}\text{Cl}_2\text{NO}_3$ 计算值: 494.1290; 测量值: 494.1292.

1.4 生物活性测定

1.4.1 离体抑菌活性测定 采用菌丝生长速率法测定目标化合物在 100 $\mu\text{g/mL}$ 下对 7 种供试植物病原真菌的抑菌活性^[33]. 用十字交叉法测量菌落直径 (mm), 按公式 (1) 计算抑制率 (I):

$$I/\% = \frac{D_C - D_T}{D_C} \times 100 \quad (1)$$

其中, D_C 为对照组菌落生长直径; D_T 为处理组菌落生长直径. 试验结果为 3 次独立重复试验的平均值 $\pm$ 标准误差, 每次独立的重复试验设置 3 个平行重复.

选取初筛活性较好的目标化合物测定其 EC_{50} 值. 化合物质量浓度梯度设置为 100、50、20、10 和 5 $\mu\text{g/mL}$. 阳性对照啉酰菌胺的质量浓度梯度设置为 1.0、0.5、0.2、0.1 和 0.05 $\mu\text{g/mL}$. 将质量浓度和抑制率分别转化为对数值和几率值后, 利用文献方法^[34] 计算 EC_{50} 值和其 95% 的置信区间.

1.4.2 室内药效测定 采用离体叶片组织法测定供试化合物对油菜菌核病的室内药效. 采摘健康、长势一致的新鲜油菜叶片, 用 75% 酒精擦拭叶面消毒晾干. 用打孔器从生长 4 d 的油菜菌核病菌菌落边缘打下菌饼 (直径 5 mm), 并在叶片中央用消毒后的针刺伤, 将其接种到叶片的伤口处. 然后配制 500、200 和 100 $\mu\text{g/mL}$ 的供试化合物溶液, 保护作用需要在接菌前 1 d 喷施, 治疗作用在接菌后 1 d 喷施, 喷施的药液应达到叶片的最大持留量. 以啉酰菌胺 (10 $\mu\text{g/mL}$) 为阳性对照, 无菌

水处理为空白对照. 每处理设置 5 个重复. 将处理后的叶片置于温室保湿培养 (温度 25 $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 80%), 2 d 后, 十字交叉法测量病斑直径, 不规则病斑采用 3 次不同部位十字交叉法测量取均值作为其直径, 然后计算每个浓度下的病斑面积平均值, 按公式 (2) 计算防治效果 (E)^[35].

$$E/\% = \frac{S_0 - S_T}{S_0} \times 100 \quad (2)$$

其中: S_0 为对照组病斑平均面积, cm^2 ; S_T 为处理组病斑平均面积, cm^2 . 结果为 5 个重复的平均值 $\pm$ 标准误差.

2 结果与讨论

2.1 目标化合物的合成与表征

合成反应得到的产物存在 3,4 位顺式和反式两类立体异构体. 由已报道文献可知, 对于 C3 位为苯基取代的该类化合物, 反式异构体的 δ_{H_3} 高于 5.0, δ_{H_4} 大多低于 4.3, 并且 $^3J_{\text{H}_3-\text{H}_4}$ 小于 2.0 Hz^[31,36-38]; 对于顺式异构体, δ_{H_3} 高于 5.0, 由于同侧苯环的屏蔽作用 δ_{H_4} 高于 4.5, 两个氢在氢谱上可看到明显的耦合裂分且 $^3J_{\text{H}_3-\text{H}_4}$ 大于 4.0 Hz^[39-40]. 据此, 通过所得化合物的氢谱数据可知, **5a**、**5b** 和 **7a~7e** 为 3,4 位反式构型, **6c~6f** 的顺反构型比例分别为 10:1、5:1、10:1 和 5:3, 其余化合物为顺式构型. 已有报道表明, 在碱性条件下, 如采用 N,N' -羰基二咪唑 (CDI) 合成酯^[41] 和在氢氧化钠水溶液中^[42] 会引起 3,4 位构型的翻转; 本研究发现, **5k** 在 DCC/DMAP 缩合条件下同样会导致构型翻转, 从而得到反式产物 **7a~7e**. 在反式构型化合物 **5a** 的氢谱中, δ 13.10 的单峰是羧基上氢的信号峰, δ 8.00~7.09 的吸收峰是苯环上 9 个氢的信号峰, δ 5.36 和 δ 4.10 的单峰分别是 H3 和 H4 的信号峰, 其余为 N2 上正丙基的信号峰; 在其碳谱中, δ 172.2 和 163.3 分别是羧基碳和羰基碳的信号峰, δ 60.9 和 50.8 分别是 C3 和 C4 的信号峰, 其余在芳香区的吸收峰 (δ 126.1~139.6) 是苯环上碳的信号峰, 高场区的吸收峰为正丙基碳的信号峰. 而在顺式构型 **5e** 的氢谱中, δ 5.50 和 δ 4.95 的双峰 ($^3J_{\text{H}_3-\text{H}_4} = 5.6$ Hz) 分别是 H3 和 H4 的信号峰. 对于邻位取代的胺类底物——邻甲基苯胺、邻乙基苯胺、邻苯氧基苯胺、邻苯甲基苯胺、邻氟苯胺、2,3-二甲基苯胺和 2,6-二甲基苯胺, 本研究未发现相应的目标产物生成.

2.2 目标化合物的生物活性

2.2.1 离体抑菌活性 目标化合物 **5a~5k**、**6a~6f** 和 **7a~7e** 在 100 μg/mL 下对 7 种植物病原真菌的菌丝生长抑制率见表 1。由表中数据可知, 在 2 号位 N 原子上引入不同取代基 (**5a~5k**) 对 7 种病原真菌的菌丝生长均表现出抑制作用, 但抑制程度有所差异。对于油菜菌核病菌, 供试化合物对菌丝生长的抑制率均达到 80% 以上, 其中, 化合物 **5g~5k** 的抑制率超过 90%。化合物 **5f** 对立枯丝核菌菌丝生长的抑制效果最好, 抑制率为 93.7%, 化合物 **5e** 对胶孢炭疽菌菌丝生长的抑制作用最强,

抑制率为 87.5%, 其余化合物对这两种供试病原菌都具有中等的抑制活性。供试化合物对西瓜枯萎病菌、番茄灰霉病菌和苹果斑点落叶病菌的抑制活性相对较弱, 最高抑制率分别为 82.3%、78.0% 和 78.8%。供试化合物对粉红聚端孢菌的抑制活性最差。在 3 号位引入不同取代基得到的化合物 **6a~6f** 对 7 种植物病原真菌的活性也有类似的趋势; 而酯类化合物 **7a~7e** 的抑制率均低于 20%。综上, 所合成的四氢异喹啉酮-4-羧酸类化合物对多种病原菌均有抑制作用, 但对油菜菌核病菌的抑制效果最好。

表 1 化合物 **5a~5k**、**6a~6f** 和 **7a~7e** 在 100 μg/mL 下对 7 种植物病原菌菌丝生长抑制率
Table 1 The inhibition rates of compounds **5a~5k**、**6a~6f** and **7a~7e** against mycelial growth of 7 plant pathogenic fungi at the concentration of 100 μg/mL

化合物 Compd.	抑制率 Inhibition rate/%						
	Sc. (4 d)	Bo. (6 d)	Fu. (6 d)	Co. (7 d)	Tr. (7 d)	Al. (7 d)	Rh. (3 d)
5a	89.2 ± 0.6	68.6 ± 1.8	78.3 ± 0.3	82.3 ± 0.5	30.8 ± 1.3	66.9 ± 0.5	84.7 ± 1.2
5b	86.5 ± 1.6	74.9 ± 0.9	77.7 ± 2.1	84.8 ± 0.3	32.1 ± 2.0	66.3 ± 0.3	89.5 ± 2.5
5c	87.7 ± 2.7	70.2 ± 2.5	79.7 ± 1.6	83.6 ± 1.5	34.3 ± 2.5	65.7 ± 1.3	76.8 ± 4.0
5d	82.1 ± 1.6	67.3 ± 2.6	68.8 ± 0.5	80.1 ± 0.9	72.7 ± 0.9	63.1 ± 2.1	70.7 ± 1.6
5e	84.5 ± 1.2	68.9 ± 2.0	82.3 ± 1.2	87.5 ± 0.5	44.0 ± 0.4	68.4 ± 1.2	82.2 ± 0.8
5f	85.8 ± 1.1	56.4 ± 1.5	37.9 ± 2.6	68.1 ± 1.1	42.3 ± 1.8	66.3 ± 1.3	93.7 ± 10.1
5g	90.6 ± 1.8	63.6 ± 2.9	42.7 ± 0.9	73.1 ± 1.5	45.9 ± 3.7	69.5 ± 1.0	77.2 ± 7.8
5h	91.1 ± 1.8	59.7 ± 1.2	39.4 ± 0.4	74.6 ± 1.5	42.3 ± 2.1	72.4 ± 0.3	78.6 ± 9.9
5i	91.4 ± 1.1	67.6 ± 0.3	39.3 ± 1.7	73.6 ± 2.2	50.0 ± 7.6	74.7 ± 1.3	68.2 ± 4.7
5j	90.6 ± 0.9	56.8 ± 1.0	39.0 ± 3.2	69.9 ± 0.9	46.2 ± 2.4	74.5 ± 3.8	78.6 ± 5.3
5k	92.9 ± 0.3	62.3 ± 2.0	46.8 ± 0.4	76.8 ± 1.7	52.7 ± 2.6	73.6 ± 1.3	72.8 ± 2.2
6a	81.1 ± 2.0	66.2 ± 1.3	46.1 ± 1.8	68.6 ± 1.3	28.4 ± 3.4	73.1 ± 0.2	61.1 ± 0.1
6b	83.7 ± 2.0	73.3 ± 0.3	69.1 ± 0.3	77.8 ± 0.2	67.3 ± 2.9	73.8 ± 0.7	92.3 ± 1.8
6c	89.2 ± 1.4	69.2 ± 0.5	37.4 ± 3.4	46.5 ± 1.7	34.1 ± 1.4	61.3 ± 2.1	52.6 ± 2.4
6d	90.2 ± 0.5	72.1 ± 1.1	47.8 ± 0.2	57.9 ± 2.0	55.4 ± 2.6	71.3 ± 0.9	83.4 ± 0.8
6e	90.0 ± 1.8	77.7 ± 0.6	62.9 ± 0.9	73.8 ± 0.9	55.8 ± 1.1	77.1 ± 1.4	89.1 ± 0.7
6f	87.2 ± 1.1	78.0 ± 0.5	60.6 ± 1.1	71.3 ± 0.3	59.9 ± 1.4	78.8 ± 0.9	87.9 ± 1.2
7a	0	9.6 ± 1.0	4.4 ± 3.0	7.8 ± 1.6	20.7 ± 1.4	6.0 ± 1.2	10.1 ± 0.3
7b	1.5 ± 0.6	10.2 ± 1.2	6.9 ± 0.6	7.1 ± 0.9	18.3 ± 0.9	3.8 ± 1.4	7.1 ± 1.8
7c	14.9 ± 2.3	4.9 ± 0.2	1.5 ± 0.4	8.8 ± 1.2	3.9 ± 1.5	11.3 ± 1.3	7.3 ± 1.1
7d	10.3 ± 0.2	16.8 ± 2.0	10.7 ± 0.7	7.1 ± 0.4	5.3 ± 1.4	11.8 ± 0.4	2.2 ± 0.6
7e	19.8 ± 2.0	13.7 ± 1.8	9.4 ± 1.4	7.8 ± 2.0	9.1 ± 0.5	6.0 ± 1.5	0.2 ± 0.2
啮酰菌胺 boscalid	100.0	100.0	67.6 ± 0.8	100.0	57.8 ± 1.0	90.6 ± 0.8	98.1 ± 0.4

注: Sc.-油菜菌核病菌; Bo.-番茄灰霉病菌; Fu.-西瓜枯萎病菌; Co.-胶孢炭疽菌; Tr.-粉红聚端孢菌; Al.-苹果斑点落叶病菌; Rh.-立枯丝核菌; 括号内天数表示接菌后与检查结果间隔的天数; 表中数据为 3 次独立重复试验的平均值 ± 标准误差。
Note: Sc.-*Sclerotinia sclerotiorum*; Bo.-*Botrytis cinerea*; Fu.-*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*; Co.-*Colletotrichum gloeosporioides*; Tr.-*Trichothecium roseum*; Al.-*Alternaria mali*; Rh.-*Rhizoctonia solani*. The number of days in brackets indicates the number of days between the inoculation and the inspection results. The data in the table are the mean ± standard error (SE) of three repeated experiments.

进一步测定化合物 **5a~5k** 和 **6a~6f** 对油菜菌核病菌菌丝生长的 EC_{50} 值。结果(表 2)表明,不同化合物对油菜菌核病菌菌丝生长的抑制活性有所差异。其中,化合物 **5k** 对油菜菌核病菌的抑菌活性最好, EC_{50} 值为 5.8 $\mu\text{g/mL}$, 但活性不及对照

药剂啮酰菌胺 ($EC_{50}=0.094\text{ }\mu\text{g/mL}$) (图 1); 对于 **6a~6f**, **6f** 的抑菌活性最强, EC_{50} 值为 32.0 $\mu\text{g/mL}$, 但低于先导化合物 **5k**。酯类化合物 **7a~7e** 在 200 $\mu\text{g/mL}$ 下对油菜菌核病菌的菌丝生长抑制率均低于 30%。以上结果表明, 在化合物 **5k** 的 3 位苯环

表 2 化合物 **5a~5k**、**6a~6f** 和 **7a~7e** 对油菜菌核病菌皿内菌丝生长的毒力 (4 d)
Table 2 The toxicities of compounds **5a~5k**, **6a~6f** and **7a~7e** against *S. sclerotiorum* (4 d)

化合物 Compd.	毒力回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	$EC_{50}/(\mu\text{g/mL})$	95%置信区间 95% CL/ $(\mu\text{g/mL})$
5a	$y = 2.609x + 0.828$	0.988	39.7	21.0~75.1
5b	$y = 2.303x + 1.160$	0.985	46.5	22.2~97.6
5c	$y = 2.290x + 1.087$	0.990	51.1	27.2~96.1
5d	$y = 2.860x + 0.061$	0.994	53.3	32.2~88.2
5e	$y = 2.748x + 0.384$	0.983	47.9	21.3~107.4
5f	$y = 2.590x + 0.720$	0.977	44.9	17.8~113.3
5g	$y = 2.009x + 2.071$	0.973	28.7	11.8~70.1
5h	$y = 1.867x + 2.470$	0.981	22.6	11.0~46.7
5i	$y = 1.697x + 2.720$	0.976	22.0	9.8~49.8
5j	$y = 1.799x + 2.479$	0.970	25.2	10.1~63.2
5k	$y = 1.116x + 4.145$	0.992	5.8	3.9~8.7
6a	$y = 2.045x + 1.553$	0.978	48.4	19.3~121.8
6b	$y = 3.316x - 0.757$	0.985	54.5	24.8~119.4
6c	$y = 3.394x - 0.771$	0.975	50.2	18.4~136.4
6d	$y = 3.045x + 0.043$	0.981	42.2	18.6~95.8
6e	$y = 2.842x + 0.448$	0.979	39.9	17.3~92.2
6f	$y = 1.795x + 2.298$	0.972	32.0	12.8~80.5
7a	—	—	>200	—
7b	—	—	>200	—
7c	—	—	>200	—
7d	—	—	>200	—
7e	—	—	>200	—
啮酰菌胺 boscalid	$y = 1.110x + 6.142$	0.993	0.094	0.063~0.14

注: “—”表示未计算出结果。
Note: “—” Indicates that the result is not calculated.

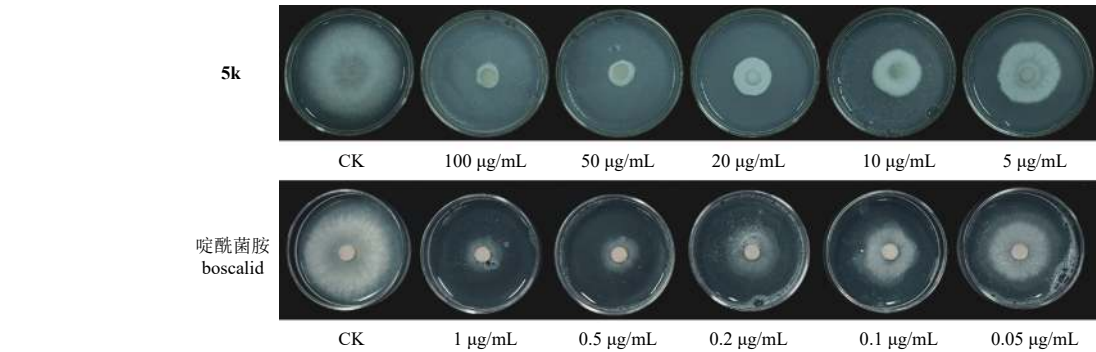


图 1 不同浓度化合物 **5k** 和啮酰菌胺对油菜菌核病菌皿内菌丝生长的影响
Fig. 1 Effects of compounds **5k** and boscalid against *S. sclerotiorum* at different concentrations

上引取代基以及对 4 号位羧基进行酯化均不利于活性提高。

通过构效关系分析发现，在 N 原子上引入不同的取代基对化合物的抑菌活性会产生不同影响。随着脂肪烷基链长度的增加，抑菌活性呈下降趋势 (**5a** > **5c** > **5d**)；N 原子上脂肪烷烃支链的增加也会导致活性降低 (**5a** > **5b**)；在 **5e** 的 N 取代的苯环上引入不同的吸电子取代基，化合物的活性有所提高，且表现出取代基位置和数目的选择性，如 4-BrC₆H₄ 取代 (**5h**) 的活性要强于 3-BrC₆H₄ 取代 (**5j**)，以及 4-ClC₆H₄ 取代 (**5g**) 的活性低于 3,4-diClC₆H₃ 取代 (**5k**)。另外，抑菌活性随着 N 取代的苯环上吸电子基团电负性的降低而有所提高，如 EC₅₀ 值的变化为：4-IC₆H₄(**5i**) ≈ 4-BrC₆H₄(**5h**) < 4-ClC₆H₄(**5g**) < 4-FC₆H₄(**5f**)。在 C3 位苯环上引入不同取代基，化合物的活性均有不同程度的下降，这说明该位点是一个敏感部位，在后续结构改造中应保留或作减小取代基体积的苯环的电子等排替换；而在 C4 位引入不同类型的酯基，化合物的活性显著降低，因此 C4 位的羧基是保持活性所需的基团。

2.2.2 化合物 5k 的室内药效测定 采用离体组织

法测定了化合物 **5k** 对油菜菌核病的室内防治效果。结果见表 3 和图 2。从表 3 数据可知，化合物 **5k** 在不同质量浓度下对油菜菌核病均表现出一定程度的保护和治疗作用效果，且保护作用优于治疗作用。当供试质量浓度为 500 μg/mL 时，保护作用防效为 94.6%，与对照药剂啮酰菌胺在 10 μg/mL 下的保护作用防效相当，而在 100 μg/mL 和 200 μg/mL 下均低于对照药剂。从图 2 中可知，与空白对照相比，随着化合物 **5k** 质量浓度的增加，病斑面积逐渐减小。

表 3 化合物 5k 对油菜菌核病的防治效果
Table 3 The control efficacy of compound 5k against *S. sclerotiorum*

化合物 Compd.	质量浓度 Concentration/ (μg/mL)	防治效果 Control efficacy/%	
		保护作用 Preventive effect	治疗作用 Curative effect
5k	100	49.4 ± 7.0	20.9 ± 3.9
	200	73.5 ± 11.2	37.3 ± 10.8
	500	94.6 ± 3.4	52.1 ± 13.1
啮酰菌胺 boscalid	10	95.8 ± 1.5	54.7 ± 9.3

注：表中数据为 5 次独立重复试验的平均值±标准误差 (n=5)。
Note: The data in the table are the mean ± SE (n=5).

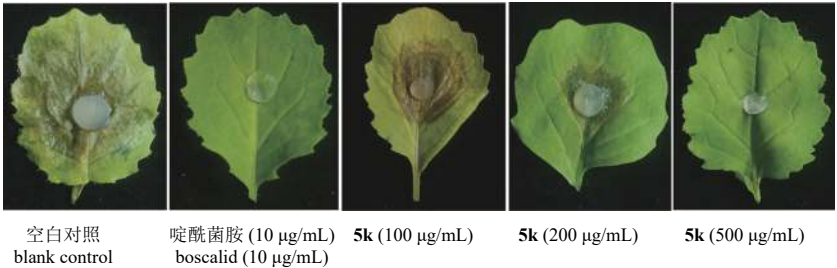


图 2 化合物 5k 对油菜菌核病的室内保护作用药效
Fig. 2 The representative photos of preventive effect of compound 5k against *S. sclerotiorum* on detached oilseed rape leaves

3 结论

利用 Castagnoli-Cushman 反应以及成酯反应合成了 22 个具有异喹啉-1(2H)-酮骨架的四氢异喹啉酮-4-羧酸 (酯) 类化合物。离体抑菌活性测定结果表明，该类化合物对油菜菌核病菌表现出较好的抑制活性，其中化合物 **5k** 的活性最高，EC₅₀ 值为 5.8 μg/mL，但低于对照药剂啮酰菌胺；室内防治效果试验表明，化合物 **5k** 在 500 μg/mL 时对油菜菌核病的保护作用与对照药剂啮酰菌胺在 10 μg/mL 时的相当，可作为先导化合物进一步优

化。构效关系分析表明，在 N 原子取代的苯环上引入不同的取代基时抑菌活性均有所提高，且表现出位置和数目的选择性，而在 C3 位引入取代基则对活性不利，同时 C4 位的羧基是一个必需的活性基团。本研究结果可为该类化合物的进一步结构优化提供借鉴。

参考文献 (References):

[1] SPARKS T C, HAHN D R, GARIZI N V. Natural products, their derivatives, mimics and synthetic equivalents: role in agrochemical

- discovery[J]. *Pest Manag Sci*, 2017, 73(4): 700-715.
- [2] SPARKS T C, BRYANT R J. Impact of natural products on discovery of, and innovation in, crop protection compounds[J]. *Pest Manag Sci*, 2022, 78(2): 399-408.
- [3] NAUEN R, JESCHKE P, VELTEN R, et al. Flupyradifurone: a brief profile of a new butenolide insecticide[J]. *Pest Manag Sci*, 2015, 71(6): 850-862.
- [4] GOTO K, HORIKOSHI R, MITOMI M, et al. Synthesis and insecticidal efficacy of pyripyropene derivatives. Part II—Invention of afidopyropen[J]. *J Antibiot*, 2019, 72(9): 661-681.
- [5] HORIKOSHI R, GOTO K, MITOMI M, et al. Afidopyropen, a novel insecticide originating from microbial secondary extracts[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 2827.
- [6] OWEN W J, YAO C L, MYUNG K, et al. Biological characterization of fenpicoxamid, a new fungicide with utility in cereals and other crops[J]. *Pest Manag Sci*, 2017, 73(10): 2005-2016.
- [7] MEYER K G, BRAVO-ALTAMIRANO K, HERRICK J, et al. Discovery of florylpicoxamid, a mimic of a macrocyclic natural product[J]. *Bioorg Med Chem*, 2021, 50: 116455.
- [8] CAVA M P, BESSHO K, DOUGLAS B, et al. Hernandia alkaloids. II. Hernandaline, a new, elaborated aporphine structural type[J]. *Tetrahedron Lett*, 1966, 7(36): 4279-4282.
- [9] KRANE B D, SHAMMA M. The isoquinolone alkaloids[J]. *J Nat Prod*, 1982, 45(4): 377-384.
- [10] YADAV D K, SINGH N, DEV K, et al. Anti-ulcer constituents of *Annona squamosa* twigs[J]. *Fitoterapia*, 2011, 82(4): 666-675.
- [11] WANG Y J, WANG D D, ZHANG J H, et al. Isoquinolines from *Corydalis tomentella* from Tibet, China, possess hepatoprotective activities[J]. *Phytochemistry*, 2018, 155: 93-99.
- [12] ISSAC M, AKNIN M, GAUVIN-BIALECKI A, et al. Mollecarbamates, molleureas, and molledihydroisoquinolone, *O*-carboxyphenethy-lamide metabolites of the ascidian *Didemnum molle* collected in Madagascar[J]. *J Nat Prod*, 2017, 80(6): 1844-1852.
- [13] FIDALGO M L, ARIAS M S, SOLIVERI J, et al. APHE-1 and APHE-2, two new antimicrobial and cytotoxic antibiotics. I. Taxonomy, fermentation, isolation and biological activity[J]. *J Antibiot*, 1992, 45(11): 1753-1758.
- [14] WALKER E R, LEUNG S Y, BARRETT A G M. Studies towards the total synthesis of Sch 56036; isoquinolinone synthesis and the synthesis of phenanthrenes[J]. *Tetrahedron Lett*, 2005, 46(38): 6537-6540.
- [15] GRIFFIN C, HAMM C, MCNULTY J, et al. Pancratistatin induces apoptosis in clinical leukemia samples with minimal effect on non-cancerous peripheral blood mononuclear cells[J]. *Cancer Cell Int*, 2010, 10(6): 1-7.
- [16] CHIARUGI A, MELI E, CALVANI M, et al. Novel isoquinolinone-derived inhibitors of poly (ADP-ribose) polymerase-1: pharmacological characterization and neuroprotective effects in an in vitro model of cerebral ischemia[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003, 305(3): 943-949.
- [17] PELLICCIARI R, CAMAIONI E, COSTANTINO G, et al. On the way to selective PARP-2 inhibitors. Design, synthesis, and preliminary evaluation of a series of isoquinolinone derivatives[J]. *ChemMedChem*, 2008, 3(6): 914-923.
- [18] MORGAN R K, CARTER-O'CONNELL I, COHEN M S. Selective inhibition of PARP10 using a chemical genetics strategy[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015, 25(21): 4770-4773.
- [19] MORGAN R K, KIRBY I T, VERMEHREN-SCHMAEDICK A, et al. Rational design of cell-active inhibitors of PARP10[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2018, 10(1): 74-79.
- [20] BARDIOT D, BLANCHE E, CHALTIN P, et al. Novel inhibitors of flavivirus replication: US20110224208[P]. 2011-09-15. <https://patents.google.com/patent/US20110224208>.
- [21] ARMSTRONG S, LI J H, ZHANG J, et al. Characterization of competitive inhibitors for the transferase activity of *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A[J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2002, 17(4): 235-246.
- [22] JEGHAM N, BEN BRAIEK M, KACEM Y, et al. Synthesis and antibacterial activity of new spiro-isoquinolin-1-ones[J]. *J Chem Res*, 2016, 40(11): 687-690.
- [23] MAEDA H, SUZUKI M, SUGANO H, et al. Synthesis and central nervous system actions of thyrotropin-releasing hormone analogs containing a 1-oxo-1, 2, 3, 4-tetrahydroisoquinoline moiety[J]. *Chem Pharm Bull*, 1988, 36(1): 190-201.
- [24] UKITA T, NAKAMURA Y, KUBO A, et al. Novel, potent, and selective phosphodiesterase 5 inhibitors: synthesis and biological activities of a series of 4-aryl-1-isoquinolinone derivatives[J]. *J Med Chem*, 2001, 44(13): 2204-2218.
- [25] HENRY P J, GEORGE H R, ELIZABETH L S, et al. Benzoheterocyclic fungicides: EP0247760A3[P]. 1987-05-14. <https://europepmc.org/patents/PAT/EP0247760A3>.
- [26] FRACKENPOHL J, HANS-JOACHIM Z, HEINEMANN I, et al. Use of substituted isoquinolinones, isoquinolindiones, isoquinolintriones and dihydroisoquinolinones or in each case salts thereof as active agents against abiotic stress in plants: EP2729007[P]. 2012-07-02. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/patent/EP2729007>.
- [27] 李斌, 吴鸿飞, 崔东亮, 等. 异喹啉酮类化合物及其应用: CN1687061 [P]. 2005-10-26. <https://patents.google.com/patent/CN1687061>.
LI B, WU H F, CUI D L, et al. Isoquinolone compounds and their applications: CN1687061[P]. 2005-10-26. <https://patents.google.com/patent/CN1687061>.
- [28] GONZÁLEZ-LÓPEZ M, SHAW J T. Cyclic anhydrides in formal cycloadditions and multicomponent reactions[J]. *Chem Rev*, 2009, 109(1): 164-189.
- [29] NG P Y, TANG Y C, KNOSP W M, et al. Synthesis of diverse lactam carboxamides leading to the discovery of a new transcription-factor inhibitor[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2007, 46(28): 5352-5355.
- [30] LAWS S W, HOWARD S Y, MATO R, et al. Organocatalytic Mukaiyama Mannich reactions of 2, 5-bis(trimethylsilyloxy)furan[J]. *Org Lett*, 2019, 21(13): 5073-5077.
- [31] CHUPAKHIN E, DAR'IN D, KRASAVIN M. The Castagnoli-Cushman reaction in a three-component format[J]. *Tetrahedron Lett*,

- 2018, 59(26): 2595-2599.
- [32] 王进敏, 韩金涛, 张春艳, 等. 5-(4-羟基苄基)-2, 4-咪唑啉二酮酯类化合物的合成及生物活性[J]. 有机化学, 2010, 30(1): 72-78.
- WANG J M, HAN J T, ZHANG C Y, et al. Synthesis and biological activities of 5-(4-hydroxybenzyl)hydantoin esters[J]. Chinese J Org Chem, 2010, 30(1): 72-78.
- [33] 农药室内生物测定试验准则 杀菌剂 第2部分: 抑制病原真菌菌丝生长试验 平皿法: NY/T 1156.2—2006 [S]. 北京: 中国农业出版社, 2006.
- Pesticides Guidelines for laboratory bioactivity tests. Part 2: Petri plate test for determining fungicide inhibition of mycelial growth. NY/T 1156. 2—2006 [S]. Beijing: China Agricultural Press, 2006.
- [34] MILLER L C, TAINTER M L. Estimation of the ED₅₀ and its error by means of Logarithmic-Probit graph paper[J]. Proc Soc Exp Biol Med, 1944, 57(2): 261-264.
- [35] 王琳, 郑胜礼, 吕淑敏, 等. 3-卤苯基芳胺去甲斑蝥素衍生物对油菜菌核病菌的抑菌机理[J]. 农药学报, 2021, 23(1): 107-116.
- WANG L, ZHENG S L, LV S M, et al. Inhibitory mechanism of cantharidin derivatives against *Sclerotinia sclerotiorum*[J]. Chin J Pestic Sci, 2021, 23(1): 107-116.
- [36] HAIMOVA M A, MOLLOV N M, IVANOVA S C, et al. A highly stereoselective synthesis of 3, 4-dihydro-1(2*H*)-isoquinolinones and 8-oxoberberines from homophthalic anhydrides and azomethines[J]. Tetrahedron, 1977, 33(3): 331-336.
- [37] YU N, BOUREL L, DEPREZ B, et al. Lewis acid-induced reaction of homophthalic anhydride with imines: a convenient synthesis of *trans*-isoquinolonic acids[J]. Tetrahedron Lett, 1998, 39(8): 829-832.
- [38] HOWARD S Y, DI MASO M J, SHIMABUKURO K, et al. Mechanistic investigation of castagnoli-cushman multicomponent reactions leading to a three-component synthesis of dihydroisoquinolones[J]. J Org Chem, 2021, 86(17): 11599-11607.
- [39] CUSHMAN M, GENTRY J, DEKOW F W. Condensation of imines with homophthalic anhydrides. A convergent synthesis of *cis*- and *trans*-13-methyltetrahydroprotoberberines[J]. J Org Chem, 1977, 42(7): 1111-1116.
- [40] CUSHMAN M, MADAJ E J. A study and mechanistic interpretation of the electronic and steric effects that determine the stereochemical outcome of the reaction of Schiff bases with homophthalic anhydride and 3-phenylsuccinic anhydride[J]. The J Org Chem, 1987, 52(5): 907-915.
- [41] MIKHEYEV A, KANTIN G, KRASAVIN M. Aldazines in the Castagnoli-Cushman reaction[J]. Synthesis, 2018, 50(10): 2076-2086.
- [42] SAFRYGIN A, BAKULINA O, DAR'IN D, et al. Three-component reaction of homophthalic anhydride with carbonyl compounds and ammonium acetate: new developments[J]. Synthesis, 2020, 52(15): 2190-2195.

(责任编辑: 金淑惠)

• 本期封面文章 •

基于 RNA 干扰的杀菌剂开发及其对化学杀菌剂的影响

RNA 干扰 (RNA interference, 简称 RNAi) 是真核生物中一种高度保守的基因沉默现象, 它在医药和植物保护领域具有广阔的应用前景。相关 RNAi 的产品已经进入或即将进入医药和杀虫剂市场, 但除了植物病毒病害以外, 该技术对其他植物病害的商业化应用尚未实现。本文总结了 RNAi 研究的历史沿革, 从理论和技术角度分析了基于 RNAi 的杀菌剂目前面临的问题和障碍, 重点阐述了植物和真菌细胞壁对 RNA 分子递送的影响, 以及植物与真菌 RNAi 元件差异对 RNA 干扰效果的影响。此外, 文章还探讨了 RNAi 杀菌剂对传统化学杀菌剂的影响, 为 RNAi 杀菌剂的研发和应用提供了借鉴。

RNA interference (RNAi) is a highly conserved gene silencing phenomenon in eukaryotes, which has shown broad potential application in medicine and plant protection. Products related to RNAi have entered or are poised to enter the market for pharmaceuticals and insecticides, but the commercialization of RNAi for other plant diseases beyond viral infections has yet to be realized. Here, the development of RNAi research is summarized, and new ideas that may help improve the development of RNAi-based fungicides are introduced. It focuses on the impact of plant and fungal cell walls on the delivery of RNA molecules, as well as the differences between plant and fungal RNAi components and their effect on RNAi efficacy. At the same time, the influence of RNAi-based fungicides on traditional chemical fungicides is discussed, which is the innovation and application of RNAi fungicides.

内容详见:

宋修仕[#], 高静[#], 周明国^{*}. 基于 RNA 干扰的杀菌剂开发及其对化学杀菌剂的影响 [J]. 农药学报, 2023, 25(1): 1 - 11.

SONG Xiushi[#], GAO Jing[#], ZHOU Mingguo^{*}. Development of fungicides based on RNAi mechanism and its influence on chemical fungicides[J]. Chin J Pestic Sci, 2023, 25(1): 1 - 11.

