

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20171209001

http://www.yykxjz.cn/

姚嘉赞, 徐洋, 袁雪梅, 蔺凌云, 尹文林, 潘晓艺, 郝贵杰, 沈锦玉. 四氢异喹啉衍生物的合成及体外抗多子小瓜虫活性的研究. 渔业科学进展, 2019, 40(1): 141-146

Yao JY, Xu Y, Yuan XM, Lin LY, Yin WL, Pan XY, Hao GJ, SHEN JY. Synthesis of 1-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline derivatives and its antiparasitic activity against *Ichthyophthirius multifiliis* in vitro. Progress in Fishery Sciences, 2019, 40(1): 141-146

四氢异喹啉衍生物的合成及体外 抗多子小瓜虫活性的研究*

姚嘉赞^① 徐洋 袁雪梅 蔺凌云 尹文林 潘晓艺 郝贵杰 沈锦玉

(农业农村部淡水渔业健康养殖重点实验室 浙江省鱼类健康与营养重点实验室
浙江省淡水水产研究所 湖州 313001)

摘要 合成四氢异喹啉衍生物并进行杀多子小瓜虫(*Ichthyophthirius multifiliis*)药效评价。以1-甲基-1,2,3,4-四氢异喹啉为起始原料,在2位的胺基上引入与环己甲酰氯、苯甲酰氯、噻吩甲酰氯、乙酰氯以及氯乙酰氯等不同的酰基进而合成5种四氢异喹啉衍生物(化合物1~化合物5),研究其对小瓜虫掠食体和包囊的杀虫活性,并对杀虫活性物质进行安全性评价。结果显示,5种化合物均具有一定的杀虫活性,其中,化合物1[(1-甲基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-苯基-甲酮]的杀虫活性最强,其对多子小瓜虫掠食体4h的100%杀灭浓度为24.0 mg/L,对包囊6h的100%杀灭浓度为60.0 mg/L,对掠食体的半数致死浓度(LD₅₀)为16.4 mg/L。急性毒性实验结果显示,化合物1对翘嘴红鲌(*Erythroculter ilishaefirmi*)的48h LD₅₀为234.3 mg/L,其安全浓度为64.1 mg/L。研究表明,化合物1[(1-甲基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-苯基-甲酮]是一种具有较好开发前景的杀小瓜虫药物。

关键词 四氢异喹啉衍生物; 掠食体; 包囊; 多子小瓜虫

中图分类号 S943 文献标识码 A 文章编号 2095-9869(2019)01-0141-06

多子小瓜虫(*Ichthyophthirius multifiliis*),属纤毛门-寡膜纲-膜口目-凹口科-小瓜虫属(沈韞芬,1999)。该纤毛虫体被分散排布且长短均一的纤毛,其生活史分为滋养体(Trophont)、包囊体(Tomont)和掠食体(Theront)3个阶段(Ewing,1992)。滋养体主要寄生在宿主体表,如鳃、皮肤、鳍和眼等的上皮组织中。在病灶处呈边缘明显的白点,故该寄生虫病也称“白点病”。滋养体在鱼类表皮或鳃上发育成熟,之后脱离鱼体并在水体中形成包囊,且经多次分裂后形成幼虫,感染性掠食体在短时间内侵染鱼体进而感染鱼

体,形成一个生活史(Lom *et al*,1994)。小瓜虫几乎可以感染所有淡水鱼类,其生长繁殖不需借助任何中间寄主,给世界水产养殖业造成重大经济损失(Klesius *et al*,1995; Wahli *et al*,1993)。因此,小瓜虫的防治研究一直都是水产学科研究中的重点和难点。

国内外科研工作者对小瓜虫的防治药物进行了大量的研究,孔雀石绿和硝酸亚汞较为有效,但因其具有致癌作用,目前已被禁用(Rowland *et al*,2009)。甲醛(Straus *et al*,2009a)、硫酸铜(Straus *et al*,2009a)、过氧化氢(Lahnsteiner *et al*,2007)、过氧乙酸(Straus *et al*,

* 浙江省公益技术应用研究项目(LGN18C190005; 2014C32055)和浙江省科技计划项目(2017F30034)共同资助[This work was supported by Commonness and Commonweal Technology Application Project Program of Zhejiang Province (LGN18C190005; 2014C32055), and Science and Technology Project Program of Zhejiang Province (2017F30034)].

① 通讯作者: 姚嘉赞, 副研究员, E-mail: yaojiayun@126.com

收稿日期: 2017-12-09, 收修改稿日期: 2018-02-07

2009b), 过碳酸钠(Heinecke *et al*, 2009), 溴硝醇(Shinn *et al*, 2012; Picón-Camacho *et al*, 2012), 高铁酸钾(Ling *et al*, 2010)等被用于控制小瓜虫病, 虽有一定的功效, 但长期使用带来的是环境污染、药物残留、耐药性等一系列问题, 也成为当前食品安全和水产品出口的绿色贸易壁垒问题, 引起社会各界普遍关注。因此, 寻找对小瓜虫病治疗行之有效的环境友好型药物是一项迫在眉睫的任务。作者利用多种技术手段从天然植物博落回(*Macleaya cordata*)和小果博落回(*Macleaya microcarpa*)中分离获得到了 3 种苯菲啶异喹啉类化合物: 血根碱(Yao *et al*, 2010)、二氢血根碱和二氢白屈菜红碱(Yao *et al*, 2011), 药效结果显示, 三者对小瓜虫具有较强的杀灭作用。同时, 构效关系研究初步表明, 其核心药效基团主要为四氢异喹啉, 因此, 本研究以 1-甲基-1,2,3,4-四氢异喹啉为起始原料, 在 2 位的胺基上引入与环己甲酰氯、苯甲酰氯、噻吩甲酰氯、环己基异硫氰酸酯以及氯乙酰氯等不同基团, 研究其杀虫功能, 以期研制开发新型的杀虫药物。

1 材料与方法

1.1 四氢异喹啉衍生物的合成及鉴定

四氢异喹啉衍生物的合成方法参照王文龙等(2013)的方法进行。将 1-甲基-1,2,3,4-四氢异喹啉化合物溶于二甲亚砜(DMSO)中, 冰浴条件下, 分别加入环己甲酰氯、苯甲酰氯、噻吩甲酰氯、乙酰氯以及氯乙酰氯后, 常温条件下进行搅拌, 并利用薄层层析进行追踪检测。经酸洗、碱洗以及柱层析纯化后得化合物 1~化合物 5, 依次为环己基-(1-甲基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-甲酮、二氢异喹啉-2(1H)-基)-苯基-甲酮、甲基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-噻吩-2-基-甲酮、1-(1-甲基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-乙酮和 2-氯-1-(1-甲基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-乙酮, 见图 1。

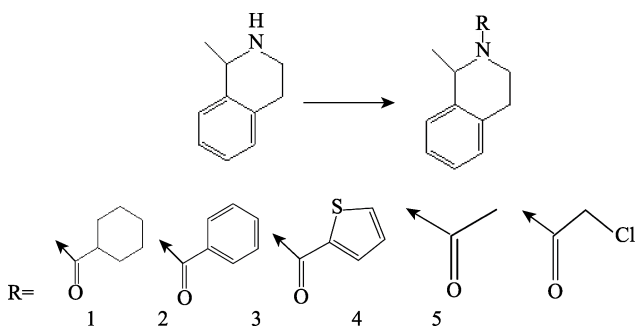


图 1 1-甲基-1,2,3,4-四氢异喹啉衍生物合成过程
Fig.1 Synthesis process of
1-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline derivatives

针对上述合成的 5 种化合物, 利用质谱(Waters micromas platform LCZ)、核磁氢谱、核磁碳谱(BRUKER AVIII-400 型核磁共振仪)等波谱技术进行化学结构鉴定, 进而确定化合物合成是否成功。

1.2 四氢异喹啉衍生物对小瓜虫的体外杀灭实验

1.2.1 虫体的收集 将严重感染小瓜虫的翘嘴红鲌(*Erythroculter ilishaeformi*)饲养于实验室的阶梯式养殖水槽中, 在养殖水槽的底部放入大量自制的玻璃虫体收集器, 待鱼体上的小瓜虫游出鱼体, 进入水体底部的玻璃收集器后, 收集虫体, 一部分虫体放入 22℃ 的虫体培养箱中进行培养, 获取小瓜虫掠食体进行杀虫实验。另一部分放入平皿, 进行体外包囊药物实验。

1.2.2 药物对小瓜虫掠食体的体外杀灭实验 用 DMSO 溶解合成的所有药物, 进而配制成不同浓度梯度, 向 24 孔细胞培养板中加入 150 μl 药物。收集小瓜虫掠食体, 并放置在烧杯中进行稀释, 至浓度约为 200 个/100 μl , 待药物加入细胞培养皿后, 向每个药物孔中加入 50 μl 虫体, 并用枪头混匀。观察小瓜虫的死亡情况, 并统计每个药物浓度的 4 h 死亡率。实验设 1 个空白对照组和 1 个 DMSO 对照组(前期实验表明, 药物中所添加的最高浓度 DMSO 对小瓜虫掠食体没有毒性)。每个药物浓度设 3 个重复。

1.2.3 药物对小瓜虫包囊的体外杀虫实验 按照前面的方法配制不同浓度梯度的药物, 并进行杀虫预实验, 初步确定药物对包囊的杀虫浓度范围, 并在此基础上进行杀虫药效评价。向 24 孔细胞培养板中加入 150 μl 药物。收集小瓜虫包囊, 并放置在烧杯中进行稀释, 至浓度约为 60 个/100 μl , 待药物加入细胞培养皿后, 向每个药物孔中加入 50 μl 虫体, 置于 22℃ 恒温恒湿培养箱中, 培养 20~36 h 后, 统计各药物浓度组的包囊死亡数量和孵化的幼虫数量。实验设 1 个空白对照组和 1 个 DMSO 对照组(前期实验表明, 药物中所添加的最高浓度 DMSO 对小瓜虫包囊没有毒性)。每个药物浓度设 3 个重复。

1.3 环己基-(1-甲基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-甲酮对翘嘴红鲌的急性毒性实验

因化合物 1 [环己基-(1-甲基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-甲酮]对小瓜虫的体外杀虫效果最强, 故而研究其对翘嘴红鲌的安全性。急性毒性实验按照 Yao 等(2010)的方法进行, 实验鱼暂养 7 d (其自然死亡率为 0.5%)后, 进行毒性预实验, 初步确定药物的毒性实验浓度, 按等对数间距设计 7 个浓度(289.0、256.0、

225.0、196.0、156.0、144.0 和 121.0 mg/L), 每个浓度组随机放置 10 尾实验鱼。实验控制水温为 $(25\pm 1)^{\circ}\text{C}$, 氨氮浓度 $<0.05\text{ mg/L}$, 溶解氧 $>6\text{ mg/L}$, 亚硝酸盐 $<0.01\text{ mg/L}$ 。实验期间不投喂饲料, 一旦有死鱼, 及时捞出, 每个药物浓度实验设 3 个重复。根据 12、24、48 和 96 h 的平均死亡率, 利用直线内插法求出半致死浓度(LD₅₀), 其安全浓度的计算公式如下:

$$\text{安全浓度}=(24\text{ h LD}_{50}\times 0.3)/(24\text{ h LD}_{50}/48\text{ h LD}_{50})^3$$

1.4 数据处理

用 SPSS 16.0 软件处理药效数据, 以平均数 \pm 标准误差(Mean \pm SE)表示, 采用方差分析进行差异显著性分析。

2 结果

2.1 四氢异喹啉生物对小瓜虫掠食体的杀灭作用

5 种四氢异喹啉生物对小瓜虫幼虫的杀灭作用见图 2。由图 2 可知, 5 种化合物在所测的浓度范围内对小瓜虫掠食体均具有杀灭作用。而杀虫效果最好的为化合物 1, 其浓度为 24.0 mg/L 时, 在 4 h 即可杀灭 100%幼虫, 4 h 的 LD₅₀ 为 16.4 mg/L, 而杀虫效果最差的为化合物 4, 其浓度为 25.0 mg/L 时, 杀灭率为 39.7%, 4 h 的 LD₅₀ 为 30.6 mg/L。对小瓜虫掠食体的杀灭效果依次是化合物 1>化合物 3>化合物 2>化合物 5>化合物 4。

体外杀虫实验结果还显示, 5 种四氢异喹啉衍生

物对小瓜虫掠食体具有一定的细胞结构破坏作用, 使用药物后, 小瓜虫的纤毛不运动, 胞质不流动, 甚至胞膜破裂, 细胞核破碎, 而对照组小瓜虫体表纤毛完整, 运动正常。

2.2 四氢异喹啉生物对小瓜虫包囊的杀灭作用

5 种四氢异喹啉生物对小瓜虫包囊的杀灭作用见表 1。由表 1 可知, 5 种化合物在所测的浓度范围内对小瓜虫的包囊均具有杀灭或抑制作用。杀虫效果最好的为化合物 1, 其浓度为 60.0 mg/L 时, 可 100%杀灭包囊, 化合物 3 的效果最差, 其浓度为 60.0 mg/L 时, 包囊的死亡率为 30%。5 种化合物对小瓜虫包囊的杀灭效果依次是化合物 1>化合物 5>化合物 4>化合物 2>化合物 3。

体外杀虫实验结果还显示, 使用后药物组的包囊破裂、边界模糊, 虫体不分裂, 胞质不清晰, 包囊不能进行分裂为幼虫。而空白对照组的包囊进行分裂, 最后孵化成幼虫(图 3)。

2.3 环己基-(1-甲基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-甲酮对翘嘴红鲌的急性毒性实验

环己基-(1-甲基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-甲酮对翘嘴红鲌的急性毒性实验结果见表 2, 由直线内插法计算可得, 环己基-(1-甲基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-甲酮对翘嘴红鲌的 24 h 的 LD₅₀ 为 245.3 mg/L; 48 h 的 LD₅₀ 为 234.3 mg/L; 96 h 的 LD₅₀ 为 197.8 mg/L; 根据公式计算可得, 其安全浓度为 64.1 mg/L。

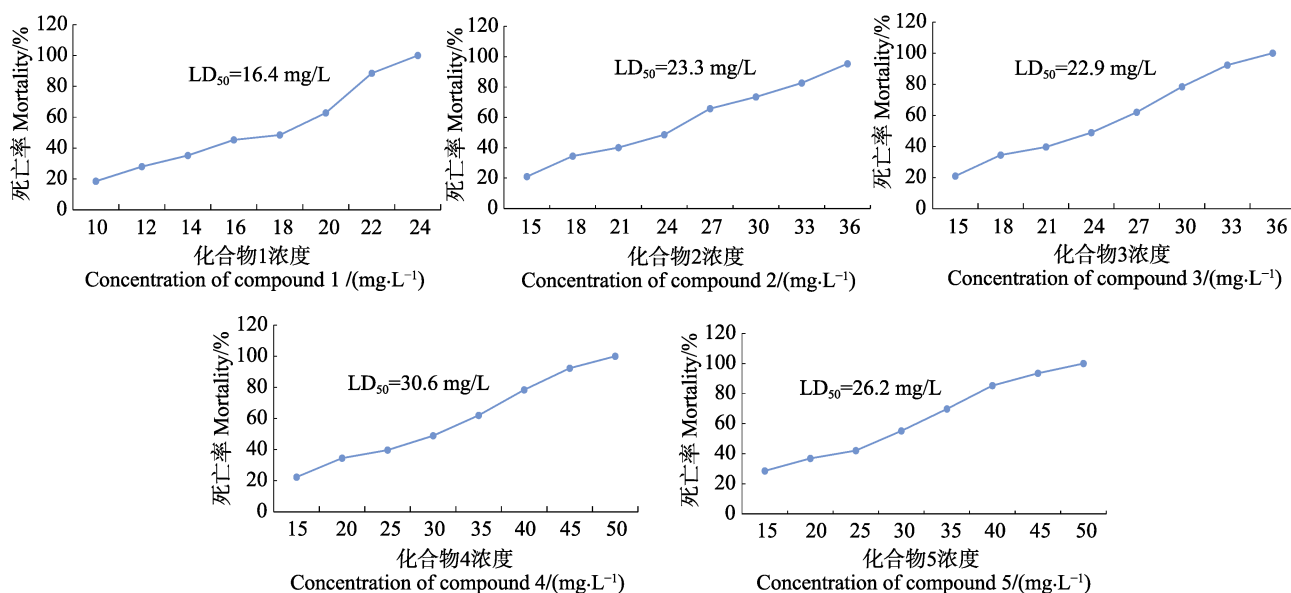


图 2 5 种化合物对小瓜虫掠食体的杀灭作用(4 h)

Fig.2 Antiparasitic efficacy of the five synthesized compounds against *I. multifiliis* theronts after 4 h exposure

表1 化合物1~5对小瓜虫孢囊的成活和孵化影响(6h)

Tab.1 *I. multifiliis* tomont survival and reproduction after 6 h exposure to the five synthesized compounds

| 化合物 Compound | 浓度(mg/L) Concentrations | 死亡率 Mortality(%) | 孵化虫数(个/孢囊) Reproduction | 化合物 Compound | 浓度(mg/L) Concentrations | 死亡率 Mortality(%) | 孵化虫数(个/孢囊) Reproduction |
|-----------------|----------------------------|------------------------|----------------------------|-------------------|----------------------------|-----------------------|----------------------------|
| 1 | 15.0 | 33.3±6.7 ^b | 501.1±34.3 ^a | 4 | 15.0 | 0±0 ^a | 558.3±23.2 ^a |
| | 30.0 | 66.7±6.7 ^c | 488.4±55.0 ^a | | 30.0 | 30.0±6.7 ^a | 428.7±36.5 ^a |
| | 45.0 | 82.90±3.3 ^d | 187.5±16.0 ^a | | 45.0 | 60.0±3.3 ^b | 365.3±27.7 ^a |
| | 60.0 | 100±0 ^e | 0±0 ^c | | 60.0 | 83.0±6.7 ^c | 283.3±25.6 ^b |
| 2 | 15.0 | 10.0±3.3 ^a | 596.2±33.5 ^a | 5 | 15.0 | 16.7±3.3 ^b | 584.3±15.6 ^a |
| | 30.0 | 13.3±3.3 ^b | 568.6±29.2 ^a | | 30.0 | 26.7±6.7 ^c | 517.1±13.6 ^a |
| | 45.0 | 43.3±6.7 ^d | 473.6±32.0 ^b | | 45.0 | 53.3±6.7 ^d | 445.3±28.6 ^b |
| | 60.0 | 58.5±6.7 ^e | 391.5±25.8 ^c | | 60.0 | 78.6±6.7 ^e | 405.0±13.3 ^c |
| 3 | 15.0 | 0±0 ^a | 598.3±33.8 ^a | 对照组 Control group | | 0±0 ^a | 606.7±25.6 ^a |
| | 30.0 | 10.0±3.3 ^a | 577.8±21.6 ^a | | | | |
| | 45.0 | 21.0±6.7 ^d | 541.7±20.0 ^a | | | | |
| | 60.0 | 30.0±3.3 ^e | 532.3±21.2 ^a | | | | |

注: 不同字母表示差异显著

Note: Different letters indicated significant difference

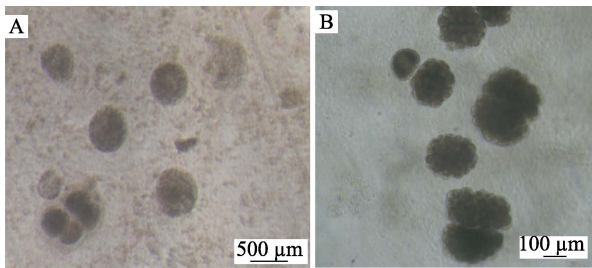


图3 异喹啉衍生物作用小瓜虫孢囊后的显微结构
Fig.3 Microstructure of *I. multifiliis* tomont after treated with the five 1-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline derivatives

A: 药物作用5h后, B: 正常孢囊

A: Treated 5 h with 1-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline derivatives ; B: Normal tomont

3 讨论

小瓜虫是危害水产养殖中的一个重要寄生虫, 因其生活史中不需要中间寄主, 故而只要切断其中一个生活史阶段即可达到病害防控的目的。目前, 鱼体上滋养体阶段的小瓜虫因孢囊外包一层膜, 因此, 药物很难进入将其杀死。本研究通过合成5种异喹啉类衍生物研究其对小瓜虫的掠食体和孢囊杀灭作用, 结果显示, 5种化合物对2个生活史阶段的多子小瓜虫均有较好的杀灭作用, 具有一定的开发应用前景。同时, 发现化合物1对二者的杀灭作用最强, 而较为有意义的发现是化合物5对孢囊的杀灭作用要强于对掠食体的杀灭作用, 一般而言, 孢囊的杀灭难度要远远大

表2 环己基-(1-甲基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-甲酮对翘嘴红鲌的急性毒性

Tab.2 Acute toxicity of cyclohexyl-(1-methyl-3,4-dihydroiso-quinoline)-ketone to *E. ilishaeformis*

| 药物浓度 Concentration(mg/L) | 浓度对数 LgConcentration | 鱼死亡率 Fish mortality(%) | | | |
|-----------------------------|-------------------------|------------------------|------|------|------|
| | | 12 h | 24 h | 48 h | 96 h |
| 289 | 17 | 53.3 | 100 | 100 | 100 |
| 256 | 16 | 20.0 | 40.0 | 53.3 | 100 |
| 225 | 15 | 10.0 | 26.7 | 30.0 | 66.7 |
| 196 | 14 | 0 | 13.3 | 26.7 | 53.3 |
| 169 | 13 | 0 | 0 | 10.0 | 30.0 |
| 144 | 12 | 0 | 0 | 0 | 10.0 |
| 121 | 11 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 对照组 Control group | | 0 | 0 | 0 | 0 |

于掠食体阶段, 而化合物 5 则相反, 故而该药物可能存在着针对包囊的作用靶点或者药效基团。前期工作中也发现, 制霉菌素对小瓜虫包囊的杀灭作用也是强于掠食体阶段(Yao *et al.*, 2015), 因此, 今后可针对这 2 种药物进行包囊药物靶点和药效基团方面的研究。

异喹啉及其衍生物是一类重要的医药化工中间体, 被广泛应用于各种重要医用药物。国内外的研究表明, 异喹啉类生物碱具有抗肿瘤、抗菌、降压等多种生物活性(Navarro *et al.*, 1999; Meng *et al.*, 2009; Hu *et al.*, 2006), Wang 等(2010)和 Yao 等(2010、2011)也获得多种具有杀指环虫和小瓜虫的异喹啉类生物碱。分析各类异喹啉类生物碱的结构可以发现, 绝大部分该类化合物均存在着异喹啉或者异喹啉衍生物的基本框架结构。本研究参考王文龙等(2013)的方法以 1-甲基-1,2,3,4-四氢异喹啉为起始原料, 合成了 5 种异喹啉类生物碱, 杀小瓜虫药效结果显示, 在 2 位的胺基上引入以含环己基的化合物 1 的杀虫活性明显高于含芳香环的化合物 2 和化合物 3, 说明芳香环的引入有碍于杀虫活性的提高, 该结果与王文龙等杀日本血吸虫的药效结果类似。氯乙酰基是一种重要的活性基团, 异喹啉类衍生物引入氯乙酰基可形成独特的杀虫活性药效团(王文龙, 等 2013), 但本研究通过引入氯乙酰基其杀虫活性并未得到提升, 可能是杀虫活性与氯乙酰基本身结构关系较小。故而, 将来在对异喹啉类药物进行合成时需要尽量减少芳香基团和氯乙酰基等基团的引入。

参 考 文 献

- Ewing MS, Kocan KM. Invasion and development strategies of *Ichthyophthirius multifiliis*, a parasitic ciliate of fish. *Parasitology Today*, 1992, 8(6): 204–208
- Heinecke RD, Buchmann K. Control of *Ichthyophthirius multifiliis* using a combination of water filtration and sodium percarbonate: Dose-response studies. *Aquaculture*, 2009, 288: 32–35
- Hu J, Zhang WD, Liu RH, *et al.* Benzophenanthridine alkaloids from *Zanthoxylum nitidum* (R_{OXB}) DC, and their analgesic and anti-inflammatory activities. *Chemistry and Biodiversity*, 2006, 3(9): 990–995
- Klesius P, Rogers W. Parasitisms of catfish and other farm-raised food fish. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1995, 207(11): 1473–1478
- Lahnsteiner F, Weismann T. Treatment of ichthyophthiriasis in rainbow trout and common carp with common and alternative therapeutics. *Journal of Aquatic Animal Health*, 2007, 19(3): 186–194
- Ling F, Wang JG, Liu QF, *et al.* Prevention of *Ichthyophthirius multifiliis* infestation in goldfish (*Carassius auratus*) by potassium ferrate (VI) treatment. *Veterinary Parasitology*, 2010, 168(3–4): 212–216
- Lom J, Dyková I. Protozoan parasites of fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 1994, 4(1): 133–134
- Meng FY, Zuo GY, Hao XY, *et al.* Antifungal activity of the benzo[*c*]phenanthridine alkaloids from *Chelidonium majus* Linn against resistant clinical yeast isolates. *Journal of Ethnopharmacology*, 2009, 125(3): 494–496
- Navarro V, Delgado G. Two antimicrobial alkaloids from *Bocconia arborea*. *Journal of Ethnopharmacology*, 1999, 66(2): 223–226
- Picón-Camacho SM, Taylor NGH, Bron JE, *et al.* Effects of long duration, low dose bronopol exposure on the control of *Ichthyophthirius multifiliis* (Ciliophora), parasitizing rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Veterinary Parasitology*, 2012, 186(3–4): 237–244
- Rowland SJ, Mifsud C, Nixon M, *et al.* Use of formalin and copper to control ichthyophthiriosis in the Australian freshwater fish silver perch (*Bidyanus bidyanus* Mitchell). *Aquaculture Research*, 2009, 40: 44–54
- Shen YF. Protozoology. Beijing: Science Press, 1999, 455–456 [沈毓芬. 原生动物学. 北京: 科学出版社, 1999, 455–456]
- Shinn AP, Picón-Camacho SM, Bron JE, *et al.* The anti-protozoal activity of bronopol on the key life-stages of *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet, 1876 (Ciliophora). *Veterinary Parasitology*, 2012, 186(3–4): 229–236
- Straus DL, Hossain MM, Clark TG, *et al.* Strain differences in *Ichthyophthirius multifiliis* to copper toxicity. *Disease of Aquatic Organism*, 2009a, 83: 31–36
- Straus DL, Meinelt T. Acute toxicity of peracetic acid (PAA) formulations to *Ichthyophthirius multifiliis* theronts. *Parasitology Research*, 2009b, 104(5): 1237–1241
- Wahli T, Schmitt M, Meier W. Evaluation of alternatives to malachite green oxalate as a therapeutant for ichthyophthiriosis in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Applied Ichthyology*, 1993, 9(3–4): 237–249
- Wang GX, Zhou Z, Jiang DX, *et al.* *In vivo* anthelmintic activity of five alkaloids from *Macleaya microcarpa* (Maxim) Fedde against *Dactylogyrus intermedius* in *Carassius auratus*. *Veterinary Parasitology*, 2010, 171(3–4): 305–313
- Wang WL, Song LJ, Wang GP, *et al.* Synthesis and evaluation of the antischistosomal activity against *S. japonicum* of 1-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline derivatives. *Chinese Journal of Organic Chemistry*, 2013, 33(12): 2588–2595 [王文龙, 宋丽君, 王古平, 等. 1-甲基-1,2,3,4-四氢异喹啉衍生物的合成及抗日本血吸虫活性评价. *有机化学*, 2013, 33(12): 2588–2595]
- Yao JY, Xu Y, Yin WL, *et al.* Evaluation of nystatin isolated from *Streptomyces griseus* SDX-4 against the ciliate, *Ichthyophthirius multifiliis*. *Parasitology Research*, 2015,

114(4): 1425–1431

Yao JY, Zhou ZM, Li XL, *et al.* Antiparasitic efficacy of dihydrosanguinarine and dihydrochelerythrine from *Macleaya microcarpa* against *Ichthyophthirius multifiliis* in richadsin (*Squaliobarbus curriculus*). *Veterinary Parasitology*, 2011,

183(1–2): 8–13

Yao, JY, Shen JY, Li XL, *et al.* Effect of sanguinarine from the leaves of *Macleaya cordata* against *Ichthyophthirius multifiliis* in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Parasitology Research*, 2010, 107: 1035–1042

(编辑 马瑾艳)

Synthesis of 1-Methyl-1,2,3,4-Tetrahydroisoquinoline Derivatives and Its Antiparasitic Activity Against *Ichthyophthirius multifiliis* *in vitro*

YAO Jiayun^①, XU Yang, YUAN Xuemei, LIN Lingyun, YIN Wenlin,
PAN Xiaoyi, HAO Guijie, SHEN Jinyu

(Key Laboratory of Healthy Freshwater Aquaculture, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Key Laboratory of Fish Health and Nutrition of Zhejiang Province, Zhejiang Institute of Freshwater Fisheries, Huzhou 313001)

Abstract To develop novel antiparasitic agents, five 1-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline derivatives were designed and synthesized. Cyclohexanecarboxylic acid chloride, benzoyl chloride, thiophene formyl chloride, acetylchloride, and chloroacetyl chloride were introduced into the 2-position of amido in the initial compound-1-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline. The chemical structures of all five synthesized compounds were identified by comparing spectral data (EI-MS, ¹H NMR, and ¹³C NMR) with literature values, and their antiparasitic activity against *Ichthyophthirius multifiliis* theronts and encysted tomonts *in vitro* were also evaluated. Additionally, the acute toxicity of the five synthesized compounds against *Erythroculter ilishaeformis* was evaluated. The results indicated that all five synthesized compounds showed promising antiparasitic activity against *I. multifiliis* theronts and encysted tomonts; however, compound 1 [cyclohexyl-(1-methyl-3,4-dihydroiso-quinoline)-ketone] with the cyclohexanecarboxylic acid chloride group showed better antiparasitic activity than the other four compounds. The *in vitro* tests revealed that compound 1 could be 100% effective against theronts at a concentration of 24.0 mg/L. The median lethal dose (LD₅₀) of compound 1 against theronts at 4 h was 16.4 mg/L. All encysted tomonts were killed when the concentration of compound 1 was 60.0 mg/L. The LD₅₀ of compound 1 for *E. ilishaeformis* was 234.3 mg/L with a safe concentration of 64.1 mg/L. This study firstly demonstrated that compound 1 has potent antiparasitic efficacy against *I. multifiliis*, and it could be a good candidate drug for chemotherapy and control of *I. multifiliis* infections.

Key words Tetrahydroisoquinoline derivatives; Theronts; Encysted tomonts; *Ichthyophthirius multifiliis*

① Corresponding author: YAO Jiayun, E-mail: yaojiayun@126.com