

◆ 创制与开发 ◆

含二苯醚结构单元的新型烟酰胺类衍生物的 合成及杀菌活性研究

李 华, 武 园, 高梦琪, 朱晓磊*, 杨光富*

(华中师范大学 农药与化学生物学教育部重点实验室, 武汉 430079)

摘要:琥珀酸脱氢酶(SDH)抑制剂类杀菌剂是近年来发展最快的一类杀菌剂。本文设计合成了一类含二苯醚结构单元的靶向SDH的新型烟酰胺类化合物,酶抑制活性测试结果表明,部分化合物对猪心来源SDH的 IC_{50} 值均达到了微摩尔水平,其中化合物TM-12、TM-15和TM-18的 IC_{50} 值分别为0.24、0.23、0.20 $\mu\text{mol/L}$,比对照药剂啮酰菌胺提高了近10倍($IC_{50} = 2.57 \mu\text{mol/L}$)。进一步温室盆栽试验表明,化合物TM-5、TM-13、TM-14、TM-15、TM-16和TM-19表现出广谱的杀菌活性,在6.25 mg/L浓度下对黄瓜白粉病、玉米锈病和大豆锈病具有优异防效,优于对照药剂啮酰菌胺。其中化合物TM-16对黄瓜白粉病的 EC_{90} 值为28.74 mg/L,明显优于苯醚甲环唑,具有进一步研究价值。

关键词:二苯醚;烟酰胺;合成;构效关系;杀菌活性

中图分类号:TQ 450.1⁺1 文献标志码:A doi:10.3969/j.issn.1671-5284.2020.01.004

Synthesis and Fungicidal Activity of Novel Nicotinamide Compounds Containing Diphenyl Ether

LI Hua, WU Yuan, GAO Mengqi, ZHU Xiaolei*, YANG Guangfu*

(Key Laboratory of Pesticide & Chemical Biology, Ministry of Education, Central China Normal University, Wuhan 430079, China)

Abstract: Succinate dehydrogenase(SDH) inhibitor is one of the fastest growing fungicides in recent years. In this paper, a series of new nicotinamide compounds containing diphenyl ether and targeting SDH were designed and synthesized. The results of the enzyme inhibition activity test showed that the IC_{50} values of some compounds reached the level of micromolar against SDH from porcine heart, the IC_{50} values of compounds TM-12, TM-15, and TM-18 were 0.24, 0.23, 0.20 $\mu\text{mol/L}$ respectively, which were nearly 10 times higher than boscalid ($IC_{50} = 2.57 \mu\text{mol/L}$). Further fungicidal bioassay in greenhouse showed that the compounds TM-5, TM-13, TM-14, TM-15, TM-16, and TM-19 exhibited broad-spectrum and excellent fungicidal activity against cucumber powdery mildew, corn rust, and soybean rust at concentration of 6.25 mg/L, which were better than boscalid. Among them, the EC_{90} value of compound TM-16 was 28.74 mg/L against cucumber powdery mildew, which was significantly higher than difenoconazole and worth further study.

Key words: diphenyl ether, nicotinamide, synthesis, structure-activity relationship, fungicidal activity

琥珀酸脱氢酶(SDH)作为一类重要的杀菌剂靶标,在农药学研究领域扮演着十分重要的角色。琥

珀酸脱氢酶抑制剂(SDHI)类杀菌剂因其具有高效、广谱的杀菌活性和环境友好的特点,成为杀菌剂市

收稿日期:2020-01-02

基金项目:国家重点研发计划项目(2017YFD0200506);国家自然科学基金项目(21977035,21837001,21772057);新农创制与开发重点实验室沈阳中石化农药化工研发有限公司开放课题(2018NYRD01)

作者简介:李华(1992—),女,河南鹤壁人,博士,主要研究方向为新型杀菌剂的设计与合成。E-mail:2465770782@qq.com

通信作者:杨光富(1970—),男,湖北黄石人,教授,主要从事新农创制研究。E-mail:gfyang@mail.ccnu.edu.cn

共同通信作者:朱晓磊(1979—),女,安徽滁州人,副教授,主要从事基于靶标结构的绿色农药生物合理设计、农药分子与受体之间的相互作用研究。E-mail:xlzhu@mail.ccnu.edu.cn

场的“黑马”,受到世界各大农药公司的关注^[1]。啉酰菌胺(boscalid)为巴斯夫公司开发的烟酰胺类杀菌剂,是第一个广谱性的SDHI类杀菌剂,几乎对所有的真菌病害都有效果,主要用于防治白粉病、灰霉病、菌核病、各类腐烂病、褐腐病和根腐病等^[2]。啉酰菌胺是在灭锈胺和氟啉酰胺的基础上,利用生物电子等排原理,将酸部分的苯环替换为吡啶环,同时将胺部分的苯环替换为空间位阻更大的联苯结构而得到高活性、低毒性、高内吸性和高选择性的化合物。啉酰菌胺与多菌灵、腐霉利等无交互抗性,对作物安全,加上有利的生态效果和毒理学数据,使之迅速成为上亿美元的产品^[3]。其结构式见图1。

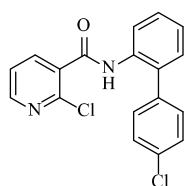


图1 啉酰菌胺的结构式

近年来,一些结构类似的品种不断涌现,如氟唑菌酰胺(fluxapyroxad)、联苯吡菌胺(bixafen)和pyraziflumid等(图2)。这些化合物的显著特点为:酸部分不再局限于吡啶环,出现了吡唑环和吡嗪环;酰胺键旁边碳上的取代基由氯原子变成了二氟甲基或三氟甲基,活性有了进一步提高^[4-6]。但这些化合物的胺部分仍为联苯结构,需要昂贵的钯催化剂和苯硼酸作为原料,成本较高^[7]。

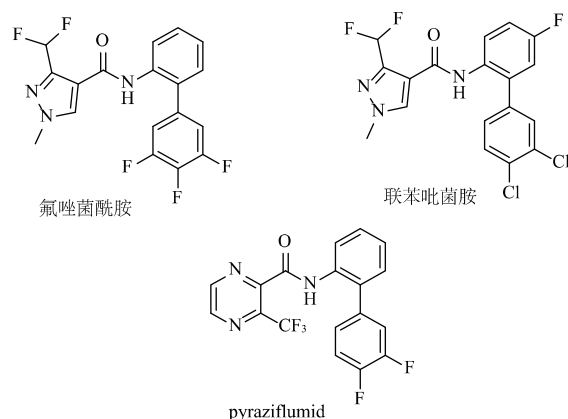


图2 近年来上市的联苯类SDHIs的结构式

在课题组前期的工作中,笔者发现柔性的二苯醚片段替换刚性的联苯片段,可以有效地降低合成成本,提高生物活性,并且成功开发了候选杀菌剂品种氯苯醚酰胺和氟苯醚酰胺^[8]。因此,本文在啉酰菌胺的基础上,将其胺部分的联苯替换为二苯醚,酰胺键旁边碳上的取代基由氯原子替换为三氟甲基,继而合成了一系列含二苯醚结构单元的新型烟酰胺类化合物。目标化合物的合成路线见图3。在本研究中,以廉价的取代苯酚和邻氟硝基苯为起始原料,通过芳环上的亲核取代反应和还原反应得到氨基二苯醚,其再与2-三氟甲基烟酸经EDCI/HOBt酰化得到22个未见报道的烟酰胺类化合物。随后,对所合成的目标化合物进行了结构鉴定、离体酶抑制活性测试、作用模式研究、构效关系和活体杀菌活性研究,旨在发现较高活性的新化合物。

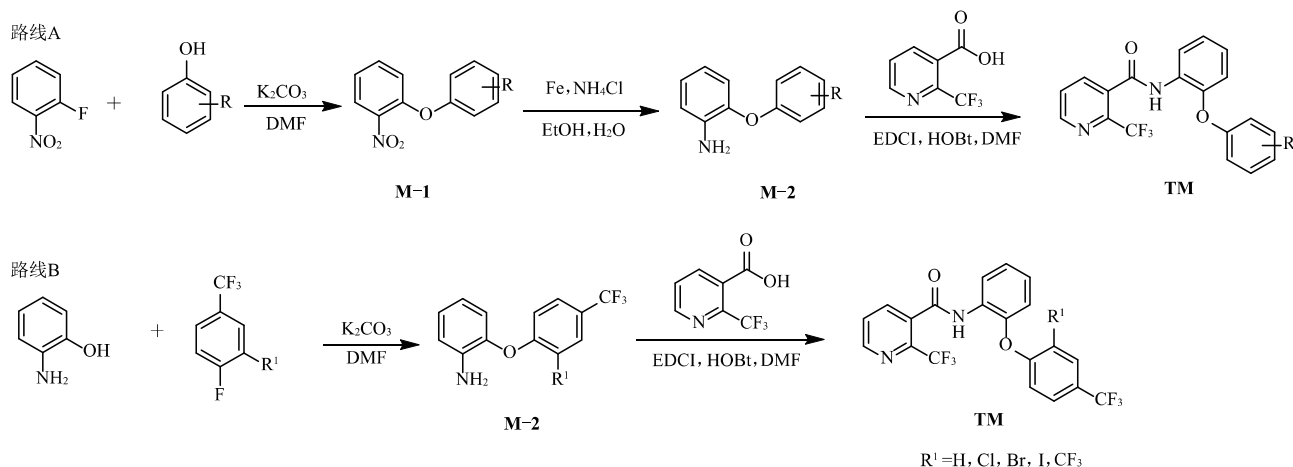


图3 目标化合物的合成路线

1 材料与方法

1.1 所用仪器及试剂

使用仪器及试剂:循环水式真空泵,型号为

SHZ-D(Ⅲ);远红外线干燥箱,型号为W70-1;电子天平,型号为德国Sartorius BSA223S-CW;旋转蒸发器,型号为Büchi R-200;隔膜泵,型号为Büchi Vacuum Pump=V-700;低温循环冷却泵,型号为

DLSB; 恒温磁力搅拌器, 型号为德国 Heidolph MR3001。使用60~90℃沸程的石油醚; 其他溶剂和试剂如无特殊说明, 均从各大试剂公司购买, 为分析纯或化学纯。

化合物结构鉴定与表征使用仪器: 核磁共振仪, 型号为 Varian VNMR 400 MHz (溶剂为 DMSO- d_6 , 内标为 TMS); 数字熔点仪 (温度计未经校正), 型号为 Büchi B-545; 高分辨质谱仪, 型号为 WATERS MALDI SYNAPT G2 HDMS (MA, USA)。

1.2 关键中间体的合成

1.2.1 中间体M-1的合成

在100 mL圆底烧瓶中加入5 mmol 2-氟硝基苯、6 mmol 取代苯酚和7.5 mmol 碳酸钾, 再加入20 mL DMF后升温至100℃。TLC监测原料反应完全后停止反应, 加入50 mL 乙酸乙酯后用30 mL 2 mol NaOH 洗2次, 再用50 mL 饱和食盐水洗1次, 减压除去溶剂后得中间体M-1。

1.2.2 中间体M-2的合成

在100 mL圆底烧瓶中加入3 mmol 中间体M-1和3.6 mmol 氯化铵, 再加入50 mL 乙醇和5 mL 水, 加热至回流后加入还原铁粉 (9 mmol), TLC监测原料反应完毕后停止反应, 硅藻土过滤, 滤液旋去大部分溶剂后加入50 mL 乙酸乙酯萃取, 有机相用50 mL 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 减压除去溶剂后柱层析得中间体M-2。

将3 mmol 取代的1-氟-4-三氟甲苯、3.6 mmol 2-氨基苯酚和4.5 mmol 碳酸钾加入到50 mL 圆底烧瓶中, 再加入20 mL DMF, 升温至70℃, TLC监测原料反应完毕后停止反应, 加入50 mL 乙酸乙酯, 分别用50 mL 饱和食盐水洗2次后加无水硫酸钠干燥, 减压除去溶剂后柱层析得中间体M-2。

1.3 目标化合物的合成及表征

在100 mL圆底烧瓶中加入2-(三氟甲基)烟酸 (2 mmol)、EDCI (0.460 g, 2.4 mmol)、HOBt (0.325 g, 2.4 mmol) 和10 mL DMF, 室温下反应1 h, 然后将中间体M-2 (2.4 mmol) 加入到上述溶液, 室温下反应24 h, 减压除去溶剂后柱层析得目标化合物TM (图4、表1)。

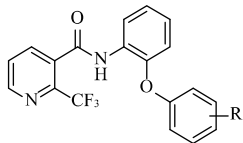


图4 目标化合物的结构式

表1 目标化合物的结构

化合物	R	化合物	R
TM-1	2-F	TM-12	2,4-(t-Bu) ₂
TM-2	2-Cl	TM-13	2-Cl-4-CF ₃
TM-3	2-Br	TM-14	2-Br-4-CF ₃
TM-4	2-Me	TM-15	2-I-4-CF ₃
TM-5	2-CF ₃	TM-16	2,4-(CF ₃) ₂
TM-6	3-OCF ₃	TM-17	2-Me-5-iPr
TM-7	3-Cl	TM-18	2-iPr-5-Me
TM-8	4-F	TM-19	2,5-(CF ₃) ₂
TM-9	4-Cl	TM-20	3,5-Me ₂
TM-10	4-CF ₃	TM-21	3,5-(CF ₃) ₂
TM-11	2,3-F ₂	TM-22	3,4,5-F ₃

化合物TM-1为白色粉末, 收率为85%, 熔点为112.6~113.3℃。

¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.49 (s, 1H)、8.82 (d, $J=4.5$ Hz, 1H)、8.00 (dd, $J=10.3, 5.9$ Hz, 2H)、7.79 (dd, $J=7.8, 4.7$ Hz, 1H)、7.47~7.32 (m, 1H)、7.27~7.15 (m, 4H)、7.13~7.02 (m, 1H)、6.86 (dd, $J=6.2, 3.3$ Hz, 1H)。HRMS (MALDI) Calcd for C₁₉H₁₂F₄N₂O₂ [M+H]⁺: 377.090 77, found 377.090 19。

化合物TM-2为白色粉末, 收率为75%, 熔点为109.0~110.1℃。

¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.49 (s, 1H)、8.82 (d, $J=4.5$ Hz, 1H)、8.00 (dd, $J=10.3, 6.0$ Hz, 2H)、7.79 (dd, $J=7.8, 4.8$ Hz, 1H)、7.46~7.33 (m, 1H)、7.27~7.14 (m, 4H)、7.13~7.02 (m, 1H)、6.91~6.80 (m, 1H)。HRMS (MALDI) Calcd for C₁₉H₁₂ClF₃N₂O₂ [M+Na]⁺: 415.043 16, found 415.045 00。

化合物TM-3为白色粉末, 收率为83%, 熔点为126.5~127.6℃。

¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.46 (s, 1H)、8.82 (d, $J=4.4$ Hz, 1H)、7.99 (dd, $J=8.4, 5.2$ Hz, 2H)、7.80 (dd, $J=7.8, 4.8$ Hz, 1H)、7.74 (dd, $J=8.0, 1.4$ Hz, 1H)、7.47~7.34 (m, 1H)、7.26~7.16 (m, 2H)、7.16~7.10 (m, 1H)、7.01 (dd, $J=8.2, 1.1$ Hz, 1H)、6.85~6.72 (m, 1H)。HRMS (MALDI) Calcd for C₁₉H₁₂BrF₃N₂O₂ [M+H]⁺: 437.010 70, found 437.011 48。

化合物TM-4为白色粉末, 收率为81%, 熔点为87.2~88.1℃。

¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.39 (s, 1H)、8.82 (d, $J=4.5$ Hz, 1H)、8.01~7.91 (m, 2H)、7.79 (dd, $J=7.8, 4.7$ Hz, 1H)、7.32 (d, $J=7.2$ Hz, 1H)、7.21 (t, $J=7.1$ Hz, 1H)、7.17~7.07 (m, 3H)、6.86 (d, $J=7.9$ Hz, 1H)、6.74~6.66 (m, 1H)、2.18 (s, 3H)。HRMS (MALDI) Calcd for C₂₀H₁₅F₃N₂O₂ [M+Na]⁺: 395.097 78, found 395.097 39。

化合物TM-5为白色粉末, 收率为89%, 熔点为127.0~128.1℃。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.43 (s, 1H) 、8.82 (d, $J=4.5$ Hz, 1H) 、7.97 (d, $J=7.7$ Hz, 1H) 、7.92–7.85 (m, 1H) 、7.82 (dd, $J=7.8$ 、4.7 Hz, 1H) 、7.77 (d, $J=7.8$ Hz, 1H) 、7.64 (t, $J=7.4$ Hz, 1H) 、7.32 (d, $J=7.6$ Hz, 1H) 、7.28–7.24 (m, 2H) 、6.99 (d, $J=8.3$ Hz, 1H) 、6.94 (dd, $J=6.1$ 、3.5 Hz, 1H) 。HRMS (MALDI) Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{12}\text{F}_6\text{N}_2\text{O}_2$ [M+H] $^+$: 427.087 57, found 427.088 01。

化合物**TM-6**为白色粉末,收率为95%,熔点为112.2~112.9℃。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.43 (s, 1H) 、8.81 (d, $J=3.2$ Hz, 1H) 、7.96 (d, $J=7.5$ Hz, 1H) 、7.84–7.70 (m, 2H) 、7.49 (t, $J=8.3$ Hz, 1H) 、7.36–7.25 (m, 2H) 、7.12 (dd, $J=7.5$ 、1.8 Hz, 2H) 、6.98–6.87 (m, 2H) 。HRMS (MALDI) Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{12}\text{F}_6\text{N}_2\text{O}_3$ [M+H] $^+$: 443.082 49, found 443.081 49。

化合物**TM-7**为白色粉末,收率为78%,熔点为87.5~88.2℃。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.41 (s, 1H) 、8.81 (d, $J=3.7$ Hz, 1H) 、7.95 (dd, $J=6.3$ 、3.2 Hz, 1H) 、7.78 (dt, $J=7.8$ 、5.7 Hz, 2H) 、7.40 (t, $J=8.2$ Hz, 1H) 、7.32–7.23 (m, 2H) 、7.19 (dd, $J=8.0$ 、1.2 Hz, 1H) 、7.12–7.06 (m, 1H) 、6.99 (t, $J=2.0$ Hz, 1H) 、6.92 (dd, $J=8.3$ 、2.1 Hz, 1H) 。HRMS (MALDI) Calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{ClF}_3\text{N}_2\text{O}_2$ [M+H] $^+$: 393.061 22, found 393.061 47。

化合物**TM-8**为白色粉末,收率为75%,熔点为122.8~123.9℃。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.42 (s, 1H) 、8.81 (d, $J=4.5$ Hz, 1H) 、8.02–7.94 (m, 1H) 、7.91 (d, $J=7.7$ Hz, 1H) 、7.78 (dd, $J=7.8$ 、4.7 Hz, 1H) 、7.28–7.22 (m, 4H) 、7.08–6.98 (m, 2H) 、6.97–6.89 (m, 1H) 。HRMS (MALDI) Calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{F}_4\text{N}_2\text{O}_2$ [M+Na] $^+$: 399.072 71, found 399.072 03。

化合物**TM-9**为白色粉末,收率为83%,熔点为119.5~120.6℃。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.41 (s, 1H) 、8.81 (d, $J=4.3$ Hz, 1H) 、8.05–7.90 (m, 1H) 、7.86 (d, $J=7.5$ Hz, 1H) 、7.77 (dd, $J=7.7$ 、4.7 Hz, 1H) 、7.43 (d, $J=8.8$ Hz, 2H) 、7.31–7.18 (m, 2H) 、7.07–6.89 (m, 3H) 。HRMS (MALDI) Calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{ClF}_3\text{N}_2\text{O}_2$ [M+H] $^+$: 393.061 22, found 393.060 87。

化合物**TM-10**为白色粉末,收率为82%,熔点为113.5~114.5℃。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.40 (s, 1H) 、8.82–8.78 (m, 1H) 、7.99–7.91 (m, 1H) 、7.78–7.69 (m, 4H) 、7.37–7.27 (m, 2H) 、7.21–7.14 (m, 1H) 、7.09 (d, $J=8.6$ Hz, 2H) 。HRMS (MALDI) Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{12}\text{F}_6\text{N}_2\text{O}_2$ [M+H] $^+$: 427.087 57, found 427.087 30。

化合物**TM-11**为白色粉末,收率为84%,熔点为109.0~109.9℃。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.50 (s, 1H) 、8.82 (d, $J=4.5$ Hz, 1H) 、8.00 (t, $J=7.5$ Hz, 2H) 、7.80 (dd, $J=7.8$ 、4.7 Hz, 1H) 、7.33–7.13 (m, 4H) 、7.03 (dd, $J=7.6$ 、1.7 Hz, 1H) 、6.83 (t, $J=7.6$ Hz, 1H) 。HRMS (MALDI) Calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{11}\text{F}_5\text{N}_2\text{O}_2$ [M+H] $^+$: 395.081 35, found 395.080 77。

化合物**TM-12**为白色粉末,收率为80%,熔点为112.9~113.5℃。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.41 (s, 1H) 、8.82 (d, $J=4.2$ Hz, 1H) 、8.00 (d, $J=7.6$ Hz, 1H) 、7.87 (dd, $J=7.6$ 、1.7 Hz, 1H) 、7.80 (dd, $J=7.8$ 、4.8 Hz, 1H) 、7.37 (d, $J=2.3$ Hz, 1H) 、7.24–7.10 (m, 3H) 、6.74 (dd, $J=7.8$ 、1.3 Hz, 1H) 、6.68 (d, $J=8.5$ Hz, 1H) 、1.37 (s, 9H) 、1.27 (s, 9H) 。HRMS (MALDI) Calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_2$ [M+H] $^+$: 471.225 39, found 471.224 49。

化合物**TM-13**为白色粉末,收率为85%,熔点为111.0~112.3℃。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.45 (s, 1H) 、8.82 (d, $J=4.5$ Hz, 1H) 、8.00 (d, $J=2.0$ Hz, 1H) 、7.98–7.91 (m, 2H) 、7.80 (dd, $J=7.8$ 、4.8 Hz, 1H) 、7.69 (dd, $J=8.7$ 、1.9 Hz, 1H) 、7.38–7.25 (m, 2H) 、7.10 (dd, $J=7.7$ 、1.7 Hz, 1H) 、7.03 (d, $J=8.6$ Hz, 1H) 。HRMS (MALDI) Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{11}\text{ClF}_6\text{N}_2\text{O}_2$ [M+H] $^+$: 461.048 60, found 461.048 77。

化合物**TM-14**为白色粉末,收率为82%,熔点为119.5~120.7℃。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.44 (s, 1H) 、8.82 (d, $J=4.6$ Hz, 1H) 、8.11 (d, $J=1.9$ Hz, 1H) 、7.98–7.89 (m, 2H) 、7.80 (dd, $J=7.8$ 、4.8 Hz, 1H) 、7.73 (dd, $J=8.7$ 、2.0 Hz, 1H) 、7.34–7.31 (m, 2H) 、7.08 (dd, $J=7.7$ 、1.8 Hz, 1H) 、7.00 (d, $J=8.6$ Hz, 1H) 。HRMS (MALDI) Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{11}\text{BrF}_6\text{N}_2\text{O}_2$ [M+H] $^+$: 504.998 09, found 504.997 21。

化合物**TM-15**为白色粉末,收率为81%,熔点为124.5~125.1℃。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.42 (s, 1H) 、8.82 (d, $J=4.6$ Hz, 1H) 、8.21 (d, $J=1.8$ Hz, 1H) 、7.97 (d, $J=7.8$ Hz, 1H) 、7.92 (dd, $J=7.6$ 、2.0 Hz, 1H) 、7.80 (dd, $J=7.8$ 、4.7 Hz, 1H) 、7.73 (dd, $J=8.7$ 、1.9 Hz, 1H) 、7.36–7.22 (m, 2H) 、7.02 (dd, $J=7.7$ 、1.8 Hz, 1H) 、6.92 (d, $J=8.6$ Hz, 1H) 。HRMS (MALDI) Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{11}\text{F}_6\text{N}_2\text{O}_2$ [M+H] $^+$: 552.984 22, found 552.984 07。

化合物**TM-16**为白色粉末,收率为85%,熔点为152.8~153.4℃。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.47 (s, 1H) 、8.85 (d, $J=4.4$ Hz, 1H) 、8.09 (s, 1H) 、8.02 (dd, $J=16.3$ 、8.3 Hz, 2H) 、7.89–7.83 (m, 2H) 、7.44–7.34 (m, 2H) 、7.21 (d, $J=7.4$ Hz, 1H) 、7.15 (d, $J=8.8$ Hz, 1H) 。HRMS (MALDI) Calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{11}\text{F}_9\text{N}_2\text{O}_2$ [M+H] $^+$: 495.074 96, found 495.074 18。

化合物**TM-17**为白色粉末,收率为89%,熔点为73.4~74.1℃。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.37 (s, 1H) 、8.81 (d, $J=4.5$ Hz, 1H) 、8.01–7.94 (m, 1H) 、7.89 (d, $J=7.7$ Hz, 1H) 、7.78 (dd, $J=7.8$ 、4.8 Hz, 1H) 、7.22 (d, $J=7.8$ Hz, 1H) 、7.18–7.09 (m, 2H) 、6.99 (d, $J=7.7$ Hz, 1H) 、6.74 (s, 1H) 、6.67 (dd, $J=7.3$ 、2.1 Hz, 1H) 、2.87–2.74 (m, 1H) 、2.12 (s, 3H) 、1.12 (d, $J=6.9$ Hz, 6H) 。HRMS (MALDI) Calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 415.162 79, found 415.163 37。

化合物**TM-18**为白色粉末,收率为73%,熔点为85.8~87.1℃。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.39 (s, 1H) 、8.82 (d, $J=4.5$ Hz, 1H) 、8.04–7.89 (m, 2H) 、7.80 (dd, $J=7.8$ 、4.7 Hz, 1H) 、7.27 (d, $J=7.9$ Hz, 1H) 、7.13 (pd, $J=7.4$ 、1.7 Hz, 2H) 、6.98 (d, $J=7.7$ Hz, 1H) 、6.73–6.63 (m, 2H) 、3.18 (dt, $J=13.8$ 、6.9 Hz, 1H) 、2.56–2.47 (m, 1H) 、1.14 (d, $J=6.9$ Hz, 6H) 。HRMS (MALDI) Calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 415.162 79, found 415.162 46。

化合物**TM-19**为白色粉末,收率为75%,熔点为99.1~100.3℃。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.46 (s, 1H) 、8.83 (d, $J=4.6$ Hz, 1H) 、8.09–7.95 (m, 2H) 、7.89–7.79 (m, 2H) 、7.67 (d, $J=8.2$ Hz, 1H) 、7.43–7.28 (m, 2H) 、7.18 (s, 1H) 、7.12 (dd, $J=7.6$ 、1.9 Hz, 1H) 。HRMS (MALDI) Calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{11}\text{F}_9\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 495.074 96, found 495.074 00。

化合物**TM-20**为白色粉末,收率为90%,熔点为162.3~163.2℃。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.35 (s, 1H) 、8.80 (d, $J=2.8$ Hz, 1H) 、8.02–7.88 (m, 1H) 、7.86–7.72 (m, 2H) 、7.27–7.13 (m, 2H) 、7.03–6.90 (m, 1H) 、6.78 (s, 1H) 、6.60 (s, 2H) 、2.23 (s, 6H) 。HRMS (MALDI) Calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 409.113 43, found 409.113 81。

化合物**TM-21**为白色粉末,收率为82%,熔点为142.9~143.4℃。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.44 (s, 1H) 、8.81 (d, $J=4.0$ Hz, 1H) 、7.99 (dd, $J=7.7$ 、1.8 Hz, 1H) 、7.92–7.87 (m, 1H) 、7.84 (s, 1H) 、7.78 (dd, $J=7.8$ 、4.7 Hz, 1H) 、7.50 (s, 2H) 、7.44–7.32 (m, 2H) 、7.27 (dd, $J=7.8$ 、1.7 Hz, 1H) 。HRMS (MALDI) Calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{11}\text{F}_9\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 495.074 96, found 495.075 33。

化合物**TM-22**为白色粉末,收率为79%,熔点为103.9~104.7℃。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.42 (s, 1H) 、8.83 (d, $J=4.4$ Hz, 1H) 、8.06–7.90 (m, 2H) 、7.81 (dd, $J=7.8$ 、4.7 Hz,

1H) 、7.39–7.24 (m, 2H) 、7.14 (dd, $J=7.5$ 、2.0 Hz, 1H) 、6.94 (dd, $J=9.1$ 、6.0 Hz, 2H) 。HRMS (MALDI) Calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{10}\text{F}_6\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 413.071 92, found 413.410 12。

1.4 离体酶抑制活性测定

按文献[9]中的方法对合成的22个目标化合物进行离体酶水平的活性测试。测试中使用的SDH来自猪心线粒体。反应底物为琥珀酸和2,6-二氯酚吲哚酚钠(2,6-dichlorophenolindophenol, DCIP)。琥珀酸被氧化成延胡索酸,被还原后的泛醌继续将电子传递给电子受体DCIP,最终DCIP被还原并产生光吸收变化。反应总体积为200 μL ,其中含pH=7.4的100 mmol/L磷酸缓冲液、20 mmol/L琥珀酸、53 $\mu\text{mol/L}$ DCIP、0.3 mmol/L 乙二胺四乙酸(EDTA)和20.6 nmol/L酶,在30℃恒温条件下反应,监测7 min内波长为600 nm处底物DCIP的还原产物的光吸收变化。根据DCIP的摩尔消光系数21 mmol/(L·cm),可以计算得到DCIP的还原产量,并用origin软件拟合得到反应初速度。加入不同抑制剂时反应速率不同,按照公式计算抑制率,并用Sigmaplot软件拟合求出 IC_{50} 值。

1.5 分子对接

小分子的三维结构通过SYBYL-X 2.0构建,使用最陡下降法和共轭梯度法各2 000步优化结构,收敛标准为0.001 kcal/(mol·Å)。受体选用猪心SDH,其晶体结构可从PDB库中获取(PDB ID: 1ZOY)。由于其活性腔只涉及B、C、D三条链,且距离A链较远,所以对接时将A链删除。对接时格点盒子大小设置为50×44×44,格点间距为0.375 Å。对接过程中使用拉马克遗传算法搜索构象,对接构象个数为256。其余参数均采用默认值。对接结束后,挑选合适的构象进行简单优化并计算结合能,挑选结合能最优的构象确定其结合模式^[10]。

1.6 温室盆栽试验

委托沈阳化工研究院对22个目标化合物进行活体水平的杀菌活性测试,具体方法参见文献[11]杀菌剂卷中SOP-SC-1101黄瓜白粉病盆栽法、SOP-SC-1119玉米锈病盆栽法和SOP-SC-1120大豆锈病盆栽法。

2 结果与分析

2.1 离体酶抑制活性

目标化合物对猪心来源SDH的抑制活性测试结果见表2。由表2可见,10个化合物的 IC_{50} 值达到了微摩尔水平,优于对照药剂啉酰菌胺,其中化合物**TM-12**、**TM-15**、**TM-18**的 IC_{50} 值分别为0.24、0.23、

0.20 $\mu\text{mol/L}$, 较啶酰菌胺 ($\text{IC}_{50}=2.57 \mu\text{mol/L}$) 提高了近10倍。总结构效关系发现: ① 对于单取代化合物, 2号位取代最优, 对于2号位取代的化合物活性, $2\text{-CF}_3 > 2\text{-Br} > 2\text{-Cl} > 2\text{-F}$, 说明2号位的位阻越大, 越有利于活性的提高; ② 对于双取代化合物, 2,3-二取代、2,4-二取代和2,5-二取代活性普遍较高, 只有3,5-二取代的化合物的活性较差, 在10 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度下抑制率小于50%, 进一步说明了2号位对活性的保持至关重要。

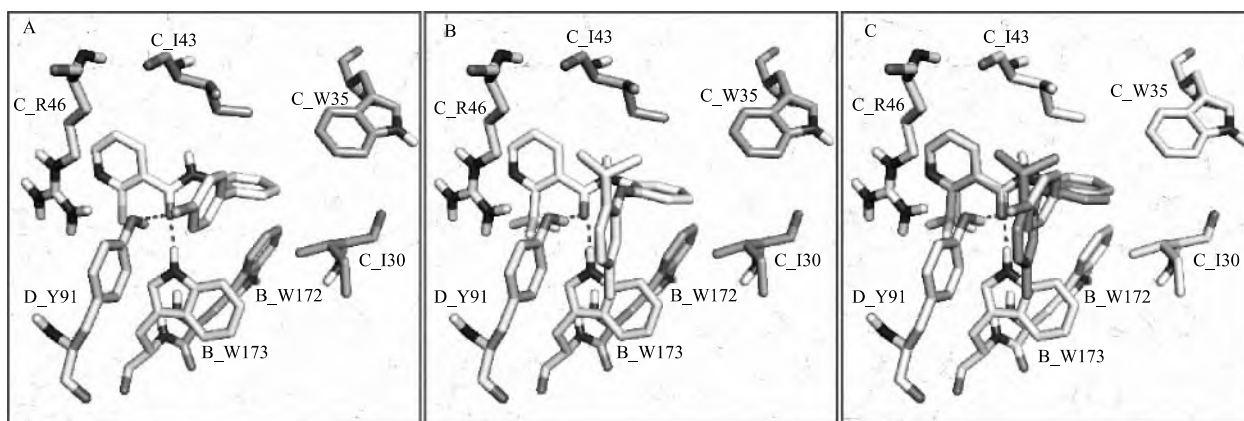
2.2 作用模式研究

为了研究目标化合物与靶标蛋白的作用模式, 将酶抑制活性较好的代表化合物 **TM-18** 和啶酰菌胺分别与猪心来源SDH进行了分子对接, 结果发现啶酰菌胺的酰胺氧原子与 **B_W173** 残基和 **D_Y91** 残基形成两个氢键 (图5(A)); 吡啶环与 **C_R46** 残基形成 π -cation 相互作用; 联苯的中间苯环处于 **C_I30**、**C_W35**、**C_I43** 和 **B_W172** 残基形成的疏水口袋中。代表化合物 **TM-18** 的结合模式 (图5(B)) 与啶酰菌胺类似, 其酰胺氧原子与 **B_W173** 残基和 **D_Y91** 残基形成两个氢键; 吡啶环与 **C_R46** 残基形成 π -cation

相互作用; 二苯醚的中间苯环部分同样处于SDH的疏水口袋中。此外, 化合物 **TM-18** 二苯醚的末端苯环与 **D_Y91** 残基形成 π - π 相互作用, 与 **C_I43** 残基和 **B_W173** 残基形成疏水相互作用, 以上作用使得化合物 **TM-18** 与SDH结合时有较强的范德华力, 如表3所示, 其 ΔE_{vdw} 为 -48.41 kcal/mol, 绝对值大于啶酰菌胺与SDH的 ΔE_{vdw} (-40.76 kcal/mol) 绝对值。

表2 目标化合物对猪心来源SDH的抑制活性

化合物	I%/(10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 或 $\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	化合物	I%/(10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 或 $\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$
TM-1	26.55%	TM-13	0.39 ± 0.03
TM-2	27.91%	TM-14	0.41 ± 0.04
TM-3	1.55 ± 0.15	TM-15	0.23 ± 0.02
TM-4	37.45%	TM-16	0.38 ± 0.03
TM-5	0.64 ± 0.07	TM-17	3.72 ± 0.24
TM-6	1.98 ± 0.12	TM-18	0.20 ± 0.01
TM-7	49.61%	TM-19	0.40 ± 0.01
TM-8	22.01%	TM-20	49.49%
TM-9	40.67%	TM-21	49.57%
TM-10	33.16%	TM-22	47.86%
TM-11	3.86 ± 0.35	啶酰菌胺	2.57 ± 0.19
TM-12	0.24 ± 0.02		



(A) 啶酰菌胺与猪心来源SDH的结合模式

(B) **TM-18**与猪心来源SDH的结合模式

(C) **TM-18**和啶酰菌胺的叠合图

图5 啶酰菌胺和化合物 **TM-18** 与猪心来源SDH的结合模式及 **TM-18** 和啶酰菌胺的叠合图

表3 代表化合物 **TM-18** 和啶酰菌胺与

猪心来源SDH的计算结合自由能 kcal/mol

化合物	ΔE_{vdw}	ΔE_{ele}	ΔG_{pol}	ΔG_{np}	ΔG_{cal}
TM-18	-48.41	-19.35	38.62	-4.12	-33.25
啶酰菌胺	-40.76	-16.25	32.97	-3.55	-27.58

2.3 温室盆栽杀菌活性

目标化合物对黄瓜白粉病、玉米锈病和大豆锈病的杀菌活性测试结果见表4。由表4可见, 目标化合物 **TM-5**、**TM-13**、**TM-14**、**TM-15**、**TM-16** 和 **TM-19** 表现出广谱的杀菌活性, 在6.25 mg/L 下对黄瓜白粉病、玉米锈病和大豆锈病防效优异, 优于对照药剂

啶酰菌胺。进一步 EC_{90} 值测试结果见表5。化合物 **TM-16** 对黄瓜白粉病的治疗效果 EC_{90} 值为28.74 mg/L, 较苯醚甲环唑 (108.15 mg/L) 提高了近3倍。

3 结论

本文以啶酰菌胺为先导化合物, 设计合成了一类含二苯醚结构单元的靶向SDH的新型烟酰胺类化合物。酶抑制活性测试结果显示, 10个化合物对猪心来源SDH的 IC_{50} 值均达到了微摩尔水平, 其中化合物 **TM-12**、**TM-15**、**TM-18** 的 IC_{50} 值分别为0.24、0.23、0.20 $\mu\text{mol/L}$, 较啶酰菌胺提高了近10倍。通过

分子对接发现,新化合物在保留脲酰菌胺酸部分和酰胺键与SDH之间关键作用的同时,二苯醚的末端苯环还与氨基酸残基形成了 π - π 相互作用和疏水相互作用,这可能是新化合物活性较好的原因。

表 4 目标化合物的温室盆栽杀菌活性筛选结果

化合物	防治效果/%								
	黄瓜白粉病			玉米锈病			大豆锈病		
	100 mg/L	25 mg/L	6.25 mg/L	100 mg/L	25 mg/L	6.25 mg/L	100 mg/L	25 mg/L	6.25 mg/L
TM-1	65	30	20	98	65	20	60	35	20
TM-2	40	25	10	98	80	40	60	30	15
TM-3	85	15	15	98	95	90	100	99	88
TM-4	15	15	10	98	95	70	100	40	30
TM-5	80	80	60	100	98	95	100	100	100
TM-6	40	30	15	98	98	80	90	85	80
TM-7	35	10	10	100	90	88	90	80	35
TM-8	70	20	0	98	75	20	60	50	30
TM-9	85	35	15	98	92	85	50	40	15
TM-10	65	50	35	98	98	90	78	72	65
TM-11	20	10	10	100	98	80	70	50	40
TM-12	65	50	10	98	98	80	100	96	90
TM-13	65	50	45	100	100	98	95	95	92
TM-14	95	65	55	100	100	100	98	98	95
TM-15	95	65	50	100	100	100	99	99	98
TM-16	100	100	70	100	100	100	100	100	100
TM-17	35	20	10	98	95	75	95	90	80
TM-18	15	15	10	98	98	90	98	80	50
TM-19	75	50	35	100	100	95	98	98	95
TM-20	40	15	10	100	98	90	40	30	30
TM-21	10	0	0	90	90	85	45	40	25
TM-22	20	15	10	98	98	75	30	0	0
脲酰菌胺	30	10	10	95	90	90	98	95	90

表 5 目标化合物 TM-16 的深入杀菌活性筛选

化合物	黄瓜白粉病的防治效果/%					EC ₅₀ 值	回归方程	r
	6.25 mg/L	3.125 mg/L	1.562 5 mg/L	0.781 25 mg/L	0.390 625 mg/L			
TM-16	55	50	40	25	0	28.74	y=4.239 2+1.400 4 x	0.932 7
苯醚甲环唑	45	38	35	30	25	108.15	y=4.512 2+0.437 4 x	0.994 7

构效关系研究表明,二苯醚末端苯环2号位的取代基对活性的保持至关重要,且2号位上位阻较大的取代有利于活性的提高。进一步温室盆栽试验结果表明,化合物**TM-5**、**TM-13**、**TM-14**、**TM-15**、**TM-16**和**TM-19**表现出广谱的杀菌活性,在6.25 mg/L质量浓度下对黄瓜白粉病、玉米锈病和大豆锈病具有优异的防效,优于对照药剂脲酰菌胺。其中化合物**TM-16**对黄瓜白粉病的治疗效果EC₅₀值为28.74 mg/L,明显高于苯醚甲环唑,具有进一步研究价值。本研究为新型烟酰胺类化合物的设计与构效关系研究提供了新思路。

参考文献

[1] 仇是胜, 柏亚罗. 琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂的研发进展 (I)

[J]. 现代农药, 2014, 13(6): 1-7.
[2] 仇是胜, 柏亚罗. 琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂的研发进展 (II)
[J]. 现代农药, 2015, 14(1): 1-7.
[3] 华乃震. SDHI类杀菌剂脲酰菌胺[J]. 世界农药, 2018, 40(5): 9-15.
[4] 叶萱. 新型杀菌剂氟唑菌酰胺和联苯吡菌胺的合成研究[J]. 现代农药, 2016, 15(1): 16-18.
[5] 叶萱. 优异杀菌剂氟唑菌酰胺[J]. 世界农药, 2018, 40(3): 62-64.
[6] ODA M, FURUYA T, MORISHITA Y, et al. Synthesis and biological activity of a novel fungicide, pyraziflumid[J]. J Pestic Sci, 2017, 42(4): 151-157.
[7] 于康平. 脲酰菌胺及其同系物的合成及杀菌活性研究[J]. 现代农药, 2015, 14(2): 4-7.

(下转第 23 页下)

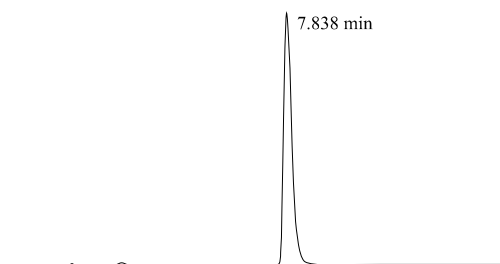


图3 乙噻酚磺酸酯的液相色谱图

3 结论

本文以乙胺和单氰胺为起始原料,经加成、中和、环合、酯化4步反应合成了乙噻酚磺酸酯,总收率可达55%,纯度可达97%。该方法原料廉价,反应条件温和,操作简单,适合工业化生产。

参考文献

- [1] 吴琴,宋宝安,金林红,等.噻啉类化合物的合成及抗菌活性研究进展[J].有机化学,2009(3):68-82.
- [2] 杨毓溥,张前军,许志玲,等.8-取代苯并呋喃[3,2-d]噻啉类化合物的合成及其体外抗白血病细胞活性研究[J].贵州大学学报(自

然科学版),2016,33(2):31-34.

- [3] 赵祥麟,赵燕芳,徐德胜,等.[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]噻啉类化合物的合成及其抗肿瘤活性[J].中国药物化学杂志,2007(5):269-273.
- [4] TANAKA H, TAKASHIMA H, UBASAWA M, et al. Synthesis and antiviral activity of deoxy analogs of 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (HEPT) as potent and selective anti-HIV-1 agents[J]. Cheminform, 1994, 25(10): 2860-2865.
- [5] VANPARIA S F, PATEL T S, RITU B, et al. Synthesis and in vitro antimicrobial activity of some newer quinazolinone-sulfonamide linked hybrid heterocyclic entities derived from glycine[J]. Medicinal Chemistry Research, 2013, 22(11): 5184-5196.
- [6] 谭海军. 新型介离子噻啉酮类杀虫剂三氟苯噻啉及其开发[J]. 现代农药, 2019, 18(5): 42-46.
- [7] 刘昱霖,王胜得,毛春晖,等.杀菌剂乙噻酚的合成研究[J].精细化工中间体,2012,42(1):25-27.
- [8] 丁秀丽,李宗英,黄晓英.5-正丁基-2-乙基胺基-6-甲基噻啉-4-基-二甲胺基磺酸酯的合成方法:CN,101307024[P].2008-11-19.
- [9] 李景侠.乙噻酚磺酸酯合成工艺的优化[J].三门峡职业技术学院学报,2013,12(3):115-116.

(责任编辑:范小燕)

(上接第5页)

- [8] ZHAO P, CAO L, MA D, et al., Translocation, distribution and degradation of prochloraz-loaded mesoporous silica nanoparticles in cucumber plant[J]. Nanoscale, 2018, 10(4): 1798-1806.
- [9] 张波,罗锡文,兰玉彬,等.基于无线传感器网络的无人机农田信息监测系统[J].农业工程学报,2015,31(17):176-182.
- [10] LIU X G, DONG F S, LI S, et al. Determination of mepiquat chloride residues in cotton and soil by liquid chromatography/mass spectrometry[J]. Journal of AOAC International, 2008, 91(5): 1110-1115.
- [11] QIN Y H, ZHANG J R, ZHANG Y, et al. Automated multi-plug fil-

tration cleanup for liquid chromatographic-tandem mass spectrometric pesticide multi-residue analysis in representative crop commodities[J]. Journal of Chromatography A, 2016, 1462: 19-26.

- [12] TAO Y, DONG F S, XU J, et al. Green and sensitive supercritical fluid chromatographic-tandem mass spectrometric method for the separation and determination of flutriafol enantiomers in vegetables, fruits, and soil[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2014, 62(47): 11457-11464.
- [13] 刘刚.《化学农药环境安全评价试验准则》系列国家标准发布[J].农药科学与管理,2014,35(11):15.

(责任编辑:徐娟)

(上接第20页)

- [8] XIONG L, LI H, JIANG L N, et al. Structure-based discovery of potential fungicides as succinate ubiquinone oxidoreductase inhibitors[J]. J Agric Food Chem, 2017, 65(5): 1021-1029.
- [9] 李慧.呼吸链复合体II和复合体III抑制剂的筛选及动力学研究[D].武汉:华中师范大学,2012.

- [10] ZHU X L, XIONG L, LI H, et al. Computational and experimental insight into the molecular mechanism of carboxamide inhibitors of succinate-ubiquinone oxidoreductase[J]. Chem Med Chem, 2014, 9(7): 1512-1521.

- [11] 康卓,顾宝根.农药生物活性测试标准操作规范[M].北京:化学工业出版社,2016.

(责任编辑:石凌波)

欢迎订阅《现代农药》(双月刊) 定价:120元/年

欢迎订阅 欢迎投稿 欢迎广告惠顾

编辑部电话:025-86581148 传真:025-86581147 联系人:靳红华