

◆ 创制与开发 ◆

# Aminopyrifin的合成及其杀菌活性

吴旭杰<sup>1</sup>, 冀经伦<sup>1</sup>, 高一星<sup>1,2</sup>, 张静<sup>1,2\*</sup>, 张立新<sup>1,2\*</sup>

(1. 沈阳化工大学 功能分子研究所 辽宁省绿色功能分子设计与开发重点实验室 沈阳市靶向农药重点实验室 沈阳 110142 2. 广西思锐生物科技有限责任公司 南宁 530000)

**摘要:**以对硝基苯甲醛作为起始合成原料, 经过偶联反应、还原反应、氯化反应制得中间体1-(氯甲基)-4-苯氧基苯, 随后中间体与2-氨基-6-甲基烟酸进行取代反应后得到目标产物Aminopyrifin, 其结构经过<sup>1</sup>H NMR和ESI-MS确证, 反应总收率是85.73%(以对硝基苯甲醛计), 目标产物纯度为98%。由实验结果可见, Aminopyrifin在质量浓度为1.25 mg/L和6.25 mg/L的条件下, 其对大豆灰霉病(*Botrytis cinerea*)的杀菌活性分别为77%和85%, 杀菌效果显然优于对照药剂啶菌噁唑。因此, 可对Aminopyrifin及其衍生物进行深度开发研究。

**关键词:** Aminopyrifin; 4-苯氧基苄醇; 大豆灰霉病; 杀菌活性

中图分类号: TQ 455 文献标志码: A doi: 10.3969/j.issn.1671-5284.2021.03.003

## Synthesis and Fungicidal Activity of Aminopyrifin

WU Xujie<sup>1</sup>, JI Jinglun<sup>1</sup>, GAO Yixing<sup>1,2</sup>, ZHANG Jing<sup>1,2\*</sup>, ZHANG Lixin<sup>1,2\*</sup>

(1. Institute of Functional Molecules, Shenyang University of Chemical Technology, Liaoning Key Laboratory of Green Functional Molecule Design and Development, Shenyang Key Laboratory of Targeted Pesticides, Shenyang 110142, China; 2. Guangxi Siyue Biotechnology Co., Ltd., Nanning 530000, China)

**Abstract:** In this paper, p-nitrobenzaldehyde is used as the starting material for synthesis and the intermediate 1-(chloromethyl)-4-phenoxybenzene is prepared through coupling reaction, reduction reaction, and chlorination reaction, followed by substitution reaction of intermediate and 2-amino-6-methylnicotinic acid, and the target product Aminopyrifin was obtained. Its structure was confirmed by <sup>1</sup>H NMR and ESI-MS. The total yield of the reaction is 85.73% (based on p-nitrobenzaldehyde), and the purity of the target product is 98%. It can be seen from the experimental results. That Aminopyrifin has a bactericidal activity of 77% and 85% against *Botrytis cinerea* of soybean at a mass concentration of 1.25 mg/L and 6.25 mg/L, which is clearly superior to the control agent cyproconazole. Therefore, in-depth development and research can be conducted on Aminopyrifin and its derivatives.

**Key words:** Aminopyrifin; 4-phenoxybenzyl alcohol; *Botrytis cinerea*; bactericidal activity

Aminopyrifin是由日本Agro-Kanesho公司开发的广谱吡啶类杀菌剂, 化学名称为(4-苯氧基苯基)甲基-2-氨基-6-甲基-3-吡啶甲酸酯。化学结构式见图1。

Aminopyrifin主要用于防治果蔬等作物上的灰霉病<sup>[1-6]</sup>和白粉病<sup>[7-10]</sup>。该化合物具有独特的化学性质

和新颖的作用方式, 通过对丝状真菌的突变研究, 发现Aminopyrifin可以作为靶向GWT-1的抑制剂<sup>[11]</sup>, 进而通过独特的形态变化和强抑制作用达到杀菌效果。据相关文献报道, Aminopyrifin作为一种广谱型杀菌剂, 与其他商业杀菌剂没有交互抗性, 除可用作医药外, 对多种作物病害均具有良好防效, 如

收稿日期: 2020-10-09

基金项目: 南宁市科学研究与技术开发计划项目(20201043)

作者简介: 吴旭杰(1992—)男, 甘肃天水人, 硕士研究生, 研究方向为新药创制与开发。E-mail: 1679824366@qq.com

通信作者: 张静(1985—)男, 陕西安康人, 博士研究生, 工程师, 研究方向为新药创制与开发。E-mail: 394059543@qq.com

共同通信作者: 张立新(1966—)男, 辽宁锦州人, 博士, 教授, 主要从事新药创制与开发。E-mail: zhanglixin@syu.edu.cn

菌核病、白粉霉、苹果赤霉病、炭疽病等都具有较高的杀灭活性，同时还是一种抗稻瘟病的植物诱导剂，具有很强抗稻瘟病能力<sup>[12-15]</sup>。

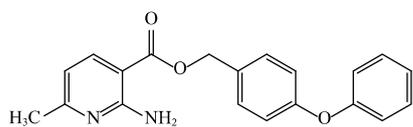


图 1 Aminopyrifin 的结构式

对于 Aminopyrifin 的合成，在 2017 年的专利 CN106458908A 中 Araki 等<sup>[16]</sup>以 2-氯-3-氰基-6-甲基吡啶作为起始原料，通过将 2-氯-3-氰基-6-甲基吡啶在酸性条件下或者碱性条件下进行水解得到 2-氯-6-

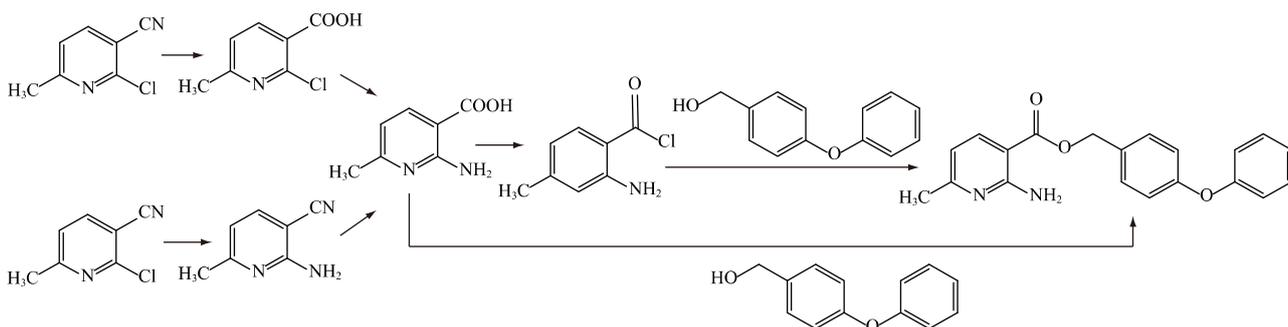


图 2 Aminopyrifin 的合成路线一

根据上述合成方法，在 2-氨基-6-甲基烟酸合成过程中，由于残留部分原料未完全反应，需进行精制操作，另外不能控制反应的副产物，导致反应收率较低，使 2-氯-6-甲基烟酸作为副产物在氨水溶液中反应时，约生成 20% 左右的 2-羟基-6-甲基烟酸，因此难以提高 2-氨基-6-甲基烟酸的收率。在上述合成目标化合物 Aminopyrifin 都需要用到 4-苯氧基苄醇，但由于 4-苯氧基苄醇价格昂贵，成本过

高，故上述合成方法均有一定的局限性。为解决以上问题，笔者通过查阅文献并且结合上述合成方法，对 Aminopyrifin 的合成路线进行优化，以价格相对廉价的 4-硝基苯甲醛作为起始原料，经过 4 步反应合成目标产物 Aminopyrifin。优化后的路线，其合成条件温和，且使得产品合成成本更低，达到易于制备的目的和节本增效的效果。改进后的合成路线见图 3。

Aizawa 等<sup>[17-18]</sup>用 2-氨基-6-甲基烟酸作为起始原料，首先使用卤化剂将 2-氨基-6-甲基烟酸进行酰氯化，然后使其在碱的存在下在有机溶剂中与 4-苯氧基苄醇混合，进行反应后得到目标产物 Aminopyrifin，或者在有机溶剂中使用缩合剂，直接用 2-氨基-6-甲基烟酸和 4-苯氧基苄醇进行反应得到目标产物 Aminopyrifin (图 2)。

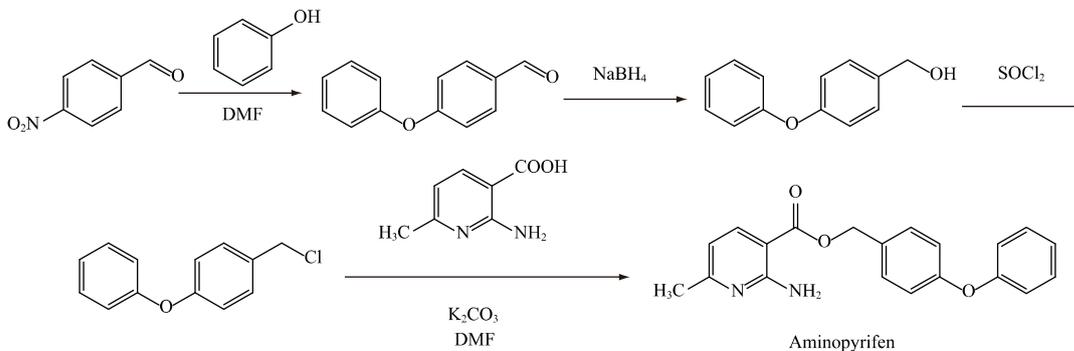


图 3 Aminopyrifin 的合成路线二

## 1 试验部分

### 1.1 试剂和仪器

对硝基苯甲醛(分析纯) 上海阿拉丁生化科技

股份有限公司;苯酚(分析纯) 南京化学试剂股份有限公司;碳酸铯(分析纯) 上海迈瑞尔技术有限公司;2-氨基-6-甲基烟酸(分析纯) 嘉兴市艾森化工有限公司;柱层析硅胶(37~48 μm) 青岛海洋

化工有限公司;层析硅胶薄板(GF 254),山东西亚化工科技有限公司;其余药剂均为国药分析纯。

旋转蒸发器,巩义市予华仪器有限责任公司;AVANCE 600 MHz核磁共振波谱仪,瑞士布鲁克公司;Thermo TSQ质谱仪,赛默飞世尔科技公司;CHEETAH中压快速纯化制备色谱,天津市博纳艾杰尔科技有限公司;MP450全自动熔点仪,济南市海能仪器股份有限公司。

## 1.2 试验步骤

### 1.2.1 4-苯氧基苄醇( )的合成

称取3.00 g(19.73 mmol)对硝基苯甲醛( )、2.66 g(28.26 mmol)苯酚、0.26 g(1.39 mmol)醋酸铜、18.42 g(56.53 mmol)碳酸铯于反应瓶中,用适量*N,N*-二甲基甲酰胺溶解后,在100℃下回流反应5 h,用TLC检测完全反应,待反应液冷却至室温,抽滤后,用乙酸乙酯萃取,无水硫酸镁干燥,过滤,滤液减压浓缩,经过柱层析纯化后得3.70 g的4-苯氧基苯甲醛( ),产率为94%。

将上述制得的3.70 g(18.67 mmol)4-苯氧基苯甲醛( )、0.35 g(9.25 mmol)硼氢化钠和适量的乙醇加入到反应瓶中,室温下搅拌反应1 h,经TLC检测完全反应后,用乙酸乙酯萃取,无水硫酸镁干燥,过滤,减压浓缩,得到产物4-苯氧基苄醇3.81 g,产率为95%。ESI-MS  $m/z$  244.03[M-H]<sup>-</sup>。<sup>1</sup>H NMR(600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.35-7.30(m, 4H)、7.10(tt,  $J=7.4$ , 1.2 Hz, 1H)、7.04-6.95(m, 4H)、4.65(s, 2H)。

### 1.2.2 Aminopyrifen(4-苯氧基苄基-2-氨基-6-甲基烟酸酯)的合成

向单口瓶中加入4.00 g(20.00 mmol)4-苯氧基苄醇( ),然后加入10 mL *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)溶解后,将溶液冷却至5℃。向上述溶液中缓慢滴加1.45 mL氯化亚砷溶液后,搅拌反应30 min,全程控温在5℃,制成反应溶液A。

将3.04 g(19.99 mmol)2-氨基-6-甲基烟酸悬浮于60 mL的*N,N*-二甲基甲酰胺中,加入5.53 g(40.10

mmol)碳酸钾,在40℃下搅拌回流反应30 min,得到反应溶液B。

将经上述步骤得到的反应溶液A缓慢滴加到B悬浮液中,于80℃下回流反应2 h,在TLC检测显示反应完全下,待反应溶液冷却至室温,减压蒸馏下除去*N,N*-二甲基甲酰胺(40 mL, 57%)随后再向剩余残渣中加入100 mL冰水,室温搅拌10 min,待有固体析出,过滤,烘干,得到6.24 g的最终产物Aminopyrifen,收率为87.53%,产物纯度为98%。ESI-MS  $m/z$  333.20[M-H]<sup>-</sup>。<sup>1</sup>H NMR(600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.04(d,  $J=7.9$  Hz, 1H)、7.41-7.37(m, 2H)、7.37-7.32(m, 2H)、7.15-7.10(m, 1H)、7.02(ddd,  $J=10.7$ , 1.6 Hz, 4H)、6.48(d,  $J=7.9$  Hz, 1H)、6.10-6.41(s, 2H)、5.27(s, 2H)、2.40(s, 3H)。

## 2 杀菌活性测定

### 2.1 测定方法

#### 2.1.1 大豆灰霉病试验设计

选择生长一致的盆栽二出复叶平展期大豆幼苗(试验前未使用其他杀菌剂),按所设浓度采用作物喷雾机进行茎叶喷雾处理,每处理3次重复。处理后的上述试验材料自然阴干24 h后接种病原菌。采用接种器将灰葡萄孢孢子悬浮液( $5\sim 8\times 10^6$ 个/mL)喷雾于寄主作物上,然后移入人工气候室培养( $22\pm 2^\circ\text{C}$  相对湿度>90,无光照)4 d后调查药剂的防效。

#### 2.1.2 黄瓜白粉病试验设计

试验采用盆栽幼苗测定法。取温室内长势整齐一致的一叶一心期黄瓜幼苗备用(试验前未使用其他杀菌剂)。按药剂的浓度设计,采用立体作物喷雾机对各处理进行茎叶喷雾处理,每处理3次重复,自然阴干。24 h后,将接种黄瓜白粉病菌孢子悬浮液( $5\times 10^9$ 个/mL)置于温室培养,并于10 d后调查药剂的防效。

### 2.2 杀菌活性试验结果

依据本文所述杀菌活性试验方法,进行杀菌活性试验,试验结果见表1。

表1 Aminopyrifen的杀菌活性实验结果

药剂	靶标	防效/%				
		100 mg/L	50 mg/L	25 mg/L	6.25 mg/L	1.25 mg/L
Aminopyrifen	大豆灰霉病	100	100	100	85	77
啶菌噁唑		100	100	92	0	0
Aminopyrifen	黄瓜白粉病			100	100	80
乙嘧酚				90	85	0

本次试验测试了杀菌剂Aminopyrifen及对照药剂啶菌噁唑和乙嘧酚分别对大豆灰霉病和黄瓜白粉

病的杀菌活性。试验结果显示,在质量浓度分别为100、50和25 mg/L时, Aminopyrifen和啶菌噁唑对大

豆灰霉病的杀菌活性相当,但在质量浓度为6.25 mg/L和1.25 mg/L时,防效为85%和77%,明显优于对照药剂啉菌咪唑。相比之下,Aminopyrifin对黄瓜白粉病的杀菌活性在质量浓度为6.25 mg/L和1.25 mg/L时防效为100%和80%,均优于对照药剂乙嘧酚。

### 3 结果与分析

#### 3.1 摩尔比对4-苯氧基苯甲醛收率的影响

在其他条件一定的情况下,考察摩尔比对该偶联反应的影响,以得到最优的反应摩尔比,结果见表2。

表2 摩尔比对4-苯氧基苯甲醛收率的影响

对硝基苯甲醛、苯酚、醋酸铜、碳酸铯的摩尔比	反应时间/h	4-苯氧基苯甲醛收率/%
1:1:0.25:1	5	80.7
1:1:0.05:2	5	94.0
1:1:0.05:1	5	78.7
1:1:0.1:1.5	5	79.7
1:1:0.1:1	5	76.7

由表2可见,醋酸铜用量较多时,反应收率反而比较低;碳酸铯用量多时,反应收率基本不变。因此,对硝基苯甲醛、苯酚、醋酸铜、碳酸铯的最优摩尔比为1:1:0.05:2,反应收率为94.0%。

#### 3.2 4-苯氧基苯醇的合成影响因素

该还原反应的主要影响因素是4-苯氧基苯甲醛和硼氢化钠的摩尔比。在其他条件不变的情况下,筛选出最适合的反应摩尔比。结果见表3。

表3 摩尔比对4-苯氧基苯醇收率的影响

序号	4-苯氧基苯甲醛:硼氢化钠(摩尔比)	4-苯氧基苯醇的收率/%
1	1:1	90.5
2	1:0.5	95.0
3	1:2	80.9
4	1:3	79.0

从表3可见,反应并未随硼氢化钠的增加而反应更加完全。这是因为硼氢化钠作为醛还原剂,在此反应中由于放热量大,伴有强烈的气体产生,且在高温下会有大量的副产物产生。因此4-苯氧基苯甲醛和硼氢化钠的摩尔比为1:0.5时最合适。

#### 3.3 反应温度对目标产物Aminopyrifin收率的影响

从表4可见,在其他反应条件不变的情况下,反应温度为80℃,目标产物的收率和含量纯度最高。反应温度过高,其副产物增加;反应温度过低,反应

时间越长,从而使得目标产物Aminopyrifin的反应含量和收率降低。

### 4 结论

笔者将对硝基苯甲醛和苯酚为起始原料,经过4步反应制备得Aminopyrifin。本方法反应条件温和,产品合成成本低,绿色经济环保,反应总收率为85.73%,产物纯度为98%。其结构经<sup>1</sup>H NMR和ESI-MS确定,并且对Aminopyrifin进行杀菌活性测定。实验结果表明,在药剂质量浓度分别为100 mg/L、50 mg/L和25 mg/L时,Aminopyrifin和对照药剂啉菌咪唑的杀菌效果基本相当,但是在药剂质量浓度为6.25 mg/L和1.25 mg/L时,Aminopyrifin杀菌活性显著,对大豆灰霉的杀菌活性效果可达到85%和77%,杀菌活性明显高于对照药剂啉菌咪唑。伴随着在防治农业病害领域需求的不断增大和深入研究,研发作用机制新颖的杀菌剂是解决作物病害及抗药性的有效途径。这将会得到更多的农药研发学者的青睐。

#### 参考文献

- [1] 刘长令,翟煜鑫,张运晓,等. 开发防治灰霉病的杀菌剂[J]. 农药, 2000, 39(3): 1-6.
- [2] PRINS T W, TUDZYNSKI P, TIEDEMANN A, et al. Infection strategies of *botrytis cinerea* and related necrotrophic pathogens[J]. Fungal Pathology, 2000: 33-64.
- [3] 李科孝,谢宏伟,等. 温室韭菜灰霉病的发生规律与防治[J]. 植物保护, 2001, 27(2): 46.
- [4] 张建人. 中国南方草莓灰霉病的发生与综合防治[J]. 植物保护, 1991, 17(4): 32-33.
- [5] 周建波,殷辉,任璐,等. 山西省黄瓜灰霉病对三种常见防治剂的抗性检测[C]//郭泽建,李宝筠. 中国植物病理学会2012年年会论文集,北京:中国农业科学技术出版社,2012.
- [6] 王美琴,赵晓军,张鑫,等. 黄瓜灰霉病菌对多菌灵和乙草威的抗性检测[J]. 山西农业科学, 2011(8): 853-855.
- [7] 张素勤,顾兴芳,张圣平. 黄瓜对霜霉病和白粉病的抗性研究[J]. 江苏农业科学, 2008(3): 136-138.
- [8] 黄奔立,朱键鑫,张顺琦. 黄瓜抗白粉病机理的初步研究[C]//江苏省植物病理学会会员代表大会和学术研讨会, 2008.
- [9] 冯东昕,李宝栋. 甜瓜主要农作物白粉病育种研究进展[J]. 中国蔬菜, 1996(1): 55-59.
- [10] 徐宝星. 无公害温室黄瓜白粉病防治技术措施[J]. 河北农业, 2005(5): 18-19.
- [11] MASAHIRO H, YUTA K, MAKOTO F, et al. A novel fungicide

(下转第 25 页)

- [2] 章振羽,任丹华,刘小谭,等.添加飞防助剂对无人机防治马铃薯晚疫病的影响[J].四川农业科技,2020,392(5):31-32.
- [3] 袁会珠.农药使用技术指南.第2版[M].北京:化学工业出版社,2011.
- [4] 袁会珠,王国宾.雾滴大小和覆盖密度与农药防治效果的关系[J].植物保护,2015,41(6):9-16.
- [5] FRITZ B K, HOFFMANN W C, BAGLEY W E. Effects of spray mixtures on droplet size under aerial application conditions and implications on drift[J]. Applied Engineering in Agriculture, 2010, 26(1):21-29.
- [6] HUANG Y, HOFFMANN W C, LAN Y, et al. Development of a spray system for an unmanned aerial vehicle platform[J]. Applied Engineering in Agriculture, 2008, 25(6):803-809.
- [7] 王潇楠,何雄奎,ANDREAS H,等.喷杆式喷雾机雾滴飘移测试系统研制及性能试验[J].农业工程学报,2014,30(18):55-62.
- [8] 王立军,姜明海,孙文峰,等.飞机喷雾技术的探讨[J].农机化研究,2005(5):64-65.
- [9] 耿爱军,李法德,李陆星.国内外植保机械及植保技术研究现状[J].农机化研究,2007(4):189-191.
- [10] 袁会珠,杨代斌,李学辉,等.一种雾滴蒸发抑制剂:CN,103299993A,[P].2013-09-18.
- [11] 左雯,饶志坚,吴国星,等.表面活性剂对农药雾滴在甘蓝菜叶面上扩展面积和蒸发时间的影响研究[J].西南大学学报(自然科学版),2011,33(9):1-5.
- [12] 吕国强,芮洪梅,左雯,等.几种表面活性剂对农药雾滴在小白菜叶面上蒸发的影响规律研究[J].西南大学学报(自然科学版),2014,36(3):6-13.
- [13] 周召路,曹冲,曹立冬,等.不同类型界面液滴蒸发特性与农药利用效果研究进展[J].农药学报,2017,19(1):9-17.
- [14] 王军锋,罗博韬,霍元平,等.助剂影响大载荷植保无人飞机喷洒沉积特性的试验研究[J].排灌机械工程学报,2019,37(12):38-43.
- [15] MORADIANA, MOSTAGHIMI J. Surface tension measurement at high temperatures by using numerical and theoretical drop profiles [J]. Fluids Engineering Division of the American Society of Mechanical Engineers, 2005, 129: 991-1001.
- [16] 马力,仇性启,崔运静,郑志伟.两组分液滴蒸发特性研究[J].工业加热,2014,43(1):13-16.
- [17] 邵冰.多组分液滴对流蒸发过程的实验研究[D].重庆:重庆大学,2016.

(责任编辑:徐娟)

## (上接第16页)

- aminopyrifin inhibits GWT-1 protein in glycosylphatidylinositol-anchor biosynthesis in *Neurospora crassa* [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2019, 156: 1-8.
- [12] Technology Center. Composition containing fluoroquinazone and aminopyrifin: CN, 10764852A[P]. 2018-02-02.
- [13] 刘胜召,张承来,曹明章,等.含氟啶唑的农药:CN,101692824A[P].2009-07-21.
- [14] 胡伟群,陈杰.灰霉病的化学防治进展[J].现代农药,2002(4):8-11.
- [15] 奉代力,王强,郑纪慈,等.几种杀菌剂对灰葡萄孢的抗菌作用比较研究[J].浙江农业科学,2013,25(1):119-123.
- [16] ARAKI K, AIZAWA R. Method for manufacturing 2-amino-6-methylnicotinic acid: CN, 106458908A[P]. 2017-02-22.
- [17] AIZAWA R, OKADA I. Method of producing 2-aminonicotinic acid benzyl ester derivatives: US, 20160318868A1[P]. 2016-03.
- [18] AIZAWA R, OKADA I. Method for producing benzyl ester 2-aminonicotinate derivative: EP, 3088391A1[P]. 2016-02-11.
- [19] ARAKI K, AIZAWA R. Method for manufacturing 2-aminonicotinic acid benzyl ester derivative: TW, 1631104B[P]. 2018-08-01.

(责任编辑:高蕾)

## (上接第19页)

## 3 结论

利用高效液相色谱对96%苯酰菌胺原药和75%锰锌·苯酰菌胺水分散粒剂中的苯酰菌胺进行了定性定量分析。实验结果表明,该方法分离效果好、准确度和精密度高、线性关系良好,并且操作简便、快速,可以进行苯酰菌胺原药及制剂产品的有效成分分析。

## 参考文献

- [1] 张梅凤,范金勇,于乐祥.2011年—2015年专利到期的农药品种之苯酰菌胺[J].今日农药,2013,2:35-37.
- [2] 潘兴鲁.手性杀菌剂啶菌噁唑和苯酰菌胺对映体生物活性生态毒性及环境行为研究[D].北京:中国农业科学院,2018.
- [3] ANGIONI A, GARAU A, CABONI P, et al. Gas chromatographic ion trap mass spectrometry determination of zoxamide residues in grape, grape processing, and in the fermentation process[J]. Journal of Chromatography A, 2005, 1097(1/2): 165-170.
- [4] 张春荣,平立凤,赵华,等.苯酰菌胺在黄瓜及土壤中的残留动态[J].浙江农业学报,2011,23(6):1177-1181.
- [5] 李皓. QuEChERS-气相色谱/质谱法检测香椿等芽菜类蔬菜中5种酰胺类杀菌剂残留量[J].食品安全质量检测学报,2019,10(17):5878-5883.
- [6] 迟梦宇,陈子雷,郭长英,等.超高效液相色谱-串联质谱法同时测定梨中22种农药残留[J].食品安全质量检测学报,2019,10(7):1976-1981.

(责任编辑:徐娟)