

新型 *N*-芳基-2-((5-((4,6-二甲基嘧啶-2-基)硫甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)硫) 乙酰胺类化合物的合成及杀菌活性

汪聿清¹, 李倩梅¹, 温亚龙¹, 谭成侠¹, 邢家华², 翁建全^{*1}

(1. 浙江工业大学 化学工程学院, 杭州 310032; 2. 浙江省化工研究院 国家南方农药创制中心浙江基地, 杭州 310023)

摘要: 为寻找新型杂环活性化合物, 通过活性亚结构拼接, 以硫脲和乙酰丙酮为起始原料合成 4,6-二甲基嘧啶-2-硫醇, 随后经酯化、肼化、环化和缩合反应, 设计并采用微波辅助合成了 10 个新型 *N*-芳基-2-((5-((4,6-二甲基嘧啶-2-基)硫甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)硫) 乙酰胺类化合物, 其结构通过核磁共振氢谱和碳谱、红外光谱、质谱及元素分析确认。初步生物活性测试结果表明, 在 50 mg/L 下, 大部分目标化合物对植物病原真菌具有一定的抑制活性, 其中化合物 **8h** 对黄瓜炭疽病菌 *Colletotrichum orbiculare* 的抑制率达 77.3%。

关键词: *N*-芳基-2-((5-((4,6-二甲基嘧啶-2-基)硫甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)硫)乙酰胺; 微波辅助合成; 杀菌活性

中图分类号: O626; S482.2

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2017)02-0162-07

Synthesis and fungicidal activity of novel *N*-aryl-2-((5-((4,6-dimethylpyrimidin-2-yl)thiomethyl)-1,3,4-thiadiazole-2-yl)thio)-acetamide compounds

WANG Yuqing¹, LI Qianmei¹, WEN Yalong¹, TAN Chengxia¹, XING Jiahua², WENG Jianquan^{*1}

(1. College of Chemical Engineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310032, China; 2. Zhejiang Branch of National Southern Pesticide Research Centre, Zhejiang Research Institute of Chemical Industry, Hangzhou 310023, China)

Abstract: In order to discover novel heterocyclic compounds with biological activities, ten novel *N*-aryl-2-((5-((4,6-dimethylpyrimidin-2-yl)thiomethyl)-1,3,4-thiadiazole-2-yl)thio)acetamide compounds were synthesized under microwave assisted condition *via* cyclization, esterification, hydrazination, cyclization and the condensation reactions. The structures of the title compounds were characterized by ¹H NMR, ¹³C NMR, IR, ESI-MS and elemental analysis. The preliminary bioassay results indicated that most of them showed inhibition activity against *Colletotrichum orbiculare*, *Botrytis cinerea* and *Rhizoctonia solani* at the concentration of 50 mg/L. The inhibition rate of compound **8h** against *C. orbiculare* reached 77.3%.

收稿日期: 2016-11-13; 录用日期: 2017-01-19.

基金项目: 国家自然科学基金(30900959); 浙江省自然科学基金(LY17C140003)资助项目.

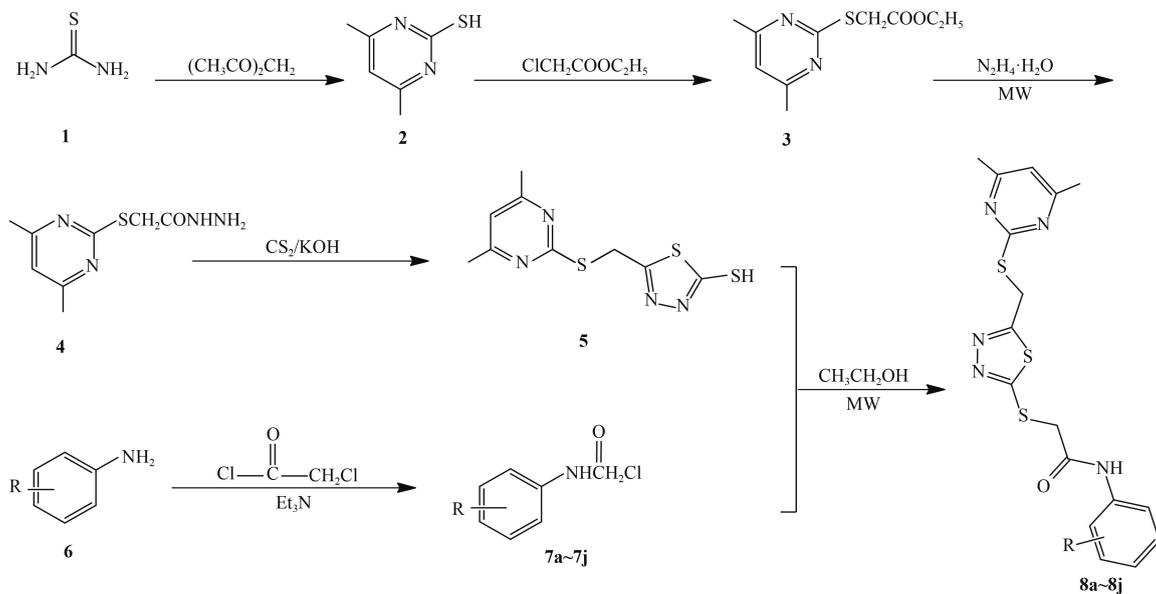
作者简介: 汪聿清, 女, 硕士研究生, E-mail: 756539680@qq.com; *翁建全, 通信作者 (Author for correspondence), 男, 博士, 教授, 主要从事新农药研究与开发工作, E-mail: jqweng@zjut.edu.cn

Keywords: *N*-aryl-2-((5-((4,6-dimethylpyrimidin-2-yl)thiomethyl)-1,3,4-thiadiazole-2-yl)thio)acetamide; microwave assisted synthesis; fungicidal activity

酰胺类衍生物具有广泛的抗菌^[1-3]、杀虫^[4]、除草^[5]、抗病毒^[6]和植物生长调节^[7]等生物活性。目前在杀菌剂领域已开发出的商品化品种超过 40 种, 如萎锈灵^[8]、吡噻菌胺^[9]和啉酰菌胺^[10]等。从结构上看, 许多酰胺类杀菌剂都引入了杂环结构, 特别是具有类似生物碱结构的含氮杂环, 具有对靶标专一性高、环境相容性好的特点, 已成为新农药创制的主流^[11]。其中含有嘧啶环类的衍生物, 由于其能与金属离子形成配合物, 因而不仅可以延长原药的活性、持效期和半衰期, 还能降低对哺乳动物的毒性^[12]; 同样, 杂环 1,3,4-噻二唑衍生物也具有优良的杀虫^[13]、杀菌^[14]、除草^[15]和植物生长调节^[16]等活性。此外, 有研究表明, 若在分子中通过供电子元素 (O, S) 同时连接两个或多个杂环活性中心, 即 (硫) 醚结构的引入, 则有

利于增强受体和配体之间的亲和力, 从而有效改善化合物的生物活性^[17]。因此在新药物分子的设计过程中, 往往会在杂环结构中引入硫醚结构以提高其生物活性^[18]。

鉴于酰胺结构、嘧啶环、1,3,4-噻二唑及硫醚结构的生物活性特征, 为了寻找具有良好杀菌活性的农药先导化合物, 笔者采用活性亚结构拼接方法, 以硫脲和乙酰丙酮为起始原料合成了 4,6-二甲基嘧啶-2-硫醇, 经过酯化、肼化、环化和缩合反应将上述活性单元相互拼接, 设计合成了一系列未见文献报道的新型 *N*-芳基-2-((5-((4,6-二甲基嘧啶-2-基)硫甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)硫) 乙酰胺类化合物 (**8a~8j**), 其结构均经过核磁共振氢谱和碳谱、红外光谱、质谱及元素分析确认。合成路线见图式 1。



8a: R=2-Cl; **8b:** R=3-Cl; **8c:** R=4-Cl; **8d:** R=2-CH₃; **8e:** R=3-CH₃;

8f: R=4-CH₃; **8g:** R=4-F; **8h:** R=2,6-F₂; **8i:** R=4-OCH₃; **8j:** R=4-NO₂.

图式 1 目标化合物 **8a-8j** 的合成路线

Scheme 1 The synthetic route of compounds **8a-8j**

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

Bruker AVANCE III 500 MHz 核磁共振仪 (以 CDCl₃ 为溶剂, TMS 为内标); Thermo-Finnigan LCQ Advantage ESI-MS); Carlo-Erba EA1110 元素分析仪; Thermo Nicolet AVATAR 370 傅立叶红外

光谱仪; X-4 型数字显示熔点测定仪 (温度计未校正); CEM Discover 微波反应器。对照药剂三环唑 (propiconazole) 原药, 纯度 99%, 购自湖北恒绿源科技有限公司, 其他试剂均为市售分析纯。化合物 4,6-二甲基嘧啶-2-硫醇 (**2**) 参照文献^[19]方法合成, 收率 80%; 化合物 2-(4,6-二甲基嘧啶-2-硫基)

乙酸乙酯 (3) 参照文献[20]方法合成, 收率 94%。

1.2 化合物的合成

1.2.1 (4,6-二甲基嘧啶-2-硫基)乙酰肼 (4) 的合成 常规方法: 将 6.86 g (30 mmol) 化合物 3 和 5.30 g (90 mmol) 85% 水合肼溶于 60 mL 无水乙醇中, 升温至回流, 反应 12 h。减压脱溶得灰白色固体, 用 $V(\text{石油醚}) : V(\text{乙醇}) = 3 : 1$ 混合溶剂洗涤, 干燥, 得白色固体 (4) 5.92 g。收率 92%, m.p. 84~85 °C (文献值^[21] 84~86 °C)。

微波辅助: 将化合物 686 mg (3 mmol) 3 和 530 mg (9 mmol) 85% 水合肼溶于 6 mL 无水乙醇中。将反应管置于 CEM Discover 微波反应器 (150 W, 80 °C, 1.379 MPa) 中反应 10 min。用与上述常规方法相同的方法进行后处理, 得白色固体 591 mg, 收率 92%。

1.2.2 5-(4,6-二甲基嘧啶-2-基硫代)甲基-1,3,4-噻二唑-2-硫醇 (5) 的合成 将 6.37 g (30 mmol) 化合物 4 加入含 2.60 g (45 mmol) 氢氧化钾的 100 mL 无水乙醇溶液中。冰浴条件下, 缓慢滴加 CS₂ 3.50 g (45 mmol)。滴加完毕, 室温下继续搅拌 5 h 后抽滤, 滤饼用乙醚洗涤, 红外干燥得到 2-((4,6-二甲基嘧啶-2-基)硫代)乙酰肼基二硫代甲酸钾。再在冰浴条件下缓慢将其加入到 20 mL 浓硫酸中, 待固体全部溶解后室温搅拌 2 h。将混合液缓慢倒入冰水中, 立即有大量白色固体产生。抽滤、水洗, 固体用 10% 的氢氧化钠溶液溶解后滤去不溶杂质, 滤液用稀盐酸酸化到 pH≈4~5, 白色固体再次析出; 再次抽滤, 水洗, 干燥得化合物 5。收率 84%, 熔点 171~172 °C (文献值^[21] 172~173 °C)。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃), δ : 12.37 (s,

1H), 6.80 (s, 1H), 4.70 (s, 2H), 2.44 (s, 6H)。

1.2.3 2-氯-*N*-取代苯基乙酰胺 (7a~7j) 的合成 参照文献[22]方法, 将取代苯胺 (2 mmol) 溶于 12 mL 二氯甲烷中, 再加入 334.4 mg (2.2 mmol) 三乙胺, 在室温下搅拌 5 min 后, 缓慢滴加溶于 12 mL 二氯甲烷的 224.0 mg (2 mmol) 氯乙酰氯, 室温下搅拌反应 15 min。水洗, 有机层干燥、脱溶, 所得固体用乙醇重结晶, 得化合物 7a~7j。其理化性质见表 1。

1.2.4 微波辅助目标化合物 (8a~8j) 的合成 将 0.54 g (2 mmol) 化合物 5、594 mg (2.2 mmol) 氢氧化钠及 2 mmol 2-氯-*N*-芳基乙酰胺溶于 8 mL 无水乙醇中。将反应管置于 CEM Discover 微波反应器 (100 W, 80 °C, 1.379 MPa) 中反应 15 min。将反应物倒入水中, 用氯仿萃取, 干燥、脱溶, 所得固体用乙酸乙酯重结晶, 得目标产物 8a~8j。

N-(2-氯苯基)-2-((5-((4,6-二甲基嘧啶-2-基)硫甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)硫)乙酰胺 (8a), 淡黄色固体, 收率 90%。m. p. 126~127 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz), δ : 9.50(s, 1H, -NH), 8.32 (dd, $J = 8.3, 1.4$ Hz, 1H, Ar-H), 7.35 (dd, $J = 8.0, 1.4$ Hz, 1H, Ar-H), 7.27~7.18 (m, 1H, Ar-H), 7.04 (td, $J = 7.9, 1.5$ Hz, 1H, Ar-H), 6.79 (s, 1H, CH), 4.72 (s, 2H, CH₂), 4.15 (s, 2H, CH₂), 2.46 (s, 6H, 2 × CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃), δ : 169.2, 168.9, 167.6, 166.2, 166.1, 134.8, 129.2, 127.4, 125.0, 123.7, 122.1, 116.5, 37.0, 29.5, 23.7。IR (KBr), ν/cm^{-1} : 3 248, 3 061, 2 914, 1 686, 1 612, 1 584, 1 475, 1 269, 1 059。MS(ESI), m/z :

表 1 中间体 2-氯-*N*-取代苯基乙酰胺 (7) 的理化性质

Table 1 Properties of the intermediate 2-chloro-*N*-substitutedphenylacetamides (7)

化合物 Compd.	R	收率 Yield/%	熔点 m. p./°C
7a	2-Cl	87	64~66 (文献值 ^[23] : 67)
7b	3-Cl	83	103~104 (文献值 ^[24] : 101)
7c	4-Cl	87	167~169 (文献值 ^[25] : 170~171)
7d	2-CH ₃	82	110~114 (文献值 ^[26] : 106.9~107.9)
7e	3-CH ₃	76	88~90 (文献值 ^[26] : 91.7~92.1)
7f	4-CH ₃	80	100~103 (文献值 ^[26] : 104)
7g	4-F	92	130~133 (文献值 ^[25] : 130~131)
7h	2, 6-F ₂	85	155~157 (文献值 ^[27] : 153~155)
7i	4-OCH ₃	81	122~123 (文献值 ^[25] : 124)
7j	4-NO ₂	88	178~180 (文献值 ^[24] : 182)

438.0 [M+H]⁺; C₁₇H₁₆ClN₅S₃: 计算值 C 46.62, H 3.68, N 15.99; 实测值 C 46.50, H 3.58, N 15.68。

N-(3-氯苯基)-2-((5-((4,6-二甲基嘧啶-2-基)硫甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)硫) 乙酰胺 (**8b**), 淡黄色固体, 收率 83%。m. p. 127~129 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz), δ: 9.81 (s, 1H, -NH), 7.71 (s, 1H, Ar-H), 7.38~7.23 (m, 2H, Ar-H), 7.07 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.86 (s, 1H, CH), 4.75 (s, 2H, CH₂), 4.05 (s, 2H, CH₂), 2.52 (s, 6H, 2 × CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃), δ: 169.6, 168.8, 167.7, 166.3, 160.4, 139.1, 134.7, 129.9, 124.4, 119.8, 117.8, 116.7, 37.4, 29.5, 23.8。IR (KBr), ν/cm⁻¹: 3 210, 3 063, 2 917, 1 681, 1 626, 1 596, 1 482, 1 272, 1 071。MS (ESI), *m/z*: 898.7 [2M+Na]⁺。C₁₇H₁₆ClN₅S₃: 计算值 C 46.62, H 3.68, N 15.99; 实测值 C 46.71, H 3.49, N 15.71。

N-(4-氯苯基)-2-((5-((4,6-二甲基嘧啶-2-基)硫甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)硫) 乙酰胺 (**8c**), 淡黄色固体, 收率 91%。m. p. 135~137 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz), δ: 9.82 (s, 1H, -NH), 7.50 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, Ar-H), 7.25 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, Ar-H), 6.80 (s, 1H, CH), 4.72 (s, 2H, CH₂), 4.02 (s, 2H, CH₂), 2.45 (s, 6H, 2 × CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃), δ: 169.6, 168.8, 167.7, 167.5, 166.2, 136.6, 129.0, 121.0, 119.5, 116.6, 37.3, 29.5, 23.8。IR (KBr), ν/cm⁻¹: 3 201, 3 045, 2 914, 1 692, 1 584, 1 488, 1 269, 1 066。MS (ESI), *m/z*: 898.7 [2M+Na]⁺。C₁₇H₁₆ClN₅S₃: 计算值 C 46.62, H 3.68, N 15.99; 实测值 C 46.34, H 3.87, N 15.82。

N-(邻甲苯基)-2-((5-((4,6-二甲基嘧啶-2-基)硫甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)硫) 乙酰胺 (**8d**), 淡黄色固体, 收率 75%。m. p. 138~140 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz), δ: 9.19 (s, 1H, -NH), 7.93 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, Ar-H), 7.23~7.13 (m, 2H, Ar-H), 7.09~7.01 (m, 1H, Ar-H), 6.80 (s, 1H, CH), 4.73 (s, 2H, CH₂), 4.09 (s, 2H, CH₂), 2.46 (s, 6H, 2 × CH₃), 2.25 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃), δ: 169.3, 168.8, 167.7, 167.2, 166.4, 135.9, 130.5, 128.9,

126.9, 125.0, 122.3, 116.6, 37.0, 29.4, 23.8, 18.1。IR (KBr), ν/cm⁻¹: 3 248, 3 051, 2 917, 1 657, 1 584, 1 266, 1 066。MS (ESI), *m/z*: 856.9 [2M+Na]⁺。C₁₈H₁₉N₅OS₃: 计算值 C 51.77, H 4.59, N 16.77; 实测值 C 51.65, H 4.33, N 16.72。

N-(间甲苯基)-2-((5-((4,6-二甲基嘧啶-2-基)硫甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)硫) 乙酰胺 (**8e**), 淡黄色固体, 收率 71%。m. p. 169~171 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz), δ: 9.52 (s, 1H, -NH), 7.38 (s, 1H, Ar-H), 7.34 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, Ar-H), 7.20 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, Ar-H), 6.92 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, Ar-H), 6.80 (s, 1H, CH), 4.73 (s, 2H, CH₂), 4.02 (s, 2H, CH₂), 2.46 (s, 6H, 2 × CH₃), 2.34 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃), δ: 169.4, 168.8, 167.7, 167.4, 166.0, 138.9, 137.8, 128.8, 125.2, 120.4, 117.0, 116.6, 37.4, 29.5, 23.8, 21.5。IR (KBr), ν/cm⁻¹: 3 257, 3 084, 2 911, 1 684, 1 617, 1 583, 1 268, 1 065。MS (ESI), *m/z*: 857.2 [2M+Na]⁺。C₁₈H₁₉N₅OS₃: 计算值 C 51.77, H 4.59, N 16.77; 实测值 C 51.66, H 4.63, N 16.52。

N-(对甲苯基)-2-((5-((4,6-二甲基嘧啶-2-基)硫甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)硫) 乙酰胺 (**8f**), 淡黄色固体, 收率 77%。m. p. 149~151 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz), δ: 9.50 (s, 1H, -NH), 7.43 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, Ar-H), 7.12 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, Ar-H), 6.80 (s, 1H, CH), 4.73 (s, 2H, CH₂), 4.02 (s, 2H, CH₂), 2.46 (s, 6H, 2 × CH₃), 2.31 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃), δ: 169.4, 168.9, 168.5, 167.7, 166.0, 134.0, 130.1, 129.4, 119.8, 116.6, 37.3, 29.5, 23.8, 20.9。IR (KBr), ν/cm⁻¹: 2 356, 3 060, 2 925, 1 686, 1 580, 1 519, 1 269, 1 066。MS (ESI), *m/z*: 857.2 [2M+Na]⁺。C₁₈H₁₉N₅OS₃: 计算值 C 51.77, H 4.59, N 16.77; 实测值 C 51.75, H 4.43, N 16.32。

N-(4-氟苯基)-2-((5-((4,6-二甲基嘧啶-2-基)硫甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)硫) 乙酰胺 (**8g**), 淡黄色固体, 收率 93%。m. p. 132~133 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz), δ: 9.70 (s, 1H, -NH), 7.51 (dd, *J* = 9.0, 4.8 Hz, 2H, Ar-H), 7.01 (t, *J* = 8.7 Hz, 2H, Ar-H), 6.81 (s, 1H, CH), 4.73 (s,

2H, CH₂), 4.01 (s, 2H, CH₂), 2.46 (s, 6H, 2 × CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃), δ: 169.5, 168.8, 167.7, 167.5, 166.1, 121.5, 120.9, 116.6, 115.7, 115.5, 37.3, 29.5, 23.8。IR(KBr), ν/cm⁻¹: 3 208, 3 055, 1 689, 1 584, 1 508, 1 269, 1 063。MS(ESI), *m/z*: 864.9 [2M+Na]⁺。C₁₇H₁₆FN₅OS₃: 计算值 C 48.44, H 3.83, N 16.61; 实测值 C 48.34, H 3.49, N 15.92。

N-(2, 6-二氟苯基)-2-((5-((4,6-二甲基嘧啶-2-基)硫甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)硫) 乙酰胺 (**8h**), 淡黄色固体, 收率 88%。m. p.115~116 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz), δ: 9.76 (s, 1H, -NH), 8.61~7.84 (m, 1H, Ar-H), 6.89~6.82 (m, 2H, Ar-H), 6.80 (s, 1H, CH), 4.74 (s, 2H, CH₂), 4.07 (s, 2H, CH₂), 2.46 (s, 6H, 2 × CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃), δ: 169.4, 168.9, 167.7, 166.9, 166.4, 159.7, 122.8, 116.6, 111.1, 103.6, 37.1, 29.5, 23.8。IR(KBr), ν/cm⁻¹: 3 250, 3 087, 2 914, 1 687, 1 623, 1 578, 1 494, 1 272, 1 072。MS(ESI), *m/z*: 900.8 [2M+Na]⁺。C₁₇H₁₅F₂N₅OS₃: 计算值 C 46.46, H 3.44, N 15.93; 实测值 C 46.49, H 3.49, N 15.32。

N-(4-甲氧苯基)-2-((5-((4,6-二甲基嘧啶-2-基)硫甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)硫) 乙酰胺 (**8i**), 淡黄色固体, 收率 85%。m. p.147~149 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz), δ: 9.45 (s, 1H, -NH), 7.45 (d, *J*=9.0 Hz, 2H, Ar-H), 6.85 (d, *J*=9.0 Hz, 2H, Ar-H), 6.81 (s, 1H, CH), 4.72 (s, 2H, CH₂), 4.02 (s, 2H, CH₂), 3.79 (s, 3H, CH₃O), 2.47 (s, 6H, 2 × CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃), δ: 188.4, 186.6, 183.3, 177.9, 167.4, 121.7, 121.5, 116.3, 114.8, 114.2, 37.2, 30.0, 29.5, 23.7。IR(KBr), ν/cm⁻¹: 3 252, 2 060, 2 933, 1 681, 1 587, 1 513, 1 270, 1 032。MS(ESI), *m/z*: 888.9 [2M+Na]⁺。C₁₈H₁₉N₅O₂S₃: 计算值 C 49.86, H 4.42, N 16.15; 实测值 C 48.34, H 4.49, N 16.32。

N-(4-硝基苯基)-2-((5-((4,6-二甲基嘧啶-2-基)硫甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)硫) 乙酰胺 (**8j**), 淡黄色固体, 收率 90%。m. p.171~174 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz), δ: 10.49 (s, 1H, -NH), 8.21 (d, *J*=9.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.74 (d, *J*=9.0

Hz, 2H, Ar-H), 6.82 (s, 1H, CH), 4.74 (s, 2H, CH₂), 4.04 (s, 2H, CH₂), 2.47 (s, 6H, 2 × CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃), δ: 169.3, 168.8, 167.7, 167.2, 166.4, 130.5, 126.6, 125.0, 122.3, 116.6, 37.1, 29.4, 23.8。IR(KBr), ν/cm⁻¹: 3 346, 3 080, 2 921, 1 711, 1 630, 1 585, 1 509, 1 307, 1 074。MS(ESI), *m/z*: 918.5 [2M+Na]⁺。C₁₇H₁₆N₆O₃S₃: 计算值 C 45.52, H 3.60, N 18.74; 实测值 C 45.50, H 3.49, N 18.32。

1.3 杀菌活性测定方法

委托国家南方农药创制中心浙江基地生测部参照《国家南方农药创制中心生测标准程序》^[28], 采用菌丝生长速率法测定目标化合物的离体抑菌活性。以黄瓜炭疽病菌 *Colletotrichum orbiculare*、灰葡萄孢 *Botrytis cinerea* 和水稻纹枯病菌 *Rhizoctonia solani* 为测试菌种。先将样品用丙酮溶解成质量分数为 70% 的原药, 再用无菌水稀释成 500 mg/L 的待测样品。培养基与待测样品按体积比 9 : 1 的比例制成含药 50 mg/L 的 PDA (马铃薯-葡萄糖-琼脂) 平板。将菌饼反接到平板中央, 置于 (25±1) °C 的培养箱中培养 72 h。每处理设 3 个重复。以在培养基中添加含相同浓度丙酮的处理为空白对照 (CK), 以丙环唑为药剂对照。用十字交叉法测量菌落直径, 每个菌落测量两次, 取平均值, 计算抑制率。

2 结果与讨论

2.1 化合物合成及波谱数据

在中间体 (4,6-二甲基嘧啶-2-硫基) 乙酰胺 (**4**) 的合成中, 比较了常规和微波辅助两种合成方法。采用常规方法合成, 中间体 **4** 需加热回流 12 h, 而采用微波法只需在 CEM Discover 微波反应器中 (150 W, 80 °C, 1.379 MPa) 辐射反应 10 min, 即可获得收率相当的产品。可见, 采用微波辅助合成可大大缩短反应时间。

中间体 5-(4,6-二甲基嘧啶-2-基硫代)甲基-1,3,4-噻二唑-2-硫醇 (**5**) 与 2-氯-*N*-芳基乙酰胺在氢氧化钠存在下, 微波辐射 (100 W, 80 °C, 1.379 MPa) 反应 15 min 即可得到目标化合物 **8**; 反应速度快, 产物收率在 71%~93% 之间。一般来说, 苯环上为吸电子基团取代 (R = 卤素或硝基) 时, 化合物收率较给电子基团取代 (R = 甲基或甲氧基) 时

高。化合物结构均经 $^1\text{H NMR}$ 、 $^{13}\text{C NMR}$ 、IR、ESI-MS 及元素分析表征确认。从 $^1\text{H NMR}$ 数据可以看出, 化合物 **8a~8j** 中嘧啶环上的两个 $-\text{CH}_3$ 的化学位移出现在 δ 2.45~2.52, $-\text{SCH}_2$ 的在 δ 4.01~4.75, $-\text{NH}$ 的在 9.19~10.49, 嘧啶环上质子的化学位移在 δ 6.79~6.92, 它们均呈单重峰。从 $^{13}\text{C NMR}$ 数据可以看出, 嘧啶环上甲基的化学位移出现在 δ 23.7~23.8, $-\text{SCH}_2$ 出现在 δ 29.4~29.5 和 δ 37.0~37.4。由红外光谱数据可知, $1\ 680\ \text{cm}^{-1}$ 附近为 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动的吸收峰。从 ESI-MS 图谱中可以看出, 所有目标化合物显示出较强的 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 或者 $[\text{2M}+\text{Na}]^+$ 峰。

2.2 杀菌活性

初步杀菌活性测试结果(表2)表明, 在 50 mg/L 下, 所有目标化合物对供试菌种均表现出一定的

抑制活性, 相对而言, 对黄瓜炭疽菌的抑制活性稍优于灰葡萄孢和水稻纹枯病菌。部分化合物表现出中等抑菌活性, 如化合物 **8a**、**8c**、**8g**、**8h** 和 **8j** 对黄瓜炭疽菌的抑制率均超过 60.0%, 其中化合物 **8g** 和 **8h** 对其抑制率分别达到 74.5% 和 77.3%; 化合物 **8g** 和 **8h** 对灰葡萄孢的抑制率也在 60.0% 以上, 其中 **8h** 的抑制率为 67.8%。一般来说, 当在苯环上引入吸电子基团 ($\text{R} =$ 卤素或硝基) 时, 化合物活性较给电子基团取代时 ($\text{R} =$ 甲基或甲氧基) 要好, 尤其是 F 原子的引入有助于化合物活性的提高。以上数据表明, 将嘧啶和 1,3,4-噻二唑硫醚等活性单元引入酰胺结构, 设计合成的目标化合物具有一定的杀菌活性, 若干化合物显示出了较好的杀菌活性, 具有进一步优化研究的价值。

表 2 50 mg/L 下目标化合物 **8a~8j** 的杀菌活性

Table 2 Fungicidal activities of compounds **8a~8j** at 50 mg/L

化合物 Compd.	R	抑制率 Inhibition rate/%		
		黄瓜炭疽病菌 <i>C. orbiculare</i>	灰葡萄孢 <i>B. cinerea</i>	水稻纹枯病菌 <i>R. solani</i>
空白对照 CK	—	0	0	0
丙环唑 propiconazole	—	92.2	55.0	95.5
8a	2-Cl	65.0	47.1	39.5
8b	3-Cl	54.2	40.8	32.0
8c	4-Cl	60.4	46.4	37.6
8d	2- CH_3	30.6	34.5	38.1
8e	3- CH_3	38.0	38.5	24.9
8f	4- CH_3	28.9	30.8	34.9
8g	4-F	74.5	60.1	46.1
8h	2, 6- F_2	77.3	67.8	43.6
8i	4- OCH_3	40.8	32.5	30.4
8j	4- NO_2	60.8	57.8	36.9

参考文献(Reference):

- [1] YANG M Y, DONG H B, JIANG J Z. Synthesis and fungicidal activities of (Z/E)-3,7-dimethyl-2,6-octadienamide and its 6,7-epoxy analogues[J]. *Molecules*, 2015, 20(12): 21023-21036.
- [2] BRUNEL J M, LIEUTAUD A, LOME V. Polyamino geranic derivatives as new chemosensitizers to combat antibiotic resistant Gram-negative bacteria[J]. *Bioorg Med Chem*, 2013, 21(5): 1174-1179.
- [3] SONI J N, SOMAN S S. Synthesis and antimicrobial evaluation of amide derivatives of benzodifuran-2-carboxylic acid[J]. *Eur J Med Chem*, 2014, 75: 77-81.
- [4] FUSTERO S, ROMÁN R, SANZ-CERVERA J F. Synthesis of new fluorinated tebufenpyrad analogs with acaricidal activity through

regioselective pyrazole formation[J]. *J Org Chem*, 2008, 73(21): 8545-8552.

- [5] 谭成侠, 沈德隆, 翁建全. 1-(吡唑-5-酰基)-1*H*-取代吡唑的合成及生物活性[J]. *农药学报*, 2005, 7(1): 69-72.
- TAN C X, SHEN D L, WENG J Q. Synthesis of 1*H*-substituted 1-(pyrazole-5-carbonyl) pyrazole, and their biological activities[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2005, 7(1): 69-72.
- [6] TURNBULL M D, FINNEY J. Nematocide pyrimidine derivatives: EP0506270A1[P]. 1992-09-30.
- [7] 宁丽红, 彭浩, 涂海洋. 3-(2-氯-4-三氟甲基苯氧基)-*N*-芳基苯甲酰胺的合成与植物生长调节活性[J]. *农药学报*, 2004, 6(1): 74-76.
- NING L H, PENG H, XU H Y. Synthesis and plant growth regulation activity of 3-(2-chloro-4-trifluoromethylphenoxy)-*N*-aryl

- benzamides[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2004, 6(1): 74-76.
- [8] AGRIOS G N. *Plant pathology*[M]. 4th ed. San Diego: Academic Press, 1997.
- [9] 杜士杰, 覃兆海. 啮酰菌胺类似物的合成及抑菌活性[J]. *农药学报*, 2016, 18(4): 424-430.
DU S J, QIN Z H. Synthesis and antifungal activity of novel analogs of boscalid[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2016, 18(4): 424-430.
- [10] FUJII K, TANAKA T, FUKUDA Y, et al. Preparation of pyrazole derivatives as agrochemical fungicides: JP 07285942A[P]. 1995-10-31.
- [11] 刘长令. *世界农药大全: 杀菌剂卷*[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006.
LIU C L. *World pesticide: fungicides*[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2006.
- [12] 李锋, 从健, 王敏. 2-胂基-4,6-二甲基嘧啶的高效液相色谱分析[J]. *化学试剂*, 2005, 27(2): 99-100.
LI F, CONG J, WANG M. Analysis of 2-hydrazino-4,6-dimethylpyrimidine by HPLC[J]. *Chem Reagents*, 2005, 27(2): 99-100.
- [13] 曹松, 曲玉成, 宋恭华. 噻二唑基-3(2*H*)-哒嗪酮类化合物的合成及生物活性[J]. *农药学报*, 2004, 6(2): 68-71.
CAO S, QU Y C, SONG G H. Synthesis and biological activities of new thiazolopyridazinones[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2004, 6(2): 68-71.
- [14] DOGAN N H, ROLLAS S, ERDENIZ H. Synthesis, structure elucidation and antimicrobial activity of some 3-hydroxy-2-naphthoic acid hydrazide derivatives[J]. *IL Farmaco*, 1998, 53(7): 462-467.
- [15] 秦雪. 含噻唑和吡啶环的Strobilurin类化合物及新型氮杂环化合物的设计合成及生物活性研究[D]. 天津: 南开大学, 2010.
QIN X. Design, synthesis and biological activities of novel thiazol- and pyrazol-containing strobilurin analogues[D]. Tianjin: Nankai University, 2010.
- [16] 龙德清, 汪焱钢, 唐传球. 2-取代硫醚-5-(5,7-二甲基-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶基)-1,3,4-噁二唑/噻二唑类化合物的合成及生物活性[J]. *有机化学*, 2008, 28(6): 1065-1070.
LONG D Q, WANG Y G, TANG C Q. Synthesis and biological activities of 2-alkylthio-5-(5,7-dimethyl-1,2,4-triazolo[1,5-*a*]pyrimidine-5-yl)-1,3,4-oxadiazole/1,3,4-thiazole derivatives[J]. *Chin J Org Chem*, 2008, 28(6): 1065-1070.
- [17] 杨超, 杨松, 宋宝安. 2-取代硫醚(砜)-5-(4-硝基或4-甲氧基苯基)-1,3,4-噻二唑类化合物的合成及抑菌活性[J]. *有机化学*, 2010, 30(9): 1327-1334.
YANG C, YANG S, SONG B A. Synthesis and antifungal activity of 2-substituted sulfinyl(sulfonyl)-5-(4-nitro or 4-methoxyphenyl)-1,3,4-thiazole derivatives[J]. *Chin J Org Chem*, 2010, 30(9): 1327-1334.
- [18] ANDREW E, ANDRÉ J, MARCEL J P J, et al. Pesticidally active polycyclic derivatives with sulfur containing substituents: WO2016071214A1[P]. 2016-05-12.
- [19] GOSWAMI S, JANA S, DEY S. Microwave-expedited one-pot, two-component, solvent-free synthesis of functionalized pyrimidines[J]. *Aust J Chem*, 2007, 60(2): 120-123.
- [20] 张刚, 高光宇, 李清寒. 4,6-二甲基嘧啶-2-硫基乙酰肼类化合物的合成及抗菌活性研究[J]. *化学试剂*, 2014, 36(7): 594-598.
ZHANG G, GAO G Y, LI Q H. Synthesis and antibacterial activities of 4,6-dimethylpyrimidine-2-yl-sulfanyl acetyl hydrazones[J]. *Chem Reagents*, 2014, 36(7): 594-598.
- [21] 阮铃莉, 范人杰, 刘幸海. 新型取代3-[(5-苄硫-1,3,4-噁二唑-2-基)甲基]苯并[*d*]噻(噁)唑-2(3*H*)-酮的合成及杀菌活性[J]. *有机化学*, 2015, 35(5): 1166-1172.
RUAN L L, FAN R J, LIU X H. Synthesis and antifungal activity of novel 3-[(5-benzylthio-1,3,4-oxadiazol-2-yl)methyl]benzo[*d*]thiazol-(oxazol)-2(3*H*)-ones[J]. *Chin J Org Chem*, 2015, 35(5): 1166-1172.
- [22] 赵华绒, 朱婷婷. *N*-取代-2-氯乙酰脒合成方法的改进及表征[J]. *浙江大学学报(理学版)*, 2010, 37(4): 442-445.
ZHAO H R, ZHU T T. Synthetic improvement and characterization of *N*-substituted-2-chloroacetamides[J]. *J Zhejiang Univ (Sci Ed)*, 2010, 37(4): 442-445.
- [23] SCHWALBE C G, SCHULTZ W, JOCHHEIM H. ω -chloroacetanilide and certain halogen phenylglycines[J]. *Berichte Deutsch Chem Ges*, 1908, 41: 3790-3796.
- [24] BECKURTS H, FRERICHS G. Ueber arylamide der rhodanessigsäuren and arylthiohydantoine[J]. *Arch Pharm*, 1915, 253: 233-265.
- [25] BARALDI P G, PRETI D, TABRIZI M A. N^6 -[(Hetero)aryl(cyclo)alkyl-carbamoyl-methoxy-phenyl]-(2-chloro)-5'-*N*-ethylcarboxamido-adenosines: the first example of adenosine-related structures with potent agonist activity at the human A_{2B} adenosine receptor[J]. *Bioorg Med Chem*, 2007, 15(7): 2514-2527.
- [26] 李英俊, 李春燕, 靳焜. 新型含噁二唑环的苯并噁/噻唑啉衍生物的合成、表征及生物活性[J]. *化学学报*, 2012, 70(2): 151-160.
LI Y J, LI C Y, JIN K. Synthesis and biological activities of novel benzoxazolinone/benzothiazolone derivatives containing oxadiazole moiety[J]. *Acta Chim Sinica*, 2012, 70(2): 151-160.
- [27] ROE A M, BURTON R A, WILLEY G L. The synthesis and activity of some 2,6-difluorophenyl-substituted compounds[J]. *J Med Chem*, 1968, 14(11): 814-819.
- [28] 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实验平皿法: 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 Agriculture Press, 2006.

(责任编辑: 金淑惠)