

N-(2-三氟甲基-4-氯苯基)-2-吡唑酰胺氨基环己烷基磺酰胺类化合物的合成与杀菌活性

孟司奇, 杨永贵, 纪明山, 祁之秋, 李兴海*

(沈阳农业大学 植物保护学院, 沈阳 110866)

摘要: 吡唑酰胺类杀菌剂是近年新农药开发的热点。本研究采用 EDCI/HOBt 酰胺化法合成了 14 个结构新颖的 *N*-(2-三氟甲基-4-氯苯基)-2-吡唑酰胺氨基环己烷基磺酰胺类化合物 (**3a**~**3n**), 其结构均经 ^1H NMR、 ^{13}C NMR、质谱和元素分析确认, 并用 X-射线衍射法确定了化合物 **3g** 的单晶结构和立体构型。菌丝生长速率法试验结果表明, 化合物 **3a**、**3e** 和 **3j** 对番茄灰霉病菌 *Botrytis cinerea* KZ-9 的 EC_{50} 值分别为 4.28、10.08 和 11.31 mg/L, 抑菌活性不及对照药剂啶酰菌胺和腐霉利; 但在孢子萌发试验中, 目标化合物表现出与对照药剂相近的抑菌活性, 在 10 mg/L 下有 7 个化合物对灰霉病菌孢子萌发的抑制率超过了 85%; 在番茄活体盆栽试验中, 化合物 **3e** 在 200 mg/L 下对番茄叶片及其花上灰霉病菌的防治效果分别为 77.5% 和 65.2%, 高于对照药剂啶酰菌胺 (防效分别为 59.8% 和 30.3%), 有进一步研究的价值。

关键词: 吡唑酰胺; 有机合成; 灰霉病菌; 杀菌活性; 构效关系

中图分类号: O626.21; S482.2

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2018)05-0568-09

Synthesis and fungicidal activity of *N*-(2-trifluoromethyl-4-chlorophenyl)-2-pyrazoleamide cyclohexylsulfonamides

MENG Siqi, YANG Yonggui, JI Mingshan, QI Zhiqiu, LI Xinghai*

(Plant Protection College, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

Abstract: Pyrazolecarboxamide derivatives have attracted much attention in the field of agrochemical discovery. With the objective of exploring the novel fungicides, 14 novel *N*-(2-trifluoromethyl-4-chlorophenyl)-2-pyrazoleamide cyclohexylsulfonamides were obtained by amidation method using EDCI/HOBt. Their structures were characterized by ^1H NMR, ^{13}C NMR, MS and elemental analysis. The crystal structure and stereo configuration of compound **3g** were determined by X-ray diffraction. The bioactivities against *Botrytis cinerea* revealed that the synthesized compounds possessed good fungicidal activities. The bioactivities determined by the mycelium growth rate method showed that the EC_{50} values of compounds **3a**, **3e** and **3j** were 4.28, 10.08 and 11.31 mg/L, respectively, and the activities were lower compared with the positive controls, namely boscalid and procymidone. However, 7 compounds with the inhibition rates against spore germination of more than 85% showed better

收稿日期: 2018-06-18; 录用日期: 2018-09-18.

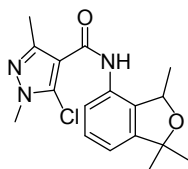
基金项目: 辽宁省教育厅科学研究项目 (LJNYB201611); 辽宁省自然科学基金 (2015020766); 沈阳市中青年科技创新人才支持计划项目 (RC170518).

作者简介: 孟司奇, 男, 硕士研究生, E-mail: 1096095544@qq.com; *李兴海, 通信作者 (Author for correspondence), 男, 博士, 副教授, 主要从事农药合成化学与生物活性研究, E-mail: xinghai30@163.com

activities compared to the positive controls. The further *in vivo* bioassay showed that compound **3e** exhibited better control effect (the control effect is 77.5% with tomato leaves and 65.2% with the flowers at the application concentration of 200 mg/L) than the commercial fungicides, which could be used as lead compounds for further study.

Keywords: pyrazolamide; organic synthesis; *Botrytis cinerea*; fungicidal activity; structure-activity relationship

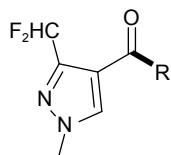
吡唑酰胺类化合物因作用机理独特、安全高效以及吡唑环上取代基变化多样而成为杀菌剂研究的热点。1997年日本住友开发的呋吡菌胺 (furametpyr, 图式 1) 对水稻纹枯病菌 *Rhizoctonia solani* 有特效^[1]。



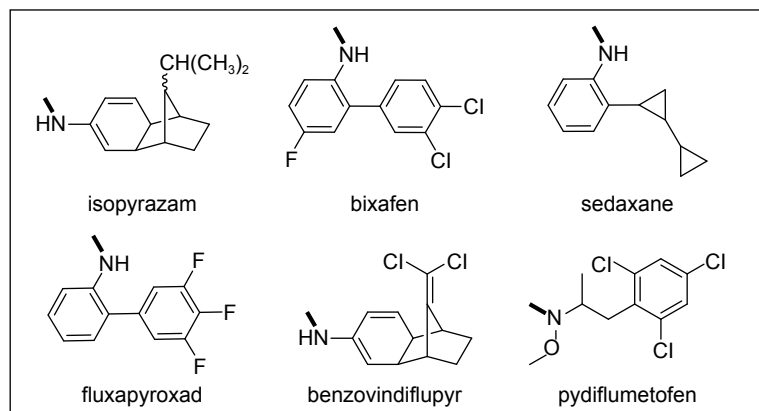
图式 1 呋吡菌胺的结构式

Scheme 1 The structural formula of furametpyr

近些年, 各大农药公司陆续开发并商品化了吡唑萘菌胺 (isopyrazam, 先正达, 2010)^[2]、联苯吡菌胺 (bixafen, 拜耳, 2010)^[3]、氟唑环菌胺 (sedaxane, 先正达, 2011)^[4]、氟唑菌酰胺 (fluxapyroxad, 巴斯夫, 2012)^[5]、苯并烯氟菌唑 (benzovindiflupyr, 先正达, 2013)^[6]和氟唑菌酰胺羟胺 (pydiflumetofen, 先正达, 2016)^[7]等吡唑酰胺类杀菌剂 (图式 2), 而这些化合物都是由中间体 1-甲基-3-二氟甲基-1*H*-吡唑-4-羧酸 (**1a**, 图式 3) 合成



R =



图式 2 近几年新上市的吡唑酰胺类杀菌剂

Scheme 2 Novel pyrazolamide fungicides developed in recent years

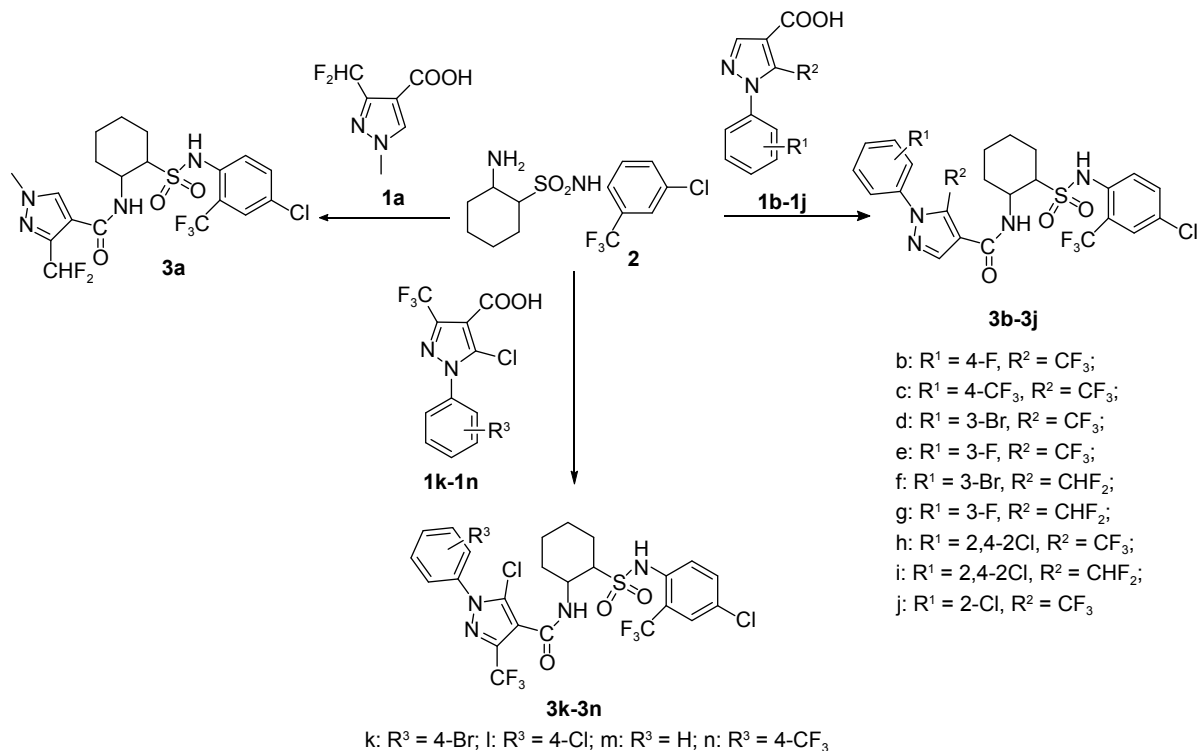
而来^[8]。

前文报道了将 2-氧代环己烷基磺酰胺还原胺化首先得到重要中间体 2-氨基环己烷基磺酰胺, 继而合成了一系列对番茄灰霉病菌表现出较高杀菌活性的烷基磺酰胺、苯基磺酰胺、吡啶磺酰胺和噻唑磺酰胺类衍生物^[9-12]。在本研究中, 笔者以化合物 **1a** 和 13 个 1-取代苯基吡唑-4-羧酸类化合物为原料, 与 *N*-(2-三氟甲基-4-氯苯基)-2-氨基环己烷基磺酰胺经 EDCI/HOBt 酰胺化法合成了 14 个未见报道的吡唑酰胺类化合物 **3a~3n** (合成路线见图式 3), 对其化学结构进行了鉴定, 并分别采用菌丝生长速率法、孢子萌发法和活体盆栽试验测定了目标化合物对番茄灰霉病菌的杀菌活性, 旨在筛选出具有较高杀菌活性的新化合物。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

X-5 型熔点测定仪 (温度计未校正); Bruker600-MHz 型核磁共振仪 (TMS 为内标, 氘代 DMSO 为溶剂); 7890B Agilent 气相色谱-三重四极杆串联质谱仪 (7000C); Flash EA 1112 型元



图式 3 目标化合物 3a~3n 的合成路线

Scheme 3 Synthetic route of the title compounds 3a-3n

素分析仪。

试剂均为分析纯，二氯甲烷与三乙胺经干燥后使用。缩合剂 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基) 碳二亚胺盐酸盐 (EDCI) 和 1-羟基苯并三唑 (HOBt) 及化合物 **1a** 购自摩贝化学品商城，纯度均为 98%；化合物 **1b~1n** 由中国农业大学黄家兴副教授提供^[13]。对照药剂为腐霉利 (procymidone) 与啮酰菌胺 (boscalid) 原药，纯度均为 95%，由沈阳化工研究院生物测定中心提供。

1.2 供试菌株

番茄灰霉病菌 *Botrytis cinerea* 分别采自辽宁省喀左、朝阳和鞍山地区，菌株代号分别为 KZ-9、CY-09 和 AS-11，由沈阳农业大学植物保护学院农药科学研究室分离、培养和保存。

1.3 化合物的制备

1.3.1 化合物 *N*-(2-(三氟甲基-4-氯苯基)-2-氨基环己烷基磺酰胺 (**2**) 的合成 参照文献方法^[14]合成，得到白色粉末状固体，熔点 252~254 °C，收率 73%。

1.3.2 目标化合物 **3** 的合成 以化合物 *N*-(2-(三氟甲基-4-氯苯基)-2-(1-(4-氟苯基)-5-三氟甲基吡唑-4-甲酰氨基) 环己烷基磺酰胺 (**3b**) 的合成为例：在 0 °C 下，向 100 mL 四口瓶中依次加入 30 mL 二氯甲

烷、化合物 **1b** (3 mmol)、EDCI(3.3 mmol)、HOBt (3.3 mmol) 和三乙胺 (5.1 mmol)，搅拌反应 1.5 h。加入化合物 **2** (0.24 mmol)，在 0 °C 下反应 15 min 后升温至室温 (25 °C) 继续反应 2~3 h。采用薄层层析 (TLC) 法 [V (石油醚) : V (乙酸乙酯) = 2 : 1] 监测至反应液中无原料，停止反应。反应液依次用 30 mL 饱和碳酸钠溶液和 30 mL 水洗涤，用无水硫酸钠干燥 12 h，抽滤，减压蒸馏去除溶剂，得粗产物。经硅胶柱层析 [V (石油醚) : V (乙酸乙酯) = 3 : 1] 提纯，得到目标化合物 **3b**，熔点 204.5~206.4 °C，收率 74%。采用相同的方法得到其余目标化合物。

1.4 杀菌活性测定

1.4.1 离体抑菌活性测定

1.4.1.1 菌丝生长速率法 按文献方法^[15]测定目标化合物对 3 个番茄灰霉病菌菌株 KZ-9、CY-09 和 AS-11 菌丝生长的抑制活性。用丙酮配制质量浓度为 5 000 mg/L 的供试化合物药液，采用梯度稀释法配制药剂，得到质量浓度为 1 250、312.5 和 78.1 mg/L 的系列药液。将药液加入 PDA 培养基 [m (水) : m (琼脂) : m (葡萄糖) = 50 : 1 : 1] 制得质量浓度为 50、12.5、3.13 和 0.78 mg/L 的含毒培养基。接种直径 5 mm 的供试菌株菌饼，3~5 d 后测

量菌落直径。计算每个化合物在不同浓度下对菌丝生长的抑制率。通过 Excel 软件计算相应化合物的 EC₅₀ 值。以防治番茄灰霉病的登记药剂腐霉利和啶酰菌胺原药为药剂对照, 以丙酮为空白对照。

1.4.1.2 孢子萌发法 采用凹玻片法^[16]测定目标化合物对番茄灰霉病菌孢子萌发的抑制活性。首先配制 1 000 mg/L 的供试化合物药液, 然后吸取 0.01 mL 加入到 0.99 mL 新配制的灰霉病菌孢悬浮液中 (5 × 10⁵ 个/mL), 得到含有 10 mg/L 供试化合物的孢子悬浮液。于 22 °C 下培养 8 h 后镜检, 计算孢子萌发率及孢子萌发抑制率。

1.4.2 活体盆栽试验 采用盆栽法^[17]测定目标化合物对番茄灰霉病菌在番茄叶片和花上侵染的防治效果。将 0.05 g 供试化合物溶解到 0.3 mL 甲醇中, 加入 0.007 5 g 农乳 500 和 0.042 5 g 农乳 600, 用二甲基亚砜 (DMSO) 补齐至 1 mL, 得到有效成分质量分数为 5% 的化合物乳油, 再用水稀释成 200 mg/L 的药液供试。以啶酰菌胺和腐霉利原药配制成的乳油为药剂对照, 以不加原药的乳油为空白对照。将供试药液和对照均匀喷施到已长有 20~30 片叶的番茄幼苗上, 5 h 后喷施 5 × 10⁵ 个/mL 的灰霉病菌孢子悬浮液, 于 (23 ± 2) °C、相对湿度 80% 以上的温室中, 待空白对照发病后调查所有番茄叶片 (花) 病情指数, 按公式 (1) 计算防治效果。每处理重复 4 次。

$$P/\% = \frac{X_1 - X_2}{X_1} \times 100 \quad (1)$$

式中: *P*—防治效果; *X*₁—空白对照病情指数; *X*₂—药剂处理病情指数。

2 结果与分析

2.1 化合物的合成

在合成目标化合物 **3** 时, 曾采用酰氯法进行酰胺化反应, 但容易产生极性接近的副产物, 目标物不易被分离纯化, 且中间体吡唑酰氯活性高, 易分解, 致使最终酰胺的产率很低。本研究采用缩合剂 EDCI 和 HOBt 将吡唑羧酸先转化成活性酯, 再与胺反应生成吡唑酰胺。该方法操作简便, 低温加料后可在室温下反应, 且反应后处理简单。由于催化剂、缩合剂及其脲类副产物均溶于水, 而目标产物吡唑酰胺溶于二氯甲烷, 故可通过萃取的方法除去副产物及杂质, 最后经柱层析纯化获得目标化合物。

目标化合物的理化数据、质谱和元素分析数据见表 1, ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据见表 2。

化合物 **3g** 的 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 谱图见图 1 和图 2。

以化合物 **3g** 的结构解析为例, 在 ¹H NMR 谱中 (图 1), CONH 与 SO₂NH 基团中分别含有 1 个活泼氢, 均为 s 峰, 且位于低场区。由于 SO₂NH

表 1 化合物 **3a~3n** 的理化、质谱和元素分析数据

Table 1 Physical properties, mass spectrometry and elemental analysis data of compounds **3a~3n**

化合物 Compd.	取代基 Substituent			相对分子质量 Molecular weight	熔点 m.p./°C	收率 Yield/%	质谱 MS, <i>m/z</i>	元素分析 (计算值, %) Elemental analysis (Calcd, %)		
	R ¹	R ²	R ³					C	H	N
3a	/	/	/	514.90	157.6~158.8	77	513.86(M-H ⁺)	44.32(44.30)	3.92(3.84)	10.88(10.96)
3b	4-F	CF ₃	/	612.95	204.5~206.4	74	613.40(M-H ⁺)	47.03(47.21)	3.29(3.04)	9.14(8.99)
3c	4-CF ₃	CF ₃	/	662.96	184.3~185.8	86	662.08(M-H ⁺)	45.29(45.45)	3.04(2.95)	8.45(8.71)
3d	3-Br	CF ₃	/	672.00	144.5~145.3	83	672.00(M)	42.78(42.96)	2.99(3.12)	8.31(8.15)
3e	3-F	CF ₃	/	612.95	196.4~197.2	93	612.08(M-H ⁺)	47.03(46.89)	3.29(3.09)	9.14(9.26)
3f	3-Br	CHF ₂	/	655.86	197.1~198.4	65	656.03(M)	43.95(44.11)	3.23(3.10)	8.54(8.69)
3g	3-F	CHF ₂	/	594.96	195.2~196.3	87	593.96(M-H ⁺)	48.45(48.71)	3.56(3.28)	9.42(9.19)
3h	2,4-2Cl	CF ₃	/	663.84	182.6~183.7	88	662.82(M-H ⁺)	43.42(43.58)	2.88(3.02)	8.44(8.25)
3i	2,4-2Cl	CHF ₂	/	645.85	192.4~193.1	81	646.10(M)	44.63(44.85)	3.12(2.93)	8.67(8.81)
3j	2-Cl	CF ₃	/	629.40	105.6~106.3	81	627.93(M-H ⁺)	45.80(46.02)	3.20(3.44)	8.90(8.74)
3k	/	/	4-Br	708.30	167.8~168.7	90	708.30(M)	40.70(40.58)	2.70(2.59)	7.91(8.10)
3l	/	/	4-Cl	662.01	176.3~177.8	84	662.01(M)	43.42(43.22)	2.88(3.01)	8.44(8.23)
3m	/	/	/	629.40	201.7~203.2	65	629.40(M)	45.80(46.03)	3.20(3.46)	8.90(9.12)
3n	/	/	4-CF ₃	696.04	149.2~149.8	89	696.04(M)	43.06(42.91)	2.75(2.62)	8.03(8.25)

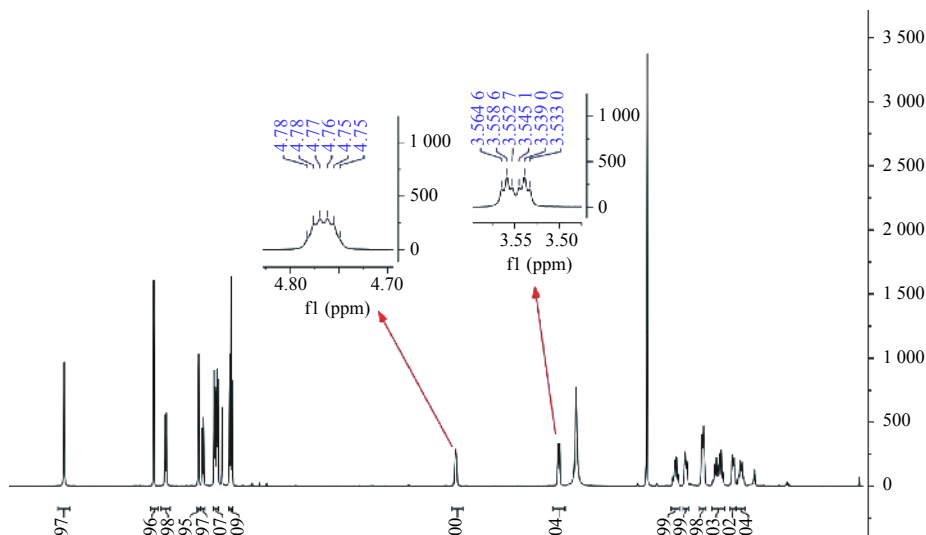
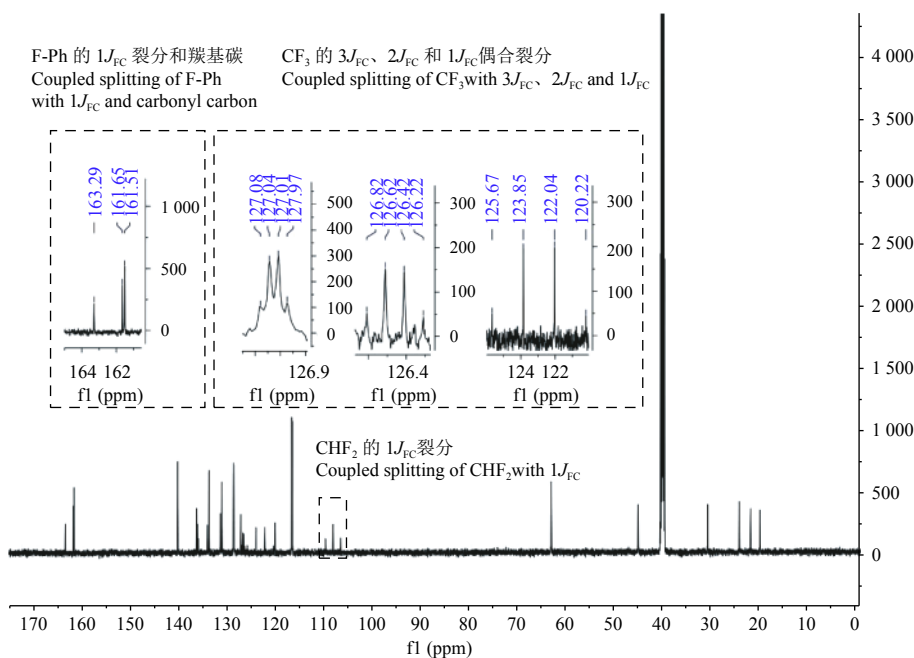
“/”表示无取代基 (No substituent)。

表 2 化合物 3a-3n 的 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据Table 2 The ^1H NMR and ^{13}C NMR data of compounds 3a-3n

化合物 Compd.	^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz, TMS), δ	^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 151 MHz, TMS), δ
3a	9.34 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 7.76~7.59 (m, 4H), 7.24 (t, $J_{\text{FH}} = 52.9$ Hz, 1H), 4.70 (m, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.52 (dt, $J = 11.0, 3.6$ Hz, 1H), 2.12~1.38 (m, 8H).	161.6, 144.7, 134.0, 133.5, 131.1, 130.7, 127.0 (q, $3J_{\text{FC}} = 6.0$ Hz), 126.4 (q, $2J_{\text{FC}} = 30.2$ Hz), 122.9 (q, $1J_{\text{FC}} = 273.8$ Hz, CF_3), 116.2, 110.1 (t, $1J_{\text{FC}} = 234.1$ Hz, HCF_2), 62.9, 55.2, 44.6, 30.6, 24.0, 21.6, 19.7
3b	9.31 (s, 1H), 9.03 (s, 1H), 8.03~7.41 (m, 8H), 4.75 (m, 1H), 3.56 (dt, $J = 11.0, 3.8$ Hz, 1H), 2.16~1.41 (m, 8H).	161.8 (d, $1J_{\text{FC}} = 245.7$ Hz, F-Ph), 160.0, 141.0, 135.2, 133.5, 132.3, 131.1, 130.6, 126.9 (q, $3J_{\text{FC}} = 4.9$ Hz), 126.4 (q, $2J_{\text{FC}} = 30.2$ Hz), 122.9 (q, $1J_{\text{FC}} = 273.8$ Hz, CF_3), 122.3, 122.2, 120.9 (q, $1J_{\text{FC}} = 266.5$ Hz, CF_3), 118.1, 117.2, 117.0, 62.8, 44.9, 30.5, 24.0, 21.7, 19.8
3c	9.34 (s, 1H), 8.54 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 8.04~7.64 (m, 8H), 4.75 (m, 1H), 3.51 (dt, $J = 11.1, 3.5$ Hz, 1H), 2.16~1.38 (m, 8H).	160.4, 142.2, 141.0, 133.9, 133.6, 132.8, 131.2, 130.9, 130.3, 128.3, 127.2, 127.1, 127.0, 124.0 (q, $1J_{\text{FC}} = 272.7$ Hz, CF_3), 122.9 (q, $1J_{\text{FC}} = 274.2$ Hz, CF_3), 122.3, 122.0, 120.5, 118.7, 62.9, 44.8, 30.7, 24.1, 21.5, 19.5
3d	9.42 (s, 1H), 8.63 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 8.00~7.50 (m, 8H), 4.20 (m, 1H), 3.37 (dd, $J = 10.7, 3.0$ Hz, 1H), 2.36~1.13 (m, 8H).	160.5, 142.2, 141.0, 140.7, 133.9, 133.6, 132.8, 131.2, 130.9, 130.3, 128.3, 127.2, 127.1, 127.0 (q, $3J_{\text{FC}} = 5.5$ Hz), 124.0 (q, $1J_{\text{FC}} = 272.6$ Hz, CF_3), 122.9 (q, $1J_{\text{FC}} = 274.1$ Hz, CF_3), 120.4, 118.6, 62.9, 44.8, 30.7, 24.1, 21.5, 19.5
3e	9.33 (s, 1H), 8.53 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 8.06~7.30 (m, 8H), 4.75 (m, 1H), 3.50 (dt, $J = 12.0, 3.5$ Hz, 1H), 2.17~1.31 (m, 8H).	162.1 (d, $1J_{\text{FC}} = 246.4$ Hz, F-Ph), 160.5, 140.7, 140.3, 140.2, 133.9, 133.6, 131.6, 131.0, 130.0 (q, $2J_{\text{FC}} = 39.3$ Hz), 127.0 (q, $3J_{\text{FC}} = 5.3$ Hz), 122.9 (q, $1J_{\text{FC}} = 273.3$ Hz, CF_3), 119.6 (q, $1J_{\text{FC}} = 270.3$ Hz, CF_3), 122.7, 121.9, 117.5, 114.4, 62.9, 44.8, 30.7, 24.1, 21.5, 19.5
3f	9.39 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.21~7.41 (m, 9H), 4.77 (m, 1H), 3.55 (dt, $J = 11.1, 3.4$ Hz, 1H), 2.17~1.15 (m, 8H).	161.3, 140.9, 140.4, 135.9, 133.9, 133.6, 132.7, 131.4, 131.2, 130.9, 128.7, 127.0 (q, $3J_{\text{FC}} = 5.2$ Hz), 126.5 (q, $2J_{\text{FC}} = 28.7$ Hz), 125.2, 122.8 (q, $1J_{\text{FC}} = 274.3$ Hz, CF_3), 121.7, 120.3, 107.9 (t, $1J_{\text{FC}} = 236.4$ Hz, HCF_2), 62.9, 44.9, 30.5, 24.0, 21.7, 19.8
3g	9.39 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.19~7.38 (m, 9H), 4.76 (m, 1H), 3.55 (dt, $J = 11.7, 3.6$ Hz, 1H), 2.24~1.34 (m, 8H).	162.5 (d, $1J_{\text{FC}} = 246.9$ Hz, F-Ph), 161.5, 140.0, 136.1, 135.9, 133.9, 133.6, 131.2, 130.9, 128.5, 128.4, 127.0 (q, $3J_{\text{FC}} = 5.5$ Hz), 126.5 (q, $2J_{\text{FC}} = 30.2$ Hz), 122.9 (q, $1J_{\text{FC}} = 274.3$ Hz, CF_3), 122.9, 119.9, 116.4, 116.3, 107.9 (t, $1J_{\text{FC}} = 235.6$ Hz, HCF_2), 62.9, 44.9, 30.5, 24.0, 21.7, 19.7
3h	9.35 (s, 1H), 8.50 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 8.19~7.63 (m, 7H), 4.75 (m, 1H), 3.52 (s, 1H), 2.20~1.37 (m, 8H).	160.1, 141.6, 141.5, 136.6, 135.6, 133.9, 133.6, 132.7, 131.6, 131.3, 131.0, 130.2, 128.9, 127.0 (q, $3J_{\text{FC}} = 5.3$ Hz), 126.1, 122.9 (q, $1J_{\text{FC}} = 273.3$ Hz, CF_3), 119.4 (q, $1J_{\text{FC}} = 270.3$ Hz, CF_3), 118.4, 62.9, 44.8, 30.7, 24.1, 21.6, 19.6
3i	9.41 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 8.22~7.36 (m, 8H), 4.76 (m, 1H), 3.54 (d, $J = 11.7$ Hz, 1H), 2.19~1.34 (m, 8H).	161.1, 140.5, 137.2, 136.2, 136.0, 133.9, 133.6, 133.1, 131.5, 131.3, 131.0, 130.0, 128.5, 127.0 (q, $3J_{\text{FC}} = 5.2$ Hz), 126.5 (q, $2J_{\text{FC}} = 30.2$ Hz), 122.9 (q, $1J_{\text{FC}} = 274.8$ Hz, CF_3), 119.4, 107.8 (t, $1J_{\text{FC}} = 235.5$ Hz, HCF_2), 62.8, 44.9, 30.5, 24.0, 21.7, 19.7
3j	9.35 (s, 1H), 8.50 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 8.16~7.53 (m, 8H), 4.76 (m, 1H), 3.52 (s, 1H), 2.22~1.37 (m, 8H).	160.2, 141.3, 141.1, 136.6, 136.5, 133.9, 133.6, 132.7, 131.4, 131.2, 130.9, 130.5, 130.0, 128.6, 127.0 (q, $3J_{\text{FC}} = 5.3$ Hz), 126.4, 122.9 (q, $1J_{\text{FC}} = 273.3$ Hz, CF_3), 119.4 (q, $1J_{\text{FC}} = 270.3$ Hz, CF_3), 62.9, 44.8, 30.7, 24.1, 21.6, 19.6
3k	9.28 (s, 1H), 8.57 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.81~7.62 (m, 7H), 4.73 (m, 1H), 3.51 (dt, $J = 12.1, 3.3$ Hz, 1H), 2.08~1.37 (m, 8H).	159.2, 140.1, 139.8, 135.6, 135.0, 134.0, 133.5, 131.1, 130.8, 130.1, 129.0, 127.9, 127.8, 126.9 (q, $3J_{\text{FC}} = 5.0$ Hz), 126.3, 122.9 (q, $1J_{\text{FC}} = 274.8$ Hz, CF_3), 120.5 (q, $1J_{\text{FC}} = 270.3$ Hz, CF_3), 116.6, 62.8, 45.1, 30.8, 24.2, 21.6, 19.4
3l	9.28 (s, 1H), 8.57 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.86~7.54 (m, 7H), 4.73 (m, 1H), 3.51 (dt, $J = 12.1, 3.3$ Hz, 1H), 2.11~1.37 (m, 8H).	159.1, 140.1, 139.8, 135.6, 135.0, 134.0, 133.5, 131.1, 130.8, 130.1, 129.0, 127.9, 127.0 (q, $3J_{\text{FC}} = 5.1$ Hz), 126.1, 126.0, 122.9 (q, $1J_{\text{FC}} = 273.3$ Hz, CF_3), 120.5 (q, $1J_{\text{FC}} = 270.3$ Hz, CF_3), 116.4, 62.8, 45.1, 30.8, 24.2, 21.6, 19.4
3m	9.28 (s, 1H), 8.60 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.81~7.62 (m, 8H), 4.70 (m, 1H), 3.51 (dt, $J = 12.0, 3.7$ Hz, 1H), 2.07~1.34 (m, 8H).	159.3, 139.8, 139.6, 136.8, 134.0, 133.5, 131.1, 130.8, 130.4, 130.0, 128.8, 127.0 (q, $3J_{\text{FC}} = 5.1$ Hz), 126.2, 126.1, 126.0, 122.9 (q, $1J_{\text{FC}} = 273.3$ Hz, CF_3), 120.6 (q, $1J_{\text{FC}} = 270.3$ Hz, CF_3), 116.4, 62.8, 45.1, 30.8, 24.2, 21.6, 19.4
3n	9.29 (s, 1H), 8.61 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 8.04~7.65 (m, 7H), 4.74 (m, 1H), 3.60~3.45 (m, 1H), 2.11~1.30 (m, 8H).	159.0, 140.5, 140.2, 139.9, 134.0, 133.5, 130.8, 130.4, 130.2, 129.0, 127.3, 126.9 (q, $3J_{\text{FC}} = 5.2$ Hz), 126.8, 126.7, 126.2, 124.0 (q, $1J_{\text{FC}} = 271.8$ Hz, CF_3), 123.0 (q, $1J_{\text{FC}} = 274.8$ Hz, CF_3), 120.5 (q, $1J_{\text{FC}} = 270.3$ Hz, CF_3), 117.0, 62.8, 45.1, 30.8, 24.2, 21.6, 19.4

基团的吸电子能力比 CONH 强，所以在前者所连接的环己烷上 CH 的化学位移相较于后者向低场

区移动，在谱图中一个化学位移在 4.7 附近，裂分为多重峰；另一个化学位移在 3.5 附近，裂分为

图1 化合物 **3g** 的核磁氢谱Fig. 1 The ^1H NMR of compound **3g**图2 化合物 **3g** 的核磁共振碳谱Fig. 2 The ^{13}C NMR of compound **3g**

dt 峰, 耦合常数分别为 11.7 Hz 和 3.6 Hz。

在 ^{13}C NMR 中 (图 2), 化合物 **3g** 中环己烷上 6 个碳的化学位移位于 19.0~63.0 之间, 苯环碳的化学位移普遍位于 120.0~140.0 之间, 但连有氟原子的苯环碳位移在 162.5 附近, 并裂分成双峰, 耦合常数为 246.9 Hz。酰胺结构中的羰基位移在 161.5 附近; 二氟甲基碳位于 108.0 附近, 裂分为三重峰, $1J_{\text{FC}}=235.6$ Hz; 三氟甲基碳位于 123.0 附近, 裂分为 4 重峰, $1J_{\text{FC}}=274.3$ Hz, 与其相连的苯环碳的 $2J_{\text{FC}}=30.2$ Hz, $3J_{\text{FC}}=5.5$ Hz。

多数含有 1 个二氟甲基和 1 个三氟甲基的化合物中, 两个含氟碳原子的裂分比较清楚。含有 2 个或 3 个三氟甲基的结构中, 因为耦合裂分峰的重叠, 一般只能分辨出较高的 2 条峰的耦合裂分情况。

化合物 **3g** 的单晶结构 (CCDC:1864629) 见图 3, 其立体结构为顺式, 其中 SO_2NH 基团位于平伏键, C7 为 *S* 构型, CONH 位于直立键, C12 为 *R* 构型。分子内的 2 个氢键有利于晶体结构的稳定存在。另外, **3g** 的高分辨质谱理论值为 595.100 0, 实测值为 595.100 1。

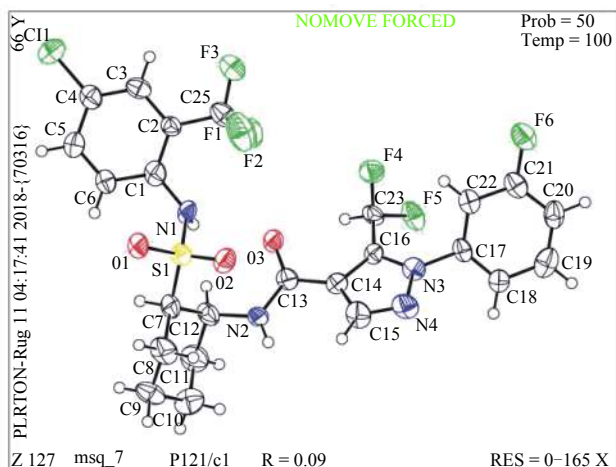


图 3 化合物 3g 的单晶结构

Fig. 3 X-ray crystal structure of compound 3g

表 3 化合物 3a~3n 对番茄灰霉病菌的离体杀菌活性

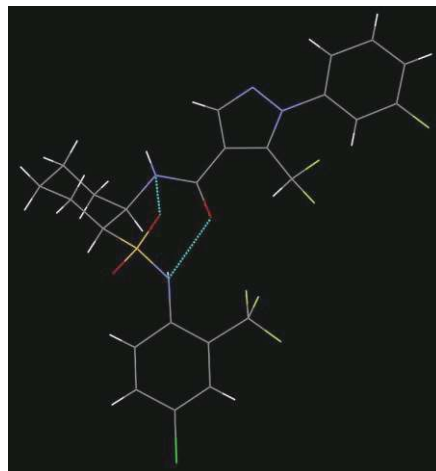
Table 3 The bioactivity of compounds 3a~3n against *B. cinerea* in vitro

化合物 Compd.	EC ₅₀ 值 (95%置信限) EC ₅₀ value(95% confidence interval)/(mg/L)			孢子萌发抑制率 (10 mg/L) Inhibition rate against spore germination/%
	KZ-9	CY-09	AS-11	
3a	4.28 (1.34~13.67)	9.85 (4.20~23.09)	15.14 (5.36~48.75)	88
3b	16.80 (6.73~41.91)	/	/	63
3c	16.33 (6.52~40.92)	19.38 (10.97~34.23)	35.21 (10.37~119.6)	89
3d	>50	/	/	83
3e	10.08 (3.81~26.62)	7.69 (4.09~14.45)	22.59 (10.27~49.67)	91
3f	>50	/	/	84
3g	>50	/	/	85
3h	>50	/	/	88
3i	>50	/	/	90
3j	11.31 (4.67~26.40)	>50	14.11 (4.94~49.29)	84
3k	31.07 (13.10~73.69)	/	/	80
3l	>50	/	/	87
3m	22.58 (13.00~32.04)	/	/	68
3n	>50	/	/	81
啉酰菌胺 boscalid	3.95 (1.86~8.39)	0.68 (0.29~1.57)	2.94 (1.76~4.91)	100
腐霉利 procymidone	<0.01	5.83 (3.51~9.70)	<0.01	82

“/”表示无数据 (No data)。

2.2 杀菌活性

2.2.1 离体杀菌活性 由于采自不同地区的灰霉菌株生长环境和用药水平不同,所以对相同化合物的敏感性也不同。菌丝生长速率法测定结果(表3)表明:14个目标化合物对敏感性较高的菌株 KZ-9 的菌丝生长均有不同程度的抑制作用,其中化合物 3a、3e 和 3j 的 EC₅₀ 值分别为 4.28、10.08 和 11.31 mg/L,杀菌活性较好,但其对敏感性较低的菌株 CY-09 和 AS-11 活性略差。总体来看,目标化合物对番茄灰霉病菌菌丝生长的抑制



活性低于对照药剂啉酰菌胺和腐霉利。孢子萌发试验结果(表3)表明,目标化合物对灰霉病菌孢子萌发具有较高的抑制活性,在 10 mg/L 下,有 10 个化合物的抑制率高于腐霉利(82%),其中化合物 3e 和 3i 抑制率大于 90%,接近对照药剂啉酰菌胺(100%)。

2.2.2 活体杀菌活性 盆栽法测定结果(表4)表明:在 200 mg/L 下,大部分目标化合物对番茄叶片上的灰霉病菌具有较好的防治效果,其中有 9 个化合物的防治效果超过了对照药剂啉酰菌胺

表 4 化合物 **3a~3n** 对番茄灰霉病菌的活体盆栽试验
Table 4 The bioactivity of compounds **3a~3n** against

化合物 Compd.	<i>B. cinerea</i> in vivo (200 mg/L)	
	防治效果 Control efficacy/%	
	叶片 Leaf	花 Flower
3a	75.4	/
3b	45.2	/
3c	69.4	46.8
3d	80.2	32.2
3e	77.5	65.2
3f	78.4	33.4
3g	78.0	42.9
3h	28.0	/
3i	67.6	28.6
3j	68.7	29.1
3k	54.9	/
3l	—	/
3m	53.8	/
3n	78.2	21.5
啶酰菌胺 boscalid	59.8	30.3
腐霉利 procymidone	44.9	28.9

注 (Note): “/” 表示无数据 (No data); “—” 表示无防效 (No fungicidal activity)。

(59.8%) 和腐霉利 (44.9%)，化合物 **3d** 的防治效果超过了 80%。由表 4 中数据还可看出，包含对照药剂在内的所有药剂在番茄花上的防治效果均明显低于叶片上的，其中化合物 **3e** 在叶上的防治效果为 77.5%，在花上的也达到 65.2%，显示出了优异的杀菌活性。

2.2.3 目标化合物的构效关系分析 1-甲基-3-二氟甲基-1*H*-吡唑-4-酰胺是多种已商品化吡唑酰胺杀菌剂中共有的结构，包含该结构的化合物 **3a** 表现出了较好的杀菌活性。与化合物 **3a** 相比，其余 13 个目标化合物均表现出了良好的杀菌活性。从构效关系上来看，当吡唑环上 1-位为氟取代苯基时化合物的活性较高，当 1 位为氯或溴取代苯基时活性相对较差，如化合物 **3b** 和 **3e** 对菌丝的抑制活性明显优于化合物 **3d**、**3f** 和 **3n** 等，其中化合物 **3e** (吡唑环 1-位为 3-氟苯基、5 位为三氟甲基) 在菌丝生长、孢子萌发和活体盆栽试验中均表现出较好的杀菌活性。

3 结论

笔者以 1-甲基-3-二氟甲基吡唑-4-羧酸为对照结构，以系列 1-取代苯基吡唑-4-羧酸化合物 (**1**) 为原料，通过 EDCI/HOBt 酰胺化法与 *N*-(2-三氟

甲基-4-氯苯基)-2-氨基环己烷基磺酰胺 (**2**) 反应，合成了 14 个未见文献报道的吡唑酰胺类标题化合物 (**3**)，产率均较高 (60%~90%)。

生物活性测试结果表明，目标化合物 **3** 对灰霉病菌具有良好的杀菌活性。从初步结构与活性关系看，与吡唑环 1-位为甲基的吡唑酰胺 (**3a**) 相比，在 1-位引入氟取代苯基能够提升化合物对灰霉病菌的杀菌活性，特别是化合物 **3e**，对菌丝生长的 EC₅₀ 值为 10.08 mg/L，在 10 mg/L 下对孢子萌发的抑制率高达 91%，在 200 mg/L 时对番茄叶和花上灰霉病菌的防治效果分别为 77.5% 和 65.2%，总体表现出了优异的杀菌活性，有进一步研究的价值。

参考文献 (Reference):

- [1] 周卫平. 新颖内吸杀菌剂 furametpyr[J]. 农药译丛, 1998, 20(20): 62-63.
ZHOU W P. The novel fungicide furametpyr[J]. Nongyao Yicong, 1998, 20(20): 62-63.
- [2] 禾丽菲, 李晓旭, 朱佳美, 等. 不同杀菌剂对黄瓜靶斑病菌的毒力作用特性比较[J]. 农药学报, 2018, 20(1): 25-32.
HE L F, LI X X, ZHU J M, et al. Comparison of toxicity properties of different types of fungicides against *Corynespora cassiicola* on cucumber[J]. Chin J Pestic Sci, 2018, 20(1): 25-32.
- [3] 罗梁锋. 新一代琥珀酸脱氢酶抑制剂联苯吡菌胺[J]. 世界农药, 2018, 40(1): 63-64.
LUO L F. A new succinic acid dehydrogenase inhibitor: bixafen[J]. World Pesticides, 2018, 40(1): 63-64.
- [4] 姜桦韬, 尤祥伟, 张广雨, 等. QuEChERS-液相色谱-串联质谱法检测糙米中氟唑环菌胺的残留[J]. 农药学报, 2018, 20(1): 124-128.
JIANG H T, YOU X W, ZAHNG G Y, et al. Determination of sedaxane in brown rice by QuEChERS-liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chin J Pestic Sci, 2018, 20(1): 124-128.
- [5] 顾林玲. 吡唑酰胺类杀菌剂: 氟唑菌苯胺[J]. 现代农药, 2013, 12(2): 44-47.
GU L L. Penflufen, a new pyrazole-carboxamide fungicide[J]. Modern Agrochem, 2013, 12(2): 44-47.
- [6] 党铭铭, 刘民华. 新型杀菌剂 Benzovindiflupyr[J]. 精细化工中间体, 2017, 47(3): 7-10.
DANG M M, LIU M H. A novel fungicide: benzovindiflupyr[J]. FINE CHEMICAL INTERMEDIATES, 2017, 47(3): 7-10.
- [7] RAJAN R, WALTER H, STIERLI D. Preparation of pyrazolecarboxylic acid alkoxyamides as agrochemical microbicides: WO 2010063700A2[P]. 2010-06-10.
- [8] 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.
QIU S S, BAI Y L. Progress on research and development of succinate dehydrogenase inhibitor fungicides (II)[J]. Mod Agrochem,

- 2015, 14(1): 1-7.
- [9] WANG M L, RUI P, LIU C X, et al. Design, synthesis and fungicidal activity of 2-substituted phenyl-2-oxo-, 2-hydroxy- and 2-acyloxyethylsulfonamides[J]. *Molecules*, 2017, 22(5): 738.
- [10] LIU C X, YAN X J, WANG M L, et al. Design, synthesis and fungicidal activity of novel 2-substituted aminocycloalkylsulfonamides[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, 27(2): 271-276.
- [11] 王闯龙, 曲圣极, 纪明山, 等. 2-吡啶酰氨基环己烷基磺酰胺的合成与杀菌活性[J]. *农药学报*, 2017, 19(2): 169-175.
- WANG M L, QU S J, JI M S, et al. Synthesis and fungicidal activity of 2-pyridinecarboxamide cyclohexylsulfonamides[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2017, 19(2): 169-175.
- [12] 杨永贵, 孟司奇, 祁之秋, 等. 2-噻唑酰氨基环己烷基磺酰胺的合成与杀菌活性[J]. *农药学报*, 2018, 20(3): 287-293.
- YANG Y G, MENG S Q, QI Z Q, et al. Synthesis and fungicidal activity evaluation of 2-thiazolylamide cyclohexane-sulfonamide[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2018, 20(3): 287-293.
- [13] 鲍志远, 黄苇静, 宋涵博, 等. 1-取代苯基-5-三氟甲基(二氟甲基)-4-吡唑甲酸的合成研究[J]. *化学试剂*, 2018, 40(1): 26-30.
- BAO Z Y, HUANG W J, SONG H B, et al. Synthesis of 5-trifluoromethyl (difluoromethyl)-1-substitutedphenyl-1H-pyrazole-4-carboxylic acid[J]. *Chem Reag*, 2018, 40(1): 26-30.
- [14] 王道全, 李兴海, 梁晓梅, 等. 2-氧代环烷基磺酰胺, 其制备方法和作为杀菌剂的用途: CN1900059A[P]. 2007-01-24.
- WANG D Q, LI X H, LIANG X M, et al. 2-Keto naphthene sulfamide, its preparing method and use as germicide: CN1900059A[P]. 2007-01-24.
- [15] 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]. 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: The Ministry of Agriculture of the People's Republic of China, 2006.
- [16] 农药室内生物测定试验准则 杀菌剂 第1部分: 抑制病原真菌孢子萌发试验 凹玻片法: NY/T1156. 1—2006[S]. 北京: 中国农业出版社, 2006.
- Pesticides guidelines for laboratory bioactivity tests Part 1: Determining fungicide inhibition of pathogen spore germination on concave slides: NY/T1156. 1—2006[S]. Beijing: China Agriculture Press, 2006.
- [17] 农药田间药效试验准则 (一) 杀菌剂防治蔬菜灰霉病: GB/T 17980.28—2000[S]. 北京: 中国标准出版社, 2000.
- Pesticide-Guidelines for the field efficacy trials(I): Fungicides against grey mould of vegetables: GB/T 17980. 28—2000[S]. Beijing: Standards Press of China, 2000.

(责任编辑: 金淑惠)

欢迎订阅《农药快讯》《现代农药》全媒体

“《农药快讯》《现代农药》全媒体”是集“两刊、两网与微信”为一体的全方位、多视角的信息集散中心, 将信息与技术有机糅合, 是新媒体与传统纸刊的高度统一。《农药快讯》(半月刊) 始创于1985年, 着重报道农药的政策法规和管理动态, 及时传播我国农药工业的科技创新和科研成果, 再现海外农药公司和研发的最新动态, 介绍农药的相关知识等。是农资系统、植保领域、科研院所、生产企业、农技推广部门以及个体经营和种植者等乐于查阅的宝贵资料。《现代农药》(双月刊), 是中国科技核心期刊、中国农药行业科技类重点刊物, 是美国《化学文摘》(CA)、中国核心期刊(遴选)数据库、中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊、中文科技期刊数据库等收录期刊。该刊及时报道中国农药研究技术最新进展, 密切关注国内外农药机构、农药品种及市场的最新动态, 着力展示中国农药行业发展水平, 促进农药界的技术交流与进步。适合于广大从事农药生产、科研、开发、教学、管理、销售、推广及应用等人员订阅。目前“现代农药(www.xdneyqk.com)”网站已正式上线, 可提供全文下载服务, 并开通了在线采编功能, 可实现“网上投稿、专家审稿、稿件进度查询”等“一线”完成。“农药快讯信息网(www.agroinfo.com.cn)”, 全真收录了《农药快讯》的各期内容, 2014年又新增了“现代农药”“新闻资讯”“海外市场”“上市公司”及“产品开发”等众多子模块, 旨在全方位追踪农药工业的发展动态。公众号“现代农药”、微信号“M-pesticide-E”是《现代农药》和《农药快讯》联手打造、获得官方论证的微信公众平台, 她以快捷的方式倾心为您传递农药相关资讯。

欢迎订阅: 《农药快讯》(纸质版) 定价 300.00 元/年, 12.50 元/期, 自办发行。《农药快讯》(电子版) 定价 200.00 元/年, 定期通过电子邮箱或 QQ 发送。《现代农药》定价 120.00 元/年, 20.00 元/期。自办发行及邮局订阅, 邮发代号 28-304。

汇款信息: 开户行: 中国银行南京新港支行, 帐号: 488 466 545 445; 收款单位: 江苏省农药研究所股份有限公司。

地址: 南京经济技术开发区恒竞路 31-1 号(邮编 210046), 《农药快讯》《现代农药》编辑部。

联系人: 靳红华, 柏亚罗; 电话: 025-86581148. E-mail: nyxxz@263.net(农药快讯), agrochem@263.net(现代农药)。