

## 3种新型端炔氟虫腓的合成及杀虫活性

鲁冬林, 徐汉虹

(天然农药与化学生物学教育部重点实验室, 华南农业大学 昆虫毒理研究室, 广东 广州 510642)

**摘要:**将氟虫腓与3种端炔氯氨基甲酸酯反应, 合成了3种含氨基甲酸酯结构片断的端炔氟虫腓, 探讨了其合成条件, 结果表明, KOH和四丁基碘化铵(TBAI) [ $n(\text{KOH}):n(\text{TBAI})=20:1$ ]与 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 的组合为理想的反应体系. 在此条件下, 3种目标化合物的产率分别为71%、64%和75%. 杀虫活性测定结果表明, 3种目标化合物对白蚊伊蚊 *Aedes albopictus*、亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* 和小菜蛾 *Plutella xylostella* 的杀虫活性稍优于氟虫腓.

**关键词:** 氟虫腓; 氨基甲酸酯; 端炔; 杀虫活性

中图分类号: S482.3

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2010)04-0049-03

### Synthesis and Insecticidal Activities of Three New Acetylene-Terminated Fipronils

LU Dong-lin, XU Han-hong

(Key Laboratory of Natural Pesticide and Chemical Biology, Ministry of Education, Laboratory of Insect Toxicology, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** Three new acetylene-terminated fipronils containing carbamate groups were synthesized from the parent insecticide fipronil. The synthesis conditions were explored and the results was showed that the ideal base-solvent combination was KOH/TBAI [ $n(\text{KOH}):n(\text{TBAI})=20:1$ ]- $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . The productivities of the title compounds in that condition were 71%, 64% and 75%, respectively. The results of bioassay proved that three title compounds exhibited better activity than fipronil against *Aedes albopictus*, *Ostrinia furnacalis* and *Plutella xylostella*.

**Key words:** fipronil; carbamate; terminal alkyne; insecticidal activity

氟虫腓是一种作用于 $\gamma$ -氨基丁酸受体芳基吡唑类杀虫剂, 由于对蜜蜂和甲壳类水生生物毒性大, 我国自2009年7月1日起全面禁用氟虫腓, 对氟虫腓的改造具有重要意义. 目前国内外直接以氟虫腓为原料进行衍生改造的报道较少, 改造部位为吡唑环5-氨基<sup>[1-3]</sup>和3-三氟亚磺酰基<sup>[4]</sup>. 华南农业大学天然农药与化学生物学教育部重点实验室在导向农药理论指导下, 合成了炔丙基氟虫腓, 并在此基础上合成了系列葡萄糖氟虫腓偶合物, 将点击化学和糖化学成功地应用于氟虫腓的多途径衍生改造<sup>[5]</sup>. 但是, 进行此类研究的关键是在氟虫腓上引入端炔. 为了获得含端炔的氟虫腓, 本研究以3种含端炔的

醇为起始原料, 经三光气氯化后再分别与氟虫腓反应, 获得了3种端炔基氨基甲酸酯氟虫腓, 优化了该反应的合成条件, 测定了3种端炔基氨基甲酸酯氟虫腓的杀虫活性.

## 1 材料与方法

### 1.1 实验仪器与材料

Bruker600型核磁共振仪, 瑞士Bruker公司制造; LABOROTA 4001型旋转蒸发仪, 德国Heidolph公司制造; 85-2型恒温磁力搅拌器, 上海司乐仪器公司制造; ZF-6型三用紫外线分析仪, 上海嘉鹏科技有限公司制造; 硅胶, 青岛海洋化工厂生产; 四丁基

收稿日期: 2010-03-25

作者简介: 鲁冬林(1984—), 男, 硕士研究生; 通信作者: 徐汉虹(1961—), 男, 教授, 博士, E-mail: hhxu@scau.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金(30840058, 30971945)

碘化铵(TBAI),江苏强盛化工有限公司生产;其他试剂原料均为市售分析纯.

白纹伊蚊 *Aedes albopictus*、亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* 及小菜蛾 *Plutella xylostella* 由华南农业大学天然农药与化学生物学教育部重点实验室提供.

### 1.2 中间体4、5、6的合成

参照文献[6-7]的方法,向无水乙醚(30 mL)中加入三光气(7.5 mmol),室温下搅拌过夜.在0 °C下向上述反应体系中缓慢滴入炔醇(1 mmol)1、2、3的无水乙醚(10 mL)溶液,室温下搅拌12 h,过滤,减压浓缩至淡黄色液状物4、5、6.

### 1.3 目标化合物7、8、9的合成

参照文献[7-9]的方法,将氟虫腓(0.5 mmol)、KOH(2 mmol)和TBAI(0.1 mmol)加入到CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(5 mL)中,在冰浴下分别缓慢滴入中间体4(1 mmol)的CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(5 mL)溶液于室温下反应,TLC跟踪反应进度.反应毕,依次向反应体系中加入CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(30 mL)和水(10 mL),过滤,丙酮洗涤滤渣2~3次,减压浓缩至干,硅胶柱层析[洗脱剂为V(石油醚):V(乙酸乙酯)=1:2]得到化合物7.按照同样的方法合成了化合物8和9.

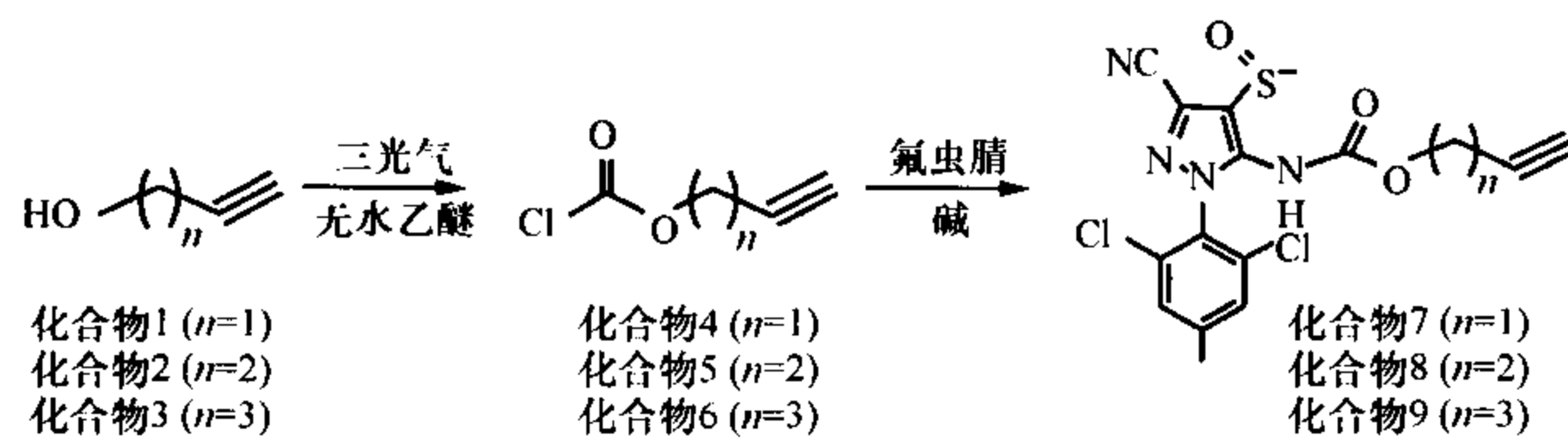


图1 化合物7、8、9的合成路线

Fig. 1 The synthesis of compound 7, 8, 9

### 1.4 目标化合物的杀虫活性

1.4.1 对白纹伊蚊的毒力测定 用脱氯自来水(含 $\varphi$ 为0.1%吐温-80和 $\varphi$ 为2%丙酮)将氟虫腓和目标化合物7、8、9分别稀释成5个浓度梯度的药液,取50 mL各浓度药液放入100 mL烧杯中,再各放入白纹伊蚊4龄幼虫10头,另设脱氯自来水(同上)为空白对照,各处理均设置3次重复.处理12 h后检查试虫死亡情况,计算校正死亡率<sup>[5]</sup>.

1.4.2 对亚洲玉米螟的毒力测定 采用饲料拌毒法.用脱氯自来水(含 $\varphi$ 为0.1%吐温-80和 $\varphi$ 为2%丙酮)将氟虫腓及化合物7、8、9分别稀释成5个浓度梯度的药液,量取各浓度药液1 mL滴加到含有1 g玉米螟人工饲料的培养皿中,搅拌均匀,待丙酮挥发干后备用.挑选大小一致的亚洲玉米螟4龄幼虫10头放入培养皿中,另设脱氯自来水(同上)为空白对照,各处理均设置3次重复.处理24 h后检查试虫死亡情况,计算校正死亡率<sup>[5]</sup>.

1.4.3 对小菜蛾的毒力测定 采用浸叶法.用脱氯

自来水(含 $\varphi$ 为0.1%的吐温-80和 $\varphi < 2\%$ 的丙酮)将氟虫腓及化合物7、8、9分别稀释成5个浓度梯度的药液.将面积大小一致的新鲜甘蓝叶片在药液中浸泡5 s,晾干后再放入垫有保湿滤纸的培养皿中,挑选大小一致的小菜蛾3龄幼虫10头,另设脱氯自来水(同上)为空白对照,各处理均设置3次重复.处理48 h后检查试虫死亡情况,计算校正死亡率<sup>[5]</sup>.

化合物的结构采用ChemDraw Ultra 9.0绘制,化合物的致死中浓度(LC<sub>50</sub>)数据采用Microsoft Excel 2007软件处理.

## 2 结果与分析

### 2.1 目标化合物的物理性质及结构表征

N-[3-腈基-1-(2,6-二氯-4-三氟甲基苯基)-4-(三氟甲基亚磺酰基)-H-吡唑-5-基]-炔丙基氨基甲酸酯(化合物7):白色固体,熔点(mp)132~133 °C;<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz)  $\delta$ : 7.96(br, s, 1H), 7.76(s, 2H), 4.63(d,  $J = 2.4$  Hz, 2H), 2.44(t,  $J = 2.4$  Hz, 1H);<sup>13</sup>C NMR(CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)  $\delta$ : 150.6, 141.5, 135.7, 135.4, 134.5(q,  $J = 34.5$  Hz), 126.5, 126.3, 126.1(q,  $J = 335$  Hz), 123.9, 121.7, 120.9(q,  $J = 274$  Hz), 109.6, 107.8, 76.1, 75.8, 54.6. EIMS  $m/z$  518[M]<sup>+</sup>.

N-[3-腈基-1-(2,6-二氯-4-三氟甲基苯基)-4-(三氟甲基亚磺酰基)-H-吡唑-5-基]-炔丁基氨基甲酸酯(化合物8):黄色固体, mp85~86 °C;<sup>1</sup>H NMR(Acetone-*d*<sub>6</sub>, 600 MHz)  $\delta$ : 10.10(br, s, 1H), 8.18(s, 2H), 4.24(m, 2H), 2.52(m, 2H), 2.44(t,  $J = 2.4$  Hz, 1H).<sup>13</sup>C NMR(Acetone-*d*<sub>6</sub>, 150 MHz)  $\delta$ : 154.9, 143.9, 138.0, 137.7, 136.7(q,  $J = 34.5$  Hz), 129.0, 128.6, 128.4(q,  $J = 334.5$  Hz), 126.7, 125.1, 123.2(q,  $J = 274$  Hz), 112.6, 111.0, 81.6, 72.5, 66.5, 20.3. EIMS  $m/z$  532[M]<sup>+</sup>.

N-[3-腈基-1-(2,6-二氯-4-三氟甲基苯基)-4-(三氟甲基亚磺酰基)-H-吡唑-5-基]-炔戊基氨基甲酸酯(化合物9):白色固体, mp107~108 °C;<sup>1</sup>H NMR(Acetone-*d*<sub>6</sub>, 600 MHz)  $\delta$ : 10.10(br, s, 1H), 8.19(s, 2H), 4.25(m, 2H), 2.39(m, 2H), 2.05(t,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 1.80(m, 2H).<sup>13</sup>C NMR(Acetone-*d*<sub>6</sub>, 150 MHz)  $\delta$ : 154.5, 143.2, 138.0, 137.7, 136.6(q,  $J = 34.5$  Hz), 129.0, 128.7, 128.5(q,  $J = 334.5$  Hz), 126.7, 125.0, 123.2(q,  $J = 274$  Hz), 112.4, 111.1, 84.3, 71.6, 67.5, 29.2, 16.1. EIMS  $m/z$  546[M]<sup>+</sup>.

## 2.2 合成条件分析

Ramesh 等<sup>[8]</sup>采用  $\text{NaHCO}_3\text{-CH}_2\text{Cl}_2$  体系进行此类酰化反应,产率高且时间短,但氟虫腓与端炔氯氨基甲酸酯在该条件下不能发生反应,加入  $\text{NaOH}$  后反应体系中生成了化合物 7. 参照文献[7-9]报道的一些反应条件,以炔丙基氯氨基甲酸酯为研究对象,探讨了  $\text{NaOH}$  - 不同溶剂组合的反应体系对反应产率的影响. 由表 1 可知,以  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  为最佳溶剂;再以  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  为反应溶剂,设置了  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  - 不同碱组合的反应体系,由表 2 可知, $n(\text{KOH}):n(\text{TBAI}) = 20:1$  与  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  的组合是较理想的反应条件,按照同样的方法合成了化合物 8 和 9. 在最适反应条件下,化合物 7、8、9 的产率分别为 71%、64% 和 75%.

表 1 5 种不同溶剂下化合物 7 的产率

Tab. 1 Yields of compound 7 in five different solvents

溶剂	碱	产率/%
THF	NaOH	32
$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	NaOH	59
$\text{CHCl}_3$	NaOH	53
DMF	NaOH	36
MeCN	NaOH	38

表 2 6 种不同碱性催化剂下化合物 7 的产率

Tab. 2 Yields of compound 7 in six different alkaline catalysts

碱	溶剂	产率/%
NaOH	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	59
KOH	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	65
NaOMe	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	24
$n(\text{NaOH}):n(\text{TBAI}) = 10:1$	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	52
$n(\text{KOH}):n(\text{TBAI}) = 20:1$	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	71
$n(\text{NaOMe}):n(\text{TBAI}) = 40:1$	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	43

## 2.3 目标化合物 7、8、9 的生物活性

测定了化合物 7、8、9 对白纹伊蚊 12 h、对亚洲玉米螟 24 h 和对小菜蛾 48 h 的毒杀活性. 试验表明,化合物 7、8、9 对白纹伊蚊、亚洲玉米螟和小菜蛾均具有良好的活性,稍优于氟虫腓(表 3).

表 3 化合物 7、8、9 对 3 种害虫的生物活性<sup>1)</sup>

Tab. 3 The bioactivity of three compounds against three pests

化合物	对白纹伊蚊 12 h 的 $\text{LC}_{50}$	对亚洲玉米螟 24 h 的 $\text{LC}_{50}$	对小菜蛾 48 h 的 $\text{LC}_{50}$
7	$0.30 \pm 0.08\text{b}$	$3.22 \pm 0.74\text{b}$	$7.08 \pm 1.51\text{b}$
8	$0.31 \pm 0.09\text{b}$	$3.00 \pm 0.79\text{c}$	$7.41 \pm 2.07\text{a}$
9	$0.28 \pm 0.08\text{c}$	$3.75 \pm 0.95\text{a}$	$7.22 \pm 1.67\text{b}$
氟虫腓	$0.35 \pm 0.11\text{a}$	$3.79 \pm 0.80\text{a}$	$7.57 \pm 1.56\text{a}$

1)表中数据为平均值  $\pm$  标准误;同列数据后凡具有一个相同字母者,表示在 0.05 水平差异不显著(Duncan's 法).

## 3 讨论与结论

反应体系的碱性增强有利于增强端炔基氯甲酸酯中羰基碳原子的电负性,提高反应活性. 但碱性不宜太强,否则将引起产物中氨基甲酸酯结构的降解,导致产率下降. 相转移催化剂 TBAI 可以使不互溶的两相体系向均相体系转变,从而提高反应产率. 在  $n(\text{KOH}):n(\text{TBAI}) = 20:1$  与  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  的碱-溶剂组合条件下,化合物 7、8、9 的产率较高,反应时间较短(约 3 h).

端炔可以发生很多种反应,因此可以利用化合物 7、8、9 分子结构中端炔基团对氟虫腓作进一步的衍生改造,有利于丰富氟虫腓的改造途径. 例如:可以发生 Bergman 环加成反应;可以发生硼氢化氧化反应生成相应的醛或酮;可以与 2-吡喃酮发生 Diels-Alder 反应生成芳香化合物;可以在  $\text{Cu}^+$  的催化下与叠氮化合物发生 1,3-偶极环加成,快速大量地合成 1,2,3-三氮唑化合物等.

从本研究的生物活性测定结果来看,端炔基氨基甲酸酯氟虫腓(化合物 7、8、9)对白纹伊蚊、亚洲玉米螟和小菜蛾的杀虫活性均优于母体化合物氟虫腓,这可能是由于引入了氨基甲酸酯亚结构的缘故. 氨基甲酸酯类农药的作用机理是抑制昆虫乙酰胆碱酶(AchE)和羧酸酯酶的活性,造成乙酰胆碱(Ach)和羧酸酯的积累,影响昆虫正常的神经传导而致死. 化合物 7、8、9 的分子结构含有芳基吡唑和氨基甲酸酯 2 种亚结构,故可能同时作用于昆虫的乙酰胆碱酶和 GABA 受体,引起整个分子作用机理的改变;也可能降低氟虫腓对鱼类等水生生物和蜜蜂的毒性,减少生物富集,减轻环境污染.

### 参考文献:

- [1] LIU Chuan-xiang, QIAN Xu-hong, WANG Jiao-bing, et al. Anion recognition by a novel Fipronil-based receptor: Efficient deprotonation or stable intermolecular hydrogen bonding[J]. Tetrahedron Letters, 2008, 49(6): 1087-1090.
- [2] 程敬丽, 魏方林, 朱烈, 等. N-[3-氰基-1-(2,6-二氯-4-三氟甲基苯基)-1H-吡唑-5-基]菊酰胺类化合物的合成及生物活性[J]. 有机化学, 2008, 28(4): 622-627.
- [3] GOLLER R, VORS J P, CAMINADE A M, et al. Phosphorus dendrimers as new tools to deliver active substances[J]. Tetrahedron Letters, 2001, 42(21): 3587-3590.
- [4] BEELER A B, SCHLENK D K, RIMOLDI J M. Synthesis of fipronil sulfide, an active metabolite, from the parent insecticide fipronil[J]. Tetrahedron Letters, 2001, 42(32): 5371-5372.

(下转第 58 页)

- 版,2006,34(4):101-110.
- [15] SAHDEV S, TANEJA T K, Mohan M, et al. Baculoviral p35 inhibits oxidant-induced activation of mitochondrial apoptotic pathway [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2003, 307:483-490.
- [16] LORETTA D, REED S D. The role of cytochrome c in caspase activation in *Drosophila melanogaster* cells [J]. *Cell Biology*, 2002, 156:1089-1098.
- [17] BAXA D M, LUO X, YOSHINMURA F K. Genistein induces apoptosis in T lymphoma cells via mitochondrial damage [J]. *Nutrition and Cancer*, 2005, 51(1):93-101.
- [18] 王文祥. 印楝素、喜树碱诱导 Sf9 细胞凋亡研究 [D]. 广州:华南农业大学资源环境学院, 2006.
- [19] 钟国华, 水克娟, 吕朝军, 等. 印楝素对 SL-1 的细胞凋亡诱导作用 [J]. *昆虫学报*, 2008, 51(6):618-627.
- [20] CIRMAN T, ORRSIC K, MAZOVEC G D, et al. Selective disruption of lysosomes in HeLa cells triggers apoptosis mediated by cleavage of bid by multiple papain-like lysosomal cathepsins [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(5):3578-3587.
- [21] BOYA P, ANDREAU K, PONCET D, et al. Lysosomal membrane permeabilization induces cell death in a mitochondrion-dependent fashion [J]. *Journal of Experimental Medicine*, 2003, 197(10):1323-1334.
- [22] GUICCIARDI M E, BRONK S F, WEMEBURG N W, et al. cFLIPL prevents TRAIL-induced apoptosis of hepatocellular carcinoma cells by inhibiting the lysosomal pathway of apoptosis [J]. *American Journal of Physiology*, 2007, 292(5):337-346.
- [23] BRUNK U T, DALEN H, ROBERG K, et al. Photo-oxidative disruption of lysosomal membranes causes apoptosis of cultured human fibroblasts [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 1997, 23:616-626.
- [24] KAGEDAL K, ZHAO M, SVENSSON I, et al. Sphingosine-induced apoptosis is dependent on lysosomal proteases [J]. *Biochemical Journal*, 2001, 359:335-343.
- [25] SUTTON V R, WATERGOUSE N J, BROWNE K A, et al. Residual active granzyme B in cathepsin C-null lymphocytes is sufficient for perforin-dependent target cell apoptosis [J]. *Journal of Cell Biology*, 2007, 176(4):425-433.
- [26] BOLAND B, CAMPBELL V. Abeta-mediated activation of the apoptotic cascade in cultured cortical neurones: A role for cathepsin-L [J]. *Neurobiology of Aging*, 2004, 25(1):83-91.
- [27] YIN L, STEARNS R, GONZALEZ-FLECHA B. Lysosomal and mitochondrial pathways in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced apoptosis of alveolar type II cells [J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2005, 94(3):433-445.
- [28] ZHU De-min, UCKUN F M. Cathepsin inhibition induces apoptotic death in human leukemia and lymphoma cells [J]. *Leukemia and Lymphoma*, 2000, 39(324):343-354.
- [29] MASON K D, CARPINELLI M R, FLETECHER J I, et al. Programmed anuclear cell death delimits platelet life span [J]. *Cell*, 2007, 128(6):1173-1186.
- [30] LINTON Y M, NISBET A J, MORDUE A J. The effects of azadirachtin on the testes of the desert locust, *Sch. gregaria* (Forsk.) [J]. *Journal of Insect Physiology*, 1997, 43, 1077-1084.
- [31] AKUDUGU J, GADE G, BOHM L. Cytotoxicity of azadirachtin A in human glioblastoma cell lines [J]. *Life Science*, 2001, 68:1153-1160.

【责任编辑 李晓卉】

(上接第 51 页)

- [5] 杨文. 葡萄糖介导的导向杀虫剂的分子构建 [D]. 广州:华南农业大学资源环境学院, 2009.
- [6] RAMESH R, RAMAPANICKER Y, MEGHA R, et al. Base catalyzed cyclization of N-aryl and N-alkyl-O-propargyl carbamates to 4-alkylidene-2-oxazolidinones [J]. *Tetrahedron*, 2007, 63(37):9153-9162.
- [7] ROMERO M, CAIGNARD D H, RENARD P, et al. Synthesis of tetracyclic dioxygenated isoquinolines and their cytotoxic activity [J]. *Tetrahedron*, 2008, 64(49):11020-11027.
- [8] RAMESH R, BHAT R G, CHANDRASEKARAN S. Highly selective deblocking of propargyl carbonates in the presence of propargyl carbamates with tetrathiomolybdate [J]. *Journal of Organic Chemistry*, 2005, 70(3):837-840.
- [9] RAMESH R, CHANDRASEKARAN S. But-2-ynylbisoxycarbonyl chloride: A novel C<sub>2</sub>-symmetric reagent for the protection of amines and amino acids [J]. *Organic Letters*, 2005, 7(22):4947-4950.

【责任编辑 李晓卉】