含 1,2,4-三唑-5-硫酮席夫碱的新型 1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶衍生物的合成及生物活性研究

熊启中 林选福 刘军虎 毕亮 鲍小平*

(贵州大学精细化工研究开发中心 教育部绿色农药与农业生物工程重点实验室 贵阳 550025)

摘要 以 2-苄硫基-5-甲基-7-羟基-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶为原料, 经醚化、肼解、成盐、关环和席夫碱反应合成了 20 个新型的含 1,2,4-三唑-5-硫酮席夫碱的 1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶类化合物, 通过 IR, ¹H NMR, MS 和元素分析对所合成的化合物进行了结构表征. 初步生物活性测试结果表明, 部分化合物表现出一定的抑菌或较好的抗烟草花叶病毒(TMV)活性. 在 500 μg/mL 浓度下, 化合物 **6b**, **6f** 和 **6p** 对 TMV 的抑制率分别为 41%, 43% 和 40%.

关键词 1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶; 1,2,4-三唑-5-硫酮席夫碱; 合成; 生物活性

Synthesis and Bioactivities of Novel 1,2,4-Triazolo[1,5-*a*]pyrimidine Derivatives Containing 1,2,4-Triazole-5-thione Schiff Base Unit

Xiong, Qizhong Lin, Xuanfu Liu, Junhu Bi, Liang Bao, Xiaoping*

(Key Laboratory of Green Pesticide and Agricultural Bioengineering, Ministry of Education, Center for Research and Development of Fine Chemicals, Guizhou University, Guiyang 550025)

Abstract Using 2-benzylthio-5-methyl-7-hydroxyl-1,2,4-triazolo[1,5-*a*]pyrimidine as starting compound, twenty novel 1,2,4-triazolo[1,5-*a*]pyrimidine derivatives containing 1,2,4-triazole-5-thione Schiff-base unit were synthesized through sequential reactions of etherification, hydrazinolysis, salification, cyclization and condensation. Target compounds were fully characterized by IR, ¹H NMR, MS techniques and elemental analysis. Preliminary bioassay indicated that some compounds exhibited certain fungicidal or good anti-TMV activities. At the concentration of 500 μg/mL, the inhibition rates of compounds **6b**, **6f** and **6p** against tobacco mosaic virus (TMV) were 41%, 43% and 40%, respectively.

Keywords 1,2,4-triazolo[1,5-*a*]pyrimidine; 1,2,4-triazole-5-thione Schiff-base; synthesis; bioactivity

1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶类衍生物具有优良的生物活性, 在农药和医药领域有着广泛的应用, 如杀菌^[1,2]、除草^[3,4]、抗癌^[5,6]、抗病毒^[7,8]等. 目前已商品化的 1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶类除草剂有唑嘧磺草胺、磺草唑胺和甲氧磺草胺等. 三唑硫酮类席夫碱衍生物也是一类具有广谱生物活性的化合物, 在农药活性方面被用于抗黄瓜花叶病毒(CMV)^[9]、杀菌^[10,11]和杀虫^[12]等. 联杂环化合物的合成及生物活性研究已成为当前绿色农药的一个重要发展方向. 2008 年陈琼等^[13]在 1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶环的 2 位通过硫醚桥引入三唑硫酮席夫碱, 部分化合物表现出较好的杀菌和除草活性. 本文根据活性单元拼接的原理将三唑硫酮席夫碱单元通过亚甲基醚桥引

入到 1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶环的 7 位, 以期实现活性叠加, 从而获得更具修饰潜力的农药先导化合物. 文中设计合成了 20 个含三唑硫酮席夫碱单元的 2-苄硫基-5-甲基-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶类化合物 **6**, 测试了它们的抗菌和抗烟草花叶病毒(TMV)活性, 合成路线见图 1.

1 结果与讨论

1.1 波谱分析

在 ¹H NMR 中, **6a**~**6t** 的 5-CH₃ 的 δ 在 2.46 左右, SCH₂ 的 δ 在 4.35 左右, OCH₂ 的 δ 在 5.65 左右, 嘧啶环芳氢的 δ 在 6.08 左右, 席夫碱亚胺 CH 的 δ 在 10.00 左右, 三唑硫酮 NH 的 δ 在 14.00 左右. IR 中 **6a**~**6t** 的

* E-mail: baosp_1980@yahoo.com.cn

Received December 23, 2011; revised February 22, 2012; published online March 29, 2012.

Project supported by the Governor's Foundation for Excellent Talents of Science, Technology & Education of Guizhou Province (No. 200817) and the Natural Science Foundation of Guizhou Province (No. 20082265).

贵州省优秀科技教育人才省长专项资金(No. 200817)和贵州省自然科学基金(No. 20082265)资助项目.

6a: Ar = 4-FC₆H₄, 6b: Ar = 2-FC₆H₄, 6c: Ar = 4-CF₃C₆H₄
 6d: Ar = 4-CH₃OC₆H₄, 6e: Ar = 2-CH₃OC₆H₄, 6f: Ar = 2-ClC₆H₄
 6g: Ar = 4-ClC₆H₄, 6h: Ar = 3-CH₃O-4-HOC₆H₃, 6i: Ar = 3-OH-4-CH₃OC₆H₃, 6j: Ar = 3-NO₂C₆H₄, 6k: Ar = 4-NO₂C₆H₄, 6l: Ar = 2-HOC₆H₄, 6m: Ar = 4-CH₃C₆H₄, 6n: Ar = 2-pyrrolyl, 6o: Ar = 2,3-Cl₂C₆H₃, 6p: Ar = 2-Cl-5-NO₂C₆H₃, 6q: Ar = 3,4,5-(CH₃O)₃C₆H₂
 6r: Ar = C₆H₅, 6s: Ar = 4-(CH₃)₂NC₆H₄, 6t: Ar = C₆H₅CH=CH

图1 目标化合物6a~6t的合成路线

Figure 1 Synthetic route of target compounds 6a~6t

N—H的伸缩振动峰在3200 cm⁻¹左右, 席夫碱亚胺C=N的伸缩振动峰在1610 cm⁻¹左右, 三唑硫酮C=S的伸缩振动峰在1260 cm⁻¹左右.

1.2 目标化合物抗菌及抗TMV活性

从表1可知, 部分目标化合物表现出一定的抑菌活性. 在50 μg/mL浓度下, 化合物6m和6t对小麦赤霉病菌的抑制率为45%和41%, 化合物6p和6r对辣椒枯萎病菌的抑制率为43%和44%. 对6a~6t的构效关系进行初步分析表明, 芳基上(Ar)取代基的推拉电子效应对化

合物的抑菌活性没有规律性影响. 同等测试条件下, 起始原料1对5种真菌的抑制率均低于8%. 陈琼等^[13]设计合成的化合物对小麦赤霉菌、甜菜褐斑菌、棉花枯萎菌和苹果轮纹菌均表现出一定的抑制活性, 对水稻纹枯菌的活性较差. 本文合成的部分化合物对小麦赤霉菌和辣椒枯萎菌有一定的杀菌活性, 但6a~6t对苹果腐烂菌、水稻纹枯菌和半夏立枯菌的抑制活性均不理想.

从表2可知, 在500 μg/mL浓度下, 部分化合物表现出较好的抗TMV活性, 其中化合物6b, 6f和6p对TMV的抑制率分别为41%, 43%和40%. 简单的构效关系分析表明, 当Ar上连有卤素(F或Cl)取代基时目标化合物的抗TMV活性较明显, 如6a, 6b, 6c, 6f, 6g, 6o和6p对TMV的抑制率均在40%左右; 当Ar上卤素(F或Cl)取代基位置不同时, 邻位取代化合物活性略优于相应的对位取代化合物, 如6b和6a, 6f和6g.

2 实验部分

2.1 仪器和试剂

熔点用X-4数字型熔点仪测定; IR由Shimadzu Prestige-21型红外光谱仪测定(KBr压片); ¹H NMR由Joel ECX-500型核磁共振仪测定(TMS为内标); 质谱由Agilent 1100 MSD-Trap-VL质谱仪测定; 元素分析由Elementar Vario-III型元素分析仪测定. 所用试剂均为市售分析纯.

2.2 合成

2.2.1 2-苄硫基-5-甲基-7-羟基-1,2,4-三唑并[1,5-a]嘧啶(1)的合成

原料1的制备参照文献[14]. m.p. 255~256 °C (lit.^[14]: 252~253 °C); ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 2.92 (s, 3H), 4.44 (s, 2H), 5.82 (s, 1H), 7.25~7.46 (m, 5H), 13.20 (s, 1H).

2.2.2 2-苄硫基-5-甲基-1,2,4-三唑并[1,5-a]嘧啶-7-氧乙酸乙酯(2)的合成

在100 mL圆底烧瓶中加入2.72 g (0.01 mol) 1, 2.07 g (0.015 mol)无水K₂CO₃和40 mL无水丙酮, 室温搅拌1 h后滴加1.32 mL (0.012 mol)溴乙酸乙酯, 继续加热回流反应10 h. 停止反应后, 冷却至室温, 浓缩反应液后将其倒入冰水混合物中, 抽滤, 用氯仿-石油醚重结晶得白色固体3.28 g, 产率为91.5%. m.p. 173~175 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 1.31 (t, *J*=7.5 Hz, 3H), 2.34 (s, 3H), 4.28 (q, *J*=7.5 Hz, 2H), 4.50 (s, 2H), 4.94 (s, 2H), 5.93 (s, 1H), 7.25~7.44 (m, 5H); IR (KBr) ν: 1755, 1614 cm⁻¹.

表 1 目标化合物 6a~6t 在 50 µg/mL 浓度下的抑菌活性(抑制率/%)

Table 1 Fungicidal activities of 6a~6t (inhibition rate/%, 50 µg/mL)

Compd.	<i>G. zeae</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>C. mandshurica</i>	<i>P. sasakii</i>	<i>R. solani</i>
6a	0	0	15	0	8
6b	0	0	16	0	15
6c	0	0	20	8	7
6d	0	0	14	6	13
6e	2	0	13	3	7
6f	0	0	17	3	17
6g	0	0	14	4	14
6h	0	0	19	6	16
6i	0	0	11	3	11
6j	0	12	25	4	16
6k	0	15	12	4	13
6l	0	10	21	3	13
6m	45	8	12	15	16
6n	3	20	10	12	11
6o	0	1	4	11	16
6p	2	43	14	13	13
6q	0	1	15	4	13
6r	2	44	16	30	26
6s	2	35	16	11	15
6t	41	8	16	21	27
Carbendazim	100	100	100	100	100

表 2 目标化合物 6a~6t 在 500 µg/mL 浓度下的抗 TMV 活性

Table 2 Inhibition rates of 6a~6t against TMV (500 µg/mL)

Compd.	6a	6b	6c	6d	6e	6f	6g	6h	6i	6j	6k	6l
Inhibition rate/%	37	41	34	26	28	43	39	26	20	19	30	30
Compd.	6m	6n	6o	6p	6q	6r	6s	6t	Ningnanmycin			
Inhibition rate/%	28	21	38	40	30	30	28	29	57			

2.2.3 2-苄硫基-5-甲基-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶-7-氧乙酰肼(3)的合成

在 100 mL 圆底烧瓶中加入 3.58 g (0.01 mol) 中间体 2, 1.82 mL (0.03 mol) 80% 水合肼和 40 mL 无水乙醇, 回流反应 1 h 有大量白色固体生成。趁热抽滤, 滤渣用无水乙醇洗涤 3 次, DMF 重结晶得白色固体 2.34 g, 产率 68.1%. m.p. 179~180 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 2.35 (s, 3H), 4.37~4.43 (m, 4H), 4.84 (s, 2H), 6.02 (s, 1H), 7.24~7.46 (m, 5H), 9.45 (s, 1H); IR (KBr) ν: 3343, 3242, 3080, 1707 cm⁻¹.

2.2.4 2-苄硫基-5-甲基-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶-7-氧乙酰肼(4)的合成

在 100 mL 圆底烧瓶中加入 0.84 g (0.015 mol) KOH, 50 mL 无水乙醇和 3.44 g (0.01 mol) 中间体 3, 室温搅拌溶解后向其中滴加 1.80 mL (0.03 mol) CS₂, 瓶内立即有大量白色固体生成。反应 12 h, 抽滤, 所得滤渣用无水乙醇和乙醚洗涤, 真空干燥后得淡黄色固体 4.45 g, 直接用于下一步反应。

2.2.5 {2-苄硫基-5-甲基-7-氧亚甲基-[4-氨基-5-硫酮-1*H*-1,2,4-三唑-3]-基}-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶(5)的合成

在 100 mL 圆底烧瓶中加入 4.58 g (0.01 mol) 中间体 4, 50 mL 无水乙醇和 1.22 mL (0.02 mol) 80% 水合肼, 加热回流反应 6 h 后溶液呈深绿色。趁热抽滤, 滤液倒入冰水中, 用稀盐酸调节溶液 pH 值至 4~6, 静置, 抽滤, 用 DMF-H₂O 重结晶得白色固体 1.72 g, 产率 43.1%. m.p. 245~246 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 2.43 (s, 3H), 4.40 (s, 2H), 5.48 (s, 2H), 5.69 (s, 2H), 6.07 (s, 1H), 7.22~7.39 (m, 5H), 13.73 (s, 1H); IR (KBr) ν: 3443, 3271, 3165, 1261 cm⁻¹.

2.2.6 目标化合物[2-苄硫基-5-甲基-7-氧亚甲基-(4-氨基席夫碱-5-硫酮-1*H*-1,2,4-三唑-3)-基]-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶(6a~6t)的合成

在 50 mL 圆底烧瓶中加入 0.40 g (0.001 mol) 中间体 5, 0.0012 mol 芳醛和 20 mL 无水乙醇, 用稀盐酸调节溶液 pH 值至 4~6, 加热回流反应 2~5 h。冷却, 静置, 抽

滤, 用 DMF-H₂O 重结晶得目标化合物 **6a**~**6t**.

{2-苄硫基-5-甲基-7-氧亚甲基-[4-(4-氟苯次甲亚胺)-5-硫酮-1*H*-1,2,4-三唑-3]-基}-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶(**6a**): 白色固体, 产率 71.2%. m.p. 257~259 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 2.46 (s, 3H), 4.37 (s, 2H), 5.65 (s, 2H), 6.08 (s, 1H), 7.22~7.38 (m, 5H), 7.41 (d, *J*=8.6 Hz, 2H), 7.97 (d, *J*=8.6 Hz, 2H), 10.05 (s, 1H), 14.10 (s, 1H); IR (KBr) ν: 3194, 3086, 1612, 1273 cm⁻¹; ESI-MS *m/z*: 507.1 ([M+H]⁺). Anal. calcd for C₂₃H₁₉FN₈OS₂: C 54.53, H 3.78, N 22.12; found C 54.70, H 4.00, N 22.49.

{2-苄硫基-5-甲基-7-氧亚甲基-[4-(2-氟苯次甲亚胺)-5-硫酮-1*H*-1,2,4-三唑-3]-基}-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶(**6b**): 白色固体, 产率 75.1%. m.p. 252~254 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 2.47 (s, 3H), 4.35 (s, 2H), 5.67 (s, 2H), 6.08 (s, 1H), 7.22~7.44 (m, 7H), 7.70 (t, *J*=5.7 Hz, 1H), 8.04 (t, *J*=6.3 Hz, 1H), 10.34 (s, 1H), 14.16 (s, 1H); IR (KBr) ν: 3198, 3084, 1612, 1261 cm⁻¹; ESI-MS *m/z*: 507.2 ([M+H]⁺). Anal. calcd for C₂₃H₁₉FN₈OS₂: C 54.53, H 3.78, N 22.12; found C 54.90, H 3.42, N 22.44.

{2-苄硫基-5-甲基-7-氧亚甲基-[4-(4-三氟甲基苯次甲亚胺)-5-硫酮-1*H*-1,2,4-三唑-3]-基}-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶(**6c**): 淡黄色固体, 产率 72.0%. m.p. 253~255 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 2.47 (s, 3H), 4.37 (s, 2H), 5.67 (s, 2H), 6.09 (s, 1H), 7.21~7.36 (m, 5H), 7.91 (d, *J*=8.6 Hz, 2H), 8.10 (d, *J*=8.6 Hz, 2H), 10.56 (s, 1H), 14.16 (s, 1H); IR (KBr) ν: 3176, 3088, 1610, 1267 cm⁻¹; ESI-MS *m/z*: 557.1 ([M+H]⁺). Anal. calcd for C₂₄H₁₉F₃N₈OS₂: C 51.79, H 3.44, N 20.13; found C 51.41, H 3.74, N 20.47.

{2-苄硫基-5-甲基-7-氧亚甲基-[4-(4-甲氧基苯次甲亚胺)-5-硫酮-1*H*-1,2,4-三唑-3]-基}-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶(**6d**): 白色固体, 产率 85.0%. m.p. 233~235 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 2.45 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 4.35 (s, 2H), 5.61 (s, 2H), 6.06 (s, 1H), 7.09 (d, *J*=8.6 Hz, 2H), 7.21~7.36 (m, 5H), 7.82 (d, *J*=8.6 Hz, 2H), 9.81 (s, 1H), 14.04 (s, 1H); IR (KBr) ν: 3217, 3088, 1603, 1254 cm⁻¹; ESI-MS *m/z*: 519.2 ([M+H]⁺). Anal. calcd for C₂₄H₂₂N₈O₂S₂: C 55.58, H 4.28, N 21.61; found C 55.88, H 4.44, N 21.61.

{2-苄硫基-5-甲基-7-氧亚甲基-[4-(2-甲氧基苯次甲亚胺)-5-硫酮-1*H*-1,2,4-三唑-3]-基}-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶(**6e**): 白色固体, 产率 69.5%. m.p. 211~213 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 2.46 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 4.36 (s, 2H), 5.63 (s, 2H), 6.07 (s, 1H), 7.08~7.95 (m, 9H), 10.39 (s, 1H), 14.04 (s, 1H); IR (KBr) ν: 3138, 3076,

1612, 1256 cm⁻¹; ESI-MS *m/z*: 519.2 ([M+H]⁺). Anal. calcd for C₂₄H₂₂N₈O₂S₂: C 55.58, H 4.28, N 21.61; found C 55.31, H 4.21, N 21.36.

{2-苄硫基-5-甲基-7-氧亚甲基-[4-(2-氯苯次甲亚胺)-5-硫酮-1*H*-1,2,4-三唑-3]-基}-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶(**6f**): 淡黄色固体, 产率 88.2%. m.p. 253~255 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 2.47 (s, 3H), 4.37 (s, 2H), 5.69 (s, 2H), 6.09 (s, 1H), 7.23~8.14 (m, 9H), 10.89 (s, 1H), 14.16 (s, 1H); IR (KBr) ν: 3208, 3088, 1612, 1275 cm⁻¹; ESI-MS *m/z*: 521.1 ([M-H]⁻). Anal. calcd for C₂₃H₁₉ClN₈OS₂: C 52.82, H 3.66, N 21.42; found C 52.62, H 4.04, N 21.28.

{2-苄硫基-5-甲基-7-氧亚甲基-[4-(4-氯苯次甲亚胺)-5-硫酮-1*H*-1,2,4-三唑-3]-基}-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶(**6g**): 白色固体, 产率 72.8%. m.p. 258~260 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 2.46 (s, 3H), 4.37 (s, 2H), 5.65 (s, 2H), 6.08 (s, 1H), 7.22~7.38 (m, 5H), 7.63 (d, *J*=8.6 Hz, 2H), 7.91 (d, *J*=8.6 Hz, 2H), 10.13 (s, 1H), 14.12 (s, 1H); IR (KBr) ν: 3184, 3048, 1612, 1269 cm⁻¹; ESI-MS *m/z*: 521.1 ([M-H]⁻). Anal. calcd for C₂₃H₁₉ClN₈OS₂: C 52.82, H 3.66, N 21.42; found C 52.88, H 3.53, N 21.63.

{2-苄硫基-5-甲基-7-氧亚甲基-[4-(3-甲氧基-4-羟基苯次甲亚胺)-5-硫酮-1*H*-1,2,4-三唑-3]-基}-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶(**6h**): 淡黄色固体, 产率 82.4%. m.p. 214~216 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 2.46 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 4.34 (s, 2H), 5.62 (s, 2H), 6.08 (s, 1H), 6.91~7.37 (m, 8H), 9.56 (s, 1H), 10.10 (s, 1H), 14.02 (s, 1H); IR (KBr) ν: 3296, 3163, 3053, 1611, 1288 cm⁻¹; ESI-MS *m/z*: 535.1 ([M+H]⁺). Anal. calcd for C₂₄H₂₂N₈O₃S₂: C 53.92, H 4.15, N 20.96; found C 54.16, H 3.89, N 21.21.

{2-苄硫基-5-甲基-7-氧亚甲基-[4-(3-羟基-4-甲氧基苯次甲亚胺)-5-硫酮-1*H*-1,2,4-三唑-3]-基}-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶(**6i**): 白色固体, 产率 67.5%. m.p. 227~228 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 2.46 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 4.37 (s, 2H), 5.59 (s, 2H), 6.08 (s, 1H), 7.06~7.38 (m, 8H), 9.53 (s, 1H), 9.72 (s, 1H), 14.01 (s, 1H); IR (KBr) ν: 3296, 3130, 3069, 1607, 1279 cm⁻¹; ESI-MS *m/z*: 535.2 ([M+H]⁺). Anal. calcd for C₂₄H₂₂N₈O₃S₂: C 53.92, H 4.15, N 20.96; found C 53.93, H 4.39, N 21.08.

{2-苄硫基-5-甲基-7-氧亚甲基-[4-(3-硝基苯次甲亚胺)-5-硫酮-1*H*-1,2,4-三唑-3]-基}-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶(**6j**): 淡黄色固体, 产率 75.1%. m.p. 242~244 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 2.49 (s, 3H), 4.35 (s, 2H), 5.69 (s, 2H), 6.09 (s, 1H), 7.21~7.36 (m, 5H), 7.84 (t, *J*=8.0 Hz, 1H), 8.33 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 8.45 (d, *J*=8.0 Hz,

1H), 8.72 (s, 1H), 10.36 (s, 1H), 14.18 (s, 1H); IR (KBr) ν : 3177, 3086, 1612, 1265 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 534.1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$). Anal. calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_9\text{O}_3\text{S}_2$: C 51.77, H 3.59, N 23.63; found C 51.47, H 3.60, N 23.38.

{2-苄硫基-5-甲基-7-氧亚甲基-[4-(4-硝基苯次甲亚胺)-5-硫酮-1*H*-1,2,4-三唑-3]-基}-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶(**6k**): 黄色固体, 产率 82.6%. m.p. 256~258 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz) δ : 2.48 (s, 3H), 4.36 (s, 2H), 5.69 (s, 2H), 6.09 (s, 1H), 7.21~7.37 (m, 5H), 8.17 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 8.37 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 10.46 (s, 1H), 14.19 (s, 1H); IR (KBr) ν : 3217, 3061, 1611, 1269 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 534.1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$). Anal. calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_9\text{O}_3\text{S}_2$: C 51.77, H 3.59, N 23.63; found C 51.46, H 3.79, N 23.78.

{2-苄硫基-5-甲基-7-氧亚甲基-[4-(2-羟基苯次甲亚胺)-5-硫酮-1*H*-1,2,4-三唑-3]-基}-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶(**6l**): 淡黄色固体, 产率 71.5%. m.p. 214~216 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz) δ : 2.46 (s, 3H), 4.37 (s, 2H), 5.53 (s, 2H), 6.08 (s, 1H), 6.93~7.85 (m, 9H), 10.29 (s, 1H), 10.47 (s, 1H), 14.02 (s, 1H); IR (KBr) ν : 3335, 3157, 3086, 1607, 1271 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 505.1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$). Anal. calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_8\text{O}_5\text{S}_2$: C 54.75, H 4.00, N 22.21; found C 54.46, H 3.79, N 22.28.

{2-苄硫基-5-甲基-7-氧亚甲基-[4-(4-甲基苯次甲亚胺)-5-硫酮-1*H*-1,2,4-三唑-3]-基}-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶(**6m**): 白色固体, 产率 79.7%. m.p. 248~250 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz) δ : 2.39 (s, 3H), 2.46 (s, 3H), 4.36 (s, 2H), 5.64 (s, 2H), 6.07 (s, 1H), 7.22~7.30 (m, 5H), 7.37 (d, $J=7.5$ Hz, 2H), 7.76 (d, $J=8.0$ Hz, 2H), 9.99 (s, 1H), 14.07 (s, 1H); IR (KBr) ν : 3217, 3061, 1605, 1271 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 503.1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$). Anal. calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{N}_8\text{O}_3\text{S}_2$: C 57.35, H 4.41, N 22.29; found C 57.17, H 4.69, N 22.44.

{2-苄硫基-5-甲基-7-氧亚甲基-[4-(2-吡咯次甲亚胺)-5-硫酮-1*H*-1,2,4-三唑-3]-基}-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶(**6n**): 灰色固体, 产率 34.2%. m.p. 256~258 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz) δ : 2.44 (s, 3H), 4.38 (s, 2H), 5.57 (s, 2H), 6.08 (s, 1H), 6.30~7.38 (m, 8H), 9.52 (s, 1H), 12.04 (s, 1H), 13.92 (s, 1H); IR (KBr) ν : 3385, 3225, 3084, 1605, 1273 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 478.1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); Anal. calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{N}_9\text{O}_3\text{S}_2$: C 52.81, H 4.01, N 26.40; found C 52.55, H 4.24, N 26.27.

{2-苄硫基-5-甲基-7-氧亚甲基-[4-(2,3-二氯苯次甲亚胺)-5-硫酮-1*H*-1,2,4-三唑-3]-基}-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶(**6o**): 淡黄色固体, 产率 86.4%. m.p. 240~242 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz) δ : 2.47 (s, 3H), 4.37 (s,

2H), 5.69 (s, 2H), 6.09 (s, 1H), 7.23~7.37 (m, 5H), 7.53 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.90 (d, $J=8.1$ Hz, $J=9.2$ Hz, 1H), 8.10 (d, $J=6.9$ Hz, 1H), 11.02 (s, 1H), 14.20 (s, 1H); IR (KBr) ν : 3208, 3086, 1605, 1267 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 555.1 ($[\text{M}-\text{H}]^-$). Anal. calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{Cl}_2\text{N}_8\text{O}_3\text{S}_2$: C 49.55, H 3.25, N 20.10; found C 49.81, H 3.50, N 20.25.

{2-苄硫基-5-甲基-7-氧亚甲基-[4-(2-氯-5-硝基苯次甲亚胺)-5-硫酮-1*H*-1,2,4-三唑-3]-基}-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶(**6p**): 黄色固体, 产率 63.5%. m.p. 244~246 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz) δ : 2.43 (s, 3H), 4.35 (s, 2H), 5.72 (s, 2H), 6.09 (s, 1H), 7.21~7.37 (m, 5H), 7.97 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 8.42 (t, $J=9.2$ Hz, 1H), 8.86 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 11.11 (s, 1H), 14.24 (s, 1H); IR (KBr) ν : 3261, 3086, 1609, 1260 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 590.1 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$), 606.0 ($[\text{M}+\text{K}]^+$). Anal. calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{ClN}_9\text{O}_3\text{S}_2$: C 48.63, H 3.19, N 22.19; found C 48.96, H 3.13, N 22.30.

{2-苄硫基-5-甲基-7-氧亚甲基-[4-(3,4,5-三甲氧基苯次甲亚胺)-5-硫酮-1*H*-1,2,4-三唑-3]-基}-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶(**6q**): 白色固体, 产率 52.0%. m.p. 218~220 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz) δ : 2.47 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.84 (s, 6H), 4.32 (s, 2H), 5.64 (s, 2H), 6.09 (s, 1H), 7.14 (s, 2H), 7.18~7.32 (m, 5H), 9.75 (s, 1H), 14.08 (s, 1H); IR (KBr) ν : 3200, 3062, 1612, 1263 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 579.2 ($[\text{M}+\text{H}]^+$). Anal. calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{N}_8\text{O}_4\text{S}_2$: C 53.97, H 4.53, N 19.36; found C 54.10, H 4.82, N 18.97.

{2-苄硫基-5-甲基-7-氧亚甲基-[4-苯次甲亚胺-5-硫酮-1*H*-1,2,4-三唑-3]-基}-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶(**6r**): 白色固体, 产率 90.2%. m.p. 239~241 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz) δ : 2.47 (s, 3H), 4.37 (s, 2H), 5.65 (s, 2H), 6.08 (s, 1H), 7.19~7.34 (m, 5H), 7.50~7.85 (m, 5H), 10.08 (s, 1H), 14.10 (s, 1H); IR (KBr) ν : 3213, 3082, 1603, 1271 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 489.1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$). Anal. calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_8\text{O}_3\text{S}_2$: C 56.54, H 4.13, N 22.93; found C 56.32, H 4.29, N 22.90.

{2-苄硫基-5-甲基-7-氧亚甲基-[4-(4-二甲氨基苯次甲亚胺)-5-硫酮-1*H*-1,2,4-三唑-3]-基}-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶(**6s**): 黄色固体, 产率 75.4%. m.p. 225~227 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz) δ : 2.46 (s, 3H), 3.03 (s, 6H), 4.36 (s, 2H), 5.59 (s, 2H), 6.07 (s, 1H), 6.79 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 7.23~7.37 (m, 5H), 7.65 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 9.50 (s, 1H), 13.95 (s, 1H); IR (KBr) ν : 3197, 3086, 1612, 1271 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 532.2 ($[\text{M}+\text{H}]^+$). Anal. calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{N}_9\text{O}_3\text{S}_2$: C 56.48, H 4.74, N 23.71; found C 56.79, H 4.66, N 23.61.

{2-苄硫基-5-甲基-7-氧亚甲基-[4-苯丙烯次甲亚

胺-5-硫酮-1*H*-1,2,4-三唑-3-基}-1,2,4-三唑并[1,5-*a*]嘧啶 (**6t**): 黄色固体, 产率 77.9%. m.p. 232~234 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 2.47 (s, 3H), 4.38 (s, 2H), 5.56 (s, 2H), 6.09 (s, 1H), 7.23~7.74 (m, 12H), 9.82 (s, 1H), 14.03 (s, 1H); IR (KBr) ν : 3184, 3082, 3028, 1628, 1610, 1261 cm⁻¹; ESI-MS m/z : 515.2 ([M+H]⁺). Anal. calcd for C₂₅H₂₂N₈OS₂: C 58.35, H 4.31, N 21.77; found C 58.54, H 4.14, N 21.84.

2.3 生物活性测试

2.3.1 抗菌活性测试

采用菌丝生长速率法^[15]在马铃薯葡萄糖琼脂培养基上研究了目标化合物 **6a**~**6t** 对小麦赤霉病菌 (*Gibberella zeae*)、辣椒枯萎病菌 (*Fusarium oxysporum*)、苹果腐烂病菌 (*Cytospora mandshurica*)、水稻纹枯病菌 (*Pellicularia sasakii*) 和半夏立枯病菌 (*Rhizoctonia solani*) 的抑制活性. 普筛浓度为 50 μ g/mL, 以商品化药物多菌灵 (Carbendazim) 为对照药剂, 等量 DMSO 为空白对照. 接菌后置于 27 °C 培养箱中培养, 待空白对照菌落直径生长至接近培养皿直径的三分之二时, 测出相应直径, 与空白对照直径相比较, 按下式计算所测化合物的抑制率, 结果见表 1.

$$\text{抑制率} = \frac{(\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径})}{(\text{对照菌落直径} - 0.4)} \times 100\%$$

2.3.2 抗 TMV 活性测试

采用 Gooding 方法^[16]选取适用于测试的正常新烟叶, 用毛笔将备用的 TMV 毒源均匀抹在撒有金刚砂的叶片上. 接毒结束后, 在左半叶涂施 500 μ g/mL 的待测物溶液, 在右半叶涂施空白溶剂作对照; 以商品化药剂宁南霉素 (Ningnanmycin) 为参照化合物, 随后在光照培养箱中保湿培养, 控制温度 (23 $\pm$ 1) °C, 光照 10000 Lux, 3~4 d 后观察并记录左右半叶的枯斑数目, 按下式计算所测化合物对 TMV 的抑制率, 所得结果见表 2.

$$\text{抑制率} = \frac{(\text{对照组枯斑个数} - \text{处理组枯斑个数})}{\text{对照组枯斑个数}} \times 100\%$$

致谢 本文目标化合物的生物活性测试由贵州大学精细化工研究开发中心生物活性测试室完成.

References

- [1] Chen, Q.; Zhu, X.-L.; Jiang, L.-L.; Liu, Z.-M.; Yang, G.-F. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 595.
- [2] Ruisi, G.; Canfora, L.; Bruno, G.; Rotondo, A.; Mastropietro, T. F.; Debbia, E. A.; Girasolo, M. A.; Megna, B. *J. Organomet. Chem.* **2010**, *695*, 546.
- [3] Tang, W.; Shi, D.-Q. *J. Heterocycl. Chem.* **2010**, *47*, 162.
- [4] Chen, C.-N.; Chen, Q.; Liu, Y.-C.; Zhu, X.-L.; Niu, C.-W.; Xi, Z.; Yang, G.-F. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 4897.
- [5] Zhang, N.; Ayral-Kaloustian, S.; Nguyen, T.; Afragola, J.; Hernandez, R.; Lucas, J.; Gibbons, J.; Beyer, C. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 319.
- [6] Zhai, X.; Zhao, Y.-F.; Liu, Y.-J.; Zhang, Y.; Xun, F.-Q.; Liu, J.; Gong, P. *Chem. Pharm. Bull.* **2008**, *56*, 941.
- [7] Li, H.; Tatlock, J.; Linton, A.; Gonzalez, J.; Jewell, T.; Patel, L.; Ludlum, S.; Drowns, M.; Rahavendran, S. V.; Skor, H.; Hunter, R.; Shi, S. T.; Herlihy, K. J.; Parge, H.; Hickey, M.; Yu, X.; Chau, F.; Nonomiya, J.; Lewis, C. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 1255.
- [8] Yu, W.; Goddard, C.; Clearfield, E.; Mills, C.; Xiao, T.; Guo, H.; Morrey, J. D.; Motter, N. E.; Zhao, K.; Block, T. M.; Cuconati, A.; Xu, X. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 5660.
- [9] Zheng, Y.-G.; Xue, W.; Wei, X. *Chin. Appl. Chem.* **2010**, *27*, 1165 (in Chinese).
(郑玉国, 薛伟, 魏学, *应用化学*, **2010**, *27*, 1165.)
- [10] Sun, X.-H.; Tao, Y.; Liu, Y.-F.; Jia, Y.-Q.; Chen, B.; Yang, J.-W. *Chin. J. Org. Chem.* **2008**, *28*, 155 (in Chinese).
(孙晓红, 陶燕, 刘源发, 贾婴琦, 陈邦, 杨建武, *有机化学*, **2008**, *28*, 155.)
- [11] Wang, B.-L.; Shi, Y.-X.; Ma, Y.; Liu, X.-H.; Li, Y.-H.; Song, H.-B.; Li, B.-J.; Li, Z.-M. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 5515.
- [12] Yin, K.; Jiang, L.-H.; Zhou, H.-X.; Huang, Y.; Xiang, J.-N. *Chin. J. Org. Chem.* **2008**, *28*, 1016 (in Chinese).
(尹凯, 蒋历辉, 周后相, 黄勇, 向建南, *有机化学*, **2008**, *28*, 1016.)
- [13] Ma, Z.-H.; Liu, Z.-M.; Chen, Q. *Chin. J. Org. Chem.* **2008**, *28*, 1965 (in Chinese).
(马忠华, 刘祖明, 陈琼, *有机化学*, **2008**, *28*, 1965.)
- [14] Yang, Z.-P.; Shan, S. *Chin. J. Org. Chem.* **2003**, *23*, 363 (in Chinese).
(杨振平, 单尚, *有机化学*, **2003**, *23*, 363.)
- [15] Kong, F.-B.; Gao, Y.-F.; Chen, X.-L.; Li, G.-L.; Chen, J. *Guangxi Agric. Sci.* **2006**, *37*, 148 (in Chinese).
(孔凡彬, 高扬帆, 陈锡岭, 李广领, 陈军, *广西农业科学*, **2006**, *37*, 148.)
- [16] Li, S.-Z.; Wang D.-H.; Jiao, S.-M.; Chen, S.-E. *Pesticide Experiment Methods-fungicide Sector*, Agriculture Press of China, Beijing, **1991**, p. 93 (in Chinese).
(李树正, 王笃祐, 焦书梅, 程书恩, *农药实验法: 杀菌剂篇*, 农业出版社, 北京, **1991**, p. 93.)

(Li, L.; Fan, Y.)