新型含咪唑啉 2,4-二酮的(硫代)磷酸酯类化合物的合成和生物活性测定

徐志红^{a,b} 王进敏^a 韩金涛^a 刘斌^a 王明安^{*,a}^(a) 中国农业大学应用化学系 北京 100193^(b) 长江大学农学院 荆州 434205

摘要 以对羟基苯基和对羟基苄基咪唑啉 2,4-二酮羧酸酯类化合物为二次先导结构, 根据 Hydantocidin 在植物体内的作用形式是 Hydantocidin 5'-Phosphate 的特点, 将 3 种对羟基苯(苄基)-2,4-咪唑啉二酮中间体与(硫代)磷酸酐反应合成了 38 个结构新颖的含有 2,4-咪唑啉二酮的(硫代)磷酸酯类化合物, 其结构通过 IR, ¹H NMR, ³¹P NMR 和元素分析表征。初步生物测定结果表明 *O*-乙基-*O*-苄基-5-(4-羟基苄基)-2,4-咪唑啉二酮硫代磷酸酯(**B14**)和 *O,O*-二苄基-5-(4-羟基苄基)-2-硫代-4-咪唑啉二酮硫代磷酸酯(**B25**)在 100 μg/mL 浓度下对油菜的抑制率为 53.1%和 62.7%, 化合物 *O,O*-二(邻甲氧基苄基)-5-(4-羟基苄基)-2,4-咪唑啉二酮硫代磷酸酯(**B7**), **B14** 和 *O,O*-二(对甲基苄基)-5-(4-羟基苄基)-2,4-咪唑啉二酮硫代磷酸酯(**B17**)对蚜虫表现了一定的杀虫活性, 在 300 μg/mL 浓度下 24 h 的校正死亡率分别为 52%, 51%和 69%。

关键词 咪唑啉-2,4-二酮; (硫代)磷酸酯; 腺苷酸琥珀酸合成酶; 生物活性

Synthesis and Biological Activity of Novel (Thio)phosphates with Hydantoin

Xu, Zhihong^{a,b} Wang, Jinmin^a Han, Jintao^a Liu, Bing^a Wang, Mingan^{*,a}^(a) Department of Applied Chemistry, China Agricultural University, Beijing 100193^(b) College of Agriculture, Yangtze University, Jingzhou 434025

Abstract Based on the structure of hydantocidin as a leading compound, the natural inhibitor of AdSS, its activated hydantocidin 5'-phosphate in the plant and 5-substituted 2,4-imidazolidinedione esters as the second leading compound, thirty eight new (thio)phosphate derivatives with hydantoin were synthesized by the reaction of (thio)phosphoryl chloride with 5-(4-hydroxyphenyl)- and 5-(4-hydroxybenzyl)-2,4-imidazolidinedione intermediates, and their structures were confirmed by IR, ¹H NMR, ³¹P NMR spectra and elemental analysis. The preliminary bioassay showed that *O*-ethyl-*O*-phenyl-5-(4-hydroxyphenyl)-2,4-imidazolidinedione thiophosphate (**B14**) and *O,O*-diphenyl-5-(4-hydroxybenzyl)-2-thio-4-imidazolidinedione thiophosphate (**B25**) have an inhibitory ratio 53.1% and 62.7% against *Brassica campestris* at the concentration of 100 μg/mL, while *O,O*-di(*o*-methoxyphenyl)-5-(4-hydroxyphenyl)-2,4-imidazolidinedione thiophosphate (**B7**), **B14** and *O,O*-di(*p*-methylphenyl)-5-(4-hydroxybenzyl)-2,4-imidazolidinedione thiophosphate (**B17**) showed 52%, 51% and 69% insecticidal activities against *Myzus Persicae* at the concentration of 300 μg/mL.

Keywords hydantoin; (thio)phosphates; AdSS; biological activity

腺苷酸琥珀酸合成酶(adenylosuccinate synthetase, AdSS)是植物生长过程中影响嘌呤生物合成的关键酶, 是近年来农药公司研究开发除草剂的新靶标之一^[1]。Nakajima 等^[2]从吸水链霉菌中分离到一种次生代谢产物 Hydantocidin, 它对 AdSS 表现出强烈的抑制作用, 其防效与草甘膦相当, 而且低毒, 显示出诱人的开发前景。

1995 年 Heim 和 Siehl 等^[3,4]证明 Hydantocidin 是一个作用于 AdSS 活性位置抑制嘌呤生物合成的前体除草剂。Cseke 和 Waters 等^[5]分别通过 HPLC-ESI-MS 和同位素标记等不同的方法证明了 Hydantocidin 对 AdSS 酶的活化作用形式是 Hydantocidin 5'-phosphate。Poland 等^[6]报道了农用除草剂领域中首个除草剂靶标 AdSS 和

* E-mail: wangma@cau.edu.cn

Received June 4, 2012; revised June 27, 2012; published online July 4, 2012.

Project supported by the National Key Technologies R&D Program (No. 2011BAE06B03), the National Natural Science Foundation of China (No. 20772150) and the National Key Laboratory of Elemento-Organic Chemistry in Nankai University (Nos. 0902, 201003).

“十二五”科技支撑计划(No. 2011BAE06B03)、国家自然科学基金(No. 20772150)和南开大学元素有机化学国家重点实验室开放基金(Nos. 0902, 201003)资助项目。

AdSS-抑制剂复合物的晶体结构, 认为 Hydrantocidin 是 AdSS 的反馈抑制剂. 此后人们对 Hydrantocidin 类似物的合成及生物活性进行了广泛的研究, 取得了丰富的研究成果^[7,8]. 我们课题组^[9]曾用利用分子对接、分子力学优化及常温分子动力学模拟方法对 AdSS 与天然抑制剂及其衍生物的相互作用进行了理论研究, 构建了 AdSS 抑制剂的虚拟筛选模型. 在此基础上我们实验室^[10~13]根据 Hydrantocidin 的结构报道了对羟基苯基和对羟基苄基咪唑啉 2,4-二酮羧酸酯类化合物的合成, 发现部分化合物具有较好的除草活性, 认为咪唑啉酮环和酯结构部分是具有生物活性的关键部位, 与 AdSS-抑制剂复合物晶体结构以及我们进行理论计算获得的结论一致^[6,9]. 本文在我们课题组前期工作的基础上, 根据 Hydrantocidin 在植物体内的作用形式是 Hydrantocidin 5'-phosphate 的特点, 将前文中的羧酸酯用(硫代)磷酸酯替换引入(硫代)磷酸酯基团, 期望发现高除草活性的化合物, 目标化合物的合成路线如 Scheme 1 所示.

Scheme 1

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Yanagimoto 显微熔点仪(温度计未校正); Bruker DPX 300 MHz 核磁共振仪, TMS 为内标, DMSO-*d*₆ 为溶剂, ³¹P NMR 以 85%磷酸为外标; Bruker IR-Tensor 27 红外光谱仪(KBr 压片法); ST-O2 元素分析仪. 本实验所用柱层析硅胶为青岛海洋化工有限公司生产(200~300 目), 所用试剂均为国产或进口分析纯, 无水溶剂用常规方法干燥处理.

1.2 中间体的合成

15 个中间体(硫代)磷酸酯按文献^[14]方法制备.

5-(4-羟基苄基)-2,4-咪唑啉二酮(A1), 5-(4-羟基苄基)-2,4-咪唑啉二酮(A2), 5-(4-羟基苄基)-2-硫代-2,4-咪唑啉二酮(A3)均参照文献方法制备^[10~12,15~17].

1.3 目标化合物 5-(4-羟基苄基/苄基)-2,4-咪唑啉二酮(硫代)磷酸酯类化合物的合成

以化合物 B3 的合成例, 称取 5-(4-羟基苄基)-2,4-咪唑啉二酮 0.38 g (2 mmol)置于 50 mL 干燥三口瓶中, 加入二氧六环 20 mL, 称 0.02 g DMAP, *O,O*-二乙基硫代磷酸氯 0.58 g (3 mmol), 室温搅拌 5 min 后滴加 Et₃N 0.69 mL (5 mmol), 在室温(20 °C)搅拌, 通过薄层色谱 TLC [流动相: 乙酸乙酯和石油醚的混合液(*V*:*V*=2:1)]检测至 5-(4-羟基苄基)-2,4-咪唑啉二酮点消失, 反应大约 16 h, 停止反应, 浓缩过柱, 梯度洗脱[洗脱剂为乙酸乙酯/石油醚(*V*:*V*=1:4~2:1)], 得白色固体, 真空干燥, 称重得 0.344 g, 收率 42%, 熔点为 148~150 °C.

同样的方法制得系列化合物 B1~B38, 它们的理化数据及元素分析数据见表 1, 红外数据及核磁共振和氢谱数据见表 2.

1.4 生物活性测定

油菜平皿法: 直径 6 cm 的培养皿中铺好一张直径 5.6 cm 的滤纸, 加入 2 mL 一定浓度的供试化合物溶液, 播种浸种 4 h 的油菜种子 10 粒. (28±1) °C 下, 黑暗培养 72 h 后测定胚根长度. 通过黑暗条件下化合物对油菜胚根的生长抑制来检测化合物的除草活性. 测试浓度 100 μg/mL, 每个处理重复三次.

稗草小杯法: 50 mL 的小烧杯中铺好玻璃珠和滤纸后, 加入一定浓度的供试化合物溶液 6 mL, 播种刚刚露白的稗草种子 10 粒. (28±1) °C 下, 光照培养 72 h 后测定小苗的高度. 通过光照条件下化合物对稗草幼苗株高的生长抑制来检测化合物的除草活性. 测试浓度 100 μg/mL, 每个处理重复三次. 除草活性以草甘膦 (Glyphosate, Glp)为对照药剂.

蚜虫生物活性测定: 在蚜虫发育至成虫前 2 d 时, 将带有 50 头左右, 个体整齐一致豆蚜若虫的供试蚕豆枝条剪下, 在预先配制好的药液中浸 3 s, 取出甩掉余液, 插在 12 孔泡沫塑料板上保湿, 待药液干后用玻璃罩罩上, 静置于室温下, 70%湿度环境中. 24 和 48 h 后调查试虫死亡情况, 以昆虫针轻触虫体, 不动者为死亡, 计算校正死亡率. 测试浓度 300 μg/mL, 每个浓度设三次重复. 杀虫活性以阿维菌素(avermectin, Ave.)为对照药剂.

小菜蛾生物活性测定: 采用国际抗性行动委员会 (IRAC)提出的浸叶法. 用镊子将剪好的甘蓝叶片浸入到配制好的待测药液中 3~5 s, 甩掉余液. 待药液干后, 放入标记好的 10 cm 长的直型管内, 接入 2 龄小菜蛾幼

表 1 新化合物的物理常数及元素分析数据
Table 1 Physical properties and elemental analysis of new compounds

Compd.	R ¹	R ²	Y	Appearance	m.p./°C	Yield/%	Element analysis ^a		
							C	H	N
B1	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	O	白色固体	170~171	63	59.32 (59.44)	4.16 (4.04)	6.66 (6.60)
B2	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	O	白色固体	128~129	61	47.59 (47.57)	5.24 (5.22)	8.53 (8.53)
B3	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	S	白色固体	148~150	42	45.48 (45.35)	4.98 (4.98)	8.13 (8.14)
B4	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	S	白色固体	148~149	42	57.29 (57.27)	3.99 (3.89)	6.36 (6.36)
B5	4-CH ₃ C ₆ H ₄	4-CH ₃ C ₆ H ₄	S	白色固体	101~102	45	59.01 (58.97)	4.54 (4.52)	5.97 (5.98)
B6	2-ClC ₆ H ₄	2-ClC ₆ H ₄	S	白色固体	63~65	60	49.09 (49.52)	3.15 (2.97)	5.51 (5.50)
B7	2-CH ₃ C ₆ H ₄	2-CH ₃ C ₆ H ₄	S	白色固体	56~57	55	57.53 (57.86)	4.72 (4.64)	5.83 (5.87)
B8	2-CH ₃ OC ₆ H ₄	2-CH ₃ OC ₆ H ₄	S	白色固体	166~167	72	55.44 (55.20)	4.39 (4.23)	5.50 (5.60)
B9	4-ClC ₆ H ₄	4-ClC ₆ H ₄	S	白色固体	64~65	65	49.49 (49.52)	3.06 (2.97)	5.51 (5.50)
B10	4-CH ₃ OC ₆ H ₄	4-CH ₃ OC ₆ H ₄	S	白色固体	58~59	59	54.46 (54.22)	4.39 (4.35)	5.54 (5.50)
B11	1-Naphthyl	1-Naphthyl	S	白色固体	134~135	81	63.51 (63.38)	3.97 (4.04)	5.04 (5.10)
B12	3-CH ₃ C ₆ H ₄	3-CH ₃ C ₆ H ₄	S	白色固体	42~44	79	58.85 (58.97)	4.55 (4.52)	6.01 (5.98)
B13	4-C ₅ H ₁₁ C ₆ H ₄	4-C ₅ H ₁₁ C ₆ H ₄	S	白色固体	105~107	43	64.22 (64.12)	6.42 (6.42)	4.80 (4.82)
B14	C ₂ H ₅	C ₆ H ₅	S	黄色固体	72~73	50	52.04 (52.04)	4.61 (4.37)	6.88 (7.14)
B15	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	O	白色固体	84~85	36	59.82 (60.28)	4.45 (4.37)	6.41 (6.39)
B16	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	S	白色固体	88~89	37	47.08 (46.92)	5.33 (5.34)	7.79 (7.82)
B17	4-CH ₃ C ₆ H ₄	4-CH ₃ C ₆ H ₄	S	白色固体	51~53	31	59.57 (59.74)	4.85 (4.80)	5.88 (5.81)
B18	1-Naphthyl	1-Naphthyl	S	白色固体	80~81	32	64.52 (64.98)	4.27 (4.18)	5.15 (5.05)
B19	3-CH ₃ C ₆ H ₄	3-CH ₃ C ₆ H ₄	S	白色固体	58~59	34	59.39 (59.74)	4.82 (4.80)	5.79 (5.81)
B20	2-CH ₃ OC ₆ H ₄	2-CH ₃ OC ₆ H ₄	S	白色固体	166~167	59	56.08 (56.03)	4.65 (4.51)	5.47 (5.44)
B21	2-CH ₃ C ₆ H ₄	2-CH ₃ C ₆ H ₄	S	白色固体	56~57	40	59.47 (59.74)	4.81 (4.80)	5.74 (5.81)
B22	2-ClC ₆ H ₄	2-ClC ₆ H ₄	S	白色固体	70~72	74	50.52 (50.49)	3.32 (3.27)	5.36 (5.35)
B23	4-CH ₃ OC ₆ H ₄	4-CH ₃ OC ₆ H ₄	S	白色固体	59~60	42	55.78 (56.03)	4.51 (4.51)	5.41 (5.44)
B24	4-C ₅ H ₁₁ C ₆ H ₄	4-C ₅ H ₁₁ C ₆ H ₄	S	白色固体	54~55	35	64.55 (64.63)	6.60 (6.61)	4.76 (4.71)
B25	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	O	白色固体	171~172	45	57.96 (58.15)	4.37 (4.21)	6.11 (6.16)
B26	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	S	绿色固体	80~81	45	44.90 (44.91)	5.10 (5.11)	7.31 (7.48)
B27	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	S	白色固体	76~78	76	56.24 (56.16)	4.09 (4.07)	5.96 (5.95)
B28	2-CH ₃ OC ₆ H ₄	2-CH ₃ OC ₆ H ₄	S	白色固体	73~75	65	54.03 (54.33)	4.48 (4.37)	5.26 (5.28)
B29	4-CH ₃ C ₆ H ₄	4-CH ₃ C ₆ H ₄	S	白色固体	87~88	68	57.80 (57.82)	4.66 (4.65)	5.65 (5.62)
B30	4-CH ₃ OC ₆ H ₄	4-CH ₃ OC ₆ H ₄	S	白色固体	142~143	56	54.07 (54.33)	4.36 (4.37)	5.28 (5.28)
B31	4-ClC ₆ H ₄	4-ClC ₆ H ₄	S	白色固体	99~100	87	48.92 (48.99)	3.22 (3.18)	5.28 (5.19)
B32	2-ClC ₆ H ₄	2-ClC ₆ H ₄	S	白色固体	120~121	85	48.97 (48.99)	3.22 (3.18)	5.22 (5.19)
B33	4-C ₅ H ₁₁ C ₆ H ₄	4-C ₅ H ₁₁ C ₆ H ₄	S	白色固体	96~97	80	62.85 (62.93)	6.38 (6.44)	4.64 (4.59)
B34	2-CH ₃ C ₆ H ₄	2-CH ₃ C ₆ H ₄	S	白色固体	117~118	60	57.46 (57.82)	4.65 (4.65)	5.64 (5.62)
B35	3-CH ₃ C ₆ H ₄	3-CH ₃ C ₆ H ₄	S	白色固体	96~97	61	57.79 (57.82)	4.65 (4.65)	5.64 (5.62)
B36	1-Naphthyl	1-Naphthyl	S	白色固体	118~119	54	63.22 (63.15)	4.27 (4.06)	4.89 (4.91)
B37	C ₂ H ₅	C ₆ H ₅	S	黄色固体	146~147	38	50.90 (50.92)	4.44 (4.68)	6.50 (6.51)
B38	C ₃ H ₇	C ₃ H ₇	S	黄色液体	—	36	—	—	—

^a ESI-MS data for B7 *m/z* 469 [M+H]⁺; B10 *m/z* 501 [M+H]⁺; B11 *m/z* 541 [M+H]⁺; B37 *m/z* 423 [M+H]⁺ and B38 *m/z* 403 [M+H]⁺.

虫, 用纱布封好管口. 将试验处理置于标准处理室内, 24 h 检查结果, 以昆虫轻触虫体, 不动者为死亡, 计算校正死亡率.

$$\text{校正死亡率} = \frac{\text{处理组死亡率} - \text{对照组死亡率}}{1 - \text{对照组死亡率}} \times 100\%$$

2 结果与讨论

2.1 目标化合物的合成

由于中间体酚极性大溶解性不好反应活性较差,

(硫代)磷酸氯的活性也比较差, 所以两者基本上不能直接反应, 通过文献调研, 我们使用铜粉和 DMAP 作催化剂, 选用 Et₃N 作缚酸剂、分别使用 1,4-二氧六环, THF, DMF, 丙酮, 乙腈作反应溶剂, 在回流温度下摸索反应条件. 结果表明, 1,4-二氧六环, THF, DMF, 丙酮, 乙腈作溶剂, 选用 Et₃N 作缚酸剂, 不加催化剂或者加铜粉作催化剂, 反应均不能发生; 当使用 DMAP 作催化剂时, 1,4-二氧六环作溶剂, 控制反应温度在 20 °C 左右时, 反应效果最好, 提高温度时, 副产物增加, 产物成份复杂分离困难, 目标化合物的收率降低, 进一步降低温度则

表 2 新化合物的红外和核磁共振数据
Table 2 IR and NMR spectral data of new compounds

Compd.	IR/cm ⁻¹	³¹ P NMR δ	¹ H NMR δ
B1	3302, 3154, 1778, 1716	-16.07	10.83 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 7.48~7.40 (m, 6H), 7.34~7.27 (m, 8H), 5.21 (s, 1H)
B2	3305, 3193, 1776, 1722	-5.56	10.81 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 7.35 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 7.23 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 5.18 (s, 1H), 4.15 (dq, $J=10.4, 7.2$ Hz, 4H), 1.26 (t, $J=7.2$ Hz, 6H)
B3	3316, 3221, 1745, 1718	62.51	10.82 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 7.38~7.19 (m, 4H), 5.19 (s, 1H), 4.21 (dq, $J=10.5, 6.6$ Hz, 4H), 1.29 (t, $J=6.6$ Hz, 6H)
B4	3295, 3222, 1770, 1717	54.09	9.70 (s, 1H), 7.55~7.28 (m, 15H), 5.28 (s, 1H)
B5	3297, 3193, 1768, 1716	54.53	9.69 (s, 1H), 7.53 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 7.51 (s, 1H), 7.34 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 7.26~7.20 (m, 4H), 7.19~7.16 (m, 4H), 5.27 (s, 1H), 2.33 (s, 6H)
B6	3244, 3069, 1764, 1724	53.27	9.71 (s, 1H), 7.62~7.54 (m, 6H), 7.47~7.31 (m, 7H), 5.29 (s, 1H)
B7	3406, 3289, 1754, 1718	53.42	9.72 (s, 1H), 7.55~7.16 (m, 13H), 5.28 (s, 1H), 2.28 (s, 6H)
B8	3240, 3130, 1771, 1713	55.76	9.70 (s, 1H), 7.52~7.38 (m, 7H), 7.23~7.20 (m, 2H), 7.14 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 7.00~6.97 (m, 2H), 5.27 (s, 1H), 3.85 (s, 6H)
B9	3232, 3069, 1768, 1724	54.06	9.70 (s, 1H), 7.56~7.34 (m, 13H), 5.28 (s, 1H)
B10	3244, 3068, 1759, 1721	55.61	9.69 (s, 1H), 7.52 (d, $J=8.1$ Hz, 2H), 7.35 (s, 1H), 7.32 (d, $J=8.1$ Hz, 2H), 7.23~7.19 (m, 4H), 6.99~6.95 (m, 4H), 5.27 (s, 1H), 3.80 (s, 6H)
B11	3220, 3061, 1780, 1723	53.90	9.70 (s, 1H), 8.06 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 8.00 (d, $J=7.8$ Hz, 2H), 7.87 (d, $J=7.8$ Hz, 2H), 7.63~7.53 (m, 10H), 7.43 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 5.30 (s, 1H)
B12	3230, 3067, 1782, 1724	53.79	9.69 (s, 1H), 7.54 (d, $J=7.8$ Hz, 2H), 7.51 (s, 1H), 7.38~7.29 (m, 4H), 7.13~7.09 (m, 6H), 5.28 (s, 1H), 2.35 (s, 6H)
B13	3206, 3133, 1775, 1714	54.28	9.69 (s, 1H), 7.52 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 7.43 (s, 1H), 7.35 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 7.27 (d, $J=8.7$ Hz, 4H), 7.20 (d, $J=8.7$ Hz, 4H), 5.27 (s, 1H), 2.61 (t, $J=7.1$ Hz, 4H), 1.66~1.56 (m, 4H), 1.38~1.29 (m, 8H), 0.88 (t, $J=7.2$ Hz, 6H)
B14	3450, 3234, 1779, 1719	58.85	9.70 (s, 1H), 7.52~7.40 (m, 5H), 7.24~7.32 (m, 5H), 5.26 (s, 1H), 4.38 (dq, $J=10.2, 7.2$ Hz, 2H), 1.38 (t, $J=7.2$ Hz, 3H)
B15	3463, 3296, 1770, 1714	-17.12	8.21 (s, 1H), 7.38~7.32 (m, 4H), 7.26~7.14 (m, 10H), 6.19 (s, 1H), 4.22 (dd, $J=14.1, 3.9$ Hz, 1H), 3.21 (dd, $J=14.1, 3.9$ Hz, 1H), 2.80 (dd, $J=14.1, 3.9$ Hz, 1H)
B16	3332, 3227, 1768, 1715	62.36	10.45 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.22~7.07 (m, 4H), 4.32 (t, $J=5.2$ Hz, 1H), 4.17 (dq, $J=10.4, 7.0$ Hz, 4H), 2.92 (t, $J=4.8$ Hz, 2H), 1.27 (t, $J=7.0$ Hz, 6H)
B17	3221, 3065, 1780, 1721	54.36	9.41 (s, 1H), 7.33 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.26~7.17 (m, 6H), 7.16~7.13 (m, 4H), 7.02 (s, 1H), 4.42~4.45 (m, 1H), 3.16 (dd, $J=14.1, 6.3$ Hz, 1H), 3.03 (dd, $J=14.1, 6.3$ Hz, 1H), 2.33 (s, 6H)
B18	3350, 3055, 1730, 1702	54.17	9.43 (s, 1H), 8.11 (d, $J=7.8$ Hz, 2H), 7.99 (d, $J=7.5$ Hz, 2H), 7.88 (d, $J=7.5$ Hz, 2H), 7.36 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 7.28 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 7.03 (s, 1H), 4.46~4.49 (m, 1H), 3.17 (dd, $J=14.1, 6.3$ Hz, 1H), 3.05 (dd, $J=14.1, 6.3$ Hz, 1H)
B19	3635, 3298, 1723, 1608	53.62	9.42 (s, 1H), 7.35~7.21 (m, 6H), 7.13~7.07 (m, 7H), 4.44~4.40 (m, 1H), 3.16 (dd, $J=14.1, 6.3$ Hz, 1H), 3.02 (dd, $J=14.1, 6.3$ Hz, 1H), 2.35 (s, 6H)
B20	3420, 3200, 1759, 1721	55.52	9.41 (s, 1H), 7.40~7.35 (m, 6H), 7.25~7.12 (m, 4H), 7.00~6.95 (m, 3H), 4.45~4.41 (m, 1H), 3.85 (s, 1H), 3.15 (dd, $J=14.1, 6.3$ Hz, 1H), 3.02 (dd, $J=14.1, 6.3$ Hz, 1H)
B21	3253, 3063, 1755, 1721	54.10	9.41 (s, 1H), 7.36~7.17 (m, 12H), 7.01 (s, 1H), 4.45~4.41 (m, 1H), 3.16 (dd, $J=14.1, 6.3$ Hz, 1H), 3.03 (dd, $J=14.1, 6.3$ Hz, 1H), 2.26 (s, 6H)
B22	3400, 3233, 1763, 1722	53.06	9.42 (s, 1H), 7.60~7.54 (m, 4H), 7.47~7.29 (m, 8H), 7.02 (s, 1H), 4.45~4.41 (m, 1H), 3.17 (dd, $J=14.1, 6.3$ Hz, 1H), 3.04 (dd, $J=14.1, 6.3$ Hz, 1H)

续表

Compd.	IR/cm ⁻¹	³¹ P NMR δ	¹ H NMR δ
B23	3233, 3067, 1765, 1721	55.52	9.42 (s, 1H), 7.32 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.23~7.15 (m, 6H), 7.02 (s, 1H), 6.99~6.95 (m, 5H), 4.45~4.41 (m, 1H), 3.80 (s, 6H), 3.30 (dd, $J=14.1$, 6.3 Hz, 1H), 3.15 (dd, $J=14.1$, 6.3 Hz, 1H)
B24	3257, 3066, 1773, 1714	54.25	9.44 (s, 1H), 7.35~7.15 (m, 12H), 7.04 (s, 1H), 4.44~4.40 (m, 1H), 3.16 (dd, $J=14.1$, 6.3 Hz, 1H), 3.03 (dd, $J=14.1$, 6.3 Hz, 1H), 2.62 (t, $J=8.1$ Hz, 4H), 1.66~1.56 (m, 4H), 1.40~1.26 (m, 8H), 0.89 (t, $J=4.2$ Hz, 6H)
B25	3414, 3226, 1741, 1595	-16.22	11.51 (s, 1H), 10.09 (s, 1H), 7.49~7.42 (m, 4H), 7.31~7.17 (m, 10H), 4.58~4.55 (m, 1H), 3.00~2.98 (m, 2H)
B26	3172, 3099, 1740, 1595	62.31	11.49 (s, 1H), 10.07 (s, 1H), 7.21~7.07 (m, 4H), 4.55 (t, $J=4.8$ Hz, 1H), 4.17 (dq, $J=10.5$, 6.8 Hz, 4H), 2.97~2.95 (m, 2H), 1.27 (t, $J=6.8$ Hz, 6H)
B27	3153, 3056, 1739, 1590	53.78	10.39 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 7.48~7.45 (m, 3H), 7.36~7.21 (m, 10H), 4.64~4.61 (m, 1H), 3.23 (dd, $J=14.2$, 4.8 Hz, 1H), 3.11 (dd, $J=14.2$, 4.8 Hz, 1H)
B28	3393, 3198, 1745, 1604	55.49	10.39 (s, 1H), 9.02 (s, 1H), 7.40~7.35 (m, 6H), 7.23~7.12 (m, 4H), 7.00~6.95 (m, 2H), 4.65~4.61 (m, 1H), 3.85 (s, 6H), 3.24 (dd, $J=14.2$, 4.8 Hz, 1H), 3.10 (dd, $J=14.2$, 4.8 Hz, 1H)
B29	3188, 2922, 1748, 1713	54.34	10.40 (s, 1H), 9.01 (s, 1H), 7.35~7.31 (m, 2H), 7.26~7.13 (m, 10H), 4.64~4.60 (m, 1H), 3.23 (dd, $J=14.2$, 4.8 Hz, 1H), 3.11 (dd, $J=14.2$, 4.8 Hz, 1H), 2.32 (s, 6H)
B30	3249, 3104, 1735, 1598	55.51	10.39 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 7.33 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.22~7.16 (m, 6H), 6.99~6.95 (m, 4H), 4.64~4.61 (m, 1H), 3.80 (s, 6H), 3.23 (dd, $J=14.2$, 4.8 Hz, 1H), 3.11 (dd, $J=14.2$, 4.8 Hz, 1H)
B31	3176, 2893, 1755, 1747	53.99	10.39 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 7.60~7.56 (m, 4H), 7.37~7.23 (m, 8H), 4.65~4.61 (m, 1H), 3.25 (dd, $J=14.2$, 4.8 Hz, 1H), 3.13 (dd, $J=14.2$, 4.8 Hz, 1H)
B32	3240, 3175, 1745, 1719	53.05	10.38 (s, 1H), 8.99 (s, 1H), 7.60~7.56 (m, 4H), 7.48~7.30 (m, 8H), 4.65~4.61 (m, 1H), 3.24 (dd, $J=14.2$, 4.8 Hz, 1H), 3.11 (dd, $J=14.2$, 4.8 Hz, 1H)
B33	3137, 2955, 1736, 1715	54.12	10.37 (s, 1H), 8.99 (s, 1H), 7.33 (d, $J=8.1$ Hz, 2H), 7.28~7.15 (m, 10H), 4.64~4.60 (m, 1H), 3.23 (dd, $J=14.2$, 4.8 Hz, 1H), 3.11 (dd, $J=14.2$, 4.8 Hz, 1H), 2.62 (t, $J=7.5$ Hz, 4H), 1.67~1.57 (m, 4H), 1.38~1.28 (m, 8H), 0.88 (t, $J=4.2$ Hz, 6H)
B34	3425, 3183, 1745, 1717	53.22	10.37 (s, 1H), 8.99 (s, 1H), 7.38~7.16 (m, 12H), 4.65~4.61 (m, 1H), 3.27~3.20 (dd, $J=14.2$, 4.8 Hz, 1H), 3.15~3.09 (dd, $J=14.2$, 4.8 Hz, 1H), 2.27 (s, 6H)
B35	3434, 3125, 1739, 1610	53.57	10.35 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 7.36~7.29 (m, 4H), 7.25~7.21 (m, 2H), 7.12~7.07 (m, 6H), 4.64~4.60 (m, 1H), 3.27~3.20 (dd, $J=14.2$, 4.8 Hz, 1H), 3.14~3.07 (dd, $J=14.2$, 4.8 Hz, 1H), 2.35 (s, 6H)
B36	3428, 3140, 1739, 1631	53.99	10.37 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.11 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 8.01~7.98 (m, 2H), 7.93 (d, $J=7.5$ Hz, 2H), 7.62~7.53 (m, 8H), 7.33 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 7.30~7.27 (m, 2H), 4.64~4.61 (m, 1H), 3.28~3.22 (dd, $J=14.2$, 4.8 Hz, 1H), 3.16~3.09 (dd, $J=14.2$, 4.8 Hz, 1H)
B37	3435, 3185, 1744, 1591	58.65	10.37 (s, 1H), 8.99 (s, 1H), 7.45~7.39 (m, 2H), 7.33~7.16 (m, 3H), 4.63~4.59 (m, 1H), 4.36 (dq, $J=10.2$, 7.2 Hz, 2H), 3.08~3.19 (dd, $J=14.2$, 4.8 Hz, 1H), 2.80~2.84 (dd, $J=14.2$, 4.8 Hz, 1H), 1.37 (t, $J=6.9$ Hz, 3H)
B38	3437, 2964, 1752, 1641	63.38	11.49 (s, 1H), 10.07 (s, 1H), 7.21~7.07 (m, 4H), 4.55 (t, $J=5.1$ Hz, 1H), 4.07 (dq, $J=10.5$, 7.2 Hz, 4H), 2.97~2.95 (m, 2H), 1.71~1.60 (m, 4H), 0.90 (t, $J=7.2$ Hz, 6H)

反应难以进行; 而当使用 DMAP 作催化剂, Et₃N 作缚酸剂时, 用其它溶剂反应并不能得到产品. 最终使用三乙

胺为缚酸剂, 1,4-二氧六环作溶剂, 控制反应温度在 20℃, 用 TLC 跟踪, 反应时间约 16 h, 至反应原料消失,

经硅胶柱层析纯化后得到目标化合物, 收率在 31%~87%之间。

2.2 化合物的图谱分析

目标化合物的 IR 谱中, 在 $3100\sim3500\text{ cm}^{-1}$ 范围内有典型的 N—H 活泼质子吸收峰, 在 $1710\sim1790\text{ cm}^{-1}$ 范围内有典型的 C=O 吸收峰。以化合物 **B14** 为例, 在 ^1H NMR 谱中, 通过核磁共振氢谱对比可以得知反应发生在酚羟基上面, 与前文^[10]生成羧酸酯通过 ^1H NMR 谱比较和 X 射线衍射得到的结论一致; 在 $\delta\ 9.69\sim9.71$ 和 $7.43\sim7.51$ 处分别为酰亚胺和酰胺质子吸收峰, 另外从氢谱可看到磷酸酯亚甲基上质子与 P 原子以及甲基上质子间的偶合, 亚甲基上质子在 $\delta\ 4.38$ 处偶合裂分为 8 条谱线, 为典型的 dq 峰, 偶合常数为 $J_{\text{P-H}}=10.2\text{ Hz}$, $J_{\text{H-H}}=7.2\text{ Hz}$, 其余化合物 **B2**, **B3**, **B16**, **B26**, **B37** 和 **B37** 谱图相似, 偶合常数为 $J_{\text{P-H}}=10.2\sim10.5\text{ Hz}$ 。所有化合物在 ^{31}P NMR 中, 当为磷酸酯时, 如为烷基酯化学位移在 $\delta\ -5\sim-6$ 之间, 如为芳基酯化学位移在 $\delta\ -16\sim-18$ 之间; 当为硫代磷酸酯时, 如为双烷基酯化学位移在 $\delta\ 62\sim64$ 之间, 如为双芳基酯化学位移在 $\delta\ 53\sim56$ 之间, 如为烷基芳基酯化学位移在 $\delta\ 58\sim59$ 之间, 与非常典型的有机(硫代)磷酸酯类化合物的 ^{31}P NMR 化学位移一致。

2.3 除草和杀虫活性

除草活性初筛实验结果见表 3, 在 $100\ \mu\text{g/mL}$ 浓度下, 供试化合物对油菜的抑制活性普遍较低, 只有化合物 **B14** 和 **B25** 对油菜的生长有明显的抑制作用, 抑制率为 53.1%和 62.7%, 活性低于对照药剂草甘膦; 虽然多个化合物对稗草表现出一定的活性, 对稗草株高的抑制率略大于对照药剂草甘膦, 表明这些化合物对稗草的除草活性要比对照药剂草甘膦的除草活性稍好, 但是总的抑制活性较差。与前期^[10~12]研究结果相比较, 这些磷酸酯和硫代磷酸酯类化合物的除草活性显著低于相应的羧酸酯类化合物。鉴于有机磷酸酯类化合物是典型的农用杀虫剂, 为此我们以蚜虫和小菜蛾为试虫对合成的目标化合物进行了杀虫活性初筛, 见表 3。结果显示, 仅化合物 **B7**, **B14** 和 **B17** 对蚜虫表现了一定的杀虫活性, 在 $300\ \mu\text{g/mL}$ 浓度下 24 h 的校正死亡率分别为 52%, 51%和 69%, 其余化合物对蚜虫以及小菜蛾的杀虫活性很低甚至没有明显的杀虫活性, 上述结果说明这种磷酸酯和硫代磷酸酯结构修饰未能达到提高除草和杀虫活性的目的, 这可能与磷酸酯和硫代磷酸酯结构易于在生物体内代谢有关, 在分子设计中值得关注。

表 3 化合物 **B1**~**B38** 的除草及杀虫活性(抑制率或死亡率/%)

Table 3 Herbicidal and insecticidal activities (inhibition or dead ratio/%) of compounds **B1**~**B38**

Compd.	<i>B. campestris</i>	<i>E. rugalli</i>	<i>M. persicae</i>	<i>P. xylostella</i>	Compd.	<i>B. campestris</i>	<i>E. crugalli</i>	<i>M. Persicae</i>	<i>P. xylostella</i>
B1	0	25.0	0	0	B20	0	30.0	0	0
B2	0	25.0	0	0	B21	0	25.0	39	0
B3	33.3	15.0	19	15.0	B22	0	25.0	25	0
B4	5.4	30.0	49	0	B23	0	35.0	0	0
B5	0	20.0	0	0	B24	17.4	0	0	0
B6	0	20.0	26	0	B25	62.7	20.0	28	0
B7	0	35.0	52	0	B26	33.0	5.0	18	0
B8	0	25.0	37	0	B27	0	5.0	0	0
B9	0	20.0	0	0	B28	0	10.0	27	0
B10	0	30.0	26	0	B29	2.5	15.0	0	0
B11	10.6	15.0	0	0	B30	18.4	15.0	0	0
B12	0	20.0	0	0	B31	21.7	10.0	0	0
B13	0	25.0	0	0	B32	19.4	0	0	0
B14	53.1	30.0	51	0	B33	0	5.0	0	0
B15	0	20.0	0	0	B34	0.5	5.0	35	0
B16	0	0	15	0	B35	0	0	29	0
B17	0	30.0	69	0	B36	0	0	0	0
B18	0	20.0	0	0	B37	0	30.0	0	0
B19	0	35.0	42	0	B38	44.7	15.0	30	0
Glp.	73.2	21.5	—	—	Glp.	73.2	21.5	—	—
Ave.	—	—	100	100	Ave.	—	—	100	100

References

- [1] Fonné-Pfister, R.; Chemla, P.; Ward, E.; Girardet, M.; Kreuz, K. E.; Honzatko, R. B.; Fromm, H. J.; Schar, H. P.; Gruters, M. G.; Cowan-Jacob, S. W. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1996**, *93*, 9431.
- [2] Nakajima, N.; Itoi, K.; Takamatsu, Y.; Kinoshita, T.; Okazaki, T.;

- Kawakubo, K.; Shindo, M.; Honma, T.; Tohjigamori, M.; Haneishi, T. *J. Antibiot.* **1991**, *44*, 293.
- [3] Heim, D. R.; Cseke, C.; Gerwick, B. C.; Murdoch, M. G.; Green, S. B. *Pestic. Biochem. Physiol.* **1995**, *53*, 138.
- [4] Siehl, D. L.; Subramanian, M. V.; Walters, E. W.; Lee, S. F.; Anderson, F. J.; Toschi, A. G. *Plant Physiol.* **1996**, *110*, 753.
- [5] (a) Walters, E. W.; Lee, S.-F.; Niderman, T.; Bernasconi, P.; Subramanian, M. V.; Siehl, D. L. *Plant Physiol.* **1997**, *114*, 549.
(b) Cseke, C. T.; Gerwick, B. C.; Crouse, B. C.; Murdoch, M. G.; Green, S. B.; Heim, D. R. *Pestic. Biochem. Physiol.* **1996**, *55*, 210.
- [6] (a) Poland, B. W.; Silva, M. M.; Serra, M. A.; Cho, Y.; Kim, K. H.; Harris, E. M.; Honzatko, R. B. *J. Biochem.* **1993**, *268*, 25334.
(b) Poland, B. W.; Hou, Z. L.; Bruns, C.; Fromm, H. J.; Honzatko, R. B. *J. Biochem.* **1996**, *271*, 15407.
- [7] (a) Wang, J. M.; Han, J. T.; Kuang, Y.; Jin, S. H.; Wang, M. A. *Chin. J. Pestic. Sci.* **2008**, *10*, 392 (in Chinese).
(王进敏, 韩金涛, 匡宇, 金淑惠, 王明安, 农药学报, **2008**, *10*, 392.)
(b) Wang, J. M.; Kuang, Y.; Han, J. T.; Jin, S. H.; Wang, M. A. *Chin. J. Pestic. Sci.* **2009**, *11*, 1 (in Chinese).
(王进敏, 匡宇, 韩金涛, 金淑惠, 王明安, 农药学报, **2009**, *11*, 1.)
- [8] (a) Crouse, G. D.; Johnston, R. D.; Heim, D. R.; Cseke, C. T.; Webster, J. D. *Synthesis and Chemistry of Agro-chemicals V*, American Chemical Society, Washington DC, **1998**, Chapter 13, p. 120.
(b) Hanessian, S.; Lu, P. P.; Sancéau, J. Y.; Chemla, P.; Gohda, K.; Fonne-Pfister, R.; Prade, L.; Cowan-Jacob, S. W. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**, *38*, 3160.
(c) Tibrewal, N.; Elliott, G. I. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 517.
- (d) Wrasidlo, W.; Elliott, G. I.; Carson, D. A.; Rosenbach, M. *WO 2009023495*, **2009** [*Chem. Abstr.* **2009**, *150*, 252697].
- (e) Zhang, Y.; Elliott, G. I.; Saldanha, A.; Carson, D. A.; Wrasidlo, W. *Beilstein J. Org. Chem.* **2010**, *6*, 742.
- [9] Wang, Y. P.; Wang, M. A.; Du, F. P.; Li, X. D.; Yao, G. W.; Zhang, P. D.; Lu, H. Z. *Chem. J. Chin. Univ.* **2010**, *31*, 336 (in Chinese).
(汪月鹏, 王明安, 杜凤沛, 李向东, 姚广伟, 张潘丹, 路慧哲, 高等学校化学学报, **2010**, *31*, 336.)
- [10] Wang, J. M.; Han, J. T.; Zhang, C. Y.; Qiu, L. H.; Wang, M. A. *Chin. J. Org. Chem.* **2010**, *30*, 72 (in Chinese).
(王进敏, 韩金涛, 张春艳, 邱立红, 王明安, 有机化学, **2010**, *30*, 72.)
- [11] Han, J. T.; Wang, J. M.; Chen, S. C.; Qiu, L. H.; Wang, M. A. *Chin. J. Org. Chem.* **2010**, *30*, 691 (in Chinese).
(韩金涛, 王进敏, 陈守聪, 邱立红, 王明安, 有机化学, **2010**, *30*, 691.)
- [12] Han, J. T.; Wang, J. M.; Dong, H. B.; Lei, J. P.; Wang, M. A.; Fang, J. X. *Molecules* **2011**, *16*, 2833.
- [13] Han, J. T.; Chen, S. C.; Liu, J. P.; Xu, Z. H.; Qiu, L. H.; Wang, M. A. *Chin. J. Pestic. Sci.* **2010**, *12*, 274 (in Chinese).
(韩金涛, 陈守聪, 刘吉平, 徐志红, 邱立红, 王明安, 农药学报, **2010**, *12*, 274.)
- [14] Huang, R. Q.; Wang, H. L.; Zhou, J. *Preparation of Organic Intermediates*, Chemical Industry Press, Beijing, **1997**, p. 166 (in Chinese).
(黄润秋, 王惠林, 周嘉, 有机中间体制备, 化学工业出版社, 北京, **1997**, p. 166.)
- [15] Huang, Z. X.; Ough C. S. *J. Agric. Food Chem.* **1991**, *39*, 2218.
- [16] Cativiela, C.; Fraile, J. M.; Garcia, J. I.; Lázaro, B.; Mayoral, J. A.; Pallarés, A. *Appl. Catal., A* **2002**, *224*, 153.
- [17] Wang, Z. D.; Sheikh, S. O.; Zhang, Y. *Molecules* **2006**, *11*, 739.

(Li, L.; Fan, Y.)