新型含吡啶环结构的吡唑肟酯类衍生物的合成与生物活性研究

戴红^a 陈佳^a 洪宇^a 袁斌颖^a 范崇光^{*,a}
马瑞媛^a 梁志鹏^b 石健^{*,b}^(a) 南通大学化学化工学院 南通 226019)^(b) 南通大学分析测试中心 南通 226019)

摘要 为了寻找具有较好生物活性的吡唑肟酯类衍生物, 通过活性亚结构拼接的方法, 设计制备了一系列未见文献报道的含取代吡啶结构的吡唑肟酯化合物。通过 ¹H NMR、¹³C NMR 和元素分析对目标化合物的结构进行了表征。初步的生物活性测试结果显示, 部分化合物表现出一定的杀虫活性。在测试浓度为 500 μg/mL 时, 有 7 个化合物对粘虫的杀灭活性可达 60%~100%, 6 个化合物对蚜虫的杀死率可达 50%~90%。当测试浓度降为 100 μg/mL 时, 1,3-二甲基-5-(4-氯苯氧基)吡唑-4-甲醛-*O*-(2-氯吡啶-3-甲酰基)肟(5f)和 1,3-二甲基-5-(4-甲基苯氧基)吡唑-4-甲醛-*O*-(2-氯吡啶-3-甲酰基)肟(5j)对蚜虫仍表现出一定的杀虫活性, 其杀死率均为 50%。1,3-二甲基-5-(3-氟苯氧基)吡唑-4-甲醛-*O*-(2-氯吡啶-3-甲酰基)肟(5b)和 5f 在测试浓度为 500 μg/mL 时对褐飞虱的杀死率均为 100%。另外, 1,3-二甲基-5-(4-氟苯氧基)吡唑-4-甲醛-*O*-(2-氯吡啶-3-甲酰基)肟(5c), 1,3-二甲基-5-(3-氯苯氧基)吡唑-4-甲醛-*O*-(2-氯吡啶-3-甲酰基)肟(5e), 1,3-二甲基-5-(4-三氟甲氧基苯氧基)吡唑-4-甲醛-*O*-(2-氯吡啶-3-甲酰基)肟(5i)和 5j 对人肝癌(HepG2)细胞株显示出明显的抗肿瘤活性, 其 IC₅₀ 值分别为 2.6, 4.6, 1.8 和 1.1 μmol/L。

关键词 吡啶; 吡唑; 合成; 生物活性

Synthesis and Bioactivities of Novel Pyrazole Oxime Ester Derivatives Containing Pyridyl Moiety

Dai, Hong^a Chen, Jia^a Hong, Yu^a Yuan, Binying^a Fan, Chongguang^{*,a}
Ma, Ruiyuan^a Liang, Zhipeng^b Shi, Jian^{*,b}^(a) College of Chemistry and Chemical Engineering, Nantong University, Nantong 226019)^(b) Analysis and Testing Center, Nantong University, Nantong 226019)

Abstract In order to explore novel pyrazole derivatives with good biological activities, a series of novel pyrazole oxime ester compounds containing pyridyl moiety were designed and synthesized according to the method of active substructure combination. The structures of the target compounds were determined by ¹H NMR, ¹³C NMR and elemental analysis. Preliminary bioassay data indicated that some of the title compounds showed certain insecticidal activities. At a concentration of 500 μg/mL, seven compounds exhibited insecticidal activity against *Oriental armyworm* with 50%~90%, and six compounds exhibited insecticidal activity against *Aphis medicaginis* with 50%~90%. When the dosage was lowered to 100 μg/mL, 1,3-dimethyl-5-(4-chlorophenoxy)pyrazole-4-formyl-*O*-(2-chloropyridin-3-formyl)oxime (5f) and 1,3-dimethyl-5-(4-methylphenoxy)pyrazole-4-formyl-*O*-(2-chloropyridin-3-formyl)oxime (5j) were still active against *Aphis medicaginis* with inhibitory values of 50% and 50%, respectively. Insecticidal activities against *Nilaparvata lugens* of 1,3-dimethyl-5-(3-fluorophenoxy)pyrazole-4-formyl-*O*-(2-chloropyridin-3-formyl)oxime (5b) and 5f were both 100% at 500 μg/mL. Additionally, 1,3-dimethyl-5-(4-fluorophenoxy)pyrazole-4-formyl-*O*-(2-chloropyridin-3-formyl)oxime (5c), 1,3-dimethyl-5-(3-chlorophenoxy)-pyrazole-4-formyl-*O*-(2-chloropyridin-3-formyl)oxime (5e), 1,3-dimethyl-5-(4-trifluoromethoxyphenoxy)pyrazole-4-formyl-*O*-(2-chloropyridin-3-formyl)oxime (5i) and 5j displayed good anti-tumor activity against HepG2 cells with IC₅₀ values of 2.6, 4.6, 1.8 and 1.1 μmol/L, respectively.

* Corresponding authors. E-mail: ntfcg@ntu.edu.cn, gaohbhe2015@aliyun.com

Received January 20, 2017; revised February 21, 2017; published online February 27, 2017.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21372135), the Research Foundation of the Six People Peak of Jiangsu Province (No. 2013-SWYY-013), and the Science and Technology Project Fund of Nantong City (Nos. CP12013002, MS22015020).

国家自然科学基金(No. 21372135)、江苏省“六大人才高峰”(No. 2013-SWYY-013)和南通市科技计划(Nos. CP12013002, MS22015020)资助项目。

Keywords pyridine; pyrazole; synthesis; biological activity

吡唑类衍生物作为含氮杂环体系中的一员, 以其优良的杀菌、杀虫、杀螨、抗病毒及抗肿瘤等活性而倍受农药与药物化学工作者的关注^[1-5]. 近年来, 具有多种农用生物活性的吡唑类化合物被相继开发出来, 如日本 Nihon Nohyaku 公司研制的杀螨剂唑螨酯(Fenpyroximate)具有击倒快、持效时间长、受季节影响小等特点, 可用于防治多种植食性螨^[6,7], 美国 Du Pont 公司开发的杀虫剂氯虫苯甲酰胺对鳞翅目和半翅目类害虫表现优异的防效^[8]. 许多含吡唑基化合物在医疗保健方面也扮演着十分重要的角色, 如环氧合酶-2 选择抑制剂塞来考昔、镇痛药安乃近等^[9,10]. 另外, 吡啶环亦为一类重要的含氮杂环, 吡啶类化合物在农药与医药领域发挥着重要作用. 吡啶类衍生物因其广谱的生物活性及较好的环境相容性而引起人们极大的研究兴趣^[11-17], 有关吡啶类化合物的分子设计、合成与生物活性研究仍为药物化学研究的重要领域之一. 此外, 脲酯基在药物分子中也是一种常见的结构片段^[18-21], 脲酯单元常常被作为良好药效团引入到化合物分子中, 以改善其生物活性. 如 Song 等^[22]报道的含脲酯结构的吡唑酰胺化合物具有优异的杀虫活性, Liu 等^[23]合成的含脲酯结构的吡唑类衍生物显示出良好的抗真菌活性. 鉴于此, 为了进一步寻找具有较好生物活性的吡唑类化合物, 本研究参照唑螨酯的结构, 利用活性亚结构拼接原理, 设计并合成了一系列未见文献报道的新型吡啶结构的吡唑脲酯衍生物(图 1). 通过 ¹H NMR, ¹³C NMR 和元素分析等方法确证了目标化合物的结构. 同时对所合成的化合物进行了初步的生物活性测试, 结果表明部分标题化合物表现出较好的杀虫效果, 部分目标物显示出较好的抗肿瘤活性. 目标化合物的合成路线如 Scheme 1 所示.

图 1 目标化合物 5 的分子设计示意图
Figure 1 Design strategy of target compounds 5

5a: R=2-F, 5b: R=3-F, 5c: R=4-F, 5d: R=2-Cl, 5e: R=3-Cl, 5f: R=4-Cl, 5g: R=2-Br, 5h: R=2-OCF₃, 5i: R=4-OCF₃, 5j: R=4-CH₃, 5k: R=4-*t*-C₄H₉, 5l: R=2,3-F₂, 5m: R=2,4-F₂, 5n: R=2,4-Cl₂

图式 1 目标化合物 5 的合成路线
Scheme 1 Synthetic route of title compounds 5

1 结果与讨论

1.1 目标化合物的合成

在目标化合物的合成中, 我们以化合物 5i 的合成作为研究对象, 尝试了不同的反应条件对 5i 收率的影响. 由表 1 可以看出, 采用吡啶作缚酸剂, CH₂Cl₂ 作溶剂, 室温反应 12 h, 是制备目标化合物的较佳方法, 化合物 5i 的收率为 60%, 该方法反应条件温和, 后处理较为简便. 因此, 采用该方法顺利地制备了其它目标化合物, 并利用核磁共振、碳谱和元素分析等手段对其结构进行了表征.

表 1 不同反应条件对目标化合物 5i 合成收率的影响
Table 1 Effects of reaction conditions on the synthesis of target compound 5i

Entry	Base	Solvent	Reaction condition	Yield/%
1	Et ₃ N	Benzene	Reflux, 12 h	0
2	Et ₃ N	Toluene	Reflux, 12 h	0
3	Pyridine	CH ₂ Cl ₂	Room temperature, 12 h	60
4	Pyridine	CH ₃ CN	Room temperature, 12 h	47
5	Pyridine	CH ₂ Cl ₂	Reflux, 12 h	53

1.2 化合物的图谱解析

我们以目标化合物 **5f** 的核磁氢谱与碳谱数据为例进行解析. ^1H NMR 中 δ 8.53 处的双重峰对应于吡啶环上一个氢的吸收峰; δ 8.14 处的单峰为 $\text{CH}=\text{N}$ 氢的吸收峰; δ 8.09 处的双重峰为吡啶上一个氢的吸收峰; δ 7.31~7.34 多重峰对应于苯环上两个氢和吡啶环上一个氢的吸收峰; δ 6.99 处的双重峰为苯环上两个氢的吸收峰; δ 3.63 处的单峰为吡啶环 1-位甲基上三个氢的吸收峰; δ 2.49 处的单峰为吡啶环 3-位甲基上三个氢的吸收峰. ^{13}C NMR 中 δ 在 162.4 处的峰为与吡啶环相连的 CO 碳原子的信号峰; δ 34.5 处的峰为吡啶环 1-位甲基碳原子的信号峰; δ 15.1 处的峰为吡啶环 3-位甲基碳原子的信号峰.

1.3 化合物的杀虫活性

目标化合物 **5a**~**5n** 对粘虫(*Oriental armyworm*)、蚜虫(*Aphis medicaginis*)和褐飞虱(*Nilaparvata lugens*)的杀虫活性测试结果见表 2. 初步的生测结果显示, 部分目标化合物表现出一定的杀虫活性. 在测试浓度为 500 $\mu\text{g/mL}$ 时, 化合物 **5a**, **5c**, **5e**, **5f**, **5g**, **5h** 和 **5n** 对粘虫的杀灭活性分别为 70%, 100%, 80%, 60%, 70%, 100%和 100%, 其中化合物 **5c**, **5h** 和 **5n** 对粘虫的防效与对照药吡虫啉相当; 化合物 **5b**, **5c**, **5f**, **5g**, **5i** 和 **5j** 对蚜虫的杀死率分别为 50%, 50%, 90%, 50%, 60%和 80%, 当测试浓度降至 100 $\mu\text{g/mL}$ 时, 化合物 **5f** 和 **5j** 对蚜虫仍具有中等水平的杀虫活性, 其抑制率均为 50%. 此外, 化合物 **5b** 和 **5f** 在测试浓度为 500 $\mu\text{g/mL}$ 时对褐飞虱呈现出

表 2 目标化合物 **5a**~**5n** 的杀虫活性(死亡率/%)^a

Table 2 Insecticidal activities (mortality/%) of target compounds **5a**~**5n**

Compd.	<i>Oriental armyworm</i>		<i>Aphis medicaginis</i>		<i>Nilaparvata lugens</i>	
	500	100	500	100	500	100
5a	70	—	0	—	0	—
5b	0	—	50	—	100	0
5c	100	0	50	—	0	—
5d	0	—	0	—	0	—
5e	80	0	0	—	0	—
5f	60	—	90	50	100	0
5g	70	—	50	—	0	—
5h	100	0	0	—	0	—
5i	0	—	60	—	0	—
5j	0	—	80	50	0	—
5k	0	—	0	—	0	—
5l	40	—	0	—	0	—
5m	40	—	0	—	0	—
5n	100	0	0	—	0	—
Pyridalyl	100	100	—	—	—	—
Imidacloprid	—	—	100	100	100	100

^a Test concentration unit is $\mu\text{g/mL}$, “—” refers to “not tested”.

良好的杀灭活性, 其抑制率均达 100%, 与对照药吡虫啉的药效相当. 这为今后继续从事吡啶类化合物的结构优化与生物活性研究提供了重要的试验数据.

1.4 化合物的抗肿瘤活性

目标化合物 **5a**~**5n** 对人肝癌(HepG2)和人胃癌(SGC7901)细胞株的体外抗肿瘤活性结果如表 3 所示. 从表 3 可以看出, 目标化合物对 SGC7901 癌细胞均未显示出明显的抑制活性, 然而部分目标物对 HepG2 癌细胞具有较好的抑制作用, 但无明显的规律. 4-氟取代物 **5c**、3-氯取代物 **5e**、4-三氟甲氧基取代物 **5i** 和 4-甲基取代物 **5j** 对 HepG2 细胞的抑制活性相对较好, 其 IC_{50} 值分别为 2.6, 4.6, 1.8 和 1.1 $\mu\text{mol/L}$, 明显高于对照药 Sorafenib 的活性($\text{IC}_{50}=16.2$ $\mu\text{mol/L}$). 该类型化合物的结构衍生与抗肿瘤活性研究正在进行中.

表 3 目标化合物 **5a**~**5n** 的体外抗肿瘤活性

Table 3 Cytotoxicity of target compounds **5a**~**5n**

Compd.	$\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	
	HepG2	SGC7901
5a	>20	>20
5b	>20	>20
5c	2.6	>20
5d	>20	>20
5e	4.6	>20
5f	>20	>20
5g	>20	>20
5h	>20	>20
5i	1.8	>20
5j	1.1	>20
5k	>20	>20
5l	>20	>20
5m	>20	>20
5n	>20	>20
Sorafenib	16.2	12.1

2 结论

通过 2-氯吡啶-3-甲酰基氯与取代吡啶酮的缩合反应, 合成了 14 个新型含吡啶结构的吡啶酮酯类化合物. 初步的生物活性测试结果表明, 部分化合物显示出一定的杀虫活性. 在测试浓度为 500 $\mu\text{g/mL}$ 时, 化合物 **5a**, **5c**, **5e**, **5f**, **5g**, **5h** 和 **5n** 对粘虫的杀灭效果分别为 70%, 100%, 80%, 60%, 70%, 100%和 100%, 化合物 **5b**, **5c**, **5f**, **5g**, **5i** 和 **5j** 对蚜虫的杀死率分别为 50%, 50%, 90%, 50%, 60%和 80%, 化合物 **5b** 和 **5f** 对褐飞虱的抑制活性均为 100%, 当测试浓度降至 100 $\mu\text{g/mL}$ 时, 化合物 **5f** 和 **5j** 对蚜虫仍表现出一定的杀虫效果, 其杀死率均为 50%. 此外, 化合物 **5c**, **5e**, **5i** 和 **5j** 对人肝癌(HepG2)细胞株呈现出较好的抗肿瘤活性, 其 IC_{50} 值分别为 2.6, 4.6, 1.8 和 1.1 $\mu\text{mol/L}$, 高于对照药 Sorafenib 的活性, 具有进一步

研究的价值。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

X-4 型数字显示熔点测定仪(北京泰克仪器有限公司), 温度计未经校正; Yanaco-CHN CORDER MT-3 自动元素分析仪; LCQ-Advantage 型质谱仪; Bruker AM-400 型核磁共振仪, 以 CDCl_3 为溶剂, TMS 为内标; 柱层析硅胶为 H 型(青岛海洋化工厂, 200~300 目)。所用试剂均为分析纯。中间体 1,3-二甲基-5-氯吡啶-4-甲醛(**1**)按照文献[24]方法制备, 1,3-二甲基-5-取代苯氧基吡啶-4-甲醛(**2**)和 1,3-二甲基-5-取代苯氧基吡啶-4-甲醛肟(**3**)按照文献[25, 26]方法制备。

3.2 2-氯吡啶-3-甲酰基氯(**4**)的合成

在一 100 mL 圆底烧瓶中, 加入 0.04 mol 2-氯烟酸及 0.2 mol 二氯亚砷, 室温搅拌下, 向其中加入几滴 *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF), 加热回流 5 h, 冷却至室温, 减压蒸除溶剂, 得到相应的中间体 **4**, 产品未经纯化可直接用于下一步反应。

3.3 目标化合物 **5** 的合成

在一 100 mL 圆底烧瓶中, 加入 3 mmol 肟中间体 **3**、3 mL 吡啶及 25 mL 二氯甲烷, 冰浴下搅拌, 向其中慢慢滴加 3.6 mmol 2-氯吡啶-3-甲酰基氯(**4**)的二氯甲烷溶液(15 mL)。滴毕, 室温搅拌 10~16 h。减压蒸去溶剂, 向残余物中加入 50 mL 二氯甲烷, 用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 抽滤, 脱溶, 所得残余物以石油醚/乙酸乙酯(*V*:*V*=20:1)为洗脱剂进行柱层析分离, 得到目标化合物 **5a~5n**。

1,3-二甲基-5-(2-氟苯氧基)吡啶-4-甲醛-*O*-(2-氯吡啶-3-甲酰基)肟(**5a**): 白色固体, 产率 53%。m.p. 105~106 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.54 (d, *J*=4.0 Hz, 1H, Py-H), 8.14 (s, 1H, CH=N), 8.10 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, Py-H), 7.33~7.36 (m, 1H, Py-H), 7.08~7.25 (m, 3H, Ar-H), 6.87~6.91 (m, 1H, Ar-H), 3.69 (s, 3H, N-CH₃), 2.49 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 162.4, 153.3, 151.9, 150.8, 149.7, 148.9, 148.1, 144.0, 140.0, 126.4, 125.4, 124.9, 122.1, 117.7, 117.4, 98.0, 34.5, 15.2. Anal. calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{ClFN}_4\text{O}_3$: C 55.61, H 3.63, N 14.41; found C 55.73, H 3.53, N 14.28.

1,3-二甲基-5-(3-氟苯氧基)吡啶-4-甲醛-*O*-(2-氯吡啶-3-甲酰基)肟(**5b**): 白色固体, 产率 58%。m.p. 104~106 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.53 (d, *J*=4.0 Hz, 1H, Py-H), 8.16 (s, 1H, CH=N), 8.09 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, Py-H), 7.29~7.35 (m, 2H, Py-H and Ar-H), 6.85~

6.89 (m, 1H, Ar-H), 6.68~6.73 (m, 2H, Ar-H), 3.64 (s, 3H, N-CH₃), 2.51 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 164.8, 162.4, 157.5, 151.9, 149.7, 149.2, 148.9, 148.2, 139.9, 131.3, 126.4, 122.1, 111.5, 111.0, 104.0, 98.7, 34.5, 15.1. Anal. calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{ClFN}_4\text{O}_3$: C 55.61, H 3.63, N 14.41; found C 55.50, H 3.77, N 14.53.

1,3-二甲基-5-(4-氟苯氧基)吡啶-4-甲醛-*O*-(2-氯吡啶-3-甲酰基)肟(**5c**): 白色固体, 产率 63%。m.p. 117~119 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.53 (d, *J*=4.0 Hz, 1H, Py-H), 8.13 (s, 1H, CH=N), 8.10 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, Py-H), 7.32~7.35 (m, 1H, Py-H), 6.91~7.07 (m, 4H, Ar-H), 3.64 (s, 3H, N-CH₃), 2.49 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 162.4, 160.0, 158.1, 152.5, 151.9, 149.9, 149.7, 149.0, 148.2, 139.9, 126.4, 122.1, 117.0, 116.9, 116.7, 98.2, 34.5, 15.2. Anal. calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{ClFN}_4\text{O}_3$: C 55.61, H 3.63, N 14.41; found C 55.75, H 3.56, N 14.50.

1,3-二甲基-5-(2-氯苯氧基)吡啶-4-甲醛-*O*-(2-氯吡啶-3-甲酰基)肟(**5d**): 白色固体, 产率 55%。m.p. 124~126 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.53 (d, *J*=4.0 Hz, 1H, Py-H), 8.09 (d, *J*=8.0 Hz, 2H, Py-H and CH=N), 7.49 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H), 7.31~7.34 (m, 1H, Py-H), 7.20~7.25 (m, 1H, Ar-H), 7.10~7.14 (m, 1H, Ar-H), 6.77~6.80 (m, 1H, Ar-H), 3.66 (s, 3H, N-CH₃), 2.50 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 162.4, 152.0, 151.9, 149.7, 149.6, 149.0, 148.1, 139.9, 131.3, 128.3, 126.5, 125.4, 123.1, 122.1, 116.2, 98.3, 34.5, 15.3. Anal. calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_3$: C 53.35, H 3.48, N 13.83; found C 53.21, H 3.61, N 13.97.

1,3-二甲基-5-(3-氯苯氧基)吡啶-4-甲醛-*O*-(2-氯吡啶-3-甲酰基)肟(**5e**): 淡黄色固体, 产率 59%。m.p. 131~133 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.53 (d, *J*=4.0 Hz, 1H, Py-H), 8.15 (s, 1H, CH=N), 8.09 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, Py-H), 7.29~7.34 (m, 2H, Py-H and Ar-H), 7.14 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H), 6.96 (s, 1H, Ar-H), 6.81~6.84 (m, 1H, Ar-H), 3.64 (s, 3H, N-CH₃), 2.50 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 162.4, 157.0, 151.9, 149.7, 149.1, 148.9, 148.3, 139.9, 135.8, 131.1, 126.4, 124.6, 122.1, 116.2, 113.6, 98.7, 34.6, 15.1. Anal. calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_3$: C 53.35, H 3.48, N 13.83; found C 53.49, H 3.34, N 13.94.

1,3-二甲基-5-(4-氯苯氧基)吡啶-4-甲醛-*O*-(2-氯吡啶-3-甲酰基)肟(**5f**): 白色固体, 产率 66%。m.p. 110~112 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.53 (d, *J*=4.0 Hz, 1H, Py-H), 8.14 (s, 1H, CH=N), 8.09 (d, *J*=8.0 Hz,

1H, Py-H), 7.31~7.34 (m, 3H, Py-H and Ar-H), 6.99 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, Ar-H), 3.63 (s, 3H, N-CH₃), 2.49 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 162.4, 155.1, 152.0, 149.7, 149.4, 148.9, 148.2, 140.0, 130.2, 129.5, 126.3, 122.1, 116.8, 98.4, 34.5, 15.1. Anal. calcd for C₁₈H₁₄Cl₂N₄O₃: C 53.35, H 3.48, N 13.83; found C 53.26, H 3.62, N 13.70.

1,3-二甲基-5-(2-溴苯氧基)吡啶-4-甲醛-*O*-(2-氯吡啶-3-甲酰基)肟(**5g**): 白色固体, 产率 52%. m.p. 134~136 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.52 (d, $J=4.0$ Hz, 1H, Py-H), 8.09 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, Py-H and CH=N), 7.66 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 7.25~7.34 (m, 2H, Py-H and Ar-H), 7.04~7.08 (m, 1H, Ar-H), 6.75 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 3.65 (s, 3H, N-CH₃), 2.51 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 162.4, 153.1, 151.9, 149.7, 149.6, 149.0, 148.1, 139.9, 134.4, 129.1, 126.5, 125.8, 122.1, 116.0, 111.7, 98.4, 34.6, 15.3. Anal. calcd for C₁₈H₁₄BrClN₄O₃: C 48.08, H 3.14, N 12.46; found C 48.01, H 3.28, N 12.60.

1,3-二甲基-5-(2-三氟甲氧基苯氧基)吡啶-4-甲醛-*O*-(2-氯吡啶-3-甲酰基)肟(**5h**): 白色固体, 产率 51%. m.p. 106~108 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.53 (d, $J=4.0$ Hz, 1H, Py-H), 8.10 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, Py-H and CH=N), 7.40 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 7.32~7.36 (m, 1H, Py-H), 7.18~7.29 (m, 2H, Ar-H), 6.80 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 3.65 (s, 3H, N-CH₃), 2.52 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 162.4, 151.9, 149.7, 148.9, 148.8, 148.6, 148.2, 139.9, 128.5, 126.4, 124.9, 124.0, 122.1, 116.0, 98.5, 34.4, 15.3. Anal. calcd for C₁₉H₁₄ClF₃N₄O₄: C 50.18, H 3.10, N 12.32; found C 50.31, H 3.01, N 12.18.

1,3-二甲基-5-(4-三氟甲氧基苯氧基)吡啶-4-甲醛-*O*-(2-氯吡啶-3-甲酰基)肟(**5i**): 淡黄色固体, 产率 60%. m.p. 93~95 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.53 (d, $J=4.0$ Hz, 1H, Py-H), 8.15 (s, 1H, CH=N), 8.08 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Py-H), 7.31~7.34 (m, 1H, Py-H), 7.22 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, Ar-H), 6.97 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, Ar-H), 3.65 (s, 3H, N-CH₃), 2.49 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 162.3, 154.8, 152.0, 149.7, 149.3, 148.8, 148.3, 145.3, 139.9, 126.4, 123.1, 122.1, 116.7, 98.5, 34.5, 15.0. Anal. calcd for C₁₉H₁₄ClF₃N₄O₄: C 50.18, H 3.10, N 12.32; found C 50.05, H 3.24, N 12.46.

1,3-二甲基-5-(4-甲基苯氧基)吡啶-4-甲醛-*O*-(2-氯吡啶-3-甲酰基)肟(**5j**): 白色固体, 产率 63%. m.p. 64~66 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.52 (d, $J=4.0$ Hz,

1H, Py-H), 8.12 (s, 1H, CH=N), 8.10 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Py-H), 7.32~7.35 (m, 1H, Py-H), 7.14 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, Ar-H), 6.84 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, Ar-H), 3.62 (s, 3H, N-CH₃), 2.50 (s, 3H, CH₃), 2.32 (s, 3H, Ar-CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 162.5, 154.5, 151.9, 150.5, 149.7, 149.4, 148.0, 140.0, 134.0, 130.7, 126.5, 122.1, 117.9, 115.5, 98.2, 34.4, 20.6, 15.4. Anal. calcd for C₁₉H₁₇ClN₄O₃: C 59.30, H 4.45, N 14.56; found C 59.17, H 4.59, N 14.43.

1,3-二甲基-5-(4-叔丁基苯氧基)吡啶-4-甲醛-*O*-(2-氯吡啶-3-甲酰基)肟(**5k**): 淡黄色固体, 产率 61%. m.p. 124~126 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.52 (d, $J=4.0$ Hz, 1H, Py-H), 8.11 (s, 1H, CH=N), 8.09 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Py-H), 7.36 (d, $J=12.0$ Hz, 2H, Ar-H), 7.30~7.33 (m, 1H, Py-H), 6.87 (d, $J=12.0$ Hz, 2H, Ar-H), 3.63 (s, 3H, N-CH₃), 2.51 (s, 3H, CH₃), 1.30 (s, 9H, *t*-C₄H₉); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 162.5, 154.4, 151.9, 150.5, 149.7, 149.5, 148.0, 147.4, 139.9, 127.1, 126.5, 122.1, 115.1, 98.3, 34.5, 34.4, 31.4, 15.4. Anal. calcd for C₂₂H₂₃ClN₄O₃: C 61.90, H 5.43, N 13.12; found C 61.99, H 5.31, N 13.01.

1,3-二甲基-5-(2,3-二氟苯氧基)吡啶-4-甲醛-*O*-(2-氯吡啶-3-甲酰基)肟(**5l**): 白色固体, 产率 52%. m.p. 122~123 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.53 (d, $J=4.0$ Hz, 1H, Py-H), 8.16 (s, 1H, CH=N), 8.09 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Py-H), 7.32~7.35 (m, 1H, Py-H), 6.98~7.03 (m, 2H, Ar-H), 6.62~6.65 (m, 1H, Ar-H), 3.69 (s, 3H, N-CH₃), 2.47 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 162.3, 152.0, 149.7, 148.9, 148.6, 148.3, 145.5, 139.9, 126.4, 123.9, 123.7, 122.1, 113.1, 112.9, 111.9, 98.3, 34.5, 14.9. Anal. calcd for C₁₈H₁₃ClF₂N₄O₃: C 53.15, H 3.22, N 13.77; found C 53.02, H 3.36, N 13.89.

1,3-二甲基-5-(2,4-二氟苯氧基)吡啶-4-甲醛-*O*-(2-氯吡啶-3-甲酰基)肟(**5m**): 白色固体, 产率 54%. m.p. 113~114 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.54 (d, $J=4.0$ Hz, 1H, Py-H), 8.12 (s, 1H, CH=N), 8.09 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Py-H), 7.32~7.35 (m, 1H, Py-H), 6.91~7.01 (m, 2H, Ar-H), 6.81~6.86 (m, 1H, Ar-H), 3.71 (s, 3H, N-CH₃), 2.45 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 162.3, 152.0, 149.7, 149.6, 148.6, 148.3, 140.0, 126.4, 122.1, 118.5, 118.4, 111.6, 111.4, 106.2, 106.0, 97.7, 34.5, 14.8. Anal. calcd for C₁₈H₁₃ClF₂N₄O₃: C 53.15, H 3.22, N 13.77; found C 53.05, H 3.08, N 13.90.

1,3-二甲基-5-(2,4-二氯苯氧基)吡啶-4-甲醛-*O*-(2-氯吡啶-3-甲酰基)肟(**5n**): 白色固体, 产率 50%. m.p. 133~135 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.53 (d, $J=4.0$

Hz, 1H, Py-H), 8.12 (s, 1H, CH=N), 8.10 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Py-H), 7.50 (s, 1H, Ar-H), 7.32~7.35 (m, 1H, Py-H), 7.19 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 6.71 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 3.66 (s, 3H, N-CH₃), 2.49 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 162.3, 152.0, 150.8, 149.7, 148.9, 148.6, 148.3, 140.0, 131.0, 130.0, 128.3, 126.3, 123.9, 122.1, 116.7, 98.4, 34.5, 15.1. Anal. calcd for C₁₈H₁₃Cl₃N₄O₃: C 49.17, H 2.98, N 12.74; found C 49.31, H 2.85, N 12.86.

3.4 生物活性测试

用分析天平称取一定质量的原药, 用含吐温-80 乳化剂的 DMF 溶解配制成 1.0% 母液, 然后用蒸馏水稀释备用. 每个处理 3 次重复, 设空白对照.

杀虫活性测试所选昆虫分别为粘虫 (*Oriental armyworm*)、蚜虫 (*Aphis medicaginis*) 和褐飞虱 (*Nilaparvata lugens*). 对照药剂分别为啉虫丙醚 (Pyridalyl) 和吡虫啉 (Imidacloprid).

蚜虫和褐飞虱: 采用喷雾法. 首先, 分别将接有蚜虫的蚕豆叶片和接有褐飞虱的水稻苗于 Potter 喷雾塔下喷雾处理, 处理后蚜虫置于 20~22 °C 观察室内培养, 褐飞虱置于 24~27 °C 观察室内培养, 调查药后 2 d 的死活虫数, 并进行统计分析.

粘虫: 采用浸叶碟法. 首先, 将适量玉米叶在配好的药液中充分浸润后自然阴干, 放入垫有滤纸的培养皿中, 接粘虫 3 龄中期幼虫 10 头/皿, 置于 24~27 °C 观察室内培养, 调查药后 2 d 的死活虫数, 并进行统计分析.

抗肿瘤活性测试所用细胞株分别为人肝癌 (HepG2) 和人胃癌 (SGC7901) 细胞株. 阳性对照药为索拉菲尼 (Sorafenib). 采用噻唑蓝 (MTT) 法测定了目标化合物的体外抗肿瘤活性, 具体方法参照文献 [27, 28].

辅助材料 (Supporting Information) 化合物 **5a~5n** 的 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 图谱. 这些材料可以免费从本刊网站 (<http://sioc-journal.cn/>) 上下载.

References

- [1] Li, Y.; Zhang, H. Q.; Liu, J.; Yang, X. P.; Liu, Z. J. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 3636.
- [2] Dai, H.; Li, Y. Q.; Du, D.; Qin, X.; Zhang, X.; Yu, H. B.; Fang, J. X. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 10805.
- [3] Hamaguchi, H.; Kajihara, O.; Katoh, M. *J. Pestic. Sci.* **1995**, *20*, 173.
- [4] Motoba, K.; Nishizawa, H.; Suzuki, T.; Hamaguchi, H.; Uchida, M.; Funayama, S. *Pestic. Biochem. Physiol.* **2000**, *67*, 73.
- [5] Park, H. J.; Lee, K.; Park, S. J.; Ahn, B.; Lee, J. C.; Cho, H. Y.; Lee, K. I. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 3307.
- [6] Hamaguchi, H.; Kajihara, O.; Katoh, M. *J. Pestic. Sci.* **1995**, *20*, 173.
- [7] Swanson, M. B.; Ivancic, W. A.; Saxena, A. M.; Allton, J. D.; O'Brien, G. K.; Suzuki, T.; Nishizawa, H.; Nokata, M. *J. Agric. Food Chem.* **1995**, *43*, 513.
- [8] Lahm, G. P.; Selby, T. P.; Freudenberger, J. H.; Stevenson, T. M.; Myers, B. J.; Seburyamo, G.; Smith, B. K.; Flexner, L.; Clark, C. E.; Cordova, D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 4898.
- [9] Penning, T. D.; Talley, J. J.; Bertenshaw, S. R.; Carter, J. S.; Collins, P. W.; Docter, S.; Graneto, M. J.; Lee, L. F.; Malecha, J. W.; Miyashiro, J. M.; Rogers, R. S.; Rogier, D. J.; Yu, S. S.; Anderson, G. D.; Burton, E. G.; Cogburn, J. N.; Gregory, S. A.; Koboldt, C. M.; Perkins, W. E.; Seibert, K.; Veenhuizen, A. W.; Zhang, Y. Y.; Isakson, P. C. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 1347.
- [10] Teng, M.; Zhu, J. J.; Johnson, M. D.; Chen, P.; Kornmann, J.; Chen, E. T.; Blasina, A.; Register, J.; Anderes, K.; Rogers, C.; Deng, Y. L.; Ninkovic, S.; Grant, S.; Hu, Q. Y.; Lundgren, K.; Peng, Z. W.; Kania, R. S. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 5253.
- [11] Ouyang, G. P.; Cai, X. J.; Chen, Z.; Song, B. A.; Bhadury, P. S.; Yang, S.; Jin, L. H.; Xue, W.; Hu, D. Y.; Zeng, S. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 60.
- [12] Dai, H.; Shi, L.; Zhang, H. J.; Li, Y. Q.; Fang, J. X.; Shi, Y. J. *Chin. J. Org. Chem.* **2012**, *32*, 1060 (in Chinese). (戴红, 施磊, 张海军, 李永强, 方建新, 石玉军, 有机化学, **2012**, *32*, 1060.)
- [13] Wang, X.; Wang, C. Q.; Fu, C. R.; Zou, X. M. *Chin. J. Org. Chem.* **2015**, *35*, 92 (in Chinese). (王鑫, 王朝强, 傅翠蓉, 邹小毛, 有机化学, **2015**, *35*, 92.)
- [14] Dai, H.; Zhuang, H. Y.; Shi, L.; Li, G.; Zhang, H. J.; Fang, Y.; Dai, B. J. *Chin. J. Org. Chem.* **2015**, *35*, 2399 (in Chinese). (戴红, 庄辉阳, 施磊, 李刚, 张海军, 方源, 戴宝江, 有机化学, **2015**, *35*, 2399.)
- [15] Tian, Z. Z.; Shao, X. S.; Li, Z.; Qian, X. H.; Huang, Q. C. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 2288.
- [16] Lu, S. Y.; Shao, X. S.; Li, Z.; Xu, Z. P.; Zhao, S. S.; Wu, Y. L.; Xu, X. Y. *J. Agric. Food Chem.* **2012**, *60*, 322.
- [17] Selby, T. P.; Lahm, G. P.; Stevenson, T. M.; Hughes, K. A.; Cordova, D.; Annan, I. B.; Barry, J. D.; Benner, E. A.; Currie, M. J.; Pautski, T. F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 6341.
- [18] Song, B. A.; Liu, X. H.; Yang, S.; Hu, D. Y.; Jin, L. H.; Zhang, Y. T. *Chin. J. Org. Chem.* **2005**, *25*, 507 (in Chinese). (宋宝安, 刘新华, 杨松, 胡德禹, 金林红, 张玉涛, 有机化学, **2005**, *25*, 507.)
- [19] Ouyang, G. P.; Chen, Z.; Cai, X. J.; Song, B. A.; Bhadury, P. S.; Yang, S.; Jin, L. H.; Xue, W.; Hu, D. Y.; Zeng, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 9699.
- [20] Shi, Y. J.; Wang, S. L.; He, H. B.; Li, Y.; Li, Y.; Fang, Y.; Dai, H. *Chin. J. Org. Chem.* **2015**, *35*, 1785 (in Chinese). (石玉军, 王森林, 何海兵, 李钰, 李阳, 方源, 戴红, 有机化学, **2015**, *35*, 1785.)
- [21] Dai, H.; Li, H.; Jin, Z. C.; Liu, W. Y.; Xiao, Y.; He, H. B.; Wang, Q. M.; Shi, Y. J. *Chin. J. Org. Chem.* **2016**, *36*, 185 (in Chinese). (戴红, 李宏, 金智超, 刘文永, 肖瑶, 何海兵, 汪清民, 石玉军, 有机化学, **2016**, *36*, 185.)
- [22] Song, H. J.; Liu, Y. X.; Xiong, L. X.; Li, Y. Q.; Yang, N.; Wang, Q. M. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61*, 8730.
- [23] Liu, X. H.; Cui, P.; Song, B. A.; Bhadury, P. S.; Zhu, H. L.; Wang, S. F. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 4075.
- [24] Park, M. S.; Park, H. J.; Park, K. H.; Lee, K. I. *Synth. Commun.* **2004**, *34*, 1541.
- [25] Ma, J. A.; Huang, R. Q.; Feng, L.; Song, J.; Qiu, D. W. *Chem. Res. Chin. Univ.* **2003**, *19*, 297.
- [26] Dai, H.; Xiao, Y. S.; Li, Z.; Xu, X. Y.; Qian, X. H. *Chin. Chem. Lett.* **2014**, *25*, 1014.
- [27] Liu, J. C.; Liu, Y. J.; He, H. W. *Chin. J. Org. Chem.* **2015**, *35*, 462 (in Chinese). (刘建超, 刘勇军, 贺红武, 有机化学, **2015**, *35*, 462.)
- [28] Song, B. A.; Yang, S.; Zhong, H. M.; Jin, L. H.; Hu, D. Y.; Liu, G. J. *Fluorine Chem.* **2015**, *126*, 87.

(Li, L.; Lu, Z.)