新型哌啶基肉桂醛缩氨基硫脲衍生物的设计、合成及抑菌活性研究

张学博 马航宇 孙腾达 雷 鹏

杨新玲 张晓鸣 凌 云*

(中国农业大学理学院 应用化学系 北京 100193)

摘要 为了发现高活性杀菌剂先导化合物, 利用骨架跃迁原理, 以哌啶基苯甲醛缩氨基硫脲为先导化合物, 设计并合成了一系列未见文献报道的肉桂醛缩氨基硫脲类衍生物。化合物结构经过 ^1H NMR、 ^{13}C NMR、IR、元素分析或 HRMS 确证。离体抑菌活性测试结果表明, 一些化合物对多种病原真菌表现出优异的杀菌活性。在 50 $\mu\text{g/mL}$ 浓度下, $N'-[(1E, 2E)-3-(4\text{-氯苯基})\text{烯丙基}]\text{哌啶-1-硫代酰肼}(\mathbf{3a})$ 和 $N'-[(1E, 2E)-3\text{-苯基烯丙基}]\text{哌啶-1-硫代酰肼}(\mathbf{3p})$ 对苹果腐烂病菌、油菜菌核病菌、瓜果腐霉病菌和水稻纹枯病菌的离体抑菌活性均在 95% 以上。EC₅₀ 测试结果表明, 化合物 $\mathbf{3a}$, $\mathbf{3p}$ 对这 4 种病原真菌 EC₅₀ 均在 10 $\mu\text{g/mL}$ 以内, 表现出广谱的杀菌活性。初步构效关系分析表明, 将苯甲醛骨架替换为具有杀菌活性的肉桂醛骨架结构, 有利于活性的提高。

关键词 天然产物; 肉桂醛; 缩氨基硫脲; 合成; 杀菌活性

Design, Synthesis and Fungicidal Activity of Novel Piperidine Containing Cinnamaldehyde Thiosemicarbazide Derivatives

Zhang, Xuebo Ma, Hangyu Sun, Tengda Lei, Peng

Yang, Xinling Zhang, Xiaoming Ling, Yun*

(Department of Applied Chemistry, College of Science, China Agricultural University, Beijing 100193)

Abstract In order to find new lead compound with higher fungicidal activity, a series of novel cinnamaldehyde thiosemicarbazone derivatives were designed and synthesized according to scaffold hopping strategy, based on the lead of the thiosemicarbazide derivatives containing piperidine discovered in our preliminary studies. Their structures were confirmed by ^1H NMR, ^{13}C NMR, IR, elemental analysis or HRMS. The bioassay results indicated that some compounds exhibited excellent fungicidal activities. In particular, $N'-[(1E, 2E)-3-(4\text{-chlorophenyl})\text{allylidene}]\text{piperidine-1-carbothiohydrazide}(\mathbf{3a})$ and $N'-[(1E, 2E)-3\text{-phenylallylidene}]\text{piperidine-1-carbothiohydrazide}(\mathbf{3p})$ showed above 95% inhibitory rate against *Cytospora sp.*, *S. sclerotiorum*, *P. aphanidermatum* and *T. cucumeris* at 50 $\mu\text{g/mL}$ with EC₅₀ values lower than 10 $\mu\text{g/mL}$. The preliminary structure-activity relationship indicated that cinnamaldehyde contributes more to the bioactivity than benzaldehyde.

Keywords natural product; cinnamyl aldehyde; thiosemicarbazide; synthesis; fungicidal activity

农药的广泛使用, 极大地提高了粮食的产量与品质。但是, 截止到目前为止, 世界上仍然有约七分之一的人口无法从充足的粮食中获得足够的能量和蛋白质。同时, 世界人口在不断地增加, 到 20 世纪中叶, 预计世界人口将达到 90 亿。因此, 新农药的研发对确保粮食安全显得尤为重要^[1]。天然产物在农药领域具有广泛的应用^[2], 噁菌酯和吡唑醚菌酯是目前市场上销售额最大的两个杀菌剂(图 1), 同属于丙烯酸酯类杀菌剂, 而该类杀

菌剂来源于天然产物, 有效成分主要从天然产物蘑菇中分离得到^[3]。在杀菌剂领域目前共有约 308 个商品化药剂, 其中近一半直接来源于天然产物或天然产物衍生物。2014 年全球杀菌剂销售额约 185 亿美元, 其中天然产物或天然产物衍生物开发的杀菌剂占到整个销售额的 64%^[4]。

肉桂是一种天然的香料, 其主要成分是肉桂醛, 在我国已经有 2000 多年的栽培历史。肉桂醛广泛应用于

* Corresponding author. E-mail: lyun@cau.edu.cn

Received March 17, 2019; revised April 18, 2019; published online May 21, 2019.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21672258).

国家自然科学基金(No. 21672258)资助项目。

图1 部分天然源衍生物杀菌剂结构式

Figure 1 Structures of some fungicide come from natural products

香料、医药、化妆品、农药等领域, 具有抗癌、抗细菌、抗病毒、酪氨酸酶抑制活性等多重生物活性^[5~10]. 尤其在农药领域, 肉桂醛具有杀菌^[11]、杀蚊幼虫^[12]等生物活性. 目前市场上有多个含肉桂醛骨架结构的商品化药剂, 例如烯肟菌酯(Enoxastrobin)、烯肟菌胺(Fenaminstrobin)、烯酰吗啉(Dimethomorph)和氟吗啉(Flumorph)等(图2).

图2 部分含肉桂醛骨架结构的杀菌剂

Figure 2 Some fungicides containing cinnamaldehyde fragment

缩氨基硫脲类化合物广泛应用于医药、农药等领域, 具有抗癌、抗肿瘤、抗寄生虫、治疗阿尔茨海默氏病、抑菌、抑制酪氨酸酶等多种生物活性^[13~16]. 本课题组对苯甲醛缩氨基硫脲进行了多年研究^[17], 并发现含哌啶环的苯甲醛缩氨基硫脲类化合物对苹果腐烂病菌和油菜菌核病菌的抑菌效果明显^[18]. 为了开发出具有更好杀菌活性的化合物, 我们以前期发现的哌啶基苯甲醛缩氨基硫脲为先导, 在保留哌啶基缩氨基硫脲结构片段基础上, 采用骨架跃迁原理, 将苯甲醛替换为具有杀菌活性的天然肉桂醛, 设计合成了一系列含哌啶基肉桂醛缩

氨基硫脲类衍生物(图3). 并测试其离体杀菌活性, 希望发现更高杀菌活性的先导化合物.

图3 目标化合物的设计思想

Figure 3 Design strategy of the title compounds

1 结果与讨论

1.1 目标化合物的合成

中间体及目标化合物的合成路线如 Scheme 1 所示, 首先硫羰基二咪唑与取代哌啶发生亲核取代反应生成中间体 1, 再与水合肼反应得到关键中间体 2. 目标化合物 3a~3p 通过中间体 2 与取代肉桂醛发生缩合反应得到.

a: $R^1=H$, $R^2=4-Cl$; b: $R^1=H$, $R^2=2-CH_3$; c: $R^1=H$, $R^2=2-OCH_3$; d: $R^1=H$, $R^2=4-OCH_3$; e: $R^1=H$, $R^2=4-NO_2$; f: $R^1=4-COOC_2H_5$, $R^2=4-Cl$; g: $R^1=4-COOC_2H_5$, $R^2=2-CH_3$; h: $R^1=4-COOC_2H_5$, $R^2=2-OCH_3$; i: $R^1=4-COOC_2H_5$, $R^2=4-OCH_3$; j: $R^1=4-COOC_2H_5$, $R^2=4-NO_2$; k: $R^1=3-CH_3$, $R^2=4-Cl$; l: $R^1=3-CH_3$, $R^2=2-CH_3$; m: $R^1=3-CH_3$, $R^2=2-OCH_3$; n: $R^1=3-CH_3$, $R^2=4-OCH_3$; o: $R^1=3-CH_3$, $R^2=4-NO_2$; p: $R^1=H$, $R^2=H$

图式1 目标化合物的合成路线

Scheme 1 Synthetic route of target compounds

1.2 谱图解析

目标化合物结构均通过 ^1H NMR、 ^{13}C NMR、IR、元素分析或 HR-ESI-MS 确证. 目标物的 IR 谱显示, 3200~3100 cm^{-1} 处为 N—H 伸缩振动的吸收峰, 1700 cm^{-1} 附近为 C=S 伸缩振动的吸收峰, 1650 cm^{-1} 附近为

C=N 伸缩振动吸收峰.

目标物的 ^1H NMR 谱显示, 化学位移在 δ 10.0~12.0 处的单峰为 NH 上的氢, 此处氢原子受到硫羰基和 N 原子的影响, 化学位移向低场移动; N=CH 中的 H 受 N 原子吸电子作用的影响向低场移动, 化学位移在 δ 7.8~8.0 之间; 苯环上的氢位移在 δ 7.0~8.0 之间; CH=CH 化学位移受苯环上不同取代基的影响, 变化较大, 一般在 δ 6.0~8.0 之间; 嘧啶环上与氮原子相连的 4 个 H, 受 N 原子吸电子的影响向低场移动, 化学位移在 δ 3.0~5.0 之间.

1.3 生物活性

对 5 种植物病原真菌的初步离体抑菌活性试验, 结果(表 1)表明, 在 50 $\mu\text{g/mL}$ 浓度下, 目标化合物对 5 种供试菌株均表现出较明显的抑制效果. 其中化合物 **3a**、**3c**、**3f**、**3h**、**3k** 和 **3m** 对水稻纹枯病菌的抑制活性表现突出, 抑菌率均为 100%; 化合物 **3a**、**3d**、**3n** 和 **3p** 对油菜菌核病菌的抑制率在 98% 以上; 化合物 **3a**、**3b**、**3c**、**3d**、**3e**、**3h**、**3k**、**3m**、**3n**、**3o** 和 **3p** 对苹果腐烂病菌抑制率均在 90% 以上. 以上化合物初步离体普筛抑菌活性均优于先导化合物. 特别值得注意的是, 化合物 **3a** 和 **3p** 表现优异, 其普适性较广, 对苹果腐烂病菌、水稻纹枯病菌、瓜果腐霉病菌和油菜菌核病菌 4 种真菌抑制率均在 95% 以上.

对普筛活性抑菌率在 80% 以上的化合物进行离体 EC_{50} 活性测试, 结果(表 2~5)表明: 化合物 **3a** 对油菜菌

核病菌抑制活性($\text{EC}_{50}=4.94 \mu\text{g/mL}$)优于商品化对照药剂噻菌酯($\text{EC}_{50}=5.17 \mu\text{g/mL}$)及先导化合物($\text{EC}_{50}=12.61 \mu\text{g/mL}$). 化合物 **3d** 对瓜果腐霉病菌抑制活性($\text{EC}_{50}=4.35 \mu\text{g/mL}$)优于对照药剂噻菌酯($\text{EC}_{50}=16.88 \mu\text{g/mL}$)及先导化合物($\text{EC}_{50}=5.37 \mu\text{g/mL}$). 化合物 **3a**、**3c**、**3f**、**3h**、**3k**、**3m** 和 **3p** 对水稻纹枯病菌抑制活性(EC_{50} 均在 5 $\mu\text{g/mL}$ 以内)优于先导化合物($\text{EC}_{50}=5.60 \mu\text{g/mL}$), 但不及对照药剂吡唑醚菌酯($\text{EC}_{50}=0.03 \mu\text{g/mL}$). 初步构效关系分析表明: 嘧啶环上电子效应对苹果腐烂病菌、水稻纹枯病菌、油菜菌核病菌和瓜果腐霉病菌的抑菌活性有重要影响, 呈现出 R^1 不含取代基或推电子基($\text{R}^1=\text{H}$, 3- CH_3)>吸电子基($\text{R}^1=4\text{-COOC}_2\text{H}_5$)的规律; 苯环上位置效应和电子效应对苹果腐烂病菌、水稻纹枯病菌和油菜菌核病菌有重要影响, 呈现出苯环 2 位取代基($\text{R}^2=2\text{-OCH}_3$)>4 位取代基($\text{R}^2=4\text{-OCH}_3$), 苯环 R^2 无取代基或吸电子取代基($\text{R}^2=\text{H}$, 4- Cl)>给电子取代基($\text{R}^2=4\text{-OCH}_3$)的规律, 但随着苯环 R^2 取代基吸电子能力增强, 抑菌活性降低(4- NO_2 <4- Cl).

为讨论肉桂醛骨架代替苯甲醛骨架后化合物对杀菌活性的影响, 本文选取活性最好的含肉桂醛骨架的化合物 **3a** 和 **3p** 与对应的含苯甲醛骨架的化合物 **A** 和 **P** 进行杀菌活性对比(结构式见图 4). 生物活性测试结果(表 2~5)表明: 化合物 **3a** 对瓜果腐霉病菌、油菜菌核病菌、水稻纹枯病菌、苹果腐烂病菌的抑制活性(EC_{50} 分别为 9.04, 4.94, 2.35 和 5.53 $\mu\text{g/mL}$)优于含氯取代苯甲醛

表 1 目标化合物 **3a**~**3i** 离体抑菌活性(抑制率/%)^a
Table 1 Antifungal activity *in vitro* of target compounds **3a**~**3i** (inhibitory rate/%)

Compd.	R^1	R^2	瓜果腐霉病	水稻纹枯病	苹果腐烂病	油菜菌核病	水稻恶苗病
3a	H	4-Cl	96	100	99	99	68
3b	H	2- CH_3	46	78	91	47	44
3c	H	2- OCH_3	93	100	100	70	63
3d	H	4- OCH_3	94	84	95	99	100
3e	H	4- NO_2	80	85	95	66	53
3f	4- COOC_2H_5	4-Cl	92	100	78	59	49
3g	4- COOC_2H_5	2- CH_3	30	71	55	54	35
3h	4- COOC_2H_5	2- OCH_3	95	100	91	47	51
3i	4- COOC_2H_5	4- OCH_3	86	82	85	69	79
3j	4- COOC_2H_5	4- NO_2	82	88	80	51	73
3k	3- CH_3	4-Cl	83	100	98	89	60
3l	3- CH_3	2- CH_3	31	76	80	42	45
3m	3- CH_3	2- OCH_3	85	100	98	81	54
3n	3- CH_3	4- OCH_3	84	81	95	98	94
3o	3- CH_3	4- NO_2	70	81	93	77	75
3p	H	H	100	95	98	100	95
A			44	100	91	62	49
P			35	87	71	49	45
Lead compound			99	93	86	85	64
吡唑醚菌酯			47	100	100	100	79

^a 浓度为 50 $\mu\text{g/mL}$.

表 2 部分目标化合物对苹果腐烂病离体抑菌活性 EC_{50}
Table 2 EC_{50} of some target compounds against *Valsa mali* in vitro

Compd.	$EC_{50}/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	线性方程	R^2
3a	5.53	$y=2.2927x+3.2971$	0.98
3b	15.17	$y=2.2541x+2.3389$	0.97
3c	8.56	$y=1.7871x+3.3347$	0.98
3d	6.09	$y=1.6526x+3.7034$	0.98
3e	17.60	$y=0.9497x+3.8172$	0.95
3f	16.62	$y=1.3833x+3.3123$	0.99
3h	14.23	$y=1.3574x+3.4357$	0.97
3i	51.81	$y=0.8067x+3.6170$	0.97
3j	24.72	$y=1.2658x+3.2367$	0.91
3k	5.22	$y=1.8442x+3.6777$	0.98
3l	8.64	$y=1.8229x+3.2947$	0.99
3m	6.04	$y=1.4877x+3.8395$	0.98
3n	33.53	$y=0.9639x+3.5296$	0.98
3o	19.95	$y=0.9814x+3.7242$	0.93
3p	5.20	$y=2.0812x+3.5097$	0.96
Lead compound	6.58	$y=1.8537x+3.4834$	0.98
A	5.70	$y=1.3559x+3.9746$	0.99
P	16.70	$y=1.0628x+3.7005$	0.96
噻菌酯	0.01	$y=0.7677x+6.4285$	0.94
吡唑醚菌酯	0.01	$y=1.2443x+7.4561$	0.96

表 3 部分目标化合物对水稻纹枯病离体抑菌活性 EC_{50}
Table 3 EC_{50} of some target compounds against *Rhizoctonia solani* in vitro

Compd.	$EC_{50}/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	线性方程	R^2
3a	2.35	$y=1.3663x+4.4942$	0.96
3c	2.20	$y=0.9405x+4.6784$	0.95
3d	6.17	$y=1.1077x+4.1249$	0.97
3e	6.80	$y=1.1765x+4.0206$	0.99
3f	4.04	$y=1.4348x+4.1311$	0.97
3h	3.66	$y=1.2256x+4.3109$	0.98
3i	7.77	$y=1.2411x+3.8950$	0.95
3j	8.60	$y=1.5194x+3.5798$	0.99
3k	1.22	$y=0.9178x+4.9219$	0.95
3m	1.46	$y=1.1335x+4.8152$	0.99
3n	10.49	$y=1.1615x+3.8146$	0.94
3o	10.22	$y=1.2466x+3.7418$	0.95
3p	1.02	$y=0.9761x+4.9881$	0.98
Lead compound	5.60	$y=0.6868x+4.4864$	0.91
A	3.12	$y=1.3133x+4.3346$	0.92
P	5.60	$y=0.9895x+4.2629$	0.91
吡唑醚菌酯	0.03	$y=0.7435x+6.1470$	0.99

结构的化合物 A (EC_{50} 分别为 50.00, 24.21, 3.12, 5.70 $\mu\text{g}/\text{mL}$); 同样化合物 3p 对 4 种测试病原菌的抑制活性优于含苯甲醛结构的化合物 P. 初步表明肉桂醛骨架结构的引入有利于提高化合物杀菌活性及杀菌谱. 同时我们将化合物 3a (含 4-氯肉桂醛骨架)对水稻纹枯病菌、苹果腐烂病菌的抑制活性与前期工作中^[18]含卤素苯甲醛结构的化合物 B、C 和 D 进行对比(图 5), 发现化合物 3a 同样具有更高的活性, 进一步说明肉桂醛骨架结构的引入有利于提高化合物杀菌活性.

2 结论

利用骨架跃迁原理, 设计并合成了 15 个未见文献报道的嘧啶基肉桂醛缩氨基硫脲类衍生物. 目标化合物均通过 ^1H NMR、 ^{13}C NMR、IR、元素分析或高分辨质谱的确诊. 生物活性测试结果显示, 所有目标化合物均对 5 种病原真菌表现出明显的抑制活性. 其中化合物 3a、3p 对苹果腐烂病菌, 水稻纹枯病菌, 瓜果腐霉病菌和油菜菌核病菌 4 种病原真菌 EC_{50} 均在 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以内,

表4 部分目标化合物对油菜菌核病离体抑菌活性 EC_{50} Table 4 EC_{50} of some target compounds against *Sclerotinia sclerotiorum* in vitro

Compd.	$EC_{50}/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	线性方程	R^2
3a	4.94	$y=0.8204x+4.4318$	0.91
3d	7.41	$y=2.1292x+3.1484$	0.91
3k	7.55	$y=1.0553x+4.0749$	0.99
3m	9.57	$y=1.3686x+3.6580$	0.94
3n	47.43	$y=1.1461x+3.0791$	0.91
3p	5.10	$y=2.8944x+2.9508$	0.94
Lead compound	12.61	$y=0.7568x+4.1669$	0.94
A	24.21	$y=1.1892x+3.3541$	0.98
P	60.40	$y=1.0606x+3.1111$	0.92
噁菌酯	5.17	$y=0.5026x+4.6425$	0.91

表5 部分目标化合物对瓜果腐霉病离体抑菌活性 EC_{50} Table 5 EC_{50} of some target compounds against *Pythium aphanidermatum* in vitro

Compd.	$EC_{50}/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	线性方程	R^2
3a	9.04	$y=2.1430x+2.9500$	0.93
3c	35.15	$y=1.3196x+2.9617$	0.98
3d	4.35	$y=1.2912x+4.1757$	0.94
3e	23.72	$y=2.1148x+2.0921$	0.97
3f	26.43	$y=2.9907x+0.7485$	0.92
3h	22.21	$y=3.0688x+0.8690$	0.95
3i	10.12	$y=1.0758x+3.9186$	0.91
3j	18.27	$y=1.5940x+2.9888$	0.97
3k	21.65	$y=2.6595x+1.4494$	0.98
3m	17.72	$y=2.2467x+2.1962$	0.94
3n	10.49	$y=1.5598x+3.1988$	0.99
3p	8.40	$y=4.9150x+0.4688$	0.92
Lead compound	5.37	$y=2.3678x+3.2722$	0.90
A	50.00	$y=1.0501x+3.2140$	0.92
P	189.60	$y=0.6994x+3.4069$	0.93
噁菌酯	16.88	$y=0.3656x+4.5528$	0.92

图4 化合物 3a, 3p, A, P 的结构式

Figure 4 Chemical structures of compounds 3a, 3p, A, P

表现出广谱的杀菌活性。初步构效关系分析表明, 将苯甲醛骨架跃迁为具有杀菌活性的天然肉桂醛骨架结构, 有利于活性的提高, 值得进一步研究。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

Fukai 显微熔点仪(温度计未校正); Bruker DPX 300 MHz 核磁共振仪(以 TMS 为内标, DMSO 为溶剂); Vario

图5 化合物 3a, B, C 和 D 的结构式及生物活性

Figure 5 Chemical structures and fungicidal activities of compounds 3a, B, C and D

EL III 型元素分析仪; Bruker APEX IV 高分辨质谱仪; 柱层析硅胶(200~300 目)和薄层板均为青岛海洋化工有限公司生产。所用试剂均为市售分析纯或化学纯试剂, 除特别注明外, 所用溶剂未经无水处理。

3.2 实验方法

3.2.1 中间体的合成

(1*H*-咪唑-1-基)(哌啶-1-基)甲硫酮(**1a**~**1p**)和哌啶-1-硫代碳酰肼(**2a**~**2p**)按照文献[18]的方法制备,表征数据与文献一致。

3.2.2 目标化合物 **3a**~**3p** 的合成

将 3.4 mmol 取代肉桂醛、3.1 mmol 中间体 **2**、15 mL 无水乙醇加入 50 mL 三口瓶中,室温搅拌,0.5 h 后溶液变浑浊,有固体产生。通过薄层色谱监测,待中间体 **2** 反应完全后,停止反应,反应液过滤后收集固体,粗产品经过重结晶[*V*(乙醇):*V*(正己烷)=1:2]纯化,烘干即得目标产物。

N'-[(1*E*,2*E*)-3-(4-氯苯基)烯丙基]哌啶-1-硫代酰肼(**3a**): 黄色固体,产率 93%。m.p. 167.4~168.1 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.89 (s, 1H), 7.95 (t, *J*=4.4 Hz, 1H), 7.64 (d, *J*=8.6 Hz, 2H), 7.42 (d, *J*=8.6 Hz, 2H), 6.94 (d, *J*=4.4 Hz, 2H), 3.83 (d, *J*=5.3 Hz, 4H), 1.56 (d, *J*=3.2 Hz, 6H); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 180.04, 145.71, 136.48, 135.16, 133.04, 128.89, 128.72, 126.53, 51.08, 25.79, 24.01; IR (KBr) *v*: 3126, 3040, 1624, 1593, 1532, 1504, 1246, 810 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₅H₁₈ClN₃S: C 58.53, H 5.89, N 13.65; found C 58.38, H 5.76, N 13.56.

N'-[(1*E*,2*E*)-3-(2-甲基苯基)烯丙基]哌啶-1-硫代酰肼(**3b**): 黄色固体,产率 75%。m.p. 115.8~116.2 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.93 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.50~7.35 (m, 4H), 7.33~7.28 (m, 1H), 6.74 (s, 1H), 3.83 (d, *J*=5.5 Hz, 4H), 2.06 (d, *J*=0.9 Hz, 3H), 1.61 (s, 6H); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 180.32, 148.42, 136.54, 135.99, 134.39, 129.34, 128.52, 127.63, 51.55, 25.92, 24.06, 12.85; IR (KBr) *v*: 3145, 3037, 1617, 1594, 1574, 1501, 1243, 753 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₆H₂₁N₃S: C 66.86, H 7.36, N 14.62; found C 66.81, H 7.23, N 14.55.

N'-[(1*E*,2*E*)-3-(2-甲氧基苯基)烯丙基]哌啶-1-硫代酰肼(**3c**): 白色固体,产率 69%。m.p. 154.6~155.6 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.87 (s, 1H), 7.95 (d, *J*=9.1 Hz, 1H), 7.63 (d, *J*=6.3 Hz, 1H), 7.33~7.28 (m, 1H), 7.16~6.85 (m, 4H), 3.98~3.75 (m, 7H), 1.58 (s, 6H); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 180.00, 156.85, 146.72, 132.81, 130.14, 127.35, 126.14, 124.45, 120.83, 111.66, 55.68, 51.09, 25.78, 24.03; IR (KBr) *v*: 3149, 3035, 1619, 1598, 1575, 1487, 1243, 781 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₆H₂₁N₃OS: C 63.34, H 6.98, N 13.85; found C 63.07, H 6.91, N 13.97.

N'-[(1*E*,2*E*)-3-(4-甲氧基苯基)烯丙基]哌啶-1-硫代

酰肼(**3d**): 黄色固体,产率 73%。m.p. 117.4~118.6 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.83 (s, 1H), 7.94 (d, *J*=8.9 Hz, 1H), 7.53 (d, *J*=8.8 Hz, 2H), 6.97~6.70 (m, 4H), 3.83~3.79 (m, 4H), 3.77 (s, 3H), 1.65~1.51 (m, 6H); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 179.95, 159.87, 146.51, 137.92, 128.86, 128.57, 123.32, 114.40, 55.34, 51.04, 25.79, 24.04; IR (KBr) *v*: 3131, 2943, 1596, 1535, 1500, 1340, 1247, 745 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₅H₁₉N₄O₂S ([*M*+*H*]⁺) 319.1223, found 319.1226.

N'-[(1*E*,2*E*)-3-(4-硝基苯基)烯丙基]哌啶-1-硫代酰肼(**3e**): 黄色固体,产率 80%。m.p. 168.2~169.5 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.05 (s, 1H), 8.18 (d, *J*=8.8 Hz, 2H), 8.00 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.84 (d, *J*=8.8 Hz, 2H), 7.21~7.00 (m, 2H), 3.84 (d, *J*=5.4 Hz, 4H), 1.59 (d, *J*=6.1 Hz, 6H); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 180.04, 146.78, 145.03, 142.92, 135.18, 130.27, 127.92, 124.06, 51.12, 25.79, 23.99; IR (KBr) *v*: 3142, 2937, 1604, 1576, 1497, 1238, 1173, 819 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₆H₂₂N₃OS ([*M*+*H*]⁺) 304.1478, found 304.1481.

乙基 1-(2-((1*E*,2*E*)-3-(4-氯苯基)烯丙基)酰肼-1-碳硫代酯)哌啶-4-羧酸酯(**3f**): 白色固体,产率 73%。m.p. 127.2~128.0 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.06 (s, 1H), 8.04~7.87 (m, 1H), 7.65 (d, *J*=8.6 Hz, 2H), 7.42 (d, *J*=8.5 Hz, 2H), 6.96 (d, *J*=4.8 Hz, 2H), 4.50 (d, *J*=13.1 Hz, 2H), 4.09 (q, *J*=7.1 Hz, 2H), 3.24 (t, *J*=11.3 Hz, 2H), 2.77~2.60 (m, 1H), 1.89 (d, *J*=10.4 Hz, 2H), 1.66~1.55 (m, 2H), 1.20 (t, *J*=7.1 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 180.42, 173.96, 146.04, 136.81, 135.12, 133.10, 128.87, 128.77, 126.45, 60.12, 49.27, 40.06, 28.01, 14.20; IR (KBr) *v*: 3123, 1732, 1625, 1593, 1536, 1489, 1249, 807 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₈H₂₃ClN₃O₂S ([*M*+*H*]⁺) 380.1194, found 380.1192.

乙基-1-(2-((1*E*,2*E*)-3-(2-甲基苯基)烯丙基)酰肼-1-碳硫代酯)哌啶-4-羧酸酯(**3g**): 白色固体,产率 63%。m.p. 136.0~138.0 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.05 (s, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.47~7.38 (m, 4H), 7.31 (d, *J*=7.0 Hz, 1H), 6.76 (s, 1H), 4.51 (d, *J*=13.2 Hz, 2H), 4.09 (q, *J*=7.1 Hz, 2H), 3.25 (t, *J*=11.1 Hz, 2H), 2.79~2.59 (m, 1H), 2.06 (s, 3H), 1.90 (d, *J*=10.4 Hz, 2H), 1.68~1.57 (m, 2H), 1.18 (t, *J*=7.1 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 180.67, 173.96, 148.79, 136.50, 136.26, 134.32, 129.37, 128.53, 127.68, 60.11, 49.62, 40.09, 28.14, 14.19, 12.85; IR (KBr) *v*: 3157, 3027, 1725, 1614, 1596, 1500, 1208, 756 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₉H₂₅N₃O₂S: C 63.48, H 7.01, N 11.69; found C 63.47, H 6.91,

N 11.73.

乙基-1-(2-((1*E*,2*E*)-3-(2-甲氧基苯基)烯丙基)酰肼-1-碳硫代酯)哌啶-4-羧酸酯(**3h**): 白色固体, 产率 59%. m.p. 152.8~153.5 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.98 (s, 1H), 7.95 (d, *J*=9.2 Hz, 1H), 7.65~7.62 (m, 1H), 7.39~7.24 (m, 1H), 7.17~6.90 (m, 4H), 4.50 (d, *J*=13.3 Hz, 2H), 4.09 (q, *J*=7.1 Hz, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.24 (t, *J*=11.2 Hz, 2H), 2.81~2.57 (m, 1H), 1.88 (d, *J*=10.4 Hz, 2H), 1.76~1.45 (m, 2H), 1.19 (t, *J*=7.1 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 180.38, 173.96, 156.86, 147.03, 133.08, 130.21, 127.37, 126.03, 124.41, 120.82, 111.67, 60.12, 55.68, 49.27, 40.08, 28.01, 14.20; IR (KBr) ν: 3141, 1733, 1616, 1596, 1539, 1486, 1248, 755 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₉H₂₅N₃O₃S: C 60.78, H 6.71, N 11.19; found C 60.50, H 6.62, N 11.10.

乙基-1-(2-((1*E*,2*E*)-3-(4-甲氧基苯基)烯丙基)酰肼-1-碳硫代酯)哌啶-4-羧酸酯(**3i**): 黄色固体, 产率 64%. m.p. 126.7~128.2 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.94 (s, 1H), 7.93 (d, *J*=8.9 Hz, 1H), 7.54 (d, *J*=8.8 Hz, 2H), 6.94~6.73 (m, 4H), 4.50 (d, *J*=13.2 Hz, 2H), 4.08 (q, *J*=7.1 Hz, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.26~3.19 (m, 2H), 2.73~2.61 (m, 1H), 1.91~1.85 (m, 2H), 1.67~1.54 (m, 2H), 1.19 (t, *J*=7.1 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 180.32, 173.98, 159.91, 146.84, 138.25, 128.83, 128.63, 123.24, 114.39, 60.12, 55.34, 49.23, 40.09, 28.01, 14.20; IR (KBr) ν: 3137, 2978, 1732, 1718, 1595, 1509, 1336, 744 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₈H₂₃N₄O₄S ([M+H]⁺) 391.1435, found 391.1436.

乙基-1-(2-((1*E*,2*E*)-3-(4-硝基苯基)烯丙基)酰肼-1-碳硫代酯)哌啶-4-羧酸酯(**3j**): 黄色固体, 产率 54%. m.p. 124.6~125.8 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.17 (s, 1H), 8.19 (d, *J*=8.9 Hz, 2H), 8.00 (d, *J*=8.3 Hz, 1H), 7.86 (d, *J*=8.9 Hz, 2H), 7.21~7.04 (m, 2H), 4.50 (d, *J*=13.1 Hz, 2H), 4.08 (q, *J*=7.1 Hz, 2H), 3.27 (t, *J*=11.2 Hz, 2H), 2.72~2.64 (m, 1H), 1.89 (d, *J*=10.3 Hz, 2H), 1.68~1.54 (m, 2H), 1.19 (t, *J*=7.1 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 180.45, 173.94, 146.83, 145.36, 142.88, 135.51, 130.19, 127.98, 124.07, 60.14, 49.30, 40.03, 28.01, 14.20; IR (KBr) ν: 3121, 2955, 1717, 1603, 1508, 1498, 1198, 821 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₉H₂₆N₃O₃S ([M+H]⁺) 376.1689, found 376.1692.

N'-((1*E*,2*E*)-3-(4-氯苯基)烯丙基)-3-甲基哌啶-1-硫代酰肼(**3k**): 黄色固体, 产率 39%. m.p. 99.0~100.0 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.96 (s, 1H), 8.05~7.90 (m, 1H), 7.64 (d, *J*=8.5 Hz, 2H), 7.42 (d, *J*=8.5 Hz,

2H), 7.04~6.84 (m, 2H), 4.55~4.45 (m, 2H), 3.06 (t, *J*=11.0 Hz, 1H), 2.85~2.68 (m, 1H), 1.85~1.39 (m, 4H), 1.31~1.01 (m, 1H), 0.88~0.86 (m, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 179.98, 145.78, 136.52, 135.14, 133.06, 128.90, 128.74, 126.49, 57.03, 50.57, 32.54, 31.17, 25.05, 18.84; IR (KBr) ν: 3123, 1732, 1625, 1593, 1536, 1489, 1249, 807 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₆H₂₁ClN₃S ([M+H]⁺) 322.1139, found 322.1138.

N'-((1*E*,2*E*)-3-(2-甲基苯基)烯丙基)-3-甲基哌啶-1-硫代酰肼(**3l**): 黄色固体, 产率 60%. m.p. 130.8~131.8 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.94 (s, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.51~7.36 (m, 4H), 7.35~7.25 (m, 1H), 6.75 (s, 1H), 4.59~4.48 (m, 2H), 3.08~2.99 (m, 1H), 2.78~2.70 (m, 1H), 2.06 (d, *J*=0.9 Hz, 3H), 1.87~1.39 (m, 4H), 1.24~1.11 (m, 1H), 0.87 (d, *J*=6.6 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 180.20, 148.47, 136.52, 136.05, 134.34, 129.35, 128.53, 127.65, 57.50, 51.09, 32.59, 31.28, 25.26, 18.82, 12.80; IR (KBr) ν: 3157, 3028, 1615, 1597, 1503, 1243, 758 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₇H₂₃N₃S: C 67.73, H 5.69, N 13.94; found C 67.77, H 5.78, N 13.93.

N'-((1*E*,2*E*)-3-(2-甲氧基苯基)烯丙基)-3-甲基哌啶-1-硫代酰肼(**3m**): 黄色固体, 产率 40%. m.p. 76~78 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.87 (s, 1H), 7.95 (d, *J*=9.2 Hz, 1H), 7.63 (d, *J*=6.6 Hz, 1H), 7.34~7.29 (m, 1H), 6.98~6.88 (m, 4H), 4.50 (t, *J*=13.6 Hz, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.10~3.02 (m, 1H), 2.83~2.71 (m, 1H), 1.84~1.45 (m, 4H), 1.28~1.13 (m, 1H), 0.88 (d, *J*=6.6 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 179.93, 156.87, 146.76, 132.85, 130.15, 127.40, 126.15, 124.45, 120.83, 111.67, 57.08, 55.69, 50.61, 32.55, 31.18, 25.05, 18.81; IR (KBr) ν: 3165, 3042, 1616, 1597, 1548, 1456, 1239, 749 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₇H₂₃N₃OS: C 64.32, H 7.30, N 13.24; found C 64.15, H 7.33, N 13.01.

N'-((1*E*,2*E*)-3-(4-甲氧基苯基)烯丙基)-3-甲基哌啶-1-硫代酰肼(**3n**): 黄色固体, 产率 49%. m.p. 92.1~93.7 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.85 (s, 1H), 7.95 (d, *J*=8.9 Hz, 1H), 7.53 (d, *J*=8.8 Hz, 2H), 6.96~6.72 (m, 4H), 4.50 (t, *J*=13.2 Hz, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.12~2.96 (m, 1H), 2.79~2.71 (m, 1H), 1.81~1.59 (m, 3H), 1.54~1.42 (m, 1H), 1.22~1.09 (m, 1H), 0.86 (d, *J*=6.6 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 179.91, 159.88, 146.55, 137.94, 128.85, 128.58, 123.30, 114.40, 57.02, 55.34, 50.54, 32.57, 31.16, 25.05, 18.83; IR (KBr) ν: 3132, 2964, 1732, 1716, 1594, 1511, 1335, 745 cm⁻¹;

HRMS (ESI) calcd for $C_{16}H_{21}N_4O_2S$ ($[M+H]^+$) 333.1380, found 333.1382.

N'-(1*E*,2*E*)-3-(4-硝基苯基)烯丙基)-3-甲基哌啶-1-硫代酰肼(**3o**): 红色固体, 产率 52%. m.p. 153.8~155.0 °C; ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.06 (s, 1H), 8.17 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 8.00 (d, $J=8.2$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 7.26~6.97 (m, 2H), 4.45 (t, $J=12.6$ Hz, 2H), 3.17~2.98 (m, 1H), 2.83~2.75 (m, 1H), 1.84~1.58 (m, 3H), 1.55~1.43 (m, 1H), 1.24~1.11 (m, 1H), 0.87 (d, $J=6.6$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 180.01, 146.79, 145.10, 142.92, 135.21, 130.24, 127.93, 124.07, 57.07, 50.63, 32.51, 31.19, 25.04, 18.82; IR (KBr) ν : 3169, 3043, 1734, 1602, 1508, 1238, 1173, 819 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $C_{17}H_{24}N_3OS$ ($[M+H]^+$) 318.1635, found 318.1646.

3.3 生物活性测定

采用菌丝生长速率法测定目标化合物对病原真菌的抑制率^[19]. 供试菌种分别为瓜果腐霉病菌(*Pythium aphanidermatum*)、水稻纹枯病菌(*Rhizoctonia solani*)、苹果腐烂病菌(*Valsa mali*)、油菜菌核病菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)、水稻恶苗病菌(*Fusarium moniliforme* Sheld). 噻菌酯和吡唑醚菌酯是目前市场上最好的两个广谱性杀菌剂, 来源于天然产物的改造, 因此选择这两个商品化杀菌剂作为阳性对照.

将化合物溶于二甲基亚砜, 配制成 10000 $\mu g/mL$ 的药液备用. 取 1 mL 备用药液与 199 mL PDA 培养基混匀, 制备成浓度为 50 $\mu g/mL$ 的含毒培养基. 将其倒入直径为 90 cm 的培养皿中, 每皿大约 25 mL, 待其固化后, 接入活化好的病原真菌菌饼, 置于 25 °C 培养箱中培养. 二甲基亚砜为溶剂对照, 无菌水为空白对照, 每个样品重复 3 次. 以上操作为严格的无菌操作, 待空白对照菌落充分生长后, 以十字交叉法量取菌落直径, 取其平均值. 按照以下公式计算菌丝生长抑制率:

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

抑制中浓度(EC_{50})的测定: 选取抑制率大于 80% 的化合物测定其抑制中浓度值. 根据上述方法, 采用等倍稀释, 分别测试浓度为 25.00, 12.50, 6.25, 3.12, 1.56, 0.78 $\mu g/mL$ 时的抑制率, 然后用软件 SPSS 计算抑制中

浓度 EC_{50} .

辅助材料(Supporting Information) 目标化合物 **3a**~**3o** 的 ^1H NMR、 ^{13}C NMR, 以及化合物 **3p**、**A**、**P** 的 ^1H NMR. 这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载.

References

- [1] Godfray, H. C. J.; Beddington, J. R.; Crute, I. R.; Haddad, L.; Lawrence, D.; Muir, J. F.; Pretty, J.; Robinson, S.; Thomas, S. M.; Toulmin, C. *Science* **2010**, 327, 812.
- [2] Gerwick, B. C.; Sparks, T. C. *Pest Manage. Sci.* **2014**, 70, 1169.
- [3] Balba, H. J. *Environ. Sci. Health, Part B* **2007**, 42, 441.
- [4] Sparks, T. C.; Hahn, D. R.; Garizi, N. V. *Pest Manage. Sci.* **2017**, 73, 700.
- [5] Ashakirin, S. N.; Tripathy, M.; Patil, U. K.; Abdul Majeed, A. B. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* **2017**, 8, 2333.
- [6] Ka, H.; Park, H. J.; Jung, H. J.; Choi, J. W.; Cho, K. S.; Ha, J.; Lee, K. T. *Cancer Lett.* **2003**, 196, 143.
- [7] Chang, S. T.; Chen, P. F.; Chang, S. C. *J. Ethnopharmacol.* **2001**, 77, 123.
- [8] Zhu, Y. J.; Song, K. K.; Li, Z. C.; Pan, Z. Z.; Guo, Y. J.; Zhou, J. J.; Wang, Q.; Liu, B.; Chen, Q. X. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, 57, 5518.
- [9] Gutiérrez, L.; Escudero, A.; Batlle, R.; Nerín, C. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, 57, 8564.
- [10] Du, W. X.; Avena-Bustillos, R. J.; Woods, R.; Breksa, A. P.; McHugh, T. H.; Friedman, M.; Levin, C. E.; Mandrell, R. J. *Agric. Food Chem.* **2012**, 60, 7799.
- [11] Niknahad, H.; Shuhendler, A.; Galati, G.; Siraki, A. G.; Easson, E.; Poon, R.; O'Brien, P. J. *Chem. Biol. Interact.* **2003**, 143, 119.
- [12] Cheng, S. S.; Liu, J. Y.; Tsai, K. H.; Chen, W. J.; Chang, S. T. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, 52, 4395.
- [13] Yu, Y.; Kalinowski, D. S.; Kovacevic, Z.; Siafakas, A. R.; Jansson, P. J.; Stefani, C.; Lovejoy, D. B.; Sharpe, P. C.; Bernhardt, P. V.; Richardson, D. R. *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 5271.
- [14] Dong, H.; Liu, J.; Liu, X.; Yu, Y.; Cao, S. *J. Mol. Struct.* **2018**, 1151, 353.
- [15] Dong, H.; Liu, J.; Liu, X.; Yu, Y.; Cao, S. *Bioorg. Chem.* **2017**, 75, 106.
- [16] Liu, L. F.; Li, P. Y.; Qian, Q. Q.; Lei, X. L.; Huang, Y. X. *Chin. J. Org. Chem.* **2013**, 33, 854 (in Chinese). (刘利锋, 李培源, 钱全全, 雷晓琳, 黄钰湘, 周泉, 黄珊, 肖琦, 苏炜, 有机化学, **2013**, 33, 854.)
- [17] Xu, Y.; Wang, Z.; Dong, W.; Xing, J.; Liang, P.; Yang, X. L. *Chin. J. Org. Chem.* **2012**, 32, 1278 (in Chinese). (徐焱, 王振, 凌云, 董玮, 邢静, 梁沛, 杨新玲, 有机化学, **2012**, 32, 1278.)
- [18] Zhang, X. B.; Lei, P.; Sun, T. D.; Jin, X. Y.; Yang, X. L.; Ling, Y. *Molecules* **2017**, 22, 2085.
- [19] Zhang, X. M.; Lei, P.; Li, X. L.; Yang, X. L.; Zhang, X. B.; Sun, T. D.; Ling, Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2019**, 39, 3197 (in Chinese). (张晓鸣, 雷鹏, 李欣璐, 杨新玲, 张学博, 孙腾达, 凌云, 有机化学, **2019**, 39, 3197.)

(Cheng, F.)