

新型缩氨基硫脲类化合物的设计、合成及杀菌活性研究

石发胜^a 王圣文^a 徐欢^a 路星星^a 杨新玲^a 孙腾达^a
王长凯^a 张晓鸣^a 杨青^b 凌云^{*,a}

(^a 中国农业大学理学院应用化学系 农药创新研究中心 北京 100193)

(^b 中国农业科学院植物保护研究所 北京 100193)

摘要 为发现新型高活性的杀菌剂候选化合物,以天然产物肉桂醛衍生物 *N*- α -戊基-(4-溴苯基)-亚丙烯基-*N'*-2',3'-*O*-亚异丙基-5'-*O*-尿苷甲酰基脲(A16)为先导,用具有杀菌活性的硫脲基团替代先导结构中的酯基尿苷,设计并合成了一系列缩氨基硫脲类化合物。目标物结构均经过 ¹H NMR、¹³C NMR、IR、元素分析或 HRMS 确证。离体抑菌活性测试结果表明,在 100 μ g/mL 浓度下,部分化合物对多种病原菌表现出明显的抑菌活性。其中,化合物 **2a** 对黄瓜灰霉病菌(*B. cinerea*)、黄瓜炭疽病菌(*C. orbiculare*)、番茄早疫病菌(*A. solani*)三种病原菌的抑制率均超过 80%,化合物 **2p** 对水稻纹枯病菌(*R. solani*)、小麦赤霉病菌(*F. graminearum*)、黄瓜炭疽病菌和番茄早疫病菌的抑制率均超过 90%。进一步的精密毒力测试(EC₅₀)结果表明,化合物 **2a** 对黄瓜灰霉病菌(EC₅₀=1.77 μ g/mL)的抑制活性和化合物 **2p** 对于水稻纹枯病菌(EC₅₀=2.07 μ g/mL)的抑制活性优于对照多氧霉素 B。同时,化合物 **2p** 在 40 μ g/mL 浓度下对几丁质合成酶的抑制活性(69%)优于对照药剂尼克霉素 Z (52%)。

关键词 缩氨基硫脲; 天然产物; 肉桂醛; 合成; 几丁质合成酶; 杀菌活性

Design, Synthesis and Fungicidal Activity of Novel Thiosemicarbazide Compounds

Shi, Fasheng^a Wang, Shengwen^a Xu, Huan^a Lu, Xingxing^a Yang, Xinling^a
Sun, Tengda^a Wang, Changkai^a Zhang, Xiaoming^a Yang, Qing^b Ling, Yun^{*,a}

(^a Innovation Center of Pesticide Research, Department of Applied Chemistry, College of Science, China Agricultural University, Beijing 100193)

(^b The Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193)

Abstract In order to find novel candidates for fungicides with high activity, the natural product cinnamaldehyde derivative *N*- α -amyl-(4-bromophenyl)-propenyl-*N'*-2',3'-*O*-isopropyl-5'-*O*-uridine formyl hydrazone (A16) was selected as the lead compound, a series of new thiosemicarbazone compounds were designed and synthesized by replacing the ester uridine with thio-urea group. The structures of the target compounds were confirmed by ¹H NMR, ¹³C NMR, IR, elemental analysis or HRMS. The bioassay results showed that some compounds had obvious *in vitro* fungicidal activity at the concentration of 100 μ g/mL. Among them, the inhibition rates of compound **2a** against *B. cinerea*, *C. orbiculare* and *A. solani* were more than 80%. Compound **2p** showed good activity against *R. solani*, *F. graminearum*, *C. orbiculare* and *A. solani*. Furthermore, compound **2a** had better inhibitory activity against *B. cinerea* (EC₅₀=1.77 μ g/mL) than polyoxin B, and compound **2p** had stronger inhibitory activity against *R. solani* (EC₅₀=2.07 μ g/mL) than Polyoxin B (EC₅₀=15.33 μ g/mL). Meanwhile, compound **2p** showed better chitin synthase inhibition activity (69%) than Nikkomycin Z (52%) at the concentration of 40 μ g/mL.

Keywords thiosemicarbazide; natural products; cinnamaldehyde; synthesis; chitin synthase; fungicidal activity

农业病害种类繁多、发生面积广且危害严重,尤其是真菌病害占全部植物病害的 80%以上,严重威胁粮食

产量和安全^[1]。为应对农业生产中的各种病害,农用杀菌剂应运而生,如广泛使用的嘧菌酯、吡唑醚菌酯等。

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

Received January 1, 2022; revised March 27, 2022; published online April 14, 2022.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 22077137, 21472236).

国家自然科学基金(Nos. 22077137, 21472236)资助项目。

但随着各类杀菌剂的滥用、乱用,“3R”问题日益突出^[2]。因此,开发对环境生态友好且高效的新型杀菌剂迫在眉睫。自然界中很多天然物质都具有良好的杀菌活性,但因为其结构复杂、持效性低等缺点,限制了其在农业中的应用^[3-4]。以天然产物为先导进行结构修饰与改造成为新农创制的重要途径之一^[5]。

天然产物肉桂醛广泛应用于医药、农药研发领域。在农药研发过程中,以肉桂醛为先导设计的化合物展现了良好的杀菌活性^[6-7]。本课题组前期在对肉桂醛的改造中也发现了化合物 *N*- α -戊基-(4-溴苯基)-亚丙烯基-*N'*-2',3'-*O*-亚异丙基-5'-*O*-尿苷甲酰基脲(A16)对几丁质合成酶具有明显抑制活性($IC_{50}=71.9 \mu\text{mol/L}$),但其杀菌活性并不十分理想^[8],表明尿苷结构对杀菌活性有一定作用,但因尿苷片段结构复杂,合成成本较高。因此,本工作以 A16 为先导进行改造,以期得到杀菌活性更好的化合物。

缩氨基硫脲化合物具有良好的抗菌、抗癌、抗病毒和抗疟疾活性^[9-12],而其中的硫羰基能和多种金属离子形成稳定的配合物进一步增强其作用^[13],因此缩氨基硫脲片段在药物设计中具有广泛的应用。课题组前期以肉桂醛和氨基硫脲片段进行活性亚结构拼接,发了化合物 PMDD-5Y 对多种植物病原菌都具有较高的抑制活性^[14];2004 年张耀谋等^[15]报道的化合物 I 对小麦锈病可达到 90% 以上的抑制活性;2011 年 Humayun 等^[16]报道的化合物 II 不仅对黄曲霉具有抑制作用,而且可以通过抑制土壤中的脲酶提高农业中对氮素的利用(图 1)。

本工作用氨基硫脲片段替换先导化合物 A16 结构

中的核苷片段(C 部分)和氨基甲酸酯片段(B 部分),设计发现了与先导化合物的几丁质合成酶抑制活性($IC_{50}=84.6 \mu\text{mol/L}$)相当,但结构更加简单、成本更加低廉且杀菌活性明显提高的 1-(3-(4'-溴苯基)-2-戊基丙-2-烯亚基)氨基硫脲(2t)^[17]。在 2t 结构基础上,进一步对 A 部分的共轭双键和苯环部分进行修饰,合成了一系列化合物,并进行生物活性测定和构效分析。目标化合物的设计思路如 Scheme 1 所示。

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 2 所示,首先取代苯甲醛与取代脂肪醛发生羟醛缩合反应,生成中间体 α -取代烯醛 1,1 再与氨基硫脲在冰醋酸的作用下发生缩合反应,得到目标化合物 2^[8]。苯环上取代基 R^1 的类别对收率有一定影响,当 R^1 为给电子基团时,由于增加了苯环上的电子云密度,影响了醛羰基碳离子的正电性,从而使反应收率较低,其中收率最低的 2p 仅有 16.1%。而当 R^1 为吸电子基团时,总体收率较高,其中最高的 2w 收率达到 83.5%。

1.2 谱图解析

目标化合物结构通过 ^1H NMR、IR、 ^{13}C NMR、元素分析或 HRMS 确证。根据 ^1H NMR 图谱显示(图 2),可以将目标化合物的氢大致分为三类。以化合物 2o 为例进行解析,第一类是胺上三个活泼氢,均显示为宽单峰。 δ 11.31 为 NH 上的活泼氢。—NH₂ 上的两个活泼氢

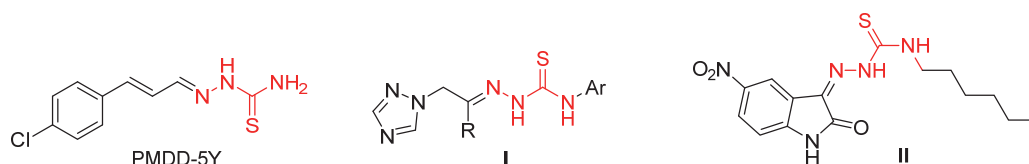
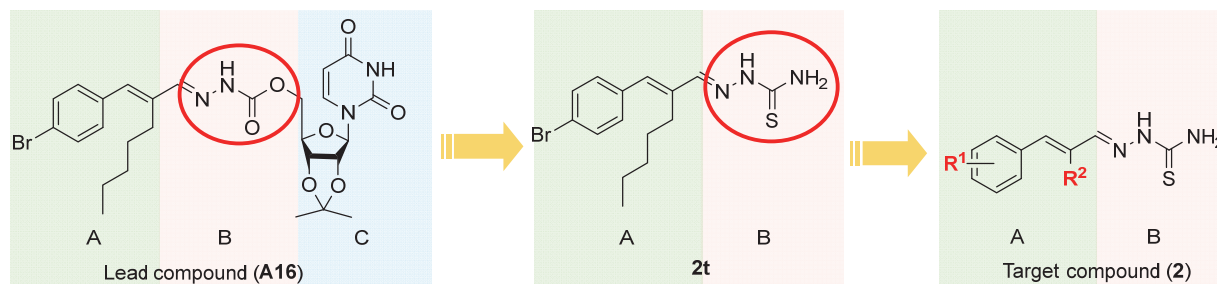
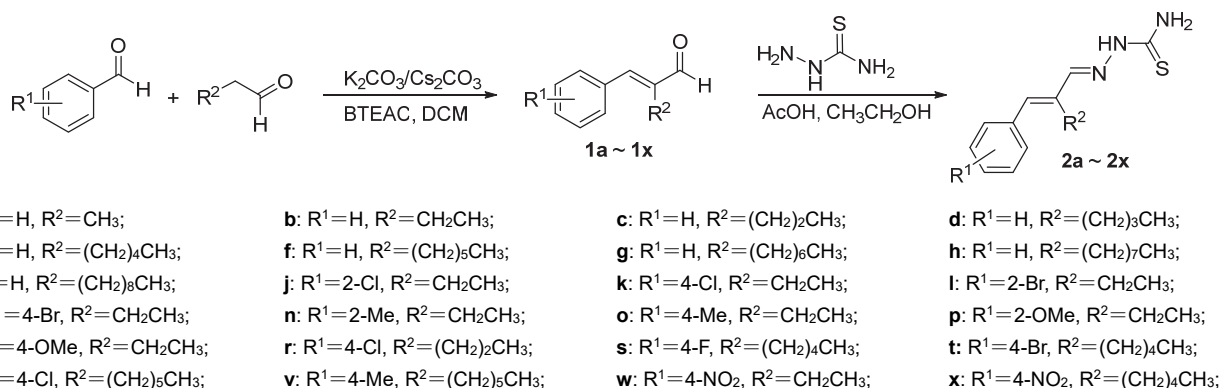


图 1 含有缩氨基硫脲片段的高活性化合物
Figure 1 Highly active compounds containing thiosemicarbazone fragments



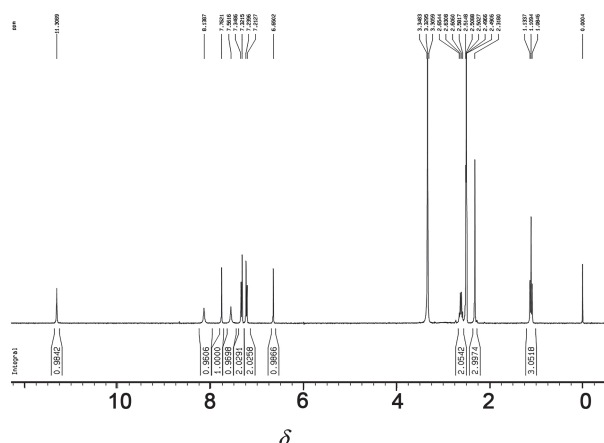
图式 1 目标化合物的设计思想
Scheme 1 Design strategy of the target compounds



图式 2 目标化合物 2 的合成路线

Scheme 2 Synthetic route of target compounds 2

由于 C—N 的部分双键性质而成为不等价质子, 裂分为两组 s 峰. δ 8.14 为反式位置上的氢, δ 7.56 为顺式位置上的氢. 第二类是 C=CH 和 N=CH 的两个氢原子, 由于 N 的电负性影响, 处于较低场区域的 δ 7.76 为 N=CH 的氢, δ 6.65 为 C=CH 的氢. 第三类氢原子是处于最高场区域的烷基氢. δ 1.11 与 δ 2.60 附近为共轭双烯桥链上烷基取代的氢, 由于 CH_2 和 CH_3 的偶合裂分, 使其分别裂分为三重峰和四重峰. δ 2.31 为苯环上甲基取代氢.

图 2 化合物 2o 的 1H NMR 谱图
Figure 2 1H NMR of compound 2o

根据目标物的 IR 谱图(图 3), 将化合物结构分为氨基硫脲部分和苯环丙烯基部分. 前者主要是 N—H 峰和 C=S 峰, 后者主要是苯环峰和烷基峰. 其中, 位于 $3100\sim 3500\text{ cm}^{-1}$ 附近为 N—H 伸缩振动吸收峰, 在 1280 cm^{-1} 附近为 C=S 的伸缩振动峰. 在 $1600, 1560$ 及 1500 cm^{-1} 附近为芳环的骨架振动峰. 在 $2850\sim 2960\text{ cm}^{-1}$ 附近为 CH_2CH_3 的伸缩振动峰, 在 1460 cm^{-1} 附近为其摇摆振动峰.

根据 ^{13}C NMR 图谱显示(图 4), 处于高场区域为饱和和烷基碳, 包括共轭双烯桥链上两个烷基碳和苯环上取代的甲基碳 δ 13.85, 19.32, 21.32, 处于较低场区域为不

饱和碳, 包括苯环碳、共轭双烯碳以及硫羰基的碳 δ 129.35~178.09; 由于 N, S 电负性的影响, 共轭双烯中碳氮双键的碳 δ 147.64, 硫羰基的碳 δ 178.09.

1.3 离体抑菌活性

首先测试了化合物对 6 种植物病原菌的初步离体抑菌活性, 结果表明(表 1), 在 $100\text{ }\mu\text{g/mL}$ 浓度下, 部分化合物对多种病原菌表现出明显的抑菌活性. 其中, 化合物 2a 对黄瓜灰霉病菌(*B. cinerea*)、黄瓜炭疽病菌(*C. orbiculare*)、番茄早疫病菌(*A. solani*)三种病原菌的抑制率均超过 80%; 化合物 2p 对于供试的六种病原菌的抑制率也均在 80% 以上, 其中对水稻纹枯病菌(*R. solani*)、小麦赤霉病菌(*F. graminearum*)的抑制率均超过 90%, 对黄瓜炭疽病菌和番茄早疫病菌的抑制活性表现突出, 抑菌率均为 100%(图 5). 此外, 有多个化合物(2a, 2k, 2p, 2r, 2t)对黄瓜灰霉病菌的抑制活性也超过 80%.

通过对比先导化合物 A16 和化合物 2t 发现, 将先导化合物中的核苷片段和氨基甲酸酯片段替换为氨基硫脲片段后, 化合物对这几种植物病原菌的离体抑制活性均有明显的提高. 进一步对化合物 2t 的苯环和共轭双键进行修饰发现, 苯环上的取代基 R^1 种类及共轭双键上 R^2 的链长对活性有影响. 当苯环 $R^1=H$, 共轭双烯桥链上取代基 R^2 为 1、2 和 3 个碳时, 对黄瓜灰霉病菌的抑制率均在 80% 以上. 随着共轭双烯桥链上的取代基碳链增长, 化合物总体上呈现出抑菌活性降低, 抑菌谱变窄的趋势. 另外, 苯环上取代基 R^1 的位置以及电负性对活性有明显影响. 当 R^1 为吸电子基团时, 对于抑制活性最好的黄瓜灰霉病菌, 对位活性优于邻位, 如 $2k>2j$ 和 $2m>2l$; 当 R^1 为给电子基团时, 对于测试菌种, 邻位活性优于对位, 且给电子能力较强的甲氧基优于甲基, 如 $2q>2o$ 和 $2p>2n$.

进一步对活性较好的化合物进行精密毒力杀菌活性(EC_{50})测试, 表 2 结果表明: 化合物 2p 对于水稻纹枯

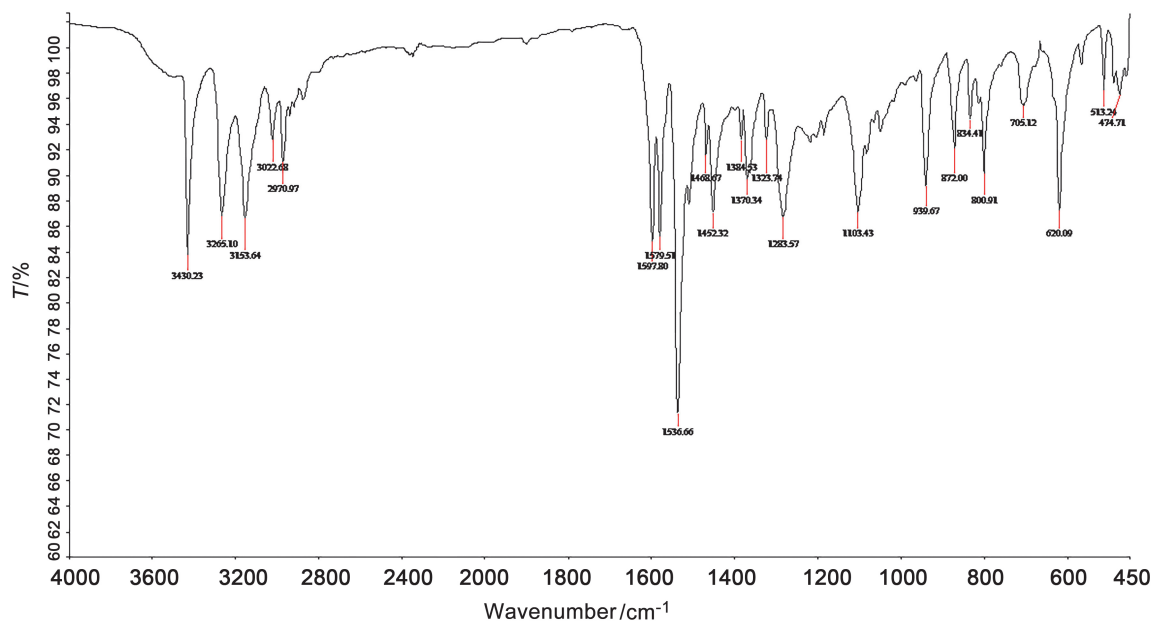


图3 化合物 **2o** 的 IR 谱图
Figure 3 IR spectrum of compound **2o**

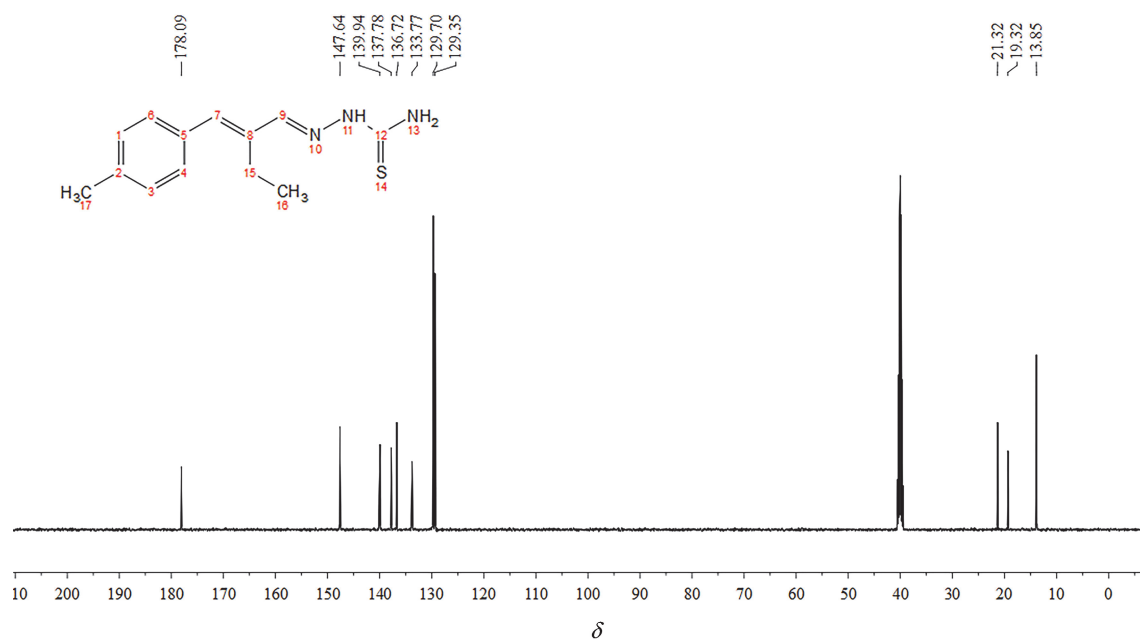


图4 化合物 **2o** 的 ^{13}C NMR 图谱
Figure 4 ^{13}C NMR of compound **2o**

病菌、黄瓜灰霉病菌和小麦赤霉病菌均有着非常好的抑制效果; 尤其 **2p** 对水稻纹枯病菌($\text{EC}_{50}=2.07\ \mu\text{g/mL}$)和小麦赤霉病菌($\text{EC}_{50}=26.49\ \mu\text{g/mL}$)的抑制活性均优于对照药剂多氧霉素 B。此外, 化合物 **2a** 对黄瓜灰霉病菌($\text{EC}_{50}=1.77\ \mu\text{g/mL}$)的抑制活性也优于对照药剂多氧霉素 B。

1.4 几丁质合成酶抑制活性

参考 Lucero 等^[18]所建立的非放射性高通量几丁质合成酶的测定方法, 测定高活性化合物 **2a**, **2p**, **2t** 及先

导化合物 **A16** 对酿酒酵母真菌几丁质合成酶的抑制活性。活性测试结果(表 3)表明, 化合物 **2p** 对几丁质合成酶抑制活性相比于先导 **A16** 和 **2t** 均有明显的提高。且化合物 **2p** 在 $40\ \mu\text{g/mL}$ 的浓度下对几丁质合成酶抑制活性明显优于对照药剂尼克霉素 Z。

2 结论

本工作在前期研究工作的基础上, 对天然产物肉桂醛衍生物 **A16** 进行结构优化, 以各种取代的苯甲醛与不

表 1 化合物的离体抑菌活性(100 $\mu\text{g/mL}$, 抑制率/%)^a
Table 1 Fungicidal activity *in vitro* of the compounds (100 $\mu\text{g/mL}$, inhibitory rate/%)

Compd.	R ¹	R ²	水稻纹枯病菌	黄瓜灰霉病菌	小麦赤霉病菌	黄瓜炭疽病菌	番茄早疫病病菌	马铃薯晚疫病病菌
2a	H	CH ₃	35	85	62	86	83	69
2b	H	CH ₂ CH ₃	0	82	58	78	87	57
2c	H	(CH ₂) ₂ CH ₃	0	81	62	64	66	48
2d	H	(CH ₂) ₃ CH ₃	0	72	52	61	48	48
2e	H	(CH ₂) ₄ CH ₃	0	72	51	62	45	50
2f	H	(CH ₂) ₅ CH ₃	0	59	46	71	62	60
2g	H	(CH ₂) ₆ CH ₃	0	59	54	67	38	42
2h	H	(CH ₂) ₇ CH ₃	0	51	48	38	0	57
2i	H	(CH ₂) ₈ CH ₃	0	46	54	33	0	0
2j	2-Cl	CH ₂ CH ₃	0	59	54	43	34	58
2k	4-Cl	CH ₂ CH ₃	52	89	69	65	44	40
2l	2-Br	CH ₂ CH ₃	35	63	57	49	64	72
2m	4-Br	CH ₂ CH ₃	0	76	42	52	40	38
2n	2-Me	CH ₂ CH ₃	43	71	57	58	53	82
2o	4-Me	CH ₂ CH ₃	0	72	46	65	50	47
2p	2-OMe	CH ₂ CH ₃	96	85	92	100	100	82
2q	4-OMe	CH ₂ CH ₃	39	79	62	67	71	69
2r	4-Cl	(CH ₂) ₂ CH ₃	43	89	72	59	50	63
2s	4-F	(CH ₂) ₄ CH ₃	0	64	62	77	58	67
2t	4-Br	(CH ₂) ₄ CH ₃	30	83	73	66	58	65
2u	4-Cl	(CH ₂) ₅ CH ₃	70	64	67	74	47	58
2v	4-Me	(CH ₂) ₅ CH ₃	26	63	66	71	63	71
2w	4-NO ₂	CH ₂ CH ₃	0	0	0	36	0	0
2x	4-NO ₂	(CH ₂) ₄ CH ₃	30	77	68	27	0	0
A16			0	48	50	45	51	—
多氧霉素 B			63	83	57	63	77	70

^a “—” 表示未测定.

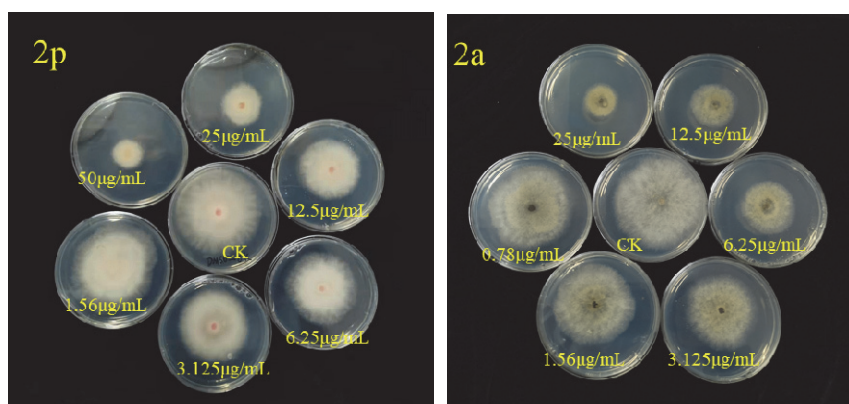


图 5 化合物 2a 对黄瓜灰霉病菌和化合物 2p 对小麦赤霉病菌的 EC₅₀ 值
Figure 5 EC₅₀ of compound 2a against *Botrytis cinerea*, and compound 2p against *Fusarium graminearum* Sehwa

表2 化合物 **2a**, **2p** 对水稻纹枯病菌、黄瓜灰霉病菌和小麦赤霉病菌的 EC₅₀ 值
Table 2 EC₅₀ of compounds **2a**, **2p** against *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea* and *Fusarium graminearum* Sehwa

测试菌种	Compd.	EC ₅₀ /(μg·L ⁻¹)	Y 曲线	r
水稻纹枯病菌	2p	2.07	$Y=0.755X+4.761$	0.9762
	多氧霉素 B	15.33	$Y=1.941X+2.699$	0.9980
黄瓜灰霉病菌	2a	1.77	$Y=0.897X+4.777$	0.9990
	2p	18.85	$Y=0.806X+3.972$	0.9935
	多氧霉素 B	3.08	$Y=1.033X+4.496$	0.9670
小麦赤霉病菌	2p	26.49	$Y=1.107X+3.417$	0.9864
	多氧霉素 B	44.66	$Y=1.091X+3.200$	0.9985

表3 部分化合物对几丁质合成酶的抑制活性

Table 3 Inhibitory activity of some compounds on chitin synthase

Compd.	R ¹	R ²	抑制效果/%	
			40 μg·mL ⁻¹	100 μg·mL ⁻¹
2a	H	CH ₃	37	67
2p	2-OMe	CH ₂ CH ₃	69	80
2t	4-Br	(CH ₂) ₄ CH ₃	58	83
A16			47	79
尼克霉素 Z			52	86

同长度的烷基链醛为起始原料, 通过缩合反应, 设计并合成了 24 个取代肉桂醛缩氨基硫脲类化合物. 所有化合物结构经过 ¹H NMR、¹³C NMR、IR、元素分析或 HRMS 的确定.

生物活性研究表明, 在 100 μg/mL 浓度下, 大部分化合物对其中五种病原菌的抑制活性明显优于先导化合物 **A16**. 通过构效关系分析发现, 苯环上的取代基 R¹ 种类及共轭双键上 R² 的链长对活性有影响. 当苯环上没有取代基时, 共轭双键桥链上取代基 R² 为 1、2 和 3 个碳时, 对黄瓜灰霉病菌(*B. cinerea*)的抑制率均在 80% 以上, 随着共轭双键桥链上的取代基碳链增长, 化合物总体上呈现出抑菌活性降低, 抑菌谱变窄的趋势; 当苯环上带有吸电子基团时, 对于抑制活性最好的黄瓜灰霉病菌, 对位活性优于邻位; 当苯环带有给电子基团时, 对于测试菌种, 邻位活性优于对位. 特别是化合物 **2p** 对于水稻纹枯病菌(*R. solani*)和小麦赤霉病菌(*F. graminearum*)的抑制活性优于对照药剂多氧霉素 B, 同时, 化合物 **2p** 在 40 μg/mL 的浓度下, 对几丁质合成酶的抑制活性高于对照药剂尼克霉素 Z. 因此, **2p** 可作为高活性先导进一步优化研究.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

Cole-Parmer 熔点仪(温度计未校正), Bruker Advance DPX 300 MHz 核磁共振仪(以 TMS 为内标, DMSO-*d*₆ 为溶剂), PerkinElmer Spectrum 100 FT-IR 红外

光谱仪(KBr 压片), Nario EL III 型元素分析仪(Flash EA 1112 分析方法). 实验中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 中间体的制备

当芳基上的取代基为吸电子基或无取代基时, 以 α-甲基苯丙烯醛(**1a**)的制备为例. 将 11.13 g (0.105 mol) 苯甲醛、14.51 g (0.105 mol) 碳酸钾和 11.96 g (0.053 mol) 的苄基三乙基氯化铵加入到 50 mL 的克氏瓶中, 用橡胶垫密封, 通过双排管和氮气将反应体系置换为无水无氧环境, 然后将 20 mL 无水二氯甲烷通过注射器注入到克氏瓶中, 用油浴控制温度为 25 °C, 剧烈搅拌下通过注射器缓慢滴加 4.06 g (0.070 mol) 正丙醛于反应液中, 控制滴加时间在 3~5 h 之间. 滴加完毕后, 通过气相色谱监测至反应完毕. 反应结束后, 反应液用 50 mL 二氯甲烷稀释, 然后分别用 20 mL 水洗 2 次, 10 mL 饱和食盐水洗 2 次, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥. 过滤, 滤液减压脱去溶剂得到浅黄色油状液体 5.90 g (b.p. 109~112 °C/667 Pa), 收率 57.84%.

当芳基上的取代基为给电子基团时, 以 α-乙基-(2-甲氧基苯基)-丙烯醛(**1p**)的制备为例. 将 8.17 g (0.060 mol) 2-甲氧基苯甲醛、19.55 g (0.060 mol) 碳酸铯和 6.50 g (0.030 mol) 的苄基三乙基氯化铵加入到 50 mL 的克氏瓶中, 用橡胶垫密封, 通过双排管和氮气将反应体系置换为无水无氧环境, 然后将 20 mL 无水二氯甲烷通过注射器注入到克氏瓶中, 用油浴控制温度为 25 °C, 剧烈搅拌下通过注射器缓慢滴加 2.88 g (0.040 mol) 正丁醛于反应液中, 控制滴加时间在 3~5 h 之间. 滴加完毕后, 通过气相色谱监测至反应完毕. 反应结束后, 反应液用 50 mL 二氯甲烷稀释, 然后用 20 mL 水洗 2 次, 10 mL 饱和食盐水洗 2 次, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥. 过滤后减压脱去溶剂得到淡黄色油状液体 4.14 g (b.p. 140~144 °C/200 Pa), 收率 54.40%.

3.2.2 目标物的制备

以1-(3-苯基-2-甲基丙-2-烯亚基)氨基硫脲(**2a**)为例,向50 mL反应瓶中加入1.14 g (0.013 mol)氨基硫脲、2.0 g (0.014 mol) α -甲基苯丙烯醛, 20 mL 无水乙醇和2滴冰醋酸, 室温搅拌, 薄层色谱(TLC)监测至反应完毕. 静置, 反应液析出白色固体, 过滤, 滤饼用乙醇重结晶, 得1.69 g 1-(3-苯基-2-甲基丙-2-烯亚基)氨基硫脲(**2a**), 白色固体, 收率 62.0%. m.p. 200~201 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 11.34 (s, 1H, NH), 8.13 (s, 1H, NH₂), 7.87 (s, 1H, CH=N), 7.48~7.28 (m, 5H, ArH), 7.66 (s, 1H, NH₂), 6.77 (s, 1H, CH=C), 2.11 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.19, 148.37, 137.10, 136.84, 134.80, 129.78, 128.90, 128.10, 13.23; IR (KBr) ν : 3424, 3246, 3151, 2965, 1603, 1581, 1363, 1282 cm^{-1} . Anal. calcd for C₁₁H₁₃N₃S: C 60.24, H 5.97, N 19.16; found C 60.32, H 5.95, N 19.09.

同法制得其余化合物 **2b**~**2x**, 相关理化数据及结构鉴定数据如下.

1-(3-苯基-2-乙基丙-2-烯亚基)氨基硫脲(**2b**): 白色固体, 收率 36.4%. m.p. 210~211 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 11.34 (s, 1H, NH), 8.16 (s, 1H, NH₂), 7.78 (s, 1H, CH=N), 7.43~7.29 (m, 5H, ArH), 7.58 (s, 1H, NH₂), 6.70 (s, 1H, CH=C), 2.66~2.59 (m, 2H, CH₂), 1.12 (t, J =7.38 Hz, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.17, 147.38, 140.78, 136.62, 136.59, 129.34, 129.08, 128.21, 19.34, 13.95; IR (KBr) ν : 3424, 3246, 3151, 2965, 1603, 1581, 1363, 1282 cm^{-1} . Anal. calcd for C₁₂H₁₅N₃S: C 61.77, H 6.48, N 18.01; found C 61.85, H 6.32, N 18.24.

1-(3-苯基-2-丙基丙-2-烯亚基)氨基硫脲(**2c**): 白色固体, 收率 58.0%. m.p. 164~165 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 9.56 (s, 1H, NH), 7.59 (s, 1H, CH=N), 7.43~7.28 (m, 5H, ArH), 7.08 (s, 1H, NH₂), 6.75 (s, 1H, CH=C), 6.35 (s, 1H, NH₂), 2.64~2.59 (m, 2H, CH₂), 1.69~1.56 (m, 2H, CH₂), 0.97 (t, J =7.41 Hz, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.13, 147.91, 139.43, 137.08, 136.66, 129.34, 129.07, 128.19, 27.93, 22.16, 14.66; IR (KBr) ν : 3437, 3273, 3152, 2953, 1592, 1578, 1457, 1374, 1284 cm^{-1} . Anal. calcd for C₁₃H₁₇N₃S: C 63.12, H 6.93, N 16.99; found C 63.19, H 7.09, N 16.92.

1-(3-苯基-2-丁基丙-2-烯亚基)氨基硫脲(**2d**): 白色固体, 收率 57.0%. m.p. 152~153 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 9.58 (s, 1H, NH), 7.63 (s, 1H, CH=N), 7.42~7.26 (m, 5H, ArH), 7.08 (s, 1H, NH₂), 6.74 (s, 1H, CH=C), 6.42 (s, 1H, NH₂), 2.58 (t, J =8.13

Hz, 2H, CH₂), 1.62~1.53 (m, 2H, CH₂), 1.45~1.36 (m, 2H, CH₂), 0.93 (t, J =7.26 Hz, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.17, 147.90, 139.49, 137.03, 136.64, 129.30, 129.00, 128.15, 30.98, 25.66, 22.79, 14.28; IR (KBr) ν : 3432, 3261, 3154, 2952, 1595, 1581, 1468, 1371, 1285 cm^{-1} . Anal. calcd for C₁₄H₁₉N₃S: C 64.33, H 7.33, N 16.08; found C 64.49, H 7.26, N 16.31.

1-(3-苯基-2-戊基丙-2-烯亚基)氨基硫脲(**2e**): 白色固体, 收率 46.0%. m.p. 139~140 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 9.83 (s, 1H, NH), 7.63 (s, 1H, CH=N), 7.42~7.26 (m, 5H, ArH), 7.09 (s, 1H, NH₂), 6.74 (s, 1H, CH=C), 6.41 (s, 1H, NH₂), 2.57 (m, 2H, CH₂), 1.63~1.57 (m, 2H, CH₂), 1.38~1.30 (m, 4H, CH₂CH₂), 0.93 (m, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.16, 147.87, 139.55, 137.00, 136.65, 129.30, 129.02, 128.17, 31.86, 28.41, 25.87, 22.35, 14.38; IR (KBr) ν : 3438, 3274, 3152, 2948, 1591, 1578, 1458, 1375, 1284 cm^{-1} . Anal. calcd for C₁₅H₂₁N₃S: C 65.41, H 7.69, N 15.26; found C 65.68, H 7.84, N 15.38.

1-(3-苯基-2-己基丙-2-烯亚基)氨基硫脲(**2f**): 黄色固体, 收率 54.6%. m.p. 140~141 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 11.34 (s, 1H, NH), 8.19 (s, 1H, NH₂), 7.79 (s, 1H, CH=N), 7.42~7.29 (m, 5H, ArH), 7.48 (s, 1H, NH₂), 6.71 (s, 1H, CH=C), 2.60 (t, J =7.71 Hz, 2H, CH₂), 1.50~1.43 (m, 2H, CH₂), 1.36~1.21 (m, 6H, CH₂CH₂CH₂), 0.84 (t, J =6.675 Hz, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.16, 147.85, 139.54, 137.00, 136.66, 129.29, 129.01, 128.16, 31.48, 29.27, 28.65, 25.88, 22.54, 14.38; IR (KBr) ν : 3440, 3275, 3152, 2946, 1591, 1578, 1460, 1360, 1285 cm^{-1} . Anal. calcd for C₁₆H₂₃N₃S: C 66.39, H 8.01, N 14.52; found C 66.60, H 8.13, N 14.61.

1-(3-苯基-2-庚基丙-2-烯亚基)氨基硫脲(**2g**): 黄色固体, 收率 68.0%. m.p. 119~120 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 11.34 (s, 1H, NH), 8.19 (s, 1H, NH₂), 7.79 (s, 1H, CH=N), 7.48 (s, 1H, NH₂), 7.42~7.28 (m, 5H, ArH), 6.72 (s, 1H, CH=C), 2.62~2.50 (m, 2H, CH₂), 1.48 (br s, 2H, CH₂), 1.34~1.22 (m, 8H, CH₂CH₂CH₂CH₂), 0.84 (t, J =6.00 Hz, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.16, 147.85, 139.55, 136.99, 136.67, 129.29, 129.00, 128.16, 31.73, 29.56, 28.93, 28.69, 25.87, 22.57, 14.44; IR (KBr) ν : 3439, 3276, 3176, 2920, 1591, 1578, 1458, 1375, 1285 cm^{-1} . Anal. calcd for C₁₇H₂₅N₃S: C 67.28, H 8.30, N 13.85; found C 67.53, H 8.30, N 13.85.

1-(3-苯基-2-辛基丙-2-烯亚基)氨基硫脲(**2h**): 黄色固体, 收率 58.9%. m.p. 125~126 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 6.72 (s, 1H, CH=C), 2.59 (t, $J=7.46$ Hz, 2H, CH₂), 1.49~1.43 (m, 2H, CH₂), 1.33~1.22 (m, 10H, CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂), 0.85 (t, $J=6.66$ Hz, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.16, 147.84, 139.55, 136.98, 136.67, 129.29, 129.00, 128.16, 31.75, 29.60, 29.23, 29.15, 28.68, 25.87, 22.59, 14.44; IR (KBr) ν : 3439, 3277, 3177, 2950, 1592, 1578, 1458, 1375, 1284 cm^{-1} . Anal. calcd for C₁₈H₂₇N₃S: C 68.09, H 8.57, N 13.24; found C 67.89, H 8.33, N 13.32.

1-(3-苯基-2-壬基丙-2-烯亚基)氨基硫脲(**2i**): 黄色固体, 收率 40.1%. m.p. 114~115 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 11.33 (s, 1H, NH), 8.18 (s, 1H, NH₂), 7.79 (s, 1H, CH=N), 7.48 (s, 1H, NH₂), 7.42~7.29 (m, 5H, ArH), 6.72 (s, 1H, CH=C), 2.59 (t, $J=7.62$ Hz, 2H, CH₂), 1.48 (br s, 2H, CH₂), 1.33~1.22 (m, 12H, CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂), 0.85 (t, $J=6.74$ Hz, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.14, 147.84, 139.56, 136.98, 136.68, 129.31, 129.03, 128.18, 31.77, 29.57, 29.45, 29.27, 29.15, 28.68, 25.85, 22.57, 14.44; IR (KBr) ν : 3439, 3277, 3177, 2950, 1592, 1578, 1458, 1375, 1284 cm^{-1} . Anal. calcd for C₁₉H₂₉N₃S: C 68.84, H 8.82, N 12.68; found C 68.84, H 8.70, N 12.75.

1-(3-(2'-氯苯基)-2-乙基丙-2-烯亚基)氨基硫脲(**2j**): 黄色固体, 收率 77.1%. m.p. 193~194 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 11.36 (s, 1H, NH), 8.20 (s, 1H, NH₂), 7.82 (s, 1H, CH=N), 7.61~7.52 (m, 1H, ArH), 7.46~7.34 (m, 3H, ArH), 7.61 (s, 1H, NH₂), 6.74 (s, 1H, CH=C), 2.52~2.43 (m, 2H, CH₂), 1.03 (t, $J=7.35$ Hz, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.39, 146.14, 142.59, 134.77, 133.09, 132.87, 130.53, 129.93, 127.69, 19.49, 14.24; IR (KBr) ν : 3437, 3280, 3154, 2987, 1599, 1586, 1453, 1368, 1281 cm^{-1} . Anal. calcd for C₁₂H₁₄ClN₃S: C 53.82, H 5.27, N 13.24; found C 53.93, H 5.16, N 15.82.

1-(3-(4'-氯苯基)-2-乙基丙-2-烯亚基)氨基硫脲(**2k**): 黄色固体, 收率 76.4%. m.p. 209~210 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 11.36 (s, 1H, NH), 8.18 (s, 1H, NH₂), 7.77 (s, 1H, CH=N), 7.47~7.43 (m, 4H, ArH), 7.50 (s, 1H, NH₂), 6.70 (s, 1H, CH=C), 2.65~2.57 (m, 2H, CH₂), 1.10 (t, $J=7.37$ Hz, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.23, 147.05, 141.46, 135.44, 135.12, 132.70, 131.04, 129.07, 19.27, 13.86; IR (KBr) ν : 3430, 3263, 3153, 2972, 1601, 1590, 1455, 1367, 1288

cm^{-1} . Anal. calcd for C₁₂H₁₄ClN₃S: C 53.82, H 5.27, N 13.24; found C 54.02, H 5.26, N 15.71.

1-(3-(2'-溴苯基)-2-乙基丙-2-烯亚基)氨基硫脲(**2l**): 黄色固体, 收率 52.6%. m.p. 181~182 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 11.38 (s, 1H, NH), 8.23 (s, 1H, NH₂), 7.82 (s, 1H, CH=N), 7.72~7.69 (m, 1H, ArH), 7.45~7.28 (m, 3H, ArH), 7.63 (s, 1H, NH₂), 6.68 (s, 1H, CH=C), 2.52~2.43 (m, 2H, CH₂), 1.03 (t, $J=7.37$ Hz, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.38, 146.05, 142.23, 136.61, 135.32, 133.06, 130.60, 130.09, 128.21, 123.82, 19.44, 14.20; IR (KBr) ν : 3436, 3289, 3152, 2990, 1595, 1582, 1447, 1361, 1277 cm^{-1} . Anal. calcd for C₁₂H₁₄BrN₃S: C 46.16, H 4.52, N 13.46; found C 46.20, H 4.56, N 13.39.

1-(3-(4'-溴苯基)-2-乙基丙-2-烯亚基)氨基硫脲(**2m**): 黄色固体, 收率 60.0%. m.p. 216~217 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 11.36 (s, 1H, NH), 8.17 (s, 1H, NH₂), 7.76 (s, 1H, CH=N), 7.59~7.37 (m, 4H, ArH), 7.62 (s, 1H, NH₂), 6.67 (s, 1H, CH=C), 2.62~2.49 (m, 2H, CH₂), 1.10 (t, $J=7.41$ Hz, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.23, 147.02, 141.57, 135.81, 135.17, 132.01, 131.35, 121.36, 19.27, 13.86; IR (KBr) ν : 3429, 3264, 3154, 2970, 1600, 1586, 1454, 1366, 1287 cm^{-1} . Anal. calcd for C₁₂H₁₄BrN₃S: C 46.16, H 4.52, N 13.46; found C 46.06, H 4.46, N 13.61.

1-(3-(2'-甲基苯基)-2-乙基丙-2-烯亚基)氨基硫脲(**2n**): 白色固体, 收率 42.5%. m.p. 177~178 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 11.31 (s, 1H, NH), 8.14 (s, 1H, NH₂), 7.75 (s, 1H, CH=N), 7.42~6.97 (m, 4H, ArH), 7.56 (s, 1H, NH₂), 6.62 (s, 1H, CH=C), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 2.62 (m, 2H, CH₂), 1.11 (t, $J=7.37$ Hz, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.27, 146.83, 141.00, 136.53, 135.89, 135.84, 130.44, 128.56, 128.16, 126.14, 20.13, 19.50, 14.35; IR (KBr) ν : 3443, 3287, 3156, 2983, 1595, 1580, 1451, 1362, 1283 cm^{-1} . Anal. calcd for C₁₃H₁₇N₃S: C 63.12, H 6.93, N 16.99; found C 62.96, H 6.77, N 17.01.

1-(3-(4'-甲基苯基)-2-乙基丙-2-烯亚基)氨基硫脲(**2o**): 白色固体, 收率 44.1%. m.p. 204~205 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 11.31 (s, 1H, NH), 8.14 (s, 1H, NH₂), 7.77 (s, 1H, CH=N), 7.35~7.21 (m, 4H, ArH), 7.56 (s, 1H, NH₂), 6.65 (s, 1H, CH=C), 2.65~2.58 (m, 2H, CH₂), 2.32 (s, 3H, CH₃), 1.11 (t, $J=7.37$ Hz, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.09, 147.64, 139.94, 137.78, 136.72, 133.77, 129.70, 129.35, 21.32,

19.32, 13.85; IR (KBr) ν : 3430, 3265, 3153, 2970, 1579, 1579, 1452, 1370, 1283 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{S}$: C 63.12, H 6.93, N 16.99; found C 63.21, H 6.67, N 17.19.

1-(3-(2'-甲氧基苯基)-2-乙基丙-2-烯亚基)氨基硫脲(**2p**): 黄色固体, 收率 16.1%. m.p. 128~129 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz) δ : 11.29 (s, 1H, NH), 8.16 (s, 1H, NH₂), 7.78 (s, 1H, CH=N), 7.35~6.97 (m, 4H, ArH), 7.54 (s, 1H, NH₂), 6.76 (s, 1H, CH=C), 3.82 (s, 3H, OCH₃), 2.55~2.48 (m, 2H, CH₂), 1.09 (t, $J=7.37\text{Hz}$, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 178.14, 157.26, 147.46, 140.30, 132.06, 129.91, 129.35, 125.04, 120.70, 111.53, 55.89, 19.54, 14.16; IR (KBr) ν : 3416, 3288, 3167, 2962, 1603, 1596, 1464, 1363, 1288 cm^{-1} . HRMS calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 264.1170, found 264.1165.

1-(3-(4'-甲氧基苯基)-2-乙基丙-2-烯亚基)氨基硫脲(**2q**): 黄色固体, 收率 35.2%. m.p. 181~182 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz) δ : 11.31 (s, 1H, NH), 8.14 (s, 1H, NH₂), 7.75 (s, 1H, CH=N), 7.42~6.97 (m, 4H, ArH), 7.56 (s, 1H, NH₂), 6.62 (s, 1H, CH=C), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 2.66~2.59 (m, 2H, CH₂), 1.11 (t, $J=7.37\text{Hz}$, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 177.98, 159.36, 147.93, 138.63, 136.55, 130.97, 129.12, 114.59, 55.63, 19.25, 13.72; IR (KBr) ν : 3425, 3265, 3153, 2977, 1604, 1578, 1458, 1365, 1303 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{OS}$: C 59.29, H 6.51, N 15.96; found C 59.06, H 6.37, N 16.00.

1-(3-(4'-氯苯基)-2-丙基丙-2-烯亚基)氨基硫脲(**2r**): 黄色固体, 收率 65.3%. m.p. 166~167 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz) δ : 11.35 (s, 1H, NH), 8.18 (s, 1H, NH₂), 7.78 (s, 1H, CH=N), 7.48~7.41 (m, 4H, ArH), 7.57 (s, 1H, NH₂), 6.71 (s, 1H, CH=C), 2.51~2.42 (m, 2H, CH₂), 1.50~1.43 (m, 2H, CH₂), 0.92 (t, $J=7.34\text{Hz}$, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 178.18, 147.58, 140.08, 135.60, 135.49, 132.67, 130.99, 129.02, 27.81, 22.10, 14.61; IR (KBr) ν : 3425, 3268, 3157, 2958, 1603, 1578, 1462, 1371, 1298 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{S}$: C 55.41, H 5.72, N 14.91; found C 55, 26, H 6.00, N 14.89.

1-(3-(4'-氟苯基)-2-戊基丙-2-烯亚基)氨基硫脲(**2s**): 黄色固体, 收率 52.0%. m.p. 111~112 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz) δ : 11.34 (s, 1H, NH), 8.17 (s, 1H, NH₂), 7.77 (s, 1H, CH=N), 7.48 (s, 1H, NH₂), 7.46~7.43 (t, $J=5.64\text{Hz}$, 2H, ArH), 7.28~7.22 (t, $J=8.88\text{Hz}$, 2H, ArH), 2.57 (t, $J=8.19\text{Hz}$, 3H, CH₂), 1.48 (br s, 2H, CH₂), 1.31~1.25 (m, 4H, CH₂CH₂), 0.83 (t, $J=7.14\text{Hz}$, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 177.09, 160.81

(d, $J=246.1\text{Hz}$), 146.65, 138.27, 134.70, 132.13 (d, $J=3.1\text{Hz}$), 130.34 (d, $J=8.1\text{Hz}$), 114.93 (d, $J=21.5\text{Hz}$), 30.76, 27.27, 24.63, 21.28, 13.32; IR (KBr) ν : 3428, 3274, 3161, 2935, 1607, 1577, 1459, 1369, 1286 cm^{-1} . HRMS calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{FN}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 294.1437, found 294.1435.

1-(3-(4'-溴苯基)-2-戊基丙-2-烯亚基)氨基硫脲(**2t**): 白色固体, 收率 50.0%. m.p. 136~137 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz) δ : 11.38 (s, 1H, NH), 8.21 (s, 1H, NH₂), 7.77 (s, 1H, CH=N), 7.60 (d, $J=8.61\text{Hz}$, 2H, ArH), 7.52 (s, 1H, NH₂), 7.36 (d, $J=8.61\text{Hz}$, 2H, ArH), 6.68 (s, 1H, CH=C), 2.58 (t, $J=7.14\text{Hz}$, 2H, CH₂), 1.46 (br s, 2H, CH₂), 1.34~1.23 (m, 4H, CH₂), 0.84 (t, $J=6.87\text{Hz}$, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 178.21, 147.51, 140.34, 135.90, 135.55, 131.99, 131.30, 121.33, 31.80, 28.36, 25.78, 22.35, 14.40; IR (KBr) ν : 3419, 3270, 3151, 2997, 2985, 1589, 1520, 1357, 1283 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{BrN}_3\text{S}$: C 50.85, H 5.69, N 11.86; found C 50.80, H 5.75, N 11.79.

1-(3-(4'-氯苯基)-2-己基丙-2-烯亚基)氨基硫脲(**2u**): 黄色固体, 收率 60.4%. m.p. 143~144 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz) δ : 11.39 (s, 1H, NH), 8.23 (s, 1H, NH₂), 7.78 (s, 1H, CH=N), 7.49~7.41 (m, 4H, ArH), 7.53 (s, 1H, NH₂), 6.71 (s, 1H, CH=C), 2.61~2.50 (m, 2H, CH₂), 1.48~1.20 (m, 8H, CH₂CH₂CH₂CH₂), 0.84 (t, $J=6.675\text{Hz}$, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 178.24, 147.50, 140.26, 135.50, 132.66, 131.02, 129.05, 31.47, 29.20, 28.60, 25.75, 22.54, 14.38; IR (KBr) ν : 3434, 3274, 3152, 2951, 1596, 1588, 1450, 1374, 1282 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{S}$: C 59.33, H 6.85, N 12.97; found C 59.07, H 6.65, N 13.01.

1-(3-(4'-甲基苯基)-2-己基丙-2-烯亚基)氨基硫脲(**2v**): 黄色固体, 收率 31.3%. m.p. 125~126 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz) δ : 11.27 (s, 1H, NH), 8.16 (s, 1H, NH₂), 7.16 (s, 1H, CH=N), 7.21~7.14 (m, 4H, ArH), 7.20 (s, 1H, NH₂), 6.83 (s, 1H, CH=C), 2.62~2.56 (m, 2H, CH₂), 2.31 (s, 3H, CH₃), 1.50~1.24 (m, 8H, CH₂CH₂CH₂CH₂), 0.86 (t, $J=6.87\text{Hz}$, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 178.22, 147.50, 140.21, 135.51, 135.49, 132.67, 130.94, 128.97, 31.48, 29.23, 28.59, 25.77, 22.55, 14.36; IR (KBr) ν : 3437, 3282, 3234, 2950, 1597, 1578, 1447, 1372, 1280 cm^{-1} . HRMS calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 304.1836; found 304.1842.

1-(3-(4'-硝基苯基)-2-乙基丙-2-烯亚基)氨基硫脲(**2w**): 黄色固体, 收率 83.5%. m.p. 216~217 $^{\circ}\text{C}$; ^1H

NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 11.47 (s, 1H, NH), 8.28~8.24 (m, 3H, NH₂+ArH), 7.80 (s, 1H, CH=N), 8.27~7.68 (m, 2H, ArH), 7.71 (s, 1H, NH₂), 6.84 (s, 1H, CH=C), 2.72~2.68 (m, 2H, CH₂), 1.13 (t, $J=7.47$ Hz, 3H, CH₃); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ : 177.98, 146.46, 146.31, 144.21, 143.50, 133.57, 129.92, 123.95, 19.00, 14.05; IR (KBr) ν : 3427, 3263, 3153, 2973, 1599, 1454, 1364, 1285 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₂H₁₄N₄O₂S: C 51.78, H 5.07, N 20.13; found C 51.71, H 5.26, N 19.97.

1-(3-(4'-硝基苯基)-2-戊基丙-2-烯亚基)氨基硫脲 (**2x**): 黄色固体, 收率 75.8%. m.p. 151~152 °C; ¹H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 11.48 (s, 1H, NH), 8.28~8.25 (m, 3H, NH₂+ArH), 7.82 (s, 1H, CH=N), 7.69~7.66 (m, 2H, ArH), 7.62 (s, 1H, NH₂), 6.86 (s, 1H, CH=C), 2.67~2.62 (m, 2H, CH₂), 1.48~1.45 (m, 2H, CH₂), 1.36~1.26 (m, 4H, CH₂CH₂), 0.84 (t, $J=6.93$ Hz, 3H, CH₃); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.40, 146.81, 146.52, 143.53, 143.26, 134.37, 130.34, 124.24, 31.75, 28.54, 25.89, 22.35, 14.39; IR (KBr) ν : 3422, 3264, 3156, 2953, 1592, 1451, 1366, 1282 cm⁻¹. HRMS calcd for C₁₅H₂₀N₄O₂S [M+H]⁺ 321.1374; found 321.1380.

3.2 几丁质合成酶抑制活性测定

使用酵母细胞提取物进行几丁质合成酶抑制活性测定. 在 30 °C 的酵母提取物蛋白胨葡萄糖 (YPD) 培养基中生长过夜后, 1500 g, 10 min 离心收集酵母细胞. 然后通过液氮中研磨粉碎收集的细胞. 30 °C 下用 0.08 mg/mL 胰蛋白酶将细胞消化 30 min 后, 将 0.12 mg/mL 大豆胰蛋白酶抑制剂加入细胞提取物中. 所有测试样品均溶解在 DMSO 中.

在预处理的麦胚凝集素 (WGA) 包被 96 孔微量滴定板中进行几丁质合成酶抑制活性测定, 加入 49 μ L 胰蛋白酶预处理的细胞提取物, 1 μ L 测试样品或 DMSO 作为对照, 以及 50 μ L 反应溶液 (5 mmol/L GlcNAc, 1 mmol/L UDP-GlcNAc 和 5 mmol/L CoCl₂ 溶解于 50 mmol/L pH 7.5 的 Tris-HCl 缓冲液中). 将板在 30 °C 下以 300 r/min 振荡反应 3 h. 然后将板清空并用双蒸水洗涤 5 次, 然后加入 100 μ L 辣根过氧化物酶偶联小麦胚芽凝集素 (WGA-HRP) 溶液 (1 μ g/mL WGA-HRP 和 20 mg/mL BSA 溶解于 50 mmol/L pH 7.5 的 Tris-HCl 缓冲液中). 在 30 °C 下反应 30 min 后, 以 300 r/min 振荡, 用双蒸馏水再次洗涤板 5 次. 最后, 在每个孔中加入 100 μ L 过氧化物酶底物试剂 (Solarbio, PR1200), 并且每 20 s 测定 652 nm 处的光密度 (OD), 持续 5 min. 然后根据这些 OD₆₅₂ 值计算反应速率.

3.3 杀菌生物活性测定

采用菌丝生长速率法^[19]测定目标化合物对供试 6 种植物病原菌的抑制率. 供试菌种分别为水稻纹枯病菌 (*Rhizoctonia solani*)、小麦赤霉病菌 (*Fusarium graminearum* Sehwa)、黄瓜灰霉病菌 (*Botrytis cinerea*)、番茄早疫病病菌 (*Alternaria solani*)、黄瓜炭疽病菌 (*Colletotrichum orbiculare*)、马铃薯晚疫病病菌 (*Phytophthora infestans*).

将样品溶于二甲亚砜, 分别定容成浓度为 10000 μ g/mL 的药液备用. 取 1 mL 备用液与 99 mL 融化的马铃薯-葡萄糖-琼脂 (PDA) 培养基混匀, 制备成浓度为 100 μ g/mL 含毒培养基. 将其制成含毒 PDA 平板. 待皿中含毒培养基固化后, 分别接入培养好病原菌菌饼. 置于 25 °C 培养箱中培养. 以相同浓度的多氧霉素 B (Polyoxin B) 为阳性对照, 二甲亚砜为阴性对照, 同时设无菌水为空白对照, 每个样品 4 次重复, 以上操作均为无菌操作. 待空白对照中的菌落充分生长后, 以十字交叉法测量各处理的菌落直径, 取其平均值. 以校正后的空白对照和处理的菌落平均直径计算抑制率^[19], 计算公式如下:

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

抑制中浓度 (EC₅₀) 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 μ g/mL 时的抑制率, 然后用软件 SPSS 计算抑制中浓度 EC₅₀.

辅助材料 (Supporting Information) 目标化合物的 ¹H NMR 和 IR 的谱图. 这些材料可以免费从本刊网站 (<http://sioc-journal.cn/>) 上下载.

References

- [1] Róewicz, M.; Wyzińska, M.; Grabiński, J. *Agronomy* **2021**, *11*, 714.
- [2] Umetsu, N.; Shirai, Y. *J. Pestic. Sci.* **2020**, *45*, 54.
- [3] Gerwick, B. C.; Sparks, T. C. *Pest Manage. Sci.* **2014**, *70*, 1169.
- [4] Hüter, O. F. *Phytochem. Rev.* **2010**, *10*, 185.
- [5] Sparks, T. C.; Hahn, D. R.; Garizi, N. N. *Pest Manage. Sci.* **2017**, *73*, 700.
- [6] Dayan, F. E.; Cantrell, C. L.; Duke, S. O. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 4022.
- [7] Zhang, X.-B.; Ma, H.-Y.; Sun, T.-D.; Lei, P.; Yang, X.-L.; Zhang, X.-M.; Ling, Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2019**, *39*, 2965 (in Chinese). (张学博, 马航宇, 孙腾达, 雷鹏, 杨新玲, 张晓鸣, 凌云, 有机化学, **2019**, *39*, 2965.)
- [8] Chen, Q.; Zhang, J.-W.; Chen, L.-L.; Yang, J.; Yang, X.-L.; Ling, Y.; Yang, Q. *Chin. Chem. Lett.* **2017**, *28*, 1232.
- [9] Omayma, M. A.; Hamida, A. S.; Omar, A.; Mohsen, M. E. *Alexandria J. Pharm. Sci.* **1990**, *4*, 1687.
- [10] Hu, W.-X.; Sun, N.; Yang, Z.-Y. *Chem. J. Chin. Univ.* **2001**, *22*, 2014 (in Chinese). (胡惟孝, 孙楠, 杨忠愚, 高等学校化学学报, **2001**, *22*, 2014.)

- [11] Manish, S.; Pankaj, P.; Hansa, P. *Orient. J. Chem.* **2002**, *18*, 159.
- [12] Savina, S.; Kent, L. J. W.; Indra, N.; Lian, L. Y. A.; Hoe, T. C.; Shin, S. K. *J. Mol. Struct.* **2021**, *1242*, 130815.
- [13] Kumar, M. A.; Narayan, D. R.; Bhusan, S. B. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2020**, *20*, 2135.
- [14] Wang, Z.; Peng, Q.; Gao, X.; Zhong, S.; Fang, Y.; Yang, X.-L.; Ling, Y.; Liu, X.-L. *J. Agric. Food Chem.* **2020**, *68*, 5318.
- [15] Zhang, Y.-M.; Xu, H.-H.; Jin, G.-Y. *J. Cent. China Norm. Univ. (Nat. Sci.)* **2004**, *43*, 186 (in Chinese).
(张耀谋, 徐汉虹, 金桂玉, 华中师范大学学报(自然科学版), **2004**, *43*, 186.)
- [16] Pervez, H.; Manzoor, N.; Yaqub, M.; Nasim, F. H.; Khan, K. M. *Med. Chem. Res.* **2011**, *21*, 2251.
- [17] Zhang, J.-W. *Ph.D. Dissertation*, China Agricultural University, Beijing, **2013** (in Chinese).
(张继伟, 博士论文, 中国农业大学, 北京, **2013**.)
- [18] Lucero, H. A.; Kuranda, M. J.; Bulik, D. A. *Anal. Biochem.* **2002**, *305*, 97.
- [19] Zhang, X.-M.; Lei, P.; Li, X.-L.; Yang, X.-L.; Zhang, X.-B.; Sun, T.-D.; Ling, Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2018**, *38*, 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, **2018**, *38*, 3197.)

(Lu, Y.)