

8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-*a*]吡啶噁二唑硫醚类衍生物的设计、合成及其杀线虫和杀菌活性郭倩男^a 黄森^a 赵薇^a 赵伟^a
严越^a 王济海^b 徐志红^{*,a}^(a) 长江大学农学院 湖北荆州 434025)^(b) 北门中学 湖北荆州 434000)

摘要 为了发现具有高杀线虫和杀菌活性的新化合物,设计合成了 22 个 8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-*a*]吡啶噁二唑硫醚类衍生物,并通过 ¹H NMR, ¹³C NMR 和高分辨质谱(HRMS)对所有目标化合物结构进行了确证。杀线虫活性测定结果显示,在浓度为 100 mg/L 时,所有目标化合物对秀丽隐杆线虫(二龄幼虫)均有一定的毒杀活性。其中 2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-*a*]吡啶-2-基]-5-((2-氟苄基)硫基)-1,3,4-噁二唑(**6j**)、2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-*a*]吡啶-2-基]-5-(((2-氯苄基)硫基)-1,3,4-噁二唑(**6m**)、2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-*a*]吡啶-2-基]-5-((2-氰苄基)硫基)-1,3,4-噁二唑(**6q**)、2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-*a*]吡啶-2-基]-5-((3-甲氧苄基)硫基)-1,3,4-噁二唑(**6s**)和 2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-*a*]吡啶-2-基]-5-((4-甲氧苄基)硫基)-1,3,4-噁二唑(**6t**)对秀丽隐杆线虫的 LC₅₀ 分别为 48.10、34.94、52.87、48.32 和 37.62 mg/L,均优于对照药剂噻唑磷(79.28 mg/L)。杀菌活性测定结果显示,2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-*a*]吡啶-2-基]-5-((2-溴乙基)硫基)-1,3,4-噁二唑(**6d**)对水稻纹枯病菌 *Rhizoctonia solani* 表现出良好的抑制活性,其 EC₅₀ 值为 7.22 mg/L,优于对照药剂氟吡菌酰胺(110.02 mg/L)。在 100 和 200 mg/L 浓度下,化合物 **6d** 对水稻纹枯病菌的保护防效分别为 85.5%和 92.1%,治疗防效分别为 59.2%和 79.0%。此研究合成的目标化合物具有一定的杀线虫和杀菌活性,可为咪唑并[1,2-*a*]吡啶类衍生物的设计和合成提供新思路,对探究咪唑并[1,2-*a*]吡啶类衍生物的生物活性多样性具有参考意义。

关键词 咪唑并[1,2-*a*]吡啶;噁二唑;硫醚;秀丽隐杆线虫;杀线虫活性;杀菌活性

Design, Synthesis and Nematicidal and Fungicidal Activities of 8-Chloro-6-(trifluoromethyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine Oxadiazole Thioether DerivativesGuo, Qiannan^a Huang, Sen^a Zhao, Wei^a Zhao, Wei^a
Yan, Yue^a Wang, Jihai^b Xu, Zhihong^{*,a}^(a) College of Agriculture, Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434025)^(b) Beimen High School, Jingzhou, Hubei 434000)

Abstract In order to discover new compounds with high nematicidal and fungicidal activity, 22 8-chloro-6-(trifluoromethyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine oxadiazole thioether derivatives were designed and synthesized, and the structures of all target compounds were confirmed by ¹H NMR, ¹³C NMR and high-resolution mass spectra (HRMS). The results of nematicidal activity test showed that all the target compounds possessed certain toxic activity against *Caenorhabditis elegans* (second-stage juveniles) at the concentration of 100 mg/L. The LC₅₀ of 2-(8-chloro-6-(trifluoromethyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine-2-yl)-5-((2-fluorobenzyl)thio)-1,3,4-oxadiazole (**6j**), 2-(8-chloro-6-(trifluoromethyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine-2-yl)-5-((2-chlorobenzyl)thio)-1,3,4-oxadiazole (**6m**), 2-(8-chloro-6-(trifluoromethyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine-2-yl)-5-((2-cyanobenzyl)thio)-1,3,4-oxadiazole (**6q**), 2-(8-chloro-6-(trifluoromethyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine-2-yl)-5-((3-methoxybenzyl)thio)-1,3,4-oxadiazole (**6s**) and 2-(8-chloro-

* Corresponding author. E-mail: x_u_78@sina.com

Received November 23, 2023; revised December 27, 2023; published online January 18, 2024.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 31672069, 32172400).

国家自然科学基金(Nos. 31672069, 32172400)资助项目。

6-(trifluoromethyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine-2-yl)-5-((4-methoxybenzyl)thio)-1,3,4-oxadiazole (**6t**) against *C. elegans* were 48.10, 34.94, 52.87, 48.32 and 37.62 mg/L, respectively, which were superior than that of fosthiazate (79.28 mg/L). The results of fungicidal activity test showed that 2-(8-chloro-6-(trifluoromethyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine-2-yl)-5-((2-bromoethyl)thio)-1,3,4-oxadiazole (**6d**) had good inhibitory activity against *Rhizoctonia solani*. The EC₅₀ value of compound **6d** was 7.22 mg/L, which was superior to that of fluopyram (110.02 mg/L). At the concentration of 100 and 200 mg/L, the protective effects of compound **6d** against rice sheath blight were 85.5% and 92.1%, and the curative effects were 59.2% and 79.0%. The target compounds synthesized in this study have certain nematocidal and fungicidal activities, which can provide new ideas for the design and synthesis of imidazo[1,2-*a*]pyridine derivatives, and have reference significance for exploring the bioactivity diversity of imidazo[1,2-*a*]pyridine derivatives.

Keywords imidazo[1,2-*a*]pyridine; oxadiazole; thioether; *Caenorhabditis elegans*; nematocidal activity; fungicidal activity

咪唑并吡啶是一类具有生物活性和药理作用的含氮稠杂环分子^[1]。咪唑并吡啶类化合物具有杀虫、杀菌、除草、杀线虫^[2]、抗肿瘤、抗病毒^[3]和抗真菌^[4]等生物活性,在农药、医药等药物研发中应用广泛。其中以咪唑并[1,2-*a*]吡啶为骨架的衍生物最多^[5],不少化合物被开发成为上市药物。最具代表性的三氟咪唑啉酰胺(Fluazaindolizine),是杜邦公司研发的新型杀线虫剂,高效、低毒、对非靶标生物安全^[6-7],是控制植物寄生线虫的新型高效选择性产品。从咪唑并[1,2-*a*]吡啶类衍生物中寻找新型杀线虫剂具有很好的研究价值和应用前景。

噁二唑是一种重要的农药活性基团^[8],噁二唑类化合物因具有良好的杀菌^[9-10]、杀虫^[11-12]及除草^[13]等农用活性,在植物病虫害的防控中得到了广泛的应用。目前研究人员已经研究出一系列含噁二唑结构的农药候选药,其中已经商品化的有杀虫剂噁虫酮(Metoxadiazone),除草剂恶草酮(Oxadiazon),杀线虫剂 Tioxazafen。此外,硫醚键桥接可有效改善药物性质以降低亲脂性^[14],常存在于农药分子中,如杀虫剂噁唑磷(Fosthiazate)

和灭线磷(Ethoprophos)、除草剂噁草醚(Pyriothobac sodium)(图 1)^[15]。

为了寻找具有优异杀线虫和杀菌活性的化合物,受三氟咪唑啉酰胺结构启发,本研究采用活性亚结构拼接策略,将噁二唑和硫醚结构引入到咪唑并[1,2-*a*]吡啶的结构中,设计合成了一系列含噁二唑硫醚的 8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-*a*]吡啶衍生物(图 2),对其杀线虫和杀菌活性进行评价,期望发现更高杀线虫活性的类似物,或者具有其他生物活性的化合物,进而发现有商品化潜力的农用先导化合物。

1 结果与讨论

1.1 化合物 6a~6v 的合成

化合物 **6a~6v** 的合成路线如 Scheme 1 所示。以 2-氨基-3-氯-5-三氟甲基吡啶(**1**)和 3-溴丙酮酸乙酯(**2**)为起始原料,在乙醇溶液中回流反应生成化合物 **3**;化合物 **3** 与水合肼在甲醇溶液中回流反应生成化合物 **4**;化合物 **4** 与二硫化碳在乙醇溶液中回流后再酸化生成化合物 **5**;

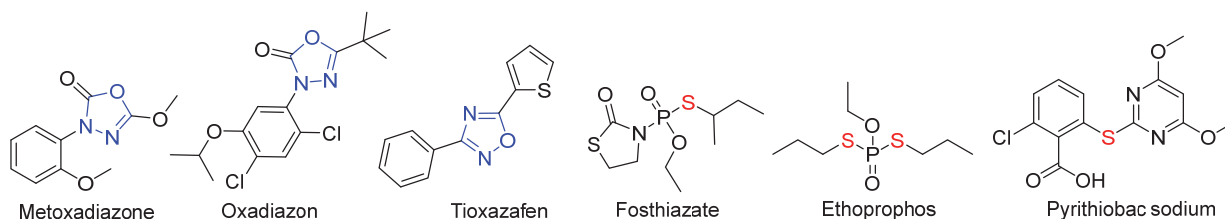


图 1 含噁二唑和含硫醚的农药品种结构图

Figure 1 Structure diagram of pesticide varieties containing oxadiazole or thioether

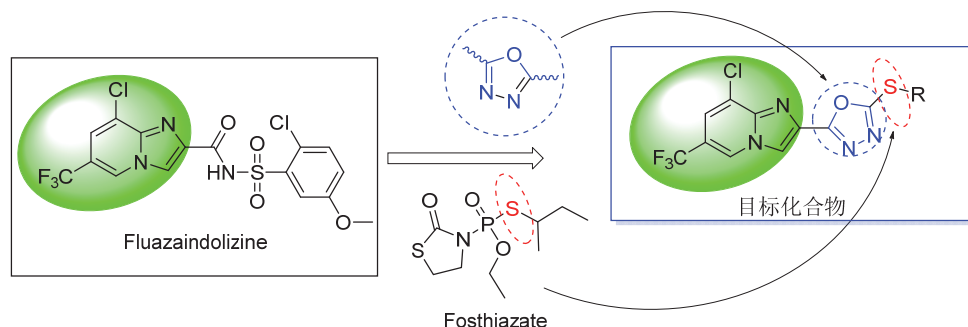
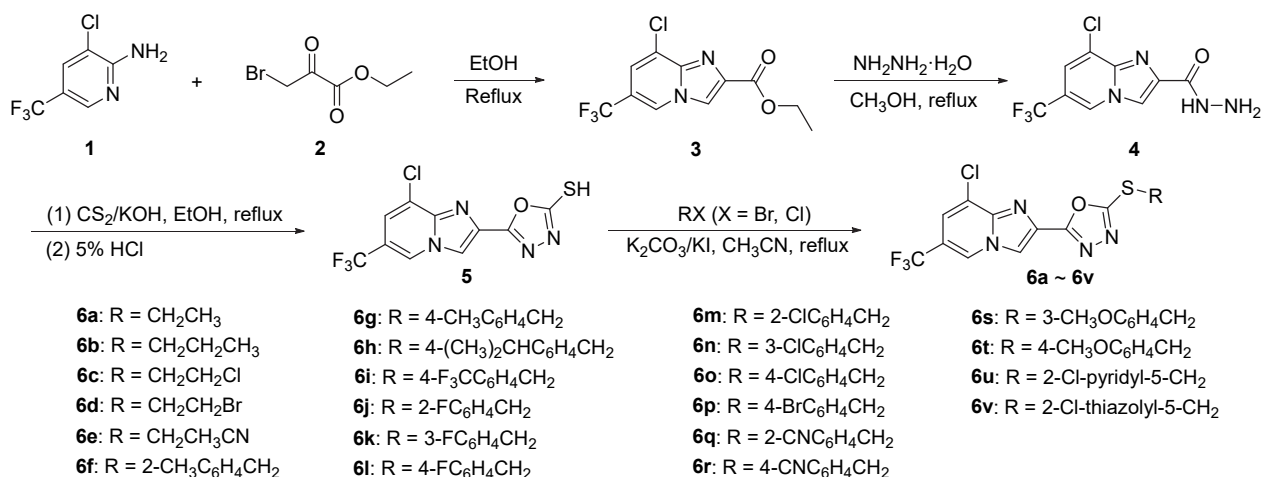


图 2 目标化合物的设计

Figure 2 Design of the title compounds



图式 1 化合物 6a~6v 的合成路线
Scheme 1 Synthetic route of compounds 6a~6v

化合物 5 与卤代化合物(其中溴乙烷、溴丙烷和 1,2-二溴乙烷为溴代化合物, 其他均为氯代化合物)在乙腈溶液中回流反应得到化合物 6a~6v(化合物 6a、6b 和 6d 为溴代化合物产物, 其他均为氯代化合物产物)。

1.2 目标化合物的谱图分析

所有目标化合物结构均通过 ¹H NMR, ¹³C NMR 和 HRMS 确证。以化合物 6d(图 3)为例进行分析, 从 ¹H NMR 谱图可以看出, δ 9.27 (s, 1H)为 4 位 CH 的吸收峰, δ 8.83 (s, 1H)为 6 位 CH 的吸收峰, δ 7.98 (s, 1H)为 2 位 CH 的吸收峰, δ 3.87 (t, J=7.1 Hz, 2H)为 11 位 CH₂ 的吸收峰, δ 3.77 (t, J=7.1 Hz, 2H)为 10 位 CH₂ 的吸收峰, 在 ¹³C NMR 谱图中, δ 163.8 为 C(9)的吸收峰, 161.5 为 C(8) 的吸收峰, 142.9 为 C(5)的吸收峰, 131.2 为 C(1)的吸收峰, 127.4 (q, ³J_{FC}=6.1 Hz)为 C(2)的吸收峰, 123.6 为 C(7) 的吸收峰, 123.4 (q, ¹J_{FC}=272.7 Hz)为 12 位三氟甲基上碳的吸收峰, 121.8 (d, ³J_{FC}=3.0 Hz)为 C(4)的吸收峰, 118.4 为 C(6)的吸收峰, 116.3 (q, ²J_{FC}=34.3 Hz)为 C(3) 的吸收峰, 34.5 为 C(10)的吸收峰, 31.4 为 C(11)的吸收峰。HRMS (ESI) calcd for C₁₂H₆BrClF₃N₄OS [M-H]⁻ 424.9092, found 424.9089。

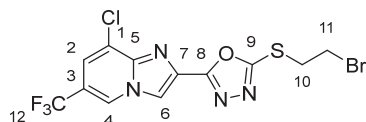


图 3 化合物 6d 的结构
Figure 3 Structure of compound 6d

1.3 目标化合物的离体杀线虫活性

所有目标化合物施药 48 h 后对秀丽隐杆线虫二龄幼虫的离体杀线虫活性见表 1。由测定结果可知, 在 100 mg/L 浓度下, 所有目标化合物对秀丽隐杆线虫都具有

一定的毒杀活性。其中化合物 6j、6m、6q、6s 和 6t 在 100 mg/L 浓度下对秀丽隐杆线虫的毒杀活性大于 80%, 优于对照药剂噻唑磷(43.9%), 略低于氟吡菌酰胺(100%)。

选取初筛活性较好的目标化合物, 进一步测定其致死中浓度(LC₅₀), 结果见表 2。由测定结果可知, 6j、6m、6q、6s 和 6t 对二龄秀丽隐杆线虫的 LC₅₀ 分别为 48.10、34.94、52.87、48.32 和 37.62 mg/L, 虽低于对照药剂氟吡菌酰胺(8.28 mg/L), 但优于对照药剂噻唑磷(79.28 mg/L)。

初步构效关系分析发现, 当 R 为烷基时, 化合物对秀丽隐杆线虫的毒杀活性随着碳链的增长而增加, 例如 6b>6a。当 R 为苄基时, 在苯环上邻位引入取代基有利于化合物活性的提高(6f>6g, 6j>6k>6l, 6m>6n>6o, 6q>6r), 且取代基的吸供电子性质与化合物的活性无明显关系(6f vs. 6j、6m 和 6q); 苄基苯环上对位的取代基为烷基时, 目标化合物杀线虫活性随着供电子基能力增强而下降, 例如 6g>6h。

用化合物 6j、6m、6q、6s 和 6t 和对照药剂处理秀丽隐杆线虫 48 h 后, 空白处理组呈正常的弯曲并伴随持续的扭动状态; 而氟吡菌酰胺处理组呈僵直死亡状态; 化合物 6j、6m、6q、6s 和 6t 处理组和噻唑磷处理组中毒症状相似, 均为极度扭曲且扭动迟缓或不动。据文献报道^[16], 噻唑磷对于线虫的作用靶标为乙酰胆碱酯酶(Acetylcholinesterase, AChE)。因此, 推测化合物 6j、6m、6q、6s 和 6t 与噻唑磷对于线虫可能具有相同的靶标乙酰胆碱酯酶。

1.4 目标化合物的离体杀菌活性

所有目标化合物的室内杀菌活性见表 3。由测定结果可知, 在 50 mg/L 浓度下, 大多数化合物对供试病原

表1 目标化合物在 100 mg/L 下对秀丽隐杆线虫的离体杀线虫活性(校正死亡率, 48 h)

Table 1 *In vitro* nematocidal activity (corrected mortality rate, 48 h) of target compounds against *C. elegans* in 100 mg/L

Compd.	Mortality rate/%	Compd.	Mortality rate/%
6a	27.4±2.6	6m	90.5±2.4
6b	34.5±1.7	6n	46.6±1.0
6c	17.8±2.3	6o	43.4±1.6
6d	15.2±2.2	6p	33.0±1.2
6e	38.7±2.1	6q	87.0±1.9
6f	44.4±2.8	6r	60.4±3.0
6g	38.5±1.9	6s	84.8±1.2
6h	23.0±1.4	6t	92.8±1.1
6i	43.9±0.7	6u	17.7±2.8
6j	84.9±0.9	6v	22.0±2.2
6k	31.3±2.1	噻唑磷	43.9±2.8
6l	24.0±1.7	氟吡菌酰胺	100.0

菌都有一定的杀菌活性. 其中化合物 6d 对水稻纹枯病菌的抑制率为 74.1%, 优于对照药剂氟吡菌酰胺 (53.2%); 化合物 6a 和 6e 对水稻纹枯病菌的抑制率分别为 52.5%和 51.5%. 化合物 6d 对油菜菌核病菌的抑制率达 70.1%, 低于对照药剂氟吡菌酰胺(100%). 化合物 6d 对茶叶炭疽病菌的抑制率达 53.8%, 优于对照药剂氟吡菌酰胺(16.3%), 但低于对照药剂多菌灵(100%).

表2 化合物 6j、6m、6q、6s 和 6t 对秀丽隐杆线虫的 LC₅₀ 值(48 h)

Table 2 LC₅₀ values of compounds 6j、6m、6q、6s and 6t against *C. elegans* (48 h)

Compd.	$y=ax+b$	LC ₅₀ /(mg·L ⁻¹)	<i>r</i>
6j	$y=0.9624+2.4002x$	48.10	0.9752
6m	$y=0.3014+3.0445x$	34.94	0.9980
6q	$y=-0.2448+3.0436x$	52.87	0.9727
6s	$y=0.6381+2.5900x$	48.32	0.9804
6t	$y=0.6155+2.7831x$	37.62	0.9842
噻唑磷	$y=6.5220+2.7518x$	79.28	0.9935
氟吡菌酰胺	$y=0.7650+4.6132x$	8.28	0.9810

选取初筛活性较好的化合物测定其 EC₅₀, 结果见表 4. 由测定结果可知, 化合物 6d 对水稻纹枯病菌的 EC₅₀ 为 7.22 mg/L, 优于对照药剂氟吡菌酰胺(110.02 mg/L), 但低于多菌灵(1.09 mg/L). 6d 对油菜菌核病菌的 EC₅₀ 为 32.35 mg/L, 不如对照药剂氟吡菌酰胺(1.70 mg/L)和多菌灵. 6d 对茶叶炭疽病菌的 EC₅₀ 为 37.67 mg/L, 优于对照药剂氟吡菌酰胺(281.84 mg/L), 但低于多菌灵.

初步构效关系分析发现, 化合物的离体杀菌活性与其结构没有明显的规律, 但从整体上看, 当 R 为烷基时, 化合物的杀菌活性随着碳链的增长而降低, 例如 6b < 6a; 并且对水稻纹枯病菌的抑制活性整体上优于苯基取

表3 目标化合物对 4 种植物病原菌菌丝生长的抑制率^a

Table 3 Inhibitory rates of target compounds against four pathogenic fungi *in vitro*

Compd.	Inhibition rate/%			
	水稻纹枯病菌(<i>R. solani</i>)	油菜菌核病菌(<i>S. sclerotiorum</i>)	小麦赤霉病菌(<i>F. graminearum</i>)	茶叶炭疽病菌(<i>C. camelliae</i>)
6a	52.5±1.0	42.0±1.5	10.1±2.5	23.1±2.5
6b	28.6±1.5	17.1±1.2	46.8±3.1	12.7±0.6
6c	20.5±0.6	10.4±2.7	27.3±2.5	28.0±1.5
6d	74.1±2.3	70.1±1.2	39.6±1.0	53.8±2.5
6e	51.5±1.8	23.8±1.5	—	15.3±0.6
6f	20.5±2.5	42.6±3.0	—	—
6g	13.5±0.6	21.5±1.7	—	—
6h	19.2±3.5	40.9±0.6	27.6±1.5	12.7±1.1
6i	14.1±1.0	16.1±0.6	29.2±1.5	11.1±1.0
6j	13.8±1.2	46.6±3.0	25.3±2.0	16.9±2.6
6k	12.1±2.7	16.1±0.6	22.4±2.5	14.0±1.0
6l	21.9±1.5	49.0±2.9	28.3±0.6	—
6m	20.5±2.3	—	27.6±1.1	—
6n	18.2±1.0	13.4±0.0	27.0±2.6	12.1±1.0
6o	13.1±1.0	44.0±2.1	—	—
6p	27.6±1.2	14.1±0.6	27.0±0.0	—
6q	22.2±1.0	11.7±0.6	—	—
6r	30.3±2.7	—	23.1±0.0	11.4±1.5
6s	14.8±1.2	—	22.4±2.5	—
6t	22.6±2.5	—	—	10.4±0.6
6u	21.6±1.5	—	—	10.1±1.0
6v	16.5±3.3	10.1±2.5	10.1±1.5	—
多菌灵	100	100	100	100
氟吡菌酰胺	53.2±0.6	100	52.6±2.8	16.3±0.6

^a Repeat each treatment 3 times (mean ± standard deviation) with a concentration of 50 mg/L; “—” representative activity below 10%.

表4 部分目标化合物对供试植物病原真菌的 EC₅₀ 值
Table 4 EC₅₀ values of some target compounds against tested pathogenic fungi

Pathogens	Compd.	$y=ax+b$	EC ₅₀ /(mg·L ⁻¹)	<i>r</i>
水稻纹枯病菌 (<i>R. solani</i>)	6d	$y=4.2459+0.8785x$	7.22	0.9905
	多菌灵	$y=4.8877+3.1039x$	1.09	0.9925
	氟吡菌酰胺	$y=1.1412+1.8784x$	110.02	0.9934
油菜菌核病菌 (<i>S. sclerotiorum</i>)	6d	$y=3.4196+1.0467x$	32.35	0.9905
	多菌灵	$y=6.3107+4.5709x$	0.52	0.9918
	氟吡菌酰胺	$y=4.8029+0.8578x$	1.70	0.9993
茶叶炭疽病菌 (<i>C. camelliae</i>)	6d	$y=2.8803+1.3450x$	37.67	0.9911
	多菌灵	$y=12.1043+4.8820x$	0.04	0.9920
	氟吡菌酰胺	$y=1.2457+1.5324x$	281.84	0.9985

代. 取代基为溴乙基(即化合物 **6d**)时, 杀菌活性最佳, 具有一定的广谱性. 当 R 为苄基, 且苯环上取代基为烷基时, 目标化合物杀线虫活性随着供电子基能力增强而增加, 例如, **6h** > **6g**.

1.5 目标化合物对水稻纹枯病菌的杀菌活性

鉴于化合物 **6d** 对水稻纹枯病菌表现出较好的室内杀菌活性, 进一步开展了化合物 **6d** 对水稻纹枯病菌的温室盆栽试验(处理浓度为 100 和 200 mg/L), 阳性对照采用多菌灵, 药效试验结果见表 5. 如表 5 所示, 在 100 和 200 mg/L 浓度下, 化合物 **6d** 对水稻纹枯病的保护防效分别达到了 85.5%和 92.1%, 与多菌灵的保护防效接近(89.5%和 97.4%). 水稻基部叶鞘上只有少许病斑, 并且随着浓度的提高, 水稻纹枯病得到了有效的遏制. 在 100 和 200 mg/L 浓度下, 化合物 **6d** 的治疗效果分别为 59.2%和 79.0%, 低于多菌灵(88.2%和 94.7%). 水稻基部叶鞘出现较多的灰褐色云纹状病斑, 随着浓度的提高, 发病程度有所降低.

2 结论

本研究利用活性亚结构拼接原理, 设计并合成了 22 个 8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-*a*]吡啶噻二唑硫醚类衍生物, 所有化合物的结构均得到 ¹H NMR, ¹³C NMR 和高分辨质谱(HRMS)确证. 生物测定结果表明, 将噻二唑硫醚结构引入 8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-*a*]吡啶结构使其具有一定的杀线虫、杀菌活性. 杀线虫活性测定结果显示, 所有的目标化合物在 100 mg/L 浓度下对

秀丽隐杆线虫(二龄幼虫)都具有一定的毒杀活性. 其中化合物 **6j**、**6m**、**6q**、**6s** 和 **6t** 对秀丽隐杆线虫的 LC₅₀ 分别为 48.10、34.94、52.87、48.32 和 37.62 mg/L, 均优于对照药剂噻唑磷(79.28 mg/L), 但不及对照药剂氟吡菌酰胺(8.28 mg/L). 从结构上来看, 引入苯环上邻位取代的苄基有利于杀线虫活性的提高. 化合物 **6j**、**6m**、**6q**、**6s** 和 **6t** 和噻唑磷处理组中毒症状相似, 因此, 推测化合物 **6j**、**6m**、**6q**、**6s** 和 **6t** 与噻唑磷对于线虫可能具有相同的靶标乙酰胆碱酯酶. 杀菌活性测定结果显示, 化合物 **6d** 对水稻纹枯病菌、油菜菌核病菌、茶叶炭疽病菌均表现出良好的抑制活性, 其 EC₅₀ 值分别为 7.22、32.35、37.67 mg/L. 在 100 和 200 mg/L 浓度下, 化合物 **6d** 对水稻纹枯病菌的保护防效分别为 85.5%和 92.1%, 与多菌灵保护防效接近(89.5%和 97.4%); 治疗防效分别为 59.2%和 79.0%, 低于多菌灵的治疗防效(88.2%和 94.7%). 过去人们对咪唑并[1,2-*a*]吡啶类化合物的活性研究, 大多为抗病毒、抗肿瘤等医药活性, 对于农药活性的报道占据少数. 本研究对探索咪唑并[1,2-*a*]吡啶类化合物农用生物活性具有一定的参考意义, 并且可作为新型农药先导化合物继续开展深入结构优化, 为咪唑并[1,2-*a*]吡啶类衍生物的设计和改造提供了思路.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

在 254 nm 紫外光下, 通过硅胶 GF254 上显示的薄层色谱(TLC)监测反应过程; 在 Bruker Avance DPX400

表5 化合物 **6d** 在 100 和 200 mg/L 浓度下对水稻纹枯病菌的体内防治效果
Table 5 *In vivo* control efficiency of compound **6d** against *Rhizoctonia solani* at 100 and 200 mg/L

Compd.	Protective activity/%		Curative activity/%	
	100 mg/L	200 mg/L	100 mg/L	200 mg/L
6d	85.5±4.6	92.1±4.0	59.2±2.3	79.0±2.3
多菌灵	89.5±4.6	97.4±2.3	88.2±4.0	94.7±6.0

型核磁共振仪[以四甲基硅烷(TMS)作内标物, 氘代二甲基亚砜(DMSO- d_6)作溶剂, 德国-瑞士布鲁克光谱公司]上进行 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 检测; WRR 熔点测定仪(上海精密科学仪器有限公司); Thermo Scientific Q-Exact型高分辨质谱仪[ESI-MS, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司]. 所有化学药品均为市售国产分析纯试剂. 98% 氟吡菌酰胺(Fluopyram)原药, 拜耳作物科学(中国)有限公司提供; 97% 噻唑磷(Fosthiazate)原药和 98% 多菌灵(Carbendazim)原药, 长江大学农药研究所提供.

3.2 供试材料

水稻纹枯病菌(*Rhizoctonia solani*)、油菜菌核病菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)、小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum*)、茶叶炭疽病菌(*Colletotrichum camelliae*)由长江大学农学院植物病理实验室提供; 秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)由长江大学医学院提供; 水稻(*Oryza sativa* L.)种子由长江大学农药研究所提供.

3.3 实验方法

3.3.1 中间体 3~5 的合成

参考文献[17]方法制备. 将 5 g (25.4 mmol) 2-氨基-3-氯-5-三氟甲基吡啶和 9.92 g (50.9 mmol) 3-溴丙酮酸乙酯混合, 在乙醇中回流 48 h, 在真空下脱除溶剂, 得到橙色固体, 加大量乙酸乙酯洗涤并抽滤得到白色固体, 即中间体 3 6.43 g, 收率 86%.

参考文献[18]方法制备. 称取中间体 3 6.43 g (22.0 mmol) 于 250 mL 圆底烧瓶中, 加入甲醇 100 mL, 常温搅拌至中间体 3 完全溶解, 滴加 80% 水合肼 8.29 g (131.9 mmol). 滴加完毕后, 常温搅拌 30 min, 升温至 70 $^{\circ}\text{C}$ 回流, 反应 4 h, 薄层色谱(TLC, V (石油醚): V (乙酸乙酯)=4:1)监测反应完毕. 真空脱除溶剂, 用 100 mL 水洗 3 次, 抽滤烘干得中间体 4 4.08 g, 收率 61%.

参考文献[18]方法制备. 称取中间体 4 4.08 g (13.4 mmol) 和 1.51 g KOH (26.8 mmol) 于 250 mL 圆底烧瓶中, 加入甲醇 100 mL, 常温搅拌至完全溶解, 滴加二硫化碳 6.13 g (80.5 mmol). 滴加完毕后, 常温搅拌 30 min, 升温至 70 $^{\circ}\text{C}$ 回流, 反应 4 h, 薄层色谱(TLC, V (石油醚): V (乙酸乙酯)=1:1)监测反应完毕. 真空下脱除溶剂, 将反应体系倒入水中, 在冰浴条件下滴加 5% 的盐酸调节 pH 至 2. 抽滤得到中间体 5 3.12 g, 收率为 72%.

3.3.2 化合物 6a~6v 的合成

参考文献[19]的方法制备. 称取中间体 5 3.12 g (9.7 mmol)、碳酸钾 2.69 g (19.5 mmol)、碘化钾 1.62 g (9.7 mmol) 于 250 mL 圆底烧瓶中, 加入乙腈 100 mL, 常温搅拌并缓慢滴加卤代化合物(其中溴乙烷、溴丙烷和 1,2-二溴乙烷为溴代化合物, 其他均为氯代化合物)(10.7

mmol), 滴定完成后升温至 85 $^{\circ}\text{C}$ 回流 1.5 h. TLC 跟踪反应进程, 反应完毕后停止反应, 减压除去溶剂, 加入二氯甲烷溶解, 并用适量水萃取, 有机相用无水硫酸钠干燥. 用层析柱提纯(展开剂为 V (石油醚): V (乙酸乙酯)=4:1), 烘干后得到目标化合物 6a~6v(化合物 6a、6b 和 6d 为溴代化合物产物, 其他均为氯代化合物产物), 产率为 45.5%~83.5%. 物理化学性质和波普数据如下所示:

2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2- a]吡啶-2-基]-5-(乙硫基)-1,3,4-噁二唑(6a): 白色固体, 产率 62.2%. m.p. 199.5~200.9 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.27 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 3.33 (q, $J=7.3$ Hz, 2H), 1.43 (t, $J=7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 164.6, 161.3, 142.9, 131.4, 127.4 (q, $^3J_{\text{FC}}=6.1$ Hz), 123.7, 123.4 (dd, $^1J_{\text{FC}}=544.4$, 271.7 Hz), 121.8 (d, $^3J_{\text{FC}}=2.0$ Hz), 118.3, 116.3 (q, $^2J_{\text{FC}}=34.3$ Hz), 27.3, 15.3. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{ClF}_3\text{N}_4\text{OS}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 349.0133, found 349.0134.

2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2- a]吡啶-2-基]-5-(丙硫基)-1,3,4-噁二唑(6b): 白色固体, 产率 60.2%. m.p. 171.1~172.6 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.27 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 3.32~3.28 (m, 2H), 1.80 (h, $J=7.3$ Hz, 2H), 1.01 (t, $J=7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 164.7, 161.3, 142.9, 131.4, 127.4 (q, $^3J_{\text{FC}}=6.1$ Hz), 123.7, 123.4 (q, $^1J_{\text{FC}}=272.7$ Hz), 121.8 (d, $^3J_{\text{FC}}=3.0$ Hz), 118.3, 116.3 (q, $^2J_{\text{FC}}=34.3$ Hz), 34.5, 22.8, 13.3. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{ClF}_3\text{N}_4\text{OS}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 363.0289, found 363.0289.

2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2- a]吡啶-2-基]-5-((2-氯乙基)硫基)-1,3,4-噁二唑(6c): 白色固体, 产率 52.9%. m.p. 180.7~182.7 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.26 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 4.01 (t, $J=7.0$ Hz, 2H), 3.70 (t, $J=7.0$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 163.8, 161.5, 142.8, 131.2, 127.3 (q, $^3J_{\text{FC}}=6.1$ Hz), 123.6, 123.4 (dd, $^1J_{\text{FC}}=544.4$, 272.7 Hz), 121.8 (d, $^3J_{\text{FC}}=2.0$ Hz), 118.3, 116.3 (dd, $^2J_{\text{FC}}=69.7$, 34.3 Hz), 43.2, 34.7. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_6\text{Cl}_2\text{F}_3\text{N}_4\text{OS}$ $[\text{M} - \text{H}]^-$ 380.9597, found 380.9597.

2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2- a]吡啶-2-基]-5-((2-溴乙基)硫基)-1,3,4-噁二唑(6d): 白色固体, 产率 45.5%. m.p. 167.3~169.2 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.27 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 3.87 (t, $J=7.1$ Hz, 2H), 3.77 (t, $J=7.1$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 163.8, 161.5, 142.9, 131.2, 127.4 (q, $^3J_{\text{FC}}=6.1$ Hz), 123.6, 123.4 (q, $^1J_{\text{FC}}=272.7$ Hz), 121.8 (d, $^3J_{\text{FC}}=$

3.0 Hz), 118.4, 116.3 (q, $^2J_{\text{FC}}=34.3$ Hz), 34.5, 31.4. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_6\text{BrClF}_3\text{N}_4\text{OS}$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 424.9092, found 424.9089.

2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基]-5-((2-氰乙基)硫基)-1,3,4-噁二唑(**6e**): 白色固体, 产率 49.4%. m.p. 218.2~220.5 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.33 (s, 1H), 8.88 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 3.61 (t, $J=6.6$ Hz, 2H), 3.13 (t, $J=6.6$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 163.5, 161.6, 142.9, 131.3, 127.5 (q, $^3J_{\text{FC}}=6.1$ Hz), 123.7, 123.5 (q, $^1J_{\text{FC}}=271.7$ Hz), 121.8 (d, $^3J_{\text{FC}}=2.0$ Hz), 119.2, 118.5, 116.3 (q, $^2J_{\text{FC}}=34.3$ Hz), 28.5, 18.5. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_6\text{ClF}_3\text{N}_5\text{OS}$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 371.9939, found 371.9942.

2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基]-5-((2-甲基苄基)硫基)-1,3,4-噁二唑(**6f**): 白色固体, 产率 61.1%. m.p. 210.2~211.6 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.28 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.41 (d, $J=7.3$ Hz, 1H), 7.21 (d, $J=4.2$ Hz, 2H), 7.15 (dq, $J=8.8, 4.2, 3.4$ Hz, 1H), 4.61 (s, 2H), 2.40 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 163.9, 161.5, 142.9, 137.4, 134.0, 131.2, 131.0, 130.5, 128.8, 127.4 (q, $^3J_{\text{FC}}=6.1$ Hz), 126.6, 123.6, 123.4 (dd, $^1J_{\text{FC}}=544.4, 271.7$ Hz), 121.8 (d, $^3J_{\text{FC}}=2.0$ Hz), 118.3, 116.3 (q, $^2J_{\text{FC}}=34.3$ Hz), 35.0, 19.2. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{11}\text{ClF}_3\text{N}_4\text{OS}$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 423.0300, found 423.0297.

2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基]-5-((4-甲基苄基)硫基)-1,3,4-噁二唑(**6g**): 白色固体, 产率 55.9%. m.p. 221.4~222.6 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.28 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.36 (d, $J=7.8$ Hz, 2H), 7.13 (d, $J=7.7$ Hz, 2H), 4.55 (s, 2H), 2.25 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 164.1, 161.4, 142.9, 137.6, 133.6, 131.2, 129.6 (2C), 129.5 (2C), 127.4 (q, $^3J_{\text{FC}}=6.1$ Hz), 123.6, 123.4 (q, $^1J_{\text{FC}}=272.7$ Hz), 121.8 (d, $^3J_{\text{FC}}=1.0$ Hz), 118.3, 116.3 (q, $^2J_{\text{FC}}=34.3$ Hz), 36.3, 21.2. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{11}\text{ClF}_3\text{N}_4\text{OS}$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 423.0300, found 423.0295.

2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基]-5-((4-异丙基苄基)硫基)-1,3,4-噁二唑(**6h**): 白色固体, 产率 48.6%. m.p. 201.6~202.1 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.28 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.40 (d, $J=8.1$ Hz, 2H), 7.21 (d, $J=8.1$ Hz, 2H), 4.56 (s, 2H), 2.84 (p, $J=6.9$ Hz, 1H), 1.15 (d, $J=6.9$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 164.2, 161.5, 148.6, 142.9, 134.0, 131.2, 129.6 (2C), 127.4 (q, $^3J_{\text{FC}}=6.1$ Hz), 127.0 (2C), 123.6, 123.4 (q, $^1J_{\text{FC}}=272.7$ Hz), 121.8 (d, $^3J_{\text{FC}}=3.0$

Hz), 118.3, 116.3 (q, $^2J_{\text{FC}}=34.3$ Hz), 36.2, 33.6, 24.3 (2C); HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{ClF}_3\text{N}_4\text{OS}$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 451.0613, found 451.0607.

2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基]-5-((4-(三氟甲基)苄基)硫基)-1,3,4-噁二唑(**6i**): 白色固体, 产率 78.9%. m.p. 206.1~207.4 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.27 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.71 (s, 4H), 4.67 (s, 2H); ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 163.9, 161.6, 142.9, 142.1, 131.2, 130.4 (2C), 128.7 (dd, $^2J_{\text{FC}}=63.6, 32.3$ Hz), 127.4 (q, $^3J_{\text{FC}}=6.1$ Hz), 125.9 (q, $^3J_{\text{FC}}=4.0$ Hz, 2C), 124.6 (dd, $^1J_{\text{FC}}=546.4, 273.7$ Hz), 123.6, 123.4 (q, $^1J_{\text{FC}}=272.7$ Hz), 121.8 (d, $^3J_{\text{FC}}=2.0$ Hz), 118.3, 116.3 (q, $^2J_{\text{FC}}=34.3$ Hz), 35.6. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_8\text{ClF}_6\text{N}_4\text{OS}$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 477.0017, found 477.0013.

2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基]-5-((2-氟苄基)硫基)-1,3,4-噁二唑(**6j**): 白色固体, 产率 77.2%. m.p. 206.3~207.9 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.30 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.57 (t, $J=7.7$ Hz, 1H), 7.36 (q, $J=7.4$ Hz, 1H), 7.27~7.14 (m, 2H), 4.61 (s, 2H); ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 163.6, 161.7, 160.9 (d, $^1J_{\text{FC}}=247.5$ Hz), 142.9, 132.0 (d, $^4J_{\text{FC}}=3.0$ Hz), 131.2, 130.8 (d, $^3J_{\text{FC}}=8.1$ Hz), 127.4 (q, $^3J_{\text{FC}}=6.1$ Hz), 125.1 (d, $^3J_{\text{FC}}=3.0$ Hz), 123.8 (d, $^2J_{\text{FC}}=15.2$ Hz), 123.6, 123.4 (q, $^1J_{\text{FC}}=271.7$ Hz), 121.8 (d, $^3J_{\text{FC}}=3.0$ Hz), 118.4, 116.3 (q, $^2J_{\text{FC}}=34.3$ Hz), 116.0 (d, $^2J_{\text{FC}}=21.2$ Hz), 30.4. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_8\text{ClF}_4\text{N}_4\text{OS}$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 427.0049, found 427.0045.

2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基]-5-((3-氟苄基)硫基)-1,3,4-噁二唑(**6k**): 白色固体, 产率 71.2%. m.p. 213.5~214.8 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.28 (t, $J=1.5$ Hz, 1H), 8.81 (s, 1H), 7.97 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 7.42~7.31 (m, 3H), 7.12 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 4.60 (s, 2H); ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 164.0, 162.4 (d, $^1J_{\text{FC}}=244.4$ Hz), 161.6, 142.9, 139.8 (d, $^3J_{\text{FC}}=8.1$ Hz), 131.2, 131.0 (d, $^3J_{\text{FC}}=9.1$ Hz), 127.4 (q, $^3J_{\text{FC}}=6.1$ Hz), 125.7 (d, $^4J_{\text{FC}}=3.0$ Hz), 123.6, 123.4 (q, $^1J_{\text{FC}}=272.7$ Hz), 121.8 (d, $^3J_{\text{FC}}=3.0$ Hz), 118.3, 116.3 (d, $^2J_{\text{FC}}=22.2$ Hz), 116.3 (dd, $^2J_{\text{FC}}=69.7, 34.3$ Hz), 115.2 (d, $^2J_{\text{FC}}=21.2$ Hz), 35.7. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_8\text{ClF}_4\text{N}_4\text{OS}$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 427.0049, found 427.0046.

2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基]-5-((4-氟苄基)硫基)-1,3,4-噁二唑(**6l**): 白色固体, 产率 79.8%. m.p. >220 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.28 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.54 (dd, $J=8.6, 5.6$ Hz, 2H), 7.17 (t, $J=8.8$ Hz, 2H), 4.59 (s, 2H); ^{13}C NMR (101

MHz, DMSO-*d*₆) δ : 164.0, 162.1 (d, $^1J_{\text{FC}}=245.4$ Hz), 161.5, 142.9, 133.2 (d, $^4J_{\text{FC}}=3.0$ Hz), 131.7 (d, $^3J_{\text{FC}}=8.1$ Hz, 2C), 131.2, 127.4 (dd, $^3J_{\text{FC}}=11.1$, 6.1 Hz), 123.7, 123.4 (q, $^1J_{\text{FC}}=272.7$ Hz), 121.8 (q, $^3J_{\text{FC}}=3.0$ Hz), 118.4, 116.3 (q, $^2J_{\text{FC}}=34.3$ Hz), 115.9 (d, $^2J_{\text{FC}}=21.2$ Hz, 2C), 35.7. HRMS (ESI) calcd for C₁₇H₈ClF₄N₄OS [M-H]⁻ 427.0049, found 427.0041.

2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基]-5-(((2-氯苄基)硫基)-1,3,4-噁二唑(6m): 白色固体, 产率 72.2%. m.p. 207.9~209.2 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 9.29 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.64 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J=9.1$ Hz, 1H), 7.40~7.26 (m, 2H), 4.66 (s, 2H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 163.6, 161.7, 142.9, 134.1, 133.8, 132.1, 131.2, 130.5, 130.1, 128.0, 127.4 (q, $^3J_{\text{FC}}=6.1$ Hz), 123.6, 123.4 (q, $^1J_{\text{FC}}=272.7$ Hz), 121.8 (d, $^3J_{\text{FC}}=3.0$ Hz), 118.4, 116.3 (q, $^2J_{\text{FC}}=34.3$ Hz), 34.8. HRMS (ESI) calcd for C₁₇H₈Cl₂F₃N₄OS [M-H]⁻ 442.9754, found 442.9747.

2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基]-5-((3-氯苄基)硫基)-1,3,4-噁二唑(6n): 白色固体, 产率 76.5%. m.p. 191.9~193.2 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 9.29 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.46 (d, $J=6.7$ Hz, 1H), 7.37 (q, $J=8.0$ Hz, 2H), 4.59 (s, 2H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 164.0, 161.6, 142.9, 139.7, 133.5, 131.2, 130.9, 129.4, 128.3, 128.2, 127.4 (dd, $^3J_{\text{FC}}=11.1$, 5.1 Hz), 123.6, 123.4 (q, $^1J_{\text{FC}}=272.7$ Hz), 121.8 (d, $^3J_{\text{FC}}=3.0$ Hz), 118.4, 116.3 (q, $^2J_{\text{FC}}=34.3$ Hz), 35.6. HRMS (ESI) calcd for C₁₇H₈Cl₂F₃N₄OS [M-H]⁻ 442.9754, found 442.9740.

2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基]-5-((4-氯苄基)硫基)-1,3,4-噁二唑(6o): 白色固体, 产率 80.9%. m.p. >220 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 9.27 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.46 (dd, $J=49.3$, 8.3 Hz, 4H), 4.58 (s, 2H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 164.0, 161.6, 142.9, 136.2, 132.9, 131.5 (2C), 131.2, 129.0 (2C), 127.4 (q, $^3J_{\text{FC}}=6.1$ Hz), 123.7, 123.4 (q, $^1J_{\text{FC}}=272.7$ Hz), 121.8 (d, $^3J_{\text{FC}}=2.0$ Hz), 118.4, 116.3 (q, $^2J_{\text{FC}}=34.3$ Hz), 35.7. HRMS (ESI) calcd for C₁₇H₈Cl₂F₃N₄OS [M-H]⁻ 442.9754, found 442.9745.

2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基]-5-((4-溴苄基)硫基)-1,3,4-噁二唑(6p): 白色固体, 产率 79.0%. m.p. 226.4~226.9 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 9.29 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.56~7.42 (m, 4H), 4.57 (s, 2H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 164.0, 161.5, 142.9, 136.6, 131.9 (2C), 131.8 (2C), 131.2,

127.4 (q, $^3J_{\text{FC}}=6.1$ Hz), 123.6, 123.4 (q, $^1J_{\text{FC}}=272.7$ Hz), 121.8 (d, $^3J_{\text{FC}}=2.0$ Hz), 121.5, 118.4, 116.3 (q, $^2J_{\text{FC}}=34.3$ Hz), 35.6. HRMS (ESI) calcd for C₁₇H₈BrClF₃N₄OS [M-H]⁻ 486.9248, found 486.9237.

2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基]-5-((2-氰基苄基)硫基)-1,3,4-噁二唑(6q): 白色固体, 产率 70.1%. m.p. 173.5~175.5 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 9.31 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.87 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.76 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.70 (t, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.51 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 4.74 (s, 2H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 163.1, 161.9, 142.9, 140.4, 134.0, 133.7, 131.1, 131.1, 129.3, 127.4 (q, $^3J_{\text{FC}}=6.1$ Hz), 123.4 (dd, $^1J_{\text{FC}}=544.4$, 271.7 Hz), 121.8 (d, $^3J_{\text{FC}}=2.0$ Hz), 118.4, 117.6, 116.3 (q, $^2J_{\text{FC}}=34.3$ Hz), 112.4, 35.0. HRMS (ESI) calcd for C₁₈H₈ClF₃N₅OS [M-H]⁻ 434.0096, found 434.0082.

2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基]-5-((4-氰基苄基)硫基)-1,3,4-噁二唑(6r): 白色固体, 产率 81.9%. m.p. >220 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 9.30 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 7.98 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.82 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.70 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 4.66 (s, 2H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 163.8, 161.6, 143.1, 142.9, 132.9 (2C), 131.1, 130.6 (2C), 127.4 (q, $^3J_{\text{FC}}=6.1$ Hz), 123.6, 123.4 (dd, $^1J_{\text{FC}}=544.4$, 272.7 Hz), 121.8 (d, $^3J_{\text{FC}}=3.0$ Hz), 119.1, 118.4, 116.3 (q, $^2J_{\text{FC}}=34.3$ Hz), 110.9, 35.8. HRMS (ESI) calcd for C₁₈H₈ClF₃N₅OS [M-H]⁻ 434.0096, found 434.0081.

2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基]-5-((3-甲氧基苄基)硫基)-1,3,4-噁二唑(6s): 白色固体, 产率 52.7%. m.p. 169.6~170.8 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 9.29 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.25 (t, $J=7.9$ Hz, 1H), 7.04 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 6.85 (dd, $J=8.2$, 2.0 Hz, 1H), 4.56 (s, 2H), 3.72 (s, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 164.1, 161.5, 159.8, 142.9, 138.3, 131.3, 130.2, 127.4 (q, $^3J_{\text{FC}}=6.1$ Hz), 123.7, 123.4 (q, $^1J_{\text{FC}}=272.7$ Hz), 121.8 (d, $^3J_{\text{FC}}=3.0$ Hz), 121.7, 118.4, 116.3 (q, $^2J_{\text{FC}}=34.3$ Hz), 115.1, 113.9, 55.5, 36.5. HRMS (ESI) calcd for C₁₈H₁₁ClF₃N₄O₂S [M-H]⁻ 439.0249, found 439.0229.

2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基]-5-((4-甲氧基苄基)硫基)-1,3,4-噁二唑(6t): 白色固体, 产率 61.1%. m.p. >220 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 9.32 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.40 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 6.89 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 4.54 (s, 2H), 3.71 (s, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 164.2, 161.4, 159.3,

142.9, 131.2, 130.9 (2C), 128.4, 127.4 (q, $^3J_{\text{FC}}=5.1$ Hz), 123.6, 123.4 (q, $^1J_{\text{FC}}=272.7$ Hz), 121.8 (d, $^3J_{\text{FC}}=3.0$ Hz), 118.3, 116.3 (dd, $^2J_{\text{FC}}=69.7$, 34.3 Hz), 114.5 (2C), 55.6, 36.2. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{11}\text{ClF}_3\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 439.0249 found 439.0230.

2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基]-5-(((6-氯吡啶-3-基)甲基)硫基)-1,3,4-噁二唑(**6u**): 白色固体, 产率 83.5%. m.p. > 220 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.29 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.53 (d, $J=2.2$ Hz, 1H), 8.08~7.91 (m, 2H), 7.52 (d, $J=8.2$ Hz, 1H), 4.62 (s, 2H); ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 163.7, 161.7, 150.7, 149.9, 142.9, 140.9, 133.1, 131.2, 127.4 (dd, $^3J_{\text{FC}}=11.1$, 5.1 Hz), 124.7, 123.6, 123.4 (q, $^1J_{\text{FC}}=272.7$ Hz), 121.8 (d, $^3J_{\text{FC}}=1.0$ Hz), 118.4, 116.3 (q, $^2J_{\text{FC}}=34.3$ Hz), 32.7. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_7\text{Cl}_2\text{F}_3\text{N}_5\text{OS}$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 443.9706, found 443.9682.

2-[8-氯-6-(三氟甲基)咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基]-5-(((2-氯噁唑-5-基)甲基)硫基)-1,3,4-噁二唑(**6v**): 白色固体, 产率 76.9%. m.p. 201.9~203.2 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.29 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 4.84 (s, 2H); ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 163.7, 161.8, 151.1, 142.9, 141.8, 137.9, 131.1, 127.4 (dd, $^3J_{\text{FC}}=11.1$, 6.1 Hz), 123.7, 123.4 (dd, $^1J_{\text{FC}}=544.4$, 272.7 Hz), 121.9 (d, $^3J_{\text{FC}}=3.0$ Hz), 118.4, 116.3 (q, $^2J_{\text{FC}}=34.3$ Hz), 28.7. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_5\text{Cl}_2\text{F}_3\text{N}_5\text{OS}_2$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 449.9270, found 449.9246.

3.4 生物活性测定

3.4.1 目标化合物对秀丽线虫的毒杀活性测定

按文献[20]报道的方法获得用于活性测定的秀丽线虫的二龄幼虫, 以商品药剂噻唑磷和氟吡菌酰胺为阳性对照, 清水为空白对照, 采用毒杀法测定目标化合物对秀丽线虫的毒杀活性^[21]. 每个药剂三次平行, 三次重复实验, 统计施药 48 h 后线虫的死亡情况. 利用 Eqs. (1), (2) 计算线虫的校正死亡率.

$$\text{死亡率}(\%) = \frac{\text{处理组死亡线虫数}}{\text{处理组线虫死亡总数}} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{校正死亡率}(\%) = \frac{(\text{处理组死亡率} - \text{对照组死亡率})}{(1 - \text{对照组死亡率})} \times 100\% \quad (2)$$

3.4.2 目标化合物离体杀菌活性测定

参考文献[22]中的菌丝生长速率法测定. 药剂初筛浓度为 50 mg/L, 以 98% 氟吡菌酰胺原药和 98% 多菌灵原液为对照药剂.

3.4.3 目标化合物体内杀菌活性测定

参考文献[23]并略有改进. 将每种测定化合物溶解

在 1 mL 二甲基亚砜(DMSO)中, 然后用 0.1% 的吐温 80 水溶液定容至一定体积配制药液母液(200 mg/L), 用多菌灵做对照, 并设置空白对照. 通过适当稀释原液制备系列试验溶液(100 和 200 mg/L). 目标化合物对水稻纹枯病菌的体内杀真菌保护活性评价如下: 将水稻种子 (*Oryza sativa* L.) 培育至 3~4 叶期, 然后用喷壶将试验溶液均匀喷洒在寄主植株上, 每个浓度三个重复. 24 h 后在水稻植株上两株或几株临近稻苗基部中央接种一块纹枯病菌丝块, 接种后的水稻植株在高湿温室中培养. 14 天后观察各化合物的杀真菌活性. 目标化合物对水稻纹枯病菌的体内杀真菌治疗活性评价则是先在水稻植株接种纹枯病菌, 24 h 后喷洒试验溶液. 根据水稻幼苗叶鞘的发病情况, 对病情进行评级, 并计算病情指数. 防治效果(%)按 Eqs. (3), (4) 计算:

$$\text{病情指数}(\%) = \frac{\sum \text{各级发病数} \times \text{各级代表值}}{\text{调查总株数} \times \text{最高级数值}} \times 100\% \quad (3)$$

$$\text{防治效果}(\%) = \frac{\text{对照组病情指数} - \text{处理组病情指数}}{\text{对照组病情指数}} \times 100\% \quad (4)$$

辅助材料(Supporting Information) 化合物 **6a**~**6v** 的 ^1H NMR, ^{13}C NMR 和 HRMS 图谱, 以及化合物 **6d** 对水稻纹枯病菌的体内防效图. 这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载.

References

- [1] AChim, M.; Hnas, R.; Stephan, D. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 2328.
- [2] Lahm, G. P.; Desaegeer, J.; Smith, B. K.; Pahutski, T. F.; Rivera, M. A.; Meloro, T.; Kucharczyk, R.; Lett, R. M.; Daly, A.; Smith, B. T.; Cordova, D.; Thoden, T.; Wiles, J. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2017**, *27*, 152.
- [3] Shotwell, J. B.; Baskaran, S.; Chong, P.; Creech, K. L.; Crosby, R. M.; Dickson, H.; Fang, J.; Garrido, D.; Mathis, A.; Maung, J.; Parks, D. J.; Pouliot, J. J.; Price, D. J.; Rai, R.; Seal, J. W.; Tai, V. W.; Thomson, M.; Xie, M.; Xiong, Z. Z.; Peat, J. *ACS Med. Chem. Lett.* **2012**, *3*, 565.
- [4] Kang, S.; Kim, R. Y.; Seo, M. J.; Lee, S.; Kim, Y. M.; Seo, M.; Seo, J. J.; Ko, Y.; Choi, I.; Jang, J.; Nam, J.; Park, S.; Kang, H.; Kim, H. J.; Kim, J.; Ahn, S.; Pethe, K.; Nam, K.; Kin, J. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 5293.
- [5] Balzani, V. *New J. Chem.* **1996**, *20*, 723.
- [6] Zhang, R. *Ph.D. Dissertation*, Zhejiang University, Hangzhou, **2007** (in Chinese). (张睿, 博士论文, 浙江大学, 杭州, **2007**.)
- [7] Liu, A.-C.; Feng, J.-L.; He, X.-L.; Chen, L.; Zou, X.-D. *Agrochemicals* **2014**, *53*, 561 (in Chinese). (刘安昌, 冯佳丽, 贺晓露, 陈露, 邹晓东, 农药, **2014**, *53*, 561.)
- [8] Gan, X.-H.; Hu, D.-Y.; Wang, Y.-J.; Song, B.-A. *Sci. Sinica Chim.* **2016**, *46*, 1204 (in Chinese). (甘秀海, 胡德禹, 王艳娇, 宋宝安, 中国科学: 化学, **2016**, *46*, 1204.)
- [9] Du, H.-T.; Du, H.-J. *Chin. J. Org. Chem.* **2010**, *30*, 137 (in Chinese). (杜海堂, 杜海军, 有机化学, **2010**, *30*, 137.)
- [10] Liu, J.-C.; Wang, W.-D.; He, H.-W. *Chin. J. Org. Chem.* **2014**, *34*,

- 1447 (in Chinese).
(刘建超, 王卫东, 贺红武, 有机化学, **2014**, 34, 1447.)
- [11] Wang, B. L.; Zhu, H. W.; Li, Z. M.; Xiong, L. X.; Li, Y. Q.; Zhao, Y.; Zhang, J. F.; Chen, Y. W.; Zhou, S.; Li, Z. M. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, 61, 5483.
- [12] Mo, Q. J.; Liu, L. Z.; Duan, W. G.; Cen, B.; Lin, G. S.; Chen, N. Y.; Huang, Y.; Liu, B. M. *Chem. Ind. For. Prod.* **2015**, 35, 8.
- [13] Shi, Y.-J.; Li, Y.; Fang, Y.; Chen, J.; Ye, L.-Y.; Ge, S.-S.; Dai, H. *Chin. J. Org. Chem.* **2016**, 36, 2472 (in Chinese).
(石玉军, 李阳, 方源, 陈佳, 叶林玉, 葛书山, 戴红, 有机化学, **2016**, 36, 2472.)
- [14] Fan, Z. J.; Shi, J.; Luo, N.; Ding, M. H.; Bao, X. P. *J. Agric. Food Chem.* **2019**, 67.
- [15] Ren, Z.-L.; Fang, S.-S.; Xu, J.-W.; Ding, H.-X.; Xu, H.; Lu, M. *Chin. J. Pestic. Sci.* **2023** (in Chinese).
(任自立, 方珊珊, 徐建伟, 丁海霞, 徐晖, 吕敏, 农药学学报, **2023**.)
- [16] Li, L. S.; Xu, J. Y.; Lv, B.; Kaziem, A. E.; Liu, F.; Shi, H. Y.; Wang, M. H. *J. Agric. Food Chem.* **2020**, 68, 7609.
- [17] Jose, G.; Kumara, S. T.; Nagendrappa, G.; Sowmya, H.; Sriram, D.; Yogeeswari, P.; Sridevi, P. J.; Tayur, N.; Row, G.; Hosamani, A.; Ganapathy, S. P.; Chandrika, N.; Narendra, L. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, 89.
- [18] Chen, X.-W. *M.S. Thesis*, Guizhou University, Guiyang, **2016** (in Chinese).
(陈学文, 硕士论文, 贵州大学, 贵阳, **2016**.)
- [19] Chen, X.-W.; Gan, X.-H.; Chen, J.-X.; Chen, Y.-Z.; Wang, Y.-J.; Hu, D.-Y.; Song, B.-A. *Chin. J. Org. Chem.* **2017**, 37, 2343 (in Chinese).
(陈学文, 甘秀海, 陈吉祥, 陈永中, 王艳娇, 胡德禹, 宋宝安, 有机化学, **2017**, 37, 2343.)
- [20] Tang, X.-M. *M.S. Thesis*, Changchun University of Science and Technology, Shenyang, **2012** (in Chinese).
(唐晓明, 硕士论文, 长春理工大学, 沈阳, **2012**.)
- [21] Zhou, P.; Huang, J.-J.; He, C.-W.; Guo, Q.-N.; You, J.; Liu, Y.-F.; Xu, Z.-H. *Chin. J. Pestic. Sci.* **2022**, 24, 1367 (in Chinese).
(周蒲, 黄俊杰, 何昌文, 郭倩男, 游江, 刘一凡, 徐志红, 农药学学报, **2022**, 24, 1367.)
- [22] Shi, J.-C. *M.S. Thesis*, Yangtze University, Jingzhou, **2023** (in Chinese).
(时锦超, 硕士论文, 长江大学, 荆州, **2023**.)
- [23] Kang, Z.; Gu, B.-G. *Standard Operating Procedures for Bioactivity Testing of Pesticides—Fungicide Roll*, Chemical Industry Press, Shenyang, **2016**, pp. 155~156 (in Chinese).
(康卓, 顾宝根, 农药生物活性测试标准操作规范——杀菌剂卷, 化学工业出版社, 沈阳, **2016**, pp. 155~156.)

(Lu, Y.)