

文章编号:1674-2869(2018)06-0606-04

三嗪类衍生物的合成及抑菌活性测定

代文哲,黄翔,马静,韩新才,巨修练*

武汉工程大学化工与制药学院,湖北 武汉 430205

摘要:为开发新的草坪褐斑病防治安全高效杀菌剂,在总结杀菌剂相关文献的基础上,设计、合成了一类三嗪类衍生物。以三聚氯氰为起始原料,经与4-三氟甲基苯胺反应生成中间A,该中间体与不同的芳香胺或脂肪胺反应得到6个最终产物B和C。经 ^1H NMR及MS表征,确认合成的化合物为目标产物。采用菌落直径法测定了这6个目标化合物对草坪褐斑病菌的抑菌率,发现其具有较好的抑菌活性。

关键词:杀菌剂;草坪褐斑病;三嗪类衍生物;抑菌活性

中图分类号:R914 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1674-2869.2018.06.004

Synthesis and Antifungal Activity of Triazine Derivatives

DAI Wenzhe, HUANG Xiang, MA Jing, HAN Xincan, JU Xiulian*

School of Chemical Engineering and Pharmacy, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430205, China

Abstract: To develop a safe and efficient fungicide for suppression of turfgrass disease, we designed and synthesized new triazine derivatives based on the related literatures. Six target compounds were prepared according to synthetic procedure as follows: intermediate A was obtained by cyanuric chloride reacting with 4-three fluoromethyl aniline, and then A reacted with different aromatic amines or aliphatic amines to afford target molecules B and C. With ^1H nuclear magnetic resonance spectroscopy and mass spectrometry, the products were identified as the target compounds. The inhibitory rates of the six target compounds against *Rhizoctoniasolani* were determined by colony diameter method. The results show that these compounds have good inhibitory activities.

Keywords: fungicide; turfgrass disease; triazine derivatives; inhibitory activity

随着人们生活水平的提高,对环境美化的要求愈来愈高。草坪是环境美化中必不可少的一部分,其具有绿化、净化空气、防治水土流失、减少噪音等功能。由于草坪褐斑病菌(*Rhizoctoniasolani*)的感染日益加重,严重影响了草坪的绿化效果。自2004年以来,草坪褐斑病菌就被国内列为林业检疫性有害的生物名单^[1]。草坪褐斑病是一种重要的真菌病害^[2-3]。该病害在世界范围内都造成许多危害,尤其在日本、澳大利亚、欧洲发生非常普遍^[4]。该病的病原物非常复杂,非选择性强,可以感染大部分禾本科植物,且发病率高,传播的速度

快,难以治疗,反复发作,重复的感染。在一定的条件下,能在极短的时间内,感染一大片草坪,使其具有毁灭性的危害。草坪褐斑病的病原主要是立枯丝核菌^[5]。立枯丝核菌非选择性强,寄主范围广,可以感染250多种禾本科植物^[6-7]。草坪褐斑病是一种重要的草坪草病害,世界范围内的冷、暖季草坪草中均有发生。目前,对草坪褐斑病的防治品种单一,防治效果有待进一步提高,新型防治药剂急需开发。

三嗪类化合物具有广泛的生物活性,具有杀虫、杀菌、除草、抗病毒等活性^[8-10]。本实验室研究

收稿日期:2018-06-10

作者简介:代文哲,硕士研究生。E-mail:15827229146@163.com

*通讯作者:巨修练,博士,教授,博士生导师。E-mail:xiulianju2008@aliyun.com

引文格式:代文哲,黄翔,马静,等.三嗪类衍生物的合成及抑菌活性测定[J].武汉工程大学学报,2018,40(6):606-609.

发现,三聚氯氰对草坪褐斑病菌具有一定的抑菌活性^[11],为研究三聚氯氰衍生物的抑菌活性,发现新型杀菌剂先导化合物。本研究参考该类化合物的研究进展设计、合成了6个目标化合物^[12-15],以三聚氯氰为起始原料,经与4-三氟甲基苯胺反应得到中间体2,4-二氯-6-(4-三氟甲基苯胺基)-1,3,5-三嗪(A),该中间体与胺反应生成2-氯-4-胺基-6-(4-三氟甲基苯胺基)-1,3,5-三嗪(B),该产物再与不同取代的一级胺或二级胺反应得到6个最终产物(图1),经¹H NMR及MS表征,确认合成的化合物为目标产物。采用菌落直径法测定了这7个目标化合物对草坪褐斑病菌的抑菌率,发现其具有较好的抑菌活性。

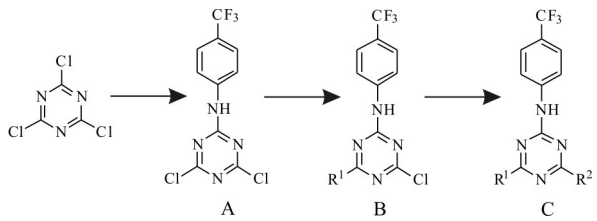


图1 三嗪类衍生物的合成路线

Fig. 1 Synthetic route of triazine derivatives

1 实验部分

1.1 试剂与材料

化合物熔点采用RY-1型熔点仪测定(温度计未经校正,天津市天分分析仪器厂);¹H NMR采用Varian Mercury-VX 400型核磁共振仪(DMSO或CDCl₃做溶剂,TMS为内标)测定,质谱采用Thermo LTQ XL液质联用质谱仪进行测定。试验中所使用的试剂均为分析纯或化学纯,除特别说明外,均未经进一步的处理。

1.2 实验方法

1.2.1 2,4-二氯-6-(4-三氟甲基苯胺基)-1,3,5-三嗪(A) 在150 mL的三口烧瓶中加入三聚氯氰1.9 g(10 mmol),加入丙酮30 mL,搅拌溶解,冰浴冷却到0℃。缓慢滴加1.6 g(10 mmol)对三氟甲基苯胺的20 mL丙酮溶液,10 min加毕,在0℃下搅拌反应3 h。反应完毕后,用质量分数10%的碳酸钠水溶液调节反应体系pH值为6左右,静置有白色固体析出。抽滤,滤饼用乙醇和水重结晶,干燥后得白色固体2.47 g。产率:80%,mp:155℃~157℃,¹H NMR(DMSO,400 MHz)δ:7.73~7.75(d,J=8.56 MHz,2H,ArH),δ:7.84~7.86(d,J=8.68 MHz,2H,ArH),δ:11.47(s,1H,NH);MS(ESI):309(M⁺)。

1.2.2 2-氯-4-(3-氯苯胺基)-6-(4-三氟甲基苯胺基)-1,3,5-三嗪(11B) 在150 mL的三口烧瓶中加入间氯苯胺1.53 g(12 mmol),加入丙酮30 mL,滴加碳酸氢钠1.0 g(12 mmol)的水溶液,反应10 min,然后滴加中间体A3.09 g(10 mmol)的丙酮溶液,常温反应6 h。反应完毕后,静置,脱溶剂,再用乙酸乙酯溶解,用水萃取除盐,饱和食盐水反洗,拌样,经硅胶柱层析[洗脱剂V(石油醚):V(乙酸乙酯)=15:1]纯化,干燥后得白色固体粉末3.76 g。产率:94%,mp:191℃~194℃,¹H NMR(CDCl₃,400 MHz)δ:7.1~7.2(m,2H,ArH),δ:7.27~7.32(m,2H,ArH),δ:7.5(s,1H,m-C₆H₄ClNH),δ:7.62~7.67(m,4H,ArH),δ:7.8(s,1H,NHC₆H₄CF₃);MS(ESI):400(M⁺)。

1.2.3 2,4-二甲胺基-6-(4-三氟甲基苯胺基)-1,3,5-三嗪(1C) 在150 mL的三口烧瓶中加入甲胺的水溶液1.35 g(12 mmol),加入1,4-二氧六环80 mL,加入碳酸氢钠1.0 g(12 mmol)的水溶液,然后加入2-氯-4-甲胺基-6-(4-三氟甲基苯胺基)-1,3,5-三嗪3.04 g(10 mmol),升温至90℃回流状态下反应2 h。反应完毕后,脱溶剂,再用乙酸乙酯溶解,用水萃取除盐,饱和食盐水反洗,拌样,经硅胶柱层析[洗脱剂V(石油醚):V(乙酸乙酯)=4:1]纯化,干燥后得白色固体2.58 g。产率:86.7%,mp:150℃~151℃,¹H NMR(DMSO,400 MHz)δ:2.8(s,6H,CH₃),δ:6.4(s,1H,NHCH₃),δ:6.7(s,1H,NHCH₃),δ:7.4~7.6(s,2H,ArH),δ:8.02~8.09(s,2H,ArH),δ:9.0~9.2(m,1H,NHC₆H₄CF₃);MS(ESI):299(M⁺+1)。

1.2.4 2-(4-三氟甲基苯胺基)-4-乙胺基-6-甲胺基-1,3,5-三嗪(2C) 参照化合物(1C)的合成方法得到化合物(2C)。产率:35%,mp:58℃~61℃,¹H NMR(DMSO,400 MHz)δ:0.85~0.86(m,3H,NHCH₂CH₃),δ:2.84(s,2H,NHCH₃),δ:2.7~3.0(m,2H,NHCH₂CH₃),δ:6.4~6.8(m,2H,NH),δ:7.45(s,2H,ArH),δ:7.9~8.2(m,2H,ArH),δ:9.0~9.2(m,1H,NHC₆H₄CF₃);MS(ESI):313(M+1)。

1.2.5 2-二乙胺基-4-(4-三氟甲基苯胺基)-6-甲胺基-1,3,5-三嗪(6C) 参照化合物(1C)的合成方法得到化合物(6C)。产率:92%,mp:89℃~91℃,¹H NMR(CDCl₃,400 MHz)δ:1.1~1.2(m,6H,N(CH₂CH₃)₂),δ:2.95~2.96(d,J=5 MHz,3H,NHCH₃),δ:4.4~4.8(d,J=5.2 MHz,4H,N[CH₂-CH₃]₂),δ:4.8(s,1H,NHCH₃),δ:7.12(s,1H,NHC₆H₄CF₃),δ:7.50~7.52(d,J=8.4 MHz,2H,

ArH), δ : 7.71 ~ 7.73 (d, J =6.88 MHz, 2H, ArH); MS (ESI): 341 (M^+ +1)。

1.2.6 2-二甲氨基-4-(4-三氟甲基苯胺基)-6-乙胺基-1,3,5-三嗪(9C) 参照化合物(1C)的合成方法得到化合物(9C)。产率: 95%, mp: 112 $^{\circ}\text{C}$ ~ 115 $^{\circ}\text{C}$, ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 1.1 ~ 1.2 (m, 3H, NHCH_2CH_3), δ : 3.14 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), δ : 3.41 ~ 3.48 (m, 2H, NHCH_2CH_3), δ : 4.93 (s, 1H, NHCH_2CH_3), δ : 7.16 (s, 1H, $\text{NHC}_6\text{H}_4\text{CF}_3$), δ : 7.51 ~ 7.53 (d, J =8.4 MHz, 2H, ArH), δ : 7.71 ~ 7.73 (d, J =6.76 MHz, 2H, ArH); MS (ESI): 327 (M^+ +1)。

1.2.7 2-二甲氨基-4-(4-三氟甲基苯胺基)-6-正丙胺基-1,3,5-三嗪(10C) 参照化合物(1C)的合成方法得到化合物(10C)。产率: 92%, mp: 109 $^{\circ}\text{C}$ ~ 110 $^{\circ}\text{C}$, ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 0.94 ~ 0.98 (t, J =7.36 MHz, 3H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), δ : 1.56 ~ 1.65 (sixtet, J =7.24 MHz, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), δ : 3.14 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), δ : 3.34 ~ 3.39 (q, J =6.68 MHz, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), δ : 5.01 (s, 1H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), δ : 7.19 (s, 1H, $\text{NHC}_6\text{H}_4\text{CF}_3$), δ : 7.50 ~ 7.53 (d, J =8.44 MHz, 2H, ArH), δ : 7.72 (s, 2H, ArH); MS (ESI): 341 (M^+ +1)。

1.3 化合物的生活活性评价

1.3.1 供试试剂 马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA): 马铃薯 20 g、葡萄糖 20 g、琼脂 15 g~20 g、蒸馏水 1 000 mL。吐温 80(国药集团化学试剂有限公司), 丙酮(国药集团化学试剂有限公司), 井冈霉素 60A 原药(武汉科诺生物农药有限公司)。草坪褐斑病菌(*Rhizoctoniasolani* AG-1-1B fusion group), 由华中农业大学植物科技学院提供。

1.3.2 测定方法 采用生长速率法中的菌落直径含毒介质培养法测定溶剂的杀菌活性^[16]。在无菌

操作台上, 先配制一定浓度的待测溶剂溶液, 再用移液枪吸取 1 mL 配制好的溶剂溶液加入 7.5 cm 培养皿中, 用灭菌蒸馏水做空白对照, 然后用灭菌过的 10 mL 玻璃注射器注入 9 mL 融化好的 PDA 培养基, 使药液与培养基在培养皿中混合均匀, 待冷却到室温后, 再在培养皿正中间位置接种直径 5 mm 的草坪褐斑病菌, 每个处理重复做 3 次, 最后将接种好的培养皿放入 28 $^{\circ}\text{C}$ 的恒温培养箱中培养(草坪褐斑病菌约 30 h~40 h), 待空白对照接近长满时, 用直尺测量菌落直径, 每个培养皿用十字交叉法测量 2 次, 取平均值, 最后计算药剂的抑菌率^[17-18]。

抑菌率 = $\frac{\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}}{\text{对照菌落直径}} \times 100\%$

1.3.3 测定过程 将待测目标化合物用丙酮配制成浓度为 2 000 g/mL 的溶液。首先对草坪褐斑病菌(*Rhizoctoniasolani*)的抑菌活性进行初筛, 然后分别稀释为 800 g/mL、400 g/mL、200 g/mL、100 g/mL、50 g/mL 5 个浓度梯度, 分别测定其抑菌率, 通过 SPSS 软件处理, 得到其抑菌回归方程, 相关系数 R, EC_{50} 值及 95% 置信区间。

2 结果与讨论

表 1 显示所测化合物对草坪褐斑病菌(*Rhizoctoniasolani*)的抑菌活性, 6 个化合物均具有较高的抑菌活性, 其抑菌活性高于对照药剂井冈霉素, 其中化合物 2C 活性最高, 其 EC_{50} 值为 16.4 g/mL, 化合物 1c 活性最低, 其 EC_{50} 值为 297.6 g/mL, 其活性由大到小排列顺序为: 2C > 6C > 10C > 11B > 9C > 1C, 化合物 2C 的结构 R¹ 基团为甲胺基, R² 基团为乙胺基, 可以作为先导化合物进一步修饰, 以便合成更多的化合物进行结构与活性关系研究, 为开发防治草坪褐斑病的杀菌剂奠定基础。

表 1 化合物对草坪褐斑病菌病菌抑菌活性测定

Tab. 1 Antifungal activity of compounds against Rhizoctomiasolani

FC(F)(F)c1ccc(Nc2nc(R2)nc(R1)n2)cc1

化合物编号	R ¹	R ²	回归方程	相关系数	EC_{50} / (g/mL)	95% 置信区间 / (g/mL)
11B	3-Cl-PhNH	Cl	$y=3.732\ 9+0.570\ 5x$	0.991\ 5	166.9	99.2~273.4
1C	NH(CH ₃)	NH(CH ₃)	$y=3.230\ 2+0.739x$	0.984\ 4	297.6	199.3~448.3
2C	NH(CH ₃)	NH(C ₂ H ₅)	$y=4.720\ 6+0.236\ 0x$	0.986\ 6	16.4	4.4~50.8
6C	NH(CH ₃)	N(C ₂ H ₅) ₂	$y=4.372\ 6+0.350\ 3x$	0.953\ 4	68.8	28.3~138.9
9C	NH(C ₂ H ₅)	N(CH ₃) ₂	$y=3.051\ 8+0.791\ 9x$	0.995\ 9	287.6	198.7~412.6
10C	NH(C ₃ H ₇)	N(CH ₃) ₂	$y=4.353\ 6+0.314\ 9x$	0.992\ 8	114.0	44.3~278.1
井冈霉素			$y=3.464\ 7+0.603\ 3x$	0.952\ 5	332.8	214.9~560.8

3 结 语

本研究结合三嗪类化合物的研究现状,设计、合成了一类三嗪衍生物,以三聚氯氰为起始原料,经与4-三氟甲基苯胺反应生成中间体,该中间体与不同的芳香胺或脂肪胺反应得到6个未见文献报道的新化合物,原料易得,反应收率高,目标化合物经¹H NMR及MS表征确认。经采用菌落直径法测定,表明这6个目标化合物对草坪褐斑病菌的抑菌率较高,其中化合物2C抑菌活性最高,其*EC*₅₀值为16.4 g/mL,具有进一步研究价值。

参考文献:

[1] 中华人民共和国国家林业局. 全国林业检疫性有害生物名单[R/OL]. (2013-04-16)[2018-06-10].<http://www.forestry.gov.cn/portal/main/s/3600/content-581433.html>.

[2] 张晓光,侯丽伟,姚露贤,等.草坪草褐斑病的发生及其防治[J].吉林林业科技,2010,39(3):5-56.

[3] ZARLENGO P L, ROTHROCK C S, KING J W. Influence of shading on the response of tall fescue cultivar to *Rhizoctonia solani* AG-1-IA[J]. *Plant Disease*, 1994, 78(2):126-129.

[4] 陈海波,刘荣堂,杜广真,等.草坪草褐斑病的研究进展和现状[J].草原与草坪,2002,98(3):8-14.

[5] 晁龙军,单学敏.草坪褐斑病病原菌鉴定、流行规律及其综合控制技术的研究[J].中国草地,2000,4(1):42-44.

[6] BURPPE L, MARTIN B. Biology of *Rhizoctonia* species associated with turfgasses[J]. *Plant Disease*, 1992, 76(2):112-117.

[7] PIPER C V, COE H S. *Rhizoctonia* in lawns and pastures[J]. *Phytopathology*, 1991, 9(1):89-92.

[8] 罗海荣,方岩雄,谢凯宏,等.三嗪衍生物的合成研究[J].广州化工,2016,44(10):118-119.

[9] 郭崇有. 苯胺基三嗪类杀虫剂的合成及生物活性[J]. 世界农药,2017,39(6):23-32.

[10] ELSHEMY H, ABDELALL E, AZOUZ A, et al. Synthesis, anti-inflammatory, cyclooxygenases inhibitions assays and histopathological study of poly-substituted 1, 3, 5-triazines: confirmation of regiospecificpyrazole cyclization by HMBC [J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2017, 127(1):10-21.

[11] 黄翔. 三聚氯氰衍生物的合成及生物活性研究[D]. 武汉:武汉工程大学,2011.

[12] MENICAGLIR, SAMARITANI S, SIGNOREG, et al. In vitro cytotoxic activities of 2-alkyl-4, 6-diheteroalkyl-1, 3, 5-triazines: new molecules n anticancer research [J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2004, 47(5):4649-4652.

[13] RANKOVICZ, CAI J, CUMMING I. 2-Cyano-1, 3, 5-triazine-4, 6-diamine derivatives: WO, 2005011703 [P]. 2005-02-10.

[14] BLOTNY G. Recent applications of 2,4,6-trichloro-1, 3, 5-triazine and its derivatives in organic synthesis [J]. *Tetrahedron*, 2006, 37(51):9507-9522.

[15] ZHOU C, MIN J, LIU Z, et al. Synthesis and biological evaluation of novel 1, 3, 5-triazine derivatives as antimicrobial agents [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2008, 18(4):1308-1311.

[16] ZACHARIE B, ABBOTT S D, BIENVENU J F, et al. 2, 4, 6-Trisubstituted triazines as protein a mimetics for the treatment of autoimmune diseases[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2010, 53(3):1138-1145.

[17] 黄彰欣.植物化学保护实验指导[M].北京:中国农业出版社,1998:52-59.

[18] 韩新才,张林,彭华松,等.几种药剂对草坪褐斑病菌的毒力测定[J]. 武汉工程大学学报,2009,31(7):13-15.

本文编辑:张 瑞