

创制杀菌剂烯炔菌酯异构体的鉴定及杀菌活性

孙克, 吕良忠, 司乃国, 吴鸿飞, 李志念, 王凤宇, 曹巍

(沈阳化工研究院有限公司 新农药创制与开发国家重点实验室, 沈阳 110021)

摘要: [目的] 对烯炔菌酯异构体进行分离以及4个异构体的杀菌活性进行研究。[方法] 柱层析法分离异构体, 质谱和核磁进行结构鉴定。[结果] 确定了烯炔菌酯4个异构体的空间构型, 对黄瓜霜霉病、小麦白粉病的杀菌活性进行测定。[结论] 烯炔菌酯的(*E,E*)和(*E,Z*)构型的2个异构体表现出很好的杀菌活性。

关键词: 烯炔菌酯; 异构体; 杀菌活性

中图分类号: TQ450.1 文献标志码: A 文章编号: 1006-0413(2012)03-0168-04

Identification of the Isomers of a Novel Fungicide Enestroburin and Their Fungicidal Activities

SUN Ke, LU Liang-zhong, SI Nai-guo, WU Hong-fei, LI Zhi-nian, WANG Feng-yu, CAO Wei

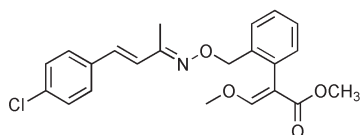
(State Key Laboratory of the Discovery and Development of Novel Pesticide, Shenyang Research Institute of Chemical Industry Co., Ltd., Shenyang 110021, China)

Abstract: [Aims] Four isomers of a novel fungicide enestroburin were separated and their fungicidal activities were studied. [Methods] The isomers were separated by column chromatography and the structures were confirmed by MS and ^1H NMR spectroscopy. [Results] The stereo configurations of the isomers were confirmed and the isomers were tested against cucumber downy mildew and wheat powdery mildew respectively. [Conclusions] The bioactivity results showed that the (*E,E*) and (*E,Z*) isomers exhibit good antifungal activity.

Key words: enestroburin; isomer; fungicidal activity

烯炔菌酯(enestroburin)属strobilurin类天然化合物模拟物的甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂。沈阳化工研究院1997年发现其具有生物活性, 已申请了多国专利并取得正式登记^[1]。

烯炔菌酯的分子结构式如下:

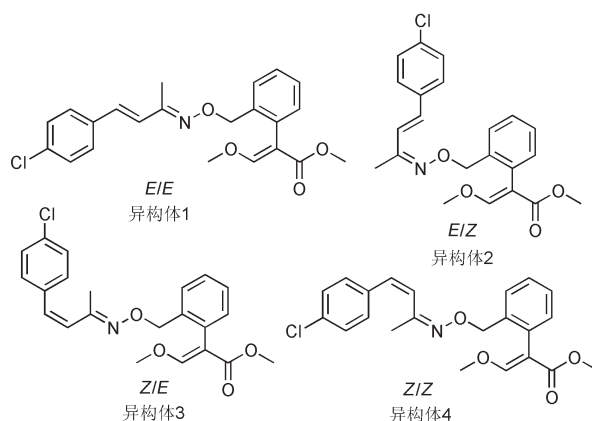


化学名称: α -[2-[[[4-(4-氯苯基)丁-3-烯-2-基]-]亚胺基]氧基]甲基]苯基]- β -甲氧基丙烯酸甲酯。

烯炔菌酯具有非常广泛的杀菌谱, 同时兼有保护和治疗作用, 可有效防治番茄灰霉病、小麦白粉病、黄瓜白粉病、小麦锈病、番茄早疫病、番茄晚疫病、黄瓜炭疽病、水稻稻瘟病、黄瓜霜霉病、苹果黑星病等^[2-5]。

烯炔菌酯属低毒农药, 对大鼠急性经口 LD_{50} 值: 926(雄性)、794 mg/kg(雌性), 急性皮肤刺激为无刺激, 眼刺激为轻度刺激, Ames试验结果为阴性, 无潜在致癌危险。

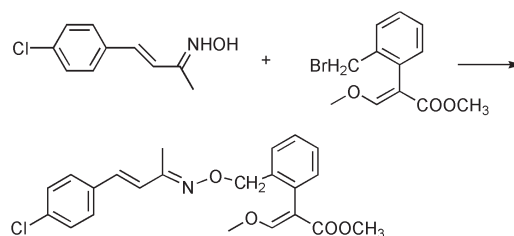
研究过程中发现烯炔菌酯分子结构中包含4种异构体, 这4种异构体表现出不同的杀菌活性。



1 烯炔菌酯异构体的分离及结构鉴定

1.1 烯炔菌酯异构体的分离

烯炔菌酯的合成是以“炔”和“溴苄”为中间体, 经缩合反应得到目标产物。



收稿日期: 2011-11-28

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(2010CB735601), (2012CB724501); 国家“十二·五”科技支撑计划项目(2011BAE06B00)

作者简介: 孙克(1962—), 男, 辽宁沈阳人, 教授级高级工程师, 主要从事农药研究与开发。Tel: 024-85869168, E-mail: sunke@sinochem.com。

经HPLC-MS分离检测,发现有4个同分异构体,采用柱层析方法进行分离。

分离方法:

250 mL圆底烧瓶中加入10 g样品、60 mL二氯甲烷,充分溶解,然后加入20 g硅胶(GF254, 150 μm),搅拌均匀,用旋转蒸发仪蒸干,备用。

取适量的硅胶(GF254, 150 μm)加入500 mL烧杯中,加入适量的乙酸乙酯/石油醚(60~90 $^{\circ}\text{C}$)(体积比1:6),充分搅拌,使硅胶全部润湿,然后加入长1 m、内径0.04 m的层析柱中,在加入上面准备好的样品/硅胶,使用乙酸乙酯/石油醚(60~90 $^{\circ}\text{C}$)(体积比1:6)淋洗,分别收集,使用板层析监测收集不同的馏出液,分别脱溶后,得到3个油状物。

第1份得到的油状物,加入1 mL乙酸乙酯,混合均匀,放置过夜,有固体析出,过滤,干燥,得A(2 g)。

第2份脱溶后得到B(0.4 g)。

第3份得到的油状物,再使用如上的方法,洗脱液为乙酸乙酯/石油醚(60~90 $^{\circ}\text{C}$)(体积比1:10),进行2次层析,板层析监测,分别得到2个不同的样品,蒸干后分别加入乙酸乙酯,放置过夜,有固体析出,过滤,干燥,得C(0.3 g)、D(0.3 g)。各异构体物性数据见表1。

表1 烯腙菌酯的异构体A、B、C、D的物性数据

化合物	性状	熔点/ $^{\circ}\text{C}$
A	白色固体	89~90
B	油状物	
C	黄色固体	176~178
D	黄色固体	134~136

使用HPLC检测得到的4个样品,再与HPLC-MS和 ^1H NMR的结果进行对照,表明此4个样品均为烯腙菌酯的同分异构体。

1.2 烯腙菌酯异构体的结构鉴定

1.2.1 异构体A:(*E,E*)烯腙菌酯的结构分析

质谱数据:异构体A $m+1=401$,并且含有1个Cl原子。

^1H NMR数据表明(见图1):化学位移 $\delta 2.08$ 处的单峰有3个氢,为1个甲基; $\delta 3.69$ 处的单峰有3个氢,为1个甲基,应为醚甲基; $\delta 3.83$ 处的单峰有3个氢,为1个甲基,应为酯甲基; $\delta 5.10$ 处的单峰有2个氢,为1个与氧和苯环相连的亚甲基; $\delta 6.78$ 处的峰有2个氢,为C=C双键的2个氢;化学位移 $\delta 7.17\sim 7.38$ 处的多重峰有8个氢,为2个苯环上的氢;化学位移 $\delta 7.57$ 处1个氢,为甲氧基丙烯酸C=C双键上的1个氢。同时与(*E/E*)4-(4-氯苯基)-2-羟亚胺基-3-丁烯和(*E/Z*)4-(4-氯苯基)-2-羟亚胺基-3-丁烯的 ^1H NMR谱图相比较,C=C双键上的2个H的化学位移与(*E/E*)4-(4-氯苯基)-2-羟亚胺基-3-丁烯的基本一致,可确定C=N构型为反式(*E*型)。据此可确定异构体A的构型为(*E/E*),

分子结构为:

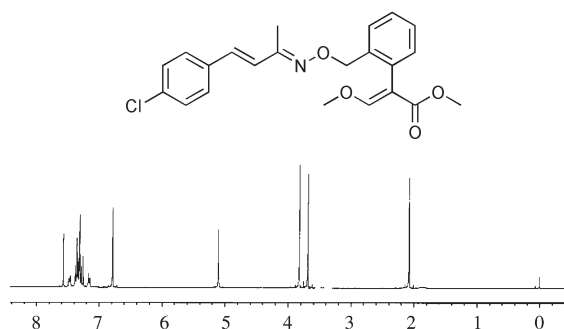


图1 (*E,E*)烯腙菌酯 ^1H NMR图谱

1.2.2 异构体B:(*E,Z*)烯腙菌酯的结构分析

质谱数据表明异构体B $m+1=401$,并且含有1个Cl原子。

^1H NMR数据表明(见图2)化学位移 $\delta 2.08$ 处的单峰有3个氢,为1个甲基; $\delta 3.61$ 处的单峰有3个氢,为1个甲基,应为醚甲基; $\delta 3.80$ 处的单峰有3个氢,为1个甲基,应为酯甲基; $\delta 5.06$ 处的单峰有2个氢,为1个与氧和苯环相连的亚甲基; $\delta 6.79\sim 6.84$ 处, $\delta 7.440\sim 7.495$ 的峰有2个氢,为C=C双键的2个氢;化学位移 $\delta 7.15\sim 7.49$ 处的多重峰有8个氢,为2个苯环上的氢;化学位移 $\delta 7.55$ 处1个氢,为甲氧基丙烯酸C=C双键上的1个氢。同时与(*E/Z*)4-(4-氯苯基)-2-羟亚胺基-3-丁烯的 ^1H NMR谱图相比较,C=C双键上的2个H的化学位移与(*E/Z*)4-(4-氯苯基)-2-羟亚胺基-3-丁烯的基本一致,可确定C=N构型为顺式(*Z*型)。据此可确定异构体B的构型为(*E/Z*),分子结构如下:

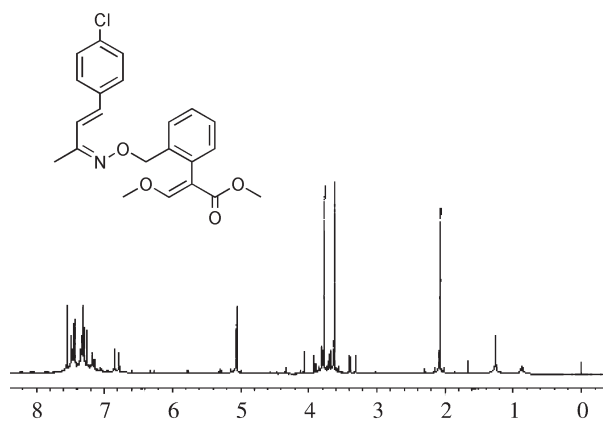


图2 (*E,Z*)烯腙菌酯 ^1H NMR图谱

1.2.3 异构体C:(*Z,E*)烯腙菌酯的结构分析

质谱数据:异构体C $m+1=401$,并且含有1个Cl原子。

^1H NMR数据(见图3)表明:化学位移 $\delta 1.38$ 处的单峰有3个氢,为1个甲基; $\delta 3.67$ 处的单峰有3个氢,为1个甲基,应为醚甲基; $\delta 3.92$ 处的单峰有3个氢,为1个甲基,应为酯甲基; $\delta 4.46\sim 4.65$ 处的四重峰有2个氢,为1个与氧和苯环相连的亚甲基;化学位移 $\delta 5.52$ 处的单峰有1个氢,为甲氧基丙烯酸C=C双键上的1个氢; $\delta 6.16\sim 6.21$ 处, $\delta 6.90\sim 6.95$ 的峰有2个氢,为C=C双键的2个氢;化学位移 $\delta 6.81\sim 7.35$ 处的

多重峰有8个氢,为2个苯环上的氢。与C=C双键E型结构的线形结构相比较,Z型结构为团形,肟甲基氢的由于苯环的屏蔽效应,向高场移动,化学位移为 δ 1.38;由于Z型结构,与氧和苯环相连的亚甲基的2个氢的磁环境不同,形成AB系统,裂分为四重峰。比较C、D的肟甲基氢的化学位移,低场的为E型C=N双键构型,据此可确定异构体C的构型为(Z,E),分子结构为:

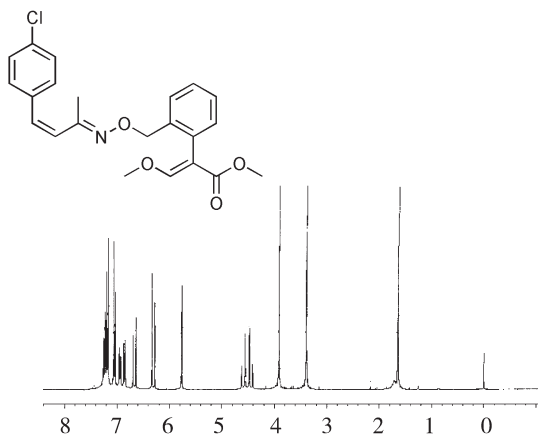


图3 (Z,E)烯肟菌酯¹H NMR图谱

1.2.4 异构体D:(Z,Z)烯肟菌酯的结构分析

质谱数据:异构体D $m+1=401$,并且含有1个Cl原子。

¹H NMR数据(见图4)表明:化学位移 δ 1.64处的单峰有3个氢,为1个甲基; δ 3.38处的单峰有3个氢,为1个甲基,应为醚甲基; δ 3.91处的单峰有3个氢,为1个甲基,应为酯甲基; δ 4.41~4.61处的四重峰有2个氢,为1个与氧和苯环相连的亚甲基;化学位移 δ 5.76处的单峰有1个氢,为甲氧基丙烯酸C=C双键上的1个氢; δ 6.23~6.38处, δ 6.63~6.69的峰有2个氢,为肟C=C双键的2个氢;化学位移 δ 6.81~7.35处的多重峰有8个氢,为2个苯环上的氢。与E型结构的线形结构相比较,Z型结构为团形,肟甲基氢的由于苯环的屏蔽效应,向高场移动,化学位移为 δ 1.64;由于Z型结构,与氧和苯环相连的亚甲基的2个氢磁环境不同,形成AB系统,裂分为四重峰。比较C、D的肟甲基氢的化学位移,高场的为Z型C=N双键构型,据此可确定异构体C的构型为(Z,Z),分子结构为:

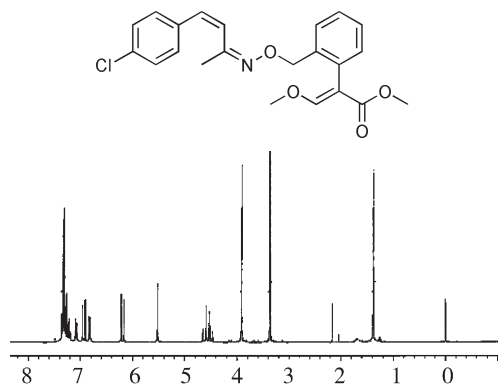


图4 (Z,Z)烯肟菌酯¹H NMR图谱

2 烯肟菌酯异构体的杀菌活性测定

2.1 试验方法

2.1.1 防治黄瓜霜霉病温室盆栽

供试药剂处理质量浓度为200、50、12.5 mg/L,采用幼苗盆栽法,选择2片真叶平展的黄瓜盆栽幼苗剪去生长点,用喉头喷雾器进行人工手动喷雾。处理后的试验材料在药液晾干后于第2天接种黄瓜霜霉病病菌,然后放置人工气候室中培养。培养温度:昼25℃,夜20℃;相对湿度:第1天100%,以后90%。在培养箱中保湿培养6 d后调查防治效果。

2.1.2 防治小麦白粉病温室盆栽

试验采取幼苗盆栽法。幼苗盆栽试验的处理质量浓度为200、50、12.5 mg/L,另设不施药剂的空白对照。每个处理3次重复。采用盆栽幼苗测定法,选择长势一致的确叶期盆栽小麦幼苗,按所设质量浓度用喉头喷雾器进行人工手动喷雾处理,喷雾后放置阴凉处,第2天接种小麦白粉病菌种,接种后放置人工气候室(温度:昼22℃、夜18℃,相对湿度:70%)培养。接种后6 d调查防效。每盆调查10株,每株调查第1张叶片。

2.2 结果与讨论

2.2.1 防治黄瓜霜霉病结果与讨论

按农业部药检所《农药田间试验准则》的分级标准分级记载,以病情指数计算防治效果,防治黄瓜霜霉病结果见表2。

表2 烯肟菌酯异构体防治黄瓜霜霉病试验结果

供试药剂	处理剂量/(mg·L ⁻¹)	病情指数	防效/%
A	200	0	100
	50	0	100
	12.5	1.85	98.15
B	200	0	100
	50	0	100
	12.5	3.70	96.30
C	200	100	0
	50	100	0
	12.5	100	0
D	200	81.48	18.52
	50	100	0
	12.5	100	0
25%烯肟菌酯EC	200	0	100
	50	1.85	98.15
	12.5	16.26	83.74

注:黄瓜霜霉病病情指数为100。

防治黄瓜霜霉病结果表明:烯肟菌酯的4个异构体中,A、B的活性基本一致,与25%烯肟菌酯乳油比,在50~200 mg/L的质量浓度下无明显差异,在12.5 mg/L的处理剂量下A、B优于25%烯肟菌酯乳油。

2.2.2 防治小麦白粉病结果与讨论

按农业部药检所《农药田间试验准则》的分级标准分级记载,以病情指数计算防治效果,防治小麦白粉病结果见表3。

表3 烯腙菌酯异构体防治小麦白粉病试验结果

供试药剂	处理剂量/(mg·L ⁻¹)	病情指数	防效/%
A	200	0	100
	50	2.54	96.77
	12.5	8.79	88.83
B	200	0	100
	50	3.17	95.97
	12.5	9.82	87.52
C	200	66.54	15.43
	50	100	0
	12.5	100	0
D	200	69.78	11.31
	50	100	0
	12.5	100	0
25%烯腙菌酯EC	200	0	100
	50	3.12	96.03
	12.5	17.69	77.52

注:小麦白粉病病情指数为78.68。

防治小麦白粉病结果表明:烯腙菌酯的4个异构体中,A、B为有效结构,其活性基本一致,与25%烯腙菌酯乳油

比,50~200 mg/L的质量浓度下无明显差异,12.5 mg/L的处理剂量下A、B优于25%烯腙菌酯乳油。

3 结论

从上述数据可以看出:烯腙菌酯的4个异构体在杀菌活性方面,(E,E)、(E,Z)两个异构体的活性基本一致,(Z,E)、(Z,Z)两个异构体基本无效。比较它们的结构,可以发现主要是C=C双键的构型决定了生物活性。C=C双键为E型的具有生物活性,C=C双键为Z型的活性很差。从空间构型分析,(E,E)型、(E,Z)型的空间构型为伸展的线形结构,(Z,E)型,(Z,Z)型的空间构型为紧缩的团形结构,这有可能是导致生物活性差异的决定因素。

参考文献:

[1] 沈阳化工研究院. 烯腙菌酯——我国农药工业由仿制到创制的典范[J]. 科技成果纵横, 2008(3): 18.

[2] 司乃国,李志念,刘君丽,等. 新广谱杀菌剂SYP-Z071的生物活性评价[J]. 浙江化工, 2000(S1): 94-96, 77, 135.

[3] 司乃国,刘君丽,李志念,等. 创制杀菌剂烯腙菌酯生物活性及应用研究(Ⅰ)——黄瓜霜霉病[J]. 农药, 2003, 42(10): 38-40.

[4] 司乃国,刘君丽,张宗俭,等. 创制杀菌剂烯腙菌酯生物活性及应用(Ⅱ)——小麦白粉病[J]. 农药, 2003, 42(11): 41-42.

[5] 刘君丽,司乃国,陈亮,等. 创制杀菌剂烯腙菌酯生物活性及应用研究(Ⅲ)——葡萄霜霉病[J]. 农药, 2003, 42(12): 34-35.

责任编辑:赵平

2012年全国水稻重大病虫害发生趋势预报

全国农业技术推广服务中心组织科研、教学和推广单位专家会商分析预测,2012年水稻病虫害总体呈偏重发生态势,发生程度重于2011年,预计发生面积15亿亩次,同比增加5%。其中,虫害以稻飞虱、稻纵卷叶螟和二化螟为主,全国大部偏重发生,发生面积10.4亿亩次,同比增加5%;病害以纹枯病、稻瘟病、稻曲病、南方水稻黑条矮缩病为主,总体为中等至偏重流行,发生面积4.6亿亩,同比增加6%。

1 发生趋势

1)水稻虫害 稻飞虱在华南、江南大部 and 西南、长江流域南部稻区呈偏重发生态势,其他常发区大部中等发生,发生程度重于2011年,发生面积约4亿亩次,较2011年增加11%;稻纵卷叶螟在东南沿海,以及沿江和湖库稻区偏重发生,其他稻区中等发生,发生面积约3亿亩次,较2011年增加15%;二化螟在长江中游和西南北部稻区将偏重发生,江南东部和东北大部中等发生,发生面积2亿亩次,与2011年同期持平;三化螟在西南和华南局部稻区中等发生,其他稻区偏轻发生,发生面积2500万亩次,较2011年减少13%;大螟在江南和长江中下游稻区将中等发生,种群呈上升态势。2)水稻病害 稻纹枯病在全国大部将偏重发生,局部大发生,发生面积3亿亩,较2011年增加9%;稻瘟病在西南、华南、江南、长江中下游和东北等常发区将中等流行,西南和东北大部种植感病品种区域存在偏重流行的可能,发生面积8000万亩次,较2011年增加20%;西南南部、华南和江南稻区南方水稻黑条矮缩病,江淮和长江下游稻区水稻条纹叶枯病等水稻病毒病仍有偏重流行的风险,发生面积2000万亩左右。稻曲病、细菌性病害等呈加重发生态势,发生范围和发生面积有所扩大。

2 预测依据

1)病虫害基数 据冬前各地调查,害虫总体基数偏低,与前几年的大发生态势相比,虫源压力有所减轻。其中,二化螟冬前基数东北北部稻区亩虫量一般9300头,较上年减少37%;华南东部、西南东部、江南中西部、长江中游和东北中部稻区亩虫量一般1500~5000头,重庆和安徽略高于上年,其余一般较上年减少15%~25%;其它稻区亩虫量一般500头以下,略低于上年。田间三化螟冬前亩虫量与上年接近,亩虫量一般150~500头,高的900头。大部稻区稻瘟病和稻纹枯病田间菌源广泛存在,具备病害流行的菌源基础。2)水稻品种和栽培条件 我国水稻主栽品种仍以粗秆大穗、优质高产型为主,生长量大、田间郁蔽,易形成适温高湿的田间小气候,有利于水稻病虫害的发生;当前大部水稻品种抗病抗虫性普遍不高,有利于褐飞虱、稻瘟病、水稻病毒病、稻曲病等病虫害的发生与流行。另外,就栽培制度而言,华南、江南、长江中游稻区单、双季稻混栽面积大,栽插期、生育期不整齐,桥梁田多,有利于迁飞性害虫和螟虫的迁移与辗转为害。3)气象条件 据国家气候中心预测,2011年入冬偏晚,且前冬偏暖,对螟虫等害虫越冬比较有利,1月中旬以后,我国气温总体较常年同期偏低,冷暖变化幅度较大,对螟虫越冬会造成一定影响;但华南、西南大部及境外虫源地平均气温同比基本持平,降水同比略偏多,总体大气热量和水分条件对“两迁”害虫越冬比上年有利。2012年春季,境外虫源地中南半岛同比偏暖明显,热量条件有利于虫源生存、取食、繁殖,华南、西南大部地区气温偏高,西南西部降雨量偏多,可能导致“两迁”害虫迁入发生期提前,局部迁入量偏大。另据有关专家分析,2012年夏季江淮中、西部气温偏低,田间热量条件对“两迁”害虫的生存、繁殖十分有利;江南北部、江汉东部和江淮地区在梅雨期多对流性降水,华南东部多台风降水,对“两迁”害虫的迁入和流行性病害的发生十分有利;且2012年登陆我国的台风数多于上年,对害虫迁入和病害流行更为有利。(LX)