

·研究简报·

二异丙基磷酸酯类化合物的合成及杀螺活性

赵青霞^{1a}, 高琼^{1a}, 严相平^{1a,b}, 戴建荣², 刘宇^{1b}, 王浦海^{*1b}

(1. 南京工业大学 a 药学院, b 江苏省药物研究所, 南京 210009;

2 江苏省血吸虫病防治研究所, 江苏 无锡 214064)

摘要: 为了寻找新的高效、低毒灭螺药, 以取代苯乙腈为原料, 经成脞、磷酰化等反应, 制得 9 个新的二异丙基磷酸酯类化合物 (3a ~ 3i), 其结构经元素分析、IR、¹H NMR 和 MS 确证。初步杀螺活性筛选结果表明, 化合物 3b 和 3h 具有显著的杀螺活性, 其半致死浓度 LC₅₀ 值分别为 0.50 mg/L 和 0.35 mg/L。

关键词: 二异丙基磷酸酯; 合成; 钉螺; 杀螺活性

DOI: 10.3969/j.issn.1008-7303.2009.04.16

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2009)04-0499-04

Synthesis and Molluscicidal Activity of Diisopropyl Phosphates

ZHAO Qing-xia^{1a}, GAO Qiong^{1a}, YAN Xiang-ping^{1a,b}, DAIJian-rong²,
LIU Yu^{1b}, WANG Pu-hai^{*1b}

(1a College of Pharmacy, 1b Jiangsu Institute of Materia Medica, Nanjing University of Technology, Nanjing 210009, China;

2 Jiangsu Institute of Schistosomiasis Control, Wuxi 214064, Jiangsu Province, China)

Abstract: In order to search for novel more effective and less toxic molluscicides, nine new diisopropyl phosphates (3a-3i) were synthesized from substituted phenylacetonitriles by oximation and phosphorylation. The new compounds were confirmed by elemental analyses, IR, ¹H NMR and MS. Preliminary biological screening showed that compounds 3b and 3h appeared to have significant molluscicidal activity against *Oncomelania hupensis* snails. The LC₅₀ value of the compounds 3b and 3h against snails were 0.50 mg/L and 0.35 mg/L, respectively.

Key words: diisopropyl phosphate; synthesis; *Oncomelania hupensis* snail; molluscicidal activity

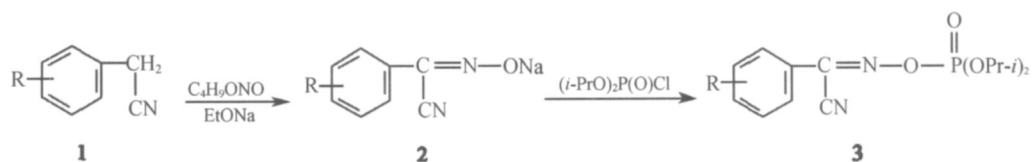
近年来,有机磷酸酯类化合物的杀螺活性受到国内外学者们的关注^[1-6]。某些磷酸酯类化合物在单独使用时具有很高的杀螺活性,有些则可作为杀螺剂的增效剂,可显著增强杀螺剂的活性。磷酸酯类化合物具有高活性、低毒、易降解、低残留、合成原料来源方便等特点。对该类化合物进行深入研究,有助于发现新的高效、低毒杀螺药剂。文献报道^[3-5]了多个含有二异丙基磷酸酯类

化合物对钉螺具有良好的杀灭活性,并推测异丙基可能是此类化合物的活性基团。为探讨此类化合物的构效关系,寻找杀螺活性更高的药物,笔者设计合成了 9 个新的二异丙基磷酸酯化合物 (3a ~ 3i),采用元素分析、IR、¹H NMR、MS 等波谱方法对所合成的化合物进行了结构表征,并进行了初步的杀螺活性测试。

化合物的合成路线如下:

收稿日期: 2009-08-18; 修回日期: 2009-11-04.

作者简介: 赵青霞 (1984-), 女, 硕士研究生, 从事药物合成研究, E-mail: bettyzqx@126.com; *通讯作者 (Author for correspondence): 王浦海 (1956-), 男, 研究员, 硕士生导师, 从事药物化学教学与研究, 联系电话: 025-83285230; E-mail: wangpuhai@hotmail.com
基金项目: 江苏省社会发展科技计划项目 (BS2007060).



1 实验部分

1.1 仪器与试剂

2 WAJ型阿贝折光仪; X-4型显微熔点仪(温度未校正); Elementar Vario EL 型元素分析仪; Nicolet 380 FT-IR型红外光谱仪; Bruker AV-500和 AV-300型核磁共振仪(TMS为内标); Micromass GCT型质谱仪。

取代苯乙腈(含量 98.0%) (上海达瑞精细化学有限公司); 薄层层析硅胶 GF 254(青岛海洋化工有限公司); 柱层析硅胶(试剂级, 青岛海洋化工厂分厂); 其他试剂均为市售分析纯。亚硝酸正丁酯^[7]、氯代磷酸二异丙酯^[8]参照文献方法制备。

1.2 目标化合物的合成

1.2.1 取代- - 氰基苯甲酮肟钠(2)的合成

参考文献[5]方法, 于 250 mL 反应瓶中加入无水乙醇 50 mL 和金属钠 2.3 g (0.10 mol), 搅拌反应, 待钠块消失后冰浴冷却至 5℃, 分批加入取代苯乙腈(1, 0.10 mol), 搅拌下(10 min)滴加亚硝酸正丁酯 10.3 g (0.10 mol), 滴毕, 维持 5℃ 继续搅拌 3 h。加入 50 mL 乙醚, 搅拌, 抽滤, 用少量乙醚洗涤滤饼 3~4 次, 干燥得黄色粉末(2)。所有化合物 2 的 m. p. >250℃, 产率在 58%~63% 之间。

1.2.2 O,O-二异丙基-O-(取代- - 氰基苯叉氨基)磷酸酯(3)的合成 参考文献[5]方法, 将化合物 2 (0.03 mol) 悬浮于 20 mL 丙酮中, 冰浴冷却到 5℃, 搅拌下滴加氯代磷酸二异丙酯 6.0 g (0.03 mol), 滴毕, 室温搅拌反应 2~3 h, TLC 检测反应至终点(自制硅胶 GF 254 薄层层析板, 展开剂: 石油醚-乙酸乙酯, 体积比 4:1)。减压浓缩至干, 残留物加水 20 mL, 以乙醚(20 mL ×2)提取, 用质量分数为 1.5% 的氢氧化钠溶液(20 mL ×4)洗涤醚液, 水洗至中性, 无水硫酸钠干燥。蒸去乙醚, 得化合物 3 粗产物。若为液体粗产物, 需经硅胶柱层析精制, 石油醚(60~90℃)乙酸乙酯梯度洗脱; 若为固体粗产物, 则经石油醚(60~90℃)重结晶精制。

1.3 杀螺活性测试

参考戴建荣^[9]及农业部农药登记用杀钉螺剂药效试验方法^[10]进行室内杀螺活性测试。

1.3.1 钉螺的选择 湖北钉螺 *Oncomelania hupensis* 采集于镇江市丹徒有螺江滩。以群体逸蚴法剔除感染性钉螺, 经室内饲养数天后, 选取螺龄相仿(7~8 旋)的成年螺, 随机分组进行杀螺活性试验。

1.3.2 药液配制 称取样品 100 mg, 加入约 1 mL DMSO 搅拌溶解, 再加 0.5 mL 吐温-80, 搅拌均匀, 加入少量去氯水, 搅拌均匀, 用去氯水稀释至 1 000 mL, 得质量浓度为 100 mg/L 的药液。量取该药液 80 mL, 稀释至 1 000 mL, 即为质量浓度为 8 mg/L 的药液, 再按倍比稀释方法配制质量浓度分别为 4、2、1、0.5、0.25、0.125 mg/L 的药液供试。

以五氯苯酚钠 (NaPCP) 作为阳性对照药物, 称样后直接加水溶解、稀释至各浓度。

1.3.3 杀螺试验 每 100 mL 烧杯内放置 10 只钉螺, 烧杯上沿内置一纱网, 防止钉螺上爬。每杯中加入不同浓度药液 100 mL, 将其置于恒温箱(25℃, RH 63%) 中。24 h 时, 取出烧杯, 倾去药液, 先用去氯水冲洗钉螺数次, 再用去氯水浸泡 1 h, 室温放置 48 h, 用敲击法观察统计钉螺死亡情况。

半致死浓度 (LC₅₀) 由公式 $LC_{50} = \lg^{-1} \left(\frac{p_{i+1} + p_i}{x_{i+1} + x_i} \right) / 2$ 计算得到^[11]。式中: p_i 为第 i 项钉螺的死亡率; p_{i+1} 为第 $i+1$ 项钉螺的死亡率, 用小数表示; x_i 为第 i 项药液的质量浓度 (mg/L); x_{i+1} 为第 $i+1$ 项药液的质量浓度。

2 结果与讨论

2.1 理化性质及波谱分析

利用元素分析、¹H NMR、IR 及 MS 等波谱技术对目标化合物 3a~3i 进行了结构表征。理化性质及元素分析数据见表 1; ¹H NMR、IR 及 MS 数据见表 2。

表 1 化合物 3a~3i 的理化性质及元素分析数据

Table 1 Physical and elemental analytical data of compounds 3a-3i

化合物 Compds	取代基 R	性状 Character	熔点或折光率 m. p. or n_D^{20}	收率 Yield/%	分子式 Formula	元素分析 (计算值) Elemental analysis (Calcd.) /%		
						C	H	N
3a	4-F	浅黄色油 Light yellow oil	1.4922	75.7	C ₁₄ H ₁₈ FN ₂ O ₄ P	51.52 (51.22)	5.78 (5.53)	8.96 (8.53)
3b	2-Br	白色晶体 White crystal	44~45	73.7	C ₁₄ H ₁₈ BN ₂ O ₄ P	43.26 (43.21)	4.52 (4.66)	7.24 (7.20)
3c	3-Br	浅黄色油 Light yellow oil	1.5204	77.3	C ₁₄ H ₁₈ BN ₂ O ₄ P	43.57 (43.21)	4.96 (4.66)	7.68 (7.20)
3d	4-Br	白色晶体 White crystal	65~66	83.5	C ₁₄ H ₁₈ BN ₂ O ₄ P	42.92 (43.21)	4.56 (4.66)	6.97 (7.20)
3e	4-CH ₃	白色晶体 White crystal	47~48	80.2	C ₁₅ H ₂₁ N ₂ O ₄ P	55.81 (55.55)	6.66 (6.53)	8.50 (8.64)
3f	4-OCH ₃	浅黄色油 Light yellow oil	1.5118	76.5	C ₁₅ H ₂₁ N ₂ O ₅ P	52.69 (52.94)	6.29 (6.22)	8.15 (8.23)
3g	3-CF ₃	浅黄色油 Light yellow oil	1.4687	92.8	C ₁₅ H ₁₈ F ₃ N ₂ O ₄ P	47.19 (47.63)	5.23 (4.80)	7.81 (7.41)
3h	2-F, 4-F	浅黄色油 Light yellow oil	1.4832	89.6	C ₁₄ H ₁₇ F ₂ N ₂ O ₄ P	48.44 (48.56)	5.00 (4.95)	8.52 (8.09)
3i	2-F, 4-Cl	浅黄色油 Light yellow oil	1.5072	98.9	C ₁₄ H ₁₇ ClFN ₂ O ₄ P	46.20 (46.36)	4.92 (4.72)	7.92 (7.72)

表 2 化合物 3a~3i 的 ¹H NMR, IR 及 MS 数据Table 2 ¹H NMR, IR and MS data of compounds 3a-3i

化合物 Compds	¹ H NMR (CDCl ₃),	IR (KB r), max/cm ⁻¹	MS, m/z (%)
3a	1.41~1.43 (m, 12H, CH ₃), 4.83~4.92 (m, 2H, CH), 7.17~7.22 (m, 2H, ArH), 7.90~7.93 (m, 2H, ArH)	2 237, 1 601, 1 291, 1 013, 945	328.1 (M ⁺ , 0.01), 147.0 (100.00)
3b	1.40~1.43 (m, 12H, CH ₃), 4.82~4.93 (m, 2H, CH), 7.40~7.44 (m, 2H, ArH), 7.52~7.56 (m, 1H, ArH), 7.68~7.72 (m, 1H, ArH)	2 230, 1 586, 1 279, 1 012, 928	
3c	1.41~1.44 (m, 12H, CH ₃), 4.83~4.93 (m, 2H, CH), 7.39 (t, 1H, J = 8.0 Hz, ArH), 7.70 (d, br, 1H, J = 8.0 Hz, ArH), 7.82 (d, br, 1H, J = 8.0 Hz, ArH), 8.04 (s, br, 1H, ArH)	2 236, 1 582, 1 291, 1 014, 952	
3d	1.40~1.43 (m, 12H, CH ₃), 4.82~4.9 (m, 2H, CH), 7.62~7.65 (m, 2H, ArH), 7.75~7.78 (m, 2H, ArH)	2 234, 1 587, 1 279, 1 010, 945	
3e	1.41~1.43 (m, 12H, CH ₃), 2.42 (s, 3H, p-CH ₃), 4.83~4.90 (m, 2H, CH), 7.29 (d, 2H, J = 8.5 Hz, ArH), 7.78 (d, 2H, J = 8.5 Hz, ArH)	2 237, 1 611, 1 291, 1 013, 940	324.1 (M ⁺ , 0.01), 143.1 (2.12), 117.0 (100.00)
3f	1.41~1.42 (m, 12H, CH ₃), 3.88 (s, 3H, OCH ₃), 4.84~4.90 (m, 2H, CH), 6.98 (d, 2H, J = 8.9 Hz, ArH), 7.83 (d, 2H, J = 8.9 Hz, ArH)	2 237, 1 607, 1 264, 1 015, 935	340.1 (M ⁺ , 0.19), 133.1 (100.00)
3g	1.41~1.45 (m, 12H, CH ₃), 4.83~4.94 (m, 2H, CH), 7.67 (t, 1H, J = 8.0 Hz, ArH), 7.84 (d, br, 1H, J = 8.0 Hz, ArH), 8.10 (d, br, 1H, J = 8.0 Hz, ArH), 8.15 (s, br, 1H, ArH)	2 237, 1 616, 1 275, 1 016, 954	
3h	1.41~1.43 (m, 12H, CH ₃), 4.85~4.91 (m, 2H, CH), 6.97~7.05 (m, 2H, ArH), 7.77~7.82 (m, 1H, ArH)	2 237, 1 614, 1 292, 1 015, 940	
3i	1.41~1.43 (m, 12H, CH ₃), 4.84~4.92 (m, 2H, CH), 7.26~7.29 (m, 2H, ArH), 7.72~7.75 (m, 1H, ArH)	2 236, 1 608, 1 290, 1 015, 945	

2.2 杀螺活性

目标化合物的室内浸泡杀螺试验 (24 h) 结果 (见表 3) 表明, 化合物 3b 和 3h 具有很好的杀螺活性, 其 LC₅₀ 值分别为 0.50 和 0.35 mg/L, 活性皆明显超过对照药剂五氯苯酚钠 (LC₅₀ 值 0.93 mg/L), 化合物 3a 的活性与对照相近。

2.3 讨论

钉螺是日本血吸虫唯一中间宿主。消灭钉螺

可阻断血吸虫病的传播。化学药物灭螺是控制钉螺的最有效措施之一。曾广泛使用的杀螺剂五氯苯酚钠因其对非靶生物毒性大、环境污染严重, 现已停止使用。氯硝柳胺是世界卫生组织推荐使用的灭螺药, 但其水溶性差、对鱼毒性大, 影响其大范围使用。目前在血吸虫病防治工作中仍缺乏高效、低毒、施用方便的灭螺药物。

表 3 目标化合物浸泡杀螺试验结果 (24 h)

Table 3 Molluscicidal activity of title compounds against *Oncmelania hupensis* snails by immersion for 24 h

化合物 Comps	不同质量浓度下钉螺死亡率 Mortality rate of snails in different concentrations/%							LC ₅₀ / (mg/L)
	8.0 mg/L	4.0 mg/L	2.0 mg/L	1.0 mg/L	0.5 mg/L	0.25 mg/L	0.125 mg/L	
3a	100	100	70	50	20	0	0	1.07
3b	100	100	90	80	50	20	10	0.50
3c	100	80	50	20	0	0	0	2.00
3d	90	90	50	40	10	0	0	1.57
3e	60	10	0	0	0	0	0	6.06
3f	50	20	20	10	10	0	0	4.44
3g	100	100	40	20	0	0	0	1.87
3h	100	100	100	100	70	30	0	0.35
3i	30	30	30	30	20	10	0	3.14
NaPCP	100	100	80	50	30	0	0	0.93

本文报道的二异丙基磷酸酯具有较高的杀螺活性,印证了文献[5]中提及的异丙基可能是此类化合物杀螺活性基团的说法。因本文化化合物的样本数较少,尚难对此类化合物中苯环上连有不同取代基的构效关系进行系统地分析。初步筛选结果提示:苯环上卤素取代物的杀螺活性高于烷基、烷氧基取代物(如4-氟或4-溴取代物3a、3d)的活性高于4-甲基、4-甲氧基3e、3f;邻位卤代物具有较高的活性(如邻位溴代物3b)的杀螺活性优于间位3c或对位溴代物3d),与文献[5]报道的邻位氯代物高于对位氯代物的规律一致;氟的导入有利于提高杀螺活性(如对氟取代物的活性高于对溴取代物,2,4-二氟取代物3h)的活性高于2-氟-4-氯取代物3i)。上述粗浅的规律,可以为深入研究此类化合物的杀螺活性提供借鉴。

尚需对初筛有效的二异丙基磷酸酯化合物进行复筛,进一步确认其杀螺活性,对非靶生物的毒性等问题进行进一步的研究,为开发出可应用于现场灭螺的高效、低毒杀螺剂打下基础。

致谢:东南大学化学化工学院 2006届学生汪浩、辽宁医学院药学院 2006届学生程克纪及南京工业大学制药与生命科学学院 2008届学生陶建平参加部分实验工作。

参考文献:

- [1] STEN R G, COUCH T L, CROVETTI A J. Molluscicide Compositions and Methods of Use [P]. US 4238484, 1980-12-09.
- [2] SUNAO K, TSUGIO U. Agent for Extenuation of Jumbo

Mud-snail: JP62246503 [P]. 1987-10-27.

- [3] WANG Su-wan (王苏皖), WANG Rui (王锐), PENG Si-xun (彭司勋). 灭螺增效剂的合成 [J]. Acta Pharm Sinica (药学报), 1992, 27(4): 261 - 267.
- [4] WANG Rui (王锐), HU Jia-xin (胡家欣), JIN Guang-wei (经纬纬), et al 灭螺新药 ML-90002的研究 [J]. Chin J Schisto Control (中国血吸虫病防治杂志), 1996, 8(2): 91 - 92.
- [5] WANG Pu-hai (王浦海), WANG Rui (王锐), DAI Jian-rong (戴建荣), et al O,O-二烷基-O-(5取代苯乙晴基)磷酸酯及硫代磷酸酯的合成及对氯硝柳胺的灭螺增效作用 [J]. Acta Pharm Sinica (药学报), 1996, 31(12): 918 - 924.
- [6] DAI Jian-rong (戴建荣), WU Zhong-xing (吴中兴), ZHANG Yan-ping (张燕萍), et al 膦基磷酸酯类化合物及与氯硝柳胺复方增效的杀螺研究 [J]. Chin J Schisto Control (中国血吸虫病防治杂志), 1997, 9(1): 1 - 4.
- [7] YANG Ming-hua (杨明华), GONG Chu-ru (龚楚儒), JIN Chuan-ming (金传明), et al 三氮烯试剂合成的新方法 [J]. Chem World (化学世界), 1998, 39(9): 478 - 479.
- [8] HAN Guang-dian (韩广甸), ZHAO Shu-wei (赵树伟), LI Shu-wen (李述文), et al Preparation Manual of Organic Chemistry (有机制备化学手册:上卷) [M]. Beijing (北京): Petroleum Chemical Industry Press (石油化学工业出版社), 1977: 148.
- [9] DAI Jian-rong (戴建荣). 室内筛选杀螺剂方法标准化的思考 [J]. Chin J Schistos Control (中国血吸虫病防治杂志), 2004, 16(2): 160.
- [10] NY/T 1617 - 2008. 农药登记用杀钉螺剂药效试验方法和评价 [S]. Beijing (北京): China Agriculture Press (中国农业出版社), 2008.
- [11] DAI J R, WANG W, LIANG Y S, et al A Novel Molluscicidal Formulation of Niclosamide [J]. Parasitol Res, 2008, 103: 405 - 412.

(Ed. JIN S H)