

环氧虫啉的晶体结构及其杀虫活性

巨修练¹, 胡福临¹, 王均震², 李黎³, 李水清³

(1. 武汉工程大学化工与制药学院, 教育部绿色化工过程重点实验室, 湖北 武汉 430074;

2. 武汉信佳和诚药物化学有限公司, 湖北 武汉 430075;

3. 武汉中鑫化工有限公司, 湖北 武汉 430200)

摘要:新烟碱类杀虫剂环氧虫啉由武汉工程大学和武汉中鑫化工有限公司联合研制. 为了促进环氧虫啉的开发及应用, 采用一步合成法, 将环氧氯丙烷与 2-硝基亚氨基咪唑烷合成环氧虫啉. 环氧虫啉纯化后, 通过挥发法培养得到环氧虫啉单晶, 并用核磁共振氢谱、质谱、元素分析和 X-射线单晶衍射等手段进行表征. 最后, 对环氧虫啉的杀虫活性进行室内毒力测试. 单晶衍射结果表明, 杀虫剂环氧虫啉属于三斜晶系、P-1 空间群. 室内毒力测定结果表明, 环氧虫啉对甘蓝蚜虫的 LC_{50} 为 0.044 g/mL, 以吡虫啉为标准, 环氧虫啉的相对毒力指数为 1.2. 新烟碱类杀虫剂环氧虫啉杀虫活性高, 具有较好的应用价值.

关键词:新烟碱类; 晶体结构; 单晶衍射

中图分类号: O621.4

文献标识码: A

doi: 10.3969/j.issn.1674-2869.2013.12.004

0 引言

以吡虫啉为代表的选择性作用于昆虫神经系统烟碱乙酰胆碱受体的新烟碱类杀虫剂, 具有极高的杀虫活性和光稳定性, 因而迅速获得市场的青睐, 在较短的时间内占据全球农药市场的三成份额^[1]. 随着新烟碱类杀虫剂的广泛应用, 不可避免的出现了害虫抗药性和交互抗性^[2-3], 甚至有报道新烟碱类种子处理剂的使用, 导致蜜蜂的大量死亡^[4-5]. 为了解决这一难题, 更好地了解新烟碱类杀虫剂的杀虫机理和作用方式, 创新出更加高效低毒的新烟碱类农药, 各国科学家对新烟碱类化合物从分子设计、作用方式、构效关系等方面做出了大量研究^[6-9].

中国作为一个传统的农业大国, 据统计, 需要防治 1648 种农业害虫^[10], 对农药的需求量巨大. 随着时代的发展, 农业对高效低毒农药的需求与日俱增, 使人们对新烟碱类杀虫剂研究更感兴趣. 在国家“973”和“863”等项目的支持下, 与新烟碱类化合物相关的研究, 取得了巨大的进步和创新, 不仅在目前普遍使用的新烟碱类农药上进行工艺改进, 还研究出拥有自主知识产权的新一代农药, 即将或已经取得生产许可证^[11], 如图 1 所示.

环氧虫啉为武汉工程大学与武汉中鑫化工有限公司合作研制的具有自主知识产权的新烟碱类农药, 经田间药效试验^[12]证明, 其具有较好的害虫防治效果. 为了更好的研究推广环氧虫啉, 在实验室工作的基础上, 合成环氧虫啉, 并进行单晶衍射和杀虫活性测试.

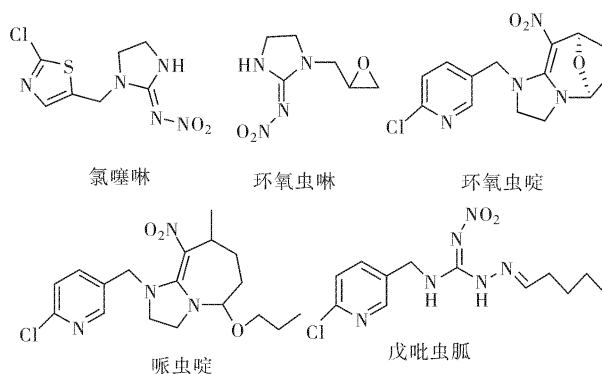


图 1 在中国正在商业化的新烟碱类农药

Fig. 1 Commercializing neonicotinoids in China

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

环氧氯丙烷、乙腈、碳酸钾、甲醇、二氯甲烷均来自国药集团化学试剂有限公司, 分析纯. 2-硝基亚氨基咪唑烷(化学纯, 江苏常农化工有限公司)

收稿日期: 2013-09-02

基金项目: 武汉市科技攻关项目(201020622248)

作者简介: 巨修练(1959-), 男, 陕西乾县人, 教授, 博士, 博士研究生导师. 研究方向: 计算机药物辅助设计、新农药研发、生物活性测试.

Bruker D KX 400 核磁共振仪, Smart CCD-X 射线衍射仪, TRACEMS 2000 色谱-质谱联用仪, Vario 公司 EL III 型元素分析仪。

1.2 环氧虫啉的合成

500 mL 四口烧瓶中依次加入 250 mL 乙腈, 一定量的 2-硝基亚氨基咪唑烷, 碳酸钾, 持续搅拌, 加热升温。待温度升至 65~75 °C, 滴加适量的环氧氯丙烷。反应 3~5 h, 冷却至 50 °C, 过滤, 滤液旋蒸, 溶剂回收, 得到固体以 300 mL 二氯甲烷, 50 mL 蒸馏水分三次萃取, 有机层合并旋蒸, 固体用甲醇重结晶。第二天过滤, 干燥, 得白色粉末固体, 收率 60%, 合成路线如图 2。¹H-NMR(CDCl₃, 400 MHz): δ (化学位移): 2.55(s, 1H), 2.81(s, 1H), 2.98~3.04(q, J=24 Hz, 1H), 3.14(s, 1H), 3.66~3.69(t, J=12 Hz, 1H), 3.79-3.82(d, J=12 Hz, 3H), 4.04~4.07(d, J=12 Hz, 1H), 8.20(s, 1H)。MS m/z (%): 186(M⁺, 26), 154(59), 131(100), 129(4), 117(49); Anal. calcd for C₆H₁₀N₄O₃: C 38.71, H 5.41, N 30.09; found C 38.54, H 5.62, N 29.87。

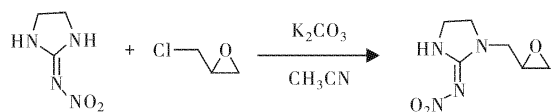


图 2 环氧虫啉合成路线

Fig. 2 Synthesis of huanyangchonglin

1.3 晶体结构测定

以二氯甲烷为洗脱剂, 以硅胶为固定相, 对环氧虫啉进行柱层析, 旋蒸二氯甲烷, 得白色固体, 再以甲醇重结晶, 过滤、干燥, 固体溶于二氯甲烷/甲苯, 采用溶剂挥发法培养单晶。选取大小为 0.20×0.10×0.10 mm³ 的单晶, 在 Smart CCD-X 射线衍射仪, 使用 Mo K α 射线($\lambda=0.71073$ nm) 作为入射辐射, 在 296(2) K 下, 1.58°< θ <26.00° 范围内($h:-9\sim9$; $K:-10\sim10$; $I:-14\sim16$), 以 $\omega/2\theta$ 的扫描方式, 共收集到 3 433 个独立衍射点, 化合物环氧虫啉的结构采用直接法解出, 全部非氢原子坐标及各向异性热参数经最小二乘法修正, 所有计算用 SHEL XS-97 程序进行。最终偏离因子 $R_1=0.0567$ 。

1.4 杀虫活性测试

以 98.3% 环氧虫啉原药为供试药剂, 95.3% 吡虫啉原药为对照试剂, 将一定量的原药用 DMSO 溶解, 然后用水稀释为 5 个百分浓度梯度, 每个百分浓度为 1 处理, 每处理 30 头甘蓝蚜虫, 4 次重复,

以清水处理为对照。每片叶片上存留 30 头生长发育一致的甘蓝蚜虫无翅蚜, 叶片浸入药液中, 停留 5 s, 取出, 多余药液用滤纸吸干, 放入培养皿中, 在室温(26±1) °C 的培养室中培养。48 h 后调查, 以毛笔轻触虫体不动为死亡, 计算死亡率。

2 结果与讨论

2.1 合成分析

采用一步法由 2-硝基亚氨基咪唑烷与环氧氯丙烷合成环氧虫啉。反应溶剂采用乙腈, 重结晶过程以甲醇替换丁酮, 同实验室前期合成路线^[13]相比, 一次性收率提高到 60%, 产品纯度提高到 95%。在纯化过程中, 以二氯甲烷替代乙酸乙酯, 纯化效果更加明显。

2.2 晶体结构分析

X-射线衍射实验表明, 化合物环氧虫啉的晶体组成为 C₁₂H₂₀N₈O₆ (见图 3), 属于三斜晶系, P-1 空间群, 晶胞参数 $a=0.78878(13)$ nm, $b=0.84589(14)$ nm, $c=1.3059(2)$ nm; $\alpha=86.703(2)^\circ$, $\beta=80.665(2)^\circ$, $\gamma=86.013(2)^\circ$; $V=0.8568(2)$ nm³, $Z=2$, $D_c=1.443$ g/cm³, $F(000)=392$, $GOF=1.042$, $R(int)=0.0224$, 晶体数据和结构参数列于表 1。

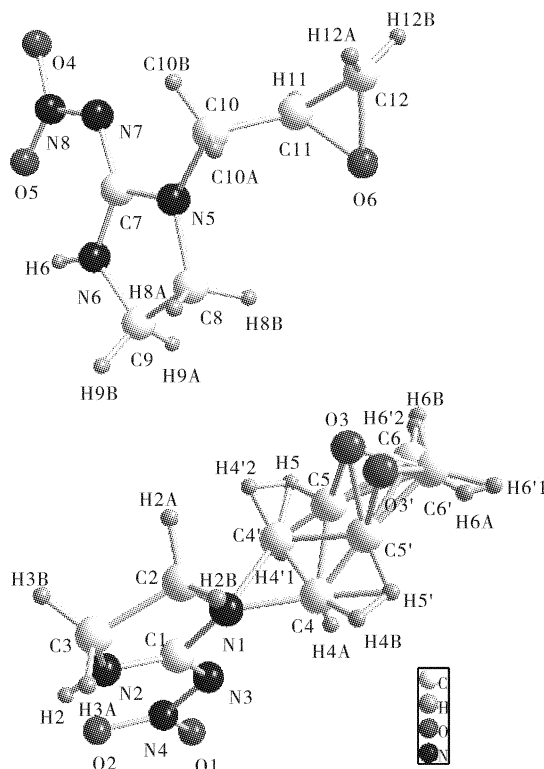


图 3 化合物环氧虫啉的分子结构示意图

Fig. 3 The molecular structure of huanyangchonglin

表 1 环氧虫啉的晶体数据和结构参数

Table 1 Crystal data and structure parameters of huanyangchonglin

经验式	C ₁₂ H ₂₀ N ₈ O ₆	Z	2
分子量	372.36	Density (calculated)	1.443 mg/m ³
温度	296(2) K	Absorption coefficient	0.117 mm ⁻¹
波长	0.071 0 nm	F(000)	392
品系	Triclinic	Crystal size	0.20×0.10×0.10 mm ³
空间群	P-1	Theta range for data collection	1.58~26.00°
a	0.788 78(13)nm	Index ranges	-9<= <i>h</i> <=9, -10<= <i>k</i> <=10, -14<= <i>l</i> <=16
b	0.845 89(14)nm	Reflections collected	6 523
c	1.305 9(2)nm	Independent reflections	3 343 [R(int)=0.022 4]
α	86.703(2)°	Data / restraints / parameters	3 343/10/273
β	80.665(2)°	Goodness-of-fit on F ²	1.042
γ	86.013(2)°	Final R indices [I>2sigma(I)]	R1=0.056 7, wR2=0.172 7
体积	85.68(2)nm	R indices (all data)	R1=0.065 1, wR2=0.184 7

由 X-RAY 晶体结构图中可知,环氧虫啉是一个手性化合物,以外消旋体存在,手性 C 原子为四面体 SP³ 杂化,分别与两个碳原子、一个氧原子和一个氢原子形成四面体.对于两个构型的化合物的键长(nm),亚甲基 C—H 键长均 0.097,手性碳上 C—H 键长均为 0.098,其余部分键长分别为 C(5)—C(6)=0.143 3(7),C(5)—O(3)=1.406 (7),C(5)—C(4)=0.148 0(6),C(5)—H(5)=0.098,C(5′)—O(3′)=0.140 3(11);部分键角(°)分别为 O(3)—C(5)—C(6)=59.6(4),O(3)—C(5)—C(4)=118.2(5),C(6)—C(5)—C(4)=124.4(6),O(3′)—C(5′)—C(6′)=60.7(6),O(3′)—C(5′)—C(4′)=116.0(7),C(C(6′)—C(5′)—H(5′)=112.9;整个分子采用折叠型的

构型,其部分扭转角(°)分别为:N(1)—C(2)—C(3)—N(2)=−7.9(3),N(1)—C(4)—C(5)—O(3)=84.9(5),N(1)—C(4)—C(5)—C(6)=155.7(5),C(4)—C(5)—C(6)—O(3)=−105.2(7),C(4)—C(5)—O(3)—C(6)=115.4(7);部分键长和键角列于表 2、表 3,氢键作用力见图 4.

表 2 环氧虫啉的部分键长

Table 2 Selected bond length of huanyangchonglin

键	键长/nm	键	键长/nm
C(1)—N(2)	0.130 5(3)	C(7)—N(5)	0.133 6(3)
C(1)—N(1)	0.133 1(3)	C(7)—N(7)	0.134 5(2)
C(5′)—C(6′)	0.143 4(10)	N(8)—O(4)	0.123 4(2)
C(7)—N(6)	0.131 9(2)	N(6)—H(6)	0.086 00

表 3 环氧虫啉的部分键角

Table 3 Selected angel of huanyangchonglin

全键	键角/(°)	键	键角/(°)
N(2)—C(1)—N(1)	110.13(18)	C(5)—O(3)—C(6)	61.2(4)
N(2)—C(1)—N(3)	132.90(18)	C(5′)—C(4′)—N(1)	107.0(5)
C(6)—C(5)—C(4)	124.4(6)	N(5)—C(7)—N(7)	117.25(17)
O(3)—C(6)—C(5)	59.2(4)	N(5)—C(8)—C(9)	103.43(17)

从图 4 可知,该化合物分子内和分子间存在氢键作用,主要为氮原子上氢与相邻氧原子和氮原子间的作用. Z=2,计算得知该化合物密度为1.443 g/cm³.

2.3 杀虫活性测试分析

根据处理的总虫数和死虫数计算死亡率,以

空白对照死亡率按照 Abbott 公式计算校正死亡率,用 DPS 软件求出各供试药样的毒力回归线及 LC₅₀,以 95.3%吡虫啉原药为标准对照药剂,计算环氧虫啉的相对毒力指数,比较两种药剂对甘蓝蚜虫的活性差异.结果列于表 4,从表中可知环氧虫啉对甘蓝蚜虫的室内生物活性优于吡虫啉.

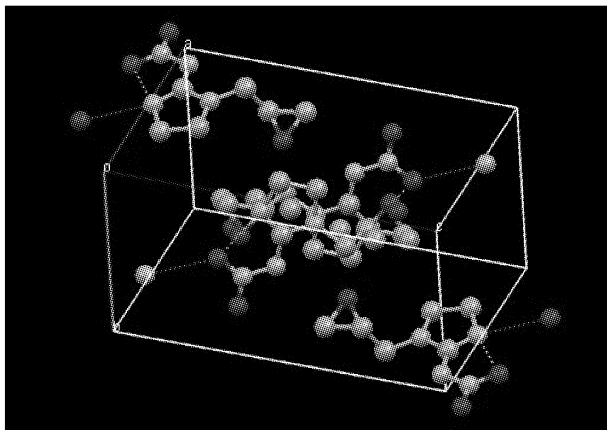


图 4 环氧虫啉的氢键

Fig. 4 Hydrogen bonds of huanyangchonglin

表 4 环氧虫啉和吡虫啉对甘蓝蚜虫的杀虫活性

Table 4 Insecticidal activities of huanyangchonglin and imidacloprid against *Brevicoryne brassicae*

药剂	独立回归式	LC ₅₀ /(ug/mL)	相关系数	相对毒力指数
环氧虫啉	Y=8.11+2.30X	0.044(0.035~0.058)	0.999	1.2
吡虫啉	Y=7.52+1.97X	0.053(0.040~0.074)	0.988	1.0

3 结 语

本研究介绍了新烟碱类化合物环氧虫啉的一种合成方法,并得到以外消旋体形式存在的环氧虫啉晶体.通过单晶衍射方法,得到消旋环氧虫啉的晶体结构数据,并进一步研究环氧虫啉的杀虫活性.结果表明,环氧虫啉的合成工艺成熟、室内对甘蓝蚜虫的杀虫活性高,具有较好的应用前景.

致 谢

本研究得到武汉市科技局资助;活性测定在华中农业大学王末教授课题组实验室中完成,在此一并表示感谢!

参考文献:

[1] Peter J,Ralf N,Michael S,et al. Overview of the Status and Global Strategy for Neonicotinoids[J]. J. Agric. Food Chem. 2011,59,2897-2908.

[2] Mota-Sanchez D,R M Hollingworth,Grafius E J,et al. Resistance and cross-resistance to neonicotinoid insecticides and spinosad in the colorado potato beetle,leptinotarsa decemlineata (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) [J]. Pest Manage Sci,2006,62:30-37.

[3] Gorman K,Devine G,Bennison J,et al. Report of resistance to the neonicotinoid insecticide imidacloprid in trialeurodes vaporariorum (Hemiptera: Aleyrodidae)[J]. Pest Manage Sci,2007,63:555-558.

[4] Neumann P,Carreck N L. Honey bee colony losses [J]. J Apic Res,2010,49:1-6.

[5] Tapparo A,Marton D,Giorio C,et al. Assessment of the environmental exposure of honeybees to particulate matter containing neonicotinoid insecticides coming from corn coated seeds [J]. Environ Sci Technol,2012,46:2592-2599.

[6] Tomizawa M,Casida J E. Molecular recognition of neonicotinoid insecticides: The determinants of life or death[J]. Accounts of chemical research, 2009 (2):260-269.

[7] Ohno I,Naruse Y,Casida J E,et al. Molecular features of neonicotinoid pharmacophore variants interacting with the insect nicotinic receptor[J]. Chem Rws Toxicol,2009,22:476-482.

[8] Ohno I,Tomizawa M,Aoshima A,et al. Trifluoroacetyl neonicotinoid insecticides with enhanced hydrophobicity and effectiveness [J]. J Agric Food Chem,2010,58:4999-5003.

[9] Akamatsu M. Importance of physicochemical properties for the design of new pesticides[J]. J Agric Food Chem,2011,59:2909-2917.

[10] ZHANG Wen-jun,JIANG Fu-bin,OU Jian-feng. Global pesticide consumption and pollution: with China as a focus[J]. Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences,2011(1):125-144.

[11] SHAO Xu-sheng,LIU Ze-wen,XU Xiao-yong,et al. Overall status of neonicotinoid insecticides in China:production,application and innovation[J]. J Pestic Sci,2013,38:1-9.

[12] 李黎,巨修练. 绿色农药环氧啉的开发及应用[J].

- 中国农药,2009,115(5):5-6.
- LI Li, JU Xiu-lian. Development and application of green pesticide huanyanglin[J]. Journal of China Agrochemicals, 2009, 115(5): 5-6.
- [13] 卢伦, 巨修练, 葛艳丽, 等. 吡虫啉衍生物的合成[J]. 合成化学, 2009, 17(1): 84-87.
- LU Lun, JU Xiu-lian, GE Yan-li, et al. Synthesis of imidacloprid derivatives [J]. Chinese Journal of Synthetic Chemistry, 2009, 17(1): 84-87.

Crystal structure and insecticidal activity of huanyangchonglin

JU Xiu-lian¹, HU Fu-lin¹, WANG Jun-zhen², LI Li³, LI Shui-qing³

- (1. Key laboratory for Green Chemical Process of Ministry of Education, School of Chemical Engineering and Pharmacy, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430074, China;
2. Wuhan Synchallenge Unipharm Inc., Ltd., Wuhan 430075, China;
3. Wuhan Zhongxin Chemical Co. Ltd., Wuhan 430200, China)

Abstract: Huanyangchonglin was invented by Wuhan Institute Technology and Wuhan Zhongxin Chemical Co. Ltd.. To promote the development and application, huanyangchonglin was synthesized in one pot via the reaction of epichlorohydrin and 2-nitroaminoimidazolidine and its single crystal was made by the methods of purification and evolution. The structure of huanyangchonglin was characterized by elemental analysis, nuclear magnetic resonance spectrum, mass spectrometry and X-ray diffraction patterns. Huanyangchonglin belongs to triclinic, and its space group is P-1. Insecticidal test shows that the LC_{50} of huanyangchonglin is 0.044 g/mL against *brevicoryne brassicae* linn in vitro and the toxicity index of it is 1.2 compared with imidacloprid. Huanyangchonglin has good application value with high insecticidal activity against *brevicoryne brassicae* linn in vitro.

Key words: neonicotinoids; crystal structure; X-ray diffraction

本文编辑:张 瑞