

研究开发

三唑类杀菌剂的合成工艺及其抑菌性评价

李靖¹, 刘幸平¹, 程康华², 翟炜², 崔爱玲², 燕乐乐¹

(1. 南京中医药大学药学院, 江苏南京 210046; 2. 南京林业大学化学工程学院, 江苏南京 210037)

摘要: 三唑类杀菌剂在木材保护中有很大的应用潜力,为了开发一种合成路线短、三唑类杀菌剂——1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-叔丁基-3-(4-氯苯氧基)-2-丙醇,探讨原料配比、反应温度和反应时间,对目标化合物产品收率的影响,并检测其抑菌性。结果表明,依据试验得出的优化工艺,合成的目标化合物收率高达62%,目标化合物对所选霉菌和木腐菌均有一定的抑制效果。

关键词: 三唑类化合物; 合成工艺; 抑菌性

中图分类号: S782.33

文献标识码: A

文章编号: 1001-8654(2013)03-0021-04

Synthesis Process and Bacteriostasis of Triazole Compound

LI Jing¹, LIU Xing-ping¹, CHENG Kang-hua², ZHAI Wei², CUI Ai-ling², YAN Le-le¹

(1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, Jiangsu, China;

2. College of Chemical Engineering, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, Jiangsu, China)

Abstract: Triazole fungicide has demonstrated a great potential in wood preservation. In order to develop a short synthetic route of triazole fungicides—1-(1H-1,2,4-triazole-1-yl)-2-tert-butyl-3-(4-chlorophenoxy)-2-propanol, the authors investigated the effects of molar ratio, reaction temperature, and reaction time on the yield of the target compound and evaluated its bacteriostasis. The result showed that the yield of the target compound was about 62%, under the mole ratio of 1-(2-tert-butyl-2,3-epoxypropyl)-1H-1,4-trichlorobenzene triazole methane sulfonate to p-chlorophenol to sodium hydride 1:1.2:1.38, temperature 60 °C for 6 h. The target compound also showed promising inhibitory effect on the selected mold and wood-rotting fungi.

Key words: triazole compound; synthesis process; bacteriostasis

三唑类杀菌剂属于麦角甾醇抑制剂,具有广谱、高效、低毒等特点,因其对担子菌、半知菌等具有很好的防治效果,因此在木材保护中有很大的应用潜力^[1-2]。目前,木材防腐中使用的三唑类杀菌剂主要有:戊唑醇(Tebuconazole)、丙环唑(Propiconazole)和环丙唑醇(Cyproconazole)^[3-4],品种较少,限制了三唑类杀菌剂在该领域的进一步推广。

研究发现,1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-叔丁基-3-(4-氯苯氧基)-2-丙醇与戊唑醇的结构类似,且合成路线短^[5-6]。根据文献报道,1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-叔丁基-3-(4-氯苯氧基)-2-丙醇的开环反应条件主要有:1)强碱法^[7-9]:例如以乙醇钠或乙醇作为反应原料,此工艺要求先制备乙醇钠,操作较繁琐;2)缚酸法^[10-11]:如以碳酸钾或二甲基甲酰胺作为反应原料,此工艺反应温度较高,反应时间亦较长。依据预试验结果,采用强碱氢化钠(NaH),合成1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-叔丁基-3-(4-氯苯氧基)-2-丙醇,有望开发一种新的三唑类木材保护剂。

收稿日期: 2012-09-11; 修改日期: 2013-04-02

基金项目: 林业公益性行业专项“水载型复合有机木材防腐剂的研究与开发”(201104032)。

作者简介: 李靖(1986—),男,南京中医药大学硕士研究生。

通讯作者: 刘幸平,女,南京中医药大学教授。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试剂:1,2,4-三氮唑、一氯频那酮、十六烷基溴化铵、三甲基碘化亚砷、氢氧化钠(60%石蜡油分散体)、对氯苯酚、碳酸钾、乙酸乙酯、四氢呋喃,均为分析纯,均为外购。

高效液相标准品:1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-叔丁基-3-(4-氯苯氧基)-2-丙醇,自制,质量分数约98%。

霉菌:黑曲霉(*Aspergillus niger*)、绿色木霉(*Trichoderma viride*),南京林业大学提供。

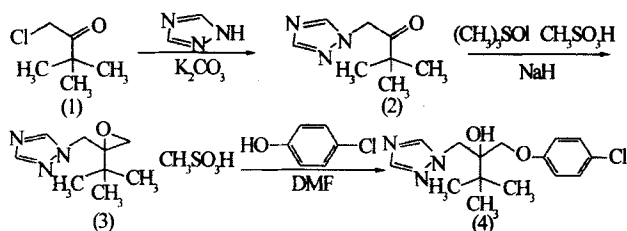
木腐菌:白腐菌:彩绒革盖菌(*Coriolus versicolor*);褐腐菌:密粘褶菌(*Gloeophyllum trabeum*),均由南京林业大学提供。

1.2 试验装置

WRS-1B型数字熔点仪;Bruker VECTOR22型红外光谱仪;Bruker-AvanceAV-500/300型核磁共振仪;Agilent LC/MSD SL型质谱仪(ESI);Agilent 1220型高效液相色谱仪等。

1.3 合成工艺

目标化合物的合成依次经过亲核取代反应、环化反应、开环加成反应,如下式所示。依据前期试验,设定中间体的合成工艺参数。



1.3.1 中间体合成工艺

1) α -三唑基频那酮(2)的合成 将0.1 mol无水碳酸钾、0.12 mol 1,2,4-三氮唑、少量十六烷基溴化铵、60 mL乙酸乙酯,置于三口瓶中搅拌至溶解,逐滴加入0.1 mol一氯频那酮后回流加热,反应3 h。过滤后,先用饱和食盐水洗涤3次,再经无水硫酸钠干燥,过滤除去溶剂后用液苯重结晶。

2) 1-(2-叔丁基-2,3-环氧丙基)-1H-1,2,4-三唑甲烷磺酸盐(3)的合成 在冰浴冷却下,将0.04 mol三甲基碘化亚砷与0.05 mol氢氧化钠置于反应瓶中,在氮气保护下加入30 mL四氢呋喃,搅拌30 min。滴加含有0.04 mol α -三唑基频那酮的20 mL四氢呋喃

喃溶液,搅拌均匀,50 °C条件下反应3 h。反应完毕后过滤、浓缩滤液。加入15 mL饱和食盐水,乙酸乙酯萃取后,用饱和食盐水洗涤一次,再经无水硫酸钠干燥。

1.3.2 目标化合物合成工艺

1) 在冰浴冷却下,将NaH、对氯苯酚置于三颈瓶中,氮气保护下加入12 mL二甲基甲酰胺,充分搅拌。滴加含有化合物(3)的二甲基甲酰胺溶液后,升温至预设温度,反应一定时间(见表1)。

2) 加入乙酸乙酯30 mL,用质量分数10% NaOH溶液、饱和食盐水分别洗涤一次,再用无水硫酸钠干燥。除去溶剂后,粗产品重结晶。

3) 经核磁共振检测和质谱检测,证明该目标化合物确实为1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-叔丁基-3-(4-氯苯氧基)-2-丙醇。

1.4 试验设计

前期探索试验发现,原料配比(以物质的量计)、反应时间和温度,对目标化合物的收率影响较大。因此,采用正交试验法 $L_9(3^4)$,探讨各因素对产品收率的影响^[12],各因素设定水平见表1。

表1 试验因素和水平

Tab. 1 Experimental factors and levels

水平	A n[化合物(3)]: n(对氯苯酚)	B n(对氯苯酚): n(氢氧化钠)	C 时间/h	D 温度/°C
1	1:1.1	1:1.15	3	60
2	1:1.2	1:1.20	4	70
3	1:1.3	1:1.25	5	80

1.5 检测方法

1.5.1 收率

样品收率采用高效液相法测定。称取约50 mg含目标化合物的试样或标准品放入50 mL量瓶中,用甲醇稀释至刻度、摇匀,准确移取此溶液1 mL于10 mL容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,过滤后备用。

色谱条件:色谱柱:ODS-C₁₈, 250 mm×4.6 mm×5 μ m;流动相: $v(\text{甲醇}):v(\text{水})=7:3$;速度1 mL/min;检测波长220 nm;进样量10 μ L,柱温30 °C。

在上述操作条件下,连续注入数针(每针10 μ L)标样溶液,计算各针相对响应值的重复性,待相邻两针的相对响应值变化<1.0%时,按照标样、试样、试样、标样溶液的进样顺序进行分析。

试样中目标化合物的收率(X%)计算:

$$X\% = A_2 \times m_1 \times P / A_1 \times m_2 \quad (1)$$

式中: A_1 —标准溶液中待测组分峰面积, $\text{mV} \cdot \text{min}$; A_2 —试样溶液中待测组分的峰面积, $\text{mV} \cdot \text{min}$; m_1 —标准品质量, g ; m_2 —试样质量, g ; P —标准品进样的质量浓度, $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 。

1.5.2 抑菌性

根据抑菌圈大小及菌体生长情况,判断药液的抑菌效果。抑菌圈直径 $\geq 7 \text{ mm}$, 即对霉菌有抑制作用; 菌种生长直径 $\geq 25 \text{ mm}$, 对木腐菌无抑制作用^[13]。

2 结果与分析

2.1 各因素对目标化合物收率的影响

不同因素和水平下目标化合物的收率见表 2。

表 2 不同因素和水平下目标化合物的收率

Tab. 2 Yield of target compound under different factors and levels

编号	A	B	C	D	收率/%
1	1	1	1	1	36.58
2	1	2	2	2	49.22
3	1	3	3	3	53.18
4	2	1	2	3	54.53
5	2	2	3	1	49.43
6	2	3	1	2	37.08
7	3	1	3	2	52.71
8	3	2	1	3	37.53
9	3	3	2	1	51.82
K_1	46.327	47.940	37.063	45.943	
K_2	47.013	45.393	51.857	46.337	
K_3	47.353	47.360	51.773	48.413	
R	1.026	2.547	14.794	2.470	

注: K_i 表示目标化合物收率各水平效应的估计值。

由表 2 可见, 4 个因素对产品收率影响的顺序为: 反应时间(C) > 对氯苯酚和氢化钠的量比(B) > 反应温度(D) > 化合物(3)和对氯苯酚的量比(A)。该反应为亲核取代反应, 其反应底物的离去性能较差, 为使底物反应完全, 需要保证反应时间, 因此 C 因素对目标化合物收率的影响最为明显。

依据极差分析结果, 同时考虑到生产成本, 确定各因素较优的水平: A_2 、 B_1 、 D_3 。由于 C 因素的极差较大, 故在 A_2 、 B_1 、 D_3 的条件下, 进一步对反应时间进行单因素试验, 结果见表 3。

表 3 反应时间对目标化合物收率的影响

Tab. 3 Effect of reaction time on yield of target compound

反应时间/h	4	5	6	7	8
收率/%	44.73	57.28	62.73	62.47	60.26

表 3 显示, 随着反应时间的延长, 目标产物的收率先大幅增加, 待反应时间 $\geq 6 \text{ h}$ 后, 产物收率有所下降。综合考虑, 确定反应时间为 6 h 较合理。

依据上述检测结果, 较佳的合成方案为: $n[\text{化合物(3)}] : n(\text{对氯苯酚}) : n(\text{氢化钠}) = 1 : 1.2 : 1.38$, 温度 80°C , 反应 6 h。在此工艺条件下, 进行 3 次验证试验, 目标化合物的收率分别为 63.32%、62.53%、61.85%。

2.2 目标化合物的抑菌性

采用较优工艺合成的目标化合物, 其对霉菌和木腐菌的抑制效果见表 4。以戊唑醇为对照药剂^[14-15]。

表 4 目标化合物的抑菌性

Tab. 4 Bacteriostasis of target compound

试剂类型	质量分数/%	抑菌圈直径/mm		菌种生长直径/mm	
		黑曲霉	绿色木霉	彩绒革盖菌	密粘褶菌
目标化合物	0.5	17.6	19.8	24.2	23.6
	1.0	28.9	30.7	—	—
	1.5	37.2	37.2	—	—
戊唑醇	2.0	44.6	45.6	—	—
	0.5	12.6	13.8	19.5	20.2
	1.0	17.7	18.4	—	—
	1.5	21.6	25.9	—	—
	2.0	29.4	32.5	—	—

注: 抑菌圈 d 为 7~10 mm 为弱抑菌性, 10~20 mm 为中等抑菌性, $\geq 20 \text{ mm}$ 为强抑菌性。菌种生长 d 越大, 抑菌性越差; “—”代表未生长。

观察发现, 目标化合物性质稳定, 长期放置无分解现象。从表 4 的数据看出, 目标化合物对霉菌有明显的抑制作用, 且抑制效果优于戊唑醇; 对木腐菌有一定的抑制作用, 但抑菌能力不如戊唑醇。

因为三唑类杀菌剂属于抗真菌类药物, 木腐菌属于真菌, 真菌相对霉菌更难杀灭。与戊唑醇分子结构相比, 目标化合物中氧原子的引入, 影响了整个分子的电位分布, 氧原子共轭与供电子能力并存, 使苯环上的电子云不仅局限于苯环与氯原子上, 而是形成包括氧原子、苯环、氯原子的共轭体系, 可能对其抑菌能力产生不利影响^[16]。

3 结论

1) 在本试验确定的最佳目标化合物合成工艺条件下, 即 $n[\text{化合物(3)}] : n(\text{对氯苯酚}) : n(\text{氢化钠}) = 1 : 1.2 : 1.38$, 反应温度 80°C ; 时间 6 h, 产品收率可达 62% 左右。

2) 当目标化合物的质量分数 $\geq 1\%$ 时, 其对试验

所选霉菌、木腐菌均有较明显的抑制作用。

3) 虽然目标化合物合成工艺简单,但关键中间体化合物(3)的合成条件较为严格,反应中严禁混入氧气和水分,以免影响反应收率。

4) 目标化合物的应用推广,还需要进行其处理材的防腐、防霉性能的实验室和野外试验,以进一步判定该化合物是否能作为木材防腐剂。

参考文献:

- [1] 曹克广, 杨夕强. 三唑类化合物杀菌剂的发展现状与展望[J]. 精细石油化工, 2007, 224(6): 82-86.
- [2] Williams G, Cornfield J A, Brown J, et al. Preservatives for wood and other cellulosic materials[P]. U. S Patent; 5527384, 1996.
- [3] Goettsche R, Borck H V. Wood preservatives[P]. U. S Patent; 6441016, 2002.
- [4] Yoshida S, Linuma M. Wood preservative[P]. U. S patent; 6827949, 2004.
- [5] 郭胜. 高效三唑类杀菌剂—戊唑醇[J]. 精细与专用化学品, 2001(6): 19-20.
- [6] 黄新辉, 张发亮, 马淑惠, 等. 新型杀菌剂戊唑醇的合成工艺[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(1): 144, 192.

- [7] Holmwood G, Regel E. Substituted triazolymethyl-oxiranes and their use as intermediates for fungicides[P]. US Patent; 4499281, 1985.
- [8] Richardson K, Whittle Peter J. Triazoles[P]. US patent; 4727159, 1988.
- [9] 吴义杰, 乔善磊, 刘超美, 等. 三唑类化合物的合成及其抗真菌活性[J]. 中国药物化学杂志, 1998, 8(3): 178-181.
- [10] 门秀峰. 1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-叔丁基-3-取代基-2-丙醇的合成及其抗真菌活性研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2006: 1-71.
- [11] 何秋琴, 刘超美, 门秀峰, 等. 叔丁基三唑衍生物的合成及抗真菌活性研究[J]. 中国药物化学杂志, 2005, 15(5): 262-265.
- [12] 欧春艳, 陈声宗. 丙腈盐酸盐的合成工艺研究[J]. 广东海洋大学学报, 2007, 27(6): 71-73.
- [13] 张玲. 银杏树木提取物对木材防腐作用的研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2009: 1-48.
- [14] 叶舟, 林文雄, 陈伟, 等. 杉木心材精油抑菌活性及其化学成分研究[J]. 应用生态学报, 2005, 16(12): 2394-2398.
- [15] 朱昆. 新型木材防腐剂 DCP 的开发[D]. 南京: 南京林业大学, 2010: 1-66.
- [16] 杨杨, 吕文硕, 史延年, 等. 具有生物活性的 N-1 取代 1,2,4-三唑类化合物的研究与进展[J]. 化学通报, 1996(10): 6-14.

(责任编辑 张一萍、姜征)

(上接第 12 页)

2) 2 个变湿周期内, 杨木实木、LVL 的湿胀干缩累积量, 分别占其变湿蠕变总挠度的一 0.63%、1.27%。说明湿胀、干缩不改变木质梁吸着蠕变的基本规律, 但会分别影响木质梁的吸湿和解吸蠕变挠度, 尤其对 LVL 的变湿蠕变总挠度影响显著。

3) 建议我国相关标准和规范增补“恒湿蠕变”、“变湿蠕变”、“均恒含水率”、“名义含水率”等名词及其定义, 以便更接近实际地分析木质梁的变湿蠕变行为, 准确评价变湿蠕变对木质梁服役挠度的影响。

致谢: 感谢西南林业大学材料工程学院李统、蒲黄彪、方丹同学的参与, 郑云武、保昆雁老师的指导和帮助。

参考文献:

- [1] A Hanhijärvi. Computational method for predicting the long-term performance of timber beams in variable climates [J]. Materials and Structures, 2000, 33(2): 127-134.
- [2] Frédéric Dubois, Jean-Marie Husson, Nicolas Sauvat, et al. Modeling of the viscoelastic mechano-sorptive behavior in wood[J]. Mechanics of Time-Dependent Materials, 2012, 16(4): 439-460.

- [3] P U A Grossman. Requirements for a model that exhibits mechano-sorptive behaviour[J]. Wood Science and Technology, 1976, 10(3): 163-168.
- [4] L D Armstrong, G N Christensen. Influence of moisture changes on deformation of wood under stress[J]. Nature, 1961, 191(4791): 869-870.
- [5] Shen, Yuanhua. Evaluation of creep behavior of structural lumber in a natural environment[J]. Forest Products Journal, 1997, 47(1): 89-96.
- [6] S Srpeš, J Srpeš, M Saje, et al. Mechanical analysis of glulam beams exposed to changing humidity [J]. Wood Science and Technology, 2009, 43(1-2): 9-22.
- [7] A Martensson. Tensile behaviour of hardboard under combined mechanical and moisture loading [J]. Wood Science and Technology, 1988, 22(2): 129-142.
- [8] R F S Hearmon, J M Paton. Moisture content changes and creep of wood [J]. Forest Products Journal, 1964, 14(8): 57-59.
- [9] R H Leicester. A rheological model for mechano-sorptive deflections of beams[J]. Wood Science and Technology, 1971, 5(3): 211-220.
- [10] Chika Takahashi, Yutaka Ishimaru, Ikuho Iida, et al. The creep of wood destabilized by change in moisture content. Part 1: The creep behaviors of wood during and immediately after drying [J]. Holzforschung, 2004, 58(3): 261-267.

(责任编辑 向琴、孟凡丹)