

β -环糊精及其衍生物对杀菌剂醚菌酯的分子识别作用的研究

肖玉梅, 吴燕华, 刘吉平, 李艳芳, 李楠*, 覃兆海*

中国农业大学理学院, 北京 100094

摘要 农药通过与环糊精形成主客体包合物, 可使其理化性质得到明显改善, 因此研究环糊精对农药分子的识别作用具有重要的理论和实际意义。采用紫外-可见吸收光谱法研究了 β -环糊精(β -CD), 甲基- β -环糊精(RAMEB), 羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)对杀菌剂醚菌酯的分子识别作用, 并考察了温度及溶剂的极性对识别作用的影响, 探讨了包合过程的驱动力和形成的包合物的可能结构。结果表明, 他们与醚菌酯均可形成1:1型包合物, 在298.15 K时, 其结合常数值大小依次是 $K_{\text{HP-}\beta\text{-CD}} > K_{\beta\text{-CD}} > K_{\text{RAMEB}}$, 随着温度的升高, 包合物的稳定性逐渐降低, 在温度 ≥ 303.15 K时, $K_{\beta\text{-CD}}$ 值最大。溶剂极性的改变可显著地影响结合常数值, 随着溶剂极性的降低, 结合常数值迅速降低。对包合物形成过程的热力学参数计算表明包合过程是一个自发的、放热的、体系自由能减少的过程。包合过程是焓驱动的, 符合焓焓互补原则, 推测氢键和疏水作用是识别反应的主要驱动力。本文研究结果为醚菌酯- β -环糊精包合物的应用提供了重要的信息。

关键词 β -环糊精; 醚菌酯; 分子识别; 包合物; 光谱分析

中图分类号: O644.1 **文献标识码**: A **DOI**: 10.3964/j.issn.1000-0593(2008)10-2370-05

引言

醚菌酯(E)-2-甲氧亚氨基-2-[2-(邻甲基苯氧基甲基)苯基]乙酸乙酯是 Strobilurin 杀菌剂中的优秀品种之一, 其作用机制独特, 具有广谱、高效、持效期长的特点。自1996年问世以来, 在各国农药市场份额迅速扩大, 近年来其销售额已达近5亿美金^[1, 2]。但醚菌酯具有水溶性差以及在偏碱性介质中极易水解等不利特点, 这在一定程度上影响了其药效的发挥。

作为第二代超分子主体化合物, 环糊精能与许多有机分子选择性结合, 产生识别作用, 形成包合物^[3-7]。农药通过与环糊精形成主客体包合物, 可明显改善其理化性质: 增加农药的水溶性, 从而提高其生物利用率; 增加抗光解性及稳定性差的农药的稳定性; 提高农药的降解速率, 降低施于环境中过量的农药对环境造成的污染以及改善剂型等^[8-12]。因此环糊精对农药分子识别的研究引起了广泛的关注, 成为环糊精应用的一个新的热点。目前尚未见到环糊精与 Strobilurin 杀菌剂包合作用的研究报告。本文以 Strobilurin 杀菌剂中的优秀品种醚菌酯为研究对象, 采用紫外光谱法, 研究了水溶性好的 β -CD, RAMEB 以及 HP- β -CD 对醚菌酯的包合作用

及包合过程的热力学性质, 揭示了分子识别过程中的主要驱动力, 探讨了其识别机理, 以期环糊精在 Strobilurin 杀菌剂的使用中发挥作用奠定理论基础。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

TU-1901 双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司), 电热恒温水浴锅(天津泰斯特仪器有限公司), 0.0001AL104 电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司)。

β -环糊精(β -CD)(分析纯, 南开大学精细化工实验厂), 羟丙基 β -环糊精(HP- β -CD)和甲基 β -环糊精(RAMEB)(取纯度分别为7.8和5.1, 山东新大精细化工有限公司), 醚菌酯(国家标准样品中心), 超纯净水, 甲醇和乙腈为色谱纯, 其余试剂为分析纯。

环糊精配成 $1.0 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的水溶液, 醚菌酯配成 $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的甲醇溶液。

1.2 实验方法

1.2.1 醚菌酯在不同 β -环糊精介质中的紫外光谱测定

用移液枪移取醚菌酯母液于3组10 mL比色管中, 分别

收稿日期: 2007-06-06, 修订日期: 2007-09-12

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAE01A03-10)资助

作者简介: 肖玉梅, 女, 1970年生, 中国农业大学理学院副教授 e-mail xiaoyumei23@126.com

* 通讯联系人 e-mail: linan@cau.edu.cn; Qinzhao hai@263.net

加入不同体积的 β -CD, HP- β -CD, RAMEB 溶液, 用磷酸缓冲溶液(pH 为 6.86)定容至 5 mL, 混合均匀后得一系列客体浓度恒定 ($1.5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、主体 (β -CD, HP- β -CD, RAMEB) 浓度不同的溶液, 298.15 K 恒温放置一夜后分别测其紫外光谱, 磷酸缓冲溶液作参比。

1.2.2 温度对包合作用的影响

将待测样品的比色管放到 298.15, 303.15, 308.15 和 313.15 K 电热恒温水浴锅中一夜后, 按 1.2.1 节的方法测其紫外光谱。

1.2.3 溶剂的极性对包合作用的影响

在待测样品液中添加乙腈, 使乙腈的最终体积分别为总体积的 20% 和 50%, 然后按 1.2.1 节的方法测其紫外光谱。

2 结果与讨论

2.1 醚菌酯在不同 β -环糊精介质中的紫外光谱分析

图 1 为醚菌酯在不同浓度的 β -CD, HP- β -CD, RAMEB

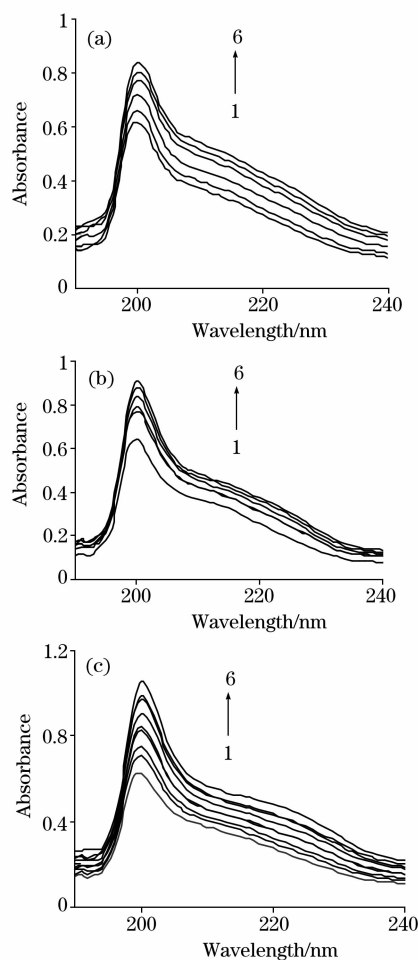


Fig. 1 UV-Vis spectra of kresoxim-methyl in the presence of different concentration β -CD and its derivatives at pH 6.86

(a): β -CD; 1~6: $0, 1, 3, 5, 6, 7 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

(b): RAMEB; 1~6: $0, 4, 5, 7, 8, 9 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

(c): HP- β -CD; 1~6: $0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

溶液中的紫外光谱图。可以看出, 其在三种环糊精溶液中的吸光光谱表现出相同的趋势, 即随着 CDs 浓度的增大, 醚菌

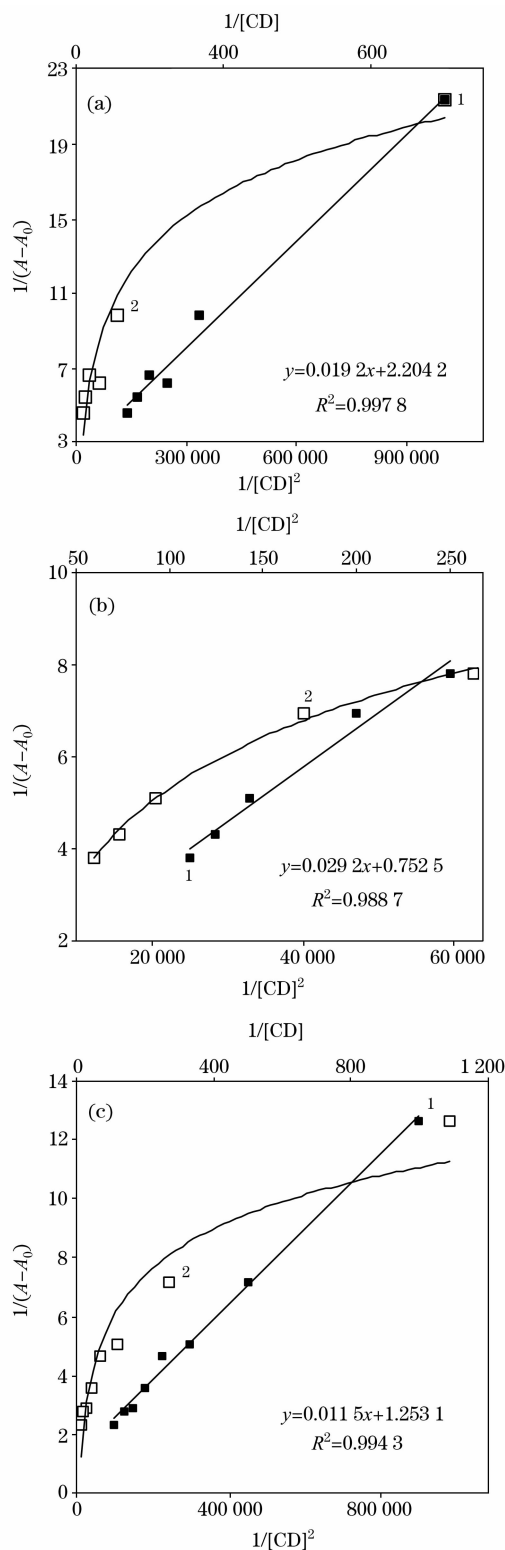


Fig. 2 The liner fitting of the inclusion complexes of kresoxim-methyl with CDs

(a): β -CD; (b): RAMEB; (c): HP- β -CD

1: $1/\text{CD}$; 2: $1/\text{CD}^2$

酯的紫外吸收相应增强, 这些光谱强度的变化表明三种环糊精分别对醚菌酯产生了识别作用, 醚菌酯进入 CDs 的空腔, 形成了包合物。但最大吸收波长(200 nm)并没有发生变化, 推测其原因可能是由于包合物的形成主要是通过分子间的作用力, 对电荷跃迁或电子跃迁的影响并不是很大, 因此其吸收峰的位置移动不明显, 吸光值增大可能与 CDs 空腔内的高电子密度诱导客体分子的电子发生移动有关^[11]。

2.2 β -环糊精及其衍生物对醚菌酯的识别作用

2.2.1 包合比

包合物形成过程中, 包合比是表征包合物结构的一个重要参数。CDs 与客体分子可以形成一元、二元、三元及多元包结物, 包合物的化学计量比可由 Benesi-Hildebrand(H-B) 方程求得^[13]。假设具有疏水性空腔的 CDs 可与醚菌酯形成 2:1 型的“头对头”的包合物, 根据修饰的 2:1 型 H-B 方程^[13]

$$\frac{[G]_0}{\Delta A} = \frac{1}{\Delta \epsilon K_s} \frac{1}{[CD]_0^2} + \frac{1}{\Delta \epsilon}$$

以 $1/\Delta A$ 对 $1/[CD]^2$ 作图均呈曲线关系(图 2), 这表明 CDs 没有与醚菌酯形成 2:1 型的包合物。

假设它们形成 1:1 的包合物, 根据 1:1 型 H-B 方程^[14]

$$\frac{[G]_0}{\Delta A} = \frac{1}{\Delta \epsilon \cdot K_s} \cdot \frac{1}{[CD]_0} + \frac{1}{\Delta \epsilon}$$

以 $1/\Delta A$ 对 $1/[CD]$ 作图均呈良好的线性关系(图 2), 因此推测 β -CD 及其衍生物与醚菌酯形成的包合物的化学计量比是 1:1。

2.2.2 包合形成常数 K

包合形成常数 K 既是包合作用强弱的量度, 也是表征各种主体对客体分子识别作用强弱的重要参数。由图 2 直线的截距与斜率之比可计算得到包合物的 K 值, 由表 1 可以看出在 298.15 K 时, 三种 β -CD 都对醚菌酯有较好的识别作用, 其中 HP- β -CD 的识别能力最强, K 为 525.84 mol·L⁻¹, 但与 β -CD 的识别能力相差不是很大, RAMEB 的识别能力最弱。很多研究表明, CD 与客体分子形成包合物能力与疏水性和尺寸匹配性相关, 其差别主要在于主体环糊精空腔两端边缘修饰基团不同, 因此其形成包合物的稳定性的不同也

由此差别而产生^[15]。对于 β -CD 而言, 醚菌酯分子中极性较小的一端可进入空腔, 而极性大的羰基端必然要暴露在环糊精边缘的溶剂中, 暴露的羰基有可能与 β -CD 形成氢键, 从而增加了键合强度, 产生了很强的识别作用。而对于长臂上有羟丙基修饰的 HP- β -CD, 包合醚菌酯后, 长臂上的羟基增加了 β -CD 与其形成氢键的机会, 因此识别作用较 β -CD 强, 而对于 RAMEB, 分子中甲氧基边臂不利于氢键的形成, 同时由取代基的引入产生的空间位阻将不利于醚菌酯分子进入 β -CD 空腔内, 因此其与醚菌酯的包合形成常数是最低的, 对醚菌酯分子的识别能力最弱^[16,17]。

由表 1 还可以看出 K 值随温度的升高而减小, 说明 CDs 与醚菌酯的亲合力随着温度的升高而减弱, 高温不利于包结反应的进行。推测其原因是因为温度升高, 分子热运动增加, 不利于醚菌酯进入环糊精的空腔, 并且形成的包合物易解离, 这也表明 3 种主体 β -CD 与醚菌酯的包合过程是放热的。有趣的是在温度等于及高于 303.15 K 时, 三种包合物的形成常数大小次序发生了变化, 为 $K_{\beta\text{-CD}} > K_{\text{HP-}\beta\text{-CD}} > K_{\text{RAMEB}}$, $K_{\beta\text{-CD}}$ 之所以比 $K_{\text{HP-}\beta\text{-CD}}$ 大, 可能是随着温度的升高, HP- β -CD 边臂上体积较大的异丙醇基团对醚菌酯分子进入 CDs 空腔产生的空间位阻作用上升为主要因素, 氢键作用减弱, 因此 HP- β -CD 对醚菌酯的识别能力较 β -CD 小。

Table 1 Formation constants K_s of β -CDs-kresoxim-methyl inclusion complexes at different temperature

T/K	包合形成常数 K_s /(mol·L ⁻¹)		
	β -CD	RAMEB	HP- β -CD
298.15	497.618 0	333.174 6	525.840 0
303.15	325.965 9	194.381 2	305.342 5
308.15	231.841 2	114.403 8	139.285 7
313.15	114.802 1	25.770 5	108.882 4

2.2.3 包合过程的热力学焓变和熵变

基于 $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ 及 $\Delta G = -RT \ln K_s$ 可计算出重要的热力学参数 ΔH , ΔS 和 ΔG , 这些参数可初步揭示主客体之间的几种弱的作用力, 结果见表 2。

Table 2 Thermodynamic parameter of β -CDs-kresoxim-methyl complexes

T/K	$-\Delta G$ /(kJ·mol ⁻¹)			$-\Delta H$ /(kJ·mol ⁻¹)			$-\Delta S$ /(J·(mol·K) ⁻¹)		
	β -CD	RAMEB	HP- β -CD	β -CD	RAMEB	HP- β -CD	β -CD	RAMEB	HP- β -CD
298.15	15.39	14.39	15.52						
303.15	14.58	13.28	14.41	73.37	101.26	85.58	194.14	290.69	194.14
308.15	13.95	12.14	12.64						
313.15	12.34	8.59	12.21						

由表 2 可以看出包合反应中的吉布斯函数 ΔG 为负, 说明包合过程是一个自发的过程; 焓变 $\Delta H < 0$, 表明反应是一个放热过程, 这种放热效应可能源于主客体分子之间产生的范德华力, 同时客体分子的进入导致 β -CD 空腔内高能水分子的释放; $\Delta S < 0$, 说明反应后体系的混乱度减少, 这是因

为客体进入 CDs 圆筒状中, 导致其热运动受到限制。 $\Delta H < 0$, $\Delta S < 0$ 说明整个包结过程焓变是结合的主要驱动力, 符合熵焓补偿效应^[11]。

2.3 溶剂极性对包结作用的影响

为了进一步考察醚菌酯与 β -CD 包合反应的主要驱动力,

我们研究了乙腈对包结平衡常数的影响。已有的研究表明乙腈与 HP- β -CD 的亲合能力很弱, 两者不形成包合物, 因而乙腈不会与醚菌酯争夺 β -CD 空腔^[3]。所以, 加入乙腈带来的影响就是其加入后引起了溶液体系极性的改变, 从而影响了醚菌酯与 β -CD 的形成常数。

由表 3 可以看出, 溶液体系的极性对 K 值的影响非常显著, 随着乙腈浓度的升高, 溶液体系的极性逐渐降低, 此时 K 值急剧下降, 这说明疏水作用对醚菌酯与 HP- β -CD 的包结非常重要, 整个包结过程主要是一个疏水驱动过程^[18]。

Table 3 Effect of the concentration of acetonitrile on inclusion reaction

乙腈的浓度(φ)/%	$K_s/(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1}$	$-\Gamma G/(\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$
0	525.84	15.52
20	51.327	9.76
50	41.47	9.23

3 醚菌酯与 CDs 包合物的可能结构

醚菌酯与 β -CD 形成 1:1 的包合物, 同时根据热力学参数及醚菌酯分子的结构, 推测包合物的结构如图 3 所示, 分子中有甲基取代的苯环进入 β -CD 的空腔, 而另一个苯环由于取代基体积和极性较大, 使得它与 β -CD 的空腔的空间匹配效果不好。

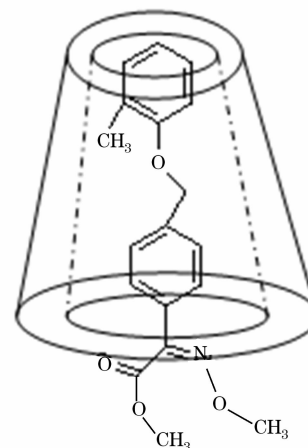


Fig. 3 The structure of the inclusion complexes of kresoxim-methyl with CDs

4 结 论

本文研究结果表明, β -CD, RAMEB 和 HP- β -CD 对杀菌剂醚菌酯具有很强的分子识别作用, 可形成 1:1 型包合物, 所形成的包合物的稳定性随温度的升高和溶剂极性的降低而减弱。根据包合反应的热力学参数和溶剂极性对包合反应的影响, 推测氢键和疏水作用是识别反应的主要驱动力。本文研究结果为醚菌酯和 β -CD 包合物的应用提供了重要的理论依据。

参 考 文 献

- [1] Bartlett, D W, Clough J M, Godwin J R, et al. *Pest Management Science*, 2002, 58: 649.
- [2] LU Yu-feng, BAI Ya-luo, HUANG Ming-zhi(陆玉峰, 柏亚罗, 黄明智). *Modern Agrochemicals(现代农药)*, 2003, 2(2): 29.
- [3] Shehatta I. *Monatshefte fur Chemie*, 2002, 133: 1239.
- [4] Hapiot F, Tilloy S, Monflier E. *Chemical Reviews*, 2006, 106(3): 767.
- [5] YANG Yu, SHUANG Shao-min, CHAO Jian-bin, et al(杨 郁, 双少敏, 钞建宾, 等). *Acta Chimica Sinica(化学学报)*, 2004, 62(2): 176.
- [6] Villaverde J, Martinez J I, Maqued A C, et al. *Chemosphere*, 2005, 60: 656.
- [7] Pacoin L, Veglia A V. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 583: 63.
- [8] ZHANG An-ping, LUO Fan, LIU Wei-ping(张安平, 罗 凡, 刘维屏). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2006, 26(12): 2298.
- [9] Shigemasa I, Mamoru K. *Chemosphere*, 1999, 39: 1595.
- [10] Morillo E, Perez J I. *Chemosphere*, 2001, 44: 1065.
- [11] TONG Lin-hui(童林荟). *Cyclodextrin Chemistry-Foundation and Application(环糊精化学-基础与应用)*. Beijing: Science Press(北京: 科学出版社), 2001.
- [12] Szente I. *Therm. Anal.*, 1998, 51: 957.
- [13] Connors K A. *Binding Constants: The Measurement of Molecular Complex Stability*. New York: John Wiley and Sons, 1987.
- [14] YAO Hong, WEI Tai-bao, XU Wei-xia, et al(姚 虹, 魏太保, 徐维霞, 等). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2006, 26(9): 1664.
- [15] Rekharsky M V, Inoue Y. *Chem. Rev.*, 1998, 98: 1875.
- [16] Veglis A V, Rossi R H. *Can. J. Chem.*, 2000, 78: 233.
- [17] Liu Y, Li L, Chen Y, et al. *J. Phys. Chem. B.*, 2005, 109(9): 4127.
- [18] ZHANG Guo-li, TANG Ke-wen, HUANG Ke-long, et al(张国丽, 唐课文, 黄可龙, 等). *Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory(光谱实验室)*, 2007, 24(3): 80.

Study on the Molecular Recognition of Fungicide of Kresoxim-Methyl with β -cyclodextrin and Its Derivatives

XIAO Yu-mei, WU Yan-hua, LIU Ji-ping, LI Yan-fang, LI Nan*, QIN Zhao-hai*

College of Science, China Agricultural University, Beijing 100094, China

Abstract The molecular recognition of fungicide of kresoxim-methyl with β -cyclodextrin (β -CD), methyl- β -cyclodextrin (RAMEB) and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD) was investigated by using UV-Vis spectroscopy analysis. The effect of temperature and polarity of solvent on the recognition interaction was studied. The driving force and the possible structure of the inclusion complexes were also discussed. The results presented that they formed inclusion complexes with a stoichiometry of 1 : 1, and the formation constant of inclusion complexes was in the order of $K_{\text{HP-}\beta\text{-CD}} > K_{\beta\text{-CD}} > K_{\text{RAMEB}}$ at 298.15 K. Elevation of the temperature triggered a decrease in stability of the inclusion complexes and the value of $K_{\beta\text{-CD}}$ was the biggest at ≥ 303.15 K. The formation constant reduced sharply with the decreasing polarity of the solvent. The standard molar Gibbs energies, enthalpies and entropies were all negative. All the results indicated that the association of the guest molecule with β -CD was favored by enthalpy changes, and hydrophobicity and hydrogen bond interaction were main driving forces for the inclusion reaction. Our findings provided an important proof for the use of inclusion complexes of kresoxim-methyl with CDs.

Keywords β -Cyclodextrin; Kresoxim-Methyl; Molecular recognition; Inclusion complex; Spectroscopic analysis

(Received Jun. 6, 2007; accepted Sep. 12, 2007)

* Corresponding author