

丙环唑配合物的合成、缓释性能及生物活性研究

杨春龙* 罗金香 谢学群 李前进 顾颖迪 田艳丽 朱兆勇
(南京农业大学理学院化学系, 南京 210095)

关键词: 丙环唑; 金属配合物; 合成; 缓释; 生物活性

中图分类号: S482.2*5; O614.1*8

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2007)07-1259-05

Propiconazole Complexes: Synthesis, Controlled Release Properties and Biological Activities

YANG Chun-Long* LUO Jin-Xiang XIE Xue-Qun LI Qian-Jin

GU Ying-Di TIAN Yan-Li ZHU Zhao-Yong

(Department of Chemistry, College of Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

Abstract: Five propiconazole (L) complexes (ML_2Cl_2 , $M=Zn(II)$, $Cu(II)$, $Co(II)$; ML_4Cl_2 , $M=Ni(II)$, $Mn(II)$) were prepared and characterized by elemental analysis and IR. These complexes exhibited favorable controlled release property, it took 40 to 120 hours to release 85% amount of ligand in the water. The toxicity determination to *Botrytis cinera*, *Rhizoctonia cerealis*, *Gibberella zeae*, *Fusarium moniliforme* and *Colletotrichum orbiculare* indicated that the fungicidal activities of the complexes were better than that of the ligand except Mn-complex to *Rhizoctonia cerealis*. The EC_{50} of Zn-propiconazole were $0.045\ 2\sim 0.144\ 1\ \mu g\cdot mL^{-1}$, Co- and Ni-propiconazole were $0.066\ 3\sim 0.210\ 4\ \mu g\cdot mL^{-1}$ and $0.183\ 9\sim 0.340\ 7\ \mu g\cdot mL^{-1}$, respectively, and Mn-propiconazole were only $0.353\ 6\sim 0.538\ 0\ \mu g\cdot mL^{-1}$. The growth regulation experiment to wheat seeding by dressing treating indicated that inhibiting activities of the complexes to root length and stem height were weaker than that of the ligand.

Key words: propiconazole; metal-complex; synthesis; controlled release; biological activity

控制有效成分缓慢释放已成为 21 世纪农药的主要发展方向之一^[1,2],但采用与金属盐反应生成配合物达到缓释目的的研究相对较少^[3,4]。农药有效成分与金属盐形成配合物可以使液体农药固体化,易加工成非溶剂化剂型,增加原药的稳定性^[5],延长持效期,提高药效,降低农药用量,增加农药的环境友好性,同时可向农药中引入作物所需要的微量矿物质营养元素。

丙环唑(propiconazole)化学名称为(±)1-[2-(2,4-二氯苯基)-4-丙基-1,3-二氧戊环-2-亚甲基]-1 氢-

1,2,4-三氮唑,是一种具有保护和治疗作用的内吸性三唑类杀菌剂,广泛应用于防治子囊菌、担子菌和半知菌所引起的植物病害,特别是对小麦根腐病、白粉病、水稻恶苗病等具有良好的防治效果^[6]。丙环唑主要加工成乳油剂型,由于以芳烃类化合物为溶剂,使用后会对环境造成污染。国内尚未开发出丙环唑的非溶剂化剂型商品^[7]。本文将丙环唑与金属盐反应生成固体化金属配合物,并进行缓释性能和生物活性研究,为开发丙环唑非溶剂化剂型提供依据^[8]。

收稿日期:2007-02-26。收修改稿日期:2007-04-09。

江苏省自然科学基金(No.BK2005094)和南京农业大学科技发展基金(No.0506F0005)资助项目。

*通讯联系人。E-mail:chunlongyang@yahoo.com.cn; Tel:025-84395255

第一作者:杨春龙,男,42岁,教授,博士;研究方向:农药化学。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

氯化锌、六水合氯化钴(II)、二水合氯化铜、二水合氯化锰(II)、六水合氯化镍(II)等均为分析纯试剂,水为二次重蒸水。

Vario EL III 型元素分析仪;Bruker Tensor27 FTIR 型红外光谱仪(KBr 压片);Waters 高效液相色谱仪(2487 型紫外检测器,515 型定量输液泵);GXZ 智能型光照培养箱。

1.2 配合物的合成

配体丙环唑(L)按文献^[9]的方法合成。取配体丙环唑(22 mmol)和氯化锌(10 mmol),分别溶于 50 mL 无水乙醇中,在回流温度下将氯化锌溶液逐滴加入丙环唑溶液中,继续回流搅拌反应 2 h,冷却,静置过夜,抽滤,洗涤,60 °C 减压真空干燥 4 h,得白色固体 ZnL_2Cl_2 ,产率 82.73%。其他配合物的合成方法类似,其中丙环唑与二水合氯化锰和六水合氯化镍的投料物质的量比是 4.4:1,其余是 2.2:1。所得 CoL_2Cl_2 为蓝色固体,产率 75.36%; CuL_2Cl_2 为蓝色固体,产率 25.22%; MnL_4Cl_2 为白色固体,产率 67.40%; NiL_4Cl_2 为浅绿色固体,产率 63.70%。

1.3 缓释性能测定

1.3.1 测定步骤

参考文献^[9]方法,准确称取配合物 0.100 g,磨匀,置 250 mL 碘量瓶中,加入 100 mL 蒸馏水,置于 25 °C 恒温下,每间隔 12 h 或 24 h 用 25 mL 乙醚提取释放出的配体丙环唑,待乙醚挥发后,用石油醚与异丙醇(体积比为 88:12)混合溶液定容,参考文献^[10]方法,采用正相高效液相色谱法检测丙环唑在水中的释放量。

1.3.2 标准曲线的绘制

准确称取丙环唑样品 0.038 1 g,溶解在石油醚与异丙醇(体积比为 88:12)混合溶液中,作为储备液,将储备液稀释成 5 种不同浓度的溶液,在液相色谱工作条件下进样,以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,其线性回归方程为 $Y = 289.99X + 8865.9$,相关系数 $r = 0.9978$ 。

1.3.3 添加回收率

在 100 mL 水中添加 0.100 g 配体丙环唑,提取与测定方法同 1.3.1,重复 3 次。结果表明,添加回收率为 98.66%~102.32%。

1.4 配合物生物活性测定

1.4.1 对几种植物病原菌的室内毒力测定

供试的植物病原菌分别有蔬菜灰霉菌(*Botrytis cinera*)、小麦纹枯菌(*Rhizoctonia cerealis*)、小麦赤霉菌(*Gibberella zeae*)、水稻恶苗菌(*Fusarium moniliforme*)和黄瓜炭疽菌(*Colletotrichum orbiculare*)。丙环唑用丙酮溶解,配制成 $500 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的母液,丙环唑配合物用淀粉稀释研磨制成母粉,药剂母液或母粉分别加入到 PSA 培养基中,梯度稀释制成含药平板,使丙环唑及其配合物在 PSA 中最终浓度为 4、1、0.25、0.062 5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,同时设无药平板对照。挑取预先制取的菌种接种于对照及含药 PSA 培养基平板上,于 25 °C 下培养 3~5 d,待无药对照培养基平板上的菌落长至 2/3 培养基时测量其直径,计算药剂处理的生长抑制率,通过生长抑制率的几率值和系列药剂浓度的对数值之间的线性回归方程,求出各药剂的 EC_{50} 值。

1.4.2 对小麦幼苗生长影响的测定

用含 2%(质量分数)羧甲基纤维素钠的淀粉将供试药剂配制成浓度为 4、10 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 的包衣剂。将小麦种子用饱和次氯酸钠浸泡 0.5 h,用蒸馏水清洗 3 次,吸水纸将小麦表面的水吸干,放入含不同浓度药剂包衣剂的培养皿中滚拌均匀成包衣,每个培养皿中加 8 粒小麦种子,每个浓度处理重复 3 次,培养皿中加入蛭石于 25 °C 室温连续光照培养。6 d 后测量小麦的株高和根长。

2 结果与讨论

2.1 元素分析及配合物组成确定

元素分析仪测得的各配合物 C、H、N 含量和 EDTA 容量法测得的各配合物金属离子含量列于表 1,各配合物组成的实测值与理论计算值按分子式 ML_2Cl_2 (M=Zn、Co、Cu) 和 ML_4Cl_2 (M=Mn、Ni) 的计算结果基本相符,推测各配合物中配体与金属的比例为 2:1 和 4:1。配合物均易溶于 DMF、DMSO、二氯甲烷、丙酮和四氢呋喃,微溶于乙腈、乙醇,不溶于水和乙醚。

表 1 配合物的元素分析数据

Table 1 Elementary analysis data of the complexes

Complex	Elemental analysis: found (calcd.)			
	C / %	H / %	N / %	M / %
ZnL_2Cl_2	43.85(43.90)	4.20(4.18)	10.57(10.24)	7.90(7.93)
CoL_2Cl_2	44.19(44.25)	4.19(4.21)	10.63(10.32)	7.20(7.25)
CuL_2Cl_2	43.84(44.00)	4.16(4.18)	10.53(10.26)	7.76(7.81)
MnL_4Cl_2	48.01(48.19)	4.88(4.28)	11.25(11.24)	3.42(3.68)
NiL_4Cl_2	47.68(48.06)	4.53(4.27)	11.09(11.21)	4.09(3.94)

2.2 红外光谱

丙环唑与其配合物的红外光谱图在特征吸收频率峰值上有明显的差异(表 2)。配合物三氮唑环上=CH 吸收峰比配体丙环唑相应特征峰蓝移 5~50 cm^{-1} , 配合物三氮唑环骨架振动吸收峰比配体丙环唑分别蓝移 3~4 cm^{-1} 、10~26 cm^{-1} 和 2~5 cm^{-1} , 表明配体丙环唑中三氮唑环上的氮原子参与了配位, 由于位阻效应, 由 4 位氮原子与过渡金属形成配位键的可能性大。

表 2 化合物红外光谱数据

Table 2 IR spectra data of compounds

Compd.	$\nu_{\text{CH}} / \text{cm}^{-1}$	$\nu_{\text{CH}_3} / \text{cm}^{-1}$	$\nu_{\text{triazole}} / \text{cm}^{-1}$	$\nu_{\text{C-O-C}} / \text{cm}^{-1}$
L	3 110	2 960	1 583, 1 506, 1 462	1 139
ZnL ₂ Cl ₂	3 116	2 962	1 587, 1 532, 1 467	1 133
CoL ₂ Cl ₂	3 115	2 962	1 587, 1 530, 1 467	1 131
CuL ₂ Cl ₂	3 160	2 961	1 586, 1 528, 1 467	1 119
MnL ₄ Cl ₂	3 144	2 962	1 586, 1 516, 1 464	1 130
NiL ₄ Cl ₂	3 146	2 961	1 586, 1 519, 1 464	1 127

三唑类杀菌剂作为配体与过渡金属盐反应合成新的配合物已有报道, 如三唑酮的氯化铜、氯化锌配合物^[11,12]、三唑醇氯化铜配合物^[13]、烯唑醇氯化锌和硝酸锌配合物^[14], 该类配合物一般为四、六配位化合物或四配位阳离子结构。虽然过渡金属钴、锰和镍与三唑类杀菌剂的配合物未见报道, 但这 3 种金属也是很好的配位中心离子, 如代森锰锌已经在农药中被应用。本研究合成的锌、钴、锰、镍、铜丙环唑配合物为四配位和六配位结构, 推测可能的结构

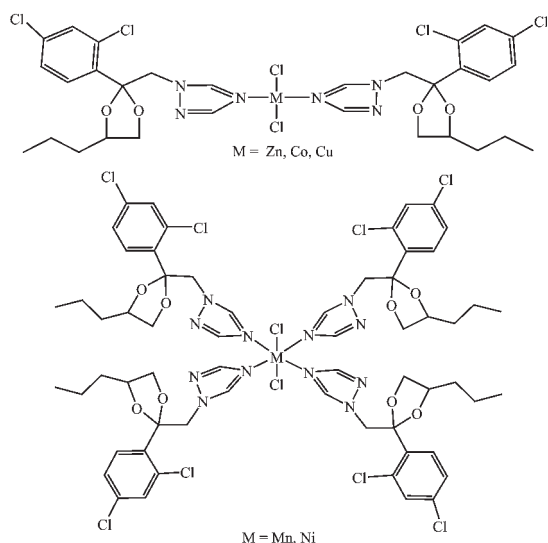


图 1 配合物可能的结构

Fig.1 Proposed structure of the complexes

式如图 1 所示。

2.3 配合物在水中的缓释性能

以时间(h)为横坐标, 释放率(%)为纵坐标, 获得各配合物在水中的释放曲线(图 2)。由图可知, 配合物在水中放置 24 h, 钴配合物释放率为 48.78%, 锰配合物为 70.92%, 其他配合物的释放率在 50%与 70%之间。120 h 后, 锰配合物释放速率最快, 释放率为 99.89%, 钴配合物的释放速率最慢, 释放率为 87.01%, 其他配合物的释放率均大于 90%, 且释放速率曲线趋于平缓。

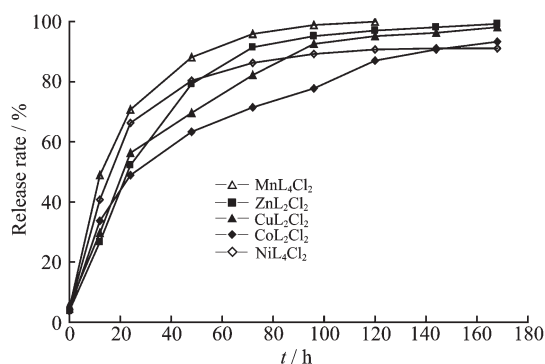


图 2 配合物在水中的释放趋势

Fig.2 Release profiles of complexes in water

2003 年张培志等人^[4]报道了合成的三唑酮金属配合物在静态水中具有缓慢释放出活性配体的性能, 24h 后锌、铜三唑酮配合物的释放率分别为 92.5%和 83.3%, 可见丙环唑金属配合物释放配体较三唑酮金属配合物缓慢。

2.4 对几种植物病原菌的抑制作用

表 3 表明, 各配合物对蔬菜灰霉菌的毒力是配体的 1.09~6.49 倍, 对小麦纹枯菌的毒力是配体的 0.92~10.02 倍, 对小麦赤霉菌的毒力是配体的 1.17~8.99 倍, 对水稻恶苗菌的毒力是配体的 1.32~3.48 倍, 对黄瓜炭疽菌的毒力是配体的 1.21~10.89 倍。其中, 锌配合物活性最高, 毒力指数在 3.48~10.89 之间, 其次是钴配合物和镍配合物, 其毒力指数分别为 2.38~7.08 和 1.47~2.51, 毒力效果较差的为锰配合物, 毒力指数为 0.92~1.32。可见, 除锰配合物对小麦纹枯病菌比配体丙环唑的毒力略低外, 各配合物对供试植物病原菌的毒力均高于配体。以三唑类杀菌剂配体制备的金属配合物的生物活性研究方面尚未见报道, 丙环唑金属配合物对病原菌的毒力效果比配体有所提高可能是由于丙环唑与金属离子的协同作用和配合物缓慢释放出丙环唑的原因。

表 3 丙环唑及其配合物对植物病原菌的 EC_{50} Table 3 EC_{50} of propiconazole and its complexes against plant pathogenic fungi ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)

Fungi	L	ZnL ₂ Cl ₂	CoL ₂ Cl ₂	NiL ₄ Cl ₂	MnL ₄ Cl ₂
<i>Botrytis cinera</i>	0.386 0	0.059 5	0.066 3	0.195 9	0.353 6
<i>Rhizoctonia cerealis</i>	0.452 9	0.045 2	0.066 3	0.183 9	0.491 6
<i>Gibberella zeae</i>	0.630 1	0.070 1	0.089 0	0.256 6	0.538 0
<i>Fusarium moniliforme</i>	0.501 0	0.144 1	0.210 4	0.340 7	0.380 3
<i>Colletotrichum orbiculare</i>	0.573 9	0.052 7	0.107 8	0.228 4	0.473 4

2.5 对小麦生长的调节作用

由表 4 可知,采用丙环唑及其金属配合物对小麦种子进行包衣处理,对小麦幼苗的生长在不同浓度下均有不同程度的抑制作用。当剂量为 $4\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 时,各配合物对小麦的根长和株高的抑制率(4.90%~16.77%, 8.07%~19.68%)均低于配体丙环唑

(18.22%, 23.62%),当剂量提高到 $10\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 时,各配合物对小麦的根长和株高的抑制率(12.33%~27.26%, 17.14%~38.63%)相应提高,但仍低于配体丙环唑(28.18%, 38.63%)。可见配合物对小麦根长和株高的抑制作用低于配体,且随着浓度的增大,抑制作用增强。

表 4 丙环唑及其金属配合物对小麦幼苗生长的调节作用

Table 4 Regulation of wheat seeding growth by propiconazole and its complexes

Compd.	Concentration / ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Length of root / mm	Height of stem / mm	Concentration / ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Length of root / mm	Height of stem / mm
CK	0	13.06	14.99	0	13.06	14.99
L	4	10.68	11.45	10	9.38	9.20
ZnL ₂ Cl ₂	4	11.14	12.66	10	9.50	9.20
CoL ₂ Cl ₂	4	10.87	12.04	10	10.14	9.88
NiL ₄ Cl ₂	4	11.88	12.66	10	11.45	12.42
MnL ₄ Cl ₂	4	12.42	13.78	10	11.12	12.16

3 结 论

本工作合成了丙环唑的金属配合物 ML_2Cl_2 ($M=\text{Zn}, \text{Cu}, \text{Co}$) 和 ML_4Cl_2 ($M=\text{Ni}, \text{Mn}$), 该类配合物在静态水中均具有较好的缓释配体性能, 释放 85% 的配体所需时间在 40~120 h 之间, 其中钴配合物缓释性能最为显著, 120 h 时释放率为 87.01%。除锰配合物对小麦纹枯病菌比配体丙环唑的毒力略低外, 各金属配合物对蔬菜灰霉菌、小麦纹枯菌、小麦赤霉菌、水稻恶苗菌和黄瓜炭疽菌的毒力均高于配体, 其中锌配合物对各菌种的活性最好, 相对毒力达到 3.48~10.89。采用包衣法处理小麦种子, 发现各配合物对小麦根长和株高的抑制作用低于配体。

参考文献:

- [1] Muro-Suñé N, Gani R, Bell G, et al. *Computers and Chemical Engineering*, **2005**, *30*:28~41
- [2] Piletska E V, Turner N W, Turner A P F, et al. *J. Controlled*

Release, **2005**, *108*:132~139

- [3] Prabhu Prasad B, Lakshmi Kantam M, Choudary B M, et al. *Pestic. Sci.*, **1990**, *28*:157~165
- [4] ZHANG Pei-Zhi(张培志), FU Qun-Ying(傅群英), CHI Ren-Xia(池仁霞), et al. *Zhejiang Keji Xueyuan Xuebao(Chinese J. Zhejiang Sci. Tech.)*, **2003**, *15*(3):143~145
- [5] GUO Wu-Di(郭武棣). *Liquid Preparations(液体制剂)*. Beijing: Chemical Industry Press, **2004**.300~301
- [6] Guobin S, Sheau F T, Douglas B T, et al. *Toxicology Letters*, **2005**, *155*(2):277~287
- [7] WANG Xian-Feng(王险峰). *Applicational Manual of Import Pesticide(进口农药应用手册)*. Beijing: China Agriculture Press, **2000**.274~277
- [8] YANG Chun-Long(杨春龙), LUO Jin-Xiang(罗金香), XIE Xue-Qun(谢学群), et al. *CN 1923838A*, **2006**.
- [9] ZHU Hong-Bing(朱红兵), ZHU Shun-Xin(朱顺鑫). *Jingxi Yu Zhuanyong Huaxueping(Chinese Fine and Special Chemicals)*, **2001**, (20):17~19
- [10] YANG Chun-Long(杨春龙), JIANG Mu-Geng(蒋木庚). *Fenxi Shiyanshi(Chinese J. Anal. Lab.)*, **2002**, *21*(2):24~26
- [11] GAO Jin-Sheng(高金胜), CHEN Guo-Rong(陈国荣), MA

- Dong-Sheng (马东升), et al. *Heilongjiang Daxue Ziranhexue Xuebao*(Chinese J. Natural Science of Heilongjiang University), **2001**,**18**(2):70~72
- [12]ZHANG Pei-Zhi(张培志), WU Jun(吴 军), GONG Yu-Qiu (龚钰秋), et al. *Wuji Huaxue Xuebao*(Chinese J. Inorg. Chem.), **2003**,**19**(7):753~756
- [13]GAO Jin-Sheng(高金胜), MA Dong-Sheng(马东升), MA Zhong-Guo(马忠国), et al. *Fenzi Kexue Xuebao*(Chinese J. Molecular Science), **2001**,**17**(1):17~22
- [14]ZHANG Pei-Zhi(张培志), WU Jun(吴 军), GONG Yu-Qiu (龚钰秋), et al. *Wuji Huaxue Xuebao*(Chinese J. Inorg. Chem.), **2003**,**19**(8):909~912