

· 研究论文 ·

## 草酸二丙酮胺-铜配合物的合成、 结构表征及抑菌活性

姬志勤, 魏少鹏, 吴文君\*

(西北农林科技大学 农药研究所, 陕西 杨陵 712100)

**摘要:**报道了新化合物——草酸二丙酮胺-铜配合物的合成、结构表征及抑菌活性。目标化合物由二丙酮胺草酸盐与氯化铜在去离子水中反应制得,在乙醇溶液中获得单晶,经元素分析、红外光谱以及 X-射线单晶衍射技术确定了其结构。采用抑制孢子萌发法测定了其对于 6 种农业病原真菌的离体抑制活性。结果表明:当配合物中草酸、铜与二丙酮胺的物质的量之比为 2:1:2 时,其对 6 种供试病原真菌均表现出强烈的抑菌活性,毒力与对照药剂 80% 的代森锌可湿性粉剂相当。

**关键词:**二丙酮胺;铜配合物;合成;抑菌活性

**DOI:** 10.3969/j.issn.1008-7303.2010.04.10

中图分类号:O614.121;O623.61;S482.2 文献标志码:A 文章编号:1008-7303(2010)04-0440-05

## The synthesis ,characterization and fungicidal activity of diacetoneamine oxalate-copper( II ) complex

Ji Zhi-qin , WEI Shao-peng , WU Wen-jun \*

( Institute of Pesticide Research ,Northwest Sci-Tech University of Agricultural and Forestry ,  
Yangling 712100 ,Shaanxi Province ,China)

**Abstract:** The synthesis ,structure elucidation and fungicidal activity of a new compound ,the complex of diacetoneamine oxalate-copper ( II ) , were reported. The target compound was prepared by diacetoneamine oxalate and copper chloride in deionized water ,and its single crystal was obtained in alcohol. The chemical structure was analyzed by elemental analysis ,IR and X-ray single crystal diffraction analyses. Its toxicity of inhibiting spore germination against six species plant pathogen were also tested. The results showed that the molar ratio( 2:1:2 ) of oxalic acid ,copper and diacetoneamine in the complex exhibited remarkable fungicidal activity against tested agricultural pathogen ,its toxicity approximated to zineb 800 WP.

**Key words:** diacetoneamine; copper complex; synthesis; fungicidal activity

铜制剂(包含有机铜和无机铜)是最为古老的农用杀菌剂类型之一,具有抗菌谱广、不易产生抗性等优点。以硫酸铜、氢氧化铜等为主体的铜制剂的

使用历史已超过 200 年,由于其难以被生物降解,长期大量使用已造成了铜在土壤中的累积。近来人们逐渐认识到,土壤中铜含量超过一定限度会对植物

收稿日期:2010-07-19;修回日期:2010-08-12.

作者简介:姬志勤(1971-),男,山西永济人,副研究员,E-mail: jizhiqin@nwsuaf.edu.cn; \* 通讯作者(Author for correspondence): 吴文君(1945-),男,四川洪雅人,教授,研究方向为天然产物农药,电话:029-87093987,E-mail: wuwenjun@nwsuaf.edu.cn

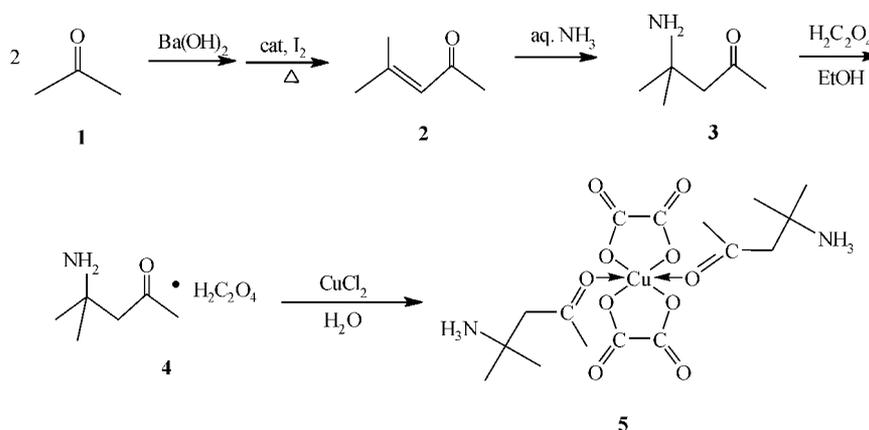
基金项目:国家重点基础研究发展计划(973 计划)资助项目(2010CB126100);西北农林科技大学人才基金资助。

的正常生长以及土壤功能等造成不良影响<sup>[1-2]</sup>,并提出 100 mg/kg 为土壤中铜元素含量的安全限<sup>[3]</sup>。鉴于铜制剂在防治霜霉病以及果树叶部病害方面的不可替代性,于 2009 年 10 月生效的欧盟委员会农药登记指令“91/414/EEC”在淘汰了欧盟市场上三分之二以上的农药产品后,仍将氢氧化铜、碱式氯化铜等列入可供有机农业使用的杀菌剂品种,但在该委员会条例( EC ) No 473/2002 中专门对单位面积上铜制剂的最高用量进行了限定。传统无机铜制剂中铜的百分含量很高,且在使用不当时易对某些敏感作物造成药害,因此,开发含铜量低、对作物更安全的有机铜制剂是铜素杀菌剂的重要发展方向之一。

在分离秦岭链霉菌 *Streptomyces qinlingensis* 次生代谢物的过程中,本课题组得到了一个已知化合物——二丙酮胺<sup>[4-5]</sup>,该化合物对多种植物病原真

菌均表现出一定程度的抑菌活性,但其毒力较弱,不具有作为杀菌剂开发的潜力<sup>[6]</sup>。为提高二丙酮胺的抑菌活性,本课题组以二丙酮胺草酸盐和氯化铜为原料,制备了新化合物——草酸二丙酮胺-铜,并采用元素分析、红外光谱以及 X-射线单晶衍射技术确定了其结构。采用抑制孢子萌发法测定了该化合物对 6 种农业病原真菌的离体抑菌活性,结果表明,其对多种农业病原真菌表现出了与对照药剂代森锌相当的抑菌活性。

草酸二丙酮胺(4)的合成参照文献[7]方法进行,草酸二丙酮胺-铜配合物由草酸二丙酮胺与氯化铜在去离子水中于室温下搅拌制得。其合成路线见 Scheme 1。在反应液中加入 2 倍体积的无水乙醇,放置过夜后即可析出天蓝色结晶。



Scheme 1

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

Rigaku Saturn CCD X-射线单晶衍射仪; Thermo Avatar 330 红外光谱仪; Perkin-Elementer 2400 元素分析仪。对照药剂 80% 代森锌( zineb )可湿性粉剂为江苏利民化工有限公司产品。试剂均为国产分析纯。

### 1.2 供试病原菌

玉米弯孢菌 *Curvularia lunata*、玉米大斑病菌 *Xenrohilum turcicum*、棉花枯萎病菌 *Fusarium oxysporum*、番茄灰霉病菌 *Botrytis cinerea*、小麦根腐病菌 *Bipolaris sorokiniana*、黄瓜霜霉病菌 *Pseudoperonospora cubensis* 均由西北农林科技大学农药研究所提供。

### 1.3 草酸二丙酮胺-铜配合物的合成及单晶培养

称取  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.1 mol( 17.0 g )于 500 mL 烧杯中,加入去离子水 200 mL,室温搅拌至氯化铜完全溶解,得到墨绿色透明溶液。逐渐加入草酸二丙酮胺(4) 0.2 mol( 41.0 g ),边加边搅拌,开始时体系中有浅蓝色沉淀生成,至草酸二丙酮胺完全溶解后成天蓝色配合物溶液。

取 20 mL 天蓝色配合物溶液于 100 mL 具塞三角瓶中,加入 40 mL 无水乙醇,混合均匀后静置过夜,得天蓝色钻石状晶体,从中挑出大小合适的单晶供试。

### 1.4 单晶结构分析

所选晶体尺寸为 0.16 mm × 0.14 mm × 0.14 mm,测试温度为 113(2) K。将晶体置于 X-射线单晶衍射仪上,用经石墨单色化的  $\text{Mo K}\alpha$  射线

( $\lambda = 0.071\ 073\ \text{nm}$ ) 以  $\omega$  和  $\varphi$  方式扫描, 在  $3.3^\circ \leq \theta \leq 27.9^\circ$  范围内收集了 4 513 个衍射点, 1 394 个独立衍射点, 其中 1 274 个可观察点 [ $I > 2\sigma(I)$ ] 用于晶体结构解析。该化合物的晶体结构原始数据文件已保存在剑桥晶体学数据中心 (CCDC 721942)。

### 1.5 抑菌活性测定

采用抑制孢子萌发法<sup>[8]</sup>。将培养好的病原真菌孢子用去离子水从培养基上洗脱、过滤, 离心 (1 000 r/min) 5 min, 倒去上清液, 加入去离子水将孢子重悬浮至每 1 mL 含  $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$  个孢子, 并加入质量分数为 0.5% 的葡萄糖溶液。用无菌水将样品配制成系列梯度溶液, 与孢子悬浮液等体积混合。用微量加样器吸取上述混合液, 滴加到凹玻片上, 将其架放于带有浅层水的培养皿中, 加盖保湿, 于  $25\ ^\circ\text{C} \pm 1\ ^\circ\text{C}$  的培养箱中培养。每处理 3 个重复, 并设 80% 代森锌可湿性粉剂处理为药剂对照, 以不含药剂的处理为空白对照。在  $25\ ^\circ\text{C} \pm 1\ ^\circ\text{C}$  下培养 8 ~ 10 h 后检查孢子的萌发率。当对照的萌发率达到 90% 以上后, 检查所有处理的萌发率 (以孢子芽管长度大于孢子短半径者为萌发)。记录数据, 并按 (1) 式计算孢子萌发抑制率。

$$\text{孢子萌发抑制率} / \% = \frac{\text{对照孢子萌发率} - \text{处理孢子萌发率}}{\text{对照孢子萌发率}} \times 100$$

## 2 结果与讨论

### 2.1 配合物的结构表征

2.1.1 元素分析 配合物的元素分析结果为: C, 40.64%; H, 6.02%; N, 5.99% (以分子式为  $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{CuN}_2\text{O}_{10}$  计算的计算值为 C, 40.72%; H, 5.98%; N, 5.94%)。

2.1.2 红外光谱 采用 KBr 压片法, 在  $4\ 000 \sim 450\ \text{cm}^{-1}$  范围内测定了草酸二丙酮胺及草酸二丙酮胺-铜配合物的红外光谱。结果显示: 配位后二丙酮胺的酮羰基振动 ( $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ ) 由  $1\ 706\ \text{cm}^{-1}$  红移到  $1\ 715\ \text{cm}^{-1}$ , 说明羰基氧参与形成了配位键; 草酸分子中的碳氧伸缩振动 ( $\nu_{\text{C}-\text{O}}$ ) 由  $1\ 179\ \text{cm}^{-1}$  位移到  $1\ 157\ \text{cm}^{-1}$ , 表明配位后草酸羟基氧上连接的原子发生了变化。

2.1.3 晶体结构描述 配合物属单斜晶系,  $C2/m$  空间群, 晶胞参数:  $a = 13.639(3)\ \text{\AA}$ ,  $b = 7.9749(16)\ \text{\AA}$ ,  $c = 10.958(2)\ \text{\AA}$ ,  $\alpha = 90.00^\circ$ ,  $\beta = 113.27(3)^\circ$ ,  $\gamma = 90.00^\circ$ , 分子式:  $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{CuN}_2\text{O}_{10}$ ,  $M_r = 471.94$ ,  $V = 1094.9(4)\ \text{\AA}^3$ ,  $Z = 2$ ,  $F_{000} = 494$ ,  $\mu = 1.05\ \text{mm}^{-1}$ ,  $R [F_2 > 2\sigma(F_2)] = 0.026$ ,  $wR(F_2) = 0.076$ ,  $S =$

1.11。

配合物  $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{CuN}_2\text{O}_{10}$  的结构和晶胞堆积图如图 1、图 2 所示, 键长和键角列于表 1 和表 2。从图 1 可以看出, 晶体中 Cu 与两分子草酸上的羟基氧之间分别形成两个离子键和两个配位键, 其键长均为

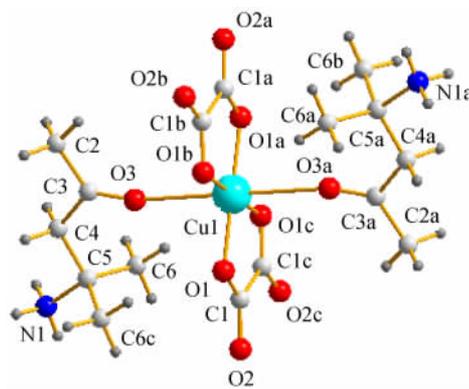


图 1 配合物的结构

Fig. 1 Structure of complex

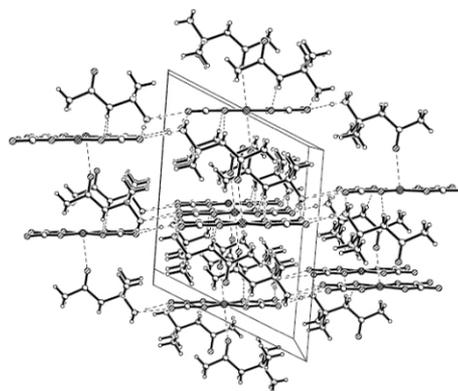


图 2 晶胞堆积图

Fig. 2 Unit cell packing diagram

表 1 配合物中原子之间的键长

Table 1 Bond lengths between atoms of complex

原子 1	原子 2	键长	原子 1	原子 2	键长
Atom 1	Atom 2	Length/ $\text{\AA}$	Atom 1	Atom 2	Length/ $\text{\AA}$
Cu1	O1	1.938	O3	C3	1.213
Cu1	O1a	1.938	N1	C5	1.520
Cu1	O1b	1.938	C1	C1c	1.555
Cu1	O1c	1.938	C2	C3	1.499
Cu1	O3	2.663	C3	C4	1.509
Cu1	O3a	2.663	C4	C5	1.527
O1	C1	1.267	C5	C6	1.522
O2	C1	1.236	C5	C6c	1.522

对称码 (Symmetry codes): (i)  $x, -y + 1, z$ ; (ii)  $-x + 1, -y + 1, -z + 1$ ; (iii)  $-x + 1, y, -z + 1$ .

1.938 Å (0.193 8 nm), Cu 与两分子二丙酮胺上的两个羰基氧之间形成配位键, 其键长为 2.663 Å (0.266 3 nm)。O1-Cu1-O1a 与 O1b-Cu1-O1c 的键角均为 180°, O1-Cu1-O1b 与 O1a-Cu1-O1c 的键角均为 94.90°, O1c-Cu1-O1 和 O1a-Cu1-O1b 的键角均为 85.10°, 表明配合物以 Cu 为核心形成中心对

称结构(见表 3)。通过 N—H 键与相邻分子中的草酸羰基氧形成分子间氢键相连, 在空间形成网状结构。

## 2.2 抑菌活性

从表 4 中可以看出, 草酸二丙酮胺-铜(5)对 6 种供试病原菌的毒力与对照药剂 80% 代森锌可混

表 2 配合物的键角

Table 2 Bond angles of complex

原子-原子-原子 Atom-atom-atom	键角 Angles/(°)	原子-原子-原子 Atom-atom-atom	键角 Angles/(°)	原子-原子-原子 Atom-atom-atom	键角 Angles/(°)
O1c-Cu1-O1	85.10	O1b-Cu1-O1c	180	O1-Cu1-O1b	94.90
O1a-Cu1-O1c	94.90	O1-Cu1-O1a	180	O1a-Cu1-O1b	85.10
O3-Cu1-O3a	180.0	O3-Cu1-O1	85.50	O3-Cu1-O1c	85.50
O3-Cu1-O1a	94.45	O3-Cu1-O1b	94.45	O3a-Cu1-O1a	85.50
O3a-Cu1-O1b	85.50	O3a-Cu1-O1	94.45	O3a-Cu1-O1c	94.45

对称码 (Symmetry codes): (i)  $x, -y+1, z$ ; (ii)  $-x+1, -y+1, -z+1$ ; (iii)  $-x+1, y, -z+1$ .

表 3 配合物中氢键的键长及键角

Table 3 Hydrogen bond lengths and angles of complex

D—H...A	D—H/Å	H...A/Å	D...A/Å	D—H...A/(°)
N1—H1A...O2 <sup>iv</sup>	0.86(3)	2.23(2)	2.950(2)	141.8(5)
N1—H1A...O2 <sup>v</sup>	0.86(3)	2.23(2)	2.950(2)	141.8(5)
N1—H1B...O2 <sup>vi</sup>	0.883(18)	2.014(19)	2.865(14)	161.5(16)

对称码 (Symmetry codes): (iii)  $-x+1, y, -z$ ; (iv)  $-x+1, -y+1, -z$ ; (v)  $x+1/2, -y+1/2, z$ .

表 4 配合物对 6 种病原真菌孢子萌发的抑制毒力

Table 4 Toxicity of copper complex against spore germination of six species pathogen

供试病原菌 Tested pathogens	样品 Sample	回归方程 Regression equation	IC <sub>50</sub> / (μg/mL)	95% 置信限 95% CL/(μg/mL)	相关系数 <i>r</i>
玉米弯孢病菌 <i>Curvularia lunata</i>	4	$y = 7.2618x - 17.7234$	1.346	1.158 ~ 1.596	0.9949
	5 80% 代森锌 (zineb) WP	$y = 19.1830x - 31.7067$ $y = 6.7335x - 7.0627$	81.94 61.86	74.60 ~ 88.67 55.43 ~ 69.71	0.9973 0.9901
玉米大斑病菌 <i>Exserohilum turcicum</i>	4	$y = 7.6318x - 18.9712$	1.383	1.176 ~ 1.603	0.9854
	5 80% 代森锌 (zineb) WP	$y = 6.3756x - 7.6686$ $y = 6.1460x - 7.3480$	97.06 102.1	85.15 ~ 112.36 87.68 ~ 110.52	0.9784 0.9826
棉花枯萎病菌 <i>Fusarium oxysporum</i>	4	$y = 4.6197x - 9.8085$	1.605	1.329 ~ 1.989	0.9934
	5 80% 代森锌 (zineb) WP	$y = 7.5285x - 9.2197$ $y = 10.0103x - 14.3375$	77.41 85.46	72.52 ~ 83.46 77.93 ~ 93.26	0.9901 0.9963
番茄灰霉病菌 <i>Botrytis cinerea</i>	4	$y = 3.9798x - 6.7330$	887.5	786.7 ~ 962.4	0.9873
	5 80% 代森锌 (zineb) WP	$y = 7.8702x - 10.9160$ $y = 8.7859x - 12.2183$	105.3 91.15	96.58 ~ 115.0 86.45 ~ 98.76	0.9957 0.9908
小麦根腐病菌 <i>Bipolaris sorokiniana</i>	4	$y = 4.2384x - 7.3376$	814.5	759.7 ~ 885.4	0.9919
	5 80% 代森锌 (zineb) WP	$y = 7.3945x - 9.9722$ $y = 6.7429x - 7.9627$	105.9 83.64	96.72 ~ 113.3 74.69 ~ 95.89	0.9807 0.9951
黄瓜霜霉病菌 <i>Pseudoperonospora cubensis</i>	4	$y = 9.4544x - 25.3283$	1.613	1.265 ~ 1.957	0.9798
	5 80% 代森锌 (zineb) WP	$y = 8.1752x - 9.8584$ $y = 2.2403x + 2.9047$	65.69 8.62	58.96 ~ 72.79 7.36 ~ 9.28	0.9891 0.9652

性粉剂基本相当,而草酸二丙酮胺(4)的毒力则远低于这2种药剂。

本文报道了一种有机铜配合物的合成及其离体抑菌活性研究结果。该配合物具有原料易得、合成步骤少、成本低廉等优点,更为重要的是,与传统无机铜(如氢氧化铜、硫酸铜等)相比,其含铜量大为降低,其质量分数仅为13.4%,从而降低了土壤中铜过量蓄积的风险,这一特征也符合当今铜素杀菌剂的发展方向。

谨以此文敬贺李正名院士八十华诞!

### 参考文献:

- [1] PARAT C, CHAUSSOD R, LÉVÊQUE J, *et al.* The relationship between copper accumulated in vineyard calcareous soils and soil organic matter and iron[J]. *Eur J Soil Sci* 2002, 53: 663 - 669.
- [2] ARIAS M, LÓPEZ E, FERNÁNDEZ D, *et al.* Copper distribution and dynamics in acid vineyard soils treated with copper-based fungicides[J]. *Soil Sci* 2004, 169: 796 - 805.
- [3] KABATA-PENDIAS A, PENDIAS H. Trace Elements in Soils and Plants [M]. 3rd Ed. CRC Press, Boca Raton, FL. 2001: 106 - 117.
- [4] STEWAKS I, WHEATON T A. Formation of diacetoneamine and triacetoneamine in plant extracts [J]. *Phytochemistry*, 1967, 6(11): 1587 - 1588.
- [5] NAKAMOTO H, INADA K, NAKAMURA N. The study on the aqueous extract of *Puerariae radix*. III. on the formation of diacetoneamine from choline-reineckate in acetone [J]. *Yakugaku Zasshi*, 1976, 96(2): 251 - 254.
- [6] JI Zhi-qin(姬志勤), WEI Shao-peng(魏少鹏), YANG Chun-ping(杨春平) *et al.* 秦岭链霉菌发酵液中二丙酮胺的分离及抑菌活性初步研究[J]. *J Northwest A & F Univ: Nat Sci Ed*(西北农林科技大学学报:自然科学版) 2008, 36(2): 148 - 152.
- [7] HAESLER P R. Preparation of diacetoneamine [J]. *J Am Chem Soc*, 1925, 47(4): 1195 - 1196.
- [8] NY/T 1156.1 - 2006. Pesticides guidelines for laboratory bioactivity tests, Part 1: Determining fungicide inhibition of pathogen spore germination on concave slides(农药室内生物测定试验准则-杀菌剂第1部分:抑制病原真菌孢子萌发试验凹玻片法) [S]. 2006.

(责任编辑:金淑惠)

### · 会 讯 ·

## 关于召开“第九届全国新农药创制学术交流会”的通知

由中化化工科学技术研究总院主办、江苏扬农化工股份有限公司协办、北京广源资信精细化工科技发展中心承办的“第九届全国新农药创制学术交流会”将于2011年4月24-27日在扬州新世纪大酒店(扬州市邗江区维扬路101号)召开。

#### 1. 会议内容

1) 大会专题报告:生物化工技术最新进展及其在农药技术创新中的应用(中国工程院沈寅初院士);我国主要作物重大病虫害发生的历史概况、现状及未来变化趋势(全国农业技术推广服务中心刘万才研究员);农药化学生物学最新研究进展及其在创制中的应用(南开大学席真教授)。

2) 新农药创制学术交流:大会交流和分组交流;评选优秀论文并予以奖励。

2. 论文征集:包括①靶标及作用机制(机理)研究;②新化合物的合成研究;③天然产物的分离、提取研究;④生物测定方法研究;⑤安全性评价方法研究;⑥行业共性技术研究(农药原药和关键中间体的清洁生产工艺、“三废”处理共性关键技术、新助剂及加工技术、节能减排工程技术、装备技术等);⑦创制农药的产业化及应用技术研究等方面的原始性研究论文以及与农药技术创新有关的综述性文章。论文提交截止日期为2011年1月10日,请将论文电子版发送至 E-mail: cnprc@263.net, 张博收。论文经评审将择优编入《第九届全国新农药创制学术交流会论文集》。

3. 收费标准:注册费为2200元/人(学生1700元/人)。4月15日前注册的代表注册费优惠200元。标准间价格330元/天(含双人早餐),单人间价格385元/天(含单人早餐)。会议代表家属餐费为120元/天(不含早餐)。注册费用请电汇至开户银行:中国民生银行安定门支行;户名:北京广源资信精细化工科技发展中心,帐号:0108014170008743。

4. 联系人及电话:张博 010-64263193, 13501345177; 黄文耀 010-64262348, 13911519300, 传真:010-64263173, E-mail: cnprc@263.net(请发送回执告知相关信息); 宾馆电话 0514-87878888

中化化工科学技术研究总院

2010年11月