

DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2018.05.003

新型大环分子对百草枯包合行为研究^{*}

马明放 解增洋 孔令栋 李兆楼 刘 君 陈瑞蛟[△]

(济宁医学院基础医学院, 济宁 272067)

摘 要 **目的** 利用光化学反应合成新型大环分子单羟基葫芦[7]脲, 对比研究葫芦[7]脲和单羟基葫芦[7]脲在尿素溶液中与百草枯的包合行为。**方法** 使用光化学反应器合成单羟基葫芦[7]脲, 通过质谱和核磁共振氢谱对其结构进行表征; 使用紫外分光光度计测定单羟基葫芦[7]脲的表观相对分子质量, 以及百草枯在尿素溶液中的摩尔吸光系数; 使用紫外滴定方法测定葫芦[7]脲和单羟基葫芦[7]脲在尿素溶液中与百草枯的包合常数。**结果** 成功合成了单羟基葫芦[7]脲, 表观相对分子质量为 1419 g/mol, 百草枯在尿素溶液中的摩尔吸光系数为 $11000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$; 葫芦[7]脲和单羟基葫芦[7]脲在尿素溶液中与百草枯的包合常数分别为 35789 M^{-1} 和 37684 M^{-1} 。**结论** 通过光化学反应可以成功制备单羟基葫芦[7]脲; 葫芦[7]脲和单羟基葫芦[7]脲在尿素溶液中与百草枯有着相似的包合行为, 包合常数十分接近; 葫芦[7]脲和单羟基葫芦[7]脲在尿素溶液中与百草枯均有着较高的包合常数, 有望实现对血清中百草枯的吸附, 进而起到解毒的功效。

关键词 葫芦[7]脲; 单羟基葫芦[7]脲; 百草枯; 包合常数

中图分类号: O641.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-9760(2018)10-317-05

Study on inclusion behavior between new macrocyclic molecule and paraquat

MA Mingfang, XIE Zengyang, KONG Lingdong, LI Zhaolou, LIU Jun, CHEN Ruijiao

(College of Basic Medicine, Jining Medical University, Jining 272067, China)

Abstract: Objective New macrocyclic molecule monohydroxylated-cucurbit[7]uril was synthesized by photochemical reaction. Inclusion behaviors between cucurbit[7]uril and monohydroxylated-cucurbit[7]uril with paraquat were studied comparatively. **Methods** Monohydroxylated-cucurbit[7]uril was synthesized by photochemical reactor, then characterized by ESI-MS and ¹H NMR. Apparent molecular weight of monohydroxylated-cucurbit[7]uril and molar absorptivity of paraquat in urea solution were detected by UV Spectrophotometer. The binding constants between cucurbit[7]uril and monohydroxylated-cucurbit[7]uril with paraquat in urea solution were measured by UV titration method. **Results** Monohydroxylated-cucurbit[7]uril was synthesized successfully. Apparent molecular weight of monohydroxylated-cucurbit[7]uril was 1419 g/mol. Molar absorptivity of paraquat in urea solution was $11000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. The binding constants between cucurbit[7]uril and monohydroxylated-cucurbit[7]uril with paraquat in urea solution were 35789 M^{-1} and 37684 M^{-1} , respectively. **Conclusion** Monohydroxylated-cucurbit[7]uril can be synthesized by photochemical reaction. Inclusion behaviors between cucurbit[7]uril and monohydroxylated-cucurbit[7]uril with paraquat in urea solution are similar. Meanwhile, the binding constants between cucurbit[7]uril and monohydroxylated-cucurbit[7]uril with paraquat in urea solution are almost the same and very high as well. Hence, cucurbit[7]uril and monohydroxylated-cucurbit[7]uril may be used to absorb paraquat in serum and then play the role of detoxification.

Keywords: Cucurbit[7]uril; Monohydroxylated-cucurbit[7]uril; Paraquat; The equilibrium association constant

^{*} [基金项目] 济宁医学院博士启动基金项目(2017JYQD03); 山东省医药卫生科技发展计划(2017WS653)

[△] [通信作者] 陈瑞蛟, E-mail: chenrj@mail.jnmc.edu.cn

百草枯是一种效果优异且被广泛使用的除草剂,如果使用得当,其效果极佳^[1]。Weidel 和 Rosso 于 1882 年首次发现了百草枯,但是,直到 1962 年,百草枯才被作为除草剂被 Syngenta 公司引入农业市场^[2]。百草枯可以快速高效地杀除众多杂草和种子,在世界范围内得到了广泛地应用。百草枯是一把双刃剑,在过去的几十年里,它也严重威胁着人类的健康。百草枯可以在肺部集中,其在肺部的浓度为在血浆中浓度的 6~10 倍,进而引起肺部纤维化,现有医疗条件很难治愈肺部纤维化,导致百草枯中毒后死亡率极高。

葫芦[n]脲是一类由甘脲通过亚甲基桥连而成的环状化合物,根据甘脲数目的不同,可以分为葫芦[5]脲、葫芦[6]脲、葫芦[7]脲和葫芦[8]脲等^[3]。尽管 1905 年 Behrend 等首次合成出了葫芦[6]脲^[4],直到 1981 年 Mock 等才充分表征出了其分子结构,葫芦[6]脲为具有疏水性空腔的南瓜状分子^[5]。在众多的葫芦[n]脲中,葫芦[7]脲(CB7)以其良好的水溶性和适中的分子尺寸,得到了广泛地研究^[6-9]。CB7 是 7 个甘脲通过亚甲基桥连而成南瓜状分子(图 1),可以通过主客体识别作用包合带有正电荷的分子如二茂铁和金刚烷的衍生物等^[10-11]。CB7 衍生化比较难,Ouari 等报道了一种光化学催化方法,成功合成了单羟基葫芦[7]脲(CB7-OH),产率较高^[12]。

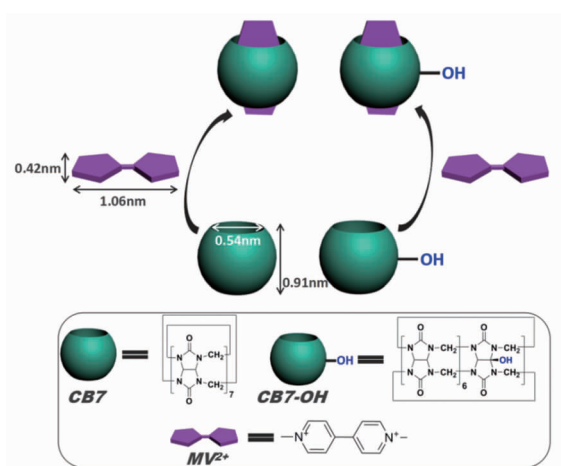


图 1 葫芦[7]脲(CB7)、单羟基葫芦[7]脲(CB7-OH)和百草枯(MV²⁺)的分子结构以及 CB7 和 CB7-OH 对 MV²⁺ 的包合机理图

在本研究中,我们首先通过光化学反应合成出了 CB7-OH 纯品。然后通过连续滴定的方法分别测试了 CB7 和 CB7-OH 与百草枯在尿素溶液中的

包合常数。研究发现,在尿素溶液中,CB7 和 CB7-OH 与百草枯的包合常数均比较大。由于人体血清中含有蛋白质的代谢产物尿素,因而,CB7 和 CB7-OH 有望实现对血清中百草枯的吸附,进而起到解毒的功效。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

百草枯、双氧水、尿素和 MCI GEL CHP20P 固定相(上海阿拉丁生化科技股份有限公司);紫外光化学反应器(Rayonet);电喷雾质谱(API 4000 MS);¹H 核磁共振(布鲁克 Avance 300 M);紫外可见分光光度计(UV-2600,日本岛津)。

1.2 CB7-OH 的合成

称取 0.5mmol CB7 于石英反应管中,加入干净的磁子,加入 25ml 盐酸溶液。然后向 CB7 溶液中加入 2mmol 双氧水,通氮气,于紫外光化学反应器中,反应 5h。旋转蒸发仪干燥,以 MCI GEL CHP20P 固定相装填色谱柱,以水为流动相进行柱层析,收集流出液,电喷雾质谱检测成分,旋转蒸发仪干燥,即可得 CB7-OH 纯品。见图 2。

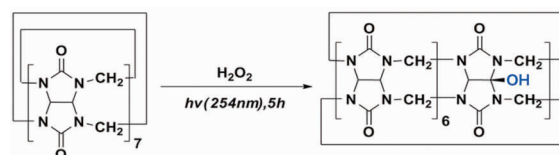


图 2 以 CB7 为原料通过光化学反应合成 CB7-OH 的反应方程式

1.3 CB7-OH 表观相对分子质量的测定

在比色皿中加入 2.5ml 二茂钴溶液,然后用移液枪向比色皿中加入不同体积的 CB7-OH 溶液,使用紫外分光光度计测定不同含量 CB7-OH 溶液的吸光度。取出 261nm 处的吸光度值,作图,利用公式 $MW_{eff} = (Cep/C) \times MW$,即可算出 CB7-OH 的表观分子量。

1.4 百草枯在尿素溶液中的摩尔吸光系数

将一定摩尔量的百草枯溶于 8 M 的尿素溶液中,配制 5~40μM 的系列溶液,使用紫外分光光度计测定系列溶液的吸光度,取最大吸光度值作图,根据朗伯-比尔定律即可计算出百草枯在尿素溶液中的摩尔吸光系数。

1.5 包合常数的测定

配制不同比例的 CB7 或者 CB7-OH 与百草枯

的尿素溶液,使用紫外分光光度计测定系列溶液的吸光度,取最大吸光度值,使用 PSI-Plot 软件模拟计算,可得主客体分子之间的包合常数。

2 结果与讨论

2.1 CB7-OH 的合成及表征

通过光化学反应,我们可以得到 CB7-OH 粗品。通过柱层析,我们可以得到 CB7-OH 纯品。CB7-OH 不带电荷,为电中性分子,所以在进行电喷雾质谱分析时,需要向 CB7-OH 体系中加入一定量的甲基紫精作为电荷源,测试其分子离子峰。在电喷雾质谱中出现了一个非常强的分子离子峰,峰值为 682.2。CB7-OH 相对分子质量为 1178g/mol,甲基紫精相对分子质量为 186g/mol,甲基紫精带有两个单位的正电荷。因此,CB7-OH 与甲基紫精包合物的质荷比为 682,该数值与电喷雾质谱结果十分吻合,初步证明我们合成了 CB7-OH 纯品。见图 3。

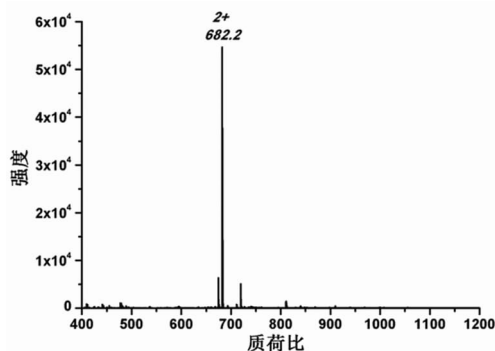


图 3 CB7-OH 的质谱表征结果

我们进一步使用 ^1H 核磁表征了 CB7-OH 的分子结构。CB7-OH 分子的 ^1H 核磁结果中氢的具体归属如下: (300MHz, D_2O) δH 5.77-5.63 (12H, m), 5.44-5.36 (14H, m), 4.99 (1H, s), 4.41-4.35 (2H, d, $J=9$), 4.16-4.07 (12H, m)。该结果与文献报道的结果一致^[12]。因此,我们成功合成了 CB7-OH 纯品。见图 4。

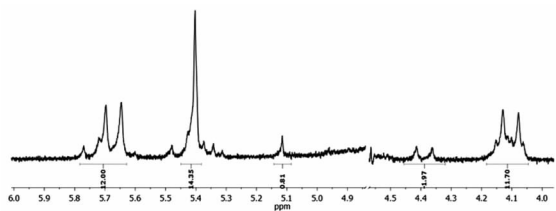


图 4 CB7-OH 的 ^1H 核磁表征结果

2.2 CB7-OH 表观相对分子质量的测定

CB7-OH, 与 CB7 一样,是具有空腔结构的分子,容易吸收空气中的气体和水分,导致其分子质量的改变。因而,在使用 CB7-OH 之前,需要测试其表观相对分子质量,以减少称量误差。我们采用连续滴定法^[13],测试了不同比例的 CB7-OH 和二茂钴系列水溶液的紫外吸收,取最强吸收处的吸光度值作图,可得到两条相交的直线,根据公式 $MW_{\text{eff}} = (C_{\text{ep}}/C) \times MW$,即可算出 CB7-OH 的表观分子量为 1419g/mol。见图 5。

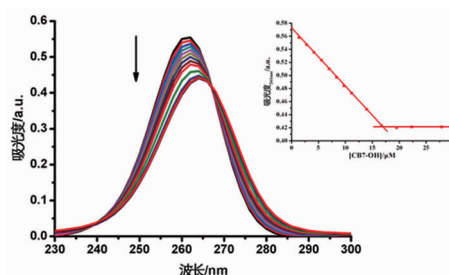


图 5 紫外测定 CB7-OH 的表观相对分子质量

2.3 百草枯在尿素溶液中的摩尔吸光系数

在测试 CB7 和 CB7-OH 与百草枯在尿素溶液中的包合常数时,我们首先需要测试百草枯在尿素溶液中的摩尔吸光系数。使用紫外分光光度计,我们测试了 5 ~ 40 μM 之间 5 个浓度的百草枯在 8M 尿素溶液中的紫外吸收。取最强吸收处的吸光度值作图,可得到一条直线,根据朗伯-比尔定律,可以求得其摩尔吸光系数为 $11000\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。见图 6。

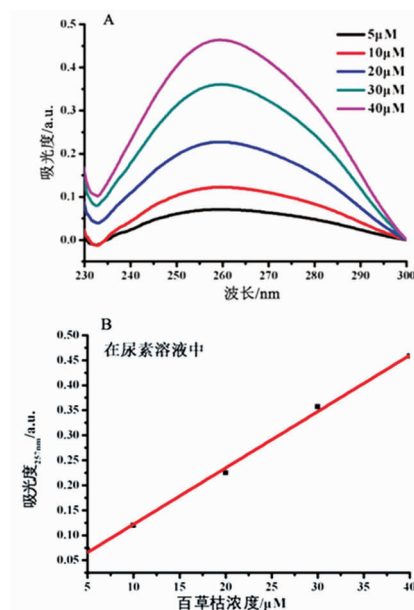


图 6 紫外测定百草枯在尿素溶液中的摩尔吸光系数

2.4 CB7 与百草枯在尿素溶液中的包含常数

如图 1 所示, CB7 是具有空腔结构的南瓜状分子, 两端端口处共有 14 个羰基, 布满了电子云团, 因而容易与一些分子尺寸契合且带有正电荷的分子结合形成包合物^[14]。已有文献报道了 CB7 空腔最窄处为 0.54 nm, 分子高度为 0.91 nm^[15]。利用 Materials Studio 5.5 软件, 我们计算出了百草枯分子的尺寸, 分子宽为 0.42 nm, 分子长为 1.06 nm。百草枯分子的尺寸刚好与 CB7 空腔契合。此外, 百草枯分子两端带有两个正电荷, 容易受到 CB7 端口处羰基吸引, 使得 CB7 和百草枯之间形成稳定的包合物。虽然, CB7 和百草枯的包含已有研究^[16], 但是 CB7 和百草枯在尿素溶液中的包含常数还未被报道。如图 7 中 A 和 B 所示, 经过两次实验, 通过连续滴定的方法, 利用 PSI-Plot 软件模拟计算, 可得 CB7 和百草枯在尿素溶液中的包含常数分别为 35803M^{-1} 和 35775M^{-1} , 平均值为 35789M^{-1} 。

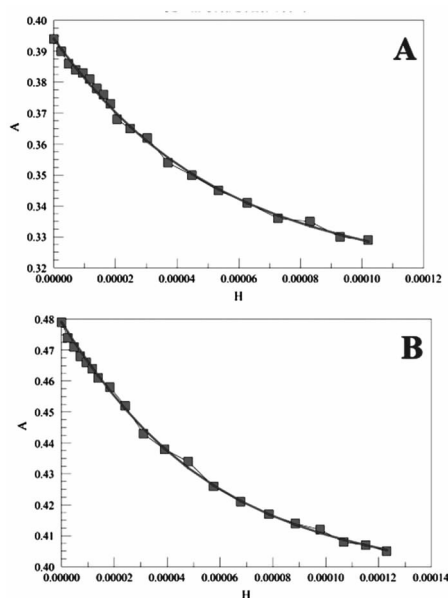


图 7 CB7 与百草枯在尿素溶液中的包含常数

2.5 CB7-OH 与百草枯在尿素溶液中的包含常数

与 CB7 结构类似, CB7-OH 也是南瓜状分子 (图 1), 因而也容易与百草枯进行包合。作为一种新颖的 CB7 衍生物, CB7-OH 研究较少, 目前, CB7-OH 和百草枯在尿素溶液中的包含常数也未报道。如图 8 中 A 和 B 所示, 经过两次实验, 通过连续滴定的方法, 利用 PSI-Plot 软件模拟计算, 测得 CB7-OH 和百草枯在尿素溶液中的包含常数分别为 36802M^{-1} 和 38566M^{-1} , 平均值为 37684M^{-1} 。

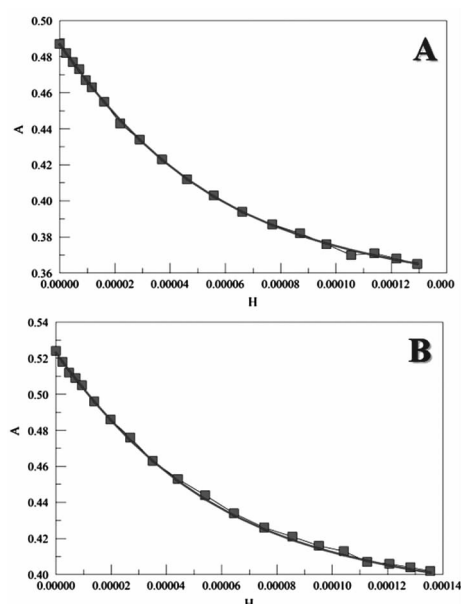


图 8 CB7-OH 与百草枯在尿素溶液中的包含常数

3 结论

在紫外光催化下, 我们成功地合成出了 CB7-OH, 并利用 ESI 质谱和 ^1H 核磁对其结构进行了充分表征。使用紫外分光光度计, 我们分别测试出了 CB7-OH 的表观相对分子质量以及百草枯在尿素溶液中的摩尔吸光系数。最后, 通过连续滴定法, 发现在尿素溶液中, CB7 和 CB7-OH 均可以和百草枯进行有效地包合, 包含常数相近, 且包含常数均比较大。因此, CB7 和 CB7-OH 有望实现对血清中百草枯的吸附, 起到解毒的功效, 为百草枯中毒的治疗提供了新的可能。

参考文献:

- [1] Suntutres ZE. Role of antioxidants in paraquat toxicity [J]. Toxicology, 2002, 180 (1): 65-77. DOI: 10.1016/s0300-483x(02)00382-7.
- [2] Dinis-Oliveira RJ, Duarte JA, Sánchez-Navarro A, et al. Paraquat poisonings: mechanisms of lung toxicity, clinical features, and treatment [J]. Crit Rev Toxicol, 2008, 38(1): 13-71. DOI: 10.1080/10408440701669959.
- [3] Kim K, Selvapalam N, Oh DH. Cucurbiturils a new family of host molecules [J]. Journal of Inclusion Phenomena, 2004, 50(1): 31-36. DOI: 10.1007/s10847-003-8835-7.
- [4] Lee JW, Samal S, Selvapalam N, et al. Cucurbituril homologues and derivatives: new opportunities in supramolecular chemistry [J]. Acc Chem Res, 2003, 36

- (8): 621-630. DOI:10.1021/ar020254k.
- [5] Freeman WA, Mock WL, Shih N. Cucurbituril[J]. Journal of the American Chemical Society, 1981, 103: 7367-7368. DOI: 10.1021/ja00414a070.
- [6] Gadde S, Batchelor EK, Weiss JP, et al. Control of H- and J-aggregate formation via host-guest complexation using cucurbituril hosts[J]. J Am Chem Soc, 2008, 130(50): 17114-17119. DOI:10.1021/ja807197c.
- [7] Tootoonchi MH, Sharma G, Calles J, et al. Cooperative self-assembly of a quaternary complex formed by two cucurbit[7]uril hosts, cyclobis(paraquat-p-phenylene), and a “designer” guest[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2016, 55(38): 11507-11511. DOI: 10.1002/anie.201606038.
- [8] Yi S, Li W, Nieto D, et al. Probing the tolerance of cucurbit[7]uril inclusion complexes to small structural changes in the guest[J]. Org Biomol Chem, 2013, 11(2): 287-293. DOI:10.1039/c2ob26834e.
- [9] Barrow SJ, Kasera S, Rowland MJ, et al. Cucurbituril-based molecular recognition[J]. Chem Rev, 2015, 115(22): 12320-12406. DOI: 10.1021/acs.chemrev.5b00341.
- [10] Ahn Y, Jang Y, Selvapalam N, et al. Supramolecular velcro for reversible underwater adhesion[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2013, 52(11): 3140-3144. DOI: 10.1002/anie.201209382.
- [11] Gong B, Choi BK, Kim JY, et al. High affinity host-guest FRET pair for single-vesicle content-mixing assay: observation of flickering fusion events[J]. J Am Chem Soc, 2015, 137(28): 8908-8911. DOI: 10.1021/jacs.5b05385.
- [12] Ayhan MM, Karoui H, Hardy M, et al. Comprehensive synthesis of monohydroxy-cucurbit[n]urils (n=5,6,7,8): high purity and high conversions[J]. Journal of the American Chemical Society, 2015, 137: 10238-10245. DOI: 10.1021/jacs.5b04553.
- [13] Yi S, Kaifer AE. Determination of the purity of cucurbit[n]uril (n=7,8) host samples[J]. J Org Chem, 2011, 76(24): 10275-10278. DOI: 10.1021/jo2018312.
- [14] Kaifer AE. Toward reversible control of cucurbit[n]uril complexes[J]. Acc Chem Res, 2014, 47(7): 2160-2167. DOI:10.1021/ar5001204.
- [15] Assaf KI, Nau WM. Cucurbiturils: from synthesis to high-affinity binding and catalysis[J]. Chem Soc Rev, 2015, 44(2): 394-418. DOI:10.1039/c4cs00273c.
- [16] Ong W, Gomez-Kaifer M, Kaifer AE. Cucurbit[7]uril: a very effective host for viologens and their cation radicals[J]. Org Lett, 2002, 4(10): 1791-1794. DOI: 10.1021/ol025869w.
- (收稿日期 2018-09-03)
(本文编辑:石俊强)

(上接第 316 页)

- [14] 宋小燕,赵永波,周晓琳,等.大鼠脑缺血再灌注后 GRP78 和 GADD153 的表达变化研究[J].中风与神经疾病杂志,2008,25(02):139-141.
- [15] 张雨平,赵聪敏,王丽雁,等. Caspase-3 抑制剂抗新生鼠缺氧缺血脑损伤作用的观察[J].第三军医大学学报,2006,28(20):2068-2070.
- [16] 黄丽.体外扩增的调节性 T 细胞静脉输注移植对脑梗死的保护作用[D].泰安:泰山医学院,2013.
- (收稿日期 2018-07-02)
(本文编辑:石俊强)

• 读者 • 作者 • 编者 •

本刊对来稿中表、图的要求

来稿中的表、图均须置于正文中,切勿单独放于文后。每幅表、图应有言简意赅的题目。

统计表格一律采用“三线表”格式,不用纵线、斜线。要合理安排纵表的横标目,并将数据的含义表达清楚;若有合计或统计学处理行(如 F 值、 P 值等),则在该行上面加一条分界横线;表内数据要求同一指标保留的小数位数相同。

图片应清晰,不宜过大。图的宽×高为 7cm×5cm,最大宽度半栏图不超过 7.5cm,通栏图不超过 17.0cm,高与宽的比例应掌握在 5:7 左右。

本刊编辑部