

5-氯甲基水杨醛缩苯丙氨酸过渡金属(Ⅱ) 配合物的合成及抗菌活性

熊亚红^{1,2}, 梁毅¹, 陈祖强¹, 陈洁霞¹, 黄剑锋¹, 周建平¹, 钱业龙¹

(1 华南农业大学理学院, 广东 广州 510642; 2 华南农业大学生物材料研究所, 广东 广州 510642)

摘要:在乙醇溶剂中合成 5-氯甲基水杨醛缩苯丙氨酸新型 Schiff 碱配体及其过渡金属 M ($M = Mn^{2+}$ 、 Co^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+}) 配合物. 通过元素分析、摩尔电导、红外光谱、紫外光谱及差热-热重方法对其组成和结构进行了表征. 采用滤纸片法和试管二倍稀释法试验测定了 Schiff 碱及其过渡金属配合物对大肠埃希菌 *Escherichia coli* 和金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* 的抗菌活性. 结果表明 Schiff 碱配体为 1:1 型电解质, 其组成为 $KHL \cdot H_2O$ ($L = C_{17}H_{14}O_3NCl^{2-}$); 合成的 5 种 Schiff 碱金属配合物均为非电解质类型, 组成为 $[ML(H_2O)] \cdot nH_2O$, 配体 L 中的亚胺基氮、酚基氧、羧基氧均与中心金属离子 M 配位, 另有 1 个水分子参与配位. 荧光光谱试验显示, 5 种配合物的荧光强度均较相应 Schiff 碱配体的明显增强, 其中锌配合物的荧光强度最大. 体外抗菌试验结果表明该 Schiff 碱配体及其过渡金属配合物都具有一定的抗菌活性, 而且配合物的抗菌活性强于 Schiff 碱配体, 其中铜配合物对大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌均表现出最强的抗菌能力, 其对这 2 种细菌的最低抑菌浓度 (MIC) 分别为 25.0 和 $12.5 \mu g \cdot mL^{-1}$.

关键词: 5-氯甲基水杨醛; 席夫碱; 过渡金属配合物; 表征; 抗菌活性

中图分类号: O614.4

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2013)01-0111-06

Synthesis and Antibacterial Activities of Transition Metal(Ⅱ) Complexes of 5-(Chloromethyl) Salicylaldehyde-Phenylalanine

XIONG Yahong^{1,2}, LIANG Yi¹, CHEN Zuqiang¹, CHEN Jiexia¹, HUANG Jianfeng¹,
ZHOU Jianping¹, QIAN Yelong¹

(1 College of Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2 Institute of Biomaterial, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: A novel Schiff base, 5-(chloromethyl) salicylaldehyde-phenylalanine, and its transition metal (Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+}) complexes were synthesized in ethanol. The ligand and complexes were characterized by elemental analysis, molar conductance measurement, IR, UV and TG-DTA, and their antibacterial activities were detected by paper-disc method and the double-dilution-method. The results showed that the Schiff base was the electrolyte of 1:1 type with the formula of $KHL \cdot H_2O$ ($L = C_{17}H_{14}O_3NCl^{2-}$) and these five complexes were the nonelectrolytes with the formula of $[ML(H_2O)] \cdot nH_2O$. The nitrogen atom of imino group and the oxygen atoms of phenol group and carboxyl group in the ligand and one water molecule were coordinated with the central metal. The fluorescence experiments showed that the fluorescence intensity of each complex was higher than that of the Schiff base, and the zinc complex had the highest fluorescence intensity. The *in vitro* antibacterial experiments exhibited that all of the Schiff base and the complexes had antibacterial activities and each complex had a higher antibacterial activity

收稿日期: 2012-06-11 网络出版时间: 2013-01-11

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20130111.0927.019.html>

作者简介: 熊亚红 (1976—), 女, 讲师, 博士, E-mail: xiongyahong@scau.edu.cn

基金项目: 国家林业局项目 (2011-4-75); 华南农业大学“211 工程”重点学科建设项目 (2009B010100001); 国家自然科学基金 (青年科学基金项目) (20906034B0604)

than that of the Schiff base. The copper complex had the highest antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* and its minimal inhibitory concentrations (MIC) against these two bacteria were 25.0 and 12.5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ respectively.

Key words: 5-(chloromethyl) salicylaldehyde; Schiff base; transition metal complex; characterization; antibacterial activity

Schiff 碱是指含有亚胺基—RC=N—并通常是由伯胺与活泼羰基化合物所形成的一类化合物,这类化合物是因 H. Schiff 于 1864 年首次发现而得名^[1]. 至今,人们在研究 Schiff 碱及其配合物时选用最多的活泼羰基化合物是水杨醛. 通过在水杨醛的苯环上添加各种取代基使得水杨醛 Schiff 碱及其配合物具有各种优良的性质^[2]. 当形成 Schiff 碱的伯胺为氨基酸时,这类 Schiff 碱称为氨基酸 Schiff 碱. 氨基酸 Schiff 碱由于具有多个氧和氮原子,且其分子含有活泼的氨基酸基团,易于与金属离子配位,是一类重要的生物配体. 氨基酸 Schiff 碱与金属形成的配合物具有多种化学和生物活性,如:氨基酸 Schiff 碱配合物具有催化氨基转移和外消旋作用,可作为研究维生素 B6 酶反应的优良模型^[3];它们还具有抗菌、消炎、抗癌活性,可用于药物研究^[4];此外,氨基酸 Schiff 碱配合物还可以用来抑制超氧离子自由基^[5]等. 目前,关于氨基酸 Schiff 碱配合物的研究非常活跃.

L-苯丙氨酸(L-Phenylalanine, L-Phe)是具有生理活性的芳香族氨基酸,是人体和动物不能靠自身自然合成的必需氨基酸之一,而且 L-Phe 可作为抗癌药物的载体将药物分子直接导入癌瘤区,从而有效抑制癌瘤生长和降低药物的毒副作用^[6]. 已有大量文献报道了 L-Phe 与水杨醛或水杨醛衍生物得到相应 Schiff 碱及其各种金属配合物的合成方法及其抗菌等生物活性^[4]. 笔者曾对一种取代水杨醛——5-氯甲基水杨醛(5-(Chloromethyl) salicylaldehyde, Cmsa)的合成方法进行了改进^[7],至今鲜见关于 Cmsa 的氨基酸 Schiff 碱及其配合物的报道. 本文通过 Cmsa 与 L-Phe 缩合得到一个新的 Schiff 碱,并以此为配体合成了 5 个过渡金属(Mn^{2+} 、 Co^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+}) Schiff 碱配合物,采用元素分析、摩尔电导、光谱法及差热-热重等方法对这些化合物的组成、结构进行了表征,并探索其荧光性能,采用滤纸片法和试管二倍稀释法研究了它们对大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌的抗菌活性. 本研究工作有助于拓宽抗菌药物的研究范围,为探索 and 开发高效低毒的抗菌药物奠定一定的理论和试验基础.

1 材料与方法

1.1 菌种与培养基

大肠埃希菌 *Escherichia coli* (G-) 和金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* (G+) 均由华南农业大学农学院-广东省植物分子育种重点实验室提供并自行保藏. 平板培养基为 $w=5\%$ 的 MH 琼脂,液体培养基为 $w=2.5\%$ 的 MH 肉汤粉.

1.2 仪器与试剂

Vario EL 元素分析仪(德国 ELEMENTAR 公司), AA-6300C 型火焰原子吸收光谱仪(上海圣科仪器设备有限公司), DTG-60 型差热热重分析仪(日本 Shimadzu 公司), AVATAR 360 FT-IR 光谱仪(美国 Nicolet 公司), UV-2550 紫外可见分光光度计(日本 Shimadzu 公司), RF-5301PC 荧光分光光度计(日本 Shimadzu 公司).

Cmsa 为自行制备,根据文献[7]提出的改进方法合成,熔点为 85~86 $^{\circ}\text{C}$. L-苯丙氨酸、MH 琼脂、MH 肉汤粉均为国产生化试剂,其他试剂均为国产分析纯试剂.

1.3 5-氯甲基水杨醛缩苯丙氨酸的合成

参照文献[8-9],将 10 mmol Cmsa 和 10 mmol L-Phe(含 10 mmol KOH)分别溶于热的体积分数为 95% 乙醇中,搅拌下将前者滴加入后者,50 $^{\circ}\text{C}$ 条件下反应 30 min,沉淀经过滤、重结晶、洗涤、真空干燥后,得 2.51 g 黄色固体粉末,产率为 70.5%.

1.4 配合物的合成

参照文献[8-9],将含 1 mmol 金属盐[$\text{Mn}(\text{Ac})_2$ 、 $\text{Co}(\text{Ac})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Cu}(\text{Ac})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Zn}(\text{Ac})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$]的体积分数为 95% 乙醇溶液逐滴加入等摩尔的上述配体溶液中,50 $^{\circ}\text{C}$ 条件下搅拌反应 30 min,沉淀经过滤、洗涤、真空干燥,产率为 60%~70%.

1.5 配合物抗菌活性的测定

参照文献[10],采用滤纸片法测定配体及其配合物的抑菌圈大小. 将 Schiff 碱配体及其配合物配制成 1.0 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的二甲基亚砜(DMSO)溶液,每片滤纸直径为 6.0 mm,载药量为 20 μL ,同一平板上每

种化合物平行做2片,37℃条件下培养20h后观察结果,测定抑菌圈的大小,同时以溶剂和金属盐作对照试验.试验结果为3次平行试验的平均值,相对平均偏差均在5%以内.

参照文献[10-11],采用试管二倍稀释法测定最低抑菌浓度(Minimal inhibitory concentration, MIC).将上述配体和配合物溶液分别用DMSO稀释至原浓度的 $1/2^n$ ($n=0、1、2、3、4、5$)后,依次移取50μL加入已接种的小试管中,于37℃、相对湿度>80%条件下培养24h后观察现象,采用比浊法确定MIC值,同时以溶剂和金属盐作对照试验,平行试验3次.

2 结果与分析

2.1 配体与配合物的组成及一般性质

采用Vario EL元素分析仪测定了Schiff碱配体及其配合物的C、H、N元素含量,采用AA-6300C型

火焰原子吸收光谱仪测定了配合物中过渡金属元素含量,元素分析结果列于表1.从表1得出:配体为一种含有1分子结晶水的钾盐 $KHL \cdot H_2O$ ($L=C_{17}H_{14}O_3NCl^{2-}$),5种配合物中配体和金属离子的配位比均为1:1,且配合物分子中含有1~4个 H_2O .室温下,以DMSO为溶剂测得配体的摩尔电导率(Λ_m)为 $68.3 S \cdot cm^2 \cdot mol^{-1}$,配合物的 Λ_m 为 $10.5 \sim 24.3 S \cdot cm^2 \cdot mol^{-1}$,表明在该溶剂中配体属于1:1型电解质,配合物均不电离,为非电解质^[12],结合配合物的化学组成,推测配体是以负二价离子与金属离子配位生成中性配合物.测得Schiff碱配体的熔点为189~191℃,配合物均无确定的熔点.

溶解性试验表明:配合物易溶于DMSO,微溶于N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、乙腈、氯仿、硝基苯,难溶于水、甲醇、乙醇、丙酮、乙醚.故采用DMSO作为溶剂来配制配合物的溶液.

表1 Schiff碱配体及其配合物的元素分析和摩尔电导率							
Tab.1 Elemental analysis and molar conductance date for the ligand and complexes							
配体及其配合物 ¹⁾	化学式	颜色	元素分析试验值(理论值) ²⁾				$\Lambda_m / (S \cdot cm^2 \cdot mol^{-1})$
			$w(C)/\%$	$w(H)/\%$	$w(N)/\%$	$w(M)/\%$	
KHL·H ₂ O	KC ₁₇ H ₁₇ O ₄ NCl	黄色	54.88(54.61)	4.69(4.58)	3.64(3.75)		68.3
MnL(H ₂ O) ₂	MnC ₁₇ H ₁₈ O ₅ NCl	土黄色	50.09(50.20)	4.28(4.46)	3.53(3.44)	13.65(13.51)	24.3
CoL(H ₂ O) ₂	CoC ₁₇ H ₁₈ O ₅ NCl	棕红色	49.55(49.71)	4.23(4.42)	3.55(3.41)	14.46(14.35)	10.5
NiL(H ₂ O) ₄	NiC ₁₇ H ₂₂ O ₇ NCl	黄绿色	45.49(45.73)	4.77(4.97)	3.22(3.14)	13.22(13.15)	11.9
CuL(H ₂ O)	CuC ₁₇ H ₁₆ O ₄ NCl	蓝绿色	51.20(51.39)	4.15(4.06)	3.42(3.53)	16.14(15.99)	11.3
ZnL(H ₂ O)	ZnC ₁₇ H ₁₆ O ₄ NCl	浅黄色	49.93(51.15)	3.94(4.04)	3.60(3.51)	16.50(16.39)	13.1

1)L=C₁₇H₁₄O₃NCl²⁻; 2)M=Mn²⁺,Co²⁺,Ni²⁺,Cu²⁺,Zn²⁺.

为了进一步证明化合物中所含H₂O的类型,对配体和配合物进行了热重-差热分析(TG-DTA),试验结果列于表2.由表2可以看出,由脱水产生的失重率的试验值与理论值吻合得很好;在90~110℃间,只有Schiff碱配体、钴配合物及镍配合物出现吸热峰,该吸收峰可归结为失去结晶水而产生的;而在170~200℃间,所有配合物均出现一个明显的脱水吸热峰,这是脱去配位水而产生的.通过计算,不难得出Schiff碱配体组成中含1分子结晶水,锰配合物和钴配合物中各含1分子结晶水和1分子配位水,镍配合物含3分子结晶水和1分子配位水,铜配合物和锌配合物中各含1分子配位水.

2.2 FT-IR 光谱分析

比较配体和其配合物的红外谱图,通过特征峰的位移和新特征峰的产生可判断配体是否与金属配

位及推测可能的配位点.本文采用KBr压片法在AVATAR 360 FT-IR光谱仪上测定了配体及其配合物的红外光谱,部分数据见表3.

表2 Schiff碱配体及其配合物的热重分析数据
Tab.2 Data of TG-DTA analysis of the ligand and complexes

配体及其配合物 ¹⁾	$\theta_{\text{吸热峰}}/^\circ\text{C}$	失水率/%	
		试验值	理论值
KHL·H ₂ O	92	4.53	4.82
MnL(H ₂ O) ₂	105; 183	4.32; 4.59	4.43; 4.43
CoL(H ₂ O) ₂	101; 180	4.58; 4.63	4.39; 4.39
NiL(H ₂ O) ₄	96; 177	11.93; 4.22	12.11; 4.08
CuL(H ₂ O)	193	4.75	4.53
ZnL(H ₂ O)	186	4.68	4.51

1)L=C₁₇H₁₄O₃NCl²⁻.

表 3 Schiff 碱配体及其配合物的主要 IR 特征吸收频率
Tab.3 Major IR spectral data of the ligand and complexes

配体及其配合物 ¹⁾	$\nu(\text{OH})$	$\nu(\text{C}=\text{N})$	$\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$	$\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$	$\nu(\text{Ar}-\text{O})$	$\nu(\text{M}-\text{N})^{2)}$
KHL · H ₂ O	3 435	1 620	1 588	1 414	1 311	
MnL(H ₂ O) ₂	3 433	1 628	1 628	1 399	1 283	455
CoL(H ₂ O) ₂	3 439	1 630	1 630	1 399	1 306	470
NiL(H ₂ O) ₄	3 384	1 644	1 621	1 385	1 270	458
CuL(H ₂ O)	3 440	1 629	1 629	1 385	1 264	473
ZnL(H ₂ O)	3 416	1 631	1 594	1 389	1 269	462

1) L = C₁₇H₁₄O₃NCl²⁻; 2) M = Mn²⁺, Co²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺.

试验测得 Cmsa 的红外光谱中,在 1 659 cm⁻¹ 处有一个归属于醛基—CHO 的强伸缩振动峰,当 Cmsa 与苯丙氨酸(Phe)缩合形成 Schiff 碱配体后,配体中醛基峰消失,从表 3 可以看出,在 1 620 cm⁻¹ 处出现一个归属于亚胺基的 $\nu(\text{C}=\text{N})$ 振动峰尖锐的强吸收峰,说明了 Schiff 碱配体的形成. 在 3 350 ~ 3 450 cm⁻¹ 范围内的宽吸收峰表明配体和配合物中存在水分子. 配合物与配体相比, $\nu(\text{C}=\text{N})$ 峰和 $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$ 峰均发生明显蓝移, $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$ 和 $\nu(\text{Ar}-\text{O})$ 峰均明显红移,表明亚氨基氮、酚基氧及羧基氧均与中心金属离子(Mn²⁺、Co²⁺、Ni²⁺、Cu²⁺、Zn²⁺)配位,而且配合物中 $\Delta\nu[\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-) - \nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)]$ 值均大于 200 cm⁻¹,表明配体中的羧基为单齿配位方式^[13], 455 ~ 473 cm⁻¹ 范围内的 $\nu(\text{M}-\text{N})$ 弱吸收峰的出现,进一步证明配合物的形成.

结合红外分析结果和表 2 中 TG-DTA 分析结果可知,这些配合物中金属离子均为四配位, Schiff 碱配体为负二价的三齿配体,通过亚氨基氮、酚基氧及羧基氧参与配位,第 4 个配位位置由 1 分子水占据.

2.3 UV 光谱分析

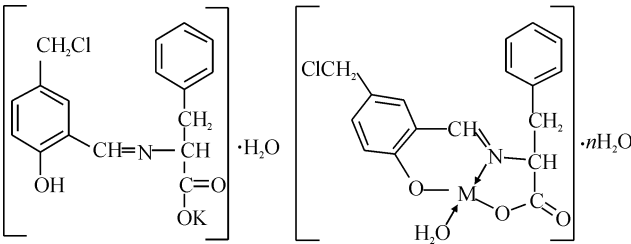
以 DMSO 作为溶剂,在 UV-2550 紫外可见分光光度计上测定了配体与配合物的紫外可见光谱,并将其 B 带和 R 带的 λ_{max} 列于表 4. B 带是苯环本身的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 吸收带, R 带是 C=N 键的 N 原子 p 轨道的孤对电子与苯环大 π 键发生 $p-\pi$ 共轭而产生的 $n \rightarrow \pi^*$ 吸收带^[14]. 从表 4 中的数据可以看出,配合物与配体相比, B 带发生了 10 ~ 26 nm 的红移, R 带发生了 30 ~ 65 nm 的明显红移,进一步证明亚胺基氮参与了配位. 这 2 个主要吸收带的红移是由于形成配合物后,氮上的孤对电子与中心离子形成配位键,分子中的稠环数目增多, π 键共轭程度增大, 能量降低, 导致 $\pi \rightarrow \pi^*$ 和 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁能量降低. 已有文献报道在其他一些 Schiff 碱配合物中也存在类似的规律性^[10,14-15].

表 4 Schiff 碱配体及其配合物的紫外光谱和荧光光谱数据
Tab.4 Ultraviolet and fluorescence spectra data of the ligand and complexes

配体及其配合物 ¹⁾	$\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$		$\lambda_{\text{em}}/\text{nm}$	相对荧光强度 ²⁾ /%
	B 带	R 带		
KL · H ₂ O	280	320	438	100
MnL(H ₂ O) ₂	290	350	450	588
CoL(H ₂ O) ₂	293	385	462	202
NiL(H ₂ O) ₄	290	378	465	180
CuL(H ₂ O)	306	370	455	714
ZnL(H ₂ O)	305	372	458	1 470

1) L = C₁₇H₁₄O₃NCl²⁻; 2) 以 Schiff 碱 KL · H₂O 在 10⁻⁴ mol · L⁻¹ 下的荧光强度为 100%.

由元素分析、摩尔电导率、TG-DTA、IR 及 UV 的测定与分析,推测配体及配合物的可能结构如下:



其中, M = Mn²⁺, Co²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺; n 分别为 1, 1, 3, 0, 0.

2.4 荧光光谱

Schiff 碱配体中 C=N 键上的 N 原子直接与中心金属离子配位,因此以 R 带的 λ_{max} 作为激发波长更能反映出配合物与配体荧光性质的差异. 本文以 DMSO 为溶剂, R 带的 λ_{max} 作为各自的最佳激发波长,采用 RF-5301PC 荧光分光光度计测定了配体和配合物的荧光发射光谱. 从表 4 列出的最大发射波长 λ_{em} 和相对荧光强度可以看出,配合物的 λ_{em} 均较相应 Schiff 碱配体的发生明显红移(12 ~ 27 nm),进一步说明有配合物生成;另外,配合物的荧光强度较 Schiff 碱配

体有不同程度的增强,这是由于过渡金属离子参与配位增加了配体的 π 电子共轭程度,且结构刚性增强的结果^[16]. 比较表 4 中 5 个配合物的相对荧光强度,发现配合物 $\text{ZnL}(\text{H}_2\text{O})$ 的相对荧光强度最大,约为 Schiff 碱配体的 14.7 倍,虽然该增幅与黎植昌等^[17]报道的 5 种 Schiff 碱单核锌配合物的数值(43.5 ~ 227.0 倍)相比要低得多,但远高于丁瑜等^[18]报道的一种 Schiff 碱三核锌配合物的数值(约 1.3 倍),可将这一性质用于 Zn^{2+} 的荧光分析. 显然这种荧光增强的程度与 Schiff 碱的组成及配合物的构型有密切关系.

2.5 配体与配合物的抗菌活性

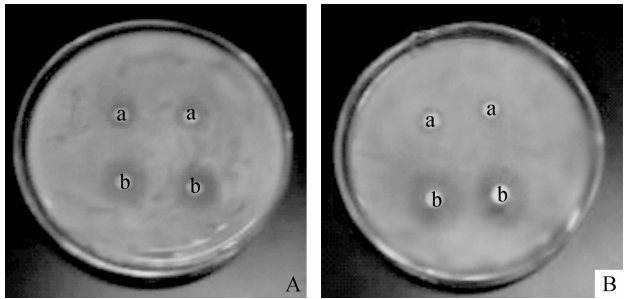
采用滤纸片法测得配体及配合物在质量浓度 $1.0\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 下对大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径(表 5). 结果表明,在试验浓度下,对于大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌而言,配合物均较配体具有更强的抗菌作用,相应的金属盐在 $1.0\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 质量浓度下几乎无抗菌作用,表明形成配合物后,过渡金属离子与 Schiff 碱配体的协同作用增

强了抗菌能力. 配合物抗菌能力的提高可能是由于金属离子配位后,配合物较 Schiff 碱配体的共轭效应增强,脂溶性增强,更容易透过生物膜到达靶部位,因而抗菌能力增强,也可能是中心金属离子增强了药物与受体之间的电子迁移能力所致^[19-20]. 比较这 5 个配合物的抑菌圈大小,很容易看出配合物 $\text{CuL}(\text{H}_2\text{O})$ 的抗菌活性最高,由图 1 也可直观地看出该配合物对大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌的抗菌效果,这与文献报道的 Schiff 碱铜配合物具有良好的抗菌活性的结果一致^[19-20]. 抑菌圈直径小于 10 mm 表示弱抑菌效果,在 10 ~ 20 mm 为中等抑菌,大于 20 mm 为强抑菌^[10],根据这一判断标准,本文中抗菌能力最强的配合物 $\text{CuL}(\text{H}_2\text{O})$ 属于具有中等抑菌能力的药物. 单从抑菌圈直径大小来看,配合物 $\text{CuL}(\text{H}_2\text{O})$ 的抑菌圈直径与 Chohan 等^[20]报道的 5 种水杨醛氨基酸 Schiff 碱铜配合物的相当. 据文献报道,配合物越稳定,其抗菌活性越小^[8],推测这些 Schiff 碱配合物之间抗菌能力的差异可能与配合物的稳定性有关. 表 5 中的数据表明, Schiff 碱配体及其配合

表 5 Schiff 碱配体及其配合物的抑菌圈
Tab. 5 The bacteriostasis circle diameters of the ligand and complexes

化合物 ¹⁾	$d_{\text{抑菌圈}}/\text{mm}$		化合物 ¹⁾	$d_{\text{抑菌圈}}/\text{mm}$	
	大肠埃希菌	金黄色葡萄球菌		大肠埃希菌	金黄色葡萄球菌
DMSO	6.5	6.5	$\text{KL} \cdot \text{H}_2\text{O}$	7.0	7.0
$\text{Mn}(\text{Ac})_2$	6.5	6.5	$\text{MnL}(\text{H}_2\text{O})_2$	9.0	7.6
$\text{Co}(\text{Ac})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	6.5	6.5	$\text{CoL}(\text{H}_2\text{O})_2$	11.0	11.5
$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	6.5	6.5	$\text{NiL}(\text{H}_2\text{O})_4$	8.5	8.0
$\text{Cu}(\text{Ac})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	8.5	8.0	$\text{CuL}(\text{H}_2\text{O})$	18.0	20.0
$\text{Zn}(\text{Ac})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	7.0	8.0	$\text{ZnL}(\text{H}_2\text{O})$	10.0	11.0

1) $\text{L} = \text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_3\text{NCl}^{2-}$.



a: $\text{Cu}(\text{Ac})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (对照); b: $\text{CuL}(\text{H}_2\text{O})$.

图 1 $\text{CuL}(\text{H}_2\text{O})$ 对大肠埃希菌(A)和金黄色葡萄球菌(B)的抑菌圈

Fig. 1 Bacteriostasis circles of $\text{CuL}(\text{H}_2\text{O})$ against *Escherichia coli* (A) and *Staphylococcus aureus* (B)

物对革兰阳性菌金黄色葡萄球菌的抗菌能力略高于对革兰阴性菌大肠埃希菌,尤其是配合物 $\text{CuL}(\text{H}_2\text{O})$,但它们对这 2 种细菌的抗菌活性差异不大,表明这些配合物的抗菌性能具有一定的广谱性. 不同的是,毕思玮等^[8]发现由水杨醛与 *L*-Phe 缩合得到的 *N*-亚水杨基苯丙氨酸 Schiff 碱对这 2 种细菌均无作用,且其铜(Ⅱ)配合物只对大肠埃希菌有较强的抗菌活性. 可见在水杨醛的苯环上添加不同取代基可以有效改变水杨醛 Schiff 碱及其配合物的一些生物活性,这也进一步说明研究不同水杨醛 Schiff 碱及其配合物是很有价值和意义的.

尽管滤纸片法得到的抑菌圈大小能够直观地反映药物的抗菌能力,但抑菌圈直径受到药物浓度、药

物扩散速率、操作熟练度等诸多因素的影响,抑菌圈的直径的绝对大小可能不能真正反映药物的抗菌能力大小,导致不同文献中抑菌圈直径具体数值的可比性不强.而测定 MIC 的可控程度更高,该值就是可完全抑制菌体繁殖时的最低药物浓度,不同文献中的 MIC 的可比性更高.因此,本文在上述滤纸片法的基础上进一步采用二倍稀释法测定了配体及配合物的 MIC,结果列于表 6.表 6 中的数据表明,在试验用的这几种 Schiff 碱配合物中,配合物 $\text{CuL}(\text{H}_2\text{O})$ 对大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌的 MIC 均最小,而且其对金黄色葡萄球菌的 MIC 低于对大肠埃希菌的 MIC,这与上述滤纸片法的试验结果一致.由于受溶解度的限制,部分配合物未能准确得到 MIC. Lv 等^[21]报道了一种抗菌活性几乎可与商品化抗生素氯霉素相媲美的 Schiff 碱铜配合物,该配合物对大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌的 MIC 分别为 32 和 $2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,表 6 中配合物 $\text{CuL}(\text{H}_2\text{O})$ 的相应 MIC 值与其比较接近,表明该配合物的抗菌活性较高.

表 6 Schiff 碱配体及其配合物的 MIC
Tab. 6 The MIC of ligand and complexes

配体及配合物 ¹⁾	MIC/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	
	大肠埃希菌(G-)	金黄色葡萄球菌(G+)
$\text{KL}\cdot\text{H}_2\text{O}$	>50.0	>50.0
$\text{MnL}(\text{H}_2\text{O})_2$	>50.0	>50.0
$\text{CoL}(\text{H}_2\text{O})_2$	50.0	25.0
$\text{NiL}(\text{H}_2\text{O})_4$	>50.0	50.0
$\text{CuL}(\text{H}_2\text{O})$	25.0	12.5
$\text{ZnL}(\text{H}_2\text{O})$	25.0	50.0

1) $\text{L}=\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_3\text{NCl}^{2-}$.

3 讨论与结论

本文合成的新的 Schiff 碱配体及其过渡金属配合物的组成和结构与文献报道的类似 Schiff 碱及其配合物的结构^[8-9]相似.通过荧光试验验证了不少文献报道的 Schiff 碱形成配合物后荧光发射强度增强的结论,本文通过比较一系列过渡金属 Schiff 碱配合物的荧光发射强度,发现其锌配合物的荧光发射强度增幅最大(14.7 倍),这种增幅与其他 Schiff 碱锌配合物^[17-18]相比属于中等水平,这将为 Schiff 碱作为分析试剂用于过渡金属元素(尤其是 Zn^{2+})的荧光分析检测提供基础数据,有助于拓宽氨基酸 Schiff 碱的应用面.文中合成的这些配合物的抗菌活性均强于 Schiff 碱配体,且铜配合物对大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌均表现出最强的抗菌活性.与众多水杨醛 Schiff 碱金属配合物的抗菌活性^[10,19-21]相比,该铜配

合物的抗菌活性属于较高的,但离常见药用抗生素^[20-21]的抗菌活性还有一定的差距,有待进一步从 Schiff 碱配体的组成、金属离子种类及配合物的结构上进一步优化,以获得抗菌活性更高的氨基酸 Schiff 碱过渡金属配合物.该研究结果将为后续设计和筛选高效低毒、抗菌谱广的抗菌药物提供一定的科学研究基础及理论依据.

Chohan 等^[20]认为部分金属的 Schiff 碱配合物与其 Schiff 碱配体相比,抗菌活性没有明显提高的原因可能是配合物本身的脂溶性不高,本课题组曾报道了一些铜的氨基酸配合物具有较高的超氧化物歧化酶(SOD)活性^[22],对 DNA 具有断裂作用^[11],Lv 等^[21]发现铜表面被活化的氧对细菌具有抑制作用,本文一系列过渡金属配合物中,恰好是铜 Schiff 碱配合物的抗菌活性最高,初步推测其抗菌活性还可能与配合物的一些催化活性有关.因此在这类氨基酸 Schiff 碱过渡金属配合物的抗菌机理上有待进一步深入研究.

参考文献:

[1] 南光明,刘德蓉.浅述希夫碱及其金属配合物的由来、产生机理、合成方法及展望[J].伊犁师范学院学报,2005,16(3):58-59.

[2] DANESHVAR N, ENTEZAMI A A, KHANDAR A A, et al. Synthesis and characterization of copper(II) complexes with dissymmetric tetradentate Schiff base ligands derived from aminothioether pyridine[J]. Polyhedron, 2003, 22: 1437-1440.

[3] CASELLA L, GULLOTTI M. Synthesis, stereochemistry, and oxygenation of cobalt(II)-pyridoxal model complexes: A new family of chiral dioxygen carriers[J]. Inorg Chem, 1986, 25(9):1293-1303.

[4] 席晓岚,黎植昌.氨基酸 Schiff 碱及其金属配合物的抑菌抗癌活性的研究进展[J].氨基酸和生物资源,1998,20(4):40-43.

[5] HODNETT E M, DUNN W J. Structure-antitumor activity correlation of some Schiff bases[J]. J Med Chem, 1970, 13(4):768-770.

[6] 汪多仁. L-苯丙氨酸生产与应用[J].发酵科技通讯,2011,40(1):29-36.

[7] 熊亚红,梁毅,陈洁霞,等. 5-氯甲基水杨醛合成方法的改进[J].广州化工,2009,37(9):97-98.

[8] 毕思玮,刘树祥.氨基酸水杨醛席夫碱与铜(II)配合物的合成及其抗菌活性和稳定性、结构间的关系[J].无机化学学报,1996,12(4):423-426.

[9] 田来进,田君濂,李延团,等. N-亚水杨基氨基酸及其 3d 金属配合物的合成与性质[J].化学试剂,1996,18(2):114-116.

- tein as a vaccine against *Mycoplasma hyopneumoniae* in swine [J]. *Vaccine*, 2010, 28(30):4802-4809.
- [22] OKAMBA F R, MOREAU E, CHEIKH SAAD BOUH K, et al. Immune responses induced by replication-defective adenovirus expressing the C-terminal portion of the *Mycoplasma hyopneumoniae* P97 adhesin [J]. *Clin Vaccine Immunol*, 2007, 14(6):767-774.
- [23] JANG E J, KIM T J. *In vitro* expression of the 50-kDa and 30-kDa fragments of the P97 adhesin of *Mycoplasma hyopneumoniae* in *Escherichia coli* and their use for serodiagnosis[J]. *Can J Vet Res*, 2007, 71(4): 278-282.
- [24] PETTERSSON B, UHLÉN M, JOHANSSON K E. Phylogeny of some *Mycoplasmas* from ruminants based on 16S rRNA sequences and definition of a new cluster within the hominis group[J]. *Int J Syst Bacteriol*, 1996, 46(4): 1093-1098.
- [25] LI Ming, MA Chunji, LIU Xiaoming, et al. Molecular cloning of HSP70 in *Mycoplasma ovipneumoniae* and comparison with that of other mycoplasmas [J]. *Genet Mol Res*, 2011, 10(2):834-848.
- [26] DEUTSCHER A T, JENKINS C, MINION F C, et al. Repeat regions R1 and R2 in the P97 paralogue Mhp271 of *Mycoplasma hyopneumoniae* bind heparin, fibronectin and porcine cilia[J]. *Mol Microbiol*, 2010, 78(2):444-458.
- 【责任编辑 李晓卉, 霍 欢】
-
- (上接第 116 页)
- [10] 马树芝, 郑文捷, 周美锋, 等. 稀土水杨醛缩苯丙氨酸盐邻菲罗啉配合物的合成、表征及抗菌活性[J]. *上海师范大学学报:自然科学版*, 2007, 36(3):66-72.
- [11] 卢艳梅, 区志宾, 胡伟, 等. (2-(2'-吡啶)苯并咪唑)(*L*-丙氨酸根)铜(II)配合物结构、抗菌活性及 DNA 断裂作用[J]. *化学学报*, 2012, 70(8):973-979.
- [12] GEARY W J. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds[J]. *Coord Chem Rev*, 1971, 7(1):81-122.
- [13] NAKAMOTO. 无机和配位化合物的红外和拉曼光谱[M]. 黄德如, 汪仁庆, 译. 4 版. 北京: 化学工业出版社, 1991:257-259.
- [14] 陈德余, 张平, 史卫良. 邻香草醛缩天冬氨酸铜、锌、钴、镍配合物的合成[J]. *应用化学*, 1999, 16(2):75-77.
- [15] 史卫良, 陈德余, 吴清洲. 水杨醛缩 L-天冬氨酸过渡金属配合物的合成及表征[J]. *无机化学学报*, 1999, 15(6):761-765.
- [16] 许军鹏, 刘景旺, 达文燕, 等. 稀土-姜黄素-菲罗啉配合物荧光和抑菌活性研究[J]. *中国稀土学报*, 2009, 27(1):68-75.
- [17] 黎植昌, 李太山. N-亚水杨基氨基酸锌配合物的合成及表征[J]. *高等学校化学学报*, 1993, 14(3):301-304.
- [18] 丁瑜, 刘志伟, 张忠海. 席夫碱三核锌(II)配合物的晶体结构及荧光活性研究[J]. *化学学报*, 2007, 65(8):688-692.
- [19] 黄娟, 崔紫宁, 李映. Schiff 碱铜配合物的生物活性[J]. *有机化学*, 2008, 28(4):598-599.
- [20] CHOHAN Z H, ARIF M, SARFRAZ M. Metal-based antibacterial and antifungal amino acid derived Schiff bases: Their synthesis, characterization and *in vitro* biological activity[J]. *Appl Organomet Chem*, 2007, 21(4):294-302.
- [21] LV Jian, LIU Tingting, CAI Sulan, et al. Synthesis, structure and biological activity of cobalt(II) and copper(II) complexes of valine-derived schiff bases[J]. *J Inorg Biochem*, 2006, 100(11): 1888-1896.
- [22] 廖升荣, 乐学义, 卢其明, 等. 1,10-邻菲咯啉-铜(II)-氨基酸配合物的合成、分子结构及其生物活性[J]. *华南农业大学学报*, 2006, 27(3): 122-124.
- 【责任编辑 李晓卉】