

2-羧甲氧基苯甲醛苯甲酰脲及其配合物抑菌活性的构效关系

马兴铭, 雒艳萍, 麻宝成¹, 杨汝栋¹

兰州医学院基础医学院免疫学教研室, 兰州730000, 甘肃

摘要 目的: 研究 2-羧甲氧基苯甲醛苯甲酰脲及其配合物的抑菌活性。方法: 合成配体 2-羧甲氧基苯甲醛苯甲酰脲及其配合物, 采用 K-B 法检测其对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌和枯草芽胞杆菌的生长抑制作用。结果: 配体 2-羧甲氧基苯甲醛苯甲酰脲仅抑制金黄色葡萄球菌的生长, 其配合物能抑制金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌和枯草芽胞杆菌的生长, 形成抑菌环, 尤其 Cu 配合物形成抑菌环直径最大。结论: 2-羧甲氧基苯甲醛苯甲酰脲与金属、稀土形成的配合物均有一定的抑菌作用, Cu 配合物抑菌活性最强。
关键词 脲类化合物; 配体; 配合物; 体外抑菌; K-B 法

中图分类号: R965; R37

文献标识码: A

文章编号: 1009-2501(2004)02-0201-03

脲类化合物因其具有特殊的生物活性和强的配位能力, 在农业、医药和分析试剂等方面一直是人们广泛研究的对象, 在治疗某些疾病、清除生物体内自由基及抑菌等方面已有文献报道^[1,2]。但对其中羧酸类芳酰脲的结构和性质及药理学活性研究报道较少, 用羧酸类芳酰脲作配体不仅增加了配位基团, 而且丰富了配位方式, 本研究对新合成配体 2-羧甲氧基苯甲醛苯甲酰脲及其金属与稀土配合物, 进行体外的抑菌活性初步研究。

1 材料与方法

1.1 试剂与菌株 分析纯水杨醛, 中国医药集团上海化学试剂厂; 分析纯氯乙酸, 上海试剂一厂; 分析

纯苯甲酰脲, 上海试剂三厂; 稀土氧化物(纯度 99.99%), 上海跃龙化工厂; 分析纯水杨酸, 上海金山化工厂; MH 培养基, 杭州微生物试剂厂; 其他所用试剂及溶剂均为国产分析纯。细菌标准菌株: 金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、枯草芽胞杆菌, 兰州医学院基础医学院免疫学教研室提供。

1.2 2-羧甲氧基苯甲醛苯甲酰脲(H₂L)的制备 称取 10 mmol 邻甲酰基苯氧乙酸(兰州大学化学化工学院提供)溶于 100 ml 乙醇中, 边回流边滴加含有 10 mmol 苯甲酰脲的乙醇溶液 80 ml, 滴完后继续回流 4 h, 将溶液蒸至近干, 即得粗产品。干燥后用 1:1 的乙醇、水溶液重结晶即可得浅黄色针状纯产品 1.97 g, 产率 66%, 熔点 216~217 °C, 易溶于 DMSO、DMF、甲醇、乙醇、微溶于水等溶剂, 结构通过波谱(¹HNMR、FAB-MS、IR)鉴定, 分子式为 C₁₆H₁₄N₂O₄。

1.3 H₂L 过渡金属配合物的制备 将含有 0.12 mmol 的过渡金属醋酸盐的 15 ml 甲醇溶液滴加到溶有 0.1 mmol 配体的 15 ml 甲醇溶液中, 室温下搅拌 6 h 后将沉淀过滤, 用甲醇反复洗涤直至干净为止, 此沉淀即为过渡金属配合物, 易溶于 DMSO、DMF 中, 微溶于甲醇、乙醇, 不溶于氯仿、水、丙酮等溶剂。结构通过波谱(¹HNMR、FAB-MS、IR)鉴定, 属于非电解质, 配合物的组成为 Mⁿ·L·H₂O (M 代表过渡金属元素, L 代表配合物)。

1.4 H₂L 稀土配合物的制备 将含有 0.12 mmol 的稀土硝酸盐的 15 ml 甲醇溶液滴加到溶有 0.3 mmol 配体 H₂L 的 15 ml 甲醇溶液中, 用稀氨水调 pH 至 5~6 左右, 室温下搅拌 8 h 后将沉淀过滤, 用甲醇反复洗涤直至干净为止, 此沉淀即为稀土配合物, 易溶于 DMSO、DMF 中, 微溶于水、甲醇、乙醇等溶剂。结构通过波谱(¹HNMR、FAB-MS、IR)鉴定, 属于非电解质, 配合物的组成为 RE³⁺·3Lⁿ·nH₂O (RE 代表稀土元素, L 代表配合物, n=1~2)。

1.5 体外抑菌实验³ 取试验菌种接种于 MH 琼

2003-07-11 收稿 2003-08-14 修回

马兴铭, 通讯作者, 男, 医学硕士, 副教授, 研究方向: 中药免疫调控机理和抗菌药物合成与筛选。

Tel: 09313968050 E-mail: mingxm@163.com

¹ 兰州大学化学化工学院。

脂平板培养基中, 35 °C 培养 14 h, 用 MH 液体培养基制备菌悬液, 菌液浓度为 10^8 CFU \cdot ml $^{-1}$ 备用。配体及配合物以 DMSO 为溶剂, 分别配成低浓度 10 g \cdot L $^{-1}$ 、中浓度 20 g \cdot L $^{-1}$ 、高浓度 40 g \cdot L $^{-1}$ 的溶液, DMSO 溶剂为阴性对照, 每纸片(直径 6 mm)加样品 10 μ l 备用。取菌液浓度为 10^8 CFU \cdot ml $^{-1}$ 的菌株 0.2 ml, 均匀涂布于 MH 琼脂皿表面, 室温放置 5 min 后, 贴加含有样品纸片, 15 min 内, 将培养基置入 35 °C 孵箱培养 16~18 h。精确测定纸片周围抑菌环的直径大小(mm)。

1.6 统计学处理 结果经 SPSS 软件(11.0)的 One-Way ANOVA(LDS) 统计处理。

2 结果

以金黄色葡萄球菌和枯草芽胞杆菌代表 G⁺ 菌, 大肠埃希菌代表 G⁻ 菌, 2-羧甲氧基苯甲醛苯甲酰胺及其配合物对三种菌株的抑菌活性结果见表 1、表 2。

表 1 配体 H₂L 及其稀土配合物的抑菌活性结果($\bar{x} \pm s, n = 4, \text{mm}$)

化合物	浓度 /g \cdot L $^{-1}$	金黄色葡萄球菌	大肠埃希菌	枯草芽胞杆菌
H ₂ L	10	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
	20	7.28 \pm 0.32 ^d	0 \pm 0	0 \pm 0
	40	7.53 \pm 0.05	0 \pm 0	0 \pm 0
La ³⁺ ·3L·H ₂ O	10	6.25 \pm 0.06	0 \pm 0	0 \pm 0
	20	6.75 \pm 0.35 ^{df}	0 \pm 0	0 \pm 0
	40	7.10 \pm 0.27 ^c	0 \pm 0	0 \pm 0
Sm ³⁺ ·3L·H ₂ O	10	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
	20	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
	40	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
Eu ³⁺ ·3L·H ₂ O	10	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
	20	0 \pm 0	6.88 \pm 0.25 ^f	0 \pm 0
	40	6.40 \pm 0.12	7.53 \pm 0.05	0 \pm 0
Gd ³⁺ ·3L·2H ₂ O	10	0 \pm 0	6.75 \pm 0.29	0 \pm 0
	20	0 \pm 0	6.88 \pm 0.25 ^{df}	0 \pm 0
	40	0 \pm 0	7.63 \pm 0.25 ^c	0 \pm 0
Tb ³⁺ ·3L·2H ₂ O	10	0 \pm 0	7.38 \pm 0.25	0 \pm 0
	20	0 \pm 0	7.13 \pm 0.25 ^{be}	0 \pm 0
	40	0 \pm 0	7.28 \pm 0.03	0 \pm 0
Dy ³⁺ ·3L·H ₂ O	10	0 \pm 0	6.20 \pm 0.08	9.0 \pm 0.9
	20	0 \pm 0	7.50 \pm 0.41 ^{ce}	0 \pm 0
	40	0 \pm 0	7.65 \pm 0.24 ^c	0 \pm 0
Yb ³⁺ ·3L·H ₂ O	10	0 \pm 0	6.50 \pm 0.08	0 \pm 0
	20	0 \pm 0	6.88 \pm 0.25 ^{df}	0 \pm 0
	40	0 \pm 0	7.28 \pm 0.32 ^c	0 \pm 0
Y ³⁺ ·3L·H ₂ O	10	0 \pm 0	7.05 \pm 0.10	0 \pm 0
	20	0 \pm 0	6.88 \pm 0.25 ^f	0 \pm 0
	40	0 \pm 0	7.25 \pm 0.29 ^c	0 \pm 0
DMSO		0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0

L(配体 2-羧甲氧基苯甲醛苯甲酰胺)、La(镧)、Sm(钐)、Eu(铕)、Gd(钆)、Tb(铽)、Dy(镝)、Yb(镱)、Y(钇)。与低浓度(10 g \cdot L $^{-1}$)组比较^b P<0.05, ^c P<0.01; 与高浓度(40 g \cdot L $^{-1}$)组比较: ^e P<0.05, ^f P<0.01

表 2 配体 H₂L 及其过渡金属配合物的抑菌活性结果($\bar{x} \pm s, n = 4, \text{mm}$)

化合物	浓度 /g \cdot L $^{-1}$	金黄色葡萄球菌		
		大肠埃希菌	枯草芽胞杆菌	
H ₂ L	10	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
	20	7.28 \pm 0.32 ^d	0 \pm 0	0 \pm 0
	40	7.53 \pm 0.05	0 \pm 0	0 \pm 0
Mn ²⁺ ·L·H ₂ O	10	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
	20	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
	40	0 \pm 0	0 \pm 0	8.63 \pm 0.48
Co ²⁺ ·L·H ₂ O	10	6.55 \pm 0.10	6.48 \pm 0.05	9.00 \pm 0.58
	20	7.15 \pm 0.17 ^{ce}	7.25 \pm 0.29 ^{df}	12.53 \pm 0.05 ^{df}
	40	7.53 \pm 0.05 ^c	8.78 \pm 0.26 ^c	13.63 \pm 0.48 ^c
Ni ²⁺ ·L·H ₂ O	10	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
	20	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
	40	8.75 \pm 0.29	6.20 \pm 0.81	7.75 \pm 0.87
Cu ²⁺ ·L·H ₂ O	10	8.05 \pm 0.25	6.38 \pm 0.10	8.53 \pm 0.05
	20	9.55 \pm 0.06 ^{df}	6.65 \pm 0.17 ^{if}	11.38 \pm 0.25 ^{df}
	40	12.03 \pm 0.63 ^c	7.53 \pm 0.05 ^c	14.63 \pm 0.48 ^c
Zn ²⁺ ·L·H ₂ O	10	7.25 \pm 0.29	0 \pm 0	0 \pm 0
	20	8.25 \pm 0.29 ^{df}	0 \pm 0	0 \pm 0
	40	9.13 \pm 0.25 ^c	6.20 \pm 0.08	8.63 \pm 0.48
Pb ²⁺ ·L·H ₂ O	10	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
	20	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
	40	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
DMSO		0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0

L(配体 2-羧甲氧基苯甲醛苯甲酰胺)、Mn(锰)、Co(钴)、Ni(镍)、Cu(铜)、Zn(锌)、Pb(铅)。与低浓度(10 g \cdot L $^{-1}$)组比较^b P<0.05, ^c P<0.01; 与高浓度(40 g \cdot L $^{-1}$)组比较^e P<0.05, ^f P<0.01

高浓度 2-羧甲氧基苯甲醛苯甲酰胺对金黄色葡萄球菌的生长有抑制作用, 而对大肠埃希菌和枯草芽胞杆菌无抑制作用。其稀土配合物中, 除 La 和 Eu 配合物在较高浓度对金黄色葡萄球菌有抑制作用外, Eu、Gd、Tb、Dy、Yb 和 Y 稀土配合物均对 G⁻ 大肠埃希菌的生长显示出抑制活性, 不同浓度组之间比较有统计学差异, 但对 G⁺ 菌无抑制作用。过渡金属配合物(Pb 配合物除外)对三种细菌均有不同程度的抑制作用(表 2), Co、Cu 配合物、高浓度 Zn、Ni 配合物对三种细菌均显示出抑制作用, Co、Cu 配合物随浓度的增高, 抑菌环直径增大, 不同浓度组之间比较有统计学差异, 在相同浓度情况下, 各配合物之间方差分析具有统计学意义(P<0.001)。总的来看, Cu 和 Co 配合物均有较强的抑菌作用, Cu 配合物抑制 G⁺ 菌的活性最强, Co 配合物抑制 G⁻ 菌的活性最强。

3 讨论

自抗生素广泛应用以来, 耐药性细菌逐步增多, 给临床感染性疾病的治疗带来很大困难, 寻找高效敏感的抗生素仍是目前研究的热点。文献报道^[1] 脞类化合物有一定的抑菌活性, 化合物结构不同, 抑菌

效果不同,本研究新合成 2-羧甲氧基苯甲醛苯甲酰肼仅对 G^+ 球菌有抑制作用,配合物对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌和枯草芽胞杆菌的生长繁殖均有一定的抑制作用。配合物的抑菌活性明显强于配体,不同配合物的抑菌谱具有差异性,稀土配合物主要抑制 G^- 菌,过渡金属配合物对 G^- 菌和 G^+ 菌均有抑制作用。不同配合物的配位方式不同,配位作用对生物活性影响是错综复杂的,配合物的形成增强了其组织细胞的通透性^[4],提高细菌细胞膜内配合物浓度,可能通过干扰细菌代谢,也可能与金属配合物结构上 $C=N$ 基团存在有关^[5],从而加强其抑菌活性。配合物抑菌谱的差异性可能与 G^+ 菌和 G^- 菌细胞结构不同有关,也可能与不同离子配合物的空间结构不同有关。配体 2-羧甲氧基苯甲醛苯甲酰肼及配合物的抑菌活性基团和抑菌机制需进一步

深入研究。

参考文献

- 1 何永祥,曹文凯,陈军利,等.铜与 2-羧基丙酸水杨酰肼配合物的合成、晶体结构和抑菌活性[J].高等学校化学学报,2002;23:990-5
- 2 周毓萍,杨正银,于红娟,等.1-苯基-3-甲基-4-苯甲酰基吡唑酮-5 缩氨基脲稀土配合物的合成、表征及抑菌活性[J].应用化学,1999;16:37-41
- 3 马兴铭,于红娟,刘燕玲,等.藏药山生柳抑菌活性研究[J].中药药理与临床,2004;17:21
- 4 孟歌,徐丽君.磺胺取代 2-氨基-1,3,4-噁二唑及其过渡金属配合物及抑菌活性[J].中国菌物化学杂志,1996;6:257-61
- 5 陈政清,刘培漫,李忠,等.schiff 碱金属配合物药物的研究[J].山东医药卫生,1992;11:4-5

Relationship of structure and bacteriostasis of 2-(carboxymethoxyl) benzaldehyde benzoyl hydrazone or their complexes

MA Xing-Ming, LUO Yan-Ping, MA Bao-Cheng, YANG Ru-Dong

Department of Immunology, Lanzhou Medical College, Lanzhou 730000, Gansu, China

ABSTRACT **AIM:** To study bacteriostasis activities of ligand (2-(carboxymethoxyl) benzaldehyde benzoyl hydrazone (H_2L)) and their complexes. **METHODS:** Ligand H_2L and their complexes were synthesized. The bacteriostasis activities of H_2L and their complexes *in vitro* were tested with K-B method. **RESULTS:** 2-(carboxymethoxyl) benzaldehyde benzoyl hydrazone only showed bacteriostasis activities on *Staphylococcus aureus*

and their complexes had dramatic bacteriostasis activity on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Bacillus subtilis*. Bacteriostasis ring diameter of Cu-complex was largest. **CONCLUSION:** Ligand H_2L complexes have bacteriostasis activities *in vitro*. Bacteriostasis activities of Cu-complex are strongest among the complexes.

KEY WORDS hydrazones compounds; ligand; complexes; bacteriostasis; Kirby-Bauer method