

氟苯胺席夫碱及其铜(II)、镍(II)配合物的合成与抑菌活性研究

张强华,固旭(淮阴工学院生化系,江苏 淮安 223001)

摘要:目的 开发新型抑菌药物。方法 以水杨醛和对氟苯胺为原料合成含氟 Schiff 碱及其 Cu(II)、Ni(II)配合物,并进行了初步抑菌活性研究。结果 合成的 Schiff 碱及其配合物经元素分析、红外光谱等表征其结构组成。结论 抑菌活性试验表明,合成的 Schiff 碱及其配合物对各供试菌株有明显的抑菌活性,抑菌效果有量效关系,其中 Schiff 的 Cu 配合物活性最强,并超过了苯甲酸。

关键词:对氟苯胺席夫碱;抑菌活性;表征

中图分类号:TQ464.4;R965

文献标识码:A

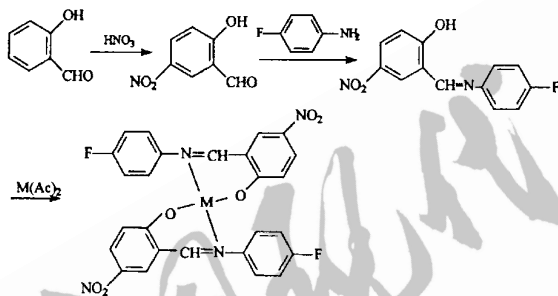
文章编号:1007-7693(2004)05-0355-04

Synthesis of *p*-fluoro phenylamine Schiff base and its Cu(II), Ni (II) chelates and investigation of their anti microbial activity

ABSTRACT:OBJECTIVE For exploiting new antimicrobial agent. **METHOD** *p*-fluorophenylamine schiff base and its Cu(II), Ni(II)chelates were synthesized with osalicylaldehyde and *p*-fluorophenylamine. Their antimicrobial activities were tested. **RESULTS** The structure and composition of the Schiff base and its Cu(II), Ni(II)chelates were elucidated on the basis of element analysis and IR spectra. **CONCLUSION** The results of antimicrobial experiment showed that the Schiff base and its chelates possessed dose-dependent increases in antimicrobial activities against test strains, among which the Cu(II) chelate of the schiff base gave the strongest activity which is more than that of benzoic acid.

KEY WORDS:

席夫碱(Schiff base) 是一类经典的有机化合物,它可以作为研究维生素 B₆ 酶反应的模型化合物,并具有杀菌、抗癌、植物生长调节等生物活性,在医药、农药等领域有广泛的应用前景。席夫碱金属配合物的抗菌活性更强、抗菌谱更宽^[1~3]。为了找到更为理想的抗菌药物,我们以对氟苯胺与5-硝基水杨醛为原料合成了5-硝基, N(对氟苯基)水杨醛亚胺席夫碱及其 Cu(II)、Ni(II)金属配合物,并对合成的化合物的结构进行表征,对其抑菌活性进行初步研究。其合成路线如下:



1 仪器

熔点用 WRS-1B 数字熔点仪测定(温度未经校正);红外光谱用 TJ270-30 型红外光谱仪测定;元素分析用 Perkin-Elmer240 元素分析仪测定,Cu 元素用碘量法,Ni 元素用丁二酮肟重量法测定;差热分析用 CRY-1P 型差热分析仪测定;摩尔电导用 DDS-307 型电导率仪测定

2 方法

2.1 5-硝基水杨醛的合成

按文献^[4]合成5-硝基水杨醛,在适量的冰醋酸中重结晶,mp: 126.3~126.8℃(与文献报道一致)。

2.2 对氟苯胺席夫碱配体的合成

将16.7g(0.10 mol)5-硝基水杨醛和12.2g(0.11 mol)对氟苯胺置于200 mL 无水乙醇中,控制 pH 值在4.5左右,在55℃回流1.5h,冷却、结晶、过滤。产物在无水乙醇中重结晶,得黄色5-硝基, N(对氟苯基)水杨醛亚胺席夫碱19.5 g^[5]。

2.3 Cu(II)配合物的合成

将配体对氟苯胺席夫碱溶于适量的乙醇中,在不断搅拌下滴加醋酸铜的乙醇溶液(2:1 摩尔比),温度维持在70℃左右,用醋酸钠调节 pH 值在7左右,冷凝回流1h,冷却、过滤,产品用无水乙醇和蒸馏水充分洗涤,真空干燥,即得墨绿色

粉末。

2.4 Ni(II)配合物的合成

合成方法与 Cu(II)配合物相同。得浅绿色粉末。

2.5 抑菌实验

2.5.1 培养基 牛肉膏蛋白胨培养基(用于供试细菌的培养):牛肉膏0.5g,蛋白胨1g,NaCl 0.5g,琼脂2g,水100 mL, pH 7.2;马铃薯培养基(用于供试真菌与酵母菌的培养):马铃薯20g,葡萄糖2g,琼脂2g,水100 mL,自然 pH。

2.5.2 供试菌种 以大肠杆菌(*Escherichia coli* B, ATCC25922)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, ATCC25925)、假丝酵母菌(*Candida albicans*, ATCC10231)、毛霉菌(*Mucor rouxii*, ATCC24905)、鼠伤寒沙门菌(*Salmonella typhi* murium, ATCC14028)作为供试菌,均由中国药科大学提供。所有供试菌株(每种供试菌均取10株)活化两代后,分别接入试管斜面培养基中培养,再分别取各菌斜面,无菌挑取两环,用无菌水制成含菌数约10⁶ CFU/ mL 的菌悬液。

2.5.3 试样的准备 将席夫碱配体及其配合物粉碎,置于紫外线下杀菌0.5h,然后用 DMF 溶解配成不同浓度的试样备用。

2.5.4 抑菌活性的测定 抑菌圈的测定:采用滤纸片法和双层平板法,即预先配制好含1.5%琼脂的底层培养基和上层培养基。先将底层培养基在平皿上浇一层(约10 mL),铺平凝固;另取上层培养基置于锥形瓶中,按2环/100 mL 的量加入供试菌种,摇匀,立即倒在底层平板上,铺平待凝。取经高压灭菌干燥的滤纸圆片,置于不同浓度的配体及其配合物的试样中浸泡10 min,以 DMF 纯溶剂作阴性对照;将滤纸片真空抽干,平贴于上层平板表面,每种菌做3皿,每皿放6个滤纸片,阳性对照用苯甲酸(0.5%);细菌各皿置于35℃下培养,真菌各皿置于28℃下培养,48h后观察有无抑菌圈,并用游标卡尺测量抑菌圈直径^[6,7]。

最小抑制浓度(MIC 值)的测定:采用二倍稀释法,即将杀过菌的席夫碱配体及其配合物配成每1 mL 含50μg 溶质的试样,再按倍比稀释法依次将药液稀释成50~3.125μg/ mL 的稀释液。取组织培养板(96孔),每孔加入190μL 相应浓度的配体及配合物试液及10μL 供试菌悬液(10⁶ CFU/ mL)(每种浓度重复3次),并作相应的 DMF 及液体培养基空白对照。培养板置于35℃/28℃下培养,连续观察24h,无菌生长的那一孔药液的浓度即为最低抑菌浓度(MIC)^[6,8]。

3 结果与讨论

3.1 合成化合物的确定

表 1 化合物的理化常数

Tab 1 Physical and chemical constant of p-fluorophenylamine Schiff base and its chelates

化合物	熔点 ($^{\circ}\text{C}$)	摩尔电导 ($\text{S}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$)	元素分析(%) (计算值)				红外光谱 (KBr 压片)	产率 (%)	差热分析
			C	H	N	M			
$\text{C}_{13}\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_3\text{F}$	199.1 - 199.8		59.95 (60.00)	3.67 (3.49)	10.74 (10.77)		3410, 3074, 1606, 1622, 1502, 1330, 1180, 828	91	
$\text{C}_{26}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_6\text{F}_2\text{Cu}$	> 280	13.7	53.39 (53.65)	2.96 (2.77)	9.51 (9.63)	11.21 (10.92)	3078, 1603, 1057, 1335, 1135, 827, 620, 490	89	无明显吸 热峰
$\text{C}_{26}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_6\text{F}_2\text{Ni}$	> 280	9.5	54.03 (54.11)	2.98 (2.79)	9.54 (9.71)	10.32 (10.17)	3044, 1602, 1568, 1332, 1126, 826, 630, 552	57	无明显吸 热峰

注: 1) 测定化合物浓度为 $1.0\times 10^{-4}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲醇溶液摩尔电导; 2) 元素分析括号内为计算值

由表 1 的数据可以看出, 配体及配合物的元素分析测定值与计算值误差较小。摩尔电导说明配合物为非电解质。配体红外光谱, 在 1622cm^{-1} 处有 $\nu_{\text{C}=\text{N}}$ 吸收峰, 而在 1660cm^{-1} 左右和 $3300\sim 3500\text{cm}^{-1}$ 的 $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ 吸收峰均已消失, 表明 Schiff 碱已经形成。同时在 1180cm^{-1} 出现 $\nu_{\text{C}-\text{F}}$ 伸缩振动吸收峰以及 $-\text{NO}_2$ 的伸缩振动吸收峰; 比较配体与配合物的红外光谱图, 发现有一定的差异。铜配合物的 $\nu_{\text{C}=\text{N}}$ 的伸缩振动吸收峰出现在 1603cm^{-1} 处, 较配体 1622cm^{-1} 向低波数区偏移, 同时在 620cm^{-1} 和 490cm^{-1} 处出现了新的吸收峰, 由于在配合物的合成过程中, 反应体系的 pH 值下降, 配体中的 $-\text{OH}$ 特征吸收峰消失, 说明配体中的酚氧、亚胺氮均参与了配位^[8]。在 $0\sim 200^{\circ}\text{C}$ 区间内对两种配合物进行差热分析, 未发现有吸热峰, 说明配合物中不含结晶水。

3.2 抑菌效果

本研究中, 对合成的配体及配合物抑制 5 种供试菌的作用进行了实验, 其结果见表 2。

表 2 对氟苯胺席夫碱及其配合物的抑菌效果(抑菌圈大小, mm) *

Tab 2 Antimicrobial effect of p-fluorophenylamine Schiff base and its chelates (Values of inhibitory zone, mm)

席夫碱及其配合物	浓度 $\times 10^{-6}$ (质量百分数)	供试菌				
		大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	鼠伤寒沙门菌	假丝酵母菌	毛霉菌
对氟苯胺席夫碱	300	27	30	29	18	16
席夫碱	200	19	21	20	10	12
	100	14	12	15	6	7
	50	5	6	4	1	3
对氟苯胺席夫碱铜配合物	300	28	32	31	21	19
	200	21	24	22	17	17
	100	17	17	19	11	11
	50	10	12	9	6	8
对氟苯胺席夫碱镍配合物	300	27	31	30	19	16
	200	20	23	21	15	15
	100	15	13	17	10	9
	50	8	9	8	2	5
苯甲酸	100	12	7	6	4	11

注: * 表中数据为实验组与空白组的差值, 且均为各供试菌的 10 支菌株的 3 次重复试验的平均值。

对合成的化合物分别进行了熔点测定、元素分析、红外光谱测试、差热分析及摩尔电导测定, 测得数据见表 1。

由表 2 可以看出, 对氟苯胺席夫碱及其金属配合物对 5 种供试菌均有抑制作用, 但对细菌的抑制效果明显优于对真菌的作用, 且添加浓度愈高, 抑菌作用愈强。总的来说, 各配体及配合物中, 以对氟苯胺席夫铜配合物的抑菌效果最强, 在相同浓度下各配体及配合物的抑菌效果大小次序为: 对氟苯胺席夫铜配合物 > 对氟苯胺席夫碱镍配合物 > 对氟苯胺席夫碱。在 100ppm 浓度下, 席夫碱及其配合物对供试细菌的抑制作用均强于同浓度下的苯甲酸。

对上述席夫碱及其配合物的抑菌的 MIC 值进行测定, 见表 3。结果表明, 对氟苯胺席夫碱及其配合物对 5 种供试菌种的抑菌活性与浓度之间呈正相关关系, 这与上述抑菌圈试验结果相一致。抑菌活性最强的对氟苯胺席夫碱的铜配合物对 5 种供试菌种的最低抑菌浓度分别为: 大肠杆菌 $6.25\mu\text{g}/\text{mL}$, 金黄色葡萄球菌 $6.25\mu\text{g}/\text{mL}$, 假丝酵母菌 $6.25\mu\text{g}/\text{mL}$, 毛霉菌 $12.5\mu\text{g}/\text{mL}$, 鼠伤寒沙门菌 $6.25\mu\text{g}/\text{mL}$ 。对比常用抑菌剂苯甲酸(有效使用浓度 0.05%), 对氟苯胺席夫碱及其配合物抑菌效果在使用剂量上存在明显的优势。

表 3 对氟苯胺席夫碱及其配合物的最低抑菌浓度($\mu\text{g}/\text{mL}$) *

Tab 3 MICs of P-fluorophenylamine schiff base and its chelates

席夫碱及其配合物	供试菌				
	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	鼠伤寒沙门菌	假丝酵母菌	毛霉菌
对氟苯胺席夫碱	12.5	12.5	12.5	25.0	25.0
对氟苯胺席夫碱铜配合物	6.25	6.25	6.25	6.25	12.5
对氟苯胺席夫碱镍配合物	12.5	6.25	12.5	12.5	25.0

注: * 表中数据均为各供试菌的 10 支菌株的 3 次重复试验的平均值。

参考文献

- [1] Casella L, Gullotti M. Inorg Chem, 1986, 25: 1293.
- [2] Mazymdar A K. Synthesis of some thiazole schiff's bases. J Am Chem Soc, 1979, 56: 999.
- [3] 柳翠英, 赵全芹. 5-硝基, N-(2-羟基乙基) 水杨醛亚胺 Schiff 碱的合成. 化学试剂, 1997, 14(3).
- [4] 魏青, 陈三平, 潘瑞琪, 等. 5-硝基水杨醛分离纯化方法改良. 精细化工, 2000, 17(3).
- [5] 张强华. 含氟 Schiff 碱的合成及其生物活性初步研究. 化学工

程师,2000,6.

[6] 戴自英.临床抗菌药理学.北京:人民卫生出版社,1985:378.

[7] Onawunmi, O. G. Evaluation of the antimicrobial activity of cit-

ral. Lett. Appl. Microbial. 1989, 9, 105.

[8] 岛内武彦.红外线吸收光谱解析法.科学出版社,1973.

收稿日期:2003-11-29