

## Schiff 碱药物与细菌作用的半抑制量比较研究\*

冯 英 刘 义 谢昌礼 屈松生

(武汉大学化学系, 武汉 430072)

乐芝凤 冯长建 沈昊宇 张香才

(华中师范大学化学系, 武汉 430070)

**摘要** 用微量热法测定了金黄色葡萄球菌和产气杆菌分别与十一种 Schiff 碱药物作用的热谱曲线, 根据热谱曲线计算了细菌生长的速率常数  $k$ , 建立了  $k \sim c$  关系式, 进而在获得的 Schiff 碱药物对细菌作用的半抑制量  $c_{1/2}$  的基础上, 通过对半抑制量大小的比较, 分别对配体相同金属离子不同、金属离子相同配体不同的 Schiff 碱药物与细菌的作用以及对同一药物与不同细菌作用的情况做了较深入的讨论, 发现: 同一药物对不同的菌种其药效作用不同, 反映了菌种间的差异; 同一菌种药物不同药效作用也不同, 反映了药物结构上的差异等信息。

**关键词:** 半抑制量, Schiff 碱药物, 微量热学, 金黄色葡萄球菌, 产气杆菌

由于 Schiff 碱类药物具有抑菌、杀菌和抗肿瘤等生物活性, 因而对这类化合物抗病毒抗癌活性方面的研究工作进行得十分活跃<sup>[1,6]</sup>。我们采用了一种快速而定量的方法即微量热法研究了十一种新合成的 Schiff 碱药物分别对产气杆菌和金黄色葡萄球菌的代谢抑制作用, 发现在不同的药物作用下, 两种细菌代谢的热谱不同反映出了不同的药物对两种细菌代谢的影响不同。根据热谱求算了细菌生长的速率常数, 传代时间, 半抑制量等参数, 定量地说明了药物对细菌代谢的抑制情况。在此基础上通过对十一种药物与两种细菌作用的半抑制量的比较, 进一步研究了药物组成结构与细菌代谢之间的关系。从而为药物的合成设计以及临床合理用药提供了有用的信息。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 仪器与材料

实验采用瑞典生产的 LKB ~ 2277 生物活性监测系统, 可恒温工作范围在 20 ~ 80 °C, 其热功率的最小检测极限为 0.12  $\mu$ W, 24 小时内基线漂移为 0.2  $\mu$ W, 该仪器的热稳定性好, 温度可稳定在  $\pm 1 \times 10^{-4}$  °C。有关仪器的结构, 原理及操作详见文献<sup>[7,8]</sup>。

金黄色葡萄球菌 (CMCC(B)26001), 产气杆菌 (Chester CMCC(B)45102) 由华中师范大学生物系提供。

培养基为肉汤蛋白胨培养基。配方为: 牛肉膏 5 g, NaCl 5 g, 蛋白胨 10 g, 溶于 1000 mL 蒸馏水中, 调节 pH 至 7.2, 120 °C 高温灭菌 30 分钟备用。

1995-07-07 收到初稿, 1995-09-04 收到修改稿。联系人: 屈松生。 \* 国家自然科学基金资助项目

Schiff 碱药物由华中师范大学化学系配位化学组合成, 其结构如图 1 所示.

## 1.2 方法

本实验采用停流法 [8]. 测定前分别用  $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{NaOH}$ , 75 % 的酒精,  $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{HCl}$  和无菌蒸馏水对管道和流动池进行清洗, 清洗消毒完毕待得到稳定的基线后用蠕动泵 (LKB Microperpex pump) 以  $50 \text{ ml}\cdot\text{h}^{-1}$  的流速将 Schiff 碱药物与菌液的混合液泵入热量计中, 当样品液充满流动池 (约 0.6 ml) 时停泵, 仪器自动跟踪记录流动池内细菌生长的热谱曲线, 即  $P \sim t$  曲线. 当记录笔返回基线以后, 实验即结束.

Schiff 碱药物按一定的浓度配成溶液, 待细菌接种后 (接种量为  $1.5 \times 10^6 \text{ cells/ml}$ ) 加入菌液中, 然后泵入流动池中进行监测.

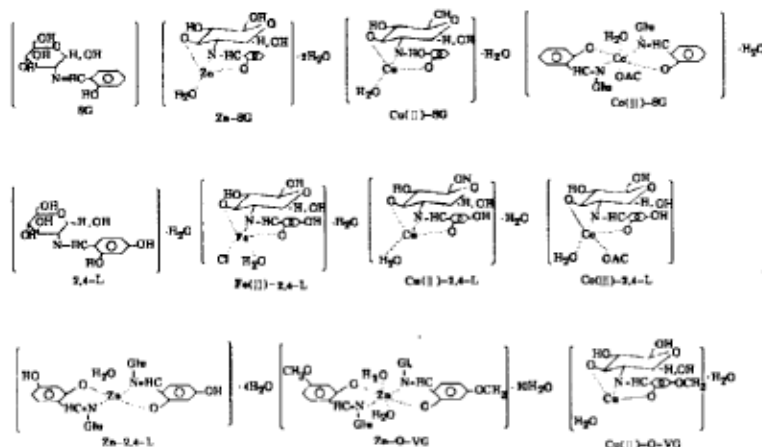


图 1 Schiff 碱的结构

Fig.1 The structure of the Schiff bases

SG: salicylal glucosamine Schiff bases;

O-VG: O-vanillin glucosamine Schiff bases;

2,4-L: 2,4-dihydroxybenzaldehyde glucosamine Schiff bases

## 2 结果与讨论

在 303K 无氧条件下分别测定了金黄色葡萄球菌、产气杆菌与一系列 Schiff 碱药物作用的代谢热谱.

并由公式 [7]:

$$\ln P_t = \ln P_0 + kt$$

根据热谱曲线上的  $P_t \sim t$  值, 用计算机进行线性拟合得到了两种细菌在不同药物以及同一药物不同浓度下的生长速率常数  $k$ , 由  $G = (\ln 2)/k$  得到不同条件下两种细菌的代传时间  $G$ , 由于速率常数  $k$  和药物浓度  $c$  基本上满足线性关系, 故对  $k \sim c$  进行线性拟合得到  $k \sim c$  关系式. 定义半抑制量  $c_{1/2}$  为当细菌在受到抑制时的生长速率常数等于未受到抑制时的生长速率常数的一半时药物的浓度, 则由  $k \sim c$  关系式求出了不同药物对产气杆菌的半抑制量  $c_{1/2}$ , 如表 1、表 2 所示.

对于不同的药物由于结构不同, 它与细菌作用的方式也就不同, 同一药物不同的菌种, 由于菌种间的差异, 其药效作用也会不同, 可采用半抑制量的大小来评价其药效作用的大小. 根据表 1 和表 2 可进行如下分析.

1. 从表 1 中半抑制量的大小可知, 配体相同, 金属离子不同, 由于这种结构上的差异, 故对同一菌种作用反映出作用情况是不同的. SG( salicylal glucosamine schiff base ) 系列, 2,4-L(2,4-dihydroxybenzaldehyde glucosamine schiff base ) 系列, O-VG ( O-vanillin glucosamine schiff base ) 系列分别与金黄色葡萄球菌, 产气杆菌作用的药效次序如表 1 所示, 十一种药物与金黄色葡萄球菌, 产气杆菌作用的总药效次序也如表 1 所示.

表 1 303 K Schiff 碱药物在不同菌种中的半抑制量比较 ( I )  
Table 1 The comparative half inhibitory concentrations of the Schiff base drugs effect on bacteria ( I )

Drugs	$c_{1/2}(S.s aureus)$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	Order	$c_{1/2}(Aerobacter aerogenes)$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	Order
Zn-SG	91.1	1 3	202.2	1 3
Cu(II)-SG	147.7	2 6	—	4 —
Co(III)-SG	272.6	3 8	684.8	3 8
SG	342.8	4 9	266.6	2 7
Cu(II)-2,4-L	58.8	1 1	—	5 —
Co(III)-2,4-L	103.0	2 4	38.2	1 1
Zn-2,4-L	204.7	3 7	192.7	2 2
Fe(III)-2,4-L	711.9	4 10	256.5	4 6
2,4-L	—	5 11	203.9	3 4
Cu(II)-O-VG	90.4	1 2	—	2 —
Zn-O-VG	112.8	2 5	255.3	1 5

#### 1) 对 SG 系列进行分析

a) 配体 SG 对金黄色葡萄球菌的抑制作用较小, 但与金属离子结合以后其抑制能力均增大, 与不同金属离子相结合, 其抗菌能力增强的程度不一, 药效次序如表 1 所示; 但在对产气杆菌的抑制中, 它与金属离子配位以后, Zn(II) 配合物的抑制作用增大, 而 Co(III) 配合物的抑制作用减少, Cu(II) 配合物甚至已无抑制作用, 这反映出了菌种之间的差异, 导致了作用机理的不同.

b) 对 SG 系列药物与金黄色葡萄球菌和产气杆菌作用的半抑制量进行比较, 发现总的说来 SG 系列的药物与产气杆菌作用的半抑制量均大于它与金黄色葡萄球菌作用的半抑制量, 这说明产气杆菌比金黄色葡萄球菌有更强的抗药性 (指抗 SG 系列的药物).

c) 从表 1 中知: Zn-SG 对两种菌都有较强的抗菌作用; Cu(II)-SG 对金黄色葡萄球菌有较强的抑制作用, 而对产气杆菌几乎无作用; Co(III)-SG 对金黄色葡萄球菌作用大于对产气杆菌的作用, 它对金黄色葡萄球菌的作用与 SG 对产气杆菌的作用相当; 而 SG 对产气杆菌的抑制大于对金黄色葡萄球菌的抑制. 这些都说明: 不同的菌种由于细胞壁细胞膜的组成不一样, 细胞壁的厚薄也不一样, 因而即使是同一药物对其作用的方式也就不一样. 这种不一样正好反映了菌种间的差别.

#### 2) 对 2,4-L 系列进行分析

d) 将 2,4-L 系列药物与金黄色葡萄球菌, 产气杆菌作用的半抑制量进行比较, 发现这个系列中不存在 SG 系列中的产气杆菌的抗药性 (抗 SG 系列药物) 大于金黄色葡萄球菌的抗药性, 即从半抑制量不能判断产气杆菌的抗药性是否强或弱于金黄色葡萄球菌. 这说明了不同系列的药

物对细菌的作用是不同的. 值得注意的是出现了一种极端的情况: Cu(II)-2,4-L 对金黄色葡萄球菌有强的抑制和杀死作用, 但却对产气杆菌几乎无任何抑制作用. 这说明这两种菌在受到这种药物作用时作用的方式完全不同, 反映了这两种菌的差别, 同时也说明产气杆菌对铜的配合物有强烈的抗性, 不受它的影响. Co(III)-2,4-L 对产气杆菌有强烈抑制和杀死作用, 对金黄色葡萄球菌也有较强的抑制作用; Zn-2,4-L 对两种菌的抑制情况基本相同; Fe(III)-2,4-L 对产气杆菌的抑制大于对金黄色葡萄球菌; 配体 2,4-L 对产气杆菌有抑制, 但对金黄色葡萄球菌几乎无抑制作用.

表 2 303 K Schiff 碱药物在不同菌种中的半抑制量比较 (II)  
Table 2 The comparative half inhibitory concentrations of the Schiff base drugs effect on bacteria(II)

Drugs	$c_{1/2}(S.surcus)$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	Order	$c_{1/2}(Aerobacter\ aerogenes)$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	Order	Added Radicle
Zn-SG	91.1	1	202.2	2	—
Zn-O-VG	112.8	2	255.3	3	-OCH <sub>3</sub>
Zn-2,4-L	204.7	3	192.7	1	-OH
Cu(II)-2,4-L	58.8	1	—	—	-OH
Cu(II)-O-VG	90.4	2	—	—	-OCH <sub>3</sub>
Cu(II)-SG	147.7	3	—	—	—
Co(III)-2,4-L	103.0	1	38.2	1	-OH
Co(III)-SG	272.6	2	684.8	2	—
SG	342.8	1	266.6	2	—
2,4-L	—	2	203.9	1	-OH

e) 2,4-L 配体与金黄色葡萄球菌几乎无作用, 但当它与金属离子配位以后, 其抗菌能力均增强, 不同的金属离子其增强的程度不一样, 药效次序如表 1 所示. 2,4-L 配体虽对产气杆菌有抑制, 但与金属离子配位以后, 有些抗菌能力增强有些减弱. 乐芝凤等<sup>[2]</sup> 1991 年曾报导 Schiff 碱类化合物的生物活性与金属离子的配位作用有关, 即金属离子配位以后使抗菌能力增强. 从 SG 系列和 2,4-L 系列与金黄色葡萄球菌的作用来看, 这个结论是正确的. 但从这两个系列与产气杆菌的作用进行观察, 金属离子配位以后其抗菌能力不一定就加强了.

2. 从表 2 分析可看到, 金属离子相同, 配体不同, 因而与菌种作用的情况也是不同的.

1) 对 Zn 系列进行分析

a) 配体 SG 对金黄色葡萄球菌作用较小, 2,4-L 对金黄色葡萄球菌几乎无抑制作用, 两配体在结构上的差别是 2,4-L 比 SG 多了一个羟基, 从它们与金黄色葡萄球菌的作用来看羟基的引入使得配体的抑菌作用减少即羟基的引入不能使药物的抗菌能力增强. 但它们与锌离子结合以后抑制作用均有较大的增加. 这说明金属离子 Zn(II) 在对金黄色葡萄球菌作用方面起很重要的作用, 可能促进了配体 SG 对细菌抗菌作用的提高, 也使配体 2,4-L 从无抑制作用到有较强的抑制作用, 或者说是由于金属离子与配体结合以后使得络合物的抑菌能力增强了.

配体 SG, 2,4-L 对产气杆菌有一定的作用, 羟基的引入使得配体的抗菌能力增强. 当它们与 Zn<sup>2+</sup> 络合以后其抗菌能力稍有增加, 说明 Zn<sup>2+</sup> 在对产气杆菌作用方面作用不突出.

Zn-SG, Zn-O-VG 对金黄色葡萄球菌的抑制作用大于对产气杆菌的抑制, 而 Zn-2,4-L 对两种菌的抑制差不多.

### 2) 对 Cu 系列进行分析

b) 配体 SG, 2,4-L 与金属离子 Cu(II) 络合以后对金黄色葡萄球菌的抗菌能力大增, 特别是 Cu(II)-2,4-L, 配体 2,4-L 几乎不与金黄色葡萄球菌作用, 络合以后其抗菌能力的突增说明了  $\text{Cu}^{2+}$  在对金黄色葡萄球菌作用方面起很大作用. 值得注意的是,  $\text{Cu}^{2+}$  三个系列的化合物几乎都不与产气杆菌作用, 配体本身有一定的抗菌作用, 但一旦与  $\text{Cu}^{2+}$  络合以后就没有抗菌能力了. 这说明产气杆菌对铜系列的药物有强烈的抗药性, 还说明  $\text{Cu}^{2+}$  与配体络合以后改变了与细菌作用的方式.

### 3) 对 Co 系列进行分析

c) 配体与金属离子 Co(III) 络合以后与金黄色葡萄球菌作用其抗菌能力均提高, 说明 Co(III) 离子在与金黄色葡萄球菌作用方面起重要作用, 可能促进了配体与细菌的作用.

配体 2,4-L 与金属离子 Co(III) 络合以后与产气杆菌作用其抗菌能力显著提高, 说明 Co(III) 离子与 2,4-L 络合以后作用机理、方式发生了改变, 可能 Co(III) 促进了配体 2,4-L 与细菌的作用. 配体 SG 与金属离子 Co(III) 络合以后与产气杆菌作用其抗菌能力减弱, 说明 Co(III) 离子配位以后可能牵制了配体与细菌的作用.

SG, O-VG, 2,4-L 配体在结构上的差别是: 2,4-L 比 SG 多一个羟基, O-VG 比 SG 多一个  $-\text{OCH}_3$ . 在 Zn 系列化合物中  $-\text{OH}$ ,  $-\text{OCH}_3$  的引入均使药物对金黄色葡萄球菌的抑制作用减少;  $-\text{OCH}_3$  的引入对产气杆菌抑制作用也减小,  $-\text{OH}$  的引入对产气杆菌的抑制作用影响不大; 在 Cu 系列化合物中  $-\text{OH}$ ,  $-\text{OCH}_3$  的引入均使药物对金黄色葡萄球菌的抗菌作用增大, 而对产气杆菌均无作用; 在 Co 系列化合物中  $-\text{OH}$  的引入也使药物对两种细菌的抗菌作用增加. 引入了同样的基团由于与不同的金属离子相结合因而导致了对细菌作用的程度不同, 反映了金属离子结构间的差别.

综上, 三个配体分别与金属离子络合以后与金黄色葡萄球菌作用其抗菌能力均提高, 而三个配体分别与金属离子络合以后与产气杆菌作用除 Co(III)-2,4-L 抗菌能力显著提高, Co(III)-SG 抗菌能力减小, Cu 系列无抗菌能力, 其余的与未络合金属离子的情况基本相同 (即 Zn 系列与产气杆菌作用的情况与单独配体与其作用情况基本相同).

从以上的分析我们可以看出, 微量热方法可以定量地反映药物的生物活性, 并具有很好的重现性和灵敏性, 它必将在指导药物合成与药物筛选、揭示药物之间相互作用的机理等方面起很重要的作用.

### 参 考 文 献

- 1 Ali MA, Livingstone S E. *Cood. Chem. Rev.*, 1974, 13:101
- 2 Zhu Xinde, Wang Chenggang, Le Zhifeng. *Synth. React. Inorg. Met.-Org. Chem.*, 1991, 21(9): 1365
- 3 Sing N K, Misseema Agrawal S, Aggarwal R C. *Synth. React. Inorg. Met.-Org. Chem.*, 1985, 15(1): 75
- 4 安兴民, 赵吉寿. 高等学校化学学报, 1988, 9:541
- 5 祝心德, 乐芝凤, 吴自慎等. 高等学校化学学报, 1991, 12(8): 1066
- 6 乐芝凤, 严振寰, 吴自慎等. 华中师范大学学报 (自然科学版), 1988, 22(1): 56
- 7 Xie Changli, Tang Houkuan, Song Zhauhua, et al, *Thermochimica Acta*, 1988, 123:33-41

## Study on the Comparative Half Inhibitory Concentrations of Schiff Base Drugs Effect on Different Bacteria

Feng Ying Liu Yi Xie Changli Qu Songsheng  
(Department of Chemistry, Wuhan University, Wuhan 430072)

Yue Zhifeng Feng Changjian Shen Haoyu Zhang Xangcai  
(Department of Chemistry, Central China Normal University, Wuhan 430070)

**Abstract** The half inhibitory concentrations of the Schiff base drugs effect on *S. aureus* and *Aerobacter aerogenes* were compared. The effect of the schiff base drugs of which some have the same metal cation, but different ligands, or some have the same ligands but different metal cations on bacteria was discussed. A lot of useful information was obtained.

**Keywords:** Schiff base metal complexes, Microcalorimetry, Half inhibitory concentration, *S. aureus*, *Aerobacter aerogenes*