

DOI: 10.3976/j.issn.1002-4026.2011.06.008

# 稀土铈羧酸配合物抑菌性能研究

马玉翔, 王党生

(济南大学化学化工学院, 山东 济南 250022)

**摘要:**采用琼脂稀释法测定了几种稀土铈羧酸配合物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌的抑菌活性,得到了它们抑制细菌生长的最小浓度和最小杀菌浓度。结果表明几种稀土铈的羧酸配合物对几种受试菌均有较强的抑制作用,配合物比相应的二配位体具有更高的抑菌活性,而小于相应的单配体羧酸。

**关键词:**铈;羧酸配合物;抑菌性能;最小抑菌浓度

中图分类号:O647.1 文献标识码:A 文章编号:1002-4026(2011)06-0026-04

## Research on the bacteriostasis performance of cerium carboxylic acid complexes

MA Yu-xiang, WANG Dang-sheng

(School of Chemistry and Chemical Engineering, University of Jinan, Jinan 250022, China)

**Abstract:** We employ agar dilution method to determine the bacteriostasis activity of a carboxylic ligand and its cerium complexes to *Escherichia aureus*, *Staplylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*. We also obtain their minimal inhibitory concentration (MIC). Results show that carboxylic acid and its cerium complexes have stronger bacteriostasis activity the bacteriostasis activity of its cerium complexes is higher than that of the dual ligand and lower than that of the unitary ligand.

**Key words:** cerium; carboxylic acid complexes; bacteriostasis performance; minimal inhibitory concentration

稀土配合物具有抑菌作用,已逐渐被人们认识和研究证实,稀土配合物的抑菌谱广,其为消炎、抗菌、抗凝血、抗病毒的研究已取得了很大成绩,在提高纺织物的抗菌作用、研制新型抗菌涂料等方面都得到了应用<sup>[1-5]</sup>。我们合成了几种稀土铈的三元羧酸配合物,并通过元素分析、红外光谱、紫外光谱、热分析及摩尔电导分析对它们进行了表征。本实验筛选其中六种铈的羧酸配合物进行了抑制细菌生长活性的探讨,选取国际公认的质控菌株大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌进行了体外抑菌实验,取得了理想的结果。

## 1 实验仪器与设备

### 1.1 实验器材

超净工作台,SW-CJ-1B 标准型(苏州安泰空气技术有限公司);恒温培养箱,HH B11.420-BS 型(上海跃进医疗器械厂);电热式蒸汽消毒器,YXOG02 型(山东新华医疗器械厂);定量进样器(5~10  $\mu\text{L}$ ),YY0088-

收稿日期:2011-06-09

作者简介:马玉翔(1965-),男,高级实验师,研究方向为无机合成。Email:chm\_mayx@ujn.edu.cn

92型(上海医用激光仪器厂)。

## 1.2 供试菌种

大肠杆菌(*Escherichia coli*) ATCC25922-5;金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) ATCC25923-6;枯草芽孢杆菌黑色变种(*Bacillus subtilis var. niger*) ATCC 9372-5。

以上菌种由山东省卫生防疫站提供,均为第三代菌种。

## 1.3 药品

铈-乙酸-邻菲啰啉,铈-丙酸-邻菲啰啉,铈-苯甲酸-邻菲啰啉,铈-草酸-邻菲啰啉,铈-丙烯酸-邻菲啰啉,铈-氯乙酸-邻菲啰啉,乙酸-邻菲啰啉,丙酸-邻菲啰啉,以上药品均为自己合成,并通过元素分析、红外光谱、紫外光谱、热分析及摩尔电导分析对它们的组成及结构进行了表征。

苯甲酸,草酸,丙烯酸,氯乙酸,丙酸,二甲基亚砷,牛肉膏,蛋白胨,氯化钠,琼脂等均为分析纯。

## 2 实验过程

### 2.1 培养基及材料

牛肉膏蛋白胨培养基常规制备,调 pH 值为 7.2~7.4,分装,培养皿、移液管等压力蒸汽灭菌 20 min。

### 2.2 菌悬液的制备

无菌条件下,将第三代大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌接种于斜面培养基的试管中,37℃培养 18~20 h。用 5 mL 无菌生理盐水,充分振荡将细菌孢子洗入试管中得到菌悬原液,用平板菌落计数法<sup>[6]</sup>测定细菌原液的活菌数量,依次推算出菌悬原液的细菌浓度。

取新鲜制备的菌悬原液 10 倍稀释至  $10^7$  CFU/mL 浓度,备用。

### 2.3 药液制备

以二甲基亚砷与无菌生理盐水 1:4 的混合溶剂为溶剂,准确配制初始浓度为 800  $\mu\text{g/mL}$  的配体及配合物溶液各 20 mL,以二倍稀释法配制成 9 个系列浓度的抑菌液各 10 mL,第 10 支为空白,备用。配体及配合物溶液的浓度见表 1。

表 1 配体及配合物溶液的浓度

编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
稀释倍数	0	2	4	8	16	32	64	128	256	0
药液浓度/ ( $\mu\text{g/mL}$ )	800	400	200	100	50	25	12.5	6.25	3.13	0

### 2.4 最小抑菌浓度(MIC)的测定

采用琼脂稀释法<sup>[7]</sup>将不同浓度的抑菌液均匀混合溶解在牛肉膏蛋白胨培养基中,点种细菌,通过细菌的生长与否,确定配体及配合物的 MIC。

第一步:分别取 10 mL 系列稀释的抑菌液加入平皿中,将在 60℃左右水浴中恒温的牛肉膏蛋白胨培养基约 10 mL 加入平皿中,在桌面上前后左右平稳摇动平皿,使抑菌液和培养基充分混合均匀,平置,冷凝。

第二步:用定量进样器吸取 2  $\mu\text{L}$  含菌量为  $10^7$  CFU/mL 的菌悬液,由低到高浓度依次点种于含抑菌液培养基的平皿中,每个点菌量约为  $10^4$  CFU,接种后形成的菌液圈直径约 5~8 mm。每一样品做三个平行重复实验。

同样方法接种不含抑菌液的琼脂平皿,作阳性对照。

第三步:将接种后的平皿于 37℃培养箱中,倒置培养 18~24h,观察结果。菌落被完全抑制的最低抑菌液浓度即为该样品对受试菌的 MIC。单一菌落生长可忽略不计。

### 2.5 最小杀菌浓度(MBC)的测定

测出 MIC 后,再继续将未见细菌生长的平皿,37℃培养 18 h,平皿上菌落数小于 5 个的最小稀释度的抑菌液浓度为该样品对受试菌的 MBC<sup>[6]</sup>。

### 3 实验结果与讨论

#### 3.1 MIC 测定结果

配体及配合物对不同细菌的最小抑菌浓度列于表2。MIC 越小,其抑菌性能越强。从表2可以看出,稀土铈的几种羧酸配合物对受试的3种菌株均有较强的抑制作用, MIC 一般在50~200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间,而几种配体的MIC略高于配合物,一般在50~400  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间,其中,配合物铈-草酸-邻菲罗啉和铈-丙酸-邻菲罗啉的抑菌性能最强,各种配合物的MIC均强于羧酸-邻菲罗啉二配体,但弱于羧酸单配体。单配体丙烯酸对3种细菌在25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的较低浓度下具有完全抑制的作用。几种配合物的抑菌活性没有明显差别。

#### 3.2 MBC 测定结果

配体及配合物对不同细菌的MBC结果列于表3。

比较表2、表3可以看出,配体及其配合物的MBC均高于或等于MIC。对于配合物的杀菌浓度,不同配体的羧酸所产生的影响较小,其MBC强于羧酸与邻菲罗啉组成的二配体,弱于羧酸。配合物的MBC与MIC有一定的差异,而羧酸的变化不大,这说明配合物有很强的抑菌作用,而杀菌性能较弱。羧酸的抑菌和杀菌性能均源于其酸性,所以变化不大。

表2 配体及配合物对不同细菌的MIC( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

Table 2 MIC of ligand and complexes for different bacterium

药品	菌种名称		
	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	枯草芽孢杆菌
铈-乙酸-邻菲罗啉	100	100	200
铈-丙酸-邻菲罗啉	50	50	100
铈-苯甲酸-邻菲罗啉	100	100	200
铈-草酸-邻菲罗啉	50	50	100
铈-丙烯酸-邻菲罗啉	100	100	100
铈-氯乙酸-邻菲罗啉	200	100	100
乙酸-邻菲罗啉	200	400	400
丙酸-邻菲罗啉	200	200	200
苯甲酸	100	100	200
草酸	200	200	200
丙烯酸	25	25	25
氯乙酸	100	100	100
丙酸	50	50	50

表3 配体及配合物对不同细菌的MBC( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

Table 3 MBC of ligand and complexes for different bacterium

药品	菌种名称		
	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	枯草芽孢杆菌
铈-乙酸-邻菲罗啉	200	200	200
铈-丙酸-邻菲罗啉	400	400	>800
铈-苯甲酸-邻菲罗啉	400	400	400
铈-草酸-邻菲罗啉	200	200	200
铈-丙烯酸-邻菲罗啉	400	400	400
铈-氯乙酸-邻菲罗啉	200	200	400
乙酸-邻菲罗啉	400	400	400
丙酸-邻菲罗啉	400	400	200
苯甲酸	200	200	200
草酸	200	200	200
丙烯酸	25	25	25
氯乙酸	200	200	200
丙酸	50	50	50

#### 3.3 抑菌率的测定

在取得MIC和MBC的数据后,我们选取抑菌性能较强的铈-草酸-邻菲罗啉为代表,以MIC的数值为参照,选取不同浓度进行了抑菌率的测定,测定结果见表4。

由表4可得铈-草酸-邻菲罗啉的抑菌率曲线图(见图1)。

当抑菌率大于50%时为对细菌的有效抑制,所以铈-草酸-邻菲罗啉,对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌的有效抑制浓度分别为21  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,31  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,24  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。随着药品浓度的增大,抑菌效果增强;三种细菌对药品的敏感度大体相近。此结果与最小抑菌浓度的测定结果基本相符。

表4 铈-草酸-邻菲啉的抑菌率

Table 4 Bacteriostasis rate of Ce-oxalic acid-phenanthroline

浓度/ ( $\mu\text{g/mL}$ )	大肠杆菌		枯草芽孢杆菌		金黄色葡萄球菌	
	个数	抑菌率/%	个数	抑菌率/%	个数	抑菌率/%
0	113	0	91	0	79	0
5	84	25.66	69	24.18	63	20.25
10	76	32.74	64	29.67	51	35.44
20	58	48.67	56	38.46	43	45.60
30	47	58.41	47	48.35	35	55.70
40	32	71.68	35	61.54	28	64.56
50	23	79.65	27	70.33	21	73.42

## 4 结论

(1) 稀土铈的几种有机羧酸配合物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌等几种受试菌株均有一定的抑制和全杀死作用,说明对革兰氏阴性菌及革兰氏阳性菌均有较好的敏感性,是一类很有发展前途的抑菌剂。

(2) 配合物的抑菌机理目前尚不完全清楚,普遍的认为是:(a) 稀土配合物中的  $-\text{NH}_3^+$  与细菌细胞壁所含的肽聚糖和磷壁酸等解离出的阴离子结合,影响细胞壁的通透性;(b) 稀土离子或稀土配合物与肽聚糖的  $\text{COOH}$ ,  $\text{C}=\text{O}$  或磷酸中的  $\text{P}=\text{O}$ ,  $\text{P}-\text{O}-$  作用后,肽聚糖或磷酸的构象发生改变;(c) 稀土离子或稀土配合物进入细胞内,与细胞内的 DNA、酶等生物分子发生作用并阻碍 DNA 的转录,使细胞内的生长代谢受到抑制;(d) 稀土离子具有拮抗  $\text{Ca}^{2+}$  的作用,而  $\text{Ca}^{2+}$  又是维持细胞正常活动的离子,对细菌细胞的正常生命活动造成干扰<sup>[8]</sup>。

(3) 羧酸具有酸性,使其具有较强的抑菌杀菌作用,但多数羧酸具有难闻的气味,有的有一定的毒性,所以很难推广使用,而与稀土元素形成配合物后,仍具有较强的抑菌性,并且对生物体没有副作用。因此实验的成功为研究稀土配合物的实际用途,探索高效、低毒的杀菌药物提供了参考依据,可以在生产生活中广泛的推广使用。

## 参考文献:

- [1] HE Q Z, YANG J, MIN H, et al. Studies on the spectra and antibacterial properties of rare earth dinuclear complexes with L-phenylalanine and o-phenanthroline[J]. Materials Letters, 2006, 60(2): 317-320.
- [2] 何其庄, 郁慧, 周美峰, 等. 稀土天冬氨酸邻菲啉三元配合物的合成、表征及其生物活性研究[J]. 中国稀土学报, 2007, 25(2): 150-156.
- [3] 林郑忠, 赖注洽, 苏仪灵, 周常义. 稀土-羧酸三元配合物的合成与抗菌性能研究[J]. 集美大学学报: 自然科学版, 2009, 14(4): 362-365.
- [4] 许莹. 无机抗菌剂和抗菌功能材料的现状和发展[J]. 河北理工学院学报, 2001, 23(4): 77-82.
- [5] 郑大中. 稀土的应用现状与发展前景[J]. 四川化工与腐蚀控制, 2001, 5(4): 27-31.
- [6] 祖若夫, 胡宝龙, 周德庆, 等. 微生物学实验教程[M]. 上海: 复旦大学出版社, 1993: 126-129.
- [7] 中华人民共和国卫生部. 消毒技术规范[S/OL]. [2011-04-20] <http://wenku.baidu.com/view/343d2723af45b307e8719752.html>.
- [8] 倪嘉缙. 稀土生物无机化学[M]. 北京: 科学出版社, 1995: 235-304.

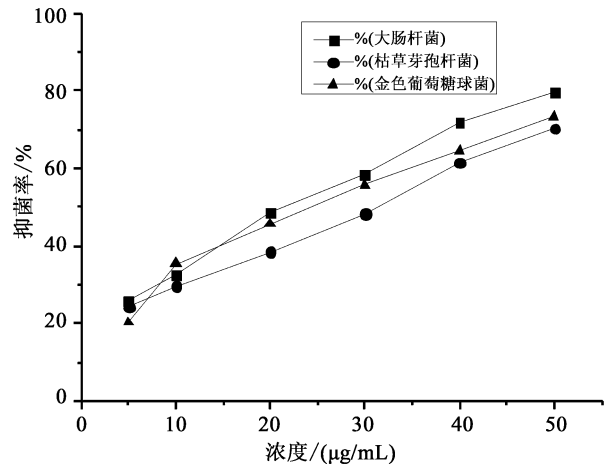


图1 铈-草酸-邻菲啉对三种细菌的抑菌率曲线

Fig. 1 Bacteriostasis rate curves of Samarium-oxalic acid-phenanthroline