

姜黄素衍生物的合成、表征及其体外抗菌活性

钟益宁^{1,2*}, 甄汉深^{1,2}, 滕建北^{1,2}, 孟保华²

(1. 广西中医学院药学院, 广西 南宁 530001; 2. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137)

[摘要] 目的: 研究姜黄素衍生物的合成、表征以及体外抗菌活性。方法: 基于姜黄素分子结构含有两个羰基的特点, 采用苯胺, 4-甲基苯胺, 苯肼, 2,4-二硝基苯肼以及姜黄素为原料, 合成 4 种稳定的姜黄素 Schiff 碱衍生物; 并对其进行体外抗菌活性测定。结果: 合成了 4 种姜黄素 Schiff 碱, 其中 3 个未见文献报道, 并采用元素分析、紫外、红外以及核磁氢谱对其结构进行表征。4 种化合物体外均有抗菌活性。结论: 4 种姜黄素衍生物都有一定的抗菌活性, 其中 Schiff 碱(4) 的抗菌活性较好。

[关键词] 姜黄素; 衍生物; 合成; 表征; 抗菌活性

[中图分类号] R284.3; R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)02-0046-04

Synthesis, Characterization and *in vitro* Antibacterial Activities of Curcumin Derivatives

ZHONG Yi-ning^{1,2*}, ZHEN Han-shen^{1,2}, TENG Jian-bei^{1,2}, MENG Bao-hua²

(1. Department of Medical, Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China;

2. Department of Medical, Chengdu University of Traditional Chinese Medical, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** To study the synthesis, characterization and *in vitro* antibacterial activity of curcumin derivatives. **Methods:** Four target compounds were synthesized with phenylamine, phenylhydrazine, 4-toluidine, 2,4-dinitrophenylhydrazine and curcumin based on the characteristics of curcumin molecule structure, containing two carbonyl groups. Their antibacterial activities *in vitro* against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* were examined respectively. **Results:** Four kinds of Schiff bases (three novel compounds, 1~3) were synthesized and characterized by elemental analysis, UV-vis, IR spectrum and ¹H-NMR. **Conclusions:** The four compounds shows different antibacterial activity, Schiff bases (4) shows significant antibacterial activity in these compounds.

[Key words] curcumin; derivatives; synthesis; characterization; antibacterial activity

姜黄素(Curcumin)是姜科植物姜黄、莪术、郁金的块根或根茎提取精制得到的橘黄色结晶或粉末。具有抗炎、抗菌、抗氧化、防癌、抗癌, 抗动脉粥样硬化、降血脂等功效, 又是一种优良的黄色素, 具有很好的开发前景^[1]。但由于其在水中溶解度极小, 血

药浓度低, 体内不易吸收, 生物利用度低, 影响药效发挥。针对这一问题, 有必要对其进行结构修饰以便更好利用姜黄素和发现新的衍生物的药理活性。文献研究表明姜黄素结构中的两个酚基、一个活性亚甲基是连接生物分子的抗菌活性潜在靶点, 核苷、氨基酸等生物分子可通过易化扩散迅速进入生物体细胞内^[2]。

另外, 文献报道氨基酸、缩氨脲、缩胺以及脲等类的 Schiff 碱及其衍生物与金属形成的配合物具有抑菌、杀菌、抗肿瘤、抗病毒等多方面的生物活性, 而且抑杀菌活性的大小与配合物的稳定性有关, 配合

[收稿日期] 2007-07-03

[基金项目] 广西中医学院高学历科研启动基金(No. 2004G023)

[通讯作者] * 钟益宁, Tel: (0771) 3323735, E-mail: zhyn67@yahoo.com.cn

物越稳定其杀菌活性越强。基于姜黄素分子结构含有两个羰基官能团,能与苯胺,4-甲基苯胺,苯肼,2,4-二硝基苯肼等反应形成稳定的 Schiff 碱类化合物,我们合成和表征了 4 种稳定的姜黄素 Schiff 碱衍生物;并探讨目标化合物对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌以及绿脓杆菌的体外抑菌活性。

1 材料

1.1 药品和试剂 硅胶 G 和 H(200~300 目,青岛海洋化工,110 °C 活化),姜黄素(AR,上海迈坤化工),其他化学试剂均为分析纯,试剂、溶剂在使用前经干燥纯化处理。

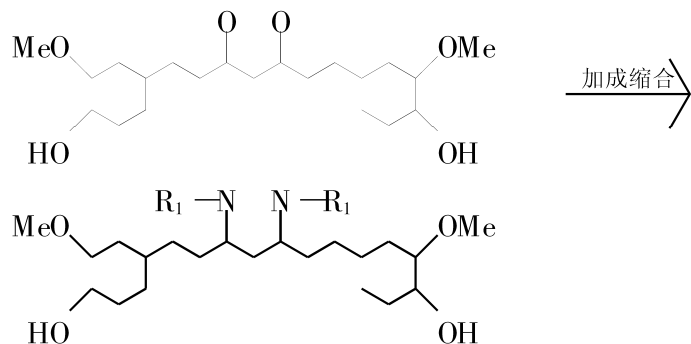
1.2 实验仪器 Sartorius 电子分析天平;恒温磁力加热搅拌器;RE-52AA 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);XT4-100A 显微熔点测定仪(控温型,北京科仪电光仪器厂,温度计未经校正);Agilent 8453 紫外可见分光光度计(美国安捷伦公司);Carlo ERBA 1106 型全自动微量有机元素分析仪;EQUINOX 55 型傅里叶变换红外光谱(德国 Bruker 公司)(KBr 压片法);核磁共振(¹H-NMR)用 AV400 超导核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司)(DMSO-d₆ 为溶剂,TMS 为内标);质谱(EFMS)用 VG Autospec 3000 有机磁质谱仪。

1.3 菌株及培养基 金黄色葡萄球菌(ATCC, 25923),大肠杆菌(ATCC, 25922),绿脓杆菌(ATCC, 27853)(购于中国药品生物制品检验所),普通肉汤培养基(1039508, BR, 购于上海仕元科学器材有限公司四川分公司),红霉素(H34020887, 上海玉安药业有限公司)。

2 方法

2.1 姜黄素 Schiff 碱 1~4 的合成

2.1.1 合成路线



注:(I) 加成缩合试剂:苯胺,4-甲基苯胺,苯肼,2,4-二硝基苯肼;(II) 加成缩合条件:溶剂 THF,恒温 50 °C,通入氮气磁力搅拌反应 12 h。

2.1.2 合成方法 将 0.54 mmol/L 的苯胺(4-甲基苯胺,苯肼,2,4-二硝基苯肼)加入盛有 10 mL 四氢呋喃

(THF) 的三颈瓶中,安上回流冷凝装置,通入氮气流,加热搅拌使固体溶解;50 °C 恒温下缓慢滴加 10 mL 溶有 0.27 mmol/L 姜黄素的 THF 溶液,继续搅拌反应 12 h。TLC 跟踪反应,反应后回收溶剂,混合物经硅胶柱层析分离,以 V 乙酸乙酯:V 石油醚=1:3;1:2;1:1 进行梯度洗脱,得到浅黄色的目标产物,乙醇重结晶得到纯净姜黄素 Schiff 碱化合物 1,2,3,4。

2.2 化合物 1~4 体外抗菌活性测定^[3] 以红霉素为对照品,金黄色葡萄球菌、大肠杆菌以及绿脓杆菌为实验菌,采用对倍稀释法测定,供试化合物和对照药分别溶于 DMSO 中,配成 0.1 g·L⁻¹ 的溶液,按标准对倍稀释法稀释成不同的质量浓度,接种后 37 °C 培养(16~18) h。

2.2.1 菌液制备 使用前金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和绿脓杆菌先接种在适宜的培养基中,活化后再接种在营养肉汤培养基中。置于 37 °C 温箱培养(16~18) h。取出用肉汤稀释至 10⁵~10⁶ mL⁻¹ 备用。

2.2.2 有效抑菌范围(MIC₅₀, MIC₉₀) 及最低抑菌浓度(MIC) 的测定 在无菌条件下,将药液的灭菌小试管分成 3 组,每组 10 支。用肉汤作递倍稀释稀释成 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512 的 9 支不同药液,第 10 号管作为对照不加药物。每管内含药液均为 1.0 mL,加菌量均为 0.1 mL,混合均匀,37 °C 培养(16~18) h,取出观察细菌生长,无细菌生长的最低药物浓度,即为对该菌株 MIC,实验重复 3 次,分别求其半数抑菌范围(MIC₅₀),90% 抑菌范围(MIC₉₀) 以及 MIC 的平均值。

3 结果

3.1 化合物 1~4 的表征 化合物 1:姜黄素缩二苯胺 Schiff 碱 111 mg,收率 79%,黄色的固体粉末;分子式: C₃₃H₃₀N₂O₄,分子量: 518.35,元素分析实测值(理论值)%: C76.38(76.41), H5.75(5.78), N5.37(5.40); m.p. 173~175 °C, decomp; UVλ_{max}^{MeOH} (nm): 432; IRV_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 3530~3280 (br, ArOH), 3011, 2968, 1657, 1573, 1487(C=N), 1623, 1521, 1439(C=C 及苯环骨架), 1223(C-O), 876, 773, 692(苯环取代); ¹H-NMR(400 MHz, DMSO-d₆): δ 3.93(s, 6H), 6.52(d, J=16.0 Hz, 2H), 6.86(d, J=8.0 Hz, 2H), 7.06(d, J=2.0 Hz, 2H), 7.12(dd, J=2.0, 8.0 Hz, 2H), 7.18(s, 2H), 7.64(d, J=16.0 Hz, 2H), 6.83~6.91(m, 10H, ArH), 10.32(s, 2H)。

化合物 2: 姜黄素缩二(4-甲基苯胺) Schiff 碱 123 mg, 收率 83%, 黄色的固体粉末; 分子式: $C_{35}H_{34}N_2O_4$, 分子量: 546.18, 元素分析实测值(理论值)%: C76.63 (76.90), H6.15 (6.22), N5.05 (5.12); m. p. 181~183 °C, decomp; $UV\lambda_{max}^{MeOH}$ (nm): 428 nm; $IR\nu_{max}^{KBr}$ (cm^{-1}): 3 536~3 290 (br, ArOH); 3 016, 2 953, 1 672, 1 583, 1 485 (C=N), 1 621, 1 527, 1 436 (C=C 及苯环骨架), 1 227 (C-O), 871, 777, 696 (苯环取代); ^1H-NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , TMS): δ 1.25 (s, 6H), 3.98 (s, 6H), 6.58 (d, J=16.0 Hz, 2H), 6.88 (d, J=8.0 Hz, 2H), 7.13 (d, J=2.0 Hz, 2H), 7.23 (dd, J=2.0, 8.0 Hz, 2H), 7.12 (s, 2H), 7.56 (d, J=16.0 Hz, 2H), 6.83~6.91 (m, 8H, ArH), 10.40 (s, 2H)。

化合物 3: 姜黄素缩二苯胍 Schiff 碱 129 mg, 收率 87%, 浅黄色粉末; 分子式: $C_{33}H_{32}N_4O_4$, 分子量: 548.26, 元素分析实测值(理论值)%: C72.08 (72.22), H5.79 (5.84), N10.16 (10.20); m. p. 192~194 °C; $UV\lambda_{max}^{MeOH}$ (nm): 420 nm; $IR\nu_{max}^{KBr}$ (cm^{-1}): 3 526~3 330 (br, ArOH); 3 012; 2 973; 1 658, 1 576, 1 482 (C=N), 1 619, 1 516, 1 429 (C=C 及苯环骨架), 1 223 (C-O), 871, 774, 691 (苯环取代); ^1H-NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ 3.96 (s, 6H), 6.54 (d, J=16.0 Hz, 2H), 6.84 (d, J=8.0 Hz, 2H), 7.16 (d, J=2.0 Hz, 2H), 7.22 (dd, J=2.0, 8.0 Hz, 2H), 7.14 (s, 2H), 7.52 (d, J=16.0 Hz, 2H), 7.18~7.69 (m, 10H), 10.31 (s, 2H), 10.38 (s, 2H)。

化合物 4: 姜黄素缩二(2,4-二硝基苯胍) Schiff 碱 102 mg, 收率 52%, 浅黄色粉末; 分子式: $C_{33}H_{28}N_8O_{12}$, 分子量: 728.63, 元素分析实测值(理论值)%: C54.39 (54.77), H3.87 (4.16), N15.38 (15.16); m. p. 204~207 °C^[7]; $UV\lambda_{max}^{MeOH}$ (nm): 415 nm; $IR\nu_{max}^{KBr}$ (cm^{-1}): 3 530~3 350 (br, ArOH); 3 018, 2 976, 1 660, 1 573, 1 487 (C=N), 1 625, 1 523, 1 435 (C=C 及苯环骨架), 1 360 ($-NO_2$), 1 226 (C-O), 873, 770, 696 (苯环取代); ^1H-NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 3.99 (s, 6H), 6.52 (d, J=16.0 Hz, 2H), 6.80 (d, J=8.0 Hz, 2H), 7.15 (d, J=2.0 Hz, 2H), 7.26 (dd, J=2.0, 8.0 Hz, 2H), 7.20 (s, 2H), 7.58 (d, J=16.0 Hz, 2H), 7.32~8.86 (m, 6H), 10.40 (s, 2H), 10.36 (s, 2H)。

3.2 化合物 1~4 的体外抑菌活性实验结果 4 种化合物对金黄色葡萄球菌的抑菌效果见表 1。对大肠杆菌的抑菌效果见表 2, 对绿脓杆菌的抑菌效果见表 3。

表 1 化合物 1~4 及红霉素对金黄色葡萄球菌的抑菌效果
Tab. 1 Antibacterial effect of compounds 1~4 and erythromycin etc. against *Staphylococcus aureus* ($mg \cdot L^{-1}$)

Compd.	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC
1	12.5	25.0	50.0
2	12.5	25.0	50.0
3	6.25	12.5	25.0
4	3.12	6.25	12.5
erythromycin	0.50	1.0	2.0

表 2 化合物 1~4 及红霉素对大肠杆菌的抑菌效果
Tab. 2 Antibacterial effect of compounds 1~4 and erythromycin etc. against *Escherichia coli* ($mg \cdot L^{-1}$)

Compd.	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC
1	25.0	50.0	100
2	25.0	50.0	100
3	12.5	25.0	50.0
4	6.25	12.5	25.0
erythromycin	1.0	2.0	4.0

表 3 化合物 1~4 及红霉素对绿脓杆菌的抑菌效果
Tab. 3 Antibacterial effect of compounds 1~4 and erythromycin etc. against *Pseudomonas aeruginosa* ($mg \cdot L^{-1}$)

Compd.	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC
1	12.5	25.0	50.0
2	12.5	25.0	50.0
3	6.25	12.5	25.0
4	6.25	12.5	25.0
erythromycin	0.50	1.0	2.0

4 讨论

从元素分析、红外光谱以及 ^1H-NMR 数据分析表明姜黄素 Schiff 碱 1~4 没有出现伯氨基($-NH_2$) 3 500~3 300 cm^{-1} 的吸收尖峰, 在 δ 3.5~4.8 左右的芳伯胺($-NH_2$) 的吸收也没有出现, 但是姜黄素特征性 C=O 双键的特征吸收峰已经消失, 而在 1 661~1 436 cm^{-1} 处有不饱和 C=N 双键的特征吸收峰, 说明羰基($-C=O$) 与氨基($-NH_2$) 已经反应生成了 Schiff 碱。反应过程中通入氮气流可以避免姜黄素以及苯胺等反应物的氧化, 减少副反应的发生, 提高反应的温度可以提高产率, 缩短反应的时间。

化合物 1~ 4 对 3 种实验菌株都有一定的抗菌活性,但抗菌活性均低于红霉素,其中,化合物 4 的抗菌活性较好,而且对金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌的抑制活性强于大肠杆菌。

鉴于稳定的姜黄素缩胺脲、缩胺及脲等类的 Schiff 碱化合物对所测试的菌株有一定的抑制作用,进一步研究合成 Schiff 碱的金属配合物,并探讨它们的生物活性有一定意义。

[参考文献]

- [1] 陆 鹏,童强松,姜凤超,等.姜黄素前体药物的合成及其体外抗肿瘤活性研究[J].中国药理学通报,2006,22(3):321-324.
- [2] 张晓光,许建华.姜黄素衍生物药理活性的研究进展[J].世界科学技术-中医药现代化,2006,8(2):78-82.
- [3] 李小青,黄文祥,郑行萍,等.美洛西林-三唑巴坦的体内外抗菌活性[J].中国新药与临床杂志,2006,25(3):189-192.