

Studies on Synthesis and Optical and Biological Properties of the Antibacterial Material of the Drug Coumarin

Yuguang Lv^{1*}, Zhongping Gong¹, Zhenghong Ge², Hongbing Gao¹, Chunhui Shi³,
Kuilin Lv⁴, Li Zhang¹, Yiming Wang¹

¹College of Pharmacy, Jiamusi University, Jiamusi

²College of Biochemical Engineering, Beijing Union University, Beijing

³Clinical Medical College of Jiamusi University, Jiamusi

⁴College of Materials Science and Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing

Email: yuguanglv@163.com

Received: Apr. 15th, 2014; revised: May 15th, 2014; accepted: May 22nd, 2014

Copyright © 2014 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

Objective: In order to search the new coumarin antibacterial material, designing and synthesizing the rare earth terbium coumarin complex are meaningful. **Methods:** We synthesized the rare earth terbium coumarin complex with conventional synthetic method, and their composition and structure were characterized by means of elemental analysis, IR spectra, UV-Vis, fluorescent spectra, and the electrochemical analysis. **Results:** The results indicated that coumarin and terbium forming stable compounds, Tb(Coumarin)₃ could emit the strongest green fluorescence, with good optical properties and biological activity. **Conclusion:** By studying the coumarin compound properties of optical and biological activities, we apply a drug probe and antimicrobial agents in clinical pharmacy.

Keywords

Coumarin Antibacterial Material, Fluorescence Spectroscopy, Electrochemical Analysis, Biological Activity

*通讯作者。

药用香豆素抗菌材料的合成及光学和生物性质的研究

吕玉光^{1*}, 巩忠萍¹, 葛争红², 高蕤冰¹, 石春卉³, 吕奎霖⁴, 张莉¹, 王一茗¹

¹佳木斯大学药学院, 佳木斯

²北京联合大学生物化学工程学院, 北京

³佳木斯大学临床医学院, 佳木斯

⁴北京化工大学材料科学与工程学院, 北京

Email: yuguanglv@163.com

收稿日期: 2014年4月15日; 修回日期: 2014年5月15日; 录用日期: 2014年5月22日

摘要

目的: 为了寻找药用香豆素抗菌材料, 设计和合成稀土铽和香豆素稀土金属配合物是有意义的。方法: 用常规法合成香豆素铽稀土金属配合物, 通过元素分析、红外光谱、紫外光谱、荧光光谱等分析, 表征了这些配合物的组成结构和发光性能, 并且进行了电化学分析。结果: 所得化合物, 通过元素分析、IR、紫外光谱和质谱分析确定了其结构, 香豆素和铽形成了稳定的化合物, 发射强的绿色荧光, 具有一定的生物活性。结论: 研究香豆素光学活性及生物学性质, 将其作为药物荧光探针和抗菌药物应用于临床和药学的研究中。

关键词

香豆素抗菌材料, 荧光光谱, 电化学分析, 生物活性

1. 引言

香豆素类(coumarins)是一类具有苯骈- α 吡喃酮母核的天然产物的总称, 在结构上可以看成是顺式邻羟基桂皮酸脱水而形成的内酯类化合物, 最早是从豆科植物香豆中提取得到, 并具有强烈的芳香和甜味。香豆素常以游离存在, 其衍生物广泛的分布于植物界的 27 个科, 现已经从 100 多种植物中分离出香豆素类化合物, 已发现的香豆素约有 900 多种。香豆素类化合物在生物合成上起源与对羟基桂皮酸, 在目前得到的天然香豆素成分中, 除了香豆素等 35 个化合物外, 其余均在 7 位连有含氧官能团。因此, 从化学结构上看, 7-羟基香豆素可以被认为是香豆素类化合物的基本母核。研究表明, 香豆素类化合物具有明显的生物学活性, 如: 抗 HIV、抗癌、对心血管的影响、抗炎、平滑肌松弛、抗凝血等作用[1]-[3]。

稀土, 英文名 Rare Earth, 包括镧系和副族元素铈和钇共 17 种元素[4]-[5]。由于它的核外电子在 4f 亚层的特殊排布规律, 使其可产生多样的电子能级可以吸收从紫外线, 可见光区到红外区各波段的电磁波且由于具有未充满的 4f 壳层和被外层 5s², 5p⁶ 电子屏蔽的特性, 镧系元素具有复杂的线性光谱, 尤其是位于该元素系中间的 Sm³⁺、Eu³⁺、Tb³⁺和 Dy³⁺离子, 在受到光、X 射线和电子射线照射后能产生荧光, 镧系元素离子的发光一般都属 f-f 跃迁带宽很窄发光效率不高镧系离子易与含氧原子的配体结合, 尤其易与双氧基的有机配体形成稳定的螯合物, 这些有机配体分子在紫外可见光区有强且宽的吸收。用此类有

机配体与镧系离子形成配合物, 通过配体与中心离子间的能量传递, 可提高稀土离子的发光效率且具有狭窄的线状光谱和激光的高分辨率很多的优点, 是制作成理想的药物荧光探针的首选物质[6]-[9]。稀土元素可产生多样的电子能级, 可以吸收从紫外线, 可见光区到红外区各波段的电磁波且由于具有未充满的4f壳层和被外层5s², 5p⁶电子屏蔽的特性, 镧系元素具有复杂的线性光谱, 尤其是位于该元素系中间的Sm³⁺、Eu³⁺、Tb³⁺和Dy³⁺离子, 在受到光、X射线和电子射线照射后能产生荧光。镧系元素离子的发光一般都属f-f跃迁带宽很窄发光效率不高镧系离子易与含氧原子的配体结合, 其在与有机配体配合后, 具有能发出稀土离子的荧光, 该荧光发光强度高, 颜色纯正等优点。并且在和有机发光化合物配合后用所需能量低, 荧光效率高, 易溶于有机介质等优点, 有利于进行光学性质的分析[10]-[13]。

因此, 稀土所特有的这些发光的特性, 使它具有了良好的研究价值, 近些年来已经成为了研究的热点。研究药用香豆素抗菌材料的光学活性及生物学性质, 可以在今后将其应用为荧光探针应用在荧光免疫分析方法中, 也可以将其作为药物荧光探针和抗菌药物应用于临床和药学的研究中。

2. 实验方法

2.1. 实验仪器和试剂

实验仪器: 红外光谱用 IR-PROSTIGE-21 红外光谱仪(日本岛津), KBr 压片法进行测定, 波数范围4000~400 cm⁻¹。紫外光谱以四氯化碳溶解样品, 由 UV-250PPC 光度计(日本岛津)测定。波长范围400~200 nm。荧光光谱用 RF-5301PC 型荧光光谱仪(日本岛津)在室温测定, 狭缝宽度为1.5 nm, PMT 电压在700 V。扫描速度是1200 nm min⁻¹。美国伏安测试仪 QL-5EX, 循环伏安图, 以4-丁基-高氯酸盐为支持电解质, 先向其中加入浓度为10⁻³ mol/L 的香豆素的二甲基亚砷溶液, 用三电极体系(玻碳电极为工作电极; Ag-AgCl 电极为参比电极; 铂丝电极为对电极), 在一定条件下进行循环伏安扫描。

主要试剂: 无水乙醇(AR), 香豆素(AR), 盐酸(AR), 氯化铈(AR), 氨水(AR)。

2.2. 香豆素铈稀土配合物的制备

取0.3 mmol TbCl₃·6H₂O 和0.9 mmol 香豆素, 分别用20 mL 无水乙醇溶解, 香豆素的无水乙醇溶液加热并用磁力搅拌器搅拌加速其溶解(注意: 搅拌的速度不能过快, 加热的温度不可以过高, 不能使溶液沸腾), 待香豆素的醇溶液完全溶解后, 将香豆素的无水乙醇溶液用氨水调节pH到7左右, 然后用胶头滴管逐滴加入已溶解的Tb³⁺的无水乙醇溶液, 在磁力搅拌器下常温搅拌4小时, 静置12小时, 过滤, 在电热鼓风干燥箱里70℃~80℃下干燥7~8个小时。即得棕黑色粉末状固体。产率88%, 装瓶后待用。

3. 实验结果

3.1. 紫外光谱分析

把配好的参比溶液、香豆素溶液香豆素铈稀土配合物的溶液分别在 UV 757CRT 紫外可见分光光度计下测量。用参比溶液做基线校准, 在220~500 nm 的范围进行紫外扫描。在相同条件下对香豆素溶液、香豆素铈溶液进行紫外扫描。结果见图1和表1, 从图和表中看到, 香豆素和配合物的紫外光谱发生显著变化, 说明合成了新的化合物。

3.2. 红外光谱分析

取配合物, 制成溴化钾压片, 在400~4000 cm⁻¹波数进行扫描。由图2可以看出香豆素铈稀土配合物在1589 cm⁻¹有较强吸收峰(香豆素标准样在1656 cm⁻¹有强吸收), 归属为羰基的ν_{C=O}伸缩振动。香豆素铈稀土配合物的ν_{C=O}伸缩振动峰发生位移并减弱, 说明羰基氧和C-OH与稀土离子进行了配位。香豆素

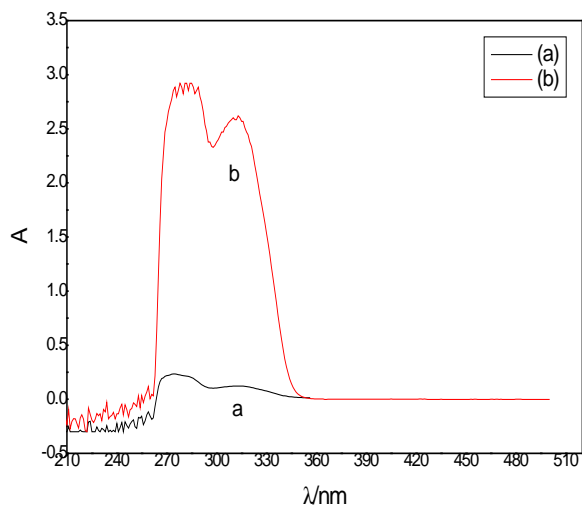


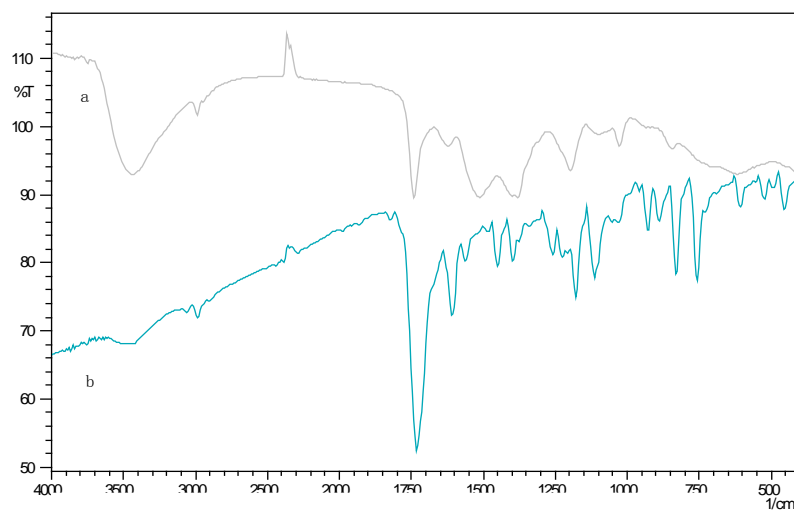
Figure 1. UV spectra of coumarin, coumarin terbium complex of rare earth (a, xds; b, Tb(xds)₃)

图 1. 香豆素和香豆素铽稀土配合物紫外光谱图(a, xds; b, Tb(xds)₃)

Table 1. UV spectral data of coumarin and coumarin complex of the rare earth terbium

表 1. 香豆素和香豆素铽稀土配合物的对比紫外光谱数据

		$\lambda_{\max}(\text{nm})$	吸光度(A)
香豆素	峰带	278, 315	2.921, 2.569
Tb(xds) ₃	峰带	274, 313	0.235, 0.122



[a, 香豆素xds; b, 配合物Tb(xds)₃ 400~4000 cm⁻¹]

Figure 2. Infrared spectrum of coumarin and coumarin complex of the rare earth terbium

图 2. 香豆素和香豆素铽稀土配合物红外光谱图

C-OH 1242 cm⁻¹ 移至 1311 cm⁻¹, 说明 C-OH 氧与稀土离子配位; 在 3415 cm⁻¹, 3206 cm⁻¹ 没有羟基的宽峰, 证明配合物不含有结晶水。结合紫外光谱、元素分析和质谱分析证明药用香豆素抗菌材料结构为

Tb(coumarin)₃。

3.3. 荧光光谱分析

荧光光谱用 RF-5301PC 型荧光光谱仪(日本岛津)在室温测定。研究香豆素铽稀土配合物的荧光光谱时发现,配合物的最佳激发波长为 $\lambda_{\max} = 306$ nm 左右,并在相应波长的紫外光激发下,测量了香豆素铽稀土配合物(浓度为 1×10^{-3} mol/L 和 1×10^{-4} mol/L)的荧光光谱。由图 3 可以看出,香豆素铽稀土配合物发射光谱图中位于 489 nm、545 nm、589 nm 和 621 nm 处的发射峰分别对应于 Tb³⁺的 ⁵D₄-⁷F₆、⁵D₄-⁷F₅、⁵D₄-⁷F₄ 和 ⁵D₄-⁷F₃ 的跃迁。配合物在 545 nm 处发射铽特征强绿色荧光。

3.4. 电化学分析

3.4.1. 二甲基亚砷的净化

把二甲基亚砷(DSMO)在减压蒸馏装置下进行蒸馏,去掉前馏分取中馏分,将经无水处理的二甲基亚砷(DSMO)备用。

3.4.2. 循环伏安法测定香豆素与香豆素铽稀土配合物

图 4 为香豆素和香豆素铽稀土配合的循环伏安图,以 4-丁基-高氯酸盐为支持电解质,先向其中加入浓度为 10^{-3} mol/L 的香豆素的二甲基亚砷溶液,用三电极体系(玻碳电极为工作电极; Ag-AgCl 电极为参比电极;铂丝电极为对电极),在如表 2 的条件下进行循环伏安扫描。另外在同等条件下,对相同浓度的香豆素铽稀土配合物进行循环伏安扫描。将两图对比,结果显示形成香豆素铽配合物后,香豆素参与配合的官能团氧化还原性减小。

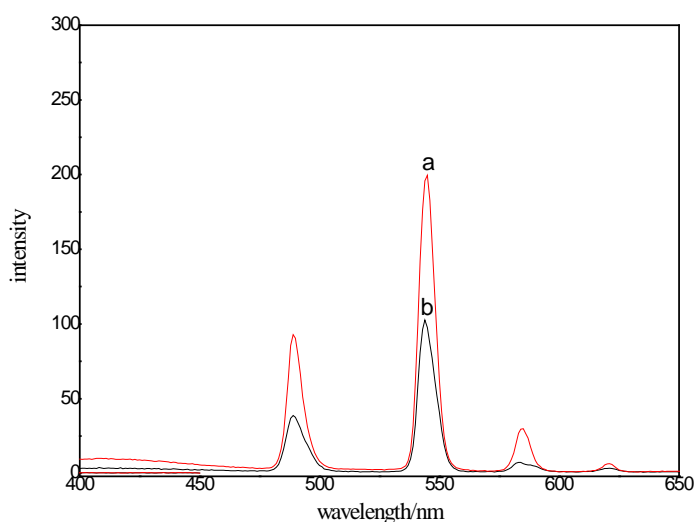


Figure 3. Fluorescence emission spectra of the coumarin rare earth terbium complex (density of the coumarin rare earth terbium complex a, 1×10^{-3} mol/L; b, 1×10^{-4} mol/L)

图 3. 香豆素铽稀土配合物荧光发射光谱图(香豆素铽稀土配合物浓度: a, 1×10^{-3} mol/L; b, 1×10^{-4} mol/L)

Table 2. Cyclic voltammetry conditions

表2. 循环伏安扫描的条件

初始电位(伏)	开关电位1(伏)	开关电位2(伏)	扫描速度(伏/秒)	循环次数(次)	等待时间(秒)
2.000	2.000	-2.0000	0.1000	1	0

3.5. 香豆素和配合物的抗菌活性

药用香豆素抗菌材料薄膜对大肠杆菌抑菌数据见表 3，从本课题抑菌结果可以分析出得出稀土香豆素抗菌材料的抑菌活性明显高于香豆素。众所周知，香豆素药理作用广泛，具有抗爱滋病、抗肿瘤、抗氧化、抗微生物、抗辐射等多方面生物活性及药理作用，香豆素对金属离子具有强烈螯合作用，生成的配合物往往具有很好的生物活性，并且与香豆素配合的金属本身也具有某些生物和生理活性。一些天然药物的有机成分和金属离子配合后可能使它的药理活性增强或者有可能产生新的药理活性，所以近年来对香豆素的金属配合物的药理研究逐渐增多。研究表明，香豆素和某些金属形成配合物后生物活性和药理作用明显增强，这对天然药物成分香豆素的开发利用及寻找新药开辟了新的途径。

4. 结论

本文报道了药用香豆素抗菌材料，结果表明香豆素和铽形成了稳定的化合物，具有稳定的化学性质和较好的光学性质。香豆素和金属形成配合物后生物活性和药理作用明显增强，这为天然药物成分香豆素的开发利用及寻找新药开辟了新的途径。

致 谢

在此感谢国家自然科学基金项目(No.21346006)，国家级大学生创新创业训练重点项目(No.201310222013)和佳木斯大学大学生科技创新项目(No.XSz2013-19)。黑龙江省科技厅科研项目(No.B201015 和 B030105)，黑龙江省教育厅科研项目(No.12543078)，黑龙江省卫生厅科研项目(No.2013-224)，佳木斯大学重大培育及面上科研项目(No.LZP2011-003, L2012-089)对本文研究工作的大力支持。

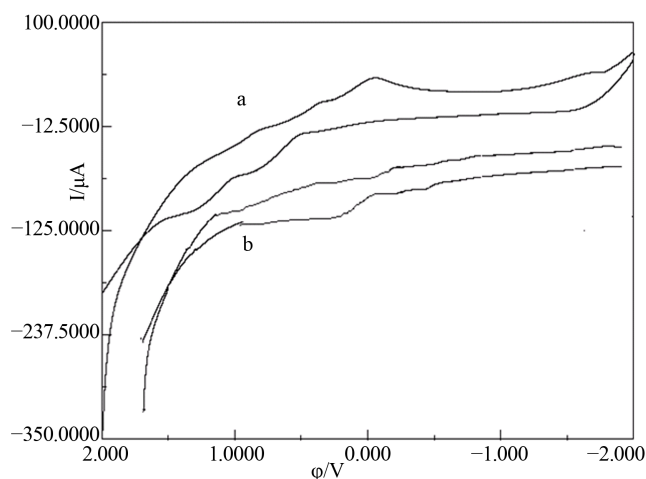


Figure 4. Cyclic voltammograms of coumarin and coumarin complex of the rare earth terbium $Tb(xds)_3$ (a, xds; b, $Tb(xds)_3$)

图4. 香豆素和香豆素铽稀土配合物的循环伏安图(a, xds; b, $Tb(xds)_3$)

Table 3. The inhibitory rate of *Escherichia coli*

表3. 大肠杆菌抑菌率

薄膜	1	2	3	平均	抑菌率
香豆素 xds	25	31	28	28	31.6
配合物 $Tb(xds)_3$	58	56	63	59	88.2

基金项目

2014 年黑龙江省教育厅科学技术研究面上项目(项目号 No.12541783)。

参考文献 (References)

- [1] 刘芳, 兰支利 (2006) 香豆素及其衍生物研究进展. *精细化工中间体*, **36**, 4-6.
- [2] 徐淑永, 曾和平, 魏传晚 (2004) 生物活性香豆素的研究进展. *合成化学*, **4**, 340-343.
- [3] 赵海莹, 高建荣 (2006) 合成香豆素类有机电致发光材料发光体新工艺研究. *浙江工业大学学报*, **1**, 25-26.
- [4] 常文保, 王敏灿, 张柏林 (1997) 稀土螯合物探针及其在时间分辨荧光免疫分析中的应用. *大学化学*, **1**, 1-6.
- [5] 雍克岚, 吕敬慈, 苏庆德 (2000) Sm^{3+} 配合物发光特征的荧光光谱和光声光谱的研究. *上海大学学报(自然科学版)*, **6**, 243-247.
- [6] 柯铭清 (1979) 中草药有效成分理化与药理特性. 湖南科学技术出版社, 长沙.
- [7] 季宇彬 (1994) 中药有效成分药理与应用. 黑龙江科学技术出版社, 哈尔滨, 261.
- [8] 高新, 邓振波, 陶栋梁 (2001) 一类新型稀土配合物的合成与发光特性研究. *中国稀土学报*, **6**, 536-539.
- [9] 赵永亮, 赵凤英 (2000) 邻氨基苯甲酸 2 联吡啶 2 混合稀土(Eu, Tb)配合物的荧光研究. *稀土*, **5**, 528-530.
- [10] Tang, C.W. and Vanslyke, S.A. (1987) Organic electroluminescent diodes. *Applied Physics Letters*, **51**, 913-915.
- [11] Shen Hong, Xu Zheng, et al. (2003) Emission of rare earth complex $\text{Tb}_{0.5}\text{Eu}_{0.5}(\text{asprin})_3\text{Phen}$. *Journal of Rare Earths*, **21**, 519-512.
- [12] Liu, Y., Ye, C.F., Qian, G.D., Qiu, J.R. and Wang, M.Q. (2006) *Journal of Luminescence*, **118**, 158-161.
- [13] 郑湘娟, 胡六根, 刘坚, 王立, 洪三国, 余淑娴 (2011) 以香豆素为配体的三元稀土配合物的合成及发光性能的研究. *稀土*, **5**, 44-48.