

研究简报

靛红席夫碱及其 Cu(II)/Zn(II)配合物的
合成与抗稻瘟菌活性研究陈刚^{1,2} 汤颖¹ 周立刚³ 郝小江^{2*}(西安石油大学化学化工学院 西安 710065; ²中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室 昆明 650204;³ 中国农业大学农学与生物技术学院 北京 100094)

摘 要 以靛红为原料合成了系列席夫碱类化合物及其 Cu(II)、Zn(II)配合物,研究了它们在抗稻瘟菌方面的活性,发现靛红及其席夫碱类化合物没有好的抑制稻瘟菌孢子萌发的活性,而其 Cu(II)、Zn(II)配合物具有较好的活性,其中双靛红席夫碱的 Cu(II)的活性接近 Carbendazim 的水平。

关键词 稻瘟菌 靛红席夫碱 配合物

Syntheses and the Bioactivity Screen on Inhibition against *Magnaporthe grisea* of Isatin Schiff Bases and their Cu(II)/Zn(II) ComplexChen Gang^{1,2}, Tang Ying¹, Zhou Ligang³, Hao Xiaojang^{2*}

(¹ College of Chemistry and Chemical Engineering, Xi'an Shi You University, Xi'an 701165; ² State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming, 650204; ³ College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094)

Abstract A series of schiff base compounds were synthesized by the condensation of isatin and primary amine and then five Cu(II)/Zn(II) complexes were synthesized with these schiff bases as ligand. All these compounds were screened on the activity of inhibition against germination of *Magnaporthe grisea* spores and found that isatin and its schiff bases were not active, but the complexes showed potent activity, one of which was comparable with Carbendazim.

Keywords *Magnaporthe grisea*, Isatin, Schiff base, Complex

稻瘟病(*Pyricularia oryzae* Sacc)是流行最广、危害最重的世界性水稻病害,在我国已成为三大水稻病害之一,它是由稻瘟菌(*Magnaporthe grisea*)引起的。该病害在中国南北方稻区都有严重危害,病害流行地区一般减产 10%~20%,严重的可达 40%~50%,重病年能导致绝收,对粮食生产造成严重威胁。

以天然产物中的活性化合物为先导发现新的生物农药是新一代农药研发的策略。靛红(isatin),又名吲哚醌,广泛存在于天然产物中,在爵床科植物马蓝(*Baphicacanthus cusia* (Nees) Bremek)、十字花科植物菘蓝(*Isatis indigotica* Fort.)等植物以及微生物的代谢产物中都有发现^[1~3]。这些植物富含吲哚生物碱^[1],并且很少受到植物病毒或病菌的侵害,说明该类植物中可能含有内源性的抗病毒、抑菌活性物质或者系统获得抗性信号传导分子,这就为新的生物农药的探索提供了线索。研究者从上述植物中分离出了可能的活性物质之一靛红,但活体植物内环境复杂,靛红易于和氨基酸的氨基或者蛋白质的氨基残基等伯胺缩合,并且靛红本身或者缩合后的产物也易于和多种金属离子发生配位作用,形成配位化合物^[4, 5],因

陈刚 男, 32 岁, 博士, 讲师; 从有机合成研究。*联系人, E-mail: gangchen@xsyu.edu.cn

陕西省自然科学基金研究计划项目(08JK413)和西安石油大学科技基金研究项目资助

2009-01-08 收稿, 2009-03-18 接受

此是何种形式的物质起作用还不清楚,有必要对靛红的衍生物进行系统研究。

靛红席夫碱化合物,也称为 3-亚氨基-吲哚-2-酮化合物,是一类由靛红和伯胺缩合的产物,目前已经发现该类化合物及其过渡金属配合物具有抑菌、抗病毒等活性^[4-6],尽管对靛红席夫碱及其过渡金属配合物生物活性的研究已经较多,但还未见有对植物病菌抑制作用的研究报道。在前期研究中发现 3-芳基亚甲基-吲哚-2-酮类化合物具有抗稻瘟菌活性,部分化合物的活性接近了 Carbendazim^[6]的水平。亚氨基和亚甲基是电子等排体,在活性上可能有相似之处。本文以靛红为原料合成了靛红席夫碱及其 Cu(II)、Zn(II)配合物,研究了它们在抗稻瘟菌方面的活性,发现了靛红席夫碱的 Cu(II)、Zn(II)配合物有较好的抑制稻瘟菌孢子萌发的活性。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

NMR、MS 和 IR 由 VARIAN INOVA 400 MHz 核磁共振谱仪、HEWLETT PACKARD 2110 质谱仪和 Nicolet 170 SXFT-IR 红外光谱仪(KB 的压片)测定。实验所用试剂均为分析纯,使用前未经进一步纯化;色谱用硅胶为青岛海洋化工厂产品。

1.2 供试菌种

供试菌种为稻瘟菌(Magnaporthe grisea)。

1.3 化合物的合成

1.3.1 靛红席夫碱的合成^[6] 将 0.5 mmol 靛红溶于 15 mL 乙醇中,再分次加入稍过量的苯胺,于室温搅拌反应 10 h。将溶液浓缩即有黄色/橙红色晶体析出,过滤,用适量乙醇重结晶得 3-亚氨基-吲哚-2-酮化合物(化合物 1~3, 结构式见表 1)。

1.3.2 靛红席夫碱 Cu(II)配合物的合成^[7] 取 0.5 mmol 靛红席夫碱化合物溶于 20 mL 甲醇中,室温搅拌下滴加入 0.5 mmol 醋酸铜溶于 10 mL 甲醇的溶液,体系颜色加深变为棕色或深棕色。滴加完毕将溶液倒入 100 mL 烧杯中自然放置,待其自然挥发至干后,用少量甲醇冲洗固体表面,剩余固体再经重结晶,可得到棕色或黑色靛红席夫碱化合物与醋酸铜的配合物 4~6(可能的结构见表 1)。

1.3.3 双靛红席夫碱 Cu(II)、Zn(II)配合物的合成 将 0.5 mmol 靛红溶于 15 mL 乙醇中,并用浓盐酸调节 pH 为 5~6,搅拌下缓慢滴入溶有 0.25 mmol 乙二胺的 5 mL 乙醇中,滴加完毕后回流搅拌 4h,溶液变为暗红色,冷却到室温后,搅拌下缓慢滴加入 10 mL 溶有 0.25 mmol CuCl₂/ZnCl₂ 的乙醇溶液,体系出现沉淀。滴加完毕,回流 2h 时后冷却到室温,滤出沉淀,乙醇洗涤 3 次,干燥即得配合物 7、8(结构见表 1)。

1.4 抑菌活性测定

参考文献[8]方法进行。

2 结果与讨论

2.1 目标化合物的结构鉴定

化合物 1~3 的结构参考文献[9]并经 NMR、IR、MS 确认。

1 (C₁₄H₁₀N₂O), 收率 94%, 黄色针状晶体; IR (KBr 压片) ν /cm⁻¹: 3444 (N—H), 3220 (烯醇 O—H), 1744 (C=O), 1590(C=), 1448(C=C), 810, 735 (Ar—H); ¹H NMR(400MHz, DMSO-*d*₆) δ : 11.00 (1H, s), 7.46 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.31 (td, *J* = 7.6, 5.2 Hz, 1H), 7.25 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 6.97 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 6.88 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.70 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.31 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H); MS (EI) *m/z*: 222 (M⁺)。

2 (C₁₅H₁₂N₂O₂), 收率 88%, 黄色细针状晶体; IR (KBr 压片) ν /cm⁻¹: 3445 (N—H), 3238 (烯醇 O—H), 2924 (C—H), 1741 (C=O), 1612 (C=N), 1462 (C—O), 1448 (C=C), 815, 740 (Ar—H); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 9.14 (1H, s), 7.32 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.08 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.99 (m, 3H), 6.93 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.79 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 3.88 (3H, s); MS (EI) *m/z*: 253 (M⁺)。

3 ($C_{16}H_{15}N_3O$), 收率 90%, 紫黑色粒状晶体; IR (KBr 压片) ν/cm^{-1} : 3442 (N—H), 3210 (烯醇 O—H), 2925 (C—H), 1732 (C=O), 1611 (C—N), 1571 (C=N), 1449 (C=C), 817, 756 (Ar—H); 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ : 10.88 (1H, s), 7.52 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.32 (td, $J = 1.2, 8.0$ Hz, 1H), 7.09 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.02 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 6.89 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.81 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.97 (6H, s); MS (EI) m/z : 265 (M^+).

配合物 **4-8** 的结构参考文献[4~10]并经 IR、元素分析确认。

4 棕色颗粒状固体; IR (KBr 压片) ν/cm^{-1} : 3442 (N—H), 3178 (烯醇 O—H), 2925 (C—H), 1670 (C=O), 1622 (C=O), 1580 (C=N), 1449 (C=C), 1320 (C—H), 810, 735 (Ar—H); 元素分析 ($CuC_{18}H_{16}N_2O_5$) 测定值(计算值)/%: C 53.41(53.53), H 3.79(3.99), N 7.05(6.94)。

5 棕色颗粒状固体; IR (KBr 压片) ν/cm^{-1} : 3445 (N—H), 3170 (烯醇 O—H), 2925 (C—H), 1690 (C=O), 1620 (C=O), 1579 (C=N), 1449 (C=C), 812, 748 (Ar—H); 元素分析 ($CuC_{19}H_{18}N_2O_6$) 测定值(计算值)/%: C 52.70(52.59), H 4.00(4.18), N 6.48(6.46)。

6 黑色颗粒状固体; IR (KBr 压片) ν/cm^{-1} : 3442 (N—H), 3243 (烯醇 O—H), 2925 (C—H), 1726 (C=O), 1617 (C=O), 1523 (C=N), 1449 (C=C), 814, 759 (Ar—H); 元素分析 ($CuC_{20}H_{21}N_3O_5$) 测定值(计算值)/%: C 53.54(53.75), H 4.81(4.74), N 9.18(9.40)。

7 蓝色粉末; IR (KBr 压片) ν/cm^{-1} : 3444 (N—H), 3229 (烯醇 O—H), 2942 (C—H), 1710 (C=O), 1598 (C=N), 1460 (C=C), 814, 758 (Ar—H); 元素分析 ($CuC_{18}H_{14}N_4O_2Cl_2$) 测定值(计算值)/%: C 48.0(47.75), H 3.22(3.12), N 12.11(12.37)。

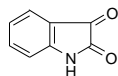
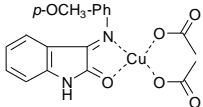
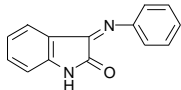
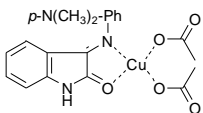
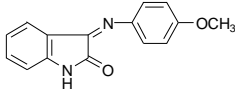
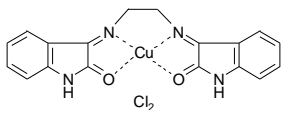
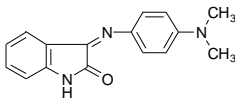
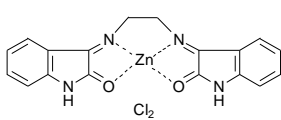
8 红色粉末; IR (KBr 压片) ν/cm^{-1} : 3450 (N—H), 3229 (烯醇 O—H), 2942 (C—H), 1641 (C=O), 1569 (C=N), 1453 (C=C), 814, 758 (Ar—H); 元素分析 ($ZnC_{18}H_{14}N_4O_2Cl_2$) 测定值(计算值)/%: C 47.78(47.55), H 3.01(3.10), N 12.60(12.32)。

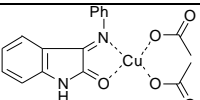
2.2 抑菌活性实验

靛红和 8 个合成的化合物抑制稻瘟菌孢子萌发的活性筛选, 以乙醇为空白对照, Carbendazim 为阳性对照, 结果如表 1 所示。

表 1 化合物抑制稻瘟菌孢子萌发的活性实验结果($\mu g/mL$)

Table 1 Inhibition of the synthesized isatin derivatives against germination of *Magnaporthe grisea* spores ($\mu g/mL$)

化合物	结构	IC ₅₀	化合物	结构	IC ₅₀
靛红		>200	5		>200
1		>200	6		44.92
2		>200	7		7.87
3		>200	8		80.43

4		>200	Carbendazim	/	1.07
---	---	------	-------------	---	------

从表 1 中可见, 靛红和靛红席夫碱类化合物对稻瘟菌孢子萌发不具有好的抑制作用。然而, 在前期的研究中发现 3-芳基亚甲基-咪唑-2-酮类化合物多数具有较好的活性^[6], 其中部分化合物对稻瘟菌孢子萌发的抑制率接近了对照物 Carbendazim 的水平。由此可见, 3 位亚甲基是重要的药效团。虽然亚氨基和亚甲基是电子等排体, 一般来说在活性上可能会有相似之处, 但对抑制稻瘟菌孢子萌发两者活性差异较大。究其原因可能是: 亚氨基是富电子的氢键受体, 具有亲水性, 而亚甲基则为非氢键受体、有疏水性, 化合物抑制稻瘟菌孢子萌发的作用点可能是疏水点, 不利与亚氨基的结合, 导致了两者活性的差异。

由表中可见双靛红席夫碱的 Cu(II)配合物活性高于单席夫碱的 Cu(II)配合物的活性, Cu(II)配合物的活性高于 Zn(II)配合物的活性。靛红、靛红席夫碱类化合物单独作用于稻瘟菌孢子时活性低, 当与 Cu(II)/Zn(II)配位形成配合物时活性升高, 这可能是因为金属离子与配体的协同作用^[9], 或者是由于金属离子与配体配位之后对 N 原子上共价键的固定作用, 改变了其溶解性和渗透性等, 从而导致了活性的增强^[10]。这也部分证实了在植物体内不是单纯靛红起作用或者说不是靛红单独起作用的推断。

尽管研究工作系从植物自身提示的抗植物病菌活性展开, 但是由于靛红在活体植物内所处的环境复杂, 可能与各种化合物(包括金属离子、氨基酸残基等)作用, 发生多种转化而导致最终活性的表现, 并且其活性是否具有广谱性还无法确定。体外实验, 包括多种靛红衍生物的合成, 只能简单的模拟体内环境, 筛选部分植物病菌, 因而还需要大量系统的工作来寻找高活性物质。

参考文献

- [1] 彭少平, 顾振纶. 中国野生植物资源, 2005, 24(5): 4~7.
- [2] M S Gil-Turnes, M E Hay, W Fenical. Science, 1989, 246: 116.
- [3] T Hosoe, K Nozawa, N Kawahara et al. Mycopathologia, 1999, 146: 9~12.
- [4] C Maria, Rodriguez-Argüelles, B F Marisa et al. J. Inorg. Biochem., 2004, 98: 313~321.
- [5] S Dharmarajan, R B Tanushree, Y Perumal. Bioorgan. Med. Chem., 2004, 12: 5865~5873.
- [6] 陈刚, 汪冶, 何红平 等. 云南植物研究, 2007, 29 (6): 717~721.
- [7] C Giselle, A Katia, F Giuseppe et al. J. Inorg. Biochem., 2005, 99: 1433~1440.
- [8] 陈刚. 博士学位论文, 昆明, 中国科学院昆明植物研究所, 2007.
- [9] 汪显阳, 孙作民. 中国现代实用医学杂志, 2004, 3: 3~5.
- [10] 梁芳珍, 马建平, 朱建华. 无机化学学报, 2006, 22: 115~118.