

Yb³⁺-儿茶素配合物的抑菌活性及其机理探究*

余康¹⁾ 刘璐¹⁾ 李可¹⁾ 羊希¹⁾ 李霞¹⁾ 廖学品^{1,2)**} 石碧^{1,2)}

(¹⁾ 四川大学生物质与皮革工程系, 成都 610065; (²⁾ 四川大学制革清洁技术国家工程实验室, 成都 610065)

摘要 本文对 Yb³⁺-儿茶素配合物(Yb³⁺-C)的合成、抑菌活性及抑菌机理展开了系统研究. 结果表明, 合成配合物 Yb³⁺-C 的最适摩尔比为 1:4. Yb³⁺-C 的最小抑菌浓度(MIC)均显著低于 Yb³⁺ 和 C, 对大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)及沙门氏菌(*Salmonella*)均有较强的抑菌作用, 而对金黄色葡萄球菌抑制作用更强, 其 MIC 值低至 0.0963 mmol/L. 进一步研究表明, Yb³⁺-C 仅需要 2 h 就能杀灭细菌, 可有效缩短杀菌时间. 此外, 扫描电镜(SEM)、透射电镜(TEM)观察结果以及 Yb³⁺ 在细胞膜和细胞内的吸收和分布表明, Yb³⁺-C 对细胞具有更强的亲和力与穿透力, 使 Yb³⁺ 更容易在细胞质中累积至有效浓度, 从而造成细胞结构的破坏, 并引起细胞凋亡.

关键词 Yb³⁺, 儿茶素, 配合物, 抑菌活性, 抑菌机理

学科分类号 O641, O614

DOI: 10.16476/j.pibb.2018.0173

病原微生物对人类健康造成了很大威胁, 随着抗生素、磺胺类、喹诺酮类等传统抗菌药物的大量使用, 许多病原菌产生了严重的耐药性. 因此, 新型、高效抗菌剂的研究开发已然成为人们普遍关注的重点课题.

儿茶素(catechin, C)是具有多元酚结构的植物次级代谢产物, 是一种含量十分丰富的天然多酚类化合物^[1]. 儿茶素具有生物相容性好、脂溶性强、毒副作用小等优点, 对大肠杆菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌等多种病原微生物表现出一定的抗菌作用, 可以作为抗生素的有效替代物用于治疗细菌感染^[2-3]. 但是, 儿茶素的稳定性差、生物利用率较低、膜穿透性不强, 从而导致其对细菌的抑制作用也相对较弱. 因此, 需要对儿茶素进行一定的化学修饰以进一步提高其抗菌效果.

另一方面, 稀土(Re)是一类具有特殊电子组态(4f⁰⁻¹⁴5d⁰⁻¹6s²)的重要金属元素. 随着科学的发展, 稀土在抗凝血、抗肿瘤等医用领域的价值也备受关注^[4-5]. 与此同时, 有不少学者对稀土在抗菌领域的应用也展开了系统研究, 发现稀土离子对微生物的抑制作用与多种生物效应(与钙离子的拮抗作用、与蛋白质或酶结合以及水解磷酸二酯键等)密切相

关^[6-8]. 然而, 稀土离子的水溶性较强且易水解, 与细胞的亲和力较弱, 难以到达细胞作用靶点, 影响了其抗菌活性.

研究发现, 当稀土与脂溶性的有机配体螯合形成配合物时, 其抗菌活性较有机配体和稀土单独作用有显著提高^[9-10]. Momani 等^[11]发现镧系-四齿席夫碱络合物的脂溶性较好并且表现出较强的体外抗菌活性, 其中 La(III)和 Pr(III)络合物是金黄色葡萄球菌的有效抑制剂, 而 Sm(III)络合物对黏质沙雷氏菌也表现出较好的抑制作用. 由此可见, 增强稀土离子的脂溶性是提高其抗菌活性的有效途径. 同时, 有学者将植物多酚与金属离子配位结合后, 其抗菌活性也得到了显著提高, Kim 等^[12]将单宁酸与 Fe 螯合后, 其抑制铜绿假单胞菌的能力大大提高.

前期研究发现, La³⁺、Gd³⁺、Er³⁺ 与儿茶素的配合物具有较强的抑菌作用^[13]. 本文以稀土 Yb³⁺ 为中心离子, 儿茶素 C 为脂溶性的有机配体, 合成配

* 国家重点基础材料技术提升与产业化项目(2017YFB0308500)资助.

** 通讯联系人.

Tel: 028-85400382, E-mail: xpliao@scu.edu.cn

收稿日期: 2018-06-19, 接受日期: 2018-09-10

合物 Yb^{3+} -C, 并考察其对实验菌株的最小抑菌浓度(MIC); 同时, 采用时间-杀菌曲线评价其杀菌效果; 再通过扫描电镜(SEM)、透射电镜(TEM)观察细胞形态的变化, 测定并分析了细胞中稀土离子的含量和分布情况, 在此基础上, 对 Yb^{3+} -C 的抗菌机理进行了推测。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

五水合硝酸铈($\text{Yb}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)为分析纯, 由上海阿拉丁试剂有限公司提供; 儿茶素(catechin, C 98%)为化学纯, 由上海瀚鸿化工科技有限公司提供。

实验菌株: 大肠杆菌(*Escherichia coli* ATCC25922)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* ATCC23656)和绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853)购于中国工业微生物菌种保藏中心, 沙门氏菌(*Salmonella* SIIA235)由四川大学制革生物技术研究室提供。

培养基: 液体培养基为营养肉汤培养基(nutrient broth, NB), 固体琼脂平板和试管斜面培养基均在NB培养基中添加1.5%琼脂。

UV-1800C型紫外-可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司); Optima 8000DV型等离子体发射光谱仪(美国PerkinElmer有限公司); Tecnai G2F20S-TWIN型场发射透射电子显微镜(美国FEI公司); CS 3400场发射扫描显微镜(英国CamScan公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 反应最佳摩尔比

根据不同摩尔比的 Yb^{3+} : C 与反应体系的 pH 变化, 并结合相应配合物分别对4种实验菌株的抑菌活性(牛津杯法测定^[14]), 以确定 Yb^{3+} -C 的最佳配比。

1.2.2 最小抑菌浓度(MIC)的测定

采用二倍梯度稀释法^[15]配制系列浓度的 Yb^{3+} -C 溶液, 并取适量溶液分别加入无菌小试管中, 利用营养肉汤培养基将菌悬液稀释至 1×10^6 CFU/L。同时将等量的含菌培养液加入到各无菌小试管中, 于 37°C 条件下培养 24 h。观察其生长情况, 以抑制细菌生长的最低配合物浓度(试管溶液澄清透明)为最小抑菌浓度。

1.2.3 时间-杀菌曲线的测定

将培养 16 h 的细胞重悬于无菌生理盐水中,

分别用 C、 Yb^{3+} 和 Yb^{3+} -C 处理细胞, 并采用 UV-1800C 型紫外-可见分光光度计测定反应 0~24 h 时间段内上述细胞悬液的 A_{600} , 并绘制时间-杀菌曲线^[16]。

1.2.4 细胞中 Yb^{3+} 的吸收和分布

a. 细胞中稀土含量的测定: 分别用 Yb^{3+} 和 Yb^{3+} -C 处理细胞, 然后取 2 ml 菌悬液于 8 000 r/min 离心 10 min, 去除上清液, 并用无菌生理盐水反复洗涤 3 次后, 用硝酸和双氧水消解后定容, 采用 Optima 8000DV 型等离子体发射光谱(ICP-OES)分别测定 0~24 h 时间段内细胞中 Yb^{3+} 的含量。

b. 细胞膜和细胞质中稀土含量的测定: 收集 Yb^{3+} 和 Yb^{3+} -C 处理后的细胞; 采用超声波对细胞进行破壁处理, 并于 10 000 r/min 离心 10 min, 分别得到上清液和固体沉淀物, 并用硝酸和双氧水消解后定容; 通过 ICP-OES 分别测定上清液(主要含细胞质)与沉淀物(主要含细胞膜和细胞壁)中 Yb^{3+} 的含量^[17-19]。

1.2.5 数据分析

采用统计学软件(SPSS19.0)对实验数据进行显著性分析。

2 结果与讨论

2.1 Yb^{3+} -C 的配位摩尔比

儿茶素 C 与稀土离子 Yb^{3+} 发生配位反应时, 酚羟基的解离会促进 H^+ 的释放, 使反应体系的 pH 降低。因此, 可以根据反应前后 pH 值的改变量来确定最佳的配位反应摩尔比^[20]。 Yb^{3+} 与 C 配位反应体系的 pH 变化量如图 1 所示。由图可知, 随着 C 含量的不断增大, ΔpH ($\Delta\text{pH} = \text{pH}_{\text{反应前}} - \text{pH}_{\text{反应后}}$) 随之不断增大, 在摩尔比为 1:4 时 ΔpH 达到最大并保持稳定。

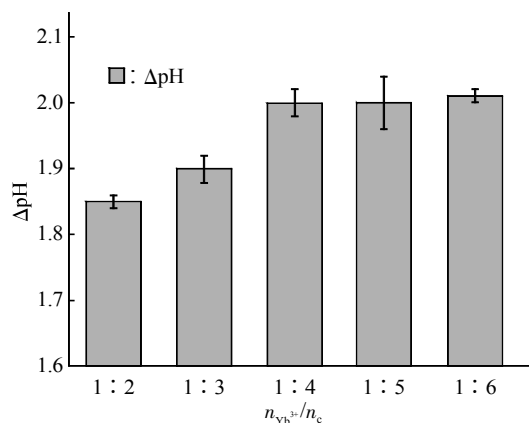


Fig. 1 pH changes of Yb^{3+} and C chelating reaction system at different molar ratios

2.2 不同摩尔比 $\text{Yb}^{3+}:\text{C}$ 的抑菌性能

不同摩尔比的 $\text{Yb}^{3+}:\text{C}$ 与 4 种食源性病菌的抑菌活性关系如表 1 所示. 随着 C 的增加, 配合物对 4 种病原菌的抑菌活性均有一定的增强. 在 $\text{Yb}^{3+}:\text{C}$ 摩尔比为 1:1~1:3 时, 抑菌圈直径随摩尔比增大而缓慢增大; 当摩尔比为 1:4 时, 抑菌圈

直径最大; 但继续增大摩尔比到 1:5 时抑菌圈直径的变化很小. 可见, 反应体系中 $\text{Yb}^{3+}:\text{C}$ 以摩尔比 1:4 得到的配合物具有较强的抗菌活性. 结合本文 2.1 的研究结果, 以摩尔比 1:4 作为 $\text{Yb}^{3+}-\text{C}$ 合成的最佳配比.

Table 1 Relationship between the $\text{Yb}^{3+}:\text{C}$ ratio and antibacterial activity

$\text{Yb}^{3+}:\text{C}$	Inhibition zone(mm)			
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Salmonella</i>
1:1	10.10 ± 0.04	12.23 ± 0.03	10.47 ± 0.03	10.20 ± 0.02
1:2	10.13 ± 0.03	14.47 ± 0.05	10.35 ± 0.17	10.30 ± 0.08
1:3	10.54 ± 0.02	15.07 ± 0.03	11.23 ± 0.01	10.28 ± 0.04
1:4	11.33 ± 0.03	17.15 ± 0.07	12.22 ± 0.02	11.69 ± 0.05
1:5	11.40 ± 0.12	17.25 ± 0.03	12.42 ± 0.20	12.00 ± 0.01

2.3 $\text{Yb}^{3+}-\text{C}$ 的最小抑菌浓度 (MIC)

$\text{Yb}^{3+}-\text{C}$ 对 4 种食源性细菌的 MIC 如表 2 所示. 可以看出, $\text{Yb}^{3+}-\text{C}$ 的抑菌作用均比单独的 C 或 Yb^{3+} 更强. 相比于大肠杆菌、绿脓杆菌及沙门氏菌, $\text{Yb}^{3+}-\text{C}$ 对金黄色葡萄球菌的抑制效果最好. 结合表 1, 根据 SPSS19.0 数据统计分析, 结果表明大肠杆菌、绿脓杆菌及沙门氏菌的抑菌圈大小之间的差异并不显著 ($P > 0.05$), 而金黄色葡萄球菌与其他 3 种菌株相比差异显著 ($P < 0.05$), 这说明

配合物对革兰氏阳性菌与革兰氏阴性菌的抑菌活性存在明显差异, 其对金黄色葡萄球菌的抑制效果更佳. 这是因为金黄色葡萄球菌属于革兰氏阳性菌, 其细胞结构与革兰氏阴性菌有较大差异, 其细胞壁主要是肽聚糖(50%~80%). 而肽聚糖作为一种含糖基多肽, 与稀土和植物多酚都具有较好的亲和力^[21-22]. 因此, 配合物 $\text{Yb}^{3+}-\text{C}$ 增强了 Yb^{3+} 的脂溶性, 其与细胞具有更强的亲和力, 可以发挥更好的抑菌作用.

Table 2 MIC of C, Yb^{3+} and $\text{Yb}^{3+}-\text{C}$ against four kinds of food-borne bacteria

	MIC(mmol/L)			
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Salmonella</i>
C	6.490	6.490	6.490	6.490
Yb^{3+}	7.143	7.143	3.572	7.143
$\text{Yb}^{3+}-\text{C}$	0.771	0.096	0.771	0.771

2.4 时间-杀菌曲线分析

$\text{Yb}^{3+}-\text{C}$ 对金黄色葡萄球菌的时间-杀菌曲线如图 2 所示. 由图可见, 在未加抗菌剂(control)的情况下, 在 0~4 h 时金黄色葡萄球菌细胞浓度有所下降, 随后保持相对稳定. 但是, 当加入 C、 Yb^{3+} 及 $\text{Yb}^{3+}-\text{C}$ 后均能有效杀灭金黄色葡萄球菌, 而且 $\text{Yb}^{3+}-\text{C}$ 仅需 2 h 就能达到较好的杀菌效果, 而 C 和 Yb^{3+} 需要 8 h 才达到与 $\text{Yb}^{3+}-\text{C}$ 相当的杀菌效果. 由

此可见, $\text{Yb}^{3+}-\text{C}$ 的形成不但可以显著提高抑菌性能, 而且还能有效缩短杀菌时间^[23]. 我们知道, 抗生素虽然是有效的抗菌药物, 但是其容易产生耐药性; 而磺胺、喹诺酮类等传统合成类抗菌药物, 合成方法较为复杂、稳定性差且作用持续时间不长. 与之相比, $\text{Yb}^{3+}-\text{C}$ 合成工艺简单、杀菌作用强、时效性好、是一种极具潜力的抗菌剂, 具有良好的应用前景.

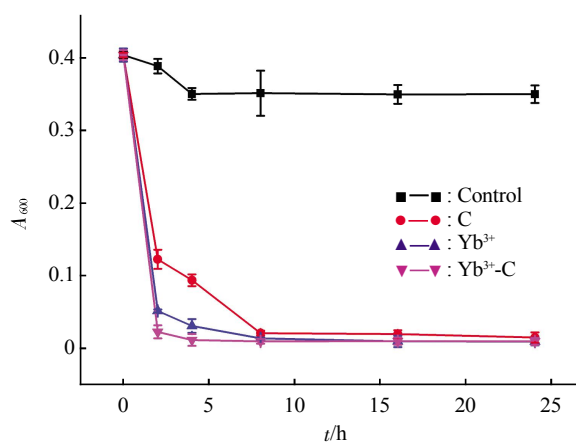


Fig. 2 Time-killing curves of C, Yb^{3+} and Yb^{3+} -C

2.5 细胞超微结构分析

金黄色葡萄球菌经 C、 Yb^{3+} 及 Yb^{3+} -C 作用后细胞形态的 SEM 如图 3 所示. 由图可见, C、 Yb^{3+} 及 Yb^{3+} -C 作用下细胞形态均发生了显著的变化, 但他们对细胞形态的影响仍存在明显的差异. 未加抗菌剂的对照样(图 3a), 金黄色葡萄球菌是比较规整的球形且细胞表面光滑.

C 对细胞表面光滑程度影响不大, 但是会使细胞表面部分向内凹陷, 导致细胞形态发生明显畸变, 但对细胞的破坏程度仍然有限(图 3b). 这是因为 C 是脂溶性多酚类物质, 能够与细胞膜结合并进入细胞内, 与细胞内的一些活性物质相互作用造成细胞形态发生变化^[24]. 孙淑娟等^[25]通过扫描电镜观察酚类化合物对白念珠菌细胞结构的影响, 发现其可造成细胞表面皱缩不平, 细胞壁(膜)严重皱折、变薄、剥脱等现象, 并且质地变脆, 有裂纹形成.

虽然经 Yb^{3+} 作用的金黄色葡萄球菌仍然保持了细胞规整的球形结构, 但是细胞表面却变得极为粗糙(图 3c). 范琼瑛^[26]发现稀土离子对金黄色葡萄球菌形态影响不大, 但是会因其吸附在细胞表面而造成表面粗糙.

Yb^{3+} -C 作用后金黄色葡萄球菌细胞的形态畸变更为显著, 细胞表面大面积向内凹陷, 使得细胞结构坍塌并破裂(图 3d). 这是因为 Yb^{3+} -C 发挥了 Yb^{3+} 与 C 的协同作用, 而且 Yb^{3+} 与 C 的配位后使得 Yb^{3+} 具有一定的脂溶性, 可以穿透细胞膜进入细胞质并与一些活性物质相互作用, 造成细胞结构的严重破坏.

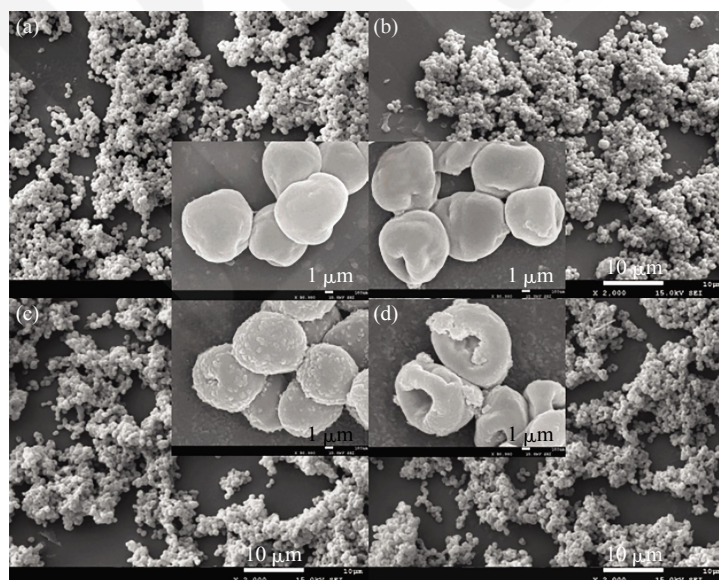


Fig. 3 Observation of ultrastructure of cells by SEM

(Cells treated with a, b, c, d respectively. a: Control; b: C; c: Yb^{3+} ; d: Yb^{3+} -C)

采用 TEM 分析 C、 Yb^{3+} 及 Yb^{3+} -C 对金黄色葡萄球菌细胞内超微结构的影响(图 4). 金黄色葡萄球菌为葡萄球状, 无芽胞, 无荚膜, 菌体较小, 直

径约为 $0.5 \sim 1 \mu\text{m}$, 在正常生长状态下, 其细胞质分布均匀(图 4a).

经儿茶素 C 作用后的金黄色葡萄球菌, 细胞

壁和细胞膜等结构均保持完整且比较光滑, 但细胞大小不均, 而且细胞质出现了轻微的固缩和板结现象(图 4b). 结合 SEM 的分析结果, 可以认为儿茶素与细胞的亲和力较好, 但是对细胞膜的穿透性较弱, 因此, 其主要影响细胞膜结构而对细胞质的影响较小^[27].

经 Yb^{3+} 作用后的金黄色葡萄球菌, 细胞壁及细胞膜等结构均相对较完整, 但是细胞大小不均, 细胞表面粗糙且有一些附着物, 细胞质出现较明显的固缩及空泡化现象(图 4c). 由此可见, Yb^{3+} 作用的主要位点是在细胞质中, 但由于其与细胞的亲和力较差, 所以只有少量 Yb^{3+} 离子进入细胞质中发挥作用. 杨频等^[28]利用荧光浓度指示剂 fura-2 研究稀土离子的跨膜行为, 发现游离稀土离子难以通过细胞膜.

经 Yb^{3+} -C 处理的细胞壁及细胞膜等结构发生部分破裂及解体, 细胞表面更加粗糙且有颗粒状物质堆积, 细胞质出现了更加严重的固缩及空泡化现象(图 4d), 这进一步说明 Yb^{3+} 的作用位点主要位于细胞质中. 结合 SEM 观察的结果, 可以认为, 配合物 Yb^{3+} -C 具有更强抗菌作用的原因是儿茶素发挥了载体的作用, 赋予了 Yb^{3+} 一定的脂溶性, 使其更容易穿透细胞膜, 并在细胞质中与一些活性物质相互作用, 破坏了细胞结构, 导致细胞凋亡, 这与 Chaudhary 等^[29-30]对配合物抗菌机理的解释相吻合.

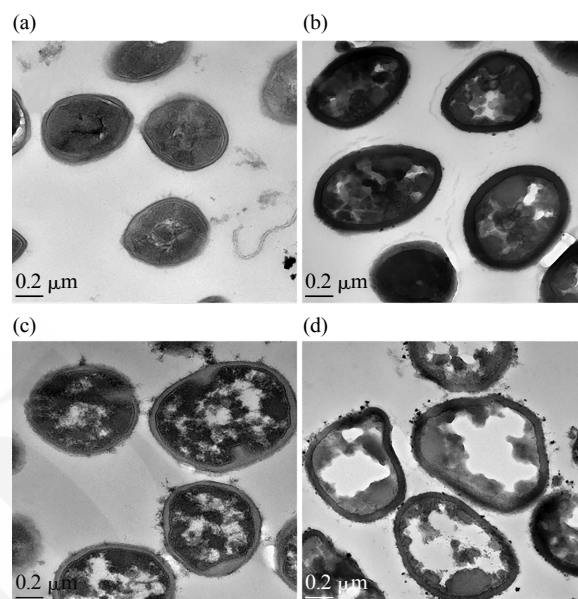


Fig. 4 Observation of ultrastructure of cells by TEM
(Cells treated with a, b, c, d respectively. a: Control; b: C; c: Yb^{3+} ; d: Yb^{3+} -C).

同时, 利用 EDX 对细胞质选区中的 Yb 元素进行分析(图 5). 结果发现, 细胞质中发生固缩的部位检测到 Yb 元素信号, 这表明 Yb^{3+} 确实进入到细胞质中并与之发生相互作用^[31].

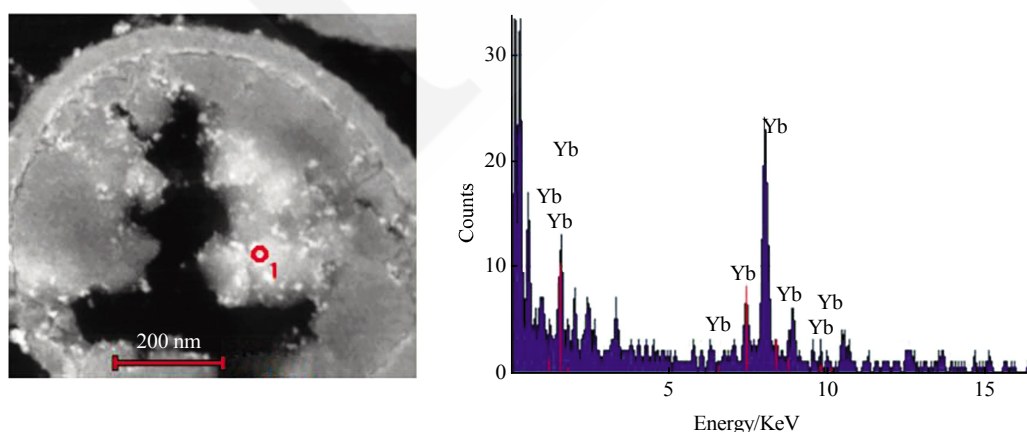


Fig. 5 EDX analysis of the cells

2.6 细胞中稀土离子的含量及分布

进一步分析了细胞中 Yb^{3+} 的含量(图 6). 可以看出, 与单独 Yb^{3+} 作用相比, Yb^{3+} -C 作用下细胞

中的 Yb^{3+} 含量明显较高, 这表明 Yb^{3+} 与 C 配位后与细胞的亲和力增加, 更能有效地将 Yb^{3+} 载运到细胞中. 并且可以发现, 在 0~8 h 内, 随着作用

时间的增加, 细胞内的 Yb^{3+} 含量也增加, 到 8 h 时达到最大; 但继续延长作用时间, 细胞中 Yb^{3+} 含量反而有所下降, 这是因为细胞破裂后细胞内容物发生泄漏, 使得稀土离子 Yb^{3+} 随细胞质流出到细胞外, 表现为与细胞的结合量逐渐减少^[32]。

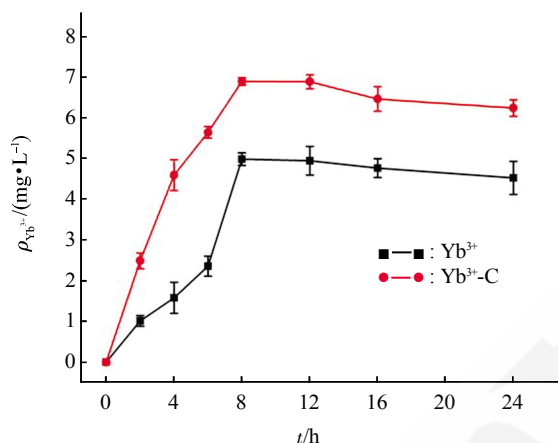


Fig. 6 The Yb^{3+} content in cells at different times

细胞质和细胞膜中 Yb^{3+} 的分布如图 7 所示。当 Yb^{3+} 作用于细胞时, 细胞质中的 Yb^{3+} 的浓度较细胞膜稍高, 这是因为对金黄色葡萄球菌而言, Yb^{3+} 的主要作用位点是在细胞质中, 但由于 Yb^{3+} 的脂溶性较差, 使得其难以穿透细胞膜, 因此, 难以在细胞质中大量累积。而当 $\text{Yb}^{3+}\text{-C}$ 作用于细胞时, Yb^{3+} 在细胞质和细胞膜的含量均大幅提高, 且细胞质中 Yb^{3+} 的浓度也比细胞膜高得多。这进一步表明, 与 Yb^{3+} 相比, 配合物 $\text{Yb}^{3+}\text{-C}$ 与细胞具有更好的亲和力, 使得 Yb^{3+} 更容易穿透细胞膜并在细胞质中累积, 而细胞质中 Yb^{3+} 浓度越高则抑菌性就越强。

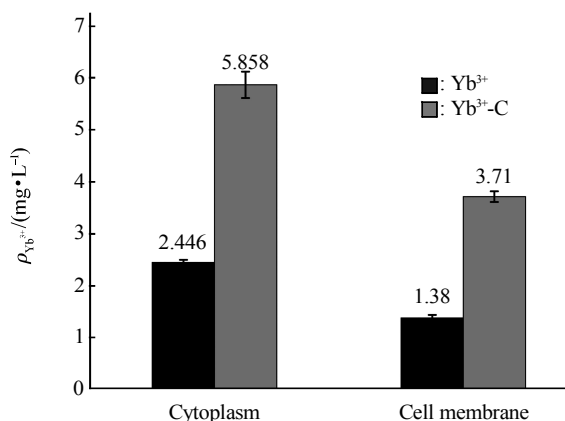


Fig. 7 Distribution of Yb^{3+} in different parts of cells

3 结 论

Yb^{3+} 与 C 配位后能显著提高 Yb^{3+} 及 C 的抑菌活性, 具有协同作用; $\text{Yb}^{3+}:\text{C}$ 摩尔比影响 $\text{Yb}^{3+}\text{-C}$ 配合物的抑菌能力, 当 $\text{Yb}^{3+}:\text{C}$ 摩尔比为 1:4 时抑菌能力最强; 儿茶素 C 主要作用在细胞表面, 而 Yb^{3+} 主要作用在细胞内; 由于 Yb^{3+} 与 C 配位后使其脂溶性提高, 从而更有效地将 Yb^{3+} 载运到细胞内, 从而导致细胞凋亡。

参 考 文 献

- [1] Kajiya K, Hojo H, Suzuki M, *et al.* Relationship between antibacterial activity of (+)-catechin derivatives and their interaction with a model membrane. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, **52**(6): 1514–1519
- [2] Mikłasińska M, Kępa M, Wojtyczka R D, *et al.* Catechin hydrate augments the antibacterial action of selected antibiotics against *Staphylococcus aureus* clinical strains. *Molecules*, 2015, **21**(2): 244
- [3] Vandeputte O M, Kiendrebeogo M, Rajaonson S, *et al.* Identification of catechin as one of the flavonoids from *Combretum albiflorum* bark extract that reduces the production of quorum-sensing-controlled virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, **76**(1): 243–253
- [4] Yang M L, Song Y M. Synthesis and investigation of water-soluble anticoagulant warfarin/ferulic acid grafted rare earth oxide nanoparticle materials. *Rsc Advances*, 2015, **5**(23): 17824–17833
- [5] Neelima, Poonia K, Siddiqui S, *et al.* *In vitro* anticancer activities of schiff base and its lanthanum complex. *Spectrochimica Acta Part A Molecular & Biomolecular Spectroscopy*, 2015, **155**: 146–154
- [6] Lin C, Kadono T, Yoshizuka K, *et al.* Effects of fifteen rare-earth metals on Ca^{2+} influx in tobacco cells. *Zeitschrift Fur Naturforschung Section C-a Journal of Biosciences*, 2006, **61**(1–2): 74–80
- [7] Liu D, Wang X, Chen Z. Effects of rare earth elements and REE-binding proteins on physiological responses in plants. *Protein & Peptide Letters*, 2012, **19**(2): 198–202
- [8] 耿杰, 于海佳, 张海元, 等. 稀土氨基酸配合物与核酸的相互作用. *化学进展*, 2009, **21**(5): 866–872
- [9] Geng J, Yu H J, Zhang H Y, *et al.* *Progress in Chemistry*, 2009, **21**(5): 866–872
- [10] Lekha L, Raja K K, Rajagopal G, *et al.* Synthesis, spectroscopic characterization and antibacterial studies of lanthanide (III) schiff base complexes containing N, O donor atoms. *Journal of Molecular Structure*, 2014, **1056**(6): 307–313
- [11] Mohanan K, Aswathy R, Nitha L P, *et al.* Synthesis, spectroscopic characterization, DNA cleavage and antibacterial studies of a novel tridentate schiff base and some lanthanide(III) complexes. *Journal of Rare Earths*, 2014, **32**(4): 379–388
- [12] Al Momani W M, Taha Z A, Ajlouni A M, *et al.* A study of *in vitro* antibacterial activity of lanthanides complexes with a tetradentate

- schiff base ligand. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2013, **3**(5): 367–370
- [12] Kim H J, Kim D, Yoon H, *et al.* Polyphenol/FeIII complex coated membranes having multifunctional properties prepared by a one-step fast assembly. Advanced Materials Interfaces, 2015, **2**(14): 1500298
- [13] 余康, 田翠翠, 李霞, 等. 儿茶素 - 稀土配合物的合成、表征及抗菌活性. 物理化学学报, 2018, **34**(5): 543–550
Yu K, Tian C C, Li X, *et al.* Acta Physico-Chimica Sinica, 2018, **34**(5): 543–550
- [14] Yang J, Wang J, Yang K, *et al.* Antibacterial activity of selenium-enriched lactic acid bacteria against common food-borne pathogens *in vitro*. Journal of Dairy Science, 2018, **101**(3): 1930–1942
- [15] Tang X, Xu C, Yagiz Y, *et al.* Phytochemical profiles, and antimicrobial and antioxidant activities of greater galangal [*Alpinia galanga* (Linn.) Swartz.] flowers. Food Chemistry, 2018, **255**: 300–308
- [16] Foerster S, Unemo M, Hathaway L J, *et al.* Time-kill curve analysis and pharmacodynamic modelling for *in vitro* evaluation of antimicrobials against *Neisseria gonorrhoeae*. BMC Microbiology, 2016, **16**(1): 216
- [17] Dan M P, Reed D W, Yung M C, *et al.* Bioadsorption of rare earth elements through cell surface display of lanthanide binding tags. Environmental Science & Technology, 2016, **50**(5): 2735–2742
- [18] Takahashi Y, Chatellier X, Hattori K H, *et al.* Adsorption of rare earth elements onto bacterial cell walls and its implication for REE sorption onto natural microbial mats. Chemical Geology, 2005, **219**(1): 53–67.
- [19] Moriwaki H, Yamamoto H. Interactions of microorganisms with rare earth ions and their utilization for separation and environmental technology. Applied Microbiology & Biotechnology, 2013, **97**(1): 1–8
- [20] 田翠翠, 曾维才, 李霞, 等. 稀土 - 落叶松配合物的合成及抗真菌活性研究. 生物化学与生物物理进展, 2016, **43**(12): 1181–1188
Tian C C, Zeng W C, Li X, *et al.* Progress in Biochemistry and Biophysics, 2016, **43**(12): 1181–1188
- [21] 沈萍, 陈向东. 微生物学. 北京: 高等教育出版社, 2016
Shen P, Chen X D. Beijing: Higher Education Press, 2016
- [22] Fang G, Li W, Shen X, *et al.* Differential Pd-nanocrystal facets demonstrate distinct antibacterial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria. Nature Communications, 2018, **9**(1): 129
- [23] Shreaz S, Shiekh R A, Raja V, *et al.* Impaired ergosterol biosynthesis mediated fungicidal activity of Co(II) complex with ligand derived from cinnamaldehyde. Chemico-Biological Interactions, 2016, **247**: 64–74
- [24] Nakamura K, Ishiyama K, Hong S, *et al.* Bactericidal activity and mechanism of photoirradiated polyphenols against gram-positive and -negative bacteria. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, **63**(35): 7707–7713
- [25] 孙淑娟, 姜红祥, 李宏建, 等. 多酚类化合物对白色念珠菌超微结构的影响. 中国药科大学学报, 2005, **36**(1): 52–55
Sun S J, Lou H X, Li H J, *et al.* Journal of China Pharmaceutical University, 2005, **36**(1): 52–55
- [26] 范琼瑛. 稀土络合物的合成、抑菌性及抑菌机理的研究[D]. 石家庄: 河北师范大学, 2009
Fan Q Y. Research on synthesis, antibacterial and antibacterial mechanism of the rare earth complex [D]. Shijiazhuang: Hebei Normal University, 2009
- [27] Ijah U J J, Oyebanji F O. Effects of tannins and polyphenols of some medicinal plants on bacterial agent of urinary tract infections. Global Journal of Pure & Applied Sciences, 2003, **9**(2): 193–198
- [28] 杨频, 魏春英, 陈娟. 稀土离子跨人血红细胞膜的荧光法研究. 高等学校化学学报, 2002, **23**(6): 985–990
Yang P, Wei C Y, Chen J. Chemical Journal of Chinese Universities, 2002, **23**(6): 985–990
- [29] Chaudhary A, Dave S, Saini R K, *et al.* A new class of tetraaza macrocyclic complexes of divalent tin: synthesis, characterization and fungicidal properties. Main Group Metal Chemistry, 2001, **24**(4): 217–222
- [30] Chaudhary A, Bansal N, Gajraj A, *et al.* Antifertility, antibacterial, antifungal and percent disease incidence aspects of macrocyclic complexes of Mn²⁺. Journal of Inorganic Biochemistry, 2003, **96**(2): 393–400
- [31] Park D, Brewer A W, Reed D W, *et al.* Recovery of rare earth elements from low-grade feedstock leachates using engineered bacteria. Environmental Science & Technology, 2017, **51** (22): 13471–13480
- [32] Takehiko, Tsuruta. Accumulation of rare earth elements in various microorganisms. Journal of Rare Earths, 2007, **25**(5): 526–532

Investigation of Antibacterial Activity and Mechanism of Yb³⁺-Catechin Complex*

YU Kang¹⁾, LIU Lu¹⁾, LI Ke¹⁾, YANG Xi¹⁾, LI Xia¹⁾, LIAO Xue-Pin^{1,2)**}, SHI Bi^{1,2)}

¹⁾ Department of Biomass and Leather Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, China;

²⁾ National Engineering Laboratory for Clean Technology of Leather Manufacture, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

Abstract The synthesis, antibacterial activity and mechanism of Yb³⁺-Catechin complex (Yb³⁺-C) were systematically studied in this work. The experimental results showed that the optimum coordination mole ratio of Yb³⁺-C was 1 : 4. The minimum inhibitory concentration (MIC) of Yb³⁺-C was significantly lower than that of single Yb³⁺ and C. Yb³⁺-C exhibited high antibacterial activity against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella*, and more effective for *Staphylococcus aureus* and the MIC value was only 0.0963 mmol/L. Further investigation showed that the sterilization time of Yb³⁺-C was greatly reduced to 2 h. In addition, the analysis of scanning electron micrograph (SEM), transmission electron microscope (TEM), and adsorption and distribution of Yb³⁺ in cell membranes and intracellular indicated the stronger affinity and penetration ability of Yb³⁺-C to bacterial cells. Therefore, the Yb³⁺ in the form of Yb³⁺-C is more easily accumulated to the effective concentration in the cytoplasm, resulting the damage of cellular structure and apoptosis.

Key words Yb³⁺, catechin, complex, antibacterial activity, antibacterial mechanism

DOI: 10.16476/j.pibb.2018.0173

* This work was supported by a grant from National Technology Improvement and Industrialization Project of Fundamental Materials, China (2017YFB0308500).

**Corresponding author.

Tel: 86-28-85400382, E-mail: xpliao@scu.edu.cn

Received: June 19, 2018 Accepted: September 10, 2018