

研究工作

S-甲基二硫代胍基甲酸的西夫碱双铜配合物的合成及其在双层脂膜上的电子传递*

余宝源 邵子厚
(南京大学化学系) (南京大学配位化学研究所)

孙炳寅
(南京大学生物系)

提 要

合成了 S-甲基二硫代胍基甲酸的西夫碱双铜配合物并用各种物理方法对其进行了结构鉴定。生物试验表明配合物对各类微生物具有一定抑制作用。用循环伏安法研究了经双铜配合物修饰的双层脂膜 (bilayer lipid membrane, BLM) 上的氧化还原反应,表明配合物在膜内起电子递体的作用。

关键词 二硫代胍基甲酸,西夫碱,铜,活性,循环伏安法,膜,电极反应

由二硫代胍基甲酸衍生而得的西夫碱作为一类崭新的配体不仅能与主族元素亦与许多过渡元素形成配合物^[1],其中 B, Si, Sn 和 Cu, Mo 等元素报道尤其多^[2],特别是它们中的一些配合物还具有明显的杀菌和抗病毒的生物活性^[3],故近年来对这类配合物的研究颇感兴趣。一般认为它们所具有的这些功能,可能是因为分子中的硫酮和 β -氮原子与细菌或病毒的细胞膜结合,改变了膜的结构与性质。为了进一步弄清作用的机理,本文合成了 S-甲基二硫代胍基甲酸西夫碱双铜配合物,对它做了结构鉴定和抗菌试验并以此修饰人造双层脂膜,用循环伏安法研究了膜两侧界面上的氧化还原反应,对这类配合物的抗菌作用做了某些解释。

材 料 与 方 法

1. 配合物的合成与表征

S-甲基二硫代胍基甲酸和亚苄基丙酮所形成的西夫碱 (以 LH 表示) 及其双铜配合物

$\text{Cu}_2\text{L}_2\text{Cl}_2$ 的制备按文献 [3] 中所述的方法进行,并对该配合物作了元素分析,测定了电导,磁化率,红外特征频率,可见光谱最大吸收并在室温和 105°K 以下测得顺磁共振光谱。

2. 抗菌试验

采用液体培养振荡法测定铜配合物对各种菌类的最低抑制浓度。试验所用的菌种为中国科学院微生物研究所提供。

3. 双层脂膜制备和循环伏安测定

在一个聚四氟乙烯杯上的小孔中按文献 [4] 中所述方法,以微量注射器成膜,膜的形成与变黑过程可用一架低倍显微镜与电位扫描来监控。以十二烷和丁醇(体积比为 3:1) 组成的混合液为溶剂,制得含 2% 的卵磷脂溶液,取出 10 毫升此溶液并于其中滴两滴 DMF,并以双铜配合物 $\text{Cu}_2\text{L}_2\text{Cl}_2$ 饱和后作为成膜溶液,放置冰箱中备用。

* 国家自然科学基金资助。

在着反铁磁性偶合作用。在室温下 DMF 溶液中测得的 EPR 图(图 1)上,出现两组吸收峰,在 3275 高斯附近出现 $\Delta M = 1$ 的跃迁峰,在 1575 高斯处出现 $\Delta M = 2$ 的跃迁峰,这与一般具有轴对称结构的双核铜配合物的 EPR 光谱的理论预测和实验结果相符合^[8]。

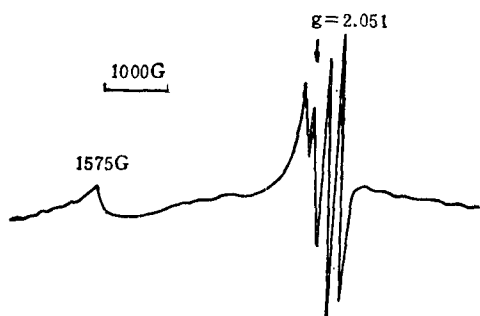


图 1 $\text{Cu}_2\text{L}_2\text{Cl}_2$ 在室温下 DMF 溶液中的 EPR 光谱
Fig. 1 EPR spectrum of $\text{Cu}_2\text{L}_2\text{Cl}_2$ at room temperature in DMF

在低温的 EPR 谱图(图 2)上有 $g_{\parallel} = 2.309$ 和 $g_{\perp} = 2.061$ 的两组峰。在 g_{\parallel} 部分出现七重峰,这是由于 $\text{Cu}(\text{II})$ 的未成对电子与两个 Cu 核之间的超精细作用,而在 g_{\perp} 部分出现的超精细分裂是由未偶电子与配位 N 原子和 Cl 原子的原子核相互作用的结果。

用液体培养振荡法测定表明,双铜配合物对霉菌、细菌和酵母各类微生物均具有一定的抑制作用。表 3 中列出了双铜配合物抑制它们生长的最低抑制浓度值,其中对金黄色葡萄球

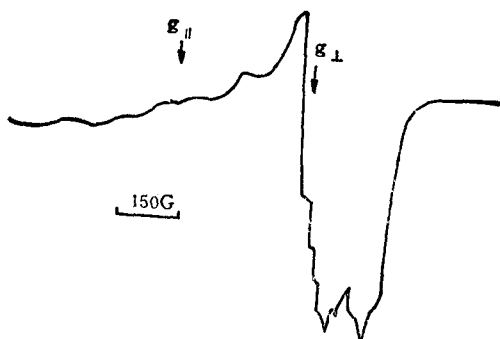


图 2 $\text{Cu}_2\text{L}_2\text{Cl}_2$ 的 DMF 溶液在 105K 时的 EPR 光谱
Fig. 2 EPR spectrum of $\text{Cu}_2\text{L}_2\text{Cl}_2$ at 105K in DMF

菌的抑制作用最佳。

在循环伏安的测定中,用作为细胞膜模型的双层脂膜,它是由磷脂分子中的疏水碳链借助于疏水相互作用而有序排列形成的超薄双层结构,它的厚度一般在 60—100 Å 左右。这种液晶结构的双层脂膜,其电阻很高,一般为 10^3 — $10^9 \Omega\text{cm}^2$,故实际上为一种绝缘体,无法作为工作电极使用。近年来,已用各种电子给体和电子受体如碘,二茂铁,TCNQ (7,7',8,8'-四氰基对醌二甲烷)和 TTF (四硫杂富瓦烯)等放入其中,可使双层脂膜的电性质发生明显的改变^[9,10]。

我们曾用具有抗革蓝氏阴性菌能力的配合物 CuL_2 去修饰双层脂膜,并从膜的循环伏安研究中得到了有关膜界面上电子传递和氧化还

表 3 配合物对各种菌类的最低抑制浓度 (ppm)

Table 3 Minimum inhibition concentration (MIC) of the complex on some moulds bacteria and yeasts (ppm)

霉 菌 Strains of mould	最低抑制浓度 MIC	细 菌 Strains of bacteria	最低抑制浓度 MIC	酵 母 Strains of yeast	最低抑制 浓度 MIC
黑曲霉 Aspergillus niger	800±50	枯草芽孢杆菌 Bacillus subtilis	100±50	啤酒酵母 Saccharomyces cerevisiae	300±50
黄曲霉 Aspergillus flavus	450±50	大肠杆菌 Escherichia coli	250±50	热带假丝酵母 Candida tropicalis	300±50
蜡叶芽枝孢霉 Cladosporium herbarum	350±50	金黄色葡萄球菌 Staphylococcus aureus	50±50		
木霉 Trichoderma uiride	150±50	巨大芽孢杆菌 Bacillus megaterium schroeter	200±50		
桔青霉 Penicillium citrinum	300±50				

原方面的信息。本文则用由相同配体所形成的上述双铜配合物 $\text{Cu}_2\text{L}_2\text{Cl}_2$ 作为修饰剂,进一步研究有关双层脂膜界面上的电子传递作用。

通常,对于 $0.1 \text{ mol/L KCl//BLM//}0.1 \text{ mol/L KCl}$ 组成的体系,由于双层脂膜未经任何修饰,它的阻抗很高且膜两侧界面上亦无任何氧化还原反应发生,故所得到的膜电流甚小,电位扫描过程中膜电流没有任何改变。同样,在 $0.1 \text{ mol/L KCl//Cu}_2\text{L}_2\text{Cl}_2\text{-BLM//}0.1 \text{ mol/L KCl}$ 的体系中,在相同的扫描速度和扫描电位下,所获得的循环伏安图,除了膜电流值稍高以外,图的形状未发生改变。而当 $\text{Cu}_2\text{L}_2\text{Cl}_2$ 所修饰的双层脂膜的内侧与外侧分别存在着 $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 和 KI 或抗坏血酸时,膜电阻则明显降低, I - V 曲线亦从线性转为非线性(图3和4)。这种现象与在 TCNQ 修饰的双层脂膜中所产生的现象是一致的,也就是说在 $\text{Cu}_2\text{L}_2\text{Cl}_2$ 修饰的双层脂膜体系中,在抗坏血酸溶液或 KI 溶液所接触的界面上发生了氧化作用 $\text{I}^- \rightarrow \frac{1}{2} \text{I}_2 + \text{e}$,而在膜的另一界面上则发生了铁氰化钾还原为亚铁氰化钾的反应,电子可能通过嵌在膜内的 $\text{Cu}_2\text{L}_2\text{Cl}_2$ 来传递^[11]。

因此,我们认为在 $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6//\text{Cu}_2\text{L}_2\text{Cl}_2\text{-BLM//}$ 抗坏血酸的体系,在脂膜界面上可能发生了氧化还原的偶联反应(图5)。其中 AA_{ox} 和 AA_{red} 分别为氧化型和还原型的抗坏血酸。

在膜外侧界面上,由于抗坏血酸极易氧化,它作为一个还原剂可供 $\text{Cu}_2\text{L}_2\text{Cl}_2$ 中的一个或两个 $\text{Cu}(\text{II})$ 还原为 $\text{Cu}(\text{I})$,而在膜内侧界面上,由于铁氰化钾还原为亚铁氰化钾,又使 $\text{Cu}_2\text{L}_2\text{Cl}_2$ 中的铜的价态还原为 2 价。所不同的是在 $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6//\text{Cu}_2\text{L}_2\text{Cl}_2\text{-BLM//KI}$ 的体系中,当电位向负值增大的方向扫描时,双层脂膜越来越变得具有还原性,有利于界面上氧化作用的发生,阴极电流迅速增大,而阳极电流变化则不明显。

总之,我们认为,当金黄色葡萄球菌等与 $\text{Cu}_2\text{L}_2\text{Cl}_2$ 接触时,由于该配合物的脂溶性强,一

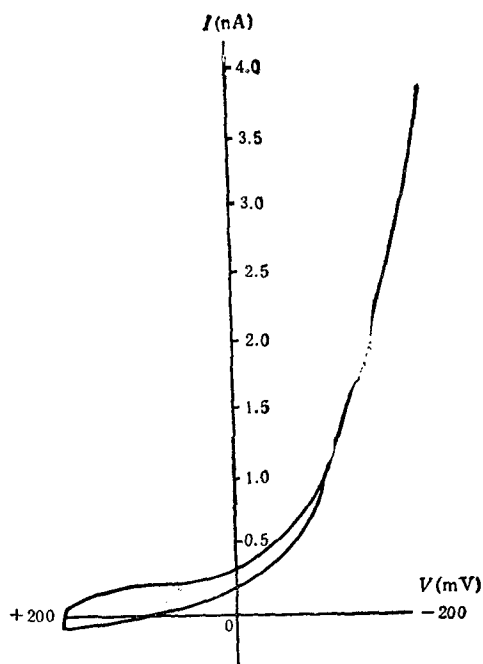


图3 $\text{Cu}_2\text{L}_2\text{Cl}_2$ 修饰的双层脂膜在 0.1 mol/L KCl 溶液中的循环伏安图

Fig. 3 Cyclic voltammograms of BLM modified by $\text{Cu}_2\text{L}_2\text{Cl}_2$ in 0.1 mol/L KCl separating ferri-ferrocyanide on the inside and KI on the outside
Scan rate: 100 mV/s , Scan range: $\pm 200 \text{ mV}$

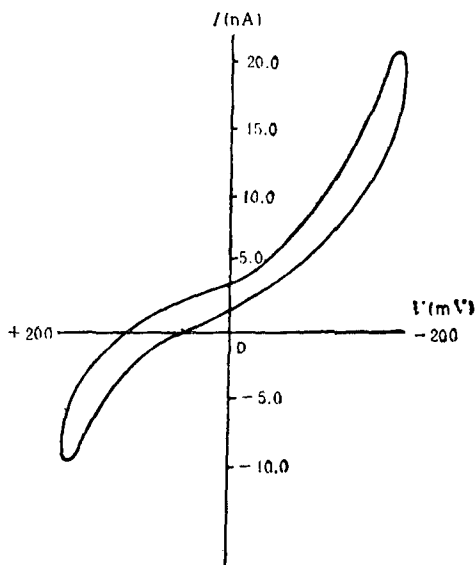


图4 $\text{Cu}_2\text{L}_2\text{Cl}_2$ 修饰的双层脂膜在 0.1 mol/L KCl 溶液中的循环伏安图

Fig. 4 Cyclic voltammograms of BLM modified by $\text{Cu}_2\text{L}_2\text{Cl}_2$ in 0.1 mol/L KCl separating ferri-ferrocyanide on the inside and ascorbic acid on the outside
Scan rate: 100 mV/s , Scan range: $\pm 200 \text{ mV}$

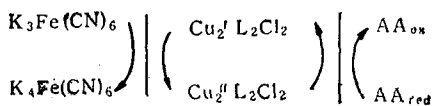


图 5
Fig. 5

且进入细胞膜后,就可能改变膜的电性质与结构,干扰细菌细胞膜的正常功能,特别是那些与电子传递有关的生化过程。

参 考 文 献

1 Dey Supriya. *Transition Met Chem*, 1986; 11: 371
2 Rainer M *et al. Inorg Chim Acta*, 1986; 122(2): L19

3 Das M, Livibgstone S E. *Inorg Chim Acta*, 1976; 19: 5
4 Tien H T. *Bilayer lipid membranes (BLM): theory and practice*, New York: Marcel Dekker Inc, 1974
5 Tien H T *et al. Photobiochem Photobiophys*, 1986; 7: 319
6 Sharma B D, Bailar. *J Am Chem Soc*, 1955; 77: 5476
7 Tarafder M T H *et al. J Inorg Nucl Chem*, 1981; 43: 3151
8 O'young Chilin *et al. J Am Chem Soc*, 1978; 100: 7291
9 Tien H T. *J Phys Chem*, 1984; 88: 3172
10 Tien H T. *Bioelectrochem Bioenerg*, 1985; 13: 299
11 Tien H T *et al. Biochem Biophys Res Commun* 1984; 119: 372

[本文于 1989 年 6 月 27 日收到]

SYNTHESIS OF BI-COPPER (II) S-METHYL DITHIOCARBAZATE SCHIFF BASE COMPLEX AND ITS ELECTRON TRANSFER ACROSS BLM

Yu Baoyuan

(Department of Chemistry, Nanjing University, Nanjing, China)

Tai Zihou

(Coordination Chemistry Institute, Nanjing University, Nanjing, China)

Sun Bingyin

(Department of Biology, Nanjing University, Nanjing, China)

ABSTRACT

A bicopper (II) complex $\text{Cu}_2\text{L}_2\text{Cl}_2$ with S-methyldithiocarbazate ligand was synthesized and characterized by various physical methods. It has been found that the complex has an activity of inhibition against some moulds bacteria and yeasts. Redox reactions on bilayer lipid membrane (BLM) modified by $\text{Cu}_2\text{L}_2\text{Cl}_2$ was investigated by cyclic voltammetry method and the action of electron carrier of this complex on BLM was reported.

Key words hydrazinocarbodithioic acid, Schiff bases, copper activity, cyclic voltammetry, membrane, electrode reaction