

稀土-落叶松单宁配合物的合成及抗真菌活性研究*

田翠翠¹⁾ 曾维才²⁾ 李霞¹⁾ 廖学品^{1,2)**} 石碧^{1,2)}

(¹⁾ 四川大学生物物质与皮革工程系, 成都 610065; ²⁾ 四川大学皮革化学与工程教育部重点实验室, 成都 610065)

摘要 以稀土(Re^{3+})和落叶松单宁(LT)为原料, 采用液相合成法合成了 5 种廉价的稀土-落叶松单宁(Re^{3+} -LT)配合物, 并通过红外光谱、X 射线光电子能谱、紫外光谱以及配位数测定确定了配合物的结构. 采用牛津杯法、琼脂稀释法测定配合物对黑曲霉、红曲霉、白腐菌、毛霉 4 种真菌的抑制作用. 在抑菌方面, 5 种配合物对上述 4 种真菌均具有较强的抑制作用, 其抑菌活性大小顺序为 Ce^{3+} -LT > Gd^{3+} -LT > La^{3+} -LT > Nd^{3+} -LT > Yb^{3+} -LT, 其中 Ce^{3+} -LT 对 4 种真菌的最小抑菌浓度分别为: 1.6、1.6、0.8 和 $1.6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; Yb^{3+} -LT 对 4 种真菌的最小抑菌浓度分别为: 3.2、1.6、3.2 和 $3.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. 在杀菌方面, Yb^{3+} -LT 的杀菌活性最强, 其对 4 种真菌的最小杀菌浓度分别为: 6.4、3.2、3.2 和 $6.4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. 此外, 尽管 Nd^{3+} -LT 和 Gd^{3+} -LT 具有较强的抑菌活性, 但对黑曲霉和毛霉的杀菌作用较弱.

关键词 落叶松单宁, 稀土, 配合物, 抗真菌活性

学科分类号 O614.33, O641.4

DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0298

与细菌相比, 真菌细胞结构分化完整, 进化程度高, 属于真核生物. 所以, 许多能作用于细菌的药物对真菌的抗菌活性较差. 因此, 多靶点、高效、低毒抗真菌化合物的研究开发一直是制药领域重点关注的问题^[1].

植物多酚(plant polyphenol)是植物体内具有多元酚结构的次级代谢产物, 广泛存在于植物体的皮、根、叶、壳和果肉中, 是植物资源综合利用的对象. 植物多酚的多酚羟基化学结构使其具有与蛋白质、多糖、生物碱反应, 与金属离子络合等一系列化学性质, 以及抗氧化、抗病毒、消炎、抗菌等生物活性^[1-4], 并且植物多酚对人体没有伤害. 植物多酚的抗菌机理主要有如下几方面: a. 通过与酶本身、酶的辅助因子或酶促反应的底物结合, 达到对酶促反应的抑制; b. 与构成核苷酸的嘌呤和嘧啶结合, 从而干扰菌体遗传物质的合成^[5]; c. 与细胞外膜稳定性相关的二价阳离子发生螯合, 破坏细胞膜的完整性^[6]. 例如: 植物多酚可与蛋白激酶 C 信号通路^[3]、环二腺苷酸环化酶^[7]等相互作用, 影响细胞正常生理过程. 但植物多酚的稳定性差、生物利用率较低、膜渗透性不强^[8], 而且植物多酚对真菌的抑制作用较弱, 所以需要植物多酚进行化学修饰以提高其抗真菌活性. 稀土(rare earth,

Re)同样也具有很好的抗炎、抗肿瘤、抗凝血、抗菌等生物活性而且对人体毒性小^[9-13]. 研究发现, Re^{3+} 的离子半径(96~115 pm)与 Ca^{2+} 的离子半径(100 pm)非常接近, 而且具有相似的配位反应特征, 但 Re^{3+} 的电荷高于 Ca^{2+} . 由于 Ca^{2+} 在细胞的生长发育过程中往往起着重要的作用, 因此 Re^{3+} 可以取代 Ca^{2+} , 但又不能行使 Ca^{2+} 的功能, 从而使得细胞产生不可逆破坏^[10-11]. 此外, 稀土可以通过与细胞内的蛋白质或酶结合、水解或断裂核苷酸中的磷酸二酯键^[13]等作用, 干扰菌体的正常生理代谢. 但是, 稀土的水溶性太强且易水解, 难以与细胞结合, 从而使其抗菌活性大大降低.

植物多酚中大量的酚羟基不但可以与 Re^{3+} 发生配位反应, 而且本身也具有一定的抗菌活性. 因此, 植物多酚与 Re^{3+} 配位形成配合物不仅能解决植物多酚细胞膜渗透性差的问题, 同时还可以解决 Re^{3+} 水溶性强的问题, 必将充分发挥二者的抗菌优势. 本文以 5 种 Re^{3+} 和落叶松单宁(LT, 植物多酚的一种)为原料, 合成了 5 种廉价的 Re^{3+} -LT 配合

* 通讯联系人.

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

收稿日期: 2016-09-26, 接受日期: 2016-11-22

物, 并研究了其对黑曲霉、红曲霉、白腐菌和毛霉 4 种真菌的抗菌活性。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

傅里叶变换红外光谱仪(IS10 美国), X 射线光电子能谱仪(ESCA-850 日本), 紫外可见分光光度计(UV-1800PC 上海)。

落叶松树皮采自大兴安岭林区, 自然风干, 使用时粉碎成粒径为 0.5~1 mm 的颗粒。

轻稀土: $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Nd}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 中重稀土: $\text{Gd}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 重稀土: $\text{Yb}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 。

黑曲霉 (*Aspergillus niger* S2-357)、红曲霉 (*Monascus anka* As3.972) 和毛霉 (*Actinomucor elegans*) 等均由四川大学制革生物技术研究室提供; 白腐菌 (*Phanerochaete chrysosporium* BKM-F-1767) 购于广东省微生物菌种保藏中心。培养基为马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)。

1.2 实验方法

1.2.1 LT 的制备

根据参考文献[14], 从落叶松树皮中提取出 LT。称取 20 g 落叶松树皮粉碎物, 加入 250 ml 70% 乙醇水溶液, 在 60℃ 的水浴中回流提取 90 min, 收集提取液, 反复 3 次。提取液趁热粗过滤, 除去杂质, 自然冷却至室温, 过滤除去沉淀物。随后, 在 (50±5)℃ 下, 旋转蒸发除去滤液中的乙醇, 自然冷却至室温, 过滤除去沉淀物。在 (50±5)℃ 下, 将浓缩液减压干燥, 即得到固体 LT。

1.2.2 配合物的合成

按摩尔比 2:9, 分别称取一定量的 LT(平均分子质量为 2800)和 $\text{Re}(\text{NO}_3)_3$, 并分别溶于适量的蒸馏水中。以滴加的方式将 $\text{Re}(\text{NO}_3)_3$ 溶液加入 LT 溶液中, 混合搅拌反应 6 h 后, 冷冻干燥得到配合物 $\text{Re}^{3+}\text{-LT}$ 。

1.2.3 菌悬液的制备

先将各供试菌种在斜面培养基上活化, 然后挑取生长良好的真菌孢子若干环, 接入盛有无菌生理盐水和玻璃珠的无菌三角瓶中, 震荡 15 min, 并过滤除去菌丝体, 经血球计数板准确计数后, 用无菌生理盐水调节孢子悬液浓度为 10^6 个/ml。

1.2.4 抗菌活性的测定

抑菌圈: 采用牛津杯法测定抑菌活性。将经高温高压灭菌的培养基制成不含菌的平板, 待平板冷

却后, 吸取准备好的孢子悬液 200 μl 注入平板上, 用涂布棒将其均匀涂布于培养基表面, 制成含菌平板。将经高温高压灭菌并冷却到室温的牛津杯放置于含菌双碟平板表面, 分别取 200 μl 的 30 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 配合物(以 30 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ LT 以及配合物中所含的 Re^{3+} 为对照)溶液注入牛津杯内, 然后于 (30±0.5)℃ 培养 36 h。测量各平板抑菌圈直径, 结果用平均值±均差的形式表示。

最小抑菌浓度(MIC): 按琼脂稀释法测定最小抑菌浓度, 以二倍稀释法配制系列浓度的 $\text{Re}^{3+}\text{-LT}$ 溶液, 分别将其加入 24 孔板中, 并向每个孔中加入等量的 PDA, 待其凝固后向其中接入 100 个左右的真菌孢子, 于 (30±0.5)℃ 培养 36 h。观察其生长情况, 以抑制真菌生长的最低配合物浓度为最小抑菌浓度^[15]。

最小杀菌浓度(MFC): 取适量最小抑菌浓度及其以上浓度的真菌培养物于无菌 PDA 平板上, (30±0.5)℃ 培养 36 h。观察其生长情况, 以没有真菌生长的琼脂平板的最低配合物浓度为最小杀菌浓度。

2 结 果

2.1 配合物的表征

LT 是从落叶松树皮中提取出来的一种缩合类单宁, 分子结构如图 1 所示。可见, 落叶松单宁由

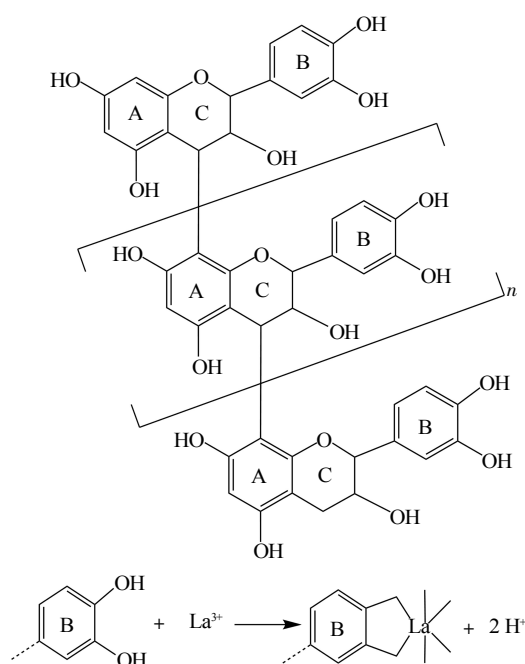


Fig. 1 Molecular structure of larch tannin and its chelating reaction with La^{3+}

聚合程度不同的多聚原花青定(多聚儿茶素)构成的混合物, 但由于其基本结构相同, 因此表现出几乎相同的生物活性. 据文献报道^[16-18], 缩合类单宁与金属离子的结合是通过其分子结构中 B 环上的邻位酚羟基与金属离子配位形成五元螯合环. B 环上的邻位酚羟基可与 Re^{3+} 发生配位反应形成 Re^{3+} -LT 配合物. 反应过程中溶液的 pH 降低, 说明 Re^{3+} 确实与 LT B 环上的邻位酚羟基发生配位反应并释放出了氢质子. 以 La^{3+} 为例, 配位反应如图 1 所示.

2.1.1 红外光谱(FT-IR)分析

用 KBr 压片法测得 LT 和 Re^{3+} -LT 的红外特征吸收光谱, 如图 2 所示. 配合物红外谱图与配体的谱图相比发生了较大变化. 5 种配合物的红外特征吸收基本相似, 表明配合物有相似的结构. LT 在

$3\,354\text{ cm}^{-1}$ 处有一个明显的大峰^[19], 这是 LT 分子中 O—H 键的伸缩振动产生的, 而此峰的宽度取决于 LT 分子与水分子之间形成氢键的强弱. Re^{3+} -LT 中此峰明显变窄, 说明 LT 分子中的酚羟基中氧原子的孤对电子与 Re^{3+} 的空轨道结合后, 与水分子形成的氢键就被削弱了. LT 在 $1\,613$ 、 $1\,517$ 和 $1\,446\text{ cm}^{-1}$ 处的 3 个吸收峰则是 LT 分子中苯环骨架的伸缩振动吸收峰. 在 Re^{3+} -LT 中, 这 3 个吸收峰向高波数移动或消失. LT 在 $1\,362$ 和 $1\,281\text{ cm}^{-1}$ 的吸收峰是酚羟基的 C—O 键伸缩振动与 O—H 键面内变形振动耦合所致. 在 Re^{3+} -LT 中, 这 2 个峰均向高波数移动, 说明酚羟基参与了配位成键^[20]. 配合物在 $576\sim 617\text{ cm}^{-1}$ 处观察到 Re—O 键伸缩振动吸收峰, 说明配合物中含有 Re—O 键^[21].

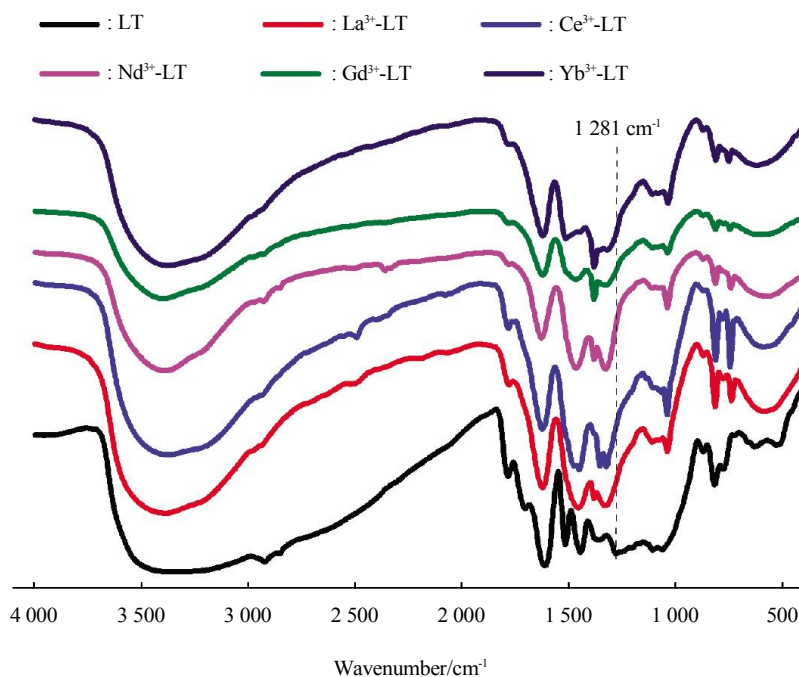
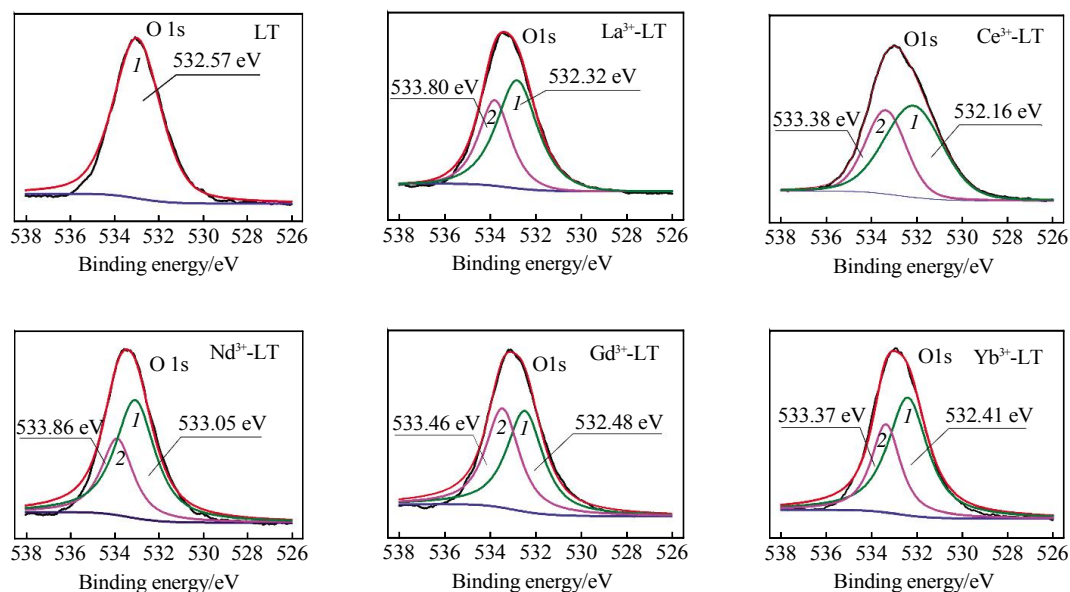


Fig. 2 FT-IR spectra of LT and Re^{3+} -LT

2.1.2 X 射线光电子能谱(XPS)分析

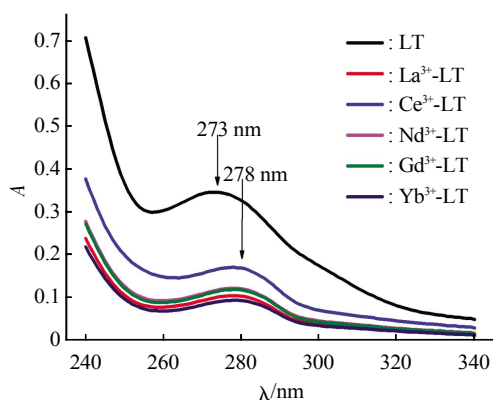
FT-IR 的结果从一定程度上证明了 Re^{3+} 与 LT 中的酚羟基结合, 本文进一步用 XPS 对 LT 和 Re^{3+} -LT 进行分析. LT 及 Re^{3+} -LT 的 O1s XPS 能谱如图 3 所示. LT 的 O1s 能谱中只有一个在 532.57 eV 处的峰, 此峰对应于 LT 中的酚羟基的

氧原子(C—OH). 而 5 种 Re^{3+} -LT 中均有 2 个峰, 右侧的峰 1 为酚羟基的氧原子, 而左侧的峰 2 为酚羟基的氧原子与 Re^{3+} 发生络合反应(C—O—Re), 由此引起氧原子上的电子密度降低, 结合能向高场位移^[22].

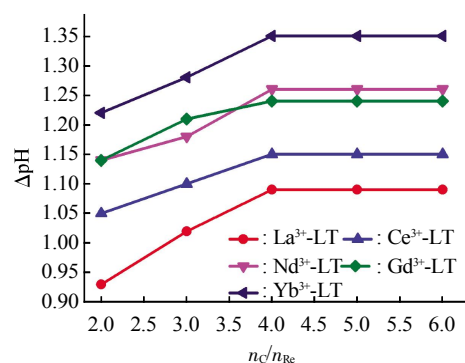
Fig. 3 O 1s XPS spectra of LT and Re³⁺-LT

2.1.3 紫外光谱(UV)分析

图4为LT及Re³⁺-LT的紫外扫描图谱. 在LT的紫外图谱中, 273 nm处出现一个明显的特征峰, 该峰是LT分子结构中酚羟基的特征吸收峰. 但与Re³⁺反应后, 该特征吸收峰红移至278 nm且吸光度值减小. 红移是因为形成配合物后, 整个分子中电子的离域程度增大, 电子跃迁所需能量降低所致^[23].

Fig. 4 UV spectra of LT and Re³⁺-LT

有H⁺的释放, 使体系的pH降低. 所以根据配位反应后pH的减小量可以确定Re³⁺的配位数^[24]. 由于LT以儿茶素(C)或表儿茶素为结构单元, 故用儿茶素模拟其配位反应过程. 图5为不同摩尔比的儿茶素与5种Re³⁺配位反应后pH的减小量. 从图中可以看出, 对同一种稀土而言, 随着摩尔比的增加, 体系pH有下降趋势并于摩尔比大于等于4时趋于稳定. 常见Re³⁺的配位数为6、7、8、9、10以及12. 但由于LT分子较大, 其空间位阻较大, 且水分子也可以参与Re³⁺的配位反应. 另外, 随着Re³⁺离子半径的减少, 配位数有减少的趋势, 因此Re³⁺-LT的配位数极有可能为6~8. 以La³⁺为

Fig. 5 Reduction of pH after chelating reaction with different molar ratios of catechin and Re³⁺

2.1.4 配位数测定法

如图1所示, Re³⁺与LT发生配位反应时, 会

例, 其可能配位结构如图 6 所示. 另外, 在摩尔比相同时, 随着稀土原子序数的增加, 体系的 ΔpH 有增加的趋势, 即形成配合物的稳定性增加. 所

以, 5 种配合物稳定性大小顺序 $\text{Yb}^{3+}\text{-LT} > \text{Nd}^{3+}\text{-LT} > \text{Gd}^{3+}\text{-LT} > \text{Ce}^{3+}\text{-LT} > \text{La}^{3+}\text{-LT}$, 这与文献的结果一致^[24].

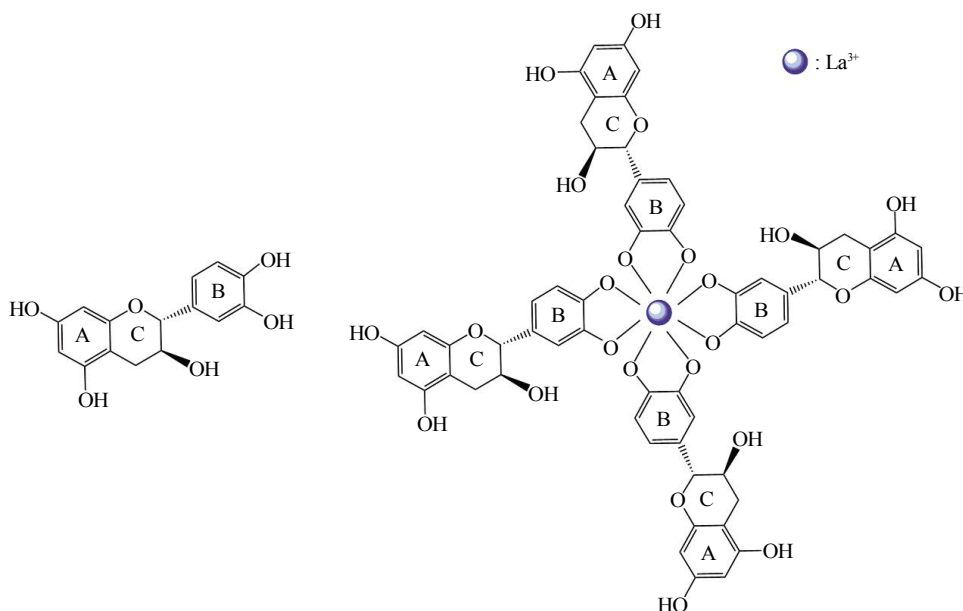


Fig. 6 Molecular structure of catechin and its complex with La^{3+}

2.2 配合物的抗真菌活性

表 1 为 LT、 Re^{3+} 及 $\text{Re}^{3+}\text{-LT}$ 对 4 种真菌的抑菌圈直径. 根据抑菌圈大小可初步确定配合物的抑菌活性的强弱, 抑菌圈直径越大, 抑菌活性越强. 从表中可以看出, 4 种真菌对 LT、 Re^{3+} 以及 $\text{Re}^{3+}\text{-LT}$ 的敏感性各不相同. 由于黑曲霉的细胞壁比较厚、毛霉具有假根、匍匐菌丝以及厚梗孢子, 所以与红曲霉、白腐菌相比, 黑曲霉、毛霉的抗逆性较强, 对配合物较不敏感. LT 只对 4 种真菌中的白腐菌有一定的抑制作用. Re^{3+} 中只有 La^{3+} 对红曲霉、白腐菌、毛霉, Nd^{3+} 对红曲霉、白腐菌具有一定的抑制作用. 而 $\text{Re}^{3+}\text{-LT}$ 对 4 种真菌都具有抑制作用且明显高于 LT 及 Re^{3+} 本身. 这是因为, 当 Re^{3+} 与 LT 发生配位反应后, Re^{3+} 的正电荷部分转移到 LT 分子上, 螯合物环上的电子产生离域效应, 使得 Re^{3+} 的极性降低, 配合物的脂溶性增强, 因而配合物能更好地穿透细胞膜^[25-26]. 实际上, LT 发挥了类似载体的作用, 携带着 Re^{3+} 到达受体, 提高了 Re^{3+} 结合靶点的有效剂量. 另外, 配合物的抑菌活性增大也可能是因为 LT 与 Re^{3+} 发生正协同效应^[27], 而且配合物的合成有利于提高与 DNA 的亲和力^[5],

使 DNA 的双螺旋结构松弛形成单链 DNA^[28], 从而引起细胞损伤甚至凋亡.

表 2 为 $\text{Re}^{3+}\text{-LT}$ 对 4 种真菌的 MIC. 从表中可以看出, 5 种 $\text{Re}^{3+}\text{-LT}$ 的抑菌活性大小顺序为 $\text{Ce}^{3+}\text{-LT} > \text{Gd}^{3+}\text{-LT} > \text{La}^{3+}\text{-LT} > \text{Nd}^{3+}\text{-LT} > \text{Yb}^{3+}\text{-LT}$. 不同配合物之间抑菌活性差异可能与 Re^{3+} 半径与 Ca^{2+} 离子半径接近程度有关. $\text{Ce}^{3+}\text{-LT}$ 突出的抑菌效果可能是因为与其他 Re^{3+} 相比, Ce^{3+} 的离子半径与 Ca^{2+} 的最为接近, 而且 Ce^{3+} 对核苷酸中的磷酸二酯键的水解、断裂作用最强^[13], 从而严重扰乱真菌的正常生长.

将表 2 中的 MIC 与表 3 中的 MFC 相比较发现, $\text{Ce}^{3+}\text{-LT}$ 的抑菌活性强而杀菌活性却相对较弱, $\text{Yb}^{3+}\text{-LT}$ 的抑菌活性不强而杀菌活性却最强. 进一步分析发现, 除 $\text{Yb}^{3+}\text{-LT}$ 外, 其他不同的 $\text{Re}^{3+}\text{-LT}$ 对不同真菌的抗菌作用差异很大, 例如: $\text{Nd}^{3+}\text{-LT}$ 和 $\text{Gd}^{3+}\text{-LT}$ 对黑曲霉、毛霉的杀菌作用较弱, 而对红曲霉和白腐菌则较强. $\text{Ce}^{3+}\text{-LT}$ 与 $\text{Yb}^{3+}\text{-LT}$ 表现出来的抑菌与杀菌活性差异, 可能与配合物的稳定性以及 Re^{3+} 本身有关. 有研究表明^[29], 一定条件下, 配合物的稳定性与抗菌活性呈负相关. 与 Ce^{3+}

相比, Yb³⁺ 与 LT 的配位结合能力较强、配合物稳定性也较强、在菌体内更稳定、更易杀死菌体. 此外, 不同 Re³⁺-LT 对不同真菌杀菌活性强弱的差异

可能还与配合物结构、稳定性、Re³⁺ 离子半径以及菌体性质等有关, 这需要进一步研究 Re³⁺-LT 对真菌的作用靶点以阐释其抑菌机理.

Table 1 Diameter of inhibition zone of LT, Re³⁺ and Re³⁺-LT against four kinds of fungi

Re ³⁺ -LT	Inhibition zone diameter/mm			
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Monascus anka</i>	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	<i>Actinomucor elegans</i>
LT	–	–	13.67 ± 0.58	–
La ³⁺	–	11.27 ± 0.11	14.80 ± 0.60	13.92 ± 0.86
Ce ³⁺	–	–	–	–
Nd ³⁺	–	10.60 ± 0.10	10.79 ± 0.58	–
Gd ³⁺	–	–	–	–
Yb ³⁺	–	–	–	–
La ³⁺ -LT	20.12 ± 0.45	17.72 ± 0.62	30.69 ± 0.59	16.56 ± 0.26
Ce ³⁺ -LT	26.66 ± 0.60	36.18 ± 0.74	30.00 ± 0.46	28.10 ± 0.52
Nd ³⁺ -LT	15.33 ± 0.23	15.81 ± 0.87	25.01 ± 0.75	18.22 ± 0.12
Gd ³⁺ -LT	21.27 ± 0.34	21.28 ± 0.26	29.04 ± 0.39	19.83 ± 0.27
Yb ³⁺ -LT	17.25 ± 0.41	23.72 ± 0.73	19.56 ± 0.16	17.56 ± 0.48

–: No antifungal activity.

Table 2 MIC of Re³⁺-LT against four kinds of fungi

Re ³⁺ -LT	MIC/(g•L ⁻¹)			
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Monascus anka</i>	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	<i>Actinomucor elegans</i>
La ³⁺ -LT	3.2	1.6	1.6	3.2
Ce ³⁺ -LT	1.6	1.6	0.8	1.6
Nd ³⁺ -LT	3.2	1.6	1.6	3.2
Gd ³⁺ -LT	1.6	1.6	1.6	3.2
Yb ³⁺ -LT	3.2	1.6	3.2	3.2

Table 3 MFC of Re³⁺-LT against four kinds of fungi

Re ³⁺ -LT	MFC/(g•L ⁻¹)			
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Monascus anka</i>	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	<i>Actinomucor elegans</i>
La ³⁺ -LT	25.6	6.4	6.4	25.6
Ce ³⁺ -LT	25.6	12.8	3.2	3.2
Nd ³⁺ -LT	> 25.6	3.2	3.2	> 25.6
Gd ³⁺ -LT	> 25.6	6.4	6.4	> 25.6
Yb ³⁺ -LT	6.4	3.2	3.2	6.4

3 结 论

采用液相合成法, 成功合成了 5 种廉价的 Re³⁺-LT 配合物. 5 种 Re³⁺ 与 LT 之间的配位作用存在差异, 但都是与酚羟基发生配位反应, 配位数为

6~8. 抗菌实验表明, Re³⁺ 与 LT 的配合物具有较强的抗真菌活性, 但相互之间差别较大, 这可能与配合物结构、稳定性、Re³⁺ 离子半径以及菌体性质等有关.

参 考 文 献

- [1] Cushnie T P T, Lamb A J. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2005, **26**(5): 343–356
- [2] Katanic J, Boroja T, Stankovic N, *et al.* Bioactivity, stability and phenolic characterization of *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. *Food & Function*, 2015, **6**(4): 1164–1175
- [3] Das J, Ramani R, Suraju M O. Polyphenol compounds and PKC signaling. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 2016, **10**(1860): 2107–2121
- [4] Kasprzak M M, Erxleben A, Ochocki J. ChemInform abstract: properties and applications of flavonoid metal complexes. *ChemInform*, 2015, **2015** (29): 45853–45877
- [5] 张力平, 孙长霞, 李俊清, 等. 植物多酚的研究现状及发展前景. *林业科学*, 2005, **41**(6): 157–162
Zhang L P, Sun C X, Li J Q, *et al.* *Scientia Silvae Sinicae*, 2005, **41**(6): 157–162
- [6] Nohynek L J, Alakomi H, Kahkonen M P, *et al.* Berry phenolics: antimicrobial properties and mechanisms of action against severe human pathogens. *Nutrition & Cancer*, 2006, **54**(1): 18–32
- [7] Opokutemeng C, Sintim H O. Inhibition of cyclic diadenylate cyclase, DisA, by polyphenols. *Scientific Reports*, 2016, DOI 10.1038/srep25445
- [8] Oliver S, Vittorio O, Cirillo G, *et al.* Enhancing the therapeutic effects of polyphenols with macromolecules. *Polymer Chemistry*, 2016, **7**(8): 1529–1544
- [9] Wakabayashi T, Ymamamoto A, Kazaana A, *et al.* Antibacterial, antifungal and nematocidal activities of rare earth ions. *Biological Trace Element Research*, 2016, DOI 10.1007/S12011-016-0727-y
- [10] Evans C H. Interesting and useful biochemical properties of lanthanides. *Trends in Biochemical Sciences*, 1983, **8**(12): 445–449
- [11] 杨 军, 张 赫, 王甲辰, 等. 稀土抑菌作用研究. *稀土*, 2009, **30**(1): 35–39
Yang J, Zhang H, Wang J C, *et al.* *Chinese Rare Earths*, 2009, **30**(1): 35–39
- [12] 朱卫华, 王金晔, 李海山, 等. 稀土 La³⁺ 跨 PC12 细胞膜行为研究. *生物化学与生物物理进展*, 2001, **28**(3): 387–391
Zhu W H, Wang J X, Li H S, *et al.* *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2001, **28**(3): 387–391
- [13] 李荣昌, 杨晓达, 王 夔, 等. 我国稀土生物无机化学研究进展. *中国稀土学报*, 2004, **22**(1): 1–6
Li R C, Yang X D, Wang K, *et al.* *Journal of the Chinese Rare Earth Society*, 2004, **22**(1): 1–6
- [14] 杜 晓. 落叶松原花色素的分级及精细化利用研究[D]. 四川: 四川大学, 2006
Du X. Fractionation of larch bark proanthocyanidins and the research on fine application of the fraction [D]. Sichuan: Sichuan University, 2006
- [15] Sokmen A, Gulluce M H, Akpulat A, *et al.* The *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic thymus spathulifolius. *Food Control*, 2004, **15**(8): 627–634
- [16] 孙 霞, 廖学品, 石 碧. 胶原-单宁树脂对水体中 Hg(II) 的吸附特性研究. *高校化学工程学报*, 2010, **24**(4): 562–568
Sun X, Liao X P, Shi B. *Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities*, 2010, **24**(4): 562–568
- [17] Schofield P, Mbugua D M, Pell A N. Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science & Technology*, 2001, **91**(1): 21–40
- [18] Mao H, Liao X P, Shi B. Highly active and selective catalytic transfer hydrogenolysis of α -methylbenzyl alcohol catalyzed by supported Pd catalyst. *Catalysis Communications*, 2011, **12**(13): 1177–1182
- [19] 崔晓霞, 张小丽, 唐焕威, 等. 落叶松树皮活性物质提取及红外光谱分析. *光谱学与光谱分析*, 2012, **32**(7): 1810–1814
Cui X X, Zhang X L, Tang H W, *et al.* *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2012, **32**(7): 1810–1814
- [20] 林建原, 陆 兴. 芦丁稀土钐配合物的自由基清除及抑菌作用. *天然产物研究与开发*, 2013, **25**(10): 1334–1338
Lin J Y, Lu X. *Natural Product Research and Development*, 2013, **25**(10): 1334–1338
- [21] Souza R F V D, Giovani W F D. Synthesis, spectral and electrochemical properties of Al³⁺ and Zn²⁺ complexes with flavonoids. *Spectrochimica Acta Part A Molecular & Biomolecular Spectroscopy*, 2005, **61**(9): 1985–1990
- [22] Lapuente R, Quijada C, Huerta F. *et al.* X-ray photoelectron spectroscopy study of the composition of polyphenol films formed on Pt by electropolymerisation of phenol in the presence of sulphide in carbonate medium. *Polymer Journal*, 2003, **35** (12): 911–916
- [23] 丁冶春, 夏侯国论, 范小娜, 等. 稀土槲皮素配合物的合成、表征及抗肿瘤活性. *光谱实验室*, 2011, **28**(4): 1680–1683
Ding Y C, Xia Hou G L, Fan X N, *et al.* *Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory*, 2011, **28**(4): 1680–1683
- [24] 苏小宝. 黑荆树单宁络合性质的研究[D]. 福建: 福建师范大学, 2007
Su X B. Study on the complex properties of black wattle tannin[D]. Fujian: Fujian Normal University, 2007
- [25] 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
- [26] 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
- [27] 杨 军, 王甲辰, 刘向生, 等. 有机稀土抑菌作用的研究现状. *中国稀土学报*, 2007, **25**(s1): 77–81
Yang J, Wang J C, Liu X S, *et al.* *Journal of the Chinese Rare Earth Society*, 2007, **25**(s1): 77–81
- [28] Song Y M, Xu J P, Ding L, *et al.* Syntheses, characterization and biological activities of rare earth metal complexes with curcumin and 1, 10-phenanthroline-5, 6-dione. *Journal of Inorganic*

Biochemistry, 2009, **103**(3): 396–400
[29] Yang L, Tao D, Yang X, *et al.* Synthesis, characterization, and
antibacterial activities of some rare Earth metal complexes of

pipemidic acid. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 2003, **51**(5):
494–498

Synthesis, Characterization, and Antifungal Activity of Rare Earth-Larch Tannin Complexes

TIAN Cui-Cui¹⁾, ZENG Wei-Cai²⁾, LI Xia¹⁾, LIAO Xue-Pin^{1,2)*}, SHI Bi^{1,2)}

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

²⁾ The Key Laboratory of Leather Chemistry and Engineering of Ministry of Education, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

Abstract Five new and cheap rare earth complexes with larch tannin(LT) have been prepared by the chelating reaction of rare earth (Re^{3+}) with larch tannin according the liquid phase synthesis method, and these complexes were characterized with FT-IR, XPS, UV and coordination number determination method. The antifungal activity of Re^{3+} -LT against *Aspergillus niger*, *Monascus anka*, *Phanerochaete chrysosporium* and *Actinomucor elegans* was evaluated *in vitro* by using the oxford cup and agar dilution assay. It was found that the Re^{3+} -LT complexes are effective for these four fungi, and the antifungal activity was in the order of Ce^{3+} -LT > Gd^{3+} -LT > La^{3+} -LT > Nd^{3+} -LT > Yb^{3+} -LT. The minimum inhibitory concentration of Ce^{3+} -LT to these four fungi is $1.6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $1.6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $0.8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, and $1.6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively, while the Yb^{3+} -LT is $3.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $1.6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $3.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, and $3.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively. In terms of fungicide, Yb^{3+} -LT is the best one and the minimum fungicide concentration of Yb^{3+} -LT to these four fungi is $6.4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $3.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $3.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, and $6.4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively. In addition, the fungicide activity of Nd^{3+} -LT and Gd^{3+} -LT against *Aspergillus niger* and *Actinomucor elegans* is less powerful even they have good antifungal activity.

Key words larch tannin, rare earth, complex, antifungal activity

DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0298

*Corresponding author.

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

Received: September 26, 2016 Accepted: November 22, 2016