

邻甲氧基苯甲醛丙氨酸席夫碱及其金属配合物的合成、表征和对 O_2^- 自由基的抑制作用

何秀英 吴纪梅* 严振寰* 吴自慎
(华中师范大学化学系, 武汉 430070)

本文报道了邻甲氧基苯甲醛丙氨酸席夫碱配体和 $Cu(II)$ 、 $Zn(II)$ 、 $Ni(II)$ 、 $Co(II)$ 配合物的合成、表征及其对超氧离子自由基(O_2^-)的抑制作用, 结果表明铜配合物有较强的抑制作用。

关键词: 丙氨酸 配合物 席夫碱 自由基

甲氧基苯甲醛与胺衍生物的席夫碱及其金属配合物大都具有一定的生物活性^[1-3], 但甲氧基苯甲醛的氨基酸席夫碱及其金属配合物的研究迄今未见报道。为此, 我们合成了邻甲氧基苯甲醛丙氨酸席夫碱及其 $Cu(II)$ 、 $Zn(II)$ 、 $Ni(II)$ 、 $Co(II)$ 配合物, 并对这些化合物的组成、配位状态及生物活性进行了研究。

实 验 部 分

一、仪器与试剂

PE 2400 CHN 元素分析仪(美国); WYX-401 型分光光度计(北京); PE 983 红外光谱仪(美国); Shimadzu UV-265 紫外光谱仪(日本); Varian XL-200 超导核磁共振谱仪(美国); DDS-11A 型电导率仪(上海); TAS-100 型热分析仪(日本); F-3010 Fluorescence Spectrophotometer (日本)。

邻甲氧基苯甲醛(C.P. 西德); L-丙氨酸(B. R.); 醋酸铜、醋酸锌等试剂均为 A. R. 级。

二、邻甲氧基苯甲醛丙氨酸钾(*o*-AAK)配体的合成

将 2mmol L-丙氨酸和等摩尔的 KOH(s) 加入 20ml 无水乙醇中, 置 50℃ 水浴中搅拌至大部分固体物溶解, 抽滤, 得 L-丙氨酸钾的乙醇溶液, pH 值约为 8.5。再将此溶液缓慢滴加于溶有 2mmol 邻甲氧基苯甲醛的 10ml 无水乙醇中, 室温下反应 3 小时, 得橙黄色溶液, pH 值约为 7.5, 减压浓缩, 以无水乙醚提取产物, 真空干燥, 得黄色固体(易吸潮), 产物的纯化是用少量无水乙醇溶解和无水乙醚提取, 产率 87.2%。

三、配合物的合成

1. 铜配合物(*o*-AACu)的合成 将 2mmol $Cu(Ac)_2 \cdot H_2O$ 溶于 30ml 的乙醇-水(1:2)溶

收稿日期: 1994-11-19。

湖北省自然科学基金资助项目。

* 通讯联系人。

* * 现在武汉市职工医学院。

第一作者: 何秀英, 女, 31 岁, 硕士, 讲师。现在深圳市, 从事螺旋藻方面的研究工作。

剂中,再将该溶液缓慢滴加至溶有 4mmol 配体(*o*-AAK)的 30ml 1:2 乙醇水溶液中,恒温 65℃ 反应 6 小时, pH 值约为 7; 静置, 抽滤, 分别用蒸馏水和无水乙醚充分洗涤产物, 真空干燥, 得墨绿色粉末。产物用乙醇-水溶剂重结晶。产率 70.6%。

2. 镍配合物(*o*-AANi)的合成 向溶有 4mmol 配体(*o*-AAK)的 30ml(1:2)乙醇-水溶液中, 缓慢滴入溶有 2mmol $\text{Ni}(\text{Ac})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 的 30ml(1:2)乙醇-水溶液, 恒温 65℃ 反应 6 小时, 静置, 抽滤, 产物用水和无水乙醚充分洗涤, 真空干燥, 得黄绿色粉末。产率 57.6%。

3. 锌配合物(*o*-AAZn)的合成 将 2mmol $\text{Zn}(\text{Ac})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 和 4mmol 配体(*o*-AAK)加入 50ml 无水乙醇中, 恒温 65℃ 反应 6 小时, 得浅黄色溶液, 经减压蒸馏浓缩, 冷却后加入适量蒸馏水, 得肉色固体物。分别用蒸馏水和无水乙醚充分洗涤产物, 并用乙醇-水溶剂(1:2)重结晶。产率 56.2%。

4. 钴配合物(*o*-AACo(II))的合成 于 50ml 无水乙醇中加入 2mmol $\text{Co}(\text{Ac})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 和 4mmol 配体(*o*-AAK), 在 N_2 气保护下, 65℃ 恒温反应 6 小时, 经减压蒸馏浓缩, 冷却后加入适量蒸馏水, 得土黄色固体物。用蒸馏水和无水乙醚洗涤, 真空干燥, 产物为土黄色粉末。产率 59.3%。

表征和结果讨论

一、化合物的元素分析和摩尔电导

化合物的 C、H、N 含量由元素分析仪测定; EDTA 容量法测 $\text{Cu}(\text{II})$ 、 $\text{Zn}(\text{II})$ 的含量; $\text{Ni}(\text{II})$ 含量由丁二酮肟重量法测定; $\text{Co}(\text{II})$ 含量用原子吸收分光光度法测得。此外, 为证实化合物中钾离子存在与否, 在其特征波长 $\lambda = 766.0\text{nm}$ 下对化合物进行了测试, 结果仅配体(*o*-AAK)有明显的原子吸收, 表明钾离子的存在。化合物的摩尔电导测定系在甲醇溶液中进行, 化合物浓度为 $1 \times 10^{-4} \text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, 结果见表 1。

表 1 化合物元素分析及摩尔电导

Table 1 Elemental Analyses and Electric Conductivity of Compounds

compound	formula	C	H	N	M	Λ_m S · cm ² · mol ⁻¹
		found(calc.)%				
<i>o</i> -AAK	C ₁₁ H ₁₄ NO ₄ K	50.03 (50.17)	5.38 (5.36)	5.17 (5.32)		85.34
<i>o</i> -AACu	C ₂₂ H ₂₆ N ₂ O ₇ Cu	53.27 (53.49)	5.32 (5.30)	5.26 (5.67)	12.23 (12.81)	23.70
<i>o</i> -AAZn	C ₂₂ H ₂₆ N ₂ O ₇ Zn	51.28 (51.43)	5.10 (5.49)	5.09 (5.45)	12.15 (12.72)	26.20
<i>o</i> -AANi	C ₂₂ H ₂₆ N ₂ O ₇ Ni	54.26 (54.02)	5.53 (5.77)	5.36 (5.73)	12.73 (12.00)	44.85
<i>o</i> -AACo(II)	C ₂₂ H ₂₆ N ₂ O ₇ Co	53.74 (54.00)	5.47 (5.35)	5.78 (5.72)	11.68 (12.04)	27.39

元素分析结果表明实测值与计算值基本相符。摩尔电导值表明配体为 1:1 型电解质, 是以羧酸钾盐形式存在, 而金属配合物为非电解质^[4)]。

二、热重-差热分析

在室温至 650℃ 区间内对化合物进行了热重-差热分析, 数据见表 2。

表 2 化合物的热重-差热分析数据
Table 2 Data of TG and DTA of Compounds

compound	formula	loss of crystalline water					decomp. temp.(℃)
		primary temp.(℃)	loss of weight(%)		number of H ₂ O		
			calc. found		calc. found		
o-AAK	C ₁₁ H ₁₂ NO ₃ K · H ₂ O	66.0	6.83	6.86	1.0	1.01	185.9
o-AACu	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₆ Cu · H ₂ O	89.0	3.64	3.86	1.0	1.06	354.0
o-AAZn	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₆ Zn · 2H ₂ O	85.0	7.01	6.90	2.0	1.97	334.8
o-AANi	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₆ Ni · H ₂ O	83.0	3.68	3.61	1.0	0.98	341.0
o-AACo(Ⅱ)	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₆ Co · H ₂ O	69.9	3.68	3.81	1.0	1.04	316.9

测试结果表明各化合物所含水分子数与计算值吻合。

三、红外光谱和电子光谱

测化合物 200–4000cm⁻¹ 范围内红外光谱, 化合物的特征频率列入表 3。在 190–900nm 测定的电子光谱数据见表 4(溶剂为甲醇; 化合物浓度: 紫外区为 1 × 10⁻⁴mol · dm⁻³, 可见光区为饱和溶液)。

表 3 红外光谱数据(cm⁻¹)
Table 3 Infra-Rad Spectral Data of Compounds(cm⁻¹)

compound	—OH	—CH = N—	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{—C—} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \nu_{\text{as}} \quad \nu_{\text{s}} \end{array}$		—OCH ₃	—Ar(ring)			M—N	M—O
o-AAK	3409	1628	1587	1359	2840	1530	1487	756		
o-AACu	3197	1633	1601	1349	2839	1534	1492	755	543	340
o-AAZn	3431	1633	1600	1356	2838	* *	1488	755	647	281
o-AANi	3431	1617	*	1355	2837	1538	1490	753	610	349
o-AACo(II)	3268	1635	1601	1348	2840	1535	1493	754	576	341

* The peak is submerged by $\nu_{\text{C}=\text{N}}$.

* * The peak is submerged by $\nu_{\text{as}}(\text{—COO—})$.

表 4 电子光谱数据
Table 4 Electronic Spectra Data

compound	$\lambda_{\text{max}}(\text{nm})(\epsilon, \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^2)$			
o-AAK	218.4(3.3 × 10 ⁴)	253.4(2.1 × 10 ⁴)	317.2(8.3 × 10 ³)	
o-AACu	242.4(4.0 × 10 ⁴)	266.6(2.8 × 10 ⁴)	367.0(9.9 × 10 ³)	647.0
o-AAZn	221.0(1.4 × 10 ⁴)	246.0(6.6 × 10 ⁴)	324.0(2.5 × 10 ³)	
o-AANi	225.0(1.20 × 10 ⁴)	246.0(7.6 × 10 ³)	371.0(1.6 × 10 ³)	608.0
o-AACo(II)	225.0(5.9 × 10 ³)	240.0(4.8 × 10 ³)	382.0(3.2 × 10 ³)	498.2

红外光谱数据表明, 化合物在 3100–3450cm⁻¹ 间均有一强而宽的吸收峰, 显示有结晶水存在, 并已由差热分析所证实。1628cm⁻¹ 的吸收峰为配体的亚胺特征吸收峰, 当配体与金属离子,

配位后,其 $\nu_{C=N}$ 特征吸收峰发生了位移,同时在 543、647、610、576 cm^{-1} 处分别出现了新的吸收峰,说明亚胺中的氮原子参与了配位,有 M-N 键存在。与配体相比,配合物的 ν_{asym} 值向高波数区移动,其中 $o\text{-AANi}$ 的 ν_{asym} 已移至与 $\nu_{(C=N)}$ 重叠成较强而宽的峰; $\nu_{(COO^-)}$ 则向低波数区移动,同时,在低波数区 340、281、349、341 cm^{-1} 处出现新的吸收峰,应归属为 $\nu_{M-O(COO^-)}$ 的特征吸收峰,反映了配体中羧氧原子已与金属离子配位^[5]。

电子光谱数据表明,317.2nm 处为配体的亚胺 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁,253.4 和 218.4nm 处的吸收带分别属于苯环的 B 带和 K 带,当配体与金属离子发生配位后,其亚胺吸收谱带及苯环的 B 带和 K 带均发生位移,反映了配体中亚胺与金属离子间有配位键的形成^[6];同时,在 $o\text{-AACu}$ 的 647.0nm, $o\text{-AANi}$ 的 608nm 和 $o\text{-AACo}$ 的 498.2nm 处吸收峰分别为金属离子的 $d-d$ 跃迁, $o\text{-AAZn}$ 中,由于 Zn^{2+} 具有 d^{10} 电子组态,故无 $d-d$ 跃迁。

四、 $^1\text{H-NMR}$

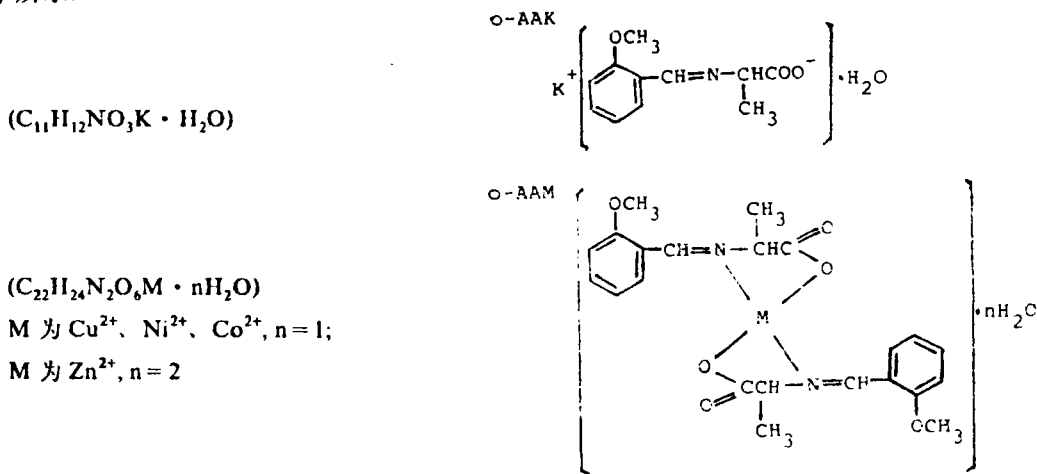
以 $\text{DMSO-}d_6$ 作为溶剂,TMS 作内标,在 0~15ppm 范围内扫描, $o\text{-AAK}$ 和 $o\text{-AAZn}$ 的氢谱特征数据列于表 5。

表 5 $o\text{-AAK}$ 和 $o\text{-AAZn}$ 的 $^1\text{H-NMR}$ 数据
Table 5 $^1\text{H-NMR}$ Data of $o\text{-AAK}$ and $o\text{-AAZn}$ (δ , ppm)

$o\text{-AAK}$	8.58(s, HC=N)	6.50~7.88(4H, ring),	3.85($-\text{OCH}_3$),	3.73($-\text{CH}-$),	1.28($-\text{CH}_3$)
$o\text{-AAZn}$	7.89(s, HC=N)	6.70~7.45(4H, ring),	3.85($-\text{OCH}_3$),	3.60($-\text{CH}-$),	1.10($-\text{CH}_3$)

表中数据表明,主要基团的化学位移值与预期相符,与配体相比,锌配合物中某些质子的化学位移发生了变化,如 $\text{CH}=\text{N}$ 质子峰由 8.58 移至 7.89ppm,这可能是 $\text{CH}=\text{N}$ 中 N 与 $\text{Zn}(\text{II})$ 配位的影响,为推断配合物中的配位情况提供了进一步的依据。 $\text{Cu}(\text{II})$ 、 $\text{Ni}(\text{II})$ 、 $\text{Co}(\text{II})$ 的配合物由于中心金属离子存在单电子干扰,因而得不到清晰的图谱。

综合以上讨论,可以推断配体与金属离子形成了 2:1 型四配位配合物,其可能的配位状态如下所示:



五、化合物对超氧离子自由基 O_2^- 的抑制作用

超氧离子自由基是生物体内导致炎症、衰老、以及癌变的重要因素之一，我们按文献[7]的方法加以改进，以焦性没食子酸作产生 O_2^- 的试剂，氮蓝四唑为显色剂，用岛津 UV-265 型光谱仪在 540nm 处测化合物在不同浓度时的光吸收，经过计算得出化合物对 O_2^- 的平均抑制率(见表 6)。

表 6 化合物对 O_2^- 离子的抑制作用

Table 6 Scavenging Effect on O_2^- of the Compounds					
o-AAK	-lgC*	4.38	4.48	4.60	5.08
	ASR * * / %	-1.65	-0.87	-2.71	-4.35
o-AACu	-lgC	4.92	5.02	5.12	5.62
	ASR / %	61.17	54.62	43.48	16.52
o-AAZn	-lgC	4.94	5.03	5.16	5.34
	ASR / %	-2.61	-14.78	-21.35	-28.70
o-AANi	-lgC	9.94	5.03	5.16	5.33
	ASR / %	-8.85	-7.69	-10.26	-8.07
o-AACo(II)	-lgC	4.32	4.41	4.54	5.01
	ASR / %	-4.12	-1.36	-3.04	-7.83

* concentration of corresponding compound

* * average suppression ratio of four experiments

实验结果表明，所形成的化合物中 o-AACu 对 O_2^- 有较强的抑制作用，其抑制率随化合物的浓度增加而增加，其他化合物对 O_2^- 无抑制作用。由于铜配合物的离子常数未测定，因此铜配合物对 O_2^- 的歧化作用是铜配合物本身的作用，还是因溶液中存在一定的游离 Cu^{2+} 的作用尚待进一步研究。

化合物 o-AACu 不仅具有与 SOD 相似的抑制 O_2^- 自由基的功效，而且在它与 DNA 作用的电子光谱和荧光光谱初步研究表明，该化合物与 DNA 发生了一定的作用，为进一步研究 o-AACu 的生物活性提供了依据。

参 考 文 献

- [1] Hodnett, E. M. et al., *J. Med. Chem.*, 13, 768(1970).
- [2] Kham, R. U., Rahman, M. U., Ahmad, W., *Transition Met. Chem.*, 13, 392(1988).
- [3] Dave, A. M., Bhatt, K. N. et al, *J. Indian Chem. Soc.*, Vol. LXIV, p. 348, June(1987).
- [4] Geary, W. J., *Coord. Chem. Rev.*, 7(81), (1971).
- [5] 中本一雄著, 黄德如等译, 无机和配位化合物的红外和拉曼光谱, 化工出版社, 237页(1986).
- [6] Wagner, Michael R., Walker, F. Ann, *Inorg. Chem.*, 22, 3021(1983).
- [7] 蓝开荫等, 生物化学与生物物理进展, 2(138)15, (1988).

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND INHIBITION TO FREE RADICAL O_2^- OF *o*-METHOXYBENZALDEHYDE ALANINE SCHIFF BASE AND ITS COMPLEXES

He Xiuying Wu Jimci Yan Zhenhuan Wu Zishen

(Department of Chemistry, Central China Normal University, Wuhan 430070)

A new series of complexes of copper(II), zinc(II), nickel(II) and cobalt(II) with the Schiff base derived from *o*-methoxybenzaldehyde and alanine were synthesized. These compounds have been characterized by elemental analysis, IR, UV / Vis, $^1\text{H-NMR}$ and electrical conductivity measurement (in MeOH). Thermoanalysis was done by TG and DTA for five compounds containing crystalline water. Experimental results show that:

1. The chemical formula of the Schiff base and its metal complexes are $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{NO}_3\text{K} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (abb. *o*-AAK), $\text{Cu}(\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (*o*-AACu), $\text{Zn}(\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (*o*-AAZn), $\text{Ni}(\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (*o*-AANi) and $\text{Co}(\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ [*o*-AACo(II)].

2. These synthetic compounds are non-electrolytes, except for *o*-AAK is a 1 : 1 electrolyte.

3. All these complexes are four coordinated and 1 : 2 (metal : Schiff base) stoichiometry. The coordinating atoms are imino nitrogen and carboxyl oxygen.

The results of preliminary tests of interaction between all synthetic compounds and free radical (O_2^-) indicated that *o*-AACu possess obvious scavenger effect on O_2^- , the others do not show any inhibiting action.

Keywords: alanine complex Schiff base free radical