

反丁烯二酸芳香醇酯的合成及抑菌活性研究

欧光南¹, 周常义¹, 高芳³, 蓝皇隆¹, 刘晓瑜¹, 林诚¹, 翁石禹¹, 邱杰¹, 蔡连桥¹
(1.集美大学生物工程学院, 福建 厦门 361021; 2.厦门大学化学化工学院, 福建 厦门 361005)

摘要:本文合成了一系列的反丁烯二酸芳香醇(苯醇、苯乙醇、苯丙醇、邻溴苯醇)酯, 所得产物的NMR、FTIR表征结果与理论预测一致。用光电比浊法研究其抑菌活性, 反丁烯二酸芳香醇酯表现出较强的抑菌活性, 随着芳香醇的链长的增加对四种细菌的抑制作用也增强, 芳香醇卤代后, 与反丁烯二酸所生成的二酯的抑菌作用也得到加强。反丁烯二酸芳香醇酯有望成为高效抑菌剂。

关键词:反丁烯二酸芳香醇酯; 合成; 抑菌活性

Synthesis and Antibacterial Activity of Trans-but-2-enedioic Acid Bis-aromatic Alcohol Ester

OU Guang-nan¹, ZHOU Chang-yi¹, GAO Fang², LAN Huang-long¹, LIU Xiao-yu¹, LIN Cheng¹,
WENG Shi-yu¹, QIU Jie¹, CAI Lian-qiao¹
(1. School of Bioengineering, Jimei University, Xiamen 361021, China;
2. School of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: A series of trans-but-2-enedioic acid bis-aromatic alcohol ester have been firstly synthesized by direct reaction of trans-but-2-enedioic acid with aromatic alcohol. The products were characterized with ¹H NMR and FTIR. All the characterization data are consistent with the theoretical compositions and structures. The antibacterial activities against *Bacillus subtilis*, *Mycococcus tetragenus* Krasil'nikov, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were tested by the method of phototurbidometry. All of the derivatives showed strong antibacterial activity against bacteria tested. The antibacterial activities of the derivatives were more effective with longer chain of the aromatic alcohol and halogenated with halide. It showed that the derivatives are potent and promising antibacterial agents.

Key words: trans-but-2-enedioic acid bis-aromatic alcohol ester; synthesis; antibacterial activity

中图分类号: 0622.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2006)11-0207-03

长期以来, 广泛应用的化学防霉防腐剂主要是有机酸及其盐类, 如苯甲酸及其钠盐、山梨酸及其钠、钾盐, 丙酸及其钠、钙盐, 脱氢醋酸及其钾盐等。它们都对细菌和霉菌有很强的抑制作用, 但其毒性都较高, 有些品种如苯甲酸钠、脱氢醋酸钠等被世界卫生组织禁止使用; 即使使用, 其使用条件和使用范围也受到很大限制。

20世纪80年代以后, 新开发的有机酸酯作为防霉防腐剂已被广泛采用, 原因主要是有机酸酯有以下几大特点: (1) 毒性较低, 使用安全。(2) 杀菌力极强, 且具有广谱性, 对霉菌有特殊抑制效果, 特别是对黄曲霉的抑制作用更佳。一般使用量仅为有机酸盐类的1/4~1/10。(3) 在pH值4~8都有极强的抑菌作用, 即在酸性、中性、碱性条件下都有很好的防霉、防腐效果。而有

机酸及其盐类只在酸性条件下有抑制作用^[1]。

随着国家和消费者对食品安全性的日益重视。随着国家食品质量安全准入制度的建立和健全, 必将对生产流程、生产环境、生产员工健康以及原辅材料, 尤其是食品添加剂给食品带来的安全性问题提出更确切和更高水平的要求^[2]。研究广谱高效低毒的食品防腐保鲜剂对促进食品工业的发展具有重要意义与实用价值。

目前, 国内外都在大力研究和开发广谱、高效、低毒、经济实用的食品抗菌剂。通过多年的研究发现, 不饱和羰基结构是抗菌剂表现抗菌活性最有效的功能性结构^[3]。其中, 反丁烯二酸酯是一类重要的有机合成中间体和新型的化学防霉剂, 都具有低毒、高效、使用不受pH值局限、无残留等优点^[4]。因此如何利用反丁烯二酸分子中的高效抗菌母体结构而又不产生毒副

收稿日期: 2006-07-19

作者简介: 欧光南(1965-), 男, 副教授, 博士, 主要从事生物催化研究。

作用具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 仪器

电子天平(DS-671) 海精宏实验设备有限公司;熔点仪(WRS-1B) 上海精密科学仪器有限公司;红外光谱仪(FT/IR-480Plus) 大连华洋科学仪器有限公司;电热恒温培养箱(HH.B11) 上海跃进医疗器械厂;手提式压力蒸汽灭菌器(YXQ-SG46-280A) 上海博讯实业有限公司医疗设备厂;恒温培养摇床(HWY-111) 上海智诚分析仪器制造有限公司;可见分光光度(723 PC) 上海欣茂仪器有限公司;Bruker AV400 NMR 谱仪。

1.2 材料

1.2.1 试剂

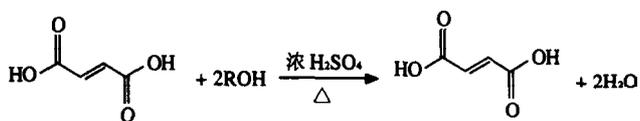
反丁烯二酸(CP) 中国医药集团上海化学试剂公司;硅胶(300~400目) 烟台市芝罘黄务硅胶开发试验厂;薄层层析硅胶板 烟台市芝罘黄务硅胶开发试验厂;蛋白胨 国药集团化学试剂有限公司;牛肉浸膏 上海试一化学试剂有限公司;苯醇(AR) 广东汕头市西陇化工厂;苯乙醇(CP) 中国医药集团上海化学试剂公司;苯丙醇(98%) ACROS公司;邻溴苯醇(98%) Alfa Aesar公司;其它试剂均为分析纯。

1.2.2 供试菌种

枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、四联球菌(*Mycococcus tetragenus Krasil'nikov*) 前两者为革兰氏阳性菌后, 两者为革兰氏阴性菌。以上供试菌种均由本院生物教研室提供。

1.3 方法

1.3.1 反丁烯二酸芳香醇酯的合成



参考文献方法[5], 进行改进。具体如下: 把25ml 圆底烧瓶安装在恒温磁力搅拌器上。加入一定配比的反丁烯二酸和芳香醇, 加热至80, 搅拌, 用移液枪加入15 μl 浓硫酸, 瓶口上塞上反口塞密封, 为防止反应时产生的水蒸汽无法排除, 在反口塞上插一根注射器针头。在80 左右条件下反应4~5h, 反应过程可以用薄层层析来监控, 当反丁烯二酸单酯的点消失或很模糊不清而反丁烯二酸二酯的点很清楚时, 即停止反应。反应完后得到的产物中含有反丁烯二酸单酯、反丁烯二酸二酯及未反应的芳香醇和反丁烯二酸。用柱层析法将它们分离, 将只有反丁烯二酸二酯的淋洗剂收集到一起,

用旋转蒸发仪旋去溶剂, 即可得到反丁烯二酸二酯。

1.3.2 细菌最低抑菌浓度(MIC)的测定

液体培养基的配制: 称取牛肉膏3g, 蛋白胨10g, 氯化钠5g, 加1000ml 水溶解, 调节pH值在7.0~7.2, 121 灭菌20min。

固体培养基的配制: 在液体培养基配方的基础上加入20g 营养琼脂。

细菌悬液的制备: 无菌操作在已灭菌的试管中加入约5ml 左右的液体培养基, 用接种环挑3~5环的菌体接于液体培养基中, 放入37 恒温培养摇床中培养16~18h。

反丁烯二酸二酯用溶剂溶解后, 稀释成一定的浓度梯度。在大小一致的试管内分别注入2.8ml 细菌培养基并塞上棉花塞, 经高压灭菌后, 在无菌条件下加入0.1ml 合成酯溶液, 再用移液枪接入0.1ml 的供试菌悬液, 置于37 恒温培养摇床中, 培养16~24h 后以2.9ml 培养基加0.1ml 溶剂做空白测定其A值。以只加2.9ml 培养基、0.1ml 菌液和2.8ml 培养基、0.1ml 溶剂、0.1ml 菌液分别进行对照。比较其A值的差别来确定反丁烯二酸二酯的最低抑菌浓度。

2 结果与分析

2.1 反丁烯二酸芳香醇酯的合成

反丁烯二酸芳香醇酯1a、1b、1c、1d 的合成结果如下:

1a 白色固体, mp 59.6~60.7, 产率40%; ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) : 7.39~7.40 (m, 10H, C₆H₅), 6.96 (s, 2H, CH=CH) 5.26 (s, 4H, -CH₂-); IR(KBr) v: 2922.59, 2855.09(-CH₂-), 1725.01, 1289.18(-C=C-COO-), 1598.69(-C=C-), cm⁻¹。

1b 白色晶体, mp 74.3~75.0, 产率67%; ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) : 7.24~7.36 (m, 10H, C₆H₅), 6.83 (s, 2H, CH=CH) 4.42~4.46 (t, 4H, -CH₂-) 3.00~3.04 (t, 6H, -CH₃)。IR(KBr) v: 3080.7, 3063.4 (Ph-H), 2941.9, 2900.4 (-CH₂-), 1707.7, 1315.2, 1162.9 (-C=C-COO-), 1601.6 (-C=C-), cm⁻¹。

1c 白色固体, mp 36.7~37.1, 产率52%; ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) : 7.34~7.46 (m, 10H, C₆H₅), 7.00 (s, 2H, CH=CH), 4.37~4.40 (t, 4H, -CH₂-), 2.86~2.90 (t, 4H, -CH₂-), 2.17~2.20 (m, 6H, -CH₃)。IR (KBr) v: 2942.0, 2855.1 (-CH₂-), 1735.0, 1164.3(-C=C-COO-), 1607.1(-C=C-)cm⁻¹。

1d 白色固体, mp 115.2~116.4, 产率54%; ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) : 7.24~7.60 (m, 8H, C₆H₅), 7.00 (s, 2H, CH=CH) 5.34 (s, 4H, -CH₂-); IR (KBr) v: 3068.19 (Ph-H), 2950.55, 2859.92 (-CH₂-), 1725.98, 1293.04, 1217.83 (-C=C-COO-), 1592.91(-C=C-) 660.50 (C-Br) cm⁻¹。

2.2 细菌最低抑菌浓度(MIC)测定

供试菌种为大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、四联球菌。反丁烯二酸芳香醇酯对供试的四种细菌的MIC测定结果见表1。

表1 反丁烯二酸芳香醇酯对细菌的抑制作用

Table 1 The antibacterial activity against *Bacillus subtilis*, *Mycococcus tetragenus* Krasil'nikov, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* of trans-but-2-enedioic acid bis-aromatic alcohol ester

抑菌剂	MIC(g/ml)			
	大肠杆菌	枯草芽孢杆菌	金黄色葡萄球菌	四联球菌
1a	3.4×10^{-5}	3.4×10^{-5}	3.4×10^{-5}	3.4×10^{-5}
1b	6.7×10^{-6}	3.3×10^{-5}	6.7×10^{-6}	3.3×10^{-5}
1c	3.3×10^{-7}	6.7×10^{-6}	6.7×10^{-6}	6.7×10^{-6}
1d	1.0×10^{-5}	1.0×10^{-5}	1.0×10^{-5}	1.0×10^{-5}

由表1可见,反丁烯二酸芳香醇酯对供试的四种细菌的最低抑菌浓度低于 $3.5 \times 10^{-5} \text{g/ml}$,表现出较强的抑菌活性。由1a、1b、1c的MIC值可见,随着芳香醇的链长的增加对四种细菌的抑制作用也增强,这与朱旭的QSAR结果一致。根据朱旭^[6]总结的定量构效关系方程,高效食品防腐剂分子应具有较高的最高空轨道能量,较大的极性,较大的分子范德华面积和较小的前沿轨道能量差。这可能是因为随着芳香醇的链长的增加,其分子的范德华面积也增加,所以1a、1b、1c的MIC值逐渐减少。比较1a、1d可知,芳香醇卤代

后,与反丁烯二酸所生成的二酯的抑菌作用也得到加强。这可能与分子的极性增大有关。

3 结论

本文合成了一系列的反丁烯二酸芳香醇(苄醇、苯乙醇、苯丙醇、邻溴苄醇)酯,所得产物的NMR、FTIR表征结果与理论预测一致。反应的产率为40%~67%,仍需寻找反应条件以提高反应效率。抑菌活性实验表明,反丁烯二酸芳香醇酯表现出较强的抑菌活性,随着芳香醇的链长的增加对四种细菌的抑制作用也增强,芳香醇卤代后,与反丁烯二酸所生成的二酯的抑菌作用也得到加强。反丁烯二酸芳香醇酯可望成为高效抑菌剂。

参考文献:

- [1] 刘军,冯燕,沈燕.防腐剂的复合使用及功效评价[J].食品添加剂,2005,(1):146-148.
- [2] 郑超,王萍,张宏志,等.单甲酯制备工艺的改进[J].化学世界,2004,(4):207-208.
- [3] 宁正祥,谭龙飞,张德聪,等. , -不饱和羰基化合物的分子结构特性与抗菌活性间的关系[J].应用化学,1996,13(1):38-42.
- [4] 俞善信,丁亮中.二甲酯合成研究进展[J].现代化工,2000,20(9):21-24.
- [5] 姚映钦,刘军,王兴明.有机化学实验[M].武汉理工大学出版社,2004.94-99.
- [6] 朱旭.天然食品防腐剂构效关系的研究[D].厦门:集美大学,2005.



红酒有可能减缓阿尔茨海默氏症进程

美国研究人员进行的一项动物实验显示,让患有类似阿尔茨海默氏症的实验鼠每天喝适量红酒,可以减缓它们记忆受损和脑细胞死亡的进程。专家认为,这对于治疗人类阿尔茨海默氏症有一定借鉴作用。

纽约西奈山医学院研究人员在新一期《美国实验生物学联合会会志》月刊上报告说,他们在实验中通过基因工程方法让实验鼠患上类似人类阿尔茨海默氏症的疾病,其大脑中一种淀粉状蛋白出现异常堆积,脑细胞受损,记忆力下降。

研究人员将这些患病实验鼠随机分成3组,并在接下来的7个月中分别在其中2组实验鼠的饮用水中加入红酒和酒精,第三组实验鼠只喝清水。此后专家通过一系列迷宫测试观察各组病鼠的记忆力,结果发现,训练它们如何从迷宫中逃脱时,红酒组实验鼠学得最快,而酒精组和清水组则表现平平。

这项研究的负责人帕西内蒂强调说,减缓上述疾病进程的关键因素是控制病鼠的红酒饮用量。美国农业部规定的正常人“中等程度的红酒饮用量”为女性每天喝一杯5盎司(1盎司约28.35g)的红酒,男性根据这一标准每天饮两杯红酒。在上述实验中病鼠的红酒摄入量与美农业部的正常人“中等程度的红酒饮用量”相当。

帕西内蒂说,他们的实验说明红酒可能对大脑有益,另外此前的研究也发现,适量喝红酒还有保护心脏的功效。因此他建议,老年人可考虑每天适量饮用红酒,当然那些患有高血压、肝脏疾病等不适宜饮酒的老人仍应远离酒类。