

# 铜(II)烟酸与 L- $\alpha$ -丙氨酸三元配合物的固相合成 和表征及抑菌活性

谢勇平, 李清禄\*, 郑新宇, 蔡碧琼

(福建农林大学 生命科学学院, 福建 福州 350002)

**摘 要:** 在室温条件下, 通过固相反应合成了铜(II)的烟酸、L- $\alpha$ -丙氨酸三元配合物, 采用元素分析、红外光谱、紫外光谱以及 X-射线粉末衍射光谱对配合物进行了表征。结果表明, 烟酸脱掉羧酸上的质子以酸根的形式与铜离子配位, 而吡啶环上的氮原子未参与配位, L- $\alpha$ -丙氨酸的氨基氮与羧基氧同时与铜离子配位。抑菌活性试验表明, 该配合物对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌、嗜水气单胞菌和耶尔森氏菌都具有抑菌活性, 对枯草芽孢杆菌的抑菌效果最好, 配合物浓度为 0.5 mmol/L 时, 抑菌圈直径达 13.4 mm, 最低抑菌浓度为 0.031 25 mmol/L。

**关 键 词:** 烟酸; L- $\alpha$ -丙氨酸; 铜配合物; 固相合成; 抑菌活性

中图分类号: O641.4 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2012)01-0117-04

## Solid phase synthesis, characterization and antibacterial activity of copper (II) with nicotinic acid and L- $\alpha$ -alanine

XIE Yong-ping, LI Qing-lu\*, ZHENG Xin-yu, CAI Bi-qiong

(College of Life Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

**Abstract:** A copper (II) complex with nicotinic acid and L- $\alpha$ -alanine was synthesized by the method of room temperature solid phase synthesis. The complex was characterized through elemental analysis, infrared spectra, ultraviolet spectra and X-ray powder diffraction. The results showed that the COO<sup>-</sup> group of nicotinic acid and the amino nitrogen and carboxylic oxygen of L- $\alpha$ -alanine coordinated with Cu<sup>2+</sup>. Antibacterial test displayed that the complex have a certain antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Bacillus aeruginosus*, *Aeromonas hydrophila* and *Yersinia intermedia*, and the activity against *Bacillus subtilis* was the strongest with the inhibition diameter of 13.4 mm at the concentration of 0.5 mmol/L. The minimal inhibitory concentration of the complex against *Bacillus subtilis* was 0.031 25 mmol/L.

**Key words:** nicotinic acid; L- $\alpha$ -alanine; copper complex; solid phase synthesis; antibacterial activity

仔猪断奶后的环境改变和应激会导致肠道内有害微生物大量繁殖, 引起下痢, 造成仔猪机体免疫力下降, 生长受阻。生产中常在日粮中添加抗生素预防仔猪消化道疾病, 促进生长。但长期使用抗

生素会在动物体内产生大量残留, 影响人类身体健康, 并使大量致病菌产生高耐药性, 欧盟已于 2006 年全面禁止在饲料中添加促生长类抗生素。

研究发现, 在饲料中添加一定剂量的铜, 同样可

收稿日期: 2011-08-24

基金项目: 福建省跨越计划办公室项目(闽农科教[2010]352 号)

作者简介: 谢勇平(1978—), 男, 福建泰宁人, 博士研究生, 讲师, 主要从事配位化合物合成及动物药物与添加剂研究, xypnm@163.com;

\*通信作者, lql3388@126.com

以提高动物机体免疫力,降低腹泻率,促进生长发育,其影响与几种常用抗生素促生长作用类似<sup>[1-2]</sup>;且氨基酸铜<sup>[3-6]</sup>和烟酸铜<sup>[7-8]</sup>等有机铜的促生长效果优于无机铜。研究表明,氨基酸铜和烟酸铜具有生物利用率高、提供双重营养和减少拮抗等作用。但将烟酸和氨基酸与铜反应形成三元配合物及其在饲料添加剂应用方面的研究报道还较少。

传统配合物的合成多采用溶液法,反应时间长,要求反应物有较好溶解性,且产率较低。固相反应由于不使用有机溶剂,具有高选择性、高产率、工艺过程简单及低污染等优点<sup>[9-11]</sup>,为大规模制备配合物提供了一种高效的绿色合成方法。笔者采用低温固相研磨法合成了铜(II)烟酸和 L- $\alpha$ -丙氨酸三元配合物,通过比较该配合物和 CuSO<sub>4</sub> 的抑菌活性,评价其抗腹泻效果,以期为防止腹泻、促生长效果好的饲料添加剂生产提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与测试仪器

吡啶-3-羧酸(烟酸,化学纯)、醋酸铜、二甲基亚砜(DMSO)、L- $\alpha$ -丙氨酸均为分析纯。试验用水为超纯水。

Cary eclipse 型红外光谱仪( $\nu$  为 400~4 600 cm<sup>-1</sup>)、Cary 50 型紫外吸收光谱仪,美国 Varian 公司产品;Vario MICRO 型元素分析仪,德国 elementar 公司产品;Dmax/2500 型 X 射线衍射仪,日本 Rigaku 公司产品;WFX-130A 型原子吸收分光光度计,北京瑞利分析仪器公司产品。

### 1.2 配合物的合成

精确称取 0.02 mol 烟酸、0.02 mol L- $\alpha$ -丙氨酸和 0.02 mol 醋酸铜,混置于玻璃研钵中,在红外灯下充分研磨。在研磨初期可以闻到浓烈刺鼻的醋酸

气味,并出现潮湿现象,逐渐明显直到发黏呈糊状,继续快速研磨,研磨物逐渐变干,约 2 h 后醋酸气味基本消失,即停止研磨。用乙醇洗涤,置于真空干燥箱中,在 85 °C 干燥 12 h,得到深蓝色粉末产物。产率为 94.5%。用元素分析仪测定产物的 C、H、N 含量;采用 EDTA 络合滴定法测定产物 Cu 含量;分别测定产物的红外光谱、紫外光谱和 X-射线粉末衍射光谱。

### 1.3 配合物抑菌活性的测定

将配合物和硫酸铜用 80% DMSO 配制成 0.5 mmol/L 的溶液,采用平板滤纸抑菌法,分别测定配合物对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、铜绿假单胞菌(*Bacillus aeruginosus*)、嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)和耶尔森氏菌(*Yersinia intermedia*)的抑菌作用。经 37 °C 培养 24 h 后,测量其抑菌圈直径,同时用浓度梯度法测定配合物和硫酸铜的最低抑菌浓度(MIC)。

## 2 结果与分析

### 2.1 配合物的元素分析和性质

配合物的元素分析结果为:C 38.97%(39.42%), H 3.81%(3.65%), N 10.01%(10.22%), Cu 23.72%(23.36%), 括号内为计算值。经分析计算,确定配合物的组成为 Cu(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NO<sub>2</sub>)(C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>NO<sub>2</sub>)。配合物为深蓝色固体粉末,无臭无味,在空气中稳定,可溶于水、DMSO 和 DMF。

### 2.2 配合物的红外光谱

以 KBr 压片,在 4 000~400 cm<sup>-1</sup> 测定烟酸、L- $\alpha$ -丙氨酸和配合物的红外光谱。配合物的谱图与配体有明显差别,主要特征吸收峰数据见表 1。

表 1 配体和配合物的红外吸收光谱数据  
Table 1 Infrared spectrum data ( $\nu$ /cm<sup>-1</sup>) of ligand and complex

化合物	$\nu_{C=O}$	$\nu_{O-H}$	$\delta_{O-H}$	$\nu_s(COO^-)$	$\nu_{as}(COO^-)$	$\nu_{C=C=N}$	$\nu_{as}(NH^{3+})$	$\nu_s(NH^{3+})$	$\nu_{Cu-N}$	$\nu_{Cu-O}$
烟酸	1 705	2 827, 2 452	959	—	—	1 588	—	—	—	—
L- $\alpha$ -丙氨酸	1 621	—	—	1 412	1 593	—	3 084	2 601	—	—
产物	1 631	—	—	1 386	1 572	1 595	—	—	574	446

从红外光谱数据可知, 烟酸羧基的特征吸收峰, 即  $\nu_{\text{O-H}}$  ( $2\ 827$ 、 $2\ 452\ \text{cm}^{-1}$ ) 和  $\delta_{\text{O-H}}$  ( $959\ \text{cm}^{-1}$ ), 在形成配合物后消失, 且羧基上的  $\text{C=O}$  的伸缩振动  $\nu_{\text{C=O}}$  从  $1\ 705\ \text{cm}^{-1}$  红移至  $1\ 631\ \text{cm}^{-1}$ , 表明羧酸脱掉质子以酸根的形式与铜离子配位; 配合物与配体的吡啶环骨架振动峰  $\nu_{\text{C=C+O=N}}$  变化不大, 说明吡啶环中的氮原子未参与配位。

配体 L-α-丙氨酸羧基的对称伸缩振动吸收峰  $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$  和反对称伸缩振动吸收峰  $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$  分别为  $1\ 412$  和  $1\ 593\ \text{cm}^{-1}$ , 形成配合物后,  $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$  红移至  $1\ 386\ \text{cm}^{-1}$ ,  $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$  蓝移至  $1\ 572\ \text{cm}^{-1}$ , 说明羧基氧参与配位; 同时 L-α-丙氨酸中对称伸缩振动峰  $\nu_{\text{s}}(\text{NH}_3^{3+})$  和反对称伸缩振动峰  $\nu_{\text{as}}(\text{NH}_3^{3+})$  在形成配合物后均消失。从 L-α-丙氨酸的红外特征吸收峰的位移和变化情况, 说明 L-α-丙氨酸的羧基氧和氨基氮同时与铜离子配位, 生成了五员螯环。

配合物在  $574\ \text{cm}^{-1}$  和  $446\ \text{cm}^{-1}$  处分别出现了  $\nu_{\text{Cu-N}}$  和  $\nu_{\text{Cu-O}}$  的振动吸收峰。进一步证明了配体中氨基氮和羧基氧与铜离子发生了配位。

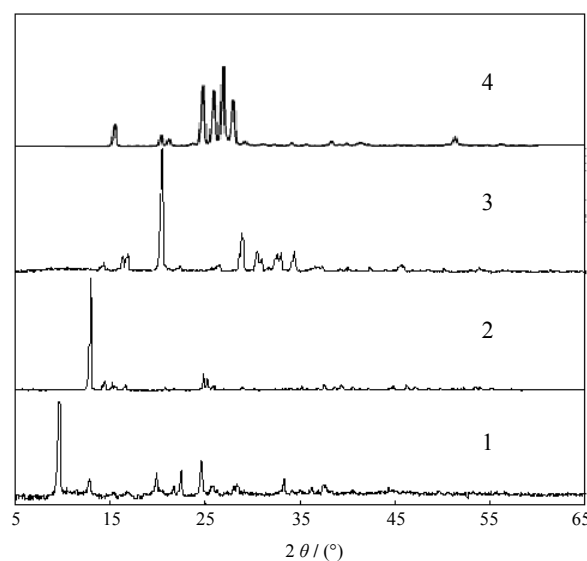
### 2.3 配合物的紫外光谱

在  $200 \sim 400\ \text{nm}$  处测定烟酸、L-α-丙氨酸及配合物的紫外吸收光谱。烟酸的最大吸收峰值在  $210$  和  $260\ \text{nm}$ , 属于吡啶环  $\pi-\pi^*$  跃迁吸收光谱; L-α-丙氨酸无最大吸收峰值, 而产物的最大紫外吸收峰分别为  $212$  和  $264\ \text{nm}$ , 与配体完全不同, 说明形成了新配合物。

### 2.4 配合物的 X-射线粉末衍射图谱

在  $5^\circ \sim 65^\circ$  衍射角内, 将醋酸铜、烟酸、L-α-丙氨酸及固相合成产物进行 X-射线粉末衍射测试, 各物质的 X-射线粉末衍射图谱见图 1。合成产物的衍射峰位置、强度与反应物的相应数据完全不同, 也不是反应物的加和数据, 说明配合物形成后, 其晶形结构发生了变化, 所得产物是一新物质; 反应完全后, 反应物的衍射峰均消失, 在新的位置观察到有较强新峰产生, 结合文献[12]解释如下: 固相反应经历 3 个阶段: ①晶格间的扩散; ②反应; ③产物的成核与生长。经过前面 2 个阶段, 烟酸、L-α-丙氨酸与醋酸铜反应完全生成配合物, 反应物

的晶格完全解体, 其衍射峰强度逐渐降低直至消失, 而新化合物晶格尚未形成, 整个物相处于非晶态, X-射线粉末衍射谱图无任何衍射峰。第 3 阶段中, 非晶态继续向晶态转变需要一定的温度和成核活化能。如果达到了成核与生长的条件, 非晶态的配合物向晶态转变, 这时在 X-射线粉末衍射谱上看到的是强度较大的谱图; 反之, 产物则是非晶态配合物或者是少量晶态的和非晶态的配合物共存, 这时在 X-射线粉末衍射谱上看到的是无任何衍射峰或是强度很弱的谱图。虽然本反应在室温下进行, 但是由于最后得到的产物在干燥的过程中温度达到成核温度  $T_m$ , 所以非晶态的配合物向晶态转变, 因此在 X-射线粉末衍射谱上看到的是强度相对较大的谱图。由此可以证明, 反应物通过室温固相反应生成了新的配合物, 而并非 2 种反应物的机械混合物。



1 配合物; 2 醋酸铜; 3 L-α-丙氨酸; 4 烟酸。

图 1 配合物的 X-射线粉末衍射图谱

Fig.1 X-ray powder diffraction spectra of complex (1), copper acetate(2), L-α-alanine(3) and nicotinic acid(4)

### 2.5 配合物的抑菌活性

配合物和硫酸铜对测试菌种的抑菌圈直径和最低抑菌浓度见表 2 和表 3。结果表明, 配合物对于测试菌种具有不同程度的抑菌活性, 且在同一铜含量水平下, 该配合物的抑菌活性高于硫酸铜。

表2 配合物的抑菌圈直径

Table 2 The inhibition diameters of complex and CuSO<sub>4</sub>

化合物	抑菌圈直径/mm					
	大肠杆菌	枯草芽孢杆菌	金黄色葡萄球菌	铜绿假单胞菌	嗜水气单胞菌	耶尔森氏菌
配合物	12.5	13.4	9.5	9.6	10.2	8.8
硫酸铜	8.0	9.2	7.5	8.4	8.6	8.0

表3 配合物的最低抑菌浓度

Table 3 MIC of complex and CuSO<sub>4</sub>

化合物	最低抑菌浓度/(mmol·L <sup>-1</sup> )					
	大肠杆菌	枯草芽孢杆菌	金黄色葡萄球菌	铜绿假单胞菌	嗜水气单胞菌	耶尔森氏菌
配合物	0.062 5	0.031 25	0.062 5	0.125	0.062 5	0.125
硫酸铜	0.125 0	0.125 00	0.250 0	0.125	0.062 5	0.500

## 参考文献:

- [1] Braude R. Some observations on the need for copper in the diet of fattening pigs[J]. J Agric Sci, 1945, 35: 163.
- [2] Miller E R, Ullrey D E, Ellis D J, et al. Comparison of copper sulfate and a selected antibiotic for growing-finishing swine[J]. J Anim Sci, 1969, 29: 140.
- [3] Coffey R D, Cromwell G L, Monegue H J. Efficacy of a copper-lysine complex as a growth promotant for weaning pigs[J]. Anim Sci, 1994, 72(11): 2880-2886.
- [4] Zhou W, Kornegay E T, Lindemann M D. Stimulation of growth by intravenous injection of copper in weanling pigs [J]. Anim Sci, 1994, 72(9): 2395-2403.
- [5] 冯杰, 刘欣. 酪氨酸铜对仔猪生长及血清铜蓝蛋白和SOD活性的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2005, 41(3): 14-17.
- [6] 王若军, 丘榕生. 不同铜源在断奶仔猪日粮添加效果研究[J]. 饲料广角, 2001(9): 24-25.
- [7] 黄志坚, 陈强, 郑孝奎, 等. 烟酸铜对仔猪生产性能及血液生化指标的影响[J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2006, 35(1): 63-66.
- [8] Chen Q, Li Q L, Huang Z J, et al. Relationship between coordination structure and biological activity of copper(II) nicotinate [J]. Chinese J Struct Chem, 2006, 25(9): 1141-1147.
- [9] 贾殿赠, 李昌雄, 傅岩, 等. 固相配位化学反应研究 XXXXXIII. 一步法室温(准室温)固相化学反应合成 8-羟基喹啉的 Co(II)、Ni(II)、Cu(II)、Zn(II)配合物[J]. 化学学报, 1993, 51(4): 363-367.
- [10] 贾殿赠, 忻新泉. 固相配位化学反应研究 XXXXXII. 室温-固-固化学反应合成氨基酸铜配合物[J]. 化学学报, 1993, 51(4): 358-362.
- [11] 周益明, 忻新泉. 低热固相合成化学[J]. 无机化学学报, 1999, 15(3): 273-292.
- [12] 赖芝, 忻新泉. 固相配位化学反应研究 LXXXIV. 固相化学反应中的晶态—非晶态—晶态的变化[J]. 无机化学学报, 1997, 13(3): 330-335.

责任编辑: 罗慧敏